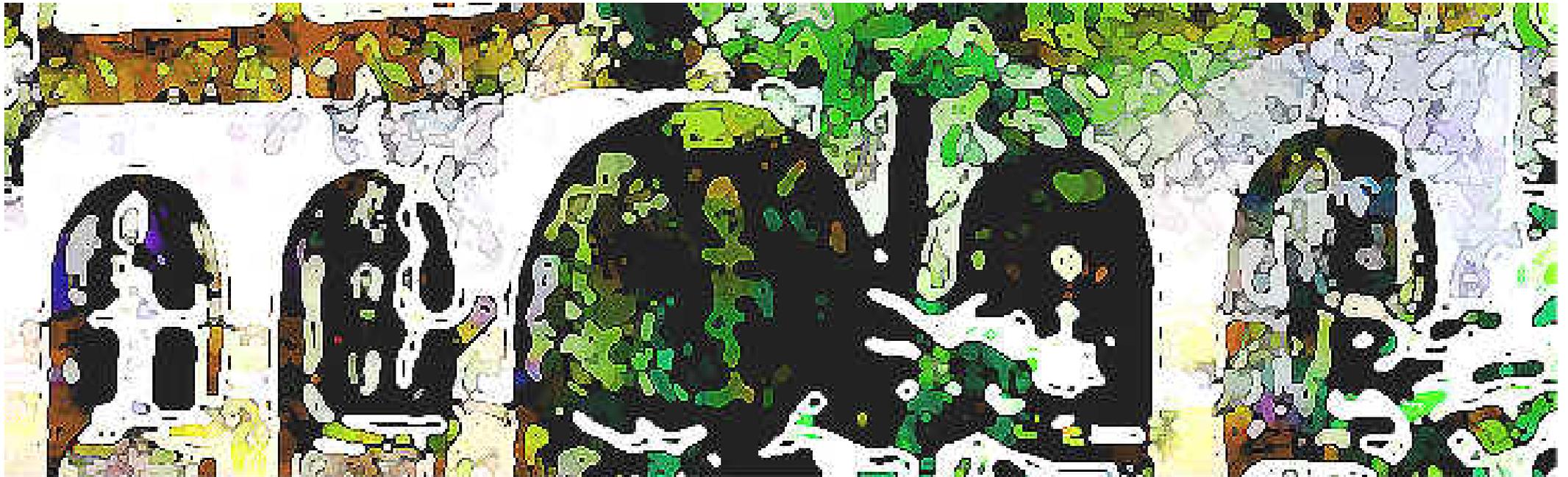


從基因蛋白質到後基因體時代

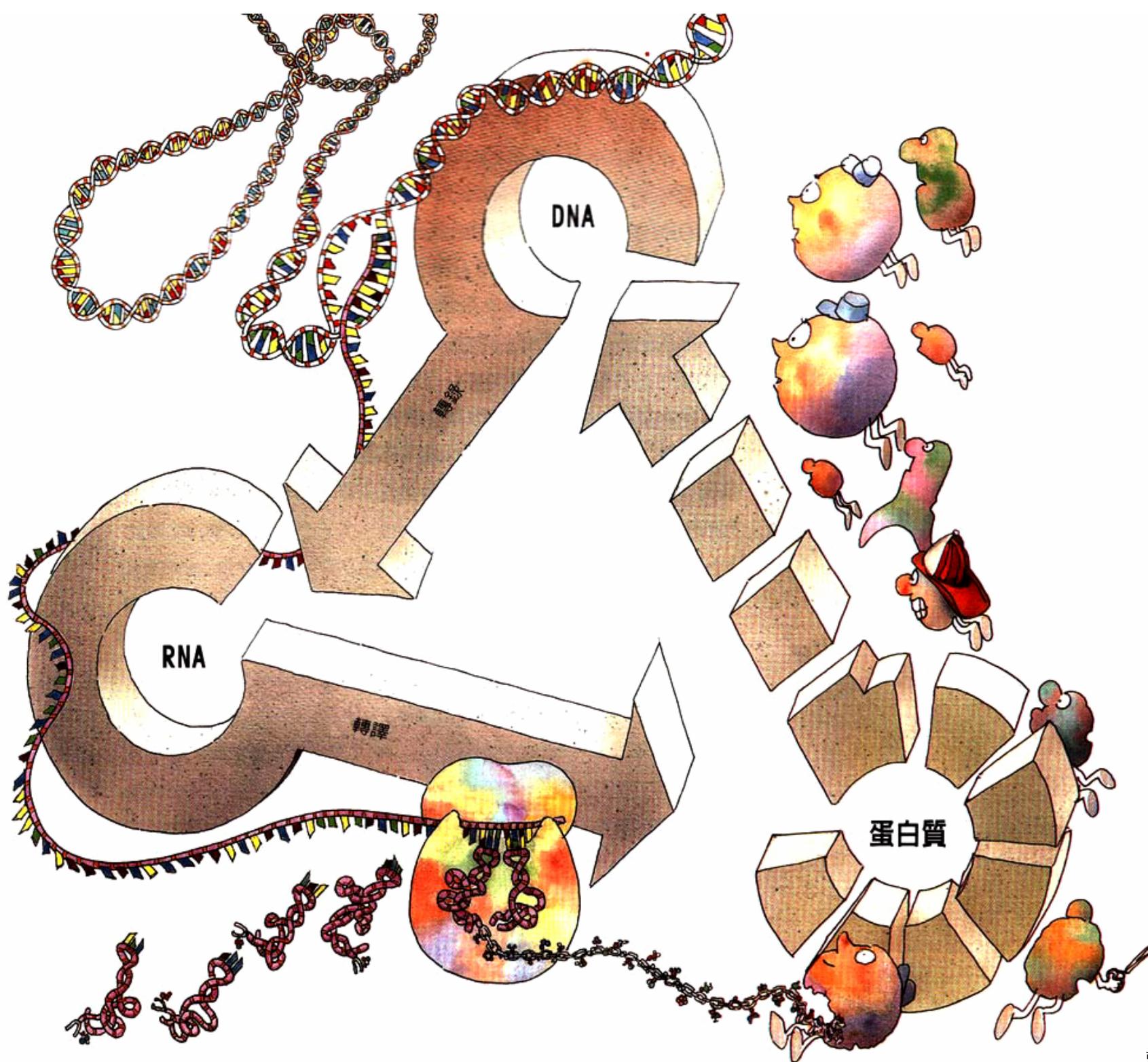
所有生物科學的基本法則



國立台灣大學 生化科技學系

莊榮輝

所有生物的前世今生



生命的分子法則



宇宙誕生
宇宙從「無」誕生。

大霹靂
成為高溫・高密度
的火球狀態。

密度的波動
隨著溫度的下降，
宇宙中的物質的密度會有
高低的不同。

大爆炸

宇宙的歷史

10⁻⁴⁴ sec

10⁻⁴⁴
秒後

宇宙的誕生

暴脹

藉著真空本身具有的能量而急速膨脹。

大爆炸

10⁻³⁴ sec

10⁻³⁴
秒後

大霹靂

真空的能量轉變成熱能，成爲高溫、高密度的火球狀態。

大渾沌

10 萬年

10 萬
年後

宇宙的放晴

宇宙的溫度隨著膨脹而降低，電子和質子結合。光不再被電子阻礙而開始直線前進。宇宙背景探測衛星確認這個時候宇宙中已經有溫度的不均勻分布了。

宇宙放晴

150 億年

150 億
年後
(現在)

現在的宇宙

星系分布成網眼狀，形成宇宙的大構造。

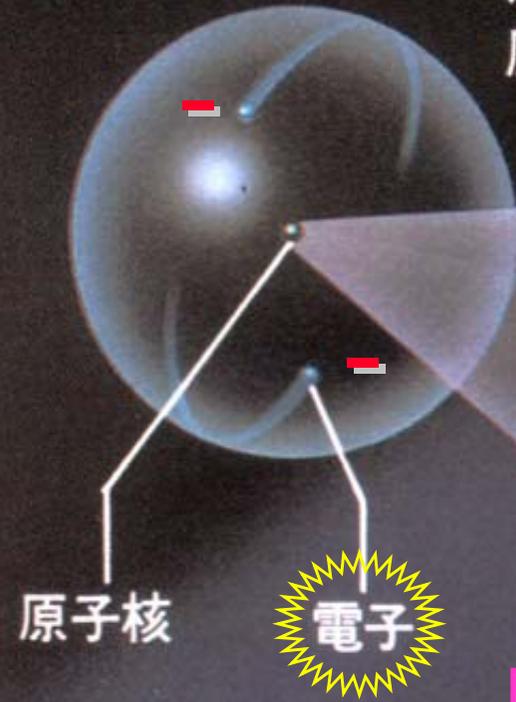
現在的宇宙

肥皂泡模型

由基本粒子到原子

原子

原子是由
原子核和電子組成。



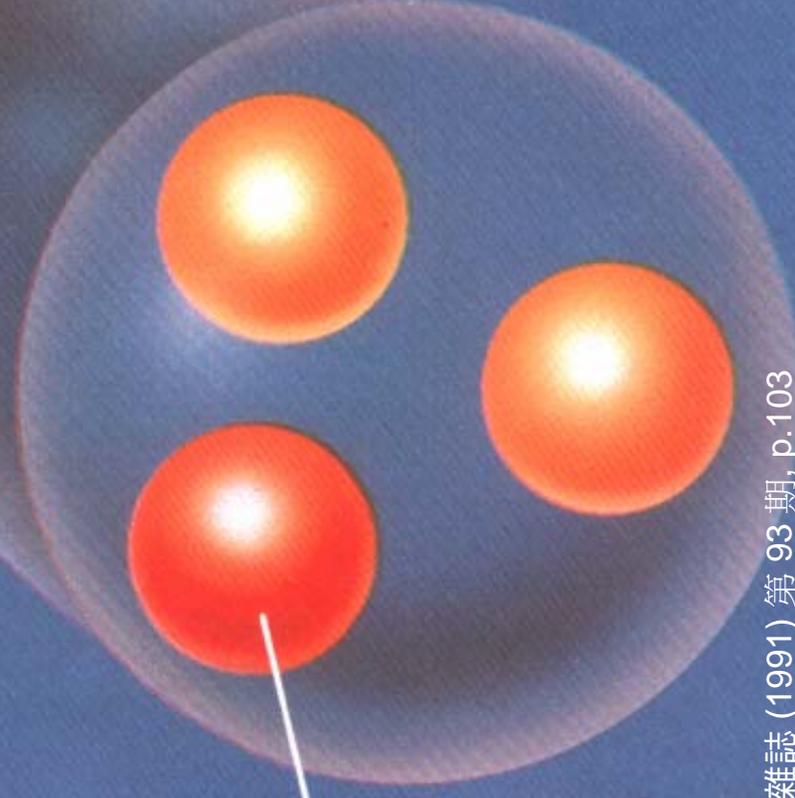
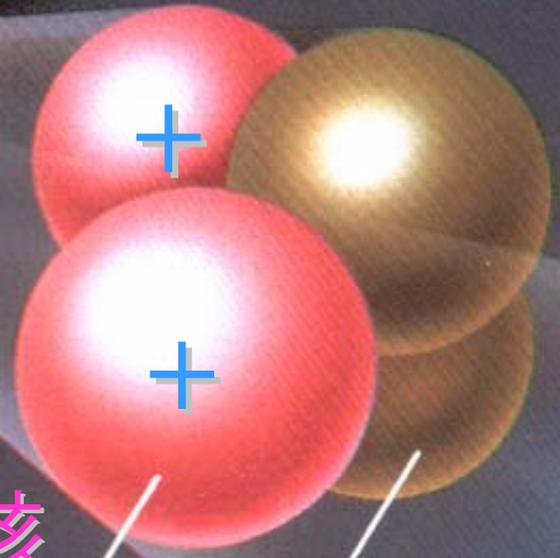
原子核是由
質子和中子構成。

基本粒子

原子核

質子

中子

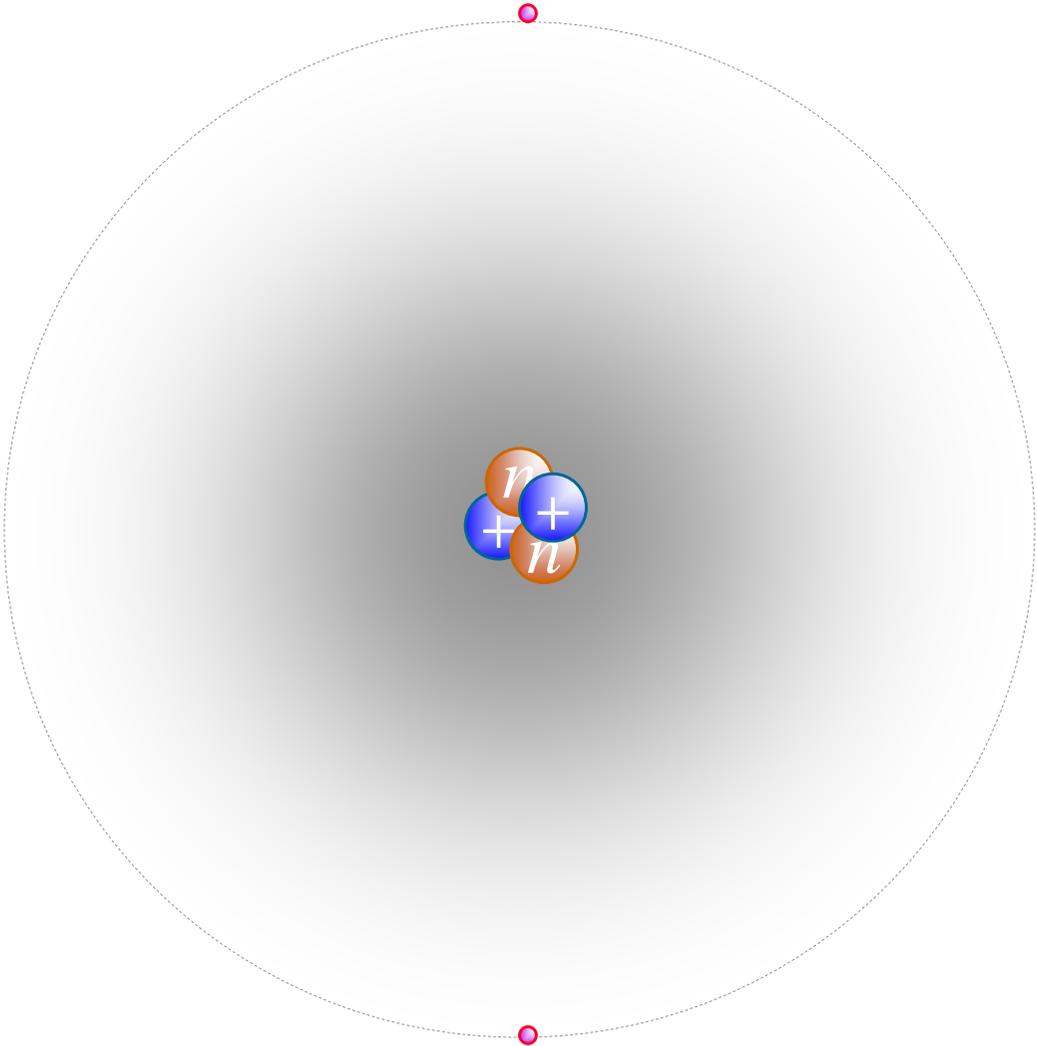


質子和中子
分別由三個夸克形成。

氦 He^2

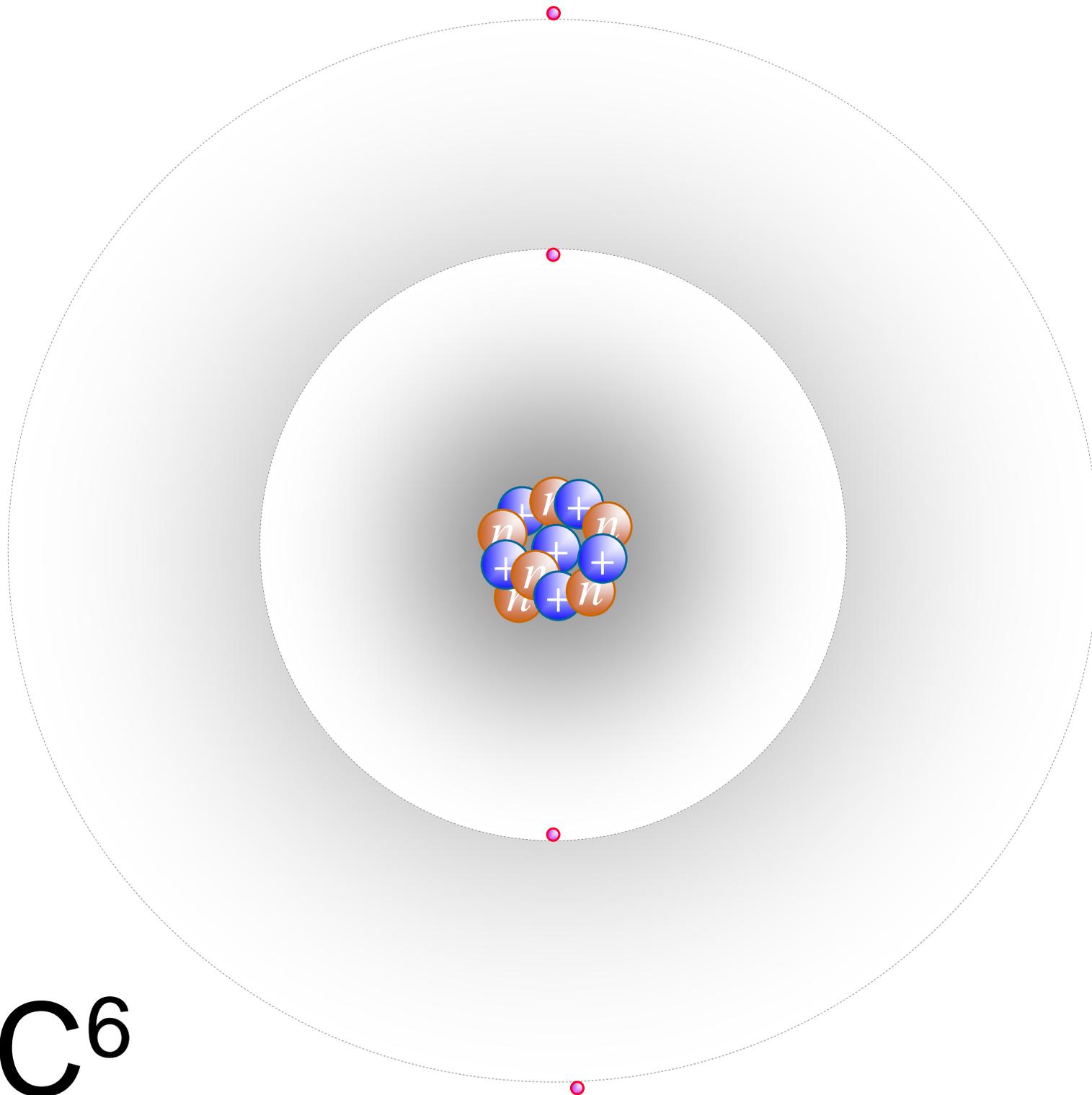
厂丿、

氦 He^2



氢 H^1

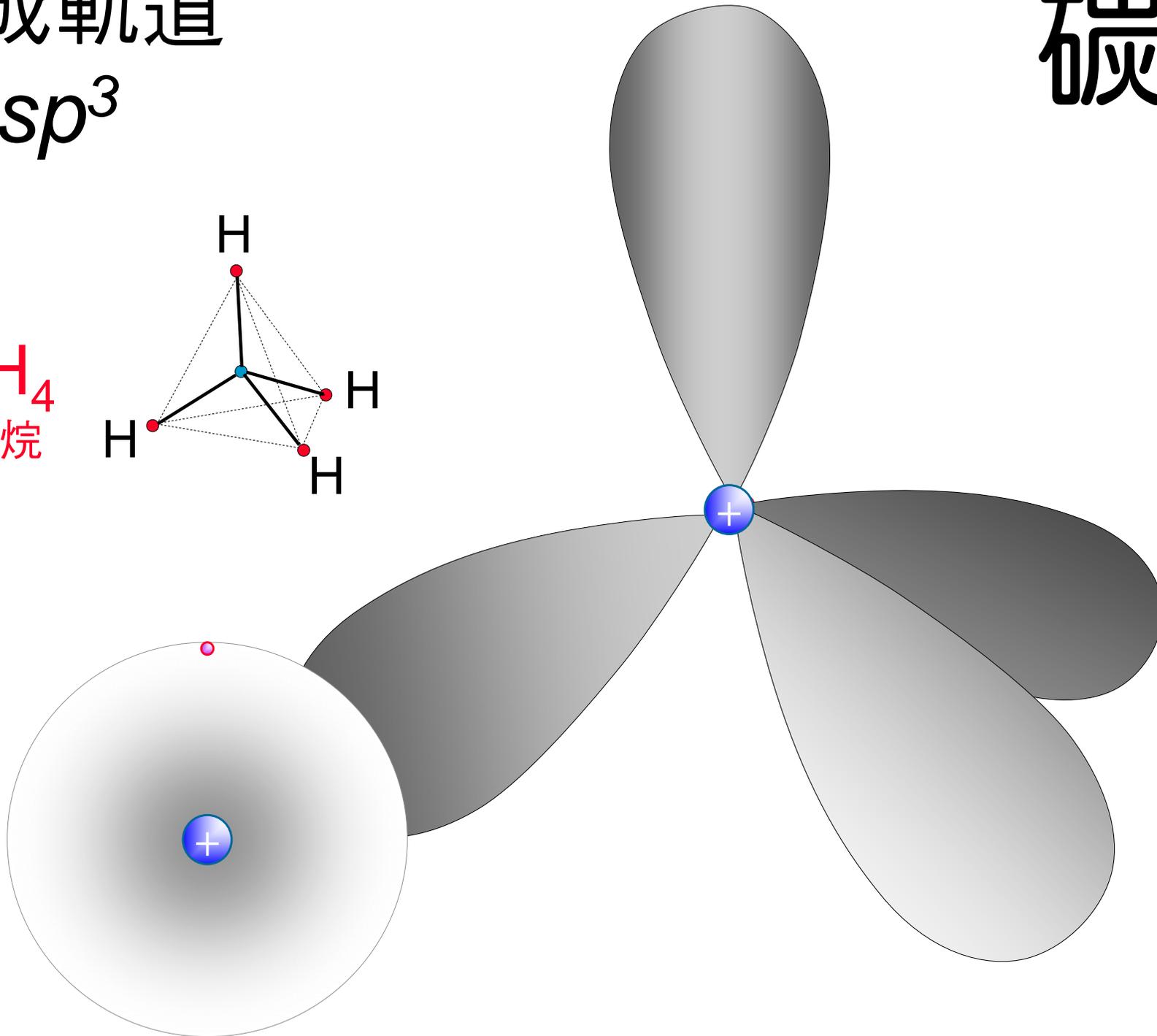
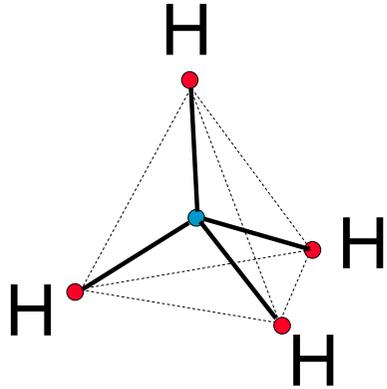
碳 C⁶



混成軌道 sp^3

碳 C^6

CH_4
甲烷



地球早期演進的重要關鍵

地球只有薄薄一層地殼是冷的

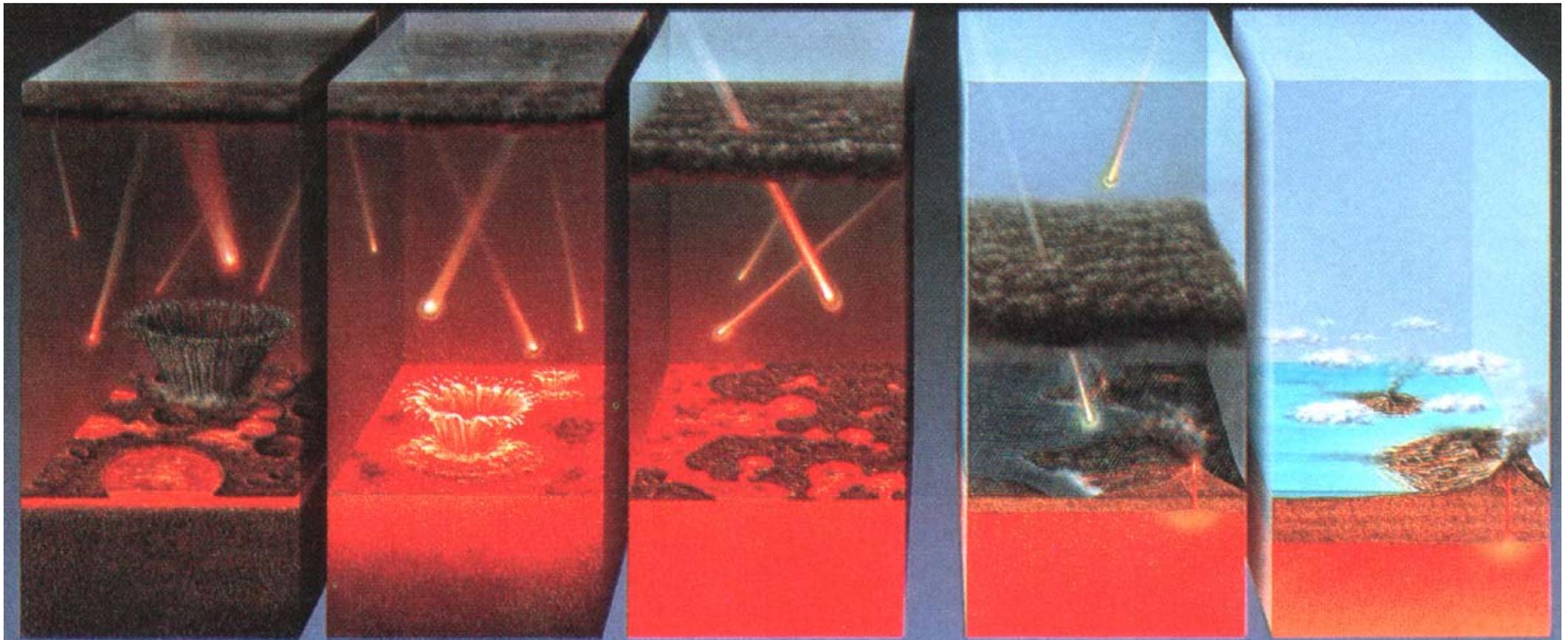
小行星碰撞

岩漿海

地殼形成

第一場大雨

天空放晴

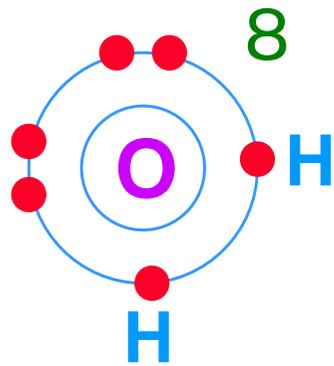
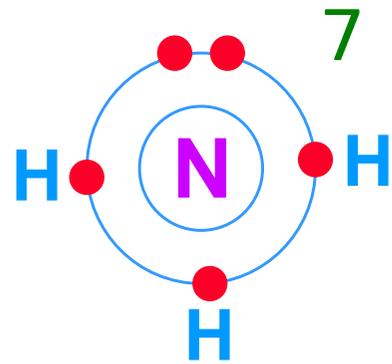
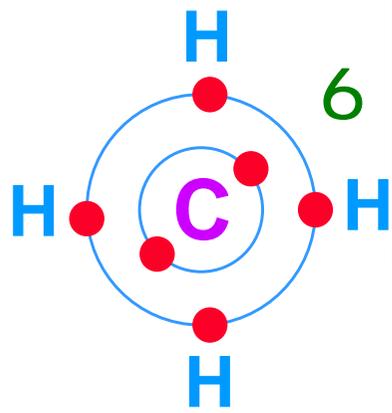


46 億年前

38 億年前

地球上的水分是由殞石帶來的

由基本小分子到單位小分子



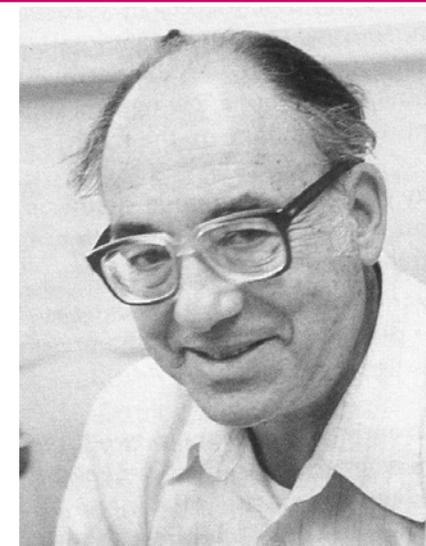
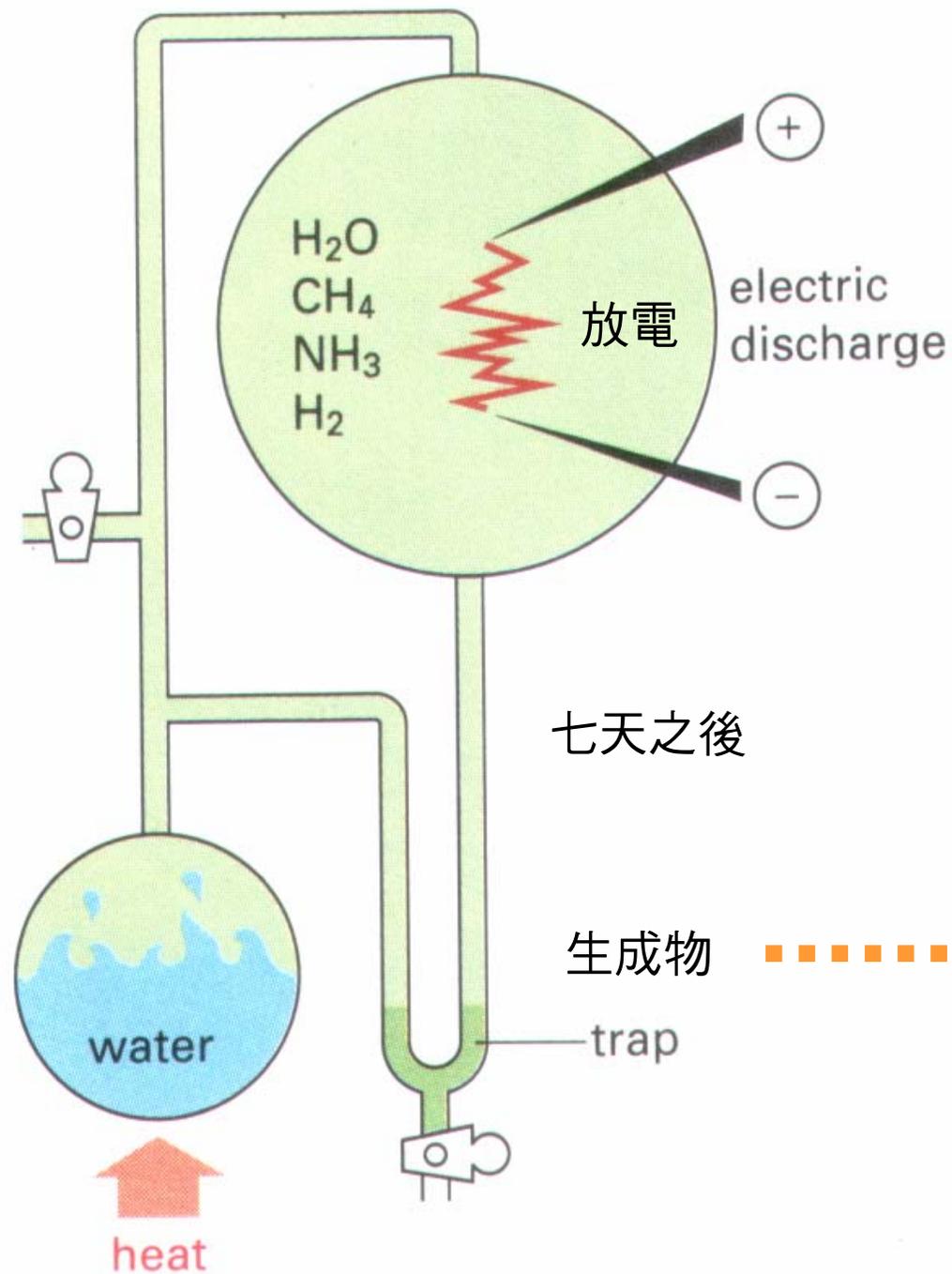
水

氨氣

甲烷

可以在試管中模擬地球初始狀態

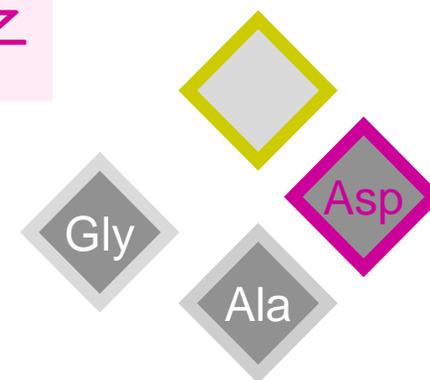
Alberts et al (1994) Molecular Biology of the Cell (3e) p.4



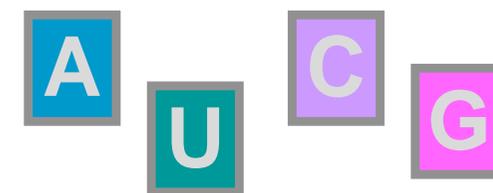
米勒博士

單位小分子

胺基酸

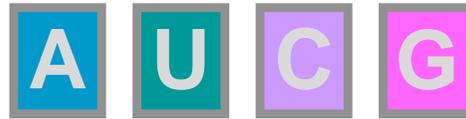


核酸鹼基

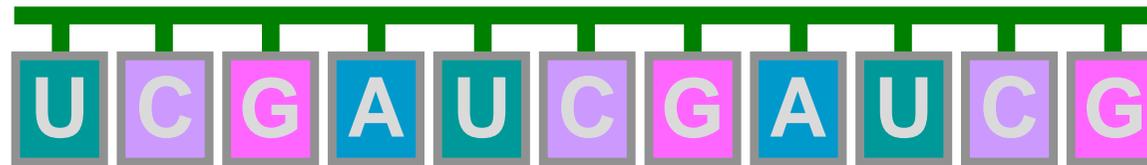


巨分子的自我複製機制

核酸鹼基



連結



戲法

1

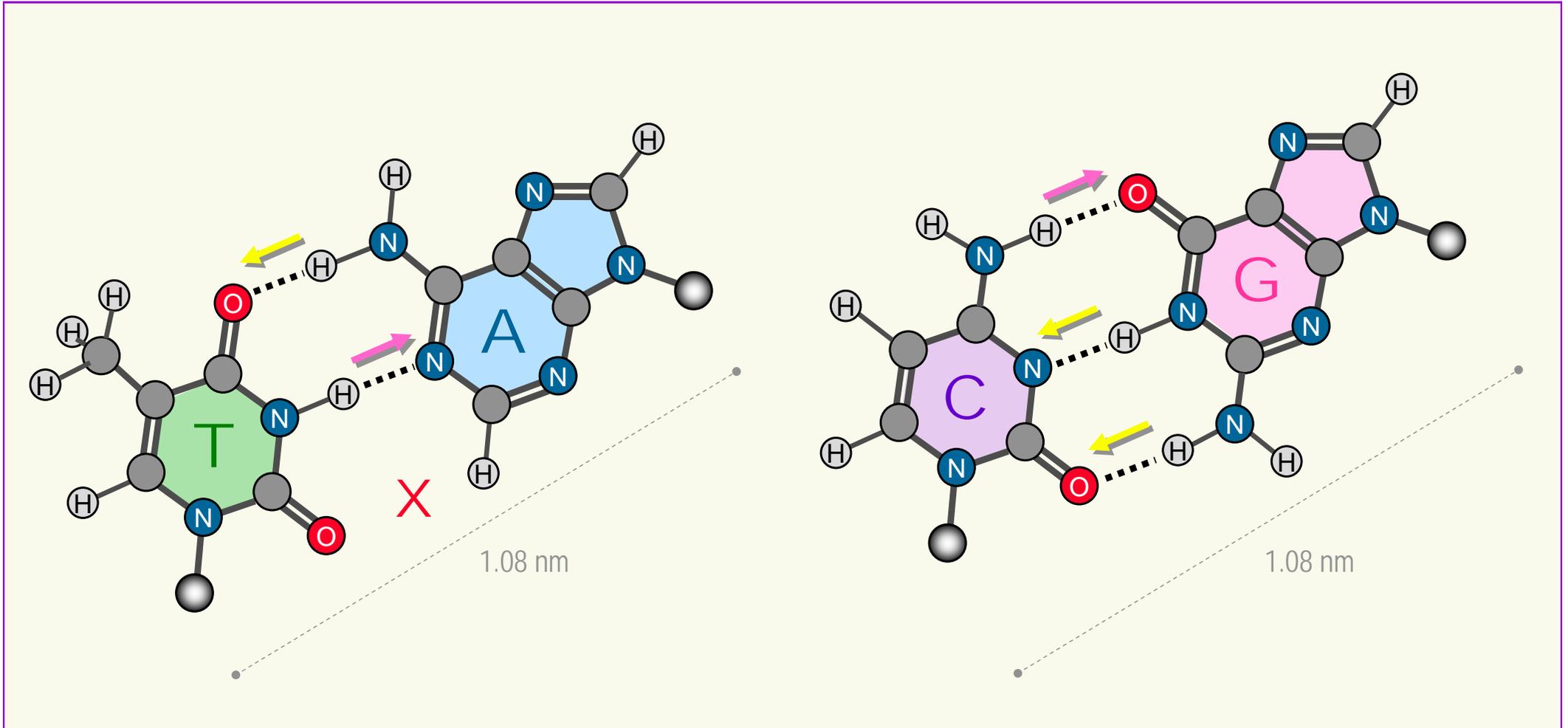
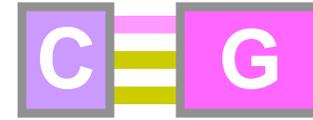
戲法

2



配對

DNA



RNA



戲法

1

U C G A U C G A U C G

原版

2

A G C U A G C U A G C

配對

U C G A U C G A U C G

原版

A G C U A G C U A G C

模版

U C G A U C G A U C G

副本

U C G A U C G A U C G

原版

A G C U A G C U A G C

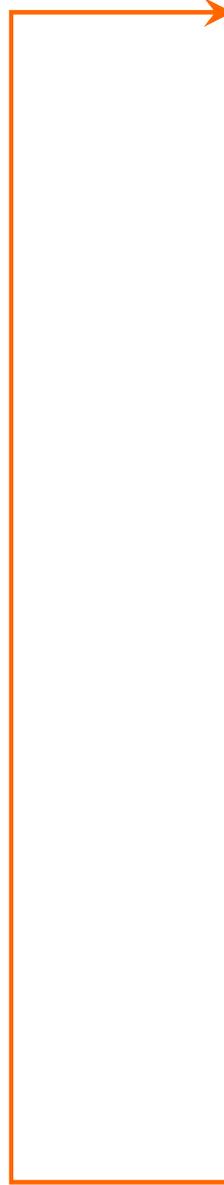
模版

U C G A U C G A U C G

副本 2

U C G A U C G A U C G

副本 1



U C G A U C G A U C G

原版

A G C U A G C U A G C

模版

U C G A U C G A U C G

副本 3

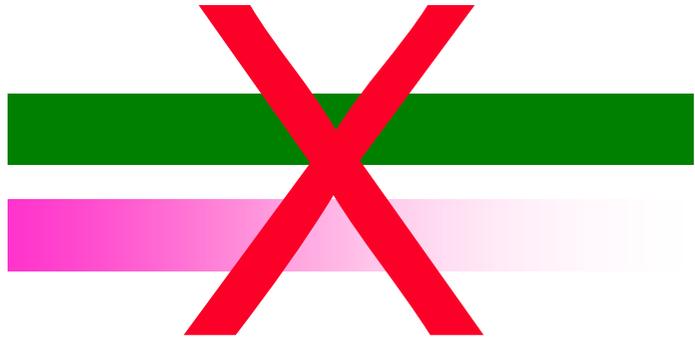
U C G A U C G A U C G

副本 2

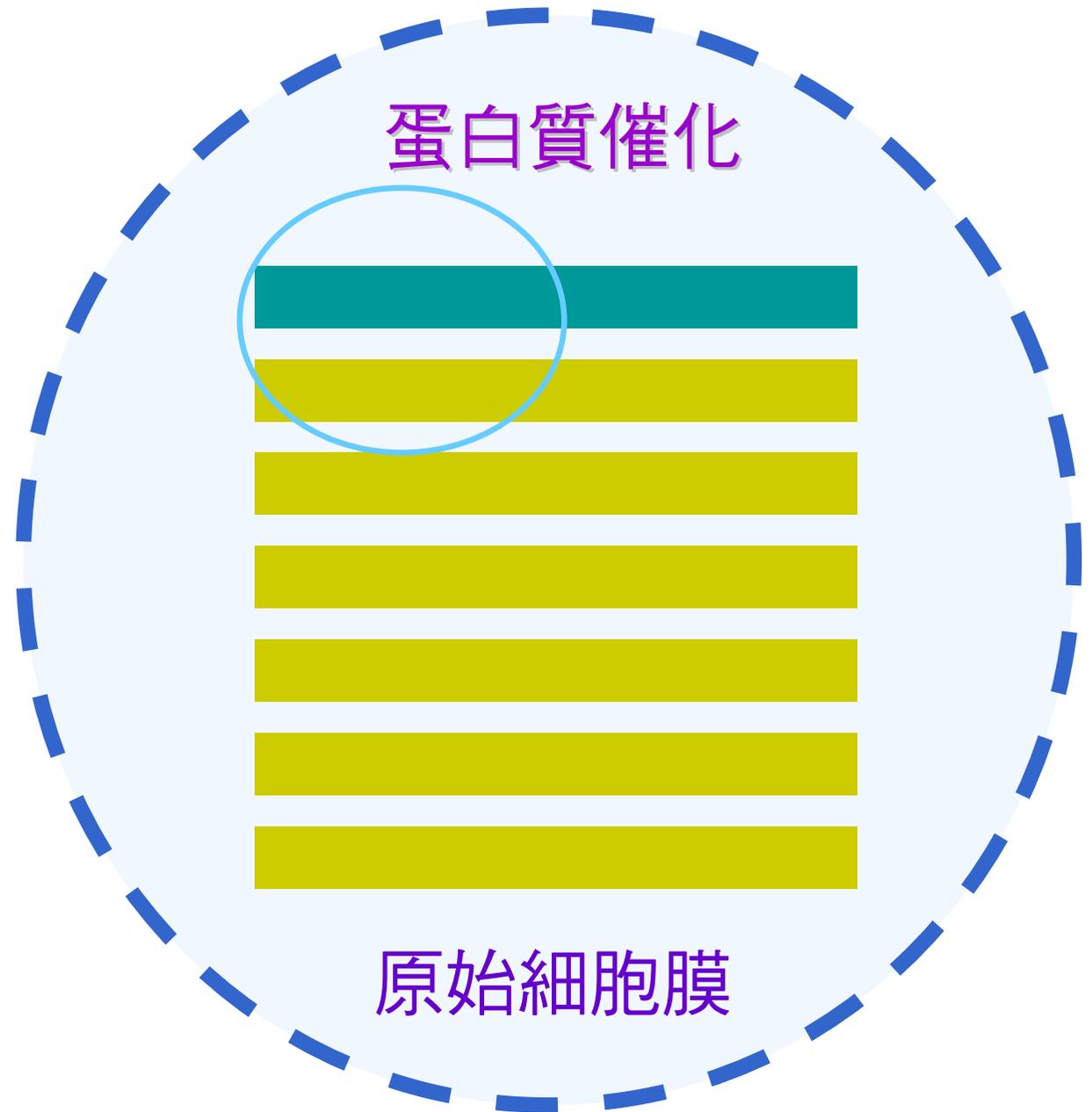
U C G A U C G A U C G

副本 1

催化性蛋白質及細胞膜的出現



當環境資源減少
複製越來越困難

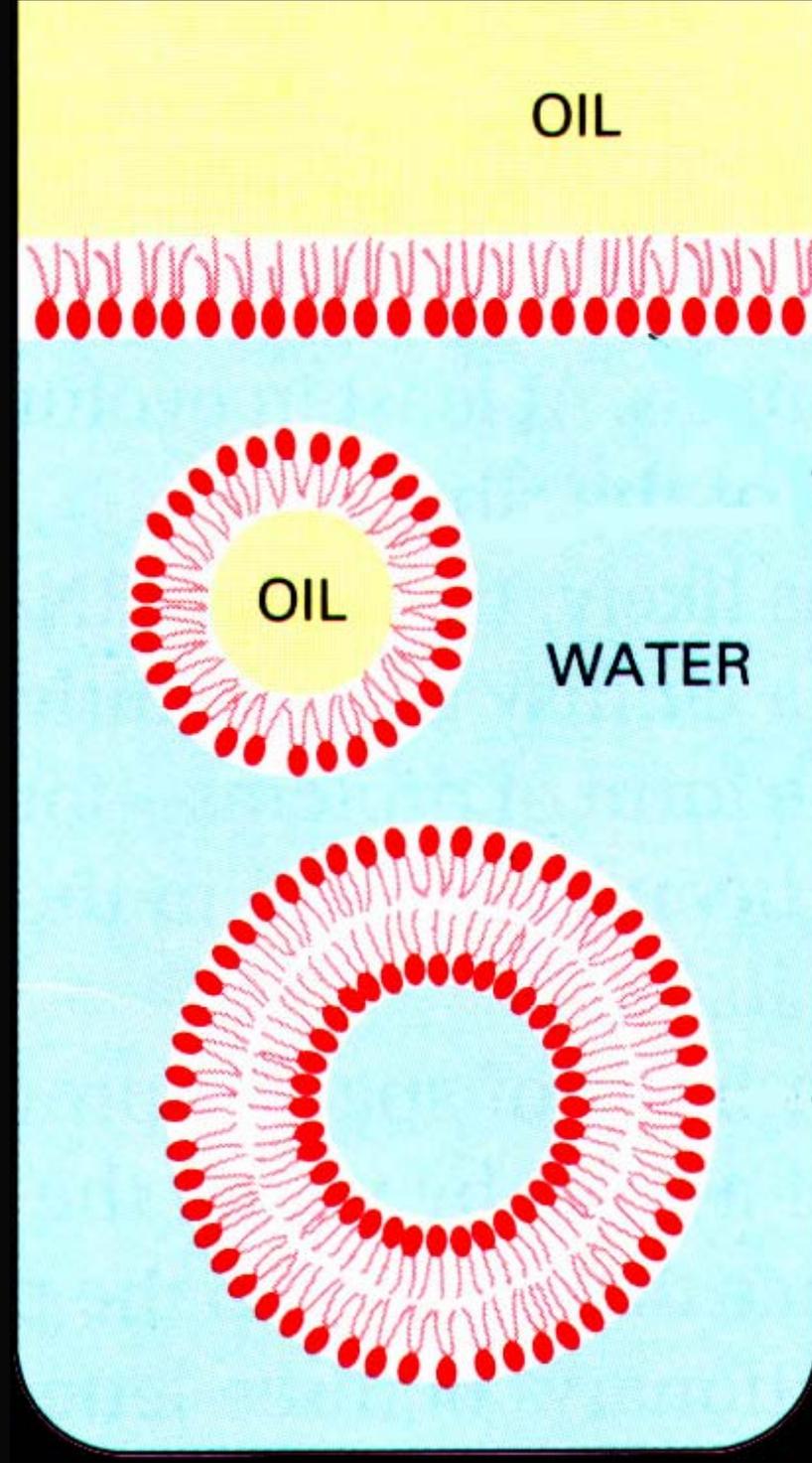


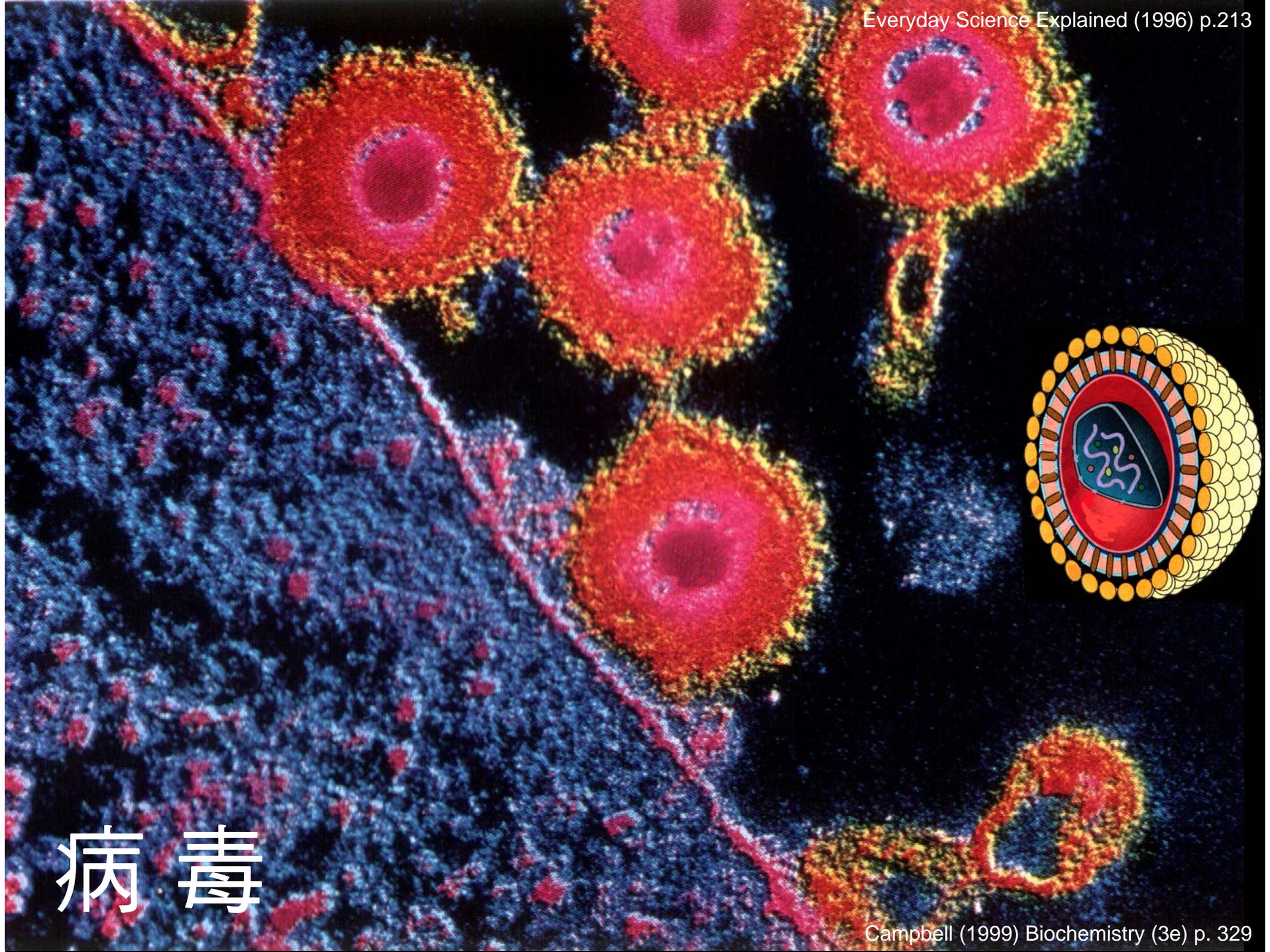
細胞膜的 形成並不困難

單層脂肪膜

單層脂肪球

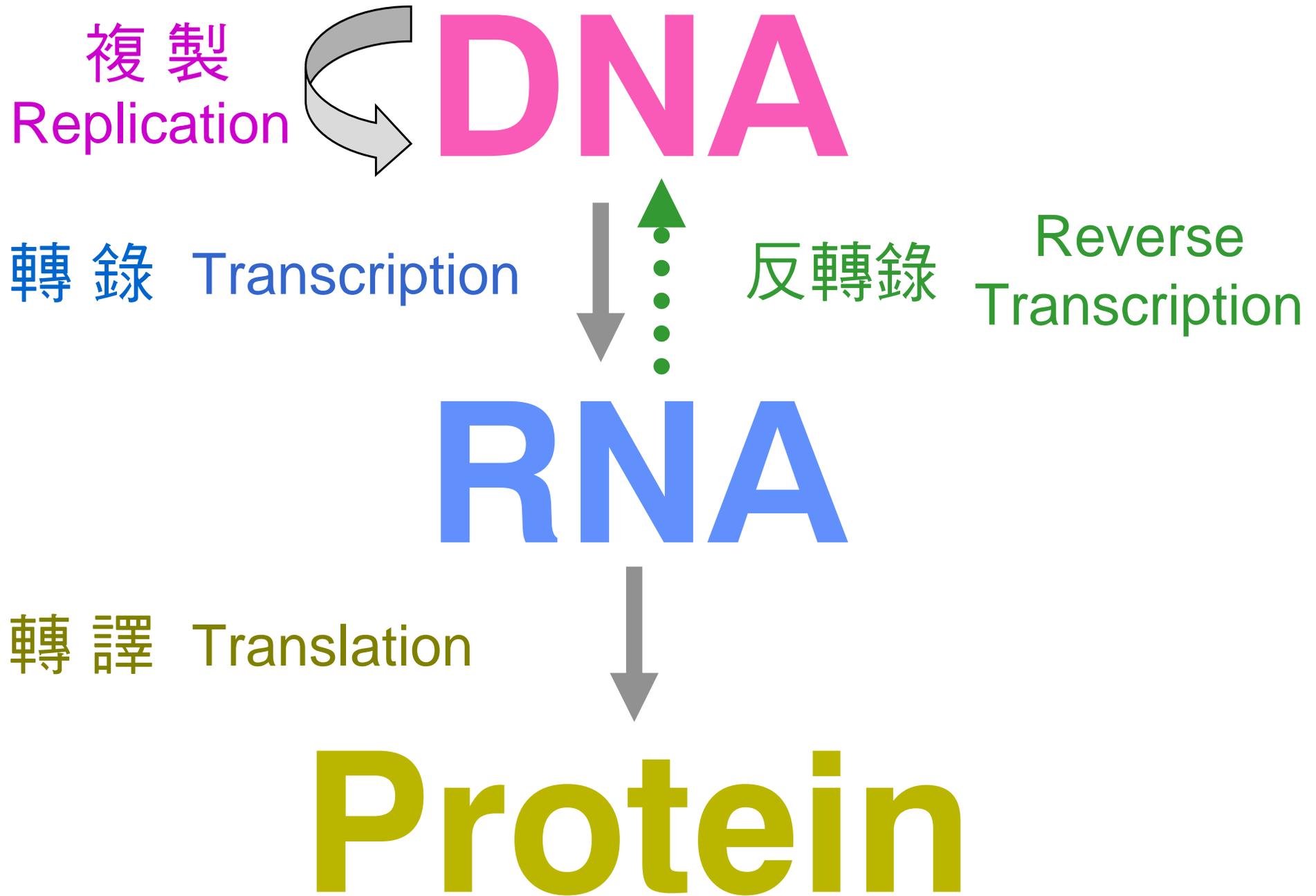
雙層脂肪球





病毒

生命的中心法則 *Central Dogma*



T A C A T C G A T C G

DNA

A U G U A G C U A G C

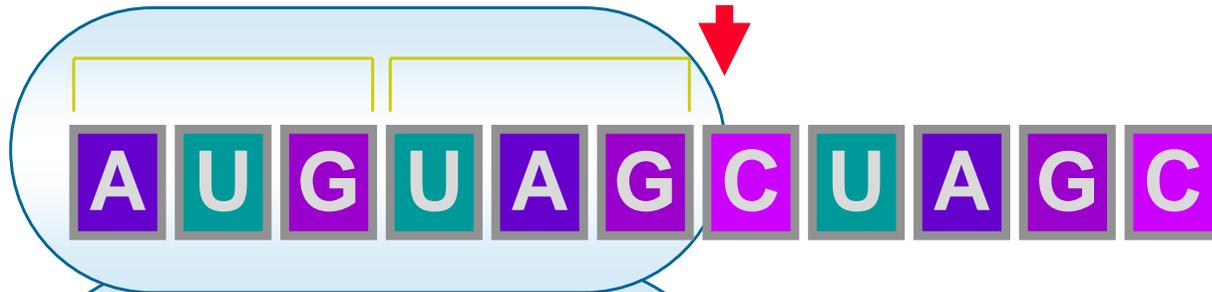
RNA

轉錄

T A C A T C G A T C G

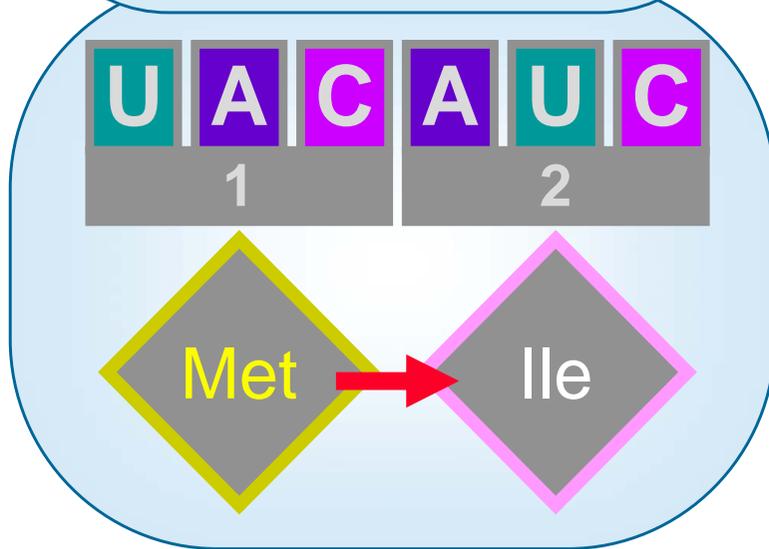
DNA

核糖體



傳信者
mRNA

轉譯



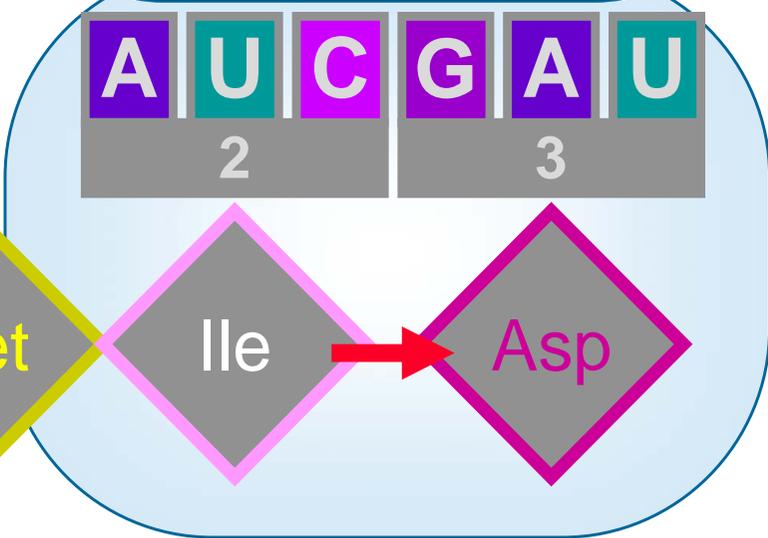
tRNA
運送者

T A C A T C G A T C G

DNA

A U G U A G C U A G C

mRNA



tRNA

Met

Ile

Asp

T A C A T C G A T C G

DNA

A U G U A G C U A G C

mRNA



蛋白質



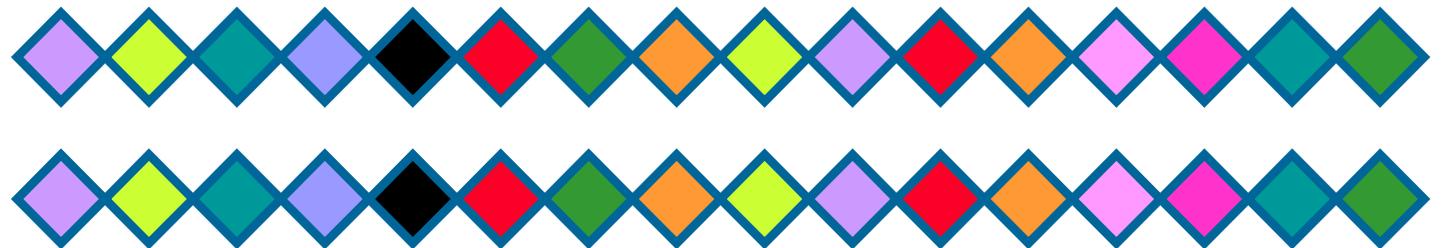
T A C A T C G A T C G

DNA

A U G A C
U G A U G

mRNA

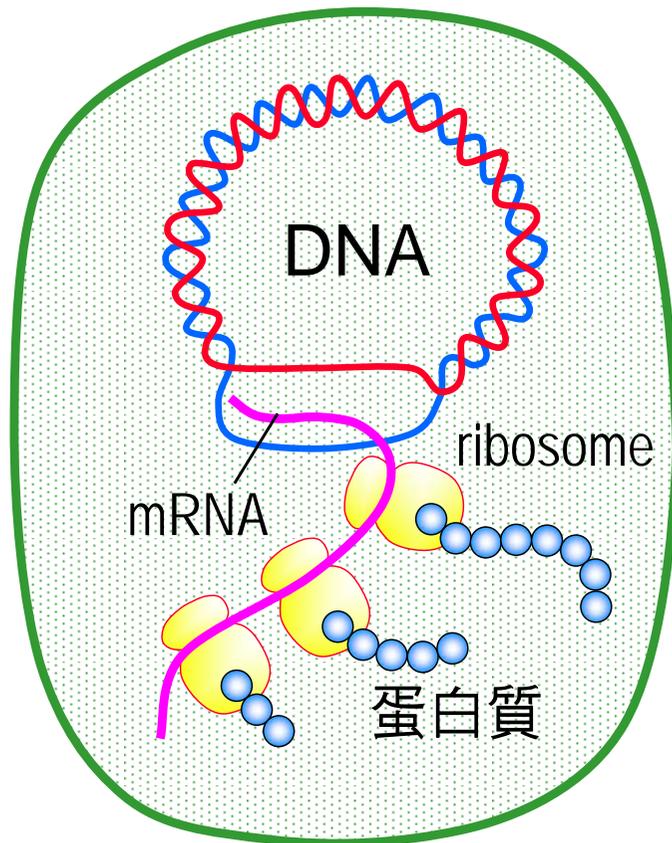
銷毀



最後形成目前的細胞模式

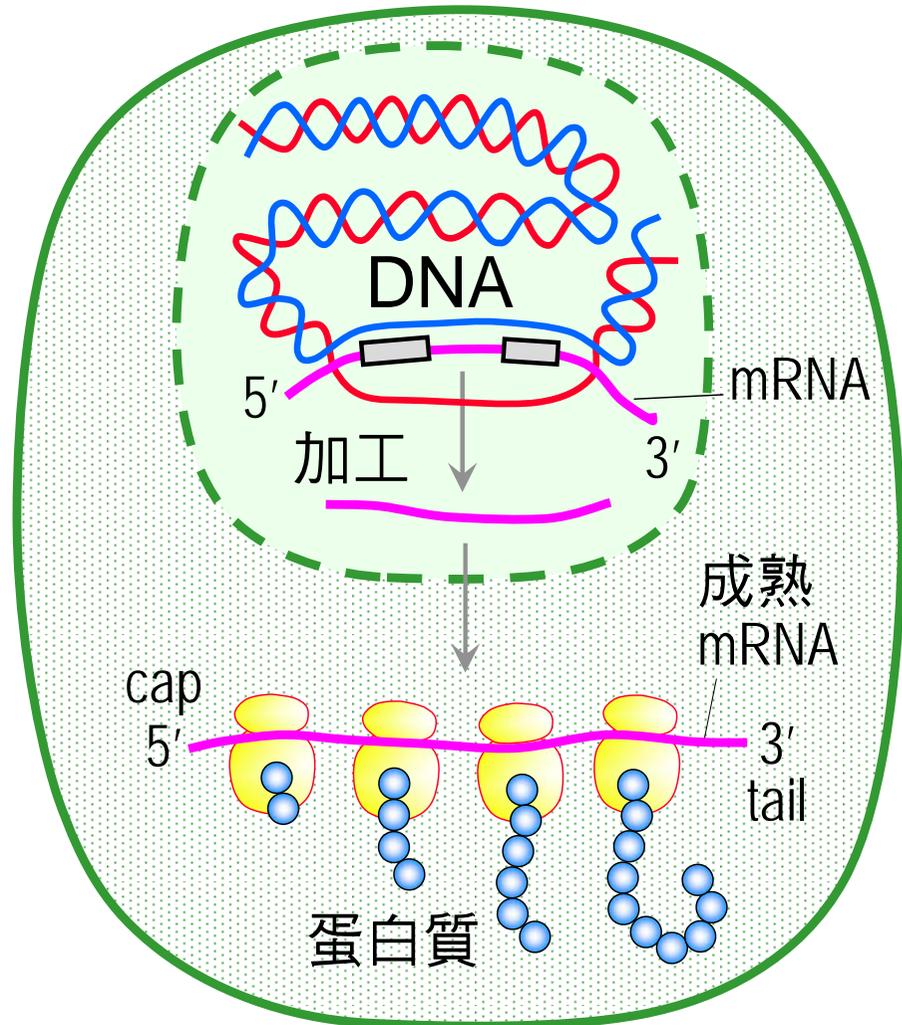
DNA 取代 RNA 成為遺傳物質

RNA 專司蛋白質的合成



原核細胞

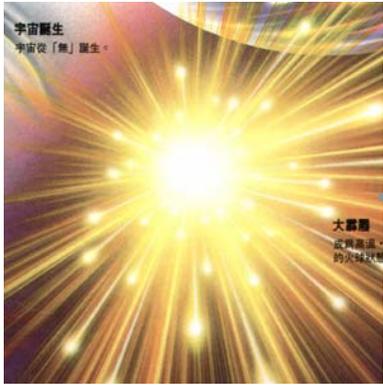
單身宿舍



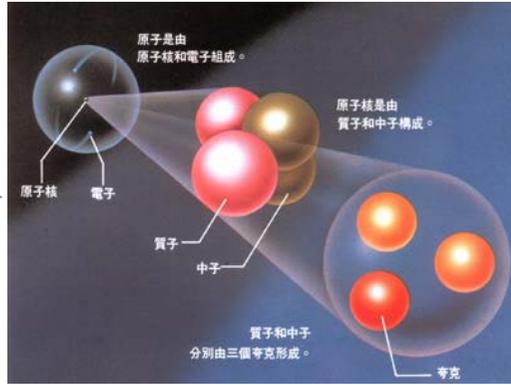
真核細胞

三房兩廳

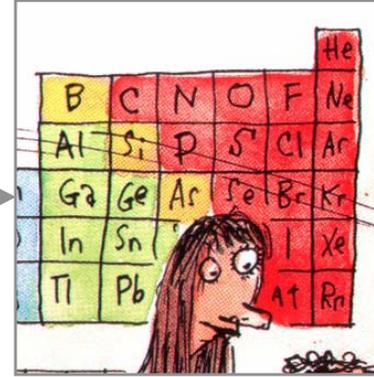
大爆炸



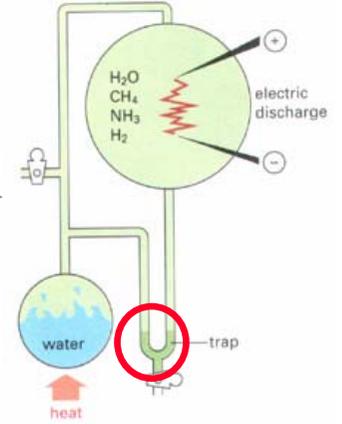
基本粒子



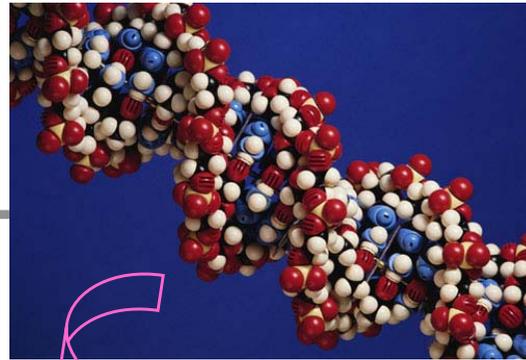
原子



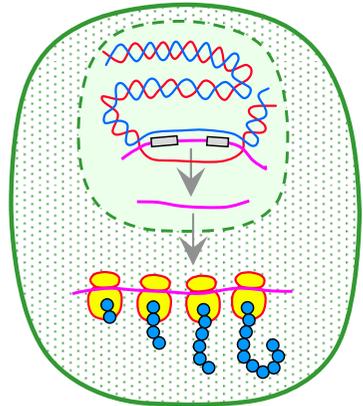
基本小分子



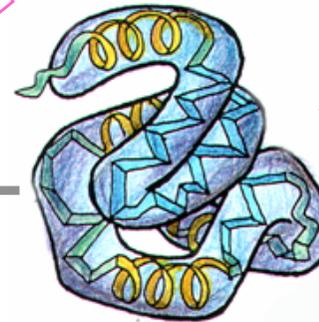
核酸 複製 信息



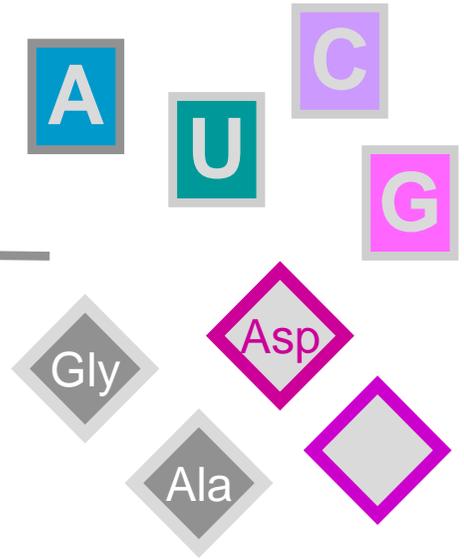
中心 法則



蛋白質 催化 功能



巨分子



單位小分子

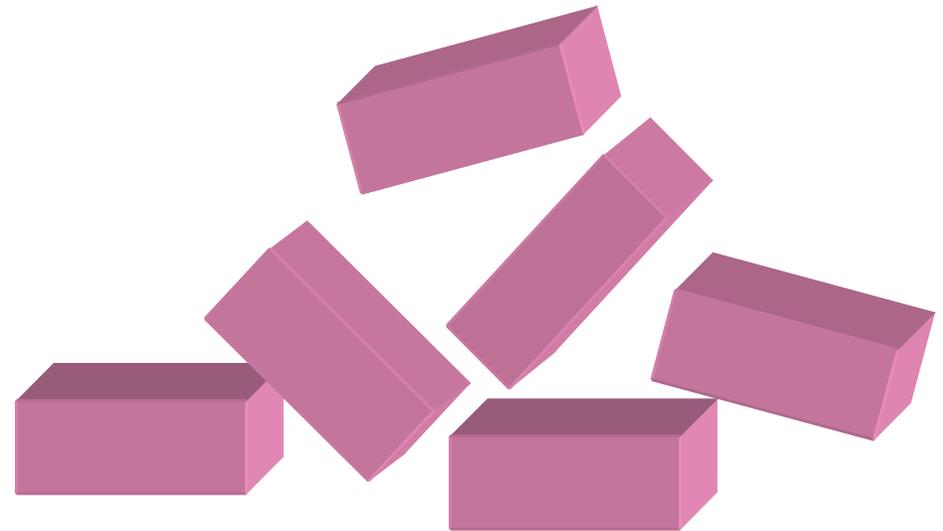
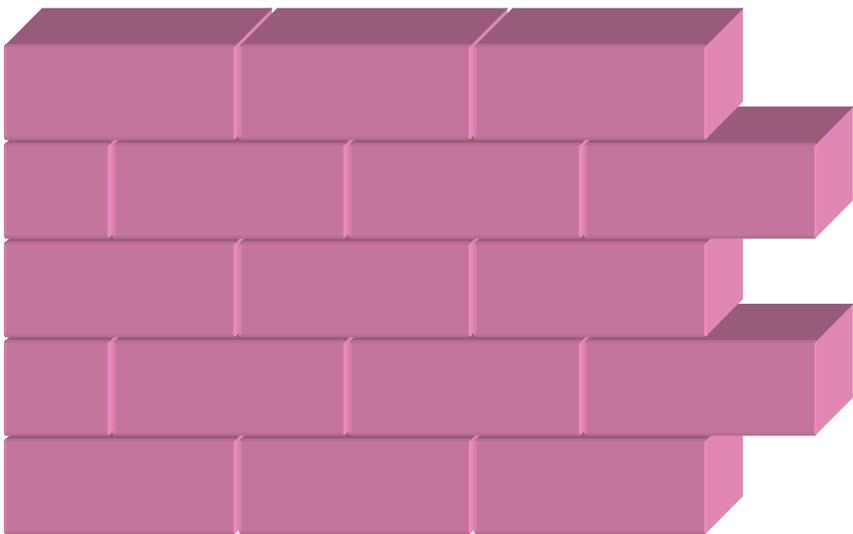
生命的演化一路進行『組合』以趨豐富

有規則的序列

一堆凌亂**磚塊** 不能組成一間**房屋** (建築)

一堆散亂**字母** 無法組成有意義的**文章** (文法)

串起一堆**胺基酸** 不能成為一個有用的**蛋白質**

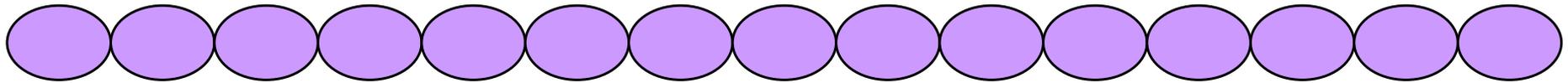


細胞內的三種巨分子

核 酸

遺傳信息傳遞
蛋白質合成

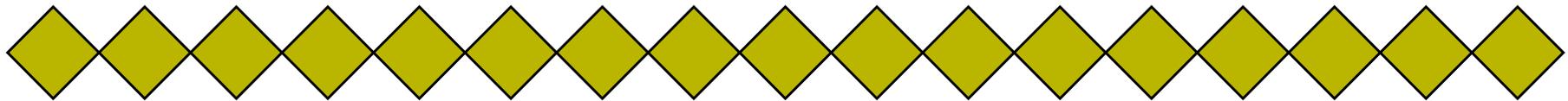
DNA
RNA



蛋 白 質

細胞構造
生理功能

肌肉
酵素



糖 類

細胞構造
能量

細胞壁
葡聚糖



細胞內巨分子的特性

J H T R
 Z Y N D
 B F I Q V
 U A S
 P E M O
 W G L X C
 K

M M P
 E A A
 S S S
 S S S
 A A A
 G G G
 E E E
 S S S

English words

C
 A
 T
 G
 G A G
 A G A
 T T C
 C C T
 A T A
 T T C
 A G G
 C C T

Deoxyribonucleic acid (DNA)

Thr
 Phe Tyr Asn Gln
 Gly Asp Met
 Lys Val Ala Ser
 Ile Leu Arg His
 Pro Trp Cys Glu
 Gly Arg Asp
 Val Gly Gly
 Asp Pro Pro
 Ser Leu Leu
 Phe Lys Gly
 Arg Asn Lys
 Glu Phe Trp
 Ala Glu Cys

Protein

- (1) 巨分子由單位小分子聚合成
- (2) 單位小分子的序列有其意義
- (3) 每一層次組合都有新的機能
- (4) 越後來的組合其複雜性越高

—A—C—T—C—G—A—C—G—A—
 (DNA)



Glc — Glc — Glc — Glc — Glc —
 (cellulose)

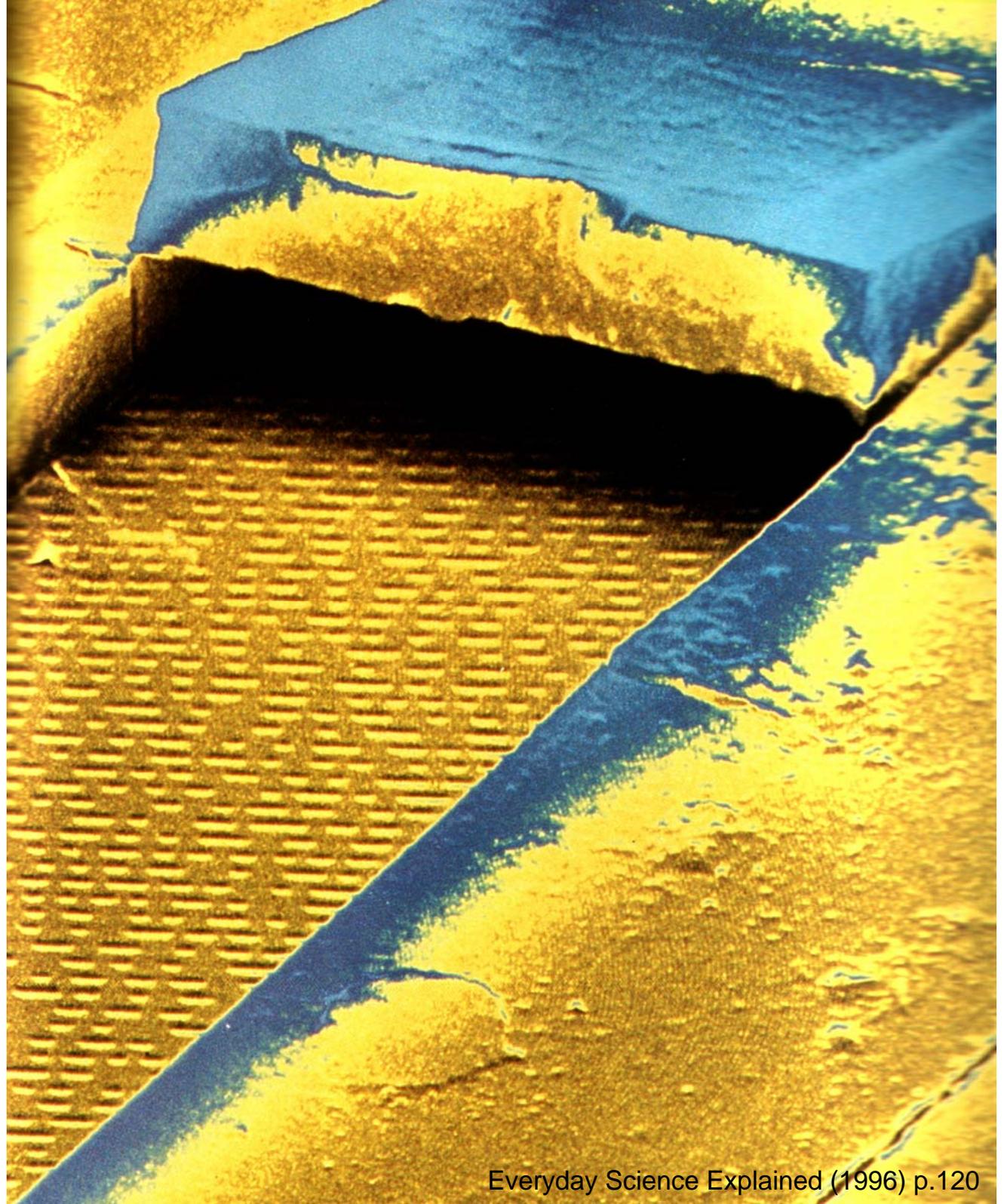


生物資訊學已成形

生物資訊學



Nature 阿拉伯芥基因體紀念光碟

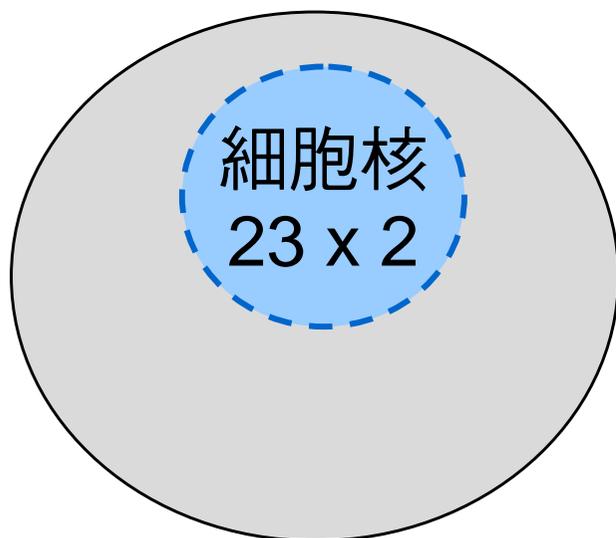




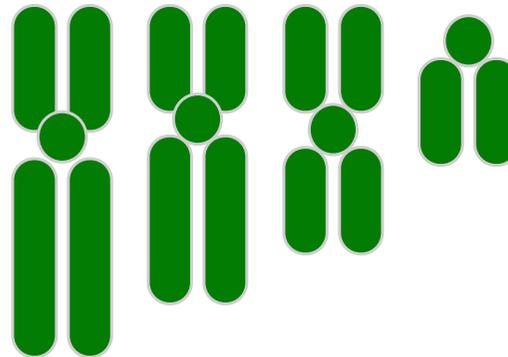
3,000 Mb

總共兩萬多檔案

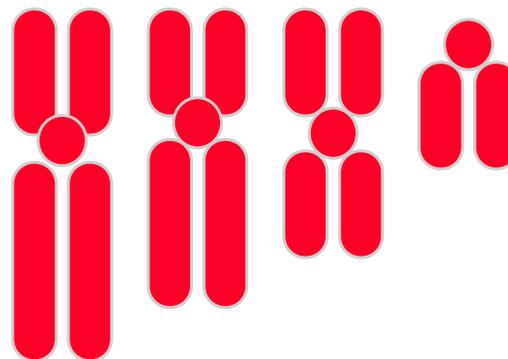
46 條染色体



23 個子目錄



23 對應目錄

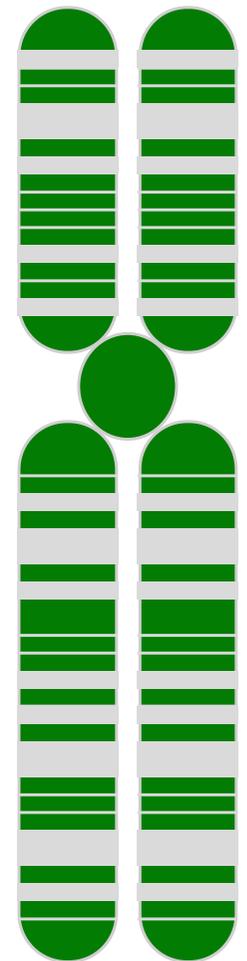


同源染色体

染色体複製



子染色体

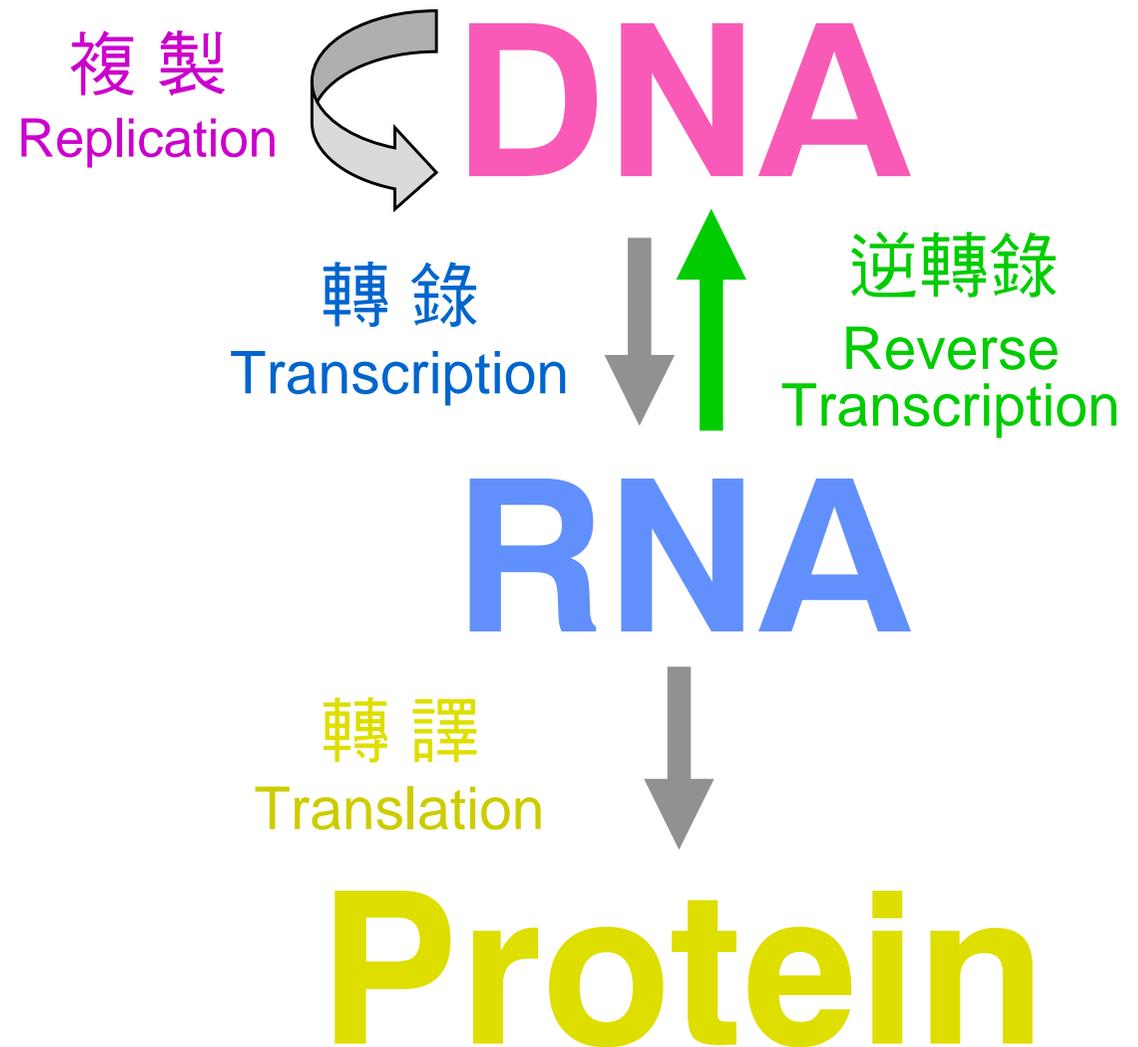
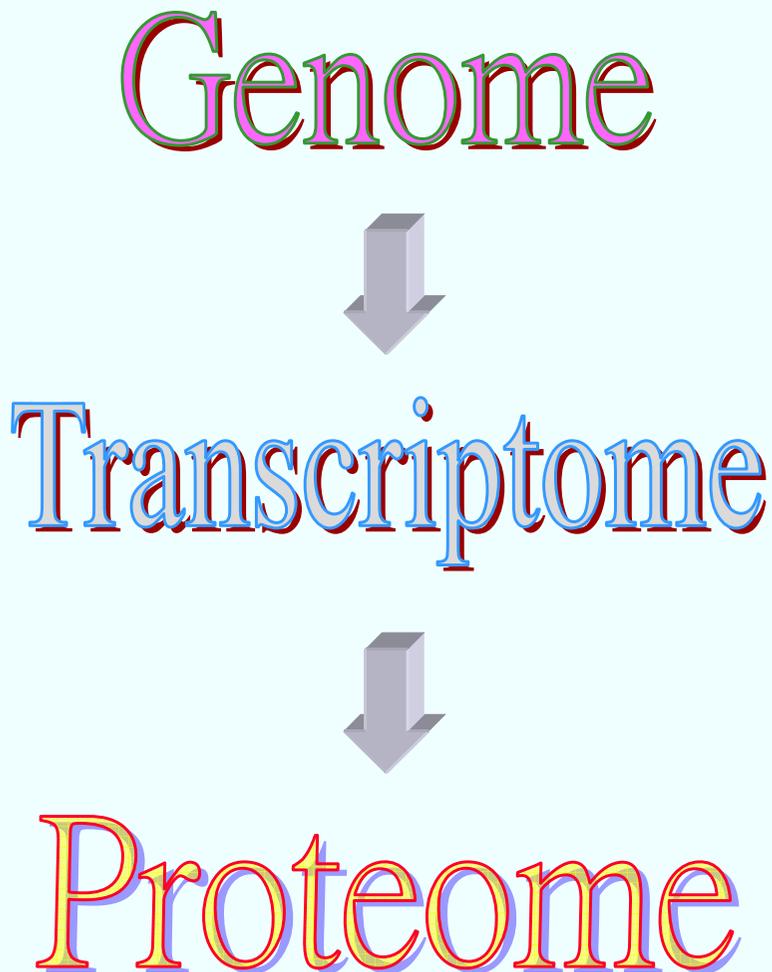


複製備份

細胞
分裂前

Central Dogma – 所有生物學的基本教條

蛋白質的胺基酸排列是由其基因的核苷酸
序列所決定



Genome

基因表現不一定完全反映在蛋白質
由基因體較難預測蛋白質的修飾及調控
也無法預測蛋白質間的交互作用

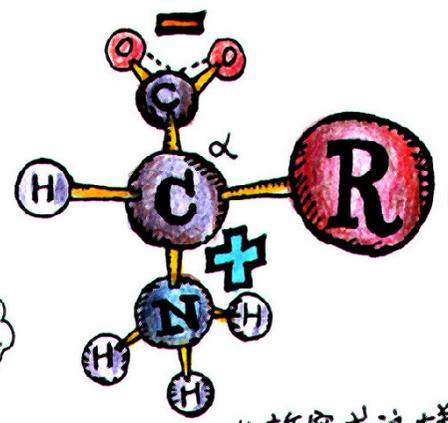
Proteome

胺基酸與蛋白質的故事



這隻鴨子不喜歡聽，我們只好請他走路

1. 胺基酸的基本構造是這樣的：



也許寫成這樣比較易懂：



R group 構造決定胺基酸的特性，共有二十多種常見胺基酸。由 R group 分子的性質，可分為 Polar 與 Non-polar，其中 Polar 者又可分為 Basic, Neutral 及 Acidic。

下面這張表是他們家族的系統表，(已有幾億年的歷史)

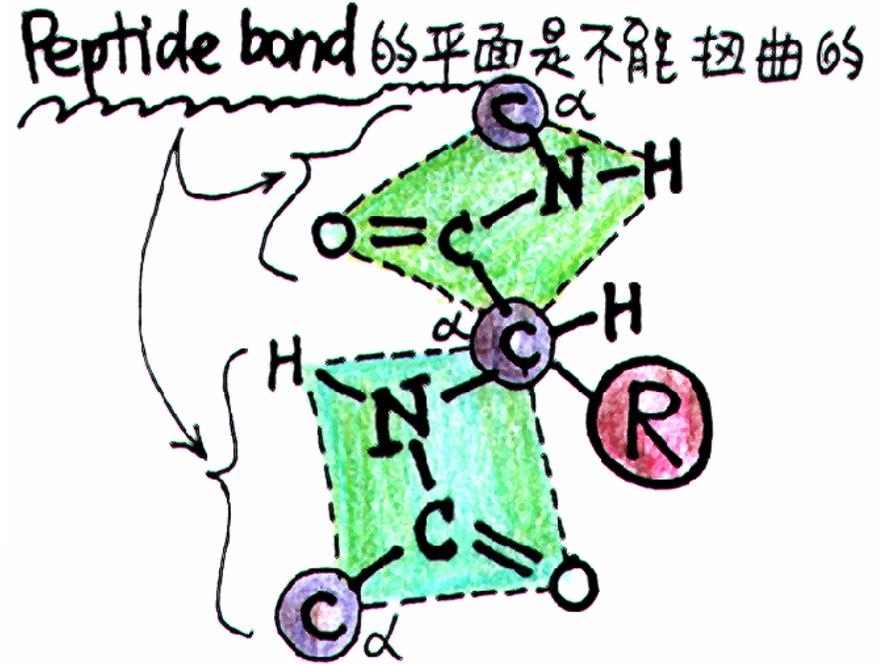
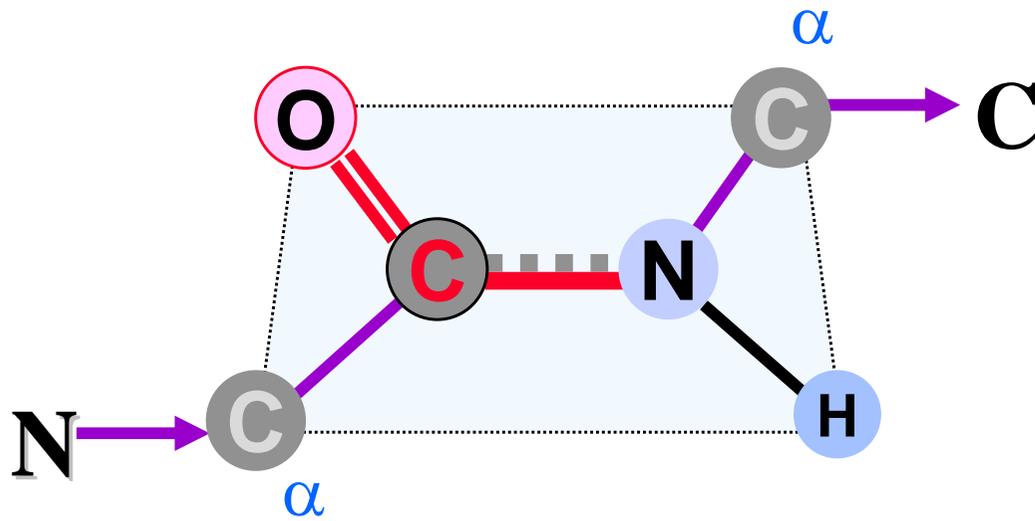


	Acidic	Neutral	Basic
Polar	Asp Glu	Asn, Gln Cys, Thr, Ser Tyr	Lys Arg His
Non-Polar	Tyr, Gly, Ala Phe, Pro, Met, Val; Leu, Ile		

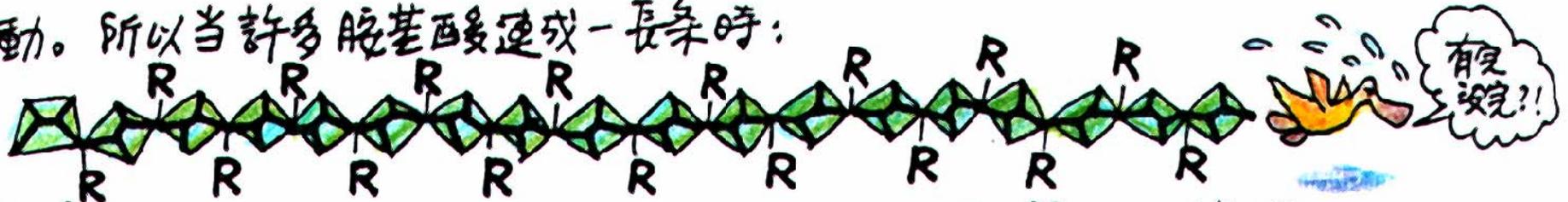


胺基酸側鏈基團 R 的化學性質不同

胜键是組成蛋白質構形的最基本單位



這兩個平面又因為 R group 的關係，只能在一定範圍的角度內活動。所以當許多胺基酸連成一長條時：



因為↑的關係，會自動捲曲成一定的構造 (Secondary structure),

大略說來有：Helix  或 Sheet 

兩種形式

二級構造主要有兩種形式

三級構造已經有特定構形與功能

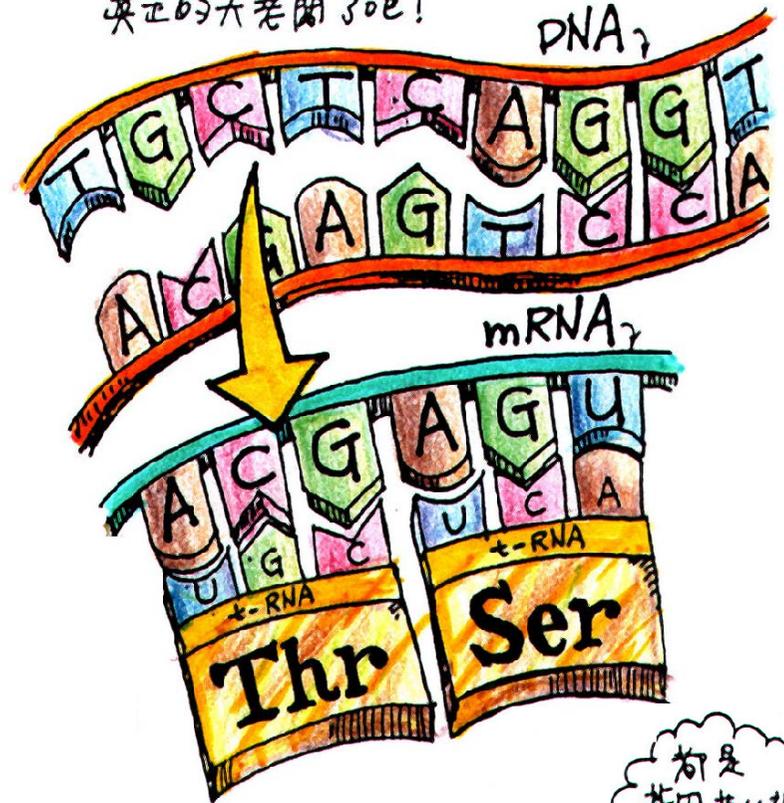
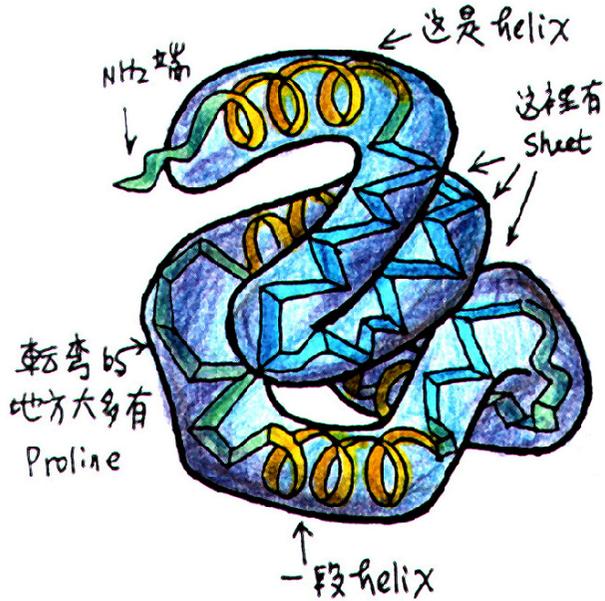
3. 二級構造再捲曲成三級構造:



然後可能有四級構造:



再來沒有了。不過最後的構造如何，早就決定在一級構造上氨基酸的次序，也就是決定於 R group 為何！所以 R group 很重要，但是……不要忘了氨基酸次序是決定於 mRNA。mRNA 又決定於 DNA。所以你知道誰是真正的大老闆了吧！



都是基因惹的禍!

蛋白質的構造指令貯藏在核酸序列中



蛋白質的帶電性質會影響其功能

4. 有一個很重要的概念，就是胺基酸或蛋白質的淨電荷是正是負，完全決定於環境的 pH！

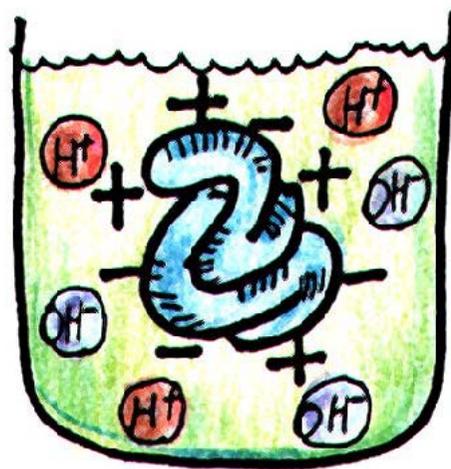
若環境的 $pH > pI$ ，則其淨電荷為負。

若環境的 $pH = pI$ ，則其淨電荷為零。

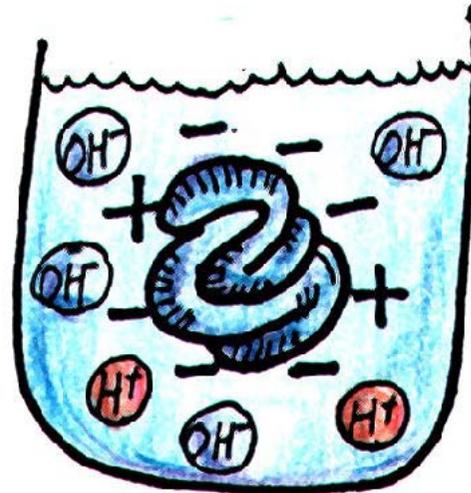
若環境的 $pH < pI$ ，則其淨電荷為正。



$pH < pI$



$pH = pI$



$pH > pI$

pI 就是使
分子或離子的
淨電荷為零的
那個 pH。

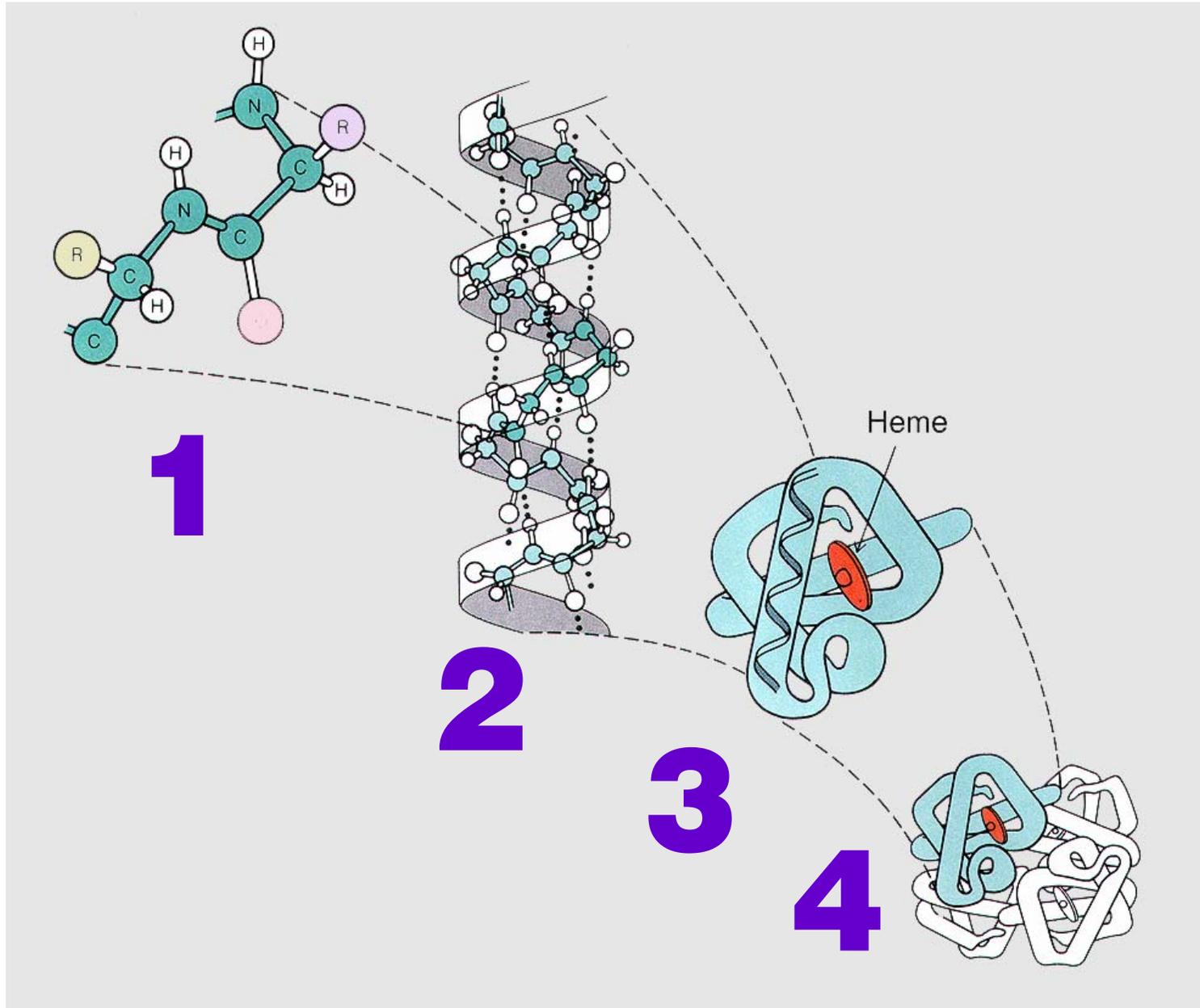


環境的酸鹼度影響蛋白質的電荷性質

由化學物質組成具有活性的巨分子

蛋白質分子構形的組成有四個層次

Mathews et al (2000) Biochemistry (3e) p.195



序列



構形



活性



調節

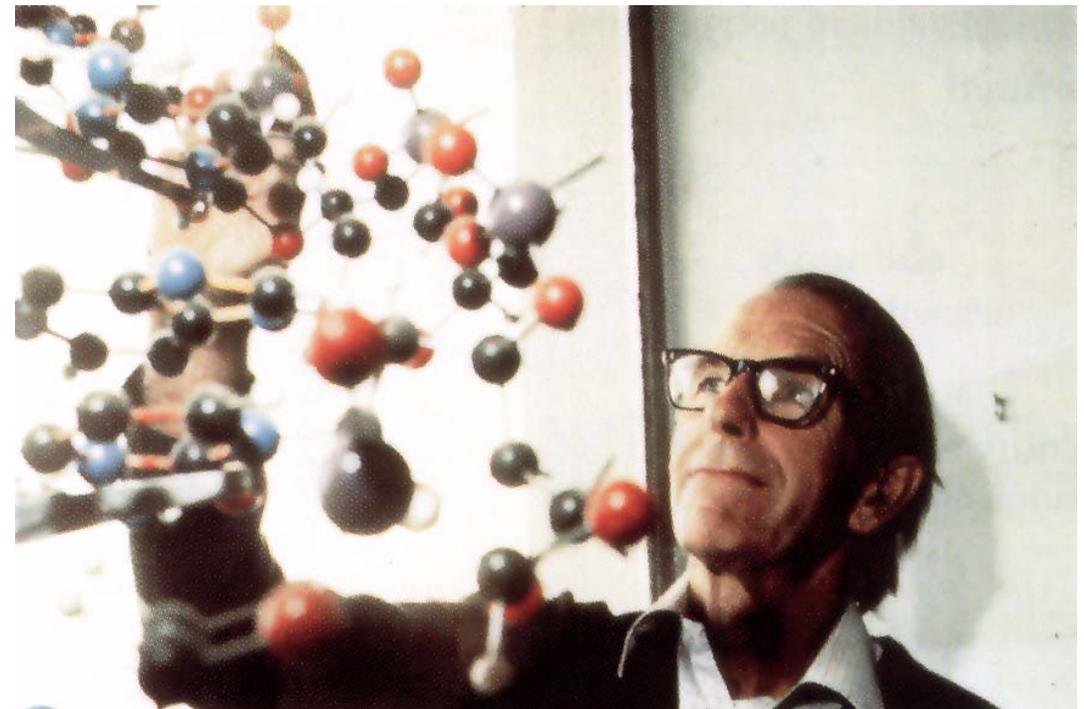
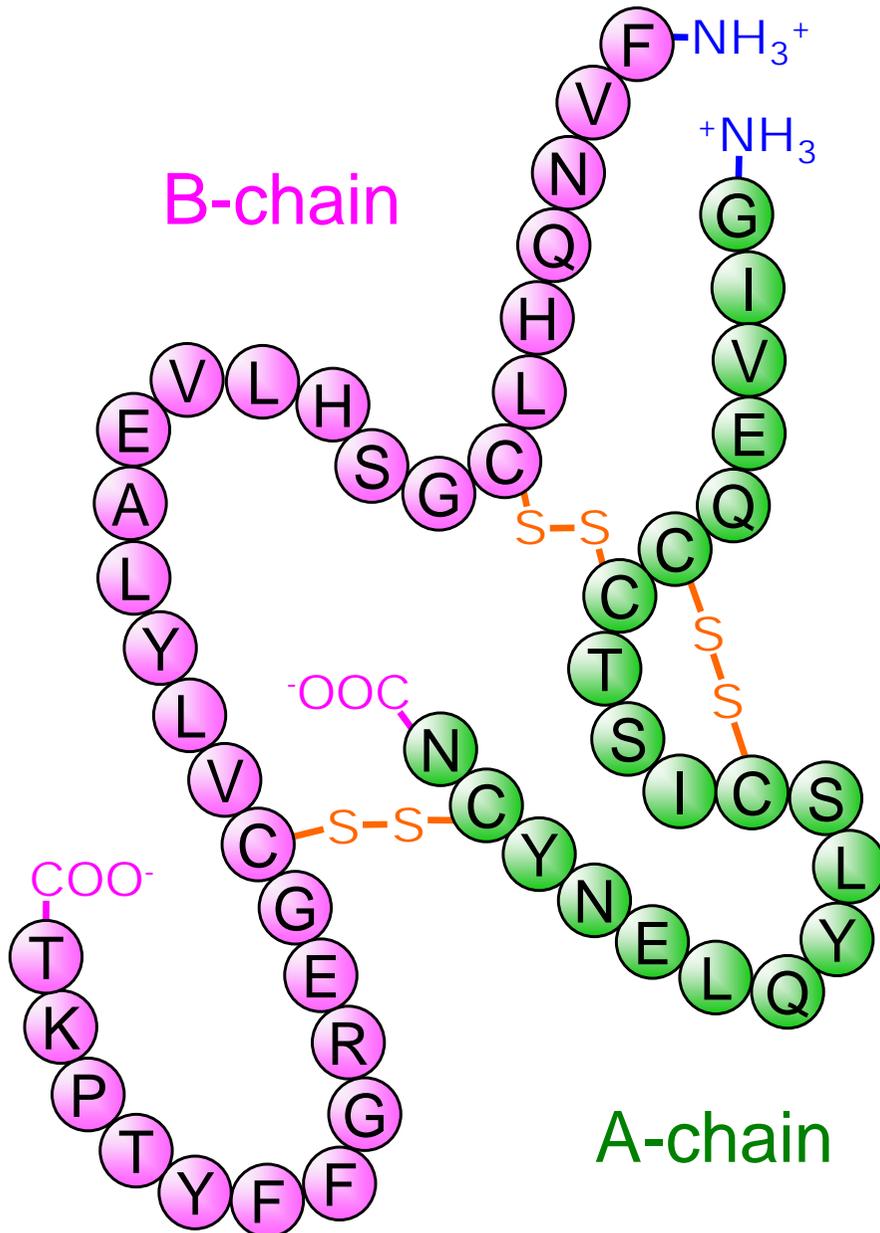
組合所成之『序列』有其生命及存在意義

以傳統胺基酸定序法決定蛋白質序列



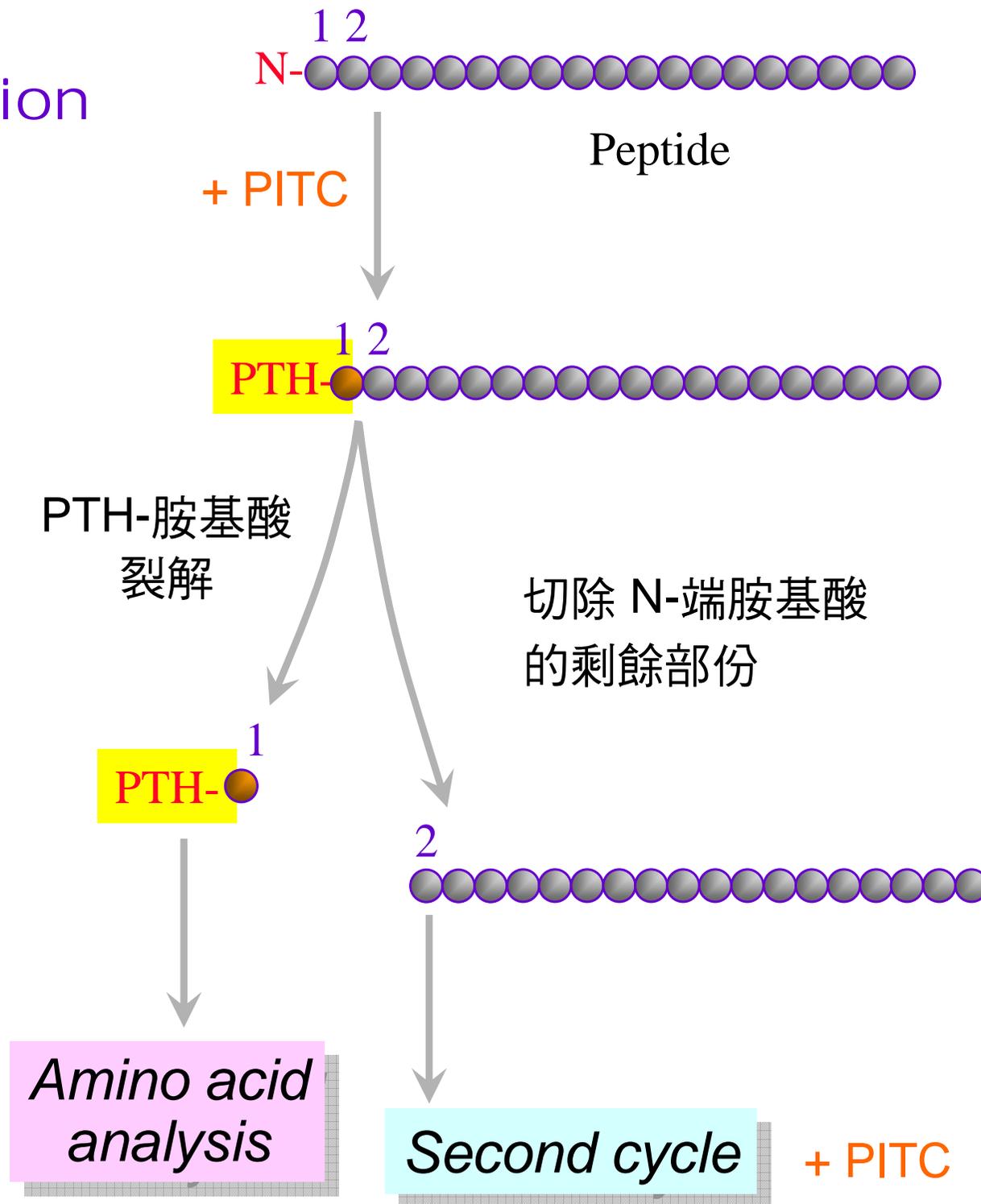
F. Sanger (1980, Cambridge U)

Insulin 胰島素 (A, B chains)



決定胺基酸序列

Edman degradation



蛋白質的專一性水解

● 專一性內切酶：
Trypsin, Chymotrypsin

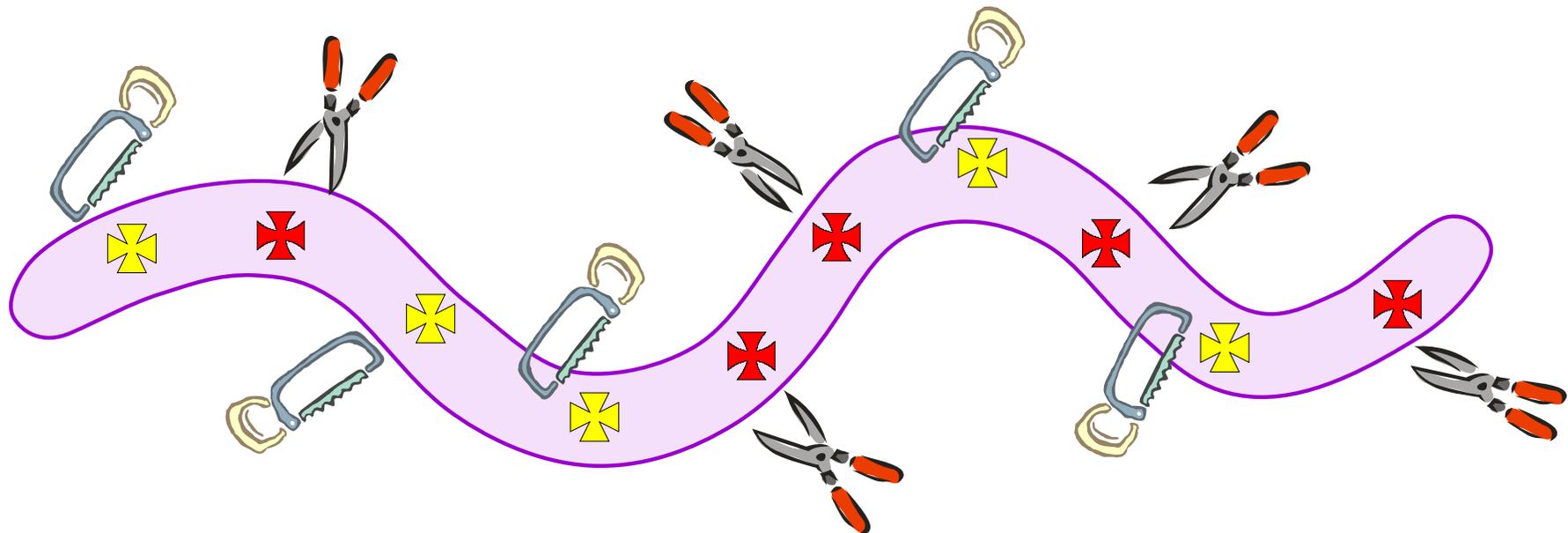
● 檢定胜肽群的方法：
TLE/TLC HPLC SDS-PAGE
MALDI-TOF LC/MS/MS

使用專一性蛋白酶

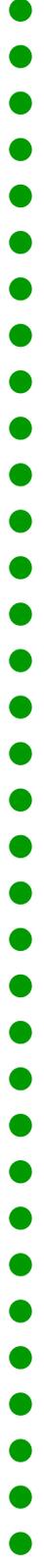
Protease Cutting Sites



變性蛋白質

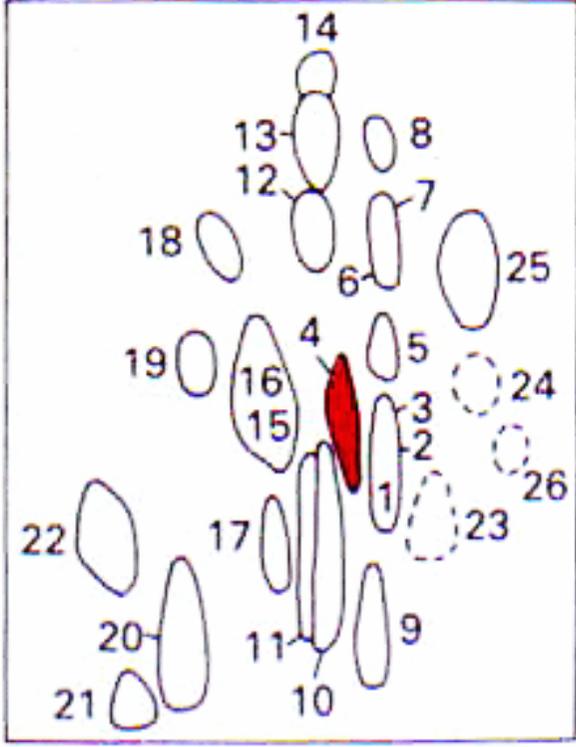
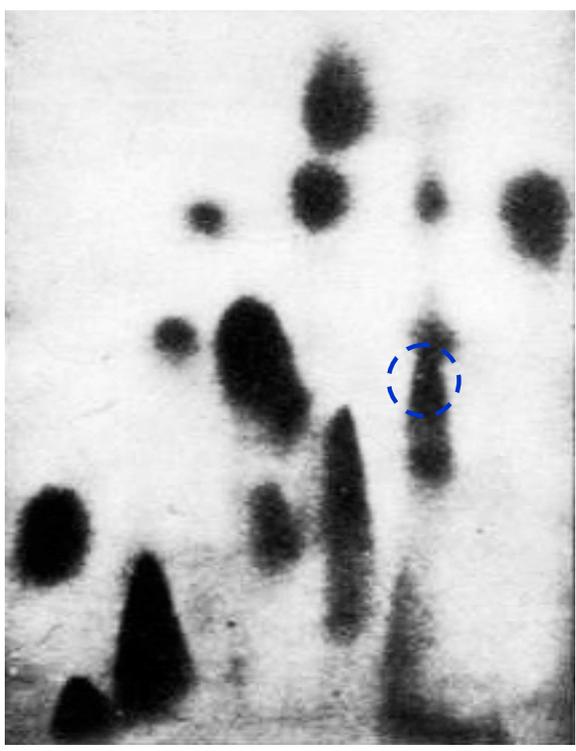
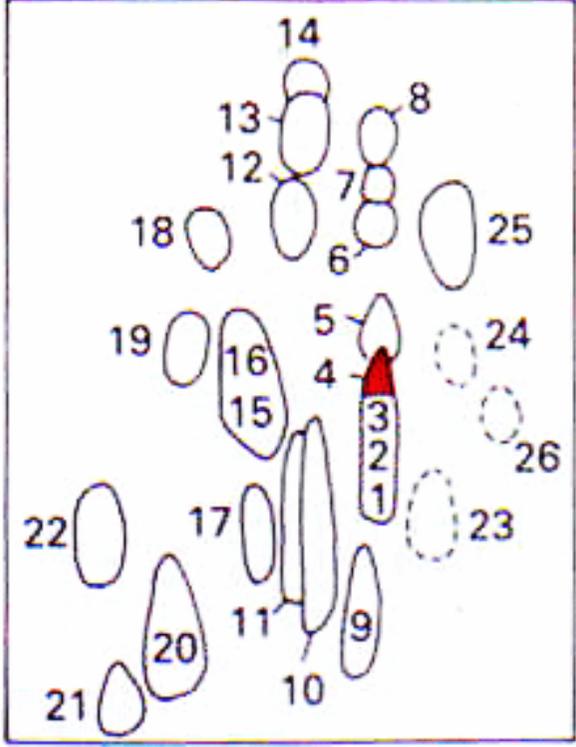


以雙向層析電泳鑑定胜肽



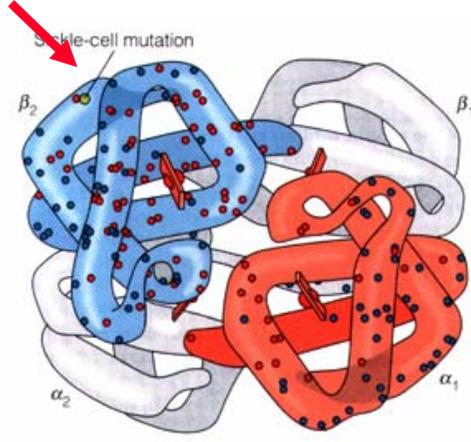
血紅蛋白四號片段

Hemoglobin A

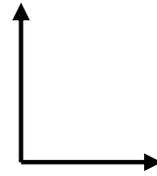


Hemoglobin S

鎌型血球



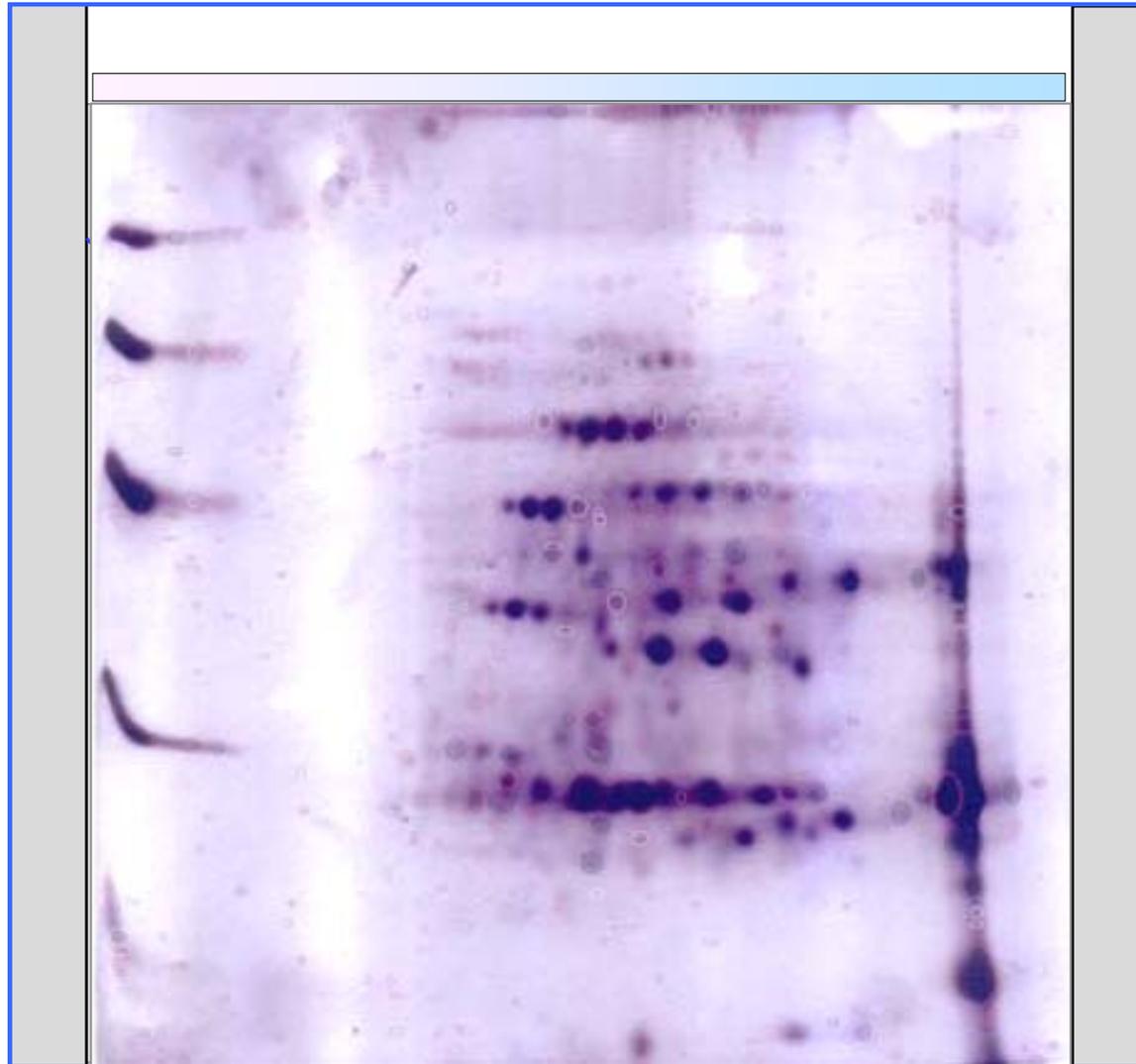
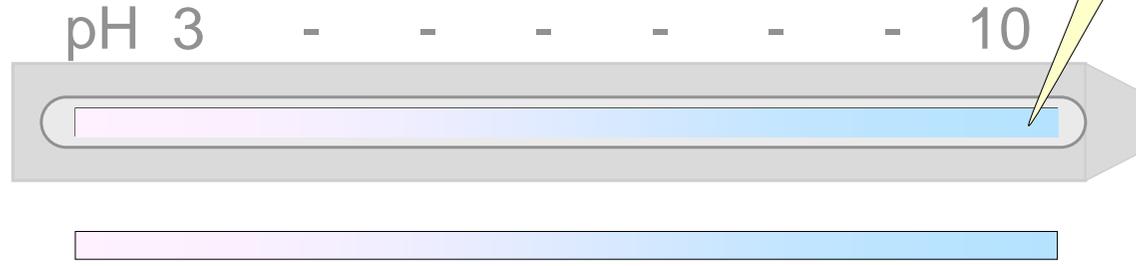
色析



電泳

二次元電泳的操作過程

(1) IEF
等電聚焦電泳

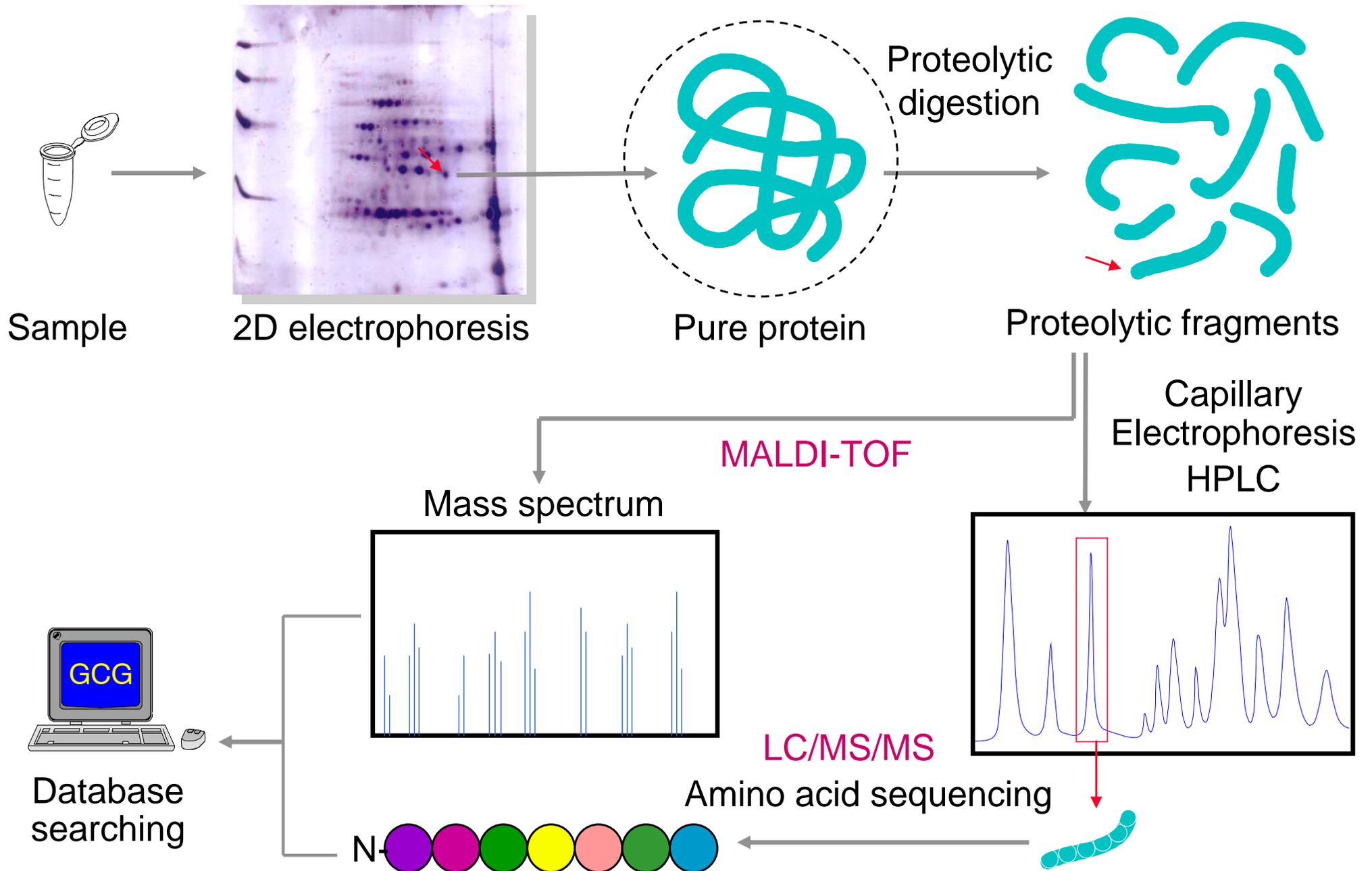


(2)
SDS-PAGE
分離膠體

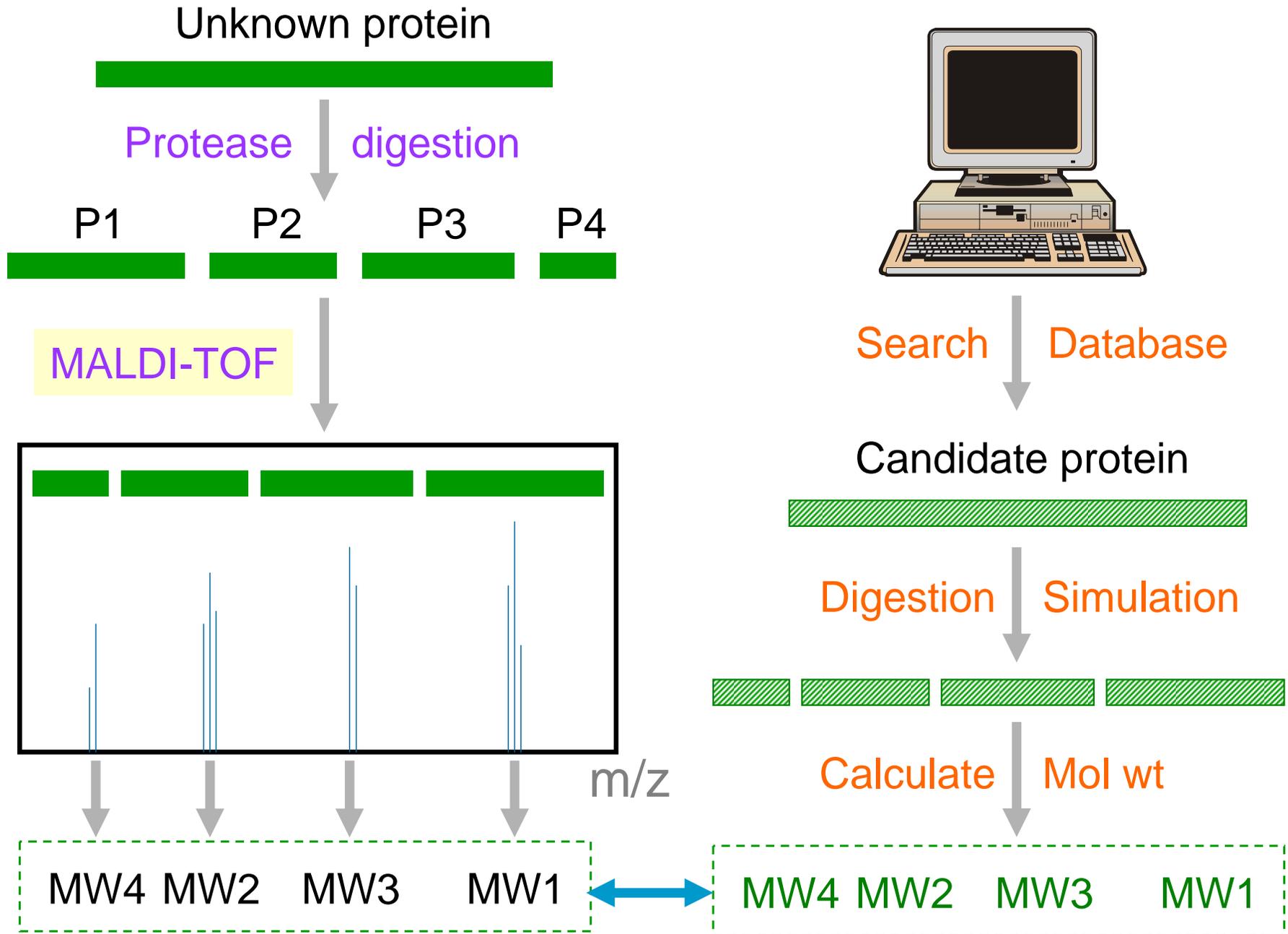


(3)
染色脫色

蛋白質體可綜觀蛋白質的消長與身分

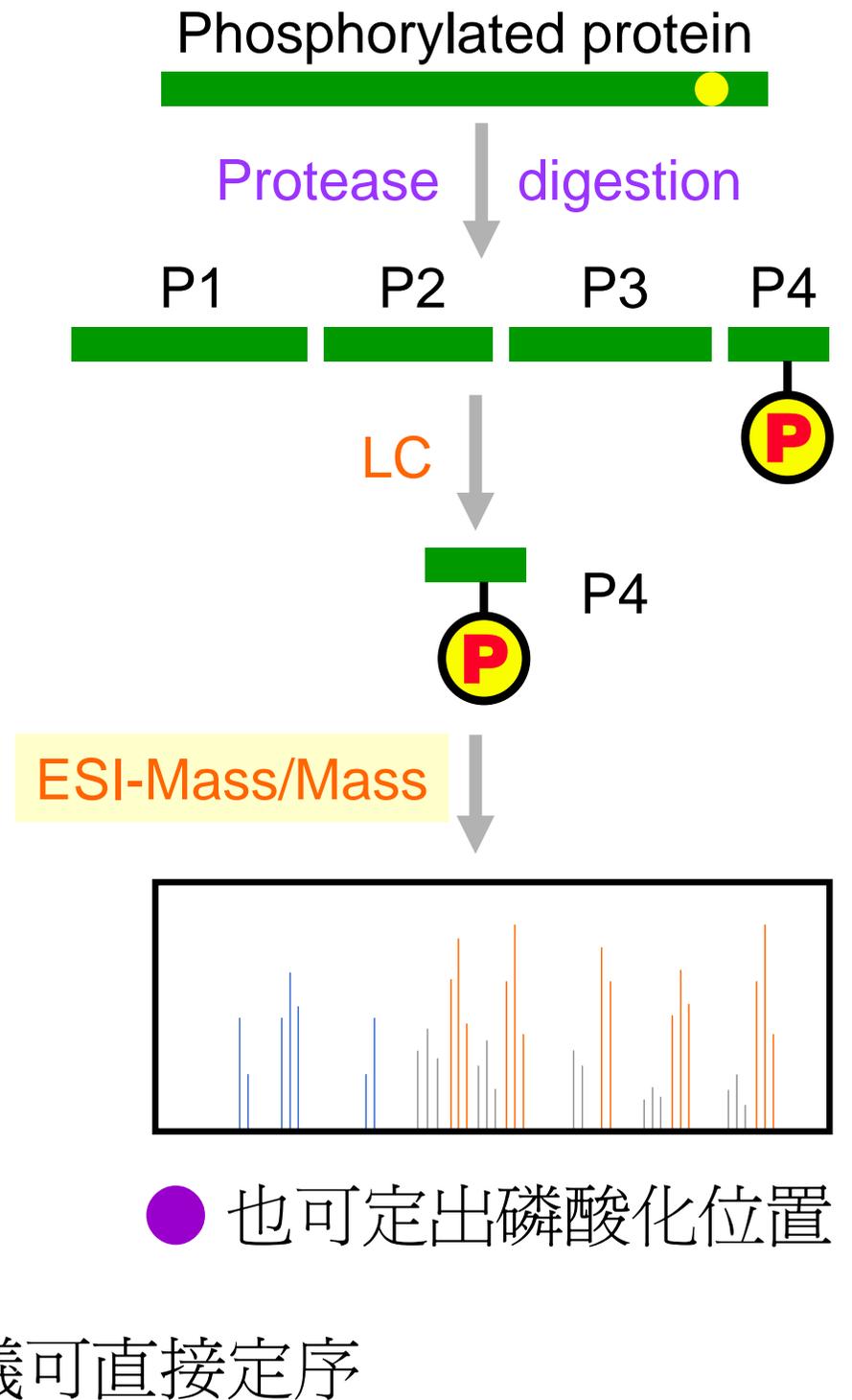
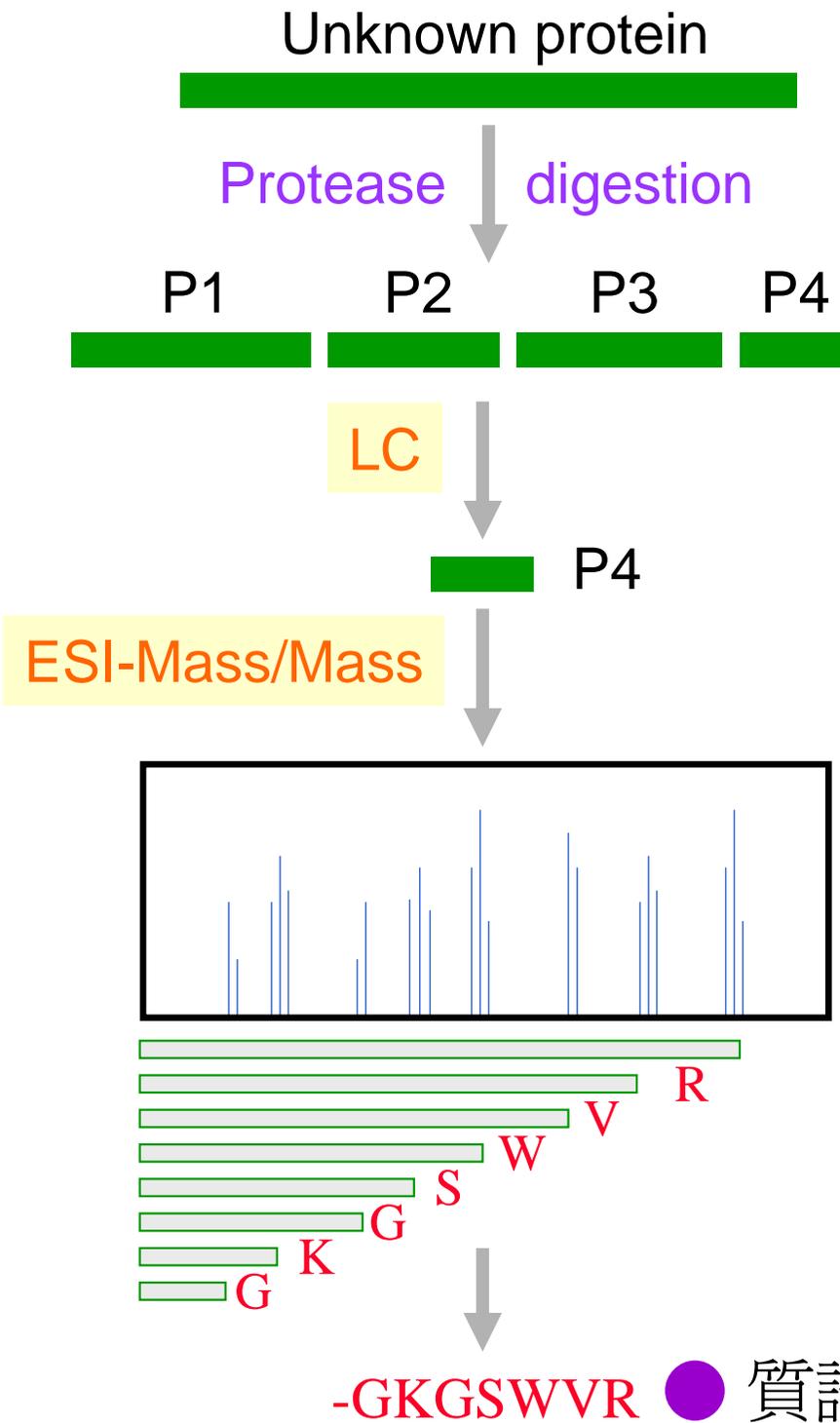


質譜儀可檢定蛋白質身分



● 比對各片段分子量可確定該蛋白質身分

質譜儀可進行蛋白質序列分析



蛋白質體分析工具建立

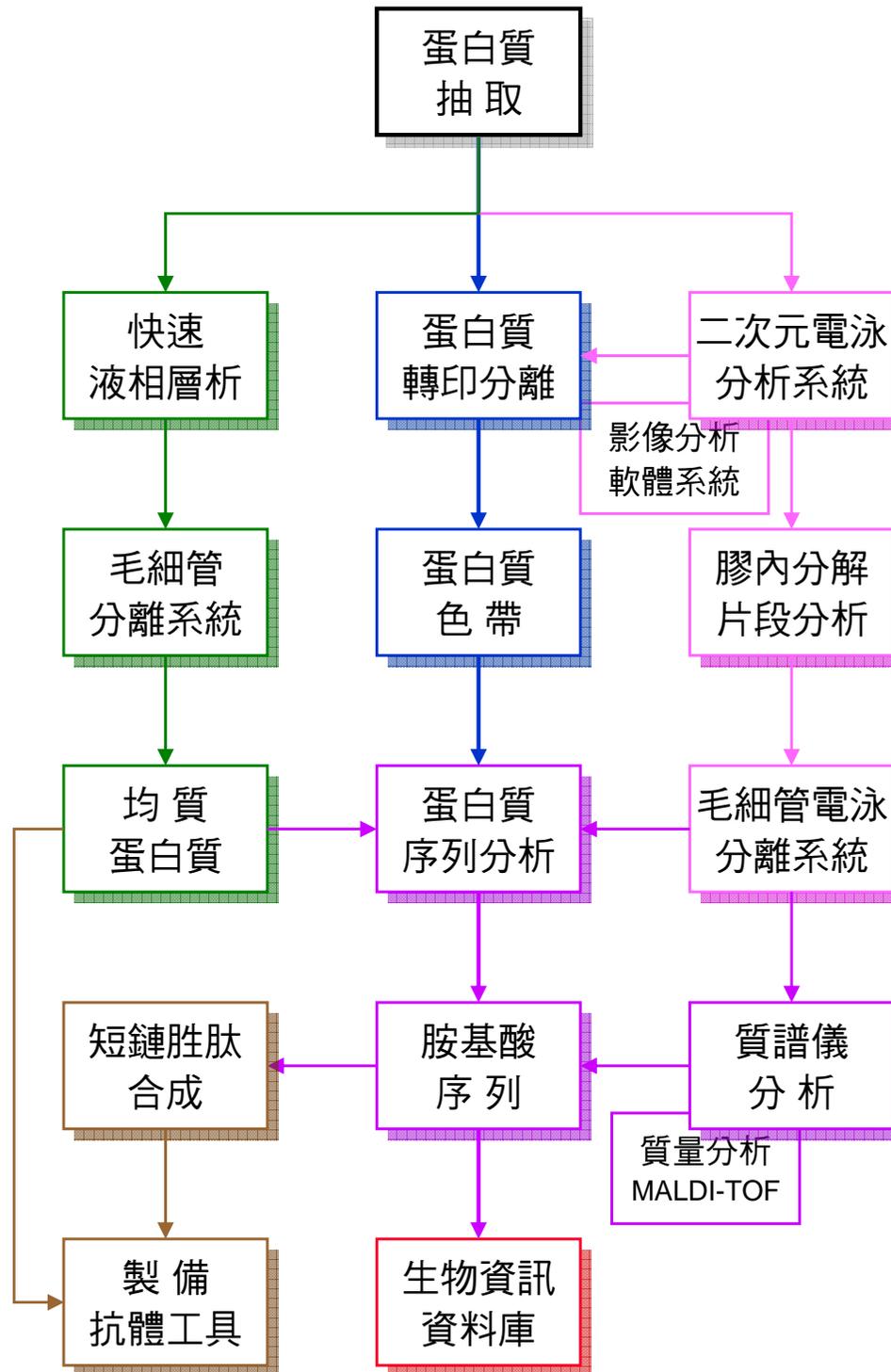


大型二次元電泳

蛋白質序列分析



蛋白質的微量分離及檢定



蛋白質科技

Protein Technology

蛋白質分離分析

- 1 電泳及轉印
- 2 二次元電泳
- 3 膠體內水解
- 4 微量分離純化

微量分析系統

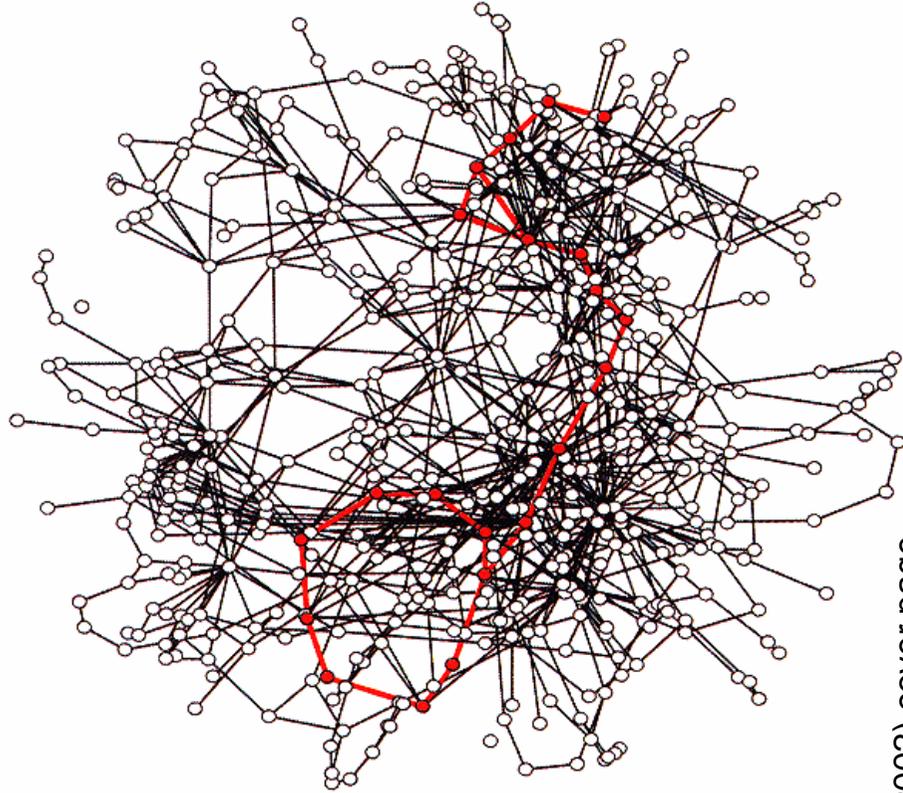
抗體製備

生物資訊學

由蛋白質體學延伸到系統生物學

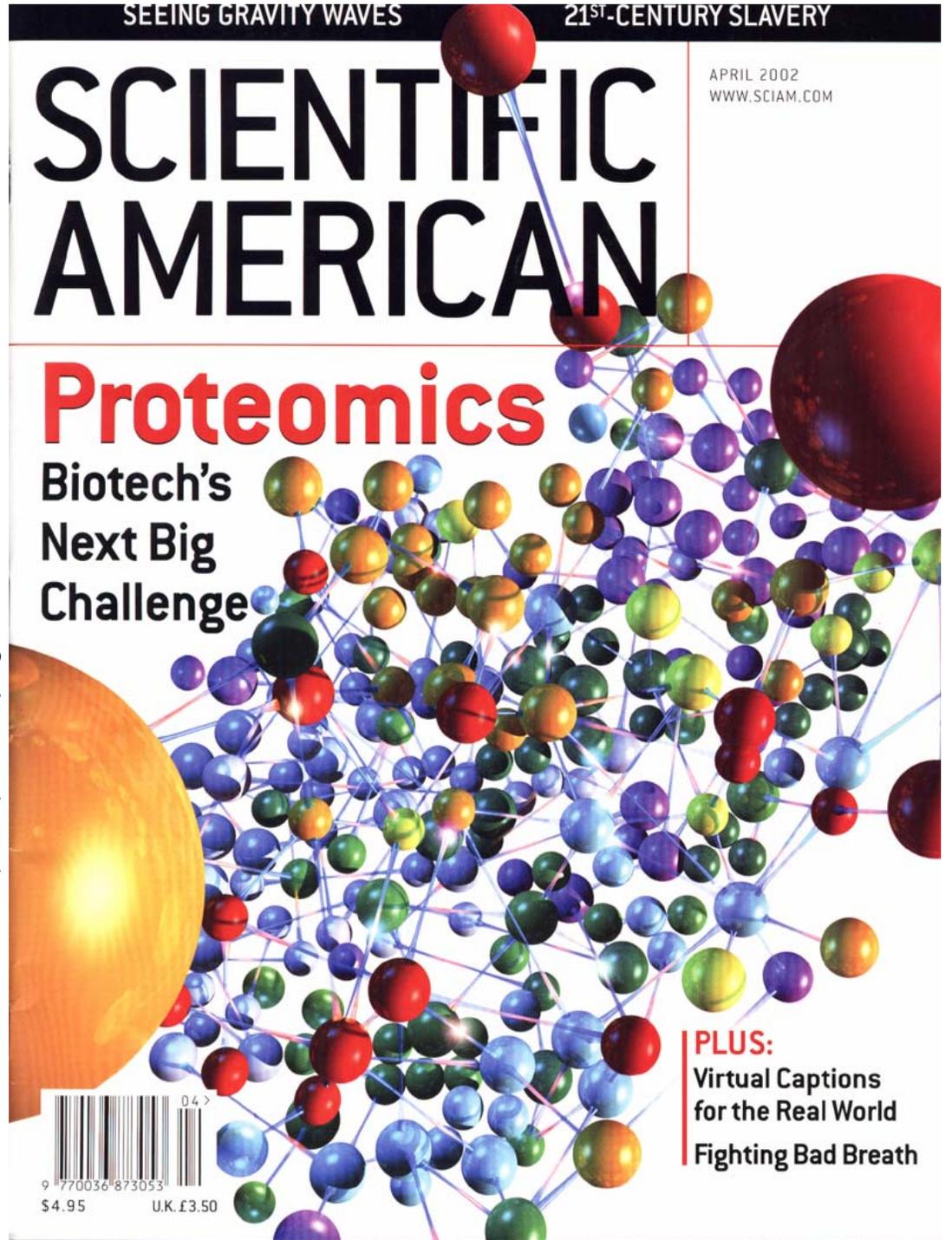
代謝路徑立體圖

Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.107



Systems Biology

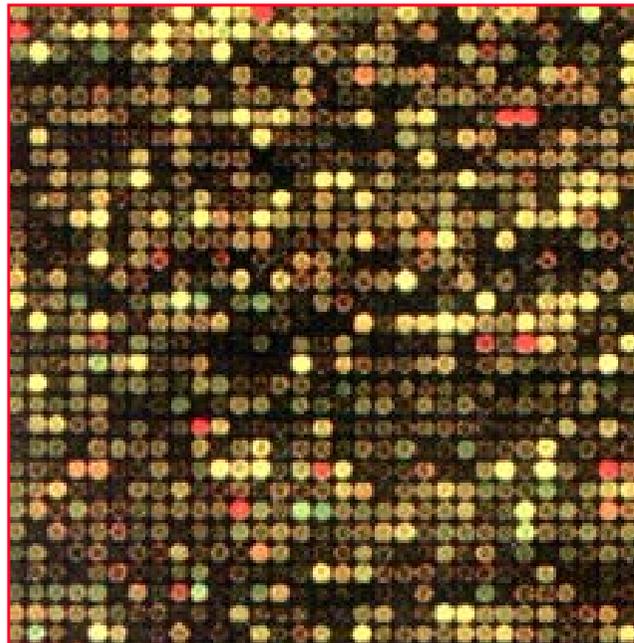
Scientific American (2002) cover page



整體性的生物學觀念與工具

■ 現代蛋白質科技的特點

- 高產能 High-through put
- 快速 High-speed
- 微量 Micro-scaled



生命的豐富複雜度，
源自各種層次的組合。
核酸的組成序列，
是延續生命的記憶密碼；
依此序列所合成的蛋白質，
則造就了生命形體與功能。

BST

國立台灣大學
生化科技學系
莊榮輝

(02) 2363-1704
juang@ntu.edu.tw

