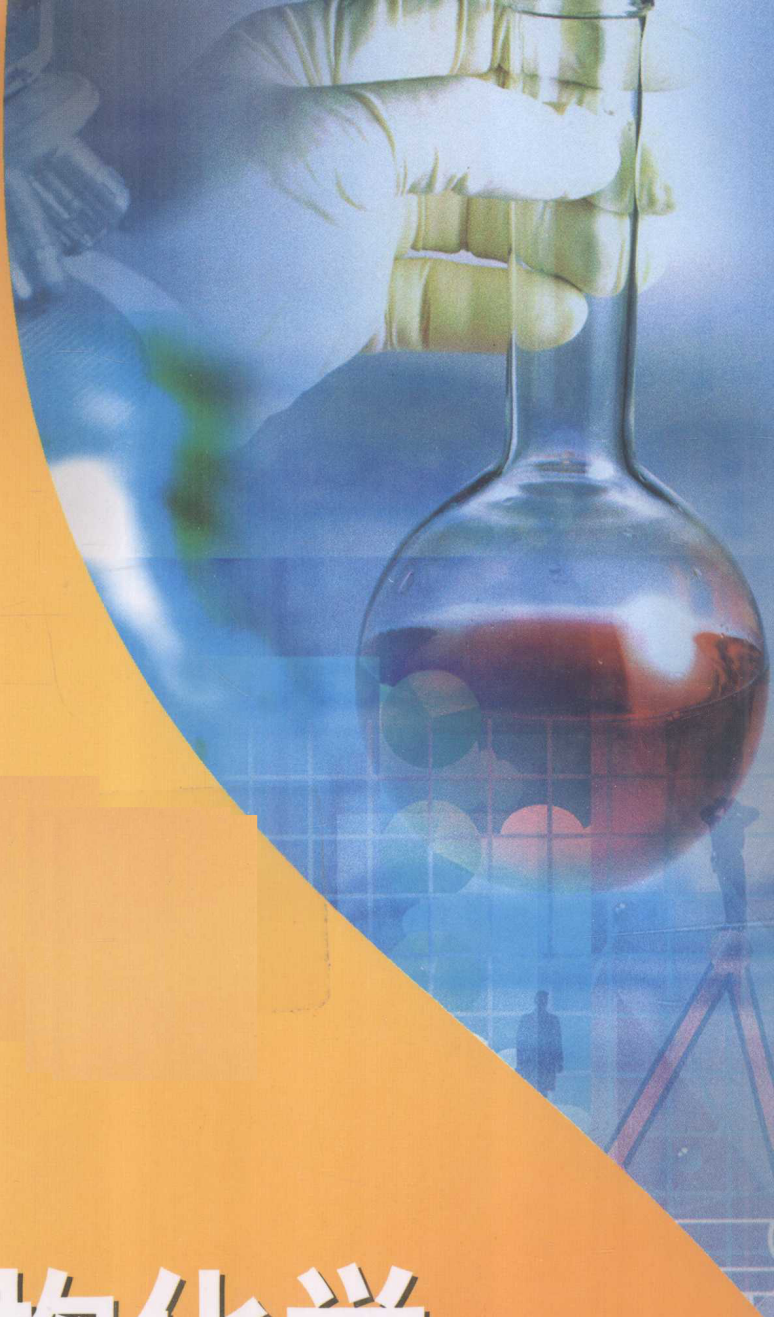




高等学校规划教材
GAODENG XUEXIAO GUIHUA JIAOCAI



高级生物化学

GAOJI SHENGWU HUAXUE

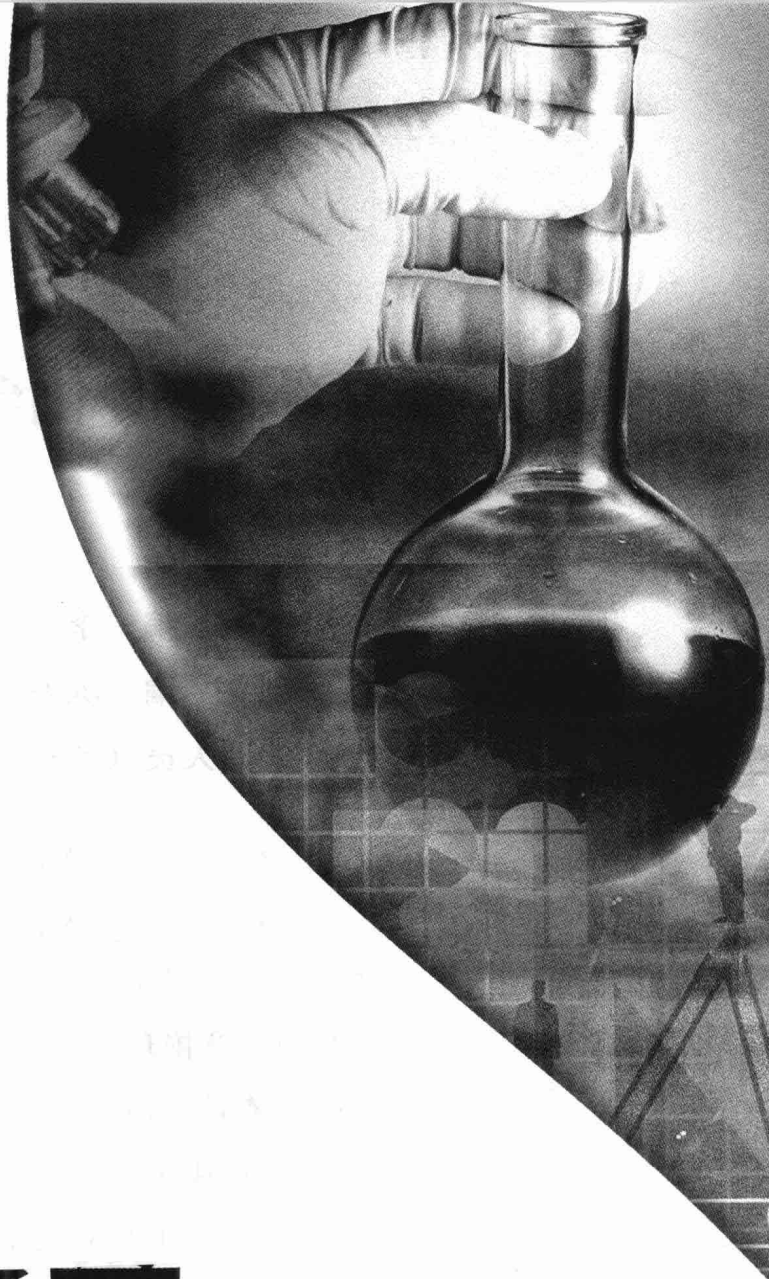
李关荣 王贵学 主编



西南师范大学出版社
全国百佳图书出版单位 国家一级出版社



高等学校规划教材
GAODENG XUEXIAO GUIHUA JIAOCAI



高级 生物化学

GAOJI SHENGWU HUAXUE

李关荣 王贵学 主编



西南师范大学出版社
全国百佳图书出版单位 国家一级出版社

图书在版编目(CIP)数据

高级生物化学/李关荣,王贵学主编. —重庆:西南师范大学出版社,2009.10

ISBN 978-7-5621-4743-5

I. 高… II. ①李… ②王… III. 生物化学—高等学校—教材
IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 173346 号

高级生物化学

李关荣 王贵学 主编

责任编辑:杜珍辉

封面设计:  周娟 钟琛

出版发行:西南师范大学出版社

(重庆·北碚 邮编:400715)

网 址:www.xscbs.com

印 刷:四川外语学院印刷厂

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:17

字 数:410千字

版 次:2010年4月第1版

印 次:2010年4月第1次印刷

书 号:ISBN 978-7-5621-4743-5

定 价:29.00元

《高级生物化学》编委会

主 编 李关荣 王贵学

副 主 编 陈安和 章艳玲

编写人员 (按姓氏笔划为序)

王贵学(重庆大学)

李关荣(西南大学)

陈安和(重庆邮电大学)

章艳玲(新乡学院)

董艳珍(西昌学院)

前言

《高级生物化学》是介于《生物化学》和《分子生物学》之间的一门研究生课程。它既是生物化学知识的提高和进一步深化,又是分子生物学和分子遗传学的基础。通过此课程的学习,学生应在已有生物化学及相关知识基础之上,进一步加深和拓展生物化学的基本理论、更高层次地认识生物化学的基本原理、事实和现象,为分子生物学和分子遗传学的学习奠定必要的基础;强化生物化学基本实验理论、实验技能,系统提高其分析和解决问题的能力,了解当今生物化学在生命科学研究中的重大而深远的作用,为进一步的学习和科学研究打下坚实的基础。

21 世纪是生命科学的世纪。在分子水平上研究生物学问题是当今生物学研究的热点之一。生物化学的原理和方法已广泛渗透到了众多生物类及相关学科,并正在日益推进它们的发展和进步。随着我国研究生创新教育的日益发展,生物化学在生命科学、医学、农学等相关学科的不断渗透,生物化学研究手段应用的日益普及,愈来愈多的研究生专业培养方案将“高级生物化学”课程列入了专业必修或选修课。这充分体现了本课程在生命科学和农学相关学科的广泛的渗透和巨大的作用。

据悉,招收生物化学与分子生物学、动物学、生物学、生物化学、生物制药工程、生理学、微生物学、遗传学、发育生物学、细胞生物学、生物技术、病理学、生物医药工程、微生物与生化药学等 20 多个专业研究生的许多高校,其研究生培养方案中大都设置有生物化学或高级生物化学作为必修或选修课。课程涉及的高校数量多、专业数量多,研究生收益面广。

从目前高校科学研究的主体看,研究生扮演了重要的角色。大多数研究工作都是在指导教师的指导下由研究生具体实施研究完成的。因此研究生的科学素养、理论水平和科研能力直接影响到科研的发展以及学术水平。对于生命科学及农学类相关学科的研究生来说,生物化学的理论和研究技术的采用几乎是不可避免,也是不能回避的。

但是我们认为,目前研究生《高级生物化学》课程教学存在以下几个问题。一是缺乏相对统一的教学大纲和科学的教学内容体系。研究生《高级生物化学》课程教学大都各行其事,没有形成经科学论证了的教学大纲和基本统一的教学内容体系和结构;二是缺乏统一的教材或教程,造成学员学习困难。目前相关教材只有《生物化学与分子生物学高级教程》(黄敏,曹利英,科学出版社,2002)、《高级生物化学与分子生物学实验教程》(袁榴娣,东南大学出版社,2006 年 3 月,第一版)、《高级生物化学实验教程》(王重庆,北京大学出版社,2001 年 7 月)、《高级医学生物化学》(周辉/单冉东,科学出版社,2004 年)。这些教材主要是实验方面,而且将高级生物化学与分子生物学结合在了一起,这无疑是重要的,也是必要的。但《高级生物化学》课程理论教材的缺乏年代已久,需要新编;三是没有体现生物化学迅猛发展的课程学习网络共享资源,供学员自主学习。生物化学发展迅猛,更新快,极需要建立课程学习网络共享资源,以适应学科的发展和满足不同专业学员

的不同要求；四是缺乏“高级生物化学”课程教学研究。长期以来，人们大多不恰当地认为，研究生的水平已经够了，课程教学不是那么重要了，研究生主要靠自学。因此常常忽略了研究生课程教学的研究。须知，刚入学的研究生只不过是优秀的本科毕业生罢了，要提高其学术理论水平和科研能力，需要进行系统的理论知识的学习和科研技能的培养，而其课程学习将在这方面起到举足轻重的作用。因此，建设研究生“高级生物化学”优质课程，建立完善、系统、科学的教学内容体系和优质教学资源，实现资源共享以及与国内外高校交流，对促进高校相关专业研究生的生物化学理论和研究技能的提高，将会起到非常重要的作用和影响。

本教材参考国内外原版、权威、最新的生物化学教材，根据当前生物化学在生物学科发展大融合中的作用和特点，结合国内本科生的生物化学教学实际和硕士研究生的生物化学基础水平，正确处理了各种关系、有针对性地精选教学内容。正确处理了生物化学经典知识与生物化学现代成果、高级生物化学与基础生物化学、高级生物化学与分子生物学及分子遗传学、生物化学理论和生物化学研究技能等的关系。从国内外权威同类教材精选教学内容，形成了较为完整系统、重点突出的内容体系；在本科生基础生物化学基础上以“补缺”、“提升”、“纳新”、“系统”等突出了《高级生物化学》课程应有的特点。

全书分为4个模块(共10章)：蛋白质结构功能及研究技术模块(蛋白质的三维结构、蛋白质的功能、蛋白质寻靶、蛋白质研究技术)、基因结构及研究技术模块(基因和染色体、基因研究技术)、生物膜与信号转导模块(生物膜与跨膜转运、生物信号转导)、基因表达与代谢调控模块(基因表达的调控、代谢调节策略)。第1~4章由西南大学李关荣编写，第5~6章由重庆大学王贵学编写，第7~8章由重庆邮电大学陈安和编写，第9章由西昌学院董艳珍编写，第10章由新乡学院章艳玲编写。这4个模块主要是生物化学理论和研究技术的补缺、提升、系统强化内容。每章后有“每章小结”、“练习题”。

本教材适宜于普通高校研究生高级生物化学课程教学选用，也适宜于相关本科生提高生物化学知识之用。可供相关任课教师参考，任课教师可根据具体情况适当增设一个新的模块，如“机动专题”模块，以补充生物化学日益发展所产生的新的知识。

编者

2009年7月

目 录 MU LU

第1章 蛋白质的三维结构	001
1.1 蛋白质结构的概述	001
1.1.1 弱相互作用力是稳定蛋白质构象的主要作用力	002
1.1.2 肽键是刚性的平面	003
1.2 蛋白质的二级结构	004
1.2.1 α -螺旋是一种常见的蛋白质二级结构	004
1.2.2 氨基酸序列影响 α 螺旋的稳定性	005
1.2.3 β 构象使多肽链折叠成片层结构	006
1.2.4 β 转角在蛋白质中普遍存在	007
1.2.5 常见二级结构都有典型的键角和氨基酸成分	007
1.3 蛋白质的三级和四级结构	008
1.3.1 纤维蛋白适合于结构性功能	009
1.3.2 球蛋白结构的多样性反映了其功能的多样性	012
1.3.3 肌红蛋白为球蛋白结构的复杂性提供了早期线索	012
1.3.4 球蛋白呈现出多种多样的三级结构	013
1.3.5 多种球蛋白的分析揭示出了其共同的结构模式	014
1.3.6 蛋白质模体是蛋白质结构分类的基础	015
1.3.7 蛋白质的四级结构有简单的二聚体,也有大的复合体	016
1.3.8 蛋白质的大小有限制	017
1.4 蛋白质的变性和折叠	018
1.4.1 蛋白质结构的丧失导致其功能的丧失	018
1.4.2 氨基酸序列决定蛋白质的三级结构	018
1.4.3 多肽链的迅速折叠是一个渐进的过程	019
1.4.4 某些蛋白质的折叠需要协助	020
本章小结	021
练习题	022
第2章 蛋白质的功能	025
2.1 与配体可逆结合的蛋白质——氧合蛋白	026
2.1.1 氧可与血红素辅基结合	026

2.1.2 肌红蛋白只有单个氧结合位点	027
2.1.3 血液由血红蛋白运输氧	027
2.1.4 血红蛋白各亚基在结构上与肌红蛋白相似	028
2.1.5 血红蛋白与氧结合后发生结构变化	028
2.1.6 血红蛋白与氧协同结合	029
2.1.7 两种表明协同结合机制的模型	030
2.1.8 血红蛋白也可以运输 H^+ 和 CO_2	030
2.1.9 血红蛋白与氧的结合受到 2, 3-二磷酸甘油酸的调控	032
2.1.10 镰刀形细胞贫血症是血红蛋白的一种分子病	033
2.2 蛋白质与配体间的互补作用:免疫系统和免疫球蛋白	034
2.2.1 免疫应答有一系列特化的细胞和蛋白质	034
2.2.2 “自己”和“非己”是通过细胞表面的肽展示区分的	035
2.2.3 细胞表面的分子互作引发免疫应答	037
2.2.4 抗体有两个相同的抗原结合位点	038
2.2.5 抗体与抗原的结合紧密而特异	040
2.2.6 抗体与抗原的相互作用是许多重要分析程序的基础	040
2.3 由化学能调节的蛋白质互作——肌球蛋白和分子马达	041
2.3.1 肌肉的主要蛋白质是肌球蛋白和肌动蛋白	042
2.3.2 额外的蛋白把细丝和粗丝组织成有序的结构	043
2.3.3 肌球蛋白粗丝沿着肌动蛋白细丝滑动	045
本章小结	046
练习题	047
 第3章 蛋白质寻靶	 050
3.1 附着在内质网上的核糖体形成分泌蛋白和膜蛋白	050
3.1.1 信号序列是蛋白质内质网膜转运的标记	051
3.1.2 胞浆蛋白通过在其氨基末端加信号序列可重新引导到内质网	052
3.1.3 信号识别颗粒(SRP)检测信号序列并使核糖体附着在 ER 膜上	052
3.1.4 GTP-GDP 循环使信号序列从 SRP 上释放, SRP 与其受体分离	053
3.1.5 信号肽打开蛋白质转运通道	054
3.1.6 转运是通过信号序列和终止-转移序列引导的	054
3.1.7 ATP 驱动的热休克蛋白作为分子伴侣结合新生蛋白并帮助其折叠	055
3.2 糖蛋白从内质网上的多萜醇(Dolichol)供体上获得核心糖结构	056
3.2.1 葡萄糖的缺乏是糖蛋白已完全折叠正准备转运到高尔基体的信号	057
3.2.2 转运囊泡携带蛋白质从内质网到高尔基体进一步发生糖基化和	



分选	057
3.2.3 转运囊泡出芽和融合的过程中保留了膜的不对称性	059
3.2.4 小的 GTP 结合蛋白、有被蛋白(Coat protein)、SNAPs、SNAREs 在囊泡转运中起重要作用	059
3.2.5 C-末端有 KDEL 序列的蛋白质重新回到内质网	060
3.2.6 6-磷酸甘露糖将溶酶体酶寻靶到其目的地	061
3.3 细菌也用信号序列进行蛋白质寻靶	062
3.4 大多数线粒体蛋白在胞浆中合成并转运到该细胞器	063
3.5 叶绿体也通过前导序列输入并分选其大多数蛋白质	064
3.6 胞浆蛋白通过羧基末端的 SKF 序列寻靶到过氧化物酶体	065
3.7 核定位信号(NLS)能使蛋白质迅速通过核孔进入细胞核	065
3.8 许多膜结合蛋白含有共价结合的脂酰基或异戊二烯基单位	066
3.9 糖基化磷脂酰肌醇单位作为许多细胞表面蛋白的膜锚	067
3.10 特异蛋白通过受体介导的内吞作用进入细胞	068
3.10.1 网格蛋白通过在有被小窝周围形成多面网格而参与内吞作用	069
3.10.2 内吞蛋白和受体在酸性内体中分选	070
3.10.3 许多膜包被的病毒通过受体介导的内吞作用进入细胞	071
3.10.4 白喉毒素和霍乱毒素通过与细胞表面的受体结合而进入靶细胞	072
3.11 泛素是蛋白质降解的标签	073
本章小结	074
练习题	075
 第4章 蛋白质研究技术	077
4.1 蛋白质的分离纯化	077
4.1.1 蛋白质可通过凝胶电泳来分离和显示	077
4.1.2 蛋白质可根据其形状、溶解度、电荷以及亲和性来纯化	079
4.1.3 超速离心法可用于分离生物分子并确定其分子量	080
4.1.4 蛋白质的分子量可以用电子喷雾质谱法来精确测定	081
4.2 蛋白质的测序	082
4.2.1 氨基酸序列可以用自动 Edman 降解法确定	082
4.2.2 蛋白质可以被特异地切成小肽段以便于分析	085
4.2.3 重组 DNA 技术变革了蛋白质测序	086
4.2.4 氨基酸序列揭示了许多信息	087
4.3 蛋白质可以用高度特异性的抗体来定量和定位	088
4.3.1 固相免疫测定	088
4.3.2 Western 印迹	089
4.3.3 蛋白质的细胞内定位	089
4.4 蛋白质空间结构测定	090

4.4.1 圆二色性是蛋白质主链构象的灵敏指示器	090
4.4.2 X-射线晶体学从原子细节揭示了三维结构	090
4.4.3 核磁共振谱可以揭示溶液中蛋白质的结构	092
4.5 多肽可以用自动固相法合成	094
本章小结	096
练习题	097
 第5章 基因与染色体	 098
5.1 染色体的组成元件	098
5.1.1 基因是编码多肽链和 RNAs 的 DNA 节段	098
5.1.2 真核生物的染色体非常复杂	099
5.1.3 许多真核生物的基因含插入性的非转录序列(内含子)	101
5.2 DNA 分子的大小和序列结构	101
5.2.1 病毒的 DNA 分子相对较小	101
5.2.2 真核细胞比原核细胞含有更多的 DNA	101
5.2.3 真核细胞的细胞器中也含有 DNA	102
5.3 DNA 的超螺旋	102
5.3.1 大多数细胞 DNA 都是欠旋的	103
5.3.2 DNA 欠旋由拓扑连环数定义	105
5.3.3 拓扑异构酶催化 DNA 连环数的变化	107
5.3.4 DNA 装配需要特殊形态的超螺旋	108
5.4 染色质和类核的结构	109
5.4.1 组蛋白是一种小的碱性蛋白	109
5.4.2 核小体是染色质的基本组织单位	110
5.4.3 核小体连续装配成一系列高有序性结构	111
5.4.4 细菌 DNA 也是高度组织化的	112
本章小结	113
练习题	113
 第6章 基因研究技术	 115
6.1 限制酶类	115
6.1.1 限制酶类将 DNA 切割为特异片段	115
6.1.2 限制性片段能通过凝胶电泳分离和显色	116
6.2 DNA 测序	117
6.2.1 DNA 可以通过特异的化学切割来测序(Maxam-Gilbert 法)	117
6.2.2 DNA 常用控制性复制终止法来测序(Sanger 双脱氧法)	119
6.2.3 DNA 探针和基因可通过自动固相法合成	119
6.2.4 DNA 可通过与寡核苷酸阵列(DNA 芯片)杂交来测序	120
6.3 DNA 克隆	121



6.3.1 限制酶和 DNA 连接酶是构建重组 DNA 分子的重要工具	121
6.3.2 质粒和 λ 噬菌体是在细菌中进行 DNA 克隆的首选载体	122
6.3.3 特异基因可通过基因组 DNA 的消化而克隆	124
6.3.4 长段 DNA 可通过染色体步移来有效分析	125
6.3.5 特定 DNA 序列可通过 PCR 大量扩增	126
6.3.6 PCR 是医学诊断、法医学和分子进化研究的强大技术	128
6.4 克隆了的基因的表达	129
6.4.1 从 mRNA 制得的 cDNA 可在宿主细胞中表达	129
6.4.2 插入真核细胞中的新基因可以有效表达	130
6.4.3 转基因动物能携带及表达导入其生殖细胞的外源基因	131
6.4.4 肿瘤诱导(Ti)质粒可用于将新基因导入植物细胞	131
6.5 基因工程	132
6.5.1 新奇蛋白可通过定点突变而工程化	132
6.5.2 重组 DNA 技术打开了新的前景	134
本章小结	135
练习题	136
 第7章 生物膜与跨膜转运	 137
7.1 膜的分子组成	137
7.2 膜的超分子构造	139
7.2.1 脂质双分子层是膜的基本结构要素	139
7.2.2 膜脂总是处在运动中	141
7.2.3 膜蛋白在双分子层中的侧向扩散	142
7.2.4 有些膜蛋白质跨越脂质双分子层	143
7.2.5 外周膜蛋白容易被溶解	144
7.2.6 共价键结合的脂质锚定某些外周膜蛋白	145
7.2.7 膜整体蛋白通过与脂质的疏水相互作用来维系	145
7.2.8 整体膜蛋白的拓扑结构有时能根据其序列预测	146
7.2.9 整体蛋白介导细胞与细胞的互作与连接	147
7.2.10 膜融合对许多生物过程都很重要	148
7.3 溶质的跨膜运输	151
7.3.1 被动运输被膜蛋白质促进	151
7.3.2 水孔蛋白形成跨膜亲水通道让水通过	152
7.3.3 红细胞的葡萄糖转运体介导被动转运	153
7.3.4 氯离子和碳酸氢根离子共转运通过红细胞膜	155
7.3.5 主动转运导致溶质逆浓度或电化学梯度移动	155
7.3.6 至少有四大类转运 ATPases	156
7.3.7 一种 P-类 ATPase 催化 Na^+ 和 K^+ 的主动共转运	159
7.3.8 ATP 驱动的钙泵维持细胞浆中低浓度的钙	160
7.3.9 离子梯度为二次主动运输提供能量	160

7.3.10 离子选择通道允许离子迅速跨膜移动	162
7.3.11 K^+ 通道的结构表明了其离子特异性的基础	162
7.3.12 乙酰胆碱受体是一种配体门控离子通道	163
7.3.13 神经元 Na^+ 通道是一个电压门控离子通道	165
7.3.14 离子通道的功能可用电学测量	165
7.3.15 离子通道缺陷可能有显著的生理后果	166
7.3.16 孔蛋白是小分子跨膜运输的通道	166
本章小结	167
练习题	168
 第8章 生物信号转导	 171
8.1 信号转导的分子机制	171
8.2 门控离子通道	173
8.2.1 离子通道是可兴奋细胞电信号传递的基础	173
8.2.2 烟碱型乙酰胆碱受体是一配体门控离子通道	175
8.2.3 电压门控离子通道使神经元产生动作电位	176
8.2.4 神经元有对多种神经递质作出响应的受体通道	177
8.3 受体酶	177
8.3.1 胰岛素受体是一个酪氨酸特异的蛋白激酶	178
8.3.2 鸟苷酸环化酶是一个能够产生第二信使 cGMP 的受体酶	180
8.4 G 蛋白-偶联受体和第二信使	181
8.4.1 β -肾上腺能受体系统通过第二信使 cAMP 起作用	181
8.4.2 β -肾上腺能受体是通过磷酸化作用去敏的	184
8.4.3 cAMP 是许多调节分子的第二信使	185
8.4.4 来自磷脂酰肌醇的两种第二信使	186
8.4.5 钙是许多信号转导过程的第二信使	187
8.5 视觉、嗅觉和味觉的感觉信号转导	188
8.5.1 光使脊椎动物眼中的杆细胞和锥细胞超极化	188
8.5.2 光引发受体视紫红质的构象变化	188
8.5.3 激活的视紫红质通过 G 蛋白转导素的作用降低 cGMP 浓度	189
8.5.4 在杆细胞和锥细胞中发生了信号的放大	190
8.5.5 视觉信号很快终止	190
8.5.6 视紫红质通过磷酸化作用去敏	190
8.5.7 特化的锥细胞用于色觉	191
8.5.8 脊椎动物的嗅觉和味觉采用的转导机制与视觉系统相似	191
8.5.9 G 蛋白偶联的蛻蛻受体系统有几个共同特征	193
8.5.10 G 蛋白信号传导的中断引起疾病	194
8.6. 磷酸化作为调节机制	195
8.7 固醇类激素对转录的调节	195



8.8 蛋白激酶对细胞周期的调控	196
8.8.1 细胞周期有四个阶段	197
8.8.2 细胞周期蛋白-依赖性的蛋白激酶水平有波动	197
8.8.3 CDKs 通过使关键蛋白磷酸化来调节细胞分裂	200
8.9 致癌基因、肿瘤抑制基因与细胞程序化死亡	201
8.9.1 致癌基因是调节细胞周期蛋白基因的突变形式	201
8.9.2 肿瘤抑制基因的缺陷解除细胞分裂的正常限制	202
8.9.3 细胞凋亡是细胞程序化的自杀	203
本章小结	204
练习题	206
 第9章 基因表达的调控	 207
9.1 基因调控的原则	208
9.1.1 RNA 聚合酶与 DNA 上的启动子结合	208
9.1.2 转录起始是由与启动子或近启动子区结合的蛋白调节的	209
9.1.3 大多数原核基因以操纵子单位调节	210
9.1.4 <i>lac</i> 操纵子可受到负调节	211
9.1.5 调节蛋白有易见的 DNA 结合结构域	212
9.1.6 调节蛋白也有蛋白-蛋白互作结构域	214
9.2 原核生物基因的表达调控	216
9.2.1 <i>lac</i> 操纵子可受到正调节	216
9.2.2 <i>ara</i> 操纵子通过单个调节蛋白进行正负调控	217
9.2.3 氨基酸生物合成的许多基因经转录弱化调节	219
9.2.4 SOS 应答的诱导需要破坏阻遏蛋白	221
9.2.5 核糖体蛋白的合成与 rRNA 的合成相协调	222
9.2.6 有些基因受遗传重组调节	223
9.3 真核基因表达的调控	224
9.3.1 转录活性染色质与不具转录活性染色质的结构明显不同	225
9.3.2 修饰增加了 DNA 的可接近性	225
9.3.3 染色质通过乙酰化和核小体置换而重塑	225
9.3.4 许多真核启动子都是正调控的	226
9.3.5 DNA 结合反式激活因子和辅激活物促进通用转录因子的装配	 226
9.3.6 转录激活需要三类蛋白的参与	227
9.3.7 酵母半乳糖代谢所需基因既可正调控,也可负调控	228
9.3.8 结合 DNA 的反式激活物有一个模块结构	228
9.3.9 真核基因表达能被细胞内外信号调节	229
9.3.10 细胞核转录因子可通过磷酸化调控	230
9.3.11 许多真核 mRNA 要受到翻译阻遏	230
9.3.12 发育受调节蛋白的级联调控	231

本章小结	234
练习题	235
第10章 代谢调节策略	238
10.1 天冬氨酸转氨甲酰酶被嘧啶合成终产物反馈抑制	239
10.1.1 天冬氨酸转氨甲酰酶由分离的催化和调节亚基组成	239
10.1.2 X射线分析已经阐明了 ATCase 和其与一个双底物类似物的 复合物的结构	240
10.1.3 ATCase 的变构互作是其四级结构的巨大变化所介导的 ...	241
10.1.4 底物与 ATCase 结合导致高度协同的变构转换	241
10.1.5 ATP 和 CTP 通过改变 T 与 R 的平衡来调节 ATCase 活性	242
10.2 磷酸化是开闭靶蛋白活性的一种高度有效的方式	243
10.3 环腺苷酸(cAMP)通过释放出其催化亚基来激活蛋白激酶 A(PKA)	244
10.4 许多酶通过特异蛋白水解酶切割而激活	245
10.4.1 胰凝乳蛋白酶原通过特异切除单个肽键而被激活	246
10.4.2 胰凝乳蛋白酶原的蛋白水解激活导致底物结合位点的形成	246
10.4.3 在胰蛋白酶原激活过程中,一个高度可移动区变成了有序结构	247
10.4.4 酸性条件下胃蛋白酶原自身切割形成高活性的胃蛋白酶 ...	248
10.4.5 胰凝乳蛋白酶抑制剂与胰蛋白酶活性位点紧密结合	248
10.4.6 α_1 -抗胰蛋白酶活性的不足导致肺损伤和肺气肿	249
10.5 酶原激活级联导致血液凝固	249
10.5.1 血纤蛋白原(Fibrinogen)被凝血酶(Thrombin)转化成纤维蛋 白凝块	250
10.5.2 凝血酶与胰蛋白酶同源	250
10.5.3 维生素 K 对凝血酶原和其他钙结合蛋白的合成是必需的	251
10.5.4 血友病揭示出了血液凝固的一个初期步骤	252
10.5.5 重组 DNA 技术生产的抗血友病因子有治疗效果	252
10.5.6 血液凝固中的凝血酶和其他丝氨酸蛋白酶受到抗凝血酶Ⅲ的 不可逆抑制	252
10.5.7 纤溶酶(Plasmin)溶解血纤蛋白凝块	253
本章小结	254
练习题	255
主要参考文献	257





第1章 蛋白质的三维结构

一典型蛋白质的共价骨架包括成百上千个化学键。因其中许多都可以自由旋转，所以蛋白质可采取无数的构象。然而，每一种蛋白质都有其特定的化学功能或称结构性功能，这一事实强有力地表明了每种蛋白质都有一种独特的三维结构。到19世纪20年代后期，有好几种蛋白质被结晶，其中包括血红蛋白(分子量为64500)和脲酶(分子量为483000)。由于一个晶体中分子的有序排列通常只有在分子单元相同的情况下才能形成，许多蛋白质都能结晶这一简单的事实，强有力地证明了即使是非常大的蛋白质，也是有特定结构的不连续的化学实体。这一结论对蛋白质及其功能的思想发生了革命性的变化。

本章我们将探讨蛋白质的三维结构，着重讲五个主题。第一，由其氨基酸序列决定的蛋白质的三维结构。第二，蛋白质的结构决定其功能。第三，一个分离的蛋白质有独特或几乎独特的结构。第四，稳定一个特定蛋白质结构的最重要的作用力是非共价相互作用。最后，在众多独特蛋白质的结构中，我们可以认识一些共有的结构模式，以帮助理解蛋白质的构造。

探讨蛋白质结构的这五个主题并不是说蛋白质是静止、不变的三维结构。事实上，蛋白质行使功能经常伴有两种或更多结构形式的相互转变。

蛋白质的氨基酸序列和三维结构之间的关系是一个复杂的问题，正逐渐被许多现代生物化学技术阐明。对蛋白质结构的理解是下一章对蛋白质功能讨论的基础。我们可以依据化学和物理学的基本原理来发现和理解结构的生化迷宫。

1.1 蛋白质结构的概述

蛋白质中原子的空间排列叫做蛋白质的构象(Conformation)。蛋白质的可能构象包括任何无须破坏共价键而达成的结构状态。例如，单键的旋转就可以引起构象的变化。一个拥有数百个单键的蛋白质在理论上有无数的可能构象，但通常只有其中一种或为数不多的几种在生物条件下占优势。在特定的条件下存在的构象通常是热力学上最稳定的构象，即具有最低的吉布斯自由能。具有功能和折叠构象的任何一种蛋白质称为天然蛋白质(Native proteins)。

决定一个蛋白质最稳定构象的原则是什么呢？对蛋白质构象的理解可以从讨论蛋白质的一级结构开始，通过二级结构、三级结构和四级结构，一步一步地讨论来实现。在此传统的方法上，还必须强调超二级结构，这是一组数量不断增加的、已知的、可分类的蛋白质折叠模式，这些折叠模式为这个复杂的问题的理解提供了重要的组织环境。我们首先介绍一些指导性原则。



1.1.1 弱相互作用力是稳定蛋白质构象的主要作用力

在蛋白质结构情形下,稳定性这个词被定义为维持天然构象的趋势。天然蛋白质只是一定程度上的稳定;在生理条件下,区分典型蛋白质的折叠和非折叠状态的 ΔG 的范围只有20~65kJ/mol。理论上,一条特定的多肽链可取无数不同的构象。结果,蛋白质的非折叠状态以高的构象熵(Conformational entropy)为特征。这个熵值和多肽链的许多基团与溶剂(水)之间的氢键相互作用,趋向于使蛋白质维持在非折叠的状态。抵消这些效应并稳定天然构象的化学作用力包括二硫键和弱(非共价)相互作用力(氢键、疏水互作和离子相互作用)。认识到弱键的作用,对我们理解多肽链怎样折叠成特异的二级结构、三级结构,以及怎样和其他蛋白质形成四级结构特别重要。

破坏一个共价单键需要200~460kJ/mol的能量,而破坏一个弱相互作用力仅需要4~30kJ/mol的能量。蛋白质天然构象的单个共价键,如连接多肽链不同部分的二硫键,明显比单个的弱相互作用力要强得多,然而弱相互作用力却是稳定蛋白质的最主要的作用力,这是因为它们的数目众多。通常,自由能最低的蛋白质构象(即最稳定的构象)就是弱相互作用力数目最多的一种构象。

但是,一种蛋白质的稳定性却又不是其内部形成的弱相互作用力的自由能的简单加和。一个折叠的多肽链中的每个氢键成键基团,在折叠之前都与水形成氢键;在蛋白质分子内每形成一个氢键,就意味着同一基团与水之间的氢键(强度相近)被破坏。由一个特定的弱相互作用力提供的这种净的稳定性,或者说是折叠状态和非折叠状态值之间自由能的差,可能接近于零。因此,我们必须找出其他理由来解释为什么蛋白质的天然构象的形成是有利的。

我们发现,弱相互作用力对蛋白质稳定性所做的贡献可以从水的性质去理解。纯水中形成了氢键结合的水分子网络。其他分子间形成氢键没有水分子之间形成氢键的能力大,所以存在于水溶液中的其他分子会打破水分子间的氢键。当水包围疏水分子时,氢键的最佳的排列会导致邻近的水形成高度结构化的外壳或溶剂化层。溶剂化层中水的有序性的增加与水的熵值降低相关。然而,当非极性基团聚集在一起时,溶剂化层的程度会下降,因为每个基团不再将整个表面暴露在溶液中,结果就有利于熵值的增加。这个熵值是水溶液中疏水基团结合的主要热力学驱动力。因而疏水氨基酸侧链趋向于聚集在蛋白质分子内部而远离水分子。

在生理条件下,蛋白质分子内氢键和离子相互作用的形成大都是由同样的熵效应驱动的。极性基团通常与水分子形成氢键,因而溶于水。然而,纯水中每单位质量的氢键数量通常比其他液体或溶液多。即使是极性最强的其他分子,它们的溶解度也受到限制,因为它们的存在造成了单位质量净的氢键数目的减少。因此,在某种程度上,极性分子周围也会形成结构性的溶剂化外壳。即使大分子内两个极性基团之间氢键或离子键的形成所释放的能量大部分被这些基团与水之间的相互作用的破坏而抵消,分子内相互作用形成时结构化的水分子的释放为折叠提供了熵性驱动力。当蛋白质内弱相互作用力形成时,净的自由能变化来自因疏水表面的包埋而引起的周围水溶液的熵值的增加。这就远多于弥补当多肽链被迫形成单一的折叠构象时构象熵的极大减少。

很明显,疏水相互作用在稳定蛋白质的构象中很重要。蛋白质内部通常是一个充满疏水氨基酸侧链的密实核心。蛋白质内部任何极性的或带电荷的基团都要有与之形成氢键或离子键的合适的基团存在,这也是很重要的。一个氢键对天然结构的稳定性作用

好像不大,但是如果在蛋白质的疏水核心中存在一个带电荷的基团或形成氢键的基团,而又没有与之匹配的基团,这是非常不稳定的,以至于含有这样基团的构象在热力学上是不能实现的。这样一个基团在与周围溶液中的基团结合时产生的有利的自由能的变化要比折叠和非折叠状态之间自由能的差异大。另外,蛋白质中基团是协同形成氢键的。一个氢键的形成有助于其他氢键的形成。氢键和其他非共价相互作用力对稳定蛋白质构象所作出的整体贡献,人们仍然在评价。形成离子键(盐桥)的带相反电荷的基团之间的相互作用也可能对某些蛋白质的一种或更多的天然构象有稳定作用。

本章中概述的许多结构模式反映了两个简单的规则:(1)疏水残基主要包埋在蛋白质内部,远离水;(2)蛋白质内氢键的数目达到最大值。不溶的蛋白质和膜内的蛋白质因其所起的功能和所处的环境不同,所以遵循的规则有些不同,但弱相互作用力仍然是其关键性的结构要素。

1.1.2 肽键是刚性的平面

共价键也是多肽链构象的重要的限制因素。15世纪30年代末, Linus Pauling 和 Robert Corey 从事了一系列的研究,为我们目前对蛋白质结构的理解奠定了基础。相邻的氨基酸残基的 α -碳原子被三个共价键分开,其排列为 $C_\alpha-C-N-C_\alpha$ 。氨基酸、简单的二肽、三肽的晶体的X射线衍射研究证明:肽键C-N的键长要比单胺中的短,肽键中所有的原子都是共平面的。这表明羰基氧和酰胺氮之间的两个电子发生了共振或部分共享。氧带部分负电荷,而氮带部分正电荷,形成了一个小的电偶极。肽基的六个原子存在于一个平面中,其中羰基氧原子和酰胺氮上的氢原子呈反式排列。Pauling 和 Corey 从这些发现中总结出肽键C-N具有部分双键的性质而不能自由旋转。 $N-C_\alpha$ 和 $C_\alpha-C$ 可以自由旋转。因而多肽链的共价主链被看作是一系列的刚性平面,这些刚性平面是由具有共同旋转点 C_α 的连续平面组成的。刚性的肽键限制了多肽链所取的构象形式。

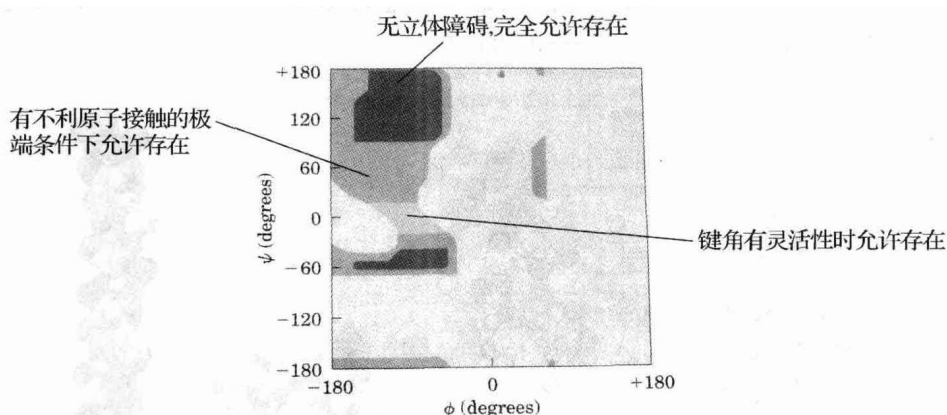


图 1-1 L-Ala 残基的拉氏构象图。肽的构象是由 ϕ 和 ψ 角决定的。根据 van der Waals 半径和键角进行的计算认为可能的构象是那些没有或有很小立体障碍的。深色的部分反映的是不涉及立体障碍完全容许存在的构象;灰色的部分是极端限制条件下有不利原子接触时的构象;浅灰色部分反映的是如果键角有一点灵活性的话容许存在的构象。对其他无分支侧链的 L-氨基酸残基此图几乎完全相同。分支的氨基酸残基如 Val, Ile 和 Thr 的容许范围比 L-Ala 要稍小些。Gly 的立体障碍最小,表现出大得多的容许构象范围。Pro 残基的构象范围受到极大限制,因为其 ϕ 角被其环状侧链限制在一定范围内。