

受体研究技术

(第2版)

主编 贺师鹏

胡雅儿

夏宗勤

北京大学医学出版社



领本奖励

受体研究技术

(第2版)

主编 贺师鹏 胡雅儿 夏宗勤

编委 (以姓氏笔画为序)

王琪	王子政	王荣福	韦日生
尹长城	卢汉平	朱文玉	刘志强
李刚	李平风	李前伟	杨铭
吴奕钦	何其华	张敏	张礼和
张永芳	苑普庆	周德敏	侯桂华
洪远凯	聂松青	郭彦伸	喻德华
强永刚	樊景禹		

北京大学医学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

受体研究技术 (第 2 版) / 贺师鹏, 胡雅儿, 夏宗勤主编. —
2 版. — 北京: 北京大学医学出版社, 2010

ISBN 978-7-81116-965-2

I. ①受… II. ①贺… ②胡… ③夏… III. 受体—
研究 IV. ①R329.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 130600 号

受体研究技术 (第 2 版)

主 编: 贺师鹏 胡雅儿 夏宗勤

出版发行: 北京大学医学出版社 (电话: 010-82802230)

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京画中画印刷有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 董采萱 李 娜 责任校对: 金彤文 责任印制: 张京生

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 36.25 插页: 2 字数: 923 千字

版 次: 2011 年 1 月第 2 版 2011 年 1 月第 1 次印刷 印数: 1-2000 册

书 号: ISBN 978-7-81116-965-2

定 价: 110.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

本书由
北京大学医学部科学出版基金
资助出版

再 版 序 言

近年来，基因组学、蛋白质组学及结构基因组学的进展使受体的研究取得了巨大发展。一些膜蛋白的三维结构得到解析，受体与配基之间的相互作用有了进一步的理解，一些重要的受体介导的信号通路有了更深入的研究。更有一些新的受体及亚型不断出现，给受体的研究拓展了新的领域（Nature Reviews, Drug Discovery, 2010, 9: 293–307）。受体的研究不仅为揭示复杂的生命过程及了解疾病的发生发展提供了基础，也为新药的研究提供了药物筛选、设计的靶点。

新药研究尤其关注受体研究的进展，目前上市的化学合成药中以受体为靶点的药物占45%（Science, 2000, 287: 1962）。以G蛋白偶联受体（G protein-coupled receptors, GPCRs）为例，这一超级蛋白家族组成占全部人类基因组的1%以上，在800~1000个GPCRs基因中，已知的内源性配基只有210个（Nature, 2001, 409: 860–921；Science, 2001, 291: 1304–1351）。其介导的各种功能为研究心血管疾病、胃肠道疾病、中枢神经系统疾病、免疫疾病、糖尿病和肿瘤等提供了重要基础，也为研究相关药物提供了靶点。据统计，目前市场上的200个畅销药中的25%是以GPCRs为靶点的药物（Pharmacol Rev, 2003, 55: 575–578）。随着对GPCRs与配基相互作用模式的深入了解，区别以往正位作用（orthosteric sites）的药物设计，新的变构作用模式（allosteric sites）引起了人们的极大兴趣。一批作用于乙酰胆碱受体的变构药物（allosteric drug）已出现在临床评价的药物目录中（Nature Reviews, Drug Discovery, 2009, 8: 41–45）。

在深入研究受体生物学的同时，各种新的检测技术也在不断发展，除传统的同位素标记配基的受体结合实验外，各种生物的、化学的和物理的方法也在不断涌现。如加强的荧光光谱、表面等离子共振（surface plasmon resonance, SPR）、用于蛋白质谱学研究的双向电泳/质谱等技术也都用于受体的研究。结合基因敲除技术的细胞功能研究更使受体激动剂和拮抗剂的研究进入到更具有实用价值的阶段。为此，本书在第1版的基础上，结合近几年的研究进展，修订和增补了新的内容。这本书也是北京大学医学部及其他兄弟院校的老师们长期教学和科研积累的心得，凝聚了他们辛勤的劳动。感谢三位主编组织本书的全体作者，查阅文献、深入讨论、精益求精，使本书内容更加充实。我相信第2版的出版将为高等学校和研究机构的研究生和科研工作者提供一本有参考价值的教材和工具书。

张礼和
天然药物及仿生药物国家重点实验室，药学院
北京大学

再 版 前 言

本书从第1版出版到现在已经六年多，编写本书的初衷主要是希望提供一本有用的研究受体的参考书。现在再版，主要是因为受体的研究发展非常迅速，需要作必要的增补修订。

受体研究的发展之所以迅速，主要有以下三方面原因：第一，受体是调节细胞功能的高度特异性的“门户”，而细胞功能的改变是很多疾病的基础，因此研究受体结构功能的改变和各种重要疾病发病机制的关系受到很多人的高度重视。第二，寻找有高度选择性的药物一直是药物研究工作者的追求目标，受体的激动剂、拮抗剂以及调节受体结构和功能的药物正是这方面极有前途的研究对象。第三，从更深层次上看，受体和配基的结合属于研究蛋白质三维结构的重要内容，在分子生物学已进入后基因时代的今天，这方面的研究有很重要的理论意义。正因为以上几方面的原因，不少研究生、博士后研究人员和中青年科技工作者向往着从事这方面的工作，以期为医学科学事业作出贡献。

我们在多年从事受体研究的工作中，经常遇到的问题涉及面非常广泛，特别是标记配基的选择、亚型的分析、影响配基-受体亲和力的各种因素、受体的调节以及受体后的信号转导等。在这些大量涉及实践的问题背后还有大量的理论问题，如受体和配基结合的高度特异性涉及三维结构，配基结合的高亲和力涉及受体的二聚化，受体功能的改变涉及受体分子的突变，还有不少受体最终引起效应时需要另外一些蛋白质分子，即所谓协同激活因子或协同抑制因子的参与等。如此广范围的问题，一方面使我们备受鼓舞，一方面也使我们感到邀请有关专家共同编写一本研究受体参考书的必要性。我们希望通过大家共同编写，各自分工写自己的专长部分，使本书有较高的水平，使读者能得到真正有益的知识，从而不仅能找到有用的方法，而且能举一反三，通过自己的思考和实践来解决各种各样的问题。

受体的研究迄今有些重要问题尚未取得完全一致的意见。例如，在诸多标记物中，很多人认为，必须不改变标记配基的结构（如³H标记）或把结构的改变尽可能降低到最低程度（如¹²⁵I标记物）才能用于受体结合反应，酶、荧光物质、化学发光物质等连接到配基分子上往往改变配基和受体的结合特性，因此不适合用作配基的标记物，尤其不适用于定量工作；但是也有人认为这些标记配基也可以应用。又如，数据处理时，直线化数学模型误差较大，很多人都主张通过计算机进行直接曲线拟合，Scatchard作图已变为主要用来判断是否存在双位点或正负协同作用的方法；但是国内外文献中还是可以见到用Scatchard作图来进行定量数据处理。再如，用免疫组化的方法来研究受体的分布，灵敏度和特异性都较令人满意，但是所用抗体的抗原决定簇如果不在配基结合位点，则可能得到的结果和放射配基结合分析的结果不一致。近年来还有很多工作用测定受体的mRNA来研究受体，对发现受体亚

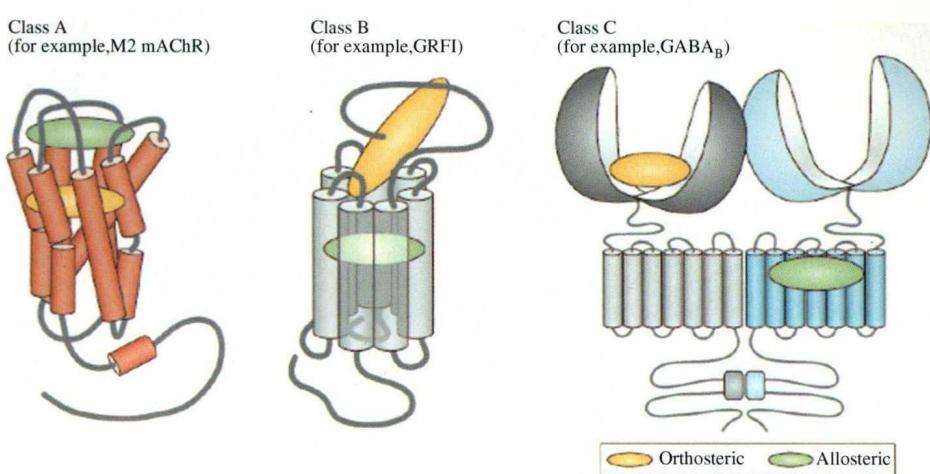
型和新受体作出了很多贡献，但是测定 mRNA 时所用的引物对所得结果和放射配基结合分析的结果是否一致的影响则很少研究。我们认为，研究人员了解这些分歧是有益的，可以开拓思路，向更高的境界迈进。因此我们对本书各章节在这些方面不强求一致，留待读者在今后的实践中选择、考核和判断。

本书包括总论和各论两大部分，总的是围绕受体的放射配基结合分析这一主题。总论各章侧重介绍和受体放射配基结合有关的基本理论和基本方法，此次再版时都作了一定修改补充，还增加了表面等离子体共振技术在受体研究中的应用、受体药物靶标的确认技术、病毒受体三章。在介绍基本理论和基本方法时，必然会遇到受体分类的问题。国际药理学联盟在 20 世纪 90 年代后期提出了一种从药理学角度对受体分类的方法，近年来又作了一些补充修改。我们也作了一些相应的修订。但是综观最近几年各学科对受体的论著，这一分类方法并未被其他学科普遍接受。本书采取了各家兼容并蓄、择优采用的做法（具体见第二章），是否妥当请广大读者批评。总论中还包括了若干种研究受体结构和功能的新技术及各自的理论基础，但是远非全面，如 X 线衍射和核磁共振等出现较早的技术，其他著作已有较多介绍，又如分子生物学技术，在第三章中已多次述及，其一般方法在分子生物学著作中都有介绍，所以本书对这些技术就没有安排专门的章节。各论包括 107 种受体及其亚型的放射配基结合分析，作者都尽可能提供一些比较成熟的方法，可供读者在具体工作时参考。至于受体放射配基结合反应的计算机数据处理，我们在总论第六章中对几种常用的曲线拟合作了比较具体的介绍。对 Scatchard 作图和 Hill 作图等直线回归，以及较少应用的受体结合速率常数和解离速率常数的计算，则仅在第五章介绍了一般原理。

本书的编写、出版是一个新的尝试，主编者的知识又有局限性，因此肯定会有不足之处，不妥或错误也在所难免，谨请广大读者批评指正。

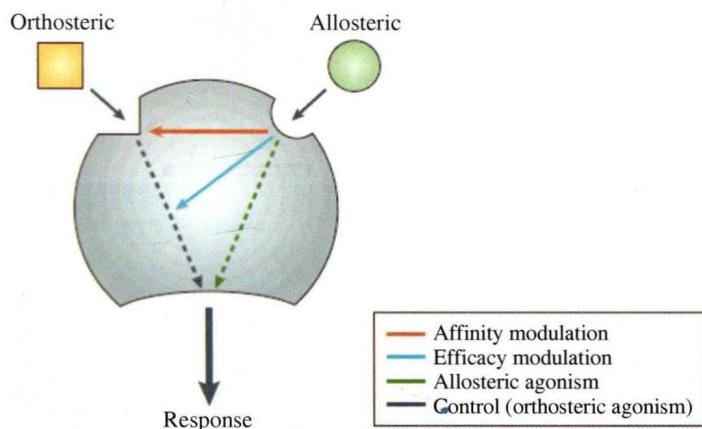
夏宗勤 贺师鹏 胡雅儿

2010 年 6 月



彩图 1-1 正位位点及变构位点在 G 蛋白偶联受体上的定位

(引自 Conn PJ, et al. Nature Reviews, 2009, 8: 41 - 54)

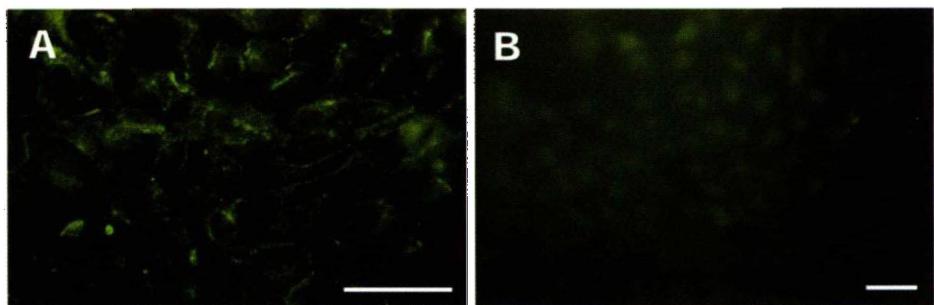


彩图 1-2 变构调节剂的作用模式

(引自 Conn PJ, et al. Nature Reviews, 2009, 8: 41 - 54)

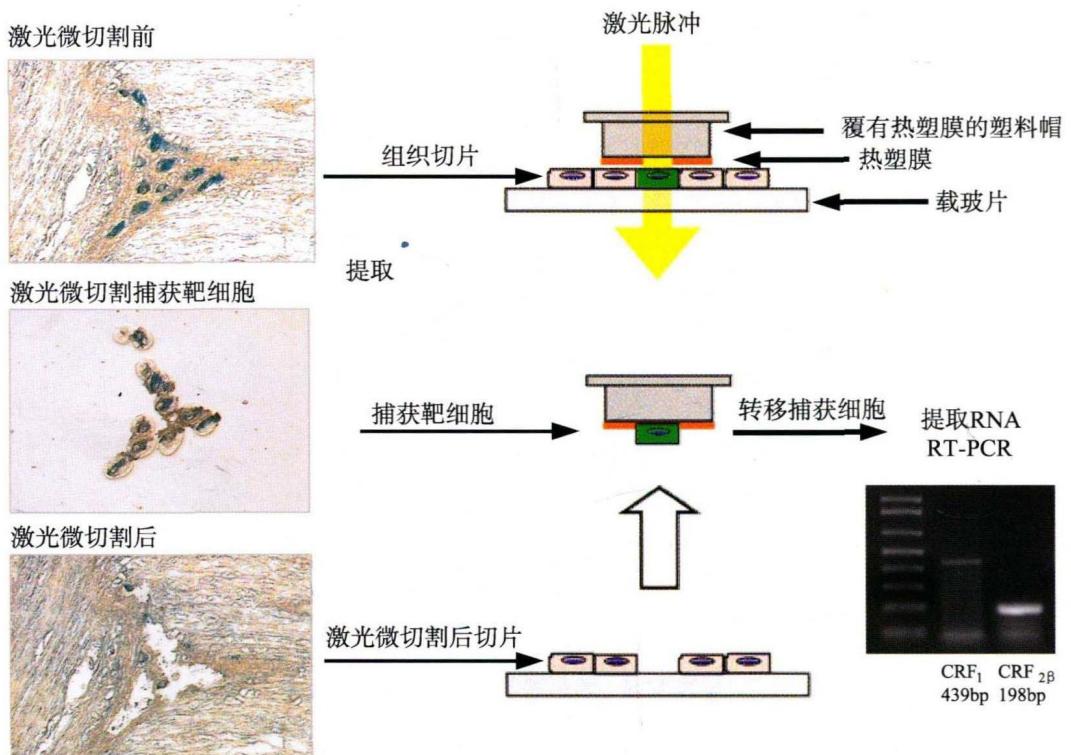


彩图 6-9 大鼠脑切片 M 受体的放射自显影图. 配基为³H-QNB, 右侧不同颜色的小方块是伪彩代表的灰度刻度, 从红色往下至白色表示相对灰度由深变浅。



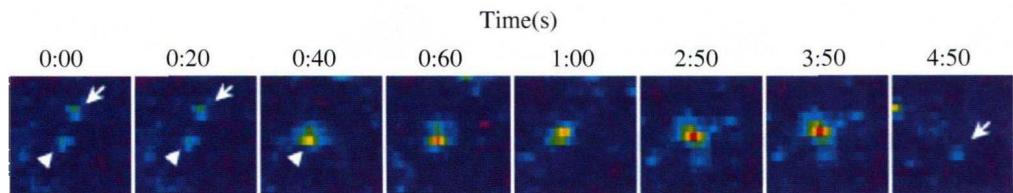
彩图 8-1 A. 用免疫荧光组织化学间接法显示角质细胞生长因子受体 (keratinocyte growth factor receptor, KGFR) 定位于 MDCK 细胞的细胞膜。B. 在 KGFR 抗体孵育液中加入过量 KGFR, 染色结果为阴性。标尺: 50μm

[引自 Yuan, et al. Gastroenterology 2002, 122 (Suppl): 866]



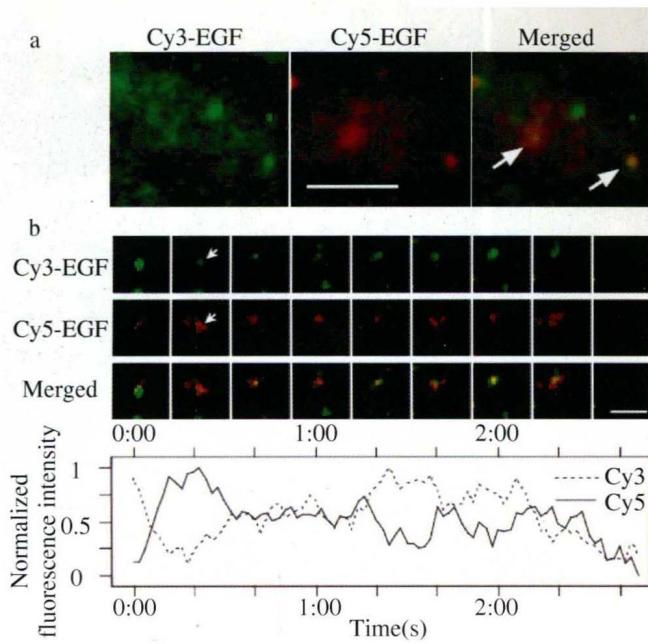
彩图 8-4 组织化学染色 (cuprolic blue) 显示大鼠结肠肌间神经丛神经元, 用 Arcturus Engineering Pixell II[®] 激光捕获切割系统获取标记神经元, 经 RNA 提取及 RT-PCR, 检测大鼠促肾上腺激素释放因子 (corticotrophin releasing factor, CRF) 受体 CRF1 和 CRF2 β 的基因表达

[引自 Yuan, et al. Neurogastroenterology & Motility. 2007, 19 (11): 923 - 936]

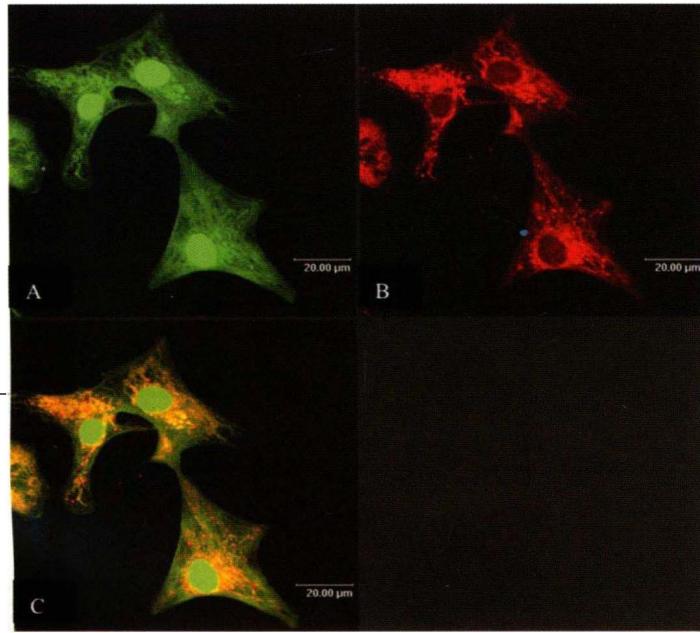


彩图 9-6 可视化研究 EGF-EGFR 的二聚化过程

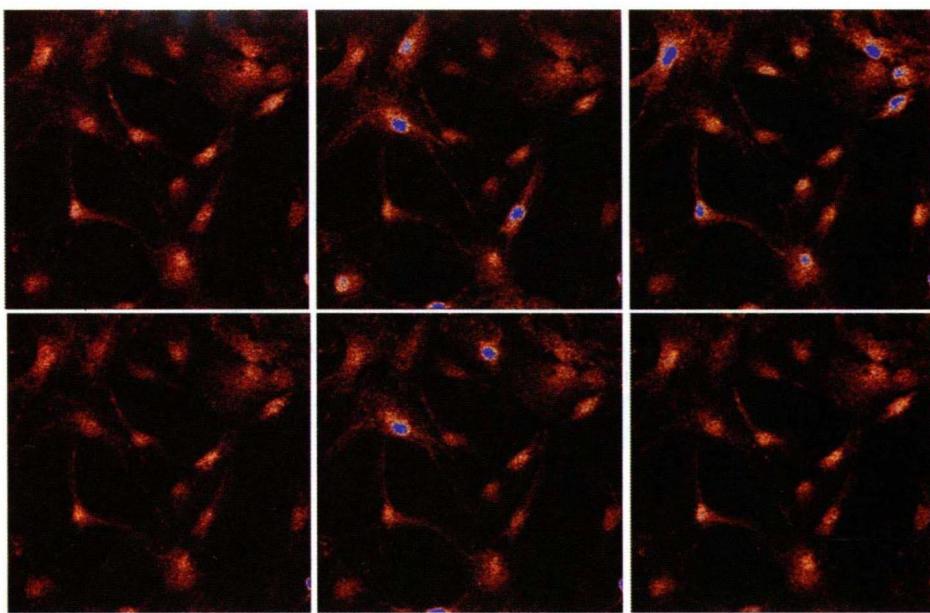
[引自 Y Sako, et al. Nature cell biology, 2000, 2 (3): 168 - 172]



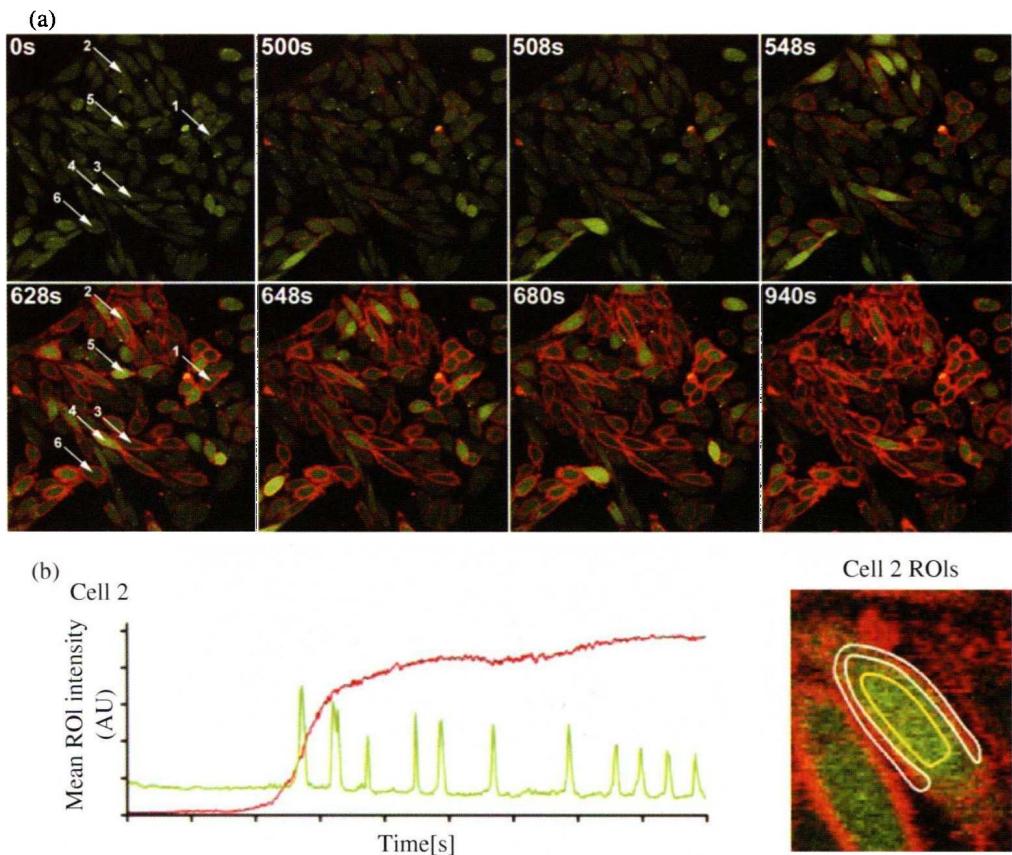
彩图 9-7 EGF 的单分子 FRET 成像
 (引自 Y Sako, et al. Nature cell biology, 2000, 2 (3): 168 - 172)



彩图 10-5 新生大鼠心肌细胞 IP3 和 ryanodin 受体的配体荧光复合物双标记图
 A: 为 Flourescein-labeled Heparin 配体荧光复合物标记的 IP3 受体; B: 为 BODIPY TR-X ryanodine配体复合物标记的 ryanodin 受体; C: 为 A 和 B 合成图, 可提供 IP3 受体和 ryanodin 受体分布的空间关系



彩图 10-8 为大脑皮层培养神经细胞内 Ca^{2+} 由 fluo - 3 标记后的荧光图像及在谷氨酸作用下 Ca^{2+} 浓度随时间动态变化的序列图像。细胞内越亮（白）的部位，表示 Ca^{2+} 浓度越高，越暗（红黑）表示 Ca^{2+} 浓度越低，蓝色表示已达到仪器测量的最高亮度即饱和值，浓度为最高



彩图 10-14 (a) A3 腺苷受体激动剂 ABEA-X-BY630 可以和 A3 腺苷受体结合且定位在细胞膜上，如图中红色荧光所示。并导致细胞内游离钙水平的增加，如绿色荧光所示。(b) 图 a 所选 6 个细胞（箭头所指）中第 2 个细胞在激动剂 ABEA-X-BY630A3 作用下细胞内钙变化时间曲线（绿色曲线），红色为激动剂 ABEA-X-BY630 与 A3 腺苷受体结合时间曲线。

目 录

总 论

受体技术中的基本概念与理论

第一章 受体的概论	1
第一节 受体概念的形成与发展.....	1
第二节 受体与配基结合反应的基本特性.....	4
第三节 受体与配基相互作用几个问题的进一步探讨.....	5
第四节 受体学说从经典调节模型到变构机制	15
第五节 受体的调节	23
第二章 受体特征和受体分类	28
第一节 判断受体特征的主要指标	28
第二节 受体分类的意义	28
第三节 受体的分类	29
第三章 受体的结构和功能	35
第一节 G 蛋白偶联膜受体的结构和功能	35
第二节 单一跨膜区、有激酶活性的受体	40
第三节 与胞浆内可溶性酪氨酸激酶偶联的受体	45
第四节 离子通道受体	47
第五节 核受体	51
第四章 受体的信号转导系统	59
第一节 生物膜在细胞信息传递中的作用	59
第二节 信息分子	62
第三节 受体介导的信号转导	63
第五章 受体与配基相互结合的动力学	73
第一节 受体放射配基结合分析	73
第二节 受体与配基相互结合的二态模型	86
第六章 受体放射配基结合分析的基本方法	91
第一节 放射性配基的制备	91

第二节 受体标本的制备	95
第三节 放射配基结合反应.....	100
第四节 受体分析的数据处理.....	105
第五节 几种常用受体配基结合反应的基本方法.....	109
第七章 病毒受体及研究病毒受体的分子生物学方法	117
第一节 绪言.....	117
第二节 病毒受体的研究进展.....	117
第三节 病毒受体的研究方法.....	130
第八章 组织化学技术在受体定位研究中的应用	136
第一节 在受体定位研究中免疫组化的原理和方法.....	136
第二节 研究受体内化的荧光免疫组织化学方法.....	144
第三节 在受体定位研究中原位杂交组织化学的原理和方法.....	146
第四节 激光捕获微切割技术结合组织化学研究受体的基因表达.....	153
第九章 荧光共振能量转移技术在受体研究中的应用	159
第一节 荧光共振能量转移技术的基本概念与理论.....	159
第二节 荧光共振能量转移在研究受体结构、功能中的应用.....	163
第十章 激光扫描共焦显微镜在受体研究中的应用	170
第一节 激光扫描共焦显微镜的原理.....	170
第二节 激光扫描共焦显微镜的功能.....	172
第三节 激光扫描共焦显微镜在受体研究中的应用.....	175
第四节 荧光相关光谱技术及在受体研究中的应用.....	192
第十一章 受体研究的冷冻电子显微镜方法	200
第一节 冷冻电镜技术.....	200
第二节 生物大分子的三维重构.....	202
第三节 冷冻电镜在受体研究中的应用.....	206
第十二章 表面等离子体共振技术在受体研究中的应用	212
第一节 绪言.....	212
第二节 表面等离子体共振基本原理.....	213
第三节 表面等离子体共振具体方法.....	215
第四节 表面等离子体共振技术在受体研究中的进展.....	218
第十三章 受体药物筛选与设计	223
第一节 受体药物的筛选.....	223
第二节 受体药物的分子设计.....	230

第十四章 受体药物靶标的确认技术	247
第一节 引言	247
第二节 受体药物靶标的標準和开发程序	248
第三节 受体药物靶标确认技术	249
第十五章 临床放射性核素受体显像应用研究	257
第一节 概述	257
第二节 受体显像的必备条件	258
第三节 受体显像的临床应用研究	260
第四节 典型放射性配基介绍	263
第五节 展望与思考	282

各 论

受体的放射配基结合分析目录 (以受体的英文首字母为序)

1. Adenosine A ₁ Receptor (腺苷 A ₁ 受体)	286
2. Adenosine A _{2A} Receptor (腺苷 A _{2A} 受体)	287
3. Adenosine A ₃ Receptor (腺苷 A ₃ 受体)	288
4. Adrenergic α ₁ Receptor (肾上腺素 α ₁ 受体)	290
5. Adrenergic α ₂ Receptor (肾上腺素 α ₂ 受体)	291
6. Adrenergic β Receptor (肾上腺素 β 受体)	291
7. Adrenocorticotropic Hormone Receptor (促肾上腺皮质激素受体)	296
8. Adrenomedullin Receptor (肾上腺髓质素受体)	321
9. γ - Aminobutyric Acid _A Receptor (γ -氨基丁酸 _A 受体)	305
10. γ - Aminobutyric Acid _B Receptor (γ -氨基丁酸 _B 受体)	306
11. Amylin Receptor (糊精受体)	320
12. Angiotensin II Receptor (血管紧张素Ⅱ受体)	307
13. Bradykinin B ₁ Receptor (缓激肽 B ₁ 受体)	312
14. Bradykinin B ₂ Receptor (缓激肽 B ₂ 受体)	313
15. Calcitonin Receptor (降钙素受体)	315
16. Calcitonin Receptor (人肾细胞降钙素受体)	318
17. Calcitonin Gene - Related peptide Receptor (大鼠脑降钙素基因相关肽受体)	321
18. Chemokine CC Receptor (趋化因子 CC 受体)	323

19. Chemokine CXC Receptor (趋化因子 CXC 受体)	326
20. Chemokine CX3C Receptor (趋化因子 CX3C 受体)	329
21. Chemokine XC Receptor (趋化因子 XC 受体)	331
22. Cholecystokinin/Gastrin Receptor (胆囊收缩素/胃泌素受体)	333
23. Corticotropin Releasing Factor Receptor (促肾上腺皮质激素释放因子受体)	337
24. Diazepam Receptor, central (中枢型安定受体)	343
25. Diazepam Receptor, peripheral (外周型安定受体)	344
26. Dopamine D ₁ Receptor (多巴胺 D ₁ 受体)	345
27. Dopamine D ₂ Receptor (多巴胺 D ₂ 受体)	347
28. Endothelin Receptor (内皮素受体)	348
29. Epidermal Growth Factor Receptor (表皮生长因子受体)	351
30. Erythropoietin Receptor (促红细胞生成素受体)	353
31. Follicle Stimulating Hormone Receptor (卵泡刺激素受体)	358
32. Ghrelin Receptor (生长素受体)	361
33. Glutamate Receptor (谷氨酸受体)	363
34. Glycin Receptor (甘氨酸受体)	365
35. Glucagon Receptor (胰高血糖素受体)	366
36. Gonadotropin Releasing Hormone Receptor (促性腺激素释放激素受体)	372
37. Granulocyte Colony-Stimulating Factor Receptor (粒细胞集落刺激因子受体)	377
38. Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor Receptor (粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子受体)	383
39. Histamine H ₁ Receptor (组胺 H ₁ 受体)	390
40. Histamine H ₂ Receptor (组胺 H ₂ 受体)	391
41. Histamine H ₃ Receptor (组胺 H ₃ 受体)	391
42. Human Chorionic Gonadotropin Receptor (人绒毛膜促性腺激素受体)	392
43. Human Growth Hormone Receptor (人生长激素受体)	395
44. 5 - Hydroxytryptamine Receptor (5 - 羟色胺受体)	399
45. 5 - Hydroxytryptamine _{2A} Receptor (5 - 羟色胺 _{2A} 受体)	400
46. Inositol Triphosphate Receptor (1,4,5 - 三磷酸肌醇受体)	401
47. Insulin - Like Growth Factor - I Receptor (胰岛素样生长因子- I 受体)	404
48. Insulin Receptor (胰岛素受体)	408
49. Interleukin - 1 Receptor (白介素- 1 受体)	412
50. Interleukin - 2 Receptor (白介素- 2 受体)	415

51. Interleukin - 3 Receptor (白介素-3受体)	417
52. Interleukin - 4 Receptor (白介素-4受体)	419
53. Interleukin - 5 Receptor (白介素-5受体)	421
54. Interleukin - 6 Receptor (白介素-6受体)	423
55. Interferon - γ Receptor (干扰素- γ 受体)	428
56. Interferon - α Receptor (干扰素- α 受体)	429
57. Leukotriene LTC ₄ Receptor (白三烯-LTC ₄ 受体)	431
58. Leukotriene LTB ₄ Receptor (白三烯-LTB ₄ 受体)	432
59. Leptin Receptor (瘦素受体)	432
60. Luteinizing Hormone Receptor (促黄体生成激素受体)	434
61. Macrophage Colony - Stimulating Factor Receptor (巨噬细胞集落刺激因子受体)	439
62. Melanocyte - Stimulating Hormone Receptor (促黑色素细胞激素受体)	444
63. Melatonin Receptor (褪黑激素受体)	448
64. Motilin Receptor (胃动素受体)	451
65. Muscarinic, non-selective Receptor (毒蕈碱乙酰胆碱受体, 无选择性)	452
66. Muscarinic, M ₁ Receptor (毒蕈碱乙酰胆碱, M ₁ 受体)	455
67. Muscarinic, M ₂ Receptor (毒蕈碱乙酰胆碱, M ₂ 受体)	455
68. Natriuretic Peptide ANP Receptor (利尿钠肽 ANP受体)	460
69. Natriuretic Peptide BNP Receptor (利尿钠肽 BNP受体)	460
70. Neuropeptide Y Receptor (神经肽Y受体)	465
71. Neuropeptide Y ₁ Receptor (神经肽Y ₁ 受体)	467
72. Nerve Growth Factor Receptor (神经生长因子受体)	469
73. Nicotinic Acetylcholine Receptor (烟碱样乙酰胆碱受体)	471
74. Opioid μ Receptor (阿片 μ 受体)	474
75. Opioid κ Receptor (阿片 κ 受体)	476
76. Opioid δ Receptor (阿片 δ 受体)	476
77. Orexin Receptor (食欲素受体)	478
78. Oxytocin Receptor (催产素受体)	484
79. Parathyroid Hormone Receptor (甲状旁腺素受体)	485
80. Platelet-Activating Factor Receptor (血小板活化因子受体)	488
81. Platelet-Derived Growth Factor Receptor (血小板源生长因子受体)	490
82. Prolactin Receptor (催乳素受体)	492