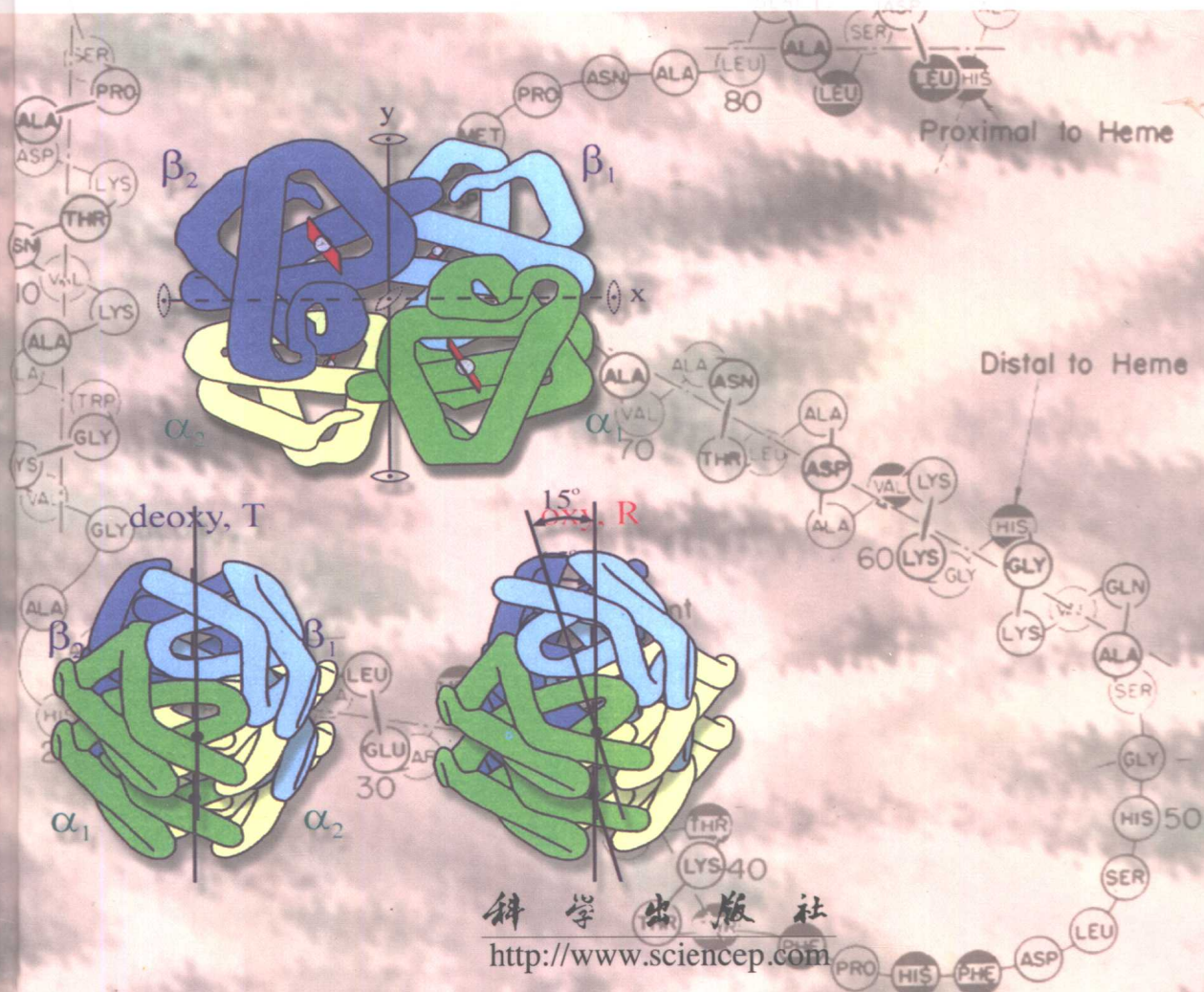




人类血红蛋白

曾溢滔 主编

H U M A N H E M O G L O B I N



科学出版社

<http://www.sciencep.com>

国家科学技术学术著作出版基金资助出版

人类血红蛋白

曾溢滔 主编

科学出版社

2002

内 容 简 介

本书邀请国际上在血红蛋白研究领域做出过卓越贡献的著名学者和上海医学遗传研究所的科技人员共同撰写,由曾溢滔院士主编。本书是一部全面和系统地介绍人类血红蛋白研究领域的最新成就和发展趋势的学术前沿专著。

全书共分7章。第一章和第二章分别叙述了血红蛋白分子各种肽键的化学结构、功能特性,以及由于肽链结构异常所引起的血红蛋白变种及其鉴定的技术方法,列表介绍了至今国际上已发现并鉴定过的750多种血红蛋白变种;第三章系统地介绍了血红蛋白疾病的分子基础,以及地中海贫血和地中海贫血样血红蛋白病的发病机制;第四章概括介绍了珠蛋白基因表达调控机制的最新研究进展;第五至七章着重介绍了血红蛋白疾病的诊断和治疗的原则、策略和方法,并结合作者多年的临床实践和科研工作经验,提出了血红蛋白疾病诊断和治疗的发展方向。

本书图文并茂,内容新颖,学术性强,具有很高的理论和实用价值,可供医学和生物学各分支领域的研究人员、临床医师及高等院校的师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

人类血红蛋白/曾溢滔主编. —北京:科学出版社,2002.1

ISBN 7-03-009742-4

I. 人… II. 曾… III. 人体生理学—血红蛋白—研究 IV. R331.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 069717 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

源海印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2002年1月第一版 开本:787×1092 1/16

2002年1月第一次印刷 印张:14 3/4

印数:1—3 000 字数:338 000

定价:42.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈新欣〉)

作者名单

(以书中出现的先后为序)

- | | | |
|---------------------|--------------------------|----|
| Bunn HF | 美国哈佛(Harvard) 大学医学院 | 教授 |
| Zhu H(朱皓) | 美国哈佛(Harvard) 大学医学院 | 博士 |
| Huisman THJ | 美国佐治亚(Georgia)医学院 | 教授 |
| Steinberg MH | 美国密西西比(Mississippi)大学医学院 | 教授 |
| 贾春平 | 上海市儿童医院上海医学遗传研究所 | 博士 |
| 任兆瑞 | 上海市儿童医院上海医学遗传研究所 | 教授 |
| 曾溢滔 | 上海市儿童医院上海医学遗传研究所 | 教授 |
| Fucharoen S | 泰国 Mahidol 大学地中海贫血研究中心 | 教授 |
| Wasi P | 泰国 Mahidol 大学 Siriraj 医院 | 教授 |
| 黄淑贞 | 上海市儿童医院上海医学遗传研究所 | 教授 |

CONTRIBUTORS

- H. Franklin Bunn** Professor of Medicine, Harvard Medical School, USA
- Suthat Fucharoen** Professor, Thalassemia Research Center, Institute of Science and Technology for Research and Development, Mahidol University, Thailand
- Shu-zhen Huang** Professor, Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, China
- Titus H. J. Huisman** Regents' Professor, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Medical College of Georgia, USA
- Chun-ping Jia** Ph. D. , Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, China
- Zhao-rui Ren** Professor, Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, China
- Martin H. Steinberg** Professor of Medicine, Jackson VA Medical Center, University of Mississippi, School of Medicine, USA
- Prawase Wasi** Professor of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University, Thailand
- Yi-tao Zeng** Professor and Director, Shanghai Institute of Medical Genetics, Shanghai Children's Hospital, China
- Hao Zhu** Ph. D. , Brigham & Women's Hospital, Harvard Medical School, USA

前 言

血红蛋白是人体红细胞内的一种主要的蛋白质。由于它具有重要的生理功能和典型的蛋白质化学结构,加上取材方便,长期以来吸引了许多化学、物理和生物学科学家对其结构和功能进行深入的研究。血红蛋白化学结构的异常和功能的变化所导致的地中海贫血和血红蛋白病对临床医生同样具有吸引力。因此,有关血红蛋白及其异常引起的疾病一直是生理学、病理生理学、生物化学,以及临床血液学教科书的重要内容。血红蛋白是一种色素蛋白,由珠蛋白和血红素结合而成。编码珠蛋白的基因有多种类型,它们都是按照孟德尔方式遗传的。近代遗传学的研究,特别是应用分子生物学方法对人类珠蛋白基因的分子结构和珠蛋白基因簇组织的研究,以及珠蛋白基因表达的调控,包括在个体发育不同阶段各种珠蛋白基因表达的时空顺序性的研究,使人们对血红蛋白及其异常疾病的本质有了相当深刻的认识。珠蛋白基因的表达及其发育的调控成为公认的基因表达调控研究的典型,而对珠蛋白基因分子生物学的深入研究,特别是近 10 年来对珠蛋白基因表达调控研究取得的卓越成果,又使分子生物学更进一步深化和发展。

我和我的夫人黄淑帧教授是从 20 世纪 60 年代初在复旦大学遗传学研究所开始研究人类血红蛋白的。血红蛋白研究使我俩相识、相恋,成为我俩和我们研究所成立以来开展的主要研究项目,也是我们跨出国门进行国际合作的重要课题。几十年来我始终关注着人类血红蛋白研究的进展。面对国内外在血红蛋白研究领域取得的令人兴奋的成绩和由此揭示出来的生命奥秘,我一直感到有责任写一本书,向广大生命科学和医学科学工作者,以及临床医生系统地介绍人类血红蛋白和血红蛋白疾病的科学知识和重要的研究成果。

说到写这本书,那要追忆到 17 年前。当时中国遗传学会为纪念遗传学的奠基人孟德尔逝世一百周年,组织国内科学家撰写纪念文章,40 位来自生物学、农学和医学等不同领域的科学家写了 35 篇论文,文中缅怀和讴歌了这位伟大学者的不朽贡献,也介绍了遗传学各分支领域的发展,最后由科学出版社出版了《孟德尔逝世一百周年纪念文集》。我为该文集写了一篇题为“血红蛋白分子病与遗传”的文章。后来这本纪念文集的责任编辑蒋伯宁先生来找我,约请我写一本《人类血红蛋白》的书,并告知已列为科学出版社的出版计划。可是这件事一拖就 16 年。记得蒋先生曾多次来信、来电催稿,直到后来她调离出版社,又把这个任务交给了刘安先生。在此期间我曾经几次动笔写作,但是没有一次能够坚持写下去。这倒不是我忙得没有时间写作,只是因为国际上人类血红蛋白研究的进展实在太快了,从当初出版社组稿时,人们热衷于血红蛋白的化学结构和功能研究,以及珠蛋白基因的结构和基因诊断研究,很快就深入到珠蛋白基因的分子生物学研究,包括珠蛋白基因的表达调控、血红蛋白病的分子基础及其基因治疗等。该领域取得了一系列重大的研究成果,国际上发表的有关研究论文数以万计,我写书的速度总跟不上国际上这个领域研究的进展,我觉得这本书靠我自己来写是无法完成的。因此我想到了我在国内外的朋

友和合作者,这些在血红蛋白研究领域做出了卓著成绩的学者。我为何不和他们共同完成此书呢?我的这个想法得到了出版社刘安先生的赞同,我按照拟定的章节目录和编写要求,邀请了国内外相关领域的一些学术权威和知名学者撰写书稿,终于写成了读者今天看到的这本《人类血红蛋白》。

本书共7章。第一章“血红蛋白的结构与功能”由哈佛大学医学院的 H. Franklin Bunn 教授和他的助手朱皓博士撰写,Bunn 教授是人类血红蛋白结构和功能研究的权威学者,朱皓博士对动物血红蛋白有深入的研究,由他们合作撰写这一章是很合适的。第二章“人类血红蛋白变种”由这个领域的学术权威、美国佐治亚医学院资深教授 Titus H. J. Huisman 博士撰写,Huisman 教授是国际上发现和鉴定人类血红蛋白变种最多的科学家,由他撰写这一章是最恰当不过了。第三章“血红蛋白疾病的分子基础”由美国密西西比大学医学院的 Martin H. Steinberg 教授撰写,Steinberg 教授血红蛋白分子遗传学研究,特别是对血红蛋白 A₂ 和地中海贫血的分子机理研究有很深的造诣。第四章“珠蛋白基因表达的调控”由我的学生贾春平博士撰写,贾春平博士近年来主要从事珠蛋白基因表达调控研究,了解该领域的研究进展。第六章“地中海贫血治疗现状”由泰国 Mahidol 大学 Suthat Fucharoen 教授和 Prawase Wasi 教授撰写,Fucharoen 和 Wasi 博士所在的泰国是血红蛋白病的高发地区,对该病的临床治疗具有丰富的经验,Wasi 教授是公认的地中海贫血学术权威,Fucharoen 教授是血红蛋白病治疗研究的国际知名学者,由他们合作撰写地中海贫血治疗这一章是非常合适的。第五章“血红蛋白疾病的分子诊断”和第七章“血红蛋白疾病的基因治疗”由上海市儿童医院上海医学遗传研究所任兆瑞、曾溢滔和黄淑幀教授共同撰写,该研究所对血红蛋白疾病研究有20多年的历史,在分子诊断和药物调控基因治疗方面都取得了国际瞩目的研究成果。

本书各位作者所撰写的章节恰恰是各自从事的研究领域和本人所擅长的,因此这本书能够反映出国内外人类血红蛋白的研究进展和发展趋势,是一部国际合作完成的高水平的学术著作,也是每位作者长期进行的血红蛋白研究工作的总结。

这本书的出版倾注了许多人的心血。除了本书各章作者出色的撰稿外,还请朱皓、顾小锋和王墨林博士,以及颜景斌、葛嵘斌、王强和高建军先生对用英文撰写的章节进行翻译和校对。他们认真负责的态度和卓有成效的工作,保证了本书的科学性,又不失英文原稿的本色。本书是一本中外科学家合写的专著,任兆瑞教授做了大量联络、协调和校正工作,唐玲和奚鹰小姐负责书稿的打印,科学出版社刘安先生丰富的编辑经验,不仅提高了本书的出版质量,而且使本书能很好地与国际图书出版接轨。借此机会,我谨向所有关心和支持本书出版的国内外朋友们表示衷心的感谢,并希望同行和读者们对本书提出宝贵意见,以便再版或出版英文版时加以改正。

最后,令人悲痛的是,在本书编辑出版期间, Titus H. J. Huisman 博士不幸病逝。我谨以本书表达对 Huisman 教授深切的怀念。

曾溢滔

2001.3

于上海市儿童医院
上海医学遗传研究所

目 录

前 言

第一章	血红蛋白的结构与功能 H. Franklin Bunn, 朱皓	(1)
第二章	人类血红蛋白变种 Titus H. J. Huisman	(21)
第三章	血红蛋白疾病的分子基础 Martin H. Steinberg	(73)
第四章	珠蛋白基因表达的调控 贾春平	(94)
第五章	血红蛋白疾病的分子诊断 任兆瑞、曾溢滔	(118)
第六章	地中海贫血治疗现状 Suthat Fucharoen, Prawase Wasi	(178)
第七章	血红蛋白疾病的基因治疗 任兆瑞、黄淑帧	(207)
索 引	(223)

第一章 血红蛋白的结构与功能

研究正常及异常血红蛋白,对理解蛋白质结构与功能之间的关系,特别对于理解氧气运输过程中的分子基础,曾起到过重要的作用并将继续为我们提供根本性的认识。20世纪40年代,Pauling和Itano对镰状血红蛋白电泳速度异常现象的发现^[1],将我们带进了分子医学的时代。当今,重组DNA技术的问世及发展,为阐明血红蛋白分子结构和基因调控,以及个体发育对基因表达的影响,提供了初步的、重要的信息。

本章将首先阐述正常人类血红蛋白及其结构与生理功能,然后将简略地讨论涉及先天性和后天性血红蛋白疾病诊断的血红蛋白组分。对于人类异常血红蛋白,将评述其珠蛋白基因结构的变异、异常血红蛋白分子的组装方式和它们的遗传表型。

最后,将对动物血红蛋白的多样性做简短介绍,以加深对人类血红蛋白的认识。

一、结 构

人类血红蛋白,是一个由两对不同珠蛋白链组成的四聚体分子(如 $\alpha_2\beta_2$),分子质量为64 400 Da。

在每条珠蛋白链的特定位置,都与血红素分子通过亚铁原卟啉 IX 相连。当血红蛋白处于还原(亚铁)态时,能够可逆地与一些气体分子(诸如氧气或一氧化碳)结合。在天然状态下,约75%的血红蛋白分子以 α 螺旋结构形式存在(图1-1)。从氨基端到羧基端肽链共可组成8个 α 螺旋段(用英文字母A、B、C、D、E、F、G、H表示)与9个非螺旋段(用英文字母NA、AB、BC、CD、DE、EF、FG、GH、HC表示)间隔连接。这种定位方式,大大简化了对不同珠蛋白亚基之间同源性的确定。血红蛋白的一级结构中,血红素中的铁原子都与F螺旋段中第8个残基组氨酸以共价键相连。在人血红蛋白中,F8位组氨酸位于 α 链第87位和 β 链第92位(图1-1)。带有电荷的氨基酸残基(如赖氨酸、精氨酸和谷氨酸)的侧链,总是位于血红蛋白分子的表面,利于与周围的液相相接触,而那些不带电荷的氨基酸残基的侧链,多朝向于蛋白分子内部的疏水性空间。与大多数蛋白质结构不同的是,人类血红蛋白不含有二硫键。

英国剑桥医学研究院的Max Perutz通过分析血红蛋白晶体的X射线衍射结果,确定了人类血红蛋白的三维结构^[2]。Perutz也因这项伟大成就,而荣获了诺贝尔奖,同时也为人们能够全面深入地理解血红蛋白结构与功能之间的关系奠定了坚实的基础。血红蛋白四聚体是一个球形分子(5.0 nm×5.4 nm×6.4 nm),呈单轴对称。4条珠蛋白链各自折叠,使得4个血红素分子处于其蛋白分子表面的裂缝中,相互之间呈等距离分布。更精细的衍射分析而得到的高分辨率结构图像,使蛋白分子中所有原子的定位精确到0.2 nm以内^[3,4]。如图1-2所示,随着氧的释放,血红蛋白分子在构象上也发生了明显的变化:两条 β 链旋转分开约0.7 nm。与此相反,载有配体的血红蛋白分子,包括氧合血红蛋白、碳氧血红蛋白、氰化正铁血红蛋白,均无此形态变化。伴随配体的脱离与结合过程而发生的

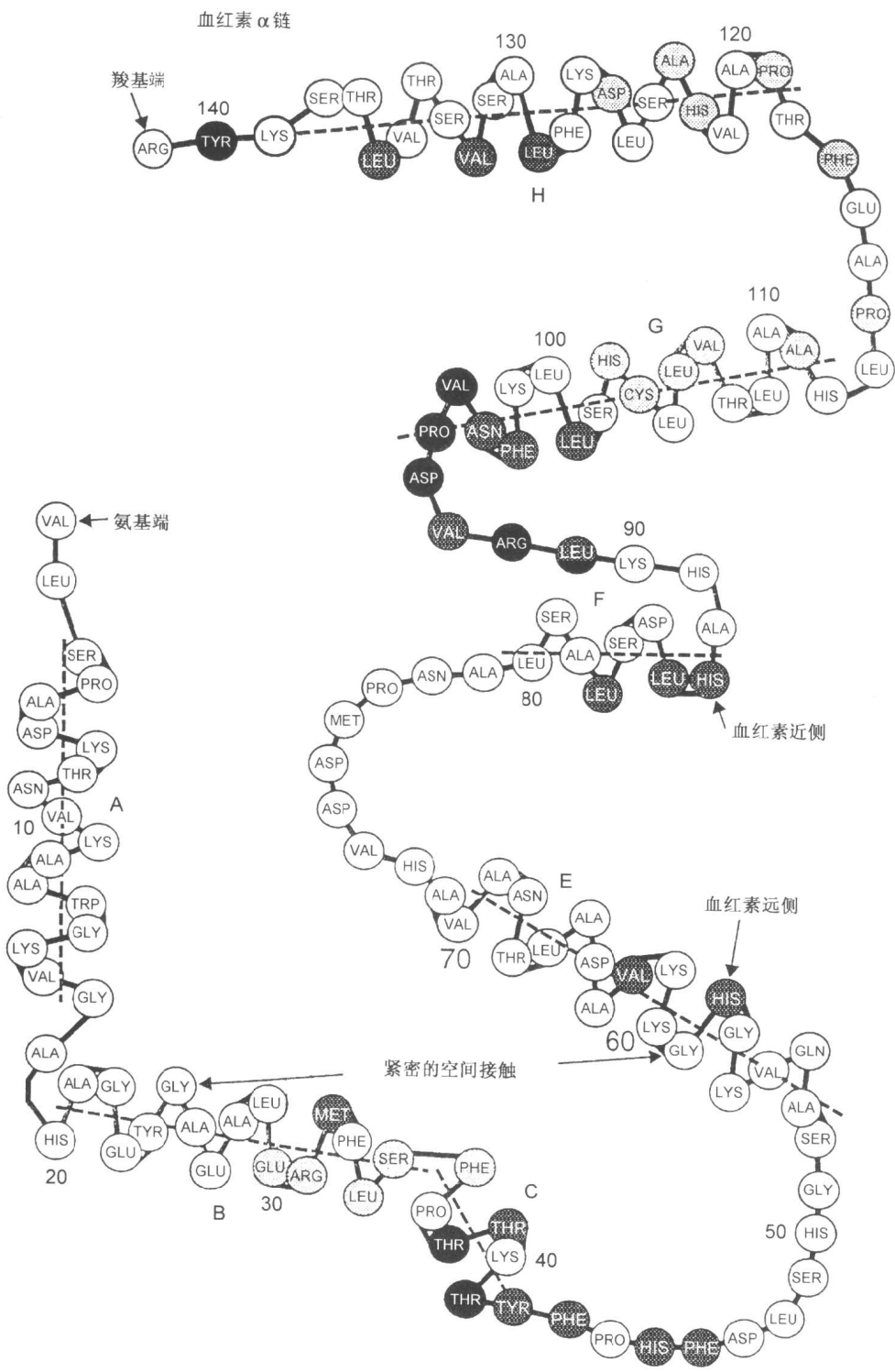
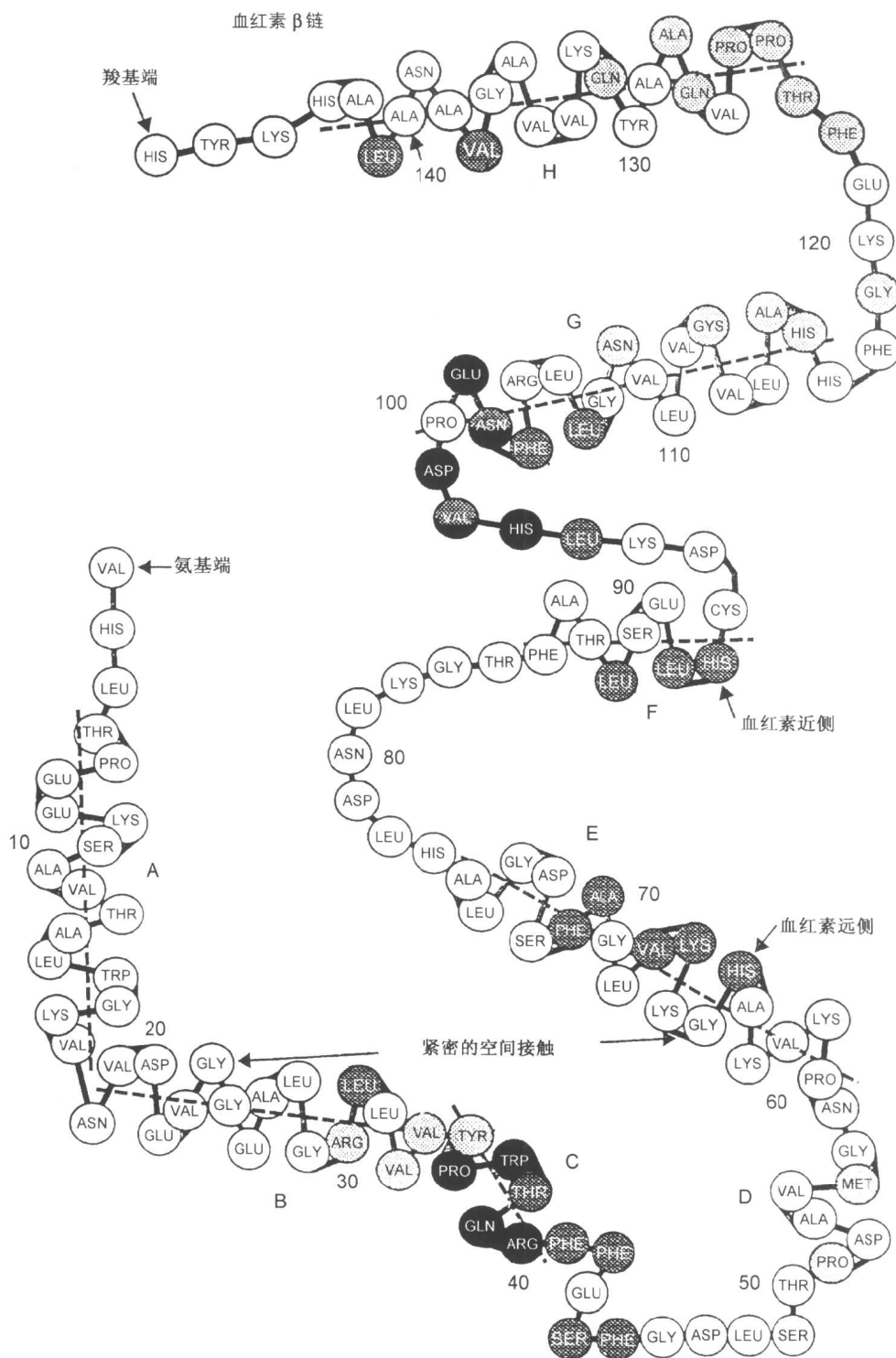


图 1-1 人类血红蛋白 α 链
 α 螺旋段用英文字母 A、B、C……H 表示。血红素基团
 (引自 Huisman J H J 和 Shroeder W A 主编: New Aspects
 Boca Raton, FL, C



和β链的一级与二级结构
中的铁原子，以共价键和第87位的F8组氨酸结合
of the Structure, Function and Synthesis of Hemoglobins.
RC Press, 1971)。

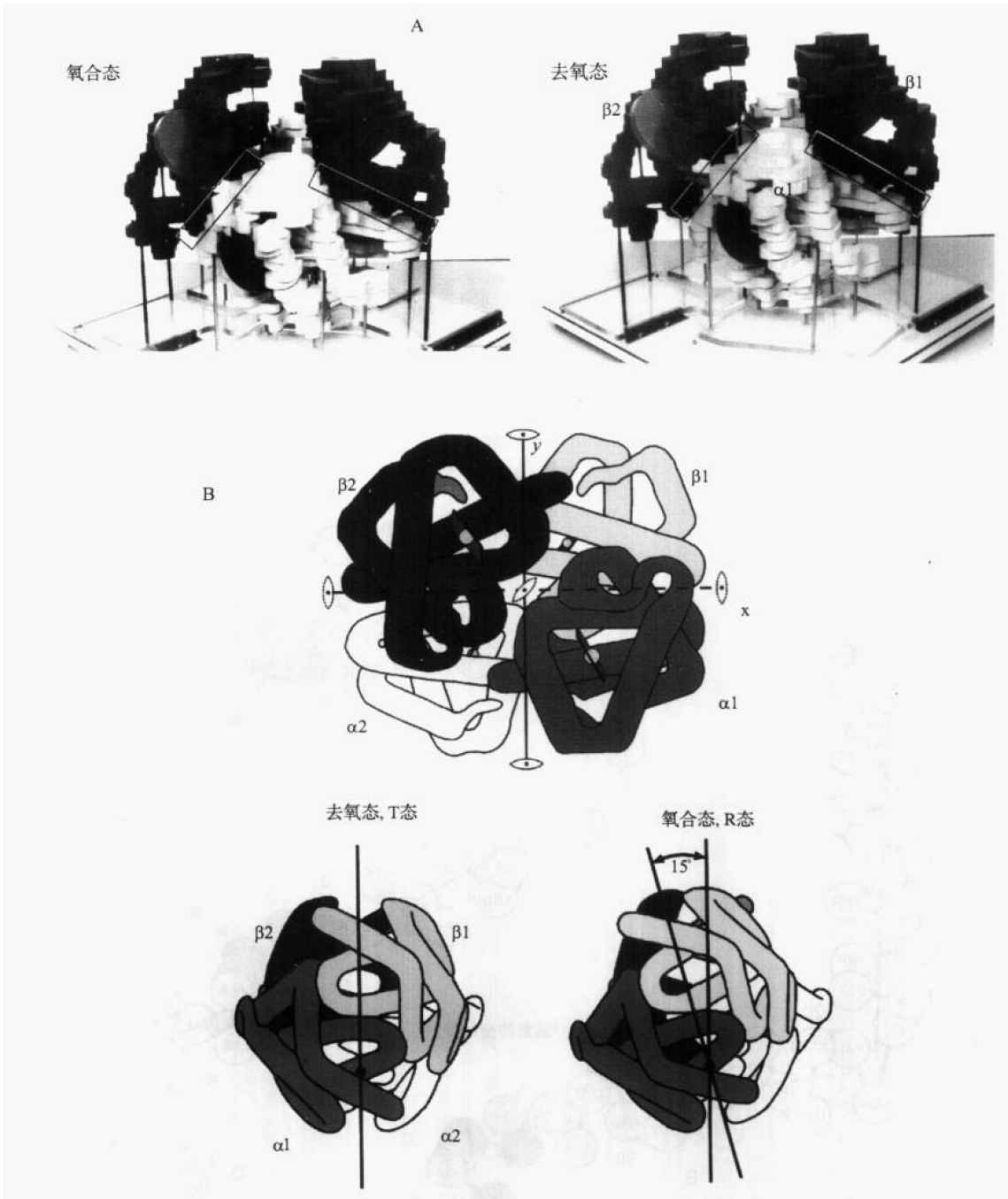


图 1-2 血红蛋白结构

A. 根据早期 X 射线晶体衍射分析建立的血红蛋白三维结构模型。 α 链及 β 链分别用白色及黑色表示, $\alpha\beta$ 接触面由方块表示。血红素分子插在每个蛋白质亚基中, 以小圆片表示。血红蛋白分子的对称轴与此页纸的平面平行。可注意到氧合血红蛋白(oxy)与去氧血红蛋白(deoxy)在构象上的差别。(引自 Murihead H, Cox J M, Mazzarella L. Structure and function of hemoglobin 3. A three-dimensional fourier synthesis of human deoxy hemoglobin at 5.5 Angstrom resolution. J Mol Biol, 1967); B. 血红蛋白结构示意图。血红蛋白分子在此图中的排列方向, 与在图 A 中的相同。此图下方两侧, 描述了氧合过程中蛋白分子四级结构的变化: 两个相对称的 $\alpha\beta$ 二聚体, 相互旋转 15° , 同时沿着旋转轴平移 0.1 nm (引自 Dickerson R E 和 Geis I 主编: Hemoglobin: Structure, Function, Evolution and Pathology. Benjamin Cummings, Menlo Park, CA, 1983)。

构象变化,解释了许多众所周知的氧合血红蛋白和去氧血红蛋白在理化性质上的差异。Perutz^[2]证实,去氧血红蛋白分子由于其链间和链内盐键的作用(图 1-3),能够被稳定在

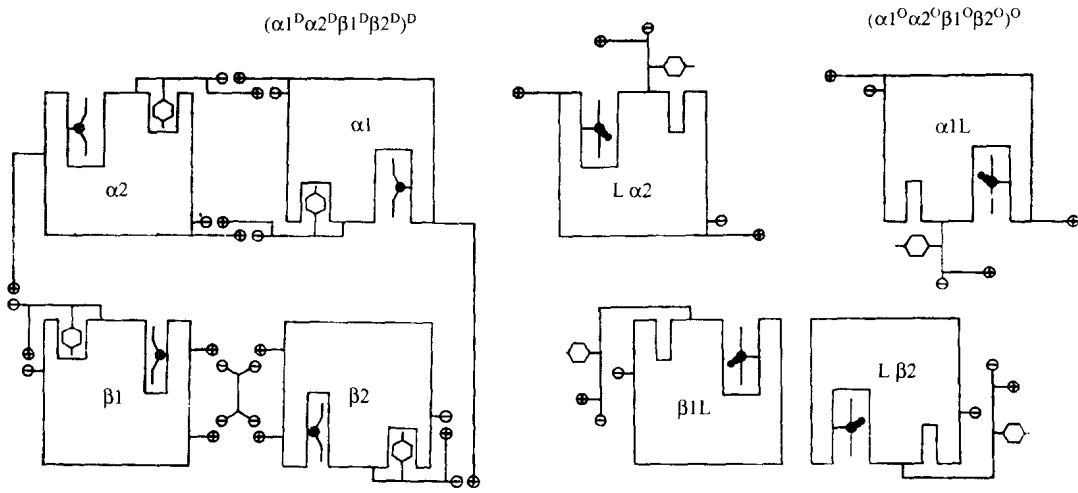


图 1-3 去氧血红蛋白(左)和氧合血红蛋白(右)四级结构构型的简单示意图

一个二磷酸甘油酸分子被夹在两个β链之间,它的带负电荷的基团和β链上带正电荷的残基相作用。随着氧合过程的进行,亚基内与亚基间的盐键被打断。

紧张态(T)。参与盐键的氨基酸残基,包括那些引起玻尔(Bohr)效应的(图 1-4),以及结合二磷酸甘油酸(2,3-BPG)的残基(讨论如下)。随着配体(如氧气)与血红蛋白的结合,盐键逐渐断裂,此时与配体完全结合的血红蛋白,呈现所谓的松弛态(R)。在此状态下,蛋白亚基之间的结合能大大降低,使整个四聚体蛋白分子可逆地分解成二聚体: $\alpha_2\beta_2 \rightleftharpoons 2\alpha\beta$ 。αβ二聚体的形成,对于血红蛋白与触珠蛋白(haptoglobin)的结合,以及在肾小球炎病例中透过肾脏^[5],都是必需的。如图 1-2 所示,四聚体蛋白分子的每个亚基,都朝向另两个不同的亚基排列(即α1β1和α1β2),并且排列方式也不一样。四聚体分解成二聚体的过程,发生在α1β2界面。由此看出,α1和β1亚基之间的结合要比α1和β2亚基之间的结合更牢固。另外,在氧离与氧合过程中,血红蛋白分子沿着α1β2界面有明显的移动。正如下面将要讨论的,在α1β2界面上发生氨基酸残基替代的异常血红蛋白,很可能也具有

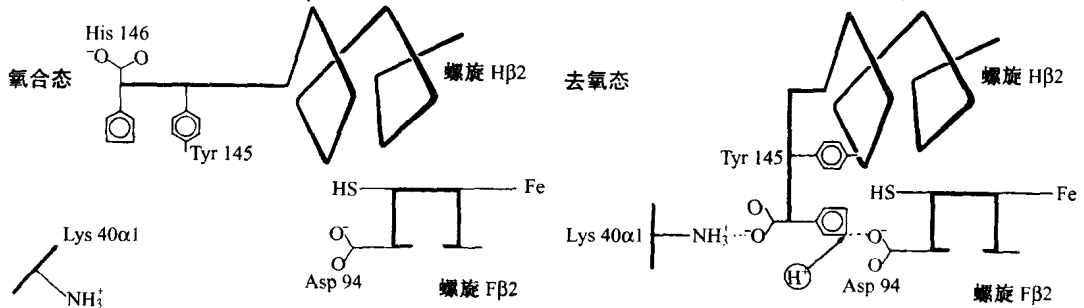


图 1-4 氧合过程对β链C端残基相互间接触的影响

β链 146 位组氨酸上的盐键,在下列两个过程任一发生时即被打断:血红蛋白分子的四级结构从 T 态转向 R 态,或是β链的血红素与氧结合。如正文中解释的,图中所示的质子是引起玻尔效应的一个重要因素。

明显异常的功能属性。

二、功能属性

血红蛋白的氧合过程,如图 1-5 所示的经典 S 形氧合蛋白氧离曲线,可用两个重要的属性来描述:氧亲和力和协同效应。

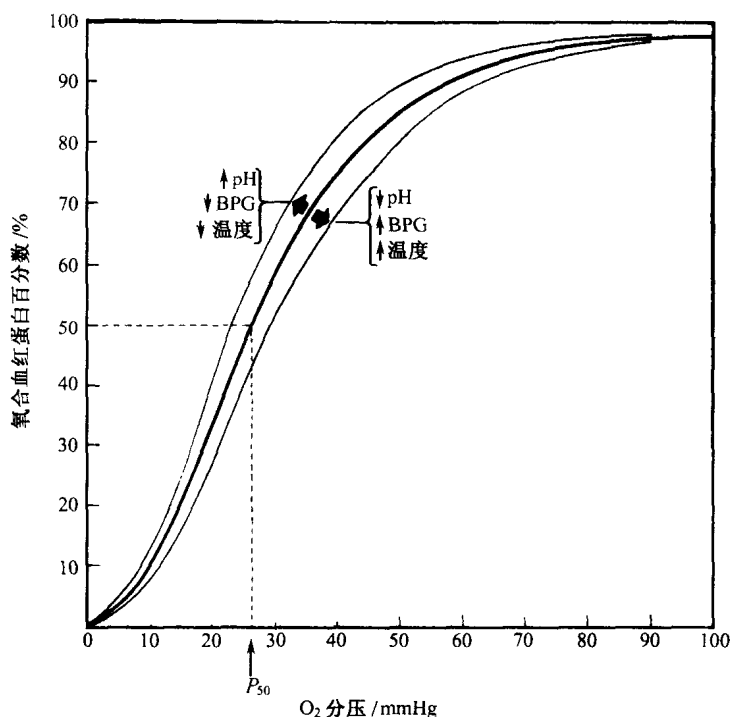


图 1-5 影响红细胞中氧合血红蛋白去氧曲线位置的主要因素:
温度、酸碱度和细胞内二磷酸甘油酸浓度

描述氧亲和力的一个实用指数是 P_{50} , 即血红蛋白呈半饱和氧合时的氧分压。如果氧合血红蛋白的去氧曲线向右移动, 则意味着 P_{50} 的上升, 氧亲和力下降。因此, P_{50} 与氧亲和力呈现负相关性。 P_{50} 受温度、酸碱度、有机磷酸盐浓度和二氧化碳分压 (P_{CO_2}) 的影响, 本章后面将要详细讨论。在正常生理条件下 [37°C , $\text{pH} 7.4$, 5 mmol/L 二磷酸甘油酸, 5.33 kPa (40 mmHg) CO_2 分压], 正常成人的 P_{50} 是 26 mmHg 。

血红蛋白的 S 形氧合曲线, 表明了血红蛋白分子与氧气结合的协调性。即: 在与氧气结合呈部分饱和时, 血红蛋白四聚体中剩余的血红素分子对氧的亲合力明显上升。这种现象, 可以用血红蛋白的两种构象来解释: 氧离态 (T) 和氧合态 (R)。T 态血红蛋白与配体 (如氧气及一氧化碳) 的亲合力, 要比 R 态的低。当氧气与血红蛋白中 4 个血红素分子逐一结合时, 在这期间的某一时刻, T 态开始向 R 态转化。恰在此刻, 与氧部分结合的血蛋白的氧亲和力明显上升。从这个意义上讲, 血红蛋白可被看成一种更普遍意义上的具有变构效应的酶蛋白原型, 即: 在一个配体与蛋白分子结合之后, 改变了这种配体结合到同一个蛋白分子其他部位的亲合力^[6]。

在过去的 25 年中,整整一代的生物化学及生物物理学家,倾力研究了血红蛋白氧合过程是否忠实准确地遵循 Monod、Wyman 和 Changeux 提出的“双界态”模式^[6]。因为血红蛋白的氧合过程具有很强的协同效应,使得蛋白质分子在界态转换时非常协调一致,以致于只有无配体空载(去氧)的蛋白质分子和配体满载的蛋白质分子,才达到可供结构与功能分析的足够数量。由于部分氧离的中间态蛋白分子含量极低,研究人员花费了大量精力,制备并研究杂种分子,使其所含的血红素经过修饰后,能够将空载或载有配体的亚基三级结构稳定下来。总的说来,尽管有微小差异^[7],这些杂种血红蛋白分子的属性,与 MWC 的“双界态”模型基本相符。

在 2 个或 3 个氧气分子结合到血红蛋白四聚体分子以后, $\alpha 1\beta 2$ 界面变得极不稳定,使蛋白质四级结构从 T 态转成 R 态。那么剩下的 2 个或 1 个血红素分子氧合所引起的看上去很小的结构变化,是如何导致蛋白质分子的构象变化,甚而影响到亚基之间的相互作用呢? Perutz 自从完成了氧合及去氧血红蛋白的三维结构以来,为解答这个问题苦心钻研了 25 年,在去氧血红蛋白中,铁原子位于卟啉环平面外 0.038nm^[8],载上配体后,此铁原子的原子半径变小,从而引起变构转换。半径变小的铁原子,就可回到卟啉环的平面中。由此引起的血红素分子构型上的变化,继而通过蛋白分子内部的途径被放大,最终将此化学信号传递到 $\alpha 1\beta 2$ 界面,引起对配体亲和力的增加。在生理条件下(即在有机磷酸盐存在时),去氧血红蛋白的氧合过程,首先发生在 α 链的血红素上。

在过去的几年中,对血红素所在的疏水性口袋的情况有了相当多的了解,主要基于以下几方面的工作:①对血红蛋白以及具代表性的血红素化合物 C“栅栏”模式的高分辨率结构分析;②对在大肠杆菌中大量表达的带有特定变异的血红蛋白研究^[9~11];③对配体结合和构象转换动力学的超快速测定^[12,13]。由此积累的大量信息,使我们对血红蛋白重要的生理属性,如氧气及一氧化碳亲和力的相对差异、血红蛋白自我氧化的速率等,有了更加清晰、深刻的认识。对一个自由血红素分子来说,它对氧气的亲和力比对一氧化碳的亲和力要低数千倍。这样的血红素分子,无法在生理条件下充当氧的载体,因为血红素代谢所持续产生的一氧化碳,将使血红素分子上的配体结合位点全部饱和。正由于这个原因,血红蛋白在分子进化过程中遇到的一个挑战,便是如何增加对氧气(相对于一氧化碳)的亲和力¹⁾。

在血红蛋白 α 链中,与血红素共价结合的 E7 位组氨酸、咪唑基中氮原子和结合氧分子形成一个氢键,从而大大增加了对氧的亲和力。当 E7 位组氨酸被定点突变为甘氨酸时,此蛋白对一氧化碳的亲和力增加了 4 倍^[9]。E7 位组氨酸的突变研究,也让我们认识到血红蛋白所具备的阻止血红素中铁原子自我氧化,从而减低不具载氧能力的高铁血红蛋白转换的巨大能力。质子能明显加快血红素的自我氧化过程。Perutz 提出,E7 位组氨酸能够作为一个质子的陷阱和穿梭体,保护亚铁血红素不被自我氧化^[14]。在所有的氨基酸中,组氨酸是惟一具有这种能力的。无怪乎 Perutz 言道:“进化是个天才的化学家”。

血红蛋白的协同效应(或是血红素间的相互作用),依赖于不同珠蛋白链(α 和 β)之间的相互作用,这种现象具有重要的生理意义。正如我们所熟悉的,S 形氧合血红蛋白氧离

1) Haldane 系数(K_{CO}/K_{O_2} , 一氧化碳的结合系数与氧的结合系数之比):对人和其他哺乳动物的血红蛋白来说,大约是 210,这比游离血红素分子的值要低至少 10 倍。

曲线(图 1-5)使得在氧分压仅小幅度下降的情况下,血红蛋白仍能释放大量氧气。与此相反,无协同效应的含有血红素的蛋白,如肌红蛋白和血红蛋白 H(β_4)和 Bart's(γ_4),其氧离过程呈双曲线形,它们在同等的条件下能释放的氧气量则要少得多。

三、影响血红蛋白功能的效应物

在红细胞内,血红蛋白的氧亲和力受质子、二氧化碳及二磷酸甘油酸等变构效应物的调节。这些变构效应物,主要通过去氧血红蛋白结合,改变 T 和 R 四级结构之间的平衡。

(一) 质 子

1904 年,玻尔及其同事们^[15]发现:血红蛋白的氧亲和力,伴随着二氧化碳分压的上升而下降。继而,人们发现这种现象主要依赖于酸碱度(pH 值),当 pH 值处于 6.0 和 8.5 之间时,氧亲和力紧随着 pH 值而改变。对此,热力学的推论是:去氧血红蛋白对质子的结合,比氧合血红蛋白对质子的结合更强。在生理条件下,单个血红蛋白四聚体分子在氧合过程中共释放 2.8 个质子: $\text{Hb} \cdot \text{H} + 4\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{Hb}(\text{O}_2)_4 + 2.8\text{H}^+$

从高分辨率的 X 射线衍射数据和用化学方法修饰的血红蛋白实验中,人们发现了血红蛋白分子中获取玻尔质子的特殊酸性基团^[16]。在将近十年的争议之后,最近获得的高分辨率质子核磁共振质谱分析结果^[17],证实了 Perutz 最早和最大胆的一个推测:玻尔效应很重要的一部分,是由 β 链 146 位组氨酸带正电荷的咪唑基和 β 链 94 位天冬氨酸带负电荷的羧基形成的链内盐键所致。这个盐键也是稳定去氧态构象的最重要的几个键之一(图 1-4)。血红蛋白在氧合时,这些键被打断,质子随之被释放。

血红蛋白在加速氧释放的过程中,玻尔效应满足了机体生理的需求。在各组织中,由于 CO_2 的渗入引起了 pH 值下降,血红蛋白的氧亲和力随之降低,从而增加了氧气的释放。与此相反,在肺泡中,二氧化碳的释放引起 pH 值的上升,从而增加了血红蛋白的氧亲和力及对氧气的吸收。

(二) 氨甲酰基加合体

按照下面的反应,二氧化碳能够结合到血红蛋白中的自由氨基上,产生氨甲酰基加合体: $\text{RNH}_2 + \text{CO}_2 \rightleftharpoons \text{RNHCOO}^- + \text{H}^+$ 。

只有非质子化的氨基才与二氧化碳发生反应。在生理 pH 值条件下,血红蛋白 α 和 β 链内所有的氨基,只有氨基端氨基,因 pK 值的降低而未被完全质子化。去氧态血红蛋白,比氧合态更容易形成氨甲酰基加合体。所以,在特定的 pH 值条件下,二氧化碳将降低血红蛋白的氧亲和力。在生理条件下,组织代谢所产生的二氧化碳,只有约 10% 被血红蛋白以氨甲酰基的形式带到肺里^[5]。在鳄鱼体内,亚碳酸盐离子(而不是二氧化碳)通过结合到血红蛋白分子的某一特定部位,起到重要的生理调节作用。当鳄鱼在水下无法呼吸的时候,通过降低血红蛋白的氧亲和力释放所需的氧气^[18]。

(三) 二磷酸甘油酸(BPG)

红细胞含有极高浓度的二磷酸甘油酸(约每升 5mmol)。这种物质对血红蛋白的功

能,具有很强的调节能力^[19]。向纯血红蛋白 A 溶液中逐步添加过量的二磷酸甘油酸,可导致血红蛋白氧亲和力的逐渐下降。这个实验可以解释一个久已所知的事实:在同等条件下,全血的氧亲和力要低于透析过的血红蛋白溶液。对二磷酸甘油酸降低氧亲和力的机制,我们可借助下列事实来理解:二磷酸甘油酸与去氧血红蛋白分子的结合力非常强($K_d=2\times 10^{-5}$ mol/L),二者的摩尔比可达 1:1,但它对氧合血红蛋白的结合力却非常弱。分子模型拟合及 X 射线衍射测量的结果^[20],将二磷酸甘油酸在血红蛋白分子上的结合位点确定在两个 β 链中间的空穴内。二磷酸甘油酸所带的负电荷,被 β 链 N 端氨基, $\beta 2$ 位的组氨酸、 $\beta 82$ 位的赖氨酸以及 $\beta 143$ 位的组氨酸所带的正电荷中和,这些信息反映出,二磷酸甘油酸(BPG)与血红蛋白(Hb)的结合,按如下的简单反应式进行: $\text{Hb}\cdot\text{BPG} + 4\text{O}_2 \rightleftharpoons \text{HbCO}_2 \rightleftharpoons \text{Hb}(\text{O}_2)_4 + \text{BPG}$ (请注意此反应式以及前面描述玻尔效应反应式之间的类似之处)。这个平衡反应式,表明了二磷酸甘油酸倾向于和去氧血红蛋白的结合,并且以 1:1 的化学计量比例进行。另外,如上所说,二磷酸甘油酸的浓度变化,能影响到血红蛋白与氧结合的平衡过程。

氧合血红蛋白氧离曲线的位置,受到几个因素的影响。如图 1-5 所示,三个最重要的因素是温度、酸碱度,以及红细胞中二磷酸甘油酸的浓度。氧亲和力的变化,与温度的变化呈负相关。生理上这是一种很合理的现象,因为在体温相对较高时,氧气的需要量一般也增加,此时,血红蛋白氧亲和力的下降,能促进氧气向体内各组织的释放。至于酸碱度及二磷酸甘油酸浓度对血红蛋白功能的影响,前已讨论。在常规情况下,全血的氧合饱和曲线,都以 pH 7.4 和 37°C 为标准条件。所以,在此状态下影响氧合曲线变化的主要因素,是红细胞内二磷酸甘油酸的浓度。

氧气向组织的释放,是如何受血氧亲和力影响的? 详细内容可参阅有关综述^[5,21]。在给定血液量及血红蛋白浓度的情况下,氧气从全血中释放,取决于氧合血红蛋白氧离曲线的位置。如图 1-5 所示,曲线右移的红细胞,在从正常动脉血氧分压 12.67 kPa (95 mmHg)运行到正常混合静脉血氧分压 5.33 kPa(40 mmHg)的过程中,氧气的释放量增加。因为随着氧分压的下降,右移曲线的坡度加大,与此相反,如氧合血红蛋白的氧离曲线左移,则氧气的释放量将降低。这种现象,和一些临床状态直接相关,包括本章中将要介绍的异常血红蛋白中的红细胞增多症。

(四) SNO 加合体

如前所述,分子进化过程使血红蛋白分子具备了最适合运载氧气的属性,如氧合过程的协同效应、玻尔效应,以及与二磷酸甘油酸的作用。令人惊奇的是,血红蛋白还可能具有另一个很重要的功能:调节血管舒缩程度。

对一氧化氮(NO)生物属性的研究,在过去的十年里,经历了飞速的发展,这其中也包括一氧化氮作为潜在的血管舒张剂。从一氧化氮分子衍生出来的氧化亚硝酰,可以加合到蛋白质分子包括半胱氨酸侧链的硫氢基上。在几乎所有哺乳动物和许多其他脊椎动物的血红蛋白中,其 β 链在靠近血红素口袋的部位($\beta 93$ 位残基),有一个进化上非常保守的半胱氨酸。当血红蛋白氧合时(其四级结构呈 R 态),此硫氢基可自由地被化学修饰;但当血红蛋白去氧时(呈 T 态结构),此基团的化学修饰在空间上受到限制。根据这些事实,Stamler 及其同事们提出^[22~24]:随着血红蛋白变构过程而连结上的 SNO 加合体,能