

21世纪高等医学院校教材

# 生物化学与分子生物学

主编 王玉明



科学出版社

21 世纪高等医学院校教材

# 生物化学与分子生物学

主 编 王玉明

副主编 田余祥 何凤田 严世荣 刘冰花

科 学 出 版 社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话: 010-64030229; 010-64034315; 13501151303(打假办)

## 内 容 简 介

本教材共计 21 章, 涉及蛋白质、核酸、维生素、酶、葡萄糖、ATP、脂类、氨基酸、核苷酸、代谢网络、基因、复制、转录、翻译、基因表达调控、基因工程、信号转导、血液生化、肝生化、基因诊断与治疗等内容。每章之中还有一些插入内容, 包括“课堂讨论、人物介绍、知识链接”等, 这些内容相对独立, 同时也是教学内容的有益补充。与本教材配套的还有实验教材、习题教材及教学光盘。

本教材的主要对象是医学院校各专业的本科生, 也可供其他类型院校的学生参考。本教材既可以作为教材使用, 也可以作为执业医师考试及考研的复习材料。

### 图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学 / 王玉明主编. —北京: 科学出版社, 2016.6  
21 世纪高等医学院校教材

ISBN 978-7-03-048510-6

I. 生… II. 王… III. ①生物化学-医学院校-教材 ②分子生物学-医学院校-教材 IV. ①Q5 ②Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 123213 号

责任编辑: 丁彦斌 丁海燕 / 责任校对: 彭珍珍 贾伟娟

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 金舵手世纪

版权所有, 违者必究。未经本社许可, 数字图书馆不得使用

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>

文林印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2016 年 6 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018 年 1 月第二次印刷 印张: 35 1/2

字数: 842 000

定价: 75.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)



## 编委会

主 编 王玉明

副主编 田余祥 何凤田 严世荣 刘冰花

编 委 (按姓氏汉语拼音排序)

白 怀 (四川大学)

陈建业 (川北医学院)

戴双双 (第三军医大学)

何 艳 (福建医科大学)

何凤田 (第三军医大学)

江兴林 (湖南医药学院)

刘冰花 (成都大学)

秦宜德 (安徽医科大学)

宋永砚 (川北医学院)

田余祥 (大连医科大学)

田志杰 (成都医学院)

王 顺 (辽宁医学院)

王海生 (内蒙古医科大学)

王海英 (湖南医药学院)

王玉明 (成都医学院)

武瑞兵 (内蒙古医科大学)

严世荣 (湖北医药学院)

杨银峰 (昆明医科大学)

于水澜 (黑龙江中医药大学)

周建平 (攀枝花学院)



# 前 言

生物化学与分子生物学是在分子水平上研究生命的科学。按照人体认知的“逐级探索模式”，从“人体、系统、器官”到“组织、细胞、分子”，分子处于最基础的层次，因此也是最触及生命本质的层次。随着学科间的交叉融合，生物化学与分子生物学的相关知识已经成为生命科学和医学的共同语言。作为一名现代医学生，学习掌握生物化学与分子生物学的理论和知识，对于理解疾病的发病机制，提出疾病的诊疗方案至关重要。

要学好生物化学与分子生物学，必须具有较好的生物学及有机化学基础，必须将各章内容融会贯通，全面系统地掌握其基本理论、基础知识和基本技术；熟悉其主要内容和知识体系；了解其研究前沿和最新进展。为了帮助医学生更好地学习生物化学与分子生物学，我们编写了这套系列教材，包括理论教材、实验教材、习题教材及教学光盘。

本书为理论教材，共计 21 章，主要内容可以概括为四部分：一是“生物分子的结构和功能”，包括氨基酸、核苷酸、维生素等小分子的结构和功能；也包括蛋白质、核酸、酶等大分子的结构和功能。二是“生物分子的代谢”，包括糖类、脂类、氨基酸、核苷酸等小分子的代谢；也包括蛋白质、DNA、RNA 等大分子的代谢；还包括血细胞、肝细胞等特殊细胞分子的代谢；同时还涉及伴随物质代谢所发生的能量转化。三是“生命活动的调节”，包括物质代谢网络及其调节；也包括细胞信号转导。四是“基因”，包括基因的结构和功能；也包括癌基因和抑癌基因；还包括基因工程及基因诊断和治疗。

本教材在编排上力求结合教学实际，每章之前都设计有“问题讨论”题目，通过讨论或思考引入教学，更有针对性。每章之后都设计有短而精的“复习要点”，这与长而全的“小结”不同，更有助于学生抓住重点。每章之中还设计了一些插入内容，包括“课堂讨论”、“人物介绍”、“知识链接”等，这些内容相对独立，同时也是教学内容的有益补充，可以开拓学生的视野，了解问题的来龙去脉，既要“知其然”还要“知其所以然”。

本教材的编写得到有关院校的支持和帮助，共有 15 家院校的一线教师参加了编写。尽管所有编写者都尽了力，但限于学识水平，加之本学科发展很快，一些进展内容没有反映出来，还有很多不尽如人意之处，殷切希望得到广大师生的批评指正。

王玉明

2016 年 2 月于成都

# 目 录

|                             |     |
|-----------------------------|-----|
| 第一章 在分子水平研究生命的科学 .....      | 1   |
| 第一节 生物化学与分子生物学发展简史 .....    | 1   |
| 第二节 生物化学与分子生物学主要内容 .....    | 8   |
| 第三节 生物化学与分子生物学与医学的关系 .....  | 12  |
| 第二章 生命活动的物质基础——蛋白质 .....    | 15  |
| 第一节 蛋白质的分子组成 .....          | 15  |
| 第二节 蛋白质的分子结构 .....          | 23  |
| 第三节 蛋白质的理化性质及分离纯化 .....     | 41  |
| 第四节 蛋白质的分类及蛋白质组 .....       | 46  |
| 第三章 生命延续的物质基础——核酸 .....     | 49  |
| 第一节 核酸的化学组成及一级结构 .....      | 49  |
| 第二节 DNA 的空间结构与功能 .....      | 53  |
| 第三节 RNA 的结构与功能 .....        | 59  |
| 第四节 核酸的理化性质 .....           | 65  |
| 第四章 生命活动不可缺少的小分子——维生素 ..... | 70  |
| 第一节 维生素概述 .....             | 70  |
| 第二节 脂溶性维生素 .....            | 70  |
| 第三节 水溶性维生素 .....            | 77  |
| 第五章 生命活动的催化剂——酶 .....       | 87  |
| 第一节 概述 .....                | 87  |
| 第二节 酶的分子结构与功能 .....         | 89  |
| 第三节 酶的催化特点及机制 .....         | 95  |
| 第四节 酶的调节 .....              | 100 |
| 第五节 酶促反应动力学 .....           | 102 |
| 第六节 酶与医学的关系 .....           | 114 |
| 第六章 生命活动的主要能源——葡萄糖 .....    | 119 |
| 第一节 糖类概述 .....              | 119 |
| 第二节 糖的无氧氧化 .....            | 120 |
| 第三节 糖的有氧氧化 .....            | 124 |
| 第四节 磷酸戊糖途径 .....            | 130 |
| 第五节 糖原的合成与分解 .....          | 133 |

|                              |     |
|------------------------------|-----|
| 第六节 糖异生 .....                | 137 |
| 第七节 糖代谢的调节 .....             | 142 |
| 第八节 血糖及其调节 .....             | 147 |
| 第七章 细胞能量代谢的货币——ATP .....     | 151 |
| 第一节 生物氧化概述 .....             | 151 |
| 第二节 线粒体氧化体系 .....            | 152 |
| 第三节 非线粒体氧化体系 .....           | 175 |
| 第八章 不溶于水的营养物质——脂类 .....      | 179 |
| 第一节 脂类概述 .....               | 179 |
| 第二节 三酰甘油的代谢 .....            | 184 |
| 第三节 磷脂的代谢 .....              | 200 |
| 第四节 胆固醇的代谢 .....             | 207 |
| 第五节 血浆脂蛋白的代谢 .....           | 211 |
| 第九章 人体重要的含氮营养物质——氨基酸 .....   | 221 |
| 第一节 氨基酸的营养价值及代谢概述 .....      | 221 |
| 第二节 氨基酸脱氨基作用 .....           | 229 |
| 第三节 氨及 $\alpha$ -酮酸的代谢 ..... | 232 |
| 第四节 氨基酸其他代谢 .....            | 239 |
| 第十章 遗传物质合成的基本原料——核苷酸 .....   | 252 |
| 第一节 核苷酸的功能及消化吸收 .....        | 252 |
| 第二节 核苷酸的合成代谢 .....           | 253 |
| 第三节 核苷酸的分解代谢 .....           | 267 |
| 第十一章 生命活动的网络世界——代谢网络 .....   | 271 |
| 第一节 代谢网络的特点 .....            | 271 |
| 第二节 细胞水平的代谢网络 .....          | 274 |
| 第三节 器官水平的代谢网络 .....          | 282 |
| 第四节 整体水平的代谢网络 .....          | 288 |
| 第五节 代谢组学 .....               | 290 |
| 第十二章 遗传信息的表达单元——基因 .....     | 294 |
| 第一节 基因 .....                 | 294 |
| 第二节 基因组 .....                | 300 |
| 第三节 基因组学 .....               | 306 |
| 第四节 癌基因与抑癌基因 .....           | 309 |
| 第十三章 DNA 的生物合成——复制 .....     | 321 |
| 第一节 复制的特点 .....              | 321 |
| 第二节 复制的体系 .....              | 326 |



|                                       |            |
|---------------------------------------|------------|
| 第三节 复制的过程 .....                       | 332        |
| 第四节 复制的特殊方式 .....                     | 337        |
| 第五节 DNA 损伤与修复 .....                   | 340        |
| <b>第十四章 RNA 的生物合成——转录</b> .....       | <b>346</b> |
| 第一节 转录的特点 .....                       | 346        |
| 第二节 转录的体系 .....                       | 347        |
| 第三节 转录的过程 .....                       | 351        |
| 第四节 转录后加工 .....                       | 359        |
| 第五节 RNA 复制 .....                      | 368        |
| <b>第十五章 蛋白质的生物合成——翻译</b> .....        | <b>371</b> |
| 第一节 翻译的体系 .....                       | 371        |
| 第二节 翻译的过程 .....                       | 377        |
| 第三节 翻译后加工 .....                       | 389        |
| 第四节 翻译后运输 .....                       | 392        |
| 第五节 翻译的抑制 .....                       | 397        |
| <b>第十六章 确保基因的精确表达——调控</b> .....       | <b>401</b> |
| 第一节 基因表达调控概述 .....                    | 401        |
| 第二节 原核生物基因表达调控 .....                  | 404        |
| 第三节 真核生物基因表达的调控 .....                 | 418        |
| <b>第十七章 打破 DNA 的物种界限——基因工程</b> .....  | <b>436</b> |
| 第一节 基因的天然重组 .....                     | 436        |
| 第二节 基因的人工重组 .....                     | 442        |
| <b>第十八章 调节人体生理活动的重要环节——信号转导</b> ..... | <b>466</b> |
| 第一节 信息物质 .....                        | 466        |
| 第二节 受体 .....                          | 469        |
| 第三节 信号转导通路 .....                      | 477        |
| 第四节 信号转导通路的交叉联系 .....                 | 489        |
| 第五节 信号转导与疾病 .....                     | 491        |
| <b>第十九章 沟通人体代谢的媒介——血液</b> .....       | <b>493</b> |
| 第一节 血液概述 .....                        | 493        |
| 第二节 血浆蛋白 .....                        | 494        |
| 第三节 血液凝固 .....                        | 499        |
| 第四节 血细胞代谢 .....                       | 504        |
| <b>第二十章 物质代谢的主要基地——肝</b> .....        | <b>514</b> |
| 第一节 肝在物质代谢中的作用 .....                  | 514        |
| 第二节 肝的生物转化作用 .....                    | 517        |

|       |                            |     |
|-------|----------------------------|-----|
| 第三节   | 胆汁酸代谢 .....                | 524 |
| 第四节   | 胆色素代谢 .....                | 528 |
| 第二十一章 | 21 世纪医学诊疗技术——基因诊断与治疗 ..... | 538 |
| 第一节   | 基因诊断 .....                 | 538 |
| 第二节   | 基因治疗 .....                 | 547 |
| 参考文献  | .....                      | 555 |

# 第一章 在分子水平研究生命的科学

## 问题讨论

1. 什么是生命？生命的本质是什么？
2. 为什么生物会有生命？

大千世界，万事万物，千奇百怪。但究其本质，只有两类：一类是生物，一类是非生物。凡生物均有生命，没有生命的物体则为非生物。自从人类进化到开始思索“生命”的时候，就被一大堆的问题所困扰，“人为什么会有生命？人的生命与其他生物的生命一样吗？世界上存在生命元素吗？生命的物质基础是什么？生命是怎样延续的？生命靠什么提供能量？……”直到最近 100 余年，人类对这些问题才逐渐有了清晰的认识，并且形成了专门从分子水平研究生命的科学，这就是生物化学与分子生物学(Biochemistry and Molecular Biology)。

## 第一节 生物化学与分子生物学发展简史

任何一门学科就如同一个人一样，都要经历胚胎发育、出生，再经过幼年、青年而逐步成熟。生物化学与分子生物学也不例外，其学科历史也包括学科的孕育、学科的形成和学科的发展三个阶段。

在 18 世纪中期，希尔(C.W.Scheele)开始研究生物体的化学组成，1776~1778 年，他分离出甘油、柠檬酸、苹果酸、乳酸、尿酸，从而奠定了生物化学的基础。1877 年，霍佩赛勒(E.F.Hoppe-Seyler)首次使用了“biochemistry”；1903 年，纽伯格(C.Neuberg)再次使用了这一术语；1938 年，韦弗(W.Weaver)在对美国洛氏基金董事会的年度报告中首次使用了“molecular biology”；1945 年，阿斯特伯里(W.T.Astbury)再次使用了这一术语，标志着生物化学与分子生物学作为新兴学科已经逐渐形成了。

### 一、从可溶性催化剂的发现到酶学的建立和发展

据我国古代文献记载，人们在公元前 21 世纪已能酿酒，公元前 12 世纪已能制饴(麦芽糖)，同时还能将酒发酵成醋。酿酒、制饴、制醋都涉及酶，虽然古人对酶并不了解，但在生产实践中已能熟练运用酶发酵技术。

人们很早就对酵母发酵产生了兴趣，这使人们逐渐认识到酶的重要性。1833 年，佩恩(A.Payen)和帕索兹(J.F.Persoz)从麦芽的抽提物中获得一种对热不稳定的物质，它能使淀粉水解成可溶性糖，1877 年，库尼(W.Kühne)首次将这种物质命名为“enzyme”，这个词来自希腊语，意思是“在酵母中”。

1837 年，贝齐里乌斯(J.J.Berzelius)提出发酵的催化性质的假设。1857 年，巴斯德

(L.Pasteur)提出发酵是酵母细胞生命活动的结果,认为只有活的酵母才能进行发酵,但这种观点遭到李比格(J.von Liebig)的反对,他认为发酵是由溶解于酵母溶液中的酶引起的。直到1897年,毕希纳兄弟(E.Büchner和H.Büchner)用石英砂磨碎酵母细胞,用不含细胞的酵母提取液实现了发酵,证明发酵是酶在起作用,从而结束了长达40年的争论,毕希纳兄弟因此获得1907年的诺贝尔化学奖。

1893年,在酶被发现60年后,奥斯瓦尔德(F.W.Ostwald)终于证明酶是催化剂,此后,对于酶的研究不断深入。1894年,菲舍尔(F.Fischer)证明了酶的专一性,提出酶与底物之间是“锁和钥匙”的关系。1903年,亨利(V.Henry)提出了酶与底物作用的“中间复合物学说”。1909年,索伦森(S.P.L.Sorensen)证明pH对酶作用有影响。1913年,米凯利斯(L.Michaelis)和门顿(M.Menten)根据中间复合物学说推导出“米氏方程”,发展了酶促反应动力学理论,这是酶反应机制研究的重要突破。1925年,布里格斯(G.E.Briggs)和霍尔丹(J.B.S.Haldane)对“米氏方程”作了重要修正,提出了“稳态学说”。1937年,科里夫妇(C.F.Cori和G.T.Cori)发现糖原磷酸化酶的可逆反应,并获得1947年的诺贝尔生理学或医学奖。1943年,钱斯(B.Chance)首次将灵敏的分光光度法用于酶-底物相互关系的研究。1961年,莫诺(J.Monod)等提出酶促反应机制是酶分子发生变构效应的假说。

1897年,伯特兰(G.Bertrand)提出“coenzyme”一词。1905年,哈登(A.Harden)和杨格(W.Young)浓缩了第一个辅酶,以后证明这个辅酶是NAD,哈登后来获得1929年诺贝尔化学奖。1932年,瓦伯格(O.H.Warburg)和克里斯汀(W.Christian)发现“黄酶”是一种黄素蛋白。1935年,库恩(R.Kuhn)发现核黄素(维生素B<sub>2</sub>)是黄酶的组成成分,并于1938年获得诺贝尔化学奖。1937年,罗曼(K.Lohmann)等证明硫胺素(维生素B<sub>1</sub>)是丙酮酸羧化酶辅基的组成成分,这样将维生素与辅酶联系起来。

1926年,萨姆纳(J.B.Sumner)从刀豆中提取制备了脲酶结晶,首次证明酶是蛋白质,但对此有人表示怀疑,直到1930~1936年,诺思罗普(J.H.Northrop)和库尼茨(M.Kunitz)获得胃蛋白酶、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶结晶,并用相应方法证实它们是蛋白质后,酶是蛋白质这一观点才普遍被人们接受,萨姆纳和诺思罗普因此获得1946年的诺贝尔化学奖。此后,学者对于酶的结构也进行了研究。1959年,穆尔(S.Moore)和斯坦利(W.H.Stein)首次测定了核糖核酸酶的124个氨基酸顺序,安芬森(C.B.Anfinsen)在这方面也独立地作出了重要贡献,他们三人共同获得1972年的诺贝尔化学奖。

酶学一直是热门领域,人们对于酶的兴趣始终不减,新的酶也不断被发现。1912年,巴塔利(Batali)等发现脱氢酶。1933年,汤佩松发现植物中存在细胞色素氧化酶。1943年,格林(A.Green)和科里(G.T.Cori)结晶出肌肉磷酸化酶。1955年,奥乔亚(S.Ochoa)等发现多核苷酸磷酸化酶。1956年,科恩伯格(A.Kornberg)发现DNA聚合酶I。奥乔亚和科恩伯格因此获得1959年的诺贝尔生理学或医学奖。1958~1959年,怀斯(S.B.Weiss)和霍维兹(J.A.Hurwitz)等发现DNA指导的RNA聚合酶。1967年,怀斯又发现T4噬菌体DNA连接酶;袁(R.Yuan)在大肠埃希菌中发现第I类限制性核酸内切酶。1970年,史密斯(H.O.Smith)提取出专一性很强的限制性核酸内切酶;同年,巴尔的摩(D.Baltimore)、特明(H.M.Temin)和杜尔贝克(R.Dulbecco)各自独立地从鸡肉瘤病毒中发现反转录酶,他们3人共同获得1975年的诺贝尔生理学或医学奖。1981年,奥尔特曼(S.Altman)和切赫(T.C.Cech)发现了一种具



有酶功能的 RNA 分子,这种分子能把基因内插入顺序剪切后再重新拼接在一起,据此提出核酶(ribozyme)的概念,这一发现打破了酶是蛋白质的传统观念,开辟了酶学研究的新领域,奥尔特曼和切赫因此获得 1989 年的诺贝尔化学奖。1986 年,苏尔茨(P.G.Schultz)与列那(R.A.Lerner)等成功研制出抗体酶(abzyme)。1989 年,莱瑟姆(J.A.Latham)和切赫研究了四膜虫催化 RNA 分子的结构。1995 年,绍斯塔克(J.W.Szostak)等首次报道了具有 DNA 连接酶活性的 DNA 片段,称之为脱氧核酶(deoxyribozyme)。目前已鉴定出的酶有 4000 多种,数百种酶已得到结晶,而且每年都有新酶被发现。2009 年的诺贝尔生理学或医学奖授予了布莱克本(E.H.Blackburn)、格雷德(C.W.Greider)和绍斯塔克,肯定他们在发现端粒及端粒酶保护染色体末端机制方面所作的贡献。

## 二、从酒精发酵的研究到代谢途径的阐明

1785 年,拉瓦锡(A.L.Lavoisier)证明动物需要  $O_2$ ,呼吸是氧化作用,他首次测定了人的耗氧量,认为酒精发酵是一系列化学过程,这是生物氧化及能量代谢研究的开端。1810 年,盖伊-吕萨克(J.L.Gay-Lussac)推导出酒精发酵的反应式。1850~1855 年,贝尔纳(C.Bernard)从肝脏分离出糖原并证明它可以转变为血糖,同时发表了糖原异生作用的过程。1907 年,弗莱彻(W.M.Fletcher)和霍普金斯(F.G.Hopkins)证明缺氧条件下肌肉收缩时能定量地将葡萄糖转变为乳酸。1912 年,纽伯格(C.Neuberg)描述了发酵的化学途径。1929 年,科里夫妇发现肌糖原、血乳酸、肝糖原及血糖之间的转化,后称 Cori 循环。1933 年,埃姆登(G.G.Emden)和迈耶霍夫(O.F.Meyerhof)发现糖酵解及发酵过程中的关键性中间物。1935 年,迈耶霍夫、埃姆登和帕纳斯(J.K.Parnas)阐明糖酵解过程的全部 12 个步骤,因此,糖酵解过程又称为“迈耶霍夫-埃姆登-帕纳斯途径”。1953 年,狄更斯(F.Dickens)等阐明了糖代谢的磷酸戊糖旁路。

1905 年,克努普(F.Knoop)提出脂肪酸的  $\beta$ -氧化作用。1942 年,布洛赫(K.E.Bloch)和里腾伯格(D.Rittenberg)发现乙酸盐是胆固醇的前体。1943~1947 年,莱洛伊尔(L.F.Leloir)等研究了脂肪酸在肝脏无细胞体系中的氧化作用,伦宁格(A.L.Lehninger)证明脂肪酸氧化需要 ATP,并且作了定量测定。1951 年,吕嫩(F.Lynen)提出辅酶 A 在脂肪酸氧化中的作用,不久格林(A.Green)和奥乔亚分离出脂肪酸氧化酶。1954~1958 年,肯尼迪(E.P.Kennedy)报道了三酰甘油、磷脂的合成途径及胞苷酸的作用,因此三酰甘油合成途径也称为“肯尼迪途径”。1964 年,布洛赫和吕嫩因为在胆固醇和脂肪酸生物合成方面的研究获得诺贝尔生理学或医学奖。1985 年,布朗(M.S.Brown)和戈尔茨坦(J.L.Goldstein)因为在胆固醇代谢及相关疾病方面的发现获得诺贝尔生理学或医学奖。

1828 年,沃勒(F.Wohler)在实验室里将氰酸铵转变成尿素,氰酸铵是一种无机化合物,尿素是哺乳动物尿中含氮物质代谢的主要产物,人工合成尿素的成功,对生物化学发展起了很大的促进作用。1932 年,克雷布斯(H.D.Krebs)等发现尿素合成的“鸟氨酸循环”。5 年后,克雷布斯又提出代谢的公共途径“柠檬酸循环”的设想,并在 1940 年作了实验证实。1944 年,李普曼(F.A.Lipmann)发现在代谢过程中起重要作用的辅酶 A,打通了糖酵解、脂肪酸等氧化的最终产物进入三羧酸循环的通道。1947~1950 年,李普曼等分离鉴定了辅酶 A。由于克雷布斯和李普曼阐明了糖有氧氧化的三个阶段,他们获得了 1953 年的诺贝尔生理学或医学奖。1949 年,

肯尼迪和伦宁格发现线粒体是进行三羧酸循环、脂肪酸氧化和氧化磷酸化的场所, 酵解作用发生在细胞质中。1950~1965 年, 艾姆斯(B.Ames)、布洛赫等一批科学家陆续报道了氨基酸、嘌呤、嘧啶、脂肪酸、类萜化合物等物质的生物合成与降解的反应过程, 至此, 生物体内各种小分子的代谢途径基本阐明。

物质代谢与能量代谢是相互关联的, 在研究物质代谢的同时, 必然涉及能量代谢。1886 年, 麦克莫恩(C.A.MacMunn)发现了细胞色素。1912 年, 瓦伯格证明在细胞中有一种激活氧的呼吸酶, 并发现氰化物能抑制这种酶的活性, 提出呼吸作用需要铁参加。1923 年, 凯林(D.Keilin)重新发现了细胞色素, 并证明在呼吸时它可变为氧化态; 1927 年又进一步提出生物氧化过程电子传递的初步设想。1928 年, 埃格尔顿(P.Eggleton)在肌肉中发现磷酸肌酸。同年, 瓦伯格指出呼吸酶中铁卟啉的性质, 他因此获得了 1931 年的诺贝尔生理学或医学奖。1929 年, 费斯克(C.H.Fiske)、萨巴罗(Y.Subbarow)和罗曼从肌肉提取液分离出 ATP 及磷酸肌酸。1931 年, 恩格尔哈特(V.A.Engelhardt)发现磷酸化作用与呼吸作用的偶联。1932 年, 罗曼发现 ATP-磷酸肌酸反应; 瓦伯格和克里斯汀(W.Christian)分离出细胞色素 C, 并在特殊的心肌制剂中重建了电子传递系统。1935 年, 罗曼阐明了 ATP 的化学结构。1937~1938 年, 瓦伯格证明 ATP 的形成与 3-磷酸甘油醛的脱氢作用相偶联。1937~1941 年, 李普曼提出 ATP 在能量传递循环中具有中心作用的假说。1943 年, 奥乔亚证明了三羧酸循环中氧化磷酸化的 P : O 为 3 : 1。1951 年, 伦宁格证明从 NADH 到氧的电子传递是氧化磷酸化作用的直接能量来源。1954 年, 钱斯等用氧电极及差光谱法研究线粒体中电子传递的动力学。1961 年, 米切尔(P.D.Mitchell)提出“化学渗透偶联假说”, 解释氧化磷酸化和光合磷酸化的能量转化机制, 他因此获得 1978 年的诺贝尔化学奖。1961~1968 年, 拉克尔(E.Racker)等从线粒体分离出 ATP 合酶, 以后在亚线粒体泡中重建了氧化磷酸化作用。波耶尔(P.D.Boyer)、沃克(J.E.Walker)等因为阐明了 ATP 合酶的分子机制, 于 1997 年获得诺贝尔化学奖。

### 三、从核酸的发现到分子生物学的崛起

1868 年, 米歇尔(F.Miescher)首先从浓细胞核中提取出一种富含氮和磷的酸性物质, 以后又在鲑鱼精子细胞核中发现大量类似的物质, 由此揭开了核酸研究的序幕。

1879~1909 年, 科塞尔(A.Kossel)、莱文(P.A.Levene)等分析出核酸的 4 种碱基和两种核糖, 为此科塞尔获得 1910 年的诺贝尔生理学或医学奖。1925~1930 年, 莱文弄清了单核苷酸的结构并证明单核苷酸是核酸的组成单位。1929 年, 莱文发现核酸有脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)之分。1935~1936 年, 瓦伯格和奥伊勒-切尔平(H.von Euler-Chelpin)分离并测定了嘧啶核苷酸的结构。至此, 关于核酸的组成及核苷酸的结构基本搞清。

在证实核酸是遗传物质之前, 核酸研究一直未引起人们的足够重视。1944 年, 埃弗里(O.T.Avery)等报告了肺炎双球菌的转化实验, 证明不同品系的肺炎双球菌相互之间的转化因子是 DNA 而不是蛋白质。1952 年, 赫尔希(A.D.Hershey)和蔡斯(M.Chase)证明噬菌体 DNA 携带着噬菌体复制的全部信息, 再次证明 DNA 是遗传信息的载体。1956 年, 吉尔(A.Gierer)和施勒姆(G.Schramm)发现烟草花叶病毒里的遗传物质是 RNA。1957 年, 弗兰克尔(C.H.Franenkel)及威廉姆斯(R.C.Williams)构建烟草镶嵌病毒, 证实其遗传物质是 RNA, 而

不是蛋白质。

1950 年, 查戈夫 (E.Chargaff) 将各种来源的 DNA 进行完全水解并测定碱基, 结果发现碱基间存在 1 : 1 的比例关系, 以后被称为“查戈夫规则”。此后, 富兰克林 (R.E.Franklin)、威尔金斯 (M.H.F.Wilkins) 用 X-射线衍射法研究 DNA 的晶体结构, 提出 DNA 呈螺旋状。这些研究为后来 DNA 结构的阐明奠定了基础。1953 年, 沃森 (J.D.Watson) 和克里克 (F.H.C.Crick) 综合当时 DNA 结构的研究成果, 提出了著名的“双螺旋结构模型”, 由此开创了分子生物学的新纪元。由于沃森、克里克及威尔金斯对 DNA 结构研究的杰出贡献, 他们 3 人共同获得了 1962 年的诺贝尔生理学或医学奖。但是, 双螺旋并不代表所有 DNA 的结构, 1959 年, 辛色默 (K.L.Sinsheimer) 发现  $\Phi$ X174 噬菌体含有单链 DNA。1963 年纳斯夫妇 (M.Nass 和 S.Nass) 发现线粒体 DNA。1979 年, 里奇 (A.Rich) 和王 (A.H.J.Wang) 发现左手螺旋的 DNA, 命名为 Z-DNA。

早在 1941 年, 比德尔 (G.W.Beadle) 和塔特姆 (E.L.Tatum) 就提出了“一个基因一个酶”的假说, 这一假说一度被看作是基因功能的最佳诠释, 比德尔和塔特姆因此获得 1958 年的诺贝尔生理学或医学奖。1956 年, 伽莫夫 (G.Gamow) 提出三联体密码的假设, 并推论有 64 个密码; 克里克认为在模板 RNA 与把氨基酸带到模板上进行合成之间, 可能存在载体, 后被证明是 tRNA。1957 年, 霍格兰德 (M.B.Hogland)、斯蒂芬森 (M.Stephenson)、斯科特 (J.F.Scott) 和扎梅奇尼克 (P.Zamecnik) 首次发现 tRNA 并对它们在合成蛋白质中转运氨基酸的功能提出了假设。1958 年, 梅塞尔森 (M.Meselson) 和斯坦尔 (F.W.Stahl) 为 DNA 半保留复制模型提供了实验证明; 克里克提出“中心法则”, 揭示了遗传信息传递的规律。1961 年, 布伦纳 (S.Brenner) 等观察了在蛋白质合成过程中 mRNA 与核糖体的结合。同年, 尼伦伯格 (M.W.Nirenberg) 和马特海 (H.Matthei) 利用大肠埃希菌无细胞蛋白质合成体系及多聚尿苷酸, 发现苯丙氨酸的遗传密码为 UUU, 这是第一个被破译的遗传密码。1963 年, 科拉纳 (H.G.Khorana) 开始利用 RNA 聚合酶并以 DNA 为模板合成 RNA, 同时参与了遗传密码的破译工作。1966 年, 霍利 (R.W.Holley)、科拉纳、尼伦伯格等破译了 20 种氨基酸的全部遗传密码, 他们三人因此获得 1968 年诺贝尔生理学或医学奖, 后来的研究表明这套遗传密码在生物界具有通用性。1968 年, 冈崎 (Okazaki) 提出 DNA 不连续复制的学说。1970 年, 巴尔蒂莫 (D.Baltimore)、特明发现反转录现象, 并对中心法则作了修正。1979 年, 马奇诺 (G.Macino) 等发现线粒体内存在变异的遗传密码。1987 年, 德杜维 (C.de Duve) 提出第二套遗传密码的假设。

1943 年, 德尔布吕克 (M.Delbrück) 和卢里亚 (S.E.Luria) 发现噬菌体的基因重组和细菌的自发突变。1946 年, 莱德伯格 (J.Lederberg) 和塔特姆发现了大肠埃希菌的遗传重组现象。1952 年, 莱德伯格和津德 (N.D.Zinder) 在研究鼠伤寒沙门菌的重组时发现转导现象。莱德伯格因此获得 1958 年的诺贝尔生理学或医学奖。这些在自然情况下发生的 DNA 重组现象为人工重组 DNA 提供了借鉴。1971 年, 伯格 (P.Berg) 把猴细胞病毒 SV40 的 DNA 与  $\lambda$  噬菌体的 DNA 在体外重组成功。1973 年, 科恩 (S.N.Cohen) 将外源 DNA 片段插入大肠埃希菌质粒后产生嵌合质粒, 当嵌合质粒重新导入大肠埃希菌时仍具有功能, 这成为外源基因导入细菌的主要方法, 从此开创了基因工程。1977 年, 博耶 (H.W.Boyer) 和里格斯 (A.D.Riggs) 两组美国生物化学家共同努力, 利用重组 DNA 方法, 将人工合成的 14 肽生长激素释放抑制因子的基因导入大肠埃希菌并表达成功, 这项工作揭开了分子生物学新的一页。1978 年, 板仓 (K.Itakura) 等使人生长激素 (191 肽) 基因在大肠埃希菌中表达成功。1978~1979 年, 美国基因技术公司将

人工合成的人胰岛素基因导入大肠埃希菌并表达成功。1980~1981年,谷口智彦(T.Taniguchi)用基因克隆技术制造出人类成纤维细胞干扰素。1982年,用基因工程生产的人工胰岛素获得美、英、联邦德国、瑞士等国政府批准出售并进入工业化生产。1984年,戴维斯(M.M.Davis)等将T细胞抗原受体基因克隆成功。1986年,古谷(Y.Furutani)报道人的白细胞介素I- $\alpha$ 基因分离成功。1987年,伯克(D.T.Burke)、卡尔(G.F.Carle)和奥尔森(M.V.Olson)用人造酵母染色体(YACS)作为载体,将大片段外源DNA导入酵母细胞。

1954年,本泽(S.Benzer)完成了噬菌体基因精细结构的分析,提出了顺反子、突变子、重组子的概念。1955年,本泽又完成了基因精细结构图谱,并肯定一个基因具有许多突变位点。1957年,马格桑尼克(B.Magasanik)等提出酶合成中的遗传阻遏。1961年,雅各布(F.Jacob)和莫诺(J.L.Monod)提出了操纵子学说,并假设了mRNA的功能,他们于1965年获得诺贝尔生理学或医学奖。1979年,古德伯格(M.Goldberg)和霍格内斯(D.S.Hogness)发现真核生物的DNA启动子的TATA构造,后称“TATA盒”。所罗门(E.Solomon)和博德默(W.F.Bodmer)提出至少200个限制性片段长度多态性可作为连接人的整个基因组图谱的基础。1984年,格林(W.J.Gehring)发现相似基因群(Homo-box)。1993年,罗伯兹(R.J.Roberts)与夏普(P.A.Sharp)发现断裂基因获得诺贝尔生理学或医学奖。1995年,刘易斯(E.B.Lewis)、维绍斯(E.F.Wieschaus)与福尔哈德(C.N.Volhard)研究基因如何控制果蝇早期胚胎的发育,揭开了胚胎如何由一个细胞发育成完美的特化器官的遗传秘密,建立了动物基因控制早期胚胎发育的模型。他们三人获得1995年诺贝尔生理学或医学奖。2001年,哈特韦尔(L.H.Hartwell)发现细胞周期分裂基因。

20世纪前半叶,遗传突变和病毒可以致癌的观点已被广泛接受。运用数学模式进行癌症流行病学研究发现,必须到一定的年龄发生的突变才会致癌。1957年,阿米蒂奇(P.Armitage)和杜尔(R.Doll)研究认为体细胞两次突变会导致癌症发生,提出二次突变假说(Two-hit hypothesis)。1971年,努德森(A.G.Knudson)认为野生型基因产物可以抑制肿瘤产生,他称该基因为肿瘤抑制基因。1982年,泰宾(C.J.Tabin)等及雷迪(E.P.Reddy)等分别发现人类癌基因的突变,证明一个氨基酸的变异就能导致癌变。1987年,怀特(P.Whyte)、巴克柯维茨(K.J.Buchkovich)、霍罗威茨(J.M.Horowitz)等发现癌基因的活化或抗癌基因的钝化是肿瘤产生的前提。1989年,毕晓普(J.M.Bishop)与瓦穆斯(H.E.Varmus)因为证明了癌症的起因是致癌基因而不是病毒获得诺贝尔生理学或医学奖。

1955年,托德(A.R.Todd)等搞清了核酸中磷酸二酯键的位置,证明核酸分子由5'→3'走向的多核苷酸组成,这使托德获得1957年的诺贝尔化学奖。在此基础上,人们选择了一种比较小的RNA作为深入研究的突破口。1965年,霍利(R.W.Holly)等分析了酵母丙氨酸tRNA的全部77个核苷酸序列。1970~1972年,科拉纳(H.G.Khorana)人工合成了酵母丙氨酸tRNA的基因。1973年和1977年,金(S.H.Kim)、里奇(A.Rich)先后用0.4nm和0.25nm X-射线分析法测定了酵母丙氨酸tRNA的三级结构。1981年,王德宝等终于合成了酵母丙氨酸tRNA,这是世界上人工合成的第一个具有生物活性的核酸分子。

随着方法的改进,分子生物学研究范围从单个基因扩展到整个基因组,测定整个生物基因组核酸的全序列无疑对理解这一生物的生命信息及其功能有重要意义。但是早期的核酸序列分析非常困难,仅限于小分子。1968年,桑格(F.Sanger)测定了5SrRNA的一级结构。1975年,桑格又建立了分析DNA碱基序列的方法,并不断加以改进。1976年,马克萨姆(A.M.Maxam)



和吉尔伯特(W.Gilbert)建立了快速测定大片段 DNA 序列的化学法。1977 年,桑格提出了应用链终止抑制法测定 DNA 序列,并完成了  $\Phi$  X 174 噬菌体全部 5400 个碱基序列的分析。吉尔伯特、桑格因此获得了 1980 年的诺贝尔化学奖。1978 年,菲耳斯(W.Fiers)等测定了 SV-40 病毒 DNA 的一级结构。以后,包括乙型肝炎病毒、艾滋病毒等基因组的全序列陆续被测定。

1985 年,辛斯海姆(R.Sinsheim)率先提出人类基因组研究计划;次年,杜尔贝克指出,要彻底解决肿瘤问题必须对人的基因组进行全面测序。美国政府于 1987 年正式启动人类基因组计划(human genome project, HGP),计划投资 30 亿美元,用 15 年时间将人类基因组的全部 DNA 序列(约 32 亿 bp)分析清楚,这一计划被称为生命科学领域里的“阿波罗登月计划”。随后,不少国家政府纷纷资助成立了各自的国家级研究中心,人类基因组及其他生物的基因组的测序工作相继展开。我国的 HGP 始于 1994 年,1998 年相继成立了国家人类基因组南、北方研究中心,1999 年正式加入“国际人类基因组测序联盟”(International Human Genome Sequencing Consortium, IHGSC),使其成员由美、英、法、德、日五国扩展为六国。1998 年, Gene Bank 公布最新人类“基因图谱 98”,提供了 30181 条基因定位的信息。文特尔(J.C.Venter)对人类基因组计划提出新的战略——全基因组随机测序,毛细管电泳测序仪也投入使用。2000 年,果蝇和拟南芥的基因组测序完成。2000 年 6 月 26 日宣布人类基因组草图完成。2001 年 2 月 15 日发表了根据人类基因组 94%序列草图作出的初步分析。2002 年,水稻、小鼠、疟原虫和按蚊基因组测序完成。2003 年 4 月 14 日宣布人类基因组序列图绘制成功,人类基因组计划的所有目标提前完成。

#### 四、从蛋白质的初步研究到蛋白质组学的建立

早在 1838 年,马尔德(G.J.Mulder)首先提出蛋白质一词,意为“名列第一”,认为蛋白质是人体最重要的物质,没有蛋白质就没有生命。

1864,霍普-塞勒(E.F.Hoppe-Seyler)第一次结晶出血红蛋白,这也是后来研究得比较深入的一个蛋白质。1938 年,伯纳尔(J.D.Bernal)、I.Frankuchen 和佩鲁茨(M.P.Perutz)对血红蛋白进行 X 线研究。1949 年,鲍林(L.C.Pauling)等用电泳法证明镰形红细胞贫血症是因为有异常血红蛋白的存在,推导这种血红蛋白的生成受基因控制,并提出分子病(molecular disease)的概念。1956 年,英格拉姆(V.M.Ingram)证明正常血红蛋白与镰形细胞血红蛋白之间,只是在一条多肽链的末端第 6 位的谷氨酸被缬氨酸所取代,由此展开了对血红蛋白病的深入研究。1959 年,佩鲁茨和肯德鲁(J.Kendrew)经过 20 年的努力,完成了血红蛋白的晶体结构分析,二人因此获得 1962 年的诺贝尔化学奖。

胰岛素是最小的蛋白质。1923 年,班廷(F.G.Banting)和麦克劳德(J.J.R.Macleod)因为分离提纯出胰岛素获得诺贝尔生理学或医学奖。1953 年,桑格和汤普森(S.G.Thompson)完成了胰岛素 A 链及 B 链氨基酸序列的测定;两年后桑格进一步确定了 A 和 B 两条链间二硫键的位置。1956 年,桑格又报道了整个胰岛素分子的氨基酸序列,这使桑格获得 1958 年的诺贝尔化学奖。1959 年,邹承鲁等完成了胰岛素 A、B 两链的拆合研究,使胰岛素的生物活性失而复得。1965 年,钮经义、汪猷、季爱雪等历经七年完成了牛胰岛素的人工合成,这是世界上第一例人工合成的有生物活性的蛋白质。



继血红蛋白和胰岛素之后,新的蛋白质不断被发现。1939~1946年,圣乔齐(A.Szent-Gyrgy)发现肌动蛋白及肌动球蛋白。1986年,蒙塔尔奇尼(R.L.Montalcini)与科恩因发现了神经生长因子和表皮生长因子而获得了诺贝尔生理学或医学奖。1994年,吉尔曼(A.G.Gilman)与罗德贝尔(M.Rodbell)因发现了G蛋白质及它们在细胞信号转导中的作用而获得了诺贝尔生理学或医学奖。1999年,布洛贝尔(G.Blobel)因发现细胞中蛋白质有其内在的运输和定位信号而获得诺贝尔生理学或医学奖。2001年哈特韦尔(L.H.Hartwell)、亨特(R.T.Hunt)和纳斯(P.M.Nurse)因发现调节细胞周期的周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)及调节CDKs功能的周期蛋白而获得诺贝尔生理学或医学奖。2003年,阿格雷(P.Agre)和麦金农(R.Mackinnon)因发现真核细胞膜水通道蛋白,阐述了钾离子通道结构及功能而获得诺贝尔化学奖。

1902年,菲舍尔(E.H.Fischer)和霍夫迈斯特(F.Hofmeister)证明蛋白质是多肽,并分别提出了蛋白质分子结构的肽键理论。1931年,吴宪提出蛋白质变性是由于蛋白质的结构发生了变化,是蛋白质分子中紧紧缠绕的多肽链变为松散状态的结果。1936年,米尔斯基(A.E.Mirsky)和鲍林发展了氢键理论,提出氢键在蛋白质结构中使多肽链形成稳定结构,变性时氢键被破坏,结构随之破坏。1950年,鲍林和科里(R.Corey)提出了 $\alpha$ -角蛋白的 $\alpha$ -螺旋结构模型。1956~1958年,安芬森和怀特(F.H.White)肯定蛋白质的三维空间构象是由氨基酸序列决定的。1965年,莫诺提出蛋白质的别构学说。1992年,费希尔(E.H.Fisher)与克雷布斯(E.G.Krebs)因发现可逆的蛋白质磷酸化作用而获得诺贝尔生理学或医学奖。

1952~1954年,扎梅奇尼克等发现核糖体是蛋白质合成的部位。1953年,杜维尼奥(V.du Vigneaud)首次在实验室合成了多肽激素——催产素及加血压素。1955年,霍格兰德(M.B.Hoagland)建立了蛋白质合成的无细胞体系。1959年,梅奎伦(K.McQuillin)、罗伯茨(R.J.Roberts)和布里顿(R.J.Britten)等用大肠埃希菌为材料,再次证明核糖体是蛋白质合成的场所。

1945年,布兰德(E.Brand)首次报道了用化学法及微生物法对 $\beta$ -乳球蛋白的全部氨基酸组成的分析结果。1969年,埃德尔曼(G.M.Edelman)与波特(R.R.Porter)完成了人的免疫球蛋白G<sub>1</sub>的氨基酸序列分析。1973年,穆尔(S.Moore)和斯坦利(W.H.Stein)设计出氨基酸序列自动测定仪,大大加快了对多肽一级结构的测定。1985年,钱伯恩(P.Chambon)、格林(G.L.Greene)等通过克隆雌性激素受体,阐明了此受体的一级结构。1996年,澳大利亚建立了世界上第一个蛋白质组研究中心(Australia Proteome Analysis Facility, APAF)。2001年4月,在美国成立了国际人类蛋白质组研究组织(Human Proteome Organization, HUPO),随后欧洲、亚太地区也成立了区域性蛋白质组研究组织,试图通过合作的方式,融合各方面的力量,完成人类蛋白质组计划(Human Proteome Project)。同年,文特尔也公布了绘制人类蛋白质组图谱的计划。蛋白质组学(proteomics)成为后基因组时代(post-genome era)的研究重点。

## 第二节 生物化学与分子生物学主要内容

生物化学与分子生物学是两门相互独立又密切关联的学科,其研究内容极为广泛。一般将生物化学的内容分为静态生化、动态生化、功能生化及临床生化。静态生化主要是描述生物体的物质组成、性质及其含量,并对这些组分进行分离、纯化及结构测定;动态生化着重