



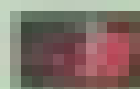
血型糖蛋白的生物学 与有关疾病

**Glycophorins: Biology
and Disease Associations**

卢义钦 刘俊凡 编著

黄承汉 评阅

中南大学出版社
www.csupress.com.cn



血型糖蛋白的生物学 与临床意义

Glycophorins: Biology
and Disease Associations

2000年10月

第1卷 第1期

1999年10月

血型糖蛋白的生物学与有关疾病

Glycophorins: Biology and Disease Associations

卢义钦 刘俊凡 编著

黄承汉 评阅

中南大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

血型糖蛋白的生物学与有关疾病/卢义钦,刘俊凡编著.

—长沙:中南大学出版社,2010.10

ISBN 978-7-5487-0120-0

I. 血... II. ①卢...②刘... III. 糖蛋白-研究 IV. Q513

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 203657 号

血型糖蛋白的生物学与有关疾病

卢义钦 刘俊凡 编著

☐责任编辑 谢新元

☐责任印制 文桂武

☐出版发行 中南大学出版社

社址:长沙市麓山南路

邮编:410083

发行科电话:0731-88876770

传真:0731-88710482

☐印 装 长沙利君漾印刷厂

☐开 本 880 × 1230 1/32 ☐印张 6 ☐字数 154 千字

☐版 次 2010 年 11 月第 1 版 ☐2010 年 11 月第 1 次印刷

☐书 号 ISBN 978-7-5487-0120-0

☐定 价 18.00 元

• 内容提要 •

MNSs 血型是继 ABO 血型后被确认的第 2 个重要血型系统。血型糖蛋白 (GP) 构成了人类该血型与非人灵长类动物 V-A-B-D (类似 MN) 血型抗原的主要组分。GP 家族 5 个成员 (GPA、GPB、GPC、GPD 和 GPE) 的蛋白质结构已被阐明, 属于跨膜糖蛋白; 它们的 5 个基因定位在第 4 号和第 2 号染色体上。GP 参与红细胞膜和骨架的构建, 维持红细胞的正常形态, 其各型变种反映了 GP 结构的多态性。近 50 年来, GP 研究进展迅速, 临床医学的许多领域与 GP 的联系日趋密切, 包括某些血液病、红细胞膜病、遗传病、心血管疾病、糖尿病、环境辐射和工业污染, 以及某些肿瘤与癌前疾病等。

本书共分 6 章, 系统简介了 GP 的分离、纯化与鉴定, 其蛋白质结构与基因定位, GP 变种形成的分子机理, GP 的血型抗原性, 入侵疟原虫配体与红细胞受体的相互作用, 以及 GP 与有关疾病等。本书所涉及的 GP 基本知识, 对医学生、研究生, 生化与分子生物学、免疫学、血液学和输血医学的教师, 医师与研究工作者, 均有一定裨益和参考意义, 不失为一本图文并茂的实用专著。

Preface

We are delighted to have the opportunity reading and commenting on the monograph entitled "Glycophorins: Biology and Disease Associations" authored by Drs. Yiqin Lu and Junfan Liu. In this monograph, they portray the protein biochemistry, molecular genetics, and disease associations of a unique class of red blood cell membrane proteins named Glycophorins. These glycoproteins are also cell-surface immunoactive molecules that carry the antigens for MNSs blood groups, an antigenic system displaying extensive polymorphism at the level of world human populations. The book covers nearly all aspects of Glycophorins and offers a well-balanced synthesis of the past, present, and future prospects of the research field. Its explicit writing style, combined with the comprehensively illustrated figures, make our reading enjoyable and entertaining.

Dr. Lu, as a close colleague, had once worked with us and thus we share a common interest in research of Glycophorins. Both he and his wife Dr. Liu came to Dr. Blumenfeld's laboratory as Visiting Scholars at a time when China was opening up to the world with its challenging plans for reform. Being a diligent, genuine research scientist Dr. Lu was absorbed in his work right away and subsequently made important contributions to the Glycophorin field. He pioneered the application of Western blotting technique to the analysis of MNSs Glycophorins of human and nonhuman primates and simplified the method just by using a total red cell lysate. These changes, well documented in his publications, greatly eased sample preparation and improved the efficiency of population screening. After he

returned to China, Dr. Lu continued to lead research on Glycophorins, opening new directions and making original observations on their genetic diversity in the Chinese population. These studies and their results are outlined in the various chapters of this monograph.

Human Glycophorins, particularly Glycophorin A (GPA), constitute a rich subject, of historical importance with regard to their serological, biochemical and molecular-genetic investigations. The authors lucidly organize the content into six chapters beginning with the classical biochemical approaches to the isolation, purification, and identification of human glycophorins. This basic biochemical principle is then extended to Chapter 2 in which the protein structure and gene localization of human Glycophorins are described in detail. In Chapter 3, the phenotypic diversity of Glycophorins, their geographic distribution, and underlying molecular genetic basis are dissected. Chapter 4 describes the immunological and structural properties of glycophorin-associated blood group antigens as well as their relevance to blood group typing and blood transfusion. Chapter 5 is specifically dedicated to the role of Glycophorins as receptors in malaria parasite invasion and host-parasite interactions. Adding strength to this chapter, invasion of human red blood cells by malaria parasites through non-Glycophorin receptors is presented and compared with the Glycophorin receptors. Finally in Chapter 6, the association of human Glycophorins with various disease conditions is discussed in the context of disease markers, infectious agent ligands, and protein structure/function relationships.

The science of human blood groups was born with the discovery of ABO blood groups by Nobel Prize laureate Karl Landsteiner at the beginning of the last century. The subsequent discovery of M and N antigens by Karl Landsteiner and Philip Levine added a new chapter to the

book of human blood groups. The story continues unfolding and has led to an expansion to some 30 blood group systems to date. Given the fact that human Glycophorin was the first membrane protein that could be isolated in pure state and the first example with a determined amino acid sequence, this protein was picked as a key textbook model for membrane proteins. Science evolves with trends just like fashion shows, so Glycophorin took a back seat, when more attractive or better models appeared. Nevertheless, as Nobel Prize laureate Ramon y Cajal S put it: "Nature is a harmonious mechanism where all parts, including those appearing to play a secondary role, cooperate in the functional whole". We still do not completely understand the structure-function relationships of Glycophorins. Thus, we highly appreciate Dr. Lu and Dr. Liu's effort to put out such a comprehensive monograph on Glycophorins and enthusiastically recommend it to Chinese students and scholars who study and work in fields of Biochemistry, Molecular Genetics, Hematology, Immunohematology, and Transfusion Medicine.

Olga O. Blumenfeld, Ph. D.
Professor of Biochemistry
Department of Biochemistry
Albert Einstein College of Medicine
Bronx, NY 10461

Cheng-Han Huang, M. D. , Ph. D.
Head
Laboratory of Biochemistry and Molecular Genetics
New York Blood Center
New York, NY 10065

序言(译文)

我们很高兴有机会阅览及评注卢义钦、刘俊凡两位教授之专著《血型糖蛋白的生物学与有关疾病》。在这本专著中,他们描述了一类特别的称为“血型糖蛋白”的红细胞膜跨膜蛋白,包括它们的蛋白质生物化学、分子遗传学及其与疾病之联系。这些糖蛋白也是细胞表面的免疫活性分子,携带着 MNSs 血型,是一个在世界人群中呈现广泛多态性的抗原系统。本书涵盖了血型糖蛋白的几乎所有方面,并提供了该研究领域的过去、现状及未来展望的全面综论。其直述明晰的写作风格,伴以增进理解的插图,令读者愉从中来。

卢教授曾是和我们一起工作过的亲密同事,因而在血型糖蛋白研究方面享有共同的兴趣。卢教授及其夫人刘俊凡教授作为访问学者,在中国向世界开放展示其改革的挑战性计划时,来到奥嘉·布鲁门菲尔德教授的实验室工作。作为一名勤奋而真诚的研究科学家,卢教授当即全心投入工作,而后对血型糖蛋白研究领域作出了重要的贡献。他先创性将免疫印迹技术应用于人类及非人灵长类血型糖蛋白的分析,并改善简化了使用全红细胞溶胞物的方法。如其发表的论文所证述,这些改变极大地简化了样品制备,因而极大地提高了人群普查效率。返回中国之后,卢教授继续引领血型糖蛋白之研究,开拓了新的研究方向,对中国人群中血型糖蛋白的分布及遗传变异作出了原创性的发现。他本人的研究及创意结果,在各个章节的字里行间均扼要论及。

人类血型糖蛋白,尤其是血型糖蛋白 A(GPA),在其血清学、生物化学及分子遗传学方面构成了具有历史重要性且内涵丰富的一个研究课题。本书作者以人类血型糖蛋白的分离、提纯和鉴定等经典生化

手段伊始,明了而有机地将这本专著组织成6章。该基础生化原理顺延至第2章,详尽地描述了人类血型糖蛋白的蛋白质结构及基因定位。第3章重点阐述了血型糖蛋白之表型趋异、地域分布及分子遗传学基础。第4章则描述血型糖蛋白相关血型抗原的免疫学及结构特征,以及它们与血型鉴定和输血之间的关联。第5章主要涉及血型糖蛋白在作为疟原虫入侵红细胞时的受体作用,以及在宿主和寄生虫相互作用时的变化,本章对其他非血型糖蛋白作为疟原虫入侵红细胞的受体方面亦有所介绍和比较,因而加强了论述。最后,在第6章,作者从疾病标志物、传染体配基和蛋白质结构功能关系等方面,讨论了人类血型糖蛋白与各种疾病的关系。

人类血型的科学诞生于20世纪初诺贝尔奖得主Karl Landsteiner有关ABO血型之原创发现。随后由Karl Landsteiner和Philip Levine发现的M和N血型,撰写了人类血型的又一新篇章。人类血型的有关报道持续不断地展开,到目前为止,已扩充至30个血型系统。人类血型糖蛋白是第一个以纯化状态分离,且被确定氨基酸序列的膜蛋白。基于这一事实,人类血型糖蛋白曾是教科书撷取的重要膜蛋白模型。科学发展如同时装秀,由于更好或更令人注目的模型不断涌现,人类血型糖蛋白作为膜蛋白之“职业模特”的作用已退居其次。然而,诚如诺贝尔奖得主Ramon y Cajal S所言:“大自然是一种和谐的机制,其所有部分,包括那些看似起次要作用的部分,可协调达成一个功能的整体。”我们对人类血型糖蛋白结构-功能相关的了解仍未完结。有鉴于此,我们高度赞赏卢、刘教授推出这部专著之努力,并热情地将它推荐给在中国从事生物化学、分子遗传学、血液学、血液免疫学和输血医学工作与研究的学生和学者。

Olga O. Blumenfeld, Ph. D.

Cheng-Han Huang, M. D., Ph. D.

(此序言由黄承汉翻译)

自序

1927年, Landsteiner 与 Levine 首先发现红细胞的 M 和 N 抗原, 1947 年 S 和 s 抗原获得血型鉴定。MNSs 血型是继 ABO 血型之后被确认的第二个血型系统。血型糖蛋白(GP)所携表面抗原决定簇, 是 MNSs 血型系统抗原呈现多样性(diversity)的分子基础。近 50 年来, GP 研究的迅速进展令人瞩目, 其 5 个主要成员的蛋白质结构与基因定位均已被充分阐明。GP 参与红细胞膜和骨架的构建, 对维持红细胞的正常形态起有重要的稳定作用。它还是疟原虫和某些病原体入侵时宿主红细胞的膜受体。越来越多的资料证实, 与 GP 有关的疾病涉及甚广, 包括某些血液病、红细胞膜病、糖尿病、心血管疾病、遗传病、环境辐射和工业污染, 以及某些癌肿与癌前疾病等。

1984 - 1989 年间, 我们有机会两次赴美国纽约爱因斯坦医学院留学访问。在 Blumenfeld 和 Nagel 两位教授的指导下, 参加了该校生化系与内科血液学研究室的科研工作, 从事 GP 的分离、纯化和鉴定, 完善 GP 的免疫印迹检测方法, 比较人和非人灵长类动物红细胞膜 GP 的多态性, 以及观察恶性疟原虫入侵人红细胞时膜 GP 的改变。对 GP 研究的这一前沿领域, 更新了知识并拓宽了视野。回国后, 在中央卫生部医学重点科技项目基金和国家自然科学基金支持下, 我们继续开展了我国人群中 GP 变种的筛查与基因分析, 研究贵州省荔波县某间日疟高发区 GP 变种分布与疟疾流行的关系, 以及探索 2 型糖尿病患者红细胞膜 GPA 的基因表达等。

鉴于 GP 在生命科学和临床医学中的重要意义, 我国目前尚缺少一本系统介绍 GP 的专著。我们不揣冒昧, 浏览收集近期相关文献, 并结合本实验室的研究结果编写了这本专著, 旨在跟踪国外 GP 研究的

新进展,以供国内同行了解和参考。学海浩瀚,限于我们的学识水平,编写讹误、疏漏之处在所难免,盼读者不吝赐教。

历时两载寒暑,此专著的编写已告完成并即将付梓。在其编写与出版期间,承美国纽约血液学中心黄承汉教授对书稿进行详尽评阅,又承纽约爱因斯坦医学院生化学系 Blumenfeld 教授与黄教授为本书共同撰写序言,其行文风趣,分析精辟,我们表示衷心的感谢。中南大学研究生院处长陈立章教授对本书的出版曾给予热情支持和资助。另外,在筹建专著的出版基金时,承蒙黄承汉,刘斯奇,张殿政,陈汉春,唐建华,王力飞,周玉球,林峰,夏晖,李虹,吉琼梅,刘立鹏,卿之驹,肖创清,周毅刚,李文凯等教授和老师鼎力相助,共襄盛事,情谊铭心,兹一并深致谢忱。

卢义钦 刘俊凡

于中南大学湘雅医学院
生物科学与技术学院生化学系
2010年5月

目 录

导言 GP 的概念, 分类和命名	(1)
第1章 人 GP 多肽的分离、纯化与鉴定	(2)
1. 人红细胞膜 GP 的分离	(2)
1.1 人红细胞膜的制备	(2)
1.2 吡啶溶解与乙醇沉淀	(2)
1.3 GP 糖脂的脱脂	(3)
2. GP 的柱层析纯化	(4)
3. GP 纯品的鉴定	(4)
3.1 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)	(4)
3.2 与抗 GP 多克隆抗血清的免疫反应	(6)
第2章 GP 的蛋白质结构与基因定位	(9)
1. 人血型糖蛋白(GP)	(9)
1.1 蛋白质结构	(9)
1.1.1 GPA	(9)
1.1.2 GPB	(12)
1.1.3 GPE	(13)
1.1.4 GPC	(14)
1.1.5 GPD	(16)
1.2 基因定位	(16)

1.2.1	GPA	(17)
1.2.2	GPB	(17)
1.2.3	GPE	(18)
1.2.4	GPC	(19)
1.2.5	GPD	(19)
2.	红细胞 GP 的免疫印迹检测技术	(22)
2.1	红细胞的制备	(22)
2.2	聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)	(22)
2.3	Western 免疫印迹	(22)
2.4	抗血清与抗体的制备和性质	(23)
2.4.1	抗 GP 多克隆抗血清	(23)
2.4.2	抗 α GP 羧基末端 C 肽的抗血清	(24)
2.4.3	M 与 N 血型特异性单克隆抗体	(24)
2.5	GP 免疫印迹检测技术的方法学	(27)
3.	非人灵长类动物的 GP	(28)
3.1	蛋白质结构与产物	(28)
3.1.1	非人灵长类动物的人 α -样 GP	(28)
3.1.2	非人灵长类动物 GP 与 M-/N-MoAbs 的反应	(29)
3.2	基因结构与表达	(31)
3.2.1	基因组组合	(31)
3.2.2	限制性酶切分析(restriction enzyme analysis)	(33)
3.2.3	GPA 基因家族的转录本	(36)
第 3 章	GP 变种及其等位基因变异的分子机理	(44)
1.	人 GP 变种研究进展	(46)
1.1	GP 变种的蛋白质结构	(46)

1.2 GP 变种的杂化基因组合机理	(46)
1.2.1 不等交换	(46)
1.2.2 基因转换	(48)
1.3 经随机组合的 DNA 重排而生成的 GP 变种基因	(49)
1.3.1 Miltenberger 复合体	(49)
1.3.2 GP St ^a	(56)
1.3.3 GP Dantu	(58)
1.3.4 GP He 与 S-s-变种	(59)
1.3.5 见于我国人群的 GP 变种	(60)
1.4 基因缺失所致 GP 变种	(62)
2. 非人灵长类动物的 GP 同系物	(62)
3. 回顾与展望	(65)
第4章 GP 的血型抗原性	(72)
1. MNSs 血型系统	(72)
1.1 分子结构	(73)
1.2 抗原性特征	(74)
1.3 遗传与有关疾病	(76)
2. Ge 血型	(78)
2.1 Ge 血型的载体	(78)
2.2 Ge 抗原的命名	(80)
2.3 Ge 变种的基因结构	(81)
2.3.1 Leach 表型(Ge:-2,-3,-4)	(81)
2.3.2 Yus 表型(Ge:-2,3,4)与 Ge 表型 (Ge:-2,-3,4)	(82)
2.3.3 Ls ^a (Lewis II)变种	(83)
2.3.4 Webb(Wb)变种	(83)

第5章 疟原虫入侵时红细胞膜 GP 或 SGP 的改变	(87)
1. 裂殖子入侵红细胞表面的生化背景	(88)
2. 恶性疟原虫(<i>Plasmodium falciparum</i> , Pf)	(89)
2.1 Pf 的糖代谢	(89)
2.2 Pf 入侵时参与配体-受体相互作用的蛋白质	(92)
2.2.1 疟原虫蛋白(即配体)	(92)
2.2.2 红细胞受体	(94)
2.3 血型抗原与 Pf 入侵	(98)
3. 间日疟原虫(<i>Plasmodium vivax</i> , Pv)	(98)
4. 夏氏疟原虫(<i>Plasmodium chabaudi</i> , Pc)	(99)
5. 约氏疟原虫(<i>Plasmodium yoelli</i> , Py)	(101)
6. 疟原虫向红细胞输出的蛋白质	(103)
7. 疟疾感染所致红细胞遗传障碍	(106)
(1) 红细胞某些膜蛋白的所属基因缺失	(106)
(2) 遗传性红细胞形态异常	(106)
(3) 血红蛋白病(hemoglobinopathies)	(106)
(4) 红细胞某些酶类的遗传缺陷或变异	(106)
(5) 某些 GP 变种	(107)
第6章 血型糖蛋白与有关疾病	(113)
1. 某些血液病	(113)
1.1 人 GPA 基因座的体细胞突变频率检测	(113)
1.2 造血干细胞障碍	(114)
1.3 镰状红细胞疾病(SCD)	(116)
1.4 溶血性贫血	(117)
1.5 先天性贫血	(119)
1.5.1 先天性红细胞生成不良性贫血(CDEA)	

.....	(119)
1.5.2 先天性再生障碍性贫血(FS)	(119)
1.6 白血病	(120)
1.7 霍奇金病(Hodgkin's disease)	(121)
1.8 多发性骨髓瘤	(121)
1.9 多凝集能综合征(polyagglutinability syndrome, POS)	(122)
2. 红细胞膜病(erythrocyte membranopathies)	(122)
2.1 红细胞膜蛋白的相互作用	(122)
2.1.1 垂直相互作用(vertical interactions)	(123)
2.1.2 平行相互作用(horizontal interactions) ..	(124)
2.2 红细胞膜蛋白相互作用缺损的分子机理	(124)
2.3 伴有异常GPA的椭圆形红细胞贫血.....	(125)
2.4 缺失3种较小GP所致椭圆形红细胞症	(127)
2.5 GPC 缺失所致棘红细胞症(echinocytosis)	(128)
3. 某些病原体的入侵	(130)
3.1 呼肠孤病毒(reovirus, Rv)的受体	(130)
3.2 霍乱弧菌E1Tor 溶血素(ETH)的受体	(130)
3.3 杆菌状巴顿体(Bartonella bacilliformis, Bb)的入侵	(131)
3.4 牛小病毒(Bovine parvovirus, BPV)的入侵	(131)
3.5 杆状巴贝虫(Babesia rodhaini, Br)感染	(132)
4. 糖尿病	(132)
4.1 2型糖尿病的GPA基因表达	(132)
4.2 糖尿病的异常红细胞聚集	(134)
5. 心血管疾病	(134)
6. 原子弹爆炸幸存者的红细胞GPA基因座突变.....	(135)
6.1 Langlois 等的初步调查	(136)