



面向 21 世纪课程教材

Textbook Series for 21st Century

全国高等医药院校教材 • 供基础、预防、临床、口腔医学类专业用

生物化学

第五版 主 编 周爱儒
副主编 查锡良



人民卫生出版社



面向 21 世纪课程教材

责任编辑 祁 军 ● 封面设计 赵京津

ISBN 7-117-03892-6



9 787117 038928 >

定 价：37.30 元

面向 21 世纪 课程教材
全国高等医药院校教材
供基础、预防、临床、口腔医学类专业用

生物化学

第五版

主编 周爱儒

副主编 查锡良

编者 (以姓氏笔画为序)

于秉治 (中国医科大学)	赵宝昌 (大连医科大学)
马润泉 (中山医科大学)	周爱儒 (北京大学医学部)
王学敏 (第二军医大学)	药立波 (第四军医大学)
刘秉文 (华西医科大学)	查锡良 (复旦大学医学院)
宋惠萍 (湖南医科大学)	贾弘提 (北京大学医学部)
屈 伸 (华中科技大学同济医学院)	温博贵 (汕头大学医学院)

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学/周爱儒主编. - 5 版. - 北京:
人民卫生出版社, 2000
ISBN 7-117-03892-6

I. 生… II. 周… III. 生物化学-医学院校-教材
IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 39272 号

生 物 化 学
(第 五 版)

主 编: 周 爱 儒
出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)
地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼
网 址: [http://www. pmph. com](http://www.pmph.com)
E - mail: pmph @ pmph. com
印 刷: 北京人卫印刷厂
经 销: 新华书店
开 本: 850×1168 1/16 **印张:** 31.25
字 数: 648 千字
版 次: 1978 年 12 月第 1 版 2002 年 1 月第 5 版第 37 次印刷
标准书号: ISBN 7-117-03892-6/R·3893
定 价: 37.30 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究
(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

全国高等医药院校五年制临床医学专业

第五轮教材修订说明

为适应我国高等医学教育改革和发展的需要,经卫生部临床医学专业教材评审委员会审议,卫生部教材办公室决定从1998年开始进行临床医学专业教材第五轮修订。在总结第四轮教材编写质量、使用情况的基础上,提出第五轮修订要面向21世纪,遵循培养目标,适用于本科五年制教学需要;突出教材三基(基础理论、基本知识和基本技能)、五性(思想性、科学性、先进性、启发性和适用性)的特点,注重教材的整体优化及编写的标准化、规范化。同时决定第五轮教材的修订分两批进行,第二批修订是由全国高等医药教材建设研究会和卫生部教材办公室共同组织的。全套教材共50种,第五轮修订40种,新增10种,并有26种是五、七年制共用教材。随着学科发展的需要,教材名称以及必修课与选修课的科目也有所调整。

五年制五轮教材目录

必修课教材

- | | | | |
|------------------|---------|-----------------|---------|
| △1. 《医用高等数学》第三版 | 主编 张逸群 | 15. 《病理生理学》第五版 | 主编 金惠铭 |
| △2. 《医学物理学》第五版 | 主编 胡新珉 | 16. 《药理学》第五版 | 主编 金有豫 |
| △3. 《基础化学》第五版 | 主编 魏祖期 | △17. 《医学心理学》第三版 | 主编 姜乾金 |
| | 副主编 祁嘉义 | △18. 《法医学》第三版 | 主编 王保捷 |
| △4. 《有机化学》第五版 | 主编 吕以仙 | 19. 《诊断学》第五版 | 主编 陈文彬 |
| | 副主编 陆阳 | | 副主编 王友赤 |
| △5. 《医学生物学》第五版 | 主编 左伋 | 20. 《医学影像学》第四版 | 主编 吴恩惠 |
| △6. 《系统解剖学》第五版 | 主编 柏树令 | 21. 《内科学》第五版 | 主编 叶任高 |
| 7. 《局部解剖学》第五版 | 主编 彭裕文 | | 副主编 陆再英 |
| 8. 《组织学与胚胎学》第五版 | 主编 邹仲之 | 22. 《外科学》第五版 | 主编 吴在德 |
| △9. 《生物化学》第五版 | 主编 周爱儒 | | 副主编 郑树 |
| | 副主编 查锡良 | 23. 《妇产科学》第五版 | 主编 乐杰 |
| 10. 《生理学》第五版 | 主编 姚泰 | 24. 《儿科学》第五版 | 主编 王慕逖 |
| | 副主编 乔健天 | 25. 《神经病学》第四版 | 主编 王维治 |
| 11. 《医学微生物学》第五版 | 主编 陆德源 | | 副主编 罗祖明 |
| △12. 《人体寄生虫学》第五版 | 主编 詹希美 | 26. 《精神病学》第四版 | 主编 郝伟 |
| △13. 《医学免疫学》第三版 | 主编 陈慰峰 | 27. 《传染病学》第五版 | 主编 彭文伟 |
| 14. 《病理学》第五版 | 主编 杨光华 | 28. 《眼科学》第五版 | 主编 惠延年 |

- | | | | |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| 29. 《耳鼻咽喉科学》第五版 | 主编 田勇泉
副主编 孙爱华 | 34. 《卫生学》第五版 | 主编 仲来福
副主编 刘移民 |
| △30. 《口腔科学》第五版 | 主编 张志愿 | 35. 《预防医学》第三版 | 主编 叶莘莘 |
| △31. 《皮肤性病学》第五版 | 主编 张学军 | △36. 《中医学》第五版 | 主编 郑守曾 |
| △32. 《核医学》第五版 | 主编 李少林
副主编 张永学 | △37. 《计算机应用基础》第二版 | 主编 邹赛德
副主编 杨长兴 |
| 33. 《流行病学》第五版 | 主编 王建华 | △38. 《体育》第二版 | 主编 裴海泓 |

选修课教材

- | | | | |
|----------------|--------|----------------|--------|
| △39. 《细胞生物学》 | 主编 凌诒萍 | 45. 《临床流行病学》 | 主编 王家良 |
| △40. 《医学分子生物学》 | 主编 冯作化 | △46. 《康复医学》第二版 | 主编 南登昆 |
| △41. 《医学遗传学》 | 主编 陈 竺 | △47. 《医学文献检索》 | 主编 方 平 |
| 42. 《临床药理学》第二版 | 主编 徐叔云 | △48. 《卫生法》 | 主编 赵同刚 |
| 43. 《医学统计学》第三版 | 主编 马斌荣 | △49. 《医学导论》 | 主编 文历阳 |
| △44. 《医学伦理学》 | 主编 丘祥兴 | △50. 《全科医学概论》 | 主编 杨秉辉 |

注：画△者为五、七年制共用教材

全国高等医药院校临床医学专业 第四届教材评审委员会

主任委员 裘法祖

副主任委员 杨光华

委 员

(以姓氏笔画为序)

方 圻 (特邀)	卢永德	乐 杰	许积德
朱元珏	朱学骏	乔健天	吴恩惠
陆美芳	武忠弼 (特邀)	郑 树	周 申
周东海	金有豫	金惠铭	金魁和
钟世镇	谈一飞	彭文伟	董永绥

第五版前言

根据卫生部临床医学专业教材评审委员会四届五次会议精神，修订、编写了第五版《生物化学》规划教材。本版教材力求遵循临床医学专业的培养目标，努力适应 21 世纪医学教育的要求。与第四版比较，本版教材主要在以下两方面作了调整：①适当精简部分繁琐代谢过程的描述，加强分子生物学的有关内容。②反映医学特点，区别于综合性大学教材，加强与医学的联系。本教材适合五年制和七年制医学专业本科生用。

全书分四篇，共二十三章。第一篇：生物大分子的结构与功能，包括蛋白质、核酸与酶。第二篇：物质代谢及其调节，糖代谢章包括三羧酸循环，脂肪代谢与类脂代谢合并成脂类代谢章，生物氧化独立成章。这一篇的最后增加了“物质代谢联系与调节”章，以助于学生对物质代谢整体性与基本调节规律的认识。第三篇：基因信息传递，包括 DNA 生物合成(复制)、RNA 生物合成(转录)、蛋白质生物合成(翻译)、基因表达调控，以及基因重组与基因工程。这一篇的章次与第四版相同，但增加了一些新进展的内容。第四篇：专题篇。这一篇中除了信息传递、血液生物化学、肝的生物化学、维生素等基础内容外，还包括了近年来倍受关注的糖蛋白、蛋白聚糖与细胞外基质，以及一些与医学相关的专题，例如癌基因、抑癌基因与生长因子；基因诊断与基因治疗等。最后一章介绍常用分子生物学技术与人类基因组计划的基本知识。专题篇的内容较多，涉及面较广，各校可根据具体情况选择部分章节讲授，有些内容可供学生自学或作专题讲座使用。此外，按 1993 年临床医学专业教材评审委员会和主编会议决定，水、无机物代谢(包括钙磷代谢)、酸碱平衡仍归入《病理生理学》；生物膜归入《生理学》。

本教材在编写方法上，力争突出基本概念和基本知识，做到便于教与学。在各章的最后增加了“小结”，旨在帮助学生掌握各章的要点。正文后附主要参考资料，供进一步阅读用。本书还增加了汉英、英汉索引，以便查阅。

第五版教材是在前几版的基础上修订、编写而成的。前任主编张昌颖教授、顾天爵教授是我国德高望重的生物化学老前辈。他们深厚的学术造诣和严谨的治学态度为本教材的编写奠定了良好的基础。

本版教材由全国 11 所高等医学院校的 12 名生物化学教授编写。北京大学医学部(原北京医科大学)生物化学与分子生物学系朱滨同志担任编写组秘书。第二军医大学生物化学教研室负责部分绘图工作。复旦大学医学院(原上海医科大学)生物化学教研室承担索引编写。北京大学医学部(原北京医科大学)生物化学与分子生物学系刘新文、李载权协助整理和校对部分稿件。编写过程中，还得到卫生部教材办公室、

北京大学医学部、大连医科大学的大力支持，在此一并致谢。由于我们水平有限，本书难免存在缺点或不当之处，敬请同行专家、使用本教材的师生和其他读者批评指正。

周爱儒 查锡良

2000年4月

目 录

第一章 绪论	1
第一节 生物化学发展简史.....	1
第二节 当代生物化学研究的主要内容.....	2
第三节 生物化学与医学.....	3
第四节 本书纲要.....	4

第一篇 生物大分子的结构与功能

第二章 蛋白质的结构与功能	6
第一节 蛋白质的分子组成.....	6
一、氨基酸.....	6
二、肽.....	10
三、蛋白质的分类.....	11
第二节 蛋白质的分子结构.....	12
一、蛋白质的一级结构.....	12
二、蛋白质的二级结构.....	13
三、蛋白质的三级结构.....	16
四、蛋白质的四级结构.....	16
第三节 蛋白质结构与功能的关系.....	19
一、蛋白质一级结构与功能的关系.....	19
二、蛋白质空间结构与功能的关系.....	22
第四节 蛋白质的理化性质及其分离纯化.....	25
一、蛋白质的理化性质.....	25
二、蛋白质的分离和纯化.....	26
三、多肽链中氨基酸序列分析.....	29
四、蛋白质空间结构测定.....	31
第三章 核酸的结构与功能	33
第一节 核酸的化学组成.....	33
一、核苷酸中的碱基成分.....	33
二、戊糖与核苷.....	33
三、核苷酸的结构与命名.....	36
第二节 核酸的一级结构.....	36
第三节 DNA 的空间结构与功能.....	37

一、DNA 的二级结构——双螺旋结构模型	38
二、DNA 的超螺旋结构	40
三、DNA 的功能	40
第四节 RNA 的空间结构与功能	41
一、信使 RNA 的结构与功能	41
二、转运 RNA 的结构与功能	42
三、核蛋白体 RNA 的结构与功能	44
四、其他小分子 RNA	45
五、核酶	45
第五节 核酸的理化性质及其应用	45
一、核酸的一般理化性质	45
二、DNA 的变性	45
三、DNA 的复性与分子杂交	46
第六节 核酸酶	47
第四章 酶	49
第一节 酶的分子结构与功能	49
一、酶的分子组成	49
二、酶的活性中心	51
第二节 酶促反应的特点与机制	51
一、酶促反应的特点	52
二、酶促反应的机制	53
第三节 酶促反应动力学	54
一、底物浓度对反应速度的影响	54
二、酶浓度对反应速度的影响	57
三、温度对反应速度的影响	57
四、pH 对反应速度的影响	57
五、抑制剂对反应速度的影响	58
六、激活剂对反应速度的影响	62
七、酶活性测定与酶活性单位	62
第四节 酶的调节	63
一、酶活性的调节	63
二、酶含量的调节	64
三、同工酶	65
第五节 酶的命名与分类	66
一、酶的命名	66
二、酶的分类	67
第六节 酶与医学的关系	67
一、酶与疾病的关系	67
二、酶在医学上的应用	68

第二篇 物质代谢及其调节

第五章 糖代谢	72
第一节 概述	72
一、糖的生理功能	72
二、糖的消化吸收	72
三、糖代谢的概况	73
第二节 糖的无氧分解	73
一、糖酵解的反应过程	73
二、糖酵解的调节	77
三、糖酵解的生理意义	79
第三节 糖的有氧氧化	79
一、有氧氧化的反应过程	79
二、有氧氧化生成的 ATP	85
三、有氧氧化的调节	86
四、巴斯德效应	88
第四节 磷酸戊糖途径	88
一、磷酸戊糖途径的反应过程	88
二、磷酸戊糖途径的调节	90
三、磷酸戊糖途径的生理意义	91
第五节 糖原的合成与分解	91
一、糖原的合成代谢	92
二、糖原的分解代谢	93
三、糖原合成与分解的调节	94
四、糖原累积症	96
第六节 糖异生	97
一、糖异生途径	97
二、糖异生的调节	98
三、糖异生的生理意义	100
四、乳酸循环	101
第七节 血糖及其调节	102
一、血糖的来源和去路	102
二、血糖水平的调节	102
三、血糖水平异常	104
第六章 脂类代谢	107
第一节 脂类的消化和吸收	107
第二节 甘油三酯代谢	108
一、甘油三酯的合成代谢	108

二、甘油三酯的分解代谢	110
三、脂酸的合成代谢	116
四、多不饱和脂酸的重要衍生物——前列腺素、血栓噁烷及白三烯	120
第三节 磷脂的代谢	123
一、甘油磷脂的代谢	123
二、鞘磷脂的代谢	129
第四节 胆固醇代谢	130
一、胆固醇的合成	131
二、胆固醇的转化	133
第五节 血浆脂蛋白代谢	134
一、血脂	134
二、血浆脂蛋白的分类、组成及结构	135
三、载脂蛋白	137
四、血浆脂蛋白代谢	138
五、血浆脂蛋白代谢异常	141
第七章 生物氧化	144
第一节 生成 ATP 的氧化体系	144
一、呼吸链	144
二、氧化磷酸化	150
三、影响氧化磷酸化的因素	152
四、ATP	154
五、通过线粒体内膜的物质转运	155
第二节 其他氧化体系	158
一、需氧脱氢酶和氧化酶	158
二、过氧化物酶体中的氧化酶类	159
三、超氧化物歧化酶	159
四、微粒体中的氧化酶类	160
第八章 氨基酸代谢	163
第一节 蛋白质的营养作用	163
一、蛋白质营养的重要性	163
二、蛋白质的需要量和营养价值	163
第二节 蛋白质的消化、吸收与腐败	164
一、蛋白质的消化	164
二、氨基酸的吸收	165
三、蛋白质的腐败作用	167
第三节 氨基酸的一般代谢	167
一、氨基酸的脱氨基作用	169
二、 α -酮酸的代谢	171
第四节 氨的代谢	172

一、体内氨的来源	172
二、氨的转运	173
三、尿素的生成	174
第五节 个别氨基酸的代谢	179
一、氨基酸的脱羧基作用	179
二、一碳单位的代谢	181
三、含硫氨基酸的代谢	183
四、芳香族氨基酸的代谢	187
五、支链氨基酸的代谢	189
第九章 核苷酸代谢	191
第一节 嘌呤核苷酸代谢	192
一、嘌呤核苷酸的合成代谢	192
二、嘌呤核苷酸的分解代谢	198
第二节 嘧啶核苷酸代谢	199
一、嘧啶核苷酸的合成代谢	199
二、嘧啶核苷酸的分解代谢	203
第十章 物质代谢的联系与调节	205
第一节 物质代谢的特点	205
第二节 物质代谢的相互联系	206
一、在能量代谢上的相互联系	206
二、糖、脂和蛋白质代谢之间的相互联系	206
第三节 组织、器官的代谢特点及联系	208
第四节 代谢调节	210
一、细胞水平的代谢调节	210
二、激素水平的代谢调节	215
三、整体调节	216

第三篇 基因信息的传递

第十一章 DNA 的生物合成(复制)	220
第一节 半保留复制	220
一、半保留复制的实验依据	220
二、半保留复制的意义	221
第二节 DNA 复制的酶学	222
一、复制的化学反应	223
二、DNA 聚合酶	223
三、复制中解链和 DNA 分子的拓扑学变化	227

四、引物酶和引发体	229
五、DNA 连接酶	229
第三节 DNA 生物合成过程	230
一、复制的起始	231
二、复制的延长	234
三、复制的终止	236
第四节 DNA 损伤(突变)与修复	239
一、突变的意义	239
二、引发突变的因素	240
三、突变分子改变的类型	241
四、DNA 损伤的修复	242
第五节 逆转录现象和逆转录酶	245
第十二章 RNA 的生物合成(转录)	248
第一节 模板和酶	248
一、转录模板	248
二、RNA 聚合酶	249
三、模板与酶的辨认结合	252
第二节 转录过程	253
一、转录起始	253
二、转录延长	257
三、转录终止	258
第三节 真核生物的转录后修饰	261
一、真核生物 mRNA 的转录后加工	261
二、tRNA 的转录后加工	266
三、rRNA 的转录后加工	267
第十三章 蛋白质的生物合成(翻译)	272
第一节 参与蛋白质生物合成的物质	272
一、mRNA 是翻译的直接模板	272
二、核蛋白体是肽链合成的场所	274
三、tRNA 和氨基酸-tRNA	275
第二节 蛋白质的生物合成过程	277
一、翻译的起始	277
二、肽链的延长	281
三、肽链合成的终止	283
第三节 翻译后加工	284
一、高级结构的修饰	284
二、一级结构的修饰	285
三、蛋白质合成后的靶向输送	286

第四节 蛋白质生物合成的干扰和抑制	288
一、抗生素	288
二、干扰蛋白质生物合成的生物活性物质	289
第十四章 基因表达调控	292
第一节 基因表达调控基本概念与原理	292
一、基因表达的概念	292
二、基因表达的时间性及空间性	292
三、基因表达的方式	293
四、基因表达调控的生物学意义	294
五、基因表达调控的基本原理	294
第二节 原核基因转录调节	298
一、原核基因转录调节特点	298
二、乳糖操纵子调节机制	299
三、其他转录调节机制	301
第三节 真核基因转录调节	303
一、真核基因组结构特点	303
二、真核基因表达调控特点	304
三、真核基因转录激活调节	305
第十五章 基因重组与基因工程	310
第一节 自然界的基因转移和重组	310
一、接合作用	310
二、转化及转导作用	310
三、转座	312
四、基因重组	312
第二节 重组 DNA 技术	315
一、重组 DNA 技术相关概念	315
二、重组 DNA 技术基本原理	316

三、受体活性的调节	334
第三节 信息的传递途径	335
一、膜受体介导的信息传递	335
二、胞内受体介导的信息传递	342
第四节 信息传递途径的交互联系	343
第五节 信息传递与疾病	344
第十七章 血液的生物化学	346
第一节 血浆蛋白	346
一、血浆蛋白的分类与性质	346
二、血浆蛋白的功能	348
第二节 血液凝固	350
一、凝血因子与抗凝血成分	350
二、两条凝血途径	352
三、血凝块的溶解	355
第三节 血细胞代谢	355
一、红细胞的代谢特点	355
二、白细胞的代谢	362
第十八章 肝的生物化学	364
第一节 肝在物质代谢中的作用	364
一、肝在糖代谢中的作用	364
二、肝在脂类代谢中的作用	365
三、肝在蛋白质代谢中的作用	365
四、肝在维生素代谢中的作用	367
五、肝在激素代谢中的作用	367
第二节 肝的生物转化作用	367
一、生物转化的概念	367
二、生物转化反应的主要类型	368
三、影响生物转化作用的因素	373
第三节 胆汁与胆汁酸的代谢	374
一、胆汁	374
二、胆汁酸的代谢	374
第四节 胆色素的代谢与黄疸	377
一、胆红素的生成与转运	378
二、胆红素在肝中的转变	380
三、胆红素在肠道中的变化和胆色素的肠肝循环	382
四、血清胆红素与黄疸	382
第十九章 维生素与微量元素	386

第一节 脂溶性维生素	386
一、维生素 A	386
二、维生素 D	387
三、维生素 E	388
四、维生素 K	389
第二节 水溶性维生素	389
一、维生素 B ₁	390
二、维生素 B ₂	390
三、维生素 PP	391
四、维生素 B ₆	391
五、泛酸	392
六、生物素	392
七、叶酸	393
八、维生素 B ₁₂	393
九、维生素 C	394
十、 α 硫辛酸	395
第三节 微量元素	395
一、铁	395
二、碘	396
三、铜	396
四、锌	396
五、钴	397
六、锰	397
七、硒	397
八、氟	397
第二十章 糖蛋白、蛋白聚糖和细胞外基质	400
第一节 糖蛋白	400
一、糖蛋白的结构	400
二、糖蛋白寡糖链的功能	402
第二节 蛋白聚糖	403
一、重要的糖胺聚糖	403
二、核心蛋白	405
三、蛋白聚糖的生物合成	405
四、蛋白聚糖的功能	406
第三节 细胞外基质	406
一、胶原	406
二、纤连蛋白	410
三、层粘连蛋白	411
第二十一章 癌基因、抑癌基因与生长因子	414

第一节 癌基因	414
一、病毒癌基因	414
二、细胞癌基因	415
三、癌基因活化的机制	417
四、原癌基因的产物与功能	418
第二节 抑癌基因	419
一、抑癌基因的基本概念	420
二、常见的抑癌基因	420
三、抑癌基因的作用机制	420
第三节 生长因子	422
一、概述	422
二、生长因子的作用机制	422
三、生长因子与疾病	424
第二十二章 基因诊断与基因治疗	426
第一节 基因诊断	426
一、基因诊断的概念和特点	426
二、基因诊断的常用技术方法	426
三、基因诊断的应用	429
第二节 基因治疗	430
一、基因治疗的概念	430
二、基因治疗的基本程序	431
三、基因治疗的应用与展望	432
第二十三章 分子生物学常用技术与人类基因组计划	435
第一节 分子杂交与印渍(迹)技术	435
一、分子杂交和印渍技术的原理	435
二、印渍技术的类别及应用	436
第二节 PCR 技术	437
一、PCR 的工作原理	437
二、PCR 的主要用途	437
第三节 核酸序列分析	438
一、化学裂解法	439
二、DNA 链末端合成终止法	440
第四节 人类基因组计划与后基因组研究	440
一、人类基因组计划	440
二、后基因组研究	441
第五节 疾病相关基因的克隆与鉴定	442
第六节 转基因、核转移与基因剔除技术	444
一、转基因技术	444

二、核转移技术	444
三、基因剔除技术	444
四、基因转移和基因剔除在医学中的应用	444
主要参考资料	447
汉英索引	448
英汉索引	466

第一章 绪 论

生物化学(biochemistry)是研究生命科学的科学,它在分子水平探讨生命的本质,即研究生物体的分子结构与功能、物质代谢与调节、及其在生命活动中的作用。生物化学的研究主要采用化学的原理和方法,但也与生理学、细胞学、遗传学等有着广泛的联系与交叉。人们通常将生物大分子结构、功能及其代谢调控的研究,称为分子生物学(molecular biology)。因此,从广义的角度来看,分子生物学是生物化学的重要组成部分。由于生物化学越来越多地成为生命科学共同语言,当今生物化学已成为生命科学领域的前沿学科。

生物化学研究所有的生命形式。人体是生物化学研究的重要对象。生物化学对医学的发展起着重要的促进作用。

第一节 生物化学发展简史

生物化学是一门既古老又年轻的学科,因为它既有悠久的发展历史,近年又有许多重大的进展和突破。

生物化学的研究始于18世纪,但作为一门独立的学科是在20世纪初期。18世纪中叶至20世纪初是生物化学的初期阶段,主要研究生物体的化学组成。其间的重要贡献有:对脂类、糖类及氨基酸的性质进行了较为系统的研究;发现了核酸;化学合成了简单的多肽;酵母发酵过程中“可溶性催化剂”的发现,奠定了酶学的基础等。从20世纪初期开始,生物化学进入了蓬勃发展阶段。例如:在营养学方面,发现了人类必需氨基酸、必需脂肪酸及多种维生素;在内分泌学方面,发现了多种激素,并将其分离、合成;在酶学方面,酶结晶获得成功;在物质代谢方面,由于化学分析及同位素示踪技术的发展与应用,对生物体内主要物质的代谢途径已基本确定,包括糖代谢的酶促反应过程、脂肪酸 β 氧化、尿素合成途径及三羧酸循环等。20世纪下叶以来,生物化学发展的显著特征是分子生物学的崛起。其间,物质代谢途径的研究继续发展,并重点进入代谢调节与合成代谢的研究。例如:50年代后期揭示了蛋白质生物合成途径,确定了由合成代谢与分解代谢网络组成的“中间代谢”概念。这一阶段,细胞内两类重要的生物大分子——蛋白质与核酸,成为研究的焦点。例如:50年代初期发现了蛋白质 α 螺旋的二级结构形式;完成了胰岛素的氨基酸全序列分析等。更具有里程碑意义的是,J.D.Watson和F.H.Crick于1953年提出的DNA双螺旋结构模型,为揭示遗传信息传递规律奠定了基础,是生物化学发展进入分子生物学时期的重要标志。此后,对DNA的复制机制、RNA的转录过程以及各种RNA在蛋白质合成过程中的作用进行了深入研究;提出了遗传信息传递的中心法则,破译了RNA分子中的遗传密码等。这些成果深化了

人们对核酸与蛋白质的关系及其在生命活动中作用的认识。70年代,重组DNA技术的建立不仅促进了对基因表达调控机制的研究,而且使人们主动改造生物体成为可能。由此,相继获得了多种基因工程的产品,大大推动了医药工业和农业的发展。转基因动植物和基因剔除(gene knock out)的成功是重组DNA技术发展的结果。基因诊断与基因治疗也是重组DNA技术在医学领域中应用的重要方面。80年代,核酶(ribozyme)的发现补充了人们对生物催化剂本质的认识。聚合酶链反应(PCR)技术的发明,使人们有可能在体外高效率扩增DNA。这些成果都是分子生物学发展的重大事件。

目前,分子生物学已经从研究单个基因发展到对生物体整个基因组结构与功能的研究。1990年开始实施的人类基因组计划(human genome project)是生命科学领域有史以来最庞大的全球性研究计划,将确定人基因组的全部序列,以及人类约10万个基因的一级结构。在此基础上,后基因组计划将进一步深入研究各种基因的功能与调节。这些研究结果必将进一步加深人们对生命本质的认识,也会极大地推动医学的发展。近20年来,几乎每年的诺贝尔医学和生理学奖以及一些诺贝尔化学奖都授予从事生物化学和分子生物学的科学家。这个事实本身就足以说明生物化学和分子生物学在生命科学中的重要地位和作用。

我国对生物化学的发展做出了重大贡献。早在西方生物化学诞生之前,我国劳动人民在生产和生活中已有运用生物化学知识和技术的先例。例如:公元前21世纪,我国人民已能造酒,这是我国古代用“曲”作“媒”(即酶)催化谷物淀粉发酵的实践。营养学方面,早在《黄帝内经素问》中记载“五谷为养,五果为助,五畜为益,五菜为充”,将食物分为四大类,并说明了其营养价值。《食疗本草》(公元7世纪)等还记载祖国古代医学运用营养知识治疗疾病的原理。近代生物化学发展时期,我国生物化学家吴宪等在血液化学分析方面创立了血滤液的制备和血糖测定法;在蛋白质研究中提出了蛋白质变性学说;在免疫化学方面,对抗原抗体反应机制的研究也有重要发现。新中国成立后,我国生物化学迅速发展。1965年,我国首先采用人工方法合成了具有生物学活性的胰岛素。1981年,又成功地合成了酵母丙氨酸tRNA。近年来,我国的基因工程、蛋白质工程、人类基因组计划以及新基因的克隆与功能研究等方面均取得了重要成果,正朝着国际先进水平迈进。

第二节 当代生物化学研究的主要内容

生物化学的研究内容十分广泛。当代生物化学的研究主要集中在以下几方面。

1. 生物分子的结构与功能 重点研究生物大分子。所谓生物大分子,是由某些基本结构单位按一定顺序和方式连接所形成的多聚体(polymer),分子量一般大于 10^4 。例如:由氨基酸作为基本组成单位,通过肽键连接形成多肽链——蛋白质;由核苷酸作为基本组成单位,通过磷酸二酯键连接形成多核苷酸链——核酸。聚糖也由一定基本单位聚合而成。生物大分子的重要特征之一是具有信息功能,由此也称之为生物信息分子。

对生物大分子的研究,除了确定其一级结构(基本组成单位的种类、排列顺序和方式)外,更重要的是研究其空间结构及其与功能的关系。结构是功能的基础,而功能则

是结构的体现。生物大分子的功能还通过分子之间的相互识别和相互作用而实现。例如：蛋白质与蛋白质、蛋白质与核酸、核酸与核酸的相互作用在基因表达的调节中起着决定性作用。由此可见，分子结构、分子识别和分子的相互作用是执行生物信息分子功能的基本要素。这一领域的研究是当今生物化学的热点之一。

2. 物质代谢及其调节 生命体不同于无生命体的基本特征是新陈代谢，即生命体与外环境的物质交换及维持其内环境的相对稳定。正常的物质代谢是正常生命过程的必要条件，而物质代谢的紊乱则可以发生疾病。据估计，以 60 岁计算，一个人在一生中与环境进行着大量的物质交换，约相当于 60 000kg 水、10 000kg 糖类、600kg 蛋白质、以及 1 000kg 脂类。其它小分子及离子等也在不断交换中，但其量少得多。目前对生物体内的主要物质代谢途径虽已基本清楚，但仍有众多的问题有待探讨。例如：物质代谢中的绝大部分化学反应是由酶催化的，酶结构和酶量的变化对物质代谢的调节起着重要作用。物质代谢有序性调节的分子机制尚需进一步阐明。此外，细胞信息传递参与多种物质代谢及与其相关的生长、增殖、分化等生命过程的调节。细胞信息传递的机制及网络也是近代生物化学研究的重要课题。

3. 基因信息传递及其调控 基因信息传递涉及到遗传、变异、生长、分化等诸多生命过程，也与遗传病、恶性肿瘤、心血管病等多种疾病的发病机制有关。因此，基因信息的研究在生命科学中的作用越显重要。现已确定，DNA 是遗传的主要物质基础，基因即 DNA 分子的功能片段。当今，基因分子生物学除了进一步研究 DNA 的结构与功能外，更重要的是研究 DNA 复制、RNA 转录、蛋白质生物合成等基因信息传递过程的机制及基因表达时空调控的规律。DNA 重组、转基因、基因剔除、新基因克隆、人类基因组计划及功能基因组计划等的发展，将大大推动这一领域的研究进程。

第三节 生物化学与医学

历来，生物化学与医学的发展密切相关，相互促进。医学生物化学主要研究人体的生物化学，它既是生物化学，也是医学的重要组成部分。近年来，生物化学已渗透到医学科学的各个领域。例如：生理学、微生物免疫学、遗传学、药理学及病理学等基础医学的研究均深入到分子水平，并应用生物化学的理论与技术解决各学科的问题，由此产生了“分子免疫学”、“分子遗传学”、“分子药理学”、“分子病理学”等新学科。同样，生物化学与临床医学的关系也很密切。近代医学的发展经常运用生物化学的理论和诊断、治疗和预防疾病，而且许多疾病的发病机制也需要从分子水平加以探讨。例如：近年来，由于生物化学与分子生物学的迅速发展，大大加深了人们对恶性肿瘤、心血管病、神经系统疾病、免疫性疾病等重大疾病本质的认识，并出现了新的诊治方法。相信在生物化学与分子生物学，尤其是疾病相关基因克隆、基因诊断、基因治疗等研究成果的基础上，将会使 21 世纪的医学进展发生新的突破。综上所述，生物化学是一门重要的医学基础课程。作为医学生，学好生物化学知识具有重要而深远的意义。

第四节 本书纲要

本书是医学院校本科生的生物化学教材，主要介绍生物化学的基本知识，以及某些与医学相关的生物化学进展。全书分四篇，共 23 章。第一篇：生物大分子的结构与功能，包括蛋白质、核酸与酶。第二篇：物质代谢及其调节，包括糖代谢、脂类代谢、生物氧化、氨基酸代谢、核苷酸代谢、以及物质代谢的联系与调节。第三篇：基因信息的传递，包括 DNA 生物合成(复制)、RNA 生物合成(转录)、蛋白质生物合成(翻译)、基因表达调控、重组 DNA 与基因工程。第四篇：专题篇，包括细胞信息传递；血液生物化学；肝的生物化学；维生素与微量元素；糖蛋白、蛋白聚糖与细胞外基质；癌基因、抑癌基因与生长因子；基因诊断与基因治疗；以及常用分子生物学技术与人类基因组计划等。前三篇为生物化学基本知识。第四篇，各院校可根据具体情况选择部分专题讲授，有些章节可供学生自学或作为进展讲座使用。

(周爱儒 贾弘提)

第一篇 生物大分子的结构与功能

机体是由数以亿万计分子量大小不等的分子组成。参与机体构成并发挥重要生理功能的生物大分子通常都有一定的分子结构规律，即由一定的基本结构单位，按一定的排列顺序和连接方式而形成的多聚体。蛋白质和核酸是体内主要的生物大分子，各自有其结构特征，并分别行使不同的生理功能。核酸具有传递遗传信息等功能，而蛋白质几乎涉及所有的生理过程。两者的存在与配合，是诸如生长、繁殖、运动、遗传、物质代谢等生命现象的基础。因此研究机体的分子结构与功能必须先深入了解这两类生物大分子。

酶是一类重要的蛋白质分子，是生物体内的催化剂。体内几乎所有的化学反应都由特异性的酶来催化，这是生物体能进行如此复杂而周密的新陈代谢的基本保证。由于酶的功能重要性和特殊性，也列在第一篇加以论述。

第二章 蛋白质的结构与功能

蛋白质(protein)是生物体的基本组成成分之一,也是含量最丰富的高分子物质,约占人体固体成分的45%,分布广泛,几乎所有的器官组织都含有蛋白质。生物体结构越复杂其蛋白质种类和功能也越繁多。一个真核细胞可有数千种蛋白质,各自有特殊的结构和功能。如酶、抗体、大部分凝血因子、多肽激素、转运蛋白、收缩蛋白等都是蛋白质,但结构与功能截然不同。在物质代谢、机体防御、血液凝固、肌肉收缩、细胞信息传递、个体生长发育、组织修复等方面,蛋白质发挥着不可替代的重要作用。可见,蛋白质是生命活动的物质基础,没有蛋白质就没有生命。

第一节 蛋白质的分子组成

组成蛋白质分子的元素主要有碳(50%~55%)、氢(6%~7%)、氧(19%~24%)、氮(13%~19%)和硫(0%~4%)。有些蛋白质还含有少量磷或金属元素铁、铜、锌、锰、钴、钼等,个别蛋白质还含有碘。各种蛋白质的含氮量很接近,平均为16%。由于蛋白质是体内的主要含氮物,因此测定生物样品的含氮量就可按下式推算出蛋白质的大致含量。

每克样品含氮克数 $\times 6.25 \times 100 = 100\text{g}$ 样品中蛋白质含量(g%)

一、氨基酸

氨基酸(amino acid)是组成蛋白质的基本单位。蛋白质受酸、碱或蛋白酶作用而水解产生游离氨基酸。存在于自然界中的氨基酸有300余种,但组成人体蛋白质的氨基酸仅有20种,且均属L- α -氨基酸(除甘氨酸外)。

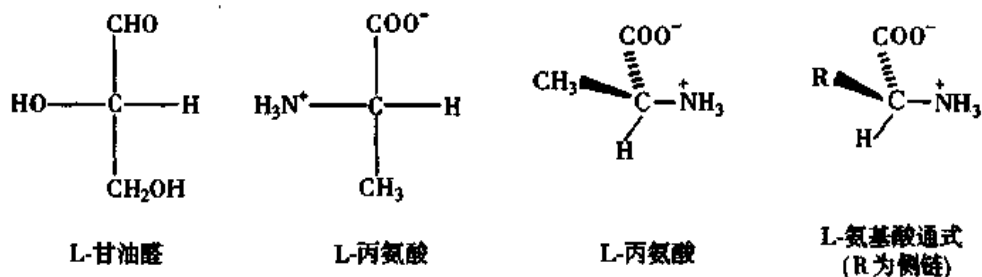


图 2-1 L-甘油醛和L-氨基酸

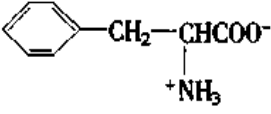
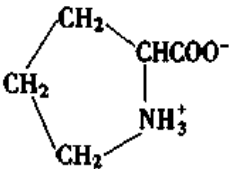
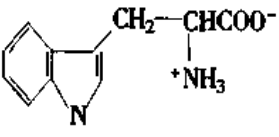
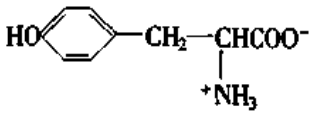
由图2-1可见,连在一COO⁻基上的碳称为 α -碳原子,为不对称碳原子(甘氨酸除外),不同的氨基酸其侧链(R)各异。生物界中也有D-氨基酸,大都存在于某些细胞产

生的抗生素及个别植物的生物碱中。

(一) 氨基酸的分类

组成体内蛋白质的 20 种氨基酸，根据其侧链的结构和理化性质可分成四类：①非极性疏水性氨基酸；②极性中性氨基酸；③酸性氨基酸；④碱性氨基酸(表 2-1)。

表 2-1 氨基酸分类

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
1. 非极性疏水性氨基酸					
$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CHCOO}^- \\ \\ ^+\text{NH}_3 \end{array}$	甘氨酸	glycine	Gly	G	5.97
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CHCOO}^- \\ \\ ^+\text{NH}_3 \end{array}$	丙氨酸	alanine	Ala	A	6.00
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CHCOO}^- \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad ^+\text{NH}_3 \end{array}$	缬氨酸	valine	Val	V	5.96
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad ^+\text{NH}_3 \end{array}$	亮氨酸	leucine	Leu	L	5.98
$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CHCOO}^- \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad ^+\text{NH}_3 \end{array}$	异亮氨酸	isoleucine	Ile	I	6.02
	苯丙氨酸	phenylalanine	Phe	F	5.48
	脯氨酸	proline	Pro	P	6.30
2. 极性中性氨基酸					
	色氨酸	tryptophan	Trp	W	5.89
$\begin{array}{c} \text{HO}-\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ ^+\text{NH}_3 \end{array}$	丝氨酸	serine	Ser	S	5.68
	酪氨酸	tyrosine	Tyr	Y	5.66
$\begin{array}{c} \text{HS}-\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ ^+\text{NH}_3 \end{array}$	半胱氨酸	cysteine	Cys	C	5.07
$\begin{array}{c} \text{CH}_3\text{SCH}_2\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ ^+\text{NH}_3 \end{array}$	蛋氨酸	methionine	Met	M	5.74

续表

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ \text{+NH}_3 \end{array}$	天冬酰胺	asparagine	Asn	N	5.41
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ \text{+NH}_3 \end{array}$	谷氨酰胺	glutamine	Gln	Q	5.65
$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{HO}-\text{CH}-\text{CHCOO}^- \\ \\ \text{+NH}_3 \end{array}$	苏氨酸	threonine	Thr	T	5.60
3. 酸性氨基酸					
$\begin{array}{c} \text{HOOCCH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ \text{+NH}_3 \end{array}$	天冬氨酸	aspartic acid	Asp	D	2.97
$\begin{array}{c} \text{HOOCCH}_2\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ \text{+NH}_3 \end{array}$	谷氨酸	glutamic acid	Glu	E	3.22
4. 碱性氨基酸					
$\begin{array}{c} \text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ \text{+NH}_3 \end{array}$	赖氨酸	lysine	Lys	K	9.74
$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{NH}_2\text{CNHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \\ \text{+NH}_3 \end{array}$	精氨酸	arginine	Arg	R	10.76
$\begin{array}{c} \text{HC}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CHCOO}^- \\ \quad \\ \text{N} \quad \text{NH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C} \\ \\ \text{H} \end{array}$	组氨酸	histidine	His	H	7.59

20种氨基酸中脯氨酸和半胱氨酸结构较为特殊。脯氨酸应属亚氨基酸，但其亚氨基仍能与另一羧基形成肽链。脯氨酸在蛋白质合成加工时可被修饰成羟脯氨酸。此外，2个半胱氨酸通过脱氢后可以二硫键相结合，形成胱氨酸(图2-2)。蛋白质中有不少半

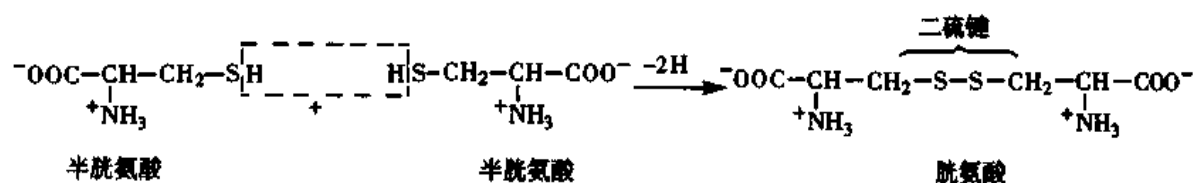
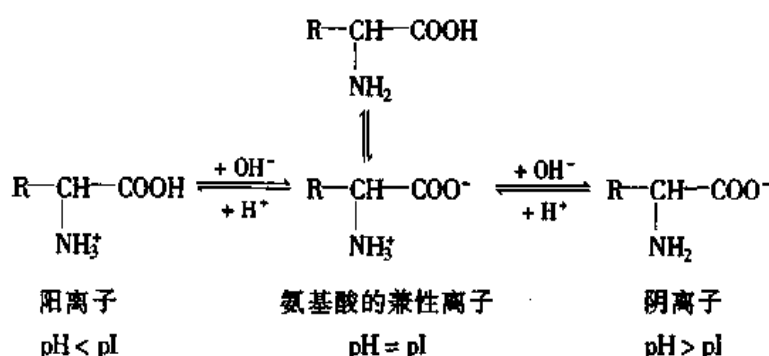


图2-2 胱氨酸和二硫键

胱氨酸以胱氨酸形式存在。

(二) 氨基酸的理化性质

1. 两性解离及等电点 由于所有氨基酸都含有碱性的 α -氨基和酸性的 α -羧基，可在酸性溶液中与质子(H^+)结合成带正电荷的阳离子($-NH_3^+$)，也可在碱性溶液中与 OH^- 结合，失去质子变成带负电荷的阴离子($-COO^-$)。因此氨基酸是两性电解质，具有两性解离的特性。氨基酸的解离方式取决于其所处溶液的酸碱度。在某一 pH 的溶液中，氨基酸解离成阳离子和阴离子的趋势及程度相等，成为兼性离子，呈电中性，此时溶液的 pH 称为该氨基酸的等电点(isoelectric point, pI)。



氨基酸的 pI 是由 α -羧基和 α -氨基的解离常数的负对数 pK_1 和 pK_2 决定的。 pI 计算公式为： $pI = 1/2 (pK_1 + pK_2)$ 。如丙氨酸 $pK - COOH = 2.34$, $pK - NH_2 = 9.69$, 所以 $pI = 1/2 (2.34 + 9.69) = 6.02$ 。若 1 个氨基酸有 3 个可解离基团，写出它们电离式后取兼性离子两边的 pK 值的平均值，即为此氨基酸的 pI 值。

2. 紫外吸收性质 根据氨基酸的吸收光谱，色氨酸、酪氨酸的最大吸收峰在 280nm 波长附近(图 2-3)。由于大多数蛋白质含有酪氨酸和色氨酸残基，所以测定蛋白质溶液 280nm 的光吸收值，是分析溶液中蛋白质含量的快速简便的方法。

3. 茚三酮反应 氨基酸与茚三酮水合物共加热，茚三酮水合物被还原，其还原物可与氨基酸加热分解产生的氨结合，再与另一分子茚三酮缩合成为蓝紫色的化合物，此化合物最大吸收峰在 570nm 波长处。由于此吸收峰值的大小与氨基酸释放出的氨量成正比，因此可作为氨基酸定量分析方法。

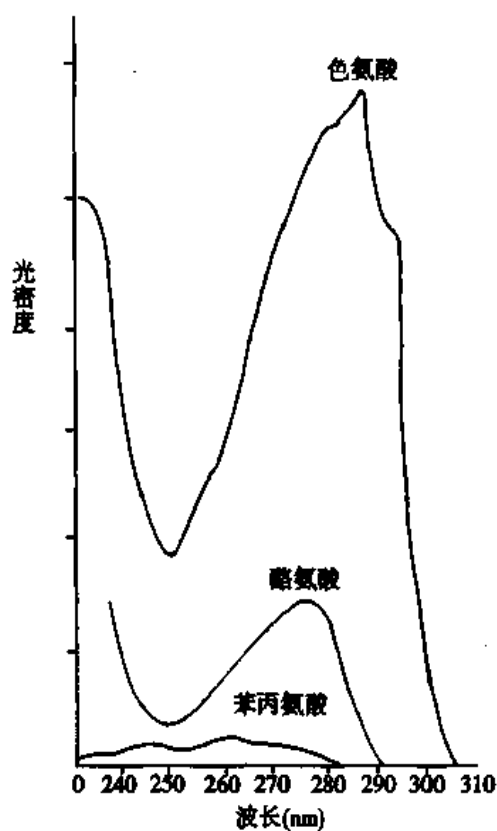


图 2-3 芳香族氨基酸的紫外吸收

二、肽

(一) 肽(peptide)

德国化学家 Emil Fischer 早已证明蛋白质中的氨基酸相互结合成多肽链(polypeptide chain), 例如 1 分子甘氨酸和 1 分子甘氨酸脱去 1 分子水缩合成为甘氨酸甘氨酸, 这是最简单的肽, 即二肽。在甘氨酸甘氨酸分子中连接两个氨基酸的酰胺键称为肽键(peptide bond)(图 2-4)。二肽通过肽键与另一分子氨基酸缩合生成三肽。此反应可继续进行, 依次生成四肽、五肽……。一般来说, 由 10 个以内氨基酸相连而成的肽称为寡肽(oligopeptide), 更多的氨基酸相连而成的肽称为多肽(polypeptide)。肽链中的氨基酸分子因脱水缩合而基团不全, 被称为氨基酸残基(residue)。蛋白质就是由许多氨基酸残基组成的多肽链。蛋白质和多肽在分子量上很难划出明确界限。在实际应用中, 常把由 39 个氨基酸残基组成的促肾上腺皮质激素称为多肽, 而把含有 51 个氨基酸残基、分子量为 5733 的胰岛素称为蛋白质。这是习惯上的多肽与蛋白质的分界线。多肽链有两端, 有自由氨基的一端称氨基末端(amino terminal)或 N-端, 有自由羧基的一端称为羧基末端(carboxyl terminal)或 C-端。

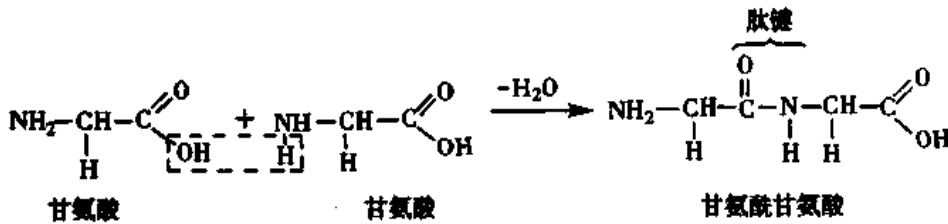


图 2-4 肽与肽键

(二) 生物活性肽

人体内存在许多具有生物活性的肽, 有的仅三肽, 有的属寡肽或多肽, 在神经传导、代谢调节方面起着重要的作用。

1. 谷胱甘肽(glutathione, GSH) 是由谷、半胱和甘氨酸组成的三肽。第一个肽键与一般不同, 由谷氨酸 γ -羧基与半胱氨酸的氨基组成(图 2-5), 分子中半胱氨酸的巯基是该化合物的主要功能基团。GSH 的巯基具有还原性, 可作为体内重要的还原剂保护体内蛋白质或酶分子中巯基免遭氧化, 使蛋白质或酶处在活性状态。在谷胱甘肽过氧化物酶的催化下, GSH 可还原细胞内产生的 H_2O_2 , 使其变成 H_2O , 与此同时, GSH 被氧化成氧化型谷胱甘肽(GSSG)(图 2-6), 后者在谷胱甘肽还原酶催化下, 再生成 GSH。此外, GSH 的巯基还有嗜核特性, 能与外源的嗜电子毒物如致癌剂或药物等结合, 从而阻断这些

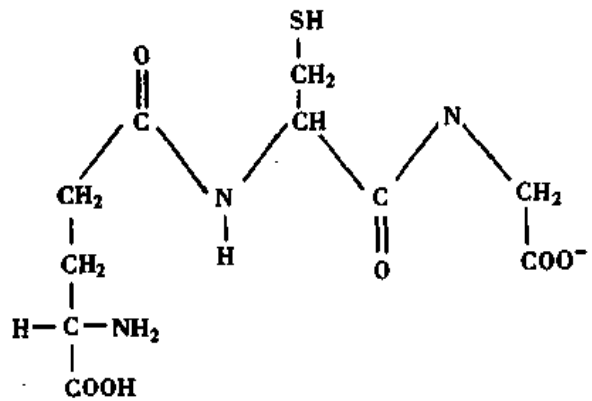


图 2-5 谷胱甘肽

化合物与 DNA、RNA 或蛋白质结合，以保护机体免遭毒物损害。

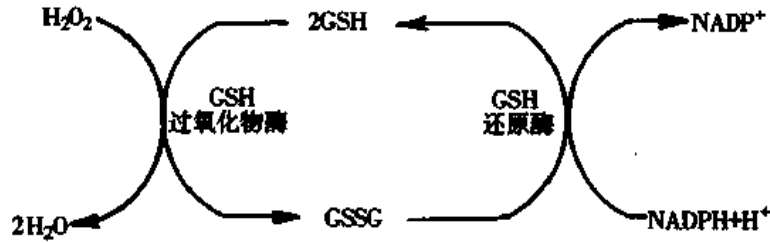


图 2-6 GSH 与 GSSG 间的转换

2. 多肽类激素及神经肽 体内有许多激素属寡肽或多肽，例如属于下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴的催产素(9 肽)、加压素(9 肽)、促肾上腺皮质激素(39 肽)、促甲状腺素释放激素(3 肽)等。促甲状腺素释放激素是一个特殊结构的三肽(图 2-7)，其 N-末端的谷氨酸环化成为焦谷氨酸(pyroglutamic acid)，C-末端的脯氨酸残基酰化成为脯氨酸酰胺，它由下丘脑分泌，可促进腺垂体分泌促甲状腺素。

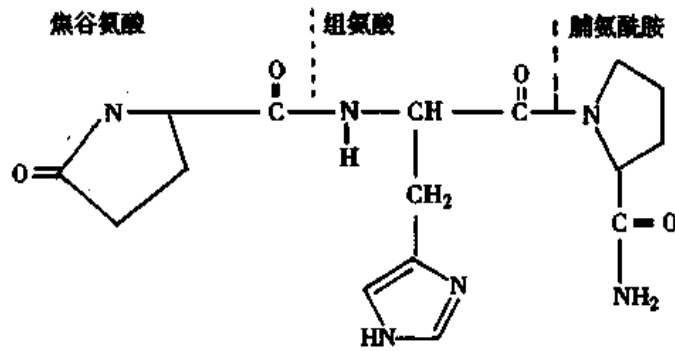


图 2-7 促甲状腺素释放激素(TRH)

有一类在神经传导过程中起信号转导作用的肽类被称为神经肽(neuropeptide)。较早发现的有脑啡肽(5 肽)、 β -内啡肽(31 肽)和强啡肽(17 肽)等。近年还发现孤啡肽(17 肽)，其结构类似于强啡肽。它们与中枢神经系统产生痛觉抑制有密切关系，因此很早就被用于临床的镇痛治疗。除此以外，神经肽还包括 P 物质(10 肽)、神经肽 Y 等。随着脑科学的发展，相信将发现更多的在神经系统中起着重要作用的生物活性肽或蛋白质。

三、蛋白质的分类

蛋白质是由 20 种氨基酸组成的大分子化合物，除氨基酸外，某些蛋白质还含有其他非氨基酸组分。因此根据蛋白质组成成分可分成单纯蛋白质和结合蛋白质，前者只含氨基酸，而后者除蛋白质部分外，还含有非蛋白质部分，为蛋白质的生物活性或代谢所依赖。结合蛋白质中的非蛋白质部分被称为辅基，绝大部分辅基通过共价键方式与蛋白质部分相连。构成蛋白质辅基的种类也很广，常见的有色素化合物、寡糖、脂类、磷酸、金属离子甚至分子量较大的核酸。细胞色素 C 是含有色素的结合蛋白质，其铁卟啉环上的乙烯基侧链与蛋白质部分的半胱氨酸残基以硫醚键相连，铁卟啉中的铁离子是细胞色素 C 的重要功能位点。免疫球蛋白是一类糖蛋白，作为辅基的数支寡糖链通过

共价键与蛋白质部分连接。

蛋白质还可根据其形状分为纤维状蛋白质和球状蛋白质两大类。一般来说，纤维状蛋白质形似纤维，其分子长轴的长度比短轴长 10 倍以上。纤维状蛋白质多数为结构蛋白质，较难溶于水，作为细胞坚实的支架或连接各细胞、组织和器官。大量存在于结缔组织中的胶原蛋白就是典型的纤维状蛋白质，其长轴为 300nm，而短轴仅为 1.5nm（详见第二十章）。球状蛋白质的形状近似于球形或椭圆形，多数可溶于水，许多具有生理活性的蛋白质如酶、转运蛋白、蛋白质类激素及免疫球蛋白等都属于球状蛋白质。

第二节 蛋白质的分子结构

蛋白质分子是由许多氨基酸通过肽键相连形成的生物大分子。人体内具有生理功能的蛋白质都是有序结构，每种蛋白质都有其一定的氨基酸百分组成及氨基酸排列顺序，以及肽链空间的特定排布位置。因此由氨基酸排列顺序及肽链的空间排布等所构成的蛋白质分子结构，才真正体现蛋白质的个性，是每种蛋白质具有独特生理功能的结构基础。由于组成人体蛋白质的氨基酸有 20 种，且蛋白质的分子量均较大，因此蛋白质的氨基酸排列顺序和空间位置几乎是无穷尽的，足以为人体多达成千上万种蛋白质提供各异的序列和特定的空间排布，才能完成生命所赋予的数以千万计的生理功能。蛋白质分子结构分成一级、二级、三级、四级结构 4 个层次，后三者统称为高级结构或空间构象 (conformation)。蛋白质的空间构象涵盖了蛋白质分子中的每一原子在三维空间的相对位置，它们是蛋白质特有性质和功能的结构基础。但并非所有的蛋白质都有四级结构，由一条肽链形成的蛋白质只有一级、二级和三级结构，由二条或二条以上多肽链形成的蛋白质才可能有四级结构。

一、蛋白质的一级结构

蛋白质分子中氨基酸的排列顺序称为蛋白质的一级结构(primary structure)。一级结构中的主要化学键是肽键，有些蛋白质还包含二硫键即由两个半胱氨酸巯基脱氢氧化而成。图 2-8 为牛胰胰岛素的一级结构。胰岛素有 A 和 B 二条链，A 链有 21 个氨基酸残基，B 链有 30 个。如果把氨基酸序列(amino acid sequence)标上数码，应以氨基末端为 1 号，依次向羧基末端排列。牛胰胰岛素分子中有 3 个二硫键，1 个位于 A 链内，由

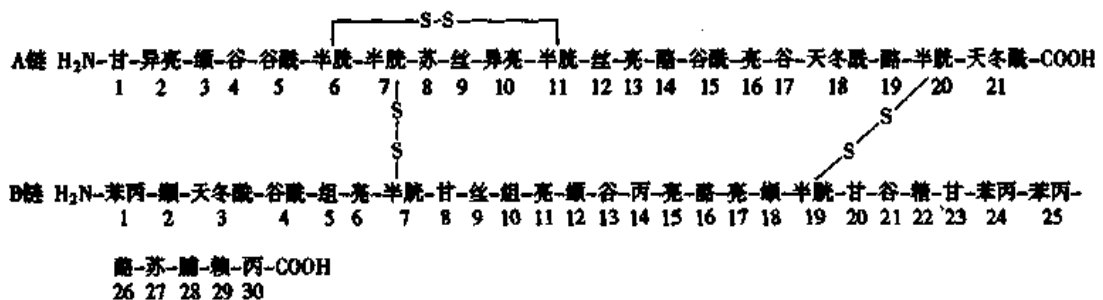


图 2-8 牛胰胰岛素的一级结构

A链的第6位和第11位半胱氨酸的巯基脱氢而形成，另2个二硫键位于A、B二链间(图2-8)。

体内种类繁多的蛋白质，其一级结构各不相同，一级结构是蛋白质空间构象和特异生物学功能的基础。但一级结构并不是决定蛋白质空间构象的唯一因素。

二、蛋白质的二级结构

蛋白质的二级结构(secondary structure)是指蛋白质分子中某一段肽链的局部空间结构，也就是该段肽链主链骨架原子的相对空间位置，并不涉及氨基酸残基侧链的构象。

20世纪30年代末 L. Pauling 和 R. B. Corey 应用 X 线衍射技术研究氨基酸和寡肽的晶体结构，其目的是要获得一组标准键长和键角，以推导肽的构象，最终提出了肽单元(peptide unit)概念。他们发现参与肽键的6个原子—— $C_{\alpha 1}$, C, O, N, H, $C_{\alpha 2}$ 位于同一平面， $C_{\alpha 1}$ 和 $C_{\alpha 2}$ 在平面上所处的位置为反式(trans)构型，此同一平面上的6个原子构成了所谓的肽单元(图2-9)。其中肽键(C-N)的键长为0.132nm，介于C-N的单键长(0.149nm)和双键长(0.127nm)之间，所以有一定程度双键性能，不能自由旋转。而 C_{α} 分别与N和羰基碳相连的键都是典型的单键，可以自由旋转， C_{α} 与羰基碳的键旋转角度以 φ 表示， C_{α} 与N的键角以 ψ 表示(图2-9)。也正由于肽单元上 C_{α} 原子所连的两个单键的自由旋转角度，决定了两个相邻的肽单元平面的相对空间位置。

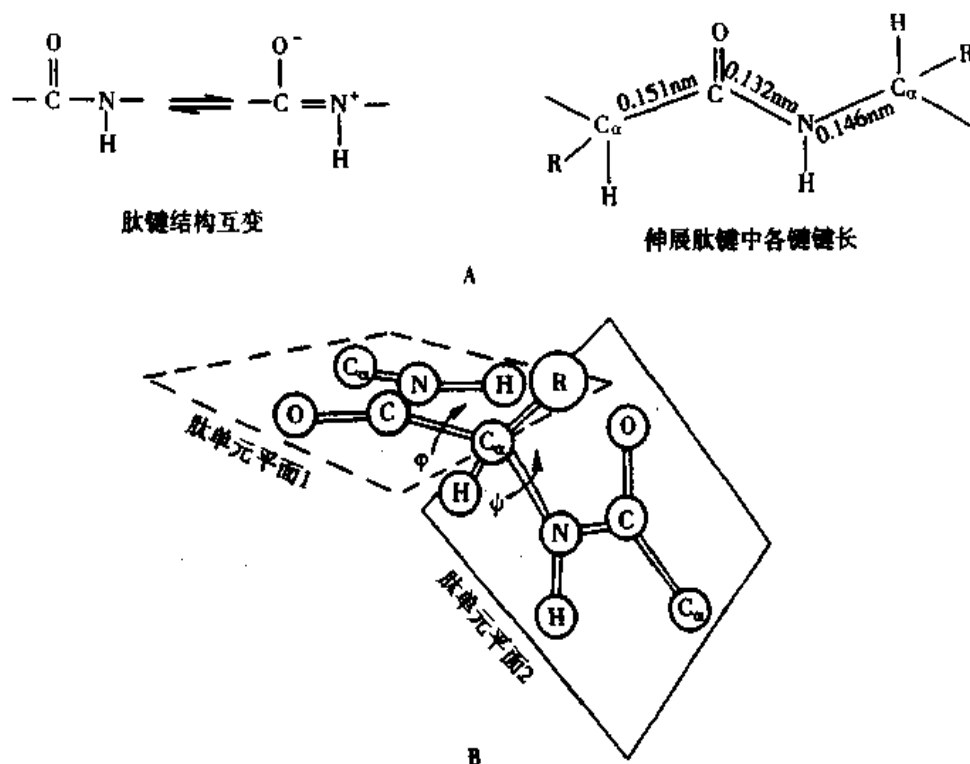


图2-9 肽单元

Pauling 和 Corey 根据实验数据提出了两种肽链局部主链原子空间构象的分子模型，称为 α -螺旋(α -helix)和 β -折叠(β -pleated sheet)，它们是蛋白质二级结构的主要形式。在

α -螺旋结构(图 2-10)中, 多肽链的主链围绕中心轴呈有规律的螺旋式上升, 螺旋的走向为顺时针方向, 即右手螺旋, 其 ψ 为 -47° , ϕ 为 -57° 。氨基酸侧链伸向螺旋外侧。每 3.6 个氨基酸残基螺旋上升一圈, 螺距为 0.54nm。 α -螺旋的每个肽键的 N-H 和第四个肽键的羰基氧形成氢键, 氢键的方向与螺旋长轴基本平行。肽链中的全部肽键都可形成氢键, 以稳固 α -螺旋结构。肌红蛋白和血红蛋白分子中有许多肽链段落呈 α -螺旋结构。毛发的角蛋白、肌肉的肌球蛋白以及血凝块中的纤维蛋白, 它们的多肽链几乎全长都卷曲成 α -螺旋。数条 α -螺旋状的多肽链尚可缠绕起来, 形成缆索, 从而增强了其机械强度, 并具有可伸缩性(弹性)。

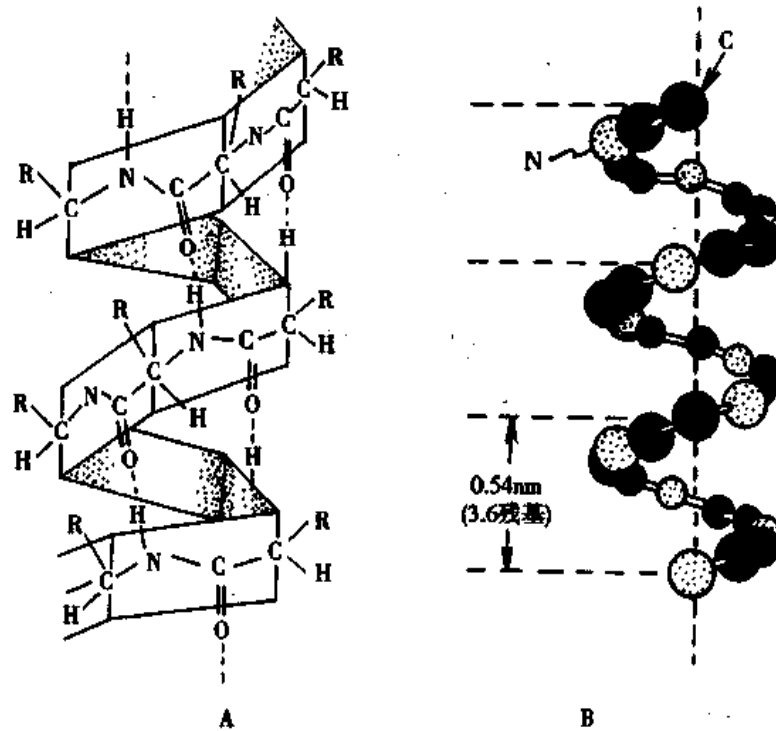


图 2-10 α -螺旋

β -折叠与 α -螺旋的形状截然不同, 呈折纸状。在 β -折叠结构(图 2-11)中, 多肽链充分伸展, 每个肽单元以 $C\alpha$ 为旋转点, 依次折叠成锯齿状结构, 氨基酸残基侧链交替地位于锯齿状结构的上下方。所形成的锯齿状结构一般比较短, 只含 5~8 个氨基酸残基, 但两条以上肽链或一条肽链内的若干肽段的锯齿状结构可平行排列, 两条肽链走向可相同, 也可相反。走向相反时, 两条反平行肽链的间距为 0.70nm (图 2-11A), 并通过肽链间的肽键羰基氧和亚氨基氢形成氢键从而稳固 β -折叠结构。蚕丝蛋白几乎都是 β -折叠结构, 许多蛋白质既有 α -螺旋又有 β -折叠。

除 α -螺旋和 β -折叠外, 蛋白质二级结构还包括 β -转角(β -turn)和无规卷曲(random coil)。 β -转角(图 2-11B)常发生于肽链进行 180° 回折时的转角上。 β -转角通常有 4 个氨基酸残基组成, 其第一个残基的羰基氧(O)与第四个残基的氨基氢(H)可形成氢键。 β -转角的结构较特殊, 第二个残基常为脯氨酸, 其他常见残基有甘氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺和色氨酸。无规卷曲用来阐述没有确定规律性的那部分肽链结构。

在许多蛋白质分子中, 可发现二个或三个具有二级结构的肽段, 在空间上相互接

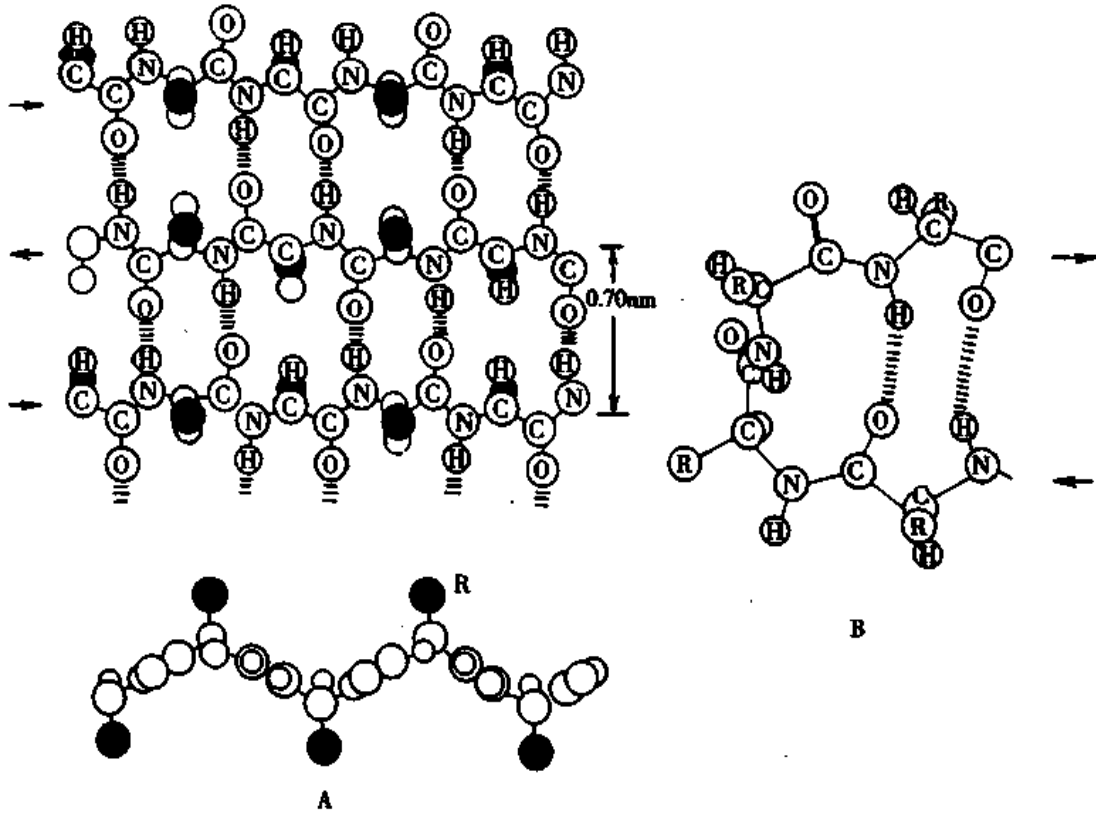


图 2-11 β -折叠

A. 上图为俯视，下图为侧视 B. 为 β 转角

近，形成一个具有特殊功能的空 间结构，被称为模序(motif)。一个模序总有其特征性的氨基酸序列，并发挥特殊的功能。在许多钙结合蛋白分子中通常有一个结合钙离子的模序，它由 α -螺旋-环- α -螺旋三个肽段组成(图 2-12A)，在环中有几个恒定的亲水侧链，侧链末端的氧原子通过氢键而结合钙离子。近年发现的锌指结构(zinc finger)也是一个常见的模序例子。此模序由 1 个 α -螺旋和 2 个反平行的 β -折叠三个肽段组成(图 2-12B)。它形似手指，具有结合锌离子的功能。此模序的 N-端有 1 对半胱氨酸残基，C-端有 1 对组氨酸残基，此 4 个残基在空间上形成一个洞穴，恰好容纳 1 个 Zn^{2+} 。由于 Zn^{2+} 可稳固模序中的 α -螺旋结构，致使此 α -螺旋能镶嵌于 DNA 的大沟中，因此含锌指结构的蛋白质都能与 DNA 或 RNA 结合。可见模序的特征性构象是其特殊功能的结构基础。有些蛋白质的模序仅有几个氨基酸残基组成，例如纤连蛋白中能与其受体结合的肽段，只是 RGD

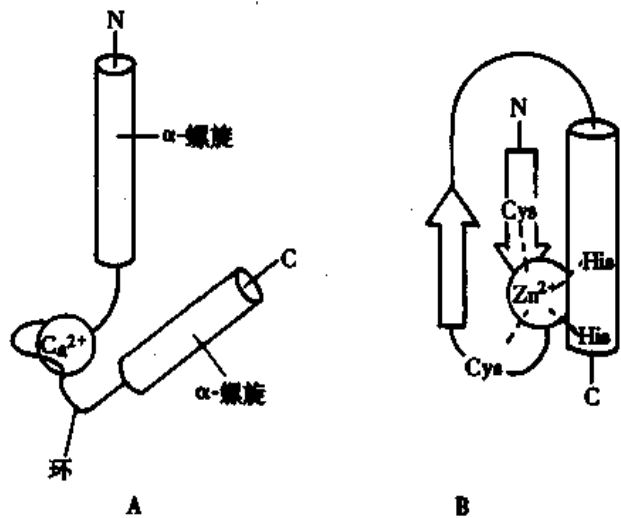


图 2-12 蛋白质模序示意图

A. 钙结合蛋白中的结合钙离子的模序 B. 锌指结构

三肽。

蛋白质二级结构是以一级结构为基础的。一段肽链其氨基酸残基的侧链适合形成 α -螺旋或 β -折叠，它就会出现相应的二级结构。例如一段肽链有多个谷氨酸或天冬氨酸残基相邻，则在 pH 7.0 时这些残基的游离羧基都带负电荷，彼此相斥，妨碍 α -螺旋的形成。同样，多个碱性氨基酸残基在一肽段内，由于正电荷相斥，也妨碍 α -螺旋的形成。此外，天冬酰胺、亮氨酸的侧链很大，也会影响 α -螺旋形成。脯氨酸的 N 原子在刚性的五元环中，其形成的肽键 N 原子上没有 H，所以不能形成氢键，结果肽链走向转折，不形成 α -螺旋。形成 β -折叠的肽段要求氨基酸残基的侧链较小，才能容许两条肽段彼此靠近。

蛋白质空间构象的正确形成，除一级结构为决定因素外，还需要一类称为分子伴侣(chaperon)的蛋白质参与。蛋白质在合成时，还未折叠的肽段有许多疏水基团暴露在外，具有分子内或分子间聚集的倾向，使蛋白质不能形成正确空间构象。分子伴侣可逆地与未折叠肽段的疏水部分结合随后松开，如此重复进行可防止错误的聚集发生，使肽链正确折叠。分子伴侣也可与错误聚集的肽段结合，使之解聚后，再诱导其正确折叠。此外，蛋白质分子中特定位置的两个半胱氨酸可形成二硫键，这是蛋白质形成正确空间构象和发挥功能的必要条件，如胰岛素分子中有 3 个特定连接的二硫键。如二硫键发生错配，蛋白质的空间构象和功能都会受到影响，而分子伴侣对蛋白质分子中二硫键正确形成起到重要作用。

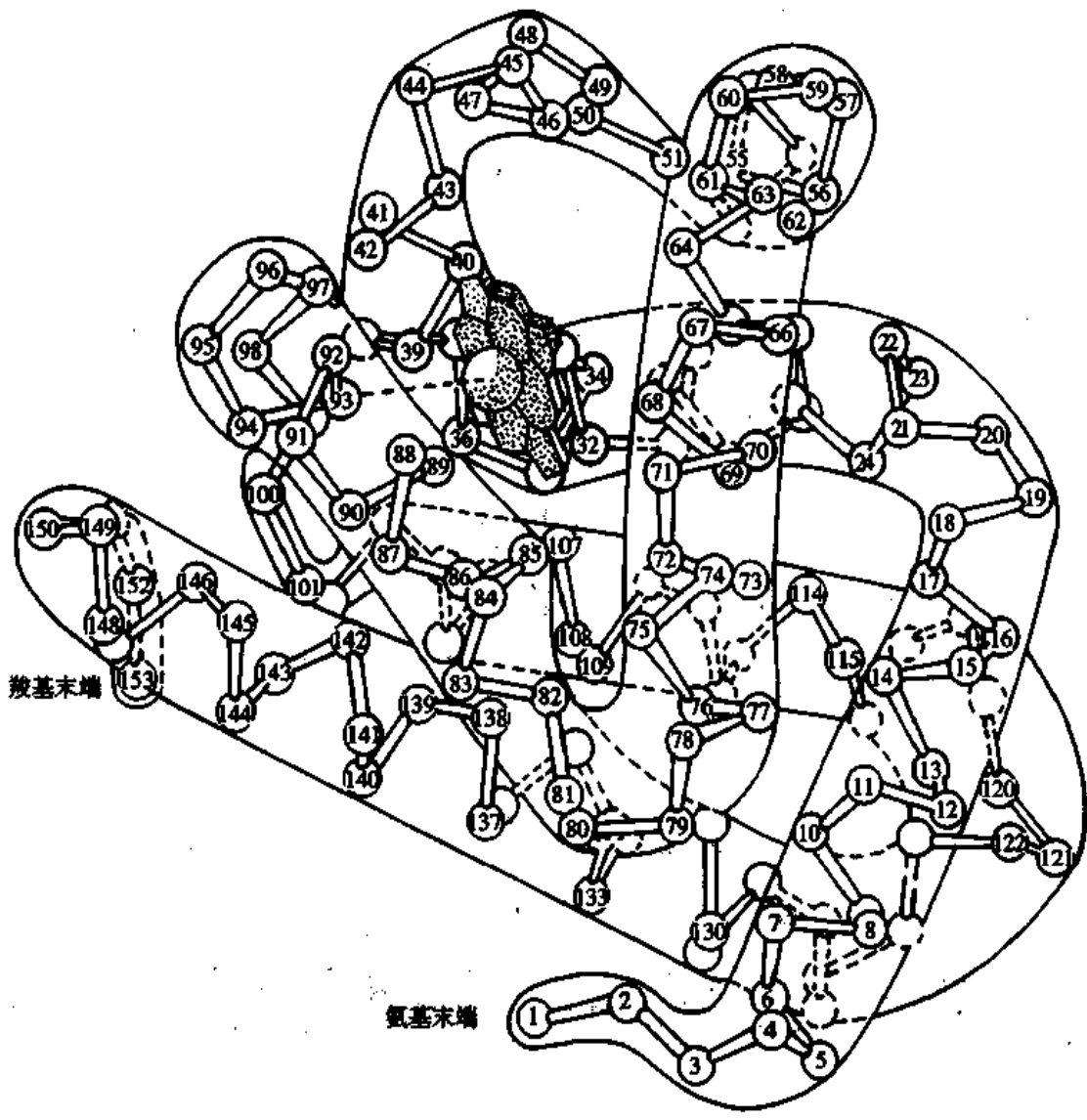
三、蛋白质的三级结构

蛋白质的三级结构(tertiary structure)是指整条肽链中全部氨基酸残基的相对空间位置，也就是整条肽链所有原子在三维空间的排布位置。

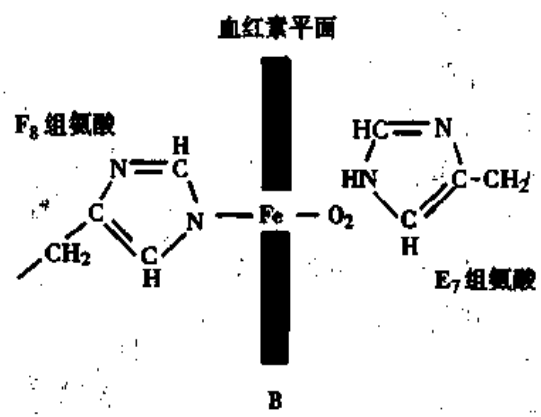
肌红蛋白是由 153 个氨基酸残基构成的单个肽链的蛋白质，含有 1 个血红素辅基。图 2-13 显示肌红蛋白的三级结构。它有 A 至 H 8 个螺旋区，两个螺旋区之间有一段无规卷曲，脯氨酸位于转角处。由于侧链 R 基团的相互作用，多肽链缠绕，形成一个球状分子，球表面主要有亲水侧链，疏水侧链则位于分子内部。蛋白质三级结构的形成和稳定主要靠次级键——疏水作用、离子键(盐键)、氢键和 Van der Waals 力等(图 2-14)。

分子量大的蛋白质三级结构常可分割成 1 个和数个球状或纤维状的区域，折叠得较为紧密，各行其功能，称为结构域(domain)。如纤连蛋白(fibronectin)，它由二条多肽链通过近 C-端的两个二硫键相连而成，含有 6 个结构域，各个结构域分别执行一种功能，有可与细胞、胶原、DNA 和肝素等结合的结构域(图 2-15)。

四、蛋白质的四级结构



A



B

图 2-13 肌红蛋白中血红素与肽链的关系
A. 肌红蛋白 B. 结合氧示意图

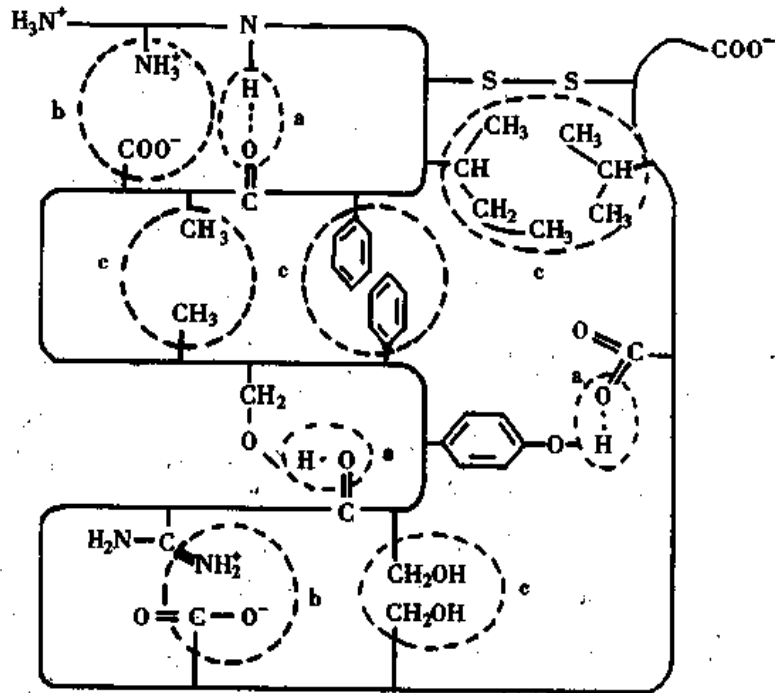


图 2-14 维持蛋白质分子构象的各种化学键
a. 氢键 b. 离子键 c. 疏水作用

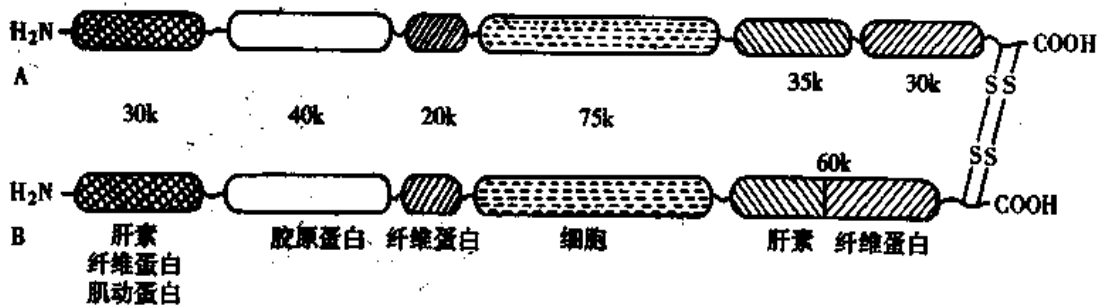


图 2-15 纤连蛋白分子结构域

30k 等表示各结构域的分子量, 30k 即 3 万, 以此类推

局和相互作用, 称为蛋白质的四级结构 (quaternary structure)。在四级结构中, 各亚基间的结合力主要是疏水作用, 氢键和离子键也参与维持四级结构。含有四级结构的蛋白质, 单独的亚基一般没有生物学功能, 只有完整的四级结构寡聚体才有生物学功能。血红蛋白是由 2 个 α 亚基和 2 个 β 亚基组成的四聚体, 两种亚基的三级结构颇为相似, 且每个亚基都结合有 1 个血红素 (heme) 辅基 (图 2-16)。4 个亚基通过 8 个离子键相连, 形成血红蛋白的四聚体, 具有运输氧和 CO_2 的功能。但每 1 个亚基单独存在时, 虽可结合氧且与氧亲和力增强, 但在体内组织中难于释放氧。

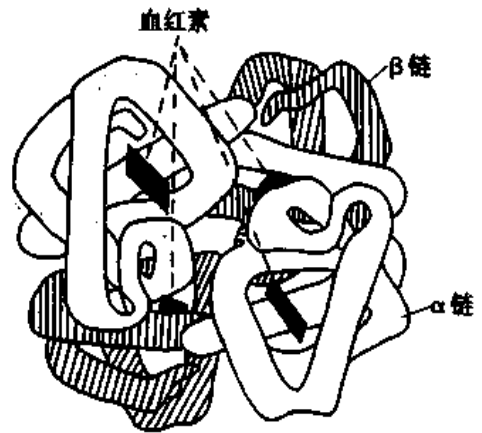


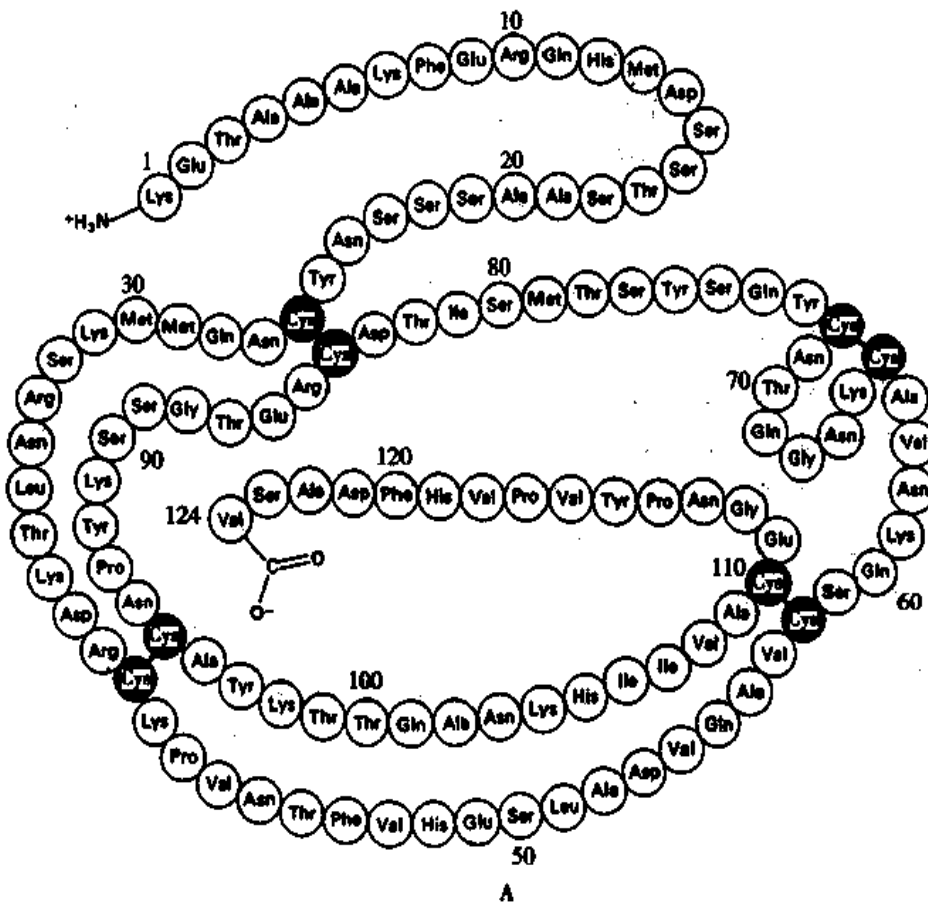
图 2-16 蛋白质的四级结构——血红蛋白结构示意图

第三节 蛋白质结构与功能的关系

一、蛋白质一级结构与功能的关系

(一) 一级结构是空间构象的基础

Anfinsen 在研究核糖核酸酶时已发现，蛋白质的功能与其三级结构密切相关，而特定三级结构是以氨基酸顺序为基础的。核糖核酸酶由 124 个氨基酸残基组成，有 4 对二硫键(Cys26 和 Cys84, Cys40 和 Cys95, Cys58 和 Cys110, Cys65 和 Cys72)(图 2-17A)。用尿素(或盐酸胍)和 β -巯基乙醇处理该酶溶液，分别破坏次级键和二硫键，使其二、三级结构遭到破坏，但肽键不受影响，故一级结构仍存在，此时该酶活性丧失殆尽。核糖核酸酶中的 4 对二硫键被 β -巯基乙醇还原成-SH 后，若要再形成 4 对二硫键，从理论上推算有 105 种不同配对方式，唯有与天然核糖核酸酶完全相同的配对方式，才能呈现酶活性。当用透析方法去除尿素和 β -巯基乙醇后，松散的多肽链，循其特定的氨基酸顺序，卷曲折叠成天然酶的空间构象，4 对二硫键也正确配对，这时酶活性又逐渐恢复至原来水平(图 2-17B)。这充分证明空间构象遭破坏的核糖核酸酶只要其一级结构未被破坏，就可能回复到原来的三级结构，功能依然存在。



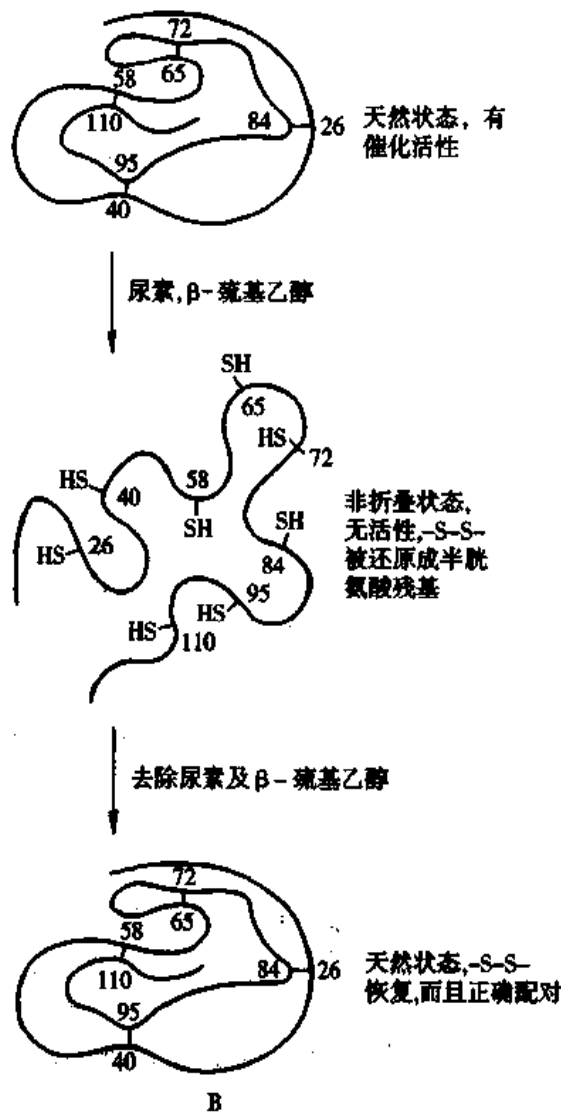


图 2-17 牛核糖核酸酶一级结构与空间结构的关系

A. 牛核糖核酸酶的氨基酸序列 B. β -巯基乙醇及尿素对核糖核酸酶的作用

(二) 一级结构与功能的关系

已有大量的实验结果证明，一级结构相似的多肽或蛋白质，其空间构象以及功能也相似。例如不同哺乳类动物的胰岛素分子结构都由 A 和 B 两条链组成，且二硫键的配对和空间构象也极相似，一级结构也相似仅有个别氨基酸差异，因而它们都执行着相同的调节糖代谢等生理功能。(表 2-2)

表 2-2 哺乳类动物胰岛素氨基酸序列的差异

胰岛素	氨基酸残基序号			
	A5	A6	A10	B30
人	Thr	Ser	Ile	Thr
猪	Thr	Ser	Ile	Ala
狗	Thr	Ser	Ile	Ala
兔	Thr	Gly	Ile	Ser
牛	Ala	Gly	Val	Ala
羊	Ala	Ser	Val	Ala
马	Thr	Ser	Ile	Ala

A: 为 A 链, B: 为 B 链, A5 表示 A 链第 5 位氨基酸, 其余类推

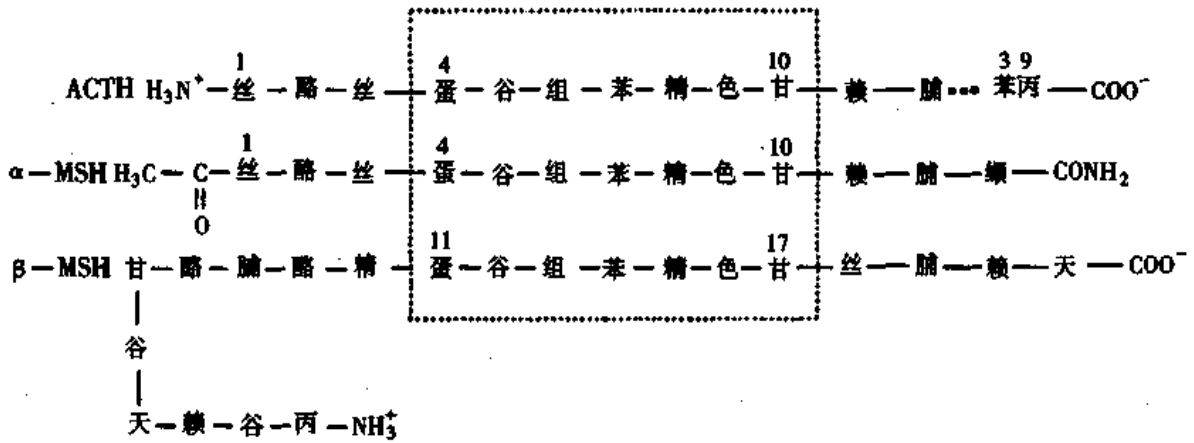


图 2-18 ACTH、 α -MSH 和 β -MSH 一级结构比较

此外，垂体前叶分泌的促肾上腺皮质激素(ACTH)和促黑激素(α -MSH, β -MSH)共有一段相同的氨基酸序列(图 2-18)，因此，ACTH 也可促进皮下黑色素生成但作用较弱。

一些广泛存在于生物界的蛋白质如细胞色素 c (cytochrome c)，比较它们的一级结构，可以帮助了解物种进化间的关系(图 2-19)。物种间越接近，则细胞色素 c 的一级结

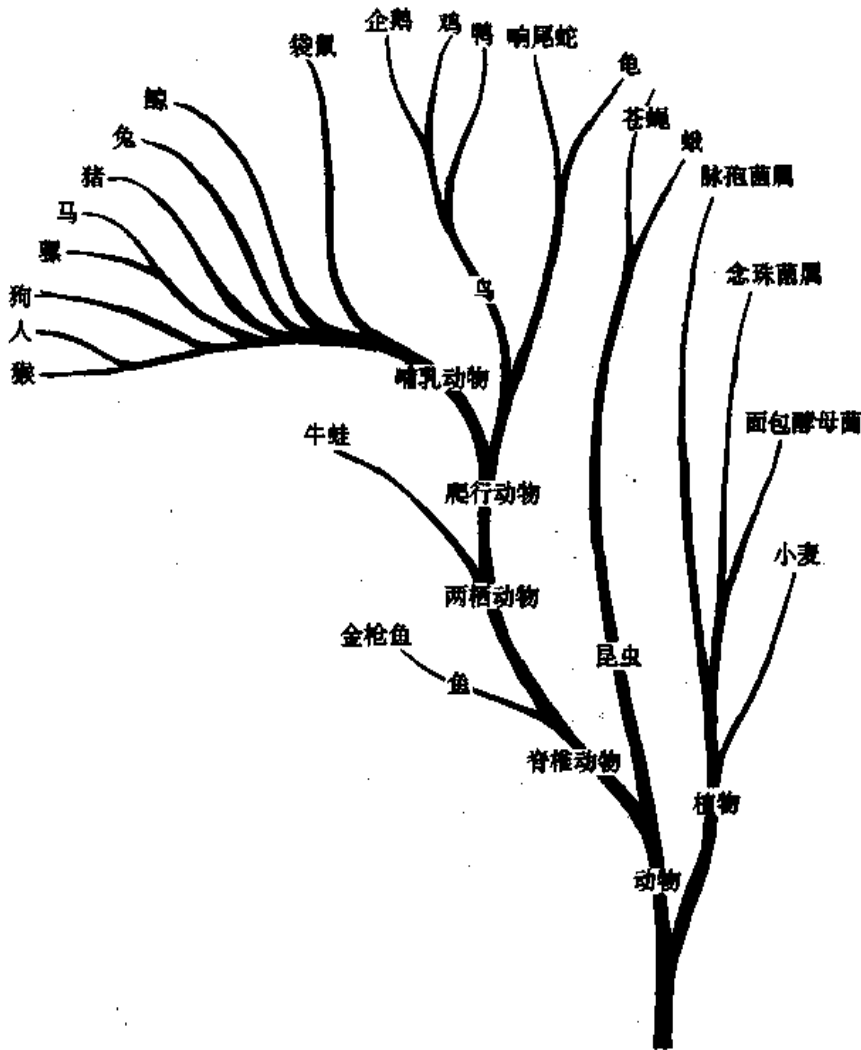


图 2-19 从细胞色素 c 的一级结构看生物进化
物种进化过程中越接近的生物，它们的细胞色素 c 一级结构越近似

构越相似，其空间构象和功能也相似。例如猕猴与人类很接近，两者一级结构只相差 1 个氨基酸残基，即第 102 位氨基酸猕猴为精氨酸，人类为酪氨酸；人类和黑猩猩的细胞色素 c 一级结构完全相同。面包酵母与人类从物种进化看，两者相差极远，所以两者细胞色素 c 一级结构相差达 51 个氨基酸。灰鲸是哺乳类动物，由陆上动物演化，它与猪、牛及羊只差 2 个氨基酸。

但是，有时蛋白质分子中起关键作用的氨基酸残基缺失或被替代，都会严重影响空间构象乃至生理功能。例如正常人血红蛋白 β 亚基的第 6 位氨基酸是谷氨酸，而镰刀形红细胞贫血患者的血红蛋白中，谷氨酸变成了缬氨酸，仅此一个氨基酸之差，本是水溶性的血红蛋白，就聚集成丝，相互粘着，导致红细胞变形成为镰刀状而极易破碎，产生贫血。这种由蛋白质分子发生变异所导致的疾病，被称之为“分子病”。但并非一级结构中的每个氨基酸都很重要，如细胞色素 c，此蛋白质分子中某些位点即使置换数 10 个氨基酸残基，其功能依然不变。

一、蛋白质空间结构与功能的关系

盐键(图 2-21), 使 4 个亚基紧密结合而形成亲水的球状蛋白。

(二) 血红蛋白的构象变化与结合氧

Hb 与 Mb 一样可逆地与 O_2 结合, 氧合 Hb 占总 Hb 的百分数(称百分饱和度)随 O_2 浓度变化而改变。图 2-22 为 Hb 和 Mb 的氧解离曲线, 前者为 S 状曲线, 后者为直角双曲线。可见, Mb 易与 O_2 结合, 而 Hb 与 O_2 的结合在 O_2 分压较低时较难。Hb 与 O_2 结合的 S 型曲线提示 Hb 的 4 个亚基与 4 个 O_2 结合时平衡常数并不相同, 而是有 4 个不同的平衡常数。Hb 最后一个亚基与 O_2 结合时其常数最大, 从 S 型曲线的后半部呈直线上升可证明此点。根据 S 形曲线的

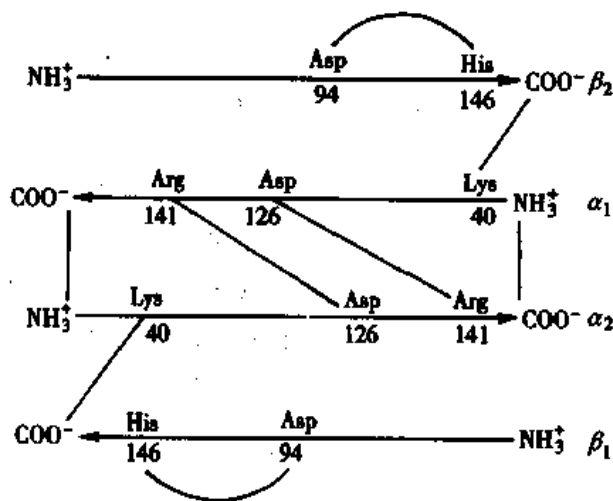


图 2-21 脱氧 Hb 亚基间和亚基内的盐键

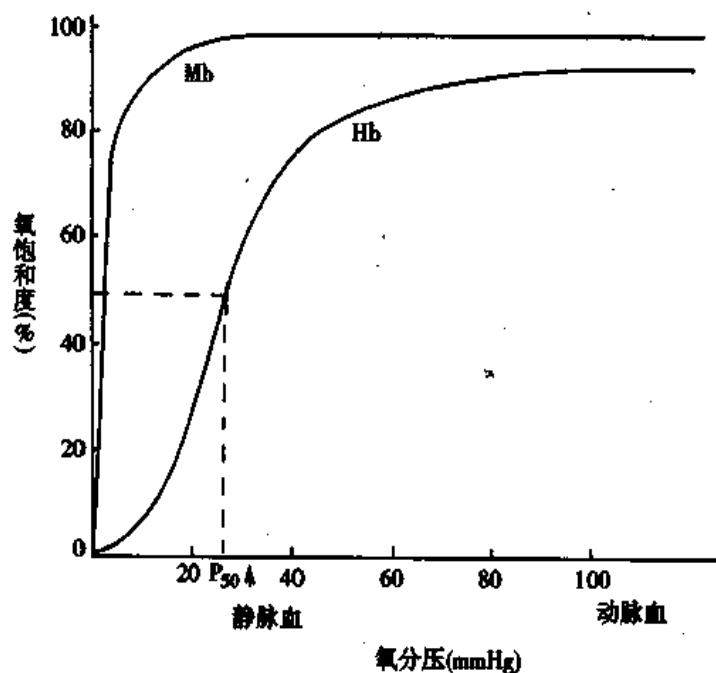


图 2-22 肌红蛋白(Mb)与血红蛋白(Hb)的氧解离曲线
($1\text{mmHg} = 133.322\text{Pa}$)

未结合 O_2 时, Hb 的 α/β 和 α/β 呈对角排列, 结构较为紧密, 称为紧张态(tense state, T 态), T 态 Hb 与 O_2 的亲合力小。随着 O_2 的结合, 4 个亚基羧基末端之间的盐键断裂, 其二级、三级和四级结构也发生变化, 使 α/β 和 α/β 的长轴形成 15° 的夹角(图 2-23), 结构显得相对松弛, 称为松弛态(relaxed state, R 态)。图 2-24 显示 Hb 氧合与脱氧时 T 态和 R 态相互转换的可能方式。T 态转变成 R 态是逐个结合 O_2 而完成的。在脱氧 Hb 中, Fe^{2+} 半径比卟啉环中间的孔大, 因此 Fe^{2+} 高出卟啉环平面 0.075nm , 而靠近 F8 位组氨酸残基。当第 1 个 O_2 与血红素 Fe^{2+} 结合后, 使 Fe^{2+} 的半径变小, 进入到卟啉环

特征可知, Hb 中第一个亚基与 O_2 结合以后, 促进第二及第三个亚基与 O_2 的结合, 当前三个亚基与 O_2 结合后, 又大大促进第四个亚基与 O_2 结合, 这种效应称为正协同效应(positive cooperativity)。协同效应的定义是指一个亚基与其配体(Hb 中的配体为 O_2)结合后, 能影响此寡聚体中另一亚基与配体的结合能力。如果是促进作用则称为正协同效应; 反之则为负协同效应。

根据 Perutz 等利用 X 线衍射技术分析 Hb 和氧合 Hb 结晶的三维结构图谱, 提出了解释 O_2 与 Hb 结合的正协同效应的理论。

中间的小孔中(图 2-25), 引起 F 肽段等一系列微小的移动, 同时影响附近肽段的构象, 造成两个 α 亚基间盐键断裂, 使亚基间结合松弛, 可促进第二个亚基与 O_2 结合, 依此方式可影响第三、四个亚基与 O_2 结合, 最后使四个亚基全处于 R 态。此种一个氧分子与 Hb 亚基结合后引起亚基构象变化, 称为变构效应 (allosteric effect)。小分子 O_2 称为变构剂或效应剂, Hb 则被称为变构蛋白。变构效应不仅发生在 Hb 与 O_2 之间, 一些酶与变构剂的结合、配体与受体结合也存在着变构效应, 所以它具有普遍意义。

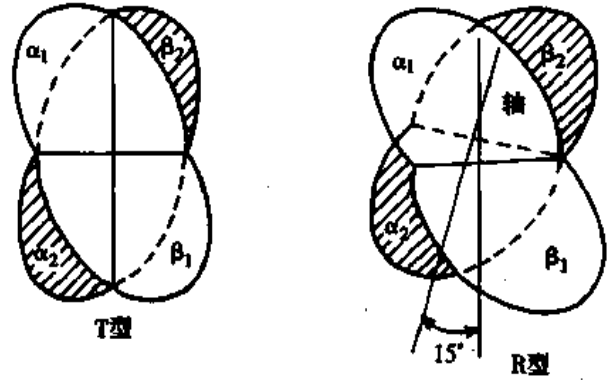


图 2-23 Hb T 态和 R 态互变

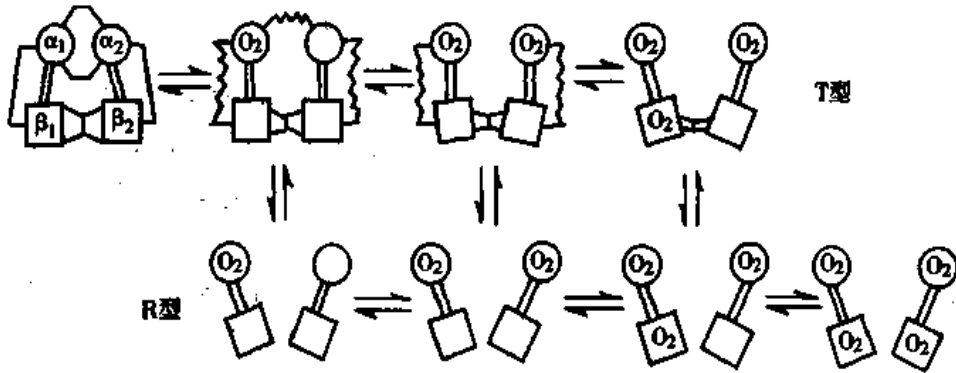


图 2-24 Hb 氧合与脱氧构象转换示意

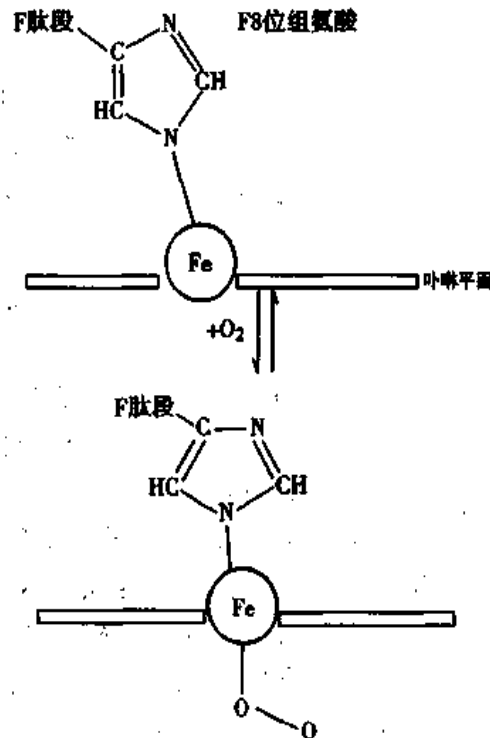


图 2-25 血红蛋白与 O_2 结合

血红蛋白与 O_2 结合后, Fe 原子变小, 就能进入卟啉环的小孔中, 继而引起肽链位置的变动

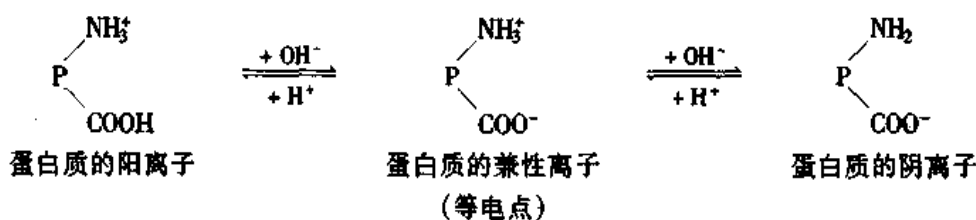
第四节 蛋白质的理化性质及其分离纯化

蛋白质既然由氨基酸组成，其理化性质必然与氨基酸相同或相关，例如，两性电离及等电点、紫外吸收性质、呈色反应等。但蛋白质又是生物大分子化合物，还具有胶体性质、沉淀、变性和凝固等特点。细胞和体液中蛋白质都是数以百万计相混合，要分析单个蛋白质的结构和功能势必先要分离纯化蛋白质。蛋白质分离通常就利用其特殊理化性能，采取盐析、透析、电泳、层析及超速离心等不损伤蛋白质空间构象的物理方法，以满足研究蛋白质结构与功能的需要。

一、蛋白质的理化性质

(一) 蛋白质的两性电离

蛋白质分子除两端的氨基和羧基可解离外，侧链中某些基团，如谷氨酸、天冬氨酸残基中的 γ 和 β 羧基，赖氨酸残基中的 ϵ -氨基，精氨酸残基的胍基和组氨酸的咪唑基，在一定的溶液 pH 条件下都可解离成带负电荷或正电荷的基团。当蛋白质溶液处于某一 pH 时，蛋白质解离成正、负离子的趋势相等，即成为兼性离子，净电荷为零，此时溶液的 pH 称为蛋白质的等电点。蛋白质溶液的 pH 大于等电点时，该蛋白质颗粒带负电荷，反之则带正电荷。



体内各种蛋白质的等电点不同，但大多数接近于 pH5.0。所以在人体体液 pH 7.4 的环境下，大多数蛋白质解离成阴离子。少数蛋白质含碱性氨基酸较多，其等电点偏于碱性，被称为碱性蛋白质，如鱼精蛋白、组蛋白等。也有少量蛋白质含酸性氨基酸较多，其等电点偏于酸性，被称为酸性蛋白质，如胃蛋白酶和丝蛋白等。

(二) 蛋白质的胶体性质

蛋白质属于生物大分子之一，分子量可自 1 万至 100 万之巨，其分子的颗粒大小可达 1~100nm 胶粒范围之内。蛋白质颗粒表面大多为亲水基团，可吸引水分子，使颗粒表面形成一层水化膜，从而阻断蛋白质颗粒的相互聚集，防止溶液中蛋白质的沉淀析出。除水化膜是维持蛋白质胶体稳定的重要因素外，蛋白质胶粒表面可带有电荷，也可起胶粒稳定的作用。若去除蛋白质胶粒两个稳定因素，蛋白质极易从溶液中沉淀。

(三) 蛋白质的变性、沉淀和凝固

蛋白质的三级结构主要依赖于氨基酸残基 R 之间的相互作用，从而保持蛋白质的天然构象。但在某些物理和化学因素作用下，其特定的空间构象被破坏，从而导致其理化性质的改变和生物活性的丧失，称为蛋白质的变性(denaturation)。一般认为蛋白质的变性主要发生二硫键和非共价键的破坏，不涉及一级结构的改变。蛋白质变性后，其溶解度降低，粘度增加，结晶能力消失，生物活性丧失，易被蛋白酶水解。造成蛋白质变

性的因素有多种,常见的有加热、乙醇等有机溶剂、强酸、强碱、重金属离子及生物碱试剂等。在医学上,变性因素常被应用来消毒及灭菌。此外,防止蛋白质变性也是有效保存蛋白质制剂(如疫苗等)的必要条件。

蛋白质变性后,疏水侧链暴露在外,肽链融汇相互缠绕继而聚集,因而从溶液中析出,这一现象被称为蛋白质沉淀。变性的蛋白质易于沉淀,有时蛋白质发生沉淀,但并不变性。

若蛋白质变性程度较轻,去除变性因素后,有些蛋白质仍可恢复或部分恢复其原有的构象和功能,称为复性(renaturation)。图 2-17 所示,在核糖核酸酶溶液中加入尿素和 β -巯基乙醇,可解除其分子中的 4 对二硫键和氢键,使空间构象遭到破坏,丧失生物活性。变性后如经透析方法去除尿素和 β -巯基乙醇,并设法使巯基氧化成二硫键,核糖核酸酶又恢复其原有的构象,生物学活性也几乎全部重现。但是许多蛋白质变性后,空间构象严重被破坏,不能复原,称为不可逆性变性。

蛋白质经强酸、强碱作用发生变性后,仍能溶解于强酸或强碱溶液中,若将 pH 调至等电点,则变性蛋白质立即结成絮状的不溶解物,此絮状物仍可溶解于强酸和强碱中。如再加热则絮状物可变成比较坚固的凝块,此凝块不易再溶于强酸和强碱中,这种现象称为蛋白质的凝固作用(protein coagulation)。实际上凝固是蛋白质变性后进一步发展的不可逆的结果。

(四) 蛋白质的紫外吸收

由于蛋白质分子中含有共轭双键的酪氨酸和色氨酸,因此在 280nm 波长处有特征性吸收峰。在此波长范围内,蛋白质的 O.D.280 与其浓度呈正比关系,因此可作蛋白质定量测定。

(五) 蛋白质的呈色反应

1. 茚三酮反应(ninhydrin reaction) 蛋白质经水解后产生的氨基酸也可发生茚三酮反应,详见本章第一节。

2. 双缩脲反应(biuret reaction) 蛋白质和多肽分子中肽键在稀碱溶液中与硫酸铜共热,呈现紫色或红色,称为双缩脲反应。氨基酸不出现此反应。当蛋白质溶液中蛋白质的水解不断加强时,氨基酸浓度上升,其双缩脲呈色的深度就逐渐下降,因此双缩脲反应可检测蛋白质水解程度。

二、蛋白质的分离和纯化

(一) 丙酮沉淀及盐析

这是两种常用的使蛋白质从溶液中沉淀的方法。蛋白质在溶液中一般含量很低,经沉淀浓缩,以利进一步分离纯化。使用丙酮沉淀时,必须在 0~4℃ 低温下进行,丙酮用量一般 10 倍于蛋白质溶液体积。蛋白质被丙酮沉淀后,应立即分离,否则蛋白质会变性。除了丙酮以外,也可用乙醇沉淀。

盐析(salt precipitation)是将硫酸铵、硫酸钠或氯化钠等加入蛋白质溶液,破坏蛋白质在水溶液中的稳定性因素而沉淀。各种蛋白质盐析时所需的盐浓度及 pH 均不同。例如血清中的白蛋白及球蛋白,前者溶于 pH 7.0 左右的半饱和的硫酸铵溶液中,而后者在此溶液中沉淀。当硫酸铵溶液达到饱和时,白蛋白也随之析出。所以盐析法可将蛋白质初步分离,不过欲得纯品,尚需用其他方法。许多蛋白质经纯化后,在盐溶液中长期放置逐渐析出,成为整齐的结晶。

(二) 电泳

蛋白质在高于或低于其 pI 的溶液中是带电的，在电场中能向电场的正极或负极移动。这种通过蛋白质在电场中泳动而达到分离各种蛋白质的技术，称为电泳 (electrophoresis)。根据支撑物的不同，有薄膜电泳、凝胶电泳等。薄膜电泳是将蛋白质溶液点样于薄膜上，薄膜两端分别加正负电极，此时带正电荷的蛋白质向负极泳动；带负电荷的向正极泳动；带电多，分子量小的蛋白质泳动速率快；带电少，分子量大的则泳动慢，于是蛋白质被分离。凝胶电泳的支撑物为琼脂糖、淀粉或聚丙烯酰胺凝胶。凝胶置于玻璃板上或玻璃管中，两端加上正负电极，蛋白质即在凝胶中泳动。电泳结束后，用蛋白质显色剂显色，即可看到一条条已被分离的蛋白质色带。

(三) 透析

利用透析袋把大分子蛋白质与小分子化合物分开的方法叫透析 (dialysis)。透析袋是用具有超小微孔的膜，如硝酸纤维素膜制成。微孔一般只允许分子量为 10 000 以下的化合物通过。蛋白质是高分子化合物故留在袋内。当透析袋内盛有蛋白质溶液，再置于水中，则小分子物质如硫酸铵、氯化钠等即透过薄膜。不断更换袋外的水，可把袋内小分子物质全部去尽。如果袋外放吸水剂如聚乙二醇，则袋内水分伴同小分子物质透出袋外，袋内蛋白质溶液尚可达到浓缩的目的。

(四) 层析

层析 (chromatography) 是蛋白质分离纯化的重要手段之一。层析种类很多，有离子交换层析、亲和层析等。其中离子交换层析应用最广。蛋白质和氨基酸一样，是两性电解质，在某一特定 pH 时，各蛋白质的电荷量及性质不同，故可以通过离子交换层析得以分离 (图 2-26)。

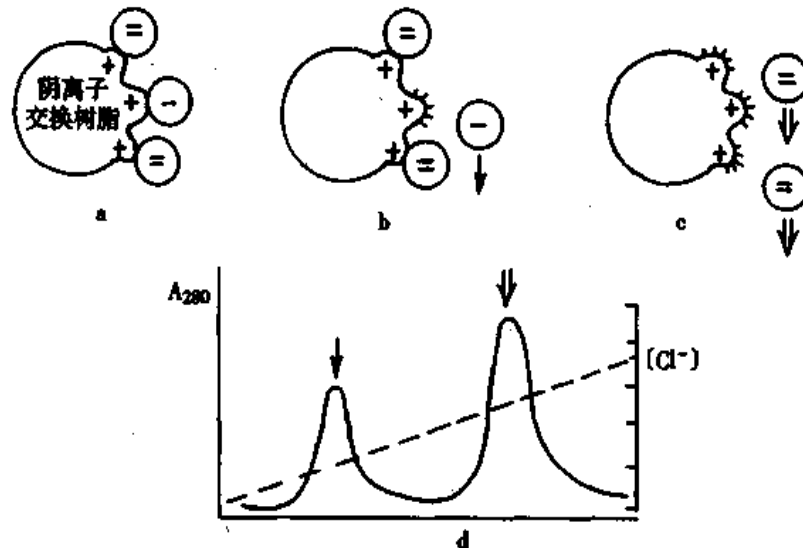


图 2-26 离子交换层析分离蛋白质

- 样品全部交换并吸附到树脂上
- 负电荷较少的分子用较稀的 Cl⁻ 或其他负离子溶液洗脱
- 电荷多的分子随 Cl⁻ 浓度增加依次洗脱
- 洗脱图

A₂₈₀ 表示为 280nm 的吸光度

图 2-26 介绍的是阴离子交换层析，将阴离子交换树脂颗粒填充在层析管内，由于阴离子交换树脂颗粒上带正电荷，能吸引溶液中的阴离子(图 2-26a)。然后再用含阴离子(如 Cl^-)的溶液洗柱。含负电量小的蛋白质首先被洗脱下来(图 2-26b)。增加 Cl^- 浓度，含负电量多的蛋白质也被洗脱下来(图 2-26c)，于是两种蛋白质被分开。

(五) 分子筛

又称凝胶过滤(gel filtration)，是层析的一种，层析柱内填满带有小孔的颗粒，一般由葡聚糖制成。蛋白质溶液加于柱之顶部，任其往下渗漏，小分子蛋白质进入孔内，因而在柱中滞留时间较长，大分子蛋白质不能进入孔内而径直流出，因此不同大小的蛋白质得以分离(图 2-27)。

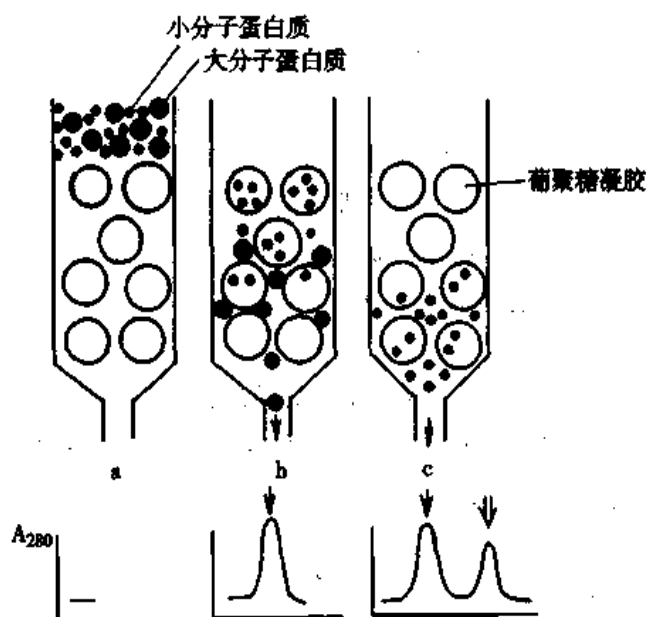


图 2-27 凝胶过滤分离蛋白质

- a. 大球是葡聚糖凝胶颗粒
- b. 样品上柱后，小分子进入凝胶微孔，大分子不能进入，故洗脱时大分子先洗脱下来
- c. 小分子后洗脱出来

(六) 超速离心

超速离心法(ultracentrifugation)既可以用来分离纯化蛋白质也可以用作测定蛋白质的分子量。蛋白质在高达 50 万 g (g 为 gravity, 即地心引力)的重力作用下，在溶液中逐渐沉降，直至其浮力(buoyant force)与离心所产生的力相等，此时沉降停止。不同蛋白质其密度与形态各不相同，因此用上述方法可将它们分开。蛋白质在离心场中的行为用沉降系数(sedimentation coefficient, S)表示，系数与蛋白质的密度和形状相关(表 2-3)。

表 2-3 蛋白质的分子量和沉降系数

蛋白质	分子量	S
细胞色素 C (牛心)	13 370	1.17
肌红蛋白 (马心)	16 900	2.04
糜蛋白酶原 (牛胰)	23 240	2.54

续表

蛋白质	分子量	S
β-乳球蛋白(羊奶)	37 100	2.90
血红蛋白(人)	64 500	4.50
血清白蛋白(人)	68 500	4.60
过氧化氢酶(马肝)	247 500	11.30
脲酶(刀豆)	482 700	18.60
纤维蛋白原	339 700	7.60

$$S = \frac{dx/dt}{\omega^2 x} \times 10^{13}$$

dx/dt 代表颗粒在离心场中的移动速率, ω 为离心头的角速度, x 是距转动中心的距离, t 为离心时间。沉降系数(S)使用 Svedberg 单位($1S = 10^{-13}$ 秒)。

应用超速离心法测定蛋白质分子量时, 一般用一个已知分子量的标准蛋白质作为参照, 因为沉降系数 S 大体上和分子量成正比关系, 它的计算式如下:

$$\frac{S(\text{未知})}{S(\text{标准})} = \left[\frac{M_r(\text{未知})}{M_r(\text{标准})} \right]^{2/3}$$

这一算式对多数球状蛋白质都适用, 但大多数纤维状蛋白质由于其分子形状的高度不对称性, 无法使用上述简单算式。

三、多肽链中氨基酸序列分析

自从 1953 年 Sanger 首次完成胰岛素的氨基酸顺序测定以来, 目前已有很大改进。当年 Sanger 花费多年才基本搞清胰岛素的一级结构, 现今由于方法学改进及自动化分析仪器的产生, 已有数万种蛋白质的氨基酸序列问世。当今的分析原则基本借用 Sanger 提出的方法, 但具体方法已有很大改进。首先分析已纯化蛋白质的氨基酸残基组成。蛋白质经盐酸水解后成为个别氨基酸, 用离子交换树脂将各种氨基酸分开, 测定它们的量, 算出各氨基酸在蛋白质中的百分组成或个数(图 2-28)。第二步测定多肽链的氨基末端与羧基末端为何种氨基酸残基, 即肽链头、尾的氨基酸残基。Sanger 当年用二硝基氟苯与多肽链的 α -氨基作用生成二硝基苯氨基酸, 然后将多肽水解, 分离出带有二硝基苯基的氨基酸。目前多用丹酰氯使之生成丹酰衍生物, 该物质具强烈荧光, 更易鉴别。羧基端氨基酸残基可用羧肽酶将羧基端氨基酸残基水解下来。当鉴定了头、尾两端的氨基酸残

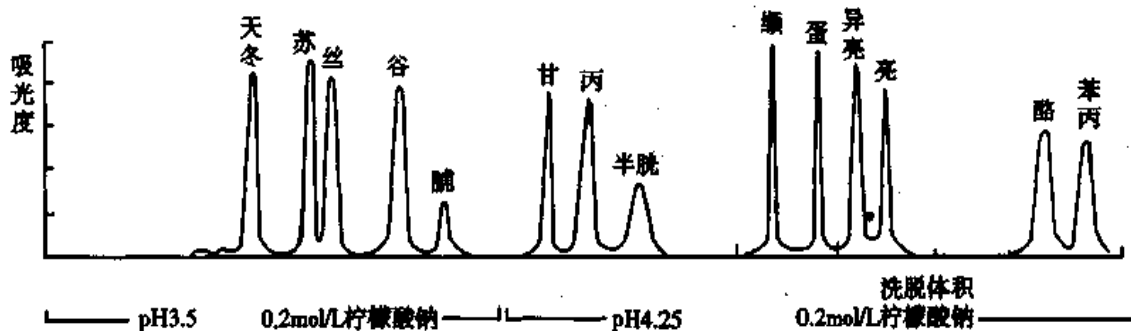


图 2-28 离子交换层析分析蛋白质的氨基酸组分

如图 2-29 中，已被水解成 27 个片段。这些肽段经过分离纯化后，即可进行氨基酸顺序测定。但是获得了这些数据之后，还不能得出整条多肽链的氨基酸排列顺序，因为尚不清楚这些片段在多肽链中的前后次序。一般需用数种水解法，并分析出各肽段中的氨基酸顺序，然后经过组合排列对比，最终得出完整肽链中氨基酸顺序的结果。兹举一个 12 肽为例以说明之。在实际工作中一个 12 肽在自动氨基酸顺序仪上就可测出氨基酸序列，不必经过酶解等步骤。经上述 3 种降解处理，获得 8 种肽段，根据它们的重复顺序排列，就可以正确地作出 12 肽的氨基酸排列顺序。

近年来，由于核酸的研究在理论上及技术上的迅猛发展，人们开始通过核酸来推演蛋白质中的氨基酸序列。蛋白质中的氨基酸顺序是从信使 RNA (mRNA) 中核苷酸序列翻译过来的，因此只要找到相应的 mRNA 测出它的核苷酸顺序，氨基酸序列也就清楚了。此方法先分离编码蛋白质的基因，测定 DNA 序列，排列出 mRNA 序列，按照三联密码的原则推演出氨基酸的序列。目前多数蛋白质的氨基酸序列都是通过此方法而获知的。

四、蛋白质空间结构测定

蛋白质的空间结构十分复杂，因而其测定的难度也较大。目前已知氨基酸序列的蛋白质多达 20 万个，而测得其空间结构仅 8 000 个左右。通常采用 X 射线晶体衍射法 (X-ray diffraction)，首先将蛋白质制备成晶体。迄今为止，并非所有纯化蛋白质都能制备成满意的能供三维结构分析的晶体。例如糖蛋白，由于蛋白质分子中糖基化位点和某些位点的糖链结构存在不均一性，很难获得糖蛋白的晶体。X 射线射至蛋白质晶体上，可产生不同方向的衍射，X 线片则接受衍射光束，形成衍射图。这种衍射图也即 X 射线穿过晶体的一系列平行剖面所表示的电子密度图。然后借助计算机绘制出三维空间的电子密度图。如一个肌红蛋白的衍射图有 25 000 个斑点，通过对这些斑点的位置、强度进行计算，已得出其空间结构。此外，近年建立的二维磁共振技术，也已用于测定蛋白质三维空间结构。

由于蛋白质空间结构的基础是一级结构，近年来根据蛋白质的氨基酸序列预测其三维空间结构，受到科学家的关注。预测蛋白质空间结构的方法主要有两类。第一类方法是采用分子力学、分子动力学的方法，根据物理化学的基本原理，从理论上计算蛋白质分子的空间结构。第二类方法是通过对已知空间结构的蛋白质进行分析，找出一级结构与空间结构的关系，总结出规律，用于新的蛋白质空间结构的预测。

小 结

蛋白质是生物大分子，在体内分布广泛，含量丰富，种类繁多。每一种蛋白质都有其特有的生物学功能。

蛋白质的基本组成单位是 α -氨基酸，有 20 种。氨基酸属于两性电解质，在溶液的 pH 等于其 pI 时，氨基酸呈兼性离子。氨基酸可通过肽键相连而成肽。小于 10 个氨基酸组成的肽称为寡肽，反之则称为多肽。体内存在许多如 GSH、促甲状腺释放激素和神经肽等重要的生物活性肽。

根据蛋白质的形状，可分成球状蛋白质和纤维状蛋白质。根据组成成分，还可分成

单纯蛋白质和结合蛋白质，前者仅含有氨基酸，后者除氨基酸外，还含有非蛋白质的辅基成分。复杂的蛋白质结构可分成一级、二级、三级和四级结构四个层次。蛋白质一级结构是指蛋白质分子中氨基酸自 N 端至 C 端的排列顺序，即氨基酸序列，其连接键为肽键，还包括二硫键。形成肽键的 6 个原子处于同一平面，构成了所谓的肽单元。二级、三级和四级结构研究蛋白质的空间构象，分层次阐述蛋白质的三维立体结构。二级结构是指蛋白质主链局部的空间结构，不涉及氨基酸残基侧链构象。主要为 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲，以氢键维持其稳定性。在蛋白质中，存在二个或三个具有二级结构的肽段所形成的特殊空间构象，称为模序，发挥着特殊的生物学功能。三级结构是指多肽链主链和侧链的全部原子的空间排布位置。三级结构的形成和稳定主要靠次级键。一些蛋白质的三级结构可形成 1 个或数个球状或纤维状的区域，各行其功能，称为结构域。四级结构是指蛋白质亚基之间的缔合，也主要靠次级键维系。

体内存在数以千万种蛋白质，各有其特定的结构和特殊的生物学功能。一级结构是空间构象的基础，也是功能的基础。一级结构相似的蛋白质，其空间构象及功能也相近。若蛋白质的一级结构发生改变则影响其正常功能，由此引起的疾病称为分子病。

蛋白质空间构象与功能有着密切关系。血红蛋白亚基与 O_2 结合可引起另一亚基构象变化，使之更易与 O_2 结合，所以血红蛋白的氧解离曲线呈 S 型。这种变构效应是蛋白质中普遍存在的功能调节方式之一。蛋白质的空间构象发生改变，可导致其理化性质变化和生物活性的丧失。蛋白质发生变性后，只要其一级结构未遭破坏，仍可在一定条件下复性，恢复原有的空间构象和功能。

分离纯化蛋白质是研究单个蛋白质结构与功能的先决条件。通常利用蛋白质的理化性质，采取不损伤蛋白质结构和功能的物理方法来纯化蛋白质。

(董锦良)

第三章 核酸的结构与功能

核酸(nucleic acid)是以核苷酸为基本组成单位的生物大分子。天然存在的核酸有两类,一类为脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA),另一类为核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)。DNA存在于细胞核和线粒体内,携带遗传信息,决定细胞和个体的基因型(genotype)。RNA存在于细胞质和细胞核内,参与细胞内DNA遗传信息的表达。病毒中, RNA也可作为遗传信息的载体。

早在1868年,瑞士外科医生Friedrich Miescher就从脓细胞核中分离到了核酸样物质,但是对其功能一直未能认识。1944年,Oswald Avery利用致病肺炎球菌中提取的DNA使另一种非致病性的肺炎球菌的遗传性状发生改变而成为致病菌,才证实了DNA是遗传的物质基础。核酸和蛋白质一样,都是生命活动中的生物信息大分子,具有复杂的结构和重要的功能。

第一节 核酸的化学组成

核酸在核酸酶的作用下水解为核苷酸,核苷酸完全水解可释放出等摩尔量的含氮碱基、戊糖和磷酸。因此,核酸的基本组成单位是核苷酸(nucleotide),而核苷酸则由碱基、戊糖和磷酸三种成分连接而成。

一、核苷酸中的碱基成分

构成核苷酸的碱基(base)主要有五种(图3-1),分属于嘌呤(purine)和嘧啶(pyrimidine)两类含氮杂环化合物。嘌呤类化合物包括腺嘌呤(adenine, A)和鸟嘌呤(guanine, G)两种,它们既存在于DNA也存在于RNA分子中。嘧啶类化合物有三种, DNA和RNA分子中均含有胞嘧啶(cytosine, C),胸腺嘧啶(thymine, T)仅出现于DNA分子中,而尿嘧啶(uracil, U)仅出现于RNA分子中。

构成核酸的五种碱基成分中的酮基或氨基均位于杂环上氮原子的邻位,受介质pH的影响,可形成酮式或烯醇式两种互变异构体和氨基或亚氨基的互变异构体(图3-2)。

嘌呤和嘧啶环中均含有共轭双键,因此对波长260nm左右的紫外光有较强吸收(图3-3)。这一重要的理化性质被用于对核酸、核苷酸、核苷及碱基进行定性定量分析。

二、戊糖与核苷

戊糖是核苷酸的另一重要成分。构成DNA分子的核苷酸的戊糖是 β -D-2-脱氧核糖,构成RNA分子的核苷酸的戊糖为 β -D-核糖。为区别于碱基中的碳原子编号,核糖或脱氧核糖中的碳原子标以C-1', C-2'(图3-4)等。

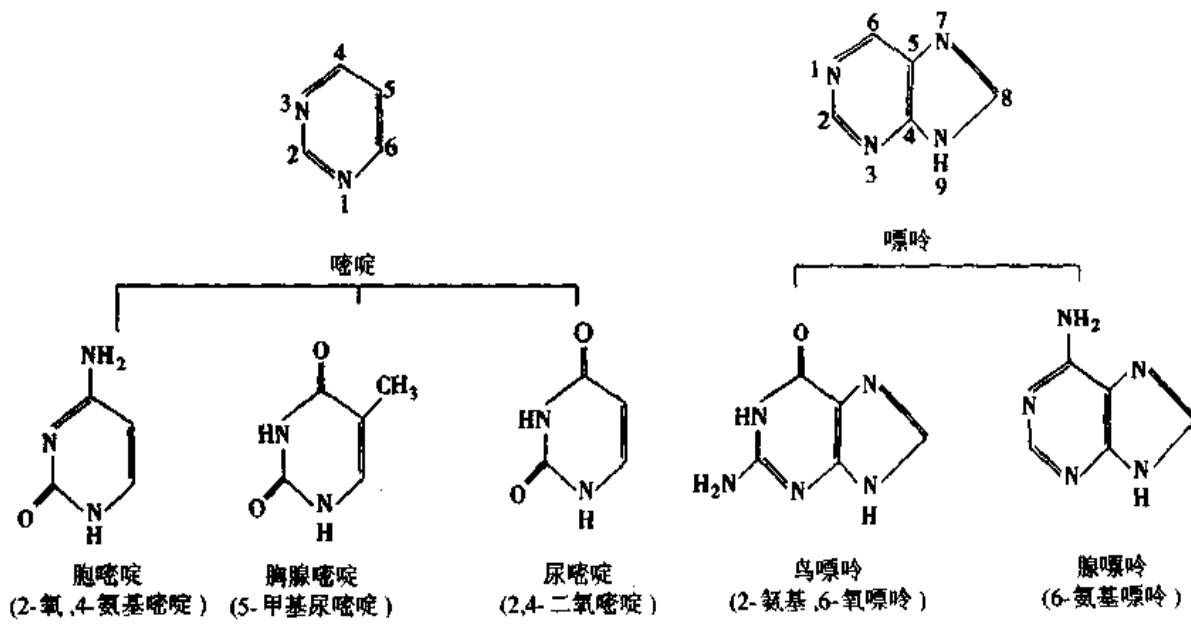


图 3-1 参与组成核酸的主要碱基

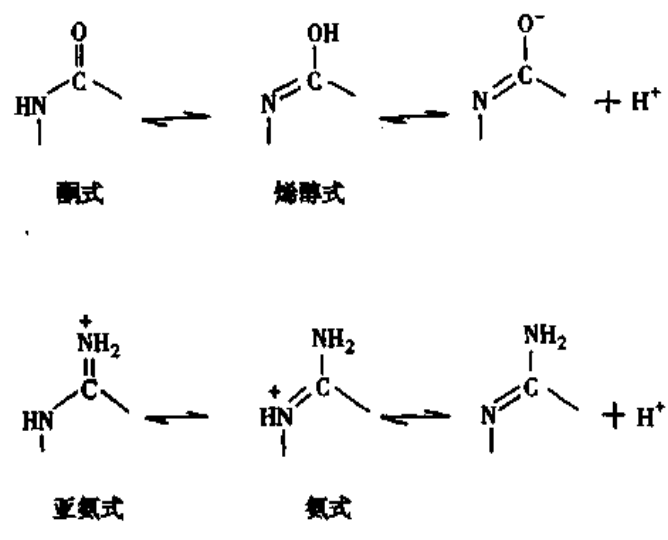


图 3-2 碱基的互变异构

碱基和核糖或脱氧核糖通过糖苷键(glycosidic bond)缩合形成核苷或脱氧核苷，连接位置是C-1'。DNA和RNA中的核苷组成见表3-1，表中核苷和核苷酸名称均采用缩写，如腺苷代表腺嘌呤核苷、鸟苷代表鸟嘌呤核苷等。

表 3-1 参与构成 DNA 和 RNA 的碱基、核苷及相应的核苷酸

RNA			
碱基 base	核苷 ribonucleoside	5'-核苷酸	ribonucleotide (5'-monophosphate)
腺嘌呤 adenine (A)	腺苷 adenosine	腺苷酸 (AMP)	adenosine monophosphate
鸟嘌呤 guanine (G)	鸟苷 guanosine	鸟苷酸 (GMP)	guanosine monophosphate
胞嘧啶 cytosine (C)	胞苷 cytidine	胞苷酸 (CMP)	cytidine monophosphate
尿嘧啶 uracil (U)	尿苷 uridine	尿苷酸 (UMP)	uridine monophosphate

DNA	脱氧核苷	5'-脱氧核苷酸	deoxyribonucleotide
腺嘌呤 adenine (A)	脱氧腺苷 deoxyadenosine	5'-脱氧腺苷酸 monophosphate (dAMP)	deoxyadenosine
鸟嘌呤 guanine (G)	脱氧鸟苷 deoxyguanosine	5'-脱氧鸟苷酸 monophosphate (dGMP)	deoxyguanosine
胞嘧啶 cytosine (C)	脱氧胞苷 deoxycytidine	5'-脱氧胞苷酸 monophosphate (dCMP)	deoxycytidine 5'-
胸腺嘧啶 thymine (T)	胸 苷 thymidine	5'-胸苷酸 monophosphate (dTMP)	thymidine 5'-

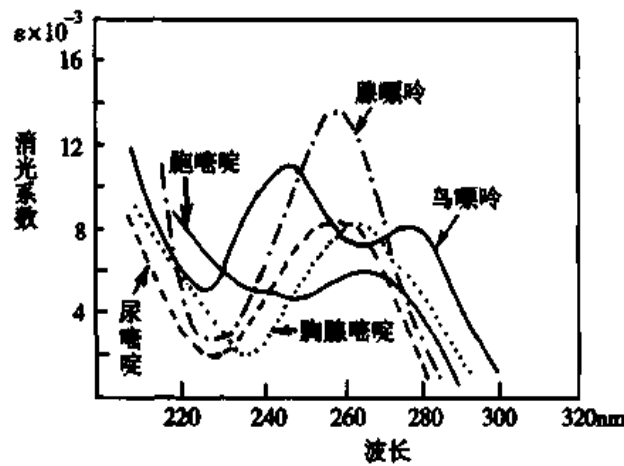


图 3-3 各种碱基在 pH 7 的紫外吸收光谱

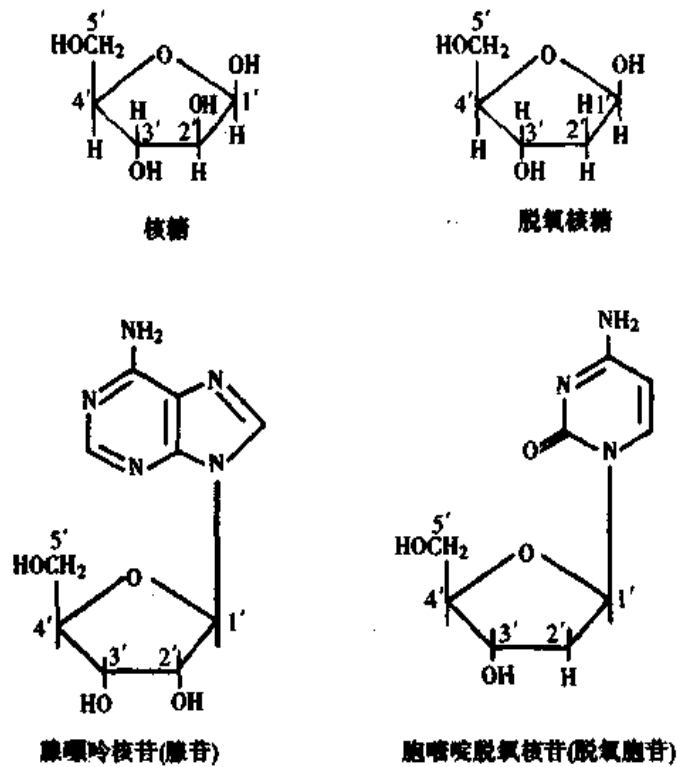


图 3-4 核糖与核苷

三、核苷酸的结构与命名

核苷(脱氧核苷)与磷酸通过酯键结合即构成核苷酸(脱氧核苷酸)。尽管核糖环上所有的游离羟基(核糖的 C-2'、C-3'、C-5' 及脱氧核糖的 C-3'、C-5') 均能与磷酸发生酯化反应, 生物体内多数核苷酸却都是 5' 核苷酸, 即磷酸基团位于核糖的第五位碳原子 C-5' 上。含有一个磷酸基团的核苷酸称为核苷一磷酸(nucleoside monophosphate, NMP), 含有两个磷酸基团的核苷酸称为核苷二磷酸(nucleoside diphosphate, NDP), 含有三个磷酸基团的核苷酸称为核苷三磷酸(nucleoside triphosphate, NTP), 再加上碱基名称就构成了各种核苷酸的命名。图 3-5 是几个代表性核苷酸的结构示意图, 其他的核苷酸或脱氧核苷酸均可以此类推。

核苷酸在体内除构成核酸外, 还参加各种物质代谢的调控和多种蛋白质功能的调节。例如 ATP 和 UTP 在能量代谢中均为重要的底物或中间产物, 环腺苷酸(cyclic AMP, cAMP)和环鸟苷酸(cGMP)则在细胞信号转导过程具有重要调控作用。

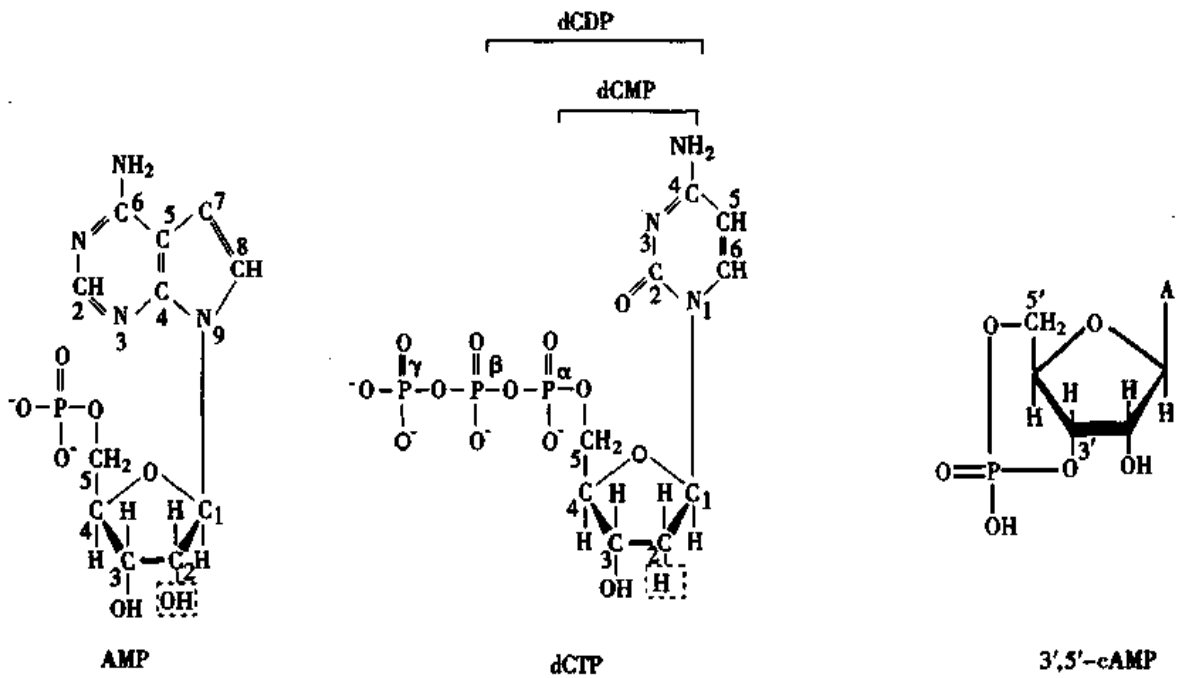


图 3-5 不同类型的核苷酸

第二节 核酸的一级结构

DNA 和 RNA 的一级结构是指其中核苷酸的排列顺序, 称为核苷酸序列。由于核苷酸间的差异主要是碱基不同, 因此也称为碱基序列。四种脱氧核苷酸按照一定的排列顺序以磷酸二酯键(phosphodiester linkage)相连形成的多聚脱氧核苷酸链(polydeoxynucleotides)称为 DNA。这些脱氧核苷酸或核苷酸的连接具有严格的方向性, 由前一核苷酸的 3'-OH 与下一位核苷酸的 5'位磷酸间形成 3', 5'磷酸二酯键, 从而构成一个没有分支的线性大分子。它们的两个末端分别称为 5'末端(游离磷酸基)和 3'末端(游离羟基)。

DNA 单链的结构及表示方式从繁到简如图 3-6 所示。需要强调的是按照规则，DNA 的书写应从 5' 到 3'。

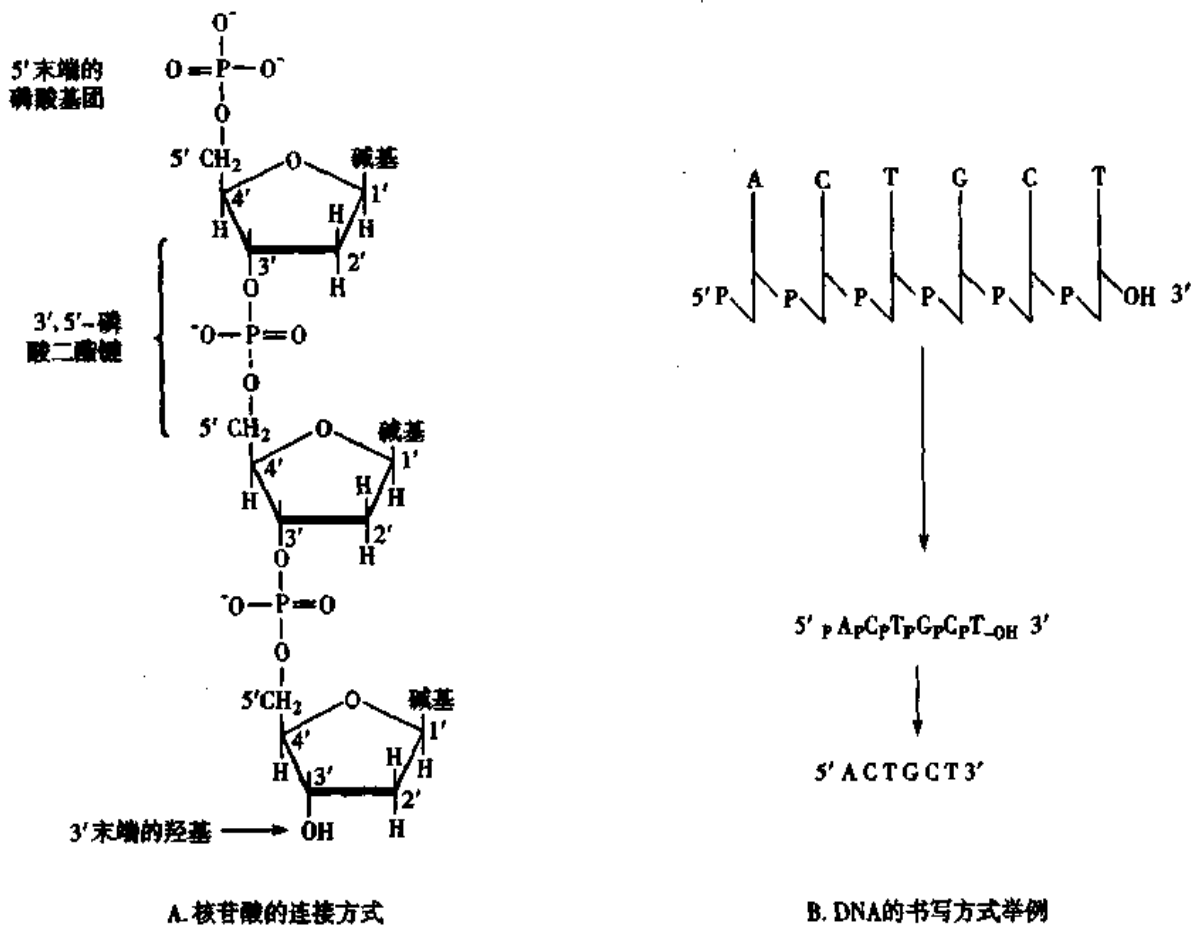


图 3-6 核酸一级结构示意图

RNA 是另一类重要的核酸分子，它与 DNA 的差别是：①组成它的核苷酸的戊糖成分不是脱氧核糖而是核糖；②RNA 中的嘧啶成分为胞嘧啶和尿嘧啶而不含有胸腺嘧啶，所以代替 DNA 的四种基本核苷酸是 A、C、G 和 U，其中 U 代替了 DNA 中的 T。

一、DNA 的二级结构——双螺旋结构模型

(一) DNA 双螺旋结构的研究背景

20 世纪 40 年代末至 50 年代初期, Erwin Chargaff 等人采用层析和紫外吸收分析等技术研究了 DNA 分子的碱基成分。他们提出了以下有关 DNA 分子的碱基组成的 Chargaff 规则: ①腺嘌呤与胸腺嘧啶的摩尔数总是相等 ($A=T$), 鸟嘌呤的含量总是与胞嘧啶相等 ($G=C$); ②不同生物种属的 DNA 碱基组成不同; ③同一个体不同器官、不同组织的 DNA 具有相同的碱基组成。这里已经预示着 DNA 分子中的碱基 A 与 T, G 与 C 以互补配对方式存在的可能性。

此后, Rosalind Franklin 获得了高质量的 X 线衍射照片, 显示出 DNA 是螺旋形分子, 从密度上也提示了 DNA 为双链分子。

James Watson 和 Francis Crick 两人巧妙地综合了当时所能够得到的这些研究成果, 提出了 DNA 的双螺旋结构模型, 亦称为 Watson-Crick 结构模型。

(二) DNA 双螺旋结构模型的要点

1. DNA 是一反向平行的互补双链结构 在 DNA 双链结构中, 亲水的脱氧核糖基和磷酸基骨架位于双链的外侧, 而碱基位于内侧, 两条链的碱基之间以氢键相结合。由于碱基结构的不同, 造成了其形成氢键的能力不同, 因此产生了固有的配对方式, 即腺嘌呤始终与胸腺嘧啶配对存在, 形成两个氢键 ($A \quad T$), 鸟嘌呤始终与胞嘧啶配对存在, 形成三个氢键 ($G \quad C$)。每条链中的碱基以疏水的近于平面的环形结构彼此接近而堆积, 碱基平面与线性分子结构的长轴相垂直。由于核苷酸连接的严格方向性和配对碱基结构对氢键形成的限制, 这两条链呈反平行走向, 碱基互补配对, 一条链的走向是 $5' \rightarrow 3'$, 另一条链的走向是 $3' \rightarrow 5'$ (图 3-7)。

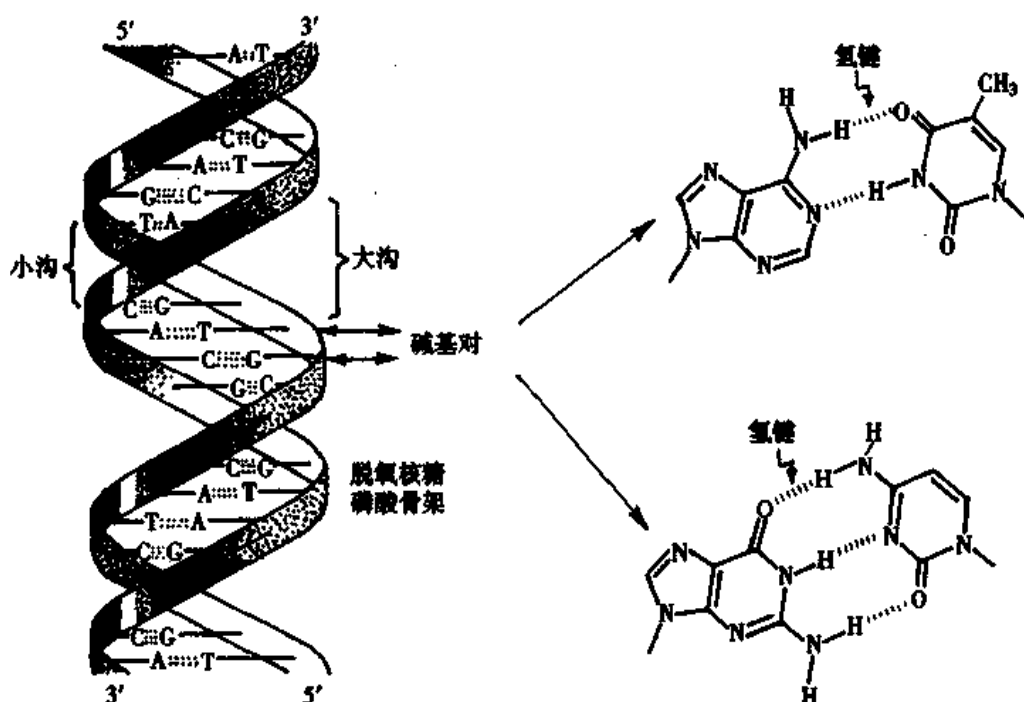


图 3-7 DNA 双螺旋结构示意图

2. DNA 是右手螺旋结构 DNA 作为线性长分子，并非刚性结构，否则无法在小小的细胞核中存在。作为初始的折叠，DNA 形成了一个右手螺旋式结构(图 3-7)。DNA 双链所形成的螺旋直径为 2nm。螺旋每旋转一周包含了 10 对碱基，每个碱基的旋转角度为 36° 。螺距为 3.4nm，每个碱基平面之间的距离为 0.34nm。从外观上看，DNA 双螺旋分子存在一个大沟(major groove)和一个小沟(minor groove)，目前认为这些沟状结构与蛋白质和 DNA 间的识别有关。

3. DNA 双螺旋结构稳定的维系 DNA 双螺旋结构的稳定横向靠两条链间互补碱基的氢键维系，纵向则靠碱基平面间的疏水性堆积力维持，尤以碱基堆积力更为重要。

DNA 右手双螺旋结构模型的提出之所以具有划时代的意义，是因为这一结构模型的双链碱基互补特点揭示了 DNA 复制时两条链可分别作为模板生成新的子代互补链，从而形成遗传信息稳定传递的半保留复制(见第十一章)的机制。

(三) DNA 结构的多样性

DNA 右手双螺旋结构模型是以在生理盐溶液中提取的 DNA 纤维在 92% 相对湿度下所作的 X-射线衍射图谱分析为依据而进行推测的，这是 DNA 分子在水性环境和生理条件下最稳定的结构。后来人们发现 DNA 的结构不是一成不变的，在改变了溶液的离子强度或相对湿度时，DNA 螺旋结构的沟的深浅、螺距、旋转角等都会发生一些变化。尤其是 1979 年，Alexander Rich 等在研究人工合成的 CGCGCG 的晶体结构时竟意外地发现这种 DNA 是左手螺旋。后来证明这种结构在天然 DNA 分子中同样存在。目前人们将 Watson-Crick 模型结构称为 B-DNA。将 Rich 等人的 DNA 双螺旋结构称为 Z-DNA。另外还有 A-DNA 的存在(图 3-8)。可见，DNA 的右手双螺旋结构不是自然界 DNA 的唯一存在

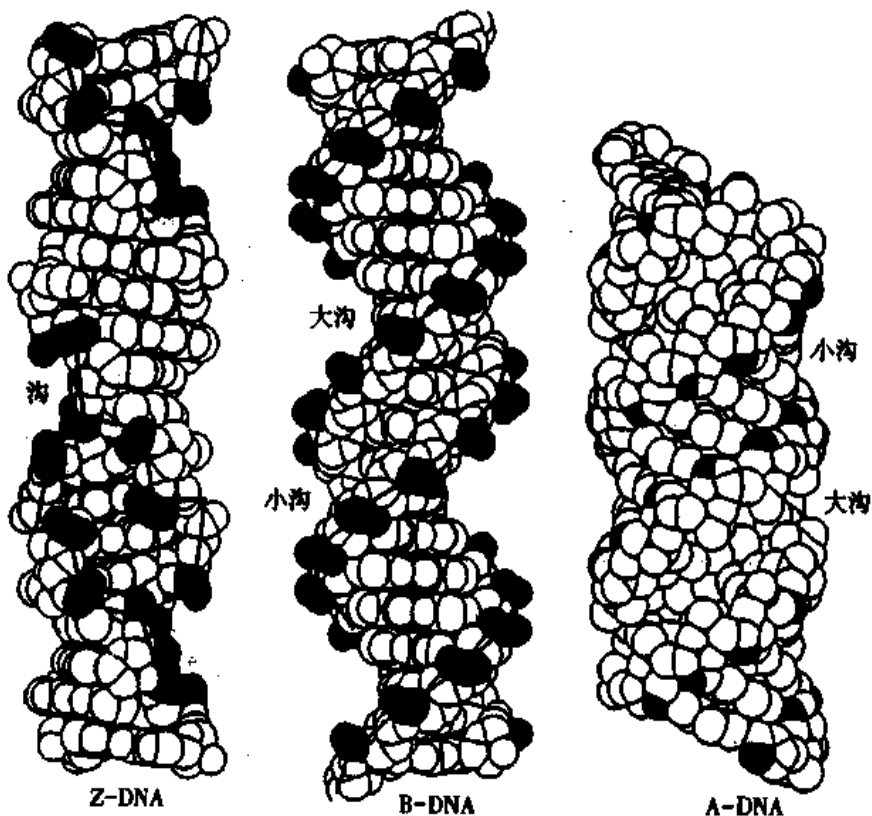


图 3-8 不同类型的 DNA 双螺旋结构

方式。在体内，不同构象的 DNA 在功能上有所差异，可能参与基因表达的调节和控制。

二、DNA 的超螺旋结构

生物界的 DNA 分子是十分巨大的信息高分子，不同物种间的 DNA 大小和复杂程度差别很大。一般来讲，进化程度越高的生物体其 DNA 的分子构成越大，越复杂。DNA 的长度要求其形成紧密折叠旋转的方式才能够存在于小小的细胞核内。因此，DNA 在形成双链螺旋式结构的基础上，在细胞内还将进一步折叠成为超级螺旋结构，并且在蛋白质的参与下构成核小体 (nucleosome)，然后再进一步折叠将 DNA 紧密压缩于染色体中。

(一) DNA 的超螺旋-原核生物 DNA 的高级结构

绝大部分原核生物的 DNA 都是共价封闭的环状双螺旋分子。这种双螺旋分子还需再次螺旋化形成超螺旋结构以保证其可以较致密的形式存在于细胞内(图 3-9)。

(二) DNA 在真核生物细胞核内的组装

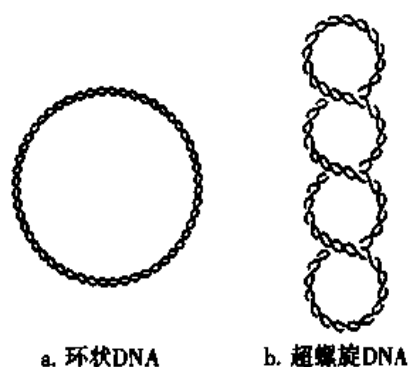
在真核生物内，DNA 以非常致密的形式存在于细胞核内，在细胞生活周期的大部分时间里以染色质 (chromatin) 的形式出现，在细胞分裂期形成的染色体在光学显微镜下即可见到。染色体是由 DNA 和蛋白质构成的，是 DNA 的超级结构形式。染色体的基本单位是核小体。

核小体由 DNA 和组蛋白共同构成。组蛋白分子共有五种，分别称为 H_1 ， H_2A ， H_2B ， H_3 和 H_4 。各两分子的 H_2A ， H_2B ， H_3 和 H_4 共同构成了核小体的核心，称为组蛋白八聚体(又称核心组蛋白)。DNA 双螺旋分子缠绕在这一核心上构成了核小体的核心颗粒 (core particle)。核小体的核心颗粒之间再由 DNA (约 60 个碱基对, bp) 和组蛋白 H_1 构成的连接区连接起来形成串珠样的结构(图 3-10)。

核小体的形成仅是 DNA 在细胞核内紧密压缩的第一步。在此基础上，核小体又进一步旋转折叠，形成纤维状结构及襻状结构、最后形成棒状的染色体，将近 1m 长的 DNA 分子容纳于直径只有数微米的细胞核中。

三、DNA 的功能

由于 DNA 双螺旋结构的阐明，它的遗传信息载体作用已经是无可争议了。遗传学家长期使用



a. 环状DNA

b. 超螺旋DNA

图 3-9 环状 DNA 结构示意图

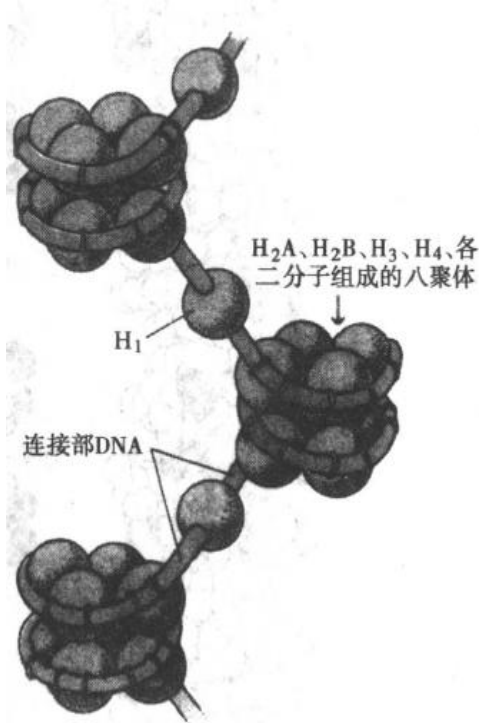


图 3-10 核小体结构示意图

的基因(gene)这一名词也终于有了它真实的物质基础。基因就是 DNA 分子中的某一区段, 经过复制可以遗传给子代, 经过转录和翻译可以保证支持生命活动的各种蛋白质在细胞内有序地合成。DNA 的基本功能就是作为生物遗传信息复制的模板和基因转录的模板, 它是生命遗传繁殖的物质基础, 也是个体生命活动的基础。

DNA 中的戊糖和磷酸构成的分子骨架是没有差别的, 不同区段的 DNA 分子只是四种脱氧核苷酸中的含氮碱基的排列顺序不同, 因此不同基因间的差异是碱基排列顺序的差异。DNA 的碱基顺序与蛋白质的氨基酸顺序间的关系称为遗传密码, 它决定了不同蛋白质分子的氨基酸顺序。

一个生物体的全部基因序列称为基因组(genome)。最简单的生物如 SV40 病毒的基因组仅含有 5 100 碱基对(base pair, bp), 大肠杆菌基因组的大小为 5 700 千碱基对(kilobase pair, kbp), 人的基因组则由大约 3.0×10^9 个 bp 组成, 使可编码的信息量大大增加。

第四节 RNA 的空间结构与功能

RNA 在生命活动中同样具有重要作用, 目前已知它和蛋白质共同负责基因的表达和表达过程的调控。RNA 通常以单链形式存在, 但也可以有局部的二级结构或三级结构。RNA 分子比 DNA 分子小得多, 小的仅有数十个核苷酸, 大的由数千个核苷酸组成。由于它的功能是多样性的, 因此, RNA 的种类、大小和结构都比 DNA 多样化(表 3-2)。

表 3-2 动物细胞内主要 RNA 的种类及功能

	细胞核和胞液	线粒体	功 能
核蛋白体 RNA	rRNA	mt rRNA	核蛋白体组成成分
信使 RNA	mRNA	mt mRNA	蛋白质合成模板
转运 RNA	tRNA	mt tRNA	转运氨基酸
不均一核 RNA	HnRNA		成熟 mRNA 的前体
小核 RNA	SnRNA		参与 hnRNA 的剪接、转运
小核仁 RNA	SnoRNA		rRNA 的加工和修饰
小胞质 RNA	scRNA/7SL-RNA		蛋白质内质网定位合成的信号识别体的组成成分

一、信使 RNA 的结构与功能

20 世纪 50 年代中期, DNA 决定蛋白质合成的作用已经得到了公认, 但是 DNA 主要存在于细胞核内, 而蛋白质合成是在细胞质进行的, 使得这一作用难以确切解释。因此, 当人们发现有一类大小不一的 RNA 是在细胞核内合成、然后转移到细胞质这一重要事实时, 很自然就推断出 DNA 决定蛋白质合成的作用是通过这类特殊的 RNA 来实现的。这种作用很像一种信使作用, 因此这类 RNA 被命名为信使 RNA (messenger RNA, mRNA)。

在细胞核内合成的 mRNA 初级产物比成熟的 mRNA 大得多, 这种初级的 RNA 被称

为不均一核 RNA (heterogeneous nuclear RNA, hnRNA), 它们在细胞核内存在时间极短, 经过剪接成为成熟的 mRNA 并移位到细胞质(见十二章)。成熟的 mRNA 由编码区和非编码区构成, 它的结构特点(图 3-11)如下:

1. 大多数的真核 mRNA 在 5'-端均在转录后加上一个 7-甲基鸟苷, 同时第一个核苷酸的 C₂' 也是甲基化的, 这种 m⁷G ppp N^m 结构被称为帽子结构(cap sequence)。帽子结构在 mRNA 作为模板翻译成蛋白质的过程中具有促进核蛋白体与 mRNA 的结合、加速翻译起始速度的作用, 同时可以增强 mRNA 的稳定性。

2. 在真核 mRNA 的 3'末端, 大多数有一段长短不一的多聚腺苷酸(poly A)结构, 通常称为多聚 A 尾。一般由数十个至一百几十个腺苷酸连接而成。因为在基因内没有找到它相应的结构, 因此认为它是在 RNA 生成后才加进去的。随着 mRNA 存在的时间延续, 这段聚 A 尾巴慢慢变短。因此, 目前认为这种 3'-末端结构可能与 mRNA 从核内向胞质的转位及 mRNA 的稳定性有关。原核生物的 mRNA 未发现有这种特殊的首、尾结构。

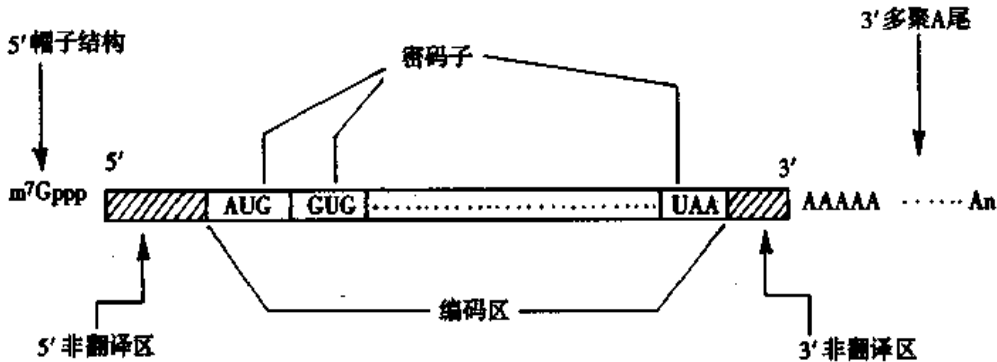


图 3-11 哺乳动物成熟 mRNA 的结构特点

生物体内各种 mRNA 的长短差别很大, 主要是由其转录的模板 DNA 区段大小所决定的。mRNA 分子的长短, 又决定了由它翻译出的蛋白质分子量的大小。在各种 RNA 分子中, mRNA 的半衰期最短, 由几分钟到数小时不等, 这是细胞内蛋白质合成速度的调控点之一。

mRNA 的功能是把核内 DNA 的碱基顺序(遗传信息), 按照碱基互补的原则, 抄录并转送至胞质, 在蛋白质合成中用以翻译成蛋白质中氨基酸的排列顺序。mRNA 分子上每 3 个核苷酸为一组, 决定肽链上某一个氨基酸, 称为三联体密码(triplet code), 其具体的编码方式见第十三章。

二、转运 RNA 的结构与功能

转运 RNA (transfer RNA, tRNA) 是细胞内分子量最小的一类核酸, 已完成一级结构测定的 100 多种 tRNA 都由 70 至 90 个核苷酸构成。tRNA 的功能是在细胞蛋白质合成过程中作为各种氨基酸的载体并将其转呈给 mRNA。tRNA 具有以下结构特点:

1. tRNA 分子中含有 10%~20% 的稀有碱基(rare bases)。稀有碱基是指除 A、G、C、U 外的一些碱基, 包括双氢尿嘧啶(DHU)、假尿嘧啶(Ψ, pseudouridine)和甲基化的嘌呤

(^mG, ^mA)等(图 3-12)。一般的嘧啶核苷以杂环上 N-1 与糖环的 C-1' 连成糖苷键, 假尿嘧啶核苷则用杂环上的 C-5 与糖环的 C-1' 相连。

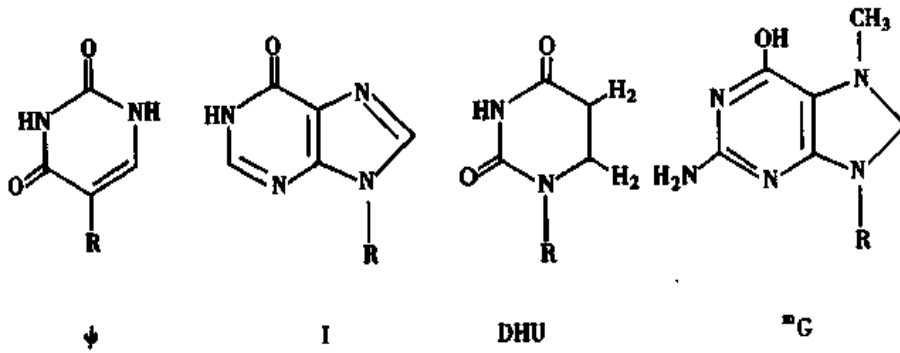
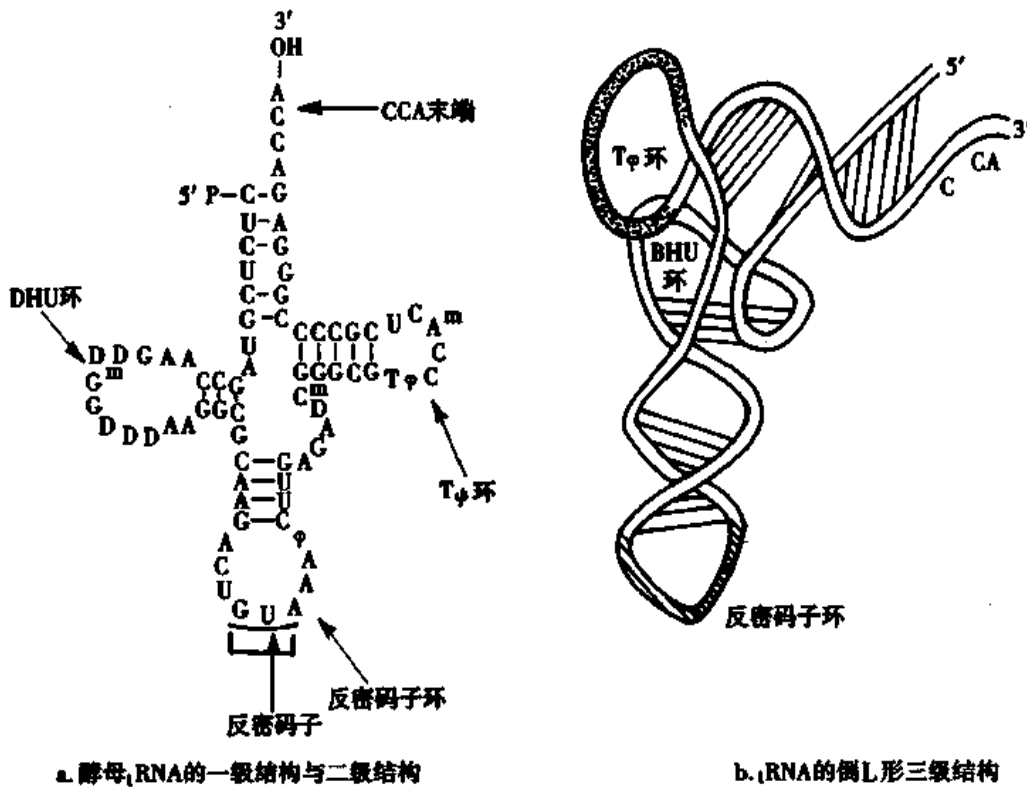


图 3-12 tRNA 中的稀有碱基

ψ. 假尿嘧啶核苷 I. 次黄嘌呤核苷

DHU. 二氢尿嘧啶核苷 ^mG. 甲基鸟嘌呤核苷

2. 组成 tRNA 的几十个核苷酸中存在着一一些能局部互补配对的区域, 可以形成局部双链; 进而形成一种茎-环样(stem-loop)结构或发夹结构。这些局部配对的碱基双链构成茎状, 中间不能配对的部分则膨出形成环状或襻状。由于这些茎-环结构的存在, 使得 tRNA 形成了如图 3-13a 所示的三叶草形(cloverleaf pattern)二级结构。位于左右两侧环状结构根据其含有的稀有碱基为特征, 分别称为 DHU 环和 T_ψ 环, 位于下方的环叫作反密码环。反密码环中间的 3 个碱基称为反密码子(anticodon), 与 mRNA 上相应的三联体



a. 酵母 tRNA 的一级结构与二级结构

b. tRNA 的倒 L 形三级结构

图 3-13 酵母 tRNA 的一级结构与空间结构

密码子可形成碱基互补。例如负责转运酪氨酸的 tRNA (tRNA^{Tyr}) 的反密码子 5'-GUA-3' 与 mRNA 上相应的三联体密码子 5'-UAC-3' (编码酪氨酸) 呈反向互补。不同的 tRNA 依照其转运的氨基酸的差别, 有不同的反密码子。蛋白质生物合成时, 就是靠反密码子来辨认 mRNA 上相应的密码子, 才能将氨基酸正确地定位在合成的肽链上(见第十三章)。

通过 X 射线衍射等结构分析方法, 发现 tRNA 的共同三级结构是倒 L 型(图 3-13b)。从 tRNA 的倒 L 形三级结构中可以看出: T_ψ 环与 DHU 环在三叶草形的二级结构上各处一方, 但在三级结构上却相距很近。

3. 所有的 tRNA 的 3' 末端均有相同的 CCA-OH 结构, tRNA 所转运的氨基酸就连接在此末端上。

三、核蛋白体 RNA 的结构与功能

核蛋白体 RNA (ribosomal RNA, rRNA) 是细胞内含量最多的 RNA, 约占 RNA 总量的 80% 以上。rRNA 与核蛋白体蛋白共同构成核蛋白体或称为核糖体(ribosome), 原核生物和真核生物的核蛋白体均由易于解聚的大、小两个亚基组成。核蛋白体蛋白有数十种, 大多是分子量不大的多肽类。

原核生物的 rRNA 共有 5S、16S、23S 三种(S 是大分子物质在超速离心沉降中的一个物理学单位, 可间接反映分子量的大小)。其中 16S rRNA 与 20 多种蛋白质构成核蛋白体的小亚基, 大亚基则由 5S 及 23S rRNA 再加上 30 余种蛋白质构成。

真核生物的核蛋白体小亚基由 18S rRNA 及 30 余种蛋白质构成; 大亚基则由 5S、5.8S 及 28S 三种 rRNA 加上近 50 种蛋白质构成(表 3-3)。

各种 rRNA 的碱基序列测定均已完成, 并据此推测出其二级结构。真核生物的 18S

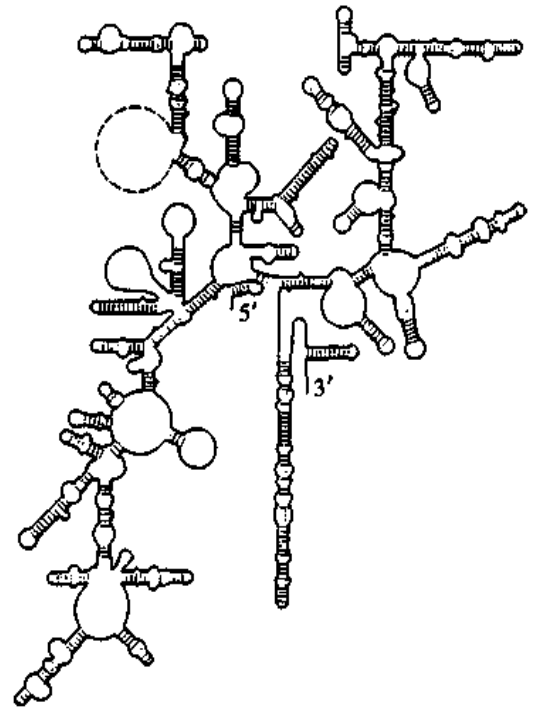


图 3-14 真核生物 18S rRNA 的二级结构

表 3-3 核蛋白体的组成

	原核生物 (以大肠杆菌为例)			真核生物 (以小鼠肝为例)	
小亚基	30S			40S	
rRNA	16S	1 542 个核苷酸		18S	1 874 个核苷酸
蛋白质	21 种	占总重量的 40%		33 种	占总重量的 50%
大亚基	50S			60S	
rRNA	23S	2 940 个核苷酸		28S	4 718 个核苷酸
	5S	120 个核苷酸		5.85S	160 个核苷酸
				5S	120 个核苷酸
蛋白质	31 种	占总重量的 30%		49 种	占总重量的 35%

rRNA 的二级结构呈花状(图 3-14), 形似 40S 小亚基, 其中多个茎环结构为核蛋白体蛋

的大小与其所含碱基中的 G+C 比例相关, G+C 比例越高, T_m 值越高。DNA 的 T_m 值可以根据其 G+C 含量计算, 计算公式为: $T_m = 69.3 + 0.41(\%G+C)$, 小于 20bp 的寡核苷酸的 T_m 的计算公式为: $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$ 。

三、DNA 的复性与分子杂交

变性 DNA 在适当条件下, 两条互补链可重新恢复天然的双螺旋构象, 这一现象称为复性。热变性的 DNA 经缓慢冷却后即可复性, 这一过程也称为退火(annealing)。

DNA 的复性速度受到温度的影响, 复性时温度缓慢下降才可使其重新配对复性。

如加热后, 将其迅速冷却至 4°C 以下, 则几乎不可能发生复性。这一特性被用来保持 DNA 的变性状态, 一般认为, 比 T_m 低 25°C 的温度是 DNA 复性的最佳条件。

在 DNA 复性过程中, 如果将不同的 DNA 单链分子放在同一溶液中, 或者将 DNA 和 RNA 分子放在一起, 双链分子的再形成既可以发生在序列完全互补的核酸分子间, 也可以发生在那些碱基序列部分互补的不同的 DNA 之间或 DNA 与 RNA 之间(图 3-16), 这种现象称为核酸分子杂交(hybridization)。DNA 与 DNA 及 RNA 与 DNA 间的分子杂交在核酸研究中的应用十分广泛(见第二十三章)。

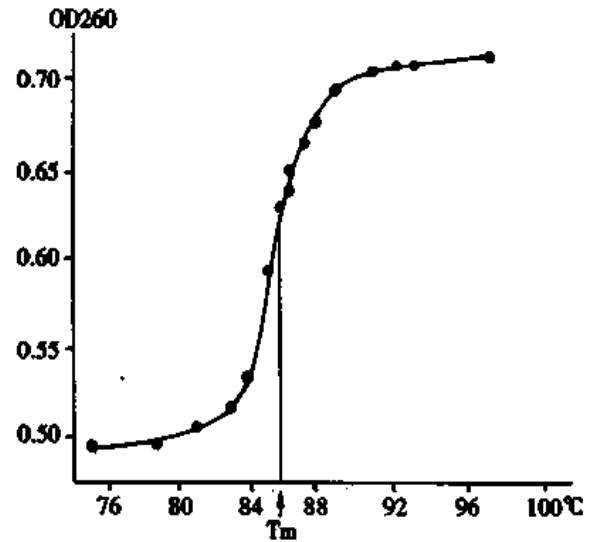


图 3-15 DNA 解链曲线

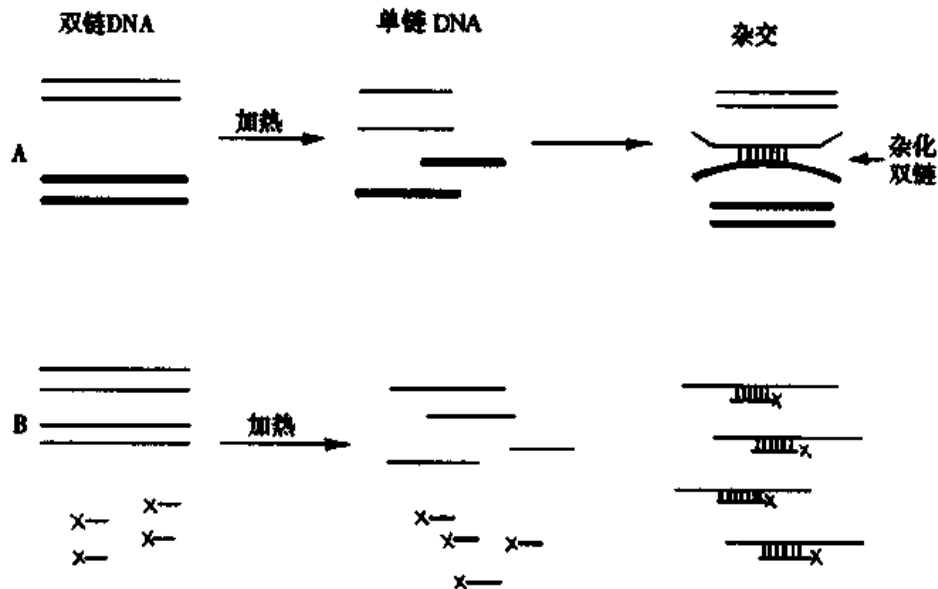


图 3-16 核酸分子杂交原理示意图

A. DNA 甲(细线表示)和 DNA 乙(粗线表示)在热变性后的复性过程中可以形成杂交双链

B. 同位素标记的寡核苷酸(x-)与变性后的单链 DNA 结合

第六节 核 酸 酶

核酸酶(nucleases)是指所有可以水解核酸的酶,在细胞内催化核酸的降解,以维持核酸(尤其是 RNA)的水平与细胞功能相适应。食物中的核酸也需要在核酸酶的作用下被消化。

按照作用底物的不同,核酸酶可以分为 DNA 酶(DNase)和 RNA 酶(RNase)。有的核酸酶作用在多核苷酸链的 5'末端或 3'末端,因此被称为核酸 5'末端外切酶或 3'末端外切酶;有的核酸酶作用于链的内部,称为核酸内切酶,其中一部分具有严格的序列依赖性(4~8 bp),被称为限制性内切酶。

核酸酶在 DNA 重组技术中是不可缺少的重要工具,尤其是限制性核酸内切酶的应用更是所有基因人工改造的基础(见第十五章)。

小 结

核酸是生物大分子,天然存在的核酸包括 DNA 和 RNA。核酸的基本组成单位是核苷酸,而核苷酸则由碱基、戊糖和磷酸三种成分连接而成。DNA 分子中的碱基成分为 A、G、C、T, RNA 分子中为 A、G、C、U。核糖或脱氧核糖与碱基通过糖苷键形成核苷,核苷与磷酸通过酯键结合构成核苷酸。

四种脱氧核苷酸或核苷酸按照一定的排列顺序以磷酸二酯键相连形成的多聚核苷酸链分别称为 DNA 和 RNA,每条链的两个末端分别称为 5'末端和 3'末端。核酸的一级结构即指 DNA 和 RNA 的核苷酸的排列顺序,也称为碱基序列。

DNA 是一反向平行的双链结构,两条链的碱基之间以氢键相连,具有严格的互补配对关系,腺嘌呤始终与胸腺嘧啶配对存在,鸟嘌呤始终与胞嘧啶配对存在。DNA 是一右手螺旋结构,每旋转一周包含了 10 对碱基,每个碱基的旋转角度为 36°。DNA 双螺旋结构的稳定横向靠两条链间互补碱基的氢键维系,纵向则靠碱基平面间的疏水性堆积力维系。DNA 双螺旋结构模型的双链碱基互补特点揭示了 DNA 的半保留复制的机制。

DNA 在双螺旋式结构基础上在细胞内还将进一步折叠为超级螺旋结构,并在蛋白质的参与下构成核小体,并进一步折叠将 DNA 紧密压缩于染色体中。

DNA 的基本功能是作为生物遗传信息复制的模板和基因转录的模板,它是生命遗传繁殖的物质基础,也是个体生命活动的基础。

RNA 是生物体内一类重要的核酸。它的戊糖成分不是脱氧核糖,而是核糖;不含有胸腺嘧啶而代之以尿嘧啶;RNA 的结构以单链为主,而非双螺旋结构。主要的 RNA 分子包括①mRNA,成熟的 mRNA 的结构特点是含有 5'-端帽子结构和 3'-末端的多聚 A 尾,其功能是把核内 DNA 的碱基顺序,按照碱基互补的原则,抄录并转送至胞质,在蛋白质合成中用以指导蛋白质中的氨基酸排序。②tRNA,以含有较多的稀有碱基为特点,具有三叶草型二级结构和倒 L 型的三级结构。tRNA 的功能是运载氨基酸。③rRNA,与蛋白质共同组成蛋白质合成的场所——核蛋白体。④小核 RNA、小核仁 RNA、小胞质 RNA 等,分别参与 hnRNA 和 rRNA 的转运和加工。⑤具有催化作用的

RNA 被称为核酶。

DNA 最重要的理化特性之一是它的变性与复性现象。变性是指 DNA 分子中的两条链分开形成单链的过程，而复性则是指分开的单链分子按照碱基互补原则重新形成双链的过程。DNA 解链过程中 A_{260} 增加，与解链程度有一定的比例关系，这种关系称为 DNA 的增色效应。DNA 在热变性过程中紫外光吸收值达到最大值的 50% 时的温度称为 DNA 的解链温度，又称融解温度 (T_m)，在 T_m 时，核酸分子内 50% 的双链结构被解开。一种 DNA 分子的 T_m 值与它的大小和所含碱基中的 G + C 比例相关，G + C 比例越高， T_m 值越高。

核酸酶是水解核酸的酶，可以分为 DNA 酶和 RNA 酶。按照作用部位的不同，分为核酸外切酶和核酸内切酶，具有严格的序列依赖性的核酸内切酶被称为限制性核酸内切酶。核酸酶尤其是限制性核酸内切酶在 DNA 重组技术中是不可缺少的工具。

(药立波)

第四章 酶

生物体内的各种化学反应几乎都是在特异的生物催化剂(biocatalyst)的催化下进行的。迄今为止,人们已发现两类生物催化剂:酶(enzyme)是由活细胞合成的、对其特异底物(substrate)起高效催化作用的蛋白质,是机体内催化各种代谢反应最主要的催化剂;核酶(ribozyme)是具有高效、特异催化作用的核酸,是近年来发现的一类新的生物催化剂,其作用主要参与RNA的剪接。

酶学知识来源于生产实践。酶的系统研究始于19世纪中叶对发酵本质的探讨。法国著名科学家巴斯德(Louis Pasteur)认为发酵是酵母细胞生命活动的结果,细胞破裂则失去发酵作用。1897年,德国科学家Hans Büchner和Eduard Büchner兄弟首次成功地用不含细胞的酵母提取液实现了发酵,从而证明发酵过程并不需要完整的细胞。这一贡献打开了通向现代酶学与现代生物化学的大门。1926年,美国生物化学家James B. Sumner第一次从刀豆得到脲酶结晶,并证明了脲酶的蛋白质本质。以后陆续发现的二千余种酶中,均证明酶的化学本质是蛋白质。直到1982年,Thomas Cech从四膜虫rRNA前体的加工研究中首先发现rRNA前体本身具有自我催化作用,并提出了核酶的概念。有关核酶的催化作用将在有关章节阐述。

生命活动离不开酶的催化作用。在酶的催化下,机体内的物质代谢有条不紊地进行;同时又在许多因素的影响下,酶对代谢发挥着巧妙的调节作用。人体的许多疾病与酶的异常密切相关。许多药物也可通过对酶的作用来达到其治疗目的。随着酶学研究的深入,其成果必将为人类做出更大的贡献。

第一节 酶的分子结构与功能

酶是蛋白质,同样具有一、二、三级结构,有些酶还具有四级结构。只由一条多肽链构成的酶称为单体酶(monomeric enzyme);由多个相同或不同亚基以非共价键连接的酶称为寡聚酶(oligomeric enzyme)。在细胞内存在着许多由几种不同功能的酶彼此聚合形成的多酶复合物,即多酶体系(multi-enzyme system)。还有一些多酶体系在进化过程中由于基因的融合,形成由一条多肽链组成却具有多种不同催化功能的酶,这类酶称为多功能酶(multifunctional enzyme)或串联酶(tandem enzyme)。

一、酶的分子组成

酶按其分子组成可分为单纯酶(simple enzyme)和结合酶(conjugated enzyme)。单纯酶是仅由氨基酸残基构成的酶,脲酶、一些消化蛋白酶、淀粉酶、脂酶、核糖核酸酶等均

属此列。结合酶由蛋白质部分和非蛋白质部分组成，前者称为酶蛋白(apoenzyme)，后者称为辅助因子(cofactor)。辅助因子是金属离子或小分子有机化合物。酶蛋白与辅助因子结合形成的复合物称为全酶(holoenzyme)，只有全酶才有催化作用。

金属离子是最多见的辅助因子，约 2/3 的酶含有金属离子。常见的金属离子有 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+} (Cu^+)、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} (Fe^{3+}) 等。有的金属离子与酶结合紧密，提取过程中不易丢失，这类酶称为金属酶(metalloenzyme)，如羧基肽酶、黄嘌呤氧化酶等。有的金属离子虽为酶的活性所必需，却不与酶直接结合，而是通过底物相连接。这类酶称为金属激活酶(metal activated enzyme)，如己糖激酶、肌酸激酶等。金属辅助因子的作用是多方面的，或者作为酶活性中心的催化基团参与催化反应、传递电子；或者作为连接酶与底物的桥梁，便于酶对底物起作用；或者为稳定酶的构象所必需；或者中和阴离子，降低反应中的静电斥力等。

小分子有机化合物是一些化学稳定的小分子物质，主要作用是参与酶的催化过程，在反应中传递电子、质子或一些基团。虽然含小分子有机化合物的酶很多，但此种辅助因子的种类却不多，且分子结构中常含有维生素或维生素类物质(表 4-1)。酶蛋白决定反应的特异性，辅助因子决定反应的种类与性质。

表 4-1 某些辅酶(辅基)在催化中的作用

转移的基团	辅酶或辅基	
	名称	所含的维生素
氢原子 (质子)	NAD^+ (尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸, 辅酶 I)	尼克酰胺(维生素 PP 之一)
	$NADP^+$ (尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸, 辅酶 II)	同上
	FMN (黄素单核苷酸)	维生素 B_2 (核黄素)
	FAD (黄素腺嘌呤二核苷酸)	同上
醛基	TPP (焦磷酸硫胺素)	维生素 B_1 (硫胺素)
酰基	辅酶 A (CoA)	泛酸
	硫辛酸	硫辛酸
烷基	钴胺素辅酶类	维生素 B_{12}
二氧化碳	生物素	生物素
氨基	磷酸吡哆醛	吡哆醛(维生素 B_6 之一)
甲基、甲烯基、 甲炔基、甲酰 基等一碳单位	四氢叶酸	叶酸

酶的辅助因子按其于酶蛋白结合的紧密程度与作用特点不同可分为辅酶(coenzyme)与辅基(prosthetic group)。辅酶与酶蛋白的结合疏松，可以用透析或超滤的方法除去。辅酶在反应中作为底物接受质子或基团后离开酶蛋白，参加另一酶促反应并将所携带的质

二、酶的活性中心

酶分子中存在的各种化学基团并不一定都与酶的活性有关。其中那些与酶的活性密切相关的基团称做酶的必需基团(essential group)。这些必需基团在一级结构上可能相距很远,但在空间结构上彼此靠近,组成具有特定空间结构的区域,能与底物特异地结合并将底物转化为产物。这一区域称为酶的活性中心(active center)或活性部位(active site)。对结合酶来说,辅酶或辅基参与酶活性中心的组成。

酶活性中心内的必需基团有两种:一是结合基团(binding group),其作用是与底物相结合,使底物与酶的一定构象形成复合物;另一是催化基团(catalytic group),其作用是影响底物中某些化学键的稳定性,催化底物发生化学反应并将其转变成产物。活性中心内的必需基团可同时具有这两方面的功能。组氨酸残基的咪唑基、丝氨酸残基的羟基、半胱氨酸残基的巯基以及谷氨酸残基的 γ -羧基是构成酶活性中心的常见基团。还有一些必需基团虽然不参加活性中心的组成,但却为维持酶活性中心应有的空间构象所必需,这些基团是酶活性中心外的必需基团(图4-1)。

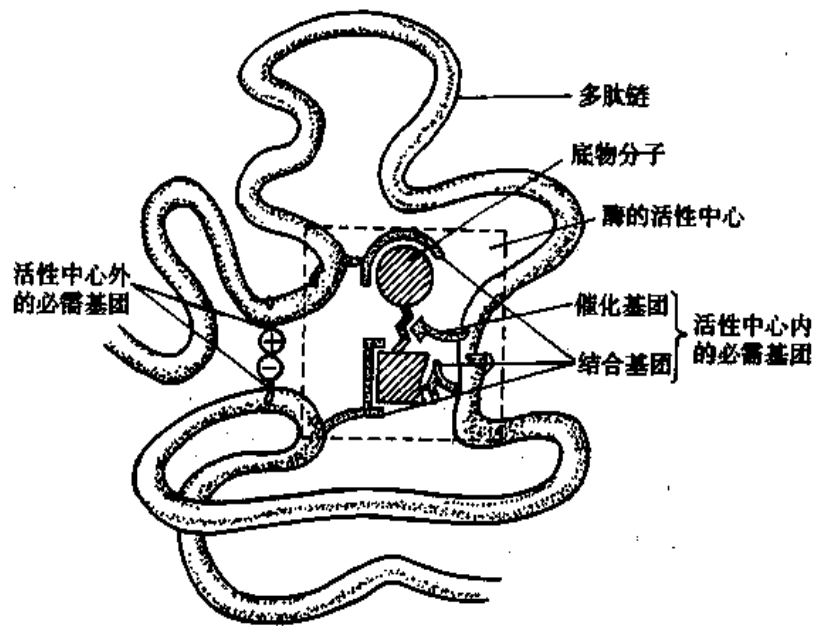


图4-1 酶的活性中心示意图

酶的活性中心是酶分子中具有三维结构的区域,或为裂缝,或为凹陷。此裂缝或凹陷由酶的特定空间构象所维持,深入到酶分子内部,且多为氨基酸侧基的疏水基团组成

所没有的生物大分子特性。酶促反应具有其特殊的性质与反应机制。

一、酶促反应的特点

(一) 酶促反应具有极高的效率

酶的催化效率通常比非催化反应高 $10^8 \sim 10^{20}$ 倍，比一般催化剂高 $10^7 \sim 10^{13}$ 倍。例如，脲酶催化尿素的水解速度是 H^+ 催化作用的 7×10^{12} 倍； α -胰凝乳蛋白酶对苯酰胺的水解速度是 H^+ 的 6×10^6 倍，而且不需要较高的反应温度。酶和一般催化剂加速反应的机制都是降低反应的活化能(activation energy)。在任何一种热力学允许的反应体系中，底物分子所含能量的平均水平较低。在反应的任何一瞬间，只有那些能量较高，达到或超过一定能量水平的分子(即活化分子)才有可能发生化学反应。活化分子所具有的高出平均水平的能量称为活化能。活化能也就是底物分子从初态转变到活化态所需的能量。活化分子愈多，反应速度愈快。酶通过其特有的作用机制，比一般催化剂更有效地降低反应的活化能，使底物只需较少的能量便可进入活化状态(图 4-2)。据计算，在 $25^\circ C$ 时活化能每减少 4.184 kJ/mol (1 kcal/mol)，反应速度可增高 5.4 倍。

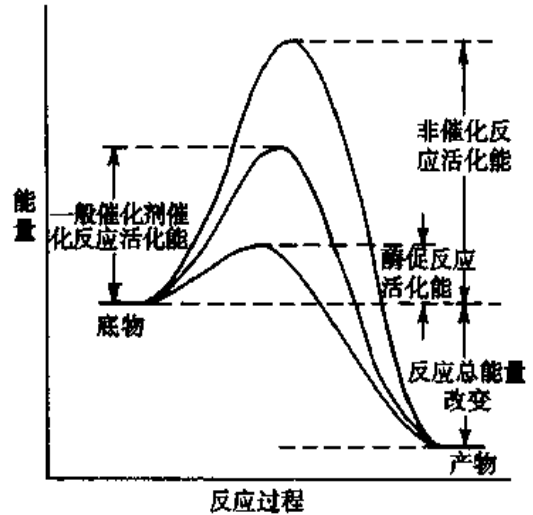


图 4-2 酶促反应活化能的改变

(二) 酶促反应具有高度的特异性

与一般催化剂不同，酶对其所催化的底物具有较严格的选择性。即一种酶仅作用于一种或一类化合物，或一定的化学键，催化一定的化学反应并产生一定的产物，酶的这种特性称为酶的特异性或专一性(specificity)。根据酶对其底物结构选择的严格程度不同，酶的特异性可大致分为以下三种类型。

1. 绝对特异性 有的酶只能作用于特定结构的底物，进行一种专一的反应，生成一种特定结构的产物。这种特异性称为绝对特异性(absolute specificity)。例如，脲酶仅能催化尿素水解生成 CO_2 和 NH_3 ，琥珀酸脱氢酶仅催化琥珀酸脱氢生成延胡索酸。

2. 相对特异性 有一些酶的特异性相对较差，这种酶作用于一类化合物或一种化学键，这种不太严格的选择性称为相对特异性(relative specificity)。例如，磷酸酶对一般的磷酸酯键都有水解作用，可水解甘油或酚与磷酸形成的酯键；脂肪酶不仅水解脂肪，也水解简单的酯；蔗糖酶不仅水解蔗糖，也水解棉子糖中的同一种糖苷键。虽然不同的消化道蛋白酶对肽键两旁氨基酸残基组成的要求有所不同(例如，胰蛋白酶仅水解由碱性氨基酸的羧基形成的肽键；氨基肽酶和羧基肽酶仅分别作用于多肽链的氨基末端与羧基末端)，但对其催化的蛋白质却无严格要求。

3. 立体异构特异性 一种酶仅作用于立体异构体中的一种，酶对立体异构物的这种选择性称为立体异构特异性(stereospecificity)。例如，乳酸脱氢酶仅催化 L-乳酸脱氢，

而不作用于 D-乳酸；L-氨基酸氧化酶仅作用于 L-氨基酸，对 D-氨基酸则无作用。除上述光学异构体外，有些酶对几何异构体也显示出立体异构特异性。例如，延胡索酸酶仅催化反丁烯二酸(延胡索酸)与苹果酸之间的裂解反应，对顺丁烯二酸则无作用。

(三) 酶促反应的可调节性

酶促反应受多种因素的调控，以适应机体不断变化的内外环境和生命活动的需要。酶在长期进化过程中形成酶与代谢物在细胞内的区域化分布、多酶体系和多功能酶，基因分化形成各种类型的同工酶；代谢物通过对酶活性的抑制与激活，对系列酶中的关键酶进行调节，包括对变构酶的调节、酶共价修饰的级联调节等，以及通过对酶生物合成的诱导与阻遏作用等对酶进行量的调节。

二、酶促反应的机制

(一) 酶-底物复合物的形成与诱导契合假说

酶在发挥其催化作用之前，必须先与底物密切结合。这种结合不是锁与钥匙式的机械关系，而是在酶与底物相互接近时，其结构相互诱导、相互变形和相互适应，进而相互结合。这一过程称为酶-底物结合的诱导契合假说(induced-fit hypothesis)(图 4-3)。酶的构象改变有利于与底物结合；底物在酶的诱导下也发生变形，处于不稳定的过渡态(transition state)，易受酶的催化攻击。过渡态的底物与酶的活性中心结构最相吻合。

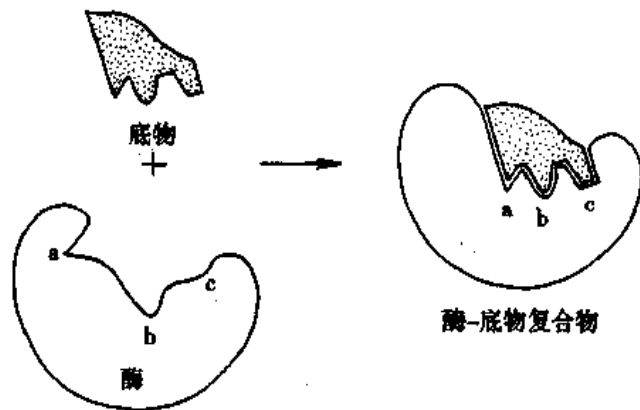


图 4-3 酶与底物结合的诱导契合假说示意图

(二) 酶促反应的机制

1. 邻近效应与定向排列 在两个以上底物参加的反应中，底物之间必须以正确的方向相互碰撞，才有可能发生反应。酶在反应中将诸底物结合到酶的活性中心，使它们相互接近并形成有利于反应的正确定向关系。这种邻近效应(proximity effect)与定向排列(orientation arrange)实际上是将分子间的反应变成类似于分子内的反应，从而大大提高反应速率。

2. 多元催化(multielement catalysis) 一般催化剂通常仅有一种解离状态，只有酸催化，或只有碱催化。酶是两性电解质，所含的多种功能基团具有不同的解离常数。即使同一种功能基团在不同的蛋白质分子中处于不同的微环境，解离度也有差异。因此，同一种酶常常兼有酸、碱双重催化作用。这种多功能基团(包括辅酶或辅基)的协同作用可极大地提高酶的催化效能。

3. 表面效应(surface effect) 前已述及，酶的活性中心多为疏水性“口袋”。疏水环境可排除水分子对酶和底物功能基团的干扰性吸引或排斥，防止在底物与酶之间形成水化膜，有利于酶与底物的密切接触。

应该指出的是，一种酶的催化反应常常是多种催化机制的综合作用，这是酶促反应

高效率的重要原因。

第三节 酶促反应动力学

酶促反应动力学研究的是酶促反应速度及其影响因素。这些因素包括酶浓度、底物浓度、pH、温度、抑制剂、激活剂等。酶促反应动力学的研究具有重要的理论和实践意义。

一、底物浓度对反应速度的影响

在其他因素不变的情况下，底物浓度的变化对反应速度影响的作图呈矩形双曲线 (rectangular hyperbola) (图 4-4)。在底物浓度较低时，反应速度随底物浓度的增加而急骤上升，两者成正比关系，反应为一级反应。随着底物浓度的进一步增高，反应速度不再成正比例加速。反应速度增加的幅度不断下降。如果继续加大底物浓度，反应速度将不再增加，表现出零级反应，此时酶的活性中心已被底物饱和。所有的酶均有此饱和现象，只是达到饱和时所需的底物浓度不同而已。

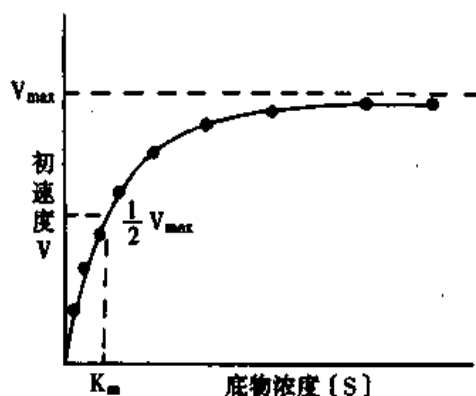
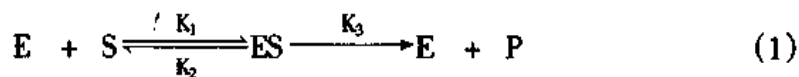


图 4-4 底物浓度对酶促反应速度的影响

(一) 米-曼氏方程式

解释酶促反应中底物浓度和反应速度关系的最合理学说是中间产物学说。酶首先与底物结合形成酶-底物复合物(中间产物)，此复合物再分解为产物和游离的酶。



酶 底物 中间产物 酶 产物

1913年 L. Michaelis 和 M. L. Menten 提出了反应速度与底物浓度关系的数学方程式。即著名的米-曼氏方程式、简称米氏方程式 (Michaelis equation)。

游离酶的浓度为总酶浓度减去结合到中间产物中的酶的浓度，即[游离酶] = [E] - [ES]

$$\text{这样，ES 生成的速度 } \frac{d[ES]}{dt} = K_1 ([E] - [ES])[S] \quad (3)$$

$$\text{ES 分解的速度 } -\frac{d[ES]}{dt} = K_2 [ES] + K_3 [ES] \quad (4)$$

当反应处于稳态时，ES 的生成速度 = ES 的分解速度，即

$$K_1 ([E] - [ES])[S] = K_2 [ES] + K_3 [ES]$$

经整理，
$$\frac{([E] - [ES])[S]}{[ES]} = \frac{K_2 + K_3}{K_1}$$

令
$$\frac{K_2 + K_3}{K_1} = K_m$$

K_m 即为米氏常数，则 [E] [S] - [ES] [S] = K_m [ES]

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_m + [S]} \quad (5)$$

由于反应速度取决于单位时间内产物 P 的生成量，所以 $V = K_3 [ES]$

将式(5)代入得：
$$V = \frac{K_3 [E][S]}{K_m + [S]} \quad (6)$$

当底物浓度很高，所有的酶都与底物生成中间产物(即[E] = [ES])时，反应达最大速度。即

$$V_{\max} = K_3 [ES] = K_3 [E] \quad (7)$$

将式(7)代入式(6)，得米氏方程式：

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

(二) K_m 与 V_m 的意义

1. 当反应速度为最大速度一半时，米氏方程式可以变换如下：

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

进一步整理得 $K_m = [S]$ 。由此可见， K_m 值等于酶促反应速度为最大速度一半时的底物浓度。

2. $K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1}$ ，当 $K_2 \gg K_3$ ，即 ES 解离成 E 和 S 的速度大大超过分解成 E 和 P 的速度时， K_3 可以忽略不计。此时 K_m 值近似于 ES 的解离常数 K_s 。在这种情况下， K_m 值可用来表示酶对底物的亲和力。

$$K_m = \frac{K_2}{K_1} = \frac{[E][S]}{[ES]} = K_s$$

此时， K_m 值愈小，酶与底物的亲和力愈大。这表示不需要很高的底物浓度便可容易地达到最大反应速度。但 K_3 值并非在所有酶促反应中都远小于 K_2 ，所以，此时 K_s 值和 K_m 值的涵义不同，不能互相代替使用。

3. K_m 值是酶的特征性常数之一，只与酶的结构、酶所催化的底物和反应环境(如温度、pH、离子强度)有关，与酶的浓度无关。各种酶的 K_m 值范围很广，大致在 $10^{-6} \sim$

10^{-2} mmol/L 之间。对于同一底物，不同的酶有不同的 K_m 值；多底物反应的酶对于不同底物也有不同的 K_m 值。

4. V_{max} 是酶完全被底物饱和时的反应速度，与酶浓度呈正比。如果酶的总浓度已知，便可从 V_{max} 计算酶的转换数 (turnover number)。例如， 10^{-6} mol/L 的碳酸酐酶溶液在一秒钟内催化生成 0.6 mol/L H_2CO_3 ，则每秒钟每 1 分子酶可催化生成 6×10^5 个分子的 H_2CO_3 。

$$K_3 = \frac{V_{max}}{[E]} = \frac{0.6 \text{ mol/L/s}}{10^{-6} \text{ mol/L}} = 6 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$$

动力学常数 K_3 称为酶的转换数，其定义是：当酶被底物充分饱和时，单位时间内每个酶分子 (或活性中心) 催化底物转变为产物的分子数。对于生理性底物，大多数酶的转换数在 $1 \sim 10^4$ /秒之间。

(三) K_m 值和 V_{max} 值的测定

如图 4-4 所示，底物浓度曲线是矩形双曲线，其图形为渐进线，很难准确地测得 K_m 值和 V_{max} 值。过高的底物浓度不仅不易测得 V_{max} 值，在实验中还会出现很多困难。若将米氏方程式进行种种变换，将曲线作图改为直线作图，便可容易地用图解法准确求得 K_m 值和 V_{max} 值。

双倒数作图法 (double reciprocal plot) 又称为林-贝氏 (Lineweaver-Burk) 作图法，是最常用的作图法。它将米氏方程式等号两边取倒数，所得到的双倒数方程式称做林-贝氏方程式：

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (8)$$

若以 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作图 (图 4-5)，可得一直线，其纵轴上的截距为 $1/V_{max}$ ，横轴上的截距为 $-1/K_m$ 。此作图法除用于求取 K_m 值和 V_{max} 值外，还可用于判断可逆性抑制反应的性质 (见后)。

此外，Hanes 作图法 (图 4-6) 也是从米氏方程式衍化来的，其方程式为

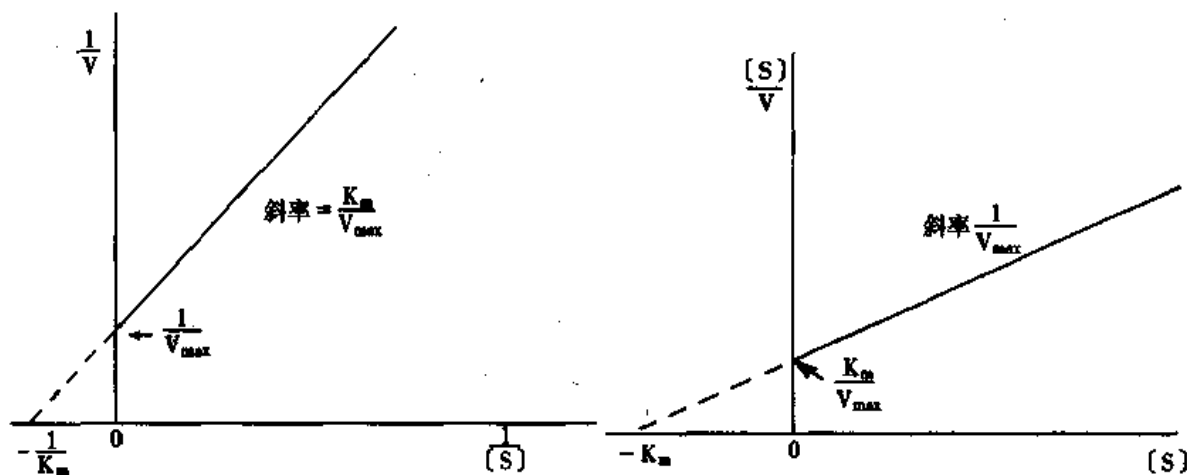


图 4-5 双倒数作图法

图 4-6 Hanes 作图法

$$\frac{[S]}{V} = \frac{K_m}{V_m} + \frac{1}{V_m} [S]$$

其横轴截距为 $-K_m$ ，直线的斜率为 $1/V_{max}$ 。

二、酶浓度对反应速度的影响

在酶促反应系统中，当底物浓度大大超过酶的浓度，使酶被底物饱和时，反应速度与酶的浓度变化成正比关系(图 4-7)。从式(6)可知，当 $[S] \gg [E]$ 时，式中 K_m 可以忽略不计，其关系式可简化为 $V = k_3 [E]$ 。

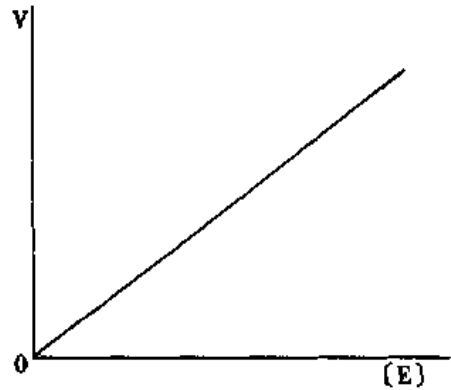


图 4-7 酶浓度对反应速度的影响

三、温度对反应速度的影响

酶是生物催化剂，温度对酶促反应速度具有双重影响。升高温度一方面可加快酶促反应速度，同时也增加酶的变性。温度升高到 60°C 以上时，大多数酶开始变性； 80°C 时，多数酶的变性已不可逆。综合这两种因素，酶促反应速度最快时的环境温度

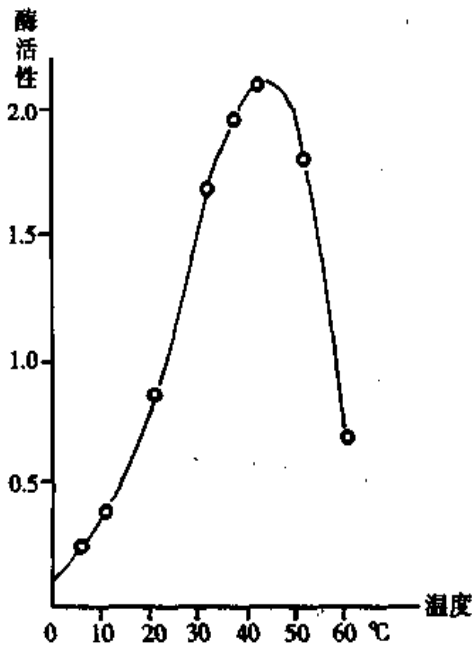


图 4-8 温度对淀粉酶活性的影响

称为酶促反

应的最适温度 (optimum temperature)。温血动物组织中酶的最适温度多在 $35 \sim 40^\circ\text{C}$ 之间。环境温度低于最适温度时，温度加快反应速度这一效应起主导作用，温度每升高 10°C ，反应速度可加大 $1 \sim 2$ 倍。温度高于最适温度时，反应速度则因酶变性而降低(图 4-8)。

酶的最适温度不是酶的特征性常数，它与反应进行的时间有关。酶可以在短时间内耐受较高的温度。相反，延长反应时间，最适温度便降低。

酶的活性虽然随温度的下降而降低，但低温一般不使酶破坏。温度回升后，酶又可以恢复活性。临床上低温麻醉便是利用酶的这一性质以减慢组织细胞代谢速度，提高机体对氧和营养物质缺乏的耐受性。低温保存菌种也是基于这一原理。生化实验中测定酶活性时，应严格控制反应液

的温度。酶制剂应保存在冰箱中，从冰箱中取出后应立即应用，以免发生酶的变性。

四、pH 对反应速度的影响

酶分子中的许多极性基团，在不同的 pH 条件下解离状态不同，其所带电荷的种类和数量也各不相同，酶活性中心的某些必需基团往往仅在某一解离状态时才最容易同底物结合或具有最大的催化作用。此外，许多底物与辅酶(如 ATP、 NAD^+ 、辅酶 A、氨基酸

等)也具有解离性质, pH 的改变也可影响它们的解离状态, 从而影响它们与酶的亲和力。因此, pH 的改变对酶的催化作用影响很大(图 4-9)。酶催化活性最大时的环境 pH 称为酶促反应的最适 pH (optimum pH)。虽然不同酶的最适 pH 各不相同, 但除少数(如胃蛋白酶的最适 pH 约为 1.8, 肝精氨酸酶最适 pH 为 9.8)外, 动物体内多数酶的最适 pH 接近中性。

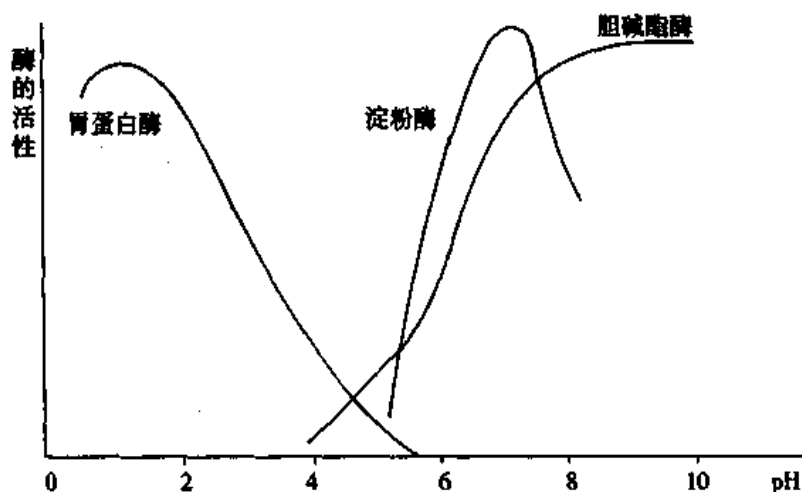


图 4-9 pH 对某些酶活性的影响

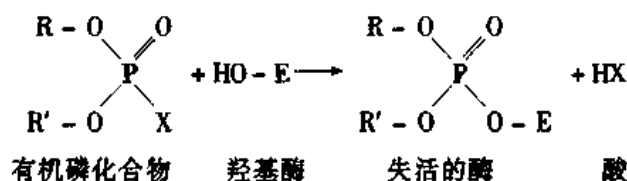
最适 pH 不是酶的特征性常数, 它受底物浓度、缓冲液的种类与浓度、以及酶的纯度等因素的影响。溶液的 pH 高于或低于最适 pH 时, 酶的活性降低, 远离 pH 时甚至会导致酶的变性失活。在测定酶的活性时, 应选用适宜的缓冲液以保持酶活性的相对恒定。

五、抑制剂对反应速度的影响

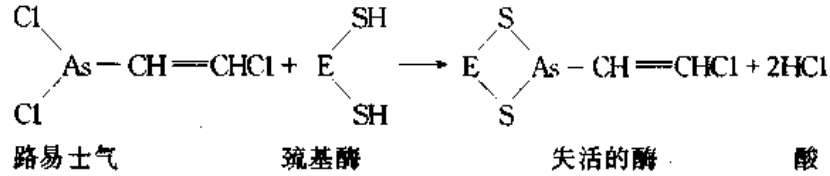
凡能使酶的催化活性下降而不引起酶蛋白变性的物质统称做酶的抑制剂 (inhibitor)。抑制剂多与酶的活性中心内、外必需基团相结合, 从而抑制酶的催化活性。除去抑制剂后酶的活性得以恢复。根据抑制剂与酶结合的紧密程度不同, 酶的抑制作用分为可逆性抑制与不可逆性抑制两类。

(一) 不可逆性抑制作用

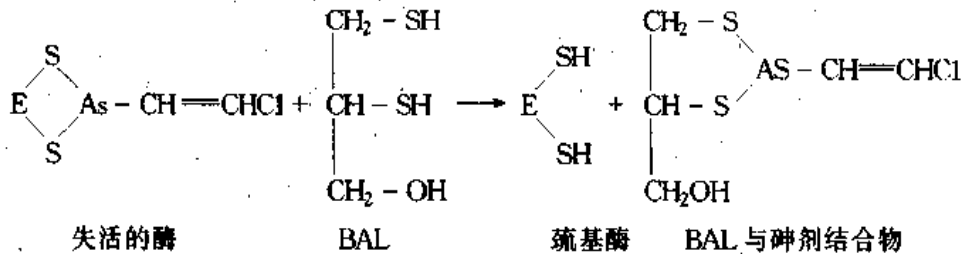
不可逆性抑制作用 (irreversible inhibition) 的抑制剂通常以共价键与酶活性中心上的必需基团相结合, 使酶失活。此种抑制剂不能用透析、超滤等方法予以去除。农药敌百虫、敌敌畏、1059 等有机磷化合物能特异地与胆碱酯酶 (choline esterase) 活性中心丝氨酸残基的羟基结合, 使酶失活。乙酰胆碱的积蓄造成迷走神经兴奋而呈现毒性状态。这些具有专一作用的抑制剂常被称为专一性抑制剂。



低浓度的重金属离子(如 Hg^{2+} 、 Ag^+ 等)及 As^{3+} 可与酶分子的巯基结合, 使酶失活。由于这些抑制剂所结合的巯基不局限于必需基团, 所以此类抑制剂又称为非专一性抑制剂。化学毒气路易士气(Lewisite)是一种含砷的化合物, 它能抑制体内的巯基酶而使人畜中毒。



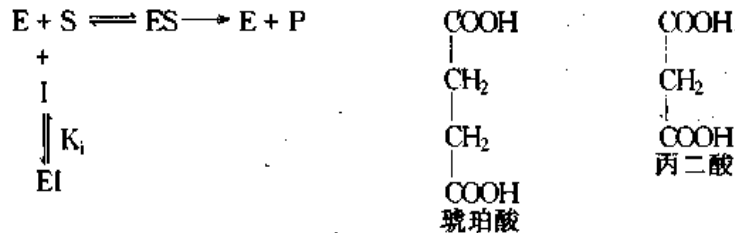
这些中毒可用药物防护和解毒。解磷定(pyridine aldoxime methyliodide, PAM)可解除有机磷化合物对巯基酶的抑制作用。重金属盐引起的巯基酶中毒可用二巯基丙醇(British anti-Lewisite, BAL)解毒。BAL 含有 2 个—SH 基, 在体内达到一定浓度后, 可与毒剂结合, 使酶恢复活性。



(二) 可逆性抑制作用

可逆性抑制作用(reversible inhibition)的抑制剂通常以非共价键与酶和(或)酶-底物复合物可逆性结合, 使酶活性降低或消失。采用透析或超滤的方法可将抑制剂除去, 使酶恢复活性。可逆性抑制作用的类型大体可分为以下三种:

1. 竞争性抑制作用 有些抑制剂与酶的底物结构相似, 可与底物竞争酶的活性中心, 从而阻碍酶与底物结合形成中间产物。由于抑制剂与酶的结合是可逆的, 抑制程度则取决于抑制剂与酶的相对亲和力和与底物浓度的相对比例。这种抑制作用称为竞争性抑制作用(competitive inhibition), 其反应过程如下:



丙二酸对琥珀酸脱氢酶的抑制作用是竞争性抑制作用的典型实例。丙二酸与酶的亲和力远大于琥珀酸与酶的亲和力, 当丙二酸的浓度仅为琥珀酸浓度的 1/50 时, 酶的活性便被抑制 50%。若增大琥珀酸的浓度, 此抑制作用可被减弱。

酶和抑制剂结合形成的复合物 EI 不能转化为产物。其中, K_i 称为抑制常数, 即酶与抑制剂结合的解离常数。按米氏方程式的推导方法演化出竞争性抑制剂、底物和反应速度之间的动力学关系如下:

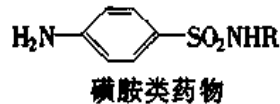
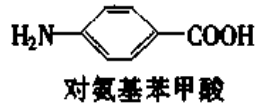
$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m (1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S]}$$

其双倒数方程式为:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} (1 + \frac{[I]}{K_i}) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

有不同浓度抑制剂存在时, 以 $1/V$ 对 $1/[S]$ 作图(图 4-10), 可以发现, 无论竞争性抑制剂的浓度如何, 各直线在纵轴上的截距均与无抑制剂时相同, 均为 $1/V_{\max}$ 。这说明酶促反应的 V_{\max} 不因有竞争性抑制剂的存在而改变。有竞争性抑制剂存在时, 从横轴上的截距量得的“ K_m 值”(称为表观 K_m 值, *apparent K_m*) 大于无抑制剂存在时的 K_m 值, 可见, 竞争性抑制作用使酶的表现 K_m 值增大。

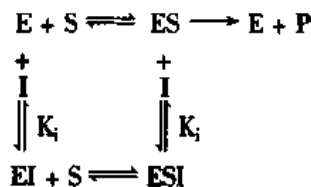
竞争性抑制作用的原理可用来阐明某些药物的作用机制和指导探索合成控制代谢的新药物。磺胺类药物是典型的代表。对磺胺类药物敏感的细菌在生长繁殖时, 不能直接利用环境中的叶酸, 而是在菌体内二氢叶酸合成酶(*dihydrofolic acid synthetase*)的催化下, 以对氨基苯甲酸等为底物合成二氢叶酸。二氢叶酸是核苷酸合成过程中的辅酶之一四氢叶酸的前体。磺胺类药物的化学结构与对氨基苯甲酸相似, 是二氢叶酸合成酶的竞争性抑制剂, 抑制二氢叶酸的合成。细菌则因核苷酸与核酸的合成受阻而影响其生长繁殖。人类能直接利用食物中的叶酸, 核酸的合成不受磺胺类药物的干扰。根据竞争性抑制的特点, 服用磺胺类药物时必须保持血液中药物的浓度, 以发挥其有效的竞争性抑菌作用。



许多属于抗代谢物的抗癌药物, 如氨甲蝶呤(MTX)、5-氟尿嘧啶(5-FU)、6-巯基嘌呤(6-MP)等, 几乎都是酶的竞争性抑制剂, 它们分别抑制四氢叶酸、脱氧胸苷酸及嘌呤核苷酸的合成, 以抑制肿瘤的生长。

2. 非竞争性抑制作用 有些抑制剂可与酶活性中心外的必需基团结合, 不影响酶与底物的结合, 酶和底物的结合也不影响酶与抑制剂的结合。底物与抑制剂之间无竞争关系。但酶-底物-抑制剂复合物(ESI)不能进一步释放出产物。这种抑制作用称做非竞争性抑制作用(*non-competitive inhibition*)。

典型的非竞争性抑制作用的反应过程是:



按照米氏方程式的推导方法, 得出酶促反应的速度、底物浓度和抑制剂之间的动力学关系, 其双倒数方程式是:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{\max}} (1 + \frac{[I]}{K_i}) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}} (1 + \frac{[I]}{K_i})$$

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

从反竞争性抑制作用的双倒数作图(图 4-10)可见, 此类抑制作用同时降低反应的 V_{max} 和表观 K_m 值。

现将三种可逆性抑制作用总结于表 4-2。

表 4-2 各种可逆性抑制作用的比较

作用特征	无抑制剂	竞争性抑制	非竞争性抑制	反竞争性抑制
与 I 结合的组分		E	E、ES	ES
动力学参数				
表观 K_m	K_m	增大	不变	减小
最大速度	V_{max}	不变	降低	降低
林-贝氏作图				
斜率	K_m/V_{max}	增大	增大	不变
纵轴截距	$1/V_{max}$	不变	增大	增大
横轴截距	$-1/K_m$	增大	不变	减小

六、激活剂对反应速度的影响

使酶由无活性变为有活性或使酶活性增加的物质称为酶的激活剂(activator)。激活剂大多为金属离子, 如 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Mn^{2+} 等; 少数为阴离子, 如 Cl^- 等。也有许多有机化合物激活剂, 如胆汁酸盐等。

大多数金属离子激活剂对酶促反应是不可缺少的, 否则将测不到酶的活性。这类激活剂称为必需激活剂(essential activator)。它们与酶、底物或酶-底物复合物结合参加反应, 但不转化为产物。例如, 己糖激酶催化的反应中, Mg^{2+} 与底物 ATP 结合生成 $Mg^{2+} - ATP$, 后者作为酶的真正底物参加反应。有些激活剂不存在时, 酶仍有一定的催化活性, 这类激活剂称为非必需激活剂(non-essential activator)。非必需激活剂通过与酶或底物或酶-底物复合物结合, 提高酶的催化活性。氯离子是唾液淀粉酶的非必需激活剂。许多有机化合物激活剂也属于此列。

七、酶活性测定与酶活性单位

酶活性测定的目的是了解组织提取液、体液或纯化的酶液中酶的存在与多寡。由于酶蛋白的含量甚微, 很难直接测定其蛋白质的含量, 而且在生物组织中, 酶蛋白又多与其他蛋白质混合存在, 将其提纯是一件耗时费力的事。酶的活性是指酶催化化学反应的能力, 其衡量的标准是酶促反应速度的大小。酶促反应速度可在适宜的反应条件下, 用单位时间内底物的消耗或产物的生成量来表示。

许多因素可以影响酶促反应速度。酶的活性测定要求有适宜的特定反应条件, 影响酶促反应速度的各种因素应相对恒定。酶的样品应作适当的处理。例如测定血浆乳酸脱氢酶活性时, 应防止溶血, 因红细胞中乳酸脱氢酶的活力比血浆中酶活力高 150 倍。测

定酶活性时，底物的量要足够(底物浓度一般在 $10 K_m$ 以上)，使酶被底物饱和，以充分反映待测酶的活力。测定代谢物时应保持酶的足够浓度，应根据反应时间选择反应的最适温度，根据不同的底物和缓冲液选择反应的最适 pH。为获取最高反应速度，在反应体系中应含有适宜的辅助因子、激活剂等。

酶的活性单位是衡量酶活力大小的尺度，它反映在规定条件下，酶促反应在单位时间(s、min 或 h)内生成一定量(mg、 μ g、 μ mol 等)的产物或消耗一定数量的底物所需的酶量。为了统一标准，国际生化学会(IUB)酶学委员会于 1976 年规定：在特定的条件下，每分钟催化 1μ mol 底物转化为产物所需的酶量为一个国际单位(IU)。1979 年该学会又推荐以催化单位(katal)来表示酶的活性。1 催化单位(1 kat)是指在特定条件下，每秒钟使 1 mol 底物转化为产物所需的酶量。 $1IU = 16.67 \times 10^{-9} \text{ kat}$ 。

第四节 酶的调节

体内各种代谢途径的调节主要是对代谢途径中关键酶的调节。改变酶的活性与含量是体内对酶调节的主要方式。此外，在长期进化过程中，酶的基因表现型的差别使不同的组织细胞具有其不同的独特代谢特征。

一、酶活性的调节

(一) 酶原与酶原的激活

有些酶在细胞内合成或初分泌时只是酶的无活性前体，必须在一定条件下，这些酶的前体水解一个或几个特定的肽键，致使构象发生改变，表现出酶的活性。这种无活性酶的前体称做酶原(zymogen)。酶原向酶的转化过程称为酶原的激活。酶原的激活实际上是酶的活性中心形成或暴露的过程。

胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、羧基肽酶、弹性蛋白酶在它们初分泌时都是以无活性的酶原形式存在，在一定条件下水解掉 1 个或几个短肽，转化成相应的酶。例如，胰蛋白酶原进入小肠后，在 Ca^{2+} 存在下受肠激酶的激活，第 6 位赖氨酸残基与第 7 位异亮氨酸残基之间的肽键被切断，水解掉一个六肽，分子的构象发生改变，形成酶的活性中心，从而成为有催化活性的胰蛋白酶。

消化管内蛋白酶原的激活具有级联反应性质。胰蛋白酶原被肠激酶激活后，生成的胰蛋白酶除了可以自身激活外，还可进一步激活胰凝乳蛋白酶原、羧基肽酶原 A 和弹性蛋白酶原，从而加速对食物的消化过程。血液中凝血与纤维蛋白溶解系统的酶类也都以酶原的形式存在，它们的激活具有典型的级联反应性质(见血液生化章)。只要少数凝血因子被激活，便可通过瀑布式的放大作用，迅速使大量的凝血酶原转化为凝血酶，引发快速而有效的血液凝固。纤维蛋白溶解系统也是如此。

酶原的激活具有重要的生理意义。消化管内蛋白酶以酶原形式分泌，不仅保护消化器官本身不受酶的水解破坏，而且保证酶在其特定的部位与环境发挥其催化作用。此外，酶原还可以视为酶的贮存形式。如凝血和纤维蛋白溶解酶类以酶原的形式在血液循环中运行，一旦需要便转化为有活性的酶，发挥其对机体的保护作用。

(二) 变构酶

第二章中阐述了血红蛋白的变构现象，生物体内许多酶也具有类似的变构现象。体内一些代谢物可以与某些酶分子活性中心外的某一部位可逆地结合，使酶发生变构并改变其催化活性。此结合部位称为变构部位(allosteric site)或调节部位(regulatory site)。对酶催化活性的这种调节方式称为变构调节(allosteric regulation)。受变构调节的酶称做变构酶(allosteric enzyme)。导致变构效应的代谢物称做变构效应剂(allosteric effector)。有时底物本身就是变构效应剂。

变构酶分子中常含有多个(偶数)亚基，酶分子的催化部位(活性中心)和调节部位有的在同一亚基内，也有的不在同一亚基内。含催化部位的亚基称为催化亚基；含调节部位的亚基称为调节亚基。具有多亚基的变构酶也与血红蛋白一样，存在着协同效应，包括正协同效应和负协同效应。如果效应剂是底物本身，则正协同效应的底物浓度曲线为S形曲线(图4-11)。

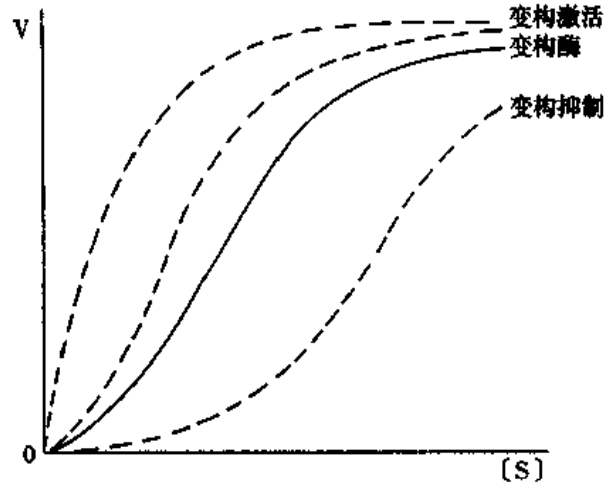


图4-11 变构酶的S形曲线

如果某效应剂引起的协同效应使酶对底物的亲和力增加，从而加快反应速度，此效应称为变构激活效应；效应剂称为变构激活剂(allosteric activator)，反之，降低反应速度者称为变构抑制剂(allosteric inhibitor)。例如，ATP和柠檬酸是糖酵解途径的关键酶之一磷酸果糖激酶的变构抑制剂。这两种物质增多时，此代谢途径受到抑制，防止产物过剩；而ADP和AMP是该酶的变构激活剂，这两种物质的增多激发葡萄糖的氧化供能，增加ATP的生成。

(三) 酶的共价修饰调节

酶蛋白肽链上的一些基团可与某种化学基团发生可逆的共价结合，从而改变酶的活性，这一过程称为酶的共价修饰(covalent modification)或化学修饰(chemical modification)。在共价修饰过程中，酶发生无活性(或低活性)与有活性(或高活性)两种形式的互变。这种互变由不同的酶所催化，后者又受激素的调控。酶的共价修饰包括磷酸化与脱磷酸化、乙酰化与脱乙酰化、甲基化与脱甲基化、腺苷化与脱腺苷化，以及—SH与—S—S—的互变等。其中以磷酸化修饰最为常见(见物质代谢的联系与调节章)。酶的共价修饰是体内快速调节的另一种重要方式。

二、酶含量的调节

(一) 酶蛋白合成的诱导与阻遏

某些底物、产物、激素、药物等可以影响一些酶的生物合成。一般在转录水平上促进酶生物合成的化合物称为诱导剂(inducer)，诱导剂诱发酶蛋白生物合成的作用称为诱导作用(induction)；在转录水平上减少酶生物合成的物质称为辅阻遏剂(corepressor)，辅

阻遏剂与无活性的阻遏蛋白结合，影响基因的转录，此过程称为阻遏作用(repression)。由于诱导剂在诱导酶生物合成过程的转录后，还需要有翻译和翻译后加工等过程，所以其效应出现较迟，一般需要几个小时以上才能见效。然而，一旦酶被诱导合成以后，即使去除诱导因素，酶的活性仍然存在。可见，酶的诱导与阻遏作用是对代谢的缓慢而长效的调节。

(二) 酶降解的调控

酶是机体的组成成分，也在不断地自我更新。细胞内各种酶的半寿期相差很大，可以通过改变酶分子的降解速度来调节细胞内酶的含量。细胞内酶的降解速度与机体的营养和激素的调节有关。

三、同工酶

同工酶(isoenzyme)是长期进化过程中基因分化的产物。同工酶是指催化相同的化学反应，而酶蛋白的分子结构、理化性质乃至免疫学性质不同的一组酶。根据国际生化学会的建议，同工酶是由不同基因或等位基因编码的多肽链，或由同一基因转录生成的不同 mRNA 翻译的不同多肽链组成的蛋白质。翻译后经修饰生成的多分子形式不在同工酶之列。同工酶存在于同一种属或同一个体的不同组织或同一细胞的不同亚细胞结构中，它在代谢调节上起着重要的作用。

现已发现百余种酶具有同工酶。乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase)是四聚体酶。该酶的亚基有两型：骨骼肌型(M型)和心肌型(H型)。这两型亚基以不同的比例组成五种同工酶：LDH₁(HHHH或H₄)、LDH₂(HHHM或H₃M)、LDH₃(HHMM或H₂M₂)、LDH₄(HMMM或HM₃)、LDH₅(MMMM或M₄)。由于分子结构上的差异，这五种同工酶具有不同的电泳速度(这里1至5的次序代表电泳速度递减的次序)，对同一底物表现不同的K_m值。单个亚基无酶的催化活性。研究表明，LDH同工酶中这两种不同肽链的合成受不同基因的控制。H型多肽链来自第12号染色体的基因位点B，M型多肽链来自第11号染色体的基因位点A。由于不同组织器官合成这两种亚基的速度不同和两种亚基之间杂交的情况不同，LDH的同工酶在不同组织器官中的含量与分布比例不同(表4-3)。这使不同的组织与细胞具有不同的代谢特点。

表 4-3 人体各组织器官中 LDH 同工酶的分布

组 织 器 官	同工酶百分比				
	LDH ₁	LDH ₂	LDH ₃	LDH ₄	LDH ₅
心 肌	67	29	4	<1	<1
肾	52	28	16	4	<1
肝	2	4	11	27	56
骨骼肌	4	7	21	27	41
红细胞	42	36	15	5	2
肺	10	20	30	25	15
胰 腺	30	15	50	-	5
脾	10	25	40	25	5
子 宫	5	25	44	22	4

肌酸激酶 (creatine kinase, CK) 是二聚体酶, 其亚基有 M 型 (肌型) 和 B 型 (脑型) 两种。脑中含 CK₁ (BB 型); 骨骼肌中含 CK₃ (MM 型); CK₂ (MB 型) 仅见于心肌。

同工酶的测定已应用于临床实践。当某组织病变时, 可能有某种特殊的同工酶释放出来, 同工酶谱的改变有助于对疾病的诊断。如图 4-12 所示, 心肌梗死后 6~18 小时, CK₂ 释放入血, 而 LDH 的释放比 CK₂ 迟 1~2 天。正常血浆 LDH₂ 的活性高于 LDH₁, 心肌梗死时可见 LDH₁ 大于 LDH₂。

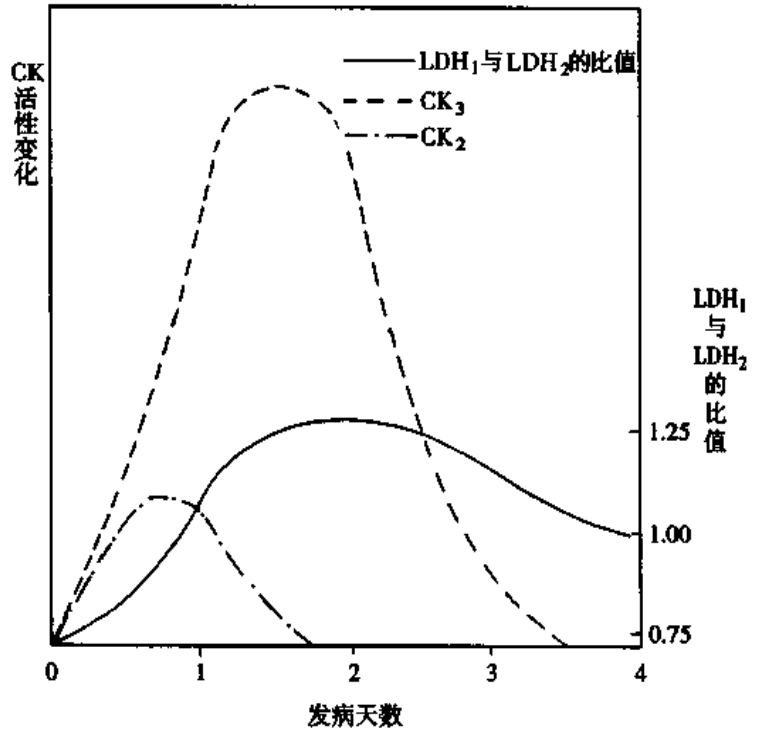


图 4-12 心肌梗死血清 CK 和 LDH 同工酶活性的改变

第五节 酶的命名与分类

一、酶的命名

过去, 酶的命名缺乏系统的规则, 酶的名称多由发现者确定。这些习惯名称多根据酶所催化的底物、反应的性质以及酶的来源而定。国际酶学委员会以酶的分类为依据, 于 1961 年提出系统命名法。系统命名法规定每一酶均有一个系统名称, 它标明酶的所有底物与反应性质。底物名称之间以“:”分隔。由于许多酶促反应是双底物或多底物反应, 且许多底物的化学名称太长, 这使许多酶的系统名称过长和过于复杂。为了应用方便, 国际酶学委员会又从每种酶的数个习惯名称中选定一个简便实用的推荐名称。现将一些酶的系统名称和推荐名称举例列于表 4-4。

表 4-4 一些酶的命名举例

编号	推荐名称	系统名称	催化的反应
EC 1.4.1.3	谷氨酸脱氢酶	L-谷氨酸: NAD ⁺ 氧化还原酶	$L\text{-谷氨酸} + \text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NH}_3 + \text{NADH}$
EC 2.6.1.1	天冬氨酸氨基转移酶	L-天冬氨酸: α -酮戊二酸氨基转移酶	$L\text{-天冬氨酸} + \alpha\text{-酮戊二酸} \rightleftharpoons \text{草酰乙酸} + L\text{-谷氨酸}$
EC 3.5.3.1	精氨酸酶	L-精氨酸脬基水解酶	$L\text{-精氨酸} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow L\text{-鸟氨酸} + \text{尿素}$

续表

编 号	推 荐 名 称	系 统 名 称	催 化 的 反 应
EC 4.1.2.13	果糖二磷酸醛缩酶	D-果糖 1, 6-二磷酸: D-甘油醛 3-磷酸裂合酶	D-果糖 1, 6-二磷酸 \rightleftharpoons 磷酸二羟丙酮 + D-甘油醛 3-磷酸
EC 5.3.1.9	磷酸葡糖异构酶	D-葡糖 6-磷酸酮醇异构酶	D-葡糖 6-磷酸 \rightleftharpoons D-果糖 6-磷酸
EC 6.3.1.2	谷氨酰胺合成酶	L-谷氨酸: 氨连接酶	ATP + L-谷氨酸 + NH ₃ \longrightarrow ADP + 磷酸 + L-谷氨酰胺

二、酶 的 分 类

按照酶促反应的性质，酶可分为六大类：

1. 氧化还原酶类(oxidoreductases) 催化底物进行氧化还原反应的酶类。例如，乳酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、细胞色素氧化酶、过氧化氢酶、过氧化物酶等。

2. 转移酶类(transferases) 催化底物之间进行某些基团的转移或交换的酶类。例如，甲基转移酶、氨基转移酶、己糖激酶、磷酸化酶等。

3. 水解酶类(hydrolases) 催化底物发生水解反应的酶类。例如，淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶、磷酸酶等。

4. 裂解酶类(或裂合酶类, lyases) 催化从底物移去一个基团并留下双键的反应或其逆反应的酶类。例如，碳酸酐酶、醛缩酶、柠檬酸合酶等。

5. 异构酶类(isomerases) 催化各种同分异构体之间相互转化的酶类。例如，磷酸丙糖异构酶、消旋酶等。

6. 合成酶类(或连接酶类, ligases) 催化两分子底物合成为一分子化合物，同时偶联有 ATP 的磷酸键断裂释能的酶类。例如，谷氨酰胺合成酶、氨基酸: tRNA 连接酶等。

国际系统分类法除按上述六类将酶依次编号外，还根据酶所催化的化学键的特点和参加反应的基团不同，将每一大类又进一步分类。每种酶的分类编号均由四个数字组成，数字前冠以 EC (enzyme commission)(表 4-4)。编号中第一个数字表示该酶属于六大类中的哪一类；第二个数字表示该酶属于哪一亚类；第三个数字表示亚-亚类；第四个数字是该酶在亚-亚类中的排序。

第六节 酶与医学的关系

一、酶与疾病的关系

(一) 酶与疾病的发生

有些疾病的发病机制直接或间接地与酶的异常或酶活性受到抑制相关。现已发现 140 多种先天性代谢缺陷中，多由酶的先天性或遗传性缺损所致。例如，酪氨酸酶缺乏引起白化病。苯丙氨酸羟化酶缺乏使苯丙氨酸和苯丙酮酸在体内堆积，高浓度的苯丙氨酸可抑制 5-羟色胺的生成，导致精神幼稚化。

许多疾病也可引起酶的异常，这种异常又使病情加重。例如，急性胰腺炎时，胰蛋

白酶原在胰腺中被激活，造成胰腺组织被水解破坏。许多炎症都可以导致弹性蛋白酶从浸润的白细胞或巨噬细胞中释放，对组织产生破坏作用。

激素代谢障碍或维生素缺乏可引起某些酶的异常。例如，维生素 K 缺乏时，凝血因子Ⅱ、Ⅶ、Ⅸ、Ⅹ的前体不能在肝内进一步羧化生成成熟的凝血因子，病人表现出因这些凝血因子质的异常所致的临床征象。

酶活性受到抑制多见于中毒性疾病。例如，前述的有机磷农药中毒、重金属盐中毒以及氰化物中毒等。

(二) 酶与疾病的诊断

临床上更为常见的是许多组织器官的疾病表现为血液等体液中一些酶活性的异常。其主要原因是：①某些组织器官受到损伤造成细胞破坏或细胞膜通透性增高时，细胞内的某些酶可大量释放入血。如急性胰腺炎时血清和尿中淀粉酶活性升高；急性肝炎或心肌炎时血清转氨酶活性升高等。②细胞的转换率增高或细胞的增殖增快，其特异的标志酶可释放入血。如前列腺癌病人可有大量酸性磷酸酶释放入血。③酶的合成或诱导增强。如胆管堵塞时，胆汁的反流可诱导肝合成大量的碱性磷酸酶；巴比妥盐类或酒精可诱导肝中的 γ -谷氨酰转移酶生成增多。④酶的清除受阻也可引起血清酶的活性增高。肝硬化时血清碱性磷酸酶不能被及时清除，胆管阻塞可影响血清碱性磷酸酶的排泄，均可造成血清中此酶浓度的明显升高。⑤由于许多酶在肝内合成，肝功能严重障碍时，某些酶合成减少，如血中凝血酶原、因子Ⅶ等含量下降。

临床上常通过测定血中某些酶的活性来协助诊断某些疾病。据统计，当前临床上酶的测定占临床化学检验总量的 25%，可见酶在临床诊断上的重要作用。

(三) 酶与疾病的治疗

许多药物可通过抑制生物体内的某些酶来达到治疗目的。凡能抑制细菌中重要代谢途径中的酶活性，便可达到抑菌目的。前述的磺胺类药物是细菌二氢叶酸合成酶的竞争性抑制剂。氯霉素可抑制某些细菌转肽酶的活性从而抑制其蛋白质的合成。

肿瘤细胞有其独特的代谢方式。人们试图阻断相应的酶活性，以达到遏制肿瘤生长的目的。前述的氨甲蝶呤、5-氟尿嘧啶、6-巯基嘌呤等，都是核酸代谢途径中相关酶的竞争性抑制剂。

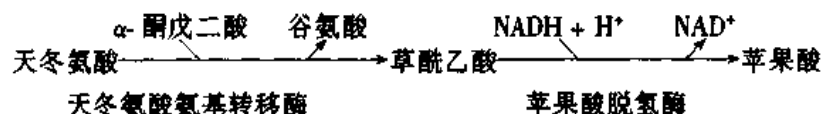
二、酶在医学上的应用

(一) 酶作为试剂用于临床检验

酶法分析即酶偶联测定法是利用酶作为分析试剂，对一些酶的活性、底物浓度、激活剂、抑制剂等进行定量分析的一种方法。此法灵敏、准确、方便、迅速，已广泛地应用于临床检验和科学研究等各领域。其原理是利用一些酶(称指示酶)的底物或产物可以直接简便地监测，将该酶偶联到待测的酶促反应体系中，将本来不易直接测定的反应转化为可以直接监测的系列反应。

例如，很多脱氢酶所催化的反应需要 NAD^+ 或 NADP^+ 作辅酶。还原型辅酶(NADH 和 NADPH) 在波长 340nm 处有吸收峰，而氧化型(NAD^+ 和 NADP^+) 无此吸收峰。利用此特性，将脱氢酶反应与待测的酶促反应相偶联，以检测后者的酶活性。例如，测定天冬

氨酸转氨酶(AST)的活性时,可利用苹果酸脱氢酶为指示酶,于340nm波长处监测NADH量的减少,从而计算天冬氨酸转氨酶的活性。



(二) 酶作为药物用于临床治疗

酶作为药品最早用于助消化。现在已扩大到消炎、抗凝、促凝、降压等方面。例如,利用胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰脂肪酶、胰淀粉酶等助消化;利用胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、链激酶、尿激酶、纤溶酶、溶菌酶、木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶等进行外科扩创、化脓伤口的净化、浆膜粘连的防治和一些炎症的治疗;利用链激酶、尿激酶、纤溶酶等防治血栓的形成等。

(三) 酶作为工具用于科学研究和生产

1. 工具酶 除上述酶偶联测定法外,人们利用酶具有高度特异性的特点,将酶作为工具,在分子水平上对某些生物大分子进行定向的分割与连接。最典型的例子是基因工程中应用的各种限制性核酸内切酶、连接酶以及聚合酶链反应中应用的热稳定的Taq DNA聚合酶(详见有关章节)等。

2. 酶标记测定法 酶可以代替同位素与某些物质相结合,从而使该物质被酶所标记。通过测定酶的活性来判断被标记物质或与其定量结合的物质存在和含量。这种方法具有相当高的灵敏性,同时又可避免同位素应用上的一些弊端。当前应用最多的是酶联免疫测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)。

3. 固定化酶 固定化酶(immobilized enzyme)是将水溶性酶经物理或化学方法处理后,成为不溶于水但仍具有酶活性的一种酶的衍生物。固定化酶在催化反应中以固相状态作用于底物,并保持酶的高度特异性和催化的高效率。固定化酶的优点在于它有类似离子交换树脂和亲和层析的优点,其机械性强,可以用装柱的方式作用于流动相中的底物,使反应管道化、连续化和自动化。反应后可与产物自然地分开,利于产物的回收。固定化酶稳定性较好,可以反复长期应用,并有利于贮存。

4. 抗体酶 前面已经提到,底物与酶的活性中心结合时底物发生变形改变,产生过渡态。如果将底物的过渡态类似物作为抗原,注入动物体内产生抗体,则抗体在结构上与过渡态类似物互相适应并可相互结合。该抗体便具有催化该过渡态反应的酶活性。当抗体与底物结合时,就可使底物转变为过渡态进而发生催化反应。人们将这种具有催化功能的抗体分子称为抗体酶(abzyme)。

抗体酶研究是酶工程研究的前沿之一。制造抗体酶的技术比蛋白质工程甚至比生产酶制剂简单,又可大量生产。因此,可通过抗体酶的途径来制备自然界不存在的新酶种,生产目前尚不易获得的各种酶类。

小 结

酶是由活细胞合成的对其特异底物起高效催化作用的蛋白质。核酶是近年来发现的对RNA具有高效特异催化作用的核酸。单纯酶是仅由氨基酸残基组成的蛋白质,结合

酶除含有蛋白质部分外，还含有非蛋白质辅助因子。酶蛋白决定酶促反应的特异性，辅助因子参与酶的活性中心，决定酶促反应的性质。辅助因子是金属离子或小分子有机化合物，根据其于酶蛋白结合的紧密程度可分为辅酶与辅基。许多 B 族维生素参与辅酶或辅基分子的组成。

酶分子中一些在一级结构上可能相距很远的必需基团，在空间结构上彼此靠近，组成具有特定空间结构的区域，能与底物特异地结合并将底物转化为产物，这一区域称为酶的活性中心。酶促反应具有高效率、高度特异性和可调节性。其催化机制是酶与底物诱导契合形成酶-底物复合物，通过邻近效应、定向排列、多元催化及表面效应等使酶发挥高效催化作用。

酶促反应动力学研究影响酶促反应速度的各种因素，包括底物浓度、酶浓度、温度、pH、抑制剂和激活剂等。底物浓度对反应速度的影响可用米氏方程式表示： $V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$ 。其中， K_m 为米氏常数，等于反应速度为最大速度一半时的底物浓度，具有重要意义。 V_{\max} 和 K_m 可用米氏方程式的双倒数作图来求取。酶促反应在最适 pH 和最适温度时活性最高，但它们不是酶的特征性常数，受许多因素的影响。酶的抑制作用包括不可逆性抑制与可逆性抑制两种。可逆性抑制中，竞争性抑制作用的表现 K_m 值增大， V_{\max} 不变；非竞争性抑制作用的 K_m 值不变， V_{\max} 减小，反竞争性抑制作用的 K_m 值和 V_{\max} 均减小。

酶活性测定是测量酶量的简便方法。酶活性单位是衡量酶催化活力的尺度，在适宜条件下以单位时间内底物的消耗或产物的生成量来表示。在规定条件下，每分钟催化 $1\mu\text{mol}$ 底物转化为产物所需的酶量为 1 IU。

机体内对酶的活性与含量的调节是调节代谢的重要途径之一。体内有些酶以无活性的酶原形式存在，只有在需要发挥作用时才转化为有活性的酶；变构酶是与一些效应剂可逆地结合，通过改变酶的构象而影响酶活性的一组酶。多亚基的变构酶具有协同效应，是体内快速调节酶活性的重要方式。酶的共价修饰使酶在相关酶的催化下可逆地共价结合某些化学基团，实现有活性酶与无活性酶的互变。这是体内实现对代谢快速调节的另一重要方式。酶量的调节包括酶生物合成的诱导与阻遏，以及对酶降解的调节。同工酶是指催化的化学反应相同，酶蛋白的分子结构、理化性质乃至免疫学性质不同的一组酶，是由不同基因或等位基因编码的多肽链，或同一基因转录生成的不同 mRNA 翻译的不同多肽链组成的蛋白质。同工酶在不同的组织与细胞中具有不同的代谢特点。

酶可分为六大类，分别是氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类和合成酶类。酶的名称包括系统名称和推荐名称。按酶的系统分类法所分成的六大类，每一酶均有四位数字的编号。

酶与医学的关系十分密切。许多疾病的发生与发展与酶的异常或酶受到抑制有关。机体内某些疾病可通过血清酶的测定予以反映。许多药物可通过作用于细菌或人体内的某些酶以达到治疗目的。酶可以作为诊断试剂和药物对某些疾病进行诊断与治疗。酶还可作为工具酶或制成固定化酶用于科学研究；抗体酶是人工制造的兼有抗体和酶活性的蛋白质，具有广阔的开发前景。

(赵宝昌)

第二篇 物质代谢及其调节

生命活动的基本特征之一是生物体内各种物质按一定规律不断进行的新陈代谢，以实现生物体与外环境的物质交换、自我更新，以及机体内环境的相对稳定。物质代谢包括合成代谢与分解代谢两个方面，并处于动态平衡(dynamic equilibrium)之中。物质代谢中绝大部分化学反应是在细胞内由酶催化而进行的，并伴随着多种形式的能量变化。各种物质代谢之间有着广泛的联系，而且机体具有严密调节物质代谢的能力，使其构成一个统一的整体。正常的物质代谢是生命过程所必需的，而物质代谢的紊乱则往往是一些疾病的重要原因。为此，物质代谢的知识是医学生物化学的重要组成部分。

本篇主要介绍糖代谢、脂类代谢、生物氧化、氨基酸代谢、核苷酸代谢，以及各种重要物质代谢的联系与调节规律。有关 DNA 生物合成、RNA 生物合成及蛋白质生物合成将在第三篇讨论。水、无机物代谢归入《病理生理学》。在学习这一篇时，要注意掌握各类物质代谢的基本反应途径、关键酶与主要调节环节、重要生理意义、各种物质代谢的相互联系，以及代谢异常与疾病关系等问题。

第五章 糖 代 谢

糖是一大类有机化合物，其化学本质为多羟醛或多羟酮类及其衍生物或多聚物。糖是自然界最丰富的物质之一，广泛分布于几乎所有生物体内，其中以植物中含量最多，约为 85% ~ 95%。糖在生命活动中的主要作用是提供能源和碳源。人体所需能量的 50% ~ 70% 来自于糖。食物中的糖类主要是淀粉(starch)。淀粉被消化成其基本组成单位葡萄糖(glucose)后，以主动方式被吸收入血。在机体的糖代谢中，葡萄糖居主要地位。它的多聚体——糖原(glycogen)是糖在体内的储存形式，血液中运输的也是葡萄糖。1mol 葡萄糖完全氧化成为二氧化碳和水可释放 2 840kJ (679kcal) 的能量。其中约 40% 转化为 ATP，以供应机体生理活动所需的能量。葡萄糖在机体内还可转变成多种非糖物质，有些非糖物质又可转变为葡萄糖。此外，葡萄糖的某些代谢产物可为其他代谢途径提供必需的物质，如 NADPH、磷酸核糖等。其他的单糖如果糖、半乳糖、甘露糖等因所占比例很小，且主要是进入葡萄糖代谢途径中代谢。因此，本章将葡萄糖在机体内的代谢作为介绍的重点。

第一节 概 述

一、糖的生理功能

糖类物质是人类食物的主要成分，提供能量是糖类最主要的生理功能。此外，糖还是机体重要的碳源，糖代谢的中间产物可转变成其他的含碳化合物，如氨基酸、脂肪酸、核苷等。糖也是组成人体组织结构的重要成分。例如，蛋白聚糖和糖蛋白构成结缔组织、软骨和骨的基质；糖蛋白和糖脂是细胞膜的构成成分，部分膜糖蛋白还参与细胞间的信息传递作用，与细胞的免疫、识别作用有关。体内还有一些具有特殊生理功能的糖蛋白，如激素、酶、免疫球蛋白、血型物质和血浆蛋白等。值得指出的是，糖的磷酸衍生物可以形成许多重要的生物活性物质，如 NAD⁺、FAD、ATP 等。

二、糖的消化吸收

人类食物中的糖主要有植物淀粉和动物糖原以及麦芽糖、蔗糖、乳糖、葡萄糖等。食物中含有的大量纤维素，因人体内无 β -糖苷酶而不能对其分解利用，但却具有刺激肠蠕动等作用，也是维持健康所必需的。食物中的糖一般以淀粉为主。唾液和胰液中都有 α -淀粉酶(α -amylase)，可水解淀粉分子内的 α -1, 4 糖苷键。由于食物在口腔停

留的时间很短，所以淀粉消化主要在小肠内进行。在胰液的 α -淀粉酶作用下，淀粉被水解为麦芽糖(maltose)和麦芽三糖(约占65%)，及含分支的异麦芽糖和由4~9个葡萄糖残基构成的 α -临界糊精(约占35%)。寡糖的进一步消化在小肠粘膜刷状缘进行。 α -葡萄糖苷酶(包括麦芽糖酶)水解没有分支的麦芽糖和麦芽三糖； α -临界糊精酶(包括异麦芽糖酶)则可水解 α -1,4糖苷键和 α -1,6糖苷键，将 α -糊精和异麦芽糖水解释成葡萄糖。肠粘膜细胞还存在有蔗糖酶和乳糖酶等，分别水解蔗糖和乳糖。有些成人由于乳糖酶缺乏，在食用牛奶后发生乳糖消化吸收障碍，可引起腹胀、腹泻等症状。

糖被消化成单糖后才能在小肠被吸收，再经门静脉进入肝。小肠粘膜细胞对葡萄糖的摄入是一个依赖于特定载体转运的、主动耗能的过程，在吸收过程中同时伴有 Na^+ 的转运。这类葡萄糖转运体被称为 Na^+ 依赖型葡萄糖转运体(Na^+ -dependent glucose transporter, SGLT)，它们主要存在于小肠粘膜和肾小管上皮细胞。

三、糖代谢的概况

葡萄糖吸收入血后，在体内代谢首先需进入细胞。这是依赖一类葡萄糖转运体(glucose transporter, GLUT)而实现的。现已发现有五种葡萄糖转运体(GLUT 1~5)，它们分别在不同的组织细胞中起作用。如GLUT-1主要存在于红细胞，而GLUT-4主要存在于脂肪和肌组织。

糖代谢主要是指葡萄糖在体内的一系列复杂的化学反应。它在不同类型细胞中的代谢途径有所不同，其分解代谢方式还在很大程度上受氧供状况的影响。在供氧充足时，葡萄糖进行有氧氧化彻底氧化成 CO_2 和 H_2O ；在缺氧时，则进行糖酵解生成乳酸。此外，葡萄糖也可进入磷酸戊糖途径等进行代谢，以发挥不同的生理作用。葡萄糖也可经合成代谢聚合成糖原，储存于肝或肌组织。有些非糖物质如乳酸、丙氨酸等还可经糖异生途径转变成葡萄糖或糖原。以下将介绍糖的主要代谢途径、生理意义及其调控机制。

第二节 糖的无氧分解

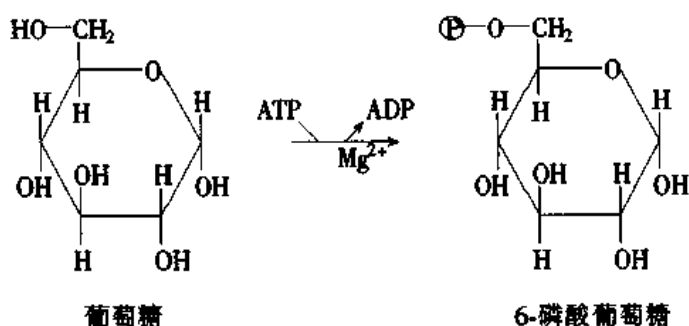
一、糖酵解的反应过程

在缺氧情况下，葡萄糖生成乳酸(lactate)的过程称之为糖酵解(glycolysis)。糖酵解的代谢反应过程可分为两个阶段：第一阶段是由葡萄糖分解成丙酮酸(pyruvate)的过程，称之为酵解途径(glycolytic pathway)；第二阶段为丙酮酸转变成乳酸的过程。糖酵解的全部反应在胞浆中进行。

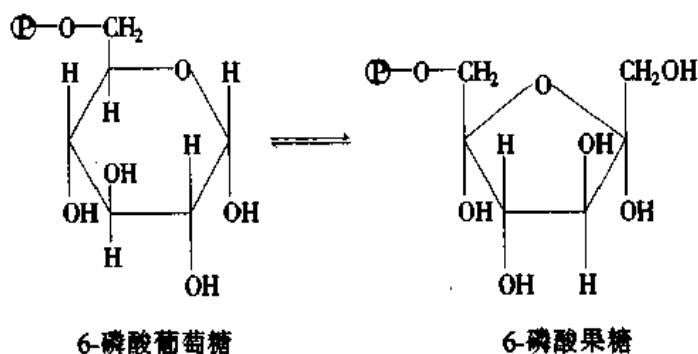
(一) 葡萄糖分解成丙酮酸

1. 葡萄糖磷酸化成为6-磷酸葡萄糖(glucose-6-phosphate, G-6-P) 葡萄糖进入细胞后首先的反应是磷酸化。磷酸化后葡萄糖即不能自由通过细胞膜而逸出细胞。催化此反应的是己糖激酶(hexokinase)。把ATP的磷酸基团转移给接受体的反应都由激酶催化，并

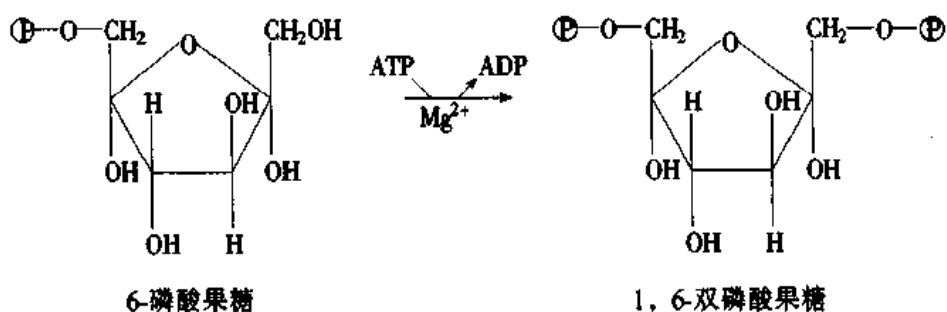
需要 Mg^{2+} 。这个反应的 ΔG° 为 -16.7kJ/mol (-4.0kcal/mol)，所以基本上是不可逆的。哺乳类动物体内已发现有四种己糖激酶同工酶，分别称为 I 至 IV 型。肝细胞中存在的是 IV 型，也称为葡萄糖激酶 (glucokinase)。它对葡萄糖的亲合力很低， K_m 值为 10mmol/L 左右，而其他己糖激酶的 K_m 值在 0.1mmol/L 左右。此酶的另一个特点是受激素调控。这些特性使葡萄糖激酶在维持血糖水平和糖代谢中起着重要的生理作用。



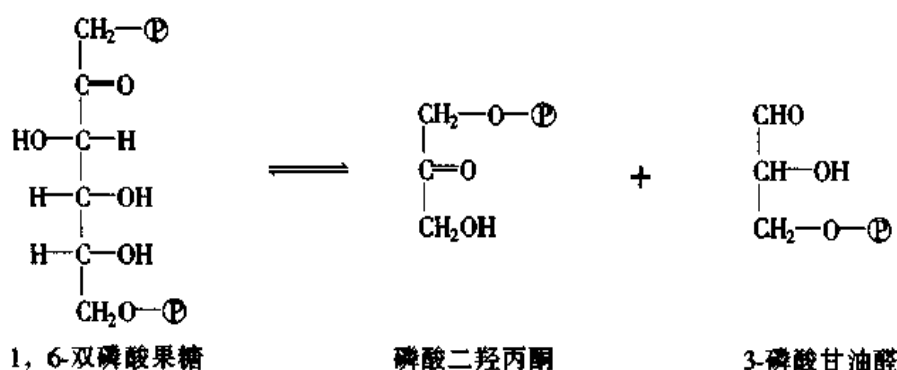
2. 6-磷酸葡萄糖转变为 6-磷酸果糖 (fructose-6-phosphate, F-6-P) 这是由磷酸己糖异构酶催化的醛糖与酮糖间的异构反应，是需要 Mg^{2+} 参与的可逆反应。



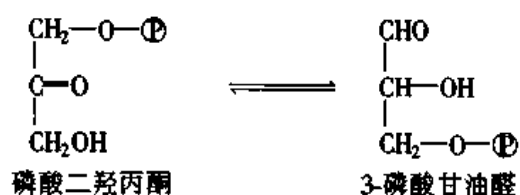
3. 6-磷酸果糖转变为 1, 6-双磷酸果糖 (1, 6-fructose-biphosphate, F-1, 6-2P) 这是第二个磷酸化反应，需 ATP 和 Mg^{2+} 参与，由 6-磷酸果糖激酶-1 (6-phosphofructo-kinase-1) 催化，是非平衡反应，倾向于生成 1, 6-双磷酸果糖。



4. 磷酸己糖裂解成 2 个磷酸丙糖 此步反应可逆，由醛缩酶 (aldolase) 催化，而且有利于己糖的合成，所以称为醛缩酶。最终产生 2 个丙糖，即磷酸二羟丙酮和 3-磷酸甘油醛。

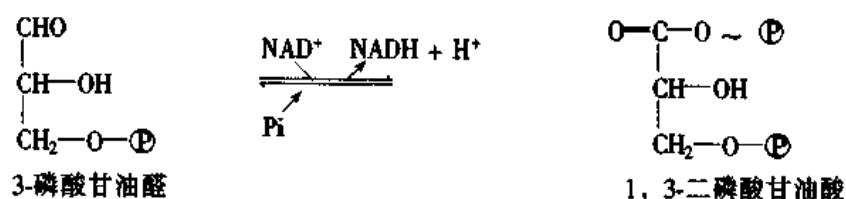


5. 磷酸丙糖的同分异构化 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮是同分异构体，在磷酸丙糖异构酶(triose phosphate isomerase)催化下可互相转变。当3-磷酸甘油醛在下一步反应中被移去后，磷酸二羟丙酮迅速转变为3-磷酸甘油醛，继续进行酵解。

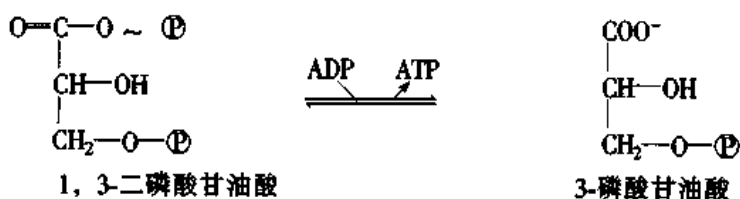


上述的五步反应为糖酵解途径中的耗能阶段，1分子葡萄糖的代谢消耗了2分子ATP，产生了2分子3-磷酸甘油醛。而在以后的五步反应中，磷酸丙糖转变成丙酮酸，总共生成4分子ATP，所以为能量的释放和储存阶段。

6. 3-磷酸甘油醛氧化为1, 3-二磷酸甘油酸 反应中3-磷酸甘油醛的醛基氧化成羧基及羧基的磷酸化均由3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)催化，以 NAD^+ 为辅酶接受氢和电子。参加反应的还有无机磷酸，当3-磷酸甘油醛的醛基氧化脱氢成羧基即与磷酸形成混合酸酐。该酸酐含一高能磷酸键，它水解时 $\Delta G^\circ = -61.9\text{kJ/mol} (-14.8\text{kcal/mol})$ ，可将能量转移至ADP，生成ATP。



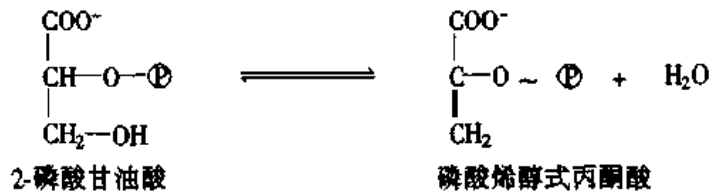
7. 1, 3-二磷酸甘油酸转变成3-磷酸甘油酸 磷酸甘油酸激酶(phosphoglycerate kinase)催化混合酸酐上的磷酸从羧基转移到ADP，形成ATP和3-磷酸甘油酸，反应需要 Mg^{2+} 。这是糖酵解过程中第一个产生ATP的反应，将底物的高能磷酸基直接转移给ADP生成ATP，这种ADP或其他核苷二磷酸的磷酸化作用与底物的脱氢作用直接相偶联的反应过程，被称为底物水平磷酸化作用(substrate level phosphorylation)。



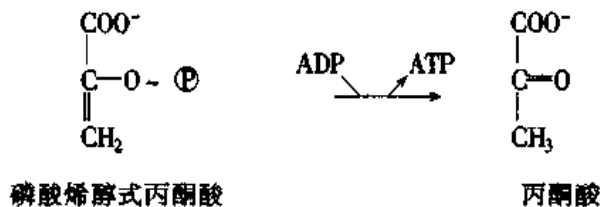
8. 3-磷酸甘油酸转变为 2-磷酸甘油酸 磷酸甘油酸变位酶(phosphoglycerate mutase)催化磷酸基从 3-磷酸甘油酸的 C₃ 位转移到 C₂, 这步反应是可逆的, 在催化反应中 Mg²⁺ 是必需的。



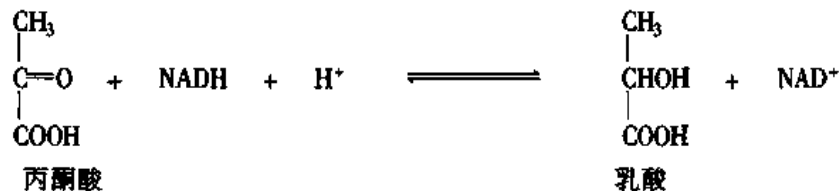
9. 2-磷酸甘油酸转变成磷酸烯醇式丙酮酸 烯醇化酶(enolase)催化 2-磷酸甘油酸脱水生成磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate, PEP)。尽管这个反应的标准自由能改变比较小, 但反应时可引起分子内部的电子重排和能量重新分布, 形成了一个高能磷酸键, 这就为下一步反应作了准备。



10. 磷酸烯醇式丙酮酸转变成 ATP 和丙酮酸 这一步反应由丙酮酸激酶(pyruvate kinase)催化, 需要 K⁺ 和 Mg²⁺ 参与。反应最初生成烯醇式丙酮酸, 但烯醇式迅即非酶促转变为酮式。在胞内这个反应是不可逆的。这是糖酵解途径中第二次底物水平磷酸化。



(二) 丙酮酸转变成乳酸



这一反应由乳酸脱氢酶催化, 丙酮酸还原成乳酸所需的氢原子由 NADH + H⁺ 提供, 后者来自上述第 6 步反应中的 3-磷酸甘油醛的脱氢反应。在缺氧情况下, 这对氢用于还原丙酮酸生成乳酸, NADH + H⁺ 重新转变成 NAD⁺, 糖酵解才能继续进行。糖酵解的全部反应可归纳如图 5-1。

除葡萄糖外, 其他己糖也可转变成磷酸己糖而进入酵解途径。例如: 果糖经己糖激酶催化可转变成 6-磷酸果糖; 半乳糖经半乳糖激酶催化生成 1-磷酸半乳糖后, 再经过几步中间反应生成 1-磷酸葡萄糖, 后者经变位酶的作用而生成 6-磷酸葡萄糖; 甘露糖则可

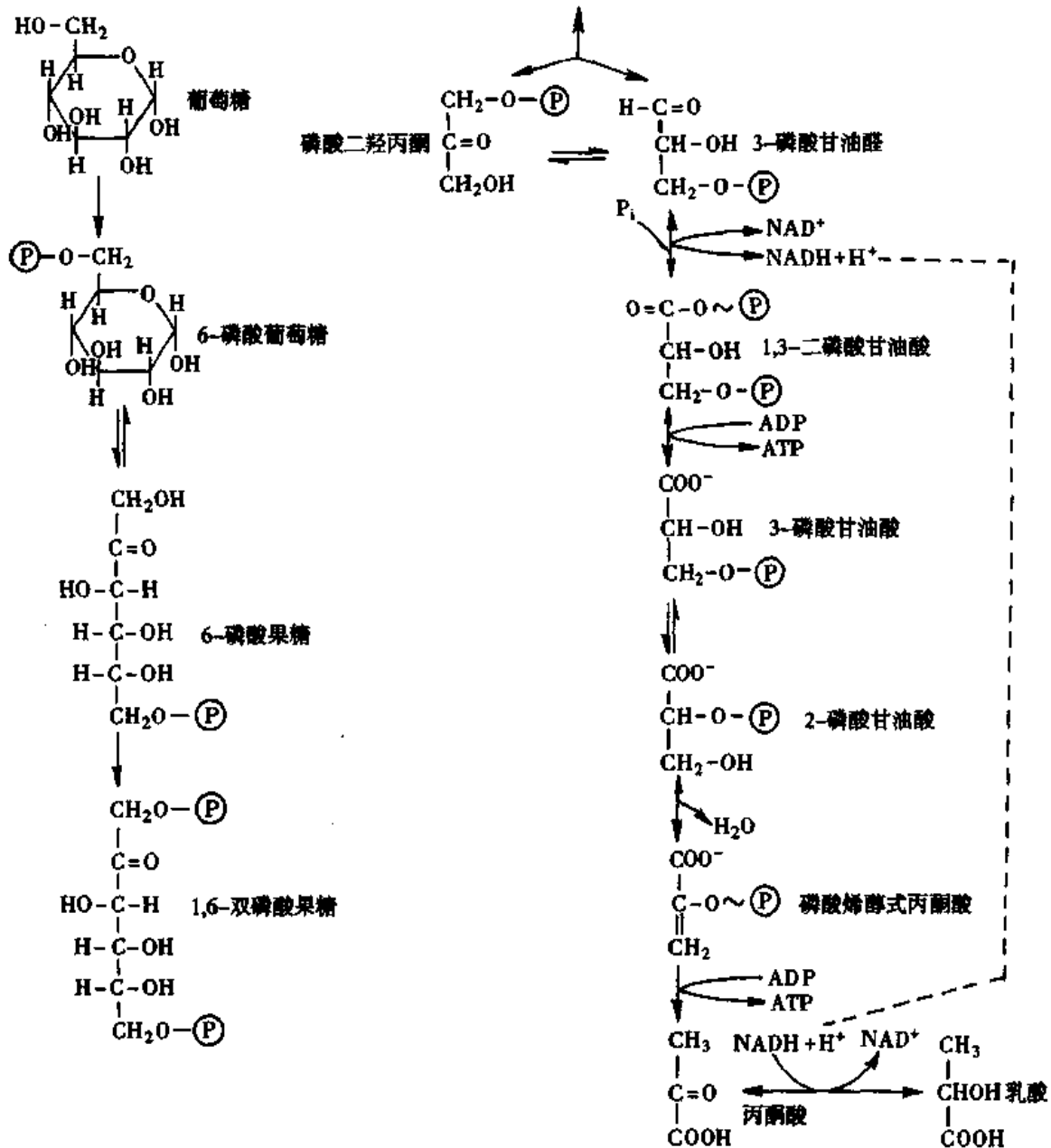


图 5-1 糖酵解的代谢途径

先由己糖激酶催化其磷酸化形成 6-磷酸甘露糖，再在异构酶作用下转变为 6-磷酸果糖。

二、糖酵解的调节

糖酵解中大多数反应是可逆的。这些可逆反应的方向、速率由底物和产物的浓度控制；催化这些可逆反应酶活性的改变，并不能决定反应的方向。在酵解途径中，己糖激酶(葡萄糖激酶)、6-磷酸果糖激酶-1 和丙酮酸激酶分别催化的 3 个反应是不可逆的，是糖酵解途径流量的 3 个调节点，分别受变构效应剂和激素的调节。

(一) 6-磷酸果糖激酶-1

目前认为调节酵解途径流量最重要的是 6-磷酸果糖激酶-1 的活性。6-磷酸果糖激酶-1 是一四聚体，受多种变构效应剂的影响。ATP 和柠檬酸是此酶的变构抑制剂。6-磷

酸果糖激酶-1 有两个结合 ATP 的位点，一是活性中心内的催化部位，ATP 作为底物结合；另一个是活性中心以外的与变构效应物结合的部位，与 ATP 的亲合力较低，因而相对地需要较高浓度 ATP 才能与之结合使酶丧失活性。6-磷酸果糖激酶-1 的变构激活剂有 AMP、ADP、1, 6-双磷酸果糖和 2, 6-双磷酸果糖(fructose-2,6-biphosphate)。AMP 可与 ATP 竞争变构结合部位，抵消 ATP 的抑制作用。1, 6-双磷酸果糖是磷酸果糖激酶 1- 的反应产物，这种产物正反馈作用是比较少见的，它有利于糖的分解。

2, 6-双磷酸果糖是 6-磷酸果糖激酶-1 最强的变构激活剂，在生理浓度范围(μmol 水平)内即可发挥效应。其作用是 与 AMP 一起取消 ATP、柠檬酸对 6-磷酸果糖激酶-1 的变构抑制作用。2, 6-双磷酸果糖由 6-磷酸果糖激酶-2 (6-phosphofructokinase-2) 催化 6-磷酸果糖 C₂ 磷酸化而成；果糖双磷酸酶-2 (fructose biphosphatase-2) 则可水解其 C₂ 位磷酸，使其转变成 6-磷酸果糖(图 5-2)。随后的研究发现：6-磷酸果糖激酶-2 实际上是一种双功能酶，在酶蛋白中具有两个分开的催化中心，故同时具有 6-磷酸果糖激酶-2 和果糖双磷酸酶-2 两种活性。

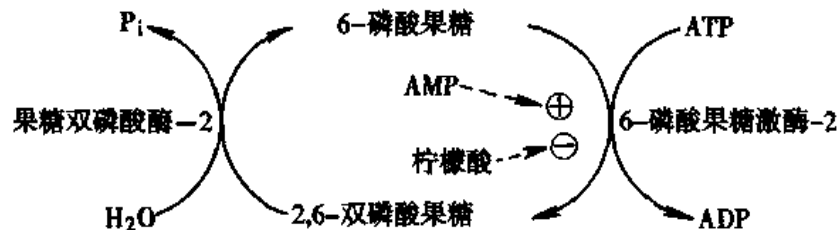


图 5-2 2, 6-双磷酸果糖的合成和分解

6-磷酸果糖激酶-2/果糖双磷酸酶-2 还可在激素作用下，以共价修饰方式进行调节。胰高血糖素通过 cAMP 及依赖 cAMP 的蛋白激酶磷酸化其 32 位丝氨酸，磷酸化后其激酶活性减弱而磷酸酶活性升高。磷蛋白磷酸酶将其去磷酸后，酶活性的变化则相反。

(二) 丙酮酸激酶

丙酮酸激酶是第二个重要的调节点。1, 6-双磷酸果糖是丙酮酸激酶的变构激活剂，而 ATP 则有抑制作用。此外在肝内，丙氨酸也有变构抑制作用。丙酮酸激酶还受共价修饰方式调节。依赖 cAMP 的蛋白激酶和依赖 Ca²⁺、钙调蛋白的蛋白激酶均可使其磷酸化而失活。胰高血糖素可通过 cAMP 抑制丙酮酸激酶活性。

(三) 葡萄糖激酶或己糖激酶

葡萄糖激酶调节酵解途径流量的作用不及前二者重要。己糖激酶受其反应产物 6-磷酸葡萄糖的反馈抑制，葡萄糖激酶分子内不存在 6-磷酸葡萄糖的变构部位，故不受 6-磷酸葡萄糖的影响。长链脂酰 CoA 对其有变构抑制作用，这在饥饿时减少肝和其他组织摄取葡萄糖有一定意义。胰岛素可诱导葡萄糖激酶基因的转录，促进酶的合成。

糖酵解是体内葡萄糖分解供能的一条重要途径。对于绝大多数组织，特别是骨骼肌，调节流量的目的是适应这些组织对能量的需求。当消耗能量多，细胞内 ATP/AMP 比例降低时，6-磷酸果糖激酶-1 和丙酮酸激酶均被激活，加速葡萄糖的分解。反之，细胞内 ATP 的储备丰富时，通过糖酵解分解的葡萄糖就减少。肝的情况不同。正常进食时，肝亦仅氧化少量葡萄糖，主要由氧化脂酸获得能量。进食后，胰高血糖素分泌减

少，胰岛素分泌增加，2, 6-双磷酸果糖的合成增加，加速糖酵解途径分解，主要是生成乙酰 CoA 以合成脂酸；饥饿时胰高血糖素分泌增加，抑制了 2, 6-双磷酸果糖的合成和丙酮酸激酶的活性，即抑制糖酵解，这样才能有效地进行糖异生，维持血糖水平（详见糖异生调节）。

三、糖酵解的生理意义

糖酵解最主要的生理意义在于迅速提供能量，这对肌收缩更为重要。肌肉内 ATP 含量很低，仅 $5 \sim 7 \mu\text{mol/g}$ 新鲜组织，只要肌收缩几秒钟即可耗尽。这时即使氧不缺乏，但因葡萄糖进行有氧氧化的反应过程比糖酵解长，来不及满足需要，而通过糖酵解则可迅速得到 ATP。当机体缺氧或剧烈运动肌肉局部血流相对不足时，能量主要通过糖酵解获得。成熟红细胞没有线粒体，完全依赖糖酵解供应能量。神经、白细胞、骨髓等代谢极为活跃，即使不缺氧也常由糖酵解提供部分能量。糖酵解时每分子磷酸丙糖有 2 次底物水平磷酸化，可生成 2 分子 ATP。因此 1mol 葡萄糖可生成 4mol ATP，在葡萄糖和 6-磷酸果糖磷酸化时共消耗 2mol ATP，故净得 2mol ATP，可储能 61kJ/mol (14.6kcal/mol)，效率为 31%。标准状态下高能磷酸键水解时 $\Delta G^{\circ} = -30.5\text{kJ/mol}$ (-7.29kcal/mol)；在生理条件下，反应物和产物的浓度以及 H^+ 浓度等都与标准状态不同， ΔG 约为 51.6kJ/mol (12.3kcal/mol)。因而糖酵解时以 ATP 形式储存能量 103.2kJ/mol (24.7kcal/mol)，效率 $> 50\%$ 。

第三节 糖的有氧氧化

葡萄糖在有氧条件下彻底氧化成水和二氧化碳的反应过程称为有氧氧化 (aerobic oxidation)。有氧氧化是糖氧化的主要方式，绝大多数细胞都通过它获得能量。肌肉等进行糖酵解生成的乳酸，最终仍需在有氧时彻底氧化成水和二氧化碳。糖的有氧氧化可概括如图 5-3。

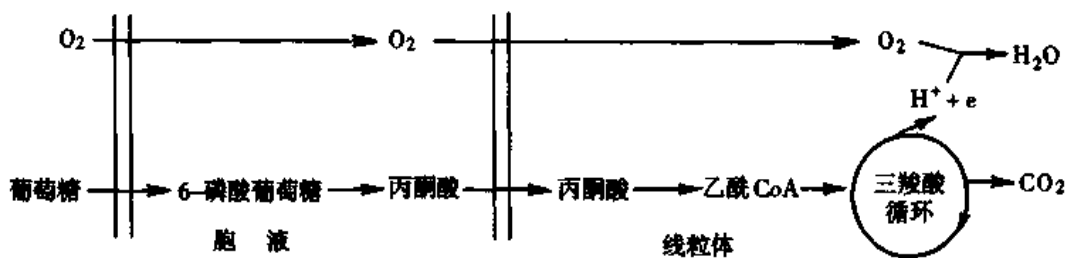


图 5-3 葡萄糖有氧氧化概况

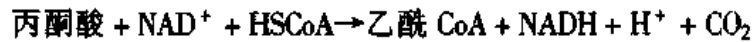
一、有氧氧化的反应过程

糖的有氧氧化大致可分为三个阶段。第一阶段：葡萄糖循糖酵解途径分解成丙酮酸。第二阶段：丙酮酸进入线粒体，氧化脱羧生成乙酰 CoA。第三阶段：三羧酸循环及氧化磷酸化。第一阶段的反应见前所述；氧化磷酸化将在后述章节中讨论。在此主要介

绍丙酮酸的氧化脱羧和三羧酸循环的反应过程。

(一) 丙酮酸的氧化脱羧

丙酮酸进入线粒体后，氧化脱羧生成乙酰 CoA (acetyl CoA)。总反应式为：



此反应由丙酮酸脱氢酶复合体催化。在真核细胞中，该复合体存在于线粒体，是由丙酮酸脱氢酶(E_1)，二氢硫辛酰胺转乙酰酶(E_2)和二氢硫辛酰胺脱氢酶(E_3)三种酶按一定比例组合成多酶复合体，其组合比例随生物体不同而异。在哺乳类动物细胞中，酶复合体由 60 个转乙酰酶组成核心，周围排列着 12 个丙酮酸脱氢酶和 6 个二氢硫辛酰胺脱氢酶。参与反应的辅酶有硫胺素焦磷酸酯(TPP)、硫辛酸、FAD、 NAD^+ 及 CoA。其中硫辛酸是带有二硫键的八碳羧酸，通过与转乙酰酶的赖氨酸 ϵ 氨基相连，形成与酶结合的硫辛酰胺而成为酶的柔性长臂，可将乙酰基从酶复合体的一个活性部位转到另一个活性部位。丙酮酸脱氢酶的辅酶是 TPP，二氢硫辛酰胺脱氢酶的辅酶是 FAD、 NAD^+ 。

丙酮酸脱氢酶复合体催化的反应可分五步描述，如图 5-4 所示。

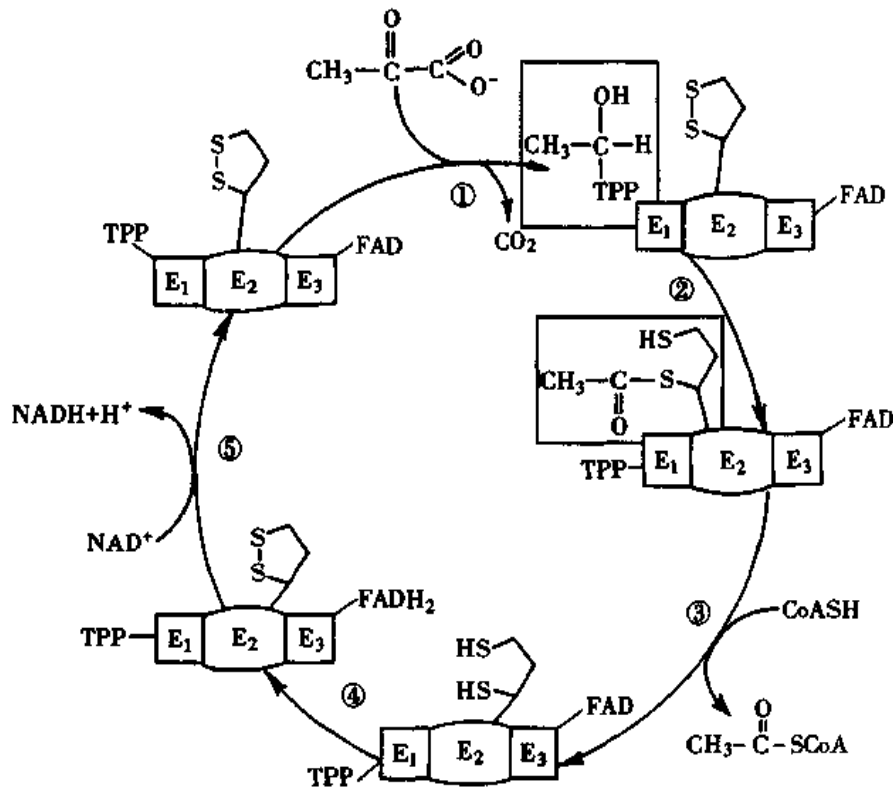


图 5-4 丙酮酸脱氢酶复合体作用机制

1. 丙酮酸脱羧形成羟乙基-TPP TPP 噻唑环上的 N 与 S 之间活泼的碳原子可释放出 H^+ ，而成为碳离子，与丙酮酸的羰基作用，产生 CO_2 ，同时形成羟乙基-TPP。

2. 由二氢硫辛酰胺转乙酰酶(E_2)催化使羟乙基-TPP- E_1 上的羟乙基被氧化成乙酰基，同时转移给硫辛酰胺，形成乙酰硫辛酰胺- E_2 。

3. 二氢硫辛酰胺转乙酰酶(E_2)还催化乙酰硫辛酰胺上的乙酰基转移给辅酶 A 生成乙酰 CoA 后，离开酶复合体，同时氧化过程中的 2 个电子使硫辛酰胺上的二硫键还原为

2个巯基。

4. 二氢硫辛酰胺脱氢酶(E_3)使还原的二氢硫辛酰胺脱氢重新生成硫辛酰胺, 以进行下一轮反应。同时将氢传递给 FAD, 生成 $FADH_2$ 。

5. 在二氢硫辛酰胺脱氢酶(E_3)催化下, 将 $FADH_2$ 上的 H 转移给 NAD^+ , 形成 $NADH + H^+$ 。

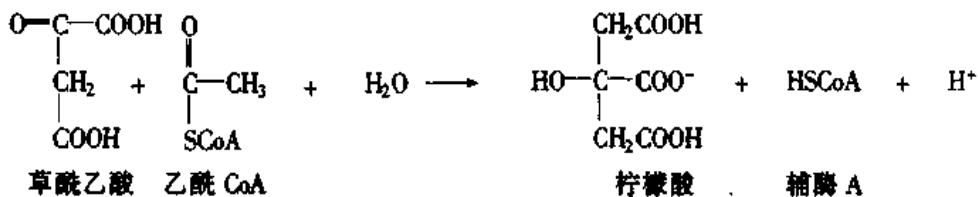
在整个反应过程中, 中间产物并不离开酶复合体, 这就使得上述各步反应得以迅速完成。而且因没有游离的中间产物, 所以不会发生副反应。丙酮酸氧化脱羧反应的 $\Delta G^\circ = -39.5 \text{ kJ/mol}$, 故反应是不可逆的。

(二) 三羧酸循环

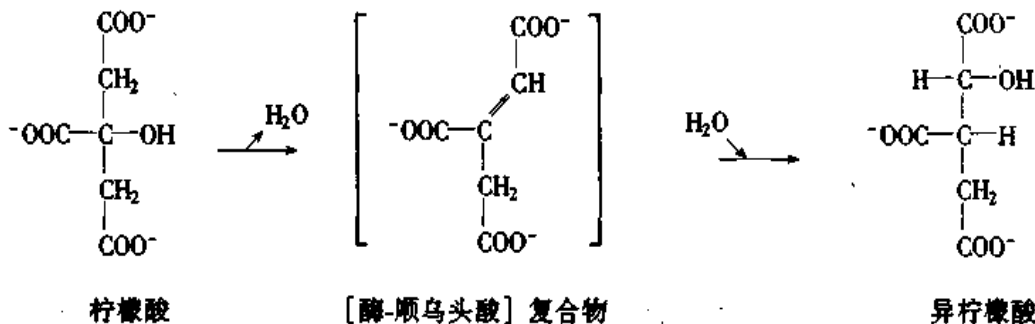
三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle), 亦称柠檬酸循环。此名称源于其第一个中间产物是一含三个羧基的柠檬酸。而由于 Krebs 正式提出了三羧酸循环的学说, 故此循环又称为 Krebs 循环, 它由一连串反应组成。

1. 三羧酸循环的反应过程

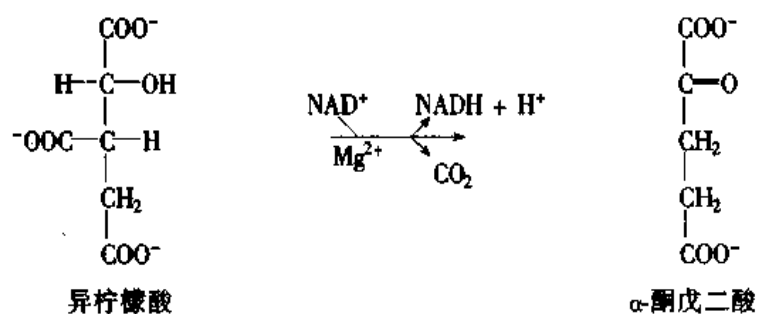
(1) 柠檬酸的形成: 乙酰 CoA 与草酰乙酸缩合成柠檬酸(citrate)。反应由柠檬酸合酶(citrate synthase)催化, 缩合反应所需能量来自乙酰 CoA 的高能硫酯键。由于高能硫酯键水解时可释出较多的自由能, ΔG° 为 -31.4 kJ/mol (-7.5 kcal/mol), 使反应成为单向、不可逆反应。而且柠檬酸合酶对草酰乙酸的 K_m 很低, 所以即使线粒体内草酰乙酸的浓度很低, 约 10 mmol/L , 反应也得以迅速进行。



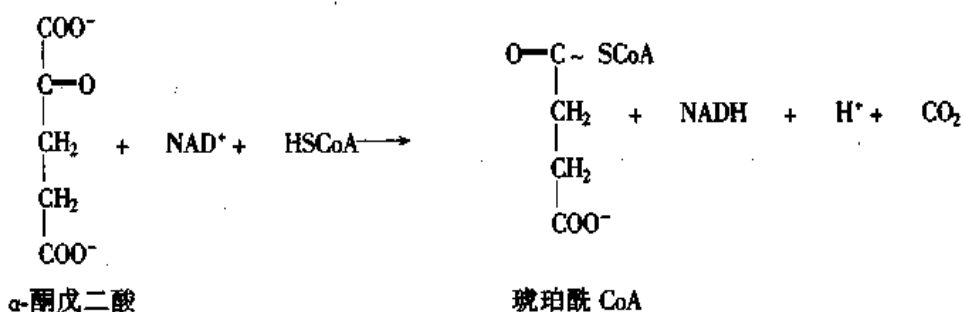
(2) 异柠檬酸的形成: 柠檬酸与异柠檬酸(isocitrate)的异构化可逆互变反应由顺乌头酸酶催化。原来在 C_3 上的羟基转到 C_2 上, 反应中的中间产物顺乌头酸仅与酶结合在一起以复合物的形式存在。



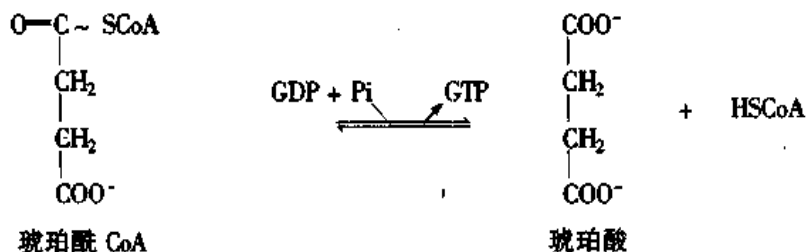
(3) 第一次氧化脱羧: 异柠檬酸在异柠檬酸脱氢酶(isocitrate dehydrogenase)作用下氧化脱羧而转变为 α -酮戊二酸(α -ketoglutarate), 脱下的氢由 NAD^+ 接受, 生成 $NADH + H^+$ 。



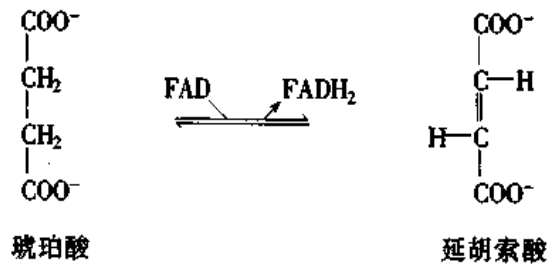
(4) 第二次氧化脱羧： α -酮戊二酸氧化脱羧生成琥珀酰 CoA (succinyl CoA)。 α -酮戊二酸氧化脱羧时释出的自由能很多，足以形成一高能硫酯键。这样，一部分能量就可以高能硫酯键形式储存在琥珀酰 CoA 内。催化 α -酮戊二酸氧化脱羧的酶是 α -酮戊二酸脱氢酶复合体 (α -ketoglutarate dehydrogenase complex)。其组成和催化反应过程与前述的丙酮酸脱氢酶复合体类似，这就使得 α -酮戊二酸的脱羧、脱氢、形成高能硫酯键等反应可迅速完成。



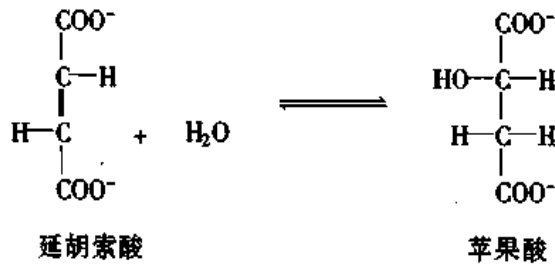
(5) 底物水平磷酸化反应：琥珀酰 CoA 的高能硫酯键水解时， ΔG° 约为 -33.4kJ/mol (-7.98kcal/mol)。它可与 GDP 的磷酸化偶联，生成高能磷酸键。反应是可逆的，由琥珀酰 CoA 合成酶 (succinyl-CoA synthetase) 催化。这是底物水平磷酸化的又一例子，也是三羧酸循环中唯一直接生成高能磷酸键的反应。



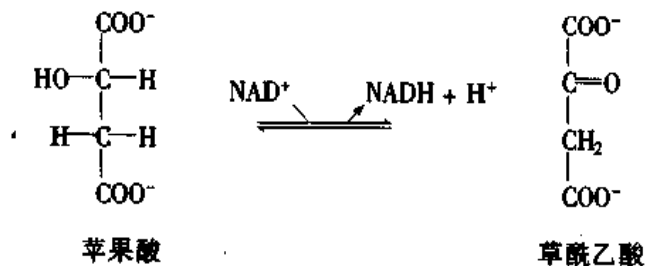
(6) 琥珀酸脱氢生成延胡索酸：反应由琥珀酸脱氢酶 (succinate dehydrogenase) 催化。该酶结合在线粒体内膜上，是三羧酸循环中唯一与内膜结合的酶。其辅酶是 FAD，还含有铁硫中心，来自琥珀酸的电子通过 FAD 和铁硫中心，经电子传递链被氧化，只能生成 2 分子 ATP。



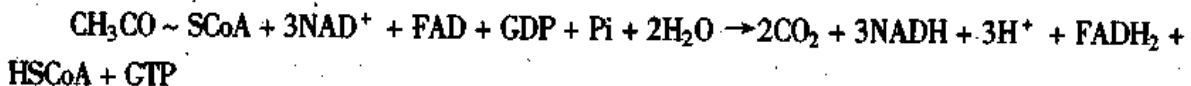
(7) 延胡索酸加水生成苹果酸：延胡索酸酶(fumarate hydratase)催化此可逆反应。



(8) 苹果酸脱氢生成草酰乙酸：三羧酸循环的这个最后反应由苹果酸脱氢酶(malate dehydrogenase)催化。苹果酸脱氢生成草酰乙酸；脱下的氢由 NAD^+ 接受。在细胞内草酰乙酸不断地被用于柠檬酸合成，故这一可逆反应向生成草酰乙酸的方向进行。



三羧酸循环的反应过程可归纳如图 5-5。这些反应从 2 个碳原子的乙酰 CoA 与 4 个碳原子的草酰乙酸缩合成 6 个碳原子的柠檬酸开始，反复地脱氢氧化。羟基氧化成羧基后，通过脱羧方式生成 CO_2 。二碳单位进入三羧酸循环后，生成 2 分子 CO_2 ，这是体内 CO_2 的主要来源。脱氢反应共有 4 次。其中 3 次脱氢(3 对氢或 6 个电子)由 NAD^+ 接受，1 次(1 对氢或 2 个电子)由 FAD 接受。这些电子传递体将电子传给氧时才能生成 ATP。三羧酸循环本身每循环一次只能以底物水平磷酸化生成 1 个高能磷酸键。三羧酸循环的总反应为：



在三羧酸循环中，从量上来说一个二碳化合物被氧化成 2 分子 CO_2 。但用 ^{14}C 标记乙酰 CoA 进行的实验发现， CO_2 的碳原子来自草酰乙酸而不是乙酰 CoA。这是由于中间反应过程中 C 原子置换所致。但三羧酸循环运转一周，实质上是氧化了 1 分子乙酰 CoA。

另外，三羧酸循环的中间产物包括草酰乙酸在内起着催化剂的作用，本身并无量的

变化。不可能通过三羧酸循环从乙酰 CoA 合成草酰乙酸或三羧酸循环中的其他中间产物；同样，这些中间产物也不可能直接在三羧酸循环中被氧化成 CO_2 和 H_2O 。三羧酸循环中的草酰乙酸主要来自丙酮酸的直接羧化，也可通过苹果酸脱氢生成。

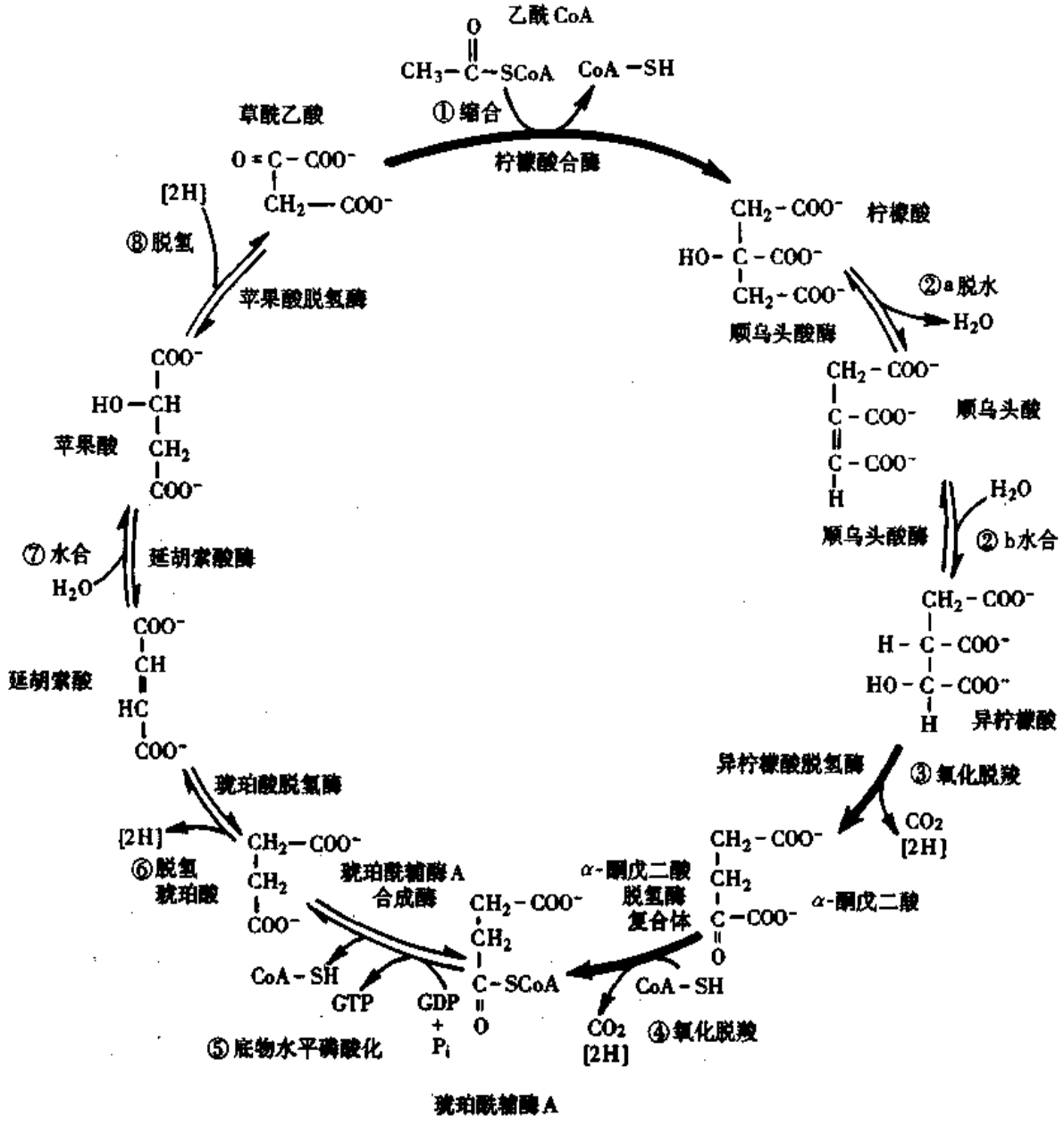


图 5-5 三羧酸循环

2. 三羧酸循环的生理意义 三羧酸循环是三大营养素的最终代谢通路。糖、脂肪、氨基酸在体内进行生物氧化都将产生乙酰 CoA，然后进入三羧酸循环进行降解。三羧酸循环中只有一个底物水平磷酸化反应生成高能磷酸键。循环本身并不是释放能量、生成 ATP 的主要环节。其作用在于通过 4 次脱氢，为氧化磷酸化反应生成 ATP 提供还原当量。

三羧酸循环又是糖、脂肪、氨基酸代谢联系的枢纽。糖转变成脂肪是最重要的例子。在能量供应充足的条件下，从食物摄取的糖相当一部分转变成脂肪储存。葡萄糖分

解成丙酮酸后进入线粒体内氧化脱羧生成乙酰 CoA, 乙酰 CoA 必须再转移到胞液以合成脂酸。由于它不能通过线粒体膜, 于是乙酰 CoA 先与草酰乙酸缩合成柠檬酸, 再通过载体转运至胞浆, 在柠檬酸裂解酶(citrate lyase)作用下裂解成乙酰 CoA 及草酰乙酸。然后乙酰 CoA 即可合成脂酸。许多氨基酸的碳架是三羧酸循环的中间产物, 通过草酰乙酸等可转变为葡萄糖(参见糖异生)。反之, 由葡萄糖提供的丙酮酸转变成的草酰乙酸及三羧酸循环中的其他二羧酸则可用于合成一些非必需氨基酸如天冬氨酸、谷氨酸等。此外, 琥珀酰 CoA 可用以与甘氨酸合成血红蛋白; 乙酰 CoA 又是合成胆固醇的原料。因而, 三羧酸循环在提供生物合成的前体中起重要作用。

二、有氧氧化生成的 ATP

三羧酸循环中 4 次脱氢反应产生的 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 和 FADH_2 可传递给电子传递链产生 ATP(参见生物氧化章)。除三羧酸循环外, 其他代谢途径中生成的 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 或 FADH_2 , 也可经电子传递链传递生成 ATP。例如, 糖酵解途径中 3-磷酸甘油醛脱氢成 3-磷酸甘油酸时生成的 $\text{NADH} + \text{H}^+$, 在氧供应充足时就进入电子传递链而不再用以将丙酮酸还原成乳酸。 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 的氢传递给氧时, 可生成 3 个 ATP; FADH_2 的氢被氧化时只能生成 2 个 ATP。加上底物水平磷酸化生成的 1 个高能磷酸键, 三羧酸循环循环一次共生成 12 个 ATP。若从丙酮酸脱氢开始计算, 共产生 15 分子 ATP。1mol 的葡萄糖彻底氧化生成 CO_2 和 H_2O , 可净生成 6 或 $8 + 2 \times 15 = 36$ 或 38mol ATP。(见表 5-1)

总的反应为: $\text{葡萄糖} + 38\text{ADP} + 38\text{Pi} + 6\text{O}_2 \rightarrow 38\text{ATP} + 6\text{CO}_2 + 44\text{H}_2\text{O}$

葡萄糖氧化成 CO_2 及 H_2O 时, ΔG° 为 -2840kJ/mol (-679kcal/mol), 生成 38mol ATP, 共储能 $30.5 \times 38 = 1159\text{kJ/mol}$ (277.25kcal/mol), 效率为 40% 左右, 远超过一般机械的效率。

表 5-1 葡萄糖有氧氧化生成的 ATP

	反 应	辅 酶	ATP
第一阶段	葡萄糖 \rightarrow 6-磷酸葡萄糖		-1
	6-磷酸果糖 \rightarrow 1, 6 双磷酸果糖		-1
	2 \times 3-磷酸甘油醛 \rightarrow 2 \times 1, 3-二磷酸甘油酸	NAD^+	2 \times 3 或 2 \times 2*
	2 \times 1, 3-二磷酸甘油酸 \rightarrow 2 \times 3-磷酸甘油酸		2 \times 1
	2 \times 磷酸烯醇式丙酮酸 \rightarrow 2 \times 丙酮酸		2 \times 1
第二阶段	2 \times 丙酮酸 \rightarrow 2 \times 乙酰 CoA	NAD^+	2 \times 3
第三阶段	2 \times 异柠檬酸 \rightarrow 2 \times α -酮戊二酸	NAD^+	2 \times 3
	2 \times α -酮戊二酸 \rightarrow 2 \times 琥珀酰 CoA	NAD^+	2 \times 3
	2 \times 琥珀酰 CoA \rightarrow 2 \times 琥珀酸		2 \times 1
	2 \times 琥珀酸 \rightarrow 2 \times 延胡索酸	FAD	2 \times 2
	2 \times 苹果酸 \rightarrow 2 \times 草酰乙酸	NAD^+	2 \times 3
	净生成		38 (或 36) ATP

* 糖酵解产生的 $\text{NADH} + \text{H}^+$, 如果经苹果酸穿梭机制, 1 个 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 产生 3 个 ATP; 若经磷酸甘油穿梭机制, 则产生 2 个 ATP(参见《生物氧化》章)。

三、有氧氧化的调节

糖的有氧氧化是机体获得能量的主要方式。机体对能量的需求变动很大，因此有氧氧化的速率必须加以调节。有氧氧化的几个阶段中，酵解途径的调节已如前述，这里主要叙述丙酮酸脱氢酶复合体的调节以及三羧酸循环的调节。

丙酮酸脱氢酶复合体可通过变构效应和共价修饰两种方式进行快速调节。丙酮酸脱氢酶复合体的反应产物乙酰 CoA 及 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 对酶有反馈抑制作用，当乙酰 CoA/CoA 比例升高时，酶活性被抑制。 NADH/NAD^+ 比例升高可能也有同样作用。这两种情况见于饥饿、大量脂酸被动员利用时。所以这时糖的有氧氧化被抑制，大多数组织器官利用脂酸作为能量来源以确保脑等对葡萄糖的需要。ATP 对丙酮酸脱氢酶复合体有抑制作用，AMP 则能激活之。丙酮酸脱氢酶复合体可被丙酮酸脱氢酶激酶磷酸化。当其丝氨酸被磷酸化后，酶蛋白变构而失去活性。丙酮酸脱氢酶磷酸酶则使其去磷酸而恢复活性。乙酰 CoA 和 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 除对酶有直接抑制作用外，还可间接通过增强丙酮酸脱氢酶激酶的活性而使其失活。(图 5-6)

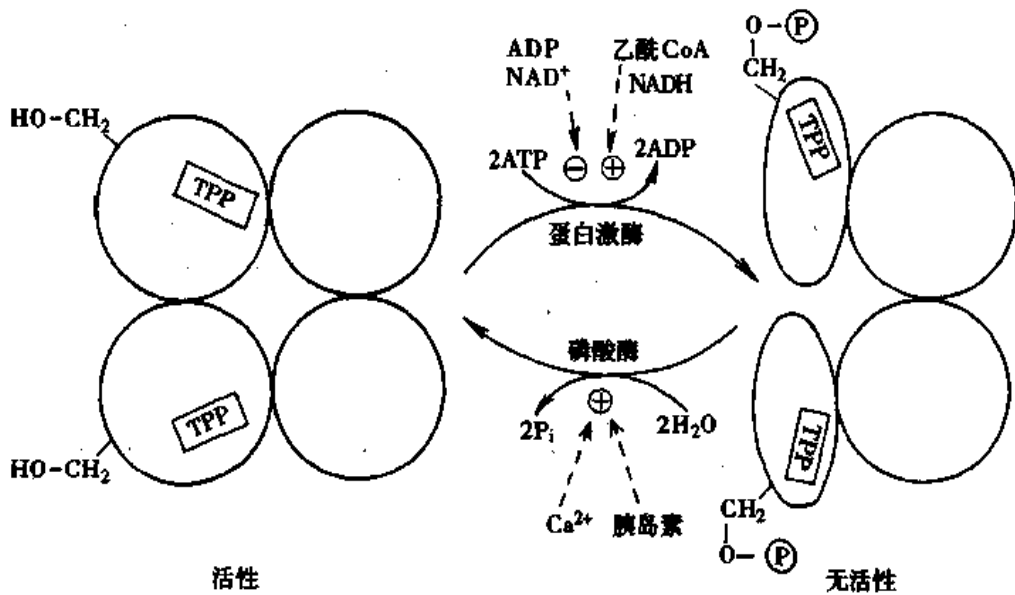


图 5-6 丙酮酸脱氢酶复合体的调节

丙酮酸脱氢酶的脱氢酶组分的丝氨酸残基上的羟基可在蛋白激酶作用下磷酸化。磷酸化后酶复合体变构，失去活性。磷酸酶能除去丝氨酸羟基的磷酸基，使之恢复活性

三羧酸循环的速率和流量受多种因素的调控。在三羧酸循环中有三个不可逆反应：柠檬酸合酶、异柠檬酸脱氢酶和 α -酮戊二酸脱氢酶催化的反应。柠檬酸合酶活性可决定乙酰 CoA 进入三羧酸循环的速率，曾被认为是三羧酸循环主要的调节点。但是，柠檬酸可转移至胞液，分解成乙酰 CoA，用于合成脂酸，所以其活性升高并不一定加速三羧酸循环的运转。目前一般认为异柠檬酸脱氢酶和 α -酮戊二酸脱氢酶才是三羧酸循环的调节点。异柠檬酸脱氢酶和 α -酮戊二酸脱氢酶在 NADH/NAD^+ ， ATP/ADP 比率高时被反馈抑制。ADP 还是异柠檬酸脱氢酶的变构激活剂。

另外，当线粒体内 Ca^{2+} 浓度升高时， Ca^{2+} 不仅可直接与异柠檬酸脱氢酶和 α -酮戊二酸脱氢酶结合，降低其对底物的 K_m 而使酶激活；也可激活丙酮酸脱氢酶复合体，从而推动三羧酸循环和有氧氧化的进行。

氧化磷酸化的速率对三羧酸循环的运转也起着非常重要的作用。三羧酸循环中有 4 次脱氢反应，从代谢物脱下的氢分别为 NAD^+ 及 FAD 接受。然后 H^+ 及 e^- 通过电子传递链进行氧化磷酸化。如不能有效进行氧化磷酸化， $\text{NADH} + \text{H}^+$ 及 FADH_2 仍保持还原状态，则三羧酸循环中的脱氢反应都将无法继续进行。三羧酸循环的调节如图 5-7 所示。

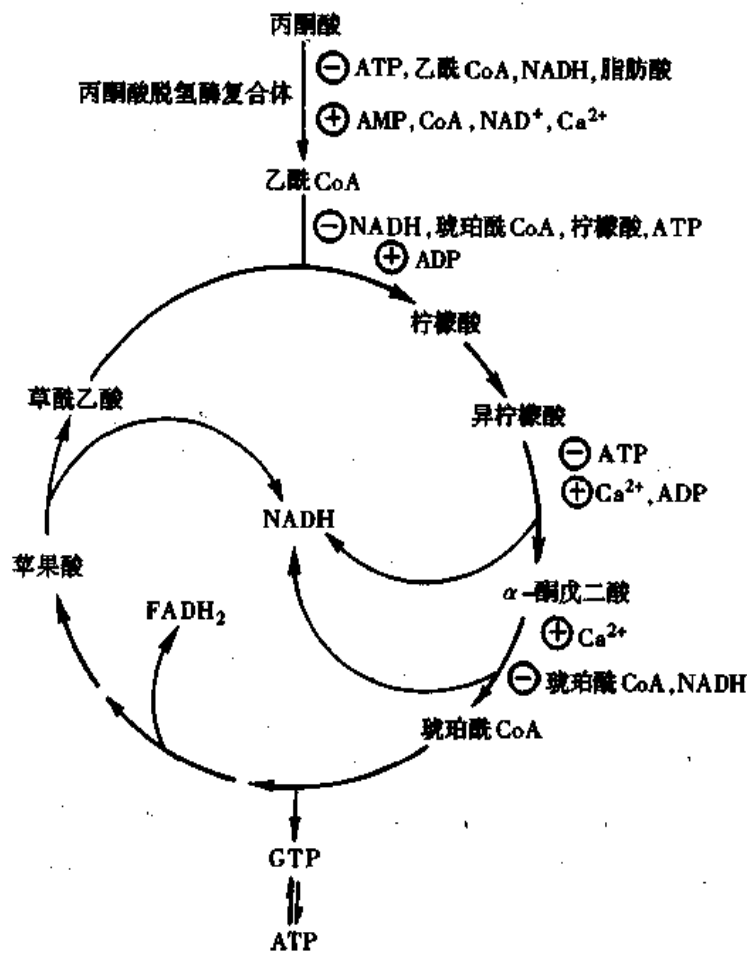


图 5-7 三羧酸循环的调控

有氧氧化的调节是为了适应机体或器官对能量的需要，有氧氧化全过程中许多酶的活性都受细胞内 ATP/ADP 或 ATP/AMP 比率的影响，因而能得以协调。当细胞消耗 ATP 以致 ATP 水平降低， ADP 和 AMP 浓度升高时，6-磷酸果糖激酶-1、丙酮酸激酶、丙酮酸脱氢酶复合体以及三羧酸循环中的异柠檬酸脱氢酶、 α -酮戊二酸脱氢酶复合体以至氧化磷酸化等均被激活，从而加速有氧氧化，补充 ATP 。反之，当细胞内 ATP 含量丰富时，上述酶的活性均降低，氧化磷酸化亦减弱。细胞内 ATP 的浓度约为 AMP 的 50 倍。 ATP 被利用生成 ADP 后，可再通过腺苷酸激酶反应而生成 AMP ： $2\text{ADP} \rightarrow \text{ATP} + \text{AMP}$ 。由于 AMP 的浓度很低，所以每生成 1 分子 AMP ，其浓度的变动比 ATP 的变动大得多。这

样信号得以放大，从而发挥有效的调节作用。

四、巴斯德效应

法国科学家 Pasteur 发现酵母菌在无氧时可进行生醇发酵；将其转移至有氧环境，生醇发酵即被抑制，这种有氧氧化抑制生醇发酵的现象称为巴斯德效应(Pasteur effect)。此效应也存在于人体组织中。当肌组织氧供充足时，有氧氧化抑制糖酵解，产生大量能量供肌肉活动所需；缺氧时，丙酮酸不能进入三羧酸循环，而在胞浆中转变成乳酸。有氧时 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 可进入线粒体内氧化，丙酮酸就进行有氧氧化而不生成乳酸；缺氧时 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 不能被氧化，丙酮酸就作为氢受体而生成乳酸。所以有氧抑制了糖酵解。缺氧时通过糖酵解途径分解的葡萄糖增加是由于缺氧时氧化磷酸化受阻，ADP 与 Pi 不能合成 ATP，ADP/ATP 比例升高，反映在胞液内，则是磷酸果糖激酶-1 及丙酮酸激酶活性增强的结果。

第四节 磷酸戊糖途径

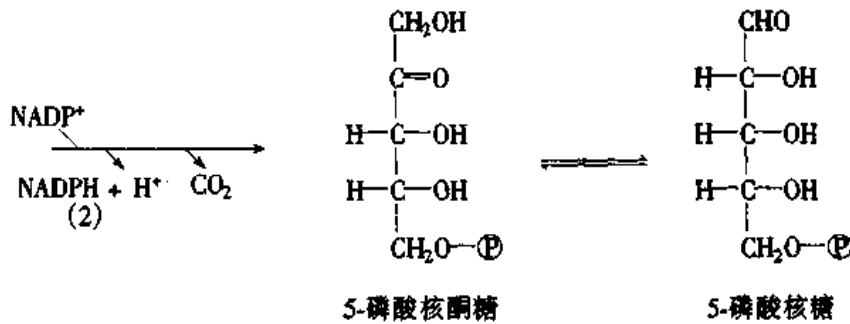
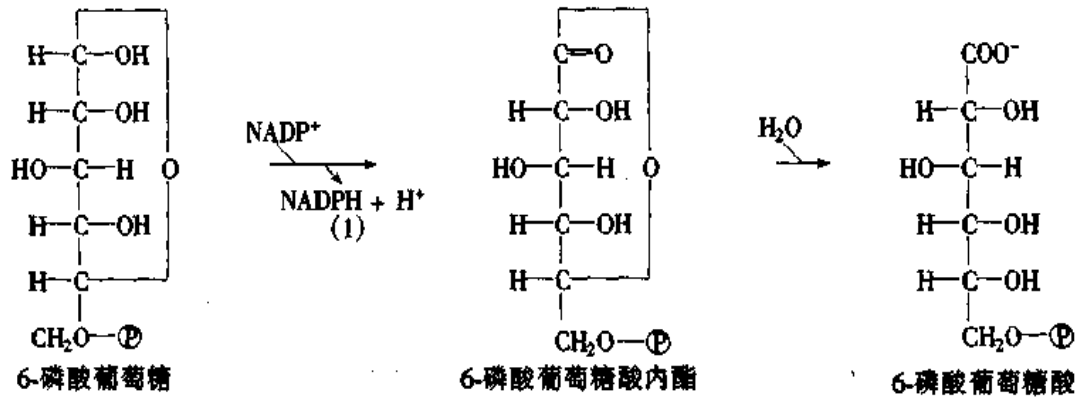
细胞内绝大部分葡萄糖的分解代谢是通过有氧氧化生成 ATP 而供能的，这是葡萄糖分解代谢的主要途径。此外尚存在其他代谢途径，磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway)就是另一重要途径。葡萄糖可经此途径代谢生成磷酸核糖、NADPH 和 CO_2 ，而主要意义不是生成 ATP。

一、磷酸戊糖途径的反应过程

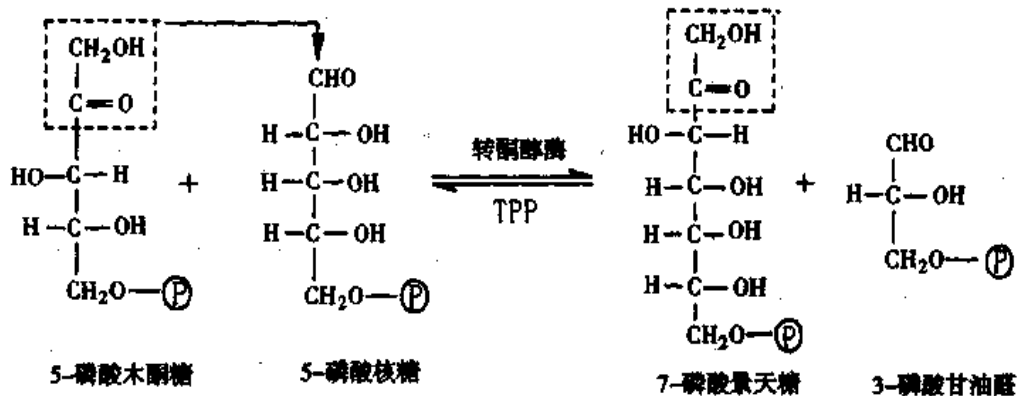
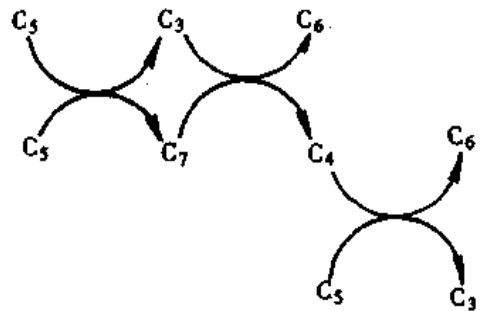
磷酸戊糖途径的代谢反应在胞浆中进行，其过程可分为两个阶段。第一阶段是氧化反应，生成磷酸戊糖、NADPH 及 CO_2 ；第二阶段则是非氧化反应，包括一系列基团转移。

1. 磷酸戊糖生成 首先，6-磷酸葡萄糖由 6-磷酸葡萄糖脱氢酶催化脱氢生成 6-磷酸葡萄糖酸内酯，在此反应中 NADP^+ 为电子受体，平衡趋向于生成 NADPH，需要 Mg^{2+} 参与。6-磷酸葡萄糖酸内酯在内酯酶(lactonase)的作用下水解为 6-磷酸葡萄糖酸，后者在 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶作用下再次脱氢并自发脱羧而转变为 5-磷酸核酮糖，同时生成 NADPH 及 CO_2 。5-磷酸核酮糖在异构酶作用下，即转变为 5-磷酸核糖；或者在差向异构酶作用下，转变为 5-磷酸木酮糖。在第一阶段，6-磷酸葡萄糖生成 5-磷酸核糖的过程中，同时生成 2 分子 NADPH 及 1 分子 CO_2 。

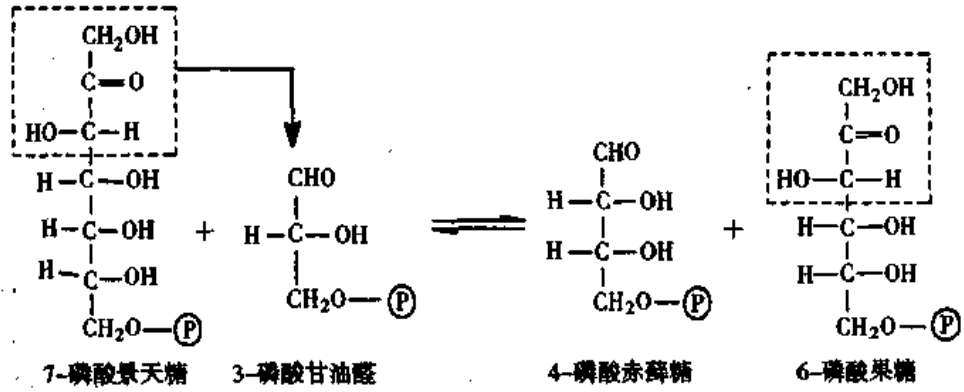
2. 基团转移反应 在第一阶段中共生成 1 分子磷酸戊糖和 2 分子 NADPH。前者用以合成核苷酸，后者用于许多化合物的合成代谢。但细胞中合成代谢消耗的 NADPH 远比核糖需要量大，因此，葡萄糖经此途径生成了多余的核糖。第二阶段反应的意义就在于通过一系列基团转移反应，将核糖转变成 6-磷酸果糖和 3-磷酸甘油醛而进入糖酵解途径。因此磷酸戊糖途径也称磷酸戊糖旁路(pentose phosphate shunt)。



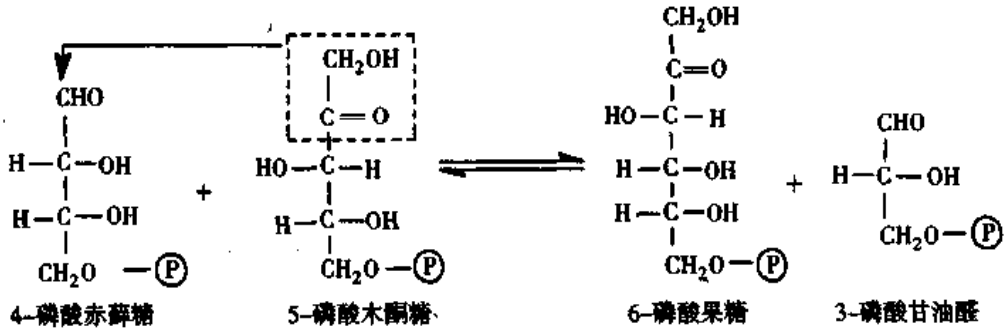
这些反应的结果可概括为：3分子磷酸戊糖转变成2分子磷酸己糖和1分子磷酸丙糖。这些基团转移反应可分为两类。一类是转酮醇酶(transketolase)反应。转移含1个酮基、1个醇基的2碳基团；另一是转醛醇酶(transaldolase)反应，转移3碳单位。接受体都是醛糖。首先由转酮醇酶从5-磷酸木酮糖带出一个2C单位(羟乙醛)转移给5-磷酸核糖，产生7-磷酸景天糖和3-磷酸甘油醛，反应需TPP作为辅酶并需 Mg^{2+} 参与。



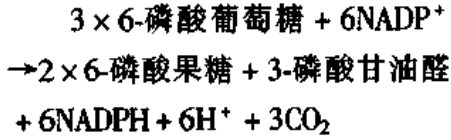
接着由转醛醇酶从7-磷酸景天糖转移3C的二羟丙酮基给3-磷酸甘油醛生成4-磷酸赤藓糖和6-磷酸果糖。



最后4-磷酸赤藓糖在转酮醇酶催化下可接受来自5-磷酸木酮糖的羟乙醛基，生成6-磷酸果糖和3-磷酸甘油醛。后者可进入酵解途径，从而完成代谢旁路。



磷酸戊糖之间的互相转变由相应的异构酶、差向异构酶催化，这些反应均为可逆反应。磷酸戊糖途径的反应可归纳于图5-8。磷酸戊糖途径总的反应为：



二、磷酸戊糖途径的调节

6-磷酸葡萄糖可进入多条代谢途径。6-磷酸葡萄糖脱氢酶是磷酸戊糖途径的第一个酶，其活性决定6-磷酸葡萄糖进入此途径的流量，为限速酶。早就发现摄取高碳水化合物饮食，尤其在饥饿后重饲时，肝内此酶含量明显增加，以适应脂酸合成时NADPH的需要。至于其活性的快速调节，主要受NADPH/

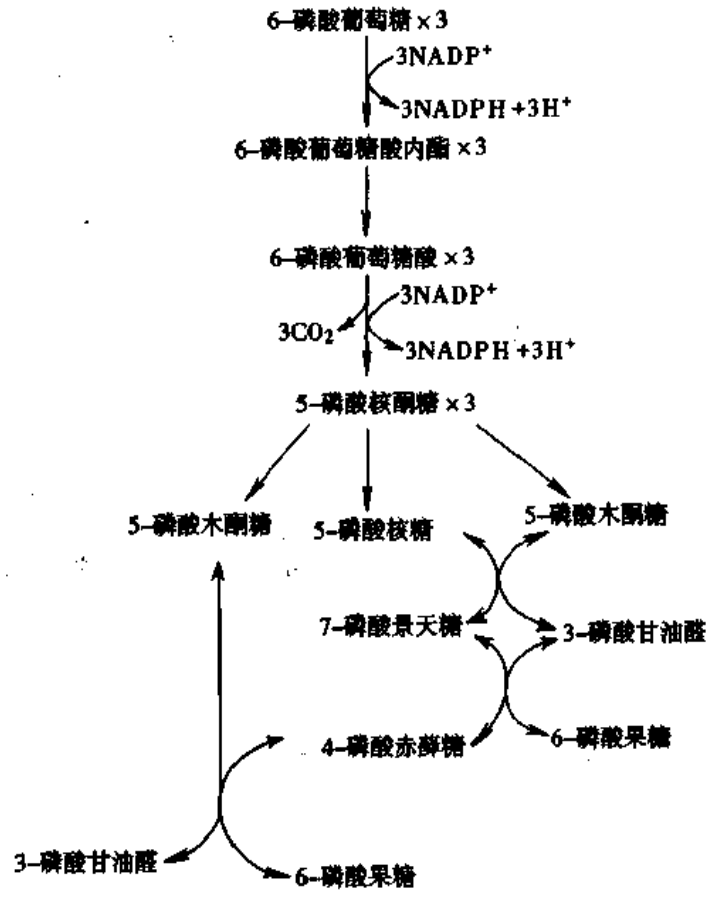


图5-8 磷酸戊糖途径

NADP⁺ 比例的影响。其比例升高，磷酸戊糖途径被抑制；比例降低时则被激活。NADPH 对该酶有强烈的抑制作用。因此，磷酸戊糖途径的流量取决于对 NADPH 的需求。

三、磷酸戊糖途径的生理意义

(一) 为核酸的生物合成提供核糖

核糖是核酸和游离核苷酸的组成成分。体内的核糖并不依赖从食物输入，可以从葡萄糖通过磷酸戊糖途径生成。葡萄糖既可经 6-磷酸葡萄糖脱氢、脱羧的氧化反应产生磷酸核糖，也可通过酵解途径的中间产物 3-磷酸甘油醛和 6-磷酸果糖经过前述的基团转移反应而生成磷酸核糖。这两种方式的相对重要性因动物而异。人类主要通过氧化反应生成核糖。肌组织内缺乏 6-磷酸葡萄糖脱氢酶，磷酸核糖靠基团转移反应生成。

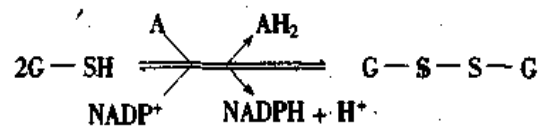
(二) 提供 NADPH 作为供氢体参与多种代谢反应

NADPH 与 NADH 不同，它携带的氢不是通过电子传递链氧化以释出能量，而是参与许多代谢反应，发挥不同的功能。

1. NADPH 是体内许多合成代谢的供氢体 如从乙酰 CoA 合成脂酸、胆固醇；机体合成非必需氨基酸(不依赖从食物输入的氨基酸)时，先由 α -酮戊二酸与 NADPH 及 NH₃ 生成谷氨酸。谷氨酸可与其他 α -酮酸进行转氨基反应而生成相应的氨基酸。

2. NADPH 参与体内羟化反应 有些羟化反应与生物合成有关。例如：从鲨烯合成胆固醇，从胆固醇合成胆汁酸、类固醇激素等。有些羟化反应则与生物转化(biotransformation)有关(详见肝生化章节)。

3. NADPH 还用于维持谷胱甘肽(glutathione)的还原状态 谷胱甘肽是一个三肽，以 GSH 表示。2 分子 GSH 可以脱氢氧化成为 GS-SG，而后者可在谷胱甘肽还原酶作用下，被 NADPH 重新还原成为还原型谷胱甘肽：



还原型谷胱甘肽是体内重要的抗氧化剂，可以保护一些含-SH 基的蛋白质或酶免受氧化剂尤其是过氧化物的损害。在红细胞中还原型谷胱甘肽更具有重要作用。它可以保护红细胞膜蛋白的完整性。有一种疾病的患者，其红细胞内缺乏 6-磷酸葡萄糖脱氢酶，不能经磷酸戊糖途径得到充分的 NADPH，使谷胱甘肽保持于还原状态，红细胞尤其是较老的红细胞易于破裂，发生溶血性黄疸。他们常在食用蚕豆以后诱发，故称为蚕豆病。

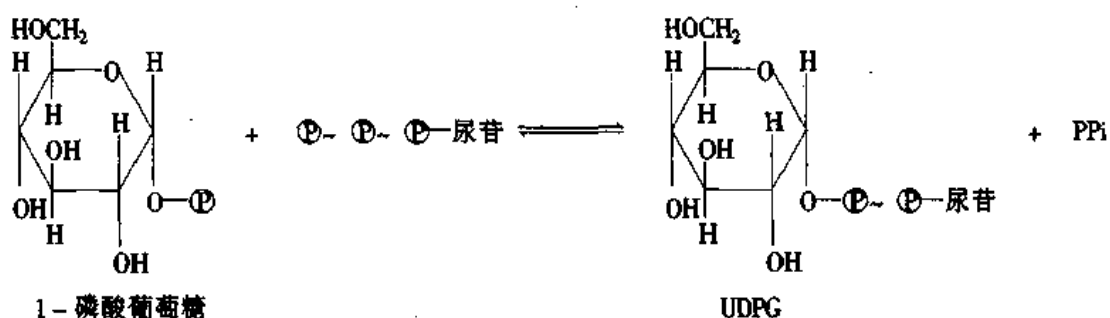
第五节 糖原的合成与分解

糖原是动物体内糖的储存形式。摄入的糖类大部分转变成脂肪(甘油三酯)后储存于脂肪组织内，只有一小部分以糖原形式储存。糖原作为葡萄糖储备的生物学意义在于

当机体需要葡萄糖时它可以迅速被动用以供急需；而脂肪则不能。肝和肌肉是贮存糖原的主要组织器官，但肝糖原和肌糖原的生理意义有很大不同。肌糖原主要供肌收缩时能量的需要；肝糖原则是血糖的重要来源。这对于一些依赖葡萄糖作为能量来源的组织，如脑、红细胞等尤为重要。因此，下面主要以肝糖原为例介绍糖原合成与分解的途径、调节和生理意义。

一、糖原的合成代谢

进入肝的葡萄糖先在葡萄糖激酶作用下磷酸化成为6-磷酸葡萄糖，后者再转变成1-磷酸葡萄糖。这是为葡萄糖与糖原分子连接作准备。1-磷酸葡萄糖与尿苷三磷酸(UTP)反应生成尿苷二磷酸葡萄糖(uridine diphosphate glucose, UDPG)及焦磷酸：



反应是可逆的，由 UDPG 焦磷酸化酶 (UDPG pyrophosphorylase) 催化。由于焦磷酸在体内迅速被焦磷酸酶水解，使反应向合成糖原方向进行。体内有许多合成代谢反应是由焦磷酸水解而推动的。UDPG 可看作“活性葡萄糖”，在体内充作葡萄糖供体。最后在糖原合酶 (glycogen synthase) 作用下，UDPG 的葡萄糖基转移给糖原引物 (primer) 的糖链末端，形成 α -1, 4 糖苷键。所谓糖原引物是指原有的细胞内较小的糖原分子。游离葡萄糖不能作为 UDPG 的葡萄糖基的接受体。上述反应反复进行，可使糖链不断延长。糖原合成及分解代谢途径可归纳于图 5-9。

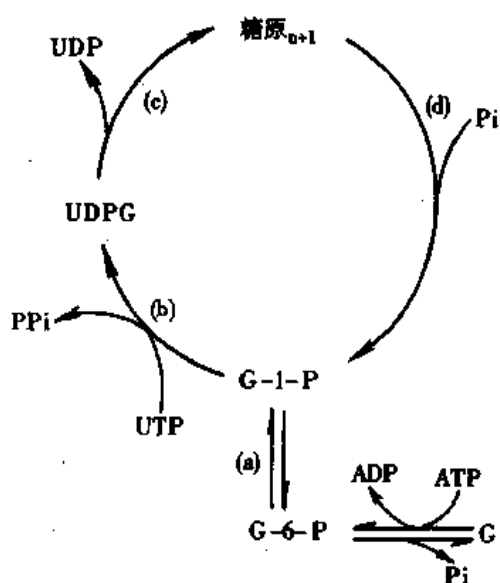


图 5-9 糖原的合成与分解

在糖原合酶的作用下，糖链只能延长，不能形成分支。当糖链长度达到 12~18 个葡萄糖基时，分支酶 (branching enzyme) 将一段糖链，约 6~7 个葡萄糖基转移到邻近的糖链上，以 α -1, 6 糖苷键相接，从而形成分支 (图 5-10)。分支的形成不仅可增加糖原的水溶性，更重要的是可增加非还原端数目，以便磷酸化酶能迅速分解糖原。

从葡萄糖合成糖原是耗能的过程。葡萄糖磷酸化时消耗 1 个 ATP，焦磷酸水解成 2

(a) 磷酸葡萄糖变位酶 (b) UDPG 焦磷酸化酶
(c) 糖原合成酶 (d) 磷酸化酶

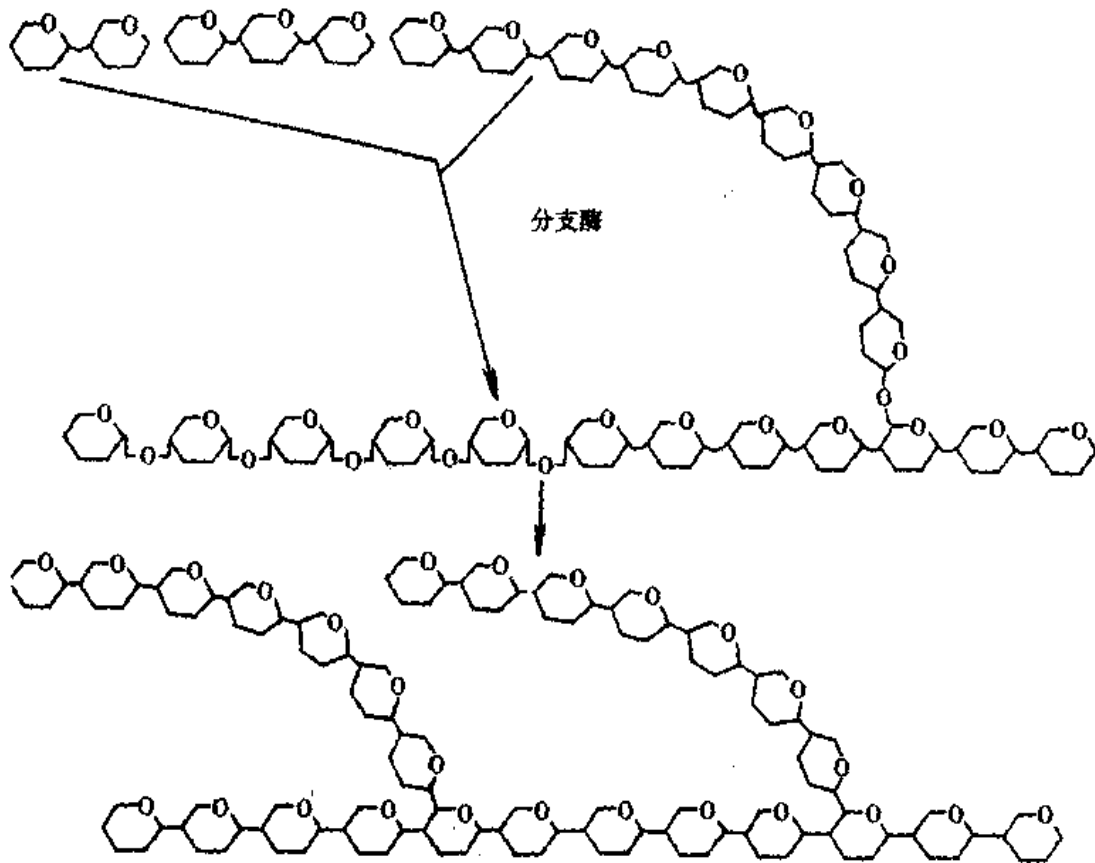


图 5-10 分支酶的作用

分子磷酸时又损失 1 个高能磷酸键，共消耗 2 个 ATP。糖原合酶反应中生成的 UDP 必须利用 ATP 重新生成 UTP，即 ATP 中的高能磷酸键转移给了 UTP，因此反应虽消耗 1 个 ATP，但无高能磷酸键的损失。

二、糖原的分解代谢

糖原分解 (glycogenolysis) 习惯上是指肝糖原分解成为葡萄糖。由肝糖原分解而来的 6-磷酸葡萄糖，除了水解成葡萄糖而释出之外，也可循酵解途径或磷酸戊糖途径等进行代谢。但当机体需要补充血糖，如饥饿时，后两条代谢途径均被抑制，肝糖原则绝大部分分解成葡萄糖释放入血。

肝糖原分解的第一步是从糖链的非还原端开始，在糖原磷酸化酶 (glycogen phosphorylase) 作用下分解下 1 个葡萄糖基，生成 1-磷酸葡萄糖，磷酸化酶只能分解 α -1, 4 糖苷键，对 α -1, 6 糖苷键无作用。由于是磷酸解生成 1-磷酸葡萄糖而不是水解成游离葡萄糖，自由能变动较小，反应是可逆的。但是在细胞内由于无机磷酸盐的浓度约为 1-磷酸葡萄糖的 100 倍，所以实际上反应只能向糖原分解方向进行。当糖链上的葡萄糖基逐个磷酸解至离开分支点约 4 个葡萄糖基时，由于位阻，磷酸化酶不能再发挥作用。这时由葡聚糖转移酶将 3 个葡萄糖基转移到邻近糖链的末端，仍以 α -1, 4 糖苷键连接。剩下 1 个以 α -1, 6 糖苷键与糖链形成分支的葡萄糖基被 α -1, 6 葡萄糖苷酶水解成游离葡萄糖。除去分支后，磷酸化酶即可继续发挥作用。目前认为葡聚糖转移酶和 α -1, 6 葡萄糖苷

酶是同一酶的两种活性，合称脱支酶(debranching enzyme)(图 5-11)。在几个酶的共同作用下，最终产物中约 85% 为 1-磷酸葡萄糖，15% 为游离葡萄糖。1-磷酸葡萄糖转变为 6-磷酸葡萄糖后，由葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase)水解成葡萄糖释放入血。葡萄糖-6-磷酸酶只存在于肝、肾中，而不存在于肌肉中。所以只有肝和肾可补充血糖；而肌糖原不能分解成葡萄糖，只能进行糖酵解或有氧氧化。

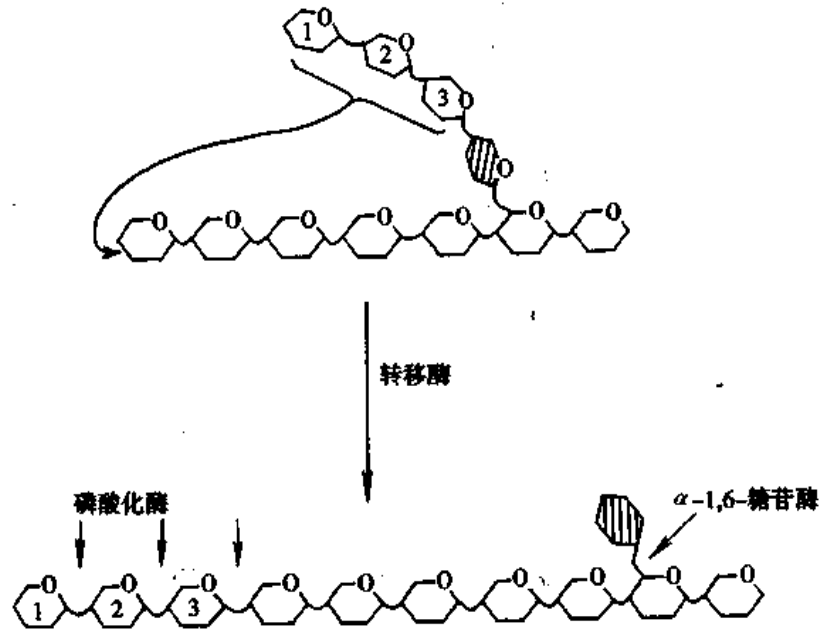


图 5-11 脱支酶的作用

三、糖原合成与分解的调节

糖原的合成与分解不是简单的可逆反应，而是分别通过两条途径进行，这样就便于进行精细的调节。当糖原合成途径活跃时，分解途径则被抑制，才能有效地合成糖原；反之亦然。这种合成与分解循两条途径进行的现象，是生物体内的普遍规律。

糖原合成途径中的糖原合酶和糖原分解途径中的磷酸化酶都是催化不可逆反应的关键酶。这两个酶分别是二条代谢途径的调节酶，其活性决定不同途径的代谢速率，从而影响糖原代谢的方向。糖原合酶和磷酸化酶的快速调节有共价修饰和变构调节二种方式。

(一) 磷酸化酶

肝糖原磷酸化酶有磷酸化和去磷酸化二种形式。当该酶 14 位丝氨酸被磷酸化时，活性很低的磷酸化酶(称为磷酸化酶 b)就转变为活性强的磷酸型磷酸化酶(称为磷酸化酶 a)。这种磷酸化过程由磷酸化酶 b 激酶催化。磷酸化酶 b 激酶也有二种形式。去磷酸的磷酸化酶 b 激酶没有活性。在依赖 cAMP 的蛋白激酶作用下转变为磷酸型的活性磷酸化酶 b 激酶。其去磷酸则由磷蛋白磷酸酶-1 催化。

依赖 cAMP 的蛋白激酶(cAMP-dependent protein kinase, 亦称蛋白激酶 A)也有活性及无活性两种形式，其活性受 cAMP 调节。ATP 在腺苷酸环化酶作用下生成 cAMP，而腺苷酸环化酶的活性受激素调节。cAMP 在体内很快被磷酸二酯酶水解成 AMP，蛋白激酶

随即转变为无活性型。这种通过一系列酶促反应将激素信号放大的连锁反应称为级联放大系统(cascade system)，与酶含量的调节相比(一般以几小时或天计)，反应快，效率高。其意义有二：一是放大效应；二是级联中各级反应都存在可以被调节的方式。

此外，磷酸化酶还受变构调节，葡萄糖是其变构调节剂。当血糖升高时，葡萄糖进入肝细胞，与磷酸化酶 a 的变构调节部位结合，引起构象改变，暴露出磷酸化的第 14 位丝氨酸，然后在磷蛋白磷酸酶-1 催化下去磷酸化而失活。因此，当血糖浓度升高时，可降低肝糖原的分解。这种调节方式速度更快，仅需几毫秒。

(二) 糖原合酶

糖原合酶亦分为 a、b 两种形式。糖原合酶 a 有活性，磷酸化成糖原合酶 b 后即失去活性。催化其磷酸化的也是依赖 cAMP 的蛋白激酶，可磷酸化其多个丝氨酸残基。此外，磷酸化酶 b 激酶也可磷酸化其中 1 个丝氨酸残基，使糖原合酶失活。

综上所述，磷酸化酶和糖原合酶的活性受磷酸化和去磷酸化的共价修饰。两种酶磷酸化和去磷酸化的方式相似，但效果不同，磷酸化酶去磷酸化后活性降低，而糖原合酶的去磷酸化形式则是有活性的。这种精细的调控，避免了由于分解、合成两个途径同时进行所造成的 ATP 的浪费。

使磷酸化酶 a、糖原合酶和磷酸化酶 b 激酶去磷酸化的磷蛋白磷酸酶-1 的活性也受到精细调节。磷蛋白磷酸酶抑制物是胞内一种蛋白质，和此酶结合后可抑制其活性。此抑制物本身具活性的磷酸化形式也是由依赖 cAMP 的蛋白激酶调控的。共价修饰过程归纳如图 5-12。

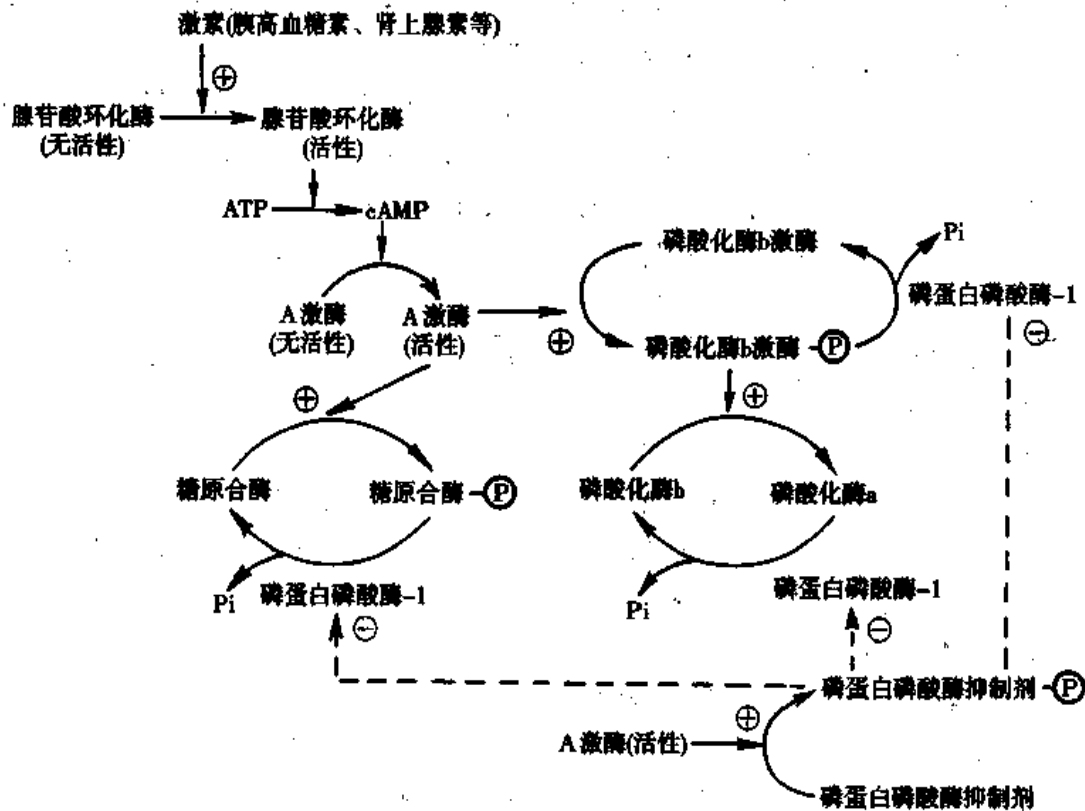


图 5-12 糖原合成、分解的共价修饰调节

糖原合成与分解的生理性调节主要靠胰岛素和胰高血糖素。胰岛素抑制糖原分解，促进糖原合成，但其机制还未肯定。可能通过激活磷酸二酯酶加速 cAMP 的分解。胰高血糖素可诱导生成 cAMP，促进糖原分解。肾上腺素也可通过 cAMP 促进糖原分解，但可能仅在应激状态发挥作用。

肌肉内糖原代谢的两个关键酶的调节与肝糖原不同。这是因为肌糖原的生理功能不同于肝糖原，肌糖原不能补充血糖，而仅仅是为肌肉活动提供能量。因此，在糖原分解代谢时，肝主要受胰高血糖素的调节，而肌肉主要受肾上腺素调节。肌肉内糖原合酶及磷酸化酶的变构效应剂主要为 AMP、ATP 及 6-磷酸葡萄糖。AMP 可激活磷酸化酶 b，而 ATP、6-磷酸葡萄糖可抑制磷酸化酶 a，但对糖原合酶有激活作用，使肌糖原的合成与分解受细胞内能量状态的控制。当肌收缩、ATP 被消耗时，AMP 浓度升高，而 6-磷酸葡萄糖水平亦低，这就使得肌糖原分解加快，合成被抑制。而当静息时，肌肉内 ATP 及 6-磷酸葡萄糖水平较高，有利于糖原合成。

Ca²⁺ 的升高可引起肌糖原分解增加。当神经冲动引起胞液内 Ca²⁺ 升高时，因为磷酸化酶 b 激酶的 δ 亚基就是钙调蛋白(calmodulin)，Ca²⁺ 与其结合，即可激活磷酸化酶 b 激酶，促进磷酸化酶 b 磷酸化成磷酸化酶 a，加速糖原分解。这样，在神经冲动引起肌收缩的同时，即加速糖原分解，以获得肌收缩所需能量。

四、糖原累积症

糖原累积症(glycogen storage disease)是一类遗传性代谢病，其特点为体内某些器官组织中有大量糖原堆积。引起糖原累积症的原因是患者先天性缺乏与糖原代谢有关的酶类。根据所缺陷的酶在糖原代谢中的作用，受累的器官部位不同，糖原的结构亦有差异，对健康或生命的影响程度也不同。例如，缺乏肝磷酸化酶时，婴儿仍可成长，肝糖原沉积导致肝肿大，并无严重后果。缺乏葡萄糖-6-磷酸酶，以致不能动用糖原维持血糖，则将引起严重后果。溶酶体的 α-葡萄糖苷酶可分解 α-1, 4 糖苷键和 α-1, 6 糖苷键，缺乏此酶所有组织均受损，常因心肌受损而突然死亡。糖原累积症分型见表 5-2。

表 5-2 糖原累积症分型

型别	缺陷的酶	受害器官	糖原结构
I	葡萄糖-6-磷酸酶	肝、肾	正常
II	溶酶体 α-葡萄糖苷酶	所有组织	正常
III	α-1, 6 葡萄糖苷酶	肝、肌肉	分支多，外周糖链短
IV	分支酶	所有组织	分支少，外周糖链特别长
V	肌糖原磷酸化酶	肌肉	正常
VI	肝糖原磷酸化酶	肝	正常
VII	磷酸果糖激酶-1	肌肉、红细胞	正常
VIII	腺苷酸激酶	脑、肝	正常
IX	磷酸化酶激酶	肝，其他组织（不包括肌肉）	正常
X	蛋白激酶 A	肝、肌肉	正常

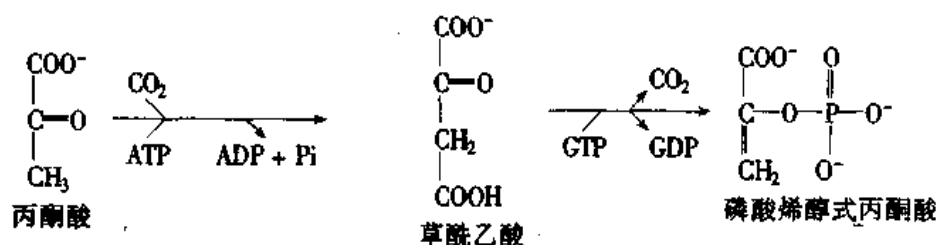
第六节 糖 异 生

体内糖原的储备有限，正常成人每小时可由肝释出葡萄糖 210mg/kg 体重，如果没有补充，10 多小时肝糖原即被耗尽，血糖来源断绝。事实上即使禁食 24 小时，血糖仍保持于正常范围，长期饥饿时也仅略下降。这时除了周围组织减少对葡萄糖的利用外，主要还是依赖肝将氨基酸、乳酸等转变成葡萄糖，不断地补充血糖。这种从非糖化合物(乳酸、甘油、生糖氨基酸等)转变为葡萄糖或糖原的过程称为糖异生(gluconeogenesis)。机体内进行糖异生补充血糖的主要器官是肝，肾在正常情况下糖异生能力只有肝的 1/10，长期饥饿时肾糖异生能力则可大为增强。

一、糖异生途径

从丙酮酸生成葡萄糖的具体反应过程称为糖异生途径(gluconeogenic pathway)。葡萄糖经酵解途径分解生成丙酮酸时， ΔG° 为 -502kJ/mol (-120kcal/mol)。从热力学角度而言，由丙酮酸生成葡萄糖不可能全部循酵解途径逆行。酵解途径与糖异生途径的多数反应是共有的，是可逆的，但酵解途径中有 3 个不可逆反应，在糖异生途径中须由另外的反应和酶代替：

1. 丙酮酸转变成磷酸烯醇式丙酮酸 糖酵解途径中磷酸烯醇式丙酮酸由丙酮酸激酶催化生成丙酮酸。在糖异生途径中其逆过程由 2 个反应组成：



催化第一个反应的是丙酮酸羧化酶(pyruvate carboxylase)。其辅酶为生物素。反应分二步， CO_2 先与生物素结合，需消耗 ATP；然后活化的 CO_2 再转移给丙酮酸生成草酰乙酸。

第二个反应由磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶催化草酰乙酸转变成磷酸烯醇式丙酮酸。反应中消耗一个高能磷酸键，同时脱羧。上述二步反应共消耗 2 个 ATP。

由于丙酮酸羧化酶仅存在于线粒体内，故胞液中的丙酮酸必须进入线粒体，才能羧化生成草酰乙酸。而磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶在线粒体和胞液中都存在，因此草酰乙酸可在线粒体中直接转变为磷酸烯醇式丙酮酸再进入胞液，也可在胞液中被转变为磷酸烯醇式丙酮酸。但是，草酰乙酸不能直接透过线粒体膜，需借助两种方式将其转运入胞液：一种是经苹果酸脱氢酶作用，将其还原成苹果酸，然后通过线粒体膜进入胞液，再由胞液中苹果酸脱氢酶将苹果酸脱氢氧化为草酰乙酸而进入糖异生反应途径。另一种方式是经谷草转氨酶的作用，生成天冬氨酸后再逸出线粒体，进入胞液中的天冬氨酸再经

胞液中谷草转氨酶的催化而恢复生成草酰乙酸。在糖异生途径的随后反应中，1, 3-二磷酸甘油酸还原成 3-磷酸甘油醛时，需 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 提供氢原子。当以乳酸为原料异生成糖时，其脱氢生成丙酮酸时已在胞液中产生了 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 以供利用；而以丙酮酸或生糖氨基酸为原料进行糖异生时， $\text{NADH} + \text{H}^+$ 则必须由线粒体内提供，这些 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 可来自脂酸 β -氧化或三羧酸循环。但 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 需经不同的途径转移至胞液。有实验表明，以丙酮酸或能转变为丙酮酸的某些生糖氨基酸作为原料异生成糖时，以苹果酸通过线粒体方式进行糖异生；而乳酸进行糖异生反应时，常在线粒体生成草酰乙酸后，再变成天冬氨酸而出线粒体内膜进入胞浆。至于胞液内草酰乙酸回至线粒体的路线较复杂，在此不详述。

2. 1, 6-双磷酸果糖转变为 6-磷酸果糖 此反应由果糖双磷酸酶-1 催化。C₁ 位的磷酸酯进行水解是放能反应，并不生成 ATP，所以反应易于进行。

3. 6-磷酸葡萄糖水解为葡萄糖 此反应由葡萄糖-6-磷酸酶催化。同样，由于不生成 ATP，不是葡萄糖激酶的逆反应，热力学上是可行的。

在以上三个反应过程中，作用物的互变反应分别由不同的酶催化其单向反应，这种互变循环称之为底物循环(substrate cycle)。当两种酶活性相等时，则不能将代谢向前推进，结果仅是 ATP 分解释放出能量，因而又称之为无效循环(futile cycle)。而在细胞内两酶活性不完全相等，使代谢反应仅向一个方向进行。

糖异生途径可归纳如图 5-13。

二、糖异生的调节

酵解途径与糖异生途径是方向相反的两条代谢途径。如从丙酮酸进行有效的糖异生，就必须抑制酵解途径，以防止葡萄糖又重新分解成丙酮酸；反之亦然。这种协调主要依赖于对这两条途径中的 2 个底物循环进行调节。

第一个底物循环在 6-磷酸果糖与 1, 6-双磷酸果糖之间：

一方面 6-磷酸果糖磷酸化成 1, 6-双磷酸果糖，另一方面 1, 6-双磷酸果糖去磷酸而成 6-磷酸果糖。这样，磷酸化与去磷酸构成了一个底物循环。如不加调节，净结果是消耗了 ATP 而又不能推进代谢。实际上在细胞内催化这两个反应酶的活性常呈相反的变化。2, 6-双磷酸果糖和 AMP 激活 6-磷酸果糖激酶-1 的同时，抑制果糖-双磷酸酶-1 的活性，使反应向糖酵解方向进行，同时抑制了糖异生。胰高血糖素通过 cAMP 和依赖 cAMP 的蛋白激酶，使 6-磷酸果糖激酶-2 磷酸化而失活，降低肝细胞内 2, 6-双磷酸果糖水平，从而促进糖异生而抑制糖的分解。胰岛素则有相反的作用。目前认为 2, 6-双磷酸果糖的水平是肝内调节糖的分解或糖异生反应方向的主要信号。进食后，胰高血糖素/胰岛素比例降低，2, 6-双磷酸果糖水平升高，糖异生被抑制，糖的分解加强，为合成脂酸提供乙酰 CoA。饥饿时胰高血糖素分泌增加，2, 6-双磷酸果糖水平降低，从糖的分解转向糖异生。维持底物循环虽然要损失一些 ATP，但却可使代谢调节更为灵敏、精细。

第二个底物循环在磷酸烯醇式丙酮酸和丙酮酸之间：

1, 6-双磷酸果糖是丙酮酸激酶的变构激活剂，通过 1, 6-双磷酸果糖可将两个底物

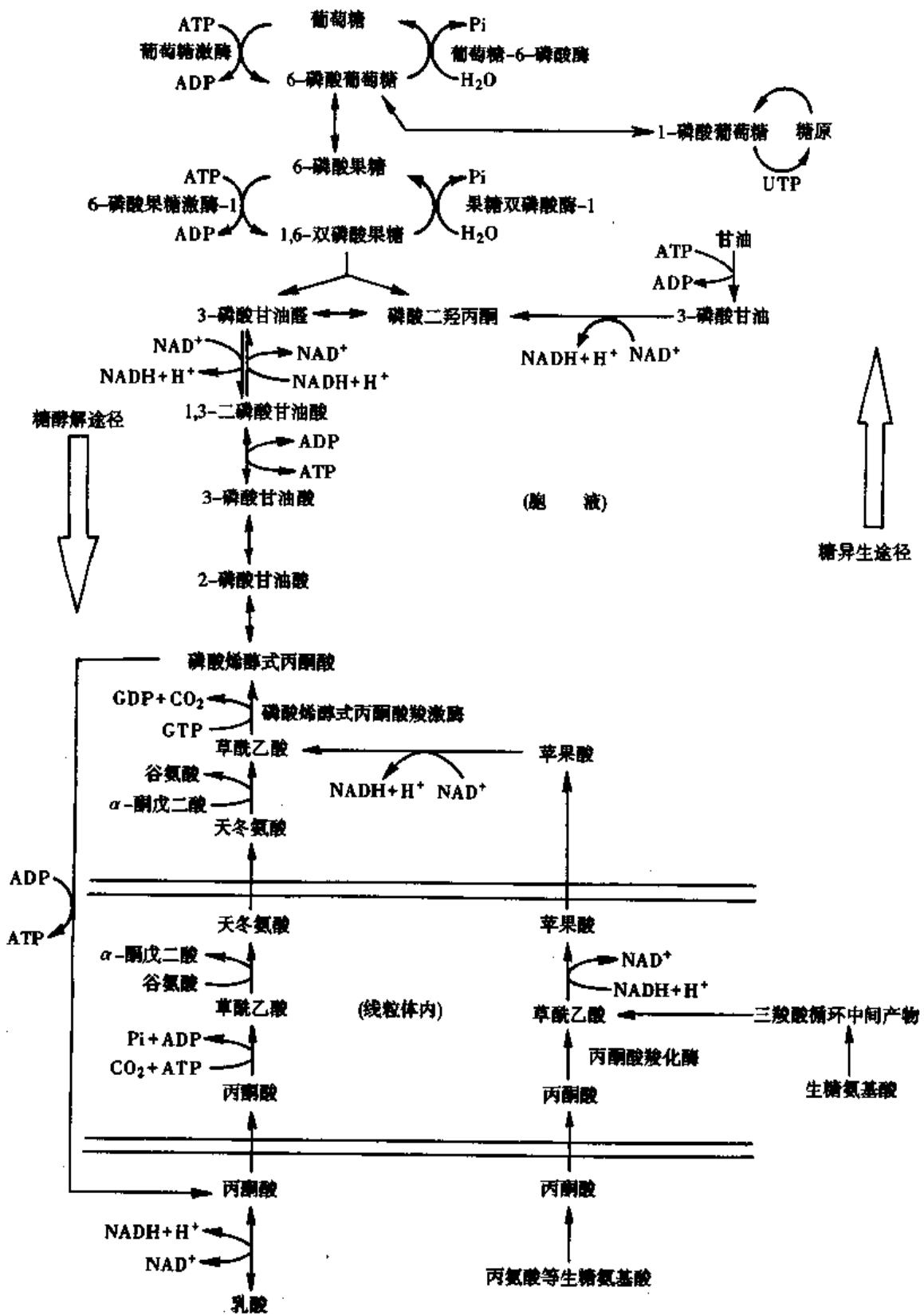
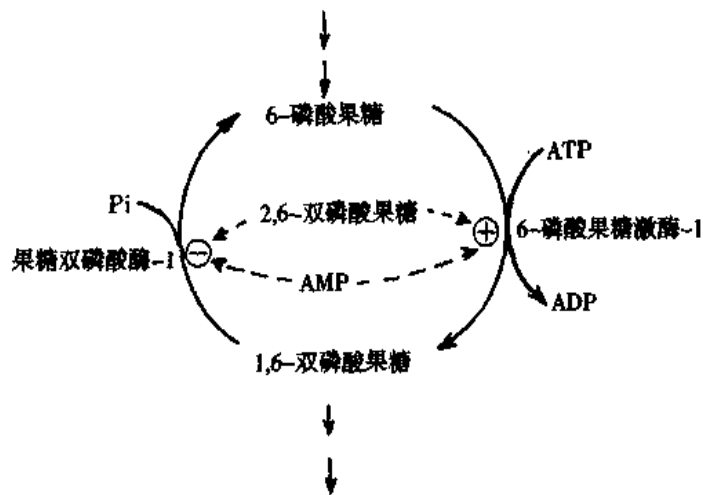


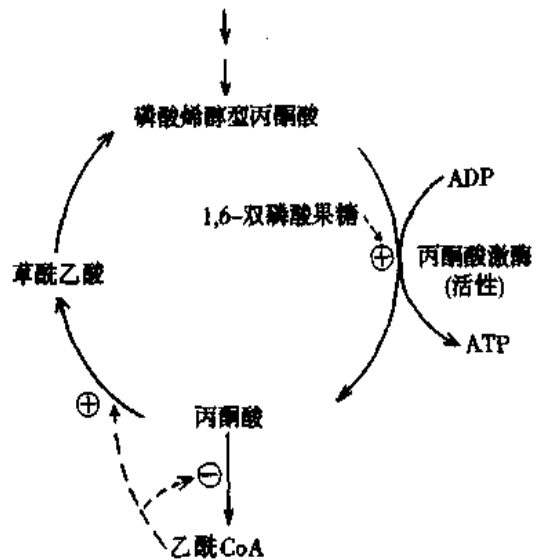
图 5-13 糖异生途径

循环相联系和协调。胰高血糖素可抑制 2, 6-双磷酸果糖合成, 从而减少 1, 6-双磷酸果糖的生成, 这就可降低丙酮酸激酶的活性。胰高血糖素还通过 cAMP 使丙酮酸激酶磷酸



化而失去活性，于是糖异生加强而糖酵解被抑制。肝内丙酮酸激酶可被丙氨酸抑制。而在饥饿时丙氨酸是主要的糖异生原料，故丙氨酸的这种抑制作用有利于丙氨酸异生成糖。

丙酮酸羧化酶必须有乙酰 CoA 存在才有活性，而乙酰 CoA 对丙酮酸脱氢酶却有反馈抑制作用。例如饥饿时，大量脂酰 CoA 在线粒体内 β -氧化，生成大量的乙酰 CoA。这一方面抑制丙酮酸脱氢酶，阻止丙酮酸继续氧化，一方面又激活丙酮酸羧化酶，使其转变为草酰乙酸，从而加速糖异生。



胰高血糖素可通过 cAMP 快速诱导磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶基因的表达，增加酶的合成。胰岛素则显著降低磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 mRNA 水平，而且对 cAMP 有对抗作用，说明胰岛素对该酶有重要的调节作用。

三、糖异生的生理意义

(一) 维持血糖浓度恒定

空腹或饥饿时依赖氨基酸、甘油等异生成葡萄糖，以维持血糖水平恒定。正常成人的脑组织不能利用脂酸，主要依赖葡萄糖供给能量；红细胞没有线粒体，完全通过糖酵解获得能量；骨髓、神经等组织由于代谢活跃，经常进行糖酵解。这样，即使在饥饿状况下，机体也需消耗一定量的糖，以维持生命活动。此时这些糖全部依赖糖异生生成。

糖异生的主要原料为乳酸、氨基酸及甘油。乳酸来自肌糖原分解。肌肉内糖异生活性低，生成的乳酸不能在肌内重新合成糖，经血液转运至肝后异生成糖。这部分糖异生

主要与运动强度有关。而在饥饿时，糖异生的原料主要为氨基酸和甘油。饥饿早期，随着脂肪组织中脂肪的分解加速，运送至肝的甘油增多，每天约可生成 10~15g 葡萄糖。但糖异生的主要原料为氨基酸。肌肉的蛋白质分解成氨基酸后以丙氨酸和谷氨酰胺形式运行至肝，每天约生成 90~120g 葡萄糖，约需分解 180~200g 蛋白质。长期饥饿时每天消耗这么多蛋白质是无法维持生命的。经过适应，脑每天消耗的葡萄糖可减少，其余依赖酮体供能。这时甘油仍可异生提供约 20g 葡萄糖，所以每天消耗的蛋白质可减少至 35g 左右。

(二) 补充肝糖原

糖异生是肝补充或恢复糖原储备的重要途径，这在饥饿后进食更为重要。长期以来，进食后肝糖原储备丰富的现象被认为是肝直接利用葡萄糖合成糖原的结果。但近年

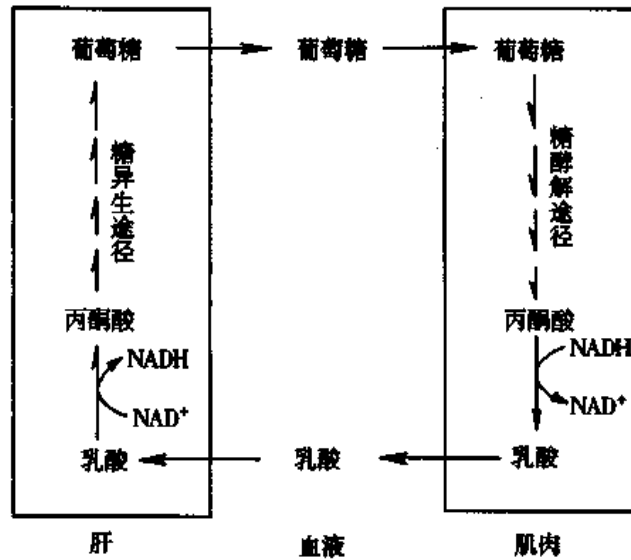
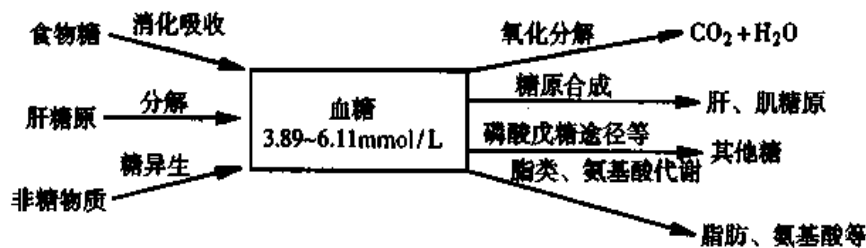


图 5-14 乳酸循环

第七节 血糖及其调节

一、血糖的来源和去路

血糖指血中的葡萄糖。血糖水平相当恒定，维持在 $3.89 \sim 6.11 \text{mmol/L}$ 之间，这是进入和移出血液的葡萄糖平衡的结果。血糖的来源为肠道吸收、肝糖原分解或肝内糖异生生成的葡萄糖释入血液内。血糖的去路则为周围组织以及肝的摄取利用。这些组织中摄取的葡萄糖的利用、代谢各异。某些组织用于氧化供能；肝、肌肉可用于合成糖原；脂肪组织和肝可将其转变为甘油三酯等。



二、血糖水平的调节

以上这些代谢过程是机体经常不断进行的，但是在不同的情况下，根据机体能量来源、消耗等而有很大的差异。而且糖代谢的调节不是孤立的，它还涉及脂肪及氨基酸的代谢。血糖水平保持恒定是糖、脂肪、氨基酸代谢协调的结果；也是肝、肌肉、脂肪组织等各器官组织代谢协调的结果。例如，消化吸收期间，自肠道吸收大量葡萄糖，此时肝内糖原合成加强(包括 UDPG 途径和三碳途径)而分解减弱。肌糖原合成和糖的氧化亦加强。肝、脂肪组织加速将糖转变为脂肪。从肌肉蛋白质分解来的氨基酸的糖异生则减

弱。因而血糖仅暂时上升并且很快恢复正常。长跑者经长达2小时多的比赛，其肝糖原本应早已耗尽，但血糖水平仍保持在3.89~6.11mmol/L左右。此时肌内能量主要来自脂肪，而糖异生来的葡萄糖保持血糖于较低水平。长期饥饿时，血糖虽略低，仍保持3.6~3.8mmol/L。这时，血糖来自肌肉蛋白质降解来的氨基酸，其次为甘油，以保证脑的需要，而其他组织的能量来源则为脂酸及酮体，它们摄取葡萄糖被抑制。甚至脑的能量，一部分也由酮体供应。这样的结果，血糖仍可维持于低水平。机体的各种代谢以及各器官之间能这样精确协调，以适应能量、燃料供求的变化，主要依靠激素的调节。酶水平的调节是最基本的调节方式和基础，调节血糖水平的几种激素的作用机制叙述如下。

(一) 胰岛素

胰岛素(insulin)是体内唯一的降低血糖的激素，也是唯一同时促进糖原、脂肪、蛋白质合成的激素。胰岛素的分泌受血糖控制，血糖升高立即引起胰岛素分泌；血糖降低，分泌即减少。胰岛素降血糖是多方面作用的结果：①促进肌肉、脂肪组织等的细胞膜葡萄糖载体将葡萄糖转运入细胞。②通过增强磷酸二酯酶活性，降低cAMP水平，从而使糖原合酶活性增强、磷酸化酶活性降低，加速糖原合成、抑制糖原分解。③通过激活丙酮酸脱氢酶磷酸酶而使丙酮酸脱氢酶激活，加速丙酮酸氧化为乙酰CoA，从而加快糖的有氧氧化。④抑制肝内糖异生。这是通过抑制磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶的合成以及促进氨基酸进入肌组织并合成蛋白质，减少肝糖异生的原料。⑤通过抑制脂肪组织内的激素敏感性脂肪酶，可减缓脂肪动员的速率。当脂酸大量动员至肝、肌肉、心肌时，可抑制它们氧化葡萄糖。因此，胰岛素减少脂肪动员，就可促进上述组织利用葡萄糖。

(二) 胰高血糖素

胰高血糖素(glucagon)是体内主要升高血糖的激素。血糖降低或血内氨基酸升高刺激胰高血糖素的分泌。其升高血糖的机制包括：①经肝细胞膜受体激活依赖cAMP的蛋白激酶，从而抑制糖原合酶和激活磷酸化酶，迅速使肝糖原分解，血糖升高。②通过抑制6-磷酸果糖激酶-2，激活果糖双磷酸酶-2，从而减少2,6-双磷酸果糖的合成，后者是6-磷酸果糖激酶-1的最强的变构激活剂，又是果糖双磷酸酶-1的抑制剂。于是糖酵解被抑制，糖异生则加速。③促进磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶的合成；抑制肝L型丙酮酸激酶；加速肝摄取血中的氨基酸，从而增强糖异生。④通过激活脂肪组织内激素敏感性脂肪酶，加速脂肪动员。这与胰岛素作用相反，从而间接升高血糖水平。

胰岛素和胰高血糖素是调节血糖、实际上也是调节三大营养物质代谢最主要的两种激素。机体内糖、脂肪、氨基酸代谢的变化主要取决于这两种激素的比例。而不同情况下这两种激素的分泌是相反的。引起胰岛素分泌的信号(如血糖升高)可抑制胰高血糖素分泌。反之，使胰岛素分泌减少的信号可促进胰高血糖素分泌。

(三) 糖皮质激素

糖皮质激素可引起血糖升高，肝糖原增加。其作用机制可能有两方面。①促进肌肉蛋白质分解，分解产生的氨基酸转移到肝进行糖异生。这时，糖异生途径的关键酶，磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶的合成常增强。②抑制肝外组织摄取和利用葡萄糖，抑制点为丙

酮酸的氧化脱羧。此外，在糖皮质激素存在时，其他促进脂肪动员的激素才能发挥最大的效果。这种协助促进脂肪动员的作用，可使得血中游离脂酸升高，也可间接抑制周围组织摄取葡萄糖。

(四) 肾上腺素

肾上腺素是强有力的升高血糖的激素。给动物注射肾上腺素后血糖水平迅速升高，可持续几小时。同时血中乳酸水平也升高。肾上腺素的作用机制是通过肝和肌肉的细胞膜受体、cAMP、蛋白激酶级联激活磷酸化酶，加速糖原分解。在肝，糖原分解为葡萄糖；在肌肉则经糖酵解生成乳酸，并通过乳酸循环间接升高血糖水平。肾上腺素主要在应急状态下发挥调节作用。对经常性，尤其是进食情况引起的血糖波动没有生理意义。

正常人体内存在一整套精细的调节糖代谢的机制，在一次性食入大量葡萄糖之后，血糖水平不会出现大的波动和持续升高。人体对摄入的葡萄糖具有很大耐受能力的这种现象，被称为葡萄糖耐量(glucose tolerance)或耐糖现象。医学上对病人作糖耐量试验可以帮助诊断某些与糖代谢障碍相关的疾病。

三、血糖水平异常

临床上因糖代谢障碍可发生血糖水平紊乱，常见有以下两种类型：

(一) 高血糖及糖尿症(hyperglycemia and glucosuria)

临床上将空腹血糖浓度高于 $7.22 \sim 7.78\text{mmol/L}$ 称为高血糖。当血糖浓度高于 $8.89 \sim 10.00\text{mmol/L}$ ，即超过了肾小管的重吸收能力，则可出现糖尿，这一血糖水平称为肾糖阈。持续性高血糖和糖尿，特别是空腹血糖和糖耐量曲线高于正常范围，主要见于糖尿病(diabetes mellitus)。临床上常见的糖尿病有两类：胰岛素依赖型(I型)和非胰岛素依赖型(II型)。它们的病因和发病机制不同，目前尚在研究中。我国糖尿病患者以II型居多。一般认为II型糖尿病具有更强的遗传性。胰岛素受体基因缺陷已被证实是II型糖尿病的病因之一。某些慢性肾炎、肾病综合征等引起肾对糖的重吸收障碍也可出现糖尿，但血糖及糖耐量曲线均正常。生理性高血糖和糖尿可因情绪激动，交感神经兴奋，肾上腺素分泌增加，从而使得肝糖原大量分解所致。

(二) 低血糖(hypoglycemia)

空腹血糖浓度低于 $3.33 \sim 3.89\text{mmol/L}$ 时称为低血糖。低血糖影响脑的正常功能，因为脑细胞所需要的能量主要来自葡萄糖的氧化。当血糖水平过低时，就会影响脑细胞的功能，从而出现头晕、倦怠无力、心悸等，严重时出现昏迷，称为低血糖休克。如不及时给病人静脉补充葡萄糖，可导致死亡。出现低血糖的病因有：①胰性(胰岛 β -细胞功能亢进、胰岛 α -细胞功能低下等)；②肝性(肝癌、糖原累积病等)；③内分泌异常(垂体功能低下、肾上腺皮质功能低下等)；④肿瘤(胃癌等)；⑤饥饿或不能进食者等。

小 结

糖类是自然界中一类重要的含碳化合物。其主要生物学功能是在机体代谢中提供能源和碳源，也是组织和细胞结构的重要组成部分。

食物中可被消化的糖主要是淀粉，它经过消化道中一系列酶的消化作用，最终生成

葡萄糖，在小肠被吸收。葡萄糖的吸收是依赖特定载体转运的、主动耗能的过程。

糖代谢主要指葡萄糖在体内的复杂代谢过程，包括分解代谢与合成代谢。其分解代谢途径主要有糖酵解、糖的有氧氧化及磷酸戊糖途径等。

糖酵解是在不需氧情况下，葡萄糖生成乳酸的反应过程。其代谢反应可分为两个阶段：第一阶段是由葡萄糖分解为丙酮酸的反应过程，称为酵解途径。在此阶段中，由己糖转变为磷酸丙糖的反应过程需消耗 ATP；而由 3-磷酸甘油醛转变为丙酮酸的反应过程则生成 ATP。第二阶段为丙酮酸在乳酸脱氢酶催化下加氢还原为乳酸。糖酵解在胞浆中进行。调节糖酵解的关键酶是 6-磷酸果糖激酶-1、丙酮酸激酶、己糖激酶或葡萄糖激酶。糖酵解的生理意义在于迅速提供能量，1 分子葡萄糖经糖酵解可净生成 2 分子 ATP。

糖的有氧氧化是指葡萄糖在有氧条件下彻底氧化生成水和 CO_2 的反应过程，是糖氧化供能的主要方式。其反应过程分为三个阶段：第一阶段为葡萄糖循酵解途径分解为丙酮酸；第二阶段为丙酮酸进入线粒体在丙酮酸脱氢酶复合体催化下氧化脱羧生成乙酰 CoA、 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 、 CO_2 ；第三阶段为三羧酸循环和氧化磷酸化。三羧酸循环是以草酰乙酸和乙酰 CoA 缩合生成柠檬酸开始，经脱氢脱羧等一系列反应又生成草酰乙酸的循环过程。此循环中由 3 个关键酶(异柠檬酸脱氢酶、 α -酮戊二酸脱氢酶、柠檬酸合酶)催化的反应是不可逆的。三羧酸循环的生理意义在于它是三大营养素的最终代谢通路；也是三大营养素相互转变的联系枢纽；还为其他合成代谢提供前体物质；以及为氧化磷酸化提供还原当量。1 分子乙酰 CoA 经三羧酸循环运转一周，生成了 2 分子 CO_2 、3 分子 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 、1 分子 FADH_2 ，发生了 1 次底物水平磷酸化。 $\text{NADH} + \text{H}^+$ 和 FADH_2 经氧化磷酸化生成 ATP 及 H_2O 。因此 1 分子乙酰 CoA 经三羧酸循环和氧化磷酸化后共生成 12 分子 ATP。调节糖有氧氧化的关键酶包括 6-磷酸果糖激酶-1、丙酮酸激酶、己糖激酶或葡萄糖激酶、丙酮酸脱氢酶复合体、异柠檬酸脱氢酶、 α -酮戊二酸脱氢酶和柠檬酸合酶。

葡萄糖通过磷酸戊糖途径代谢可产生磷酸核糖和 NADPH。磷酸核糖是合成核苷酸的重要原料。NADPH 作为供氢体参与多种代谢反应。磷酸戊糖途径在胞浆中进行，其关键酶是 6-磷酸葡萄糖脱氢酶。

糖原是体内糖的储存形式。肝和肌肉是储存糖原的主要组织。由葡萄糖经 UDPG 合成糖原是肝糖原的合成的重要途径。糖原分解习惯上是指肝糖原分解成为葡萄糖，这是血糖的重要来源。肌糖原的合成是由葡萄糖经 UDPG 合成的；由于肌组织中缺乏葡萄糖-6-磷酸酶，肌糖原不能分解成葡萄糖，只能进行糖酵解或有氧氧化。糖原合成与分解的关键酶分别为糖原合酶及磷酸化酶，二者均受到共价修饰和变构调节，这两种酶活性的变化决定糖原代谢途径的方向和速率。

糖异生是指由乳酸、甘油和生糖氨基酸等非糖化合物转变为葡萄糖或糖原的过程。进行糖异生的主要器官是肝，次为肾。糖异生途径与酵解途径的多数反应是共有的可逆反应，但酵解途径中 3 个关键酶所催化的反应是不可逆的，在糖异生途径中须由丙酮酸羧化酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、果糖双磷酸酶-1 和葡萄糖-6-磷酸酶催化。酵解途径与糖异生途径是方向相反的两条代谢途径，通过 3 个底物循环进行有效的协调。糖异生的生理意义在于维持血糖水平的恒定；也是肝补充或恢复糖原储备的重要途径；长期

饥饿时，肾糖异生增强有利于维持酸碱平衡。

血糖是指血中的葡萄糖，其正常水平相对恒定，维持在 3.89 ~ 6.11 mmol/L 之间，这是血糖的来源和去路相对平衡的结果。血糖水平主要受多种激素的调控。胰岛素具有降低血糖的作用；而胰高血糖素、肾上腺素、糖皮质激素有升高血糖的作用。当人体糖代谢发生障碍时可引起血糖水平的紊乱，常见的临床症状有高血糖及低血糖。糖尿病是最常见的糖代谢紊乱疾病。

(屈 伸)

第六章 脂类代谢

脂类是脂肪及类脂的总称，是一类不溶于水而易溶于有机溶剂，并能为机体利用的有机化合物。脂肪是三脂肪酸甘油酯或称甘油三酯(triglyceride)，脂肪的生理功能是储存及氧化供能。类脂包括固醇及其酯、磷脂及糖脂等，是细胞的膜结构重要组分。

体内脂肪酸(脂酸)的来源有二：一是机体自身合成，以脂肪的形式储存在脂肪组织中，需要时从脂肪动员。饱和脂酸及单不饱和脂酸主要靠机体自身合成。另一来源系食物脂肪供给，特别是某些不饱和脂酸，动物机体自身不能合成，需从植物油摄取。它们是动物不可缺少的营养素，故称必需脂酸。它们又是前列腺素(prostaglandins)、血栓噁烷(thromboxane)及白三烯(leukotrienes)等生理活性物质的前体。

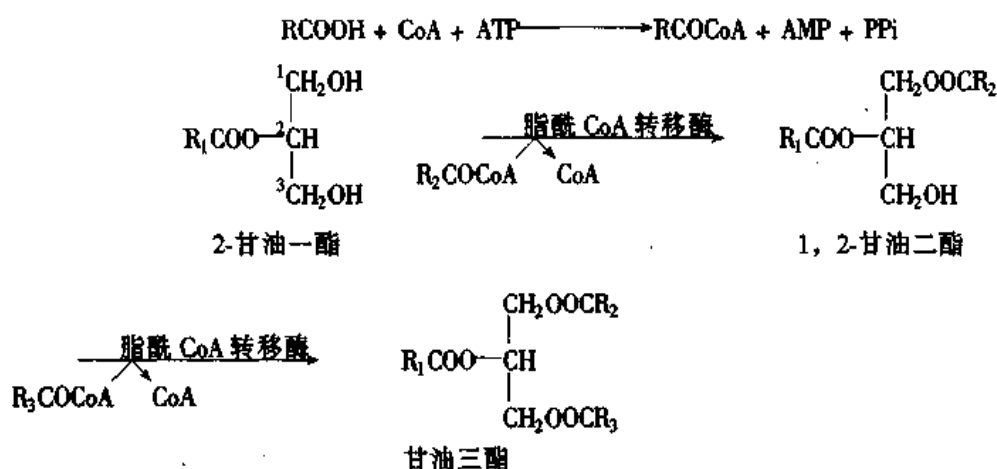
脂酸在体内主要与醇结合成酯。与脂酸结合的醇有甘油(丙三醇)、鞘氨醇及胆固醇等。1分子甘油与3分子脂酸通过酯键结合生成的甘油三酯，即脂肪，是机体储存能量的主要形式。甘油还可与2分子脂酸、1分子磷酸及含氮化合物结合成甘油磷脂(phosphoglycerides)。甘油磷脂包括磷脂酰胆碱(卵磷脂)、磷脂酰乙醇胺(脑磷脂)、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇及二磷脂酰甘油(心磷脂)等，是构成生物膜脂双层的基本骨架，含量恒定。脂酸与鞘氨醇通过酰胺键结合的脂称为鞘脂，含磷酸者为鞘磷脂，含糖者称为鞘糖脂，是生物膜的重要组分，参与细胞识别及信息传递。

第一节 脂类的消化和吸收

膳食中的脂类主要为脂肪，此外还含少量磷脂、胆固醇等。脂类不溶于水，必须在小肠经胆汁中胆汁酸盐的作用，乳化并分散成细小的微团(micelles)后，才能被消化酶消化。胰液及胆汁均分泌入十二指肠，因此小肠上段是脂类消化的主要场所。胆汁酸盐是较强的乳化剂，能降低油与水相之间的界面张力，使脂肪及胆固醇酯等疏水的脂质乳化成细小微团，增加消化酶对脂质的接触面积，有利于脂肪及类脂的消化及吸收。胰腺分泌入十二指肠中消化脂类的酶有胰脂酶(pancreatic lipase)、磷脂酶 A_2 (phospholipase A_2)、胆固醇酯酶(cholesterol esterase)及辅脂酶(colipase)。胰脂酶特异催化甘油三酯的1及3位酯键水解，生成2-甘油一酯(2-monoglyceride)及2分子脂肪酸。胰脂酶必须吸附在乳化脂肪微团的水油界面上，才能作用于微团内的甘油三酯。辅脂酶是胰脂酶对脂肪消化不可缺少的蛋白质辅因子，分子量约10 000。辅脂酶在胰腺泡中以酶原形式合成，随胰液分泌入十二指肠。进入肠腔后，辅脂酶原被胰蛋白酶从其N端切下一个五肽而被激活。辅脂酶本身不具脂肪酶的活性，但它具有与脂肪及胰脂酶结合的结构域。它与胰脂酶结合是通过氢键进行的，结合的分子比为1:1，Kd值为 5×10^{-7} mol/L；它与脂肪的

结合是通过疏水键进行的，其 K_d 值为 $1 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ 。虽然胰脂酶的作用依赖于胆汁酸盐的存在，但在肠腔内胰脂酶又受胆汁酸盐的抑制。这是因为脂肪乳化，其表面张力升高，反而使胰脂酶不能与微团内的甘油三酯接触；同时在水油界面胰脂酶易于变性丧失活性。而辅脂酶的存在则可完全解除胆汁酸盐对胰脂酶的抑制。辅脂酶能与胰脂酶结合并同时与脂肪结合，使其锚于微团的水油界面上，并可防止胰脂酶在水油界面的变性，因而能增加胰脂酶活性，促进脂肪的水解。此外，胰磷脂酶 A_2 催化磷脂 2 位酯键水解，生成脂酸及溶血磷脂；胆固醇酯酶促进胆固醇酯水解生成游离胆固醇及脂酸。脂肪及类脂的消化产物包括甘油一酯、脂酸、胆固醇及溶血磷脂等可与胆汁酸盐乳化成更小的混合微团(mixed micelles)。这种微团体积更小(直径约为 20nm)，极性更大，易于穿过小肠粘膜细胞表面的水屏障，为肠粘膜细胞吸收。

脂类消化产物主要在十二指肠下段及空肠上段吸收。中链脂酸(6~10C)及短链脂酸(2~4C)构成的甘油三酯，经胆汁酸盐乳化后即可被吸收。在肠粘膜细胞内脂肪酶的作用下，水解为脂肪酸及甘油，通过门静脉进入血循环。长链脂酸(12~26C)及 2-甘油一酯吸收入肠粘膜细胞后，在光面内质网脂酰 CoA 转移酶(acyl CoA transferase)的催化下，由 ATP 供给能量，2-甘油一酯加上 2 分子脂酰 CoA，再合成甘油三酯。后者再与粗面内质网合成的载脂蛋白(apolipoprotein, apo)B48、C、AI、AIV 等以及磷脂、胆固醇结合成乳糜微粒，经淋巴进入血循环。在肠粘膜细胞中由甘油一酯合成脂肪的途径称为甘油一酯合成途径。



第二节 甘油三酯代谢

一、甘油三酯的合成代谢

甘油三酯是机体储存能量的形式。机体摄入糖、脂肪等食物均可合成脂肪在脂肪组织储存，以供禁食、饥饿时的能量需要。

(一) 合成部位

肝、脂肪组织及小肠是合成甘油三酯的主要场所，以肝的合成能力最强。上述三种

组织、细胞均有合成甘油三酯的脂酰 CoA 转移酶，位于内质网的胞液侧。肝细胞能合成脂肪，但不能储存脂肪。甘油三酯在肝内质网合成后，与载脂蛋白 B100、C 等以及磷脂、胆固醇结合生成极低密度脂蛋白(VLDL)，由肝细胞分泌入血而运输至肝外组织。如肝细胞合成的甘油三酯因营养不良、中毒、必需脂酸缺乏、胆碱缺乏或蛋白质缺乏不能形成 VLDL 分泌入血时，则聚集在肝细胞浆中，形成脂肪肝。

脂肪组织是机体合成脂肪的另一重要组织。它可利用从食物脂肪而来的乳糜微粒(CM)或 VLDL 中的脂酸合成脂肪，更主要以葡萄糖为原料合成脂肪。脂肪细胞可以大量储存脂肪，是机体合成及储存脂肪的“仓库”；机体需要能量时，储脂分解释出游离脂酸及甘油入血，以满足心、骨骼肌、肝、肾等的需要。因此脂肪组织在脂肪代谢上具有重要的地位。小肠粘膜细胞则主要利用脂肪消化产物再合成脂肪，以乳糜微粒形式经淋巴进入血循环(图 6-1)。

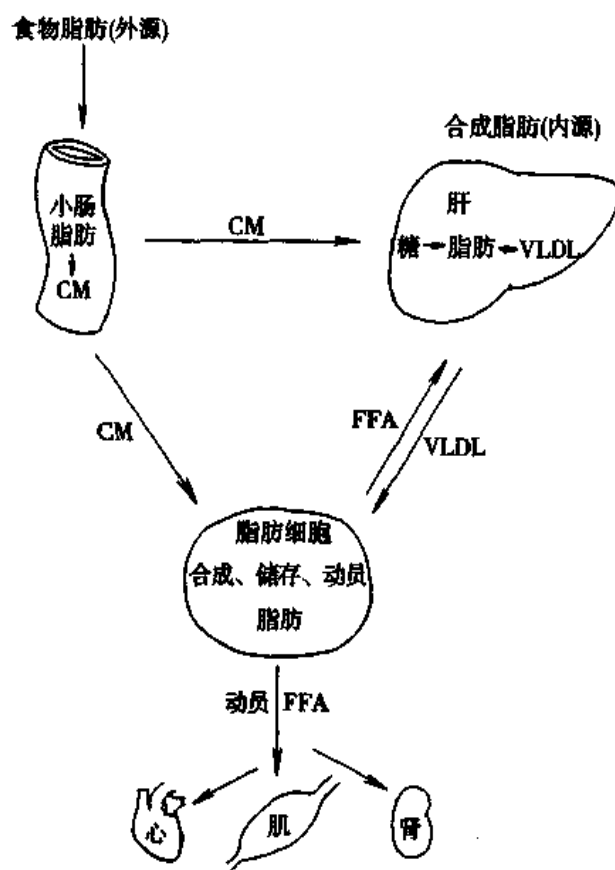


图 6-1 脂肪代谢概况

FFA: 游离脂酸 CM: 乳糜微粒

(二) 合成原料

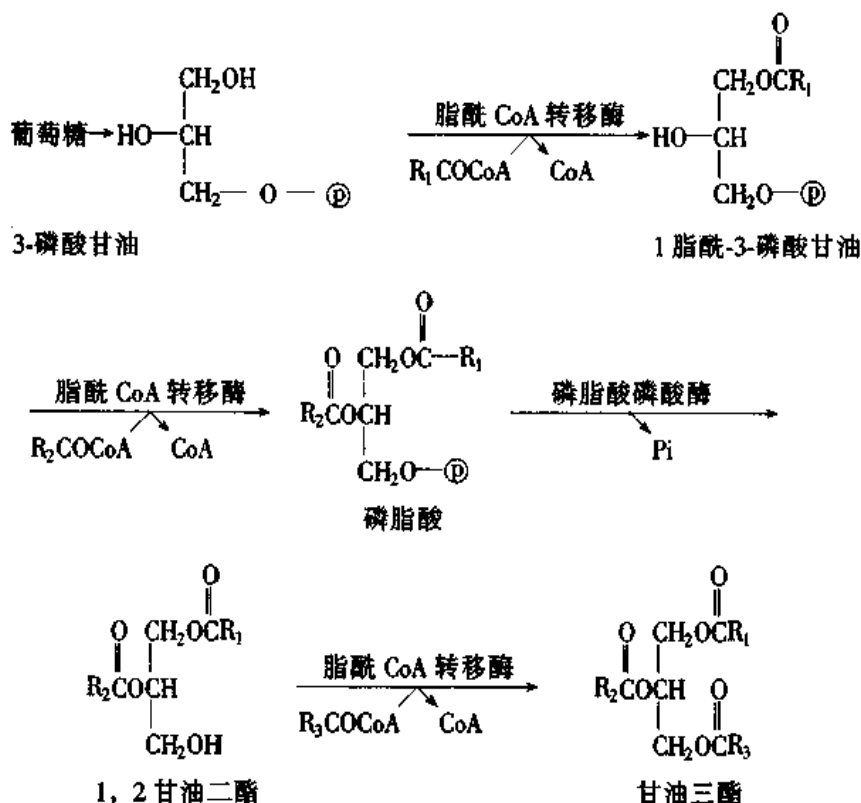
合成甘油三酯所需的甘油及脂酸主要由葡萄糖代谢提供。人及动物即使完全不摄取脂肪，亦可由糖大量合成脂肪。食物脂肪消化吸收后以 CM 形式进入血循环，运送至脂肪组织或肝，其脂酸亦可用以合成脂肪。

(三) 合成基本过程

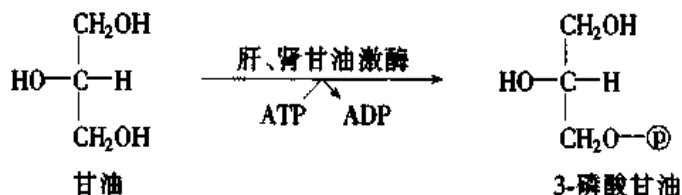
1. 甘油一酯途径 小肠粘膜细胞主要利用消化吸收的甘油一酯及脂酸再合成甘油

三酯(见消化吸收一节)。

2. 甘油二酯途径 肝细胞及脂肪细胞主要按此途径合成甘油三酯。葡萄糖循糖酵解途径生成3-磷酸甘油,在脂酰 CoA 转移酶的作用下,依次加上2分子脂酰 CoA 生成磷脂酸(phosphatidic acid)。后者在磷脂酸磷酸酶的作用下,水解脱去磷酸生成1,2-甘油二酯,然后在脂酰 CoA 转移酶的催化下,再加上1分子脂酰基即生成甘油三酯。



合成脂肪的三分子脂酸可为同一种脂酸,亦可是三种不同的脂酸。合成所需的3-磷酸甘油主要由糖代谢提供。肝、肾等组织含有甘油激酶,能利用游离甘油,使之磷酸化生成3-磷酸甘油。脂肪细胞缺乏甘油激酶因而不能利用甘油合成脂肪。



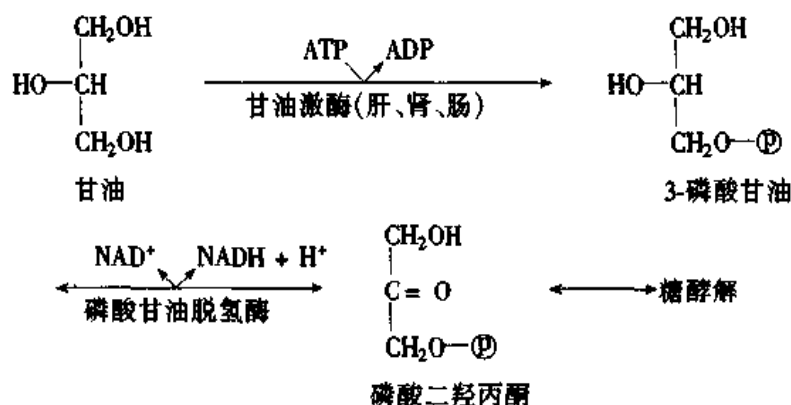
二、甘油三酯的分解代谢

(一) 脂肪的动员

储存在脂肪细胞中的脂肪,被脂肪酶逐步水解为游离脂酸(free fatty acid, FFA)及甘油并释放入血以供其他组织氧化利用,该过程称为脂肪的动员。在脂肪动员中,脂肪细胞内激素敏感性甘油三酯脂肪酶(hormone-sensitive triglyceride lipase, HSL)起决定性作用,它是脂肪分解的限速酶。

当禁食、饥饿或交感神经兴奋时，肾上腺素、去甲肾上腺素、胰高血糖素等分泌增加，作用于脂肪细胞膜表面受体，激活腺苷酸环化酶，促进 cAMP 合成，激活依赖 cAMP 的蛋白激酶，使胞液内 HSL 磷酸化而活化。后者使甘油三酯水解成甘油二酯及脂酸。这步反应是脂肪分解的限速步骤，HSL 是限速酶，它受多种激素的调控，故称为激素敏感性脂肪酶。能促进脂肪动员的激素称为脂解激素，如肾上腺素、胰高血糖素、ACTH 及 TSH 等。胰岛素、前列腺素 E₂ 及烟酸等抑制脂肪的动员，对抗脂解激素的作用。

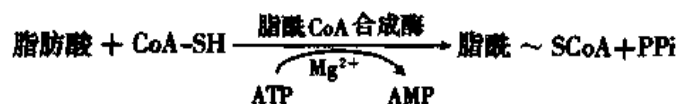
脂解作用使储存在脂肪细胞中的脂肪分解成游离脂酸及甘油，然后释放入血。血浆清蛋白具有结合游离脂酸的能力，每分子清蛋白可结合 10 分子 FFA。FFA 不溶于水，与清蛋白结合后由血液运送至全身各组织，主要由心、肝、骨骼肌等摄取利用。甘油溶于水，直接由血液运送至肝、肾、肠等组织。主要是在肝甘油激酶 (glycerokinase) 作用下，转变为 3-磷酸甘油；然后脱氢生成磷酸二羟丙酮，循糖代谢途径进行分解或转变为糖。脂肪细胞及骨骼肌等组织因甘油激酶活性很低，故不能很好利用甘油。



(二) 脂酸的 β -氧化

脂酸是人及哺乳动物的主要能源物质。在 O₂ 供给充足的条件下，脂酸可在体内分解成 CO₂ 及 H₂O 并释出大量能量，以 ATP 形式供机体利用。除脑组织外，大多数组织均能氧化脂酸，但以肝及肌肉最活跃。

1. 脂酸的活化——脂酰 CoA 的生成 脂酸进行氧化前必须活化，活化在线粒体外进行。内质网及线粒体外膜上的脂酰 CoA 合成酶 (acyl-CoA synthetase) 在 ATP、CoASH、Mg²⁺ 存在的条件下，催化脂酸活化，生成脂酰 CoA。



脂酸活化后不仅含有高能硫酯键，而且增加了水溶性，从而提高了脂酸的代谢活性。反应过程中生成的焦磷酸 (PPi) 立即被细胞内的焦磷酸酶水解，阻止了逆向反应的进行。故 1 分子脂酸活化，实际上消耗了 2 个高能磷酸键。

2. 脂酰 CoA 进入线粒体 脂酸的活化在胞液中进行，而催化脂酸氧化的酶系存在于线粒体的基质内，因此活化的脂酰 CoA 必须进入线粒体内才能代谢。实验证明，长链脂酰 CoA 不能直接透过线粒体内膜。它进入线粒体需肉碱 [carnitine, L-(CH₃)₃N⁺CH₂CH(OH)CH₂COO⁻, L- β 羟- γ -三甲氨基丁酸] 的转运。

线粒体内膜外侧面存在肉碱脂酰转移酶 I (carnitine acyl transferase I), 它能催化长链脂酰 CoA 与肉碱合成脂酰肉碱 (acyl carnitine), 后者即可在线粒体内膜内侧面的肉碱-脂酰肉碱转位酶 (carnitine-acylcarnitine translocase) 的作用下, 通过内膜进入线粒体基质内。此转位酶实际上是线粒体内膜转运肉碱及脂酰肉碱的载体。它在转运 1 分子脂酰肉碱进入线粒体基质内的同时, 将 1 分子肉碱转运出线粒体内膜外。进入线粒体内的脂酰肉碱, 则在位于线粒体内膜内侧面的肉碱脂酰转移酶 II 的作用下, 转变为脂酰 CoA 并释出肉碱。脂酰 CoA 即可在线粒体基质中酶体系的作用下, 进行 β 氧化 (图 6-2)。

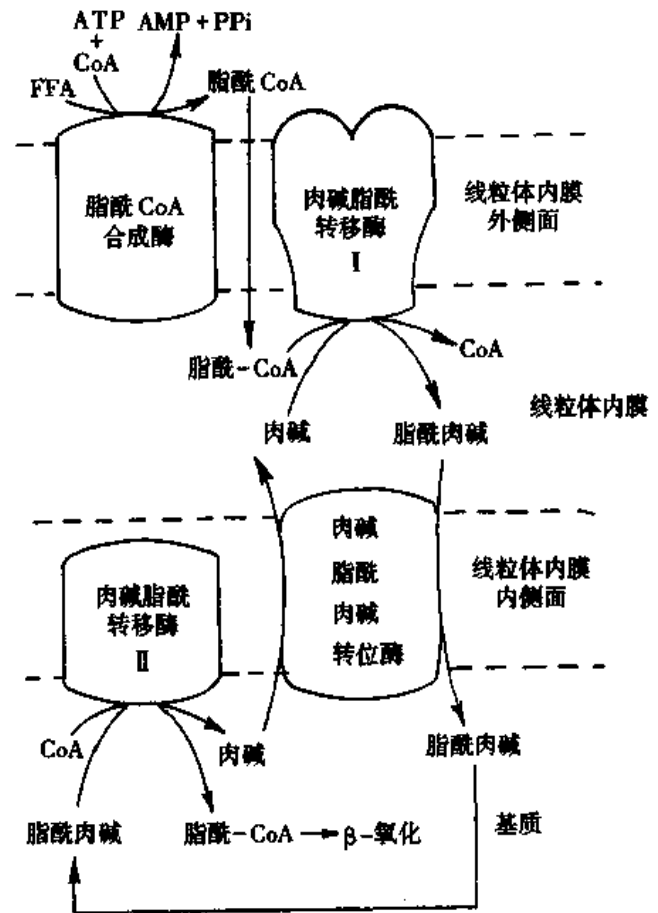


图 6-2 长链脂酰 CoA 进入线粒体的机制

肉碱脂酰转移酶 I 是脂酸 β 氧化的限速酶, 脂酰 CoA 进入线粒体是脂酸 β 氧化的主要限速步骤。当饥饿、高脂低糖膳食或糖尿病时, 机体不能利用糖, 需脂酸供能, 这时肉碱脂酰转移酶 I 活性增加, 脂酸氧化增强。相反, 饱食后, 脂肪合成及丙二酰 CoA 增加, 后者抑制肉碱脂酰转移酶 I 活性, 因而脂酸的氧化被抑制。

3. 脂酸的 β -氧化 1904 年 Knoop 用不能被机体分解的苯基标记脂酸的 ω 甲基, 以此喂养犬或兔, 发现如喂标记偶数碳的脂酸, 尿中排出的代谢物均为苯乙酸 ($C_6H_5CH_2COOH$), 如喂标记奇数碳的脂酸则尿中发现的代谢物均来自苯甲酸 (C_6H_5COOH)。据此他提出脂酸在体内的氧化分解是从羧基端 β -碳原子开始, 每次断裂 2 个碳原子的“ β -氧化学说”, 这是同位素示踪技术未建立前颇有创造性的实验。以后用酶学及同位素标记等技术证明, 他的设想是正确的。50 年代已基本阐明脂酸 β -氧化的过程。

脂酰 CoA 进入线粒体基质后, 在线粒体基质中疏松结合的脂酸 β -氧化多酶复合体的催化下, 从脂酰基的 β -碳原子开始, 进行脱氢、加水、再脱氢及硫解等四步连续反应, 脂酰基断裂生成 1 分子比原来少 2 个碳原子的脂酰 CoA 及 1 分子乙酰 CoA (图 6-3)。

脂酸 β -氧化的过程如下:

(1) 脱氢: 脂酰 CoA 在脂酰 CoA 脱氢酶的催化下, α 、 β 碳原子各脱下一氢原子, 生成反 Δ^2 烯酰 CoA。脱下的 2H 由 FAD 接受生成 $FADH_2$ 。

(2) 加水: 反 Δ^2 烯酰 CoA 在 Δ^2 烯酰水化酶的催化下, 加水生成 L(+)- β -羟脂酰

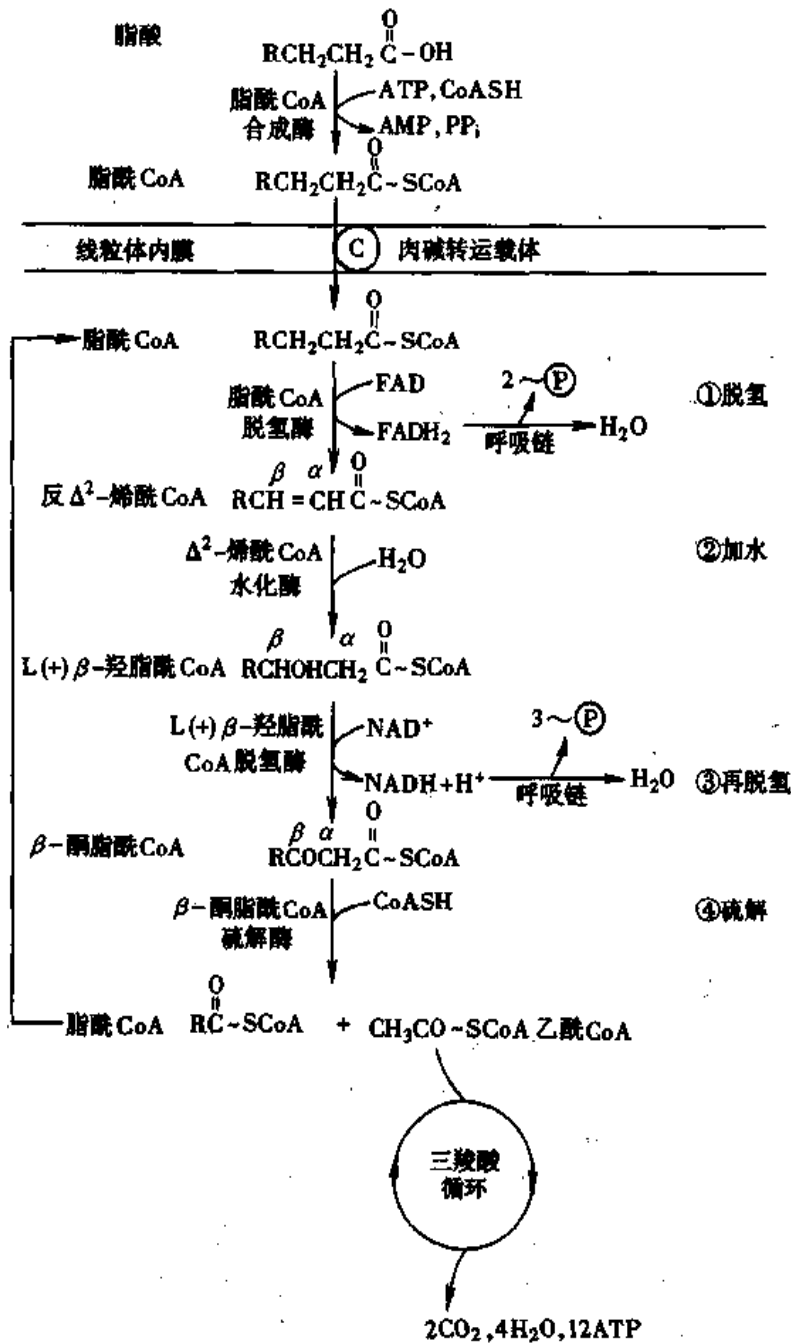


图 6-3 脂酸 β -氧化

CoA。

(3) 再脱氢: L(+)- β -羟脂酰 CoA 在 β -羟脂酰 CoA 脱氢酶的催化下, 脱下 2H 生成 β -酮脂酰 CoA, 脱下的 2H 由 NAD^+ 接受, 生成 $NADH$ 及 H^+ 。

(4) 硫解: β -酮脂酰 CoA 在 β -酮脂酰 CoA 硫解酶催化下, 加 $CoASH$ 使碳链断裂, 生成 1 分子乙酰 CoA 和少 2 个碳原子的脂酰 CoA。

以上生成的比原来少 2 个碳原子的脂酰 CoA, 可再进行脱氢、加水、再脱氢及硫解反应。如此反复进行, 直至最后生成丁酰 CoA, 后者再进行一次 β -氧化, 即完成脂酸的 β -氧化。

脂酸经 β -氧化后生成大量的乙酰 CoA。乙酰 CoA 一部分在线粒体中通过三羧酸循环彻底氧化，一部分在线粒体中缩合生成酮体，通过血液运送至肝外组织氧化利用。

4. 脂酸氧化的能量生成 脂酸氧化是体内能量的重要来源。以软脂酸为例，进行 7 次 β -氧化，生成 7 分子 $FADH_2$ 、7 分子 $NADH + H^+$ 及 8 分子乙酰 CoA。每分子 $FADH_2$ 通过呼吸链氧化产生 2 分子 ATP，每分子 $NADH + H^+$ 氧化产生 3 分子 ATP，每分子乙酰 CoA 通过三羧酸循环氧化产生 12 分子 ATP。因此 1 分子软脂酸彻底氧化共生成 $(7 \times 2) + (7 \times 3) + (8 \times 12) = 131$ 个 ATP。减去脂酸活化时耗去的 2 个高能磷酸键，相当于 2 个 ATP，净生成 129 分子 ATP 或 $129 \times 51.6 = 6656 \text{ kJ/mol}$ 。1 mol 软脂酸在体外彻底氧化成 CO_2 及 H_2O 时的自由能为 9791 kJ。故其能量利用效率为：

$$\frac{6656}{9791} \times 100 = 68\%$$

即软脂酸在体内氧化生成的能量 68% 储存在 ATP 的高能磷酸键中，其余以热能丧失。由此可见，脂酸和葡萄糖一样都是机体的重要能源，且以重量计脂酸产生的能量比葡萄糖多(表 6-1)。

表 6-1 软脂酸与葡萄糖在体内氧化产生 ATP 的比较

	软脂酸	葡萄糖
以 1mol 计	129ATP	38ATP
以 100g 计	50.4ATP	21.1ATP
能量利用效率	68%	68%

(三) 脂酸的其他氧化方式

1. 不饱和脂酸的氧化 机体中脂酸约一半以上是不饱和脂酸。不饱和脂酸也在线粒体中进行 β -氧化。所不同的是，饱和脂酸 β -氧化过程中产生的脂酰 CoA 是反式 Δ^2 烯酰 CoA，而天然不饱和脂酸中的双键均为顺式。因此当不饱和脂酸在氧化过程中产生顺式 Δ^3 中间产物时， β -氧化即不能继续进行，需经线粒体特异的 Δ^3 顺 $\rightarrow \Delta^2$ 反烯酰 CoA 异构酶(Δ^3 -cis $\rightarrow \Delta^2$ -trans enoyl-CoA isomerase)的催化，将 Δ^3 顺式转变为 β -氧化酶系所需的 Δ^2 反式构型， β -氧化才能继续进行。如不饱和脂酸经 β -氧化后生成顺式 Δ^2 脂酰 CoA，则水化生成 D(-)- β -羟脂酰 CoA。后者需经线粒体的 D(-)- β -羟脂酰 CoA 表构酶(epimerase)催化，将右旋异构体转变为 β -氧化酶系所需的 L(+)- β -羟脂酰 CoA 左旋异构体，才能继续进行 β -氧化。

2. 过氧化酶体脂酸氧化 除线粒体外，过氧化酶体(peroxisomes)中亦存在脂酸 β -氧化酶系，它能使极长链脂酸(如 C_{20} , C_{22})氧化成较短链脂酸，而对较短链脂酸无效。其第一步反应由 FAD 为辅基的脂酸氧化酶催化，脱下的氢不与呼吸链偶联产生 ATP 而生成 H_2O_2 ，后者为过氧化氢酶分解。其生理功能主要是使不能进入线粒体的廿碳，廿二碳脂酸先氧化成较短链脂酸，以便能进入线粒体内分解氧化。

3. 丙酸的氧化 人体含有极少量奇数碳原子，脂酸 β -氧化后除生成乙酰 CoA 外，还生成 1 分子丙酰 CoA。此外，支链氨基酸氧化亦可产生丙酰 CoA。丙酰 CoA 经 β -氧化及异构酶的作用可转变为琥珀酰 CoA，然后参加三羧酸循环而被氧化。

(四) 酮体的生成及利用

乙酰乙酸(acetoacetate)、β-羟丁酸(β-hydroxybutyrate)及丙酮(acetone)三者统称酮体(ketone bodies)。酮体是脂酸在肝分解氧化时特有的中间代谢物,这是因为肝具有活性较强的合成酮体的酶系,而又缺乏利用酮体的酶系。

1. 酮体的生成 脂酸在线粒体中经β-氧化生成的大量乙酰 CoA 是合成酮体的原料。合成在线粒体内酶的催化下,分三步进行。

(1) 2分子乙酰 CoA 在肝线粒体乙酰乙酰 CoA 硫解酶(thiolase)的作用下,缩合成乙酰乙酰 CoA,并释出1分子 CoASH。

(2) 乙酰乙酰 CoA 在羟甲基戊二酸单酰 CoA (HMG CoA)合成酶的催化下,再与1分子乙酰 CoA 缩合生成羟甲基戊二酸单酰 CoA (3-hydroxy-3-methyl glutaryl CoA, HMG CoA),并释出1分子 CoASH。

(3) 羟甲基戊二酸单酰 CoA 在 HMG CoA 裂解酶的作用下,裂解生成乙酰乙酸和乙酰 CoA。

乙酰乙酸在线粒体内膜β-羟丁酸脱氢酶的催化下,被还原成β-羟丁酸,所需的氢由 NADH 提供,还原的速度由 NADH/NAD⁺ 的比值决定。部分乙酰乙酸可在酶催化下脱羧而成丙酮(图 6-4)。

肝线粒体内含有各种合成酮体的酶类,尤其是 HMG CoA 合成酶,因此生成酮体是肝特有的功能。但是肝氧化酮体的酶活性很低,因此肝不能氧化酮体。肝产生的酮体,透过细胞膜进入血液运输到肝外组织进一步分解氧化。

2. 酮体的利用 肝外许多组织具有活性很强的利用酮体的酶。

(1) 琥珀酰 CoA 转硫酶:心、肾、脑及骨骼肌的线粒体具有较高的酶活性。在有琥珀酰 CoA 存在时,此酶能使乙酰乙酸活化,生成乙酰乙酰 CoA。

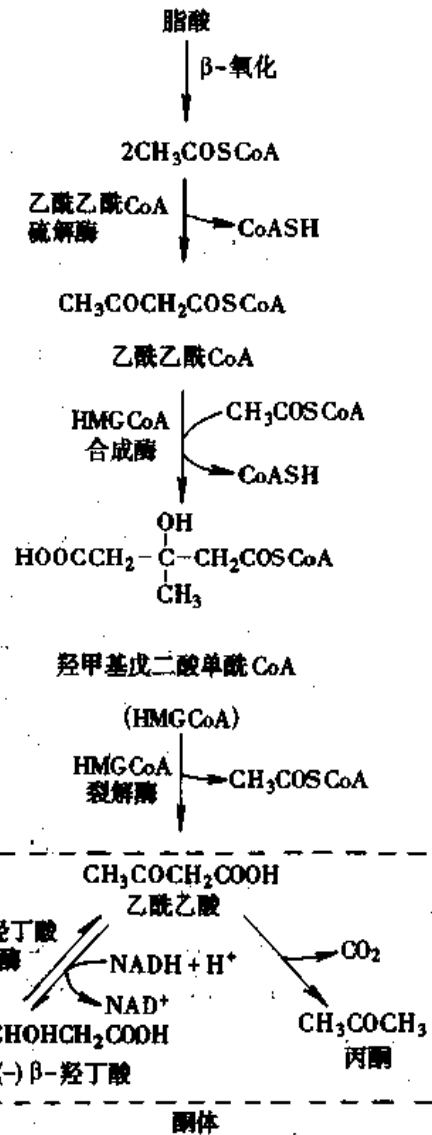
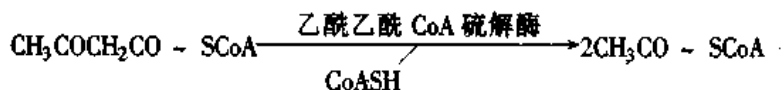


图 6-4 酮体的生成



(2) 乙酰乙酰 CoA 硫解酶：心、肾、脑及骨骼肌线粒体中还有乙酰乙酰 CoA 硫解酶，使乙酰乙酰 CoA 硫解，生成 2 分子乙酰 CoA，后者即可进入三羧酸循环彻底氧化。



(3) 乙酰乙酰硫激酶：肾、心和脑的线粒体中尚有乙酰乙酰硫激酶，可直接活化乙酰乙酸生成乙酰乙酰 CoA，后者在硫解酶的作用下硫解为 2 分子乙酰 CoA。

β -羟基丁酸在 β -羟丁酸脱氢酶的催化下，脱氢生成乙酰乙酸；然后再转变成乙酰 CoA 而被氧化。部分丙酮可在一系列酶作用下转变为丙酮酸或乳酸，进而异生成糖。这是脂酸的碳原子转变成糖的一个途径。

总之，肝是生成酮体的器官，但不能利用酮体；肝外组织不能生成酮体，却可以利用酮体。

3. 酮体生成的生理意义 酮体是脂酸在肝内正常的中间代谢产物，是肝输出能源的一种形式。酮体溶于水，分子小，能通过血脑屏障及肌肉毛细血管壁，是肌肉，尤其是脑组织的重要能源。脑组织不能氧化脂酸，却能利用酮体。长期饥饿、糖供应不足时酮体可以代替葡萄糖，成为脑组织及肌肉的主要能源。

正常情况下，血中仅含有少量酮体，为 0.03 ~ 0.5 mmol/L (0.3 ~ 5 mg/dl)。在饥饿、高脂低糖膳食及糖尿病时，脂酸动员加强，酮体生成增加。尤其在未控制糖尿病患者，酮体生成成为正常情况的数十倍，这时丙酮约占酮体总量的一半。酮体生成超过肝外组织利用的能力，引起血中酮体升高，可导致酮症酸中毒，并随尿排出，引起酮尿。

4. 酮体生成的调节

(1) 饱食及饥饿的影响：饱食后，胰岛素分泌增加，脂解作用抑制、脂肪动员减少，进入肝的脂酸减少，因而酮体生成减少。饥饿时，胰高血糖素等脂解激素分泌增多，脂酸动员加强，血中游离脂酸浓度升高而使肝摄取游离脂酸增多，有利于 β -氧化及酮体生成。

(2) 肝细胞糖原含量及代谢的影响：进入肝细胞的游离脂酸主要有两条去路，一是在胞液中酯化成甘油三酯及磷脂；一是进入线粒体内进行 β -氧化，生成乙酰 CoA 及酮体。饱食及糖供给充足时，肝糖原丰富，糖代谢旺盛，此时进入肝细胞的脂酸主要与 3-磷酸甘油反应，酯化生成甘油三酯及磷脂。饥饿或糖供给不足时，糖代谢减弱，3-磷酸甘油及 ATP 不足，脂酸酯化减少，主要进入线粒体进行 β -氧化，酮体生成增多。

(3) 丙二酰 CoA 抑制脂酰 CoA 进入线粒体：饱食后糖代谢正常进行时所生成的乙酰 CoA 及柠檬酸能别构激活乙酰 CoA 羧化酶，促进丙二酰 CoA 的合成。后者能竞争性抑制肉碱脂酰转移酶 I，从而阻止脂酰 CoA 进入线粒体内进行 β -氧化。

从上述可见，脂酸的氧化及酮体生成受多个环节的影响。

三、脂酸的合成代谢

长链脂酸系以乙酰 CoA 为原料在体内合成的。长期来设想脂酸的合成是脂酸 β -氧化的逆反应结果。现已证实，脂酸的合成主要通过线粒体外，不同于 β -氧化的脂酸合成酶等多功能酶催化而完成的。 β -氧化的逆反应只参与脂酸碳链的延长。肝内质网也具有

使脂酸碳链延长的酶体系。

(一) 软脂酸的合成

1. 合成部位 脂酸合成酶系存在于肝、肾、脑、肺、乳腺及脂肪等组织，位于线粒体外胞液中。肝是人体合成脂酸的主要场所，其合成能力较脂肪组织大8~9倍。脂肪组织是储存脂肪的仓库，它本身也可以葡萄糖为原料合成脂酸及脂肪，但主要摄取并储存由小肠吸收的食物脂酸以及肝合成的脂酸。

2. 合成原料 乙酰 CoA 是合成脂酸的主要原料，主要来自葡萄糖。细胞内的乙酰 CoA 全部在线粒体内产生，而合成脂酸的酶系存在于胞液。线粒体内的乙酰 CoA 必须进入胞液才能成为合成脂酸的原料。实验证明，乙酰 CoA 不能自由透过线粒体内膜，主要通过柠檬酸-丙酮酸循环(citrate pyruvate cycle)完成。在此循环中，乙酰 CoA 首先在线粒体内与草酰乙酸缩合生成柠檬酸，通过线粒体内膜上的载体转运即可进入胞液；胞液中 ATP 柠檬酸裂解酶，使柠檬酸裂解释出乙酰 CoA 及草酰乙酸。进入胞液的乙酰 CoA 即可用以合成脂酸，而草酰乙酸则在苹果酸脱氢酶的作用下还原成苹果酸，再经线粒体内膜载体转运入线粒体内。苹果酸也可在苹果酸酶作用下，分解为丙酮酸，再转运入线粒体，最终均形成线粒体内的草酰乙酸，再参与转运乙酰 CoA。

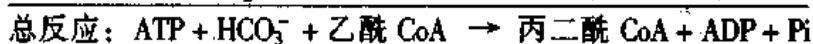
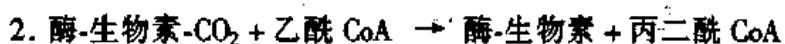
脂酸的合成除需乙酰 CoA 外，还需 ATP、NADPH、 HCO_3^- (CO_2) 及 Mn^{2+} 等。脂酸的合成系还原性合成，所需之氢全部由 NADPH 提供。NADPH 主要来自磷酸戊糖通路。胞液中异柠檬酸脱氢酶及苹果酸酶(二者均以 NADP 为辅酶)催化的反应也可提供少量的 NADPH。

3. 脂酸合成酶系及反应过程

(1) 丙二酰 CoA 的合成：乙酰 CoA 羧化成丙二酰 CoA 是脂酸合成的第一步反应。此反应由乙酰 CoA 羧化酶(acetyl CoA carboxylase)所催化，这是一种变构酶，是脂酸合成的限速酶。该酶存在于胞液中，辅基为生物素， Mn^{2+} 为激活剂。有两种存在形式，一是无活性的单体，分子量约为4万，另一是有活性的多聚体，分子量为60万~80万，通常由10~20个单体构成，呈线状排列，催化活性增加10~20倍。柠檬酸、异柠檬酸可使此酶发生变构，由无活性的单体聚合成有活性的多聚体，而软脂酰 CoA 及其他长链脂酰 CoA 能使多聚体解聚成单体，抑制乙酰 CoA 羧化酶的催化活性。

最近证明，乙酰 CoA 羧化酶也受磷酸化、去磷酸化的调节。此酶可被一种依赖于 AMP (而不是 cAMP) 的蛋白激酶磷酸化(79, 1200 及 1215 位丝氨酸残基磷酸化)而失活。胰高血糖素能激活此激酶而抑制乙酰 CoA 羧化酶的活性，而胰岛素则能通过蛋白磷酸酶的作用使磷酸化的乙酰 CoA 羧化酶脱去磷酸而恢复活性。高糖膳食可促进酶蛋白的合成，因而可促进乙酰 CoA 的羧化反应。

生物素是乙酰 CoA 羧化酶的辅基，在羧化反应中起了转移羧基的作用，其反应过程如下：



(2) 脂酸合成：从乙酰 CoA 及丙二酰 CoA 合成长链脂酸，实际上是一个重复加成

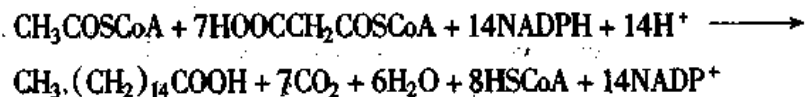
过程，每次延长2个碳原子。16碳软脂酸的生成，需经过连续的7次重复加成反应。各种生物合成脂酸的过程基本相似，大肠杆菌中，此种加成过程是由7种酶蛋白聚合在一起构成的多酶体系所催化的；而在高等动物，这7种酶活性都在一条多肽链上，属多功能酶，由一个基因所编码。

大肠杆菌的脂肪酸合成酶系中，有酰基载体蛋白(acyl carrier protein, ACP)，其辅基与CoA-SH相同，为4'磷酸泛酰氨基乙硫醇[4'-phosphopantetheine, $\text{HSCH}_2\text{CH}_2\text{NHCOCH}_2\text{-CH}_2\text{NHCOCHOHC}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{-OPO}_3^{2-}$]，是脂酸合成过程中脂酰基的载体，脂酸合成的各步反应均在ACP的辅基上进行。

哺乳类动物中，7种酶活性均在分子量为250kD的一条多肽链上，属多功能酶。具有活性的酶是由两个完全相同的多肽链(亚基)首尾相连组成的二聚体，此二聚体解聚则活性丧失。每一亚基均有-ACP结构域，其丝氨酸残基连有4'磷酸泛酰氨基乙硫醇，作为脂酸合成过程中脂酰基的载体，可与脂酰基相连，用 E_1 -泛-SH表示。此外，在每一亚基的酮脂酰合成酶结构域中的一半胱氨酸残基的SH基亦很重要，它也能与脂酰基相连，用 E_2 -半胱SH表示。

脂酸的合成步骤见图6-5。

丁酰-E是脂酸合成酶催化合成的第一轮产物。通过这一轮反应，即酰基转移、缩合、还原、脱水、再还原等步骤，碳原子由2增加至4个。然后丁酰由 E_2 -泛-SH转移至 E_1 -半胱-SH上， E_2 -泛-SH(即ACP的SH)基又可与一新的丙二酰基结合，进行缩合、还原、脱水、再还原等步骤的第二轮反应。经过7次循环之后，生成16个碳原子的软脂酰-E₂，然后经硫解酶的水解，即生成终产物游离的软脂酸。软脂酸合成的总反应式为：



(二) 脂酸碳链的加长

脂酸合成酶催化合成的脂酸是软脂酸。更长碳链的脂酸则是对软脂酸的加工，使其碳链延长。碳链延长在肝细胞的内质网或线粒体中进行。

1. 内质网脂酸碳链延长酶体系 软脂酸碳链延长主要通过此酶系的作用。以丙二酰CoA为二碳单位的供给体，由 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 供氢，通过缩合、加氢、脱水及再加氢等反应，每一轮可增加2个碳原子，反复进行可使碳链逐步延长。其合成过程与软脂酸的合成相似，但脂酰基连在CoASH上进行反应，而不是以ACP为载体。一般可将脂酸碳链延长至二十四碳，但以十八碳的硬脂酸为最多。

2. 线粒体酶体系 在线粒体脂酸延长酶体系的催化下，软脂酰CoA与乙酰CoA缩合，生成 β -酮硬脂酰CoA，然后由 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 供氢，还原为 β -羟硬脂酰CoA，又脱水生成 α, β -硬脂烯酰CoA，再由 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 供氢，即还原为硬脂酰CoA，其过程与 β -氧化的逆反应基本相似，但需 α, β -烯酰还原酶及 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 。通过此种方式，每一轮反应可加上2个碳原子，一般可延长脂酸碳链至24或26个碳原子，而以硬脂酸最多。

(三) 不饱和脂酸的合成

人体含有的不饱和脂酸主要有软油酸(16:1, Δ^9)、油酸(18:1, Δ^9)、亚油酸(18:2,

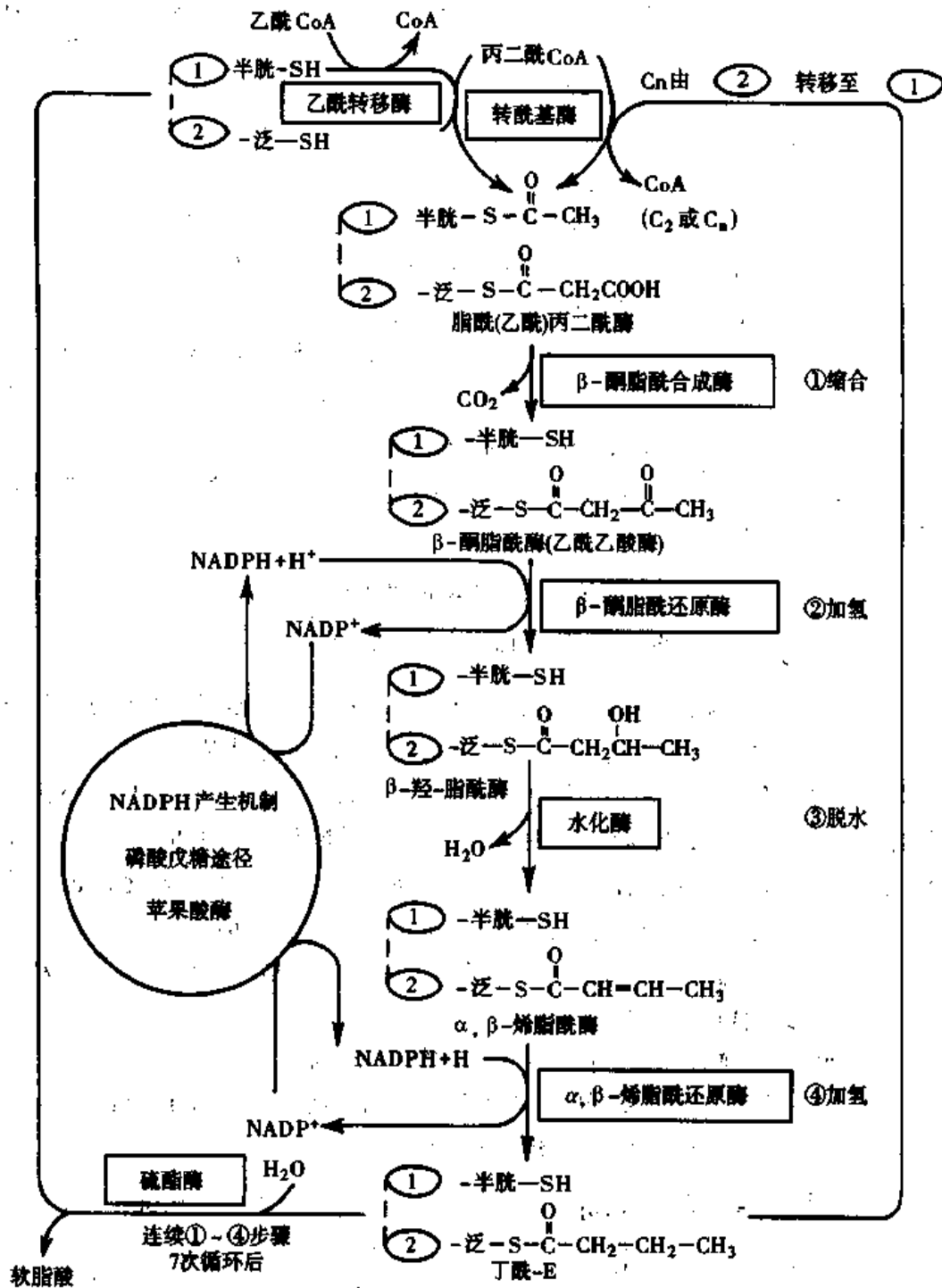


图 6-5 软脂酸的生物合成

$\Delta^{9,12}$), 亚麻酸(18:3, $\Delta^{9,12,15}$)及花生四烯酸(20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$)等。前两种单不饱和脂酸可由人体自身合成, 而后三种多不饱和脂酸, 必须从食物摄取。这是因为动物只有 Δ^4 , Δ^5 , Δ^8 及 Δ^9 去饱和酶(desaturase), 缺乏 Δ^9 以上的去饱和酶, 而植物则含有 Δ^9 , Δ^{12} 及 Δ^{15} 去饱和酶。

(四) 脂酸合成的调节

1. 代谢物的调节作用 进食高脂肪食物以后, 或饥饿而脂肪动员加强时, 肝细胞

内脂酰 CoA 增多, 可别构抑制乙酰 CoA 羧化酶, 从而抑制体内脂酸的合成; 进食糖类而糖代谢加强, NADPH 及乙酰 CoA 供应增多, 有利于脂酸的合成, 同时糖代谢加强使细胞内 ATP 增多, 可抑制异柠檬酸脱氢酶, 造成异柠檬酸及柠檬酸堆积, 透出线粒体, 可别构激活乙酰 CoA 羧化酶, 使脂酸合成增加。此外, 大量进食糖类也能增强各种合成脂肪有关的酶活性从而使脂肪合成增强。

2. 激素的调节作用 胰岛素是调节脂肪合成的主要激素。它能诱导乙酰 CoA 羧化酶、脂酸合成酶、乃至 ATP-柠檬酸裂解酶等的合成, 从而促进脂酸合成。同时, 由于胰岛素也能加强脂酸合成磷脂酸, 因此增加了脂肪合成。

胰高血糖素通过增加蛋白激酶 A 活性使乙酰 CoA 羧化酶磷酸化而降低其活性, 故能抑制脂酸的合成, 此外也抑制甘油三酯的合成, 甚至减少肝脂肪向血中释放。肾上腺素、生长素也能抑制乙酰 CoA 羧化酶, 从而影响脂酸合成。

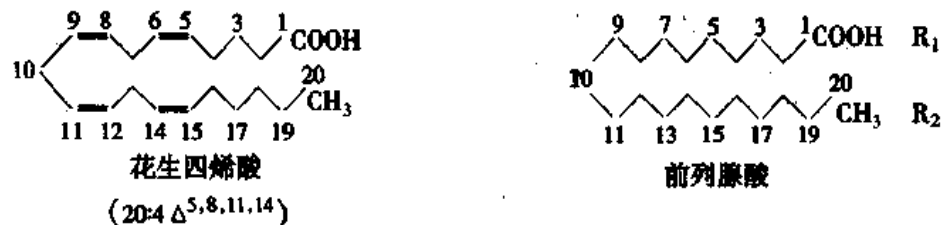
胰岛素能加强脂肪组织的脂蛋白脂酶活性, 促使脂酸进入脂肪组织, 再加速合成脂肪而贮存, 故易导致肥胖。

四、多不饱和脂酸的重要衍生物—— 前列腺素、血栓噁烷及白三烯

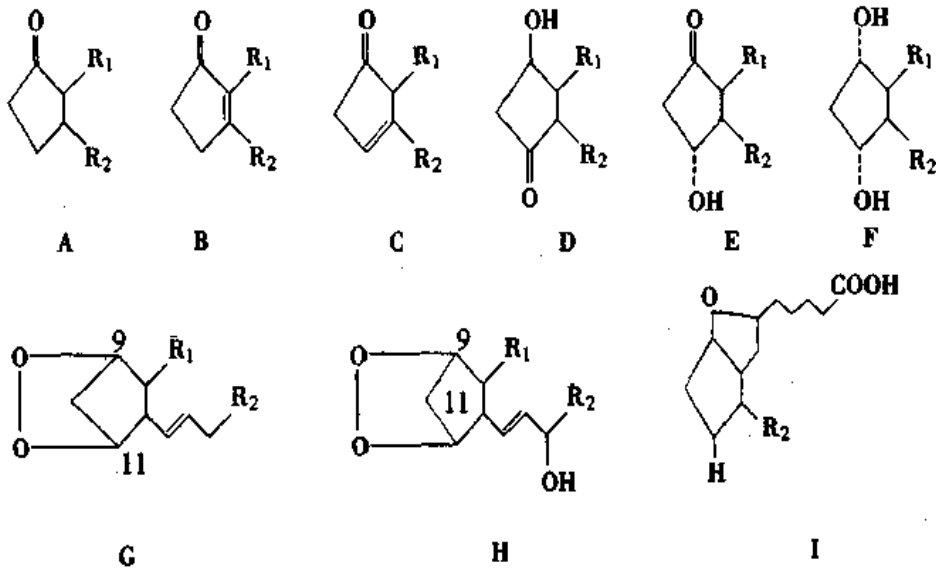
20 世纪 30 年代瑞典 Von Euler 等发现人精液中含有一种可使平滑肌收缩的物质, 认为来自前列腺, 故称之为前列腺素(prostaglandin, PG)。现知前列腺素来源广泛, 种类繁多, 但均为廿碳多不饱和脂酸的衍生物。1973 年 Hamberg 及 Samuelsson 从血小板提取了血栓噁烷(thromboxane A_2 , TXA_2), 证明也是廿碳多不饱和脂肪酸的衍生物。1979 年 Samuelsson 及 Borngreat 从白细胞分离出一类活性物质, 具有三个共轭双键, 也是廿碳多不饱和脂肪酸衍生而来, 称之为白三烯(leukotrienes, LTs)。近年来发现, PG、 TXA_2 及 LTs 几乎参与了所有细胞代谢活动, 并且与炎症、免疫、过敏、心血管病等重要病理过程有关, 在调节细胞代谢上具有重要作用。

(一) 前列腺素、血栓噁烷、白三烯的化学结构及命名

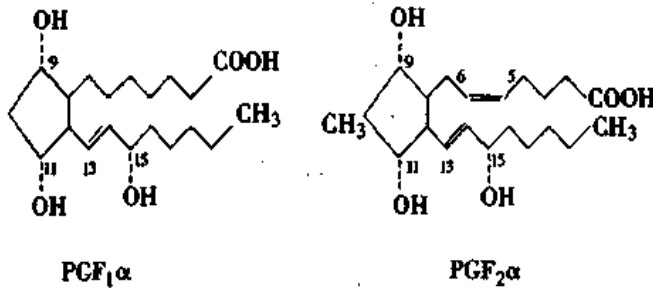
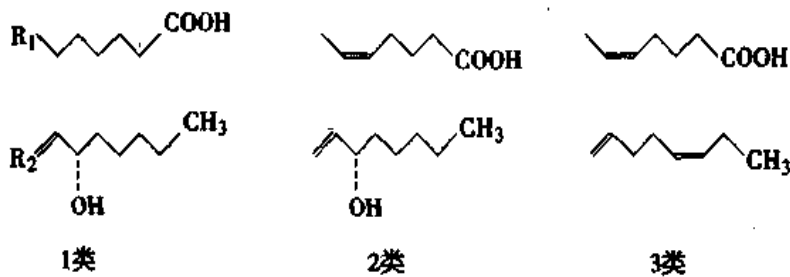
前列腺素是一类具有廿碳原子的多不饱和脂酸衍生物, 以前列腺酸(prostanoic acid)为基本骨架, 具有一个五碳环和两条侧链(R_1 及 R_2)。



根据五碳环上取代基团和双键位置不同, PG 分为 9 型, 分别命名为 PGA、B、C、D、E、F、G、H 及 I, 体内 PGA, E 及 F 较多。PGG₂ 和 PGH₂ 是 PG 合成过程中的中间物, 在 C₉ 和 C₁₁ 之间有过氧化键相连。PGI₂ 是带双环的 PG, 除五碳环外, 还有一个含氧的五碳环, 因此又称为前列腺环素(prostacyclin)。前列腺素 F 第 9 位碳原子上的羟基



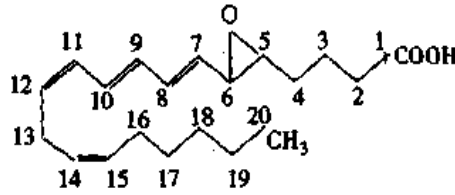
根据其 R_1 及 R_2 两条侧链中双键数目的多少, PG 又分为 1, 2, 3 类, 在字母的右下角标示。



血栓噁烷也是廿碳不饱和脂酸的衍生物, 它有前列腺酸样骨架但又不相同, 分子中的五碳环为含氧的噁烷所取代。



白三烯是不含前列腺酸骨架的廿碳多不饱和脂酸。一般 LT 有 4 个双键, 所以在 LT 字母的右下方标以 4。LT 合成的初级产物为 LTA₄, 在 5, 6 位上有一氧环。如在 12 位加水引入羟基, 并将 5, 6 位的环氧键断裂, 则为 LTB₄。如 LTA₄ 的 5, 6 环氧键打开, 在 6



白三烯 A_4 (LTA_4)

位与谷胱甘肽反应则生成 LTC_4 、 LTD_4 及 LTE_4 等衍生物。过敏反应的慢反应物质(slow reacting substances of anaphylaxis)现已证明就是三者的混合物。

(二) PG、TX 及 LT 的合成

1. 前列腺素及血栓噁烷的合成 除红细胞外，全身各组织均有合成 PG 的酶系，血小板尚有血栓噁烷合成酶。细胞膜中的磷脂含有丰富的花生四烯酸。当细胞受外界刺激如血管紧张素 II (angiotensin II)、缓激肽(bradykinin)、肾上腺素、凝血酶及某些抗原抗体复合物或一些病理因子(许多激活因素尚未清楚)，细胞膜中磷脂酶 A_2 被激活，使磷脂水解释出花生四烯酸，然后在一系列酶作用下合成 PG、TX (图 6-6)。

2. 白三烯的合成 花生四烯酸在脂过氧化酶(lipoxygenase)作用下生成氢过氧化廿碳四烯酸(5-hydroperoxy eicotetraenoic acid, 5-HPETE)，然后在脱水酶作用下生成白三烯(LTA_4)。 LTA_4 在酶催化下转变成具有重要生物活性的化合物，如 LTB_4 、 LTC_4 、 LTD_4 及 LTE_4 等(图 6-6)。

(三) PG、TX 及 LT 的生理功能

PG 等在细胞内含量很低，仅 10^{-11} mol/L，但具有很强的生理活性。

1. PG PGE_2 能诱发炎症，促进局部血管扩张，毛细血管通透性增加，引起红、肿、痛、热等症状。 PGE_2 、 PGA_2 使动脉平滑肌舒张，有降低血压的作用。 PGE_2 及 PGI_2 抑制胃酸分泌，促进胃肠平滑肌蠕动。卵泡产生的 PGE_2 及 $PGF_{2\alpha}$ 在排卵过程中起重要作用。 $PGF_{2\alpha}$ 可使卵巢平滑肌收缩，引起

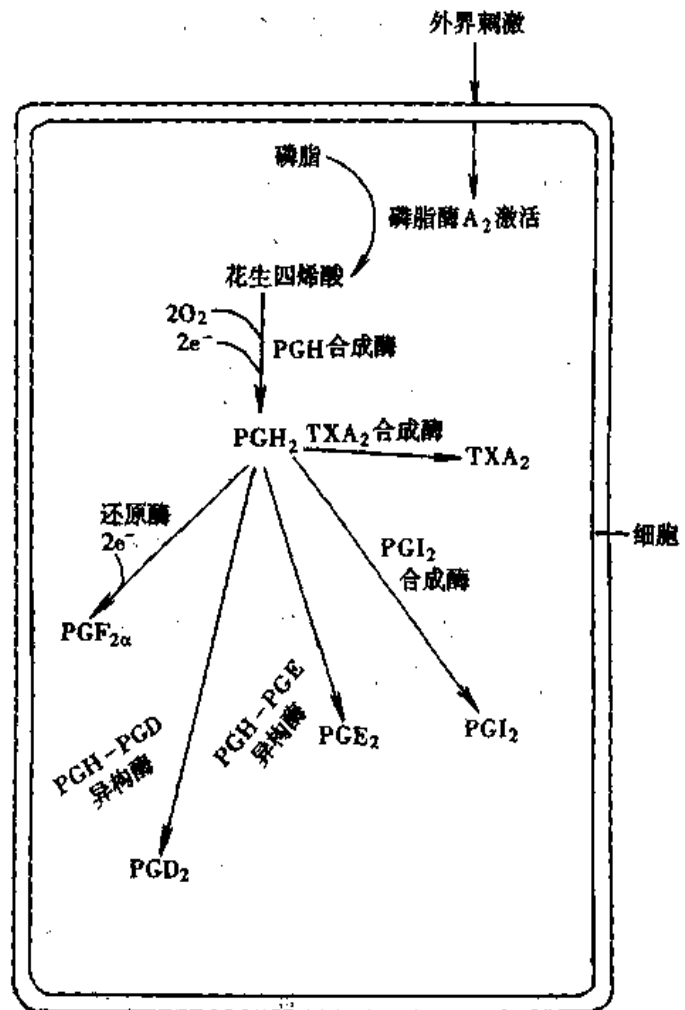


图 6-6 前列腺素及血栓噁烷的合成

排卵。子宫释放的 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 能使黄体溶解。分娩时子宫内膜释出的 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 能引起子宫收缩加强，促进分娩。

2. TX 血小板产生的 TXA_2 及 PGE_2 促进血小板聚集，血管收缩，促进凝血及血栓形成。而血管内皮细胞释放的 PGI_2 则有很强的舒血管及抗血小板聚集，抑制凝血及血栓形成的作用，与 TXA_2 的作用对抗。北极地区爱斯基摩人摄食富含廿碳五烯酸的海水鱼类食物，因而能在体内合成 PGE_3 ， PGI_3 及 TXA_3 等三类化合物。 PGI_3 能抑制花生四烯酸从膜磷脂释放，因而抑制 PGI_2 及 TXA_2 的合成。由于 PGI_3 的活性与 PGI_2 相同，而 TXA_3 则较 TXA_2 弱得多，因此爱斯基摩人抗血小板聚集及抗凝血作用较强，被认为是他们不易患心肌梗死的重要原因之一。

3. LT 已证实过敏反应的慢反应物质(SRS-A)是 LTC_4 、 LTD_4 及 LTE_4 的混合物，其使支气管平滑肌收缩的作用较组胺及 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 强 100 ~ 1 000 倍，作用缓慢而持久。此外， LTB_4 还能调节白细胞的功能，促进其游走及趋化作用，刺激腺苷酸环化酶，诱发多形核白细胞脱颗粒，使溶酶体释放水解酶类，促进炎症及过敏反应的发展。

IgE 与肥大细胞表面受体结合，可引起肥大细胞释放 LTC_4 、 LTD_4 及 LTE_4 ，三者引起支气管及胃肠平滑肌剧烈收缩。 LTD_4 还使毛细血管通透性增加， LTB_4 使中性及嗜酸性粒细胞游走，引起炎症浸润。

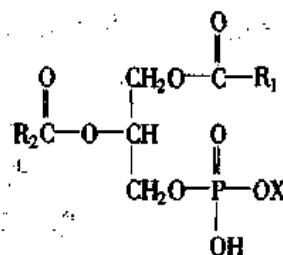
第三节 磷脂的代谢

含磷酸的脂类称磷脂。由甘油构成的磷脂统称甘油磷脂，由鞘氨醇构成的磷脂称鞘磷脂。体内含量最多的磷脂是甘油磷脂。因与磷酸相连的取代基团的不同，甘油磷脂分为磷脂酰胆碱(卵磷脂)、磷脂酰乙醇胺(脑磷脂)、磷脂酰丝氨酸，磷脂酰甘油，二磷脂酰甘油(心磷脂)及磷脂酰肌醇等，每一类磷脂可因组成的脂酸不同而有若干种。

一、甘油磷脂的代谢

(一) 甘油磷脂的组成、分类及结构

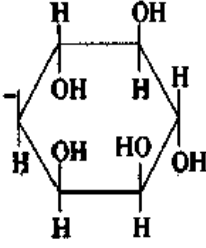
甘油磷脂由甘油、脂酸、磷酸及含氮化合物等组成，其基本结构为：



在甘油的 1 位和 2 位羟基上各结合 1 分子脂酸，通常 2 位脂酸为花生四烯酸，在 3

位羟基上再结合 1 分子磷酸，即为最简单的甘油磷脂——磷脂酸。与磷酸羟基相连的取代基团不同，即 X 的不同，可将甘油磷脂分为六类(表 6-2)。

表 6-2 机体几类重要的甘油磷脂

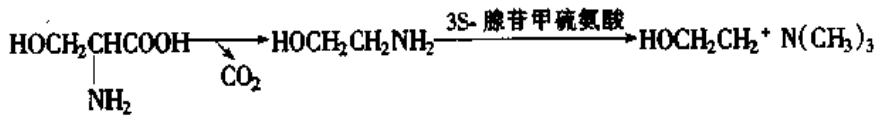
X-OH	X 取代基	甘油磷脂的名称
水	—H	磷脂酸
胆碱	—CH ₂ CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃	磷脂酰胆碱(卵磷脂)
乙醇胺	—CH ₂ CH ₂ NH ₃ ⁺	磷脂酰乙醇胺(脑磷脂)
丝氨酸	—CH ₂ CHNH ₂ COOH	磷脂酰丝氨酸
甘油	—CH ₂ CHOHCH ₂ OH	磷脂酰甘油
磷脂酰甘油	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OCOR}_1 \\ \\ \text{O} \\ \\ \text{—CH}_2\text{CHOHCH}_2\text{O—P—OCH}_2 \\ \\ \text{OH} \end{array} $	二磷脂酰甘油(心磷脂)
肌醇		磷脂酰肌醇

每一类磷脂又因脂酸的不同分为若干种，红细胞就有 100 种以上的不同磷脂。磷脂含有 2 条疏水的脂酰基长链(疏水尾)，又含有极性强的磷酸及取代基团(极性头)，因此它是双性化合物，当它分散在水溶液中，其亲水的极性头趋向于水相，而疏水尾则互相聚集，避免与水接触，形成稳定的微团或自动排列成双分子层。磷脂双分子层是生物膜的最基本结构。

(二) 甘油磷脂的合成

1. 合成部位 和脂肪的合成不同，全身各组织细胞内质网均有合成磷脂的酶系，因此均能合成甘油磷脂，但以肝、肾及肠等组织最活跃。

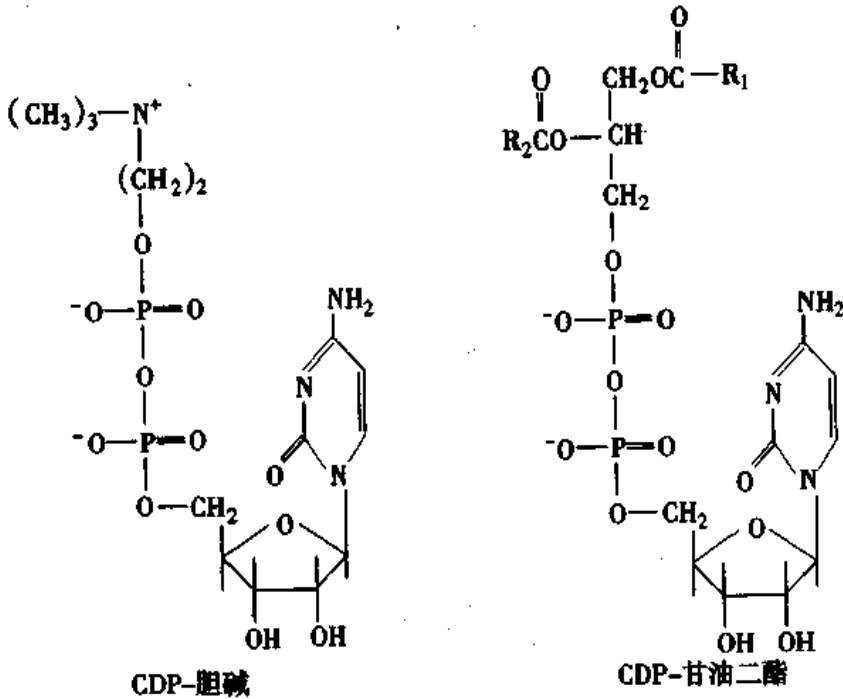
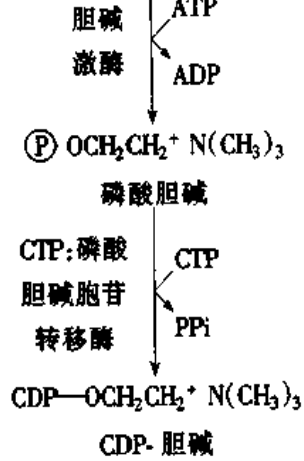
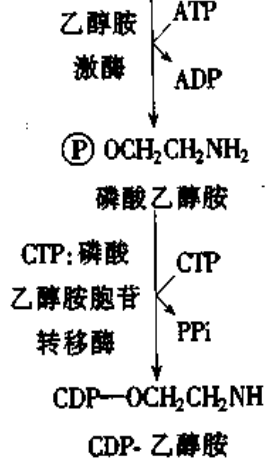
2. 合成的原料及辅因子 除脂酸、甘油主要由葡萄糖代谢转化而来外，其 2 位的多不饱和脂酸必须从植物油摄取。另外还需磷酸盐、胆碱(choline)、丝氨酸、肌醇(inositol)等。胆碱可由食物供给，亦可由丝氨酸及甲硫氨酸在体内合成。丝氨酸本身是合成磷脂酰丝氨酸的原料，脱羧后生成的乙醇胺又是合成磷脂酰乙醇胺的前体。乙醇胺由 S-腺苷甲硫氨酸获得 3 个甲基即可合成胆碱。合成除需 ATP 外，还需 CTP 参加。CTP 在磷脂合成中特别重要，它为合成 CDP-乙醇胺、CDP-胆碱及 CDP-甘油二酯等活化中间物所必需。



丝氨酸

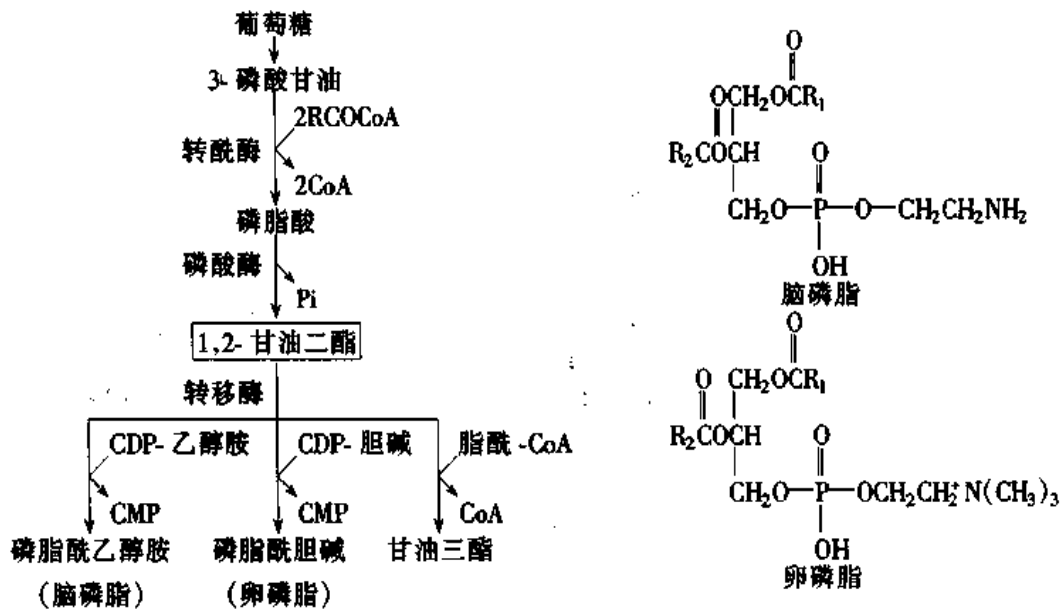
乙醇胺

胆碱

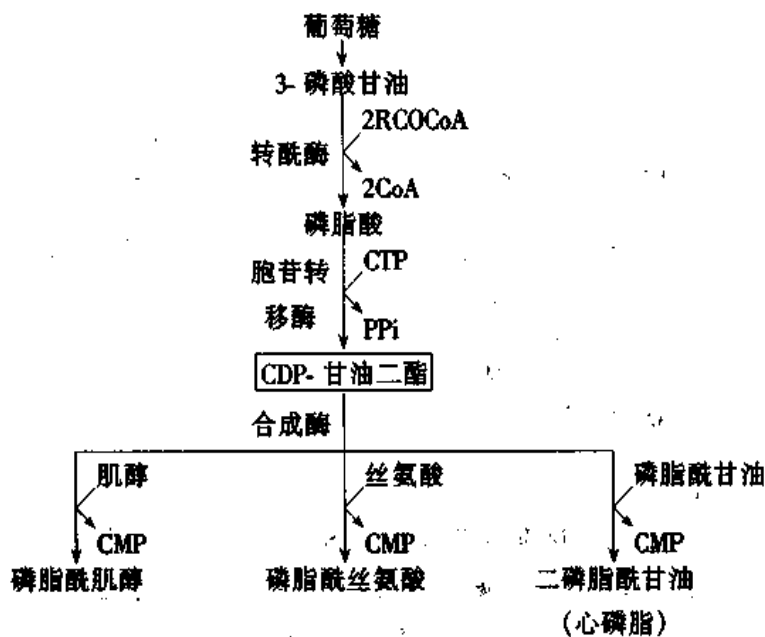


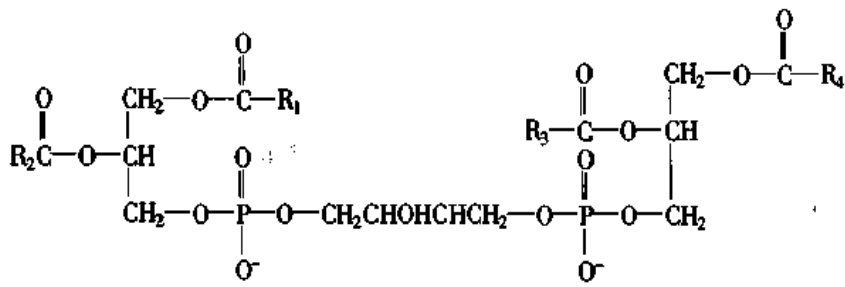
3. 合成基本过程

(1) 甘油二酯合成途径：磷脂酰胆碱及磷脂酰乙醇胺主要通过此途径合成。这两类磷脂在体内含量最多，占组织及血液中磷脂的75%以上。甘油二酯是合成的重要中间物。胆碱及乙醇胺由活化的 CDP-胆碱及 CDP-乙醇胺提供。

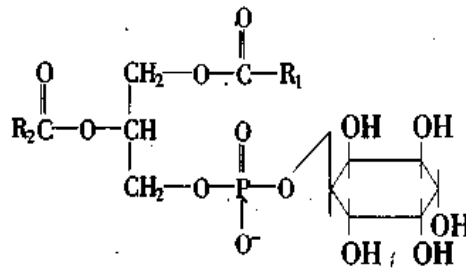


(2) CDP-甘油二酯合成途径：肌醇磷脂 (phosphatidyl inositol)、丝氨酸磷脂 (phosphatidyl serine) 及心磷脂 (cardiolipin) 由此途径合成。由葡萄糖生成磷脂酸与上述途径相同。不同的是磷脂酸不被磷酸酶水解，本身即为合成这类磷脂的前体。然后，磷脂酸由 CTP 提供能量，在磷脂酰胞苷转移酶的催化下，生成活化的 CDP-甘油二酯。CDP-甘油二酯是合成这类磷脂的直接前体和重要中间物，在相应合成酶的催化下，与丝氨酸、肌醇或磷脂酰甘油缩合，即生成磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇或二磷脂酰甘油 (心磷脂)。

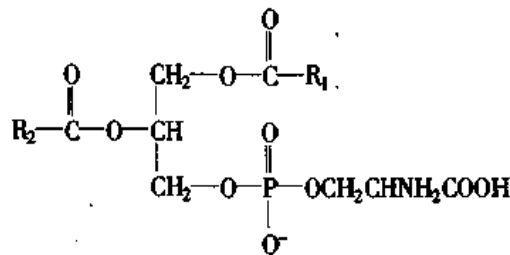




二磷脂酰甘油(心磷脂)



磷脂酰肌醇



磷脂酰丝氨酸

以上是各类磷脂合成的基本过程。此外磷脂酰胆碱亦可由磷脂酰乙醇胺从S-腺苷甲硫氨酸获得甲基生成，通过这种方式合成占人肝的10%~15%。磷脂酰丝氨酸可由磷脂酰乙醇胺羧化或其乙醇胺与丝氨酸交换生成。

甘油磷脂的合成在内质网膜外侧面进行。最近发现，在胞液中存在一类能促进磷脂在细胞内膜之间进行交换的蛋白质，称磷脂交换蛋白(phospholipid exchange proteins)，分子量在16000~30000之间，等电点大多在pH 5.0左右。不同的磷脂交换蛋白催化不同种类磷脂在膜之间进行交换。合成的磷脂即可通过这类蛋白的作用转移至不同细胞器膜上，从而更新其磷脂。例如在内质网合成的心磷脂可通过这种方式转至线粒体内膜，而构成内膜特征性磷脂。

Ⅱ型肺泡上皮细胞可合成由2分子软脂酸构成的特殊磷脂酰胆碱，其1,2位均为软脂酰基，称为二软脂酰胆碱，是较强的乳化剂，能降低肺泡的表面张力，有利于肺泡的伸张。如新生儿肺泡上皮细胞合成障碍，则引起肺不张。

(三) 甘油磷脂的降解

生物体内存在能使甘油磷脂水解的多种磷脂酶类(phospholipase)，分别作用于甘油磷脂分子中不同的酯键。作用于1,2位酯键的酶分别称为磷脂酶A₁及A₂，作用于溶血磷脂1位酯键的酶称为磷脂酶B₁，作用于3位磷酸酯键的酶称为磷脂酶C，作用磷酸取代

基间酯键的酶称为磷脂酶 D (图 6-7)。

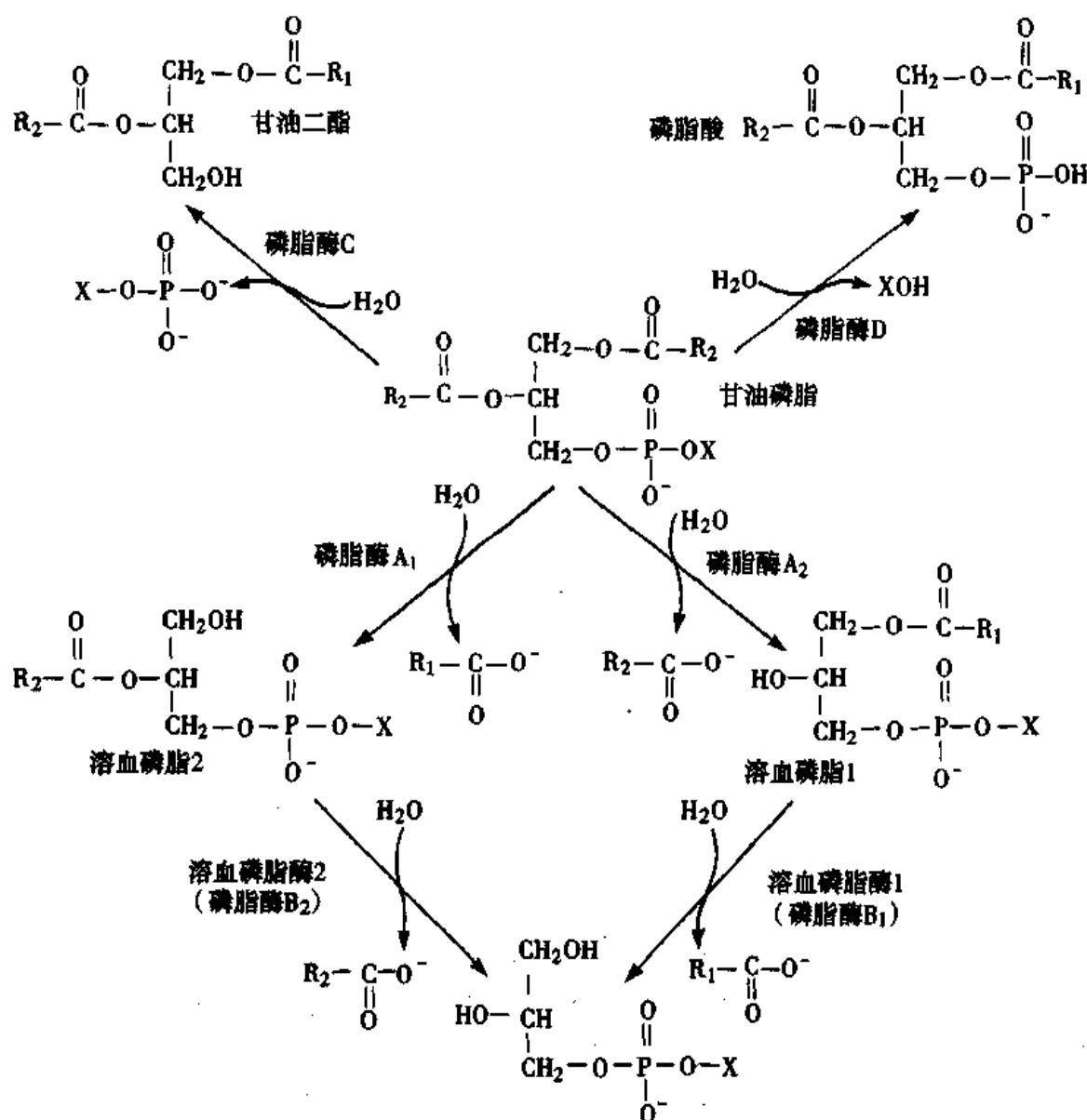


图 6-7 磷脂酶对磷脂的水解

注: X 为含氮碱

磷脂酶 A_2 存在于动物各组织的细胞膜及线粒体膜上, Ca^{2+} 为其激活剂, 使甘油磷脂分子中 2 位酯键水解, 产物为溶血磷脂及多不饱和脂酸(大多为花生四烯酸)。溶血磷脂 1 为 2 位脱去脂酰基的磷脂, 是一类具较强表面活性的物质, 能使红细胞膜或其他细胞膜破坏引起溶血或细胞坏死。有人认为, 急性胰腺炎的发病机制与胰腺磷脂酶 A_2 对胰腺细胞膜的损伤密切相关。溶血磷脂在细胞内溶血磷脂酶 1 即磷脂酶 B_1 的作用下, 使 1 位酯键水解, 另一脂酸脱下生成不含脂酸的甘油磷酸胆碱即失去溶解细胞膜的作用, 后者能进一步被磷脂酶 D 水解为磷酸甘油及含氮碱。磷脂酶 A_1 存在于动物组织溶酶体中(蛇毒及某些微生物亦含有), 能水解磷脂的 1 位酯键。产生脂酸及溶血磷脂 2。磷脂酶 C 存在于细胞膜及某些细菌中, 能特异水解 3 位磷酸酯键, 产物为甘油二酯及磷

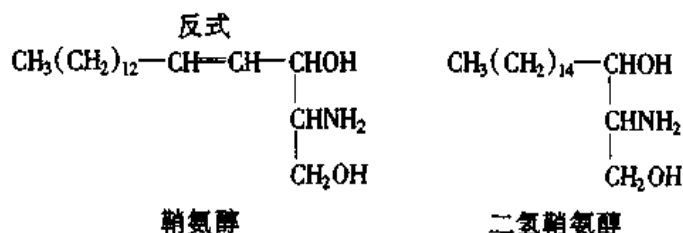
酸胆碱或磷酸乙醇胺等。

二、鞘磷脂的代谢

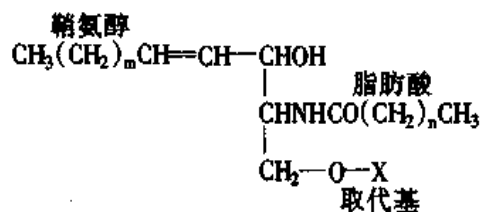
(一) 鞘磷脂的化学组成及结构

含鞘氨醇(sphingosine)或二氢鞘氨醇的脂类称鞘脂(sphingolipids)。鞘脂不含甘油,其一分子脂酸以酰胺键与鞘氨醇的氨基相连。按其含磷酸或糖基分为鞘磷脂及鞘糖脂两类。

鞘氨醇或二氢鞘氨醇是具脂肪族长链的氨基二元醇,具有疏水的长链脂肪烃尾和2个羟基及1个氨基的极性头。其化学结构式为:



自然界以18C鞘氨醇为最多,但亦有16、17、19及20C鞘氨醇存在。分子中有双键存在,故有顺反异构体,但自然界均为反式构型。鞘脂含1分子脂酸,主要为16C,18C,22C或24C饱和或单不饱和脂酸,有的还含 α 羟基。鞘脂的末端羟基常为极性基团(X)如磷酸胆碱或糖基所取代,其结构与甘油酯颇为相似。



鞘脂的化学结构通式

m多为12;n多在12~22之间

按取代基X的不同,鞘脂分为鞘磷脂及鞘糖脂两类。鞘磷脂含磷酸,其末端羟基取代基团X为磷酸胆碱或磷酸乙醇胺。鞘糖脂含糖,其X基团为单糖基或寡糖链所取代,通过 β -糖苷键与其末端羟基相连。

(二) 鞘磷脂的代谢

人体含量最多的鞘磷脂是神经鞘磷脂(sphingomyelin),由鞘氨醇、脂酸及磷酸胆碱所构成。鞘氨醇的氨基通过酰胺键与脂酸相连,生成N-脂酰鞘氨醇(ceramide,又称神经酰胺),其末端羟基与磷酸胆碱通过磷酸酯键相连即为神经鞘磷脂。神经鞘磷脂是构成生物膜的重要磷脂,它常与卵磷脂并存于细胞膜的外侧。神经髓鞘含脂类甚多,占干重的97%,其中11%为卵磷脂,5%为神经鞘磷脂。人红细胞膜20%~30%为神经鞘磷脂。

1. 鞘氨醇的合成

(1) 合成部位:全身各细胞均可合成,以脑组织最活跃。内质网有合成鞘氨醇的酶

碳间及7, 8碳间为双键, 共有28个碳原子, 它是维生素D的前体。细菌不含固醇类化合物。

人体约含胆固醇140g, 广泛分布于全身各组织中, 大约1/4分布在脑及神经组织中, 约占脑组织的2%。肝、肾、肠等内脏及皮肤, 脂肪组织亦含较多的胆固醇, 每100g组织约含200~500mg, 其中以肝最多。肌肉组织含量较低, 约100~200mg%。肾上腺、卵巢等合成类固醇激素的内分泌腺胆固醇含量较高, 达1%~5%。

一、胆固醇的合成

(一) 合成部位

除成年动物脑组织及成熟红细胞外, 几乎全身各组织均可合成胆固醇, 每天可合成1g左右。肝是合成胆固醇的主要场所。体内胆固醇70%~80%由肝合成, 10%由小肠合成。

胆固醇合成酶系存在于胞液及光面内质网膜上, 因此胆固醇的合成主要在胞液及内质网中进行。

(二) 合成原料

乙酰CoA是合成胆固醇的原料。用 ^{14}C 及 ^{13}C 标记乙酸的甲基碳及羧基碳, 与肝切片在体外温育证明, 乙酸分子中的2个碳原子均参与构成胆固醇, 是合成胆固醇的唯一碳源。

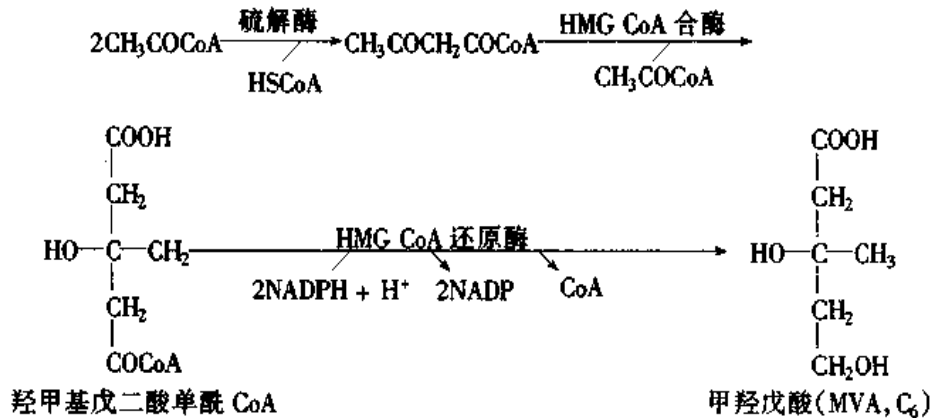
乙酰CoA是葡萄糖、氨基酸及脂肪酸在线粒体内的分解代谢产物。它不能通过线粒体内膜, 需在线粒体内先与草酰乙酸缩合成柠檬酸, 后者再通过线粒体内膜的载体进入胞液, 然后柠檬酸在裂解酶的催化下, 裂解生成乙酰CoA作为合成胆固醇之用。每转运1分子乙酰CoA, 由柠檬酸裂解成乙酰CoA时要消耗1个ATP。此外, 还需要大量的 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 及ATP供给合成反应所需之氢及能量。每合成1分子胆固醇需18分子乙酰CoA, 36分子ATP及16分子 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 。乙酰CoA及ATP大多来自线粒体中糖的有氧氧化, 而 NADPH 则主要来自胞液中糖的磷酸戊糖途径。

(三) 合成基本过程

胆固醇合成过程复杂, 有近30步酶促反应, 大致可划分为三个阶段。

1. 甲羟戊酸的合成 在胞液中, 2分子乙酰CoA在乙酰乙酰硫解酶的催化下, 缩合成乙酰乙酰CoA; 然后在胞液中羟甲基戊二酸单酰CoA合酶(3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA synthase, HMG CoA synthase)的催化下再与1分子乙酰CoA缩合生成羟甲基戊二酸单酰CoA(3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA, HMG CoA)。HMG CoA是合成胆固醇及酮体的重要中间产物。在线粒体中, 3分子乙酰CoA缩合成的HMG CoA裂解后生成酮体; 而在胞液中生成的HMG CoA, 则在内质网HMG CoA还原酶(HMG CoA reductase)的催化下, 由 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 供氢, 还原生成甲羟戊酸(mevalonic acid, MVA)。HMG CoA还原酶是合成胆固醇的限速酶, 这步反应是合成胆固醇的限速反应。

甲羟戊酸的合成过程如下:



2. 鲨烯的合成 MVA (C₆)由 ATP 提供能量,在胞液内一系列酶的催化下,脱羧,磷酸化生成活泼的异戊烯焦磷酸(Δ^3 -isopentenyl pyrophosphate, IPP, C₅)和二甲基丙烯焦磷酸(3,3-dimethylallyl pyrophosphate, DPP, C₅)。然后 3 分子活泼的 5C 焦磷酸化合物(IPP 及 DPP)缩合成 15C 的焦磷酸法尼酯(farnesyl pyrophosphate, FPP, C₁₅)。2 分子 15C 焦磷酸法尼酯在内质网鲨烯合酶(squalene synthase)的作用下,再缩合、还原即生成 30C 的多烯烃——鲨烯(squalene)。

3. 胆固醇的合成 鲨烯为含 30 个碳原子的多烯烃,具有与固醇母核相近似的结构。鲨烯结合在胞液中固醇载体蛋白(sterol carrier protein, SCP)上,经内质网单加氧酶、环化酶等的作用,环化生成羊毛固醇,后者再经氧化、脱羧,还原等反应,脱去 3 个甲基(以 CO₂ 形式)生成 27C 的胆固醇(图 6-8)。

(四) 胆固醇合成的调节

HMG CoA 还原酶是胆固醇合成的限速酶。各种因素对胆固醇合成的调节主要是通过 HMG CoA 还原酶活性的影响来实现的。动物实验发现,大鼠肝合成胆固醇有昼夜节律性,午夜时合成最高,中午合成最低。进一步研究发现,肝 HMG CoA 还原酶活性也有昼夜节律性,午夜酶活性最高,中午酶活性最低。由此可见,胆固醇合成的周期节律性是 HMG CoA 还原酶活性周期性改变的结果。

HMG CoA 还原酶存在于肝、肠及其他组织、细胞的内质网。它是由 887 个氨基酸残基构成的糖蛋白,分子量 97 000,其 N-端 35 000 的结构域含疏水氨基酸较多,跨内质网膜固定在膜上。C-端 62 000 亲水的结构域则伸向胞液,且催化活性。胞液中有依赖于

天约合成 1~1.5g 胆固醇，其中 2/5 (0.4~0.6g) 在肝转变成成为胆汁酸，随胆汁排入肠道。(见肝生化一章)

(二) 转化为类固醇激素

胆固醇是肾上腺皮质、睾丸，卵巢等内分泌腺合成及分泌类固醇激素的原料。肾上腺皮质细胞中储存大量胆固醇酯，其含量可达 2%~5%，90% 来自血液，10% 自身合成。肾上腺皮质球状带，束状带及网状带细胞可以胆固醇为原料分别合成睾丸酮、皮质醇及雄激素。睾丸间质细胞合成睾丸酮，卵巢的卵泡内膜细胞及黄体可合成及分泌雌二醇及孕酮，三者均是以胆固醇为原料合成的。

(三) 转化为 7-脱氢胆固醇

在皮肤，胆固醇可被氧化为 7-脱氢胆固醇，后者经紫外光照射转变为维生素 D₃ (见维生素一章)。

第五节 血浆脂蛋白代谢

一、血 脂

血浆所含脂类统称血脂。它的组成复杂，包括：甘油三酯、磷脂、胆固醇及其酯、以及游离脂酸等。磷脂主要有卵磷脂(约 70%)、神经鞘磷脂(约 20%)及脑磷脂(约 10%)。血脂的来源有二：一为外源性，从食物摄取的脂类经消化吸收进入血液；二是内源性，由肝、脂肪细胞以及其他组织合成后释放入血。血脂含量不如血糖恒定，受膳食、年龄、性别、职业以及代谢等的影响，波动范围较大。正常成年人空腹 12~14 小时血脂的组成及含量见表 6-3。

表 6-3 正常成人空腹血脂的组成及含量

组 成	血浆含量		空腹时主要来源
	mg/dl	mmol/L	
总脂	400~700 (500)		
甘油三酯	10~150 (100)	0.11~1.69 (1.13)	肝
总胆固醇	100~250 (200)	2.59~6.47 (5.17)	肝
胆固醇酯	70~200 (145)	1.81~5.17 (3.75)	
游离胆固醇	40~70 (55)	1.03~1.81 (1.42)	
总磷脂	150~250 (200)	48.44~80.73 (64.58)	肝
卵磷脂	50~200 (100)	16.1~64.6 (32.3)	肝
神经磷脂	50~130 (70)	16.1~42.0 (22.6)	肝
脑磷脂	15~35 (20)	4.8~13.0 (6.4)	肝
游离脂酸	5~20 (15)		脂肪组织

括号内为均值

二、血浆脂蛋白的分类、组成及结构

脂类不溶于水，在水中呈乳浊液。而正常人血浆含脂类虽多，却仍清澈透明，说明血脂在血浆中不是以自由状态存在，而与血浆中的蛋白质结合，以脂蛋白(lipoprotein)的形式而运输。

(一) 血浆脂蛋白的分类

各种脂蛋白因所含脂类及蛋白质质量不同，其密度、颗粒大小、表面电荷、电泳行为及免疫性均有不同。一般用电泳法及超速离心法可将血浆脂蛋白分为四类。

1. 电泳法 电泳法主要根据不同脂蛋白的表面电荷不同，在电场中具不同的迁移率，按其在电场中移动的快慢，可将脂蛋白分为 α 、前 β 、 β 及乳糜微粒四类。一般常用滤纸、醋酸纤维素膜、琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶作为电泳支持物。 α -脂蛋白泳动最快，相当于 α_1 -球蛋白的位置； β -脂蛋白相当于 β -球蛋白的位置；前 β 位于 β -脂蛋白之前，相当于 α_2 -球蛋白的位置；乳糜微粒(CM)则留下原点不动(图6-9)。

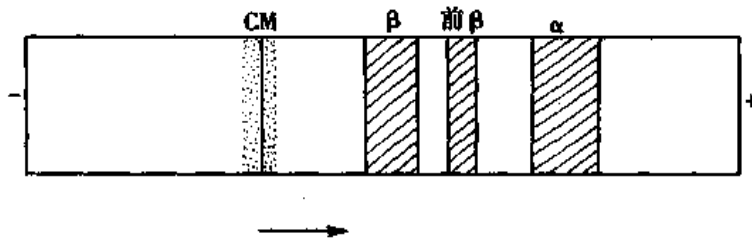


图6-9 血浆脂蛋白琼脂糖凝胶电泳图

2. 超速离心法 由于各种脂蛋白含脂类及蛋白质质量各不相同，因而其密度亦各不相同。血浆在一定密度的盐溶液中进行超速离心时，其所含脂蛋白即因密度不同而漂浮或沉降，据此分为四类：乳糜微粒含脂最多，密度小于0.95，易于上浮；其余的按密度大小依次为极低密度脂蛋白(VLDL)、低密度脂蛋白(LDL)和高密度脂蛋白(HDL)；分别相当于电泳分离的CM、前 β -脂蛋白、 β -脂蛋白及 α -脂蛋白等四类。通常用Svedberg漂浮率(S_f)表示其上浮情况。血浆脂蛋白在密度为1.063的NaCl溶液中，26℃下，每秒每达因克离心力的力场下，每上浮 10^{-13} cm即为1 S_f 单位，即 $1S_f = 10^{-13} \text{ cm/s} \cdot \text{dyn} \cdot \text{g}$ 。

除上述四类脂蛋白外，还有中密度脂蛋白(IDL)，它是VLDL在血浆中的代谢物，其组成及密度介于VLDL及LDL之间，密度为1.006~1.019。HDL中因蛋白质及脂类的含量不同，又分为HDL₂及HDL₃，其密度分别为1.063~1.125及1.125~1.210。从脂肪组织动员释放入血的游离脂酸，亦不溶于水，常与血浆中的清蛋白结合而运输，不列入血浆脂蛋白内(表6-4)。

表 6-4 血浆脂蛋白的分类、性质、组成及功能

分 类	密度法 电泳法	乳糜微粒	极低密度脂蛋白 前 β -脂蛋白	低密度脂蛋白 β -脂蛋白	高密度脂蛋白 α -脂蛋白
性质	密度	<0.95	0.95~1.006	1.006~1.063	1.063~1.210
	S _r 值	>400	20~400	0~20	沉降
	电泳位置	原点	α_2 -球蛋白	β -球蛋白	α_1 -球蛋白
	颗粒直径(nm)	80~500	25~80	20~25	7.5~10
组成 (%)	蛋白质	0.5~2	5~10	20~25	50
	脂类	98~99	90~95	75~80	50
	甘油三酯	80~95	50~70	10	5
	磷脂	5~7	15	20	25
	胆固醇	1~4	15	45~50	20
	游离	1~2	5~7	8	5
	酯化	3	10~12	40~42	15~17
载脂蛋白 组成 (%)	apo A I	7	<1	—	65~70
	apo A II	5	—	—	20~25
	apo A IV	10	—	—	—
	apo B100	—	20~60	95	—
	apo B48	9	—	—	—
	apo C I	11	3	—	6
	apo C II	15	6	微量	1
	apo C III 0~2	41	40	—	4
	apo E	微量	7~15	<5	2
apo D	—	—	—	3	
合成部位		小肠粘膜细胞	肝细胞	血浆	肝、肠、血浆
功能		转运外源性甘油 三酯及胆固醇	转运内源性甘油 三酯及胆固醇	转运内源性 胆固醇	逆向转运 胆固醇

(二) 血浆脂蛋白的组成

血浆脂蛋白主要由蛋白质、甘油三酯、磷脂、胆固醇及其酯组成。各类脂蛋白都含有这四类成分，但其组成比例及含量各不相同。乳糜微粒颗粒最大，含甘油三酯最

借其非极性的疏水基团与内部的疏水链相联系，覆盖于脂蛋白表面，其极性基团朝外，呈

四、血浆脂蛋白代谢

(一) 乳糜微粒

CM 是运输外源性甘油三酯及胆固醇酯的主要形式。脂肪消化吸收时，小肠粘膜细胞再合成的甘油三酯，连同合成及吸收的磷脂及胆固醇，加上载脂蛋白 B48、A I、A IV、A II 等形成新生的 CM。新生 CM 经淋巴管进入血液，从 HDL 获得 apoC 及 E，并将部分 apoA I、A IV、A II 转移给 HDL，形成成熟的 CM。新生 CM 获得 apoC 后，其中的 apo C II 激活肌肉、心及脂肪等组织毛细血管内皮细胞表面的脂蛋白脂肪酶(LPL)。LPL 使 CM 中的甘油三酯及磷脂逐步水解，产生甘油、脂酸及溶血磷脂等。apo C II 是 LPL 不可缺少的激活剂。无 apo C II 时，LPL 活性甚低，加入 apo C II 后，其活性可增加 10~50 倍。在 LPL 的反复作用下，CM 内核的甘油三酯 90% 以上被水解，释出的脂酸为心、肌、脂肪组织及肝组织所摄取利用，同时其表面的 apo A I、A IV、A II、C 等连同表面的磷脂及胆固醇离开 CM 颗粒，形成新生的 HDL；CM 颗粒逐步变小，最后转变成为富含胆固醇酯、apo B48 及 apo E 的 CM 残粒(remnant)，后者为肝细胞膜 apo E 受体结合并被肝细胞摄取代谢。正常人 CM 在血浆中代谢迅速，半寿期为 5~15 分钟，因此空腹 12~14 小时后血浆中不含 CM (图 6-10)。

(二) 极低密度脂蛋白

VLDL 是运输内源性甘油三酯的主要形式。肝细胞可以葡萄糖为原料合成甘油三酯，也可利用食物及脂肪组织动员的脂酸合成脂肪，然后加上 apo B100、E 以及磷脂、胆固醇等即形成 VLDL。此外，小肠粘膜细胞亦可合成少量 VLDL。VLDL 分泌入血后，从 HDL 获得 apo C，其中的 apo C II 激活肝外组织毛细血管内皮细胞表面的 LPL。和 CM 一样，VLDL 的甘油三酯在 LPL 作用下，逐步水解，同时其表面的 apo C、磷脂及胆固醇向 HDL 转移，而 HDL 的胆固醇酯又转移到 VLDL。VLDL 本身颗粒逐渐变小，其密度逐渐增加，apo B100 及 E 的含量相对增加，转变为中间密度脂蛋白(IDL)。IDL 中胆固醇及甘油三酯含量大致相等，载脂蛋白则主要是 apo B100 及 E。肝细胞膜 apo E 受体可与 IDL 结合，因此部分 IDL 为肝细胞摄取代谢。未被肝细胞摄取的 IDL (在人约 50%，大鼠约 10%) 甘油三酯被 LPL 及肝脂肪酶进一步水解，最后只剩下胆固醇酯，同时其表面的 apo E 转移至 HDL，仅剩下 apo B100，IDL 即转变为 LDL。VLDL 在血中的半寿期为 6~12 小时(图 6-10)。

(三) 低密度脂蛋白(LDL)

如上述，人血浆中的 LDL 是由 VLDL 转变而来的。它是转运肝合成的内源性胆固醇的主要形式。利用 ^{14}C -蔗糖-LDL 证明，肝是降解 LDL 的主要器官，约 50% 的 LDL 在肝降解。肾上腺皮质、卵巢，睾丸等组织摄取及降解 LDL 的能力亦较强。1974 年 Brown 及 Goldstein 发现人成纤维细胞膜表面有特异能结合 LDL 的 LDL 受体。他们已将 LDL 受体纯化，是由 839 个氨基酸残基构成的糖蛋白，分子量 160 000。

LDL 受体广泛分布于肝、动脉壁细胞等全身各组织的细胞膜表面，特异识别与结合含 apo E 或 apo B100 的脂蛋白，故又称 apo B, E 受体。当血浆中的 LDL 与 LDL 受体结合后，则受体聚集成簇，内吞入细胞与溶酶体融合。在溶酶体中蛋白水解酶作用下，

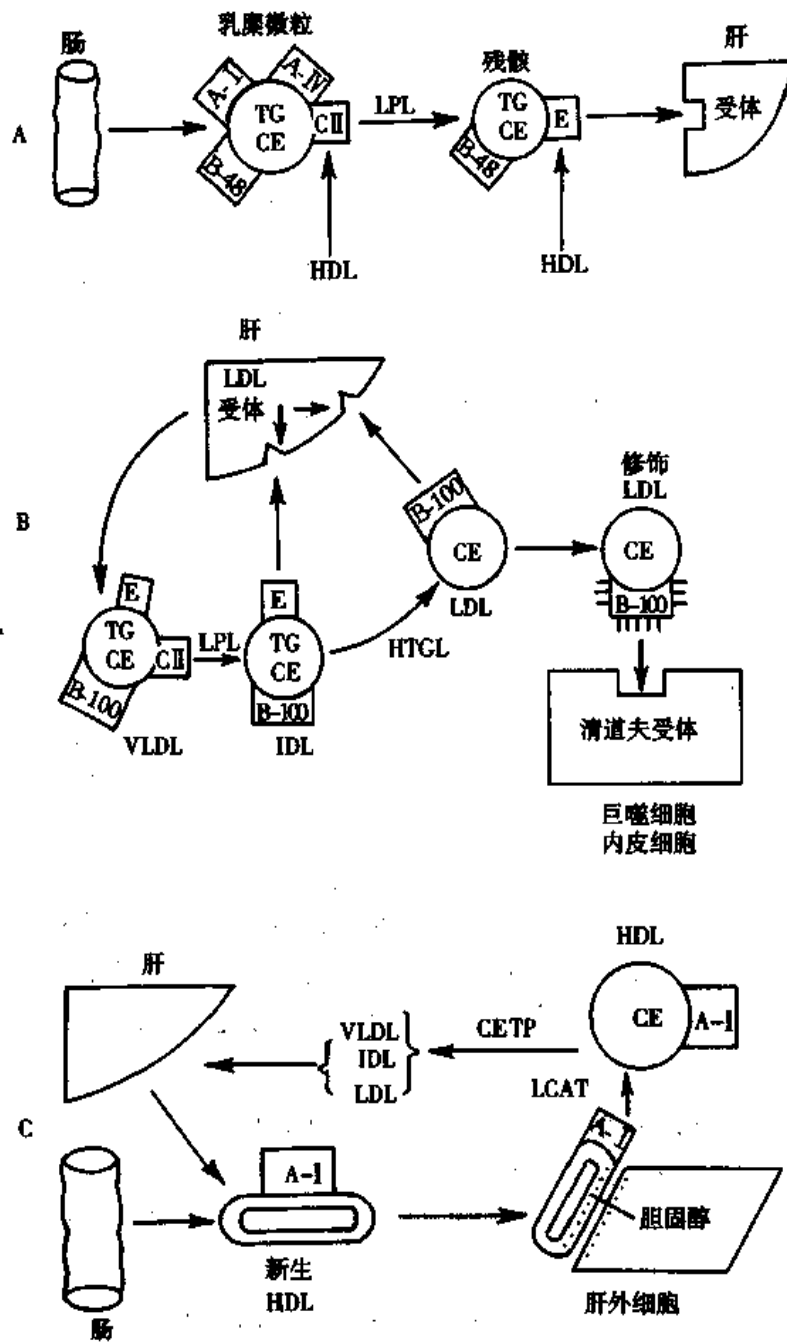


图 6-10 血脂转运及脂蛋白代谢

A. 外源性乳糜微粒代谢 B. 内源性 VLDL 及 LDL 代谢

C. 胆固醇逆向转运: HDL 代谢

LDL 中的 apo B100 水解为氨基酸，其中的胆固醇酯被胆固醇酯酶水解为游离胆固醇及脂酸。游离胆固醇在调节细胞胆固醇代谢上具有重要作用：①抑制内质网 HMG CoA 还原酶，从而抑制细胞本身胆固醇合成；②在转录水平阻抑细胞 LDL 受体蛋白质的合成，减少细胞对 LDL 的进一步摄取；③激活内质网脂酰 CoA 胆固醇脂酰转移酶 (ACAT) 的活性，使游离胆固醇酯化成胆固醇酯在胞液中储存。游离胆固醇为细胞膜摄取，可用以构成细胞膜的重要成分；在肾上腺、卵巢等细胞中则用以合成类固醇激素。上述血浆中

LDL与细胞LDL受体结合后的一系列过程称为LDL受体代谢途径。LDL被细胞摄取量的多少，取决于细胞膜上受体的多少。肝、肾上腺皮质、性腺等组织LDL受体数目多，故摄取LDL亦较多(图6-11)。

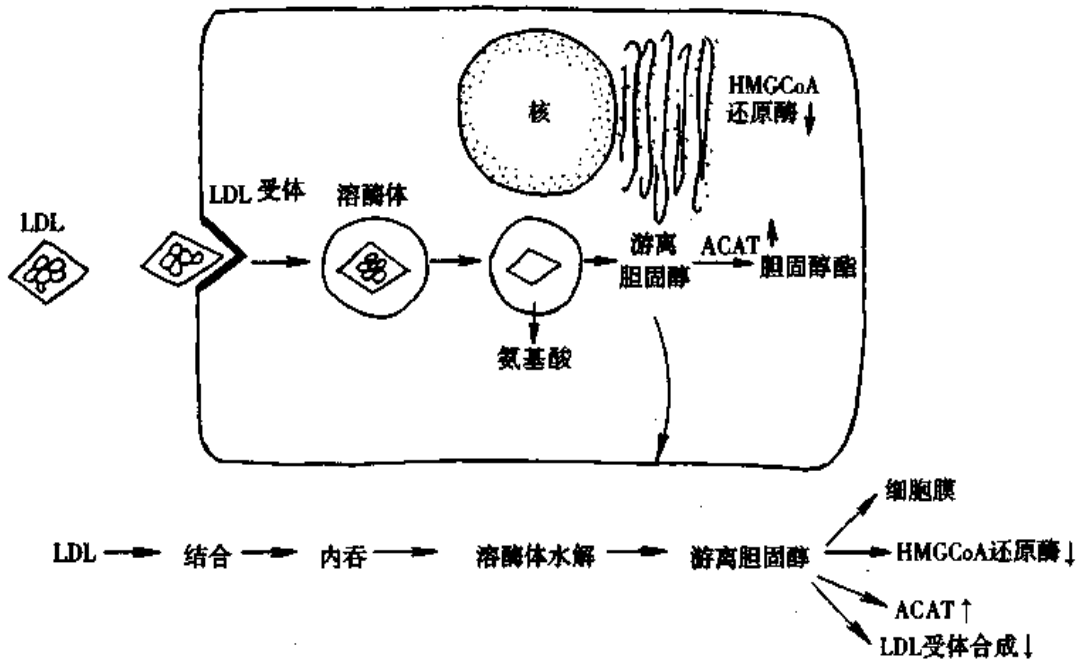


图 6-11 低密度脂蛋白受体代谢途径

除 LDL 受体代谢途径外，血浆中的 LDL 亦可被清除细胞即单核吞噬细胞系统中的巨噬细胞清除。正常人，血浆 LDL 每天降解量占总量的 45%，其中 2/3 由 LDL 受体途径降解，1/3 由清除细胞清除。LDL 在血浆中的半寿期为 2~4 天。

(四) 高密度脂蛋白

HDL 主要由肝合成，小肠亦可合成。此外，当 CM 及 VLDL 中的甘油三酯水解时，其表面的 apo AI、AIV、AII、C 以及磷脂，胆固醇等脱离 CM 及 VLDL 亦可形成新生 HDL。HDL 按密度大小又分为 HDL₁、HDL₂ 及 HDL₃。HDL₁ 又称为 HDL_c，仅在摄取高胆固醇膳食才在血中出现，正常人血浆中主要含 HDL₂ 及 HDL₃。

刚从肝或小肠分泌出来的 HDL 或 CM 水解时形成的 HDL 均呈盘状，为新生 HDL。新生 HDL 进入血液后，在血浆卵磷脂胆固醇脂酰转移酶(LCAT)的催化下，HDL 表面卵磷脂的 2 位脂酰基转移至胆固醇 3 位羟基生成溶血卵磷脂及胆固醇酯。此过程消耗的卵磷脂及游离胆固醇不断从细胞膜、CM 及 VLDL 得到补充。LCAT 由肝实质细胞合成，分泌入血，在血浆中发挥作用。HDL 表面的 apo AI 是 LCAT 的激活剂，它可能是游离胆固醇的接受体，能增加 LCAT 的催化活性。在 LCAT 的作用下生成的胆固醇酯转运入 HDL 的核心。新生 HDL 在 LCAT 的反复作用下，酯化胆固醇进入 HDL 内核逐渐增多，使双脂层的盘状 HDL 被逐步膨胀为单脂层的球状 HDL，同时其表面的 apoC 及 apoE 又转移到 CM 及 VLDL 上，最后新生 HDL 转变为成熟 HDL。

在 LCAT 的作用下，新生 HDL 先转变为 HDL₃，然后酯化胆固醇继续增加，再加上 CM 及 VLDL 水解过程中释出的磷脂、apo AI、AII 等，转变为密度较小、颗粒较

大的 HDL₂。血浆 HDL₂ 含量与 CM 及 VLDL 的水解密切相关。当 LPL 活性增加，水解作用加强时，HDL₂ 含量较高；反之，当 apo CII 缺乏，LPL 活性降低时，则 HDL₂ 极度降低。HDL₂ 在肝脂肪酶的作用下，磷脂及甘油三酯水解，HDL₂ 即转变为 HDL₃。

HDL 主要在肝降解。成熟 HDL 可能与肝细胞膜的 HDL 受体结合，然后被肝细胞摄取，其中的胆固醇可用以合成胆汁酸或直接通过胆汁排出体外。HDL 在血浆中的半衰期为 3~5 天(图 6-10)。

最近研究表明，血浆中 CE90% 以上来自 HDL，其中约 70% 的 CE 在 CETP 的作用下由 HDL 转移至 VLDL 及 LDL 后被清除，10% 则通过肝的 HDL 受体清除。

由此可见，HDL 在 LCAT、apo AI 及 CETP 等的作用下，可将胆固醇从肝外组织转运到肝进行代谢。这种将胆固醇从肝外组织向肝转运的过程，称为胆固醇的逆向转运。机体可通过这种机制，将外周组织中衰老细胞膜中的胆固醇转运至肝代谢并排出体外。

HDL 也是 apo CII 的贮存库。CM 及 VLDL 形成进入血液后，需从 HDL 获得 apo CII 激活 LPL，CM 及 VLDL 中的甘油三酯才能水解。一旦其甘油三酯完全水解后，apo CII 又回到 HDL。

五、血浆脂蛋白代谢异常

(一) 高脂蛋白血症

血脂高于正常人上限即为高脂血症。由于血脂在血中以脂蛋白形式运输，实际上高脂血症也可以认为是高脂蛋白血症(hyperlipoproteinemia)。正常人上限标准因地区、膳食、年龄、劳动状况、职业以及测定方法不同而有差异。一般以成人空腹 12~14 小时血甘油三酯超过 2.26mmol/L (200mg/dl)，胆固醇超过 6.21mmol/L (240mg/dl)，儿童胆固醇超过 4.14mmol/L (160mg/dl) 为标准。

1970 年世界卫生组织(WHO)建议，将高脂蛋白血症分为六型，其脂蛋白及血脂的改变见表 6-6。

表 6-6 高脂蛋白血症分型

分型	脂蛋白变化	血脂变化
I	乳糜微粒增高	甘油三酯↑↑↑ 胆固醇↑
IIa	低密度脂蛋白增加	胆固醇↑↑
IIb	低密度及极低密度脂蛋白同时增加	胆固醇↑↑ 甘油三酯↑↑
III	中间密度脂蛋白增加 (电泳出现宽β带)	胆固醇↑↑ 甘油三酯↑↑
IV	极低密度脂蛋白增加	甘油三酯↑↑
V	极低密度脂蛋白及乳糜微粒同时增加	甘油三酯↑↑↑ 胆固醇↑

高脂血症可分为原发性和继发性两大类。继发性高脂血症是继发于其他疾病如糖尿病、肾病和甲状腺功能减退等。原发性高脂血症是指原因不明的高脂血症，已证明有些

是遗传性缺陷。

(二) 遗传性缺陷

已发现参与脂蛋白代谢的关键酶如 LPL 及 LCAT, 载脂蛋白如 apo CII、B、E、AI 和 CIII, 以及脂蛋白受体如 LDL 受体等的遗传性缺陷, 并阐明了某些高脂蛋白症及发病的分子机制。其中 Brown 及 Goldstein 对 LDL 受体的研究取得重大突破, 他们不仅阐明了 LDL 受体的结构和功能, 而且证实 LDL 受体缺陷是引起家族性高胆固醇血症的重要原因。LDL 受体缺陷是常染色体显性遗传, 纯合子细胞膜 LDL 受体完全缺乏, 杂合子数目减少一半, LDL 不能正常代谢, 血浆胆固醇分别高达 600 ~ 800mg/dl 及 300 ~ 400mg/dl, 患者在 20 岁前就发生典型的冠心病症状。

小 结

脂类是人体的重要营养素, 分为脂肪(甘油三酯)及类脂两大类。脂肪的主要功能是储能及供能。类脂包括胆固醇及其酯、磷脂及糖脂等, 是生物膜的重要组分, 参与细胞识别及信息传递, 并是多种生理活性物质的前体。

脂类消化主要在小肠上段, 经各种脂或酯酶及胆汁酸盐的共同作用, 脂类被水解为甘油、脂酸及一些不完全水解产物, 主要在空肠被吸收。吸收的甘油及中、短链脂酸, 通过门静脉进入血循环。吸收的长链脂酸(12 ~ 26C)及甘油则在小肠粘膜上皮细胞内再合成为脂肪, 与载脂蛋白 B48、磷脂、胆固醇等形成乳糜微粒(CM)后经淋巴进入血循环。

甘油三酯是机体储存能量的主要形式。肝、脂肪组织及小肠是合成甘油三酯的主要场所, 以肝合成能力最强。合成所需的甘油及脂酸主要由葡萄糖代谢提供。机体可利用 3-磷酸甘油与活化的脂酸酯化生成磷脂酸, 然后经脱磷酸再酯化即可合成甘油三酯。

甘油三酯水解产生甘油和脂酸。甘油活化、脱氢、转变为磷酸二羟丙酮后, 循糖代谢途径代谢。脂酸则在肝、肌、心等组织中分解氧化、释出大量能量, 以 ATP 形式供机体利用。脂酸的分解需经活化, 进入线粒体, β -氧化(脱氢、加水、再脱氢及硫解)等步骤。脂酸在肝内 β 氧化生成酮体, 但肝不能利用酮体, 需运至肝外组织氧化。长期饥饿时脑及肌肉组织主要靠酮体氧化供能。

脂酸合成是在胞液中脂酸合成酶系的催化下, 以乙酰 CoA 为原料, 在 NADPH、ATP、 HCO_3^- 及 Mn^{2+} 的参与下, 逐步缩合而成的。乙酰 CoA 需先羧化成丙二酰 CoA 后才参与还原性合成反应, 所需之氢全部由 NADPH 提供, 最终合成 16 碳软脂酸。更长链的脂酸则是对软脂酸的加工, 使其碳链延长。碳链延长在肝细胞内质网或线粒体中进行。脂酸脱氢可生成不饱和脂酸, 但亚油酸(18:2, $\Delta^{9,12}$)、亚麻酸(18:3, $\Delta^{9,12,15}$)等多不饱和脂酸人体不能合成, 必须从食物摄取。花生四烯酸(20:4, $\Delta^{5,8,11,14}$)等是前列腺素、白三烯等生理活性物质的前体。

磷脂分为甘油磷脂和鞘磷脂两大类, 甘油磷脂的合成是以磷脂酸为前体, 需 CTP 参与。甘油磷脂的降解是磷脂酶 A、B、C、D 催化下的水解反应, 鞘磷脂是以软脂酸及丝氨酸为原料先合成二氢鞘氨醇后, 再与脂酰 CoA 和磷酸胆碱合成鞘磷脂。

人体胆固醇一是自身合成, 二从食物摄取, 摄入过多则可抑制胆固醇的吸收及体内

胆固醇的合成。胆固醇的合成以乙酰 CoA 为原料，先缩合成 HMGCoA，然后还原脱羧形成甲羟戊酸再磷酸化，进一步缩合成鲨烯，后者环化即转变为胆固醇。合成 1 分子胆固醇需 18 分子乙酰 CoA，16 分子 NADPH 及 36 分子 ATP。胆固醇在体内可转化为胆汁酸、类固醇激素、维生素 D₃ 及胆固醇酯。

血脂不溶于水，以脂蛋白形式运输。按超速离心法及电泳法可将血浆脂蛋白分为乳糜微粒(CM)、极低密度脂蛋白(前 β -)、低密度脂蛋白(β -)及高密度脂蛋白(α -)四类。CM 主要转运外源性甘油三酯及胆固醇，VLDL 主要转运内源性甘油三酯，LDL 主要将肝合成的内源性胆固醇转运至肝外组织，而 HDL 则参与胆固醇的逆向转运。

(刘秉文)

第七章 生物氧化

物质在生物体内进行氧化称为生物氧化(biological oxidation)。它主要是指糖、脂肪、蛋白质等在体内分解时逐步释放能量，最终生成二氧化碳和水的过程。其中有相当一部分能量可使ADP磷酸化生成ATP，供生命活动之需，其余能量主要以热能形式释放，可用于维持体温。

生物氧化中物质的氧化方式遵循氧化还原反应的一般规律，有加氧、脱氢、失电子。物质在体内外氧化时所消耗的氧量、最终产物(CO₂, H₂O)和释放能量均相同。但生物氧化是在细胞内温和的环境中(体温, pH接近中性)，在一系列酶的催化下逐步进行的，能量逐步释放有利于ATP的形成；广泛的加水脱氢反应使物质能间接获得氧，并增加脱氢的机会；生物氧化中生成的水是由脱下的氢与氧结合产生的，CO₂由有机酸脱羧产生。体外氧化(燃烧)产生的CO₂、H₂O由物质中的碳和氢直接与氧结合生成，能量是突然释放的。

第一节 生成ATP的氧化体系

一、呼吸链

代谢物脱下的成对氢原子(2H)通过多种酶和辅酶所催化的连锁反应逐步传递，最终与氧结合生成水。由于此过程与细胞呼吸有关，所以将此传递链称为呼吸链(respiratory chain)。在呼吸链中，酶和辅酶按一定顺序排列在线粒体内膜上。其中传递氢的酶或辅酶称之为递氢体，传递电子的酶或辅酶称之为电子传递体。不论递氢体还是电子传递体都起传递电子的作用($2H \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^-$)，所以呼吸链又称电子传递链(electron transfer chain)。

(一) 呼吸链的组成

用胆酸、脱氧胆酸等反复处理线粒体内膜，可将呼吸链分离得到四种仍具有传递电子功能的酶复合体(complex)(表7-1, 图7-1, 图7-2)。

表7-1 人线粒体呼吸链复合体

复合体	酶名称	多肽链数	辅基
复合体 I	NADH-泛醌还原酶	39	FMN, Fe-S
复合体 II	琥珀酸-泛醌还原酶	4	FAD, Fe-S
复合体 III	泛醌-细胞色素 C 还原酶	10	铁卟啉, Fe-S
复合体 IV	细胞色素 C 氧化酶	13	铁卟啉, Cu

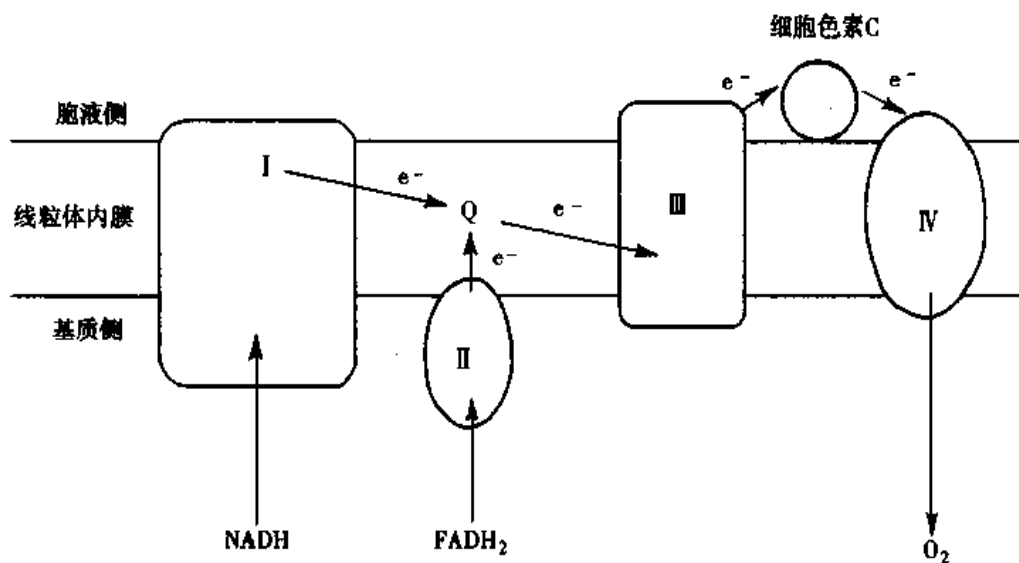


图 7-1 呼吸链各复合体位置示意图

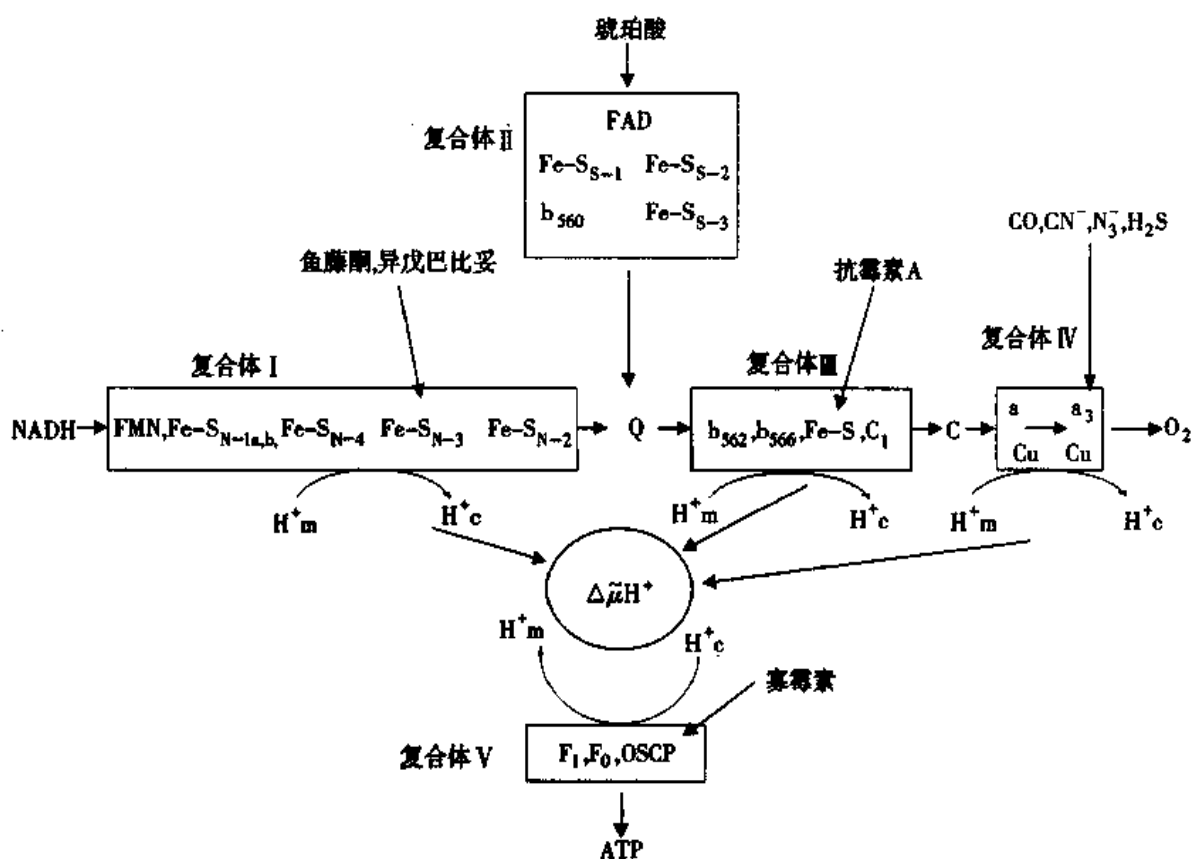


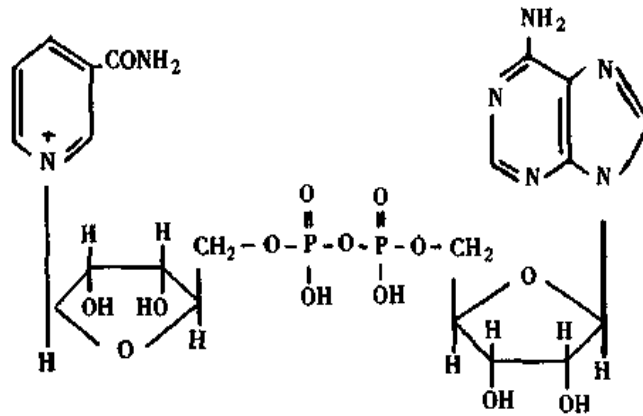
图 7-2 电子传递链及氧化磷酸化系统概貌

$\Delta\mu\text{H}^+$ 跨膜质子电化学梯度 H^+m 内膜基质侧 H^+c 内膜胞液侧 H^+

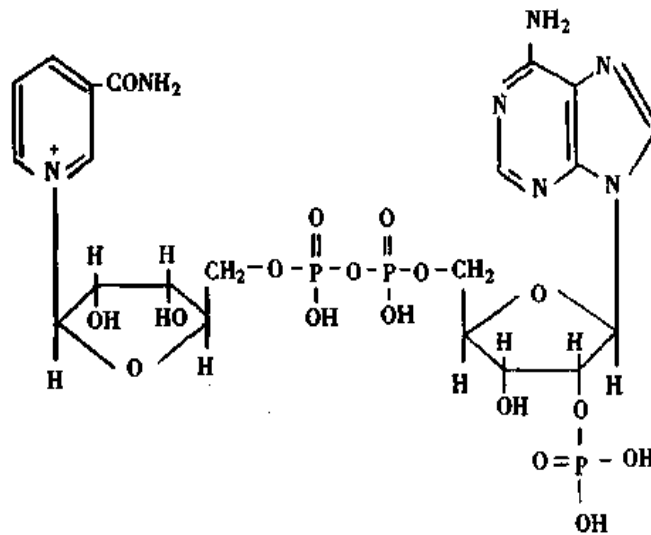
1. 复合体I, NADH-泛醌还原酶 复合体I将电子从还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(reduced nicotinamide adenine dinucleotide, NADH), 传递给泛醌(ubiquinone)。人复合体 I 中含有以黄素单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN)为辅基的黄素蛋白(flavoprotein)和以

铁硫簇(iron-sulfur cluster, Fe-S)为辅基的铁硫蛋白(iron-sulfur protein)。黄素蛋白和铁硫蛋白均具有催化功能。

NAD^+ (辅酶 I, coenzyme I, Co I), 与 NADP^+ (辅酶 II, coenzyme II, Co II) 是烟酰胺脱氢酶的辅酶, 其结构式如下:

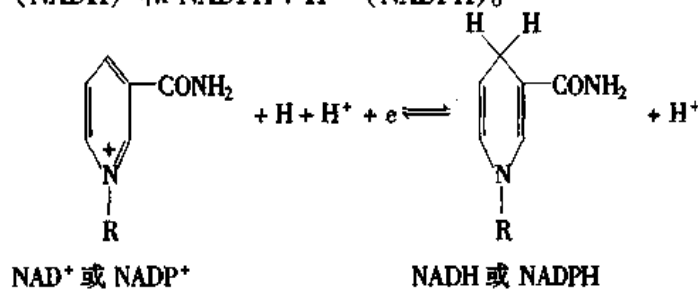


NAD^+ 的结构

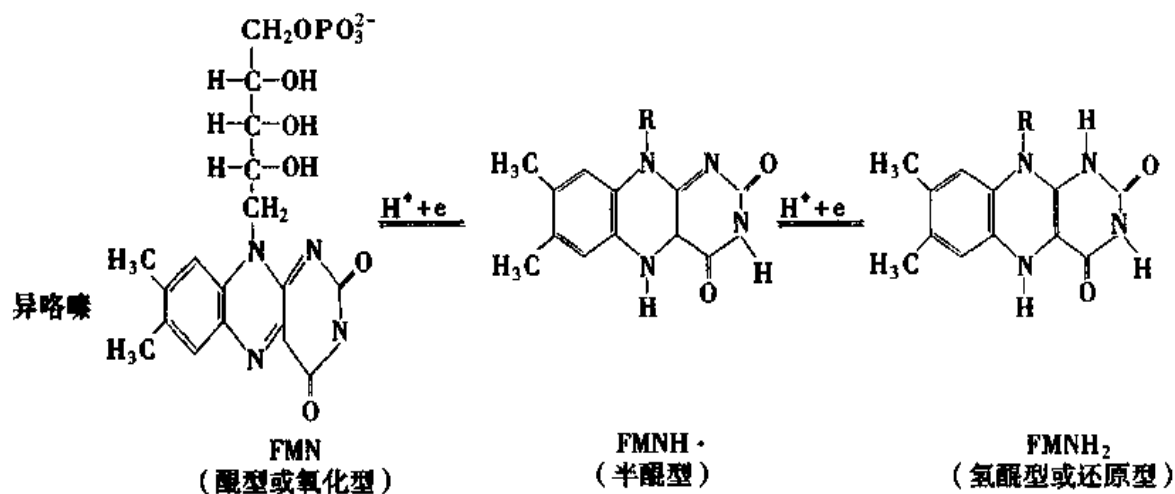


NADP^+ 的结构

NAD^+ 或 NADP^+ 分子中烟酰胺的氮为五价, 能接受电子成为三价氮。其对侧的碳原子也比较活泼, 能进行加氢反应。上述反应是可逆的。烟酰胺在加氢反应时只能接受 1 个氢原子和 1 个电子, 将另 1 个 H^+ 游离出来, 因此将还原型的 NAD^+ 和 NADP^+ 分别写成 $\text{NADH} + \text{H}^+$ (NADH) 和 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (NADPH)。



FMN 中含有核黄素(维生素 B₂)，其发挥功能的结构是异咯嗪环。氧化型或醌型的 FMN 可接受 1 个质子和 1 个电子形成不稳定的半醌型 FMNH·，再接受另 1 个质子和 1 个电子转变为还原型或氢醌型 FMNH₂。



Fe-S 含有等量的铁原子和硫原子(Fe₂S₂, Fe₄S₄)，通过其中的铁原子与铁硫蛋白中半胱氨酸残基的硫相连接(图 7-3)。

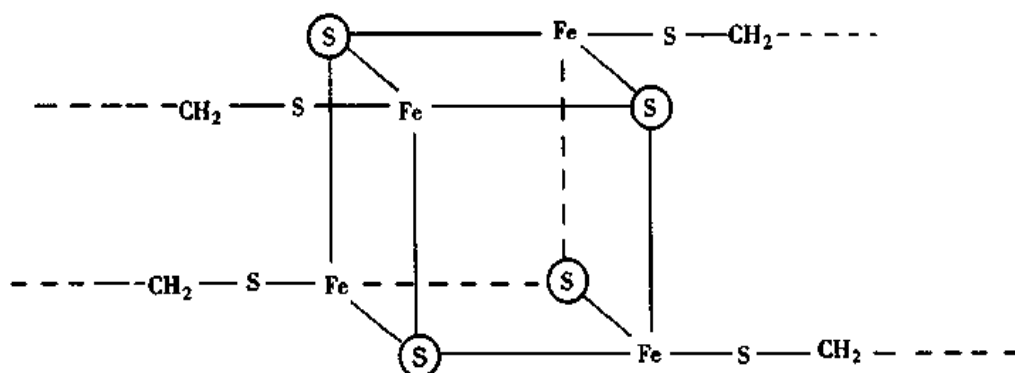
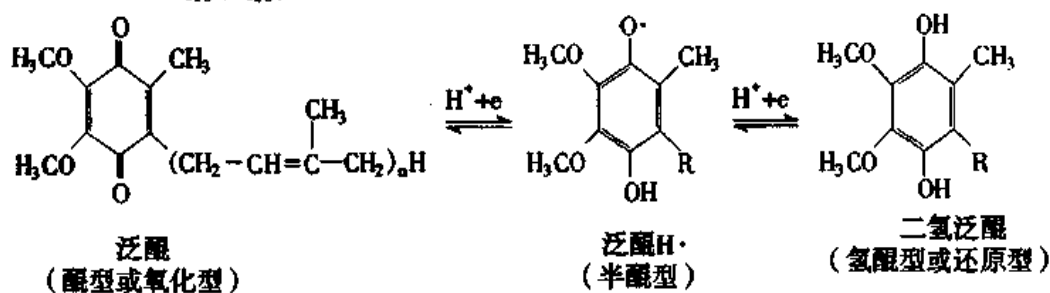


图 7-3 铁硫簇 Fe₄S₄ 结构示意图 ⊙表示无机硫

铁硫蛋白中的铁原子可进行 $Fe^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + e$ 反应而传递电子，在复合体 I 中，其功能是将 FMN 的电子传递给泛醌。

泛醌即辅酶 Q (coenzyme Q, CoQ, Q)，是一种脂溶性醌类化合物。它有较长的多个异戊间二烯构成的侧链。因侧链的疏水作用，它能在线粒体内膜中迅速扩散。它极易从线粒体内膜中分离出来，故不包含在上述复合体中。人的 CoQ 侧链由 10 个异戊间二烯单位组成，用 CoQ₁₀(Q₁₀)表示。



泛醌接受 1 个电子和 1 个质子还原成半醌，再接受 1 个电子和 1 个质子还原成二氢泛醌，后者又可脱去电子和质子而被氧化为泛醌。

2. 复合体Ⅱ，琥珀酸-泛醌还原酶 复合体Ⅱ将电子从琥珀酸传递给泛醌。人复合体Ⅱ中含有以黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)为辅基的黄素蛋白、铁硫蛋白和细胞色素(cytochrome, Cyt)_{b₅₆₀}。

细胞色素是一类以铁卟啉为辅基的催化电子传递的酶类，均有特殊的吸收光谱而呈

3. 复合体Ⅲ, 泛醌-细胞色素 C 还原酶 复合体Ⅲ将电子从泛醌传递给细胞色素 C。人复合体Ⅲ中含有 2 种细胞色素 b (Cyt b₅₆₂, b₅₆₆)、细胞色素 C₁ 和铁硫蛋白。

Cyt c 呈水溶性, 与线粒体内膜外表面结合不紧密, 极易与线粒体内膜分离, 故不包含在上述复合体中。

4. 复合体Ⅳ, 细胞色素 C 氧化酶 复合体Ⅳ将电子从细胞色素 C 传递给氧。人复合体Ⅳ中含有 Cyt a 和 Cyt a₃。由于两者结合紧密, 很难分离, 故称之为 Cyt aa₃。Cyt aa₃ 中含有 2 个铁卟啉辅基和 2 个铜原子。2 个铜原子分别与 2 个铁卟啉辅基相连。铜原子可进行 $Cu^+ \rightleftharpoons Cu^{2+} + e$ 反应传递电子。

(二) 呼吸链成分的排列顺序

呼吸链成分的排列顺序是由下列实验确定的: ①根据呼吸链各组分的标准氧化还原电位, 由低到高的顺序排列 (电位低容易失去电子) (表 7-2); ②在体外将呼吸链拆

表 7-2 呼吸链中各种氧化还原对的标准氧化还原电位

氧化还原对	E°(V)
NAD ⁺ /NADH + H ⁺	-0.32
FMN/FMNH ₂	-0.30
FAD/FADH ₂	-0.06
Cyt b Fe ³⁺ /Fe ²⁺	0.04 (或 0.10)
Q ₁₀ /Q ₁₀ H ₂	0.07
Cyt c ₁ Fe ³⁺ /Fe ²⁺	0.22
Cyt c Fe ³⁺ /Fe ²⁺	0.25
Cyt a Fe ³⁺ /Fe ²⁺	0.29
Cyt a ₃ Fe ³⁺ /Fe ²⁺	0.55
1/2O ₂ /H ₂ O	0.82

E°表示在 pH=7.0、25°C、1mol/L 反应物浓度条件下测得的标准氧化还原电位。

开和重组, 鉴定四种复合体的组成与排列。③利用呼吸链特异的抑制剂阻断某一组分的电子传递, 在阻断部位以前的组分处于还原状态, 后面组分处于氧化状态, 根据吸收光谱的改变进行检测。④利用呼吸链各组分特有的吸收光谱, 以离体线粒体无氧时处于还原状态作为对照, 缓慢给氧, 观察各组分被氧化的顺序。

目前已知的排列顺序见图 7-2。有两条氧化呼吸链:

1. NADH 氧化呼吸链 生物氧化中大多数脱氢酶如乳酸脱氢酶, 苹果酸脱氢酶都是以 NAD⁺ 为辅酶的。NAD⁺ 接受氢生成 NADH + H⁺, 然后通过 NADH 氧化呼吸链将其携带的 2 个电子逐步传递给氧。即 NADH + H⁺ 脱下的 2H 经复合体 I (FMN, Fe-S) 传给 CoQ, 再经复合体Ⅲ (Cyt b, Fe-S, Cyt c₁) 传至 Cyt c, 然后传至复合体Ⅳ (Cyt a, Cyt a₃) 最后将 2e 交给 O₂。

2. 琥珀酸氧化呼吸链 (FADH₂ 氧化呼吸链) 琥珀酸由琥珀酸脱氢酶催化脱下的 2H 经复合体Ⅱ (FAD, Fe-S, b₅₆₀) 使 CoQ 形成 CoQH₂, 再往下的传递与 NADH 氧化呼吸链相同。α-磷酸甘油脱氢酶及脂酰 CoA 脱氢酶催化代谢物脱下的氢也由 FAD 接受, 通过此呼吸链被氧化, 故归属于琥珀酸氧化呼吸链。

二、氧化磷酸化

在机体能量代谢中，ATP 是体内主要供能的高能化合物。细胞内 ATP 形成的主要方式是氧化磷酸化(oxidative phosphorylation)，即在呼吸链电子传递过程中偶联 ADP 磷酸化，生成 ATP，因此又称为偶联磷酸化。

细胞内还有一种直接将代谢物分子中的能量转移至 ADP (或 GDP)，生成 ATP (或 GTP)的过程，称为底物水平磷酸化，已在糖代谢中叙述。

(一) 氧化磷酸化偶联部位

根据下述实验方法及数据可以大致确定氧化磷酸化的偶联部位，即 ATP 生成的部位。

1. P/O 比值 将底物、ADP、 H_3PO_4 、 Mg^{2+} 和分离得到的较完整的线粒体在模拟细胞内液的环境中于密闭小室内相互作用。发现在消耗氧气的同时消耗磷酸。测定氧和无机磷(或 ADP)的消耗量，即可计算出 P/O 比值。P/O 比值是指物质氧化时，每消耗 1 摩尔氧原子所消耗的无机磷的摩尔数(或 ADP 摩尔数)，即生成 ATP 的摩尔数。已知 β -羟丁酸的氧化是通过 NADH 呼吸链，测得 P/O 比值接近 3，即该呼吸链传递 2H 可生成 3 分子 ATP。琥珀酸氧化时，测得 P/O 比值接近 2，即生成 2 分子 ATP，因此表明在 NADH 与 CoQ 之间(复合体 I)存在偶联部位。此外，测得抗坏血酸氧化 P/O 比值接近 1，还原型 Cyt c 氧化时 P/O 比值也接近 1，即两者均生成 1 分子 ATP；此两者的不同在于，抗坏血酸通过 Cyt c 进入呼吸链被氧化，而还原型 Cyt c 则经 Cyt aa_3 被氧化，表明在 Cyt aa_3 到氧之间(复合体 IV)也存在偶联部位。从 β -羟丁酸、琥珀酸和还原型 Cyt c 氧化时 P/O 比值的比较表明，在 CoQ 与 Cyt c 之间(复合体 III)存在另一偶联部位。因此 NADH 呼吸链存在三个偶联部位，琥珀酸呼吸链存在两个偶联部位(表 7-3)。

表 7-3 线粒体离体实验测得的一些底物的 P/O 比值

底物	呼吸链的组成	P/O 比值	生成 ATP 数
β -羟丁酸	$NAD^+ \rightarrow FMN \rightarrow CoQ \rightarrow Cyt \rightarrow O_2$	2.4-2.8	3
琥珀酸	$FAD \rightarrow CoQ \rightarrow Cyt \rightarrow O_2$	1.7	2
抗坏血酸	$Cyt c \rightarrow Cyt aa_3 \rightarrow O_2$	0.88	1
细胞色素 C (Fe^{2+})	$Cyt aa_3 \rightarrow O_2$	0.61-0.68	1

2. 自由能变化 从 NAD^+ 到 CoQ 段测得的电位差约 0.36V，从 CoQ 到 Cyt c 电位差为 0.21V，从 Cyt aa_3 到分子氧为 0.53V。自由能变化 (ΔG°) 与电位变化 (ΔE°) 之间有以下关系：

$$\Delta G^\circ = -nF\Delta E^\circ$$

ΔG° 表示 pH 7.0 时的标准自由能变化；n 为传递电子数；F 为法拉第常数 (96.5kJ/mol·V)。计算结果，他们相应的 ΔG° 分别约为 69.5、40.5、102.3kJ/mol，而生成每摩尔 ATP 需能约 30.5kJ(7.3kcal)，可见以上三处均足够提供生成 ATP 所需的能量。

(二) 氧化磷酸化偶联机制

1. 化学渗透假说 化学渗透假说(chemiosmotic hypothesis)是 20 世纪 60 年代初由 Peter Mitchell 提出的，1978 年获诺贝尔化学奖。其基本要点是电子经呼吸链传递时，可将

质子(H⁺)从线粒体内膜的基质侧泵到内膜外侧，产生膜内外质子电化学梯度(H⁺浓度梯度和跨膜电位差)，以此储存能量。当质子顺浓度梯度回流时驱动 ADP 与 Pi 生成 ATP。具体说明如下：

电子传递链在线粒体内膜中共构成 3 个回路，每个回路均有质子泵的作用。首先由 NADH 提供 1 个 H⁺ 和 2 个 e，加上线粒体基质内 1 个 H⁺ 使 FMN 还原成 FMNH₂，FMNH₂ 向内膜胞液侧释出 2 个 H⁺，将 2 个 e 还原铁硫簇(Fe-S)。第二个回路开始时 Fe-S 放出 2 个 e 重新被氧化，将 2 个 e 加上基质内的 2 个 H⁺ 传递给泛醌，使泛醌还原成 QH₂。QH₂ 移至内膜胞液侧释出 2 个 H⁺，而将 2 个 e 交给 Cyt b。Cyt b 是跨膜蛋白，1 条多肽链上结合 2 个辅基，b₅₆₆ 和 b₅₆₂。还原型 Cyt b 将 2 个 e 交还给泛醌，加上基质内的 2 个 H⁺ 又使泛醌还原成 QH₂。QH₂ 将 2 个 H⁺ 从胞液侧释出，2 个 e 依次通过 Fe-S、C₁、C、a、a₃ 传递给氧，并与基质内的 2 个 H⁺ 生成 H₂O。(图 7-4)

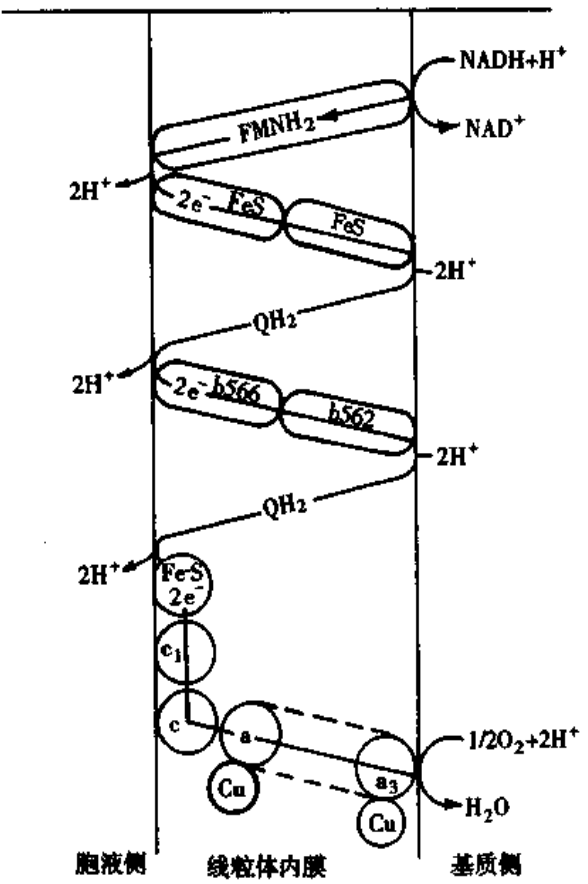


图 7-4 化学渗透假说

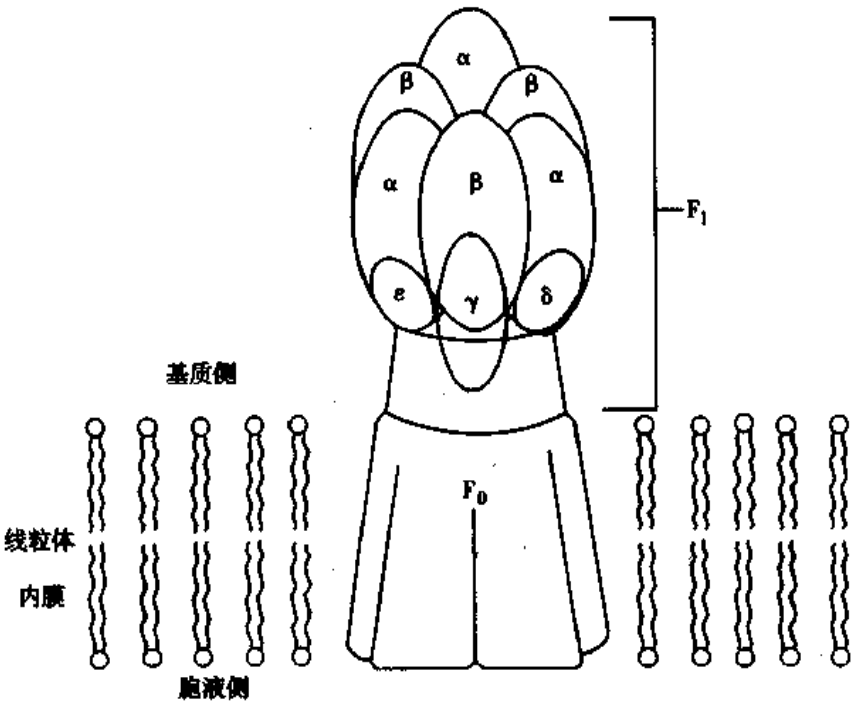


图 7-5 ATP 合酶结构模式图

后来的实验结果证实，复合体 I、III、IV 均具有质子泵的作用。(图 7-2)

2. ATP 合酶 在分离得到四种呼吸链复合体的同时还可得到复合体 V，即 ATP 合酶(ATP synthase)。它位于线粒体内膜的基质侧，形成许多颗粒状突起。该酶主要由 F_0 (疏水部分) 和 F_1 (亲水部分) 组成。 F_1 主要由 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ 亚基组成，其功能是催化生成 ATP，催化部位在 β 亚基中，但 β 亚基必须与 α 亚基结合才有活性。 F_0 是镶嵌在线粒体内膜中的质子通道(图 7-5)。当 H^+ 顺浓度梯度经 F_0 回流时， F_1 催化 ADP 和 P_i ，生成并释放 ATP (图 7-6)。此外，在 F_0 和 F_1 之间的柄部还有其他亚基存在，其中一个称之为寡霉素敏感蛋白(oligomycin - sensitivity - conferring protein, OSCP)，使 ATP 合酶在寡霉素存在时不能生成 ATP。

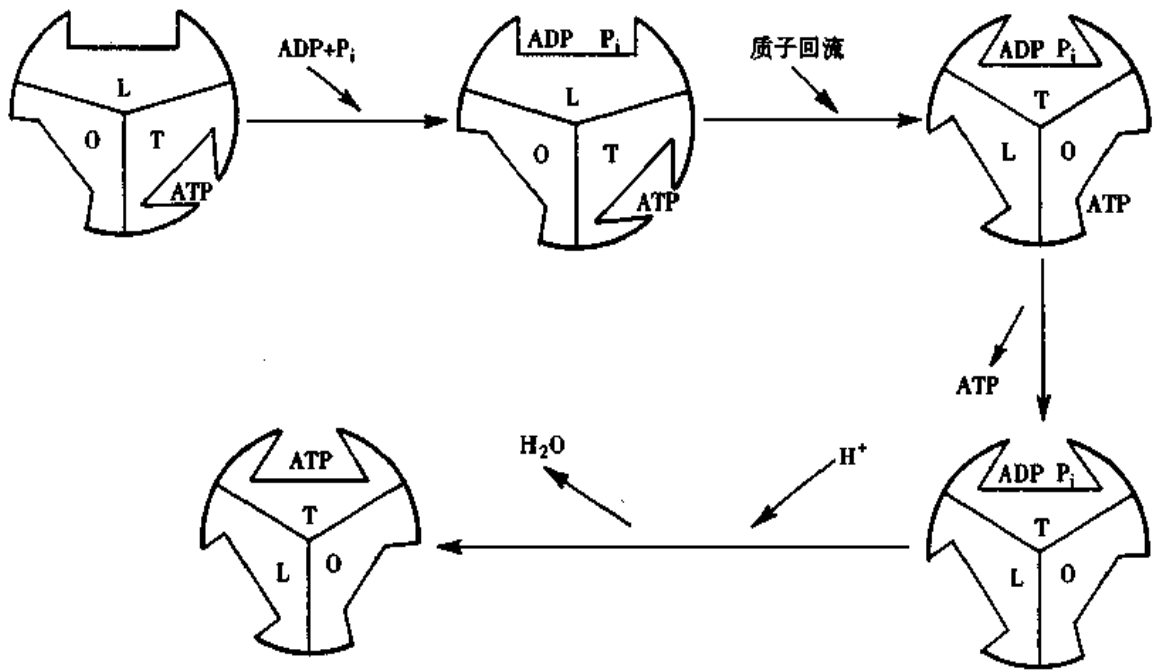


图 7-6 ATP 合酶的工作机制

三个 β 亚基构象不同：O 开放型；L 疏松型；
T 紧密结合型 质子回流驱动构象相互转化

三、影响氧化磷酸化的因素

(一) 抑制剂

1. 呼吸链抑制剂 此类抑制剂能阻断呼吸链中某些部位电子传递。例如，鱼藤酮(rotenone)、粉蝶霉素 A (piericidin A) 及异戊巴比妥(amobarbital) 等与复合体 I 中的铁硫蛋白结合，从而阻断电子传递。抗霉素 A (antimycin A)、二巯基丙醇(dimercaptopropanol, BAL) 抑制复合体 III 中 Cyt b 与 Cyt c_1 间的电子传递。CO、CN⁻、N₃ 及 H₂S 抑制细胞色素 C 氧化酶，使电子不能传给氧。因此此类抑制剂可使细胞内呼吸停止，与此相关的细胞生命活动停止，引起机体迅速死亡。

2. 解偶联剂(uncoupler) 它们使氧化与磷酸化偶联过程脱离。其基本作用机制是使呼吸链传递电子过程中泵出的 H^+ 不经 ATP 合酶的 F_0 质子通道回流，而通过线粒体内膜

中其他途径返回线粒体基质，从而破坏了内膜两侧的电化学梯度，使 ATP 的生成受到抑制，由电化学梯度储存的能量以热能形式释放。二硝基苯酚(dinitrophenol, DNP)为脂溶性物质，在线粒体内膜中可自由移动，进入基质侧释出 H^+ ，返回胞液侧结合 H^+ ，从而破坏了电化学梯度。人(尤其是新生儿)、哺乳类等动物中存在含有大量线粒体的棕色脂肪组织，该组织线粒体内膜中存在解偶联蛋白(uncoupling protein)，它是由 2 个 32kD 亚基组成的二聚体，在内膜上形成质子通道， H^+ 可经此通道返回线粒体基质中，同时释放热能，因此棕色脂肪组织是产热御寒组织。新生儿硬肿症是因为缺乏棕色脂肪组织，不能维持正常体温而使皮下脂肪凝固所致。游离脂肪酸可促进质子经解偶联蛋白返流至线粒体基质中。近年来发现在骨骼肌，心肌等组织的线粒体内膜中也存在解偶联蛋白。

3. 氧化磷酸化抑制剂 这类抑制剂对电子传递及 ADP 磷酸化均有抑制作用。例如，寡霉素(oligomycin)可与 ATP 合酶 F_1 和 F_0 之间柄部的寡霉素敏感蛋白结合，阻止质子从 F_0 质子通道回流，抑制 ATP 生成。此时由于线粒体内膜两侧电化学梯度增高影响呼吸链质子泵的功能，继而抑制电子传递。

各种抑制剂对线粒体耗氧的影响见图 7-7。

(二) ADP 的调节作用

正常机体氧化磷酸化的速率主要受 ADP 的调节。当机体利用 ATP 增多，ADP 浓度增高，转运入线粒体后使氧化磷酸化速度加快；反之 ADP 不足，使氧化磷酸化速度减慢。这种调节作用可使 ATP 的生成速度适应生理需要。用离体线粒体进行实验，当有过量底物存在时，加入 ADP 后的耗氧速率与仅有底物时的耗氧速率之比称为呼吸控制率(respiratory control ratio, RCR)。它可以作为观察氧化磷酸化偶联程度较敏感的指标。

(三) 甲状腺激素

甲状腺激素诱导细胞膜上 Na^+ ， K^+ - ATP 酶的生成，使 ATP 加速分解为 ADP 和 P_i ，ADP 增多促进氧化磷酸化，甲状腺激素(T_3)还可使解偶联蛋白基因表达增加，因而引起耗氧和产热均增加。所以甲状腺功能亢进症患者基础代谢率增高。

(四) 线粒体 DNA 突变

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 呈裸露的环状双螺旋结构，缺乏蛋白质保护和损伤修复系统，容易受到本身氧化磷酸化过程中产生氧自由基的损伤而发生突变，其突变率是核 DNA 突变率的 10~20 倍。mtDNA 编码呼吸链氧化磷酸化复合体中 13 条多

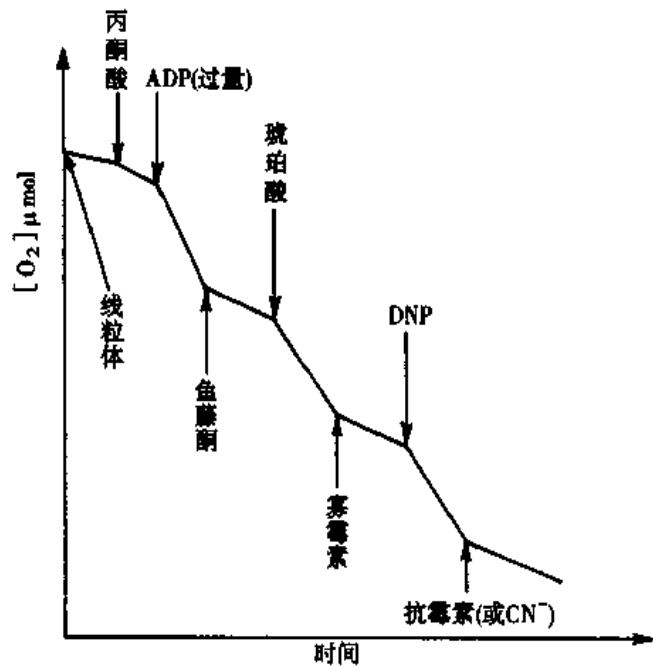


图 7-7 不同底物和抑制剂对线粒体氧耗的影响
用氧电极测定氧浓度观察离体线粒体耗氧量

肽链的基因、以及线粒体蛋白质合成所需的 22 个 tRNA 的基因和 2 个 rRNA 的基因。因此 mtDNA 突变可影响氧化磷酸化的功能，使 ATP 生成减少而致病。mtDNA 病出现的症状取决于 mtDNA 突变的严重程度和各器官对 ATP 的需求，耗能较多的组织器官首先出现功能障碍，常见的有盲、聋、痴呆、肌无力、糖尿病等。因每个卵细胞中有几十万 mtDNA 分子，每个精子中只有几百个 mtDNA 分子，受精时，卵细胞对 mtDNA 影响较大，因此该病以母系遗传居多。随着年龄的增长，mtDNA 突变日趋严重，大多数 mtDNA 病症状到老年时才出现。

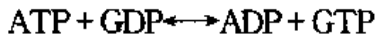
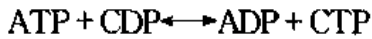
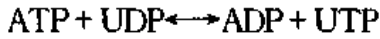
四、ATP

生物氧化过程中释放的能量大约有 40% 以化学能的形式储存于一些特殊的有机磷酸化合物中，形成磷酸酯(磷酸酐)。这些磷酸酯键水解时释放能量较多(大于 21kJ/mol)，一般称之为高能磷酸键，常用“~P”符号表示。含有高能磷酸键的化合物称之为高能磷酸化合物。实际上高能磷酸键水解时释放的能量是整个高能磷酸化合物分子释放的能量，并不存在键能特别高的化学键。因此，“高能磷酸键”的名称不够确切。但为了叙述方便，目前仍被采用。在体内所有高能磷酸化合物中，以 ATP 末端的磷酸键最为重要。此外体内还存在其他高能化合物(表 7-4)。

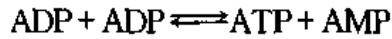
表 7-4 几种常见的高能化合物

通式	举例	释放能量(pH 7.0, 25℃) kJ/mol (kcal/mol)
$\begin{array}{c} \text{NH} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{N} \sim \text{PO}_3\text{H}_2 \\ \\ \text{H} \end{array}$	磷酸肌酸	-43.9 (-10.5)
$\begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \\ \text{RC}-\text{O} \sim \text{PO}_3\text{H}_2 \end{array}$	磷酸烯醇式丙酮酸	-61.9 (-14.8)
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RC}-\text{O} \sim \text{PO}_3\text{H}_2 \end{array}$	乙酰磷酸	-41.8 (-10.1)
$\begin{array}{c} \text{O} \quad \quad \text{O} \\ \quad \quad \\ -\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{OH} \\ \quad \quad \\ \text{OH} \quad \quad \text{OH} \end{array}$	ATP, GTP, UTP, CTP	-30.5 (-7.3)
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RC} \sim \text{SCoA} \end{array}$	乙酰 CoA	-31.4 (-7.5)

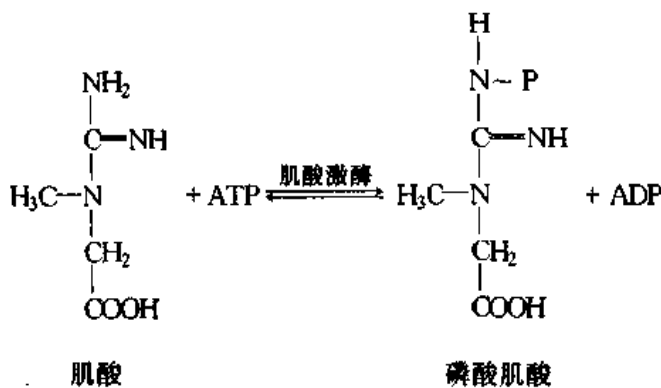
为糖原、磷脂、蛋白质合成提供能量的 UTP、CTP、GTP 不能从物质氧化过程中直接生成，只能在二磷酸核苷激酶的催化下，从 ATP 中获得 ~P。反应如下：



另外，当体内 ATP 消耗过多（例如肌肉剧烈收缩）时，ADP 累积，在腺苷酸激酶（adenylate kinase）催化下由 ADP 转变成 ATP 被利用。此反应是可逆的，当 ATP 需要量降低时，AMP 从 ATP 中获得 ~P 生成 ADP。



除此，ATP 还可将 ~P 转移给肌酸生成磷酸肌酸（creatine phosphate, CP），作为肌肉和脑组织中能量的一种贮存形式。当机体消耗 ATP 过多而致 ADP 增多时，磷酸肌酸将 ~P 转移给 ADP，生成 ATP，供生理活动之用。



由此可见，生物体内能量的储存和利用都以 ATP 为中心(图 7-8)。在体外 pH7.0, 25℃ 条件下每摩尔 ATP 水解为 ADP 和 Pi 时释放的能量为 30.5kJ (7.3kcal)；在生理条件下可释放能量 50kJ (12kcal)。人体内 ATP 含量虽然不多，但每日经 ATP/ADP 相互转变的量相当可观。

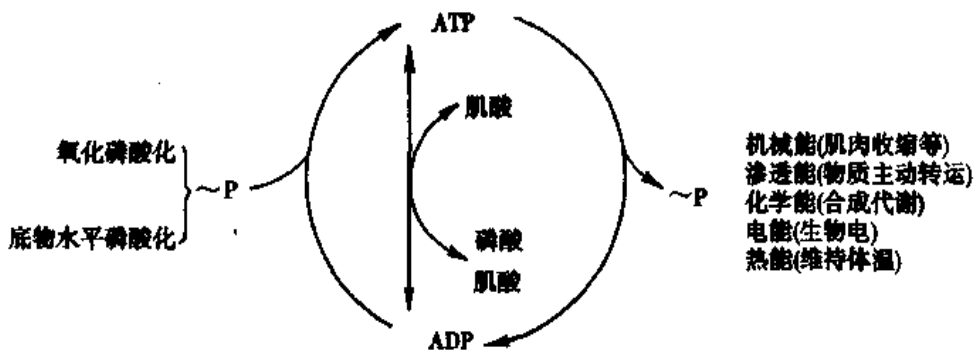


图 7-8 ATP 的生成和利用

五、通过线粒体内膜的物质转运

线粒体基质与胞液之间有线粒体内、外膜相隔，外膜通透性较高，允许分子量在 1 000 以内的物质通过。线粒体对物质通过的选择性主要依赖于内膜中不同的转运载体对各种物质进行转运，以保证生物氧化的顺利进行(表 7-5)。

表 7-5 线粒体内膜的主要转载体

载 体	功 能	
	胞液	线粒体基质
α -酮戊二酸载体	苹果酸	α -酮戊二酸
酸性氨基酸载体	谷 氨 酸	天冬氨酸
腺苷酸载体	ADP	ATP
磷酸盐载体	$H_2PO_4^- H^+$	$H_2PO_4^- H^+$
丙酮酸载体	丙 酮 酸	OH^-
三羧酸载体	苹 果 酸	柠 檬 酸
碱性氨基酸载体	鸟 氨 酸	瓜 氨 酸
肉碱载体	脂酰肉碱	肉 碱

(一) 胞液中 NADH 的氧化

线粒体内生成的 NADH 可直接参加氧化磷酸化过程，但在胞液中生成的 NADH 不能自由透过线粒体内膜，故线粒体外 NADH 所携带的氢必须通过某种转运机制才能进入线粒体，然后再经呼吸链进行氧化磷酸化过程。这种转运机制主要有 α -磷酸甘油穿梭 (glycerophosphate shuttle) 和苹果酸-天冬氨酸穿梭 (malate-aspartate shuttle) 两种。

1. α -磷酸甘油穿梭作用 α -磷酸甘油穿梭作用主要存在于脑和骨骼肌中。如图 7-9 所示,线粒体外的 NADH 在胞液中磷酸甘油脱氢酶催化下,使磷酸二羟丙酮还原成 α -磷酸甘油,后者通过线粒体外膜,再经位于线粒体内膜近胞液侧的磷酸甘油脱氢酶催化下氧化生成磷酸二羟丙酮和 $FADH_2$ 。磷酸二羟丙酮可穿出线粒体外膜至胞液,继续进行穿

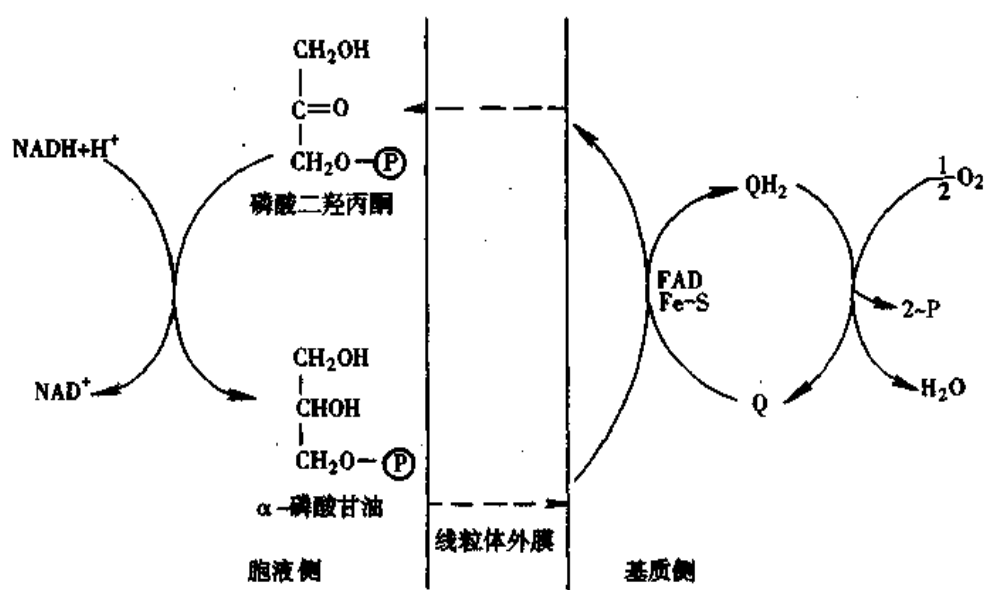


图 7-9 α -磷酸甘油穿梭

梭，而 $FADH_2$ 则进入琥珀酸氧化呼吸链，生成 2 分子 ATP。因此在这些组织糖酵解过程中 3-磷酸甘油醛脱氢产生的 $NADH + H^+$ 可通过 α -磷酸甘油穿梭进入线粒体，故 1 分子葡萄糖彻底氧化可生成 36 分子 ATP。

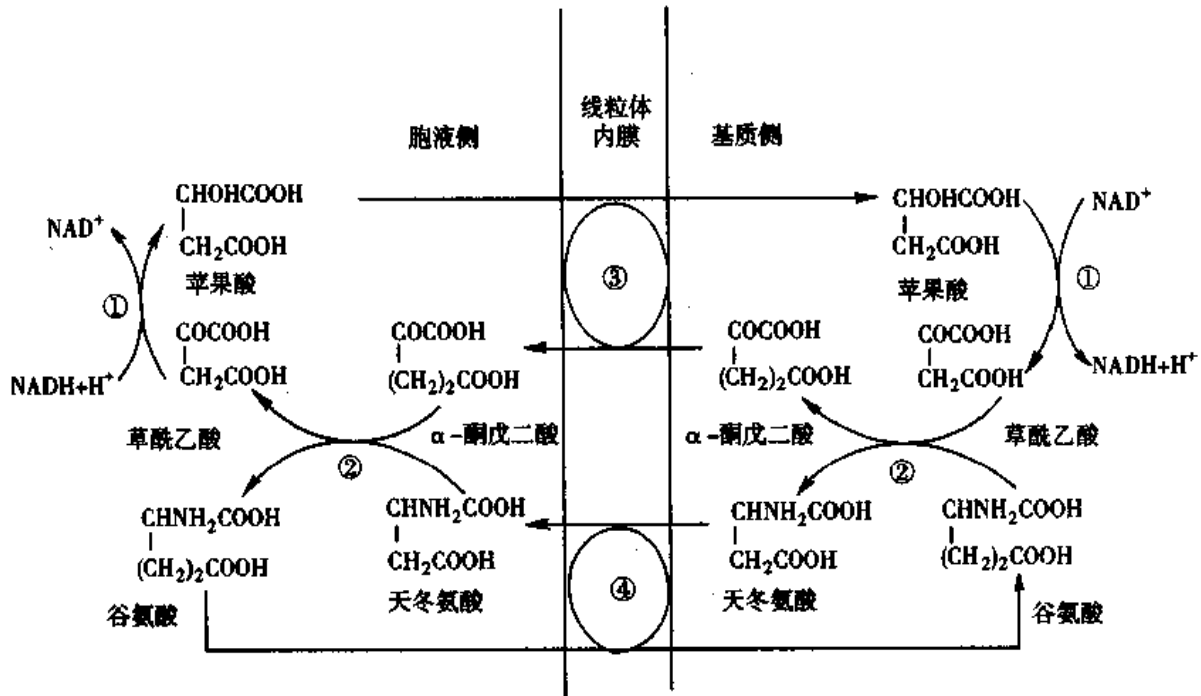


图 7-10 苹果酸-天冬氨酸穿梭

①苹果酸脱氢酶 ②谷草转氨酶 ③ α -酮戊二酸载体 ④酸性氨基酸载体

2. 苹果酸-天冬氨酸穿梭作用 苹果酸-天冬氨酸穿梭主要存在于肝和心肌中。如图 7-10 所示，胞液中的 $NADH$ 在苹果酸脱氢酶的作用下，使草酰乙酸还原成苹果酸，后者通过线粒体内膜上的 α -酮戊二酸载体进入线粒体，又在线粒体内苹果酸脱氢酶的作用下重新生成草酰乙酸和 $NADH$ 。 $NADH$ 进入 $NADH$ 氧化呼吸链，生成 3 分子 ATP。线粒体内生成的草酰乙酸经谷草转氨酶的作用生成天冬氨酸，后者经酸性氨基酸载体转运出线粒体再转变成草酰乙酸，继续进行穿梭。因此在这些组织糖酵解过程中 3-磷酸甘油醛脱氢产生的 $NADH + H^+$ 可通过苹果酸-天冬氨酸穿梭进入线粒体中，故 1 分子葡萄糖彻底氧化可生成 38 分子 ATP。

(二) 腺苷酸载体

腺苷酸载体 (adenine nucleotide transporter) 又称 ATP-ADP 载体 (ATP-ADP carrier) 或称 ATP-ADP 转位酶。它是由 2 个 3.0 kD 亚基组成的二聚体，ADP 与 ATP 经该载体反向交换。此时，胞液中的 H_2PO_4 经磷酸盐载体与 H^+ 同向转运到线粒体内。(图 7-11)

(三) 线粒体蛋白质的跨膜转运

90% 以上的线粒体蛋白质是由核 DNA 编码的，它们在线粒体外合成。合成的蛋白质前体多肽链在线粒体外膜表面由解折叠酶使其空间结构松散，此时被位于外膜上的受体识别，再被转移到总插入蛋白。总插入蛋白使蛋白质前体从氨基端开始通过线粒体外膜与内膜之间的接触位点转运至线粒体基质。基质中的加工肽酶切除蛋白质前体中含有

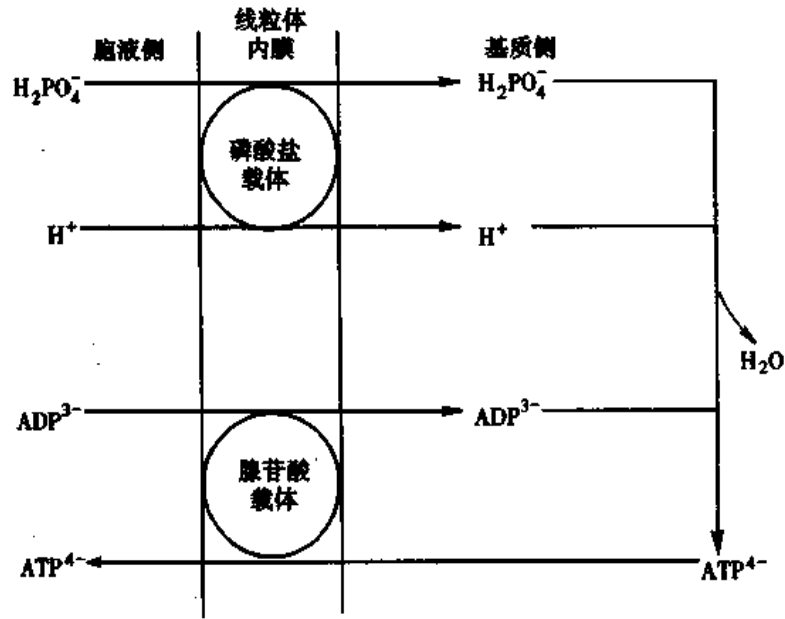


图 7-11 ATP、ADP、Pi 的转运

导向信息的氨基端前序列，生成成熟的基质蛋白质。

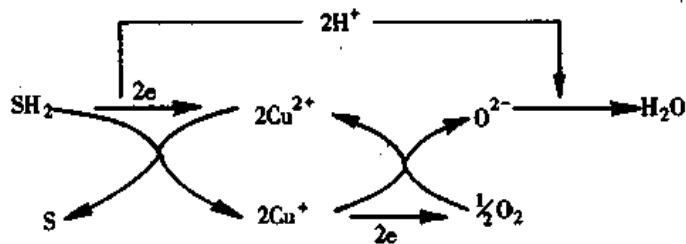
一些定位于线粒体内膜或膜间隙的蛋白质经基质中的加工肽酶作用后，暴露出新的氨基端疏水肽段，引导多肽链重新穿过内膜。此疏水肽段被膜间隙中的酶切除后，才能生成成熟的蛋白质。

第二节 其他氧化体系

一、需氧脱氢酶和氧化酶

如上所述，呼吸链中的脱氢酶大多以某些辅酶(基)作为直接受氢体，故属于不需氧脱氢酶。此外，体内有些物质脱下的氢可直接以氧作为受氢体，催化这类反应的酶有需氧脱氢酶和氧化酶。

氧化酶直接利用氧为受氢体催化底物氧化，其辅基含铜离子，产物中有 H_2O 。属于这类氧化酶的有细胞色素 C 氧化酶、抗坏血酸氧化酶等。其氧化过程简示于下图。

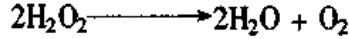


需氧脱氢酶可催化底物脱氢并以氧为受氢体，其辅基是 FMN 或 FAD，但反应产物是过氧化氢，而不是 H_2O 。

二、过氧化物酶体中的氧化酶类

(一) 过氧化氢酶

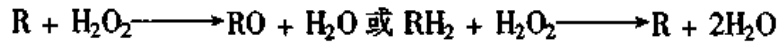
过氧化氢酶(catalase)又称触酶,其辅基含有4个血红素,催化反应如下:



在粒细胞和吞噬细胞中, H_2O_2 可氧化杀死入侵的细菌; 甲状腺细胞中产生的 H_2O_2 可使 2I^- 氧化为 I_2 , 进而使酪氨酸碘化生成甲状腺激素。

(二) 过氧化物酶

过氧化物酶(peroxidase)也以血红素为辅基, 它催化 H_2O_2 直接氧化酚类或胺类化合物, 反应如下:



临床上判断粪便中有无隐血时, 就是利用白细胞中含有过氧化物酶的活性, 将联苯胺氧化成蓝色化合物。

三、超氧化物歧化酶

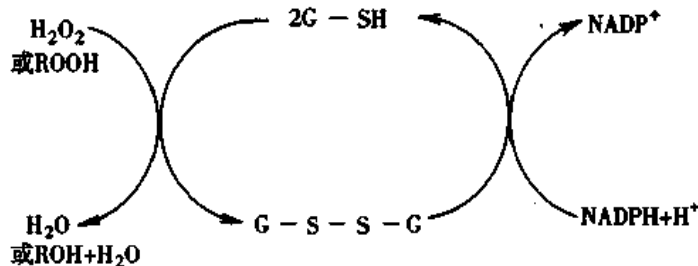
呼吸链电子传递过程中可产生超氧离子(O_2^-) (占耗 O_2 的 1% ~ 4% 左右), 体内其他物质(如黄嘌呤)氧化时也可产生 O_2^- 。 O_2^- 可进一步生成 H_2O_2 和羟自由基($\cdot\text{OH}$), 统称为反应氧族。其化学性质活泼, 可使磷脂分子中不饱和脂肪酸氧化生成过氧化脂质, 损伤生物膜; 过氧化脂质与蛋白质结合形成的复合物, 积累成棕褐色的色素颗粒, 称为脂褐素, 与组织老化有关。

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 可催化 1 分子 O_2^- 氧化生成 O_2 , 另一分子 O_2^- 还原生成 H_2O_2 :



在真核细胞胞液中, 该酶以 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 为辅基, 称为 CuZn-SOD; 线粒体内以 Mn^{2+} 为辅基, 称 Mn-SOD。生成的 H_2O_2 可被活性极强的过氧化氢酶分解。SOD 是人体防御内、外环境中超氧离子损伤的重要酶。

体内还存在一种含硒的谷胱甘肽过氧化物酶, 可使 H_2O_2 或过氧化物 (ROOH) 与还原型谷胱甘肽 (G-SH) 反应, 生成的氧化型谷胱甘肽, 再由 NADPH 供氢使氧化型谷胱甘肽重新被还原。此类酶具有保护生物膜及血红蛋白免遭损伤的作用。



四、微粒体中的氧化酶类

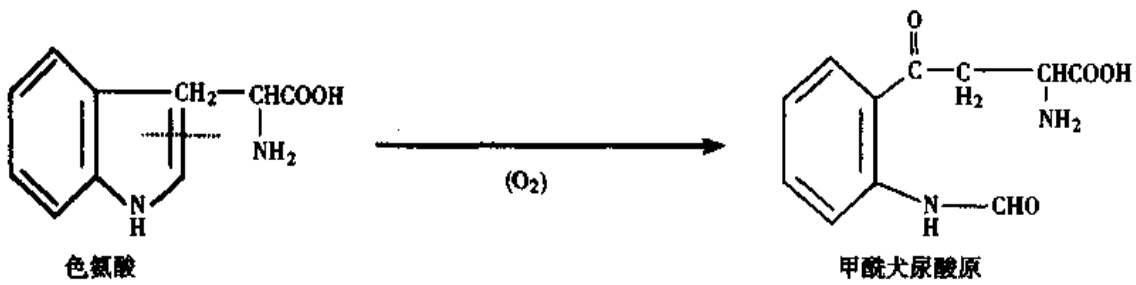
(一) 加单氧酶

加单氧酶(monooxygenase)催化一个氧原子加到底物分子上(羟化),另一个氧原子被氢(来自 $\text{NADPH} + \text{H}^+$)还原成水。故又称混合功能氧化酶(mixed-function oxidase)或羟化酶(hydroxylase)。



上述反应需要细胞色素 P_{450} (Cytochrome P_{450} , Cyt P_{450}) 参与。Cyt P_{450} 属于 Cyt b 类,与 CO 结合后在波长 450nm 处出现最大吸收峰。细胞色素 P_{450} 在生物中广泛分布,哺乳类动物 Cyt P_{450} 分属 10 个基因家族。人 Cyt P_{450} 有 100 多种同工酶,对被羟化的底物各有其特异性。此酶在肝和肾上腺的微粒体中含量最多,参与类固醇激素、胆汁酸及胆色素等的生成,以及药物、毒物的生物转化过程(见后)。

连接 NADPH 与 Cyt P₄₅₀ 的是 NADPH-细胞色素 P₄₅₀ 还原酶 NADPH 首先将电子交给



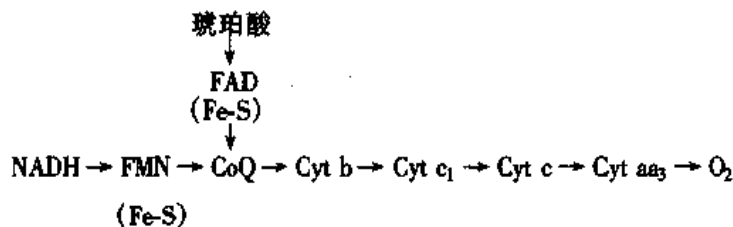
小 结

物质在生物体内氧化称为生物氧化。生物氧化主要指供能物质在体内分解时，逐步释放能量，以维持生命活动，并最终生成 CO₂ 和 H₂O 的过程。

除底物水平磷酸化外，物质中贮存能量的释放是通过代谢物脱下 2H，经呼吸链中多种酶和辅酶逐步传递最终与 O₂ 结合生成 H₂O 完成的。

用去垢剂处理线粒体内膜，可将呼吸链分离得到 4 种功能复合体：NADH-泛醌还原酶(复合体 I)、琥珀酸-泛醌还原酶(复合体 II)、泛醌-细胞色素 C 还原酶(复合体 III)、以及细胞色素 C 氧化酶(复合体 IV)。CoQ 和 Cyt c 不包含在这些复合体中。

通过测定呼吸链各组分的标准氧化还原电位，利用呼吸链各组分特有的吸收光谱，测定离体线粒体缓慢给氧时光吸收的改变，以及采用特殊的抑制剂对呼吸链阻断等实验，推论得出呼吸链各组分电子传递顺序：

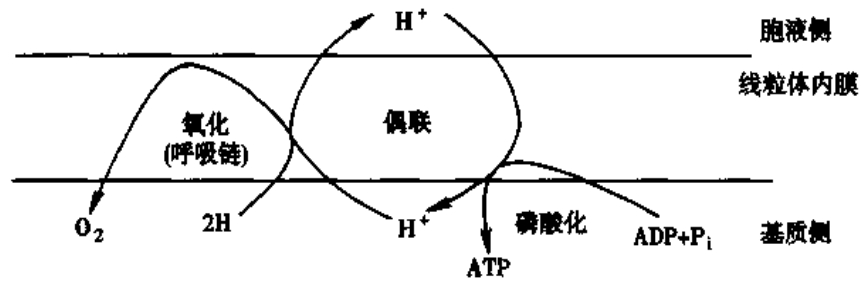


根据传递顺序的不同可分为两条呼吸链：NADH 氧化呼吸链和琥珀酸氧化呼吸链。

呼吸链电子传递过程中释放的能量，大约有 40% 可使 ADP 磷酸化生成 ATP，此过程称为氧化磷酸化偶联。通过测定不同底物经呼吸链氧化的 P/O 比值及通过呼吸链各组分之间电位差与自由能变化之间的关系计算所得的结果表明，NADH 氧化呼吸链存在 3 个偶联部位，琥珀酸氧化呼吸链存在 2 个偶联部位。此外体内还有一种磷酸化方式，称之为底物水平磷酸化，即代谢物分子中能量直接转移生成 ATP。

化学渗透假说是解释氧化磷酸化机制的主要学说。该假说认为，电子经呼吸链传递释放的能量，可将 H⁺ 从线粒体内膜的基质侧泵到内膜外侧，产生质子电化学梯度储存能量。当质子顺梯度经 ATP 合酶 F₀ 回流时，F₁ 催化 ADP 和 Pi 生成并释放 ATP。实验证实，复合体 I、III、IV 均有质子泵的作用。

氧化磷酸化可受一些化合物的抑制。呼吸链抑制剂阻断呼吸链某一部位使电子不能传给氧；解偶联剂使氧化和磷酸化偶联过程脱离；氧化磷酸化抑制剂对电子传递和磷酸化均有抑制作用。此外氧化磷酸化还受细胞内 ADP/ATP 比值，以及甲状腺激素的调控。



线粒体 DNA 突变也可影响氧化磷酸化的功能。

生物体内能量的转化，储存和利用都以 ATP 为中心。在肌肉和脑组织中，磷酸肌酸可作为 ATP 末端高能磷酸键的贮存形式。

线粒体内膜中各种转运载体对进出线粒体物质进行转运以保证生物氧化顺利进行。胞液中生成的 NADH 不能直接进入线粒体，而必须经 α -磷酸甘油穿梭系统或苹果酸-天冬氨酸穿梭系统进入线粒体后才能进行氧化，分别生成 2 分子或 3 分子 ATP。

除线粒体的氧化体系外，在微粒体、过氧化物酶体以及细胞其他部位还存在其他氧化体系，参与呼吸链以外的氧化过程，其特点是不伴磷酸化，不能生成 ATP，主要与体内代谢物、药物和毒物的生物转化有关。

(王学敏)

第八章 氨基酸代谢

氨基酸是蛋白质的基本组成单位。氨基酸的重要生理功能之一是作为合成蛋白质的原料。由于蛋白质在体内首先分解成为氨基酸而后再进一步代谢，所以氨基酸代谢是蛋白质分解代谢的中心内容。氨基酸代谢包括合成代谢和分解代谢两方面，本章重点论述分解代谢。体内蛋白质的更新和氨基酸的分解均需要食物蛋白质来补充。为此，在讨论氨基酸代谢之前，首先叙述蛋白质的营养作用及蛋白质的消化、吸收问题。

第一节 蛋白质的营养作用

一、蛋白质营养的重要性

蛋白质是生命的物质基础，维持细胞、组织的生长、更新、修补，以及催化、运输、代谢调节等均需要蛋白质参与。同时，蛋白质也是能源物质，每克蛋白质在体内氧化分解可释放约 17kJ (4kcal) 能量(蛋白质的供能作用可由糖或脂肪代替)。由此，提供足够食物蛋白质对正常代谢和各种生命活动的进行是十分重要的，对于生长发育的儿童和康复期的病人，供给足量、优质的蛋白质尤为重要。

二、蛋白质的需要量和营养价值

(一) 氮平衡

机体内蛋白质代谢的概况可根据氮平衡(nitrogen balance)实验来确定。如前所述，蛋白质的含氮量平均约为 16%。食物中的含氮物质绝大部分是蛋白质。因此测定食物的含氮量可以估算出所含蛋白质的量。蛋白质在体内分解代谢所产生的含氮物质主要由尿、粪排出。测定尿与粪中的含氮量(排出氮)及摄入食物的含氮量(摄入氮)可以反映人体蛋白质的代谢概况。

1. 氮的总平衡 摄入氮 = 排出氮，反映正常成人的蛋白质代谢情况，即氮的“收支”平衡。
2. 氮的正平衡 摄入氮 > 排出氮，部分摄入的氮用于合成体内蛋白质。儿童、孕妇及恢复期病人属于此种情况。
3. 氮的负平衡 摄入氮 < 排出氮，见于蛋白质需要量不足，例如饥饿或消耗性疾病患者。

(二) 生理需要量

根据氮平衡实验计算，在不进食蛋白质时，成人每日最低分解约 20g 蛋白质。由于

食物蛋白质与人体蛋白质组成的差异，不可能全部被利用，故成人每日最低需要 30~50g 蛋白质。为了长期保持总氮平衡，仍须增量才能满足要求。我国营养学会推荐成人每日蛋白质需要量为 80g。

(三) 蛋白质的营养价值

在营养方面，不仅要注意膳食蛋白质的量，还必须注意蛋白质的质。由于各种蛋白质所含氨基酸的种类和数量不同，它们的质不同。有的蛋白质含有体内所需要的各种氨基酸，并且含量充足，则此种蛋白质的营养价值(nutrition value)高；有的蛋白质缺乏体内所需要的某种氨基酸，或含量不足，则其营养价值较低。

人体内有 8 种氨基酸不能合成。这些体内需要而又不能自身合成，必须由食物供应的氨基酸，称为营养必需氨基酸(essential amino acid)。它们是：缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苏氨酸、甲硫氨酸、赖氨酸、苯丙氨酸和色氨酸。其余 12 种氨基酸体内可以合成，不一定需要由食物供应，在营养上称为非必需氨基酸(non-essential amino acid)。组氨酸和精氨酸虽能在人体内合成，但合成量不多，若长期缺乏也能造成负氮平衡，因此有人将这两种氨基酸也归为营养必需氨基酸。一般来说，含有必需氨基酸种类多和数量足的蛋白质，其营养价值高，反之营养价值低。由于动物性蛋白质所含必需氨基酸的种类和比例与人体需要相近，故营养价值高。营养价值较低的蛋白质混合食用，则必需氨基酸可以互相补充从而提高营养价值，称为食物蛋白质的互补作用。例如，谷类蛋白质含赖氨酸较少而含色氨酸较多，豆类蛋白质含赖氨酸较多而含色氨酸较少，两者混合食用即可提高营养价值。

某些疾病情况下，为保证氨基酸的需要，可进行混合氨基酸输液。

第二节 蛋白质的消化、吸收与腐败

一、蛋白质的消化

食物蛋白质的消化、吸收是人体氨基酸的主要来源。蛋白质未经消化不易吸收。有时某些抗原、毒素蛋白可少量通过粘膜细胞进入体内，会产生过敏、毒性反应。一般说来，食物蛋白质水解为氨基酸及小肽后才能被机体吸收、利用。

唾液中不含水解蛋白质的酶，故食物蛋白质的消化自胃中开始，但主要在小肠中进行。

(一) 胃中的消化

胃中消化蛋白质的酶是胃蛋白酶(pepsin)，它由胃蛋白酶原(pepsinogen)经胃酸激活而生成。胃蛋白酶也能激活胃蛋白酶原转变成胃蛋白酶，称为自身激活作用(autocatalysis)。胃蛋白酶的最适 pH 为 1.5~2.5，对蛋白质肽键作用的特异性较差。蛋白质经胃蛋白酶作用后，主要分解成多肽及少量氨基酸。胃蛋白酶对乳中的酪蛋白(casein)有凝乳作用，这对乳儿较为重要，因为乳液凝成乳块后在胃中停留时间延长，有利于充分消化。

(二) 小肠中的消化

食物在胃中停留时间较短，因此蛋白质在胃中消化很不完全。在小肠中，蛋白质的

消化产物及未被消化的蛋白质再受胰液及肠粘膜细胞分泌的多种蛋白酶及肽酶的共同作用，进一步水解成为氨基酸。因此，小肠是蛋白质消化的主要部位。

小肠中蛋白质的消化主要依靠胰酶来完成，这些酶的最适 pH 为 7.0 左右。胰液中的蛋白酶基本上分为两类，即内肽酶(endopeptidase)与外肽酶(exopeptidase)。内肽酶可以水解蛋白质肽链内部的一些肽键，例如胰蛋白酶(trypsin)、糜蛋白酶(chymotrypsin)及弹性蛋白酶(elastase)等。这些酶对不同氨基酸组成的肽键有一定的专一性。外肽酶主要有羧基肽酶 A(carboxypeptidase A)和羧基肽酶 B，它们自肽链的羧基末端开始，每次水解掉一个氨基酸残基，对不同氨基酸组成的肽键也有一定专一性。蛋白质在胰酶的作用下，最终产物为氨基酸和一些寡肽。

胰腺细胞最初分泌出来的各种蛋白酶和肽酶均以无活性的酶原形式存在，分泌到十二指肠后迅速被肠激酶(enterokinase)激活。胰蛋白酶的自身激活作用较弱。由于胰液中各种蛋白水解酶最初均以酶原形式存在，同时，胰液中还存在着胰蛋白酶抑制剂。这些对保护胰组织免受蛋白酶的自身消化作用具有重要意义。

蛋白质经胃液和胰液中各种酶的水解，所得到的产物中仅有 1/3 为氨基酸，其余 2/3 为寡肽。小肠粘膜细胞的刷状缘及胞液中存在着一一些寡肽酶(oligopeptidase)，例如氨基肽酶(aminopeptidase)及二肽酶(dipeptidase)等。氨基肽酶从肽链的氨基末端逐个水解出氨基酸，最后生成二肽。二肽再经二肽酶水解，最终生成氨基酸(图 8-1)。可见，寡肽的水解主要在小肠粘膜细胞内进行。

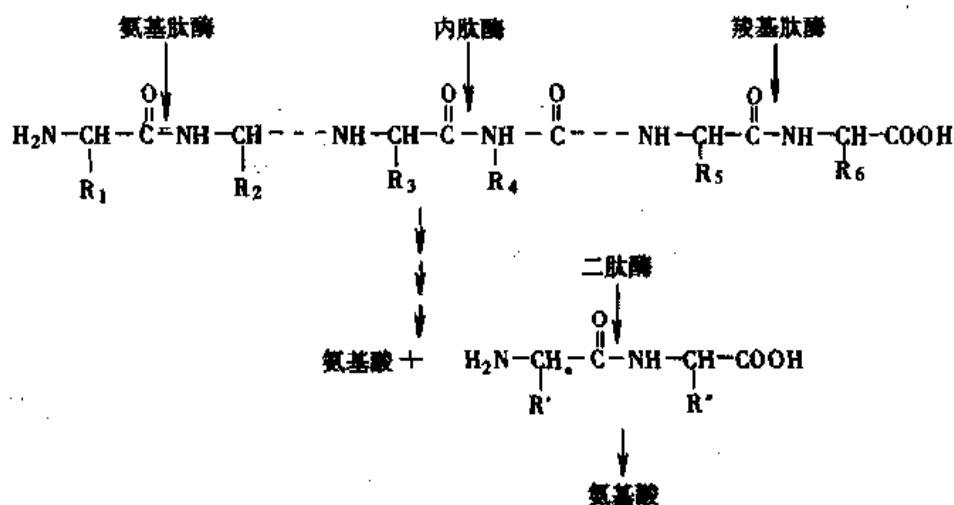


图 8-1 蛋白水解酶作用示意图

由于各种蛋白水解酶对肽键作用的专一性不同，通过它们的协同作用，蛋白质消化的效率很高。一般正常成人，食物蛋白质的 95% 可被完全水解。但是，一些纤维状蛋白质只能部分被水解。

二、氨基酸的吸收

氨基酸的吸收主要在小肠中进行。关于吸收机制，目前尚未完全阐明，一般认为它主要是一个耗能的主动吸收过程。

(一) 氨基酸吸收载体

实验表明，肠粘膜细胞膜上具有转运氨基酸的载体蛋白(carrier protein)，能与氨基酸及 Na^+ 形成三联体，将氨基酸及 Na^+ 转运入细胞， Na^+ 则借钠泵排出细胞外，并消耗 ATP。此过程与葡萄糖的吸收载体系统类似。

由于氨基酸结构的差异，主动转运氨基酸的载体也不相同。已知人体内至少有 4 种类型的载体，分别参与不同氨基酸的吸收，它们是：中性氨基酸载体、碱性氨基酸载体、酸性氨基酸载体、亚氨基酸与甘氨酸载体。其中，中性氨基酸载体是主要载体。

各种载体转运的氨基酸在结构上有一定的相似性，当某些氨基酸共用同一载体时，则它们在吸收过程中将彼此竞争。

上述氨基酸的主动转运不仅存在于小肠粘膜细胞，类似的作用也可能存在于肾小管细胞、肌细胞等细胞膜上，这对于细胞浓集氨基酸作用具有普遍意义。

(二) γ -谷氨酰基循环对氨基酸的转运作用

除了上述氨基酸的吸收机制外，Meister 提出氨基酸吸收及向细胞内的转运过程是通过谷胱甘肽起作用的，称为“ γ -谷氨酰基循环”(γ-glutamyl cycle)，其反应过程首先由谷胱甘肽对氨基酸转运，其次是谷胱甘肽的再合成，由此构成一个循环(图 8-2)。催化上述反应的各种酶在小肠粘膜细胞、肾小管细胞和脑组织中均存在，其中 γ -谷氨酰基转移酶位于细胞膜上，是关键酶。

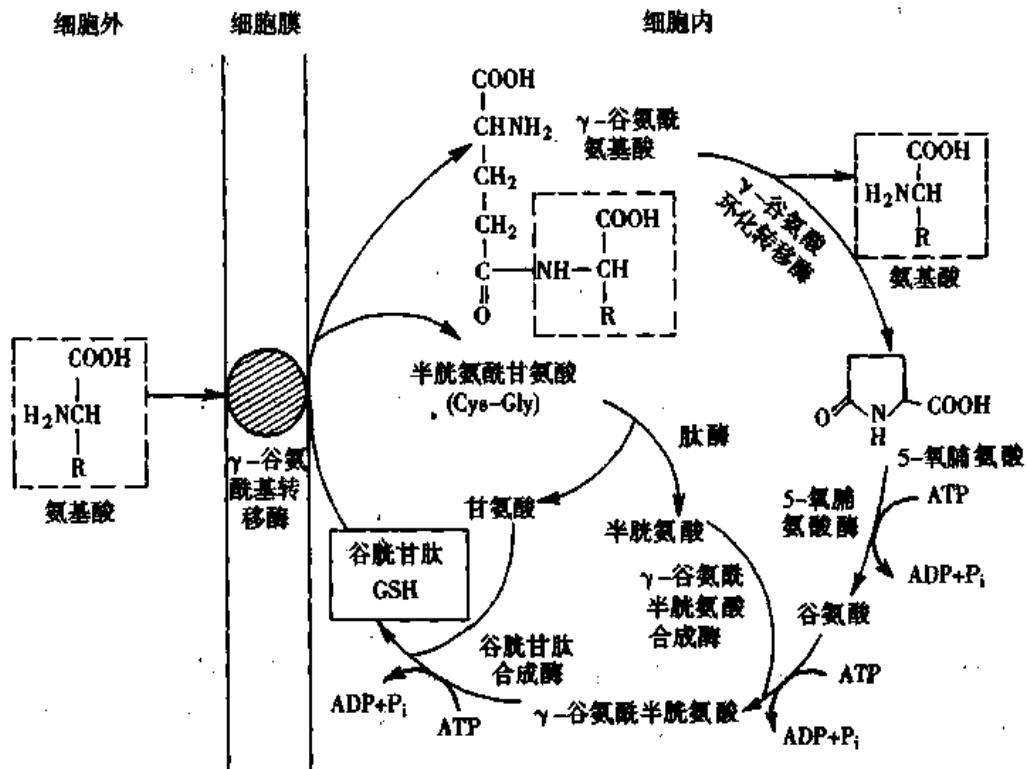


图 8-2 γ -谷氨酰基循环

(三) 肽的吸收

肠粘膜细胞上还存在着吸收二肽或三肽的转运体系。此种转运也是一个耗能的主动吸收过程。吸收作用在小肠近端较强，故肽吸收入细胞甚至先于游离氨基酸。不同二肽

的吸收具有相互竞争作用。

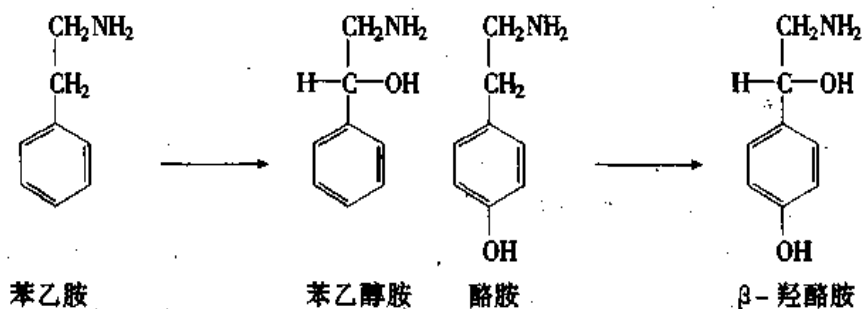
三、蛋白质的腐败作用

在消化过程中，有一小部分蛋白质不被消化，也有一小部分消化产物不被吸收。肠道细菌对这部分蛋白质及其消化产物所起的作用，称为腐败作用(putrefaction)。实际上，腐败作用是细菌本身的代谢过程，以无氧分解为主。腐败作用的大多数产物对人体有害，但也可以产生少量脂肪酸及维生素等可被机体利用的物质。

(一) 胺类的生成

肠道细菌的蛋白酶使蛋白质水解成氨基酸，再经氨基酸脱羧基作用，产生胺类(amines)。例如，组氨酸脱羧基生成组胺，赖氨酸脱羧基生成尸胺，色氨酸脱羧基生成色胺，酪氨酸脱羧基生成酪胺等。

酪胺和由苯丙氨酸脱羧基生成的苯乙胺，若不能在肝内分解而进入脑组织，则可分别经 β -羟化而形成 β -羟酪胺(罂胺, octopamine)和苯乙醇胺。它们的化学结构与儿茶酚胺(见后)类似，称为假神经递质(false neurotransmitter)。假神经递质增多，可取代正常神经递质儿茶酚胺，但它们不能传递神经冲动，可使大脑发生异常抑制，这可能与肝昏迷的症状有关。



(二) 氨的生成

肠道中的氨(ammonia)主要有两个来源：一是未被吸收的氨基酸在肠道细菌作用下脱氨基而生成；二是血液中尿素渗入肠道，受肠菌尿素酶的水解而生成氨。这些氨均可被吸收入血液在肝合成尿素。降低肠道的 pH，可减少氨的吸收。

(三) 其他有害物质的生成

除了胺类和氨以外，通过腐败作用还可产生其他有害物质，例如苯酚、吲哚、甲基吲哚及硫化氢等。

正常情况下，上述有害物质大部分随粪便排出，只有小部分被吸收，经肝的代谢转变而解毒，故不会发生中毒现象。

第三节 氨基酸的一般代谢

人体内蛋白质处于不断降解与合成的动态平衡。成人每天约有体内蛋白质的 1% ~ 2% 被降解(degradation)。不同蛋白质的寿命差异很大，短则数秒钟，长则数月。蛋白质的寿命通常用半寿期 $t_{1/2}$ (half-life) 表示，即蛋白质降低其原浓度一半所需要的时间。

例如，人血浆蛋白质的 $t_{1/2}$ 约为 10 天，肝中大部分蛋白质的 $t_{1/2}$ 为 1~8 天，结缔组织中一些蛋白质的 $t_{1/2}$ 可达 180 天以上。许多关键性调节酶的 $t_{1/2}$ 均很短。

体内蛋白质的降解也是由一系列蛋白酶(protease)和肽酶(peptidase)完成的。真核细胞中蛋白质的降解有两条途径：一是不依赖 ATP 的过程，在溶酶体内进行，主要降解细胞外来源的蛋白质、膜蛋白和长寿命的细胞内蛋白质。另一是依赖 ATP 和泛素(ubiquitin)的过程，在胞液中进行，主要降解异常蛋白和短寿命的蛋白质。后一过程在不含溶酶体的红细胞中尤为重要。

泛素是一种 8.5 kD (含 76 个氨基酸残基)的小分子蛋白质，由于普遍存在于真核细胞而得名，其一级结构高度保守，酵母与人体泛素比较，只有 3 个氨基酸的差别。在蛋白质降解过程中，泛素与被降解的蛋白质形成共价连接，从而使后者激活。这种蛋白质的降解实际上是以一种极大的复合体(分子量 $> 10^6$)形式进行的，其具体作用机制尚不清楚。

食物蛋白质经消化而被吸收的氨基酸(外源性氨基酸)与体内组织蛋白质降解产生的氨基酸(内源性氨基酸)混在一起，分布于体内各处，参与代谢，称为氨基酸代谢库(metabolic pool)。氨基酸代谢库通常以游离氨基酸总量计算。氨基酸由于不能自由通过细胞膜，所以在体内的分布也是不均匀的。例如，肌肉中氨基酸占总代谢库的 50% 以上，肝约占 10%，肾约占 4%，血浆占 1%~6%。由于肝、肾体积较小，实际上它们所含游离氨基酸的浓度很高，氨基酸的代谢也很旺盛。消化吸收的大多数氨基酸，例如丙氨酸、芳香族氨基酸等主要在肝中分解，但支链氨基酸的分解代谢主要在骨骼肌中进行。血浆氨基酸是体内各组织之间氨基酸转运的主要形式。虽然正常人血浆氨基酸浓度并不高，但其更新却很迅速，平均半寿期约为 15 分钟，表明一些组织器官不断向血浆释放和摄取氨基酸。肌肉和肝在维持血浆氨基酸浓度的相对稳定中起着重要作用。

体内氨基酸的主要功用是合成蛋白质和多肽。此外，也可以转变成其他含氮物质。正常人尿中排出的氨基酸极少。各种氨基酸具有共同的结构特点，故它们有共同的代谢途径；但不同的氨基酸由于结构的差异，也各有其个别的代谢方式。体内氨基酸代谢的概况见图 8-3 所示。本节首先介绍氨基酸的一般代谢途径：脱氨基作用及由此而产生的 α -酮酸的代谢。有关氮的代谢在下一节叙述。

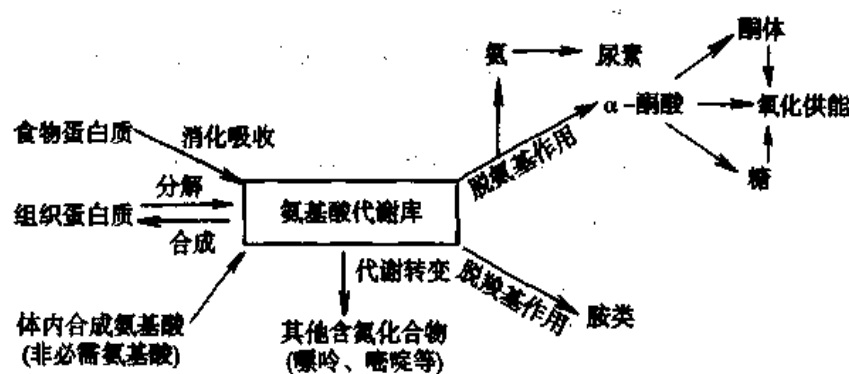


图 8-3 氨基酸代谢概况

一、氨基酸的脱氨基作用

从量上看，氨基酸分解代谢的最主要反应是脱氨基作用。氨基酸的脱氨基作用在体内大多数组织中均可进行。氨基酸可以通过多种方式脱去氨基，例如氧化脱氨基、转氨基、联合脱氨基及非氧化脱氨基等，以联合脱氨基为最重要。

联合脱氨基的过程是，氨基酸首先与 α -酮戊二酸在转氨酶作用下生成 α -酮酸和谷氨酸，然后谷氨酸再经 L-谷氨酸脱氢酶作用，脱去氨基而生成 α -酮戊二酸，后者再继续参加转氨基作用(图 8-4)。联合脱氨基作用的全过程是可逆的，因此这一过程也是体内合成非必需氨基酸的主要途径。

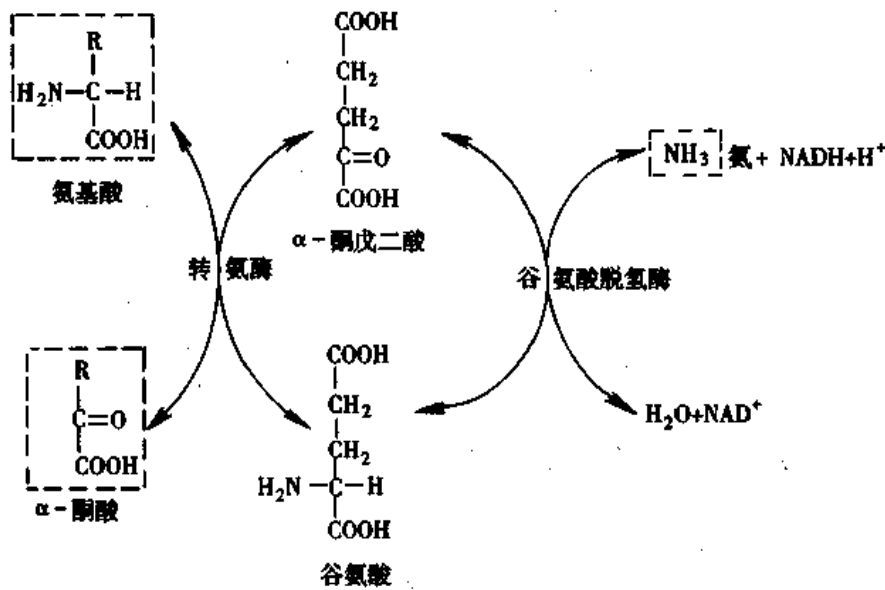
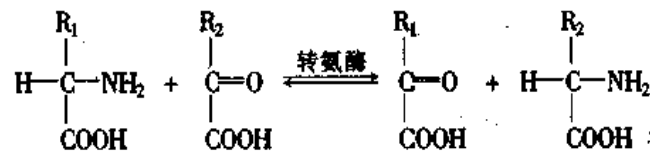


图 8-4 联合脱氨基作用

(一) 转氨基作用

1. 转氨酶与转氨基作用 体内各组织中都有氨基转移酶(aminotransferase)或称转氨酶(transaminase)。此酶催化某一氨基酸的 α -氨基转移到另一种 α -酮酸的酮基上，生成相应的氨基酸；原来的氨基酸则转变成 α -酮酸(α -ketoacid)。



上述反应可逆，平衡常数近于 1。因此，转氨基作用(transamination)既是氨基酸的分解代谢过程，也是体内某些氨基酸(非必需氨基酸)合成的重要途径。反应的实际方向取决于四种反应物的相对浓度。

体内大多数氨基酸可以参与转氨基作用，但赖氨酸、脯氨酸及羟脯氨酸例外。除了 α -氨基外，氨基酸侧链末端的氨基，如鸟氨酸的 δ -氨基也可通过转氨基作用而脱去。

体内存在着多种转氨酶。不同氨基酸与 α -酮酸之间的转氨基作用只能由专一的转氨酶催化。在各种转氨酶中，以 L-谷氨酸与 α -酮酸的转氨酶最为重要。例如，谷丙转氨

酶(glutamic pyruvic transaminase, GPT, 又称 ALT)和谷草转氨酶(glutamic oxaloacetic transaminase, GOT, 又称 AST), 它们在体内广泛存在, 但各组织中含量不等(表 8-1)。

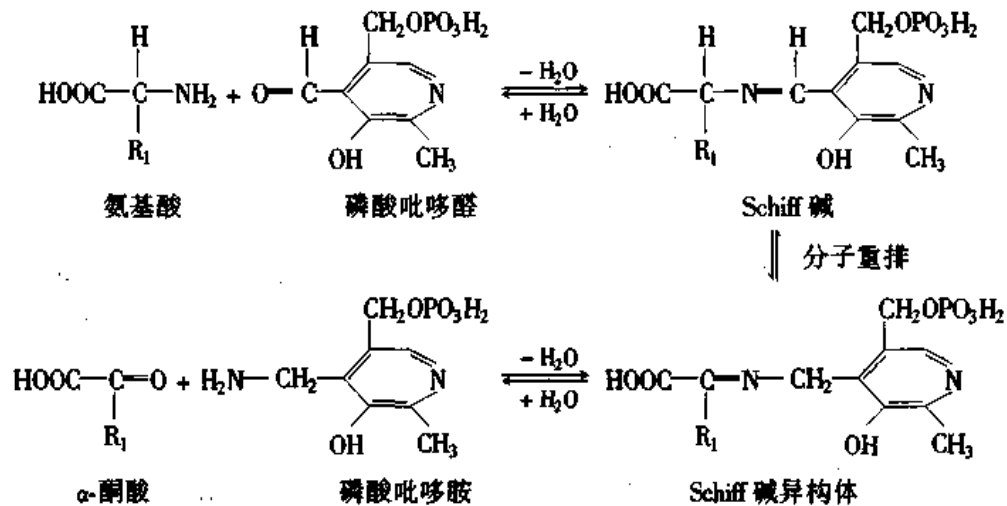
表 8-1 正常成人各组织中 GOT 及 GPT 活性

组织	GOT (单位/克湿组织)	GPT (单位/克湿组织)	组织	GOT (单位/克湿组织)	GPT (单位/克湿组织)
心	156 000	7 100	胰腺	28 000	2 000
肝	142 000	44 000	脾	14 000	1 200
骨骼肌	99 000	4 800	肺	10 000	700
肾	91 000	19 000	血清	20	16



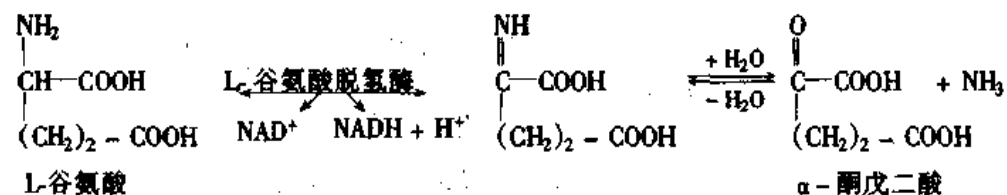
由上表可见, 正常时上述转氨酶主要存在于细胞内, 而血清中的活性很低; 各组织器官中以心和肝的活性为最高。当某种原因使细胞膜通透性增高或细胞破坏时, 则转氨酶可以大量释放入血, 造成血清中转氨酶活性明显升高。例如, 急性肝炎患者血清 GPT 活性显著升高; 心肌梗死患者血清中 GOT 明显上升。临床上可以此作为疾病诊断和预后的指标之一。

2. 转氨基作用的机制 转氨酶的辅酶都是维生素 B₆ 的磷酸酯, 即磷酸吡哆醛, 它结合于转氨酶活性中心赖氨酸的 ε-氨基上。在转氨基过程中, 磷酸吡哆醛先从氨基酸接受氨基转变成磷酸吡哆胺, 同时氨基酸则转变成 α-酮酸。磷酸吡哆胺进一步将氨基转移给另一种 α-酮酸而生成相应的氨基酸, 同时磷酸吡哆胺又变回磷酸吡哆醛。在转氨酶的催化下, 磷酸吡哆醛与磷酸吡哆胺的这种相互转变, 起着传递氨基的作用, 如下图。



(二) L-谷氨酸氧化脱氨基作用

肝、肾、脑等组织中广泛存在着 L-谷氨酸脱氢酶(L-glutamate dehydrogenase), 此酶活性较强, 是一种不需氧脱氢酶, 催化 L-谷氨酸氧化脱氨生成 α-酮戊二酸, 辅酶是 NAD⁺ 或 NADP⁺。



以上反应可逆。一般情况下，反应偏向于谷氨酸的合成，但是当谷氨酸浓度高而 NH_3 浓度低时，则有利于 α -酮戊二酸的生成。谷氨酸脱氢酶是一种变构酶，由 6 个相同的亚基聚合而成，每个亚基的分子量为 56 000。已知 GTP 和 ATP 是此酶的变构抑制剂，而 GDP 和 ADP 是变构激活剂。因此当体内 GTP 和 ATP 不足时，谷氨酸加速氧化脱氨，这对于氨基酸氧化供能起着重要的调节作用。

(三) 嘌呤核苷酸循环

上述联合脱氨基作用主要在肝、肾等组织中进行。骨骼肌和心肌中 L-谷氨酸脱氢酶的活性弱，难于进行以上方式的联合脱氨基过程。肌肉中存在着另一种氨基酸脱氨基反应，即通过嘌呤核苷酸循环(purine nucleotide cycle)脱去氨基。在此过程中，氨基酸首先通过连续转氨基作用将氨基转移给草酰乙酸，生成天冬氨酸；天冬氨酸与次黄嘌呤核苷酸(IMP)反应生成腺苷酸代琥珀酸，后者经过裂解，释放出延胡索酸并生成腺嘌呤核苷酸(AMP)。AMP 在腺苷酸脱氨酶(此酶在肌组织中活性较强)催化下脱去氨基，最终完成氨基酸的脱氨基作用。IMP 可以再参加循环(图 8-5)。由此可见，嘌呤核苷酸循环实际上也可以看成是另一种形式的联合脱氨基作用。

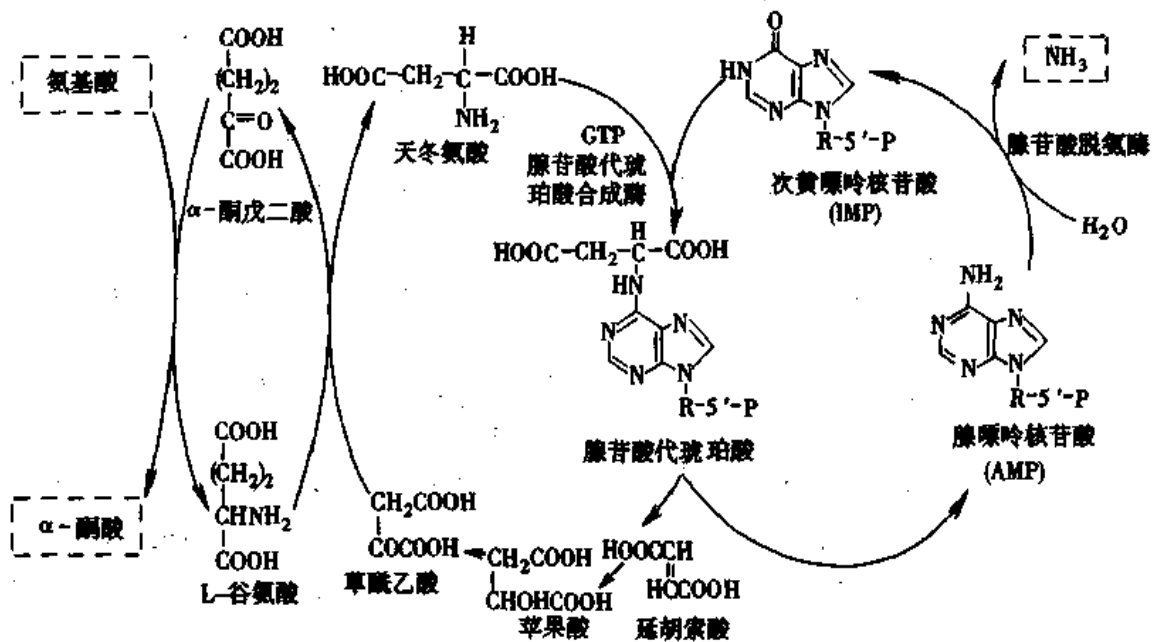


图 8-5 嘌呤核苷酸循环

二、 α -酮酸的代谢

氨基酸脱氨基后生成的 α -酮酸可以进一步代谢，主要有以下三方面的代谢途径：

(一) 经氨基化生成非必需氨基酸

过程如前，不再重复。

(二) 转变成糖及脂类

在体内， α -酮酸(α -ketoacid)可以转变成糖及脂类。实验发现，用各种不同的氨基酸饲养人工造成糖尿病的犬时，大多数氨基酸可使尿中排出的葡萄糖增加，少数几种则可使葡萄糖及酮体排出同时增加，而亮氨酸和赖氨酸只能使酮体排出量增加。由此，将在

体内可以转变成糖的氨基酸称为生糖氨基酸(glucogenic amino acid); 能转变成酮体者称为生酮氨基酸(ketogenic amino acid); 二者兼有者称为生糖兼生酮氨基酸(glucogenic and ketogenic amino acid)(表 8-2)。

表 8-2 氨基酸生糖及生酮性质的分类

类别	氨基酸
生糖氨基酸	甘氨酸、丝氨酸、缬氨酸、组氨酸、精氨酸、半胱氨酸、脯氨酸、羟脯氨酸、丙氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、天冬酰胺、甲硫氨酸
生酮氨基酸	亮氨酸、赖氨酸
生糖兼生酮氨基酸	异亮氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸、苏氨酸、色氨酸

用同位素标记氨基酸的实验证明, 上述营养学研究的结果是正确的。各种氨基酸脱氨基后产生的 α -酮酸结构差异很大, 其代谢途径也不尽相同。在此, 并不叙述各种 α -酮酸转变成糖或(及)酮体的具体代谢途径, 但这些转变过程的中间产物不外乎是: 乙酰辅酶 A (二碳化合物)、丙酮酸 (三碳化合物)、以及三羧酸循环的中间物, 例如琥珀酸单酰辅酶 A、延胡索酸、草酰乙酸 (四碳化合物) 及 α -酮戊二酸 (五碳化合物) 等 (参见第十章, 图 10-1)。以丙氨酸为例, 丙氨酸脱去氨基生成丙酮酸, 丙酮酸可以转变成葡萄糖, 所以丙氨酸是生糖氨基酸; 又如亮氨酸经过一系列代谢转变生成乙酰辅酶 A 或乙酰乙酰辅酶 A, 它们可以进一步转变成酮体或脂肪, 所以亮氨酸是生酮氨基酸; 再如, 苯丙氨酸与酪氨酸经代谢转变既可生成延胡索酸, 又可生成乙酰乙酸, 所以这两种氨基酸是生糖兼生酮氨基酸。由于转氨基作用是可逆的, 因此图 10-1 也可以说明一些氨基酸的合成过程。

(三) 氧化供能

α -酮酸在体内可以通过三羧酸循环与生物氧化体系彻底氧化成 CO_2 和水, 同时释放能量供生理活动的需要。可见, 氨基酸也是一类能源物质。

综上所述, 氨基酸的代谢与糖和脂肪的代谢密切相关。氨基酸可转变成糖与脂肪; 糖也可以转变成脂肪及多数非必需氨基酸的碳架部分; 由此可见, 三羧酸循环是物质代谢的总枢纽, 通过它可使糖、脂肪酸及氨基酸完全氧化, 也可使其彼此相互转变, 构成一个完整的代谢体系。

第四节 氨的代谢

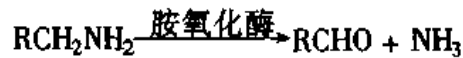
机体内代谢产生的氨, 以及消化道吸收来的氨进入血液, 形成血氨。氨具有毒性, 脑组织对氨的作用尤为敏感。体内的氨主要在肝合成尿素而解毒。因此, 除门静脉血液外, 体内血液中氨的浓度很低。正常人血浆中氨的浓度一般不超过 $0.60\mu\text{mol/L}$ ($0.1\text{mg}/100\text{ml}$)。严重肝病患者尿素合成功能降低, 血氨增高, 引起脑功能紊乱, 常与肝性脑病的发病有关。

一、体内氨的来源

体内氨有三个主要的来源, 即各组织器官中氨基酸及胺分解产生的氨、肠道吸收的

氨、以及肾小管上皮细胞分泌的氨。

1. 氨基酸脱氨基作用产生的氨是体内氨的主要来源。胺类的分解也可以产生氨。



2. 正如前述，肠道吸收的氨有两个来源，即肠内氨基酸在肠道细菌作用下产生的氨和肠道尿素经肠道细菌尿素酶水解产生的氨。

肠道产氨的量较多，每日约 4g。肠内腐败作用增强时，氨的产生量增多。 NH_3 比 NH_4^+ 易于穿过细胞膜而被吸收；在碱性环境中， NH_4^+ 偏向于转变成 NH_3 。因此肠道 pH 偏碱时，氨的吸收加强。临床上对高血氨病人采用弱酸性透析液作结肠透析，而禁止用碱性肥皂水灌肠，就是为了减少氨的吸收。

3. 肾小管上皮细胞分泌的氨主要来自谷氨酰胺。谷氨酰胺在谷氨酰胺酶的催化下水解成谷氨酸和 NH_3 ，这部分氨分泌到肾小管腔中主要与尿中的 H^+ 结合成 NH_4^+ ，以铵盐的形式由尿排出体外，这对调节机体的酸碱平衡起着重要作用。酸性尿有利于肾小管细胞中的氨扩散入尿，但碱性尿则可妨碍肾小管细胞中 NH_3 的分泌，此时氨被吸收入血，成为血氨的另一个来源。由此，临床上对因肝硬化而产生腹水的病人，不宜使用碱性利尿药，以免血氨升高。

二、氨的转运

氨是有毒物质。各组织中产生的氨如何以无毒性的方式经血液运输到肝合成尿素或运至肾以铵盐形式随尿排出？现已阐明，氨在血液中主要是以丙氨酸及谷氨酰胺两种形式运输的。

(一) 丙氨酸-葡萄糖循环

肌肉中的氨基酸经转氨基作用将氨基转给丙酮酸生成丙氨酸；丙氨酸经血液运到肝。在肝中，丙氨酸通过联合脱氨基作用，释放出氨，用于合成尿素。转氨基后生成的丙酮酸可经糖异生途径生成葡萄糖。葡萄糖由血液输送到肌组织，沿糖分解途径转变成丙酮酸，后者再接受氨基而生成丙氨酸。丙氨酸和葡萄糖反复地在肌肉和肝之间进行氨的转运，故将这一途径称为丙氨酸-葡萄糖循环 (alanine - glucose cycle) (图 8-6)。通过这个循环，既使肌肉中的氨以无毒的丙氨酸形式运输到肝，同时，肝又为肌肉提供了生成丙酮酸的葡萄糖。

(二) 谷氨酰胺的运氨作用

谷氨酰胺是另一种转运氨的形式，它主要从脑、肌肉等组织向肝或肾运氨。氨与谷氨酸在谷氨酰胺合成酶 (glutamine synthetase) 的催化下生成谷氨酰胺，并由血液输送到肝或肾，再经谷氨酰胺酶 (glutaminase) 水解成谷氨酸及氨。谷氨酰胺的合成与分解是由不同酶催化的不可逆反应，其合成需要 ATP 参与，并消耗能量。

可以认为，谷氨酰胺既是氨的解毒产物，也是氨的储存及运输形式。谷氨酰胺在脑中固定和转运氨的过程中起着重要作用。临床上对氨中毒病人可服用或输入谷氨酸盐，以降低氨的浓度。

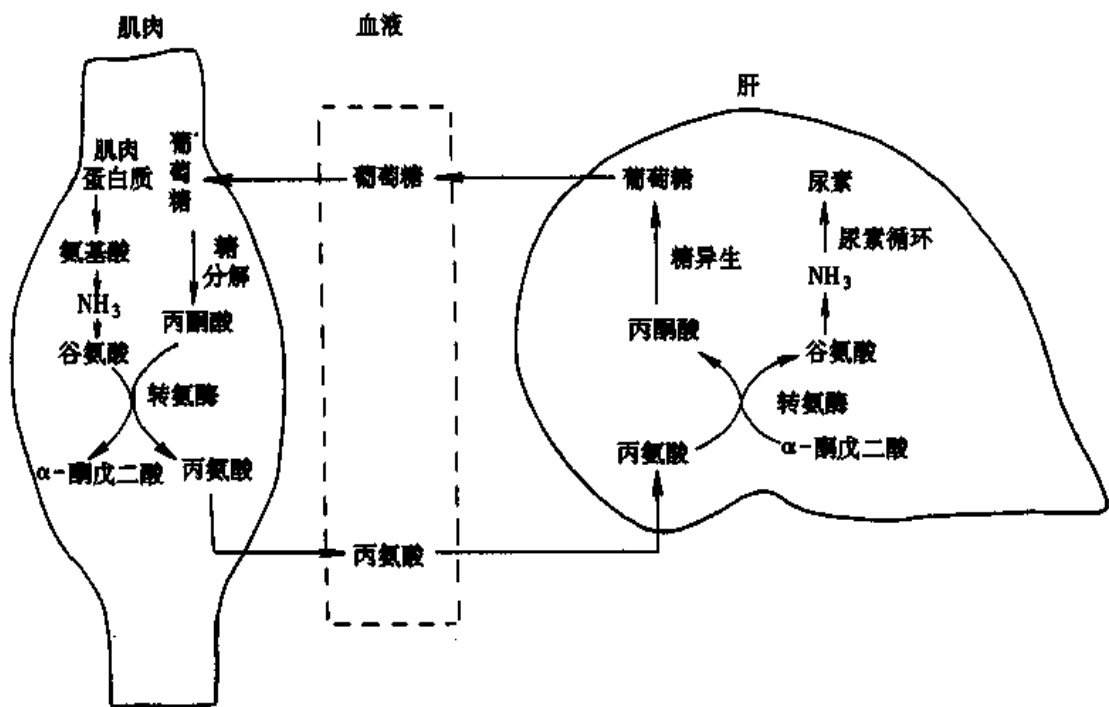
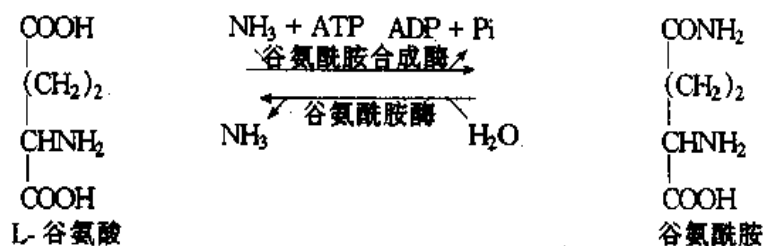
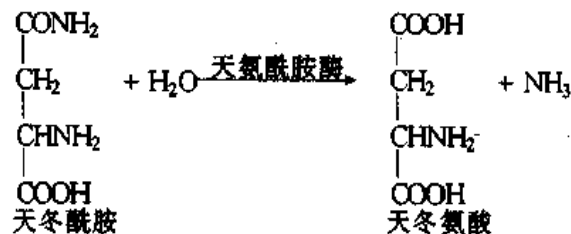


图 8-6 丙氨酸-葡萄糖循环



值得提出的是，谷氨酰胺还可以提供其酰胺基使天冬氨酸转变成天冬酰胺。机体细胞能够合成足量的天冬酰胺以供蛋白质合成的需要，但白血病细胞却不能或很少能合成天冬酰胺，必须依靠血液从其他器官运输而来。由此，临床上应用天冬酰胺酶(asparaginase)以减少血中天冬酰胺，达到治疗白血病的目的。



三、尿素的生成

如上所述，正常情况下体内的氨主要在肝中合成尿素而解毒；只有少部分氨在肾以铵盐形式由尿排出。正常成人尿素占排氮总量的 80%~90%，可见肝在氨解毒中起着重要作用。体内氨的来源与去路保持动态平衡，使血氨浓度相对稳定。

(一) 肝是尿素合成的主要器官

实验证明，将动物(犬)的肝切除，则血液及尿中尿素含量明显降低。若给此动物输入或饲喂氨基酸，则大部分氨基酸积存于血液中，也有一部分随尿排出，另有一小部分氨基酸脱去氨基而变成 α -酮酸及氨，因而血氨增高。若只切除犬的肾而保留肝，则尿素仍然可以合成，但不能排出，因此血中尿素浓度明显升高。若将犬的肝、肾同时切除，则血中尿素的含量可以维持在较低水平，而血氨浓度显著升高。此外，临床上可见急性肝坏死患者血及尿中几乎不含尿素而氨基酸含量增多。这些实验与临床观察充分证明，肝是合成尿素的最主要器官。肾及脑等其他组织虽然也能合成尿素，但合成量甚微。

(二) 尿素合成的鸟氨酸循环学说

肝如何合成尿素？早在1932年，德国学者 Hans krebs 和 Kurt Henseleit 根据一系列实验，首次提出了鸟氨酸循环(Ornithine cycle)学说，又称尿素循环(urea cycle)或 Krebs-Henseleit 循环。Krebs 一生中提出了两个循环学说(还有三羧酸循环)，为生物化学的发展做出了重大贡献。鸟氨酸循环学说的实验根据如下：将大鼠肝的薄切片放在有氧条件下加铵盐保温数小时后，铵盐的含量减少，而同时尿素增多。在此切片中，分别加入各种化合物，并观察它们对尿素生成速度的影响。发现鸟氨酸、瓜氨酸或精氨酸能够大大加速尿素的合成。根据这三种氨基酸的结构推断，它们彼此相关，即鸟氨酸可能是瓜氨酸的前体，而瓜氨酸又是精氨酸的前体(结构式见后)。实验还观察到，当大量鸟氨酸与肝切片及 NH_4^+ 保温时，确有瓜氨酸的积存。此外，早已证实肝含有精氨酸酶，此酶催化精氨酸水解生成鸟氨酸及尿素。基于以上事实，Krebs 和 Henseleit 提出了一个循环机制，即：首先鸟氨酸与氨及 CO_2 结合生成瓜氨酸；第二，瓜氨酸再接受1分子氨而生成精氨酸；第三，精氨酸水解产生尿素，并重新生成鸟氨酸。接着，鸟氨酸参与第二轮循环(图 8-7)。由此可见，在这个循环过程中，鸟氨酸所起的作用与三羧酸循环中草酰乙酸所起的作用类似。总的看来，通过鸟氨酸循环，2分子氨与1分子 CO_2 结合生成1分子尿素及1分子水。尿素是中性、无毒、水溶性很强的物质，由血液运输至肾，从尿中排出。

其后，用同位素标记的 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 或含 ^{15}N 的氨基酸饲养犬，发现随尿排出的尿素含有 ^{15}N ，但鸟氨酸中不含 ^{15}N ；用含 ^{14}C 标记的 $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$ 饲养犬，随尿排出的尿素也含有

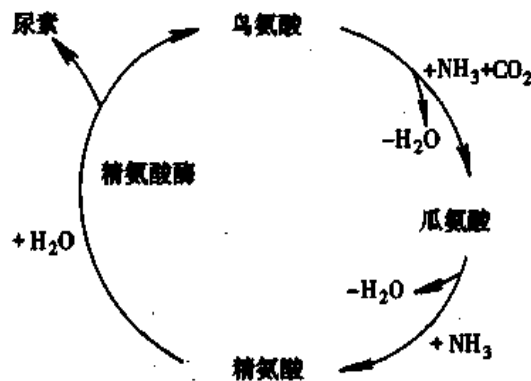


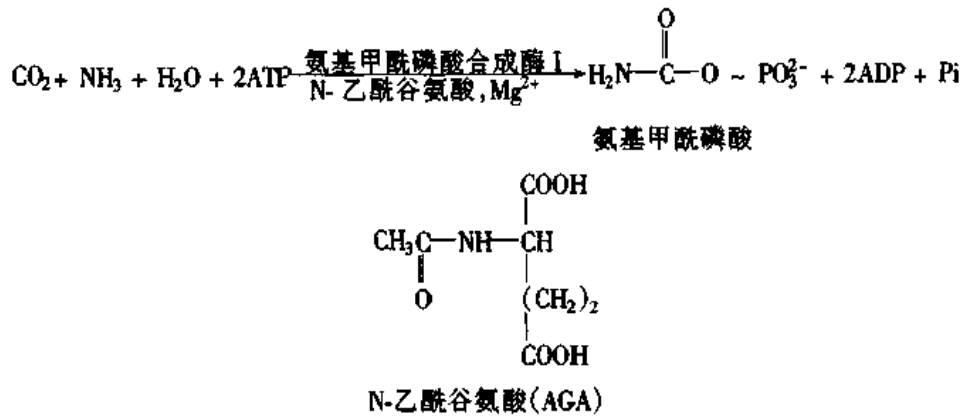
图 8-7 尿素生成的鸟氨酸循环

¹⁴C。由此进一步证实了尿素可由氨及 CO₂ 合成。

(三) 鸟氨酸循环的详细步骤

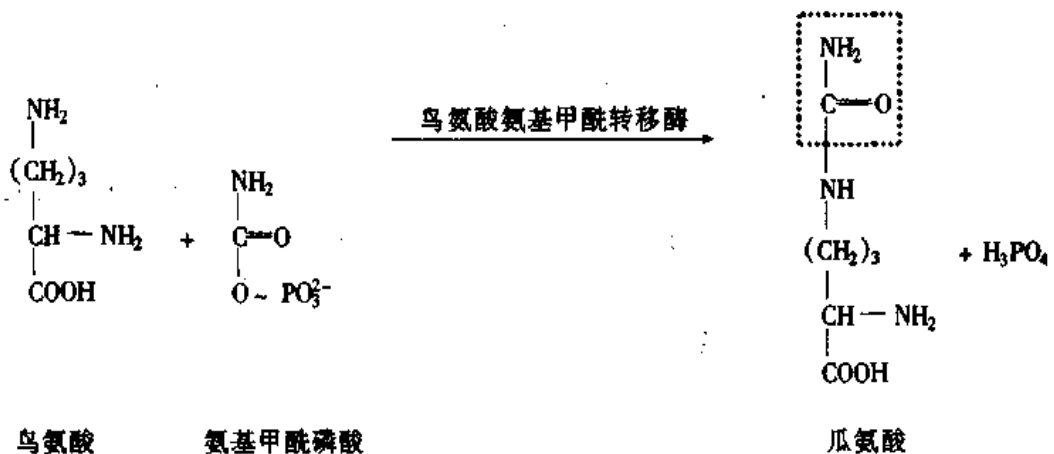
研究表明，鸟氨酸循环的具体过程远比上述的复杂，详细过程可分为以下四步：

1. 氨基甲酰磷酸的合成 在 Mg²⁺、ATP 及 N-乙酰谷氨酸(N-acetyl glutamic acid, AGA)存在时，氨与 CO₂ 可在氨基甲酰磷酸合成酶 I (carbamoyl phosphate synthetase I, CPS-I)的催化下，合成氨基甲酰磷酸。



此反应不可逆，消耗 2 分子 ATP。CPS-I 是一种变构酶，AGA 是此酶的变构激活剂。AGA 的作用可能是使酶的构象改变，暴露了酶分子中的某些巯基，从而增加了酶与 ATP 的亲合力。CPS-I 和 AGA 都存在于肝细胞线粒体中。氨基甲酰磷酸是高能化合物，性质活泼，在酶的催化下易与鸟氨酸反应生成瓜氨酸。

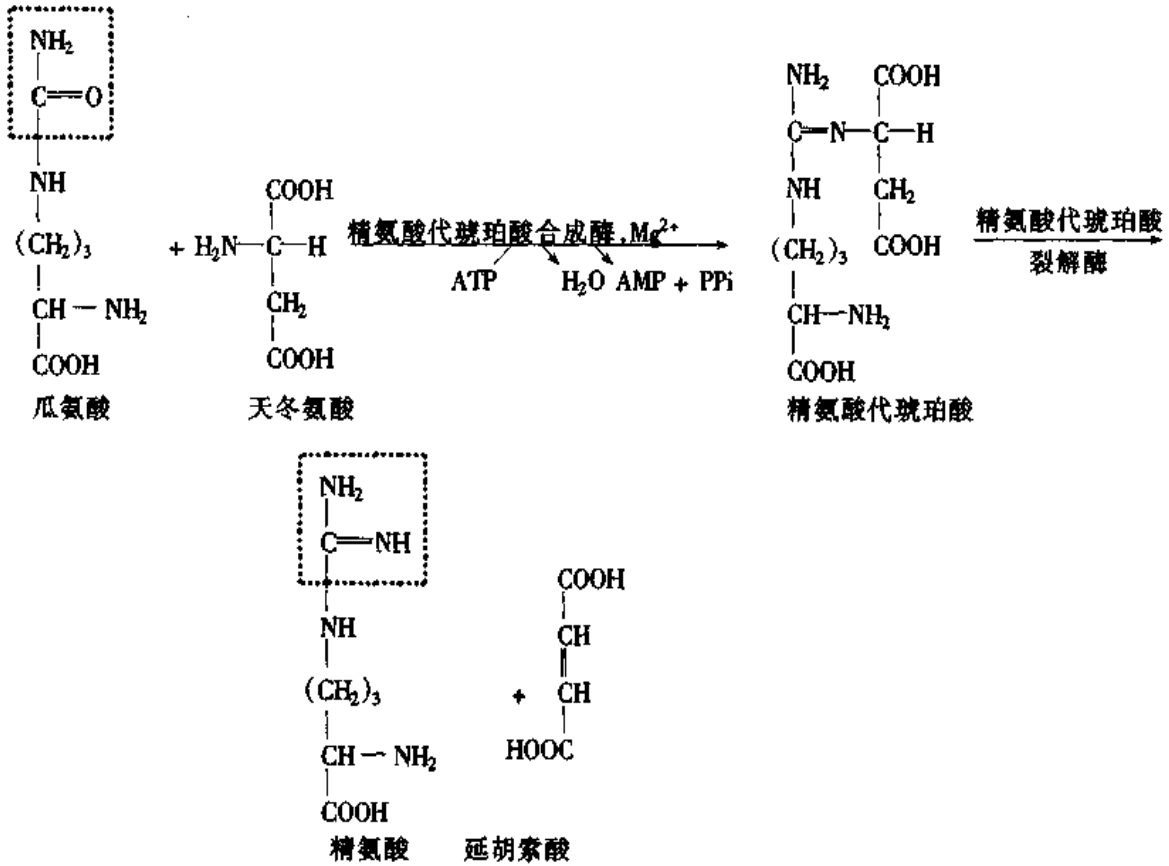
2. 瓜氨酸的合成 在鸟氨酸氨基甲酰转移酶(ornithine carbamoyl transferase, OCT)催化下，氨基甲酰磷酸与鸟氨酸缩合生成瓜氨酸。



此反应不可逆。OCT 也存在于肝细胞的线粒体中，并通常与 CPS-I 结合成酶的复合体。

3. 精氨酸的合成 由瓜氨酸转变成精氨酸的反应分两步进行。首先，瓜氨酸在线粒体合成后，即被转运到线粒体外，在胞液中经精氨酸代琥珀酸合成酶(argininosuccinate synthetase)的催化下，与天冬氨酸反应生成精氨酸代琥珀酸，此反应由 ATP 供能。其后，精氨酸代琥珀酸再经精氨酸代琥珀酸裂解酶(argininosuccinase 或 argininosuccinate lyase)的

催化，裂解成精氨酸及延胡索酸。



在上述反应过程中，天冬氨酸起着供给氨基的作用。天冬氨酸又可由草酰乙酸与谷氨酸经转氨基作用而生成，而谷氨酸的氨基又可来自体内多种氨基酸。由此可见，多种氨基酸的氨基也可通过天冬氨酸的形式参与尿素合成(图 8-8)。

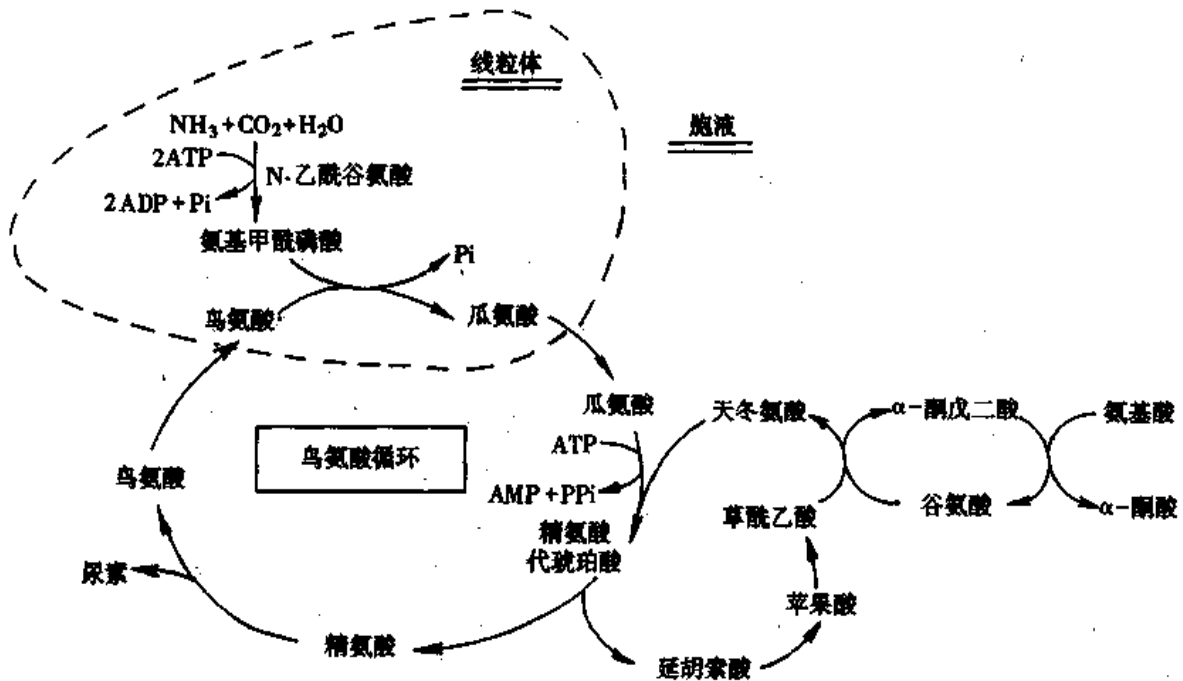
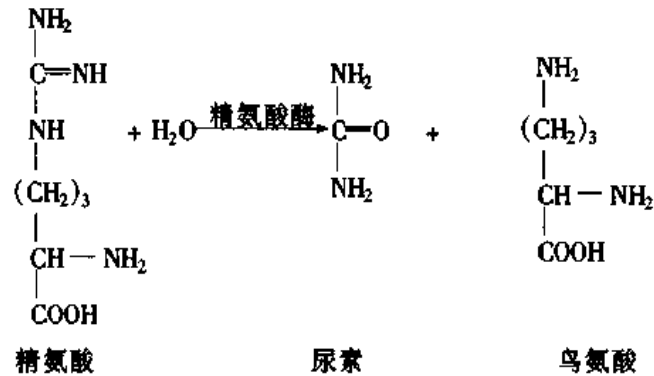


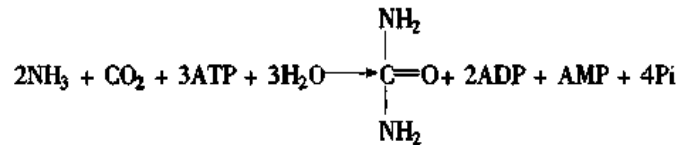
图 8-8 尿素生成的中间步骤

从图 8-8 还可看出，精氨酸代琥珀酸裂解产生的延胡索酸可经过三羧酸循环的中间步骤转变成草酰乙酸，后者与谷氨酸进行转氨基反应，又可重新生成天冬氨酸。由此，通过延胡索酸和天冬氨酸，可使尿素循环与三羧酸循环联系起来。

4. 精氨酸水解生成尿素 在胞液中，精氨酸受精氨酸酶的作用，水解生成尿素和鸟氨酸。鸟氨酸通过线粒体内膜上载体的转运再进入线粒体，并参与瓜氨酸合成。如此反复，完成尿素循环。



尿素作为代谢终产物排出体外，目前尚未发现它在体内有什么其他的生理功能。综上所述，可将尿素合成的总反应归结为：



现将尿素合成的中间步骤及其在细胞中的定位总结于图 8-8。

从图 8-8 可见，尿素分子中的 2 个氮原子，1 个来自氨，另 1 个则来自天冬氨酸，而天冬氨酸又可由其他氨基酸通过转氨基作用而生成。由此，尿素分子中 2 个氮原子的来源虽然不同，但都直接或间接来自各种氨基酸。另外，还可看到，尿素合成是一个耗能的过程，合成 1 分子尿素需要消耗 4 个高能磷酸键。

值得提出的是，除了线粒体中以氨为氮源，通过 CPS-I 合成氨基甲酰磷酸，并进一步参与尿素合成外，在胞液中还存在 CPS-II，它以谷氨酰胺的酰胺基为氮源，催化合成氨基甲酰磷酸，并进一步参与嘧啶的合成(参见第九章)。两种 CPS 催化合成的产物虽然相同，但它们是两种不同性质的酶，其生理意义也不相同：CPS-I 参与尿素的合成，这是肝细胞独特的一种重要功能，是细胞高度分化的结果，因而 CPS-I 的活性可作为肝细胞分化程度的指标之一；CPS-II 参与嘧啶核苷酸的从头合成，与细胞增殖过程中核酸的合成有关，因而它的活性可作为细胞增殖程度的指标之一。

实验证明，当肝细胞再生时，线粒体中鸟氨酸氨基甲酰转移酶活性降低，而胞液中天冬氨酸氨基甲酰转移酶活性增高，亦即尿素合成减少，嘧啶合成增加。当细胞再生完成时，鸟氨酸氨基甲酰转移酶活性重新增高，而天冬氨酸氨基甲酰转移酶活性降低。由此可见，上述两种氨基甲酰转移酶的活性对调节尿素合成与核酸合成起着重要作用。

(四) 尿素合成的调节

正常情况下，机体通过合适的速度合成尿素，以保证及时、充分地解除氨毒。尿素合成的速度可受多种因素的调节。

1. 食物蛋白质的影响 高蛋白质膳食时尿素的合成速度加快，排出的含氮物中尿素约占 90%；反之，低蛋白质膳食时尿素合成速度减慢，尿素排出量可低于含氮排泄量的 60%。

2. CPS-I 的调节 氨基甲酰磷酸的生成是尿素合成的重要步骤。如前所述，AGA 是 CPS-I 的变构激动剂，它由乙酰辅酶 A 和谷氨酸通过 AGA 合成酶催化而生成。精氨酸是 AGA 合成酶的激活剂，因此，精氨酸浓度增高时，尿素生成加速。

3. 尿素合成酶系的调节 参与尿素合成的酶系中每种酶的相对活性相差很大，其中精氨酸代琥珀合成酶的活性最低，是尿素合成的限速酶，可调节尿素的合成速度。

氨除了主要以尿素形式排出外，还可与谷氨酸反应生成谷氨酰胺，在肾小管上皮细胞中通过谷氨酰胺酶的作用水解成氨和谷氨酸，前者由尿排出，后者被肾小管上皮细胞重吸收而进一步利用。

除此，氨还可以通过还原性加氨的方式固定在 α -酮戊二酸上而生成谷氨酸；谷氨酸的氨基又可以通过转氨基作用，转移给其他 α -酮酸，生成相应的氨基酸，从而合成某些非必需氨基酸。

(五) 高血氨症和氨中毒

正常生理情况下，血氨的来源与去路保持动态平衡，血氨浓度处于较低的水平。氨在肝中合成尿素是维持这种平衡的关键。当肝功能严重损伤时，尿素合成发生障碍，血氨浓度升高，称为高血氨症。一般认为，氨进入脑组织，可与脑中的 α -酮戊二酸结合生成谷氨酸，氨也可与脑中的谷氨酸进一步结合生成谷氨酰胺。因此，脑中氨的增加可以使脑细胞中的 α -酮戊二酸减少，导致三羧酸循环减弱，从而使脑组织中 ATP 生成减少，引起大脑功能障碍，严重时可发生昏迷，这就是肝昏迷氨中毒学说的基础。尿素合成酶的遗传性缺陷也可导致高血氨症。

第五节 个别氨基酸的代谢

上节论述了氨基酸代谢的一般过程。但是，有些氨基酸还有其特殊的代谢途径，并具有重要的生理意义。本节首先介绍某些氨基酸的另一些代谢方式，例如氨基酸的脱羧基作用和一碳单位的代谢，然后介绍含硫氨基酸、芳香族氨基酸及支链氨基酸的代谢。

一、氨基酸的脱羧基作用

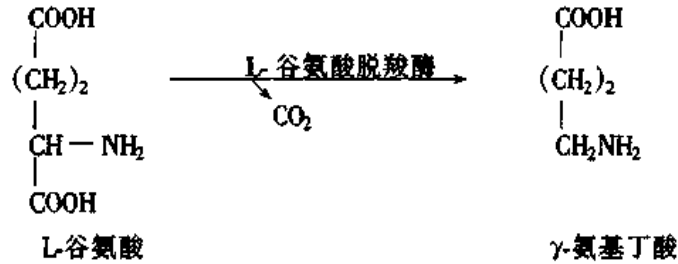
体内，部分氨基酸也可进行脱羧基作用(decarboxylation)生成相应的胺。催化这些反应是氨基酸脱羧酶(decarboxyase)。例如，组氨酸脱羧基生成组胺，谷氨酸脱羧基生成 γ -氨基丁酸等，也有的氨基酸先经过羟化等变化后再脱羧基而生成胺。氨基酸脱羧酶的辅酶是磷酸吡哆醛。胺类含量虽然不高，但具有重要的生理功用。体内广泛存在着胺氧化

酶(amine oxidase),能将其氧化成为相应的醛类,再进一步氧化成羧酸,从而避免胺类在体内蓄积。胺氧化酶属于黄素蛋白酶,在肝中活性最强。

下面列举几种氨基酸脱羧基产生的重要胺类物质。

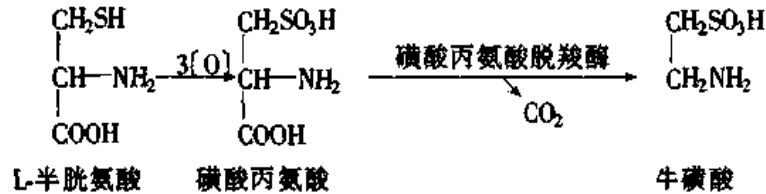
(一) γ -氨基丁酸

谷氨酸脱羧基生成 γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA),催化此反应的酶是谷氨酸脱羧酶,此酶在脑、肾组织中活性很高,所以脑中GABA的含量较多。GABA是抑制性神经递质,对中枢神经有抑制作用。



(二) 牛磺酸

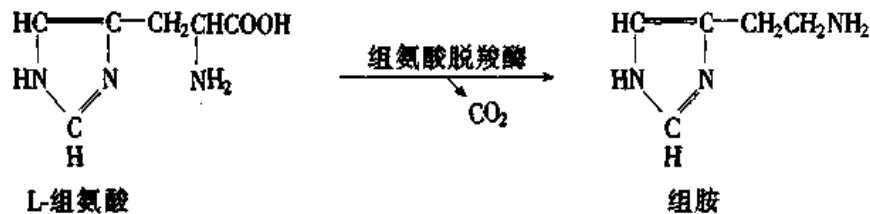
体内牛磺酸(taurine)由半胱氨酸代谢转变而来。半胱氨酸首先氧化成磺酸丙氨酸,再脱去羧基生成牛磺酸。牛磺酸是结合胆汁酸的组成成分。



此外,活性硫酸根(见含硫氨基酸代谢)转移也可产生牛磺酸。现已发现脑组织中含有较多的牛磺酸,表明它可能具有更为重要的生理功能。

(三) 组胺

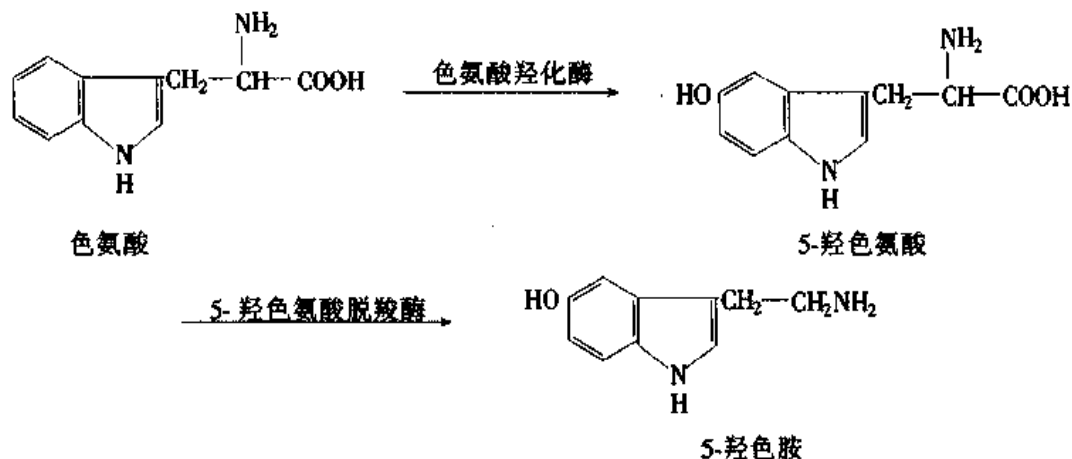
组氨酸通过组氨酸脱羧酶催化,生成组胺(histamine)。组胺在体内分布广泛。乳腺、肺、肝、肌肉及胃粘膜中组胺含量较高,主要存在于肥大细胞中。



组胺是一种强烈的血管舒张剂,并能增加毛细血管的通透性。创伤性休克或炎症病变部位可有组胺的释放。组胺还可以刺激胃蛋白酶及胃酸的分泌,常被利用为研究胃活动的物质。

(四) 5-羟色胺

色氨酸首先通过色氨酸羟化酶的作用生成5-羟色氨酸,再经脱羧酶作用生成5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)。

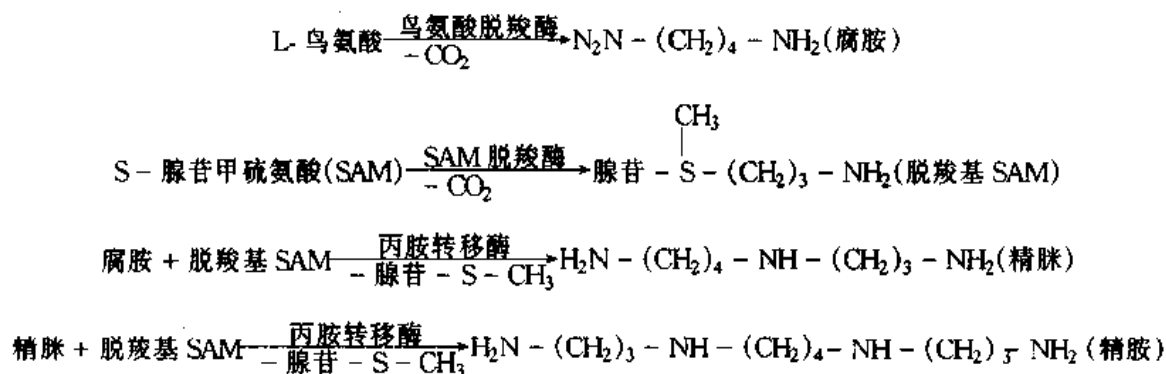


5-羟色胺广泛分布于体内各组织,除神经组织外,还存在于胃肠、血小板及乳腺细胞中。脑内的5-羟色胺可作为神经递质,具有抑制作用;在外周组织,5-羟色胺有收缩血管的作用。

经单胺氧化酶作用,5-羟色胺可以生成5-羟色醛,进一步氧化而成5-羟吲哚乙酸。类癌患者尿中5-羟吲哚乙酸排出量明显升高。

(五) 多胺

某些氨基酸的脱羧基作用可以产生多胺(polyamines)类物质。例如,鸟氨酸脱羧基生成腐胺,然后再转变成精脒(spermidine)和精胺(spermine)。反应如下:



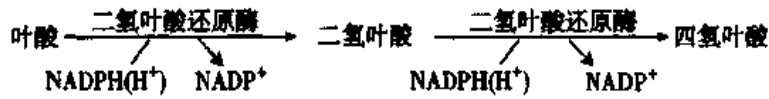
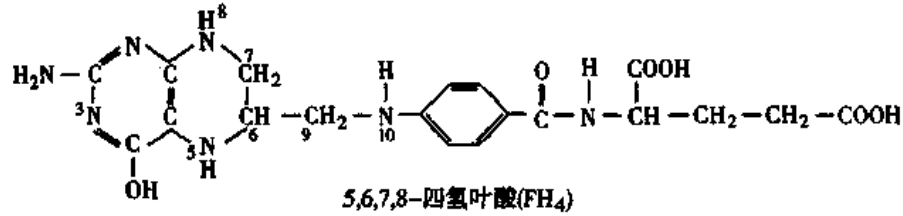
精脒与精胺是调节细胞生长的重要物质。凡生长旺盛的组织,如胚胎、再生肝、生长激素作用的细胞及瘤组织等,作为多胺合成限速酶的鸟氨酸脱羧酶(ornithine decarboxylase)活性均较强,多胺的含量也较高。多胺促进细胞增殖的机制可能与其稳定细胞结构、与核酸分子结合,并增强核酸与蛋白质合成有关。目前临床上利用测定瘤病人血、尿中多胺含量作为观察病情的指标之一。

二、一碳单位的代谢

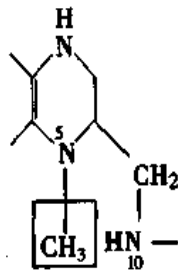
某些氨基酸在分解代谢过程中可以产生含有一个碳原子的基团,称为一碳单位(one carbon unit)。体内的一碳单位有:甲基($-\text{CH}_3$, methyl)、亚甲基($-\text{CH}_2-$, methylene)、甲炔基($-\text{CH}=\text{}$, methenyl)、甲酰基($-\text{CHO}$, formyl)及亚氨甲基($-\text{CH}=\text{NH}$, formimino)等。一碳单位不能游离存在,常与四氢叶酸(tetrahydrofolic acid, FH_4 或 THFA)结合而转运和参加代谢。但是, CO_2 不属于这种类型的一碳单位。

(一) 一碳单位与四氢叶酸

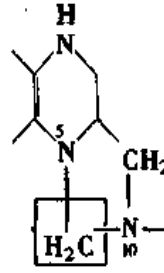
四氢叶酸是一碳单位的运载体，实际上可以认为，四氢叶酸就是一碳单位代谢的辅酶。哺乳类动物体内，四氢叶酸可由叶酸经二氢叶酸还原酶(dihydrofolate reductase)的催化，通过两步还原反应而生成。



一碳单位通常结合在 FH₄ 分子的 N⁵、N¹⁰ 位上。例如：



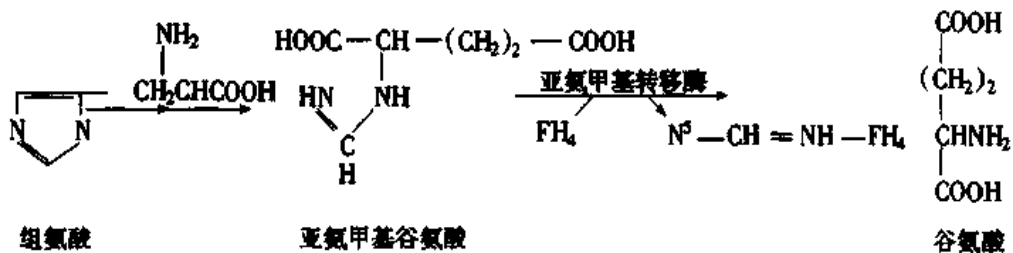
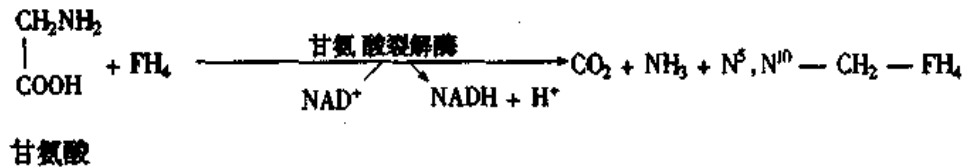
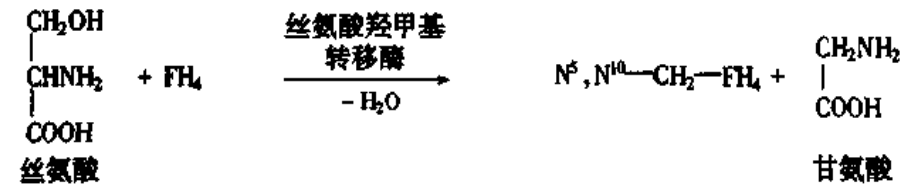
N⁵-甲基四氢叶酸
(N⁵-CH₃-FH₄)

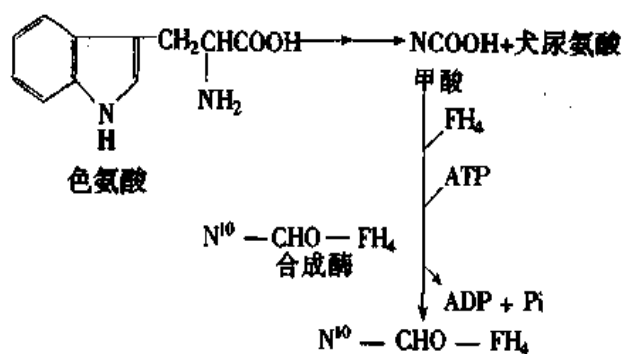


N⁵, N¹⁰ - 亚甲基四氢叶酸
(N⁵, N¹⁰-CH₂-FH₄)

(二) 一碳单位与氨基酸代谢

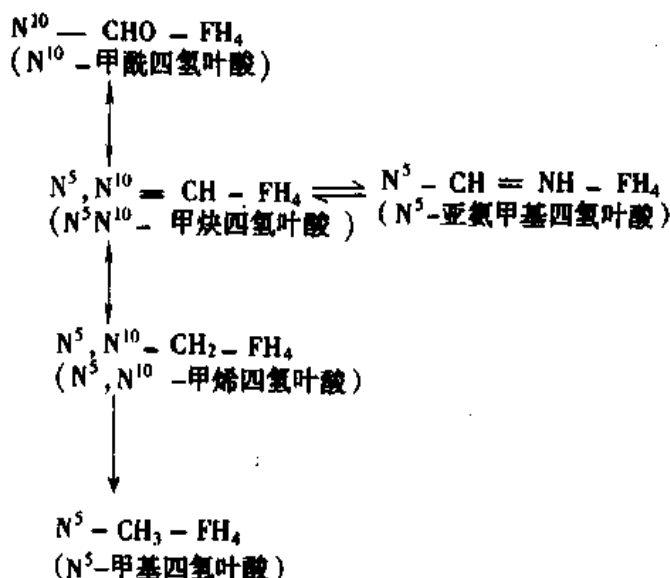
一碳单位主要来源于丝氨酸、甘氨酸、组氨酸及色氨酸的代谢。例如：





(三) 一碳单位的相互转变

各种不同形式一碳单位中碳原子的氧化状态不同。在适当条件下，它们可以通过氧化还原反应而彼此转变(见下图)。但是，在这些反应中， N^5 -甲基四氢叶酸的生成基本是不可逆的。



(四) 一碳单位的生理功用

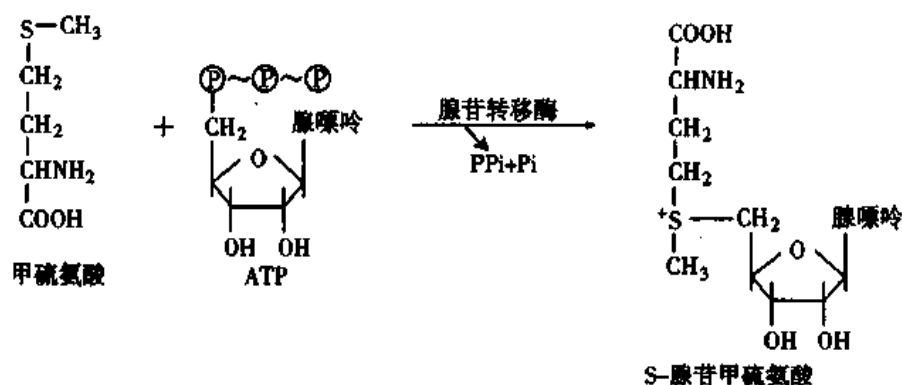
一碳单位的主要生理功用是作为合成嘌呤及嘧啶的原料，故在核酸生物合成中占有重要地位。例如， $N^{10} - CHO - FH_4$ 与 $N^5, N^{10} = CH - FH_4$ 分别提供嘌呤合成时 C_2 与 C_8 的来源； $N^5, N^{10} - CH_2 - FH_4$ 提供胸苷酸(dTMP)合成时甲基的来源(见核苷酸合成)。由此可见，与乙酰辅酶A(二碳化合物)在联系糖、脂、氨基酸代谢中所起的枢纽作用相类似，一碳单位将氨基酸与核酸代谢密切联系起来。一碳单位代谢的障碍可造成某些病理情况，例如巨幼红细胞贫血等。磺胺药及某些抗恶性肿瘤药(甲氨蝶呤等)也正是分别通过干扰细菌及恶性肿瘤细胞的叶酸、四氢叶酸合成，进一步影响一碳单位代谢与核酸合成而发挥其药理作用。

三、含硫氨基酸的代谢

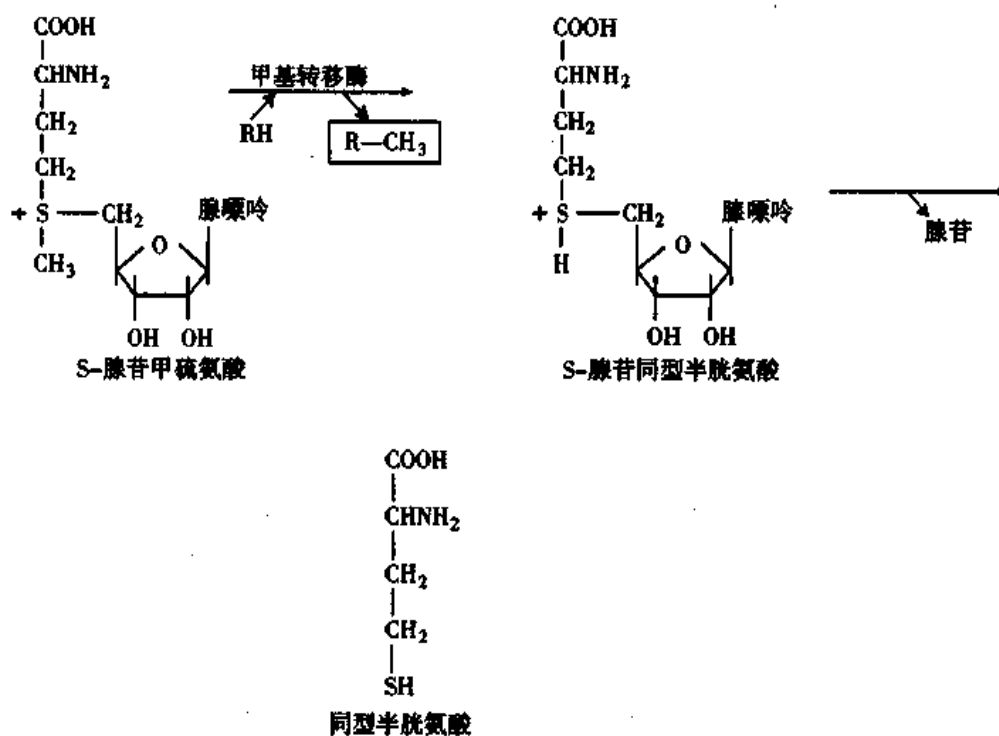
体内的含硫氨基酸有三种，即甲硫氨酸、半胱氨酸和胱氨酸。这三种氨基酸的代谢是相互联系的，甲硫氨酸可以转变为半胱氨酸和胱氨酸，半胱氨酸和胱氨酸也可以互变，但后者不能变为甲硫氨酸，所以甲硫氨酸是必需氨基酸。

(一) 甲硫氨酸的代谢

1. 甲硫氨酸与转甲基作用 甲硫氨酸分子中含有 S-甲基, 通过各种转甲基作用可以生成多种含甲基的重要生理活性物质, 如肾上腺素、肌酸、肉毒碱等。但是, 甲硫氨酸在转甲基之前, 首先必须与 ATP 作用, 生成 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosyl methionine, SAM)。此反应由甲硫氨酸腺苷转移酶催化。SAM 中的甲基称为活性甲基, SAM 称为活性甲硫氨酸。



活性甲硫氨酸在甲基转移酶(methyl transferase)的作用下, 可将甲基转移至另一种物质, 使其甲基化(methylation), 而活性甲硫氨酸即变成 S-腺苷同型半胱氨酸, 后者进一步脱去腺苷, 生成同型半胱氨酸(homocysteine)。



式中RH代表接受甲基的物质

据统计, 体内约有 50 多种物质需要 SAM 提供甲基, 生成甲基化合物。甲基化作用是重要的代谢反应, 具有广泛的生理意义(包括 DNA 与 RNA 的甲基化), 而 SAM 则是体内最重要的甲基直接供给体。

2. 甲硫氨酸循环 甲硫氨酸在体内最主要的分解代谢途径是通过上述转甲基作用

而提供甲基，与此同时产生的 S-腺苷同型半胱氨酸进一步转变成同型半胱氨酸。同型半胱氨酸可以接受 N^5 -甲基四氢叶酸提供的甲基，重新生成甲硫氨酸，形成一个循环过程，称为甲硫氨酸循环 (methionine cycle) (图 8-9)。这个循环的生理意义是由 N^5 - CH_3 - FH_4 供给甲基合成甲硫氨酸，再通过此循环的 SAM 提供甲基，以进行体内广泛存在的甲基化反应，由此， N^5 - CH_3 - FH_4 可看成是体内甲基的间接供体。

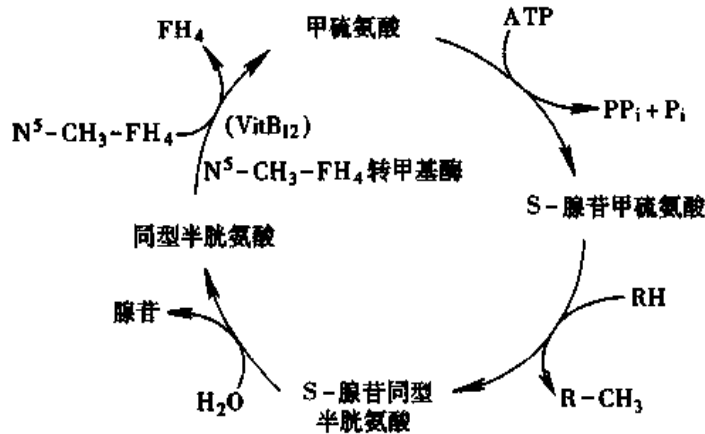


图 8-9 甲硫氨酸循环

尽管上述循环可以生成甲硫氨酸，但体内不能合成同型半胱氨酸，它只能由甲硫氨酸转变而来，所以实际上体内仍然不能合成甲硫氨酸，必须由食物供给。

值得注意的是，由 N^5 - CH_3 - FH_4 提供甲基使同型半胱氨酸转变成甲硫氨酸的反应是目前已知体内能利用 N^5 - CH_3 - FH_4 的唯一反应。催化此反应的 N^5 -甲基四氢叶酸转甲基酶，又称甲硫氨酸合成酶，其辅酶是维生素 B₁₂，它参与甲基的转移。维生素 B₁₂ 缺乏时， N^5 - CH_3 - FH_4 上的甲基不能转移，这不仅不利于甲硫氨酸的生成，同时也影响四氢叶酸的再生(图 8-9)，使组织中游离的四氢叶酸含量减少，不能重新利用它来转运其他一碳单位，导致核酸合成障碍，影响细胞分裂。因此，维生素 B₁₂ 不足时可以产生巨幼红细胞性贫血。

同型半胱氨酸还可通过胱硫醚合酶 (cystathionine synthase) 催化，与丝氨酸缩合生成胱硫醚，后者进一步生成半胱氨酸和 α -酮丁酸。 α -酮丁酸转变成琥珀酸单酰辅酶 A，通过三羧酸循环，可以生成葡萄糖，所以甲硫氨酸是生糖氨基酸。目前认为，高同型半胱氨酸血症具有重要的病理意义，可能是动脉粥样硬化发病的独立危险因素。

3. 肌酸的合成 肌酸 (creatine) 和磷酸肌酸 (creatine phosphate) 是能量储存、利用的重要化合物。肌酸以甘氨酸为骨架，由精氨酸提供胍基，S-腺苷甲硫氨酸供给甲基而合成(图 8-10)。肝是合成肌酸的主要器官。在肌酸激酶 (creatine kinase 或 creatine phosphokinase, CPK) 催化下，肌酸转变成磷酸肌酸，并储存 ATP 的高能磷酸键。磷酸肌酸在心肌、骨骼肌及大脑中含量丰富。

肌酸激酶由两种亚基组成，即 M 亚基 (肌型) 与 B 亚基 (脑型)，有三种同工酶：MM 型、MB 型及 BB 型。它们在体内各组织中的分布不同，MM 型主要在骨骼肌，MB 型主要在心肌，BB 型主要在脑。心肌梗死时，血中 MB 型肌酸激酶活性增高，可作为辅助诊断的指标之一。

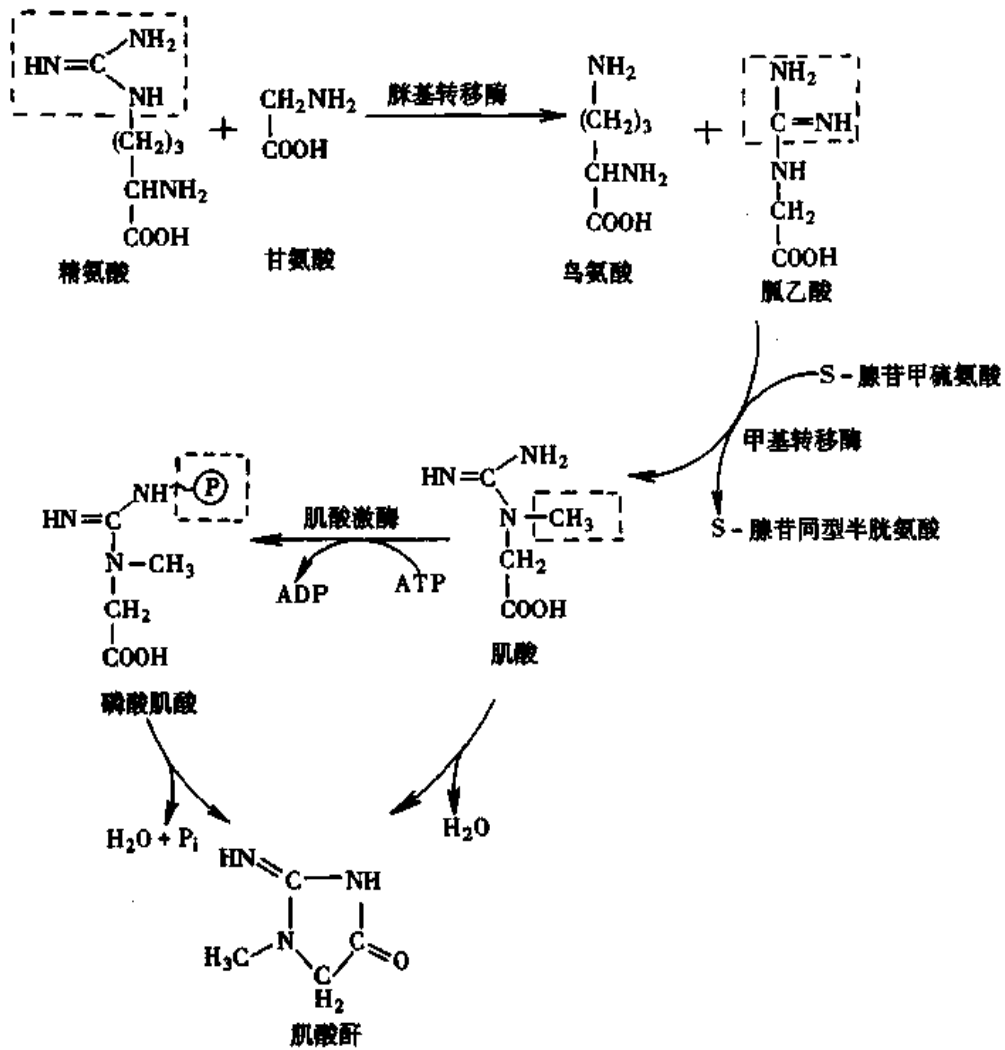
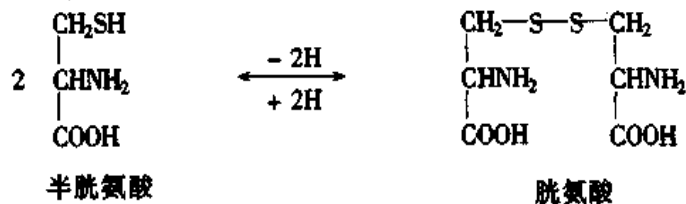


图 8-10 肌酸代谢

肌酸和磷酸肌酸代谢的终产物是肌酸脬(creatinine)。肌酸脬主要在肌肉中通过磷酸肌酸的非酶促反应而生成。正常成人，每日尿中肌酸脬的排出量恒定。肾严重病变时，肌酸脬排泄受阻，血中肌酸脬浓度升高。

(二) 半胱氨酸与胱氨酸的代谢

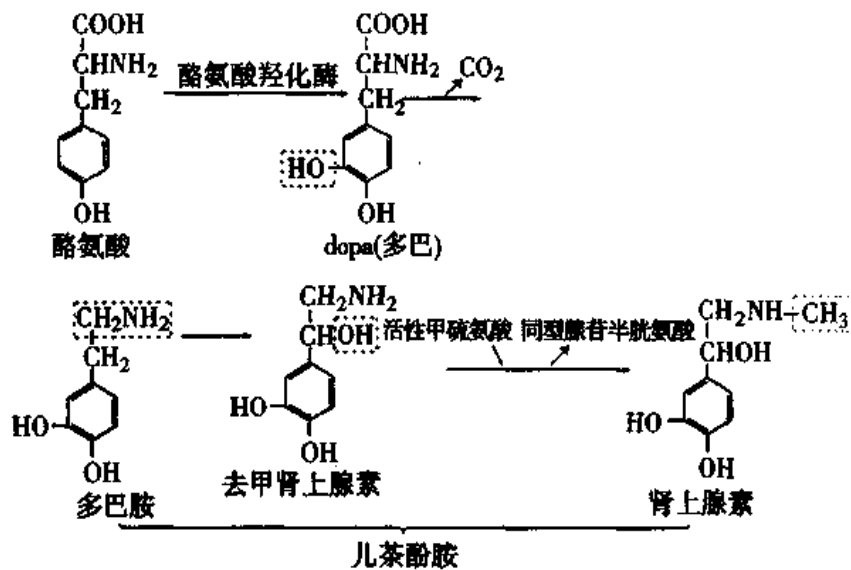
1. 半胱氨酸与胱氨酸的互变 半胱氨酸含有巯基(-SH)，胱氨酸含有二硫键(-S-S-)，二者可以相互转变。



蛋白质中两个半胱氨酸残基之间形成的二硫键对维持蛋白质的结构具有重要作用。体内许多重要酶的活性均与其分子中半胱氨酸残基上巯基的存在直接有关，故有硫

1. 儿茶酚胺与黑色素的合成 酪氨酸的进一步代谢与合成某些神经递质、激素及黑色素有关。

酪氨酸经酪氨酸羟化酶作用，生成 3,4-二羟苯丙氨酸(3,4-dihydroxyphenylalanine, dopa 多巴)。与苯丙氨酸羟化酶相似，此酶也是以四氢生物蝶呤为辅酶的加单氧酶。通过多巴脱羧酶的作用，多巴转变成多巴胺(dopamine)。多巴胺是脑中的一种神经递质，帕金森病(Parkinson disease)患者，多巴胺生成减少。在肾上腺髓质中，多巴胺侧链的β碳原子可再被羟化，生成去甲肾上腺素(norepinephrine)，后者经 N-甲基转移酶催化，由活性甲硫氨酸提供甲基，转变成肾上腺素(epinephrine)。多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素统称为儿茶酚胺(catecholamine)，即含邻苯二酚的胺类。酪氨酸羟化酶是儿茶酚胺合成的限速酶，受终产物的反馈调节。



酪氨酸代谢的另一条途径是合成黑色素(melanin)。在黑色素细胞中酪氨酸酶(tyrosinase)的催化下，酪氨酸羟化生成多巴，后者经氧化、脱羧等反应转变成吲哚-5,6-醌。黑色素即是吲哚醌的聚合物。人体缺乏酪氨酸酶，黑色素合成障碍，皮肤、毛发等发白，称为白化病(albinism)。

2. 酪氨酸的分解代谢 除上述代谢途径外，酪氨酸还可在酪氨酸转氨酶的催化下，生成对羟苯丙酮酸，后者经尿黑酸等中间产物进一步转变成延胡索酸和乙酰乙酸，二者分别参与糖和脂肪酸代谢。因此，苯丙氨酸和酪氨酸是生糖兼生酮氨基酸。

3. 苯酮酸尿症 如上所述，正常情况下苯丙氨酸代谢的主要途径是转变成酪氨酸。当苯丙氨酸羟化酶先天性缺乏时，苯丙氨酸不能正常地转变成酪氨酸，体内的苯丙氨酸蓄积，并可经转氨基作用生成苯丙酮酸，后者进一步转变成苯乙酸等衍生物。此时，尿中出现大量苯丙酮酸等代谢产物，称为苯酮酸尿症(phenyl ketonuria, PKU)。苯丙酮酸的堆积对中枢神经系统有毒性，故患儿的智力发育障碍。对此种患儿的治疗原则是早期发现，并适当控制膳食中的苯丙氨酸含量。

(二) 色氨酸的代谢

色氨酸除生成 5-羟色胺外，本身还可分解代谢。在肝中，色氨酸通过色氨酸加氧酶(tryptophan oxygenase, 又称吡咯酶 pyrrolase)的作用，生成一碳单位。色氨酸分解可产生

丙酮酸与乙酰乙酰辅酶 A，所以色氨酸是一种生糖兼生酮氨基酸。此外，色氨酸分解还可产生尼克酸，这是体内合成维生素的特例，但其合成量甚少，不能满足机体的需要。

五、支链氨基酸的代谢

支链氨基酸包括亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸，它们都是必需氨基酸。这三种氨基酸分解代谢的开始阶段基本相同，即首先经转氨基作用，生成各自相应的 α -酮酸，其后分别进行代谢，经过若干步骤，缬氨酸分解产生琥珀酸单酰辅酶 A；亮氨酸产生乙酰辅酶 A 及乙酰乙酰辅酶 A；异亮氨酸产生乙酰辅酶 A 及琥珀酸单酰辅酶 A。所以，这三种氨基酸分别是生糖氨基酸、生酮氨基酸及生糖兼生酮氨基酸。支链氨基酸的分解代谢主要在骨骼肌中进行。

综上所述，各种氨基酸除了作为合成蛋白质的原料外，还可以转变成其他多种含氮的生理活性物质。表 8-3 列举了这些重要的化合物。

表 8-3 氨基酸衍生的重要含氮化合物

化 合 物	生 理 功 用	氨 基 酸 前 体
嘌呤碱	含氮碱基、核酸成分	天冬氨酸、谷氨酰胺、甘氨酸
嘧啶碱	含氮碱基、核酸成分	天冬氨酸
卟啉化合物	血红蛋白、细胞色素	甘氨酸
肌酸、磷酸肌酸	能量贮存	甘氨酸、精氨酸、甲硫氨酸
尼克酸	维生素	色氨酸
多巴胺、肾上腺素、去甲肾上腺素	神经递质、激素	苯丙氨酸、酪氨酸
甲状腺素	激素	酪氨酸
黑色素	皮肤色素	苯丙氨酸、酪氨酸
5-羟色胺	血管收缩剂，神经递质	色氨酸
组胺	血管舒张剂	组氨酸
γ -氨基丁酸	神经递质	谷氨酸
精胺、精脒	细胞增殖促进剂	甲硫氨酸、精(鸟)氨酸

小 结

氨基酸具有重要的生理功能，除主要作为合成蛋白质的原料外，还可以转变成核苷酸、某些激素、神经递质等含氮物质。人体内氨基酸主要来自食物蛋白质的消化吸收。各种蛋白质由于所含氨基酸种类和数量不同，其营养价值也不相同。体内不能合成而必须由食物供应的氨基酸，称为营养必需氨基酸。食物蛋白质的消化主要在小肠中进行，由各种蛋白水解酶的协同作用完成。水解生成的氨基酸及二肽即可被吸引。载体蛋白和 γ -谷氨酰基循环是氨基酸吸收、转运的主要方式。未被消化的蛋白质和氨基酸在大肠下段还可发生腐败作用。

外源性与内源性氨基酸共同构成“氨基酸代谢库”，参与体内代谢。

氨基酸的脱氨基作用，生成氨及相应的 α 酮酸，这是氨基酸的主要分解途径。转氨基与 L-谷氨酸氧化脱氨基的联合脱氨基作用，是体内大多数氨基酸脱氨基的主要方式。

由于这个过程可逆，因此也是体内合成非必需氨基酸的重要途径。骨骼肌等组织中，氨基酸主要通过“嘌呤核苷酸循环”脱去氨基。

α -酮酸是氨基酸的碳架，除部分可用于再合成氨基酸外，其余的可经过不同代谢途

第九章 核苷酸代谢

核苷酸是核酸的基本结构单位。人体内的核苷酸主要由机体细胞自身合成。因此，核苷酸不属于营养必需物质。

食物中的核酸多以核蛋白的形式存在。核蛋白在胃中受胃酸的作用，分解成核酸与蛋白质。核酸进入小肠后，受胰液和肠液中各种水解酶的作用逐步水解(图 9-1)。核苷酸及其水解产物均可被细胞吸收，但它们的绝大部分在肠粘膜细胞中又被进一步分解。分解产生的戊糖被吸收而参加体内的戊糖代谢；嘌呤和嘧啶碱则主要被分解而排出体外。因此，实际上食物来源的嘌呤和嘧啶碱很少被机体利用。

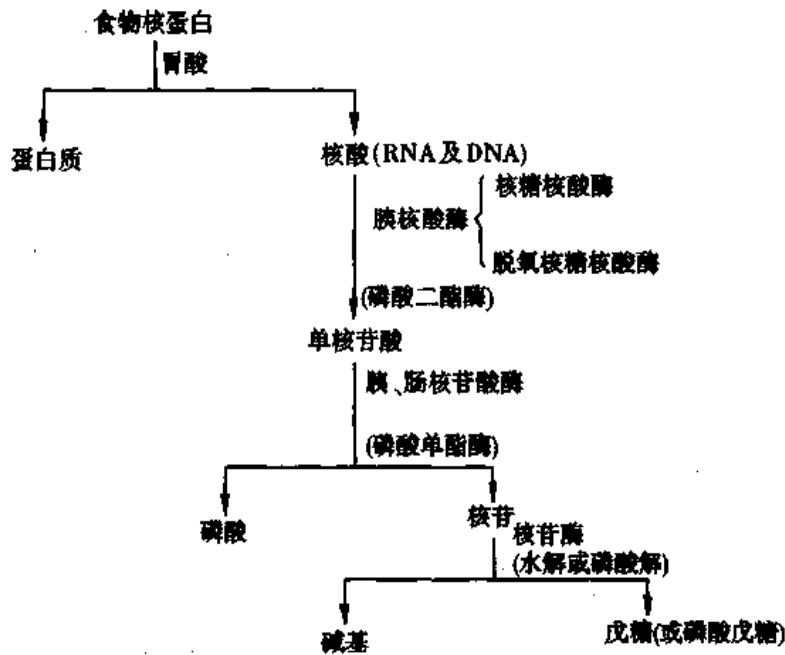


图 9-1 核酸的消化

核苷酸在体内分布广泛。细胞中主要以 5'-核苷酸形式存在，其中又以 5'-ATP 含量最多。一般说来，细胞中核糖核苷酸的浓度远远超过脱氧核糖核苷酸，前者约在 mmol 范围，而后者只在 μmol 水平。在细胞分裂周期中，细胞内脱氧核糖核苷酸含量波动范围较大，核糖核苷酸浓度则相对稳定。不同类型细胞中各种核苷酸含量差异很大。同一种细胞中，各种核苷酸含量虽也有差异，但核苷酸总含量变化不大。

核苷酸具有多种生物学功用：①作为核酸合成的原料，这是核苷酸最主要的功能。②体内能量的利用形式。ATP 是细胞的主要能量形式。此外，GTP、UTP、CTP 也均可以提供能量。③参与代谢和生理调节。某些核苷酸或其衍生物是重要的调节分子。例如，cAMP 是多种细胞膜受体激素作用的第二信使；cGMP 也与代谢调节有关。④组成

辅酶。例如，腺苷酸可作为多种辅酶(NAD、FAD、辅酶A等)的组成成分。⑤活化中间代谢物。核苷酸可以作为多种活化中间代谢物的载体。例如，UDP-葡萄糖是合成糖原、糖蛋白的活性原料，CDP-二酰基甘油是合成磷脂的活性原料，S-腺苷甲硫氨酸是活性甲基的载体等。

本章重点讨论核苷酸在体内的合成过程。

第一节 嘌呤核苷酸代谢

一、嘌呤核苷酸的合成代谢

体内嘌呤核苷酸的合成有两条途径。第一，利用磷酸核糖、氨基酸、一碳单位及 CO_2 等简单物质为原料，经过一系列酶促反应，合成嘌呤核苷酸，称为从头合成途径(*de novo synthesis*)。第二，利用体内游离的嘌呤或嘌呤核苷，经过简单的反应过程，合成嘌呤核苷酸，称为补救合成(或重新利用)途径(*salvage pathway*)。二者在不同组织中的重要性各不相同，例如肝组织进行从头合成途径，而脑、骨髓等则只能进行补救合成。一般情况下，前者是合成的主要途径。

(一) 嘌呤核苷酸的从头合成

1. 从头合成途径 除某些细菌外，几乎所有生物体都能合成嘌呤碱。同位素示踪实验证明，嘌呤碱的前身物均为简单物质，例如氨基酸、 CO_2 及甲酰基(来自四氢叶酸)等(图9-2)。

嘌呤核苷酸的从头合成在胞液中进行。反应步骤比较复杂，可分为两个阶段：首先合成次黄嘌呤核苷酸(*inosine monophosphate, IMP*)，然后IMP再转变成腺嘌呤核苷酸(*adenosine monophosphate, AMP*)与鸟嘌呤核苷酸(*guanosine monophosphate, GMP*)。

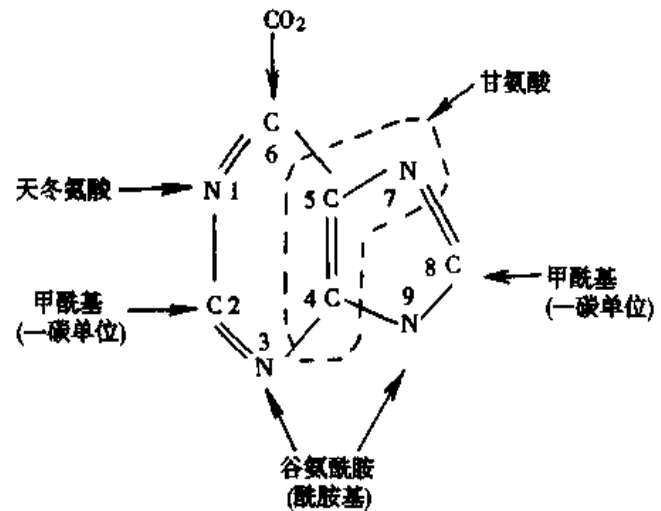


图9-2 嘌呤碱合成的元素来源

(1) IMP的合成：IMP的合成经过十一步反应完成(图9-3)。①5-磷酸核糖(磷酸戊糖途径中产生)经过磷酸核糖焦磷酸合成酶(PRPP合成酶)作用，活化生成磷酸核糖焦磷酸(*phosphoribosyl pyrophosphate, PRPP*)。②谷氨酰胺提供酰胺基取代PRPP上的焦磷酸，形成5-磷酸核糖胺(PRA)，此反应由磷酸核糖酰胺转移酶(*amidotransferase*)催化。③由ATP供能，甘氨酸与PRA加合，生成甘氨酰胺核苷酸(GAR)。④ $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -甲炔四氢叶酸供给甲酰基，使GAR甲酰化，生成甲酰甘氨酰胺核苷酸(FGAR)。⑤谷氨酰胺提供酰胺氮，使FGAR生成甲酰甘氨咪核苷酸(FGAM)，此反应消耗1分子ATP。⑥FGAM脱水环化形成5-氨基咪唑核苷酸(AIR)，此反应也需要ATP参与。至此，合成了嘌呤环中的

咪唑环部分。⑦CO₂ 连接到咪唑环上，作为嘌呤碱中 C₆ 的来源，生成 5-氨基咪唑，4-羧酸核苷酸(CAIR)。⑧及⑨在 ATP 存在下，天冬氨酸与 CAIR 缩合，生成产物再脱去 1 分子延胡索酸而裂解为 5-氨基咪唑-4-甲酰胺核苷酸(AICAR)。⑩ N¹⁰-甲酰四氢叶酸提供一碳单位，使 AICAR 甲酰化，生成 5-甲酰胺基咪唑 - 4 - 甲酰胺核苷酸(FAICAR)。⑪ FAICAR 脱水环化，生成 IMP (图 9-3)。

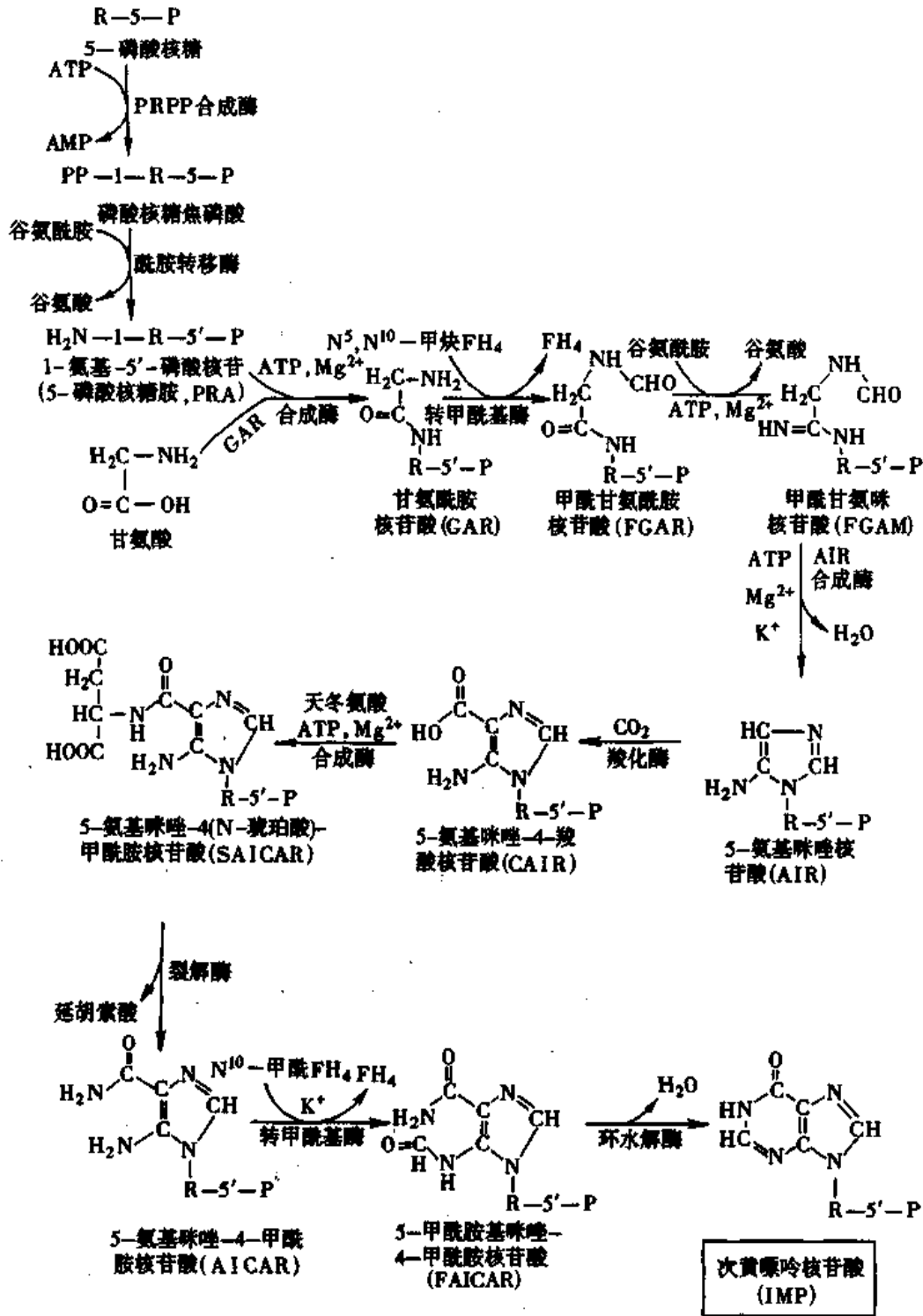


图 9-3 次黄嘌呤核苷酸的合成

(2) AMP 和 GMP 的生成: IMP 虽然不是核酸分子的主要组成成分, 但它是嘌呤核苷酸合成的重要中间产物, IMP 可以分别转变成 AMP 和 GMP (图 9-4)。AMP 和 GMP 在激酶作用下, 经过两步磷酸化反应, 进一步分别生成 ATP 和 GTP。

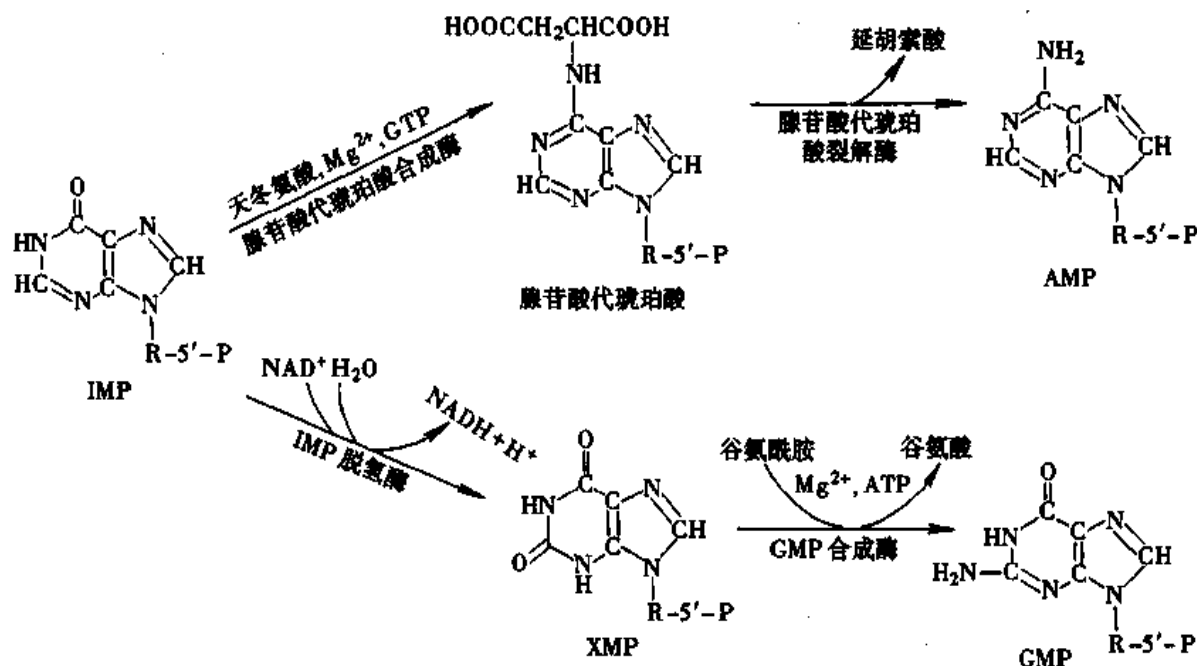
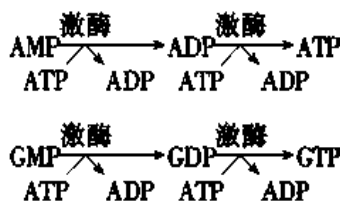


图 9-4 由 IMP 合成 AMP 及 GMP



由上述反应过程可以清楚地看到, 嘌呤核苷酸是在磷酸核糖分子上逐步合成的, 而不是首先单独合成嘌呤碱然后再与磷酸核糖结合的。这是嘌呤核苷酸从头合成的一个重要特点。

肝是体内从头合成嘌呤核苷酸的主要器官, 其次是小肠粘膜及胸腺。现已证明, 并不是所有的细胞都具有从头合成嘌呤核苷酸的能力。

2. 从头合成的调节 嘌呤核苷酸的从头合成是体内提供核苷酸的主要来源, 但这个过程需要消耗氨基酸等原料及大量 ATP。机体对其合成速度进行着精确的调节, 一方面以满足合成核酸对嘌呤核苷酸的需要, 同时又不会“供过于求”, 以节省营养物及能量的消耗。调节的机制是反馈调节, 主要发生在下列几个部位(图 9-5)。

嘌呤核苷酸合成起始阶段的 PRPP 合成酶和 PRPP 酰胺转移酶均可被合成产物 IMP、AMP 及 GMP 等抑制。反之, PRPP 增加可以促进酰胺转移酶活性, 加速 PRA 生成。PRPP 酰胺转移酶是一类变构酶, 其单体形式有活性, 二聚体形式无活性。IMP、AMP 及 GMP 使活性形式转变成无活性形式, 而 PRPP 则相反。在嘌呤核苷酸合成调节中, PRPP 合成酶可能比酰胺转移酶起着更大的作用。此外, 在形成 AMP 和 GMP 过程中, 过量的 AMP 控制 AMP 的生成, 而不影响 GMP 的合成; 同样, 过量的 GMP 控制 GMP 的

生成，而不影响 AMP 的合成。从图 9-5 还可看出，IMP 转变成 AMP 时需要 GTP，而 IMP 转变成 GMP 时需要 ATP。由此，GTP 可以促进 AMP 的生成，ATP 也可以促进 GMP 的生成。这种交叉调节作用对维持 ATP 与 GTP 浓度的平衡具有重要意义。

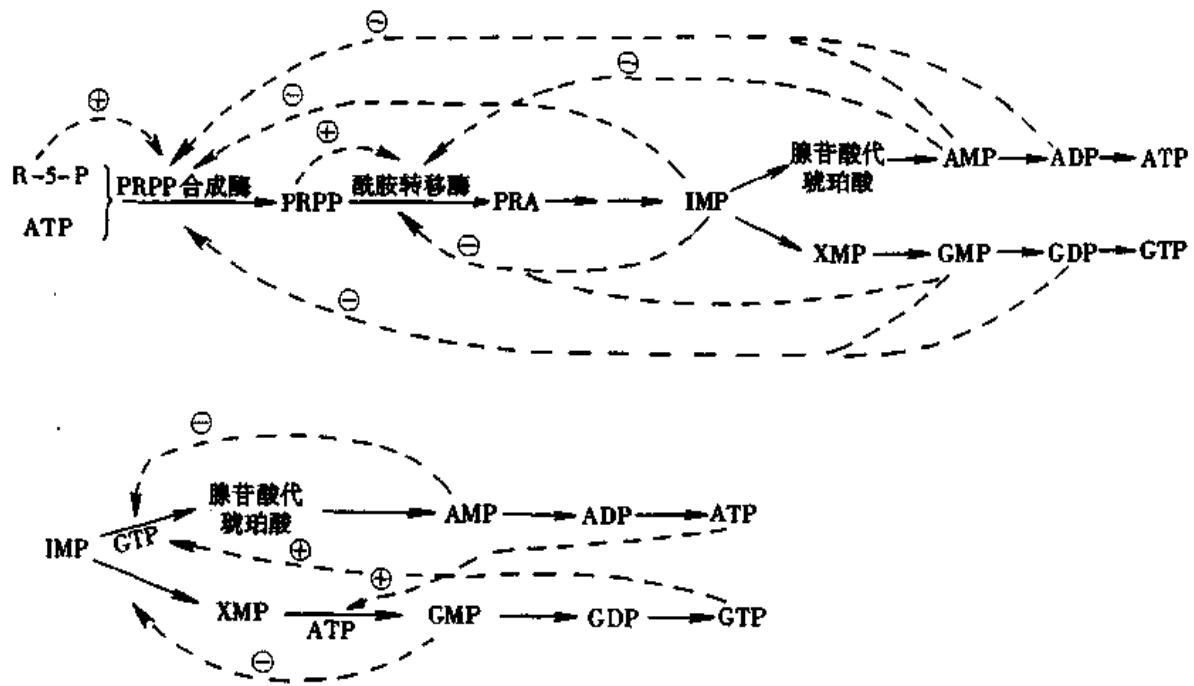
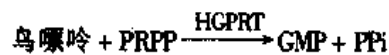
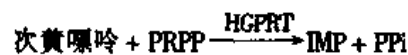
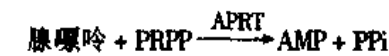


图 9-5 嘌呤核苷酸从头合成的调节

(二) 嘌呤核苷酸的补救合成

细胞利用现成嘌呤碱或嘌呤核苷重新合成嘌呤核苷酸，称为补救合成。补救合成过程比较简单，消耗能量也少。有两种酶参与嘌呤核苷酸的补救合成：腺嘌呤磷酸核糖转移酶(adenine phosphoribosyl transferase, APRT)和次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase, HGPRT)。由 PRPP 提供磷酸核糖，它们分别催化 AMP 和 IMP、GMP 的补救合成。



APRT 受 AMP 的反馈抑制，HGPRT 受 IMP 与 GMP 的反馈抑制。

人体内嘌呤核苷的重新利用通过腺苷激酶催化的磷酸化反应，使腺嘌呤核苷生成腺嘌呤核苷酸。



嘌呤核苷酸补救合成的生理意义一方面在于可以节省从头合成时能量和一些氨基酸的消耗；另一方面，体内某些组织器官，例如脑、骨髓等由于缺乏从头合成嘌呤核苷酸的酶体系，它们只能进行嘌呤核苷酸的补救合成。因此，对这些组织器官来说，补救合成途径具有更重要的意义。例如，由于某些基因缺陷而导致 HGPRT 完全缺失的患儿，表现为自

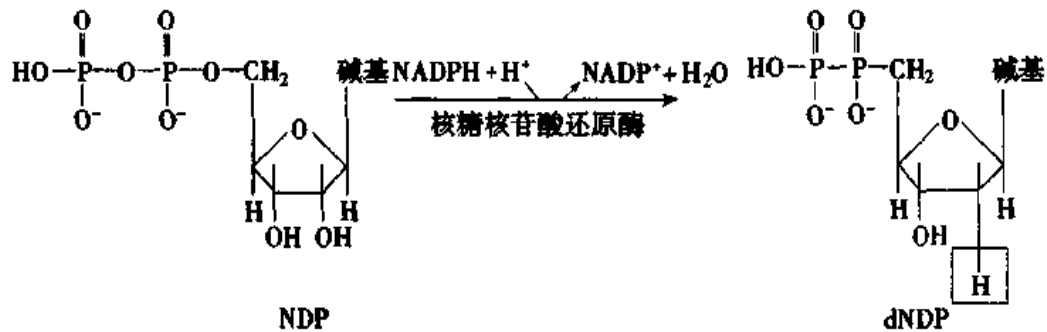
毁容貌征或称 Lesch-Nyhan 综合征。

(三) 嘌呤核苷酸的相互转变

体内嘌呤核苷酸可以相互转变，以保持彼此平衡。前已述及 IMP 可以转变成 XMP、AMP 及 GMP。其实，AMP、GMP 也可以转变成 IMP。由此，AMP 和 GMP 之间也是可以相互转变的。

(四) 脱氧(核糖)核苷酸的生成

DNA 由各种脱氧核苷酸组成。细胞分裂旺盛时，脱氧核苷酸含量明显增加，以适应合成 DNA 的需要。脱氧核苷酸，包括嘌呤脱氧核苷酸和嘧啶脱氧核苷酸，其所含的脱氧核糖并非先形成后再结合到脱氧核苷酸分子上，而是通过相应的核糖核苷酸的直接还原作用，以氢取代其核糖分子中 C₂ 上的羟基而生成的。这种还原作用是在二磷酸核苷(NDP)水平上进行的(在这里 N 代表 A、G、U、C 等碱基)，由核糖核苷酸还原酶(ribonucleotide reductase)催化。反应如下：



其实，这一反应的过程比较复杂(图 9-6)。核糖核苷酸还原酶从 NADPH 获得电子时，需要一种硫氧化还原蛋白(thioredoxin)作为电子载体。硫氧化还原蛋白的分子量约为 12 000，其所含的巯基在核糖核苷酸还原酶作用下氧化为二硫键。后者再经另一种称为硫氧化还原蛋白还原酶(thioredoxin reductase)的催化，重新生成还原型的硫氧化还原蛋白，由此构成一个复杂的酶体系。核糖核苷酸还原酶是一种变构酶，包括 B₁、B₂ 两个亚基，只有 B₁ 与 B₂ 结合时才具有酶活性。在 DNA 合成旺盛、分裂速度较快的细胞中，核糖核苷酸还原酶体系活性较强。

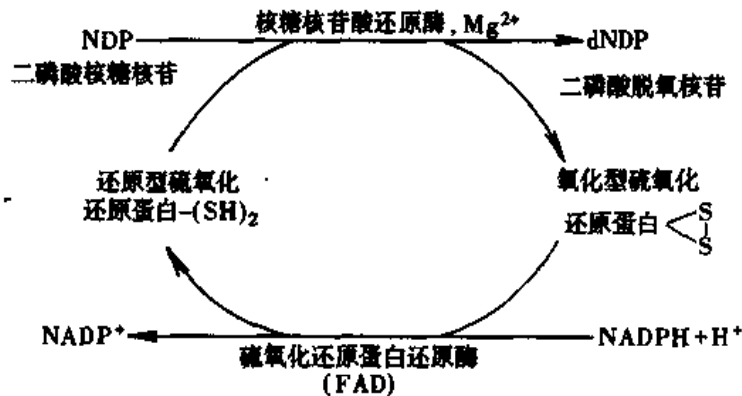


图 9-6 脱氧核苷酸的生成

细胞除了控制还原酶的活性以调节脱氧核苷酸的浓度之外，还可以通过各种三磷酸

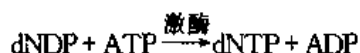
核苷对还原酶的变构作用来调节不同脱氧核苷酸生成。因为，某一种 NDP 被还原酶还原成 dNDP 时，需要特定 NTP 的促进，同时也受另一些 NTP 的抑制(表 9-1)。通过这样的调节，使合成 DNA 的 4 种脱氧核苷酸得到适当的比例。

表 9-1 核糖核苷酸还原酶的变构调节

作用物	主要促进剂	主要抑制剂
CDP	ATP	dATP、dGTP、dTTP
UDP	ATP	dATP、dGTP
ADP	dGTP	dATP、ATP
GDP	dTTP	dATP

如上所述，与嘌呤脱氧核苷酸的生成一样，嘧啶脱氧核苷酸(dUDP、dCDP)也是通过相应的二磷酸嘧啶核苷的直接还原而生成的。

经过激酶的作用，上述 dNDP 再磷酸化成三磷酸脱氧核苷。



(五) 嘌呤核苷酸的抗代谢物

嘌呤核苷酸的抗代谢物是一些嘌呤、氨基酸或叶酸等的类似物。它们主要以竞争性抑制或“以假乱真”等方式干扰或阻断嘌呤核苷酸的合成代谢，从而进一步阻止核酸以及蛋白质的生物合成。肿瘤细胞的核酸及蛋白质合成十分旺盛，由此，这些抗代谢物具有抗肿瘤作用。

嘌呤类似物有 6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine, 6MP)、6-巯基鸟嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤等，其中以 6MP 在临床上应用较多。6MP 的结构与次黄嘌呤相似，唯一不同的是分子中 C₆ 上由巯基取代了羟基。6MP 可在体内经磷酸核糖化而生成 6MP 核苷酸，并以这种形式抑制 IMP 转变为 AMP 及 GMP 的反应。6MP 还能直接通过竞争性抑制，影响次黄嘌呤-鸟

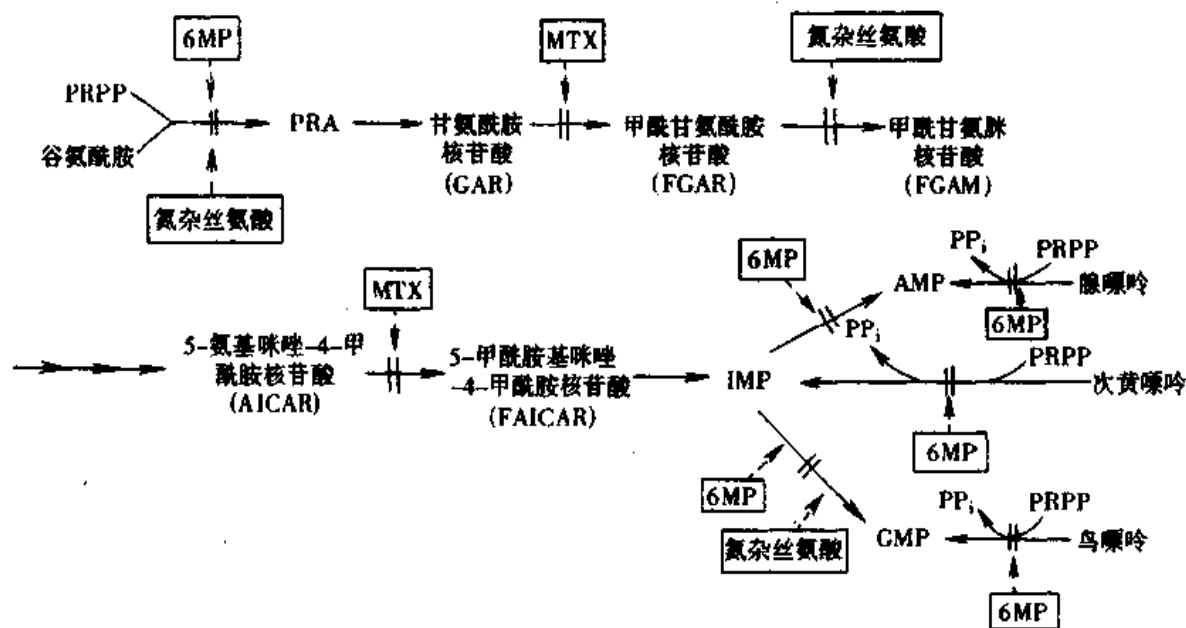
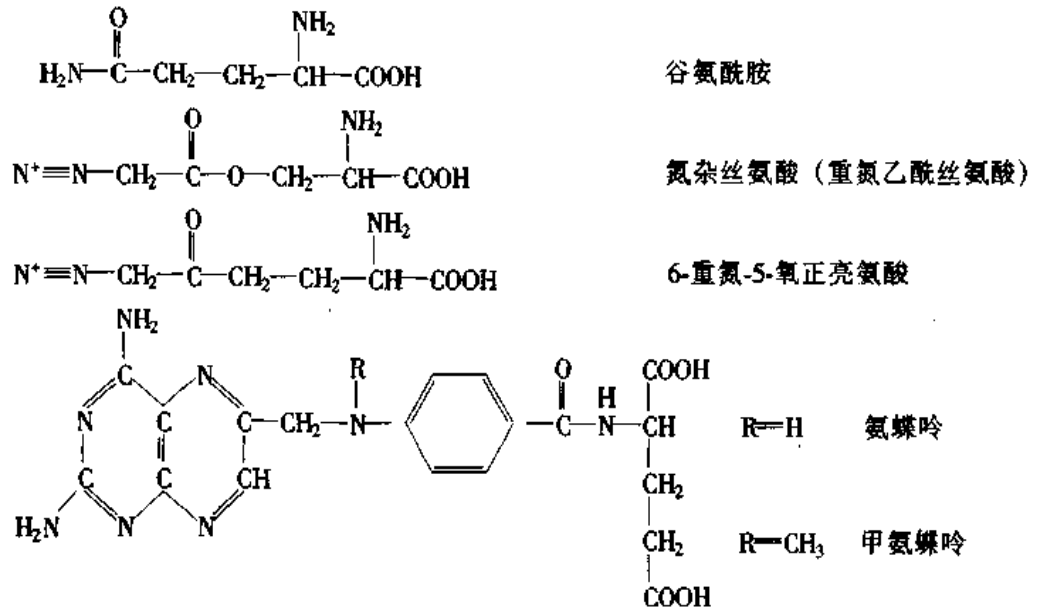


图 9-7 嘌呤核苷酸抗代谢物的作用

嘌呤磷酸核糖转移酶，使 PRPP 分子中的磷酸核糖不能向鸟嘌呤及次黄嘌呤转移，阻止了补救合成途径。此外，6MP 核苷酸由于结构与 IMP 相似，还可以反馈抑制 PRPP 酰胺转移酶而干扰磷酸核糖胺的形成，从而阻断嘌呤核苷酸的从头合成(图 9-7)。

氨基酸类似物有氮杂丝氨酸(azaserine)及 6-重氮-5-氧正亮氨酸(diazonorleucine)等。它们的结构与谷氨酰胺相似，可干扰谷氨酰胺在嘌呤核苷酸合成中的作用，从而抑制嘌呤核苷酸的合成。



氨蝶呤(aminopterin)及甲氨蝶呤(methotrexate, MTX)都是叶酸的类似物，能竞争性抑制二氢叶酸还原酶，使叶酸不能还原成二氢叶酸及四氢叶酸。由此，嘌呤分子中来自一碳单位的 C₈ 及 C₂ 均得不到供应，从而抑制了嘌呤核苷酸的合成。MTX 在临床上用于白血病等癌瘤的治疗。

嘌呤核苷酸抗代谢物的作用部位可归纳如图 9-7。

二、嘌呤核苷酸的分解代谢

体内核苷酸的分解代谢类似于食物中核苷酸的消化过程。首先，细胞中的核苷酸在核苷酸酶的作用下水解成核苷。核苷经核苷磷酸化酶作用，磷酸解成自由的碱基及 1-磷酸核糖。嘌呤碱既可以参加核苷酸的补救合成，也可进一步水解。人体内，嘌呤碱最终分解生成尿酸(uric acid)，随尿排出体外。反应过程如图 9-8。AMP 生成次黄嘌呤，后者

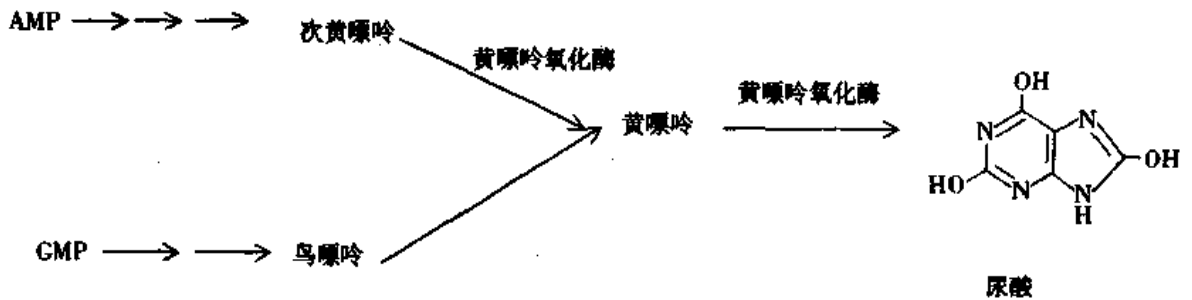
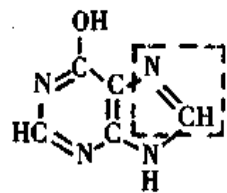


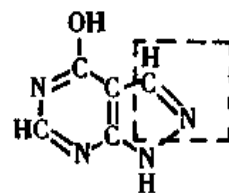
图 9-8 嘌呤核苷酸的分解代谢

在黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidase)作用下氧化成黄嘌呤，最后生成尿酸。GMP生成鸟嘌呤，后者转变成黄嘌呤，最后也生成尿酸。嘌呤脱氧核苷经过相同途径进行分解代谢。体内嘌呤核苷酸的分解代谢主要在肝、小肠及肾中进行，黄嘌呤氧化酶在这些脏器中活性较强。

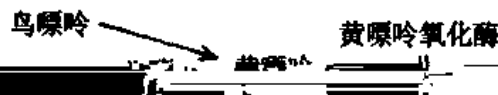
正常人血浆中尿酸含量约为 0.12 ~ 0.36mmol/L (2 ~ 6mg%)。男性平均为 0.27mmol/L (4.5mg%)，女性平均为 0.21mmol/L (3.5mg/dl) 左右，尿酸的水溶性较差。痛风症患者血中尿酸含量升高，当超过 8mg% 时，尿酸盐晶体即可沉积于关节、软组织、软骨及肾等处，而导致关节炎、尿路结石及肾疾病。痛风症多见于成年男性，其原因尚不完全清楚，可能与嘌呤核苷酸代谢酶的缺陷有关。此外，当进食高嘌呤饮食、体内核酸大量分解(如白血病、恶性肿瘤等)或肾疾病而尿酸排泄障碍时，均可导致血中尿酸升高。临床上常用别嘌呤醇(allopurinol)治疗痛风症。别嘌呤醇与次黄嘌呤结构类似，只是分子中 N₇ 与 C₈ 互换了位置，故可抑制黄嘌呤氧化酶，从而抑制尿酸的生成。同时，别嘌呤醇与 PRPP 反应生成别嘌呤核苷酸，这样一方面消耗 PRPP 而使其含量减少，另一方面别嘌呤核苷酸与 IMP 结构相似，又可反馈抑制嘌呤核苷酸从头合成的酶。这两方面的作用均可使嘌呤核苷酸的合成减少。



次黄嘌呤



别嘌呤醇



氨基脲、CO₂ 和天冬氨酸，如图 9-9 所示。

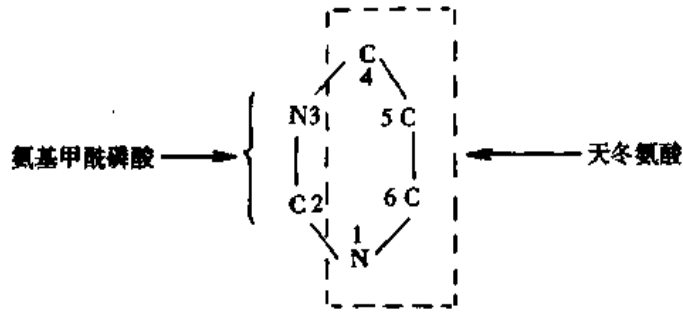
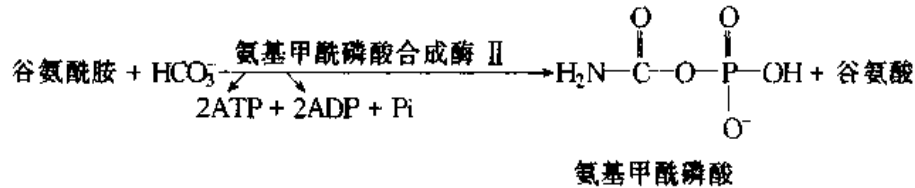


图 9-9 嘧啶碱合成的元素来源

与嘌呤核苷酸的从头合成途径不同，嘧啶核苷酸的合成是先合成嘧啶环，然后再与磷酸核糖相连而成的。

嘧啶核苷酸合成的过程如下。

(1) 尿嘧啶核苷酸的合成：嘧啶环的合成开始于氨基甲酰磷酸的生成。正如氨基酸代谢一章所讨论的，氨基甲酰磷酸也是尿素合成的原料。但是，尿素合成中所需的氨基甲酰磷酸是在肝线粒体中由氨基甲酰磷酸合成酶 I 催化生成的，而嘧啶合成所用的氨基甲酰磷酸则是在细胞液中用谷氨酰胺为氮源，由氨基甲酰磷酸合成酶 II 催化生成的。这两种合成酶的性质不同。



上述生成的氨基甲酰磷酸在胞液中天冬氨酸氨基甲酰转移酶 (aspartate transcarbamoylase) 的催化下，与天冬氨酸化合生成氨甲酰天冬氨酸。后者经二氢乳清酸酶催化脱水，形成具有嘧啶环的二氢乳清酸，再经二氢乳清酸脱氢酶的作用，脱氢成为乳清酸 (orotic acid)。乳清酸不是构成核酸的嘧啶碱，但它在乳清酸磷酸核糖转移酶催化下可与 PRPP 化合，生成乳清酸核苷酸，后者再由乳清酸核苷酸脱羧酶催化脱去羧基，即是组成核酸分子的尿嘧啶核苷酸 (uridine monophosphate, UMP) (图 9-10)。嘧啶核苷酸的合成主要在肝进行。

现已阐明，在真核细胞中嘧啶核苷酸合成的前三个酶，即氨基甲酰磷酸合成酶 II、天冬氨酸氨基甲酰转移酶和二氢乳清酸酶，位于分子量约为 200 000 的同一条多肽链上，因此是一个多功能酶；后二酶也是位于同一条多肽链上的多功能酶。由此更有利于以均匀的速度参与嘧啶核苷酸的合成。

(2) CTP 的合成：UMP 通过尿苷酸激酶和二磷酸核苷激酶连续作用，生成三磷酸尿苷 (UTP)，并在 CTP 合成酶催化下，消耗一分子 ATP，从谷氨酰胺接受氨基而成为三磷酸胞苷 (CTP)。

(3) 脱氧胸腺嘧啶核苷酸 (dTMP 或 TMP) 的生成：dTMP 是由脱氧尿嘧啶核苷酸 (dUMP) 经甲基化而生成的。反应由胸苷酸合成酶 (thymidylate synthetase) 催化，N⁵, N¹⁰-

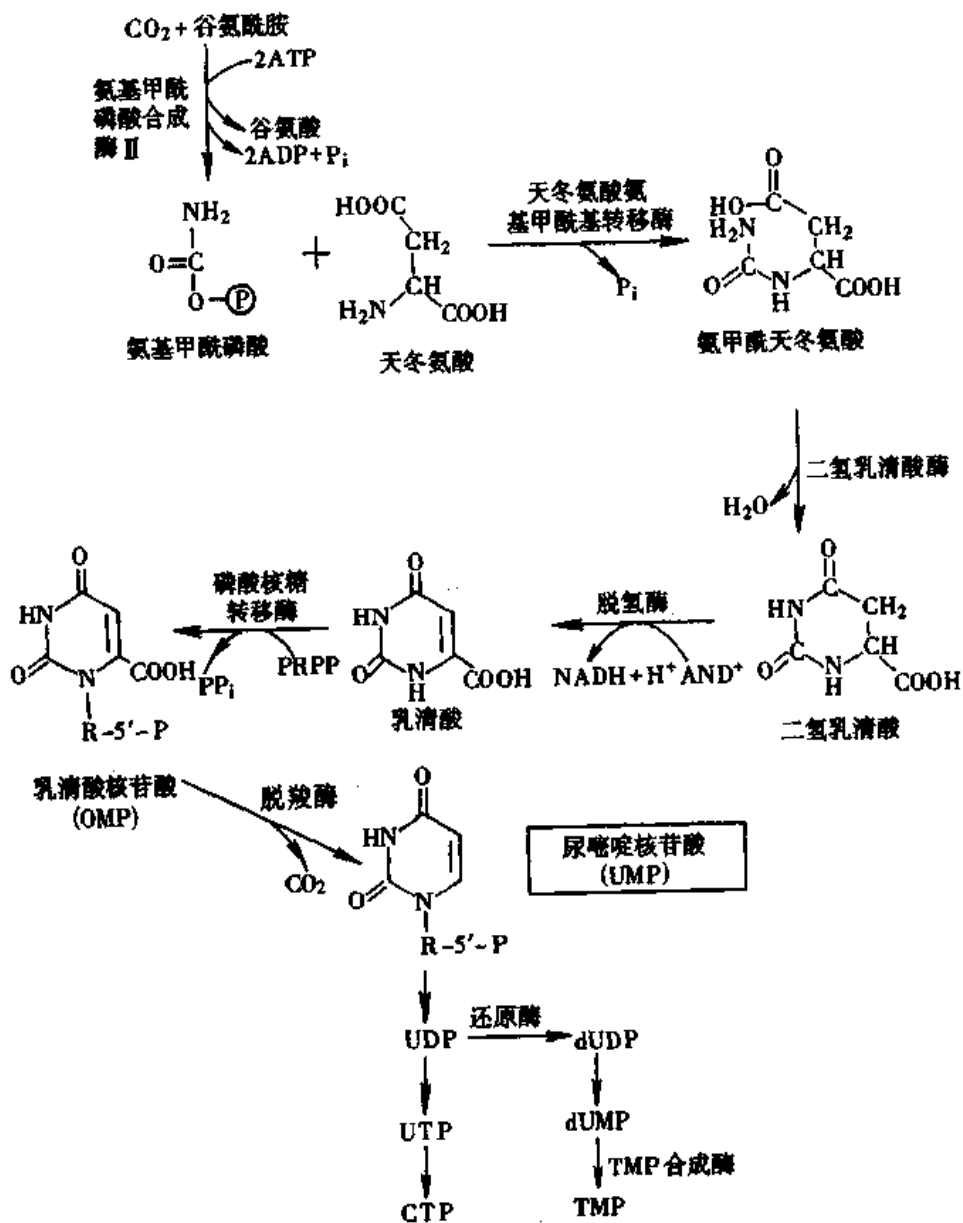
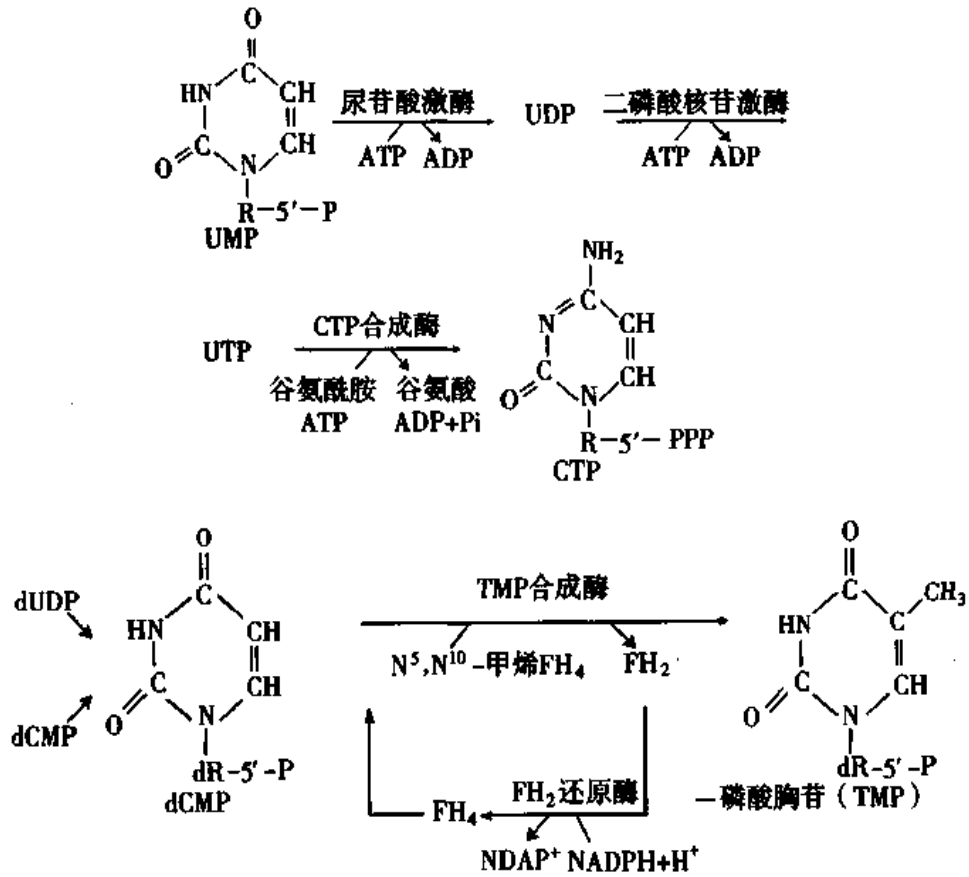


图 9-10 嘧啶核苷酸的合成代谢

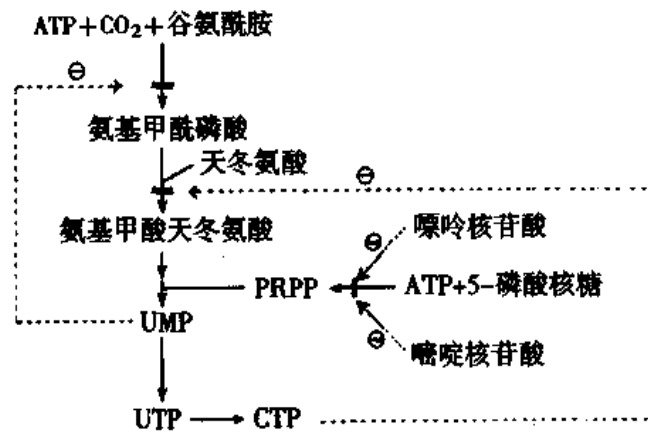
甲烯四氢叶酸作为甲基供体。 $\text{N}^5, \text{N}^{10}$ -甲烯四氢叶酸提供甲基后生成的二氢叶酸又可以再经二氢叶酸还原酶的作用，重新生成四氢叶酸。 dUMP 可来自两个途径：一是 dUDP 的水解，另一个是 dCMP 的脱氨基；以后一种为主。

2. 从头合成的调节 细菌中，天冬氨酸氨基甲酰转移酶是嘧啶核苷酸从头合成的主要调节酶。但是，哺乳类动物细胞中，嘧啶核苷酸合成的调节酶则主要是氨基甲酰磷酸合成酶 II，它受 UMP 抑制。这两种酶均受反馈机制的调节。除此，哺乳类动物细胞中，上述 UMP 合成起始和终末的两个多功能酶还可受到阻遏或去阻遏的调节。同位素参入实验表明，嘧啶与嘌呤的合成有着协调控制关系，二者的合成速度通常是平行的。

由于 PRPP 合成酶是嘧啶与嘌呤两类核苷酸合成过程中共同需要的酶，它可同时接受嘧啶核苷酸及嘌呤核苷酸的反馈抑制。



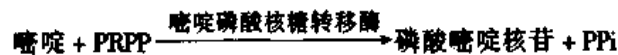
现将嘧啶核苷酸合成的调节部位图示如下：



实线表示代谢途径；虚线表示调节途径； \ominus 代表抑制

(二) 嘧啶核苷酸的补救合成

嘧啶磷酸核糖转移酶是嘧啶核苷酸补救合成的主要酶，催化反应的通式如下：



此酶已从人红细胞中纯化，它能利用尿嘧啶、胸腺嘧啶及乳清酸作为底物(实际上与前述的乳清酸磷酸核糖转移酶是同一种酶)，但对胞嘧啶不起作用。

尿苷激酶也是一种补救合成酶，催化的反应是：



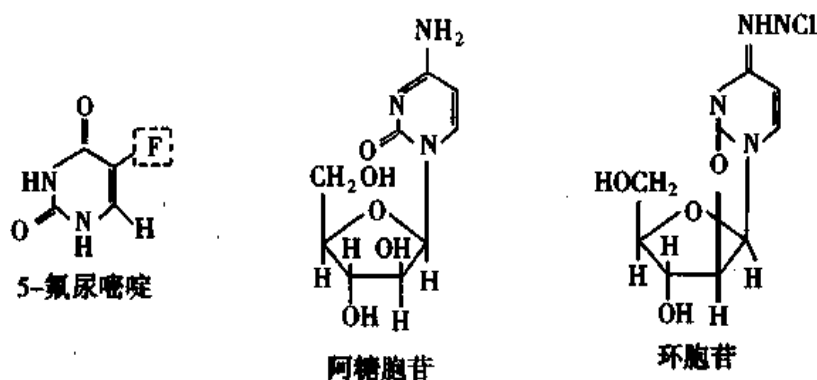
脱氧胸苷可通过胸苷激酶而生成 TMP。此酶在正常肝中活性很低，再生肝中活性升高，恶性肿瘤中明显升高，并与恶性程度有关。

(三) 嘧啶核苷酸的抗代谢物

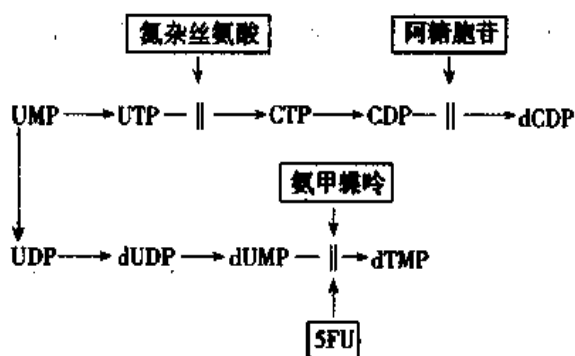
与嘌呤核苷酸一样，嘧啶核苷酸的抗代谢物是一些嘧啶、氨基酸或叶酸等的类似物。它们对代谢的影响及抗肿瘤作用与嘌呤抗代谢物相似。

嘧啶的类似物主要有 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)，它的结构与胸腺嘧啶相似。5-FU 本身并无生物学活性，必须在体内转变成一磷酸脱氧核糖氟尿嘧啶核苷(FdUMP)及三磷酸氟尿嘧啶核苷(FUTP)后，才能发挥作用。FdUMP 与 dUMP 的结构相似，是胸苷酸合成酶的抑制剂，使 TMP 合成受到阻断。FUTP 可以 FUMP 的形式参入 RNA 分子，异常核苷酸的参入破坏了 RNA 的结构与功能。

氨基酸类似物、叶酸类似物已在嘌呤抗代谢物中介绍。例如，由于氮杂丝氨酸类似谷氨酰胺，可以抑制 CTP 的生成；氮甲蝶呤干扰叶酸代谢，使 dUMP 不能利用一碳单位甲基化而生成 TMP，进而影响 DNA 合成。另外，某些改变了核糖结构的核苷类似物，例如阿糖胞苷和环胞苷也是重要的抗癌药物。阿糖胞苷能抑制 CDP 还原成 dCDP，也能影响 DNA 的合成。



嘧啶核苷酸类似物的作用环节可归纳如下：



二、嘧啶核苷酸的分解代谢

嘧啶核苷酸首先通过核苷酸酶及核苷磷酸化酶的作用，除去磷酸及核糖，产生的嘧啶碱再进一步分解。胞嘧啶脱氨基转变成尿嘧啶。尿嘧啶还原成二氢尿嘧啶，并水解开环，最终生成 NH_3 、 CO_2 及 β -丙氨酸。胸腺嘧啶降解成 β -氨基异丁酸 (β -aminoisobutyric acid) (图 9-11)，其可直接随尿排出或进一步分解。食入含 DNA 丰富的食物、经放射

线治疗或化学治疗的癌症病人，尿中β氨基异丁酸排出量增多。嘧啶碱的降解代谢主要在肝进行。

与嘌呤碱的分解产生尿酸不同，嘧啶碱的降解产物均易溶于水。

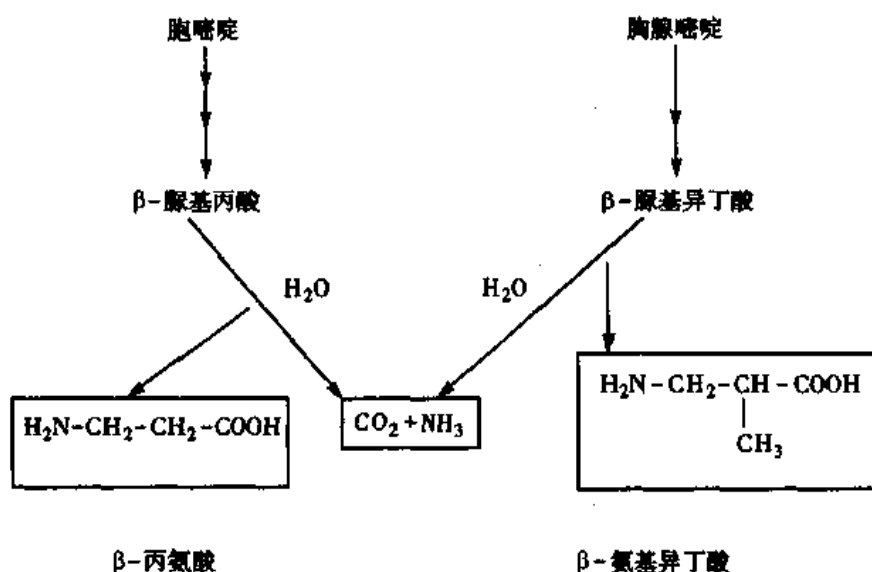


图 9-11 嘧啶碱的分解代谢

小 结

核苷酸具有多种重要的生理功能，其中最主要的是作为合成核酸分子的原料。除此，还参与能量代谢、代谢调节等过程。体内的核苷酸主要由机体细胞自身合成。食物来源的嘌呤和嘧啶极少被机体利用。

体内嘌呤核苷酸的合成有两条途径：从头合成和补救合成。从头合成的原料是磷酸核糖、氨基酸、一碳单位及 CO_2 等简单物质，在 PRPP 的基础上经过一系列酶促反应，逐步形成嘌呤环。首先生成 IMP，然后再分别转变成 AMP 和 GMP。从头合成过程受着精确的反馈调节。补救合成实际上是现成嘌呤或嘌呤核苷的重新利用，虽然合成含量极少，但也有重要的生理意义。

机体也可以从头合成嘧啶核苷酸，但不同的是先合成嘧啶环，再磷酸核糖化而生成核苷酸。嘧啶核苷酸的从头合成也受反馈调控。

体内的脱氧核糖核苷酸是由各自相应的核糖核苷酸在二磷酸水平上还原而成的。核糖核苷酸还原酶催化此反应。四氢叶酸携带的一碳单位是合成胸苷酸过程中甲基的必要来源。

根据嘌呤和嘧啶核苷酸的合成过程，可以设计多种抗代谢物，包括嘌呤、嘧啶类似物，叶酸类似物，氨基酸类似物等。这些抗代谢物在抗肿瘤治疗中有重要作用。

嘌呤在体内分解代谢的终产物是尿酸，黄嘌呤氧化酶是这个代谢过程的重要酶。痛风症主要是由于嘌呤代谢异常，尿酸生成过多而引起的。嘧啶分解后产生的β氨基酸可随尿排出或进一步代谢。

(周爱儒)

第十章 物质代谢的联系与调节

动物在生命活动过程中,除进行 O_2 和 CO_2 的交换外,还要不断地摄取食物排出废物。

合的在细胞内,由葡萄糖经糖酵解和柠檬酸循环等途径进行氧化分解,产生 CO_2 和 H_2O 等物质。

(五) ATP是机体能量利用的共同形式

糖、脂及蛋白质在体内分解氧化释出的能量，均储存在ATP的高能磷酸键中。生命活动如生长、发育、繁殖、运动等所涉及的蛋白质、核酸、多糖等生物大分子的合成，肌收缩，神经冲动的传导，以及细胞渗透压及形态的维持均直接利用ATP。

(六) NADPH是合成代谢所需的还原当量

许多参与氧化分解代谢的脱氢酶常以NAD为辅酶，而参与还原合成代谢的还原酶则多以NADPH为辅酶，提供还原当量。如糖经戊糖磷酸途径生成的NADPH既可为乙酰辅酶A合成脂酸，又可为乙酰辅酶A合成固醇提供还原当量。

第二节 物质代谢的相互联系

一、在能量代谢上的相互联系

糖、脂及蛋白质可在体内氧化供能。虽然它们在体内分解氧化的代谢途径各不相同，但有共同规律。乙酰辅酶A是三大营养物共同的中间代谢物，三羧酸循环是糖、脂、蛋白质最后分解的共同代谢途径，释出的能量均以ATP形式储存。

从能量供应的角度看，这三大营养素可以互相代替，并互相制约。一般情况下，供能以糖及脂为主，并尽量节约蛋白质的消耗。这不仅因为动物及人摄取的食物中以糖类为最多，占总热量的50%~70%，脂肪摄入量虽然不多，变动在10%~40%，但它是机体储能的主要形式，可达体重的20%或更多(肥胖者可达30%~40%)；而且因为体内的蛋白质是组成细胞的最重要的成分，通常并无多余储存。由于糖、脂、蛋白质分解代谢有共同的通路，所以任一供能物质的代谢占优势，常能抑制和节约其他供能物质的降解。例如，脂肪分解增强、生成的ATP增多，ATP/ADP比值增高，可变构抑制糖分解代谢中的限速酶——6-磷酸果糖激酶活性，从而抑制糖分解代谢。相反，若供能物质不足，体内能量匮乏，ADP积存增多，则可变构激活6-磷酸果糖激酶，加速体内糖的分解代谢。又如疾病不能进食，或无食物供给时，由于机体储存的肝糖原及肌糖原不够饥饿时1天的需要，为保证血糖恒定以满足脑组织对糖的需要，则肝糖异生增强，蛋白质分解加强。如饥饿持续进行至3~4周，而长期糖异生增强使蛋白质大量分解，势必威胁生命，故机体通过调节作用转向以保存蛋白质为主。此时体内各组织包括脑组织都以脂酸及酮体为主要能源，蛋白质的分解明显降低。

二、糖、脂和蛋白质代谢之间的相互联系

体内糖、脂、蛋白质和核酸等的代谢不是彼此独立，而是相互关联的。它们通过共同的中间代谢物，即两种代谢途径汇合时的中间产物，三羧酸循环和生物氧化等联成整体。三者之间可以互相转变，当一种物质代谢障碍时可引起其他物质代谢的紊乱，如糖尿病时糖代谢的障碍，可引起脂代谢、蛋白质代谢甚至水盐代谢的紊乱。

(一) 糖代谢与脂代谢的相互联系

当摄入的糖量超过体内能量消耗时，除合成少量糖原储存在肝及肌肉外，生成的柠

糖酸及 ATP 可变构激活乙酰辅酶 A 羧化酶, 使由糖代谢源源而来的大量乙酰辅酶 A 得以羧化成丙二酰辅酶 A, 进而合成脂酸及脂肪在脂肪组织中储存, 即糖可以转变为脂肪。这就是为什么摄取不含脂肪的高糖膳食可使人肥胖及血甘油三酯升高的原因。然而, 脂肪绝大部分不能在体内转变为糖。这是因为脂酸分解生成的乙酰辅酶 A 不能转变为丙酮酸, 即丙酮酸转变成乙酰辅酶 A 这步反应是不可逆的。尽管脂肪分解产物之一甘油可以在肝、肾、肠等组织中甘油激酶的作用下转变成磷酸-甘油, 进而转变成糖, 但其量和脂肪中大量脂酸分解生成的乙酰辅酶 A 相比是微不足道的。此外, 脂肪分解代谢的强度及顺利进行, 还有赖于糖代谢的正常进行。当饥饿或糖供给不足或糖代谢障碍时, 引起脂肪大量动员, 脂酸进入肝 β 氧化生成酮体量增加, 由于糖的不足, 致使草酰乙酸相对不足, 由脂酸分解生成的过量酮体不能及时通过三羧酸循环氧化, 造成血酮体升高, 产生高酮血症。

(二) 糖代谢与氨基酸代谢的相互联系

体内蛋白质中的 20 种氨基酸, 除生酮氨基酸(亮氨酸、赖氨酸)外, 都可通过脱氨作用, 生成相应的 α -酮酸。这些 α -酮酸可通过三羧酸循环及生物氧化生成 CO_2 及 H_2O 并释出能量, 生成 ATP, 也可转变成某些中间代谢物如丙酮酸, 循糖异生途径转变为糖。如精氨酸、组氨酸及脯氨酸均可通过转变成谷氨酸进一步脱氨生成 α -酮戊二酸, 经草酰乙酸转变成磷酸烯醇式丙酮酸, 再循糖酵解逆行途径转变成糖。同时, 糖代谢的一些中间代谢物, 如丙酮酸, α -酮戊二酸、草酰乙酸等也可氨基化成某些非必需氨基酸。但苏、甲硫、赖、亮、异亮、缬、苯丙及色氨酸 8 种氨基酸不能由糖代谢中间物转变而来, 必须由食物供给, 因此称之为必需氨基酸。由此可见, 20 种氨基酸除亮氨酸及赖氨酸外均可转变为糖, 而糖代谢中间代谢物仅能在体内转变成 12 种非必需氨基酸, 其余 8 种必需氨基酸必须从食物摄取。这就是为什么食物中的蛋白质不能为糖、脂替代, 而蛋白质却能替代糖和脂肪供能的重要原因。

(三) 脂类代谢与氨基酸代谢的相互联系

氨基酸无论生糖、生酮(亮氨酸、赖氨酸)或生酮兼生糖氨基酸(异亮、苯丙、色、酪、苏氨酸)分解后均生成乙酰辅酶 A, 后者经还原缩合反应可合成脂酸进而合成脂肪, 即蛋白质可转变为脂肪。乙酰辅酶 A 也可合成胆固醇以满足机体的需要。此外, 氨基酸也可作为合成磷脂的原料, 如丝氨酸脱羧可变为胆胺, 胆胺经甲基化可变为胆碱。丝氨酸、胆胺及胆碱分别是合成丝氨酸磷脂、脑磷脂及卵磷脂的原料。但脂类不能转变为氨基酸, 仅脂肪的甘油可通过生成磷酸甘油醛, 循糖酵解途径逆行反应生成糖, 转变为某些非必需氨基酸。

(四) 核酸与氨基酸代谢的相互关系

除上述外, 氨基酸还是体内合成核酸(RNA、DNA)的重要原料, 如嘌呤的合成需甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺及一碳单位; 嘧啶的合成需天冬氨酸、谷氨酰胺及一碳单位为原料。合成核苷酸所需的磷酸核糖由磷酸戊糖途径提供。

糖、脂、氨基酸代谢途径间的相互关系见图 10-1。

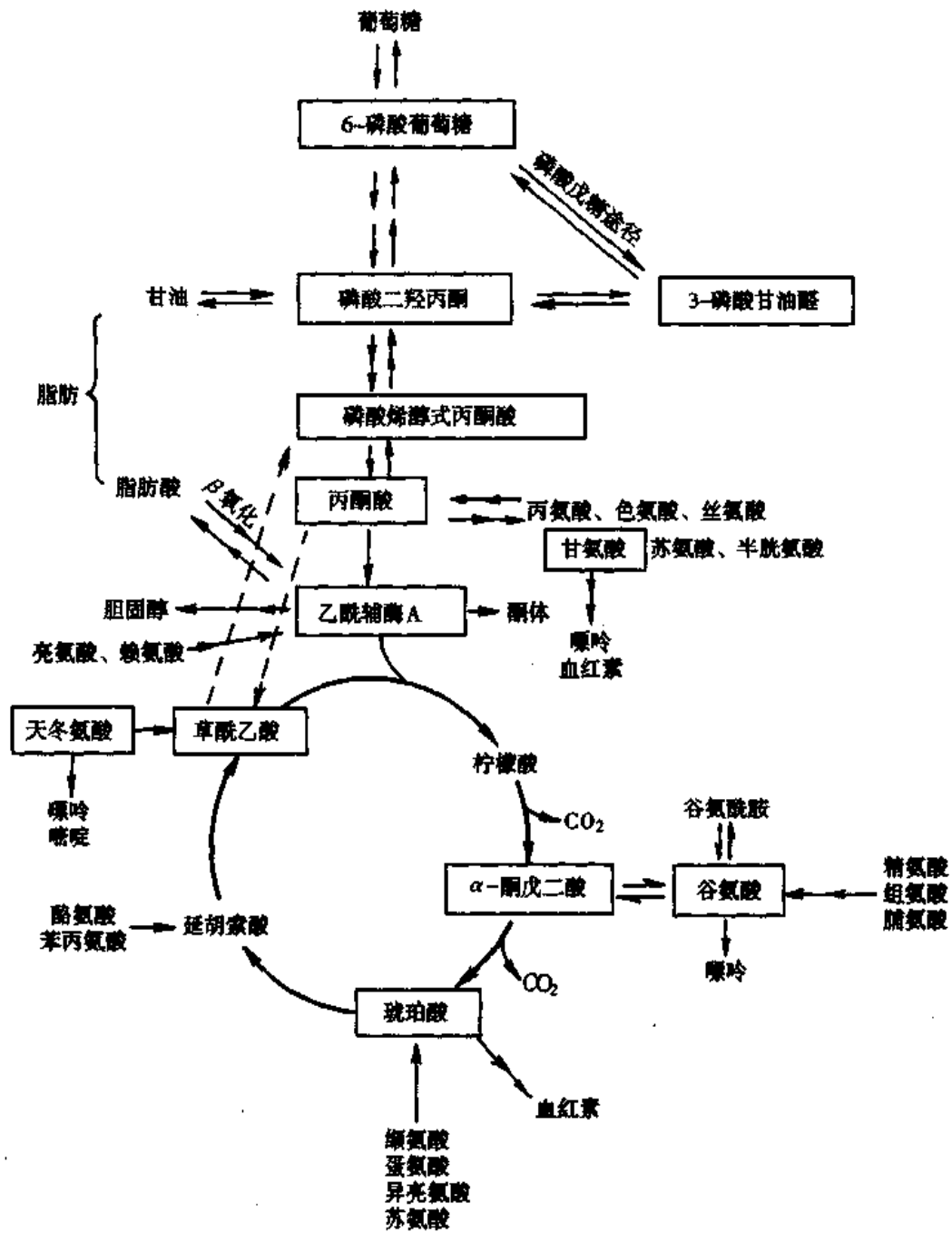


图 10-1 糖、脂、氨基酸代谢途径间的相互联系
□中为枢纽性中间代谢物

第三节 组织、器官的代谢特点及联系

机体各组织、器官的代谢由于细胞分化和结构不同及功能差异，而各具特色，但它们并非孤立地进行，而是通过血液循环及神经系统联成统一整体。

各组织、器官的代谢方式有共同之处，但由于它们的结构，酶体系的组成及含量不同，功能各异，因而各具特色。

1. 肝 肝是机体物质代谢的枢纽，是人体的中心生化工厂。它的耗 O₂ 量占全身耗 O₂ 量的 20%，在糖、脂、蛋白质、水、盐及维生素代谢中均具有独特而重要的作用(见肝生化一章)。以糖代谢为例，肝合成及储存糖原的量最多，可达肝重的 10%，约 150g，而肌肉储存糖原量仅占 1%，脑及成熟红细胞则无糖原储存；肝还具有糖异生途径，可使氨基酸、乳酸、甘油等非糖物质转变为糖，以保证机体对糖的需要，而肌肉因无相应酶体系则缺乏此能力。此外肝具有葡萄糖-6-磷酸酶，可使储存的糖原分解为葡萄糖释放入血维持血糖含量恒定，而肌肉则缺乏此酶，因而肌糖原不能降解成葡萄糖。

2. 心脏 依次以酮体、乳酸、自由脂酸及葡萄糖为耗用的能源物质，并以有氧氧化途径为主。因此即使在能源供给十分缺乏的情况下，仍能保证心脏不停搏动时 ATP 的需要。

3. 脑 是机体耗能大的主要器官，耗 O₂ 量占全身耗 O₂ 的 20%~25%，几乎以葡萄糖为唯一供能物质，每天耗用葡萄糖约 100g。由于脑组织无糖原储存，其耗用的葡萄糖主要由血糖供应。长期饥饿血糖供应不足时，则主要利用由肝生成的酮体作为能源。饥饿 3~4 天每天耗用约 50g 酮体，饥饿 2 周后耗用酮体可达 100g。

4. 肌肉组织 通常以氧化脂酸为主，在剧烈运动时则以糖的无氧酵解产生乳酸为主。由于肌肉缺乏葡萄糖-6-磷酸酶，因此肌糖原不能直接分解成葡萄糖提供血糖。

5. 红细胞 能量主要来自葡萄糖的酵解途径。由于红细胞没有线粒体，因此不能进行糖的有氧氧化，也不能利用脂酸及其他非糖物质，每天消耗 30g 葡萄糖。

6. 脂肪组织 是合成及储存脂肪的重要组织。肝虽可大量合成脂肪，但不能储存脂肪，肝细胞内合成的脂肪随即合成 VLDL 释放入血。脂肪细胞还含有动员脂肪的激素敏感性甘油三酯脂肪酶，能使储存的脂肪分解成脂酸和甘油释入血循环以供机体其他组织能源的需要。

7. 肾 也可进行糖异生和生成酮体，它是除肝外唯一可进行此两种代谢的器官。在正常情况下，肾生成葡萄糖量仅占肝糖异生的 10%，而饥饿 5~6 周后每天由肾生成葡萄糖约 40g，几乎与肝糖异生的量相等。肾髓质因无线粒体，主要由糖酵解供能，而肾皮质则主要由脂酸及酮体的有氧氧化供能。

不同组织器官的代谢、代谢中间物及代谢终产物，通过血液循环及神经系统及激素的调节联系成统一整体。其氧化供能特点见表 10-1。

表 10-1 重要器官及组织氧化供能的特点

器官组织	特有的酶	功能	主要代谢途径	主要代谢物	主要代谢产物
肝	葡萄糖激酶，葡萄糖-6-磷酸酶，甘油激酶，磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶	代谢枢纽	糖异生，脂酸 β-氧化，糖有氧氧化	葡萄糖，脂酸，乳酸，甘油，氨基酸等	葡萄糖，VLDL，HDL，酮体
脑		神经中枢	糖有氧氧化，糖酵解，氨基酸代谢	葡萄糖，氨基酸，酮体，脂酸	乳酸，CO ₂ ，H ₂ O

续表

器官组织	特有的酶	功能	主要代谢途径	主要代谢物	主要代谢产物
心	脂蛋白脂酶, 呼吸链丰富	泵出血液	有氧氧化	乳酸, 葡萄糖, VLDL	CO ₂ , H ₂ O
脂肪组织	脂蛋白脂酶, 激素敏感脂肪酶	储存及动员脂肪	酯化脂酸, 脂解	VLDL, CM	游离脂酸, 甘油
肌肉	脂蛋白脂酶, 呼吸链丰富	收缩	糖酵解, 有氧氧化	脂酸, 葡萄糖, 酮体	乳酸, CO ₂ , H ₂ O
肾	甘油激酶, 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶	排泄尿液, 糖异生	糖异生, 糖酵解, 酮体生成	脂酸, 葡萄糖, 乳酸, 甘油	葡萄糖
红细胞	无线粒体	运输氧	糖酵解	葡萄糖	乳酸

第四节 代谢调节

机体物质代谢是由许多连续和相关的代谢途径所组成, 而代谢途径(如糖的氧化, 脂酸合成等)又是由一系列酶促化学反应组成。正常情况下, 机体各种物质代谢及代谢途径是井然有序、相互联系、相互协调地进行, 以适应内外环境的不断变化, 保持机体内环境的相对恒定及动态平衡。这是因为机体的物质代谢是在精细的调节下进行的。

代谢调节普遍存在于生物界, 是生物的重要特征, 也是生物进化过程中逐步形成的一种适应能力, 进化程度愈高的生物其代谢调节方式愈复杂。单细胞微生物主要通过细胞内代谢物浓度的变化, 对酶的活性及含量进行调节。这种调节称为原始调节或细胞水平代谢调节。从单细胞生物进化至高等生物, 细胞水平的调节发展得更为精细复杂, 同时出现了专司调节功能的内分泌细胞及内分泌器官, 这些器官及细胞分泌的激素可对其他细胞发挥代谢调节作用, 这种调节称为激素水平的代谢调节。高等动物不仅有完整的内分泌系统, 而且还有功能十分复杂的神经系统。在中枢神经系统的控制下, 或通过神经纤维及神经递质对靶细胞直接发生影响, 或通过某些激素的分泌来调节某些细胞的代谢及功能, 并通过各种激素的互相协调而对机体代谢进行综合调节, 这种调节称为整体水平的代谢调节。细胞水平代谢调节、激素水平代谢调节及整体水平代谢的调节统称为三级水平代谢调节, 在代谢调节的三级水平中, 细胞水平代谢调节是基础, 激素及神经对代谢的调节都是通过细胞水平的代谢调节实现的, 因此本章将重点介绍。

一、细胞水平的代谢调节

(一) 细胞内酶的隔离分布

细胞是组成组织及器官的最基本功能单位。代谢途径有关酶类常常组成酶体系, 分布于细胞的某一区域或亚细胞结构中。例如: 糖酵解酶系、糖原合成及分解酶系、脂酸合成酶系均存在于胞液中, 三羧酸循环酶系、脂酸 β 氧化酶系则分布于线粒体, 而核酸

合成酶系绝大部分集中于细胞核内(表 10-2)。

表 10-2 主要代谢途径(多酶体系)在细胞内的分布

多酶体系	分布	多酶体系	分布
DNA 及 RNA 合成	细胞核	糖酵解	胞液
蛋白质合成	内质网, 胞液	戊糖磷酸途径	胞液
糖原合成	胞液	糖异生	胞液
脂酸合成	胞液	脂酸 β 氧化	线粒体
胆固醇合成	内质网, 胞液	多种水解酶	溶酶体
磷脂合成	内质网	三羧酸循环	线粒体
血红素合成	胞液, 线粒体	氧化磷酸化	线粒体
尿素合成	胞液, 线粒体	呼吸链	线粒体

酶在细胞内的隔离分布使有关代谢途径分别在细胞不同区域内进行, 这样不致使各种代谢途径互相干扰。例如脂酸的合成是以乙酰辅酶 A 为原料在胞浆内进行, 而脂酸 β 氧化生成乙酰辅酶 A 则是在线粒体内进行, 这样, 二者不致互相干扰产生乙酰辅酶 A 的无意义循环。

代谢途径实质上是一系列酶催化的化学反应, 其速度和方向不是由这条途径中每一个酶而是其中一个或几个具有调节作用的关键酶的活性所决定的。这些调节代谢的酶称为调节酶 (regulatory enzymes) 或关键酶 (key enzymes)。调节酶或关键酶所催化的反应具有下述特点: ①它催化的反应速度最慢, 因此又称为限速酶 (limiting velocity enzymes), 它的活性决定整个代谢途径的总速度; ②这类酶催化单向反应, 或非平衡反应, 因此它的活性决定整个代谢途径的方向; ③这类酶活性除受底物控制外, 还受多种代谢物或效应剂的调节。因此, 调节某些关键酶或调节酶的活性是细胞代谢调节的一种重要方式。表 10-3 列出一些重要代谢途径的关键酶。

表 10-3 某些重要代谢途径的关键酶

代谢途径	关键酶
糖原降解	磷酸化酶
糖原合成	糖原合成酶
糖酵解	己糖激酶 磷酸果糖激酶 丙酮酸激酶
糖有氧氧化	丙酮酸脱氢酶系 柠檬酸合酶 异柠檬酸脱氢酶
糖异生	丙酮酸羧化酶 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶 果糖 1, 6 二磷酸酶
脂酸合成	乙酰辅酶 A 羧化酶
胆固醇合成	HMG 辅酶 A 还原酶

代谢调节主要是通过对关键酶活性的调节而实现的。按调节的快慢可分为快速调节及迟缓调节两类。前者在数秒及数分钟内即可发生调节,是通过改变酶的分子结构,从而改变其活性来调节酶促反应的速度。快速调节又分为变构调节及化学修饰调节两种。迟缓调节则是通过对酶蛋白分子的合成或降解以改变细胞内酶的含量的调节,一般需数小时或几天才能实现。

(二) 关键酶的变构调节

1. 变构调节的概念 小分子化合物与酶蛋白分子活性中心以外的某一部位特异结合,引起酶蛋白分子构象变化,从而改变酶的活性,这种调节称为酶的变构调节或别位调节(allosteric regulation)。被调节的酶称为变构酶或别位酶(allosteric enzyme),使酶发生变构效应的物质,称为变构效应剂(allosteric effector),能引起酶活性增加的为变构激活剂,引起酶活性降低的则为变构抑制剂。变构调节在生物界普遍存在。代谢途径中的关键酶大多是变构酶。现将某些代谢途径中的变构酶及其变构效应剂列表 10-4。

2. 变构调节的机制 变构酶常是由两个以上亚基组成的具有一定构象的四级结构的聚合物。在变构酶分子中有的亚基能与底物结合,起催化作用,称为催化亚基;有的亚基能与变构效应剂结合而起调节作用,称为调节亚基。变构效应剂是通过非共价键与调节亚基结合,引起酶的构象改变(如变为疏松或紧密),从而影响酶与底物的结合,使酶的活性受到抑制或激活。有的变构效应剂与底物均结合在同一亚基上,只是结合的部位不同。

表 10-4 一些代谢途径中的变构酶及其效应剂

代谢途径	变构酶	变构激活剂	变构抑制剂
糖酵解	己糖激酶	AMP, ADP, FDP, Pi	G-6-P
	磷酸果糖激酶	FDP	柠檬酸
	丙酮酸激酶		ATP, 乙酰 CoA
三羧酸循环	柠檬酸合酶	AMP	ATP, 长链脂酰CoA
	异柠檬酸脱氢酶	AMP, ADP	ATP
糖异生	丙酮酸羧化酶	乙酰 CoA, ATP	AMP
糖原分解	磷酸化酶 b	AMP, G-1-P, Pi	ATP, G-6-P
脂酸合成	乙酰辅酶 A 羧化酶	柠檬酸, 异柠檬酸	长链脂酰 CoA
氨基酸代谢	谷氨酸脱氢酶	ADP, 亮氨酸, 蛋氨酸	GTP, ATP, NADH
嘌呤合成	谷氨酰胺 PRPP 酰胺转移酶		AMP, GMP
嘧啶合成	天冬氨酸转甲酰酶		CTP, UTP
核酸合成	脱氧胸苷激酶	dCTP, dARP	dTTP

变构效应剂可以是酶的底物,也可以是酶体系的终产物或其他小分子代谢物。它们在细胞内浓度的改变能灵敏地反映代谢途径的强度和能量供求情况,并使关键酶构象改

变影响酶活性，从而调节代谢的强度、方向以及细胞能量的供需平衡。

变构效应剂引起酶分子构象的改变，有的表现为亚基的聚合，如 FDP 对磷酸果糖激酶的变构激活，或解聚，如 ATP 对磷酸果糖激酶的变构抑制；有的由原聚体聚合为多聚体而引起活性的改变，如乙酰辅酶 A 羧化酶是由 4 种不同亚基构成的原聚体，无活性，当它与变构激活剂柠檬酸或异柠檬酸结合后，由 10~20 个原聚体聚合成多聚体，呈纤维状，此时其活性增加 10~20 倍。ATP-Mg²⁺ 可使多聚体解聚为原聚体而使酶失活。

3. 变构调节的生理意义 变构调节是细胞水平代谢调节中一种较常见的快速调节。代谢途径终产物常可使催化该途径起始反应的酶受到抑制，即反馈抑制 (feedback inhibition)。这类抑制多为变构抑制，例如长链脂酰辅酶 A 可反馈抑制乙酰辅酶 A 羧化酶，从而抑制脂酸的合成。这样可使代谢物的生成不致过多。变构调节还可使能量得以有效利用，不致浪费。例如 G-6-P 抑制糖原磷酸化酶以阻断糖酵解及糖的氧化使 ATP 不致产生过多，同时 G-6-P 又激活糖原合成酶，使多余的磷酸葡萄糖合成糖原，能量得以有效储存。又如 ATP 可变构抑制磷酸果糖激酶、丙酮酸激酶及柠檬酸合酶阻断糖酵解、有氧氧化及三羧酸循环，使 ATP 的生成不致过多，造成浪费。在这类代谢调节中，负反馈作用更多见。这是因为过量生成多余产物，不仅是浪费，而且对机体有害。变构调节还可使不同代谢途径相互协调，例如柠檬酸既可变构抑制磷酸果糖激酶，又可变构激活乙酰辅酶 A 羧化酶，使多余的乙酰辅酶 A 合成脂酸。

(三) 酶的化学修饰调节

1. 化学修饰的概念 酶蛋白肽链上某些残基在酶的催化下发生可逆的共价修饰 (covalent modification)，从而引起酶活性改变，这种调节称为酶的化学修饰 (chemical modification)。酶的化学修饰主要有磷酸化与脱磷酸，乙酰化与脱乙酰，甲基化与去甲基，腺苷化与脱腺苷及 SH 与—S—S—互变等，其中磷酸化与脱磷酸化在代谢调节中最为多见 (表 10-5)。

表 10-5 酶促化学修饰对酶活性的调节

酶	化学修饰类型	酶活性改变
糖原磷酸化酶	磷酸化/脱磷酸	激活/抑制
磷酸化酶 b 激酶	磷酸化/脱磷酸	激活/抑制
糖原合成酶	磷酸化/脱磷酸	抑制/激活
丙酮酸脱羧酶	磷酸化/脱磷酸	抑制/激活
磷酸果糖激酶	磷酸化/脱磷酸	抑制/激活
丙酮酸脱氢酶	磷酸化/脱磷酸	抑制/激活
HMG-CoA 还原酶	磷酸化/脱磷酸	抑制/激活
HMG-CoA 还原酶激酶	磷酸化/脱磷酸	激活/抑制
乙酰 CoA 羧化酶	磷酸化/脱磷酸	抑制/激活
脂肪细胞甘油三酯脂肪酶	磷酸化/脱磷酸	激活/抑制
黄嘌呤氧化脱氢酶	SH/—S—S—	脱氢酶/氧化酶

酶促化学修饰是体内快速调节的另一种重要方式，磷酸化是常见的修饰方式。酶蛋白分子中丝氨酸、苏氨酸及酪氨酸的羟基是磷酸化修饰的位点。酶蛋白的磷酸化是在蛋白激酶(protein kinase)的催化下，由 ATP 提供磷酸基及能量完成的，而脱磷酸则是由磷蛋白磷酸酶(protein phosphatase)催化的水解反应。完成酶的磷酸化与脱磷酸反应是不可逆的，分别由蛋白激酶及磷蛋白磷酸酶催化完成(图 10-2)。

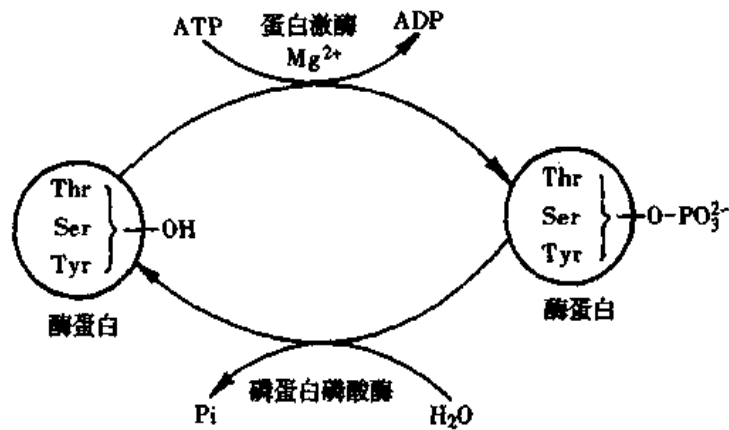


图 10-2 酶的磷酸化与脱磷酸

2. 酶促化学修饰的特点

(1) 绝大多数属于这类调节方式的酶都具无活性(或低活性)和有活性(或高活性)两种形式。它们之间在两种不同酶的催化下发生共价修饰，可以互相转变。催化互变反应的酶在体内受调节因素如激素的控制。

(2) 和变构调节不同，化学修饰是由酶催化引起的共价键的变化，且因其是酶促反应，故有放大效应。催化效率常较变构调节高。

(3) 磷酸化与脱磷酸是最常见的酶促化学修饰反应。酶的 1 分子亚基发生磷酸化常需消耗 1 分子 ATP，这与合成酶蛋白所消耗的 ATP 相比显然要少得多，且作用迅速，又有放大效应，因此，是体内调节酶活性经济而有效的方式。

应当指出，变构调节与化学修饰调节只是调节酶活性的两种不同方式，而对某一具体酶而言，它可同时受这两种方式的调节。例如磷酸化酶 b 既可受 AMP 及 Pi 的变构激活和 ATP 与 G-6-P 的变构抑制，又可通过磷酸化酶 b 激酶的磷酸化共价修饰而被激活，或受磷蛋白磷酸酶的脱磷酸作用而失活。类似的例子还很多。变构调节是细胞的一种基

较长，消耗 ATP 量较多，通常要数小时甚至数日，因此酶量调节属迟缓调节。

1. 酶蛋白合成的诱导与阻遏

酶的底物、产物、激素或药物均可影响酶的合成。一般将加速酶合成的化合物称为酶的诱导剂(inducer)，减少酶合成的化合物称为酶的阻遏剂(repressor)。诱导剂或阻遏剂是在酶蛋白生物合成的转录或翻译过程中发挥作用，但影响转录较常见。

(1) 底物对酶合成的诱导：普遍存在于生物界。高等动物体内，因有激素的调节，底物诱导作用不如微生物体内重要。例如尿素循环的酶可受食入蛋白质增多而诱导其合成增加。鼠饲料中蛋白质含量从 8% 增加至 70%，鼠肝精氨酸酶活性可增加 2~3 倍。

(2) 产物对酶合成的阻遏：代谢反应的产物不仅可变构抑制或反馈抑制关键酶或催化起始反应酶的活性，而且还可阻遏这些酶的合成。例如 HMG-CoA 还原酶是胆固醇合成的关键酶，肝中该酶的合成可被胆固醇阻遏。但肠粘膜中胆固醇的合成不受胆固醇的影响，因此摄取高胆固醇食物后，血胆固醇仍有升高的危险。

(3) 激素对酶合成的诱导：例如糖皮质激素能诱导一些氨基酸分解酶和糖异生关键酶的合成，而胰岛素则能诱导糖酵解和脂酸合成途径中关键酶的合成。

(4) 药物对酶合成的诱导：很多药物和毒物可促进肝细胞微粒体中单加氧酶(或混合功能氧化酶)或其他一些药物代谢酶的诱导合成，从而使药物失活，具有解毒作用。然而，这也是引起耐药现象的原因。

2. 酶蛋白降解 改变酶蛋白分子的降解速度也能调节细胞内酶的含量。细胞蛋白水解酶主要存在于溶酶体中，故凡能改变蛋白水解酶活性或影响蛋白酶从溶酶体释出速度的因素，都可间接影响酶蛋白的降解速度。通过酶蛋白的降解，调节酶的含量远不如酶的诱导和阻遏重要。除溶酶体外，细胞内还存在蛋白酶体(proteasome)，由多种蛋白水解酶组成，分子量 1 000kD，当待降解的蛋白质与泛素(ubiquitin)结合后，即可将该蛋白降解。泛素系由 76 个氨基酸组成的蛋白质，分子量 8.5kD。当泛素与待降解的蛋白结合时，即泛素化后即可使蛋白迅速降解。参与泛素化作用的尚需不同的识别蛋白，识别蛋白有多种，各自识别不同类的降解蛋白质。目前已知与细胞增殖有关的一类蛋白

胰岛素、生长激素、促性腺激素、促甲状腺激素、甲状旁腺素等蛋白质类激素，生长因子等肽类及肾上腺素等儿茶酚胺类激素。这些激素都是亲水的，难以越过脂双层构成的细胞表面质膜。这类激素作为第一信使分子与相应的靶细胞膜受体结合后，通过跨膜传递将所携带的信息传递到细胞内。然后通过第二信使将信号逐级放大，产生显著代谢效应。各种跨膜信号传递见“细胞信息传递”一章。

2. 胞内受体激素 包括类固醇激素，前列腺素、甲状腺素， $1,25(\text{OH})_2$ 维生素 D_3 及视黄酸等疏水性激素。这些激素可透过脂双层细胞质膜进入细胞，与相应的胞内受体结合。它们的受体主要位于细胞核中。激素在胞质中与受体结合后，再进入核中，与核中

2. 长期饥饿 长期饥饿时代谢的改变与短期饥饿不同:

(1) 脂肪动员进一步加强, 肝生成大量酮体, 脑组织利用酮体增加, 超过葡萄糖, 占总耗氧量的 60%。

(2) 肌肉以脂酸为主要能源, 以保证酮体优先供应脑组织。

(3) 肌肉蛋白质分解减少, 肌肉释出氨基酸减少, 乳酸和丙酮酸成为肝糖异生的主要来源。

(4) 肾糖异生作用明显增强, 生成约 40g 葡萄糖/天, 占饥饿晚期糖异生总量一半, 几乎和肝相等。

(5) 因肌肉蛋白分解减少, 负氮平衡有所改善。

(二) 应激

应激(stress)是人体受到一些异乎寻常的刺激, 如创伤、剧痛、冻伤、缺氧、中毒、感染以及剧烈情绪激动等所作出的一系列反应的“紧张状态”。应激状态时, 交感神经兴奋, 肾上腺髓质及皮质激素分泌增多, 血浆胰高血糖素及生长激素水平增加, 而胰岛素分泌减少, 引起一系列代谢改变。

1. 血糖升高 交感神经兴奋引起的肾上腺素, 及胰高血糖素分泌增加均可激活磷酸化酶促进肝糖原分解, 同时肾上腺皮质激素及胰高血糖素又可使糖异生加强, 不断补充血糖, 加上肾上腺皮质激素及生长素使周围组织对糖的利用降低, 均可使血糖升高。这对保证大脑、红细胞的供能有重要意义。

2. 脂肪动员增强 血浆游离脂酸升高, 成为心肌, 骨骼肌及肾等组织主要能量来源。

3. 蛋白质分解加强 肌肉释出丙氨酸等氨基酸增加, 同时尿素生成及尿氮排出增加, 呈负氮平衡。

总上述可见, 应激时糖、脂、蛋白质代谢特点是分解代谢增强, 合成代谢受到抑制, 血液中分解代谢中间产物如葡萄糖、氨基酸、游离脂酸、甘油、乳酸、酮体、尿素等含量增加。应激时, 机体代谢改变见表 10-6。

表 10-6 应激时机体的代谢改变

内分泌腺或组织	代谢改变	血中含量
垂体前叶	ACTH 分泌增加 生长素分泌增加	ACTH ↑ 生长素 ↑
胰腺 α- 细胞 β- 细胞	胰高血糖素分泌增加 胰岛素分泌抑制	胰高血糖素 ↑ 胰岛素 ↓
肾上腺髓质 皮质	正肾上腺素及肾上腺素分泌增加 皮质醇分泌增加	肾上腺素 ↑ 皮质醇 ↑
肝	糖原分解增加 糖原合成减少 糖异生增强 脂酸 β 氧化增加 酮体生成增加	葡萄糖 ↑ 酮体 ↑

续表

内分泌腺或组织	代谢改变	血中含量
肌肉	糖原分解增加	乳酸↑
	葡萄糖的摄取利用减少	葡萄糖↑
	蛋白质分解增加	氨基酸↑
	脂酸 β -氧化增强	
脂肪组织	脂肪分解增强	游离脂酸↑
	葡萄糖摄取及利用减少	甘油↑
	脂肪合成减少	

小 结

体内各种物质代谢是相互联系、相互制约的。体内物质代谢的特点：①整体性；②在精细调节下进行；③动态平衡；④具共同的代谢池；⑤ATP是共同能量形式；⑥NADPH是代谢所需的还原当量。各代谢途径之间可通过共同枢纽性中间产物互相联系和转变。糖、脂肪、蛋白质等营养素在供应能量上可互相代替，互相制约，但不能完全互相转变，因为有些代谢反应是不可逆的。各组织、器官有独特的代谢方式。肝是物质代谢的中心。从肠道吸收进入人体的营养素，几乎都是经肝的处理和中转；各器官所需的营养素大多也通过肝的加工或转变，有的代谢终产物还需通过肝解毒和排出。

代谢调节可分为三级水平，即细胞水平调节、激素水平调节和以中枢神经系统为主导的整体调节。细胞水平调节主要通过改变关键酶的活性来实现。酶活性的调节既可通过改变现有酶分子的结构，又可通过改变酶的含量完成。前者较快，后者缓慢而持久。酶结构调节包括酶的变构调节与酶蛋白的化学修饰调节。变构调节系变构剂与酶的调节亚基结合引起酶分子构象改变，导致其催化活性改变，不涉及共价键与组成的变化。而酶的化学修饰调节是酶催化的化学反应，涉及酶蛋白的化学结构共价键与组成的变化；有磷酸化、甲基化、乙酰化等方式，以磷酸化为主；化学修饰调节具有放大效应；以调节代谢强度为主。变构调节与化学修饰调节二者相辅相成，其调节作用不可截然划分。

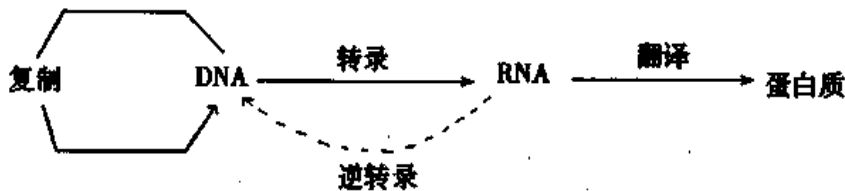
激素的代谢调节通过与靶细胞受体特异结合，将激素信号转化为细胞内一系列化学反应，最终表现出激素的生物学效应。根据受体在细胞内的部位不同，激素可分为膜受体激素及胞内受体激素。前者为蛋白质，多肽及儿茶酚胺类激素，具亲水性，通过与膜受体结合可将信号跨膜传递入细胞内；后者为疏水性激素，可通过细胞膜进入细胞内与胞内受体(大多在核内)结合，形成二聚体，作为转录因子与DNA上特定核苷酸序列即激素反应元件(HRE)结合，以调控该元件所辖特定基因的表达。

神经系统可通过内分泌腺间接调节代谢，也可直接对组织、器官施加影响，进行整体调节，从而使机体代谢处于相对稳定状态。饥饿及应激时物质代谢的改变是整体代谢调节的结果。

(刘秉文)

第三篇 基因信息的传递

从生物化学意义上说,基因(gene)是为生物活性产物编码的 DNA 功能片段,这些产物主要是蛋白质或是各种 RNA。蛋白质是生命活动的执行者。通过基因转录和翻译,由 DNA 决定蛋白质的一级结构,从而决定蛋白质的功能。DNA 还通过复制,将基因信息代代相传。1958 年,DNA 双螺旋的发现人之一 F.Crick 把上述遗传信息的传递方式归纳为中心法则(the central dogma):



虚线部分是 1970 年 H.Temin 发现逆转录现象后,对中心法则的补充。最初提出的中心法则认为,DNA 兼备贮存遗传信息和表达的功能,应处于生命活动中心位置。逆转录现象的发现表明,少数 RNA 也是遗传信息的携带者。最近又发现 RNA 有催化功能。因此有学者提出:RNA 才是处于生命活动中心位置的物质。对传统中心法则的挑战,并不影响中心法则在分子水平上对遗传、代谢类型、生长发育、进化、生命起源、免疫等生命科学关键问题研究的指导地位。

本篇以中心法则为基本线索,依次分章讨论复制(replication)、转录(transcription)和翻译(translation)。每章都先介绍基本概念和所需的酶及各种因素的作用。复制、转录、翻译都可分为起始、延长和终止三个阶段论述。然后各章均讨论一些相关的生化、医学问题。原核生物和真核生物在基因信息传递中各有特点,但现有的知识大多数来自对原核生物的研究。

本篇还介绍基因表达调控和基因工程。基因表达指通过转录和翻译,将 DNA 分子上 A, G, C, T 四个符号所包含的信息,转变为蛋白质分子上 20 种氨基酸的信息。生物越高等,基因信息量也越大。人类基因组(genome)已知由 3×10^9 bp (base pairs 碱基对)的 DNA 组成,约含 10 万个基因。细胞内有一套复杂、精细的调控机制控制着基因表达的时空特性。这是生命科学上重要的研究课题。目前,基因表达调控在原核生物转录水平上了解得相当透彻,真核生物基因表达调控研究尚处于资料积累的阶段。基因工程是 20 世纪 70 年代出现的新兴技术。可以预料,基因工程、基因诊断和基因治疗等将在 21 世纪的医学中带来革命性变化。这三方面都涉及到基因及其表达的规律。有关基因诊断、基因治疗的知识将在专题篇中介绍。

第十一章 DNA 的生物合成（复制）

遗传信息从亲代 DNA 传递到子代 DNA 分子上，称为复制，这是生物体内高分子的聚合过程，即 DNA 的生物合成。和物质代谢的其他合成过程一样，复制需要底物，也需要酶的催化，此外还需其他的蛋白质因子共同参与。复制过程可分起始、延长、终止三个阶段来论述。本章还将讨论与复制相关的 DNA 损伤和修复现象，以及一种特殊的 DNA 合成形式——逆转录。

第一节 半保留复制

DNA 复制最重要的特征是半保留复制(semiconservative replication)。复制时，母链的双链 DNA 解开成两股单链，各自作为模板(template)指导子代合成新的互补链。子代细胞的 DNA 双链，其中一股单链从亲代完整地接受过来，另一股单链则完全重新合成。由于碱基互补，两个子细胞的 DNA 双链，都和亲代母链 DNA 碱基序列一致。这种复制方式称为半保留复制。

一、半保留复制的实验依据

半保留复制的设想，在 DNA 双螺旋模型确立后提出。1958 年，M. Messelson 和 F. W. Stahl 用实验加以证实。细菌可利用 NH_4Cl 作氮源合成 DNA。把细菌放在含 $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$ 的培养液中培养若干代，分离出的 DNA 是含 ^{15}N 的“重”DNA，密度比一般含 ^{14}N 的 DNA 高。用密度梯度离心法， ^{15}N -DNA 形成的致密带位于普通 ^{14}N -DNA 所形成的致密带的下方。

把含 ^{15}N -DNA 的细菌放回含普通的 NH_4Cl 培养液中培养。细菌在营养条件充足时，20 分钟就可以生长成新一代。提取子一代的 DNA 再作密度梯度离心分析，发现其致密带介于重带与普通带之间，看不到有单独的重带或普通 DNA 带（图 11-1）。

实验结果说明：子一代 DNA 双链中有一股是 ^{15}N 单链，而另一股是 ^{14}N 单链，前者是从亲代接受和保留下来的，后者则是完全新合成的。亲代双链复制出子代双链的 DNA，有三种可能情况，即全保留式、半保留式和混合式的复制（图 11-2）。密度梯度离心实验，完全支持半保留复制的设想。其他两种的复制形式，都可被实验的结果否定。

含 ^{15}N DNA 的细菌在普通培养基中继续培养出子一代，其 DNA 则只有中等密度的

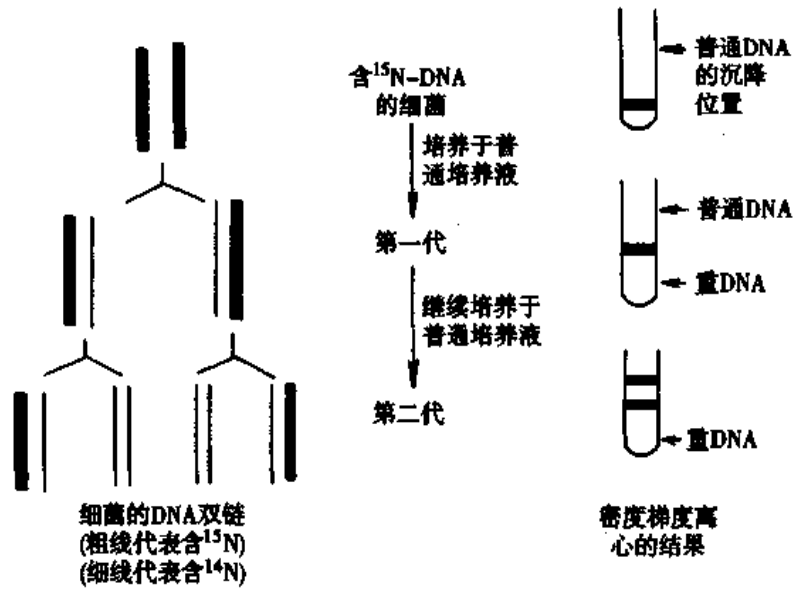


图 11-1 DNA 半保留复制的证据

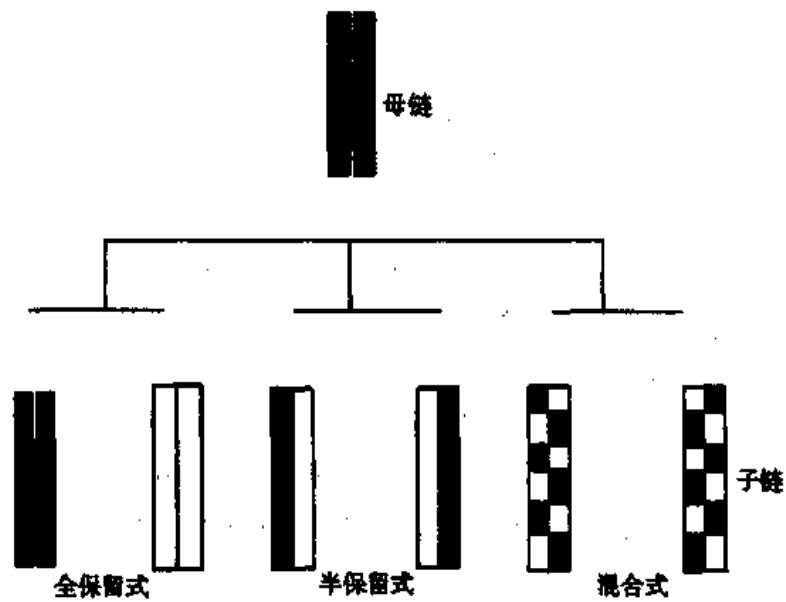


图 11-2 子链继承母链的遗传信息
有三种可能的方式

可按子 3 代、子 4 代……进行下去，¹⁵N-DNA 则按 1/8、1/16……的几何级数逐渐被“稀释”掉。

二、半保留复制的意义

由于 DNA 分子中两股单链有碱基互补的关系，所以一股链可以确定其对应链的碱基序列。按半保留复制的方式，子代保留了亲代 DNA 的全部遗传信息，体现在代与代之间 DNA 碱基序列的一致性上（图 11-3）。

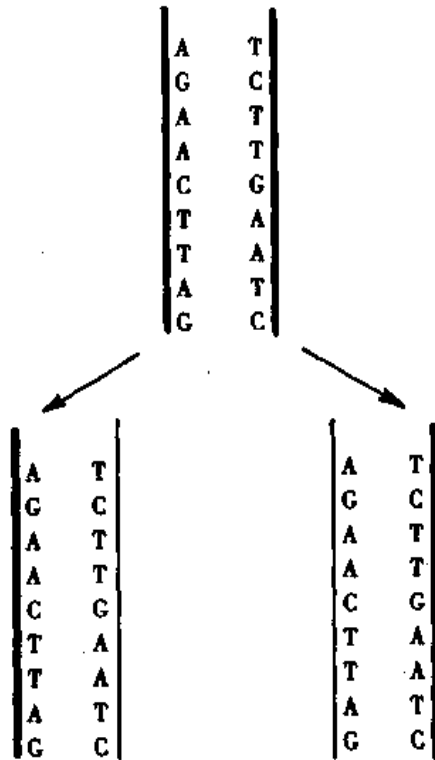


图 11-3 通过半保留复制，子代和亲代的 DNA 是一致的
粗线表示亲代 DNA，细线表示新合成的子链

DNA 分子中的遗传信息通过转录和翻译，即基因表达 (gene expression)，决定细胞的蛋白质结构和功能，包括酶、代谢类型、免疫特性等等。也就是说 DNA 通过复制和基因表达这两种主要功能，决定了生物的特性和类型。例如，某种生物的后代只能是它的同种生物而不可能是其他，这就体现了遗传过程的相对保守性。

遗传的保守性是相对的，而不是绝对的。自然界还存在着普遍的变异现象。遗传信息的相对稳定，是物种稳定性的分子基础，但并不意味着同一物种个体与个体之间没有区别。例如病毒是简单的生物，流感病毒就有很多不同遗传变异的毒株，不同毒株的感染方式、毒性差别可能很大。因此给流感的预防带来相当大的困难。地球上曾有过的历史和现有的几十亿人，除了单卵双胞胎之外，两个人之间不可能有完全一样的 DNA 分子组成 (基因型)。因此在强调遗传的恒定性同时，不能忽视其变异性。

第二节 DNA 复制的酶学

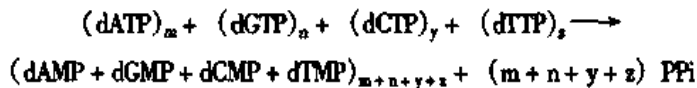
复制是在酶催化下的核苷酸聚合过程，需要多种高分子物质的共同参与：

底物，即 dATP，dGTP，dCTP 和 dTTP；总称 dNTP；聚合酶 (polymerase)，依赖 DNA 的 DNA 聚合酶，简称为 DNA-pol；模板 (template)，指解开成单链的 DNA 母链；引物 (primer)，提供 3'-OH 末端，使 dNTP 可以依次聚合；其他酶和蛋白质因子。

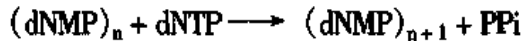
一、复制的化学反应

核苷酸和核苷酸之间，是通过磷酸二酯键的生成而逐一聚合的。反应的底物是 dNTP 而不是 dNMP。dNMP 是脱氧一磷酸核苷 (deoxynucleotide monophosphate)，dNTP 是脱氧三磷酸核苷 (deoxynucleotide triphosphate)，N 可以代表 A, G, C, T 4 种碱基任何一种。核苷酸的聚合反应见图 11-4。

dNTP 上最靠近核糖的一个磷酸称为 α -P，向左依次为 β -P 和 γ -P。 α -P 与相邻的核苷酸上核糖的 3'-OH 生成磷酸二酯键，dNTP 的 β , γ -P 以焦磷酸 (PPi) 形式被释放。这只是连续反应中的一次，从总体来看复制的延长过程，反应式为：



或其中的每一步简写为：



上述这些反应式都未考虑参与聚合的众多因素。生物体内，反应过程是按图 11-4 的方式进行的。它反映了 DNA 链生成过程，需要有模板、引物，而且遵照碱基互补规律，按模板的指引来延长。此外，值得指出的是，新链只能从 5'-端向 3'-端延长。底物的 5'-P 是加合到原有的链 3'-末端核糖的 3'-OH 基上形成磷酸二酯键的，这就是复制的方向性。由于 DNA 双螺旋的两股链走向相反，因此复制时也按相反走向各自按模板链指引合成新链。

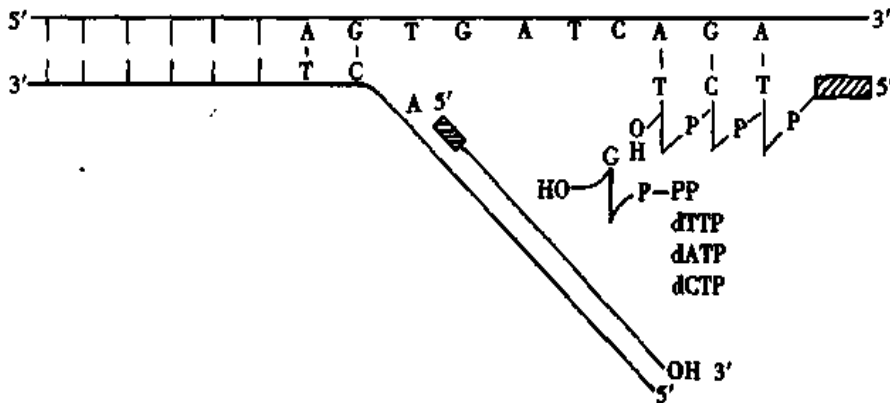


图 11-4 复制过程的去氧核苷酸聚合

▨ 引物

二、DNA 聚合酶

DNA 聚合酶的全称是依赖 DNA 的 DNA 聚合酶 (DNA-dependent DNA polymerase)，可缩写为 DNA-pol。1958 年，A. Kornberg 在大肠杆菌中发现了这种酶，并在 100kg 的细菌沉渣中提纯出仅 0.5g 的 DNA 聚合酶。在试管内的实验还证实，加有模板、底物和引物，DNA 聚合酶可催化新链 DNA 的生成。在双螺旋模型确立后不久，又直接证明了 DNA 是可以复制的，这是一个具重大意义的发现。当时曾把这种酶称为复制酶 (repli-

case), 以后随着其他种类 DNA 聚合酶的发现, 这种最先发现的酶就称为 DNA-pol I。

(一) 原核生物的 DNA 聚合酶

大肠杆菌(*E. coli*)有很多变异株, 经过人工处理和筛选, 可以培育出来一个或某几个基因发生变异的菌株。在发现 DNA-pol I 的基础上, 又找到了 DNA-pol I 基因有缺陷的菌株, 照样可进行 DNA 复制。从这些变异菌株中相继提取到 DNA-pol II 和 DNA-pol III。现在已知的原核生物 DNA-pol 就是这三种。

按每个细胞内分子个数比, DNA-pol I, II, III 的比例为 400:40:20。可是 DNA-pol III 的比活性大于 DNA-pol I 10 倍以上, 每分钟能催化多至 10^5 个核苷酸的聚合, 据此认为, 在原核生物细胞内, DNA-pol III 是在复制延长中真正催化新链核苷酸聚合的酶。DNA-pol-III 的分子量约为 140kD, 是由 10 种亚基组成的不对称二聚体(图 11-5A)。其中, α , ϵ , θ 组成核心酶, 兼有核苷酸的聚合和核酸链的 $3' \rightarrow 5'$ 外切酶活性。两边的 β 亚基起着夹住模板链又能使酶沿模板链滑动的作用。其余的亚基统称为 γ -复合物, 每一亚基的具体功能尚在研究中。

DNA-pol II 只是在无 pol I 及 pol III 的情况下才起作用, 其真正的功能也未完全清楚。

DNA-pol I 是单一肽链的大分子, 分子量为 109kD, 其二级结构以 α -螺旋为主, 可划分为从 A 至 R 共 18 个 α -螺旋肽段(图 11-5B)。螺旋肽段之间由一些非螺旋结构的短肽连接。其中 H 区与 I 区之间的无规结构较长, 由 50 个氨基酸残基构成, 在图中未表示出来。I 螺旋与 O 螺旋之间有较大的空隙, 可以容纳 DNA 链, 而 50 个氨基酸的无规结构, 就像一个盖子那样共同把 DNA 链包围起来, 使其向一个方向滑动。DNA-pol I 只能催化延长约 20 个核苷酸左右, 这也说明它不是真正在复制延长过程中起作用的酶。DNA-pol I 在活细胞内的功能, 主要是对复制中的错误进行校读, 对复制和修复中出现的空隙进行填补。

用特异的蛋白酶, 可以把 DNA-pol I 水解为两个片段, 即在图 11-5 (B) 的 F, G 螺旋之间发生断裂。从 A 至 F 螺旋区共 323 个氨基酸残基, 称为小片段, 此片段有 $5' \rightarrow 3'$ 核酸外切酶活性。从 G 螺旋区直至 R 螺旋区及 C 末端, 共 604 个氨基酸残基, 称为大片段, 或称 Klenow 片段(Klenow fragment), 具有 DNA 聚合酶活性和 $3' \rightarrow 5'$ 核酸外切酶活性。DNA-pol I 的大片段是实验室合成 DNA, 进行分子生物学研究的常用工具酶。

(二) 真核生物的 DNA 聚合酶

真核生物 DNA 聚合酶现已发现至少有 5 种, 分别称为 DNA-pol α , β , γ , δ , ϵ 。DNA-pol α 和 δ , 都是在复制延长中起催化作用的。在活细胞内的实验证明, DNA-pol α 只能延长数百个核苷酸, 而 DNA-pol δ 可延长的新链却长得多。据此认为: DNA-pol δ 是延长领头链而 pol α 则是延长随从链的(见第三节)。DNA-pol ϵ 则与原核生物的 DNA-pol I 相似, 在复制过程中起校读、修复和填补缺口的作用。DNA-pol β 也只是在没有其他 DNA-pol 时才发挥催化功能。

真核生物的 DNA-pol γ 在线粒体内。50 年代以前, 只知道 DNA 存在于细胞核染色体。后来在细菌染色体外发现有能自我复制的 DNA, 例如质粒, 以后利用质粒作为基因工程的常用载体。真核生物细胞器线粒体也发现有 DNA, 这些 DNA 称为线粒体 DNA (mitochondria DNA, mtDNA)。人类的 mt DNA 已知有 37 个基因。线粒体的功能是

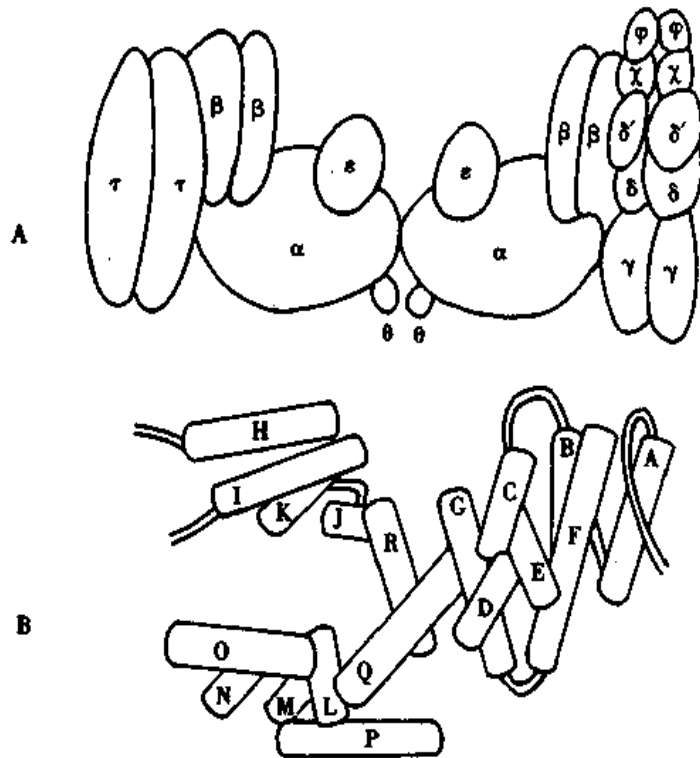


图 11-5 E. coli DNA 聚合酶 III 是不对称二聚体

A. DNA 聚合酶 III B. DNA 聚合酶 I 由 18 个 α -螺旋区组成, H 和 I 之间是较大的非螺旋区连接, 图中未显示出

进行生物氧化和氧化磷酸化(第七章)。已知有 13 个 mt DNA 上的基因是为 ATP 合成有

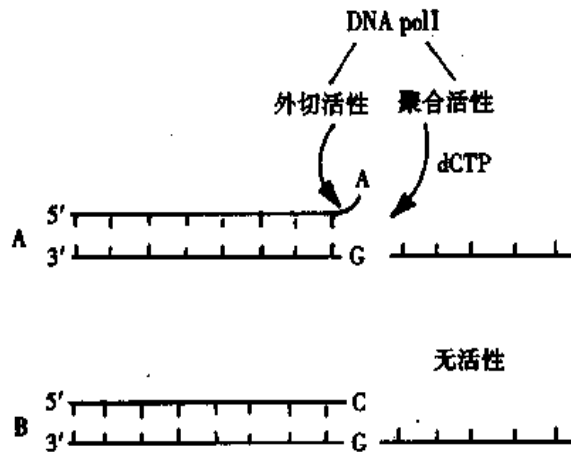


图 11-6 DNA pol I 的校读功能

- A. DNA pol I 的外切酶活性切除错配碱基，
并用其聚合活性掺入正确配对的底物
B. 碱基配对正确，DNA-pol I 并不表现外切酶活性

链能准确配对，使遗传信息延续和传代的保证。碱基配对的关键又在于氢键的形成。G—C 以 3 个氢键，A—T 以 2 个氢键维持配对，错配碱基之间难以形成氢键。据此推想：复制中核苷酸之间生成磷酸二酯键，应在氢键的准确搭配之后发生。DNA 聚合酶靠其大分子结构协调这种非共价(氢键)与共价(磷酸二酯键)键的有序形成。

原核生物 DNA 聚合酶 III 是复制延长中主要起催化作用的酶。对 DNA-pol III 的深入研究，发现这种酶对核苷酸的掺入(incorporation)有选择功能。例如母链上是 T，DNA-pol III 选择 A，而不选 T，C，G 进入子链相应位置。这是用“错配”实验证实的。用同一种脱氧核苷酸的寡聚体作模板，例如 21 聚腺苷酸 poly(dA)₂₁，用作模板，用 poly(dT)₂₀ 作复制引物，可以观察引物 3'-OH 连上的是否胸苷酸(T)。即使 4 种核苷酸都加入到含 DNA-pol III 的反应体系中，第 21 位也只会出现 T。但若只向反应体系加不是 T 的 dNTP 作底物，就“迫使”引物在第 21 位延长中出现错配。用柱层析技术已可以把 DNA-pol III 各个亚基组分分离，然后又再重新组合。如果重新组合的 DNA-pol III 不含 ε 亚基，复制错配频率出现较高。说明 ε 亚基是执行碱基选择功能的。错配实验也常用不含 ε 亚基的 DNA-pol III 作催化，实验结果发现，错配出现的频率有如下规律：

$$dG/dA > dA/dA > dC/dA$$

用聚 dA 为模板，dG，dA 或 dC 作为唯一的脱氧核苷酸来源，可以看到：模板为嘌呤时，错配为嘌呤(dG, dA)比错配为嘧啶(dC)的机会要大。

研究嘌呤的化学结构，可知嘌呤能形成顺式和反式构型(图 11-7)。要与其相应的嘧啶形成氢键配对，嘌呤碱应处于反式构型。而要形成嘌呤-嘌呤配对，则其中一个嘌呤必须旋转 180°，形成反式构型。错配频率的实验说明，DNA-pol III 对嘌呤的构型表现不同亲和力，酶是通过对不同碱基构型的亲和力不同来实现其选择作用的。

前已述及，DNA-pol III 的 10 种亚基中，以 αθ 作为核心酶并组成较大的不对称二聚体。核心酶中，α 亚基有 5'→3' 聚合活性，ε 有 3'→5' 核酸外切酶活性以及碱基选择功能。θ 亚基未发现催化活性，可能起维系二聚体的作用(图 11-5)。对各亚基功能的深

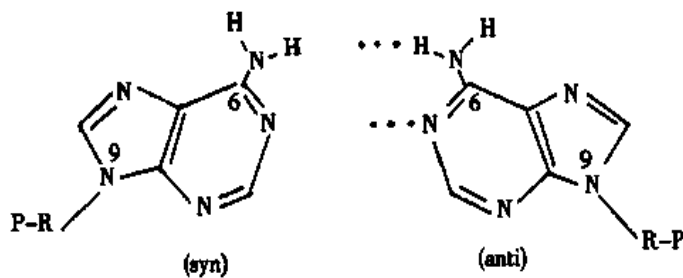


图 11-7 嘌呤核苷酸的顺式（左）和反式（右）构型
反式构型利于嘌呤-嘧啶之间氢键（虚线）的形成

人研究揭示：在核苷酸聚合之前，或在聚合当时，酶就可以控制碱基的正确选择。连同上一段谈到的校读功能，DNA 复制的保真性至少要依赖三种机制：

1. 遵守严格的碱基配对规律；
2. 聚合酶在复制延长中对碱基的选择功能；
3. 复制出错时有即时的校读功能。

三、复制中解链和 DNA 分子的拓扑学变化

活细胞内的复制应先解开 DNA 的超螺旋和双螺旋。目前已知的解旋、解链酶类，至少有解螺旋酶(helicase)、DNA 拓扑异构酶(DNA topoisomerase)和单链 DNA 结合蛋白(single strand DNA binding protein)三大类。它们共同起解开、理顺 DNA 链，维持 DNA 在一段时间内处于单链状态的作用。

(一) 解螺旋酶

当 J. Watson 和 F. Crick 发表 DNA 双螺旋结构时，就预言生物体内解开 DNA 双链是个关键难题。模板对复制的指导作用在于碱基的准确配对，而碱基却埋在双螺旋的内部。只有把 DNA 解成单链，它才能起模板作用。

研究 *E. coli* 的复制时，发现有一种蛋白质当时称为复制蛋白 rep (replication)。rep 的作用是利用 ATP 供能来解开 DNA 双链。rep 蛋白以后定名为解螺旋酶。进一步探究复制有关蛋白质的基因，曾把这些复制相关的基因定名为 dnaA, dnaB, dnaC……dnaX。相应的蛋白质用首字母大写 D 命名为 DnaA, DnaB, ……DnaX 等。有时基因结构确定了，其蛋白质功能还未清楚，所以名词上难免混乱和重复。现在已知 DnaB 蛋白就是解螺旋酶。在 DNA-pol 参与复制过程之前，首先起作用的起始物质有 DnaA, DnaB, DnaC 蛋白。DnaA 蛋白辨认 *E. coli* 上称为 oriC (origin C) 的复制起始点，DnaC 蛋白辅助解螺旋酶(DnaB)使其在起始点上结合并打开双链。

(二) DNA 拓扑异构酶(以下简称拓扑酶)

拓扑一词，是指物体或图像作弹性移位而又保持物体不变的性质。DNA 双螺旋沿轴旋绕，复制解链也沿同一轴反向旋转，复制速度快，旋转达 100 次/秒，而造成 DNA 分子打结、缠绕、连环现象。闭环状态的 DNA 又按一定方向扭转形成超螺旋(图 11-8)。用一橡皮圈沿相同方向拧转，可体会这种情况。通常 DNA 分子的拧转是适度的。盘绕过分，称为正超螺旋，盘绕不足为负超螺旋。复制时，部分 DNA 呈松弛状态。试

在已拧转的橡皮圈打开中间一段就会体会其余部分的过度拧紧变为正超螺旋。复制中的 DNA 分子也会遇到这种正、负超螺旋及局部松弛等过渡状态。上述这些，均需拓扑酶作用，以改变 DNA 分子拓扑构象，理顺 DNA 链来配合复制进程。

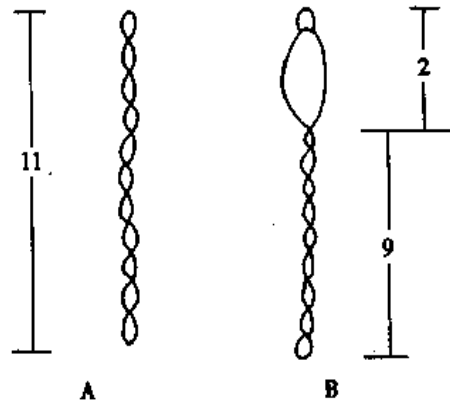


图 11-8 复制过程正超螺旋的形成

B 代表超螺旋局部解开后，其下方 9 个螺旋被压缩

拓扑酶广泛存在于原核及真核生物，分为 I 型和 II 型两种，最近还发现了拓扑酶 III。

拓扑异构酶 I 在原核生物中曾称为 ω -蛋白。真核生物的拓扑异构酶 I 曾用过多种名称：转轴酶 (swivelase)、解缠酶 (untwisting enzyme)、切口-封闭酶 (nicking-closing enzyme)、和松弛酶 (relaxing enzyme) 等。这是不同实验室从不同的角度研究其功能时对这种酶概括描述而命名的，可以体会它的功能的各个方面。原核生物拓扑异构酶 II 又叫旋转酶 (gyrase)，真核生物的拓扑酶 II 又分几种亚型。

拓扑酶对 DNA 分子的作用是既能水解，又能连接磷酸二酯键 (图 11-9)。拓扑酶 I 切断 DNA 双链中一股，使 DNA 解链旋转不致打结，适当时候又把切口封闭，使 DNA 变为松弛状态。拓扑酶 I 的催化反应不需 ATP。拓扑酶 II 在无 ATP 时，切断处于超螺旋状

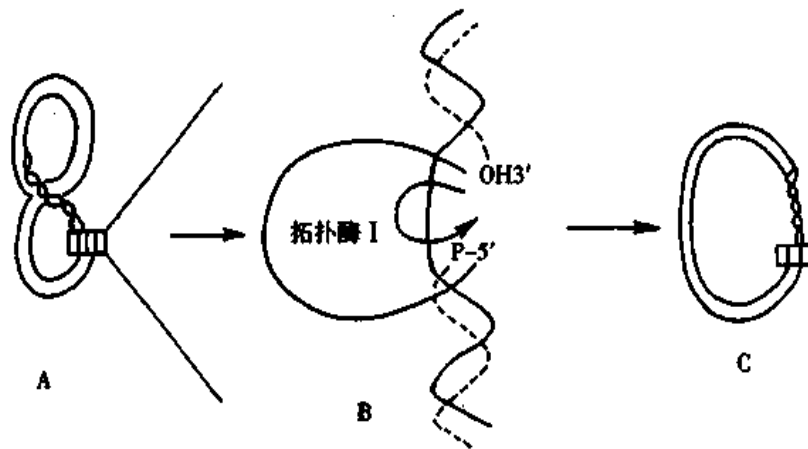


图 11-9 拓扑酶 I 的作用方式

B 是把 A 局部放大经拓扑酶 I 作用，两个环变为一个环 (A→C)

态的 DNA 分子双链某一部位，断端通过切口使超螺旋松弛；在利用 ATP 供能情况下，断端在拓扑酶催化下恢复连接松弛状态的 DNA 又进入负超螺旋状态。这些作用，均使复制中的 DNA 能解结、连环或解连环，达到适度盘绕。复制末期，母链 DNA 与新合成链也会互相缠绕，形成打结或连环，也需拓扑异构酶 II 的作用。DNA 分子一边解链，一边复制，可见，拓扑酶是在复制全过程中都是有作用的。

(三) 单链 DNA 结合蛋白(SSB)

作为模板的 DNA 总要处于单链状态，而 DNA 分子只要符合碱基配对，又总会有形成双链的倾向，以使分子达到稳定状态和免受胞内广泛存在的核酸酶降解。细胞内存在 SSB，此蛋白质曾称为螺旋反稳定蛋白(helix destabilizing protein, HDP)，在 *E. coli*，它是由 177 个氨基酸残基组成的相同四聚体，结合单链 DNA 的跨度约 32 个核苷酸单位。SSB 作用时表现协同效应，保证 SSB 在下游区段的继续结合。可见，它不像聚合酶那样沿着复制方向向前移动，而是不断地结合、脱离的。SSB 的作用是在复制中维持模板处于单链状态并保护单链的完整。

四、引物酶和引发体

母链 DNA 解成单股便可作为复制模板使用，但也不等于马上就可以把各个脱氧核苷酸加到模板的相应位置上。复制是在一段 RNA 引物的基础上加进脱氧核苷酸的。催化引物合成的是一种 RNA 聚合酶，它不同于催化转录过程的 RNA 聚合酶，因此称为引物酶(primase)。引物酶在模板的复制起始部位催化互补碱基的聚合，形成短片段的 RNA。在 *E. coli*，引物酶是 *dnaG* 基因的产物。引物酶是和解螺旋酶共同起作用的。解螺旋酶即 DnaB 蛋白。DnaA 有辨认复制起始点的功能，DnaB 蛋白和 DnaA、DnaC 蛋白，还有其他复制因子，一起形成复合体，结合引物酶，形成较大的聚合体，再结合到模板 DNA 上，这种复合物称为引发体(primosome)。引发体的下游解开双链，再由引物酶催化引物的合成。引物为什么是 RNA 而不是 DNA？现在的解释是：DNA 聚合酶没有催化两个游离 dNTP 聚合的能力，而 RNA 核苷酸聚合则可以是酶促的游离 NTP 聚合，聚合显然是需模板的。一段短 RNA 引物即可以提供 3'-OH 末端供 dNTP 加入、延长之用。

五、DNA 连接酶

DNA 连接酶(DNA ligase)连接 DNA 链 3'-OH 末端和相邻 DNA 链的 5'-P 末端，使二者生成磷酸二酯键，从而把两段相邻的 DNA 链连成完整的链。连接酶的催化作用需要消耗 ATP(图 11-10)。实验证明：连接酶连接碱基互补基础上的双链中的单链缺口，它并没有连接单独存在的 DNA 单链或 RNA 单链的作用。复制中模板链是连续的，新合成的链分段合成，是不连续的，最后留有缺口，要靠连接酶接合。图 11-10 示连接酶的催化作用。图的上部说明酶作用于两股中一股不连续 DNA 链；图的下部示在复制中，DNA 连接酶的作用。

如果比较一下 DNA 聚合酶、拓扑酶和连接酶，三者都催化 3', 5'-磷酸二酯键的生成，但又各有不同。(表 11-1)。

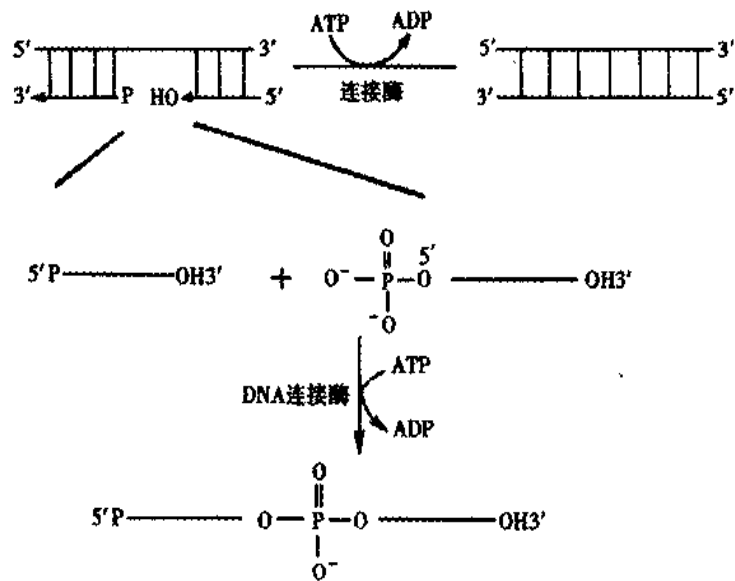


图 11-10 DNA 连接酶的作用方式

图上方是双链状态下连接酶的作用 图下方

把被连接的缺口放大, 示化学反应

表 11-1 三种酶催化生成磷酸二酯键的比较

	提供核糖 3'-OH	提供 5'-P	结 果
DNA 聚合酶	引物或延长中的新链	游离 dNTP 去 PPi	(dNMP) _{n+1}
连接酶	复制中不连续的两条单链		不连续→连续链
拓扑酶	切断、整理后的两链		改变拓扑状态

DNA 连接酶不但在复制中起最后接合缺口的作用, 在 DNA 修复、重组、剪接中也起缝合缺口作用。DNA 两股都有单链缺口, 只要缺口前后的碱基互补, 连接酶也可连接。因此它也是基因工程(第十五章)的重要工具酶之一。

第三节 DNA 生物合成过程

真核生物在细胞分裂的合成期(S期)合成 DNA。细胞分裂的时相变化称为细胞周期 (cell cycle)。典型的细胞周期分为 4 期(图 11-11), 在营养条件良好的培养细胞, 历程约 24 小时。

体内活细胞细胞周期长短相差悬殊, 关键在 G₁ 期进入 S 期。不少细胞活性物质例如生长因子、环核苷酸类、氨基酸、某些离子和代谢物, 都能诱发细胞从 G₁ 期进入 S 期。在 S 期, 细胞内 dNTP 含量和 DNA-pol 活性均达高峰。

目前有关复制的知识, 主要来自原核生物实验。本节讲述的也以原核生物的复制为主, 真核生物的 DNA 合成过程, 仅作对比讨论。复制是连续的过程, 为描述方便, 把

它分为起始、延长和终止三个阶段。

一、复制的起始

起始是复制中较复杂的环节，简单来说就是要把 DNA 解成单链和生成引物。

(一) DNA 解成单链

原核生物例如 *E. coli*，是从固定的起始点 *ori C* (origin) 开始，同时向两个方向进行复制，称为双向复制 (bidirectional replication)。这是用同位素标记 DNA 后，在放射自显影图像中观察得到的结论。在电镜下看到的图像描述为眼睛状，为说明方便而作的图呈 θ 形，如图 11-12。复制时双链打开，分开成两股，新链沿着张开的模板生成，复制中形成这种 Y 字形的结构称为复制叉 (replication fork)。

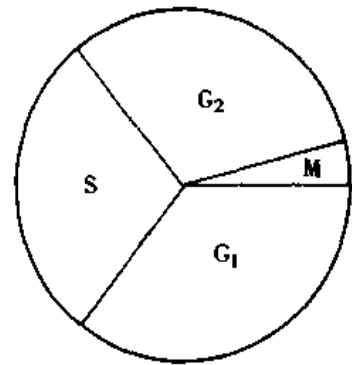


图 11-11 哺乳类动物的细胞周期

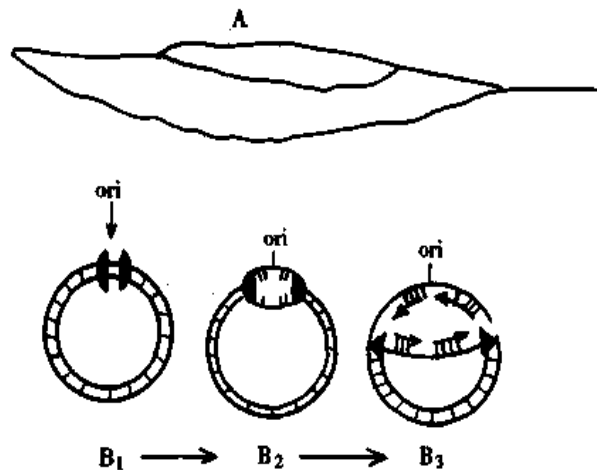


图 11-12 原核生物 DNA 的双向复制

A. 放射自显影复制中的图像 B₁ 至 B₃ 用示意形式解释 A

ori: 复制起始点，涂黑的半月形代表各种酶及蛋白质

B₃ 的箭头代表新生链及复制方向

真核生物的染色体庞大、复杂，有多个复制起始点，同时形成许多复制的单位，两个起始点之间的 DNA 片段，称为一个复制子 (replicon) (图 11-13)。

复制的起始需要多种蛋白质参与，目前有些细节还不很清楚。这些蛋白质需要与复制起始点上一些特有的核苷酸序列结合，形成蛋白质-DNA 结合物。这说明复制的起始部位不是随意的。*E. coli* 复制起始点 *oriC* 跨度为 245 bp，碱基序列分析说明在这段 DNA 上有 3 组串连重复序列和 2 对反向重复序列 (图 11-14)。

前已述及的 DnaA 蛋白，是由相同亚基组成的四聚体。复制起始时，DnaA 蛋白辨认并结合于这些重复序列的位点上。然后，几个 Dna 蛋白互相靠近，形成类似核小体 (第二章) 的 DNA 蛋白质复合体结构，这一结构可促使其邻近的 DNA 进行解链。在已解开的局部单链上，DnaB 蛋白 (解螺旋酶) 在 DnaC 蛋白的协同下，可沿解链的方向继续移

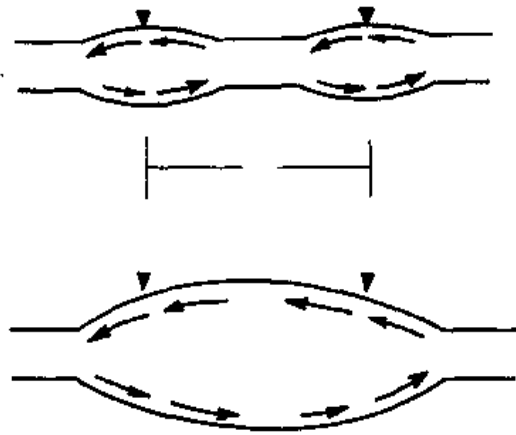


图 11-13 复制子是两个复制起始点之间的 DNA 片段黑色的倒三角形代表复制起始点

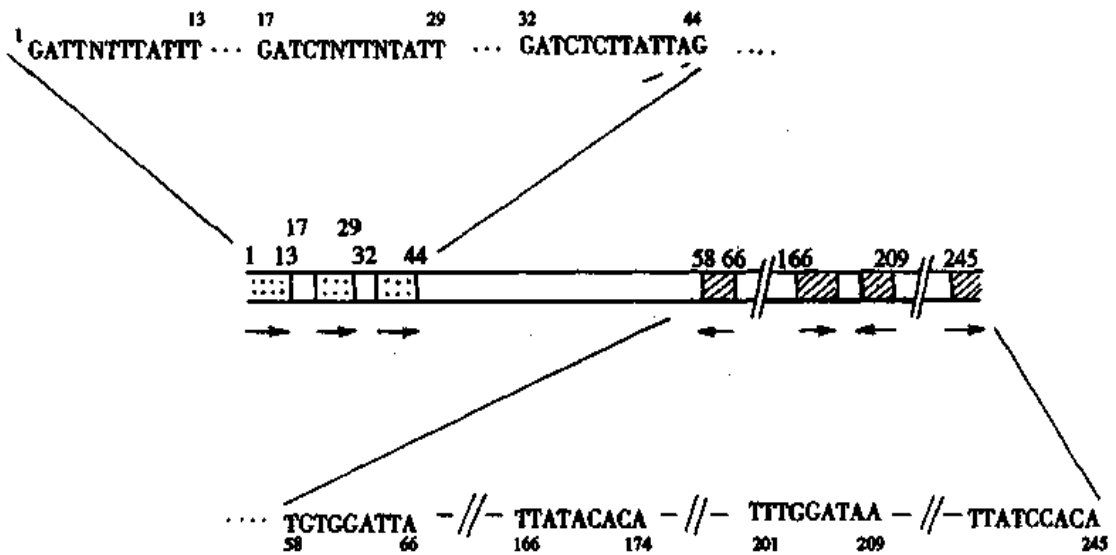


图 11-14 *E. coli* 复制起始点 *oriC*
上方示 3 组串连重复序列
下方示 2 组反向重复序列

动，使双链解开足够用于复制的长度，并且逐步置换出 DnaA 蛋白(图 11-15)。

另外 SSB (单链 DNA 结合蛋白)此时也参与进来。SSB 在一定范围内使 DNA 保持开链的状态，新的游离核苷酸以模板为依据而参入。

(二) 引发体的生成

复制过程需要引物(primer)，引物是由引物酶催化合成的短链 RNA 分子。在上述解链的基础上，已形成了 DnaB; DnaC 蛋白与起始点相结合的复合体，此时引物酶即可进入，形成的复合物共有解螺旋酶、DnaC 蛋白、引物酶(即 DnaG 蛋白)和 DNA 的起始复制区域。这样的一个复合结构称为引发体。

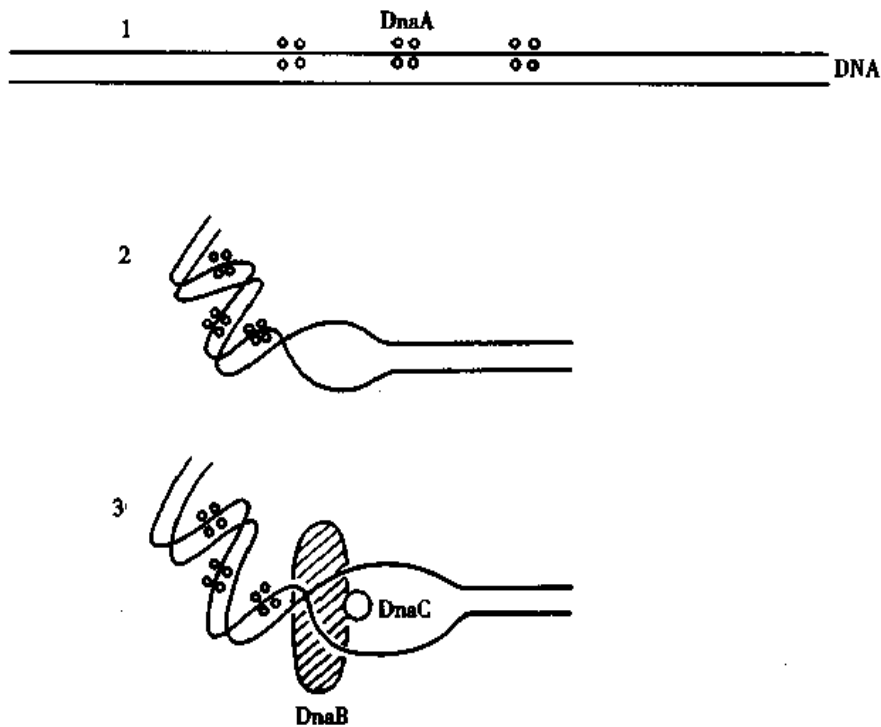


图 11-15 复制起始，DNA 双链的解开

1. DnaA 蛋白四聚体结合于 *oriC* 的重复序列上
2. DnaA 蛋白与 DNA 形成复合物，引起解链
3. DnaB 在 DnaC 的辅助下结合于初步打开的双链，并用其解螺旋酶活性开链

引发体的蛋白质部分在 DNA 链上可以移动，并需由 ATP 供给能量。引发体到达适当位置就可按照模板的配对序列，催化 NTP（不是 dNTP）的聚合，生成引物（图 11-16）。

DNA 复制中，一股链是可以连续进行的，称为领头链 (leading strand)。另一股链是不连续复制的，在不连续复制的链上，引发体需多次生成，但其生成过程比上述的较为简单些。

引物长度约为十数个至数十个核苷酸不等。引物合成的方向也是自 5'-端至 3'-端。已合成的引物必然会留有 3'-OH 末端，此时就可以开始 DNA 的复制。在 DNA-pol III 催化下，靠酶的 β 亚基辨认引物，第一个新链的 dNTP 与引物 3'-OH 末端生成磷酸二酯键。已聚合的新链同样在每一反应完成后留有 3'-OH，复制就可进行下去。

解链是一种高速的反向旋转，其下游势必发生打结现象。此时，由 DNA 拓扑异构酶，主要是 II 型酶作用，在将要打结或已打结处作切口。断端的 DNA 穿越切口并作一定程度旋转，直至把结打开或解松，然后旋转复位连结。这样 DNA 解链就不因打结的阻绊而可继续下去。即使不出现打结现象，双链的局部打开，也会导致 DNA 超螺旋的其他部分过度拧转 (图 10-8)，形成正超螺旋。拓扑酶通过切断、旋转和再连结的作用，实现 DNA 超螺旋的转型，即把正超螺旋变为负螺旋，实验证明，负超螺旋比正超螺旋有更好的模板作用。从普通道理上也是可以理解的，扭得不那么紧的超螺旋当然比过度

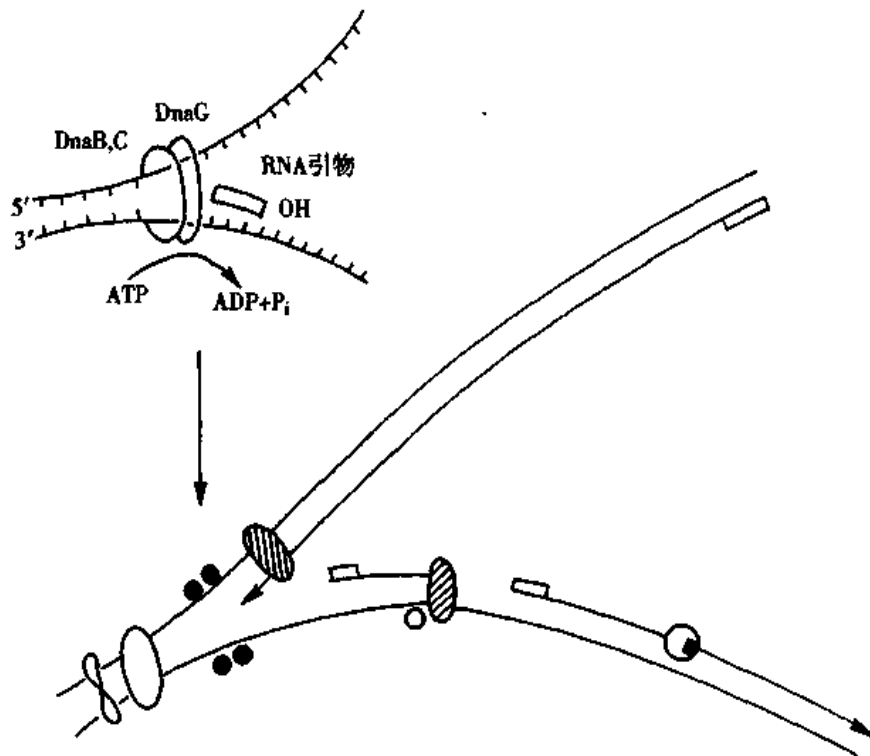


图 11-16 引发体的生成 (上) 和 DNA 解成复制叉 (下)

复制叉上各种酶、蛋白质用符号表示: ○ 解螺旋酶

● DNA 聚合酶 III □ 引物酶和引物

○ DNA 聚合酶 I (校读)

●● 单链 DNA 结合蛋白 连接酶

○ DNA 拓扑异构酶

扭紧的更容易解开成单链。

细胞内 DNA 结构复杂, 复制起始时解开双链, 生成引物, 需要各种因子的协同。现把 DNA-pol III 参与复制之前的各种起作用的因子列表以作小结(表 11-2)。

表 11-2 参与复制起始的各种蛋白质因子

名 称	功 能
DnaA 蛋白	辨认起始点
解螺旋酶 (DnaB 蛋白, rep 蛋白)	解开 DNA 双链
DnaC 蛋白	协助解螺旋酶
引物酶 (DnaG 蛋白)	催化 RNA 引物生成
SSB	稳定解开的单链
拓扑异构酶	理顺 DNA 链
oriC (245 bp 的 DNA 组分)	E. coli 的复制起始点

二、复制的延长

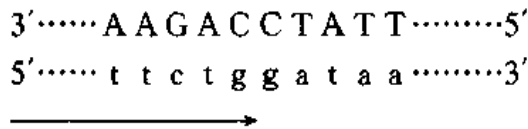
脱氧单核苷酸逐个加入而延长 DNA 新链, 其化学反应本质是生成磷酸二酯键(本

章第二节,图 11-4)。催化此反应的酶,在原核生物为 DNA-pol III,真核生物为 DNA-pol α 和 δ 。

(一) 复制延长的生化过程

真核生物 DNA-pol α 催化 DNA 子链延长的长度只在数百核苷酸范围内,而 DNA-pol δ 能催化较长的新链聚合。由此认为,前者是催化不连续复制,而后者是催化连续复制的。原核生物催化复制延长的只有 DNA-pol III 一种,但它是多亚基的不对称二聚体,各亚基功能虽未逐一了解,但这一二聚体各有核心酶组分(图 11-5),可能在连续和不连续复制中分别执行功能。

复制起始时,母链即已解开,两股单链都是模板,其作用是按碱基配对规律指引核苷酸加入到新链。下列一个延长中的片段,用大写字母代表母链碱基序列,小写代表子链加入的核苷酸序列,箭头是子链延长的方向:



每次加入的单个核苷酸,都是以 dNTP 为原料,其 α -磷酸与引物或延长中的新链上的 3'-OH 形成磷酸二酯键,又暴露出 3'-OH 为末端,使下一个 dNTP 进入。复制从 5' 向 3' 延长,指的是子链合成的方向。

DNA 复制延长速度相当快。以 *E. coli* 为例,营养充足生长条件适宜时,细菌 20 分钟可以繁殖一代。*E. coli* 基因组,即其全套基因染色体上的 DNA 约 3 000kb (千碱基对)大小。按此推算,每秒钟能加入的核苷酸数达 2 500 个:

$$\frac{3\,000\text{kb}}{20\text{min}} = \frac{3\,000\,000\text{bp}}{20 \times 60\text{s}} = 2\,500\text{bp/s}$$

高等生物 DNA 复制延长速度可能慢些。不同组织细胞或处于不同生长发育阶段,复制速度可以大不相同。但真核生物有多个起始点,形成多个复制子同时在复制。这意味着某些真核生物细胞的复制速度也是相当快的。

(二) 复制的半不连续性和冈崎片段(Okazaki fragment)

在形成双螺旋结构时,DNA 双链的走向是相反的。一链是 5' 至 3' 方向,其互补链是 3' 至 5' 方向。复制经解链后,两股单链在复制叉上也是走向相反。复制,包括引物合成,只能从 5' 向 3' 延伸。在同一复制叉上,解链的方向只可能有一个。因此,顺着解链方向而生成的子链,复制是连续进行的,这股链称为领头链。而另一股链复制的方向却与解链方向相反,这股链的复制必须等待模板链解开至足够长度,才能从 5' → 3' 方向生成引物然后复制。这股链在延长时,又要等到下一段暴露出足够长度的模板,再次生成引物而延长。这就是不连续复制,不连续复制的链称为随从链(lagging strand)(图 11-17)。

1968 年,在美国的日本科学家岡崎用电子显微镜及放射自显影技术,观察到 DNA 复制过程出现的上述半不连续复制现象。后人证实了不连续片段只存在于同一复制叉上

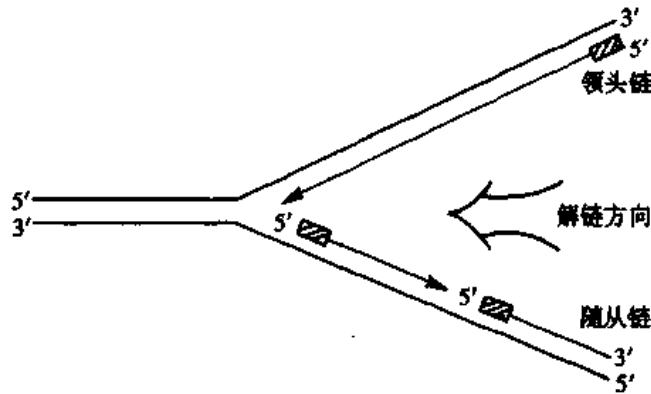


图 11-17 复制方向与解链方向不一致
可以理解不连续复制的成因

其中一股链，不连续复制的片段称为冈崎片段，其大小在一至二千核苷酸范围，真核生物的冈崎片段只有数百个核苷酸。每一个不连续复制的片段 5'-端都带有一个 RNA 引物。片段的复制完成后，RNA 引物会被除去而代之以 DNA 片段，因此复制至最后，两股子链都是 DNA 链。

(三) 滚环复制

滚环复制(rolling circle replication)是指一些简单低等生物或染色体以外的 DNA 采取的特殊复制形式。环状双链 DNA 先打开一个缺口，5'-端伸出环外，伸展出的单链模板可使新链由 5'→3' 进行复制。没有开环的另一股单链，一边滚动一边进行连续复制。开环与不开环的两股母链，各自作为模板，可能不需另外合成引物，最后合成两个环状子双链。图 11-18 表示滚环复制在进行中，实线代表母链，点状线代表新合成的子链。

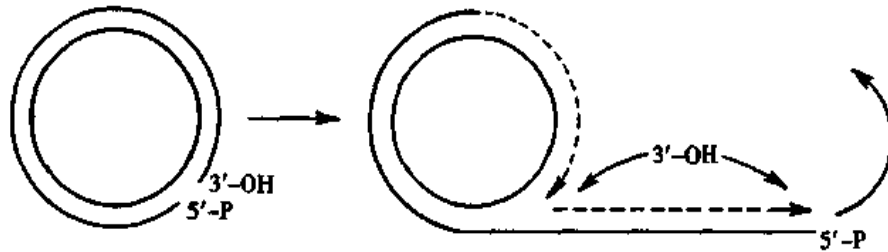


图 11-18 滚环复制
内环母链转动使子链延长，外环脱出作模板，至子链延长一定长度后，
按图右方箭头方向滚动成环，虚线代表复制中的子链

三、复制的终止

(一) 原核生物复制终止及不连续片段连接

原核生物的环状 DNA 多采用双向复制的方式。某些原核生物，例如猿猴病毒 SV₄₀，复制的起始点和终止点刚好把环状 DNA 分为两个半圆，两个方向各进行 180°，同时在终止点汇合。另一些生物两个方向并不是等速的。为了定位方便，习惯把 E.coli 的 DNA

分为 100 等分。E.coli 复制起始点 *oriC* 在 82 位点，复制终点 *ter* (termination) 在 32 位点 (图 11-19)。

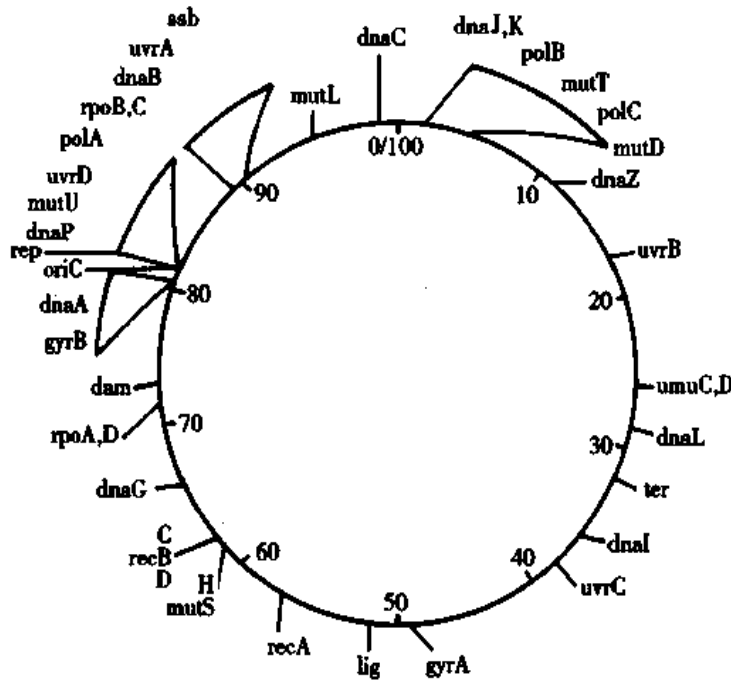


图 11-19 E.coli 基因图，示与复制有关的基因
注意起始点 *oriC* 与终止点 *ter* 的位置

由于复制不连续而生成的许多冈崎片段，其 5' 起点又是 RNA 而不是 DNA，所以复制还包括去掉这些 RNA 引物并换成 DNA，最后把 DNA 片段连接成完整的新链。RNA 的水解是由细胞内的 RNA 酶完成的。RNA 水解后，留下片段与片段之间的空隙 (gap)，由 DNA-pol I 而不是 DNA-pol III 来催化而填补，也是从 5' 向 3' 端用 dNTP 为原料生成 DNA 链的。复制片段的空隙，由前方复制的片段提供 3'-OH 使之延长。这样，直至模板链指引下把空隙填满，亦即由 DNA pol-I 催化延长的链 3'-OH 末端到达了复制片段除去引物后的 DNA 5'-P 末端。这两个末端都是游离的，是一个缺口 (nick)。这个缺口的连接，需要 DNA 连接酶，而且是个耗能过程。图 11-20 示引物的去除、填补及连接过程。

复制中的随从链需要经历上述过程把全部各个片段链连成完整的一条链。领头链也有引物被水解而留下空隙的现象。原核生物的双向复制，真核生物多起始点生成多个复制子，以及滚环复制，都有一个或多处缺口，均需这种方式加以连续起来。原核生物多为环状 DNA，复制至最后的 3'-OH 末端，可延长填补起始复

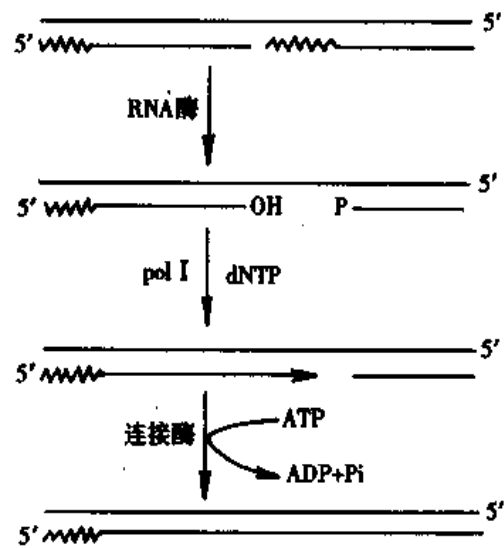


图 11-20 子链中的 RNA 引物被取代
齿状线代表引物

制时形成的引物所留下缺口。

(二) 真核生物的端粒和端粒酶

真核生物 DNA 复制, 是与染色体蛋白质, 包括组蛋白和非组蛋白类的合成同步进行的。DNA 复制完成后, 随即装配成核内的核蛋白, 组成染色体。早期的研究者在研究真核生物复制终止时, 曾假定有一种过渡性的环状结构帮助染色体末端复制的完成, 后来一直未能证实这种环状结构的存在。染色体 DNA 线性复制, 中间的不连续片段可以连接, 这易于理解。但新链最早出现的 5'-端引物被降解后, 留下的空隙没法填补, 细胞染色体 DNA 将面临复制一次就缩短一些的问题。这的确在某些低等生物的特殊生活条件下观察到, 但只是少数特例。事实上染色体虽经多次复制, 却不会越来越短的。

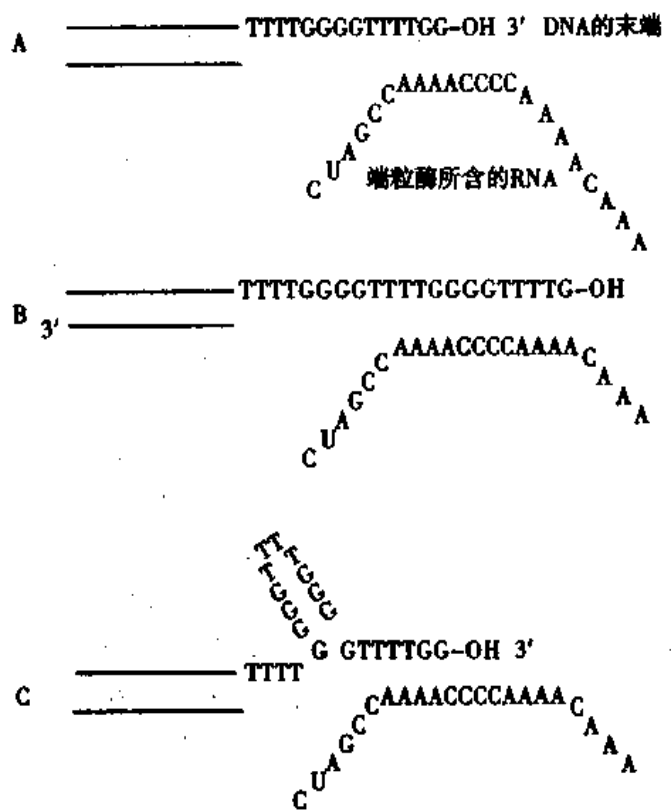
端粒(telomere)是真核生物染色体线性 DNA 分子末端的结构。形态学上, 染色体 DNA 末端膨大成粒状, 这是因为 DNA 和它的结合蛋白紧密结合, 像两顶帽子那样盖在染色体两端, 因而得名。在某些情况下, 染色体可以断裂, 这时, 染色体断端之间会发生融合, 或断端被 DNA 酶降解。但正常染色体不会整体地互相融合, 也不会末端出现遗传信息的丢失。可见, 端粒在维持染色体的稳定性和 DNA 复制的完整性有重要作用。

对多种不同生物端粒的 DNA 序列测定, 发现其共同特点都是富含 G、C 碱基的短序列多次重复。例如哺乳类动物仓鼠和人类, 端粒 DNA 都有(TTAGGG)_n。重复可多达数十甚至上百次, 并且形成反折式的二级结构。

20 世纪 80 年代中期发现了端粒酶(telomerase), 它是一种 RNA-蛋白质复合物。复制终止时, 染色体线性 DNA 末端确有可能缩短, 但通过端粒的不依赖模板的复制, 可以补偿这种由除去引物引起的末端缩短。端粒的这种生长形式, 称为爬行模型(inchworm model)(图 11-21)

图中左上方的的是端粒的 DNA 末端的结构, 其中一股是单链。该单链的下方是端粒酶所含的 RNA 分子部分序列。在端粒 DNA 复制上, 端粒酶既有模板, 又有逆转录酶这两方面的作用。首先是端粒酶借助其 RNA 与 DNA 单链有互补碱基序列而辨认结合。图的中部表示端粒的延长, 注意是以 RNA 为模板的逆转录的过程。延长以后的单链可能反折为双链。

图 11-21 端粒酶的催化延长作用 (“爬行”模型)



A. 端粒与端粒酶结合

B. DNA 聚合延长

C. 端粒酶所含的 RNA 移位

研究发现,培养的人成纤维细胞随着分裂次数的增加,端粒长度是在逐渐缩短的。并且发现,体细胞端粒长度大大短于生殖细胞,胚胎细胞的端粒也长于成年的细胞。据此,至少可以认为在细胞水平的老化,有可能与端粒酶的活性下降有关。生物整体的老化,当然是更复杂的问题。

此外,许多研究均发现,基因突变、肿瘤形成时,端粒也可表现缺失、融合或序列缩短等现象。在临床研究中也发现某些肿瘤患者肿瘤细胞的端粒比正常人同类细胞显著缩短。在另一些肿瘤培养细胞中,又发现有端粒酶活性的增高,但端粒酶活性又不一定能决定端粒的长度。因此,深入研究端粒和端粒的变化,是目前肿瘤研究中的一个新领域。

第四节 DNA 损伤(突变)与修复

DNA 复制的保真性是维持物种相对稳定的主要因素。另一方面,突变是与遗传保守性相对立而又相互统一的自然现象。突变(mutation)是指一个或多个脱氧核糖核苷酸的构成、复制或表型功能的异常变化,也称为 DNA 损伤(DNA damage),即遗传物质结构改变引起遗传信息的改变。

一、突变的意义

一般容易把突变误解为都是危害生命的现象。其实就其后果而言,突变在生物界普遍存在,是有其积极意义的。

(一) 突变是进化、分化的分子基础

从长远的生物进化史看,进化过程是突变的不断发生所造成的。没有突变就不可能有现今五彩缤纷的生物世界。遗传学家认为:没有突变就不会有遗传学。就一个短暂历史时期而言,人类可能未能亲眼见到某一物种的自然演变而只见到长时期突变积累的结果。就同一物种而言个体差别总是存在的。大量的突变都是属于这种类型,只是目前还未能认识其发生的真正原因,因而命名为自发突变或自然突变(spontaneous mutation)。

(二) 只有基因型改变的突变

这种突变没有可察觉的表型改变,例如在简并密码子上第三位碱基的改变,蛋白质非功能区段上编码序列的改变等等。这些现象也相当普遍。多态性(polymorphism)一词是用来描述个体之间的基因型差别现象。利用核酸杂交原理,可以设计各种技术用于识别个体差异和种、株间差异,并用于预防及诊断。例如:法医学上的个体识别、亲子鉴定、器官移植的配型、个体对某些疾病的易感性分析,都要用 DNA 多态性分析技术。

(三) 致死性的突变

突变发生在对生命过程至关重要的基因上,可导致个体、细胞的死亡。人类常利用这些特性消灭有害的病原体。

(四) 突变是某些疾病的发病基础

这些疾病包括遗传病、肿瘤及有遗传倾向的病。一般人认为突变是有害的,就是指这种类型的突变。现今最详细的内科学记载了 4 000 余病种,其中 1/3 以上属遗传性疾

病或有遗传倾向的病。其中少数已知其遗传缺陷(变异)所在，如血友病是凝血因子基因的突变，地中海贫血是血红蛋白基因突变等等，其余大多数尚在研究中。有遗传倾向的疾病，包括常见的高血压病、糖尿病、溃疡病、肿瘤等，可以肯定和生活环境有关，但亦有证据表明存在某些基因的变异。不过，涉及的基因不是少数几个，而是众多基因与生活环境因素共同作用的后果。

二、引发突变的因素

大量的突变属于自发突变，发生频率只不过 10^{-9} 左右。但考虑到高等生物基因组庞大，细胞繁殖速度快，就不难理解它起的作用是不可低估的。

实验室可以诱发突变，是用生活环境中导致突变的因素，主要有物理和化学因素。物理因素主要是紫外线和各种辐射，其中又以紫外线照射研究得较多。紫外线在1944年

要确定某一化合物是否致癌，难度很大。目前卫生学上常用的致癌物检测，实验方法是检测化合物是否对细菌致突变，称为 Ames 试验。试验用一种有如下缺陷的沙门菌：①his⁻：即组氨酸异养型，需加入组氨酸才能生长；②胞壁缺陷，化学物质易于透入；③修复系统不活化。被检测的药物涂布于不含组氨酸的培养平板上，用含组氨酸及无缺陷的菌作对照，观察细菌的成活菌落数目，经过推算，确定被检药物是否为致突变剂。Ames 试验较动物试验简单，而用它与大鼠或小鼠的致癌试验作对照，检出致癌物常可达 80% 以上的符合率。

三、突变分子改变的类型

从化学本质看，突变总会有 DNA 分子上的改变，因此也称作 DNA 损伤，可分为错配(mismatch)、缺失(deletion)、插入(insertion)和重排(rearrangement)几种类型。缺失或插入均有可能导致框移(frame-shift)突变。

(一) 错配

又称为点突变 (point mutation)。表 11-3 中，化学诱变剂引起的碱基在 DNA 链上的置换，都属于点突变。点突变发生在基因的编码区域，可导致氨基酸的改变。图 11-23 和图 11-24 都是典型的与疾病有关的点突变例子。

		$HbS = \alpha_2\beta_2^{glu \rightarrow val}$
HbA β 肽链	N-val · his · leu · thr · pro · glu · glu · C (146)	
HbS β 肽链	N-val · his · leu · thr · pro · val · glu · C (146)	
HbA β 基因	_____ CTC _____	_____ GAG _____
HbS β 基因	_____ CAC _____	_____ GTC _____

图 11-23 镰形红细胞贫血病人的 Hb 为 HbS；与正常成人 Hb (HbA) 比较，只是 β 链上第 6 号氨基酸的变异
基因上的改变仅是为第 6 号氨基酸编码的密码子上的一个点突变

(二) 缺失、插入和框移突变

DNA 上碱基缺失的例子见表 11-3。缺失或插入都可导致框移突变，框移突变是指三联体密码的阅读方式改变，造成蛋白质氨基酸排列顺序发生改变，其后果是翻译出的蛋白质可能完全不同(图 11-25)。3 个或 3n 个的核苷酸插入或缺失，不一定能引起框移突变。

(三) 重排

DNA 分子内发生较大片段的交换，称为重组或重排。移位的 DNA 可以在新位点上颠倒方向反置(倒位)，也可以在染色体之间发生交换重组。图 11-26 示由于血红蛋白的 β 链和 δ 链的重排，引起两种类型的地中海贫血的基因重排情况。

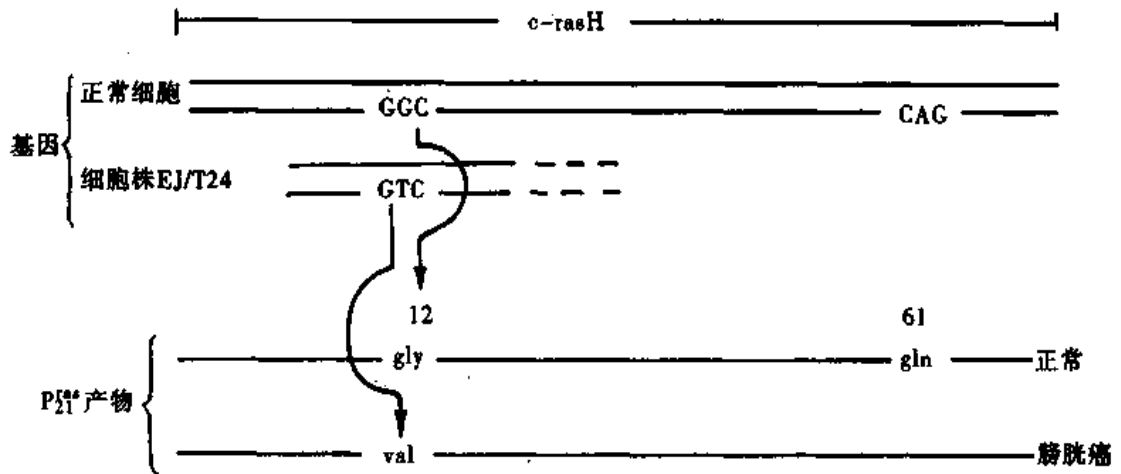


图 11-24 膀胱癌细胞 *c-rasH* 基因点突变

基因表达产物仅 12 号氨基酸 *gly* → *val*

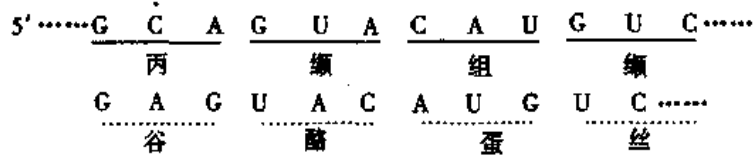


图 11-25 缺失引起框移突变

实线：原来的密码读法

虚线：缺失 C 后的密码读法

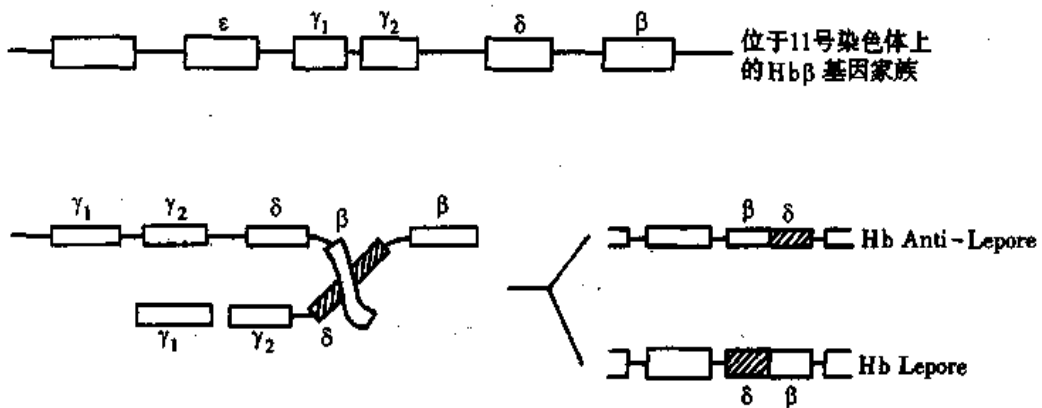


图 11-26 由基因重排引起的两种地中海贫血基因型

四、DNA 损伤的修复

DNA 损伤和修复，是细胞内 DNA 复制中同时并存的两个过程。DNA 聚合酶 I 对复制中的错配可以即时加以校读(见本章第二节)。修复(DNA repairing)是指针对已发生了的缺陷而施行的补救机制，主要有光修复(light repairing)、切除修复(excision repairing)、重组修复(recombination repairing)和 SOS 修复等。

(一) 光修复

光修复过程是通过光修复酶(photolyase)催化而完成的, 仅需 300 - 600nm 波长照射即可活化, 普遍存在于各种生物, 人体细胞中也有发现。通过此酶作用, 可使嘧啶二聚体分解为原来的非聚合状态, DNA 完全恢复正常 (图 11-22)。

(二) 切除修复

是细胞内最重要的修复机制, 主要由 DNA 聚合酶 I 及连接酶执行修复 (图 11-27)。至于 DNA 损伤的部位是如何去除的, 原核生物和真核生物需要不同的酶系统。原核生物 DNA 损伤的研究, 早期以紫外线照射来建立损伤的模型, 并因此发现与紫外线损伤及修复有关的一些基因, 称为 *uvrA*、*uvrB*、*uvrC*。现在已经清楚其产物, *UvrA*、*UvrB* 是辨认及结合 DNA 损伤部位的蛋白质, *UvrC* 有切除作用, 可能还需要有解螺旋酶(helicase)的协助, 才能把损伤部位除去。

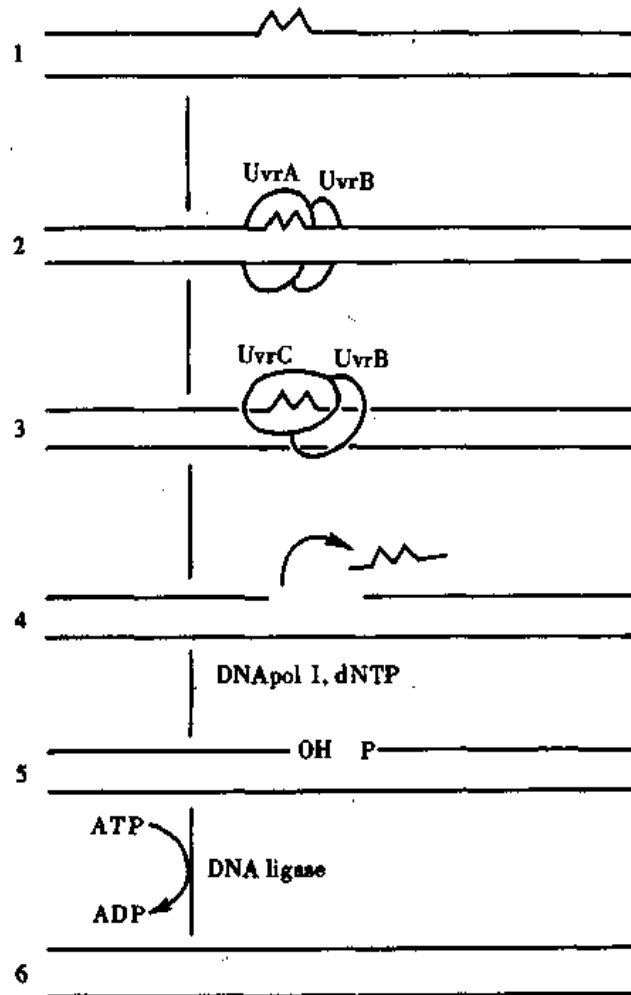


图 11-27 *E. coli* 的切除修复方式

1. 代表 DNA 分子上的损伤
2. *UvrA*、*UvrB* 结合损伤部位
3. *UvrC* 替换了 *UvrA*
4. 由 *UvrC* 切除损伤的单链
- 5, 6. 填补空隙和连接缺口, 与图 11-20 的方式相同

在人类，较早发现一种遗传性疾病叫着色性干皮病(xeroderma pigmentosa, XP)，并知道其发病机制与 DNA 损伤修复后存在缺陷有关。近年对 XP 病的深入研究，也发现有一套 XP 病相关的基因，分别命名为 XPA, XPB, XPC, XPF, XPG 等。这些基因的表达产物，分别具有结合损伤 DNA、解旋酶、核酸酶的活性。从这些蛋白质氨基酸序列分析结果看，和原核生物的 Uvr 类蛋白都有相当多同源序列。目前认为，XP 类蛋白是在切除修复过程中共同参与，起辨认和切除损伤 DNA 部位作用的。切除后留下的空隙，则由 DNA-pol δ 及 ϵ 加以修复。XP 病人正是因为 XP 类基因有缺陷，在接触紫外线后，DNA 损伤修复过程的缺陷而致病，这类病人皮肤发生癌变的机会也比正常人高得多。

(三) 重组修复

当 DNA 分子的损伤面较大，还来不及修复完善就进行复制时，损伤部位因无模板指引，复制出来的新子链会出现缺口，这时，就靠重组蛋白 RecA 的核酸酶活性将另一股健康的母链与缺口部分进行交换，以填补缺口。RecA 是 *recA* 基因的产物，是 *E. coli* 中与重组(recombination)有关的一系列基因之一。重组基因除 *recA* 外，还有 *recB*, *recC* 等。所谓健康母链，是指同一细胞内已完成复制的链，或可来自亲代的一股 DNA 链。损伤链移到已完成复制的链上，如果损伤又只发生在双链 DNA 中的一股单链，则下一轮的复制损伤链就只占 DNA 的 1/4，不断复制后，其比例就越来越低，称为把损伤链“稀释”掉。(图 11-28)。

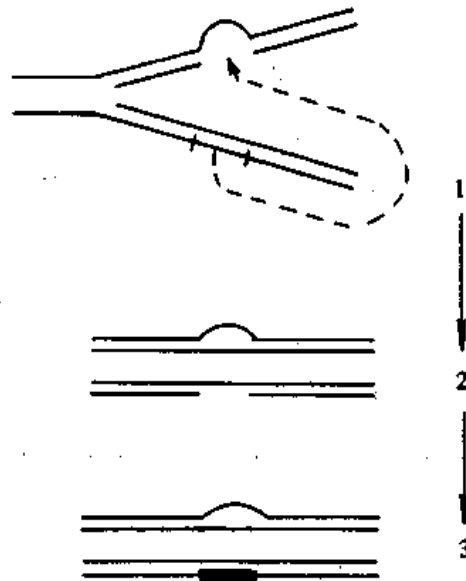


图 11-28 重组修复

1. 示损伤部位，虚线箭头示片段交换
2. 重组后，损伤链有缺陷单链，健康链带缺口
3. 粗短线代表健康链复制复原

(四) SOS 修复

SOS 是国际海难信号，这一命名表示这仅是一类应急性的修复方式。细胞采用这一修复方式是由于 DNA 损伤广泛至难以继续复制，由此而诱发出一系列复杂的反应。参与这一反应的，除了前述的切除修复基因 *uvr* 类，重组修复基因 *rec* 类的产物外，还有

调控蛋白 LexA 等。最近还发现, E. coli 的 DNA 聚合酶 II 是参与这一修复反应的。所有这些基因, 组成一个称为调节子(regulon)的网络式调控系统。这一网络引致的反应特异性低, 对碱基的识别、选择能力差。通过 SOS 修复, 复制如能继续, 细胞是可存活的。然而, DNA 保留的错误会较多, 引起较广泛、长期的突变。SOS 修复网络辖下的基因, 一般情况下都是不活跃、不表达的, 只有在紧急情况下才被整体地动员。用细菌为研究材料的实验还证明: 不少能诱发 SOS 修复机制的化学药物, 都是哺乳类动物的致癌剂。对 SOS 修复和突变、癌变的关系, 是肿瘤学上研究的热点课题之一。

第五节 逆转录现象和逆转录酶

高等生物的遗传物质大多数是双链 DNA, 但也有少数低等生物例如 M13 噬菌体, 其感染型只含有单链 DNA 作为遗传物质。某些病毒的基因组是 RNA 而不是 DNA, 这类病毒称为 RNA 病毒。1970 年, H. Temin 和 D. Baltimore 分别从 RNA 病毒中发现了一种酶, 能催化以单链 RNA 为模板合成双链 DNA 的反应。反应过程先以单链 RNA 的基因组为模板, 催化合成一条单链 DNA。产物与模板生成 RNA:DNA 杂化双链(duplex), 杂化双链中的 RNA 被 RNA 酶水解后, 再以新合成的单链 DNA 为模板, 催化合成第二链的 DNA (图 11-29)。催化此反应的酶称为逆转录酶(reverse transcriptase), 也称反转录酶。在感染病毒的细胞内, 上述三个反应都是由逆转录酶催化的。即该酶有 RNA 为模板催化 DNA 合成、水解杂化链上的 RNA 及用 DNA 作模板催化 DNA 合成三种活性。酶的作用

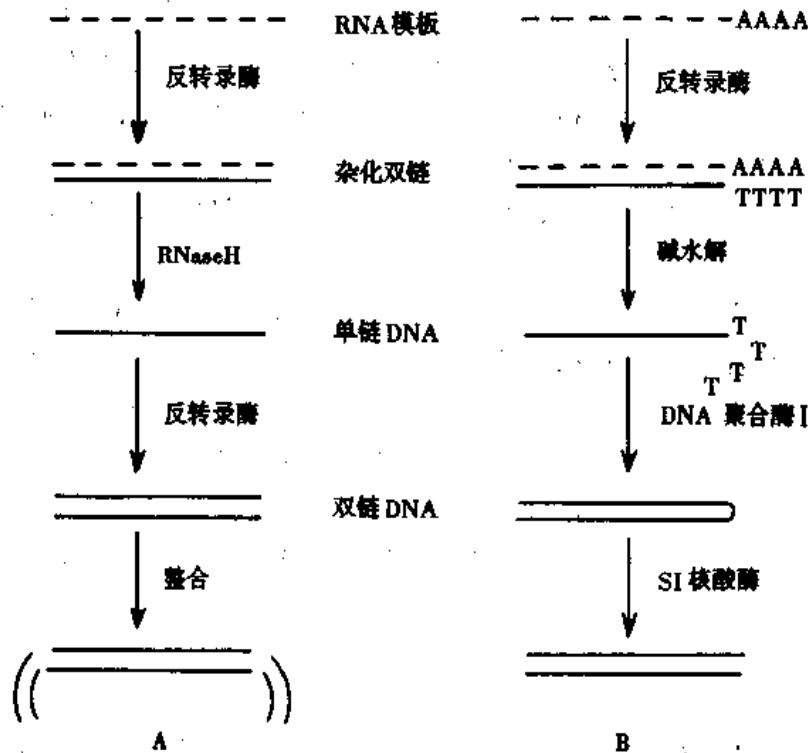


图 11-29 反转录酶催化的 cDNA 合成

A. 反转录病毒细胞内复制

B. 试管内合成 cDNA

用需 Zn^{2+} 的辅助。合成反应也是从 5' 向 3' 延伸新链。合成过程所用引物，现在认为是病毒本身的一种 tRNA。

逆转录(reverse transcription)也称为反转录，是依赖 RNA 的 DNA 合成作用；以 RNA 为模板，由 dNTP 聚合成 DNA 分子。此过程中，核酸合成与转录(DNA→RNA)过程遗传信息的流动方向相反(RNA→DNA)，故称为逆转录。也可以理解为，逆转录是某些生物的特殊复制方式。逆转录酶是依赖 RNA 的 DNA 聚合酶(RNA-dependent DNA polymerase)。

病毒感染活细胞后，在某些情况病毒基因组通过基因重组(recombination)方式，参加入宿主细胞基因组，并随宿主细胞复制和表达。这种重组方式称为整合(integration)。病毒基因的整合可能是病毒致癌的重要方式。如果是 RNA 病毒，要先经逆转录成为双链 DNA，才能进行整合。

逆转录酶和逆转录现象，是分子生物学研究中的重大发现。中心法则认为：DNA 的功能兼有遗传信息的传代和表达，因此 DNA 处于生命活动的中心位置。逆转录现象说明：至少在某些生物，RNA 同样兼有遗传信息传代与表达功能。这是对传统的中心法则的挑战。20 世纪 80 年代末，又发现某些 RNA，即核酶(ribozyme, 见第十二章第三节)有催化功能。过去所知有生物催化剂作用的酶，其化学本质都是蛋白质。核酶的发现，使科学界对 RNA 在生命活动中的重要性添加更深刻的认识。有人认为，RNA 在进化过程中是比 DNA 更早出现的生物大分子。

对逆转录病毒(retrovirus)的研究，拓宽了 20 世纪初已注意到的病毒致癌理论。鸡肉瘤病毒是 1911 年发现可使动物致癌的病毒，并以发现人命名为劳氏肉瘤病毒 RSV (Rous sarcoma virus)。至 70 年代初，从逆转录病毒中发现了癌基因(见第二十一章)。至今，癌基因研究仍是病毒学、肿瘤学和分子生物学的重大课题。人类免疫缺陷病毒(human immuno-deficiency virus, HIV)也是 RNA 病毒，也有逆转录功能。目前认为，HIV 是艾滋病(acquired immuno-deficiency syndrome, AIDS)的病原。

分子生物学研究还应用逆转录酶，作为获取基因工程目的基因的重要方法之一，此法称为 cDNA 法(图 11-29)。在人类这样庞大的基因组 DNA (3×10^9 bp) 中，要选取其中一个目的基因，有相当大难度。在某些情况下，对某一特定 RNA 进行提取、纯化，相对较为可行。取得 RNA 后，可以通过逆转录方式在试管内操作。用逆转录酶催化 dNTP 在 RNA 模板指引下的聚合，生成 RNA/DNA 杂化双链。用酶或碱把杂化双链上的 RNA 除去，剩下的 DNA 单链再作第二链合成的模板。在试管内以 DNA-pol I 的大片段，即 Klenow 片段催化 dNTP 聚合。第二次合成的双链 DNA，称为 cDNA。c 是互补(complementary)的意思。cDNA 转录又得回原来用作模板的那段 RNA，它就是这段 RNA 所编码的蛋白质的基因。

小 结

分子生物学的中心法则阐明了生物遗传信息传递的规律。通过复制使遗传信息能够代代相传。半保留复制是遗传信息能准确传代的保证，它是 DNA 双螺旋结构理论的延伸，而且可以用实验证实。复制是以脱氧三磷酸核苷(dNTP)为原料，通过生成磷酸二酯键使脱氧核苷酸(dNMP)连接成长链的化学过程。催化这一聚合反应的酶是 DNA 聚合

酶。原核生物的 DNA 聚合酶有 I, II, III 等种类。真核生物有 DNA 聚合酶 α , β , γ , δ , ϵ 多种。复制的起始把 DNA 双链解开, 需要其他酶和蛋白质因子参加, 例如解螺旋酶、DNA 拓扑异构酶、引物酶等。解开 DNA 双链成为复制叉之前, 先有引发体的生成。引发体是复制起始点上的 DNA 和以引物酶为主的多种蛋白质形成的复合物。复制中的新链, 总是从 5' 向 3' 方向延长的, 即底物 dNTP 去掉焦磷酸并以磷酸二酯键方式接续在延长中的 DNA 链末端的 3' OH 上。一个接一个地加合。DNA 双链走向相反, 而子链延长

第十二章 RNA 的生物合成(转录)

生物体以 DNA 为模板合成 RNA 的过程称为转录,意思是把 DNA 的碱基序列转抄成 RNA 的碱基序列。DNA 分子上的遗传信息是决定蛋白质氨基酸序列的原始模板。mRNA 把遗传信息从染色体内贮存的状态转送至胞质,作为蛋白质合成的直接模板。转录还包括 tRNA 和 rRNA 的生物合成,这两种 RNA 不用作翻译模板,但参与蛋白质的生物合成。

转录和复制都是酶促的核苷酸聚合过程,有许多相似之处:都以 DNA 为模板;都需依赖 DNA 的聚合酶;聚合过程都是核苷酸之间生成磷酸二酯键;都从 5' 至 3' 方向延伸成新链多聚核苷酸;都遵从碱基配对规律。但相似之中又有区别(表 12-1)。

表 12-1 复制和转录的区别

	复 制	转 录
模板	两股链均复制	模板链转录(不对称转录)
原料	dNTP	NTP
酶	DNA 聚合酶	RNA 聚合酶(RNA-pol)
产物	子代双链 DNA (半保留复制)	mRNA, tRNA, rRNA
配对	A-T, G-C	A-U, T-A, G-C

第一节 模板和酶

转录时, DNA 双链中一股单链用作模板链(template strand)按碱基配对规律指引核苷酸的聚合,催化聚合的酶是依赖 DNA 的 RNA 聚合酶(DNA dependent RNA polymerase, RNA-pol)。

一、转录模板

复制是为了保留物种的全部遗传信息,所以,基因组的 DNA 全长均需复制。转录是有选择性的,在细胞不同的发育时序,按生存条件和需要才转录。在基因组的庞大的 DNA 链上,也并非任何区段都可以转录。能转录出 RNA 的 DNA 区段,称为结构基因(structural gene)。转录的这种选择性,称为不对称转录(asymmetric transcription)。它有两方面含义:一是在 DNA 双链分子上,一股链可转录,另一股链不转录;其二是模板链并非永远在同一单链上(图 12-1)。

用 DNA、RNA 碱基序列测定,或用 RNA 对 DNA 的核酸杂交方法,都可以证明在

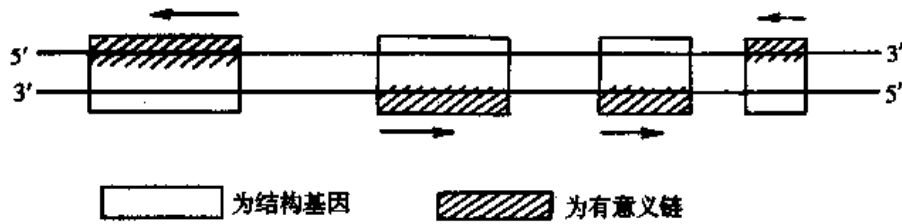


图 12-1 不对称转录

箭头示转录产物生成方向

DNA 双链上只有一股可转录。转录产物若是 mRNA，可用来作翻译模板，按照遗传密码决定氨基酸的序列(图 12-2)。

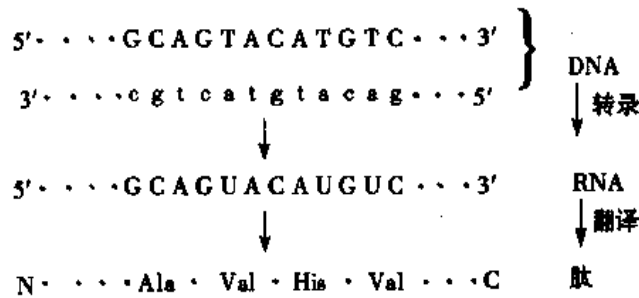


图 12-2 DNA 模板，转录产物 RNA 的核苷酸序列，以及翻译产物肽的氨基酸序列。DNA 双链中，以小写字母代表模板链，大写字母代表编码链

DNA 双链中按碱基配对能指引转录生成 RNA 的单股链，就是模板链，相对的另一股称为编码链(coding strand)。在图 12-2 中用小写字母示模板链，大写字母的一股是编码链。试比较 mRNA 与编码链的序列，会发现除了用 U 代替 T 外，其余是一致的，因为它们都与模板链互补。文献上刊出的 DNA 序列为避免繁琐，只写一单链即可，而且为方便查对遗传密码，一般写出的都是编码链。模板链也可称为有意义链或 Watson 链，编码链可称为反义链或 Crick 链。

从图 12-1 可以看到，在 DNA 双链某一区段，以其中一单链为模板链；在另一区段，又反过来以其对应单链作模板链。处在不同单链的模板链转录方向相反。转录和复制一样，产物链，即转录出的 RNA 链，总是从 5' 向 3' 方向延长的。图中的箭头指示的是转录的延长方向。

二、RNA 聚合酶

转录酶(transcriptase)即为 RNA 聚合酶(RNA-pol)。原核生物和真核生物的 RNA-pol 是有区别的。

(一) 原核生物的 RNA 聚合酶

目前已研究得比较透彻的是大肠杆菌(*E. coli*)的 RNA 聚合酶。这是一个分子量达 480kD，由 4 种亚基 α 、 β 、 β' 和 σ (sigma)组成的五聚体 ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$) 蛋白质。各亚基及其功能见表 12-2。

表 12-2 大肠杆菌 RNA 聚合酶组分

亚基	分子量	功能
α	36 512	决定哪些基因被转录
β	150 618	与转录全过程有关(催化)
β'	155 613	结合 DNA 模板(开链)
σ (sigma)	70 263	辨认起始点

$\alpha_2\beta\beta'$ 亚基合称核心酶 (core enzyme)。试管内的转录实验 (含有模板、酶和底物 NTP 等) 证明, 核心酶已能催化 NTP 按模板的指引合成 RNA。但合成的 RNA 没有固定的起始位点。而加有 σ 亚基的酶却能在特定的起始点上开始转录。可见 σ 亚基的功能是辨认转录起始点。 σ 亚基加上核心酶称为全酶 ($\alpha_2\beta\beta'\sigma$, holoenzyme)。活细胞的转录起始, 需要全酶。但至转录延长阶段, 则仅需核心酶。图 12-3 示 RNA 聚合酶全酶在转录起始区的结合。

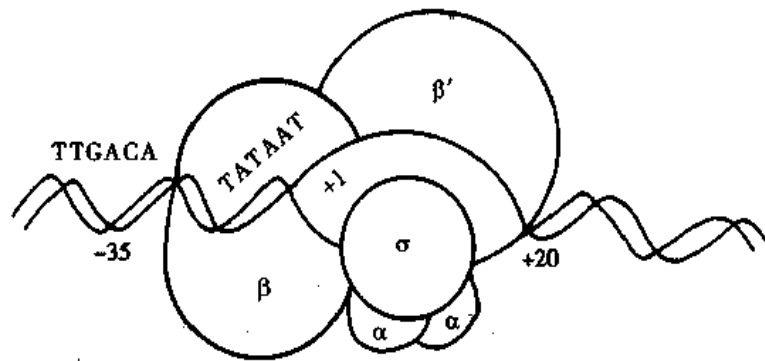


图 12-3 原核生物的 RNA 聚合酶全酶及其在转录起始区的结合
DNA 双链已打开, σ 因子尚未脱落

原核生物的 σ 亚基已发现多种, 通常用它们蛋白质的分子量来命名并加以区分。 σ^{70} (分子量 70kD) 是典型的辨认转录起始点的蛋白质。当细胞内、外环境发生变化时, 可能要动用一些平时并不表达的基因作出应答。例如有一种 σ 因子, σ^{32} (分子量 32kD), 是热休克 (应激) (heat shock) 应答反应必需的。 σ^{32} 辨认与典型的 -35 和 -10 序列完全不同的启动子序列, 以控制一套热休克基因的表达。现已发现, 真核生物也普遍存在热休克基因, 需热休克蛋白 (heat shock proteins, Hsp) 才能启动这些基因。而且发现, Hsp 和原核生物的 σ^{32} 在氨基酸组成和排列上有高度的同源性。例如固醇类激素在胞内的信号传递, 就需要 Hsp 的驱动。

其他原核生物的 RNA 聚合酶, 在结构、组成、功能上均与 E. coli 的 RNA 聚合酶相似。原核生物的 RNA 聚合酶, 都受一种抗生素特异性地抑制。利福平 (rifampicin) 或利福霉素是用于抗结核菌治疗的药物, 它专一性地结合 RNA 聚合酶的 β 亚基。在转录开始后才加入利福平, 仍能发挥其抑制转录的作用, 这就说明了 β 亚基是在转录全过程都起作用的。 β' 亚基是 RNA-pol 与 DNA 模板相结合相依附的组分, 所以也参与了转录全过程。 α 亚基决定转录哪些类型和种类的基因, 它不像 σ 亚基那样在转录延长时即脱落。所以, 由 $\alpha_2\beta\beta'$ 亚基组成的核心酶是参与整个转录过程的。

(二) 真核生物的 RNA 聚合酶

真核生物中已发现有三种 RNA 聚合酶，分别称 RNA 聚合酶 I、II、III。它们专一性地转录不同的基因，由它们催化的转录过程产物也各不相同(表 12-3)。鹅膏蕈碱(amanitin)是真核生物 RNA 聚合酶的特异性的抑制剂，三种真核生物 RNA 聚合酶对鹅膏蕈碱的反应不同。

表 12-3 真核生物的 RNA 聚合酶

种 类	I	II	III
转录产物	45S-rRNA	hnRNA	5S-rRNA, tRNA, snRNA
对鹅膏蕈碱的反应	耐受	极敏感	中度敏感

转录是遗传信息表达的重要环节。真核生物在核内转录生成 hnRNA，然后加工成 mRNA 并输送给胞质的蛋白质合成体系，起着从功能上衔接 DNA 和蛋白质两种生物大分子的作用。mRNA 是各种 RNA 中寿命最短、最不稳定的，需经常重新合成。在这个意义上说，RNA 聚合酶 II(转录生成 hnRNA 和 mRNA)可认为是真核生物中最活跃的 RNA 聚合酶。

RNA 聚合酶 III 转录的产物都是小分子量的 RNA。tRNA 的大小都在 100 核苷酸以下，5S-rRNA 的大小约为 120 核苷酸。小分子核内核糖核酸(small nuclear RNA, snRNA)有多种，由 90~300 核苷酸组成，参与 RNA 的剪接过程。

RNA 聚合酶 I 转录产物是 45S-rRNA，经剪接修饰(本章第三节)生成除 5S-rRNA 外的各种 rRNA。由 rRNA 与蛋白质组成的核蛋白体(核糖体, ribosome)是蛋白质合成的场所。真核生物的 rRNA 基因是一些中度重复的基因，抄本数都在百多个至数百个，人类 rRNA 基因约有 300 个抄本。

RNA 聚合酶 I, II, III 都由多个亚基组成。用电泳法分离三种 RNA 聚合酶的各亚基结果见图 12-4。

从电泳图谱中发现一个有趣的现象：有些亚基是两种或三种酶共有的，分子量在 100kD 以上的亚基，每种酶各有二个，且都各不相同；只是分子量较小(低于 40kD)的亚基，会同时出现在两种或三种酶上。进一步的序列分析表明：RNA-pol II 的分子量为 138 750 的亚基，其一级结构与 E. coli 的 RNA-pol β 亚基有高度的

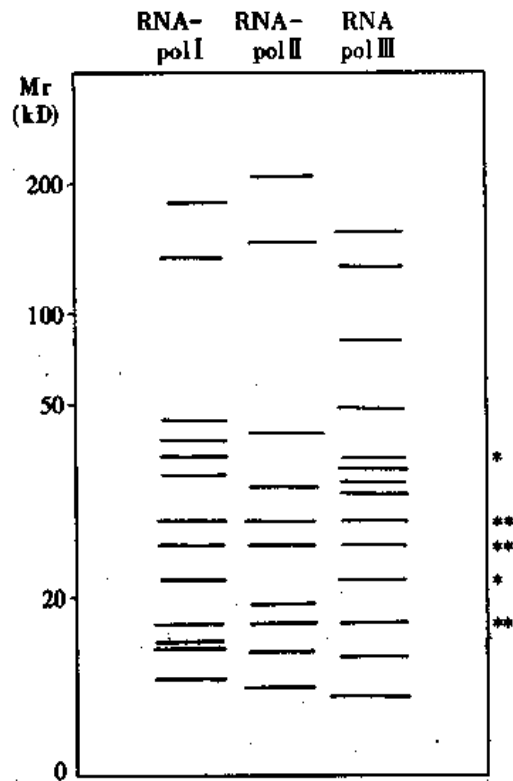


图 12-4 RNA 聚合酶 I、II、III 各种亚基的电泳分离

*表示 2 种, **表示 3 种酶共有的亚基
纵轴对数标尺示分子量(kD), 蛋白质电泳移动距离是和分子量的对数成正比的

同源性。

三、模板与酶的辨认结合

转录是不连续、分区段进行的(图 12-1)。每一转录区段可视为一个转录单位,称为操纵子(operon)(见第十四章)。操纵子包括若干个结构基因及其上游(upstream)的调控序列。调控序列中的启动子(promoter)是 RNA 聚合酶结合模板 DNA 的部位,也是控制转录的关键部位。

原核生物以 RNA 聚合酶全酶结合到 DNA 的启动子作为转录起始,其中靠 σ 亚基辨认启动子,其他亚基相互配合。对启动子的研究,常采用一种巧妙的方法即 RNA-pol 保护法:先把一段基因分离出来,然后和提纯的 RNA 聚合酶混合,再加进核酸外切酶作用一定时间后, DNA 链上多聚核苷酸已受核酸外切酶水解,生成游离核苷酸。但总有一段 40 至 60 碱基对的片段是完整的。这表明,这段 DNA 因与 RNA 聚合酶结合而受到保护。这段受保护的 DNA 又总是位于结构基因的上游。所以这一被保护的 DNA 区段,就是被 RNA 聚合酶辨认和结合的区域,并在这里准备开始转录(图 12-5)。

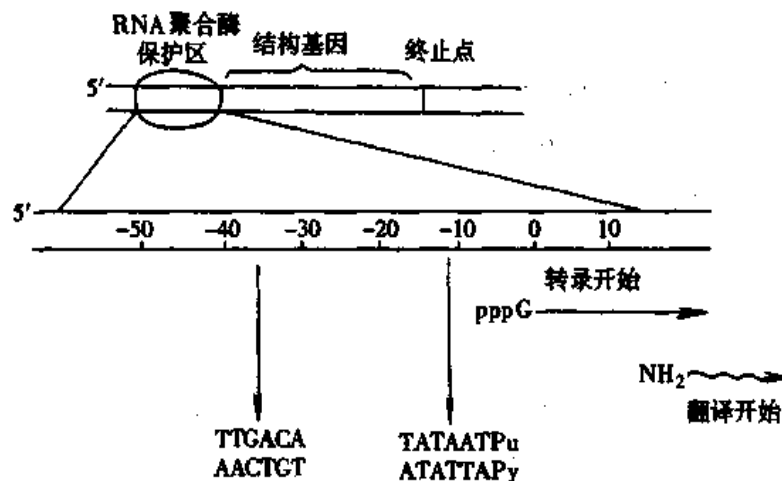


图 12-5 用 RNA 聚合酶保护法研究转录起始区

图中都把受酶保护的 DNA 区段放大,图最下示

-35 区段和 -10 区段的共有序列

进一步分析这段保护区的碱基组成,发现该区含 A-T 配对较多。若以开始转录生成 RNA 5'端第一个核苷酸的位置为 1,以负数表示上游的碱基数,在分析过百种不同的原核生物基因操纵子之后,发现它们在碱基序列上的一些共同规律(图 12-6)。这些共有的序列称为保守序列或一致性(consensus)序列。当然不可能是百分之百的一致,该图是统计了 45 个操纵子之后得到碱基序列组成规律,最下一行的数字,代表该位置上 45 个操纵子中出现该碱基的数目。图左的 *trp*, *lac* 等是不同操纵子的名称,不可能把 45 个全列出,仅举其中几个。 $N_{16,17,18}$ 为 -35 区与 -10 区相隔的核苷酸数目, N_6 , N_7 是 -10 区至转录起始点相隔的核苷酸数。

碱基序列分析的结果表明, -35 区的一致性序列是 TGCACA, -10 区是 TATAAT。后者由 D. Pribnow 首先发现,也称为 Pribnow 盒(Pribnow box)。实验中,通过比较 RNA-

	-35区	-10区	+1
trp	T T G A C A ... N ₁₇ ...	T T A A C T · N ₇ · A ...	
tRNA ^{trp}	T T T A C A ... N ₁₆ ...	T A T G A T · N ₇ · A ...	
lac	T T T A C A ... N ₁₇ ...	T A T G T T · N ₆ · A ...	
recA	T T G A T A ... N ₁₆ ...	T A T A A T · N ₇ · A ...	
ars	C T G A C G ... N ₁₈ ...	T A C T G T · N ₆ · A ...	
最大一致性	T T G A C A	T A T A A T	
x/45	38 36 29 37 37 28	40 25 30 41 29 44	

图 12-6 被 RNA 聚合酶保护的 DNA 区段碱基序列分析

1~5 行举出几个具体操纵子的分析结果 6, 7 行示

对 45 个操纵子分析后得出的一致性序列

pol 结合不同区段测得的平衡常数, 并改变作用条件, 发现 RNA-pol 结合 -10 区比结合 -35 区相对牢固些。从 RNA-pol 分子大小与 DNA 链长的比较, 可确定结合 DNA 链能达到的长度。这些结果都能验证 -35 区是 RNA 聚合酶结合的起始位点。

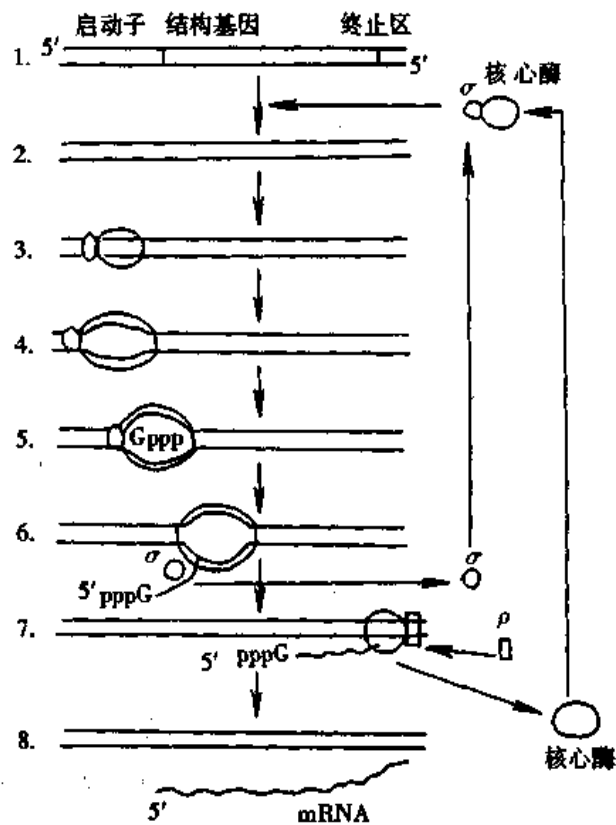


图 12-7 转录过程

1. 待转录的基因；2. 待转录的基因；3'至5'的单股为有意义链；3, 4 起始，全酶结合于启动区；5. 第一个 pppG 加入；
6. σ 因子释出后开始延长；7. 终止， ρ 因子加入，核心酶释出；8. 转录完成

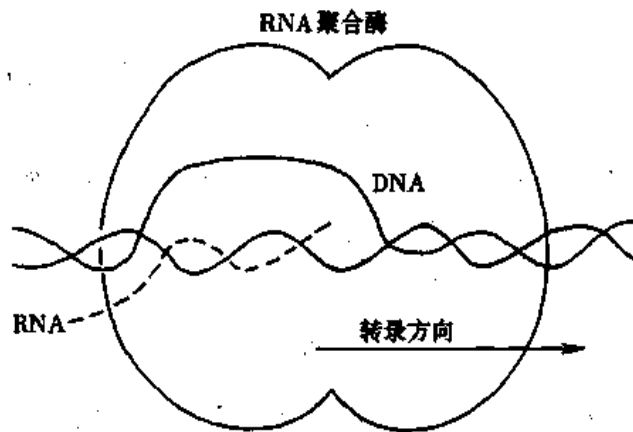


图 12-8 原核生物的转录空泡

原核生物需要靠 σ 因子辨认转录起始点，被辨认的 DNA 区段就是 -35 区的 TTGACA 序列。在这一区段，酶与模板的结合很松弛，酶随即移向 -10 区的 TATAAT 序列并跨入了转录起始点。转录起始不需引物，两个与模板配对的相邻核苷酸，在 RNA-pol 催化下生成磷酸二酯键就可以直接连结起来，这也是 DNA-pol 和 RNA-pol 分别对 dNTP 和

NTP 的聚合作用最明显的区别。转录起始生成 RNA 的第一位，即 5'-端总是三磷酸嘌呤核苷 GTP 或 ATP，又以 GTP 更为常见。当 5'-GTP (5'-pppG-OH) 与第二位 NTP 聚合生成磷酸二酯键后，仍保留其 5'端三个磷酸，也就是 1, 2 位聚合后，生成 5' pppGpN-OH3'。这一结构也可理解为四磷酸二核苷酸，它的 3'端有游离羟基，可以加入 NTP 使 RNA 链延长下去。RNA 链上这种 5'-端结构不但在转录延长中一直保留，至转录完成，RNA 脱落，也还有这 5'端的结构。

由此可见，转录的起始就是生成一个起始复合物，它有别于图 12-8 的转录复合物仅存在于 RNA 链并未延伸，而 RNA 聚合酶是全酶而不具核心酶。

地控制基因是否转录、何时转录。反式作用因子中，直接或间接结合 RNA 聚合酶的，则称为转录因子(transcriptional factor, TF)。相应于 RNA-pol I, II, III 的 TF, 分别称为 TF I, TF II, TF III。研究得较深入的, 已知种类较多的是 TF II。

(三) 转录因子和真核生物的转录起始复合物

真核生物的 TF II 又分 TF II A, TF II B……等等, 其中主要的 TF II 已比较清楚它们的功能者, 列于表 12-4。

表 12-4 参与 RNA-pol II 转录的 TF II

转录因子	分子量(kD)	功 能
TF II A	12, 19, 35	稳定 TF II D 结合
TF II B	33	促进 pol II 结合
TF II D	38	辨认 TATA 盒
TF II E	34 (β) 57 (α)	ATPase
TF II F	30, 74	解旋酶

原核生物 RNA-pol 全酶可以结合启动子。即使没有 σ 因子, 核心酶也能非特异地结合模板 DNA 进行转录。但实验证明, 真核生物 RNA 聚合酶不与 DNA 分子直接结合。在众多 TF II 中 TF II D 是目前已知唯一能结合 TATA 盒的蛋白质。TF 的大分子还可划分为多个结构域(domains), 不同结构域有结合 DNA, 结合其他 TF, 激活其他 TF, 激活其他酶的作用。现在分离得到的 TF II Dz 亚基是结合 TATA 盒的。

真核生物转录起始也形成 RNA-pol-开链模板的复合物, 但在开链之前, 必须先靠 TF 之间互相结合, 然后 RNA-pol II 才加入这个复合物中, 再形成起始前复合物(pre-initiation complex, PIC)。以 TF II-D 首先结合 TATA 盒为核心, 逐步形成 PIC 的次序如下, 并见图 12-10。

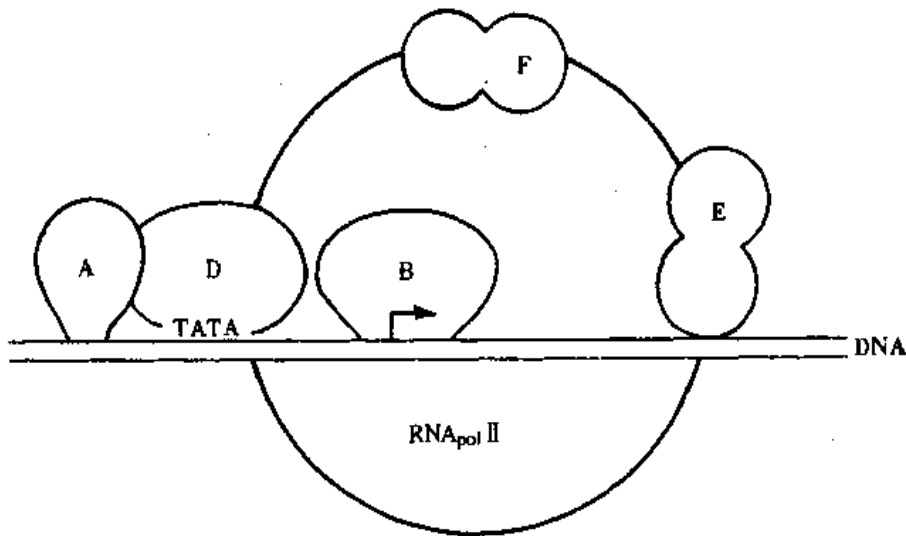


图 12-10 转录前起始复合物(真核生物)



大多数的 TFII 或其亚基(B, Dz, E α , E β , F)的氨基酸序列分析表明:它们与原核生物的 σ 因子有不同程度的一致性序列。原核生物 σ 因子和真核生物的众多 TFII, 在进化上的亲缘关系, 是一个值得深入研究的问题。除了 TFII 研究得较清楚外, 对不同基因转录特性的研究已广泛开展, 并发现数以百计、数量还在不断增加的转录因子。人类基因估计约有 10 万个, 为了保证转录的准确性, 不同基因需不同转录因子, 这是可理解的。转录因子是蛋白质, 也需基因为它们编码。如此延伸下去, 10 万个基因岂不是不够用? 现在公认的称为拼板理论(piecing theory)认为: 一个真核生物基因的转录需要 3 至 5 个转录因子, 因子之间互相结合, 就如图 12-10 那样的形式, 生成有活性、有专一性的复合物, 再与 RNA 聚合酶搭配而有针对性结合、转录相应的基因。转录因子的相互辨认结合, 恰如儿童玩具七巧板那样, 搭配得当就能拼出有意义的图形。按照拼板理论, 人类基因虽数以万计, 但需要的转录因子可能有 300 多个就能满足表达不同类型基因的需要。目前不少实验都支持这一理论。

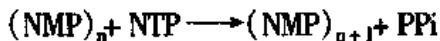
二、转录延长

转录延长的化学反应, 在原核生物和真核生物之间没有太多的区别, 只是催化的 RNA 聚合酶是不相同的。

原核生物的转录起始复合物形成后, σ 亚基即脱落。

随着 σ 亚基脱落, 核心酶的构象会发生改变。起始区的 DNA 有特殊的碱基序列, 因此, 酶与模板的结合有高度特异性, 而且较为紧密。过了起始区, 不同基因的碱基序列大不相同, 所以, RNA 聚合酶与模板的结合就是非特异性的。而且结合得较为松弛, 有利于 RNA 聚合酶迅速向前移动。RNA 聚合酶构象的改变, 就是适应于这种不同区段的结构与需要的。

转录延长的每次化学反应, 可以写成:

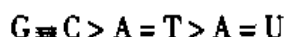


此式和复制的延长反应基本相同(见第十章), 不同的只是核糖部分是否 2'-脱氧。磷酸二酯键是在核糖 3'-OH, 5'磷酸之间生成, 核糖 2'-脱氧对此键的生成无影响。

在起始复合物上, 3'-末端仍保留糖的游离 OH 基。底物三磷酸核苷上的 α -磷酸就可与这一 3'-OH 起反应, 生成磷酸二酯键。同时脱落的 β 、 γ 磷酸基则生成无机焦磷酸。聚合进去的核苷酸又有 3'-OH 游离, 这样就可按模板链的指引, 一个接一个地延长下去。产物 RNA 没有 T; 遇到模板为 A 的位置时, 转录产物相应加 U。A-T 配对是 2 个氢键, A-U 配对也同样是 2 个氢键。转录延长过程中, RNA 聚合酶是沿着 DNA 链向前移动, 上文提及的转录空泡和 5'-pppG... 结构依然保留, 新合成的 RNA 链与模板链互补。由于 RNA 聚合酶分子大, 覆盖着解开的 DNA 双链和 DNA:RNA 杂化双链的一部分, 此时, 酶-DNA-RNA 形成的复合物称为转录复合物, 有别于转录起始复合物。

转录复合物也形象地称为转录空泡(图 12-8), 就是说, 模板 DNA 只打开一定限度, 而不像复制那样解成复制叉。从图中也可看到, 转录产物 RNA 3'端的一小段, 是依附结合于模板链上未脱离的。这种结合靠的是 RNA 与模板链上的碱基配对, 如果 RNA 完全脱离出来, 转录也就终止了。但 RNA 5'端长长的一段却离开了模板伸展在空泡之外。

这个道理，可从化学结构上得到解释。DNA-DNA 形成双链的结构，比 DNA-RNA 形成的杂化双链(hybrid duplex)稳定。核酸的碱基之间形成配对不外三种，其稳定性是：



$G \equiv C$ 配对有 3 个氢键，是最稳定的。 $A = T$ 配对只在 DNA 双链形成。 $A = U$ 配对可能在 RNA 分子或 DNA:RNA 杂化双链上形成，是三种配对中稳定性最低的。所以已经转录完毕的局部 DNA 双链，就必然会复合而不再打开。根据这些道理，也就易于理解空泡为什么会形成，而转录产物又是向外伸出了。伸出空泡的 RNA 链，其最远端就是最先生成的 pppGpN-，转录产物是从 5'向 3'延长。但如果从 RNA 聚合酶的移动方向来说，酶是沿着模板链的 3'向 5'方向，或沿着新生 RNA 链的 5'向 3'方向前进。

在电子显微镜下观察原核生物的转录现象，可看到像羽毛状的图形(图 12-11)。这种形状说明在同一 DNA 模板上，有多个转录同时在进行。图中由右至左，RNA 聚合

合力最强。但 Rho 因子对 poly dC/dG 组成的 DNA 的结合能力就低得多。在依赖 Rho 终止的转录中，发现产物 RNA 3'端有较丰富的 C，或有规律地出现 C 碱基。据此推论，转录终止信号存在于 RNA 而非 DNA 模板。后来还发现 Rho 因子有 ATP 酶活性和解螺旋酶 (helicase) 的活性。目前认为，Rho 因子终止转录的作用是与 RNA 转录产物结合(图 12-12)，结合后 Rho 因子和 RNA 聚合酶都可能发生构象变化，从而使 RNA 聚合酶停顿，解螺旋酶的活性使 DNA:RNA 杂化双链拆离，利于转录产物从转录复合物中释放。

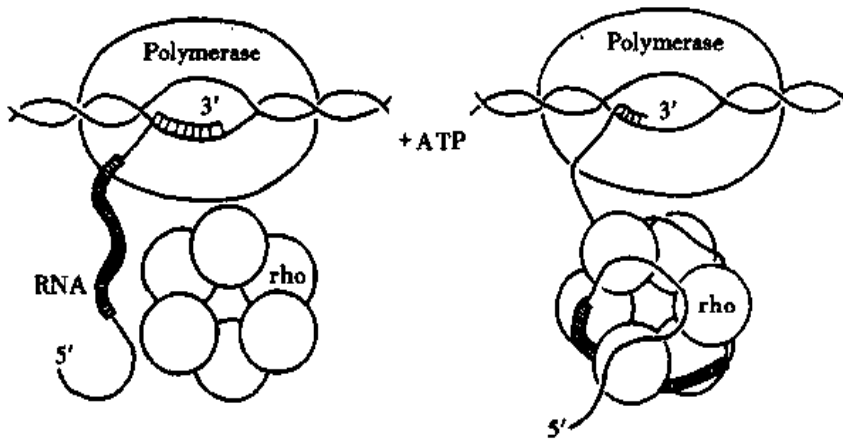


图 12-12 Rho 因子的作用原理

RNA 链上带条纹线代表富含 C 的区段 Rho 因子结合 RNA (右)，发挥其 ATP 酶及解螺旋酶活性

2. 非依赖 Rho 的转录终止 在 λ (lambda) 噬菌体中，又发现一些蛋白质有协助 RNA 聚合酶跨越终止部位的作用。这些蛋白质称为抗转录终止蛋白，例如 λ 噬菌体的 N 基因产物。N 基因开放，转录就会继续。但无论 Rho 因子或抗终止蛋白，都是在模板之外发生影响的。现在发现，DNA 模板上靠近终止处有些特殊碱基序列，转录出 RNA 后，RNA 产物形成特殊的结构来终止转录。这就是非依赖 Rho 因子的转录终止的作用方式。

首先是 DNA 模板接近终止转录的区域内，发现有较密集的 A-T 配对区或 G-C 配对区。据此线索分析转录产物的 3'-末端，发现常有若干个连续的 U。把连续的 U 区 5'-端前方的一级结构加以排列，在接近终止区发现这些碱基又可形成鼓槌状的茎环 (stem-loop) 或称发夹 (hairpin) 结构。

图 12-13 是大肠杆菌核蛋白体蛋白 rpl-L (ribosomal protein large subunit) 基因 3'-末端的碱基序列。可以形成局部双链的碱基用黑底线画出，碱基英文字母的上方和下方的黑线，分别对应于转录产物二级结构的左图及右图。鼓出的单链用弧线画出。可见，这个转录终止区产物有两种形成发夹结构的可能。研究其他转录单位，也发现接近终止区的转录产物有形成发夹结构的情况。

非依赖 Rho 因子的转录终止模式如图 12-14。RNA 链延长至接近终止区时，转录出的碱基序列随即形成茎-环结构。这种二级结构是阻止转录继续向下游推进的关键。其机制可从两方面理解：一是茎环结构在 RNA 分子中形成，可能改变 RNA 聚合酶的构象。注意 RNA 聚合酶的分子量大，它不但覆盖转录延长区，也覆盖部分 3'-端新合成的 RNA 链，包括 RNA 的茎环结构。由酶的构象改变导致酶-模板结合方式的改变，可使酶

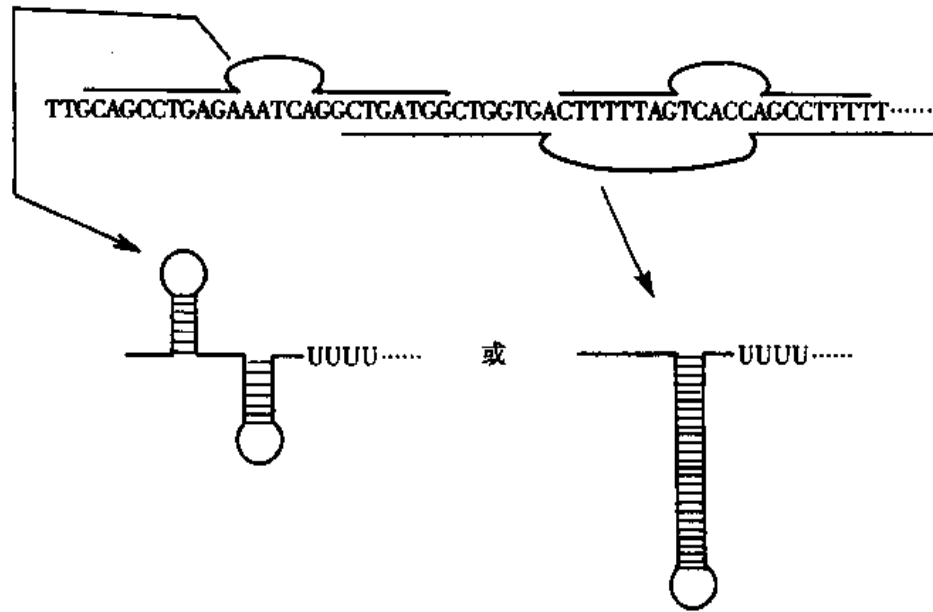


图 12-13 大肠杆菌 rpl-L 基因 3' 末端碱基序列(上)
rpl-L 转录产物二级结构(下)

不再向下游移动，于是转录停顿。其二，转录复合物(酶-DNA-RNA)上有局部的 RNA:DNA 杂化短链。此时，RNA 分子上要形成自己的局部双链(茎环的茎)，DNA 分子也要回复双链。DNA 和 RNA 各自形成自身双链，杂化链只能比应有的长度来得更短，本来不稳定的杂化链更为不稳定，转录复合物趋于解体。至于接着一串寡聚 U，则更是使 RNA 链从模板上脱落的促进因素。因为所有的碱基配对中，以 rU:dA 配对最为不稳定。

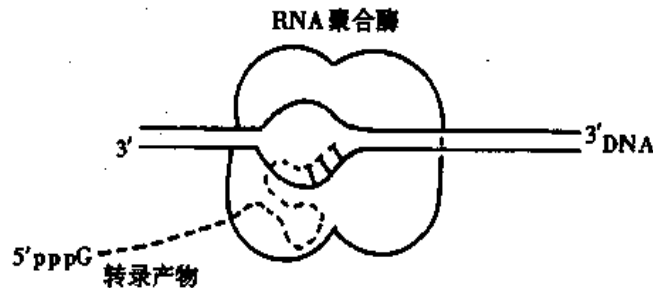
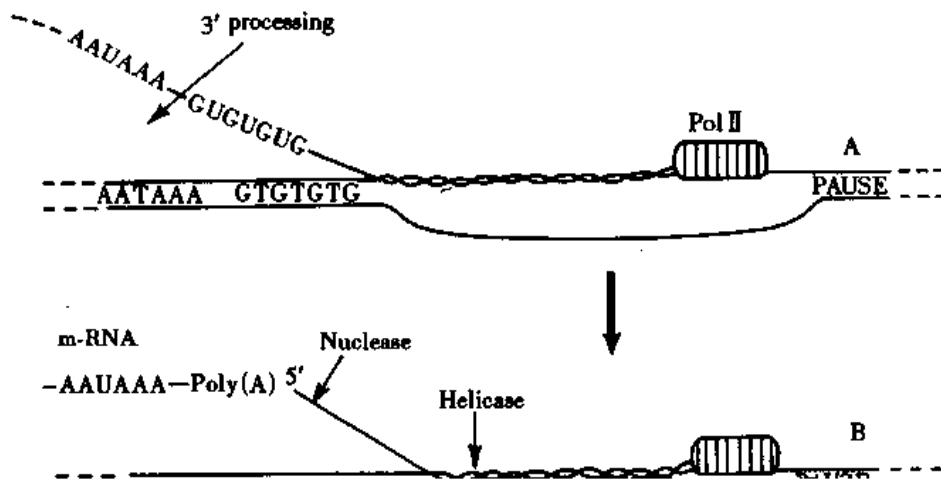


图 12-14 原核生物转录终止的模式
由转录产物影响转录终止

(二) 真核生物的转录终止

真核生物的转录终止，是和转录后修饰密切相关的。真核生物 mRNA 带有聚腺苷酸 (poly A) 尾巴的结构，是转录后才加进去的，因为在模板链上没有相应的聚胸苷酸 (poly dT)。转录不是在 poly A 的位置上终止，而是超出数百个乃至上千个核苷酸后才停顿。已发现，在模板链读码框架的 3' 端之后，常有一组共同序列 AATAAA，再下游还有相当多的 GT 序列。这些序列称为转录终止的修饰点(图 12-15)。

转录越过修饰点后，mRNA 在修饰点处被切断，随即加入 poly A 尾及 5'-帽子结构。余下的 RNA 虽继续转录，但很快被 RNA 酶降解。因此有理由相信，帽子结构是保护



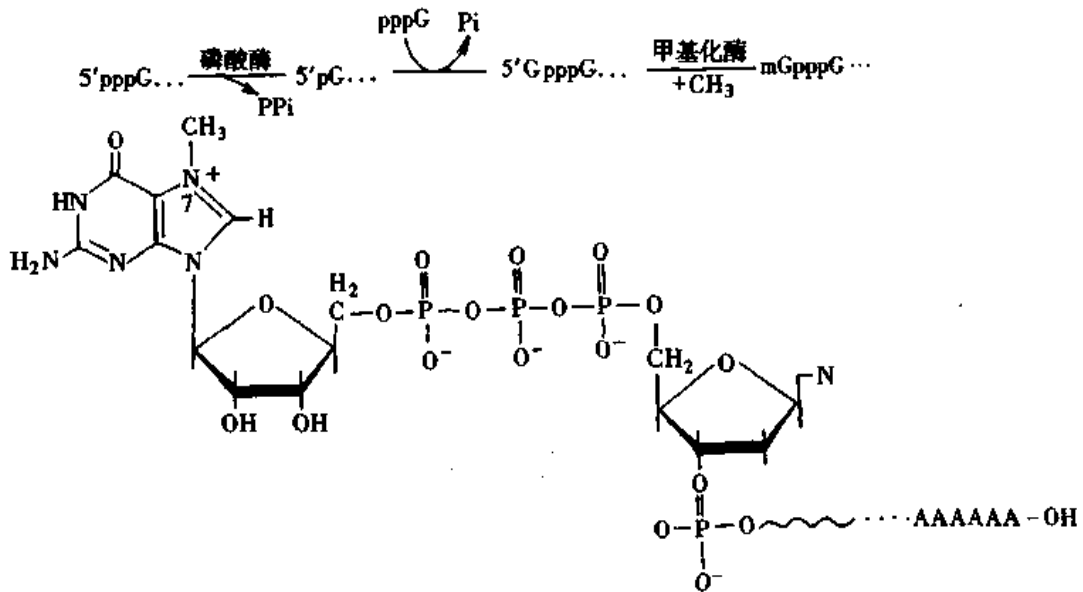


图 12-16 mRNA 帽子结构的生成(上)

及帽子结构的详细结构式(下)

式中示第一个 G N-7 位甲基化(称为帽 0)甲基化也可以发生在 5' 端两个 G 之间的核糖上,或在第二位(通常也是 G)碱基上(帽 1);或多个位点上甲基化(帽 3)

需的一种因子。原核生物 mRNA 没有帽子结构。

3'-端的修饰主要是加上聚腺苷酸尾巴(polyA tail)。根据在大多数已研究过的基因中,都没有 3'-端多聚 T 相应序列的事实,可以说明 poly A 的出现是不依赖 DNA 模板的。转录最初生成的 mRNA 3'-末端往往长于成熟的 mRNA。因此认为,加入 poly A 之前,先由核酸外切酶切去 3'-末端一些过剩的核苷酸,然后加入 poly A。在 hnRNA 上也发现 poly A 尾巴,推测这一过程也应在核内完成,而且先于 mRNA 中段的剪接。尾部修饰是和转录的终止同时进行的过程,见图 12-15。

poly A 的长度很难确定,因其长度随 mRNA 的寿命而缩短,而且都经过提取阶段才进行测定,能否准确从数量反映体内情况是个问题。随着 poly A 缩短,翻译的活性下降。因此推测 poly A 的有无与长短,是维持 mRNA 作为翻译模板的活性,以及增加 mRNA 本身稳定性的因素。一般真核生物在胞浆内出现的 mRNA,其 poly A 长度为 100 至 200 个核苷酸之间,也有少数例外,如组蛋白基因的转录产物,无论是初级的或成熟的,都没有 poly A 尾巴。

(二) 真核生物的 mRNA 的剪接

1. hnRNA 和 snRNA 核内出现的转录初级产物,分子量往往比在胞浆内出现的成熟 mRNA 大几倍,甚至数十倍,核内的初级 mRNA 称为杂化核 RNA (hetero-nuclear RNA, hnRNA)。核酸序列分析证明,mRNA 来自 hnRNA,不过去掉了相当大部分的中间片段。核酸杂交试验又证明,hnRNA 和 DNA 模板链可以完全配对;成熟的 mRNA 与模板链 DNA 杂交,出现部分的配对双链区域和中间相当多鼓泡状突出的单链区段。根据上述这些实验结果,20 世纪 70 年代末提出了真核生物基因的断裂性的概念。snRNA (small

nuclear RNA)是核内的小型 RNA, 由百余个至 300 个核苷酸组成, 现已发现的有 sn-RNA U₁, U₂, U₄, U₅, U₆ 等类别。snRNA 和核内的蛋白质组成核糖核酸蛋白体, 称为并接体(spliceosome), 并接体结合在 hnRNA 的内含子区段, 并把内含子弯曲使两端(5'和 3'端)互相靠近, 利于剪接过程的进行。

2. 断裂基因(splite gene), 外显子(exon)和内含子(intron) 真核生物的结构基因, 由若干个编码区和非编码区互相间隔开但又连续镶嵌而成, 为一个由连续氨基酸组成的完整蛋白质编码, 因此称为断裂基因。用外显子和内含子分别表示相应的编码和非编码序列。胰岛素这种简单的蛋白质, 由 2 个内含子把编码序列隔开。C 肽是胰岛素原才有的, 转变成有活性的胰岛素时, C 肽被水解掉。C 肽的基因也是被内含子隔断的(图 12-17)。

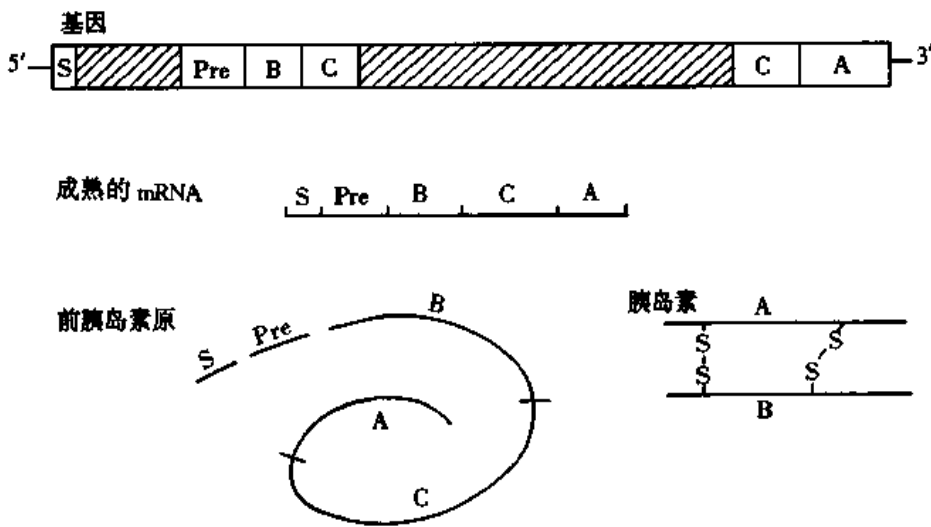


图 12-17 胰岛素的基因、转录和翻译产物
斜线示内含子; S: 信号肽;
A, B: 胰岛素的亚基; C: C 肽;
Pre: 前导序列

最庞大的一个人类基因是抗肌萎缩蛋白(distrophin)基因, 全长数百万核苷酸对(10^6 bp), 由 50 多个外显子和相应 50 多个内含子相隔, 成熟的 mRNA 仅万余核苷酸。

3. mRNA 的剪接 剪接就是把 hnRNA 中的内含子除去, 把外显子连接起来, 按 A. Klessig 提出的模式, 内含子弯成套索状, 称套索 RNA (lariat RNA), 外显子互相靠近并连接。例如: 鸡的卵清蛋白基因全长 7.7kb (kilobase pairs, 千碱基对), 有 8 个外显子, 即先导序列 L 和外显子 1 至 7, 为该蛋白的 386 个氨基酸编码, 如图 12-18 所示。7 个内含子, 即图中 A 至 G, 把外显子相隔开。

从图中可见, hnRNA 是和相应的基因等长的, 即内含子也存在于初级转录产物中。图的最上方为成熟的 mRNA 与 DNA 模板链的电镜杂交所见, 虚线代表 mRNA, 实线为 DNA 模板。套索结构(图 12-19)就是根据电镜所见而提出的。现在对这一剪接过程已经有较深入的了解。

首先还是从一级结构分析入手。现已发现大多数内含子都以 GU 为 5'端的起始, 而

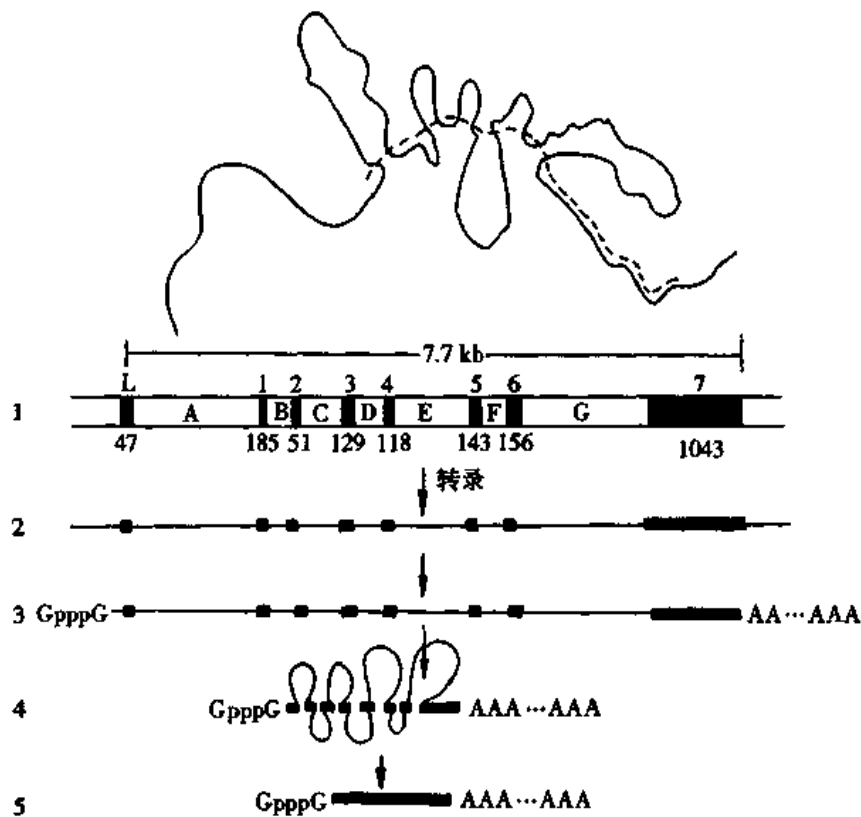


图 12-18 断裂基因及其转录、转录后修饰

1. 卵清蛋白基因；
2. 转录初级产物 hnRNA；
3. hnRNA 的首、尾修饰；
4. 剪接过程中套索 RNA 的形成；
5. 胞浆中出现的 mRNA，套索已去除

图上方为成熟 mRNA 与基因 DNA 杂交的电泳所见，虚线代表 mRNA，实线为 DNA 模板

其末端则为 AG-OH-3'。因此把 5'GU……AG-OH-3'称为剪接接口 (splicing junction) 或边界序列。剪接后，GU 或 AG 不一定被剪除掉，内含子靠近 3'端还有一个甲基化的嘌呤核苷酸如^mG，在形成套索中起关键的作用。

剪接过程是先有并接体和 hnRNA 的结合。并接体上的 U₁-snRNA 和 U₂-snRNA 分别靠碱基互补关系去辨认及结合内含子的 5'和 3'端(图 12-19)。

剪接过程称为二次转酯反应 (transesterification)(图 12-20)。图中所示的 2 个外显子 E₁ 和 E₂ 之间的内含子(I)因与并接体结合而弯曲为 5'端与 3'端互相靠近。图中未绘出并接体，而内含子可因有小部分碱基与外显子互补而互相依附。第一次转酯反应需要核内的含鸟苷酸 pG、ppG 或 pppG 的辅酶，以 3'-OH 基对 E₁/I 之间的磷酸二酯键作亲电子攻击，使 E₁/I 之间的共价键断开，pG 则取代 E₁ 成为 I 的 5'端，E₁ 的 3'-OH 游离出，所以称为转酯反应。第二次转酯反应由 E₁ 的 3'-OH 对 I/E₂ 之间的磷酸二酯键作亲电子攻击，使 I 与 E₂ 断开，而由 E₁ 取代了 I，这样，2 个外显子就相连起来而内含子则被切除掉。

(三) 内含子的其他剪接方式及功能

关于内含子的功能，有 2 种不同看法。一种见解认为，内含子是在进化中出现和消失的，内含子如果有功能，只不过是有益于物种的进化选择。例如细菌丢失了内含子，

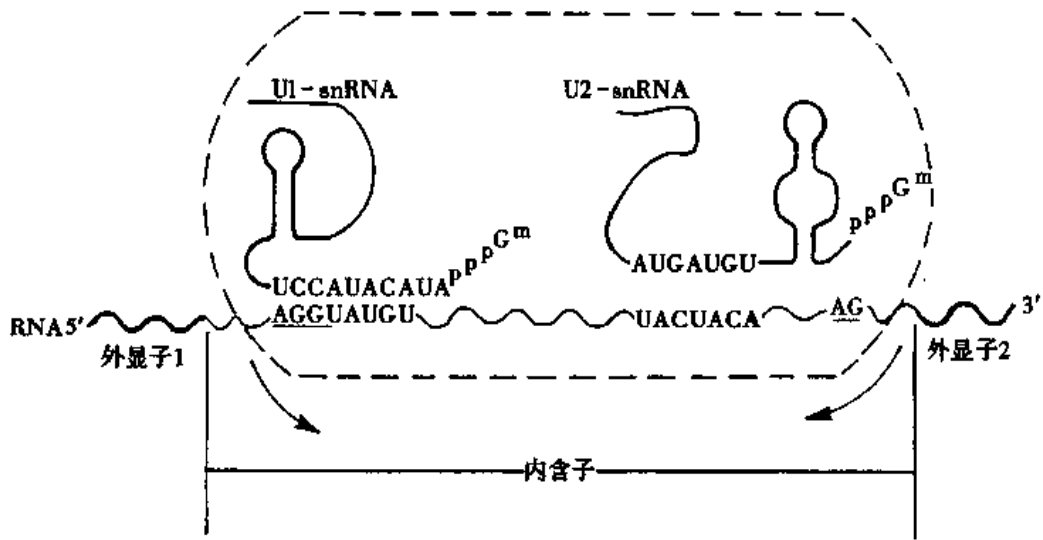


图 12-19 拼接体与 hnRNA 的结合

虚线范围为拼接体：是由 snRNA (只绘出 U₁ 和 U₂) 和蛋白质组成的核糖

RNA 分子起酶的作用而催化剪接(见下述)。

第Ⅲ类内含子是常见的形成套索结构后剪接的内含子，大多数的 mRNA 基因有此类内含子。

第Ⅳ类内含子是 tRNA 的基因及其初级转录产物中的内含子，剪接过程需酶及 ATP (见下述)。

2. 从中断基因线性表达的方式，有人又把内含子分为翻译前、翻译绕过、翻译后删除三种：

翻译前删除内含子：就是上述典型的、常见的内含子，在 RNA 加工中被除去；

翻译绕过式内含子：这些内含子不被剪接删除，但一般不翻译。在特定条件下却可翻译出有调控功能的、在原有外显子插入了一段氨基酸序列的蛋白质；

翻译后删除内含子：这是把蛋白质翻译后加工也算入内含子的概念中来。例如图 11-17 胰岛素的 C 肽是不存在于有活性的胰岛素分子上的，如按这一定义，C 基因也可认为是内含子。类似的翻译后加工情况，在真核生物是很常见的。

显然，最初把外显子、内含子分别定义为可翻译与不翻译的组分，是不够恰当的。因此目前的定义应扩充为：外显子是在断裂基因及其初级转录产物上可表达的片段。内含子是隔断基因线性表达的序列。

二、tRNA 的转录后加工

真核生物的 tRNA 由 RNA-pol III 催化生成初级转录产物，然后加工成熟。图 12-21 是 tRNA 的基因及初级产物。比较初级与成熟 tRNA，可以看出 5' 端和分子中部分核苷酸在转录后加工被除去，图中用虚线表示。

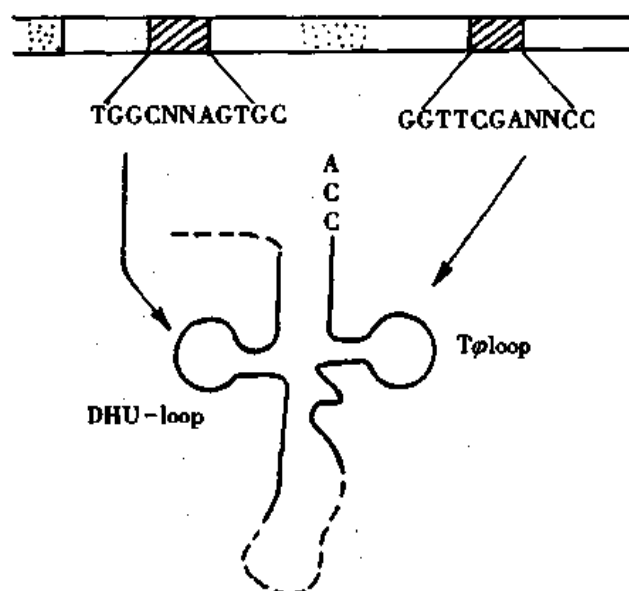


图 12-21 RNA pol III 转录的基因及其转录初级产物

虚线是转录后加工要被剪除的部分 3' 的

CAA-OH 也是加工生成的

从以下实验，可以推论和证实 tRNA 的剪接是需酶的：①成熟的 tRNA 能竞争性地抑制 tRNA 的剪接；这是酶促反应的特征之一；②tRNA 的成熟过程对温度敏感。用这些原理已造成可供 tRNA 剪接研究用的酵母细胞株，并证实 tRNA 的剪接过程如图 12-22 所示。

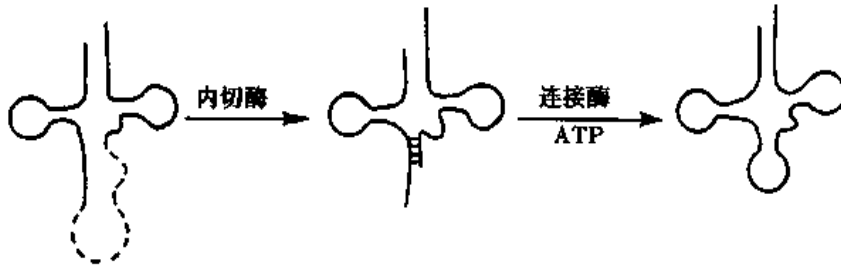


图 12-22 tRNA 的剪接是酶促反应切除

内含子的核酸内切酶由 tRNA 基因内含子编码

此外，tRNA 的转录后加工还包括各种稀有碱基的生成。

(1) 甲基化：例如在 tRNA 甲基转移酶催化下，某些嘌呤生成甲基嘌呤，如 $A \rightarrow m^A$ ， $G \rightarrow m^G$ 。

(2) 还原反应：某些尿嘧啶还原为双氢尿嘧啶(DHU)。

(3) 核苷内的转位反应：如尿嘧啶核苷转变为假尿嘧啶核苷(ψ)。

(4) 脱氨反应：某些腺苷酸脱氨成为次黄嘌呤核苷酸(I)。次黄嘌呤(inosine)是常见于 tRNA 的稀有碱基之一。

(5) 加上 CCA-OH 的 3'-末端：在核苷酸转移酶作用下，在 3'-末端除去个别碱基后，换上 tRNA 分子统一的 CCA-OH 末端，完成柄部结构。

三、rRNA 的转录后加工

真核细胞的 rRNA 基因(rDNA)属于一种称为丰富基因(redundant gene)族的 DNA 序列，即染色体上一些相似或完全一样的纵列串联基因(tandem gene)单位的重复。这些单位由不能转录的间隔区(spacer)把可转录片段分隔组成。注意间隔区和以前提到的内含子是不同概念。在分类上把 rDNA 这种类型的序列称为高度重复序列(highly repeat sequence)DNA。不同种属的生物，rDNA 的大小不一，重复单位[图 12-23 (1)] 可有数百个或至千个以上；每个重复单位[图 12-23 (2)] 的可转录片段 7kb 至 13kb 不等，间隔区则为数千 bp。尽管有间隔区与重复单位的大小不同，所有真核生物最后转录出来的 rRNA 大小却是相同的。

rDNA 位于核仁之内，自成一组转录单位。大多数真核生物核内都可发现一种 45S 的转录产物，它是三种 rRNA 的前身[图 12-23 (3)]。45S rRNA 经剪接后，先分出属于核蛋白体小亚基的 18S-rRNA。余下的部分再拼接成 5.8S 及 28S 的 rRNA。rRNA 成熟后，就在核仁上装配，即与核蛋白体蛋白质一起形成核蛋白体，输出胞浆。生长中的细胞，rRNA 较稳定，静止状态的细胞，rRNA 的寿命较短。

值得一提的是，属于丰富基因族的还有 5S-rRNA 基因，组蛋白基因，免疫球蛋白的

基因等等。

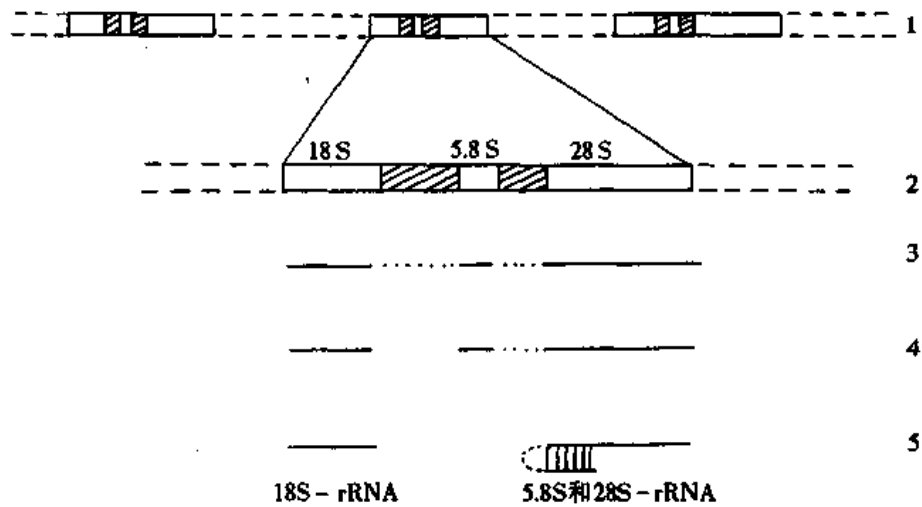


图 12-23 rRNA 转录后加工

- 1, 2. rDNA, 斜线为内含子, 虚线是基因间隔
3. 45S 转录产物 4. 剪接 5. 终产物

研究 rRNA 的转录后加工, 最近提出了一个生命科学中的重大问题: RNA 分子有酶的作用。这是研究一种叫四膜虫 (*Tetrahymena*) 的简单真核生物的 rRNA 剪接中发现的。rRNA 剪接是一种自我剪接方式。本来, 剪接的化学过程应包括磷酸二酯键的断裂和再连接。大多数的 mRNA 剪接需并接体参与, 这种核蛋白起酶的作用。但在四膜虫 rRNA 剪接中, 除去了所有蛋白质, 剪接仍可完成。研究 rRNA 的结构发现一定的规律: 图 12-24 是根据四膜虫 rRNA 的一级结构绘出的二级结构。参考第三章 tRNA 的结构, 就可能理解这个图, 所以没有列出全部核苷酸序列。图中把 5'-端和 3'-端要被剪接删除的部分用粗线表示并列出 5'-端的部分碱基序列。线性的 RNA 分子由于有很多的反向互补序列, 在图上可见形成众多的局部双链区。这是能进行自我剪接的结构依据。

rRNA 的剪接不需任何蛋白质参与即可发生, 说明 RNA 本身就有酶的催化作用。由于 RNA 发挥酶的作用, 因此把有酶促活性的 RNA 命名为核酶 (ribozyme)。

现在已知的一个最简单的能进行自我剪接的 RNA 的结构见图 12-25, 由于二级结构与槌头相似而命名为槌头结构 (hammerhead structure), 这也就是核酶能起作用的结构要求。这是分子内的催化, 同一分子上包括有催化部分和底物部分。底物部分就是箭头所示(切口)附近的核苷酸, 注意含有 GU 的序列。催化部分就是槌头结构: 至少含有 3 个茎 (stem), 1 至 3 个环 (loop)。碱基部分至少有 13 个是一致性 (consensus) 序列, 用 A, G, C, U 标出, 其余书写为 N 的是指任何碱基均可。

核酶大多在古老的生物中发现, 有人认为它是现代生物物种内存在的“活”化石, 对研究生命的起源和进化有重大意义。执行生命功能最重要的两类生物大分子, 到底是先有核酸, 还是先有蛋白质呢? 核酶的发现, 还对传统酶学提出挑战。酶沿用的定义是“活细胞产生的有催化活性的蛋白质”。20 世纪 80 年代中期之前已发现的数千种酶, 毫无例外都是蛋白质; 酶的各种理化、动力学、生物学行为, 都可以用酶是蛋白质来理

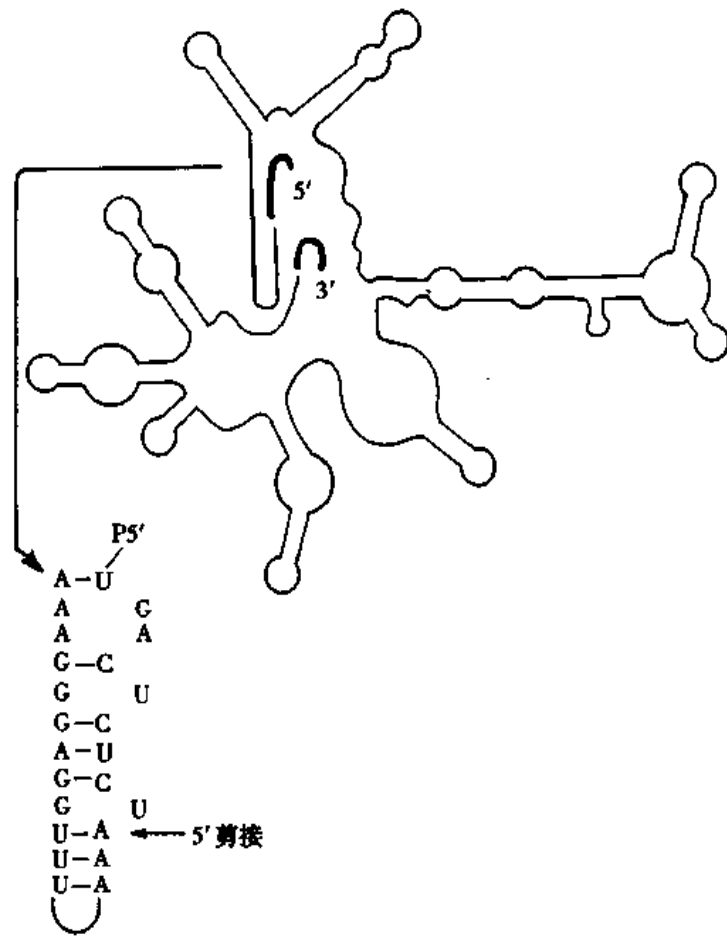


图 12-24 四膜虫的 tRNA 二级结构及 5'-端核苷酸序列

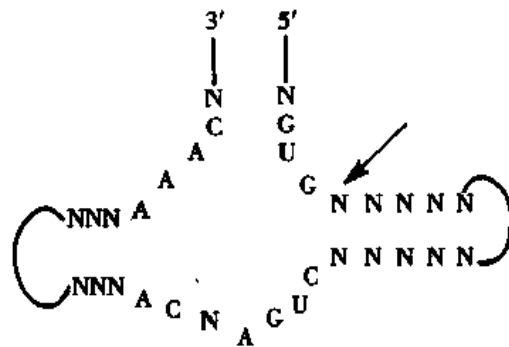


图 12-25 锤头状结构，最简单的核酶
箭头示核苷酸链断裂点

解。现在又证明：RNA 也可以是酶。如何给酶下一个更准确的定义呢？

更有现实意义的是：由于核酶结构的阐明，可以用人工合成的小片段 RNA，配合在欲破坏其结构的 RNA 或 DNA 分子上，使成为锤头结构，这就是人工设计的核酶(图 12-26)。人工核酶用于研究上，把核酸分子切成特异性片段，已获得成功。更为有建设性的想法是用人工设计的核酶来破坏病原微生物，例如一些 RNA 病毒，及用于破坏

某些不利于人类的各种基因。这一工作现在已经开始施行。

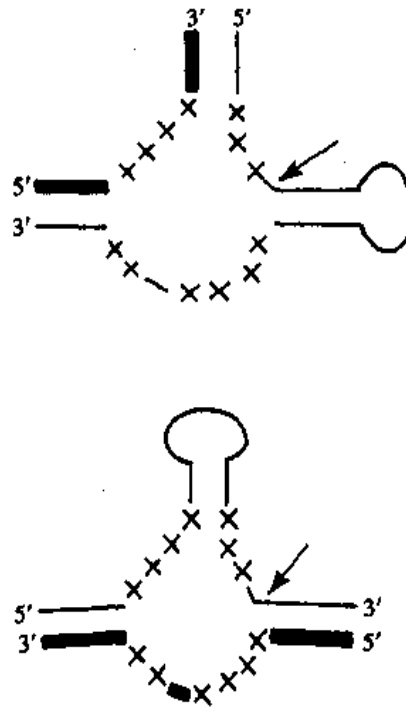


图 12-26 人工设计的核酶

箭头为切断点，粗、细线分别代表天然和人工合成的分子，X表示一致性序列

小 结

转录和复制都是核苷酸聚合成核酸大分子的过程，有不少相似之处，但又各自有特点。复制需全部保留和继承亲代的遗传信息；转录是活细胞生活所需的部分信息的表达，因此转录有不对称性，在双链 DNA 中，指导转录的模板链称为有意义链，相对的一股单链是编码链。催化 NTP 聚合为由 NMP 连成的 RNA 链需要 RNA 聚合酶。原核生物 RNA 聚合酶依其亚基组成不同而有核心酶和全酶之分。真核生物的 RNA 聚合酶 I、II、III 分别转录不同的 RNA。RNA 聚合酶通过辨认和结合转录模板上有特征的序列而起始转录。原核生物转录起始点之前有 -35 和 -10 区供 RNA 聚合酶辨认和结合。真核生物需各种转录因子协同，促成 RNA 聚合酶结合模板，其转录起始复合物的生成较复杂。转录的延长过程，DNA 双链只是局部地解开，形成一个小泡，产物 RNA 向外伸展，3'-端一小段仍和模板链形成 RNA:DNA 杂化双链。已转录的 DNA 区段容易复合为双链，是由于 DNA/DNA 双链比 RNA:DNA 杂化链相对稳定。原核生物转录未结束，就可以开始翻译。原核生物的转录终止可以依赖 Rho 因子或不依赖 Rho 因子，后者是靠 RNA 本身的茎环结构及随后的一串寡聚 U 而起终止作用的。真核生物转录终止是和 mRNA 的加聚腺苷酸尾的修饰同时进行的。

真核生物转录的初级产物，需经过加工修饰。mRNA 由 hnRNA 加工而成，包括首尾修饰及剪接加工。内含子是非编码序列，通过剪接而除去，但它不是基因中没有功能的

废料。有编码功能的 mRNA 则是经剪接后由外显子串成。tRNA 的加工也需剪接过程。真核生物 rRNA 基因是丰富基因家族，转录生成的 45S-rRNA 剪接成为 5.8S-，18S-，28S- 三种 rRNA。研究 rRNA 的自我剪接加工中，发现了有催化功能的 RNA，即核酶。核酶的研究有重大理论价值和应用前景。

(马润泉)

第十三章 蛋白质的生物合成(翻译)

蛋白质的生物合成也称为翻译，意思就是把核酸中由 A, G, C, T/U 四种符号组成的遗传信息，破译为蛋白质分子中的 20 种氨基酸排列顺序。遗传信息贮存在 DNA 分子

(genetic codon)。1965年，经过 M. Nirenberg 等 4 年的研究，遗传密码表已被完整地编成(表 13-1)。

表 13-1 遗传密码表

第一个核苷酸 ^(5')	第二个核苷酸				第三个核苷酸 ^(3')
	U	C	A	G	
U	苯丙氨酸	丝氨酸	酪氨酸	半胱氨酸	U C A G
	苯丙氨酸	丝氨酸	酪氨酸	半胱氨酸	
	亮氨酸	丝氨酸	无意义 (终止密码子)	无意义 (终止密码子)	
	亮氨酸	丝氨酸	无意义 (终止密码子)	色氨酸	
C	亮氨酸	脯氨酸	组氨酸	精氨酸	U C A G
	亮氨酸	脯氨酸	组氨酸	精氨酸	
	亮氨酸	脯氨酸	谷氨酰胺	精氨酸	
	亮氨酸	脯氨酸	谷氨酰胺	精氨酸	
A	异亮氨酸	苏氨酸	天冬酰胺	丝氨酸	U C A G
	异亮氨酸	苏氨酸	天冬酰胺	丝氨酸	
	异亮氨酸	苏氨酸	赖氨酸	精氨酸	
	甲硫氨酸	苏氨酸	赖氨酸	精氨酸	
G	缬氨酸	丙氨酸	天冬氨酸	甘氨酸	U C A G
	缬氨酸	丙氨酸	天冬氨酸	甘氨酸	
	缬氨酸	丙氨酸	谷氨酸	甘氨酸	
	缬氨酸	丙氨酸	谷氨酸	甘氨酸	

遗传密码有如下特点：

(一) 遗传密码的连续性(commalness)

密码的三联体不间断，须 3 个一组连续读下去。mRNA 链上碱基的插入或缺失，可造成框移(frame shift)，使下游翻译出的氨基酸完全改变。有关框移突变，已见第十一章第四节。

(二) 简并性(degeneracy)

遗传密码中，除色氨酸和甲硫氨酸仅有一个密码子外，其余氨基酸有 2, 3, 4 个或多个至 6 个三联体为其编码。细看遗传密码表，有 2 个以上密码的氨基酸，三联体上一、二位碱基大多是相同的，只是第三位不同。例如 ACU, ACC, ACA, ACG 都是苏氨酸的密码子，UGU, UGC, UGA, UGG 都是缬氨酸的密码子。这些密码子第三位碱基如出现了点突变，并不影响所翻译出的氨基酸种类。遗传密码的简并性是指密码子上第三位碱基改变往往不影响氨基酸翻译。同一氨基酸有多个密码子，其中会有一二个是被优先选用的。研究翻译过程对密码的“偏爱性”，是生物进化研究中的一个有兴趣的课题。

(三) 摆动性(wobble)

翻译过程氨基酸的正确加入，需靠 mRNA 上的密码子与 tRNA 上的反密码子相互以碱基配对辨认(图 13-1)。

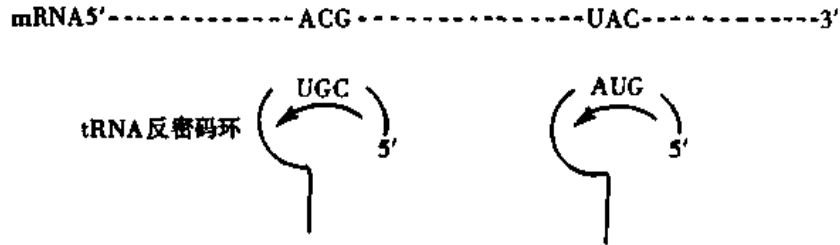


图 13-1 mRNA 分子上的密码子与 tRNA 的反密码

密码子与反密码子配对，有时会出现不遵从碱基配对规律的情况，称为遗传密码的摆动现象。这一现象更常见于密码子的第三位碱基对反密码子的第一位碱基，二者虽不严格互补，也能相互辨认。tRNA 分子组成的特点是有较多稀有碱基，其中次黄嘌呤(inosine, I)常出现于反密码子第一位，也是最常见的摆动现象(表 13-2)。

表 13-2 密码子、反密码子配对的摆动现象

tRNA 反密码子碱基	I	U	C
mRNA 密码子碱基	A, C, U	A, G	C, G, U

(四) 通用性(universal)

从最简单的生物例如病毒，一直至人类，在蛋白质的生物合成中都使用同一套遗传密码。最近发现，动物细胞的线粒体、植物细胞的叶绿体这些细胞器，有自身的 DNA 和独立的复制系统，而且在翻译过程中，虽也是三联体密码子，但和普遍使用的“通用密码子”有相当多差别。例如线粒体和叶绿体以 AUG、AUU 为起始密码子(initiation codon)，而 AUA 兼有起始密码子和甲硫(蛋)氨酸密码子的功能。终止密码子(stop codon)是 AGA、AGG，色氨酸密码子是 UGA 等。

遗传密码表好比一本字典，学习过程中不必强记。但要知道如何从碱基序列查出氨基酸序列及反过来，用氨基酸查出碱基的三联体。理解遗传密码的上述特点，并记住表上 U、C、A、G 编排次序，对遗传密码表就可应用自如。此外，起始密码子 AUG，和密码表右上方的 3 个终止密码子 UAA、UAG、UGA，也是应该记住的。

二、核蛋白体是肽链合成的场所

50 年代初已发现核蛋白体与蛋白质合成有关。P. Zamecnik 用同位素标记的氨基酸给动物作注射，然后取肝分离收集各种细胞器。数分钟内，有放射标记的蛋白质仅出现于核蛋白体。经数小时或数天，标记的蛋白质才出现于细胞的其他组分。显然，氨基酸是先在核蛋白体内合成蛋白质，然后分布于其他细胞组分。

核蛋白体由大、小亚基构成，每个亚基又含不同的蛋白质和 rRNA，原核和真核生物又各有不同(表 13-3)。

表 13-3 核蛋白体的组成

		原核生物	真核生物
小亚基	rRNA	16S-rRNA	18S-rRNA
	蛋白质(rps, ribosomal proteins in small subunit)	21种	33种
大亚基	rRNA	5S-rRNA 23S-rRNA	5S-rRNA 28S-rRNA 5.8S-rRNA
	蛋白质(rpl, ribosomal proteins in large subunit)	34种	49种

这些大分子又按一定的空间位置互相镶嵌，成为显微镜下可见的颗粒。核蛋白体蛋白(rps, rpl)种类繁多，其中有些就是参与蛋白质合成的酶和各种因子，靠这些蛋白质、rRNA，还有 mRNA、tRNA 等特异性的、准确的相互配合，使氨基酸按 mRNA 上的遗传密码指引依次聚合为肽链。翻译过程中的核蛋白体可用图解表示(图 13-2)。

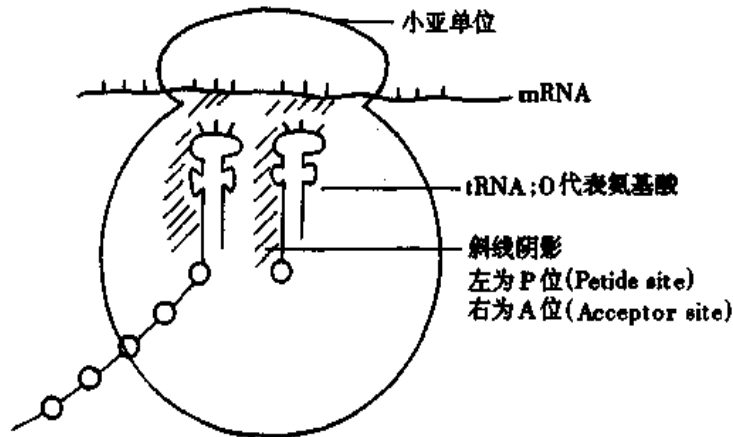


图 13-2 翻译过程中的核蛋白体图解

第十二章已谈及，原核生物转录过程电镜下看到的羽毛状模型(图 12-11)，在长短不一的尚未转录完成的 mRNA 上，已附着了若干个核蛋白体。一个 mRNA 分子同时有多个核蛋白体在进行蛋白质合成，即 mRNA 和多个核蛋白体的聚合物，称为多聚核蛋白体(图 13-3)。

图 13-3 是根据电镜所见而作的合理推论，一段有读码框架(ORF)的 mRNA，起始密码子只有一个，但可以反复使用。肽链合成中，核蛋白体沿着 mRNA 向下游移动。起始密码子又可以结合另一个核蛋白体，开始另一轮的翻译。这体现了蛋白质生物合成的高速、高效性。

三、tRNA 和氨基酰-tRNA

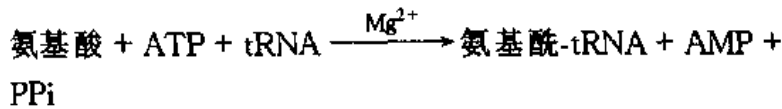
蛋白质生物合成是信息传递过程。用纯化学方法当然也可以把氨基酸连接成肽链，但细胞内 20 种氨基酸都存在时，如何保证它们能排列恰当，依从 mRNA 模板的指引呢？

50年代P. Zamecnik发现,把氨基酸、ATP加到肝匀浆里一起保温,氨基酸先与一种可溶性、耐热的小分子RNA结合。以后证实这类RNA就是tRNA。F. Crick则据此提出tRNA在翻译过程中起接合体(adaptor)作用。

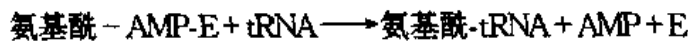
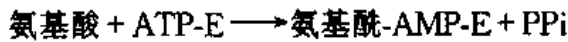
(一) 氨基酰-tRNA合成酶 (aminoacyl-tRNA synthetase)

tRNA分子的反密码环与mRNA上的密码配对。tRNA的3'-末端-CCA-OH是氨基酸的结合位点。一种氨基酸可以和2~6种tRNA特异地结合,已发现的tRNA有40~50种。tRNA能携带的氨基酸,总是按mRNA遗传密码决定的。这样由密码-反密码-氨基酸之间的“对号入座”,保证了从核酸到蛋白质信息传递的准确性。

所谓tRNA携带氨基酸,实际上是一种酶促的化合反应,反应生成氨基酰-tRNA (aminoacyl-tRNA AAcyl-tRNA):



催化这一化学反应的酶是氨基酰-tRNA合成酶。氨基酰-tRNA合成酶具有绝对专一性,酶对氨基酸、tRNA两种底物都能高度特异地识别。上述化学反应又分为两个步骤完成:第一步是氨基酸结合于AMP-酶(AMP-E)的复合体上,而AMP-E的生成已消耗了ATP:



氨基酰-AMP-E复合体作为中间产物,有利于酶分别对氨基酸和tRNA两种底物进行特异性的辨认。

氨基酰-tRNA合成酶还有校正活性(editing activity),对上述两步任何一步反应出现的错配加以更正。所谓酶的校正活性,实际上是水解酯键的催化活性,因为氨基酸是与其羧基(-COOH)与tRNA的3'-OH生成酯键而相连的。把错配的氨基酸水解下来,换上与密码子相对应的氨基酸,就是校正。氨基酸和tRNA结合,tRNA又和mRNA的密码子准确相互辨认,这样就使核酸、蛋白质之间的信息传递能互相衔接、互相沟通。

(二) 氨基酰-tRNA的表示方法

氨基酰-tRNA完整的写法是:

ala-tRNA^{ala}; arg-tRNA^{arg}; met-tRNA^{met}……met-tRNA^{met}; fmet-tRNA^{fmet} (起始者 tRNA)

用三字母缩写代表已结合的氨基酸残基, tRNA 右上角的三字缩写代表 tRNA 的结合特异性,有时也可略去右上角的缩写。

各种氨基酰-tRNA生成的反应,可写成反应式举例如下:

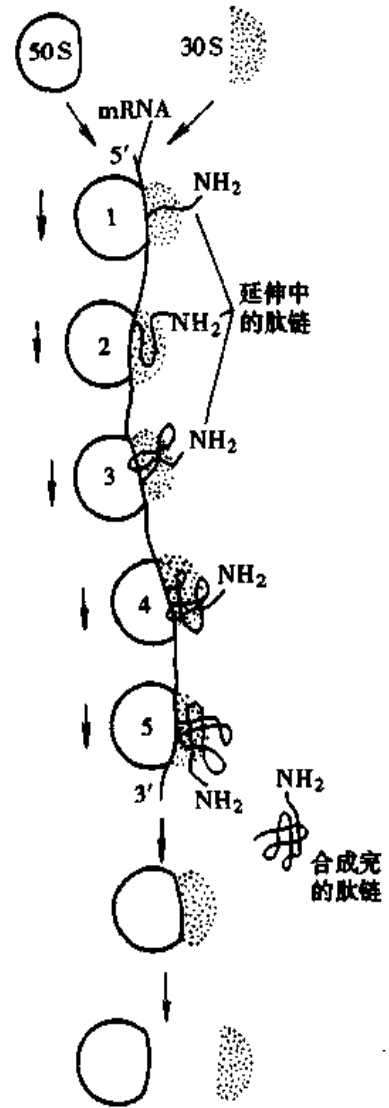
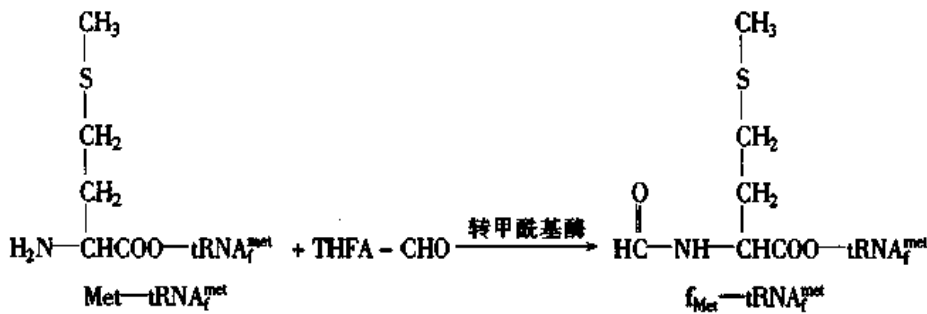


图 13-3 多聚核蛋白体



密码子 AUG 为甲硫氨酸编码，同时用作起始密码。与甲硫氨酸相结合的 tRNA，在真核生物中至少有两种： $\text{tRNA}_i^{\text{met}}$ 称为起始者 tRNA (initiator-tRNA)， $\text{tRNA}_e^{\text{met}}$ 是携带延长 (elongation) 中的肽链上的甲硫氨酸的 tRNA。 $\text{met-tRNA}_i^{\text{met}}$ 和 $\text{met-tRNA}_e^{\text{met}}$ 分别被起始因子 eIF-2a 和延长中起催化作用的酶所辨认。

原核生物的起始密码只能辨认甲酰化的甲硫氨酸，即 N-甲酰甲硫氨酸 (fmet)。某些原核生物还可使用 GUG、UUG 作为起始密码。N-甲酰甲硫氨酸-tRNA 的生成，是一碳化合物转移和利用过程之一，甲酰基从 N^{10} 甲酰四氢叶酸 (THFA) 转移到甲硫氨酸的 α -氨基上，反应如下：



第二节 蛋白质的生物合成过程

RNA 的碱基序列是从 5'-端自左至右书写至 3'端，肽链的氨基酸序列从 N-端自左至右书写至 C 端。翻译过程从读码框架的 5'-AUG……开始，按 mRNA 模板三联体的顺序延长肽链，直至终止密码出现。终止密码前一位三联体，翻译出肽链 C-端氨基酸。翻译过程也可分起始、延长、终止阶段来描述。氨基酰-tRNA 的合成，是伴随着起始、延长阶段不断地进行和配合着的。此外，蛋白质合成后，还需要加工修饰。

一、翻译的起始

翻译起始是把带有甲硫氨酸的起始 tRNA 连同 mRNA 结合到核蛋白体上，生成翻译起始复合物 (translational initiation complex)。此过程需多种起始因子参加。原核生物与真核生物所需的起始因子不相同，氨基酰-tRNA、mRNA 结合到核蛋白体上的步骤，大致上是一样的。

(一) 起始复合物的生成

这里以原核生物为例，暂不讨论较为复杂的各种起始因子如何起作用。起始复合物生成可分四步描述 (图 13-4)。

1. 核蛋白体亚基的拆离 翻译过程是在核蛋白体上连续进行的，翻译延长中，核蛋白体大、小亚基是连结成整体的。翻译终止的最后一步，实际上也就是下一轮起始的第一步，核蛋白体大、小亚基必须先分开，以利于 mRNA 和 $\text{f}_{\text{Met}}-\text{tRNA}$ 先结合于小亚基上。

2. mRNA 在核蛋白体小亚基上就位 研究了多种原核生物 mRNA 的碱基序列，并加

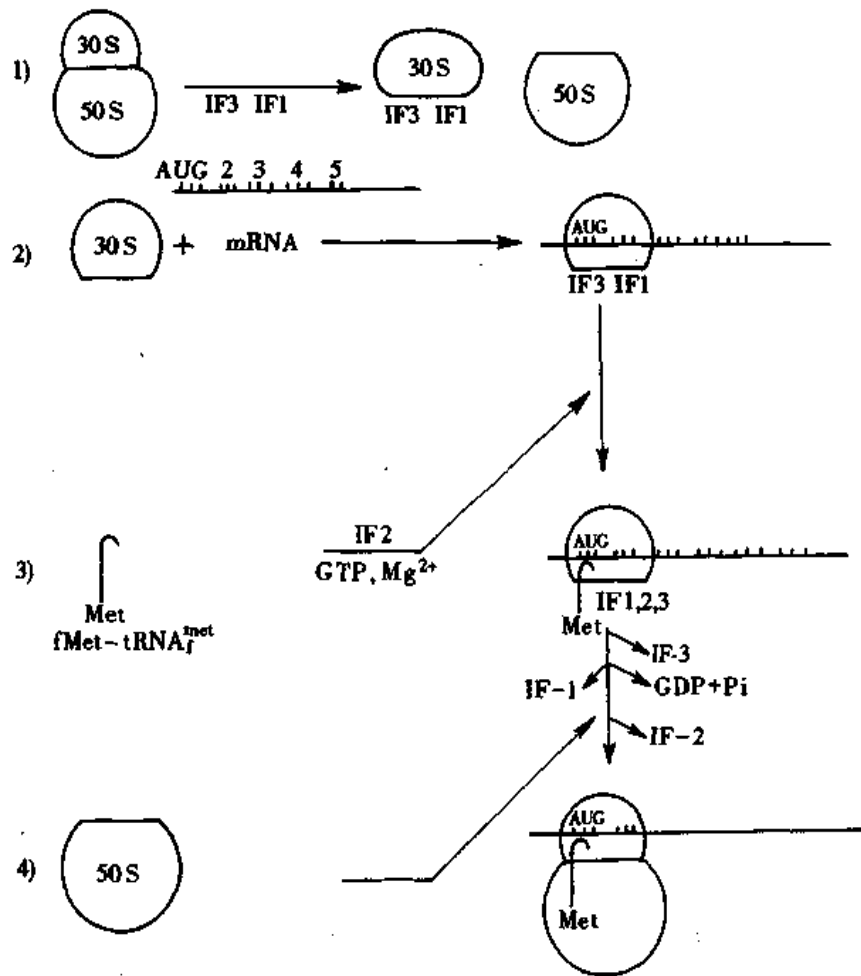


图 13-4 原核生物的翻译起始

由 4~6 个核苷酸组成的富含嘌呤的序列。这一序列以...ACGA...为核心，因其发现者是 Shine-Dalgarno 而得名 S-D 序列。后来又发现，原核生物核蛋白体小亚基上的 16S-rRNA 近 3'-末端处，有一段短序列...UCCU...是与 S-D 序列互补的。因此，mRNA 上的 S-D 序列又称为核蛋白体结合位点(ribosomal binding site, RBS)。紧接 ACGA 的小段核苷酸，又可以被核蛋白体小亚基蛋白(*rps-1*)辨认结合。原核生物就是靠这种核酸-核酸，核酸-蛋白质之间的辨认结合而把 mRNA 连结到核蛋白体小亚基上的(图 13-5)。真核生物 mRNA 结合核蛋白体小亚基，需要好几种起始因子(eIF)的协同。

3. $fmet-tRNA$ 的结合 这个过程和 mRNA 在核蛋白体小亚基就位同时发生 $fmet-tR$

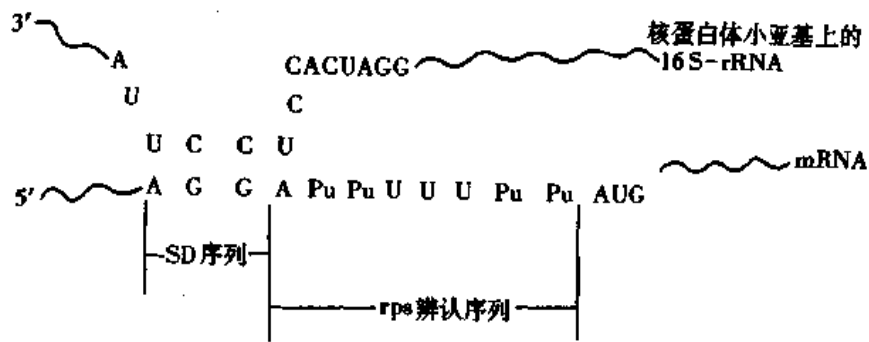


图 13-5 原核生物 mRNA 与核蛋白体小亚基结合的分子机制

rps: 核蛋白体小亚基

肽链转位至此，延长继续。再次成肽时，肽又从此一位置转给 A 位。在图上，P 位往往在核蛋白体的左半部。A 位即氨基酰位 (aminoacyl site)，或称受位，每次延长，氨基酰 tRNA 就加入到 A 位上，延长成肽中，此位因接受肽酰基链，故又名受位 (acceptor site) (图 13-2)。

(二) 起始因子 IF 和 eIF

原核生物的翻译起始因子 (IF) 有三种，真核生物起始因子共发现有十种之多 (表 13-4)。这些起始因子都是生成起始复合物时不可缺少的。

表 13-4 IF 与 eIF 在形成起始复合物中的作用比较

生成起始复合物步骤	IF	eIF
亚基分离	IF ₃ (IF ₁)	eIF ₃
mRNA 就位	核酸-核酸，核酸-蛋白质之间的辨认结合	eIF ₃ , eIF-1 eIF _{4A} , eIF _{4B} CBP-1 eIF _{4E} (CBP-2)
起始 tRNA 就位	IF ₂ , GTP (IF ₁)	eIF ₂ , co-eIF ₂ -GTP eIF ₃ , eIF _{4c}
大亚基结合	各种 IF 脱落 GTP 水解	eIF ₅ , eIF _{4D}

原核生物起始因子有 IF-1、IF-2 和 IF-3。翻译起始时，IF-3 结合到核蛋白体 30S 亚基靠近 50S 亚基的边界，使大、小亚基拆离。IF-1 协助 IF-3 的结合和亚基拆离，使单独的 30S 亚基易于与 mRNA 及起始 tRNA 结合。

mRNA 与核蛋白体小亚基的结合是靠前者的 RBS 序列及后者的 16S-rRNA 互补及 rps-1 与其识别序列的相互辨认的，已见前述。而 fmet-tRNA 结合 mRNA 及核蛋白体，则需起始因子 IF-2。IF-2 先与 GTP 结合，再结合起始者 tRNA 并生成 fmet-tRNA-IF₂-GTP 复合物。与这一复合物就位的同时，还可推动 mRNA 在 30S 亚基上前移，使起始 tRNA 到达 P 位。这是一个耗能过程，IF-1 也促进这一结合的作用。

mRNA 和起始 tRNA 都结合了 30S 亚基后, IF₃ 先脱落。实验证明, 连有 IF-3 的 30S 亚基, 是不能结合 50S 亚基的。接着 IF-2 和 IF-1 才相继脱落, 以 70S 核蛋白体为主体的翻译起始复合物即形成。

真核生物的起始因子称为 eIF, 形成起始复合物的步骤与原核生物的大致相同, 所需因子较多, 比较如表 13-4。

(三) 真核生物翻译起始的特点

真核生物翻译起始过程比原核生物相对复杂。真核生物的核蛋白体是 80S (40S + 60S), 原核生物为 70S 核蛋白体。eIF 比 IF 的种类多, 真核生物的起始 tRNA 携带的甲硫氨酸不需甲酰化。mRNA 分子结构上, 真核生物 mRNA 未发现有 RBS 序列, 但有 5'-端帽子结构和 3'-端聚腺苷酸 (poly A) 尾巴。帽子结构和 mRNA 在核蛋白体上就位有关。已知在翻译起始过程需要帽子结合蛋白 (cap-site binding protein, CBP) 结合 mRNA 上的帽子结构, 并促使 mRNA 与 40S 核蛋白体亚基的结合。现已知 CBP 有 CBP-1 和 CBP-2 两种, 或称作 CBP_a, CBP_b, 分子量分别为 24 及 300kD。CBP-1 即 eIF_{4E}, CBP-2 即 eIF_{4F}, 后者兼有解螺旋酶和 ATP 酶活性, 是主要的帽结合蛋白, eIF_{4A}、4B、4E 共同促进这一结合过程(图 13-6)。

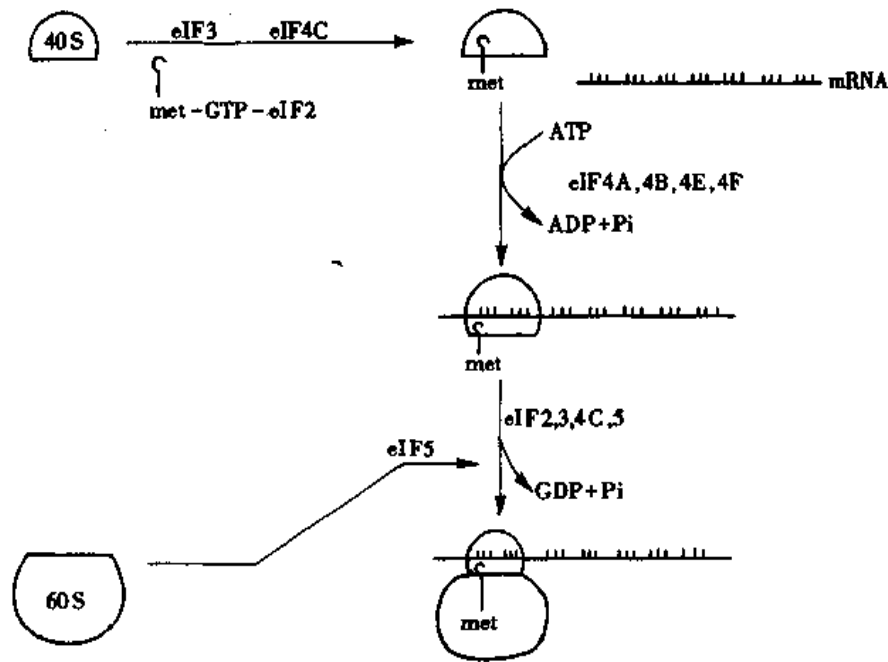


图 13-6 真核生物的翻译起始复合物生成过程

eIF 中, 以 eIF₂ 研究得较多和较清楚。因为真核生物 mRNA 上没有 RBS 序列, 翻译起始不是像原核生物那样, mRNA 先于起始 tRNA 结合到核蛋白体小亚基上。真核生物的翻译起始先由 eIF₂ 与 met-tRNA^{met} 及 GTP 结合成复合体, 在 eIF₃ 及 eIF_{4C} 的协助下, 结合到 40S 核蛋白体亚基上, 然后 mRNA 上的 AUG 才辨认 tRNA^{met} 上的反密码, 在各种 eIF₄ 的协助下进入 40S 亚基(图 13-6)。所以, eIF₂ 是生成起始复合物首先必需的蛋白质因子。正如前面谈到许多代谢调控过程那样, 调控的关键位点往往在一系列反应的最

先一两步反应，所以 eIF₂ 是真核生物蛋白质合成调控的关键物质，也是作为众多生物活性物质、抗代谢物、抗生素等物质作用的靶点。这就不难体会，对 eIF₂ 的研究较多和较彻底了。

二、肽链的延长

翻译过程的肽链延长，也称为核蛋白体循环(ribosomal cycle)。广义的核蛋白体循环可指翻译全过程，因为这一过程也全是在核蛋白体上连续地、循环式地进行着。延长过程所需的蛋白质因子称 EF，见表 13-5。

表 13-5 翻译延长因子

原核生物	功 能	真核生物
EFT _u EFT _s	协助氨基酰-tRNA 进入 A 位；结合 GTP	EF ₁ $\begin{cases} \alpha \\ \beta \\ \gamma \end{cases}$
EFG	转位酶，协助 mRNA 前移，由 A 位进至 P 位； 游离 tRNA 的释放	EF ₂

每次核蛋白体循环又可分三个步骤：进位(entrance)或称注册(registration)，成肽(peptide bond formation)和转位(translocation)。循环一次，肽链延长一个氨基酸，如此不断重复，直至肽链合成终止。下文的叙述仍以原核生物的资料为依据。真核生物的肽链延长大同小异，延长因子不同，见表 13-5。

(一) 进位

也称为注册，指氨基酰-tRNA 根据遗传密码的指引，进入核蛋白体的 A 位。起始复合物形成后，核蛋白体 P 位已为 fMet-tRNA^{met} 占据，但 A 位是留空的，而且对应着 mRNA 的第二位密码子，即紧接 AUG 的三联体。需加入的氨基酰-tRNA 即为该密码子所决定的氨基酸，此时需 EFT 的协助。

EFT_u 和 EFT_s 是延长因子 T 上的 2 个亚基。EF-T 与 GTP 结合后，放出 T_s；Tu-GTP 的复合物可结合氨基酰-tRNA (AA-tRNA)。AA-tRNA-Tu-GTP 复合物被送至核蛋白体与小亚基上的 mRNA 结合，密码子与反密码子对应。然后，GTP 分解放出 Pi。最后，Tu-GDP 与 T_s 又利用 GTP 的能量重新结合成 EFT。这样，延长因子又可催化另一个 AA-tRNA 的进位过程。已结合的 AA-tRNA-mRNA 则在 A 位上进行下一步的翻译延长反应。进位程序可示意如下图(图 13-7)。

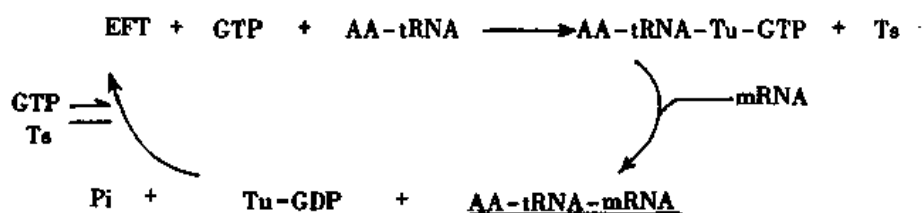


图 13-7 翻译延长的进位程序

(二) 成肽

这个过程由转肽酶(transpeptidase)催化, 此酶实际上是核蛋白体大亚基上的蛋白质, rpl (ribosomal proteins, Large subunit), 可能是不止一种 rpl 有该酶的活性。成肽的过程是 P 位上的 fMet-tRNA^{fMet} 的酰基与 A 位上的 AA-tRNA 的氨基进行反应, 反应在 A 位上进行, 即 P 位上的甲硫氨酸退至 A 位。甲硫氨酸的 α -氨基可保留至翻译终止成为新生的肽链上的 N-末端。但自然界的蛋白质大多数不是以甲硫氨酸作为 N-末端的。翻译后这个 N-甲硫氨酸, 或者 N-端的一段肽会被切除。

成肽完成后, 生成的二肽-tRNA 在 A 位上, 这是第一个核蛋白体循环的情况, 第二个循环, A 位上为三肽, 第三循环为四肽, 余类推。成肽的化学反应见图 13-8。

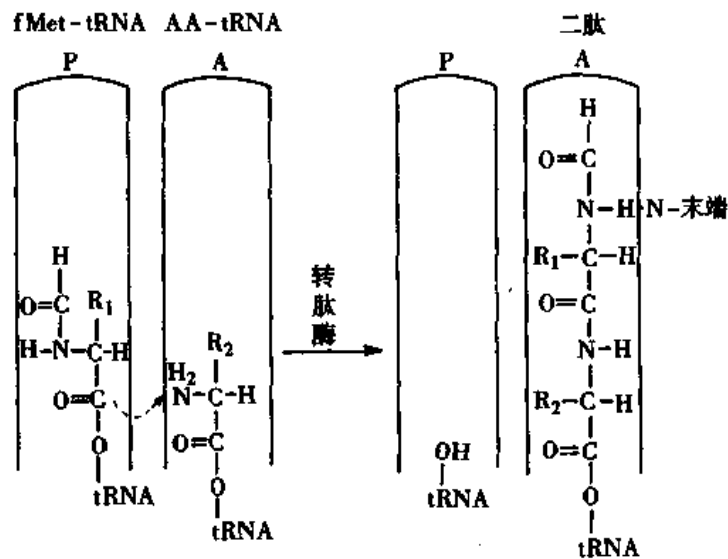


图 13-8 核蛋白体上肽键的生成

由于成肽中甲硫氨酸(以下的循环则为二肽、三肽...)已退入 A 位成肽, P 位留下一个无负载的 tRNA。在成肽结束前, tRNA 从核蛋白体上脱落, 使 P 位留空。(图 13-9)

(三) 转位

在 A 位的二肽连同 mRNA 从 A 位进入 P 位。这实际是整个核蛋白体的相对位置移动。催化转位作用的是转位酶(translocase)。现在证明: 转位酶的活性存在于延长因子 G (EFG)。由于肽-tRNA-mRNA 与核蛋白体位置的相对变更, 此时, 肽-tRNA-mRNA 占据了 P 位, A 位是留空的。情况和第一循环开始时一样, 不同只是 P 位为肽-tRNA-mRNA, 而第一循环开始时 P 位是 fMet-tRNA-mRNA。总之, A 位留空, 并对应着 mRNA 链上第三号三联体密码, 于是, 第三号氨基酸就按密码的指引进入 A 位注册, 开始下一循环。

同样, 经过进位-成肽-转位, P 位出现三肽-tRNA-mRNA, A 位留空让第四号氨基酸-tRNA 进入。

可见, 核蛋白体阅读 mRNA 密码子是从 5'向 3'方向进行, 肽链合成是从 N-端向 C 端方向进行的。每一次核蛋白体循环, 肽链延长一个氨基酸。核蛋白体循环过程总结如图 13-9。

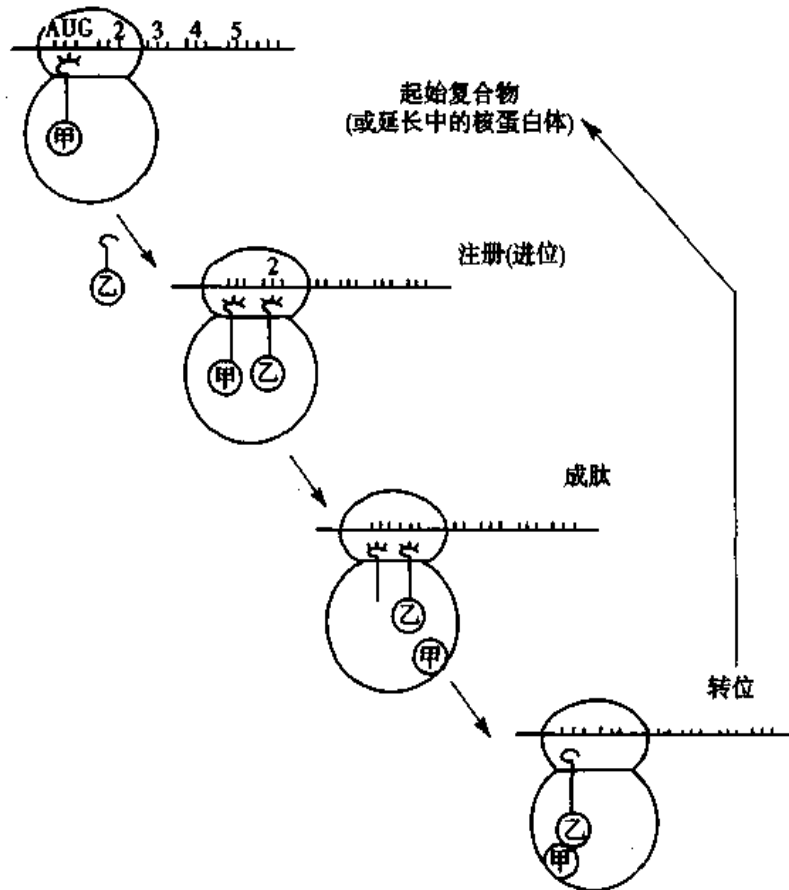


图 13-9 翻译的延长

三、肽链合成的终止

肽链合成的终止包括：终止密码的辨认、肽链从肽酰-tRNA 水解出，mRNA 从核蛋白体中分离及大小亚基的拆开。终止过程也需蛋白质因子；它们不称作终止因子，而被称为释放因子(RF, RR)。个别起始因子(IF, eIF)在终止过程中也发挥拆开大、小亚单位的作用。从这里也可体会整个翻译过程的连续性。

原核生物和真核生物参与终止的，都有 RF 和 RR。RF 的作用是辨认终止密码和促进肽链 C 端与 tRNA 3'-OH 酯键的水解，使肽链从翻译中的核蛋白体上释放下来。RR 的作用是把 mRNA 从核蛋白体上释出。RF 现至少发现有三种：RF-1 和 RF-2 都能辨认 UAA 终止密码，而 RF-1 也辨认 UAG，RF-2 也辨认 UGA。RF-3 是酯酶的激活物，酯酶水解肽-tRNA 之间的酯键。

终止过程可描述如下(图 13-10)：

1. 当翻译至 A 位出现 mRNA 的终止密码时，因无 AAcyI-tRNA 与之对应，即 A 位不能接纳 AAcyI-tRNA。RF-1 或 RF-2 能识别终止密码，进入 A 位。

2. RF-3 激活核蛋白体上的转肽酶。前文已述，转肽酶可能是数种 rPL 的聚合体，受 RF-3 作用后发生变构，表现出酯酶的水解活性。因而使 P 位上肽与 tRNA 分离。

3. 在 RR 的作用下，tRNA，mRNA 及 RF 均从核蛋白体脱落。然后在 IF 作用下，核

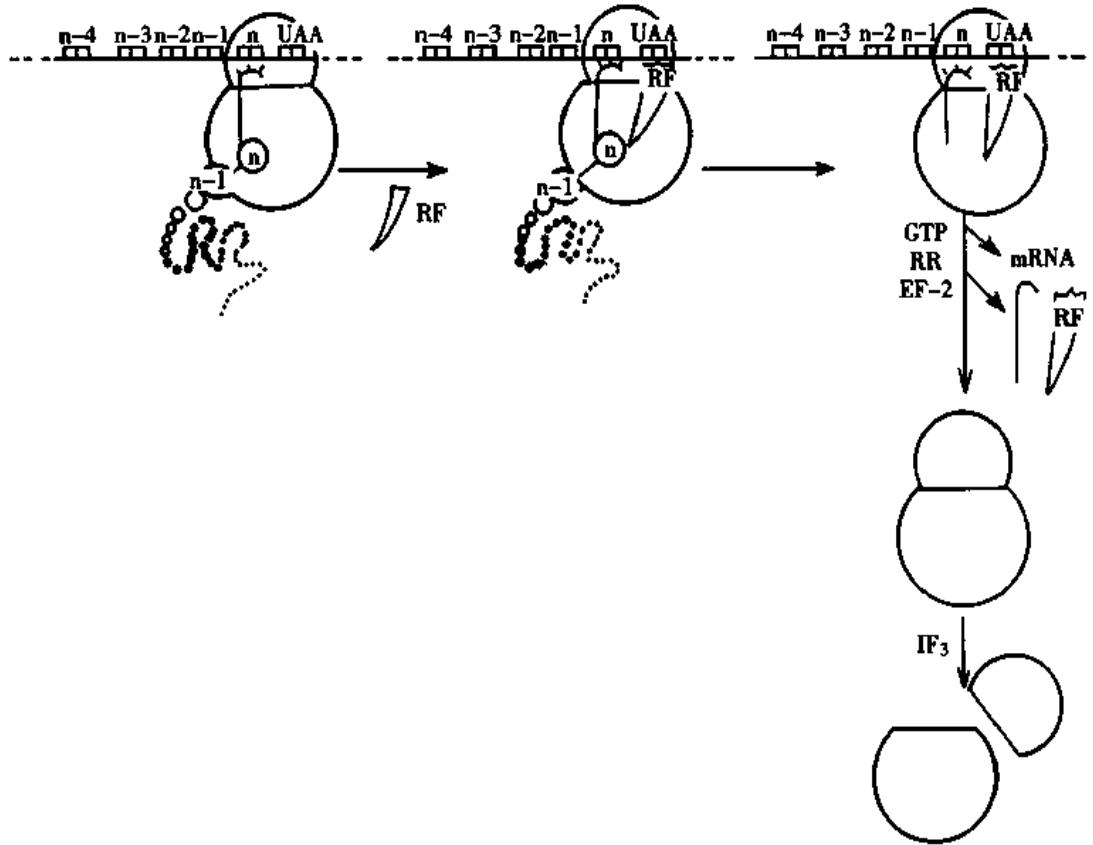


图 13-10 翻译过程的终止

蛋白体分出大、小亚基。大、小亚基又可再进入翻译过程，循环使用。狭义上，核蛋白体循环指翻译延长，广义上则可包含整个翻译过程。

蛋白质生物合成和所有的代谢合成过程一样，是消耗能量的。在氨基酸活化阶段，AAcyl-tRNA 的生成，需 ATP 变为 AMP，消耗 2 个高能键。翻译起始阶段，GTP-met-tRNA 与核蛋白体小亚基形成复合物，至起始复合物生成释出 GDP，延长阶段的进位、成肽也消耗能量。估计每生成一个肽键，平均消耗 5 个高能磷酸键。

第三节 翻译后加工

从核蛋白体释放的多肽链，不一定具备生物活性。肽链从核蛋白体释放后，经过细胞内各种修饰处理过程，成为有活性的成熟蛋白质，称为翻译后加工 (post-translational processing)。翻译后加工可分为高级结构的修饰，一级结构的修饰和靶向输送三方面：

一、高级结构的修饰

肽链释放后，可自行根据其一级结构的特征折叠、盘曲成高级结构。第二章已谈及蛋白质一级结构决定其高级结构的原理，翻译后加工过程也可以作为这一自然现象的佐证。此外，高级结构的修饰还包括：

(一) 亚基聚合

具有四级结构的蛋白质由两条以上的肽链通过非共价键聚合，形成寡聚体 (oligomer)。常见的例子例如血红蛋白分子 $\alpha_2\beta_2$ 的聚合。膜上的镶嵌蛋白、跨膜蛋白也多为寡聚体，各亚基虽自有独立功能，但又必须互相依存，才得以发挥作用。

(二) 辅基连接

蛋白质分为单纯蛋白及结合蛋白两大类。前面各章讨论过的糖蛋白、脂蛋白、色蛋白及各种带辅酶的酶，都是常见的重要结合蛋白质。辅基(辅酶)与肽链的结合是复杂的生化过程。很多细节尚在研究中。例如糖蛋白的糖基化，是目前基因工程(第十五章)中一个未解决的关键问题。不少生物活性物质，当用基因工程方法表达出其肽链后，还不具备活性。因此如何使该蛋白质实现糖基化是正在大力研究中的问题之一。

二、一级结构的修饰

(一) 去除 N-甲酰基或 N-蛋氨酸

翻译过程以 fMet-tRNA_{fMet} 作为第一个注册的起始物，在蛋白质合成过程中，N-端氨基酸总是 fMet (甲酰蛋氨酸)，其 α -氨基是甲酰化的。但天然蛋白质大多数不以蛋氨酸为 N-端第一位氨基酸。细胞内的脱甲酰基酶或氨基肽酶可以除去 N-甲酰基，N-末端蛋氨酸或 N-末端的一段肽。这个过程不一定等肽链合成终止才发生，有时边合成已可边进行加工。

(二) 个别氨基酸的修饰

在结缔组织的蛋白质内常出现羟脯氨酸、羟赖氨酸，这两种氨基酸并无遗传密码、反密码子及 t-RNA 引导入肽链，而是在脯氨酸、赖氨酸残基经过羟化而出现的。不少酶的活性中心上有磷酸化的丝氨酸、苏氨酸，甚至酪氨酸；这些含-OH基团的氨基酸是翻译后才磷酸化的。多肽链内或肽链之间往往可由两个半胱氨酸的-SH形成的二硫键。这是常见的维系蛋白质结构的化学键，其形成也是在肽链合成后两个半胱氨酸的-SH基氧化而连结的。

(三) 水解修饰

真核生物中往往会遇到一条已合成的多肽链经翻译后加工产生多种不同活性的蛋白质或肽的情况。最典型的例子如鸦片促黑皮质素原 (pro-opio-melano-cortin, POMC)。POMC 由 265 个氨基酸残基组成，经水解修剪，可生成 ACTH (三十九肽)， β -促黑激素 (β -MSH, 十八肽)， β -内啡肽 (β -Endorphin, 十一肽)， β -脂酸释放激素 (β -LT, Lipotropin, 九十一肽) 等活性物质 (图 13-11)。

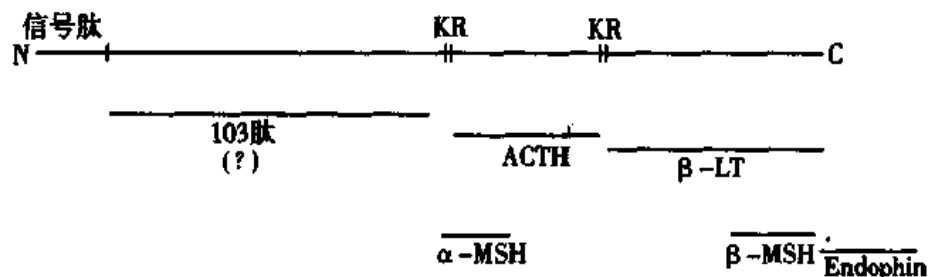


图 13-11 POMC 是多种活性物质的前体
最上行为 POMC, KR 为赖氨酸、精氨酸残基

三、蛋白质合成后的靶向输送

蛋白质合成的部位在核蛋白体，合成后的去向不外是下列三者之一：保留在胞浆；进入细胞核、线粒体或其他细胞器；分泌至体液，然后输送至该蛋白质应起作用的靶器官和靶细胞。蛋白质合成后，定向地到达其执行功能的目标地点，称为靶向输送(Protein targeting)。上述后两种情况，蛋白质都必须先通过膜性结构，才能到达。穿过合成所在的细胞到其他组织细胞去的蛋白质，可统称为分泌性蛋白质(secretory proteins)，例如各种肽类激素、各种血浆蛋白、凝血因子、抗体蛋白等。分泌性蛋白的合成过程现在已知是和其他蛋白质基本上是一样的。但其 mRNA 上往往要为一段疏水氨基酸较多的肽编码。这段肽称为信号肽(signal peptide)，其作用是把合成的蛋白质移向胞膜并与胞膜结合，然后把合成的蛋白质送出胞外。分泌性蛋白质另一特点是多数有一种蛋白质的前身，例如前胰岛素原(preproinsulin)，前甲状旁腺素原(preparathyroid hormone)等等。蛋白质合成后透过膜性结构必须具备有三个条件：信号肽，蛋白质自身的结构特点和转运的机构。

信号肽是未成熟蛋白质中，可被细胞转运系统识别的特征性氨基酸序列。已对相当多的信号肽进行过一级结构分析，发现它们的共同特点(图 13-12)。信号肽一般由 10 多个至 40 多个氨基酸残基组成，并大致分为三个区段。N 端有带正电荷的氨基酸，如赖氨酸和精氨酸，此段称为碱性氨基末端。中间较大的 20 个或更多的以中性氨基酸为主组成疏水核心区，常见有亮氨酸、异亮氨酸等。C-端含有小分子氨基酸如甘、丙、丝氨酸较多，是被信号肽酶(signal peptidase)裂解的部位，亦称为加工区。

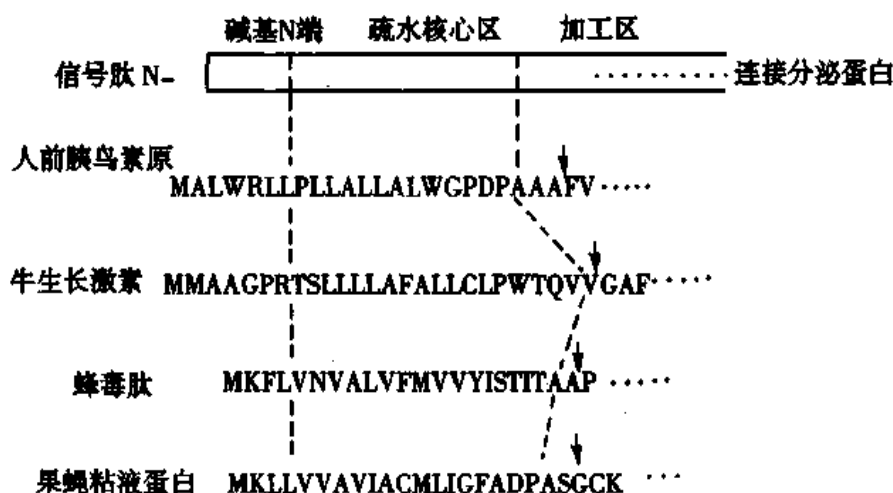


图 13-12 信号肽的一级结构和几种信号肽举例氨基酸排列顺序用单一英文字母缩写表示，加工区内的箭头示信号肽被切除的位点

实验上，不同蛋白质甚至不同物种的信号肽之间，可以互通使用。但把 A 蛋白的信号肽连接到 B 蛋白分子，B 蛋白到达原来只有 A 蛋白才会到达的位置。这个结果似乎说明信号肽对靶向输送的决定性作用。而另一些实验把某一分泌蛋白的氨基酸序列加以人工变更后，虽然信号肽不变，也未能把蛋白质输送到应在的位置。而且，尚有为数不

少的分泌性蛋白，未能查找到完整的信号肽序列。可见，蛋白质本身的结构也是决定靶向输送的重要因素。不过这一问题目前尚未能像信号肽的研究那样，找到一些共同的规律。

至于分泌性蛋白质的转运系统由什么组成和如何运作，目前有多种不同学说。其中以信号假说(the signal hypothesis)能较广泛地被接受。这一假说认为：分泌性蛋白质在合成过程中就开始与转运系统相联系。真核细胞胞浆内存在一种信号肽识别粒子(signal recognition particles, SRP)，它是由六种不同蛋白质与一低分子量的 7s-RNA 组成复合体。信号肽一出现即被 SRP 辨认、结合。SRP 还有暂停蛋白质合成的作用，而且随即把正在合成蛋白质的核蛋白体带到细胞膜的胞浆面。在此，SRP 与膜内的一种称为对接蛋白(docking protein, DP)的蛋白质结合。DP 也可称为 SRP 受体。靠这样的一组核酸-蛋白质组成的输送系统，促使膜蛋白的通道开放。信号肽带动着合成中的蛋白质穿过膜，然后信号肽又沿通道折回膜内，并被膜外侧面的信号肽酶在其加工区上切断，使成熟的蛋白质释放至胞外，完成了分泌过程(图 13-13)。

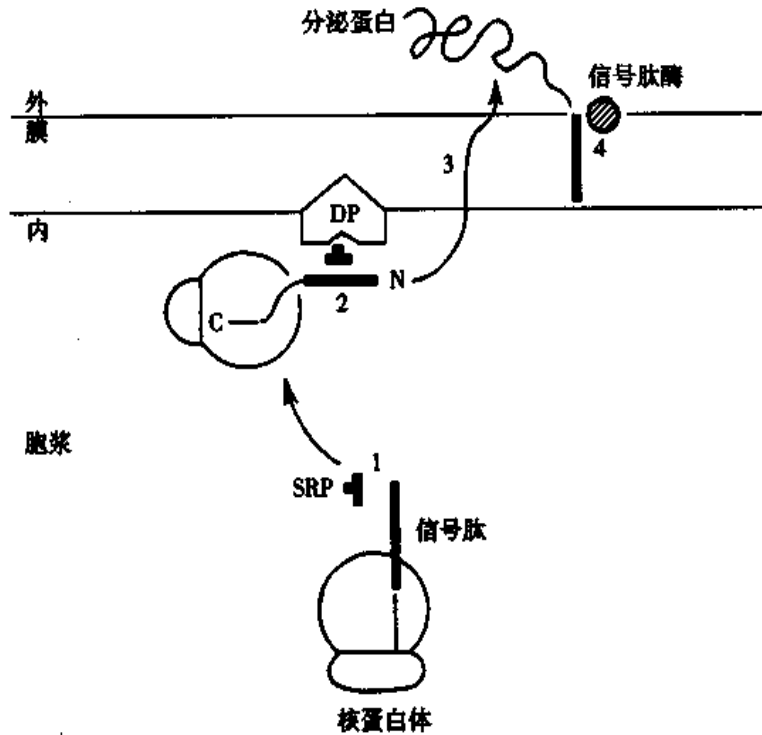


图 13-13 分泌性蛋白质的转运

1. 信号肽被 SRP 识别
2. SRP 把核蛋白体带至胞膜的胞浆面
3. 信号肽带动蛋白质穿膜而出
4. 信号肽反折回膜被信号肽酶水解

SRP: 信号肽识别粒子

DP: 对接蛋白, 即 SRP 受体

除了信号假说外，有学者提出过：膜触发假说、直接转移模型等分泌机制。包括信号假说在内，目前各种解释都尚有未完善之处，但毕竟对分泌性蛋白如何输送，已经有

了深入一步的认识。

第四节 蛋白质生物合成的干扰和抑制

复制、转录、翻译过程，在体内是非常严格、准确地进行的，其中已发现各过程均受体内各种因素调控，将在下一章专门论述。这里介绍一些外环境因素影响基因表达，作为预防治疗的基础医学知识。

抗生素(antibiotics)，是能够杀灭或抑制细菌的一类药物，自从20世纪30年代磺胺类药物，40年代青霉素问世以来，抗生素的种类已经十分繁多，药效各异。但其设计制造的原则，多数是利用这些药物能干扰、抑制代谢过程或基因信息传递过程。但它们必须是作用于微生物而对人类的损害不大。这是有可能的，因为上面谈到在复制、转录、翻译过程，高等和低等生物都是既相似又有差别。例如翻译过程，都以核蛋白体作为翻译场所，原核生物的核蛋白体较真核生物的为小，所含的rRNA和rps, rpl也有些差别。生化的研究就是要为药物设计尽量提供这些差别，以便设计一些对人体损害不大，对病原微生物却有特效作用的药物。

抗代谢药物是指能干扰生物代谢过程，以抑制细胞过度生长的药物。这一类药物是肿瘤化学治疗的方向之一，药物设计上常用竞争性抑制的原理，而且药物的作用点也常利用基因信息传递的各环节作为依据。例如6-巯基嘌呤，5-氟尿嘧啶等碱基类似物(base analogues)常用于抑制DNA复制过程，以达到肿瘤治疗目的。

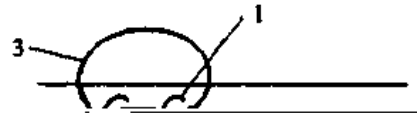
某些毒素也作用于基因信息传递过程，对毒素作用机制深入了解，一方面用于研究致病机制，而毒素的利用，也是寻找新药的途径之一。下面举几个例子，并用图加以总结，作为将来学习药理学、药物学的生化基础。

一、抗 生 素

图13-14示各种常用抗生素对翻译过程的作用位点。

1. 四环素(tetracyclin)族 包括土霉素等，能抑制氨基酰-tRNA与原核细胞的核蛋白体结合，抑制细菌的蛋白质生物合成。

2. 氯霉素(chloromycetin) 能与原核生物的核蛋白体大亚基结合，阻断翻译延长过程。高浓度时，对



嘌呤霉素对原核、真核生物的翻译过程均有干扰作用，故难用作抗菌药物，有人试用于肿瘤治疗。

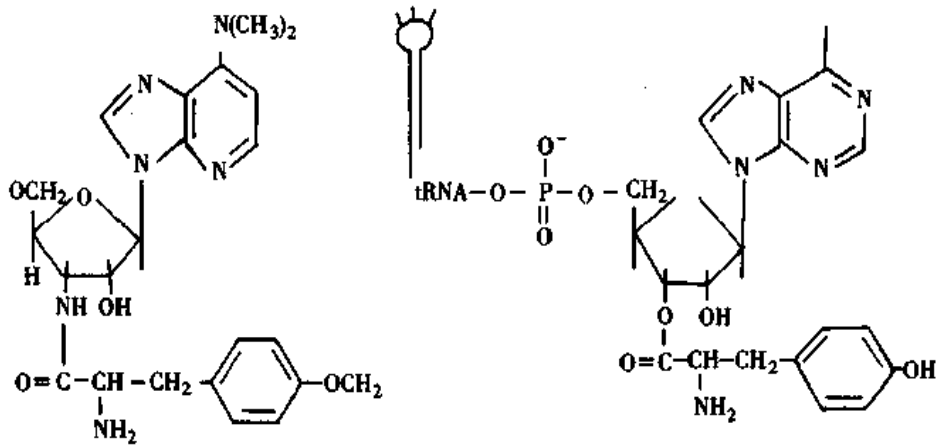


图 13-15 嘌呤霉素(左)与 tyr-tRNA^{tyr}(右)

5. 放线菌酮(cycloheximide) 抑制核蛋白体转肽酶。而且只对真核生物有特异性作用，因此，只限于作研究的试剂用。

二、干扰蛋白质生物合成的生物活性物质

由白喉杆菌产生的白喉毒素(diphtheria toxin)是一种对真核生物有剧毒的毒素蛋白质，其实它是一种修饰酶，可对真核生物的延长因子-2(EF-2)起共价修饰作用，生成EF-2的腺苷二磷酸核糖衍生物(图 13-16)，从而使EF-2失活。毒素的作用通常都是极低剂量即发生效应的，与酶的高效催化性能有关。

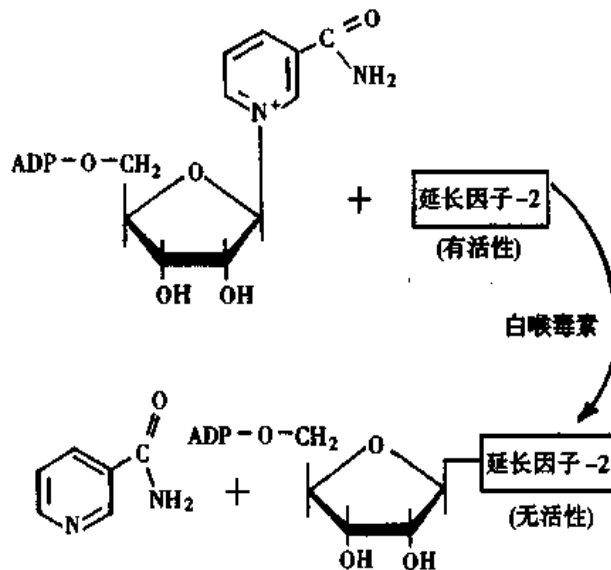


图 13-16 白喉毒素的作用

干扰素(interferon, IF)是由真核生物细胞感染病毒后分泌的具有抗病毒作用的蛋白质。事实上，动物和人类在生活过程中总会接触和感染过病毒。过去使用的血源性干扰

素，是从正常人血白细胞提取的，产量极低，价格昂贵。现在已能用基因工程技术生产人类各种干扰素。干扰素分为 α -(白细胞)型、 β -(成纤维细胞)型和 γ -(淋巴细胞)型三大族类，每族类中又各有亚型，分别有各自的特异性作用。

为了解干扰素作用机制，还应先回顾和深化有关 eIF₂ 与翻译起始过程。eIF₂-GTP 的结合，是进一步结合 met-tRNA^{met} 并使之进入核蛋白体小亚基必须的。eIF₂ 若被磷酸化，则失去起动翻译过程的能力。eIF₂ 的磷酸化与去磷酸化，可能是翻译调控上的一个重要环节。

干扰素对病毒有两方面的作用：其一是干扰素在双链 RNA (例如 RNA 病毒) 存在下，可以诱导一种蛋白激酶，由蛋白激酶使 eIF₂ 发生磷酸化，从而抑制病毒蛋白质的生物合成(图 13-17 左)；干扰素还可诱导生成一种罕见的寡核苷酸，称为 2'-5'A，2'-5'A 则可活化一种称为 RNaseL 的核酸内切酶，由 RNase L 降解病毒 RNA (图 13-17 右)。2'-5'A，即 2'-5'聚腺苷酸，其腺苷酸不是由通常的 3'-5'磷酸二酯键，而是由 2'-5'磷酸二酯键连接成。

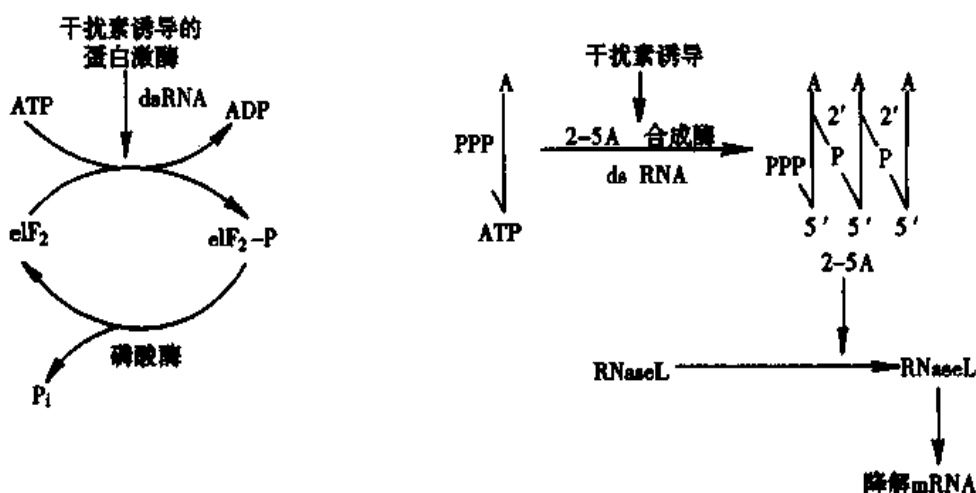


图 13-17 干扰素诱导 eIF₂ 磷酸化(左)和
干扰素诱导病毒 RNA 降解(右)

干扰素这两方面的作用是独立的。2'-5A 抑制病毒的蛋白质合成作用，加入 eIF₂ 并不能恢复。但加入相应的 mRNA 却可逆转，使病毒恢复蛋白质合成，说明两者之间没有相互依赖的关系。除了抗病毒作用外，干扰素还起调节细胞生长分化、激活免疫系统等作用。所以干扰素在临床应用上十分广泛，它是继基因工程胰岛素之后，比较早获准在临床上使用的基因工程药物。我国已有多家药厂能生产各种类型的基因工程干扰素。

小 结

蛋白质的生物合成，需要各种氨基酸作为原料，还需各种 RNA 和酶、蛋白质因子等的共同配合。mRNA 是翻译的直接模板，通过遗传密码决定蛋白质分子上的氨基酸组成和排列次序。氨基酸要先和相应的 tRNA 结合，生成氨基酰-tRNA，才能进入蛋白质肽链上的正确位置。rRNA 和多种蛋白质组成的核蛋白体，作为翻译的场所。核蛋白

体分为大、小亚基，其上的 P 位和 A 位分别是肽链、氨基酰-tRNA附着的位置。某些核蛋白体蛋白质有酶的作用。

原核生物翻译起始因子有 IF-1、IF-2 和 IF-3 三种，真核生物 eIF 多达十种。翻译起始复合物就是把甲硫氨酰-tRNA、mRNA 和核蛋白体组装在一起而形成的。原核生物和真核生物的翻译起始复合物生成过程大同小异，关键是核蛋白体小亚基先结合 mRNA 还是甲硫氨酰-tRNA 先结合 mRNA。起始复合物生成后，P 位被甲硫氨酰-tRNA 占据而 A 位留空，准备第二位氨基酰 tRNA 的进入。翻译延长过程包括进位(注册)、成肽和转位三个反应的连续循环。翻译延长因子 ET-T (EF-1)协助氨基酰-tRNA 进入 A 位称为进位。催化肽链生成的酶叫转肽酶，是由核蛋白体上多种蛋白质组成的，成肽在 A 位上完成。另一种翻译延长因子 EF-G (EF-2)有转位酶的作用，把肽链从 A 位移向 P 位。留空的 A 位又接受下一个氨基酰-tRNA 的进入。当 mRNA 链上的终止密码到达核蛋白体，没有相配的氨基酰-tRNA 进入 A 位，释放因子(RF)即结合核蛋白体，使转肽酶发挥水解酶的活性，导致肽链脱落，mRNA 释放、核蛋白体拆离，翻译过程即行终止。

翻译后加工是多肽链从无生物活性转变为有生物活性的过程。加工形式有多种。高级结构的加工有亚基聚合和辅基连接。一级结构的加工包括去除 N-端的甲硫氨酸，个别氨基酸的修饰，以及水解修饰。通过水解修饰，一条肽链可能分为多个不同的活性肽段。蛋白质的靶向输送是与膜性结构与功能相关的过程，它保证合成的蛋白质在恰当位置上的执行功能。

蛋白质的生物合成受各种药物和生物活性物质的抑制和干扰。不少抗生素就是通过抑制蛋白质生物合成而杀菌或抑菌的。白喉毒素、干扰素等，都在抑制蛋白质生物合成上有特异性的作用靶点。

(马润泉)

第十四章 基因表达调控

20世纪50年代末,生物科学家们揭示了遗传信息传递的规律——中心法则。此后,令科学家们感兴趣的问题是,究竟是何种机制控制遗传信息的传递规律,一个特定的基因又是如何开启或关闭的。1961年,Francis Jacob和Jacques Monod通过*E. coli*基因表达调控研究提出了著名的操纵子(元)学说,开创了基因表达调控研究的新领域。

第一节 基因表达调控基本概念与原理

基因表达调控是分子生物学及分子遗传学发展的新领域,涉及很多基本概念和原理,这是认识原核、真核基因表达调控的基础。

一、基因表达的概念

一个细胞或病毒所携带的全部遗传信息或整套基因,称为基因组(genome)。几乎所有生命有机体的基因组都是由双链DNA组成;只有病毒的基因组是由双链或单链的DNA或RNA组成。不同生物基因组所含基因多少不同。细菌的基因组约含4000个基因;多细胞生物基因达数十万个。人类基因组含近10万个基因。在某一特定时期,基因组中只有一部分基因处于表达状态。通常,大肠杆菌有约5%的基因处于高水平转录活性状态,其余大多数基因或以极低的速率进行转录,或处于静息状态。例如,平时与细菌蛋白质生物合成有关的延长因子编码基因表达活跃,与DNA损伤修复有关的酶分子编码基因却极少表达;当有紫外线照射引起DNA损伤时,这些修复酶编码基因表达异常活跃。可见,基因表达是在一定调节机制控制下进行的,生物体随时调整不同基因的表达状态,以适应环境、维持生长和发育的需要。

基因表达就是基因转录及翻译的过程。在一定调节机制控制下,大多数基因经历基因激活、转录及翻译等过程,产生具有特异生物学功能的蛋白质分子,赋予细胞或个体一定的功能或形态表型。但并非所有基因表达过程都产生蛋白质。rRNA、tRNA编码基因转录合成RNA的过程也属于基因表达。

二、基因表达的时间性及空间性

无论是病毒、细菌,还是多细胞生物,乃至高等哺乳类动物及人,基因表达表现为严格的规律性,即时间、空间特异性。生物物种愈高级,基因表达规律愈复杂、愈精细,这是生物进化的需要及适应。基因表达的时间、空间特异性由特异基因的启动子(序列)和(或)增强子与调节蛋白相互作用决定。

(一) 时间特异性

噬菌体、病毒或细菌侵入宿主后，呈现一定的感染阶段。随感染阶段发展、生长环境变化，有些基因开启，有些基因关闭。按功能需要，某一特定基因的表达严格按特定的时间顺序发生，这就是基因表达的时间特异性(temporal specificity)。

在多细胞生物从受精卵到组织、器官形成的各个不同发育阶段，相应基因严格按一定时间顺序开启或关闭，表现为与分化、发育阶段一致的时间性。因此，多细胞生物基因表达的时间特异性又称阶段特异性(stage specificity)。与生命周期其他阶段比较，早期发育阶段的基因表达是较多的。例如，在海胆卵母细胞中有约 18 500 种不同的 mRNA 分子，而在海胆分化组织细胞中仅有 6 000 种 mRNA。

(二) 空间特异性

在多细胞生物个体某一发育、生长阶段，同一基因产物在不同的组织器官表达多少是不一样的；在同一生长阶段，不同的基因表达产物在不同的组织、器官分布也不完全相同。在个体生长全过程，某种基因产物在个体按不同组织空间顺序出现，这就是基因表达的空间特异性(spatial specificity)。基因表达伴随时间或阶段顺序所表现出的这种空间分布差异，实际上是由细胞在器官的分布决定的，因此基因表达的空间特异性又称细胞特异性(cell specificity)或组织特异性(tissue specificity)。

三、基因表达的方式

不同种类的生物遗传背景不同，同种生物不同个体生活环境不完全相同，不同的基因功能和性质也不相同。因此，不同的基因对内、外环境信号刺激的反应性不同。按对刺激的反应性，基因表达的方式或调节类型存在很大差异。

(一) 组成性表达

某些基因产物对生命全过程都是必需的或必不可少的。这类基因在一个生物个体的几乎所有细胞中持续表达，通常被称为管家基因(housekeeping gene)。例如，三羧酸循环是一枢纽性代谢途径，催化该途径各阶段反应的酶编码基因就属这类基因。根据基因功能不同，有的管家基因表达水平高，有的低。无论水平高低，管家基因较少受环境因素影响，而是在个体各个生长阶段的大多数或几乎全部组织中持续表达，或变化很小。区别于其他基因，这类基因表达被视为基本的或组成性基因表达(constitutive gene expression)。这类基因表达只受启动序列或启动子与 RNA 聚合酶相互作用的影响，而不受其

阻遏基因除受启动序列或启动子与 RNA 聚合酶相互作用的影响外，尚受其他机制调节；一般，这类基因的调控序列含有特异刺激的反应元件。

诱导和阻遏是同一事物的两种表现形式，在生物界普遍存在，也是生物体适应环境的基本途径。乳糖操纵子机制是认识诱导和阻遏表达的典型模型。

在生物体内，一个代谢途径通常是由一系列化学反应组成，需要多种酶参与；此外，还需要很多其他蛋白质参与作用物在细胞内、外区间的转运。这些酶及转运蛋白等编码基因被统一调节，使参与同一代谢途径的所有蛋白质(包括酶)分子比例适当，以确保代谢途径有条不紊地进行。在一定机制控制下，功能上相关的一组基因，无论其为何种表达方式，均需协调一致、共同表达，即为协调表达(coordinate expression)。这种调节称为协调调节(coordinate regulation)。

四、基因表达调控的生物学意义

(一) 适应环境、维持生长和增殖

生物体赖以生存的外环境是在不断变化的。从低等生物到高等生物、乃至人体中的所有活细胞都必须对外环境变化作出适当反应，调节代谢，以使生物体能更好地适应变化着的外环境。这种适应调节的能力总是与某种或某些蛋白质分子的功能有关。细胞内某种功能的蛋白质分子有或无、多或少等数量变化则是由这些蛋白质分子的编码基因表达与否、表达水平高低等状况决定的。

生物体调节基因表达，适应环境是普遍存在的。原核生物、单细胞生物调节基因的表达就是为适应环境、维持生长和细胞分裂。例如，当葡萄糖供应充足时，细菌与葡萄糖代谢有关的酶编码基因表达，其他糖类代谢有关的酶基因关闭；当葡萄糖耗尽而有乳糖存在时，则与乳糖代谢有关的酶编码基因表达，此时细菌可利用乳糖作碳源，维持生长和增殖。高等生物也普遍存在适应性表达方式。经常饮酒者体内醇氧化酶活性高即与相应基因表达水平升高有关。

(二) 维持个体发育与分化

在多细胞个体生长、发育的不同阶段，细胞中的蛋白质分子种类和含量差异很大；即使在同一生长发育阶段，不同组织器官内蛋白质分子分布也存在很大差异，这些差异是调节细胞表型的关键。例如，果蝇幼虫(蛹)最早期只有一组“母亲效应基因”(maternal effect genes)表达，使受精卵发生头尾轴和背腹轴固定，以后三组“分节基因”(segmentation genes)顺序表达、控制蛹的“分节”发育过程，最后这些“节”分别发育为成虫的头、胸、翅膀、肢体、腹及尾等。高等哺乳类动物各种组织、器官的发育、分化都是由一些特定基因控制的。当某种基因缺陷或表达异常时，则会出现相应组织或器官的发育异常。

五、基因表达调控的基本原理

(一) 基因表达的多级调控

在学习过物质代谢及物质代谢调节后不难理解：在一个活细胞中某种物质分子的浓度与该分子合成及降解的动态平衡有关。对于一个基因的编码产物——蛋白质来说，至

少有以下几个环节可调节蛋白质在细胞内的浓度，即基因激活、转录起始、转录后加工、mRNA 降解、蛋白质翻译、翻译后加工修饰及蛋白质降解等。上述任一环节机制发生异常均会影响某个基因的表达水平。目前已有证据表明，基因结构活化、转录起始、转录后加工及转运、翻译及翻译后加工等均为基因表达调控的控制点。可见，基因表达调控是在多级水平上进行的复杂事件。其中，转录起始是基因表达的基本控制点。

(二) 基因转录激活调节基本要素

基因表达的调节与基因的结构、性质，生物个体或细胞所处的内、外环境，以及细胞内所存在的转录调节蛋白有关。仅就基因转录激活而言，其调节与下述基本要素有关。

1. 特异 DNA 序列 某种基因特异的表达方式与基因结构有关，这里主要指具有调节功能的 DNA 序列。原核生物大多数基因表达调控是通过操纵子机制实现的。操纵子 (operon) 通常由 2 个以上的编码序列与启动序列 (promoter)、操纵序列 (operator) 以及其他调节序列在基因组中成簇串联组成。启动序列是 RNA 聚合酶结合并启动转录的特异 DNA 序列。各种原核基因启动序列特定区域内，通常在转录起始点上游 -10 及 -35 区域存在一些相似序列，称为共有序列 (consensus sequence)。E. coli 及一些细菌启动序列的共有序列在 -10 区域是 TATAAT，又称 Pribnow 盒 (Pribnow box)，在 -35 区域为 TTGACA (图 14-1)。这些共有序列中的任一碱基突变或变异都会影响 RNA 聚合酶与启动序列的结合及转录起始。因此，共有序列决定启动序列的转录活性大小。操纵序列与启动序列毗邻或接近，其 DNA 序列常与启动序列交错、重叠，它是原核阻遏蛋白的结合位点。当操纵序列结合有阻遏蛋白时会阻碍 RNA 聚合酶与启动序列的结合，或使 RNA 聚合酶不能沿 DNA 向前移动，阻遏转录，介导负性调节。原核操纵子调节序列中还有一种特异 DNA 序列可结合激活蛋白，此时 RNA 聚合酶活性增强，使转录激活，介导正性调节。

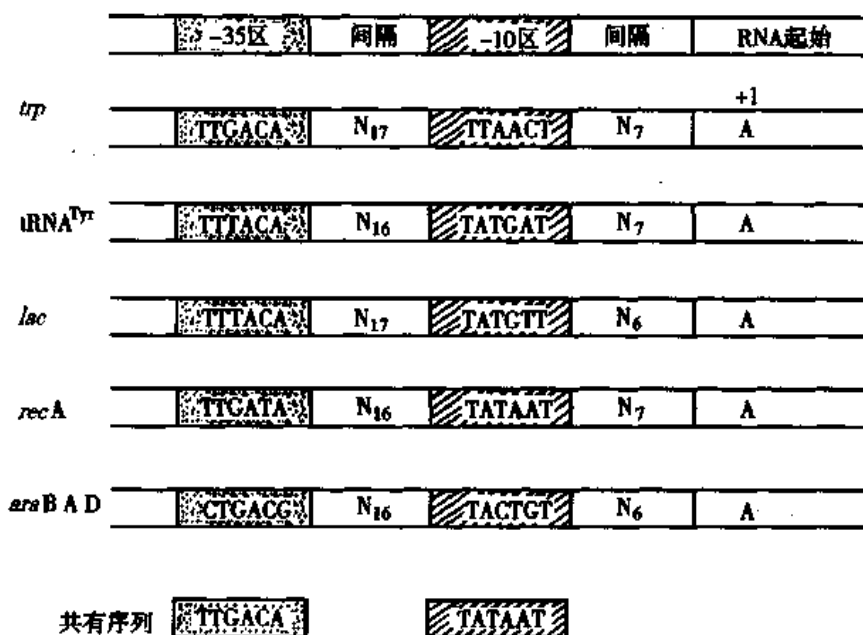


图 14-1 五种 E. coli 启动序列的共有序列

参与真核生物基因转录激活调节的 DNA 序列比原核更为复杂。绝大多数真核基因调控机制几乎普遍涉及编码基因两侧的 DNA 序列——顺式作用元件。在分子遗传学中，相对同一分子或染色体而言谓顺式(cis)，相对不同分子或染色体而言谓反式(trans)。所谓顺式作用元件(cis-acting element)就是指可影响自身基因表达活性的 DNA 序列。图 14-2 中，A、B 分别代表同一 DNA 分子中的两段特异 DNA 序列。B 序列通过一定机制影响 A 序列，并通过 A 序列控制该基因转录起始的准确性及频率。A、B 序列就是调节这个基因转录活性的顺式作用元件。不同基因具有各自特异的顺式作用元件。与原核基因类似，在不同真核基因的顺式作用元件中也会时常发现一些共有序列，如 TATA 盒、CCAAT 盒等。这些共有序列就是顺式作用元件的核心序列，它们是真核 RNA 聚合酶或特异转录因子的结合位点。顺式作用元件通常是非编码序列。顺式作用元件并非都位于转录起始点上游(5'端)。根据顺式作用元件在基因中的位置、转录激活作用的性质及发挥作用的方式，可将真核基因的这些功能元件分为启动子、增强子及沉默子等(见本章第三节)。

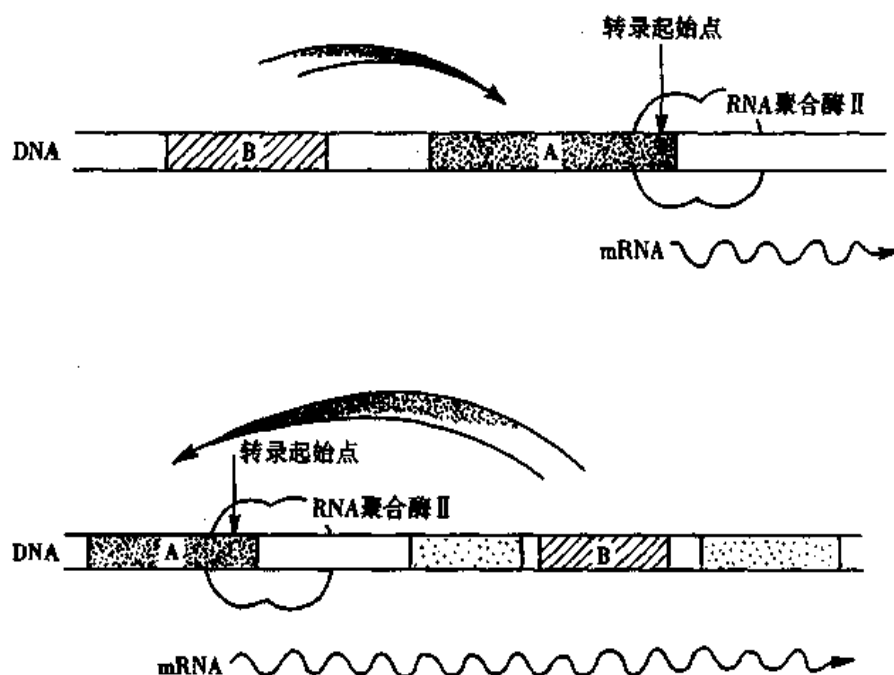


图 14-2 顺式作用元件

2. 调节蛋白 原核生物基因调节蛋白分为三类：特异因子、阻遏蛋白和激活蛋白。特异因子决定 RNA 聚合酶对一个或一套启动序列的特异性识别和结合能力。阻遏蛋白(repressor)可结合特异 DNA 序列——操纵序列，阻遏基因转录。阻遏蛋白介导的负性调节机制在原核生物普遍存在。激活蛋白(activator)可结合启动序列邻近的 DNA 序列，促进 RNA 聚合酶与启动序列的结合，增强 RNA 聚合酶活性。分解(代谢)物基因激活蛋白(catabolite gene activation protein, CAP)就是一种激活蛋白。某些基因在没有激活蛋白存在时，RNA 聚合酶很少或全然不能结合启动序列。原核调节蛋白都是一些 DNA 结合蛋白。

真核基因调节蛋白又称转录因子(transcription factor)。绝大多数真核转录调节因子

由某一基因表达后，通过与特异的顺式作用元件相互作用(DNA-蛋白质相互作用)反式激活另一基因的转录，故称反式作用因子(trans-acting factor)。并非所有真核调节蛋白都起反式作用，有些基因产物可特异识别、结合自身基因的调节序列，调节自身基因的开启或关闭，这就是顺式作用。具有这种调节方式的调节蛋白称为顺式作用蛋白。关于反式及顺式作用蛋白概括于图 14-3。大多数反式作用因子是 DNA 结合蛋白；还有一些真核基因调节蛋白不能直接结合 DNA，需通过蛋白质-蛋白质相互作用参与 DNA-蛋白质复合物的形成、调节基因转录。

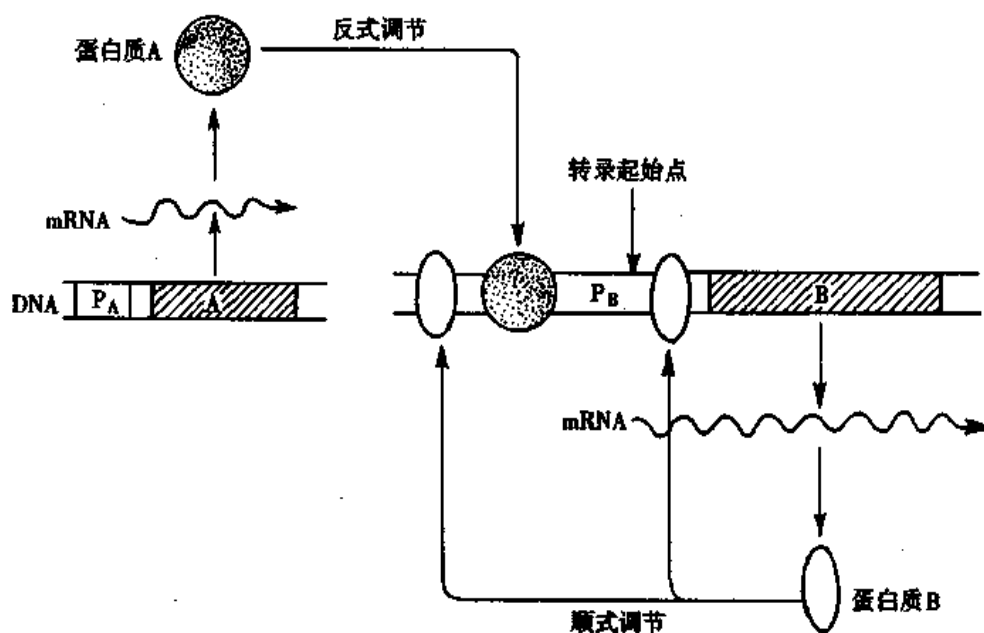


图 14-3 反式与顺式作用蛋白

3. DNA-蛋白质、蛋白质-蛋白质相互作用 DNA-蛋白质相互作用(DNA-protein interaction)指反式作用因子与顺式作用元件之间的特异识别及结合。这种结合通常是非共价结合，被调节蛋白识别的 DNA 结合位点通常呈对称、或不完全对称结构。这种蛋白质结合位点所在的双螺旋 DNA 的大沟和小沟暴露的碱基侧缘不同，当调节蛋白的一段 α 螺旋落入 DNA 的大沟或小沟时，螺旋中某些氨基酸残基的侧链(R 基团)就会指向 DNA 中的某些碱基，形成氨基酸与碱基之间的相互联系，即形成 DNA-蛋白质复合物。

绝大多数调节蛋白结合 DNA 前需通过蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction)形成二聚体(dimer)或多聚体(polymer)。所谓二聚化(dimerization)就是指两分子单体(monomer)通过一定结构域结合成二聚体，它是调节蛋白结合 DNA 时最常见的形式。只要具有适当的结构，两个相同或不同的分子均可形成二聚体。由同种分子形成的二聚体称同二聚体(homodimer)，异种分子间形成的二聚体称异二聚体(heterodimer)。一般说，异二聚体比同二聚体具有更强的 DNA 结合能力；有时，由于调节蛋白结构不同，二聚化后可能丧失结合 DNA 的能力。除二聚化或多聚化反应，还有一些调节蛋白不能直接结合 DNA，而是通过蛋白质-蛋白质相互作用间接结合 DNA，调节基因转录，这在真核生物很常见。因为不同的真核细胞中所存在的转录调节因子种类不

同，即使有相同的因子但其浓度不同，所以同一基因在不同细胞中的表达状态不同。

4. RNA 聚合酶 DNA 元件与调节蛋白对转录激活的调节最终是由 RNA 聚合酶活性体现的。启动序列/启动子的结构、调节蛋白的性质对 RNA 聚合酶活性影响很大。

(1) 启动序列/启动子与 RNA 聚合酶活性：原核启动序列或真核启动子是由转录起始点、RNA 聚合酶结合位点及控制转录的调节组件组成。真核启动子比原核启动序列结构更复杂，不同基因的启动序列或启动子核苷酸序列也存在差异。启动序列或启动子核苷酸序列会影响其与 RNA 聚合酶的亲和力，而亲和力大小则直接影响转录启动的频率。例如，*E. coli* 的某些基因每秒钟转录一次，而另一些基因转录频率在一代细胞中可能低于一次，这种差异被认为是启动序列不同所致。在缺乏特异调节蛋白的情况下，不同碱基序列的两个启动序列转录频率可能相差 10^3 倍以上。前已述及，很多 *E. coli* 启动序列在 -10 和 -35 区域有 TATAAT 和 TTGACA 共有序列。如果一个启动序列的共有序列被置换为非共有序列，或将一启动序列的非共有序列代之以共有序列，则会得到使转录活性降低或增加两种截然不同的结果。可见，RNA 聚合酶与启动序列或启动子有关。当然，真核 RNA 聚合酶单独存在时与启动子的亲和力极低或无亲和力，必须与基本转录因子形成复合物才能与启动子结合。因此，对真核 RNA 聚合酶活性来说，除启动子序列，尚与所存在的转录调节因子有关。

(2) 调节蛋白与 RNA 聚合酶活性：许多基因与管家基因不同，它们的基因产物浓度随环境信号而变化。这些基因何以能对分子信号作出应答呢？原来是，这些基因都有一个由启动序列或启动子决定的基础转录频率，一些特异调节蛋白在适当环境信号刺激下在细胞内表达，随后这些调节蛋白通过 DNA-蛋白质相互作用、蛋白质-蛋白质相互作用影响 RNA 聚合酶活性，从而使基础转录频率发生改变，出现表达水平变化。诱导剂、阻遏剂等小分子信号所引起的基因表达都是通过特异调节蛋白分子的作用，直接

如十二章所述,原核生物细胞仅含有一种 RNA 聚合酶,核心酶参与转录延长,全酶司转录起始。在转录起始阶段, σ 亚基(又称 σ 因子)识别特异启动序列;不同的 σ 因子决定特异基因的转录激活,决定 mRNA、rRNA 和 tRNA 基因的转录。

(二) 操纵子模型的普遍性

除个别基因外,原核生物绝大多数基因按功能相关性成簇地串联、密集于染色体上,共同组成一个转录单位——操纵子(operon,又译为操纵元),如乳糖(*lac*)操纵子、阿拉伯糖(*ara*)操纵子及色氨酸(*trp*)操纵子等。因此,操纵子机制在原核基因调控中具有较普遍的意义。一个操纵子只含一个启动序列(在原核细胞因其隶属于操纵子,故译为启动序列)及数个可转录的编码基因。通常,这些编码基因为 2~6 个,有的多达 20 个以上,在同一启动序列控制下,可转录出多顺反子 mRNA (polycistronic mRNA)。原核基因的协调表达就是通过调控单个启动序列的活性来完成的。

(三) 阻遏蛋白与阻遏机制的普遍性

在很多原核操纵子系统,特异的阻遏蛋白是控制原核启动序列活性的重要因素。当阻遏蛋白与操纵序列结合或解聚时,就会发生特异基因的阻遏或去阻遏。原核基因调控普遍涉及特异阻遏蛋白参与的开、关调节机制。

二、乳糖操纵子调节机制

(一) 乳糖操纵子的结构

E. coli 的乳糖操纵子(*lac operon*)含 Z、Y 及 A 三个结构基因,分别编码 β -半乳糖苷酶、透酶和乙酰基转移酶,此外还有一个操纵序列 O、一个启动序列 P 及一个调节基因 I (图 14-4)。I 基因编码一种阻遏蛋白,后者与 O 序列结合,使操纵子受阻遏而处于关闭状态。在启动序列 P 上游还有一个分解(代谢)物基因激活蛋白(catabolite gene activation protein, CAP)结合位点。由 P 序列、O 序列和 CAP 结合位点共同构成 *lac* 操纵子的调控区,三个酶的编码基因即由同一调控区调节,实现基因产物的协调表达(图 14-4)。

(二) 阻遏蛋白的负性调节

在没有乳糖存在时,*lac* 操纵子处于阻遏状态。此时, I 基因在 P_i 启动序列操作下表达的 *lac* 阻遏蛋白与 O 序列结合,阻碍 RNA 聚合酶与 P 序列结合,抑制转录启动(图 14-4 上)。阻遏蛋白的阻遏作用并非绝对,偶有阻遏蛋白与 O 序列解聚。因此,每个细胞中可能会有寥寥数分子 β -半乳糖苷酶、透酶生成。

当有乳糖存在时,*lac* 操纵子即可被诱导。在这个操纵子体系中,真正的诱导剂并非乳糖本身。乳糖经透酶催化、转运进入细胞,再经原先存在于细胞中的少数 β -半乳糖苷酶催化,转变为半乳糖。后者作为一种诱导剂分子结合阻遏蛋白,使蛋白构象变化,导致阻遏蛋白与 O 序列解离、发生转录,使 β -半乳糖苷酶分子增加 1 000 倍(图 14-4 下)。异丙基硫代半乳糖苷(IPTG)是一种作用极强的诱导剂,不被细菌代谢而十分稳定,因此被实验室广泛应用。

(三) CAP 的正性调节

分解(代谢)物基因激活蛋白 CAP 是同二聚体,在其分子内有 DNA 结合区及 cAMP 结合位点。当没有葡萄糖及 cAMP 浓度较高时,cAMP 与 CAP 结合,这时 CAP 结合在

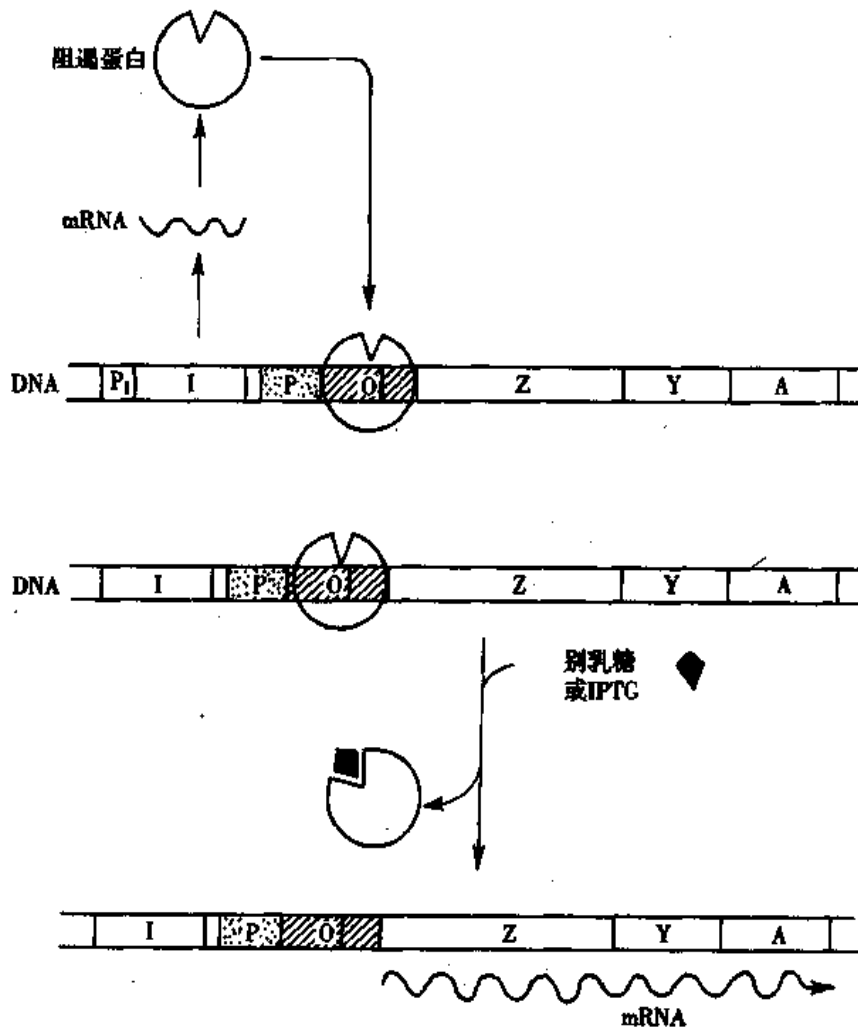


图 14-4 *lac* 操纵子与阻遏蛋白的调节

lac 启动序列附近的 CAP 位点，可刺激 RNA 转录活性，使之提高 50 倍；当有葡萄糖存在时，cAMP 浓度降低，cAMP 与 CAP 结合受阻，因此 *lac* 操纵子表达下降。

由此可见，对 *lac* 操纵子来说 CAP 是正性调节因素，*lac* 阻遏蛋白是负性调节因素。两种调节机制根据存在的碳源性质及水平协调调节 *lac* 操纵子的表达。

(四) 协调调节

lac 阻遏蛋白负性调节与 CAP 正性调节两种机制协调合作：当 *lac* 阻遏蛋白封闭转录时，CAP 对该系统不能发挥作用；但是如果没有 CAP 存在来加强转录活性，即使阻遏蛋白从操纵序列上解聚仍几无转录活性。可见，两种机制相辅相成、互相协调、相互制约。由于野生型 *lac* 启动序列作用很弱，所以 CAP 是必不可少的。

lac 操纵子的负性调节能很好地解释：单纯乳糖存在时，细菌是如何利用乳糖作碳源的。然而，细菌生长环境是复杂的，倘若有葡萄糖或葡萄糖/乳糖共同存在时，细菌首先利用葡萄糖才是最节能的。这时，葡萄糖通过降低 cAMP 浓度，阻碍 cAMP 与 CAP 结合而抑制 *lac* 操纵子转录，使细菌只能利用葡萄糖。葡萄糖对 *lac* 操纵子的阻遏作用称分解代谢阻遏 (catabolic repression)。 *lac* 操纵子强的诱导作用既需要乳糖存在又需缺

乏葡萄糖。

lac 操纵子调节机制如图 14-5。

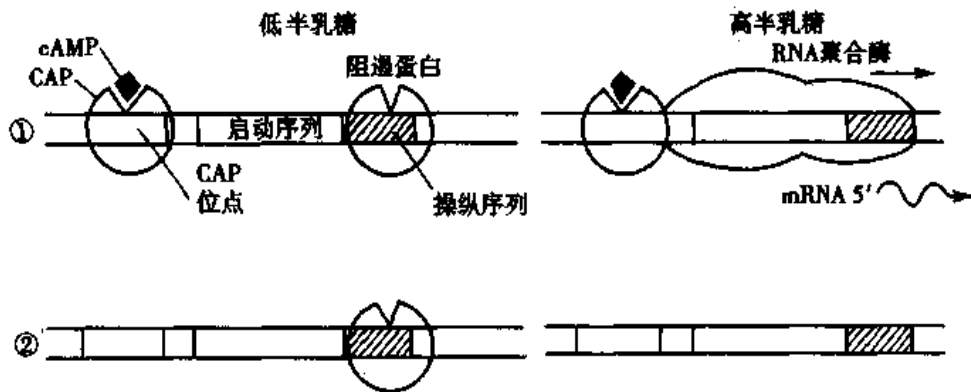


图 14-5 CAP、阻遏蛋白、cAMP 和诱导剂对 *lac* 操纵子的调节

① 当葡萄糖浓度低, cAMP 浓度高时

② 当葡萄糖浓度高, cAMP 浓度低时

三、其他转录调节机制

原核特异基因除操纵子(元)转录起始调节, 尚有其他特异调节机制。

(一) 转录衰减

细菌 *E. coli* 具备合成色氨酸所需要的酶。这些酶编码基因串联成一个 *trp* 操纵子。*E. coli* 的 *trp* 操纵子是一种阻遏型操纵子, 参与该操纵子机制的阻遏蛋白有两种分子构象。当有色氨酸结合阻遏蛋白 Trp 时, 阻遏蛋白 Trp 构象改变可结合 O 序列, 阻断基因转录(图 14-6); 当没有色氨酸结合阻遏蛋白 Trp 时, 阻遏蛋白不能结合 O 序列, 操纵子基因开始转录, 此后转录速率受转录衰减(attenuation)机制调节。*E. coli* 的 *trp* 操

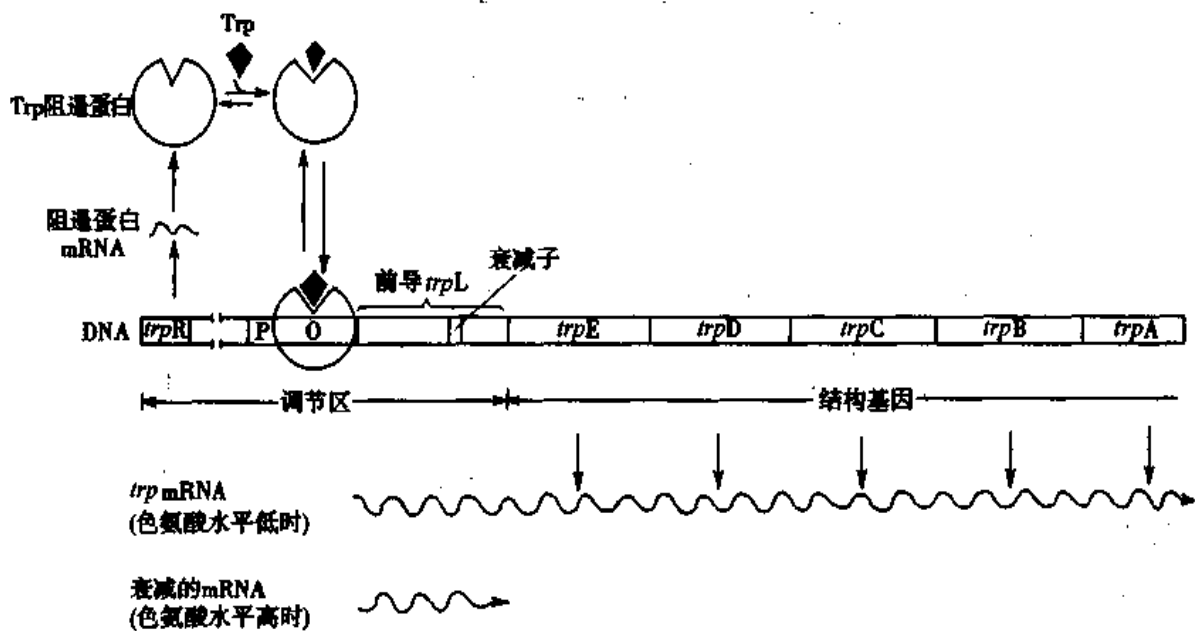


图 14-6 *trp* 操纵子

操纵子中第一个结构基因与启动序列P之间有一衰减子区域(attenuator region)(图14-7)。当细菌内色氨酸浓度很高时, *trp* 操纵子表达关闭。这是因为, *trp* 操纵子的序列1中有2个色氨酸密码子, 当色氨酸浓度很高时, 核蛋白体(核糖体)很快通过编码序列1, 并封闭序列2, 这种与转录偶联进行的翻译过程导致序列3、4形成一个不依赖 ρ (rho)因子的终止结构——衰减子(attenuator), 使前方的RNA聚合酶脱落, 转录终止。当色氨酸缺乏、没有色氨酰-tRNA供给时, 核蛋白体翻译停止在序列1中的2个色氨酸密码子前, 序列2与序列3形成发夹, 阻止了序列3、4形成衰减子结构, RNA转录继续进行。因此, 转录衰减实质上是转录与一个前导肽翻译过程的偶联。转录衰减是原核特有的一种基因调控机制。

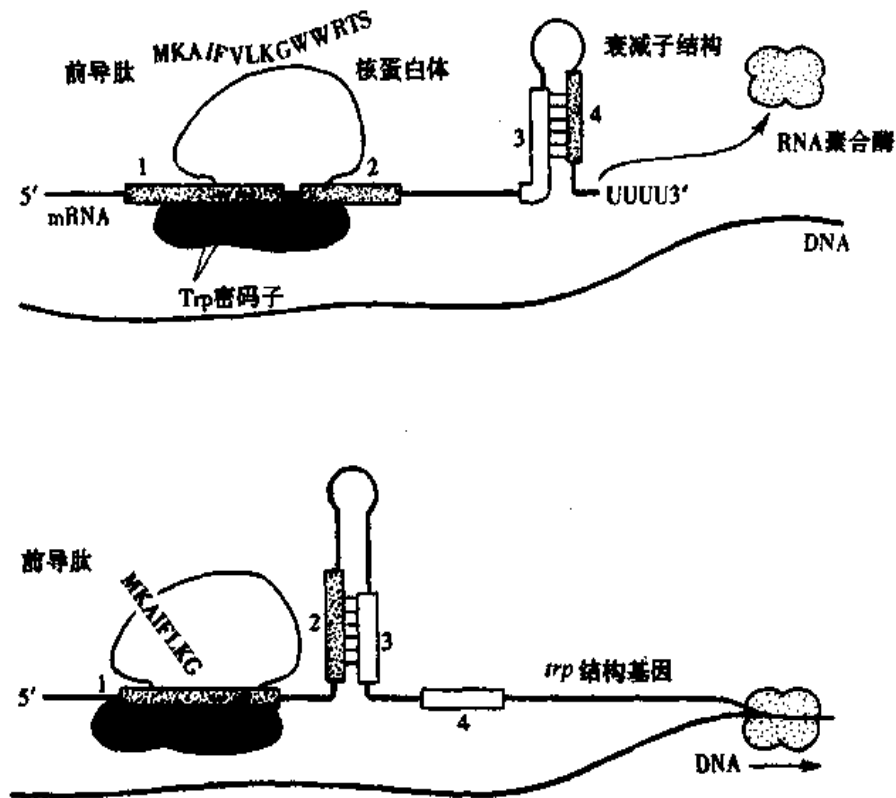


图 14-7 转录衰减机制

(二) 基因重组

沙门菌为逃避宿主免疫监视, 其鞭毛素蛋白的表达每经历 1 000 代细胞即发生一次相变异(phase variation)。沙门菌鞭毛素基因 H1、H2 分别编码两种不同的鞭毛素 H1、

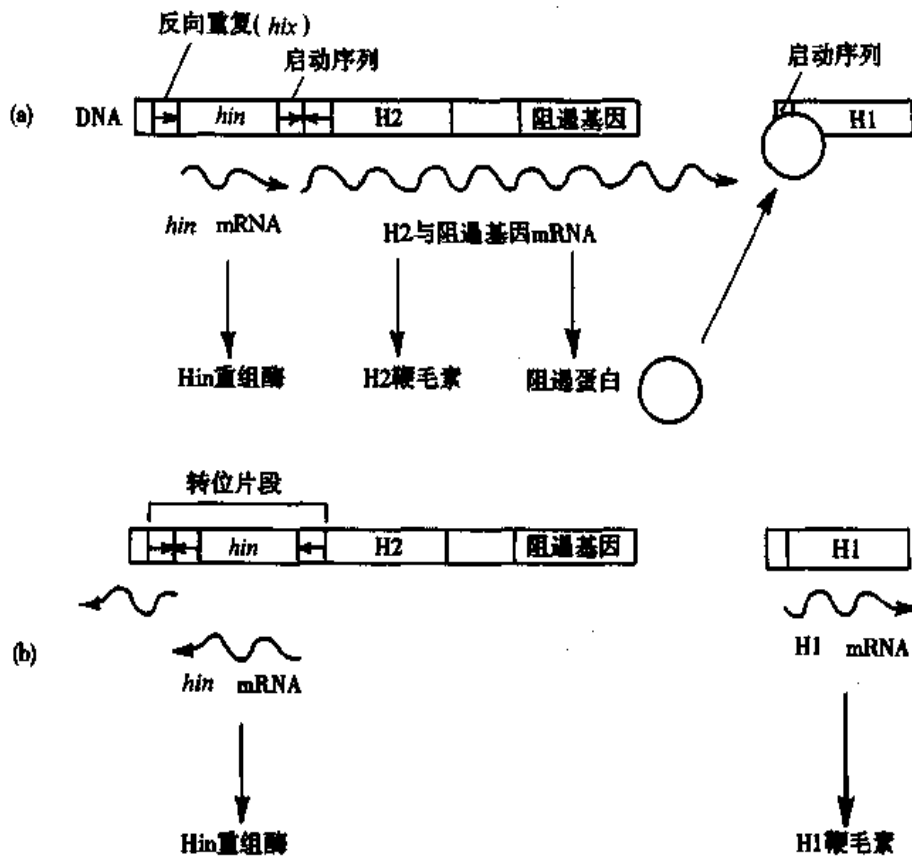


图 14-8 沙门菌鞭毛素基因的调节

有关的酶和蛋白质编码基因(即 SOS 基因)操纵序列的 SOS 盒子被 Lex A 阻遏蛋白封闭, SOS 基因处于阻遏状态; 当有紫外线照射时, 细菌内一种蛋白水解酶 Rec A 被激活, 催化 Lex A 阻遏蛋白裂解、失活, SOS 基因去阻遏, 修复酶及相关蛋白质表达, 急救修复损伤的 DNA。SOS 反应是分散在染色体上、非连贯性基因协调表达的典型例子。

第三节 真核基因转录调节

真核细胞结构及基因组结构远比原核复杂, 其基因表达调控机制发生在染色质活化、基因转录激活、转录后加工、翻译及翻译后加工等水平的调节事件也要复杂得多。应该说, 环境信号传导—染色质活化—基因转录激活偶联网络途径是特定条件下(如刺激或应激)某种基因产物表达调控过程的核心途径, 其间涉及很多复杂的细胞、分子过程。这里仅就真核基因调控特点及 mRNA 转录激活调节作主要介绍。

一、真核基因组结构特点

(一) 真核基因组结构庞大

哺乳类动物基因组 DNA 由约 3×10^9 bp (碱基对)的核苷酸组成。利用核酸杂交测定哺乳类细胞含 5 000 ~ 10 000 种 mRNA, 由此计算哺乳类基因组大约有 40 000 以上的基因。按每个编码基因含 1 500 个核苷酸计算, 这些基因约占全部基因组的 6%。此外尚

有 5%~10% 的 rRNA 等重复基因, 其余 80%~90% 的哺乳类基因组可能没有直接的遗传学功能, 这是真核基因组与原核截然不同的。此外, 真核细胞 DNA 与组蛋白结合形成复杂的染色质结构, 基因表达调控机制更加复杂。

(二) 单顺反子

细菌大多数基因按功能相关性成簇地串联形成操纵子, 由操纵子机制控制转录生成的 mRNA 是多顺反子 (polycistron)。与原核不同, 真核基因转录产物为单顺反子 (monocistron), 即一个编码基因转录生成一个 mRNA 分子, 经翻译生成一条多肽链。有很多真核蛋白质由几条不同的多肽链组成, 因此存在多个基因协调表达的问题。

(三) 重复序列

在原核、真核 DNA 中都有重复出现的核苷酸序列, 但在真核更普遍。重复序列长短不一, 短的在 10 个核苷酸以下, 长的达数百、乃至上千。重复频率也不尽相同。根据重复频率可将重复序列区分为高度重复序列 (10^6 次)、中度重复序列 ($10^3 \sim 10^4$ 次) 及单拷贝序列。高度、中度重复序列统称多拷贝序列; 单拷贝序列在整个基因组中只出现一次或很少的几次。还有一种重复序列是由两个互补序列在同一 DNA 链上反向排列而成, 称为反转重复序列 (inverted repeat)。重复序列有种属特异性, 基因组愈大、重复序列含量愈丰富。真核基因比原核重复序列多就是这个道理。

重复序列及基因重组均与生物进化有关。某些重复序列发生在调控区, 如转录终止区、衰减调控区及某些酶或蛋白因子结合位点, 则可能对 DNA 复制、转录调控具有重要意义。

(四) 基因不连续性

真核结构基因两侧存在有不被转录的非编码序列, 往往是基因表达的调控区。在编码基因内部尚有一些不为蛋白质编码的间隔序列, 称内含子, 而编码序列称外显子, 因此真核基因是不连续的。内含子与外显子相间排列, 同时被转录。内含子在转录后经一定规律的剪接机制从转录本被去除、使外显子转录本连接在一起, 形成成熟的 mRNA (见 RNA 生物合成章)。不同剪接方式可形成不同的 mRNA, 翻译出不同的多肽链, 因此转录后的剪接过程是真核基因表达调控的另一重要环节。

二、真核基因表达调控特点

同原核一样, 转录起始仍是真核基因表达调控的最基本环节, 而且某些机制是一样的。但在下述方面与原核存在明显差别。

(一) RNA 聚合酶

如第十二章所述, 真核 RNA 聚合酶有三种, 即 RNA Pol I、II 及 III, 分别负责三种 RNA 转录。每种 RNA 聚合酶由大约 10 个亚基组成, 其中有些亚基是相同的, 有些为特有的。例如, TATA 盒结合蛋白 (TBP) 就为三种聚合酶所共有; 对 Pol II 催化的 mRNA 转录来说, 转录因子 D (TF II D) 起核心作用。TF II D 是一种由 TBP 和 TBP 相关因子 (TBP-associated factor, TAF) 组成的多蛋白质复合物, TBP 相关因子对传递上游激活序列 (UAS) 的信息至关重要。

(二) 活性染色体结构变化

当基因被激活时，可观察到染色体相应区域发生某些结构和性质变化。

1. 对核酸酶敏感 活化基因一个明显特性是对核酸酶极度敏感，当用 DNase I 处理时染色质 DNA 会出现一些 DNase I 超敏位点(hypersensitive site)。超敏位点常发生在基因的 5'侧翼区(5'flanking region)、3'侧翼区(3'flanking region)甚至可转录区内，具体出现在调节蛋白结合位点附近。

2. DNA 拓扑结构变化 几乎所有天然状态的双链 DNA 均以负性超螺旋构象存在。当基因活化时，RNA 聚合酶前方的转录区 DNA 拓扑结构为正性超螺旋构象，而在其后面的 DNA 则为负性超螺旋构象。负性超螺旋构象有利于核小体结构的再形成，而正性超螺旋构象不仅阻碍核小体结构形成，而且促进组蛋白 H2A·H2B 二聚体的释放，使 RNA 聚合酶有可能向前移动，进行转录。

3. DNA 碱基修饰变化 在真核 DNA 有约 5% 的胞嘧啶被甲基化为 5 甲基胞嘧啶，这种甲基化最常发生在某些基因的 5'侧翼区的 CpG 序列(又称“CpG 岛”)。甲基化范围与基因表达程度呈反比关系。处于转录活化状态的基因 CpG 序列一般是低甲基化的。

4. 组蛋白变化 其中包括①富含 Lys 组蛋白水平降低：亦即 H1 样组蛋白减少，并伴有 DNA 形成 30nm 纤维束能力降低。②H2A·H2B 二聚体不稳定性增加：易于从核心组蛋白中被置换出来。③组蛋白修饰：最常见的修饰有乙酰化、泛素化，修饰后使核小体结构变得不稳定。④H3 组蛋白巯基暴露：系核小体结构变化引起。

(三) 正性调节占主导

真核 RNA 聚合酶对启动子的亲和力极小或根本没有实质性的亲和力，必须依赖一种或多种激活蛋白的作用。尽管已发现某些基因有负性顺式作用元件存在，很多真核调节因子既可作为激活蛋白又可作为阻遏蛋白发挥调节作用，但负性调节元件并不普遍存在。较大真核基因组广泛存在正性调节机制，其原因有二：①采用正性调节机制更有效：真核基因组结构庞大，在不适当位点出现特异结合序列机会增多，使 DNA-蛋白质相互作用特异性降低。如果采用多种调节蛋白可提高调节蛋白-DNA 相互作用的特异性，这是因为功能上并列、相关的几种蛋白质结合位点重复发生的概率是极小的。一个负性调节原件的结合足可阻断 RNA 聚合酶的结合，因此同时采用几个负性调节元件一般不会改变特异性；相反，如果采用多种正性调节元件、正性调节蛋白可提高基因表达调节的特异性和精确性。②采用负性调节不经济：试想，人类基因组近 10 万个基因都采用负性调节，那么每个细胞必须合成 10 万个以上的阻遏蛋白，这显然是不经济且无法实现的。在正性调节中，大多数基因不结合调节蛋白，所以是没有活性的；只要细胞表达一组激活蛋白时，相关靶基因即可被激活。

(四) 转录与翻译分隔进行

真核细胞有细胞核及胞浆等区间分布，转录与翻译在不同亚细胞结构中进行。

(五) 转录后修饰、加工

鉴于真核基因结构特点，转录后剪接及修饰等过程比原核复杂。

三、真核基因转录激活调节

(一) 顺式作用元件

按功能特性，真核基因顺式作用元件分为启动子、增强子及沉默子。

1. 启动子 是原核操纵子中启动序列(promoter)的同义语。真核基因启动子是 RNA 聚合酶结合位点周围的一组转录控制组件(module)，每一组件含 7~20 bp 的 DNA 序列。启动子包括至少一个转录起始点(transcription start site, initiation site)以及一个以上的功能组件。在这些功能组件中最具典型意义的就是 TATA 盒，它的共有序列是 TATAAAA。TATA 盒通常位于转录起始点上游 -25~-30 bp，控制转录起始的准确性及频率。TATA 盒是基本转录因子 TFIIID 结合位点(见后)。除 TATA 盒外，GC 盒(GGGCGG)和 CAAT 盒(GCCAAT)也是很多基因常见的，它们通常位于转录起始点上游 -30~-110 bp 区域。此外，还发现很多其他类型的功能组件。由 TATA 盒及转录起始点即可构成最简单的启动子。典型的启动子则由 TATA 盒及上游的 CAAT 盒和(或)GC 盒组成(见第十二章，图 12-9)，这类启动子通常具有一个转录起始点及较高的转录活性。然而，还有很多启动子并不含 TATA 盒，这类启动子分为两类：一类为富含 GC 的启动子，最初发现于一些管家基因，这类启动子一般含数个分离的转录起始点；另一类启动子既不含 TATA 盒，也没有 GC 富含区，这类启动子可有一个或多个转录起始点，大多转录活性很低或根本没有转录活性，而是在胚胎发育、组织分化或再生过程中受调节。

2. 增强子 所谓增强子(enhancer)就是远离转录起始点(1~30 kb)、决定基因的时间、空间特异性表达、增强启动子转录活性的 DNA 序列，其发挥作用的方式通常与方向、距离无关。增强子也是由若干功能组件——增强体(enhanson)组成，有些功能组件既可在增强子也可在启动子中出现。这些功能组件是特异转录因子结合 DNA 的核心序列。增强子和启动子常交错覆盖或连续。从功能上讲，没有增强子存在，启动子通常不能表现活性；没有启动子时，增强子也无法发挥作用。有时，对结构密切联系而无法区分的启动子、增强子样结构统称启动子。通常在文献中描述的、具有独立的转录活性和决定基因时间、空间特异性表达能力的启动子就是这类定义的启动子。在酵母基因，有一种类似高等真核增强子样作用的序列，称为上游激活序列(upstream activator sequences, UASs)，其在转录激活中的作用及方式与增强子类似。

3. 沉默子 某些基因含有负性调节元件——沉默子(silencer)，当其结合特异蛋白质因子时，对基因转录起阻遏作用。还有些 DNA 序列既可作为正性又可作为负性调节元件发挥顺式调节作用，这取决于细胞内存在的 DNA 结合因子的性质。

(二) 反式作用因子

除少数顺式作用蛋白，大多数转录调节因子以反式作用调节基因转录。

1. 转录调节因子分类 转录调节因子简称转录因子(transcription factors, TF)。按功能特性可将其分为两类：①基本转录因子(general transcription factors)——是 RNA 聚合酶结合启动子所必需的一组蛋白因子，决定三种 RNA (tRNA、mRNA 及 rRNA) 转录的类别。有人将其视为 RNA 聚合酶的组成成分或亚基，故称基本转录因子。对三种 RNA 聚合酶来说，除个别基本转录因子成分是通用的，如 TFIIID；而大多数成分是不同的 RNA 聚合酶所特有的。例如 TFIIID、TFIIA、TFIIB、TFIIE、TFIIF 及 TFIIH 为 RNA 聚合酶 II 催化所有 mRNA 转录所必需。②特异转录因子(special transcription factors)——为个别基因转录所必需，决定该基因的时间、空间特异性表达，故称特异转录因子。此类特异

因子有的起转录激活作用，有的起转录抑制作用。前者称转录激活因子(transcription activators)，后者称转录抑制因子(transcription inhibitors)。转录激活因子通常是一些增强子结合蛋白(enhancer binding protein, EBP)；多数转录抑制因子是沉默子结合蛋白，但也有抑制因子以不依赖 DNA 的方式起作用，而是通过蛋白质-蛋白质相互作用、“中和”转录激活因子或 TFⅡD，降低它们在细胞内的有效浓度，抑制基因转录。因为在不同的组织或细胞中各种特异转录因子分布不同，所以基因表达状态、方式不同。

2. 转录调节因子结构 所有转录因子至少包括两个不同的结构域：DNA 结合域(DNA binding domain)和转录激活域(activation domain)；此外，很多转录因子还包含一个介导蛋白质-蛋白质相互作用的结构域，最常见的是二聚化结构域。①DNA 结合域——通常由 60~100 个氨基酸残基组成。最常见的 DNA 结合域结构形式是锌指(zinc finger)结构及碱性氨基酸残基形成的 α 螺旋。锌指结构最早发现于结合 GC 盒的 SP1 转录因子，由 30 个氨基酸残基组成，其中有 2 个 Cys 和 2 个 His，4 个氨基酸残基分别位于正四面体的顶角，与四面体中心的锌离子配价结合，稳定锌指结构。在 Cys 和 His 之间有 12 个氨基酸残基，其中数个为保守的碱性残基(图 14-9)。识别 CAAT 盒的转录因子 CTF1 DNA 结合域是碱性 α 螺旋。类似的碱性 DNA 结合域还见于碱性亮氨酸拉链(basic leucine zipper, bZIP)和碱性螺旋-环-螺旋(basic helix-loop-helix, bHLH)结构的碱性氨基酸伸展。②转录激活域——由 30~100 个氨基酸残基组成。根据氨基酸组成特点，转录激活域又有酸性激活域(acidic activation domain)、谷氨酰胺富含域(glutamine-rich domain)及脯氨酸富含域(proline-rich domain)。③二聚化结构域——二聚化作用与 bZIP 的亮氨酸拉链、bHLH 的螺旋-环-螺旋结构有关。

上面介绍的各种功能结构形式都是最典型、最常见的，此外尚有一些独特的结构形式。

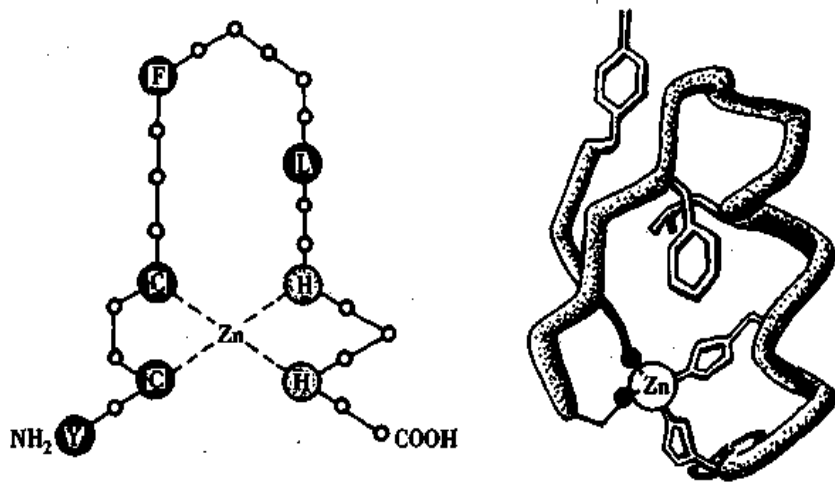


图 14-9 锌指结构

(三) mRNA 转录激活及其调节

真核 RNA 聚合酶Ⅱ不能单独识别、结合启动子，而是先由基本转录因子 TFⅡD 组成成分 TBP 识别 TATA 盒或启动元件(initiator, Inr)，并有 TAF 参与结合，形成 TFⅡD-启动子复合物；继而在 TFⅡA~F 等参与下，RNA 聚合酶Ⅱ与 TFⅡD、TFⅡB 聚合，形成

一个功能性的前起始复合物 PIC (见第十二章)。在几种基本转录因子中, TF II D 是唯一具有位点特异的 DNA 结合能力的因子, 在上述有序的组装过程起关键性指导作用。这样形成的前起始复合物尚不稳定, 也不能有效起动 mRNA 转录。在迂回折叠的 DNA 构象中, 结合了增强子的转录激活因子与前起始复合物中的 TF II D 接近, 或通过特异的中介因子——TBP 相关因子(TBP-associated factors, TAF)与 TF II D 联系, 形成稳定的转录起始复合物(图 14-10)。此时, RNA 聚合酶 II 才能真正起动 mRNA 转录。TBP 相关因子也是细胞特异的, 与转录激活因子共同决定组织特异性转录。

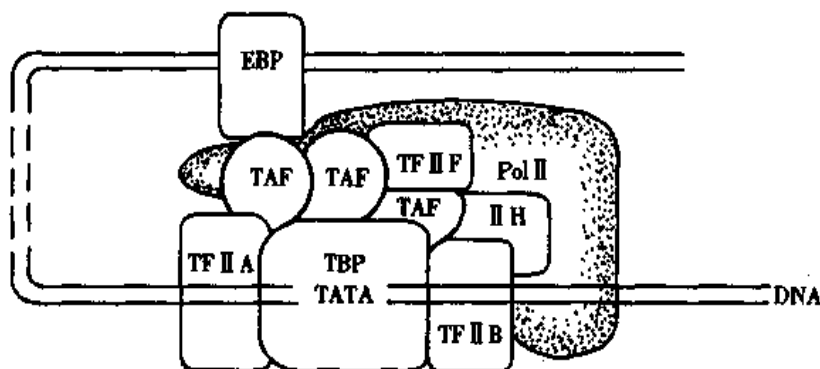


图 14-10 增强子结合因子(EBP)、TBP 相关因子(TAF)与转录起始复合物的形成

真核基因转录激活调节是复杂的、多样的。不同的 DNA 元件组合可产生多种类型的转录调节方式; 多种转录因子又可结合相同或不同的 DNA 元件。在结合 DNA 前, 特异转录因子常需通过蛋白质-蛋白质相互作用形成二聚体复合物。组成二聚体的单体不同, 所形成的二聚体结合 DNA 的能力也不同, 对转录激活过程所产生的效果各异, 有正性调节或负性调节之分。这样, 基因调节元件不同, 存在于细胞内的因子种类、性质及浓度不同, 所发生的 DNA-蛋白质、蛋白质-蛋白质相互作用类型不同, 产生协同、竞争或拮抗, 调节基因的转录激活方式。

小 结

基因表达就是基因转录及翻译的过程。rRNA、tRNA 编码基因转录过程也属于基因表达。某一特定基因的表达随感染(病毒或细菌)或发育、生长(多细胞生物)的时间顺序发生, 这就是基因表达的时间特异性。多细胞生物基因表达的时间特异性又称阶段特异性。在多细胞生物个体发育、生长不同阶段, 各种基因产物在不同组织空间表达多少不同, 这就是基因表达的空间特异性, 又称组织特异性。基因表达的方式有组成性表达及诱导/阻遏区分。某些基因产物对生命全过程都是必需的或必不可少的。这类基因在一个生物个体的几乎所有细胞中持续表达, 称为管家基因; 管家基因表达方式称基本的或组成性基因表达。另有一些基因表达随外环境信号变化: 有些基因对环境信号应答时被激活, 基因表达产物增加, 这种基因表达方式称为诱导; 有些基因对环境信号应答时被抑制, 基因表达产物水平降低, 这种基因表达方式称为阻遏。原核生物、单细胞生物调节基因的表达是为适应环境、维持生长和细胞分裂。多细胞生物调节基因的表达除为适

应环境，还有维持组织器官分化、个体发育的功能。基因表达调控是在多级水平上进行的复杂事件。其中，转录起始是基因表达的基本控制点。基因转录激活调节基本要素涉及 DNA 序列、调节蛋白、DNA-蛋白质/蛋白质-蛋白质相互作用以及这些因素对 RNA 聚合酶活性的影响。

大多数原核基因调控是通过操纵子机制实现的。*E. coli* 的 *lac* 操纵子(元)含 Z、Y 及 A 三个结构基因、一个操纵序列 O、一个启动序列 P 及一个调节基因 I。I 基因编码一种阻遏蛋白，可与 O 序列结合，使 *lac* 操纵子(元)处于阻遏状态，介导负性调节。在启动序列 P 上游还有一个分解代谢物基因激活蛋白(CAP)结合位点。在有 cAMP 存在时，CAP 结合在 *lac* 启动序列附近的 CAP 位点，可刺激 RNA 转录活性，介导正性调节。原核特异基因除操纵子转录起始调节，尚有其他特异调节机制。

与原核不同，真核基因组具有自己的结构特点。同原核一样，转录起始仍是真核基因表达调控的最基本环节，但两者存在明显差别。真核基因转录激活受顺式作用元件与反式作用因子相互作用调节。真核基因顺式作用元件按功能特性分为启动子、增强子及沉默子。真核基因启动子由 RNA 聚合酶结合位点及其周围的一组转录控制组件组成。增强子是远离转录起始点、决定基因的时间空间特异性表达、增强启动子转录活性的 DNA 序列，其发挥作用的方式通常与方向、距离无关。真核转录调节因子简称转录因子(TF)，按功能特性可分为基本转录因子和特异转录因子。所有转录因子至少包括两个不同的结构域：DNA 结合域和转录激活域；此外，很多转录因子还包含一个介导蛋白质-蛋白质相互作用的结构域。真核 RNA 聚合酶 II 不能单独识别、结合启动子，需依赖基本转录因子和特异转录激活因子的存在；基因转录激活过程就是形成稳定的转录起始复合物。此时，TBP 相关因子与转录激活因子共同决定组织特异性转录。

(贾弘提)

第十五章 基因重组与基因工程

自 1973 年 Stanley Cohen 等人首次在体外将重组的 DNA 分子形成无性繁殖系以来,经历了 20 多年时间,科学家们分离、分析及操作基因的能力几乎达到无所不能的地步。当代科学家可以从细菌数千个基因、哺乳类动物数万个基因中分离某一目的基因;他们还能使外源基因在一定的受体细胞或宿主体内成功地表达有特殊生物学意义的蛋白质。不仅如此,人们甚至雄心勃勃地计划描绘人类的全部基因图谱,搞清楚每个基因的结构及功能,这就是 1990 年开始实施的人类基因组工程。重组 DNA 技术作为分子生物学发展的一个重要领域,不但为生命科学的理论研究提供了崭新的技术手段,而且为工农业生产 and 医学领域的发展开辟了广阔的前景。分子医学正是重组 DNA 技术与医学实践相结合的结果。

第一节 自然界的基因转移和重组

自然界不同物种或个体之间的基因转移和重组是经常发生的,它是基因变异和物种演变、进化的基础。人类在进行基因克隆、动物克隆、植物克隆以及基因治疗等科学实验和实践中所进行的基因操作也离不开基因转移和重组。这种人工操作基因的过程就是重组 DNA 技术。重组 DNA 技术正是基于人们对自然界基因转移和重组的认识而发展起来的。

一、接合作用

当细胞与细胞、或细菌通过菌毛相互接触时,质粒 DNA (见本章第二节)就可从一个细胞(细菌)转移至另一细胞(细菌),这种类型的 DNA 转移称为接合作用(conjugation)。并非任何质粒 DNA 都有这种转移能力,只有某些较大的质粒,如 F 因子(F factor)方可通过接合作用从一个细胞转移至另一个细胞。F 因子含细菌性鞭毛蛋白编码基因,决定细菌表面性鞭毛的形成。当含有 F 因子的细菌(F⁺细胞)与没有 F 因子的细菌(F⁻细胞)相遇时,性鞭毛连接就会在两细胞间形成,接着质粒双链 DNA 中的一条链就会被酶切割、产生单链缺口,切口单链 DNA 通过鞭毛连接桥向 F⁻细胞转移。随后,在两细胞内分别以单链 DNA 为模板合成互补链(图 15-1)。

二、转化及转导作用

除接合作用外,细菌还可通过转化和转导作用获得新 DNA。

(一) 转化作用

溶解细菌、释放出新生噬菌体，这就是所谓的溶菌生长途径(lysis pathway)；另一种是噬菌体 DNA 整合进宿主染色体，随宿主 DNA 复制而被动复制，这就是溶源菌生长途径(lysogenic pathway)。在溶源菌生长方式中，噬菌体(此时称原噬菌体)与宿主菌(称溶原菌)“和平共处”可维持无数代，直到宿主遭遇特殊事件(如 DNA 损伤诱发 SOS 反应)，使原噬菌体 DNA 从细菌染色体上被切下，进入溶菌途径。当原噬菌体 DNA 被从细菌染色体上切除时，如果有部分宿主 DNA 被随着切下，新生的噬菌体在下次感染细菌时就可能将前一宿主 DNA 转移至新的宿主细胞，发生转导作用。

三、转座

大多数基因在基因组内的位置是固定的，但有些基因可以从一个位置移动到另一位置。这些可移动的 DNA 序列包括插入序列和转座子。由插入序列和转座子介导的基因移位或重排称为转座(transposition)。转座的确切机制目前尚不十分清楚。这里仅简单介绍插入序列和转座子的概念。

(一) 插入序列转座

典型的插入序列(insertion sequences, IS)是长 750 ~ 1 500 bp 的 DNA 片段，其中包括两个分离的、由 9 ~ 41bp 构成的反向重复序列(inverted repeats)及一个转座酶(transposase)编码基因，后者的表达产物可引起转座(transposition)。反向重复序列的侧翼连接有短的(4 ~ 12bp)、不同的插入序列所特有的正向重复序列。插入序列发生的转座有两种形式：保守性转座(conservative transposition)是插入序列从原位迁至新位；复制性转座(duplicative transposition)是插入序列复制后，其中的一个复制本迁移至新位，另一个仍保留在原位(图 15-4)。

(二) 转座子转座

转座子(transposons)就是可从一个染色体位点转移至另一位点的分散的重复序列。与插入序列类似，转座子也是以两个反向重复序列为侧翼序列，并含有转座酶基因；与插入序列不同的是，它们含有抗生素抗性等有用的基因。在很多转座子中，它的侧翼序列本身就是插入序列(图 15-5)。

四、基因重组

在上述接合、转化、转导或转座过程中，不同 DNA 分子间发生的共价连接称重组(recombination)。这些过程中的基因重组有下述两种类型。

(一) 位点特异的重组

由整合酶催化、在两个 DNA 序列的特异位点间发生的整合称位点特异的重组(site-specific recombination)。例如，由 λ 噬菌体的整合酶识别噬菌体 DNA 和宿主染色体的特异靶位点，而后发生的选择性整合即是其中的一种。通常，这种由整合酶催化的整合是十分特异而有效的。反转录病毒整合酶可特异地识别、整合反转录病毒的 cDNA 的长末端重复序列(long terminal repeat, LTR)；转座酶可特异识别转座子的反向末端重复序列，使发生特异性整合。

(二) 同源重组

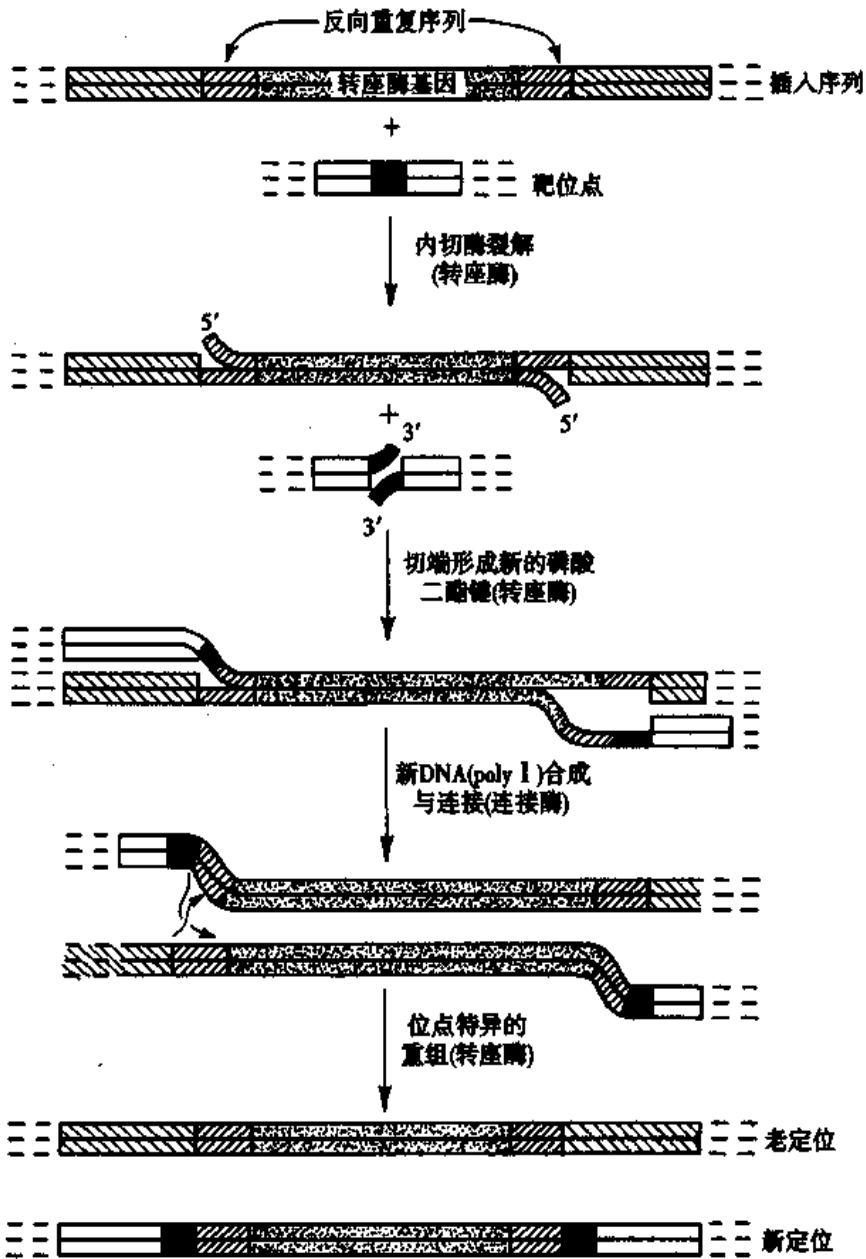


图 15-4 插入序列的复制性转座

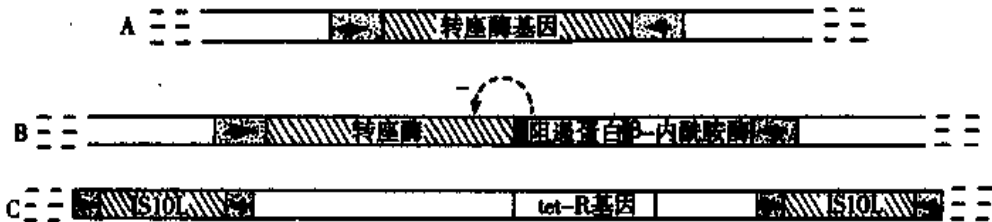


图 15-5 细菌的可流动性元件

- A. 插入序列：转座酶编码基因两侧连接反向末端重复序列(箭头所示)
- B. 转座子 Tn3：含有转座酶、 β -内酰胺酶及阻遏蛋白编码基因
- C. 转座子 Tn10：含四环素抗性基因及两个相同的插入序列 IS10L

发生在同源序列间的重组称为同源重组(homologous recombination), 又称基本重组(general recombination)。同源重组不需要特异 DNA 序列, 而是依赖两分子之间序列的相同或类似性。如果通过转化或转导获得的外源 DNA 与宿主 DNA 充分同源, 那末外源 DNA 就可以整合进宿主的染色体。目前对 *E. coli* 的同源重组分子机制了解最清楚, 这过程需要一些重组蛋白。*E. coli* 的同源重组过程大致如下(图 15-6): RecB、RecC 和 RecD 的复合物是一种内切酶, 兼有解旋酶活性, 可产生单链切口 DNA; RecA 蛋白催化单链 DNA 对另一双链 DNA 的侵入、并与其中的一条链交叉, 交叉分支移动, 待相交的另一链在 RecB、RecC 和 RecD 的内切酶活性催化下断裂后, 由 DNA 连接酶交换连接缺失的远末端, 这样就形成了一个交叉连接的中间产物, 称为 Holliday 中间体(由 Robin Holliday 在 1964 年发现此结构而得名); 此中间物再经内切酶 RuvC 切割、DNA 连接酶的作用, 完成重组。同源重组在原核、真核生物都有发生。

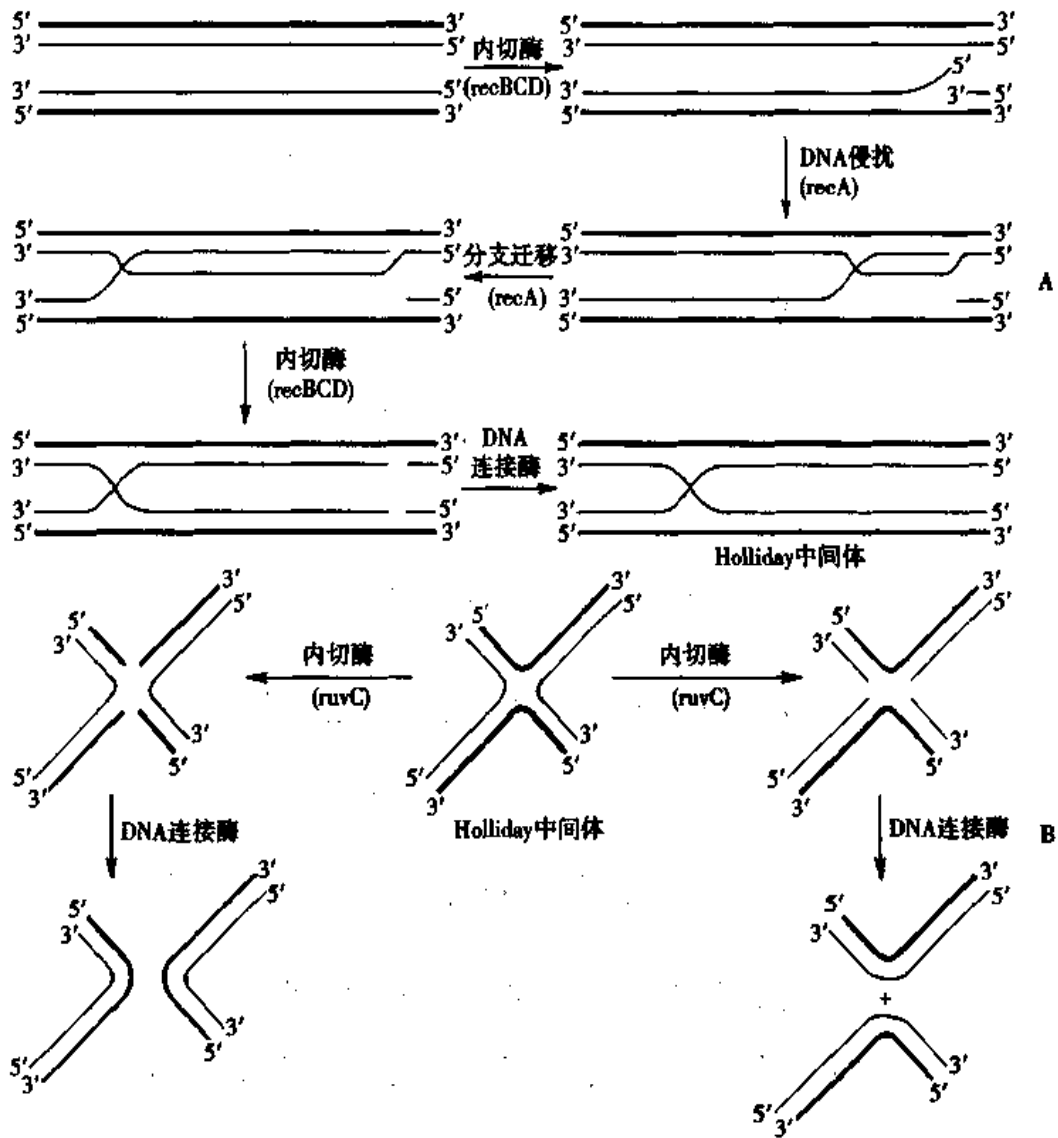


图 15-6 同源重组机制

第二节 重组 DNA 技术

Gregor Mendel 的豌豆杂交实验(1865 年), Oswald T. Avery 等的肺炎球菌转化实验(1944 年)说明, 人类欲改变一个生物个体的遗传性状是可能的。继克隆基因、转基因动物之后, 英国罗斯林研究所成功地“克隆”了“多莉”(1997 年 2 月), 证明人类操作基因的能力是绝顶的。所有这些成就都是以重组 DNA 技术为基础的。除改造生物, 人类还试图改变自己病基因的表达方式; 1996 年, 以重组 DNA 技术生产的促红细胞生成素产值逾十亿美金, 所有这一切都说明重组 DNA 技术对人类生活和健康的影响是巨大的。

一、重组 DNA 技术相关概念

(一) DNA 克隆

所谓克隆(clone)就是来自同一始祖的相同副本或拷贝(copy)的集合; 获取同一拷贝的过程称为克隆化(cloning), 也就是无性繁殖。通过无性繁殖过程获得的“克隆”可以是分子的, 也可以是细胞的, 动物的或植物的。在分子遗传学领域所谈的分子克隆(molecular clone)专指 DNA 克隆。

DNA 克隆(DNA cloning)就是应用酶学的方法, 在体外将各种来源的遗传物质——同源的或异源的、原核的或真核的、天然的或人工的 DNA 与载体 DNA 结合成一具有自我复制能力的 DNA 分子——复制子(replicon), 继而通过转化或转染宿主细胞、筛选出含有目的基因的转化子细胞, 再进行扩增、提取获得大量同一 DNA 分子, 即 DNA 克隆。由于早期研究是从较大的染色体分离、扩增特异性基因, 因此 DNA 克隆又称基因克隆(gene cloning)。“克隆”某一基因或 DNA 片段过程中, 将外源 DNA 插入载体分子所形成的复制子是杂合分子——嵌合 DNA(DNA chimeras), 所以 DNA 克隆或基因克隆又称重组 DNA(recombinant DNA)。

实现基因克隆所采用的方法及相关的工作统称重组 DNA 工艺学(recombinant DNA technology), 又称基因工程(genetic engineering)。基因工程与当前发展的蛋白质工程、酶工程和细胞工程共同构成了当代新兴的学科领域——生物技术工程。生物技术工程的兴起为现代科学技术发展和工农业、医药卫生事业的进步提供了巨大潜力。

(二) 工具酶

在重组 DNA 技术中, 常需要一些基本工具酶进行基因操作。例如, 对目的基因(target DNA)进行处理时, 需利用序列特异的限制性核酸内切酶在准确的位置切割 DNA, 使较大的 DNA 分子成为一定大小的 DNA 片段; 构建重组 DNA 分子时, 必须在 DNA 连接酶催化下才能使 DNA 片段与克隆载体共价连接。此外, 还有一些工具酶也都是重组 DNA 时所必不可少的。现将某些常用工具酶概括于表 15-1。

表 15-1 重组 DNA 技术中常用的工具酶

工 具 酶	功 能
限制性核酸内切酶	识别特异序列, 切割 DNA
DNA 连接酶	催化 DNA 中相邻的 5'磷酸基和 3'羟基末端之间形成磷酸二酯键, 使 DNA 切口封合或使两个 DNA 分子或片段连接
DNA 聚合酶 I	① 合成双链 cDNA 的第二条链 ② 缺口平移制作高比活探针 ③ DNA 序列分析 ④ 填补 3'末端
反转录酶	① 合成 cDNA ② 替代 DNA 聚合酶 I 进行填补, 标记或 DNA 序列分析
多聚核苷酸激酶	催化多聚核苷酸 5'羟基末端磷酸化, 或标记探针
末端转移酶	在 3'羟基末端进行同质多聚物加尾
碱性磷酸酶	切除末端磷酸基

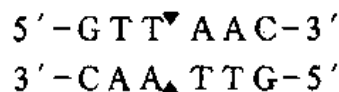
在所有工具酶中, 限制性内切核酸酶具有特别的重要意义。所谓限制性内切核酸酶 (restriction endonuclease) 就是识别 DNA 的特异序列, 并在识别位点或其周围切割双链 DNA 的一类内切酶。限制性内切核酸酶存在于细菌体内, 与相伴存在的甲基化酶 (methylase) 共同构成细菌的限制-修饰体系 (restriction-modification system), 限制外源 DNA、保护自身 DNA, 对细菌遗传性状的稳定遗传具有重要意义。目前发现的限制性内切核酸酶有 1 800 种以上。根据酶的组成, 所需因子及裂解 DNA 方式的不同, 可将限制性内切核酸酶分为三类。重组 DNA 技术中常用的限制性内切核酸酶为 II 类酶, 例如, *EcoRI*、*BamHI* 等就属于这类酶。大部分 II 类酶识别 DNA 位点的核苷酸序列呈二元旋转对称, 通常称这种特殊的结构顺序为回文结构 (palindrome)。例如, 下述序列即为 *EcoRI* 识别序列, 其中箭头所指便是 *EcoRI* 的切割位点:



所有限制性内切核酸酶切割 DNA 均产生含 5'磷酸基和 3'羟基基团的末端。其中有些酶, 如 *EcoRI* 能使其识别序列相对两链之间的数个碱基对 (base pairs, bp) 分开, 形成 5'末端突出的粘性末端 (cohesive end 或 sticky end)。还有一些酶产生具有 3'末端突出的粘性末端, 如 *Pst I*:



而另一些酶切割 DNA 后产生平头或钝性末端 (blunt end), 如 *Hpa I*:



不同限制性内切核酸酶识别 DNA 中核苷酸序列长短不一, 有的识别序列是四核苷酸序列, 有的是六或八核苷酸序列。如果 DNA 序列是随机的, 那么特异四核苷酸序列可能在每 256 bp 出现一次, 六核苷酸序列出现的间隔是 4 kb, 八核苷酸序列出现的间隔是

65kb。这种可能性随 GC 含量变化而变化。不同的酶切割 DNA 频率不同，切割 DNA 后产生粘性末端长短不一样，所产生末端的性质也不同，这对重组 DNA 或有关分子生物学操作及应用影响很大。

有些限制性内切核酸酶虽然识别序列不完全相同，但切割 DNA 后产生相同类型的粘性末端，称配伍末端(compatible end)，可进行相互连接；产生平端的酶切割 DNA 后，也可彼此连接。

现列举某些限制性内切核酸酶如表 15-2。

表 15-2 限制性内切核酸酶

名 称	识别序列及切割位点
切割后产生 5' 突出末端:	
<i>Bam</i> H I	5'...G [▼] GATCC...3'
<i>Bgl</i> II	5'...A [▼] GATCT...3'
<i>Eco</i> R I	5'...G [▼] AATTC...3'
<i>Hind</i> III	5'...A [▼] AGCTT...3'
<i>Hpa</i> II	5'...C [▼] CGG...3'
<i>Mbo</i> I	5'... [▼] GATC...3'
<i>Nde</i> I	5'...CA [▼] TATG...3'
切割后产生 3' 突出末端:	
<i>Apa</i> I	5'...GGGOC [▼] C...3'
<i>Hae</i> II	5'...PuGCGC [▼] Py...3'
<i>Kpn</i> I	5'...GGTAC [▼] C...3'
<i>Pst</i> I	5'...CTGCA [▼] G...3'
<i>Sph</i> I	5'...GCATG [▼] C...3'
切割后产生平末端:	
<i>Alu</i> I	5'...AG [▼] CT...3'
<i>Eco</i> R V	5'...GAT [▼] ATC...3'
<i>Hae</i> III	5'...GG [▼] CC...3'
<i>Pvu</i> II	5'...CAG [▼] CTG...3'
<i>Sma</i> I	5'...CCC [▼] GGG...3'

(三) 目的基因

应用重组 DNA 技术有时是为分离、获得某一感兴趣的基因或 DNA 序列，或是为获得感兴趣基因的表达产物——蛋白质。这些感兴趣的基因或 DNA 序列就是目的基因，又称目的 DNA (target DNA)。目的 DNA 有两种类型，即 cDNA 和基因组 DNA。cDNA

(complementary DNA)是指经反转录合成的、与 RNA (通常指 mRNA 或病毒 RNA)互补的单链 DNA。以单链 cDNA 为模板、经聚合反应可合成双链 cDNA。基因组 DNA (genomic DNA)是指代表一个细胞或生物体整套遗传信息(染色体及线粒体)的所有 DNA 序列。进行 DNA 克隆时,所构建的嵌合 DNA 分子是由载体 DNA 与某一来源的 cDNA 或基因组 DNA 连接而成。cDNA 或基因组 DNA 即含有我们感兴趣的基因或 DNA 序列——目的基因,又称外源 DNA。

(四) 基因载体

基因载体或称克隆载体(cloning vector),这是为“携带”感兴趣的外源 DNA、实现外源 DNA 的无性繁殖或表达有意义的蛋白质所采用的一些 DNA 分子。其中,为使插入的外源 DNA 序列可转录、进而翻译成多肽链而特意设计的克隆载体又称表达载体(expression vector)。可充当克隆载体的 DNA 分子有质粒 DNA、噬菌体 DNA 和病毒 DNA,它们经适当改造后仍具有自我复制能力,或兼有表达外源基因的能力。

所谓质粒(plasmid)是存在于细菌染色体外的小型环状双链 DNA 分子,小的 2~3 kb,大的可达数百 kb。质粒分子本身是含有复制功能的遗传结构,能在宿主细胞独立自主地进行复制,并在细胞分裂时保持恒定地传给子代细胞。质粒带有某些遗传信息,所以会赋予宿主细胞一些遗传性状,如对青霉素或重金属的抗性等。根据质粒赋予细菌的表型可识别质粒的存在,是筛选转化子细菌的根据。因此,质粒 DNA 的自我复制功能及所携带的遗传信息在重组 DNA 操作,如扩增、筛选过程中都是极为有用的。pBR322 质粒(图 15-7)是稍早构建的质粒载体,其 DNA 分子中含有单个 *EcoR* I 限制性内切核酸酶位点,可在此插入外源基因。此外还含有 *ter*^r 和 *amp*^r 抗药基因,分别为抗四环素、抗氨基青霉素的酶编码,使细菌产生抗性。这个质粒还含有一个复制起始点(*ori*)及与 DNA 复制调节有关的序列,赋予 pBR322 质粒复制子特性。

常用作克隆载体的噬菌体 DNA 有 λ 噬菌体和 M13 噬菌体。稍早经 λ 噬菌体 DNA 改造成的载体系统有 λ gt 系列(插入型载体,适用于 cDNA 克隆)和 EMBL 系列(置换型载体,适用于基因组 DNA 克隆)。经改造的 M13 载体有 M13mp 系列及 pUC 系列(图 15-7)。它们是在 M13 基因间隔区插入 *E. coli* 的一段调节基因及 *lacZ* 的 N 端 146 个氨基酸残基编码基因,其编码产物即为 β 半乳糖苷酶的 α 片段。突变型 *lac*⁻ *E. coli* 可表达该酶的 ω 片段(酶的 C 端)。单独存在的 α 及 ω 片段均无 β 半乳糖苷酶活性,只有宿主细胞与克隆载体同时共表达两个片段时,宿主细胞内才有 β 半乳糖苷酶活性,使特异性作用物变为蓝色化合物,这就是所谓的 α 互补(alpha complementation)。由 M13 改造的载体含不同位置的克隆位点,可接受不同限制性内切酶的酶切片段。如果插入的外源基因是在 *lacZ* 基因内,则会干扰 *lacZ* 的表达,利用 *lac*⁻ *E. coli* 为转染或感染细胞,在含 X-gal 的培养基上生长时会出现白色菌落;如果在 *lacZ* 基因内无外源基因插入,则有 *lacZ* 表达,转化菌在同样条件下呈蓝色菌落(图 15-9)。再结合插入片段的序列测定可筛选、鉴定重组体与非重组体载体。

为增加克隆载体插入外源基因的容量,还设计有柯斯质粒载体(cosmid vector)和酵母人工染色体载体(yeast artificial chromosome vector, YAC)。为适应真核细胞重组 DNA 技术需要,特别是为满足真核基因表达或基因治疗的需要,发展了一些用动物病毒 DNA

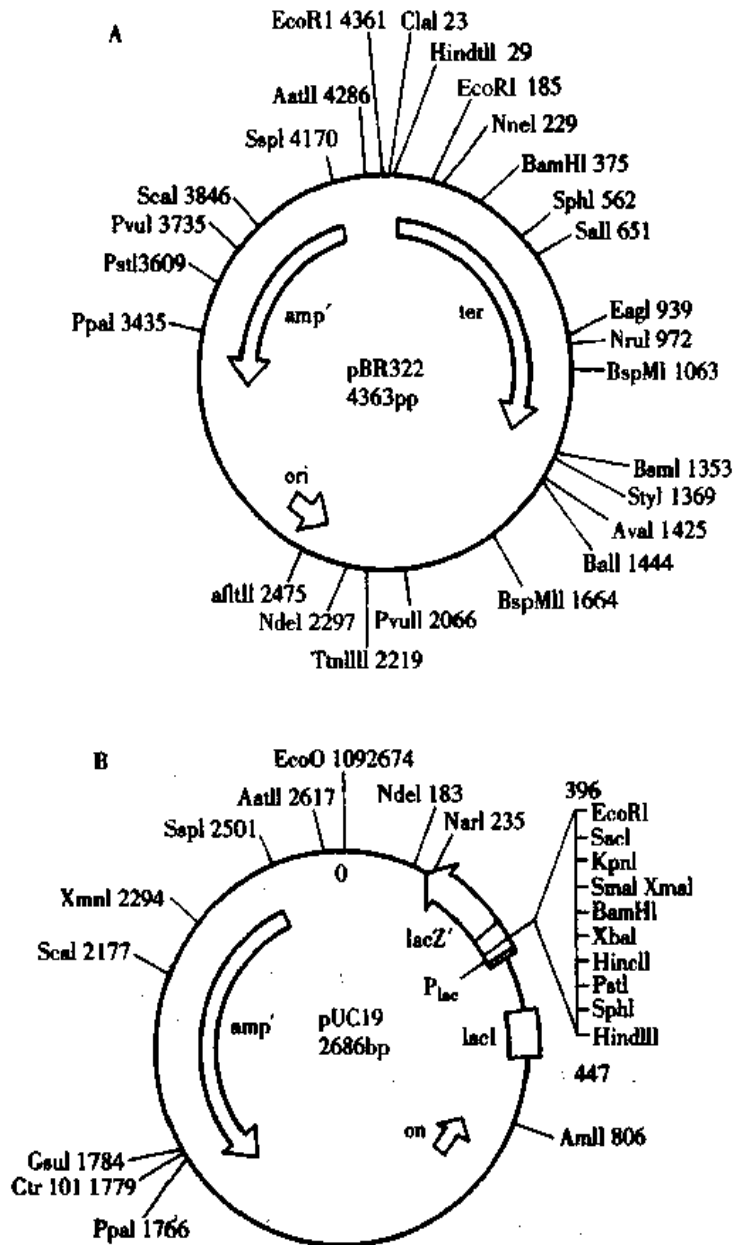


图 15-7 质粒 DNA pBR322 和 pUC19

改造的载体，如腺病毒载体、逆转录病毒载体等。

二、重组 DNA 技术基本原理

一个完整的 DNA 克隆过程应包括：目的基因的获取，基因载体的选择与构建，目的基因与载体的拼接，重组 DNA 分子导入受体细胞，筛选并无限繁殖含重组分子的受体细胞(转化子)。图 15-8 是以质粒为载体进行 DNA 克隆的模式图。

(一) 目的基因的获取

目前获取目的基因大致有如下几种途径或来源。

1. 化学合成法 如果已知某种基因的核苷酸序列，或根据某种基因产物的氨基酸序列推导出为该多肽链编码的核苷酸序列，再利用 DNA 合成仪通过化学合成原理合成

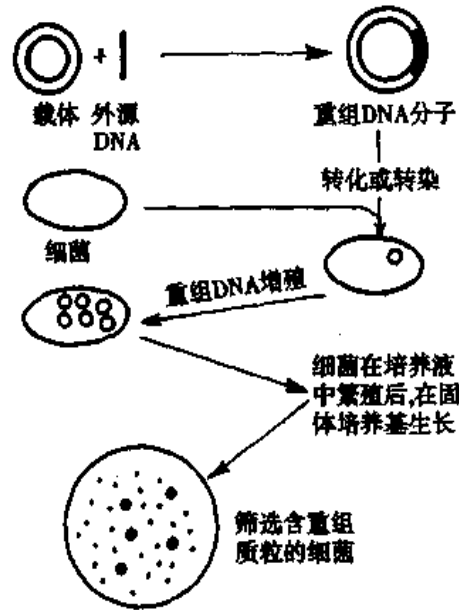


图 15-8 以质粒为载体的 DNA 克隆过程

目的基因。利用该法合成的基因有：人生长激素释放抑制因子、胰岛素原、脑啡肽及干扰素基因等。

2. 基因组 DNA 分离组织或细胞染色体 DNA, 利用限制性内切核酸酶(如 *Sau* 3A I 或 *Mbo* I) 将染色体 DNA 切割成基因水平的许多片段, 其中即含有我们感兴趣的基因片段。将它们与适当的克隆载体拼接成重组 DNA 分子, 继而转入受体菌扩增, 使每个细菌内都携带一种重组 DNA 分子的多个拷贝。不同细菌所包含的重组 DNA 分子内可能存在不同的染色体 DNA 片段, 这样生长的全部细菌所携带的各种染色体片段就代表了整个基因组。存在于转化细菌内、由克隆载体所携带的所有基因组 DNA 的集合称基因组 DNA 文库(genomic DNA library)。基因组 DNA 文库就像图书馆库存万卷书一样, 涵盖了基因组全部基因信息, 也包括我们感兴趣的基因。与一般图书馆不同的是, 基因组 DNA 文库没有图书目录, 建立基因文库后需结合适当筛选方法从众多转化子菌落中选出含有某一基因的菌落, 再行扩增, 将重组 DNA 分离、回收, 获得目的基因的无性繁殖系——克隆。

3. cDNA 以 mRNA 为模板, 利用反转录酶合成与 mRNA 互补的 DNA (complementary DNA, cDNA), 再复制成双链 cDNA 片段, 与适当载体连接后转入受体菌, 即获得 cDNA 文库(cDNA library)。与上述基因组 DNA 文库类似, 由总 mRNA 制作的 cDNA 文库包含了细胞表达的各种 mRNA 信息, 自然也含有我们感兴趣的编码 cDNA。然后, 采用适当方法从 cDNA 文库中筛选出目的 cDNA。当前发现的大多数蛋白质的编码基因几乎都是这样分离的。

4. 聚合酶链反应 目前, 采用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR) 获取目的 DNA 十分广泛。实际上, PCR 是一种在体外利用酶促反应获得特异序列的基因组 DNA 或 cDNA 的专门技术(见第二十三章)。

(二) 克隆载体的选择和构建

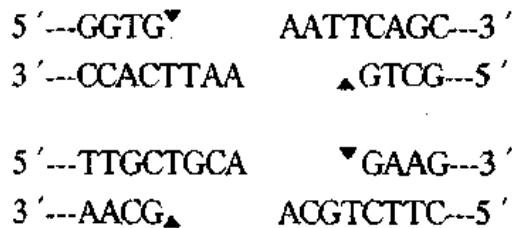
外源 DNA 片段离开染色体是不能复制的。如果将外源 DNA 连到复制子上，外源 DNA 则可作为复制子的一部分在受体细胞中复制。这种复制子就是克隆载体(见本章第一节)。重组 DNA 技术中克隆载体的选择和改进是一种极富技术性的专门工作，目的不同，操作基因的性质不同，载体的选择和改建方法也不同。

(三) 外源基因与载体的连接

通过不同途径获取含目的基因的外源 DNA、选择或改建适当的克隆载体后，下一步工作是如何将外源 DNA 与载体 DNA 连接在一起，即 DNA 的体外重组。与自然界发生的基因重组(见本章第一节)不同，这种人工 DNA 重组是靠 DNA 连接酶将外源 DNA 与载体共价连接的。改建载体、着手进行外源基因与载体连接前，必须结合研究目的及感兴趣基因的特性，认真设计最终构建的重组体分子。应该说，这是一件技术性极强的工作，除技巧问题，还涉及对重组 DNA 技术领域深刻的认识。这里仅就连接方式作扼要介绍。

1. 粘性末端连接 有以下方式：

(1) 同一限制性酶切割位点连接：由同一限制性内切核酸酶切割的不同 DNA 片段具有完全相同的末端。只要酶切割 DNA 后产生单链突出(5'突出及 3'突出)的粘性末端，如：



同时酶切位点附近的 DNA 序列不影响连接，那么，当这样的两个 DNA 片段一起退火(anneal)时，粘性末端单链间进行碱基配对，然后在 DNA 连接酶催化作用下形成共价结合的重组 DNA 分子。

(2) 不同限制性内切酶位点连接：由两种不同的限制性内切核酸酶切割的 DNA 片段，具有相同类型的粘性末端，即配伍末端，也可以进行粘性末端连接。例如 *Mbo* I (∇ CATG) 和 *P*...

er)或适当分子连到平末端,使产生新的限制性内切核酸酶位点,再用识别新位点的限制性内切核酸酶切除接头的远端,产生粘性末端。这也是粘性末端连接的一种特殊形式。

(四) 重组 DNA 导入受体菌

外源 DNA (含目的 DNA) 与载体在体外连接成重组 DNA 分子(嵌合 DNA)后,需将其导入受体菌。随受体菌生长、增殖,重组 DNA 分子得以复制、扩增,这一过程即为无性繁殖;筛选出的含目的 DNA 的重组体分子即为一无性繁殖系或克隆。进行无性繁殖时所采用的受体菌多为从大肠杆菌 K-12 改造的安全宿主菌,在人的肠道几无存活率或存活率极低。除安全标准,所采用的宿主菌应为限制酶和重组酶缺陷型。在选择适当的受体菌后,经特殊方法处理,使之成感受态细胞(competent cell),即具备接受外源 DNA 的能力。根据重组 DNA 时所采用的载体性质不同,导入重组 DNA 分子有转化(transformation)、转染(transfection)和感染(infection)等不同方式。

(五) 重组体的筛选

通过转化、转染或感染,重组体 DNA 分子被导入受体细胞,经适当涂布的培养基培养得到大量转化子菌落或转染噬菌斑。因为每一重组体只携带某一段外源基因,而转化或转染时每一受体菌又只能接受一个重组体分子,所以设法将众多的转化菌落或菌斑区分开来,并鉴定哪一菌落或噬菌斑所含重组 DNA 分子确实带有目的基因,即可得到目的基因的克隆,这一过程即为筛选(screening)或选择(selection)。根据载体体系、宿主细胞特性及外源基因在受体细胞表达情况不同,可采取直接选择法和非直接选择法。

1. 直接选择法 针对载体携带某种或某些标志基因和目的基因而设计的筛选方法,称为直接选择法(direct selection),其特点是直接测定基因或基因型。

(1) 抗药性标志选择:如果克隆载体携带有某种抗药性标志基因,如 *amp^r*、*tet^r* 或 *kan^r*,转化后只有含这种抗药基因的转化子细菌才能在含该抗生素的培养板上生存并形成菌落,这样就可将转化菌与非转化菌区别开来。如果重组 DNA 时将外源基因插入标志基因内,标志基因失活,通过有、无抗生素培养基对比培养,还可区分单纯载体或重组载体(含外源基因)的转化菌落。当然,无论将外源基因插入何处,抗药标志选择仅是初步、粗略的选择,尚需进一步确定重组体是否含有目的基因。

(2) 标志补救:若克隆的基因能够在宿主菌表达,且表达产物与宿主菌的营养缺陷互补,那么就可以利用营养突变菌株进行筛选,这就是标志补救(marker rescue)。酵母咪唑甘油磷酸脱水酶基因表达产物与细菌组氨酸合成有关。当酵母 DNA 与 λ 噬菌体载体结合后,再将重组子转染或感染组氨酸缺陷型大肠杆菌,在无组氨酸的培养基中培养。因为只有带咪唑甘油磷酸脱水酶重组基因的菌株能在无组氨酸的培养基中生长,所以这样获得的生长菌即含有咪唑甘油磷酸脱水酶基因。

利用 α 互补筛选携带重组质粒的细菌也是一种标志补救选择方法。关于 α 互补原理在本章第一节已有介绍,这里以质粒 pUC18 作载体为例,以图 15-9 概括说明将外源基因插入载体 *LacZ* 基因 N 端序列时是如何进行筛选的。

(3) 分子杂交法:这是利用 ^{32}P 标记的探针与转移至硝酸纤维素膜上的转化子 DNA 或克隆的 DNA 片段进行分子杂交,直接选择并鉴定目的基因。图 15-10 所示方法称原位

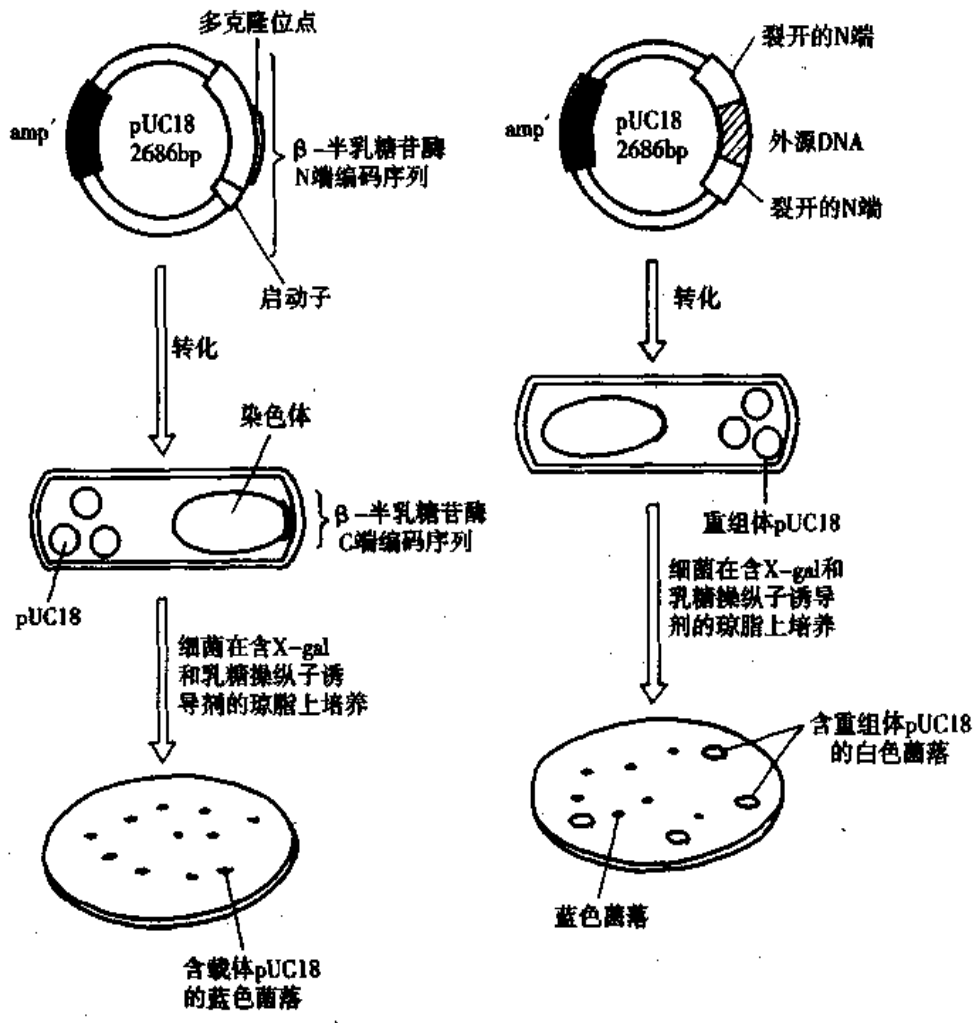


图 15-9 利用 α 互补原理筛选重组体 pUC18

杂交 (in situ hybridization), 图 15-11 所示方法为 Southern 印迹 (Southern blotting) 技术。在分子生物学技术中, 还有一种原位杂交技术是用于检测某一基因在组织内的定位表达, 这与分子克隆筛选的原位杂交是两个不同的概念或技术, 应注意区分。

2. 免疫学方法 这类方法不是直接鉴定基因, 而是利用特异抗体与目的基因表达产

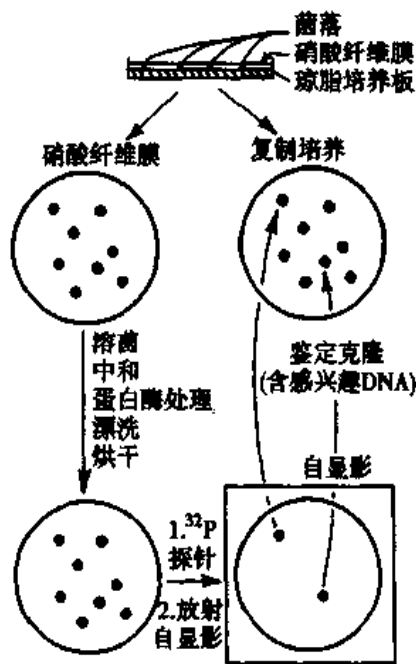


图 15-10 原位杂交

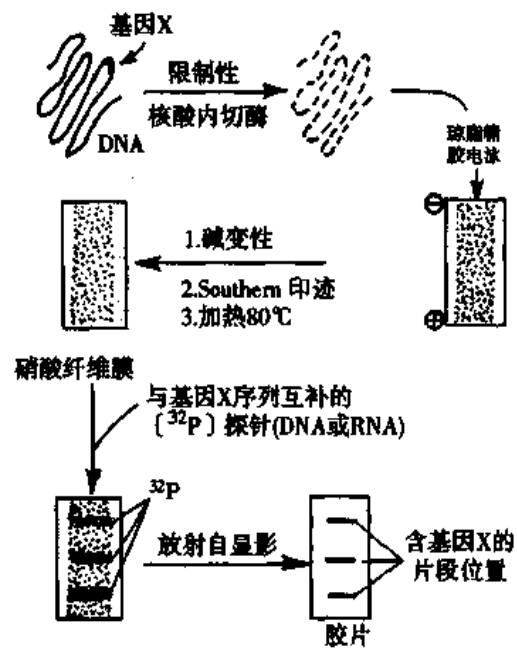


图 15-11 Southern 印迹

产有用的蛋白质是基于正确的基因转录、mRNA 翻译及适当的转录后、翻译后加工过程。这些过程的进行在不同的表达体系是不一样的，这些差别不但与基因的来源、性质有关，而且与载体和表达体系有关。如今，如何使克隆的目的基因能正确而大量表达有特殊意义的蛋白质已成为重组 DNA 技术中一个专门的领域，这就是蛋白质表达 (protein expression)。在蛋白质表达领域，表达体系的建立包括表达载体的构建、受体细胞的建立及表达产物的分离、纯化等技术和策略。下面仅就原核、真核表达体系作简要概述。

1. 原核表达体系 *E. coli* 是当前采用最多的原核表达体系，其优点是培养方法简单、迅速、经济而又适合大规模生产工艺，再加上人们运用 *E. coli* 表达外源基因已经有 20 多年的经验。运用 *E. coli* 表达有用的蛋白质必须使构建的表达载体符合下述标准：①含大肠杆菌适宜的选择标志；②具有能调控转录、产生大量 mRNA 的强启动子，如 *lac*、*tac* 启动子或其他启动子序列；③含适当的翻译控制序列，如核蛋白体结合位点 (ribosome-binding site) 和翻译起始点等；④含有合理设计的多接头克隆位点 (polylinker cloning sites)，以确保目的基因按一定方向与载体正确衔接。将目的基因插入适当表达载体后，经过转化、筛选获得正确的转化子细菌即可直接用于蛋白质的表达，这是一般方法。在实际工作中，个别具体过程差异很大，表达策略颇不一致。有时表达目的是为获得蛋白质抗原，以便制备抗体，此时要求表达的蛋白质或多肽片段具有抗原性，同时要求表达产物易于分离、纯化。较好的策略是在目的基因前连上一个为特殊多肽编码的附加序列，表达融合蛋白。在这种情况下表达的蛋白质多为不溶性的包涵体 (inclusion body)，极易与菌体蛋白分离。如果在设计融合基因时，在目的基因与附加序列之间加入适当的裂解位点，则很容易从表达的杂合分子去除附加序列。巧妙的附加序列设计还可大大方便表达产物的分离、纯化。如果表达的蛋白质是为用于生物化学、细胞生物学

研究或临床应用,除分离、纯化方便,更重要的是考虑蛋白质的功能或生物学活性。此时,表达可溶性蛋白质往往具有特异的生物学功能;如果表达的是包涵体形式,还需在分离后进行复性或折叠。

E. coli 表达体系在实际应用中尚有一些不足之处:①由于缺乏转录后加工机制,*E. coli* 表达体系只能表达克隆的 cDNA,不宜表达真核基因组 DNA;②由于缺乏适当的翻译后加工机制,*E. coli* 表达体系表达的真核蛋白质不能形成适当的折叠或进行糖基化修饰;③表达的蛋白质常常形成不溶性的包涵体,欲使其具有活性尚需进行复杂的复性处理;④很难在 *E. coli* 表达体系表达大量的可溶性蛋白。

2. 真核表达体系 与原核表达体系比较,真核表达体系如酵母、昆虫及哺乳类动物细胞表达体系显示了较大优越性。尤其是哺乳类动物细胞,不仅可表达克隆的 cDNA,而且还可表达真核基因组 DNA;哺乳类细胞表达的蛋白质通常总是被适当修饰,而且表达的蛋白质会恰当地分布在细胞内一定区域并积累。当然,操作技术难、费时、不经济是哺乳类动物细胞表达体系的缺点。如何将克隆的重组 DNA 分子导入真核细胞是关键步骤。将表达载体导入真核细胞的过程称转染(transfection),它比转染 *E. coli* 的方法要难得多。常用于细胞转染的方法有:磷酸钙转染(calcium phosphate transfection)、DEAE 葡聚糖介导转染(DEAE dextran-mediated transfection)、电穿孔(electroporation)、脂质体转染(liposome transfection)及显微注射(microinjection)等。转染方法的选择须根据细胞的种类、特性及表达载体性质而定。例如,采用爪蟾卵母细胞(oocyte)作表达体系时,卵母细胞极大,适合采用显微注射法导入外源基因。一般说,大多数细胞均可采用磷酸钙转染和 DEAE 葡聚糖介导转染方法进行瞬时转染(transient transfection),操作条件简单,不需特殊设备;而且通过这两种方法与电穿孔技术一样均会使小部分外源基因整合进细胞染色体,实现稳定转染(stable transfection)。稳定转染转化子细胞的筛选依赖特异的抗性标志。如果在重组的哺乳类细胞表达载体中含有可供筛选的遗传标志是细菌的 *neo^r* 基因,*neo^r* 基因编码的新霉素磷酸转移酶可使细胞培养液中的 G418 (Geneticin) 磷酸化而失活,稳定转染的细胞就会在含 G418 的培养液中存活并增殖。另一用于筛选稳定转染的哺乳类细胞的体系是二氢叶酸还原酶(DHFR)及 DHFR 缺陷细胞,如果表达载体含有 *dhfr* 基因,稳定转染的 DHFR 缺陷细胞就会在有氨甲蝶呤(MTX)的培养液中生存;非转染的缺陷细胞不能存活而被淘汰。当前采用最多的哺乳类细胞是 COS 细胞(猴肾细胞)和 CHO 细胞(中国仓鼠卵巢细胞)。

三、重组 DNA 技术与医学的关系

1990 年,分子医学(molecular medicine)的诞生及其在近几年的发展正是重组 DNA 技术与医学实践相结合的结果。分子医学包含的领域及内容概括如下几个方面。

(一) 疾病基因的发现

重组 DNA 技术的应用使分子遗传学家有可能根据基因定位,而不是它的功能来克隆一个基因。根据克隆基因的定位和性质研究所提供的线索,可进一步确定克隆的基因在分子遗传病中的作用。因此,一个疾病相关基因的发现不仅可导致新的遗传病的发现,而且对遗传病的诊断和治疗都是极有价值的。设想,如果能对人类全部基因组进行

制图或定位，并掌握其全部序列信息，人类则完全可能通过对候选基因的控制和改造，从根本上治疗和防止遗传病的发生和流行。人类基因组计划(human genome project, HGP)(见第二十三章)就是根据这一设想而提出的。

通过发现基因及其性质研究认识疾病分子机制的两个典型例子是脆性 X 综合征及 Kallmann 综合征。若干年来，已发现细胞内有含脆性位点(fragile site)的 DNA 存在，并鉴定了脆性 X 位点范围的 DNA 特殊标志。这部分 DNA 与常见的精神痴呆——脆性 X 综合征(fragile X syndrome)发病有关，但对其确切分子机制并无深入认识。应用酵母人工染色体(YAC)克隆及分子杂交技术现已证明，所谓脆性位点就是(CGG)_n重复序列。这种重复序列具有多态性(polymorphism)，即在正常群体可有 6~54 个重复单位，但在受累个体却高达数百(>200 个重复单位)。重复序列的扩增使(CGG)_n所属相应基因(FMR-1)不能转录相应的 RNA，从而使受累个体表现脆性 X 综合征。K 综合征系因促性腺激素分泌不足而引起性腺发育不良、性腺功能低下，嗅觉功能减退或丧失。染色体步移(chromosome walking)方法证明 K 综合征患者 KALIG-1 基因有缺失突变。KALIG-1 基因产物参与神经细胞的粘连和神经轴突的导向。KALIG-1 蛋白与神经迁移和演变的关系说明该基因缺失突变是 K 综合征的发病基础。

(二) 发展生物制药

利用重组 DNA 技术生产有药用价值的蛋白质、多肽产品已成为当今世界一项重大产业。重组蛋白质药物生产是在功能研究、基因克隆基础上，构建适当的表达体系表达有生物活性的蛋白质、多肽；再经过科学的动物实验、严格的临床试验和药物审查，发展为新药物。目前已经或正投入市场的主要产品见表 15-3：

表 15-3 重组 DNA 医药产品

产 品	功 能
组织胞浆素原激活剂	抗凝
血液因子 VIII	促进凝血
粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子	刺激白细胞生成
促红细胞生成素	刺激白细胞生成
生长因子	刺激细胞生长与分化
生长素	治疗侏儒症
胰岛素	治疗糖尿病
干扰素	抗病毒感染及某些肿瘤
白细胞介素	激活、刺激各类白细胞
超氧化物歧化酶	抗组织损伤
单克隆抗体	利用其结合特异性进行诊断试验、肿瘤导向治疗
乙肝疫苗	预防乙肝

(三) DNA 诊断

DNA 诊断又称基因诊断，目前已发展成为一门独具特色的诊断学科——DNA 诊断

学(DNA diagnostics)。DNA 诊断是利用分子生物学及分子遗传学的技术和原理,在 DNA 水平分析、鉴定遗传性疾病所涉及基因的置换、缺失或插入等突变。目前用于 DNA 诊断的方法很多,但其基本过程相似——首先分离、扩增待测的 DNA 片段,然后利用适当分析手段,区分或鉴定 DNA 的异常。按现代遗传病诊断标准,一种可靠的 DNA 诊断学方法必须符合:①能正确扩增靶基因;②能准确区分单个碱基的差别;③本底或噪声低,不干扰 DNA 的鉴定;④便于完全自动化操作,适合大面积、大人群普查(详见第二十二章)。

(四) 基因治疗

所谓基因治疗(gene therapy)就是向有功能缺陷的细胞补充相应功能的基因,以纠正或补偿其基因缺陷,从而达到治疗的目的。针对体细胞进行基因改良的基因治疗称体细胞基因治疗(somatic cell gene therapy),这类基因治疗仅单独治疗受累组织,类似于器官移植。性细胞基因治疗(germ line gene therapy)因对后代遗传性状有影响,目前仅限于动物实验(转基因动物),以测试各种重组 DNA 在矫正遗传病方面是否有效。(见第二十二章)

(五) 遗传病的预防

受累疾病基因克隆不仅为医学家提供了重要工具,使他们能深入地认识、理解一种遗传病的发生机制,为寻求可能的治疗途径、预测疗效提供了有力手段;更重要的是,利用这些成果进行极有意义的产前诊断和症候前诊断,而后通过诊断技巧与治疗、预防能力的结合,从根本上杜绝遗传性疾病的发生和流行。

1. 产前诊断 产前诊断可以通过胎儿组织活检、羊膜腔穿刺、羊膜绒毛样品及母体血循环中的胎儿细胞进行。从安全角度考虑,无疑后者是最值得提倡的。从方法学考虑,尽管可进行染色体组型分析,发现染色体异常,但利用 PCR 技术结合 DNA 诊断学方法分析特异基因缺陷更值得提倡。由于有少量胎儿细胞通过血行到母体血循环中,使有可能利用细胞表面标志和荧光活化细胞分离器(fluorescence activated cell sorter, FACS)分离母体血中的胎儿细胞。随后利用这些少量细胞进行 PCR 扩增,这样就不必破坏或干扰妊娠而进行产前诊断。这是近年产前诊断一大发展。

2. 携带者测试 基因测试常用于检出隐性遗传病携带者,包括隐性遗传病受累个体家庭的其他成员和有特殊遗传病死亡家庭中的危险人群。这里举例说明携带者测试的意义:囊性纤维变性是白种人儿童中最常流行的常染色体隐性遗传病,发病率为 1/2500;携带者普查阳性的夫妇生育受累儿童的危险性为 1/4;双亲阴性者为 1/109200;若配偶一方为阳性、另一方为阴性,其危险性为 1/661。由此可见,如果能建立可行的携带者测试方法,并能检出其绝大多数携带者,这对指导婚姻和生育是很有价值的。

3. 症候前诊断 对于某些单基因紊乱所引起的综合征,仅至晚年才会有明显表现,如成年多囊性肾病和 Huntington 病。由于对某些成年发病有关基因已有所掌握,故而在综合征发生前可能作出预测,协助他们作生活方式的调节、工作调整及生育的选择等。

4. 遗传病易感性 很多遗传病并非限于单基因缺陷,而是由多基因受累或者是由遗传和环境因素综合引起。在这种情况下,一个或多基因缺陷的存在会使个体对发病诱因极度敏感而易于发病。比如,有 LDL 受体基因缺陷的个体同时有高胆固醇血症,其

冠状动脉发病率要比单纯高胆固醇血症者为高，这是不难理解的。一个发病个体的结局也依赖于其他基因缺陷和环境因素、生活习惯的影响。因此，根据 DNA 诊断，作好疾病的早期预防并注意环境卫生和个人生活方式，可以达到预防的目的。

小 结

重组 DNA 技术是基于人们对自然界基因转移和重组的认识。自然界基因转移伴发重组有几种形式：接合作用、转化作用、转导作用、转座。当细胞与细胞、或细菌通过菌毛相互接触时，质粒 DNA 从一个细胞转移至另一细胞，这种类型的 DNA 转移称为接合作用。通过自动获取或人为地供给外源 DNA，使细胞或培养的受体细胞获得新的遗传表型，这就是转化作用。由病毒携带、将宿主 DNA 片段从一个细胞转移至另一细胞的现象或机制，称为转导作用。由插入序列和转座子介导的基因移位或重排称为转座。在接合、转化、转导或转座过程中，不同 DNA 分子间发生的共价连接称重组。这些过程中的基因重组有两种类型，即位点特异的重组和同源重组。依赖整合酶、在两个 DNA 序列的特异位点间发生的整合称位点特异的重组。发生在同源序列间的重组称为同源重组，又称基本重组。

为研究基因的结构与功能，从构建的基因组 DNA 文库或 cDNA 文库分离、扩增某一感兴趣的基因就是基因克隆或分子克隆，又称重组 DNA 技术。一个完整的基因克隆过程应包括：目的基因的获取，克隆基因载体的选择与改造，目的基因与载体的连接，重组 DNA 分子导入受体细胞，筛选出含感兴趣基因的重组 DNA 转化细胞。实现上述过程需要一些重要的工具酶，如限制性内切核酸酶及连接酶等。限制性内切核酸酶是一类识别 DNA 特异序列的内切核酸酶。科学家感兴趣的外源基因又称目的基因，其来源有几种途径：化学合成，酶促合成 cDNA，制备的基因组 DNA 及 PCR 技术。外源 DNA 离开染色体是不能复制的。将外源基因连接到复制子上，构建嵌合 DNA，外源基因即可作为复制子的一部分在宿主细胞复制。这种复制子就是克隆基因的载体。细菌质粒、噬菌体和一些病毒 DNA 均可被改造成基因克隆的载体。根据采用的克隆载体性质不同，将重组 DNA 分子导入细菌的方法有转化、转染及感染。将重组 DNA 分子导入受体菌后，通过适当形式的培养板生长即可获得一定的抗药菌落。利用原位杂交、Southern 印迹或免疫学方法对抗药菌落进行筛选，获得含目的基因的转化子菌落，再经扩增、分离重组 DNA，获得基因克隆。分离的克隆 cDNA 或基因与适当表达载体连接后可实现目的基因在 *E. coli* 或其他表达体系的表达。重组 DNA 技术在疾病基因的发现，表达有药用价值的蛋白质，DNA 诊断及疾病的预防等方面具有广泛应用价值，促进了当代分子医学的诞生和发展。

(贾弘捷)

第四篇 专题篇

前三篇从分子水平阐述了构成机体主要的生物大分子结构与功能，重要的物质代谢以及基因信息的传递。除上述较系统的内容外，各种生理活动必须依赖的细胞信号传递、正常机体必需的维生素及微量元素、细胞外基质及其作用和若干组织的特殊生物化学作用等也是必不可少的生物化学内容。由于生物化学与分子生物学的迅速发展，正常细胞活动中癌基因、抑癌基因、生长因子的作用以及常用分子生物学技术在诊断和治疗中的应用等方面，也取得了长足进步。因此将这些是医学生必备的生化知识，归入专题篇加以讨论。

高等生物可由几亿个细胞组成一个整体。如此众多的细胞必须依赖细胞间的信息联系才能构成一个有生命活动的整体。机体各种信息的传递主要有神经和体液两条途径，只有在高级中枢的调节下彼此协调，才能维持机体的恒稳状态，适应各种生理活动的需要。癌基因和抑癌基因是一类主要调节细胞增殖分化的基因，在正常情况下对维持正常细胞功能具有重要作用。若这些基因结构和表达异常，有可能发生细胞癌变或其他疾病。绝大部分癌基因表达产物为具有调控细胞增殖、分化的生长因子及其受体，而生长因子受体所介导的信息传递途径是细胞间信息传递的重要途径之一。此外，激素或生长因子受体，糖蛋白糖链和细胞粘附分子等是细胞间进行相互识别、结合的主要分子，也是细胞间信息传递的又一方式。细胞外基质种类丰富，不仅与细胞、组织形态形成有关，还发挥重要的信息传递作用，以调节细胞的增殖、分化等。

血液的有形成分可参与 O_2 与 CO_2 的运输，和防御外源微生物入侵等。血液的可溶性蛋白质成分，更是种类繁多、功能多样，如输送物质，维持血液胶体渗透压，具有凝血和抗凝血的系统以维持血液在血管内流畅，调节免疫作用等。肝是有机体物质代谢的大本营，除在三大营养物质代谢中发挥重要作用外，还在维生素代谢、激素代谢、胆汁酸代谢和机体内外来源的非营养物质代谢方面起到至关重要的作用。基因诊断和基因治疗是医学发展的新内容，是提高诊断效率和正确性，以及某些疾病彻底治疗的希望所在，它涉及诸多分子生物学技术。因此，分子生物学技术一章，将侧重介绍医学工作和科学文献所涉及到的常用技术原理和应用，作为今后进一步学习的基础。

第十六章 细胞信息传递

单细胞生物直接对外界环境变化作出反应。高等生物是由成亿个细胞组成的有机体，细胞已分化成具有特殊结构与功能的机体组成单位，且大多数细胞不与外界直接接触，因此多细胞生物对外界的刺激(包括物理、化学因素)，需要细胞间复杂的信号传递系统来传递，从而调控机体内每个细胞的新陈代谢和行为，以保证整体生命活动的正常进行。在人体，如果细胞间不能准确有效地传递信息，机体就可能出现代谢紊乱、疾病甚至死亡。

人体细胞之间的信息传递可通过相邻细胞的直接接触来实现，但更重要的则是通过细胞分泌各种化学物质来调节自身和其他细胞的代谢和功能。这些具有调节细胞生命活动的化学物质称为信息物质。细胞间的信息传递是跨膜的信号转导(signal transduction)。信号转导包括以下步骤：特定的细胞释放信息物质→信息物质经扩散或血循环到达靶细胞(target cell)→与靶细胞的受体特异性结合→受体对信号进行转换并启动靶细胞内信使系统→靶细胞产生生物学效应。人体的信息物质和受体种类繁多，细胞内的信息传递形成一个网络系统(network)，故细胞的信息传递极其复杂。

第一节 信息物质

一、细胞间信息物质

凡由细胞分泌的调节靶细胞生命活动的化学物质统称为细胞间信息物质。目前已知的细胞间信息物质包括蛋白质和肽类(如生长因子、细胞因子、胰岛素等)，氨基酸及其衍生物(如甘氨酸、甲状腺素、肾上腺素等)，类固醇激素(如糖皮质激素、性激素等)，脂酸衍生物(如前列腺素)，一氧化氮等。根据信息物质的特点及其作用方式将细胞间信息物质分为如下三大类：

1. 局部化学介质 又称旁分泌信号(paracrine signal)。体内某些细胞能分泌一种或数种化学介质，如生长因子、细胞生长抑素、一氧化氮和前列腺素等。此类信息物质的特点是不进入血液循环，而是通过扩散作用到达附近的靶细胞。除生长因子外，它们的作用时间较短。

2. 激素 又称内分泌信号(endocrine signal)。由特殊分化的内分泌细胞释放，如胰岛素、甲状腺素和肾上腺素等，它们通过血液循环到达靶细胞，大多数对靶细胞的作用时间较长。

3. 神经递质 又称突触分泌信号(synaptic signal)。由神经元突触前膜释放，如乙酰

胆碱和去甲肾上腺素等，其作用时间较短。

有一些细胞间信息物质能对同种细胞或分泌细胞自身起调节作用，称为自分泌信号 (autocrine signal)，如一些癌蛋白。而有些细胞间信息物质可在不同的个体间传递信息，如昆虫的性激素。

二、细胞内信息物质

在细胞内传递细胞调控信号的化学物质称为细胞内信息物质。细胞内信息物质的组成具多样化，包括无机离子，如 Ca^{2+} ；脂类衍生物，如二脂酰甘油(DAG)、N-脂酰鞘氨醇 (Cer)；糖类衍生物，如三磷酸肌醇(IP_3)；核苷酸，如 cAMP、cGMP；信号蛋白分子——多数为癌基因的产物，如 Ras 和底物酶。底物酶主要为酪氨酸或丝/苏氨酸蛋白激酶，但它们本身又是其他酶的底物，如 JAK、Raf 等。通常将 Ca^{2+} 、DAG、 IP_3 、Cer、cAMP、cGMP 等这类在细胞内传递信息的小分子化合物称为第二信使 (secondary messenger)。

细胞内信息物质在传递信号时绝大部分通过酶促级联反应方式进行。它们最终通过改变细胞内有关酶的活性、开启或关闭细胞膜离子通道及细胞核内基因的转录，达到调节细胞代谢和控制细胞生长、繁殖和分化的作用。所有信息物质在完成信息传递后，必须立即灭活。通常细胞通过酶促降解、代谢转化或细胞摄取等方式灭活信息物质。一些细胞外信息物质影响细胞内代谢的可能途径见表 16-1。

表 16-1 细胞间信息物质影响细胞功能的途径

种 类	信 息 物 质	受 体	引起细胞内的变化
神经递质	乙酰胆碱、谷氨酸、 γ -氨基丁酸	质膜受体	影响离子通道开闭
生长因子	胰岛素样生长因子-1、表皮生长因子、血小板衍生生长因子	质膜受体	引起酶蛋白和功能蛋白的磷酸化和脱磷酸化，改变细胞的代谢和基因表达
激素	蛋白质、多肽及氨基酸衍生物类激素	质膜受体	同上
	类固醇激素、甲状腺素	胞内受体	影响转录

第二节 受 体

受体(receptor)是细胞膜上或细胞内能特异识别生物活性分子并与之结合，进而引起生物学效应的特殊蛋白质，个别是糖脂。能与受体呈特异性结合的生物活性分子则称为配体(ligand)。细胞间信息物质就是一类最常见的配体。除此以外，某些药物、维生素和毒物也可作为配体而发挥生物学作用。

受体在细胞信息传递过程中起着极为重要的作用。其中，位于细胞浆和细胞核中的受体称为胞内受体，它们全部为 DNA 结合蛋白。存在于细胞质膜上的受体则称为膜受体，它们绝大部分是镶嵌糖蛋白。

一、受体的分类、一般结构及功能

(一) 膜受体

1. 环状受体 即配体依赖性离子通道。它们主要受神经递质等信息物质调节。当神经递质与这类受体结合后,可使离子通道打开或关闭,从而改变膜的通透性。这类受体主要在神经冲动的快速传递中起作用。

2. 七个跨膜 α 螺旋受体 又称蛇型受体(serpentine receptor)。七个跨膜 α 螺旋受体是研究得最为广泛和透彻的一种受体。它们全部是只含一条肽链的糖蛋白,其N端在细胞外侧,C端在细胞内,中段形成七个跨膜螺旋结构和三个细胞外环与三个细胞内环(图16-1)。这类受体的特点是其胞浆面第三个环能与鸟苷酸结合蛋白(guanylate binding protein,简称G蛋白)相偶联,从而影响腺苷酸环化酶(adenylate cyclase,AC)或磷脂酶C等的活性,使细胞内产生第二信使。这类受体的信息传递可归纳为:激素 \rightarrow 受体 \rightarrow G蛋白 \rightarrow 酶 \rightarrow 第二信使 \rightarrow 蛋白激酶 \rightarrow 酶或功能蛋白 \rightarrow 生物学效应。此类受体分布极广,主要参与细胞物质代谢的调节和基因转录的调控。

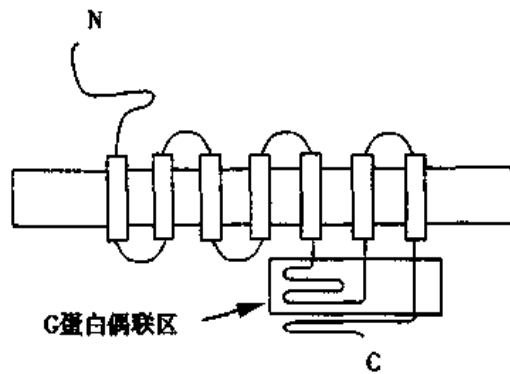


图16-1 G蛋白偶联受体的结构

□: α 螺旋

G蛋白是一类和GTP或GDP相结合、位于细胞膜胞浆面的外周蛋白,由三个亚基组成。它们是 α 亚基(45kD)、 β 亚基(35kD)和 γ 亚基(7kD)。G蛋白有两种构象,一种以 $\alpha\beta\gamma$ 三聚体存在并与GDP结合,为非活化型;另一种构象是 α 亚基与GTP结合并导

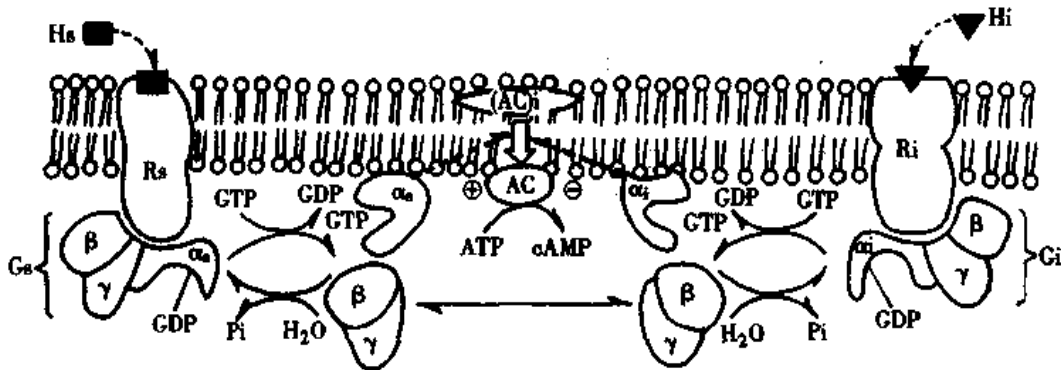


图16-2 两种G蛋白的活性型和非活性型的互变

致 $\beta\gamma$ 二聚体的脱落，此型为活化型(图 16-2)。

G 蛋白有许多种(表 16-2)。常见的有激动型 G 蛋白(stimulatory G protein, G_s)、抑制型 G 蛋白(inhibitory G protein, G_i)和磷脂酶 C 型 G 蛋白(PI-PLC G protein, G_p)。不同的 G 蛋白能特异地将受体和与之相适应的效应酶偶联起来。各种 G 蛋白的 α -亚基均有一个可被霍乱毒素或百日咳毒素进行 ADP-核糖基化的修饰部位。这两种细菌毒素能改变 G 蛋白的功能，霍乱毒素能激活 G_s 而激活 AC；百日咳毒素则能激活 G_i 而抑制 AC。

表 16-2 信息传递过程中的 G 蛋白

G 蛋白的类型	α 亚基	功 能
G_s	α_s	激活腺苷酸环化酶
G_i	α_i	抑制腺苷酸环化酶
G_p	?	激活磷脂酰肌醇特异的磷脂酶 C
G_o^*	α_o	大脑中主要的 G 蛋白，可能调节离子通道
传导素	Ta	激活视觉

*o 表示其他的(other)

3. 单个跨膜 α 螺旋受体 这类受体主要有酪氨酸蛋白激酶受体型和非酪氨酸蛋白激酶受体型。前者为催化型受体(catalytic receptor)(如胰岛素受体和表皮生长因子受体等)，它们与配体结合后即有酪氨酸蛋白激酶活性，既可导致受体自身磷酸化，又可催化底物蛋白的特定酪氨酸残基磷酸化；后者(如生长激素受体、干扰素受体)与配体结合后，可与酪氨酸蛋白激酶偶联而表现出酶活性。这类受体全部为糖蛋白且只有一个跨膜螺旋结构。催化型受体跨膜区由 22~26 个氨基酸残基构成一个 α -螺旋，高度疏水。细胞外区一般有 500~850 个氨基酸残基，有的含与免疫球蛋白(Ig)同源的结构，有的富含半胱氨酸区段，此区为配体结合部位(图 16-3)。细胞内为近膜区和功能区。酪氨酸蛋白激酶功能区位于 C 末端，包括结合 ATP 和结合底物的两个功能区。此型受体与细胞的增殖、分化、分裂及癌变有关。能与这类受体结合的配体主要有细胞因子(如白介素)、生长因子和胰岛素等。

(二) 胞内受体

胞内受体多为反式作用因子，当与相应配体结合后，能与 DNA 的顺式作用元件结合，调节基因转录。能与此型受体结合的信息物质有类固醇激素、甲状腺素和维

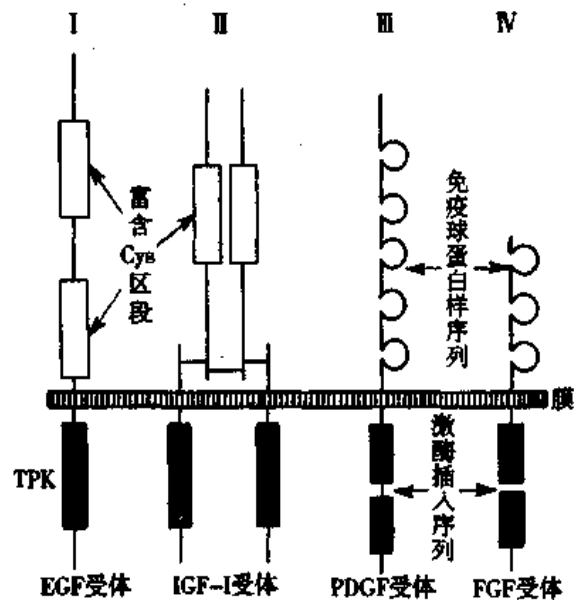


图 16-3 含 TPK 结构域的受体

EGF: 表皮生长因子
IGF-I: 胰岛素样生长因子 I
PDGF: 血小板衍生生长因子
FGF: 成纤维细胞生长因子

甲酸等。

胞内受体通常为 400 ~ 1 000 个氨基酸残基组成的单体蛋白质，包括四个区域(图 16-4)：

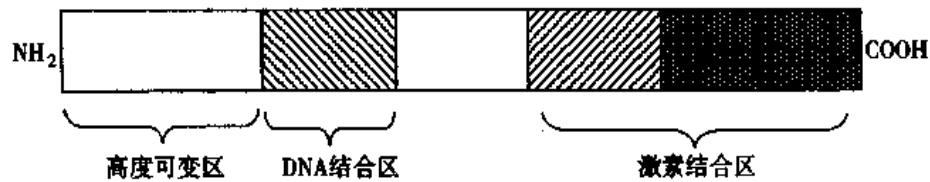


图 16-4 核受体结构示意图

1. 高度可变区 位于 N 末端，含 25 ~ 603 个氨基酸残基，具转录激活作用。多数受体的这一区域还是抗体结合部位。
2. DNA 结合区 有 66 ~ 68 个氨基酸残基，富含半胱氨酸并有锌指结构，它能顺 DNA 螺旋旋转并与之结合。
3. 激素结合区 位于 C 末端，由 220 ~ 250 个氨基酸残基构成，其作用包括 ①与配体结合；②与热休克蛋白结合；③使受体二聚化；④激活转录。
4. 铰链区 为一短序列，可能有与转录因子相互作用和触发受体向核内移动的功能。

二、受体作用的特点

受体与配体的结合有以下特点：

1. 高度专一性 受体选择性地与特定配体结合，这种选择性是由分子的几何形状决定的。受体与配体的结合通过反应基团的定位和分子构象的相互契合来实现。

2. 高度亲和力 无论是膜受体还是胞内受体，它们与配体间的亲和力都极强。体内信息物质的浓度非常低，通常 $\leq 10^{-8}$ mol/L，但却具有显著的生物学效应，足见二者间的亲和力之高。

3. 可饱和性 如图 16-5 显示：增加配体浓度，可使受体饱和。

4. 可逆性 受体与配体以非共价键结合，当生物效应发生后，配体即与受体解离。受体可恢复到原来的状态，并再次被利用，而配体则常被立即灭活。

5. 特定的作用模式 受体在细胞内的分布，从数量到种类，均有组织特异性，并出现特定的作用模式，提示某类受体与配体结合后能引起某种特定的生理效应。

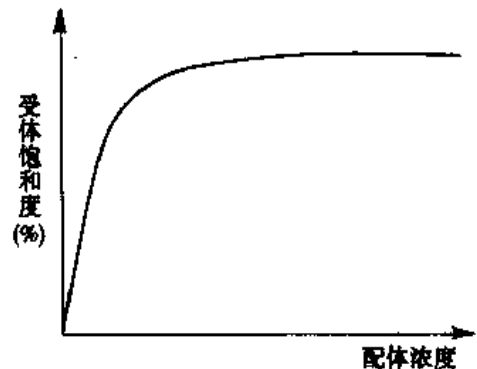


图 16-5 配体-受体结合曲线

三、受体活性的调节

许多因素可以影响细胞的受体数目和(或)受体对配体的亲和力。若受体的数目减少

和(或)对配体的结合力降低与失敏,称之为受体下调(down regulation),反之则称为受体上调(up regulation)。受体活性调节的常见机制有:

1. 磷酸化和脱磷酸化作用 受体磷酸化和脱磷酸化在许多受体的功能调节上起重要作用。如胰岛素受体和表皮生长因子受体分子的酪氨酸残基被磷酸化后,能促进受体与相应配体结合。而磷酸化则足以使类固醇激素受体无力与其配体结合。

2. 膜磷脂代谢的影响 膜磷脂在维持膜流动性和膜受体蛋白活性中起重要作用。质膜的磷脂酰乙醇胺被甲基化转变成磷脂酰胆碱后,可明显增强肾上腺素 β 受体激活腺苷酸环化酶的作用。

3. 酶促水解作用 有些膜受体可通过内化(internalization)方式被溶酶体降解。

4. G蛋白的调节 G蛋白可在多种活化受体与腺苷酸环化酶之间起偶联作用,当一受体系统被激活而使cAMP水平升高时,就会降低同一细胞受体对配体的亲和力。

第三节 信息的传递途径

一、膜受体介导的信息传递

膜受体介导的信息传递至少存在五条途径。这五条途径之间既相对独立又存在一定联系。为了便于叙述和理解,现分别介绍各条信息传递途径。

(一) cAMP-蛋白激酶途径

该途径以靶细胞内cAMP浓度改变和激活蛋白激酶A (protein kinase A, PKA)为主要特征,是激素调节物质代谢的主要途径。

1. cAMP的合成与分解 胰高血糖素、肾上腺素和促肾上腺皮质激素与靶细胞质膜上的特异性受体结合,形成激素-受体复合物而激活受体。活化的受体可催化 G_s 的GDP与GTP交换,导致 G_s 的 α 亚基与 $\beta\gamma$ 解离,蛋白释放出 α_s-GTP 。 α_s-GTP 能激活腺苷酸环化酶(图16-2),催化ATP转化成cAMP,使细胞内cAMP浓度增高。过去认为G蛋白中只有 α 亚基发挥作用,现知 $\beta\gamma$ 复合体也可独立地作用于相应的效应物,与 α 亚基拮抗。



腺苷酸环化酶分布广泛,除成熟红细胞外,几乎存在于所有组织的细胞质膜上。cAMP经磷酸二酯酶(Phosphodiesterase, PDE)降解成5'-AMP而失活。cAMP是分布广泛而重要的第二信使。

少数激素,如生长激素抑制素、胰岛素和抗血管紧张素II等,它们活化受体后可催化抑制性G蛋白解离,导致细胞内AC活性下降,从而降低细胞内cAMP水平。

正常细胞内cAMP的平均浓度为 10^{-6}mol/L 。cAMP在细胞中的浓度除与腺苷酸环化酶活性有关外,还与磷酸二酯酶活性有关。一些激素,如胰岛素,能激活磷酸二酯酶,

加速 cAMP 降解;某些药物,如茶碱,则抑制磷酸二酯酶,促使细胞内 cAMP 浓度升高。

2. cAMP 的作用机制 cAMP 对细胞的调节作用是通过激活 cAMP 依赖性蛋白激酶 (cAMP-蛋白激酶,或称蛋白激酶 A PKA) 系统来实现的。PKA 是一种由四聚体 (C_2R_2) 组成的别构酶。其中 C 为催化亚基, R 为调节亚基。每个调节亚基上有 2 个 cAMP 结合位点, 催化亚基具有催化底物蛋白质某些特定丝/苏氨酸残基磷酸化的功能。调节亚基与催化亚基相结合时, PKA 呈无活性状态。当 4 分子 cAMP 与 2 个调节亚基结合后, 调节亚基脱落, 游离的催化亚基具有蛋白激酶活性(图 16-6)。PKA 的激活过程需要 Mg^{2+} 。

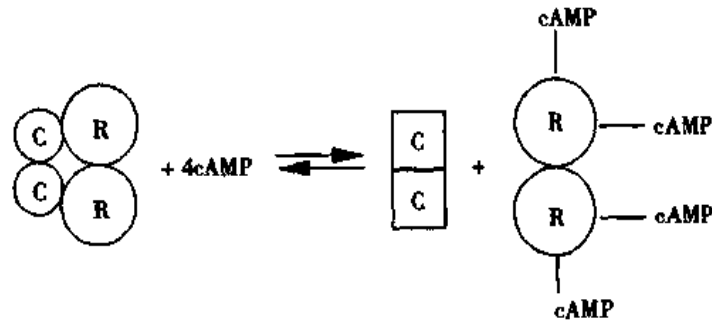


图 16-6 cAMP 蛋白激酶的激活

C: 催化亚基; R: 调节亚基

3. PKA 的作用 PKA 被 cAMP 激活后, 能在 ATP 存在的情况下使许多蛋白质特定的丝氨酸残基和(或)苏氨酸残基磷酸化, 从而调节细胞的物质代谢和基因表达。

(1) 对代谢的调节作用: 图 16-7 显示肾上腺素调节糖原分解的级联反应。肾上腺素与质膜上的受体结合后, 通过激动型 G 蛋白使 AC 激活, AC 催化 ATP 生成 cAMP, 后者能进一步激活 PKA。PKA 一方面使无活性的磷酸化酶激酶 b 磷酸化而转变成有活性的

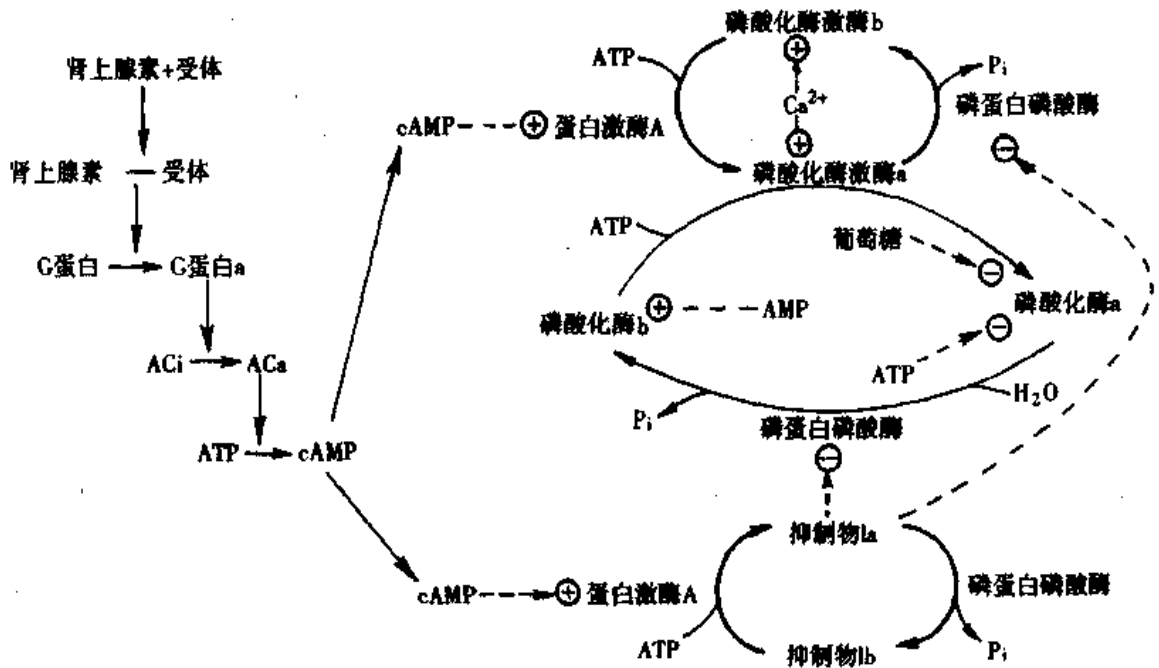


图 16-7 糖原磷酸化酶的激活与失活

磷酸化酶激酶 a, 后者能催化磷酸化酶 b 修饰带上磷酸根, 成为有活性的磷酸化酶 a。磷酸化酶 a 经磷蛋白磷酸化酶脱去磷酸又转变成无活性的磷酸化酶 b。磷蛋白磷酸酶的活性也受 PKA 的调节, 磷酸化和脱磷酸化呈对立统一的关系。同时, PKA 也可使有活性的糖原合成酶的特定丝/苏氨酸磷酸化而失去活性。

(2) 对基因表达的调节作用: 顺式作用元件、反式作用因子以及它们的相互作用对真核细胞基因的表达调控起非常重要的调节作用。在基因的转录调控区中有一类 cAMP 应答元件(cAMP response element, CRE), 它可与 cAMP 应答元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)相互作用而调节此基因的转录。当 PKA 的催化亚基进入细胞核后, 可催化反式作用因子——CREB 中特定的丝氨酸和(或)苏氨酸残基磷酸化。磷酸化的 CREB 形成同源二聚体, 与 DNA 上的 CRE 结合, 从而激活受 CRE 调控的基因转录。

PKA 还可使细胞核内的组蛋白、酸性蛋白以及胞浆内的核蛋白体蛋白、膜蛋白、微管蛋白及受体蛋白等磷酸化, 从而影响这些蛋白质的功能(表 16-3)。

表 16-3 PKA 对底物蛋白的磷酸化作用

底物蛋白	磷酸化的后果	生理意义
组蛋白	失去对转录的阻遏作用	加速转录, 促进蛋白质的合成
核中酸性蛋白质	加速转录	加速转录, 促进蛋白质的合成
核蛋白体蛋白	加速翻译	促进蛋白质合成
细胞膜蛋白	膜蛋白构象及功能改变	改变膜对水及离子的通透性
微管蛋白	构象和功能改变	影响细胞分泌
心肌肌原蛋白	易与 Ca^{2+} 结合	加强心肌收缩
心肌肌浆网膜蛋白	加速 Ca^{2+} 摄入肌浆网	加速肌纤维舒张
肾上腺素能 β 受体蛋白	影响受体功能	脱敏化及下调

(二) Ca^{2+} -依赖性蛋白激酶途径

在收缩、运动、分泌和分裂等复杂的生命活动中, 需有 Ca^{2+} 参与调节, 胞浆内 Ca^{2+} 浓度在 $0.01 \sim 1\mu\text{mol/L}$, 比细胞外液中 Ca^{2+} 浓度(约 2.5mmol/L)低得多。细胞的肌浆网、内质网和线粒体可作为细胞内 Ca^{2+} 的储存库。当细胞外液的 Ca^{2+} 通过钙通道进入细胞, 或者亚细胞器内储存的 Ca^{2+} 释放到胞浆时, 都会使胞浆内 Ca^{2+} 水平急剧升高, 随之引起某些酶活性和蛋白功能的改变, 从而调节各种生命活动。因而将 Ca^{2+} 也视为细胞内重要的第二信使。

1. Ca^{2+} -磷脂依赖性蛋白激酶途径 近年来的研究表明, 体内的跨膜信息传递方式中还有一种以三磷酸肌醇(肌醇-1,4,5 三磷酸, IP_3)和二脂酰甘油(DAG)为第二信使的双信号途径。该系统可以单独调节细胞内的许多反应, 又可以与 cAMP-蛋白激酶系统及酪氨酸蛋白激酶系统相偶联, 组成复杂的网络, 共同调节细胞的代谢和基因表达。

(1) IP_3 和 DAG 的生物合成和功能: 促甲状腺素释放激素、去甲肾上腺素和抗利尿激素等作用于靶细胞膜上特异性受体后, 通过特定的 G 蛋白 (G_p)激活磷脂酰肌醇特异

性磷脂酶 C (PI-PLC), PI-PLC 则水解膜组分——磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸(PIP₂) 而生成 DAG 和 IP₃ (图 16-8)。

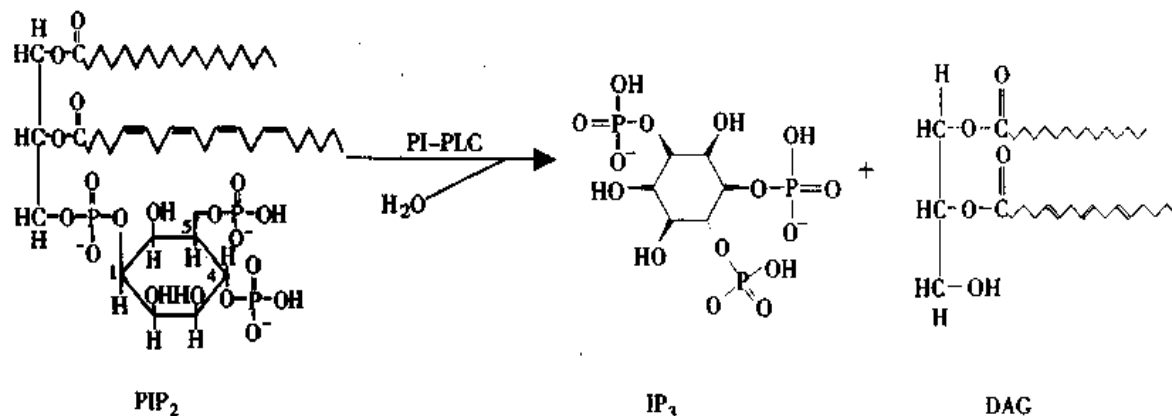


图 16-8 磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C (PI-PLC) 的作用

DAG 生成后仍留在质膜上, 在磷脂酰丝氨酸和 Ca^{2+} 的配合下激活蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC)。PKC 由一条多肽链组成, 含一个催化结构域和一个调节结构域。调节结构域常与催化结构域的活性中心部分贴近或嵌合, 一旦 PKC 的调节结构域与 DAG、磷脂酰丝氨酸和 Ca^{2+} 结合, PKC 即发生构象改变而暴露出活性中心。

IP₃ 生成后, 从膜上扩散至胞浆中与内质网和肌浆网上的受体结合, 因而促进这些钙储库内的 Ca^{2+} 迅速释放, 使胞浆内的 Ca^{2+} 浓度升高。 Ca^{2+} 能与胞浆内的 PKC 结合并聚集至质膜, 在 DAG 和膜磷脂共同诱导下, PKC 被激活。

(2) PKC 的生理功能: PKC 广泛地存在于机体的组织细胞内, 目前已发现 12 种 PKC 同工酶, 它们对机体的代谢、基因表达、细胞分化和增殖起作用。

1) 对代谢的调节作用: PKC 被激活后可引起一系列靶蛋白的丝氨酸残基和(或)苏氨酸残基发生磷酸化反应。靶蛋白包括质膜受体、膜蛋白和多种酶。PKC 能催化质膜的 Ca^{2+} 通道磷酸化, 促进 Ca^{2+} 流入胞内, 提高胞浆 Ca^{2+} 浓度, PKC 也能催化肌浆网的 Ca^{2+} -ATP 酶磷酸化, 使钙进入肌浆网, 降低胞浆的 Ca^{2+} 浓度。由此可见, PKC 能调节多种生理活动, 使之处于动态平衡。总之, PKC 通过对靶蛋白的磷酸化反应而改变功能蛋白的活性和性质, 影响细胞内信息的传递, 启动一系列生理、生化反应。

2) 对基因表达的调节作用: PKC 对基因的活化过程可分为早期反应和晚期反应两个阶段(图 16-9)。PKC 能使立早基因(immediate-early gene)的反式作用因子磷酸化, 加速立早基因的表达。立早基因多数为细胞原癌基因(如 c-fos、AP₁/jun), 它们表达的蛋白质寿命短暂(半寿期为 1~2 小时)具有跨越核膜传递信息之功能, 因此称为第三信使。第三信使受磷酸化修饰后, 最终活化晚期反应基因并导致细胞增生或核型变化。促癌剂——佛波酯(phorbol ester)正是作为 PKC 的强激活剂而引起细胞持续增生, 诱导癌变。

2. Ca^{2+} -钙调蛋白依赖性蛋白激酶途径(Ca^{2+} -CaM 激酶途径) 钙调蛋白(calmodulin, CaM)为钙结合蛋白, 是细胞内重要的调节蛋白。CaM 是一条多肽链组成的单体蛋白。人体的 CaM 有 4 个 Ca^{2+} 结合位点, 当胞浆的 Ca^{2+} 浓度 $\geq 10^{-2}$ mmol/L 时, Ca^{2+} 与 CaM 结合, 其构象发生改变而激活 Ca^{2+} -CaM 激酶。

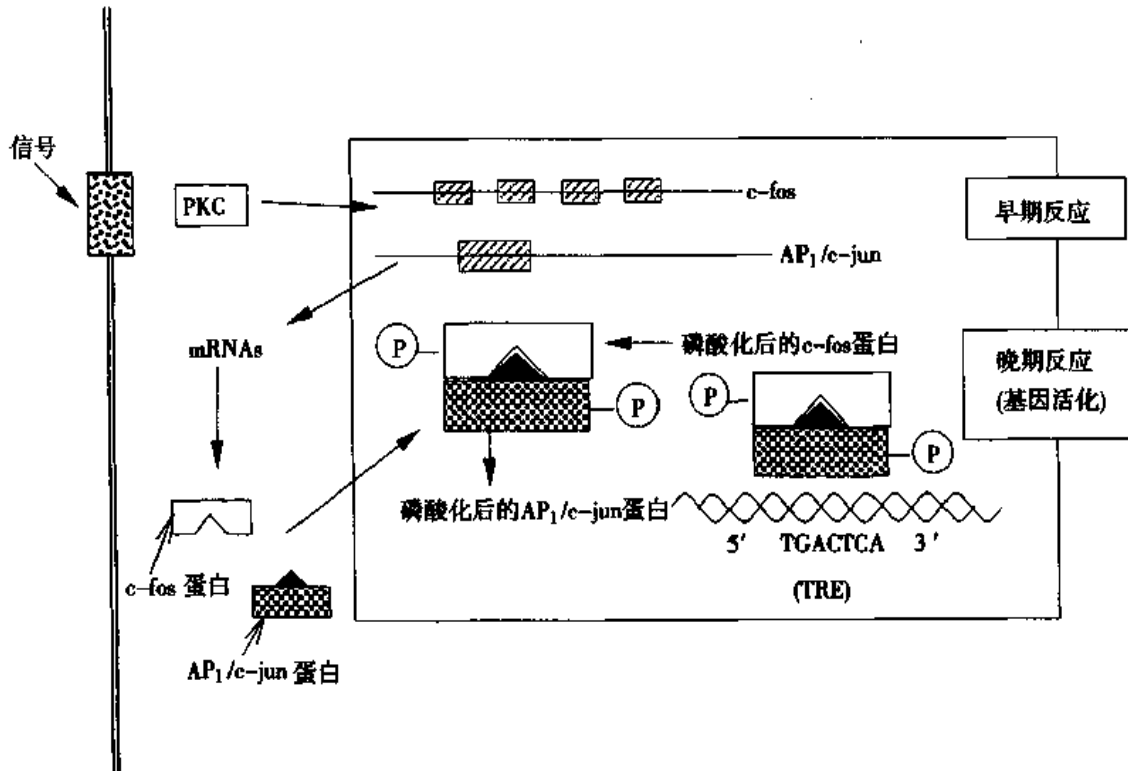
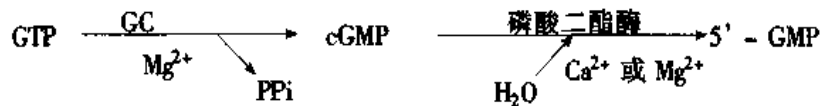


图 16-9 PKC 对基因的早期活化和晚期活化

Ca^{2+} -CaM 激酶的底物谱非常广，可以磷酸化许多蛋白质的丝氨酸和(或)苏氨酸残基，使之激活或失活。 Ca^{2+} -CaM 激酶既能激活腺苷酸环化酶又能激活磷酸二酯酶，即它既加速 cAMP 的生成又加速 cAMP 的降解，使信息迅速传至细胞内，又迅速消失。 Ca^{2+} -CaM 激酶不仅参与调节 PKA 的激活和抑制，还能激活胰岛素受体的酪氨酸蛋白激酶活性。可见 Ca^{2+} -CaM 激酶在细胞的信息传递中起非常重要的作用。

(三) cGMP-蛋白激酶途径

cGMP 广泛存在于动物各组织中，其含量约为 cAMP 的 1/10 ~ 1/100。它由 GTP 在鸟苷酸环化酶(guanylate cyclase, GC)的催化下经环化而生成，经磷酸二酯酶催化而降解。



鸟苷酸环化酶在脑、肺、肝及肾等组织中大部分是可溶性酶，而在心血管组织细胞、小肠，精子及视网膜杆状细胞则大多数为结合型酶。GC 的激活过程和 AC 不同，GC 的激活间接地依赖 Ca^{2+} 。 Ca^{2+} 通过激活磷脂酶 C 和磷脂酶 A_2 使膜磷脂水解生成花生四烯酸，花生四烯酸经氧化生成前列腺素而激活 GC。

激素(如心房分泌的心钠素等)与靶细胞膜上的受体结合后，即能激活鸟苷酸环化酶，后者再催化 GTP 转变成 cGMP。cGMP 能激活 cGMP 依赖性蛋白激酶(cGMP-蛋白激酶, 蛋白激酶 G)，从而催化有关蛋白或有关酶类的丝/苏氨酸残基磷酸化，产生生物学效应。蛋白激酶 G 的结构与蛋白激酶 A 完全不同，它为一单体酶，分子中有一个 cGMP 结合位点。一氧化氮(NO)是新发现的神经递质和信息物质。NO 在平滑肌细胞中可激活

鸟苷酸环化酶,使 cGMP 生成增加,激活蛋白激酶 G,导致血管平滑肌松弛。临床上常用的硝酸甘油等血管扩张剂就是因为它们能自发产生 NO,从而通过上述途径松弛血管平滑肌、扩张血管。

(四) 酪氨酸蛋白激酶途径

酪氨酸蛋白激酶(tyrosine-protein kinase,TPK)在细胞的生长、增殖、分化等过程中起重要的调节作用,并与肿瘤的发生有密切的关系。细胞中的 TPK 包括两大类,第一类位于细胞质膜上称为受体型 TPK,如胰岛素受体、表皮生长因子受体及某些原癌基因(*erb-B*、*kit*、*fms*等)编码的受体,它们均属于催化型受体;第二类位于胞浆中,称为非受体型 TPK,如底物酶 JAK (just another kinase,另一类激酶)和某些原癌基因(*src*、*yes*、*ber-*abl**等)编码的 TPK,但它们常与非催化型受体偶联而发挥作用。

当配体与单跨膜螺旋受体结合后,催化型受体大多数发生二聚化,二聚体的 TPK 被激活,彼此可使对方的某些酪氨酸残基磷酸化,这一过程称为自身磷酸化(*autophosphorylation*);而非催化型受体的某些酪氨酸残基则被非受体型 TPK 磷酸化。

细胞内存在一些连接物蛋白(adaptor protein),它们具有 SH2 结构域(*src* homology 2 domain),这些结构域与原癌基因 *src* 编码的酪氨酸蛋白激酶区同源。SH2 结构域能识别磷酸化的酪氨酸残基并与之结合。磷酸化的受体通过连接物蛋白可偶联其他效应蛋白,这些效应物蛋白本身具酶活性,故可逐级传递信息并将效应级联放大。

受体型 TPK 和非受体型 TPK 虽都能使蛋白质底物的酪氨酸残基磷酸化,但它们的信息传递途径有所不同。

1. 受体型 TPK-Ras-MAPK 途径 催化型受体与配体结合后,发生自身磷酸化并磷酸化中介分子——Grb2 和 SOS,使其活化,进而激活 Ras 蛋白。由于 *ras* 蛋白为多种生长因子信息传递过程所共有,因此又称为 Ras 通路。

Ras 蛋白是由一条多肽链组成的单体蛋白,由原癌基因 *ras* 编码而得名。它的性质类似于 G 蛋白中的 G_{α} 亚基,它的活性与其结合 GTP 或 GDP 直接有关,Ras 与 GDP 结合时无活性,但磷酸化的 SOS 可促进 GDP 从 Ras 脱落,使 Ras 转变成 GTP 结合状态而活化。Ras 蛋白的分子量为 21kD,故又名 p21 蛋白,因其分子量小于与七个跨膜螺旋受体偶联的 G 蛋白,也被称作小 G 蛋白。活化的 Ras 蛋白可进一步活化 Raf 蛋白。Raf 蛋白具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性,它可激活有丝分裂原激活蛋白激酶(*mitogen-activated protein kinase*,MAPK)系统(图 16-10)。MAPK 系统包括 MAPK、MAPK 激酶(MAPKK)、MAPKK 激酶(MAPKKK)。它们是一组酶兼底物的蛋白分子。其中,MAPK 更具有广泛的催化活性,它除调节花生四烯酸的代谢和细胞微管形成之外,更重要的是可催化细胞核内许多反式作用因子(如转录因子)的 Ser/Thr 残基磷酸化,导致基因转录或关闭。

受体型 TPK 活化后还可通过激活腺苷酸环化酶、多种磷脂酶(如 PI-PLC、磷脂酶 A 和鞘磷脂酶)等发挥调控基因表达的作用(图 16-10)。

2. JAKs-STAT 途径 一部分生长因子、大部分细胞因子和激素,生长激素(GH)、干扰素(IFN)、红细胞生成素(EPO)、粒细胞集落刺激因子(G-CSF)和一些白细胞介素(IL-2,IL-6)等,其受体分子缺乏酪氨酸蛋白激酶活性,但它们能借助细胞内的一类具有激酶结构的连接蛋白 JAKs (janus Kinase)完成信息转导。JAKs 家族成员包括 JAK₁、JAK₂、

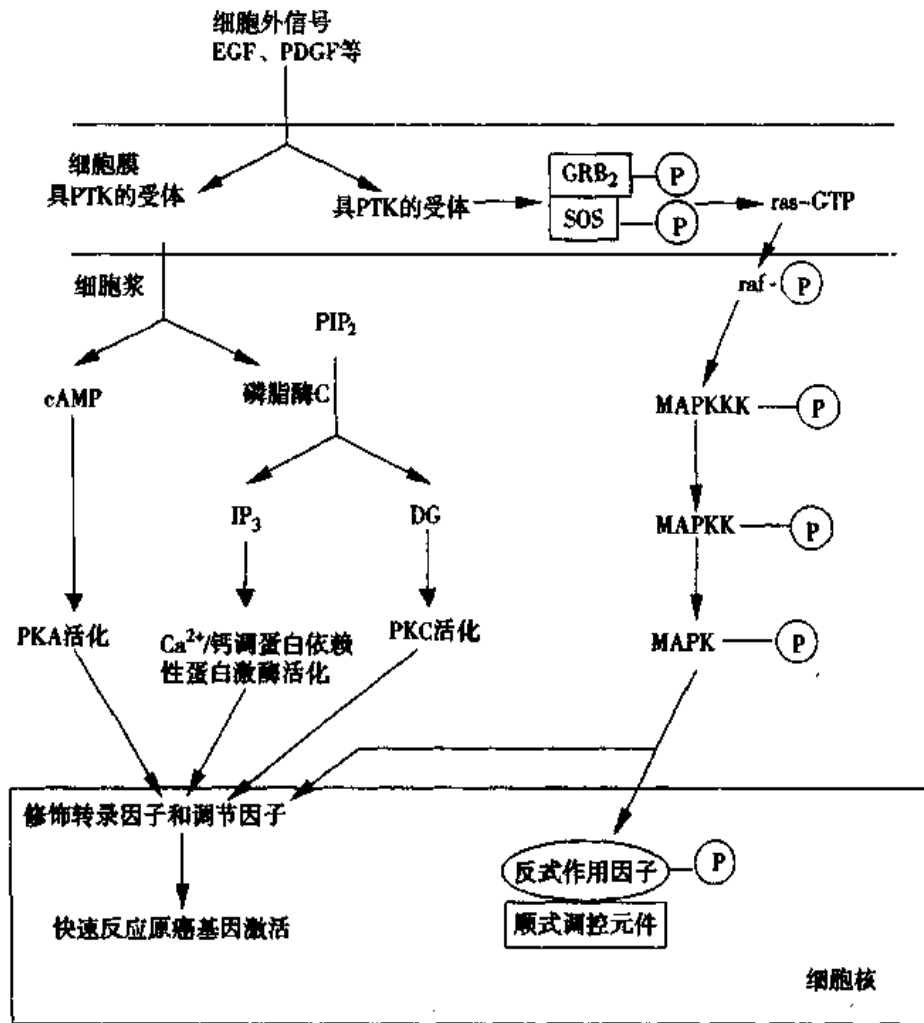


图 16-10 受体型酪氨酸蛋白激酶激活基因表达的途径

TYK₂ 和 JAK₃, 分子内均有 SH2 结构域。配体与非催化型受体结合后,能活化各自的 JAKs。JAKs 再通过激活信号转导子和转录激动子 (signal transducers and activator of transcription, STAT) 而最终影响到基因的转录调节。故将此途径又称为 JAK-STAT 信号转导通路。

由于在 JAK-STAT 通路中, 激活后的受体可与不同的 JAKs 和不同的 STAT 相结合, 因此该途径传递信号更具多样性和灵活性。该途径最先在干扰素信号传递研究中发现 (图 16-11), 它与 Ras 通路相互独立, 但表皮生长因子等却可通过这两条途径来发挥其作用。

(五) 核因子 κ B 途径

核因子 κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 体系主要涉及机体防御反应、组织损伤和应激、细胞分化和凋亡以及肿瘤生长抑制过程的信息传递。该系统的发现源于研究免疫球蛋白 κ 亚基。NF- κ B 包括 NF- κ B₁、NF- κ B₂ 和某些癌基因蛋白 (如 Rel A) 等。

在多数细胞类型, NF- κ B 在胞浆内与抑制性蛋白质 (包括 I κ B α 、I κ B γ 、Bcl-3 等) 结合形成无活性的复合物。当肿瘤坏死因子 (TNF) 等作用于相应受体后, 可通过第二信使 Cer 等激活此系统, 而病毒感染、脂多糖、活性氧中间体、佛波酯、双链 RNA 以及前述

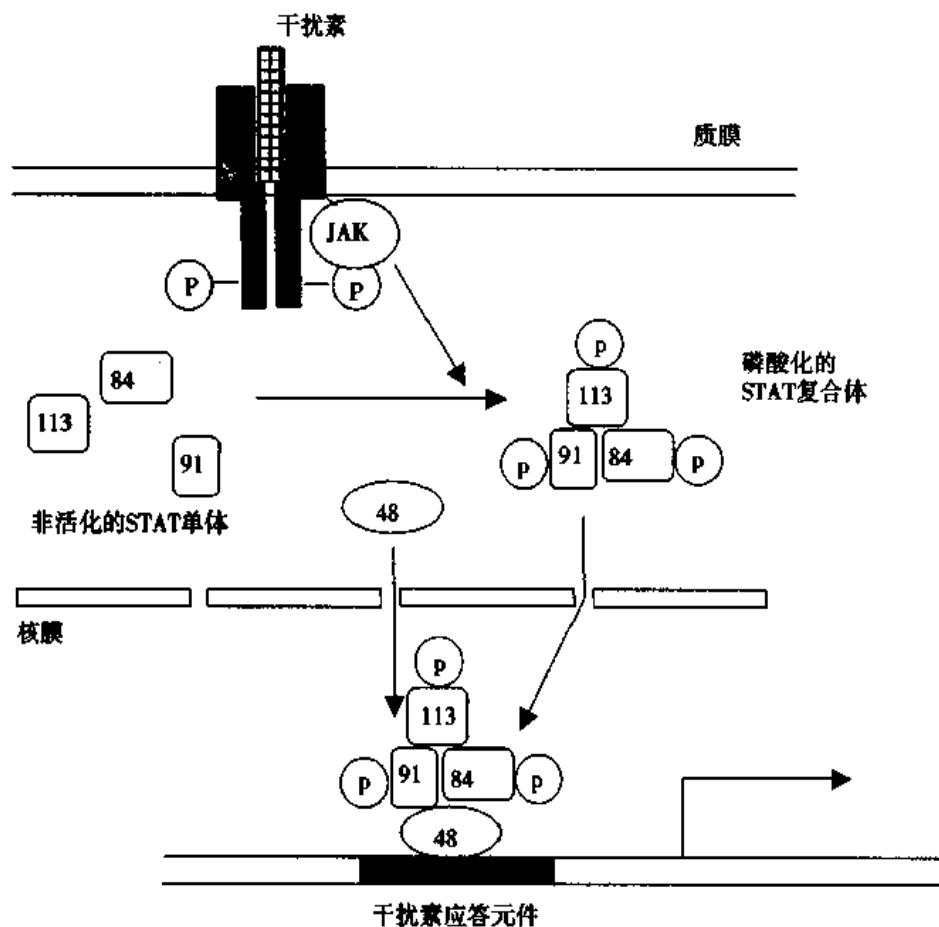


图 16-11 干扰素诱导 JAK、STAT 复合体核内转移及调节基因转录机制

信息传递途径中活化的 PKC、PKA 等则可直接激活 NF- κ B 系统。激活过程是通过磷酸化抑制性蛋白使其构象发生改变而从 NF- κ B 脱落，NF- κ B 得以活化。活化的 NF- κ B 进入细胞核，形成环状结构与 DNA 接触，并启动或抑制有关基因的转录(图 16-12)。

二、胞内受体介导的信息传递

目前已知通过细胞内受体调节的激素有糖皮质激素、盐皮质激素、雄激素、孕激素、雌激素、甲状腺素(T_3 及 T_4)和 $1, 25(OH)_2 D_3$ 等，上述激素除甲状腺素外均为类固醇化合物。细胞内受体又可分为核内受体和胞浆内受体，如雄激素、孕激素、雌激素和甲状腺素受体位于细胞核内，而糖皮质激素的受体位于胞浆中。

类固醇激素与核内受体结合后，可使受体的构象发生改变，暴露出 DNA 结合区。在胞浆中形成的类固醇激素-受体复合物以二聚体

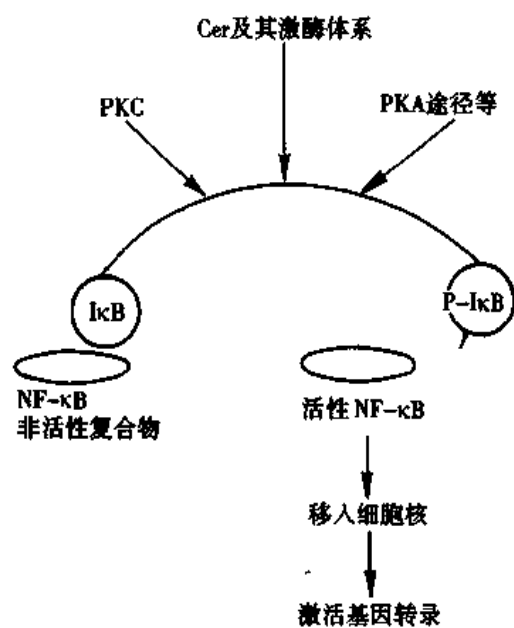


图 16-12 NF- κ B 的激活过程示意图

形式穿过核孔进入核内。在核内，激素-受体复合物作为转录因子与 DNA 特异基因的激素反应元件(hormone response element)结合，从而使特异基因易于(或难于)转录。

甲状腺素进入靶细胞后，能与胞内的核受体结合，甲状腺素-受体复合物可与 DNA 上的甲状腺素反应元件(TRE)结合，调节许多基因的表达。此外，在肾、肝、心及肌肉的线粒体内膜上也存在甲状腺素受体，结合后能促进线粒体某些基因的表达，可能与甲状腺素能加速氧化磷酸化有关。

现将细胞内受体的调节机制总结于图 16-13。

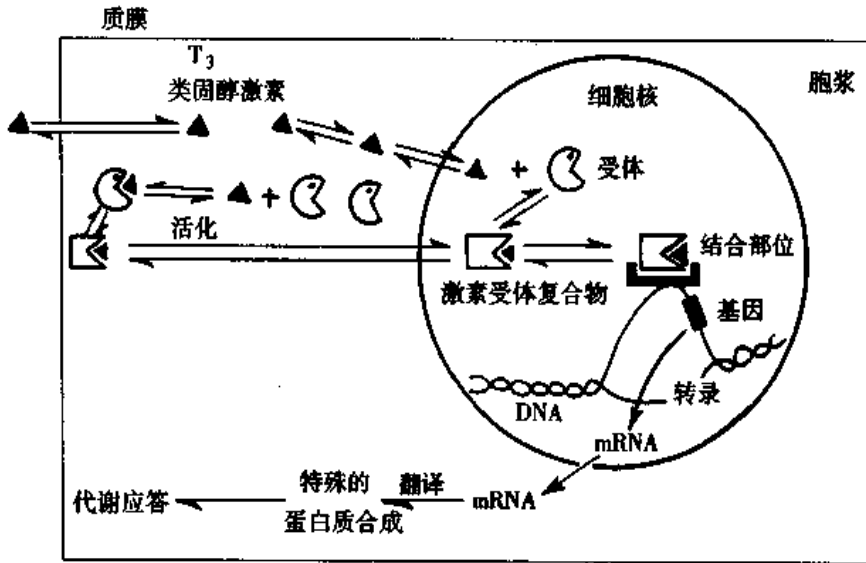


图 16-13 类固醇激素和甲状腺素通过胞内受体对代谢和基因转录的调节作用

本节中，着重介绍了 PKA、PKC 和 TPK，强调了蛋白质的磷酸化作用，但必须牢记下列两个基本概念：①蛋白质并非磷酸化就一定被激活，而去磷酸化则被灭活。众所周知，磷酸化的糖原合成酶是无活性的，而去磷酸化的糖原合成酶则是有活性的。②与蛋白激酶相对应，细胞中也存在专一性的蛋白磷酸酶(protein phosphatase)，特异性地催化丝/苏氨酸磷酸化磷蛋白和酪氨酸磷酸化磷蛋白脱磷酸化。蛋白质磷酸化和脱磷酸化是细胞内信息传递的主要方式。细胞内蛋白质存在磷酸化和脱磷酸化两种构象的互变，说明细胞内既有激活机制，又有抑制机制，是细胞内调节生理效应的最快、最有效的方式。现已发现数百种蛋白激酶和 1 000 多种磷酸酶，行使调节细胞代谢、生长、增殖、分裂和分化甚至癌变的功能。

第四节 信息传递途径的交互联系

细胞内众多的信息传递途径并非毫无联系，而是交联对话(cross talk)，类似于信息高速公路，形成错综复杂的网络，共同协调机体的生命活动。信息传递途径的交联对话表现为：

1. 一条信息途径的成员，可参与激活或抑制另一条信息途径。如促甲状腺素释放

激素与靶细胞膜的特异性受体结合后,通过 Ca^{2+} -磷脂依赖性蛋白激酶系统可激活 PKC,同时细胞内 Ca^{2+} 浓度增高还可激活腺苷酸环化酶,生成 cAMP 进而激活 PKA。又如 EGF 受体是具 TPK 活性的催化型受体。佛波酯能激活 PKC,活化的 PKC 能催化 EGF 受体第 654 位 Thr 磷酸化,此磷酸化受体降低了 EGF 受体对 EGF 的亲合力和它的 TPK 活性。

2. 两种不同的信息途径可共同作用于同一种效应蛋白或同一基因调控区而协同发挥作用。例如,糖原磷酸化酶为多亚基蛋白质($\alpha\beta\gamma\delta$)₄,其中 α 、 β 亚基是 PKA 的底物,PKA 通过催化 α 、 β 亚基磷酸化而使其活化。该酶的 δ 亚基是钙调蛋白, Ca^{2+} -磷脂依赖性蛋白激酶系统的第二信使—— Ca^{2+} 能与 δ 亚基结合而使之活化。上述两条途径在细胞核内都可使转录因子 CREB 的 Ser¹³³ 磷酸化而激活。活化的 CREB 可与 DNA 上的顺式作用元件结合而启动多种基因的转录。

3. 一种信息分子可作用几条信息传递途径。例如,胰岛素与细胞膜上的受体结合后,可通过胰岛素受体底物(insulin receptor substrate)激活磷脂酰肌醇 3-激酶(PI 3-kinase)、亦可激活 PLC γ 而水解 PIP₂,产生 IP₃ 和 DAG,进一步激活 PKC;另外还可激活 Ras 途径。

第五节 信息传递与疾病

正常信息传递是人体正常代谢和功能的基础。信息传递环节的异常则会导致功能障碍。例如,家族性高胆固醇血症是一种典型的受体异常性疾病。这是由于病人低密度脂蛋白(LDL)受体缺陷,致使胆固醇不能被肝组织摄取,进而发生高胆固醇血症。又如,非胰岛素依赖型糖尿病的发病原因主要是胰岛素受体数量的减少或功能发生障碍,并伴有受体后信息传递的异常,因此对胰岛素的敏感性下降所致。此外,霍乱和百日咳的发生也与 G 蛋白的异常有关。关于细胞信息传递在疾病中的作用,将在病理生理学课程中进一步讨论。

小 结

细胞信息传递是多细胞生物体对信息物质应答引起生物学效应的重要过程。信息传递体系包括:信息物质→信息转导,细胞内信使系统→生物学效应。细胞间信息物质有蛋白质、多肽等多种物质,根据其作用方式可分为局部化学介质、激素、神经递质等。细胞内信息物质有无机离子(Ca^{2+})、脂类和糖类衍生物、环核苷酸及信号蛋白(如蛋白激酶)等。受体在细胞信息传递中起重要作用,按照其分布情况有细胞膜受体与细胞内受体两大类。受体与配体结合的特点是:高度专一性,高度亲和性、可饱和性及可逆性等。

细胞膜受体介导的信息传递途径是本章讨论的重点内容。G 蛋白是一类与鸟苷酸结合的蛋白,由 α 、 β 、 γ 三个亚基组成,有非活化型和活化型两种构象,并可相互转变。常见 G 蛋白有激动型 G 蛋白、抑制型 G 蛋白和磷脂酶 C 型 G 蛋白。G 蛋白是细胞膜受体信息传递的重要偶联体。膜受体介导的信息传递有五条主要途径:①cAMP-蛋白激酶途径,其中起主要作用的是腺苷酸环化酶(AC)、蛋白激酶 A (PKA)。cAMP 为第二信使分子。PKA 除了使某些底物蛋白发生磷酸化直接调节物质代谢外,还可对基因表达进行

调节(如 cAMP 应答元件)。② Ca^{2+} -依赖性蛋白激酶(PKC)途径,其中磷脂酰肌醇二磷酸(PIP_2)通过磷脂酶 C (PLC)作用水解成三磷酸肌醇(IP_3)和磷脂酰甘油(DAG)的过程是一重要的反应, IP_3 、DAG、 Ca^{2+} 是主要的信使分子。PKC 可引起一系列底物蛋白的丝氨酸/苏氨酸残基磷酸化,并可提高胞浆中 Ca^{2+} 浓度; PKC 还可对基因表达进行调节。 Ca^{2+} -钙调蛋白也在信息传递中起重要作用。③cGMP-蛋白激酶途径。鸟苷酸环化酶(GC)是该途径主要的酶, cGMP 是第二信使分子。心钠素、一氧化氮通过这条途径引起生物学效应。④酪氨酸蛋白激酶(TPK)途径。包括受体型 TPK 和胞浆非受体型 TPK。前者主要指胰岛素及某些生长因子受体通过 TPK-Ras-有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径。后者主要指某些细胞因子(如干扰素),由胞浆内具有 TPK 活性的 JAK 进行信息传导,通过转录因子 STAT 影响基因表达,进而引起生物学效应。⑤核因子 $\kappa\beta$ ($\text{NF-}\kappa\beta$)途径。由 $\text{NF-}\kappa\beta$ 参与细胞信息传递,最终也影响基因表达。主要涉及机体的防御反应等。

胞内受体介导的信息传递,主要是类固醇激素等的作用途径。胞内受体包括胞浆受体和核内受体。这条途径通过特定基因的激素反应元件(HRE)调节基因表达,进而导致生物学效应。

值得提出的是,在信息传递过程中除了蛋白质磷酸化发挥重要作用外,蛋白磷酸酶对磷酸化蛋白质的脱磷酸作用也是不可忽视的。蛋白质磷酸化和脱磷酸化是细胞信息途径中正、负调控的主要形式。此外细胞内各种信息传导途径并非孤立、各自为政,而是交叉联系,构成错综复杂的调节网络。

正常的信息传递是正常代谢与功能的基础,信号传递环节的异常则可导致疾病的发生。

(宋惠萍 于秉治)

第十七章 血液的生物化学

血液(blood)在封闭的血管内循环。正常人体的血液总量约占体重的8%。血液由液态的血浆(plasma)与混悬在其中的红细胞、白细胞和血小板组成。血浆约占全血容积的55%~60%。血液凝固后析出的淡黄色透明液体,称作血清(serum)。凝血过程中,血浆中的纤维蛋白原转变成纤维蛋白析出,故血清中无纤维蛋白原。

正常人血液的含水量约为77%~81%,比重为1.050~1.060,它主要取决于血液内的血细胞数和蛋白质的浓度。血液的pH为 7.40 ± 0.05 ,渗透压在37℃时约为770kPa(310 mOsm/L)。

血液的固体成分可分为无机物和有机物两大类。无机物以电解质为主,重要的阳离子有 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} ,重要的阴离子有 Cl^- 、 HCO_3^- 、 HPO_4^{2-} 等,它们在维持血浆晶体渗透压、酸碱平衡以及神经肌肉的正常兴奋性等方面起重要作用。有机物包括蛋白质、非蛋白质类含氮化合物、糖类和脂类等。非蛋白质类含氮化合物主要有尿素、肌酸、肌酐、尿酸、胆红素和氨等,它们中的氮总称为非蛋白氮(non-protein nitrogen, NPN)。正常人血中NPN含量为14.28~24.99 mmol/L,其中血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)约占NPN的1/2。

本章将从生物化学角度阐述以下三个问题:①血浆蛋白;②血液凝固;③血细胞代谢。

第一节 血浆蛋白

一、血浆蛋白的分类与性质

(一) 血浆蛋白的分类

人血浆内蛋白总浓度大约为60~80g/L,它们是血浆主要的固体成分。血浆蛋白质种类很多,目前已知血浆蛋白质有200多种,其中既有单纯蛋白质,如清(白)蛋白,又有结合蛋白,如糖蛋白和脂蛋白。血浆内各种蛋白质的含量极不相同,多者每升达数十克,少的仅为毫克水平。

通常按来源、分离方法和生理功能将血浆蛋白质分类。分离蛋白质的常用方法包括电泳(electrophoresis)和超速离心(ultra-centrifuge)。

电泳是最常用的分离蛋白质的方法。由于电泳的支持物不同,其分离程度差别很大。临床常采用简单快速的醋酸纤维素薄膜电泳,以pH 8.6的巴比妥溶液作缓冲液,可将血清蛋白质分成五条区带:清蛋白(albumin)、 α_1 球蛋白(globulin)、 α_2 球蛋白、 β 球

蛋白和 γ 球蛋白(图 17-1)。清蛋白是人体血浆中最主要的蛋白质，浓度达 38 ~ 48g/L，约占血浆总蛋白的 50%。肝每天约合成 12g 清蛋白。清蛋白以前清蛋白的形式合成，成熟的清蛋白是一含 585 个氨基酸残基的单一多肽链，分子形状呈椭圆形。球蛋白的浓度为 15 ~ 30g/L。正常的清蛋白与球蛋白浓度的比值(A/G)为 1.5 ~ 2.5。用聚丙烯酰胺凝胶电泳等可将血清蛋白质分成数十条区带。

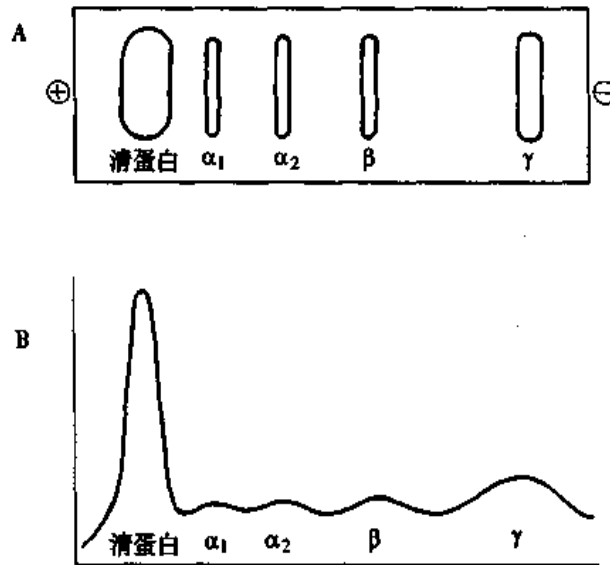


图 17-1 血清蛋白电泳图谱

A: 染色后的图谱

B: 光密度扫描后的电泳峰

超速离心是根据蛋白质的密度将其分离，如血浆脂蛋白的分离。

由于有些蛋白质的结构和功能尚不清楚，所以难以对全部血浆蛋白作出十分恰当的分类。按其生理功能可将血浆蛋白分类如表 17-1。

(二) 血浆蛋白质的性质

尽管血浆蛋白的种类繁多，但由于血浆蛋白容易获得，而且不少血浆蛋白已被克隆，故得到了许多有关它们的结构、功能和代谢的信息，并有较深入的研究，现将血浆蛋白的特性归纳如下：

表 17-1 人类血浆蛋白质的分类

种 类	血 浆 蛋 白
1. 载体蛋白	清蛋白、脂蛋白、运铁蛋白、铜蓝蛋白
2. 免疫防御系统蛋白	IgG、IgM、IgA、IgD、IgE 和补体 C1~9 等
3. 凝血和纤溶蛋白	凝血因子Ⅵ、Ⅶ、凝血酶原、纤溶酶原等
4. 酶	卵磷脂:胆固醇酰基转移酶等
5. 蛋白酶抑制剂	α_1 抗胰蛋白酶、 α_2 巨球蛋白等
6. 激素	促红细胞生成素、胰岛素等
7. 参与炎症应答的蛋白	C-反应蛋白、 α_2 酸性糖蛋白等

1. 绝大多数血浆蛋白质在肝合成, 如清蛋白、纤维蛋白原和纤连蛋白等。还有少量的蛋白质是由其他组织细胞合成的, 如 γ 球蛋白由浆细胞合成。

2. 血浆蛋白的合成场所一般位于膜结合的多核蛋白体上。在进入血浆前, 它们在肝细胞内经历了从粗面内质网到高尔基复合体再抵达质膜而分泌入血液的途径。即合成的蛋白质转移入内质网池, 然后被酶切去信号肽, 前蛋白转变为成熟蛋白。血浆蛋白自肝细胞内合成部位到血浆的时间为 30 分钟至数小时不等。

3. 除清蛋白外, 几乎所有的血浆蛋白质均为糖蛋白, 它们含有 N-或 O-连接的寡糖链。一般认为寡糖链包含了许多生物信息, 发挥重要的作用。血浆蛋白合成后须定向转移, 此过程需要寡糖链。寡糖链中包含的生物信息可起识别作用, 如红细胞的血型物质含糖达 80%~90%, ABO 系统中血型物质 A、B 均是在血型物质 O 的糖链非还原端各加上 N-乙酰氨基半乳糖(GalNAc)或半乳糖(Gal)。正是一个糖基的差别, 使红细胞能识别不同的抗体。再如用唾液酸酶切除寡糖链末端唾液酸残基, 常可使一些血浆蛋白的半衰期缩短。

4. 许多血浆蛋白呈现多态性(polymorphism)。多态性是孟德尔式或单基因遗传的性状。在人群中, 如果某一蛋白具有多态性说明它至少有两种表型, 每一种表型的发生率不少于 1%~2%。ABO 血型是广为人知的多态性, 另外 α_1 抗胰蛋白酶、结合珠蛋白、运铁蛋白、铜蓝蛋白和免疫球蛋白等均具多态性。研究血浆蛋白的多态性对遗传学、人类学和临床医学均有重要意义。

5. 在循环过程中, 每种血浆蛋白均有自己特异的半衰期。正常成人的清蛋白和结合珠蛋白的半衰期分别为 20 天和 5 天左右。

此外, 在发生急性炎症或一些类型的组织损伤时, 某些血浆蛋白的水平会增高, 它们被称为急性时相蛋白质(acute phase protein APP)。增高的蛋白包括 C-反应蛋白(CRP, 由于同肺炎球菌的 C 多糖起反应而得名)、 α_1 抗胰蛋白酶、结合珠蛋白、 α_1 酸性蛋白和纤维蛋白原等。这些蛋白水平少则增加 50%, 多则可增至 1 000 倍。患慢性炎症或肿瘤时, 也会出现这种升高, 提示急性时相蛋白质在人体炎症反应中起一定作用。例如, α_1 抗胰蛋白酶能使急性炎症期释放的某些蛋白酶失效; 白细胞介素 1(IL-1)是单核吞噬细胞释放的一种多肽, 它能刺激肝细胞合成许多急性时相反应物(acute phase reactant, APR)。急性时相期, 亦有些蛋白质浓度出现降低, 如清蛋白和转铁蛋白等。

二、血浆蛋白的功能

血浆蛋白质种类繁多, 虽然其中不少蛋白质的功能尚未完全阐明, 但对血浆蛋白质的一些重要功能有较深入的了解, 现概述如下。

(一) 维持血浆胶体渗透压

虽然血浆胶体渗透压仅占血浆总渗透压的极小部分(1/230), 但它对水在血管内外的分布起决定性的作用。正常人血浆胶体渗透压的大小, 取决于血浆蛋白质的摩尔浓度。由于清蛋白的分子量小(69kD), 在血浆内的含量大、摩尔浓度高, 加之在生理 pH 条件下, 其电负性高, 能使水分子聚集其分子表面, 故清蛋白能最有效地维持血浆胶体渗透压。清蛋白所产生的胶体渗透压大约占血浆胶体总渗透压的 75%~80%。当血浆

蛋白浓度，尤其是清蛋白浓度过低时，血浆胶体渗透压下降，导致水分在组织间隙滞留，出现水肿。

(二) 维持血浆正常的 pH

正常血浆的 pH 为 7.40 ± 0.05 。蛋白质是两性电解质，血浆蛋白质的等电点大部分在 pH 4.0 ~ 7.3 之间，血浆蛋白盐与相应蛋白形成缓冲对，参与维持血浆正常的 pH。

(三) 运输作用

血浆蛋白质分子的表面上分布有众多的亲脂性结合位点，脂溶性物质可与其结合而被运输。血浆蛋白还能与易被细胞摄取和易随尿液排除的一些小分子物质结合，防止它们从肾丢失。脂溶性维生素 A 以视黄醇形式存在于血浆中，它先与视黄醇结合蛋白形成复合物，再与前清蛋白以非共价键缔合成视黄醇-视黄醇结合蛋白-前清蛋白复合物。这种复合物一方面可防止视黄醇的氧化，另一方面防止小分子量的视黄醇-视黄醇结合蛋白复合物从肾丢失。血浆中的清蛋白能与脂肪酸、 Ca^{2+} 、胆红素、磺胺等多种物质结合。此外，血浆中还有皮质激素传递蛋白、运铁蛋白、铜蓝蛋白等。这些载体蛋白除结合运输血浆中某种物质外，还具有调节被运输物质代谢的作用。

(四) 免疫作用

血浆中的免疫球蛋白，IgG、IgA、IgM、IgD 和 IgE，又称为抗体，在体液免疫中起至关重要的作用。此外，血浆中还有一组协助抗体完成免疫功能的蛋白酶——补体。免疫球蛋白能识别特异性抗原并与之结合，形成的抗原抗体复合物能激活补体系统，产生溶菌和溶细胞现象。

(五) 催化作用

根据血浆酶的来源和功能，可分为以下三类：

1. 血浆功能酶 这类酶主要在血浆发挥催化功能。如凝血及纤溶系统的多种蛋白水解酶，它们都以酶原的形式存在于血浆内，在一定条件下被激活后发挥作用。此外血浆中还有抗凝物质、假胆碱酯酶、卵磷脂：胆固醇酰基转移酶、脂蛋白脂肪酶和肾素等，亦属于血浆功能酶。这类酶绝大多数由肝合成后分泌入血，并在血浆中发挥催化作用。

2. 外分泌酶 外分泌腺分泌的酶类包括胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰淀粉酶、胰脂肪酶和唾液淀粉酶等。在生理条件下这些酶少量逸入血浆，它们的催化活性与血浆的正常生理功能无直接的关系。但当这些脏器受损时，逸入血浆的酶量增加，血浆内相关酶的活性增高，在临床上有诊断价值。

3. 细胞酶 为存在于细胞和组织内参与物质代谢的酶类。随着细胞的不断更新，这些酶可释放至血。正常时它们在血浆中含量甚微。这类酶大部分无器官特异性；小部分来源于特定的组织，表现为器官特异性。当特定的器官有病变时，血浆内相应的酶活性增高，可用于临床酶学检验。

(六) 营养作用

每个成人 3L 左右的血浆中约有 200g 蛋白质。体内的某些细胞，如单核吞噬细胞系统，吞饮血浆蛋白质，然后由细胞内的酶类将吞入细胞的蛋白质分解为氨基酸参入氨基酸池，用于组织蛋白质的合成，或转变成其他含氮化合物。此外，蛋白质还能分解供

能。

(七) 凝血、抗凝血和纤溶作用

血浆中存在众多的凝血因子、抗溶血及纤溶物质，它们在血液中相互作用、相互制约，保持循环血流通畅。但当血管损伤、血液流出血管时，即发生血液凝固，以防止血液的大量流失。

第二节 血液凝固

血管内皮损伤、血液流出血管时，血液内发生一系列酶促级联反应，使血液由液体状态转为凝胶状态，称为血液凝固(blood coagulation)，它是止血过程的重要组成部分。止血过程可分为四个阶段：①受损血管收缩，以减少和减慢受损部位的血流。②在血管受损部位，血管内皮细胞产生 von Willebrand 因子 (vWF)，它是一种大分子糖蛋白，因能与血小板糖蛋白 Ib 和内皮下胶原结合，使其成为血小板粘附在内皮下的桥梁。粘附的血小板被皮下组织或局部形成的凝血酶所激活，就发生释放反应和花生四烯酸代谢，释放反应分泌释放的 ADP 和花生四烯酸衍生的血栓素(TX)_{A₂} 均可引起血小板聚集，与纤维蛋白原聚集成团，形成白色血栓。③水溶性纤维蛋白原转变成纤维蛋白，并聚合成网状，血细胞粘附其上，形成牢固的红色血栓。④纤溶酶部分或完全水解血栓。

正常血液中存在凝血因子(coagulation factor)、抗凝血因子(anticoagulation factor)和纤溶系统，它们共同作用，既可防止血液流失，又能保持血液在血管内的正常流动。

一、凝血因子与抗凝血成分

(一) 凝血因子

参与血液凝固的因子统称凝血因子，已知血浆和组织中的凝血因子主要有 14 种。国际凝血因子命名委员会按其发现先后顺序用罗马字统一命名。现已命名到 XIII。其中因子 IV 是钙离子，已知因子 VI 是血清中活化的凝血因子 V，不再视为独立的凝血因子。还有两个因子发现较晚尚未用罗马字命名。现将凝血因子及其部分特点列于表 17-2。

除因子 III 和因子 IV 外，其余的凝血因子均为糖蛋白，而且大部分由肝合成。因子 III 是一种脂蛋白，是唯一不存在于正常人血浆中的凝血因子，它分布于各种不同的组织细胞中，又称组织因子(tissue factor, TF)。TF 的氨基末端伸展在细胞外，起到因子 VII 受体的作用。

因子 II、VII、IX 和 X 是依赖维生素 K 的凝血因子。以维生素 K 为辅酶的维生素依赖性 γ -羧化酶催化这些凝血因子中的某些谷氨酸残基羧化。 γ -羧基谷氨酸有较大的负电性，能与 Ca^{2+} 形成盐键。 Ca^{2+} 在凝血过程中起“搭桥”作用，它的一侧与凝血因子带负电的 γ -羧基谷氨酸连接，另一侧与血小板带负电的磷脂连接，所形成的多酶复合物是凝血反应的基础。

因子 VII、XI、激肽释放酶原和高分子激肽原等参与接触活化。当血浆暴露在带负电荷物质表面时，这些凝血因子在其表面发生一系列水解反应，除去一些小肽段而转变成

XIIa、XIa、激肽释放酶和高分子激肽，启动血液凝固。其他凝血因子的激活过程也与此相似，故凝血过程是一系列酶促级联反应，具放大作用。

表 17-2 凝血因子的某些特征

因子	别名	化学本质	电泳部位 (球蛋白)	生成部位 (是否需 VitK)	血浆中浓度(mg/L)	血清中 有无	功能
I	纤维蛋白原	糖蛋白	γ	肝(否)	2 000~4 000	无	结构蛋白
II	凝血酶原	糖蛋白	α_2/β	肝(需)	150~200	无	蛋白酶原
III	组织因子	脂蛋白		组织、内皮、单核细胞(否)	0	·	辅因子/启动物
IV		Ca^{2+}			90~110	有	辅因子
V	易变因子(前加速因子)	糖蛋白	白蛋白	肝(否)	5~10	无	辅因子
VII	稳定因子	糖蛋白	α/β	肝(需)	0.5~2	有	蛋白酶原
VIII	抗血友病球蛋白	糖蛋白	α_2/β	肝、内皮细胞(否)	0.1	无	辅因子
IX	Christmas 因子、血浆凝血活酶成分	糖蛋白	β	肝(需)	3~4	有	蛋白酶原
X	Stuart-Prower 因子	糖蛋白	α	肝(需)	6~8	有	蛋白酶原
XI	血浆凝血活酶前体	糖蛋白	β/γ	肝(否)	4~6	有	蛋白酶原
XII	Hageman 因子	糖蛋白	β	肝(否)	2.9	有	蛋白酶原
XIII	纤维蛋白稳定因子	糖蛋白	α_2/β	骨髓(否)	25	无	转谷氨酰胺酶原
前激肽释放酶		糖蛋白	γ	肝(否)	1.5~5	有	蛋白酶原
高分子量激肽原		糖蛋白	α	肝(否)	7.0	有	辅因子

凝血因子 I、V、VII 和 XII 均对凝血酶敏感。凝血因子 I——纤维蛋白原是凝血酶的底物。XIIa 是一种转谷氨酰胺酶，能使可溶性纤维蛋白变成不溶性的纤维蛋白多聚体，从而稳固纤维蛋白凝块。因子 Va 是因子 Xa 的辅因子，能加速 Xa 因子对凝血酶原的激活。因子 VIIa 是因子 IXa 的辅助因子，参与 IXa 对因子 X 的激活。

(二) 抗凝血成分

在生理情况下，也可能发生血管内皮损伤、血小板活化和少量凝血因子激活，从而

发生血管内凝血，影响血流的畅通。但机体内也存在抗凝成分和纤溶系统，与凝血系统处于动态平衡。体内有三个主要的抗凝成分：抗凝血酶-Ⅲ(AT-Ⅲ)、蛋白 C 系统和组织因子途径抑制物。

1. 抗凝血酶-Ⅲ AT-Ⅲ是血浆中最重要的生理性抗凝物质，它是一种 α_2 球蛋白。主要由肝合成，但肺、脾、心、肠、脑、血管内皮细胞和巨核细胞都能合成 AT-Ⅲ。AT-Ⅲ除能持久地灭活凝血酶外，还能抑制凝血因子 X_a 、 IX_a 、 XI_a 、 XII_a 、纤溶酶、胰蛋白酶和激肽释放酶，引起抗凝。

2. 蛋白 C 系统 蛋白 C 系统包括蛋白 C (PC)、蛋白 S (PS)和蛋白 C 抑制物。PC 由肝合成，是一种依赖维生素 K 的糖蛋白。凝血酶、胰蛋白酶和高浓度因子 V_a 均可激活 PC。激活的 PC (APC)通过蛋白水解作用可使 V_a 和 $VIII_a$ 灭活，此过程需要磷脂和 Ca^{2+} 参与。APC 灭活 V_a 后，阻碍了 X_a 与血小板结合，大大降低 X_a 的凝血活性。APC 还能促进纤维蛋白溶解。

PS 是由肝合成的依赖维生素 K 的蛋白质，它能作为 APC 的辅因子加速 APC 对 V_a 的灭活， V_a 灭活后即丧失结合 X_a 的能力，从而中断了血液凝固级联反应。

蛋白 C 抑制物能与 PC 结合形成复合物而灭活 APC。

3. 组织因子途径抑制物(TFPI) TFPI 是单链糖蛋白。凝血因子 III 能与因子 VII (或 VII_a) 形成复合物，并使此复合物中的 VII 能更有效地被血液中痕量的 X_a 激活，从而激活外源性凝血途径。TFPI 能直接抑制 X_a 因子而抑制凝血。

二、两条凝血途径

凝血因子 X 被激活成 X_a 是使凝血酶原(thrombogen)活化的关键步骤。激活因子 X 有两条途径：

(一) 内源性途径

内源性途径是指血液在血管内膜受损或在血管外与异物表面接触时触发的凝血过程。该凝血过程可人为地分为三个阶段：①接触活化阶段，在此阶段因子 XII 和 XI 得以活化；②因子 IX 的激活；③因子 X 的激活。

(二) 外源性途径

外源性途径是指组织因子暴露于血液而启动的凝血过程。在正常情况下，组织因子并不与血液接触，但在血管损伤或血管内皮细胞及单核细胞受到细菌内毒素、补体 $C5a$ 、免疫复合物、白介素-1 和肿瘤坏死因子等因子刺激时，组织因子得以与血液接触并形成 VII -组织因子复合物。因子 VII 一旦和组织因子结合就能被血液中痕量的 X_a 激活而成为 VII_a -组织因子复合物，能快速激活因子 X 。

无论内源性凝血途径还是外源性凝血途径，一旦形成 X_a ，就进入共同的通路——凝血酶(thrombin)的生成和纤维蛋白(fibrin)的形成。整个凝血过程见图 17-2。

IX_a 的作用是激活因子 X 转变成 X_a ，但单独的 IX_a 转变因子 X 的能力很低，它需与 $VIII_a$ 形成 1:1 的复合物，并在血小板和血管内皮细胞的酸性磷脂表面，有 Ca^{2+} 存在的情况下，才能有效地激活因子 X 。同样， X_a 在有 Ca^{2+} 存在的情况下，在血小板等磷脂膜的表面与 V_a 因子形成 1:1 的复合物——凝血酶原复合物，水解凝血酶原为凝血酶。

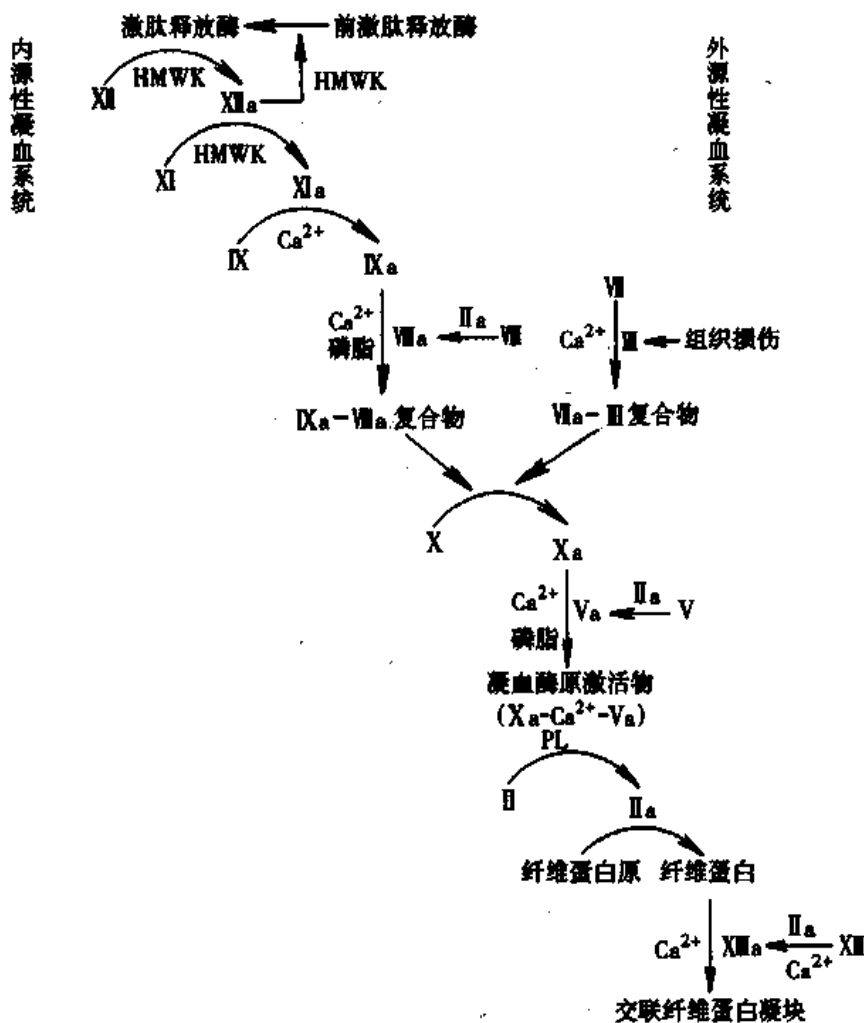


图 17-2 内源性及外源性凝血系统的级联式酶促过程

血凝块的主要成分是纤维蛋白，它在损伤处形成一个网架，封住伤口。纤维蛋白在血浆中以纤维蛋白原(fibrinogen)形式存在。纤维蛋白原溶于水且不会聚合，凝血酶使它降解成为纤维蛋白并聚合成不溶于水的网状结构。

纤维蛋白原占血浆总蛋白的2%~3%。纤维蛋白原分子由两条 α 链、两条 β 链和两条 γ 链组成，每三条肽链(α 、 β 、 γ 肽链)绞合成索状，形成两条索状肽链，两者的N-端通过二硫键相连，整个分子成纤维状(图17-3)。 α 及 β 链的N-端分别有一段16个和14个氨基酸残基组成的小肽，称为纤维肽A及B。凝血酶原的作用就是切除这两个肽段。失去纤维肽A及B后，纤维蛋白原就转变成纤维蛋白。此时，纤维蛋白间能横向粘合形成更大的纤维。但由于纤维蛋白分子有一定的弯度，所以达到一定的厚度也就不再增粗。为什么去除A和B肽后，纤维蛋白就能聚合？主要原因是暴露了粘合位点。其次A和B肽都带大量负电荷，电荷的排斥作用使纤维蛋白原不能聚合。

刚形成的纤维蛋白所产生的血块很不牢固，它很快在纤维蛋白稳定因子(XIIIa)催化下交联。XIIIa是一个转谷氨酰胺酶，它催化 γ 肽链C-端上的谷氨酰胺残基与邻近 γ 肽

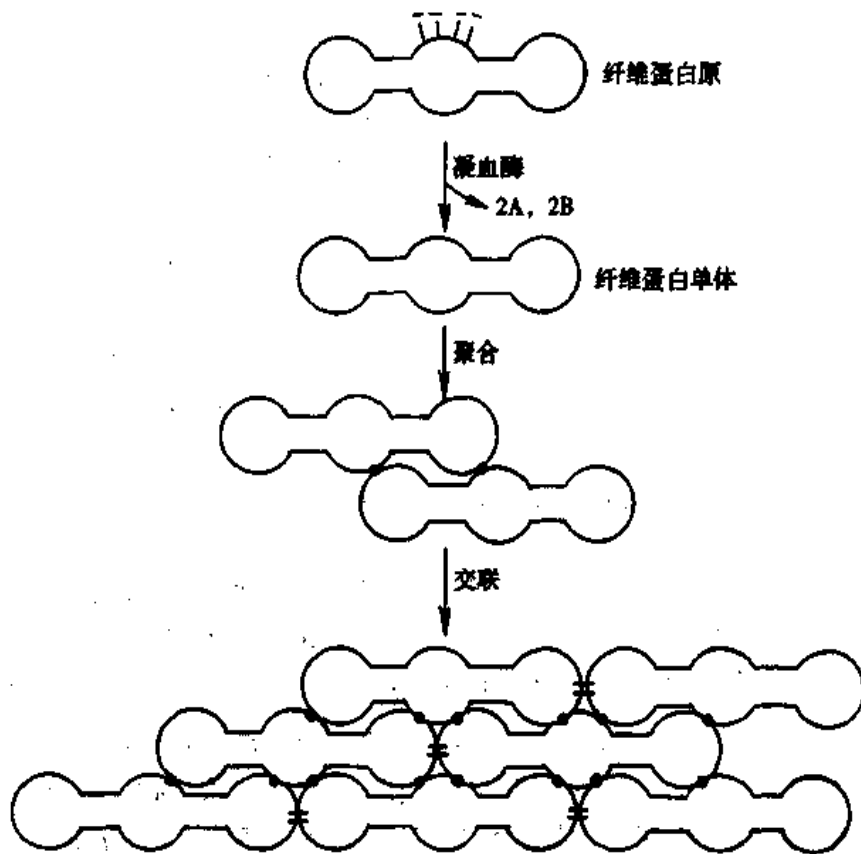
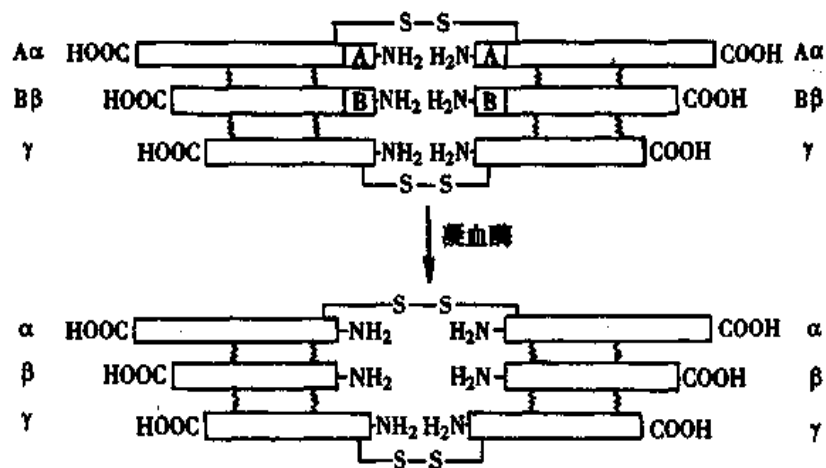


图 17-3 纤维蛋白的生成及聚合

链上的赖氨酸残基的ε-氨基共价结合(图 17-4)。α链之间也同样发生交联。经过共价交联的纤维蛋白网就非常牢固。因子Ⅲ存在于血小板及血浆中,经凝血酶切除部分肽段后即被激活成Ⅲ_a。

血液凝固是机体防止出血的重要防御功能,但是必须适度。过度血凝可引起心肌梗死、脑血栓等严重疾病。但血浆内有多种凝血和抗凝物质,而且处于动态平衡,保证了血流的畅通。

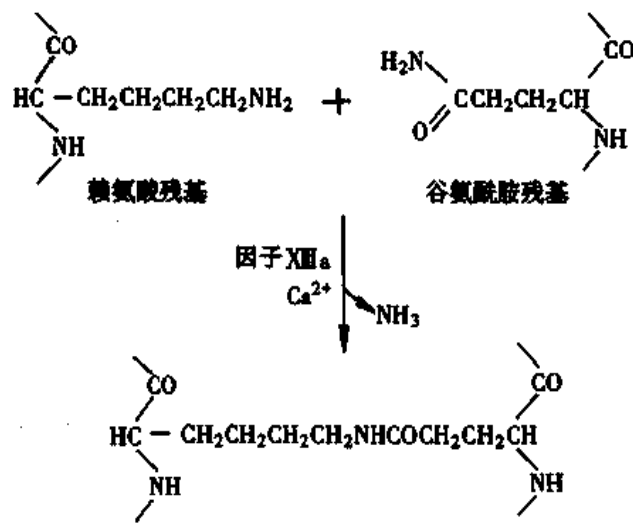


图 17-4 因子 XIII a 催化纤维蛋白交联

三、血凝块的溶解

血凝只是一种临时措施，伤愈后要被溶解和清除。一些不应发生凝血的情况，例如正常血循环中发生了凝血或血块脱落有可能堵塞重要血管，此时纤维蛋白的溶解则刻不容缓。纤溶过程可分为血纤维蛋白溶酶原(plasminogen)激活和纤维蛋白溶解两个阶段。纤溶酶原由 790 个氨基酸残基组成，经蛋白酶的水解生成有活性的纤溶酶。与胰蛋白酶相似，纤溶酶特异地催化纤维蛋白或纤维蛋白原中由精氨酸或赖氨酸残基的羧基构成的肽键水解，产生一系列纤维蛋白降解产物(图 17-5)。但血中还存在纤溶酶原活化剂抑制物和纤溶酶抑制物，从而使凝血和纤溶两个过程在正常人体内相互制约，处于动态平衡。如果这种动态平衡被破坏，将会发生血栓形成或出血现象。

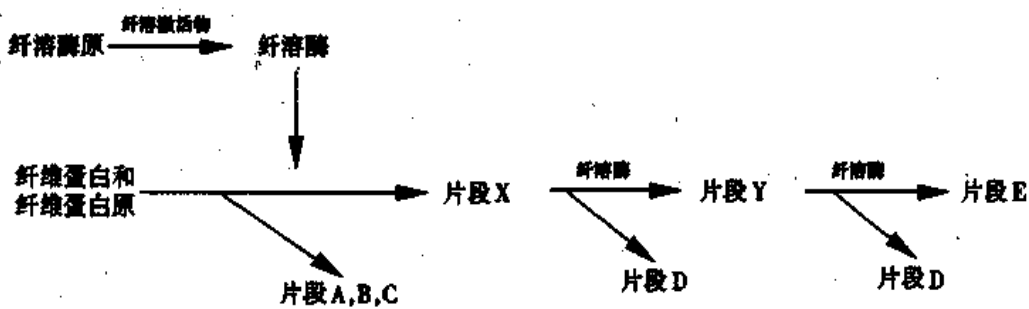


图 17-5 纤维蛋白的降解过程及产物

第三节 血细胞代谢

一、红细胞的代谢特点

红细胞是血液中最主要的细胞，它是在骨髓中由造血干细胞定向分化而成的红系细

胞。在红系细胞发育过程中，经历了原始红细胞、早幼红细胞、中幼红细胞、晚幼红细胞、网状红细胞等阶段，最后才成为成熟红细胞。在成熟过程中，红细胞发生一系列形态和代谢的改变。现将这些变化总结于表 17-3。

表 17-3 红细胞成熟过程中的代谢变化

代谢能力	有核红细胞	网织红细胞	成熟红细胞
分裂增殖能力	+	-	-
DNA 合成	+	-	-
RNA 合成	+	-	-
RNA 存在	+	+	-
蛋白质合成	+	+	-
血红蛋白合成	+	+	-
脂类合成	+	+	-
三羧酸循环	+	+	-
氧化磷酸化	+	+	-
糖酵解	+	+	+
磷酸戊糖途径	+	+	+

注：“+”，“-”分别表示该途径有或无

* 晚幼红细胞为“-”

成熟红细胞除质膜和胞浆外，无其他细胞器，其代谢比一般细胞单纯。葡萄糖是成熟红细胞的主要能量物质。

(一) 糖代谢

血循环中的红细胞每天大约从血浆摄取 30g 葡萄糖，其中 90%~95% 经糖酵解通路和 2, 3-二磷酸甘油酸旁路进行代谢，5%~10% 通过磷酸戊糖途径进行代谢。

1. 糖酵解和 2, 3-二磷酸甘油酸[2,3-B(D)PG] 旁路 红细胞中存在催化糖酵解所需要的全部酶和中间代谢物(表 17-4)，糖酵解的基本反应和其他组织相同。糖酵解是红细胞获得能量的唯一途径，每 mol 葡萄糖经酵解生成 2mol 乳酸的过程中，产生 2mol ATP 和 2mol $\text{NADH} + \text{H}^+$ ，通过这一途径可使红细胞内 ATP 的浓度维持在 $1.85 \times 10^3 \text{ mol/L}$ 水平。

表 17-4 红细胞中糖酵解中间产物的浓度(mol/L)

糖酵解中间产物	动脉血	静脉血	糖酵解中间产物	动脉血	静脉血
葡萄糖-6-磷酸	30.0	24.8	2-磷酸甘油酸	5.0	1.0
果糖-6-磷酸	9.3	3.3	磷酸烯醇式丙酮酸	10.8	6.6
果糖 1, 6-二磷酸	0.8	1.3	丙酮酸	87.5	143.2
磷酸丙糖	4.5	5.0	2, 3-二磷酸甘油酸	3 400	4 940
3-磷酸甘油酸	19.2	16.5			

红细胞的糖酵解途径还存在侧支循环——2, 3-二磷酸甘油酸旁路(图 17-6)。2, 3-

二磷酸甘油酸旁路的分支点是 1, 3-二磷酸甘油酸(1,3-BPG)。正常情况下, 2, 3-BPG 对二磷酸甘油酸变位酶的负反馈作用大于对 3-磷酸甘油酸激酶的抑制作用, 所以 2, 3-二磷酸甘油酸旁路仅占糖酵解的 15% ~ 50%, 但是由于 2, 3-BPG 磷酸酶的活性较低, 2, 3-BPG 的生成大于分解, 造成红细胞内 2, 3-BPG 升高。红细胞内 2, 3-BPG 虽然也能供能, 但主要功能是调节血红蛋白的运氧功能。

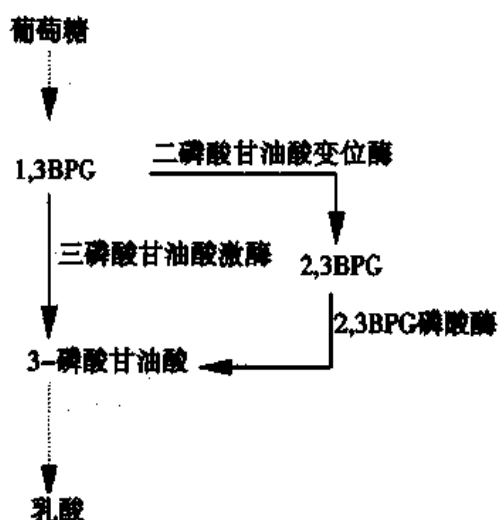


图 17-6 2, 3BPG 旁路

2. 磷酸戊糖途径 红细胞内磷酸戊糖途径的代谢过程与其他细胞相同, 主要功能是产生 $\text{NADPH} + \text{H}^+$ 。

3. 红细胞内糖代谢的生理意义

(1) ATP 的功能: 红细胞中的 ATP 主要用于维持以下几方面的生理活动:

1) 维持红细胞膜上钠泵($\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$)的正常运转, Na^+ 和 K^+ 一般不易通过细胞膜, 钠泵通过消耗 ATP 将 Na^+ 泵出、 K^+ 泵入红细胞以维持红细胞的离子平衡以及细胞容积和双凹盘状形态。

2) 维持红细胞膜上钙泵($\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$)的正常运行, 将红细胞内的 Ca^{2+} 泵入血浆以维持红细胞内的低钙状态。正常情况下, 红细胞内的 Ca^{2+} 浓度很低($20\mu\text{mol/L}$), 而血浆的 Ca^{2+} 浓度为 $2 \sim 3 \text{ mmol/L}$ 。血浆内的钙离子会被动扩散进入红细胞。缺乏 ATP 时, 钙泵不能正常运行, 钙将聚集并沉积于红细胞膜, 使膜失去柔韧性而趋于僵硬, 红细胞流经狭窄的脾窦时易被破坏。

3) 维持红细胞膜上脂质与血浆脂蛋白中的脂质进行交换。红细胞膜的脂质处于不断的更新中, 此过程需消耗 ATP。缺乏 ATP 时, 脂质更新受阻, 红细胞的可塑性降低, 易于破坏。

4) 少量 ATP 用于谷胱甘肽、 NAD^+ 的生物合成。

5) ATP 用于葡萄糖的活化, 启动糖酵解过程。

(2) 2, 3-BPG 的功能: 2, 3-BPG 是调节血红蛋白(Hb)运氧功能的重要因素, 它是一个负电性很高的分子, 可与血红蛋白结合, 结合部位在 Hb 分子 4 个亚基的对称中心孔穴内。2, 3-BPG 的负电基团与组成孔穴侧壁的 2 个 β 亚基的带正电基团形成盐键

(图 17-7), 从而使血红蛋白分子的 T 构象更趋稳定, 降低血红蛋白与 O_2 的亲合力。当血流经过 PO_2 较高的肺部时, 2, 3-BPG 的影响不大, 而当血流经过 PO_2 较低的组织时, 红细胞中 2, 3-BPG 的存在则显著增加 O_2 释放, 以供组织需要。在 PO_2 相同条件下, 随 2, 3-BPG 浓度增大, HbO_2 释放的 O_2 增多。人体能通过改变红细胞内 2, 3-BPG 的浓度来调节对组织的供氧。

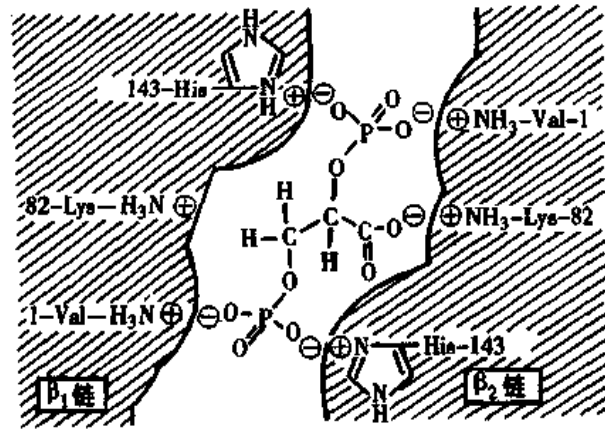


图 17-7 2, 3BPG 与血红蛋白的结合

(3) NADH 和 NADPH 的功能: NADH 和 NADPH 是红细胞内重要的还原当量, 它们具有对抗氧化剂, 保护细胞膜蛋白、血红蛋白和酶蛋白的巯基等不被氧化, 从而维持红细胞的正常功能。

磷酸戊糖途径是红细胞产生 NADPH 的唯一途径。红细胞中的 NADPH 能维持细胞内还原型谷胱甘肽 (GSH) 的含量 (图 17-8), 使红细胞免遭外源性和内源性氧化剂的损害。

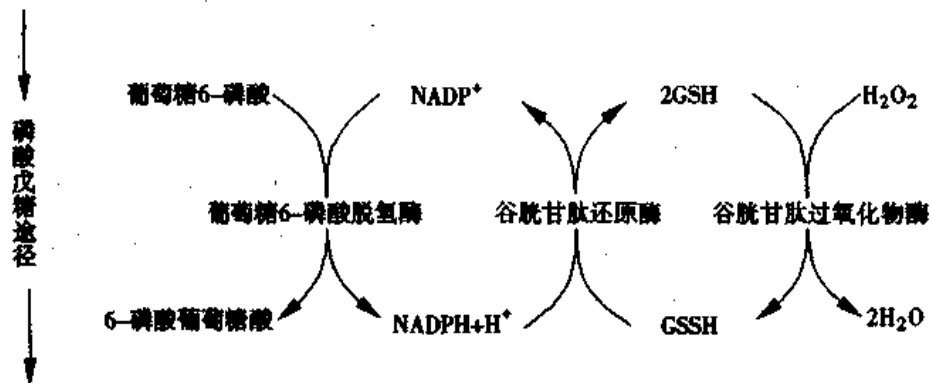


图 17-8 谷胱甘肽的氧化与还原及其有关代谢

由于氧化作用, 红细胞内经常产生少量高铁血红蛋白 (MHb), MHb 中的铁为三价, 不能带氧。但红细胞内有 NADH-高铁血红蛋白还原酶和 NADPH-高铁血红蛋白还原酶, 催化 MHb 还原成 Hb。另外, GSH 和抗坏血酸也能直接还原 MHb。在上述高铁血红蛋白还原系统中, 以 NADH-高铁血红蛋白还原酶最重要。由于有 MHb 还原系统的存在, 使红细胞内 MHb 只占 Hb 总量的 1% ~ 2%。

(二) 脂代谢

成熟红细胞的脂类几乎都存在于细胞膜。成熟红细胞已不能从头合成脂肪酸，但膜脂的不断更新却是红细胞生存的必要条件。红细胞通过主动参与和被动交换不断地与血浆进行脂质交换，维持其正常的脂类组成、结构和功能。

(三) 血红蛋白的合成与调节

血红蛋白是红细胞中最主要的成分，由珠蛋白和血红素(heme)组成。血红素不但是Hb的辅基，也是肌红蛋白、细胞色素、过氧化物酶等的辅基。血红素可在体内多种细胞内合成，参与血红蛋白组成的血红素主要在骨髓的幼红细胞和网织红细胞中合成。

1. 血红素的生物合成 合成血红素的基本原料是甘氨酸、琥珀酰 CoA 和 Fe^{2+} 。合成的起始和终末阶段均在线粒体内进行，而中间阶段在胞浆内进行。血红素的生物合成可受多种因素的调节。

(1) 合成过程：血红素的生物合成可分为四个步骤。

1) δ -氨基- γ -酮戊酸(ALA)的生成：在线粒体内，由琥珀酰辅酶 A 与甘氨酸缩合生成 δ -氨基- γ -酮戊酸(δ -aminolevulinic acid, ALA)(图 17-9)。催化此反应的酶是 ALA 合酶(ALA synthase)，其辅酶是磷酸吡哆醛。此酶是血红素合成的限速酶，受血红素的反馈调节。

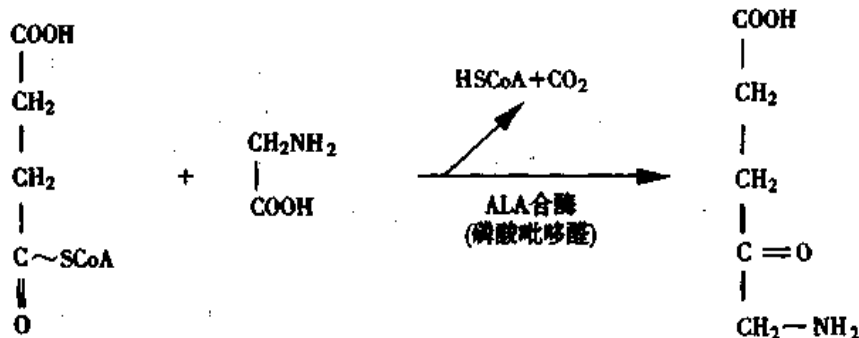


图 17-9 δ -氨基- γ -酮戊酸的合成

2) 胆色素原的生成：ALA 生成后从线粒体进入胞液，在 ALA 脱水酶(ALA dehydrase)催化下，2 分子 ALA 脱水缩合生成 1 分子胆色素原 (prophobilinogen, PBG)(图 17-10)。ALA 脱水酶含有巯基，对铅等重金属的抑制作用十分敏感。

3) 尿卟啉原与粪卟啉原的生成：在胞液中，4 分子胆色素原由尿卟啉原 I 同合酶、尿卟啉原 III 同合酶、尿卟啉原 III 脱羧酶依次催化，经线状四吡咯、尿卟啉原 III，最终生成粪卟啉原 III。

4) 血红素的生成：胞液中生成的粪卟啉原 III 再进入线粒体，经粪卟啉原 III 氧化脱羧酶和原卟啉原 IX 氧化酶催化，使粪卟啉原 III 的侧链氧化生成原卟啉 IX (protoporphyrin IX)。通过亚铁螯合酶(ferrochelatase)又称血红素合成酶的催化，原卟啉 IX 和 Fe^{2+} 结合，生成血红素。铅等重金属对亚铁螯合酶有抑制作用。

血红素生成后从线粒体转运到胞液，在骨髓的有核红细胞及网织红细胞中，与珠蛋

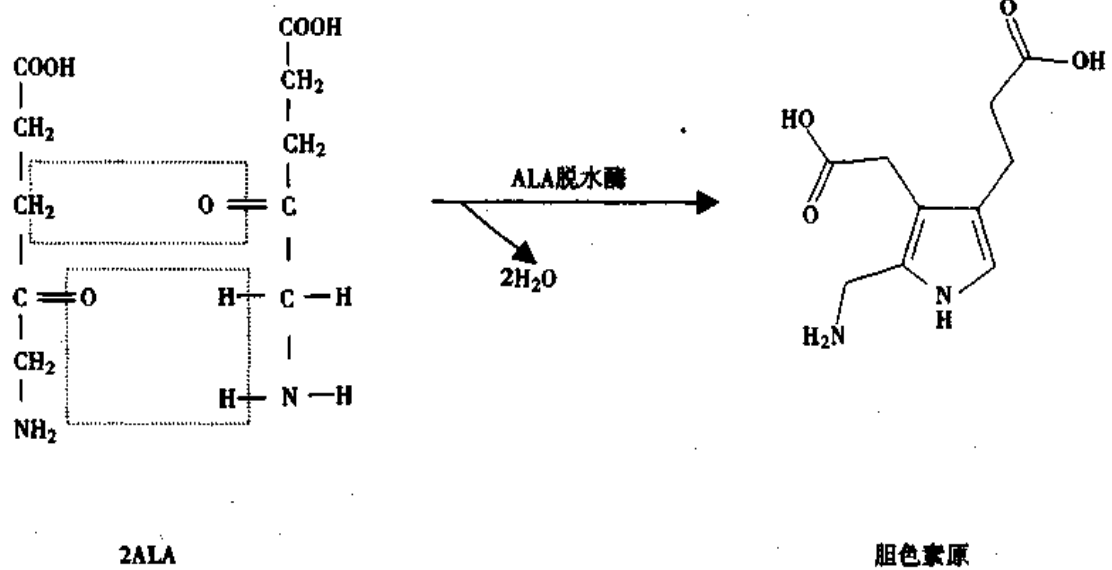


图 17-10 胆色素原的合成

白结合成为血红蛋白。血红素合成的全过程总结于图 17-11。血红素合成的特点可归结如下：①体内大多数组织均具有合成血红素的能力，但合成的主要部位是骨髓与肝，成熟红细胞不含线粒体，故不能合成血红素。②血红素合成的原料是琥珀酰辅酶 A、甘氨酸及 Fe^{2+} 等简单小分子物质。其中间产物的转变主要是吡咯环侧链的脱羧和脱氢反应。③血红素合成的起始和最终过程均在线粒体中进行，而其他中间步骤则在胞液中进行。这种定位对终产物血红素的反馈调节作用具有重要意义。关于中间产物进出线粒体的机制，目前尚不清楚。

(2) 合成的调节：血红素的合成受多种因素的调节，其中最主要的调节步骤是 ALA 的生成。

1) ALA 合酶：它是血红素合成体系的限速酶，受血红素的别构抑制调节。此外，血红素还可以阻抑 ALA 合酶的合成。磷酸吡哆醛是该酶的辅基，维生素 B_6 缺乏将减少血红素的合成。正常情况下，血红素合成后迅速与珠蛋白结合成血红蛋白，对 ALA 合酶不再有反馈抑制作用。如果血红素的合成速度大于珠蛋白的合成速度，过多的血红素可以氧化成高铁血红素，后者对 ALA 合酶也具有强烈抑制作用。

某些固醇类激素，例如睾丸酮在体内的 $5\text{-}\beta$ 还原物，能诱导 ALA 合酶，从而促进血红素的生成。许多在肝中进行生物转化的物质——致癌剂、药物、杀虫剂等，均可导致肝 ALA 合酶显著增加，因为这些物质的生物转化作用需要细胞色素 P_{450} ，后者的辅基是铁卟啉化合物。由此，通过肝 ALA 合酶的增加，以适应生物转化的要求。

ALA 脱水酶和亚铁螯合酶虽并非血红素合成的关键酶，但它们对铅和重金属的抑制非常敏感。因此铅中毒时，此两种酶的活性明显减低。此外，亚铁螯合酶还需要有还原剂(如还原型谷胱甘肽)存在时才有活性，还原剂的缺乏会抑制血红素的合成。

2) 促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)：EPO 主要在肾合成，缺氧时即释放入血。

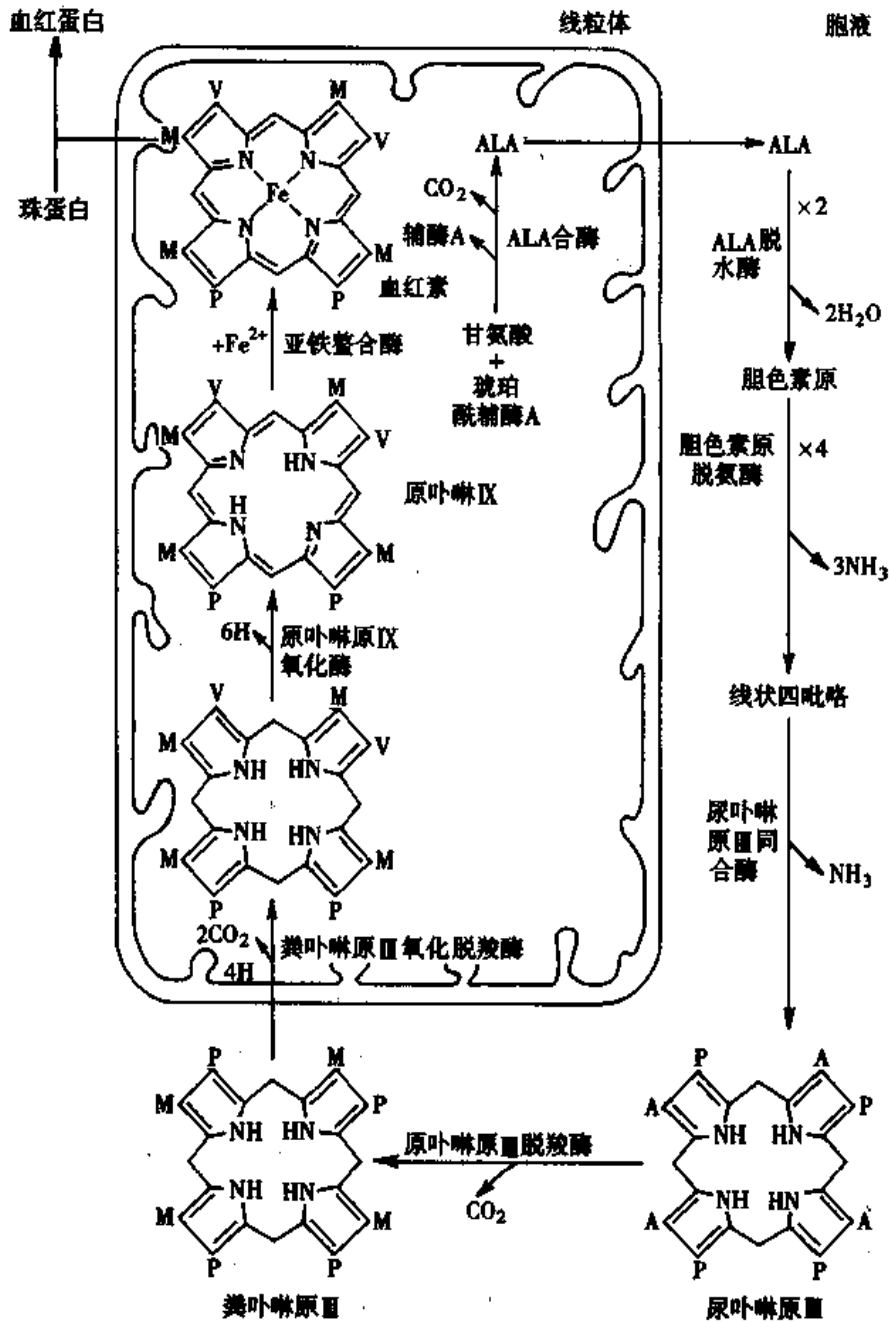


图 17-11 血红蛋白的生物合成

A: -CH₂COOH P: -CH₂CH₂COOH M: -CH₃ V: -CHCH₂

EPO 是细胞生长因子，可同原始红细胞[如 BFU - E (爆式红系集落形成单位)]和 CFU - E (红系集落形成单位) 的膜受体结合，加速有核红细胞的成熟以及血红蛋白和 Hb 的合成，促使原始红细胞的繁殖和分化。EPO 是红细胞生成的主要调节剂。

铁卟啉合成代谢异常而导致卟啉或其中间代谢物排出增多，称为卟啉症 (porphyria)。卟啉症有先天性和后天性两大类。先天性卟啉症是由某种血红蛋白合成酶系的遗传性缺陷所致。

2. 血红蛋白的合成 血红蛋白中珠蛋白的合成与一般蛋白质相同。珠蛋白的合成受血红素的调控。血红素的氧化产物高铁血红素能促进血红蛋白的合成，其机制见图 17-12。cAMP 激活蛋白激酶 A 后，蛋白激酶 A 能使无活性的 eIF-2 激酶磷酸化。后者再催化 eIF-2 磷酸化而使之失活。高铁血红素有抑制 cAMP 激活蛋白激酶 A 的作用，从而使 eIF-2 保持于去磷酸化的活性状态，有利于珠蛋白合成。

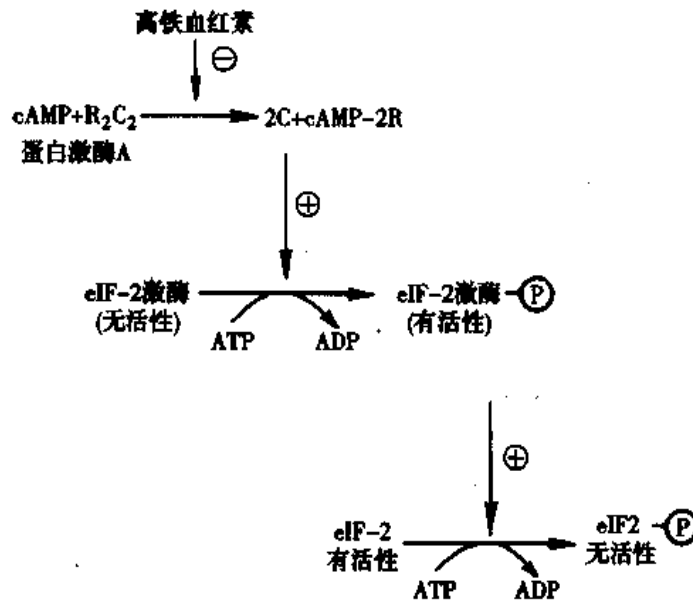


图 17-12 高铁血红素对起始因子 2 的调节

二、白细胞的代谢

人体白细胞由粒细胞、淋巴细胞和单核吞噬细胞三大系统组成，主要功能是对外来入侵起抵抗作用。白细胞的代谢与白细胞的功能密切相关，由于淋巴细胞将在免疫学详细介绍，故在此只扼要介绍粒细胞和单核吞噬细胞的代谢。

(一) 糖代谢

由于粒细胞的线粒体很少，故糖酵解是主要的糖代谢途径，中性粒细胞能利用外源性的糖和内源性的糖原进行糖酵解，为细胞的吞噬作用提供能量。单核吞噬细胞虽能进行有氧氧化和糖酵解，但糖酵解仍占很大比重，在中性粒细胞中，约有 10% 的葡萄糖通过磷酸戊糖途径进行代谢。中性粒细胞和单核吞噬细胞被趋化因子激活后，细胞内磷酸戊糖途径被激活，产生大量的 NADPH。经 NADPH 氧化酶递电子体系可使 O_2 接受单电子还原，产生大量的超氧阴离子 (O_2^-)。超氧阴离子再进一步转变成 H_2O_2 ， $OH\cdot$ 等自由基，起杀菌作用。NADPH 氧化酶递电子体系的成分包括 NADPH 氧化酶、细胞色素 b_{558} 和两种胞液多肽等。



(二) 脂代谢

中性粒细胞不能从头合成脂肪酸。单核吞噬细胞受多种刺激因子激活后，可将花生四烯酸转变成血栓素和前列腺素，在脂氧化酶的作用下，粒细胞和单核吞噬细胞可将花

生四烯酸转变成白三烯，它是速发型过敏反应中产生的慢反应物质。

(三) 氨基酸和蛋白质代谢

粒细胞中，氨基酸的浓度较高，尤其含有较高的组氨酸代谢产物——组胺。白细胞激活后，组胺释放参与变态反应，由于成熟粒细胞缺乏内质网，故蛋白质合成量很少，而单核吞噬细胞的蛋白质代谢很活跃，能合成多种酶、补体和各种细胞因子。

小 结

血液由有形的红细胞、白细胞和血小板以及无形的血浆组成。血浆的主要成分是水、无机盐、有机小分子和蛋白质等。

血浆中的蛋白质浓度为 60 ~ 80g/L，多在肝合成。其中含量最多的是清蛋白，其浓度为 38 ~ 48g/L，它能结合并转运许多物质，在血浆胶体渗透压形成中起重要作用。血浆中的蛋白质具多种重要的生理功能。

血浆中有 14 种凝血因子，组成内源性凝血途径和外源性凝血途径。因子 X 的激活是内源性凝血途径和外源性凝血途径交汇点。一旦形成 X_a，两者就进入共同通路——凝血酶的生成和纤维蛋白的形成。两条凝血途径保证血管受损时能很快凝血，防止血液大量流失。同时，血液中还有多种抗凝物质和纤溶酶，从而使凝血和纤溶两个过程在正常人体内相互制约，处于动态平衡。如果这种动态平衡被破坏，将会发生血栓形成或出血现象。

成熟红细胞代谢的特点是丧失了合成核酸和蛋白质的能力，并不能进行有氧氧化，红细胞功能的正常主要依赖无氧酵解和磷酸戊糖旁路。未成熟红细胞能利用琥珀酰 CoA、甘氨酸和铁离子合成血红素。血红素生物合成的关键酶是 ALA 合成酶。

有吞噬功能的白细胞的磷酸戊糖旁路和无氧酵解代谢也很活跃。NADPH 氧化酶递电子体系在白细胞的吞噬功能中起重要作用。

(宋惠萍)

第十八章 肝的生物化学

成人肝组织约重 1 500g, 占体重的 2.5%, 是人体最大的腺体。肝接受来自门静脉和肝动脉的双重血液供应, 生成的胆汁经胆管排入十二指肠。肝丰富的血液供应和独特的形态结构使其代谢极为活跃, 不仅在糖、脂、蛋白质、维生素和激素等代谢方面与全身各组织器官密切相关, 而且还具有分泌、排泄和生物转化等重要功能。

人肝约含 2.5×10^{11} 个肝细胞, 组成 50 万 ~ 100 万个肝小叶。小叶间血管在相邻的两个肝小叶间形成相应的终末门微静脉和终末肝微动脉, 后两者的分支与肝板间的血窦相连。来自终末微血管的血液沿肝板间血窦流向中央静脉时, 其营养物质逐渐被肝细胞吸收, 形成浓度梯度。不同部位的肝细胞由于获得的氧和营养物质的差异, 形成肝细胞结构与功能的异质性 (heterogeneity) (表 18-1)。因此, 肝细胞所在肝小叶不同区域可分为三条带: I 带(门管周带, periportal zone)是终末微血管周围的肝细胞, 这些肝细胞首先从血液获取充足的氧和营养物质; III 带(小叶中心带, centrilobular zone)是接近中央静脉的肝细胞, 其营养条件最差; II 带介于两者之间。电镜观察发现, I 带肝细胞含有成倍量的高尔基体, 该细胞器在胆汁分泌中起重要作用。III 带肝细胞含有大量的溶酶体和滑面内质网, 后者是胆固醇合成的部位和胆汁酸合成的限速步骤所在地, 也是生物转化的主要场所。

表 18-1 肝细胞物质代谢的区域化

I 带	III 带	I 带	III 带
葡萄糖的释放	葡萄糖的摄取	氨基酸的利用	解氨毒作用
糖原分解	糖原生成	氨基酸转化为糖	
糖异生作用	糖酵解	氨基酸分解	
	脂类生成	从氨基酸氮生成尿素	从氨氮生成尿素
氧化供能代谢		氧化保护作用	生物转化作用
脂肪酸的氧化		胆汁酸排泄	
三羧酸循环		胆红素排泄	
氧化呼吸链			

第一节 肝在物质代谢中的作用

一、肝在糖代谢中的作用

肝的糖代谢不仅为自身的生理活动提供能量, 还为其他器官的能量需要提供葡萄

糖。肝小叶不同区域糖代谢酶的分布不尽相同。Ⅲ带葡萄糖激酶和丙酮酸激酶活性比Ⅰ带高2~3倍，是糖酵解的主要区域；Ⅰ带磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶、果糖1,6-双磷酸酶和葡萄糖6-磷酸酶的活性显著高于Ⅲ带，是糖异生的主要区域。虽然肝小叶各区域糖原的分布比较均衡，但Ⅰ带更新得快些。肝通过糖原的合成与分解、糖的异生作用来维持血糖浓度的稳定，保障全身各组织，尤其是大脑和红细胞的能量供应。

饱食状态下，肝很少将所摄取的葡萄糖氧化为 CO_2 和水，大量的葡萄糖被合成为糖原贮存起来。每kg肝最多可贮存65g糖原。在空腹状态下，肝糖原分解释放出血糖，供中枢神经系统和红细胞等利用。饥饿状态下，肝糖原几乎被耗竭，糖异生便成为肝供应血糖的主要途径。一些非糖物质如甘油、乳酸、丙氨酸等在肝内经糖异生途径转化为糖。空腹24~48小时后，糖异生可达最大速度。其主要原料氨基酸来自肌肉蛋白质的分解。此时，肝还将脂肪动员所释放的脂酸氧化成酮体，供大脑利用以节省葡萄糖。

二、肝在脂类代谢中的作用

肝在脂类的消化、吸收、合成、分解与运输过程中均具有重要作用。

肝内脂酸的代谢途径有二：内质网中的酯化作用和线粒体内的氧化作用。肝一方面调节脂酸氧化与酯化的关系，另一方面调节乙酰CoA进入三羧酸循环氧化分解与合成酮体的关系。肝和脂肪组织之间不断进行脂酸的交换。饥饿时脂库脂肪动员，释放的脂酸进入肝内代谢。肝从血液中摄取脂酸的速度与其血液浓度成正比。此时，肝内脂酸 β -氧化能力增强，产生酮体供脑组织等应用。肝是体内产生酮体的唯一器官。肝氧化脂酸的能力有限，但酯化脂酸的能力很强。饱食后，肝合成脂酸，并以甘油三酯的形式贮存于脂库。肝合成甘油三酯、磷脂和胆固醇，并以VLDL的形式分泌入血，供其他组织器官摄取与利用。肝合成甘油三酯的量超过其合成与分泌VLDL的能力，甘油三酯便积存于肝内。这种情况并不少见，约50%的肥胖者肝内有少量脂肪堆积。脂肪肝多见于内分泌疾病。糖尿病患者肝细胞常有不同程度的脂肪堆积。

肝还是降解LDL的主要器官。HDL和其中所含的载脂蛋白C-II由肝内合成。载脂蛋白C-II是许多组织毛细血管内皮细胞脂蛋白脂肪酶的激活剂。肝在胆固醇代谢中起重要的作用。肝是合成胆固醇最活跃的器官，其合成量占全身总合成量的3/4以上。肝对胆固醇的酯化也具有重要作用。肝合成与分泌的LCAT将血浆中大部分胆固醇酯化，以利运输。HDL的重要作用是将肝外组织中的胆固醇携带入肝。肝是体内胆固醇的重要排泄器官，粪便中的胆固醇除来自肠粘膜脱落细胞外，均来自肝。胆汁酸的生成是肝降解胆固醇的最重要途径。肝不断将胆固醇转化为胆汁酸，以防止体内胆固醇的超负荷。

胆汁酸为脂类物质(包括脂溶性维生素)的消化、吸收所必需。肝损害和胆管阻塞时均可出现脂类的消化、吸收不良，产生厌油腻和脂肪泻等症状。

三、肝在蛋白质代谢中的作用

肝的蛋白质代谢极为活跃。肝细胞的一个重要功能是合成与分泌血浆蛋白质(表18-2)。除 γ -球蛋白外，几乎所有的血浆蛋白质均来自肝，如清(白)蛋白、凝血酶原、纤维

蛋白原以及多种载脂蛋白和血浆部分球蛋白。肝分泌蛋白质的速度主要取决于其合成速度。其中，血浆清蛋白、纤连蛋白和 α_1 -蛋白酶抑制物的分泌速度最快。有资料表明，清蛋白从合成到分泌仅需20~30分钟，成人肝每日可合成12g清蛋白，约占全身清蛋白总量的1/20，几乎占肝蛋白质合成总量的1/4。血浆清蛋白除了是许多物质(如游离脂酸、胆红素等)的载体外，在维持血浆胶体渗透压方面起重要作用。若血浆清蛋白低于3.0 g/dl，约有半数病人出现水肿或腹水。在肝功能严重受损时，由于清蛋白的合成减少，血浆清蛋白浓度降低，可致A/G比值下降，甚至发生倒置。此种变化可作为某些肝病的辅助诊断指标。

肝也是清除血浆蛋白质(清蛋白除外)的重要器官。含有糖基的血浆蛋白质在肝细胞膜唾液酸酶催化下脱去其糖基末端的唾液酸，并被肝细胞膜上特异的受体——肝糖结合蛋白所识别，经胞吞作用进入肝细胞。肝清除血浆蛋白质的速度很快，这种特异性受体每清除1个无唾液酸糖蛋白分子仅需16分钟。

胎肝可合成一种与血浆清蛋白分子量相似的甲胎蛋白(α -fetoprotein)，胎儿出生后其合成受到抑制，正常人血浆中很难检出。肝癌时，癌细胞中甲胎蛋白基因失去阻遏，血浆中可能再次检出此种蛋白质，对肝癌的诊断有一定意义。

表 18-2 肝分泌的部分血浆蛋白质

蛋白质	分子量 (亚基数目)	结合的配基	含糖 (%)	血浆浓度 (mg/dl)
清蛋白	66 000 (1)	激素、氨基酸、类固醇、维生素、 脂肪酸		4 500 ~ 5 000
α_1 -酸性糖蛋白	40 000 (1)		45	痕量
α_1 -抗胰蛋白酶	54 000 (1)	血清中与组织分泌的蛋白酶	有糖	1.3 ~ 1.4
甲胎蛋白	72 000 (1)	激素、氨基酸	3 ~ 4	胎儿血中存在
α_2 -巨球蛋白	720 000 (4)	蛋白酶	8 ~ 10	150 ~ 420
抗凝血酶Ⅲ	65 000 (1)	与蛋白酶 1:1 结合	有	17 ~ 30
血浆铜蓝蛋白	134 000 (1)	6 原子铜/分子	有	15 ~ 60
C-反应蛋白	105 000 (5)	补体 C1q		<1
纤维蛋白原	340 000 (2)		4	200 ~ 450
结合珠蛋白	100 000 (2)	与血红蛋白 1:1 结合	有	40 ~ 180
血液结合素	57 000 (1)	与血红蛋白 1:1 结合	20	50 ~ 100
铁传递蛋白	80 000 (1)	2 原子铁/分子	6	3.0 ~ 6.5

氨是氨基酸代谢的重要产物。肠道产氨是血氨的主要来源，每日肠道产氨4g，其中90%来自尿素的肠菌水解。肝是清除血氨的主要器官。氨在肝中主要通过鸟氨酸循环合成尿素。每日进食100g蛋白质的成年人每日排氮16.5g，其中80%~90%以尿素形式排入尿中。其次，肝可将氨转变成谷氨酰胺。严重肝病患者，肝合成尿素的能力下降，血氨过高可引起神经系统症状。

肝对除支链氨基酸(亮氨酸、异亮氨酸、缬氨酸)以外的所有氨基酸均有很强的代谢作用。肝中转氨基、脱氨基、脱硫、脱羧基、转甲基等均很活跃。肝是芳香族氨基酸和芳香胺类的清除器官。肠道分解芳香族氨基酸产生的芳香族胺(如章鱼胺)在严重肝病时不能得到清除,在大脑中可取代正常的神经递质,引起神经活动的紊乱。这些芳香族胺类称为假神经递质(false neurotransmitter)。

四、肝在维生素代谢中的作用

肝在吸收、储存、运输及代谢维生素方面起重要作用。肝是人体内含维生素 A、K、B₁、B₂、B₆、B₁₂、泛酸和叶酸最多的器官。肝是维生素 A、E、K 和 B₁₂ 的主要储存场所。血浆中的维生素 A 与视黄醇结合蛋白、前清蛋白以 1:1:1 结合而运输。视黄醇结合蛋白由肝合成。肝细胞疾病、锌缺乏和蛋白质营养障碍等时均可使该结合蛋白合成减少,造成血浆中维生素 A 水平降低。

肝几乎不储存维生素 D,但具有将维生素 D 转化为 25-羟维生素 D 和合成维生素 D 结合蛋白的能力。血浆中 85% 的维生素 D 代谢物是与维生素 D 结合蛋白相结合运输的。肝疾病时,该结合蛋白合成减少,可造成血浆总维生素 D 代谢物水平降低。

多种维生素在肝中转变为辅酶的组成成分。肝将维生素 PP 转变为辅酶 I (NAD⁺) 和辅酶 II (NADP⁺) 的组成成分,将泛酸转变为辅酶 A 的组成成分,将维生素 B₁ 焦磷酸化等。肝细胞还将胡萝卜素转变为维生素 A。维生素 K 是肝合成凝血因子 II、VII、IX、X 不可缺少的物质。

肝所分泌的胆汁酸盐有利于脂溶性维生素的吸收。

五、肝在激素代谢中的作用

多种激素在发挥其调节作用后,主要在肝中转化、降解或失去活性,这一过程称为激素的灭活。水溶性激素与肝细胞膜上的特异受体结合发挥其信使传递作用,并可通过肝细胞的内吞作用进入肝细胞。一些类固醇激素可在肝内与葡糖醛酸或活性硫酸等结合,丧失其活性。肝病严重时,由于激素的灭活功能降低,体内的雌激素、醛固酮、抗利尿激素等水平升高,可出现男性乳房女性化、蜘蛛痣、肝手掌(雌激素对小血管的扩张作用)以及水、钠潴留等现象。

第二节 肝的生物转化作用

一、生物转化的概念

人体内经常存在一些非营养物质,这些物质既不能构成组织细胞的结构成分,又不能氧化供能,其中一些对人体有一定的生物学效应或毒性作用,机体在排出这些物质以前常将其进行各种代谢转变,这一过程称为生物转化(biotransformation)。机体内需要进行生物转化的非营养物质可分为内源性和外源性两类。内源性物质包括激素、神经递质和其他胺类等一些对机体具有强烈生物学活性的物质,以及氨、胆红素等对机体有毒性

的物质。在日常生活中，人体接触到的外来化学物质多达几万种，其中被人类摄取的食品添加剂、色素和药物等有1万余种。此外，还有肠道经细菌作用产生的腐败产物(如胺、酚、吲哚和硫化氢等)等。这些外源性物质均需经生物转化从体内排出。肝是机体内生物转化的主要器官。

生物转化的生理意义在于它对体内的非营养物质进行转化，使其生物学活性降低或消除(灭活作用)，或使有毒物质的毒性减低或消除(解毒作用, detoxication)。更为重要的是生物转化作用可将这些物质的溶解性增高，变为易于从胆汁或尿液中排出体外的物质。应该指出的是，有些物质经肝的生物转化后，其毒性反而增加或溶解性反而降低，不易排出体外。有的药物如环磷酰胺、百浪多息、水合氯醛、硫唑嘌呤和大黄等需经生物转化才能成为有活性的药物。所以，不能将肝的生物转化作用简单地看作是“解毒作用”。

二、生物转化反应的主要类型

生物转化过程所包括的许多化学反应可归纳为两相。第一相反应包括氧化、还原、水解反应。许多物质通过第一相反应，其分子中某些非极性基团转变为极性基团，增强亲水性。但有些化合物还必须进一步与葡糖醛酸、硫酸或氨基酸等极性更强的物质相结合，以得到更大的溶解度，这些结合反应属于第二相反应。实际上，许多物质的生物转化反应非常复杂，往往需要经历不同类型的转化反应。同一类物质可因结构的差异而经历不同类型的生物转化反应，甚至同一物质可经过不同的生物转化途径产生不同的生物转化产物。

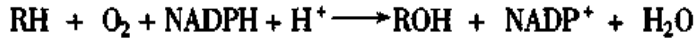
肝内催化生物转化的酶类列于表 18-3。

表 18-3 参与肝生物转化的酶类

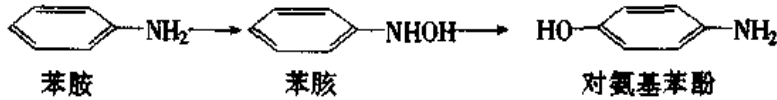
酶 类	辅酶或结合物	细胞内定位
第一相反应		
氧化酶类		
细胞色素 P ₄₅₀	NADPH, O ₂	内质网
胺氧化酶	黄素辅酶	线粒体
脱氢酶类	NAD ⁺	线粒体或胞液
还原酶类	NADH 或 NADPH	内质网
水解酶类		胞液或内质网
第二相反应		
转葡糖醛酸酶	活性葡糖醛酸(UDPGA)	内质网
转硫酸酶	活性硫酸(PAPS)	胞液
谷胱甘肽转硫酶	谷胱甘肽(GSH)	胞液与内质网
乙酰基转移酶	乙酰 CoA	胞液
酰基转移酶	甘氨酸	线粒体
甲基转移酶	S-腺苷甲硫氨酸	胞液与内质网

(一) 氧化反应

1. 微粒体依赖 P₄₅₀ 的加单氧酶系 氧化反应是最多见的生物转化反应，由肝细胞中多种氧化酶系所催化，其中最重要的是存在于微粒体内依赖细胞色素 P₄₅₀ 的加单氧酶 (monooxygenase)。该酶又称混合功能氧化酶，催化许多脂溶性物质从分子氧中接受一个氧原子，生成羟基化合物或环氧化合物。这是肝中非常重要的代谢药物与毒物的酶系统，进入人体的外来化合物约一半以上经此系统氧化。加单氧酶系催化的基本反应如下。



其中许多化合物不稳定，再经分子内部的变换，生成种种稳定的化合物。例如：苯胺在加单氧酶系催化下生成对氨基苯酚。



加单氧酶的羟化作用不仅增加药物或毒物的水溶性，有利于排泄，而且是许多物质代谢不可缺少的步骤。如维生素 D₃ 经羟化转变成活性维生素 D₃，类固醇激素和胆汁酸的合成过程需羟化作用等。然而应该指出的是，有些致癌物质经氧化后丧失其活性，而有些本来无活性的物质经氧化后生成有毒或致癌物质。例如，多环芳烃经加单氧酶作用生成的环氧化合物是致癌物质，需经进一步的生物转化。

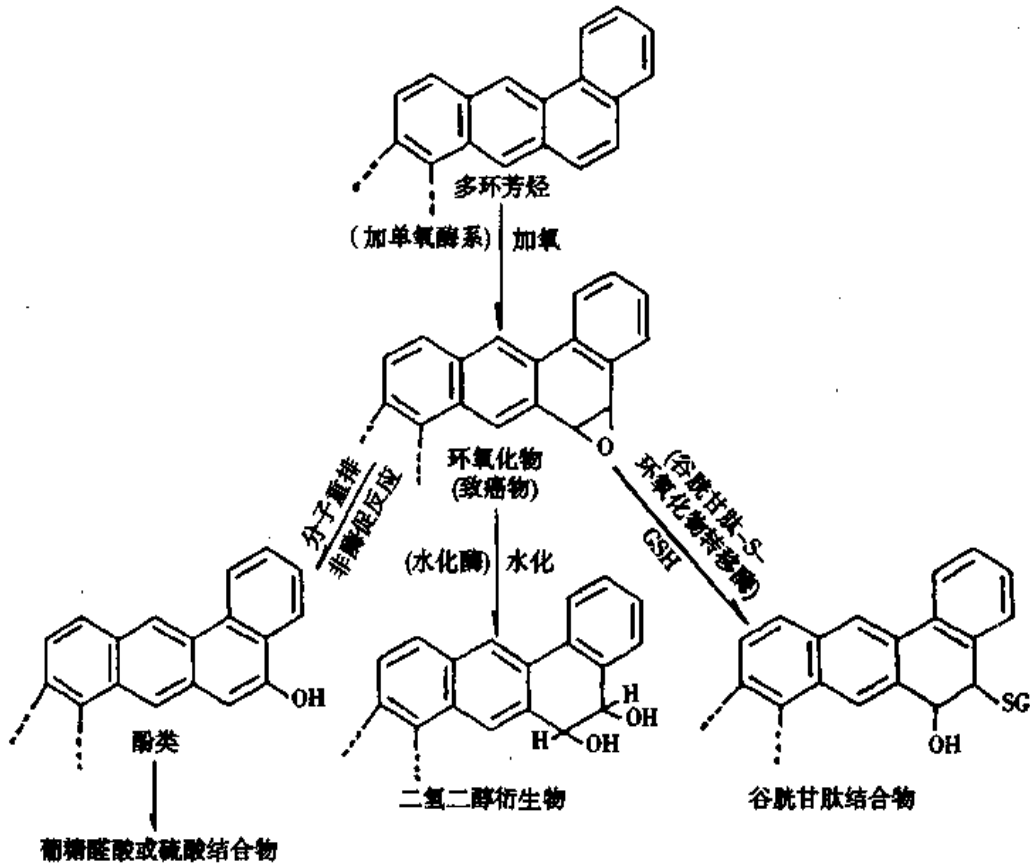


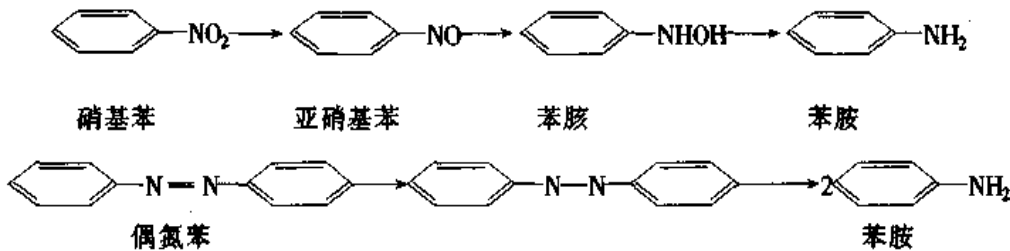
图 18-1 多环芳烃的生物转化过程

2. 线粒体单胺氧化酶系 存在于线粒体内的单胺氧化酶 (monoamine oxidase, MAO)

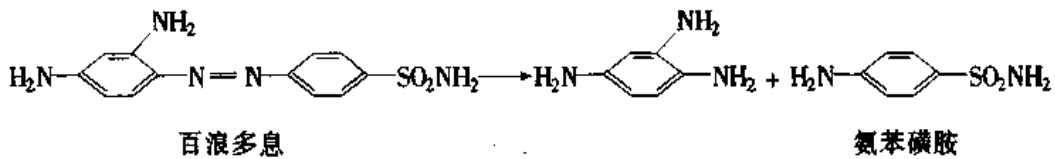
因型的分布比例是 45:10:45。后两种基因型均可检测出缺乏 ALDH 活性的表现型。无活性型纯合子完全缺乏 ALDH 活性，杂合子型部分缺乏 ALDH 活性；因此，中等量饮酒(0.8g/kg 体重)后，无活性纯合子和杂合子两者血液乙醛浓度均有明显升高(面部潮红、脉速等)，但正常纯合子升高不明显。少量饮酒(0.1g/kg 体重)时，无活性型纯合子血中乙醛浓度便明显升高，杂合子次之。乙醛对人体是有毒性的物质，人肝 ALDH 分布于肝细胞Ⅲ带，这也是乙醇性肝损伤多见于Ⅲ带的原因之一。

(二) 还原反应

肝细胞中的主要还原酶类是硝基还原酶类(nitroreductase)和偶氮还原酶类(azoreductase)，分别催化硝基化合物与偶氮化合物从 NADPH 接受氢，还原成相应的胺类。例如，

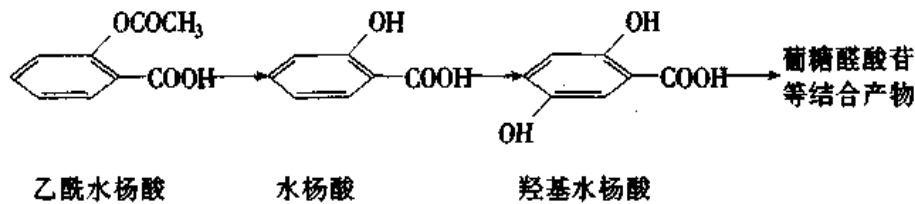


又如，百浪多息是无活性的药物前体，经还原生成具有抗菌活性的氨苯磺胺。



(三) 水解反应

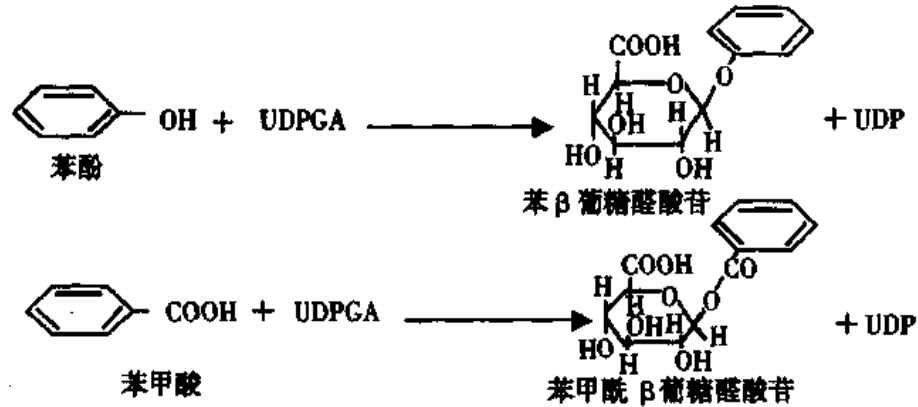
肝细胞的胞液与微粒体中含有多种水解酶类，可将脂类、酰胺类和糖苷类化合物水解，以减低或消除其生物活性。这些水解产物通常还需进一步反应，以利排出体外。例如，乙酰水杨酸的生物转化过程中，首先是水解反应，然后是结合反应。



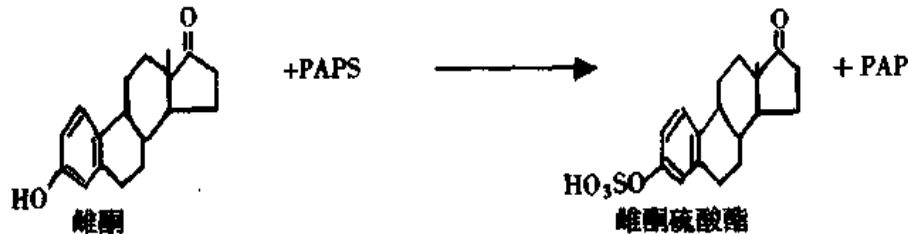
(四) 结合反应

第二相反应是结合反应(conjugation reaction)。肝细胞内含有许多催化结合反应的酶类。凡含有羟基、羧基或氨基的药物、毒物或激素均可与葡萄糖醛酸、硫酸、谷胱甘肽、甘氨酸等发生结合反应，或进行酰基化和甲基化等反应。其中，与葡萄糖醛酸、硫酸和酰基的结合反应最为重要，尤以葡萄糖醛酸的结合反应最为普遍。

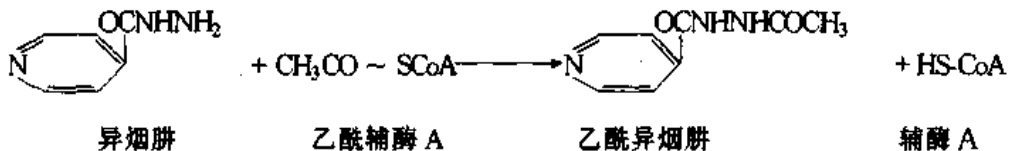
1. 葡萄糖醛酸结合反应 肝细胞微粒体中含有非常活跃的葡萄糖醛基转移酶(UDP-glucuronyl transferases, UGT)，它以尿苷二磷酸 α-葡萄糖醛酸(uridine diphosphate glucuronic acid, UDPGA)为供体，催化葡萄糖醛基转移到多种含极性基团的化合物分子(如醇、酚、胺、羧基化合物等)。例如，



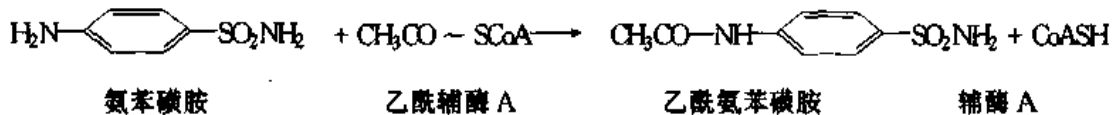
2. 硫酸结合反应 3'-磷酸腺苷 5'-磷酸硫酸(PAPS)是活性硫酸供体, 在肝细胞胞液硫酸转移酶(sulfate transferase)的催化下, 将硫酸基转移到多种醇、酚或芳香族胺类分子上, 生成硫酸酯化合物。例如, 雌酮就是通过形成硫酸酯进行灭活的。



3. 酰基化反应 肝细胞胞液中含有乙酰基转移酶 (acetylase), 催化乙酰基从乙酰辅酶 A 转移到芳香族胺化合物, 形成乙酰化衍生物。例如, 抗结核病药物异烟肼在肝内乙酰基转移酶催化下经乙酰化而失去活性。



此外, 大部分磺胺类药物在肝内也通过这种形式灭活。但应指出, 磺胺类药物经乙酰化后, 其溶解度反而降低, 在酸性尿中易于析出, 故在服用磺胺类药物时应服用适量的小苏打, 以提高其溶解度, 利于随尿排出。



4. 谷胱甘肽结合反应 谷胱甘肽(GSH)在肝细胞胞液谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase)催化下, 可与许多卤代化合物和环氧化合物结合, 生成含 GSH 的结合产物。此酶在肝中含量非常丰富, 占肝细胞可溶性蛋白质的 3%。生成的谷胱甘肽结合物主要随胆汁排出体外, 不能直接从肾排出。然而, 肾和肝胆小管上皮均含有 γ -谷氨酰转移酶, 可分解谷胱甘肽结合物, 并在其他酶的协助下, 进而生成硫醚氨酸, 并随尿排出体外。例如,

期服用苯巴比妥和甲苯磺丁脲(D-860)的病人,除对该药的转化能力增强外,对非那西丁、氯霉素、氢化可的松的转化能力也大大增强。有人发现,苯巴比妥可诱导UDP-葡萄糖醛基转移酶对1-萘酚和胆红素的结合活性。前已述及,大量饮酒可诱导MEOS活性增强。同时卤烷和四氯化碳由于乙醇对P₄₅₀的诱导作用而代谢活性升高百倍,其代谢物可引起脂质过氧化,加重肝损害。

由于许多物质的生物转化反应常受同一酶体系的催化,因此同时服用几种药物时可发生药物之间对酶的竞争性抑制作用,影响其生物转化。例如,保泰松在体内可抑制双香豆素的代谢,从而增强双香豆素的抗凝作用,甚至引起出血。

第三节 胆汁与胆汁酸的代谢

一、胆 汁

胆汁(bile)是肝细胞分泌的一种液体,通过胆管系统进入十二指肠。生成胆汁是肝的基本功能之一。正常人平均每天分泌胆汁300~700ml。肝胆汁(hepatic bile)是从肝初分泌的胆汁,清澈透明,呈金黄色或桔黄色。肝胆汁进入胆囊后,胆囊壁吸收胆汁中的一部分水和其他一些成分,并分泌粘液进入胆汁,从而形成胆囊胆汁(gallbladder bile)。胆囊胆汁呈暗褐或棕绿色。现将两种胆汁的一些性状与组成列于表18-5。

表 18-5 正常人胆汁的性状和组成百分比

	肝胆汁	胆囊胆汁
比重	1.009~1.013	1.026~1.032
pH	7.1~8.5	5.5~7.7
水	96~97	80~86
固体成分	3~4	14~20
无机盐	0.2~0.9	0.5~1.1
粘蛋白	0.1~0.9	1~4
胆汁酸盐	0.2~2	1.5~10
胆色素	0.05~0.17	0.2~1.5
总脂类	0.1~0.5	1.8~4.7
胆固醇	0.05~0.17	0.2~0.9
磷脂	0.05~0.08	0.2~0.5

胆汁的主要有机成分中胆汁酸盐的含量最高。胆汁中还含有多种酶类,包括脂肪酶、磷脂酶、淀粉酶、磷酸酶等。除胆汁酸盐和某些酶类与消化作用有关外,其他成分多属排泄物。进入人体的药物、毒物、染料及重金属盐等都可随胆汁排出体外。

二、胆汁酸的代谢

(一)胆汁酸的分类

胆汁酸(bile acids)按其结构可分为两类:一类是游离胆汁酸(free bile acid),包括

胆酸(cholic acid)、脱氧胆酸(deoxycholic acid)、鹅脱氧胆酸(chenodeoxycholic acid)和少量的石胆酸(lithocholic acid); 另一类是上述胆汁酸分别与甘氨酸和牛磺酸结合的产物, 称为结合胆汁酸(conjugated bile acid), 主要是甘氨胆酸(glycocholic acid)、牛磺胆酸(taurocholic acid)、甘氨鹅脱氧胆酸(glycochenodeoxycholic acid)和牛磺鹅脱氧胆酸(taurochenodeoxycholic acid)。从胆汁酸的来源进行分类, 也可分为两类: 由肝细胞合成的胆汁酸称为初级胆汁酸(primary bile acids), 包括胆酸、鹅脱氧胆酸及其与甘氨酸和牛磺酸的结合产物; 初级胆汁酸在肠管中受细菌作用生成的脱氧胆酸和石胆酸及其在肝中生成的结合产物称为次级胆汁酸(secondary bile acids)(图 18-2)。

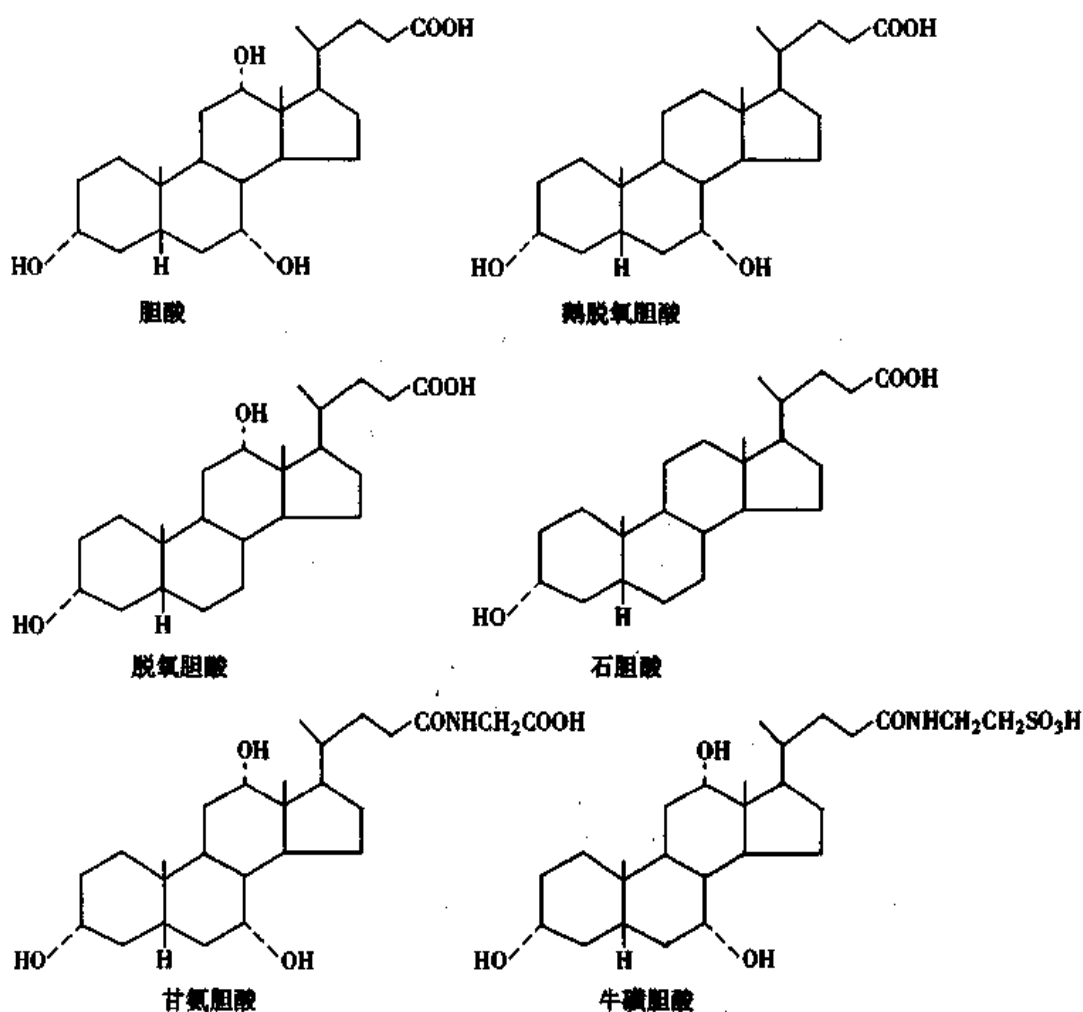


图 18-2 几种胆汁酸的结构式

人胆汁中的胆汁酸以结合型为主。其中甘氨胆汁酸的量多于牛磺胆汁酸的量。胆汁中的初级胆汁酸与次级胆汁酸均以钠盐或钾盐的形式存在, 即胆汁酸盐, 简称胆盐(bile salts)。

(二) 胆汁酸的代谢

1. 初级胆汁酸的生成 肝细胞以胆固醇为原料合成初级胆汁酸, 这是肝清除胆固醇的主要方式。肝细胞合成胆汁酸的反应步骤较复杂, 催化各步反应的酶类主要分别分布于微粒体和胞液。胆固醇首先在胆固醇 7 α -羟化酶(cholesterol 7 α -hydroxylase)的催化下

生成 7 α -羟胆固醇。后者向胆汁酸的转化包括固醇核的还原、羟化、侧链的断裂和加辅酶 A 等多步反应，最后生成具有 24 碳的初级胆汁酸及其与甘氨酸和牛磺酸结合形成的结合胆汁酸。正常人每日约合成 1~1.5g 胆固醇，其中约 2/5 (0.4~0.6g) 在肝内转化为胆汁酸。胆固醇 7 α -羟化酶是胆汁酸合成的限速酶，而 HMG-CoA 还原酶是胆固醇合成的关键酶，两者同时受胆汁酸和胆固醇的调节。进入肝的胆汁酸同时抑制这两种酶的活性；高胆固醇饮食在抑制 HMG-CoA 还原酶的同时，增加胆固醇 7 α -羟化酶基因的表达，从而提高此酶的活性。糖皮质激素、生长激素可以提高胆固醇 7 α -羟化酶的活性。甲状腺素可使该酶的 mRNA 合成迅速增加，人们认为这是甲状腺素降低血浆胆固醇的重要原因。

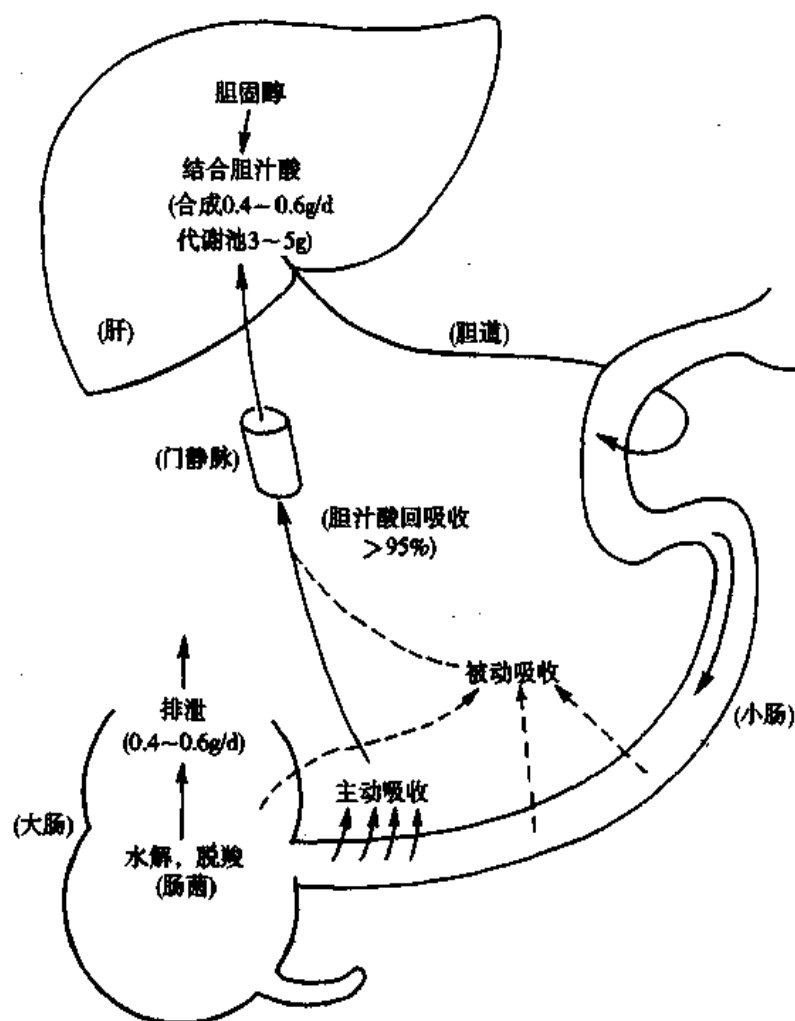


图 18-3 胆汁酸的肠肝循环

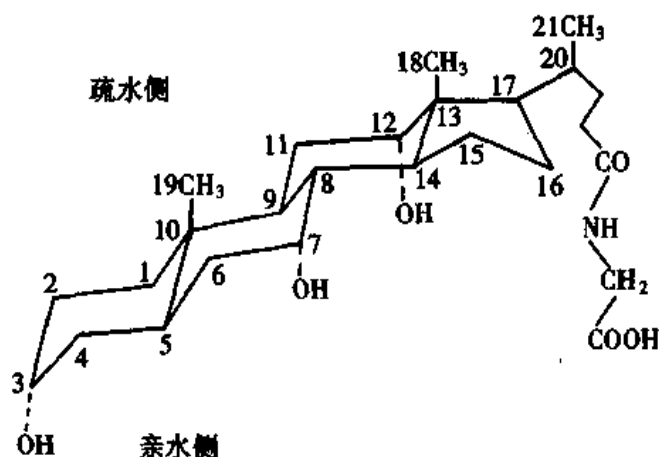
2. 次级胆汁酸的生成与肠肝循环 进入肠道的初级胆汁酸在协助脂类物质的消化吸收后，在回肠和结肠上段细菌的作用下，结合胆汁酸水解释放出游离胆汁酸，并进而发生 7-位脱羟基，形成次级胆汁酸。即胆酸转变成脱氧胆酸，鹅脱氧胆酸转变成石胆酸。排入肠道的胆汁酸(包括初级、次级、结合型与游离型)中约 95% 以上被重吸收。其中以回肠部对结合型胆汁酸的主动重吸收为主，其余在肠道各部被动重吸收。重吸收的胆汁酸经门静脉入肝，被肝细胞摄取。在肝细胞内，游离胆汁酸被重新合成为结合胆汁酸，与新合成的结合胆汁酸一同再随胆汁排入小肠。这样形成胆汁酸的“肠肝循环”

(enterohepatic circulation)” (图 18-3)。人体每天约进行 6~12 次肠肝循环，从肠道吸收的胆汁酸总量可达 12~32g。由于肝每天合成胆汁酸的量仅 0.4~0.6g，肝胆的胆汁酸池共约 3~5g，即使全部倾入小肠也难满足饱餐后小肠内脂类乳化的需要。因此，肠肝循环可以补充肝合成胆汁酸能力的不足和人体对胆汁酸的生理需要。

未被肠道吸收的那一小部分胆汁酸在肠菌的作用下，衍生成多种胆烷酸的衍生物并由粪便排出，每日的排出量与肝合成的胆汁酸量相当。还有小量的胆汁酸(主要是石胆酸和鹅脱氧胆酸)在肝细胞内与硫酸或葡糖醛酸结合，分别生成硫酸酯和葡糖醛酸苷。这些水溶性很强的结合胆汁酸易于从肾排出。胆管阻塞病人尿中此类化合物增多。

(三) 胆汁酸的功能

1. 促进脂类的消化与吸收 胆汁酸分子内部既含有亲水性的羟基和羧基，又含有疏水性的甲基和烃核，而且羟基和羧基的空间配位又全是 α 型，所以胆汁酸的立体构型具有亲水和疏水两个侧面，能够降低油/水两相之间的表面张力。胆汁酸的这种结构特性使其成为较强的乳化剂，使疏水的脂类在水中乳化成直径只有 3~10 μ m 的细小微团，既有利于消化酶的作用，又有利于吸收。



甘氨酸胆酸的构象式

2. 抑制胆汁中胆固醇的析出 部分未转化的胆固醇由肝细胞分泌入毛细胆管，储存于胆囊。由于胆固醇难溶于水，胆汁在胆囊中浓缩后胆固醇较易沉淀析出。胆汁中的胆汁酸盐与卵磷脂可使胆固醇分散形成可溶性微团，使之不易结晶沉淀。若肝合成胆汁酸的能力下降，消化道丢失胆汁酸过多或肠肝循环中肝摄取胆汁酸过少，以及排入胆汁中的胆固醇过多(高胆固醇血症病人)，均可造成胆汁中胆汁酸、卵磷脂和胆固醇的比值下降(小于 10:1)，易引起胆固醇析出沉淀，形成胆石。

第四节 胆色素的代谢与黄疸

胆色素(bile pigment)是体内铁卟啉化合物的主要分解代谢产物，包括胆红素(bilirubin)、胆绿素(biliverdin)、胆素原(bilinogen)和胆素(bilin)等。这些化合物主要随胆汁排出体外。胆红素是人胆汁的主要色素，呈橙黄色。胆红素的毒性作用可引起大脑不可

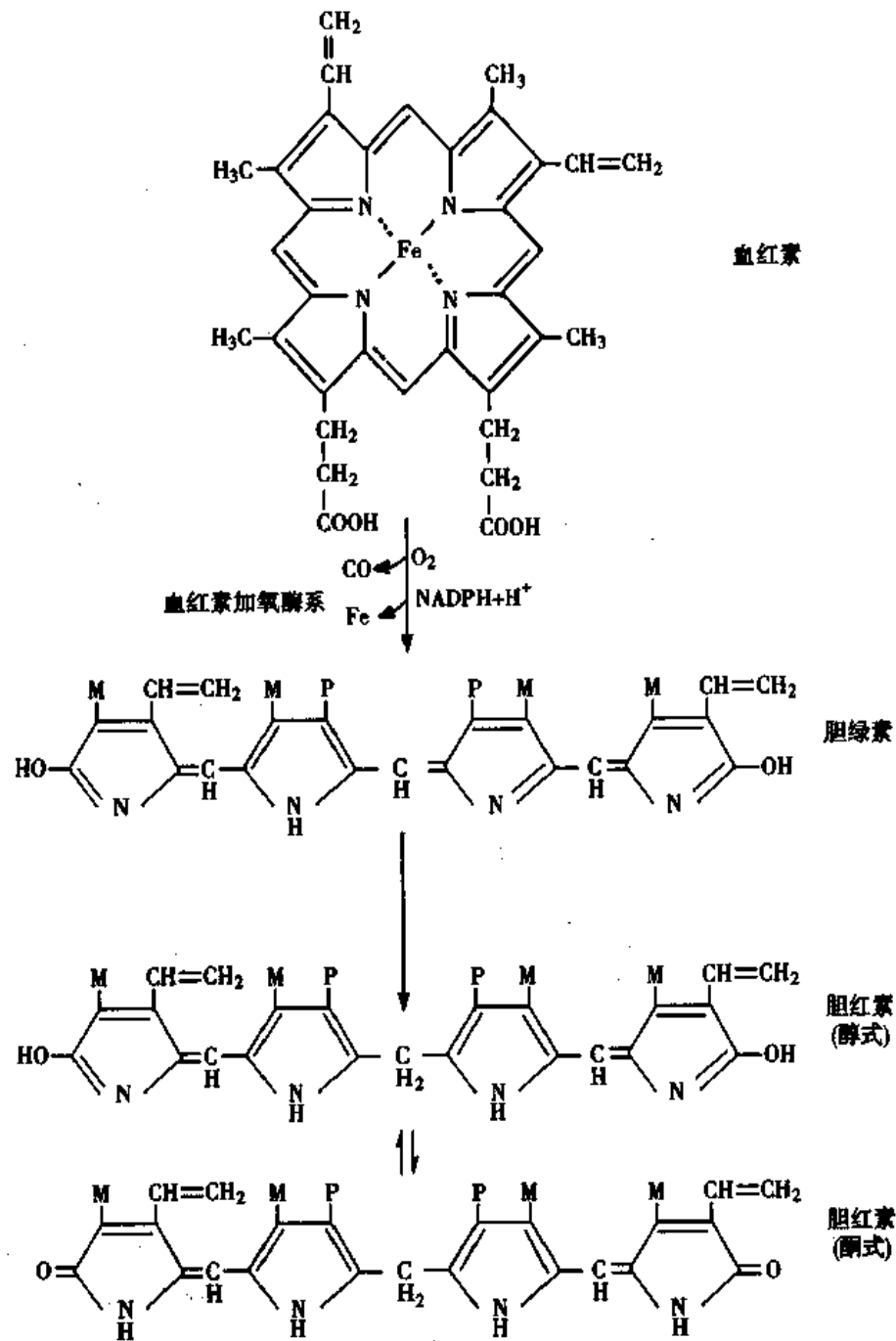


图 18-4 胆红素的生成

M: $-\text{CH}_3$, P: $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$

逆的损害。但近年来人们发现，胆红素具有抗氧化剂功能，可抑制亚油酸和磷脂的氧化，其作用甚至优于维生素 E。胆红素的代谢是临床上颇感兴趣的课题，肝是胆红素代谢的主要器官，有关胆红素的知识对于认识肝病具有重要意义。

一、胆红素的生成与转运

体内铁卟啉化合物包括血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素、过氧化物酶和过氧化氢酶等。正常人每天可生成 250 ~ 350mg 胆红素，其中 70% 以上来自衰老红细胞破坏释放的

血红蛋白，其他主要来自含铁卟啉酶类。肌红蛋白由于更新率低，所占比例很小。

正常红细胞的寿命为 120 天。衰老的红细胞在肝、脾、骨髓的单核-吞噬细胞系统破坏释放出血红蛋白。正常人每小时有 $1 \sim 2 \times 10^8$ 个红细胞破坏，约释放 6 g 血红蛋白。血红蛋白随后分解为珠蛋白和血红素。珠蛋白可降解为氨基酸，供体内再利用。单核-吞噬细胞系统细胞(主要是脾和肝的星形细胞)微粒体含有非常活跃的血红素加氧酶(heme oxygenase)，在氧分子和 NADPH 的存在下，血红素加氧酶将血红素铁卟啉环上的 α 甲炔基(—CH—)氧化断裂，释放 CO，并将两端的吡咯环羟化，形成胆绿素。释放的铁可以被机体再利用，一部分 CO 从呼吸道排出。胆绿素在胞液胆绿素还原酶(biliverdin reductase)的催化下，从 NADPH 获得 2 个氢原子，生成胆红素(图 18-4)。

胆红素由 3 个次甲基桥连接的 4 个吡咯环组成，分子量为 585。虽然胆红素分子中含有 2 个羟基或酮基、4 个亚氨基和 2 个丙酸基，这些基团均为亲水基团，理应溶于水，但由于这些基团在分子内部形成 6 个氢键，使胆红素分子形成脊瓦状的刚性折叠，极性基团隐藏于分子内部，胆红素便成为非极性的脂溶性物质(图 18-5)。胆红素难溶于水，但对血浆清蛋白有极高的亲和力。所以，胆红素离开单核-吞噬细胞后，在血液中主要与清蛋白结合而运输。

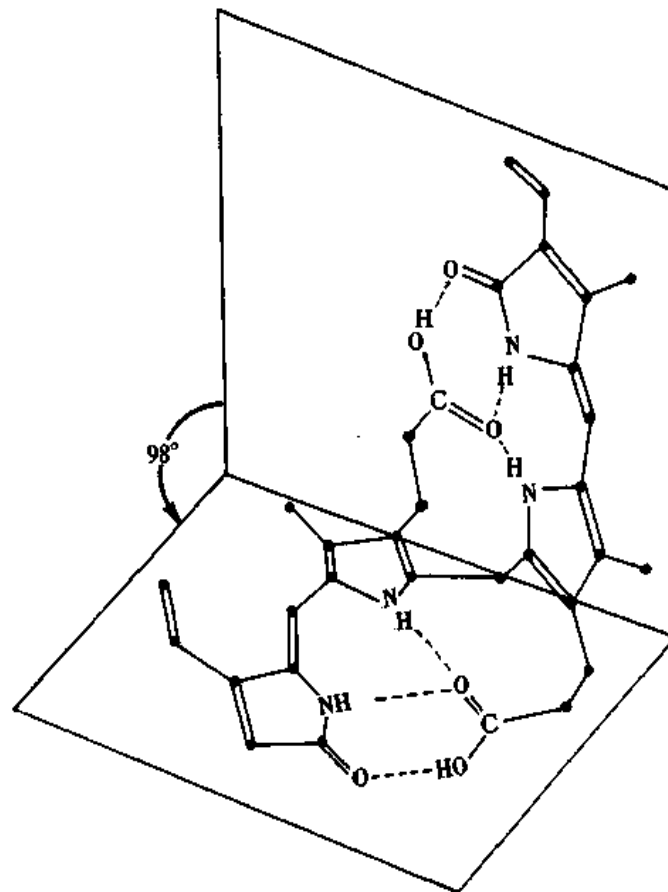


图 18-5 胆红素空间结构示意图

正常人血浆胆红素浓度仅为 0.2~0.9mg/dl。血液循环中含有足量的清蛋白，不与清蛋白结合的胆红素甚微。这种紧密的结合不仅增高胆红素的水溶性，有利于运输，而

且还限制胆红素通透细胞膜对组织造成的毒性作用。若清蛋白含量明显降低、结合部位被其他物质所占据或降低胆红素对结合部位的亲和力，均可促使胆红素从血浆向组织转移。许多外来化合物(如磺胺类药物、镇痛药、抗炎药、某些利尿剂以及一些食品添加剂)可通过竞争胆红素的结合部位或改变清蛋白的构象，干扰胆红素与清蛋白的结合。对有黄疸倾向的病人或新生儿应用上述药物应慎重，以免发生胆红素脑病(bilirubin encephalopathy)。

二、胆红素在肝中的转变

前已述及，血中的胆红素基本上是以胆红素-清蛋白复合体的形式运输的。胆红素在被肝细胞摄取前先与清蛋白分离。肝细胞对胆红素有极强的亲和力，当胆红素随血液运输到肝后，可迅速被肝细胞摄取。有研究表明，肝细胞膜表面具有结合胆红素的特异受体，对胆红素主动地摄取。实验证明，成年雌性大鼠由于雌激素的作用，肝对胆红素的摄取效率明显高于雄性，这可能是女性血浆胆红素浓度低于男性的原因。

胆红素进入肝细胞后，与胞浆中两种载体蛋白——Y蛋白(protein Y)和Z蛋白(protein Z)相结合形成复合物，并以此形式进入内质网。Y蛋白比Z蛋白对胆红素的亲和力强，且含量丰富，约占人肝细胞胞液蛋白总量的2%(大鼠为5%)，是肝细胞内主要的胆红素载体蛋白。Y蛋白具有谷胱甘肽S-转移酶的活性，除对胆红素有高亲和力外，对固醇类物质、四溴酚酞磺酸钠(BSP)、某些染料以及一些有机阴离子均有很强的亲和

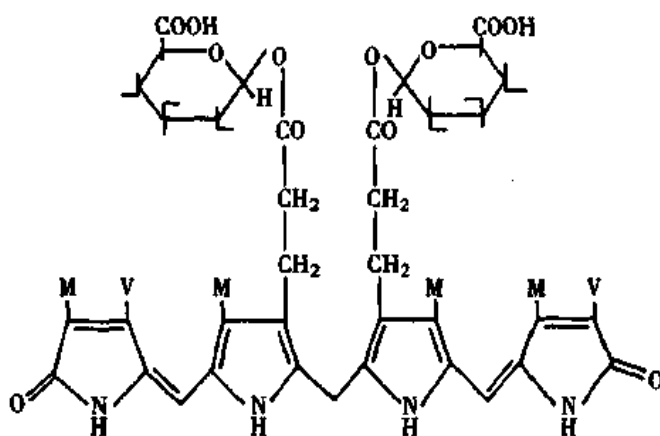
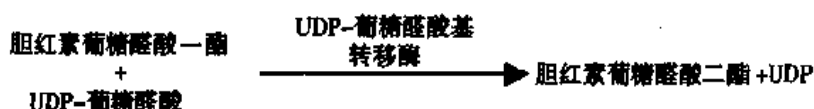


图 18-6 葡萄糖胆红素的生成及其结构

M: $-\text{CH}_3$ V: $-\text{CH}=\text{CH}_2$

力，可竞争性影响胆红素的转运。苯巴比妥可诱导新生儿合成 Y 蛋白，加强胆红素的转运。因此，临床上可应用苯巴比妥消除新生儿生理性黄疸。

胆红素 - Y 蛋白复合物被转运到滑面内质网。在葡糖醛酸基转移酶 (glucuronyl transferase) 的催化下，胆红素接受来自 UDP-葡糖醛酸的葡糖醛酸基，生成葡糖醛酸胆红素 (bilirubin glucuronide)。由于胆红素分子中含有 2 个羧基，每分子胆红素可结合 2 分子葡糖醛酸。双葡糖醛酸胆红素是主要的结合产物 (图 18-6)，仅有少量单葡糖醛酸胆红素生成 (此外，尚有少量胆红素与硫酸结合，生成硫酸酯)。这些与葡糖醛酸结合的胆红素称为结合胆红素。由于胆红素分子内的 6 个氢键被破坏，所以结合胆红素水溶性强，随胆汁排入小肠。血浆中的胆红素通过肝细胞膜特异受体、肝细胞浆内载体蛋白和内质网的葡糖醛酸基转移酶的联合作用，不断地被肝细胞摄取、结合、转化与排泄，从而不断地得以清除。

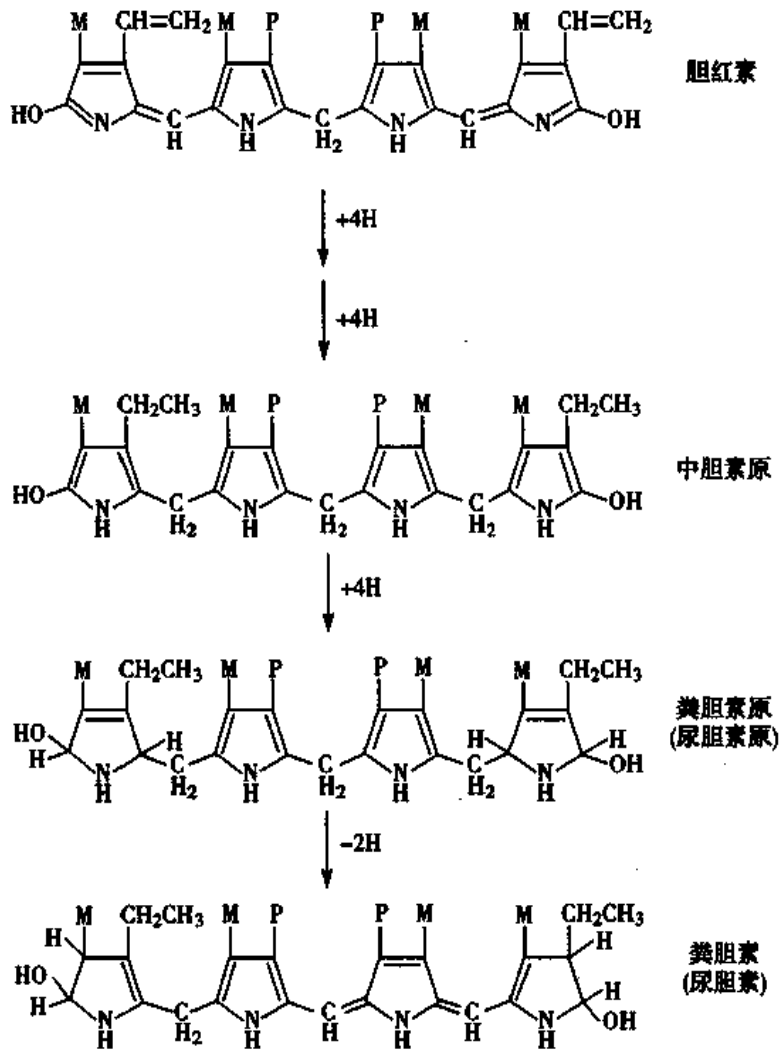


图 18-7 胆素原与胆素的生成反应

M: $-\text{CH}_3$ P: $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$

三、胆红素在肠道中的变化和胆色素的肠肝循环

经肝细胞转化生成的葡糖醛酸胆红素随胆汁进入肠道，在肠菌的作用下大部分脱去葡糖醛酸基，并被逐步还原生成中胆素原(mesobilirubinogen)、粪胆素原(stercobilinogen)和d-尿胆素原(d-urobilinogen)。这些物质统称为胆素原。在肠道下段，这些无色的胆素原接触空气分别被氧化为相应的1-尿胆素(1-urobilin)、粪胆素(stercobilin)和d-尿胆素(d-urobilin)。后三者合称胆素(图18-7)。胆素呈黄褐色，是粪便的主要色素，日排出总量为40~280mg。胆道完全梗阻时，因胆红素不能排入肠道形成胆素原和胆素，所以粪便呈现灰白色。新生儿的肠道细菌稀少，粪便中未被细菌作用的胆红素使粪便呈现桔黄色。

肠道中约10%~20%的胆素原可被肠粘膜细胞重吸收，经门静脉入肝。其中大部分再随胆汁排入肠道，形成胆素原的肠肝循环(bilinogen enterohepatic circulation)。只有少量经血液循环入肾并随尿排出(图18-8)。正常人每日随尿排出约0.5~4.0mg胆素原。胆素原接触空气后被氧化成尿胆素，后者是尿的主要色素。

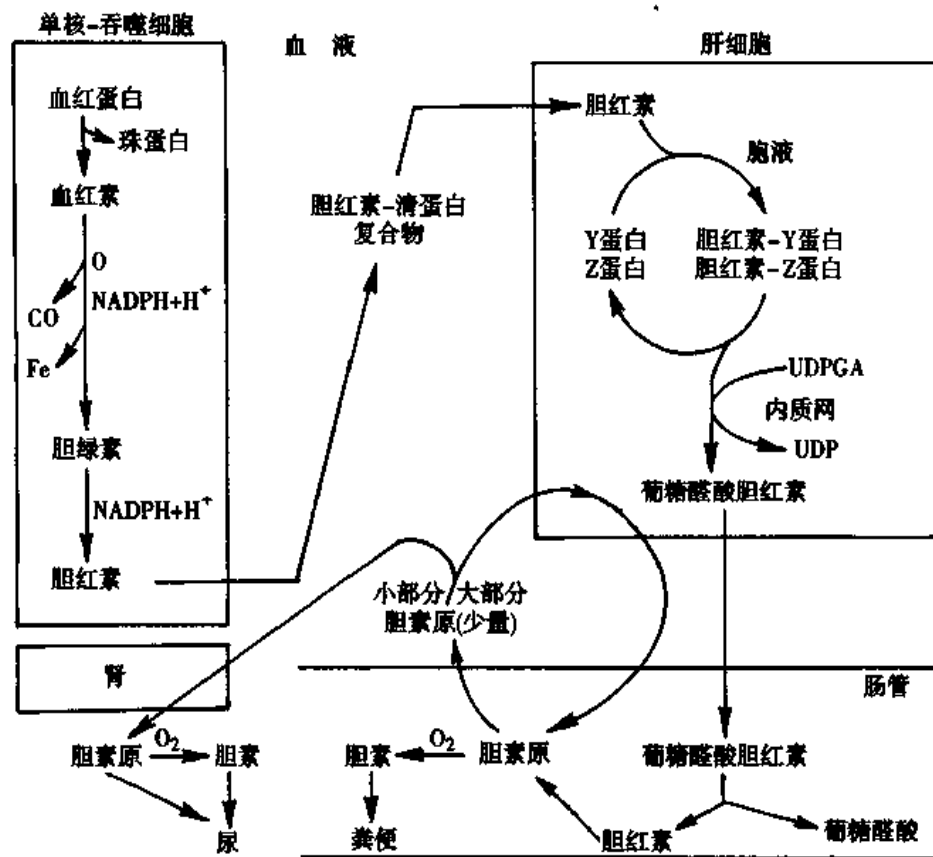


图 18-8 胆红素的形成与胆素原的肠肝循环

四、血清胆红素与黄疸

正常人体中胆红素主要以两种形式存在。一为由肝细胞内质网作用所生成的葡糖醛酸胆红素，这类胆红素称为结合胆红素；二为主要来自单核-吞噬细胞系统中红细胞破

坏产生的胆红素，在血浆中主要与清蛋白结合而运输，这类胆红素因未与葡糖醛酸结合而称为游离胆红素。这两种胆红素的反应性不同，游离胆红素与一种重氮试剂反应缓慢，必须在加入乙醇后才表现出明显的紫红色；结合胆红素可与重氮试剂作用迅速产生颜色反应。因此，前者又称为间接反应胆红素或间接胆红素 (indirect reacting bilirubin)，或血胆红素 (hemobilirubin)，后者称为直接胆红素 (direct reacting bilirubin)，或肝胆红素 (hepatobilirubin)。现将两种胆红素的区别列于表 18-6。

表 18-6 游离胆红素与结合胆红素的区别

	游离胆红素	结合胆红素
别 名	间接胆红素 血胆红素	直接胆红素 肝胆红素
与葡糖醛酸结合	未结合	结合
与重氮试剂反应	慢或间接反应	迅速、直接反应
水中溶解度	小	大
经肾随尿排出	不能	能
通透细胞膜对脑的毒性作用	大	无

血浆中胆红素含量甚微，其中 4/5 是与清蛋白结合的游离胆红素，其余是结合胆红素。胆红素是有毒的脂溶性物质，对脂类有高度的亲和力，极易通透细胞膜对细胞造成危害，尤其是对富含脂类的神经细胞，能严重影响神经系统的功能。因此，肝对胆红素的解毒作用具有十分重要的意义。肝对血浆胆红素具有强大的处理能力，这不仅表现在肝具有强大的摄取与肝细胞内转化与排泄能力，而且还在于肝通过生物转化功能将胆红素与葡糖醛酸结合，变成水溶性的易于排泄的物质。虽然正常人每天从单核-吞噬细胞系统产生 200~300mg 胆红素，肝每小时便能清除约 100mg 胆红素，远远大于机体产生胆红素的能力。正常状态下，血浆中胆红素的含量甚微。凡是体内胆红素生成过多，或肝摄取、转化、排泄过程发生障碍等因素均可引起血浆胆红素浓度升高，造成高胆红素血症。胆红素为金黄色物质，大量的胆红素扩散进入组织，可造成组织黄染，这一体征称为黄疸 (jaundice)。由于眼巩膜、上腭与皮肤含有较多的对胆红素有高亲和力的弹性纤维，这些组织易黄染。黄疸的程度取决于血清胆红素的浓度。有时血清胆红素虽然高于正常，但不超过 2mg/dl 时，肉眼看不到巩膜与皮肤黄染，这称为隐性黄疸 (jaundice occult)。根据血清胆红素的来源，可将黄疸分为三类：

(一) 溶血性黄疸

溶血性黄疸 (hemolytic jaundice) 也称肝前性黄疸，是由于红细胞在单核-吞噬细胞系统破坏过多，超过肝细胞的摄取、转化和排泄能力，造成血清游离胆红素浓度过高。此时，血中结合胆红素的浓度改变不大，重氮反应试验间接反应阳性，尿胆红素阴性。由于肝对胆红素的摄取、转化和排泄增多，从肠道吸收的胆素原增多，造成尿胆素原增多。某些疾病 (如恶性疟疾、过敏等)、药物和输血不当均可引起溶血性黄疸。

(二) 肝细胞性黄疸

肝细胞性黄疸(hepatocellular jaundice)也称肝原性黄疸,由于肝细胞破坏,其摄取、转化和排泄胆红素的能力降低所致。肝细胞性黄疸时,不仅由于肝细胞摄取胆红素障碍会造成血游离胆红素升高外,还由于肝细胞的肿胀,毛细血管阻塞或毛细胆管与肝血窦直接相通,使部分结合胆红素反流到血循环,造成血清结合胆红素浓度增高。通过肠肝循环到达肝的胆素原也可经损伤的肝进入体循环,并从尿中排出。所以,临床检验可以发现血清重氮反应试验双向阳性,尿胆红素阳性,尿胆素原增高。肝细胞性黄疸常见于肝实质性疾病,如各种肝炎、肝肿瘤等。

(三) 阻塞性黄疸

各种原因引起的胆汁排泄通道受阻,使胆小管和毛细胆管内压力增大破裂,致使结合胆红素逆流入血,造成血清胆红素升高。这种黄疸称为阻塞性黄疸(obstructive jaundice),或肝后性黄疸。实验室检查可发现血清直接胆红素浓度升高,重氮反应试验即刻反应阳性;血清间接胆红素无明显改变;由于直接胆红素可以从肾排出体外,所以尿胆红素检查阳性;胆管阻塞使肠道生成胆素原减少,尿胆素原降低。阻塞性黄疸常见于胆管炎症、肿瘤、结石或先天性胆管闭锁等疾病。

各种黄疸血、尿、粪的变化见表 18-7。

表 18-7 各种黄疸时血、尿、粪的改变

指 标	正 常	溶血性黄疸	肝细胞性黄疸	阻塞性黄疸
血清胆红素				
总量	< 1mg/dl	> 1mg/dl	> 1mg/dl	> 1mg/dl
结合胆红素	0~0.8mg/dl		↑	↑↑
游离胆红素	< 1mg/dl	↑↑	↑	
尿三胆				
尿胆红素	—	—	++	++
尿胆素原	少量	↑	不一定	↓
尿胆素	少量	↑	不一定	↓
粪便颜色	正常	深	变浅或正常	完全阻塞时 陶土色

小 结

肝是人体中最大的腺体,具有多种代谢功能。肝通过肝糖原的生成与分解、糖的异生来维持血糖浓度稳定。肝在脂类的消化、吸收、运输、分解与合成中均起重要作用。肝是体内合成磷脂与胆固醇的重要器官。肝将胆固醇转化为胆汁酸,助脂类消化、吸收,并发挥其处理体内胆固醇的重要功能。肝能合成 VLDL、HDL 以及 LCAT,参与脂肪与胆固醇的运输。肝是氧化脂肪酸产生酮体的器官。除 γ -球蛋白外,几乎所有的血浆蛋白质均来自肝。这些蛋白质在血液中发挥其功能。肝也是处理血浆蛋白质(除清蛋白

外)的重要器官。肝是除支链氨基酸外所有氨基酸分解代谢的重要器官,是处理氨基酸分解代谢产物的重要场所。氨主要在肝内合成尿素。肝在吸收、储存、运输和代谢维生素方面起重要作用。肝将维生素 D 转化为 25-羟维生素 D,并合成维生素 D 结合蛋白。肝是许多激素灭活的场所。

肝通过生物转化作用对内源性和外源性非营养物质进行改造,通常增高其溶解度,降低其毒性,促使其排出体外。肝生物转化作用分两相反应,第一相反应包括氧化、还原和水解反应;第二相反应是结合反应,主要与葡糖醛酸、硫酸和酰基等结合。

胆汁是肝细胞分泌的液体,除含胆汁酸和一些酶有助消化作用外,其他多属排泄物。胆汁酸在肝细胞内由胆固醇转化而来,是肝清除体内胆固醇的主要形式。胆固醇 7 α -羟化酶是胆汁酸生成的限速酶,与胆固醇合成的关键酶 HMG-CoA 还原酶一同受胆汁酸和胆固醇的调节。肝细胞合成的胆汁酸称为初级胆汁酸,包括胆酸与鹅脱氧胆酸。脱氧胆酸与石胆酸是初级胆汁酸在肠道中受细菌作用生成的次级胆汁酸。胆汁酸包括游离型胆汁酸与结合型胆汁酸两型,结合型胆汁酸是胆汁酸与甘氨酸或牛磺酸在肝内结合的产物。大部分初级胆汁酸与次级胆汁酸经肠肝循环而再被利用,以补充体内合成的不足,满足对脂类消化吸收的生理需要。

胆色素是铁卟啉化合物在体内的主要分解代谢产物,包括胆红素、胆绿素、胆素原和胆素。胆红素主要来自单核-吞噬细胞系统对红细胞的破坏,在血红素加氧酶的催化下由血红素生成。胆红素在血液中主要与清蛋白结合(称游离胆红素)而运输。肝细胞膜特异受体对胆红素有强大的摄取能力。在肝细胞内,胆红素主要与 Y 蛋白和 Z 蛋白结合并被转运到内质网,在此被转化成葡糖醛酸胆红素(结合胆红素)。后者经胆管排入小肠。在肠道中,胆红素被还原成胆素原。少部分胆素原被肠粘膜重吸收入肝,其中大部分又被排入肠道,形成胆素原的肠肝循环;小部分胆素原经肾排入尿中。肠道中的胆素原在肠道下段接触空气被氧化为黄褐色的胆素。胆素原和胆素分别是几种胆素原和胆素的总称。

胆红素由于其特殊的空间构象,呈脂溶性,对神经细胞有毒性作用。与清蛋白结合的游离胆红素不能通透细胞膜,从而限制其细胞毒性作用。正常时由于肝对胆红素的强大摄取、结合、转化与排泄作用,血浆中胆红素的含量甚微。凡使血浆胆红素浓度升高的因素均可引起黄疸。临床上常见有溶血性黄疸、肝细胞性黄疸和阻塞性黄疸。各种黄疸均有其独特的生化检查指标。

(赵宝昌)

第十九章 维生素与微量元素

维生素(vitamin)是机体维持正常功能所必需,但在体内不能合成,或合成量很少,必须由食物供给的一组低分子量有机物质。维生素的每日需要量甚少,它们既不是构成机体组织的成分,也不是体内供能物质,然而在调节物质代谢和维持生理功能等方面却发挥着重要作用。长期缺乏某种维生素,会导致维生素缺乏症。按溶解性不同,维生素可分为脂溶性(lipid-soluble vitamin)和水溶性(water-soluble vitamin)两大类。

第一节 脂溶性维生素

脂溶性包括维生素 A、D、E、K,它们不溶于水,而溶于脂类及脂肪溶剂。脂溶性维生素在食物中与脂类共同存在,并随脂类一同吸收。吸收后的脂溶性维生素在血液中与脂蛋白及某些特殊的结合蛋白特异地结合而运输。

一、维生素 A

(一) 化学本质及性质

维生素 A 又称抗干眼病维生素。天然的维生素 A 有两种形式, A₁ 及 A₂。A₁ 又称视黄醇(retinol), A₂ 又称 3-脱氢视黄醇。维生素 A 在体内的活性形式包括视黄醇、视黄醛和视黄酸。

植物中不存在维生素 A,但有多种胡萝卜素,其中以 β-胡萝卜素最为重要。它在小肠粘膜处由 β-胡萝卜素加氧酶的作用,加氧断裂,生成 2 分子视黄醇,所以通常将 β-胡萝卜素称为维生素 A 原。

食物中视黄醇多以脂肪酸酯的形式存在,在小肠水解为视黄醇,被吸收后又重新合成视黄醇酯,以脂蛋白的形式储存于储脂细胞内(lipocyte)。血浆中的维生素 A 是非酯化型,它与视黄醇结合蛋白(retinol binding protein, RBP)结合而被转运,后者又与已结合甲状腺素的前清蛋白(proalbumin, PA)相结合,形成维生素 A-RBP-PA 复合物,当运输至靶组织后,与特异受体结合后被利用。在细胞内,视黄醇与细胞视黄醇结合蛋白(cellular retinol binding protein, CRBP)结合。

(二) 生化作用及缺乏症

1. 构成视觉细胞内感光物质 在视觉细胞内由 11-顺视黄醛(retinal)与不同的视蛋白(opsin)组成视色素。在感受强光的锥状细胞内有视红质、视青质及视蓝质,杆状细胞内有感受弱光或暗光的视紫红质。当视紫红质感光时,视色素中的 11-顺视黄醛在发生的光异构作用下转变成全反视黄醛,并与视蛋白分离而失色,这一光异构变化同时可引

起杆状细胞膜的 Ca^{2+} 离子通道的开放, Ca^{2+} 迅速流入细胞并激发神经冲动, 经传导到大脑后产生视觉。视网膜内经上述过程产生视黄醛, 虽少部分可经异构酶作用缓慢地重新异构成为 11-顺视黄醛, 但大部分被还原成全反视黄醇, 经血流至肝变成 11-顺视黄醇, 而后再随血流返回视网膜氧化成 11-顺视黄醛, 合成视色素。其他视色素的感光过程与视紫红质相同(图 19-1)。

在维生素 A 缺乏时, 必然引起 11-顺视黄醛的补充不足, 视紫红质合成减少, 对弱光敏感性降低, 日光适应能力减弱, 严重时会发生“夜盲症”。

2. 参与糖蛋白的合成 当维生素 A 缺乏时, 可导致糖蛋白合成的中间体的异常, 低分子量的多糖-脂的堆积。维生素 A 为组织的发育和分化所必需, 若维生素 A 缺乏, 可引起上皮组织干燥、增生和角化等, 这也与维生素 A 能促进糖蛋白的合成有关。由视黄酸在体内转变生成的视黄醇磷酸(retinyl phosphate)是寡糖穿越膜脂双层的载体, 这一作用与视紫红质的分解极为相似, 也是通过顺反异构酶催化的顺反异构作用。另外, 在大鼠肝、脑等组织中均发现视黄醇磷酸甘露糖合成酶的活性, 视黄醇磷酸甘露糖作为甘露糖供体直接参与 O-糖苷键的合成。

3. 其他作用 人体上皮细胞的正常分化与视黄酸(retinoic acid)直接相关。流行病学调查表明: 维生素 A 的摄入与癌症的发生呈负相关, 动物实验也表明摄入维生素 A 可减轻致癌物质的作用。 β -胡萝卜素是抗氧化剂, 在氧分压较低条件下, 能直接消灭自由基, 而自由基是引起肿瘤和许多疾病的重要因素。大量研究表明, 视黄酸能诱导 HL-60 细胞及急性早幼粒细胞白血病的分化。

4. 作用机制 视黄酸在细胞内可特异地与 CRBP 相结合, 后者与核蛋白(nuclear protein)结合后, 通过对特定的基因表达的调控而发挥作用。长期过量(超过需要量的 10~20 倍)摄取可因过剩引起不良反应。动物实验表明过多的维生素 A 可引起头痛、恶心腹泻、肝脾大等。孕妇摄取过多, 易发生胎儿畸形, 因而应当适量摄取。

二、维生素 D

(一) 化学本质和性质

维生素 D 又称为抗佝偻病维生素, 是类固醇衍生物, 目前认为它也是一种类固醇激素。主要包括 VD_2 (麦角钙化醇 ergocalciferol) 及 VD_3 (胆钙化醇 cholecalciferol)。

体内可由胆固醇变为 7-脱氢胆固醇, 储存在皮下, 在阳光及紫外线作用下再转变成 VD_3 , 因而称 7-脱氢胆固醇为维生素 D_3 原。在酵母和植物油中有不能被人吸收的麦角固醇, 在阳光及紫外线照射下可转变为能被人吸收的 VD_2 , 所以称麦角固醇为 D_2 原。

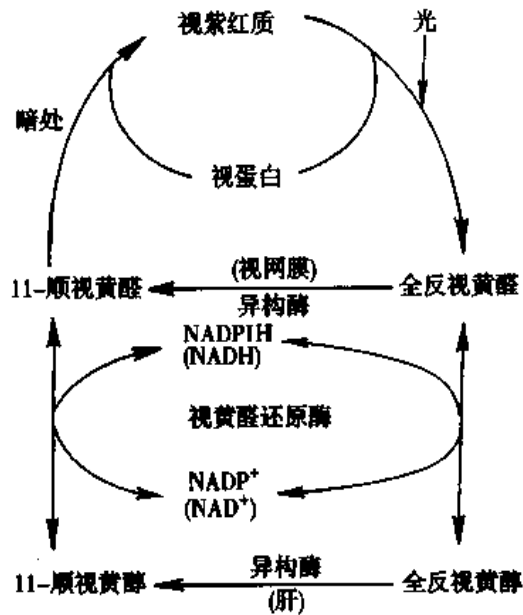


图 19-1 视紫红质的合成、分解与视黄醛的关系

1. 维生素 E 是体内最重要的抗氧化剂，能避免脂质过氧化物的产生，保护生物膜的结构与功能。机体内的自由基具有强氧化性，如超氧阴离子自由基(O_2^-)、过氧化物自由基($ROO\cdot$)及羟基自由基($OH\cdot$)等。维生素 E 的作用在于捕捉自由基形成生育酚自由基，生育酚自由基又可进一步与另一自由基反应生成非自由基产物——生育醌。

硒作为谷胱甘肽过氧化酶的必需因子，通常认为是对抗过氧化作用的第二道防线。维生素 E 与硒在此抗氧化过程中协同发挥作用。

2. 维生素 E 俗称生育酚，动物缺乏维生素 E 时其生殖器官发育受损甚至不育，但人类尚未发现因维生素 E 缺乏所致的不育症。临床上常用维生素 E 来治疗先兆流产及习惯性流产。

3. 促进血红素代谢。新生儿缺乏维生素 E 时可引起贫血，这可能与血红蛋白合成减少及红细胞寿命缩短有关。维生素 E 能提高血红素合成过程中的关键酶 δ 氨基 γ 酮戊酸(ALA)合成酶及 ALA 脱水酶的活性，促进血红素合成。所以孕妇及哺乳期的妇女及新生儿应注意补充维生素 E。正常成人每日对维生素 E 的需要量为 8~12 α 生育酚当量(α -tocopherol equivalents, α -TE, 1 α -TE = 1mg α 生育酚)。维生素 E 一般不易缺乏，在某些脂肪吸收障碍等疾病时可引起缺乏，表现为红细胞数量减少，寿命缩短，体外实验可见红细胞脆性增加等贫血症，偶可引起神经障碍。

四、维生素 K

(一) 化学本质及性质

维生素 K 又称凝血维生素，临床上应用的为人工合成的 K_3 、 K_4 ，溶于水，可口服及注射。

维生素 K 的吸收主要在小肠，经淋巴吸收入血，在血液中随 β -脂蛋白转运至肝储存。

(二) 生化作用及缺乏症

维生素 K 的主要生化作用是维持体内的第 II、VII、IX、X 凝血因子在正常水平。这些凝血因子由无活性型向活性型的转变需要前体的 10 个谷氨酸残基(Glu)经羧化变为 γ -羧基谷氨酸(Gla)。Gla 具有很强的整合 Ca^{2+} 能力，因而使其转变为活性型。催化这一反应的为 γ -羧化酶，维生素 K 为该酶的辅助因子。

成人每日对维生素 K 的需要量为 60~80 μ g，因维生素 K 广泛地分布于动、植物，且体内肠道中的细菌也能合成，一般不易缺乏。但因维生素 K 不能通过胎盘，出生后肠道内又无细菌，所以新生儿有可能引起维生素 K 的缺乏。在正常小儿血液中的维生素 K 也可能稍低，但进食可使其恢复正常。维生素 K 缺乏的主要症状是易出血。引起缺乏的原因不外乎胰腺疾病、胆管疾病及小肠粘膜萎缩或脂肪便等。长期应用抗生素及肠道灭菌药也可引起维生素 K 缺乏。

第二节 水溶性维生素

水溶性维生素包括 B 族维生素和维生素 C。水溶性维生素体内过剩的部分均可由尿

排出体外，因而在体内很少蓄积，也不会因此而发生中毒。又因为在体内的储存很少，所以必须经常从食物中摄取。

一、维生素 B₁

(一) 化学本质及性质

维生素 B₁ 又名硫胺素(thiamine)，为白色结晶，在有氧化剂存在时易被氧化产生脱氢硫胺素，后者在有紫外光照射时呈蓝色荧光。可利用这一性质进行定性和定量分析。体内的活性型为焦磷酸硫胺素(thiamine pyrophosphate, TPP)。

(二) 生化作用及缺乏症

维生素 B₁ 易被小肠吸收，入血后主要在肝及脑组织中经硫胺素焦磷酸激酶作用生成 TPP。TPP 是 α -酮酸氧化脱羧酶的辅酶。TPP 在噻唑环上硫和氮之间的碳原子十分活泼，易释放 H⁺ 形成具有催化功能的亲核基团——TPP 负离子，也就是负碳离子(carbanion)。负碳离子可与 α 酮酸羧基结合使 α 酮酸脱羧，释放出 CO₂。维生素 B₁ 缺乏时，代谢中间产物 α 酮酸氧化脱羧反应发生障碍，血中丙酮酸发生堆积。在神经组织中，正常情况下主要靠糖的有氧分解供能，此时由于供能不足，还可影响神经细胞膜髓鞘磷脂合成，导致末梢神经炎及其他神经病变。

TPP 也是转酮醇酶的辅酶。维生素 B₁ 缺乏时，磷酸戊糖代谢障碍，使核酸合成及神经髓鞘中磷酸戊糖代谢受到影响。

维生素 B₁ 在神经传导中起一定作用。TPP 参与乙酰胆碱的合成，体内乙酰胆碱是由乙酰辅酶 A 与胆碱合成。乙酰辅酶 A 主要来自于丙酮酸的氧化脱羧反应，维生素 B₁ 缺乏时，使丙酮酸氧化脱羧反应受阻的同时，由于对胆碱酯酶抑制过程的减弱，使乙酰胆碱分解加强，导致神经传导受到影响。主要表现为消化液分泌减少，胃蠕动变慢，食欲不振，消化不良等。

维生素 B₁ 主要存在于种子外皮及胚芽中，加工过于精细的谷物可造成其大量丢失，维生素 B₁ 的需要量正常成人每日为 1.0~1.5mg。测定红细胞中的转酮醇酶的活性，尿中硫胺素与血中硫胺素的浓度可判定 B₁ 是否缺乏。

维生素 B₁ 缺乏时可引起“脚气病”，主要发生在高糖饮食及食用高度精细加工的米、面时。此外因慢性酒精中毒而不能摄入其他食物时也可发生维生素 B₁ 缺乏，初期表现为末梢神经炎、食欲减退等，进而可发生浮肿、神经肌肉变性等。

二、维生素 B₂

(一) 化学本质及性质

维生素 B₂ 又名核黄素(riboflavin)。它的异咯嗪环上的第 1 及第 10 位氮原子与活泼的双键连接，此 2 个氮原子可反复接受或释放氢，因而具有可逆的氧化还原性。

维生素 B₂ 分布很广，从食物中被吸收后在小肠粘膜的黄素激酶的作用下可转变成黄素单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN)，在体细胞内还可进一步在焦磷酸化酶的催化下生成黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)，FMN 及 FAD 为其活性型。

(二) 生化作用及缺乏症

FMN 及 FAD 是体内氧化还原酶的辅基，如：琥珀酸脱氢酶、黄嘌呤氧化酶及 NADH 脱氢酶等，主要起氢传递体的作用。

人类维生素 B₂ 缺乏时，可引起口角炎、唇炎、阴囊炎、眼睑炎、羞明等症。成人每日需要量为 1.2~1.5mg，常用红细胞中的谷胱甘肽还原酶活性来检查体内维生素 B₂ 的含量。

三、维生素 PP

(一) 化学本质及性质

维生素 PP 又名抗癞皮病因子，包括尼克酸(nicotinic acid)及尼克酰胺(nicotinamide)，在体内可相互转化。维生素 PP 广泛存在于自然界，肝内能将色氨酸转变成维生素 PP，但转变率较低，为 1/60，即 60mg 色氨酸仅能转变成 1mg 尼克酸。因色氨酸为必需氨基酸，所以人体的维生素 PP 主要从食物中摄取。

在体内尼克酸可经几步连续的酶促反应与核糖、磷酸、腺嘌呤组成脱氢酶的辅酶，主要包括尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD⁺)和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP⁺)，它们也是维生素 PP 在体内的活性型。

(二) 生化作用及缺乏症

NAD⁺ 和 NADP⁺ 在体内是多种不需氧脱氢酶的辅酶，分子中的尼克酰胺部分具有可逆的加氢及脱氢的特性。

人类维生素 PP 缺乏症称为癞皮症(pellagra)，主要表现是皮炎、腹泻及痴呆。皮炎常呈对称性，并出现于暴露部位；痴呆是因神经组织变性的结果。

服用过量尼克酸时(每日 2~4g)很快会引起血管扩张、脸颊潮红、痤疮及胃肠不适等症，而且长期大量服用可能对肝有损害。抗结核药物异烟肼的结构与维生素 PP 十分相似，二者有拮抗作用，长期服用可能引起维生素 PP 缺乏。

最近尼克酸临床用来作为降胆固醇的药物，尼克酸能抑制脂肪组织的脂肪分解，从而抑制 FFA 的动员，可使肝中 VLDL 的合成下降，而起到降胆固醇的作用。

四、维生素 B₆

(一) 化学本质及性质

维生素 B₆ 包括吡哆醇(pyridoxine)、吡哆醛(pyridoxal)及吡哆胺(pyridoxamine)，在体内以磷酸酯的形式存在。磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺可相互转变，均为活性型(图 19-3)。

(二) 生化作用及缺乏症

磷酸吡哆醛是氨基酸代谢中的转氨酶及脱羧酶的辅酶，能促进谷氨酸脱羧，增进 γ -氨基丁酸的生成， γ -氨基丁酸是一种抑制性神经递质。临床上常用维生素 B₆ 对小儿惊厥及妊娠呕吐进行治疗。

磷酸吡哆醛是 δ -氨基 γ -酮戊酸(ALA)合成酶的辅酶，而 ALA 合成酶是血红蛋白合成的限速酶。所以，维生素 B₆ 缺乏时有可能造成低血色素小细胞性贫血和血清铁增高。

磷酸吡哆醛作为糖原磷酸化酶的重要组成部分，参与糖原分解为 1-磷酸葡萄糖的过程。肌磷酸化酶所含的维生素 B₆ 约占全身维生素 B₆ 的 70%~80%。

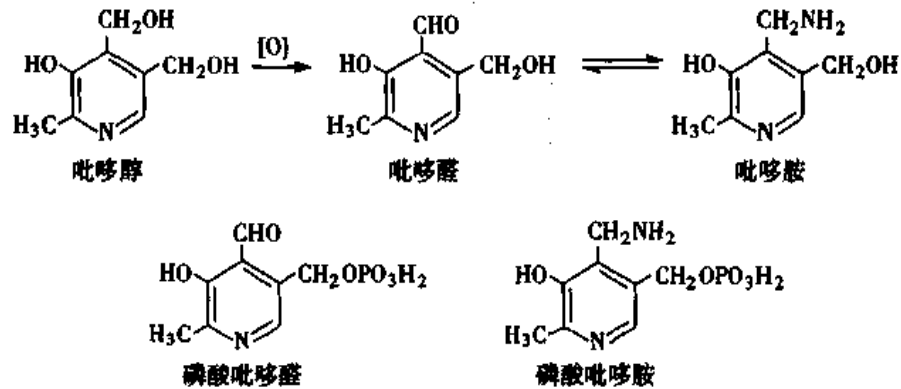


图 19-3 三种维生素 B₆ 的转化及其磷酸酯

人类未发现维生素 B₆ 缺乏的典型病例。异烟肼能与磷酸吡哆醛结合，使其失去辅酶的作用，所以在服用异烟肼时，应补充维生素 B₆。

五、泛 酸

(一) 化学本质及性质

泛酸(pantothenic acid)又称遍多酸。泛酸在肠内被吸收进入人体后，经磷酸化并获得巯基乙胺而生成 4-磷酸泛酰巯基乙胺。4-磷酸泛酰巯基乙胺是辅酶 A (CoA) 及酰基载体蛋白(acyl carrier protein, ACP)的组成部分，所以 CoA 及 ACP 为泛酸在体内的活性型。

(二) 生化作用及缺乏症

在体内 CoA 及 ACP 构成酰基转移酶的辅酶，广泛参与糖、脂类、蛋白质代谢及肝的生物转化作用，约有 70 多种酶需 CoA 及 ACP。

因泛酸广泛存在于生物界，所以很少见泛酸缺乏症，但在二战时的远东战俘中曾有“脚灼热综合征”，为泛酸缺乏所致。

六、生 物 素

(一) 化学本质及性质

生物素(biotin)为无色针状结晶体，耐酸而不耐碱，氧化剂及高温可使其失活。

(二) 生化作用及缺乏症

生物素是体内多种羧化酶的辅酶，如丙酮酸羧化酶等，参与 CO₂ 的羧化过程。在组织内生物素的分子侧链中，戊酸的羧基与酶蛋白分子中的赖氨酸残基上的 ε-氨基通过酰胺键牢固结合，形成羧基生物素-酶复合物，又称生物胞素(biocytin)。

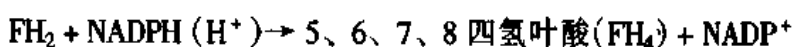
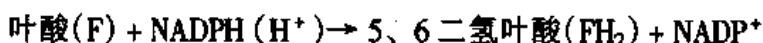
生物胞素可将活化的羧基转移给酶的相应作用物。生物素来源极广泛，人体肠道细菌也能合成，很少出现缺乏症。新鲜鸡蛋中有一种抗生物素蛋白(avidin)，它能与生物素结合使其失去活性并不被吸收，蛋清加热后这种蛋白便被破坏，也就不再妨碍生物素的吸收。长期使用抗生素可抑制肠道细菌生长，也可能造成生物素的缺乏，主要症状是疲乏、恶心、呕吐、食欲不振、皮炎及脱屑性红皮病。

七、叶 酸

(一) 化学本质及性质

叶酸(folic acid)因绿叶中含量十分丰富而得名, 又称蝶酰谷氨酸。动物细胞不能合成对氨基苯甲酸, 也不能将谷氨酸接到蝶酸上去, 所以动物所需的叶酸需从食物中供给。植物中的叶酸含7个谷氨酸, 肝中的叶酸一般为5个谷氨酸残基, 谷氨酸之间是以 γ -羧基和 α -氨基连接形成的 γ 多肽。

食物中的蝶酰多谷氨酸能被小肠粘膜上皮细胞分泌的蝶酰-L-谷氨酸羧基肽酶水解, 生成蝶酰单谷氨酸及谷氨酸。叶酸在小肠上段易被吸收, 在十二指肠及空肠上皮粘膜细胞含叶酸还原酶(辅酶为NADPH), 在该酶的作用下可转变成叶酸的活性型四氢叶酸:



(二) 生化作用及缺乏症

FH₄是体内一碳单位转移酶的辅酶, 分子内部N₅、N₁₀2个氮原子能携带一碳单位。一碳单位在体内参加多种物质的合成, 如嘌呤、胸腺嘧啶核苷酸等。当叶酸缺乏时, DNA合成必然受到抑制, 骨髓幼红细胞DNA合成减少, 细胞分裂速度降低, 细胞体积变大, 造成巨幼红细胞贫血。

叶酸在肉及水果、蔬菜中含量较多, 肠道的细菌也能合成, 所以一般不发生缺乏症。孕妇及哺乳期快速分裂细胞增加或因生乳而致代谢较旺盛, 应适量补充叶酸。口服避孕或抗惊厥药物能干扰叶酸的吸收及代谢, 如长期服用此类药物时应考虑补充叶酸。

抗癌药物甲氨蝶呤因结构与叶酸相似, 它能抑制二氢叶酸还原酶的活性, 使四氢叶酸合成减少, 进而抑制体内胸腺嘧啶核苷酸的合成, 因此有抗癌作用。

八、维 生 素 B₁₂

(一) 化学本质及性质

维生素B₁₂又称钴胺素(cobalamin), 是唯一含金属元素的维生素。维生素B₁₂在体内因结合的基团不同, 可有多种形式存在, 如氰钴胺素、羟钴胺素、甲钴胺素和5'-脱氧腺苷钴胺素, 后两者是维生素B₁₂的活性型, 也是血液中存在的主要形式。

(二) 生化作用及缺乏症

食物中的维生素B₁₂常与蛋白质相结合而存在, 在胃中要经酸或在肠内经胰蛋白酶作用与蛋白分开, 然后需要一种由胃粘膜细胞分泌的内因子(intrinsic factor, IF)的协助, 才能在回肠被吸收。IF为一种糖蛋白, 分子量为50kD, 每分子能结合一个分子的B₁₂, B₁₂与IF的结合物通过小肠粘膜时, B₁₂与IF分开, 再与一种称之为转钴胺素II(transcobalamin II, TCII)的蛋白结合存在于血液中。B₁₂-TCII复合物需与细胞表面受体结合, 才能进入细胞, 在细胞内转变成羟钴胺素、甲基钴胺素或进入线粒体转变成5'-脱氧腺苷钴胺素。肝内还有一种转钴胺素I(transcobalamin, TCI), B₁₂与TCI结合后而贮存于肝内。

体内的B₁₂参与同型半胱氨酸甲基化生成蛋氨酸的反应, 催化这一反应的蛋氨酸合

成酶(又称甲基转移酶)的辅基是 B_{12} ，它参与甲基的转移。 B_{12} 缺乏时， $N^5\text{-CH}_3\text{FH}_4$ 上的甲基不能转移，这一反应具有双重意义，一是不仅不利于蛋氨酸的生成，同时也影响四氢叶酸的再生，使组织中的游离的四氢叶酸含量减少，不能重新利用它来转运其他的一碳单位，影响嘌呤、嘧啶的合成，最终导致核酸合成障碍，影响细胞分裂，结果产生巨幼红细胞性贫血(megaloblastic anemia)，也即恶性贫血。同型半胱氨酸的堆积可造成同型半胱氨酸尿症。 $5'$ -脱氧腺苷钴胺素是 L-甲基丙二酰 CoA 变位酶的辅酶，催化琥珀酰 4-磷酸泛酰巯基乙胺 CoA 的生成。当 B_{12} 缺乏时，L-甲基丙二酰 CoA 大量堆积，因 L-甲基丙二酰 CoA 的结构与脂肪酸合成的中间产物丙二酰 CoA 相似，所以影响脂肪酸的正常合成。 B_{12} 缺乏所致的神经疾患也是由于脂肪酸的合成异常而影响了髓鞘的转换，结果髓鞘变性退化，造成进行性脱髓鞘。

B_{12} 广泛存在于动物食品中，食用正常膳食者，很难发生缺乏症，但偶见于有严重吸收障碍疾患的病人及长期素食者。

九、维生素 C

(一) 化学本质及性质

维生素 C 又称 L-抗坏血酸(ascorbic acid)。分子中 C2 及 C3 位上的两个相邻的烯醇式羟基极易分解释放 H^+ ，因而呈酸性，又因其为烯醇式结构，C2 及 C3 位羟基上 2 个氢原子可以全部脱去而生成脱氢抗坏血酸，后者在有供氢体存在时，又能接受 2 个氢原子再转变为抗坏血酸。

脱氢抗坏血酸还可水解成为无活性的 L-二酮古洛糖酸。L-抗坏血酸为天然生理活性型。L-脱氢抗坏血酸虽然也具有生理意义，然而在血液中以前者为主，后者仅为前者的 1/15。维生素 C 为片状晶体，具有强还原性。

人体不能合成维生素 C，维生素 C 广泛存在于新鲜蔬菜及水果中，植物中含有的抗坏血酸氧化酶能将维生素 C 氧化为无活性的二酮古洛糖酸，所以储存久的水果、蔬菜中的维生素 C 的含量会大量减少。干种子中虽然不含有维生素 C，但一发芽便可合成，所以豆芽等是维生素 C 的重要来源。

(二) 生化作用及缺乏症

1. 促进胶原蛋白的合成：维生素 C 是胶原脯氨酸羟化酶及胶原赖氨酸羟化酶维持活性所必需的辅助因子，体内的结缔组织、骨及毛细血管的重要构成成分也离不开胶原。在创伤愈合时，结缔组织的生成是其前提，所以维生素 C 对创伤的愈合是不可缺少的，如果缺乏必然会导致牙齿易松动，毛细血管破裂及创伤不易愈合等。

2. 体内的胆固醇正常时有 40% 要转变成胆汁酸。维生素 C 是催化胆固醇转变成 7- α 羟胆固醇反应的 7- α 羟化酶的辅酶。

3. 肾上腺皮质含有大量维生素 C。在肾上腺皮质激素合成加强、或用肾上腺皮质激素来刺激肾上腺时，其中维生素 C 的含量显著下降。

4. 维生素 C 参与芳香族氨基酸的代谢。在苯丙氨酸转变为酪氨酸，酪氨酸转变为对羟苯丙酮酸及尿黑酸的反应中，都需维生素 C。维生素 C 缺乏时，尿中大量出现对羟苯丙酮酸。维生素 C 还参与酪氨酸转变为儿茶酚胺、色氨酸转变为 5-羟色胺等反应。

5. 有维生素 C 存在下, 铁的吸收增加明显。

6. 维生素 C 参与体内氧化还原反应。

(1) 维生素 C 能起到保护巯基的作用, 它能使巯基酶的-SH 维持还原状态。维生素 C 也可在谷胱甘肽还原酶作用下, 促使氧化型(G-S-S-G)还原为还原型谷胱甘肽(G-SH) (图 19-4)。还原型 G-SH 能使细胞膜的脂质过氧化物还原, 起保护细胞膜的作用。

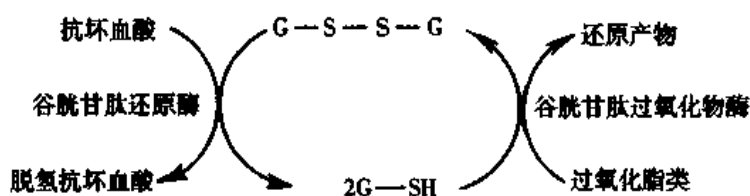


图 19-4 维生素 C 保护巯基的作用

(2) 维生素 C 能使红细胞中的高铁血红蛋白(MHb)还原为血红蛋白(Hb), 使其恢复对氧的运输。

(3) 维生素 C 能保护维生素 A、E 及 B 免遭氧化, 还能促使叶酸转变成为有活性的四氢叶酸。我国建议成人每日的需要量为 60mg。维生素 C 缺乏时可患坏血病, 主要为胶原蛋白合成障碍所致, 可出现皮下出血、肌肉脆弱等症。正常状态下因体内可储存有维生素 C, 坏血病的病状在维生素 C 缺乏后 3~4 个月才能出现。

十、α 硫辛酸

α 硫辛酸(lipoic acid)的结构是 6, 8 二硫辛酸, 能还原为二氢硫辛酸, 为硫辛酸乙酰转移酶的辅酶。

α 硫辛酸有抗脂肪肝和降低血胆固醇的作用。另外, 它很容易进行氧化还原反应, 故可保护巯基酶免受重金属离子的毒害。

目前, 尚未发现人类有硫辛酸的缺乏症。

第三节 微量元素

微量元素是指人体中每人每日的需要量在 100mg 以下的元素, 主要包括有铁、碘、铜、锌、锰、硒、氟、钼、钴、铬等 10 种。虽然所需甚微, 但生理作用却十分重要。

一、铁

体内含量、需要量及分布 铁在微量元素中是体内含量最多的一种, 约占体重的 0.0057%, 成年男人平均含铁量约为每 kg 体重 50mg, 而女性略低, 约为每 kg 体重 30mg。体内的铁约 75%左右存在于铁卟啉化合物中, 约 25%左右存在于非铁卟啉类含铁化合物中, 主要有含铁的黄素蛋白、铁硫蛋白、运铁蛋白等。成年男人及绝经后的妇女每日约需铁 1mg, 经期妇女每日失铁约 1mg, 妊娠期妇女每日需要量约为 3.6mg。

铁的吸收 铁的吸收部位主要在十二指肠及空肠上段。无机铁以 Fe^{2+} 形式吸收， Fe^{3+} 很难吸收，络合物的铁的吸收大于无机铁，凡能将 Fe^{3+} 还原为 Fe^{2+} 的物质如谷胱甘肽及能与铁离子络合的物质(如氨基酸、柠檬酸、苹果酸等)均有利于铁的吸收。因而，临床上常用硫酸亚铁、柠檬酸铁铵、富马酸铁(Fe^{2+} 与延胡索酸的络合物)等作为口服补铁药剂。

铁在体内的运输 在血液中铁与运铁蛋白(transferrin, Tf)结合而运输，而在肝内含有的特殊载体，与 Tf 结合的是 Fe^{3+} ，正常人血清 Tf 的浓度为 200-300mg/dl。

铁是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素系统、电子传递链主要的复合物、过氧化物酶及过氧化氢酶等的重要组成部分，因而铁缺乏时可导致贫血。

二、碘

成人体内含碘 20~50mg，其中大部分(15mg)集中在甲状腺内，供合成甲状腺素。按国际上推荐的标准，成人每日需碘 100~300mg，儿童则按每日每 kg 体重 $1\mu\text{g}$ 计算。碘的吸收部位主要在小肠，吸收后的碘有 70%~80% 被摄入甲状腺细胞内贮存、利用。机体在碘的利用、更新的同时，每日约有相当于肠道吸收量的碘排出，主要排出途径为尿碘，约占总排泄量的 85%，其他是由汗腺排出。

碘在人体内的主要作用是参与甲状腺素的组成，因适量的甲状腺素有促进蛋白质合成、加速机体生长发育、调节能量的转换、利用和稳定中枢神经系统的结构和功能等重要作用，故碘对人体的功能极其重要。缺碘可引起地方性甲状腺肿，严重可致发育停滞、痴呆，如胎儿期缺碘可致呆小病；若摄入碘过分又可致高碘性甲状腺肿，表现为甲状腺功能亢进及一些中毒症状。

三、铜

铜在成人体内含量约为 100~150mg，肌肉中约占 50%，10% 存在于肝。肝中铜的含量可反映体内的营养及平衡状况。按国际上的推荐量成人每日每 kg 体重约需 0.5~2.0mg 铜，婴儿和儿童每日每 kg 体重需铜 0.5~1mg，孕妇和成长期的青少年可略有增加。铜主要在十二指肠吸收，铜的吸收受血浆铜蓝蛋白的调控，血浆铜蓝蛋白减少时，吸收便增加。

铜是体内多种酶的辅基，如细胞色素氧化酶等，铜离子在将电子传递给氧的过程中是不可缺少的。此外单胺氧化酶、超氧化物歧化酶等都是含铜的酶。铜蓝蛋白可催化 Fe^{2+} 氧化成 Fe^{3+} ，在血浆中转化为运铁蛋白。铜缺乏时，会影响一些酶的活性，如细胞色素氧化酶活性下降可导致能量代谢障碍，可表现一些神经症状，铜缺乏也可导致 Hb 合成障碍，引起贫血。

铜虽是体内不可缺少的元素，但摄入过多也会引起中毒现象，如蓝绿粪便、唾液，以及行动障碍等。

四、锌

成人体内含锌量约为 2~3g，成人每日需锌 15~20mg。锌主要在小肠吸收，入血后

与清蛋白或运铁蛋白结合而运输。小肠内有金属结合蛋白类物质能与锌结合，调节锌的吸收。某些地区的谷物中含有较多的 6-磷酸肌醇，该物能与锌形成不溶性复合物，影响锌的吸收。血锌浓度约为 0.1~0.15mmol/L，体内的锌主要经粪、尿、汗、乳汁等排泄。

锌在体内与 80 多种酶的活性有关，如碳酸酐酶、DNA、RNA 聚合酶等，许多蛋白质如反式作用因子、类固醇激素及甲状腺素的受体的 DNA 结合区，都有锌参与形成的锌指结构，在转录调控中起重要的作用。故缺锌必然会引起机体代谢紊乱。“伊朗乡村病”就是因食物中含较多的 6-磷酸肌醇，影响锌的吸收而导致的缺锌疾病。

五、钴

体内的钴主要以 B₁₂ 的形式发挥作用，正常成人每日摄取钴约 300μg，人体对钴的最小需要量为 1μg，从食物中摄入的钴必须在肠内经细菌合成维生素 B₁₂ 后才能被吸收利用。据国际上 WHO 推荐成人男性及青少年每天需维生素 B₁₂ 2μg，乳母约为 2.5~3μg。钴主要在十二指肠及回肠末端吸收，主要从尿中排泄。B₁₂ 的缺乏可引起巨幼红细胞性贫血。由于人体排钴能力强，很少有钴蓄积的现象发生。

六、锰

正常人体内含锰约 12~20mg。成人每日需 2.5~7mg，儿童要按每日每 kg 体重 0.3μg 计算。锰主要从小肠吸收，入血后大部分与血浆中 β₁-球蛋白(运锰蛋白)结合而运输。排泄则主要从肠道。

体内锰主要为多种酶的组成成分及活性剂，如 RNA 聚合酶、超氧化物歧化酶等。缺锰时生长发育会受到影响。工业生产上引起的锰中毒也有报道，且无治疗良方，应加以预防。

七、硒

人体含硒约为 14~21mg，我国学者认为成人每人每日应在 30~50μg。硒在十二指肠吸收，入血后与 α 及 β 球蛋白结合，小部分与极低密度脂蛋白结合而运输，主要随尿及汗液排泄。

硒主要作为谷胱甘肽过氧化物酶的活性中心的一部分。每分子该酶可与 4 个硒原子结合，GSH-Px 催化 2 分子 GSH 氧化生成 GSSG，同时利用 H₂O₂ 使有毒的过氧化物还原成相对无毒的羟化物，保护细胞膜；硒还可加强维生素 E 的抗氧化作用，硒还参与辅酶 Q 和辅酶 A 的合成。国内学者认为大骨节病及克山病可能与缺硒有关，硒过多也会引起中毒症状。

八、氟

成人体内含氟约 2.6g，分布于骨、牙、指甲、毛发及神经肌肉中。氟的生理需要量每人每日为 0.5~1.0mg。氟主要从胃肠和呼吸道吸收，入血后与球蛋白结合，小部分以氟化物形式运输，血中氟含量约为 20μmol/L。氟主要从尿中排泄。

氟与骨、牙的形成与钙磷代谢密切相关。缺氟可致骨质疏松，易发生骨折。氟过多

也可引起多方面的代谢障碍，也可引起骨脱钙及对细胞、肾上腺、生殖腺等组织的功能有影响。

小 结

维生素是人体正常生活所必需的一类小分子营养物质，机体不能合成，或合成量不足，必须靠食物供给；缺乏时会发生维生素缺乏病，根据其溶解性质可分为脂溶性维生素和水溶性维生素两大类。

脂溶性维生素的特点是：都是亲脂性的非极性分子或者衍生物，可伴随脂类的吸收而被吸收，若脂类吸收障碍就易产生缺乏症。维生素 A 动物性食物中较多，β胡萝卜素存在于多种植物中。视黄醇的衍生物视黄醛和视黄酸分别用于视色素和糖蛋白合成。维生素 D 是类固醇激素前体， $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ 是其活性型，可调节钙、磷代谢，缺乏则导致骨软化。维生素 E 是体内最重要的抗氧化剂，在细胞膜脂相起作用。维生素 K 是几种凝血因子合成所必需的，它的功能是作为羧化酶的辅助因子参与凝血因子前体转变为活性凝血因子的羧化反应。双羟香豆素是维生素 K 的拮抗性药物。除维生素 C 外，水溶性维生素均属 B 族维生素，以辅酶形式而发挥作用。硫胺素是 α 酮酸氧化脱羧酶及磷酸戊糖途径中重要的酶——转酮醇酶的辅酶。核黄素和尼克酸分别是氧化还原反应中重要的辅酶。FMN 和 FAD 为黄素蛋白酶的辅基。而 NAD^+ 和 NADP^+ 为许多种脱氢酶的辅助因子。泛酸存在于辅酶 A 和 ACP 中，ACP 的作用是在许多重要的反应中携带脂酰基。磷酸吡哆醛是氨基酸代谢中转氨基作用中几种酶的辅酶。生物素为羧化酶的辅酶，其中有乙酰辅酶 A 羧化酶、脂肪合成中的限速酶和糖异生作用中很重要的丙酮酸羧化酶。在核酸合成中，维生素 B_{12} 和叶酸各有其功能。抗坏血酸是一种抗氧化剂。食物中的水溶性维生素不足可诱发综合的缺乏症状；单一维生素不足导致特征性缺乏症状。

各种维生素的基本性质见表 19-1。

表 19-1 各种维生素一览表

名 称	富含食物	主要功能	活性形式	日需要量	缺 乏 症
维生素 A (视黄醇)	肝、蛋黄、牛奶、绿叶蔬菜、胡萝卜、玉米等	1. 构成视紫红质 2. 维持上皮组织结构的完整 3. 促进生长发育	11-顺视黄醛、视黄醇、视黄酸	80μg (2 600IU)	夜盲症 干眼病 皮肤干燥 毛囊丘疹
维生素 D (钙化醇)	肝、蛋黄、牛奶、鱼肝油	1. 调节钙、磷代谢促进钙、磷吸收 2. 促进骨盐代谢与骨的正常生长	$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$	5~10μg (200~400IU)	佝偻病(儿童) 软骨病(成人)
维生素 E (生育酚)	植物油	1. 抗氧化作用，保护生物膜 2. 维持生殖机能 3. 促红细胞合成	生育酚	8~10mg	人类未发现缺乏症 临床用于治疗习惯性流产

续表

名称	富含食物	主要功能	活性形式	日需要量	缺乏症
维生素 K (凝血维生素)	肝、绿色蔬菜	促进肝合成凝血因子	2-甲基 1, 4 萘醌	60~80 μ g	皮下出血、肌肉及胃肠道出血
维生素 B ₁ (硫胺素)	酵母、豆、瘦肉、谷类外壳皮及胚芽	1. α -酮酸氧化脱羧酶辅酶 2. 抑制胆碱酯酶活性 3. 转酮基反应	TPP	1.2~1.5mg	脚气病、末梢神经炎
维生素 B ₂ (核黄素)	肝、蛋黄、牛奶、绿色蔬菜	构成黄酶的辅酶成分参与体内生物氧化体系	FMN FAD	1.2~1.5mg	口角炎、舌炎、唇炎、阴囊炎
维生素 PP	中 酵母	构成脱氢酶成分	NAD ⁺	15~20mg	癞皮症

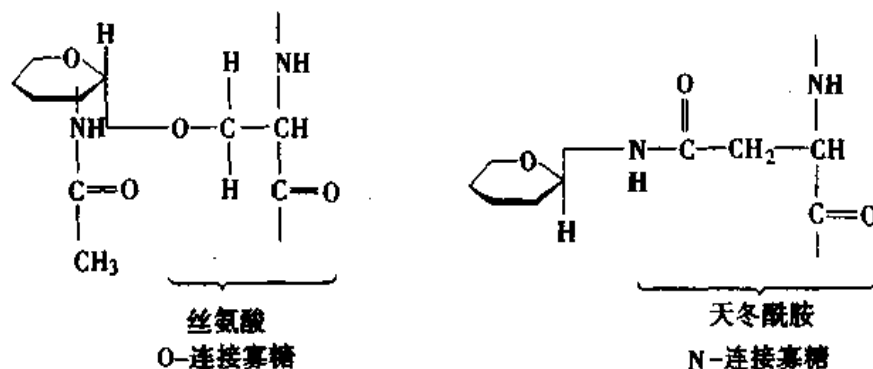
第二十章 糖蛋白、蛋白聚糖和细胞外基质

大多数真核细胞都能合成一定类型的糖蛋白(glycoprotein)和蛋白聚糖(proteoglycan), 它们分布于细胞表面、细胞内分泌颗粒和细胞核内, 也可被分泌出细胞, 构成细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分。糖蛋白和蛋白聚糖都由共价键相连接的蛋白质和糖两部分组成。但一般讲, 糖蛋白分子中的蛋白质重量百分比大于糖, 而蛋白聚糖中多糖链所占重量在一半以上, 甚至高达 95%, 两者的糖链结构也迥然不同。因此糖蛋白和蛋白聚糖在合成途径和功能上存在显著差异。

第一节 糖 蛋 白

一、糖蛋白的结构

组成糖蛋白分子中糖链的单糖有 7 种: 葡萄糖、半乳糖(galactose, Gal)、甘露糖(mannose, Man)、N-乙酰半乳糖胺(N-acetylgalactosamine, GalNAc)、N-乙酰葡萄糖胺(N-acetylglucosamine, GlcNAc)、岩藻糖(fucose, Fuc)和 N-乙酰神经氨酸(N-acetylneuraminic acid, NeuAc)。由这些单糖构成各种各样的寡糖可经两种方式与蛋白部分连接, 即 N-连接寡糖(N-linked oligosaccharide)和 O-连接寡糖(O-linked oligosaccharide), 因此糖蛋白也相应分成 N-连接糖蛋白和 O-连接糖蛋白。



(一) N-连接糖蛋白

1. 糖基化位点 寡糖中的 N-乙酰葡萄糖胺与多肽链中天冬酰胺残基的酰胺氮连接, 形成 N-连接糖蛋白。但是并非糖蛋白分子中所有天冬酰胺残基都可连接寡糖。只有特定的氨基酸序列, 即 Asn-X-Ser/Thr (其中 X 可以是脯氨酸以外的任何氨基酸) 3 个氨基酸残基组成的序列子(sequence)才有可能, 这一序列子被称为糖基化位点。1 个糖蛋白分子可存在若干个 Asn-X-Ser/Thr 序列子, 这些序列子只能视为潜在糖基化位点, 能否连

接上寡糖还取决于周围的立体结构。

2.N-连接寡糖结构 N-连接寡糖可分为三型：①高甘露糖型 [图 20-1 (1)]；②复杂型 [图 20-1 (2)]；③杂合型 [图 20-1 (3)]。这三型 N-连接寡糖都有一个五糖核心 (图 20-1)。高甘露糖型在核心五糖上连接了 2~9 个甘露糖，复杂型在核心五糖上可连接 2、3、4 或 5 个分支糖链，宛如天线状，天线末端常连有 N-乙酰神经氨酸。杂合型则兼有二者的结构。

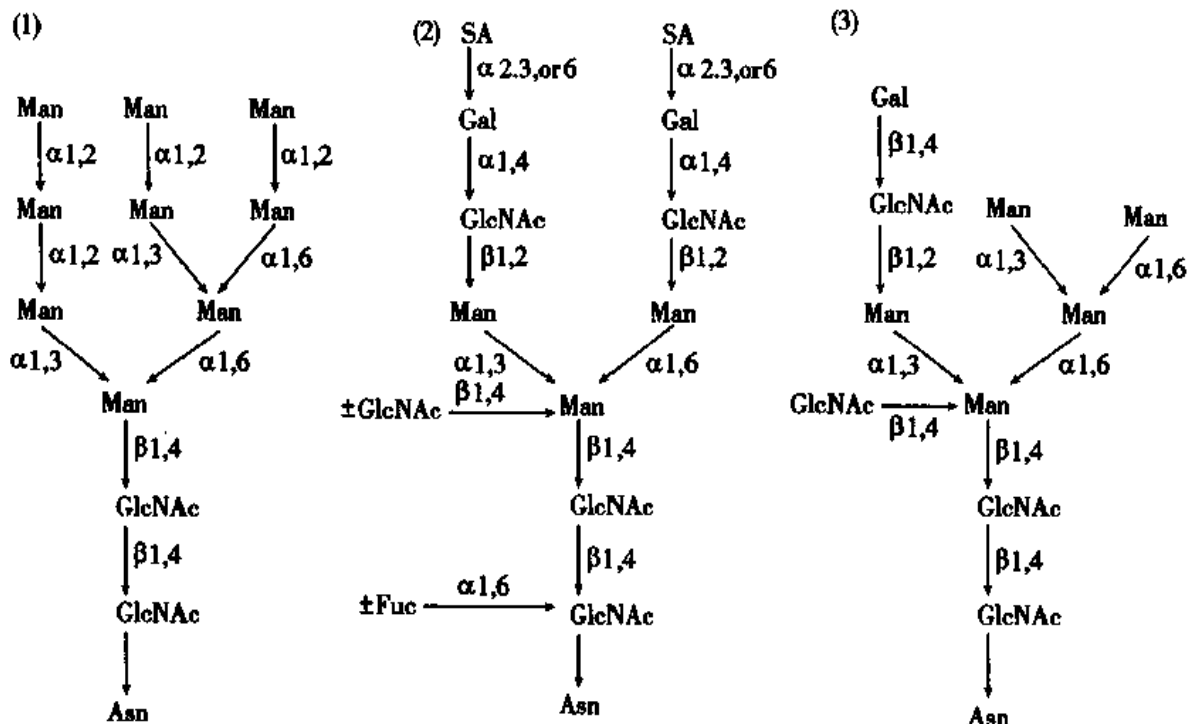


图 20-1 N-连接寡糖

Man: 甘露糖 GlcNAc: N-乙酰葡萄糖胺 SA: 唾液酸

Gal: 半乳糖 Fuc: 岩藻糖 Asn: 天冬氨酸 \pm : 为可有可无之糖基

3.N-连接寡糖的合成 N-连接寡糖的合成场所是在粗面内质网和高尔基体中，可与蛋白质肽链的合成同时进行。在内质网上以长萜醇(dolichol)作为糖链载体，在糖基转移酶的作用下先将 UDPGlcNAc 分子中的 GlcNAc 转移至长萜醇，然后再逐个加上糖基，糖基必须活化成 UDP 或 GDP 的衍生物，才能作为糖基供体底物参与反应。每一步反应都有特异性的糖基转移酶催化，直至形成含有 14 个糖基的长萜醇焦磷酸寡糖结构，其中含 14 个糖基的寡糖作为一个整体被转移至肽链的糖基化位点中的天冬酰胺的酰胺氮上 (图 20-2)。然后寡糖链依次在内质网和高尔基体进行加工，先由糖苷水解酶除去葡萄糖和部分甘露糖，然后再加上不同的单糖，成熟为各型 N-连接寡糖。

(二) O-连接糖蛋白

1.O-连接寡糖结构 寡糖中的 N-乙酰半乳糖胺与多肽链的丝氨酸或苏氨酸残基的羟基相连而形成 O-连接糖蛋白。它的糖基化位点的确切序列还不清楚，但通常存在于糖蛋白分子表面丝氨酸和苏氨酸比较集中且周围常有脯氨酸的序列中。O-连接寡糖常由 N-乙酰半乳糖胺与半乳糖构成核心二糖，核心二糖可重复延长及分支，再连接上岩藻糖、N-乙酰葡萄糖胺等单糖。

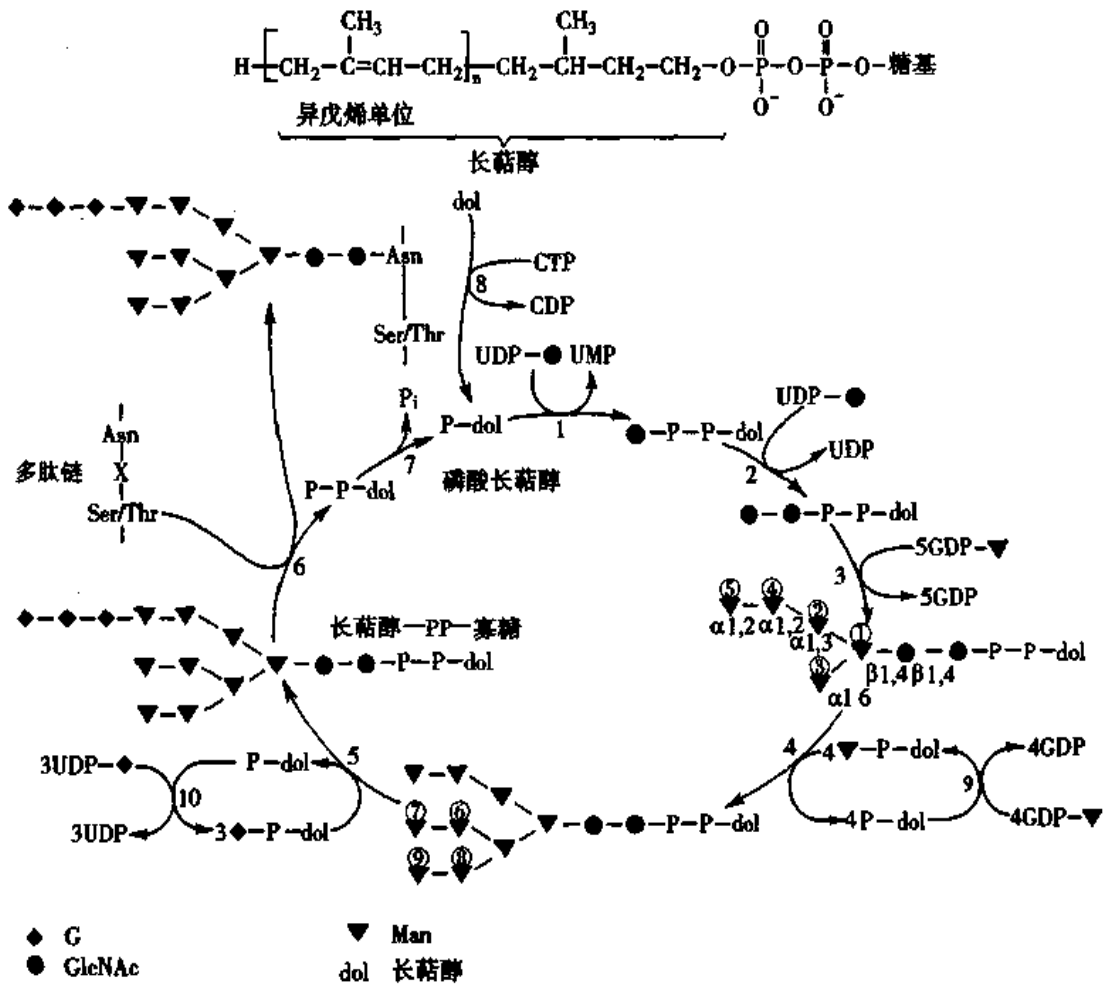


图 20-2 长萜醇-P-P 寡糖的合成

2. O-连接寡糖的合成 与 N-连接寡糖合成不同，O-连接寡糖合成是在多肽链合成后进行的，而且没有糖链载体。在 GalNAc 转移酶作用下，将 UDPGalNAc 中的 GalNAc 基转移至多肽链的丝氨酸(或苏氨酸)的羟基上，形成 O-连接，然后逐个加上糖基，每一种糖基都有其相应的专一性转移酶。整个过程在内质网开始，到高尔基体内完成。

二、糖蛋白寡糖链的功能

许多执行不同功能的蛋白质都是糖蛋白，因此糖蛋白的功能十分广泛，但长期来对糖蛋白中寡糖链的功能所知甚少。近年随寡糖链功能研究方法的发展，对寡糖链的功能也有所了解。寡糖链不但能影响蛋白部分的构象、聚合、溶解及降解，还参与糖蛋白的相互识别和结合等，这些作用是蛋白质和核酸不能取代的。

(一) 寡糖链对糖蛋白新生肽链的影响

不少糖蛋白的 N-连接寡糖链参与新生肽链的折叠并维持蛋白质正确的空间构象。如用核酸点突变的方法，去除某一病毒 G 蛋白的 2 个糖基化位点后，此 G 蛋白就不能形成正确的链内二硫键而错配成链间二硫键，空间构象也发生改变。运铁蛋白受体有 3 个 N-连接寡糖链，分别位于 Asn251, Asn317 和 Asn727。已发现 Asn727 连接有高甘露糖型寡糖链，与肽链的折叠和运输密切相关，Asn251 连接有三天线复杂型寡糖链，此寡

糖链对于形成正常二聚体起重要作用。可见寡糖链能影响亚基聚合。

很多糖蛋白的寡糖链可影响糖蛋白在细胞内的分拣和投送。溶酶体酶合成后被运输至溶酶体内就是一个典型的例子。溶酶体酶在内质网合成后，其寡糖链末端的甘露糖在高尔基体内被磷酸化成6-磷酸甘露糖，然后与存在于溶酶体膜上的6-磷酸甘露糖受体识别并结合，定向转移至溶酶体内。若寡糖链末端甘露糖不被磷酸化，那么溶酶体酶只能分泌至血浆，而溶酶体内几乎没有酶，导致疾病产生。

(二) 寡糖链对糖蛋白生物活性的影响

一般来说，去除寡糖链的糖蛋白，容易受蛋白酶水解，说明寡糖链可保护肽链，延长半衰期。不少酶属于糖蛋白，若去除寡糖链，并不影响酶的活性，但也有些酶的活性依赖其寡糖链，如 β -羟 β 甲戊二酰辅酶A (HMGCoA)还原酶去糖链后其活性降低90%以上，脂蛋白脂酶N-连接寡糖的核心五糖为酶活性所必需。

免疫球蛋白G (IgG)也是N-连接糖蛋白，其糖链主要存在于Fc段。IgG的寡糖链与IgG结合于单核细胞或巨噬细胞上的Fc受体，对补体C1q的结合和激活以及诱导细胞毒等过程有关。若IgG去除糖链，其绞链区的空间构象遭到破坏，上述与Fc受体和补体的结合功能就丢失。

(三) 寡糖链的分子识别作用

寡糖链中单糖间的连接方式有1 \rightarrow 2, 1 \rightarrow 3, 1 \rightarrow 4, 1 \rightarrow 6几种，又有 α 和 β 之分，这种结构的多样性是寡糖链起到分子识别作用的基础。猪卵细胞透明带中分子量为5.5万的ZP-3蛋白，含有O-连接寡糖，能识别精子并与之结合。受体与配体识别和结合也需寡糖链的参与。如整合蛋白(integrin)与其配体——纤连蛋白结合，依赖于完整的整合蛋白N-连接寡糖链的结合，若用糖链加工酶抑制剂处理K562细胞，使整合蛋白寡糖链改变成高甘露糖型或杂合型，均可降低与纤连蛋白识别和结合的能力。红细胞的血型物质含糖达80%~90%。ABO系统中血型物质A和B均是在血型物质O的糖链非还原端各加上GalNAc或Gal，仅一个糖基之差，使红细胞能分别识别不同的抗体，产生不同的血型，可见糖链功能之奇妙。细菌表面存在各种凝集素样蛋白，可识别人体细胞表面的寡糖链结构，而侵袭细胞。

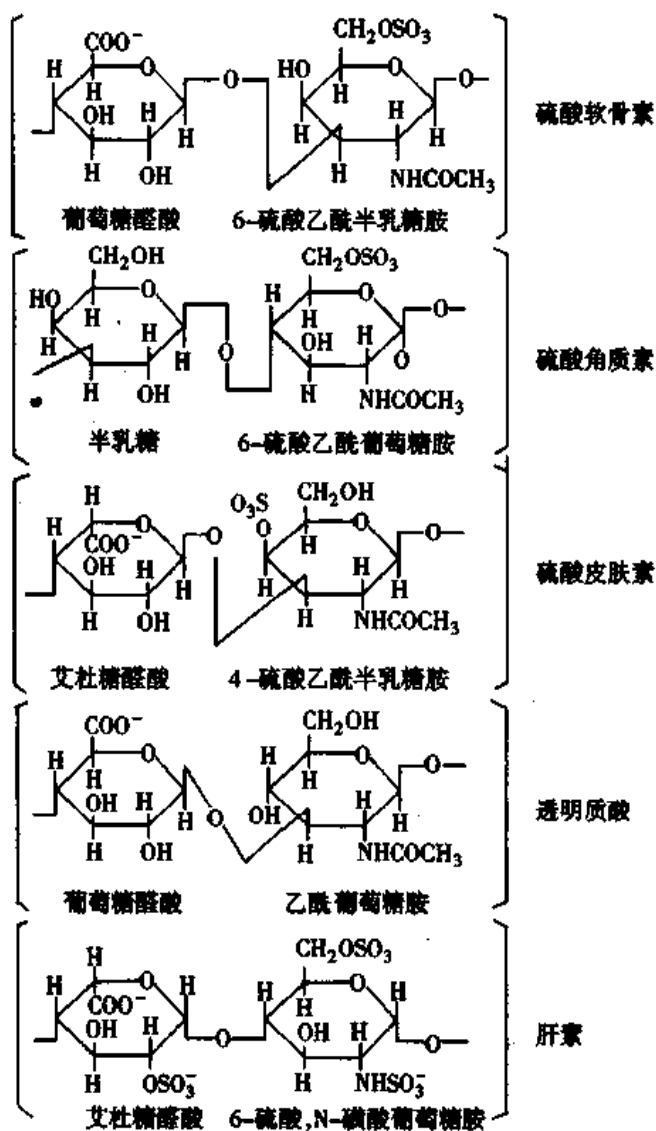
第二节 蛋白聚糖

蛋白聚糖是一类非常复杂的大分子糖复合物，主要由糖胺聚糖共价连接于核心蛋白所组成。一种蛋白聚糖可含有一种或多种糖胺聚糖。糖胺聚糖是因为其中必含有糖胺而得名，可以是葡糖胺或半乳糖胺。糖胺聚糖是由二糖单位重复连接而成，不分支。二糖单位中除了1个是糖胺外，另1个是糖醛酸，可以是葡糖醛酸或艾杜糖醛酸。除糖胺聚糖外，蛋白聚糖还含有一些N-或O-连接寡糖链。

一、重要的糖胺聚糖

体内重要的糖胺聚糖有6种：硫酸软骨素类(chondroitin sulfates)、硫酸皮肤素(dermatan sulfate)、硫酸角质素(keratan sulfate)、透明质酸(hyaluronic acid)、肝素(heparin)和

硫酸类肝素(heparan sulfate)。除透明质酸外，其他的糖胺聚糖都带有硫酸。它们的二糖单位分别为：



硫酸软骨素的二糖单位由 N-乙酰半乳糖胺和葡糖醛酸组成，最常见的硫酸化部位是 N-乙酰半乳糖胺残基的 C4 和 C6 位。单个糖链约有 250 个二糖单位，许多这样的糖链与核心蛋白以 O-连接方式相连，形成蛋白聚糖。

硫酸角质素的二糖单位由半乳糖和 N-乙酰葡萄糖胺组成。它所形成的蛋白聚糖可分布于角膜中，也可与硫酸软骨素共同组成蛋白聚糖聚合物，分布于软骨和结缔组织中。硫酸皮肤素分布广泛，其二糖单位与硫酸软骨素很相似，仅一部分葡糖醛酸为艾杜糖醛酸所取代，所以硫酸皮肤素含有两种糖醛酸。葡糖醛酸转变为艾杜糖醛酸是在糖链合成后进行，由差向异构酶催化。肝素的二糖单位为葡糖胺和艾杜糖醛酸，葡糖胺的氨基氮和 C6 位均带有硫酸。肝素合成时都是葡糖醛酸，然后差向异构化为艾杜糖醛酸，并随之进行 C2 位硫酸化。肝素所连的核心蛋白几乎仅由丝氨酸和甘氨酸组成。肝素分布于肥大细胞内，有抗凝作用。硫酸类肝素是细胞膜成分，突出于细胞外。

透明质酸的二糖单位为葡糖醛酸和 N-乙酰葡糖胺。1 个透明质酸分子可由 50 000 个二糖单位组成，但它所连的蛋白部分很小。透明质酸分布于关节滑液、眼的玻璃体及疏松的结缔组织中。

二、核心蛋白

与糖胺聚糖链共价结合的蛋白质称为核心蛋白。核心蛋白均含有相应的糖胺聚糖取代结构域，一些蛋白聚糖通过核心蛋白特殊结构域锚定在细胞表面或细胞外基质的大分子中。核心蛋白最小的蛋白聚糖称为丝甘蛋白聚糖(serglycin)，含有肝素，主要存在于造血细胞和肥大细胞的贮存颗粒中，是一种典型的细胞内蛋白聚糖。粘结蛋白聚糖(syndecan)的核心蛋白分子量为 3.2 万，含有胞浆结构域、插入膜质的疏水结构域和胞外结构域，胞外结构域连有硫酸肝素和硫酸软骨素，是细胞膜表面主要蛋白聚糖之一。蛋白聚糖聚合物(aggrecan)是细胞外基质的重要成分之一，由透明质酸长糖链两侧经连接蛋白而结合许多蛋白聚糖而成，由于糖胺聚糖上羧基或硫酸根均带有负电荷，彼此相斥，所以在溶液内蛋白聚糖呈瓶刷状(图 20-3)。

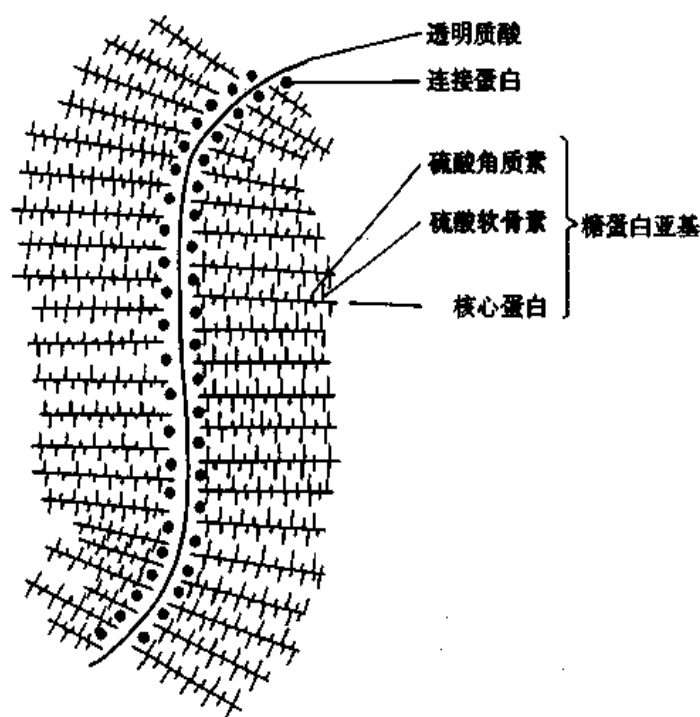


图 20-3 骨软骨蛋白聚糖聚合物

三、蛋白聚糖的生物合成

在内质网上，蛋白聚糖先合成核心蛋白的多肽链，多肽链合成的同时即以 O-连接或 N-连接的方式在丝氨酸或天冬酰胺残基上进行糖链加工。糖链的延长和加工修饰主要是在高尔基体内进行，以单糖的 UDP 衍生物为供体，在多肽链上逐个加上单糖，而不是先合成二糖单位。每一单糖都有其特异性的糖基转移酶，使糖链依次延长。糖链合

成后再予以修饰，糖胺的氨基来自谷氨酰胺，硫酸则来自“活性硫酸”或3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸。差向异构酶可将葡糖醛酸转变为艾杜糖醛酸。

四、蛋白聚糖的功能

蛋白聚糖最主要的功能是构成细胞间的基质，在基质中蛋白聚糖与弹性蛋白、胶原蛋白以特异的方式相连而赋予基质以特殊的结构。基质中含有大量透明质酸，可与细胞表面的透明质酸受体结合，影响细胞与细胞的粘附、细胞迁移、增殖和分化等细胞生物学行为。由于蛋白聚糖中的糖胺聚糖是多阴离子化合物，结合 Na^+ 、 K^+ ，从而吸收水分子，糖的羟基也是亲水的，所以基质内的蛋白聚糖可以吸引、保留水而形成凝胶，容许小分子化合物自由扩散而阻止细菌通过，起保护作用。而有些细菌能分泌透明质酸酶，分解基质而侵入机体。细胞表面有众多类型的蛋白聚糖，大多数含有硫酸肝素，分布广泛，在神经发育、细胞识别结合和分化等方面起到重要的调节作用。有些细胞还存在于丝甘蛋白聚糖，它的主要功能是与带正电荷的蛋白酶、羧肽酶及组胺等相互作用，参与这些生物活性分子的贮存和释放。除此之外，各种蛋白聚糖还有其特殊功能。肝素是重要的抗凝剂，能使凝血酶原失活。肝素能特异地与毛细血管壁的脂蛋白脂肪酶结合，促使后者释放入血。在软骨中硫酸软骨素含量丰富，维持软骨的机械性能。角膜的胶原

(一) 胶原的分子组成和分型

胶原分子能溶于微温的稀酸中，经超速离心后可分得 3 个组分，即 α 、 β 、 γ ，其中 β 和 γ 组分分别是 α 组分的二聚体和三聚体。 α 组分又分为 α_1 、 α_2 、 α_3 和 α_4 ，它们在氨基酸组成上有所不同，但肽链长度近似。

目前胶原至少已发现有 15 型，其中 5 型常见的胶原分子组成及分布列于表 20-1。

表 20-1 5 型胶原蛋白的结构及组织分布

类型	肽链类型	分子形式	成分	组织分布
I	$\alpha_1(I)$; $\alpha_2(I)$	$[\alpha_1(I)]_2 [\alpha_2(I)]$, $[\alpha_1(I)]_3$	羟赖氨酸较低 糖链较少 纤维较宽	肌腱，骨，皮肤，角膜， 韧带等占体内胶原蛋白 总量的 90%
II	$\alpha_1(II)$	$[\alpha_1(II)]_3$	羟赖氨酸较高 糖链较多 纤维较窄	软骨，眼玻璃体，椎间 盘
III	$\alpha_1(III)$	$[\alpha_1(III)]_3$	羟赖氨酸较高 羟脯氨酸较高 糖链较少	血管，肌肉，皮肤，内 脏
IV	$\alpha_1(IV)$; $\alpha_2(IV)$; $\alpha_3(IV)$; $\alpha_4(IV)$;	$[\alpha_1(IV)]_2 [\alpha_2(IV)]$ 及其他形式	羟赖氨酸较高 糖链较多	基底膜
V	$\alpha_1(V)$; $\alpha_2(V)$ $\alpha_3(V)$	$[\alpha_1(V)]_3$ $[\alpha_1(V)]_2 [\alpha_2(V)]$ $[\alpha_1(V)][\alpha_2(V)][\alpha_3(V)]$	羟赖氨酸较高 糖链较多	平滑肌培养细胞，胚胎 组织，腹膜，胎盘，皮 肤，骨

有些组织的胶原蛋白是由 3 条相同的 α 链组成，如软骨中的 II 型胶原，软组织中的 III 型胶原。在同一组织中常存在几种类型的胶原，但常有一种类型占优势。如肌腱、软骨、动脉、基底膜和平滑肌分别以 I、II、III、IV 和 V 型胶原为主。一种细胞在不同的发育阶段和条件下可以合成不同类型的胶原，如胎儿皮肤成纤维细胞合成 I 和 III 型，随年龄增长，III 型胶原合成逐渐减少。

(二) 胶原的氨基酸组成

任何种系来源的胶原，其氨基酸组成有一与众不同的特征，即甘氨酸占胶原氨基酸残基的 1/3，脯氨酸约占 1/4，尚有羟赖氨酸和羟脯氨酸，属胶原所特有，与胶原分子内交联有关。酪氨酸含量甚少，色氨酸和半胱氨酸则缺如。从营养角度而言，胶原因缺乏色氨酸这一营养必需氨基酸，故为营养不完全蛋白质。

(三) 胶原分子空间构象特点

早年从大鼠富含肌腱组织中提纯获得的 I 型胶原中，发现其基本结构单位为三股链，由 2 个 $\alpha_1(I)$ 和一个 $\alpha_2(I)$ 组成长 300nm、直径 1.5nm 的蛋白质，即后来被称作原胶原(tropocollagen)。每一股链含有 1 050 个氨基酸残基，以右手旋转的方式，相互绕

成三股螺旋(图 20-4)。进一步发现所有的不同类型的胶原均以三股螺旋的方式形成,不同之处仅在于各型的中段三股螺旋形成的多肽片段有所差异,从而折叠成不同的三维空间结构。

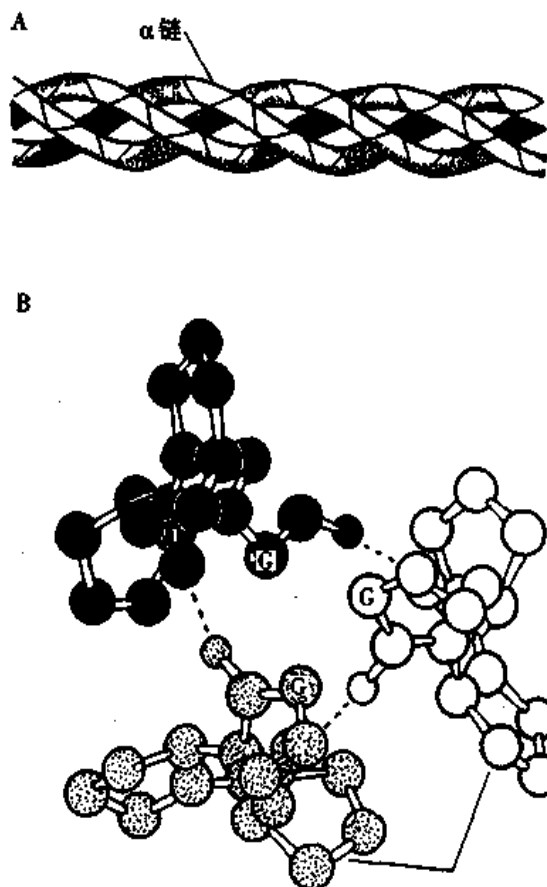


图 20-4 原胶原的三股螺旋结构

A. 原胶原分子的右手三股螺旋

B. 三股螺旋轴顶面观的棒-球模型

G 为甘氨酸 α -碳原子; 点状线为甘氨酸的 —NH— 与另一链 —C—O 形成的氢键

原胶原三股螺旋的每一螺距仅由 3.3 个氨基酸残基所组成,螺旋半径很小,三股螺旋中心的空间只能容纳氢原子,任何比氢大的氨基酸侧链均可能破坏三股螺旋的形成,甘氨酸的存在成为形成三股螺旋的重要条件,通过其 —NH— 氢原子与相邻肽链的 C=O 基团形成氢键,使三股链相连以形成稳定空间构象(图 20-4)。胶原富含的另两个氨基酸残基是脯氨酸和羟脯氨酸,其结构中具有刚性的吡咯环只能存在于三股螺旋的外侧面。值得指出的是,脯氨酸或羟脯氨酸 N 端所参与的 C—N 键的键角大小,尽管不能形成 α -螺旋,但恰好使所形成的每一股链的空间构象最终能组成三股螺旋。所以胶原蛋白中重复出现的模序 Gly-Pro-X (X 为任一氨基酸)是三股螺旋特定空间构象所依赖的一级结构基础。

(四) 胶原微纤维

若干具有三股螺旋结构的 I 型原胶原分子通过侧向排列,聚集成直径为 50 ~ 200nm

的胶原微纤维(collagen fibril)。相邻的两个原胶原分子在侧向排列时，两个端点相差约67nm，分子间有共价键相连，这是由赖氨酸残基侧链末端氨基被氧化成醛基衍生物，然后通过醛醇缩合等过程而形成各种共价键(图 20-5)。此种原胶原分子的侧向连接是 I、II、III 和 V 型胶原若干特性的分子基础。例如 I 型胶原有强烈的韧性，可耐受强烈张力的伸展而不断裂。在肌腱中，原胶原通过侧向排列形成直径为 50nm、长度达几个 mm 的微纤维(fibril)。微纤维再进一步侧向排列形成胶原纤维(collagen fiber)。正由于胶原纤维具有这样特殊的分子结构，才进而产生了能承受巨大外力的能力。

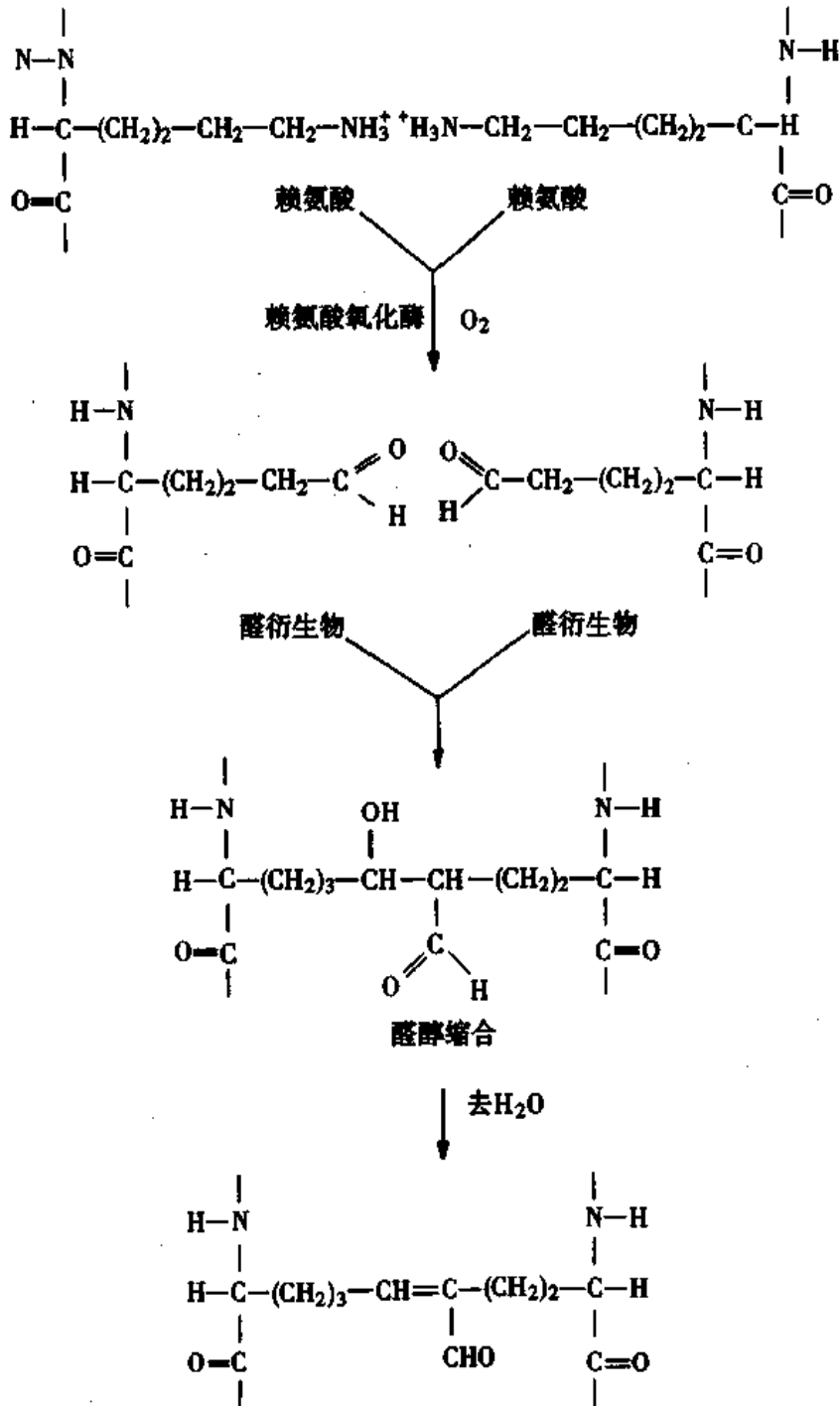


图 20-5 原胶原分子侧向共价连接的醛醇交联反应

二、纤连蛋白

纤连蛋白(Fn)是一个多功能的糖蛋白,广泛存在于细胞外基质,基底膜及各种体液(血浆、组织间液、淋巴液、关节腔滑液和羊水)中。体内诸多细胞可合成分泌Fn,成纤维细胞的分泌量尤多,而血浆Fn主要来自肝细胞。

(一) Fn的分子结构

所有组织来源的Fn,其分子量、基本空间结构及生物学性质均大同小异,由分子量25万左右的单体组成二聚体,也有Fn以多聚体形式存在,甚至在成纤维细胞中尤以多聚体为主。

各种来源的Fn的一级结构由3种不同类型的内在序列同源结构(internal sequence homology)重复出现而构成(图20-6)。这是Fn最有意义的结构特征。I型同源结构形同两个相连的指圈,由链内的两个二硫键形成,氨基酸数为41~52个。一个Fn分子重复出现12个I型同源结构,任何两个I型同源结构的同源性达18~60%。含有60个氨基酸残基的II型同源结构在Fn分子中仅有两个,且前后相邻,同源性达50%。每个II型同

所有 Fn 的功能可以认为是由其介导的细胞与细胞、细胞与基质的相互作用来完成的。从 Fn 分子结构域来看, Fn 对于肝素、胶原、纤维蛋白、蛋白聚糖、肌动蛋白、DNA 乃至细胞等都具有很高的亲和力, 与之结合则可继而引发一系列的体液内或细胞内的变化。Fn 对细胞的作用是通过细胞膜表面的 Fn 受体——整合蛋白来完成的, Fn 通过分子中细胞结合结构域中的 RGD 模序与其受体结合, 而受体将细胞外 Fn 与细胞内侧面的细胞骨架蛋白连成一体, 形成信息由外传入胞内的完整体系, 从而影响着细胞的生命过程。

三、层粘连蛋白

在体内, 所有组织的基膜含有一套常见的蛋白质和蛋白聚糖: IV 型胶原、硫酸肝素蛋白聚糖、巢蛋白(entactin)和层粘连蛋白(Ln)。Ln 也称为 IV 型胶原基质。

(一) Ln 的分子结构

Ln 是一种由多结构域构成的糖蛋白, 分子量高达 90 万, 最初从癌胚细胞株和小鼠肉瘤中分离纯化。现在分子结构已清楚, 它是 3 条多肽链(A、B1 或 B2, 每分子 Ln 有 1 条 A 链和 2 条 B 链)通过二硫键连接而成的。电镜显示 Ln 的 3 条链排列成十字形(图 20-7), A 链 C-端为一庞大的球形结构, 为硫酸肝素蛋白聚糖的结合位点, N 端为一小球形结构, 其间还有两个相同大小的球形结构。B 链的 N-端为一小球, 近分子中心处又有一个小球, 构成与 IV 型胶原结合的区域。三股链共同形成的中间区域可与许多细胞表面的 Ln 受体结合, 此区域包含有 RGD 片段。

(二) Ln 糖链

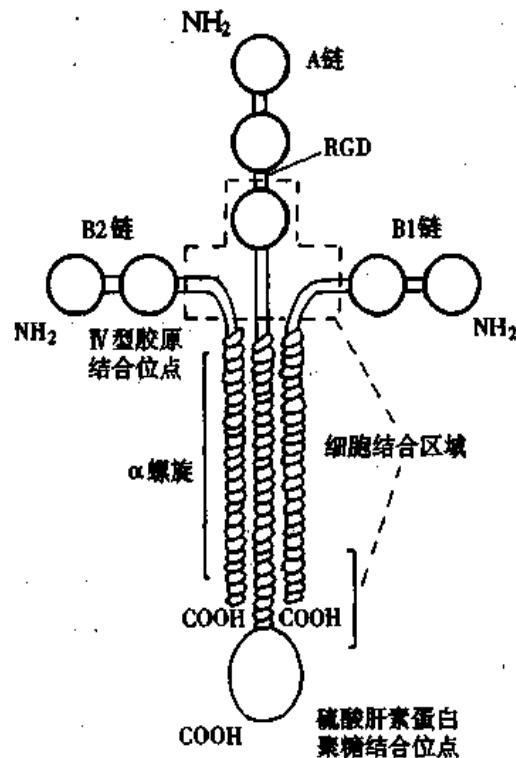


图 20-7 层粘连蛋白分子结构

Ln 是一个含糖达 12%~15% 的糖蛋白。应用分子克隆技术,测得小鼠 EHS 肿瘤中的 Ln 分子有 68 个潜在糖化位点,其中 40 个为实际糖化位点。绝大部分的糖链为复杂型 N-糖链,结构形式多样,但基本特征为:末端存在半乳糖,也有唾液酸和多聚乙酰氨基乳糖结构。

(三) Ln 的功能

Ln 的生物学功能相当复杂,至今尚未完全明了,一般认为 Ln 主要与细胞表面的整合蛋白结合,进而产生生理作用。Ln 可以介导上皮细胞及内皮细胞粘着于基底膜,从而影响细胞的生长、分化和运动。新近发现, Ln 可能与某些疾病,如糖尿病、肾病、类风湿性关节炎、感染等有关,也和抗感染等有关,尤其对于肿瘤细胞的浸润、转移可能有重要作用。

近年来对 Ln 分子中糖链的作用研究逐渐深入。早期研究就已发现 Ln 的聚糖不能阻止蛋白酶对 Ln 的水解,也不增加 Ln 与肝素结合强度。现已了解, Ln 的糖链参与若干细胞事件,例如细胞的粘附和铺展、与凝集素样受体(lectin-like receptor)结合、鸡神经干细胞的移动等。而且糖链的结构改变可引起功能的变化。用衣霉素处理癌胚细胞而获得的无糖 Ln,可抑制黑素瘤细胞的铺展,但并不影响其粘附。若用糖链加工抑制剂使 Ln 糖链停留在高甘露糖型阶段,与含复杂型糖链 Fn 的功能完全相同,但若停留在杂合型阶段可影响 Ln 部分功能。这些结果说明高甘露糖型足以具备 Ln 成熟糖链的信息,而杂合型却不能。

小 结

在细胞表面和细胞间质中存在着丰富的糖蛋白和蛋白聚糖。此二者都由蛋白部分和糖链部分所组成。糖蛋白可分 N-连接和 O-连接两型,前者糖链以共价键方式与糖化位点即 Asn-X-Ser 模序中的天冬酰胺的酰胺 N 连接,后者与糖蛋白特定 Ser 残基侧链的羟基共价结合。N-连接寡糖链可分成高甘露糖型、复杂型和杂合型 3 型,它们都是由 14 个糖基的长萜醇焦磷酸寡糖结构经加工而成。每一步加工都有特异的糖苷酶和糖基转移酶参与。糖蛋白的糖链参与许多生物学功能,如影响新生肽链的加工、运输和糖蛋白的生物半衰期,参与糖蛋白的分子识别和生物活性等。

蛋白聚糖由糖胺聚糖和核心蛋白组成。体内重要的糖胺聚糖有硫酸软骨素、硫酸类肝素、透明质酸等。蛋白聚糖是主要的细胞外基质成分,它与胶原蛋白以特异的方式相连而赋予基质以特殊的结构。细胞表面的蛋白聚糖还参与细胞粘附、迁移、增殖和分化功能。

细胞间隙填充着许多糖蛋白和蛋白聚糖等,构成 ECM。ECM 是细胞完成若干生理功能必需依赖的物质。胶原是结缔组织的主要蛋白质成分。常见的胶原分子可分成五型。胶原一般由 3 条 α 肽链以右手螺旋的方式形成三股螺旋,重复出现的 Gly-Pro-X 模序是三股螺旋特定空间构象所依赖的一级结构。然后螺旋之间通过醛醇交联的方式形成侧侧共价连接的胶原微纤维。微纤维再进一步侧向排列形成胶原纤维。

Fn 和 Ln 是普遍存在于 ECM 中的蛋白质。Fn 是由 2 条多肽链组成的糖蛋白,主要由成纤维细胞合成,而血浆 Fn 主要来自肝细胞。Fn 的广泛分布决定了它功能的多样

性，在血小板聚集、组织损伤的修复、细胞增殖、分化等方面都起着作用。Ln 分子由 1 条 A 链和 2 条 B 链通过二硫键连接而成。Ln 主要介导上皮细胞及内皮细胞附着于基底膜，从而影响细胞的生长、分化和运动等。

(查锡良)

第二十一章 癌基因、抑癌基因与生长因子

肿瘤的发生是由于细胞的增殖与分化失常所导致的恶性生长现象。在正常情况下,细胞的增殖受到多种因素的调控,调控失衡可能引起异常的增殖和持续的分裂。细胞的正常生长与增殖是由两大类基因来调控的,一类是正调节信号,促进细胞生长和增殖,并阻止其发生终末分化,调控失常时表现为肿瘤细胞的恶性生长,现已知多数癌基因(oncogene)起这一作用;另一类为负调节信号,抑制增殖,促进分化、成熟和衰老,最后凋亡(apoptosis),抑癌基因(cancer suppressive gene, anti-oncogene)则在这方面发挥作用。这两类信号在细胞内产生的效应相互拮抗,维持平衡,对正常细胞的生长、增殖和衰亡进行精确地调控。当这两类基因中任何一种或它们共同的变化,即有可能引起细胞增殖失控导致肿瘤的发生。

癌基因与抑癌基因的作用机制涉及基因表达调控及细胞分裂、分化过程。这些生物学效应又与癌基因表达产物——类生长因子多肽及其受体有着极为密切的关系;癌基因可以编码类生长因子多肽及其受体分子,通过细胞内信息传递系统刺激细胞增殖。由此可见,肿瘤的发生与癌基因、抑癌基因及生长因子三者的功能是密切相关的。

第一节 癌 基 因

癌基因最初的定义是指能在体外引起细胞转化、在体内诱发肿瘤的基因。它是细胞

细胞中繁殖而不中断细胞分裂，同时能产生逆转录酶。病毒感染宿主以后在宿主细胞内先以病毒 RNA 为模板，在逆转录酶催化下合成双链 DNA 前病毒(provirus)，并以前病毒形式在宿主细胞代代传递下去，随后病毒 DNA 随机整合于细胞基因组，通过重排或重组，将细胞的原癌基因转导(transduction)至病毒本身基因组内(图 21-2)，使原来的野生型(wild type)病毒转变成携有转导基因的病毒，从而获得致癌性质。由此可见，病毒癌基因(virus oncogene, v-onc)是一类存在于肿瘤病毒(大多数是逆转录病毒)中的、能使靶细胞发生恶性转化的基因。

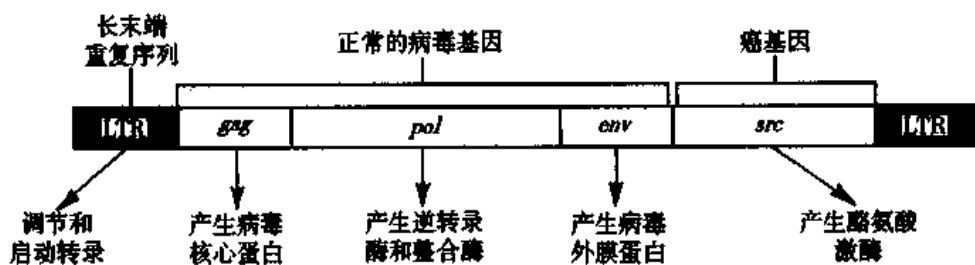


图 21-1 鸡肉瘤病毒(RSV)基因组结构图

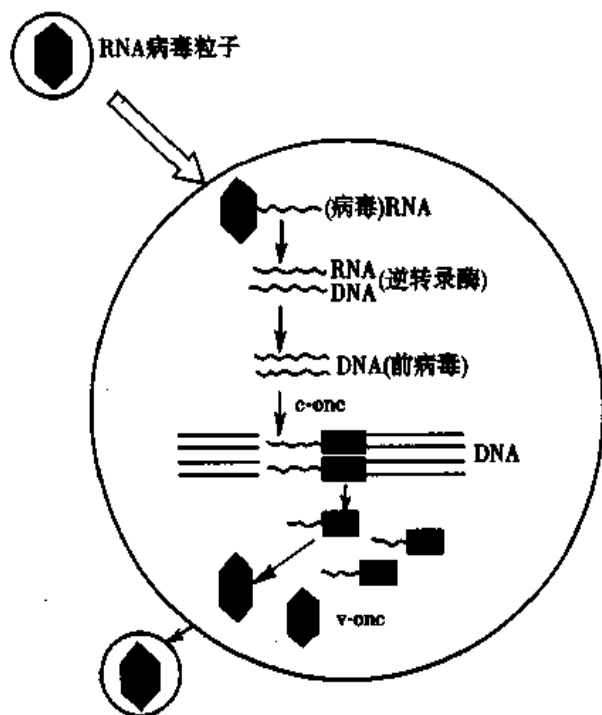


图 21-2 RNA 病毒与宿主细胞基因组整合过程示意图

二、细胞癌基因

原癌基因广泛分布于生物界，从单细胞酵母、无脊椎生物到脊椎动物乃至人类的正常细胞都存在着这些基因，而且结构上有很大的同源性，说明这类基因在进化上是高度保守的。提示这类基因为生命活动所必需。原癌基因的表达产物对细胞正常生长、繁

殖、发育和分化起着精密的调控作用。显然，若基因的结构发生异常或表达失控，必然导致细胞生长增殖和分化异常，使细胞恶变而形成肿瘤。

根据现有研究结果，原癌基因的特点可概括如下：

(1) 广泛存在于生物界中，从酵母到人的细胞普遍存在。

(2) 在进化过程中，基因序列呈高度保守性。

(3) 它的作用是通过其表达产物蛋白质来体现的；它们存在于正常细胞不仅无害，而且对维持正常生理功能、调控细胞生长和分化起重要作用，是细胞发育、组织再生、创伤愈合等所必需。

(4) 在某些因素(如放射线、某些化学物质等)作用下，一旦被激活，发生数量上或结构上的变化时，就会形成癌性的细胞转化基因。按其表达蛋白的功能及定位可将常见的癌基因进行分类(表 21-1)，下面按族类进行介绍。

表 21-1 细胞癌基因的分类及功能

类 别	癌 基 因	同源的细胞基因
蛋白激酶类		
1. 跨膜生长因子受体	<i>erb B</i> <i>neu (erb-2, HER-2)</i> <i>fms, ros, kit, ret, sea</i>	EGF 受体 EGF 受体相似物 M-CSF 受体
2. 膜结合的酪氨酸蛋白激酶	<i>src</i> 族 (<i>src, fgr, yes, lck, nck, fyn, fes, fps, lym, tk1</i>) <i>abl</i>	
3. 可溶性酪氨酸蛋白激酶	<i>met, trk</i>	
4. 胞浆丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶	<i>raf (mil, mht), mos</i> <i>cot, pl-1</i>	
5. 非蛋白激酶受体	<i>mas</i> <i>erb</i>	血管紧张素受体 甲状腺激素受体
信息传递蛋白类		
与膜结合的 GTP 结合蛋白生长因子类	<i>H-ras, K-ras, N-ras</i> <i>sis</i> <i>int-2</i>	PDGF-2 FGF 同类物
核内转录因子	<i>c-myc, N-myc, L-myc</i> <i>fos, jun</i>	转录因子 转录因子 AP-1

EGF: 表皮生长因子 M-CSF: 巨噬细胞集落刺激因子

PDGF-2: 血小板源生长因子-2 FGF: 成纤维细胞生长因子

1. *src* 家族 包括 *src, abl, fgr, fes, yes, fps, lck, hek, fyn, lym* 和 *tk1*，它们都含有相似的基因编码结构，产物具有使酪氨酸磷酸化的蛋白激酶活性，定位于胞膜内面或跨膜分布。

2. *ras* 家族 包括 *H-ras, K-ras, N-ras*，虽然它们之间的核苷酸序列相差很大，但所编码的蛋白质都是 P21，位于细胞质膜内面，P21 可与 GTP 结合，有 GTP 酶活性，并

参与 cAMP 水平的调节。

3. *myc* 家族 包括 *c-myc*、*N-myc*、*L-myc*、*fos* 等数种基因，这些基因编码核内 DNA 结合蛋白，有直接调节其他基因转录的作用。

4. *sis* 家族 只有 *sis* 基因一个成员，其编码的 P28 与人血小板源生长因子(PDGF) 结构十分相似，能刺激间叶组织的细胞分裂繁殖。

5. *myb* 家族 包括 *myb* 和 *myb-ets* 两个成员，编码核蛋白，能与 DNA 结合，为核内的一种转录因子。

由上可见，某些癌基因所表达的蛋白质未必都具有转化活性，因此不能认为所有的癌基因都具有致癌活性。“癌基因”的命名显然是不全面的，有必要对“癌基因”这一定义加以修正。目前认为广义的“癌基因”应当是：凡能编码生长因子、生长因子受体、细胞内生长信息传递分子，以及与生长有关的转录调节因子的基因均应归属癌基因的范畴，这一修正大大拓宽了最初提出的癌基因的概念。但基于研究历史的原因，“癌基因”名称一直被沿用。

三、癌基因活化的机制

正常情况下，细胞原癌基因处于相对静止状态，对机体并不构成威胁。相反，它们还具有一定的生理功能，特别是在胚胎发育时期或组织再生的情况下。然而，在某些条件下，如病毒感染、化学致癌物或辐射作用等，它们可相继激活，其被激活的方式主要有以下四类。

(一) 获得启动子与增强子

当逆转录病毒感染细胞后，病毒基因组所携带的长末端重复序列(LTR 内含较强的启动子和增强子)插入到细胞原癌基因附近或内部，可以启动下游邻近基因的转录和影响附近结构基因的转录水平。从而使原癌基因过度表达或由不表达变为表达，导致细胞发生癌变。如鸡白细胞增生病毒引起的淋巴瘤，就因为该病毒 DNA 序列整合到宿主正常细胞的 *c-myc* 的基因附近，其 LTR 亦同时被整合，成为 *c-myc* 的启动子。这个强启动基因可促使 *c-myc* 的表达比正常高 30 ~ 100 倍。

(二) 基因易位

染色体易位在肿瘤组织中屡见不鲜，基因定位研究证明，在染色体易位的过程中发生了某些基因的易位(translocation)和重排，使原来无活性的原癌基因移至某些强的启动基因或增强子附近而被活化，因而原癌基因表达增强，导致肿瘤的发生。最受到普遍认可的例子是在人 Burkitt 淋巴瘤细胞中，位于 8 号染色体上的 *c-myc* 移到 14 号染色体免疫球蛋白重链基因的调节区附近，与这区活性很高的启动子连接而受到活化。

(三) 原癌基因扩增

原癌基因扩增(amplification)是原癌基因数量的增加或表达活性的增强，产生过量的表达蛋白也会导致肿瘤的发生。如 *ras* 或 *c-myc*，在某些肿瘤中常常表达蛋白质量升高几十甚至上千倍不等。

(四) 点突变

原癌基因在射线或化学致癌剂作用下，可能发生单个碱基的替换——点突变(point

mutation), 从而改变了表达蛋白的氨基酸组成, 造成蛋白质结构的变异。如 *ras* 族的癌基因, 在正常细胞 *H-ras* 中的 GGC, 在肿瘤细胞中突变为 GTC, 由此酿成编码的 P21 蛋白第 12 位氨基酸由正常细胞的甘氨酸变为肿瘤细胞的缬氨酸。

不同的癌基因在不同的情况下可通过不同的途径被激活, 其结果可以是①出现新的表达产物, 即原来不表达的基因开始表达, 或不该在这个时期表达的基因进行表达; ②出现过量的正常表达产物; ③出现异常、截短的表达产物。以上异常情况, 在肿瘤细胞中可以出现一种或二种以上的组合。

四、原癌基因的产物与功能

目前已知的癌基因编码的蛋白与细胞生长调控的许多因子有关, 这些因子参与细胞生长、增殖、分化途径各个环节的调控。为了便于叙述, 将癌基因表达产物按其在细胞信号传递系统中的作用(详见第十五章)分成以下四类。

(一) 细胞外的生长因子

细胞外信号包括: 生长因子、激素、神经递质、药物等, 它们作用于细胞膜上的受体系统或直接被传递至细胞内, 再通过多种蛋白激酶活化, 对转录因子进行磷酸化修饰, 引发一系列基因的转录激活(参见第十五章)。*sis* 基因正是通过这种途径起作用的, 已知 *v-sis* 基因和人 *c-sis* 基因编码的 P28 蛋白和血小板源生长因子(PDGF)的 β 链同源, 当 *sis* 基因表达产物与 PDGF 一样形成二聚体后, 作用于 PDGF 受体, 使细胞膜内的磷脂酰肌醇在相应激酶催化下, 生成磷脂酰肌醇-4, 5-双磷酸(PIP_2), 后者在磷脂酶 C 作用下水解生成甘油二酯(DG)及三磷酸肌醇(IP_3)并激活蛋白激酶 C, 使受体细胞发生转化, 同时还能刺激细胞内受体合成(图 21-3)。说明 *sis* 基因和 PDGF 相关, 功能也十分相似。此外, *c-sis* 表达蛋白 P28 和 PDGF 一样能促进血管的生长。目前已知与恶性肿瘤发生有关的生长因子有: PDGF、表皮生长因子(EGF)、转化生长因子-2(TGF-2)、成纤维细胞生长因子(FGF)、类胰岛素生长因子 I(IGF I)等。这些因子的过度表达, 势必连续不断作用于相应的受体细胞, 造成大量生长信号的持续输入, 从而使细胞增殖失控。

(二) 跨膜的生长因子受体

另一类原癌基因的产物为跨膜受体, 它能接受细胞外的生长信号并将其传入胞内(图 21-3)。跨膜生长因子受体有胞质结构区域, 并具有酪氨酸特异的蛋白激酶活性。许多原癌基因的产物同样具有该酶活性, 例如 *c-src*、*c-abl* 等。另一些癌基因(*c-mos* 和 *raf*)所编码的激酶不是在酪氨酸上磷酸化, 而是使丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化。通过这种磷酸化作用, 使其结构发生改变, 增加激酶对底物的活性, 加速生长信号在胞内的传递。

(三) 细胞内信号导体

生长信号到达胞内后, 借助一系列胞内信息传递体系, 将接受到的生长信号由胞内传至核内, 促进细胞生长。这些传递体系成员多数是原癌基因的产物, 或者通过这些基因产物的作用影响第二信使[cAMP、甘油二酯(DG)、 Ca^{2+} 等、cGMP等]。作为胞内信息传递体的癌基因产物包括: 非受体酪氨酸激酶(*c-src*, *c-abl*等)、丝氨酸/苏氨酸激酶(*c-ras*, *c-mas*), *ras* 蛋白(*H-ras*, *K-ras* 和 *N-ras*等)及磷脂酶(*crk*产物)。

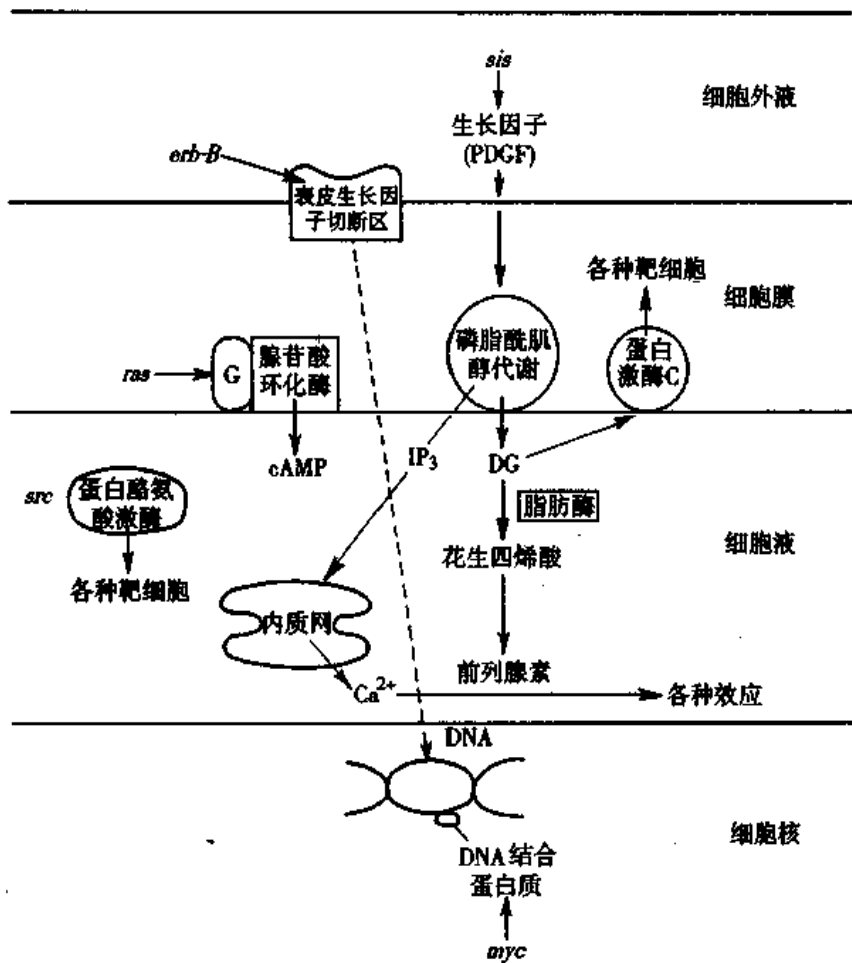


图 21-3 癌基因与生长信息传递

IP₃: 三磷酸肌醇 DG: 甘油二酯

(四) 核内转录因子

已知某些癌基因表达蛋白(如 *myc*、*fos* 等)定位于细胞核内, 它们能与靶基因的调控元件结合直接调节转录活性起转录因子作用(图 21-3)。这些蛋白通常在细胞受到生长因子刺激时迅速表达, 促进细胞的生长与分裂过程。目前普遍认为, *c-fos* 是一种即刻早期反应(立早)基因(immediate-early gene, IEG)。在生长因子、佛波酯、神经递质等作用下, *c-fos* 能即刻、短暂表达, 作为传递信息的第三信使。

第二节 抑癌基因

抑癌基因是一类抑制细胞过度生长、增殖从而遏制肿瘤形成的基因。对于正常细胞, 调控生长的基因(如原癌基因等)和调控抑制生长的基因(如抑癌基因等)的协调表达是调节控制细胞生长的重要分子机制之一。这两类基因相互制约, 维持正负调节信号的相对稳定。当细胞生长到一定程度时, 会自动产生反馈抑制, 这时抑制性基因高表达, 调控生长的基因则不表达或低表达。前已述及, 癌基因激活与过量表达与肿瘤的形成有关。同时, 抑癌基因的丢失或失活也可能导致肿瘤发生。

一、抑癌基因的基本概念

抑癌基因的发现是从细胞杂交实验开始的,当一个肿瘤细胞和一个正常细胞融合为一个杂交细胞,往往不具有肿瘤的表型,甚至由两种不同肿瘤细胞形成的杂交细胞也非肿瘤型的,只有当这些正常亲代细胞失去了某些基因后,才会形成肿瘤的子代细胞。由此人们推测,在正常细胞中可能存在一种肿瘤抑制基因,阻止杂交细胞发生肿瘤,当这种基因缺失或变异时,抑瘤功能丧失,导致肿瘤生成。而在两种不同肿瘤细胞杂交融合后,由于它们缺失的抑癌基因不同,在形成的杂交体中,各自不齐全的抑癌基因发生交叉互补,所以也不会形成肿瘤。

二、常见的抑癌基因

目前定论的抑癌基因有 10 余种(表 21-2),必须指出,最初在某种肿瘤中发现的抑癌基因,并不意味着与别的肿瘤无关,恰恰相反,在多种组织来源的肿瘤细胞中往往可检测出同一抑癌基因的突变、缺失、重排、表达异常等,这正说明抑癌基因的变异构成某些共同的致癌途径。

表 21-2 常见的某些抑癌基因

名称	染色体定位	相关肿瘤	作用
P53	17P	多种肿瘤	编码 P53 蛋白(转录因子)
Rb	13q14	视网膜母细胞瘤、骨肉瘤、肺癌、乳癌	编码 P105Rb1 蛋白(转录因子)
P16	9P21	黑色素瘤	编码 P16 蛋白
APC	5q21	结肠癌	可能编码 G 蛋白
DCC	18q21	结肠癌	编码表面糖蛋白(细胞粘着分子)
NF1	7q12.2	神经纤维瘤	GTP 酶激活剂
NF2	22q	神经鞘膜瘤、脑膜瘤	连接膜与细胞骨架
VHL	3p	小细胞肺癌、宫颈癌	转录调节蛋白
WT1	11P13	肾母细胞瘤	编码锌指蛋白(转录因子)

三、抑癌基因的作用机制

由于抑癌基因的分离鉴定研究晚于原癌基因,目前仅对 P53 和 Rb 两种抑癌基因的作用机制了解比较充分。

(一) 视网膜母细胞瘤基因(Rb 基因)

Rb 基因是最早发现的肿瘤抑制基因,最初发现于儿童的视网膜母细胞瘤(retinoblastoma),因此称为 Rb 基因。在正常情况下,视网膜细胞含活性 Rb 基因,控制着成视网膜细胞的生长发育以及视觉细胞的分化,当 Rb 基因一旦丧失功能或先天性缺失,视网膜细胞则出现异常增殖,形成视网膜母细胞瘤。Rb 基因失活还见于骨肉瘤、小细胞肺癌、乳腺癌等许多肿瘤,说明 Rb 基因的抑癌作用具有一定的广泛性。

Rb 基因比较大,位于人 13 号染色体 q14,含有 27 个外显子,转录 4.7kb 的 mRNA,

编码蛋白质为 P105, 定位于核内, 有磷酸化和非磷酸化两种形式, 非磷酸化形式称活性型, 能促进细胞分化, 抑制细胞增殖。实验表明, 将 Rb 基因导入成视网膜细胞瘤或成骨肉瘤细胞, 结果发现这些恶性细胞的生长受到抑制。有意义的是, Rb 蛋白的磷酸化程度与细胞周期密切相关。例如, 处于静止状态的淋巴细胞仅表达非磷酸化的 Rb 蛋白, 在促有丝分裂剂诱导下, 淋巴细胞进入 S 期, Rb 蛋白磷酸化水平增高, 而终末分化的单核细胞和粒细胞仅表达高水平的非磷酸化 Rb 蛋白, 即使在生长因子诱导下, Rb 蛋白也不发生磷酸化, 细胞也不出现分裂。提示细胞生长停止, Rb 蛋白处于低磷酸化水平, 而处于分裂增殖的肿瘤细胞只含有磷酸化型的 Rb 蛋白。说明 Rb 蛋白的磷酸化修饰作用对细胞生长、分化起着重要的调节作用。

Rb 基因对肿瘤的抑制作用与转录因子(E-2F)有关。E-2F 是一类激活转录作用的活性蛋白, 在 G₀、G₁ 期, 低磷酸化型的 Rb 蛋白与 E-2F 结合成复合物, 使 E-2F 处于非活化状态; 在 S 期, Rb 蛋白被磷酸化而与 E-2F 解离, 结合状态的 E-2F 变成游离状态, 细胞立即进入增殖阶段。当 Rb 基因发生缺失或突变, 丧失结合、抑制 E-2F 的能力, 于是细胞增殖活跃, 导致肿瘤发生。

(二) P53

人类 P53 基因定位于 17P13, 全长 16 ~ 20kb, 含有 11 个外显子, 转录 2.8kb 的 mRNA, 编码蛋白质为 P53, 是一种核内磷酸化蛋白。P53 基因是迄今为止发现的与人类肿瘤相关性最高的基因。过去一直把它当成一种癌基因, 直至 1989 年才知道起癌基因作用的是突变 P53, 后来证实野生型 P53 是一种抑癌基因。

P53 基因表达产物 P53 蛋白由 393 个氨基酸残基构成, 在体内以四聚体形式存在, 半衰期为 20 ~ 30 分钟。按照氨基酸序列将 P53 蛋白分为三个区:

(1) 核心区, 位于 P53 蛋白分子中心, 由 102 ~ 290 位氨基酸残基组成, 在进化上高度保守, 在功能上十分重要, 包含有结合 DNA 的特异性氨基酸序列。

(2) 酸性区, 由 N 端 1 ~ 80 位氨基酸残基组成, 易被蛋白酶水解, 半寿期短与此有关。含有一些特殊的磷酸化位点。

(3) 碱性区, 位于 C 端, 由 319 ~ 393 位氨基酸残基组成。P53 蛋白通过这一片段可形成四聚体。C 端可以单独具备转化活性, 起癌基因作用, 且有多个磷酸化位点, 为多种蛋白激酶识别。

正常情况下, 细胞中 P53 蛋白含量很低, 因其半寿期短, 所以很难检测出来, 但在生长增殖的细胞中, 可升高 5 ~ 100 倍以上。

野生型 P53 蛋白在维持细胞正常生长、抑制恶性增殖中起着重要作用, 因而被冠以“基因卫士”称号。P53 基因时刻监控着基因的完整性, 一旦细胞 DNA 遭到损害, P53 蛋白与基因的 DNA 相应部位结合, 起特殊转录因子作用, 活化 P21 基因转录, 使细胞停滞于 G₁ 期; 抑制解链酶活性; 并与复制因子 A (replication factor A) 相互作用参与 DNA 的复制与修复; 如果修复失败, P53 蛋白即启动程序性死亡过程诱导细胞自杀, 阻止有癌变倾向突变细胞的生成, 从而防止细胞恶变。

当 P53 发生突变后, 由于空间构象改变影响到转录活化功能及 P53 蛋白的磷酸化过程, 这不单失去野生型 P53 抑制肿瘤增殖的作用, 而且突变本身又使该基因具备癌基因

功能。突变的 P53 蛋白与野生型 P53 蛋白相结合，形成的这种寡聚蛋白不能结合 DNA，使得一些癌变基因转录失控导致肿瘤发生。

值得提出的，所谓“癌基因”、“抑癌基因”是在癌瘤研究过程中命名的。事实上，细胞的原癌基因和抑癌基因均是细胞的正常基因成分，具有重要的生理功能，除了癌瘤以外，它们在多种疾病过程中也发挥重要作用。

第三节 生长因子

一、概 述

培养细胞的生长、增殖需要一系列营养物质：各种氨基酸、维生素、无机盐等。如果不添加胎牛血清，细胞仍不能继续生长。只有在加入新鲜血清条件下，细胞才能生长、增殖。原来，血清中含有一组生长因子，属于多肽，它们通过质膜上特异的受体，将信息传递至细胞内部，这类调节细胞生长与增殖的多肽类物质称为生长因子(growth factor)。

根据生长因子产生细胞与接受生长因子作用的细胞相互之间的关系，可概括为以下三种模式：①内分泌(endocrine)，生长因子从细胞分泌出来后，通过血液运输作用于远隔靶细胞。如：血小板源生长因子(PDGF)源于血小板，作用于结缔组织细胞。②旁分泌(paracrine)，细胞分泌的生长因子作用于邻近的其他类型细胞，对合成、分泌该生长因子的自身细胞不发生作用，因为它缺乏相应受体。③自分泌(autocrine)，生长因子作用于合成及分泌该生长因子的细胞本身。生长因子以后两种作用方式为主。

表 21-3 列举出常见生长因子的分类、来源及功能。

表 21-3 常见的某些生长因子

生长因子	来 源	功 能
表皮生长因子(EGF)	颌下腺	促进表皮与上皮细胞的生长
促红细胞生成素	肾、尿	调节成红细胞的发育
类胰岛素生长因子(IGF3)	血清	促进硫酸盐参入到软骨组织 促进软骨细胞的分裂对多种组织细胞起胰岛素样作用
神经生长因子(NGF)	颌下腺	营养交感及某些感觉神经元
血小板源生长因子(PDGF)	血小板	促进间质及胶质细胞的生长
转化生长因子 α (TGF α)	肿瘤细胞 转化细胞	类似于 EGF
转化生长因子 β (TGF β)	肾、血小板	对某些细胞呈促进与抑制双向作用

二、生长因子的作用机制

生长因子由不同的细胞合成后分泌，作用于靶细胞上的相应受体(图 21-4)，这些受

体有的是位于细胞膜上，有的是位于细胞内部。位于膜表面的受体是跨膜的受体蛋白，包含具有酪氨酸激酶活性的胞内结构域。当生长因子与这类受体结合后，受体所包含的酪氨酸激酶被活化，使胞内的相关蛋白质直接被磷酸化。另一些膜上的受体则通过胞内信息传递体系，产生相应的第二信使，后者使蛋白激酶活化，活化的蛋白激酶同样可使胞内相关蛋白质磷酸化。这些被磷酸化的蛋白质再活化核内的转录因子，引发基因转录，达到调节生长与分化的作用(图 21-4)。

另一类生长因子受体是定位于胞液。当生长因子与胞内相应的受体结合后，形成生长因子-受体复合物，后者亦可进入胞核活化相关基因促进细胞生长(图 21-4)。

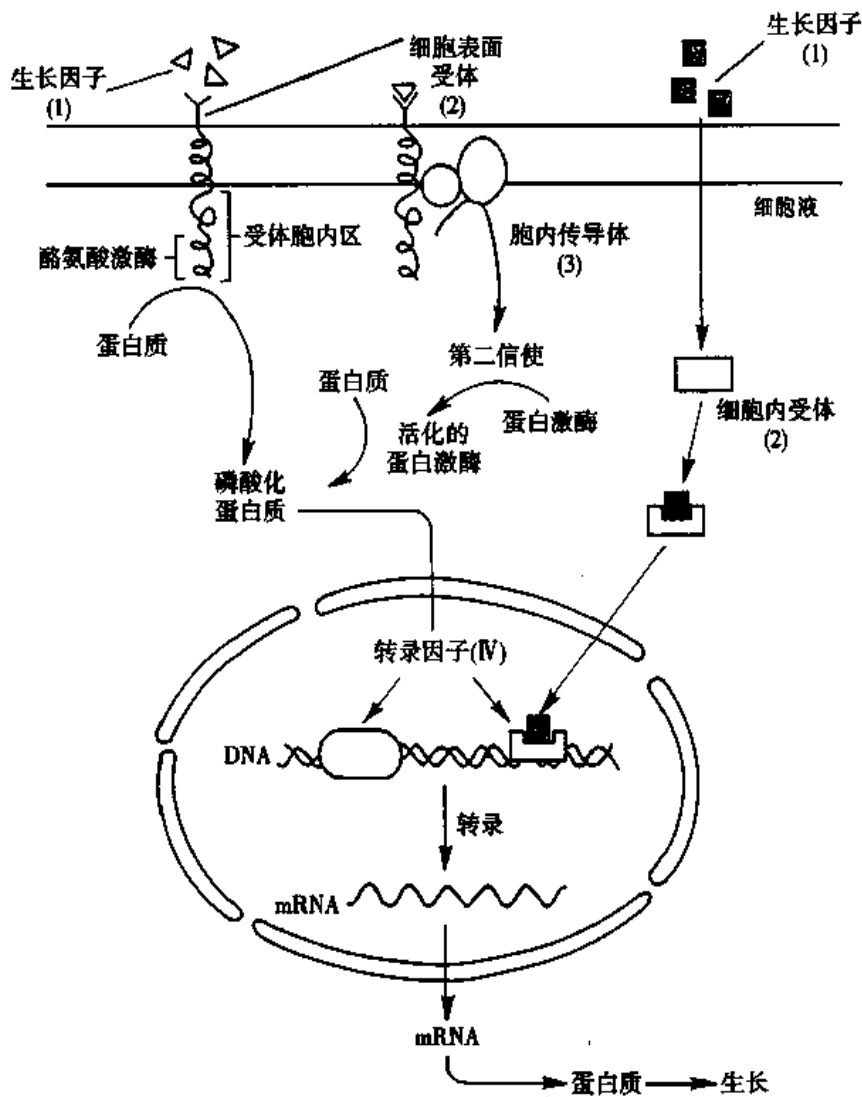


图 21-4 生长因子作用机制示意图

许多癌基因表达产物有的属于生长因子或生长因子受体；有的属于胞内信息传递体抑或核内转录因子(表 21-4)。发生突变的原癌基因可能生成上述产物的变异体，后者的生成及过量表达导致细胞生长、增殖失控，引起病变。

表 21-4 某些癌基因表达产物的定位与功能

癌 基 因	表 达 产 物	
	定 位	功 能
<i>sis</i>	由细胞分泌	生长因子
<i>erbB</i>	质膜	生长因子受体
<i>fms</i>	质膜	生长因子受体
<i>trk</i>	质膜	生长因子受体
<i>src</i>	胞液	酪氨酸蛋白激酶
<i>abl</i>	胞液	酪氨酸蛋白激酶
<i>raf</i>	胞液	丝氨酸蛋白激酶
<i>ras</i>	胞液	GTP 结合蛋白
<i>jun</i>	核	转录因子
<i>fos</i>	核	转录因子
<i>myc</i>	核	DNA 结合蛋白

三、生长因子与疾病

上述表明,癌基因、抑癌基因及生长因子与肿瘤的发生有密切关系,许多癌基因通过生长因子及其受体发挥作用。然而,随着研究的深化,癌基因、抑癌基因及生长因子不仅涉及肿瘤的发生,而且与许多重大疾病及生物学中一些热点问题(如细胞凋亡等)也有十分密切的关系。

(一) 细胞凋亡(apoptosis)

细胞凋亡是在某些生理或病理条件下,细胞接受到某种信号所触发的并按一定程序缓慢死亡的过程。借此机体让不需要的细胞消亡,维持组织器官细胞数目恒定以维持生长的平衡。同时,对控制细胞增殖、防止肿瘤的发生与生长有重要意义。

诱导细胞发生凋亡的因素很多,如野生型 P53 基因能诱发髓型白血病及其他癌细胞凋亡等等。另一方面,某些癌基因具有抑制细胞凋亡的作用,如突变型 P53、神经生长因子(NGF)等。

细胞凋亡与肿瘤发生与生长有着密切的关系,肿瘤不仅是细胞增殖、分化异常的疾病,同时,也可能是一种凋亡异常的疾病。

(二) 心血管疾病

1. 原发性高血压 前已述及,原癌基因的功能是调节细胞生长、分化及增殖。高血压的细胞学改变是血管平滑肌细胞及成纤维细胞增生,使血管变窄、变厚,导致外周阻力增加,这种以平滑肌增生为主的疾病与癌基因关系极大。实验表明,*myc* 和 *fos* 原癌基因的激活是平滑肌细胞增生的启动因素之一,*myc* 原癌基因对平滑肌增生的调控可能是在转录后水平,而 *fos* 可能是发生在转录水平。原发性高血压大鼠心肌和平滑肌细胞内 *myc* 原癌基因表达比对照动物高出 50%~100%,提示 *myc* 原癌基因的激活与高血

压发生有关。此外，作为负调控的抑癌基因的变化亦参与高血压病的发生，在原发性高血压大鼠野生型 P53 抑癌基因的表达低于正常动物，基因有甲基化倾向，并测出 P53 基因突变。

2. 动脉粥样硬化 动脉粥样硬化也是一种以细胞增殖和变性为主要特征的疾病。近年的研究表明，癌基因和抑癌基因与动脉粥样硬化可能有密切关系。动脉粥样硬化斑块损伤的细胞，癌基因表达比正常组织高约 5~12 倍。癌基因的高表达产生过量的血小板源生长因子(PDGF)，后者作用于 PDGF 受体，导致组织细胞的增生，引起血管壁斑块形成。

3. 心肌肥厚 癌基因存在于正常心肌、血管平滑肌和内皮细胞中，为心血管生长发育所必需。然而心肌肥厚时，许多癌基因(*ras*、*myb*、*myc*、*fos* 等)发生过量表达。生长因子在心肌肥厚发生中的作用十分关键，在心肌负荷与心肌反应之间起着中介与信息传递的作用，由此引发癌基因过量表达，造成心肌肥厚。与此有关的生长因子有：类胰岛素生长因子(IGF)、转化生长因子(TGF)及成纤维细胞生长因子(FGF)等。

综上所述，癌基因及抑癌基因的异常表达及结构改变是许多心血管病的分子病理学基础。

小 结

癌基因可分为病毒癌基因和细胞癌基因，前者包括 DNA 肿瘤病毒的转化基因和 RNA 病毒的癌基因，而细胞癌基因又称为原癌基因，病毒癌基因源于细胞癌基因。病毒癌基因能使宿主细胞发生恶性转化，形成肿瘤。正常的原癌基因为生命活动所必需，调节细胞的正常生长与分化。当原癌基因被激活，基因结构发生异常或表达失控，可导致细胞恶变形成肿瘤。原癌基因被激活的方式有：①获得启动子与增强子；②基因易位；③基因扩增；④点突变。肿瘤的发生与发展往往涉及多种癌基因在不同的癌变阶段相继激活。

生长因子是细胞合成与分泌的一类多肽物质，它作用于靶细胞受体，将信息传递至细胞内部，促进细胞生长、增殖。

细胞原癌基因的表达产物有的是生长因子或生长因子受体(受体型酪氨酸激酶)；有的是胞内信息传递体(G 蛋白、蛋白激酶)；或核内转录因子。被激活的原癌基因可能使上述表达产物发生结构改变、过量表达导致细胞生长、增殖失控。

抑癌基因是一类控制细胞生长的负调节基因，它与负责调节生长的原癌基因协调表达以维持细胞正常生长、增殖与分化。抑癌基因缺失或突变失活不仅丧失抑癌作用，反而变成具备促癌效应的癌基因。癌基因、抑癌基因和生长因子在多种疾病过程中起作用。

(温博贵)

第二十二章 基因诊断与基因治疗

随着现代分子生物学研究的不断深入，人们逐渐认识到人类的绝大多数疾病都与基因密切相关。基因变异致病可分为两种主要类型：①内源基因的变异。由于先天遗传背景的差异和后天内、外环境因素的影响，人类的基因结构及其表达的各个环节都可能发生异常，从而导致疾病。内源基因的变异又可分为基因结构突变和表达异常。结构突变包括点突变、缺失或插入突变、染色体易位、基因重排、基因扩增等。突变若发生在生殖细胞，可能引起各种遗传性疾病；若发生在体细胞，则可导致肿瘤、心血管疾病等。有些内源基因(如原癌基因)的表达异常则可能导致细胞增殖失衡而发生肿瘤或其他类型紊乱。②外源基因的入侵。如各种病原体感染人体后，其特异的基因被带入人体并在体内增殖而引起各种疾病。因而，从基因水平探测、分析病因和疾病的发病机制，并采用针对性的手段矫正疾病紊乱状态，是近年来基础和临床医学新的研究方向。由此而发展起来的基因诊断(*gene diagnosis*)和基因治疗(*gene therapy*)已成为现代医学的重要内容。

(一) 核酸分子杂交技术

核酸分子杂交技术可用以检测样本中是否存在与探针序列互补的同源核酸序列。建立在此技术基础上的常用基因诊断的方法有以下几种：

1. 限制性内切酶谱分析法 此方法是利用限制性内切酶和特异性 DNA 探针来检测是否存在基因变异。当待测 DNA 序列中发生突变时会导致某些限制性内切酶位点的改变，其特异的限制性酶切片段的状态(片段的大小或多少)在电泳迁移率上也会随之改变，借此可作出分析诊断。如镰状细胞贫血是 β 珠蛋白基因第六个密码子发生单个碱基突变(A \rightarrow T)，谷氨酸被缬氨酸取代所致。由于这一突变而使该基因内部一个 Mst II 限制酶位点丢失。因此，将正常人和带有突变基因个体的基因组 DNA 用 Mst II 消化后，与 β 珠蛋白基因探针杂交，即可将正常人、突变携带者及镰状细胞贫血患者区别开来(图 22-1)。

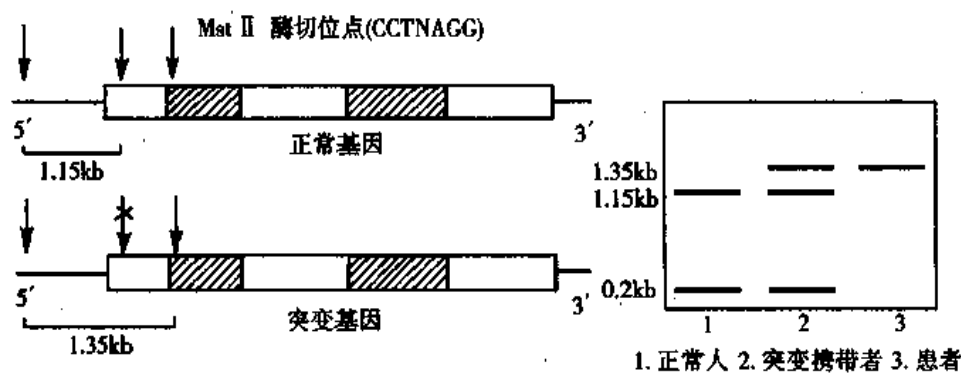


图 22-1 镰状红细胞贫血患者基因组的限制性酶切分析

2. DNA 限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)分析 在人类基因组中，平均约 200 对碱基可发生一对变异(称为中性突变)，中性突变导致个体间核苷酸序列的差异，称为 DNA 多态性。不少 DNA 多态性发生在限制性内切酶识别位点上，酶解该 DNA 片段就会产生长度不同的片段，称为限制性片段长度多态性。RFLP 按孟德尔方式遗传，在某一特定家族中，如果某一致病基因与特异的多态性片段紧密连锁，就可用这一多态性片段作为一种“遗传标志”，来判断家庭成员或胎儿是否为致病基因的携带者。甲型血友病、囊性纤维病变和苯丙酮尿症等均可借助这一方法得到诊断。

3. 等位基因特异寡核苷酸探针(allele specific oligonucleotide, ASO)杂交法 遗传病的遗传基础是基因顺序中发生一种或多种突变。根据已知基因突变位点的核苷酸序列，人工合成两种寡核苷酸探针，一种是相应于突变基因碱基序列的寡核苷酸(M)，一种是相应于正常基因碱基序列的寡核苷酸(N)，用它们分别与受检者 DNA 进行分子杂交。若受检者 DNA 能与 M 杂交，而不能与 N 杂交，说明受检者是这种突变的纯合子；若受检者 DNA 既能与 M 结合，又能与 N 结合，说明受检者是这种突变基因的杂合子；若受检者 DNA 不能与 M 结合，但能与 N 结合，表明受检者不存在这种突变基因；如果患者 DNA 和 M、N 均不结合，提示其缺陷基因可能是一种新的突变类型。所以寡核苷酸探针杂交

法不仅可以确定已知突变，还为发现新的突变基因提供了有效途径。

(二) 聚合酶链反应(PCR)

基因诊断时，需在成千上万的基因中仅仅分析一种目的基因，而且其通常是单拷贝的，这的确是较困难的。PCR 技术的建立使基因诊断进入了一个崭新的阶段。PCR 技术采用特异性的引物，能特异性地扩增出目的 DNA 片段。由于在基因顺序中突变区两侧的碱基序列和正常基因仍然相同。因此，根据待测基因两端的 DNA 顺序设计出一对引物，经 PCR 反应将目的基因片段扩增出来，即可进一步分析判断致病基因的存在与否，并了解其变异的形式。它不仅解决了上述几种方法样品需求量大的难题，而且极大地提高了灵敏度。例如：利用 DNA 缺失突变区域两侧 5' 和 3' 端引物进行 PCR 扩增，再通过凝胶电泳观察扩增 DNA 片段的大小，可诊断中等程度的 DNA 片段(0.5 ~ 1.5 kb) 的突变；用多对 PCR 引物同时进行 PCR 的多重 PCR 技术，可同时对某一特定基因的不同 DNA 区域进行缺失诊断，这在杜氏肌营养不良症(duchenne muscular dystrophy, DMD) 诊断中的应用就是一个典型的例证。

相同长度的单链 DNA 因其碱基序列不同，甚至单个碱基不同，都可能形成不同的空间构象，从而在电泳时泳动速率不同。PCR 产物变性后，经聚丙烯酰胺凝胶电泳，正常基因和变异基因的迁移位置不同，借此可分析确定致病基因的存在，这就是 PCR/单链构象多态性分析(single strand conformation polymorphism, SSCP)。Leber 遗传性神经病患者是由于线粒体 DNA 第 11778 位碱基(G→A)突变所致。用 PCR 扩增线粒体 DNA 相应片段，再作 SSCP 分析，即可对患者作出诊断。(图 22-2)

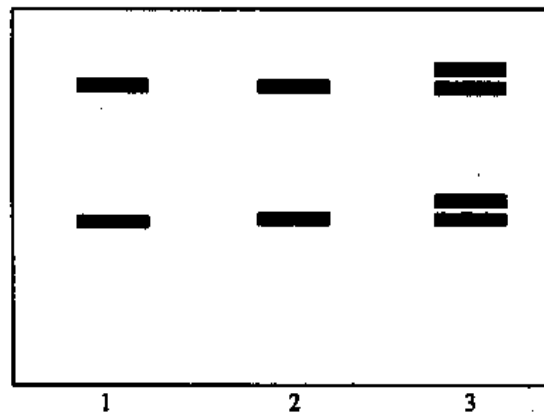


图 22-2 leber 病患者 PCR/SSCP 分析

1. 正常人 2. 纯合突变 3. 杂合突变

目前 PCR/ASO 法、PCR/SSCP 法、PCR/RFLP 法、PCR/限制酶谱法的联合应用也日益广泛，这些方法可省去繁琐的杂交步骤，避免了放射污染，直接从电泳凝胶上即可读出结果。

(三) 基因测序

分离出患者的有关基因，测定出其碱基排列顺序，找出其变异所在，这是最为确切的基因诊断方法。但由于技术原因，目前尚难以直接在临床上应用。

以上检测方法是 DNA 为检测对象，探测 DNA 序列中的突变情况，因而可称为

DNA 诊断。以 mRNA 为检测对象的诊断方法则可称为 RNA 诊断。RNA 诊断通过对待测基因的转录产物进行定性、定量分析,可确定其剪接、加工的缺陷及外显子的变异,常用的方法有 RNA 点杂交、Northern 分析和定量逆转录 PCR 等。近年来, mRNA 差异显示 PCR 技术被广泛用于寻找新的疾病相关基因,也取得了可喜成果。在此不再赘述。以上技术方法的原理参见第二十三章。

三、基因诊断的应用

近 20 年来,随着基因诊断方法学的不断改进更新,它已被广泛地应用于遗传病的诊断中。随着各种遗传病发生的分子缺陷和突变本质被揭示,其实用性也不断提高。如对有遗传病危险的胎儿在妊娠早期和中期甚至胚胎着床前进行产前诊断和携带者的检测,杜绝患儿出生,对遗传病的防治和预防性优生有实际意义。

肿瘤的发生和发展是一个多因素、多步骤过程。基因结构和表达的异常是肿瘤病变的主要因素之一。基因诊断除用于细胞癌变机制的研究外,还可对肿瘤进行诊断、分类分型和预后检测,在不同的环节上指导抗癌。

在感染性疾病的基因诊断中,不仅可以检出正在生长的病原体,也能检出潜伏的病原体,既能确定既往感染,也能确定现行感染。对那些不容易体外培养(如产毒性大肠杆菌)和不能在实验室安全培养(如立克次体)的病原体,也可用基因诊断进行检测,因而扩大了临床实验室的诊断范围。

某些传染性流行病病原体由于突变或外来毒株入侵常导致地域性流行,用经典的生物学及血清学方法只能确定其血清型别,不能深入了解相同血清型内各分离株的遗传差异。采用基因诊断分析同血清型中不同地域、不同年份分离株的同源性和变异性,有助于研究病原体遗传变异趋势,指导暴发流行的预测,在预防医学中占居重要的地位。

基因诊断在判断个体对某种重大疾病的易感性方面也起着重要作用。如人类白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)复合体的多态性与一些疾病的遗传易感性有关。白种人人类风湿性关节炎病人 HLA-DR4 携带者高达 70%,而正常人阳性率仅 28%。运用 HLA 基因分型对 HLA 多态性进行分析,既准确又灵敏,能检出血清学和细胞学分析方法无法检出的型别。

基因诊断在器官移植组织配型中的应用也日益受到重视。器官移植(包括骨髓移植)的主要难题是如何解决机体对移植物的排斥反应。理想的方法是进行术前组织配型。基因诊断技术能够分析和显示基因型,更好地完成组织配型,从而提高了器官移植的成功率。

基因诊断在法医学中的应用主要是针对人类 DNA 遗传差异进行个体识别和亲子鉴定。除前述技术外,在法医学鉴定中更常被采用的技术还有 DNA 指纹(fingerprint)技术和建立在 PCR 技术之上的检测基因组中短串联重复序列(short tandem repeat, STR)遗传特征的 PCR-STR 技术。基因诊断的高灵敏度解决了法医学检测中存在的犯罪物证少的问题,即便是一根毛发、一滴血、少量精液甚至单个精子都可用于分析。

第二节 基因治疗

一、基因治疗的概念

现代医学对于遗传性疾病,心、脑血管疾病,肿瘤,某些神经系统疾病及感染性疾病仍缺乏有效的防治措施。如前所述,上述疾病的发生均与基因变异或表达异常密切相关,因此理想的根治手段应是在基因水平上予以纠正。近些年来,基因治疗的兴起为上述疾病的医治开辟了新的途径。

在早期,基因治疗是指用正常的基因整合入细胞基因组以校正和置换致病基因的一种治疗方法。而近年来,采用某些基因转移的技术,即使目的基因和宿主细胞的基因组不发生整合,也可短暂发挥作用,产生治疗效果。随着基因治疗技术的发展,其涵义也逐渐地得以扩展。目前从广义上来讲,将某种遗传物质转移到患者细胞内,使其在体内发挥作用,以达到治疗疾病目的的方法,均谓之基因治疗。

随着对疾病本质的深入了解和分子生物学方法的不断更新,目前基因治疗所采用的方法基本上可分为以下几种。

1. 基因矫正(gene correction) 指将致病基因的异常碱基进行纠正,而正常部分予以保留。

2. 基因置换(gene replacement) 就是用正常的基因通过体内基因同源重组,原位替换病变细胞内的致病基因,使细胞内的DNA完全恢复正常状态。前两种方法均是对缺陷基因精确的原位修复,不涉及基因组的任何改变,是最为理想的治疗方法,但由于技术原因目前难以实施。

3. 基因增补(gene augmentation) 指将目的基因导入病变细胞或其他细胞,不去除异常基因,而是通过目的基因的非定点整合,使其表达产物补偿缺陷基因的功能或使原有的功能得以加强。目前基因治疗多采用此种方式。

4. 基因失活(gene inactivation) 早期一般是指反义核酸技术。它是将特定的反义核酸,包括反义RNA、反义DNA和核酶(ribozyme,亦称酸酶),导入细胞,在翻译和转录水平阻断某些基因的异常表达,以达到治疗疾病的目的。近年来发展起来的反基因策略(antigene strategy)、肽核酸(peptide nucleic acid, PNA)和基因敲除(gene knock-out)技术也可达到基因灭活的目的。限于篇幅,在此不作详述。

另外值得一提的是“自杀基因”的应用。某些病毒或细菌产生的酶能将对人体无毒或低毒的药物前体,在人体细胞内一系列酶的催化下转变为细胞毒性物,从而导致细胞死亡。如果将这种基因转导肿瘤细胞,该基因表达产物即可催化无毒性的药物前体转变成细胞毒物质,从而杀死肿瘤细胞。而正常细胞不含这种外源基因,故不受影响。由于携带该基因的受体细胞本身也被杀死,故称这类基因为“自杀基因”。常用的有单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-TK),大肠杆菌胞嘧啶脱氨酶(EC-CD)等。

基因治疗的策略较多,不同的方法在实践中各具优缺点。基因治疗也由最初单基因遗传病的治疗,发展到对肿瘤、心血管疾病和感染性等疾病的治疗。

二、基因治疗的基本程序

基因治疗融合了分子生物学和细胞生物学技术，其基本过程可概括如下。

(一) 治疗性基因的选择

选择对疾病有治疗作用的特定目的基因是基因治疗的首要问题。对于单基因缺陷的遗传病而言，其野生型基因即可被用于基因治疗，如选用腺苷脱氨酶(adenosine deaminase, ADA)基因治疗 ADA 缺陷导致的重症联合免疫缺陷综合征(Severe combined immunodeficiency disease, SCID)。而对于血管栓塞性疾病，可选用血管内皮生长因子(VEGF)基因，以刺激侧支循环建立，改善梗死部位的血液供应。选用特定的反义核酸封闭细胞内活化的原癌基因(如 *erbB₂*)的表达，则可能抑制肿瘤生长。

(二) 基因载体的选择

目前使用的有病毒载体和非病毒载体两大类。基因治疗的临床实施中，一般多选用病毒载体。目前被用作基因转移载体的病毒有逆转录病毒 (retro-virus, RV)、腺病毒 (adeno-virus, AV)、腺相关病毒(adenoassociated virus, AAV)等，在实际应用中各有优缺点，现将几种常用病毒载体的主要特点归纳如下。

表 22-1 几种常用病毒载体的特点比较

	逆转录病毒载体	腺病毒载体	腺相关病毒载体
基因组大小	8.5kb	36kb	5kb
核酸类型	RNA	DNA	DNA
外源基因容量	< 9kb	2~ 7kb	< 3.5kb
重组病毒滴度	中	高	较低
靶细胞状态	分裂细胞；表面须有特殊受体	分裂细胞或非分裂细胞	分裂细胞或非分裂细胞
基因整合	随机整合	不整合	优先整合于染色体 19q 位点上
外源基因表达情况	短暂表达/稳定表达	短暂表达	稳定表达
基因转移效率	高	高	
生物学特性	清楚	清楚	尚未研究清楚
安全性		病毒蛋白引起炎症反应和免疫反应	无病原性

(三) 靶细胞的选择

根据受体细胞种类的不同，基因治疗分为体细胞的基因治疗和生殖细胞的基因治疗两大类。一般而言，无论何种细胞均具有接受外源 DNA 的能力。出于安全性和伦理学的考虑，目前基因治疗禁止使用生殖细胞，仅限于使用体细胞。已被应用的靶细胞有淋巴细胞、造血细胞、上皮细胞、角质细胞、内皮细胞、成纤维细胞、肝细胞、肌细胞和肿瘤细胞等。

(四) 基因转移(gene transfer)

如何有效地将外源治疗性基因导入受体细胞,是基因治疗研究中的一个重要环节。在体外实验研究中,将基因导入哺乳动物细胞的方法有两类:一类是非病毒介导的基因转移;一类是病毒介导的基因转移。非病毒介导的基因转移方法包括物理的和化学的方法等。物理方法有显微注射、电穿孔、DNA直接注射法和基因枪技术等。化学方法有磷酸钙沉淀法、DEAE-葡聚糖法、脂质体介导的基因转移等。但在基因治疗的临床实施中,以病毒载体为主。这在“基因载体”中已作了介绍。

在人类基因治疗实施中导入基因的方式有两种:一种是间接体内疗法(*ex vivo*),即在体外将外源基因导入靶细胞内,再将这种基因修饰过的细胞回输病人体内,使带有外源基因的细胞在体内表达相应产物,以达到治疗的目的。其基本过程类似于自体组织细胞移植。另一种是直接体内疗法(*in vivo*),即将外源基因直接导入体内有关的组织器官,使其进入相应的细胞并进行表达。

(五) 外源基因表达的筛检

在体外培养细胞中,基因转染效率很难达到100%,故需利用载体中的标记基因对转染细胞进行筛选。在较多的表达载体中都有 neo^r (neomycin resistance)标记基因存在,若向培养基中加入药物G418(geneticin),未被转化的细胞不存在 neo^r 标记基因,细胞不能存活,最后只有转化细胞存活下来。在筛选出转化细胞后仍需检测转化细胞中外源基因的表达状况。只有稳定表达外源基因的细胞在病人体内才能发挥治疗效应。

(六) 回输体内

将治疗性基因修饰的细胞以不同的方式回输体内以发挥治疗效果,如淋巴细胞可经静脉回输入血;造血细胞可采用自体骨髓移植的方法;皮肤成纤维细胞经胶原包裹后可埋入皮下组织中等等。

上述过程是以间接体内疗法(*ex vivo*)为例,其他方法不尽相同,在此不详述。

三、基因治疗的应用与展望

基因治疗作为一门新兴的学科,其研究进展非常迅速,在很短的时间内就从实验室过渡到临床,1990年9月14日,全世界第一例用基因治疗手段尝试治疗ADA⁻-SCID获得成功。此后在不到10年的时间内,基因治疗在遗传性疾病、心血管疾病、肿瘤、感染性疾病和神经系统疾病等多种病种中都取得了突破性进展,已被批准的基因治疗方案有百例以上,包括肿瘤、艾滋病、遗传病和其他疾病等。在我国,血管内皮生长因子(VEGF)、血友病Ⅸ因子等基因治疗的临床实施方案也已获我国有关部门的批准进入临床试验。

对于一些发病机制较为复杂的疾病,研究者们采用多种不同的策略进行基因治疗。如在肿瘤的基因治疗中常用的策略包括基于免疫学原理的导入细胞因子基因(如IL-2, γ -IFN, TNF等)以产生抗癌效应;导入共刺激分子B7基因,以增强体内T细胞介导的抗癌功能;导入组织相容性复合物(MHC)基因,以增强肿瘤细胞的免疫原性等。针对不同的抑癌基因(如p53, Rb, nm23等)的缺失或失活在肿瘤细胞的发生、发展及转移过程中所发挥的不同作用,导入相应的抑癌基因,治疗已发生的肿瘤或防止肿瘤的转移;导入特定反义核酸抑制原癌基因的过度表达也可用以肿瘤的治疗。将自杀基因(如TK, CD基因

等)导入肿瘤细胞,利用药物特异杀伤肿瘤细胞。而在心血管疾病的基因治疗中,研究者利用组织纤溶酶原激活物(t-PA)或尿激酶原(pro-UK)来防止血栓形成;用 LDL 受体基因, apoA I 基因来治疗高脂血症;用 *C-myc*, *N-ras*, *p53*, IGF-1R 的反义寡核苷酸抑制血管平滑肌细胞的增殖;用血管紧张素亚型 I (AT1)受体 mRNA 反义寡核苷酸,心钠素(ANP)基因治疗高血压病等,均在实验室或临床实验中初步获得成功。

由于基因治疗是一种不同于以往任何治疗手段的新方法,将其作为疾病的常规疗法还有待时日。目前一般要符合以下条件才能作为基因治疗研究的病种。①已经在 DNA 水平上明确了该病为单基因缺陷疾病。②仅限于体细胞的基因治疗。③基因治疗的靶细胞可以从病人机体获取、培养,并进行遗传操作后,再回输患者体内。④治疗效果必须胜过对病人的危害。⑤表达水平无需严格调控即可使疾病得以改善且无副作用。⑥人体基因治疗计划必须经过动物实验证明符合严格的安全标准。

在现阶段,基因治疗还有许多理论和技术性问题有待进一步深入研究,对于其潜在的风险也需要充分的认识。首先,基因治疗要获得成功,必须具备切实有效的基因。目前用于肿瘤基因治疗的基因很多,但难以获得预期的结果,和上述原因不无关系。因此彻底阐明疾病发生的分子机制,寻找出有真正治疗作用的基因无疑会将基因治疗向前推动一大步。其次,就是外源基因在人体内的表达调控问题。很多蛋白质在生物体内的表达需进行精密的调控(如酶等)。哺乳动物细胞中基因表达调控的机制尚未完全阐明,如何使外源基因的表达随体内生理信号的变化而得以精细调控,在目前尚无良策。另外,尽管目前已有多种基因载体可供选择,但如何扬长避短,构建安全、高效、靶向、可控的载体是一个亟待解决的课题。此外,目前基因治疗的方案多数是采用 *ex vivo* 方法,但受体细胞经体外长期培养和增殖后,细胞生物学特性是否改变也是值得研究的问题。如体外试验已证实 TIL 能特异杀伤肿瘤细胞,回输体内后,除少部分分布在肿瘤组织外,更多的是集结在肝和肾中,而且基因表达效率也降低了。因此研究体细胞移植和重建的生物学,也是今后研究的一个方向。最后,要充分估计导入外源基因对机体的不利影响。尽管随机整合可能造成的插入突变几率极低,但潜在的危险还是存在的;当然,外源基因产物对宿主的危害性也不容忽视,若体内出现大量原来不存在的蛋白质,可能会导致严重的免疫反应。

尽管人类基因治疗仍存在上述问题,但可以预期,基因治疗的最后成功,将成为生物医学工程史上的一个新里程碑。

小 结

人类大多数疾病都与基因密切相关,主要因内源基因的变异和外源基因的人侵使得基因的结构变异和表达异常所致,在基因水平诊断和治疗疾病是现代医学发展的趋势。

基因诊断是指利用现代分子生物学和分子遗传学的技术方法直接检测基因结构及其表达水平是否正常,从而对疾病作出诊断的方法。常用的方法建立在核酸分子杂交和 PCR 技术的基础上。以分子杂交为基础的方法包括限制性内切酶酶谱分析法, DNA 限制性片段长度多态性分析法,等位基因特异寡核苷酸探针杂交法等;PCR 技术的问世极大地推动了基因诊断的发展。基于 PCR 技术的新方法层出不穷,使其在基因诊断中的

应用更为广泛。

基因诊断已广泛地应用于遗传病、肿瘤、心血管疾病、感染性疾病等重大疾病，除在早诊早治、疗效判断、鉴别诊断、分期分型、预测预后中发挥作用外，在判断个体疾病易感性，器官移植组织配型和法医学等方面均起着重要作用。

基因治疗是指将某种遗传物质转移到患者细胞内，使其在体内发挥作用，以达到治疗疾病目的的方法。目前基因治疗常用的方法有基因矫正、基因置换、基因增补和基因失活等。基因治疗根据受体细胞种类的不同分为体细胞的基因治疗和生殖细胞的基因治疗。迄今为止进行的基因治疗都是体细胞的基因治疗。根据实施路线的不同，基因治疗可分为间接体内疗法和直接体内疗法。基因治疗的间接体内疗法的基本程序包括治疗基因的选择，基因载体的选择，靶细胞的选择，基因转移，外源基因表达的筛检，将基因修饰过的细胞回输体内，并观察治疗效果等。

目前基因治疗已从实验室过渡到临床，且已取得了喜人的成绩。但基因治疗作为一种新兴的学科，尚存在许多理论和技术上的问题，有待在发展过程中进一步完善。

(屈 伸)

第二十三章 分子生物学常用技术与人类基因组计划

任何科学的进展都离不开技术的进步，新技术的出现往往会带来科学上的革命性变

(三) 探针技术

将一小段已知序列的多聚核苷酸用同位素、生物素或荧光染料标记它的末端或全链后就可以作为探针(probe),与固定在 NC 膜上的 DNA 或 RNA 进行结合反应。探针的序列如果与 NC 膜上的核酸序列相互补,就可以结合到膜上的相应区带,经放射自显影或其他检测手段就可以判定膜上是否有同源的核酸分子存在。

二、印渍技术的类别及应用

(一) DNA 印渍技术

如前所述, DNA 印渍术(DNA blotting)由 Edwen Southern 等人首次应用,因而以其姓氏命名,被广泛称为 Southern blotting,其操作流程图参见第十五章图 15-11。基因组 DNA 经限制性内切酶消化后进行琼脂糖凝胶电泳,将含有 DNA 区带的凝胶放入变性溶液变性后,按照图中顺序将 NC 膜放在胶上,盘中的转移缓冲液将逐渐为胶和膜上覆盖的滤纸吸收,从而将胶中的 DNA 分子带到 NC 膜上。转移的速度取决于分子的大小,分子越小,转移越快。转移完成后,加热使 DNA 固定于 NC 膜上,用于杂交反应。

DNA 印渍术主要用于基因组 DNA 的分析,例如在基因组中特异基因的定位及检测等,此外亦可用于分析重组质粒和噬菌体。

(二) RNA 印渍技术

RNA 也可以利用与 DNA 印渍相类似的技术来进行分析。相对于 Southern blotting,有人将 RNA 印渍称为 Northern blotting,其基本原理是一样的。RNA 分子较小,在转移前不需进行限制性内切酶切割,而且变性 RNA 转移效率也比较满意。

RNA 印渍技术目前主要用于检测某一组织或细胞中已知的特异 mRNA 的表达水平以及比较不同组织和细胞的同一基因的表达情况。检测时,可以用合成的寡核苷酸片段作为探针,也可以用克隆或提取的 DNA 片段作为探针进行标记。尽管 RNA 印渍技术检测 mRNA 表达水平的敏感性较 PCR 法低,但是由于其专一性好,假阳性率低,仍然被认为是一个可靠的 mRNA 水平分析方法。

(三) 蛋白质的印渍分析

印渍技术不仅可用于核酸的分子杂交,人们发现蛋白质在电泳之后也可以固定于膜上,再与溶液中的其他蛋白分子相互结合,其中最常用的是用抗体来检测,因此也称为免疫印渍技术(immunoblotting)。相对应于 DNA 的 Southern blotting 和 RNA 的 Northern blotting,亦被称为 Western blotting(蛋白质印渍)。

蛋白质印渍技术的原理与 DNA 和 RNA 类似,首先将蛋白质用聚丙烯酰胺凝胶电泳按分子大小分开,再将蛋白质转移到 NC 膜或其他膜上,蛋白质的位置可以保持在胶中的原位上。与 DNA 和 RNA 不同的是,蛋白质的转移只有靠电转移方可完成,另外蛋白质的检测是以抗体做探针的。反应时用碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶标记或同位素标记第二抗体,反应之后用放射自显影或底物显色来检测蛋白区带的信号,底物亦可与化学发光剂结合以提高敏感度。

免疫印渍技术用于检测样品中特异性蛋白质的存在、细胞中特异蛋白质的半定量分析以及蛋白质分子的相互作用研究等。

除上述三种印渍技术外,还有一些其他的方法可用于核酸和蛋白质的分析。例如,可以不经电泳分离直接将样品点在 NC 膜上用于杂交分析,这种方式被称为斑点印渍(dot blotting);组织切片或细胞涂片可以直接用于杂交分析,称为原位杂交(in situ hybridization);可以将多种已知序列的 DNA 排列在一定大小的尼龙膜或其他支持物上用于检测细胞或组织样品中的核酸种类,类似的技术称为 DNA 点阵(DNA array)。在此基础上发展起来的 DNA 芯片(DNA chip)技术更是在计算机控制的点样及强大的扫描分析硬件及软件的支持下,可以在很小的硅片上固定数千甚至上万个探针用于细胞样品中基因表达谱的分析、遗传性疾病的分析、病原微生物的大规模检测等。DNA 芯片对核酸的研究工作以及未来的诊断技术都将产生革命性的影响。

第二节 PCR 技术

一、PCR 的工作原理

PCR (polymerase chain reaction)的中文全称为聚合酶链反应,应用这一技术可以将微量的目的 DNA 片段在体外扩增 100 万倍以上。PCR 的基本工作原理是以拟扩增的 DNA 分子为模板,以一对分别与模板 5'末端和 3'末端相互补的寡核苷酸片段为引物,在 DNA 聚合酶的作用下,按照半保留复制的机制沿着模板链延伸直至完成新的 DNA 合成,重复这一过程,即可使目的 DNA 片段得到扩增(图 23-1)。组成 PCR 反应体系的基本成分包括:模板 DNA、特异性引物、DNA 聚合酶(具耐热性)、dNTP 以及含有 Mg^{2+} 的缓冲液。

PCR 的基本反应步骤包括:①变性,将反应系统加热至 $95^{\circ}C$,使模板 DNA 完全变性成为单链,同时引物自身和引物之间存在的局部双链也得以消除;②退火,将温度下降至适宜温度(一般较 T_m 低 $5^{\circ}C$)使引物与模板 DNA 退火结合;③延伸,将温度升至 $72^{\circ}C$,DNA 聚合酶以 dNTP 为底物催化 DNA 的合成反应。上述三个步骤称为一个循环,新合成的 DNA 分子继续作为下一轮合成的模板,经多次循环(25~30 次)后即可达到扩增 DNA 片段的目的。

二、PCR 的主要用途

PCR 反应理论的提出和技术上的完善对于分子生物学的发展具有不可估量的价值,它以敏感度高、特异性强、产率高、重复性好以及快速简便等不可替代的优点,迅速成为分子生物学研究中应用最为广泛的方法,并使得很多以往无法解决的分子生物学研究难题得以攻克。PCR 技术目前主要应用于以下三个方面:

(一) 目的基因的克隆

PCR 技术为重组 DNA 的一个重要步骤——获得目的基因提供了简便快速的方法,具体可以用于:①利用特异性引物以 cDNA 或基因组 DNA 为模板获得已知的目的基因片段;②利用简并引物从 cDNA 文库或基因组文库中获得具有一定同源性的基因片段;③利用随机引物从 cDNA 文库或基因组文库中随机克隆基因。

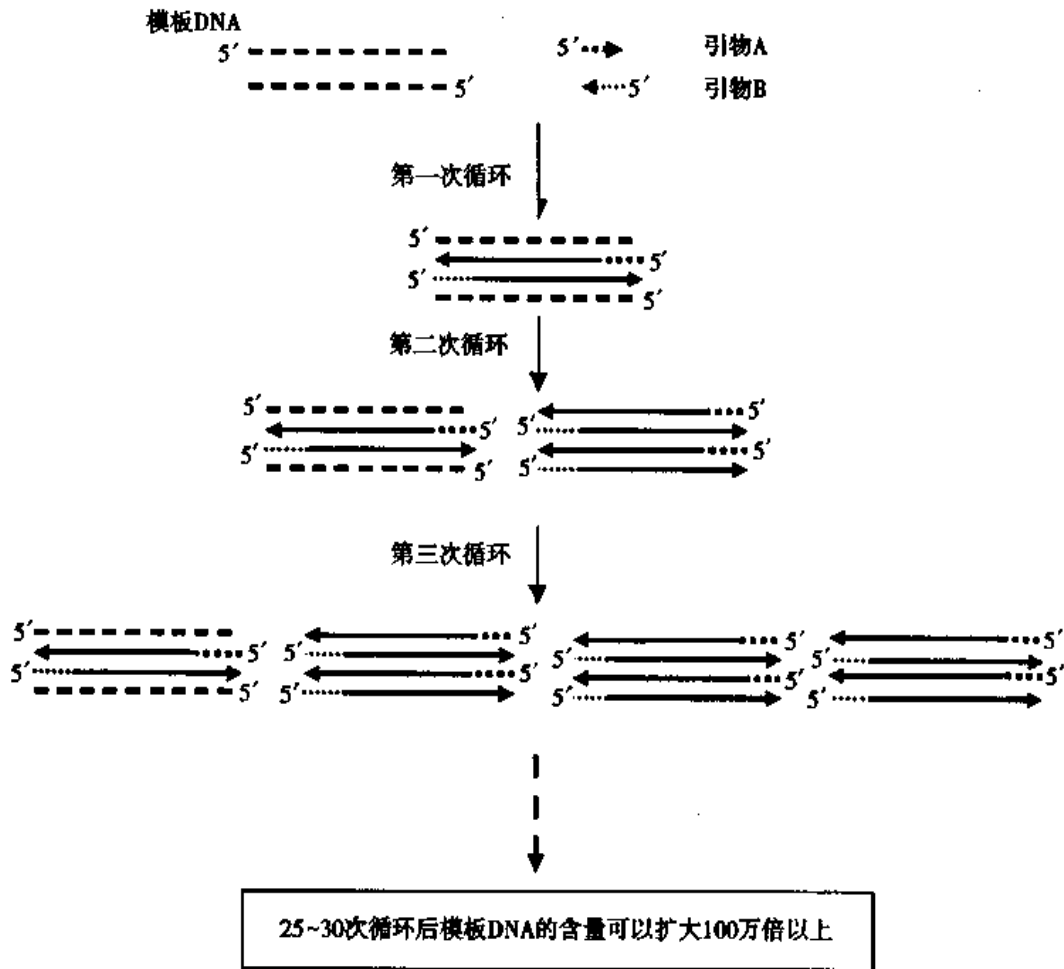


图 23-1 PCR 工作原理

(二) 基因的体外突变

在 PCR 技术建立以前，在体外对基因进行各种突变是一费时费力的工作。现在，利用 PCR 技术可以随意设计引物在体外进行基因的嵌合、缺失、点突变等改造。

(三) DNA 的微量分析

PCR 技术高度敏感，对模板 DNA 的含量要求很低，是 DNA 微量分析的最好方法。理论上讲，只要存在 1 分子的模板，就可以获得目的片段。实际工作中，一滴血液、一根毛发或一个细胞已足以满足 PCR 的检测需要，因此在基因诊断方面具有极广阔的应用前景(见第二十二章)。PCR 技术可以用于：①病原微生物的微量检测；②突变基因的筛选；③法医学鉴定；④DNA 序列分析等。

第三节 核酸序列分析

DNA 的碱基序列蕴藏着全部遗传信息，测定和分析 DNA 的碱基序列对于了解遗传的本质即了解每个基因的编码方式无疑是十分重要的。

最初，人们用部分酶解等方法仅能测定 RNA 的序列，1965 年，Robert Holley 花了 7 年时间才完成了酵母丙氨酰-tRNA 的 76 个核苷酸的序列测定。1975 年之后，DNA 序列

分析的速度很快超过了 RNA 和蛋白质。如今，DNA 测序工作的自动化及高速度已到了难以置信的地步，一个最小的 DNA 序列自动分析仪(如 PE310)24 小时内即可完成约 10 000 个碱基序列的测定工作。DNA 序列的分析有赖于基因工程技术的发展，在进行序列测定前，一般需要将一段待测 DNA 分子克隆入质粒或噬菌体(方法见第十五章)。目前手工测定或自动化测定所基于的技术原理一为 Allan Maxam 和 Walter Gilbert 所建立的化学裂解法，二为 Frederick Sanger 建立的 DNA 链末端合成终止法。

一、化学裂解法

化学裂解法也称为 Maxam-Gilbert 法，基本原理是基于某些化学试剂可以使 DNA 链在 1 个碱基或 2 个碱基处发生专一性断裂的特性，精确地控制反应强度，使一个断裂点仅存在于少数分子中，不同分子在不同位点断裂，从而获得一系列大小不同的 DNA 片段，将这些片段经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离。在分析前，用同位素标记 DNA 的 5' 末端，经放射自显影就可以在 X 线胶片上读出 DNA 链的序列了。

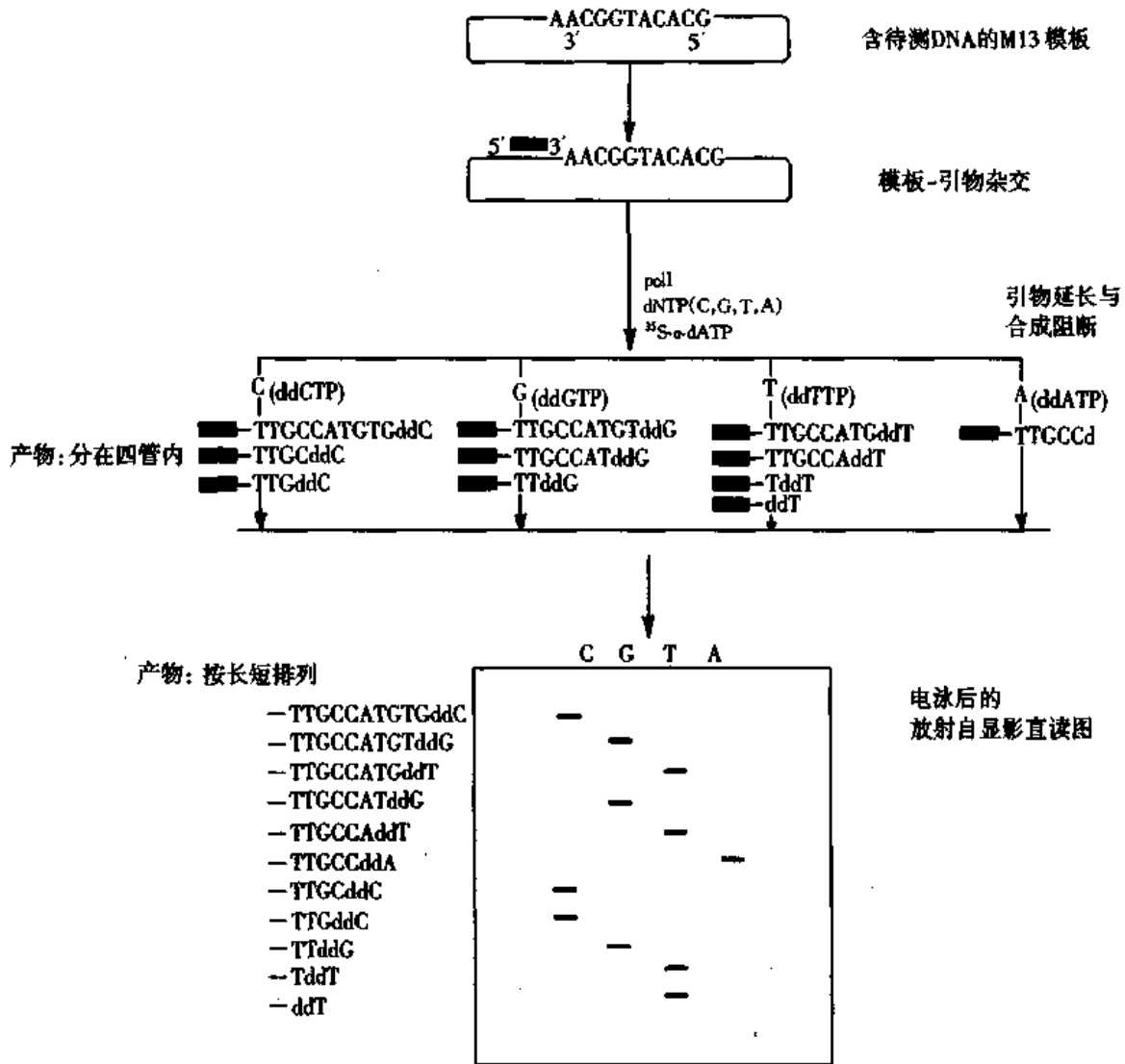


图 23-2 M13-ddNTP 法进行碱基序列分析

二、DNA 链末端合成终止法

DNA 链末端合成终止法也称为 Sanger 法,是目前应用的最为广泛的方法。它的基本原理是利用四种 2', 3'-双脱氧核苷酸(ddNTP)代替部分脱氧核苷酸(dNTP)作为底物进行 DNA 合成反应。一旦 2', 3'-双脱氧核苷酸参入到合成的 DNA 链中,由于核糖的 3 位碳原子上不含羟基,不能与下一核苷酸反应形成磷酸二酯键,因此合成反应终止。测定时,首先将模板分为四组,加入引物启动 DNA 的合成,用³²P 或³⁵S 标记的 dNTP (仅标记一种即可)作为底物参入到新合成的 DNA 链中。反应一定时间后,每一管内加入四种 ddNTP 中的一种,如果 ddNTP:dNTP 的比例适当,就可获得在不同部位终止反应的大小不同的 DNA 链。经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离这些片段,放射自显影就可以读出一段 DNA 的序列(图 23-2)。

随着 DNA 序列测定自动化的实现和普及,手工测定将逐步被其取代。自动化测序的主要原理与手工测序一样,只是用四种荧光代替了同位素进行 DNA 的标记,因而采用激光扫描分析可以迅速读出所测序列。

第四节 人类基因组计划与后基因组研究

基因组在个体水平代表个体所有遗传性状的总和;在细胞水平,是一个细胞所有染色体的总和;从分子角度认识,基因组代表了一个物种的所有 DNA 分子的总和。人类基因组由 23 条染色体,约 30 亿对核苷酸的 DNA 分子构成,估计可编码的基因数目为 10 万左右,另外还有许多非编码序列。如果能够分析出人类基因组的全部序列,对于认识各种基因的功能,了解基因表达的调控方式,理解生物进化的基础,进而阐明所有生命活动的分子基础无疑具有十分重要的意义。

一、人类基因组计划

1986 年,美国学者提出了进行人类基因组计划(human genome project)研究的设想。1991 年,美国众院批准了一个 15 年的人类基因组研究计划,总资助额为 30 亿美元。该项研究很快为各国科学家和各国政府所重视,攻克基因组结构的工作正由世界各国合作展开,我国也从 1994 年起启动了相关研究项目。

(一) 人类基因组分析的主要内容

1. 遗传图分析 遗传图(genetic map)是指以具有遗传多态性的遗传标记为“路标”,以遗传学(重组)距离为“图距”的基因组图,是基于遗传功能而建立的图谱。单位为分摩尔根(cM)。遗传学作图在基因组计划中已提前完成,确定了分辨率为 1cM 的人的遗传图谱,其大小为 3600cM。

2. 物理图分析 物理图(physical map)是指以一段已知核苷酸序列的 DNA 片段为标志(称为序列标记位置, sequence tagged site, STS)、以碱基对的大小为图距(Mb, kb)所作出的基因组 DNA 分析。事实上包括了在不同层次上对 DNA 结构的剖析,如细胞水平,染色体水平, DNA 分子水平,直到每一个碱基对。目前已经获得了 52 000 个 STS 序列。

这些 STS 序列用来确定相连或重叠的 DNA 片段群，从而确定这些片段在基因组中的位置。

3. 转录图分析 在人类基因组中，真正为蛋白质编码的序列仅占 1%~5%。而在每一种细胞中，这些编码序列又仅有 10% 左右专一表达。如果抓住了 mRNA (或 cDNA) 序列，就抓住了基因功能的主要部分。从不同组织提取 mRNA，合成 cDNA，然后大规模测序这一策略很快作为人类基因组计划的一部分得到承认，并且迅速为一些大公司采用。cDNA 片段被称为表达序列标签 (Expressed sequence Tag, EST)，目前已经得到了 180 万余条 EST。

4. 基因组序列测定 人类基因组计划的最终目标是测定总长度约 1m，由近 30 亿个核苷酸组成的人基因组 DNA 全序列。这项工作随着分子克隆技术和 DNA 自动测序技术的提高而不断超越原来的时间表。全部基因组序列测定草图已于 2000 年提前完成，并将在 2003 年完成 23 条染色体上全部序列的排列分析，绘制出人类基因组精确图谱。

5. 资料的储存和利用 要将人基因的全部序列以每页 3.0 kb 印刷，需要近百万页方可容纳，因此，人类基因组计划一开始就充分估计了数据处理系统的需求，在开始基因作图的同时已经将发展资料和数据储存及利用列为该计划的重要组成部分。目前已建成的数据库包括 Genbank、EMBL、DDBJ、PIR、Swiss-PROT 等等，均可以从因特网直接进入这些数据库获得或输送有关基因组序列的数据。

(二) 人类基因组研究在医学上的价值

在利用分子生物学技术深入探讨各种疾病发病机制的过程中，人们不断认识到人类疾病或多或少、或直接或间接与基因相关联。其中有的疾病是单基因决定的，有的是多基因相关的，有的是由于外源基因在体细胞的整合所引起。从基因水平深入理解疾病的发病机制，将为研究这些疾病的发生、发展、预后、以及诊断和治疗提供新的手段。

人类基因组计划的实施大大促进了医学的发展，DNA 的遗传作图和物理作图对于认识疾病相关基因具有巨大的推动作用。遗传性疾病的基因定位，尤其是对多基因复杂性状的基因位点将可以进行全基因组的定位扫描，使得确定致病基因的工作更为容易。例如高血压，糖尿病等都在吸引着众多的医学家和药物学家从分子水平突破对这些疾病的传统认识，从而改变治疗方式。

转录图和基因全序列图与医学的关系就更为密切，EST 除了提供序列信息外，还提供了组织和细胞来源的信息。最后将清楚地得到某一基因在不同时期、不同组织、不同条件下的表达图谱。研究病理状态下的表达图谱将为认识疾病的分子机制，以及其诊断和治疗带来重要的线索。

总之，不久的将来，我们可以利用基因组全序列所提供的信息来进行各种疾病的基因定位研究。

二、后基因组研究

随着人类基因组计划完成日期的不断提前，基因组全序列测定的最后成功已逐步成为事实，对这些序列或其编码产物的功能分析开始受到科学家们的广泛关注，有人将这一局面称为后基因组纪元 (post genome era) 的到来。

(一) 后基因组时代研究内容

1. 功能基因组学 功能基因组学探讨单一细胞在其生命的一定时刻、一定条件所表达的基因的种类和数量；比较不同细胞之间、或同一细胞在不同条件下基因表达的差异。这一研究将促进对于细胞的发生发育及其功能的理解，同时将了解不同生理病理条件下的基因表达状态，从而深入认识这些基因在发育、分化、病理等状态下的功能变化，认识其表达调控方式及调控机制。

2. 蛋白质组学 蛋白质组学是后基因组研究中的另一重要内容，是指细胞或组织

(一) 功能性克隆

功能克隆(functional cloning)是指从对一种致病基因的功能的了解出发克隆该致病基因。主要用于某些生物化学机制已经明确,基因表达产物较易得到部分纯化的遗传性疾病。在这种情况下,获得部分纯化的蛋白质后可以采用两种方式进行基因的克隆,一是利用特异性抗体筛选表达型 cDNA 文库,另一方式是根据已知的部分氨基酸序列合成寡核苷酸作为探针,筛选 cDNA 文库。上述两种方式获得的阳性克隆,经序列测定及功能分析确定其是否为致病基因。导致血友病的第Ⅷ因子基因的克隆采用的就是这一策略。

另外,酵母系统也可以用来从功能学角度出发鉴定致病基因。酵母系统易于操作,基因的突变表型易于确认,如果用不同人的 DNA 片段转化与人类遗传疾病具有类似表型的突变酵母,可以恢复(rescue)正常表型的片段即可能为致病基因。这种实验称为功能互补实验(functional complementation assay),一些哺乳动物细胞系也可用于功能互补实验。

(二) 定位克隆

定位克隆(positional cloning)是指从一种致病基因的染色体定位出发逐步缩小范围,最后克隆该基因。实现从染色体定位到基因克隆是 80 年代医学分子生物学的重要进展之一。

系统的定位克隆工作包含遗传学分析和分子生物学分析两部分。遗传学分析方法包括交换分析和连锁不平衡分析以确定致病基因的染色体定位。分子生物学分析包括染色体异常(缺失、易位等)分析和基因文库的筛选与基因克隆。一种基因的定位往往需要多种技术的结合,本节简单介绍一个定位克隆的实例,以便对这一过程有所了解。

杜氏肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy, DMD)致病基因的克隆是一个定位克隆的过程,全过程分为两阶段进行。首先,通过遗传学的家族连锁分析确定了致病基因位于 Xp21,从而完成了该基因的染色体定位。接着,研究人员利用一个 Xp21 区带缺失的病例采用扣除杂交实验(subtractive hybridization)进行了基因克隆。其原理是将此病人的 DNA 与正常人的 DNA 进行杂交,从而减掉了相同的基因序列,最后剩余的序列即为病人缺失的基因,该基因的产物被命名为肌营养不良蛋白(dystrophin)。

尽管上述功能克隆法和定位克隆法对于疾病相关基因的克隆具有重要的推动作用,但是随着研究的深入,这些方法正逐步被新的技术所取代。由于基因组作图的完成和分子病理学的发展,人们可以不依靠染色体定位直接根据病理学变化和对各种基因产物功能的了解预测出候选致病基因,这一策略称为非定位候选基因克隆策略(position-independent candidate gene approaches)。另外,一旦致病基因的染色体定位得以确认,可以利用因特网上的基因网站所提供的基因序列数据鉴定出候选致病基因,此方法被称为定位候选基因克隆策略(positional candidate gene approaches)。这两种策略将加速致病基因克隆的研究工作。

在分子生物学技术不断发展的今天,鉴定与克隆疾病相关基因已经成为医学分子生物学的研究热点和重点,在对单基因决定的遗传性疾病有所认识的基础上,多基因遗传及环境与遗传相互作用所导致的疾病如糖尿病、高血压及肿瘤等亦逐步为人们所重视。这些研究将为认识疾病的发病机制提供极为重要的线索,为诊断和治疗带来革命性的

变化。

第六节 转基因、核转移与基因剔除技术

一、转基因技术

基因转移技术的发展使得人们不仅可以进行细胞水平的基因转移(transfection, 见第二十二章),而且可以使目的基因整合入受精卵细胞或胚胎干细胞,然后将细胞导入动物子宫,使之发育成个体。这种个体能够把目的基因继续传给子代,该技术被称之为转基因技术。被导入的目的基因称为转基因(transgene),目的基因的受体动物称为转基因动物(transgenic animal)。现已建立了转基因小鼠、转基因羊、转基因大鼠等多种动物模型。

二、核转移技术

核转移技术即所谓动物整体克隆技术。1996年,克隆羊多莉的诞生成为当年分子生物学发展中的最重大事件。核转移技术是将动物体细胞核全部导入另一个体的去除了胞核的受精卵内,使之发育成个体。这样的个体所携带的遗传性状仅来自一个父亲或母亲个体,因而为无性繁殖。从遗传角度上讲,是一个个体的完全拷贝,故称之为克隆(clone)。

三、基因剔除技术

对基因表达的整体人工干预不仅限于表达某种目的基因,也可以专一地去除某种目的基因。这种有目的去除动物体内某种基因的技术称为基因剔除(gene knock out),或基因靶向(gene targeting)灭活,其基本原理是建立在同源重组技术上。这种基因靶向灭活技术可以在细胞水平进行,从而建立新的细胞系,也可以在整体水平进行以建立基因剔除动物。它的基本方式是将灭活的基因放入胚胎干细胞(ES细胞)中使这一灭活基因通过同源重组取代原有的目的基因,筛选到基因已定点灭活的细胞后,将细胞通过显微注射注入小鼠囊胚中。细胞在小鼠囊胚中参与胚胎的发育,最终形成嵌合体小鼠(只灭活了等位基因中的一个)。由于嵌合小鼠的一部分生殖细胞是来源于ES细胞的,所以通过小鼠培育即可获得纯合子基因剔除小鼠。

四、基因转移和基因剔除在医学中的应用

基因转移技术和基因剔除技术在探讨每一种基因产物的正常功能方面具有重要的作用,同时对于医学的发展也具有重大的推动作用。这两项技术在医学中的最重要的用途是建立疾病的动物模型,这些动物模型可以用于探讨疾病的发生机制,更为重要的是可以作为新的治疗方法和新的药物的筛选系统。以往的疾病动物模型主要是自然发生,或用化学药物放射线诱导等方式获得,转基因技术和基因剔除技术为直接建立这些动物模型提供了有效的手段。这些动物模型包括:

①单基因决定疾病：无论是显性遗传还是隐性遗传，很多疾病都是某些基因失活（loss-of-function mutations）的结果。因此最简单的制作疾病动物模型的方式是基因剔除。对于单基因决定的疾病模型来说，目前已用此法建立的疾病模型包括： β -地中海贫血，高脂蛋白血症、动脉硬化症、阿默海茨病等。还有一些疾病是由单一基因的突变所造成，因此，可以在动物导入该突变基因而建立疾病模型，称为获得性突变（gain-of-function mutation）。这一技术已在一些神经变性疾病模型的建立上获得成功。②多基因决定的疾病模型：肿瘤、高血压、糖尿病等疾病是多基因遗传性疾病，且有环境因素的强烈影响，目前也在吸引人们建立模型系统，如抑癌基因 p53 和 Rb 的剔除可诱发视网膜母细胞瘤等。

小 结

生物大分子杂交与印渍技术在医学研究中具有重要价值。核酸的分子杂交基于核酸的变性与复性这一重要特性，可用于研究 DNA 分子中某一种序列的位置，两种核酸分子间的相似性，也可以用于检测某一专一序列在待检样品中存在与否等。核酸杂交包括 DNA 印渍、RNA 印渍、斑点印渍、原位杂交及 DNA 芯片等方法。蛋白分子间的相互作用则是蛋白质印渍技术的基础，由于主要以抗体作为探针应用，亦称为免疫印渍。

PCR 技术可以将微量目的 DNA 片段在体外扩增 100 万倍以上，其基本工作原理是以拟扩增的 DNA 分子为模板，以一对分别与其 5' 末端和 3' 末端相互补的寡核苷酸片段为引物，在 DNA 聚合酶的作用下，按照半保留复制的机制沿着模板链延伸直至完成新的 DNA 合成，重复这一过程，即可使目的 DNA 片段得到扩增。PCR 技术目前主要应用于目的基因的体外克隆与改造和 DNA 的微量分析。

DNA 的序列蕴藏着全部遗传信息，测定和分析 DNA 的碱基序列对于了解遗传的本质即了解每个基因的编码方式无疑是十分重要的。目前手工测定或自动化测定 DNA 序列所基于的技术原理一为化学裂解法，二为 DNA 链末端合成终止法。

人类基因组计划自 1991 年开始实施，已经取得了巨大的进展。人类基因组计划的具体研究内容包括①建立高分辨率的人类基因组遗传图；②建立人类所有染色体的物理图谱；③完成人类基因组的全部序列测定；④发展取样、收集、数据的储存及分析技术。人类基因组研究在医学上的价值体现在从基因水平深入理解疾病的发病机制，将为研究疾病的发生、发展、预后、以及诊断和治疗提供新的手段。

后基因组计划是对基因及基因产物的功能进行研究。它的主要研究内容包括①功能基因组学；②蛋白质组学。后基因组研究的进展将为医学发展提供更多的线索和机遇。

致病相关基因的克隆是分子生物学在医学研究中最有意义的研究应用领域之一。克隆致病基因的主要策略是：①功能克隆法：从已知功能变化出发克隆基因；②定位克隆法：从染色体的定位开始，联合应用遗传学上的连锁分析和分子生物学中削减杂交等多种方法确定致病基因的位点，并克隆该基因。由于基因组作图的完成和分子病理学的发展，人们可以不依靠染色体定位直接根据病理学变化和对各种基因产物功能的了解预测出候选致病基因，这一策略称为非定位候选基因克隆策略。另外，一旦致病基因的染色体定位

得以确认,可以利用因特网上的基因网站所提供的基因序列数据鉴定出候选致病基因,此方法被称为定位候选基因克隆策略。这两种策略将加速致病基因克隆的研究工作。

转基因、核转移与基因剔除技术在医学中最重要的用途是建立疾病的动物模型。这些动物模型对于探讨疾病的发病机制和过程十分重要。另外,更为重要的是可以作为新治疗方法和新药物的筛选模型。

(药立波)

主要参考资料

1. 张迺蕻主编. 生物化学(第二版). 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1999
2. 徐晓利、马润泉主编. 医学生物化学. 北京: 人民卫生出版社, 1998
3. Meisenberg G and Simmons WH. Principles of Medical Biochemistry. St. Louis: Mosby Inc, 1998
4. Devlin TM. Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations. 4th ed. New York: A John Wiley & Sons, Inc, 1997
5. Albert B, Bray D, Lewis, et al. Molecular Biology of the Cell. 3rd ed. New York: Garland Publishing Inc, 1996
6. Marks DB, Marks AD, Smith CM. Basic Medical Biochemistry. A Clinical Approach. Baltimore: A Waverly Company, 1996
7. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, et al. Harper's Biochemistry. 24th ed. Stanford: A Simon & Schuster Company. 1996
8. Stryer L. Biochemistry. 4th ed. New York: W. H. Freeman and Company, 1995

汉英索引

A

癌基因	oncogene	414
艾滋病	acquired immuno-deficiency syndrome, AIDS	246
氨	ammonia	167, 172
氨蝶呤	aminopterin	198
δ -氨基- γ -酮戊酸	δ -aminolevulinic acid, ALA	359
γ -氨基丁酸	γ -aminobutyric acid, GABA	180
氨基甲酰磷酸合成酶 I	carbamoyl phosphate synthetase I, CPS- I	176
氨基末端	amino terminal	10
氨基酸	amino acid	6, 163
氨基酸序列	amino acid sequence	12
氨基酰-tRNA	aminoacyl-tRNA	276
氨基酰-tRNA 合成酶	aminoacyl-tRNA synthetase	276
氨基酰位	aminoacyl site	279
β -氨基异丁酸	β -aminoisobutyric acid	203
氨基转移酶	aminotransferase	169
氨甲蝶呤	methotrexate, MTX	60, 198
氨肽酶	aminopeptidase	165
胺类	amines	167
胺氧化酶	amine oxidase	179

B

靶细胞	target cell	330
白喉毒素	diphtheria toxin	289
白化病	albinism	188
摆动性	wobble	274
斑点印渍术	dot blotting	437
半胱氨酸	cysteine	7, 186
半乳糖	galactose, Gal	400
包涵体	inclusion body	324
苯丙氨酸	phenylalanine	7, 187
苯丙氨酸羟化酶	phenylalanine hydroxylase	187
苯酮酸尿症	phenyl ketonuria, PKU	188
必需氨基酸	essential amino acid	164

编码链	coding strand	249
变构酶	allosteric enzyme	64, 212
半保留复制	semiconservative replication	220
变构效应	allosteric effect	25
变构效应剂	allosteric effector	64, 212
变性	denature	25
辨认位点	recognition site	253
表达载体	expression vector	318
表面效应	surface effect	53
别嘌呤醇	allopurinol	199
丙氨酸	alanine	7
丙氨酸-葡萄糖循环	alanine-glucose cycle	173
丙酮酸	pyruvate	73
丙酮酸激酶	pyruvate kinase	76
拼接体	spliceosome	263
病毒癌基因	virus oncogene, v-onc	415
补救合成途径	salvage pathway	192
不对称转录	asymmetric transcription	248
不可逆性抑制作用	irreversible inhibition	59

C

残基	residue	10
操纵子	operon	252, 295, 299
层粘蛋白	laminin	411
插入	insertion	241
长末端重复序列	long terminal repeat, LTR	312
长萜醇	dolichol	401
肠肝循环	enterohepatic circulation	382
肠激酶	enterokinase	165
超氧化物歧化酶	superoxide dismutase, SOD	159
巢蛋白	entactin	411
初级胆汁酸	primary bile acids	375
初级转录产物	primary transcripts	261
传导作用	transduction	311
槌头结构	hammerhead structure	268
醇脱氢酶	alcohol dehydrogenase, ADH	370
次黄嘌呤核苷酸	inosine monophosphate, IMP	192
次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶	hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase, HGP	195
次级胆汁酸	secondary bile acids	375
从头合成途径	de novo synthesis	192
催化基团	catalytic group	51

催化型受体	catalytic receptor	333
错配	mismatch	241
D		
单胺氧化酶	monoamine oxidase, MAO	369
胆固醇	cholesterol	130
单纯酶	simple enzyme	49
单链 DNA 结合蛋白	single strand DNA binding protein	232
单顺反子	monocistron	304
单体酶	monomeric enzyme	49
胆固醇 7 α -羟化酶	cholesterol 7 α -hydroxylase	375
胆红素	bilirubin	377
胆碱酯酶	choline esterase	58
胆绿素	biliverdin	377
胆绿素还原酶	biliverdin reductase	379
胆色素	bile pigment	377
胆素	bilin	377
胆素原	bilinogen	377
胆酸	cholic acid	375
胆汁	bile	374
胆汁酸	bile acids	133, 374
弹性蛋白酶	elastase	165
蛋氨酸, 甲硫氨酸	methionine	7, 183
Y 蛋白	protein Y	380
Z 蛋白	protein Z	380
蛋白激酶 A	protein kinase A, PKA	335
蛋白激酶 C	protein kinase c. PKC	338
蛋白聚糖	proteoglycan	400
蛋白聚糖复合物	aggrecan	405
蛋白磷酸酶	protein phosphatase	214, 343
蛋白质	protein	6, 163, 272
蛋白质靶向输送	protein targeting	286
蛋白质-蛋白质相互作用	protein-protein interaction	297
蛋白质的凝固	protein coagulation	26
蛋白质印渍术	Western blotting	436
氮平衡	nitrogen balance	163
等电点	isoelectric point, PI	9
低血糖	hypoglycemia	104
底物循环	substrate cycle	98
第二信使	secondary messenger	331
点突变	point mutation	241, 417

电子传递链	electron transfer chain	144
淀粉	starch	72
α -淀粉酶	α -amylase	72
凋亡	apoptosis	414, 424
定向排列	orientation arrange	53
端粒	telomere	238
端粒酶	telomerase	238
断裂基因	split gene	263
对接蛋白	docking protein, DP	287
多巴胺	dopamine	188
多功能酶	multifunctional enzyme	49
多接头克隆位点	polylinker cloning site	324
多聚核蛋白体	polyribosome	258
多聚核蛋白体	polysome	258
多酶体系	multienzyme system	49
多顺反子	polycistron	304
多顺反子 mRNA	polycistronic mRNA	299
多态性	polymorphism	239
多肽	polypeptide	10
多肽链	polypeptide chain	10
多元催化	multielement catalysis	53
E		
鹅膏蕈碱	amanitine	251
鹅脱氧胆酸	chenodeoxycholic acid	375
儿茶酚胺	catecholamine	188
二级结构	secondary structure	13
3, 4-二羟苯丙氨酸, 多巴	3, 4-dihydroxyphenylalanine, dopa	188
二氢叶酸合成酶	dihydrofolic acid synthetase	60
二氢叶酸还原酶	dihydrofolate reductase	182
二肽酶	dipeptidase	165
二硝基苯酚	dinitrophenol, DNP	153
F		
发夹结构	hairpin	259
翻译	translation	219
翻译后加工	post-translational processing	284
翻译起始复合物	translational initiation complex	277
反竞争性抑制作用	uncompetitive inhibition	61
反密码子	anticode	43
反式作用因子	trans-acting factor	255, 297

泛素	ubiquitin	168
非必需氨基酸	non-essential amino acid	164
非蛋白氮	non-protein nitrogen, NPN	346
非竞争性抑制作用	non-competitive inhibition	60
分泌性蛋白质	secretory proteins	286
分支酶	branching enzyme	92
分子伴侣	chaperon	16
分子克隆	molecular clone	315
分子生物学	molecular biology	1
粪胆素	stercobilin	382
粪胆素原	stercobilinogen	382
佛波酯	phorbol ester	338
5-氟尿嘧啶	5-fluorouracil, 5-fu	203
脯氨酸	proline	7
辅基	prosthetic group	50
辅酶	coenzyme	50
辅酶 II	NADP ⁺	50, 146, 391
辅酶 I	NAD ⁺	50, 146, 391
辅酶 Q	coenzyme Q, CoQ ₁₀	147
辅助因子	cofactor	50
辅阻遏剂	corepressor	64
腐败作用	putrefaction	167
复制	replication	219
复制叉	replicating fork	231
复制终点	terminate	237
复制子	replicon	231, 315
复性	renaturation	26
G		
钙调蛋白	calmodulin, CaM	96, 338
干扰素	interferon, IF	289
甘氨酸	glycocholic acid	375
甘氨酸脱氧胆酸	glycochenodeoxycholic acid	375
甘氨酸	glycine	7
甘露糖	mannose	76, 400
肝胆红素	hepatobilirubin	383
肝素	heparin	403
肝糖原分解	glycogenolysis	93
肝细胞性黄疸	hepatocellular jaundice	384
岡崎片段	Okazaki fragment	235
高度重复序列	highly repeat sequence	304

高血糖及糖尿病	hyperglycemia and glucosuria	104
给位	donor site	278
共有序列	consensus sequence	295
谷氨酸	glutamic acid	8
L-谷氨酸脱氢酶	L-glutamate dehydrogenase	170
谷氨酰胺	glutamine	8
谷氨酰胺合成酶	glutamine synthetase	173
谷氨酰胺酶	glutaminase	173
γ -谷氨酰基循环	γ -glutamyl cycle	166
共价修饰	covalent modification	64
谷丙转氨酶	glutamic pyruvic transaminase, GPT, ALT	170
谷草转氨酶	glutamic oxaloacetic transaminase, GOT, AST	170
谷胱甘肽	glutathione, GSH	10, 91
谷胱甘肽 S-转移酶	glutathione S-transferase	372
钴胺素	cobalamin	393
固定化酶	immobilized enzyme	69
寡聚酶	oligomeric enzyme	49
寡霉素	oligomycin	153
寡肽	oligopeptide	10
管家基因	housekeeping gene	293
光修复	light repairing	242
光修复酶	photolyase	243
滚环复制	rolling circle replication	236
过渡态	transition state	53
过氧(化)物酶	peroxidase	159
过氧化氢酶	catalase	159
过氧化酶体	peroxisome	114
H		
合成酶类	ligases	67
ATP 合酶	ATP synthase	152
核蛋白体结合位点	ribosomal binding site, RBS	278
核蛋白体释放因子	ribosomal release factors, RR	272
核蛋白体循环	ribosomal cycle	281
核苷二磷酸	nucleoside diphosphate, NDP	36
核苷三磷酸	nucleoside triphosphate, NTP	36
核苷酸	nucleotide	33
核苷一磷酸	nucleoside monophosphate, NMP	36
核酶	ribozyme	2, 45, 268
核酸	nucleic acid	33
核酸分子杂交	hybridization	46

核糖核苷酸还原酶	ribonucleotide reductase	196
核糖核酸	ribonucleic acid, RNA	33
核糖体, 核蛋白体	ribosome	44, 274
核糖体 RNA	ribosomal RNA, rRNA	44
核小体	nucleosome	40
核心酶	core enzyme	250
Pribnow 盒	Pribnow box	252, 295
TATA 盒	Hogness box, TATA box	255, 296
黑色素	melanin	188
呼吸链	respiratory chain	144
呼吸抑制率	respiratory control ratio, RCR	153
琥珀酸脱氢酶	succinate dehydrogenase	82
琥珀酰 CoA	succinyl CoA	82
琥珀酰 CoA 合成酶	succinyl-CoA synthetase	82
互补 DNA	complementary DNA, cDNA	317
化学修饰	chemical modification	213
还原型菸酰胺腺嘌呤二核苷酸	reduce nicotinamide adenine dinucleotide, NADH	145
黄疸	jaundice	383
黄嘌呤氧化酶	xanthosine oxidase	199
黄素单核苷酸	flavin mononucleotide, FMN	145
黄素蛋白	flavoprotein	145
黄素腺嘌呤二核苷酸	flavin adenine dinucleotide, FAD	148
混合功能氧化酶	mixed-function oxidase	160
活化能	activation energy	52
J		
肌红蛋白	myoglobin, Mb	22
肌酸	creatine	185
肌酸酐	creatinine	186
肌酸激酶	creatine kinase, CK	66, 185
激素反应元件	hormone response element	216, 344
激动型 G 蛋白	stimulatory G protein, GS	333
基因	gene	41
基因表达	gene expression	222
基因工程	genetic engineer	315
基因矫正	gene correct	430
基因克隆	gene cloning	315
基因敲除	gene knock-out	2
基因失活	gene inactivation	430
基因组 DNA 文库	genomic DNA library	320
基因型	genotype	33

基因增补	gene augmentation	430
基因治疗	gene therapy	426
基因置换	gene replacement	430
基因重组	genetic recombination	246, 312
基因转移	gene transfer	431
基因组	genome	41, 219, 292
急性时相蛋白	acute phase protein, APP	348
己糖激酶	hexokinase	73
加单氧酶	monooxygenase	160
甲基转移酶	methyl transferase	184
甲硫氨酸循环	methionine cycle	185
甲胎蛋白	α -fetoprotein	366
假神经递质	false neurotransmitter	167
间接胆红素	indirect reacting bilirubin	383
剪接接口	splicing junction	264
简并性	degeneracy	273
碱基	base	33
胶原微纤维	collagen fibril	409
焦谷氨酸	pyroglutamic acid	11
酵母人工染色体载体	yeast artificial chromosome vector, YAC	
阶段特异性	stage specificity	293
结构基因	structure gene	248
结构域	domain	16, 256
结合胆汁酸	conjugated bile acid	375
结合反应	conjugation reaction	371
结合基团	binding group	51
结合酶	conjugated enzyme	49
DNA 结合域	DNA binding domain	307
结合作用	conjugation	310
解毒作用	detoxication	368
解螺旋酶	helicase	227, 259
解偶联蛋白	uncoupling protein	153
解偶联剂	uncoupler	152
金属激活酶	metal activated enzyme	50
金属酶	metalloenzyme	50
茎环结构	stem-loop	259
精氨酸	arginine	8
精胺	spermine	181
精脒	spermidine	181
竞争性抑制作用	competitive inhibition	59
聚合酶	polymerase	222

聚合酶链反应	polymerase chain reaction, PCR	320
聚腺苷酸	poly A	262
聚腺苷酸尾巴	poly A tail	262
绝对特异性	absolute specificity	52
K		
开放读码框架	open reading frame, ORF	272
抗霉素 A	antimycin A	152
抗凝血因子	anti coagulation factor	350
抗生素	antibiotics	288
可逆性抑制作用	reversible inhibition	59
克隆	clone	315
克隆载体	cloning vector	318
空间构象	conformation	12
空间特异性	spatial specificity	293
L		
赖氨酸	lysine	8
酪氨酸	tyrosine	7
酪氨酸蛋白激酶	tyrosine-protein kinase, TPK	340
酪氨酸酶	tyrosinase	188
立体异构特异性	stereospecificity	52
立早基因	immediate-early gene	338, 419
利福平	rifampicin	250
N-连接寡糖	N-linked oligosaccharide	400
O-连接寡糖	O-linked oligosaccharide	400
DNA 连接酶	DNA ligase	229
连接物蛋白	adaptor protein	340
亮氨酸	leucine	7
裂解酶类	lyases	67
邻近效应	proximity effect	53
林-贝氏作图法	lineweaver-burk plot	56
磷酸二酯酶	phosphodiesterase	335
磷酸甘油激酶	phosphoglycerate kinase	75
3-磷酸甘油醛脱氢酶	glyceraldehyde-3phosphate dehydrogenase	75
α -磷酸甘油酸穿梭	glycerophosphate shuttle	156
6-磷酸果糖	fructose-6-phosphate	74
6-磷酸果糖激酶-2	6-phosphofructokinase-2	78
6-磷酸果糖激酶-1	6-phosphofructokinase-1	74
磷酸核糖焦磷酸	phosphoribosyl pyrophosphate, PRPP	192
磷酸肌酸	creatine phosphate, CP	155, 185

6-磷酸葡萄糖	glucose-6-phosphate, G-6-P	73
磷酸戊糖途径	pentose phosphate pathway	88
磷酸烯醇式丙酮酸	phosphoenolpyruvate, PEP	76
3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸	3'-phospho-adenosine-5'-phosphosulfate, PAPS	187
磷脂酰肌醇 3-激酶	PI 3-Kinase	344
领头链	leading strand	233
硫酸角质素	keratan sulfate	403
硫酸类肝素	heparan sulfate	403
硫酸皮肤素	dermatan sulfate	403
硫酸软骨素类	chondroitin sulfates	403
硫氧化还原蛋白	thioredoxin	196
硫氧化还原蛋白还原酶	thioredoxin reductase	196
α 螺旋	alpha-helix	13

M

帽子结合蛋白	cap-site binding protein, CBP	280
酶	enzyme	49
酶蛋白	apoenzyme	50
酶的活性中心	active center	51
酶原	zymogen	63
糜蛋白酶	chymotrypsin	165
米氏方程式	Michaelis equation	54
嘧啶	pyrimidine	33
模板	template	220, 222
模板链	template strand	248
模序	motif	15

N

内分泌信号	endocrine signal	330
内含子	intron	263
内化	internalization	335
内肽酶	endopeptidase	165
逆转录	reverse transcription	246
逆转录病毒	retrovirus	246
逆转录酶	reverse transcriptase	245
鸟氨酸脱羧酶	ornithine decarboxylase	181
鸟氨酸循环	ornithine cycle	175
鸟苷酸环化酶	guanylate cyclase, GC	339
鸟苷酸结合蛋白, G蛋白	guanylate binding protein	332
d-尿胆素	d-urobilin	382
l-尿胆素	l-urobilin	382

d-尿胆素原	d-urobilinogen	382
尿苷二磷酸葡萄糖醛酸	uridine diphosphate glucuronic acid, UDPGA	371
尿苷二磷酸葡萄糖	uridine diphosphate glucose, UDPG	92
尿嘧啶核苷一磷酸	uridine monophosphate, UMP	200
尿素循环	urea cycle	175
尿酸	uric acid	198
柠檬酸	citrate	81
柠檬酸合酶	citrate synthase	81
柠檬酸裂解酶	citrate lyase	85
凝血酶	thrombin	352
凝血酶原	thrombinogen	352
凝血因子	coagulation factor	350
牛黄酸	taurine	180
牛磺胆酸	taurocholic acid	375
牛磺鹅脱氧胆酸	taurochenodeoxycholic acid	375
O		
偶氮还原酶类	azoreductase	371
P		
旁分泌信号	paracrine signal	330
配体	ligand	331
Klenow 片段	Klenow fragment	224
嘌呤	purine	33
嘌呤核苷酸循环	purine nucleotide cycle	171
拼板理论	piecing theory	257
苹果酸-天冬氨酸穿梭	malate-aspartate shuttle	156
苹果酸脱氢酶	malate dehydrogenase	83
葡萄糖醛酸胆红素	bilirubin glucuronide	381
葡萄糖醛酸基转移酶	glucuronyl transferase	371, 381
葡萄糖	glucose	72
葡萄糖激酶	glucokinase	74
葡萄糖耐量	glucose tolerance	104
Q		
启动序列	promoter	295
起始点	origin	231
起始密码	initiation codon	274
起始前复合物	pre-initiation complex, PIC	256
起始因子	initiation factors, IF	272
起始者-tRNA	initiator-tRNA	277

羟化酶	hydroxylase	160
切除修复	excision repairing	243
清蛋白	albumin	346
球蛋白	globulin	346
去甲肾上腺素	norepinephrine	188
全酶	holoenzyme	50, 250
醛脱氢酶	aldehyde dehydrogenase, ALDH	370
缺失	deletion	241

R

染色质	chromatin	40
人类基因组计划	Human Genome Project, HGP	2, 440
人类免疫缺陷病毒	human immuno-deficiency virus, HIV	246
热休克蛋白	heat shock proteins, HSP	250
溶血性黄疸	hemolytic jaundice	383
乳清酸	orotic acid	200
乳酸	lactate	73
乳酸脱氢酶	lactate dehydrogenase	65

S

三级结构	tertiary structure	16
三联密码	tripletcode	42
三羧酸循环	tricarboxylic acid cycle (TAC)	81
色氨酸	tryptophan	7
蛇型受体	serpentine receptor	332
筛选	screening	322
上游	upstream	252
上游激活序列	upstream activator sequences	306
上调	up regulation	335
神经肽	neuropeptide	11
肾上腺素	epinephrine	188
生糖氨基酸	glucogenic amino acid	172
生糖兼生酮氨基酸	glucogenic and ketogenic amino acid	172
生酮氨基酸	ketogenic amino acid	172
生物化学	biochemistry	1
生物氧化	biological oxidation	144
生物转化	biotransformation	367
石胆酸	lithocholic acid	375
时间特异性	temporal specificity	293
视蛋白	opsin	386
视黄醇	retinol	386

视黄醇结合蛋白	retinol binding protein, CRBP	386
视黄醇磷酸	retinyl phosphate	387
视黄醛	retinal	386
视黄酸	retinoic acid	386
释放因子	release factor, RF	272
受体	receptor	215, 331
受位	acceptor site	279
6-巯基嘌呤	6-mercaptopurine, 6MP	197
双倒数作图法	double reciprocal plot	56
1, 6-双磷酸果糖	1, 6-fructose-biphosphate	74
双缩脲反应	Biuret reaction	26
双向复制	bidirectional replication	231
水解酶类	hydrolases	67
顺反子	cistron	272
顺式作用元件	cis-acting element	255, 296
丝氨酸	serine	7
四级结构	quarternary structure	18
四膜虫	tetrahymena	268
四氢叶酸	tetrahydrofolic acid, FH4 or THFA	181, 393
苏氨酸	threonine	8
随从链	lagging strand	235
DNA 损伤	DNA damage	239
羧基末端	carboxyl terminal	10
缩醛酶	aldolase	74
T		
肽	peptide	10
肽单元	peptide unit	13
肽核酸	peptide nucleic acid, PNA	430
肽键	peptide bond	10
肽位	peptidyl site	278
糖蛋白	glycoprotein	400
糖酵解	glycolysis	73
糖尿病	diabetes mellitus	104
糖异生	gluconocogenesis	97
糖原	glycogen	72
糖原合酶	glycogen synthase	92
套索 RNA	lariat RNA	263
体细胞基因治疗	somatic cell gene therapy	327
天冬氨酸	aspartic acid	8
天冬氨酸甲酰转移酶	aspartate transcarbamylase	200

天冬酰胺	asparagine	8
调节子	regulon	245
铁硫簇	ironsulfur cluster, Fe-S	146
铁硫蛋白	ironsulfur protein	146
同工酶	isoenzyme	65
同型半胱氨酸	homocysteine	184
同源	homolog	414
同源重组	homologous recombination	314
α -酮酸	α -ketoacid	171
α -酮戊二酸	α -ketoglutarate	81
透明质酸	hyaluronic acid	403
突变	mutation	239
突触分泌信号	synaptic signal	330
脱羧基作用	decarboxylation	179
脱氧胆酸	deoxycholic acid	375
脱氧核糖核酸	deoxyribonucleic acid, DNA	33
脱氧三磷酸核苷	deoxynucleotide triphosphate	223
DNA 拓扑异构酶	DNA topoisomerase	227
唾液酸	sialic acid	401
退火	annealing	321
W		
外肽酶	exopeptidase	165
外显子	exon	263
网络系统	network	330
微粒体乙醇氧化系统	microsomal ethanol oxidizing system, MEOS	370
维生素	vitamin	386
胃蛋白酶	pepsin	164
胃蛋白酶原	pepsinogen	164
cDNA 文库	cDNA library	320
稳定转染	stable transfect	325
无规卷曲	random coil	14
X		
烯醇化酶	enolase	76
细胞癌基因	cellular-oncogene, c-onc	414
细胞色素	cytochrome, Cyt	148
细胞色素 C	cytochrome c	21
细胞色素 P450	Cytochrome P450, Cyt P450	160
细胞外基质	extracellular matrix	400
细胞周期	cell cycle	230

下调	down regulation	335
纤连蛋白	fibronectin	16
纤维蛋白	fibrin	352
纤维蛋白溶酶原	plasminogen	355
纤维蛋白原	fibrinogen	353
酰基转移酶	acylase	372
线粒体 DNA	mitochondrial DNA	153
限制性内切核酸酶	restriction endonuclease	316
S-腺苷甲硫氨酸, SAM	S-adenosyl methionine, SAM	184
腺苷酸环化酶	adenylate cyclase, AC	335
腺苷酸激酶	adenylate kinase	155
腺苷酸载体	adenine nucleotide transporter	157
腺嘌呤核苷酸转移酶	adenine phosphoribosyl transferase, APRT	195
相对特异性	relative specificity	52
硝基还原酶类	nitroreductase	371
小分子核内核糖核酸	small nuclear RNA, snRNA	251
缬氨酸	valine	7
DNA 芯片	DNA chip	437
锌指	zinc finger	15, 307
信号假说	signal hypothesis	287
信号肽	signal peptide	286
信号肽酶	signal peptidase	286
信号肽识别粒子	signal recognition particles, SRP	287
信号转导	signal transduction	330
信使 RNA	message RNA, mRNA	41
性细胞基因治疗	germ line gene therapy	327
胸苷酸二聚体	thymine dimer	240
胸苷酸合成酶	thymidylate synthetase	200
胸腺嘧啶	thymine	33
序列子	sequon	400
血胆红素	hemobilirubin	383
血红蛋白	hemoglobin, Hb	22
血红素	heme	18
血红素加氧酶	heme oxygenase	379
血浆	plasma	346
血尿素氮	blood urea nitrogen, BUN	346
血清	serum	346
血液凝固	blood coagulation	350
修复	DNA repairing	242
Y		
亚基	subunit	16

亚铁螯合酶	ferrochelatase	359
抑制型 G 蛋白	inhibitory G protein, G _p	333
延长因子	elongation factors, EF	272
岩藻糖	fucose, Fuc	400
氧化还原酶类	oxidoreductases	67
氧化磷酸化	oxidative phosphorylation	150
一级结构	primary structure	12
一碳单位	one carbon unit	281
依赖 DNA 的 DNA 聚合酶	DNA-dependent DNA polymerase	223, 248
依赖 DNA 的 RNA 聚合酶	DNA-dependent RNA polymerase, RNA-pol	248
依赖 RNA 的 DNA 聚合酶	RNA-dependent DNA polymerase	246
胰蛋白酶	trypsin	165
胰岛素	insulin	103
胰高血糖素	glucagon	103
遗传密码	genetic codon	273
乙酰 CoA	acetyl CoA	80
N-乙酰半乳糖胺	N-acetylgalactosamine, GalNAc	400
N-乙酰谷氨酸	N-acetyl glutamic acid, AGA	
N-乙酰葡萄糖胺	N-acetylglucosamine, GlcNAc	400
N-乙酰神经氨酸	N-acetylneuraminic acid, NeuNAc	400
异构酶类	isomerases	67
异亮氨酸	isoleucine	7
异柠檬酸	isocitrate	81
异柠檬酸脱氢酶	isocitrate dehydrogenase	81
有氧氧化	aerobic oxidation	79
异质性	heterogeneity	364
cAMP 应答元件	cAMP response element, CRE	337
cAMP 应答元件结合蛋白	cAMP response element binding protein, CREB	337
抑癌基因	anti-oncogene	414
抑制剂	inhibitor	58
引发体	primosome	229
引物	primer	222, 232
引物酶	primase	229
Southern 印迹	Southern blotting	323, 436
DNA 点阵	DNA array	437
DNA 印渍术	DNA blotting	323, 436
RNA 印渍术	Northern blotting	436
游离胆汁酸	free bile acid	374
有丝分裂原激活蛋白激酶	mitogen-activated protein kinase, MAPK	340
诱导, 诱导作用	induction	64
诱导剂	inducer	64

诱导契合假说	induced-fit hypothesis	53
原癌基因	proto-oncogenes, pro-onc	414
原胶原	tropocollagen	407
原位杂交	in situ hybridization	322
Z		
质粒	plasmid	318
杂化核 RNA	hetero-nuclear RNA, hnRNA	262
杂化双链	hybrid duplex	46, 259
增强子	enhancer	306
增色效应	hyperchromic effect	45
粘结蛋白聚糖	syndecan	405
β -折叠	beta-pleated sheet	13
DNA 诊断学	DNA diagnostics	327
正协同效应	postive cooperativity	23
整合	intergration	246
直接胆红素	direct reacting bilirubin	383
中胆素原	mesobilirubinogen	382
重排	rearrangement	241
重组	recombination	244
重组 DNA	recombinant DNA	315
重组修复	recombination repairing	242
转氨基作用	transamination	169
转氨酶	transaminase	169
转化数	turnover number	56
β -转角	beta-turn	14
转录	transcription	219
转录后修饰	post-transcriptional modification	261
转录空泡	transcription bubble	253
转录酶	transcriptase	249
转录因子	transcriptional factor, TF	256, 296, 306
转染	transfection	322, 325
转肽酶	transpeptidase	282
转位	translocation	282
转位酶	translocase	281
转移酶类	transferases	67
转运 RNA	transfer RNA, tRNA	42
转酯反应	transesterification	264
转座	transposition	312
转座子	transposons	312
着色性干皮肤病	xeroderma pigmentosis, XP	244

自分泌信号	autocrine signal	331
自然突变	spontaneous mutation	239
自身剪切	self splicing	265
自身磷酸化	autophosphorylation	340
终止密码子	stop codon	274
纵列串联基因	tandem gene	267
阻遏	repression	293
阻遏蛋白	repressors	296
阻遏作用	repression	65, 293
阻塞性黄疸	obstructive jaundice	384
组氨酸	histidine	8
组成性基因表达	constitutive gene expression	293
组织特异性	tissue specificity	293
组织因子	tissue factor, TF	350
最适 pH	optimum pH	58
最适温度	optimum temperature	57
脂溶性维生素	lipid-soluble vitamin	386

英 汉 索 引

A

absolute specificity	绝对特异性	52
acceptor site	受体	279
acetyl CoA	乙酰 CoA	80
acquired immuno-deficiency syndrome, AIDS	艾滋病	249
activation energy	活化能	52
active center	酶的活性中心	51
acute phase protein, APP	急性时相蛋白	348
acylase	酰基转移酶	372
adaptor protein	连接物蛋白	340
adenine nucleotide transporter	腺苷酸载体	157
adenine phosphoribosyl transferase, APRT	腺嘌呤核苷酸转移酶	195
adenylate cyclase, AC	腺苷酸环化酶	335
adenylate kinase	腺苷酸激酶	155
aerobic oxidation	有氧氧化	79
aggrecan	蛋白聚糖复合物	405
alanine	丙氨酸	7
alanine-glucose cycle	丙氨酸-葡萄糖循环	173
albinism	白化病	188
albumin	清蛋白	346
alcohol dehydrogenase, ADH	醇脱氢酶	370
aldehyde dehydrogenase, ALDH	醛脱氢酶	370
aldolase	缩醛酶	74
allopurinol	别嘌呤醇	199
allosteric effect	变构效应	25
allosteric effector	变构效应剂	64, 212
allosteric enzyme	变构酶	64, 212
alpha-helix	α -螺旋	13
amanitine	鹅膏蕈碱	251
amine oxidase	胺氧化酶	179
amines	胺类	167
amino acid	氨基酸	6, 163
amino acid sequence	氨基酸序列	12

amino terminal	氨基末端	10
aminoacyl site	氨基酰位	279
aminoacyl-tRNA	氨基酰-tRNA	276
aminoacyl-tRNA synthetase	氨基酰-tRNA 合成酶	276
aminopeptidase	氨肽酶	165
aminopterin	氨蝶呤	198
aminotransferase	氨基转移酶	169
ammonia	氨	167, 172
anti coagulation factor	抗凝血因子	350
antibiotics	抗生素	288
anticode	反密码子	43
antimycin A	抗霉素 A	152
anti-oncogene	抑癌基因	414
apoenzyme	酶蛋白	50
apoptosis	凋亡	414, 424
arginine	精氨酸	8
asparagine	天冬酰胺	8
aspartate transcarbamylase	天冬氨酸甲酰转移酶	200
aspartic acid	天冬氨酸	8
asymmetric transcription	不对称转录	248
ATP synthase	ATP 合酶	152
autocrine signal	自分泌信号	331
autophosphorylation	自身磷酸化	340

B

base	碱基	33
beta-pleated sheet	β -折叠	13
beta-turn	β -转角	14
bidirectional replication	双向复制	231
bile	胆汁	374
bile pigment	胆色素	377
bilin	胆素	377
bilinogen	胆素原	377
bilirubin	胆红素	377
bilirubin glucuronide	葡萄糖醛胆红素	381
biliverdin	胆绿素	377
biliverdin reductase	胆绿素还原酶	379
binding group	结合基团	51
biological oxidation	生物氧化	144
biotransformation	生物转化	367
Biuret rection	双缩脲反应	26

bile acids	胆汁酸	133, 374
blood coagulation	血液凝固	350
blood urea nitrogen, BUN	血尿素氮	346
branching enzyme	分支酶	92
C		
cAMP response element, CRE	cAMP 应答元件	337
cAMP response element binding protein, CREB	cAMP 应答元件结合蛋白	337
calmodulin, CaM	钙调蛋白	96, 338
cap-site binding protein, CBP	帽子结合蛋白	280
carbamoyl phosphate synthetase I, CPS- I	氨基甲酰磷酸合成酶 I	176
carboxyl terminal	羧基末端	10
catalase	过氧化氢酶	159
catalytic group	催化基团	51
catalytic receptor	催化受体	333
catecholamine	儿茶酚胺	188
cDNA library	cDNA 文库	320
cell cycle	细胞周期	230
cellular-oncogene, c-onc	细胞癌基因	414
cell specificity	细胞特异性	296
chaperon	分子伴侣	16
chemical modification	化学修饰	213
chenodeoxycholic acid	鹅脱氧胆酸	379
cholesterol 7 α -hydroxylase	胆固醇 7 α -羟化酶	375
cholic acid	胆酸	375
choline esterase	胆碱酯酶	58
chondroitin sulfates	硫酸软骨素类	403
chromatin	染色质	40
chymotrypsin	糜蛋白酶	165
cis-acting element	顺式作用元件	255, 296
cistron	顺反子	272
citrate	柠檬酸	81
citrate lyase	柠檬酸裂解酶	85
citrate synthase	柠檬酸合酶	81
cloning vector	克隆载体	318
coagulation factor	凝血因子	350
cobalamin	钴胺素	393
coding strand	编码链	249
coenzyme	辅酶	50
coenzyme Q, CoQ.	辅酶 Q	147
cofactor	辅助因子	50

collagen fibril	胶原微纤维	409
competitive inhibition	竞争性抑制作用	59
complementary DNA, cDNA	互补 DNA	317
conformation	空间构象	12
conjugated bile acid	结合胆汁酸	375
conjugated enzyme	结合酶	49
conjugation	结合作用	310
conjugation reaction	结合反应	371
consensus sequence	共有序列	295
constitutive gene expression	组成性基因表达	293
core enzyme	核心酶	250
corepressor	辅阻遏剂	64
creatine	肌酸	185
creatine kinase, CK	肌酸激酶	66, 185
creatine phosphate	磷酸肌酸	155, 185
creatinine	肌酸酐	186
cysteine	半胱氨酸	7, 186
cytochrome c	细胞色素 c	21
Cytochrome P450, Cyt P450	细胞色素 P450	160
cytochrome, Cyt	细胞色素	148
D		
de novo synthesis	从头合成途径	192
decarboxylation	脱羧基作用	179
degeneracy	简并性	273
deletion	缺失	244
denature	变性	25
deoxycholic acid	脱氧胆酸	375
deoxynucleotide triphosphate	脱氧三磷酸核苷	223
deoxyribonucleic acid, DNA	脱氧核糖核酸	33
dermatan sulfate	硫酸皮肤素	403
detoxication	解毒作用	368
diabetes mellitus	糖尿病	104
dihydrofolate reductase	二氢叶酸还原酶	182
dihydrofolic acid synthetase	二氢叶酸合成酶	60
3, 4-dihydroxyphenylalanine, dopa	3, 4-二羟苯丙氨酸, 多巴	188
dinitrophenol, DNP	二硝基苯酚	153
dipeptidase	二肽酶	165
diphtheria toxin	白喉毒素	289
direct reacting bilirubin	直接胆红素	383
DNA array	DNA 点阵	437

DNA binding domain	DNA 结合域	307
DNA blotting	DNA 印渍术	436
DNA chip	DNA 芯片	437
DNA damage	DNA 损伤	239
DNA dependent RNA polymerase, RNA-pol	依赖 DNA 的 RNA 聚合酶	248
DNA diagnostics	DNA 诊断学	327
DNA-dependent DNA polymerase	依赖 DNA 的 DNA 聚合酶	223, 248
DNA repairing	修复	242
DNA topoisomerase	DNA 拓扑异构酶	227
DNA ligase	DNA 连接酶	229
docking protein, DP	对接蛋白	287
dolichol	长萜醇	401
domain	结构域	16, 256
donor site	给位	278
dopamine	多巴胺	188
dot blotting	斑点印渍术	437
double reciprocal plot	双倒数作图法	56
down regulation	下调	335
d-urobilin	d-尿胆素	382
d-urobilinogen	d-尿胆素原	382
E		
elastase	弹性蛋白酶	165
electron transfer chain	电子传递链	144
elongation factors, EF	延长因子	272
endocrine signal	内分泌信号	330
endopeptidase	内肽酶	165
enhancer	增强子	306
enolase	烯醇化酶	76
entactin	巢蛋白	411
enterohepatic circulation	肠肝循环	382
enterokinase	肠激酶	165
enzyme	酶	49
epinephrine	肾上腺素	188
essential amino acid	必需氨基酸	164
excision repairing	切除修复	243
exon	外显子	263
exopeptidase	外肽酶	165
expression vector	表达载体	318
extracellular matrix	细胞外基质	400

F

false neurotransmitter	假神经递质	167
ferrochelatae	亚铁螯合酶	359
fibrin	纤维蛋白	352
fibrinogen	纤维蛋白原	353
fibronectin	纤连蛋白	16, 411
flavin adenine dinucleotide, FAD	黄素腺嘌呤二核苷	148
flavin mononucleotide, FMN	黄素单核苷酸	145
flavoprotein	黄素蛋白	145
5-fluorouracil, 5-fu	5-氟尿嘧啶	203
free bile acid	游离胆汁酸	374
fructose-6-phosphate	6-磷酸果糖	74
1, 6-fructose-biphosphate	1, 6-双磷酸果糖	74
fucose, Fuc	岩藻糖	400

G

galactose, Gal	半乳糖	400
gene	基因	41
gene augmentation	基因增补	430
gene cloning	基因克隆	315
gene correct	基因矫正	430
gene expression	基因表达	222
gene inactivation	基因失活	430
gene knock-out	基因剔除, 基因敲除	2, 435, 449
gene replacement	基因置换	430
gene therapy	基因治疗	426
gene transfer	基因转移	431
genetic codon	遗传密码	273
genetic engineer	基因工程	315
genetic recombination	基因重组	246, 312
genome	基因组	41, 219, 292
genomic DNA library	基因文库	320
genotype	基因型	33
germ line gene therapy	性细胞基因治疗	327
globulin	球蛋白	346
glucagon	胰高血糖素	103
glucogenic amino acid	生糖氨基酸	172
glucogenic and ketogenic amino acid	生糖兼生酮氨基酸	172
glucokinase	葡萄糖激酶	74
gluconeogenesis	糖异生	97

glucose	葡萄糖	72
glucose tolerance	葡萄糖耐量	104
glucose-6-phosphate, G-6-P	6-磷酸葡萄糖	73
glucuronyl transferase	葡糖醛酸基转移酶	371, 381
glutamic acid	谷氨酸	8
glutamic oxaloacetic transaminase, GOT, AST	谷草转氨酶	170
glutamic pyruvic transaminase, GPT, ALT	谷丙转氨酶	170
glutaminase	谷氨酰胺酶	173
glutamine	谷氨酰胺	8
glutamine synthetase	谷氨酰胺合成酶	173
glutathione S-transferase	谷胱甘肽 S-转移酶	376
glutathione, GSH	谷胱甘肽	93
glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	3-磷酸甘油醛脱氢酶	75
glycerophosphate shuttle	α -磷酸甘油酸穿梭	156
glycine	甘氨酸	7
glycochenodeoxycholic acid	甘氨酸鹅脱氧胆酸	375
glycocholic acid	甘氨酸胆酸	375
glycogen	糖原	72
glycogen synthase	糖原合酶	92
glycogenolysis	肝糖原分解	93
glycolysis	糖酵解	73
glycoprotein	糖蛋白	400
glutathione, GSH	谷胱甘肽	10, 91
guanylate binding protein G 蛋白	鸟苷酸结合蛋白	332
guanylate cyclase, GC	鸟苷酸环化酶	339

H

hairpin	发夹结构	259
hammerhead structure.	槌头结构	268
heat shock proteins, HSP	热休克蛋白	253
helicase	解螺旋酶	227, 259
heme	血红素	363, 18
heme oxygenase	血红素加氧酶	379
hemobilirubin	血胆红素	383
hemoglobin, Hb	血红蛋白	22
hemolytic jaundice	溶血性黄疸	383
heparan sulfate	硫酸类肝素	403
heparin	肝素	403
hepatobilirubin	肝胆红素	383
hepatocellular jaundice	肝细胞性黄疸	384
heterogeneity	异质性	364

hetero-nuclear RNA, hnRNA	杂化核 RNA	262
hexokinase	己糖激酶	73
highly repeat sequence	高度重复序列	304
histidine	组氨酸	182
Hogness box, TATA box	TATA 盒	255, 296
holoenzyme	全酶	50, 250
homocysteine	同型半胱氨酸	184
homolog	同源	414
homologous recombination	同源重组	314
hormone response element, HRE	激素反应元件	216, 344
housekeeping gene	管家基因	293
Human Genome Project, HGP	人类基因组计划	2, 440
human immuno-deficiency virus, HIV	人类免疫缺陷病毒	246
hyaluronic acid	透明质酸	403
hybrid duplex	杂化双链	46, 259
hybridization	核酸分子杂交	46
hydrolases	水解酶类	67
hydroxylase	羟化酶	160
hyperchromic effect	增色效应	45
hyperglycemia and glucosuria	高血糖及糖尿症	104
hypoglycemia	低血糖	104
hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase, HGP	次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶	195

I

immediate-early gene	立早基因	338, 419
immobilized enzyme	固定化酶	69
in situ hybridization	原位杂交	322
inclusion body	包涵体	324
indirect reacting bilirubin	间接胆红素	383
induced-fit hypothesis	诱导契合假说	53
inducer	诱导剂	64
induction	诱导, 诱导作用	64
infection	感染	325
inhibitor	抑制剂	58
inhibitory G protein, Gi	抑制型 G 蛋白	333
initiation codon	起始密码	274
initiation factors, IF	起始因子	272
initiator-tRNA	起始者-tRNA	277
inosine monophosphate, IMP	次黄嘌呤核苷酸	192
insertion	插入	241
insulin	胰岛素	103

interferon, IF	干扰素	289
intergration	整合	246
internalization	内化	335
intron	内含子	263
ironsulfur cluster, Fe-S	铁硫簇	146
ironsulfur protein	铁硫蛋白	146
irreversible inhibition	不可逆性抑制作用	59
isocitrate	异柠檬酸	81
isocitrate dehydrogenase	异柠檬酸脱氢酶	81
isoelectric point, PI	等电点	9
isoenzyme	同工酶	65
isoleucine	异亮氨酸	7
isomerases	异构酶类	67
J		
jaundice	黄疸	383
K		
keratan sulfate	硫酸角质素	403
ketogenic amino acid	生酮氨基酸	172
klenow fragment	klenow 片段	224
L		
lagging strand	随从链	235
lactate	乳酸	73
lactate dehydrogenase	乳酸脱氢酶	65
laminin	层粘蛋白	411
lariat RNA	套索 RNA	263
leading strand	领头链	233
leucine	亮氨酸	7
L-glutamate dehydrogenase	L-谷氨酸脱氢酶	170
ligand	配体	331
ligases	合成酶类	68
light repairing	光修复	242
lineweaver-burk plot	林-贝氏作图法	56
lithocholic acid	石胆酸	375
long terminal repeat, LTR	长末端重复序列	312
l-urobilin	l-尿胆素	382
lyases	裂解酶类	67
lysine	赖氨酸	8

M

malate dehydrogenase	苹果酸脱氢酶	83
malate-aspartate shuttle	苹果酸-天冬氨酸穿梭	156
mannose	甘露糖	76, 400
melanin	黑色素	188
6-mercaptopurine, 6MP	6-巯基嘌呤	197
mesobilirubinogen	中胆素原	382
message RNA, mRNA	信使 RNA	41
metal activated enzyme	金属活性酶	50
metalloenzyme	金属酶	50
methionine	蛋氨酸, 甲硫氨酸	7, 183
methionine cycle	甲硫氨酸循环	185
methotrexate, MTX	氨甲蝶呤	60, 198
methyl transferase	甲基转移酶	184
Michaelis equation	米氏方程式	54
microsomal ethanol oxidizing system, MEOS	微粒体乙醇氧化系统	370
mismatch	错配	241
mitochondrial DNA	线粒体 DNA	153
mitogen-activated protein kinase, MAPK	有丝分裂原激活蛋白激酶	340
mixed-function oxidase	混合功能氧化酶	160
molecular biology	分子生物学	1
molecular clone	分子克隆	315
monoamine oxidase, MAO	单胺氧化酶	369
monocistron	单顺反子	304
monomeric enzyme	单体酶	49
monooxygenase	加单氧酶	160
motif	模序	15
multielement catalysis	多元催化	53
multienzyme system	多酶体系	49
multifunctional enzyme	多功能酶	49
mutation	突变	239
myoglobin, Mb	肌红蛋白	22

N

N-acetyl glutamic acid, AGA	N-乙酰谷氨酸	400
N-acetylgalactosamine, GalNAc	N-乙酰半乳糖胺	400
N-acetylglucosamine, GlcNAc	N-乙酰葡萄糖胺	400
N-acetylneuraminic acid, NeuNAc	N-乙酰神经氨酸	400
NAD ⁺	辅酶 I	50, 146, 391
NADP ⁺	辅酶 II	50, 146, 391

network	网络系统	330
neuropeptide	神经肽	11
nitrogen balance	氮平衡	163
nitroreductase	硝基还原酶类	371
N-linked oligosaccharide	N-连接寡糖	400
non-competitive inhibition	非竞争性抑制作用	60
non-essential amino acid	非必需氨基酸	164
non-protein nitrogen, NPN	非蛋白氮	346
norepinephrine	去甲肾上腺素	188
Northern blotting	RNA 印渍术	436
nuclear protein	核蛋白	281
nucleic acid	核酸	33
nucleoside diphosphate, NDP	核苷二磷酸	36
nucleoside monophosphate, NMP	核苷一磷酸	36
nucleoside triphosphate, NTP	核苷三磷酸	36
nucleosome	核小体	40
nucleotide	核苷酸	33
O		
obstructive jaundice	阻塞性黄疸	384
Okazaki fragment	冈崎片段	235
oligomeric enzyme	寡聚酶	49
oligomycin	寡霉素	153
oligopeptide	寡肽	10
O-linked oligosaccharide	O-连接寡糖	400
oncogene	癌基因	414
one carbon unit	一碳单位	181
open reading frame, ORF	开放读码框架	272
operon	操纵子	252, 295, 299
opsin	视蛋白	386
optimum pH	最适 pH	58
optimum temperature	最适温度	57
orientation arrange	定向排列	53
origin	起始点	231
ornithine decarboxylase	鸟氨酸脱羧酶	181
orotic acid	乳清酸	200
orthine cycle	鸟氨酸循环	175
oxidative phosphorylation	氧化磷酸化	150
oxidoreductases	氧化还原酶类	67

P

paracrine signal	旁分泌信号	330
pentose phosphate pathway	磷酸戊糖途径	88
pepsin	胃蛋白酶	164
pepsinogen	胃蛋白酶原	164
peptide	肽	10
peptide bond	肽键	10
peptide nucleic acid, PNA	肽核酸	430
peptide unit	肽单元	13
peptidyl site	肽位	278
peroxidase	过氧(化)物酶	159
phenyl ketonuria, PKU	苯酮酸尿症	188
phenylalanine	苯丙氨酸	7, 187
phenylalanine hydroxylase	苯丙氨酸羟化酶	187
phosphodiesterase	磷酸二酯酶	335
phorbol ester	佛波酯	338
3'-phospho-adenosine-5'-phosphosulfate, PAPS	3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸	187
phosphoenolpyruvate, PEP	磷酸烯醇式丙酮酸	76
6-phosphofructokinase-2	6-磷酸果糖激酶-2	78
6-phosphofructokinase-1	6-磷酸果糖激酶-1	74
phosphoglycerate kinase	磷酸甘油激酶	75
phosphoribosyl pyrophosphate, PRPP	磷酸核糖焦磷酸	192
photolyase	光修复酶	243
piecing theory	拼板理论	257
PI 3-kinase	磷脂酰肌醇 3-激酶	344
plasma	血浆	346
plasminogen	纤维蛋白溶酶原	355
point mutation	点突变	241, 417
poly A	聚腺苷酸	262
poly A tail	聚腺苷酸尾巴	262
polycistron	多顺反子	304
polycistronic mRNA	多顺反子 mRNA	299
polylinker cloning site	多接头克隆位点	324
polymerase	聚合酶	222
polymerase chain reaction, PCR	聚合酶链反应	320
polymorphism	多态性	239
polypeptide	多肽	10
polypeptide chain	多肽链	10
polyribosome	多聚核蛋白体	258
polysome	多聚核蛋白体	258

post-translational processing	翻译后加工	284
positive cooperativity	正协同效应	23
post-transcriptional modification	转录后修饰	261
pre-initiation complex, PIC	起始前复合物	256
Pribnow box	Pribnow 盒	252, 295
primary bile acids	初级胆汁酸	375
primary structure	一级结构	12
primary transcripts	初级转录产物	261
primase	引物酶	229
primer	引物	222, 232
primosome	引发体	229
proline	脯氨酸	7
promoter	启动子	295
prosthetic group	辅基	50
protein	蛋白质	6, 163, 272
protein coagulation	蛋白质的凝固	26
protein kinase A, PKA	蛋白激酶 A	335
protein kinase C, PKC	蛋白激酶 C	338
protein phosphatase	蛋白磷酸酶	214, 343
protein targeting	蛋白质靶向输送	286
protein Y	Y 蛋白	380
protein Z	Z 蛋白	380
protein-protein interaction	蛋白质-蛋白质相互作用	297
proteoglycan	蛋白聚糖	400
proto-oncogenes, pro-onc	原癌基因	414
proximity effect	邻近效应	53
purine	嘌呤	33
purine nucleotide cycle	嘌呤核苷酸循环	171
putrefaction	腐败作用	167
pyrimidine	嘧啶	33
pyroglutamic acid	焦谷氨酸	11
pyruvate	丙酮酸	73
pyruvate kinase	丙酮酸激酶	76
Q		
quarternary structure	四级结构	18
R		
random coil	无规卷曲	14
rearrangement	重排	241
receptor	受体	215, 331

recognition site	辨认位点	253
recombinant DNA	重组 DNA	315
recombination	重组	244
recombination repairing	重组修复	242
reduce nicotinamide adenine dinucleotide, NADH	还原型菸酰胺腺嘌呤二核苷酸	145
regulon	调节子	245
relative specificity	相对特异性	52
release factor, RF	释放因子	272
renaturation	复性	26
replicating fork	复制叉	231
replication	复制	219
replicon	复制子	231, 315
repression	阻遏	293
repression	阻遏作用	65, 293
repressors	阻遏蛋白	296
residue	残基	10
respiratory chain	呼吸链	144
respiratory control ratio, RCR	呼吸抑制率	153
restriction endonuclease	限制性内切核酸酶	316
retinal	视黄醛	386
retinoic acid	视黄酸	386
retinol	视黄醇	386
retinol binding protein, CRBP	视黄醇结合蛋白	386
retinyl phosphate	视黄醇磷酸	387
retrovirus	逆转录病毒	246
reverse transcriptase	逆转录酶	245
reverse transcription	逆转录	246
reversible inhibition	可逆性抑制作用	59
RF	释放因子	275
ribonucleic acid, RNA	核糖核酸	33
ribonucleotide reductase	核糖核苷酸还原酶	191
ribosomal binding site, RBS	核蛋白体结合位点	278
ribosomal cycle	核蛋白体循环	281
ribosomal release factors, RR	核蛋白体释放因子	272
ribosomal RNA, rRNA	核糖体 RNA	45
ribozyme	核酶	2, 45, 268
ribosome	核糖体	45, 254
rifampicin	利福平	250
RNA-dependent DNA polymerase	依赖 RNA 的 DNA 聚合酶	246
rolling circle replication	滚环复制	236

S

S-adenosyl methionine, SAM	S-腺苷甲硫氨酸, SAM	184
salvage pathway	补救合成途径	192
screening	筛选	322
secondary bile acids	次级胆汁酸	375
secondary messenger	第二信使	331
secondary structure	二级结构	13
secretory proteins	分泌性蛋白质	286
self splicing	自身剪切	265
semiconservative replication	半保留复制	220
sequon	序列子	400
serine	丝氨酸	7
serpentine receptor	蛇型受体	332
serum	血清	346
sialic acid	唾液酸	401
signal hypothesis	信号假说	287
signal peptidase	信号肽酶	286
signal peptide	信号肽	286
signal recognition particles, SRP	信号肽识别粒子	287
signal transduction	信号转导	330
simple enzyme	单纯酶	49
single strand DNA binding protein	单链 DNA 结合蛋白	232
small nuclear RNA, snRNA	小分子核内核糖核酸	251
somatic cell gene therapy	体细胞基因治疗	327
Southern blotting	Southern 印迹, DNA 印渍术	323, 436
spatial specificity	空间特异性	293
spermidine	精脒	181
spermine	精胺	181
spliceosome	并接体	263
splicing junction	剪接接口	264
splite gene	断裂基因	263
spontaneous mutation	自然突变	239
stable transfect	稳定转染	325
stage specificity	阶段特异性	296
starch	淀粉	72
stem-loop	茎环结构	259
stercobilin	粪胆素	382
stercobilinogen	粪胆素原	382
stereospecificity	立体异构特异性	52
stimulatory G protein, Gs	激动型 G 蛋白	333

stop codon	终止密码子	274
structure gene	结构基因	248
substrate cycle	底物循环	98
subunit	亚基	16
succinate dehydrogenase	琥珀酸脱氢酶	82
succinyl CoA	琥珀酰 CoA	82
succinyl-CoA synthetase	琥珀酰 CoA 合成酶	82
superoxide dismutase, SOD	超氧化物歧化酶	159
surface effect	表面效应	53
synaptic signal	突触分泌信号	330
syndecan	粘结蛋白聚糖	405

T

tandem gene	纵列串联基因	267
target cell	靶细胞	330
taurine	牛磺酸	180
taurochenodeoxycholic acid	牛磺鹅脱氧胆酸	375
taurocholic acid	牛磺胆酸	375
telomerase	端粒酶	238
telomere	端粒	238
template	模板	220, 222
template strand	模板链	248
temporal specificity	时间特异性	292
terminate	复制终点	237
tertiary structure	三级结构	16
tetrahydrofolic acid, FH4 or THFA	四氢叶酸	181, 393
tetrahymena	四膜虫	268
thioredoxin	硫氧化还原蛋白	196
thioredoxin reductase	硫氧化还原蛋白还原酶	196
threonine	苏氨酸	8
thrombin	凝血酶	352
thrombinogen	凝血酶原	352
thymidylate synthetase	胸苷酸合成酶	200
thymine	胸腺嘧啶	33
thymine dimer	胸苷酸二聚体	240
tissue factor, TF	组织因子	350
tissue specificity	组织特异性	293
trans-acting factor	反式作用因子	255, 297
transaminase	转氨酶	169
transamination	转氨基作用	169
transcriptase	转录酶	249

transcription	转录	219
transcription bubble	转录空泡	253
transcriptional factor, TF	转录因子	256, 296, 306
transduction	传导作用	311
transesterification	转酯反应	264
transfection	转染	322, 325
transfer RNA, tRNA	转运 RNA	42
transferases	转移酶类	67
transient transfection	瞬时转染	328
transition state	过渡态	53
translation	翻译	219
translational initiation complex	翻译起始复合物	277
translocation	转位	282
translocase	转位酶	281
transpeptidase	转肽酶	282
transposition	转座	312
transposons	转座子	312
tricarboxylic acid cycle	三羧酸循环	81
triplet code	三联密码	42
tropocollagen	原胶原	407
trypsin	胰蛋白酶	165
tryptophan	色氨酸	7
turnover number	转化数	56
tyrosinase	酪氨酸酶	188
tyrosine	酪氨酸	7
tyrosine-protein kinase, TPK	酪氨酸蛋白激酶	340

U

ubiquitin	泛素	168
UDP-glucuronyl transferases, UGT	葡萄糖醛基转移酶	375
uncompetitive inhibition	反竞争性抑制作用	61
uncoupler	解偶联剂	152
uncoupling protein	解偶联蛋白	153
up regulation	上调	335
upstream	上游	252
upstream activator sequences	上游激活序列	306
urea cycle	尿素循环	175
uric acid	尿酸	198
uridine diphosphate glucose, UDPG	尿苷二磷酸葡萄糖	92
uridine diphosphate glucuronic acid, UDPGA	尿苷二磷酸葡萄糖醛酸	371
uridine monophosphate, UMP	尿嘧啶核苷壹磷酸	200

V

valine	缬氨酸	7
vitamin	维生素	386
virus oncogene, V-onc	病毒癌基因	415

W

Western blotting	蛋白质印渍术	436
wobble	摆动性	274

X

xanthosine oxidase	黄嘌呤氧化酶	199
xeroderma pigmentosus XP	着色性干皮肤病	244

Y

yeast artificial chromosome vector, YAC	酵母人工染色体载体	321
---	-----------	-----

Z

zinc finger	锌指	15, 307
zymogen	酶原	63
α -amylase	α -淀粉酶	72
α -fetoprotein	甲胎蛋白	370
α -ketoacid	α -酮酸	173
α -ketoglutarate	α -酮戊二酸	83
β -aminoisobutyric acid	β -氨基异丁酸	205
γ -aminobutyric acid, GABA	γ -氨基丁酸	182
γ -glutamyl cycle	γ -谷氨酰基循环	168
δ -aminolevulinic acid, ALA	δ -氨基- γ -酮戊酸	363