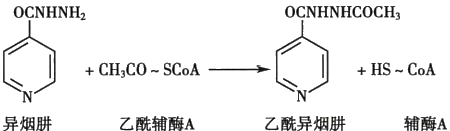
366 第四篇 医学生化专题



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碳酸氢钠，以提高其溶解 度，利于随尿排出。

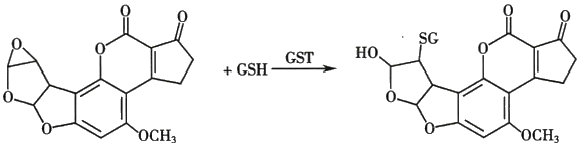


4. 谷胱甘肽结合是细胞应对亲电子性异源物的重要防御反应 肝细胞的细胞质富含谷胱甘肽 S-转移酶(glutathione S-transferase,GST),可催化谷胱甘肽(CSH) 与含有亲电子中心的环氧化物和卤

代化合物等异源物结合，生成GSH 结合产物。主要参与对致癌物、环境污染物、抗肿瘤药物以及内源

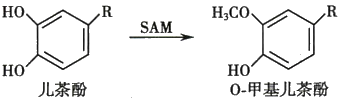
吗kkyx20/A

性活性物质的生物转化。亲电子性异源物若不与 GSH 结合，则可自由地共价结合DNA、RNA 或蛋白 质，导致细胞严重损伤。此外，谷胱甘肽结合反应也是细胞自我保护的重要反应。很多内源性底物受 活性氧(ROS) 修饰后形成具有细胞毒作用的氧化修饰产物。所以，GSH 不仅具有抗氧化作用，还可结 合氧化修饰产物，减低其细胞毒性，增加其水溶性易于排出体外。



黄曲霉素B₁-8,9-环氧化物 谷胱甘肽结合产物

5. 甲基化反应是代谢内源化合物的重要反应 肝细胞中含有多种甲基转移酶，以S-腺苷甲硫氨 酸(SAM) 为活性甲基供体，催化含有氧、氮、硫等亲核基团化合物的甲基化反应。其中，细胞质中可溶性 儿茶酚-O-甲基转移酶(catechol-O-methyltransferase,COMT)具有重要的生理意义。COMT 催化儿茶酚和儿茶 酚胺的羟基甲基化，生成有活性的儿茶酚化合物。同时，COMT也参与生物活性胺如多巴胺类的灭活等。



6. 甘氨酸主要参与含羧基异源物的生物转化 含羧基的药物、毒物等异源物首先在酰基CoA 连 接酶催化下生成活泼的酰基CoA,再在肝线粒体基质酰基CoA: 氨基酸N-酰基转移酶(acyl-CoA:amino acid N-acyltransferase)的催化下与甘氨酸、牛磺酸结合生成相应的结合产物。如马尿酸的生成等。



苯甲酸

苯甲酰CoA



笔记 苯甲酰CoA 甘氨酸 马尿酸



**第十九章** **肝的生物化学** **367**

胆酸和脱氧胆酸可与甘氨酸结合生成结合胆汁酸的反应步骤与上述相同。

**三、生物转化作用受许多因素的调节和影响**

肝的生物转化作用受年龄、性别、营养、疾病、遗传和诱导物等体内、外诸多因素的影响 。

**(一)年龄、性别、营养、疾病及遗传等因素对生物转化产生明显影响**

**1.** **年龄对生物转化作用的影响很明显** 人肝的生物转化酶有一个发育的过程。新生儿肝生物 转化酶系发育尚不完善，对内、外源性待转化物质的转化能力较弱，容易发生药物及毒素中毒。新生 儿的高胆红素血症与缺乏葡糖醛酸基转移酶有关，此酶活性在出生5～6天后才开始升高，1～3个月 后接近成人水平。老年人肝的生物转化能力仍属正常，尚未发现老年人肝P450 的羟化作用、葡糖醛 酸化作用等有所下降。且老年人肝生物转化酶的诱导作用仍属正常。但老年人肝血流量及肾的廓清 速率下降，导致老年人血浆药物的清除率降低，药物在体内的半衰期延长。例如，安替匹林和消炎镇 痛药保泰松的半衰期在青年人分别为12小时和81小时，老年人则分别为17小时和105小时。常规 剂量用药后可发生药物蓄积，药效强且副作用较大。因此，临床上对新生儿及老年人的药物用量应较 成人为低，许多药物使用时都要求儿童和老人慎用或禁用。但老年人肝的非微粒体酶活性不降低，如 氧化乙醇的醇脱氢酶、结合肼苯哒嗪和普鲁卡因的乙酰化酶等在体内的代谢并不减慢。 @kkyx2018

**2.** **某些生物转化反应存在明显的性别差异** 例如女性体内醇脱氢酶活性高于男性，女性对乙醇 的代谢处理能力比男性强。氨基比林在男性体内的半衰期约13.4小时，而女性则为10.3小时，说明 女性对氨基比林的转化能力比男性强。妊娠期妇女肝清除抗癫痫药的能力升高，但晚期妊娠妇女的 生物转化能力普遍降低。

**3.** **营养状况对生物转化作用亦产生影响** 蛋白质的摄入可以增加肝细胞整体生物转化酶的活 性，提高生物转化的效率。饥饿数天(7天),肝谷胱甘肽S 转移酶(GST) 作用受到明显影响，其参加 的生物转化反应水平降低。大量饮酒，因乙醇氧化为乙醛及乙酸，再进一步氧化成乙酰 CoA, 产 生 NADH, 可使细胞内NAD\*/NADH 比值降低，从而减少UDP- 葡糖转变成UDP- 葡糖醛酸，影响了肝内葡 糖醛酸结合转化反应。

**4.** **疾病尤其严重肝病可明显影响生物转化作用** 肝实质损伤直接影响肝生物转化酶类的合成。 例如严重肝病时微粒体单加氧酶系活性可降低50%。肝细胞损害导致 NADPH 合成减少也影响肝对 血浆药物的清除率。肝功能低下对包括药物或毒物在内的许多异源物的摄取及灭活速度下降，药物 的治疗剂量与毒性剂量之间的差距减小，容易造成肝损害，故对肝病病人用药应特别慎重。

**5.** **遗传因素亦可显著影响生物转化酶的活性** 遗传变异可引起个体之间生物转化酶类分子结 构的差异或酶合成量的差异。变异产生的低活性酶可因影响药物代谢而造成药物在体内的蓄积。相 反，变异导致的高活性酶则可缩短药物的作用时间或造成药物代谢毒性产物的增多。目前已知，许多 肝生物转化的酶类存在酶活性异常的多态性，如醛脱氢酶、葡糖醛酸基转移酶、谷胱甘肽S-转移酶等。

**(二)许多异源物可诱导生物转化作用的酶类**

许多异源物可以诱导合成一些生物转化酶类，在加速其自身代谢转化的同时，亦可影响对其他异 源物的生物转化。例如长期服用苯巴比妥可诱导肝微粒体单加氧酶系的合成，使机体对苯巴比妥类 催眠药的转化能力增强，是耐药性产生的重要因素之一。临床上可利用其诱导作用增强对其他某些 药物的代谢以达到解毒的效果，如用苯巴比妥减低地高辛中毒。苯巴比妥还可诱导肝微粒体UDP- 葡 糖醛酸基转移酶的合成，临床上用其增加机体对游离胆红素的结合转化反应，治疗新生儿黄疸。有些 毒物，如烟草中的苯并芘可诱导肺泡吞噬细胞中隶属于单加氧酶系的芳香烃羟化酶的合成，故吸烟者 羟化酶的活性明显高于非吸烟者。

由于多种物质在体内转化常由同一酶系的催化，因此同时服用多种药物时可出现药物之间对同 一转化酶系的竞争性抑制作用，使多种药物的生物转化作用相互抑制，可导致某些药物药理作用强度 的改变。例如保泰松可抑制双香豆素类药物的代谢，两者同时服用时保泰松可增强双香豆素的抗凝

kkyx2018



**第四篇** **医学生化专题**

**368**

作用，易发生出血现象，因此同时服用多种药物时应予注意。

此外，食物中亦常含有诱导或抑制生物转化酶的物质。例如烧烤食物、甘蓝、萝卜等含有肝微粒 体单加氧酶系的诱导物，而水田芥则含有该酶的抑制剂。食物中的黄酮类可抑制单加氧酶系的活性。

**第三节** **胆汁与胆汁酸的代谢**

**一、胆汁可分为肝胆汁和胆囊胆汁**

胆汁(bile)由肝细胞分泌。肝细胞最初分泌的胆汁称肝胆汁(hepatic bile)。肝胆汁进入胆囊后， 胆囊壁上皮细胞吸收其中的部分水分和其他一些成分，并分泌黏液渗入胆汁，浓缩成为胆囊胆汁 (gallbladder bile),经胆总管排入十二指肠参与脂质的消化与吸收。

胆汁的主要固体成分是胆汁酸盐，约占固体成分的50%左右。其次是无机盐、黏蛋白、磷脂、胆 固醇、胆色素等。除胆汁酸盐与脂质消化、吸收有关；磷脂与胆汁中胆固醇的溶解状态有关外，其他成 分多属排泄物。体内某些代谢产物及进入体内的药物、毒物、重金属盐等异源物，均经肝的生物转化 后随胆汁排出体外。因此，胆汁既是一种消化液，亦可作为排泄液。

正常人肝胆汁和胆囊胆汁的部分性质和化学百分组成见表19-4。

**表19-4两种胆汁的部分性质和化学组成百分比**

|  |  |
| --- | --- |
| 比重  pH  水  固体成分  无机盐  黏蛋白  胆汁酸盐  胆色素  总脂质  胆固醇  磷脂 | **肝胆汁**  1.009~1.013  7.1～8.5  96～97  3～4  0.2~0.9  0.1~0.9  0.5~2  0.05~0.17  0.1～0.5  0.05~0.17 0.05~0.08 |

dkkyx2018

kkyx2018

**胆** **囊** **胆** **汁**

1.026～1.032

5.5~7.7

80～86

14～20

0.5~1.1

1～4

1.5～10

0.2~1.5

1.8～4.7

0.2～0.9

0.2～0.5

**二、胆汁酸有游离型、结合型及初级、次级之分**

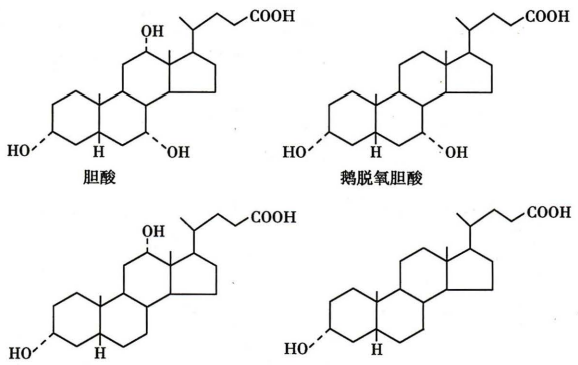
正常人胆汁中的胆汁酸(bile acid)按其结构可分为游离胆汁酸(free bile acid)和结合胆汁酸 (conjugated bile acid)两大类。游离胆汁酸包括胆酸(cholic acid)、鹅脱氧胆酸(chenodeoxycholic acid)、脱氧胆酸(deoxycholic acid)和少量石胆酸(lithocholic acid)四种。上述游离胆汁酸的24位羧基 分别与甘氨酸或牛磺酸结合生成各种相应的结合胆汁酸，包括甘氨胆酸(glycocholic acid)、牛磺胆酸 (taurocholic acid)、甘氨鹅脱氧胆酸(glycochenodeoxycholic acid)和牛磺鹅脱氧胆酸(taurochenodeoxy- cholic acid)。胆汁酸按其来源亦可分为初级胆汁酸(primary bile acid)和次级胆汁酸(secondary bile acid)两类。在肝细胞以胆固醇为原料直接合成的胆汁酸称为初级胆汁酸，包括胆酸、鹅脱氧胆酸及 其与甘氨酸或牛磺酸的结合产物。初级胆汁酸在肠菌作用下，第7位α羟基脱氧生成的胆汁酸称为 次级胆汁酸，主要包括脱氧胆酸和石胆酸及其在肝中分别与甘氨酸或牛磺酸结合生成的结合产物。 部分胆汁酸的结构见图19-1。

胆汁中所含的胆汁酸以结合型为主(占90%以上)。其中甘氨胆汁酸与牛磺胆汁酸的比例为3: 1。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，形成相应的胆汁酸盐，简称胆盐

8记 (bile salts)。

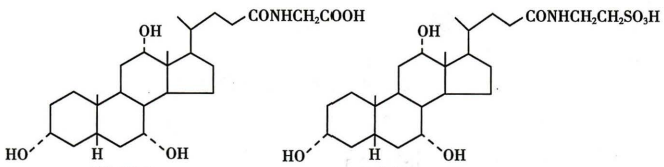


第十九章肝的生物化学 **369**



脱氧胆酸

石胆酸



甘氨胆酸

牛磺胆酸

图19-1 几种主要胆汁酸的结构式

胆汁酸在结构上系24碳的胆烷酸衍生物，初级胆汁酸中的胆酸含有3个羟基(3α、7α、 12α),鹅脱氧胆酸含有2个羟基(3α、7α)。属于次级胆汁酸的脱氧胆酸和石胆酸的C,位 均无羟基存在

**三、胆汁酸的主要生理功能**

略 kkyx2018

kkyx2018

**(** **一)促进脂质的消化与吸收**

胆汁酸分子内部既含有亲水性的羟基和羧基，又含有疏水性的烃核和甲基，而且羟基和羧基的空 间配位又全是α型，位于分子的同一侧构成亲水面，而分子的另一侧构成疏水面，所以胆汁酸的立体 构型具有亲水和疏水两个侧面(图19-2)。这种结构特点赋予胆汁酸很强的界面活性，成为较强的乳 化剂，能降低油/水两相的界面张力，使脂质乳化成3～10 μm 的细小微团，增加脂质与脂肪酶的附着 面积，有利于脂肪的消化。脂质的消化产物又与胆汁酸盐结合，并汇入磷脂等形成直径只有约20 μm 的混合微团，利于通过小肠黏膜的表面水层，促进脂质的吸收。

**(二)维持胆汁中胆固醇的溶解状态以抑制胆固醇析出**

人体内约99%的胆固醇随胆汁经肠道排出体外，其中1/3以胆汁酸形式，2/3以直接形式排出体 外。胆汁中的胆固醇难溶于水，与胆汁酸及卵磷脂协同作用，使胆固醇分散形成可溶性的微团，使之 不易析出沉淀而经胆道转运至肠道排出体外。胆固醇是否从胆汁中沉淀析出主要取决于胆汁中胆汁 酸盐和卵磷脂与胆固醇之间的合适比例。如果肝合成胆汁酸或卵磷脂的能力下降、消化道丢失胆汁 酸过多或胆汁酸肠肝循环减少，以及排入胆汁中的胆固醇过多(高胆固醇血症)等均可造成胆汁中胆 汁酸和卵磷脂与胆固醇的比例下降(小于10:1),易发生胆固醇析出沉淀，形成胆结石(gallstone)。 依 据胆固醇含量可将胆结石分为3类：胆固醇结石(cholesterol stone)、黑色素结石(black pigment stone) 和棕色素结石(brown pigment stone)。 结石中胆固醇含量超过50%的称为胆固醇结石；黑色素结石一 般为10%～30%;棕色素结石含胆固醇较少。



**第四篇** 医学生化专题

**370**

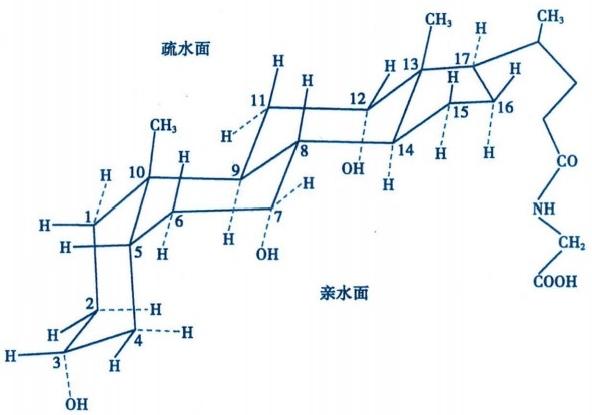


图19-2 甘氨胆酸的立体构型

甘氨胆酸多元环上的3个羟基和甘氨酸的羧基位于分子的一侧，形成亲水面；甲420 基位于分子的另一侧，形成疏水面；该结构赋予其很强的界面活性

路 kkyx2018

**四、胆汁酸的代谢及胆汁酸的肠肝循环**

**(一)初级胆汁酸在肝内以胆固醇为原料生成**

肝细胞以胆固醇为原料合成初级胆汁酸，这是胆固醇在体内的主要代谢去路☑ 。正常人每日约合 成1~1.5g胆固醇，其中约0.4~0.6g 在肝内转化为胆汁酸。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质。胆固醇首先在胆固醇7α-羟化酶(cholesterol 7α- hydroxylase)的催化下生成7α-羟胆固醇。后者向胆汁酸的转化包括固醇核的3α(3β-羟基差向异构化 为3α-羟基)和12α羟化、加氢还原、侧链氧化断裂、加水等多步复杂酶促反应，首先生成24碳的胆烷 酰CoA。 后者即可水解生成初级游离胆汁酸即胆酸(3α,7α,12α-三羟-5β-胆烷酸)和鹅脱氧胆酸 (3α,7α-二羟-5β-胆烷酸),也可直接与甘氨酸或牛磺酸结合生成相应的初级结合胆汁酸，以胆汁酸钠 盐或钾盐的形式随胆汁入肠。胆固醇7α-羟化酶是胆汁酸合成途径的关键酶，受终产物胆汁酸的负反 馈调节。临床上采用口服阴离子交换树脂考来烯胺减少肠道胆汁酸的重吸收，从而促进肝内胆固醇 向胆汁酸的转化，以降低血浆胆固醇含量。高胆固醇饮食在抑制HMG-CoA 还原酶合成的同时，亦可 诱导胆固醇7α-羟化酶基因的表达。肝细胞通过这两个酶的协同作用维持肝细胞内胆固醇的水平。 糖皮质激素、生长激素也可提高胆固醇7α-羟化酶的活性。甲状腺素可诱导胆固醇7α-羟化酶mRNA

合成，故甲状腺功能亢进病人血清胆固醇含量降低。

**(二)次级胆汁酸在肠道由肠菌作用生成**

进入肠道的初级胆汁酸在发挥促进脂质的消化吸收后，在回肠和结肠上段，由肠菌酶催化胆汁酸 的去结合反应和脱7α-羟基作用，生成次级胆汁酸☑ 。胆酸脱去7α -羟基生成脱氧胆酸；鹅脱氧胆酸 脱去7α-羟基生成石胆酸。这两种游离型次级胆汁酸还可经肠肝循环被重吸收入肝，并与甘氨酸或牛 磺酸结合成为结合型次级胆汁酸。此外，肠菌还可将鹅脱氧胆酸转化成熊脱氧胆酸(ursodeoxycholic acid),即将鹅脱氧胆酸7α-羟基转变成7β-羟基，亦归属次级胆汁酸。熊脱氧胆酸含量很少，虽对代谢 没有重要意义，但有一定的药理学效应。熊脱氧胆酸在慢性肝病治疗时具有抗氧化应激作用，可降低 肝内由于胆汁酸潴留引起的肝损伤，改善肝功能以减缓疾病的进程。

**(三)胆汁酸的肠肝循环使有限的胆汁酸库存循环利用**

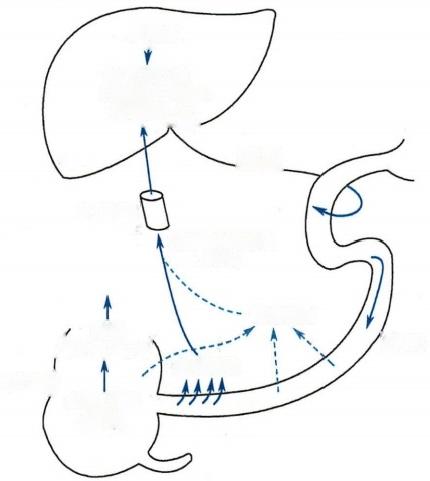
进入肠道的各种胆汁酸(包括初级和次级、游离型与结合型)约有95%以上可被肠道重吸收，其



@kkyx2018

第十九章 肝的生物化学 371

余的(约为5%石胆酸)随粪便排出。胆汁酸的重吸收有两种方式。结合型胆汁酸在回肠部位被主动 重吸收，游离型胆汁酸在小肠各部及大肠被动重吸收。重吸收的胆汁酸经门静脉重新入肝。在肝细 胞内，游离胆汁酸被重新转变成结合胆汁酸，与重吸收及新合成的结合胆汁酸一起重新随胆汁入肠。 胆汁酸在肝和肠之间的这种不断循环过程称为胆汁酸“肠肝循环”(enterohepatic circulation of bile acid)(图19-3)(动画19-1“胆汁酸肠肝循环”)。机体内胆汁酸储备的总量称为胆汁酸库(bile acid pool)。 成人的胆汁酸库共约3～5g,即使全部倾入小肠也难满足每日正常膳食中脂质消化、吸收的需 要。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,借此有效的肠肝循 环机制可使有限的胆汁酸库存循环利用，以满足机体对胆汁酸的生理需求。



胆固醇

结合胆汁酸

(合成0.4~0.6g/d

代谢池3~5g)

(肝)

(门静脉)

(胆汁酸回吸收

>95%)

被动吸收

排泄

(小肠)

主动吸收

(大肠)

水解，脱羧

(肠菌)

(0.4~0.6g/d))

(胆道)



图19-3 胆汁酸的肠肝循环

未被肠道吸收的小部分胆汁酸在肠菌的作用下，衍生成多种胆烷酸并由粪便排出。每日仅从粪 便排出约0.4~0.6g 胆汁酸，与肝细胞合成的胆汁酸量相平衡。此外，经肠肝循环回收入肝的石胆酸 在肝中除了与甘氨酸或牛磺酸结合外，还硫酸化生成硫酸甘氨石胆酸和硫酸牛磺石胆酸。这些双重 结合的石胆酸在肠道中不容易去结合，亦不容易被肠道重吸收而从粪便中排出。因此，正常胆汁中石 胆酸的含量甚微。



kkyx2018

**第四节** **胆色素的代谢与黄疸**

胆色素(bile pigment)是体内铁卟啉类化合物的主要分解代谢产物，包括胆绿素(biliverdin)、胆 红 素(bilirubin)、胆素原(bilinogen)和胆素(bilin)。 这些化合物主要随胆汁排出体外，其中胆红素居于 胆色素代谢的中心，是人体胆汁中的主要色素，呈橙黄色(动画19-2“胆红素代谢”)。

**一、胆红素是铁卟啉类化合物的降解产物**

(一)胆红素主要源于衰老红细胞的破坏

体内铁卟啉类化合物包括血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素、过氧化氢酶和过氧化物酶等。正常人 每天可生成250~350mg 胆红素，其中约80%以上来自衰老红细胞破坏所释放的血红蛋白的分解。 小部分胆红素来自造血过程中红细胞的过早破坏(无效红细胞生成),还有少量胆红素来自其他各种



**372** **第四篇** **医学生化专题**

含血红素蛋白如细胞色素P450。 肌红蛋白由于更新率低，所占比例很小。

红细胞的平均寿命约120天。生理情况下，正常成年人(70kg)每小时约有(1～2)×10⁸个红细胞 被破坏。衰老的红细胞被肝、脾、骨髓等单核吞噬系统细胞识别并吞噬，每天释放约6g 血红蛋白(每 克血红蛋白约可产生35mg 胆红素)。释出的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。血红素则由单核吞噬系统细胞降解生成胆红素。

**(二)血红素加氧酶和胆绿素还原酶催化胆红素的生成**

血红素是由4个吡咯环连接而成的环形化合物，并螯合1个二价铁离子。血红素由单核吞噬系 统细胞微粒体的血红素加氧酶(heme oxygenase,HO)催化，在至少3分子氧和3分子NADPH 的存在 下，血红素原卟啉IX环上的α次甲基(一CH=) 桥碳原子的两侧氧化断裂，释放出一分子一氧化碳 (CO) 和 Fe², 并将两端的吡咯环羟化，生成线性四吡咯结构的水溶性胆绿素。释出的Fe²\*氧化为Fe³\* 进入铁代谢池，可供机体再利用或以铁蛋白形式储存。

胆绿素进一步在胞质活性很强的胆绿素还原酶(biliverdin reductase)催化下，由NADPH 供氢，还 原生成胆红素(图19-4)。胆红素是由3个次甲基桥连接的4个吡咯环组成，分子量585。虽然胆红素 分子中含有2个羟基(醇式)或酮基(酮式)、4个亚氨基和2个丙酸基等亲水基团，但由于这些基团形成

kkyx2018 kkyx2018

CH₂

CH CH,

H₃C— ,N. CH=CH₂

F6 血红素

N N ·

H₂C- CH,

CH₂

CH₂

CooH

CO~ 血红素加氧酶系 Fe

CH₂

CH₂

CooH

O₂

NADPH+H\*

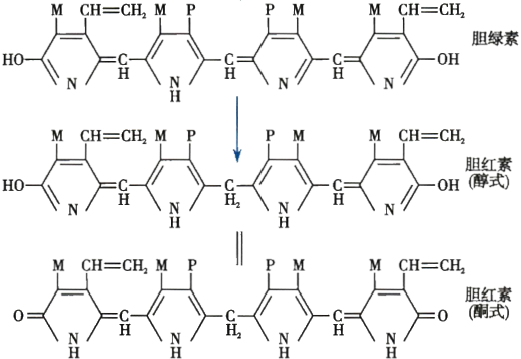


图19-4 胆红素的生成

M:—CH₃;P:—CH₃CH₂COOH

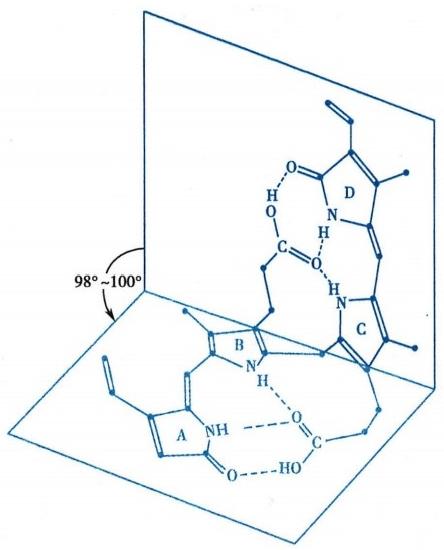
血红素原卟啉IX环上的α次甲基(一CH=) 桥碳原子被氧化使卟啉环打

开，形成胆绿素，进而还原为胆红素，次甲桥的碳转变成CO, 鳌合的铁离 子释出被再利用



第十九章 肝的生物化学 **373**

6个分子内氢键，使胆红素分子形成脊瓦状内旋的刚性折叠结构，赋予胆红素以疏水亲脂的性质，极易自 由透过细胞膜进入血液(图19-5)。



Cbkkyx2018

kkyx2018

图19-5 胆红素的X-线衍射结构图

图中C 环上的丙酸基与A 环的氧原子和A、B环上的氮原子形成氢键；

B 环上的丙酸基与C 环的氧原子和C、D环上的氮原子形成氢键；A 和B

环在一个平面，C 和D 环在一个平面，两平面的夹角为98°~100°

迄今已发现人体内存在3种血红素加氧酶同工酶：HO-1、HO-2 和 HO-3。HO-1(32kD) 是一种 诱导酶，为热激蛋白32(HSP32)。 主要存在于肝、脾、和骨髓等降解衰老红细胞的组织器官。 HO-2 (36kD) 是组成型酶，仅受糖皮质激素诱导，主要存在于大脑及睾丸组织内，其功能多认为与CO 的 神经信使作用有关。 HO-3(33kD) 与 HO-2 有90%的同源性，亦属组成型表达，其功能尚未明晰。 HO-1 在血红素代谢中居重要地位，其生物合成可被其底物血红素迅速激活，以及时清除循环系 统中的血红素。 HO-1 亦是迄今所知的诱导物最多的诱导酶。缺氧、高氧、内毒素、重金属、白细 胞介素-10(IL-10)、 一氧化氮(NO)、 促红细胞生成素(EPO)、 炎症细胞因子等许多能引发细胞 氧化应激(oxidative stress)的因素均可诱导此酶的表达，从而增加 CO、 胆绿素和继之胆红素的 产生。

许多疾病亦表现 HO-1 的表达增加，例如肿瘤、动脉粥样硬化、心肌缺血、阿尔茨海默病等。 HO-1 作为一种应激蛋白质，其诱导因素的多样性是对细胞的一种重要保护机制。 HO-1 在上述诸多有害环 境刺激和疾病存在条件下所呈现的对机体保护作用，主要是通过其催化生成的产物来实现的，这些产 物主要是CO 与胆红素。 HO 氧化血红素时产生的CO 是机体内源性CO 的主要来源。 CO 因对Hb 有 高度亲和力而呈现有害效应。但有研究显示，低浓度 CO 和 NO 功能相似，可作为信息分子和神经 递质。

胆红素过量对人体有害，但适宜水平的胆红素是人体内强有力的内源性抗氧化剂，是血清中 抗氧化活性的主要成分，可有效地清除超氧化物和过氧化自由基。氧化应激可诱导HO-1 的表达， 从而增加胆红素的量以抵御氧化应激状态。胆红素的这种抗氧化作用通过胆绿素还原酶循环 (biliverdin reductase cycle)实现：胆红素氧化成胆绿素，后者再在分布广、活性强的胆绿素还原酶催

NoE

**374**

记

第四篇 医学生化专题

化下，利用 NADH 或 NADPH 再还原成胆红素。胆绿素还原酶循环可使胆红素的作用增大 10000倍。

**二、** **血液中的胆红素主要与清蛋白结合而运输**

胆红素在单核吞噬系统细胞生成以后释放入血。在血浆中主要以胆红素-清蛋白复合体形式 存在和运输。血浆清蛋白(albumin)与胆红素的结合， 一方面增加了胆红素的水溶性，提高了血浆 对胆红素的运输能力；另一方面限制了它自由通透各种细胞膜，避免了其对组织细胞造成的毒性 作用。研究证明，每个清蛋白分子有一个高亲和力结合部位和一个低亲和力结合部位，可结合两 分子胆红素。正常人血浆胆红素含量为3.4～17.1μmol/L(2～10mg/L), 而每100ml 血浆清蛋白 可结合25mg 胆红素，故在正常情况下血浆清蛋白结合胆红素的潜力很大，不与清蛋白结合的胆红 素甚微。但必须提及的是，胆红素与清蛋白的结合是非特异性、非共价可逆性的。若清蛋白含量 明显降低、结合部位被其他物质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 向组织细胞转移。

某些有机阴离子(如磺胺药、水杨酸、胆汁酸、脂肪酸等)可与胆红素竞争性地结合清蛋白，使胆 红素游离。过多的游离胆红素因系脂溶性易穿透细胞膜进入细胞，尤其是富含脂质的脑部基底核的 神经细胞，干扰脑的正常功能，称为胆红素脑病(bilirubin encephalopathy)或核黄疸(kernicterus)。 有 黄疸倾向的病人或新生儿生理性黄疸期，应慎用上述药物。因此，血浆清蛋白与胆红素的结合仅起到 暂时性的解毒作用，其根本性的解毒依赖肝与葡糖醛酸结合的生物转化作用。把这种未经肝结合转 化的，在血浆中与清蛋白结合运输的胆红素称为未结合胆红素(unconjugated bilirubin)或血胆红素或 游离胆红素。未结合胆红素因分子内氢键存在，不能直接与重氮试剂反应，只有在加入乙醇或尿素等 破坏氢键后才能与重氮试剂反应，生成紫红色偶氮化合物，故未结合胆红素又称为间接反应胆红素或 间接胆红素(indirect bilirubin)。

**三、胆红素在肝细胞中转变为结合胆红素并泌入胆小管**

**(一)游离胆红素可渗透肝细胞膜而被摄取**

血中的胆红素以胆红素-清蛋白复合体的形式运输到肝后，在被肝细胞摄取前先与清蛋白分离， 然后迅速被肝细胞摄取。胆红素可以自由双向通透肝血窦肝细胞膜表面而进入肝细胞。所以，肝细 胞对胆红素的摄取量取决于肝细胞对胆红素的进一步处理能力。

胆红素进入肝细胞后，在细胞质中主要与细胞质Y 蛋白和Z 蛋白两种配体蛋白(ligandin)相结 合，其中，以Y 蛋白为主。配体蛋白是胆红素在肝细胞质的主要载体，系谷胱甘肽S-转移酶(GST) 家 族成员，含量丰富，占肝细胞质总蛋白质的3%～4%,对胆红素有高亲和力。配体蛋白可与胆红素 1:1结合，以胆红素-Y 蛋白或胆红素-Z 蛋白形式将胆红素携带至肝细胞滑面内质网。

**(二)胆红素在内质网结合葡糖醛酸生成水溶性结合胆红素**

在滑面内质网UDP- 葡糖醛酸基转移酶(UDP-glucuronosyltransferase,UGT)的催化下，由UDPGA 提供葡糖醛酸基，胆红素分子的丙酸基与葡糖醛酸以酯键结合，生成葡糖醛酸胆红素( bilirubin glu- curonide)。 由于胆红素分子中含有2个羧基，每分子胆红素可至多结合2分子葡糖醛酸。结果主 要生成胆红素葡糖醛酸二酯和少量胆红素葡糖醛酸一酯(图19-6),两者均可被分泌入胆汁。此 外，尚有少量胆红素与硫酸结合生成硫酸酯。胆红素与葡糖醛酸的结合是肝脏对有毒性胆红素一 种根本性的生物转化解毒方式。把这些在肝脏与葡糖醛酸结合转化的胆红素称为结合胆红素 (conjugated bilirubin)或肝胆红素。与葡糖醛酸结合的胆红素因分子内不再有氢键，分子中间的 亚甲桥不在深埋于分子内部，可以迅速、直接与重氮试剂发生反应，故结合胆红素又称为直接反 应胆红素或直接胆红素(direct bilirubin)。 结合胆红素与未结合胆红素不同理化性质的比较见 表19-5。



第十九章 肝的生物化学 375

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 胆红素+UDP- 葡糖醛酸  胆红素葡糖醛酸一酯 +  UDP-葡糖醛酸 | UDP- 葡糖醛酸基 转移酶  UDP-葡糖醛酸基 转移酶 | 胆红素葡糖醛酸一酯+UDP  **胆红素葡糖醛酸二酯+UDP** |

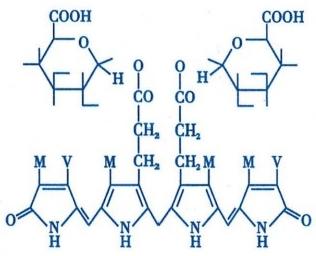


图19-6 葡糖醛酸胆红素的生成及其结构

M:—CH₃;P:—CH=CH₂

②kkyx2018

kkyx2018

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | **表19-5两种胆红素理化性质的比较** |  |
| **理化性质** | **未结合胆红素** | **结合胆红素** |
| 同义名称 | 间接胆红素、游离胆红素、  血胆红素、肝前胆红素 | 直接胆红素、肝胆红素 |
| 与葡糖醛酸结合 | 未结合 | 结合 |
| 水溶性 | 小 | 大 |
| 脂溶性 | 大 | 小 |
| 透过细胞膜的能力及毒性 | 大 | 小 |
| 能否透过肾小球随尿排出 | 不能 | 能 |

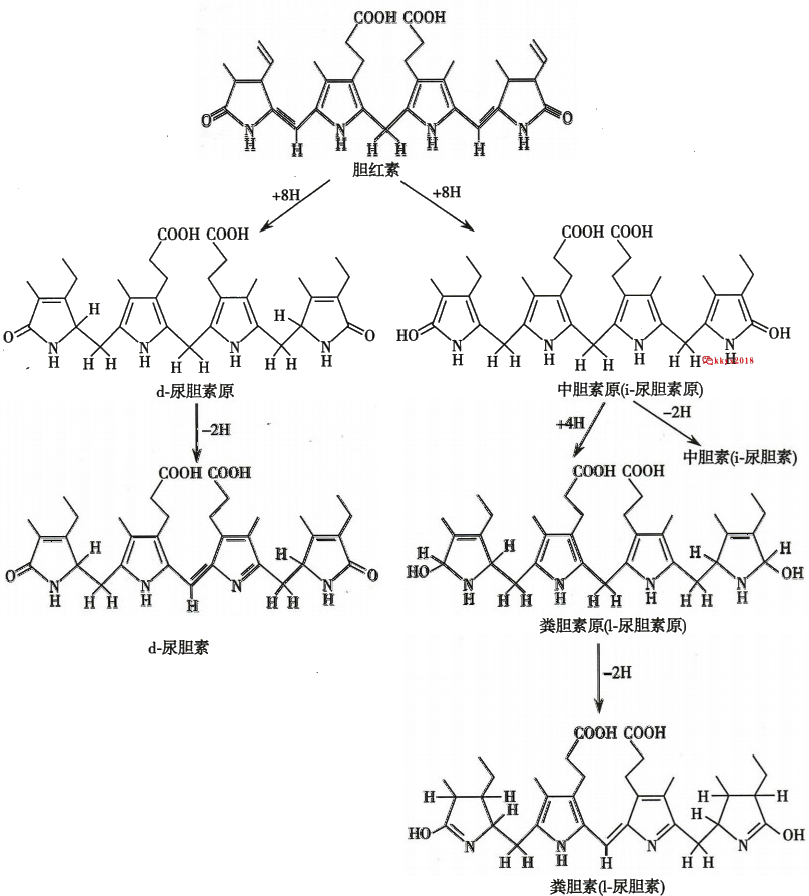
(三)肝细胞向胆小管分泌结合胆红素

结合胆红素水溶性强，被肝细胞分泌进入胆管系统，随胆汁排入小肠。此被认为是肝脏代谢胆红 素的限速步骤，亦是肝脏处理胆红素的薄弱环节。肝细胞向胆小管分泌结合胆红素是一个逆浓度梯 度的主动转运过程，定位于肝细胞膜胆小管域的多耐药相关蛋白2(multidrug resistance-like protein 2, MRP2) 是肝细胞向胆小管分泌结合胆红素的转运蛋白质。胆红素排泄一旦发生障碍，结合胆红素就 可返流入血。对UDP- 葡糖醛酸基转移酶具有诱导作用的苯巴比妥等药物对结合胆红素从肝细胞 到胆汁的分泌也同样具有诱导作用，可见胆红素的结合转化与分泌构成相互协调的功能体系。血 浆中的胆红素通过肝细胞膜的自由扩散、肝细胞质内配体蛋白的运转、内质网的葡糖醛酸基转移 酶的催化和肝细胞膜的主动分泌等联合作用，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。

**四、胆红素在肠道内转化为胆素原和胆素**

**(一)胆素原是结合胆红素经肠菌作用的产物**

经肝细胞转化生成的葡糖醛酸胆红素随胆汁进入肠道，在回肠下段和结肠的肠菌作用下，脱去葡 糖醛酸基，并被还原生成d-尿胆素原(d-urobilinogen)和中胆素原(mesobilirubinogen,i-urobilinogen)。 后者又可进一步还原生成粪胆素原(stercobilinogen,l-urobilinogen),这些物质统称为胆素原。大部分 胆素原随粪便排出体外，在肠道下段，这些无色的胆素原接触空气后分别被氧化为相应的d-尿胆素 (d-urobilin)、i-尿胆素(i-urobilin)和粪胆素(stercobilin,l-urobilin),三者合称胆素(图19-7)。胆素呈



376 第四篇 医学生化专题

黄褐色，成为粪便的主要颜色。正常人每日排出总量为40～280mg。 胆道完全梗阻时，胆红素不能排 入肠道形成胆素原和进而形成粪胆素，因此粪便呈灰白色或白陶土色。婴儿肠道细菌稀少，未被细菌 作用的胆红素随粪便排出，可使粪便呈现橘黄色。

kkyx2018

图19-7 粪胆素和尿胆素的生成

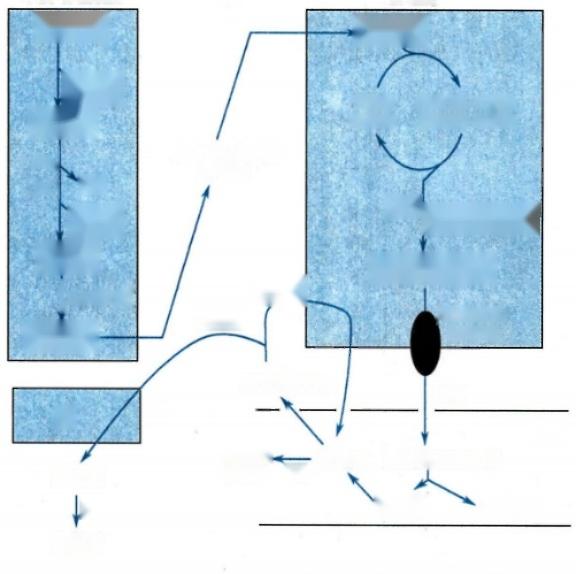
**(二)少量胆素原可被肠黏膜重吸收，进入胆素原的肠肝循环**

肠道中生成的胆素原有10%～20%可被肠黏膜细胞重吸收，经门静脉入肝，其中大部分(约 90%)以原形随胆汁排入肠腔，形成胆素原的肠肝循环(enterohepatic urobilinogen cycle)(动画19-3“胆 素原的肠肝循环”)。只有小部分(10%)胆素原可以进入体循环经肾小球滤出随尿排出，称为尿胆素 原(图19-8)。正常人每日随尿排出尿胆素原约0.5～4.0mg。 尿胆素原与空气接触后被氧化成尿胆 素，成为尿的主要色素。临床上将尿胆素原、尿胆素及尿胆红素合称为尿三胆，是黄疸类型鉴别诊断 的常用指标。正常人尿中检测不到尿胆红素。

2 记



第十九章 肝的生物化学 377

单核-吞噬细胞

血红蛋白

血液

肝细胞

胆红素

珠蛋自

血红素

30₂

7e CO

Fe²

胆绿素

NAD(P)H

胆红素一

肾

胆素原 O₂

尿胆素 (尿)

|  |  |
| --- | --- |
| 胆红素-清蛋白  复合物  大部分  小部分  胆素原(少量) | Y 蛋 白 胆红素-Y蛋白  Z 蛋白 胆红素-Z蛋白  UGT  UDP- 葡糖醛酸  葡糖醛酸胆红素  转运蛋白  (MRP2)  胆管 |

肠管

粪胆素 胆素原葡糖醛酸胆红素

(粪便) O₂

胆红素 葡糖醛酸

kkyx2018

kkyx2018

图19-8 胆红素的生成与胆素原的肠肝循环

**五、高胆红素血症及黄疸**

**(一)正常人血清胆红素含量甚微**

正常成人血清胆红素总量为3.4～17.1μmol/L(2～10mg/L), 其中约80%是未结合胆红素，其余 为结合胆红素。单核吞噬系统细胞产生的胆红素是有毒的脂溶性物质，易透过细胞膜尤其对富含脂 质的神经细胞可造成不可逆损伤。胆红素与血浆清蛋白的结合(未结合胆红素)仅起到暂时性的解 毒作用，肝细胞内胆红素与葡糖醛酸结合(结合胆红素)反应是对胆红素的一种根本性生物转化解毒 方式。肝细胞对胆红素有强大的处理能力。正常人每天从单核吞噬细胞系统产生250~350mg 胆红 素，但正常人肝每天可清除3000mg 以上的胆红素，因此正常人血清中胆红素的含量甚微。

**(二)黄疸依据病因有溶血性、肝细胞性和阻塞性之分**

体内胆红素生成过多，或肝细胞对胆红素的摄取、转化及排泄能力下降等均可引起血浆胆红素含 量增多。当血浆胆红素含量超过17.1μmol/L(10mg/L) 称为高胆红素血症(hyperbilirubinemia)。 胆红 素为橙黄色物质，过量的胆红素可扩散进入组织造成黄染现象，这一体征称为黄疸(jaundice)。 由于 皮肤、巩膜、指甲床下和上颚等含有较多弹性蛋白，对胆红素有较强的亲和力，故易被黄染。黄疸的程 度取决于血浆胆红素的浓度。当血浆胆红素浓度超过34.2 μmol/L(20mg/L) 时，肉眼可见皮肤、黏膜 及巩膜等黄染，临床上称为显性黄疸(clinical jaundice)。 若血浆胆红素在17.1～34.2 μmol/L(10~ 20mg/L) 之间时，肉眼观察不到皮肤与巩膜等黄染现象，称为隐性黄疸(occult jaundice)。

临床上常根据黄疸发病的原因不同，将黄疸分为三类。

**1.** **溶血性黄疸** 溶血性黄疸(hemolytic jaundice),又称为肝前性黄疸(prehepatic jaundice)。系 各种原因所致红细胞的大量破坏，单核吞噬系统产生胆红素过多，超过了肝细胞摄取、转化和排泄胆 红素的能力，造成血液中未结合胆红素浓度显著增高所致。其特征为：①血浆总胆红素、未结合胆红 素含量增高；②结合胆红素的浓度改变不大，尿胆红素呈阴性；③因肝对胆红素的摄取、转化和排泄增



**378** 第四篇 医学生化专题

多，过多的胆红素进入胆道系统，肠肝循环增多，使得尿胆原和尿胆素含量增多，粪胆原与粪胆素亦增 加；④伴有其他特征如贫血、脾大及末梢血液网织红细胞增多等。某些药物、某些疾病(如恶性疟疾、 过敏、镰状细胞贫血、蚕豆病等)及输血不当等多种因素均有可能引起大量红细胞破坏，导致溶血性 黄疸。

2. 肝细胞性黄疸 肝细胞性黄疸(hepatocellular jaundice),又称为肝原性黄疸(hepatic jaundice)。 由于肝细胞功能受损，造成其摄取、转化和排泄胆红素的能力降低所致的黄疸。 一方面肝摄取胆红素 障碍，造成血中未结合胆红素升高；另一方面肝细胞受损肿胀，压迫毛细胆管，造成肝内毛细胆管阻 塞，而后者与肝血窦直接相通，使肝内部分结合胆红素返流入血，造成血清结合胆红素亦增高。此外， 经肠肝循环入肝的胆素原可经损伤的肝细胞进入体循环，并从尿中排出，使尿胆素原升高。其特征 为：①血清未结合胆红素和结合胆红素均升高。②尿胆红素呈阳性。③尿胆素原升高，但若胆小管堵 塞严重，则尿胆素原反而降低。④粪胆素原含量正常或降低。由于肝功能障碍，结合胆红素在肝内生 成减少，粪便颜色可变浅。⑤其他特征如血清谷丙转氨酶(ALT) 及谷草转氨酶(AST) 活性明显升高。 肝细胞性黄疸常见于肝实质性疾病如各种肝炎、肝硬化、肝肿瘤及中毒(如氯仿、四氯化碳)等引发的 肝损伤。

3. 阻塞性黄疸 阻塞性黄疸(obstructive jaundice)又称为肝后性黄疸(posthepatic jaundice)。 由

kkyx2018

各种原因引起的胆管系统阻塞，胆汁排泄通道受阻，使胆小管和毛细胆管内压力增高而破裂，导致结 合胆红素返流入血，使得血清结合胆红素明显升高。其特征为：①结合胆红素明显升高，未结合胆红 素升高不明显；②大量结合胆红素可从肾小球滤出，所以尿胆红素呈强阳性，尿的颜色加深，可呈茶叶 水色；③由于胆管阻塞排入肠道的结合胆红素减少，导致肠菌生成胆素原减少，粪便中胆素原及胆素 含量降低，完全阻塞的病人粪便可变成灰白色或白陶土色；④其他特征如血清胆固醇和碱性磷酸酶 (ALP) 活性明显升高等。阻塞性黄疸常见于胆管炎、肿瘤(尤其胰头癌)、胆结石或先天性胆管闭锁等 疾病。

各种黄疸血、尿、粪胆色素的实验室检查变化见表19-6。

**表19-6各种黄疸血、尿、粪胆色素的实验室检查变化**

**指** **标**

血清胆红素

浓度

结合胆红素

未结合胆红素

尿三胆

尿胆红素

尿胆素原

尿胆素

粪胆素原

粪便颜色

**正** **常** **溶血性黄疸**

>10mg/L

<10mg/L 极 少

0～8mg/L

↑ 1

少量

少 量

40～280mg/24h

正 常

深

**肝细胞性黄疸**

>10mg/L

++

不一定

不一定

↓或正常

变浅或正常

**阻塞性黄疸**

>10mg/L

↑ 1

++

↓ 或 -

完全阻塞时

白陶土色

注：“-”代表阴性，“++”代表强阳性



**小** **结**

独特的结构特点，赋予肝复杂多样的生物化学功能。肝不仅是多种物质代谢之中枢，而且还具有 生物转化、分泌和排泄等功能。

肝通过肝糖原合成与分解、糖异生维持血糖的相对稳定。肝在脂质代谢中占据中心地位。肝将 胆固醇转化为胆汁酸，协助脂质的消化与吸收。肝是体内合成甘油三酯、磷脂与胆固醇的重要器官。

**第十九章** **肝的生物化学** **379**

肝能合成VLDL 及 HDL, 参与甘油三酯与胆固醇的转运。 LCAT 是肝合成的血浆功能性酶，参与血浆 胆固醇的酯化。肝是氧化脂肪酸并产生酮体的重要器官。肝的蛋白质合成与分解代谢均非常活跃。 除γ球蛋白外，几乎所有的血浆蛋白质均来自肝。肝是除支链氨基酸外所有氨基酸分解代谢的重要 器官，也是处理氨基酸分解代谢产物的重要场所。氨主要在肝内经鸟氨酸循环合成尿素而解毒。肝 在维生素的吸收、储存、运输和代谢转化方面起重要作用。肝也是许多激素灭活的场所。

肝通过生物转化对异源物及某些内源性的代谢产物或生物活性物质进行代谢转变，提高其水溶 性和极性，易于从尿或胆汁排出。肝生物转化分两相反应，第一相反应包括氧化、还原和水解；第二相 反应是结合反应，主要与葡糖醛酸、硫酸和乙酰基等结合。生物转化反应具有连续性、多样性和解毒 与致毒的双重性特点。肝生物转化受年龄、性别、营养、疾病、遗传及异源物诱导等因素的影响。

胆汁是肝细胞分泌的兼具消化液和排泄液的液体。胆汁的主要成分是胆汁酸，是肝清除胆固醇 的主要形式。胆固醇7α-羟化酶是胆汁酸合成的关键调节酶。胆汁酸有初级胆汁酸与次级胆汁酸之 分。初级胆汁酸合成于肝，包括胆酸与鹅脱氧胆酸。初级胆汁酸经肠菌作用生成次级胆汁酸，包括脱 氧胆酸与石胆酸。胆汁酸还有游离型胆汁酸与结合型胆汁酸之分。结合型胆汁酸是游离胆汁酸与甘 氨酸或牛磺酸在肝内结合的产物。胆汁酸的肠肝循环使有限的胆汁酸库存反复利用以满足脂质消化 吸收之需。

**kkyx2018**

kkyx2018

胆色素是铁卟啉类化合物的分解代谢产物，包括胆绿素、胆红素、胆素原和胆素。胆红素主要源 于衰老红细胞血红蛋白释放的血红素的降解。血红素加氧酶和胆绿素还原酶催化血红素经胆绿素生 成胆红素。胆红素为亲脂疏水性，在血浆中与清蛋白结合而运输，称为未结合胆红素。胆红素在肝与 葡糖醛酸结合生成水溶性的结合胆红素，由肝细胞分泌随胆汁排入肠道。结合胆红素在肠菌作用下， 被水解和还原成无色胆素原。胆素原的大部分在肠道下段遇空气被氧化为黄褐色的粪胆素。少量的 胆素原则被肠黏膜重吸收入肝，其中的大部分又以原形重新排入肠道，构成胆素原的肠肝循环，有小 部分重吸收的胆素原经体循环入肾随尿排出，称为尿胆素原。其被空气氧化后生成尿胆素。尿胆素 原、尿胆素和尿胆红素在临床上合称为尿三胆，是黄疸类型鉴别的常用指标。多种原因可致高胆红素 血症并引发黄疸体征。黄疸可根据发生原因分为溶血性黄疸、肝细胞性黄疸和阻塞性黄疸三类。各 种黄疸均有其独特的血、尿、粪胆色素实验室检查改变。

**思** **考** **题**

1. 如何理解肝是多种物质代谢的中枢?

2. 何谓生物转化作用?生物转化有哪些反应类型，其生理意义及特点是什么?

3. 何谓初级、次级胆汁酸及游离、结合胆汁酸?简述胆汁酸的生理功能及胆汁酸的肠肝循环的生

理意义。

4. 何谓游离胆红素和结合胆红素?简述两种胆红素的性质差异。

(王明臣)







**第二十章** **维** **生** **素**

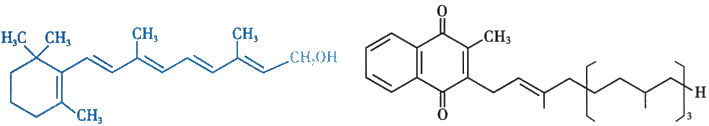
维生素(vitamin)是人体内不能合成，或合成量甚少、不能满足机体的需要，必须由食物供给，以维 持正常生命活动的一类低分子量有机化合物，是人体的重要营养素之一。维生素不是机体组织的组 成成分，也不是供能物质，然而在调节人体物质代谢、生长发育和维持正常生理功能等方面却发挥着 极其重要的作用。虽然人体对维生素的日需要量极少，但如果人体长期摄入不足或吸收障碍，可致维 生素缺乏症；若人体长期过量摄取某些维生素，也可导致维生素中毒。按照维生素溶解特性的不同， 可分为脂溶性维生素(lipid-soluble vitamin)和水溶性维生素(water-soluble vitamin)两大类。

**第一节** **脂溶性维生素**

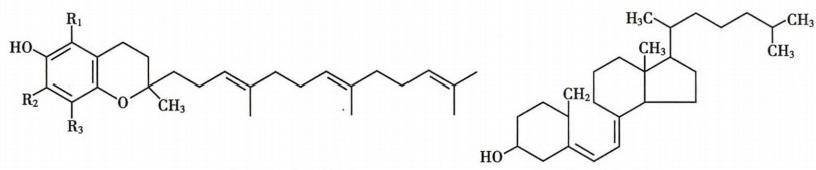
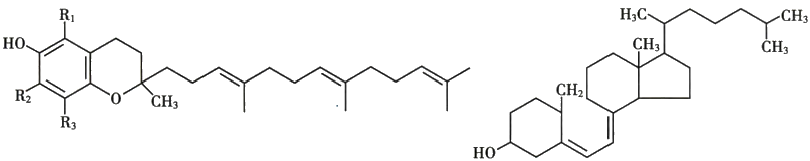
必kkyx2018

kkyx2018

脂溶性维生素包括维生素 A、维生素D、维生素E 和维生素 K, 是疏水性化合物，易溶于脂质和有 机溶剂，常随脂质被吸收。脂溶性维生素在血液中与脂蛋白或特异性结合蛋白质结合而运输，不易被 排泄，在体内主要储存于肝，故不需每日供给。维生素 A、维生素D、维生素E 和维生素 K 的结构不同 (图20-1),执行不同的生物化学与生理功能。脂质吸收障碍和食物中长期缺乏此类维生素可引起相 应的缺乏症，摄入过多则可发生中毒。



维生素A(视黄醇) 维生素 K;(叶绿醌)



维生素E(生育三烯酚) 维生素D(胆钙化醇)

图20-1 脂溶维生素的结构

**一、维生素A**

**(一)一般性质**

维生素A(vitamin A)是由1分子β- 白芷酮环和2分子异戊二烯构成的不饱和一元醇。 一般所说 的天然维生素A 指 A,(视黄醇，retinol),主要存在于哺乳类动物和咸水鱼肝中。维生素 A₂ (3- 脱氢视 黄醇)则存在于淡水鱼肝中。

动物性食品，如肝、肉类、蛋黄、乳制品、鱼肝油等都是维生素A 的丰富来源。食物中的维生素A 主要以酯的形式存在，在小肠内受酯酶的作用而水解，生成视黄醇进入小肠黏膜上皮细胞后又重新被



**第二十章** **维** **生** **素**

**381**

酯化，并掺入乳糜微粒，通过淋巴转运。乳糜微粒中的视黄醇酯可被肝细胞和其他组织摄取，在肝细 胞中被水解为游离视黄醇。在血液中，视黄醇与视黄醇结合蛋白(retinol binding protein,RBP)相 结 合，后者再结合甲状腺素视黄质运载蛋白(transthyretin,TTR),形成视黄醇-RBP-TTR 复合体。在细胞 内，视黄醇与细胞视黄醇结合蛋白(cellular retinal binding protein,CRBP)结合。肝细胞内过多的视黄 醇则转移到肝内星状细胞，以视黄醇酯的形式储存。

植物中无维生素A, 但含有被称为维生素A 原 (provitamin A)的多种胡萝卜素(carotene),其中以 β-胡萝卜素(β-carotene)最为重要。胡萝卜、红辣椒、菠菜、甘薯、木瓜等均含有丰富的β-胡萝卜素。 β-胡萝卜素可在小肠黏膜细胞或肝中被加双氧酶分解生成2分子全反式视黄醇。由于小肠黏膜对β- 胡萝卜素的分解和吸收能力较低，每分解6分子β-胡萝卜素仅获得1分子视黄醇，即β-胡萝卜素转化 为维生素A 的转化当量仅为1/6。 曰

**(二)生物学功能**

在细胞内， 一些依赖NADH 的醇脱氢酶催化视黄醇和视黄醛(retinal)之间的可逆反应。视黄醛 在视黄醛脱氢酶的催化下又不可逆的氧化生成视黄酸(retinoic acid)。 视黄醇、视黄醛和视黄酸是维 生素A 的活性形式。

**1.** **视黄醛参与视觉传导** 人视网膜的光受体细胞分为锥状细胞和杆状细胞。锥状细胞是感受 亮光和产生色觉的细胞，杆状细胞是感受弱光或暗光的细胞。在人视网膜杆状细胞内，全反式视黄醇 在异构酶的作用下生成11-顺视黄醇，并进而氧化为11-顺视黄醛。11-顺视黄醛作为光敏感视蛋白 (opsin)的辅基与之结合生成视紫红质(rhodopsin)。 弱光可使视紫红质中11-顺视黄醛和视蛋白分别 发生构型和构象改变，生成含全反式视黄醛的光视紫红质(photorhodopsin)。 光视紫红质再经一系列 构象变化，生成变视紫红质Ⅱ(metarhodopsin Ⅱ),后者引起视觉神经冲动并随之解离释放全反视黄醛 和视蛋白。全反视黄醛经还原生成全反视黄醇，从而完成视循环( visual cycle)(图20-2)。可见，视紫 红质是暗视觉的基础，人视网膜杆状细胞合成视紫红质时需要维生素A 参与，维生素A 参与了视觉 传导。

kkyx2018

|  |  |
| --- | --- |
| 全反视黄异醇构酶  还原  全反视黄醛  视蛋白 | **11-顺视黄醇**  氧化  **11-顺视黄醛** |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 变视紫红质Ⅱ  视觉神经冲动 | 光视紫红质，  (全反视黄醛)  图20-2 视循环 | **视紫红质**  (11-顺视黄醛) 光 |

**2.** **视黄酸调控基因表达和细胞生长与分**

化 维 生 素 A 及其代谢中间产物具有广泛的生 理学和药理学活性，在人体生长、发育和细胞分 化尤其是精子生成、黄体酮前体形成、胚胎发育 等过程中起着十分重要的调控作用。视黄醇的 不可逆氧化产物全反式视黄酸(all-trans retinoic acid,ATRA) 和9-顺视黄酸是执行这一重要功能 的关键物质，它们与细胞内核受体结合，通过与 DNA 反应元件的作用，调节某些基因的表达，进 而调控细胞的生长、发育和分化。所以，视黄酸 对于维持上皮组织的正常形态与生长具有重要 的作用。如ATRA 可促进上皮细胞生长与分化， 参与上皮组织的正常角化过程，可使银屑病角化 过度的表皮正常化而用于银屑病的治疗。

**3.** **维生素A** **和胡萝卜素是有效的抗氧化剂** 维生素A 和胡萝卜素是机体一种有效的捕获活性 氧的抗氧化剂，具有清除活性氧和防止脂质过氧化的作用。

**4.** **维生素A** **及其衍生物可抑制肿瘤生长** 维生素A 及其衍生物有延缓或阻止癌前病变，拮抗化 学致癌剂的作用。维生素A 及其衍生物ATRA 具有诱导肿瘤细胞分化和凋亡、增加癌细胞对化疗药 物的敏感性的作用。动物实验表明摄入维生素A 及其衍生物ATRA 可诱导肿瘤细胞的分化和减轻致 癌物质的作用。



**382** **第四篇** **医学生化专题**

**(三)维生素A** **缺乏症及中毒**

若视循环的关键物质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，从明处到 暗处看清物质所需的时间即暗适应时间延长，严重时会发生“夜盲症”。维生素 A 缺乏可引起严重的 上皮角化，眼结膜黏液分泌细胞的丢失与角化以及糖蛋白分泌的减少均可引起角膜干燥，出现眼干燥 症(x erophthalmia)。 因此，维生素A 又称眼干燥症维生素。此外，视黄酸对于免疫系统细胞的分化具 有重要的作用。维生素A 缺乏增加机体对感染性疾病的敏感性。

维生素A 的摄入量超过视黄醇结合蛋白的结合能力，游离的维生素A 可通过破坏细胞膜、核膜 以及线粒体和内质网等细胞器造成组织损伤。中国成人男性膳食维生素 A 的平均需要量(estimated average requirement,EAR)为560μg/d,成人女性为480μg/d。 如果长期过量摄入维生素A 可出现维生 素 A 中毒表现。其症状主要有头痛、恶心、共济失调等中枢神经系统表现；肝细胞损伤和高脂血症；长 骨增厚、高钙血症、软组织钙化等钙稳态失调表现以及皮肤干燥、脱屑和脱发等表现。

**二、维生素D**

**(一)一般性质**

维生素D(vitamin D)是类固醇(steroid)的衍生物，为环戊烷多氢菲类化合物。维kk生yx2素018D 为 无 色的kkyx2018 结晶，易溶于脂肪和有机溶剂，除对光敏感外，其化学性质较稳定。

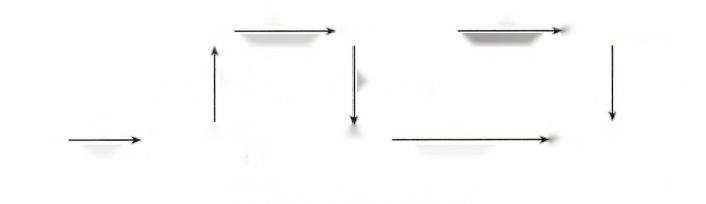
天然的维生素 D 包 括D₃ 或称胆钙化醇(cholecalciferol)及 D₂ 或称麦角钙化醇(ergocalciferol)。 鱼 油、蛋黄、肝富含维生素D₃ 。 人体皮肤储存有从胆固醇生成的7-脱氢胆固醇(维生素D₃ 原),在紫外线 的照射下，可转变成维生素D₃ 。 适当的日光浴足以满足人体对维生素D 的需要。植物中含有麦角固 醇(维生素D₂ 原),在紫外线的照射下，分子内B 环断裂转变成维生素D₂。

进入血液的维生素D₃ 主要与血浆中维生素D 结合蛋白(vitamin D binding protein,DBP)相结合而 运输。在肝微粒体25-羟化酶的催化下，维生素D₃ 被羟化生成25-羟维生素D₃ (25-OH-D₃)。25-OH-D₃

是血浆中维生素D₃ 的主要存在形式，也是维生素D₃ 在肝中的主要储存形式。25-0H-D₃ 在肾小管上皮 细胞线粒体1α-羟化酶的作用下，生成维生素D₃ 的活性形式1,25-二羟维生素 D₃ [1,25- (OH)₂-D₃]。

25-OH-D₃ 和1,25-(OH)₂-D₃ 在血液中均与DBP 结合而运输。

肾小管上皮细胞还存在24-羟化酶，催化25-OH-D₃ 进一步羟化生成24,25-(OH)₂-D₃ 。1,25- (OH)₂-D₃ 通过诱导24-羟化酶和阻遏1α-羟化酶的生物合成来控制其自身的生成量(图20-3)。

肝 肾

D₃ 25-(OH)-D₃ **24,25-(OH)z-D₃**

**25-羟化酶** 24-羟化酶

 **皮肤** 肾 1α-羟化酶 肾 1α-羟化酶

皮肤 肾

**胆固醇** 7-脱氢胆固醇 1,25- (0H)₂-D₃ 1,24,25-(OH)-D₃

脱氢 24-羟化酶

图20-3 维生素D₃ 在体内的转变

(二)生物学功能

1.1,25- (OH)₂-D₃ 调节钙、磷代谢1,25-(OH)₂-D₃ 可与靶细胞内特异的核受体结合，进入细胞 核，调节相关基因(如钙结合蛋白基因、骨钙蛋白基因等)的表达。1,25-(OH)₂-D₃ 还可通过信号转导 系统使钙通道开放，发挥其对钙、磷代谢的快速调节作用。此外，1,25-(OH)₂-D₃ 促进小肠对钙、磷的 吸收，影响骨组织的钙代谢，从而维持血钙和血磷的正常水平，促进骨和牙的钙化。

2.1,25- (OH)₂-D₃ 影响细胞分化大量研究证明，肾外组织细胞也具有羟化25-0H-D₃ 生成1,25- (OH)₂-D₃ 的能力。皮肤、大肠、前列腺、乳腺、心、脑、骨骼肌、胰岛β细胞、单核细胞和活化的T 和 B 淋 巴细胞等均存在维生素D 受体。1,25-(OH)₂-D₃ 具有调节这些组织细胞分化等功能。1,25-(OH)₂-D₃

**第二十章** **维** **生** **素** **383**

促进胰岛β细胞合成与分泌胰岛素，具有对抗1型和2型糖尿病的作用。1,25-(OH)₂-D₃ 对某些肿瘤 细胞还具有抑制增殖和促进分化的作用。低日照与大肠癌和乳腺癌的高发病率和死亡率有一定的相 关性。

**(三)维生素D** **缺乏症及中毒**

中国居民膳食维生素D 的平均需要量(estimated average requirement,EAR)为8μg/d。 当缺乏维 生素D 时，儿童可患佝偻病(rickets),成人可发生软骨病(osteomalacia)和骨质疏松症(osteoporosis)。 因此，维生素D 又称抗佝偻病维生素。此外，维生素D 缺乏也与自身免疫性疾病的发生有关。

长期每日过量摄入维生素D 可引起中毒，特别是对维生素D 较敏感的人。维生素D 中毒的症状 主要有异常口渴，皮肤瘙痒，厌食、嗜睡、呕吐、腹泻、尿频以及高钙血症、高钙尿症、高血压以及软组织 钙化等。由于皮肤储存7-脱氢胆固醇有限，多晒太阳不会引起维生素D 中毒。

**三、维生素E**

**(一)一般性质**

维生素 E(vitamin E)是苯骈二氢吡喃的衍生物，包括生育酚(tocopherol)和三烯生育酚 (tocotrienol)两类，每类又分α、β、γ和δ四种。天然维生素E 主要存在于植物油、油性种子和奏茅等 中，以α-生育酚分布最广、活性最高。α-生育酚是黄色油状液体，溶于乙醇、脂肪和有机溶剂，对热及 酸稳定，对碱不稳定，对氧极为敏感。在正常情况下，20%～40%的α-生育酚可被小肠吸收。在机体 内，维生素E 主要存在于细胞膜、血浆脂蛋白和脂库中。

**(二)生物学功能**

**1.** **维生素E** **是体内最重要的脂溶性抗氧化剂** 维生素E 作为脂溶性抗氧化剂和自由基清除剂， 主要对抗生物膜上脂质过氧化所产生的自由基，保护生物膜及其他蛋白质的结构与功能。维生素E 可捕捉过氧化脂质自由基，形成反应性较低且相对稳定的生育酚自由基(氧化型维生素E); 后者可在 维生素C、GSH或NADPH 的作用下，还原生成非自由基产物 生育醌(还原型维生素E)。 维生素 E对细胞膜的保护作用使细胞维持正常的流动性。

**2.** **维生素E** **具有调节基因表达的作用** 维生素E 除具有强的抗氧化剂作用外，还具有调节信号 转导过程和基因表达的重要作用。维生素E 可以上调或下调生育酚的摄取和降解相关的基因、脂质 摄取与动脉硬化的相关基因、表达某些细胞外基质蛋白的基因、细胞黏附与炎症的相关基因以及细胞 信号系统和细胞周期调节的相关基因等。因而，维生素E 具有抗炎、维持正常免疫功能和抑制细胞增 殖的作用，并可降低血浆低密度脂蛋白(LDL) 的浓度。维生素E 在预防和治疗冠状动脉粥样硬化性 心脏病、肿瘤和延缓衰老方面具有一定的作用。

**3.** **维生素E** **促进血红素的合成** 维生素E 能提高血红素合成的关键酶δ-氨基- γ-酮戊酸(amin- olevulinic acid,ALA)合酶和ALA 脱水酶的活性，从而促进血红素的合成。

**(三)维生素E** **缺乏症及中毒**

中国成人膳食维生素 E 的适宜摄入量(adequate intake,AI)为14mg/d 的α-生育酚当量(α-to- copherol equivalent,α-TE)。维生素E 一般不易缺乏，在严重的脂质吸收障碍和肝严重损伤时可引起 缺乏症，表现为红细胞数量减少，脆性增加等溶血性贫血症。偶尔也可引起神经功能障碍。动物缺乏 维生素E 时其生殖器官发育受损，甚至不育。人类尚未发现因维生素E 缺乏所致的不孕症。临床上 常用维生素E 治疗先兆流产及习惯性流产。维生素E 缺乏病是由于血中维生素E 含量低而引起，主 要发生在婴儿，特别是早产儿。早产的新生儿由于组织维生素E 的储备较少和小肠吸收能力较差，可 因维生素E 缺乏引起轻度溶血性贫血。

与维生素A 和D 不同，人类尚未发现维生素E 中毒症。中国成人可耐受的最高摄入量(tolerable upper intake level,UL)是600mgα-TE/d。然而，长期大量服用的副作用不能忽略。

C咽kkyx2018





**384** 第四篇 医学生化专题

**四、维生素K**

**(一)一般性质**

维生素K(vitamin K)是2-甲基-1,4-萘醌的衍生物。广泛存在于自然界的维生素K 有 K,和K₂ 。 维生素K;又称植物甲萘醌或叶绿醌(phylloquinone),主要存在于深绿色蔬菜(如甘蓝、菠菜、莴苣等) 和植物油中。维生素K₂ 则由大肠杆菌合成。维生素K₃ 是人工合成的水溶性甲萘醌，可口服及注射。 2-甲基-1,4-萘醌是维生素K 的活性形式。

维生素K 主要在小肠被吸收，随乳糜微粒而代谢。体内维生素 K 的储存量有限，脂质吸收障碍 可引发维生素K 缺乏症。

**(二)生物学功能**

**1.** **维生素** **K** **是凝血因子合成所必需的辅酶** 血液凝血因子Ⅱ、VⅡ、IX、X 及抗凝血因子蛋白C 和 蛋白S 在肝细胞中以无活性前体形式合成，其分子中4～6个谷氨酸残基需羧化成γ-羧基谷氨酸(γ- carboxylglutamic acid)残基才能转变为活性形式。此反应由γ-羧化酶催化，而许多γ-谷氨酰羧化酶的 辅酶是维生素K。 因此，维生素K 是凝血因子合成所必需的。

**2.** **维生素K** **对骨代谢具有重要作用** 肝、骨等组织中存在维生素K依赖蛋白，如骨钙蛋白(os- teocalcin)和骨基质的γ-羧基谷氨酸蛋白均是维生素K 依赖蛋白。研究表明，服用低剂量维生素K 的kkyx2018 妇女，其股骨颈和脊柱的骨盐密度明显低于服用大剂量维生素K 时的骨盐密度。

此外，维生素K 对减少动脉钙化也具有重要的作用。大剂量的维生素K 可以降低动脉硬化的危 险性。

**(三)维生素K** **缺乏症**

中国成人膳食维生素K 的适宜摄入量(AI)为80μg/d。 因维生素K 广泛分布于动、植物组织，且 体内肠菌也能合成， 一般不易缺乏。因维生素K 不能通过胎盘，新生儿出生后肠道内又无细菌，所以 新生儿有可能出现维生素K 的缺乏。维生素K 缺乏的主要症状是易出血。引发脂质吸收障碍的疾 病，如胰腺疾病、胆管疾病及小肠黏膜萎缩或脂肪便等均可出现维生素K 缺乏症。长期应用抗生素及 肠道灭菌药也有引起维生素K 缺乏的可能性。

**第二节** **水溶性维生素**

水溶性维生素包括B 族维生素(B₁、B₂、PP、泛酸、生物素、B₆、叶酸与B₂) 和维生素C。 水溶性维 生素在体内主要构成酶的辅因子，直接影响某些酶的活性。水溶性维生素依赖食物提供，体内很少蓄 积，过多的水溶性维生素可随尿排出体外， 一般不发生中毒现象，但供给不足时往往导致缺乏症。

**一、维生素B₁**

**(一)一般性质**

维生素B₁ 由含氨基的嘧啶环和含硫的噻唑环通过亚甲基桥相连而成，因分子中含有“硫”和 “氨”,又名硫胺素(thiamine)(图20-4)。维生素B₁ 主要存在于豆类和种子外皮(如米糠)、胚芽、酵母 和瘦肉中。其纯品为白色粉末状结晶，易溶于水，微溶于乙醇。维生素 B₁ 在酸性环境中较稳定、加热 120℃仍不分解；中性和碱性环境中不稳定、易被氧化和受热破坏。硫胺素易被小肠吸收，入血后主要 在肝及脑组织中经硫胺素焦磷酸激酶的催化生成焦磷酸硫胺素(thiamine pyrophosphate,TPP)。TPP 是维生素B₁ 的活性形式，占体内硫胺素总量的80%。

**(二)生物学功能**

维生素B,在体内能量代谢中发挥重要的作用。 TPP 是α-酮酸氧化脱羧酶多酶复合体的辅酶，参 与线粒体内丙酮酸、α-酮戊二酸和支链氨基酸的α-酮酸的氧化脱羧反应。 TPP 在这些反应中转移醛

2记



第二十章、维 生 素

基。TTP 噻唑环上硫和氮原子之间的碳原子十分活 泼，易释放H\* 形成负碳离子(carbanion)。 负碳离子 可与α-酮酸羧基结合，进而使α-酮酸脱羧。 TPP 也 是胞质中磷酸戊糖途径中转酮醇酶的辅酶，参与转 酮醇作用(transketolation)。

|  |
| --- |
|  |
| **焦磷酸硫胺素** **(TPP)**  图20-4 焦磷酸硫胺素的结构 |

维生素 B₁ 在神经传导中起一定作用。合成乙 酰胆碱所需的乙酰辅酶A 主要来自于丙酮酸的氧化 脱羧反应。此外，维生素B₁ 可作为胆碱酯酶的抑制 剂，参与乙酰胆碱的代谢调控。

**(三)缺乏症**

中国成人男性膳食维生素B₁ 的平均需要量(EAR) 为1 .2mg/d,成人女性为1.0mg/d。 维生素 B₁ 缺乏多见于以精米为主食的地区，任何年龄均可发病。膳食中维生素 B₁ 含量不足为常见原因，另外 吸收障碍(如慢性消化紊乱、长期腹泻等)和需要量增加(如长期发热、感染、手术后、甲状腺功能亢进 等)和酒精中毒也可导致维生素 B₁ 的缺乏。

维生素B₁ 缺乏时，糖代谢中间产物丙酮酸的氧化脱羧反应发生障碍，血中丙酮酸和乳酸堆积。 由于以糖有氧分解供能为主的神经组织供能不足以及神经细胞膜髓鞘磷脂合成受阻，导致慢性宋梢 神经炎和其他神经肌肉变性病变，即脚气病(beriberi)。严重者可发生水肿、心力衰竭。

维生素B₁ 缺乏时，乙酰辅酶A 的生成减少，影响乙酰胆碱的合成。同时，由于维生素B₁ 对胆碱酯 酶的抑制减弱，乙酰胆碱分解加强，影响神经传导。主要表现为消化液分泌减少，胃蠕动变慢，食欲缺 乏，消化不良等症状。

**二、维生素B₂**

**385**

(bkkyx2018

**(** **一)** **一** **般性质**

维生素 B₂ 是核醇与6,7-二甲基异咯嗪的缩合物。因其呈黄色针状结晶，又名核黄素(riboflavin)。 维生素 B₂ 在酸性溶液中稳定，在碱性溶液中加热易破坏，但对紫外线敏感，易降解为无活性的产物。 奶与奶制品、肝、蛋类和肉类等是维生素 B₂ 的丰富来源。核黄素主要在小肠上段通过转运蛋白主动 吸收。吸收后的核黄素在小肠黏膜黄素激酶的催化下转变成黄素单核苷酸(flavin mononucleotide, FMN), 后者在焦磷酸化酶的催化下进一步生成黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD),FMN 及 FAD 是维生素B₂ 的活性形式。

维生素B₂ 异咯嗪环上的第1和第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(图20-5)。还原型核黄素及其衍生物呈黄色，于450nm 处有吸收 峰，利于此性质可做定量分析。

**(二)生物学功能**

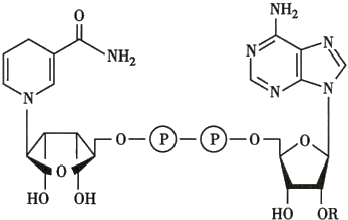
FMN 及 FAD 是体内氧化还原酶(如脂酰 CoA 脱氢酶、琥珀酸脱氢酶、黄嘌呤氧化酶等)的辅基，



**X:R-P(FMN);X:R-P-AMP(FAD)**

**R:** **核糖；P:** **磷酸基团**

图20-5 FMN(FAD) 的结构与递氢作用



386 **第四篇** **医学生化专题**

主要起递氢体的作用。它们参与呼吸链、脂肪酸和氨基酸的氧化以及三羧酸循环。

FAD 和FMN 分别作为辅酶参与色氨酸转变为烟酸和维生素B₆ 转变为磷酸吡哆醛的反应。 FAD 还可作为谷胱甘肽还原酶的辅酶，参与体内抗氧化防御系统，维持还原型谷胱甘肽的浓度；FAD 与细 胞色素P450 结合，参与药物代谢。

**(三)缺乏症**

中国成人男性膳食维生素B₂ 的平均需要量(EAR) 为1.4mg/d,成人女性为1.2mg/d。 维生素B₂ 缺乏的主要原因是膳食供应不足，如食物烹调不合理(淘米过度、蔬菜切碎后浸泡等)、食用脱水蔬菜 或婴儿所食牛奶多次煮沸等均可导致维生素B₂ 缺乏。

维生素B₂ 缺乏时，可引起口角炎、唇炎、阴囊炎、眼睑炎、畏光等症。用光照疗法治疗新生儿黄疸 时，在破坏皮肤胆红素的同时，核黄素也可同时遭到破坏，引起新生儿维生素B₂ 缺乏症。

**三、维生素PP**

**(一)一般性质**

维生素PP 包括烟酸(nicotinic acid)和烟酰胺(nicotinamide),曾分别称尼克酸和尼克酰胺，两者

均属氮杂环吡啶衍生物。烟酸为吡啶-3-羧酸，很容易转变为烟酰胺。烟酸为稳定的白色针状结晶，

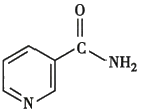
②kkyx2018 的kkyx2018

在酸、碱、光、氧或加热条件下不易被破坏，是维生素中最稳定的一种。

维生素PP 广泛存在于自然界。食物中的维生素PP 均以烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide,NAD\*)或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate,NADP\*)的形式存在(图20-6)。它们在小肠内被水解生成游离的维生素PP,并被吸收。运 输到组织细胞后，再合成NAD\* 或NADP\*。NAD\* 和NADP\* 是维生素PP 在体内的活性形式。

COOH

**烟酸**



**烟酰胺** NAD+:R= H;NADP+:R= H₂PO₃

图20-6 维生素PP 及其活性形式的结构

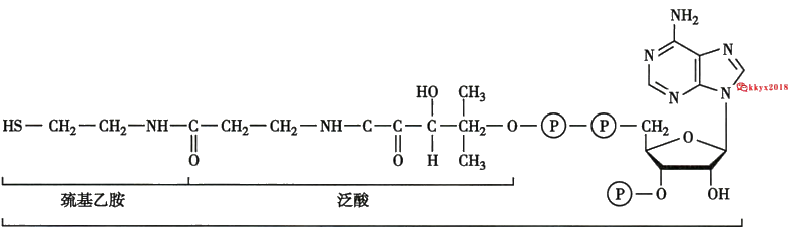
未被利用的烟酸可被甲基化，以N-甲基烟酰胺和2-吡啶酮的形式由尿中排出。体内色氨酸代谢 也可生成维生素PP,但效率较低，60mg 色氨酸仅能生成1mg 烟酸，并且需要维生素B₁ 、B₂和 B₆ 的 参与。

**(二)生物学功能**

NAD\* 和 NADP\* 在体内是多种不需氧脱氢酶的辅酶，分子中的烟酰胺部分具有可逆的加氢 及脱氢的特性，常发挥递氢体的作用。如糖酵解和三羧酸循环中的一些脱氢酶是以NAD\* 为辅 酶；磷酸戊糖途径中的 G6PD 以 NADP\* 为辅酶，该途径生成的5-磷酸核糖，是体内核糖生成的主 要来源。

**(三)缺乏症**

中国成人男性膳食维生素 PP 的平均需要量(EAR) 为12mg/d 的烟酸当量(niacin equivalent, NE),成人女性为10mg NE/d。 人类维生素PP 缺乏症亦称为糙皮病(pellagra),主要表现有皮炎、腹泻 及痴呆。皮炎常对称的出现于暴露部位；痴呆则是神经组织变性的结果。故维生素PP 又称抗糙皮病



**第二十章** **维** **生** **素**

**387**

维生素。

抗结核药物异烟肼的结构与维生素PP 相似，两者有拮抗作用，长期服用异烟肼可能引起维生素 PP 缺乏。近年来，烟酸作为药物已用于临床治疗高胆固醇血症。烟酸能抑制脂肪动员，使肝中VLDL 的合成下降，从而降低血浆胆固醇。但如果大量服用烟酸或烟酰胺(1～6g/d)会引发血管扩张、脸颊 潮红、痤疮及胃肠不适等毒性症状。长期日服用量超过500mg 可引起肝损伤。

**四、泛酸**

**(一)一般性质**

泛酸(pantothenic acid)又称遍多酸、维生素Bs,由二甲基羟丁酸和β-丙氨酸组成，因广泛存在于 动、植物组织中而得名。

泛酸在肠内被吸收后，经磷酸化并与半胱氨酸反应生成4-磷酸泛酰巯基乙胺，后者是辅酶A(co- enzyme A,CoA)(图20-7)及酰基载体蛋白(acyl carrier protein,ACP)的组成部分。

6kkyx2018

辅酶A(CoA)

图20-7 辅酶A 的结构

**(二)生物学功能**

CoA 和 ACP 是泛酸在体内的活性形式，CoA 及 ACP 构成酰基转移酶的辅酶，广泛参与糖、脂质、 蛋白质代谢及肝的生物转化作用。约有70多种酶，如脱羧酶等需CoA 及ACP。

**(三)缺乏症**

中国居民膳食泛酸的适宜摄入量(AI) 是5.0mg/d。 泛酸缺乏症很少见。泛酸缺乏的早期易疲 劳，引发胃肠功能障碍等疾病，如食欲缺乏、恶心、腹痛、溃疡、便秘等症状。严重时最显著特征是出现 肢神经痛综合征，主要表现为脚趾麻木、步行时摇晃、周身酸痛等。若病情继续恶化，则会产生易怒、 脾气暴躁、失眠等症状。

**五、生物素**

**(一)一般性质**

生物素(biotin)是含硫的噻吩环与尿素缩合并带有戊酸侧链的化合物(图20-8),又称维生素 H、 维生素B₇、辅酶R。 生物素是天然的活性形式，在肝、肾、酵母、蛋类、花生、牛乳和鱼类等食品中含量

较多，啤酒里含量较高，人肠道细菌也能合成。生物素为无色针状结晶 体，耐酸而不耐碱，氧化剂及高温可使其失活。

**(二)生物学功能**

生物素是体内多种羧化酶的辅基，在羧化酶全酶合成酶( holocarbox- ylase synthetase)的催化下与羧化酶蛋白中赖氨酸残基的ε-氨基以酰胺键 共价结合，形成生物胞素(biocytin)残基，羧化酶则转变成有催化活性的 酶。生物素作为丙酮酸羧化酶、乙酰CoA 羧化酶等的辅基，参与CO₂ 固定 过程，为脂肪与碳水化合物代谢所必需。

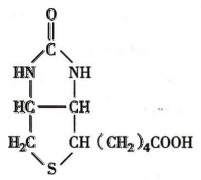


图20-8 生物素的结构

smg



**388** **第四篇** **医学生化专题**

近年的研究证明，生物素除了作为羧化酶的辅基外，还有其他重要的生理作用。现已鉴定，人基 因组中有2000多个基因编码产物的功能依赖生物素。生物素参与细胞信号转导和基因表达。生物 素还可使组蛋白生物素化，从而影响细胞周期、基因转录和DNA 损伤的修复。

**(三)缺乏症**

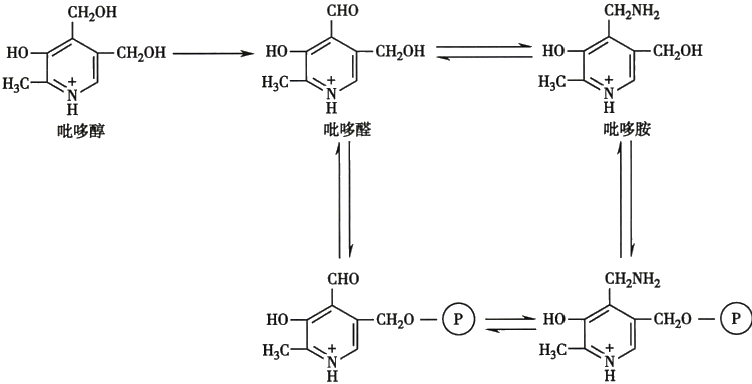
中国居民膳食生物素的适宜摄入量(AI) 是40μg/d。 生物素的来源极为广泛，人体肠道细菌也能 合成，很少出现缺乏症。新鲜鸡蛋清中有一种抗生物素蛋白(avidin),生物素与其结合而不能被吸收。 蛋清加热后这种蛋白因遭破坏而失去作用。长期使用抗生素可抑制肠道细菌生长，也可能造成生物 素的缺乏，主要症状是疲乏、恶心、呕吐、食欲缺乏、皮炎及脱屑性红皮病。

**六、维生素B₆**

**(一)一般性质**

维生素B₆ 包括吡哆醇(pyridoxine)、吡哆醛(pyridoxal)和吡哆胺(pyridoxamine),其基本结构是2- 甲基-3-羟基-5- 甲基吡啶(图20-9),其活化形式是磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺，两者可相互转变。维生 素 B₆ 的纯品为白色结晶，易溶于水及乙醇，微溶于有机溶剂，在酸性条件下稳定、在碱性条件下易被 破坏。对光较敏感，不耐高温。

kkyx2018 ② kkyx2018



磷酸吡哆醛

**磷酸吡哆胺**

图20-9 维生素B₈ 及其活性形式的结构与互变

维生素B₆ 广泛分布于动、植物食品中。肝、鱼、肉类、全麦、坚果、豆类、蛋黄和酵母均是维生素B₆ 的丰富来源。维生素 B₆ 的磷酸酯在小肠碱性磷酸酶的作用下水解，以脱磷酸的形式吸收。吡哆醛和 磷酸吡哆醛是血液中的主要运输形式。体内约80%的维生素B₆ 以磷酸吡哆醛的形式存在于肌组织 中，并与糖原磷酸化酶相结合。

**(二)生物学功能**

**1.** **磷酸吡哆醛是多种酶的辅酶** 磷酸吡哆醛是体内百余种酶的辅酶，参与氨基酸脱氨基与转氨 基作用、鸟氨酸循环、血红素的合成和糖原分解等，在代谢中发挥着重要作用。

磷酸吡哆醛也是谷氨酸脱羧酶的辅酶，可增进大脑抑制性神经递质γ-氨基丁酸的生成，故临床上 常用维生素B₆ 治疗小儿惊厥、妊娠呕吐和精神焦虑等。磷酸吡哆醛还是血红素合成的关键酶8-氨基- γ-酮戊酸(δ-aminolevulinic acid,ALA)合酶的辅酶，参与血红素的生成。

近年发现，高同型半胱氨酸血症( hyperhomocysteinemia)是心血管疾病、血栓生成和高血压的危险 因子。同型半胱氨酸在N⁵-CH₃-FH, 转甲基酶作用下生成甲硫氨酸外，还可分解生成半胱氨酸。而维

笔记



**第二十章** **维** **生** **素** **389**

生素B₆ 是催化同型半胱氨酸分解生成半胱氨酸过程中胱硫醚β合成酶的辅酶。已知2/3以上的高同 型半胱氨酸血症与叶酸、维生素B₂ 和维生素B₆ 的缺乏有关。维生素 B.对治疗上述疾病有一定的 作用。

**2.** **磷酸吡哆醛可终止类固醇激素作用的发挥** 磷酸吡哆醛可以将类固醇激素-受体复合物从 DNA 中移去，终止这些激素的作用。维生素 B₆ 缺乏时，可增加人体对雌激素、雄激素、皮质激素和维 生素D 作用的敏感性，与乳腺、前列腺和子宫激素相关肿瘤的发生发展有关。

**(三)缺乏症与中毒**

中国居民膳食维生素B₆ 的平均需要量(EAR) 是1.2mg/d。 人类未发现维生素 B₆ 缺乏的典型病 例。然而，维生素B。缺乏时血红素的合成受阻，可造成低血色素小细胞性贫血(又称维生素B₆ 反应性 贫血)和血清铁增高。维生素B。缺乏的病人还可出现脂溢性皮炎，以眼及鼻两侧较为明显，重者可扩 展至面颊、耳后等部位。故维生素B₆ 又称抗皮炎维生素。

此外，抗结核药异烟肼能与磷酸吡哆醛的醛基结合，磷酸吡哆醛失去辅酶作用，所以在服用异烟 肼时，应补充维生素B。。

维生素B。与其他水溶性维生素不同，过量服用维生素B₆ 可引起中毒。日摄入量超过20mg 可引 起神经损伤，表现为周围感觉神经病。

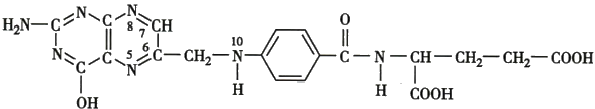
C②kkyx2018

Cdkkyx2018

**七、叶酸**

**(** **一)** **一** **般性质**

叶 酸(folic acid)由蝶酸(pteroic acid)和谷氨酸结合而成，又称蝶酰谷氨酸，因绿叶中含量十分丰 富而得名(图20-10)。植物中的叶酸多含7个谷氨酸残基，谷氨酸之间以γ-肽键相连。仅牛奶和蛋黄 中含蝶酰单谷氨酸。酵母、肝、水果和绿叶蔬菜是叶酸的丰富来源。肠菌也有合成叶酸的能力。





**谷** **氨** **酸**

**蝶** **酸**

**叶酸**

**图20-10** **叶酸的结构**

食物中的蝶酰谷氨酸多在小肠被水解，生成蝶酰单谷氨酸。后者易被小肠上段吸收，在小肠黏膜 上皮细胞二氢叶酸还原酶的作用下，生成叶酸的活性型——5,6,7,8-四氢叶酸(tetrahydrofolic acid. FH₄)。 含单谷氨酸的N⁵-CH₃-FH₄ 是叶酸在血液循环中的主要形式。在体内各组织中，FH₄ 主要以多 谷氨酸形式存在。

**(二)生物学功能**

FH, 是体内一碳单位转移酶的辅酶，分子中N⁵、N¹°是一碳单位的结合位点。 一碳单位在体内参 与嘌呤、胸腺嘧啶核苷酸等多种物质的合成。

抗癌药物甲氨蝶呤和氨蝶呤因其结构与叶酸相似，能抑制二氢叶酸还原酶的活性，使FH₄ 合成减 少，进而抑制体内胸腺嘧啶核苷酸的合成，起到抗肿瘤的作用。

**(三)缺乏症**

中国居民膳食叶酸的平均需要量(EAR) 是320μg/d 的膳食叶酸当量(dietary folate equivalent, DFE)。 因食物中叶酸含量丰富，肠道细菌也能合成， 一般不发生缺乏症。

叶酸缺乏时，DNA 合成受到抑制，骨髓幼红细胞DNA 合成减少，细胞分裂速度降低，细胞体积变

**390** 第四篇 医学生化专题

大，造成巨幼细胞贫血(megaloblastic anemia)。 叶酸缺乏还可引起高同型半胱氨酸血症，增加动脉粥 样硬化、血栓生成和高血压的危险性。每日服用500 μg 叶酸有益于预防冠心病的发生。叶酸缺乏也 可引起 DNA 低甲基化，增加一些癌症(如结肠、直肠癌)的危险性。富含叶酸的食物可降低这些癌症 的风险。

此外，孕妇如果叶酸缺乏，可能造成胎儿脊柱裂和神经管缺陷，故孕妇及哺乳期妇女应适量补充 叶酸，以降低发生新生儿疾病的风险。口服避孕药或抗惊厥药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。

**八** **、维生素B₁₂**

**(** **一** **)** **一** **般性质**

维生素B₂ 含有金属元素钴，又称钴胺素(cobalamin),是唯一含金属元素的维生素(图20-11)。 维生素B₂ 仅由微生物合成，酵母和动物肝含量丰富，不存在于植物中。维生素B₂ 分子中的钴能与 —CN、 —OH、 —CH₃或5'-脱氧腺苷等基团连接，分别形成氰钴胺素、羟钴胺素、甲钴胺素和5'-脱氧腺 苷钴胺素，后两者是维生素 B₂ 在体内的活性形式。

(<kkyx2018 (Dkkyx2018

R=CN……氰钴胺素

R=OH…… 羟钴胺素

R=CH₂…… 甲钴胺素

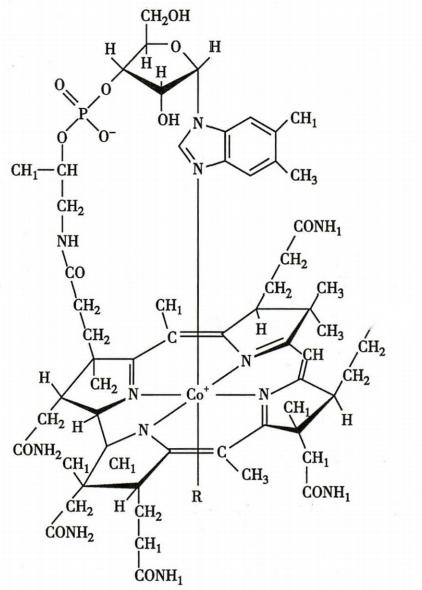
CONH₂ R=5°-脱氧腺苷……5'-脱氧腺苷钴胺素

图20-11 维生素B₂ 的结构

食物中的维生素B₂ 常与蛋白质结合而存在，在胃酸和胃蛋白酶的作用下，维生素B₂ 得以游离并 与来自唾液的亲钴蛋白(cobalophilin)结合。在十二指肠，亲钴蛋白-B₂ 复合物经胰蛋白酶的水解作用 游离出维生素Bz。 维生素B₂ 需要与由胃黏膜细胞分泌的内因子(intrinsic factor,IF)紧密结合生成 B₂-IF 复合物，才能被回肠吸收。 IF是分子量为50kD 的糖蛋白，只与活性形式的维生素B₂ 以1:1结 合。当胰腺功能障碍时，因B₂-IF 不能分解而排出体外，从而导致维生素 B₂ 缺乏症。在小肠黏膜上 皮细胞内，B₂-IF 分解并游离出维生素B₂ 。 维生素B₂ 再与转钴胺素Ⅱ(transcobalamin Ⅱ)蛋白结合

02记 钴胺素、甲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, 可与维生素

存在于血液中。 B₂- 转钴胺素Ⅱ复合物与细胞表面受体结合，进入细胞，在细胞内维生素 B₂ 转变成羟



**第二十章** **维** **生** **素**

B₂₂结合而贮存于肝内。

**(二)生物学功能**

维生素B₂ 是 N⁵-CH₃-FH, 转甲基酶(甲硫氨酸合成酶)的辅酶，催化同型半胱氨酸甲基化生成甲 硫氨酸，后者在腺苷转移酶的作用下生成活性甲基供体 S-腺苷甲硫氨酸。维生素 B₂ 缺乏时， N⁵-CH₃-FH₄ 上的甲基不能转移出去， 一是引起甲硫氨酸合成减少，二是影响四氢叶酸的再生。组织中 游离的四氢叶酸含量减少， 一碳单位的代谢受阻，造成核酸合成障碍。此外，S-腺苷甲硫氨酸作为甲 基供体可参与胆碱和磷脂的生物合成。

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CoA 的生成。当维生素B₂ 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，从而影响脂肪酸的正常合成。

**(三)缺乏症**

中国居民膳食维生素B₂ 的平均需要量(EAR) 是2.0 μg/d。 因维生素 B₂ 广泛存在于动物食品 中，正常膳食者一般不会缺乏。但萎缩性胃炎、胃全切病人或内因子的先天性缺陷者，可因维生素B₂ 的严重吸收障碍而出现缺乏症。

当维生素B₂ 缺乏时，核酸合成障碍阻止细胞分裂而产生巨幼细胞贫血，即恶性贫血，故维生素 B₂ 也称为抗恶性贫血维生素。同型半胱氨酸的堆积可造成高同型半胱氨酸血症，增加动脉硬化、血 栓生成和高血压的危险性。维生素B₂ 缺乏可导致神经疾患，其原因是由于脂肪酸的合成异常，导致 髓鞘质变性退化，引发进行性脱髓鞘。所以维生素B₂ 具有营养神经的作用。

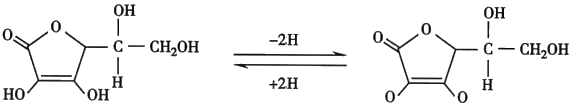
**九、维生素C**

**391**

dkkyx2018

**(** **一)** **一** **般性质**

维生素C 又称L-抗坏血酸(ascorbic acid),是 L-已糖酸内酯，具有不饱和的一烯二醇结构。抗坏 血酸分子中C₂ 和 C₃ 羟基可以氧化脱氢生成脱氢抗坏血酸，后者又可接受氢再还原成抗坏血酸(图20- 12)。L-抗坏血酸是天然的生物活性形式。维生素C 为无色无臭的片状晶体，易溶于水，不溶于脂溶 性溶剂。维生素C 在酸性溶液中比较稳定，在中性、碱性溶液中加热易被氧化破坏。



L-抗坏血酸 L-脱氢坏血酸

图20-12 维生素C 的结构及递氢作用

人类和其他灵长类、豚鼠等动物体内不能合成维生素C,必须由食物供给。维生素C 广泛存在于 新鲜蔬菜和水果中。植物中的抗坏血酸氧化酶能将维生素C 氧化灭活为二酮古洛糖酸，所以久存的 水果和蔬菜中维生素C 含量会大量减少。干种子中虽然不含维生素C,但其幼芽可以合成，所以豆芽 等是维生素 C 的丰富来源。

维生素C 主要通过主动转运由小肠上段吸收进入血液循环。还原型抗坏血酸是细胞内与血液中 的主要存在形式。血液中脱氢抗坏血酸仅为抗坏血酸的1/15。

**(二)生物学功能**

**1.** **参与体内多种羟化反应** 维生素C 是维持体内含铜羟化酶和α-酮戊二酸-铁羟化酶活性必不

可少的辅因子。在含酮羟化酶催化的反应中，Cu\*被氧化生成Cu²\*,后者在维生素C 的专一作用下，再 还原为 Cu\*。

(1)苯丙氨酸代谢过程中，对-羟苯丙酮酸在对-羟苯丙酮酸羟化酶催化下生成尿黑酸。维生素 C



**392** 第四篇 医学生化专题

缺乏时，尿中可出现大量对-羟苯丙酮酸。多巴胺β-羟化酶催化多巴胺羟化生成去甲肾上腺素，参与 肾上腺髓质和中枢神经系统中儿茶酚胺的合成。维生素 C 的缺乏可引起这些器官中儿茶酚胺的代谢 异常。

(2)维生素 C 是胆汁酸合成的关键酶7α-羟化酶的辅酶，参与将40%的胆固醇正常转变成胆汁 酸。此外，肾上腺皮质类固醇合成过程中的羟化作用也需要维生素C 参与。

(3)依赖维生素C 的含铁羟化酶参与蛋白质翻译后的修饰。例如胶原脯氨酸羟化酶和赖氨酸羟 化酶分别催化前胶原分子中脯氨酸和赖氨酸残基的羟化，促进成熟的胶原分子的生成。维生素C 是 维持这些酶活性所必需的辅因子。胶原是骨、毛细血管和结缔组织的重要构成成分。脯氨酸羟化酶 也为骨钙蛋白和补体Clq 生成所必需。

(4)体内肉碱合成过程需要依赖维生素C 的羟化酶参与。维生素C 缺乏时，由于脂肪酸β-氧化 减弱，病人往往出现倦怠乏力。

**2.** **参与体内氧化还原反应**

(1)维生素C 具有保护巯基的作用，它可使巯基酶的一SH 保持还原状态。维生素C 在谷胱甘肽 还原酶作用下，将氧化型谷胱甘肽(GSSG) 还原成还原型(GSH)。 还原型GSH 能清除细胞膜的脂质 过氧化物，起到保护细胞膜的作用。

(2)维生素 C 能使红细胞中高铁血红蛋白(MHb) 还原为血红蛋白(Hb), 使其恢复运氧能力。 x201

(3)小肠中的维生素 C 可将Fe³\*还原成 Fe²+,有利于食物中铁的吸收。

(4)维生素 C 作为抗氧化剂，影响细胞内活性氧敏感的信号转导系统(如NF-kB 和 AP-1), 从而

调节基因表达，影响细胞分化与细胞功能。维生素 C 还是重要的活性氧清除剂，可以清除O2. 及 ·OH 等活性氧类物质。

**3.** **维生素C** **具有增强机体免疫力的作用** 维生素C 促进体内抗菌活性、NK 细胞活性、促进淋巴 细胞增殖和趋化作用、提高吞噬细胞的吞噬能力、促进免疫球蛋白的合成，从而提高机体免疫力。临 床上用于心血管疾病、感染性疾病等的支持性治疗。

**(三)缺乏症**

中国居民膳食维生素C 的平均需要量(EAR) 是85mg/d。 因维生素C 是胶原蛋白形成所必需的 物质，有助于保持细胞间质物质的完整，当严重缺乏时可引起维生素C 缺乏病( vitamin C deficiency), 又称坏血病(scurvy)。 坏血病表现为毛细血管脆性增强易破裂、牙龈腐烂、牙齿松动、骨折以及创伤 不易愈合等。由于机体在正常状态下可储存一定量的维生素C, 坏血病的症状常在维生素C 缺乏3~ 4个月后才出现。

维生素C 缺乏直接影响胆固醇转化，引起体内胆固醇增多，是动脉硬化的危险因素之一。此外， 人体长期过量摄入维生素 C 可能增加尿中草酸盐的形成，增加尿路结石的危险。



**小** **结**

维生素是人体内不能合成或合成量甚少，必须由食物供给的一类小分子有机化合物。维生素在 调节人体物质代谢、促进生长发育和维持生理功能等方面发挥重要作用，是人体的重要营养素之一。 人体对维生素的日需要量极少，但如果长期缺乏，可致维生素缺乏症；而摄入过多，可引发维生素中 毒。按溶解特性可将维生素分为脂溶性维生素和水溶性维生素两大类，前者包括维生素A、维生素 D、维生素E 和维生素K,后者包括B 族维生素(维生素B₁、维生素B₂、维生素PP、维生素B₆、维生素 B₂ 、生物素、泛酸和叶酸)和维生素C。

维生素A 的活性形式为视黄醇、视黄醛和视黄酸，其作用包括：①构成视紫红质，参与视觉传导； ②调控基因表达和细胞生长与分化；③抗氧化作用；④抗癌作用。维生素A 缺乏可致“夜盲症”或者 “眼干燥症”,长期过量摄入可中毒。维生素D 的活性形式是1,25-(OH)₂-D₃, 具有调节钙、磷代谢和 细胞分化的作用。维生素 D 缺乏可导致儿童佝偻病，成人软骨病和骨质疏松症。维生素E 的活性形

**第二十章** **维** **生** **素**

式为α-生育酚，其作用包括抗氧化、调节基因表达以及促进血红素合成。维生素K 有促凝血作用，并 参与骨代谢，缺乏时易出血。

B 族维生素通常以酶辅因子形式参与和调节物质代谢。维生素B,(硫胺素)的活性形式为焦磷 酸硫胺素(TPP), 是脱羧酶和转酮醇酶的辅酶。维生素B₁ 缺乏可引起脚气病。维生素B₂ (核黄素)的 活性形式是FMN 及 FAD, 两者是体内氧化还原酶的辅基，作为递氢体参与糖、氨基酸和脂肪酸等的氧 化过程。维生素B₂ 缺乏可引起口角炎等症状。维生素PP (烟酸、烟酰胺)的活性形式为NAD\* 和 NADP\*, 两者是不需氧脱氢酶的辅酶，起传递氢的作用。维生素PP 缺乏可引起癞皮病。泛酸(遍多 酸)的活性形式是辅酶A(CoA) 及酰基载体蛋白(ACP), 是多种酰基转移酶的辅酶。生物素(维生素 B₇) 是天然的活性形式，作为羧化酶的辅基，参与CO₂ 固定过程。维生素B₆ (抗皮炎维生素)的活性形 式为磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺，是氨基转移酶和氨基酸脱羧酶的辅酶，也是ALA 合酶的辅酶，参与血 红素的生成。维生素B。缺乏可造成低血色素小细胞性贫血以及皮炎，而摄入过量可致中毒。叶酸 (蝶酰谷氨酸)的活性形式是FH₄,FH₄ 作为一碳单位转移酶的辅酶，是携带和传递一碳单位的载体。 维生素B₂ (钴胺素)是唯一含金属元素的维生素，其活性形式是甲钴胺素和5'-脱氧腺苷钴胺素，是 N⁵-CH₃-FH₄ 转甲基酶的辅酶，参与甲硫氨酸循环。叶酸或者维生素B₂ 缺乏可造成巨幼细胞贫血以及 高同型半胱氨酸血症。维生素C(L-抗坏血酸)是天然的生物活性形式。维生素C 参与苯丙氨酸与胆 汁酸代谢、胶原合成过程中的多种羟化反应；维生素C 可作为抗氧化剂，也可增强机体免疫力 维生 素 C 缺乏可致坏血病。

**393**

kkyx2018



思 考 题

1. 简述脂溶性维生素与水溶性维生素的主要区别。

2. 简述脂溶性维生素的来源、体内活性形式、生化作用及其缺乏症。

3. 简述B 族维生素的来源、体内活性形式、生化作用及其缺乏症。

4. 简述维生素C 在体内物质代谢中的作用。

5. 简述夜盲症的发病机制。

6. 试述维生素缺乏导致贫血的类型和机制。

(朱月春)







**第二十一章钙、磷及微量元素**

无机元素对维持人体正常生理功能必不可少，按人体每日需要量的多寡可分为微量元素(trace ele- ment,microelement)和常量元素(macroelement)。微量元素在人体中存在量低于人体体重的0.01%、每日 需要量在100mg 以下。微量元素绝大多数为金属元素，主要包括铁、碘、铜、锌、锰、硒、氟、钼、钴、铬、 钒、锡、镍、硅等。微量元素在体内一般结合成化合物或络合物，广泛分布于各组织中，含量较恒定。 微量元素通过参与构成酶活性中心或辅酶、激素和维生素等在体内发挥十分重要的生理功能。

常量元素是指人体含量大于体重的万分之一、且每日需要量在100mg 以上的化学元素，主要有

钠、钾、氯、钙、磷、镁等。本章主要介绍钙、磷代谢，钠、钾、氯的代谢和生理功能等将在病理生理学中

详尽介绍。钙、磷主要以无机盐形式存在体内，主要以羟基磷灰石的形式存在于骨骼和牙齿中，骨是

人体内的钙、磷储库和代谢的主要场所。钙与磷除了作为骨的主要组成外，还具有许名重票的生理功，20 能。长期缺乏无机元素均可导致相应的缺乏症。

**第一节** **钙、磷代谢**

钙(calcium)是人体内含量最多的无机元素之一，仅次于碳、氢、氧和氮。新生儿体内钙总量约为 29~30g, 随着生长发育体内钙不断积累，成年女性体内钙的含量约为25mol(1000g),成年男性约为 3mol(1200g)。 磷(phosphorus)在人体内的含量次于碳、氢、氧、氮和钙，约占人体重的1%,成人体内 含600~900g的 磷 。

**一、钙、磷在体内分布及其功能**

**(一)钙既是骨的主要成分又具有重要的调节作用**

人体内99%的钙以羟基磷灰石[hydroxyapatite,Cao(PO₄)₆ (OH)₂]的形式存在，少量为无定形钙 [Ca₂ (PO₄)₂], 是羟基磷灰石的前体。羟基磷灰石是钙构成骨和牙的主要成分，起着支持和保护作用。

成人血浆(或血清)中的钙含量为2.25～2.75mmol/L(90～110mg/L),不到人体钙总量的0.1%, 约一半是游离Ca²+;另一半为结合钙。结合钙绝大部分与血浆蛋白质结合，小部分与柠檬酸、重碳酸 盐等结合；与血清蛋白质结合的钙主要与清蛋白结合，少量与球蛋白结合。游离钙与蛋白质结合钙 在血浆中呈动态平衡状态。血浆pH 可影响它的平衡，当血浆偏酸时，蛋白质结合钙解离，血浆游 离钙增多；当pH 升高时，蛋白质结合钙增多，而游离钙减少。平均每增减1个pH 单位，每100ml 血浆游离钙浓度相应改变0.42mmol(1.68mg)。 血钙的正常水平对于维持骨骼内骨盐的含量、血 液凝固过程、调节多种酶的活性、维持细胞膜的完整性和通透性和神经肌肉的兴奋性等方面具有 重要的作用。

分布于体液和其他组织中的钙不足总钙量的1%。细胞外液游离钙的浓度为1.12～1.23mmol/L; 细胞内钙浓度极低，且90%以上储存于内质网和线粒体内，胞质钙浓度仅为0.01～0.1mol/L。 胞质 钙在启动骨骼肌和心肌细胞的收缩、作为第二信使在信号转导中发挥许多重要的生理作用(见第十七 章)。

**(二)磷是体内许多重要生物分子的组成成分**

正常成人的磷主要分布于骨(约占85.7%),其次为各组织细胞(约14%),仅少量(约0.03%)分



**第二十一章** **钙、磷及微量元素**

**395**

布于体液。骨磷总量为600～900g,是钙含量的一半。成人血浆中无机磷的含量为1.1～1.3mmol/L (35～40mg/L)。

磷除了构成骨盐成分、参与成骨作用外，还是核酸、核苷酸、磷脂、辅酶等重要生物分子的组成成 分，发挥各自重要的生理功能。许多生化反应和代谢调节过程需要磷酸根的参与，ATP 和磷酸肌酸等 高能磷酸化合物作为能量的载体，在生命活动中起着十分重要的作用。无机磷酸盐还是机体中重要 的缓冲体系成分。

正常人血液中钙和磷的浓度相当恒定，每100ml血液中钙与磷含量之积为一常数，即[Ca]×[P] =35～40。因此，血钙降低时，血磷会略有增加。

**二、钙、磷的吸收与排泄受多种因素影响**

牛奶、豆类和叶类蔬菜是人体内钙的主要来源。十二指肠和空肠上段是钙吸收的主要部位。钙 盐在酸性溶液中易溶解，凡使消化道内pH 下降和增加钙肠道溶解度的物质均有利于钙的吸收。如 乳糖可增加钙的吸收，其原因是乳糖可与钙螯合形成低分子可溶性钙络合物及其乳糖可被肠道细菌 分解发酵产酸。活性维生素 D[1,25- (OH)₂-D₃] 能促进钙和磷的吸收。凡能在肠道内与钙形成不溶 性复合物的物质均干扰钙的吸收，如碱性磷酸盐、草酸盐和植酸盐可与钙形成不溶解的钙盐，不利于 钙的吸收。钙的吸收随年龄的增长而下降。负荷运动等增加了机体对钙的需要，从而间接促进肠道 吸收钙。

正常成人肾小球每日滤过约9g 游离钙，肾小管对钙的重吸收量与血钙浓度相关。血钙浓度降低 可增加肾小管对钙的重吸收率，而血钙高时吸收率下降。肾对钙的重吸收受甲状旁腺激素的严格 调控。

成人每日进食1.0~1.5g 磷，食物中的有机磷酸酯和磷脂在消化液中磷酸酶的作用下，水解生成 无机磷酸盐并在小肠上段被吸收。钙、镁、铁可与磷酸根生成不溶性化合物而影响其吸收。

肾小管对血磷的重吸收也取决于血磷水平，血磷浓度降低可增高磷的重吸收率。血钙增加可降 低磷的重吸收。 pH 降低可增加磷的重吸收。甲状旁腺激素抑制血磷的重吸收，增加磷的排泄。

**三、骨是人体内的钙、磷储库和代谢的主要场所**

由于体内大部位钙和磷存在于骨中，所以骨内钙、磷的代谢成为体内钙、磷代谢的主要组成。血 钙与骨钙的相互转化对维持血钙浓度的相对稳定具有重要意义。

骨的组成中水占10%;有机物质占20%,主要的有机基质是 I 型胶原；无机盐占70%,主要是羟 基磷灰石。骨形成的初期，成骨细胞分泌胶原，胶原聚合成胶原纤维，并进而形成骨的有机基质。钙 盐沉积于其表面，逐渐形成羟基磷灰石骨盐结晶。少量无定形骨盐与羟基磷灰石结合疏松，可与细胞 外液进行钙交换，与体液钙形成动态平衡。碱性磷酸酶可以分解磷酸酯和焦磷酸盐，使局部无机磷酸 盐浓度升高，有利于骨化作用。因此，血液碱性磷酸酶活性增高可作为骨化作用或成骨细胞活动的 指标。

人体内钙、磷代谢与动态平衡见图21-1。

**四、钙、磷代谢主要受三种激素的调节**

调节钙和钙代谢的主要激素有活性维生素 D、甲状旁腺激素和降钙素。主要调节的靶器官有小 肠、肾和骨。

**(** **一)活性维生素D** **促进小肠钙的吸收和骨盐沉积**

1,25- (OH)₂-D₃ 对钙、磷代谢作用的主要靶器官是小肠和骨。1,25-(OH)₂-D₃ 与小肠黏膜细胞特 异的细胞内受体结合后，进入细胞核，刺激钙结合蛋白的生成。后者作为载体蛋白促进小肠对钙的吸 收。同时磷的吸收也随之增加。生理剂量的1,25-(OH)₂-D₃ 可促进骨盐沉积，同时还可刺激成骨细



**396** 第四篇 医学生化专题



食物：钙15mg/(kg ·d)

磷20mg/(Ckg ·d

骨盐交换：

钙8mg/(kg ·d)

小肠吸收：

钙 6mg/(kg ·d)

磷16mg/(kg ·d)

消化液分泌：

钙3mg/(kg ·d)

磷3mg/(kg ·d)

尿排泄：

粪便排泄：

钙12mg/(kg ·d)

磷7mg/(kg ·d)

肾小管重吸收：

钙150mg/(kg ·d) 磷87mg/(kg ·d)

血液

钙9~11mg/dl 磷3.5~4.0mg/dl

钙3mg/(kg ·d) 磷13mg/(kg ·d)

骨

图21-1 人体内钙、磷代谢与动态平衡 kkyx2018 kkyx2018

胞分泌胶原，促进骨基质的成熟，有利于成骨。

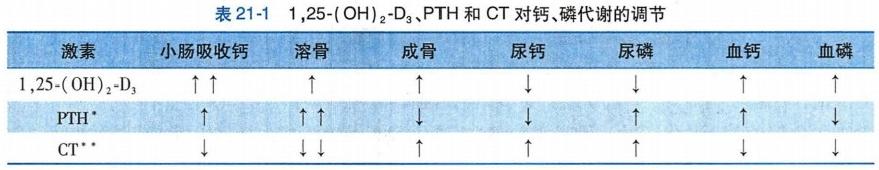
**(二)甲状旁腺激素具有升高血钙和降低血磷的作用**

甲状旁腺激素(parathyroid hormone,PTH)是甲状旁腺分泌的由84个氨基酸残基组成的蛋白质， 其主要作用靶器官是骨和肾。 PTH 刺激破骨细胞的活化，促进骨盐溶解，使血钙增高与血磷下降。 PTH 促进肾小管对钙的重吸收，抑制对磷的重吸收。同时PTH 还可刺激肾合成1,25-(OH)₂-D₃, 从 而 间接地促进小肠对钙、磷的吸收。 PTH 的总体作用是使血钙升高。

**(三)降钙素是唯一降低血钙浓度的激素**

降钙素(calcitonin,CT)是甲状腺C 细胞合成的由32个氨基酸残基组成的多肽，其作用靶器官为 骨和肾。 CT 通过抑制破骨细胞的活性、激活成骨细胞，促进骨盐沉积，从而降低血钙与血磷含量。 CT 还抑制肾小管对钙、磷的重吸收。 CT 的总体作用是降低血钙与血磷。

血钙与血磷在1,25-(OH)₂-D₃ 、PTH 和 CT 的协同作用下维持其正常的动态平衡，总结于表21-1。



“PTH:甲状旁腺激素(parathyroid hormone);∵CT:降钙素(calcitonin)

**五、钙、磷代谢紊乱可引起多种疾病**

维生素 D 缺乏可引起钙吸收障碍，导致儿童佝偻病和成人骨软化症。骨基质丧失和进行性骨骼 脱盐可导致中、老年人骨质疏松症(osteoporosis)。 甲状旁腺功能亢进与维生素D 中毒可引起高血钙 症 (hypercalcemia)、尿路结石等。甲状旁腺功能减退症可引起低钙血症(hypocalcemia)。

高磷血症常见于慢性肾病病人，与冠状动脉、心瓣膜钙化等严重心血管并发症密切相关；是引起 继发性甲状旁腺功能亢进、维生素 D 代谢障碍、肾性骨病等的重要因素。维生素 D 缺乏也可减少肠 腔磷酸盐的吸收，是引起低磷血症的原因之一。

**第二十一章** **钙、磷及微量元素** **397**

**第二节** **微** **量** **元** **素**

微量元素绝大多数为金属元素。在体内一般结合成化合物或络合物，广泛分布于各组织中，含量 较恒定。微量元素主要来自食物，动物性食物含量较高，种类也较植物性食物多。

微量元素通过形成结合蛋白、酶、激素和维生素等在体内发挥多种多样作用。其主要生理作用 为：①参与构成酶活性中心或辅酶：人体内一半以上酶的活性部位含有微量元素。有些酶需要微量元 素才能发挥最大活性，有些金属离子构成酶的辅基，如细胞色素氧化酶中有Fe², 谷胱甘肽过氧化物 酶(GSH-Px) 含硒。②参与体内物质运输：如血红蛋白含 Fe²\*参与O₂ 的送输，碳酸酐酶含锌参与CO₂ 的送输。③参与激素和维生素的形成：如碘是甲状腺素合成的必需成分，钴是维生素 B₂ 的组成成 分等。

**一、铁**

铁(iron)是人体含量、需要量最多的微量元素，约占体重的0.0057%,总量为4～5g。成年男性平 均含铁量为50mg/kg 体重，女性为30mg/kg 体重。成年男性和绝经后妇女每日约需铁10mg,生育期 妇女每日约需15mg,儿童在生长发育期、妇女在妊娠哺乳期对铁的需要量增加。肉类、乳制品、豆类 等食物含有丰富的铁。

**(一)运铁蛋白和铁蛋白分别是铁的运输和储存形式**

75%的铁存在于铁卟啉化合物中，25%存在于非铁卟啉含铁化合物中，主要有含铁的黄素蛋白、 铁硫蛋白、铁蛋白和运铁蛋白等。

铁的吸收部位主要在十二指肠及空肠上段。络合物中的铁的吸收大于无机铁。无机铁仅以 Fe²+ 形式被吸收，Fe² 难以吸收。食物中的铁可分为血红素铁和非血红素铁，主要是Fe³\*,需经胃酸的作用 使其游离并还原成Fe²\*后被吸收。凡能将Fe\* 还原为 Fe² 的物质如维生素C、谷胱甘肽、半胱氨酸等 以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，是临床补铁药研制和应 用的原理。

吸收的铁(Fe²')在小肠黏膜细胞中被氧化为Fe²\*,进入血液与运铁蛋白(transferin)结合而运输， 运铁蛋白是运输铁的主要形式。当细胞内铁浓度较高时诱导细胞生成脱铁蛋白(apoferritin),并与其 结合成铁蛋白(ferritin)而储存。铁也与血黄素结合成含铁血黄素。铁蛋白和含铁血黄素是铁的储存 形式，主要储存于肝、脾、骨髓、小肠黏膜等器官。铁蛋白由24个亚基组成，可结合多达450个Fe³。

80%的功能铁存在于红细胞中。衰老的红细胞被网状内皮细胞吞噬后，血红蛋白降解过程中产 生的铁约有85%以转铁蛋白或铁蛋白的形式重新被释放进入机体重新利用。

小肠黏膜上皮细胞的生命周期为2~6天，储存于细胞内的铁蛋白铁随着细胞的脱落而排泄于肠 腔。这几乎是体内铁的唯一排泄途径。妇女由于月经失血可排出铁，尿、汗、消化液、胆汁中均不 含铁。

铁吸收的效率是有限的，大量铁被运输至骨髓参与血红蛋白的合成。衰老的红细胞释放的铁被 重新利用等过程是铁在体内代谢的主要过程(图21-2)。

**(二)体内铁主要存在于铁卟啉化合物和其他含铁化合物中**

体内的铁可分为储存铁和功能铁。储存铁为铁蛋白和含铁血黄素。而功能铁参与组成多种具有 生物学活性的蛋白质。铁是血红蛋白、肌红蛋白、细胞色素系统、铁硫蛋白、过氧化物酶及过氧化氢酶 等的重要组成部分，在气体运输、生物氧化和酶促反应中均发挥重要作用。体内铁约75%存在于铁 卟啉化合物中，25%存在于其他含铁化合物(如含铁的黄素蛋白、铁硫蛋白、运铁蛋白等)中。

**(三)铁的缺乏与中毒均可引起严重的疾病**

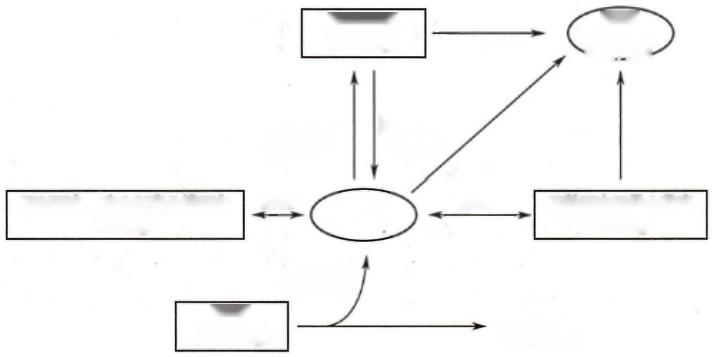
铁缺乏是一种常见的营养缺乏病，特别是在婴幼儿、孕妇和哺乳期妇女中更易发生。当急性大量

的 kkyx2018





**398** 第四篇 医学生化专题



丢失 (1~2mg)

红细胞生成

(20mg)

5mg 运铁蛋白和铁血黄素

(1000mg)

吸收

(0.2~2mg)

摄入

(10~14mg)

肌红蛋白、非血红素含铁蛋白 (500mg)

未吸收 (8~13.5mg)

血红蛋白 (2500mg)

释放利用 (20mg)

血浆铁

5mg

图21-2 人体内铁的代谢

出血、慢性小量出血(如消化道溃疡、妇女月经失调出血等)以及儿童生长期和妇女妊娠、哺乳期等情 况下，铁得不到额外的补充，机体对铁的需求与供给失衡，导致体内贮存铁耗尽均会引起体内缺铁。

由于铁的缺乏，血红蛋白合成受阻，导致小细胞低血色素性贫血(small cell low hemoglobinanemia),即4y2018

缺铁性贫血(iron deficiency anemia)的发生。贫血的严重程度取决于血红蛋白(hemoglobin)减少的程 度。缺铁性贫血能引起患儿的心理活动和智力发育的损害及其行为的改变等，严重时可增加婴幼儿 的死亡率。成人因缺铁导致的缺铁性贫血也可出现诸如乏力、易倦、头晕、心悸、气短、心率增快等一 系列症状。

持续摄入铁过多或误服大量铁剂，可发生铁中毒(iron poisoning)。 体内铁沉积过多可引起肺、 肝、肾、心、胰等处的含铁血黄素沉着而出现血色素沉积症(hemochromatosis),并可导致栓塞性病变和 纤维变性，出现肝硬化、肝癌、糖尿病、心肌病、皮肤色素沉着、内分泌紊乱、关节炎等。

**二、锌**

锌(zinc)在人体内的含量仅次于铁，约占体重的0.0033%,为1.5～2.5g。 成人每日需锌15~ 20mg。 肉类、豆类、坚果、麦胚等含锌丰富。

**(一)清蛋白和金属硫蛋白分别参与锌的运输和储存**

许多组织含有较多锌，60%在肌肉、22%～30%在骨髓，8%在皮肤和毛发等。因此可以通过检测 毛发中的锌含量分析人体是否缺锌。每日需锌10～20mg, 不同年龄人群锌的需要量不同，1~9岁需 10mg,10 岁以上为15mg, 孕妇和哺乳期女性为20mg。 锌主要在小肠中吸收，但不完全。某些地区的 谷物中含有较多的能与锌形成不溶性复合物的6-磷酸肌醇，从而影响锌的吸收。肠腔内有与锌特异 结合的因子，能促进锌的吸收。肠黏膜细胞中的锌结合蛋白能与锌结合并将其转动到基底膜一侧，锌 在血中与清蛋白结合而运输。血锌浓度为0.1～0.15mmol/L。 锌与金属硫蛋白(metallothionein)结 合 是锌在体内储存的主要形式。锌主要随胰液、胆汁排泄入肠腔。由粪便排出，部分锌可从尿及汗 排出。

**(二)锌是含锌金属酶和锌指蛋白的组成成分**

锌是80多种含锌酶的组成成分或激动剂。如DNA 聚 合 酶(DNA polymerase)、RNA聚合酶(RNA polymerase)、金属酶(metalloenzyme)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)、碳酸酐酶(carbonic anhydrase)、 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase)、谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase)、超氧化物歧化酶(super- oxide dismutase)等，参与体内多种物质的代谢，在促进生长发育和组织再生、免疫调节、抗氧化、抗细 胞凋亡和抗炎中起着十分重要的作用。锌也是合成胰岛素所必需的元素。催化视网膜和肝细胞中维 生素A 还原的醇脱氢酶含锌。当缺锌时此酶活性降低，肝中的维生素A 动员下降，导致维生素 A 的



**第二十一章** **钙、磷及微量元素**

**399**

利用障碍。

人类基因组可编码300余种锌指蛋白。许多蛋白质，如反式作用因子、类固醇激素和甲状腺素受 体的DNA 结合区，都有锌参与形成的锌指结构。锌指结构在转录调控中起重要作用。已知锌是重要 的免疫调节剂、生长辅因子，在抗氧化、抗细胞凋亡和抗炎症中均起重要作用。

**(三)缺锌可导致多种代谢障碍**

锌的补充依赖体外摄入，如果各种原因引起锌的摄入不足或吸收困难，均可引起锌的缺乏。锌缺 乏可引起消化功能紊乱、生长发育滞后、智力发育不良，皮肤炎、伤口愈合缓慢、脱发、神经精神障碍 等；儿童可出现发育不良和睾丸萎缩。

**三、铜**

成人体内铜(copper)的含量约占体重的1.4×10-%,为80～110mg,骨骼肌中约占50%,10%存 在于肝。成人每日需铜1~3mg,孕妇和成长期的青少年可略有增加。动植物食物均含不同量的铜。 贝壳类、甲壳类动物含铜量较高，动物内脏含铜较多，其次为坚果、干豆、葡萄干等。

**(一)铜参与铜蓝蛋白的组成**

铜主要在十二指肠吸收。血液中约60%的铜与铜蓝蛋白(ceruloplasmin)紧密结合，其余的与清 蛋白疏松结合或与组氨酸形成复合物。肝脏是调节体内铜代谢的主要器官。铜主要随胆汁排泄；极 少部分由尿排出。

略 kkyx2018

**(二)铜是体内多种含铜酶的辅基**

铜是体内多种酶的辅基，含铜的酶多以氧分子或氧的衍生物为底物。如细胞色素氧化酶、多巴胺 β-羟化酶、单胺氧化酶、酪氨酸酶、胞质超氧化物歧化酶等。铜蓝蛋白可催化Fe²\*氧化成Fe³\*,后者转 入运铁蛋白，有利于铁的运输。

已知铜通过增强血管生成素对内皮细胞的亲和力，增加血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)和相关细胞因子的表达与分泌，促进血管生成。铜的络合剂有助于癌症的治疗。

**(三)铜缺乏可导致小细胞低色素性贫血等疾病**

铜缺乏的特征性表现为小细胞低色素性贫血、白细胞减少、出血性血管改变、骨脱盐、高胆固醇血 症和神经疾患等。铜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。体内铜代谢异 常的遗传病目前除肝豆状核变性( hepatolenticular degeneration,Wilson disease)外，还发现有门克斯病 (Menkes disease),表现为铜的吸收障碍导致肝、脑中铜含量降低，组织中含铜酶活力下降，机体代谢 紊乱。

**四、锰**

正常人体内含锰(manganese)约占体重的3.0×10%,为12～20mg。 成人每日需2～5mg。 锰存 在于多种食物中，以茶叶中含量最丰富。

**(一)大部分锰与血浆中γ球蛋白和清蛋白结合而运输**

锰在体内主要储存于骨、肝、胰和肾。在细胞内则主要集中于线粒体中。锰主要从小肠吸收，锰 在肠道中吸收与铁吸收机制类似，吸收率较低。入血后大部分与血浆中γ球蛋白和清蛋白结合而运 输。少量与运铁蛋白结合。锰主要从胆汁排泄，少量随胰液排出，尿中排泄很少。

**(二)锰是多种酶的组成部分和激活剂**

体内锰主要是多种酶的组成成分和激活剂。锰金属酶有精氨酸酶、谷氨酰胺合成酶、磷酸烯醇式 丙酮酸脱羧酶、Mn-超氧化物歧化酶、RNA 聚合酶等。体内锰对多种酶的激活作用可被镁所代替。体 内正常免疫功能、血糖与细胞能量调节、生殖、消化、骨骼生长、抗自由基等均需要锰。缺锰时生长发 育会受到影响。

**400**



**第四篇** **医学生化专题**

**(三)过量摄入锰可引起中毒**

锰的缺乏较少发生。过量摄入锰可引起中毒，主要原因是生产及生活中防护不善，以粉尘形式进 入人体所致。锰是一种原浆毒，可引起慢性神经系统中毒，表现为锥体外系的功能障碍，并可引起眼 球集合能力减弱，眼球震颤、睑裂扩大等。锰可抑制呼吸链中复合物 I 和 ATP 酶的活性，造成氧自由 基的过量产生。锰干扰多巴胺的代谢，导致精神病和帕金森神经功能障碍(锰疯狂)。

**五** **、** **硒**

人体含硒(selenium)所占体重小于2×10⁷%,为14～21mg。 成人日需要量在30～50 μg。肉类、 奶制品和蔬菜中均含硒。但食物中硒的含量随地域不同而异，而植物中硒含量受种植的土壤含硒量 的影响。

**(一)大部分硒与α和β球蛋白结合而运输**

硒在十二指肠吸收入血后与α和β球蛋白结合，小部分与VLDL 结合而运输。硒广泛分布于除 脂肪组织以外的所有组织中。主要以含硒蛋白质形式存在。主要随尿及汗液排泄。

**(二)硒以硒代半胱氨酸形式参与多种重要硒蛋白的组成**

硒在体内以硒代半胱氨酸(selenocysteine)的形式存在于近30种蛋白质中。这些含硒半胱氨酸 的蛋白质称为含硒蛋白质(selenoprotein)。谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidasg;GPx)、硒蛋自 P(selenoprotein P,Se-P)、硫氧还蛋白还原酶(thioredoxin reductase,Trx)、碘甲腺原氨酸脱碘酶(iodothy- ronine deiodinase)均属此类。

硒蛋白P 是血浆中的主要硒蛋白，可表达于各种组织，如动脉内皮细胞和肝血窦内皮细胞。硒蛋 白 P 是硒的转运蛋白，也是内皮系统的抗氧化剂。硫氧还蛋白还原酶参与调节细胞内氧化还原过程， 刺激正常和肿瘤细胞的增殖，并参与DNA 合成的修复机制。碘甲腺原氨酸脱碘酶是一种含硒酶，可 激活或去激活甲状腺激素。这是硒通过调节甲状腺激素水平来维持机体生长、发育与代谢的重要途 径。此外，硒还参与辅酶Q 和辅酶A 的合成。

**(三)硒缺乏可引发多种疾病**

缺硒可引发很多疾病，如糖尿病、心血管疾病、神经变性疾病、某些癌症等。世界上不同地区的土 壤中含硒量不同，影响食用植物中硒的含量，从而影响人类硒的摄取量。克山病[也称地方性心肌病 (endemic cardiomyopathy,ECD)]和大骨节病都被认为是由于地域性生长的农作物中含硒量低引起的 地方病。

由于硒的抗氧化作用，服用硒(如200μg/d) 或含硒制剂可以明显降低某些癌症(如前列腺癌、肺 癌、大肠癌)的危险性。硒过多也会引起脱发、指甲脱落、周围性神经炎、生长迟缓及生育力降低等中 毒症状。

**六** **、** **碘**

正常成人体内碘(iodine)约占体重的4.3×10⁵%,为25～50mg,成人每日需碘100～300μg。大多 数食物含碘量较低，而海产品含碘量较高，其原因是海产动植物可富集海水中的碘。

**(一)碘在甲状腺中富集**

人体内的碘约30%集中在甲状腺内，用于合成甲状腺激素。60%～80%以非激素的形式分散于 甲状腺外。碘主要由食物中摄取，吸收部位主要在小肠吸收率可高达100%。碘主要随尿排出，尿碘 约占总排泄量的85%,其他由粪便、汗腺和毛发排出。

**(二)碘是甲状腺激素的组成成分**

碘在人体内的一个主要作用是参与甲状腺激素的合成。碘的另一重要功能是抗氧化作用。在含 碘细胞中有H₂O₂ 和脂质过氧化物存在时，碘可作为电子供体发挥作用。碘可与活性氧竞争细胞成分 和中和羟自由基，防止细胞遭受破坏。



**第二十一章** **钙、磷及微量元素**

**(三)碘缺乏可引起地方性甲状腺肿**

成人缺碘可引起甲状腺肿大，称甲状腺肿。严重可致发育停滞、痴呆，如胎儿期缺碘可致呆小病、 智力迟钝、体力不佳等严重发育不良。常用的预防方法是食用含碘盐或碘化食油等。若摄入碘过多 可导致高碘性甲状腺肿，表现为甲状腺功能亢进及一些中毒症状。

**七、钴**

正常人体钴(cobalt)的含量所占体重小于2.0×10~%,为1.1mg。 人体对钴的需要量小于1μg/d。 绿叶蔬菜含钴量较高，而奶和奶制品含钴量较低。小麦精加工钴的损伤较大。

**(一)钴在小肠的吸收形式是维生素B** ₂

来自食物中的钴必需在肠内经细菌合成维生素B₂ 后才能被吸收利用，主要以维生素B₂ 和维生

素 B₂ 辅酶形式储存于肝。钴主要从尿中排泄，且排泄能力强，很少出现钴蓄积过多的现象。

**(二)钴是维生素B₁₂** **的组成成分**

钴的作用主要以维生素B₂ 和维生素 B₂ 辅酶形式发挥其生物学作用。钴可激活很多酶，如能增 加人体唾液中淀粉酶的活性，能增加胰淀粉酶和脂肪酶的活性等。

**(三)钴缺乏常表现为维生素B₁2** **缺乏的一系列症状**

钴参与造血，在胚胎时期就参与造血过程，钴的缺乏可使维生素B₂2缺乏，而维生素B₂ 缺泛可引 起巨幼细胞贫血。钴可以治疗巨幼红细胞贫血，当通过补钴不能得到纠正时，需增加肠道对维生素 B₂ 的吸收才能有效。

**401**

的 kkyx2018

**八** **、** **氟**

成人体内含氟(fuorine)约占体重的3.0×10°%,为2～6g,其中90%分布于骨、牙中，少量存在于 指甲、毛发、神经、骨骼肌中。氟的生理需要量每日为0.5～1.0mg。 氟的主要来源是饮用水。

**(一)氟主要与球蛋白结合而运输**

氟主要经胃肠道吸收，氟易吸收且迅速。吸收后与球蛋白结合而运输，少量以氟化物形式运输。 体内氟约80%从尿排出。

**(二)氟与骨、牙的形成及钙、磷代谢密切相关**

氟能与羟磷灰石吸附，取代其羟基形成氟磷灰石，从而加强对龋齿的抵抗作用。此外，氟还可直 接刺激细胞膜中G 蛋白，激活腺苷酸环化酶或磷脂酶C, 启动细胞内cAMP 或磷脂酰肌醇信号系统， 引起广泛生物效应。

**(三)体内氟缺乏或过多均可引起疾病**

缺氟时，由于牙釉质中不能形成氟磷灰石，牙釉质易被微生物、有机酸和酶侵袭而发生龋齿。氟 对铁的吸收、利用有促进作用。缺氟可致骨质疏松，易发生骨折；牙釉质受损易碎。氟过多可引起骨 脱钙和白内障，并可影响肾上腺、生殖腺等多种器官的功能。 一些地方因环境、土壤、水源等原因导致 长期摄入过量氟而引起被称地方性氟中毒的一种慢性全身性疾病，主要表现为氟斑牙和氟骨症。

**九、铬**

铬 (chromium)在成人中总量所占体重小于1.1×10°%,为6mg 左右，每日需要量为30～40 μg。 谷类、豆类、海藻类、啤酒酵母、乳制品和肉类是铬的最好来源，尤以肝含量丰富。

**(一)细胞内铬主要存在于细胞核中**

人体对无机铬的吸收很差，约为0.5%～1%,并取决于铬的摄入量和机体的状态。六价铬比三价 铬吸收好。95%以上摄入的铬从尿中排出。细胞内的铬50%存在于细胞核内，23%存在于胞质，其余 部分均分布在线粒体和微粒体中。头发中的铬能提示个体铬的营养状况。

**402**

艺记

**第四篇** **医学生化专题**

**(二)铬与胰岛素的作用密切相关**

铬是铬调素(chromodulin)的组成成分。铬调素是一种低分子量的寡肽，由甘氨酸、半胱氨酸、谷 氨酸和天冬氨酸等4种氨基酸残基组成，每分子可紧密结合4个铬离子(Cr²\*)。 铬调素通过促进胰 岛素与细胞受体的结合，增强胰岛素的生物学效应。铬是葡萄糖耐量因子(glucose tolerance factor. GTF)的重要组成成分，GTF 是由三价铬、烟酸、谷氨酸、甘氨酸和含硫氨基酸组成的活性化合物，它能 增强胰岛素的生物学作用，可通过活化葡糖磷酸变位酶而加快体内葡萄糖的利用，并促使葡萄糖转化 为脂肪。动物实验证明，铬还具有预防动脉硬化和冠心病的作用，并为生长发育所需要。

**(三)铬过量对人体具有危害**

因膳食因素所致铬摄取不足而引起的缺乏症未见报道。若铬缺乏，主要表现为胰岛素的有效性 降低，造成葡萄糖耐量受损，血清胆固醇和血糖上升。但过量可出现铬中毒。六价铬的毒性比三价铬 高约100倍，但不同化合物毒性不同。临床上铬及其化合物主要侵害皮肤和呼吸道，出现皮肤黏膜的 刺激和腐蚀作用，如皮炎、溃疡、咽炎、胃痛、胃肠道溃疡，伴有周身酸痛、乏力等，严重者发生急性肾 衰竭。

**十、钒**

钒(vanadium)约占体重的1.4×10-6%,总量为25mg 左右，每日需要量为60 μg。日常食用的蔬菜

kkyx2018

韭菜、西红柿、茄子等含比较丰富的钒，坚果和海产品等钒含量次之，而肉类和水果中的钒含量则比 较少。

**(一)钒以离子状态与转铁蛋白结合而运输**

环境中的钒可经皮肤和肺吸收入体中。血液中约95%的钒以离子状态(VO²+) 与转铁蛋白结合 而运输，因此钒与铁在体内可相互影响。吸烟会降低钒的吸收。吸收入体内的矾主要储存在脂肪组 织中，少量分布于肝、肾、甲状腺和骨等部位。大部分钒由尿排出，也可通过胆汁排出。

**(二)钒可能通过与磷酸和Mg²\*竞争结合配体干扰细胞的生化反应过程**

钒的主要形式为VO³, 经离子转运系统或自由进入细胞，在胞内被还原型谷胱甘肽还原成VO²+。 Vo⁻ 与磷酸结构相似，VO²\*与 Mg²\*的离子半径大小相当，因而两者就有可能通过与磷酸和Mg²\*竞争 结合配体干扰细胞的生化反应过程。如抑制核糖核酶、磷酸果糖激酶、磷酸甘油醛激酶、葡糖-6-磷酸 酶、蛋白质酪氨酸激酶。所以，钒进入细胞后具有广泛的生物学效应。

**(三)钒可作为多种疾病治疗的辅助药物**

钒对哺乳动物的造血功能有促进作用，可增加铁对红细胞的再生作用，给出血后贫血及患败血症 的人补充钒，对造血功能有促进作用。钒离子在牙釉质和牙质内可增加羟基磷灰石的硬度，可置换到 磷灰石分子中，可以预防龋齿。钒因其胰岛素样效应，因此具有降血糖作用。另外，钒有抑制胆固醇 合成的作用，使血浆磷酸酯和胆固醇水平降低以及主动脉胆固醇浓度下降等。

**十一、硅**

硅(silicon)是人体必需的微量元素之一，占体重小于1.4×10-6%,约18mg。 每日需要量为20~ 50mg。 燕麦、薏米、玉米、稻谷等天然谷物含有丰富的硅，动物肝、肉类、蔬菜以及水果也含有硅。

**(一)血液中的硅以单晶硅的形式存在**

硅不易吸收，膳食硅的形式对硅的吸收影响很大，稳定的胶体硅吸收较好。血液中的硅不与蛋白 质结合，几乎全部以非解离的单晶硅的形式存在。吸收入血的硅迅速被转移至细胞或从尿液中排出。

**(二)硅参与结缔组织和骨的形成**

硅是胶原组成成分之一，在胶原形成过程中脯氨酸的羟基化需脯氨酰羟化酶，而此酶具有最大活 性时则需要硅的存在；硅可使黏多糖互相连接，连接的黏多糖可与蛋白质结合形成纤维结构，可增加 结缔组织的弹性和强度，并维持其结构的完整性；食物中的硅能增加钙化的速度，尤其当钙摄入量低

**第二十一章** **钙、磷及微量元素**

时效果更为明显，在钙化初始阶段起作用，因此硅参与骨的钙化作用。

**(三)长期吸入大量含硅的粉尘可引起硅沉着病**

长期吸入大量含有游离二氧化硅粉尘可引起肺部广泛的结节性纤维化病变，微血管循环受到障 碍，是硅沉着病发病的主要原因。

硅摄入不足也可导致一些疾病的发生，如血管壁中硅含量与人和动物粥样硬化程度呈反比。

**十二、镍**

正常成年人体内含镍(nickel)占体重小于1.4×10-%,为6～10mg,每日生理需要量为25～35 μg。 丝瓜、蘑菇、大豆以及茶叶等镍的含量较高，肉类和海产类镍含量较多，植物性食品镍的含量比动物性 食品高。

**(一)镍主要与清蛋白结合而运输**

吸收入血的镍主要与清蛋白结合而运输。镍主要分布于肾、肺、脑、脊髓、软骨、结缔组织，皮肤等 部位。 一小部分镍可与组氨酸、天冬氨酸、α₂ 巨球蛋白结合。组氨酸可以从清蛋白中转移出镍，并介 导其进入细胞。

**(二)镍与多种酶的活性有关**

镍可激活多种酶，当镍缺乏时，肝内葡糖-6-磷酸脱氢酶、乳酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、苹果酸脱 氢酶和谷氨酸脱氢酶等合成减少、活性降低，影响NADH 的生成、糖的无氧酵解、三羧酸循环等代谢。 镍参与激素作用和生物大分子的结构稳定性及新陈代谢。镍还参与多种酶蛋白的组成，并具有刺激 造血、促进红细胞生成的作用。

**(三)镍是最常见的致敏性金属**

镍是一种潜在的致敏因子，可引起皮肤过敏。约有20%左右的人对镍离子过敏，女性高于男性， 镍离子可通过毛囊和皮脂腺渗入皮肤而引起皮肤过敏，临床表现为皮炎和湿疹。羰基镍以蒸气形式 迅速由呼吸道吸收，也能由皮肤少量吸收，具有很强的毒性。贫血病人血镍含量减少，伴有铁吸收减 少，而给予镍增加造血功能。缺镍还可引起糖尿病、贫血、肝硬化、尿毒症、肝脂质和磷脂代谢异常等。

**十三、钼**

一个体重70kg的健康人，钼(molybdenum)占体重小于7.0×10⁶%,约9mg。 成人适宜摄入量为 每日60 μg;最高可耐受摄入量为每日350 μg。动物肝、绿豆、纳豆、蛋、牛奶、糙米和肉类等食物均含 有钼。

**(一)钼以钼酸根的形式与血液中的红细胞松散结合而转运**

钼酸盐被吸收后可与血液中的红细胞松散结合而转运，血液中的钼大部分被肝、肾摄取。 一部分 钼在肝中参与含钼酶的合成，也可与蝶呤结合形成含钼的辅基储存于肝。人体主要通过调节肾脏排 泄速率维持体内钼平衡。

**(二)钼是三种含钼酶的辅基**

黄嘌呤氧化酶、醛氧化酶和亚硫酸盐氧化酶的辅基为钼，催化一些底物的羟化反应。黄嘌呤氧化 酶催化次黄嘌呤转化为黄嘌呤；醛氧化酶催化嘧啶、嘌呤、蝶啶等的氧化；亚硫酸盐氧化酶可催化亚硫 酸盐向硫酸盐的转化。

**(三)钼缺乏与多种疾病的发生发展有关**

钼缺乏可导致儿童和青少年生长发育不良、智力发育迟缓，并与克山病、肾结石和大骨节病等疾 病的发生有关。 一些低钼地区食管癌发病率高，补钼后能降低食管癌的发病率，缺钼使得亚硝酸还原 成氧降低，与亚硝酸在体内富集有关。

**十四、锡**

人体锡(tin)约占体重的4.3×10-%,每日需要消耗的锡量非常少，约需3.5 μg。正常饮食的食物

**403**

期范《

404 **第四篇** **医学生化专题**

中所含锡能满足人体的需要。动物内脏和谷类是锡的良好来源。

**(一)锡主要由胃肠道和呼吸道进入人体**

锡除了胃肠道吸收外，也可通过呼吸道进入人体，皮肤及眼结膜等也是锡进入人体的途径。当体 内锡不缺乏时，即使补锡也不容易被吸收。锡主要从粪便和尿液中排出。

**(二)锡可促进蛋白质和核酸的合成**

体内锡的作用主要为促进生长发育、影响血红蛋白的功能和促进伤口的愈合。这些作用与锡促 进蛋白质和核酸的合成有关。

**(三)缺锡可导致蛋白质和核酸代谢的异常**

缺锡引起的症状少而不明显，且迄今尚未有人体锡缺乏病的报告。当人体明显缺锡将导致蛋白 质和核酸的代谢异常，从而阻碍生长发育，若严重缺锡发生在儿童，有可能导致侏儒症的发生。食用 锡污染的水果罐头，可出现恶心、呕吐、腹泻等急性胃肠炎症状。锡冶炼工人在高锡烟尘浓度环境中 工作，可能发生锡尘肺。长期接触四氯化锡的工人可有呼吸道刺激症状和消化道症状。四氯化锡尚 可引起皮肤溃烂和湿疹。锡中毒可引起血清中钙含量降低。



**小** **结**

钙、磷主要以无机盐形式存在体内，约99%以上的钙与85.7%以上的磷以羟磷灰石的形式存在

@kkyx2018

于骨骼和牙齿中，骨是人体内的钙、磷储库和代谢的主要场所。钙与磷除了作为骨的主要组成外，还 具有许多重要的生理功能，钙、磷代谢受PTH、CT和1,25-二羟维生素D₃ 调控，并维持血钙与血磷浓度 的相对恒定。

微量元素在人体中存在量低于人体体重0.01%、每日需要量在100mg 以下。绝大多数为金属元 素。在体内一般结合成化合物或络合物，广泛分布于各组织中，含量较恒定。微量元素通过形成结合 蛋白、酶、激素和维生素等在体内发挥着参与构成酶活性中心或辅酶、参与体内物质运输、参与激素和 维生素的形成等重要生理作用。铁是血红蛋白、呼吸链的主要复合物等的重要组成部分。锌是含锌 金属酶和许多锌指蛋白的组成成分。铜是体内多种酶的辅基。锰是多种酶的组成成分和激活剂。硒 在体内以硒半胱氨酸的形式存在于硒蛋白中。碘参与甲状腺激素的合成。钴主要以维生素B₂ 的形 式发挥作用。氟与骨、牙的形成及钙、磷代谢密切相关。铬是铬调素的组成成分。钒可能通过与磷酸 和Mg²\*竞争结合配体干扰细胞的生化反应过程。硅参与结缔组织和骨的形成。镍参与多种酶蛋白的 组成，与多种酶的活性有关。钼是三种含钼酶(黄嘌呤氧化酶、醛氧化酶和亚硫酸盐氧化酶)的辅基。 锡可促进蛋白质和核酸的合成。长期缺乏微量元素可导致相应的缺乏症。

**思** **考** **题**

1. 钙、磷在人体内的主要作用有哪些?钙、磷代谢如何调控?钙、磷代谢紊乱与哪些疾病的发生 发展有关?

2. 什么是微量元素?简述微量元素发挥生理作用的主要形式和机制。

3. 哪些微量元素的缺乏可引起贫血?引起的贫血类型有哪些?发病机制是什么?

(汪 渊 )







**第二十二章** **癌基因和抑癌基因**

正常机体内，各种细胞的新生、生长、增殖、分化、衰老和死亡受到多种基因的严格调节和控制，从 而确保正常生命活动的有序进行。肿瘤发生的关键正是这些基因异常所导致的细胞增殖失去控制， 这也是癌细胞区别于正常细胞的一个显著特征。与肿瘤发生密切相关的基因，可分为三类：①细胞内 正常的原癌基因(proto-oncogene),其作用通常是促进细胞的生长和增殖，阻止细胞分化，抵抗凋亡； ② 抑癌基因，或称肿瘤抑制基因(tumor suppressor gene),通常抑制增殖，促进分化，诱发凋亡；③基因 组维护基因(genome maintenance gene),参与DNA 损伤修复，维持基因组完整性(见第十三章)。当细 胞受到各种致癌因素的作用时，可引起原癌基因或抑癌基因的结构或表达调控异常，导致原癌基因活 化或抑癌基因失活，直接导致细胞生长增殖的失控而形成肿瘤。而基因组维护基因的编码产物则不 直接抑制细胞增殖，这类基因在致癌因素的作用下发生突变失活后，可导致基因组不稳定，从而间接 地通过增加基因突变频率、使原癌基因或抑癌基因突变来引发肿瘤发生。因此，基因组维护基因也可 归属于抑癌基因。

本章主要阐述原癌基因、癌基因和抑癌基因的基本概念，并介绍原癌基因激活和抑癌基因失活的 机制及其在肿瘤发生发展中的作用。

**第一节** **癌** **基** **因**

癌基因(oncogene)是能导致细胞发生恶性转化和诱发癌症的基因。绝大多数癌基因是细胞内正 常的原癌基因(proto-oncogene)突变或表达水平异常升高转变而来，某些病毒也携带癌基因。

**一、原癌基因是人类基因组中具有正常功能的基因**

原癌基因及其表达产物是细胞正常生理功能的重要组成部分，原癌基因所编码的蛋白质在正常 条件下并不具致癌活性，原癌基因只有经过突变等被活化后才有致癌活性，转变为癌基因。在20世 纪70年代中期，研究人员提出，肿瘤发生是由于细胞中的原癌基因在致癌因素的作用下激活或突变 为致癌基因而引起。

原癌基因在进化上高度保守，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。原癌基因的表达产物对细胞正常生长、增殖和分化起着精确的调控作用。在某些因素 (如放射线、有害化学物质等)作用下，这类基因结构发生异常或表达失控，转变为癌基因，导致细胞 生长增殖和分化异常，部分细胞发生恶性转化从而形成肿瘤。

许多原癌基因在结构上具有相似性，功能上亦高度相关。故而可据此将原癌基因和癌基因区分 为不同的基因家族，重要的有SRC、RAS和MYC 等基因家族。

SRC 家族包括SRC 和 LCK 等多个基因。 SRC 最初是在引起肉瘤(sarcoma)的劳斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus,RSV)中发现的，病毒癌基因名为v-src。该基因家族的产物具有酪氨酸激酶活性(见第 十七章),在细胞内常位于膜的内侧部分，接受受体酪氨酸激酶(如PDGF 受体)的活化信号而激活，促 进增殖信号的转导。这些酶因突变而导致的持续活化是其促进肿瘤发生的主要原因。

RAS 家族包括H-RAS、K-RAS、N-RAS等成员。 H-RAS 和 K-RAS 最初分别在Harvey大鼠肉瘤病毒 (Harvey rat sarcoma virus)和 Kirsten 鼠科肉瘤病毒(Kirsten murine sarcoma virus)中克隆，分别称为

**406**



第四篇 医学生化专题

v-Hras和v-Kras。原癌基因K-RAS 突变是恶性肿瘤中最常见的基因突变之一，在81%的胰腺癌病人的 肿瘤组织可检测到。 RAS 基因编码低分子量G 蛋白(见第十七章),在肿瘤中发生突变后，往往造成 其GTP 酶活性丧失，RAS 始终以GTP 结合形式存在，即处于持续活化状态，导致细胞内的增殖信号通 路持续开放。

MYC 家族主要包括C-MYC、N-MYC 和 L-MYC。MYC 最初在禽骨髓细胞瘤病毒(avian myelocytom- atosis virus,AMV)被发现，并因而得名为v-myc。MYC 基因家族编码转录因子，有直接调节其他基因 转录的作用。原癌基因C-MYC 编码的49kD 的 MYC 与 MAX 蛋白形成异二聚体，与特异的顺式作用 元件结合，活化靶基因的转录。 MYC 的靶基因多编码细胞增殖信号分子，故细胞内MYC 蛋白可促进 细胞的增殖。

**二、某些病毒的基因组中含有癌基因**

一些病毒能导致肿瘤发生，称为肿瘤病毒(tumor virus)。 肿瘤病毒大多为RNA 病毒，且目前发现 的 RNA 肿瘤病毒都是逆转录病毒，如前述的RSV、AMV、Harvey大鼠肉瘤病毒和Kirsten 鼠科肉瘤病 毒等。 DNA 肿瘤病毒常见的有人乳头瘤病毒(Human papillomavirus,HPV)和乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus,HBV)等 。RNA 肿瘤病毒和DNA 肿瘤病毒的致癌机制不同。

事实上，癌基因最早发现于RNA 肿瘤病毒。1910年，Rous F首次发现病毒可导致鸡肉瘤，提出病

2kkyx2018

毒导致肿瘤的观点。该病毒后来被命名为劳斯肉瘤病毒(Rous sarcoma virus,RSV)。 在深入研究RsV 的致癌分子机制时，研究人员比较了具备转化和不具备转化特性的RSV 的基因组，发现了一个特殊 的基因src,将这一基因导入正常细胞可使之发生恶性转化。以后又在其他逆转录病毒中陆续发现了 一些使宿主患肿瘤的基因。

1976年，Varmus HE和 Bishop JM发现，逆转录病毒RSV 携带的癌基因v-src在进化过程中来源于 宿主细胞的原癌基因 C-SRC, 进而提出：RNA 肿瘤病毒携带的癌基因来源于细胞原癌基因。关于其起 源进化的分子机制，目前认为，逆转录病毒感染宿主细胞后，在逆转录酶作用下，以病毒RNA 基因组 为模板合成双链 DNA 即前病毒DNA(provirus),并整合于宿主细胞基因组的原癌基因附近，在后续的 病毒复制和包装过程中，经过复杂而巧妙的删除、剪接、突变、重组等过程，逆转录病毒最终将细胞原 癌基因“劫持”并改造为具有致癌能力的病毒癌基因，成为新病毒基因组的一部分。

目前已发现的病毒癌基因有几十种。需要注意的是，病毒有致癌能力并不意味着其一定含有病 毒癌基因。有致癌特性的逆转录病毒可区分为急性转化逆转录病毒和慢性转化逆转录病毒两类。前 者含有癌基因，能迅速在几天内诱发肿瘤，后者则不含有癌基因，而是通过将其基因组插入至宿主细 胞的原癌基因附近，从而激活原癌基因而诱发肿瘤，故其致癌效应较慢，常需数月甚至数年，有较长的 潜伏期。

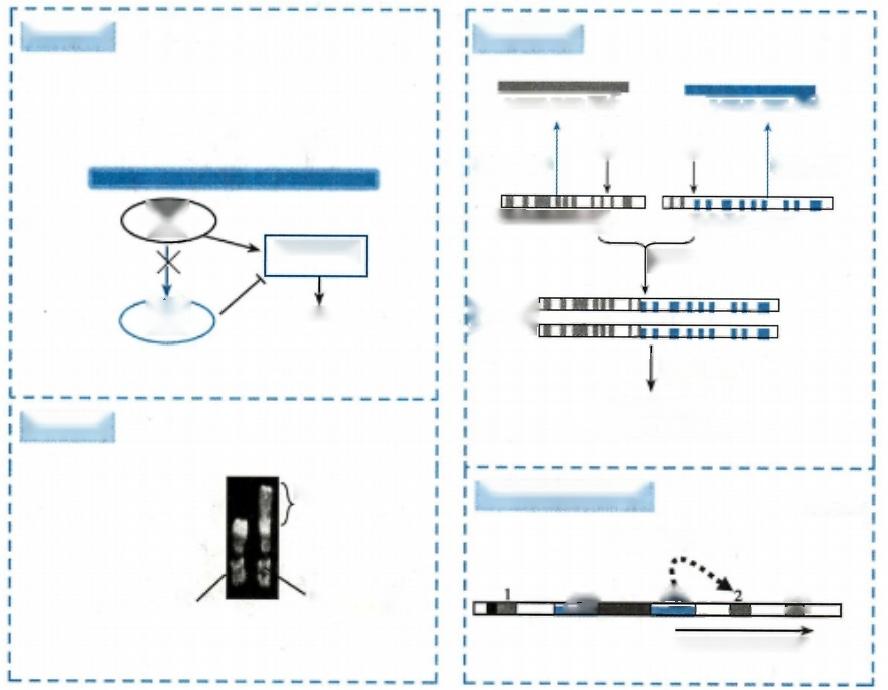
逆转录病毒的癌基因也可以视为是原癌基因的活化或激活形式，它有利于病毒在肿瘤细胞中的 复制，但对病毒复制包装无直接作用，对逆转录病毒基因组不是必需的。与之不同，已知的DNA 病毒 的癌基因则是其基因组不可或缺的部分，对病毒复制是必需的，目前也没有证据表明其有同源的原癌 基因，如 HPV 基因组中的癌基因E6 和 E7。 通常可将 RNA 肿瘤病毒的癌基因的名称冠以前缀v-,写 为小写斜体，如v-src,而将正常人类细胞中的原癌基因则冠以前缀C-,写为大写斜体，如C-SRC, 以示 区分。其编码的蛋白质则通常写为正体，如v-src和 C-SRC。

**三、原癌基因有多种活化机制**

原癌基因在物理、化学及生物因素的作用下发生突变，表达产物的质和量的变化，表达方式在时间 及空间上的改变，都有可能使细胞脱离正常的信号控制，获得不受控制的异常增殖能力而发生恶性转 化。从正常的原癌基因转变为具有使细胞发生恶性转化的癌基因的过程称为原癌基因的活化，这种转 变属于功能获得突变(gain-of-function mutation)。原癌基因活化的机制主要有下述四种(图22-1)。



第二十二章 癌基因和抑癌基因 407

1.基因突变

K-RAS 突变失去GTP酶活性

以GTP结合方式持续活化

RAS-

GTP

MAPK 通 路

RAS-

细胞增殖

GDP

2.基因扩增

3.染色体易位

|  |  |
| --- | --- |
| 160kD BCR蛋白 | 140kD ABL蛋白 |
| 断裂点断裂点 |  |
| 转录、翻译 | 转录、翻译 |

染色体22—BCH 染色体9—ABL

CML 中BCR-ABL基因融合

BCR-ABL[

融合基因

转录、翻译

210kD融合蛋白

70kD BCR+140kD ABL

N-MYC

基因

4.获得启动子或增强子

随机插入强启动子

kkyx2018

kkyx2018

正常1号，

染色体

神经母细胞瘤的

1号染色体

ITR

LTR

基因表达持续增加

3

图22-1 原癌基因活化的四种机制示意图

**(一)基因突变常导致原癌基因编码的蛋白质的活性持续性激活**

各种类型的基因突变如碱基替换、缺失或插入，都有可能激活原癌基因。较为常见和典型的是错 义点突变，导致基因编码的蛋白质中的关键氨基酸残基改变，造成突变蛋白质的活性呈现持续性激 活。如H-RAS 中 的CGC, 在膀胱癌中突变为CTC, 使得表达产物 RAS 的第12位甘氨酸突变为缬氨 酸，结果使其丧失 CTP 酶活性，RAS 始 终 以CTP 结合的活性形式存在。

**(二)基因扩增导致原癌基因过量表达**

原癌基因可通过基因扩增(gene amplification)使基因拷贝数升高几十甚至上千倍不等，发生扩增 的机制目前尚不清楚。基因扩增可致编码产物过量表达，细胞发生转化。例如小细胞肺癌中C-MYC 的扩增和乳腺癌中HER2 的扩增都在肿瘤发生中具有重要作用。

**(三)染色体易位导致原癌基因表达增强或产生新的融合基**因

染色体易位可通过两种机制致癌。第一，染色体易位使原癌基因易位至强的启动子或增强子的 附近，导致其转录水平大大提高。例如，人Burkit淋巴瘤细胞中，位于8号染色体上的C-MYC 基因移 位到14号染色体的免疫球蛋白重链基因的增强子附近，使C-MYC 基因在该增强子的控制下过量表 达。第二，染色体易位导致产生新的融合基因。例如，慢性髓性白血病(chronic myelogenous leukemia, CML) 中，22号染色体的BCR(breakpoint cluster region)基因与9号染色体的ABL 基因发生染色体易位 产生融合基因BCR-ABL, 进而表达为融合蛋白BCR-ABL, 导 致ABL 的蛋白酪氨酸激酶活性持续增高。 该易位产生的较小的异常22号染色体，最早于1960年在美国费城发现，故又称费城染色体(Philadel- phia chromosome)或 Ph 染色体(Ph chromosome),是 CML 的标志染色体。

**(四)获得启动子或增强子导致原癌基因表达增强**

如前所述，染色体易位可使原癌基因获得增强子而被活化。此外，逆转录病毒的前病毒DNA 的

580HEe



**408** 第四篇 医学生化专题

两个末端是特殊的长末端重复序列(LTR), 含有较强的启动子或增强子元件。如果前病毒 DNA 恰 好 整合到原癌基因附近或内部，就会导致原癌基因的表达不受原有启动子的正常调控，而成为病毒启动 子或增强子的控制对象，往往导致该原癌基因的过量表达。如鸡的白细胞增生病毒引起的淋巴瘤，就 是因为该病毒的LTR 序列整合到宿主的C-MYC 基因附近，LTR 中的强启动子可使 C-MYC 的表达比 正常高出30～100倍。

不同的癌基因有不同的激活方式， 一种癌基因也可有几种激活方式。例如C-MYC 的激活就有基 因扩增和染色体易位等方式，但很少见到C-MYC 的点突变；而RAS 的激活方式则主要是点突变。

两种或更多的原癌基因活化可有协同作用，抑癌基因的失活也会产生协同作用。在肿瘤细胞中 常发现两种或多种细胞癌基因的活化。例如，白血病细胞株 HL-60 中 有C-MYC 和 N-RAS 的同时活 化。实验也证明癌基因的协同作用可使细胞更易发生恶性转化。例如原代培养的大鼠胚胎成纤维细 胞传代50次左右就会死亡，如仅导入重排的C-MYC 可使它永生化，但细胞表型无恶性行为；如仅导 入活化的突变RAS 基因，细胞形态发生改变，但不能无限传代及形成肿瘤。只有同时导入C-MYC 和 N-RAS, 细胞才会发生恶性变，并在动物中成瘤。

**四、原癌基因编码的蛋白质与生长因子密切相关**

生长因子(growth factor)是一类由细胞分泌的、类似于激素的信号分子，多数为肽类或蛋白质类

物质，具有调节细胞生长与分化的作用。在体外培养细胞时，培养基中除了含有氨基酸、维生素和无)201

机盐等一系列必需营养物质外，还必须添加含有多种生长因子的胎牛血清，细胞才能保持良好的生 长、增殖状态。生长因子在肿瘤、心血管疾病等多种疾病的发生发展过程中发挥重要作用，不少生长 因子已经应用于临床治疗。目前已知，原癌基因编码的蛋白质参与调控细胞增殖、分化与生长等各个 环节，与生长因子密切相关。

**(一)生长因子主要有三种作用模式**

目前已发现的肽类生长因子有数十种，而且还在不断增加。生长因子可以根据其来源进行分类 和命名，也可以依据其作用方式分类。

生长因子来源于多种不同组织，其靶细胞亦各不相同(表22-1)。有的生长因子作用的细胞比较单 一，如 EPO 及 VEGF, 分别主要作用于红细胞系和血管内皮细胞；也有的生长因子作用的细胞谱型比较广， 如成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor,FGF)对间充质细胞、内分泌细胞和神经系统细胞都有作用。

**表22-1常见生长因子举例**

**生长因子名称** **组织来源** **功** **能**

表皮生长因子(EGF) 唾液腺、巨噬细胞、血小板等 促进表皮与上皮细胞的生长，尤其是消化道上

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  |  | 皮细胞的增殖 |
| 肝细胞生长因子(HGF) | 间质细胞 | 促进细胞分化和细胞迁移 |
| 促红细胞生成素(EPO) | 肾 | 调节成红细胞的发育 |
| 类胰岛素生长因子(IGF) | 血清 | 促进硫酸盐掺入到软骨组织，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) | 颌下腺含量高 | 营养交感和某些感觉神经元，防止神经元退化 |
| 血小板源生长因子(PDGF) | 血小板、平滑肌细胞 | 促进间质及胶质细胞的生长，促进血管生成 |
| 转化生长因子α(TGF- α) | 肿瘤细胞、巨噬细胞、神经 | 作用类似于EGF,促进细胞恶性转化 |

细胞

转化生长因子β(TGF- β) 肾、血小板 对某些细胞的增殖起促进和抑制双向作用

血管内皮生长因子(VEGF) 低氧应激细胞 促进血管内皮细胞增殖和新生血管形成

EGF:epidermal growth factor,表皮生长因子；HGF:hepatocyte growth factor,肝细胞生长因子；EPO:erythropoietin,促红细胞生 成素；IGF:insulin-like growth factor,类胰岛素生长因子；NGF:nerve growth factor,神经生长因子；PDGF:platelet-derived growth factor,血小板源生长因子；TGF- α:transforming growth factorα,转化生长因子- α;TGF- β:transforming growth factor β,转化生长因 子- β;VEGF:vascular endothelial growth factor,血管内皮生长因子

**第二十二章** **癌基因和抑癌基因** **409**

NGF 是最早被发现的生长因子。1948年，E. Bueker等发现将小鼠肉瘤组织植入胚胎体壁可使 移植区神经节增加。随后，R. Levi-Montolcini等发现肉瘤组织的植入不仅可使局部神经节增加，而且 可使远隔部位的神经节增加。由此设想肉瘤组织释放了一种可扩散因子作用于远隔部位。后来证实 这种因子就是神经生长因子，它有刺激神经元生长以及神经纤维延长的功能。1959年S. Cohen又发 现了EGF。R. Levi-Montolcini和 S. Cohen 由于在这一领域的成就荣获了1986年诺贝尔生理学或医 学奖。

与其他细胞外信号分子一样(见第十七章),根据产生细胞与靶细胞间的关系，生长因子的作用 模式可分为3种：①内分泌方式：生长因子从细胞分泌出来后，通过血液运输作用于远端靶细胞。如 源于血小板的PDGF 可作用于结缔组织细胞；②旁分泌方式：细胞分泌的生长因子作用于邻近的其他 类型细胞，对合成、分泌生长因子的自身细胞不发生作用，因为其缺乏相应受体；③自分泌方式：生长 因子作用于合成及分泌该生长因子的细胞本身。生长因子以后两种的作用方式为主，经细胞分泌后 在胞外运送，最终作用于自身细胞或者其他细胞，传递它们独特的生物学信息。生长因子将组织内的 细胞连接成为一个有机整体网络，相互之间进行着持续不断的交流沟通。

**(二)生长因子的功能主要是正调节靶细胞生长**

目前对大部分生长因子的结构与功能了解得相当清楚。大多数生长因子具有促进靶细胞生长的 功能，少数具有负调节功能，还有一些具有正、负双重调节作用。

生长因子的生物学效应主要表现在促进细胞生长、分化、促进个体发育等方面。但是有些生长因 子具有双重调节作用或负调节作用。例如，NGF 对神经系统的生长具有促进作用，但对成纤维细胞的 DNA 合成却有微弱的抑制作用。 TGF- β 也是这样，对成纤维细胞有促进生长的作用，但对其他多种细 胞具有抑制作用。其具体作用取决于与其他生长因子的相互作用和环境条件。

同一生长因子对不同细胞的作用有所不同，如肝细胞生长因子( hepatocyte growth factor,HGF)对 正常肝细胞的生长起促进作用，但对肝癌细胞的增殖则有抑制作用。 一种细胞也可受不同生长因子 调节，如胚胎时属于间充质细胞的成纤维细胞可被EGF、IGF 和多种FGF 所调节，但不被 HGF 调节。 还有一些以前认为作用比较单一的生长因子，近来发现对其他细胞也有作用。如内皮素(endothelin, ET) 除了对内皮细胞的作用外，可能对脑、垂体的神经内分泌也有作用。

具有负调节作用的生长因子比较少，人们通常把这种负调节因子(negative growth factor)称为细 胞生长抑制因子。抑素(chalone) 是最早被确认的生长抑制因子，以后又发现 TGF- β、干 扰 素 (interferon)和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor,TNF)等也具有抑素的某些特征，但它们实际上都是 双重调节，只不过以负调节为主。目前对生长抑制因子尚无统一的标准或定义，也没有明确的学说阐 明其作用机制，但是其在肿瘤、心血管疾病等疾病防治方面的潜在应用前景是不可否认的。因此对负 调节因子的研究，始终是生物医学界的一个热点领域。

**(三)生长因子通过细胞内信号转导而发挥其功能**

生长因子的作用通过受体介导的细胞信号转导而实现(见第十七章)。生长因子的受体多位于 靶细胞膜，为一类跨膜蛋白，多数具有蛋白激酶特别是酪氨酸蛋白激酶活性，也有少数具有丝/苏氨酸 蛋白激酶活性。最近发现细胞核也存在 EGF 等生长因子的受体样蛋白质。有些生长因子受体(如 EGF 受体)与原癌基因产物有高度同源性。对生长因子受体的研究不仅有助于了解细胞的增殖分 化，而且对了解肿瘤的发生、发展及治疗也具有重要意义。

大部分生长因子的受体属于受体酪氨酸激酶家族，如 EGF 受体、FGF 受 体 、PDGF 受体、HGF 受 体、VEGF 受体等，胰岛素受体也属于受体酪氨酸激酶。位于膜表面的受体是跨膜受体蛋白质，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被直接磷酸化。另一些膜上的受体则通过胞内信号传递体系，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。

咽kkyx2018





**410** 第四篇 医学生化专题

另一类生长因子受体定位于细胞质，当生长因子与胞内相应受体结合后，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。

原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亦或核内转录 因子。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会导致细胞生长、增 殖失控，进而引起癌变。

**(四)原癌基因编码的蛋白质涉及生长因子信号转导的多个环节**

目前已知，原癌基因编码的蛋白质涉及生长因子信号转导的多个环节。依据它们在细胞信号转 导系统中的作用分为四类(表22-2)。

**表22-2原癌基因编码的蛋白质分类及功能举例**

**癌基因名称**

**类** **别**

细胞外生长因子

跨膜生长因子受体

作 用

SIS

PDGF-2

FGF同类物，促进细胞增殖

EGF受体，促进细胞增殖

EGF受体类似物，促进细胞增殖

INT-2

EGFR

HER2

CSF-1受体，促进增殖 SCF受体，促进增殖

NGF受体

与受体结合转导信号

FMS

KIT

TRK

k kyx2018

**GAAbxx2018**

SRC、ABL

细胞内信号转导分子

RAS

MAPK通路中的重要分子 MAPK通路中的重要分子

促进增殖相关基因表达

促进增殖相关基因表达

MYC

核内转录因子

FOS、JUN

EGFR:epidermal growth factor receptor,表皮生长因子受体；CSF-1:colony stimulating factor 1,集落刺激因子1;SCF:stem cell factor,干细胞因子

**1.** **细胞外生长因子** 生长因子是细胞外增殖信号，它们作用于膜受体，经各种信号通路，如 MAPK 通路等，引发一系列细胞增殖相关基因的转录激活。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。

已知人的原癌基因C-SIS编码PDGF 的β链，作用于PDGF 受体，激活 PLC-IP₃/DAG-PKC 途 径 (见第十七章),促进肿瘤细胞增殖。此外，C-SIS表达产物还能促进肿瘤血管的生长，为肿瘤进展提 供有利环境。目前已知与恶性肿瘤发生和发展有关的生长因子有PDGF、EGF、TGF- β、FGF、IGF-1等。

2. 跨膜生长因子受体 第二类原癌基因的产物为跨膜受体，它们接受细胞外的生长信号并将其 传入细胞内。跨膜生长因子受体的膜内侧结构域，往往具有酪氨酸特异的蛋白激酶活性。这些受体 型酪氨酸激酶通过多种信号通路，如MAPK 通路、PI3K-AKT 通路等，加速增殖信号在胞内转导。许多 恶性肿瘤如非小细胞型肺癌、乳腺癌等均出现EGF/EGFR 的过度表达，EGF/EGFR 的过度表达或者 异常活化常能引起细胞恶性转化，而这与多种肿瘤的发生发展、恶性程度以及预后具有密切相关性。 另外，表皮生长因子还参与了肿瘤的血管生成作用，因此其过表达或异常活化会促进肿瘤进展。

3. 细胞内信号转导分子 生长信号到达胞内后，借助一系列胞内信号转导体系，将接受到的生 长信号由胞内传至核内(见第十七章),促进细胞生长。这些转导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，如cAMP、DAG、Ca²\*等。作为胞内信号转导分子的癌基 因产物包括：非受体酪氨酸激酶SRC、ABL 等，丝/苏氨酸激酶RAF 等，低分子量G 蛋 白RAS 等。

4. 核内转录因子 另外一些癌基因表达的蛋白质属于转录因子，通过与靶基因的顺式作用元件 相结合，直接促进细胞增殖靶基因的转录。 EGF 促肿瘤的一个重要机制就是通过活化 MAPK 通路

艺记

(见第十七章)而使原癌基因FOS 活化，FOS 蛋白增加。 FOS 蛋白可与JUN 蛋白结合形成AP-1,而



**第二十二章** **癌基因和抑癌基因**

AP-1是一种广泛存在的高度活化的异源二聚体转录因子，能促进肿瘤的发生发展。

**五、癌基因是肿瘤治疗的重要分子靶点**

在许多人类肿瘤中都存在某些癌基因的过度活化，从而在肿瘤的发病机制中扮演着重要的角色， 也为肿瘤治疗提供了靶位，此处仅以下述3个基因为例进行简要介绍。

**(** **一** **)** **BRAF** **是黑素瘤治疗的重要分子靶点**

原癌基因BRAF 所编码的蛋白质属于丝/苏氨酸激酶，是MAPK 信号通路的重要组成分子，在调 控细胞增殖、分化等方面发挥重要作用。人类肿瘤中，BRAF 基因存在不同比例的基因突变，其中约 60%的黑素瘤中BRAF 发生突变，其第600位氨基酸从缬氨酸突变为谷氨酸(V600E) 最为常见，导致 B-RAF 的持续激活。已有针对这类V600E 突变的分子靶向药物威罗菲尼(vemurafenib)用于临床，该 药可阻断突变B-RAF 的活性，从而抑制肿瘤生长。

**(二)** **HER2** **是乳腺癌治疗的重要分子靶点**

HER2 是表皮生长因子受体家族成员，具有蛋白酪氨酸激酶活性，能激活下游信号通路，从而促 进细胞增殖和抑制细胞凋亡。在30%的乳腺癌中HER2 基因发生扩增或者过度表达，其表达水平与 治疗后复发率和不良预后显著相关。针对其过度表达的单克隆抗体药物赫赛汀(herceptin )已在临床 使用。

**(三)** **BCR-ABL** **是慢性髓性白血病治疗的重要分子靶点** Cdkkyx2018

慢性髓性白血病(CML) 病人的9号染色体与22号染色体之间发生易位，从而融合产生了癌基因 BCR-ABL,编码的蛋白质BCR-ABL 具有持续活化的蛋白酪氨酸激酶活性，能促进细胞增殖，并增加基 因组的不稳定性。在95%的CML 病人中都伴随有BCR-ABL 融合基因的产生，在一些急性淋巴白血 病病人中也有发现。针对BCR-ABL 融合蛋白的药物伊马替尼(imatinib)2001年被 FDA 批准用于临 床治疗。

**第二节** **抑** **癌** **基** **因**

抑癌基因也称肿瘤抑制基因(tumor suppressor gene),是防止或阻止癌症发生的基因。与原癌基 因活化诱发癌变的作用相反，抑癌基因的部分或全部失活可显著增加癌症发生风险。抑癌基因对细 胞增殖起负性调控作用，包括抑制细胞增殖、调控细胞周期检查点、促进凋亡和参与 DNA 损伤修 复等。

**一、抑癌基因对细胞增殖起负性调控作用**

411

哈kkyx2018

抑癌基因的发现源于20世纪60年代H.Harris的杂合细胞致癌性研究。他将癌细胞株与正常 细胞融合得到的杂合细胞接种动物，发现并不产生肿瘤，提示正常细胞中有能抑制肿瘤发生的基因， 即抑癌基因。用化学物质诱发的肿瘤及自发发生的肿瘤的细胞与正常细胞制备杂合细胞也可重复出 上述结果，并且与肿瘤的组织起源无关，表明上述结果有普遍意义。将不具致癌性的杂合细胞体外培 养传代，可从中分离出具有致癌性的子代细胞。比较两种杂合细胞，发现致癌性的子代杂合细胞丢失 了来自正常细胞的一条或几条染色体。将正常人类细胞的单条染色体逐一融合在肿瘤细胞中，也可 分离到无致癌性的杂合细胞。这些结果说明细胞中含有各种不同的抑癌基因，分布在不同的染色体 上，可以分别抑制不同组织起源的癌细胞的致癌作用。

随着20世纪70年代基因克隆技术的建立，RB、TP53等一系列抑癌基因得以克隆和鉴定。必须 指出，最初在某种肿瘤中发现的抑癌基因，并不意味其与别的肿瘤无关；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。抑癌基因产物的功能多种多样，目前已鉴定的一些抑癌基因产物及其功能



**412** **第四篇** **医学生化专题**

如表22-3。总体来说，抑癌基因对细胞增殖起负性调控作用，其编码产物的功能有：抑制细胞增殖；抑 制细胞周期进程；调控细胞周期检查点；促进凋亡；参与DNA 损伤修复。

**表22-3常见的抑癌基因及其编码产物**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **名称** | **染色体定位** | **相关肿瘤** | **编码产物及功能** |
| TP53 | 17p13.1 | 多种肿瘤 | 转录因子p53,细胞周期负调节和DNA诱发 凋亡 |
| **RB** | 13q14.2 | 视网膜母细胞瘤、骨肉瘤 | 转录因子p105 RB |
| PTEN | 10q23.3 | 胶质瘤、膀胱癌、前列腺癌、子宫 内膜癌 | 磷脂类信使的去磷酸化，抑制PI3K-AKT通路 |
| **P16** | **9p21** | 肺癌、乳腺癌、胰腺癌、食道癌、黑 素瘤 | p16蛋白，细胞周期检查点负调节 |
| P21 | 6p21 | 前列腺癌 | 抑制CDK1、2、4和6 |
| APC | 5q22.2 | 结肠癌、胃癌等 | G蛋白，细胞黏附与信号转导 |
| DCC | 18q21 | 结肠癌 | 表面糖蛋白(细胞黏附分子) |
| NF1 | 7q12.2 | 神经纤维瘤 | GTP酶激活剂 |
| NF2 | 22q12.2 | 神经鞘膜瘤、脑膜瘤 | 连接膜与细胞骨架的蛋白质 |
| VHL | 3p25.3 | 小细胞肺癌、宫颈癌、肾癌 | 转录调节蛋白 |
| WT1 | 11p13 | 肾母细胞瘤 | 转录因子 kkyx2018 kkyx2018 |

TP53:tumor protein p53,肿瘤蛋白p53基因；APC:adenomatous polyposis coli,腺瘤性结肠息肉病基因；DCC:deleted in colorectal carcinoma,结肠癌缺失基因；NF:neurofibromatosis,神经纤维瘤；VHL:von Hippel-Lindau tumor suppressor, VHL肿瘤抑制 基因；WT:Wilms tumor,肾母细胞瘤

**二、抑癌基因有多种失活机制**

抑癌基因的失活与原癌基因的激活一样，在肿瘤发生中起着非常重要的作用。但癌基因的作用 是显性的，而抑癌基因的作用往往是隐性的。原癌基因的两个等位基因只要激活一个就能发挥促癌 作用，而抑癌基因则往往需要两个等位基因都失活才会导致其抑癌功能完全丧失。1971年，Knudson A 以视网膜母细胞瘤(retinoblastoma)为模型进行统计学分析研究，发现散发性单侧视网膜母细胞瘤 的发病需要抑癌基因(即后来命名为RB 的基因)的两次体细胞突变，从而提出二次打击假说(two-hit hypothesis)。

但也有一些抑癌基因只失活其等位基因中的一个拷贝就会引起肿瘤发生，即其一个正常的等位 基因拷贝不足以完全发挥其抑癌功能，称为单倍体不足型抑癌基因( haploinsufficient tumor suppressor gene), 如p27 基因。还有一些抑癌基因，如 TP53 基因，当其一个等位基因突变失活后，其表达的 p53 突变蛋白则能抑制另一个正常等位基因产生的野生型即正常p53 蛋白的功能，这种基因突变称 为显性负效突变( dominant negative mutation)。

抑癌基因失活的方式常见有以下三种。

**(一)基因突变常导致抑癌基因编码的蛋白质功能丧失或降低**

抑癌基因发生突变后，会造成其编码的蛋白质功能或活性丧失或降低，进而导致癌变。这种突变 属于功能失去突变(loss-of-function mutation)。 最典型的例子就是抑癌基因 TP53 的突变，目前已经发 现 TP53 基因在超过一半以上的人类肿瘤中发生了突变。

**(二)杂合性丢失导致抑癌基因彻底失活**

杂合性(heterozygosity)是指同源染色体在一个或一个以上基因座存在不同的等位基因的状态。 杂合性丢失(loss of heterozygosity,LOH)则是指一对杂合的等位基因变成纯合状态的现象。杂合性丢 失是肿瘤细胞中常见的异常遗传学现象，发生杂合性丢失的区域也往往就是抑癌基因所在的区域。

杂合性丢失导致抑癌基因失活的经典实例就是抑癌基因RB 的失活。1986年，将视网膜母细胞

**第二十二章** **癌基因和抑癌基因**

413

瘤的RB 基因成功克隆后就发现，RB 等位基因的一个拷贝往往是通过生殖细胞突变遗传给后代，也就 是说，此时后代的体细胞中RB 等位基因就呈现为杂合子状态，即： 一个为突变失活的不具有抑癌功 能的RB 等位基因，另一个为仍具有抑癌功能的正常RB 等位基因。而当因为某些原因导致正常的 RB 等位基因丢失即杂合性丢失时，抑癌基因RB 则彻底失活，失去其抑癌作用，从而导致视网膜母细 胞瘤。

**(三)启动子区甲基化导致抑癌基因表达抑制**

真核生物基因启动子区域CpG 岛的甲基化修饰对于调节基因转录活性至关重要，甲基化程度与 基因表达呈负相关。很多抑癌基因的启动子区CpG 岛呈高度甲基化(hypermethylation)状态，从而导 致相应的抑癌基因不表达或低表达。例如，约70%的散发肾癌病人中存在抑癌基因 VHL 启动子区甲 基化失活现象；在家族性腺瘤息肉所致的结肠癌中，APC 基因启动子区因高度甲基化使转录受到抑 制，导致APC 基因失活，进而引起β-连环蛋白在细胞内的积累，从而促进癌变发生。

**三、抑癌基因在肿瘤发生发展中具有重要作用**

抑癌基因的失活在肿瘤发生发展中发挥着重要作用，此处以TP53、RB、PTEN三个抑癌基因为 例，简要介绍抑癌基因的作用机制。

**(** **一** **)** **RB** **主要通过调控细胞周期检查点而发挥其抑癌功能**

RB 基因失活不仅与视网膜母细胞瘤及骨肉瘤有关，在许多散发性肿瘤，如50%～85%的小细胞 性肺癌、10%～30%乳腺癌、膀胱癌和前列腺癌中都发现有RB 基因失活。

RB 基因位于染色体13q14,有27个外显子，mRNA 长4.7kb,编码的蛋白质为105kD。RB 蛋白的 磷酸化状态及其与其他蛋白质结合，与它的功能密切相关。去磷酸化(或低磷酸化)形式为活性型， 能促进细胞分化，抑制细胞增殖。实验表明，将RB 基因导入视网膜母细胞瘤细胞或成骨肉瘤细胞， 这些恶性细胞的生长受到抑制。

RB 的磷酸化程度受细胞周期中增殖调控蛋白质的直接控制，包括随着细胞周期不同时相的转 换，其浓度也随之发生变化的细胞周期蛋白(cyclin),以及受到这些蛋白质调节的蛋白激酶。这些蛋 白激酶被称为细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase,CDK)。 细胞进入G₁ 期时RB 处于低 磷酸化状态，而低磷酸化的RB 使得细胞不能通过G₁/S 期检查点(checkpoint)。 该检查点是哺乳动物 细胞周期的重要检查点，只有通过该检查点后，细胞周期才能进入下一步运转，进行DNA 合成和细胞 分裂，故又称为限制点(restriction point),以符号“R ”表示。只有在细胞增殖信号通过依赖于cyclin D1 的激酶CDK4 的活化导致RB 磷酸化后，高磷酸化的RB 方允许细胞跨过G₁/S 期检查点。因此，低磷 酸化的RB 在 G₁ 期特异的磷酸化是细胞从G₁ 期进入S 期的关键。

低磷酸化RB 对细胞周期的负调节作用是通过与转录因子E2F-1的结合而实现的(图22-2)。低 磷酸化RB 的口袋结构域能结合E2F-1并使之失活，S 期必需的基因产物如二氢叶酸还原酶、胸苷激 酶、DNA 聚合酶α等的合成因而受限，细胞周期的进展受到抑制。而高磷酸化的RB 不能与E2F-1结 合，将导致这些基因的开放，促进细胞通过G₁-S 关卡。 RB 基因的缺失使得细胞丧失了该关卡的“守 卫”,细胞周期进程失控，细胞异常增殖。

**(** **二** **)** **TP53** **主要通过调控DNA** **损伤应答和诱发细胞凋亡而发挥其抑癌功能**

TP53 基因是目前研究最多的、也是迄今发现在人类肿瘤中发生突变最广泛的抑癌基因。50%~ 60%的人类各系统肿瘤中发现有TP53 基因突变。

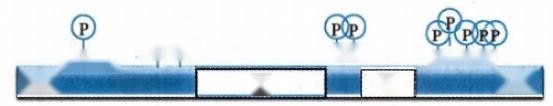
人的TP53 基因定位于17p13,全长16～20kb,含有11个外显子，转录2.8kb 的 mRNA, 编码蛋白 为 p53,具有转录因子活性。 TP53 基因是迄今为止发现的与人类肿瘤相关性最高的基因。过去一直 把它当成一种癌基因，直至1989年才知道起癌基因作用的是突变的p53,后来证实野生型p53是一种 抑癌基因。

TP53 基因的表达产物p53蛋白由393个氨基酸残基构成，在体内以四聚体形式存在。 p53 蛋白

的 kkyx2018



**414** **第四篇** 医学生化专题

SSSSS TT

PP

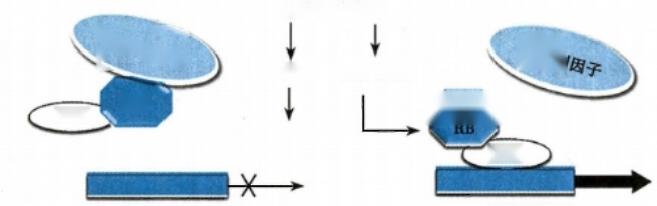
Sss

TSSTTT N-端

B C-端

RB蛋白

A



细胞增殖信号

输抑制

两酸化

E2F

基因组

细胞增殖相关基因开放

细胞增殖相关基因关闭

D/CDK4 A/E/CDK2

辅抑制因子

RB

E2F

细胞周期 **G/G,期** C₁/S期

R

G₁/S检查点

图22-2 RB 磷酸化与细胞周期控制

T:苏氨酸(Thr);S:丝氨酸(Ser);P:磷酸化修饰；D:周期蛋白D;A: 周期蛋白A;E)周 期蛋白E;E2F 蛋白与RB 蛋白的A 结构域和B 结构域结合

略kkyx2018

属于转录因子，包含有典型的转录激活结构域、DNA 结合结构域、寡聚结构域、富含脯氨酸区和核定 位序列等多个结构域或序列，这也是p53 发挥其生物学功能的分子结构基础。多数 TP53 基因突变都 发生在编码其 DNA 结合结构域的序列中。

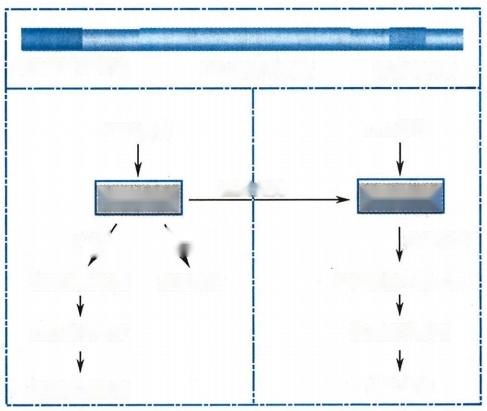
正常情况下，细胞中 p53 蛋白含量很低，因其半衰期只有20～30分钟，所以很难检测出来，但在 细胞增殖与生长时，可升高5～100倍以上。野生型p53 蛋白在维持细胞正常生长、抑制恶性增殖中 起着重要作用，因而被冠以“基因组卫士”称号。当细胞受电离辐射或化学试剂等作用导致DNA 损 伤 时 ，p53 表达水平迅速升高，同时p53 蛋白中包含的一些丝氨酸残基被磷酸化修饰而被活化。活化的 p53 从细胞质移位至细胞核内，调控大量下游靶基因的转录而发挥其生物学功能。例如，p53 的靶基 因之一p21 可阻止细胞通过G₁/S 期检查点，使其停滞于G₁ 期；另一靶基因GADD45 的产物是DNA 修

02记

复蛋白。这就使 DNA 受损的细胞不再分 裂，并且修复损伤以维持基因组的稳定 性。如果修复失败，p53 蛋白就会通过激 活一些靶基因如 BAX 的转录而启动细胞 凋亡，阻止有癌变倾向突变细胞的生成。 p53突变后，则DNA 损伤不能得到有效修 复并不断累积，导致基因组不稳定，进而 导致肿瘤发生(图22-3)。

**(** **三** **)** **PTEN** **主** **要** **通** **过** **抑** **制** **PI3K/** **AKT** **信号通路而发挥其抑癌功能**

PTEN 基因(phosphatase and tensin hom- olog deleted on chromosome ten gene,第10号 染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源基 因)是继TP53 基因后发现的另一个与肿 瘤发生关系密切的抑癌基因。人的 PTEN



寡聚结构域

DNA 损 伤

突变型p53

|  |  |
| --- | --- |
| p²1/ 细胞周期阻滞  DNA 损伤修复  细胞周期重启 | Bax  细胞凋亡 |

功能失活

DNA损伤不断累积

基因组不稳定

细胞癌变

**转录激活结构域** DNA 结合结构域

野生型p53

基因突变

DNA 损伤

图22-3 p53 的结构及其功能



**第二十二章** **癌基因和抑癌基因**

基因定位于10q23.3,共有9个外显子和8个内含子，编码5.15kb 的 mRNA,PTEN 蛋白由403个氨基

酸残基组成，分子量约为56kD。PTEN 主要包括3个结构功能域。

**1.N-** **端磷酸酶结构区** 由N-端1～185位氨基酸残基组成，第5外显子编码，与蛋白酪氨酸磷酸

酶及蛋白质丝/苏氨酸磷酸酶催化区的核心模体(HCXXGXGRXG) 同源，是PTEN 发挥肿瘤抑制活性

的主要功能区。 PTEN 的 N-端175个氨基酸序列可与整合素、酪氨酸激酶、黏着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)等形成复合物，共同参与细胞生长的调节。此外，PTEN 还能与肌动蛋白纤维细丝局部黏 附，在肿瘤浸润、转移、血管生成中也起一定作用。

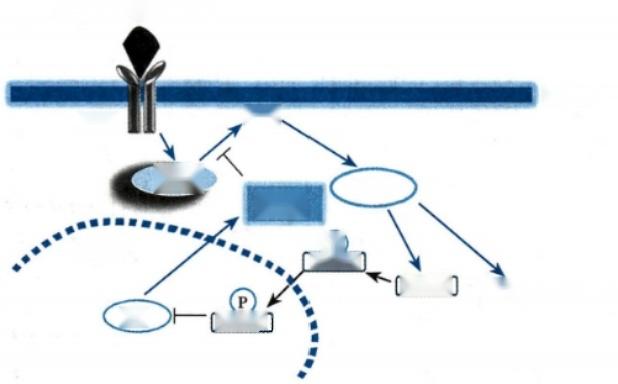
2.C2 区 由186～351位氨基酸残基构成，介导蛋白质与脂质的结合。 PTEN 通过C2 区结合于 膜磷脂，参与PTEN 在胞膜的有效定位和胞内细胞信号转导。与其他信号蛋白不同，这一结合过程不 需要Ca²\*参与。磷酸酶区和C2 区之间有广泛的相互作用界面，提示C2 区可能具有催化作用。已有 实验证实，对C2 区进行诱变，可导致PTEN 的肿瘤抑制活性降低。

**3.C-** **端区** 由羧基端的50个氨基酸残基组成，包括PDZ(PSD-95/Dlg/ZOI 同源区)结合序列 (Thr/Ser-X-Val-COOH)和 2 个PEST 序列(350～375,376～396),对于调节自身的稳定性和酶活性具 有重要作用。研究表明PEST 序列与蛋白质降解有关，PDZ 结合位点与细胞生长调控有关。 PDZ 区在 肿瘤的发生中也可以缺失突变，虽不影响磷酸酶功能，但对肿瘤细胞锚定非依赖性生长的抑制作用显 著降低。

PTEN 是迄今发现的第一个具有双特异(dual specificity)磷酸酶活性的抑癌基因，其编码产物 PTEN 具有磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸3-磷酸酶活性，催化水解磷脂酰肌醇-3,4,5-三磷酸(PIP₃) 的3- 磷酸成为PIP₂,而 PIP₃是胰岛素、表皮生长因子等细胞生长因子的信号转导分子，从而抑制PI3K/AKT 信号通路，起到负性调节细胞生长增殖的作用(图22-4)。PTEN 也能催化黏着斑激酶(focal adhesion kinase,FAK)的去磷酸化反应，而抑制由整联蛋白(integrin)介导的细胞铺展和迁移，因而PTEN 的失 活也与肿瘤细胞的转移密切相关。

415

(kkyx2018



**生长因子等细胞外信号**

**细胞膜**

受体 PIP₃.

AKT

PTEN

(P

MDM2

MDM2 细胞生长增殖等

p53 MDM2

细胞核

PI-3K

图22-4 PTEN 通过阻断PI3K/AKT 信号通路抑制细胞的生长增殖

**四、肿瘤发生发展涉及癌基因和抑癌基因的共同参与**

目前普遍认为肿瘤的发生、发展是多个原癌基因和抑癌基因突变累积的结果，经过起始、启动、促 进和癌变几个阶段逐步演化而产生。

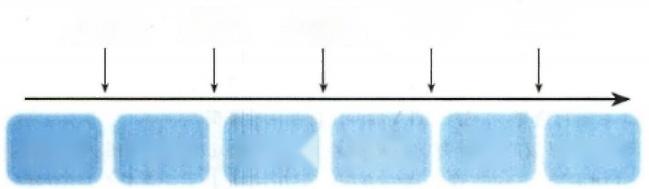
**(一)肿瘤发生发展涉及多种相关基因的改变**

在基因水平上，或通过外界致癌因素，或由于细胞内环境的恶化，突变基因数目增多，基因组变异 逐步扩大；在细胞水平上则要经过永生化、分化逆转、转化等多个阶段，细胞周期失控细胞的生长特性



**416** 第四篇 医学生化专题

逐步得到强化。结果是相关组织从增生、异型变、良性肿瘤、原位癌发展到浸润癌和转移癌。例如，结 肠癌的发生发展过程涉及数种基因的变化(图22-5):①上皮细胞过度增生阶段：涉及家族性腺瘤性 息肉基因FAP(familial adenomatous polyposis)、结肠癌突变基因MCC(mutated in colorectal carcinoma) 的突变或缺失；②早期腺瘤阶段：与 DNA 的低甲基化有关；③中期腺瘤阶段：涉及K-RAS 基因突变； ④晚期腺瘤阶段：涉及结肠癌缺失基因 DCC 的丢失；⑤腺癌阶段：涉及 TP53 基因缺失；⑥转移癌阶 段：涉及NM23(nonmetastatic protein 23)基因的突变、血管生长因子基因表达增高等。



**TP53丢失** 其他改变

**早期腺瘤** **中期腺瘤**

**晚期腺瘤** **(仍为良性)**

DCC 基因

**双拷贝丢失**

APC 基因 双拷贝失活

**正常结肠** **上皮细胞**

**K-RAS**

**基因突变**

**腺癌** **(恶性)**

**肿瘤转移**

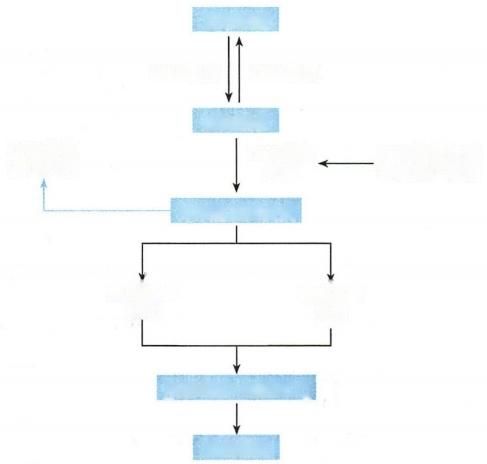
图22-5 从基因角度认识结肠癌的发生和发展

**(二)细胞周期和细胞凋亡的分子调控是肿瘤进展的关键**

**1.** **原癌基因和抑癌基因是调控细胞周期进程的重要基因** 细胞周期调控体现在细胞周期驱动y₂us

和细胞周期监控两个方面，后者的失控与肿瘤发生发展的关系最为密切。细胞周期监控机制由DNA 损伤感应机制、细胞生长停滞机制、DNA 修复机制和细胞命运决定机制等构成。细胞一旦发生 DNA 损伤或复制错误，将会启动DNA 损伤应激机制(见第十三章),经由各种信号转导途径使细胞停止生 长，修复损伤的DNA。 如 果DNA 损伤得到完全修复，细胞周期可进入下一个时相，正常完成一个细胞 分裂周期；倘若DNA 损伤修复失败，细胞凋亡机制将被启动，损伤细胞进入凋亡，从而避免DNA 损 伤 带到子代细胞，维持了组织细胞基因组的稳定性，避免肿瘤发生的潜在可能。

肿瘤细胞的最基本特征是细胞的失控性增殖，而失控性增殖的根本原因就是细胞周期调控机制 的破坏，包括驱动机制和监控机制的破坏。监控机制破坏可发生在损伤感应、生长停滞、DNA 修复和 凋亡机制的任何一个环节上，结果将导致细胞基因组不稳定，突变基因数量增加，这些突变的基因往 往就是癌基因和抑癌基因。同时，很大一

部分的原癌基因和抑癌基因又是细胞周期 **正常细胞**

调控机制的组成部分。因此，在肿瘤发展

过程中，监控机制的异常会使细胞周期调 **DNA** **损伤** **DNA** **修复**

控机制进一步恶化，并导致细胞周期驱动 **DNA** **损伤**

机制的破坏，细胞周期的驱动能力异常强 **DNA** **修复** **DNA** **修复** DNA 修复缺陷

化，细胞进入失控性生长状态，从而细胞出 **基因失活** **失败** 抑癌基因缺陷

现癌变性生长。 体细胞基因突变

**2.** **原癌基因和抑癌基因还是调控细**

**胞凋亡的重要基因** 细胞除了生长、增殖

和分化等之外，还存在细胞死亡现象，如程

原 瘤 基 因 抑癌基因

活 化 失活

序性细胞死亡或凋亡。有些抑癌基因的过

量表达可诱导细胞发生凋亡，而与细胞生

存相关的原癌基因的激活则可抑制凋亡， 细胞增殖>细胞死亡

细胞凋亡异常与肿瘤的发生发展密切相关

(图22-6)。现已明确，细胞凋亡在肿瘤发

肿瘤细胞

生、胚胎发育、免疫反应、肿瘤免疫逃逸、神 图22-6 促进正常细胞向肿瘤细胞转化的因素

笔记

**第二十二章癌基因和抑癌基因** 417

经系统发育、组织细胞代谢等过程中起重要作用。

值得注意的是，近年来的研究也发现， 一些非编码 RNA, 如 miRNA, 在肿瘤发生过程中也具有重 要作用。总之，肿瘤分子生物学的进展已经深刻地改变了人们对肿瘤发生和生命现象的认识，并使肿 瘤研究从以揭示肿瘤病因和寻找肿瘤治疗方法为目的的单项研究，转变为以研究整个生命现象和全 面揭示生命分子机制为目的的综合性系统研究。肿瘤分子生物学必将在整个生命医学研究中发挥越 来越重要的作用。



**小** **结**

癌基因是能导致细胞发生恶性转化和诱发癌症的基因。绝大多数癌基因是细胞内正常的原癌基 因突变或表达水平异常升高转变而来，某些病毒也携带癌基因。在物理、化学及生物因素的作用下， 从原癌基因转变为具有促进细胞恶性转化(癌变)的致癌基因的过程称为原癌基因活化。原癌基因 活化主要有基因突变、基因扩增、染色体易位、启动子或增强子获得等机制。生长因子是一类由细胞 分泌的、类似于激素的信号分子，主要为肽类或蛋白质类，通过受体跨膜信号转导途径调节细胞的生 长与分化，与多种生理及病理状态(如肿瘤、心血管疾病等)有关。不少生长因子已经应用于临床疾 病的治疗。原癌基因编码的蛋白质涉及生长因子信号转导的多个环节。抑癌基因，也称肿瘤抑制基 因，是防止或阻止癌症发生的基因，抑癌基因的部分或全部失活可显著增加癌症发生风险。抑癌基因 对细胞增殖起负性调控作用，包括抑制细胞增殖、调控细胞周期检查点、促进凋亡和参与DNA 损 伤 修 复等。抑癌基因的失活机制包括基因突变、杂合性丢失和启动子甲基化等。肿瘤的发生发展是多个 原癌基因和抑癌基因突变累积的结果，经过起始、启动、促进和癌变几个阶段逐步演化而产生。

Bkkyx2018

**思** **考** **题**

1.什么是癌基因?原癌基因的活化方式有哪些?

2. 什么是生长因子?简述原癌基因与生长因子信号转导的关系?

3. 什么是抑癌基因?抑癌基因的失活方式有哪些?

(卜友泉)



bakyx2018



**第五篇**

**医学分子生物学专题**

6kkyx2018

kkyx2018

本篇介绍几项与医学相关的重要分子生物学技术原理和作为目前研究热点的组学。包括 DNA 重组和重组DNA 技术、常用分子生物学技术、疾病相关基因检测、基因诊断和基因治疗以 及组学和医学，共五章。

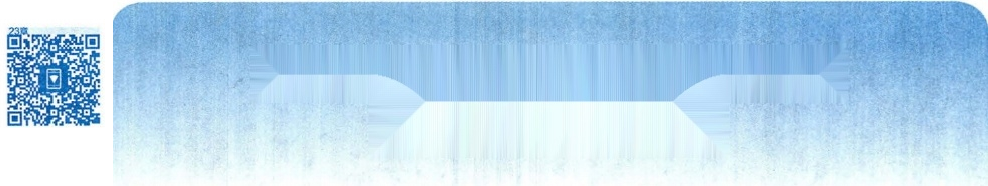
疾病和基因的关系始终是医学最为关注的问题。20世纪40年代，L.Pauling提出了“分子 病”的概念，1956年，V.Ingram 发现血红蛋白β链第六位的谷氨酸突变为缬氨酸是导致镰状细 胞贫血的原因，J. Lejeune发现Down 综合征是由于21号染色体三倍体异常所致，此后， 一系列 染色体疾病的病因得到解析。随着人类基因组计划的完成，新的DNA 标记的发现，使研究常 见病的遗传因素成为了可能。2005年，首次用全基因组关联分析(GWAS), 确定了老年性黄斑 变性的相关基因，此后， 一系列的常见多发疾病基因的 GWAS 研究，丰富了人们对常见疾病病 因和发病机制的认识，同时也为分子诊断、分子靶向干预提供了靶点。

疾病和基因关系的确定，依赖于分析基因结构和功能的方法。 F.Sanger分别在1958年和 1980年，建立了蛋白质氨基酸序列和DNA 核苷酸序列的测定技术，开启了对蛋白质和基因一 级结构的认识过程。1975,E.Southern建立了印迹技术，随后衍生出了多种定性和定量的印迹 技术、杂交技术和芯片技术等。1983年，E. Mullis建立了聚合酶链反应技术，解决了难以获得 大量特异目的DNA 的技术瓶颈。1972年，P. Berg获得了第一个重组DNA 分子，此后，分子克 隆技术得到了广泛的应用。

精准诊断、精准治疗和精准预防依赖于分子水平的诊治。1961年，R.Guthrie建立新生儿 苯丙酮尿症的诊断方法，由于早期的确定诊断，避免了苯丙氨酸摄入，使患儿可以健康成长。 1978年，华裔科学家简悦威(Kan YW)应用DNA 多态性的标记，成功地在产前诊断了镰状细胞 贫血，开启了基因诊断的先河。1990年，F.Anderson将正常腺苷脱氨酶(ADA) 基因，以逆转录 病毒为载体导入到患儿的淋巴细胞中，回输患儿，免疫功能得到持续的恢复，成为真正意义的 基因治疗。随着对基因治疗载体等深入了解，加之诸如以CRISPR/Cas9为代表基因编辑技术 的发展，人们对基因治疗寄予厚望。

(吕社民)





**第二十三章** **DNA** **重** **组** **和**

**重** **组** **DNA** **技** **术**

DNA 重 组(DNA recombination)是指DNA 分子内或分子间发生的遗传信息的重新共价组合过程，包 括同源重组、位点特异性重组和转座重组等类型，广泛存在于各类生物，构成了生物的基因变异、物种进 化或演变的遗传基础；体外通过人工DNA 重组可获得重组体DNA, 是基因工程中的关键步骤。重组DNA 技术(recombinant DNA technology)是指通过体外操作将不同来源的两个或两个以上 DNA 分子重新组合，并 在适当细胞中扩增形成新的功能分子的技术。重组DNA 技术可组合不同来源的 DNA 序列信息，从而创造 自然界以前可能从未存在过的遗传修饰生物体，为在分子水平上研究生物奥秘提供了可操作的活体模型。

**第一节** **自然界的** **DNA** **重组和基因转移**

**kkyx2018** kkyx2018

DNA 重组是两个或两个以上DNA 分子重新组合形成一个DNA 分子的过程；而自然界中的基因转移泛 指DNA 片段或基因在不同生物个体或细胞间的传递过程，其中通过繁殖使 DNA 或基因在亲代和子代间的 传递称作基因纵向转移，打破亲缘关系以直接接触、主动摄取或病毒感染等方式使基因在不同生物个体或 细胞间、细胞内不同细胞器间的传递称作基因横向(水平)转移。自然界不同物种或个体之间的DNA 重组 和基因转移是经常发生的，这增加了群体的遗传多样性，也通过优化组合积累了有意义的遗传信息。

DNA 重组和基因转移的方式有多种，包括同源重组、位点特异性重组、转座重组、接合、转化和转 导等，其中前三种方式在原核和真核细胞中均可发生，后三种方式通常发生在原核细胞。新近研究发现 细菌还有一种DNA 整合机制，称作成簇规律间隔短回文重复(clustered-regularly interspaced palindromic repeats,CRISPR)/Cas系统。

**一、同源重组是最基本的DNA** **重组方式**

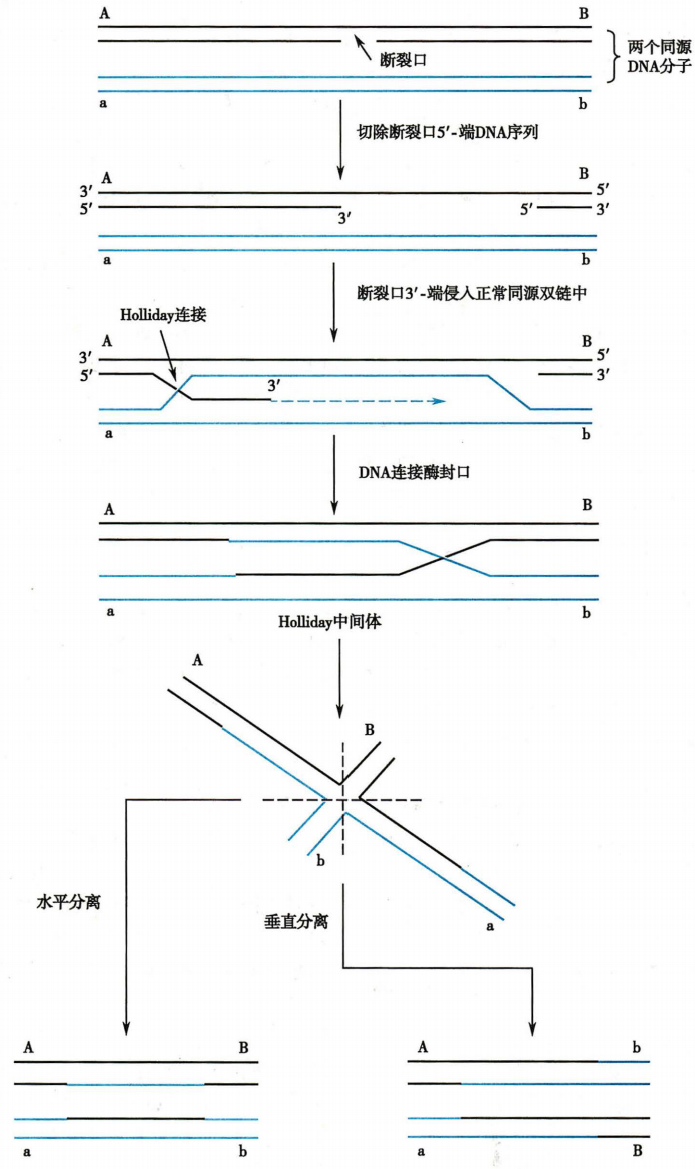
同源重组(homologous recombination)是指发生在两个相似或相同DNA 分子之间核苷酸序列互换 的过程，又称基本重组(general recombination)。 在哺乳动物配子发生的减数分裂过程中，同源重组可 产生DNA 序列的新重组，标示着后代的遗传变异；不同种属的细菌和病毒也在水平基因转移中用同 源重组互换遗传物质。具有同源序列的两条DNA 链通过断裂和再连接引起DNA 单链或双链片段的 交换。同源重组的缺陷与人类癌症高度相关，例如，两个相似的抑癌基因brcal和 brea2编码的蛋白质 BRCA1 和 BRCA2 与同源重组的发生有关，BRCA2 的功能是帮助同源重组的起始，缺乏brcal和 brca2 的细胞同源重组率减少，对电离辐射的敏感性增加，因此，缺乏brcal 和 brca2 的个体易于患乳腺癌和 卵巢癌等。利用同源重组的原理进行基因敲除或基因敲入(也称基因打靶),是将遗传改变引入靶生 物体的一种有效方式。为了便于读者理解基本的同源重组原理，下面主要介绍 Holliday模式的同源 重组，并以细菌的RecBCD 同源重组作为Holliday同源重组的例子。

**(** **一** **)** **Holliday模型是最经典的同源重组模式**

同源重组作为自然界最基本的DNA 重组方式，不需要特异DNA 序列，而是依赖两分子之间序列 的相同或相似性。 R.Holliday于1964年提出Holliday模型，对于认识同源重组起着十分重要的作用。 在这一模型中，同源重组主要经历四个关键步骤(图23-1):①两个同源染色体DNA 排列整齐；②一个 DNA 的一条链断裂，与另一个 DNA 对应链连接，在这个过程中形成了十字形结构，称作Holliday连 接 (Holliday junction);③通过分支移动(branch migration)产生异源双链 DNA(heteroduplex DNA),也 称

第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术 421

Holliday中间体(inter-mediate);④将 Holliday中间体切开并修复，形成两个双链重组体DNA。Holliday 中间体切开方式不同，所得到的重组产物也不同：如果切开的链与原来断裂的是同一条链，重组体含 有一段异源双链区，其两侧来自同一亲本DNA, 称为片段重组体(patch recombinant);如果切开的链并 非原来断裂的链，重组体异源双链区的两侧来自不同亲本DNA, 称为拼接重组体(splice recombinant)。



片段重组体 拼接重组体

图23-1 同源重组的Holliday 模型

6kkyx2018

的 kkyx2018



**422**



第五篇 医学分子生物学专题

**(** **二** **)** **RecBCD** **模式是大肠埃希菌的Holliday同源重组**

目前对大肠埃希菌(E. coli)的 DNA 同源重组分子机制了解最清楚。参与细菌DNA 同源重组的 酶有数十种，其中最关键的是RecA 蛋白、RecBCD 复合物和RuvC 蛋白。

**1.** **参与细菌RecBCD** **同源重组的酶** 细菌的RecBCD 同源重组由以下酶和酶复合物催化完成

(1)RecBCD 复合物：RecBCD 复合物具有三种酶活性，包括依赖ATP 的核酸外切酶活性、可被 ATP 增强的核酸内切酶活性和需要ATP 的解旋酶活性。 RecBCD 复合物利用ATP 水解提供能量，沿 着DNA 链运动，并以较快的速度将前方DNA 解旋；当遇到 Chi(因交换位点的DNA 结构类似于希腊 字母X 而得名)位点(5'-GCTGGTGG-3') 时，可在其下游切出3'-端的游离单链，从而使 DNA 重组成为 可能。

(2)RecA 蛋白：RecA 蛋白可结合单链DNA(ssDNA), 形成RecA-ssDNA 复合物。在有同源DNA 存在时，此复合物可与含同源序列的靶双链DNA 相互作用，并将结合的单链DNA 插入双链DNA 的 同源区，与互补链配对，而将同源链置换出来。

(3)RuvC 蛋白：RuvC 蛋白有核酸内切酶活性，能专一性识别 Holliday连接点，并有选择地切开同 源重组体的中间体。

2.E.coli 的 RecBCD 同源重组过程 E.coli的 RecBCD 同源重组过程如图23-2:RecBCD 复 合物识别双链断裂的断裂口平端或近似平端，然后向上游边移行边解链；当遇到 Chi位点时，在3'-

单链上切开产生单链切口；RecA 蛋白催化3'-单链DNA 对另一双链 DNA 的侵入，并与其中的一条x2018 链交叉，继而交叉分支移动，待相交的另一链在RecBCD 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，形成Holliday 中间体；此中间体再经RuvC 切割和DNA 连接酶的连接，最 后完成重组。

**二、** **位点特异性重组是发生在特异位点间的** **DNA** **整合**

位点特异性重组(site specific recombination)是指发生在至少拥有一定程度序列同源性片段间 DNA 链的互换过程，也称保守的位点特异性重组(conservative site-specific recombination)。 位点特异 性重组酶(site-specific recombinase,SSR)通过识别和结合DNA 短序列(位点)使DNA 片段发生重排。 该类重组广泛存在于各类细胞中，起着十分重要的作用，如某些基因表达的调节、发育过程中程序性 DNA 重排以及有些病毒和质粒DNA 复制循环过程中发生的整合和切除等。以下是位点特异性重组 的例子。

**(** **一** **)** **λ噬菌体DNA** **可与宿主染色体DNA** **发生整合**

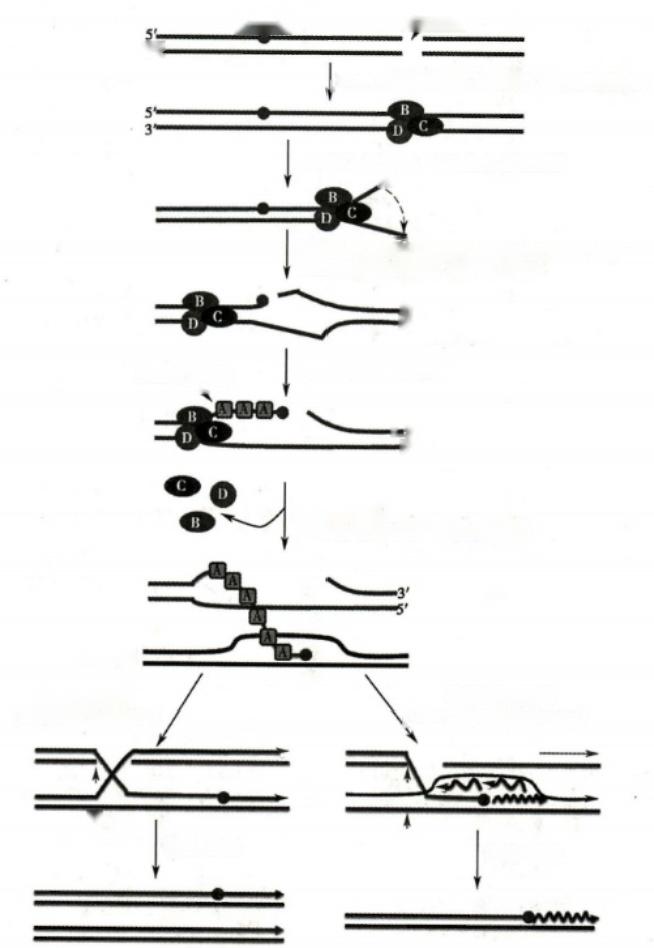
λ噬菌体DNA 的整合是在λ噬菌体的整合酶催化下完成的，是λ噬菌体 DNA 与宿主染色 体 DNA 特异靶位点之间的选择性整合(图23-3):λ噬菌体DNA 的重组位点att P与大肠埃希菌 基因组 DNA 的重组位点att B之间有15bp 核心序列相同，在整合酶(Int) 和整合宿主因子 (IHF) 作用下可发生整合，由Xis参与切除过程。通常这种由整合酶催化的 DNA 整合是十分特 异而有效的。逆转录病毒整合酶可特异地识别、整合逆转录病毒cDNA 的长末端重复序列(long terminal repeat,LTR)。

**(二)基因片段倒位是细菌位点特异性重组的一种方式**

以鼠伤寒沙门菌H 抗原编码基因中H 片段重组为例。鼠伤寒沙门菌的 H 抗原有两种，分别为 H1 和 H2 鞭毛蛋白。在单菌落的沙门菌中经常出现少数另一种含H 抗原的细菌，这种现象称为鞭毛 相转变。遗传分析表明，这种抗原相位的改变是由基因中一段995bp 的 H 片段发生倒位所致。如图 23-4所示，H 片段的两端为14bp 的特异性重组位点(hix),其方向相反，发生重组后可使H 片段倒位。 H 片段上有两个启动子(P), 其一驱动hin基因表达，另一个驱动H2 和 rHI 基因表达，倒位后H2 和



第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术 423

Chi位 点 3'一

双链断裂

RecBCD 结合到断裂口的断端(钝端或近似钝端)

RecBDC 向上滑行， DNA 解旋，双链打开

3'

解旋后的DNA 单链末端退火，单链区形成 “loop”

RecBDC 遇到Chi位点，在单链上切口

-3'

=5'

RecA 装载到3'-单链上

RecA 核蛋白丝

—3'

-5'

RecBCD 解离

3'-单链侵入同源染色体DNA 的双链

kkyx2018

Ckkyx2018

同源DNA

交互断端连接

(Reciprocal break-join)

非交互断端拷贝

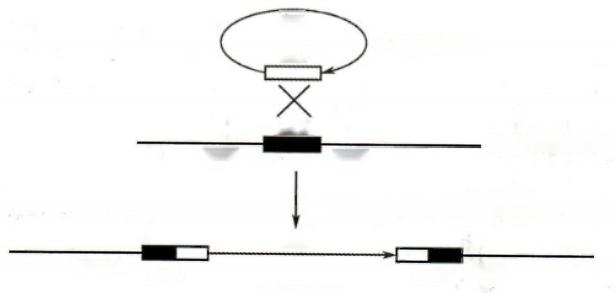
(Non-reciprocal break-copy)

.

切割，连接

切割，连接

图23-2 RecBCD 同源重组



C08

att P

E.coli染色体DNA

bio\*

λ -噬菌体DNA 整合到宿主染色体中

C08

gal+ att L ati\*

溶源噬菌体

λ-噬菌体DNA

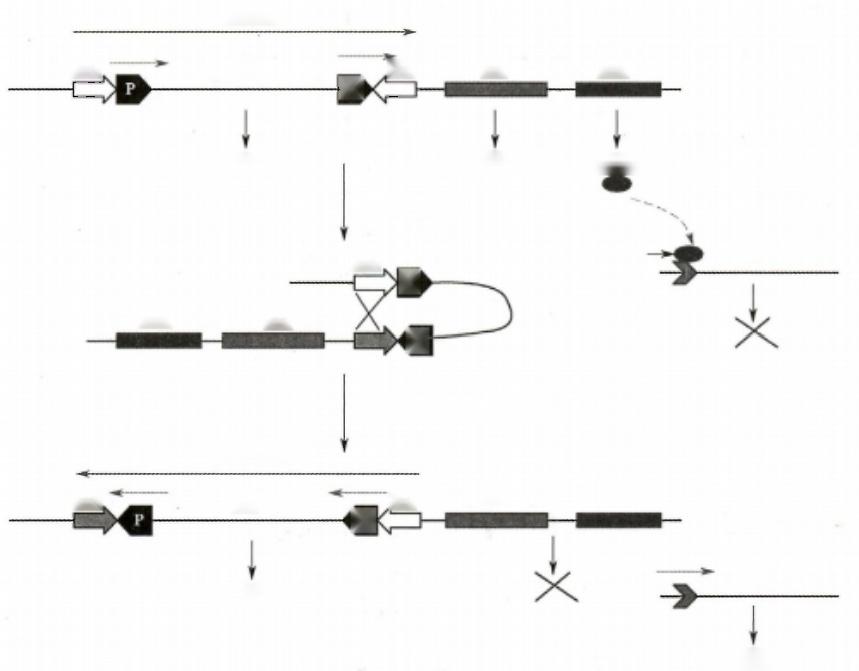
gal+

att B

图23-3 λ噬菌体DNA 与大肠埃希菌基因组DNA 的位点特异性重组



424 第五篇 医学分子生物学专题

H 片段

hix hin hix H2 rH1

P

Hin倒转酶

H2鞭毛蛋白

重组位点靠近

H1阻遏蛋白

H1

hix

P

rH1 H2

P

位点之间H片段发生倒转

H 片段倒转

hix,

hin

hix

P

H2

rH1

(<kkyx2018

kkyx2018

H1

**Hin** **倒** **转** **酶**

**H1鞭毛蛋白**

图23-4 沙门菌H 片段倒位决定鞭毛相转变

hix为14bp 的反向重复序列；rHl 为 H1 阻遏蛋白编码基因；P 代表启动子

rHI 基因不表达。 hin基因编码特异的重组酶，即倒转酶(invertase)Hin,该酶为同源二聚体，分别结合 在两个hix位点上，并由辅因子 Fis(factor for inversion stimulation)促 使DNA 弯曲而将两个hix位点连 接在一起，DNA 片段经断裂和再连接而发生倒位。 rHI 表达产物为 H1 阻遏蛋白，当H2 基因表达时， rHI 也表达，从而使HI 基因被阻遏；反之，H2 基因不表达时，rHI 也不表达，Hl 基因阻遏被解除。

**(三)免疫球蛋白基因以位点特异性重组发生重排**

免疫球蛋白编码基因V- (D)-J 重排及T 细胞受体基因V- (D)-J 重排都是利用位点特异性重组的原理。

**三、** **转座重组可使基因位移**

转座重组(transpositional recombination)或转座(transposition)是指由插入序列和转座子介导的基 因移位或重排。

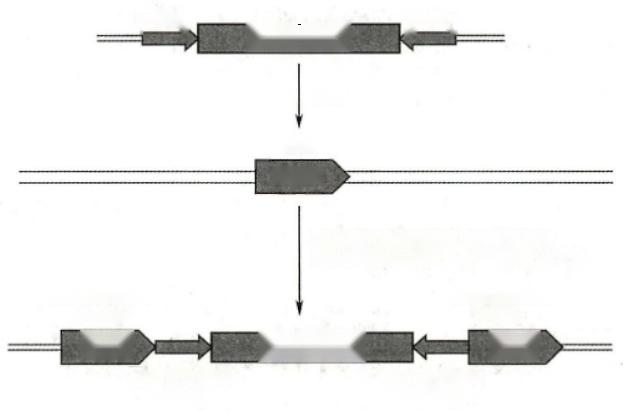
**(一)插入序列是最简单的转座元件**

插入序列(insertion sequence,IS)是指能在基因(组)内部或基因(组)间改变自身位置的一段 DNA 序列。通常是转座子的一种，只携带与自身转座有关的编码基因，具有独特的结构特征：两端是 反向重复序列(inverted repeat,IR),中间是一个转座酶(transposase)编码基因，后者的表达产物可引 起 IS 转座。典型的IS 两端各 一个9～41bp 的反向重复序列，反向重复序列侧翼连接有短的(4~ 12bp)、不同的IS所特有的正向重复序列。 IS 发生的转座有保守性转座(conservative transposition)和 复制性转座(duplicative transposition)两种形式，前者是IS从原位迁至新位(图23-5),后者是IS 复 制 后的一个复制本迁至新位。



第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术 425

插入序列：



9-41bp

转座酶基因

转座

靶点

TAGC

靶点序列复制后形成正向重复序列

插入序列插入到复制后的两个靶点之间

正向重复序列 4~12bg

转座酶基因 TAGC

反向重复序列

9~41bp

9-41bp

正向重复序列

4~12bp

TAGC

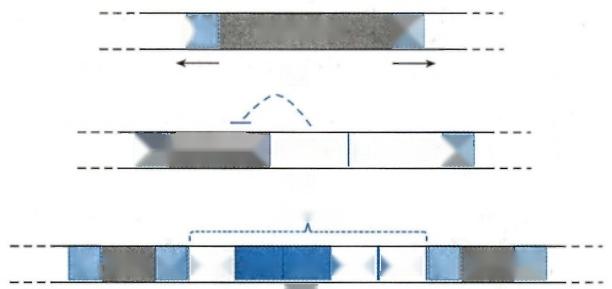
反向重复序列 9~41bp

图23-5 IS 的保守性转座

(二)转座子可以在染色体间转座

转座子(transposon,Tn)是指能将自身或其拷贝插入基因组新位置的DNA 序列， 一般属于复合型 kkyx2018

转座子(composite Tn),即有一个中心区域，两边侧翼序列是插入序列(IS), 除有与转座有关的编码基 因外，还携带其他基因如抗生素抗性基因等(图23-6)。Tn 普遍存在于原核和真核细胞中，不但可以 在一条染色体上移动，也可以从一条染色体跳到另一条染色体上，甚至从一个细胞进入另一个细胞。 Tn 在移动过程中，DNA 链经历断裂及再连接的过程，可能导致某些基因开启或关闭，引起插入突变、 新基因生成、染色体畸变及生物进化。

转座酶基因

IR

IR

(a)

IR 转座酶基因 阻遏蛋白 β-内酰胺酶 IR

(b)

Fef-R基因

IR IS10 IR jemA tetA tetR jemB jemC IR IS10IR

(c)

图23-6 细菌的可移动元件

(a)IS:转座酶编码基因两侧连接反向重复序列(IR);(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:有两个IS10,其中只有一个编码

有功能的转座酶；IS10之间有5个基因(简称Fef-R基因),其中位于Tn10 中间tetA

和tetR是四环素抗性基因，另外3个基因jemA、jemB和jemC 的功能尚不清楚

**四、原核细胞可通过接合、转化和转导进行基因转移或重组**

原核细胞(如细菌)可通过细胞间直接接触(接合作用)、细胞主动摄取(转化作用)或噬菌体传递 (转导作用)等方式进行基因转移或重组。

( 一 )接合作用是质粒 DNA 通过细胞间相互接触发生转移的现象

接合作用(conjugation)是指细菌的遗传物质在细菌细胞间通过细胞-细胞直接接触或细胞间桥样



**426** **第五篇** **医学分子生物学专题**

连接的转移过程。当细菌通过鞭毛相互接触时，质粒DNA 就可以从一个细菌转移至另一细菌，但并 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 因子决定细菌表面鞭毛的形成，当含有 F 因子的细菌(F\* 细菌)与没 有 F 因子的细菌(F~ 细菌)相遇时，在两细菌间形成性鞭毛连接桥，接着质粒双链 DNA 中的一条链会 被酶切割，产生单链切口，有切口的单链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。

**(二)转化作用是受体细胞自主摄取外源** **DNA** **并与之整合的现象**

转化作用(transformation)是指受体菌通过细胞膜直接从周围环境中摄取并掺入外源遗传物质引起自 身遗传改变的过程，受体菌必须处于敏化状态，这种敏化状态可以通过自然饥饿、生长密度或实验室诱导而 达到。例如，当溶菌时，裂解的DNA 片段作为外源DNA 被另一细菌(受体菌)摄取，受体菌通过重组机制将 外源 DNA 整合至其基因组上，从而获得新的遗传性状，这就是自然界发生的转化作用。然而，由于较大的 外源DNA 不易透过细胞膜，因此，自然界发生转化作用的效率并不高，染色体整合概率则更低。

**(三)转导作用是病毒将供体DNA** **带入受体并与之染色体发生整合的现象**

转导作用(transduction)是指由病毒或病毒载体介导外源DNA 进入靶细胞的过程。自然界中常 见的例子是噬菌体介导的转导，包括普遍性转导(generalized transduction)和特异性转导(specialized transduction),后者又称为限制性转导(restricted transduction)。

**1.** **普遍性转导的基本过程** 当噬菌体在供体菌内包装时，供体菌自身的DNA 片段被包装入噬

kkyx2018

菌体颗粒，随后细菌溶解，所释放出来的噬菌体通过感染受体菌而将所携带的供体菌DNA 片段转移

至受体菌中，进而重组于受体菌的染色体DNA 上 。

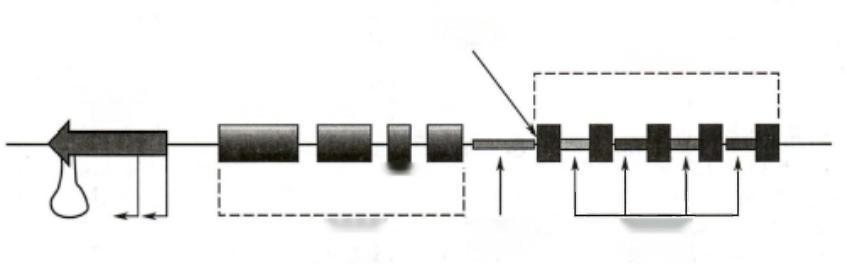
**2.** **特异性转导的基本过程** 当噬菌体感染供体菌后，噬菌体 DNA 以位点特异性重组机制整合 于供体菌染色体DNA 上；当整合的噬菌体DNA 从供体菌染色体DNA 上切离时，可携带位于整合位 点侧翼的DNA 片段，随后切离出来的噬菌体DNA 被包装入噬菌体衣壳中；供体菌裂解，所释放出来 的噬菌体感染受体菌，继而，携带有供体菌 DNA 片段的噬菌体DNA 整合于受体菌染色体DNA 的 特 异性位点上。这样，位于整合位点侧翼的供体菌DNA 片段重组至受体菌染色体DNA 上 。

**五、细菌可通过CRISPR/Cas** **系统从病毒获得DNA** **片段作为获得性免疫机制**

CRISPR/Cas 系统(CRISPR/Cas system)是原核生物的一种获得性免疫系统，用于抵抗存在于噬菌体 或质粒的外源遗传元件的入侵。关于细菌的CRISPR/Cas 系统的发现过程可参看数字扩展相关内容。

**(** **一)** **CRISPR** **序列的结构特征**

成簇规律间隔短回文重复(clustered regularly interspaced palindromic repeats,CRISPR)座 CRISPR loci)是指细菌基因组上成簇排列的、由来自噬菌体DNA 的间隔序列(spacer)和宿主菌基因组的重组 序列所形成的特殊重复序列-间隔序列阵列，与 Cas 基 因(CRISPR-associated gene,Cas gene)相邻(图 23-7)。CRISPR 存在于已测序的40%细菌基因组和90%古细菌(archaea)基因组中。



**重复序列**

(repeats)

**CRISPR** **座**

Cas9 Cas1 Csn2

Cas2

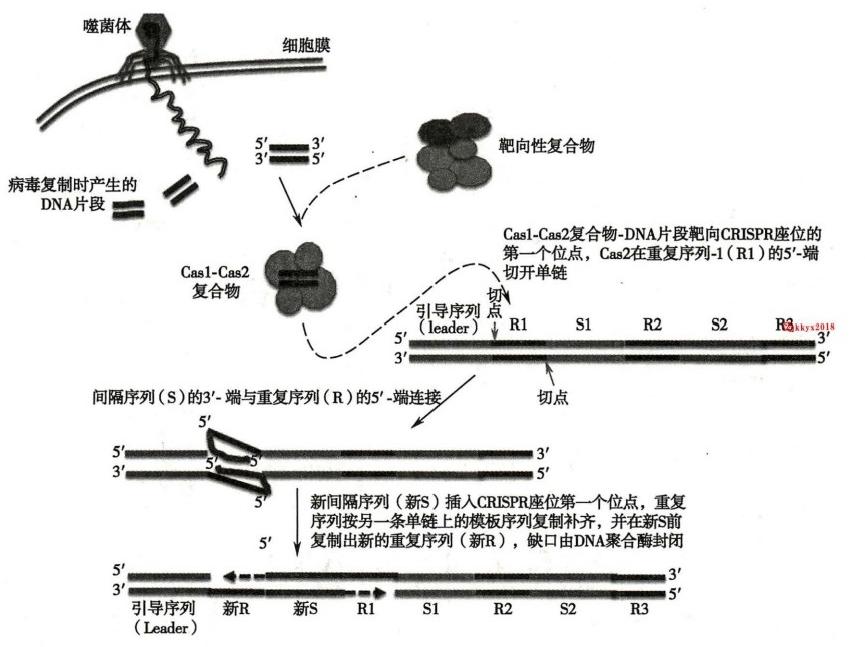
间隔序列 (spacers)

引导序列 (leader)

**tracr** **RNA** **基因**

Cas基因

图23-7 CRISPR 座结构特征



第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术

427

**(二)外源DNA** **可插入宿主基因组的CRISPR** **座**

以噬菌体感染为例。当噬菌体感染宿主菌后，噬菌体DNA 进入宿主细胞并复制，复制所产生的 DNA 片段可以被宿主细胞的Cas1-Cas2复合物捕获。然后，Cas1-Cas2复合物将所捕获的DNA 片段插 入到宿主基因组 CRISPR 座位的第一个位点，Cas1在此过程中协调切割-连接反应，即在重复序列5'- 端切开，然后与DNA 片段的3'-端连接(图23-8)。这种机制在跨越插入的DNA 片段两端的重复序列 上产生两个单链DNA 缺口，最后由DNA 聚合酶将缺口封闭。

(0kkyx2018

图 2 3 - 8 DNA 片段插入CRISPR 阵 列

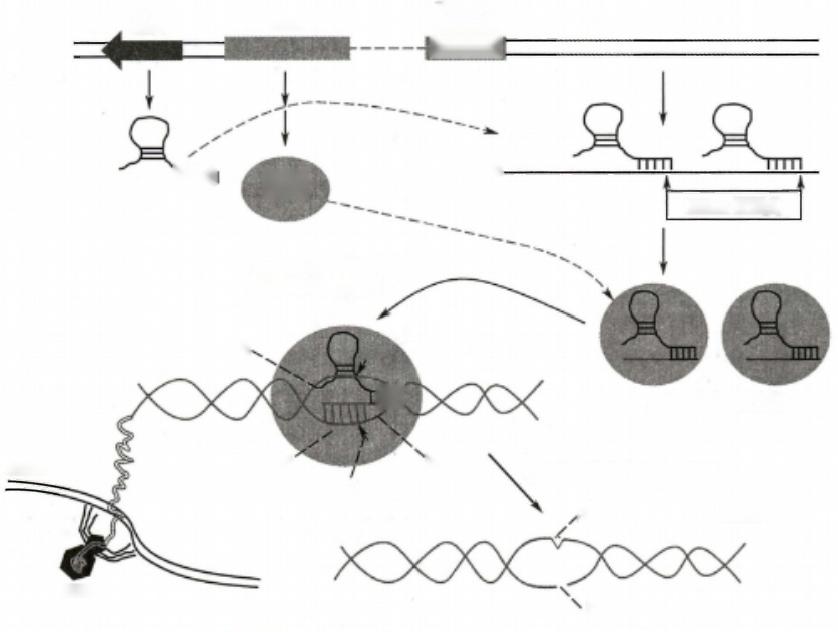
**(** **三** **)** **CRISPR/Cas** **系统是细菌的获得性免疫机制**

CRISPR/Cas系统是指由Cas基因编码的Cas蛋白催化CRISPR 形成，以及CRISPR 转录产物与 Cas蛋白相配合介导入侵DNA 切割的机制，并成为细菌抵抗病毒感染的一种获得性免疫机制。根据 Cas蛋白的功能可将其分为三型，即 I 型、Ⅱ型和Ⅲ型，其中Ⅱ型 CRISPR/Cas9 系统是目前应用最 多的。

以Ⅱ型CRISPR/Cas9系统为例介绍CRISPR/Cas 系统的工作原理(图23-9):Ⅱ型系统中由重复 序列及间隔序列(spacer)组成的CRISPR 座位经转录产生 CRISPR-RNA(crRNA) 前体(pre-crRNA)和 tracrRNA(trans-encoded crRNA);tracrRNA 与 pre-crRNA 的重复序列区互补配对产生局部双链RNA (dsRNA);RNaseⅢ 识别并切割 dsRNA 产生向导crRNA(guide crRNA,gcrRNA);宿主细胞表达的 Cas9核酸酶与gcrRNA 结合形成Cas9-crRNA复合物；当含有相同间隔序列的噬菌体或质粒再次入侵 时，Cas9-crRNA复合物与入侵DNA 上的原间隔序列(protospacer)互补配对形成由protospacer/crRNA 组成的R- 环双链结构，Cas9识别并切割 R-环，从而在入侵者的基因组上产生切口。 Cas9切割的靶序 列下游有一个紧邻原间隔序列基序(protospacer-adjacent motif,PAM),可能对于Cas9寻找靶序列有一 定作用。 CRISPR/Cas9系统是一种细菌防御病毒和质粒攻击的获得性免疫机制，目前已经被开发成 一种应用最多的高效率、低脱靶率的基因组编辑(genome editing)技术。



**428** 第五篇 医学分子生物学专题

引导序列

tracrRNA 基因

CRISPR 座

Cas9

(leader)

(Leader)

tracrRNA

Pre-crRNA

m tracrRNA

Cas9

RNase Ⅲ切点

gcrRNA-Cas9复合物靶向

入侵DNA 的靶序列

R-环，

ⅢL gerRNA-Cas9复合物

PAM

细胞膜

靶序列

经切割后的靶序列出现缺口

Cas9的切点

②kkyx2018

缺口

kkyx2018

缺口

**噬菌体**

CRISPR/Cas9 系统的获得性免疫机制

图23-9

**第二节** **重** **组** **DNA** **技** **术**

重组 DNA 技术又称分子克隆(molecular cloning)、DNA克 隆(DNA cloning)或基因工程(genetic engineering),是指通过体外操作将不同来源的两个或两个以上 DNA 分子重新组合，并在适当细胞中 扩增形成新功能DNA 分子的方法，其主要过程包括：在体外将目的DNA 片段与能自主复制的遗传元 件(又称载体)连接，形成重组DNA 分子，进而在受体细胞中复制、扩增及克隆化，从而获得单一DNA 分子的大量拷贝。在克隆目的基因后，还可针对该基因进行表达产物蛋白质或多肽的制备以及基因 结构的定向改造☑ 。自1972年成功构建第 一个重组 DNA 分子以来，重组 DNA 技术得到了快速发 展，人们几乎可以随心所欲地分离、分析、切割-连接等操作基因。另外，该技术在生物制药、基因诊 断、基因治疗等诸多方面都得到了广泛应用。

**一、重组DNA** **技术中常用的工具酶**

在重组DNA 技术中，常需要一些工具酶用于基因的操作。例如，对目的DNA(target DNA)进行处 理时，需利用序列特异性限制性核酸内切酶(restriction endonuclease,RE),RE 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 片段与载体共价连接。此外，还有一些工具酶也是重组DNA 时所必不可少的。

**(一)常用工具酶具有各自功能**

为了方便快速浏览重组DNA 技术中一些常用工具酶及其基本功能，我们将一些常用工具酶概括

于表23-1。在所有工具酶中，RE 具有特别重要的地位，因此，有关RE 的内容单独介绍。



**第二十三章** **DNA** **重组和重组DNA** **技术** 429

**表23-1** **重组** **DNA** **技术中常用的工具酶**

**功** **能**

**工具酶**

识别特异序列，切割DNA

RE

DNA连接酶 DNA聚合酶I Klenow片段 逆转录酶

多聚核苷酸激酶

末端转移酶

碱性磷酸酶

催化DNA中相邻的5'-磷酸基团和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分子或片段连接起来

具有5’→3'聚合、3'→5'外切及5'→3'外切活性，用于合成双链cDNA分子或片段连接 缺口平移法制作高比活性探针；DNA序列分析；填补3'末端

又名DNA聚合酶I大片段，具有完整DNA聚合酶I的5' → 3'聚合及3' → 5'外切活性， 但缺乏5'→3'外切活性。常用于cDNA第二链合成、双链DNA的3'-端标记等

是以RNA为模板的DNA聚合酶，用于合成cDNA,也用于替代DNA聚合酶I进行缺口 填补、标记或DNA序列分析等

催化多聚核苷酸5'-羟基末端磷酸化或标记探针等

在3'-羟基末端进行同质多聚物加尾

切除末端磷酸基团

**(二)限制性核酸内切酶是最重要的工具酶**

限制性核酸内切酶(RE) 简称为限制性内切酶或限制酶，是一类核酸内切酶，能识别双链 DNA 分 子内部的特异序列并裂解磷酸二酯键。除极少数 RE 来自绿藻外，绝大多数来自细菌，与相伴存在的 甲基化酶共同构成细菌的限制-修饰体系(restriction modification system),RE对甲基化的自身DNA 分 子不起作用，仅对外源 DNA 切割，因此对细菌遗传性状的稳定具有重要意义。

(kkyx2018

**1.RE** **的分类及其特点** 目前发现的 RE 有6000多种。根据 RE 的组成、所需因子及裂解 DNA 方式的不同可分为三种类型，即 I、Ⅱ和Ⅲ型。 I 型和Ⅲ型酶为复合功能酶，同时具有限制和DNA 修 饰两种作用，且不在所识别的位点切割DNA (即特异性不强);Ⅱ型酶能在DNA 双链内部的特异位点 识别并切割，故其被广泛用作“分子剪刀”,对DNA 进行精确切割。因此，重组DNA 技术中所说的RE 通常指Ⅱ型酶。

**2.RE** **的命名原则** RE 的命名采用Smith 和 Nathane 提出的属名与种名相结合的命名法，即第 一个字母是酶来源的细菌属名的首字母，用大写斜体；第二、三个字母是细菌菌种名的首字母，用小写 斜体；第四个字母(有时无)表示细菌的特定菌株，用大写或小写；罗马数字表示RE 在此菌种发现的 先后顺序。例如，EcoRI:E = Escherichia,埃希菌属；co = coli,大肠杆菌菌种；R = RY3,菌株名； I, 为从此菌中第一个分离获得的RE。

**3.RE** **识别及切割特异** **DNA** **序** **列** Ⅱ型 RE 的识别位点通常为6或4个碱基序列，个别的 RE 识别8或8个以上碱基序列。表23-2列举了部分Ⅱ型RE 的识别位点。大多数RE 的识别序列为回 文序列(palindrome)。 回文结构是指在两条核苷酸链的特定位点，从5' →3'方向的序列完全一致。例 如，EcoRI 的识别序列，在两条链上的5'→3'序列均为 GAATTC。

**表23-2** **Ⅱ型** **RE** **的识别位点举例**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **RE** | **识别位点** | RE | **识别位点** |
| Apa I | GGGCC'C  C'CCGGG | Sma I | CCC'GGG  GGG'CCC |
| BamH I | G'GATCC  CCTAG'G | Sau3AI | GATC'  CTAG |
| Pst I | CTGCA'G  G'ACGTC | Not I | GC'GGCCGC  CGCCGG'CG |
| EcoRI | G'AATTC  CTTAA'G | SfI | GGCCNNN'NGGCC CCGGN'NNNCCGG |

‘代表切割位点；N 代表任意碱基

xmeg



第五篇 医学分子生物学专题

430

4.RE 中的同尾酶 有些 RE 所识别的序列虽然不完全相同，但切割 DNA 双链后可产生相同的 单链末端(黏端),这样的酶彼此互称同尾酶(isocaudamner),所产生的相同黏端称为配伍末端 (compatible end)。 例如，BamHI(G'GATCC) 和BglⅡ(A'GATCT) 在切割不同序列后可产生相同 的5'黏端，即配伍末端(一GATC 一)。配伍末端可共价连接，但连接后的序列通常就不能再被两个同 尾酶中的任何一个酶识别和切割了。

**5.RE** **中的同裂酶** 有些RE 虽然来源不同，但能识别同一序列(切割位点可相同或不同),这样 的两种酶称同切点酶(isoschizomer)或异源同工酶。例如，BamHI 和 BstI 能识别并在相同位点切割 同一DNA 序列(G'GATCC);XmaI 和SmaI 虽能识别相同序列(GGGCCC), 但切割位点不同，前者的 切点在识别序列的第一个核苷酸后(G'GGCCC), 而后者的切点则在序列的中间(GGG'CCC)。 同切点 酶为DNA 操作者增加了酶的选择余地。

**二、重组** **DNA** **技术中常用的载体**

载体(vector)是为携带目的外源DNA 片段、实现外源DNA 在受体细胞中无性繁殖或表达蛋白质 所采用的一些DNA 分子，按其功能可分为克隆载体和表达载体两大类，有的载体兼有克隆和表达两 种功能。

**(一)克隆载体用于扩增克隆化DNA** **分子**

克隆载体(cloning vector)是指用于外源DNA 片段的克隆和在受体细胞中扩增的DNA 分子， 一般 应具备的基本特点：①至少有一个复制起点使载体能在宿主细胞中自主复制，并能使克隆的外源 DNA 片段得到同步扩增；②至少有一个选择标志(selection marker),从而区分含有载体和不含有载体 的细胞，如抗生素抗性基因、β-半乳糖苷酶基因(lacZ)、营养缺陷耐受基因等；③有适宜的 RE 单一切 点，可供外源基因插入载体。常用克隆载体主要有质粒、噬菌体DNA 等。

**1.** **质粒克隆载体** 质粒克隆载体是

重组DNA 技术中最常用的载体，可以是天

然质粒，更多是人工改造的质粒。质粒是

细菌染色体外的、能自主复制和稳定遗传

的双链环状DNA 分子，具备作为克隆载体

的基本特点 。例如，pUC18 质粒载体，

具有一个复制起点ori,一个选择标志——

氨苄青霉素抗性基因amp“,多个单一酶切

位点，也称多克隆酶切位点 (multiple

cloning sites,MCS)(图23-10)。

2. 噬菌体DNA 载体 λ和 M13 噬

图23-10 pUC18 质粒克隆载体图谱

菌体DNA 常用作克隆载体。稍早经λ噬

菌体DNA 改造的载体系统有λgt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 系列和pUC 系列，它们是在 M13 的基因间隔区插入了大肠埃希菌(E.coli)的一段调节基因及β-半乳糖苷酶(LacZ)N-端146个氨 基酸残基编码基因，其编码产物为β-半乳糖苷酶的α片段。突变的E.coli宿主(lac )仅表达该酶的 w 片段(酶的C-端)。单独存在β-半乳糖苷酶的α片段或w 片段都没有酶的活性，只有携带α片段基 因的M13 进入宿主细胞，宿主细胞才能同时表达α和w 片段，产生有活性的β-半乳糖苷酶，使特异性 底物变为蓝色化合物，这就是所谓的α互补(α complementation)。 当外源基因的插入位点设计在 LacZ基因内部时，外源基因的插入则会干扰LacZ 的表达，利用lacZ~菌株为宿主细胞，在含LacZ底物 X-gal和诱导剂IPTG 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



**第二十三章** **DNA** **重组和重组DNA** **技术** 431

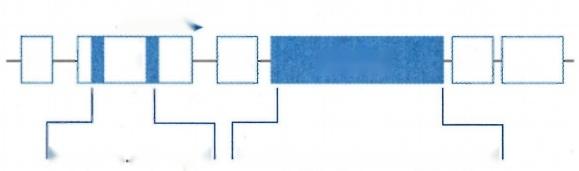
LacZ表达，转化菌在同样条件下呈蓝色菌落，这就是蓝白筛选。现在，很多质粒载体也构建了蓝白筛 选系统。

**3.** **其他克隆载体** 为增加克隆载体携带较长外源基因的能力，还设计有柯斯质粒(cosmid) 载 体(又称黏粒载体)、细菌人工染色体(bacterial artificial chromosome,BAC)载体和酵母人工染色体 (yeast artificial chromosome,YAC)载体等。柯斯质粒是人工构建的含 λDNA Cos序列和质粒复制子 的特殊类型质粒载体，自身分子量一般只有5～7kb,但能携带的外源 DNA 片段最大可达45kb。 BAC 是以大肠埃希菌性因子 F 质粒为基础构建的克隆载体，可携带的外源 DNA 片段在50～300kb 之间。 YAC 是含酵母染色体上必需的端粒、着丝点和复制起始序列的人工构建载体，能携带400kb 左右的DNA 片段。

**(二)表达载体能为外源基因提供表达元件**

表达载体(expression vector)是指用来在宿主细胞中表达外源基因的载体，依据其宿主细胞的不 同可分为原核表达载体(prokaryotic expression vector)和真核表达载体(eukaryotic expression vector),它 们的区别主要在于为外源基因提供的表达元件。利用表达载体提供的表达元件也可在体外建立无细 胞表达体系(cell-free expression system),根据表达载体上的表达元件决定提供原核细胞提取物或真核 细胞提取物，其基本工作原理相同于在细胞内。下面简介原核表达载体和真核表达载体的结构特点。

**1.** **原核表达载体** 该类载体用于在原核细胞中表达外源基因，由克隆载体发展而来，除了具有 克隆载体的基本特征外，还有供外源基因有效转录和翻译的原核表达调控序列，如启动子、核糖体结 合位点即SD 序列(Shine-Dalgarno sequence)、转录终止序列等。原核表达载体的基本组成如图"23-11 所示。目前应用最广泛的原核表达载体是E.coli表达载体。



转录方向，

R P SD **编码序列** TT amp²

TTGACA … …TATAAT ATG/GTG/TTG … …TAA/TGA/TAGI

-35区 -10区 起始密码子 终止密码子

图23-11 原核表达载体的基本框架

注：R:调节序列；P:启动子；SD:SD 序列；TT:转录终止序列；amp":氨苄青霉素

抗性基因

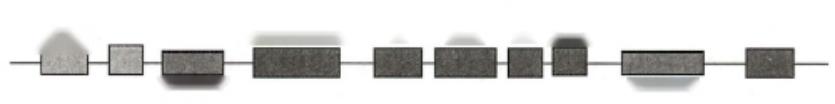
**2.** **真核表达载体** 该类载体用于在真核细胞中表达外源基因，也是由克隆载体发展而来的，除 了具备克隆载体的基本特征外，所提供给外源基因的表达元件是来自真核细胞的。质粒真核表达载 体一般具备的特点包括：①含有必不可少的原核序列，如复制起点、抗生素抗性基因、多克隆酶切位点 (MCS) 等，用于真核表达载体在细菌中复制及阳性克隆的筛选；②真核表达调控元件，如真核启动子、 增强子、转录终止序列、poly(A)加尾信号等；③真核细胞复制起始序列，用于载体或基因表达框架在 真核细胞中的复制；④真核细胞药物抗性基因，用于载体在真核细胞中的阳性筛选☑ 。图23-12显示 的是真核表达载体的基本组成。根据真核宿主细胞的不同，真核表达载体可分为酵母表达载体、昆虫 表达载体和哺乳类细胞表达载体等。

**三、** **重** **组** **DNA** **技术的基本原理及操作步骤**

完整DNA 克隆过程包括五大步骤(图23-13):①目的 DNA 的分离获取(分);②载体的选择与准 备(选);③目的DNA 与载体的连接(连);④重组DNA 转入受体细胞(转);⑤重组体的筛选及鉴定 (筛)。



**432** **第五篇** **医学分子生物学专题**



**真核选择标记** P **MCS** **TT** **polyT**

**整合序列**

ori\*t

**整合序列**

原核选 择标记

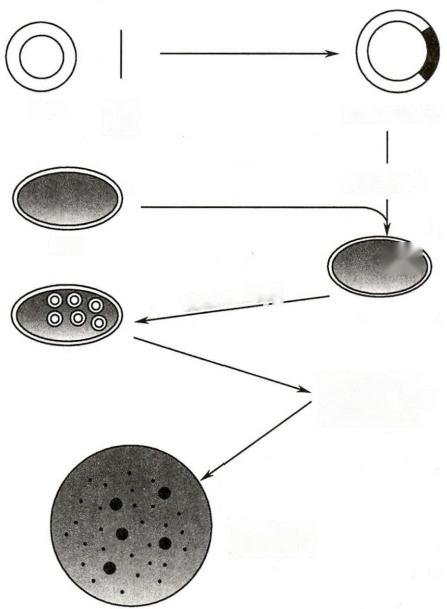
ori”

**图23-12** **真核表达载体的基本组成**

注：ori”:原核复制起始序列；P:启动子；MCS: 多克隆位点；TT:转录终止序列；ori“:真核复制起始序列。注意 不是所有真核表达载体都有整合序列

**(** **一** **)** **目** **的** **DNA** **的分离获取是** **DNA** **克**

**隆的第一步**

+

分离获取目的 DNA 的方法主要有以下几种：

载体 外源 重组DNA分子 **1.** **化学合成法** 该方法可直接合成目的

DNA DNA 片段，通常用于小分子肽类基因的合成，

其前提是已知某基因的核苷酸序列，或能根据

转化或转染

氨基酸序列推导出相应核苷酸序列。 一般先合

成两条完全互补的单链，经退火形成双链，然后

细菌

◎ 克隆于载体。

重组DNA 增 殖 **2.** **从基因组文库和** **cDNA** **文库中获取目**

B的kkyx2018

的 DNA 关于两种文库的构建和从文库中筛

选目的DNA/cDNA 的方法已经基本商业化了，

细菌在培养液

中繁殖后，在固 可以根据具体需求从公司订购。

**3.PCR** **法** PCR 是一种高效特异的体外 扩增 DNA 的方法(见第二十四章) 。 使 用 PCR 法的前提是：已知待扩增目的基因或 DNA

体培养基生长

筛选含重组 片段两端的序列，并根据该序列合成适当引物。

质粒的细菌 **4.** **其他方法** 除上述方法外，也可采用酵

母单杂交系统克隆DNA 结合蛋白的编码基因，

或用酵母双杂交系统克隆特异性相互作用蛋白

质的编码基因。

图23-13 以质粒为载体的DNA 克隆过程

(二)载体的选择与准备是根据目的DNA 片段决定的

进行DNA 克隆的目的主要有二： 一是获取目的DNA 片段，二是获取目的 DNA 片段所编码的蛋 白质。针对第一种目的，通常选用克隆载体；针对第二种目的，需选择表达载体。另外，选择载体时还 要考虑目的DNA 的大小、受体细胞的种类和来源等因素(表23-3)。除了上述需要考虑的因素外，选 择载体时还需要注意载体内应有适宜的单一酶切位点或 MCS, 以便根据目的DNA 片段，对载体进行 适当的酶切处理。总之，在重组DNA 技术中，载体的选择、准备和改进极富技术性，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。

**表23-3不同载体的克隆容量及适宜宿主细胞**

**插入DNA片段的适宜长度**

**载体**

**宿主细胞**

细菌，酵母 细菌

细菌

细菌

酵母

<5～10kb

质粒

λ噬菌体DNA载体

黏粒

BAC

YAC

~20kb

~50kb

~400kb

~3Mb

注：BAC:bacterial artificial chromosome,细菌人工染色体；YAC:yeast artificial chromosome,酵母人工染色体



第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术

433

**(三)目的DNA** **与载体连接形成重组DNA**

依据目的DNA 和线性化载体末端的特点，可采用不同的连接策略☑ 。主要连接策略如下：

1. 黏端连接 依靠酶切后的黏性末端进行连接，不仅连接效率高，也具有方向性和准确性。根 据酶切策略不同可有以下几种黏端连接策略：

(1)单一相同黏端连接：如果目的DNA 序列两端和线性化载体两端为同一 RE (或同切点酶，或 同尾酶)切割所致，那么所产生的黏端完全相同。这种单一相同黏端连接时会有三种连接结果：载体 自连(载体自身环化)、载体与目的DNA 连接和DNA 片段自连。可见，这种连接的缺点是：容易出现 载体自身环化、目的DNA 可以双向插入载体(即正向和反向插入)及多拷贝连接现象，从而给后续筛 选增加了困难。采用碱性磷酸酶预处理线性化载体 DNA, 使之去磷酸化，可有效减少载体自身环化。 目的DNA 如果反向插入载体，虽然不影响基因克隆，但却影响外源基因的表达。

(2)不同黏端连接：如果用两种不同的RE 分别切割载体和目的 DNA, 则可使载体和目的 DNA 的两端均形成两个不同的黏端，这样可以让外源DNA 定向插入载体。这种使目的基因按 特定方向插入载体的克隆方法称为定向克隆(directed cloning)。 当然，定向克隆也可通过一端 为平端，另一端为黏端的连接方法来实现。定向克隆可有效避免载体自连和DNA 片段的反向 插入和多拷贝现象。

(3)通过其他措施产生黏端的连接：常用的在末端为平端的目的DNA 片段制造黏端的方法有： ① 人工接头法：用化学合成法获得含RE 位点的平端双链寡核苷酸接头(adaptor 或 linker), 将此接头 连接在目的DNA 的平端上，然后用相同的RE 切割人工接头产生黏端，进而连接到载体上。②加同聚 物尾法：用末端转移酶将某一核苷酸(如dC)逐一加到目的DNA 的3'-端羟基上，形成同聚物尾(如同 聚dC 尾);同时又将与之互补的另一核苷酸(如dG) 加到载体DNA 的3'-端羟基上，形成与目的DNA 末端互补的同聚物尾(如同聚dG 尾)。两个互补的同聚物尾均为黏端，因而可高效率地连接到一起。 ③ PCR 法：针对目的DNA 的5'-端和3'-端设计一对特异引物，在每条引物的5'-端分别加上不同的RE 位点，然后以目的DNA 为模板，经PCR 扩增便可得到带有引物序列的目的DNA, 再用相应 RE 切割 PCR 产物，产生黏端，随后便可与带有相同黏端的线性化载体进行有效连接。另外，在使用Taq DNA 聚合酶进行PCR 时，扩增产物的3'-端一般多出一个不配对的腺苷酸残基(A) 而成为黏端，这样的 PCR 产物可直接与3'-端带不配对的胸腺嘧啶残基(T) 的线性化载体(T 载体)连接，此即T-A 克隆。

**2.** **平端连接** 若目的DNA两端和线性化载体两端均为平端，则两者之间也可在DNA 连接酶的 作用下进行连接，其连接结果有三种：载体自连、载体与目的DNA 连接和DNA 片段自连，但连接效率 都较低。为了提高连接效率，可采用提高连接酶用量、延长连接时间、降低反应温度、增加DNA 片段 与载体的摩尔比等措施。平端连接同样存在载体自身环化、目的 DNA 双向插入和多拷贝现象等 缺点。

**3.** **黏-平端连接** 黏-平末端连接是指目的DNA和载体通过一端为黏端、另一端为平端的方式进 行连接。以该方式连接时，目的DNA 被定向插入载体(定向克隆),连接效率介于黏端和平端连接之

间。可采用提高平端连接效率的措施提高该方式的连接效率。

**(四)重组DNA** **转入受体细胞使其得以扩增**

重组 DNA 转入宿主细胞后才能得到扩增。理想的宿主细胞通常是 DNA/ 蛋白质降解系统 和(或)重组酶缺陷株，这样的宿主细胞称为工程细胞。工程细胞具有较强的接纳外源DNA 的 能力，可保证外源DNA 长期、稳定地遗传或表达。将重组 DNA 导入宿主细胞的常用方法有如 下几种：

**1.** **转化** 转化(transformation)是指将外源 DNA 直接导入细菌、真菌的过程，例如，重组质粒导入 大肠埃希菌。然而，只有细胞膜通透性增加的细菌才容易接受外源DNA, 这样的细菌称作感受态细 胞(competent cells)。实现转化的方法包括化学诱导法(如氯化钙法)、电穿孔(electroporation)法等。 此外，将质粒DNA 直接导入酵母细胞以及将黏粒DNA 导入细菌的过程也称作转化。

**434**



**第五篇** **医学分子生物学专题**

2. 转染 转染(transfection)是指将外源DNA 直接导入真核细胞(酵母除外)的过程。常用的转 染方法包括化学方法(如磷酸钙共沉淀法、脂质体融合法等)和物理方法(如显微注射法、电穿孔法 等)。此外，将噬菌体DNA 直接导入受体细菌的过程也称作转染。

**3.** **感染** 感 染(infection) 是指以病毒颗粒作为外源 DNA 运载体导入宿主细胞的过程。例如，以 噬菌体、逆转录病毒、腺病毒等DNA 作为载体构建的重组 DNA 分子，经包装形成病毒颗粒后进入宿 主细胞。

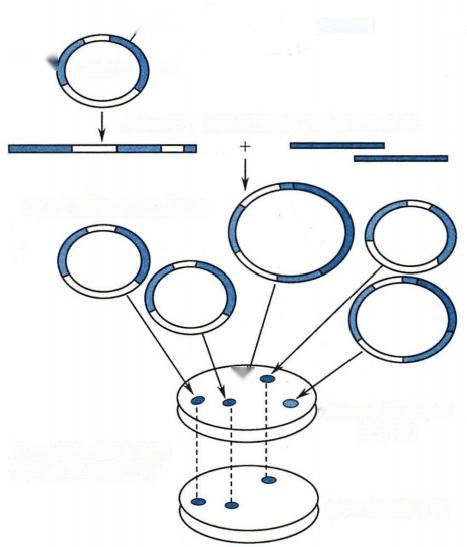
**(五)重组体的筛选与鉴定**

重组DNA 分子导入宿主细胞后，可通过载体携带的选择标记或目的DNA 片段的序列特征进行 筛选和鉴定，从而获得含重组DNA 分子的宿主细胞。筛选和鉴定方法主要有遗传标志筛选法、序列 特异性筛选法、亲和筛选法等。

**1.** **借助载体上的遗传标志进行筛选** 载体上通常携带可供重组体筛选的遗传标志，如抗生素抗 性基因等，据此可对含重组DNA 的宿主细胞进行筛选。

(1)利用抗生素抗性标志筛选：将含有某种抗生素抗性基因的重组载体转化宿主细胞，然 后在含相应抗生素的培养液中培养此细胞，若细胞能在这种条件下生长，则说明细胞中至少应 含有导入的载体，但是否是插入目的 DNA 的载体，还需要进一步鉴定。若细胞中没有载体，则 被抗生素杀死。

(2)利用基因的插入失活/插入表达特性

筛选：针对某些带有抗生素抗性基因的载体， BamH I kkyx2018 @kkyx2018

当目的 DNA 插入抗性基因后，可使该抗性基 p pBR322 tetR

因失活。如果还以这种抗生素抗性进行筛选，

不能生长的细胞应该是含重组 DNA 的细胞。 用BamHI 分别切割载体和外源DNA 片段

以这种方式筛选时，通常载体上携带一个以上

筛选标志基因。例如 pBR322 质粒含有氨苄

青霉素抗性基因(amp^) 和四环素抗性基因

DNA连接酶催化连接反应

(tet"),如将目的DNA 插入tet²中 ，tet²失活，含

重组DNA 的细胞只能在含氨苄青霉素的培养

基中生长，而不能在含四环素的培养基中生长

(图23-14)。

(3)利用标志补救筛选：标志补救 2

(marker rescue)是指当载体上的标志基因在 含Amp的琼脂平板

宿主细胞中表达时，宿主细胞通过与标志基因 用amp²和tet"标志筛选 (主平板)

表达产物互补弥补自身的相应缺陷，从而在相 含外源DNA的重组子

应选择培养基中存活。利用该策略可初步筛 含Tet的琼脂平板

选含有载体的宿主细胞。例如，S. cerevisiae酵

母菌株，因trpl基因突变而不能在缺少色氨酸 图23-14 插入失活筛选含重组载体的宿主细胞

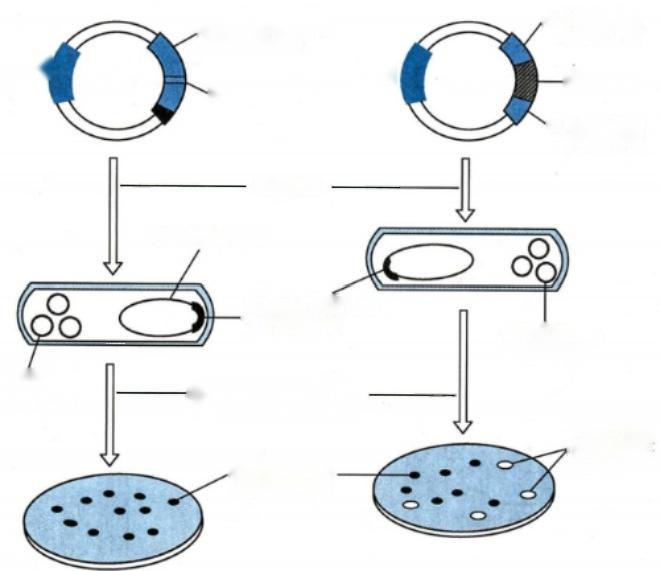
的培养基上生长，当转入带有功能性trpl基 因

的重组载体后，转化菌则能在色氨酸缺陷的培养基上生长。标志补救也可用于外源基因导入哺乳类 细胞后阳性克隆的初筛，例如，当将带有二氢叶酸还原酶(DHFR) 基 因(dhfr)的真核表达载体导入 dhfr缺陷的哺乳类细胞后，则可使细胞在无胸腺嘧啶的培养基中存活，从而筛选出带有载体的克隆 (DHFR 可催化二氢叶酸还原成四氢叶酸，后者可用于合成胸腺嘧啶)。

利用α互补筛选携带重组质粒的细菌也是一种标志补救筛选方法。关于α互补原理在本节“重 组 DNA 技术中常用载体”部分已有介绍，在此仅以图23-15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。



第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术 435

amp²

β-半乳糖苷酶α片 段的编码序列

载体

MCS

导入细菌

细菌染色体DNA

amp²

载体

α片段的编码

序列被分割

外源DNA

α片段的编码

序列被分割

空载体

编码β-半乳糖苷酶

w片段的序列

细菌在含X-gal和诱导剂

IPTG的琼脂平板上培养

含空载体的蓝

色菌落或噬斑

含有外源DNA

的重组载体

含重组载体

的白色菌落

或噬斑

kkyx2018

Okkyx2018

图23-15 α互补筛选(蓝白筛选)

(4)利用噬菌体的包装特性进行筛选：λ噬菌体的一个重要遗传特性就是其在包装时对 λDNA 大小有严格要求，只有当 λDNA 的长度达到其野生型长度的75%～105%时，方能包装形成有活性的 噬菌体颗粒，进而在培养基上生长时呈现清晰的噬斑，而不含外源DNA 的单一噬菌体载体DNA 因其 长度太小而不能被包装成有活性的噬菌体颗粒，故不能感染细菌形成噬斑。根据此原理可初步筛出 带有重组λ噬菌体载体的克隆。

**2.** **序列特异性筛选** 根据序列特异性筛选的方法包括RE 酶切法、PCR 法、核酸杂交法、DNA测 序法等。

(1)RE 酶切法：针对初筛为阳性的克隆，提取其重组DNA, 以合适的 RE 进行酶切消化，经琼脂 糖凝胶电泳便可判断有无目的DNA 片段的插入及插入片段的大小。同时，根据酶切位点在插入片段 内部的不对称分布，还可鉴定插入DNA 片段在载体上的方向；也可用多种RE 制作并分析插入片段的 酶切图谱。

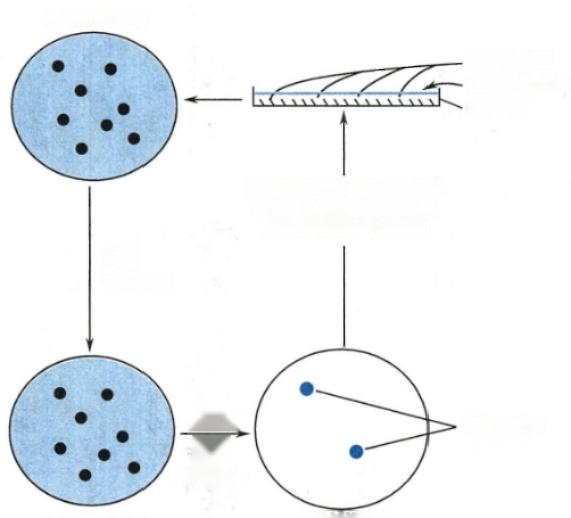
(2)PCR 法：利用序列特异性引物，经PCR 扩增，可鉴定出含有目的DNA 的阳性克隆。如果利用 克隆位点两侧载体序列设计引物进行PCR 扩增，再结合序列分析，便能可靠地证实插入片段的方向、 序列和可读框的正确性。

(3)核酸杂交法：该方法可直接筛选和鉴定含有目的DNA 的克隆。常用方法是菌落或噬 斑原位杂交法，其基本过程如图23-16所示：将转有外源 DNA 的菌落或噬斑影印到硝酸纤维 素膜上，细菌裂解后所释放出的DNA 将被吸附在膜上，将膜与标记的核酸探针杂交，通过检 测探针的存在即可鉴定出含有重组 DNA 的克隆。根据核酸探针标记物的不同，可通过放射 自显影、化学发光、酶作用于底物显色等方法来显示探针的存在位置，也就是阳性克隆存在的 位置。

(4)DNA 测序法：该法是最准确的鉴定目的DNA 的方法。针对已知序列，通过DNA 测序可明确 具体序列和可读框的正确性；针对未知DNA 片段，可揭示其序列，为进一步研究提供依据。



**436** **第五篇** **医学分子生物学专题**



**硝酸纤维素膜**

菌落或噬斑

硝酸纤维素膜 琼脂平板

依据硝酸纤维素膜上的阳性

斑点，在琼脂平板上挑出

对应的阳性菌落或噬斑

带标记

的探针

杂交

漂洗

曝光/显色

硝酸纤维素膜

溶菌

中和

DNA 固定

探针杂交阳 性的斑点

硝酸纤维素膜

语kkyx2018

Akkyx2018

图23-16 菌落或噬斑核酸原位杂交筛选重组体

3. 亲和筛选法 亲和筛选法的前提是重组DNA 进入宿主细胞后能够表达出其编码产物。常用 的亲和筛选法的原理是基于抗原-抗体反应或配体-受体反应。 一般做法与上述菌落或噬斑核酸原位 杂交相似，只是被检测的靶分子换成吸附于硝酸纤维素膜上的蛋白质，检测探针换成标记的抗体/抗 原或配体/受体。

**(六)克隆基因的表达**

采用重组DNA 技术还可进行目的基因的表达，实现生命科学研究、医药或商业目的，这是基因工 程的最终目标。基因表达涉及正确的基因转录、mRNA 翻译、适当的转录后及翻译后的加工过程，这 些过程对于不同的表达体系是不同的。克隆目的基因，进而大量地表达出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，这就是重组蛋白质表达。在蛋白质表达领域，表达体系的建立 包括表达载体的构建、宿主细胞的建立及表达产物的分离、纯化等技术和策略。基因工程中的表达系 统包括原核和真核表达体系。

**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曰 。

(1)原核表达载体的必备条件：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E.coli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，如核糖体结合位点和翻译起始点等；④含有合理设 计的MCS, 以确保目的基因按一定方向与载体正确连接。关于原核表达载体的基本组成见图23-11。

(2)重组蛋白质的表达策略：在实际工作中，蛋白质表达策略颇不一致。有时表达目的是为了获 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。较好的策略是为目的基因连上一个编码标签肽的序列，从而表达为融合蛋白(fusion protein)。 在有些情况下，表达的蛋白质多为不溶性的包含体(inclusion body),极易与细菌蛋白质分 离。如果在设计融合基因时，在目的基因和标签序列之间加入适当的裂解位点，则很容易从表达的融 合分子中去除标签序列。巧妙地设计标签序列还可大大方便表达产物的分离纯化。如果表达的蛋白 质是为了用于生物化学、细胞生物学研究或临床诊断或基因防治，除分离纯化方便，更重要的是考虑

4记



第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术

**437**

蛋白质的功能和生物学活性。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 含体形式，还需要在分离纯化后进行复性或折叠。

(3)E.coli 表达体系的缺点：E.coli表达体系在实际应用中尚存在一些不足之处，诸如：①由于缺 乏转录后加工机制，对于真核基因来说，E.coli表达体系只能表达经逆转录合成的cDNA 编码产物，不 宜表达从基因组 DNA 上扩增的基因；②由于缺乏适当的翻译后加工机制，真核基因的表达产物在 E.coli表达体系中往往不能被正确的折叠或糖基化修饰；③表达的蛋白质常常形成不溶性包含体，欲 使其具有活性尚需进行复杂的变性-复性处理；④很难用E.coli表达体系表达大量的可溶性蛋白质。

**2.** **真核表达体系** 真核表达体系除与原核表达体系有相似之处外， 一般还常有自己的特点。真 核表达载体通常含有供真核细胞用的选择标记、启动子、转录和翻译终止信号、mRNA 的 poly(A) 加尾 信号或染色体整合位点等。关于真核表达载体的基本组成见图23-12。

真核表达体系有酵母、昆虫、哺乳类细胞等，不仅可以表达克隆的cDNA, 也可表达从真核基因组 DNA 扩增的基因。哺乳类细胞表达的蛋白质通常总是被适当的修饰，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。因此，采用真核表达体系的优势是：①具有转录后加工机制；②具有翻 译后修饰机制；③表达的蛋白质不形成包含体(酵母除外);④表达的蛋白质不易被降解。当然，操作 技术难、费时、费钱是其缺点。

**第三节** **重组** **DNA** **技术在医学中的应用** 论 lkyx201

C@kkyx2018

目前，重组DNA 技术已广泛应用于生命科学和医学研究、疾病诊断与防治、法医学鉴定、物种的 修饰与改造等诸多领域，对医学临床及医学研究的影响日益增大。

**一、重组DNA** **技术广泛应用于生物制药**

利用重组DNA 技术生产有应用价值的药物是当今医药发展的一个重要方向，有望成为21世纪 的支柱产业之一。该技术一方面可用于改造传统的制药工业，如利用该基因可改造制药所需要的工 程菌种或创建新的工程菌种，从而提高抗生素、维生素、氨基酸等药物的产量；另一方面利用该技术生 产有药用价值的蛋白质/多肽及疫苗抗原等产品，重组人胰岛素是利用该技术生产的世界上第一个基 因工程产品。目前上市的基因工程药物已百种以上，表23-4中仅列出部分药物和疫苗。

**表23-4利用重组DNA技术制备的部分蛋白质/多肽类药物及疫苗**

**产品名称**

组织纤溶酶原激活剂

凝血因子VⅢ/IX

粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子

促红细胞生成素

多种生长因子

生长激素

胰岛素

多种白细胞介素

肿瘤坏死因子

骨形态形成蛋白

人源化单克隆抗体

重组乙肝疫苗(HBsAg VLP)

重组HPV疫苗(L1 VLP)

重组B亚单位霍乱菌苗

**主要功能**

抗凝血，溶解血栓

促进凝血，治疗血友病

刺激白细胞生成

促进红细胞生成，治疗贫血

刺激细胞生长于分化

治疗侏儒症

治疗糖尿病

调节免疫，调节造血

杀伤肿瘤细胞，调节免疫，参与炎症

修复骨缺损，促进骨折愈合

利用其结合特异性进行临床诊断，肿瘤靶向治疗

预防乙型肝炎

预防HPV感染

口服预防霍乱

注：VLP:类病毒颗粒；HBsAg:乙肝病毒表面抗原；L₁ HPV:人乳头瘤病毒衣壳蛋白

**438**



**第五篇** **医学分子生物学专题**

利用重组DNA 技术，可以让细菌、酵母等低等生物成为制药工厂，也使基因工程细菌成为各类生 物基因的储藏所；可以将小鼠杂交瘤细胞人源化，让其产生人源化抗体；可以制造基因工程病毒，使病 毒保留免疫原性，缺乏感染性或变成不含核酸的类病毒颗粒(virus-like particle,VLP)。

**二、重组** **DNA** **技术是医学研究的重要技术平台**

重组DNA 技术可用于医学研究的很多方面，诸如遗传修饰动物模型的建立、遗传修饰细胞模型 的建立、基因获得或丧失对生物功能的影响等。

**1.** **遗传修饰动物模型的医用研究** 重组 DNA 技术可用于遗传修饰动物模型的研制，从而建立 人类疾病的动物模型。目前已经建立了诸多人类疾病的遗传修饰动物模型，用于研究癌症、糖尿病、 肥胖、心脏病、老化、关节炎等；遗传修饰猪模型的应用，可望增加从猪到人器官移植(pig to human organ transplantation)的成功率；改造蚊子的基因组，使其产生对疟疾的免疫反应，可望消灭疟疾。

**2.** **遗传修饰细胞模型在医学研究中的应用** 重组 DNA 技术也可用于遗传修饰细胞模型的建 立，从而用于基因替代治疗/靶向治疗，或体内示踪。体细胞基因治疗(somatic gene therapy)已经在X- 连锁联合免疫缺陷病(X-linked SCID)、慢性淋巴细胞白血病(chronic lymphocytic leukemia,CLL)和帕 金森病进行了临床研究，这是在人体上进行遗传工程的研究。改造T 淋巴细胞，让其携带嵌合抗原受 体(chimeric antigen receptor,CAR),从而达到靶向治疗疾病的CAR-T 细胞也是采用重组DNA 技术实 现的。例如，人T 细胞经基因操作成为靶向CD19 的 CAR-T, 用于治疗难治性慢性B 淋巴瘤。将绿色

荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)与细胞内的某些蛋白相融合，可使细胞变成具有示踪作用的2018 发光细胞。

**3.** **基因及基因功能的获得及丧失的研究** 基因工程生物或细胞模型可用来发现一些基因的新 功能，或发现新基因， 一般可通过基因的获得(如转基因)或丧失(如基因敲除)进行研究，也可通过示 踪实验(如GFP 融合蛋白)研究基因表达产物的定位或相互作用信息等，或通过报告基因(如GFP 或 催化特定底物的酶)与不同启动子相融合的方法实现对基因表达调控的研究。

**三、重组** **DNA** **技术是基因及其表达产物研究的技术基础**

重组DNA 技术已经成为基因或基因功能获得或丧失研究的技术基础，也是基因表达产物相互作 用研究的技术基础。

**1.** **在基因组水平上干预基因** 重组 DNA技术是基因打靶(包括基因敲除和基因敲入)及基因组 编辑等的技术基础。例如，基因敲除(gene knock-out),传统的方法是利用同源重组的原理，用目的基 因替换基因组上的特定基因，要实现这一 目标，需要将目的基因克隆到合适的载体上，并在其两侧加 上待敲除基因上的部分序列，使重组DNA 进入细胞后能通过同源重组替换基因组的目标基因。条件 性基因打靶(conditional gene targeting)是在目的基因两侧构建了Cre重组酶的切割位点。基因组编辑 (genome editing)是指一类能定向地在基因组上改变基因序列的技术，其中CRISPR/Cas9系统是目前 应用最多的、脱靶最少的基因组编辑技术，也是细菌抵抗病毒感染的一种获得性免疫机制。利用 CRISPR/Cas9基因组编辑技术对特定基因进行改造，也需要在体外构建含导向crRNA(guide crRNA, gcrRNA)和Cas9编码基因的重组载体，然后将这种重组载体导入受体细胞，才能实现在基因组水平定 向地改变特定基因的目的。

**2.** **在** **RNA** **水平上干预基因的功能** RNA干扰(RNA interference,RNAi) 是通过干扰小 RNA (small interference RNA,siRNA)与靶RNA 结合，从而阻止基因表达的方法。 siRNA 可以直接采用化 学法合成，也可以利用DNA 克隆技术构建干扰小发夹RNA, 即将编码 siRNA 反向互补序列和间隔序 列(linker)克隆入合适的载体，在细胞内转录合成干扰小发夹RNA, 实现RNA 干扰目的。

**3.** **研究蛋白质的相互作用** 重组DNA 技术也是蛋白质相互作用研究的技术基础。例如，酵母 双杂交系统(yeast two-hybrid system)是利用分别克隆转录因子 DNA 结合结构域(DNA binding

第二十三章 DNA 重组和重组DNA 技术

**439**

domain,DBD) 和转录激活结构域(transcription activating domain,TAD)的融合基因，对DBD- 融合蛋白 和TAD- 融合蛋白的融合部分的潜在相互作用能力进行研究。



小 结

DNA 重组是指DNA 分子内或分子间发生的遗传信息的重新共价组合过程，包括同源重组、位点 特异性重组和转座重组等类型，广泛存在于各类生物。自然界DNA 重组方式主要有同源重组、位点 特异性重组和转座重组。此外，原核生物还可以接合、转化和转导等作为基因转移的方式。噬菌体在 感染细菌后在宿主基因组上留下短序列，从而组成CRISPR(clustered regularly interspaced short palin- dromic repeats)序列簇，成为细菌防御病毒感染的重要获得性免疫机制。

重组DNA 技术是指通过体外操作将不同来源的两个或两个以上DNA 分子重新组合，并在适当 细胞中扩增形成新的功能DNA 分子的方法。基本操作包括五步：①获取目的DNA;② 选择和准备载 体；③目的DNA 与载体连接；④重组DNA 导入受体细胞；⑤重组体的筛选、鉴定及克隆化。依据载体 的不同，重组的目的基因可在原核或真核细胞中表达。限制性核酸内切酶、DNA 连接酶等是重组 DNA 技术常用的重要工具酶。

拟克隆的基因称为目的基因。获取目的基因的方法包括化学合成、从基因组文库或cDNA 文库 钓取或PCR 扩增等。载体是指能携带目的基因在受体细胞中复制或表达的DNA 分子，可分为克隆载 体和表达载体。克隆载体应至少具备复制位点、供目的基因插入的单一酶切位点或多克隆酶切位点 和筛选标志，表达载体除了具备克隆载体的一般特征外，还应具备供目的基因在受体细胞中表达的转 录单位及必要元件，如真核表达载体的 poly(A)加尾信号。筛选和鉴定重组体的方法主要有遗传标 志筛选法、序列特异性筛选法、亲和筛选法等。

kkyx2018

表达目的基因的体系包括原核表达体系和真核表达体系，两者各具优势和不足。常用的原核表 达体系是大肠埃希菌表达体系，操作简便，但缺乏对基因表达产物的加工修饰；常用的真核表达体系 有酵母表达体系、昆虫表达体系和哺乳细胞表达体系。

重组DNA 技术已经成为基因工程制药的重要技术平台，包括重组蛋白质、重组多肽、重组病毒或 类病毒颗粒、人源化单克隆抗体等多种药物都是采用重组DNA 技术完成的；重组DNA 技术也是医学 研究的重要平台技术，遗传修饰的各种模式生物已经成为人类疾病研究的重要模型；重组DNA 技术 也是基因及其功能研究的技术基础，包括基因打靶、基因组编辑、RNA 干扰及蛋白质相互作用等的技 术都是以重组DNA 技术为基础的。



**思** **考** **题**

1. 自然界DNA 重组无论采用哪种方式，都涉及DNA 链的断裂和再连接。从DNA 分子的角度思 考，链断裂和再连接与DNA 分子哪个化学键有关?这个化学键的解离和形成为什么需要酶的参与?

2. 设想一下，生物体基因组DNA 自发地频繁发生重组，无论是同源重组、位点特异性重组或转座 重组，会对生物体产生哪些潜在的影响?

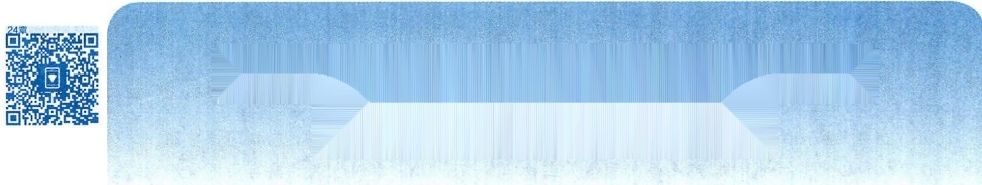
3. 生物体基因组可以摄取外源DNA 留作己用(如细菌的CRISPR 阵列),并进化成为自身的防御 机制。请思考一下，细菌利用CRISPR/Cas 系统作为获得性免疫机制，人等哺乳动物是否也需要类似 的机制，为什么?

4. 重组DNA 技术为操作DNA 提供了技术平台，针对人基因组中的一个基因序列，如何能成功地 用大肠埃希菌表达系统将其编码产物表达出来?(需要考虑原核表达体系的特点、真核基因的结构特 点、构建重组DNA 的优化方式等。)

(王丽颖)

g





**第二十四章** **常用分子生物学** **技术的原理及其应用**

分子生物学理论研究的突破无一不与分子生物学技术的产生和发展息息相关，可以说两者是科 学与技术相互促进的最好例证，即理论上的发现为新技术的产生提供思路，而新技术的产生又为证实 原有理论和发展新理论提供有力工具。因此，了解分子生物学技术原理及其用途，对于加深理解现代 分子生物学的基本理论和研究现状、深入认识疾病的发生和发展机制、理解和应用新的基于分子生物 学而发展起来的诊断治疗策略和药物具有极为重要的意义。为此本章概括介绍目前分子生物学中的 一些常用技术及其在医学上的应用。

**第一节** **分子杂交和印迹技术**

晒 kkyx2018 kkyx2018

分子杂交技术利用DNA 变性与复性这一基本理化性质，结合印迹技术和探针技术，可进行DNA 和RNA 的定性或定量分析。

**一、分子杂交和印迹技术的原理**

分子杂交的概念在第二章已有详细描述，这里仅介绍印迹和探针技术。

**(一)印迹技术**

1975年，E.Southern将经琼脂糖电泳分离的DNA 片段在胶中变性使其成为单链，然后将硝酸纤 维素(nitrocellulose,NC)膜平铺在胶上，膜上放置一定厚度的吸水纸巾，利用毛细作用使胶中的 DNA 分子转移到NC 膜上，使之固相化☑ 。将载有 DNA 单链分子的NC 膜放在核酸杂交反应溶液中，溶液 中具有互补序列的DNA 或 RNA 单链分子就可以结合到存在于NC 膜上的 DNA 分子上。这一技术类 似于用吸墨纸吸收纸张上的墨迹，因此称之为“blotting”,译为印迹技术。目前这种技术已广泛用于 DNA、RNA 和蛋白质的检测。除靠毛细作用将DNA 转移至 NC 膜外，后来又建立了电转移印迹技术 和真空吸引转移印迹技术。这些新的方法缩短了转移所需的时间。另外亦有一些新的材料用于转移 膜制备而改善待测分子的转移效率和样品承载能力。

**(二)探针技术**

探针(probe)指的是带有放射性核素、生物素或荧光物质等可检测标志物的核酸片段，它具有特 定的序列，能够与待测的核酸片段依据碱基互补原理结合，因此可以用于检测核酸样品中存在的特定 核酸分子。核酸探针既可以是人工合成的寡核苷酸片段，也可以是基因组DNA 片段、cDNA 全长或片 段，还可以是RNA 片段。在NC 膜杂交反应中，标记探针的序列如果与NC 膜上的核酸存在碱基序列 互补，就可以结合到膜上的相应DNA 或 RNA 区带，经放射自显影或其他检测手段就可以判定膜上是 否有互补序列的核酸分子存在。

**二、** **印迹技术的类别及应用**

印迹技术可以分为DNA 印迹、RNA 印迹和蛋白质印迹三大类。它们的基本流程如图24-1所示。

第二十四章 常用分子生物学技术的原理及其应用 441

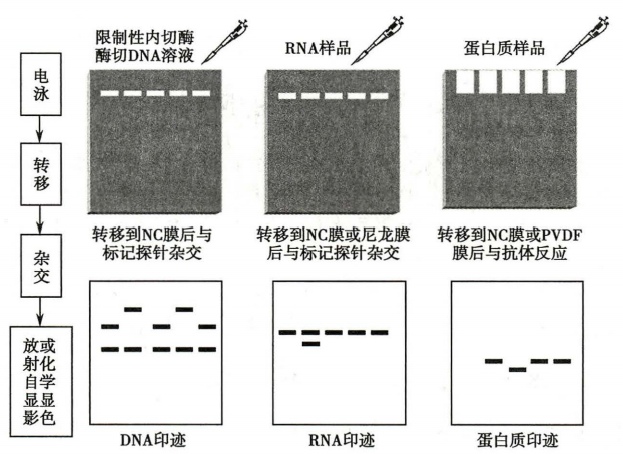


图24-1 DNA 印迹、RNA 印迹和蛋白质印迹技术示意图

( 一 ) DNA 印 迹

DNA 印 迹(DNA blotting)为 E.Southern首次应用，因而命名为Southern blotting。DNA样品经限制 性内切酶消化后行琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 片段，将含有不同大小DNA 片段的凝胶在变性溶液中 处理，然后将胶中的变性DNA 分子转移到NC 膜上，转移完成后，将含DNA 片段的NC 膜在80℃真空 条件下加热或在紫外交联仪内处理，使DNA 固定于NC 膜上，即可用于杂交反应☑。DNA 印迹技术 主要用于基因组DNA 的定性和定量分析，例如对基因组中特异基因的定位及检测、基因组中转基因 和基因剔除的分析，此外亦可用于分析重组构建的质粒和噬菌体。

**(** **二** **)** **RNA** **印迹**

利用与DNA 印迹相类似的技术来分析RNA 就称为RNA 印迹(RNA blotting)。 相对于Souther blot- ting,有人将RNA 印迹称为Northern blotting,其技术原理与Southern blotting相同曰。 RNA 分子较小，在 转移前无需进行限制性内切酶切割，而且变性RNA 的转移效率也比较高。 RNA 印迹技术目前主要用于 检测特定组织或细胞中已知的特异mRNA 和非编码RNA 的表达水平，也可以比较不同组织和细胞中的 同一基因的表达情况。尽管用RNA 印迹技术检测RNA 的敏感性较PCR 法(见本章第二节)低，但是由 于其特异性强，假阳性率低，仍然被认为是最可靠的mRNA 和非编码RNA 定量分析方法之一。

**(三)蛋白质印迹**

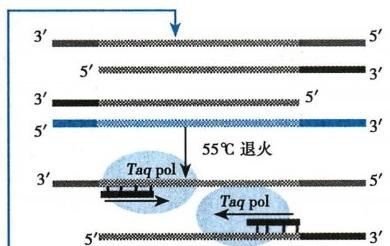
印迹技术不仅可用于核酸的分子杂交，而且也可用于蛋白质的分析。人们发现蛋白质在电泳之 后也可以从胶中转移并固定到膜型材料上，再依靠与溶液中相应的蛋白质分子相互结合来进行定性 定量分析，其中最常用的是用抗体来检测，因此亦被称为免疫印迹(immunoblotting)。 相对应于DNA 的 Southern blotting和 RNA 的 Northern blotting,蛋白质印迹被称为 Western blotting。

蛋白质印迹需先将混合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☑ 。蛋白质的转移只有靠电转移方可实现。蛋白质的分析主要靠抗体来进行。特异性 抗体(称为第一抗体)首先与转移膜上相应的蛋白质分子结合，然后用碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶 标记或放射性核素标记的第二抗体与之结合。反应之后用底物显色或放射自显影来检测蛋白质区带 的信号，底物亦可与化学发光剂相结合以提高敏感度。蛋白质印迹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。

除上述三种基本印迹技术外，还有一些方法可用于核酸和蛋白质的分析。例如，可以不经电泳分 离而直接将样品点在NC ·膜上用于核酸杂交分析，这种方式被称为斑点印迹(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,ISH) ;可以将多种已知序列

2kkyx2018





3′

←一需要扩增的特定片段→

Taq pol

正向引物

5'1

Tag pol

3'

3'

3' Tag pol

5'

5

72℃引物延伸

—短产物片段

进入下一轮循环

**第五篇** **医学分子生物学专题**

**442**

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，这种技术

称 为DNA 芯片技术☑ (见本章第五节)。

**第二节** **PCR** **技术的原理与应用**

20世纪70年代末，随着DNA 重组技术的产生和发展，如何快速获得目的基因(待检测或待研究的 特定基因)片段已经成为瓶颈问题。1983年K. Mullis发 明 了 聚 合 酶 链 反 应(polymerase chain reaction, PCR) 技术。该技术可将微量DNA 片段大量扩增，使微量DNA 或 RNA 的操作变得简单易行。 PCR 技 术 的高敏感、高特异、高产率、可重复、快速简便等优点使其迅速成为分子生物学研究中应用最为广泛的方 法，许多以往无法解决的分子生物学研究难题得以解决。 PCR 技术的发明是分子生物学的 一 项革命，极 大地推动了分子生物学以及生物技术产业的发展，成为分子生物学与医学的支撑技术。

近 年 来 ，PCR 技术不断改进，从手工操作发展到自动化仪器，从定性分析发展到定量测定。该方

法与其他分子生物学技术相结合，其用途日益广泛。新的 PCR 技术类型层出不穷。

**一、PCR** **技术的工作原理**

PCR 的 基 本 工 作 原 理 是 在 体 外 模 拟 体 内DNA 复 制 的 过 程 。 以 待 扩 增 的 DNA 分子为模板，用两 条寡核苷酸片段作为引物，分别在拟扩增片段的 DNA 两 侧 与 模 板 DNA 链互补结合，提供3'-OH 末

端；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两条新链的合成。不 断重复这 一过程，即可使目的DNA 片段得到扩增(图24- 2)(动画24- 1“PCR 原 理 及 实 验 步 骤 示 意 ” ) 。 PCR 反应的特异性依赖于与模板DNA 两端互补的寡核苷酸引物。组成PCR 反应体系的基本成分包 括 模 板DNA、 特异引物、耐热性DNA 聚 合 酶 ( 如 Taq DNA 聚 合 酶 ) 、dNTP 以 及 含 有Mg²\* 的 缓 冲 液 。



94℃ DNA模板变性

5'

3'

55℃单链DNA 模板与引物退火

5'

反向引物

Taq pol

3'

72℃引物延伸

Taq pol

3'

5°

3'

进入第二轮循环

94℃ DNA模板变性

数十次反应步骤的循环产生大量 短片段DNA 终产物

图24 - 2 PCR 技术原理示意图

PCR 扩增产物可分为长产物片段和短产物片段两部分。在第一轮反应周期中，以两条互补的DNA 为模板，引 物附上模板的3'-端，即新生链的5'-端是固定的，其3'-端则没有固定的止点，产生“长产物片段”。进入第二轮 循环，新延伸片段的起点和终点都限定于引物扩增序列以内，形成长短一致的“短产物片段”。短产物片段的 长度严格地限定在两个引物链5'-端之间，是需要扩增的特定片段。“短产物片段”按指数倍数增加，而“长产 物片段”几乎可以忽略不计

笔记



第二十四章 常用分子生物学技术的原理及其应用 443

PCR 的基本反应步骤包括：①变性：将反应体系加热至95℃,使模板DNA 完全变性成为单链，同 时引物自身以及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 低 5℃),使引物与模板DNA 结合；③延伸：将温度升至72℃,DNA 聚合酶以dNTP 为底物催化DNA 的合 成反应。上述3个步骤称为1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** **技术的主要用途**

**(一)获得目的基因片段**

PCR 技术为在重组DNA 过程中获得目的基因片段提供了简便快速的方法。在人类基因组计划 完成之前，PCR 是从cDNA 文库或基因组文库中获得序列相似的新基因片段或新基因的主要方法。 目前，该技术是从各种生物标本或基因工程载体中快速获得已知序列目的基因片段的主要方法。

**(二)** **DNA** **和RNA** **的微量分析**

PCR 技术敏感性高，对模板DNA 的量要求很低，是 DNA 和 RNA 微量定性和定量分析的最好方 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，1滴血液、1根毛发或1 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。

**(三)** **DNA** **序列分析**

将PCR 技术引入DNA 序列测定，使测序工作大为简化，也提高了测序的速度，是实现高通量 DNA 序列分析的基础(见本章第三节)。待测 DNA 片段既可克隆到特定的载体后进行序列测定，也 可直接测定。

kkyx2018

**(四)基因突变分析**

PCR 与其他技术的结合可以大大提高基因突变检测的敏感性，例如单链构象多态性分析、等位基 因特异的寡核苷酸探针分析、基因芯片技术、DNA 序列分析等。

**(五)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项费时费力的工作。现在，利用PCR 技 术可以随意设计引物在体外对目的基因片段进行插入、嵌和、缺失、点突变等改造。

**三、几种重要的PCR** **衍生技术**

PCR 技术自身的发展及其与已有分子生物学技术的结合形成了多种PCR 衍生技术，提高了PCR 反应的特异性和应用的广泛性。本章仅举例介绍部分与医学研究密切相关的PCR 衍生技术。

**(一)逆转录PCR** **技术**

逆转录PCR(reverse transcription PCR,RT-PCR)是将RNA 的逆转录反应和PCR 反应联合应用的 一种技术。首先以 RNA 为模板，在逆转录酶的作用下合成cDNA, 再 以cDNA 为模板通过PCR 反应来 扩增目的基因。 RT-PCR 可检测到单个细胞中少于10个拷贝的特异的RNA, 是目前从组织或细胞中 获得目的基因以及对已知序列的 RNA 进行定性和半定量分析的最有效方法，也是最广泛使用的PCR 方法。

**(二)原位PCR** **技术**

原位PCR(in situ PCR)是利用完整的细胞作为一个微小的反应体系来扩增细胞内的目的基因片段。 PCR 反应在甲醛溶液(福尔马林)固定、石蜡包埋的组织切片或细胞涂片上的单个细胞内进行。 PCR 反 应后，再用特异性探针进行原位杂交，即可检出待测DNA 或 RNA 是否在该组织或细胞中存在。由于常 规PCR 或 RT-PCR 技术的产物不能在组织细胞中直接定位，因而不能与特定的组织细胞特征表型相联 系，而原位杂交技术虽有良好的定位效果，但灵敏度不高。原位PCR 方法弥补了PCR 技术和原位杂交 技术的不足，将目的基因的扩增与定位相结合，既能分辩鉴定带有靶序列的细胞，又能标出靶序列在细 胞内的位置，在分子和细胞水平上研究疾病的发病机制和临床过程有重大的实用价值。



444 第五篇 医学分子生物学专题

**(** **三** **)** **实** **时** **PCR** **技术**

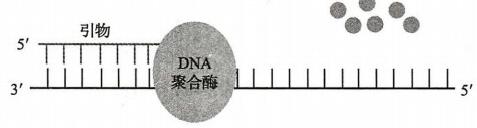
常规PCR 反应是在反应终点检测产物含量，然而在反应过程中产物是以指数形式增加的，多次 循环反应后的产物堆积将影响对原有模板含量差异的准确判断，故常规PCR 反应只能作为半定量手 段。实时PCR(real-time PCR)技术通过动态监测反应过程中的产物量，消除了产物堆积对定量分析 的干扰，亦被称为定量PCR(quantitative PCR,qPCR)。 定 量PCR 技术实现了mRNA、miRNA 及其他非 编码的RNA 快速而准确的定量分析，已在临床应用于基因诊断。

1. 实时 PCR 的基本技术原理 实 时PCR 的基本原理是在PCR 反应体系中加入荧光基团，利用 荧光信号积累实时监测整个PCR 进程，故也被称为实时荧光定量 PCR 或荧光定量 PCR。 实时定量 PCR 需要采用专用PCR 仪，自动在每个循环的特定阶段对反应体系的荧光强度进行采集，实时记录 荧光强度的改变，可以做到PCR 每循环一次就收集一个数据，建立实时扩增曲线。由于反应起始的 模 板DNA 量与循环过程的指数期的扩增产物量之间存在着定量关系，利用荧光信号的实时监测和计 算，可以准确地确定起始DNA 拷贝数，从而对样品的浓度进行精确定量。

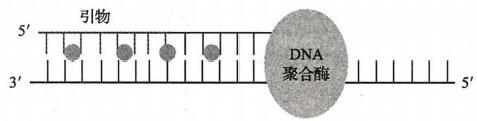
**2.** **实** **时PCR** **技术的分类** 荧光标记是实现PCR 反应实时定量的化学基础。实时荧光定量 PCR 的化学原理包括引物探针类和非引物探针类两种。非引物探针类是利用非特异性的插入双链 DNA 的荧光染料来指示扩增的增加，引物探针类则是利用可与靶 DNA 序列特异杂交结合的引物，标 记荧光报告基团作为探针，来指示扩增产物的增加。

(1)非引物探针类实时PCR: 非引物探针类实时PCR 加入的是能与双链DNA 结合的荧光染料， 由此来实现对PCR 过程中产物量的全程监测，并不使用荧光来标记引物。最常用的是能结合到DNA 双螺旋小沟区域的荧光染料SYBR Green。 该染料处于游离状态时，荧光信号强度较低， 一旦与双链 DNA 结合之后，荧光信号强度大大增强(约为游离状态的1000倍)。荧光信号的强度与反应体系中 的双链DNA (代表合成产物)的量成正比(图24-3)。因此，该荧光染料可用来实时监测PCR 产 物 量 的多少。由于非探针类实时PCR 成本低廉，简便易行，近年来得到很快的发展，技术日趋完善，从而 在基因表达的定量分析方面广泛应用。

(1)退火 反应液中游离的SYBR Green染料分子



(2)DNA 链延伸，SYBR Green结合到新合成的DNA 双链上



(3)合成完毕，更多的SYBR Green结合到DNA 双链上

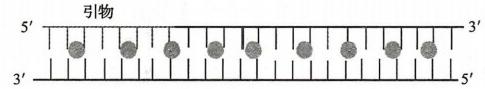


图24-3 荧光染料SYBR Green用于实时PCR 的原理示意图

SYBR Green只可以结合在双链DNA 上，结合后产生荧光。荧光信号强度与产 物量正相关。在PCR 反应过程中，实时测定荧光强度即可得知产物量，并据此 计算出样本中的初始模板含量



第二十四章 常用分子生物学技术的原理及其应用 445

(2)引物探针类实时PCR: 与非引物探针类实时PCR 相比，引物探针类实时PCR 是通过使用荧 光标记的引物为探针来产生荧光信号。探针除了能产生荧光信号用于监测 PCR 进程之外，还能和模 板 DNA 待扩增区域结合，因此提高了PCR 的特异性。目前，常用的探针类实时PCR 包括TaqMan 探 针法、分子信标(molecular beacons)探针法 和荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy trans- fer,FRET)探针法 等。荧光探针由于增加了探针的互补识别步骤，特异性更高，且可采用多色荧光 探针，可在一个反应中实现对数种不同基因表达水平的同时检测。

**3.** **实** **时** **PCR** **的应用** 实时定量PCR 技术具有定量、特异、灵敏和快速等特点，是目前检测目的 核酸拷贝数的可靠方法，是DNA 定量技术的一次飞跃。目前实时荧光PCR 技术已经被广泛应用于基 础科学研究、临床诊断、疾病研究及药物研发等领域。这些应用将改变以往对疾病的表型认识和表型 诊断，而是从本质上认识疾病和诊断疾病。

(1)实时PCR 在肿瘤领域的应用：实时定量PCR 不但能有效地检测基因的突变、重排、易位等， 而且能准确检测癌基因表达量，可用于肿瘤早期诊断、鉴别、分型、分期、治疗及预后评估。

实时荧光定量PCR 可运用特异性荧光探针检测基因突变。可设计跨越疑似突变位点的荧光探 针，进行基因扩增，然后对扩增产物进行缓慢加热获得熔解曲线，根据熔解曲线特征判断有无突变。 也可使用双色标记探针进行突变检测， 一个检测野生型，另一个标记的探针检测突变体。

(2)实时PCR 用于多态性分析：实时定量PCR 技术在单核苷酸多态性(single nucleotide polymor-

phism,SNP)分析方面亦有很好的应用前景，例如用于预测药物在同一疾病不同个体内的效应差异所

致的治疗反应性不同，按照基因多态性的特点用药，将会使临床治疗符合个体化的要求。 2kkyx2018 的 kkyx2018

(3)实时PCR 用于病原体的检测：实时定量PCR 技术还可用于多种细菌、病毒、支原体、衣原体 的检测。例如，实时定量PCR 不仅能对病毒定性，而且由于其实验的批间和批内差异小，重复性好， 因此能方便、快速、灵敏、准确地定量其DNA 或 RNA 的序列，动态观测病程中潜在病毒数量，如对乙 型肝炎病毒 HBV 的检测。以往对乙肝病毒的检测主要依靠乙肝表面抗原(HBsAg) 这种间接指标，然 而HBsAg 阳性或阴性很难判断病人体内的HBV 是否处于复制期，病毒复制的量又如何，以及病人是 否具有传染性。实时定量PCR 的出现，可准确地检测出标本中HBV 的拷贝数，实时监测病人的药物 治疗效果和临床状态。

**第三节** **DNA** **测序技术**

DNA 测序(DNA sequencing)的目的是确定一段 DNA 分子中4种碱基(A、G、C、T)的排列顺序。 DNA 测序技术是阐明和理解基因结构、基因功能、基因变异、基因表达调控的基础，也是实现在分子 层次预测、预防、诊断和治疗疾病的个体化医学的最重要的支撑技术。

分子生物学发展的初期，采用部分酶解等方法仅能测定 RNA 的序列，且费时费力。1977年， Maxam AM和 Gilbert W合作创立了化学降解法，又称Maxam-Gilbert测序法；同年，Sanger F创建了双 脱氧测序法或称Sanger法。这两种方法的建立实现了DNA 测序技术的第一次飞跃，三位科学家也因 此分享了1980年的诺贝尔化学奖。40余年来，DNA 测序技术发展迅速，从手工操作到自动化仪器分 析、从单一短片段到高通量平行分析，尤其是在人类基因组计划的推进和带动下，已经实现了高速和 低价的目标，人全基因组30亿碱基对的测序目前已经成为常规技术。快速测序技术极大推动了生物 学和医学多个领域的理论突破和应用研究。

**一** **、双脱氧法和化学降解法是经典** **DNA** **测序方法**

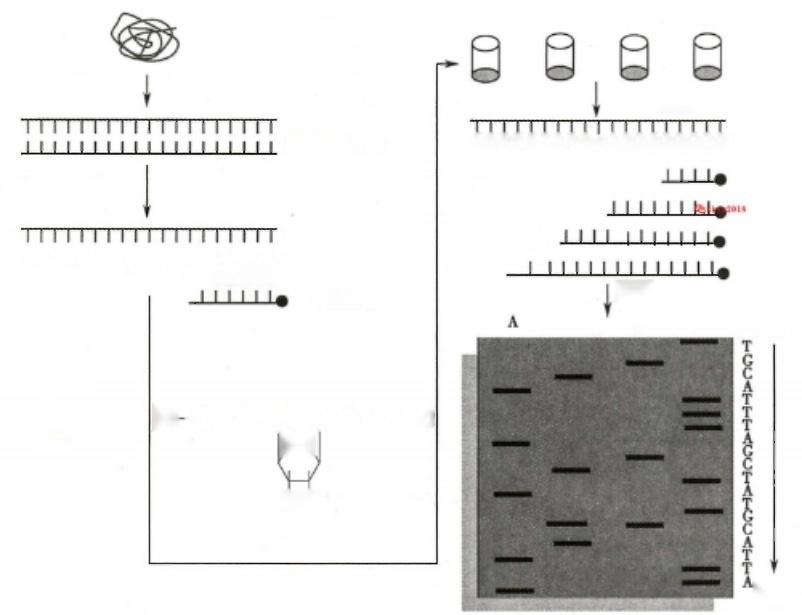
早期的DNA 测序只能在实验室内手工完成，故基本上是用于分子生物学研究工作，采用的是双 脱氧法或化学降解法。



**446** 第五篇 医学分子生物学专题

**(一)双脱氧法DNA** **测序技术**

Sanger双脱氧测序(dideoxy sequencing)法亦称为链终止(chain-termination method)法，基于对引 物的延伸合成反应。如图24-4所示，用DNA 聚合酶来延伸结合在待测序列DNA 模板上的寡脱氧核 苷酸引物，直到在新合成的DNA 链的3'-末端掺入了4种放射性核素标记的2',3'-双脱氧核苷三磷酸 (ddNTP) 底物的其中一种。由于ddNTP 脱氧核糖的3'-位碳原子上缺少羟基而不能与下一位核苷酸 的5'-位磷酸基之间形成3',5'-磷酸二酯键，从而使得正在延伸的DNA 链在该ddNTP 处终止。因此， 在4种不同反应体系中分别加入4种不同的ddNTP 底 物(A、G、C、T),就可得到终止于相应特定碱基 的一系列不同长度DNA 片段。这些片段具有共同的起点(即引物的5'-末端),而有不同的终点(即 ddNTP 掺入的位置),其长度取决于ddNTP 掺入的位置与引物5'-末端之间的距离。经可分辨1个核 苷酸差别的变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离这些片段，再借助片段的放射性核素或荧光标记，即可读出 一段 DNA 序列。(动画24-2“DNA 序列测定原理”)

ddATP ddCTP ddCTP ddTTP

反应

双链DNA片段 ACGTA, AATCGATACGTAAT

ddATP

ddATP

单链模板DMA ddATP

ACGTAAATCGATACGTAAT

ddATP

CATTA 标记引物 电泳

C G T 负极

DNA 聚合酶

② - -②-②—CH₂O 碱基(A.C.G.T)

+

引物 0

+

H H

dNTPs

ddNTPs

正极

图24-4 Sanger 双脱氧法测序原理

**(二)化学降解法DNA** **测序技术**

Maxam-Gilbert化学降解测序(chemical degradation sequencing)法则首先对待测序的DNA 片段的 末端进行放射性核素标记，然后用专一性化学试剂将该片段DNA 进行特异性降解，从而产生4套含 有长短不一DNA 片段的混合物，再通过其所带的标记读出序列。这一方法的建立在分子生物学发展 早期发挥了重要作用，但因其费用高且难以实现自动化而被其他方法取代。

**二、第一代全自动激光荧光** **DNA** **测序仪器基于双脱氧法**

Sanger方法和Maxam-Gilbert化学降解法的手工操作对技术人员的经验和技术熟练程度要求很 高，实验失败概率高，难以在普通实验室推广普及，更难以满足分子生物学的迅速发展及其在医学等

0笔记

领域应用的需求，因而催生了自动化分析仪 的发明。

第二十四章 常用分子生物学技术的原理及其应用 447

早期的全自动DNA 序列分析仪的工作原理主要是基于Sanger法，采用四色荧光标记ddNTP 而制 作的。目前，自动激光荧光DNA 测序仪(又称第一代测序仪)的应用已十分普遍，它可实现制胶、进 样、电泳、检测、数据分析全自动化。第一代测序技术的读长可以超过1000bp,原始数据的准确率可高 达99.999%。

在四色荧光法分析中，采用4种不同荧光染料标记4种不同的可终止 DNA 延伸反应的底物 ddNTP,经 Sanger法反应后，赋予所合成的DNA 片段4种不同的颜色。待测DNA 样品的4个反应产 物在同一个泳道内依照片段大小电泳分离，由仪器自动连续采集荧光数据并完成分析，最后直接显示 待测DNA 的碱基序列。

人类基因组计划的第一个人类基因组草图的绘制采用的就是 Sanger法。美国、英国、日本、法国、 德国、加拿大、中国等7个国家的科学家合作，用了众多自动激光荧光DNA 测序仪，以集成式工厂化 运行模式而完成的。

**三、高通量** **DNA** **测序技术使基因测序走向医学实用**

要将人类基因组序列分析的研究成果用于各种复杂疾病的机制研究、诊断、预警、治疗监测以及 法医学鉴定等医学实践，需要对人群及个体进行全基因组序列分析。为此必须首先实现DNA 测序技 术的微量、快速和低成本化，而标准的Sanger法及第一代测序仪的高成本很难满足这一需求，新的高 通量DNA 测序技术及其分析仪器因此应运而生。这些新技术被冠以新一代测序(next generation se- quencing,NGS)之称，并先后有第二代、第三代甚至第四代之分，其共同特点都是实现了微量化，高通 量并行化和低成本。

所有的NGS 都是在一次反应中同时分析多个DNA 小片段，因而可快速获得所有序列，再经生物信 息学整合分析，得出个体的基因组序列。在超高通量测序时，甚至可并行百万个测序反应。需要指出的 是，每一种新的高通量测序技术都是伴随相应的新仪器而诞生的，否则无法进入生物学和医学领域。

一些NGS 技术需要首先进行待测 DNA 片段的PCR 扩增。这些技术和仪器主要包括：①454基因 组测序仪利用焦磷酸测序，检测DNA 合成产生的焦磷酸。综合运用了乳液PCR、 微流控芯片、焦磷酸 检测等技术。②Solexa/Ilumina测序仪检测DNA 合成反应中掺入的荧光标记单核苷酸，利用桥式 PCR、微流控芯片、荧光标记基团和终止基团检测等技术。③SOLiD 测序仪基于寡核苷酸连接反应， 利用乳液PCR、 微流控芯片，检测DNA 连接酶催化的荧光标记寡核苷酸探针连接到 DNA 链过程中释 放出的光学信号。

更新一代的测序技术则无需PCR 扩增反应，直接针对 DNA 单分子进行序列分析，亦称为第三代 测序技术。这些技术包括 HeliScope测序技术、单分子实时技术(single molecule real time technology, SMRT) 以及基于荧光共振能量转移(FRET) 的测序技术等四。

高通量DNA 测序技术的快速进步极大促进了人全基因组测序(whole genome sequencing,WGS)、 转录组测序(RNA-seq)、 全外显子测序(Exome-seq)、DNA-蛋白质相互作用，即染色质免疫共沉淀测序 (ChIP-seq)、病原微生物全基因组测序等在医学研究和实践中的应用(见第二十七章),为医学进入大 数据时代提供了核心技术支撑。

**四、DNA** **测序在医学领域具有广泛应用价值**

DNA 测序技术在医学领域的使用日益广泛和深入。 DNA 测序在医学研究和临床实践中的主要 用途是：①通过人群大样本分析，确定单基因遗传病和多基因变异相关疾病的SNP 位点、基因结构变 异、基因拷贝数变异等，鉴定出可用于复杂性疾病易感性预警或早期诊断的疾病标志物，并将这些单 一基因或多个基因的变异检测用于临床诊断。这些变异的发现还将指导治疗靶点的确认和药物研 发；②检测肿瘤组织的染色体畸变、癌基因和抑癌基因突变位点、融合基因、染色体拷贝数变化等，为 肿瘤分子分型和治疗敏感性监测提供依据；③进行个人基因组分析，在大数据平台发展的基础上，建

的 kkyx2018





第五篇 医学分子生物学专题

**448**

立个人SNP 位点与疾病易感性、药物敏感性和耐受性以及其他诸多表型之间的联系；④用于病原微生 物检测，确定病原微生物的分子分型，为抗病毒或细菌感染治疗提供依据。

DNA 测序在法医学领域具有特殊意义。该技术极大提高了DNA 鉴定的敏感性和准确性，在各类 案件中作为司法证据的重要性越加凸显。 DNA 测序在亲子鉴定中亦具有重要价值。

**第四节** **生物芯片技术**

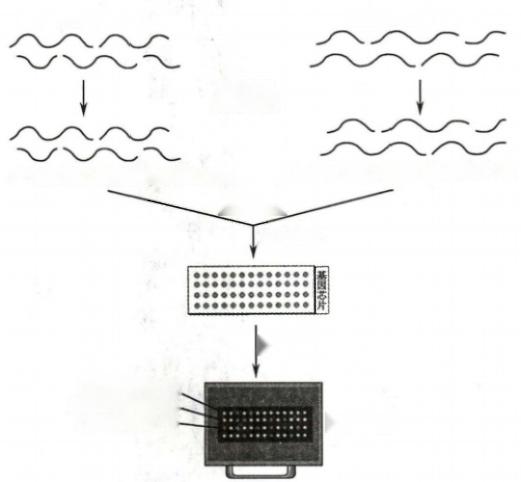
生物芯片技术是在20世纪末发展起来的一项新的规模化生物分子分析技术，目前已被应用于生 命科学的众多领域。这些应用包括基因表达检测、基因突变检测、基因诊断、功能基因组研究、基因组 作图等多个方面。

**一、基因芯片**

基因芯片(gene chip)是指将许多特定的DNA 片段有规律地紧密排列固定于单位面积的支持物 上，然后与待测的荧光标记样品进行杂交，杂交后用荧光检测系统等对芯片进行扫描，通过计算机系 统对每一位点的荧光信号作出检测、比较和分析，从而迅速得出定性和定量的结果。该技术亦被称作 DNA 微阵列(DNA microarray)。 基因芯片可在同一时间内分析大量的基因，高密度基因芯片可以在 1cm² 面积内排列数万个基因用于分析，实现了基因信息的大规模检测。

基因芯片特别适用于分析不同组织细胞或同一细胞不同状态下的基因差异表达情况，其原理是ty₂01s

基于双色荧光探针杂交。该系统将两个不同来源样品的mRNA 逆转录合成cDNA 时用不同的荧光分 子(如正常用红色、肿瘤用绿色)进行标记(图24-5),标记的cDNA 等量混合后与基因芯片进行杂交， 在两组不同的激发光下检测，获得两个不同样品在芯片上的全部杂交信号。呈现绿色荧光的位点代 表该基因只在肿瘤组织表达，呈现红色信号的位点代表该基因只在正常组织表达，呈现两种荧光互补 色——黄色的位点则表明该基因在两种组织中均有表达。



肿瘤细胞的mRNA

BT-PCR

荧光标记

红色荧光(Cy3)标记的cDNA片段 绿色荧光(Cy5)标记的cDNA 片段

等量混合

芯片杂交

激光扫描

Cy5图像(绿色),

重叠图像(黄色) ·

Cy3图像(红色)-

正常细胞的mRNA

计算机读取

图24-5 基因芯片工作流程示意图

不同标本(如正常组织和肿瘤组织)抽提的RNA 经 RT-PCR 后分别以 不同的荧光染料标记，等量混合后在芯片上进行杂交，最后进行扫描 和读片。右下为双色荧光重叠图像，绿色荧光者表示正常组织高表 达，而红色荧光者表示肿瘤组织高表达



第二十四章 常用分子生物学技术的原理及其应用 449

**二、蛋白质芯片**

蛋白质芯片(protein chip)是将高度密集排列的蛋白质分子作为探针点阵固定在固相支持物上，当 与待测蛋白质样品反应时，可捕获样品中的靶蛋白质，再经检测系统对靶蛋白质进行定性和定量分析的 一种技术。蛋白质芯片的基本原理是蛋白质分子间的亲和反应，例如抗原-抗体或受体-配体之间的特异 性结合。最常用的蛋白质探针是抗体。在用蛋白质芯片检测时，首先要将样品中的蛋白质标记上荧光 分子，经过标记的蛋白质一旦结合到芯片上就会产生特定的信号，通过激光扫描系统来检测信号。

蛋白质芯片技术具有快速和高通量等特点，它可以对整个基因组水平的上千种蛋白质同时进行 分析，是蛋白质组学研究的重要手段之一，已广泛应用于蛋白质表达谱、蛋白质功能、蛋白质间的相互 作用的研究。在临床疾病的诊断和新药开发的筛选上也有很大的应用潜力。

**第五节** **蛋白质的分离、纯化与结构分析**

蛋白质是生物大分子，具有胶体性质、沉淀、变性和凝固等特点。人体的细胞和体液中存在成千 上万种蛋白质，要分析其中某种蛋白质的结构和功能，需要从混合物分离纯化出单一蛋白质。蛋白质 分离通常是利用其特殊理化性质，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、蛋白质沉淀用于蛋白质浓缩及分离**

bkkyx2018

吗 kkyx2018

蛋白质在溶液中一般含量较低，需要经沉淀浓缩，以利进一步分离纯化。

1. 有机溶剂沉淀蛋白质 丙酮、乙醇等有机溶剂可以使蛋白质沉淀，再将其溶解在小体积溶剂 中即可获得浓缩的蛋白质溶液。为保持蛋白质的结构和生物活性，需要在0～4℃低温下进行丙酮或 乙醇沉淀，沉淀后应立即分离，否则蛋白质会发生变性。

2. 盐析分离蛋白质 盐析(salt precipitation)是将硫酸铵、硫酸钠或氯化钠等加入蛋白质溶液，使 蛋白质表面电荷被中和以及水化膜被破坏，导致蛋白质在水溶液中的稳定性因素去除而沉淀。各种 蛋白质盐析时所需的盐浓度及pH 均不同，可据此将不同的蛋白质予以分离。例如血清中的清蛋白 和球蛋白，前者可溶于pH7.0 左右的半饱和硫酸铵溶液中，而后者在此溶液中则发生沉淀。当硫酸 铵溶液达到饱和时，清蛋白也随之析出。所以盐析法可将蛋白质初步分离，但欲得纯品，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。

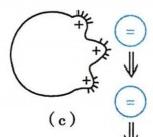
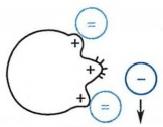
**3.** **免疫沉淀分离蛋白质** 蛋白质具有抗原性，将某种纯化蛋白质免疫动物可获得抗该蛋白质的 特异抗体。利用特异抗体识别相应抗原并形成抗原抗体复合物的性质，可从蛋白质混合溶液中分离 获得抗原蛋白。这就是可用于特定蛋白质定性和定量分析的免疫沉淀法。在具体实验中，常将抗体 交联至固相化的琼脂糖珠上，易于获得抗原抗体复合物。进一步将抗原抗体复合物溶于含十二烷基 硫酸钠和二巯基丙醇的缓冲液后加热，使抗原从抗原抗体复合物分离而得以纯化，并用于分析。

**二、** **透析和超滤法去除蛋白质溶液中的小分子化合物**

利用透析袋将大分子蛋白质与小分子化合物分开的方法称为透析(dialysis)☑。透析袋是用具有超小 微孔的膜，如硝酸纤维素膜制成， 一般只允许分子量为10kD 以下的化合物通过。将蛋白质溶液装在透析袋 内，置于水中，硫酸铵、氯化钠等小分子物质可透过薄膜进入水溶液，由此可对盐析浓缩后的蛋白质溶液进 行除盐。如果透析袋外放放置吸水剂如聚乙二醇，则袋内水分伴同小分子物质透出袋外，高分子量的蛋白 质留在袋内，可达到浓缩目的。同样，应用正压或离心力使蛋白质溶液透过有一定截留分子量的超滤膜，达 到浓缩蛋白质溶液的目的，称为超滤法 。此法简便且回收率高，是常用的浓缩蛋白质溶液方法。

**三、电泳分离蛋白质**

蛋白质在高于或低于其pI 的溶液中成为带电颗粒，在电场中能向正极或负极方向移动。这种通



**第五篇** **医学分子生物学专题**

**450**

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，有纤维薄膜电泳、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；带负电荷的蛋白质向正极泳动；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，凝胶两端分别加上正、负电极，蛋白质混合液即在凝 胶中泳动。电泳结束后，用蛋白质显色剂显色，即可看到多条已被分离的蛋白质色带。

**1.SDS-** **聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质** 若蛋白质样品和聚丙烯酰胺凝胶系统中加入带负电荷 较多的十二烷基硫酸钠(SDS), 使所有蛋白质颗粒表面覆盖一层SDS 分子，导致蛋白质分子间的电荷差 异消失，此时蛋白质在电场中的泳动速率仅与蛋白质颗粒大小有关，加之聚丙烯酰胺凝胶具有分子筛效 应，因而此种称之为SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-polyacrylamide gel electrophoresis,SDS-PAGE) 。

**2.** **等点聚焦电泳分离蛋白质** 如果在聚丙烯酰胺凝胶中加入系列两性电解质载体，在电场中可 形成一个连续而稳定的线性pH 梯度，即pH 从凝胶的正极向负极依次递增。在这种介质中电泳时， 被分离的蛋白质处在偏离其等电点的pH 位置时带有电荷而移动，当蛋白质泳动至与其自身的pI值 相等的pH 区域时，其净电荷为零而不再移动，这种通过蛋白质等电点的差异而分离蛋白质的电泳方 法称为等电聚焦电泳(isoelectric equilibrium electrophoresis,IEE) 。

**3.** **双向凝胶电泳分离蛋白质** 人类基因组计划完成后迎来了后基因组时代，其中蛋白质组学的 研究颇受重视。双向凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis,2-DE)是蛋白质组学研究的重要技 术之一。双向凝胶电泳的第一向是蛋白质的IEE,第二向为SDS-PAGE, 利用被分离蛋白质等电点和

略 kkyx2018 9kkyx2018

分子量的差异，将复杂蛋白质混合物在二维平面上分离(见第二十七章)曰。

**四、** **层析分离蛋白质**

层析(chromatography)是分离、纯化蛋白质的重要手段之一。一般而言，待分离蛋白质溶液(流动 相)经过一个固态物质(固定相)时，根据溶液中待分离的蛋白质颗粒大小、电荷多少及亲和力等，使 待分离的蛋白质组分在两相中反复分配，并以不同速度流经固定相而达到分离蛋白质的目的。层析 种类很多，有离子交换层析、凝胶过滤和亲和层析等。其中离子交换层析和凝胶过滤应用最广。

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曰。

图24-6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

(a)

(b)

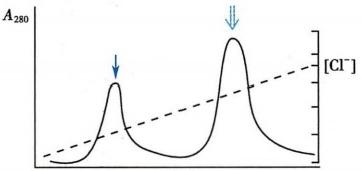
(d)

图24-6 离子交换层析分离蛋白质

(a)样品全部交换并吸附到树脂上；(b) 负电荷较少的分子用较稀的Cl 或 其他负离子溶液洗脱；(c) 电荷多的分子随Cl 浓度增加依次洗脱；(d) 洗脱 图Az 表示为280nm 的吸光度



451

脂颗粒上带正电荷，能吸引溶液中的阴离子 (图24-6a)。 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24-6b);增加Cl 浓度，含负电量多的蛋 白质也被洗脱下来(图24-6c),于是两种蛋白 质被分开。

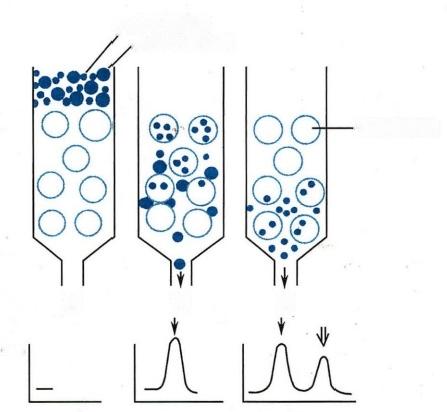
凝胶过滤(gel filtration)又称分子筛层析。 层析柱内填满带有小孔的颗粒， 一般由葡聚糖 制成。蛋白质溶液加于柱之顶部，任其往下渗 漏，小分子蛋白质进入孔内，因而在柱中滞留 时间较长，大分子蛋白质不能进入孔内而径直 流出，因此不同大小的蛋白质得以分离(图24-

7)曰。

**五、** **蛋白质颗粒沉降行为与超速** **离心分离**

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

第二十四章 常用分子生物学技术的原理及其应用



小分子蛋白质

,大分子蛋白质

葡聚糖凝胶

(a)

A280|

(c)

(b)

图24-7 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

分子量。蛋白质在高达500000g(g 为 gravity,即地心引力单位)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。蛋白质在离心力场中的沉降行为用沉降系数(sedimen- tation coefficient,S)表示，沉降系数(S) 使 用Svedberg单位(1S=10-1³秒)。 S 与蛋白质的密度和形 状相关(表24-1)。

kkyx2018

**表24-1** **蛋白质的分子量和沉降系数**

**分子量(D)**

**蛋白质**

细胞色素c(牛心)

肌红蛋白(马心)

糜蛋白酶原(牛胰) β-乳球蛋白(羊奶)

血红蛋白(人)

血清清蛋白(人) 过氧化氢酶(马肝)

脲酶(刀豆)

纤维蛋白原

S

1.17 2.04

2.54

2.90

4.50

4.60

11.30

18.60

7.60

13370

16900

23240

37100

64500

68500

247500

482700

339700

**六、蛋白质的一级结构分析**

F.Sanger耗时多年才在1953年基本完成了胰岛素的一级结构测定，现今由于方法学改进及自动 化分析仪器的产生，已有越来越多蛋白质的氨基酸序列问世。

**1.** **离子交换层析分析蛋白质的氨基酸组分** 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24-8)。

WEE

452 第五篇 医学分子生物学专题

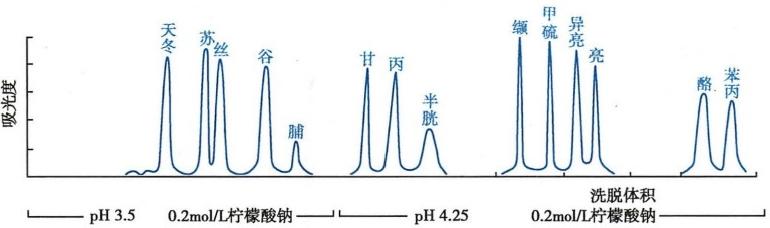


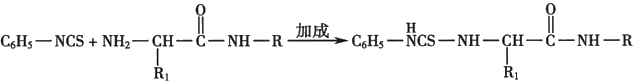
图24-8 离子交换层析分析蛋白质的氨基酸组分

2.测定多肽链的氨基端和羧基端的氨基酸残基 第二步测定多肽链的氨基端与羧基端为何种 氨基酸残基。 F.Sanger 最初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其水解下来进行鉴定。

3.肽链序列的测定 第三步是将肽链水解成片段，分别进行分析。常用者有胰蛋白酶法、胰凝 乳蛋白酶法、溴化氰法等。胰蛋白酶能水解赖氨酸或精氨酸的羧基所形成的肽键。所以如果蛋白质 分子中有4个精氨酸及赖氨酸残基，则可得5个片段。胰凝乳蛋白酶水解芳香族氨基酸(苯丙氨酸、 酪氨酸及色氨酸)羧基侧的肽键，溴化氰水解甲硫氨酸羧基侧的肽键。

蛋白质水解生成的肽段，可通过层析和电泳及质谱将其分离纯化并鉴定，得到的图谱称为肽图myz₂01s

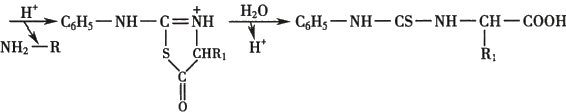
(peptide map),由此可明确肽段的大小和数量。各肽段的氨基酸排列顺序一般采用Edman 降解法进 行分析。将待测肽段先与异硫氰酸苯酯反应，该试剂只与氨基端氨基酸的游离α-氨基作用。再用冷 稀酸处理，氨基端残基即自肽链脱落下来，成为异硫氰酸苯酯衍生物，用层析可鉴定为何种氨基酸衍 生物。残留的肽链可继续与异硫氰酸苯酯作用，依次逐个鉴定出氨基酸的排列顺序(图24-9)。对分 析出的各肽段中的氨基酸顺序，进行组合排列对比，最终得出完整肽链中的氨基酸排列顺序。



异硫氰酸苯酯

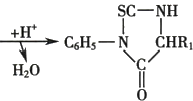
肽(I)

苯氨基硫甲酰基肽(PIC-肽)



肽(Ⅱ) 2-苯氨基-5-噻唑啉酮

PTC-氨基酸



苯乙内酰硫脲衍生物(PTH氨基酸)

层析质谱法鉴定

图24-9 肽的氨基酸末端测定法

近年来，由于核酸研究在理论上及技术上的迅猛发展，尤其是人全基因组测序的完成，各种蛋白

艺记 质的氨基酸序列已经可以通过核酸序列来推演。然而，蛋白质组学研究、生物制药产品的鉴定等仍需



第二十四章 常用分子生物学技术的原理及其应用

453

要进行高效而准确的蛋白质的部分一级结构分析。

**七、蛋白质的空间结构分析**

大量生物体内存在的蛋白质空间结构的解析，对于研究蛋白质结构与功能的内在关系至关重要， 也为蛋白质或多肽药物的结构改造以致增强作用减弱副作用提供了理论依据。由于蛋白质的空间结 构十分复杂，因而其测定的难度也较大，而且还需昂贵的仪器设备和先进的技术。随着结构生物学的 发展，蛋白质二级结构和三维空间结构的测定也已普遍开展☑。

**1.** **圆二色光谱法测定蛋白质二级结构** 通常采用圆二色光谱(circular dichroism,CD)测定溶液 状态下的蛋白质二级结构。 CD 谱对二级结构非常敏感，α-螺旋的 CD 峰有222nm 处的负峰、208nm 处的负峰和198nm 处的正峰等3个成分；而β-折叠的CD 谱不很固定。可见测定含α-螺旋较多的蛋 白质，所得结果更为准确。

**2.** **蛋白质三维空间结构解析** X 射线衍射(X-ray diffraction)和核磁共振(nuclear magnetic reso- nance,NMR) 技术是研究蛋白质三维空间结构的经典方法。 X 射线衍射法需要首先将蛋白质制备成 晶体，X 射线射至蛋白质晶体上，产生不同方向的衍射，收集衍射光束所产生的电子密度图，可计算出 空间结构。核磁共振技术主要用于测定蛋白质的液相三维空间结构。

冷冻电镜(cryo-electron microscopy)技术的发明极大提高了蛋白质三维结构的解析速度和分辨 率，而且可以分析蛋白质在相对天然状态下的结构，当前已经成为结构生物学的主要研究手段。

3. 生物信息学预测蛋白质空间结构 由于蛋白质空间结构的基础是一级结构，参照已经完成的

(kkyx2018

各种蛋白质的三维结构数据库，已经可以初步预测各种蛋白质的三维空间结构。

**第六节** **生物大分子相互作用研究技术**

生物大分子之间可相互作用并形成各种复合物，所有的重要生命活动，包括 DNA 的复制、转录、 蛋白质的合成与分泌、信号转导和代谢等，都是由这些复合物所完成。研究细胞内各种生物大分子的 相互作用方式，分析各种蛋白质、蛋白质-DNA、 蛋白质-RNA 复合物的组成和作用方式是理解生命活 动基本机制的基础。有关研究技术发展迅速，本节选择性介绍部分方法的原理和用途。

**一、蛋白质相互作用研究技术**

目前常用的研究蛋白质相互作用的技术包括酵母双杂交、各种亲和分离分析(亲和色谱、免疫共 沉淀、标签蛋白沉淀等)、FRET 效应分析、噬菌体显示系统筛选等☑ 。本部分简要介绍标签蛋白 (tagged protein)沉淀和酵母双杂交技术(yeast two-hybrid system)。

**(一)标签蛋白沉淀**

标签融合蛋白结合实验是一个基于亲和色谱原理的、分析蛋白质体外直接相互作用的方法。该 方法利用一种带有特定标签(tag)的纯化融合蛋白作为钓饵，在体外与待检测的纯化蛋白质或含有此 待测蛋白质的细胞裂解液温育，然后用可结合蛋白标签的琼脂糖珠将融合蛋白沉淀回收，洗脱液经电 泳分离并染色。如果两种蛋白质有直接的结合，待检测蛋白质将与融合蛋白同时被琼脂糖珠沉淀 (pull-down),在电泳胶中见到相应条带区。

标签融合蛋白结合实验可用于证明两种蛋白质分子是否存在直接物理结合、分析两种分子结合 的具体结构部位及筛选细胞内与融合蛋白相结合的未知分子。该方法亦常用于重组融合蛋白的 纯化。

目前最常用的标签是谷胱甘肽S-转移酶(glutathioneS-transferases,GST),有各种商品化的载体用 于构建 GST 融合基因，并在大肠杆菌中表达为GST 融合蛋白(图24-10)。利用GST 与还原型谷胱甘 肽(glutathione,GSH)的结合作用，可以用共价偶联了 GSH 的琼脂糖珠进行标签蛋白沉淀实验(GST

KOTE



454 第五篇 医学分子生物学专题

pull-down assay)。 另一个常用的易于用常规亲和色谱方法纯化的标签分子是可以与镍离子琼脂糖珠 结合的6个连续排列组氨酸(6×His)标签。

Gsr

GST编码序列、

**GSH-琼脂糖珠**

蛋白X

表达生成融合蛋白

蛋白X编码序列

GST-蛋白X融合蛋白

琼脂糖珠

蛋白X

GST

**纯化的蛋白Y或含有** **蛋白Y的细胞裂解液**

混匀温育

表达载体质粒

Csr 蛋白X

蛋白Y

缓冲液洗涤去除未结 合的其他蛋白质

GsT 蛋白X 蛋白Y

蛋白Y

**GST-蛋** **白X**

SDS-PAGE

蛋白质染色

含还原型谷胱甘肽的洗脱液

将融合蛋白和与之结合的蛋

白分子从琼脂糖珠上洗脱

蛋白质琼脂 分子量糖珠 标准 对照

融合 蛋白X

蛋白与蛋白

对照 Y复合物

GST >蛋白x

蛋白Y

kyx2018

C②kkyx2018

图24-10 标签融合蛋白沉淀实验流程示意图

如蛋白X 和蛋白Y 间存在相互作用，可用GST 标签蛋白沉淀实验予以证明。将蛋白X 的编码基因插到GST 编码序列的下游，表达为GST-蛋白X 融合蛋白；该融合蛋白的GST 部分可以与偶联在琼脂糖珠上的GSH 结 合；蛋白Y 可以与蛋白X 相互作用，被琼脂糖珠间接沉淀下来；经洗涤去除未结合的蛋白质，再用含游离GSH 的缓冲液将GST-蛋白X 融合蛋白竞争洗脱下来，经电泳染色即可证明两者的相互作用

**(二)酵母双杂交技术**

酵母双杂交系统目前已经成为分析细胞内未知蛋白质相互作用的主要手段之一。该技术的建立 是基于对酵母转录激活因子GAL4 分子的认识。 GAL4 分子的 DNA 结合区(binding domain,BD)和 促 进转录的活性区(activation domain,AD)被分开后将丧失对下游基因表达的激活作用，但是如果BD 和 AD 分别融合了具有配对相互作用的两种蛋白质分子后，就可以依靠所融合的蛋白质分子之间的相互 作用而恢复对下游基因的表达激活作用☑。

酵母双杂交系统可以用于：①证明两种已知基因序列的蛋白质可以相互作用；②分析已知存在相 互作用的两种蛋白质分子的相互作用功能结构域或关键氨基酸残基；③将待研究蛋白质的编码基因 与BD 基因融合成为“诱饵”表达质粒，可以筛选AD 基因融合的“猎物”基因的cDNA 表达文库，获得 未知的相互作用蛋白质。

**二、DNA-** **蛋白质相互作用分析技术**

蛋白质与DNA 相互作用是基因表达及其调控的基本机制。分析各种转录因子所结合的特定 DNA 序列及基因的调控序列所结合的蛋白质是阐明基因表达调控机制的主要研究内容。这里介绍 两种目前常用的研究DNA 与蛋白质相互作用的技术。

**(** **一)电泳迁移率变动分析**

电泳迁移率变动分析(electrophoretic mobility shift assay,EMSA)或称凝胶迁移变动分析(gel shift assay)最初用于研究DNA 结合蛋白与相应 DNA 序列间的相互作用，可用于定性和定量分析，已经成

艺记



4kkyx2018

kkyx2018

**第二十四章** **常用分子生物学技术的原理及其应用** **455**

为转录因子研究的经典方法。目前这一技术也被用于研究RNA 结合蛋白和特定RNA 序列间的相互 作用口。

DNA 结合蛋白与特定DNA 探针片段的结合会增大其分子量，在凝胶中的电泳速度慢于游离探 针，即表现为条带相对滞后。在实验中预先用放射性核素或生物素标记待检测的DNA 探针，再将标 记好的探针与细胞核提取物温育一定时间，使其形成DNA- 蛋白质复合物，然后将温育后的反应液进 行非变性(不加SDS,以免形成的复合物解离)聚丙烯凝胶酰胺电泳，最后用放射自显影等技术显示出 标记DNA 探针的条带位置。

**(二)染色质免疫沉淀技术**

真核生物的基因组 DNA 以染色质的形式存在。因此，研究蛋白质与DNA 在染色质环境下的相互作 用是阐明真核生物基因表达机制的重要途径。染色质免疫沉淀技术(chromatin immunoprecipitation assay,ChIP)是目前可以研究体内DNA 与蛋白质相互作用的主要方法。它的基本原理是在活细胞状态 下，用化学交联试剂固定蛋白质-DNA 复合物，并将其随机切断为一定长度范围内的染色质小片段，然后 通过免疫学方法沉淀此复合体，再利用PCR 技术特异性地富集目的蛋白质结合的DNA 片段，从而获得 蛋白质与DNA 相互作用的信息☑。

近年来，人们将ChIP和芯片技术结合在一起，建立了ChIP芯片(ChIP-chip)技术。该方法是在全 基因组范围筛选与特定蛋白质相结合的DNA 序列，即鉴定特定核蛋白的DNA 结合靶点的一项新 技术。



小 结

本章概括介绍了目前医学分子生物学中有关的部分常用技术。

印迹技术可以将在凝胶中电泳分离的生物大分子转移到固相介质上并加以检测分析，包括DNA 印迹技术、RNA 印迹技术和蛋白质印迹技术。在DNA 和 RNA 印迹技术中，使用核酸探针进行检测； 在蛋白质印迹技术中，使用特异性抗体进行检测。

PCR 的技术原理是以待扩增的DNA 分子为模板，用两条寡核苷酸片段作为引物，分别与模板 DNA 链互补结合；在DNA 聚合酶作用下完成两条新链的合成。不断重复这一过程，即可使目的DNA 片段得到扩增。 PCR 的基本反应步骤包括变性、退火和延伸。以PCR 为基础，衍生出RT-PCR、原位 PCR、 实时PCR 等多种技术。 PCR 及其衍生技术主要用于目的基因的克隆、基因突变分析、DNA 和 RNA 的微量分析、DNA 序列测定和基因的体外突变等。

确定一段DNA 分子中的4种碱基的排列顺序的技术称为DNA 测序。双脱氧法和化学降解法是 经典的DNA 测序方法。第一代全自动DNA 测序技术基于双脱氧法而建立。新一代高通量DNA 测 序技术实现了微量化、并行化和低成本，为医学大数据时代提供了核心技术支撑。 DNA 测序在医学 中用于鉴定各种复杂性疾病的易感性预警或早期诊断的疾病标志物和治疗靶点；建立个人SNP 位点 与疾病易感性、药物敏感性和耐受性以及其他诸多表型之间的联系；用于病原微生物的分子分型。 DNA 测序在法医学领域具有特殊价值。

生物芯片包括基因芯片和蛋白质芯片。基因芯片主要用于基因表达检测、基因突变检测、功能基 因组学研究、基因组作图和新基因的发现等多个方面。蛋白质芯片广泛应用于蛋白质表达谱、蛋白质 功能、蛋白质间的相互作用等研究。

分离纯化蛋白质是研究单一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 盐析、透析、电泳、层析及超速离心等不损伤蛋白质结构和功能的物理方法来纯化蛋白质。通过肽图 分析和肽段的Edman 降解法可以获得蛋白质的一级结构。X 射线衍射、核磁共振和冷冻电镜是解析 蛋白质三维结构的主要技术。

分析蛋白质-蛋白质、蛋白质-DNA、 蛋白质-RNA 复合物的组成和作用方式是理解生命活动的基 础。酵母双杂交技术和标签蛋白沉淀是目前分析细胞内蛋白质相互作用的主要手段。 EMSA 和 ChIP

**456** **第五篇** **医学分子生物学专题**

是目前最常用的在体外和体内分析DNA 与蛋白质相互作用的方法。

**思** **考** **题**

1. 核酸分子杂交在医学领域有哪些应用价值。

2. 总结PCR 技术的用途，思考该技术在医学领域的应用。

3. 阐述实时荧光PCR 可用于核酸精确定量的机制，在临床可能用于哪些疾病的诊断，还存在哪 些局限性。

4. 梳理归纳DNA 测序技术在医学中的应用价值，分析将其用于临床实践后可能遇到的技术、伦 理和社会问题。

5. 简要叙述蛋白质理化性质在蛋白质分离、纯化中的应用。

6. 研究蛋白质相互作用的意义是什么，如何能够分离到细胞内的蛋白质复合体，设想可以动态 实时分离鉴定研究细胞内生物大分子复合体的方式。

(药立波)

的 kkyx2018 Akkyx2018





**第二十五章** **基因结构功能分析**

**和疾病相关基因鉴定克隆**



人类几乎所有的疾病都与基因结构和表达变化有关，都是遗传因素和环境因素相互作用的结果， 因此分析基因的结构与功能、鉴定疾病相关基因是医学分子生物学重要的研究领域，具有重大的理论 和实践意义。

要解析疾病发生发展过程中遗传因素的作用及其分子机制，开展精准的诊断、治疗和预防，首先 需要揭示基因的结构与功能。 DNA 序列测定可用于解析基因一级结构的变化；基因顺式作用元件的 鉴定是了解基因表达的关键；基因拷贝数和表达产物的分析，了解基因时空表达特性，有助于揭示基 因功能及功能改变的原因。

基因作为遗传信息携带分子，其功能实际是基因产物的功能，即基因编码的蛋白质和RNA 的功

能。对基因产物不同水平的研究，需要采用不同的研究手段。生物信息学序列比对，可预测基因的功

kkyx2018

能；蛋白质与蛋白质相互作用，蛋白质与 DNA/RNA 等的相互作用可用于了解基因产物的生物学途 径；细胞水平上，高表达或者沉默某种基因，观察细胞生物学行为的改变，以了解基因的功能；构建转 基因或基因敲除的动物模型，可在整体水平观察基因功能。

依据基因变异在疾病发生、发展中的作用，疾病相关基因可区分为致病基因和疾病易感基因。如 果一种疾病的表型和一个基因型呈直接对应的因果关系，即该基因结构或表达的异常是导致该病发 生的直接原因，那么该基因就属于致病基因。这类疾病主要是单基因病，即传统的遗传性疾病，环境 因素的影响较小。在复杂性疾病，诸如肿瘤、心血管疾病、代谢性疾病、自身免疫性疾病等，环境因素 和遗传因素均起着一定作用，表现为两个以上基因的“微效作用”的相加，或者多基因间的相互作用， 故此类疾病亦称为多基因病。若单一基因变异仅增加对疾病的易感性，其基因可称之为疾病易感基 因。我们可以将影响疾病发生发展的基因，笼统地称为疾病相关基因(disease related gene),甚至直接 称为疾病基因(disease gene)。需要特别注意的是不要被囊性纤维化基因、糖尿病基因等基因名称所 误导。许多人类基因首先是通过研究该基因突变导致的疾病时发现的，故以疾病来命名，实际上这些 基因正常时，均具有重要的生物学功能。

鉴定疾病相关基因，不但可以详尽地了解疾病的病因和发病机制，开发新的诊断和干预技术，而 且有利于了解基因的功能，因而一直是生物医学工作者研究的重点。鉴定新基因或称克隆新基因也 具有重大的商业价值，各大生物药物公司纷纷加入这一基因发现的大战中。人类基因组计划的完成 为疾病相关基因的发现提供了有利的契机。后基因组时代生物医学领域的主要任务之一就是诠释基 因的功能，而鉴定疾病相关基因与确定基因功能两者有着密不可分的联系，并可相互促进。

**第一节** **基因结构分析**

大部分基因实质上就是一段特定的 DNA 序列，通常由编码序列和非编码序列组成。解析基因一 级结构的 DNA 测序技术见第二十四章，本节主要介绍分析基因编码序列和两种非编码序列(转录起 点和启动子)的技术、分析基因拷贝数和基因表达产物的常用技术。

**458**



第五篇 医学分子生物学专题

**一、鉴定基因的顺式元件是了解基因表达的关键**

对基因结构的了解，除获得DNA 的核苷酸序列外，还必须确定基因功能区域，这些功能区域包括 基因编码区、启动子区和转录起始点等顺式作用元件区域。

**(一)编码序列的确定主要通过生物信息学、** **cDNA** **文库和RNA** **剪接分析法**

编码序列是对应着成熟mRNA 的核苷酸序列，分析基因编码序列的主要技术如下。

**1.** **用数据库分析基因编码序列** 在基因数据库中，对各种方法所获得的cDNA 片段的序列进行 同源性比对，通过染色体定位分析、内含子/外显子分析、可读框(open reading frame,ORF)分析及表达 谱分析等，可以初步明确基因的编码序列，并可对其编码产物的基本性质，如跨膜区、信号肽序列等进 行分析。由于基因数据库的信息量不断增大，利用有限的序列信息即可通过同源性搜索获得全长基 因序列，然后，利用美国国立生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)的 ORF Finder软件或EMBOSS 中的getorf软件进行ORF 分析，并根据编码序列和非编码序列的结构特 点，便可确定基因的编码序列。

**2.** **用CDNA文库法分析基因编码序列** 对cDNA 进行克隆测序或构建cDNA 文库是最早分析基 因编码序列的方法。全长cDNA 文库一般可以通过mRNA 的结构特征进行判断，因为尽管细胞中各 mRNA 的序列互不相同，但基本上都由3部分组成，即5'-UTR、编码序列和3'-UTR, 其中编码序列含 有以起始密码子开头、终止密码子结尾的ORF。

以cDNA 文库作为编码序列的模板，利用PCR 法即可将目的基因的编码序列钓取出来，如果按基

因的保守序列合成PCR 引物，即可从cDNA 文库中克隆未知基因的编码序列；还可通过分析PCR 商 y₂018 物来观察mRNA 的不同拼接方式。

cDNA 末端快速扩增(rapid-amplification of cDNA end,RACE)技术(包括5'-和3'-RACE) 是高效钓 取未知基因编码序列的一种方法，该方法可以利用mRNA 内很短的一段序列来扩增与其互补的 cDNA 末端序列，以此为线索，经过多次扩增及测序分析，最终可以获得基因的全部编码序列。

此外，采用核酸杂交法可从cDNA 文库中，获得特定基因编码序列的cDNA 克隆，该方法为寻找同 源编码序列提供了可能，其做法是：根据其他生物的基因序列合成一段DNA 探针，然后以核酸杂交法 筛选所构建的cDNA 文库，进而对阳性克隆的cDNA 片段进行序列分析，也将此方法称为动物园杂交 (zoo hybrization)。

**3.** **用** **RNA** **剪接分析法确定基因编码序列** 通常情况下，选择性剪接的转录产物可以通过基因 表达序列标签(expression sequence tag,EST)的比较进行鉴定，但这种方法需进行大量的EST 序列测 定；同时由于大多数EST 文库来源于非常有限的组织，故组织特异性剪接变异体也很可能丢失。目 前，高通量分析RNA 剪接的方法主要有3种：①基于 DNA 芯片的分析法：常用的是代表外显子的 DNA 芯片或外显子/外显子交界的DNA 片段芯片；②交联免疫沉淀法：用紫外线将蛋白质和RNA 交 联在一起，然后用特异性抗体将蛋白质-RNA 复合物沉淀，通过分析蛋白质结合的RNA 序列，便可确 定RNA 的剪接位点；③体外报告基因测定法：即将报告基因克隆到载体中，使RNA 剪接作为活化报 告基因的促进因素，通过分析报告基因的表达水平，即可推测克隆片段的RNA 剪接情况，以此为线索 便可分析基因的编码序列。

**(二)启动子的确定主要采用生物信息学、启动子克隆法和核酸蛋白质相互作用法**

分析启动子结构对于研究基因表达调控具有重要意义。研究启动子结构的方法首先可利用生物 信息学方法预测启动子，其次可采用传统的启动子克隆法，还可以采用核酸与蛋白质相互作用的方法 进行研究。

**1.** **用生物信息学预测启动子** 采用生物信息学方法预测启动子结构特征为后续的启动子克隆 及深入研究提供理论支撑。

(1)用启动子数据库和启动子预测算法定义启动子：由于启动子通常涉及基因的上游区域，含有



着着养業業業善靠

第二十五章 基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆 **459**

调控基因适度活化或抑制的信息，因此，在定义启动子或预测分析启动子结构时应包括启动子区域的 3个部分：①核心启动子(core promoter);②近端启动子(proximal promoter):含有几个调控元件的区 域，其范围一般涉及转录起点(transcription start site,TSS)上游几百个碱基；③远端启动子(distal pro- moter):范围涉及TSS 上游几千个碱基，含有增强子和沉默子等元件。

(2)预测启动子的其他结构特征：启动子区域的其他结构特征包括GC 含量、CpG 比率、转录因子 结合位点、碱基组成及核心启动子元件等。大约70%以上哺乳类动物基因5'-区都含有CpG 岛，常与 启动子序列重叠或交叉覆盖，故可用于鉴定启动子。也可以根据始祖启动子与mRNA 转录本之间的 相似性鉴定启动子。

用于启动子预测的数据库有多个，例如，真核启动子数据库(eukaryotic promoter database,EPD)主 要预测真核RNA 聚合酶Ⅱ型启动子，数据库中的所有启动子数据信息都经过实验证实；转录调控区 数据库( transcription regulatory region database,TRRD)的数据来源于已发表的科学论文。这些数据库 主要通过计算机识别、判断及分析，在数据库中寻找启动子的特异性特征结构。

2. 用 PCR 结合测序技术分析启动子结构 该方法最为简单和直接，即根据基因的启动子序列， 设计一对引物，然后以PCR 法扩增启动子，经测序分析启动子序列结构。

**3.** **用核酸-蛋白质相互作用技术分析启动子结构** 足迹法(footprinting) 用于分析启动子中潜在 的调节蛋白结合位点，利用DNA 电泳条带连续性中断的图谱特点判断与蛋白质结合的DNA 区域，它

是研究核酸-蛋白质相互作用的方法，而不是专 门用于研究启动子结构的方法，足迹法需要对 被检DNA 进行切割，根据切割DNA 试剂的不 同，足迹法可分为酶足迹法和化学足迹法。

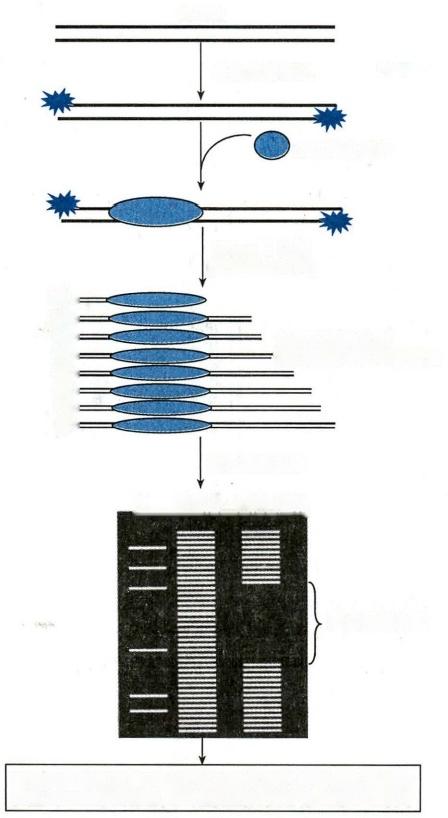
(1)用核酸酶进行足迹分析：酶足迹法 (enzymatic footprinting) 是 利 用 DNA 酶 处 理 DNA- 蛋白质复合物，然后通过电泳分析蛋白质

结合序列。常用的酶有DNA 酶 I(DNase I)

和核酸外切酶Ⅲ。

DNaseI 足迹法的基本原理如图25-1。将 可能含有目的启动子序列的双链 DNA 片段进 行单链末端标记，然后与细胞核抽提物进行体 外结合反应，进而经 DNase I 随机切割，从而 产生一系列长短不同的DNA 片段，最后经变 性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，形成仅相差一个 核苷酸的一系列DNA 条带。由于DNA 结合蛋 白可保护其结合的DNA 序列不受 DNase I 的 酶切消化，从而在凝胶电泳的感光胶片上出现 无条带的空白区域，该现象类似蛋白质在DNA 上留下的足迹。通过对空白区域相应的DNA 进行克隆和测序，并对照未经结合反应的DNA 序列标志，即可鉴定蛋白质结合区的 DNA 之 精确序列。

核酸外切酶Ⅲ足迹法的基本原理类似 DNase I足迹法，即利用核酸外切酶Ⅲ的3'→ 5'外切酶活性，从3'-末端切割双链 DNA, 从而 确定蛋白质在DNA 上的结合位点。

dsDNA

单链末端标记

kkyx2018

Akkyx2018

DNA结合蛋白

DNase I切割

(控制反应时间)

长短不同的片段

蛋白质结合区不被酶切

变性凝胶电泳

M 无蛋白蛋白-DNA

蛋白质结合区

对空白区域相应的DNA 进行克隆和测序，并对照未经结合

反应的DNA 序列标志，即可鉴定蛋白质结合区的DNA 序列

图25-1 DNase I足迹法的原理

**460**

元

第五篇 医学分子生物学专题

(2)用化学试剂进行足迹分析：化学足迹法(chemical footprinting)是利用能切断DNA 骨架的化 学试剂处理 DNA- 蛋白质复合物，由于化学试剂无法接近结合了蛋白质的DNA 区域，因此在电泳上形 成空白区域的位置就是 DNA 结合蛋白的结合位点。最常用的化学足迹法是羟自由基足迹法 (hydroxyl radical footprinting)。

羟自由基足迹法利用羟自由基攻击 DNA 分子表面的脱氧核糖骨架，若 DNA 结合蛋白将脱氧核 糖遮盖，则自由羟基无法靠近，于是便可在凝胶电泳中出现缺失条带的现象。由于羟自由基分子量 小，不受本身空间位阻的影响，相对于DNase I 和核酸外切酶Ⅲ足迹法而言，羟自由基足迹法产生的 足迹更小，更有利于确定蛋白质在DNA 上的结合位点。

还可用电泳迁移率变动分析和染色质免疫沉淀技术鉴定启动子，电泳迁移率变动分析(electro- phoretic mobility shift assay,EMSA)和染色质免疫沉淀( chromatin immuno-precipitation,ChIP)技术的原 理见第二十四章。由于EMSA 和 ChIP 均只能确定DNA 序列中含有核蛋白结合位点，故尚需结合 DNA 足迹实验和DNA 测序等技术来确定具体结合序列。

**(三)转录起始点的确定采用生物信息学、直接克隆测序法和5'-RACE** **法**

在原核或真核生物，RNA 聚合酶通过识别和结合启动子而在基因的转录起点(TSS) 启动基因的 转录。此处主要介绍分析真核生物基因TSS 的技术。

**1.** **用数据库搜索TSS** 目前，数据库已成为搜索TSS 的重要工具。利用对寡核苷酸帽法构建的 全长cDNA 文库5'-末端测序所得的数据信息建立了一个 TSS 数据库(database of transcription start

sites,DBTSS),并在此基础上，通过将寡核苷酸帽法和大量平行测序技术相结合开发了一种TSS 测 房 … 2

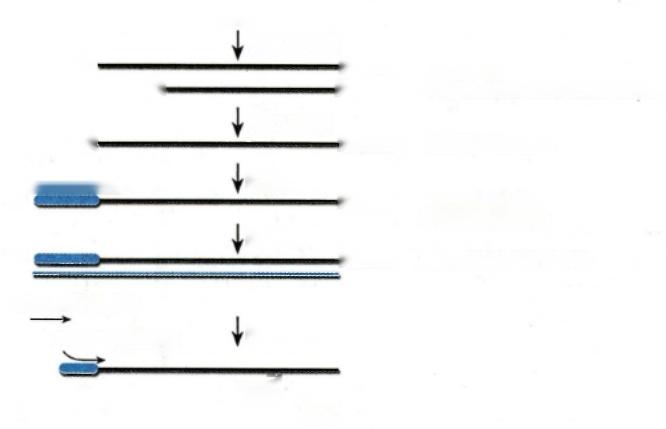
法，从而实现了一次测试可产生1×10⁷个TSS 的数据。由此可见，利用数据库资源可以为基因TSS 的 鉴定提供重要参考。

**2.** **用** **cDNA** **克隆直接测序法鉴定TSS** 最早对TSS 的鉴定方法就是直接对cDNA克隆进行测 序分析。以mRNA 为模板，经逆转录合成 cDNA 第一链，同时利用逆转录酶的末端转移酶活性，在 cDNA 第一链的末端加上polyC尾，并以此引导合成cDNA 第二链。将双链cDNA 克隆于适宜载体，通 过对克隆cDNA 的5'-末端进行测序分析即可确定基因的TSS 序列。该方法比较简单，尤其适于对特 定基因TSS 的分析。但该方法依赖于逆转录合成全长cDNA, 一 旦cDNA 的5'-末端延伸不全，或在逆 转录之前或过程中mRNA 的5'-末端出现部分降解，便可导致5'-末端部分缺失，从而影响对TSS 的序 列测定。

**3.** **用5'-cDNA** **末端快速扩增技术鉴定TSS** 5'-cDNA 末端快速扩增技术(5'-rapid amplification of cDNA end,5'-RACE)是一种基于PCR 从低丰度的基因转录本中快速扩增cDNA 5'-末端的有效方 法。以下简要介绍一种利用高特异性5'-RACE 法鉴定TSS 的技术(图25-2):①用碱性磷酸酶去掉总 RNA 中裸露的5'-磷酸基团；②用烟草酸焦磷酸酶去掉 mRNA 的5'-帽子结构，保留一个磷酸基团； ③ 用T4 RNA连接酶将5'-RACE 适配体(5'-RACE adapter)连接到去帽mRNA 的5'-末端；④以上述带 有5'-RACE 适配体的mRNA 为模板，用逆转录酶和随机寡核苷酸引物进行逆转录合成cDNA;⑤ 巢式 PCR 反应：先用下游外侧基因特异性引物(gene specific primer 1,GSP1)和5'-RACE 外侧引物进行外侧 PCR 反应；然后再使用下游内侧基因特异性引物(GSP2) 和5'-RACE 内侧引物进行内侧PCR 反应； ⑥通过对最终的PCR 产物直接进行DNA测序或先进行DNA克隆后再测序，从而明确特定基因的 TSS 序列。

在5'-RACE 的基础上，通过在转录本5'-末端引入特殊的Ⅱ型限制性内切酶识别位点，可将多个 5'-末端短片段串联在一起，进而通过对串联片段的一次测序可获得多个基因的TSS 序列信息。常用 的技术包括5'-末端基因表达系列分析(5'-end serial analysis of gene expression,5'-SAGE)和帽分析基 因表达(cap analysis gene expression,CAGE)技术。

第二十五章 基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆 461



RNA

用CIAP 处 理

AAA...3′

=3'

用TAP处理

AAA...3'

连接

AAA..3'

逆转录

AAA...3'

5'RACE外侧引物

5'RACE内侧引物

GSP2

GSP1

去帽的全长mRNA

去帽的mRNA 与

5'RACE接头结合

cDNA 随机9核苷酸引物

5'p,

5'RACE接头 5′

5′

全 长mRNA

降 解 的mRNA,rRNA,tRNA

5'm'G-p-p-p

巢式PCR

和DNA

5′

图 2 5 - 2 5'-RACE 鉴 定TSS 的 原 理

**(四)其他顺式作用元件的确定**

顺式作用元件(cis-acting element)指存在于基因非编码序列中，能影响编码基因表达的序列。除 上文所描述的顺式作用元件外，增强子、沉默子、绝缘子等都可以参与基因表达调控，因发挥重要的调 控作用而被广泛关注。

增强子指能增加同它连锁的基因转录效果的DNA 序列。增强子是通过启动子来增加转录的。 有效的增强子可以位于基因的5'-端，也可位于基因的3'-端，有的还可位于基因的内含子中。增强子 的效应很明显， 一般能使基因转录效果增加10～200倍，有的甚至可以高达上千倍。例如，人珠蛋白 基因的表达水平在巨细胞病毒(cytomegalovirus,CMV)增强子作用下可提高600～1000倍。增强子的 作用同增强子的方向(5' →3'或3' →5')无关，甚至远离靶基因达几千kb 也仍有增强作用。常用于鉴 定增强子的方法包括染色质免疫共沉淀技术(ChIP) 结合测序技术(ChIP-seq) 和位点特异性整合荧光 激活细胞分选测序技术(site-specific integration fluorescence-activated cell sorting followed by sequencing, SIF-seq)分析法。

沉默子是基因的负调控元件。真核细胞中沉默子的数量远远少于增强子。沉默子的DNA 序列 被调控蛋白质结合后阻断了转录起始复合物的形成或活化，使基因表达活性关闭。绝缘子(insulator) 是一类特殊的顺式作用元件，它不同于增强子，其功能是阻止激活或阻遏作用在染色体上的传递，使 染色质的活性限定于结构域之内。如果将一个绝缘子置于增强子和启动子之间，它能阻止增强子对 启动子的激活。另外，如果一个绝缘子在活性基因和异染色质之间，则可以保护该基因免受异染色质 化而失活。这些性质说明绝缘子可能影响染色质的组织结构。

近几年来，利用染色质免疫共沉淀技术、染色体构象捕获(chromosome conformation capture,3C)等 表观遗传学技术，结合芯片或新一代测序技术等高通量技术平台，以及生物信息学分析手段来鉴定这 些具有调节基因表达的顺式作用元件，已经成为后基因时代的研究热点和发展趋势。

**二、检测基因的拷贝数是了解基因表达丰度的重要因素**

分析某种基因的种类及拷贝数，实质上就是对基因进行定性和定量分析，常用的技术包括DNA 印 迹(Southern印迹)、实时定量PCR 技术等(见第二十四章)。 DNA 印迹是根据探针信号出现的位置 和次数判断基因的拷贝数。 一般情况下，DNA 印迹可以准确地检测位于基因组不同位置上的相同拷 贝基因，但如果基因的多个拷贝成簇地排列在基因组上，则应配合DNA 测序进行分析。 DNA 印迹除

kkyx2018



**462**

04记

第五篇 医学分子生物学专题

了作为基因拷贝数的检测方法外，还常用于基因定位、基因酶切图谱、基因突变和基因重排等分析。 实时定量PCR 是通过被扩增基因在数量上的差异推测模板基因拷贝数的异同。 DNA 测序是最精确 的鉴定基因拷贝数的方法。

**三、分析基因表达的产物可采用组学方法和特异性测定方法**

基因表达产物包括RNA 和蛋白质/多肽，因此分析基因表达可以从RNA 和蛋白质/多肽水平 上进行。在1968年中心法则确立前后的数年间，只能通过测定代谢酶活性，或采用核素标记结合 原位杂交、凝胶电泳、放射自显影分析基因表达。20世纪70年代中期以后，RNA 印迹(1977年)和 蛋白质印迹(1979年)成为分析特异基因表达的常规技术。 DNA 克隆技术的诞生(1973年)推动 了基因组 DNA 和 cDNA 的分离与鉴定；1980— 1990年间，积累了大量 EST;1990 年代初，各种 DNA、EST、mRNA 数据库应运而生。随后，PCR(1986 年),特别是实时定量PCR 与数据库检索相 结合，通过合成特异引物检测基因表达几乎取代了先前的 RNA 印迹。随着人类基因组测序的完 成，为了满足基因功能诠释和从“组学”水平揭示基因表达谱的需要，各种生物芯片(包括核酸和蛋 白质芯片)技术应运而生，结合20世纪80～90年代建立的转基因、基因敲除/敲入技术，基因表达 及功能分析技术日趋成熟。

**(一)通过检测RNA** **在转录水平分析基因表达**

根据分析方法的原理和功能特性，可将基因转录水平分析分为封闭和开放性系统研究方

法。封闭性系统研究方法(如 DNA 芯片、RNA 印迹、实时RT-PCR 等)的应用范围仅限于已知基

因。开放性系统研究方法(如差异显示PCR、 双向基因表达指纹图谱、分子索引法随机引物y2018 PCR 指纹分析等)可用于发现和分析未知基因。此处主要介绍常用的针对已知基因的转录水平

分析技术。

**1.** **用核酸杂交法检测RNA** **表达水平** 核酸分子杂交法是目前生物化学及分子生物学研究领域 应用非常广泛的技术之一，是定性或者定量特异性检测 RNA 序列片段的有效工具。

(1)用RNA 印迹分析RNA 表达：RNA 印迹，也称Northern印迹，被广泛应用于RNA 表达分析，并 作为鉴定RNA 转录本、分析其大小的标准方法。尽管RNA 印迹并不适合高通量分析，但对于那些通 过差异显示RT-PCR 或 DNA 芯片等技术获得的差异表达的RNA, 可用RNA 印迹来确证；对于新发现 的cDNA 序列，以其为探针对组织或细胞的RNA 样品进行RNA 印迹分析，可确定与之互补的RNA 真 实存在。

(2)用核糖核酸酶保护实验分析 RNA 水平及其剪接情况： RNA 酶保护实验(ribonuclease protection assay,RPA)是一种基于杂交原理分析RNA 的方法，既可进行定量分析，又可研究其结构特 征。RPA 的原理如图25-3:用含特定DNA 序列的质粒为模板，经体外转录，制备RNA 探针；将标记的 RNA 探针与样品RNA 杂交后，经只水解单链RNA 的 RNA 酶处理，即可去除游离探针及双链RNA 中 的单链区域，而使杂交双链RNA 受到保护不被消化。回收杂交双链并进行变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 后，通过检测探针标记物便可显示对应于探针大小的RNA 片段。

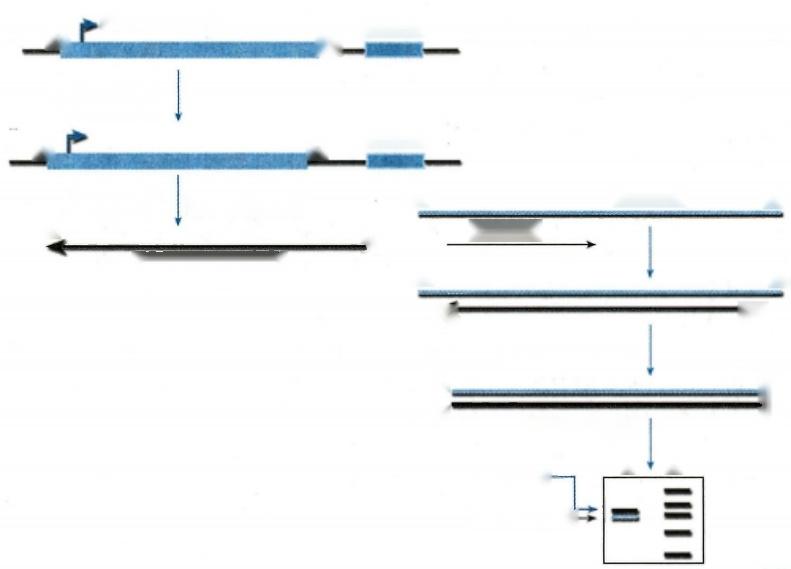
RPA 技术可对RNA 分子的末端以及外显子/内含子的交界进行定位，确定转录后RNA 的剪接途 径。此外，RPA 还可用于特定RNA 的丰度分析。与 RNA 印迹相比，RPA 的灵敏度和分析效率更高， 该方法可在一次实验中同时分析几种mRNA, 但因每一个探针的实验条件需认真优化，因此这一方法 不适于高通量分析。

(3)用原位杂交进行RNA 区域定位：原位杂交(in situ hybridization,ISH)是通过设计与目标RNA 碱基序列互补的寡核苷酸探针，利用杂交原理在组织原位检测RNA 的技术，其可对细胞或组织中原 位表达的RNA 进行区域定位，同时也可作为定量分析的补充。

2. 用 PCR 技术检测RNA 表达水平 PCR 技术是目前生物化学与分子生物学领域应用最为便 捷、广泛的技术，可快速对RNA 分子进行定量或者定性检测。



第二十五章 基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆 **463**

待克隆目的片段

5% 3'

限制性内切酶

使载体线性化

5'

3'

依 赖DNA 的 标记的单核苷酸

RNA 聚 合 酶 3′

标记的反义RNA 探针

T7或SP6

T7或SP6

5′

总RNA 池

3′

5'

杂交反应

5′

3′

51

3'

5/

3

RNaseA 和RNase I

5'

3′

变性电泳检测

RNA 探针- 1 2

RNA 杂交片段-

kkyx2018

的kkyx2018

图25-3 核糖核酸酶保护实验的原理

(1)用逆转录PCR 进 行RNA 的半定量分析：逆转录 PCR(RT-PCR) 的原理见第二十四章。 RT- PCR 一般用于RNA 的定性分析；如果设置阳性参照，则可对待测RNA 样品进行半定量分析(即对基 因的相对表达水平进行比较)。

(2)用实时定量PCR 进 行RNA 的定量分析：实时定量PCR 是定量分析RNA 的最通用、最快速、 最简便的方法，该方法是对PCR 反应进行实时监测，具有很高的灵敏度和特异性。

**3.** **用基因芯片和高通量测序技术分析RNA** **表达水平** 基因芯片和高通量测序技术的应用大大 加速了揭示基因组、转录组结构与功能的步伐，是目前宏观分析RNA 表达的有效技术手段。

(1)基因芯片已成为基因表达谱分析的常用方法：目前，基因芯片(见第二十四章)技术已广泛 应用于基因表达谱分析，主要采用cDNA 芯片，其便于对不同状态(如生理和病理条件)下的基因表达 谱进行比较，揭示转录组差异表达的规律，对探索发病机制、评价治疗效果、筛选药物靶标具有重要 意义。

(2)用循环芯片测序技术分析基因表达谱：运用循环芯片测序技术(即第二代测序技术),可对 基因表达谱进行高通量分析， 一次可完成几十万到几百万个DNA 分子片段的序列测定，从而快速获 得转录组或基因组的全貌。除用于DNA 测序外，循环芯片测序技术还广泛应用于基因组分析的各个 方面：在DNA 水平上，可以大规模地分析基因组甲基化、筛选突变基因、检测基因多态性；在 RNA 水 平上，可以对RNA 片段进行扫描、定量与鉴定，对全基因组进行广谱表达研究等。循环芯片测序技术 的另一个广泛应用领域是小分子RNA 或非编码RNA 的研究。

**(二)通过检测蛋白质/多肽而在翻译水平分析基因表达**

蛋白质/多肽是结构基因表达的最终产物，其质和量的变化直接反映了基因的功能。以下简要介 绍几种检测蛋白质/多肽的技术。

**1.** **用蛋白质印迹技术检测蛋白质/多肽** 蛋白质印迹技术的原理见第二十四章。该技术需要将 蛋白质/多肽转移到固相支持物上进行检测。

**2.** **用酶联免疫吸附实验分析蛋白质/多肽** 与蛋白质印迹相似，酶联免疫吸附实验(ELISA) 也是

**464**



**第五篇** **医学分子生物学专题**

一种建立在抗原-抗体反应基础上的蛋白质/多肽分析方法，其主要用于测定可溶性抗原或抗体，该方 法需要将已知抗原或抗体吸附于固相载体(如聚苯乙烯微量反应板)表面，使抗原-抗体反应在固相表 面进行。常用的ELISA 方法包括双抗体夹心法、间接法、酶联免疫斑点实验(ELISPOT) 以及生物素- 亲和素系统-ELISA(biotin avidin system ELISA,BAS-ELISA)。

**3.** **用免疫组化实验原位检测组织/细胞表达的蛋白质/多肽** 包括免疫组织化学(immunohisto- chemistry)和免疫细胞化学(immunocytochemistry)实验，两者原理相同，都是用标记的抗体在组织/细 胞原位对目标抗原(目标蛋白质/多肽)进行定性、定量、定位检测。常用技术包括酶免疫组化(酶标 记)、免疫荧光组化(荧光标记，可用荧光显微镜或激光共聚焦显微镜进行观察)、免疫金组化(胶体金 颗粒标记)、免疫电镜技术(铁蛋白、胶体金或过氧化物酶标记)等。

**4.** **用流式细胞术分析表达特异蛋白质的阳性细胞** 流式细胞术( flow cytometry)通常利用荧光标 记抗体与抗原的特异性结合，经流式细胞仪分析荧光信号，从而根据细胞表达特定蛋白质的水平对某 种蛋白质阳性细胞(即特异基因表达的细胞)作出判断。流式细胞术既可检测活细胞，也可检测用甲 醛固定的细胞，被广泛用于细胞表面和细胞内分子表达水平的定量分析，并能根据各种蛋白质的表达 模式区分细胞亚群。此外，流式细胞术可使用多种荧光标记的抗体同时对多个基因产物进行标记和 监测，是对细胞进行快速分析、分选、特征鉴定的一种有效方法。

**5.** **用蛋白质芯片分析蛋白质/多肽表达水平** 用蛋白质芯片分析蛋白质/多肽的表达谱：运用蛋 白质芯片可高通量分析蛋白质/多肽的表达和功能。根据制作方法和用途不同，可将其分为蛋白质检 测和功能芯片两大类。蛋白质检测芯片包括抗体芯片、抗原芯片、配体芯片等，它是将具有高亲和力

的特异性探针分子(如单克隆抗体)固定在基片上，用以识别生物样品溶液中的目标多肽，蛋白质功yz201s

能芯片可用来研究蛋白质修饰、蛋白质-蛋白质/蛋白质-DNA/ 蛋白质-RNA, 以及蛋白质与脂质、蛋白 质与药物、酶与底物、蛋白质-小分子等的相互作用。

与基因芯片类似，蛋白质芯片可用于检测组织/细胞来源的样品中蛋白质的表达谱；其精确程度、 信息范畴取决于芯片上已知多肽的信息多寡。由于多肽合成昂贵，蛋白质来源受限，加之蛋白质操作 技术难，使蛋白质芯片的应用受到限制。

**6.** **双向电泳高通量分析蛋白质表达谱** 用双向电泳分析蛋白质/多肽表达谱：双向电泳可同时 分离成百上千的蛋白质(见第一章)。电泳结果经染色后，既可对不同样品中蛋白质的表达谱进行比 较；还可以从凝胶中将特定的蛋白质点切下，经胰蛋白酶消化后得到短肽片段，利用质谱技术进行定 性分析，对差异表达的蛋白质进行鉴定。

**第二节** **基因功能研究**

基因的功能就是基因产物的功能，也就是编码基因的蛋白质功能和非编码基因RNA 的功能，前 者是本节讨论的重点。非编码RNA, 如 miRNA、lncRNA 等所谓的调节RNA 功能，最近引起了广泛的 关注，可参考基因表达调控的相关章节内容。基因产物的功能可以从三个不同水平来描述：①生物化 学水平，主要描述基因产物参与了何种生化过程，如蛋白激酶、转录因子等；②细胞水平，主要论述基 因产物在细胞内的定位和参与的生物学途径，例如，某蛋白质定位于核内，参与DNA 的修复过程，有 可能并不了解确切的生物化学功能；③整体水平，主要包括基因表达的时空性及基因在疾病中的作 用。对人类基因功能的研究是后基因组时代生命科学领域中的重大命题。通过基因功能的研究可以 阐明人体细胞的增殖、分化、衰老、死亡和通讯等方面的分子机制，确定人类疾病发生发展及转归的机 制，进而研发新的诊断技术及治疗干预措施，提供药物开发的靶标分子，是开展精准医疗的基础四。

**一、生物信息学全面了解基因已知的结构和功能**

在以往的研究中，已经对大量的基因功能产物的功能有了详尽的了解，获得了足够多的信息，建



**第二十五章** **基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆** **465**

立了共享资源数据库，其中最为著名的就是美国的GenBank。 这些数据库是进行基因序列比对，诠释 基因功能的基础。依据分子进化的理论，核酸或氨基酸序列相似的基因，应表现出类似的功能。这些 序列相似的基因称之为同源基因。基本的方法是基因序列比对分析。

两个或多个符号序列按字母比较、尽可能确切地反映它们之间的相似和差异，称为序列比对，又 称序列联配。通常所讲的序列比对包括核酸序列比对和蛋白质序列比对。根据每次参与比对的序列 数又可分为双序列比对和多序列比对。常用的生物信息数据库网址见表25-1。

**表25-1** **重要生物信息数据库网址**

**数据库名称** **数据库服务器网址**

EBI

GenBank

GSDB(Genome Sequence Database)

NDB(Nucleic Acid D Database)

NCBI

SWISS-PROT

PROSIT

<http://www.ebi.ac.uk/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

<http://www.ncgr.org:80/gsdb>

http://ndbserver. rutgers.edu

http://www.ncbi.nlm. nih.gov/

<http://www.ebi.ac.uk.swissprot/>

<http://www.expasy.ch/prosite/>

**二、基因发挥作用的本质是其编码产物的生物化学功能**

人类基因组DNA 有3×10 °bp,包括2万个蛋白质编码基因，决定了人类作为高等动物及其复杂的 生物学性状。编码基因表达的蛋白质分子包括：转录因子，是一类能与基因调控区域专一性结合的蛋 白质分子，调控基因表达的时空性；核骨架蛋白质，是由纤维蛋白构成的网架结构，维持细胞核的基本 结构；信号分子， 一类参与胞内信号转导的蛋白质分子；酶，是一类生物催化剂，支配着生物的新陈代 谢、参与营养和能量转换等许多催化过程，与生命过程关系密切的反应大多是酶催化反应；细胞骨架 蛋白质，是由蛋白质与蛋白质搭建的骨架网络结构，主要作用是维持细胞的一定形态；细胞膜受体，位 于细胞质膜上，用于识别和结合小的非脂溶性信号分子；离子通道蛋白质，是横跨质膜的亲水性通道， 允许适当大小的离子顺浓度梯度通过；转运体，是一类具有从胞外向胞内转运物质的蛋白质分子；激 素，是一类由分泌细胞合成的信号分子，可调节机体的代谢、生长、发育、繁殖、性别、性欲等重要生命 活动；细胞因子，是一类由免疫细胞(如单核、巨噬细胞、T 细胞、B 细胞、NK 细胞等)和某些非免疫细 胞(内皮细胞、表皮细胞、纤维母细胞等)经刺激而合成、分泌的一类具有广泛生物学活性的小分子蛋 白质，可调节细胞生长、分化，调控免疫应答；抗体，是一种由浆细胞(效应B 细胞)分泌，被免疫系统 用来鉴别与中和外来物质如细菌、病毒等的大型Y 形蛋白质；凝血因子，是一类参与血液凝固过程的 蛋白质组分；载体蛋白，是血浆中可与一些不溶或难溶于水的物质，以及一些易被细胞摄取或易随尿 液排出的物质结合的蛋白质；细胞外基质蛋白，是由细胞合成并分泌到细胞外、分布在细胞表面或细 胞之间的大分子，主要是胶原蛋白或蛋白聚糖，支持并连接组织结构、调节组织的发生和细胞的生理 活动。

的 kkyx2018

在一些情况下，即使对基因的序列、结构和表达模式有清楚的认识，但仍然难以阐明基因所表达 的蛋白质的功能。此时通过研究该蛋白质与已知功能蛋白质的相互作用，无疑将非常有助于对该蛋 白质功能的了解。例如，某一未知功能的新蛋白质与另一参与 RNA 剪接的蛋白质存在相互作用，极 有可能该蛋白质也参加了RNA 的剪接过程。研究蛋白质相互作用的方法包括遗传学、生物化学和物 理学方法。遗传学方法仅用于如果蝇、酵母等模式生物，而生化和物理的方法可直接用于人类细胞。 常用的生化方法是亲和层析和免疫共沉淀。常用的高通量筛查蛋白质间相互作用的方法是酵母双杂 交技术(见第二十四章)和噬菌体展示技术。

噬菌体展示(phage display)是将外源性DNA 插入到噬菌体衣壳蛋白编码基因中的一种表达克隆

**466**



**第五篇** **医学分子生物学专题**

技术。重组基因以融合蛋白的形式，掺入病毒颗粒中，展示在噬菌体的表面。融合噬菌体可与表面展 示的外源蛋白质相互作用的蛋白质结合，以筛查蛋白质的相互作用。噬菌体展示的缺点在于其本身 是一种体外分析系统，另外，只有短肽可以展示在噬菌体表面。噬菌体展示也可用于抗体工程和普通 的蛋白质工程。

**三、利用工程细胞研究基因在细胞水平的功能**

在细胞水平研究基因功能，除了观察细胞在实验条件下该基因表达的改变，更重要的是人为地导 入外源基因或干预正常基因的表达，以观察细胞生物学行为的改变。

**(一)采用基因重组技术建立基因高表达工程细胞系**

采用基因重组技术，将外源基因导入宿主细胞，使其表达目的基因，进而观察细胞的生物学特征 改变。根据外源基因在宿主细胞表达的持续时间，可区分为瞬时转染和稳定转染细胞。稳定转染细 胞是一种最常用的细胞水平的转基因模型，外源基因通过转基因过程插入到细胞的染色体中，或以游 离基因(episome)的形式存在于细胞中稳定表达。稳定表达外源蛋白的转染细胞可以用作基因功能 研究的细胞模型，也可以利用这种方法获得外源基因产物，目前被广泛应用于细胞模型的建立。

**(二)基因沉默技术抑制特异基因的表达**

在细胞水平沉默研究基因的表达，进而观察基因沉默后细胞的生物学行为改变，是基因功能研究

的有力工具。可以利用RNA 干扰技术、反义技术以及基因组编辑(genome editing)技术等来实现对特

定基因表达的抑制。其中利用成簇规律间隔短回文重复(clustered regulatory interspaced short palin-

dromic repeat,CRISPR)技术进行基因敲除，近年来发展迅猛并广泛应用于细胞、动物水平的特定基图ms₀ 沉默。

**四、利用基因修饰动物研究基因在体功能**

人类基因组计划虽然解析了基因序列，但绝大多数基因的功能尚不清楚。因此，利用各种技术手 段研究基因的功能将是“后基因组时代”的主要内容之一。基因功能的确定必须通过实验来验证。 通常采用基因功能获得和(或)基因功能缺失的策略，观察基因在细胞或生物个体中所导致的细胞生 物学行为或个体表型遗传性状的变化，从而从正反两方面对基因的功能进行鉴定。此外，基于正向遗 传学的随机突变筛选技术也成为揭示基因功能的重要手段。由于基因的功能必须在完整的生物个体 及其生命过程中才能得到完整的体现，因此，从整体水平研究基因的功能是必然的选择☑。

**(一)用功能获得策略鉴定基因功能**

基因功能获得策略的本质是将目的基因直接导入某一细胞或个体中，使其获得新的或更高水平 的表达，通过细胞或个体生物性状的变化来研究基因功能。常用的方法有转基因技术和基因敲入 技术。

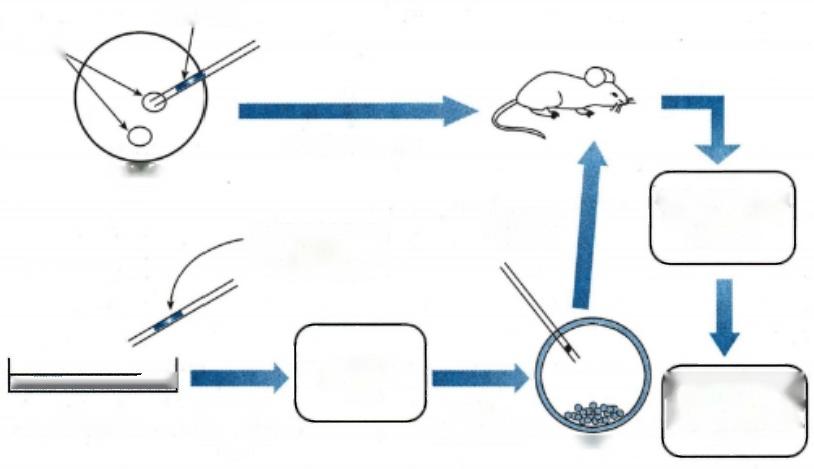
**1.** **用转基因技术获得基因功能** 转基因技术(transgenic technology)是指将外源基因导入受精卵 或胚胎干细胞(embryonic stem cell),即 ES 细胞，通过随机重组使外源基因插入细胞染色体DNA, 随后 将受精卵或ES 细胞植入假孕受体动物的子宫，使得外源基因能够随细胞分裂遗传给后代。

转基因动物(transgenic animal)是指应用转基因技术培育出的携带外源基因，并能稳定遗传的动 物，其制备步骤主要包括转基因表达载体的构建、外源基因的导入和鉴定、转基因动物的获得和鉴定、 转基因动物品系的繁育等。在转基因动物中，以转基因小鼠最为常见。建立转基因小鼠的常用方法 有两种， 一是直接将目的DNA 显微注射到受精卵的雄性原核，然后植入假孕母鼠体内，使之发育成幼 仔；二是将带有目的基因的ES 细胞注射到囊胚，然后在小鼠体内发育成幼仔。在出生的动物中即含 有在一个等位基因的位点进行了DNA 整合的小鼠，即转基因杂合子。经子代杂合子交配，在其后代 中可筛选到纯合子(图25-4)。

利用转基因动物模型研究外源基因，能够接近真实地再现基因表达所导致的结果及其在整体水

第二十五章 基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆 467

A.转基因小鼠



待转入基因

原核、

植入假孕母鼠子宫

受精卵

检测子代是否存在

转移基因或基因

敲除/敲入

的基因同源)

筛选基因

敲除/敲入

的ES

将筛选的

ES注入细胞

基因

通过杂合子后代交)

配，获得纯合子转基

因或基因敲除/敲入

动物

o o o o o 00 o

胚胎干细胞(ES)

含外源基因的打靶

载体(外源基因与目

同源重组

敲除/敲入

植入假孕 母鼠子宫

B.基因打靶

胚泡

|

|

图25-4 制备转基因和基因打靶小鼠的原理

平的调控规律，把复杂的系统简单化，具有系统性和独立性。利用转基因技术建立的疾病动物模型具

有遗传背景清楚、遗传物质改变简单、更自然更接近疾病的真实症状等优点。

然而，转基因动物模型仍存在一些亟待解决的问题，如外源基因插入宿主基因组是随机的，可能 产生插入突变，破坏宿主基因组功能；外源基因在宿主染色体上整合的拷贝数不等；整合的外源基因 遗传丢失而导致转基因动物症状的不稳定遗传等。为解决上述问题，可以在转基因动物利用组织特 异性启动子实现外源基因的时空特异性表达，或用化学或生物分子作为诱导剂，实现对外源基因表达 时间及水平的精确控制。

**2.** **用基因敲入技术获得基因的功能** 基因敲入(gene knock-in)是通过同源重组的方法，用某一 基因替换另一基因，或将一个设计好的基因片段插入到基因组的特定位点，使之表达并发挥作用。通 过基因敲入可以研究特定基因在体内的功能；也可以与之前的基因的功能进行比较；或将正常基因引 入基因组中置换突变基因以达到靶向基因治疗的目的。

基因敲入是基因打靶(gene targeting)技术的一种。基因打靶是一种按预期方式准确改造生物遗 传信息的实验手段。该技术的巧妙之处在于将ES 细胞技术和DNA 同源重组技术结合起来，实现对 染色体上某一基因的定向修饰和改造，从而深入地了解基因的功能。基因打靶的原理如图25-4:①从 小鼠囊胚(受精卵分裂至8个细胞左右即为囊胚，此时受精卵只分裂不分化)分离出未分化的ES 细 胞；②然后利用细胞内的染色体DNA 与导入细胞的外源DNA 在相同序列的区域内发生同源重组的 原理，用含有筛选标记的打靶载体，对ES 细胞中的特定基因实施“打靶”;③将“中靶”的ES 细胞移植 回小鼠囊胚，进而与囊胚一起分化发育成相应的组织和器官，最后产生出具有基因功能改变的“嵌合 鼠”。由于“中靶”的ES 细胞保持分化的全能性，因此它可以发育成为嵌合鼠的生殖细胞，使得经过 定向改造的遗传信息可以代代相传。

除基因敲入外，基因打靶还包括基因敲除、点突变、缺失突变、染色体大片段删除等。基因打靶与 转基因技术均可用于基因功能研究，但两者的最大区别就是基因打靶能去除和(或)替换生物体内的 固有基因，而转基因技术则未去除或替换固有基因。目前，基因打靶已成为研究基因功能最直接和最 有效的方法之一。

吗kkyx2018





**468** 第五篇 医学分子生物学专题

**(二)用功能失活策略鉴定基因功能**

基因功能失活策略的本质是将细胞或个体的某一基因功能部分或全部失活后，通过观察细胞生 物学行为或个体遗传性状表型的变化来鉴定基因的功能。常用的方法主要有基因敲除和基因沉默 技术。

**1.** **用基因敲除技术使基因功能完全缺失** 基因敲除(gene knock-out) 属于基因打靶技术的一种 (见图25-4),其利用同源重组的原理，在ES 细胞中定点破坏内源基因，然后利用ES 细胞发育的全能 性，获得带有预定基因缺陷的杂合子，通过遗传育种最终获得目的基因缺陷的纯合个体。

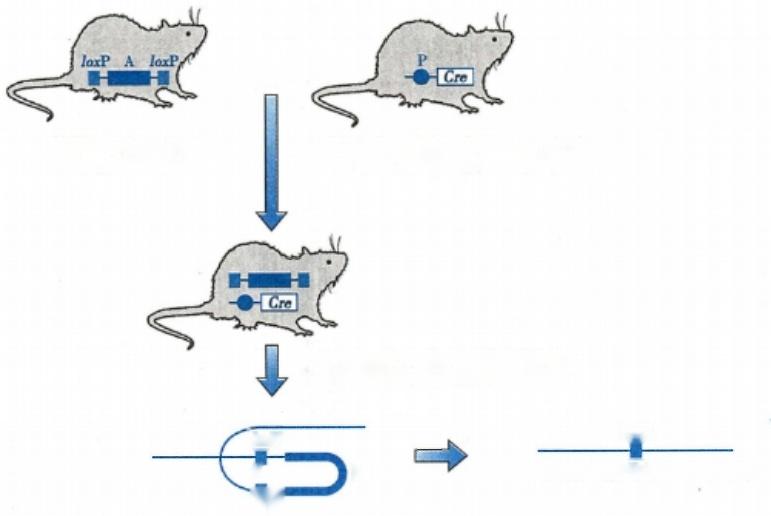
然而，基因被完全敲除之后使得表型分析受到很多限制，例如，有些重要的靶基因被敲除后会引 起胚胎早期死亡，使得无法分析该基因在胚胎发育晚期和成年期的功能；某些基因在不同的细胞类型 中执行不同的功能，完全敲除会导致突变小鼠出现复杂的表型，使研究者很难判断异常的表型是由一 种细胞引起的，还是由几种细胞共同引起的。为了克服以上不足，条件性基因敲除(conditional gene knock-out)技术应运而生，该技术可以更加明确地在时间和空间上操作基因靶位，敲除效果更加精确 可靠，理论上可达到对任何基因在不同发育阶段和不同器官、组织的选择性敲除。

Cre/loxP系统的条件敲除的原理：如图25-5,Cre 重组酶属于位点特异性重组酶，能介导两个34bp 的 loxP位点之间的特异性重组，使loxP位点间的序列被删除。重组酶介导的条件性基因敲除通常需 要两种小鼠， 一种是在特定阶段、特定组织或细胞中，表达Cre 重组酶的转基因小鼠；另一种是在基因 组中引入了loxP位点的小鼠，即靶基因或其重要功能域片段被两个loxP位点锚定的小鼠。两种小鼠 交配后，Cre 基因表达产生的 Cre 重组酶就会介导靶基因两侧的 loxP 间发生切除反应，结果将一个

loxP和靶基因切除。由于可以控制Cre 重组酶在特定阶段、特定组织或细胞中表达，使得Cre 介导的

kkyx2018

重组可以发生在特定的阶段、组织或细胞中，导致这些组织或细胞中的靶基因在特定的阶段被敲除， 而其他组织或细胞中因不表达Cre 而使得靶基因不被敲除。



×

交配

连接在组织/细胞特异性启动子P之后，

表达Cre重组酶的转基因小鼠

Cre重组酶以组织/细胞特异的方式

介导靶基因两侧的loxP间发生切除

loxP

A 特异组织/细胞的中靶基因被敲除

JoxP

靶基因被两个loxP位点 锚定的转基因小鼠

loxP

×

图25-5 Cre/loxP 系统条件敲除靶基因的原理

条件性基因敲除的优势在于克服了重要基因被敲除所导致的早期致死，并能客观、系统地研究基 因在组织器官发生、发育以及疾病发生、治疗过程中的作用和机制。但这一技术亦存在一些缺点，如 费用太高、周期较长，而且许多基因在敲除后，可能是这些基因的功能被其他基因代偿，并未产生明显



**第二十五章** **基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆**

的表型改变。

2. 用基因沉默技术可使基因功能部分缺失 基因沉默策略通常是利用反义技术，在转录或翻译 水平特异性阻断(或封闭)某些基因的表达(即沉默相应基因),然后通过观察细胞生物学行为或个体 遗传性状表型的变化来鉴定基因的功能。以下简要介绍几种常用的基因沉默技术。

(1)用RNA 干扰(RNA interference,RNAi)技术研究基因功能：利用RNAi 能在短时间内高效特 异地抑制靶基因表达的特点，可以很方便地研究基因的功能。用于基因沉默的干扰小RNA( small in- terfering RNA,siRNA)既可以在体外进行化学合成或体外转录生成，也可以基于具有合适启动子的载 体或转录元件，在哺乳类动物或细胞中转录生成。

研究者既可以将siRNA 导入特定细胞，在细胞水平上研究基因的功能；也可以通过转基因的方 法，在动物体内实现特异、稳定、长期地抑制靶基因的表达，从而在整体水平上研究基因的功能。与基 因敲除相比，RNAi 技术具有简单、易操作、周期短等优势，因此已被作为一种简便和有效的工具而广 泛用于基因功能的研究。然而，该技术可能对靶基因的相似序列发生作用，导致脱靶(off-targeting) 效应。

(2)用miRNA 技术研究基因功能：尽管 miRNA 的作用机制与siRNA 类似，但因其可通过与 mRNA 不完全互补配对结合而抑制翻译，故1种miRNA 可沉默多个靶基因，而siRNA 通常沉默单一 基因。目前，miRNA 在基因功能及基因表达调控研究中都得到了广泛应用。

(3)用反义RNA 技术研究基因功能：即通过反义RNA ( 与mRNA 互补的一段RNA 序列)与细胞 中的mRNA 特异性结合，从而抑制相应mRNA 的翻译。

(4)核酶(ribozyme)技术：天然的核酶通常是单一RNA 分子，具有自剪切作用。另外，核酶也可 由两个RNA 分子组成，两者通过互补序列相结合，形成锤头状二级结构，并组成核酶的核心序列，进 而发挥剪切作用。核酶通过剪切靶RNA 分子(即破坏靶RNA 分子)而抑制基因的表达。

**(三)用随机突变筛选策略鉴定基因功能**

尽管利用转基因、基因敲入/敲除、基因沉默等技术，从特定基因的改造到整体动物表型分析的 “反向遗传学”研究大大推动了功能基因组学的进展，但是也存在明显的局限性：首先，由于生物体的 代偿机制，使得基因敲除动物常常观察不到异常表型；其次，由于“反向遗传学”只能对已知基因进行 研究，而人类基因组中尚有90%以上的非编码序列处于未知状态；第三，由于“功能缺失”和“功能获 得”小鼠常出现胚胎期死亡，而目前可用于条件性基因改造的启动子还很少，从而阻碍了特定基因在 成体动物中的功能分析；第四，由于一个蛋白质有多个不同的功能域，特定基因在不同位点上的突变 可能产生不同的表型，应用单一的“功能缺失”方法，显然不可能发现这些不同的异常表型。因此，只 应用“反向遗传学”不足以完成功能基因组学的任务，而基于“正向遗传学”的、从异常表型到特定基 因突变的随机突变筛选策略逐渐受到青睐。

随机突变筛选策略的第一步是通过物理诱变、化学诱变或生物技术产生大量的基因组DNA 突 变。其中乙基亚硝基脲(ethyl nitrosourea,ENU)诱变是近年来发展起来的研究基因功能的新手段。 ENU 是一种化学诱变剂，它通过对基因组DNA 碱基的烷基化修饰，诱导DNA 在复制时发生错配而产 生突变。它主要诱发单碱基突变，造成单个基因发生突变(双突变的情况非常少),更接近于人类遗 传性疾病的基因突变情况。同时，ENU 的突变效率非常高，可以达到0.2%,是其他突变手段的10倍 左右。例如，经ENU 处理可使雄鼠精子基因组发生点突变，进而使得后代小鼠有可能出现突变表型， 经筛选及遗传试验即可得到突变系小鼠。通过对突变小鼠的深入研究、对突变基因定位以及位置候 选法克隆突变序列，就会得到突变基因的功能信息。

另外，基因捕获(gene trapping)技术也是一种产生大规模随机插入突变的便利手段，对于揭 示基因序列所对应的基因功能具有重要的应用价值。基因捕获技术的基本过程是：将一个含报 告基因的DNA 载体随机插入基因组，产生内源基因失活突变，通过报告基因的表达，提示插入 突变的存在以及内源基因的表达特点。利用基因捕获可以建立一个携带随机插入突变的ES 细

**469**

kkyx2018

NOE



**470** **第五篇** **医学分子生物学专题**

胞库，每一种ES 细胞克隆中含有不同的突变基因，ES 细胞克隆经囊胚注射发育为基因突变动 物模型，通过对动物模型的表型分析鉴定突变基因的功能。基因捕获技术可节省大量构建特异 打靶载体以及筛选基因组文库的工作和费用，成为可同时对基因的序列、基因的表达以及基因 的功能进行研究的高效技术。

随机突变筛选策略能够获得研究基因功能的新材料以及人类疾病的新模型，这种“表型驱动”的 研究模式有可能成为功能基因组学研究最有前景的手段和捷径之一。

**(四)利用基因编辑技术鉴定基因功能**

近几年来，越来越多专注于基因功能的研究取得了成功，同时，基因功能研究过程中所面临的诸 多技术瓶颈也愈加凸显，以基因敲除/敲入等技术为中心的试验愈加不能满足功能研究与临床技术转 化的需要。在过去一段时间中，以锌指核酸酶(zinc-finger nuclease,ZFN)和转录激活样效应因子核酸 酶(transcription activator-like effector nuclease,TALEN)技术为代表的序列特异性核酸酶技术，以其能 够高效率地进行定点基因组编辑，在基础研究、基因治疗和遗传改良等方面展示出了巨大的潜力。然 而，由于ZFN 和 TALEN 技术本身所存在的多种技术瓶颈，这两种技术并不能实现快速发展并满足各 种科研和临床需求。令人振奋的是，最新问世的成簇规律间隔短回文重复(clustered regulatory inter- spaced short palindromic repeat,CRISPR)技术拥有其他基因编辑技术无可比拟的优势。通过不断的技 术改进，CRISPR 技术被认为能够在活细胞中最有效、最便捷地“编辑”任何基因。同时，基于CRISPR 技术相对较低的实验成本和高成功率，该技术有望应用于临床药物研究与基因治疗，并已在目前的商 业化和临床转化过程中取得了令人瞩目的成就。

CRISPR 是一种来自细菌降解入侵的病毒DNA 或其他外源DNA 的免疫机制。 CRISPR 系统共分

kkyx2018

成3类，其中I 类和Ⅲ类需要多种CRISPR 相关蛋白质即Cas蛋白，共同发挥作用，而Ⅱ类系统只需要 一种 Cas 蛋白即可，因此目前CRISPR/Cas9 系统应用最为广泛。

Cas9蛋白含有两个核酸酶结构域，可以分别切割 DNA 两条单链。 Cas9 首先与 crRNA 及 tracrRNA结合成复合物，然后通过PAM 序列结合DNA, 形成RNA-DNA 复合结构，进而对目的DNA 双 链进行切割，使DNA 双链断裂。优化和改造后的CRISPR/Cas9 系统仅包括两个元素：Cas9蛋白和 sgRNA(single guide RNA)。CRISPR/Cas9通过对预设的DNA 位点进行切割，造成 DNA 双链断裂 (double strand break,DSB),细胞内的修复机制随即启动，主要包括两种修复途径：

一是非同源末端连接途径(non-homologous end joining,NHEJ),此修复机制非常容易发生错误，导 致修复后发生碱基的缺失或插入，从而造成移码突变，最终达到基因敲除的目的。 NHEJ 是细胞内主 要的DNA 断裂损伤修复机制。利用靶向核酸酶可以在受精卵水平高效的实现移码突变，从而制备基 因敲除模式动物。

二是 DNA 断裂修复途径为同源介导的修复( homology-directed repair,HR),这种基于同源重组的 修复机制保真性高，但是发生概率低。在提供外源修复模板的情况下，靶向核酸酶对DNA 的切割可 以将同源重组发生的概率提高约1000倍。利用这种机制可以实现基因组的精确编辑，如：条件性基 因敲除、基因敲入、基因替换、点突变等。

**第三节** **疾病相关基因鉴定和克隆原则**

确定疾病相关基因是一个艰巨复杂的系统工程，耗时耗钱，有的疾病基因的最终鉴定历时 数十年。尽管人类基因组计划的完成，为疾病相关基因的鉴定提供了诸多的便利，但明确地解 析疾病和某种基因的关系仍非易事，掌握鉴定疾病相关基因鉴定和克隆的原则，无疑将起到事 半功倍作用，有助于鉴定疾病相关基因研究工作高效有序的开展。首先，确定疾病表型和基因 实质联系是关键；其次，采用多途径、多种方法鉴定克隆疾病相关基因是手段；最终，确定候选基 因，明晰基因序列的改变和疾病表型的关系，以了解基因致病的本质，是鉴定和克隆疾病相关基



kkyx2018

**第二十五章** **基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆** 471

因的核心曰。

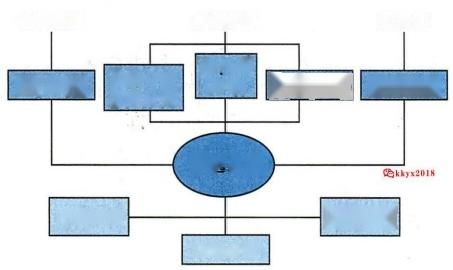
**一、鉴定克隆疾病相关基因的关键是确定疾病表型和基因间的实质联系**

疾病作为一种遗传性状，要确保其专一性和同质性。正确的疾病诊断非常重要。在一些复杂性 疾病中，对疾病表型有必要进行进一步的分类，确保疾病的同质性，以减少临床的异质性。其次，需要 确定疾病的遗传因素，即通过家系分析、孪生子分析、领养分析和同胞罹患率分析等，确定遗传因素是 否在疾病发病中的作用及其作用程度(遗传度)。在遗传因素作用较小的疾病中，鉴定并最终克隆疾 病相关基因成功的可能性很小。 一旦确定了遗传因素在疾病中的重要作用，就可进而确定存在于人 类基因组中决定疾病表型的基因，确定该基因在基因组中的位置(位点)以及该位点和基因组其他位 点的联系。

**二、鉴定克隆疾病相关基因需要多学科多途径的综合策略**

鉴定疾病相关基因是一项艰巨的系统工程，需要多学科的紧密配合，针对不同疾病采用不同的策

略。如图25-6所示，这些不同策略和方法互为 补充，方可达到最终克隆疾病基因的目的。首 先通过对不同疾病家系的连锁分析，可粗略地 将疾病的基因定位于某个染色体上。这些位 点被称之为疾病的位点(locus),此时确切的基 因尚不明了。随着对某些疾病发病机制的了 解，可以进一步阐明疾病相关的蛋白质的生物 化学和细胞生物学特征，以此为切入点，寻找 基因结构的异常，确定基因 DNA 碱基序列突 变及其导致蛋白质结构或表达异常的分子机 制，最终克隆疾病的基因。疾病动物模型对于



|  |  |
| --- | --- |
| **动物模型**  **同源基因** **连锁分析**  **序列测定** | **病例家系**  **染色体**  **异常** **表型克隆** **基因信息**  候选基因  **突变检查**  **功能分析** |

**关联分析**

**数据库**

图25-6 疾病相关基因鉴定克隆策略示意图

疾病相关基因的克隆具有重要帮助。对不同的疾病动物模型的研究，可以确定导致实验动物异常表 型的基因，进而鉴定人类的同源基因在疾病中的作用。借助生物信息数据库中有关待定基因的信息， 也可极大地促进疾病相关基因克隆的效率。

**三、确定候选基因是多种克隆疾病相关基因方法的交汇**

有许多途径能够达到最终鉴定疾病相关基因的目的，这些方法最终将交汇在候选基因上。 一旦候选基因被鉴定，即可筛检病人中该基因的突变。候选基因可不依赖其在染色体位置而予 以鉴定，但常用的策略仍然是首先找出候选染色体区域，然后在此区域内鉴定候选基因。人类 基因组计划的完成提供了人类所有基因的信息。尽管从众多的候选基因中寻找基因突变，仍然 是一项耗时的工作，但鉴定候选基因较以往还是相对容易。这是由于位置信息从2万个的基因 降低到候选区域的10～30个基因。在候选区域内预测可能的候选基因并非易事，目前仍然缺 乏这样的能力。需要的是大量重复、逐个排除，最终确定候选基因的突变以及这种突变和疾病 的联系。

**第四节** **疾病相关基因鉴定克隆的策略和方法**

鉴定和克隆疾病相关基因的策略和方法主要包括，不依赖染色体定位的疾病相关基因克隆策略、 定位克隆法、常见病的基因需要全基因组关联分析和全外显子测序法，以及生物信息数据库贮藏丰富 的疾病相关基因信息检索法。

472



第五篇 医学分子生物学专题

**一、疾病相关基因鉴定和克隆可采用不依赖染色体定位的策略**

不依赖染色体定位的疾病相关基因克隆策略包括功能克隆、表型克隆及采用位点非依赖的DNA 序列信息和动物模型来鉴定和克隆疾病基因。

**(一)从已知蛋白质的功能和结构出发克隆疾病基因**

在掌握或部分了解基因功能产物蛋白质的基础上，鉴定蛋白质编码基因的方法，称之为功能克隆 (functional cloning)。这是相对于利用基因位置克隆基因的定位克隆而言的。该方法采用的是从蛋 白质到 DNA 的研究路线，针对的是一些对影响疾病的功能蛋白具有一定了解的疾病，如血红蛋白病、 苯丙酮尿症等出生缺陷引起的分子病可以采用这个方法定位和克隆疾病基因。

**1.** **依据蛋白质的氨基酸序列信息鉴定克隆疾病相关基因** 如果疾病相关的蛋白质在体内表达 丰富，可分离纯化得到一定纯度的足量蛋白质，就可用质谱或化学方法进行氨基酸序列分析，获得全 部或部分氨基酸序列信息。在此基础上设计寡核苷酸探针，用于筛查cDNA 文库，可筛选出目的基 因。使用这种策略时，必须考虑到密码子的简并性特点，即除了甲硫氨酸和色氨酸仅有1个密码子 外，其余氨基酸均有2个或2个以上的密码子。设计探针时应尽量避开有简并密码子的区域，但实际 上往往难以做到。为此可以设计1套可能含有全部简并密码子信息的寡核苷酸探针，用此混合探针 去筛查cDNA 文库，“钓出”目的基因克隆。除cDNA 文库筛查技术外，目前还可采用部分简并混合寡 核苷酸作为PCR 引物，采用多种的PCR 引物组合，以获得候选基因的PCR 产物。

上述方法曾成功地用于镰状细胞贫血的基因克隆。首先，免疫电泳等方法已经显示出镰状细胞 贫血病人的珠蛋白异常，获得部分氨基酸残基序列后，设计了简并寡核苷酸探针，筛选有核红细胞系

的 cDNA 文库，得到了α珠蛋白基因的cDNA, 与正常人的cDNA 比较，发现了α珠蛋日基因变异。进2

而找出cDNA 探针与染色体DNA 序列间的同源互补关系，将人的α珠蛋白基因定位于第16号染色 体上，并在此基础上，提出了分子病(molecular disease)的概念。

**2.** **用蛋白质的特异性抗体鉴定疾病基因** 有些疾病相关的蛋白质在体内含量很低，难以纯化得 到足够纯度的蛋白质用于氨基酸序列测定。但是少量低纯度的蛋白质仍可用于免疫动物获得特异性 抗体，用以鉴定基因。获得的抗体一方面可用于直接结合正在翻译过程中的新生肽链，此时会获得同 时结合在核糖体上的 mRNA 分子，最终克隆未知基因；另外，特异性抗体也可用来筛查可表达的 cDNA 文库，筛选出可与该抗体反应的表达蛋白质的阳性克隆，进而可获得候选基因。

功能克隆仍然是单基因疾病基因克隆的常用策略。其缺点是特异功能蛋白质的确认、鉴定及其 纯化都相当困难，微量表达的基因产物在研究中难以获得，因而几乎不能用于多基因疾病的基因 分离。

**(二)从疾病的表型差异出发发现疾病相关基因**

表型克隆(phenotype cloning)是疾病相关基因克隆领域中一个新的策略。该策略的原理是基于 对疾病表型和基因结构或基因表达的特征联系已经有所认识的基础上来分离鉴定疾病相关基因。

依据DNA 或 mRNA 的改变与疾病表型的关系，可有几种策略：

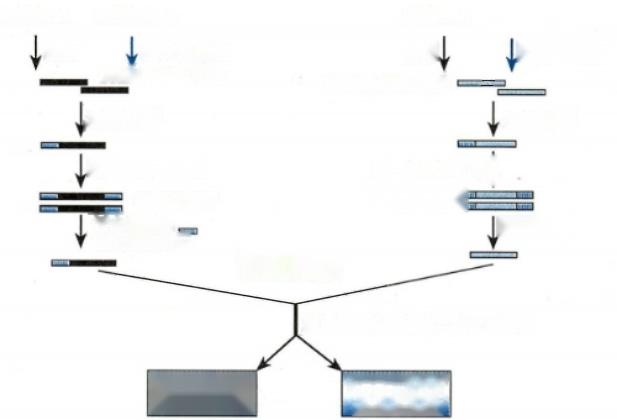
第一种策略是从疾病的表型出发，比较病人基因组DNA 与正常人基因组DNA 的不同，直接对产 生变异的DNA 片段进行克隆，而不需要基因的染色体位置或基因产物的其他信息。例如，在一些遗 传性神经系统疾病中，病人基因组中含有的三联重复序列的拷贝数可发生改变，并随世代的传递而扩 大，称为基因的动态突变。此时，采用基因组错配筛选(genome mismatch scanning)、代表性差异分析 (representative difference analysis,RDA)等技术即可检测病人的DNA 是否有三联重复序列的拷贝数增 加，从而确定患病原因。

第二种策略是针对已知基因。如果高度怀疑某种疾病是由于某个特殊的已知基因所致，可通过 比较病人和正常对照间该基因表达的差异，来确定该基因是否为该疾病相关基因。常用分析方法有 Northern印迹法、RNA 酶保护试验、RT-PCR 及实时定量RT-PCR 等。

**第二十五章** **基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆** 473

第三种策略是针对未知基因的，可通过比较疾病和正常组织中的所有 mRNA 的表达种类和含量 间的差异，从而克隆疾病相关基因。这种差异可能源于基因结构改变，也可能源于表达调控机制的改 变。常用的技术有mRNA 差异显示(mRNA differential display,mRNA-DD)、抑制消减杂交( suppressive subtractive hybridization,SSH)、基因表达系列分析(SACE)、cDNA 微阵列(cDNA microarray)和基因鉴 定集成法(integrated procedure for gene identification)等。这里仅分别介绍RDA 和 mRNA-DD 技术。

**1.RDA** **技术是建立在核酸差异杂交基础上的** **PCR** **技** **术** RDA 是通过对正常和疾病组织的 cDNA 差异片段(即代表性片段)的扩增，从而使其被检测和捕获的技术。基本原理是，首先用PCR 方 法从拟比较的疾病和正常组织获得足够量的DNA 或 cDNA 片段；然后进行差异杂交，杂交后再用不 同引物进行第二次PCR 反应；在第二次PCR 反应中，只有两个样品中结构或表达量有差异的DNA 片 段可以得到扩增(图25-7)。



驱动DNA

酶切、

DNA 或cDNA片段

加接头□

第一次PCR扩增、 驱动扩增子■

切去接头

混合杂交反应

(1:100片段数)

利用新接头进行第二次PCR扩增

两组DNA片段

无差异，无扩增

加接头冒

第一次PCR扩增

检测扩增子 切去旧接头，

加 上 新 接 头 四

**检测mRNA**

逆转录，酶切 DNA 或cDNA 片段

两者的差异片 段可被扩增

,逆转录，酶切

驱 动mRNA

**检测DNA**

酶切

kkyx2018

kkyx2018

图25-7 代表性差异分析 (RDA) 技术原理和基本过程示意图

其基本步骤是：①DNA 片段制备：分别提取正常人基因组DNA ( 检 测DNA) 和病人基因组 DNA ( 驱 动DNA), 用限制性内切酶消化DNA, 获得长度在150～1000bp 之间的片段；②获得扩增子：在两 组的所有DNA 片段上加上接头，以接头的互补序列为引物，进行第一步PCR 扩增，所获得扩增产物称 扩增子(amplicon);③ 更换接头：切去所有扩增子的接头，仅在检测扩增子上加上新的接头；④筛选扩 增产物：按1:100的比例混合检测扩增子和驱动扩增子，进行液相杂交。取少量杂交反应物为模板， 以新的接头为引物再进行第二次PCR 扩增，即可筛选出两组DNA 样品间的差异片段。

检 测DNA 和驱动DNA 间片段在第二次 PCR 反应中依据两者间是否有差异，主要可以出现两种 情况：①两组间相同的DNA 片段不会得到大量扩增。这是因为在杂交反应中，驱动DNA 片段的数目 远大于检测DNA, 将优先结合检测DNA, 使得检测DNA 分子间几乎没有机会形成同源复性双链。因 此，利用新接头进行的二次PCR 反应过程将不会有扩增产物。②两者的差异片段可得到扩增。如果 检 测DNA 中存在的某一片段在驱动DNA 中缺失，或由于突变而失去了互补结合能力，在杂交反应中 就不存在来自驱动DNA 中的同源片段的竞争，检测DNA 自身可以发生复性，且由于复性的双链DNA

两端都具有新接头，因而可以实现PCR 的大量扩增。该片段即为候选的疾病相关DNA 应中无差异片段还会存在一些被扩增的可能，但产物量较小，可以被排除。

RDA 也可用于mRNA 差异表达基因的克隆，只是需要先将mRNA 逆转录成cDNA 术对正常和异常的DNA 片段区分能力强、富集效率高、对起始材料要求低，利用RDA 了多个疾病相关新基因。

序列。虽然反

片段。 RDA 技 人们已经发现



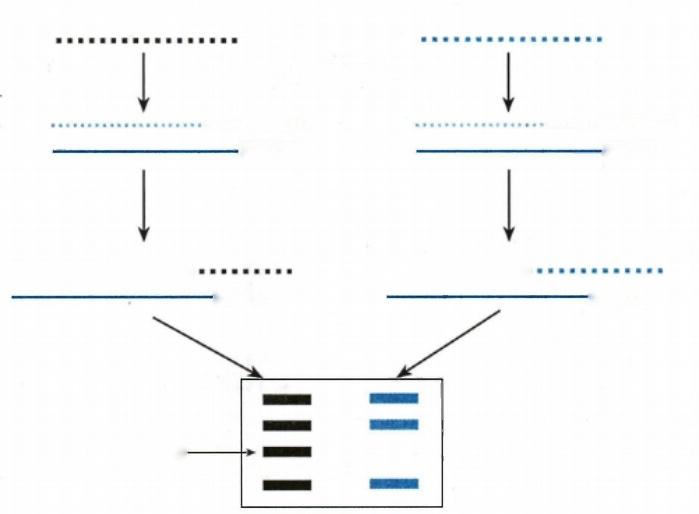


kkyx2018

**474** 第五篇 医学分子生物学专题

2. mRNA-DD是 RT-PCR 技术和聚丙烯酰胺凝胶电泳技术的结合 mRNA-DD 又称为差异显

示逆转录PCR(mRNA differential display reverse transcription PCR,DDRT-PCR)方法。该法利用可以扩 增所有哺乳类生物mRNA 的几条5'-端随机引物和几条3'-端锚定引物组合，用PCR 的方法扩增正常 人和患病个体的相应组织的cDNA。 用聚丙烯酰胺凝胶电泳分离扩增产物，比较两组间产物的差异 (图25-8)。依据理论计算，该方法所设计的组合引物可以与所有mRNA 的 poly(A) 尾匹配，因而对于 种类和含量相同的cDNA 样品，PCR 产物的种类多少和分布应该是完全一样的。如果在正常和病人 的 cDNA 标本中扩增出一些不同长度的cDNA 片段，它们所代表的cDNA 就有可能与疾病状态相关。 这一方法的优点在于所需 mRNA 量少、较快速、可同时显示多种生物性状的差异、可同时获得高表达 和低表达的基因等。这种方法同时也存在许多严重的缺陷，如假阳性率高达70%、获得的片段太短 等，很难直接判断其功能和意义。尽管有上述缺陷，但因其步骤较简单，可获得较大量信息，在实际工 作中该法应用仍较多。



对 照mRNA

NM(T11)引物逆转录

……… N'M(A11)

NM(T11)

PCR

晒kkyx2018

XXXXXXXXXX … … · … ·

NM(T11)

PAGE

差异条带 ·

…… N'M(A11) NM(T11)

**XXXXXXXXXX-** --…… ■■

**检** **测mRNA**

-NM(T11)

图25-8 mRNA 差异显示(mRNA-DD) 技术原理和基本过程示意图

**(三)采用动物模型鉴定克隆疾病相关基因**

人类的部分疾病，已经有相应的动物模型。如果动物某种表型的突变基因定位于染色体的某一 部位，而具有相似人类疾病表型的基因很有可能存在于人染色体的同源部位。另外，当疾病基因在 动物模型上已完成鉴定，还可以采用荧光原位杂交来定位分离人的同源基因。肥胖相关的瘦蛋白 (leptin)基因的克隆就是一个成功例证。利用突变的肥胖近交系小鼠通过定位克隆分离得到了位于 小鼠6号染色体的瘦蛋白基因，依据小鼠瘦蛋白基因侧翼标记，将人的瘦蛋白基因定位于人染色体 7q31 区。小鼠和人的瘦蛋白基因有84%的同源性，编码167个氨基酸残基的分泌性蛋白 瘦蛋 白，其主要功能是控制食物的摄入，促进能量的消耗。肥胖小鼠和一些遗传性肥胖症病人均具有该基 因的缺损，导致基因功能丧失。

**二、定位克隆是鉴定疾病相关基因的经典方法**

仅根据疾病基因在染色体上的大体位置，鉴定克隆疾病相关基因，称之为定位克隆(positional clo- ning)。 定位克隆的起点是基因定位，即确定疾病相关基因在染色体上的位置，然后根据这一位置信

笔记



第二十五章 基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆 **475**

息，应用DNA 标记将经典的遗传学信息转换为遗传标记所代表的特定基因组区域，再以相关基因组 区域的相连重叠群(contig)筛选候选基因，最后比较病人和正常人这些基因的差异，确定基因和疾病 的关系☑ 。人类基因组计划后所进行的定位候选克隆，是将疾病相关位点定位于某一染色体区域后， 根据该区域的基因、EST 或模式生物对应的同源区的已知基因等有关信息，直接进行基因突变筛查， 通过多次重复，最终确定疾病相关基因。

**(一)基因定位的方法有多种**

基因定位(gene location)是基因分离和克隆的基础，目的是确定基因在染色体的位置以及基因在 染色体上的线性排列顺序和距离。可从家系分析、细胞、染色体和分子水平等几个层次进行基因定 位，由于使用手段的不同可派生出多种方法，不同方法又可联合使用，相互补充。

**1.** **体细胞杂交法通过融合细胞的筛查定位基因** 体细胞杂交(somatic cell hybridization)又称细 胞融合(cell fusion),是将来源不同的两种细胞融合成一个新细胞。大多数体细胞杂交是用人的细胞 与小鼠、大鼠或仓鼠的体细胞进行杂交。这种新产生的融合细胞称为杂种细胞(hybrid cell),含有双 亲不同的染色体。杂种细胞有一个重要的特点是在其繁殖传代过程中出现保留啮齿类一方染色体而 人类染色体逐渐丢失，最后只剩一条或几条，其原因至今不明。 Miller等运用体细胞杂交，结合杂种细 胞的特征，证明杂种细胞的存活需要胸苷激酶(thymidine kinase,TK)。 含有人17号染色体的杂种细 胞在特殊的培养基中，都因有TK 活性而存活，反之则死亡，从而推断TK 基因定位于第17号染色体 上。利用这一方法定位了许多人的基因。肿瘤抑制基因也是应用体细胞杂交技术而被发现的。

**2.** **染色体原位杂交是在细胞水平定位基因的常用方法** 染色体原位杂交(chromosome in situ hy- bridization)是核酸分子杂交技术在基因定位中的应用，也是一种直接进行基因定位的方法。其主要 步骤是获得组织培养的分裂中期细胞，将染色体DNA 变性，与带有标记的互补DNA 探针杂交，显影 后可将基因定位于某染色体及染色体的某一区段。如果用荧光染料标记探针，即为荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization,FISH)。1978 年首次用α及β珠蛋白基因的cDNA 为探针，与各种 不同的人/鼠杂种细胞进行杂交，从而将人α及β珠蛋白基因分别定位于第16号和第11号染色体 上。这种染色体原位杂交技术特别适用于那些不转录的重复序列，这些重复序列很难用其他方法进 行基因定位。如利用原位杂交技术将卫星 DNA 定位于染色体的着丝粒和端粒附近。

**3.** **染色体异常有时可提供疾病基因定位的替代方法** 从基因定位克隆的角度来看，对于任何已 知与染色体异常(chromosome abnormalities)直接相关的疾病来说，染色体的异常本身就成为疾病定位 基因克隆的一个绝好的位置信息。染色体的异常有时可替代连锁分析，用于定位疾病基因。在一些 散发性、严重的显性遗传病，染色体变异分析是获得候选基因的唯一方法。有时可直接获得基因的正 确位置，而无需进行连锁分析，例如染色体的平衡易位和倒位等。诸如多囊肾、巨肠症、假肥大型肌营 养不良基因的定位在很大程度上借助于染色体的异常核型表现。

如果细胞学观察的染色体异常与某一基因所表达的异常同时出现，即可将该基因定位于这一染 色体的异常区域内。例如对一具有6号染色体臂间倒位的家系分析表现，凡是有此倒位者，同时也都 有某一HLA 等位基因的表达；而家族中无此倒位者，也无该等位基因的表达，因此将该HLA 基因定于 6号染色体短臂的远侧区。

染色体非整倍体分析中，可通过基因剂量法进行基因定位。在Down 综合征(核型47,+21)的病 人中过氧化物歧化酶-1的活性比正常人高1.5倍，因此将该酶基因定位于21号染色体上。但是并非 所有基因的拷贝数都有明显的剂量效应作用。

**4.** **连锁分析是定位疾病未知基因的常用方法** 基因定位的连锁分析(linkage analysis)是根据基 因在染色体上呈直线排列，不同基因相互连锁成连锁群的原理，即应用被定位的基因与同一染色体上 另一基因或遗传标记相连锁的特点进行定位。如果待定基因与标记基因呈连锁遗传，即可推断待定 基因与标记基因处于同一染色体上，并且依据和多个标记基因连锁的程度(用两者间的重组率度 量),可确定待定基因在染色体的排列顺序以及和标记基因间的遗传距离(用cM 表示)。例如已知血

**476**

生说

**第五篇** **医学分子生物学专题**

型基因Xs 定位于X 染色体上，普通鱼鳞病和眼白化病基因与其连锁，因此判定这两个基因也在X 染 色体上，计算病人子代的重组率，即可确定这些基因间的相对距离。

**(二)定位克隆疾病相关基因的过程包括三大步骤**

定位克隆疾病相关基因是鉴定遗传性疾病基因的主要手段，在早期的疾病基因鉴定工作中发挥 了不可替代的作用，也获得了巨大的成功。随着人类基因组计划的完成，采用定位克隆疾病基因的方 法，更加容易实施，其主要的过程包括三个步骤。

**1.** **尽可能缩小染色体上的候选区域** 定位克隆疾病基因困难的大小取决于染色体候选区域的 宽窄。为此要尽可能地缩小疾病相关基因在染色体上的候选区域。在单基因疾病基因的遗传制图 时，需要选择更多的遗传标记，找出遗传距离最近的标记，增加更多的家系、建立所有个体的单倍体型 等，以增加发现重组机会，结合寻找更多连锁不平衡，精确疾病相关基因的候选区域。

**2.** **构建目的区域的基因列表** 由于人类基因组计划的完成，各种DNA 分子水平上物理图谱的 建立，已经使得疾病相关基因的克隆变得较为容易。现在已无需建立 DNA 重叠群，直接使用人类基 因组的数据库，如基因组阅览器Ensembl(<http://www.ensemble.org>)或 者the Santa Cruz阅览器(http:// genome.cse.ucsc.edu)就可直接显示候选区域已肯定或可能的基因，但也不能完全依赖这些信息，要 仔细检查重叠的拼装是否正确。当然，还要结合ENCODE 计划的结果、非编码序列、选择性转录本等 表达谱，获得更多候选区域的基因信息。

**3.** **候选区域优先考虑基因的选择及突变检测** 为了鉴定突变，对无血缘关系的病人要进行 DNA 测序。可以测定候选区域所有的外显子，也可测定优先考虑基因的外显子，取决于研究策略、人力和 财力的投入。可根据下列情况考虑该基因为优先考虑的基因：①合适的表达： 一个好的候选基因的表

达模式应该和疾病表型相一致，该基因不一定特征性表达于病变组织，但至少在疾病发生前或发生 …21 时，疾病组织表达该基因，如神经管缺损的基因应该在神经管闭锁前，即人胚胎发育的3～4周表达。

② 合适的功能：候选区域的基因功能，如果已知，就易于作出决定。如fibrillin 和结缔组织疾病Marfan 综合征的关系。 一个新基因序列的分析提示有某种功能，如有跨膜基序或酪氨酸激酶基序等，就可和 疾病的发病机制联系起来，作出判断。③同源性和功能关系：如果候选区域一个基因和已知的基因同 源，不管是与人的间接同源(paralog),还是与其他种的直接同源(ortholog),而且也知道同源基因突变 引起的相类似表型，该基因就有可能是疾病基因。候选基因的确定也可基于密切的功能关系，如受体 和配体的关系，同一代谢或发育途径的组分等。近年来，对模式生物基因功能的认识，更多的同源基 因的表型被鉴定，极大地促进了人类致病基因的鉴定克隆工作。

**(三)假肥大型肌营养不良基因的克隆是定位克隆的成功例证**

采用定位克隆策略鉴定的第一个疾病相关基因是X 连锁慢性肉芽肿病基因。而假肥大型肌营养 不良(Duchenne muscular dystrophy,DMD)基因的成功克隆，更彰显了基因定位克隆的优势。这项工作 主要分两个阶段。首先，根据患病女性X 染色体与第21号常染色体的易位，以及男患儿发生小的 Xp21.2 缺失并伴发三种其他X 连锁隐性遗传病，再运用RFLP 连锁分析将DMD 基因定位于Xp21。 然后，分别克隆得到了基因的2个不同的片段，分别命名为XJ 系列探针和pERT87 系列探针，根据两 片段的比较，证明DMD 基因约为2300kb,占 X 染色体的1%以上，该基因编码肌营养不良蛋白(dys- trophin),影响横纹肌和心肌的结构和收缩功能。

**三、确定常见病的基因需要全基因组关联分析和全外显子测序**

基因连锁分析在定位克隆遗传性疾病的基因取得了成功，尽管鉴定复杂性疾病的易感基因采用 了如罹患姊妹对(affected sib pair,ASP)分析方法，也取得一些成功的例子，但总体来说，并不理想。 从2005年以来，基于连锁不平衡(linkage disequilibrium)理论发展而来的全基因组关联研究(genome- wide association study,GWAS),在复杂疾病的基因定位克隆中，发挥了巨大的作用。 GWAS 方法是一 种在无假说驱动的条件下，通过扫描整个基因组观察基因与疾病表型之间关联的研究手段曰。具体



第二十五章 基因结构功能分析和疾病相关基因鉴定克隆 477

操作中，通常收集成千上万个病人和对照的DNA 标本，利用高通量芯片进行SNP 的基因定型，进一步 通过统计学分析，确定分子SNP 位点和疾病表型的关系。该方法已成功鉴定了常见多发病的多种基 因位点，不仅有效简化了常见病的相关基因鉴定过程，而且为研究疾病的发病机制和干预靶点提供了 极有价值的信息。不过该技术对研究团队的经济实力，合作性，生物信息学水平以及庞大假阳性数据 排查能力都有很高的要求，且只涉及常见等位基因的变异。

全外显子测序(whole exon sequencing)技术则可对全基因组外显子区域DNA 富集从而进行高通 量测序，它选择性地检测蛋白质编码序列，可实现定位克隆，对常见和罕见的基因变异都具有较高灵 敏度，仅对约1%的基因组片段进行测序就可覆盖外显子绝大部分疾病相关基因变异，其高的性价比 使其在复杂疾病易感基因的研究中颇受推崇。

**四、生物信息数据库贮藏丰富的疾病相关基因信息**

人类基因组计划和多种模式生物基因组测序的完成，生物信息学的发展，计算机软件的开发应用 和互联网的普及，人们通过已获得的序列与数据库中核酸序列及蛋白质序列进行同源性比较，或对数 据库中不同物种间的序列比较分析、拼接，预测新的全长基因等，进而通过实验证实，从组织细胞中克 隆该基因，这就是所谓的电子克隆(in silico cloning)。

人类新基因克隆大都是从同源 EST 分析开始的。应用同源比较，在人类 EST 数据库中，识别和 拼接与已知基因高度同源的人类新基因的方法包括：①以已知基因cDNA 序列对 EST 数据库进行搜 索分析，即 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool),找出与已知基因cDNA 序列高度同源的EST; ② 用Seqlab 的 Fragment Assembly软件构建重叠群，并找出重叠的一致序列；③比较各重叠群的一致序 列与已知基因的关系；④对编码区蛋白质序列进行比较，并与已知基因的蛋白质的功能域进行比较分 析，推测新基因的功能；⑤用新基因序列或EST 序列对序列标签位点(sequence-tagged site,STS)数据 库进行BLAST 分析，如果某一EST (非重复序列)与某一种STS 有重叠，那么，STS 的定位即确定了新 基因的定位。电子克隆充分利用网络资源，可大大提高克隆新基因的速度和效率。由于数据库的不 完善、错误信息的存在及分析软件的缺陷，电子克隆往往难以真正地克隆基因，而是一种电子辅助 克隆。



小 结

结构基因编码区的确定、启动子、转录起始点确定和其他顺式元件的确定是了解基因表达的关 键。分析编码序列的技术包括数据库搜索法、cDNA 文库法、RNA 剪接法等；研究启动子结构的技术 包括生物信息学预测法、启动子克隆法、核酸-蛋白质相互作用分析法等；研究真核生物结构基因转录 起点序列的技术包括数据库搜索法、cDNA 克隆直接测序法、5'-cDNA 末端快速扩增法、连续分析法 等。其他顺式作用元件主要包括增强子、沉默子、绝缘子等，都可以参与基因表达调控。分析基因表 达丰度的技术包括Southern印迹、PCR 和 DNA 测序法等。分析基因表达的产物可采用组学方法和特 异性测定方法。通过检测RNA 和蛋白质/多肽可分别揭示基因在转录水平和翻译水平的表达特征。 检测RNA 的技术包括RNA 印迹、原位杂交、核糖核酸酶保护实验、cDNA 芯片等；检测蛋白质/多肽的 技术包括蛋白质印迹、酶联免疫吸附实验、免疫组化、流式细胞术、蛋白质芯片等。

基因的功能由基因表达产物体现，也就是编码基因的蛋白质功能和非编码基因RNA 的功能。基 因产物的功能可以从三个不同水平来描述，即生物化学水平、细胞水平和整体水平的功能。生物信息 学的同源序列比对、细胞水平高表达或低表达基因(反义技术、RNA 干涉和基因编辑)技术、蛋白质与 蛋白质相互作用技术和整体水平的转基因技术、基因敲除小鼠动物模型等，都是目前进行基因功能研 究的有效手段。由于基因的功能必须在完整的生物个体及其生命过程中才能得到完整的体现，因此， 从整体水平研究基因的功能是必然的选择。鉴定基因功能的策略包括功能获得策略(如转基因、基因 敲入技术)、功能失活策略(如基因敲除、基因沉默技术)、随机突变筛选策略及基因编辑技术等。基

**478** **第五篇** **医学分子生物学专题**

因编辑技术近年来发展迅猛，主要ZFN、TALEN 技术以及CRISPR 技术，其中CRISPR 技术通过不断的 技术改进，被认为能够在活细胞中最有效、最便捷地“编辑”任何基因。

疾病相关基因的鉴定和克隆，可采取非染色体定位的基因功能鉴定和定位克隆两类策略。前者 包括功能克隆、表型克隆及采用位置非依赖的 DNA 序列信息和动物模型来鉴定和克隆疾病基因；后 者则是先进行基因定位作图，确定疾病相关基因在染色体上的位置，然后寻找来自该区的基因并进行 克隆，采用包括体细胞杂交法、原位杂交法、连锁分析及染色体异常定位来克隆疾病相关基因。假肥 大肌营养不良基因的克隆是定位克隆策略应用的成功范例。



**思** **考** **题**

1. 简述分析基因TSS、启动子、编码序列以及拷贝数的主要方法及原理。

2. 如何在转录和翻译水平分析基因的表达特征?

3. 简述鉴定基因功能的主要策略及其原理。

4. 请设计一个综合方案来解析基因的结构和表达特征，并最终鉴定其功能。

5. 简述基因编辑技术的发展历程及其原理。

6. 如何理解疾病相关基因的概念?鉴定克隆疾病相关基因的原则是什么?

(吕社民)

哈 kkyx2018 dkkyx2018

笔记





**第二十六章基因诊断和基因治疗**

人类大多数疾病都与基因变异相关。人体自身基因结构与功能发生异常，以及外源性病毒、细菌 的致病基因在人体的异常表达，都可以引起疾病。从基因水平检测和分析疾病的发生，确定发病原因 及疾病的发病机制，评估个体对疾病的易感性，进而采用针对性的手段矫正疾病紊乱状态，是现代医 学发展的新方向。基因诊断(gene diagnosis)和基因治疗(gene therapy)已成为现代分子医学的重要内 容之一。

**第一节** **基** **因** **诊** **断**

基因诊断最早的医学实践始于1976年，美国加州大学旧金山分校的华裔科学家Y.W.Kan 博士 利用DNA 片段多态性分析技术，对镰状细胞贫血这一遗传性血红蛋白病进行了特异性产前诊断，开 创了基因诊断的历史先河。伴随着临床手段的不断进步，基因诊断技术已经逐步地从实验研究进入 临床应用阶段，作为一种新的诊断模式，基因诊断在许多重大疾病的早期诊断、鉴别诊断、分期分型、 疗效判断、预后的预测等方面显示了独特的优势，广泛地应用于遗传性疾病、感染性疾病及肿瘤等疾 病的诊断，使基因诊断技术在临床应用方面的作用逐步得到凸显。

的 kkyx2018

**一、基因诊断的概念及特点**

**(一)基因诊断是针对DNA** **和** **RNA** **的分子诊断**

人类遗传病的基因诊断是分析遗传信息携带分子的序列，从而在分子水平上确定疾病的病因所 在。从广义上说，凡是用分子生物学技术对生物体的DNA 序列及其产物(如mRNA 和蛋白质)进行 的定性、定量分析，都称为分子诊断(molecular diagnosis)。 从技术角度讲，目前的分子诊断方法主要 是针对DNA 分子的，涉及功能分析时，还可定量检测RNA (主要是mRNA) 和蛋白质等分子。通常将 针对DNA 和 RNA 的分子诊断称为基因诊断(gene diagnosis)。

因为绝大部分疾病的表型是由基因结构及其功能异常或外源性病原体基因的异常表达造成的， 这也是疾病发生的根本原因。因此以遗传物质作为诊断目标，可以在临床症状和表型发生改变前作 出早期诊断，属于病因诊断，并且基因诊断的结果还能够提示疾病发生的分子机制。大多数疾病的发 生过程都存在基因结构和表达水平的改变。单基因病主要由病人某种基因突变，致使其编码的蛋白 质的生物学功能发生改变。如迪谢内肌营养不良(Duchenne muscular dystrophy,DMD)是 X 染色体隐 性遗传疾病，抗肌萎缩蛋白(dystrophin)基因突变所致肌萎缩蛋白缺乏或功能异常是导致疾病发生的 根本原因；心血管疾病、糖尿病、高血压、阿尔茨海默病等疾病不具有典型的孟德尔遗传模式，这一类 疾病具有明显的家族遗传倾向，与某些遗传标记有显著的关联性，其致病原因尚未清楚，可能与基因 组多个较微弱的基因效能累加有关，称为遗传学疾病或多基因病，肿瘤的发生发展具有多因素和多阶 段性，在每一个阶段可能发生基因结构与功能的改变；而对于感染性疾病来说，病原体的侵入必定使 病人体内存在病原体的遗传物质。基因诊断正是通过检测与分析基因结构与功能(包括外源病原体 基因)及基因表达的异常改变，从而对疾病进行诊断。

**(二)基因诊断在疾病诊断上具有独特的优势**

早期医学诊断是根据病人的临床症状和体征来进行判断，随着检验技术手段的提升，逐步发展为

480

笔记

**第五篇** **医学分子生物学专题**

以疾病的表型改变为依据，而大部分疾病的表型改变缺乏特异性，并且往往是在疾病的中晚期才出 现，常常不能作出及时准确的诊断。相比之下基因诊断不依赖疾病表型改变，直接以致病基因、疾病 相关基因、外源性病原体基因或其表达产物为诊断对象，具有特异性强、灵敏度高、可早期诊断、应用 性广的独特优势。

**1.** **特异性强** 基因诊断是以基因结构(包括病人自身基因和外源性病原体基因)及其表达产物 (RNA 或蛋白质)为检测对象，而不是疾病表型。由于基因的突变及其功能异常、外源性病原体基因 的存在是疾病发生的根本原因，因此，基因诊断属于病因诊断，具有高度的特异性。采用分子生物学 技术能够检测出这些特异的碱基序列，从而判断病人是否发生与携带某些基因突变，以及是否存在外 源性病原体基因，从而作出特异性诊断。

**2.** **灵敏度高** 基因诊断常利用PCR 和核酸杂交的技术手段。 PCR 技术可将待测核酸样品进行 特异性高效扩增达百万倍，亦可以对极其微量的几个细胞、 一根头发、 一滴血迹、组织切片和石蜡包埋 组织块中的DNA 进行高效扩增。而核酸杂交技术利用核酸杂交的特异性，由于使用了具有生物催化 活性的酶、放射性核素标记或荧光素标记的高灵敏度探针来检测，因此，具有很高的灵敏度。目前临 床上，常常把核酸杂交技术与PCR 技术联合使用，用于检测微量的病原体基因及其拷贝数极少的各 种基因突变，具有较高的灵敏度。

**3.** **可进行快速和早期判断** 人类所患疾病种类繁多，各种疾病的表型千差万别，仅依据表型改 变难以准确地作出快速和早期诊断。但绝大部分疾病都可以应用分子生物学技术进行基因水平的检 测，甚至可以在表型未发生改变的情况下进行准确的早期诊断。与传统的诊断技术相比，基因诊断的

过程更为简单与直接，如采用细菌培养技术对感染性疾病作出诊断通常需要数天的时间，而采用基因

诊断技术只需数个小时。 kkyx2018 kkyx2018

**4.** **适用性强、诊断范围广** 伴随着“人类基因组计划”的完成和“功能基因组计划”的不断推 进，已被克隆的疾病基因和疾病相关基因也越来越多，人们对许多疾病发生的分子机制有了更深的认 识，这为基因诊断的发展提供了坚实的理论基础。采用基因诊断技术不仅可以在基因水平上对大多 数疾病进行诊断，还能对有遗传病家族史的致病基因携带者作出预警诊断，也能对有遗传病家族史的 胎儿进行产前诊断。基因诊断也可以用于评估个体对肿瘤、心血管疾病、精神疾病、高血压等多基因 病的易感性和患病风险，以及进行疾病相关状态的分析，包括疾病的分期分型、发展阶段、抗药性等方 面。另外，基因诊断还可以快速检测不易在体外培养和在实验室中培养安全风险较大的病原体，如艾 滋病病毒、肝炎病毒、流行性感冒病毒等。

**二、** **基因诊断的样品来源广泛**

临床上可用于基因诊断的样品有血液、组织块、羊水和绒毛、精液、毛发、唾液和尿液等。在选择 被测样品时，可根据材料来源和分析目的提取其基因组 DNA 或各种 RNA, 后者可经逆转录形成 cDNA。RNA 的分析必须用新鲜样品。在开展胎儿DNA 诊断时，除传统的羊水、绒毛和脐带血样品 外，从母亲外周血中提取胎儿细胞或胎儿DNA 的先进技术已经初步应用于临床实践。

进行基因诊断的前提是疾病表型与基因型的关系已被阐明(见第二十五章)。人类遗传病的表 型是由个体基因型决定的，故对遗传病的诊断也可理解为进行个体的基因分型。

**三、基因诊断的基本技术日趋成熟**

基因诊断包括检测个体的基因序列特征、基因突变、基因的拷贝数以及是否存在病原体基因等。 基因诊断技术可分为定性和定量分析两类技术。基因分型和检测基因突变属于定性分析，测定基因 拷贝数及基因表达产物量则属于定量分析。在检测外源感染性病原体基因时，定性分析可诊断其在 人体存在与否，而定量分析则可确定其含量。从理论上来讲，所有检测基因表达水平或基因结构的方 法都可用于基因诊断。基因诊断的基本方法几乎全部基于核酸分子杂交和PCR 技术，或上述两种技

**第二十六章** **基因诊断和基因治疗**

术的联合应用。常用于基因诊断的基本方法主要有核酸分子杂交技术、PCR、DNA 测序和基因芯片技 术等。

**(一)核酸分子杂交技术是基因诊断的基本方法**

核酸分子杂交技术是基因诊断的最基本的方法之一。不同来源的 DNA 或 RNA 在一定的条件 下，通过变性和复性可形成杂化双链。因此通过选择一段已知序列的核酸片段作为探针(见第二十四 章),对其放射性核素、生物素或荧光染料进行标记，然后与目的核酸进行杂交反应，通过标记信号的 检测就可以对未知的目的核酸进行定性或定量分析。

**1.DNA** **印迹法** Southern 印迹(Southern blotting)又称DNA 印迹(见第二十四章),是最为经典 的基因分析方法，不但可以检测特异的DNA 序列，还能用于进行基因的限制性内切核酸酶图谱和基 因定位，可以区分正常和突变样品的基因型，并可获得基因缺失或插入片段大小等信息。 DNA 印迹 一般可以显示50～20000bp 的 DNA 片段，片段大小的信息是该技术诊断基因缺陷的重要依据曰。 DNA 印迹实验结果可靠，但操作繁琐，费时费力，而且要使用放射性核素，这些因素使其难以作为一 种常规的临床诊断手段得以广泛开展。

**2.Northern** **印迹法** Northern 印迹法(Northern blotting)是通过标记的DNA 或RNA 探针与待测 样本 RNA 杂交，能够对组织或细胞的总RNA 或 mRNA 进行定性或定量分析，及基因表达分析。 Northern印迹杂交对样品RNA 纯度要求非常高，限制了该技术在临床诊断中的应用。

**3.** **斑点杂交** 斑点杂交(dot blot hybridization)是核酸探针与支持物上的DNA 或RNA样品杂交， 以检测样品中是否存在特异的基因或表达产物，该技术可用于基因组中特定基因及其表达产物的定 性与定量分析。斑点杂交方法应用于基因诊断具有简便、快速、灵敏和样品用量少的优点。不足之处 在于无法测定目的基因的大小，特异性较低，有一定比例的假阳性。 ②kkyx2018

**4.** **原位杂交** 原位杂交(in situ hybridization,ISH)是细胞生物学技术与核酸杂交技术相结合的 一种核酸分析方法，核酸探针与细胞标本或组织标本中核酸杂交，可对特定核酸序列进行定量和定位 分析。基因诊断中利用原位杂交技术能够显示目的核酸序列的空间定位的特点，可以检出含有特定 核酸序列的具体细胞，包括其在样品中的位置、数量及类型。还可以检出目的DNA 在细胞核或染色 体上的分布，也可以用于组织或细胞感染的细菌或病毒等病原体的检测。与细胞内RNA 进行杂交还 可以对样本组织细胞中特定的基因的表达水平进行检测。

**5.** **荧光原位杂交** 荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization,FISH)技术是将荧光素或生物素 等标记的寡聚核苷酸探针与细胞或组织变性的核酸杂交，可对待测DNA 进行定性、定量或相对定位分 析。在基因诊断中，FISH的优势在于对任何给定的基因组区域进行特异性杂交，对中期分裂象染色体及 间期细胞核进行分析，可以获得传统显带技术所无法检测到的染色体信息。 FISH 可以用于鉴别染色体 数目和结构的异常，特别是能够对染色体的异常改变进行原位显示和定量分析，适用于新鲜、冷冻、石蜡 包埋标本及穿刺物和脱落细胞等样品的检测。

**(二)** **PCR** **技术是特异、快速的基因诊断方法**

PCR 技术(见第二十四章)能够极其快速、特异性地在体外进行基因或DNA 片段的扩增，具有较 高的灵敏度。近年来，以PCR 为基础的相关实验技术发展迅速，RT-PCR、QRT-PCR、FQ-PCR及 in situ PCR 等技术广泛地应用于致病基因的发现、核酸序列分析、DNA 多态性分析、遗传疾病及感染性疾病 的基因诊断、法医鉴定及个体识别等领域。在临床上，应用PCR 技术可以对已知序列或已知部分序 列的基因进行检测，或采用PCR 技术扩增出已知DNA 片段后与其他技术联合应用，衍生出了多种基 因诊断技术。

**1.** **直接采用PCR** **技术进行基因诊断** PCR技术可以直接用于检测待测特定基因序列的存在与 缺失。分析疾病相关基因的缺失或突变，或者据此确定病原体基因存在与否。如跨越基因缺失或插 入部位的PCR 技术，又称裂口PCR(gap-PCR), 因其简便灵敏而更适用于临床诊断。该方法的思路 是：设计并合成一组序列上跨越突变(缺失或插入)断裂点的引物，将待测DNA 样本进行PCR 扩增，

**481**

Cbkkyx2018

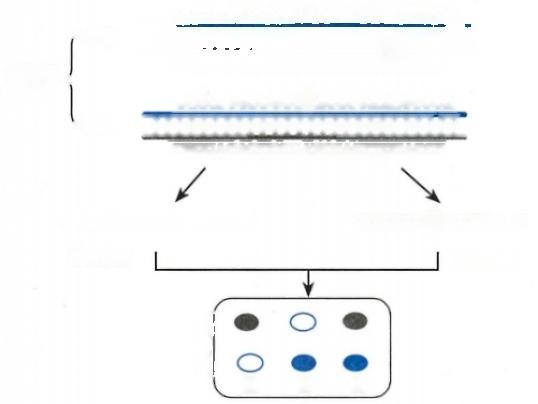




**482** **第五篇** **医学分子生物学专题**

然后进行琼脂糖凝胶电泳，从扩增片段的大小直接判断是否存在缺失或插入突变。又如多重PCR 是 一种实用可靠的检测 DNA 缺失的常用方法，其基本原理是在一次PCR 反应中加入多种引物，对一份 DNA 样本中的不同系列片段进行扩增，每对引物扩增的产物长度不一。可以根据电泳图谱上不同长 度DNA 片段存在与否，判断某些基因片段是否发生缺失或突变。

**2.PCR-** **等位基因特异性寡核苷酸分子杂交** 检测点突变的有效技术是等位基因特异性寡核苷 酸(allele specific oligonucleotide,ASO)分子杂交。采用PCR-ASO 杂交技术可以检测基因上已知的点 突变、微小的缺失或插入。首先使用PCR 扩增受检者的目标DNA 片段，然后用设计好的ASO 探针进 行杂交，检测受检者是否存在基因突变及基因突变是杂合子还是纯合子。图26-1显示以β地中海贫 血珠蛋白基因的第17个密码子(CD17) 的点突变检测为例的 ASO 原理示意图。首先，设计合成包含 突变位点在内的正常和突变的寡核苷酸探针。将这两个探针进行标记，再分别与待检 DNA 样品的 PCR 扩增产物进行杂交和检测。正常人只能与正常序列的ASO 探针杂交，突变纯合子只能与突变序 列的ASO 探针杂交，而突变杂合子则能与两种探针产生杂交信号。



**GCCCTGTGGGGCAAGGTGAACGTGGA**

工

CGGGACACCCCGTTCCACTTGCACCT

GCCCTGTGGGGCTAGGTGAACGTGGA

**HH**

CGGGACACCCCGATCCACTTGCACCT

GTGGGGCAAGGTGAAC

正常探针

1

2 |

A B C

GTGGGGCTAGGTGAAC

突变探针

基因组 DNA



突变

正常

kkyx2018

Okkyx2018

图26-1 β地中海贫血CD17 点突变的ASO 分子杂交

1.正常探针检测孔；2.突变探针检测孔。每一纵行排列的两个点样斑代表一个样品， 杂交时沿上下中线剪成两张膜条，分别与正常(上半部分)和突变(下半部分)探针杂 交。三个样品的检测结果分别为正常(A)、突变纯合子(B) 和突变杂合子(C)

反向点杂交(reverse dot blot,RDB)是改进的ASO 技术。 ASO 分子杂交虽然可以准确地进行已知 突变的基因分型，但由于一种突变需要对应一个探针和一组实验，对于突变类型较少的遗传病的诊断 较为快速简便。当一种遗传病是由多种点突变所引起，且其频率分散时，ASO 技术就显得很繁琐。为 了能够同时检测多种突变，可以将针对各种突变和正常序列的ASO 探针固定在杂交膜上，而将原来 在 ASO 杂交体系中固定在膜上的PCR 产物改为液相进行杂交，这种方法称为 RDB。 利用这一方法， 一次检测可以同时筛查多种突变，大大提高了基因诊断效率，已在一些常见遗传病，如β地中海贫血 和囊性纤维化的基因诊断中得以应用曰。

**3.PCR-** **限制性片段长度多态性** 是将PCR 与限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism,RFLP)结合起来的技术，可以快速、简便地对已知突变进行基因诊断。用一种或几种限 制性内切核酸酶对某一段DNA 序列进行消化，就会产生大小不同的DNA 片段，称为限制性片段。而 对于同种生物来说，不同个体间出现不同长度限制性片段类型称为限制性片段长度多态性。如果基 因突变导致的基因组成或序列改变使 DNA 分子中原有的某种限制性内切核酸酶识别位点发生改变， 可能导致基因结构中产生新的限制性内切核酸酶位点或使原有的酶切位点消失。首先是将突变基因



第二十六章 基因诊断和基因治疗 **483**

PCR 扩增，然后经过相应的内切酶消化后，进行含有溴化乙锭的琼脂糖凝胶电泳分离，在紫外线灯下 即可分辨各种限制性片段的大小或位置，或者将限制性酶切产物与核素标记探针进行杂交，进行放射

自显影，从而区分各种片段，解读出目标样品之间DNA. 分子水平的实际差异，这种方法就是PCR-

RFLP。

引物介导的限制性分析 PCR(PCR-primer introduced restriction analysis,PCR-PIRA)是 PCR-RFLP 技术的延伸。其原理是在设计引物时引入错配碱基，从而消除或产生新的酶切位点，该错配的结果最 终表现在酶解的限制性片段长度的差异。 PCR-PIRA 主要的分析对象是已知基因，用相应的计算机软 件可以分析基因上可能产生的酶切位点的错配，从而产生人的 RFLP。PCR-RFLP 和 PCR-PIRA 的主 要区别在于后者的引物设计时人工地引入酶切位点，而在实验材料和方法上没有区别。

巢式PCR- 限制性片段多态性(nested PCR-RFLP)是将 RFLP 与巢式PCR(nested PCR)技术相结 合，通过设计高度保守序列的引物对待检测物种DNA 进行PCR 扩增，对PCR 产物进行RFLP 分析。 该方法省时，可应用于流行病学调查和临床常规检测。

4.PCR- 单链构象多态性 PCR 单链构象多态性(PCR-single-strand conformation polymorphism, PCR-SSCP) 分析，是基于单链DNA 构象的差别来检测基因点突变的方法。在中性条件下单链DNA 会 因其分子内碱基之间的相互作用形成一定的空间构象，这种构象是由其分子的碱基序列决定，DNA 分子中碱基变异(有时甚至仅一个碱基)可导致其构象发生改变。对于相同长度的单链DNA, 因其碱 基组成或排列顺序不同而形成各异的构象类型称为单链构象多态性。这种长度相同但构象类型不同 的 DNA 片段在聚丙烯酰胺凝胶电泳中的迁移率不同，进而进行鉴别。 PCR-SSCP 技术首先是用PCR 扩增待测 DNA 片段，扩增产物变性后成为单链DNA, 然后进行非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳，通过迁移 率分析检测基因突变。 PCR-SSCP 方法的灵敏度取决于突变对单链DNA 的构象及其在电泳中适移速 度的影响程度，因此这种技术对于较小DNA 片段突变分析比较灵敏。

吗kkyx2018

5.PCR- 变性高效液相色谱在对临床病例进行基因诊断时，经常会遇到不能检测出已知类型突 变的情况。如果表型明确指向某种疾病，可采用另一类筛查点突变的技术对目的基因进行基因序列扫 描，以期发现和确定新的或未知突变类型。 PCR-变性高效液相色谱(PCR-denature high performance liquid chromatography,PCR-DHPLC)是这类技术的代表之一。

PCR-DHPLC 技术的基本原理是利用待测样品DNA 在 PCR 扩增过程的单链产物可以随机与互补 链相结合而形成双链的特性，依据最终产物中是否出现异源双链来判断待测样品中是否存在点突变。 如果不存在点突变，在PCR 反应中产生的双链DNA 都是一致的，即只产生一种同源双链。如果存在 点突变，就会产生4种不同的DNA 双链分子，2种为异源双链，另2种为同源双链。在给定的部分变 性洗脱条件下，这些异源双链DNA 片段可以在液相色谱柱中呈现出不同的滞留时间，出现“变异”洗 脱峰的样品可进一步通过DNA 直接测序确定样品的突变位点和性质。这一技术依赖自动化操作的 分析仪完成，目前已成为临床遗传学诊断的重要工具。

**(** **三** **)** **DNA** **序列分析是基因诊断最直接的方法**

分离出病人的有关基因，测定其碱基排列顺序，找出变异所在是最为直接和确切的基因诊断方 法。由于PCR 技术和DNA 序列分析技术的迅速发展和推广，序列分析已经在技术上和经济上成为最 佳的诊断方法，代替了传统的限制性内切酶酶谱分析法。此法主要用于基因突变类型已经明确的遗 传病的诊断及产前诊断。但由于DNA 测序的成本很高，将其作为一种临床上常规的检测方法尚无法 实现。

**(四)基因芯片技术可用于大规模基因诊断**

基因芯片技术可以进行微量化、大规模、自动化处理样品，特别是适用于同时检测多个基因、多个 位点，精确地研究各种状态下分子结构的变异，了解组织或细胞中基因表达情况，用以检测基因的突 变、多态性、表达水平和基因文库作图等。目前利用基因芯片技术可以早期、快速地诊断地中海贫血、 异常血红蛋白病、苯丙酮尿症、血友病、迪谢内肌营养不良症等常见的遗传性疾病。在肿瘤的诊断方

第五篇 医学分子生物学专题

**484**

面，基因芯片技术也广泛地应用于肿瘤表达谱研究、突变、SNP 检测、甲基化分析、比较基因组杂交分 析等领域。基因芯片提供了从整体观念研究有机体的全新技术，必将改变生命科学研究的方式，对复 杂疾病的诊断与治疗将带来革命性的变化。

**四、基因诊断的医学应用**

当人类基因组的信息与人类疾病的关系完全明确以后，从理论上讲，基因诊断可以提供所有直接 或间接涉及基因结构/功能改变的诊断、预警和疗效预测。虽然目前距离这一 目标仍有很长的路要 走，但基因诊断在遗传病的临床和预防医学实践上已经获得了较广泛的应用。

**(一)基因诊断可用于遗传性疾病诊断和风险预测**

遗传性疾病的诊断性检测和症状前检测预警是基因诊断的主要应用领域。对于遗传性单基因 病，基因诊断可提供最终确诊依据。与以往的细胞学和生化检查相比，基因诊断耗时少、准确性高。 对于一些特定疾病的高风险个体、家庭或潜在风险人群，基因诊断还可实现症状前检测(pre- symptomatic testing),预测个体发病风险，提供预防依据。

基因诊断目前可用于遗传筛查和产前诊断。通过遗传筛查检测出的高风险夫妇需给予遗传咨询 和婚育指导，在“知情同意”的原则下于适宜的妊娠期开展胎儿的产前诊断，若胎儿为某种严重遗传 病的受累者，可在遗传咨询的基础上由受试者决定“选择”终止妊娠，从而在人群水平实现遗传性疾 病预防的目标。例如基于RFLP 的连锁分析技术，曾成功地用于包括镰状细胞贫血、β-地中海贫血等 多种人类单基因遗传病在内的遗传分析。

在欧美发达国家，遗传病的基因诊断，尤其是单基因遗传病和某些恶性肿瘤等的诊断，已成为医疗

机构的常规项目，并已形成在严格质量管理系统下的商业化服务网络。目前已列入美国华盛顿大学儿ty₂018

童医院和区域医学中心主持的著名基因诊断机构——GENETests 网 站(http://www.genetests.org/)为 超 过3000种遗传性疾病提供分子遗传、生化和细胞生物学检测。

我国基因诊断的研究和应用始于20世纪80年代中期，目前主要开展针对一些常见单基因遗传 病的诊断性检测，如地中海贫血、血友病A、迪谢内肌营养不良等，表26-1列举了在我国开展的一些代 表性常见单基因病基因诊断及其方法学案例。

**表26-1** **我国部分代表性常见单基因遗传病基因诊断举例**

**疾** **病**

α地中海贫血 β地中海贫血 血友病A

血友病B

苯丙酮尿症

马方综合征

**致病基因**

α珠蛋白

β珠蛋白

凝血因子VⅢ

凝血因子IX

苯丙氨酸羟化酶

原纤蛋白

**突变类型**

缺失为主

点突变为主

点突变为主

点突变、缺失等

点突变

点突变、缺失

**诊断方法**

Gap-PCR、DNA杂交、DHPLC

反向点杂交、DHPLC

PCR-RFLP

PCR-STR连锁分析

PCR-STR连锁分析、ASO分子杂交

PCR-VNTR连锁分析、DHPLC

RFLP:restriction fragment length polymorphism,限制性片段长度多态性；STR:short tandem repeat,短串联重复序列；VNTR:var- iable number of tandem repeats,可变数目串联重复序列

**(二)基因诊断可用于多基因常见病的预测性诊断**

对于多基因常见病，基于DNA 分析的预测性诊断可为被测者提供某些疾病发生风险的评估意 见。如乳腺癌易感基因( breast cancer susceptibility gene,BRCA)1 号 (BRCA1) 和 2 号(BRCA2) 的基因 突变可提高个体的乳腺癌发病风险，其基因诊断已成为一些发达国家人群健康监测的项目之一 。随 着基因变异和疾病发生相关研究的知识积累，针对肿瘤和其他一些多基因常见病的这类预警性风险 预测诊断正在逐步走入临床。在一些有明显遗传倾向的肿瘤中，肿瘤抑制基因和癌基因的突变分析， 是基因检测的重要靶点。预测性基因诊断结果是开展临床遗传咨询最重要的依据。相信在相关基础 研究取得进展的基础上，多基因常见病的预测性诊断会越来越多地得到应用，成为未来疾病诊断的主

吃记



第二十六章 基因诊断和基因治疗

**485**

要内容。

**(三)基因诊断可用于传染病病原体检测**

针对病原体自身特异性核酸(DNA 或 RNA) 序列，通过分子杂交和基因扩增等手段，鉴定和发现 这些外源性基因组、基因或基因片段在人体组织中的存在，从而证实病原体的感染。针对病原体的基 因诊断主要依赖于PCR 技术。 PCR 技术具有高度特异、高度敏感和快速的特点，可以快速检出样品 中痕量的、基因序列已知的病原微生物。如组织和血液中SARS 病毒、各型肝炎病毒等的检测☑ 。样 品中痕量病原微生物的迅速侦检、分类及分型还可以使用DNA 芯片技术。

基因诊断主要适用于下列情况：①病原微生物的现场快速检测，确定感染源；②病毒或致病菌的 快速分型，明确致病性或药物敏感性；③需要复杂分离培养条件，或目前尚不能体外培养的病原微生 物的鉴定。分子诊断技术的特点决定了病原体的基因诊断较传统方法有更高的特异性和敏感性，有 利于疾病的早期诊治、隔离和人群预防。但由于基因诊断只能判断病原体的有无和拷贝数的多少，难 以检测病原体进入体内后机体的反应及其结果，因此，基因检测并不能完全取代传统的检测方法，它 将与免疫学检测等传统技术互补而共存。

**(四)基因诊断可用于疾病的疗效评价和用药指导**

遗传诊断还可应用于临床药物疗效的评价及提供指导用药的信息。例如，急性淋巴细胞性白血 病经化疗等综合治疗后，大部分病人可获得缓解，但容易复发。白血病复发的主要根源在于病人体内 少数残留的白血病细胞(约<0.05×10⁹/L)。PCR 等基因诊断技术已成为临床上检测和跟踪微小残留 病灶的常规方法，是预测白血病的复发、判断化疗效果和制定治疗方案的很有价值的指标。

人群中对药物的反应性存在着个体差异，致使药物的不良反应难以避免。例如，氨基糖苷类抗生 素的致聋副作用的发生与线粒体DNA 12S rRNA基因第1555位A→G 同质性点突变有关。在人群中 通过分子筛查发现这种突变的个体，对指导医生避免使用氨基糖苷类抗生素，防止儿童产生药物中毒 性耳聋有很好的参考价值。药物代谢酶类(如细胞色素P450) 的遗传多态性，也是个体对某些药物的

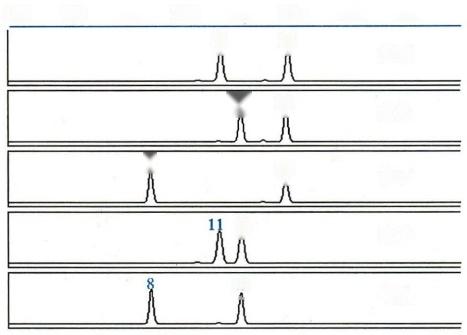
kkyx2018

反应性差异的重要因素。因此，通过测定人 体的这些基因多态性或其单倍型可以预测药 物代谢情况或疗效的反应性，从而制订针对 不同个体的药物治疗方案。在系统阐明人类 药物代谢酶类及其他相关蛋白的编码基因遗 传多态性的基础上，通过对不同药物代谢基 因靶点的药物遗传学检测(pharmacogenetic testing),将为真正实现个体化用药提供技术 支撑。

**(** **五** **)** **DNA** **指纹鉴定是法医学个体识**

**别的核心技术**

DNA 指纹的遗传学基础是DNA 的多态 性。世界上除了部分同卵双生子外，人与人 之间的某些 DNA 序列特征具有高度的个体 特异性和终生稳定性，正如人的指纹一般，故



|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 18**0** **190** **200** **210** **220**  11  12  8  12  12 | **230**  14  14  14 | **240** | **250**  父亲  女儿  长子  次子  母亲 |

图26-2 STR 等位基因在家庭中遗传示意图

此图以D13S317位点为例，3个子女基因型的一个等位基

因来自于父亲，另外一个等位基因来自于母亲

称为DNA 指纹(DNA fingerprinting)。 基因诊断在法医学上的应用，主要是采用基于STR 的 DNA 指纹 技术进行个体认定(图26-2),已成为刑侦样品的鉴定、排查犯罪嫌疑人、亲子鉴定和确定个体间亲缘 关系的重要技术手段口。

当前，基于PCR 扩增的DNA 指纹技术已取代了上述基于DNA 印迹的操作程序。选择若干个基

因位点(如STR、人类白细胞抗原位点等)设计相应的PCR 引物对，对待测DNA 样本进行PCR 扩增和 带型比较后即可判断结果。该方法快速、灵敏，可以对微量血痕、精液、唾液和毛发进行个体鉴定。



**486** 第五篇 医学分子生物学专题

**第二节** **基** **因** **治** **疗**

基因治疗是以改变人遗传物质为基础的生物医学治疗，即通过一定方式将人正常基因或有治疗 作用的DNA 片段导入人体靶细胞以矫正或置换致病基因的治疗方法。它针对的是疾病的根源，即异 常的基因本身。在此过程中，目的基因被导入靶细胞内，它们或与宿主细胞染色体整合成为宿主细胞 遗传物质的一部分，或不与宿主细胞的染色体整合而独立于染色体以外，但都可以在宿主细胞内表达 基因产物蛋白质，而达到治疗作用。目前基因治疗的概念也有了较大扩展，凡是采用分子生物学技术 和原理，在核酸水平上展开的对疾病的治疗都可纳入基因治疗范围。基因治疗的范围也从过去的单 基因遗传病扩展到恶性肿瘤、心脑血管疾病、神经系统疾病、代谢性疾病等。根据治疗的靶细胞不同， 基因治疗可分为生殖细胞(germ-line)治疗和体细胞(somatic cell)治疗两大类，由于生殖细胞基因治 疗涉及伦理及遗传等诸多问题，目前人类基因治疗研究与应用的重点是体细胞治疗。

**一、基因治疗的基本策略主要围绕致病基因**

基因治疗是指将目的基因导入靶细胞，使之成为宿主细胞遗传物质的一部分，目的基因的表达产 物对疾病起到治疗的作用。绝大部分疾病的发生都受到遗传因素的影响，如果用正常的健康基因替 代有缺陷的基因来治疗疾病，则为这些疾病的病人提供了一个全新的治疗模式。随着基因治疗研究 的不断深入，不仅可以将外源性正常基因导入病变细胞，产生正常的基因表达产物来补充缺失或功能 异常的蛋白质；还可以采用适当的技术抑制过表达基因；亦可以将特定基因导入非病变细胞，在体内

表达特定产物；或者向肿瘤细胞等功能异常的细胞中导入该细胞本来不存在的基因，利用这些基因的utms

表达产物来治疗疾病。根据不同疾病的发病机制，所采用的基因治疗方式也有所不同，基因治疗的基 本策略主要有以下几种：

**(一)缺陷基因精确的原位修复是基因治疗的理想方法**

包括对致病基因的突变碱基进行纠正的基因矫正(gene correction)和用正常基因通过重组原位替 换致病基因的基因置换(gene replacement)。 这两种方法均属于对缺陷基因精确的原位修复，既不破 坏整个基因组的结构，又可达到治疗疾病的目的，是最为理想的治疗方法，但目前尚未能从理论和技 术上得到突破。

**(二)基因增补是目前临床上使用的主要基因治疗策略**

不删除突变的致病基因，而在基因组的某一位点额外插入正常基因，在体内表达出功能正常的蛋 白质，达到治疗疾病的目的。这种对基因进行异位替代的方法称为基因添加(gene augmentation)或称 基因增补，是目前临床上使用的主要基因治疗策略。基因增补不仅可以用于替代突变基因，也可以在 原有基因表达水平不足以满足机体需要的情况下，异位过表达来增强体内某些功能。例如在血友病 病人体内导入凝血因子IX基因，恢复其凝血功能；将编码干扰素和白介素-2等分子的基因导入恶性肿 瘤病人体内，可以激活体内免疫细胞的活力，作为抗肿瘤治疗中的辅助治疗，也称为基因免疫治疗。

由于目前尚无法做到基因在基因组中的准确定位插入，因此增补基因的整合位置是随机的。这 种整合可能会导致基因组正常调节结构的改变，甚至可能导致新的疾病。2004年，法国一儿童医院 接受基因治疗的17名严重联合免疫缺陷症病人中，有3人因逆转录病毒载体插入并激活LMO-2 基因 而罹患白血病。

**(三)基因治疗可采用基因沉默或失活**

有些疾病是由于某一或某些基因的过度表达引起的，向病人体内导入有抑制基因表达作用的核 酸，如反义RNA、 核酶、干扰小RNA 等，可降解相应的mRNA 或抑制其翻译，阻断致病基因的异常表 达，从而达到治疗疾病的目的。这一策略称为基因失活(gene inactivation)或基因沉默(gene silencing),也称为基因干预(gene interference)。 需要抑制的靶基因往往是过度表达的癌基因或者是

笔记

第二十六章 基因诊断和基因治疗

**487**

病毒复制周期中的关键基因。

**(四)自杀基因亦可应用于基因治疗**

上述三种基因治疗的策略都是以恢复细胞正常功能或干预细胞的功能为目的。在肿瘤的治疗 中，通过导入基因诱发细胞“自杀”死亡也是一种重要的策略。自杀基因治疗肿瘤的原理是将编码某 些特殊酶类的基因导入肿瘤细胞，其编码的酶能够使无毒或低毒的药物前体转化为细胞毒性代谢物， 诱导细胞产生“自杀”效应，从而达到清除肿瘤细胞的目的。自杀基因的另一个策略是利用肿瘤细胞 特异性启动子序列(如肝癌的甲胎蛋白启动子序列)以激活抑癌基因、毒蛋白基因等“细胞毒性基 因”,通过这些特殊的外源基因在肿瘤细胞中的特异性表达以达到对肿瘤细胞的杀伤作用。

**二、** **基因治疗的基本程序**

基因治疗的基本过程可分为5个步骤：①选择治疗基因；②选择携带治疗基因的载体；③选择基 因治疗的靶细胞；④在细胞和整体水平导入治疗基因；⑤治疗基因表达的检测。

**(一)选择治疗基因是基因治疗的关键**

细胞内的基因在理论上均可作为基因治疗的选择目标。许多分泌性蛋白质如生长因子、多肽类 激素、细胞因子、可溶性受体(人工构建的去除膜结合特征的受体),以及非分泌性蛋白质如受体、酶、 转录因子的正常基因都可作为治疗基因。简言之，只要清楚引起某种疾病的突变基因是什么，就可用 其对应的正常基因或经改造的基因作为治疗基因。

**(二)治疗基因的载体可携带基因进入靶细胞**

大分子 DNA 不能主动进入细胞，即使进入也将被细胞内的核酸酶水解。因此选定治疗基因后， 需要适当的基因工程载体(见第二十三章)将治疗基因导入细胞内并表达。目前所使用的基因治疗 用载体有病毒载体和非病毒载体两大类，基因治疗的临床实施一般多选用病毒载体。

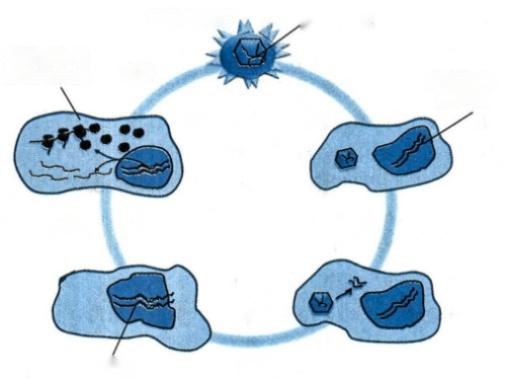
的kkyx2018

野生型病毒必须经过改造，以确保其在人体内的安全后才能作为基因治疗的载体。野生型病毒 基因组的编码区主要为衣壳蛋白、酶和调控蛋白编码，而非编码区中则含有病毒进行复制和包装等功 能所必需的顺式作用元件。基因治疗所用病毒载体的改造是剔除其复制必需的基因和致病基因，消 除其感染和致病能力。原有的病毒复制和包装等功能改由包装细胞(packaging cell)提供。包装细胞 是经过特殊改造的细胞，已经转染和整合了病毒复制和包装所需要的辅助病毒基因组，可以完成病毒 的复制和包装。在实际应用中，治疗用病毒载体需要先导入体外培养的包装细胞，在其中进行复制并 包装成新的病毒颗粒，获得足量的重组病毒后再用于基因治疗。

目前用作基因转移载体的病毒有逆转录病毒(retrovirus)、腺病毒(adenovirus)、腺相关病毒

(adeno-associated virus,AAV)、单纯疱疹 病毒(herpes simplex virus,HSV)等。不 同类型的病毒载体在应用中具有不同的 优势和缺点，可依据基因转移和表达的 不同要求加以选择。以下仅以最为常用 的逆转录病毒和腺病毒载体为例予以 说明。

**1.** **逆转录病毒载体** 逆转录病毒 属于RNA 病毒，其基因组中有编码逆转 录酶和整合酶(integrase)的基因。在感 染细胞内，病毒基因组RNA 被逆转录成 双链DNA, 然后随机整合在宿主细胞的 染色体 DNA 上，因此可长期存在于宿主 细胞基因组中(图26-3)曰，这是逆转录



逆转录病毒 **逆转录酶**

**逆转录病毒**

**融合**

①

**逆转录**

③

**整合**

**宿主染色** **体DNA**

蛋白质合成

前病毒

**转录**

出芽

⑤

②

④

图26-3 逆转录病毒的生活周期示意图



**488**

02比

**第五篇** **医学分子生物学专题**

病毒作为载体区别于其他病毒载体的最主要优势。将逆转录病毒复制所需要的基因除去，代之以治 疗基因，即可构建成重组的逆转录病毒载体。在目前的基因治疗中，70%以上应用的是逆转录病毒 载体。

逆转录病毒载体有基因转移效率高、细胞宿主范围较广泛、DNA 整合效率高等优点。缺点主要 是在两个方面存在安全性问题， 一是病人体内万一有逆转录病毒感染，又在体内注射了大剂量假病毒 后，就会重组产生有感染性病毒的可能；二是增加了肿瘤发生机会。后者的原因是由于逆转录病毒在 靶细胞基因组上的随机整合所致，这种整合可能激活原癌基因或者破坏抑癌基因的正常表达。

**2.** **腺病毒载体** 腺病毒是一种没有包膜的大分子双链DNA 病毒，可引起人上呼吸道和眼部上 皮细胞的感染。人的腺病毒共包含50多个血清型，其中C 亚类的2型和5型腺病毒(Ad 2和 Ad5) 在人体内为非致病病毒，适合作为基因治疗用载体口。

腺病毒载体不会整合到染色体基因组，因此不会引起病人染色体结构的破坏，安全性高；而且对 DNA 包被量大、基因转染效率高，此外对静止或慢分裂细胞都具有感染作用，故可用细胞范围广。腺 病毒载体的缺点是基因组较大，载体构建过程较复杂；由于治疗基因不整合到染色体基因组，故易随 着细胞分裂或死亡而丢失，不能长期表达。此外，该病毒的免疫原性较强，注射到机体后很快会被机 体的免疫系统排斥。

**(三)选择基因治疗的靶细胞通常是体细胞**

基因治疗所采用的靶细胞通常是体细胞(somatic cell),包括病变组织细胞或正常的免疫功能细 胞。由于人类生殖生物学极其复杂，主要机制尚未阐明，因此基因治疗的原则是仅限于患病的个体， 而不能涉及下一代，为此国际上严格限制用人生殖细胞(germ line cell)进行基因治疗实验。适合作为

靶细胞应具有如下特点：①靶细胞要易于从人体内获取，生命周期较长，以延长基因治疗的效应；②应

2kkyx2018

易于在体外培养及易受外源性遗传物质转化；③离体细胞经转染和培养后回植体内易成活；④选择的 靶细胞最好具有组织特异性，或治疗基因在某种组织细胞中表达后能够以分泌小泡等形式进入靶 细胞。

人类的体细胞有200多种，目前还不能对大多数体细胞进行体外培养，因此能用于基因治疗的体 细胞十分有限。目前能成功用于基因治疗的靶细胞主要有造血干细胞、淋巴细胞、成纤维细胞、肌细 胞和肿瘤细胞等。

**1.** **造血干细胞** 造血干细胞(hematopoietic stem cell,HSC)是骨髓中具有高度自我更新能力的细 胞，能进一步分化为其他血细胞，并能保持基因组DNA 的稳定。 HSC 已成为基因治疗最有前途的靶 细胞之一。由于造血干细胞在骨髓中含量很低，难以获得足够的数量用于基因治疗。人脐带血细胞 是造血干细胞的丰富来源，其在体外增殖能力强，移植后抗宿主反应发生率低，是替代骨髓造血干细 胞的理想靶细胞。目前已有脐带血基因治疗的成功病例。

2.淋巴细胞 淋巴细胞参与机体的免疫反应，有较长的寿命及容易从血液中分离和回输，且对 目前常用的基因转移方法都有一定的敏感性，适合作为基因治疗的靶细胞。目前，已将一些细胞因 子、功能蛋白的编码基因导入外周血淋巴细胞并获得稳定高效的表达，应用于黑色素瘤、免疫缺陷性 疾病、血液系统单基因遗传病的基因治疗。

**3.** **皮肤成纤维细胞** 皮肤成纤维细胞具有易采集、可在体外扩增培养、易于移植等优点，是基因 治疗有发展前途的靶细胞。逆转录病毒载体能高效感染原代培养的成纤维细胞，将它再移植回受体 动物时，治疗基因可以稳定表达一段时间，并通过血液循环将表达的蛋白质送到其他组织。

**4.** **肌细胞** 肌细胞有特殊的T 管系统与细胞外直接相通，利于注射的质粒 DNA 经内吞作用进 入。而且肌细胞内的溶酶体和DNA 酶含量很低，环状质粒在胞质中存在而不整合入基因组 DNA, 能 在肌细胞内较长时间保留，因此骨骼肌细胞是基因治疗的很好靶细胞。将裸露的质粒DNA 注射入肌 组织，重组在质粒上的基因可表达几个月甚至1年之久。

**5.** **肿瘤细胞** 肿瘤细胞是肿瘤基因治疗中极为重要的靶细胞。由于肿瘤细胞分裂旺盛，对大多

**第二十六章** **基因诊断和基因治疗** **489**

数的基因转移方法都比较敏感，可进行高效的外源性基因转移。因此，无论采用哪一种基因治疗方 案，肿瘤细胞都是首选的靶细胞。

此外，也可研究采用骨髓基质细胞、角质细胞、胶质细胞、心肌细胞及脾细胞作为靶细胞，但由于 受到取材及导入外源基因困难等因素影响，还仅限于实验研究。

**(四)将治疗基因导入人体有生物学和非生物学法**

目前临床基因治疗实施方案中，体内基因递送(gene delivery)的方式有两种☑ 。一种是间接体 内疗法(ex vivo),即先将需要接受基因的靶细胞从体内取出，在体外培养，将携带有治疗基因的载 体导入细胞内，筛选出接受了治疗基因的细胞，繁殖扩大后再回输体内，使治疗基因在体内表达相 应产物☑ 。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 因直接注入体内有关的组织器官，使其进入相应的细胞并进行表达。

基因导入细胞的方法有生物学和非生物学法两类。生物学方法指的是病毒载体所介导的基因导 入，是通过病毒感染细胞实现的，其特点是基因转移效率高，但安全问题需要重视。非生物学法是用 物理或化学法，将治疗基因表达载体导入细胞内或直接导入人体内，操作简单、安全，但是转移效率 低。常用的基因治疗用基因导入方法见表26-2。

|  |
| --- |
| **表26-2** **常用基因治疗用基因导入方法** |
| **用途及优缺点**  **名称**  **操作方法** |
| 将携带有治疗基因的非病毒真核表达载体  无毒无害，操作简便，目的基因表达时间可 长达至1年以上；仅限于在肌组织中表达， 导入效率低，需要注射大量DNA  直接注射法  (多为质粒)溶液直接注射入肌组织，亦称为  裸DNA 注射法 |
| 采用微粒加速装置，使携带治疗基因的微米  操作简便、DNA 用量少、效率高、无痛苦、 适宜在体操作，尤其适于将DNA 疫苗导大 表皮细胞，获得理想的免疫反应；但目前不 宜用于内脏器官的在体操作  **基因枪法**  级金或钨颗粒获得足够能量，直接进入靶细  胞或组织。又被称为生物弹道技术(biolistic  technology)或微粒轰击技术(particle bom-  bardment technology) |
| 在直流脉冲电场下细胞膜出现105～115nm  可将外源基因选择性地导入靶组织或器 官，效率较高，但外源基因表达持续时间短  电穿孔法  的微孔，这种通道能维持几毫秒到几秒，在  此期间质粒DNA 通过通道进入细胞，然后  胞膜结构自行恢复 |
| |  |  | | --- | --- | | 脂质体(liposome) 利用人工合成的兼性脂质膜包裹极性大分  子DNA 或RNA, 形成的微囊泡穿透细胞膜， 进入细胞 | 脂质体可被降解，对细胞无毒，可反复给 药；DNA 或 RNA 可得到有效保护，不易被 核酸酶降解；操作简单快速、重复性好。但 体内基因转染效率低，表达时间短，易被血 液中的网状内皮细胞吞噬 | |
| 表26-2中列举的方法均不具备细胞的靶向性。能够实现靶向性的方法是受体介导的基因转移。 利用细胞表面受体能特异性识别相应配体并将其内吞的机制，将外源基因与配体结合后转移至特定 类型的细胞。无论是遗传性疾病还是恶性肿瘤的基因治疗，靶向性是非常重要的，特别是应用到体内 时，既要考虑对靶细胞的治疗，又要注意对正常细胞的保护。受体介导的基因转移在基因治疗中有较 好的优势和发展前景。  **(五)治疗基因表达的检测方法较多**  无论以何种方法导入基因，都需要检测这些基因是否能被正确表达。被导入基因的表达状态可 以用在第二十四章介绍过的PCR、RNA 印迹、蛋白印迹及ELISA 等方法去检测。对于导入基因是否 整合到基因组以及整合的部位，可以用核酸杂交(见第二十四章)技术进行分析。  **三、基因治疗的医学应用**  基因治疗作为一门新兴学科，在很短的时间内就从实验室过渡到临床，已被批准的基因治疗方案 |

kkyx2018



**490**

2 记

第五篇 医学分子生物学专题

有两百种以上，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(vascular endo- thelial growth factor,VEGF)、血友病IX因子、抑癌基因TP53 等基因治疗的临床方案已进入市场或临床 试验曰。

遗传病的基本特征是由遗传基因改变所引起的。只受一对等位基因影响而发生的疾病属于单基 因遗传病，设计基因治疗方案相对容易，例如镰状细胞贫血、α-地中海贫血、血友病等。高血压、动脉 粥样硬化、糖尿病的发生是多个基因相互作用的结果，并受环境因素影响，基因治疗的效果还有待于 基础研究的突破。

**1.** **单基因遗传病的基因治疗** 单基因缺陷引起的遗传病，由于其致病基因比较清楚，所以基因 治疗方案也相对容易确定。基本方案是通过一定的方法把正常的基因导入到病人体内，表达出正常 的功能蛋白。例如将人X 因子基因与逆转录病毒载体重组后转移到血友病病人自体的皮肤成纤维细 胞中，使病人血中IX因子浓度升高，出血症状及出血次数都明显减少。

**2.** **针对多基因病的基因治疗** 基因治疗最早是针对一些单基因遗传病进行的，但是随着人类对 其他疾病分子机制的深入了解、对许多疾病相关基因的分离和功能的研究，人们逐渐将基因治疗的策 略用于如恶性肿瘤、心血管疾病、糖尿病及艾滋病等，尤其是对恶性肿瘤的基因治疗寄予极大的希望。 目前已被克隆的恶性肿瘤相关基因很多，动物模型比较成熟，病人及亲属易接受，所以，恶性肿瘤的基 因治疗研究日趋活跃，并取得了显著的成果。到目前为止世界各国已经批准开展进行的基因治疗方 案中，70%以上是针对恶性肿瘤的旦。

恶性肿瘤的基因治疗包括：针对癌基因表达的各种基因沉默、针对抑癌基因的基因增补、针对肿 瘤免疫反应的细胞因子基因导入和针对肿瘤血管生成的基因失活等。

其他的基因治疗方案包括：利用过表达VEGF 基因促进血管生成治疗冠心病、针对病毒复制基因y2018 的基因沉默治疗艾滋病等。

**四、基因治疗的前景与问题**

经过20多年的努力，科学家们在基因治疗领域取得了很大的进步，获得了一些成功，但是仍然存 在一些亟待解决的问题。这些问题包括：①缺乏高效、靶向性的基因转移系统；②对于多种疾病的相 关基因认识有限，因而缺乏切实有效的治疗靶基因；③对真核生物基因表达调控机制理解有限，因此 对治疗基因的表达还无法做到精确调控，也无法保证其安全性；④缺乏准确的疗效评价。目前的基因 治疗临床试验中，限于伦理问题，多选择常规治疗失败或晚期肿瘤病人，尚难以客观地评价治疗效果。

将基因治疗方案用于人体必须经过严格的审批程序，需要专门机构的审批与监督。在我国，任何 基因治疗方案都要经国家食品药品监督管理局审批。1999年6月颁布的《人基因治疗申报临床试验 指导原则》详细规定了基因治疗所用生物制剂的研制、生产工艺、制剂的质量控制、临床实验和临床疗 效评价的各个环节中应该遵守的原则。所有基因治疗的临床使用必须严格遵守这些法律法规。

近年来国家对基因诊断与基因治疗领域非常重视，虽然没有新出台专门的规范性文件法规，但在 国家大的规划方面均有涉及。在《“十三五”卫生与健康规划》(国发〔2016〕77号)中提出在加强行业 规范的基础上，推动基因检测、细胞治疗等新技术的发展。在《“十三五”国家战略性新兴产业发展规 划》(国发[2016]67号)中提出发展专业化诊疗机构，培育符合规范的液体活检、基因诊断等新型技术 诊疗服务机构。推动基因检测和诊断等新兴技术在各领域应用转化。建立具有自主知识产权的基因 编辑技术体系，开发针对重大遗传性疾病、感染性疾病、恶性肿瘤等的基因治疗新技术。在《“十三 五”国家科技创新规划》(国发〔2016〕43号)中提出开展重大疫苗、抗体研制、免疫治疗、基因治疗、细 胞治疗、干细胞与再生医学、人体微生物组解析及调控等关键技术研究，研发一批创新医药生物制品， 构建具有国际竞争力的医药生物技术产业体系。在《中国防治慢性病中长期规划(2017—2025年)》 (国办发〔2017〕12号)提出支持基因检测等新技术、新产品在慢性病防治领域推广应用。

**第二十六章** **基因诊断和基因治疗** **491**



小 结

基因诊断主要是针对DNA 分子的遗传分析技术，包含定性和定量两类分析方法。 PCR 扩增和分 子杂交是现代基因诊断的基本技术。基因诊断的特异性强、敏感度高，已成为临床实验医学的一个重 要组成部分。

基因诊断已成功应用于人类遗传病，尤其是单基因病的确诊及其症状前诊断。未来在多基因常 见病的发病风险预测，个体化用药指导和疗效评价等方面也将显示出巨大的应用潜力。

基因治疗是以改变人的遗传物质为基础的生物医学治疗，即将人正常基因或有治疗作用的 DNA 片段导入人体靶细胞的治疗方法。它针对的是异常基因本身，可以进行基因矫正、基因置换、基因增 补、基因沉默等。

将治疗基因导入人体的主要方式有DNA 质粒直接注射、病毒载体感染等。目前基因治疗已用于 遗传病，如血友病等的治疗；在恶性肿瘤治疗方面的应用也已开始尝试。



思 考 题

1. 人体哪些标本可用于基因诊断?试归纳出不同组织体液标本可应用的基因诊断类型。

2. 外周血标本可以用于诊断遗传性疾病吗?如何应用?

3. 基因治疗仅可以用于遗传病吗?试总结出一些可以采用基因治疗疗法的疾病，可针对的靶基

因是什么?

(李存保)

kkyx2018

2kkyx2018

smg





**第二十七章组学与系统生物医学**

21世纪以来，生命科学进入了空前的“大数据(big data)”时代。生命科学研究模式亦正在发生

重大转变，其主要标志就是生命科学正从“微观”(实验科学)向“宏观” (整合生物科学)的方向发展。

生物遗传信息的传递具有方向性和整体性。组学是基于组群或 集合的认识论，注重事物和过程之间的相互联系，即整体性。按照遗 传信息传递的方向性，可将组学按基因组学、转录物组学、蛋白质组 学、代谢组学等层次加以叙述(图27-1)。生物信息学的发展为组学研 究提供了重要方法。系统生物医学则是在各种组学的基础上应用系 统生物学原理与方法研究疾病发生发展规律和机制，发展现代高效的 预测、预防、诊断和治疗手段。系统生物医学的发展必将驱动新一轮 医学科学革命。

**第一节** **基** **因** **组** **学**

|  |  |
| --- | --- |
| DNA  转录  RNA  **翻译**  **蛋白质**  功能  代谢产物 | 基因组学 转录物组学 蛋白质组学  代谢组学 |

图27-1 遗传信息的方

向性与组学的关系

COkkyx2018

bkkyx2018

基因组(genome)是基因(gene)和染色体(chromosome)两个名词的组合，指的是一个生命单元所 拥有的全部遗传物质(包括核内和核外遗传信息),其本质就是DNA/RNA。 基因组学(genomics)是 阐 明整个基因组结构、结构与功能关系以及基因之间相互作用的科学。根据研究目的不同而分为结构 基因组学(structural genomics)、功能基因组学(functional genomics)和比较基因组学( comparative ge- nomics)。 结构基因组学通过基因组作图和序列测定，揭示基因组全部DNA 序列及其组成；比较基因 组学通过模式生物基因组之间或模式生物与人类基因组之间的比较与鉴定，发现同源基因或差异基 因，为研究生物进化提供依据；功能基因组学则利用结构基因组学所提供的信息，分析和鉴定基因组 中所有基因(包括编码和非编码序列)的功能。近年来，在基因组水平上研究不改变基因组序列而通 过表观遗传修饰调控基因或基因组表达的表观基因组学(epigenomics)成为研究热点。

**一、结构基因组学揭示基因组序列信息**

结构基因组学主要通过人类基因组计划(human genome project,HGP)的实施，解析人类自身DNA 的序列和结构 。研究内容就是通过基因组作图和大规模序列测定等方法，构建人类基因组图谱，即 遗传图谱(genetic map)、物理图谱(physical map)、序列图谱(sequence map)和转录图谱(transcription map) 。

**(一)通过遗传作图和物理作图绘制人类基因组草图**

人染色体DNA 很长，不能直接进行测序，必须先将基因组DNA 进行分解、标记，使之成为可操作 的较小结构区域，这一过程称为作图。 HGP 实施过程采用了遗传作图和物理作图的策略。

**1.** **遗传作图就是绘制连锁图** 遗传图谱又称连锁图谱(linkage map)。遗传作图(genetic mapping)就是确定连锁的遗传标志(genetic marker;或分子标志，molecular marker)位点在一条染色体 上的排列顺序以及它们之间的相对遗传距离，用厘摩尔根(centi-Morgan,cM)表示，当两个遗传标记之 间的重组值为1%时，图距即为1cM (约为1000kb)。 常用的遗传标志有限制性片段长度多态性(re-

**第二十七章** **组学与系统生物医学** **493**

striction fragment length polymorphism,RFLP)、可变数目串联重复序列(variable number of tandem repeat, VNTR) 和单核苷酸多态性(single nucleotidepolymorphism,SNP),其 中 SNP 的精确度最高(0.5~ 1.0kb)。

**2.** **物理作图就是描绘杂交图、限制性酶切图及克隆系图** 物理作图(physical mapping) 以物理 尺度(bp 或kb)标示遗传标志在染色体上的实际位置和它们间的距离，是在遗传作图基础上绘制的更 为详细的基因组图谱。物理作图包括荧光原位杂交图(fluorescent in situ hybridization map, FISH map; 将荧光标记探针与染色体杂交确定分子标记所在的位置)、限制性酶切图(restriction map;将限制性酶 切位点标定在DNA 分子的相对位置)及克隆重叠群图(clone contig map)等。在这些操作中，构建克 隆重叠群图是最重要的一种物理作图，它是在采用酶切位点稀有的限制性内切酶或高频超声破碎技 术将DNA 分解成大片段后，再通过构建酵母人工染色体(yeast artificial chromosome,YAC)或细菌人工 染色体(bacterial artificial chromosome,BAC),获取含已知基因组序列标签位点(sequence tagged site, STS)的 DNA 大片段。 STS 是指在染色体上定位明确、并且可用PCR 扩增的单拷贝序列，每隔100kb 距离就有一个标志。在STS 基础上构建覆盖每条染色体的大片段DNA 连续克隆系就可绘制精细物 理图。可以说，通过克隆重叠群作图就可以知晓特异DNA 大片段在特异染色体上的定位，这就为大 规模DNA 测序做好了准备。

**(二)通过EST** **文库绘制转录图谱**

人类基因组DNA 中只有约2%的序列为蛋白质编码序列，对于一个特定的个体来讲，其体内所有 类型的细胞均含有同样的一套基因组，但成年个体每一特定组织中，细胞内一般只有10%的基因是 表达的；即使是同一种细胞，在其发育的不同阶段，基因表达谱亦是不一样的。因此，了解每一组织细 胞及其在不同发育阶段、不同生理和病理情况下mRNA 转录情况，可以帮助我们了解不同状态下细胞 基因表达情况，推断基因的生物学功能。

转录图谱又称为cDNA 图或表达图(expression map),是一种以表达序列标签(expressed sequence tag,EST)为位标绘制的分子遗传图谱。通过从cDNA 文库中随机挑取的克隆进行测序所获得的部分 cDNA 的5'-或3'-端序列称为EST,一般长300～500bp左右。将mRNA 逆转录合成的cDNA 片段作为 探针与基因组DNA 进行分子杂交，标记转录基因，就可以绘制出可表达基因的转录图谱。

**(三)通过** **BAC** **克隆系和鸟枪法测序等构建序列图谱**

在基因作图的基础上，通过BAC 克隆系的构建和鸟枪法测序(shotgun sequencing),就可完成全基 因组的测序工作，再通过生物信息学手段，即可构建基因组的序列图谱。

BAC 载体是一种装载较大片段DNA 的克隆载体系统，用于基因组文库构建。全基因组鸟枪法测 序是直接将整个基因组打成不同大小的DNA 片段，构建BAC 文库，然后对文库进行随机测序，最后 运用生物信息学方法将测序片段拼接成全基因组序列(图27-2),此称为基因组组装(genome assem- bly)。

**二、比较基因组学鉴别基因组的相似性和差异性**

比较基因组学是在基因组序列的基础上，通过与已知生物基因组的比较，鉴别基因组的相似性和 差异性， 一方面可为阐明物种进化关系提供依据，另一方面可根据基因的同源性预测相关基因的功 能。比较基因组学可在物种间和物种内进行，前者称为种间比较基因组学，后者则称为种内比较基因 组学，两者均采可用BLAST 等序列比对工具。

**(一)种间比较基因组学阐明物种间基因组结构的异同**

种间比较基因组学通过比较不同亲缘关系物种的基因组序列，可以鉴别出编码序列、非编码(调 控)序列及特定物种独有的基因序列。而对基因组序列的比对，可以了解不同物种在基因构成、基因 顺序和核苷酸组成等方面的异同，从而用于基因定位和基因功能的预测，并为阐明生物系统发生进化 关系提供数据。

kkyx2018





**494** **第五篇** **医学分子生物学专题**

基因组DNA

BAC 文 库

大片段克隆

重叠物理图谱

待测序BAC片段

Shotgun克隆

Shotgun 序 列ACCGTAAATGGGCTGATCATGCTTAAA

TGATCATGCTTAAACCCTGTGCATCCTACTG

拼接与组装ACCGTAAATGGGCTGATCATGCTTAAACCCTGTGCATCCTACTG

图27-2 BAC文库的构建与鸟枪法测序流程示意图

**(二)种内比较基因组学阐明群体内基因组结构的变异和多态性**

同种群体内各个个体基因组存在大量的变异和多态性，这种基因组序列的差异构成了不同个体

与群体对疾病的易感性和对药物、环境因素等不同反应的分子遗传学基础。例如，SNP 最大限度地代

表了不同个体之间的遗传差异，鉴别个体间SNP 差异可揭示不同个体的疾病易感性和对药物的反应2 性，有利于判定不同人群对疾病的易感程度并指导个体化用药。

**三、功能基因组学系统探讨基因的活动规律**

功能基因组学的主要研究内容包括基因组的表达、基因组功能注释、基因组表达调控网络及机制 的研究等。它从整体水平上研究一种组织或细胞在同一时间或同一条件下所表达基因的种类、数量、 功能，或同一细胞在不同状态下基因表达的差异。它可以同时对多个表达基因或蛋白质进行研究，使 得生物学研究从以往的单一基因或单一蛋白质分子研究转向多个基因或蛋白质的系统研究。

**(一)通过全基因组扫描鉴定DNA** **序列中的基因**

这项工作以基因组DNA 序列数据库为基础，加工和注释人类基因组的DNA 序列，进行新基因预 测、蛋白质功能预测及疾病基因的发现。主要采用计算机技术进行全基因组扫描，鉴定内含子与外显 子之间的衔接，寻找全长可读框(open reading frame,ORF),确定多肽链编码序列。

**(** **二** **)** **通** **过BLAST** **等程序搜索同源基因**

同源基因在进化过程中来自共同的祖先，因此通过核苷酸或氨基酸序列的同源性比较，就可以推 测基因组内相似基因的功能。这种同源搜索涉及序列比较分析，NCBI 的 BLAST 程序是基因同源性 搜索和比对的有效工具。每一个基因在 GenBank 中都有一个序列访问号(accession number),在 BLAST 界面上输入2条或多条访问号，就可实现一对或多对序列的比对。

**(三)通过实验验证基因功能**

可设计一系列的实验来验证基因的功能，包括转基因、基因过表达、基因敲除、基因敲减或基因沉 默等方法，结合所观察到的表型变化即可验证基因功能。由于生命活动的重要功能基因在进化上是 保守的，因此可以采用合适的模式生物进行实验。

**(四)通过转录物组和蛋白质组描述基因表达模式**

基因的表达包括转录和翻译过程，研究基因的表达模式及调控可借助转录物组学和蛋白质组学

02记



**第二十七章** **组学与系统生物医学** **495**

相关技术与方法(见本章第二、三节)进行。

**四** **、ENCODE** **计划旨在识别人类基因组所有功能元件**

HGP 提供了人类基因组的序列信息(符号),并定位了大部分蛋白质编码基因。如何解密这些符 号代表的意义，特别是还有98%左右的非蛋白质编码序列的功能，仍然是一项十分繁重的任务。

( 一) ENCODE 计划是HGP 的延续与深入

若要全面理解生命体的复杂性，必须全面确定基因组中各个功能元件及其作用。在此背景下，美 国于2003年9月启动了DNA 元件百科全书(the Encyclopedia of DNA Element,ENCODE)计划。 EN- CODE 计划的目标是识别人类基因组的所有功能元件，包括蛋白质编码基因、各类RNA 编码序列、转 录调控元件以及介导染色体结构和动力学的元件等，当然还包括有待明确的其他类型的功能性序列 (图27-3),其目的是完成人类基因组中所有功能元件的注释，帮助我们更精确地理解人类的生命过 程和疾病的发生、发展机制。

Dkkyx2018 的 kkyx2018



(增强子，阻遏子沉默子，绝缘子) (启动子，转录因子结合位点)

图27-3 ENCODE 计划的研究对象和策略

( 二 ) ENCODE 计划已取得重要阶段性成果

根 据ENCODE 计划联盟有关1640组覆盖整个人类基因组的数据分析报告认为：人类基因组的大 部分序列(80.4%)具有各种类型的功能，而并非之前认为的大部分是“垃圾 ”DNA; 人类基因组中有 399124个区域具有增强子样特征，70292个区域具有启动子样特征；非编码功能元件富含与疾病相 关的SNP, 大部分疾病的表型与转录因子相关。这些发现有助于深入理解基因表达调控的规律，并发 现和鉴定出一大批与疾病相关的遗传学风险因子。

**第二节** **转录物组学**

转录物组(transcriptome)指生命单元所能转录出来的全部转录本，包括mRNA、rRNA、tRNA 和 其 他非编码RNA 。 因此，转录物组学(transcriptomics)是在整体水平上研究细胞编码基因(编码RNA 和蛋白质)转录产生的全部转录物的种类、结构和功能及其相互作用的科学。与基因组相比，转录物 组最大的特点是受到内外多种因素的调节，因而是动态可变的。这同时也决定了它最大的魅力在于

**496**



**第五篇** **医学分子生物学专题**

揭示不同物种、不同个体、不同细胞、不同发育阶段和不同生理病理状态下的基因差异表达的信息。

**一、转录物组学全面分析基因表达谱**

转录物组学是基因组功能研究的一个重要部分，它上承基因组，下接蛋白质组，其主要内容为大 规模基因表达谱分析和功能注释。

大规模表达谱或全景式表达谱(global expression profile)是生物体(组织、细胞)在某一状态下基 因表达的整体状况。长期以来，基因功能的研究通常采用基因的差异表达方法，效率低，无法满足大 规模功能基因组研究的需要。利用近年来建立起来整体性基因表达分析如微阵列(或芯片)、表达系 列分析和大规模平行信号测序系统等技术，可以同时监控成千上万个基因在不同状态(如生理、病理、 发育不同时期、诱导刺激等)下的表达变化，从而推断基因间的相互作用，揭示基因与疾病发生、发展 的内在关系。

**二、** **转录物组研究采用整体性分析技术**

任何一种细胞在特定条件下所表达的基因种类和数量都有特定的模式，称为基因表达谱，它决定 着细胞的生物学行为。而转录物组学就是要阐明生物体或细胞在特定生理或病理状态下表达的所有 种类的RNA 及其功能。微阵列(microarray)、基因表达系列分析(serial analysis of gene expression, SAGE) 和大规模平行信号测序系统(massively parallel signature sequencing,MPSS)等技术可用于大规 模转录物组研究。

**(一)微阵列是大规模基因组表达谱研究的主要技术**

微阵列或DNA 芯片(见第二十四章)可以同时测定成千上万个基因的转录活性，基至可以对整念 基因组的基因表达进行对比分析，因而成为基因组表达谱研究的主要技术。

**(** **二** **)** **SAGE** **在转录物水平研究细胞或组织基因表达模式**

SACE 的基本原理是用来自cDNA3'- 端特定位置9～10bp长度的序列所含有的足够信息鉴定基 因组中的所有基因。可利用锚定酶(anchoring enzyme,AE)和位标酶(tagging enzyme,TE)这两种限制 性内切酶切割 DNA 分子的特定位置(靠近3'-端),分离SAGE 标签，并将这些标签串联起来，然后对 其进行测序。这种方法可以全面提供生物体基因表达谱信息。它还可用来定量比较不同状态下组织 或细胞的所有差异表达基因。

**(** **三** **)** **MPSS** **是以序列测定为基础的高通量基因表达谱分析技术**

MPSS 的原理是采用能够特异识别每个转录子信息的序列信号(sequence signature,16～20bp)来 定量地大规模平行测定相应转录子的表达水平。也就是将mRNA 一端测出的一个包含10～20bp 的 特异序列信号用作检测指标，每一序列信号在样品中的频率(拷贝数)就代表了与该序列信号相应的 基因表达水平。 MPSS 所测定的基因表达水平是以计算 mRNA 拷贝数为基础的，是一个数字表达系 统。只要将目的样品和对照样品分别进行测定，通过严格的统计检验，就能测定表达水平较低、差异 较小的基因，而且不必预先知道基因的序列。

**三** **、转录物组测序和单细胞转录物组分析是转录物组学的核心任务**

目前，转录物组学的核心任务侧重于大规模转录物组测序和单细胞转录物组分析两个方面。

**(一)高通量转录物组测序是获得基因表达调控信息的基础**

转录物组测序即RNA 测 序(RNA sequencing,RNA-seq),其研究对象为特定细胞在某一功能状态 下所能转录出来的所有 RNA。 基于高通量测序平台的RNA-seq 技术能够在单核苷酸水平对任意物 种的整体转录活动进行检测，在分析转录本的结构和表达水平的同时，还能发现未知转录本和低丰度 转录本，发现基因融合，识别可变剪切位点和SNP, 提供全面的转录物组信息。

**第二十七章** **组学与系统生物医学**

497

**(二)单细胞转录物组有助于解析单个细胞行为的分子基础**

不同类型的细胞具有不同的转录物组表型，并决定细胞的最终命运。从理论上讲，转录物组分析 应该以单细胞为研究模型，这样有助于解析单个细胞的行为、机制以及与机体的关系等的分子基础。 单细胞测序可解决用全组织样本测序无法解决的细胞异质性问题，尤其适用于存在高度异质性的干 细胞及胚胎发育早期的细胞群体。与活细胞成像系统相结合，单细胞转录物组分析更有助于深入理 解细胞分化、细胞重编程及转分化等过程以及相关的基因调节网络。单细胞转录物组分析在临床上 可以连续追踪疾病基因表达的动态变化，监测病程变化、预测疾病预后。

**第三节** **蛋白质组学**

蛋白质是生物功能的主要载体。蛋白质组(proteome)是指细胞、组织或机体在特定时间和空间 上表达的所有蛋白质。蛋白质组学(proteomics)以所有这些蛋白质为研究对象，分析细胞内动态变化 的蛋白质组成、表达水平与修饰状态，了解蛋白质之间的相互作用与联系，并在整体水平上阐明蛋白 质调控的活动规律，故又称为全景式蛋白质表达谱(global protein expression profile)分 析

**一、蛋白质组学研究细胞内所有蛋白质的组成及其活动规律**

蛋白质组学的研究主要涉及两个方面： 一是蛋白质组表达模式的研究，即结构蛋白质组学(struc- tural proteomics);二是蛋白质组功能模式的研究，即功能蛋白质组学(functional proteomics)。 由于蛋 白质的种类和数量总是处在一个新陈代谢的动态过程中，同一细胞的不同周期，其所表达的蛋白质是 不同的；同一细胞在不同的生长条件(正常、疾病或外界环境刺激)下，所表达的蛋白质也是不同的。 以上动态变化增加了蛋白质组研究的复杂性。 的kkyx2018

**(一)蛋白质鉴定是蛋白质组学的基本任务**

**1.** **蛋白质种类和结构鉴定是蛋白质组研究的基础** 细胞在特定状态下表达的所有蛋白质都是 蛋白质组学的研究对象。 一般利用二维电泳和多维色谱并结合生物质谱、蛋白质印迹、蛋白质芯片等 技术，对蛋白质进行全面的种类和结构鉴定研究。

**2.** **翻译后修饰的鉴定有助于蛋白质功能的阐明** 很 多mRNA表达产生的蛋白质要经历翻译后 修饰如磷酸化、糖基化等过程。翻译后修饰是蛋白质功能调控的重要方式，因此，研究蛋白质翻译后 修饰对阐明蛋白质的功能具有重要意义。

**(二)蛋白质功能确定是蛋白质组学的根本目的**

**1.** **各种蛋白质均需要鉴定其基本功能特性** 蛋白质功能研究包括蛋白质定位研究，基因过表 达/基因敲除(减)技术分析蛋白质活性，此外，分析酶活性和确定酶底物，细胞因子的生物学作用分 析，配体-受体结合分析等也属蛋白质功能研究范畴。

**2.** **蛋白质相互作用研究是认识蛋白质功能的重要内容** 细胞中的各种蛋白质分子往往形成蛋 白质复合物共同执行各种生命活动。蛋白质-蛋白质相互作用是维持细胞生命活动的基本方式。要 深入研究所有蛋白质的功能，理解生命活动的本质，就必须对蛋白质-蛋白质相互作用有一个清晰的 了解，包括受体与配体的结合、信号转导分子间的相互作用及其机制等。目前研究蛋白质相互作用常 用的方法有酵母双杂交、亲和层析、免疫共沉淀、蛋白质交联、荧光共振能量转移等(见第二十四章)。

**二、二维电泳、液相分离和质谱是蛋白质组研究的常用技术**

目前常用的蛋白质组研究主要有两条技术路线， 一是基于双向凝胶电泳(two-dimensional gel elec- trophoresis,2-DE)分离为核心的研究路线：混合蛋白质首先通过2-DE 分离，然后进行胶内酶解，再用 质谱(mass spectroscopy,MS)进行鉴定；二是基于液相色谱(liquid chromatography,LC)分离为核心的 技术路线：混合蛋白质先进行酶解，经色谱或多维色谱分离后，对肽段进行串联质谱分析以实现蛋白

kkyx2018





**498** **第五篇** **医学分子生物学专题**

质的鉴定。其中，质谱是研究路线中不可缺少的技术。

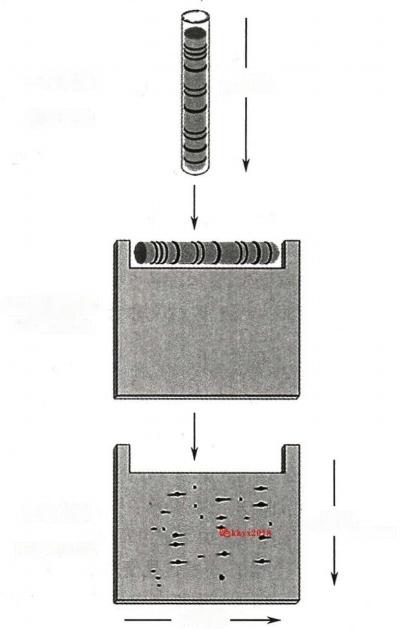
**(** **一** **)** **2** **-DE-MALDI-MS** **根据等电点和分子量分离鉴定蛋白质**

**1.2-DE** **是分离蛋白质的有效方法** 2- DE 是分离蛋白质最基本的方法，其原理是蛋白质在高压 电场作用下先进行等电聚焦(isoelectric focusing,IEF)电

泳，利用蛋白质分子的等电点不同使蛋白质得以分离；随 后进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 使依据 等电点分离的蛋白质再按分子量大小进行再次分离(图 27-4)。目前2-DE 的分辨率可达到10000个蛋白质点。

**2.** **MALDI-MS** **鉴定2-DE** **胶内蛋白质点** **MS是**通 过测定样品离子的质荷比(m/z) 来进行成分和结构分析的 方法。2-DE 胶内蛋白质点的鉴定常采用基质辅助激光解 吸附离子化(matrix-assisted laser desorption ionization,MAL- DI)技术。 MALDI 作为一种离子源，通常用飞行时间 (time of flight,TOF)作为质量分析器，所构成的仪器称为 MALDI-TOF-MS。MALDI 的基本原理是将样品与小分子 基质混合共结晶，当用不同波长的激光照射晶体时，基质 分子所吸收能量转移至样品分子，形成带电离子并进入 MS 进行分析，飞行时间与(m/z) 成正比。 MALDI-TOF- MS 适合微量样品(fmol～amol)的分析。

利用质谱技术鉴定蛋白质主要通过两种方法： ① 肽质量指纹图谱(peptide mass fingerprinting,PMF)和 数据库搜索匹配。蛋白质经过酶解成肽段后，获得所 有肽段的分子质量，形成一个特异的PMF 图谱，通过数 据库搜索与比对，便可确定待分析蛋白质分子的性质。 ②肽段串联质谱(MS/MS) 的信息与数据库搜索匹配。 通过MS 技术获得蛋白质一段或数段多肽的MS/MS 信

**一维电泳**

pI渐降

等电聚焦

IEF胶条置于

SDS 凝胶上

二维电泳

M. 渐降

08kkyx2018

SDS-PAGE

pI渐降 ·

图27-4 蛋白质的2-DE 示意图

一维：IEF;二维：SDS-PAGE

息(氨基酸序列)并通过数据库检索来鉴定该蛋白质。混合蛋白质酶解后的多肽混合物直接通过 (多维)液相色谱分离，然后进入MS 进行分析。质谱仪通过选择多个肽段离子进行MS/MS 分析， 获得有关序列的信息，并通过数据库搜索匹配进行鉴定(图27-5)。

**(** **二** **)** **LC-ESI-MS** **通过液相层析技术分离鉴定蛋白质**

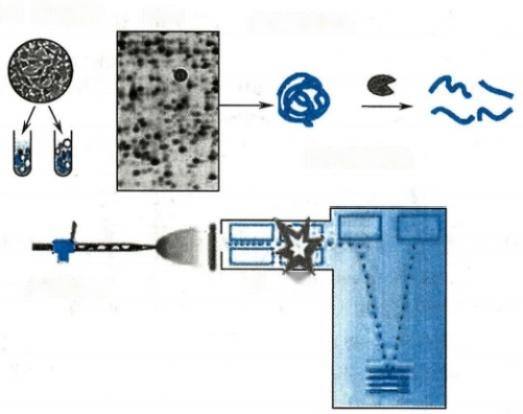
基于LC-ESI-MS 的蛋白质组研究技术通常称之为鸟枪法(shotgun)策略(图27-6)。其特点是组 合多种蛋白质或肽段分离手段，首选不同的层析技术，实现蛋白质或多肽的高效分离，并与MS/MS 技 术结合，实现多肽序列的准确鉴定。

**1.** **层析分离肽混合物** 从组织中提取的目标蛋白质混合物首先进行选择性酶解，获得肽段混合 物，然后进行二维液相分离。 一维液相分离一般采用强阳离子交换层析，利用肽段所带电荷数差异进 行分离；二维分离常常选择纳升反相层析，利用肽段的疏水性差异进行分离。

**2.** **电喷雾串联质谱鉴定肽段** 在肽段鉴定中，纳升级液相层析(nano-LC) 常与电喷雾串联 质谱(electrospray ionization,ESI)相连。 ESI 的基本原理是利用高电场使 MS 进样端的毛细管柱 流出的液滴带电，带电液滴在电场中飞向与其所带电荷相反的电势一侧。液滴在飞行过程中变 得细小而呈喷雾状，被分析物离子化成为带单电荷或多电荷的离子，使被分析物得以鉴定。 nano-LC-ESI-MS可以实现对复杂肽段混合物的在线分离、柱上富集与同步序列测定， 一次分析 可以鉴定的蛋白质数目超过1000个，而结合多维层析分离技术，可以利用鸟枪法一次实验鉴定 上万个蛋白质。

相对信号强度

**第二十七章** **组学与系统生物医学** 499

(1)样品分离

2-DE

挖取蛋白质点

肽混合物

(2)胰酶消化

(3)肽层析

q1 q2

(5)MS/MS

(4)MS

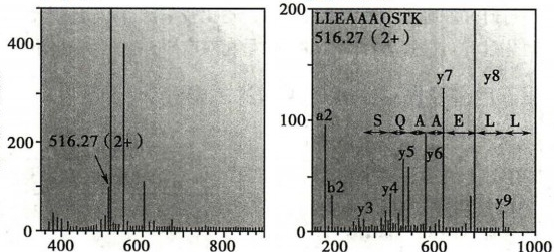
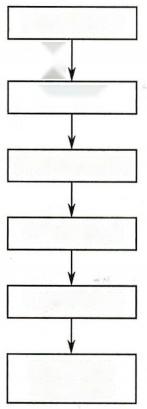
m/z m/z

图27- 5 基于2-DE-MALDI-MS 的蛋白质组分析技术路线

MS 谱获得蛋白质的PMF;MS/MS 可测定蛋白质的部分氨基酸序列



蛋白质混合物

肽混合物

离线色谱预分离

**在线色谱分离**

串联质谱分析

数据库检索 与数据注释

酶解

图27-6 基于LC-ESI-MS 的蛋白质组分析技术

kkyx2018

kkyx2018





**500** 第五篇 医学分子生物学专题

**第四节** **代** **谢** **组** **学**

细胞内的生命活动大多发生于代谢层面，因此代谢物的变化更直接地反映了细胞所处的环境，如 营养状态、药物作用和环境影响等。代谢组学(metabonomics)就是测定一个生物/细胞中所有的小分 子组成，描绘其动态变化规律，建立系统代谢图谱，并确定这些变化与生物过程的联系☑。

**一、代谢组学的任务是分析生物/细胞代谢产物的全貌**

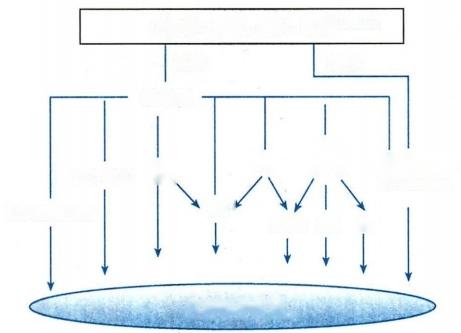
代谢组学分为四个层次：①代谢物靶标分析(metabolite target analysis):对某个或某几个特定组分 进行分析；②代谢谱分析(metabolic profiling analysis):对一系列预先设定的目标代谢物进行定量分 析。如某一类结构、性质相关的化合物或某一代谢途径中所有代谢物或一组由多条代谢途径共享的 代谢物进行定量分析；③代谢组学：对某一生物或细胞所有代谢物进行定性和定量分析；④代谢指纹 分析(metabolic fingerprinting analysis):不分离鉴定具体单一组分，而是对代谢物整体进行高通量的定 性分析。

代谢组学主要以生物体液为研究对象，如血样、尿样等，另外还可采用完整的组织样品、组织提取 液或细胞培养液等进行研究。血样中的内源性代谢产物比较丰富，信息量较大，有利于观测体内代谢 水平的全貌和动态变化过程。尽管尿样所含的信息量相对有限，但样品采集不具损伤性。

**二、** **核磁共振、色谱及质谱是代谢组学的主要分析工具**

由于代谢物的多样性，常需采用多种分 离和分析手段，其中，核磁共振 (nuclear magnetic resonance,NMR)、色谱及MS 等技术 是最主要的分析工具(图27-7)。①NMR: 是 当前代谢组学研究中的主要技术。代谢组学 中常用的 NMR 谱是氢谱('H-NMR)、 碳 谱 (³C-NMR) 及磷谱(³'P-NMR)。②MS: 按 质 荷比(m/z) 进行各种代谢物的定性或定量分 析，可得到相应的代谢产物谱。③色谱-质谱 联用技术：这种联用技术使样品的分离、定 性、定量一次完成，具有较高的灵敏度和选择 性。目前常用的联用技术包括气相色谱-质 谱(GC-MS) 联用和液相色谱-质谱(LC-MS)

联用。



生物体、器官、组织、细胞yz2018 Okkyx2018

离体 在体

提取液

NMR、FTIB FT-Raman

LC-NMR-MS

NMR MS UV

**代谢组学数据**

LC 、TLC GC、

HPLC UPLC

MS

CE

图27-7 代谢组学研究的技术系统及手段

**三、** **代谢组学技术在生物医学领域具有广阔的应用前景**

代谢组学所关注的是代谢循环中小分子代谢物的变化情况及其规律，反映的是内、外环境刺激下 细胞、组织或机体的代谢应答变化。与基因组学和蛋白质组学相比，代谢组学与临床的联系更为紧 密。疾病导致体内病理生理过程变化，可引起代谢产物发生相应的改变。因此，开展疾病代谢组研究 可以提供疾病(如某些肿瘤、肝疾病、遗传性代谢病等)诊断、预后和治疗的评判标准，并有助于加深 对疾病发生、发展机制了解；利用代谢组学技术可以快速检测毒物和药物在体内的代谢产物和对机体 代谢的影响，有利于判定毒物、药物的代谢规律，为深入阐明毒物中毒机制和发展个体化用药提供理 论依据；利用代谢组学技术对代谢网络中的酶功能进行有效的整体性分析，可以发现已知酶的新活性 并发掘未知酶的功能；最后，由于代谢组学分析技术具有整体性、分辨率高等特点，可广泛应用于中药

第二十七章 组学与系统生物医学 501

作用机制、复方配伍、毒性和安全性等方面的研究，为中药现代化提供技术支撑。

**第五节** **其** **他** **组** **学**

**一、糖组学研究生命体聚糖多样性及其生物学功能**

生物界丰富多样的聚糖类型覆盖了有机体所有细胞，它们不仅决定细胞的类型和状态，也参与了 细胞许多生物学行为，如细胞发育、分化，肿瘤转移，微生物感染，免疫反应等。糖组学(glycomics)侧 重于糖链组成及其功能的研究，其主要研究对象为聚糖，具体内容包括研究糖与糖之间、糖与蛋白质 之间、糖与核酸之间的联系和相互作用。糖组学是基因组学和蛋白质组学等的后续和延伸。因此，要 深入了解生命的复杂规律，就必须有“基因组-蛋白质组-糖组”的整体观念，这样才有可能揭示生物体 全部基因功能，从而为重大疾病发生、发展机制的进一步阐明和有效控制，以及为疾病预测、新的诊断 标记物的筛选及药物靶标的发现提供依据。

**(一)糖组学分为结构糖组学与功能糖组学两个分支**

糖组(glycome)指单个个体的全部聚糖，糖组学则对糖组(主要针对糖蛋白)进行全面的分析研 究，包括结构和功能两方面内容，因此可将其分为结构糖组学(structural glycomics)和功能糖组学 (functional glycomics)两个分支。糖组学的内容主要涉及单个个体的全部糖蛋白结构分析，确定编码 糖蛋白的基因和蛋白质糖基化的机制。因此，糖组学主要要回答4个方面的问题：①什么基因编码糖 蛋白，即基因信息；②可能糖基化位点中实际被糖基化的位点，即糖基化位点信息；③聚糖结构，即结 构信息；④糖基化功能，即功能信息。

**(二)色谱分离/质谱鉴定和糖微阵列技术是糖组学研究的主要技术**

**1.** **色谱分离与质谱鉴定技术** 色谱分离与质谱鉴定技术为糖组学研究的核心技术，被广泛地应 用于糖蛋白的系统分析。通过与蛋白质组数据库结合使用，这种方法能系统地鉴定可能的糖蛋白和 糖基化位点。

具体策略包括如下几个步骤：①凝集素亲和层析-1(用于糖蛋白分离):依据待分离糖蛋白 的聚糖类型单独或串联使用不同的凝集素；②蛋白质消化：将分离得到的糖蛋白用蛋白酶 I 消 化以生成糖肽；③凝集素亲和层析-2(用于糖肽分离):采用与步骤①相同的凝集素柱从消化液 中捕集目的糖肽；④HPLC 纯化糖肽；⑤序列分析、质谱和解离常数测定；⑥数据库搜索和聚糖结 构分析以获得相关遗传和糖基化信息。然后使用不同的凝集素柱进行第二和第三次循环，捕集 其他类型的糖肽，以对某个细胞进行较全面的糖组学研究。其中凝集素亲和层析亦称为糖捕获 (glyco-catch)法。

**2.** **糖微阵列技术** 糖微阵列技术是生物芯片中的一种，是将带有氨基的各种聚糖共价连接在包 被有化学反应活性表面的玻璃芯片上， 一块芯片上可排列200种以上的不同糖结构，几乎涵盖了全部 末端糖的主要类型四。糖微阵列技术可广泛用于糖结合蛋白的糖组分析，以对生物个体产生的全部 蛋白聚糖结构进行系统鉴定与表征。但目前可用于微阵列的糖数量还非常有限，糖微阵列技术有待 进一步的发展。

**3.** **生物信息学** 糖蛋白糖链研究的信息处理、归纳分析以及糖链结构检索都要借助生物信息学 来进行。目前这方面的数据库和网络包括CFG、KEGG 和 CCSD 等。

**(三)糖组学与肿瘤的关系密切**

目前，2-DE 已经成功地用于鉴定糖蛋白差异。已报道有多种血清糖蛋白可作为肾细胞癌、乳腺 癌、结直肠癌等的标记物；糖基化改变普遍存在于肿瘤的发生、发展过程中，分析糖基化修饰对于深入 研究肿瘤的发生机制及诊断治疗有着重要的价值；糖基化差异也可用于构建特异的多糖类癌症疫苗， 以发展新的免疫治疗策略。

与基因组学和蛋白质组学研究相比，糖组学的研究还处于起步阶段。阻碍糖组学迅速发展的原

kkyx2018



**502**

08记

**第五篇** **医学分子生物学专题**

因主要是糖链本身结构的复杂性和研究技术的限制。但不管如何，糖组学作为基因组学和蛋白质组 学的重要补充，将为人类在对生命本质深层次理解的进程中发挥越来越重要的作用。

**二、** **脂组学揭示生命体脂质多样性及其代谢调控**

生命体脂质具有化学多样性和功能多样性的特点，其代谢与多种疾病的发生、发展密切相关，很 多疾病都与脂代谢紊乱有关，如糖尿病、肥胖病、癌症等。因此，脂质的分析量化对研究疾病发生机制 和诊断治疗，以及医药研发有非常重要的生物学意义。脂组学(lipidomics)就是对生物样本中脂质进 行全面系统的分析，从而揭示其在生命活动和疾病中发挥的作用曰。

**(一)脂组学是代谢组学的一个分支**

脂组学的研究内容为生物体内的所有脂质分子，并以此为依据推测与脂质作用的生物分子的变化， 揭示脂质在各种生命活动中的重要作用机制。通过研究脂质提取物，可获得脂组(lipidome)的信息，了 解在特定生理和病理状态下脂质的整体变化。因此，脂组学实际上是代谢组学的重要组成部分。

脂组学的研究有以下优势：①只研究脂质物质及其代谢物。脂质物质在结构上的共同点决定了 样品前处理及分析技术平台的搭建较为容易，而且可以借鉴代谢组学的研究方法。②脂组学数据库 的建立和完善速度较快，并能建立与其他组学的网络联系。③脂质组分析的技术平台可用于代谢组 学的研究，促进代谢组学发展。

**(二)脂组学研究的三大步骤——** **分离、鉴定和数据库检索**

**1.** **样品分离** 脂质主要从细胞、血浆、组织等样品中提取。由于脂质物质在结构上有共同特点，

即有极性的头部和非极性的尾部。所以，脂质采用氯仿、甲醇及其他有机溶剂的混合提取液，能够较 好地溶出样本中的脂质物质。

**2.** **脂质鉴定** 随着分析技术的不断发展，脂质的分析方法也在不断的改进。总体而言，大部分uy2018

的分析技术都能用来分析脂质，包括脂肪酸、磷脂、神经鞘磷脂、甘油三酯和类固醇等。常规的技术有 薄层色谱(TLC)、 气相色谱-质谱联用(GC-MS)、 电喷雾质谱(ESI/MS)、 液相色谱-质谱联用(LC/MS)、

高效液相色谱-芯片-质谱联用(HPLC-Chip/MS)、 超高效液相色谱-质谱联用(UPLC/MS)、 超高效液相

色谱-傅立叶变换质谱联用(UPLC/FT-MS) 等。

**3.** **数据库检索** 随着脂组学的迅速发展，相关数据库也逐步建立。现有数据库能够查询脂质结 构、质谱信息、分类及实验设计、实验信息等，其功能也越来越完善。数据库的建立无疑成为推动脂组 学自身发展的良好工具。国际上最大的数据库LIPID Maps(http://www.lipidmaps.org/)是由美国国 立综合医学研究所(National Institute of General Medical Sciences,NIGMS)组织构建的，它包含了脂质分 子的结构信息、质谱信息、分类信息、实验设计等。数据库包含了游离脂肪酸、胆固醇、甘油三酯、磷脂 等八个大类共40673种脂质的结构信息(截至2017年1月)。

**(三)脂组学研究促进脂质生物标志物的发现和疾病诊断**

发现疾病相关的诊断标志物是进行疾病诊断的关键。脂组学所提供的方法能够监测病人与正常 人之间的脂质变化，从中找到差异较大的脂质化合物，作为疾病早期诊断的指标。科学家定量研究了 卵巢癌病人和良性卵巢瘤病人血清中各种胆固醇及脂蛋白的含量变化，结果表明：以载脂蛋白AI

(apoAI) 和游离胆固醇(free cholesterol,FC)为诊断指标排除卵巢瘤的正确率高达95 . 5%,综合 apoAI、FC、 高密度脂蛋白游离胆固醇(HDLFC)、 高密度脂蛋白总胆固醇(HDLTC)、apoB 及高密度脂 蛋白-3(HDL3) 片段诊断卵巢癌的准确率达到97.0%。另有证据报道溶血磷脂酸在卵巢癌的诊断中 表现出高度的敏感性和特异性，能够作为早期诊断卵巢癌及术后随访的生物标志物。

总之，脂组学从脂代谢水平研究疾病的发生、发展过程的变化规律，寻找疾病相关的脂生物标志 物，进一步提高疾病的诊断效率，并为疾病的治疗提供更为可靠的依据。脂组学能够在一定程度上促 进代谢组学的发展，并通过代谢组学技术的整合运用建立与其他组学之间的关系，最终实现医学科学 的整体进步。



第二十七章 组学与系统生物医学

**503**

**第六节** **系统生物医学及其应用**

HGP 的完成极大地促进了医学科学的发展。各种组学的不断发展以及集成已经形成了一 门新 的学科—— 系统生物医学(systems biomedicine)。 在这一大背景下，现代医学正酝酿着一场颠覆性的 变革，分子医学的深入、精准医学的开展以及转化医学的发展等有望从分子水平突破对疾病的传统认 识，从而彻底改变和革新现有的临床诊疗模式。

**一、系统生物医学是以整体性研究为特征的一种整合科学**

系统生物医学应用系统生物学(systems biology)原理与方法研究人体(包括动物和细胞模型)生 命活动的本质、规律以及疾病发生发展机制，实际上就是系统生物学的医学应用研究。

**(一)系统生物医学强调机体组成要素和表型的整体性**

系统生物医学从全方位、多层次(分子、细胞器、细胞、组织、器官、个体/基因型、环境因子、种群、 生态系统)的角度，整体性揭示一个机体所有组成成分(基因、mRNA、 蛋白质等)的构成，以及在特定 条件下这些组分间的相互关系及其效应。以往的实验生物学仅关心个别或一批基因和蛋白质，系统 生物医学则不同，它要研究一个细胞/机体内所有的基因、所有的蛋白质，特别是所有生物分子间的所 有相互关系及其导致的生物学效应。显然，系统生物医学是以整体性研究为特征的一种整合科学 (integrative science)。

**(二)系统生物医学将极大地推动现代医学科学的发展**

系统生物医学使生命科学由描述式的科学转变为定量描述和预测的科学，改变了21世纪医学科 学的研究策略与方法，并将对现代医学科学的发展起到巨大的推动作用。当前系统生物医学理论与 技术已经在预测医学(predictive medicine)、预防医学(preventive medicine)和个性化医学(personalized medicine)中得到应用，如应用代谢组学的生物指纹预测冠心病病人的危险程度和肿瘤的诊断以及治 疗过程的监控；应用基因多态性图谱预测病人对药物的应答，包括毒副作用和疗效。再如，表型组学 的细胞芯片和代谢组学的生物指纹将广泛用于新药的发现和开发，使新药的发现过程由高通量逐步 发展为高内涵(high-content)。 未来的治疗不再依赖于单一药物，而是使用一组药物(系统药物)的协 调作用来控制病变细胞的代谢状态，以减少药物的副作用，维持疾病治疗的最大效果。

Ckkyx2018

**二、分子医学是发展现代医学科学的重要基础**

分子医学(molecular medicine)就是从分子水平阐述疾病状态下基因组的结构、表达产物、功能及 其表达调控规律，发展现代高效预测、预防、诊断和治疗手段。因此，分子医学实际上就是医学的一个 分支学科，主体内容是分子生物学在医学中的应用，涵盖了其主要的理论和技术体系。疾病基因组 学、转录物组学、蛋白质组学、代谢组学等是开展分子医学的基础。

**(一)疾病基因组学阐明发病的分子基础**

疾病基因(或疾病相关基因)以及疾病易感性的遗传学基础是疾病基因组学研究的两大任务。 定位克隆(positional cloning)技术的发展极大地推动了疾病基因或疾病相关基因的发现和鉴定，该技 术将疾病相关基因位点定位于某一染色体区域后，根据该区域的基因、EST 或模式生物所对应的同源 区的已知基因等有关信息，直接进行基因突变筛查，从而可确定疾病相关基因(见第二十五章)。

SNP 是疾病易感性的重要遗传学基础，例如，APOE 基因单个碱基变异与阿尔茨海默病(Alzheimer disease,AD)的发生相关，趋化因子受体基因CCR5 中一个单纯缺失突变会导致对HIV 的抗性等。疾

病基因组研究在全基因组SNP 制图基础上，筛选和鉴定与疾病相关的SNP, 从而阐明各种疾病易感人 群的遗传学背景，为疾病的诊断和治疗提供新的理论基础。

**504**

记

**第五篇** **医学分子生物学专题**

**(二)药物基因组学揭示遗传变异对药物效能和毒性的影响**

药物基因组学(pharmacogenomics)是功能基因组学与分子药理学的有机结合。药物基因组学以 药物效应和安全性为目标，研究各种基因突变与药效及安全性的关系。正因为药物基因组学是研究 基因序列变异及其对药物不同反应的科学，所以也是研究高效/特效药物的重要途径，通过它可为病 人或者特定人群寻找合适的药物☑。

药物基因组学广泛应用遗传学、基因组学、蛋白质组学和代谢组学信息来预测患病人群对药物的 反应，从而指导临床试验和药物开发过程。不断涌现的各种生物分析技术，如基因变异检测技术、 SNP 高通量扫描技术、药物作用显示技术、基因分型研究技术等，为药物基因组学的进一步发展提供 了技术支撑。药物基因组学使药物治疗模式由诊断定向治疗转为基因定向治疗。

**(三)疾病转录物组学阐明疾病发生机制并推动新诊治方式的进步**

疾病转录物组学是通过比较研究正常和疾病条件下、或疾病不同阶段基因表达的差异情况，从而 为阐明复杂疾病的发生发展机制，筛选新的诊断标志物，鉴定新的药物靶点，发展新的疾病分子分型 技术，以及开展个体化治疗提供理论依据。

例如，外周血转录物谱可作为冠状动脉疾病(coronary artery diseases,CAD)诊断与病程、预后判定 的生物标志物。 CardioDx发展了基于23个基因表达谱的诊断试剂盒Corus CAD,适用于早期阻塞性 CAD 的诊断。再如，近年研究表明多种疾病(包括肿瘤)与miRNA 密切相关，检测血清中miRNA 表达 谱可指示某些疾病的发生。目前已有HBV、 心脏疾病(包括急性冠状动脉综合征、急性心肌梗死、高 血压、心力衰竭等)、2型糖尿病和肝癌等的血清miRNA 作为诊断标记物的报道。此外，miRNA 还可 作为某些疾病治疗的潜在靶点，例如针对miRNA-182 的反义寡聚核苷酸可以用于黑色素瘤肝转移的 治疗。

**(四)疾病蛋白质组学发现和鉴别药物新靶点**

kkyx2018 RAkkyx2018

药物作用靶点的发现与验证是新药发现阶段的重点和难点，成为制约新药开发速度的瓶颈。近 年来，随着蛋白质组研究技术的不断进步，蛋白质组学在药物靶点的发现应用中亦显示出越来越重要 的作用。

疾病相关蛋白质组学研究可以发现和鉴定在疾病条件下表达异常的蛋白质，这类蛋白质可作为 药物候选靶点。疾病相关蛋白质组学还可对疾病发生的不同阶段进行蛋白质变化分析，发现一些疾 病不同时期的蛋白质标志物，不仅对药物发现具有指导意义，还可形成未来诊断学、治疗学的理论基 础。许多疾病与信号转导异常有关，因而信号分子和途径可以作为治疗药物设计的靶点。在信号传 递过程中涉及数十或数百个蛋白质分子，蛋白质-蛋白质相互作用发生在细胞内信号传递的所有阶 段。而且，这种复杂的蛋白质作用的串联效应可以完全不受基因调节而自发地产生。通过与正常细 胞作比较，掌握与疾病细胞中某个信号途径活性增强或丧失有关的蛋白质分子的变化，将为药物设计 提供更为合理的靶点。

**(五)医学代谢组学提供新的疾病代谢物标志物**

代谢组学经过十余年的发展，方法正日趋成熟，其应用已逐步渗透到生命科学研究领域的多个方 面，在医学科学中亦日益彰显出其强有力的潜能。

与基因组学和蛋白质组学相比，代谢组学研究侧重于代谢物的组成、特性与变化规律。通过对某 些代谢产物进行分析，并与正常人的代谢产物比较，可发现和筛选出疾病新的生物标志物，对相关疾 病作出早期预警，并发展新的有效的疾病诊断方法。例如通过代谢组学的研究，证实血清中VLDL、 LDL、HDL和胆碱的含量/比值可以判断心脏病的严重程度；血清中脂蛋白颗粒的组成，如脂肪酸侧链 的不饱和度、脂蛋白分子之间相互作用的强度(而不是脂质的绝对含量)是影响高血压病人收缩压的 主要因素；通过比较病人与正常人尿样中嘌呤和嘧啶化合物图谱，能够实现绝大多数核苷酸相关代谢 遗传疾病的诊断。



**第二十七章** **组学与系统生物医学** 505

**三、** **精准医学是实现个体化医学的重要手段**

精准医学(precision medicine)的目的就是全面推动个体基因组研究，依据个人基因组信息“量体 裁衣”式(tailored)制定最佳的个性化治疗方案，以期达到疗效最大化和副作用最小化。

精准医学分为短期和长远两个目标。短期目标就是癌症治疗。癌症是常见的疾病，其全球发病 率和死亡率逐年上升，而目前临床上尚缺乏有效的、针对性强的治疗方法。精准医学希望通过个体基 因组研究，发现和鉴定与癌症发生发展相关的基因和调控因子，发掘新的肿瘤标志物，发展新的肿瘤 分子分型技术，开展基于个体基因组的个体化治疗方法与技术。长期目标是健康管理。精准医学通 过科技进步，将其优势拓展到健康和医疗的各个方面，从而提升对疾病风险评估，疾病发生、发展和转 归机制的认识，以及疾病最佳治疗方案的制定与实施。

我国于2016年正式启动国家重点研发计划“精准医学研究”重点专项，按照全链条部署、 一体化 实施的原则，部署新一代临床用生命组学技术研发，大规模人群队列研究，精准医学大数据的资源整 合、存储、利用与共享平台建设，疾病防诊治方案的精准化研究，精准医学集成应用示范体系建设等五 大研究任务。

**四、** **转化医学是加速基础研究实际应用的重要路径**

转化医学(translational medicine)强调以临床问题为导向，开展基础-临床联合攻关，将基因组学等 各种分子生物学研究成果迅速有效地转化为可在临床实际应用的理论、方法、技术和药物。转化医学 的核心是要在实验室和病床(bench to bedside,简称B2B) 之间架起一条快速通道。

转化医学产生的背景主要基于以下几个方面：①基础研究与临床问题解决之间严重脱节；②疾病 谱的转变使医疗成本大大增加；③基础科学研究积累大量数据的意义需要解析；④基础研究和药物开 发及医学实践三者需要整合。因此，围绕以临床问题为导向，开展医学科学实践，是解决医学根本性 问题的有效途径，这也是转化医学的根本目的。

Akkyx2018

转化医学的目标就是将生命科学和生物技术及相关的现代科学技术整合、转变现有的医学模式， 推动医疗改革，提高人民的健康水平和生活质量，从而达到更精确的预警与诊断，更有效的干预和治 疗，降低发病率、推迟发病平均年龄，提高治愈率、减少重症病人，以及降低医疗的综合成本。



小 结

生物遗传信息的传递具有方向性和整体性的特点。组学从组群或集合的角度检视遗传信息传递 链中各类分子(DNA、RNA、 蛋白质、代谢物等)的结构与功能以及它们之间的联系。按照生物遗传信 息流方向，可将组学分为基因组学、转录物组学、蛋白质组学、代谢组学等层次。

基因组学是阐明整个基因组结构、功能以及基因之间相互作用的科学。主要研究内容包括结构 基因组学、功能基因组学和比较基因组学。结构基因组学的主要任务是基因组作图和序列测定；比较 基因组学通过不同生物基因组之间的比较，研究基因组的功能及其进化关系；功能基因组学利用结构 基因组所提供的信息，分析基因组中所有基因(包括编码和非编码序列)的功能；ENCODE 计划是 HGP 的延续与深入，其主要目的是识别人类基因组中所有的功能元件，特别是非编码序列的功能和 转录调控元件。

转录物组学在整体水平上研究生命单元所能转录出来的全部转录本(包括mRNA 和所有非编码 RNA) 的种类、结构和功能，以及表达水平、时空分布、相互作用及其调控规律等。转录物组受到内外 多种因素的调节，因而是动态可变的。

蛋白质组学以细胞、组织或机体在特定时间和空间上表达的所有蛋白质为研究对象，分析细胞内 动态变化的蛋白质组成、表达水平与修饰状态，揭示蛋白质之间的相互作用及其调控规律。二维电泳 和多维色谱是分离蛋白质组的有效方法，生物质谱是蛋白质组鉴定的主要工具。

50nEe

**506** **第五篇** **医学分子生物学专题**

代谢组学的主要任务就是测定一个生物所有小分子代谢物的组成，描绘其动态变化规律，建立系 统代谢图谱，并确定这些变化与基因、转录、蛋白质层面以及生物过程的联系。

糖组学主要研究对象为聚糖，重点研究糖与糖之间、糖与蛋白质之间、糖与核酸之间的联系和相 互作用。脂组学是对生物样本中脂质进行全面系统的分析并从代谢水平阐明与生命过程的有机 联系。

系统生物医学应用系统生物学原理与方法研究人体(包括模式动物)生命活动的本质、规律以及 疾病发生发展机制，并在此基础上发展新的有效的预测、预防、诊断和治疗方法。

各种组学和系统生物医学的不断发展及其原理/技术与医学、药学等领域交叉，产生了分子医学、 精准医学、转化医学等现代医学概念。现代医学科学将从分子和整体水平突破对疾病的传统认识，改 变和革新现有的诊断、治疗模式。

**思** **考** **题**

1. 何为组学?按生物遗传信息流方向，主要组学有哪些?

2. 试述系统生物医学如何推动未来医学的发展。

(焦炳华)

的 kkyx2018 (Okkyx2018





**名词释义**

1.2,3-二磷酸甘油酸支路(2,3-bisphosphoglycerate shunt pathway,2,3-BPG shunt pathway):红细胞糖酵解途径中，在1,3- 二磷酸甘油酸处形成分支，生成中间产物2,3-二磷酸甘油酸，再转变为3-磷酸甘油酸而返回糖酵解的过程。红细胞内 此旁路占糖酵解的15%～50%,主要生理功能是调节血红蛋白运氧。

2.5'-cDNA 末端快速扩增技术(5'-rapid amplification of cDNA endtechnique,5'-RACEtechnique):一种基于PCR 从低丰度 的基因转录本中快速扩增cDNA5'-末端的有效方法。主要步骤为：①用碱性磷酸酶去掉总RNA 中裸露的5'-磷酸基 团；②用烟草酸焦磷酸酶去掉mRNA 的5'-帽子结构，保留一个磷酸基团；③用T4 RNA连接酶将5'-RACE 适配体(5'- RACE adapter)连接到去帽mRNA 的5'-末端；④以上述带有5'-RACE 适配体的mRNA 为模板，用逆转录酶和随机寡核 苷酸引物进行逆转录合成cDNA;⑤ 巢式PCR 反应：先用下游外侧基因特异性引物(GSP1) 和5'-RACE 外侧引物进行 外侧PCR 反应；然后再使用下游内侧基因特异性引物(GSP2) 和5'-RACE 内侧引物进行内侧PCR 反应；⑥通过对最终 的 PCR 产物直接进行DNA 测序或先进行DNA 克隆后再测序，从而明确特定基因的TSS 序列。

3.5'-帽子结构(5'-cap structure):真核生物mRNA 5'-端的特殊结构，是7-甲基鸟苷-5'-三磷酸通过5'-5'方式与mRNA 的 5'-端连接。具有保护mRNA、 调控翻译起始等多种功能。

4. CpG岛(CpC island):基因组中长度为300～3000bp、CC含量可达60%的区段，主要存在于基因的5'-端启动子区。 CpG 序列中的胞嘧啶(C) 甲基化可导致基因转录被抑制，故CpG 岛的未甲基化状态为基因转录所必需。

5. CRISPR(clustered regularly interspaced palindromic repeats,成簇规律间隔短回文重复):细菌基因组上成簇排列的、由来

自噬菌体DNA 的间隔序列(spacer)和宿主菌基因组的重组序列所形成的特殊重复序列-间隔序列阵列μGRISPR 存在心Hy2018 于已测序的40%细菌基因组和90%古细胞(archaea)基因组中。

6.CRISPR/Cas 系统(CRISPR/Cas system):原核生物的一种获得性免疫系统，用于抵抗存在于噬菌体或质粒的外源遗传 元件的入侵。 RNA 锚定到CRISPR 的间隔序列上，帮助Cas(CRISPR-associated)蛋白识别并切割外源DNA。 还有一些 RNA 引导的Cas蛋白负责切割外源RNA。

7.DNA 变性(DNA denaturation):在某些物理因素(温度、pH、离子强度等)或化学因素(尿素)的影响下，DNA 分子失去 生物活性。此时，DNA 分子不再具有致密的、双链的螺旋结构。

8.DNA 超螺旋结构(DNA superhelix):在DNA 双螺旋结构基础上进一步盘绕所形成的螺旋结构。

9. DNA重组(DNA recombination):DNA分子内或分子间发生的遗传信息的重新共价组合过程。包括同源重组、特异位 点重组和转座重组等类型，广泛存在于各类生物。体外通过人工DNA 重组可获得重组体DNA, 是基因工程中的关键 步骤。

10.DNA- 蛋白质交联(DNA protein cross-linking):DNA分子与蛋白质以共价键的形式结合在一起。

11. DNA聚合酶(DNA-dependent DNA polymerase,DNA pol):以单链或双链DNA 为模板，催化由脱氧核糖核苷三磷酸合 成 DNA 的酶，其全称是依赖DNA 的 DNA 聚合酶。

12. DNA链间交联(DNA interstrand cross-linking):DNA双螺旋链中的一条链上的碱基与另一条链上的碱基以共价键的 形式结合在一起的现象。

13.DNA 链内交联(DNA intrastrand cross-linking):DNA双螺旋链中的同一条链内的两个碱基以共价键结合的现象。紫 外线照射后形成的嘧啶二聚体是DNA 链内交联的典型例子。

14. DNA损伤(DNA damage):各种体内外因素导致的DNA 组成与结构上的变化，主要有碱基或戊糖基的破坏、碱基错 配、DNA 单链或双链断裂、DNA 链共价交联等多种表现形式。

15. DNA拓扑异构酶(DNA topoisomerase):调控DNA 的拓扑状态和催化拓扑异构体相互转换的一类酶。DNA 在复制解 链过程形成超螺旋结构，这种超螺旋及局部松弛等过渡状态，需要拓扑酶作用以改变 DNA 分子的拓扑构象，理顺 DNA 链结构来配合复制进程。

16. DNA依赖的RNA 聚合酶(DNA-dependent RNA polymerase):以 DNA 双链中的一条链作为模板，催化合成RNA 的酶， 在原核和真核细胞中都存在。合成反应以DNA 为模板，以ATP、GTP、UTP和 CTP 为原料，还需要Mg²\*作为辅基，并 不需要引物。依赖 DNA 的 RNA 聚合酶缺乏3'→5'外切酶活性，所以没有校正功能。

17.DNA 印迹(DNA blotting):对DNA 样品中特定序列DNA 进行定性定量分析的技术，亦称Southern blotting。通过将电

**508** **名** **词** **释** **义**

泳分离的DNA 片段变性为单链后转移到膜性材料，在含有探针的溶液中进行杂交反应，可对特定DNA 片段进行定 性和定量分析。

18. DNA元件百科全书计划(the Encyclopedia of DNA Elements project,ENCODE project):识别人类基因组所有功能元件， 特别是非编码序列的功能和转录调控元件的国际合作计划。其研究对象包括：蛋白质编码基因、非蛋白质编码基因、 基因调控区域、染色体结构维持和调节染色体复制动力的DNA 元件等。

19.D-环复制(D-loop replication):线粒体DNA 的复制方式。线粒体DNA 为闭合环状双链结构，复制中呈字母D 形状而 得名。D 环复制的特点是复制起始点不在双链DNA 同一位点，内、外环复制有时序差别。

20.C 蛋白偶联受体(G protein-coupled receptor,GPCR):具有7个跨膜α-螺旋，直接与异源三聚体G 蛋白偶联结合的一 类重要的细胞表面受体，依靠活化G 蛋白转导细胞外信号，亦称七次跨膜受体。

21.G 蛋白循环(G protein cycle):在G 蛋白偶联受体介导的信号通路中，G 蛋白在有活性和无活性状态之间的连续转换。 其关键机制是受体不断促进G 蛋白释放GDP、结合GTP,而使其激活；而G 蛋白的效应分子又不断激活其GTP 酶活 性，促进GTP 水解成为GDP, 而使其恢复到无活性状态。

22.HMG-CoA 还原酶(HMG-CoA reductase):在胆固醇生物合成过程中，催化HMG-CoA 还原为甲羟戊酸，是细胞胆固醇 合成的限速酶。

23.K 值(Km value):等于酶促反应速率为最大反应速率一半时的底物浓度。

24.MAPK 途径(MAPK pathway):以促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase,MAPK)为代表的信号转导途 径，其主要特点是具有MAPK 级联反应。

25.N-连接型聚糖(N-linked glycan):与蛋白质分子中天冬酰胺残基的酰胺氮相连的聚糖。

26.0-连接型聚糖(O-linked glycan)与蛋白质分子中丝氨酸或苏氨酸羟基相连的聚糖。

27.P/O 比值(phosphate/oxygen ratio):氧化磷酸化过程中，每消耗1/2摩尔O₂ 所需磷酸的摩尔数，即所能合成ATP 的摩 尔数(或一对电子通过呼吸链传递给氧所生成ATP 分子数)。

28. RNA编辑(RNA editing):在初级转录物上增加、删除或取代某些核苷酸而改变遗传信息的过程，可使 RNA 序列不同 于所对应的基因组模板DNA 序列。

29. RNA干扰(RNA interference,RNAi):与靶基因同源的双链RNA 诱导的特异性转录后基因沉默现象。 siRNA、miRNA

均可介导RNA 干扰。 gkkyx2018 Dkkyx2018

30.RNA 剪接(RNA splicing):从DNA 模板链转录出的前体RNA 分子中除去内含子，并将外显子连接起来而形成一个成 熟的RNA 分子的过程。

31.RNA 印迹(RNA blotting):通过检测RNA 或 mRNA 分子，对基因表达进行分析的技术，亦称Northern blotting。利用 RNA 印迹技术可以对某一组织或细胞中已知的特异mRNA 的表达水平进行分析，也可以比较不同组织和细胞中的 同一基因的表达情况。

32.SH2 结构域(SH2 domain):可与某些蛋白质(如受体酪氨酸激酶)的磷酸化酪氨酸残基紧密结合的蛋白质结构域，可 启动信号转导通路中的多蛋白质复合物的形成。

33. V..(maximum velocity):酶被底物完全饱和时的反应速率。

34. α-螺旋(α-helix):是蛋白质二级结构的主要形式之一。指多肽链主链围绕中心轴呈有规律的螺旋式上升，每3.6个 氨基酸残基螺旋上升一圈，螺距为0.54nm,每个氨基酸残基沿着螺旋的长轴上升0.15nm。 螺旋的方向为右手螺旋。 氨基酸侧链 R 基团伸向螺旋外侧，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。

35.癌基因(oncogene):能导致细胞发生恶性转化和诱发癌症的基因。绝大多数癌基因是细胞内正常的原癌基因突变或 表达水平异常升高转变而来，某些病毒也携带癌基因。

36.氨基酸代谢库(amino acid metabolic pool):体内分布于各组织及体液中参与代谢的游离氨基酸的总和，包括食物蛋白 质经消化而被吸收的氨基酸、体内组织蛋白质降解产生的氨基酸及体内合成的非必需氨基酸。可作贮存或被利用。

37.巴斯德效应(Pasteur effect):糖的有氧氧化抑制糖的无氧氧化的现象。在有氧条件下，肌组织通过此效应实现产能的 最大化。

38.半保留复制(semi-conservative replication):DNA复制时，亲代DNA 双螺旋解开成为两条单链各自作为模板，按照碱基 配对规律合成一条与模板相互补的新链，形成两个子代DNA 分子。每一个子代DNA 分子中都保留有一条来自亲代 的链。这种复制方式称为半保留复制。

39.半不连续复制(semi-discontinuous replication):前导链连续复制而后随链不连续复制的方式。

40.必需氨基酸(essential amino acid):体内合成的量不能满足机体需要，必须从食物中摄取的氨基酸。包括：亮氨酸、异 亮氨酸、甲硫氨酸、缬氨酸、苏氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、赖氨酸和组氨酸。

41. 必需脂肪酸(essential fatty acids):机体必需但自身又不能合成或合成量不足、必须靠食物提供的多不饱和脂肪酸。

42.表达载体(expression vector):用于介导特定基因在靶细胞中表达的DNA 分子，也称表达构造(expression construct),

**名** **词** **释** **义** **509**

含有增强子和启动子等调控序列用于引导所携带外源基因的有效转录。

43.别构效应(allosteric effect):小分子化合物或配基结合于蛋白质或酶活性部位以外的其他部位(别构部位),引起蛋白 质分子的构象变化，而导致蛋白质活性改变的现象。

44.卟啉症(porphyria):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的一类疾病，有先天性和后天性两 大类。

45.补救合成(salvage pathway):利用生物分子分解途径的中间代谢产物再合成该物质的过程，如生物体利用核酸或核苷 酸分解释放的游离的碱基或核苷合成核苷酸的过程即是补救合成。

46.层析(chromatography):利用物质分子在流动相与固定相之间分配比例不同，将不同物质分子的混合物分离的一种技 术。例如薄层层析、柱层析等。

47.插入序列(insertion sequence,IS):能在基因(组)内部或基因(组)间改变自身位置的一段DNA 序列。通常是转座子 的一种，只携带与自身转座有关的编码基因。

48.长非编码RNA(long non-coding RNA,IncRNA):一类转录本长度超过200个核苷酸的RNA 分子，不直接参与基因编 码和蛋白质合成，但是可在表观遗传水平、转录水平和转录后水平调控基因的表达。

49.长散在核元件(long interspersed nuclear elements,LINEs):以散在方式分布于基因组中的较长的重复序列，重复序列长 度在1000bp 以上，常具有转座活性，又称为长散在重复序列(long interspersed repeat squence)。

50.超螺旋结构(superhelix或 supercoil):由于双螺旋DNA 的弯曲、盘绕而造成的DNA 分子进一步扭曲所形成的一种 DNA 的三级结构。 DNA 超螺旋有两种：当DNA 分子沿轴扭转的方向与通常双螺旋的方向相反时，造成双螺旋的欠 旋而形成负超螺旋；反之则为正超螺旋。在生物体内，DNA 一般以负超螺旋构象存在。

51.沉默子(silencer):可抑制基因转录的特定DNA 序列，当其结合一些反式作用因子时对基因的转录起阻遏作用，使基 因沉默。

52.重组 DNA 技术(recombinant DNA technology):通过体外操作将不同来源的两个或两个以上DNA 分子重新组合，并在 适当细胞中增殖形成新的功能DNA 分子的方法。

53.初级胆汁酸(primary bile acids):由肝细胞以胆固醇为原料合成的胆汁酸及其与甘氨酸或牛磺酸的结合产物，包括胆 酸、鹅脱氧胆酸、甘氨胆酸、牛磺胆酸、甘氨鹅脱氧胆酸和牛磺鹅脱氧胆酸。

54.次级胆汁酸(secondary bile acids):初级胆汁酸经肠菌作用产生的胆汁酸及其结合产物，包括脱氧胆酸、石胆酸、甘氨220 脱氧胆酸、牛磺脱氧胆酸、熊脱氧胆酸等。

55.从头合成(de novo synthesis):生物体利用简单前体物质合成生物分子的途径，如利用氨基酸、5-磷酸核糖、 一碳单位

及CO₂ 等代谢物前体物质为原料，经过一系列酶促反应合成嘌呤核苷酸即是从头合成。

56.代谢(metabolism):机体活细胞内的全部化学变化，其反应几乎全部是酶促反应。

57.代谢综合征(metabolic syndrome):一组以肥胖、高血糖(糖调节受损或糖尿病)、高血压以及血脂异常[高TG (甘油三 酯)血症和(或)低HDL-C (高密度脂蛋白胆固醇)血症]集结发病的临床综合征，特点是机体代谢上相互关联的危险 因素在同一个体的组合。

58.代谢组学(metabonomics):测定一个生物/细胞中所有的小分子代谢产物的组成和丰度，描绘其动态变化规律，建立系 统代谢图谱，并确定这些变化与生物过程有机联系的学科领域。

59.单纯酶(simple enzyme):水解后仅有氨基酸组分而无其他组分的酶称为单纯酶。

60.单链结合蛋白(single stranded binding protein,SSB):具有结合单链DNA 的能力，维持DNA 模板单链稳定状态并使其 免受胞内核酸酶降解的一类特殊蛋白质。

61.单顺反子(monocistron):真核生物一个结构基因转录生成一条mRNA, 编码一条多肽链的初级转录物。

62.单体酶(monomeric enzyme):由一条肽链构成的酶称为单体酶。

63.胆固醇逆向转运(reverse cholesterol transport,RCT):新生HDL 从肝外组织细胞获取胆固醇并在血浆LCAT、apo A、apo D 及CETP 和PTP 共同作用下，胆固醇被酯化、转移至内核与VLDL 甘油三酯交换，新生双脂层盘状HDL 逐步膨胀为单 脂层球状的成熟HDL。VLDL 在转变为LDL 后，与成熟HDL 一起经血液运输至肝，与肝细胞膜表面HDL 受体、LDL 受体结合，被肝细胞摄取降解，其中的胆固醇酯可被分解转化成胆汁酸排出体外，这种将肝外组织多余胆固醇运输至 肝分解转化排出体外的过程就是胆固醇逆向转运途径。

64.胆汁酸的肠肝循环(enterohepatic circulation of bile acid):在肝细胞合成的初级胆汁酸，随胆汁进入肠道并转变为次级 胆汁酸。肠道中约95%胆汁酸可经门静脉被重吸收入肝，并与肝新合成的胆汁酸一起再次被排入肠道，构成胆汁酸

的肠肝循环。

65.蛋白聚糖(proteoglycan):以聚糖含量为主，由糖胺聚糖共价连接于不同核心蛋白形成的糖复合体。

66.蛋白质靶向输送(protein targeting):蛋白质合成后在细胞内被定向输送到其发挥作用部位的过程，也称蛋白质分拣 (protein sorting)。

67.蛋白质变性(protein denaturation):在某些物理和化学因素作用下，蛋白质的特定的空间构象被破坏，从而导致其理化

510 名 词 释 义

性质的改变和生物活性的丧失，称为蛋白质的变性。 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 涉及一级结构中氨基酸序列的改变。

68. 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction,PPI):是指两个或两个以上的蛋白质分子通过非共价键相互作用

并发挥功能的过程。

69. 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。

70.蛋白质等电点(protein isoelectric point,pI):在某一pH 的溶液中，蛋白质解离成阳离子和阴离子的趋势或程度相等， 成为兼性离子，呈电中性，此时溶液的pH 值称为该蛋白质的等电点。

71.蛋白激酶(protein kinase):将ATP 或其他核苷三磷酸的γ-磷酸基转移给靶蛋白质的Ser、Thr、Tyr、Asp或His的侧链的 一类酶。可以调节被磷酸化的蛋白质分子的功能。

72.蛋白质相互作用结构域(protein interaction domain):蛋白质分子中能识别并结合其他蛋白质分子的一段特定氨基酸 序列。其结合位点可通过蛋白质磷酸化而产生，也可以是具有特定氨基酸序列的肽段。

73.蛋白质组学(proteomics):以细胞、组织或机体在特定时间和空间上表达的所有蛋白质为研究对象，分析细胞内动态 变化的蛋白质组成、表达水平与修饰状态，揭示蛋白质之间的相互作用及其调控规律的学科领域。

74.氮平衡(nitrogen balance):机体从食物中摄入氮与排泄氮之间的关系。正常成人食入的蛋白质等含氮物质可以补偿 含氮物质代谢产生的含氮排泄物。

75.低密度脂蛋白受体(LDL receptor):广泛分布于体内各组织细胞表面，能特异地识别和结合LDL,主要生理功能是摄 取降解LDL 并参与维持细胞内胆固醇平衡。

76.底物水平磷酸化(substrate-level phosphorylation):ADP或其他核苷二磷酸的磷酸化作用与高能化合物的高能键水解 直接相偶联的反应过程，是生物体内产能的方式之一。

77.第二信使(second messenger):细胞内受配体与受体结合后激活的可扩散、并调节信号转导蛋白质活性的小分子或离 子，又称细胞内小分子信使。如钙离子、环腺苷酸(cAMP)、 环鸟苷酸(cGMP)、 环腺苷二磷酸核糖、甘油二酯(diglyc- eride,DAG)、肌醇-1,4,5-三磷酸(inositol triphosphate,IP3)、花生四烯酸、磷脂酰神经酰胺、 一氧化氮和一氧化碳等。

78.电泳(electrophoresis):依据分子或颗粒所带的电荷、形状和大小等不同，因而在电场介质中移动的速度不同，从而达

到将蛋白质、核酸或其他带电的颗粒混合物进行分离的技术。 kkyx2018 Mkkyx2018

79.电子克隆(in silico cloning):通过已获得的序列与数据库中核酸序列及蛋白质序列进行同源性比较，或对数据库中不 同物种间的序列比较分析、拼接，预测新的全长基因等，进而通过实验证实，从组织细胞中克隆该基因的研究策略。

80.端粒酶(telomerase):一种自身携带模板的逆转录酶，人类端粒酶由三部分组成：端粒酶RNA、 端粒酶协同蛋白1和端 粒酶逆转录酶。该酶兼有提供RNA 模板和催化逆转录的功能。 RNA 组分中含有一段短的模板序列与端粒DNA 的 重复序列互补，而其蛋白质组分具有逆转录酶活性，以RNA 为模板催化端粒DNA 的合成，将其加到端粒的3'-端，以 维持端粒长度及功能。

81.短散在核元件(short interspersed nuclear elements,SINEs):以散在方式分布于基因组中的较短的重复序列，重复序列 平均长度约为300~500bp,与平均长度约为1000bp的单拷贝序列间隔排列。又称为短散在重复序列(short inter- spersed repeat sequence)。

82.断裂基因(split gene或interrupted gene):由若干个编码区(外显子)和非编码区(内含子)互相间隔开但又连续镶嵌而 成，去除非编码区再连接后，可翻译出一条完整多肽链，该基因被称为断裂基因或割裂基因。

83.多胺(polyamine):由鸟氨酸、S-腺苷甲硫氨酸等衍生的含有多个氨基的链状化合物，包括腐胺、精胺和亚精胺。具有 促进细胞分裂、生长等作用，精液及肿瘤组织中较多。

84.多功能酶(multifunctional enzyme):一条肽链上同时具有多种不同的催化功能，这类酶称为多功能酶或串联酶(tandem enzyme)。

85.多基因家族(multigene family):指由某一祖先基因经过重复和变异所产生的一组在结构上相似、功能相关的基因。

86.多聚(A) 尾[poly(A)tail]:真核生物mRNA3'- 端的一段几十个到几百个腺苷酸残基。具有保护mRNA、 调控翻译起 始等多种功能。

87. 多聚核糖体(polyribosome或 polysome):蛋白质合成过程中，多个核糖体结合在同一条mRNA 链上所形成的聚合物。 这些核糖体依次结合起始密码子并沿mRNA 的5'→3'方向移动，共同进行同一条肽链的合成，使肽链合成以高速度、 高效率进行。

88.多克隆酶切位点(multiple cloning sites,MCS):含多个(可达20个)限制性内切核酸酶位点的DNA 短片段，是基因工 程质粒的标准特征，每个限制性内切核酸酶位点都是唯一的，且在质粒中只出现一次。

89.多酶复合物(multienzyme complex):在某一代谢途径中，按序催化完成一组连续反应的几种具有不同催化功能的酶可 彼此聚合形成一个结构和功能上的整体，此即为多酶复合物，亦称为多酶体系(multienzyme system)。

90.多顺反子(polycistron):携带了几条多肽链的编码信息，受同一个控制区调控的mRNA 分子，多见于原核生物。 一个

**名** **词** **释** **义** **511**

多顺反子通常包括数个功能上有关联的基因，它们串联排列，共同构成编码区，共用一个启动子和一个转录终止信号 序列，几个编码基因在转录合成时仅产生一条mRNA 长链，为几种不同的蛋白质编码。

91. 翻译(translation):在多种因子辅助下，核糖体与mRNA 模板结合，tRNA 识别模板mRNA 序列中的密码子及转运相应 氨基酸，进而按照模板mRNA 信息合成蛋白质肽链的过程。

92. 翻译后加工(post-translational processing):新生肽链转变成为有特定空间构象和生物学功能的蛋白质的过程，包括肽 链的折叠和二硫键的形成、肽链的剪切、肽链中某些氨基酸残基侧链的修饰、肽链聚合及连接辅基等。

93.反式作用因子(trans-acting factor):起反式作用的调控元件。有些调节序列远离被调控的编码序列，通过其产物 (mRNA 或蛋白质)间接调节基因的表达。这种调节基因产物又称为调节因子，它们不仅能对处于同一条DNA 链上 的结构基因的表达进行调控，而且还能对不在一条DNA 链上的结构基因的表达起到同样的作用。因此，这些分子被 称为反式作用因子。反式作用因子以特定的方式识别和结合在顺式作用元件上，实施精确的基因表达调控。

94.反向重复序列(inverted repeat sequence):由两个相同顺序的互补拷贝在同一DNA 链上反向排列而成，反向重复的单 位长度约为300bp或略短，其总长度约占人基因组的5%,多数是散在，而非群集于基因组中。

95.反义RNA(antisense RNA):与特定mRNA 互补的单链RNA 分子，通过与mRNA 杂交阻断30S 小亚基对起始密码子 的识别及与SD 序列的结合，抑制翻译起始。

96.泛素(ubiquitin):一个高度保守的蛋白质，由76个氨基酸残基组成。几乎存在于所有的物种中，但已发现的差别不超 过两个氨基酸。参与细胞内短半寿期蛋白质的蛋白酶体快速降解途径。

97.非蛋白质氮(non-protein nitrogen,NPN):血液中除蛋白质外其他含氮化合物中的氮总量，这些化合物主要有尿素、肌 酸、肌酸酐、尿酸、胆红素和氨等。

98.分子伴侣(molecular chaperone):与部分折叠或错误折叠的肽链以非共价形式特异结合，促使其正确折叠或提供折叠 微环境的一类辅助性蛋白质，在生物界广泛存在。目前研究得较为清楚的是热激蛋白70(heat shock protein 70, Hsp70)家族和伴侣蛋白(chaperonin)。

99.分子病(molecular disease):由于基因上DNA 分子的缺陷，致使细胞内RNA 及蛋白质合成出现异常、人体结构与功能 随之发生变异的疾病。 DNA 分子的此种异常，有些可随个体繁殖而传给后代。例如镰状细胞贫血。

100.分子医学(molecular medicine):从分子水平阐述疾病状态下基因组的结构、功能及其表达调控规律，发展现代高效

预测、预防、诊断和治疗手段的学科领域。

**kkyx2018** Gkkyx2018

101.复合糖类(complex carbohydrate):糖基分子与蛋白质或脂以共价键连接而形成的化合物，即糖蛋白、蛋白聚糖、肽聚 糖、糖脂及脂多糖等含有糖类的复合生物大分子的统称。

102.复制(replication):以 DNA 为模板的DNA 合成，是基因组的复制过程。在这个过程中，亲代DNA 作为合成模板，按 照碱基配对原则合成子代分子，其化学本质是酶促脱氧核苷酸聚合反应。

103.复制叉(replication fork):是正在进行复制的双链模板DNA 分子所形成2个延伸方向相反的开链Y 形区域，其中，已 解旋的两条模板单链以及正在进行合成的新链构成了Y 形的头部，尚未解旋的DNA 模板双链构成了Y 形的尾部。

104.复制基因(replicator):含有一个复制起点并能促进DNA 复制起始所必需的全部DNA 序列。 E.coli的复制因子是 oriC。在原核细胞中，复制因子的识别与DNA 解旋、募集DNA 聚合酶偶联进行。而在真核细胞中，这两个阶段相分 离可以确保每个染色体在每个细胞周期中仅复制一次。

105.复制子(replicon):从一个DNA 复制起点起始的完整DNA 分子或DNA 分子上的某段复制区域称为复制子。复制子 是含有一个复制起点的独立完成复制的功能单位。高等生物有数以万计的复制子，复制子间长度差别很大，约在 13～900kb之间。

106.干扰小RNA(siRNA): 受内源或外源双链RNA 诱导后，细胞内产生的一类双链RNA。 在特定情况下通过一定酶切 机制，这些RNA 可转变为具有特定长度(21～23个碱基)和特定序列的小片段RNA。siRNA 参与 RISC 组成，与特 异的靶mRNA 完全互补结合，导致靶mRNA 降解，阻断翻译过程。

107.感染(infection):致病微生物(如病毒、细菌、真菌)入侵机体组织或细胞的过程。在分子生物学中， 一般是指以病毒 作为外源DNA 运载体导入哺乳细胞的过程。

108.冈崎片段(Okazaki fragment):沿着后随链的模板链合成的新DNA 片段被命名为冈崎片段。复制完成后，这些不连 续片段经过去除引物，填补引物留下的空隙，连接成完整的DNA 长链。

109.高度重复序列(highly repetitive sequence):真核基因组中存在的有数千到几百万个拷贝的DNA 重复序列。这些重 复序列的长度为6～200bp,不编码蛋白质或RNA。

110.功能克隆(functional cloning):从异常表型入手，找出造成这种表型的代谢缺陷或蛋白质结构异常，如酶的失活或缺 失，结构蛋白质分子的异常等，最后确定编码这种蛋白质的基因并将其定位、克隆的技术。换句话说，这是从表型异 常出发，找出导致出现异常表型的异常功能蛋白质，根据蛋白质的氨基酸序列推导出编码的核苷酸序列，以此作为

探针，在基因组文库或cDNA 文库中去筛选目的基因或目的cDNA, 最后克隆和定位这种异常蛋白质的编码基因。 111.寡聚酶(oligomeric enzyme):由多个相同或不同的肽链(即亚基)以非共价键连接组成的酶称为寡聚酶。

**512** 名 词 释 义

112.核苷(nucleoside):由碱基和五碳环(核糖或脱氧核糖)连接而成，即嘌呤的N-9或嘧啶的 N-1原子与核糖或脱氧核 糖C-1'通过β糖苷键链接而成的化合物，包括核糖核苷和脱氧核糖核苷两种。

113.核苷酸(nucleotide):核苷的磷酸酯，是构成核酸的基本单位。根据连接部位不同，有2'-核苷酸(核苷2'-磷酸)、3'- 核苷酸(核苷3'-磷酸)、5'-核苷酸(核苷5'-磷酸)三种。体内通常是5'-核苷酸。

114.核苷酸切除修复(nucleotide excision repair,NER):在一系列酶的作用下，将DNA 分子中受损伤部分切除，并以完好 的DNA 链为模板，合成和连接得到正常序列，使DNA 恢复原来的正常结构的DNA 损失修复方式。与碱基切除修 复不同，核苷酸切除修复系统并不识别具体的损伤，而是识别损伤对DNA 双螺旋结构所造成的扭曲，但修复过程与 碱基切除修复相似。首先，由一个酶系统识别DNA 损伤部位；其次，在损伤部位两侧切开DNA 链，去除两个切口之 间的一段受损的寡核苷酸；再次，在DNA 聚合酶作用下，以另一条链为模板，合成一段新的DNA, 填补缺损区；最后 由连接酶连接，完成损伤修复。

115.核酶(ribozyme):具有催化功能的RNA 分子。它的发现打破了酶都是蛋白质的传统观念。

116.核仁小RNA(small nucleolar RNA,snoRNA):位于核仁的核小RNA, 根据结构分为C/D 盒和 H/ACA 盒两类。前者 参与前体rRNA 的加工和RNA 的甲基化修饰等，后者参与tRNA 的假尿嘧啶化(pseudouridylation)。 比如核仁小 RNA U3属于C/D 盒类，与核仁内前体rRNA 的位点特异性剪切和28S rRNA 的成熟有关。

117.核仁小核糖核蛋白(small nucleolar RNA,snoRNA):核仁小RNA 与相关蛋白质构成的复合体，参与前体rRNA 的加 工、某些RNA 的甲基化修饰和tRNA 的稀有碱基修饰等过程。

118.核酸(nucleic acid):由核苷酸或脱氧核苷酸通过3',5'-磷酸二酯键连接而成的一类生物大分子，有核糖核酸(RNA) 和脱氧核糖核酸(DNA) 两种。分别具有携带和传递遗传信息的功能。

119.核酸二级结构(nucleic acid secondary structure):核酸分子的空间构象，指多聚核苷酸链中碱基对之间的相互作用。

120.核酸一级结构(nucleic acid primary structure):构成核酸的核苷酸或脱氧核苷酸从5'-端到3'-端的排列顺序，也就是 碱基的排列序列。许多情况下，核酸一级结构决定核酸的高级结构和生物功能。

121.核酸杂交(nucleic acid hybridization):具有互补碱基序列的DNA 或 RNA 分子，通过碱基对之间氢键形成稳定的双链 结构的过程，包括DNA 与 DNA 双链、RNA 与 RNA 双链或DNA 与 RNA 双链等类型。核酸杂交是一种被广泛应用 的重要分子生物学技术，如设计反义核酸、合成探针等。

122.核糖核酸(ribonucleic acid,RNA):是核酸的一类，是DNA 的转录产物。由4种主要的核苷酸(AMP,GMP,CMP 积

UMP) 通过3',5'-磷酸二酯键连接聚合而成的生物大分子。不同种类的RNA 链长不同，行使不同的生物功能，如参kyx2018 与蛋白质生物合成的RNA 有参与遗传信息的复制和表达。

123.核糖体(ribosome):由大亚基和小亚基组成的生物体细胞器，是蛋白质合成的场所。通过mRNA 与携带氨基酸的 tRNA 的相互作用合成蛋白质。核糖体的大亚基和小亚基分别由rRNA 和核糖体蛋白质组成。

124.核糖体RNA(ribosomal RNA,rRNA):核糖体中的RNA。 真核生物核糖体通常有28S、18S、5.8S和5S 四种；原核生物 核糖体则有23S、16S和 5S三种。

125.核糖体结合位点(ribosome-binding site,RBS):原核生物 mRNA 起始密码子 AUG 及其上游的一段序列。该序列距 AUG 上游约10个核苷酸处通常为-ACGAGG- (也称Shine-Dalgarno序列),可被16S rRNA 通过碱基互补而精确识 别，从而将核糖体小亚基准确定位于mRNA。

126.核小RNA(small nuclear RNA,snRNA):细胞核内的短片段RNA, 长度100～215个核苷酸，研究较多的为7类，由于 含U 丰富，故编号为U1~U7。 其中 U3 存在于核仁中，其他6种存在于非核仁区的核液里。 U3 snRNA 与核仁内 28S rRNA的成熟有关。 U7 与组蛋白前体mRNA 的茎环结构的加工有关。其他5种小核RNA 是真核生物转录后加 工过程中RNA 剪接体(spliceosome)的主要成分，参与前体mRNA 的加工过程。

127.核小核糖核蛋白(small nuclear ribonucleoprotein,snRNP):由核小RNA 与一些蛋白质构成的复合体，参与RNA 剪接 等重要生物学过程。比如5种核小核糖核蛋白是剪接体的主要组成部分；U7 snRNP则参与组蛋白前体mRNA 的茎 环结构的加工。

128.核小体(nucleosome):由约200bp的 DNA 区段和多个组蛋白组成的复合体，是染色质基本组成单位。其中146bp的 DNA 区段与八聚体(H2A、H2B、H3和 H4 各两分子)的组蛋白组成核小体核心颗粒，核心颗粒之间通过一个组蛋白 H1 分子以及0～50bp的 DNA 连接区彼此相连，构成真核染色质的一种重复的串珠状结构。

129.核心酶(core enzyme):不含sigma(σ)因子的原核RNA 聚合酶，由α₂Bβ'w五个亚基组成。核心酶能够催化NTP 按 模板的指引合成RNA。

130.后随链(lagging strand):在DNA 复制过程中，因为复制方向与解链方向相反，不能连续延长，只能随着模板链的解开 逐段地从5'→3'生成引物并复制子链。这一不连续复制的链称为后随链。

131.呼吸链(respiratory chain):又称电子传递链(electron transfer chain),指线粒体内膜中按一定顺序排列的一系列具有 电子传递功能的酶复合体，形成一个传递电子/氢的体系，可通过连续的氧化还原反应将电子最终传递给氧生成水， 并释放能量。

**名** **词** **释** **义** **513**

132.化学降解法测序(chemical degradation sequencing):通过标记DNA 片段末端，并利用专一性化学试剂对DNA 进行特 异性降解，使之从糖环上脱落导致磷酸二酯键断裂，产生4套含有长短不一DNA 分子的混合物，从而确定DNA 分

子中4种碱基序列的技术。

133.化学渗透假说(chemiosmotic hypothesis):线粒体呼吸链进行电子传递时，通过呼吸链复合体I、Ⅲ、IV将基质侧的质 子泵至线粒体内膜的膜间隙侧，形成跨内膜的质子电化学梯度(质子浓度和跨膜电位差)而储存能量，当质子顺浓度 梯度回流至基质时促进ATP 合酶利用ADP 合成 ATP。

134. 环形RNA(circular RNA,circRNA):一类具有封闭环状结构的单链RNA 分子。

135. 黄疸(jaundice):血浆胆红素高于正常水平时扩散进入组织造成黄染的体征。

136. 回文序列(palindrome):双链DNA 中的互补链核苷酸序列以相同方向配对，因此，从5'→3'方向的序列完全一致，这 两条链的核苷酸序列称作回文序列。

137.活化能(activation energy):是指在一定温度下，1mol反应物从基态转变成过渡态所需要的自由能。

138.活性染色质(active chromatin):相对松弛、具有转录活性的染色质。当基因被激活时，可观察到染色质相应区域发生 某些结构和性质变化，使其易于被转录因子等识别结合，起始转录。

139.基因(gene):一段含有特定遗传信息的核苷酸序列(大多数生物中是DNA 序列，少数是RNA 序列),能够编码功能 产物多肽或RNA。

140.基因表达(gene expression):基因转录及翻译的过程，也是基因所携带的遗传信息表现为表型的过程。在一定调节 机制控制下，大多数基因经历转录和翻译过程，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编码基因转录产生RNA 的过程也属于基因 表达。

141.基因表达调控(regulation of gene expression):细胞或生物体在接受内、外环境信号刺激时或适应环境变化的过程中， 在基因表达水平上作出应答的分子机制。

142.基因捕获(gene trapping):将一个含报告基因的DNA 载体随机插入基因组，产生内源基因失活突变，通过报告基因 的表达，提示插入突变的存在以及内源基因的表达特点的技术。

143.基因超家族(gene superfamily):一些DNA 序列相似，但功能不一定相关的若干个单拷贝基因或若干组基因家族 总称。

144.基因打靶(gene targeting):通过DNA 定点同源重组，改变基因组中的某一特定基因，从而在生物活体内研究此基因 的 kkyx2018 的功能的实验手段。具体过程包括：首先获得胚胎干细胞(embryonic stem cell)系，即ES 细胞系，利用同源重组技术

获得带有研究者预先设计突变的中靶ES 细胞。通过显微注射或者胚胎融合的方法将经过遗传修饰的ES 细胞引入 受体胚胎内。经过遗传修饰的ES 细胞仍然保持分化的全能性，可以发育为嵌合体动物的生殖细胞，使得经过修饰 的遗传信息经生殖系遗传。获得的带有特定修饰的突变动物提供研究者一个特殊的研究体系，使他们可以在生物 活体中研究特定基因的功能。

145.基因定位(gene localization):确定基因在染色体的位置以及基因在染色体上的线性排列顺序和距离的技术，是基因 分离和克隆的基础。

146.基因定位的连锁分析(linkage analysis):根据基因在染色体上呈直线排列，不同基因相互连锁成连锁群的原理，即应 用被定位的基因与同一染色体上另一基因或遗传标记相连锁的特点进行定位。

147.基因家族(gene family):基因组中存在的许多来源于同一个祖先，结构和功能相似的一组基因。同一家族的这些基 因的外显子具有相关性。

148.基因矫正(gene correction):对病人体内致病基因的突变碱基进行纠正的方法。

149.基因敲除(gene knock-out):利用同源重组的原理，在ES 细胞中定点破坏内源基因，然后利用ES 细胞发育的全能 性，获得带有预定基因缺陷的杂合子，通过遗传育种最终获得目的基因缺陷的纯合个体的技术，属于基因打靶技术 的一种。

150.基因敲入(gene knock-in):通过同源重组的方法，用某一基因替换另一基因，或将一个设计好的基因片段插入到基 因组的特定位点，使之表达并发挥作用的技术。

151.基因添加(gene augmentation):不删除突变的致病基因，而在基因组的某一位点额外插入正常基因，在体内表达出功 能正常的蛋白质的方法。

152.基因芯片(gene chip):在单位面积有规律地紧密排列特定的寡核苷酸、DNA 片段等的固体支持物，亦被称作DNA 微

阵列(DNA microarray)。 利用这类芯片与标记的生物样品进行杂交，可对样品的基因表达谱信息进行快速定性和定 量分析。

153.基因亚家族(gene subfamily):一个多基因家族中可有多个基因，根据结构与功能的不同又可以分为亚家族。如G 蛋 白中属ras超家族约有50多个成员，根据其序列同源性程度又可进一步分为Ras、Rho和 Rab 三个主要的亚家族。

154.基因诊断(gene diagnosis):以 DNA 和 RNA 为诊断材料，通过检查基因结构、功能以及表达是否正常，是否存在外源

**514** 名 词 释 义

基因及表达产物等，对人体状态和疾病作出诊断的方法。

155. 基因治疗(gene therapy):在基因水平上治疗疾病的方法。包括基因置换、基因修正、基因修饰、基因失活、引入新基 因等。

156. 基因置换(gene replacement):通过基因操作，用正常基因替换体内有缺陷的基因，使基因的功能得以恢复的方法。 157.基因组(genome):是指一个生物体内具有的遗传信息的总和。

158. 基因组编辑(genome editing):对基因组进行定点修饰的一项新技术。利用该技术，可以精确地定位到基因组的某一 位点上，在这位点上剪断靶标 DNA 片段并插入新的基因片段。此过程即模拟了基因的自然突变，又修改并编辑了 原有的基因组，真正达成了“编辑基因”。

159.基因组构(gene organization):单个基因的组成结构及一个完整的生物体内基因的组织排列方式统称为基因组构。 160.基因组学(genomics):阐明整个基因组结构、结构与功能的关系以及基因之间相互作用的学科领域。

161.激素敏感性脂肪酶(hormone sensitive lipase,HSL):即脂肪细胞中的激素敏感性甘油三酯脂肪酶，在脂肪动员过程中

催化甘油二酯水解生成甘油一酯及脂肪酸，它对多种激素敏感，其活性受多种激素调节，是脂肪动员的限速酶。

162.极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein,VLDL):肝细胞合成的甘油三酯在肝细胞内质网与载脂蛋白B100、C等 载脂蛋白及磷脂、胆固醇组装成的一种脂蛋白，由肝细胞分泌入血，功能是运输内源性甘油三酯和胆固醇。

163.急性期蛋白质(acute phase protein,APP):某些在急性炎症或某种类型组织损伤等情况下，血浆水平增高或降低的蛋 白质。

164.假基因(pseudogene):是基因组中存在的一段与正常基因非常相似但不能表达的DNA 序列。假基因根据其来源分 为经过加工的假基因和未经过加工的假基因两种类型。

165.剪接体(spliceosome):在前体mRNA 剪接过程中形成的剪接复合物。剪接体的主要组成是蛋白质和小核RNA(snR- NA)。 前体mRNA 的剪接在剪接体完成。

166.碱基(base):一类带碱性的有机化合物，是嘌呤和嘧啶的衍生物。 DNA 中的碱基主要有腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和胸 腺嘧啶；RNA 中的碱基主要有腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶。

167.碱基错配修复(mismatch base repair):DNA损伤修复的一种特殊形式，是维持细胞中DNA 结构完整稳定的重要方 式，主要负责纠正下列错误：①复制与重组中出现的碱基配对错误；②因碱基损伤所致的碱基配对错误；③碱基插 入；④碱基缺失。从低等生物到高等生物，均拥有保守的碱基错配修复系统或途径。

168.碱基堆积力(base stacking force):核酸分子双螺旋结构中的相邻两个碱基对在旋进过程中，由于彼此重叠而产生S的ksx2035 疏水性相互作用。

169.碱基对(base pair):核酸中两条单链的碱基通过氢键形成的一种特定的化学结构。主要的碱基对有腺嘌呤-胸腺嘧 啶(A-T)碱基对、腺嘌呤-尿嘧啶(A-U) 碱基对、鸟嘌呤-胞嘧啶(G-C) 碱基对和鸟嘌呤-尿嘧啶(G-U) 碱基对。

170.碱基切除修复(base excision repair,BER):受损DNA 通过生物体内存在的一类特异的DNA 糖苷酶的作用切除错误 碱基，再由一系列的酶加工进行正确填补而恢复功能的DNA 损伤修复方式，普遍存在于各种类型的生物中。整个 修复过程包括：①DNA 糖苷酶特异性识别DNA 链中已受损的碱基并将其水解去除，产生一个无碱基位点；②在此位 点的5'-端，无碱基位点核酸内切酶将DNA 链的磷酸二酯键切开，同时去除剩余的磷酸核糖部分；③DNA 聚合酶在 缺口处以另一条链为模板修补合成互补序列；④由DNA 连接酶将切口重新连接，使DNA 恢复正常结构。

171.校对(proofreading):具有3'→5'外切酶活性的DNA 聚合酶可将错配的碱基水解下来，同时利用5'→3'聚合酶活性补 回正确配对的碱基，复制可以继续下去，这种功能称为校对。

172.接合作用(conjugation):细菌的遗传物质在细菌细胞间通过细胞-细胞直接接触或细胞间桥样连接的转移过程。 173.结构域(domain):是蛋白质分子结构中紧密球状的折叠区，可被特定分子识别和具有特定功能的三级结构元件。 174.结合胆红素(conjugated bilirubin):胆红素在肝细胞内与葡糖醛酸结合生成的胆红素，为水溶性，可从尿中排出。

175.解链(melting):核酸溶液在温度升高时，由于其碱基对的氢键以及碱基堆积力受到破坏，核酸的双链分子或单链分 子的双链区域解离成为单链的过程。

176.解链曲线(melting curve):亦称熔解曲线。以核酸溶液的吸光度(一般在260nm 处)作为温度的函数的曲线。此曲 线描述，由于温度的增高，双链DNA 或 RNA 分子解离成为单链的曲线。

177.解链温度(melting temperature):双链DNA 分子或双链RNA 分子丧失半数双螺旋结构时的温度，用符号T.表示。 一 般由解链曲线所确定。每种DNA 或 RNA 都有其特征性的T.值。

178.解旋酶(helicase):复制起始利用ATP 供能来解开DNA 双链的酶，DnaB 在原核生物中起解旋酶的作用，真核生物也

具有和原核生物同源的解旋酶。

179.精准医学(precision medicine):全面推动个体基因组研究， 一种依据个人基因组信息、环境与生活习惯差异等因素 “量体裁衣”式制订最佳的个性化疾病预防和治疗方案，以期达到疗效最大化和副作用最小化的医疗模式。

180.竞争性抑制作用(competitive inhibition):一种常见的酶活性的抑制作用，抑制剂和酶的底物在结构上相似，可与底物 竞争结合酶的活性中心，从而阻碍酶与底物形成中间产物，这种抑制作用称为竞争性抑制作用。其动力学特点是：

**名** **词** **释** **义** **515**

酶促反应的表观Km值增大，最大反应速率(V..) 不变。可以通过增加底物浓度解除这种抑制。

181.聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR):在体外扩增特定DNA 片段的技术方法。以DNA 为模板，以1对与 模板互补的寡核苷酸片段为引物，反复进行变性、退火和延伸，在DNA 聚合酶作用下，使目的DNA 片段得到扩增。

182.聚合酶转换(polymerase switching):真核生物DNA 复制过程中，DNA polα合成引物，然后迅速被具有连续合成能力 的DNA polδ和DNA pole所替换，这一过程称为聚合酶转换。 DNA polδ负责合成后随链，DNA pol e负责合成前 导链。

183.聚糖(glycan):由单糖通过糖苷键聚合而成的寡糖或多糖。

184.绝缘子(insulator):是基因组上对转录调控起重要作用的一种元件，可以阻碍增强子对启动子的作用，或者保护基因 不受附近染色质环境(如异染色质)的影响。

185.可变剪接(alternative splicing):有些前体mRNA 被剪切或(和)剪接加工成结构有所不同的成熟mRNA, 最终产生不 同的蛋白质分子的RNA 剪切方式的现象，又称选择性剪接。即，这些真核生物前体mRNA 分子的加工可能具有2 个以上的加多聚腺苷酸的断裂和多聚腺苷酸化的位点，因而一个前体mRNA 分子可经剪切或(和)可变剪接形成不 同的mRNA。

186.可读框(open reading frame,ORF):从 mRNA 的5'-端起始密码子AUG 开始，至3'-端终止密码子的一段能编码并翻 译出氨基酸序列的核苷酸序列。可读框通常代表某个基因的编码序列。

187.克隆载体(cloning vector):来自病毒、质粒或其他生物体的、在一种生物体中稳定复制的、外源DNA 片段插入其中可 以实现克隆的DNA 分子，其特征是外源DNA 片段的插入或从中移除都很方便。例如，用限制性内切核酸酶处理载 体和外源DNA 片段，再经分子连接将外源DNA 片段插入载体中。外源DNA 片段克隆入克隆载体后，也可以进一 步亚克隆入其他用于特殊目的的载体。

188.亮氨酸拉链(leucine zipper):出现在DNA 结合蛋白和其他蛋白质中的一种结构模体。当来自同一个或不同多肽链 的两个双性α-螺旋的疏水面(常常含有亮氨酸残基)相互作用形成一个圈对圈的二聚体结构，亮氨酸有规律地每隔 7个氨基酸就出现一次，亮氨酸拉链常出现在真核生物DNA 结合蛋白的C-端，往往与癌基因表达调控功能有关。

189.磷酸二酯键(phosphodiester bond):两个核苷酸分子核苷酸残基的两个羟基分别与同一个磷酸基团形成共价连接键， 即一分子磷酸与两个羟基形成的两个酯键。

190.磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway):从糖酵解的中间产物葡糖-6-磷酸开始形成旁路，通过氧化、基团转移两。

个阶段生成果糖-6-磷酸和3-磷酸甘油醛，从而返回糖酵解的代谢途径。此途径不产能，但可提供NADPH 和磷酸2kkrx2s 核糖。

191.磷脂酶A₂ (phospholipase A₂,PLA₂):参与磷脂降解的一种磷脂酶，能水解甘油磷脂2位酯键，生成1分子游离脂肪酸 和1分子溶血磷脂。

192.流产式起始(abortive initiation):结合在启动子上的RNA 聚合酶在完全进入延伸阶段前不从启动子上脱离，而是合 成长度小于10个核苷酸的RNA 分子，并将这些短片段RNA 从聚合酶上释放而终止转录。这个过程可在进入转录 延长阶段前重复多次，被称为流产式起始。流产式起始被认为是启动子校对(promoter proofreading)的过程，其发生 可能与RNA 聚合酶和启动子的结合强度有关。

193.流式细胞术(flow cytometry):利用荧光标记抗体与抗原的特异性结合，经流式细胞仪分析荧光信号，从而根据细胞 表达特定蛋白质的水平对某种蛋白质阳性细胞(即特异基因表达的细胞)作出判断的实验方法。

194.卵磷脂：胆固醇酰基转移酶(lecithin:cholesterol acyl transferase,LCAT):催化HDL 中卵磷脂2位上的脂酰基转移至 游离胆固醇的3位羟基上，使位于HDL 表面的胆固醇酯化，促成HDL 成熟及胆固醇逆向转运。

195.螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix):存在于钙离子结合蛋白和真核转录调节因子中的一种模体。其钙离子结合位点由 E、F螺旋和其之间的一个环组成。

196.酶(enzyme):催化特定反应的蛋白质，是一种生物催化剂。酶能通过降低反应的活化能加快反应速率，但不改变反 应的平衡点。酶具有催化效率高、专一性强、作用条件温和等特点。

197.酶促反应动力学(kinetics of enzyme-catalyzed reactions):是研究酶促反应速率以及各种因素对酶促反应速率影响机 制的科学。影响酶促反应速率的因素有酶浓度、底物浓度、pH、温度、抑制剂及激活剂等。

198.酶的别构调节(allosteric regulation of enzymes):体内一些代谢物可与某些酶的活性中心外的某个部位非共价可逆结 合，引起酶的构象改变，从而改变酶的活性，酶的这种调节方式称为酶的别构调节。

199.酶的共价修饰(covalent modification of enzymes):酶蛋白肽链上的一些基团可在其他酶的催化下，与某些化学基团共

价结合，同时又可在另一种酶的催化下，去掉已结合的化学基团，从而影响酶的活性，酶的这种调节方式称为酶的共 价修饰。

200. 酶的活性中心(active center of enzymes):酶分子中能与底物特异地结合并催化底物转变为产物的具有特定三维结构 的区域称为酶的活性中心。

201.酶的特异性(enzyme specificity):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

**516** 名 词 释 义

一定的产物，酶的这种特性称为酶的特异性，亦称为酶的专一性。根据酶对底物选择的严格程度，酶的特异性可分 为绝对特异性和相对特异性。

202.酶原(zymogen或proenzyme):无活性的酶的前体称作酶原。在一定条件下，酶原向有催化活性的酶的转变过程称为 酶原的激活。酶原的激活大多是经过蛋白酶的水解作用，去除一个或几个肽段后，导致分子构象改变，从而表现出 催化活性。酶原激活的实质是酶的活性中心形成或暴露。

203.密码子(codon):由3个相邻的核苷酸组成的mRNA 基本编码单位，又称编码三联体(coding triplet),或三联体密码 (triplet code)。密码子共有64种，包括61种氨基酸密码子(包括起始密码子)及3个终止密码子，由它们决定多肽 链的氨基酸种类、排列顺序以及翻译的起始和终止。在mRNA 的可读框区域，每3个相邻的核苷酸为一组，编码一 种氨基酸或肽链合成的起始/终止信息，称为密码子或三联体密码(triplet code)。

204.免疫印迹法(immunoblotting):利用抗体对电泳之后转移和固定到膜型材料上的蛋白质分子进行检测的技术，亦称蛋 白质印迹、Western blotting。可用于检测样品中特异性蛋白质的存在、进行半定量分析。

205.免疫组织化学和免疫细胞化学技术(immunohistochemistry and immunocytochemistry techniques):用标记的抗体在组 织/细胞原位对目标抗原(目标蛋白质/多肽)进行定性、定量、定位检测的实验技术。

206.模体(motif):蛋白质二级结构和三级结构之间的一个过渡性结构层次，在肽链折叠过程中， 一些二级结构的构象单 位彼此相互作用组合而成。

207.内含子(intron):位于外显子之间、可以被转录在前体RNA 中，但经过剪接被去除，最终不存在于成熟RNA 分子中 的核苷酸序列，又被称为间插序列。

208.逆转录(reverse transcription):以RNA 为模板，以四种脱氧核苷三磷酸(dNTP) 为底物，由逆转录酶催化合成DNA 链 过程。因其信息流动方向(RNA→DNA) 与转录过程(DNA→RNA) 相反而得名，是一种特殊的复制方式。

209.逆转录PCR(reverse transcription PCR,RT-PCR):是将 RNA 的逆转录反应和PCR 反应联合应用的一种技术。以 RNA 为模板，在逆转录酶的作用下合成cDNA,再以cDNA 为模板通过PCR 反应来扩增目的基因。可对已知序列的 RNA 进行定性定量分析。

210.柠檬酸循环(citric acid cycle):线粒体内使1分子乙酰CoA 彻底氧化的由八步酶促反应所构成的循环反应系统。包 括4次脱氢反应、2次脱羧反应，生成4分子还原当量和2分子CO₂,循环的各中间产物没有量的变化。它是糖、脂 肪、氨基酸的共同供能途径和物质转变枢纽。

kkyx2018 (Okkyx2018

211.葡萄糖耐量(glucose tolerance):人体对摄入的葡萄糖具有很大耐受能力的现象，表现为一次性食入大量葡萄糖后， 血糖水平不会持续升高，也不会出现大的波动。

212.启动子(promoter):启动子是依赖DNA 的 RNA 聚合酶(简称RNA pol)识别、结合和启动转录的一段DNA 序列。启 动子一般位于转录起始位点的上游。原核细胞的启动子含有RNA pol特异性结合和转录起始所需的保守序列。在 真核细胞，RNA pol一般不直接结合启动子，而是通过通用转录因子结合到启动子的DNA 双链上。

213.启动子解脱(promoter escape):真核生物基因转录起始后，合成的RNA 片段超过10个核苷酸时，形成一个稳定的包 含有DNA 模板、RNA 聚合酶和RNA 片段的转录起始复合体，此时复合体中RNA 聚合酶从启动子上脱离的现象称 为启动子解脱。

214.前导链(leading strand):在DNA 复制过程中，复制方向与解链方向相同，沿着解链方向生成的子链DNA 的合成是连 续进行的，这股链称为前导链。

215.全基因组关联分析(genome-wide association study,GWAS):在人类全基因组范围内找出存在的序列变异，即单核苷 酸多态性((single nucleotide polymorphism,SNP),从中筛选出与疾病相关的SNP。

216.全酶( holoenzyme):由核心酶加上σ亚基的原核RNA 聚合酶。σ亚基的功能是辨认转录起始点，RNA 聚合酶全酶能 在特定的起始点上开始转录。细胞的转录起始是需要全酶的，转录延长阶段则仅需核心酶。

217.全外显子测序(whole exon sequencing):对全基因组外显子区域DNA 富集从而进行高通量测序的技术，它选择性地 检测蛋白质编码序列，有助于实现定位克隆，对常见和罕见的基因变异都具有较高灵敏度。

218.染色体(chromosome):在细胞发生有丝分裂时期，细胞核中携带遗传信息的物质深度压缩形成的聚合体，易于被碱 性染料染成深色。主要由DNA 和蛋白质组成。

219.染色体原位杂交(in situ hybridization)是核酸分子杂交技术在基因定位中的应用，也是一种直接进行基因定位的 方法。

220.染色质(chromatin):细胞内具有遗传性质的物质在细胞分裂间期的存在形式，结构较松散，形态步规则，弥散在细胞 核内。

221.乳糜微粒(chylomicron,CM):由小肠黏膜细胞利用从消化道摄取的食物脂肪酸再合成甘油三酯后组装形成的一种 脂蛋白，经淋巴系统吸收入血，功能是运输外源性甘油三酯和胆固醇。

222.乳酸循环(Cori cycle):肌收缩通过糖的无氧氧化生成乳酸，乳酸经血液运入肝，在肝内异生为葡萄糖。葡萄糖释入

血液后又可被肌摄取，由此构成循环。此过程既能回收乳酸中的能量，又可避免乳酸堆积而引起酸中毒。

**名** **词** **释** **义** **517**

223. 生物氧化(biological oxidation):各种代谢物在生物体内的氧化分解过程。其中糖、脂肪、蛋白质等营养物质产生的 NADH、FADH₂ 在线粒体内经氧化分解产生CO₂ 和H₂O, 释放能量驱动ADP 磷酸化生成ATP,是细胞产生ATP 的主 要方式。另外，微粒体等氧化酶也可对底物进行氧化修饰等，但不产生能量。

224.生物转化(biotransformation):机体对异源物及某些内源性的代谢产物或生物活性物质进行的氧化、还原、水解及各 种结合反应，增加其水溶性和极性，易于从尿或胆汁排出体外。

225. 生长因子(growth factor):一类由细胞分泌的、类似于激素的信号分子，多数为肽类(含蛋白类)物质，具有调节细胞 生长与分化的作用。

226. 实时PCR(real-time PCR):在PCR 进程中实时测定荧光信号积累，动态获得PCR 反应过程中的产物量数据的技术， 亦称定量PCR(quantitative PCR,qPCR)。 因该技术在反应体系中加入荧光基团，亦称为实时荧光定量PCR 或荧光 定量PCR。 实时PCR 消除了产物堆积对定量分析的干扰，可以准确地确定起始DNA 拷贝数，实现精确定量。

227.噬菌体展示(phage display):将外源性DNA 插入到噬菌体衣壳蛋白编码基因中的一种表达克隆技术。

228.受体(receptor):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(少数 为糖脂分子)。

229. 受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase,RTK):具有细胞外受体结构域的酪氨酸激酶，当膜外信号物质结合受体 后，激活其细胞内的激酶活性域，从而对底物的酪氨酸残基进行磷酸化。

230. 双核中心( binuclear center):呼吸链中复合体IV用于传递电子的功能单元。主要由Cu 离子和血红素中的Fe离子组 成，其功能是将电子传递给氧生成水。

231. 双螺旋结构(the double helix structure):通常指美国科学家Watson和英国科学家Crick于1953年提出的DNA 结构。 DNA 由两条反向平行的多聚核苷酸链以右手螺旋方式围绕同一轴心缠绕成为双螺旋结构。其中脱氧核糖和磷酸组 成的骨架位于双螺旋的外侧，嘌呤和嘧啶则位于双螺旋的内侧，两条多聚核苷酸链的碱基之间形成了特定的碱基互 补配对关系。 RNA 中也存在局部的双螺旋结构。

232. 双脱氧测序(dideoxy sequencing):基于对引物的延伸合成反应的终止，确定DNA 分子中4种碱基序列的技术，亦称 为链终止法、Sanger法。该技术利用DNA 聚合酶延伸结合在待测DNA 序列模板上的标记放射性核素或荧光基团的 引物，直至新合成DNA 链的3'-末端掺入一种2',3'-双脱氧核苷三磷酸(ddNTP) 时，延伸被终止。利用自显影或荧 光测定检测终止于特定碱基的一系列寡核苷酸片段，即可读出一段DNA 序列。

kkyx2018 哈kkyx2018

233. 双向复制(bidirectional replication):复制从起点开始，向两个方向进行解链，复制中的模板DNA 形成2个延伸方向 相反的开链区。原核生物基因组是环状DNA, 只有一个复制起点(origin),进行的是单点起始双向复制。真核生物 基因组由多个染色体组成，全部染色体均需复制，每个染色体又有多个起点，呈多起点双向复制特征。

234. 双向启动子(bidirectional promoter):位于两个相邻且转录方向相反的基因之间的一段DNA 序列。近年来在人类等 动植物基因组中存在大量的相邻且转录方向相反的基因，被称之为“头对头”基因对( head-to-head gene pairs)。当 这两个相邻的“头对头”基因转录起始位点之间的距离小于1kb左右时，这段基因间的DNA 序列称为双向启动子。

235. 水溶性维生素(water-soluble vitamin):是一类溶于水而不溶于脂肪和有机溶剂的有机分子，在体内主要构成酶的辅 因子，包括B 族维生素(维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、维生素B₂、维生素PP、泛酸、生物素与叶酸)和维生素C。

236.顺式作用元件(cis-acting element):DNA分子中与被调控基因临近的一些调控序列，包括启动子、上游调控元件、增 强子和一些细胞信号反应元件等，这些调控序列与被调控的编码序列位于同一条DNA 链上，故被称为顺式作用元 件，又被称为顺式调节元件(cis-regulator element,CRE)。

237. 羧基末端结构域(carboxyl-terminal domain,CTD):真核RNA 聚合酶Ⅱ的最大亚基的羧基末端有一段共有序列(con- sensus sequence),为Tyr-Ser-Pro-Thr-Ser-Pro-Ser样的七肽重复序列片段，称为羧基末端结构域。羧基末端结构域被 磷酸化后，转录开始。

238. 肽键(peptide bond):一个氨基酸的α-氨基与另一个氨基酸的α-羧基脱水而形成的酰胺键连接。肽键具有部分双键 的性质而有一定的刚性。

239. 探针(probe):是带有放射性核素或其他标记(荧光、生物素等)的核酸片段，它具有特定的序列，能够与待测的核酸 片段互补结合，因此可用于检测核酸样品中存在的特定基因。

240. 糖胺聚糖(glycosaminoglycan):由二糖单位重复连接而成的杂多糖，不分支。二糖单位中一个是糖胺(N-乙酰葡糖胺 或 N-乙酰半乳糖胺),另一个是糖醛酸(葡糖醛酸或艾杜糖醛酸)。

241. 糖蛋白(glycoprotein):糖类分子与蛋白质分子共价结合形成的蛋白质，即含糖基的蛋白质。

242. 糖的无氧氧化(anaerobic oxidation of glucose):不利用氧时，1分子葡萄糖先经糖酵解生成2分子丙酮酸，然后在细胞 质中还原成2分子乳酸，这一过程净生成2分子ATP,可为机体快速供能。

243. 糖的有氧氧化(aerobic oxidation of glucose):有氧时1分子葡萄糖先经糖酵解生成2分子丙酮酸，接着进入线粒体氧 化脱羧生成2分子乙酰CoA,再进入柠檬酸循环并偶联发生氧化磷酸化，彻底生成CO₂ 和H₂O。 此过程净生成30或 32分子ATP, 是人体利用葡萄糖产能的主要途径。

**518** 名 词 释 义

244.糖基化(glycosylation):非糖生物分子与糖形成共价结合的反应过程。

245.糖基化位点(glycosylation site):糖蛋白分子中与糖形成共价结合的特定氨基酸序列，即Asn-X-Ser/Thr(X为脯氨酸 以外的任何氨基酸)3个氨基酸残基组成的序列。

246.糖基转移酶(glycosyltransferase):催化糖基从糖基供体(如尿苷二磷酸葡萄糖)转移到受体化合物(蛋白质、脂或另 一糖分子)的酶。

247.糖酵解(glycolysis):1分子葡萄糖在细胞质中生成2分子丙酮酸的过程，净生成2分子ATP 和2分子NADH, 是糖有 氧氧化和无氧氧化的共同起始阶段。

248.糖密码(sugar code):每一聚糖都有一个独特的能被单一蛋白质阅读，并与其相结合的特定空间构象(语言),即糖 密码。

249.糖生物学(glycobiology):研究糖类及其衍生物的结构、代谢以及生物学功能，探索糖链的生物信息机制与生命现象 关系的学科领域。

250.糖形(glycoform):不同种属、组织的同一种糖蛋白的N-连接型聚糖的结合位置、糖基数目、糖基序列不同，可以产生 不同的糖蛋白分子形式，这种糖蛋白聚糖结构的不均一性称为糖形。

251.糖异生(gluconeogenesis):非糖化合物(乳酸、甘油、生糖氨基酸等)在肝和肾转变为葡萄糖或糖原的过程，对于饥饿 引起肝糖原耗尽后的血糖补给具有重要意义。

252.糖原(glycogen):葡萄糖的多聚体，是体内糖的储存形式。动物体内有肝糖原和肌糖原。肝糖原可补充血糖，肌糖原 则主要为肌收缩提供能量。

253.糖脂(glycolipid):携有一个或多个以共价键连接糖基的复合脂质，泛指糖基甘油酯、鞘糖脂、类固醇衍生糖脂等。 254.糖组(glycome):在特定状态下一种细胞或组织中包含的全部糖类和含糖分子。

255.糖组学(glycomics):研究生物体所有聚糖或聚糖复合物的组成、结构、功能、表达调控及其与疾病关系的学科领域， 包括糖与糖之间、糖与蛋白质之间、糖与核酸之间的联系和相互作用，旨在阐明聚糖的生物学功能以及与细胞、生物 个体表型的联系。

256.铁蛋白(ferritin):由24个亚基组成的中空蛋白质分子，可结合450个铁离子，是体内铁的储存形式。

257.通用转录因子(general transcription factor):一类直接或间接结合RNA 聚合酶的转录因子，又称基本转录因子(basal

transcription factor)。通用转录因子、中介子(mediator)和 RNA 聚合酶是真核生物启动转录的蛋白质复合体的基本

和主要组分。 lkyx201

258. 同工酶(isoenzyme或 isozyme):是指催化相同的化学反应，但酶蛋白的分子结构、理化性质乃至免疫学性质不同的一 组酶。

259. 同切点酶(isoschizomer):识别DNA 链上相同序列但切割位点不同的限制性内切核酸酶，也称异源同工酶。

260.同尾酶(isocaudarner):识别DNA 链上不同序列但切割后产生相同黏端的限制性内切核酸酶，所产生的相同黏端称 为配伍末端(compatible end)。

261.同源重组( homologous recombination):在两个相似或相同DNA 分子之间核苷酸序列互换的一种遗传重组，又称基本 重组(general recombination)。在哺乳动物的配子发生的减数分裂过程中，同源重组可产生DNA 序列的新重组，标 示着后代的遗传变异；不同种属的细菌和病毒也在水平基因转移中用同源重组互换遗传物质。

262.酮体(ketone bodies):脂肪酸在肝经β-氧化分解后转化形成的中间产物，包括乙酰乙酸、β-羟基丁酸和丙酮。酮体经 血液运输至肝外组织氧化利用，是肝向肝外输出能量的一种方式。

263.退火(annealing):变性的双链DNA 经缓慢冷却后，两条互补链可以重新恢复天然的双螺旋构象的过程。

264.脱氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid,DNA):一类带有遗传信息的生物大分子。由4种主要的脱氧核苷酸(dAMP、 dGMP、dCMP 和 dTMP) 通过3',5'-磷酸二酯键连接聚合而成的生物大分子。 DNA 携带遗传信息，并通过复制的方式 将遗传信息进行传代。组成DNA 的脱氧核苷酸的比例和排列不同，显示不同的生物功能，如编码功能、复制和转录 的调控功能等。排列的变异可能产生一系列疾病。

265. 瓦伯格效应(Warburg effect):有氧时，葡萄糖不彻底氧化而是分解生成乳酸的现象，有利于增殖活跃的组织细胞进 行生物合成。

266.外显子(exon):基因组DNA 中出现在成熟RNA 分子上的核苷酸序列。外显子被内含子隔开，转录后经加工被连接 在一起，生成成熟的RNA 分子。信使核糖核酸(mRNA) 所携带的信息指导多肽链的生物合成。

267.微 RNA(microRNA,miRNA): 真核生物中广泛存在的一类长度为22个核苷酸的非编码RNA 分子。通过特异性结

合靶信使核糖核酸(mRNA) 抑制转录后的基因表达。在调控基因表达和调控细胞性状等方面发挥主要作用。

268. 微粒体乙醇氧化系统(microsomal ethanol oxidizing system,MEOS):是乙醇-P450单加氧酶，仅在血中乙醇浓度很高时 被诱导，其催化的产物是乙醛。

269. 微量元素(trace element或 microelement):维持机体正常生理功能、在人体中存在的量低于人体体重0.01%,每日需 要量在100 以下的化学元素，包括铁、碘、铜、锌、锰、硒、氟、钼、钴、铬、钒、锡、镍、硅，主要功能是作为酶的辅因

**名** **词** **释** **义** **519**

子等。

270. 维生素(vitamin):生物体内不能合成，或合成量甚少、不能满足机体的需要，必须由食物供给，以维持正常生命活动 的一类低分子量有机化合物，是生物体内的重要营养素之一，按其溶解特性的不同，分为脂溶性维生素和水溶性维 生素两大类。

271. 卫星DNA(satellite DNA):真核细胞染色体具有的高度重复核苷酸序列，主要存在于染色体的着丝粒区，通常不被转 录，在人基因组中可占10%以上。由于其碱基组成中GC 含量少，具有不同的浮力密度，在氯化铯密度梯度离心后 呈现出与大多数DNA 有差别的“卫星”条带而得名。

272.未结合胆红素(unconjugated bilirubin):在血浆中主要与清蛋白结合而运输的胆红素，为脂溶性，不能经尿排出，易透 过细胞膜产生毒性作用。

273.位点特异性重组(site specific recombination):一种发生在至少拥有一定程度序列同源性片段间DNA 链互换过程的 遗传重组，也称保守的位点特异性重组(conservative site-specific recombination)。位点特异性重组酶(site-specific recombinase,SSR)通过识别和结合DNA 短序列(位点)使DNA 片段发生重排。

274. 无嘌呤/无嘧啶位点(apurinic/apyrimidinic site):DNA分子上受损伤的碱基被一种特异的DNA-糖苷酶除去，形成的 无嘌呤或无嘧啶的位点(AP 位点),这些位点在内切酶的作用下可形成DNA 链的断裂。

275.无义介导的mRNA 降解(nonsense-mediated mRNA decay,NMD):细胞在对前体mRNA 进行剪接加工时，异常的剪接 反应会在可读框内产生无义的终止密码子。无义介导的mRNA 降解是一种广泛存在于真核生物细胞中的mRNA 质量监控机制。该机制通过识别和降解含无义的终止密码子的转录产物来防止有潜在毒性的截短蛋白质的产生。

276.戊糖(pentose):由5个碳原子组成的单糖，其中最主要的一种形式是以D 形式存在的核糖和脱氧核糖，是核糖核酸 (RNA) 和脱氧核糖核酸(DNA) 的主要成分。

277. 系统生物学(systems biology):以系统论理论、结合实验科学、数学和计算机建模等方法，对一个生物系统中所有组成 成分(基因、mRNA、 蛋白质等)的构成，在特定条件下这些组分间的相互关系及其导致的生物学效应进行整合研究 为特征的生物学。

278. 系统生物医学( systems biomedicine):应用系统生物学原理与方法研究人体(包括动物和细胞模型)生命活动的本 质、规律以及疾病发生发展机制的学科领域，实际上就是系统生物学的医学应用研究。

279. 细胞融合(cell fusion):将来源不同的两种细胞融合成一个新细胞的技术。

kkyx2018

kkyx2018

280.细胞色素(cytochrome):一种以铁-卟啉复合体为辅基的血红素蛋白，主要有细胞色素a、细胞色素b、细胞色素c和细 胞色素d 四类。因其铁-卟啉侧链的不同，以及与酶蛋白的结合方式不同，细胞色素蛋白的辅基分别称为血红素a、b 和 c。血红素基团的铁离子通过Fe³\*和Fe²\*两种状态的变化而传递单个电子，在氧化还原反应中发挥作用。

281. 细胞色素P450单加氧酶(cytochrome P450 monooxygenase,CYP):存在于肝细胞微粒体，催化氧分子中的一个氧原子 加到底物分子上(羟化),另一个氧原子被NADPH+H\* 还原成水的一类酶，由细胞色素P450 和细胞色素P450还原 酶组成，又称羟化酶(hydroxylase)或混合功能氧化酶(mixed functional oxidase)。

282.细胞通讯(cell communication):在多细胞生物中，细胞间或细胞内高度精确和高效地发送与接收信息的通信机制， 并通过放大机制引起快速的细胞生理反应。

283.细胞外基质(extracellular matrix):由细胞分泌的、并在质膜外相互交织结合在一起的各种糖胺聚糖、蛋白聚糖和蛋 白质组成的筛网状物质，在细胞迁移过程中发挥细胞锚定、识别及附着的功能，并为细胞提供支持结构。

284. 纤连蛋白(fibronectin):一类细胞外高分子糖蛋白，具有结合血纤维蛋白、硫酸乙酰肝素、胶原及整合蛋白家族细胞 表面受体的结构域，其主要功能是介导细胞间及细胞与基质的黏着，参与损伤修复。

285.酰基载体蛋白(acyl carrier protein,ACP):脂肪酸生物合成过程中脂酰基的载体，脂肪酸生物合成的所有反应均在该 载体蛋白上进行。

286.衔接体蛋白质(adaptor protein):在细胞内信号传递途径中，凡是在不同蛋白质间起连接作用的蛋白质的通称。大部 分衔接体蛋白质含有2个或2个以上的蛋白质相互作用结构域。

287.锌指(zinc finger):一些蛋白质中存在的一类具有指状结构的模体。主要存在于作为转录因子的DNA 结合结构域模 体中，锌指结构由一个α-螺旋和两个反平行的β-折叠三个肽段组成。其中2个半胱氨酸残基和2个组氨酸(或4个 半胱氨酸)残基螯合锌离子。

288.新一代测序(next generation sequencing,NGS):满足DNA 测序微量、快速和低成本化需求而产生的一些新的高通量 DNA 测序技术。这些技术在原理上不同于经典的测序技术，其共同特点在一次反应中同时分析多个DNA 小片段，

因而可快速获得所有序列，再经生物信息学整合分析，得出个体的基因组序列。这些技术是实现个体全基因组测序 的核心。

289.信号序列(signal sequence):决定蛋白质靶向输送的特征性序列，存在于新生肽链的N-端或其他部位，可被细胞转运 系统识别并引导蛋白质转移到细胞内或细胞外的特定部位。

290.信号转导(signal transduction):细胞对来自外界的刺激或信号发生反应，通过细胞内多种分子相互作用引发一系列

**520** 名 词 释 义

有序反应，将细胞外信息传递到细胞内，并据以调节细胞代谢、增殖、分化、功能活动和凋亡的过程。

291. 信号转导复合物(signaling complex):衔接蛋白和支架蛋白通过蛋白质相互作用结构域将一些信号转导分子结合在 一起形成的复合物，既可使信号转导分子有序相互作用，又可使相关的信号转导分子容纳于一个隔离而稳定的信号 转导通路内，避免信号途径之间的交叉反应，维持信号转导通路的高效和专一性。

292.信号转导途径(signal transduction pathway):信号分子与其在细胞的受体结合以后所引起的一系列有序的酶促级联 反应过程。

293.信使RNA(messenger RNA,mRNA):携带从DNA 编码链得到的遗传信息，并以三联体读码方式指导蛋白质生物合成 的 RNA, 由编码区、上游的5'-非编码区和下游的3'-非编码区组成。约占细胞 RNA 总量的3%～5%。真核生物 mRNA 的5'-端有帽子结构和3'-端含多腺苷酸的尾巴结构。

294. 血脂(plasma lipid):血浆中脂质的总称，包括甘油三酯、胆固醇、胆固醇酯、磷脂和游离脂肪酸等。临床上常用的血 脂指标是甘油三酯和胆固醇，正常成人12～14小时空腹血浆甘油三酯为10～150mg/dI(平均100mg/dl),总胆固醇 为150~250mg/dl(平均200mg/dl)。

295.亚基(subunit):组成蛋白质四级结构最小的共价单位，是指四级结构的蛋白质中由一条多肽链折叠成的具有三级结 构的球蛋白。

296.氧化磷酸化(oxidative phosphorylation):物质在体内氧化时释放的能量供给ADP 与无机磷合成ATP 的偶联反应。主 要在线粒体中进行。代谢物脱氢生成NADH 和 FADH₂, 两者均通过呼吸链传递电子被氧化，氧化过程产生的自由 能储存于跨线粒体内膜的质子电化学梯度中，质子返回基质时释放此能量，驱动ATP 合酶结合ADP 及无机磷，使 ADP 磷酸化生成ATP 的过程。

297.夜盲(nyctalopia):由于视网膜杆状细胞缺乏合成视紫红质的原料或杆状细胞本身的病变导致的暗适应视力障碍。

298.一碳单位(one carbon unit):某些氨基酸在分解代谢过程中产生的仅含一个碳原子的基团，如甲基、亚甲基、次甲基、 甲酰基及亚胺甲基等。常与四氢叶酸结合，在一些化合物之间转移，且可互相转变。

299.胰脂酶(pancreatic lipase):由胰腺合成并分泌至小肠腔、消化食物脂肪的一种脂酶，能特异水解甘油三酯1、3位酯 键，生成2-甘油一酯及2分子脂肪酸。

300. 移码突变(frameshift mutation):因mRNA 可读框中插入或缺失了非3的倍数的核苷酸，使得后续密码子阅读方式改 变的一种突变。

301.引物(pimer):由引物酶催化合成的短链RNA 片段，在DNA 复制起始时，为DNA 的合成提供3'6日果端，在DNX\*… pol催化下逐一加入dNTP 而形成DNA 子链。亦可是体外人工合成DNA 时，可与模板结合的单链DNA 片段。

302.应激(stress):机体或细胞为应对内、外环境刺激所作出一系列非特异性反应。

303.运铁蛋白(transferrin,TRF):能与金属结合的一类分子质量约76～81kD 的糖蛋白，又称转铁蛋白，是血浆中主要的 含铁蛋白质，负责运载由消化道吸收的铁和由红细胞降解释放的铁。

304. 载脂蛋白(apolipoprotein):脂蛋白中的蛋白质部分，分为A、B、C、D、E等几大类，在血浆中起运载脂质的作用，还能 识别脂蛋白受体、调节血浆脂蛋白代谢酶的活性。

305.增强子(enhancer):增强启动子工作效率的顺式作用元件，能够在相对于启动子的任何方向和任何位置(上游或下 游)都发挥作用。

306. 增色效应(hyperchromic effect):双链DNA 分子或双链RNA 分子解链变性后，其核酸溶液的紫外吸收(一般在260nm 处)增强的现象。

307. 支架蛋白(scaffold protein):带有多个蛋白质结合域可将同一信号转导途径中相关蛋白质组织成群的蛋白质， 一般是 分子量较大的蛋白质。

308.脂蛋白(lipoprotein):血浆脂蛋白是脂质与载脂蛋白结合形成的复合体， 一般呈球形，表面为载脂蛋白、磷脂、胆固醇 的亲水基团，这些化合物的疏水基团朝向球内，内核为甘油三酯、胆固醇酯等疏水脂质。血浆脂蛋白是血浆脂质的 运输和代谢形式。

309.脂蛋白脂肪酶(lipoprotein lipase,LPL):分布于骨骼肌、心肌及脂肪等组织毛细血管内皮细胞表面的一种脂肪酶，能 水解CM 和 VLDL 中的甘油三酯，释放出甘油和游离脂肪酸供组织细胞摄取利用。

310.脂肪动员(fat mobilization):储存在脂肪细胞中的脂肪在脂肪酶的作用下，逐步水解，释放出游离脂肪酸和甘油供其 他组织细胞氧化利用的过程。

311.脂溶性维生素(lipid-soluble vitamin):是疏水性化合物，易溶于脂质和有机溶剂，常随脂质被吸收，包括维生素A、维 生素D、维生素E 和维生素K。

312.脂酰-CoA:胆固醇脂酰转移酶(acyl-CoA:cholesterol acyltransferase,ACAT):分布于细胞内质网，能将脂酰辅酶A 上

的脂酰基转移至游离胆固醇的3位羟基上，使胆固醇酯化储存在胞质中。

313.脂组学(lipidomics):研究生物体内所有脂质分子的组成与结构，并以此为依据推测与脂质作用的生物分子的变化， 揭示脂质在各种生命活动中的重要作用的学科领域。

**名** **词** **释** **义**

**521**

314. 中度重复序列(moderately repetitive sequence):真核基因组中重复数十至数千次的核苷酸序列，通常占整个单倍体 基因组的1%～30%。少数在基因组中成串排列在一个区域，大多数与单拷贝基因间隔排列。

315.肿瘤抑制基因(tumor suppressor gene):防止或阻止癌症发生的基因，其部分或全部失活可显著增加癌症发生风险， 也称抑癌基因。抑癌基因对细胞增殖起负性调控作用，包括抑制细胞增殖、调控细胞周期检查点、促进凋亡和参与 DNA 损伤修复等。

316. 转氨基作用(transamination):氨基转移酶所催化的将α-氨基酸的氨基转移给α-酮酸、从而产生相应的α-酮酸与α- 氨基酸的可逆的氨基转移过程。

317.转导作用(transduction):病毒或病毒载体介导外源DNA 进入靶细胞的过程。

318.转化(transformation):通过直接从周围环境中摄取并掺入外源遗传物质引起细胞遗传改变的现象。

319. 转化医学(translational medicine):以临床、实验室和社会三大支柱为核心的生物医学分支学科。旨在强调以临床问 题为导向，开展基础-临床联合攻关，将基因组学等各种基础研究成果迅速有效地转化为可在临床实际应用的理论、 方法、技术和药物。

320.转化作用(transformation):受体菌通过细胞膜直接从周围环境中摄取并掺入外源遗传物质引起自身遗传改变的过 程，受体菌必须处于敏化状态，这种敏化状态可以通过自然饥饿、生长密度或实验室诱导而达到。

321.转基因动物(transgenic animal):应用转基因技术培育出的携带外源基因，并能稳定遗传的动物，其制备步骤主要包 括转基因表达载体的构建、外源基因的导入和鉴定、转基因动物的获得和鉴定、转基因动物品系的繁育等。

322. 转基因技术(transgenic technology):将外源基因导入受精卵或胚胎干细胞(embryonic stem cell),即 ES 细胞，通过随 机重组使外源基因插入细胞染色体DNA, 随后将受精卵或ES 细胞植入假孕受体动物的子宫，使得外源基因能够随 细胞分裂遗传给后代的技术。

323.转录(transcription):生物体以DNA 为模板合成RNA 的过程，意指将DNA 的碱基序列转抄为RNA 序列。

324.转录偶联修复(transcription coupled repair,TC-NER):核苷酸切除修复的一种方式，即对那些正在转录的基因模板链 上的损伤进行修复。另一种修复方式是全基因组损伤修复(global genomic repair,GG-NER)。在转录偶联修复中， RNA 聚合酶识别损伤部位，起始损伤修复。

325.转录衰减(transcription attenuation):新生成的mRNA 链与RNA 聚合酶相互作用使转录水平降低并提前终止的转录 调节方式，为原核生物操纵子调节机制之一。

326.转录物组学(transcriptomics):以细胞、组织或机体基因组在特定时间和空间转录产生的全部转录物的种类、结构和 功能进行研究的学科领域，包括对其表达水平、时空分布、相互作用及其调控规律等方面的分析。

kkyx2018

327.转录因子(transcription factor,TF):直接结合或间接作用于基因启动子、增强子等特定顺式作用元件，形成具有RNA 聚合酶活性的动态转录复合体的蛋白质因子。绝大多数转录因子由其编码基因表达后进入细胞核，通过识别、结合

特异的顺式作用元件而增强或降低相应基因的表达。转录因子也被称为反式作用蛋白或反式作用因子。

328.转染(transfection):植物、动物细胞通过细胞膜摄取外源遗传物质引起自身遗传改变的现象，通常可引起癌变。

329.转移 RNA(transfer RNA,tRNA):由75～90个核苷酸组成的小分子RNA。 每种tRNA 可在氨酰tRNA 合成酶催化下 与特定的氨基酸共价连接生成氨酰tRNA。 在核糖体中通过tRNA 的反密码子和mRNA 的密码子相互作用，参与蛋 白质生物合成。

330. 转座重组(transpositional recombination)或转座(transposition):由插入序列(IS) 和转座子(Tn) 介导的基因移位或 重排。

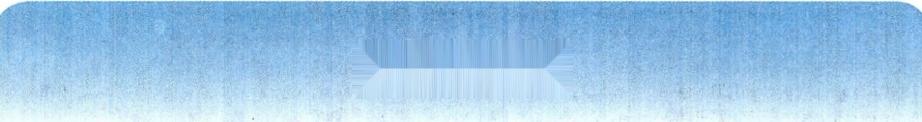
331.转座子(transposon,Tn):能将自身或其拷贝插入基因组新位置的DNA 序列， 一般属于复合型转座子(composite Tn),

有一个中心区域，两边是插入序列(IS),除有与转座有关的编码基因外，还携带其他基因如抗生素抗性基因等。

332.缀合酶(conjugated enzyme):由蛋白质部分和非蛋白质部分共同组成的酶称为缀合酶。其中的蛋白质部分称为酶蛋 白，非蛋白质部分称为辅因子。酶蛋白主要决定酶促反应的特异性及其催化机制；辅因子主要决定酶促反应的 类型。

333.着色性干皮病(xeroderma pigmentosum,XP):一种由于DNA 损伤切除修复系统缺陷所导致的遗传病。着色性干皮病 病人的皮肤对阳光极度敏感，易受照射损伤，可在幼年时罹患皮肤癌，同时伴有智力发育迟缓，神经系统功能紊乱等

症状。



**推荐阅读**

**参考书**

[1] Agutter PS,Wheatley DN.About Life-Concepts in Modern Biology. Amsterdam:Springer Netherlands,2007. [2] Alberts B,Johnson A,Lewis J,et al. Molecular Biology of the Cell.6th ed.New York:Garland Science,2015. [3] Allison LA.Fundamental Molecular Biology.2nd ed.New Jersey:John Wiley & Sons Inc,2012.

[4] Berg JM,Tymoczko JL,Gatto GJ,et al.Biochemistry.8thed.New York:W.H.Freeman & Company,2015. [5] Brown TA.GeneCloningandDNAAnalysis:An Introduction. New Jersey:WileyBlackwell,2010.

[6] Devlin TM.Textbook of Biochemistry with Clinical Correlation.7th ed.New York:John Wiley and Sons,Inc.,2011.

[7] Ferrier DR.Lippincott's Ilustrated Reviews:Biochemistry.7th ed.Philadelphia :Lippincott Williams & Wilkins,2017.

[8] Krebs J,Goldstein E,Kilpatrick S.Lewin's GenesXI. Boston:Jones & Bartlett Learning,2017.

[9] Lodish H,Berk A,KaiserCA,et al.Molecular Cell Biology.8th ed.New York:W.H.Freeman and Company,2016.

[10] Mathews CK,vanholde KE,Ahern KG. Biochemistry.3rd ed.San Francisco:Addison-Wesley Publishing Company,2001. [11] MeisenbergG,Simmons WH.Principles of Medical Biochemistry.3rd ed.Mosby:Elsevier,2011.

[12] Meyers RA.Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine. Weinheim:Wiley-VCH,2012.

[13] MurrayRK,BenderDA,BothamKM,et al.Harper's Ilustrated Biochemistry.28thed. London:McGraw-Hill Company,2009. [14] Nelson DL,Cox MM.Lehninger Principles of Biochemistry.7th ed.New York:W.H.Freeman & Company,2017.

[15] Rodwell VW,Bender DA,Botham KM,et al. Harper's Illustrated Biochemistry,30th ed. New York:The McGraw-Hill Edu-

cation,2015. **2kkyx2018** GMkkyx2018

[16] Russell PJ.iGenetics:A Molecular Approach.4th ed.San Francisco:Benjamin Cummings,2014.

[17]Saenger W.Principles of Nucleic Acid Structure.New York:Springer-Verlag,1984.

[18] Sambrook J,Russell DW.The Condensed Protocols from Molecular Cloning:A laboratory manual.New York:ColdSpring- Harbor Laboratory Press,2008.

[19]Strachen T,Read A.Human Molecular Genetics.4th ed.New York:Garland Science,2011.

[20] Watson JD,Baker TA,Bell SP,et al.Molecular Biology of the Gene.7th ed.New York:Cold Spring Harbor Laboratory Press,2013.

[21] Weaver R.Molecular Biology.4th ed.New York:McGraw Hill Higher Education,2007.

[22] Weinberg RA.The Biology of Cancer.2nd ed.New York:Garland Science,Taylor & Francis Group,LLC,2013. [23]焦炳华.现代生命科学概论.2版.北京：科学出版社，2014.

[24]全国科学技术名词审定委员会.生物化学与分子生物学名词.北京：科学出版社，2008.

[25]药立波.医学分子生物学实验技术.3版.北京：人民卫生出版社，2014.

[26]中国营养学会.中国居民膳食营养素参考摄入量速查手册.北京：中国标准出版社，2013.

**参考文献**

[1] Bermingham A,Derrick JP.The folic acid biosynthesis pathway in bacteria:evaluation of potential for antibacterial drug dis- covery.Bioessays,2002,24(7):637-648.

[2] Chow LT,Gelinas RE,Broker TR,et al. An amazing sequence arrangement at the 5' ends of adenovirus 2 messenger RNA. Cell,1977,12(1):1-8.

[3] Cramer P,Bushnell DA,Kornberg RD.Structural basis of transcription:RNA polymerase Ⅱat 2.8 angstrom resolution. Sci- ence,2001,292:1863- 1876.

[4] Friedberg EC.DNA damage and repair. Nature,2003,421(6921):436-440.

[5] Gratchev A.The nucleotide excision repair of DNA in human cells and itsassociation with xeroderma pigmentosum. Ady Exp Med Biol,2008,637:113- 119.

[6] HenrasAK,Plisson-Chastang C,O'Donohue MF,et al. Anoverview of pre-ribosomal RNA processing in eukaryotes. Wiley In- terdiscip RevRNA,2015,6(2):225-242.

推 荐 阅 读 **523**

[7] Houseley J,Tollervey D.The many pathways of RNA degradation.Cell,2009,136:763-776.

[8] Huang L,Crothers K,Atzori C,et al. Dihydropteroate synthase gene mutations in Pneumocystis and sulfa resistance. Emerg Infect Dis,2004,10(10):1721- 1728.

[9] Jackson SP,Bartek J.The DNA-damage response in human biology and disease. Nature,2009,461(7267):1071- 1078. [10] KastanMB,Bartek J.Cell-cycle checkpoints and cancer. Nature,2004,432(7015):316-323.

[11] Kresge N,Simoni RD,Hill RL.30 years of cholesterol metabolism:the work of Michael Brown and Joseph Goldstein. JBi- olChem,2006,281:e25-e28.

[12] Lord CJ,Ashworth A.The DNA damage response and cancer therapy.Nature,2012,481(7381):287-294. [13] Marraffini LA.CRISPR-Cas immunity in prokaryotes. Nature,2015,526(7571):55-61.

[14] Michio S.Immunological functions of steryl glycosides.Arch Immunol Ther Exp,2012,60:351-359.

[15] Ivanchina NV,Kicha AA,,Stonik VA.Steroid glycosides from marine organisms.Steroids,2011,76(5):425-454.

[16] Norgauer J,Idzko M,Panther E,et al.Xeroderma pigmentosum. Eur J Dermatol,2003,13(1):4-9.

[17] Rossi M,Amaretti A,Raimondi S.Folate production by probiotic bacteria.Nutrients,2011,3(1):118- 134.

[18]Sandra G,Anna Z,Swantje T,et al. The functions of steryl glycosides come to those who wait:Recent advances in plants, fungi,bacteria and animals. Progress in Lipid Research,2010,49:262-288.

[19] SkOld O.Sulfonamide resistance:mechanisms and trends.Drug Resist Updat,2000,3(3):155- 160.

[20] Tanaka K,Wood RD.Xeroderma pigmentosum and nucleotide excision repair ofDNA.Trends Biochem Sci,1994,19(2): 83-86.

[21] Thomason MK,Storz G. Bacterial antisense RNAs:how many are there,and what are they doing? Annu Rev Genet,2010, 44:167-188.

[22] Will CL,Luhrmann R.Spliceosome structure and function.Cold Spring HarbPerspect Biol,2011,3(7):a003707.

[23]Yen CL,Stone SJ, Koliwad S,et al. Thematic review series:glycerolipids.DGAT enzymes and triacylglycerol biosynthesis.J Lipid Res,2008,49(11):2283-2301.

[24] Yokoyama S.Assembly of high-density lipoprotein. ArteriosclerThrombVascBiol,2006,26(1):20-27.

[25]Zechner R,Kienesberger PC,Haemmerle G,et al.Adipose triglyceride lipase and the lipolytic catabolism ofcellular fat

stores.J Lipid Res,2009,50(1):3 21. **Ckkyx2018** 6kkyx2018



**中英文名词对照索引**

1,3-二磷酸甘油酸 1,3-bisphosphoglycerate,1,3-BPG

355

2,3-二磷酸甘油酸 2,3-bisphosphoglycerate,2,3-BPG

354

2-甘油一酯 2-monoglyceride 146

2型糖尿病 type 2 diabetes mellitus,T2DM 146

3,4-二羟苯丙氨酸 3,4- dihydroxyphenylalanine,DOPA

192

3'-非翻译区 3'-untranslated region,3'-UTR 45

3'-剪接位点 3'-splice site 277

3-磷酸甘油醛脱氢酶 glyceraldehyde 3-phosphate dehydro- genase 92

3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸 3'-phospho-adenosine-5'-phos- pho-sulfate,PAPS 191

3-酮基二氢鞘氨醇 3-ketodihydrosphingosine 160 4'-磷酸泛酰巯基乙胺4'-phosphopantotheine 154 5,6,7,8-四氢叶酸 tetrahydrofolic acid,FH₄ 389

5'-cDNA 末端快速扩增技术 5'-rapid ampliication of cD- NA end,5'-RACE 460

5-氨基咪唑4- 甲酰胺核苷酸 5-aminoimidazole-4-carbox- amide ribonucleotide,AICAR 199

5-氨基咪唑-4-羧酸核苷酸 carboxyaminoimidazole ribonu- cleotide,CAIR 199

5-氨基咪唑核苷酸 5-aminoimidazole ribonucleotide,AIR

199

5'-非翻译区5'-untranslated region,5'-UTR 45

5-氟尿嘧啶 5-fluorouracil,5-FU 34,205

5'-剪接位点5'-splice site 277

5'-帽结构 5'-cap structure 44

5-羟色氨酸 5-hydroxytryptophan 187

6-巯基嘌呤 6-mercaptopurine,6-MP 34,202

6-重氮-5-氧正亮氨酸 diazonorleucine 202

α-螺旋 α-helix 14

α-生育酚当量α-tocopherol equivalent,α-TE 383

α-酮酸 α-keto acid 180

α-酮戊二酸 α-ketoglutarate 98

α-酮戊二酸脱氢酶复合体 α-ketoglutarate dehydrogenase

complex 98

α-脂蛋白 α-lipoprotein 164

β-D-2'-脱氧核糖β -D-2'-deoxyribose 33

β-D-核糖 β-D-ribose 33

β-氨基异丁酸 β-aminoisobutyric acid 206

β-半乳糖苷酶β-galactosidase 310

β-谷固醇 β-sitosterol 142

β-胡萝卜素 β-carotene 381

β-羟丁酸 β-hydroxy-butyrate 150

β-羟丁酸脱氢酶 β-hydroxybutyrate dehydrogenase 151

β-羟脂酰-ACP 脱 水 酶 β-hydroxyacyl-ACP dehydratase,

HD 154

β-N-糖苷键 β-N-glycosidic bond 33

β-酮硫解酶β-ketothiolase 149

β-酮脂酰-ACP 合酶 β-ketoacyl-ACP synthase,KS 154

β-酮脂酰-ACP 还 原 酶 β-ketoacyl-ACP reductase,KR

kkyx2018 kkyx2018

154

β-氧化 β-oxidation 148

β-折叠 β-pleated sheet 14

β-脂蛋白 β-lipoprotein 164

β-转角 β-turn 15

8-氨基- γ-酮戊酸 8-aminolevulinicacid,ALA 351 γ-氨基丁酸 γ-aminobutyric acid,GABA 186

γ-羧基谷氨酸 γ-carboxylglutamic acid 384

△³顺→△²反烯脂酰 CoA 异构酶△³ -cis→△²-trans enoyl-

CoA isomerase 149

Ω环Ω loop 15

w-氧化 w-oxidation 150

ALA 合酶 ALA synthase 351

ALA 脱水酶 ALA dehydrase 351

AMP 激活的蛋白激酶 AMP-activated protein kinase,

AMPK 154

apo B/E受体 apo B/E receptor 168

ATP 合酶 ATP synthase 129

ATP 结合盒转运蛋白A1 ATP-binding cassette transporter

A1,ABCA1 169

AU 富含序列 AU-rich sequence,ARE 322

BRCA 基因 breast cancer gene 260

CDP-胆碱 CDP-choline 158

CDP-胆碱途径 CDP-choline pathway 158

CDP-乙醇胺 CDP-ethanolamine 158

Cockayne综合征 Cockayne syndrome,CS 261

CpC 岛 CpG island 316

CTP: 磷酸胆碱胞苷转移酶 CTP:phosphocholine cytidylyl- transferase,CCT 158

C 反应蛋白 C-reactive protein,CRP 349

DNA 变性 DNA denaturation 52

DNA 测序 DNA sequencing 445

DNA-蛋白质交联 DNA protein cross-linking 252

DNA 光裂合酶 DNA photolyase 253

DNA 甲基化 DNA methylation 308

DNA 甲基转移酶 DNA methyltransferase 316

DNA 结合结构域 DNA binding domain 319

DNA 聚合酶 DNA polymerase 398

DNA 连接酶 DNA ligase 239

DNA 链内交联 DNA intrastrand cross-linking 252

DNA 损伤 DNA damage 249

DNA 拓扑异构酶 DNA topoisomerase 238

DNA 微阵列 DNA microarray 448

DNA 依赖的 RNA 聚合酶 DNA-dependent RNA polymer-

ase 262

DNA 依赖的蛋白激酶 DNA-dependent protein kinase,

DNA-PK 257

DNA 印迹 DNA blotting 440

DNA 元件百科全书 the Encyclopedia of DNA Element,

ENCODE 495

DNA 指纹 DNA fingerprinting 485

DNA 重排 DNA rearrangement 308

DNA 重组 DNA recombination 420

D-环复制 D-loop replication 246

d-尿胆素 d-urobilin 375

d-尿胆素原 d-urobilinogen 375

G 蛋白偶联受体 G protein-coupled receptor,GPCR 333

G 蛋白循环 G protein cycle 337

G-平面 tetrad或 quartet 40

G-四链 G-quadruplex 40

HDL 受体 HDL recepter 170

HMG-CoA 合酶 HMG-CoA synthase 151

HMG-CoA 还原酶 HMG-CoA reductase 162,168 HMG-CoA 裂解酶 HMG-CoA lyase 151

IRE结合蛋白质 IRE-binding protein,IRE-BP 322

i-尿胆素 i-urobilin 375

LDL 受体 LDL receptor 168

LDL受体相关蛋白 LDL receptor related protein,LRP

**中英文名词对照索引** **525**

167

L-谷氨酸脱氢酶 L-glutamate dehydrogenase 179

L-抗坏血酸 ascorbic acid 391

L- β-羟脂酰CoA 脱氢酶 L-3-hydroxyacyl CoA dehydrogen- ase 149

miRNA 海绵 miRNA sponge 51

Na\*依赖型葡糖转运蛋白 sodium-dependent glucose trans- porter,SCLT 90

Northern印迹法 Northern blotting 481

N-琥珀酰-5-氨基咪唑-4-甲酰胺核苷酸 N-succinyl-5-ami-

noimidazole-4-carboxamide ribonucleotide,SAICAR 199 N-连接型聚糖 N-linked glycan 78

N-乙酰氨基半乳糖 N-acetylgalactosamine,GalNAc 349 N-乙酰半乳糖胺 N-acetylgalactosamine,GalNAc 78

N-乙酰谷氨酸 N-acetyl glutamic acid,AGA 183

N-乙酰葡糖胺 N-acetylglucosamine,GlcNAc 78

N-乙酰神经氨酸 N-acetylneuraminic acid,NeuAc 78

0-连接型聚糖 O-linked glycan 78

PCR-变性高效液相色谱 PCR-denature high performance

liquid chromatography,PCR-DHPLC 483

PCR 单链构象多态性 PCR-single-strand conformation pol- ymorphism,PCR-SSCP 483

poly(A) **结合蛋白[poly(A)-binding** **protein;PABP**] 45 @ky≥2018

P/O 比值 phosphate/oxygen ratio 128

RNA 测序 RNA sequencing,RNA-seq 496

RNA 复制 RNA replication 262

RNA 干扰 RNA interference,RNAi 50,324

RNA 结合蛋白 RNA binding protein,RBP 323

RNA 聚合酶 RNA polymerase 398

RNA 依赖的 RNA 合 成 RNA-dependent RNA synthesis

262

RNA 依赖的RNA 聚合酶 RNA-dependent RNA polymer-

ase 262

RNA 印迹 RNA blotting 441

RNA 诱导的沉默复合体 RNA-induced silencing complex, RISC 324

SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 SDS-polyacrylamide gel electro- phoresis,SDS-PAGE 450

siRNA 324

Southern 印迹 Southern blotting 481

S-腺苷甲硫氨酸 S-adenosyl methionine,SAM 189

TATA 盒结合蛋白质 TATA binding protein,TBP .271

TBP 相关因子 TBP-associated factor,TAF 271

UDPG 焦磷酸化酶 UDPG pyrophosphorylase 107

UDP-葡糖醛酸基转移酶 UDP-glucuronosyltransferase,

**526** **中英文名词对照索引**

UGT 365,374

“XP 变种” XP variant,XPV 260

XRCC4 X-ray repair,complementing defective, in Chinese hamster 258

X 射线衍射 X-ray diffraction 453

A

阿尔茨海默病 Alzheimer disease,AD 29,158,503 阿糖胞苷 cytosine arabinoside,araC 34

癌 cancer 146,158

癌基因 oncogene 405

氨 ammonia 174

氨蝶呤 aminopterin 202

氨基甲酰磷酸 carbamoyl phosphate 183

氨基甲酰磷酸合成酶 I carbamoyl phosphate synthetase I,CPS-I 183

氨基酸 amino acid 8

氨基酸臂 amino acid arm 47

氨基酸残基 amino acid residue 11

氨基酸代谢库 aminoacid metabolic pool 177

氨基酸的等电点 amino acid isoelectric point,pI 11

氨基酸序列 amino acid sequence 13

氨基-亚氨基 amino-imino 32

氨基转移酶 aminotransferase 177

氨甲蝶呤 methotrexate,MTX 202

氨肽酶 aminopeptidase 174

氨酰-tRNA aminoacyl-tRNA 289

氨酰-tRNA 合成酶 aminoacyl-tRNA synthetase 290

氨酰位 aminoacyl site 48,289

胺类 amine 174

胺氧化酶 amine oxidase 186

B

巴斯德效应 Pasteur effect 103

白化病 albinism 192

白三烯 leukotriene,LT 144

白细胞介素1 IL-1 350

斑点印迹 dot blotting 441

斑点杂交 dot blot hybridization 481

半保留复制 semi-conservative replication 232

半不连续复制 semi-discontinuous replication 232

半乳糖 galactose,Gal 78,349

半寿期 half-life,tiz 175

伴侣蛋白 chaperonin 296

包装细胞 packaging cell 487

胞嘧啶 cytosine 32

胞嘧啶核苷脱氨酶 cytosine deaminase 279

胞质小RNA small cytoplasmic RNA,scRNA 49

饱和脂肪酸 saturated fatty acid 140,156

苯丙氨酸羟化酶 phenylalanine hydroxylase 192

苯丙酮尿症 phenylketonuria,PKU 192

苯并(a)芘 [benzo(a)pyrene,BaP] 361

比较基因组学 comparative genomics 492

吡哆胺 pyridoxamine 388

吡哆醇 pyridoxine 388

吡哆醛 pyridoxal 388

必需氨基酸 essential amino acid 172

必需基团 essential group 56

必需激活剂 essential activator 71

必需脂肪酸 essential fatty acid 143,146,152,157 闭合转录复合体 closed transcription complex 265

编码RNA coding RNA 43

编码链 coding strand 262

编码区 coding region 224

编码序列 coding sequence 224

标签蛋白 tagged protein 453

标志补救 marker rescue 434

表达图 expression map 493 略 kkyx2018 的 kkyx2018

表达序列标签 expressed sequence tag,EST 493

表达载体 expression vector 431

表观遗传 epigenetic inheritance 316

表面效应 surface effect 61

别构部位 allosteric site 71

别构调节 allosteric regulation of enzymes 71

别构激活剂 allosteric activator 71

别构酶 allosteric enzyme 71

别构效应 allosteric effect 28

别构效应剂 allosteric effector 71

别构抑制剂 allosteric inhibitor 71

别嘌呤醇 allopurinol 203

丙氨酸-葡萄糖循环 alanine-glucose cycle 181

丙二酸单酰 CoA-ACP 转 酰 基 酶 malonyl-CoA-ACP

transacylase,MT 154

丙酮 acetone 150

丙酮酸激酶 pyruvate kinase 92

丙酮酸羧化酶 pyruvate carboxylase 111

丙酮酸脱氢酶复合体 pyruvate dehydrogenase complex

96

薄层层析 thin-layer chromatography,TCL 145

卟啉症 porphyria 353

**中英文名词对照索引** **527**

补救合成途径 salvage pathway 197

不饱和脂肪酸 unsaturated fatty acid 140,156

C

残粒 remnant 167

操纵元件 operator 309

操纵子 operon 264

草酰乙酸 oxaloacetate 98

层析 chromatography 145,450

插入序列 insertion sequence,IS 424

差异基因表达 differential gene expression 306

长非编码RNA long non-coding RNA,IncRNA 49,268

长萜醇 dolichol,dol 79

肠激酶 enterokinase 174

常量元素 macroelement 394

超螺线管 supersolenoid 42

超螺旋结构 superhelix或 supercoil 40

超敏位点 hypersensitive site 314

超速离心法 ultracentrifugation 451

超氧化物歧化酶 superoxide dismutase,SOD 138,398 巢式 PCR- 限制性片段多态性 nested PCR-RFLP 483 沉降系数 sedimentation coefficient,S 451

沉默子 silencer 227

成簇规律间隔短回文重复 clustered regularly interspaced palindromic repeats,CRISPR 420

成肽 peptide bond formation 294

重叠 overlapping 37

重组 DNA 技术 recombinant DNA technology 420 初级 mRNA 转录物 primary mRNA transcript 275 初级RNA 转录物 primary RNA transcript 274

初级胆汁酸 primary bile acid 368

串联酶 tandem enzyme 55

醇脱氢酶 alcohol dehydrogenase,ADH 363

次黄嘌呤核苷酸 inosine monophosphate,IMP 197

次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶 hypoxanthine-guanine

phosphoribosyl transferase,HGPRT 200

次级胆汁酸 secondary bile acid 368

从头合成途径 de novo synthesis 197

促红细胞生成素 erythropoietin,EPO 353

促旋酶 gyrase 238

脆性X 综合征 fragile X syndrome 249

错配修复 mismatch repair 237

D

大沟 major groove 37

大规模平行信号测序系统 massively parallel signature se-

quencing,MPSS 496

大数据 big data 492

大亚基 large subunit 48

代谢 metabolism 208

代谢池 metabolic pool 208

代谢谱分析 metabolic profiling analysis 500

代谢物靶标分析 metabolite target analysis 500

代谢指纹分析 metabolic fingerprinting analysis 500

代谢综合征 metabolic syndrome 218

代谢组学 metabonomics 500

单胺氧化酶 monoamine oxidase,MAO 363

单不饱和脂肪酸 monounsaturated fatty acid 140

单不饱和脂肪酸 monounsaturated fatty acids 156

单纯酶 simple enzyme 55

单 核 苷 酸 多 态 性 single nucleotidepolymorphism,SNP

493

单拷贝序列 single copy sequence 229

单链结合蛋白 single stranded binding protein,SSB 238

单顺反子 monocistron 314

单体酶 monomeric enzyme 55

胆钙化醇 cholecalciferol 382

胆固醇7α-羟化酶 cholesterol 7α-hydroxylase,370 的kkyx2018

胆固醇 cholesterol 142,146

胆固醇结石 cholesterol stone 369

胆固醇流出调节蛋白 cholesterol-efflux regulatory protein,

CERP 169

胆固醇逆向转运 reverse cholesterol transport,RCT 169 胆固醇酯 cholesterol ester,CE 146,161,166,167,169 胆固醇酯酶 cholesterol esterase 146

胆固醇酯转运蛋白 cholesterol ester transfer protein,CETP

169

胆红素 bilirubin 371

胆红素脑病 bilirubin encephalopathy 374

胆碱 choline 157,158

胆结石 gallstone 369

胆绿素 biliverdin 371

胆绿素还原酶 biliverdin reductase 372

胆绿素还原酶循环 biliverdin reductase cycle 373

胆囊胆汁 gallbladder bile 368

胆色素 bile pigment 371

胆色素原 porphobilinogen,PBG 351

胆素 bilin 371

胆素原 bilinogen 371

胆素原的肠肝循环 enterohepatic urobilinogen cycle 376

**528** 中英文名词对照索引

胆酸 cholic acid 368

胆盐 bile salts 368

胆汁酸 bile acid 164,368

胆汁酸“肠肝循环” enterohepatic circulation of bile acid

371

胆汁酸库 bile acid pool 371

蛋白激酶A protein kinase A,PKA 330

蛋白激酶 protein kinase,PK 214,332

蛋白聚糖 proteoglycan 82

蛋白聚糖聚合体 aggrecan 83

蛋白磷酸酶 protein phosphatase,PP 332

蛋白酶体 proteasome 176,215

蛋白质 protein 8

蛋白质靶向输送 protein targeting 296

蛋白质变性 denaturation 30

蛋白质-蛋白质相互作用 protein-protein interaction,PPI

22

蛋白质的等电点 protein isoelectric point,pI 30

蛋白质的凝固作用 protein coagulation 31

蛋白质二级结构 protein secondary structure 14

蛋白质分拣 protein sorting 296

蛋白质家族 protein family 20

蛋白质酪氨酸激酶 protein tyrosine kinase,PTK 332

蛋白质三级结构 protein tertiary structure 16

蛋白质四级结构 protein quaternary structure 19

蛋白质芯片 protein chip 449

蛋白质一级结构 protein primary structure 13

蛋白质组 proteome 497

蛋白质组学 proteomics 497

氮平衡 nitrogen balance 172

等电聚焦 isoelectric focusing,IEF 498

等电聚焦电泳 isoelectric equilibrium electrophoresis,IEE

450

等位基因特异性寡核苷酸 allele specific oligonucleotide, ASO 482

低钙血症 hypocalcemia 396

低密度脂蛋白 low density lipoprotein,LDL 165,167,

168

低密度脂蛋白-胆固醇 low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C 218

低血糖 hypoglycemia 118

迪谢内肌营养不良 Duchenne muscular dystrophy,DMD

479

底物水平磷酸化 substrate-level phosphorylation 92

底物循环 substrate cycle 112

第二信使 second messenger 330

碘 iodine 400

碘甲腺原氨酸脱碘酶 iodothyronine deiodinase 400 电喷雾串联质谱 electrospray ionization,ESI 498

电泳 electrophoresis 450

电泳迁移率变动分析 electrophoretic mobility shift assay,

EMSA 454

电子传递链 electron transfer chain 123

电子克隆 in silico cloning 477

淀粉 starch 90

定量PCR quantitative PCR,qPCR 444

定位克隆 positional cloning 503

定向克隆 directed cloning 433

定向排列 orientation arrangement 61

动脉粥样硬化 atherosclerosis 146

端粒 telomere 42

端粒酶 RNA human telomerase RNA,hTR 245

端粒酶 telomerase 22,245

端粒酶逆转录酶 human telomerase reverse transcriptase,

hTRT 245

断裂和聚腺苷酸化特异性因子 cleavage and polyadenyla- tion specificity factor 276

断裂基因 split gene 224 kkyx2018 0kkyx2018

多胺 polyamine 187

多巴胺 dopamine 192

多不饱和脂肪酸 polyunsaturated fatty acid 140,156

多功能酶 multifunctional enzyme 55

多基因家族 multigene family 230

多聚核糖体 polyribosome或 polysome 295

多聚腺苷结合蛋白质 poly adenine binding protein,PABP 283

多聚腺苷酸结合蛋白Ⅱ [poly(A)binding protein Ⅱ

276

多聚腺苷酸聚合酶 [poly(A)polymerase,PAP] 276 多聚腺苷酸尾或多聚(A) 尾 [poly(A)-tail] 45

多克隆酶切位点 multiple cloning sites,MCS 430

多酶复合物 multienzyme complex 55

多耐药相关蛋白2 multidrug resistance-like protein 2,

MRP2 375

多顺反子 polycistron 309

多肽 polypeptide 11

多元醇途径 polyol pathway 116

E

鹅脱氧胆酸 chenodeoxycholic acid 368

**中英文名词对照索引** **529**

儿茶酚-O-甲 基 转 移 酶 catechol-O-methylransferase,

COMT 366

儿茶酚胺 catecholamine 192

二倍体 diploid 228

二级结构 secondary structure 36

二甲基丙烯焦磷酸 3,3-dimethylallyl pyrophosphate,DPP

162

二氢鞘氨醇 dihydrosphingosine 142

二氢叶酸还原酶 dihydrofolate reductase 188

二肽酶 dipeptidase 174

F

发夹 hairpin 46

翻译 translation 287

翻译后加工 post-translational processing 296

翻译起始复合物 translation initiation complex 292

钒 vanadium 402

反竞争性抑制作用 uncompetitive inhibition 70

反馈抑制 feedback inhibition 213

反密码子 anticodon 47

反密码子环 anticodon loop 47

反式构象 trans conformation 33

反式作用因子 trans-acting factor 271,307

反向点杂交 reverse dot blot,RDB 482

反向平行 anti-parallel 37

反向重复序列 inverted repeat sequence 229

反义RNA antisense RNA 268,313

反义控制 antisense control 313

反应活性氧类 reactive oxygen species,ROS 137

泛醌 ubiquinone 121

泛素 ubiquitin 176

泛素化 ubiquitination 176

泛素链 ubiquitin chain 176

泛酸 pantothenic acid 387

范科尼贫血 Fanconi anemia 261

飞行时间 time of flight,TOF 498

非必需氨基酸 non-essential amino acid 172

非必需激活剂 non-essential activator 71

非编码RNA non-coding RNA,ncRNA 43,230,322 非编码小RNA small non-coding RNA,sncRNA 49 非蛋白质氮 non-protein nitrogen,NPN 348

非竞争性抑制作用 non-competitive inhibition 69

非同源末端连接重组修复 non-homologous end joining re-

combination repair 257

非正常停滞引起的mRNA 降解 no-go decay,NCD降解

285

肥胖 obesity 146

分化加工 differential RNA processing 279

分解(代谢)物基因激活蛋白 catabolite gene activator pro- tein,CAP 309

分解代谢阻遏 catabolic repression 311

分支酶 branching enzyme 107

分子伴侣 molecular chaperone 19,296

分子标志 molecular marker 492

分子病 molecular disease 27

分子医学 molecular medicine 503

分子诊断 molecular diagnosis 479

酚类 phenol 174

粪卟啉原Ⅲ coproporphyrinogenⅢ,CPGⅢ 352

粪胆素 stercobilin,l-urobilin 375

粪胆素原 stercobilinogen,l-urobilinogen 375

氟 fluorine 401

辅基 prosthetic group 55

辅激活因子 co-activator 271,315

辅酶A coenzyme A,CoA 387

辅酶 coenzyme 55

辅酶Q coenzyme Q,CoQ或 Q 121

辅抑制因子 co-repressor 315

C@kkyx2018

**2kkyx2018**

辅因子 cofactor 55

辅脂酶 colipase 146

辅阻遏物 co-repressor 73

腐胺 putrescine 187

腐败作用 putrefaction 174

负超螺旋 negative supercoil 40

负性调节 negative regulation 309

“负氧债” oxygen debt repayment 220

复合糖类 complex carbohydrate 78

复性 renaturation 30,53

复制 replication 232

复制叉 replication fork 233

复制基因 replicator 246

复制酶 replicase 236

复制因子 replication factor,RF 243

复制子 replicon 234

富含脯氨酸结构域 proline-rich domain 320

富含谷氨酰胺结构域 glutamine-rich domain 320

G

钙 calcium 394

钙调蛋白 calmodulin,CaM 331

**530** 中英文名词对照索引

钙连蛋白 calnexin 81

钙网蛋白 calreticulin 81

干扰小RNA small interfering RNA,siRNA 49,324

甘氨胆酸 glycocholic acid 368

甘氨鹅脱氧胆酸 glycochenodeoxycholic acid 368

甘氨酰胺核苷酸 glycinamide ribonucleotide,GAR 198

甘露糖 mannose,Man 78

甘油 glycerol 146

甘油二酯 diacylglycerol 140

甘油激酶 glycerokinase 148

甘油磷脂 glycerophospholipids 140

甘油醛-3-磷酸脱氢酶 glyceraldehyde 3-phosphate dehy- drogenase,GAPDH 215

甘油三酯 triglyceride 140,152,166

甘油糖脂 glyceroglycolipid 85

甘油一酯 monoacylglycerol 140

甘油一酯脂肪酶 monoacylglycerol lipase,MGL 147

肝胆汁 hepatic bile 368

肝后性黄疸 posthepatic jaundice 378

肝前性黄疸 prehepatic jaundice 377

肝素 heparin 82

肝细胞性黄疸 hepatocellular jaundice 378

肝原性黄疸 hepatic jaundice 378

肝脂肪酶 hepatic lipase,HL 168

感染 infection 434

感受态细胞 competent cells 433

冈崎片段 Okazaki fragment 234

高胆红素血症 hyperbilirubinemia 377

高度重复序列 highly repetitive sequence 229

高密度脂蛋白 high density lipoprotein,HDL 165,166,

168,169

高密度脂蛋白胆固醇 high-density lipoprotein cholesterol,

HDL-C 218

高内涵 high-content 503

高铁血红蛋白 methemoglobin,MHb 356

高血氨症 hyperammonemia 186

高血钙症 hypercalcemia 396

高血糖 hyperglycemia 118

高血压 hypertension 146

高脂血症 hyperlipidemia 146,170

割裂基因 interrupted gene 224

个性化医学 personalized medicine 503

铬 chromium 401

功能蛋白质组学 functional proteomics 497

功能基因组学 functional genomics 492

功能克隆 functional cloning 472

功能糖组学 functional glycomics 501

共济失调-毛细血管扩张症 ataxia telangiectasia,AT

260

共价修饰 covalent modifcation of enzymes 71

共有序列 consensus sequence 225

佝偻病 rickets 383

谷丙转氨酶 glutamic-pyruvic transaminase,GPT 178

谷草转氨酶 glutamic-oxaloacetic transaminase,GOT 178

谷氨酸脱氢酶 glutamate dehydrogenase 398

谷氨酰胺合成酶 glutamine synthetase 182

谷氨酰胺酶 glutaminase 182

谷胱甘肽 glutathione,GSH 12,106

谷胱甘肽S-转移酶 glutathione S-transferase,GST 366

谷胱甘肽过氧化物酶 glutathione peroxidase,GPx 400

骨钙蛋白 osteocalcin 384

骨架 backbone 37

骨质疏松症 osteoporosis 383,396

钴 cobalt 401

钴胺素 cobalamin 390

固醇载体蛋白 sterol carrier protein,SCP 162

瓜氨酸 citrulline 9,183

寡核苷酸 oligonucleotide 35

kkyx2018

kkyx2018

寡聚酶 oligomeric enzyme 55

寡肽酶 oligopeptidase 174

冠状动脉疾病 coronary artery diseases,CAD 504

管家基因 house-keeping gene 270,306

硅 silicon 402

果糖-2,6-二磷酸 fructose-2,6-bisphosphate,F-2,6-BP

93

果糖二磷酸酶-2 fructose bisphosphatase-2,FBP-2 94

过渡态 transition state 60

过氧化酶体 peroxisomes 149

H

含硒蛋白质 selenoprotein 400

核不均一RNA heterogeneous nuclear RNA,hnRNA 44,

275

核磁共振 nuclear magnetic resonance,NMR 453,500 核定位序列 nuclear localization sequence,NLS 301 核苷 nucleoside 33

核苷酸 nucleotide 32,33

核苷酸还原酶 ribonucleotide reductase 201

核苷酸切除修复 nucleotide excision repair,NER 254

核黄疸 kernicterus 374

**中英文名词对照索引** **531**

核黄素 riboflavin 385

核酶 ribozyme 49,294

核仁小RNA small nucleolar RNA,snoRNA 49,281

核仁小核糖核蛋白 small nucleolar ribonucleoprotein,sn-

oRNP 281

核仁组织区 nucleolus organizer region 230

核输入因子 nuclear importin 301

核酸 nucleic acid 32

核糖 ribose 33

核糖核蛋白颗粒 ribonucleoprotein particle,RNP 322

核糖核苷酸 ribonucleotide 32

核糖核酸 ribonucleic acid,RNA 32

核糖体 ribosome 48

核糖体RNA ribosomal RNA,rRNA 43,47

核糖体蛋白 ribosomal protein 48

核糖体延伸介导的降解 ribosome extension-mediated de- cay 285

核小RNA small nuclear RNA,snRNA 49,268

核小核糖核蛋白 small nuclear ribonucleoprotein,snRNP

278

核小体 nucleosome 41,243,273

核心颗粒 core particle,CP 41,176

核心启动子 core promoter 226,270

核心区 core particle 315

黑色素 melanin 192

黑色素结石 black pigment stone 369

亨廷顿病 huntington disease 29,249

后随链 lagging strand 234

呼吸链 respiratory chain 123

琥珀酸 succinic acid 99

琥珀酸脱氢酶 succinate dehydrogenase 99

琥珀酰CoA succinyl CoA 98,150

琥珀酰CoA 合成酶 succinyl CoA synthetase 99

琥珀酰CoA 转硫酶 succinyl CoA thiophorase 151 互补碱基对 complementary base pair 37

互补链 complementary strand 37

化学降解测序 chemical degradation sequencing 446

化学渗透假说 chemiosmotic hypothesis 128

坏血病 scurvy 392

还原 reduction 361

环八肽 cyclic octapeptide 268

环状 RNA circular RNA,circRNA 49

黄疸 jaundice 377

黄嘌呤氧化酶 x anthine oxidase 203

黄素单核苷酸 flavin mononucleotide,FMN 385

黄素蛋白 flavoprotein 121

黄素腺嘌呤二核苷酸 flavin adenine dinucleotide,FAD

385

回文序列 palindrome 429

混合功能氧化酶 mixed function oxidase 137

活化能 activation energy 60

活性染色质 active chromatin 314

活性氧 reactive oxygen species,ROS 250

J

肌醇 inositol 157

肌醇磷脂 phosphatidyl inositol 159

肌醇三磷酸 inositol triphosphate,IP₃ 145

肌酐 creatinine 191

肌红蛋白 myoglobin,Mb 27

肌强直性营养不良 myotonic dystrophy 249

肌酸 creatine 190

肌酸激酶 creatine kinase,CK 58,190

肌营养不良症 muscular dystrophy 26

基本(或组成性)基因表达 constitutive gene expression

306

基本转录因子 basal transcription factor 271

基因 gene 43,224,492

的 kkyx2018

**晒kkyx2018**

基因表达 gene expression 224,305

基因表达调控 regulation of gene expression 306

基因表达模式 gene expression pattern 306

基因表达谱 gene expression profile 306

基因表达系列分析 serial analysis of gene expression,

SAGE 496

基因捕获 gene trapping 469

基因超家族 superfamily gene 230

基因沉默 gene silencing 486

基因打靶 gene targeting 467

基因递送 gene delivery 489

基因定位 gene location 475

基因干预 gene interference 486

基因间隔 gene spacer 281

基因矫正 gene correction 486

基因扩增 gene amplification 407

基因密度 gene density 231

基因敲除 gene knock-out 438,468

基因敲入 gene knock-in 467

基因失活 gene inactivation 486

基因添加 gene augmentation 486

基因芯片 gene chip 448

532 中英文名词对照索引

基因诊断 gene diagnosis 479

基因治疗 gene therapy 479

基因置换 gene replacement 486

基因重组 gene recombination 247

基因组 genome 43,224,492

基因组编辑 genome editing 427,466

基因组构 gene organization 224

基因组维护基因 genome maintenance gene 405 基因组学 genomics 492

基因组组装 genome assembly 493

基质辅助激光解吸附离子化 matrix-assisted laser desorp- tion ionization,MALDI 498

激活蛋白 activator 309

激活剂 activator 71

激素反应元件 hormone response element,HRE 215

激素敏感性甘油三酯脂肪酶 hormone-sensitive triglycer- ide lipase,HSL 147

激素敏感性脂肪酶 hormone sensitive lipase,HSL 147 极 低 密 度 脂 蛋 白 very low density lipoprotein,VLDL

152,165,167

急性期蛋白 acute phase protein,APP 349

急性期反应物 acute phase reactant,APR 350

己糖激酶 hexokinase 91

加帽酶 capping enzyme 275

甲基化 methylation 189

甲基转移酶 methyltransferase 189,275

甲硫氨酸循环 methionine cycle 189

甲羟戊酸 mevalonic acid,MVA 162

甲胎蛋白 α-fetoprotein,α-AFP 306,360

甲酰胺基咪唑-4-甲酰胺核苷酸 N-formylaminoimidazole- 4-carboxamide ribonucleotide,FAICAR 199

甲酰甘氨脒核苷酸 formylglycinamidine ribonucleotide,

FGAM 198

甲酰甘氨酰胺核苷酸 formylglycinamide ribonucleotide,

FGAR 198

甲状旁腺激素 parathyroid hormone,PTH 396

假基因 pseudogene 230

假尿嘧啶核苷 pseudouridine,业 46

假神经递质 false neurotransmitter 175,360

间接胆红素 indirect bilirubin 374

间接体内疗法 ex vivo 489

剪接 splicing 224,274

剪接分支点 branch point 277

剪接接口 splicing junction 277

剪接体 spliceosome 22,278

剪切 cleavage 278

简并性 degeneracy 288

碱基 base 32

碱基堆积力 base stacking force 37

碱基切除修复 base excision repair,BER 254

碱基序列 base sequence 35

碱性亮氨酸拉链 basic leucine zipper,bZIP 320

碱性磷酸酶 alkaline phosphatase 398

碱性螺旋-环-螺旋 basic helix-loop-helix,bHLH 320

降钙素 calcitonin,CT 279,396

降钙素-基因相关肽 calcitonin-gene related peptide,CGRP

279

焦磷酸法尼酯 farnesyl pyrophosphate,FPP 162 焦磷酸硫胺素 thiamine pyrophosphate,TPP 384 脚气病 beriberi 385

酵母人工染色体 yeast artificial chromosome,YAC 493

酵母双杂交技术 yeast two-hybrid system 453

阶段特异性 stage specificity 306

接受体 acceptor 169

结构蛋白质组学 structural proteomics 497

结构基因组学 structural genomics 492

结构模体 structural motif 16

结构糖组学 structural glycomics 501

**(kkyx2018**

kkyx2018

结构域 domain 18,155

结构域M domain M 159

结构域P domain P 159

结合胆红素 conjugated bilirubin 374

结合胆汁酸 conjugated bile acid 368

结合反应 conjugation 361

结合能 binding energy 60

解毒作用 detoxification 361

解链曲线 melting curve 52

解链温度 melting temperature,T。 52

解偶联蛋白1 uncoupling protein 1,UCP1 133

解偶联剂 uncoupler 133

解旋酶 helicase 238,273

金属激活酶 metal activated enzyme 56

金属硫蛋白 metallothionein 398

金属酶 metalloenzyme 56,398

近端启动子元件 proximal promoter elements 270

茎环 stem-loop 46

精氨酸代琥珀酸 argininosuccinate 9

精氨酸代琥珀酸合成酶 argininosuccinate synthetase

184

精氨酸酶 arginase 183

中英文名词对照索引 **533**

精胺 spermine 187

精准医学 precision medicine 505

竞争性抑制作用 competitive inhibition 68

巨球蛋白 macroglobulin 23

巨幼细胞贫血 megaloblastic anemia 390

聚合酶链反应 polymerase chain reaction,PCR 442

聚合酶转换 polymerase switching 237

聚糖 glycan 78

聚腺苷酸化 polyadenylation 276

绝对特异性 absolute specificity 59

绝缘子 insulator 227

K

开放转录复合体 open transcription complex 265

抗生素 antibiotic 302

抗生物素蛋白 avidin 388

可变剪接 alternative splicing 279

可变数目串联重复序列 variable number of tandem re- peat,VNTR 493

可读框 open reading frame,ORF 45,494

可诱导基因 inducible gene 306

可诱导因子 inducible factor 319

可阻遏基因 repressible gene 307

克隆载体 cloning vector 430

克隆重叠群图 clone contig map 493

空间特异性 spatial specificity 306

扩增 amplification 308

L

|  |  |
| --- | --- |
| 酪氨酸酶 tyrosinase 192 |  |
| 酪氨酸羟化酶 tyrosine hydroxylase | 192 |
| 酪蛋白 casein 173 |  |
| 类固醇 steroid 142,382 |  |
| 类核 nucleoid 40 |  |
| 冷冻电镜 cryo-electron microscopy | 453 |
| 厘摩尔根 centi-Morgan,cM 492 |  |
| 利福平 rifampicin 241,264 |  |
| 连锁分析 linkage analysis 475 |  |
| 连锁图谱 linkage map 492 |  |

|  |  |
| --- | --- |
| 镰状细胞贫血 sickle-cell anemia 26 |  |
| 链间交联 DNA interstrand cross-linking | 252 |
| 链终止 chain-termination method 446 |  |
| 亮氨酸拉链 leucine zipper 18 |  |
| 裂口PCR gap-PCR 481 |  |

邻近效应 proximity effect 61

磷 phosphorus 394

磷酸胆碱 phosphocholine 158

磷酸二酯键 phosphodiester bond 35

磷酸二酯酶 phosphodiesterase,PDE 331

磷酸果糖激酶-1 phosphofructokinase-1,PFK-1 92

磷酸果糖激酶-2 phosphofructokinase-2,PFK-2 94

磷酸核糖-1'-焦磷酸 5'-phosphoribosyl -1'-pyrophosphate,

PRPP 198

磷酸化结构域 phosphorylation domain 159

磷酸肌酸 creatine phosphate,CP 132,190

磷酸酶 phosphatase 214

磷酸戊糖途径 pentose phosphate pathway 104,153 磷酸烯醇式丙酮酸 phosphoenolpyruvate,PEP 92

磷脂 phospholipids 140

磷脂交换蛋白 phospholipid exchange protein 160

磷脂酶A₂ phospholipase A₂,PLA₂ 146

磷脂酶 phospholipase 160

磷脂酰胆碱 phosphatidylcholine 145,158

磷脂酰肌醇-4,5-二磷酸 phosphatidylinositol 4,5-bisphos- phate,PIP₂ 145

磷脂酰肌醇 phosphatidylinositol 145,331

磷脂酰丝氨酸 phosphatidylserine 145

磷脂酰乙醇胺 phosphatidylethanolamine 145,158

磷脂转运蛋白 phospholipid transfer proteifr;PfP\* 169 201s

流产式起始 abortive initiation 265

流式细胞术 flow cytometry 464

硫胺素 thiamine 384

硫苷脂 sulfatide 85

硫激酶 thiokinase 220

硫酸基转移酶 sulfotransferase,SULT 365

硫酸角质素 keratan sulfate 82

硫酸类肝素 heparan sulfate 82

硫酸脑苷脂 cerebroside sulfate 85

硫酸皮肤素 dermatan sulfate 82

硫酸软骨素 chondroitin sulfate 82

硫氧还蛋白 thioredoxin 201

硫氧还蛋白还原酶 thioredoxin reductase,Trx 201,400

硫酯酶 thioesterase,TE 155

卵磷脂 lecithin 145

卵磷脂：胆固醇脂肪酰基转移酶 lecithin:cholesterol acyl transferase,LCAT 169

螺线管 solenoidal 41

螺旋-环-螺旋 helix-loop-helix 18

M

麦角钙化醇 ergocalciferol 382

**534** 中英文名词对照索引

麦角固醇 ergosterol 142

毛发低硫营养不良 trichothiodystrophy,TTD 261

锚定酶 anchoring enzyme,AE 496

帽结合蛋白 cap binding protein,CBP 44

帽结合蛋白质复合体 cap-binding complex of protein

275

酶促反应动力学 kinetics of enzyme-catalyzed reactions

63

酶蛋白 apoenzyme 55

酶的化学修饰 chemical modification 71

酶的活性部位 active site of enzymes 56

酶的活性中心 active center of enzymes 56

酶的特异性 enzyme specificity 59

酶的转换数 turnover number 65

酶联免疫吸附测定 enzyme-linked immunosorbent assays,

ELISA 76

酶学 enzymology 55

酶原 zymogen或 proenzyme 72

锰 manganese 399

米氏方程 Michaelis equation 63

密码子 codon 287

嘧啶 pyrimidine 32

免疫球蛋白 immunoglobulin,Ig 22

免疫印迹 immunoblotting 441

灭 活 inactivation 361

模板链 template strand 262

模体 motif 159,169

膜结合结构域 membrane-binding domain 159

母本效应基因 maternal effect gene 307

钼 molybdenum 403

OCT 184

鸟氨酸脱羧酶 ornithine decarboxylase 187

鸟氨酸循环 ornithine cycle 183

鸟苷酸环化酶 guanylate cyclase,GC 330

鸟苷酸结合蛋白 guanine nucleotide-binding protein,C protein 333

鸟嘌呤 guanine 32

鸟枪法 shotgun 498

鸟枪法测序 shotgun sequencing 493

尿卟啉原 I UPGI 352

尿卟啉原Ⅲ UPGⅢ 352

尿卟啉原I 同合酶 UPG Icosynthase 351

尿苷二磷酸葡糖 UDPG 365

尿苷二磷酸葡糖醛酸 uridine diphosphate glucuronic acid, UDPGA 116,365

尿苷二磷酸葡萄糖 UDPG 107,116

尿黑酸尿症 alkaptonuria 192

尿嘧啶 uracil 32

尿嘧啶核苷酸 uridine monophosphate,UMP 204

尿素循环 urea cycle 183

尿酸 uric acid 203

镍 nickel 403

柠檬酸 citric acid 98

**Ckkyx2018** kkyx2018

柠檬酸-丙酮酸循环 citrate pyruvate cycle 153

柠檬酸合酶 citrate synthase 98

柠檬酸循环 citric acid cycle 98

凝胶过滤 gel filtration 451

凝胶迁移变动分析 gel shift assay 454

牛磺胆酸 taurocholic acid 368

牛磺鹅脱氧胆酸 taurochenodeoxycholic acid 368

N

脑苷脂 cerebroside 84

脑卒中 stroke 158

内参照 internal control 215

内含子 intron 45.225

内切酶 endonuclease 196

内肽酶 endopeptidase 173

逆转录PCR reverse transcription PCR,RT-PCR 443

逆转录 reverse transcription 247

逆转录病毒 retrovirus 247

逆转录酶 reverse transcriptase 247

黏结蛋白聚糖 syndecan 83

鸟氨酸 ornithine 9,183

鸟氨酸氨基甲酰转移酶 ornithine carbamoyl transferase,

O

偶氮还原酶 azoreductase 364

P

帕金森病 Parkinson disease 192

排出位 exit site 48,289

旁侧序列 flanking sequence 225

配体 ligand 328

配体蛋白 ligandin 374

嘌呤 purine 32

平均需要量 estimated average requirement,EAR 382

苹果酸脱氢酶 malate dehydrogenase 99

葡糖-6-磷酸 glucose-6-phosphate,G-6-P 91

葡糖-6-磷酸酶 glucose-6-phosphatase 108



葡糖-6-磷酸脱氢酶 glucose-6-phosphate dehydrogenase

104

葡糖激酶 glucokinase 91

葡糖醛酸胆红素 bilirubin glucuronide 374

葡糖转运蛋白 glucose transporter,GLUT 90

葡萄糖 glucose,Gle 78,90

葡萄糖耐量因子 glucose tolerance factor,GTF 402 普通酸-碱催化作用 general acid-base catalysis 62

Q

气-液色谱法 gas-liquid chromatography 145

启动子 promoter 224,264

启动子解脱 promoter escape 266

启动子清除 promoter clearance 266

启动子上游元件 upstream promoter elements 270

启动子校对 promoter proofreading 265

起始密码子 initiation codon 287

起始因子 initiation factor 290

起始元件 initiator element,Inr 227,317

起始子 initiator 270

前病毒 provirus 247

前导链 leading strand 234

前复制复合物 pre-replicative complex,pre-RC 246

前列环素 prostacyclin 143

前列腺素 prostaglandin 143

前列腺酸 prostanoic acid 143

前清蛋白 prealbumin,PAB 351

前β-脂蛋白 pre- β-lipoprotein 164

羟基磷灰石 hydroxyapatite 394

羟基甲基戊二酸单酰 CoA 3-hydroxy-3-methylglutaryl

CoA,HMG-CoA 151,162

羟基甲基戊二酸单酰CoA 合 酶 3 -hydroxy-3-methylglutar- yl CoA synthase,HMG-CoA synthase 162

鞘氨醇 sphingosine 142

鞘磷脂 sphingophospholipid 142

鞘糖脂 glycosphingolipid 84,142

清蛋白 albumin 349,374

清道夫受体 scavenger receptor,SR 169

球蛋白 globulin 349

去饱和酶 desaturase 156

去甲肾上腺素 norepinephrine 192

全反式视黄酸 all-trans retinoic acid,ATRA 381

全基因组关联研究 genome-wide association study,GWAS

476

全景式表达谱 global expression profile 496

**中英文名词对照索引** **535**

全景式蛋白质表达谱 global protein expression profile

497

全 酶 holoenzyme 55,264

全外显子测序 whole exon sequencing 477

醛脱氢酶 aldehyde dehydrogenase,ALDH 363

缺铁性贫血 iron deficiency anemia 398

R

染色体 chromosome 41,492

染色体原位杂交 chromosome in situ hybridization 475

染色质 chromatin 41

染色质免疫沉淀技术 chromatin immunoprecipitation as- say,ChIP 455

热激蛋白70 heat shock protein 70,Hsp70 296

热激蛋白 heat shock proteins,HSP 264

人类基因组计划 human genome project,HGP 492

冗余基因 redundant gene 281

溶酶体 lysosome 215

溶血磷脂 lysophosphatide 146

溶血性黄疸 hemolytic jaundice 377

肉碱 carnitine 148

肉碱-脂酰肉碱转位酶 carnitine-acylcarnitine translocase

148

**kkyx2018**

@kkyx2018

肉碱脂酰转移酶I carnitine acyl transferaseI 148

乳糜微粒 chylomicron,CM 146,164,166

乳清酸 orotic acid,OA 204

乳清酸核苷酸 orotidine-5'-monophosphate,OMP 204

乳酸发酵 lactic acid fermentation 91

乳酸脱氢酶 lactate dehydrogenase,LDH 92,398

乳糖操纵子 lac operon 309

软骨病 osteomalacia 383

软脂酸 palmitic acid 153

朊病毒蛋白 prion protein,PrP 29

S

三链结构 triplex 40

三羧酸循环 tricarboxylic acid cycle,TCA cycle 98

三烯生育酚 tocotrienol 383

三脂肪酰基甘油 triacylglycerol 140

色氨酸操纵子 trp operon 312

色氨酸加氧酶 tryptophan oxygenase 193

鲨烯 squalene 162

鲨烯合酶 squalene synthase 162

上游激活序列 upstream activator sequence,UAS 317 上游启动子元件 upstream promoter element,UPE 226

**536** **中英文名词对照索引**

上游因子 upstream factor 271,319

神经节苷脂 ganglioside 85

神经鞘磷脂 sphingomyelin 160

神经鞘磷脂酶 sphingomyelinase 161

神经肽 neuropeptide 12

神经酰胺 ceramide 142

肾上腺素 adrenaline或 epinephrine 117

生长因子 growth factor 408

生糖氨基酸 glucogenic amino acid 180

生糖兼生酮氨基酸 glucogenic and ketogenic amino acid

180

生酮氨基酸 ketogenic amino acid 180

生物胞素 biocytin 387

生物催化剂 biocatalyst 55

生物大分子 biomacromolecule 8

生物素 biotin 387

生物氧化 biological oxidation 120

生物转化 biotransformation 106,361

生育酚 tocopherol 383

石胆酸 lithocholic acid 368

时间特异性 temporal specificity 305

实时PCR real-time PCR 444

饰胶蛋白聚糖 decorin 83

视黄醇 retinol 380

视黄醛 retinal 381

视黄酸 retinoic acid 381

视网膜母细胞瘤 retinoblastoma 412

适宜摄入量 adequate intake,AI 383

释放因子 release factor 290

噬菌体展示 phage display 465

受体 receptor 215,328

受体酪氨酸激酶 receptor tyrosine kinase,RTK 332

衰减子 attenuator 313

双核中心 binuclear center 125

双链RNA double-stranded RNA,dsRNA 323

双螺旋结构 the double helix structure 36

双氢尿嘧啶 dihydrouracil,DHU 46

双缩脲反应 biuret reaction 31

双脱氧测序 dideoxy sequencing 446

双向复制 bidirectional replication 232

双向凝胶电泳 two-dimensional gel electrophoresis,2-DE

450

双向启动子 bidirectional promoter 269

双向转录基因对 bidirectional gene pairs 269

双性α-螺旋 amphipathic α helix 159,166

水解 hydrolysis 361

水溶性维生素 water-soluble vitamin 380

顺式调节元件 cis-regulator element,CRE 307

顺式作用元件 cis-acting element 226,270,307

丝氨酸 serine 157

丝氨酸磷脂 phosphatidyl serine 159

丝甘蛋白聚糖 serglycan 83

丝裂原激活的蛋白激酶 mitogen activated protein kinase,

MAPK 332

四氢叶酸 tetrahydrofolic acid,FH₄ 188

酸性激活结构域 acidic activation domai 320

髓磷脂 myelin 85

羧基末端结构域 carboxyl-terminal domain,CTD 269

羧肽酶A carboxyl peptidase A 173

羧肽酶B carboxyl peptidase B 173

T

弹性蛋白酶 elastase 173

调节部位 regulatory site 71

调节蛋白 regulatory protein 307

调节基因 regulatory gene 309

调节颗粒 regulatory particle,RP 176

调控区 regulatory region 224

②kkyx2018

调控性非编码RNA regulatory non-coding RNA 43 R@kkyx2018

调控序列 regulatory sequence 307

肽 peptide 11

肽单元 peptide unit 14

肽键 peptide bond 11

肽图 peptide map 452

肽酰位 peptidyl site 48,289

肽酰转移酶 peptidyl transferase 294

肽质量指纹图谱 peptide mass fingerprinting,PMF 498 肽转位复合物 peptide translocation complex 300

探针 probe 440

碳酸酐酶 carbonic anhydrase 398

糖胺聚糖 glycosaminoglycan,GAG 82

糖捕获 glyco-catch 501

糖蛋白 glycoprotein 78

糖的无氧氧化 anaerobic oxidation of glucose 91

糖的有氧氧化 aerobic oxidation of glucose 91

糖复合体 glycoconjugate 78

糖苷酶 glucosidase 364

糖化血红蛋白 glycated hemoglobin,GHB 118

糖基磷脂酰肌醇 glycosylphosphatidyl inositol,GPI 78

糖酵解 glycolysis 91

糖密码 sugar code 86

糖耐量试验 glucose tolerance test 118

糖尿病 diabetes mellitus 118

糖皮质激素 glucocorticoid 117

糖醛酸途径 glucuronate pathway 116

糖形 glycoform 78

糖异生 gluconeogenesis 111

糖原 glycogen 106

糖原分解 glycogenolysis 108

糖原合成 glycogenesis 106

糖原合酶 glycogen synthase 107

糖原磷酸化酶 glycogen phosphorylase 108

糖原贮积症 glycogen storage disease 111

糖脂 glycolipid 84

糖组 glycome 501

糖组学 glycomics 501

特异转录因子 special transcription factor 318

提前终止密码子 premature translational-termination co-

don,PTC 285

体内 in vivo 273

体外 in vitro 282

天冬氨酸氨基甲酰转移酶 aspartate transcarbamoylase

204

天冬酰胺酶 asparaginase 182

铁 iron 397

铁蛋白 ferritin 397

铁反应元件 iron response element,IR 322

铁硫蛋白 iron-sulfur protein 122

铁硫中心 iron-sulfur center,Fe-S center 122

铁中毒 iron poisoning 398

铁转运蛋白受体 transferrin receptor,TfR 322

停止转移序列 stop transfer sequence 301

通透酶 permease 310

通用转录因子 general transcription factor 271,318

同二聚体 homodimer 19

同工酶 isoenzyme或 isozyme 58

同切点酶 isoschizomer 430

同尾酶 isocaudarner 430

同型半胱氨酸 homocysteine 189

同源蛋白质 homologous protein 20

同源重组 homologous recombination 420

同源重组修复 homologous recombination repair 257

铜 copper 399

铜蓝蛋白 ceruloplasmin 399

酮尿 ketonuria 152

**中英文名词对照索引**

**537**

酮体 ketone bodies 150

酮症酸中毒 ketoacidosis 151

透明质酸 hyaluronic acid 82

退火 annealing 53

脱羧基作用 decarboxylation 186

脱羧酶 decarboxylase 186

脱铁蛋白 apoferritin 397

脱氧胆酸 deoxycholic acid 368

脱氧核苷 deoxynucleoside 33

脱氧核苷酸 deoxynucleotide 33

脱氧核糖核苷酸 deoxyribonucleotide 32

脱氧核糖核酸 deoxyribonucleic acid,DNA 32

脱支酶 debranching enzyme 108

唾液酸酶 neuraminidase 349

W

瓦伯格效应 Warburg effect 104

外切酶 exonuclease 196

外肽酶 exopeptidase 173

外显子 exon 45,225

外显子拼接复合体 exon-junction complex,EJC 285

弯曲弹性张力 curvature elastic stress 159

微 RNA microRNA,miRNA 49

kkyx2018

@kkyx2018

微粒体乙醇氧化系统 microsomal ethanol oxidizing sys-

tem,MEOS 363

微量元素 trace element,microelement 394

微阵列 microarray 496

维生素A vitamin A 380

维生素A 原 provitamin A 381

维生素D vitamin D 382

维生素D 结合蛋白 vitamin D binding protein,DBP 382

维生素E vitamin E 383

维生素K vitamin K 384

维生素 vitamin 380

卫星DNA satellite DNA 229

未结合胆红素 unconjugated bilirubin 374

位标酶 tagging enzyme,TE 496

位点特异性重组 site specifc recombination 422

胃蛋白酶 pepsin 173

胃蛋白酶原 pepsinogen 173

无嘌呤嘧啶位点 apurinic-apyrimidinic site,AP site 252 无义介导的mRNA 降解 nonsense-mediated mRNA decay,

NMD 285

无终止密码子引起的mRNA 降解 non-stop decay,NSD降

解 2 8 5

**538** **中英文名词对照索引**

物理图谱 physical map 492

物理作图 physical mapping 493

X

硒 selenium 400

硒代半胱氨酸 selenocysteine 400

硒蛋白P selenoprotein P,Se-P 400

烯酰 CoA 水化酶 enoyl CoA hydratase 149

烯脂酰-ACP 还原酶 enoyl-ACP reductase,ER 154

稀有碱基 rare base 46

锡 tin 403

系统生物学 systems biology 503

系统生物医学 systems biomedicine 503

细胞融合 cell fusion 475

细胞色素c cytochrome c,Cyt c 20,26

细胞色素 cytochrome,Cyt 122

细胞色素c 氧化酶 cytochrome c oxidase 125 细胞色素 P450 cytochrome P450,cyt P450 150

细胞色素P450 单加氧酶 cytochrome P450 monooxygen-

ase,CYP 136,362

细胞特异性 cell specifcity 306

细胞周期蛋白依赖性激酶 cyclin-dependent kinase,CDK

413

细菌人工染色体 bacterial artificial chromosome,BAC

493

细小微团 micelles 146

酰胺酶 amidase 364

酰基CoA: 氨基酸 N- 酰基转移酶 acyl-CoA:amino acid N- acyltransferase 366

酰基载体蛋白 acyl carrier protein,ACP 154,387

衔接蛋白 adaptor protein 334

显性黄疸 clinical jaundice 377

限制性酶切图 restriction map 493

限制性内切核酸酶 restriction endonuclease 196

限制性片段长度多态性 restriction fragment length poly- morphism,RFLP 482,492

线粒体DNA mitochondrial DNA,mtDNA 41,230

腺苷酸环化酶 adenylate cyclase,AC 330

腺苷酸激酶 adenylate kinase 132

腺苷转移酶 adenosyl transferase 189

腺嘌呤 adenine 32

腺嘌呤磷酸核糖转移酶 adenine phosphoribosyl transfer-

ase,APRT 200

相对特异性 relative specificity 59

硝基还原酶 nitroreductase 364

小沟 minor groove 37

小细胞低血色素性贫血 small cell low hemoglobin anemia

398

小亚基 small subunit 48

校对 proofreading 238

协同表达 coordinate expression 307

协同调节 coordinate regulation 307

心磷脂 cardiolipin 145,159

锌 zinc 398

锌指 zinc finger 18,319

信号识别颗粒 signal recognition particle,SRP 43,300

信号肽 signal peptide 298,300

信号肽酶 signal peptidase 300

信号序列 signal sequence 299

信号转导 signal transduction 327

信使RNA messenger RNA,mRNA 43

胸苷酸合酶 thymidylate synthase 205

胸腺嘧啶 thymine 32

熊脱氧胆酸 ursodeoxycholic acid 370

序列标签位点 sequence tagged site,STS 493

序列访问号 accession number 494

序列图谱 sequence map 492

序列子 sequon 79

**②kkyx2018**

选凝素 selectin 81 2kkyx2018

血管内皮生长因子 vascular endothelial growth factor,

VEGF 399

血红蛋白 hemoglobin,Hb 27,351,398

血红素 heme 19,351

血红素加氧酶 heme oxygenase,HO 372

血浆 plasma 348

血尿素氮 bloodurea nitrogen,BUN 348

血清 serum 348

血色素沉积症 hemochromatosis 398

血栓噁烷 thromboxane A₂,TXA₂ 144

血糖 blood sugar,blood glucose 116

血液 blood 348

Y

|  |  |
| --- | --- |
| 亚基 subunit 19 |  |
| 亚家族 subfamily 230 |  |
| 亚精胺 spermidine 187 |  |
| 亚铁螯合酶 ferrochelatase | 353 |
| 烟酸 nicotinic acid 386 |  |

烟酰胺 nicotinamide 386

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 nicotinamide adenine dinucleoti-

de,NAD\* 386

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 nicotinamide adenine dinu- cleotide phosphate,NADP\* 386

延长因子 elongation factor 290

岩藻糖 fucose,Fuc 78

盐析 salt precipitation 449

眼 干 燥 症 xerophthalmia 382

氧化 oxidation 361

氧化磷酸化 oxidative phosphorylation 128

氧化修饰LDL oxidized LDL,Ox-LDL 169

氧化应激 oxidative stress 373

药物基因组学 pharmacogenomics 504

药物遗传学检测 pharmacogenetic testing 485

叶绿醌 phylloquinone 384

叶酸 folic acid 389

液相色谱 liquid chromatography,LC 497

一级结构 primary structure 35

一碳单位 one carbon unit 187

一氧化氮 nitrogen monoxide,NO 331

一氧化氮合酶 nitric oxide synthase,NOS 194

依赖DNA 的DNA 聚合酶 DNA-dependent DNA polymer- ase,DNA pol 235

依赖RNA 的DNA 聚合酶 RNA-dependent DNA polymer-

ase 247

胰蛋白酶 trypsin 173

胰岛素 insulin 117,156

胰岛素抵抗 insulin resisitance 218

胰高血糖素 glucagon 117,156

胰凝乳蛋白酶 chymotrypsin 173

胰脂酶 pancreatic lipase 146

移码 frame shit 287

移码突变 frameshift mutation 287

遗传标志 genetic marker 492

遗传密码 genetic code 287

遗传图谱 genetic map 492

遗传性非息肉性结肠癌 hereditary non-polyposis colorectal cancer,HNPCC 260

遗传作图 genetic mapping 492

乙醇 ethanol 363

乙醇胺 ethanolamine 158

乙酰CoA acetyl CoA 96,152,153

乙 酰CoA-ACP 转酰基酶 acetyl-CoA-ACP transacylase,AT

154

乙酰CoA 羧化酶 acetyl CoA carboxylase 153

乙酰基转移酶 acetyltransferase 310,365

**中英文名词对照索引** **539**

乙酰乙酸 acetoacetate 150

乙酰乙酰CoA 硫解酶 acetoacetyl CoA thiolase 151

异丙基硫代半乳糖苷 isopropylthiogalactoside,IPTG 310

异二聚体 heterodimer 19

异构酶 isomerase 297

异柠檬酸脱氢酶 isocitrate dehydrogenase 98

异戊烯焦磷酸△³-isopentenyl pyrophosphate,IPP 162

异源物 xenobiotics 361

抑素 chalone 409

引发体 primosome 241

引物 primer 240

引物介导的限制性分析 PCR PCR-primer introduced re- striction analysis,PCR-PIRA 483

引物酶 primase 240

吲哚 indole 174

隐性黄疸 occult jaundice 377

应激 stress 217

荧光原位杂交 fluorescence in situ hybridization,FISH

481

荧光原位杂交图 fuorescent in siuu hybridization map,

FISH map 493

营养价值 nutrition value 172

游离胆固醇 free cholesterol,FC

161,169

**Dkkyx2018**

Ckkyx2018

游离胆汁酸 free bile acid 368

右手螺旋 right-handed helix 37

诱导 induction 306

诱导契合假说 induced-fit hypothesis 61

诱导作用 induction 73

预测医学 predictive medicine 503

预防医学 preventive medicine 503

原癌基因 proto-oncogene 405

原卟啉IX protoporphyrinIX 353

原位 PCR in situ PCR 443

原位杂交 in situ hybridization,ISH 441,481

圆二色光谱 circular dichroism,CD 453

运铁蛋白 transferrin,TRF 349,397

Z

|  |  |
| --- | --- |
| 杂合性丢失 loss of heterozygosity,LOH | 412 |
| 杂化双链 heteroduplex 53 |  |
| 杂交 hybridization 53 |  |
| 载体蛋白 carrier protein 174 |  |
| 载脂蛋白A apolipoprotein A 165 |  |

载脂蛋白 apolipoprotein,apo 146,166

载脂蛋白B apolipoprotein B 279

**540** 中英文名词对照索引

造血干细胞 hematopoietic stem cell,HSC 488

增强子 enhancer 224,270

增色效应 hyperchromic effect 52

增殖细胞核抗原 proliferation cell nuclear antigen,PCNA

243

真核起始因子 eukaryotic initiation factor,eIF 323

整合 integration 247

整合科学 integrative science 503

整合素 integrin 81

正超螺旋 positive supercoil 40

正性调节 positive regulation 309

正协同效应 positive cooperativity 28

正性转录延长因子 positive transcription elongation factor,

P-TEFb 273

支架蛋白 scaffold protein 334

脂蛋白(a) [lipoprotein(a),Lp(a)] 165

脂蛋白异常血症 dyslipoproteinemia 170

脂蛋白脂肪酶 lipoprotein lipase,LPL 167,168

脂肪动员 fat mobilization 147

脂肪酸 fatty acid 140,146

脂肪酸合酶复合体 fatty acid synthase complex 153

脂肪组织甘油三酯脂肪酶 adipose triglyceride lipase

147

脂溶性维生素 lipid-soluble vitamin 380

脂酰 CoA acyl CoA 146,152

脂酰-CoA: 胆固醇脂酰转移酶 acyl-CoA:cholesterol acyl- transferase,ACAT 162,169

脂酰CoA 合成酶 acyl-CoA synthetase 148

脂酰 CoA 脱氢酶 acyl CoA dehydrogenase 149 脂酰 CoA 转移酶 acyl CoA transferase 146

脂酰肉碱 acyl carnitine 148

脂质 lipid 140,146

脂组 lipidome 502

脂组学 lipidomics 502

直接胆红素 direct bilirubin 374

直接体内疗法 in vivo 489

酯酶 esterases 364

质谱 mass spectroscopy,MS 497

中胆素原 mesobilirubinogen,i-urobilinogen 375

中度重复序列 moderately repetitive sequence 229 中介子 mediator 271,319

中密度脂蛋白 intermediate density lipoprotein,IDL 165,168

中心法则 central dogma 262

终止密码子 termination codon 287

终止因子 termination factor 290

肿瘤病毒 tumor virus 406

肿瘤抑制基因 tumor suppressor gene 405,411

周期蛋白依赖性激酶9 cyclin-dependent kinase 9,CDK9 273

转氨基作用 transamination 177

转氨酶 transaminase 178

转氨脱氨作用 transdeamination 179

转化 transformation 433

转化医学 translational medicine 505

转化作用 transformation 426

转基因动物 transgenic animal 466

转基因技术 transgenic technology 466

转录 transcription 262

转录激活因子 transcription activator 319

转录激活结构域 activation domain 319

转录偶联修复 transcription-coupled repair 256

“转录泡” transcription bubble 266

转录起点 transcription start site 264

转录起始前复合物 preinitiation complex,PIC 270

转录衰减 transcription attenuation 312

转录图谱 transcription map 492

转录物组 transcriptome 495

**2kkyx2018** kkyx2018

转录物组学 transcriptomics 495

转录抑制因子 transcription inhibitor 319

转录因子 transcription factor,TF 271,318

转染 transfection 434

转位 translocation 294

转运 RNA transfer RNA,tRNA 43,45

转运蛋白 transporter 174

转座 transposition 424

转座重组 transpositional recombination 424

转座子 transposon,Tn 425

缀合酶 conjugated enzyme 55

着色性干皮病 xeroderma pigmentosum,XP 255

着丝粒 centromere 42

紫外线 ultraviolet,UV 250

自剪接 self-splicing 282

自身催化作用 autocatalysis 173

自 主 复 制 序 列 autonomous replication sequence,ARS

243

纵列串联基因 tandem gene 281

棕色素结石 brown pigment stone 369

阻遏 repression 307

阻遏蛋白 repressor 309

**中英文名词对照索引** **541**

阻遏作用 repression 73

阻塞性黄疸 obstructive jaundice 378

组胺 histamine 186

组成(型)酶 constitutive enzyme 215

组成性非编码RNA constitutive non-coding RNA 43

组蛋白 histone 41

组蛋白去乙酰化酶 histone deacetylase,HDAC 315

组蛋白乙酰基转移酶 histone acetyltransferase,HAT

315

组 I 型内含子 group I intron 282

组Ⅱ型内含子 group Ⅱ intron 282

组织蛋白酶 cathepsin 176

组织特异性 tissue specificity 306

最高摄入量 tolerable upper intake level,UL 383

最适pH optimum pH 67

最适温度 optimum temperature 66

左手双螺旋 left-handed helix 38

kkyx2018



的 kkyx2018 的 kkyx2018

Ckkyx2018 kkyx2018

国家卫生健康委员会“十三五”规划教材

全 国 高 等 学 校 教 材

供基础、临床、预防、口腔医学类专业用

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 1. 医用高等数学 | 第7版 | 28.眼科学 第 9 版 |  |
| 2. 医学物理学 | 第 9 版 | 29.耳鼻咽喉头颈外科学 第 9 版 |  |
| 3. 基础化学 | 第9版 | 30. 口腔科学 第 9 版 |  |
| 4. 有机化学 | 第9版 | 31.皮肤性病学 第 9 版 |  |
| 5. 医学生物学 | 第9版 | 32.核医学 第9版 |  |
| 6. 系统解剖学 | 第9版 | 33. 流行病学 第 9 版 |  |
| 7. 局部解剖学 | 第9版 | 34. 卫生学 第 9 版 |  |
| 8. 组织学与胚胎学 | 第9版 | 35.预防医学 第 7 版 |  |
| 9.生物化学与分子生物学 | 第9版 | 36.中医学 第 9 版 |  |
| 10. 生理学 | 第9版 | 37. 医学计算机应用 第 6 版 |  |
| 11. 医学微生物学 | 第9版 | 38.体 育 第 6 版 |  |
| 12.人体寄生虫学 | 第9版 | 39. 医学细胞生物学 第 6 版 |  |
| 13.医学免疫学 | 第7版 | 40. 医学遗传学 第 7 版 |  |
| 14.病理学 | 第9版 | 41.临床药理学 第 6 版 |  |
| 15.病理生理学 | 第9版 | 42.医学统计学 第 7 版 |  |
| 16.药理学 | 第9版 | 43.医学伦理学 第 5 版 |  |
| 17. 医学心理学 | 第7版 | 44. 临床流行病学与循证医学 第 5 版 |  |
| 18. 法医学 | 第7版 | 45.康复医学 第6版 |  |
| 19.诊断学 | 第9版 | 46. 医学文献检索与论文写作第5版 |  |
| 20.医学影像学 | 第 8 版 | 47.卫生法 第5版 |  |
| 21.内科学 | 第9版 | 48.医学导论 第5版 | 的 kkyx2018 |
| 22.外科学 | 第9版 | 49.全科医学概论 第5版 |  |
| 23.妇产科学 | 第 9 版 | 50.麻醉学 第 4 版 |  |
| 24.儿科学 | 第9版 | 51.急诊与灾难医学 第3版 |  |
| 25.神经病学 | 第8版 | 52.医患沟通 第2版 |  |
| 26.精神病学 | 第 8 版 | 53.肿瘤学概论 第2版 |  |
| 27.传染病学 | 第9版 |  |  |

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **扫描圆标二维码或登录jh.ipmph.com享受增值服务** | | | |
| 策划编辑董旭肖宛凝  责任编辑肖宛凝  数字编辑胡斌  整体设计郭淼单斯  郑阳 | **人卫智网**  www.ipmph.com  医学教育、学术、考试、健康， 购书智慧智能综合服务平台  **人卫官网**  www.pmph.com  人卫官方资讯发布平台 | 关注人卫健康  提升健康素养 | 定价：91.00元 |