

细胞信号系统研究进展

郭艳林 孙大业

(河北师范大学生物系, 石家庄 050016)

摘要 细胞信号系统是 80 年代以来生物学研究领域中最活跃的课题之一. 其主要研究对象是生物体对外界刺激做出反应时, 细胞内发生的一系列生理生化变化, 也即外界刺激信号在细胞内的传递过程. 文章简述了该研究领域近年来的新进展.

关键词 细胞信号传递, 胞内信使, cAMP, cGMP, Ca^{2+} , DG, IP_3 , 蛋白激酶

早在 50 年代, Sutherland 发现了 cAMP 在糖代谢中的重要作用, 并据此提出了第二信使学说而获得了 1971 年医学诺贝尔奖. 几乎在同一年代, Krebs 和 Fischer 阐明了蛋白质磷酸化在糖代谢中的调节作用, 建立了以 cAMP 为基础的第三信使系统. 二十多年来的研究结果表明, 这一调节机制普遍存在于细胞内其他信号传递系统而获得了 1993 年医学诺贝尔奖, 成为细胞信号系统研究史上的另一里程碑. 70 年代以来, 以 Ca^{2+} 和肌醇磷脂代谢为基础的信号系统相继建立. 最近, 新的细胞信号传递方式不断发现. 过去大家所熟悉的“第二信使学说”正在被含义更深、更广、更形象的“细胞信号传递”(signal transduction)这一用语所取代. 因篇幅所限, 本文只重点介绍最近在细胞信号传递模式上的一些新的提法. 有关细胞信号系统的基本概念和基本作用模式请参阅文献 [1] 和其它有关文献.

1 cAMP 信号系统

该细胞信号系统是最早建立、也是目前最完善的细胞信号传递模型, 二十几年来一直做为模式指导着其他信号传递系统的研究工作.

最近在该领域的研究成果, 大部分是通过由这一信号系统所调节的生理过程的深入了解所获得. 该系统所参与的生理过程极其广泛, 本文仅对最近所阐明的 cAMP 对转录调控机理做一简要讨论. 很早就知道, cAMP 信使系统参

与基因表达调节, 但对其机制并不清楚. 现在发现, 在很多情况下是在转录水平的调节. 如图 1 所示, cAMP 通过经典的方式激活 cAMP 依赖的蛋白激酶 (protein kinase, PKA) 而对某些特异的转录因子进行磷酸化, 这些因子再与被调节的基因特定部位结合, 从而调控基因的转录^[2]. 在这些转录因子中, 研究的最清楚的一种称为 CREB (cAMP response element binding protein). CREB 被磷酸化后与其被调

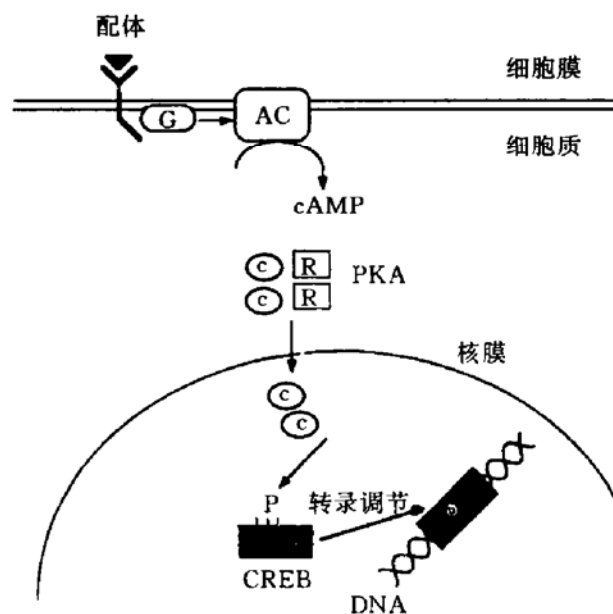


图 1 cAMP 信号系统对转录因子 CREB 活性调节

G: G 蛋白; AC: 腺苷酸环化酶; C, R: 分别为 PKA 催化亚基和调节亚基.

节的基因特定部位结合, 因为这些基因受 cAMP 调节, 与 CREB 结合的位置则称为 CRE (cAMP response element). 这一过程中与 cAMP 信号系统的其他情况相同, 但被激活的 PKA 催化亚基的作用部位不是在细胞质, 而是转移到细胞核中起作用 (图 1), 这是 cAMP 信号系统中的一种新的作用模式. 受 PKA 调节的转录因子还有 jun, fos, NFIL-6, ADR1 等^[3].

2 Ca^{2+} 信号系统

以细胞 Ca^{2+} 浓度变化为基础的 Ca^{2+} 信号系统, 所参与的生理过程非常广泛, 试用有限的篇幅概述这一领域的研究成果和现状是相当困难的. 国外刊物多以专题形式讨论, 如“ Ca^{2+} 与细胞有丝分裂”^[4]、“ Ca^{2+} 和 CaM 在细胞运动和行为中的调控作用”^[5]、“ Ca^{2+} 和 CaM 在细胞核中的功能”^[6]等等. 概括讲, 最近几年的研究成果主要反映在以下几个方面: a. 对 Ca^{2+} 所参与的生理过程更深入的研究. b. 对 Ca^{2+} 信号传递系统各组分的分离鉴定以及对其生化性质的研究, 包括用经典的生化方法和最近兴起的分子生物学手段. c. Ca^{2+} 信号与其他信号系统的相互作用. d. Ca^{2+} 信号系统中新的信号传递方式.

新技术的应用, 在细胞信号系统研究领域带来了革命性的变化. 其中两个典型的例子就是在细胞内自由 Ca^{2+} 的测定方法上; 一是理化法即 confocal microscopy 和 fluorescence imaging, 另一种方法是用基因重组手段使水母发光蛋白 (aquorin) 在细胞内表达, 不但避免了在人工导入时对细胞的伤害作用, 而且可以在整体水平上研究. 另外, 在动物细胞内已成功地在重组基因上加入特定的一段核苷酸序列 (targeting sequence), 使其在细胞内表达后转入特定的细胞器中 (targeting), 用这种方法测定了动物细胞核内 Ca^{2+} 的浓度^[7].

对 Ca^{2+} 结合蛋白的研究, 主要表现在两个方面. a. 对已发现的 Ca^{2+} 结合蛋白如 CaM 的理化特性和生理功能进行了更详细的研究. 如

用 X 射线衍射法和核磁共振法 (NMR) 在分子水平上对其结构以及与其靶分子的作用机制进行了非常精细的研究. 利用基因重组手段, 对生理功能方面的研究, 不但证实了从来自生化方面的推测, 而且发现了许多新的生理功能^[5]. b. 大量的 Ca^{2+} 结合蛋白相继发现, 据统计, 最近几年发现的具有 EF 手结构的 Ca^{2+} 结合蛋白就近 30 多种, 其中许多人类 Ca^{2+} 结合蛋白的基因已在染色体上定位^[8]. Ca^{2+} 结合蛋白的另一个家族 “Annexin” 的成员也在迅速增加^[9].

在细胞 Ca^{2+} 信号系统模型中, 通过 Ca^{2+} / CaM 的信号传递途径早已被阐明, 最近几年在这方面又有新的发展. 在 1987 年到 1988 年间发现, 许多化学物质如乙酰胆碱引起血管舒张时, 血管内皮细胞可以合成一种自由基气体氧化氮 (nitric oxide NO). 当时对其生理功能并不清楚, 最近发现它的作用与 Ca^{2+} , CaM 密切相关, 它做为信号分子与 Ca^{2+} / CaM 信号传递途径协调作用参与血管舒张、血小板凝集等过程. 现在也发现 NO 在许多其他类型的细胞内也存在, 如在脑细胞中, 可参与许多神经功能的调节^[10,11].

NO 是由 L-精氨酸氧化形成的. 催化该反应的酶称为 NO 合成酶 (NO synthase, NOS). 该酶有多种形式的同功酶, 主要分成两大类: 一类为持续表达型 (constitutive form), 另一类为诱导型 (inducible form) 前者的活性依赖 Ca^{2+} / CaM, 而后者的调节方式还不十分清楚^[12].

NO 作为信号分子所调节的生理过程在内皮细胞依赖的血管舒张 (endothelium-dependent vascular relaxation) 现象中研究的比较清楚. 这一过程可用下面简图说明 (图 2): 血管内皮细胞受化学物质如乙酰胆碱的刺激, 导致细胞膜上 Ca^{2+} 通道开放, 使胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 通过 CaM 使 NOS 激活产生 NO, 在血管平滑肌中, NO 的靶酶是鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase, GC), NO 与 GC 结合后被活化, 继而产生 cGMP 引起血管平滑肌收缩. NO 和其他信号分子一样具有迅速产生和灭活的特点. 其

灭活方式有几种途径: a. 在动脉血管中和氧和血红蛋白结合转化成 NO_3^- . b. 在静脉血管中与去氧血红蛋白结合而被除去. c. 在血管壁上被超氧化物氧化^[10].

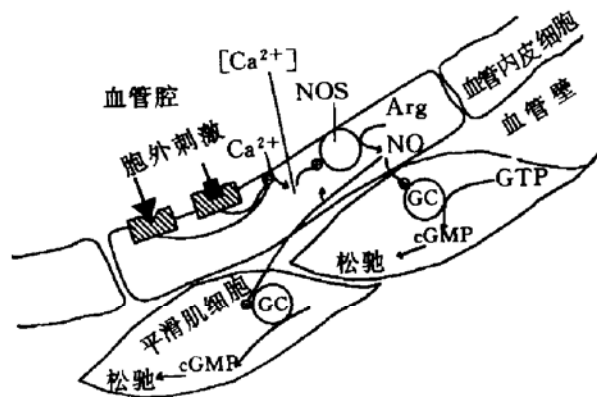


图2 通过内皮细胞调节的血管舒张过程中信号传递模式

与其他胞内信号分子不同, NO 为气体, 在细胞内和细胞间可以迅速扩散, 因此作用速度更快, 影响范围更大. 从以上讨论可见这一信号传递途径的特点是 Ca^{2+} 信号的“延伸”, 即作为 Ca^{2+} 信号的信号而引起相邻细胞内另一信号分子 cGMP 的产生, 最后导致一定生理效应, 在细胞信号系统中的确是一种非常新颖的方式. 细胞信号系统的级联效应 (signal cascade) 在这里表现的尤为突出.

3 肌醇磷脂信号系统

对于以质膜肌醇磷脂代谢为基础的细胞信号系统, 最近几年来的工作主要集中在对该信号系统模型进一步的修改和完善以及对其参与的生理过程的探讨.

过去认为质膜肌醇磷脂是产生二酰甘油 (diacylglycerol, DG) 唯一的来源. 现在发现其他膜磷脂特别是磷脂酰胆碱的水解也是产生 DG 的重要途径^[13]. 这些磷脂的水解产生 DG 往往发生在细胞反应的后期, 对蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的持续活化有重要意义. PKC 的持续激活, 往往参与细胞的长期生理过程, 如细胞的分裂与分化. PKC 的同功酶有十几种之多, 这些酶的共同特点是都依赖磷

脂酰丝氨酸, 但对 DG 的种类和结构以及 Ca^{2+} 浓度的要求, 则在不同的酶中有显著差异. 这些差异以及它们的组织特异性和在细胞内不同的分布, 可能在调节不同的生理过程中具有重要意义.

在过去的肌醇磷脂第二信使模型中, 一般认为磷脂酶 C (phospholipase C, PLC) 的激活是由与膜受体偶联的 G 蛋白 (G-protein) 介导的. PLC 被激活后水解 4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇 (4, 5-bisphosphate phosphatidylinositol, PIP_2) 产生 DG 和 IP_3 , 从而激活“双信使系统”. 早就发现 PLC 也具有多种形式的同功酶, 说明 PIP_2 或其他膜磷脂的水解可能有不同的途径. 受体酪氨酸蛋白激酶信号传递途径的发现证实了这一推测. 即 PLC_γ 型可被受体酪氨酸蛋白激酶在 Tyr 残基上磷酸化而激活, 产生 IP_3 和 DG 而启动双信使系统. 因此这是肌醇磷脂信号系统的另一种激活方式 (图 3). 与之有关的一种蛋白称为 profilin, 最初发现它是一种肌动蛋白 (actin) 结合蛋白, 参与肌动蛋白的聚合过程, 有趣的是, 在未受刺激的细胞中, 大量的 profilin 与质膜上 PIP_2 结合而形成一种“保护层”因而阻止了 PLC_γ 的作用. 细胞受刺激后, 被磷酸化的 PLC_γ 则可导致 profilin 与 PIP_2 解离, 并水解 PIP_2 产生 DG 和 IP_3 激活双信使系统^[14].

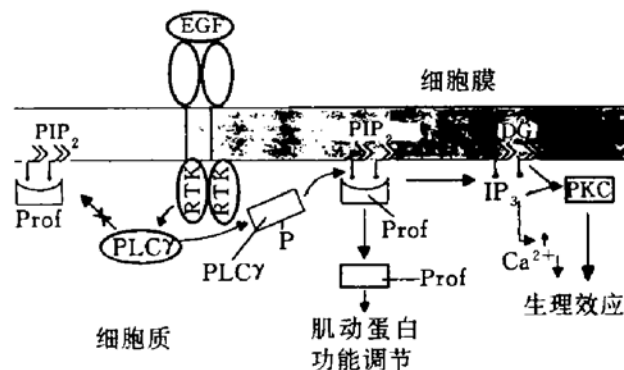


图3 RTK 激活肌醇磷脂信号系统模式

在对 IP_3 引起的细胞内 Ca^{2+} 动员, 由于对 IP_3 受体的结构了解已比较清楚, 对其引起 Ca^{2+} 释放的机理也逐渐清楚. 现在认为 IP_3 受

体本身就是内质网膜上的一种 Ca^{2+} 通道. 其结构与 Ryanodine 受体相似, 两者都是分子量很大的异四聚体, 而且在调节方式上也很相似, IP_3 受体两个不同基因已经克隆^[15]. 外界刺激引起细胞的 Ca^{2+} 动员是一个极其复杂的过程, 一般认为胞质中 Ca^{2+} 的来源有二; 一是 IP_3 引起胞内 ER 中 Ca^{2+} 的释放, 另一来源则是通过质膜上 Ca^{2+} 通道胞外 Ca^{2+} 的内流. 在多数情况下, 引起一定生理效应需要以上两种情况同时发生. 两种 Ca^{2+} 释放的时空关系, 一直是令人非常感兴趣, 但乃为一悬而未决的问题^[16]. 内质网上的 Ca^{2+} 通道 (IP_3 受体) 与质膜上 Ca^{2+} 通道在细胞 Ca^{2+} 动员时, 必然存在一种默契通讯方式, 而这种信号分子可能为一种在细胞膜与内质网膜之间扩散的因子, 对其本质仍在猜测阶段, 有些证据表明小分子量 G 蛋白 (small G-protein) 可能与之有关^[17,18].

4 受体酪氨酸蛋白激酶信号传递途径

这一细胞信号传递模型是最近五六年才建立起来的, 然而却是动物细胞信号系统研究中最活跃的领域. 动物细胞膜上的许多受体, 特别是生长因子如 PDEF, EGF 等本身就具有酪氨酸蛋白激酶活性, 因此把这类受体统称为受体酪氨酸蛋白激酶 (receptor tyrosine kinase, RTK). 它们的共同特点是整个分子分成三个结构区, 即胞外与配体结合区, 胞内具有激酶的活性区和连接这两个区域的跨膜部分^[19].

RTK 信号传递途径的激活起始于细胞外信号分子, 也即各种配体与 RTK 膜外部分的结合. 这种结合常常导致受体在膜上的聚合, 又称寡聚化 (oligomerization). 几乎所有 RTK 寡聚化后而发生自身的磷酸化 (autophosphorylation), 即 RTK 本身的 Tyr 的磷酸化. 过去认为这种现象是 RTK 活性调节的一种方式, 然而现在看来这种现象的意义远不止此, 最近对这一现象的研究结果授予该信号系统崭新的面貌. 在对蛋白激酶的研究中, 寻找其生理底物是一相当困难的工作, 对酪氨酸蛋白激酶尤其如此. 然而, RTK 与其底物的特殊作用方式,

使得几种底物得以鉴定, 并发现它们在细胞信号系统中都具有重要作用. RTK 与其底物这种特殊作用方式最初是在 PDGF 受体的研究中发现的. 用抗体沉淀的 PDGF 受体往往与磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K) 结合在一起. 该酶是在肌醇磷脂代谢中的一个重要成分, 催化 PIP 磷酸化形成 PIP_2 , 即 DG 和 IP_3 的前体. 如果把 PDGF 受体上的自身磷酸化的 Tyr-740 和 Tyr-751 用苯丙氨酸取代, PDGF 受体便失去了与 PI3K 的亲合力. 从而证明两者之间是通过 PDGF 受体的自身磷酸化部位. 后来发现在 EGF 受体与 PLC_γ 之间也存在同样关系. 除此而外, 另一类与细胞信号传递密切相关的小分子量 G 蛋白 ras, GAP 以及胞质内酪氨酸蛋白激酶 src 等都以类似的方式与 RTK 结合. RTK 与这些底物的作用方式可用以下模式说明 (图 4), RTK 与胞外信号分子结合后导致寡聚化, RTK 胞质内激酶活性区发生自身磷酸化, 并产生构象变化, 形成的结构就象“鱼钩”一样, 而其底物就象“鱼”一样, 这些“鱼”的“嘴”都有一个相似的结构称为“ SH_2 结构域” (src homology-2 domain, SH_2 domain), 因与 $\text{PP}^{60\text{c-src}}$ 具有相似的结构而得名^[20,21]. 这一结构域中一部分专门与 RTK 的自身磷酸化的部位结合.

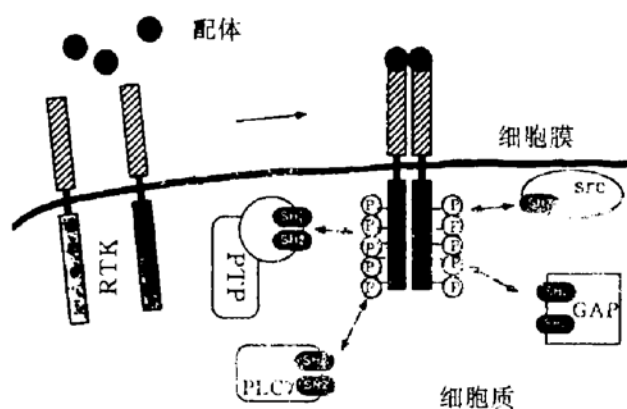


图 4 RTK 信号传递途径中 RTK 激活后与其有 SH_2 结构的底物的作用模式

该模型不仅在形式上新颖, 而且在逻辑上容易理解. 例如 PLC_γ 和 PI3K 的底物都是质膜

成分, 它们如何从胞质转移到质膜上这一现象就容易用这一模型解释. RTK 底物被“钓”起来后, 即被在 Tyr 残基上磷酸化, 从而调节生理活性. 如 PLC γ 在 Tyr783 位置上磷酸化而被激活, 而后水解 PIP $_2$ 产生 IP $_3$ 和 DG, 启动肌醇磷脂信号系统.

这一信号传递途径更有趣的地方, 还在于酪氨酸蛋白磷酸酶 (protein tyrosine phosphatase, PTP) 的发现^[22]. 蛋白质磷酸化与脱磷酸化作为一种可逆的共价调节方式, 容易使人联想到 PTP 在该信号系统中的作用. PTP 主要有两大类; 一类是具有与膜受体类似的过膜蛋白, 另一类是胞质酶. 其中某些胞质 PTP 也具有 SH $_2$ 结构域, 因此可以与 RTK 的其他底物一样, 被“钓”起来, 但与其他“鱼”不同的是, PTP 这种“鱼”具有脱磷酸化的活性, 其结果是 RTK 的“钩子”被咬掉. 因此 PTP 在该信号传递中具有特殊的重要位置, 不但可以作为 RTK 的靶酶调节一系列的后续反应, 而且参与整个信号通路的启闭调节过程.

5 cGMP 信号系统

cGMP 是否与 cAMP 一样具有胞内信号分子的作用, 一直是一个不十分肯定的问题. 主要原因是它如何作用于其靶分子, 多数情况下并不清楚. 依赖 cGMP 的蛋白激酶是否存在仍无肯定答案. 然而 cGMP 的产生方式, 以及它在某些生理过程中的作用, 无疑说明它具有胞内信号分子的特点.

与 cAMP 产生的方式类似, cGMP 的形成是由鸟苷酸环化酶 (guanylyl cyclase, GC) 催化的. GC 主要有两类; 一类为跨膜蛋白, 具有类似受体的结构, 另一类为胞内酶. 两类酶的激活都与细胞信号传递密切相关. 例如, 膜上的 GC 可被活性肽激活. 在海胆中, 卵细胞释放一种称为“resact”的多肽, 它与精细胞膜上的 GC 结合而激活精子的活动能力. 另一例是大肠杆菌可分泌一种小肽, 与肠粘膜细胞上 GC 结合, 而引起细胞内 cGMP 的水平增高而导致腹泻. 细胞质内的 GC, 最近已分离纯化, 该酶

为异二聚体^[23]. 如在前而所述, 它可被 NO 所激活, 由此产生的 cGMP 在血管的功能调节中具有重要作用.

cGMP 产生后, 如何做信号分子在细胞内如何进一步引起生理反应似乎根据不同的情况而异. 例如在视觉系统中, 一般认为是 cGMP 通过作用于 Na $^+$ 通道而起作用. 最近认为 cGMP 也参与胞内 Ca $^{2+}$ 动员的调节, 但其作用并不是直接作用于 Ca $^{2+}$ 通道. 胞内 Ca $^{2+}$ 库的释放主要通过二种形式; 一是由 IP $_3$ 与其受体结合而引起内质网中 Ca $^{2+}$ 释放. 另一途径是通过 ryanodine 受体 Ca $^{2+}$ 通道, 这种 Ca $^{2+}$ 通道最初是在肌细胞的肌浆网中存在, 现在证明也存在于其他类型的细胞中. 最近发现, 这种 Ca $^{2+}$ 通道的调节, 可能是通过一种称为环腺苷二磷酸核糖 (cyclic-ADP-ribose, cADPR) 的物质的调节^[24]. 如图 5 所示, cADPR 的产生是由 ADP 核糖环化酶 (ADP-ribosyl cyclase) 催化的, 而该酶是受 cGMP 的调节, cGMP 的形成则可能是通过 NO 信号途径介导的.

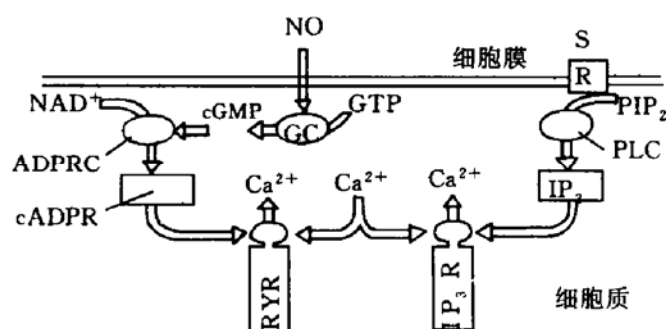


图 5 GMP 在胞内钙库释放中的作用模式

S: 胞外刺激; ADPRC: 环腺苷二磷酸环化酶;
RYP: ryanodine 受体; IP $_3$ P、IP $_3$ 受体;
R: 膜受体.

总之, 就目前所知, cGMP 的作用似乎不是通过蛋白激酶实现的, 其靶分子可能根据不同的生理过程或不同的细胞类型而不同. 但这似乎无关紧要, 因为其产生方式和作用模式都符合胞内信号分子的条件, 无疑在细胞信号传递中具有重要作用.

6 展 望

最近十几年, 在细胞信号系统方面的研究成果, 可形容为知识“爆炸”. 主要反映在三个方面; a. 大量研究论文出现在几乎所有有关生物学期刊中, 许多大型期刊中都设有“signal transduction”专栏、一些专门的期刊如《Cell Calcium》、《Cell Signalling》在不断出现. 在新出版的教科书中都已将该部分列为独立章节^[25]. b. 大量的科研人员加入这一研究行列. 许多学术会议设有专门议题讨论有关问题. c. 一些科学奖励包括诺贝尔奖授予在该领域中有贡献的科学家.

未来的几年中细胞信号系统的研究可能集中在以下几方面; a. 对于已经比较完善的细胞信号系统如 cAMP 信号系统, 主要工作可能会集中在对该系统所参与调节的生理过程的深入了解. 对新建立的模型的修改和完善, 无疑新的细胞信号传递方式将会不断被发现. b. 各个细胞信号系统之间的相互作用. 现已发现的信号系统中, 在调节具体的生理反应时, 无一例外地存在这样或那样的联系. 过去常用“interaction”一词来形容这种相互作用, 然而现在这一用语似乎太简单, 不足以说明它们之间的关系. 因此, 一个非常形象的用语称为“cross talk”正在广泛用以形容各个细胞信号系统之间的相互协调作用^[26]. 把细胞信号传递方式分成“系统”和“途径”, 在教学和研究中带给我们很大方便, 然而这些信号系统之间复杂的关系使得这些用语越来越难以使用, 因此强调“cross talk”就显得十分重要. c. 细胞信号系统中许多成分含量极低, 许多情况下经典的生化手段常常显得无能为力. 分子遗传学技术的应用, 对这一领域的研究工作无疑将具有巨大的推动作用.

参 考 文 献

- 1 孙大业, 郭艳林合编. 细胞信号系统. 北京: 科学出版社, 1993
- 2 Meek D W, Street A J. *Biochem J*, 1992; 287: 1
- 3 Karin M, Smeal T. *TIBS*, 1992; 17: 418
- 4 Hepler P K. *International Rev Cytology*, 1991; 138: 239
- 5 Hinrichsen R D. *Biochim Biophys Acta*, 1993; 1155: 277
- 6 Bachs O, Agell N, Carafoli E. *Biochim Biophys Acta*, 1992; 1113: 259
- 7 Brini M, Murgia M, Pasti L *et al.* *EMBO*, 1993; 12: 4813
- 8 Heizmann C W, Hunziker W. *TIBS*, 1991; 16: 98
- 9 郭艳林. 生物化学与生物物理进展, 1992; 19: 172
- 10 Knowles R G, Moncada S. *TIBS*, 1992; 17: 399
- 11 Crossin K L. *TIBS*, 1991; 16: 81
- 12 Maeletta M A. *J Biol Chem*, 1993; 268: 12231
- 13 Asaoka Y, Nakamura S, Yoshida K *et al.* *TIBS*, 1992; 17: 414
- 14 Aderem A. *TIBS*, 1992; 17: 438
- 15 Taylor C, Marshall C B. *TIBS*, 1992; 17: 403
- 16 Irvine R E. *FASEB*, 1992; 6: 3085
- 17 Putney J W, Bird G S J. *Cell*, 1993; 75: 199
- 18 Berridge M J. *Nature*, 1993; 316: 315
- 19 Fantl W J, Johnson D E, Williams L T *et al.* *Annu Rev Biochem*, 1993; 62: 453
- 20 Panayotou G, Waterfield M D. *BioEssays*, 1993; 15: 171
- 21 Mayer B J, Baltimore D. *TICB*, 1993; 3: 8
- 22 Walton K M, Dixon J E. *Annu Rev Biochem*, 1993; 62: 101
- 23 Koesling D, Bohem E. *FASEB*, 1991; 5: 2785
- 24 Berridge M J. *Nature*, 1993; 365: 388
- 25 Alberts B, Bray D, Lewis J *et al.* *Molecular biology of the cell*, 3rd ed. New York & London: Garland Publishing, Inc. 1994
- 26 Nishizuka Y. *TIBS*, 1992; 17: 367

Recent Progress in the Study of Intracellular Signalling Systems. Guo Yanlin. Sun Daye (Biology Department, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016, China).

Abstract Intracellular signalling (or signal transduction) has been one of the most active research areas in biological science since early 80' s. One of the major objectives of this research field is to understand the mechanism of an organism's response to stimuli from the environment. Recent research has focused on the biochemical and physiological changes in the cell following the initial transmembrane

signalling event. The recent progress in this research area is briefly summarized with special emphasis placed on the newly proposed models for various intracellular signalling

pathways in animal cells.

Key words signal transduction, second messenger, cAMP, cGMP, Ca^{2+} , DG, IP_3 , protein kinase

高速 DNA 序列分析*

程介克

(武汉大学化学系, 武汉 430072)

摘要 高速 DNA 序列分析是人类基因组研究的关键技术. 文章对高速 DNA 序列分析方法如阵列毛细管电泳、超薄层凝胶板电泳、质谱、杂交法、原子探针法、流动单分子荧光检测法等新进展进行了评论.

关键词 DNA 序列分析, DNA 电泳, 阵列毛细管电泳, 超薄层板电泳

1953 年 Watson 和 Crick 创立了生物遗传分子脱氧核糖核酸 (DNA) 的双螺旋结构理论, 奠定了生物遗传基因分子机理的基础, 开创了生物学及生命科学的新时代. 近半个世纪以来, 生命科学的研究进入了蓬勃发展的光辉时期. 1990 年美国制定了世界最庞大的基因研究计划——“人类基因组项目”(human genome project), 在 15 年内投资 30 亿美元, 拟完成人类基因组的全部 DNA 序列分析、定位及遗传学研究. 1992 年我国制定了世界第 2 庞大的基因研究计划——“水稻基因组项目”(rice genome project), 将在 15 年内完成水稻基因的全部测序. 这些研究对人类的生命和生存具有极其深远的意义, 并将推动分子生物学、分子医学及生命科学的迅速发展.

DNA 序列分析是基因研究的重要基础, DNA 序列分析方法的研究是关键. 但轻视分析检测的世俗偏见, 严重地影响基因研究项目的进程. 1993 年美国对“人类基因组项目”进行了深入的检查, 发现由于大部分研究经费投入在基因定位的研究, DNA 序列分析的研究经费严重不足, 导致进展缓慢, 已成为整个项目进展中的“瓶颈”^[1]. 为此不得不对原第 1 个五年计划 (1991—1995 年) 进行了大幅度调整, 重

新制定了新的五年计划 (1994—1998 年)^[2]. 新订计划将加强 DNA 序列分析技术研究, 并明确规定每年将半数经费 (1 亿美元) 用于研究及开发 DNA 序列分析新技术及新方法. 美国基因研究的经验和教训, 值得我们参考和借鉴.

1 人类基因组 DNA 序列分析概况

基因是具有遗传功能的单元, 一个基因是 DNA 片段中核苷酸碱基特定的序列, 此序列载有组建蛋白质、细胞和组织的结构组成, 基本的生物化学反应酶等遗传信息. 人们形象地将 DNA 碱基序列称为遗传密码, DNA 序列分析是揭开遗传密码的关键, 也是基因研究的基础. 人是复杂的高等生物, 人类基因组有约 30 亿碱基对. 表 1 为人类基因组和某些典型生物基因组的比较. 若将人类基因组 30 亿碱基编辑成书, 就相当于 200 本电话簿 (1000 页/本), 从头到尾阅读一遍需要 26 年. 目前已测定最大的、连续的酵母染色体 III (32 万碱基), 它由 35 个欧洲实验室 147 人合作研究 2 年 4 个月取得的成果. 若将它编辑成书, 仅有 14 页, 它和人类基因组 200 本书相比较, 相差 4 个数量级. 由

* 国家自然科学基金及国家教委博士点基金资助项目.

收稿日期: 1994-06-08, 修回日期: 1994-11-09