

|生|命|科|学|前|沿|

化学生物学基础

刘 磊 陈 鹏 编著
赵 劲 何 川

Principles

ology



科学出版社

www.sciencep.com

生命科学前沿

化学生物学基础

刘 磊 陈 鹏 编著
赵 劲 何 川

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

化学生物学是现代化学和生命科学交叉的新兴领域。它的诞生不仅开拓了化学和生命科学的研究视野,也为更好地使用多学科手段解决诸如人类健康等社会重大问题提供了新的思路。大力发展化学生物学,不仅是基础科学发展的需要,也是我国赶超世界尖端科学技术所必须重视的战略方向。作为介绍这一重要新兴领域的基础教科书,本书希望能够更好、更早期地把现代科学前沿介绍给大学生,促使他们迅速成长为主导国家发展的拔尖创新人才。

本书分为三大部分十五章,系统地阐述了这一新兴学科的各方面基本概念、知识、技术和应用,包括化学生物学的分子基础、化学生物学的概念和技术,以及化学生物学的应用和延展。强调化学生物学的系统知识和学科全貌,同时兼顾学科发展趋势和在现代尖端科学技术中的应用。

本书适合作为高年级本科生、研究生、相关领域研究人员的教学用书或参考书。

图书在版编目(CIP)数据

化学生物学基础 / 刘磊等编著. —北京:科学出版社,2010

ISBN 978-7-03-028767-0

I. ①化… II. ①刘… III. ①生物化学-高等学校-教材 IV. ①Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 164471 号

责任编辑:李 晓 王 静 / 责任校对:刘亚琦

责任印制:钱玉芬 / 封面设计:耕者设计

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>

新 蕾 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010 年 9 月第 一 版 开本:B5(720×1000)

2010 年 9 月第一次印刷 印张:17 1/4

印数:1—3 000 字数:333 000

定价:48.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

序

化学生物学是一门新兴的交叉学科。它的萌生缘于化学的长期发展和成熟以及生物和医药科学研究的积累和需求。利用化学的原理、方法和具有生物活性的化合物来研究生命过程中的问题,在过去很长一段时间内已经在很多领域产生了重要成果,也带动了如蛋白质化学、结构生物学、受体药理学等学科的发展。特别是世纪之交基因组学、蛋白质组学的兴起和迅猛发展,标志着生命科学研究进入了一个崭新的时代。人类在研究和认识生命过程中的大量问题时越来越依赖多学科的合作。在这一形势下,化学面向生命过程的研究逐渐发展成了一个主要的研究领域和新兴的学科,化学遗传学(Chemical Genetics)、化学基因组学(Chemical Genomics)等研究相继出现。20世纪90年代美国哈佛大学将化学系更名为“化学与化学生物学系”,同时欧美的诸多大学也为研究生和高年级本科生开设了化学生物学课程,从而使化学生物学(Chemical Biology)形成了一个研究范围更广泛的新学科。2000年以来,美国国立卫生研究院(NIH)已把这一领域列为重要研究方向,国际很多制药公司把这一领域的研究作为发现新靶点和新药的途径,我国国家自然科学基金委也把化学生物学列为重大研究计划。我国的一些院校和研究单位也开始了这方面的研究并尝试在一些高校设立专业和培养研究生。

从研究内容上看,化学生物学是一门跨度非常广阔的学科。它主要包括:利用现代化学技术发现对生物体的生理过程具有调控作用的化学物质;系统地以这些生物活性分子作为探针和工具,研究它们与生物靶分子的相互识别作用和信息传递的机理,以达到对生物系统更深刻的理解;通过对生命过程中调控机制的了解以及对人类疾病发病机制的理解,为发现新生物靶点和新治疗药物打下基础,为医学研究提供新型诊断和治疗方法;化学生物学也为复杂生物体系的进行表态和动态分析提供新技术和新方法等。

如何将这一重要而又复杂的知识体系深入浅出地教授给我们的大学生和研究生,使他们在进入研究领域前获得基本的有关的知识准备,是高等教育的一个重要任务。目前国际上关于化学生物学的专著成系统的教材还很少。刘磊、陈鹏、赵劲、何川四位教授所编写的《化学生物学基础》,从生物大分子的分子基础开始,讲述了化学生物学的各个核心方法和技术,也介绍了化学生物学的拓展和应用。内容基本覆盖了化学生物学的各个领域,适合本科高年级学生以及研究生学习参考。刘磊、陈鹏、赵劲、何川四位教授本身在化学生物学领域都有长期研究工作的积累,

在本书中也有所反映。感谢他们在编写这本教科书时付出的努力,作为化学生物学领域的一本新编教科书,本书的出版将会在推动我国的化学生物学研究和教学中发挥积极作用。

北京大学医学部药学院



2010. 9. 1 于北京

前 言

化学和生物学是人类科学技术中的两大核心学科,化学与生物学之间的学科交叉产生了化学生物学。狭义的化学生物学是指使用化学小分子作为工具来解决生物学的问题,通常的研究手段是以使用合成或天然分子来干扰/调节蛋白质与核酸等生物大分子的功能和行为。笔者则更加倾向于广义的化学生物学,即面向生命科学的分子科学与分子工程。所谓面向生命科学,就是强调该学科的目的:从基础科学上讲是为了探索生命科学的奥秘,从实践应用上讲是为了解决人类的健康和医疗问题。所谓分子科学与分子工程,则强调了该学科的研究方法:从基础科学上分析是在分子水平上进行探索和阐释,从实践应用上分析则是依靠设计、发明、和创造新的分子工具来解决问题。因此,广义的化学生物学一方面要求我们去解决真正的生命科学问题,另一方面则强调我们使用充分体现了化学特色的技术与方法。

化学生物学的兴起一方面得益于现代生命科学技术的发展,为我们提出了大量重要的科学问题,例如疾病的发病机理和治疗、干细胞的可控利用与组织工程、生物环保和生物能源等。另一方面,现代分子科学与分子工程的巨大成就已经为我们设计使用各种合成分子提供了充分的基础,使得我们能够从被动的观察逐渐转变为主动的调控。积极地开拓化学生物学研究不仅为生命科学研究注入强大的推动力,也为化学学科的自身发展带来新的机遇和挑战。化学生物学与药物化学不同,后者侧重于化学小分子药物的发现与优化,而前者更加强调了对生命过程机理的发现、阐释和调控。化学生物学与生物化学或分子生物学也不同,后者是阐释生命过程中的化学,侧重于对客观生命现象的观察和描述;而前者是使用化学的概念、方法、和工具去研究生命科学问题,更加强调了主动地使用合成分子去调控生命过程。因此,化学生物学是在一个更加技术集成的高度上,更加紧密地将化学和生物学两大中心学科联系在一起。

化学生物学是一门新兴的重要学科,信息更新速度快,同时知识跨越范畴广。如何把化学生物学的基本知识和前沿动态传授给新一代的大学生,既是一个紧迫的任务,也是一个困难的课题。其紧迫性体现在国际著名高校,例如美国哈佛大学的化学与化学生物学系,都积极地开设了化学生物学的课程,这要求我们中国学者奋起直追。困难性则体现在世界上的化学生物学教材还较少,没有形成系统的教学规划。笔者作为几个不同高校的一线教师,都承担着化学生物学的教学任务,在自身教学工作实践的基础上,深感有必要编写一本关于这个学科的教学参考书,并

尝试探讨一下化学生物学的知识体系和教学框架。基于这个缘由,并在赵劲教授组织、南京大学生命科学学院承办的教育部 2009 年化学生物学暑期学校的教学成果基础上,我们根据自己的教案和讲义,编写了这个小册子,期望能够抛砖引玉。

由于笔者的学识之限,这本小册子并非化学生物学的一本学术专著,而是一本入门者的教学参考书。作为第一稿,我们在写作过程中可能会有种种错误和不足。尤其是在学科各个知识点的平衡方面,我们尽量照顾到化学生物学的多个方向,但限于我们的知识和写作篇幅,难免会有疏漏。因此笔者诚惶诚恐,衷心恳请读者能够谅解,并不吝赐教,以助我们改进。我们预期在一段时间后根据读者反馈意见和我们进一步的教学实践,不断修订再版从而持续提高。

我们要感谢在书稿修订和校阅过程中给予帮助的各位专家学者,他们的渊博学识为本书的顺利出版增添了光彩。他们是:清华大学的颜宁教授、杨茂君教授、和饶燊教授,北京大学的施章杰教授、焦宁教授、和黄岩谊教授,北京大学深圳研究生院的黄湧教授和潘峥婴教授,南开大学的洪章勇教授和梁广鑫教授,南京大学的孙为银教授、张燕教授和燕红教授,上海药物研究所的杨财广教授,北京生命科学研究所董梦秋研究员,中国科学院微生物研究所的吴胜研究员,大连化学物理研究所的赵宗保研究员以及芝加哥大学的伊成器博士、徐强教授和张良博士等。其次,本书的编写过程得到了课题组几位学生的大力协助,帮助我们整理了大量的文献资料与制作了精美的图片。没有他们的积极参与和帮助本书无法如期出版,在此我们深表谢意。

本书的出版还得到了很多师长的热情鼓励和无私帮助,他们是北京大学的张礼和院士、叶新山教授、赵新生教授、杨振军教授、和杨震教授,清华大学的赵玉芬院士、张希院士、施一公教授、王梅祥教授、胡跃飞教授、李艳梅教授、尉志武教授和李亚栋教授,中国科技大学的郭庆祥教授,南京大学的陈洪渊院士、郭子建教授、姚祝军教授、徐强教授和张辰宇教授,上海有机所的马大为教授,上海药物研究所的蒋华良教授,武汉大学的周翔教授,南开大学的席真教授,兰州大学的王锐教授,中山大学的毛宗万教授,中国医学科学院刘刚教授等,还有国家自然科学基金委员会杜灿平研究员、陈拥军研究员与冯雪莲研究员等的支持,在此一并致以崇高的敬意和衷心的感谢。最后感谢中国科学院科学出版基金、国家自然科学基金重点项目基金(20932006)、科技部重大研究计划(2011CB965300)、北京市有机化学重点学科建设项目(XK100030514)以及生命有机磷化学及化学生物学教育部重点实验室的资助。

刘磊、陈鹏、赵劲、何川
2010 年夏

目 录

第一部分 化学生物学的分子基础

第 1 章 多肽和蛋白质	3
1.1 多肽的化学生物学	3
1.2 蛋白质化学合成	9
1.3 蛋白质修饰和蛋白质药物.....	15
结语	20
第 2 章 核酸	21
2.1 核酸的分类、结构和合成	21
2.2 核酸与分子相互作用.....	28
2.3 核酸工具.....	30
2.4 DNA 损伤、修复和修饰.....	39
结语	40
第 3 章 糖的化学生物学	41
3.1 概述.....	41
3.2 糖的结构和分类.....	43
3.3 糖的合成.....	47
3.4 糖和蛋白质的相互作用.....	51
3.5 糖的序列分析和糖组学.....	54
3.6 糖的生物应用.....	55
结语	58
第 4 章 生命体系中的有机小分子	59
4.1 有机小分子的分类与简介.....	59
4.2 有机小分子的来源.....	66
4.3 生命体系中有机小分子的功能.....	70
结语	77
第 5 章 生命中的金属	78
5.1 生命中的金属元素及其研究简史.....	78
5.2 生物无机化学.....	79

5.3 专题讨论	84
结语	96

第二部分 化学生物学的概念和技术

第6章 基因组学和蛋白质组学	99
6.1 基因组学	99
6.2 蛋白质组学	106
结语	115
第7章 化学遗传学	116
7.1 概述	116
7.2 正向化学遗传学	118
7.3 反向化学遗传学	124
结语	129
第8章 组合化学与多样性导向合成	130
8.1 组合化学	130
8.2 小分子生物活性数据库 ChemBank	135
8.3 高通量筛选	135
8.4 多样性导向合成	137
8.5 组合化学与多样性导向合成在药物发现中的应用	144
结语	146
第9章 生物大分子的进化	147
9.1 自然界的生物大分子进化	147
9.2 化学生物学中的生物大分子进化方法	148
9.3 生物大分子进化的基本概念和思路	149
9.4 分子多样性的建立	150
9.5 分子库的放大	154
9.6 标记和区分蛋白质分子	154
9.7 挑选和筛选	156
9.8 生物大分子进化应用实例	157
结语	161
第10章 分子成像	162
10.1 荧光分子成像	162
10.2 磁共振分子成像	175
10.3 核素分子成像	178

结语.....	181
---------	-----

第三部分 化学生物学的应用和延展

第 11 章 生物催化	185
11.1 概述.....	185
11.2 生物催化的定义.....	185
11.3 酶催化的基本性质.....	186
11.4 生物催化剂的筛选以及改造.....	188
11.5 人工酶.....	191
11.6 生物催化的应用.....	192
11.7 生物催化剂的前景.....	200
结语.....	202
第 12 章 化学小分子药物	203
12.1 药物化学的定义及发展简史.....	203
12.2 药物作用原理.....	204
12.3 药物动力学.....	209
12.4 现代药物研发过程.....	211
12.5 当代药物发现经济学.....	217
结语.....	218
第 13 章 生物药物	219
13.1 生物药物概述.....	219
13.2 生物药物开发及制造过程.....	221
13.3 生物制药具体方法.....	223
13.4 重要的生物药物.....	228
13.5 现代生物技术在传统制药工业中的应用.....	237
结语.....	238
第 14 章 疾病诊断	239
14.1 概述:新型化学生物学方法在疾病检测中的应用意义	239
14.2 以质谱为基础的生物标记物检测技术.....	240
14.3 单克隆抗体诊断技术.....	242
14.4 Aptamer-SELEX 技术	244
14.5 分子成像检测技术.....	246
结语.....	252

第 15 章 合成生物学	254
15.1 合成生物学的发展历史及概念	254
15.2 合成生物学的研究方法和工具	255
15.3 合成生物学的研究方向	257
15.4 合成生物学展望	264
结语	264

第一部分
化学生物学的分子基础

第1章 多肽和蛋白质

- 1.1 多肽的化学生物学
 - 1.1.1 基本概念
 - 1.1.2 多肽化学合成
 - 1.1.3 肽模拟物
 - 1.1.4 多肽的应用和肽类药物
- 1.2 蛋白质化学合成
 - 1.2.1 蛋白质化学全合成
 - 1.2.2 蛋白质半合成
- 1.3 蛋白质修饰和蛋白质药物
 - 1.3.1 蛋白质修饰
 - 1.3.2 蛋白质药物

多肽和蛋白质是重要的生物大分子,它们具有重要的生理活性,调节着生命活动,很多疾病的发生都与其结构或功能的异常相关,因此,关于多肽和蛋白质的研究具有重要的现实意义和应用价值。目前,在化学生物学领域对于多肽和蛋白质的研究主要集中在多肽的化学生物学、蛋白质化学合成以及蛋白质修饰和蛋白质药物三个方面,本章将主要介绍这三方面的内容。

1.1 多肽的化学生物学

1.1.1 基本概念

1. 多肽的化学构成

肽是氨基酸的聚合物,每两个氨基酸单元之间以酰胺键相连接。尽管在各种生物体内已发现 180 多种氨基酸,但是在天然多肽和蛋白质的水解产物中一般只含有 20 种 L 型的 α -氨基酸。

2. 肽的分类

以多肽的来源区分,主要有核糖体多肽、非核糖体多肽和合成多肽。核糖体多肽由 mRNA 翻译合成,主要包括激素和信号分子,还有一些抗生素,具有转译后修饰过程,如磷酸化、羟基化、糖基化、碘化、双硫化等(图 1-1)。非核糖体多肽由特定的非核糖体多肽酶催化合成,不依赖于核酸决定的氨基酸序列和核糖体,如最常见的谷胱甘肽(图 1-2)。

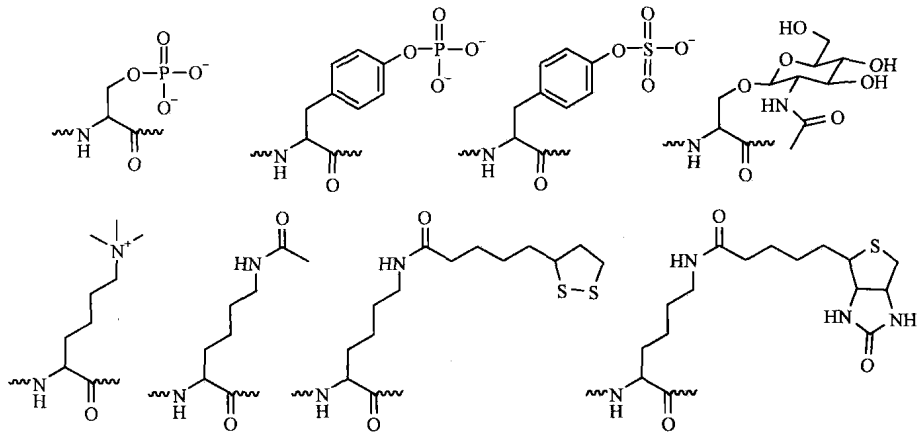


图 1-1 核糖体多肽修饰

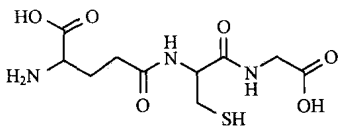


图 1-2 谷胱甘肽

以肽链骨架来区分,可分为线性肽和环肽。线性肽在末端有自由羧基和自由氨基。而环肽是由末端氨基和羧基形成酰胺键成环或由端基和侧链连接成环。

以肽链中氨基酸数目区分,可分为寡肽和多肽。寡肽通常含有少于 15 个氨基酸,而多于 15 个氨基酸即为多肽。以肽链中化学键的性质区分,可分为同肽和杂肽。同肽的骨架中纯粹是酰胺键,而杂肽结构中含有酯键、二硫键、硫酯键等。

1.1.2 多肽化学合成

1. 肽键形成原理和保护基

多肽合成就是形成肽键的过程,即一个氨基酸的氨基亲核进攻另一个氨基酸被活化的羧基部分而形成肽键。反应中为获得单一目标产物,两个氨基酸的其他活性基团必须进行保护。肽键的形成一般分为三个步骤(图 1-3):第一步,制备部分保护的氨基酸,形成只有单一活性位点的氨基酸衍生物;第二步,将氨基保护的氨基酸羧基部分进行活化,形成活性中间体,再与自由氨基反应形成酰胺键;第三步,对氨基酸的保护基进行选择性的脱除或全脱除。

保护基是肽合成的重要方面。根据选择性的不同,可以分为临时性保护基和半永久性保护基。临时性保护基在形成下一个肽键之前需要脱除,一般用于氨基或羧基的暂时性保护,其脱除过程不影响半永久性保护基。而半永久性保护基一般用于侧链的保护,通常在目标序列合成结束后脱除。对于保护基,在所有操作过程中都不能发生消旋,也不能影响溶解性,必须符合正交保护原则。

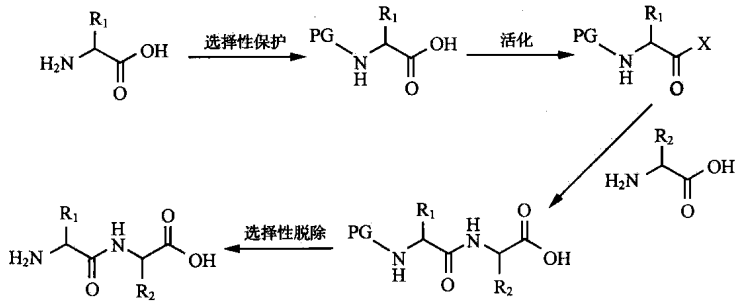


图 1-3 肽键的形成过程

2. 化学合成多肽的发展历程

在肽化学的早期阶段,多肽合成在液相中进行。1901年,德国化学家 Fischer 首先在溶液中合成了 Gly—Gly,1907年又合成了十八肽。进入 20 世纪中期,人们成功地合成了一些生物活性肽,如催产素、胰岛素,并在多肽合成方法和保护基技术等方面取得了很大进步。1963年,Merrifield(1984年诺贝尔化学奖获得者)提出了固相多肽合成(SPPS)技术,并使用叔丁氧羰基(Boc)来保护 α -氨基,并在 1966年发明了第一台自动固相肽合成仪,使肽化学实现了巨大的飞跃。1972年,人们又发展出以 9-芴甲氧羰基(Fmoc)来保护 α -氨基的固相合成策略。目前,Boc 化学和 Fmoc 化学是多肽合成的主流方法。

3. 液相多肽合成

液相多肽合成在固相合成技术出现之后逐渐被取代。但由于其成本较低,因此在目前一些商业肽的制备中仍有应用。液相肽合成一般采用线性或收敛式两种策略,通常只能用于合成短肽。液相多肽合成的一个问题是溶解度,这是因为肽片段在常见有机溶剂中溶解度很小。另外,为了提高产率,在每一步的缩合过程中氨基酸片段都需要过量,造成了每一步分离纯化都很困难和繁琐,而且合成周期很长,因此在长肽的合成中液相方法几乎难以实现。

4. 固相多肽合成

固相多肽合成技术是目前最有效的多肽合成方法。其常规步骤是:①首先将多肽序列 C 端的氨基酸通过连接臂(linker)键连到树脂(resin)上;②然后脱除其氨基上的临时性保护基;③再与下一个氨基酸进行缩合;④反复进行脱保护和缩合两个步骤直到目标序列被合成出来;⑤最后脱除半永久性保护基(图 1-4)。在每一步循环操作过程中,肽序列始终连接在树脂上,因而过量的反应试剂和副产物都

可以被过滤除去,代替了液相合成中的分离纯化,极大简化了操作过程。

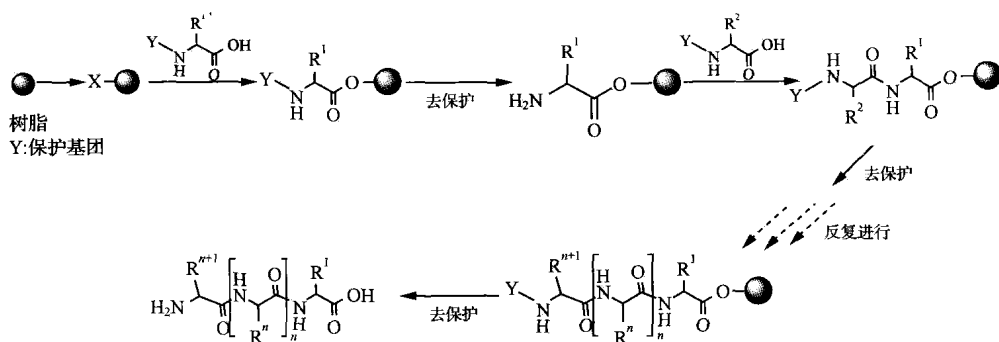


图 1-4 固相多肽合成

根据保护策略的不同,主要有 Boc 和 Fmoc 两种方法(表 1-1)。Boc 方法中一般使用 TFA(三氟乙酸)脱除保护基,并以 HF 进行最后的裂解处理;而 Fmoc 方法使用哌啶溶液脱除保护基,以 TFA 进行最后裂解处理。两者对比,Boc 方法可以避免多肽在树脂上形成 β 折叠结构,因而在长肽的合成中较为有利,但其裂解条件苛刻,且不利于某些脆弱多肽(如糖肽)的合成。Fmoc 方法由于 β 折叠的形成,在长肽合成中效率较低,但其优点是裂解条件温和、副反应少,可获得侧链暂时保护的序列。

表 1-1 SPPS 中 Fmoc 和 Boc 方法的比较

类型	常用载体	脱除保护基条件	裂解条件	自动化合成
Boc	Merrifield Pam MBHA	30%~50%TFA/DCM	强酸	很少应用
Fmoc	Wang Trt Rink HMPA	20%哌啶/DMF	弱酸	方便

5. 环肽的合成

在肽化学研究中,环肽也是重要的一大类,它们往往具有独特的生物活性。一般环肽有四种拓扑环合方式:主链头-尾环合、侧链-侧链环合、侧链-头环合、尾-侧链环合。对于环肽的酰胺键环合,理论上所有形成肽键的反应都能适用。但是,环合反应通常比普通酰胺键生成反应慢很多,需要延长反应时间,而反应时间的延长容易造成消旋以及其他副反应。这就要求反应在 $10^{-4} \sim 10^{-3}$ mol/L 的高度稀释溶液中进行,并且尽量选择甘氨酸或脯氨酸作为环化位点。固相或液相合成方法都可用于环肽合成。可以先在固相合成线性序列,再从树脂上切下在溶液中进行环化;也可以选择某一氨基酸的侧链连在树脂上,环合后再切下。