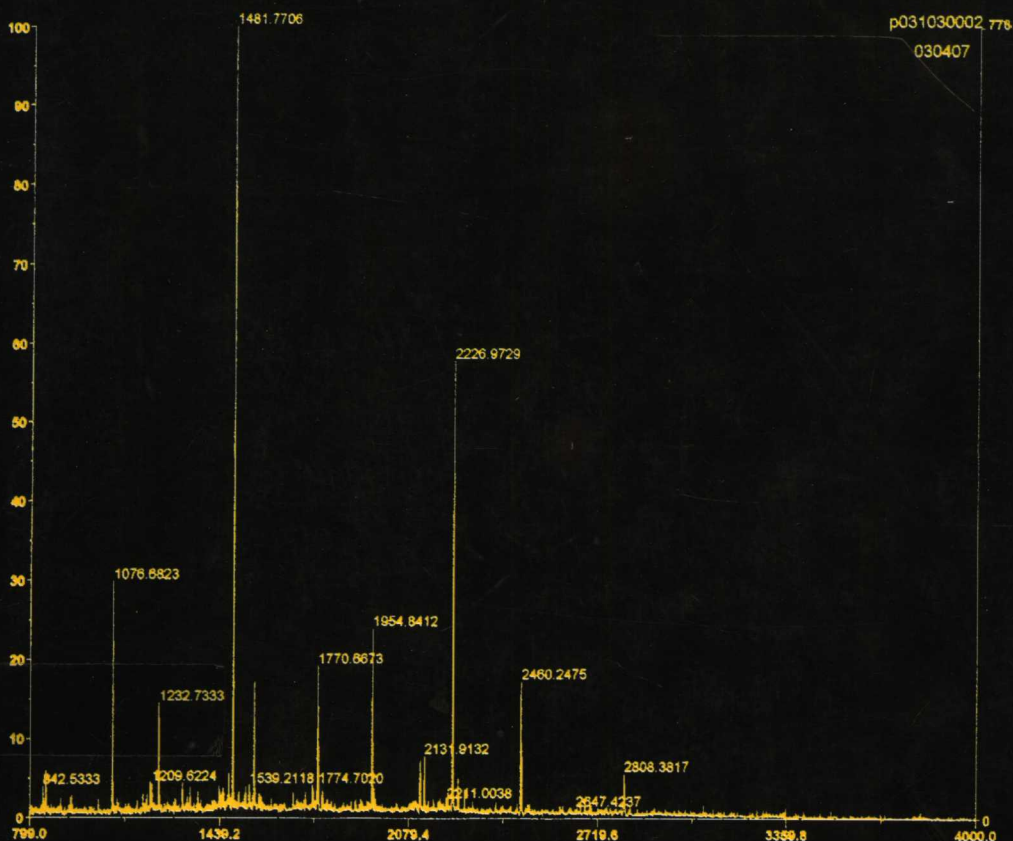


蛋白质研究技术

Protein Technology

主编 颜 真 张英起



第四军医大学出版社

蛋白质研究技术

Protein Technology

主 编 颜 真 张英起

副主编 薛晓畅

编 者 (以姓氏笔画排序)

万 一 王 慧 马 楠

王增禄 石继红 包春杰

李 萌 吴宇振 张英起

张 存 孟洁如 侯登勇

秦 鑫 唐 量 彭 勇

韩 菁 颜 真 薛晓畅

第四军医大学出版社 西安

图书在版编目(CIP)数据

蛋白质研究技术/颜真,张英起主编. —西安:第四军医大学出版社,2007.1

ISBN 978-7-81086-247-9

I. 蛋… II. ①颜… ②张… III. 蛋白质-研究 IV. Q51

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 158004 号

蛋白质研究技术

主 编 颜 真 张英起

责任编辑 土丽艳 迟素敏

出版发行 第四军医大学出版社

地 址 西安市长乐西路 17 号(邮编:710032)

电 话 029-84776765

传 真 029-84776764

网 址 <http://press.fmmu.sn.cn>

印 刷 西安力顺彩印有限责任公司

版 次 2007 年 1 月第 1 版 2007 年 1 月第 1 次印刷

开 本 787×1092 1/16

印 张 18

字 数 360 千字

书 号 ISBN 978-7-81086-247-9/Q·13

定 价 32.00 元

(版权所有 盗版必究)

前言

蛋白质是生物体中含量最高、功能最重要的生物大分子,存在于所有生物细胞。作为生命的物质基础之一,蛋白质在催化生命体内各种反应进行、调节代谢、抵御外来物质入侵及控制遗传信息等方面都起着至关重要的作用。基因只是遗传信息的携带者,蛋白质才是生命活动的执行者,人类基因组计划的完成只是人类认识生命、改造生命万里长征的第一步,其产生的海量基因信息,必须经过对其表达产物——蛋白质的研究而加以阐释。对蛋白质复杂多样的结构、功能、相互作用和动态变化的深入研究,将在分子、细胞和生物体等多个层次上全面揭示生命现象的本质。因此,对蛋白质的研究是阐明生命活动本质所不可或缺的基因组研究的后续部分,是 21 世纪生命科学研究中最重要的任务之一。

蛋白质研究技术远比基因技术复杂和困难,这主要是由蛋白质的可变性和多样性等特殊性质决定的。这不仅体现在构成蛋白质的氨基酸残基种类远多于构成核酸的核苷酸碱基种类,而且蛋白质有着复杂的翻译后修饰、蛋白质间相互作用以及蛋白质构象等问题,可以说,每一种蛋白质的分离纯化及其鉴定方法都有不同于其他蛋白质的特点,因此,对蛋白质的研究,在很大程度上取决于其技术方法水平的高低。

作为研究生教材,为了在介绍蛋白质研究基本内容的同时,又能充分反映该领域快速发展的新技术和成果,本书在内容和结构上采用基础理论和实验操作两部分相结合,以基础理论为主的编排处理,并在每一章内容中都包含了当前的一些最新进展。第一章至第十七章主要介绍基础理论,其中:第二至第六章详细介绍了蛋白质研究的一般原则和以色谱技术为主的常用的分离纯化技术的理论基础;第七至第九章内容涉及了基因重组蛋白质的体外培养、蛋白质表达以及原核细胞表达中常常出现的包涵体蛋白质的复性和纯化的解决方案,因为基因重组在蛋白质研究、蛋白质制备中已占有了越来越重要的地位;第十至十三章内容包含了对蛋白质的理化性质和一级结构、空间结构的鉴定;以后各章分别涉及利用多肽合成技术制备蛋白质、对蛋白质进行化学修饰和改造,以便获得具有某种特殊功能的蛋白质的方法;结合蛋白质组学研究的需要,本书还介绍了蛋白质组学的研究内容和常用的研究技术方案,介绍了当今发展非常迅速、并已成为蛋白质组研究中的支撑技术之一的生物质谱技术、生物信息学等内容;另外,为了配合现代生物制药的学习,本书还包含了生物技术药物质量

控制的基本内容。第十八章选取了常用的和基本的 10 个蛋白质技术实验,实验步骤详尽,而且每个实验都经过了反复实验操作的验证,参考价值和可重复性都非常强。附录部分收录了蛋白质研究中经常用到的一些参考数据,可方便查阅和使用。

蛋白质科学研究成果将催生一系列新的生物技术,带动医药、农业和绿色产业的发展,引领未来生物经济。蛋白质研究方法正经历着不断地更新,新的技术也不断地涌现,学习和掌握蛋白质研究的相关技术理论和方法,对于了解生命科学研究的的前沿,对于研究课题的设计、实施和先进研究方法的应用、技能培训都是十分必要的。

本书主要供医学、药学、生物技术等专业的硕士研究生学习使用,也可供有志于从事自然科学研究的科技工作者参考。书中疏漏之处,敬指广大读者批评指正。

第四军医大学药学系生物技术中心 颜 真

2006 年 9 月于西安

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 蛋白质的研究历史	(1)
第二节 蛋白质研究的主要内容	(2)
第二章 蛋白质化学及蛋白质分离纯化的基础	(4)
第一节 蛋白质分子的组成	(4)
第二节 蛋白质的分子结构	(8)
第三节 蛋白质结构与功能的关系	(14)
第四节 蛋白质的理化性质和生物学特性	(16)
第五节 蛋白质的种类和功能	(20)
第六节 蛋白质纯化方案设计的基本原则	(23)
第三章 蛋白质的提取和粗分离	(27)
第一节 蛋白质提取原材料的选择和处理	(27)
第二节 蛋白质的提取方法	(31)
第三节 蛋白质的沉淀方法	(35)
第四章 蛋白质的层析分离	(43)
第一节 层析法原理	(43)
第二节 离子交换层析	(45)
第三节 凝胶过滤层析	(49)
第四节 疏水和反相层析	(52)
第五节 亲和层析	(55)
第五章 蛋白质的电泳分离	(58)
第一节 电泳技术的基本原理	(59)
第二节 电泳技术的类型	(61)
第三节 蛋白质的聚丙烯酰胺凝胶电泳	(62)
第四节 非连续缓冲系统聚丙烯酰胺凝胶电泳	(64)
第五节 等电聚焦电泳和双向电泳	(67)
第六节 蛋白质的转移电泳	(69)

第七节	毛细管电泳	(70)
第六章	蛋白质纯化中的衔接技术	(72)
第一节	蛋白质的浓缩	(72)
第二节	蛋白质的脱盐	(77)
第三节	蛋白质生物活性的保持	(78)
第四节	蛋白纯化过程中的监测	(81)
第七章	基因工程菌的大规模培养	(87)
第一节	菌种的保藏	(87)
第二节	工程菌的培养	(88)
第三节	工程菌的高密度发酵及发酵中的主要分析方法	(92)
第八章	工程菌生产的蛋白包涵体的复性与纯化	(99)
第一节	包涵体形成的原因	(99)
第二节	包涵体的制备和溶解	(100)
第三节	包涵体的复性	(102)
第四节	包涵体复性以后的蛋白质纯化	(107)
第九章	动物细胞的大规模培养	(109)
第一节	培养细胞的特性	(109)
第二节	培养细胞生长的条件	(110)
第三节	细胞培养的基本技术	(111)
第四节	动物细胞大规模培养	(114)
第十章	蛋白质分子量的测定	(124)
第一节	物理分子量和化学分子量	(124)
第二节	分子量的平均值	(124)
第三节	最小二乘法的应用	(125)
第四节	超离心沉降速度法	(126)
第五节	凝胶色谱法	(127)
第六节	SDS - PAGE 法	(129)
第十一章	高效液相色谱	(131)
第一节	基本概念	(132)
第二节	常用高效液相色谱法类型与分离机制	(133)
第三节	高效液相色谱仪	(135)

第四节 定性、定量分析方法	(137)
第五节 HPLC 的发展	(139)
第十二章 蛋白质分子一级结构的测定	(148)
第一节 蛋白质的氨基酸组成测定	(148)
第二节 蛋白质的末端测定	(150)
第三节 亚基拆离、肽链降解和肽段的分离	(154)
第四节 肽段的氨基酸顺序测定	(157)
第五节 氨基酸自动测序仪的工作原理	(161)
第六节 质谱技术在肽和蛋白质的序列测定中的应用	(162)
第十三章 蛋白质空间结构分析	(165)
第一节 概述	(165)
第二节 X 射线晶体衍射法	(166)
第三节 二维和多维核磁共振技术	(170)
第四节 电子晶体学及电子显微学三维重构	(172)
第五节 蛋白质空间结构的预测与分子模拟	(173)
第十四章 蛋白质和多肽的化学合成技术	(182)
第一节 多肽化学合成的基本原理	(182)
第二节 液相合成法	(186)
第三节 固相合成法	(187)
第四节 多肽合成仪	(189)
第五节 多肽合成后的裂解	(190)
第六节 合成多肽的分离纯化及鉴定	(191)
第十五章 蛋白质的化学修饰	(194)
第一节 化学修饰过程	(194)
第二节 修饰蛋白的应用	(198)
第三节 蛋白质化学修饰的展望	(201)
第十六章 蛋白质组学及其研究技术	(203)
第一节 蛋白质组学的产生及其研究目的和任务	(203)
第二节 蛋白质组学研究的主要技术体系	(206)
第三节 蛋白质组研究的应用	(218)

第十七章 生物技术药物的质量控制	(222)
第一节 生物技术药物的分类	(222)
第二节 蛋白质生物活性测定	(223)
第三节 蛋白质含量测定	(225)
第四节 蛋白质物理化学性质的鉴定	(227)
第五节 蛋白质的二硫键分析	(230)
第六节 对糖蛋白的特殊要求	(231)
第七节 残余杂质检测	(231)
第八节 安全性及其他项目检测	(232)
第九节 生物技术药物待测样品的保存	(233)
第十八章 实验	(234)
实验一 基因工程菌的发酵	(234)
实验二 细胞的破碎及蛋白质粗分离	(235)
实验三 重组蛋白质的液相色谱技术	(236)
实验四 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳	(240)
实验五 蛋白质浓度测定	(244)
实验六 TNF 的生物活性测定	(246)
实验七 高效液相色谱分析鉴定蛋白质纯度	(248)
实验八 免疫印迹(Western blot)实验	(250)
实验九 蛋白质等电聚焦分析	(251)
实验十 多肽的固相合成、切割及纯化	(254)
附录	(259)
附录一 常用缓冲溶液的配制方法	(259)
附录二 核酸和蛋白质的性质	(264)
附录三 常用贮存液的配制	(267)
附录四 常用菌株及抗生素	(270)
附录五 常用凝胶的技术参数	(273)
附录六 硫酸铵溶液饱和度常用表	(274)
附录七 离心转速与相对离心力的换算	(276)
附录八 希腊字母表	(278)
附录九 大肠杆菌偏爱密码子表	(278)
附录十 化学元素周期表	(279)

第一章

绪 论

第一节 蛋白质的研究历史

早在 19 世纪,人们就从动物和植物中分离出一些蛋白质。蛋白质的希腊文为 *proteios*, 意即生物体中最重要、第一位的。当时很多人已经意识到这类物质与生命现象的密切关系。

应用水解方法证明了组成蛋白质的基本单位为氨基酸。1820 年, H. Braconnot 研究明胶水解时, 分离出了一种具有甜味的物质, 称之为 *glycin* (希腊原文的意思是“甜的”), 后来发现这个“明胶糖”含有氮, 这是最简单的氨基酸——甘氨酸。同一年, 他还从肌肉水解物中得到了亮氨酸。此后人们从多种蛋白质水解物中陆续分离得到了多种氨基酸, 例如酪氨酸 (1849), 丝氨酸 (1865), 谷氨酸 (1866), 天门冬氨酸 (1868), 苯丙氨酸 (1881), 丙氨酸 (1888), 赖氨酸 (1889), 胱氨酸 (1889), 精氨酸 (1895) 组氨酸 (1896), 缬氨酸 (1901), 脯氨酸 (1901), 羟脯氨酸 (1902), 异亮氨酸 (1904), 蛋氨酸 (1922), 苏氨酸 (1925)。这些氨基酸除甘氨酸外, 都具有旋光性。1924 年, Karl Freudenberg 在前人工作的基础上指出: 所有来自蛋白质的旋光性氨基酸都属于 L 型。

1902 年, 费歇尔提出了蛋白质的多肽结构学说。认为蛋白质分子是由许多氨基酸以肽键 (酰胺键) 结合而成的长链高分子化合物。两个氨基酸结合形成二肽, 三个氨基酸形成三肽, 多个氨基酸形成多肽。

蛋白质化学中的一个重要进展是多肽链中的氨基酸序列测定, 1945 年, Frederick Sanger 用 2,4 二硝基氟苯作为多肽链氨基端标记试剂, 在温和条件下这个试剂可以和蛋白质的氨基端缩合, 在酸性水解时, 氨基端氨基酸成为鲜黄色的 2,4 二硝基衍生物, 它可以和其他氨基酸分离, 并用纸层析方法加以鉴定。为了测定蛋白质中多肽链的氨基酸序列, Sanger 等将蛋白质部分水解, 产生二肽和三肽的混合物, 分别用上述方法测定氨基末端的序列。如果产物中所有的二肽都能加以鉴定, 则可以确定蛋白质中多肽链的氨基酸序列。Sanger 及其同事于 1945 年开始研究胰岛素的氨基酸序列, 他们将胰岛素局部水解为小肽, 在用纸层析或电泳法进行分离, 并用 2,4 二硝基氟苯法测定氨基酸的排列序列, 经过十年的努力, 终于测出了牛胰岛素中的全部氨基酸序列, 并因此而获得诺贝尔奖。Sanger 所创建的氨基末端缩合技术成为氨基酸自动测序的基础。

多肽和蛋白质的化学合成是蛋白质研究中的又一个重大进展。早在 1871 年, Schaal 用天冬氨酸聚合得到多聚产物。1901 年, Emil Fischer 和 Forneau 用酸水解二酮哌嗪的方法获得自由二肽, 1907 年, 他们又成功合成了 $\text{Leu}-(\text{Gly})_3-\text{Leu}-(\text{Gly})_3-\text{Leu}-(\text{Gly})_9$ 18 肽。1954

年, du Vigneaud 合成了由 9 个氨基酸组成的催产素。在此期间, 积累了一些多肽的合成技术及寻找到了多种氨基酸的保护基团, 如 Emil Fischer 将二酮哌嗪法、酯缩合法、 α -卤代酰氯和肽酰氯等方法结合应用, Bergmann 和 Zervas 开创性地应用卞氧羧基作为氨基的保护基团等。1958 年, 我国科学家开始进行胰岛素的人工合成。中国科学院上海生物化学研究所首先进行了天然胰岛素的拆合工作, 即将胰岛素中的三个二硫键拆开后, 再通过硫硫键接合, 使之重新成为与天然胰岛素活力相同的分子。天然胰岛素的拆合成功, 把人工合成胰岛素的工作简化到现行分别合成二十一肽的 A 链和三十肽的 B 链。1959 年, 中国科学院生物化学研究所、有机化学研究所、北京大学化学系等单位协作, 全面开展了人工合成胰岛素的工作, 经过几年的努力, 在 1965 年获得了首批用人工方法合成的结晶胰岛素, 结晶形状与天然胰岛素相同, 生物活力与天然胰岛素相等。电泳行为、层析行为、酶解图谱以及免疫化学行为均与天然胰岛素相同。后来, 除胰岛素外, 还合成了牛胰蛋白酶抑制剂和牛胰核糖核酸酶等蛋白质, 对胰岛素原、溶菌酶、细胞色素 c、烟草花叶病毒外壳蛋白、生长激素等多种蛋白质进行了实验性合成。20 世纪 60 年代初, Merrifield 建立了多肽固相合成技术, 这一技术已成为多肽合成的常规技术。多肽合成技术的发展, 对于一些含量很少的生物活性肽如神经肽的功能和结构研究、有重要应用价值多肽的大规模制备具有重要意义。

早期对蛋白质的研究可概括为: 发现一种新的有可能是蛋白质参与的现象, 应用一定技术对其进行分离纯化, 测定其理化性质、氨基酸组成和氨基酸序列, 对其结构进行分析, 根据氨基酸序列寻找编码基因。随着分子生物学技术的飞速发展, 复杂的蛋白质序列测定和大分子蛋白质的人工合成已显得不十分重要。如可以从编码蛋白质的基因序列推导出蛋白质序列; 应用基因工程技术和多肽合成技术可大量制备有研究和应用价值的蛋白质和多肽。但在蛋白质研究领域, 仍需要对蛋白质的分离纯化及鉴定做大量的工作, 如需要制备一定量的蛋白质对其功能和结构进行的研究, 具有较大应用价值的蛋白质需要进行大规模制备, 对于具有翻译后修饰的蛋白的研究等。因此, 发展快速、简便及经济的蛋白质分离纯化和鉴定技术仍是蛋白质研究乃至生命科学研究领域中的一个重要课题。

第二节 蛋白质研究的主要内容

蛋白质研究技术主要包括以下内容:

1. 蛋白质的发现

可通过各种手段发现新的蛋白质, 如一种有蛋白质参与的新的生物活性; 发现编码某种蛋白质的新基因; 应用蛋白质组技术发现一种新的蛋白质等。

2. 蛋白质的制备

如进一步研究新发现的蛋白质或制备有应用价值的蛋白质, 需要制备出纯度较高的制品。可直接从生物组织中分离制备, 也可以用重组 DNA 技术或多肽合成技术制备。

3. 测定蛋白质或多肽的结构

包括一级结构和空间结构。

4. 蛋白质的改造和化学修饰

应用蛋白质工程技术或蛋白质化学修饰技术可对某些蛋白质进行改造,制备出优于天然存在蛋白质的新型蛋白质分子。

5. 蛋白质或多肽的药物应用

应按有关药物研究的规定进行研究。

蛋白质研究技术之间的关系如图 1-1 所示。

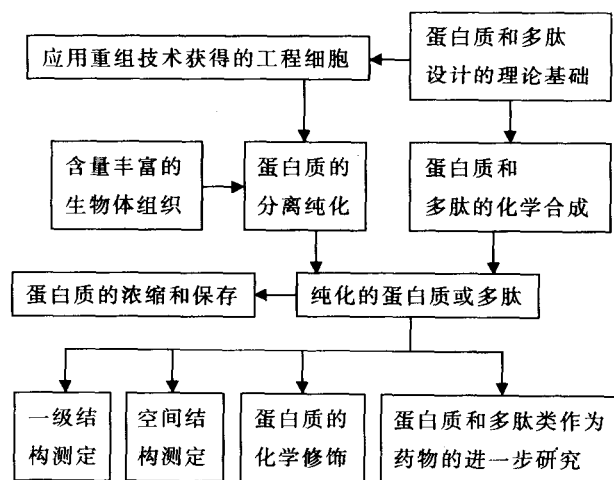


图 1-1 蛋白质研究技术的主要内容

(张英起)

第二章

蛋白质化学及蛋白质分离纯化的基础

蛋白质 (protein) 是生物体的基本组成成分之一,也是含量最丰富的高分子物质,蛋白质含量占人体固体成分的 45% 左右,分布广泛,体内所有的器官组织都含有蛋白质。生物体结构越复杂,其蛋白质的种类和功能也越繁多。一个真核细胞可有数千种蛋白质,每种蛋白质各自有特殊的结构和功能。如酶、抗体、大部分凝血因子、多肽激素、转运蛋白、收缩蛋白等都是蛋白质,但结构和功能截然不同。在物质代谢、机体防御、血液凝固、肌肉收缩、细胞信息传递、个体生长发育、组织修复等方面,蛋白质发挥着不可替代的重要作用。蛋白质是生命的主要体现者,没有蛋白质就没有生命。

第一节 蛋白质分子的组成

一、蛋白质的元素组成

蛋白质分子中主要的元素组成是:C、H、O、N、S等。有的蛋白质含有 P、I,少数含 Fe、Cu、Zn、Mn、Co、Mo 等金属元素。其中 N 元素的含量相对稳定,约为 16%,故每克 N 相当于 6.25 克蛋白质。因此,可以依据下面的公式用测定生物样品中氮元素含量的方法间接求得生物样品中的蛋白质含量:

每克样品中含 N 克数 $\times 6.25 \times 100 = 100$ 克样品中的蛋白质含量(g%)

二、蛋白质的基本组成单位——氨基酸

(一)氨基酸的结构与分类

蛋白质彻底水解后,用化学分析方法证明其基本组成单位是 α -氨基酸。存在于自然界的氨基酸有 300 余种,但构成蛋白质的天然氨基酸仅有 20 种,除甘氨酸外,蛋白质中的氨基酸均属 L- α -氨基酸。

组成蛋白质的氨基酸按其 α -碳原子上侧链 R 的结构分为 20 种,20 种氨基酸按 R 的结构和极性的不同有以下两种分类方法。

1. 按侧链 R 的结构分类 可分为四类氨基酸。

(1)脂肪族氨基酸

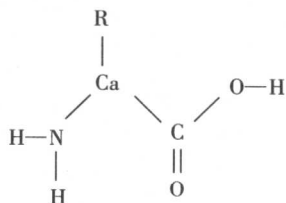


图 2-1 氨基酸结构通式

包括甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、甲硫氨酸、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺、天冬氨酸、天冬酰胺、赖氨酸、精氨酸。

(2) 芳香族氨基酸

苯丙氨酸、酪氨酸。

(3) 杂环族氨基酸

组氨酸、色氨酸、脯氨酸。

2. 根据侧链 R 的极性不同分类

氨基酸的 R 基团不带电荷或极性极微弱的属于非极性中性氨基酸, R 基团带电荷或有极性的属于极性氨基酸,具体分为四大类:

(1) 非极性侧链氨基酸(疏水性侧链氨基酸)

侧链均为非极性基团,不能解离,不能与水形成氢键,因此这些侧链都是疏水的,如:甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、脯氨酸。

(2) 极性中性氨基酸

R 基团有极性,但不解离,或仅极弱地解离,它们的 R 基团有亲水性。如:丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、谷氨酰胺、天门冬酰胺。

(3) 酸性氨基酸

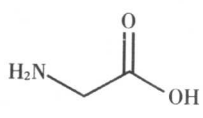
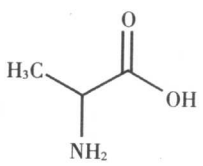
R 基团有极性,且解离,在中性溶液中显酸性,亲水性强。如天门冬氨酸、谷氨酸。

(4) 碱性氨基酸

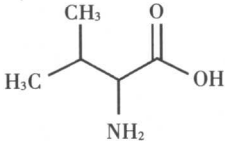
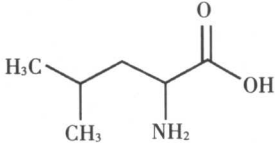
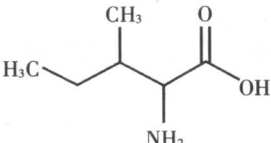
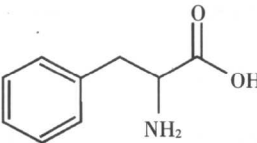
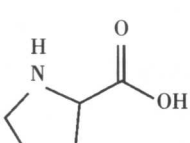
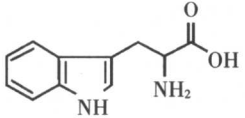
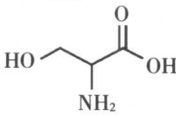
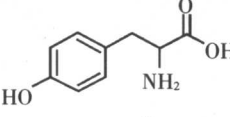
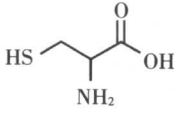
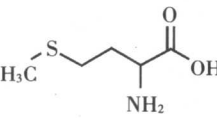
R 基团有极性,且解离,在中性溶液中显碱性,亲水性强。如组氨酸、赖氨酸、精氨酸。

这 20 种氨基酸都有各自的遗传密码,它们是生物合成蛋白质的构件,无种属差异。在体内,一些特殊蛋白质分子中还含有其他氨基酸,如甲状腺球蛋白中碘代酪氨酸,胶原蛋白中的羟脯氨酸及羟赖氨酸,某些蛋白质分子中的胱氨酸等,它们都是在蛋白质生物合成之后(或合成过程中),相应的氨基酸残基被修饰形成的。还有的是在物质代谢过程中产生的,如鸟氨酸是由精氨酸转变而来,这些氨基酸在生物体内都没有相应的遗传密码。20 种蛋白质氨基酸残基的结构、缩写、等电点等列于表 2-1 中。

表 2-1 组成蛋白质的 20 种编码氨基酸

种类	结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 pI
非极性 疏水性 氨基酸		甘氨酸	glycine	Gly	G	5.97
		丙氨酸	alanine	Ala	A	6.00

续表

种类	结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 pI
非 极 性 疏 水 性 氨 基 酸		缬氨酸	valine	Val	V	5.96
		亮氨酸	leucine	Leu	L	5.98
		异亮氨酸	isoleucine	Ile	I	6.02
		苯丙氨酸	phenylalanine	Phe	F	5.48
		脯氨酸	proline	Pro	P	6.30
极 性 中 性 氨 基 酸		色氨酸	tryptophan	Trp	W	5.89
		丝氨酸	serine	Ser	S	5.68
		酪氨酸	tyrosine	Tyr	Y	5.66
		半胱氨酸	cysteine	Cys	C	5.07
		蛋氨酸	methionine	Met	M	5.74

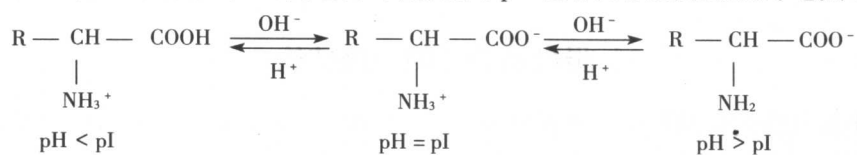
续表

种类	结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 pI
		天冬酰胺	asparagine	Asn	N	5.41
		谷氨酰胺	glutamine	Gln	Q	5.65
		苏氨酸	threonine	Thr	T	5.60
酸性氨基酸		天冬氨酸	aspartic acid	Asp	D	2.97
		谷氨酸	glutamic acid	Glu	E	3.22
碱性氨基酸		赖氨酸	lysine	Lys	K	9.74
		精氨酸	arginine	Arg	R	10.76
		组氨酸	histidine	His	H	7.59

(二)氨基酸的理化性质

1. 两性解离及等电点

氨基酸分子是一种两性电解质。通过改变溶液的 pH 可使氨基酸分子的解离状态发生改变。氨基酸分子带有相等正、负电荷时,溶液的 pH 值称为该氨基酸的等电点(pI)。



2. 紫外吸收性质

组成天然蛋白质分子的 20 种氨基酸中,只有色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸对紫外光有吸

收,其吸收峰在 280 nm 左右,以色氨酸吸收最强。可利用此性质采用紫外分光光度法测定蛋白质的含量。

3. 茚三酮反应

氨基酸可与茚三酮缩合产生蓝紫色化合物,其最大吸收峰在 570 nm。可利用此性质测定氨基酸的含量。

第二节 蛋白质的分子结构

一、氨基酸在蛋白质分子中的连接方式

1. 肽键

蛋白质分子中的氨基酸之间是通过肽键相连的,一个氨基酸的 α -羧基与另一个氨基酸的 α -氨基脱水缩合,即形成肽键(图 2-2)。

2. 肽与多肽链

蛋白质是由若干氨基酸的氨基与羧基经脱水缩合而连接形成的长链化合物。一个氨基酸分子的 α -羧基与另一个氨基酸分子的 α -氨基在适当的条件下经脱水缩合即生成肽。由两个氨基酸缩合成的肽称为二肽,三个氨基酸缩合成三肽,以此类推。一般由十个以下的氨基酸缩合成的肽统称为寡肽,由十个以上氨基酸形成的肽被称为多肽(polypeptide)或多肽链。多肽链具有方向性,头端为氨基端(N端),尾端为羧基端(C端)。凡氨基酸残基数目在 50~100 个以上、分子量超过 10 000、且具有特定空间结构的肽称为蛋白质。

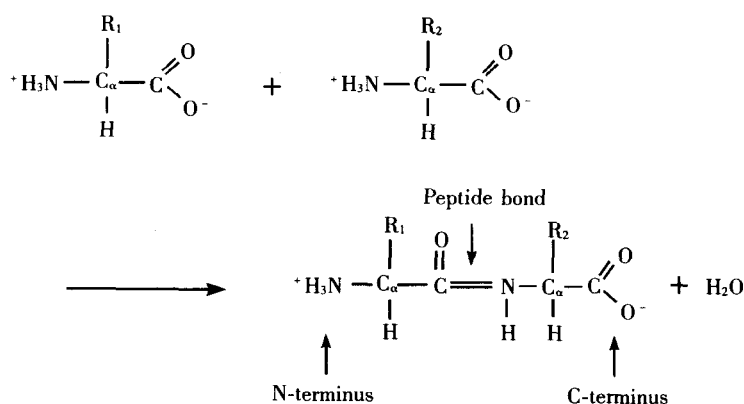


图 2-2 肽与肽键

二、蛋白质分子的一级结构

多肽链中氨基酸的排列顺序称为蛋白质的一级结构,这种顺序是由遗传信息决定的,一级结构是决定蛋白质空间结构的基础,而蛋白质的空间结构则是实现其生物学功能的基础。