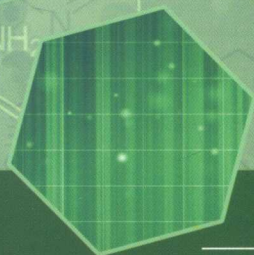


面向“十二五”示范应用型高校规划教材

DANBAIZHI YU MEIGONGCHENG

蛋白质与酶工程

张德华◎主编



合肥工业大学出版社
HEFEI UNIVERSITY OF TECHNOLOGY PRESS

面向“十二五”示范应用型高校规划教材

蛋白质与酶工程

主编 张德华



合肥工业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

蛋白质与酶工程/张德华主编. —合肥:合肥工业大学出版社,2015.9
ISBN 978-7-5650-2287-6

I. ①蛋… II. ①张… III. ①蛋白质—高等学校—教材②酶工程—高等学校—教材 IV. ①Q51②Q814

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 133673 号

蛋白质与酶工程

张德华 主编

责任编辑 马成勋

出版	合肥工业大学出版社	版次	2015年9月第1版
地址	合肥市屯溪路193号	印次	2015年9月第1次印刷
邮编	230009	开本	710毫米×1000毫米 1/16
电话	理工编辑部:0551-62903200 市场营销中心:0551-62903198	印张	20
网址	www.hfutpress.com.cn	字数	420千字
E-mail	hfutpress@163.com	印刷	安徽昶颀包装印务有限责任公司
		发行	全国新华书店

ISBN 978-7-5650-2287-6

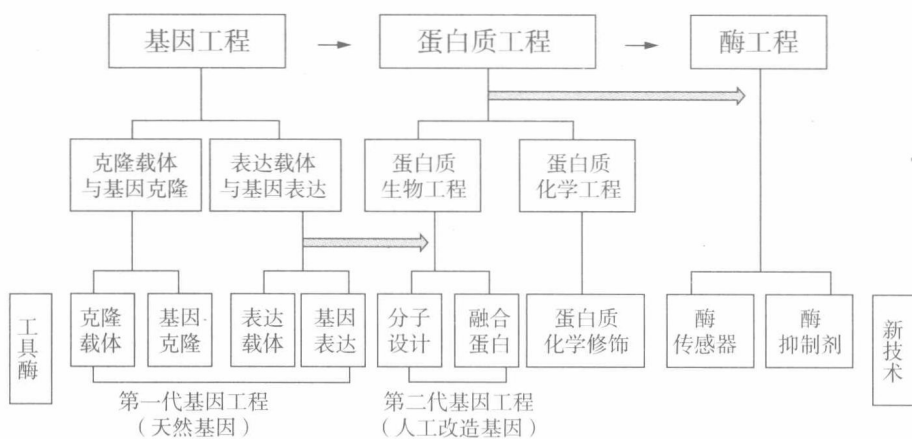
定价:40.00元

如果有影响阅读的印装质量问题,请与出版社市场营销中心联系调换。

前 言

“蛋白质与酶工程”是高等学校生物工程、生物科学、制药工程专业和食品质量与安全专业等相关专业的一门重要专业核心课程。2010年，皖西学院生物工程专业被列为安徽省高校质量工程省级特色专业、生物工程专业综合实验教学团队列为省级教学团队，2013年，皖西学院生物工程专业列为教育部综合改革试点专业。根据皖西学院示范应用型人才培养目标要求和生物工程省级特色专业建设规划，我们进行了生物工程专业的课程体系和实践教学模式改革，整合力量，组织编写了《植物生物技术》、《微生物发酵工程》、《蛋白质与酶工程》、《生物质能源工程》、《植物天然产物开发》等专业核心课程的系列教材和实验用书。

基因工程、蛋白质工程和酶工程是一脉相承的，同时这3门课的内容重复点较多，这3门课的关系如下：



本书涵盖了蛋白质与酶工程的重要领域，内容包括蛋白质工程概述、酶工程概述、蛋白质分子设计、融合蛋白、蛋白质的化学修饰、酶的分离工程、固定化酶与固定化细胞、非水相酶催化、酶传感器、酶抑制剂、蛋白质和酶

的应用、基因工程基础和蛋白质工程新技术等。简明扼要地介绍了蛋白质与酶工程的基本原理、技术方法和操作流程,理论联系实际,突出案例教学与实践认知,并兼顾到知识的延伸拓展,同时介绍一些较新的前沿动态,形成自己的特色。使本科生了解现代蛋白质和酶工程理论的新进展并为相关学科提供知识和技术。

为了适应应用性本科教育,精减课程重复内容,整合课程体系,增加实用性内容,本教材有如下特色:

1. 科学精炼的内容体系

将基因工程归纳为基因克隆和基因表达,而基因表达奠定了蛋白质工程的基础。结合讲述蛋白质化学修饰可以得到内容完整的蛋白质工程知识体系,而在讲述蛋白质工程的内容时,蛋白质化学修饰结合模拟酶实例,蛋白质生物工程以抗体酶为实例。这样在讲述蛋白质工程的同时也同时阐述了酶工程的内容,结合讲述酶传感器和酶抑制剂达到酶工程较完整的体系。

2. 避免了不必要重复内容

由于上述内容体系的安排,避免了约 1/3 的重复内容,同时使知识体系更加明了。

3. 反映最新学术内容

本学科发展较快,新的技术不断涌现,本书的内容采用最新的学术观点,同时在最后一章专门安排了最新技术方法。

4. 强调实用性

相应的章节内容都安排了技术实训方法、知识应用的内容或应用案例。

全书由张德华教授主编由上海欣能科技公司谢昀工程师校对。在组织和编写过程中,得到了安徽省高校省级重点项目和皖西学院教学质量工程优秀教材项目(蛋白质与酶工程)的支撑,特此致谢。

由于蛋白质和酶工程学科的边缘性,有些内容暂没有统一的定论,以及编者水平有限,书中难免有疏漏之处,敬请广大读者批评指正。

编者

2015年8月于六安

目 录

第一章 绪 论	(1)
第一节 蛋白质工程的物质基础	(1)
第二节 蛋白质工程的原理	(22)
第三节 蛋白质工程的程序 and 操作方法	(23)
第四节 酶工程定义	(24)
第五节 酶的催化特点以及影响因素	(27)
第六节 酶的活力测定	(30)
第二章 蛋白质分子设计	(33)
第一节 生物信息学与蛋白质工程	(33)
第二节 蛋白质常用数据库	(36)
第三节 蛋白质结构预测	(42)
第四节 蛋白质分子设计	(50)
第五节 抗体酶	(59)
第三章 融合蛋白	(63)
第一节 基因突变技术	(63)
第二节 基因融合	(68)
第四章 蛋白质的化学修饰	(77)
第一节 蛋白质侧链基团的化学修饰	(77)
第二节 蛋白质的位点专一性修饰	(83)
第三节 蛋白质的聚乙二醇修饰	(84)
第四节 蛋白质的化学交联和化学偶联	(85)
第五节 模拟酶	(89)
第五章 酶的分离工程	(96)
第一节 预处理	(96)

第二节	酶的提取	(102)
第三节	酶的分离纯化	(104)
第四节	酶的浓缩、干燥和结晶	(130)
第六章	固定化酶与固定化细胞	(136)
第一节	酶的固定化	(136)
第二节	细胞的固定化	(146)
第七章	非水相酶催化	(150)
第一节	非水相酶学概述	(150)
第二节	有机介质中的酶促反应	(152)
第八章	酶传感器	(161)
第一节	生物传感器	(161)
第二节	酶生物传感器	(168)
第九章	酶抑制剂	(177)
第一节	酶的抑制剂	(177)
第二节	酶抑制剂的应用	(179)
第十章	蛋白质工程新技术	(185)
第一节	核酸的提取与检测	(185)
第二节	聚合酶链式反应	(190)
第三节	蛋白质芯片技术	(192)
第四节	酵母双杂交技术	(196)
第五节	噬菌体展示技术	(201)
第六节	蛋白质分子印迹技术	(210)
第十一章	基因工程基础	(215)
第一节	基因工程工具酶	(216)
第二节	基因工程的克隆载体	(234)
第三节	目的基因的克隆	(251)
第四节	表达载体	(283)
第五节	外源基因表达系统	(307)

第一章 绪论

[内容提要] ①重点介绍蛋白质工程、蛋白质的结构与功能、蛋白质工程的原理、蛋白质工程的程序 and 操作方法、酶工程、酶活力等概念；②简要回顾酶及酶工程的研究意义、发展简史、酶工程研究的技术方法、酶的催化特点及影响因素。

第一节 蛋白质工程的物质基础

一、蛋白质工程

(一) 蛋白质工程概念

蛋白质工程是以蛋白质的结构与功能的关系研究为基础，利用基因工程技术或化学修饰技术对现有蛋白质加以改造，组建成新型蛋白质的现代生物技术。

蛋白质是由许多氨基酸按一定顺序连接而成的，每一种蛋白质都有自己独特的氨基酸顺序，所以改变其中关键的氨基酸就能改变蛋白质的性质。而氨基酸是由三联体密码决定的，因此只要改变构成遗传密码的一个或两个碱基就能通过改变氨基酸达到改造蛋白质的目的。

合成或改造

分子设计

基因 ← mRNA ← 氨基酸序列 ← 多肽链 ← 蛋白质三维结构 ← 预期功能

基因 …… → 转录 …… → 翻译 …… → 折叠 …… → 生物功能

操作对象：蛋白质工程的操作对象是基因

(二) 蛋白质的来源

蛋白质工程所需的蛋白质主要来源有自然来源和人工合成。自然来源的蛋白质主要取自微生物、植物和动物，人工合成蛋白质主要为化学合成。

1. 微生物作为蛋白质的来源

目前工业生产蛋白质的微生物包括：

细菌：枯草芽孢杆菌、解淀粉芽孢杆菌及其他的杆菌、乳酸杆菌和链霉菌等。

真菌：包括曲霉属、青霉属、毛霉属和根霉属的许多种，如酿酒酵母。

安全性要求：微生物必须是非病原的、非毒性的、并且不产生抗生素。

优点：①生长周期短、易遗传操作；②可产胞外酶，提纯工艺简单。

表 1-1 一些源于微生物（非重组）的商业蛋白质

蛋白质	来源	应用
链激酶	各种溶血性链球菌	溶血栓剂（降解血凝块）
葡激酶	金黄色葡萄球菌	溶血栓剂
破伤风类毒素	破伤风细菌的甲醛处理的毒素	破伤风疫苗
天冬酰胺酶	菊色欧文杆菌或大肠杆菌	治疗癌（白血病）
葡萄糖氧化酶	黑曲霉	测定血糖水平
乙醇脱氢酶	酿酒酵母	测定血液乙醇水平
各种淀粉酶	杆菌和米曲霉	淀粉降解
各种蛋白酶	杆菌和曲霉	用做降解食品蛋白、去污剂或其他用途
纤维素酶	木霉属、黑曲霉和放射线菌	降解纤维素

（1）基因工程菌生产蛋白质

重组 DNA 技术有很多种方法用于提高内源微生物蛋白的产量，这些方法包括：①将相关基因的附加拷贝引入微生物；②将相关基因的一个拷贝或多个拷贝引入微生物，在强启动子下控制表达，该法能成倍提高有益蛋白质的产量。

将自然条件下细胞内不产生的重组蛋白称为异源蛋白，采用重组的方法在微生物体内产生的蛋白质几乎都是异源蛋白。

从特定的微生物菌种中分离一个基因/cDNA 序列，然后用重组的方法在相同种的菌体内表达基因产物，该方法被称为同源蛋白生产，在自然条件下宿主细胞也可以生产这种重组蛋白，但插入多拷贝的基因或改变启动子，则可提高基因产物的产量或克服基因表达的许多问题。例，代表产品脂肪酶洗涤剂 and 植酸酶。

（2）大肠杆菌生产异源蛋白

用于生产异源蛋白的细菌中最常见的是大肠杆菌，对它的遗传学特性非常清楚，目前已构建了很多可用的质粒。

一般情况下，编码有益蛋白质的外源基因或 cDNA 可直接与大肠杆菌的一个完整或部分基因结合，表达融合蛋白；而另一些外源基因在细菌的控制

因素、启动子和终止子等调控下转录，即直接表达。

表 1-2 一些大肠杆菌生产的异源蛋白及表达水平

蛋白质	表达水平/%	蛋白质	表达水平/%
生长激素抑制剂	<0.05	抗胰蛋白酶	15
胰岛素 A 链	20	白细胞介素-2	10
胰岛素 B 链	20	肿瘤坏死因子	15
牛生长激素	5	β 干扰素	15
人生长激素	5	γ 干扰素	25
牛凝乳酶原	8		

由大肠杆菌天然合成的蛋白质大多数存在于细胞中，只有很少被分泌到细胞周质，还有少分泌到培养基中。大肠杆菌产生的异源蛋白具有极高的表达水平，在多数情况下，这些蛋白质聚集在细胞质内，形成不溶性聚集体，即包涵体。

I 包涵体

包涵体：一种无膜包被的蛋白质不溶性聚集体，包括目标蛋白、菌体蛋白等。其中目标蛋白一级结构是正确的，但立体结构是错误的，所以没有生物活性。

包涵体成分主要由表达的异源蛋白（其中其他蛋白含量低于 15%，主要是 RNA 聚合酶）、大肠杆菌外膜蛋白和 rRNA 组成。

包涵体的形成：大肠杆菌中目标产物的表达水平过高，超过正常代谢水平，过多表达产物聚集在细胞内，形成不溶性的包涵体。包涵体即不是蛋白质天然的形式也不是完全伸展形式，而是经部分折叠的中间体组成。

包涵体形成原因：①蛋白过量积聚，超过溶解度，导致沉淀；②蛋白生成太快，分子间疏水基团相互作用而聚集沉淀；③蛋白生成太快，分子内部二硫键的错误连接导致沉淀；④表达蛋白过多，与其结合/诱导组分不足，不能形成溶解状态；⑤蛋白质自身不稳定；⑥没有足够的分子伴侣/折叠酶参与部分折叠中间体的聚集；⑦缺乏翻译后修饰酶，产生不稳定的（真核的）异源蛋白产物防止包涵体形成方法（几种表达可溶性异源蛋白）：防止包涵体形成可通过以下几种方法。①通过试验确定最准确的表达系统：准确的宿主菌株、质粒和质粒拷贝数、启动子序列都影响着产品表达的水平以及产品聚积形成包涵体的趋势。②所需蛋白质以融合蛋白进行表达：所需蛋白质与宿主细胞质中天然蛋白质（高溶解性的）融合表达能一定程度上防止包涵体的形成。③分子伴侣的共表达可提高异源蛋白的溶解度。④需要辅因子的重组蛋

白：可通过增加细胞内辅因子的产生量（或外部添加辅因子）以提高蛋白质的溶解度。⑤在低于生长最适温度下培养重组细胞：将大肠杆菌的生长温度从 37℃ 降至 30℃ 以下培养，常可阻碍包涵体的形成。

II 大肠杆菌生产异源蛋白的优缺点

其优点主要有：①大肠杆菌遗传特性了解清楚；②已成功建立了适合的发酵技术；③能不受限制地生产重组蛋白；④经济前景很诱人。

其不足地方有：①重组蛋白以包涵体形式在细胞内聚集；②不能进行蛋白质翻译后修饰：如糖基化、酰胺化或乙酰基化；③重组蛋白与公众理念相悖。

(3) 酵母菌生产异源蛋白

其优点主要有：①它们具有同大肠杆菌表达系统相同的优点；②大多数酵母菌是安全的食品级的（GRAS, generally recognized as safe, 通常认为是安全的），如酿酒酵母是属于 GRAS 级的；③发酵技术已被完整建立：许多酵母在传统的生物技术加工如酿酒和焙烤中起重要作用；对于它们的发酵和操作已经积累了大量的技术经验和资料；④在许多生物技术应用中历史悠久：酵母的分子生物学已经历了多年的科学研究；⑤能进行翻译后修饰：酵母细胞为真核细胞，它具有亚细胞器官。

表 1-3 采用重组技术在酵母菌中生产的治疗用蛋白质

用于医学治疗中的蛋白质	酵母菌表达系统
乙肝表达抗原 B	酿酒酵母, 巴斯德毕赤酵母
流行性感病毒的血凝素	酿酒酵母
脑灰质炎, VP2	酿酒酵母
胰岛素	酿酒酵母
人生长激素	酿酒酵母
抗体/抗体片段	酿酒酵母
人神经生长因子	酿酒酵母
人表皮生长因子	酿酒酵母
α -干扰素	酿酒酵母
白细胞介素-2	酿酒酵母
人血清白蛋白	酿酒酵母, 多形汉逊酵母
肿瘤坏死因子	巴斯德毕赤酵母
破伤风毒素片段 C	巴斯德毕赤酵母

其不足地方有：①异源蛋白的表达水平低：通常占细胞总蛋白的5%以下，比在大肠杆菌低很多；②许多蛋白质分泌到细胞周质：许多由酿酒酵母生产和分泌的异源蛋白不是释放到培养基中，而是存在于细胞周质，尤其是高分子量的异源蛋白，使下游加工过程更复杂；③一些翻译后修饰的蛋白质与动物细胞生产的天然蛋白质差异很大：虽然酵母系统能进行翻译后修饰（如糖基化），但被修饰的水平和类型与天然来源所进行的修饰并不完全相同，这种翻译后修饰的变异可能会影响该异源蛋白的生物特性；④重组技术生产的蛋白质与公众理念相悖。

（4）真菌生产异源蛋白

微生物作为蛋白质来源的优点：①生长周期短、易遗传操作；②能合成并分泌大量的蛋白质到细胞外培养基中（可产胞外酶），提纯工艺简单；③它们具有异源蛋白翻译后修饰的功能；④丝状真菌许多是GRAS级的；⑤多年来被广泛应用于工业化生产各种酶以及别的初级和次级代谢产物（如维生素、各种有机酸、抗生素和生物碱）；⑥异源蛋白的胞外分泌简化了后序产品的纯化；⑦产量高：一些工业菌株如黑曲霉等可天然生产20g/L发酵液以上的葡糖糖化酶；⑧真菌大规模发酵系统已经过长时期的发展和优化。

表 1-4 在重组真菌系统中表达的一些工业上重要的蛋白质

蛋白质	生物体
人干扰素	黑曲霉，构巢曲霉
牛凝乳酶	黑曲霉，构巢曲霉
天冬氨酸蛋白酶	黑曲霉，
甘油三酸酯脂肪酶	黑曲霉，
乳铁蛋白	米曲霉，黑曲霉

重组蛋白中真菌中低表达原因：①由于真菌中天然蛋白酶高水平表达，它们可分解重组蛋白；②真菌可能是由于密码子的偏好性。

2. 来源于植物蛋白质

植物蛋白质的应用：特有或更易提取的蛋白质（如木瓜蛋白酶）。

应用上不足：①许多蛋白质可在植物中合成，也可在别的生物中合成，故来源的选择应考虑技术和经济两方面因素；②植物生长有季节性，无法不断提供材料来源；③高等植物在生长过程中同时在液泡中积累排泄物，细胞分解这些排泄物时，产生大量的沉淀剂和变性剂，使植物蛋白发生不可逆的失活；④生长周期长；⑤特有蛋白质较少，其他生物提取更方便。

目前实际应用的植物特有蛋白（天然）类型主要有：应乐果甜蛋白和厅

异果甜蛋白（天然最甜物）、 β -淀粉酶、无花果蛋白酶、木瓜蛋白酶。

如木瓜蛋白酶工业作用有：①肉的嫩化作用；②动物去皮；③饮料澄清；④辅助消化；⑤坏死组织去除剂（清理伤口）

利用植物生产的异源蛋白见表 1-5：

表 1-5 在植物中利用重组方法生产的蛋白质

蛋白质	原始来源	表达宿主
α -淀粉酶	地衣芽孢杆菌	西红柿
凝乳酶	小牛	西红柿
环糊精糖基转移酶	肺炎克氏杆菌	马铃薯
红细胞生成素	人	西红柿
葡糖淀粉酶	黑曲霉	马铃薯
生长激素	鲑鱼	西红柿
乙肝表面抗原	乙肝病毒	西红柿
水蛭素	药用水蛭	油菜
β -干扰素	人	西红柿
溶菌酶	小鸡	西红柿
植酸酶	黑曲霉	西红柿
血清白蛋白	人	马铃薯
木糖聚酶	热纤梭菌	西红柿

利用重组蛋白质的两种方法：①蛋白质能从植物组织中提取、纯化，然后使用；②重组植物组织能作为蛋白质的来源直接使用。

利用植物生产重组蛋白的优点：①产品投资更经济；②易于规模化生产；③可以利用已建立的实践/植物收获仪器/贮存等技术；④如果以含重组蛋白的植物直接作为蛋白质来源可消除下游的加工过程；⑤可进行蛋白质产物的靶位生产/积聚在植物的特殊组织可实施翻译后修饰。

利用植物生产重组蛋白的不足：①通常表达水平较低；②糖基化模型不同于动物的糖蛋白；③缺乏工业化经验和植物组织下游加工的规模化试验数据；④植物生长的季节性和地理特性；⑤在植物学的液泡中存在有毒的物质；⑥已建立的可用的或可选择的生产系统较少。

目前，对植物中重组蛋白的大规模生产缺乏工业化经验和试验。

3. 动物组织作为蛋白质的来源

许多商用蛋白质来源于动物，如胰岛素和血液因子。传统上由动物来源

的重要蛋白质见表 1-6。

表 1-6 传统上由动物来源的重要蛋白质

蛋白质	来源	应用
胰岛素	猪/牛胰腺组织	治疗 I 型糖尿病
胰高血糖素	猪/牛胰腺组织	胰岛素反向诱导的低血糖症
促滤泡素 (FSH)	猪垂体	诱导动物超数排卵
	更年期妇女的尿液	治疗 (人) 生殖功能障碍
人绒毛膜促性腺激素	怀孕期妇女的尿液	治疗生殖功能障碍
促红细胞生成素	尿液	治疗贫血病
血液因子	人血液	治疗血友病
多克隆抗体	人或动物血液	各种诊断和治疗学应用
凝乳酶 (高血压蛋白原酶)	未断奶小牛的胃	奶酪制作

(1) 利用转基因动物生产异源蛋白

利用转基因动物生产异源蛋白的优点：①产量高：一只羊在典型的 5 个月哺乳期时，每天可以产 2~3L 乳。如果重组蛋白的表达水平为 1g/L，一只羊每周可以生产 20g 以上重组蛋白。②原材料易于选择：只要能产乳动物即可，商业中采用自动挤乳系统，已设计了最佳的卫生标准。③易于规模化生产：按照饲养程度可扩大动物数量。④哺乳动物组织可以对合成的蛋白质进行广泛翻译后修饰。常见的转基因动物生产异源蛋白质见表 1-7。

表 1-7 转基因动物生产异源蛋白质

蛋白质	生产动物	用途
α -抗胰蛋白酶	羊	肺气肿
因子 IX	羊	B 血友病
纤维蛋白原	羊	血液失调
抗血栓 III	山羊	血液失调
各种多克隆抗体	山羊	很多肿瘤包括体内肿瘤的检测
人血清白蛋白	山羊	血浆体积增大病

(2) 利用动物细胞培养生产异源蛋白

利用这种方法生产的最著名的是单克隆抗体、各种疫苗和干扰素。

表 1-8 通过动物细胞培养技术生产的重组蛋白

蛋白质	生产细胞	医学应用
因子Ⅷ	CHO 细胞, BHK 细胞	血友病 A
因子Ⅸ	CHO 细胞	血友病 B
t-PA	CHO 细胞	心脏病发作
FSH	CHO 细胞	不孕症
促红细胞生成素	CHO 细胞	贫血症
B-干扰素	CHO 细胞	多样硬化症
几种多克隆抗体	杂交瘤细胞	防止包括肾移植排斥在内的各种移植排斥和肿瘤的体内定位

注: CHO, 中国仓鼠卵巢; BHK, 小鼠肾; t-PA, 组织纤溶酶原激活剂; FSH, 促滤泡素。

动物细胞培养和发酵设计特点(与微生物相比): ①动物细胞的营养要求比微生物细胞更复杂; ②对氧需求低, 比其他微生物生长缓慢; ③发酵时要求的接种量大。

动物细胞从体外培养角度可分为贴壁依赖性细胞和非贴壁依赖性细胞。

(3) 昆虫细胞培养

通常使用杆状病毒表达系统生产重组蛋白。

昆虫细胞比较便宜并易于培养和保存, 同时也具有翻译后修饰的能力。

4. 化学合成

到目前为止医学和工业上使用的蛋白质都是以重组和非重组的方式在生物体系中合成, 然后提取、纯化。现只进行少量多肽的化学合成

直接化学合成的优点: ①基本消除通过病原体污染蛋白质产品而传播疾病的可能性; ②提供改变氨基酸序列的蛋白质合成的又一种方法; ③提供合成含有非天然氨基酸/D-氨基酸蛋白的方法; ④可避免蛋白质合成时使用复杂的生物系统或大量昂贵的上游加工仪器; ⑤对于一般公众, 该法生产的蛋白质比基因工程法更容易接受。

直接化学合成的不足点: ①目前通过该法生产的蛋白质大小仍受限制; ②其工业化试验几乎没有; ③大规模生产的经济情况还不清楚; ④不能实现与许多天然蛋白质相关的翻译后修饰。

5. 影响选择蛋白质来源的主要因素

选择蛋白质来源的主要考虑的因素有: ①所需蛋白质的技术特性: 如在动物饲料中添加的酶, 在动物消化道中, 这些酶在 37℃ 及胃和小肠的 pH 范围内, 应具有很高的活性; ②蛋白质来源的实用性; ③蛋白质的产量; ④蛋

白质生产和食用安全性；⑤生产过程的管理控制；⑥蛋白质生产的专利问题；⑦消费者的接受程度。常见利用 DNA 技术生产的商业蛋白质见表 1-9。

表 1-9 利用 DNA 技术生产的商业蛋白质

蛋白质	应用
血液蛋白质（如因子Ⅶ和Ⅸ）	血友病和别的血液病的治疗
溶血栓剂（如组织纤溶酶原激活剂）	治疗心脏病发作
重组“亚组织”疫苗（如乙肝表面抗原）	抗特殊疾病的疫苗
工程抗体（嵌合的和人源化抗体）	主要用于肿瘤的体内检测/治疗
天然和工程胰岛素	治疗糖尿病（1型）
生长激素	治疗身体矮小
干扰素	治疗癌症、病毒性疾病
胆固醇酯酶	用于确定血液胆固醇水平
凝乳酶	奶酪生产
各种蛋白酶、酯酶和淀粉酶	添加于去污剂以降解“生物”污染
植酸酶	添加动物饲料降解饮食中植酸

二、蛋白质的结构与功能

（一）蛋白质结构基础

蛋白质是由 20 种天然的氨基酸以肽键相连构成的生物大分子。

1. 氨基酸的种类和结构

蛋白质是由许多不同的 α -氨基酸按一定的序列通过酰胺键缩合而成的，具有较稳定的构象并具有一定生物功能的生物大分子。

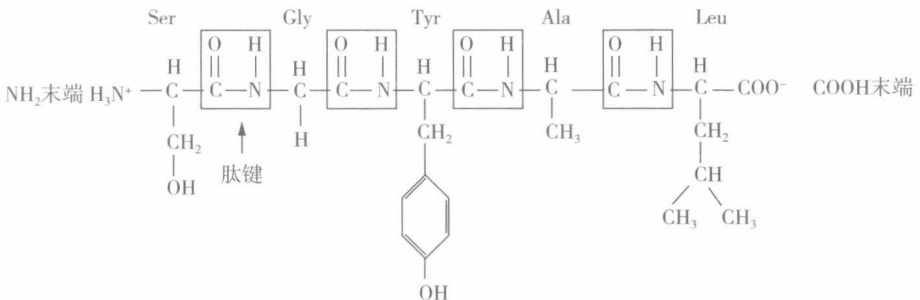


图 1-1 氨基酸通过肽键连接

表 1-10 氨基酸的名称及简写符号

名称	三字母符号	单字母符号	名称	三字母符号	单字母符号
丙氨酸 (alanine)	Ala	A	亮氨酸 (leucine)	Leu	L
精氨酸 (arginine)	Arg	R	赖氨酸 (lysine)	Lys	K
天冬酰胺 (asparagine)	Asn	N	甲硫氨酸 (蛋氨酸) (methionine)	Met	M
天冬氨酸 (aspartic acid)	Asp	D	苯丙氨酸 (phenylalanine)	Phe	F
Asn 和/或 Asp	Asx	B			
半胱氨酸 (cysteine)	Cys	C	脯氨酸 (proline)	Pro	P
谷氨酰胺 (glutamine)	Gln	Q	丝氨酸 (serine)	Ser	S
谷氨酸 (glutamic acid)	Glu	E	苏氨酸 (threonine)	Thr	T
Gln 和/或 Glu	Glx	Z			
甘氨酸 (glycine)	Gly	G	色氨酸 (tryptophan)	Trp	W
组氨酸 (histidine)	His	H	酪氨酸 (tyrosine)	Tyr	Y
异亮氨酸 (isoleucine)	Ile	I	缬氨酸 (valine)	Val	V

除脯氨酸 (亚氨基酸) 外, 其他 19 种均具有如下结构通式:

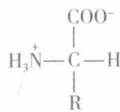


图 1-2 氨基酸通式

按照 R 基的极性可以将 20 种常见氨基酸分为: 极性氨基酸、非极性氨基酸、带电荷氨基酸。见图 1-3 氨基酸的结构和分类示意图。

按照 R 基的化学结构可以将 20 种氨基酸分为: 脂肪族氨基酸、芳香族氨基酸和杂环族氨基酸 3 类。其中以脂肪族氨基酸最多。

2. 蛋白质结构的主要层次

(1) 一级结构

蛋白质的一级结构 (primary structure) 就是蛋白质多肽链中氨基酸残基的排列顺序。(sequence), 是由基因上遗传密码的排列顺序所决定的。组成一级结构的 20 种氨基酸按照遗传密码的顺序, 通过肽键连接起来, 成为多肽链。