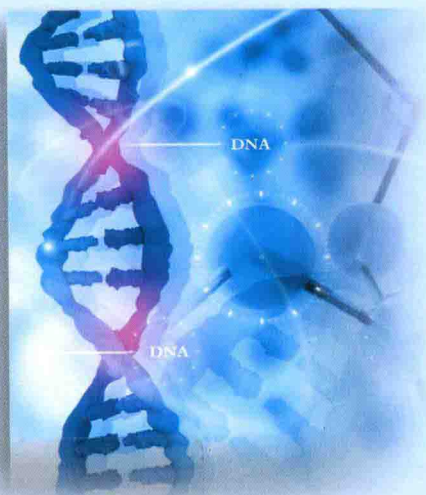




ICHUAN DAIXIEBING DE
JIANYAN ZHENDUAN YU LINCHUANG

遗传代谢病的检验诊断与临床

主编 顾莹 闫冬梅
肖雁冰 何浩明



北京师范大学出版集团
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP
安徽大学出版社

遗传代谢病的检验诊断与临床

主 编 顾 莹 闫冬梅
肖雁冰 何浩明



北京师范大学出版集团

BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP

安徽大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

遗传代谢病的检验诊断与临床/顾莹等主编. —合肥:安徽大学出版社, 2017. 5

ISBN 978-7-5664-1400-7

I. ①遗… II. ①顾… III. ①遗传代谢疾病—诊疗 IV. ①R589.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 111039 号

遗传代谢病的检验诊断与临床

主编 顾 莹 闫冬梅
肖雁冰 何浩明

出版发行: 北京师范大学出版集团
安徽大学出版社
(安徽省合肥市肥西路3号 邮编 230039)
www.bnupg.com.cn
www.ahupress.com.cn

印 刷: 安徽省人民印刷有限公司
经 销: 全国新华书店
开 本: 140mm×203mm
印 张: 7.5
字 数: 195 千字
版 次: 2017 年 5 月第 1 版
印 次: 2017 年 5 月第 1 次印刷
定 价: 25.00 元

ISBN 978-7-5664-1400-7

策划编辑: 李 梅 武溪溪
责任编辑: 李 栎 武溪溪
责任印制: 赵明炎

装帧设计: 李 军
美术编辑: 李 军

版权所有 侵权必究

反盗版、侵权举报电话: 0551-65106311

外埠邮购电话: 0551-65107716

本书如有印装质量问题, 请与印制管理部联系调换。

印制管理部电话: 0551-65106311

编 委 会

主 编

- | | |
|-----|---------------|
| 顾 莹 | 江苏省连云港市妇幼保健院 |
| 闫冬梅 | 江苏省连云港市妇幼保健院 |
| 肖雁冰 | 贵州省遵义市妇幼保健院 |
| 何浩明 | 江苏省连云港市第一人民医院 |

副主编(排名不分先后)

- | | |
|-----|----------------|
| 吕承杰 | 江苏省灌云县人民医院 |
| 王 华 | 江苏省连云港市第一人民医院 |
| 陆世娟 | 江苏省连云港市赣榆区人民医院 |
| 刘 波 | 江苏省连云港市第一人民医院 |
| 夏正萍 | 江苏省连云港市第二人民医院 |
| 徐承来 | 江苏省连云港市第二人民医院 |
| 周保成 | 江苏省连云港市妇幼保健院 |
| 刘忠伦 | 江苏省连云港市第一人民医院 |

前 言

临床遗传学作为基因组医学在临床实践中已得到广泛应用,颇受临床和科研工作者的关注,十多年来已取得了长足的进步,特别是在实验室的特异性生化检测、酶学检测和分子检测领域。随着医学免疫学、遗传学等基础学科的迅猛发展,新仪器、新设备的不断涌现,检验医学的内容越来越丰富,其在临床上的地位也越来越重要。

为了进一步满足临床和科研工作者的需求,使其能比较有条理地提供一些实验数据,以提高临床医生的实践能力,我们通过广泛地搜集国内外的实验诊断技术,并结合我们实践工作的经验,撰写了《遗传代谢病的检验诊断与临床》,可供广大医务工作者在实践中参考。

鉴于遗传代谢病领域里的新知识、新理论和新技术不断涌现,本书根据现代遗传代谢病的研究进展,具体介绍了基本知识、基本理论和基本技能,旨在提高广大医务工作者的诊断和治疗水平。本书共分八章,第一章介绍遗传代谢病的分子基础,第二章介绍遗传代谢病的分类及发病机制,第三章介绍遗传代谢病的临床表现,第四章介绍免疫学测定技术与分子生物学在医学检验中的应用,第五章介绍遗传代谢病的实验室检查,第六章介绍遗传代谢病的

筛查,第七章介绍基因疾病诊断,第八章介绍遗传代谢病的检验诊断与临床。由于本书主要供临床医生阅读,故只介绍实验方法、适应证及正常参考值,而不详细叙述具体的操作步骤。

目前,一般医学检验教科书的系统性及理论性较强,这对临床医生来说无疑是必要的,但如能将基础理论与临床实践进行融会贯通,既有理论性指导,又有临床实践应用,则不但能够圆满地解决临床实际难题,而且是一种十分有益的尝试。

本书内容新颖,实用性强,适合临床各科医务人员及基层医疗卫生工作者阅读,亦可供从事医学检验的各级人员及高等医学院校医疗系、卫生系和检验系的学生参考。

本书在编写过程中参阅了大量文献,在此对相关作者表示真挚的谢意,同时,本书能够顺利出版也要感谢安徽大学出版社的大力支持。由于编者水平有限,故本书难免有疏漏和不妥之处,欢迎广大读者给予批评指正。

编者

2017年2月

目 录

第一章 遗传代谢病的分子基础	(1)
第一节 遗传的物质基础	(1)
第二节 基因突变	(18)
第三节 遗传方式	(30)
第二章 遗传代谢病的分类及发病机制	(41)
第一节 遗传代谢病的分类	(41)
第二节 遗传代谢病的发病机制	(45)
第三章 遗传代谢病的临床表现	(47)
第一节 急性脑病	(48)
第二节 高氨血症	(49)
第三节 代谢性酸中毒	(51)
第四节 低血糖	(52)
第五节 黄疸及肝功能损害	(53)
第六节 皮肤、毛发及眼睛表现	(55)
第七节 特殊的体味或气味	(55)

第四章 免疫学测定技术与分子生物学在医学检验中的应用 ...	(57)
第一节 免疫学测定技术的新进展	(57)
第二节 分子生物学在医学检验中的应用	(65)
第五章 遗传代谢病的实验室检查	(71)
第一节 生化代谢物检测	(71)
第二节 酶活性检测	(74)
第三节 分子检测	(76)
第四节 染色体基因组芯片	(78)
第五节 医学影像学诊断	(78)
第六节 细胞形态学及遗传学诊断	(79)
第六章 遗传代谢病的筛查	(80)
第一节 遗传代谢病筛查的实验方法学	(80)
第二节 血清标志物筛查	(82)
第三节 血清标志物联合筛查	(86)
第四节 新生儿遗传病筛查	(90)
第五节 染色体检查	(97)
第七章 基因疾病诊断	(104)
第一节 基因疾病诊断的基本原理	(105)
第二节 基因疾病诊断的特点、方法及临床意义	(108)
第八章 遗传代谢病的检验诊断与临床	(125)
第一节 同型半胱氨酸血症	(125)

第二节	白化病	(129)
第三节	精氨酸血症	(133)
第四节	高鸟氨酸血症	(136)
第五节	丙酸血症	(139)
第六节	生物素酶缺乏症	(142)
第七节	丙二酸血症	(146)
第八节	原发性肉碱缺乏症	(148)
第九节	β 酮硫解酶缺乏症	(152)
第十节	三功能蛋白缺乏症	(155)
第十一节	半乳糖血症	(157)
第十二节	先天性乳糖酶缺乏症	(160)
第十三节	丙酮酸羧化酶缺乏症	(161)
第十四节	先天性高胰岛素性低血糖症	(162)
第十五节	尼曼—匹克病 A/B 型	(165)
第十六节	胱氨酸贮积症	(167)
第十七节	岩藻糖苷贮积症	(170)
第十八节	X-连锁肾上腺脑白质营养不良	(173)
第十九节	低磷性佝偻病	(177)
第二十节	21-羟化酶缺乏症	(179)
第二十一节	11 β -羟化酶缺乏症	(185)
第二十二节	家族性高胆固醇血症	(188)
第二十三节	家族性高乳糜微粒血症	(192)
第二十四节	家族性异常 β 脂蛋白血症	(195)
第二十五节	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶缺乏症	(198)
第二十六节	地中海贫血	(202)
第二十七节	肝豆状核变性	(205)

附 录 基因芯片在临床疾病诊断中的应用.....	(212)
第一节 基因芯片在临床疾病诊断中的应用.....	(212)
第二节 蛋白芯片的应用研究.....	(218)
第三节 生物芯片在病原体检测中的应用.....	(220)
第四节 基因芯片与检验医学.....	(224)
第五节 基因芯片与肿瘤标志物.....	(225)
参考文献.....	(229)

第一章 遗传代谢病的分子基础

第一节 遗传的物质基础

生命所具有的,指令其生长与发育、维持其结构与功能所必需的信息称为“遗传信息”,遗传信息由遗传物质所携带。生物的主要遗传物质是基因,它是遗传的功能单位,其本质是特定的核苷酸序列。基因通过转录和翻译,合成具有生物活性的蛋白质分子,从而完成生命活动。遗传病是指由于生殖细胞或受精卵的遗传物质异常而引起的疾病,它常具有垂直传递和终生性的特征。遗传病发生的根本基础是基因异常,它通过蛋白质分子的改变而表现出来。因为染色体是基因的载体,所以染色体畸变也归入遗传物质改变之列。遗传的物质基础可以从染色体、核酸和蛋白质等水平来研究。

一、核酸

核酸(Nuclear Acid)根据结构和功能可分为两类:含核糖的称为“核糖核酸”(Ribonucleic Acid, RNA),含脱氧核糖的称为“脱氧核糖核酸”(Deoxyribonucleic Acid, DNA)。绝大多数生物,包括人类的基因组都由 DNA 组成,只有少数病毒的基因组为 RNA。RNA 主要存在于细胞质中,执行其特定的生理功能。DNA 主要存在于细胞核中,但细胞核外也有少量 DNA 存在,如线粒体 DNA。DNA 所携带的遗传信息,通过 DNA 模板转录形

成 RNA 拷贝,再通过 RNA 拷贝的翻译,形成生物体内结构和功能各异的蛋白质,从而得到表达。基因结构和表达水平的差异,造成其表达产物蛋白质发生质和量的改变,引起疾病的发生。DNA、RNA 和蛋白质结构与功能的变化,是一切生命活动的基础。

(一)核酸的组成和结构

1. 核酸的化学组成和结构单位

(1)化学组成。DNA 和 RNA 完全水解后得到磷酸、戊糖和含氮碱基 3 种组分,也就是说,核酸是由磷酸、戊糖和含氮碱基 3 种物质组成的。不同的是,DNA 所含的戊糖是 D-2-脱氧核糖,而 RNA 所含的戊糖是 D-核糖,其 2' 碳原子上的基团为 2'—OH,而不是 2'—H。由于 2'—OH 比 2'—H 的化学性质更为活泼,故这一微小的差别决定了 RNA 与 DNA 整个理化性质和生物学功能的巨大差别。

DNA 中的碱基包含 4 种类型,它们分别是腺嘌呤(Adenine, A)、鸟嘌呤(Guanine, G)、胞嘧啶(Cytosine, C)和胸腺嘧啶(Thymine, T),而 RNA 则以尿嘧啶(Uracil, U)取代胸腺嘧啶,也就是说,RNA 含有的碱基为 A、G、C、U。

下面简要介绍组成 DNA 的 3 种成分。

①2-脱氧核糖(2-deoxyribose)。这是一种呋喃型环状结构戊糖,由 5 个碳原子组成,2' 碳原子上连接的羟基基团(—OH)由氢原子(—H)取代。

②含氮碱基(Nitrogenous Base)。核糖的 1' 碳原子为不对称碳原子,通过 β -N-糖基键分别与嘧啶环的 1' 氮原子和嘌呤环的 9' 氮原子共价连接。由核糖分子与碱基组成的分子称为“核苷”。

③磷酸基团。磷酸基团与核糖分子的 5' 碳原子相连。核苷与磷酸发生酯化反应后,即形成核苷酸。根据磷酸基团的数量,核苷酸可以分为 3 类,即单磷酸核苷酸、双磷酸核苷酸和三磷酸核苷

酸,其中,三磷酸核苷酸是合成 DNA 的底物。

(2)结构单位。当核酸进行不完全水解时,可得到寡核苷酸。寡核苷酸是分子质量较小的多核苷酸片段,也由核苷酸组成,其进一步水解可得到核苷酸。因此,核苷酸是组成核酸的基本结构单位。

核苷酸之间通过磷酸二酯键连接而形成无分支的多核苷酸链。两个多核苷酸之间的磷酸分子一方面与一个核苷的戊糖 3'-OH 形成酯键,另一方面,又与另外一个核苷的戊糖 5'-OH 形成第二个酯键,称为“3',5'-磷酸二酯键”。各种脱氧核苷酸按一定顺序通过磷酸二酯键连接而形成多核苷酸链,由此聚合成长链分子。每条多核苷酸链有两个末端,其中最后一个核苷的戊糖上 3'位碳连有磷酸基(或羟基)的一端称为“3'端”,而具有 5'磷酸基(或羟基)的一端称为“5'端”。

核酸分子的合成按照 5'→3'方向进行,每个新加入的核苷酸总是以 5'磷酸与核酸单链的最后一个核苷酸 3'-OH 缩合,形成磷脂键。

2. DNA 的结构

(1)一级结构。DNA 由 4 种脱氧核糖核苷酸(腺嘌呤脱氧核糖核苷酸、鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸、胞嘧啶脱氧核糖核苷酸和胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸)组成,这 4 种脱氧核苷酸的排列顺序构成 DNA 的一级结构,它包括了生物体的全部遗传信息。由于构成 DNA 的核苷酸之间的差别只是碱基不同,因此,DNA 分子的一级结构实际上就是分子中 4 种碱基的排列顺序。

(2)高级结构。Watson 和 Crick 于 1953 年提出的 DNA 分子双螺旋结构模型圆满地解释了 DNA 的空间结构和遗传信息的传递与复制,该成果是遗传学史上最重大的成就之一。

双螺旋结构模型有如下特点:

①两条多核苷酸链围绕同一中轴缠绕,且两条链是反向平行的。

②磷酸和核糖之间通过 3',5'-磷酸二酯键相连,构成 DNA 分子骨架,位于 DNA 分子外侧,而连接在脱氧核糖上的碱基位于双螺旋内侧。两条多核苷酸链均为右手螺旋,每条链的方向取决于磷酸二酯键的走向。双螺旋结构上有两条螺旋形的凹沟,分别称为“大沟”和“小沟”,它们对 DNA 分子和蛋白质的结合起重要作用。

③双螺旋平均直径为 2nm,两个相邻碱基之间的距离为 0.34nm,两个核苷酸之间的夹角为 36° ,沿中轴旋转一周有 10 个核苷酸,每一圈的高度为 3.4nm。

④两条多核苷酸链依靠碱基之间形成的氢键连接在一起。一条链上的嘌呤碱基与另一条链上的嘧啶碱基互补配对,A 与 T 配对,形成 2 个氢键,G 和 C 配对,形成 3 个氢键。碱基互补配对原则是 DNA 复制、转录的分子基础。

DNA 是染色体的主要成分,在生理条件下,DNA 分子很少以双螺旋形式存在,而是经过进一步的扭曲,形成超螺旋结构,并与组蛋白等其他分子结合,经过包扎、压缩等形成染色体结构。

3. RNA 的结构

RNA 与 DNA 相似,也是线性、无分支的多聚核苷酸链,然而它的核苷酸链是由 4 种核糖核苷酸组成的,即腺嘌呤核糖核苷酸、鸟嘌呤核糖核苷酸、胞嘧啶核糖核苷酸和尿嘧啶核糖核苷酸。这 4 种核苷酸通过 3',5'-磷酸二酯键相连。天然 RNA 是单链线性分子,只是通过自身回折,局部可产生一些螺旋结构。RNA 大部分分布在细胞质中,但细胞核中也有少量 RNA 存在,称为“核内小 RNA”。RNA 主要有 3 种:信使 RNA (Messenger RNA, mRNA)、转运 RNA (Transfer RNA, tRNA) 和核糖体 RNA (Ribosome RNA, rRNA)。细胞中约 80% 的 RNA 为 tRNA 和 rRNA,约 5% 为 mRNA,其余为核内小 RNA 等。RNA 根据结构和分布位置的不同,执行不同的生理功能。

(1)mRNA。mRNA 是基因的转录产物,可以翻译成相应的蛋白质,遗传信息就是通过 mRNA 从基因传递到蛋白质的。一般来说,由于每种蛋白质都有其相应的 mRNA 分子,因此, mRNA 的种类很多。真核细胞的 mRNA 有两个特点:一是其 3'端都有一个多聚腺苷酸(poly A)序列,长 150~200 个核苷酸,它与 mRNA 的稳定性有关;二是 mRNA 分子中的 5'端都有一个帽子结构,其结构通式为 3'-mG-5' ppp5'-Nm-3'-p,5'末端的鸟嘌呤 N7 被甲基化,鸟嘌呤核苷酸经焦磷酸与相邻的一个核苷酸以 3',5'-磷酸二酯键连接。5'帽子结构与蛋白质合成的起始有关,并保护 mRNA 不被核酸酶降解。

成熟的 mRNA 不是由基因直接转录而来的。基因先转录成一个分子质量较大的 mRNA 前体,然后在细胞核中经过 5'加帽、3'加尾和剪除非翻译结构,才拼接成为成熟的 mRNA,然后进入细胞质中,与核糖体结合,行使其翻译模板的功能。

(2)tRNA。tRNA 是一种分子质量较小的 RNA,它由 70~90 个核苷酸组成,在蛋白质合成的过程中,它在酶的作用下能识别各种特定的氨基酸并与之结合,通过读取 mRNA 上相应的密码子,把特定的氨基酸加到多肽链的特定位置中。tRNA 的组成中有较多的稀有碱基。

(3)rRNA。rRNA 是构成核糖体的主要成分,而核糖体是合成蛋白质的工厂,mRNA 只有结合在核糖体上,才能被翻译成蛋白质。真核生物先在核仁内转录出 rRNA 前体,rRNA 前体与核糖体蛋白质结合成核蛋白颗粒,然后穿过质膜小孔进入细胞质中。这些颗粒上的 rRNA 和蛋白质再经过一系列加工,才能成为有功能的核糖体。动物细胞的 rRNA 根据大小可分为不同种类,如 5S rRNA、18S rRNA 等。许多 rRNA 的一级和二级结构都已阐明。

4. DNA 携带遗传信息

20 世纪 20 年代,科学家们证实染色体是由等量的 DNA 和蛋

白质组成的。由于 DNA 成分过于简单,因此,人们猜测,遗传物质是多样性丰富的蛋白质。直到 20 世纪中期,通过两项关键的实验报道,才证实遗传信息的载体是 DNA,而非蛋白质。

1944 年,哥伦比亚大学 Avery 及其合作者设计了肺炎双球菌转化试验,通过提取致病菌株的不同大分子成分并将其分别与非致病菌株进行温育,发现只有 DNA 可将非致病菌株转化为致病菌株,这说明遗传性质是由 DNA 提供的。

1952 年,美国冷泉港实验室的 Alfred 和 Chase 用放射性标记的噬菌体感染大肠杆菌,保温数分钟,使噬菌体吸附在细胞表面,并将其内部的 DNA 注入细胞中,通过振荡使噬菌体蛋白质外壳脱落,再离心收集含有噬菌体基因的细菌。结果证实,有 70% 的噬菌体 DNA 和 20% 的噬菌体蛋白质保留在细菌组分中。在完成新一轮生命史循环后,新产生的噬菌体中仍然含有 50% 原来的放射性 DNA,而原来的放射性蛋白质含量降为 1%。该结果表明, DNA 是噬菌体的遗传物质,并可遗传到子代噬菌体中。

(二)DNA 的复制

DNA 是遗传信息的载体,生物体在进行生长繁殖时,其子代细胞中的 DNA 必须保持和亲代 DNA 完全相同的结构,才能保持遗传信息的稳定,从而使性状保持不变。因此,在进行细胞分裂前,亲代 DNA 必须以自身为模板,合成一条与其结构完全一致的 DNA,然后传递给子代细胞。这个 DNA 合成的过程称为“复制”。

1. DNA 的复制方式及特征

(1)半保留复制。Watson 和 Crick 在提出 DNA 分子双螺旋结构模型的同时,也提出了 DNA 半保留复制假说。1957 年, Taylor 以蚕豆根尖细胞为原料,证明了真核细胞染色体 DNA 通过半保留方式进行复制。半保留复制的基本特征就是 DNA 在复制过程中,分别以双螺旋 DNA 中的两条链为模板,通过碱基互补配对原则,合成两条双链 DNA 分子,新合成的 DNA 分子中均保

留一条亲代 DNA 单链。

(2)复制的起点和方向。DNA 分子的复制通常都起始于一些特定的位置,这就是复制起点。大多数复制起点之所以都位于 A、T 富集区域,是因为它们之间的键能较低,容易解链,因而更易于与单链结合蛋白相结合并开始复制。真核生物的 DNA 分子质量非常大,它在复制时通常并不是从一个位置开始,而是从很多个复制起点开始,双向复制。

(3)复制需要 RNA 引物。DNA 聚合酶在合成核苷酸链时,不是从无到有地合成,而是必须在一段寡核苷酸链引物的引导下,顺次加上新的核苷酸。DNA 复制所需要的引物是 RNA 片段。RNA 引物(RNA Primer)在合成结束后通过 DNA 聚合酶的外切活性被切除。

(4)DNA 复制的半不连续性。DNA 新链的合成主要是在 DNA 聚合酶 III (DNA polymerase III, DNA pol III)的作用下进行的,该酶只具有 $5' \rightarrow 3'$ 方向合成的活性。由于作为模板的 DNA 双螺旋的两条链是反向平行的,因此,如果两条链的复制同时进行,就必须完全解开,各自从 $5'$ 端开始复制,然而这种复制实际上是无法进行的。1968 年,Okazaki 提出了 DNA 不连续合成的概念,DNA 在复制时双链出现叉状,称为“复制叉”。一条新的单链以 $3' \rightarrow 5'$ 方向的母链为模板,按 $5' \rightarrow 3'$ 方向连续合成,称为“前导链”(Leading Strand)。而另一条新的单链以 $5' \rightarrow 3'$ 方向的母链为模板,从多个起点开始,按 $3' \rightarrow 5'$ 方向不连续地合成一些 DNA 小片段,这种 DNA 小片段称为“冈崎片段”(Okazaki Fragments)。冈崎片段聚集在复制叉的周围,待各个片段相邻时,在 DNA 聚合酶 I (DNA polymerase I, DNA pol I)和连接酶的作用下,切去 RNA 引物,把小片段连接成一个长的 DNA 分子。这条链被称为“后随链”(Lagging Strand)。由于前导链的合成是连续的,而后随链的合成是不连续的,因此这种复制被称为“半不连续复制”。