

物理生物化学

〔美〕 K. E. 范霍尔德 著



科学出版社

59.2
496
=2

物理生物化学

〔美〕K. E. 范霍尔德 著
郁贤章 译

1106830

科学出版社

1978

DS88/16
内 容 简 介

本书介绍了分子生物学中较常用的各种物理化学方法和技术,并着重于它们的物理学原理,以便读者易于掌握这些技术和对结果作正确解释。内容包括:热力学基本概念与生物化学,大分子溶液,化学平衡,扩散,沉降,电场,粘度,辐射和散射,圆二色性和旋光色散,X射线衍射等。全书共分十一章,并附有思考题目及参考资料。

本书可供高等院校、科研机构和其它有关单位从事分子生物学工作者参考。

K. E. Van Holde

PHYSICAL BIOCHEMISTRY

Prentice-Hall, Inc. 1971

物 理 生 物 化 学

[美] K. E. 范霍尔德 著

郁贤章 译

*

科 学 出 版 社 出 版

北京朝阳门内大街137号

中 国 科 学 院 印 刷 厂 印 刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1978年9月第 一 版 开本: 787×1092 1/32

1978年9月第一次印刷 印张: 8 3/8

印数: 0001—60,110 字数: 189,000

统一书号: 13031·817

本社书号: 1165·13—10

定 价: 0.88 元

译 者 的 话

在分子生物学的研究中,物理学的方法已经成为不可缺少的了。在样品的制备、分离、提纯、鉴定过程中,在样品的结构和构型分析中,透析、扩散、沉降、电泳……方法都是广泛地应用的一些方法。诚然这些方法都是属于物理化学的范畴,但是由于分子生物学的研究对象主要是象蛋白质、核酸那样的大分子,故在把这些方法用来研究生物大分子的时候就必须对它们进行一定的发展。基于这一原因,在叙述分子生物学的物理方法时,还是需要有一本比较有针对性的书。为此,我们把本书译出以供有关人员参考。

本书的写法是从方法着眼,除了第一章之外,基本上都是每章介绍一种方法,其重点是叙述方法的物理基础,有些方法也介绍了一些操作要点。本书把分子生物学的常用物理学方法汇集在一起,使读者在阅读本书之后可以了解这个领域的概貌。这一特点使本书适宜于作为一本教学参考书。本书在方法的物理基础的叙述方面,有其简要清晰的特色,这对掌握方法的基本原理和正确解释所获得的数据当然是很重要的。本书的不足之处是方法的具体操作介绍得不够。因此,读者在需要进一步掌握和使用某一方法时,还需要阅读有关的著作。

译 者

目 录

引言	1
第一章 热力学和生物化学	3
1.1 热,功和能量	4
1.2 热力学量的分子解释	9
1.3 熵,自由能和平衡	12
第二章 大分子溶液	27
2.1 溶液热力学的一些基础	28
2.2 大分子溶液	36
2.3 膜平衡	40
2.4 主动运输	50
第三章 化学平衡	54
3.1 溶液中化学反应热力学	54
3.2 多级平衡	61
3.3 多级平衡的两个特例	69
3.4 构象平衡	77
第四章 输运过程引论: 扩散	85
4.1 输运过程的概貌	85
4.2 扩散	92
4.3 研究输运过程用的光学系统	98
第五章 沉降作用	107
5.1 沉降速度	107
5.2 研究沉降的设备和操作程序	118
5.3 沉降平衡	120
5.4 阿奇博尔德法	124
5.5 密度梯度沉降作用	125

第六章 电场	133
6.1 电场中的输运: 电泳	133
6.2 等电汇聚	140
6.3 分子在电场中的取向	143
第七章 粘度	153
7.1 粘性流	153
7.2 大分子溶液的粘度	155
7.3 粘性流中的取向作用	163
7.4 粘度的测量	167
第八章 辐射的吸收和发射	172
8.1 吸收光谱: 一般原理	172
8.2 红外光谱	176
8.3 在可见和紫外区域里的光谱	179
8.4 大分子结构和吸收	181
8.5 荧光和磷光	184
8.6 磁共振方法	190
第九章 散射	196
9.1 光散射: 基本概念	196
9.2 多粒子散射	200
9.3 前向散射和折射指数	202
9.4 大分子溶液的瑞利散射	205
9.5 较大粒子的散射	208
9.6 小角X射线散射	213
第十章 圆二色性和旋光色散	220
10.1 辐射的偏振作用	220
10.2 圆二色性和旋光	223
10.3 旋光本领的分子基础	228
10.4 大分子的旋光行为	231
第十一章 X射线衍射	241
11.1 X射线衍射基础	242

11.2	纤维状大分子的衍射	249
11.3	分子晶体的衍射：相位问题	251
11.4	球状蛋白质的 X 射线衍射研究：总结和前景	260

引 言

细胞和组织、贝壳和骨骼、叶片和花朵，它们都是物质；它们的组成粒子的运动、组合和化合，都遵守物理定律。

达西·汤普孙，1917*

这些话告诉人们分子生物学都是些什么。从生命的基本物理和化学机制是可知的这一假定出发，了解（至少是部分地）遗传怎样起作用、细胞怎样制造蛋白质、蛋白质怎样调节新陈代谢、肌肉怎样收缩等等已成为可能。由于由物理学、化学和生物学融合而成的我们称之为分子生物学的这门学科已经是硕果累累，以致它在生物化学中占了主导地位。

生物过程的分子解释出现种种迹象说明它还能解释得更透彻；因而，新型生物化学学生必须熟悉物理化学的理论和方法。这些就是本卷的主题。这里的论述仅是一个轮廓，一个概貌，使学生熟悉一些概念，并对其中少许进行探讨。它详细地论述了（可能是太多了）近代生物化学家使用的物理化学工具。但是，要能使用这些技术，起码得了解它们。

本书预先假定读者已有物理化学的入门知识。确切地说，我假定学生至少已学了半学年的课程，其中已经向他们介绍过热力学的基础。在我教过这个课程之后，我对他们所获得的了解的深度不再感到没有把握了。为此，在第一章中重新

* *On Growth and Form*, Cambridge University Press, Cambridge, 1917, p. 7.

复习一下热力学。

对那些愿意作为一个生物化学研究工作者的人们进一言：回过头来深入钻研一下数学、物理和化学的基础知识吧！只有这样，你才能向我们精确地证明生命的粒子是怎样地“运动、组合和化合的”。

第一章 热力学和生物化学

由于热力学的重点是在热机和抽象的能量概念方面，所以它常常似乎与生物化学家无关。确实如此，一篇关于这个主题的传统序言几乎总是使学生相信热力学里有许多纯粹是诡辩，并且与真正的生物化学工作毫无关系。而生物化学是寻找出分子使机体工作的原因。

但是，懂一些热力学概念对生物化学来说是重要的。首先，这门科学极其抽象，这一点使它有能力和处理不怎么确定的系统。例如，人们可以对一蛋白质变性反应使用平衡常数对温度的依赖性来测量焓变，而毋需知道蛋白质分子是什么样子的或者甚至毋需知道其精确的组成。并且，焓变的量值和符号告诉我们关于蛋白质分子的更多的知识。现代生物化学家还在不断地使用依赖于热力学原理的技术。他可以通过测定渗透压来测量一种大分子的分子量或者研究它的自缔合作用。他所观察的只是一个压力差，但他知道可以定量地解释这个压力差来得出平均分子量。为了能使用这些物理技术，他必须懂得一些它们的基础；这就是本书的大部分内容。

在这第一章里，我们将简要地复习一些热力学概念，这些概念对生物化学和分子生物学是重要的。虽则大多数读者已经读过大学的物理化学课程，我的经验是，就热力学而言，这门课程使人相当明白地懂得第一定律，但对第二定律则有些模糊。由于这一部分的宗旨是使用热力学而不是默念它的

抽象美,所以我们将以热力学的一些分子解释为重点。但决不要忘记,由于热力学的严格性,它是不依赖于分子行为的细节的。但是,这种方法有时较易使热力学变得具体一点。

1.1 热,功和能量

热力学第一定律

生物化学的意图最终是用个别分子的性质来描写某些含有大量分子的宏观系统,但是事实上这种系统是如此复杂,以致要完善地描写是超出了今日物理化学的能力的。另一方面,宏观系统中能量关系的一个完整的研究领域已经发展起来了,而且一点也不要求作什么分子解释。热力学这门学科许可对这些系统作出很有力的和很严密的结论。热力学定律对于含有许多粒子的系统是很严密的,而这就为它们的来历提出了线索。它们实质上是统计规律。

这种情况在某种意义上象一家保险公司所面临的情况;在它的保险者名单中个别人的行为是复杂的,想寻求他们的全部相互作用并预言任一人的命运是一件令人吃惊的任务。但若人数非常之多,公司可以信心十足地依仗于统计规律,这些规律断言在任何一段时期里有多少人要死亡或生病。与之类似,物理学家可以从他在宏观物体(大量分子)方面的经验中总结出确实相当好使用的规律来,虽然在现象产生的机制方面这些规律仍有暧昧之处。正象只有10个顾客(他们在下个月全都死掉并不是非常不可能的)的保险公司的地位是危险的一样,化学家如果想把热力学应用于少数分子组成的系统,他也就处于危险地位了。但是,一克分子是 6×10^{23} 个分子,这的确是个大数目。然而,一个细菌细胞可能只含少量的

• 4 •

某几种分子；这说明如果有人想把热力学概念用到这种系统上去，他就得谨慎一点。[但见 T. L. 希尔的书(1963).]

为了复习，让我们定义一些基本量。

系统：被选来进行研究的宇宙的一部分。它常有空间边界，但在物质传递方面可能是开放的、也可能是封闭的。类似地，它与其环境之间可能是绝热的、也可能不绝热。如果是的话，就称之为绝热系统。

系统的状态：只有对处于平衡的系统才能不含糊地定义其热力学状态。此时，确定一定数目的变数(温度、压力和体积三个变数中的两个再加上系统中所有独立的化学物质的质量和品种)就确定了系统的状态。换句话说，状态的确定是一张“处方”，它使我们可以在任何时刻复制出系统来。如果系统的状态被确定了，它的性质也就定了，这是一件明显的事实。一个系统的性质有两类。要确定像容积和能量这样的广延性质，就需要确定包括所有物质的量在内的热力学状态。通过给出较少的信息就确定了像密度或粘度这样的强度性质；只需要各种物质的相对量。例如，1 克分子 NaCl 溶液的密度虽然依赖于温度、压力和 NaCl 的浓度，但它与样品的规模大小无关。

热力学通常所涉及的是在平衡态之间的变化。根据从始态到终态的途径是否经过一系列平衡态，这样的变化可能是可逆的、也可能是不可逆的。如果一个变化是可逆的，那么系统总是与平衡靠得很近，使得四周环境中一个无限小的变化就可以使变化的方向倒转。

热量 (q): 由于温差之故使能量传递出入一个系统。

功 (w): 一个系统与其四周环境之间任何其他能量交换。它可能包括下列诸情形：对抗外压进行容积变化，对抗表面能力进行表面面积的变化，电力功等等。

内能 (E): 系统内部的能量。在化学里通常 (只考虑那些种可以由化学过程来改变的能量。) 只考虑那些种可以由化学过程来改变的能量。这样一来, 关于把原子核维持在一起的能量一般就不计了。所以一个系统的内能可能包括下列诸能: 分子的平动能, 分子的振动能, 分子的转动能, 与化学键合作用有关的能, 以及与分子间非键合相互作用有关的能。有些这类相互作用列于表 1.1。

表 1.1 分子间非共价相互作用

相互作用类型	方 程 ^a	数量级 ^b (千卡/克分子)
离子—离子	$E \sim \frac{z_1 z_2}{\epsilon r}$	10—100
离子—诱导偶极	$E \sim \frac{z_1^2 \alpha_2}{\epsilon r^3}$	1—10
偶极—偶极	$E \sim \frac{\mu_1^2 \mu_2^2}{\epsilon r^6 k T}$	0—1
偶极—诱导偶极	$E \sim \frac{\mu_1^2 \alpha_2}{\epsilon^2 r^3}$	0—1
色散	$E \sim \frac{\alpha_1 \alpha_2}{r^3}$	1—10

a. 下标 1 和 2 指的是一对分子中两个分子。没有给出比例常数。

符号: z = 电荷, μ = 偶极矩, α = 极化率, ϵ = 介电常数, r = 分子间距离, T = 绝对温度, k 是波兹曼常数。

b. 与 50—200 千卡/克分子的共价键和 1—10 千卡/克分子的氢键比较, 给出的这些值是很近似的。

内能是一个系统状态的函数(态函数)。这就是说, 如果状态确定了, 内能就固定在某个值, 而与系统如何达到这个状态无关。因为通常关心的是能量的变化, 故内能是相对某一任意选定的标准状态来确定的。

焓 ($H = E + PV$): 一个系统的内能加上它的体积与施于系统的外压的乘积。它也是一个态函数。

我们用这些定义来叙述热力学第一定律，就是能量守恒的一种表达式。对于一状态变化，

$$\Delta E = q - w \quad (1.1)$$

约定：系统吸收的热量和系统所作的功是正的量。对于微小变化，写成

$$dE = dq - dw \quad (1.2)$$

微分符号上的一竖提醒我们：如果说 E 是态函数而 dE 是与变化的途径无关的话，那么 q 和 w 确实是依赖于途径的。第一定律完全是一般性的，不依赖于可逆性等假设。

如果所作的功只是系统抵抗外压而变化体积 (PdV 功)，

$$dE = dq - PdV \quad (1.3)$$

类似地，把一个系统的焓变写成一般的表达式

$$\begin{aligned} dH &= d(E + PV) = dE + PdV + VdP \\ &= dq - dw + PdV + VdP \end{aligned} \quad (1.4)$$

对于只做 PdV 这类功的系统， $dw = PdV$ ，并且

$$dH = dq + VdP \quad (1.5)$$

方程 (1.3) 和 (1.5) 用可测的量来说明 dE 和 dH 的意义。对于体积不变情况下的变化，

$$dE = dq$$

或

$$\Delta E = q_v \quad (1.6)$$

而对于发生在压力不变情况下的过程，(1.5) 给出

$$\begin{aligned} dH &= dq \\ \Delta H &= q_p \end{aligned} \quad (1.7)$$

这就是说，在体积不变的情况下，一个过程所吸收的热量度量 ΔE ；在压力不变的情况下，一个过程所吸收的热量度量 ΔH 。这些热量一般是不一样的，因为在压力不变情况下的变化中，某些能量变化被包含在系统体积变化时所作的功中。

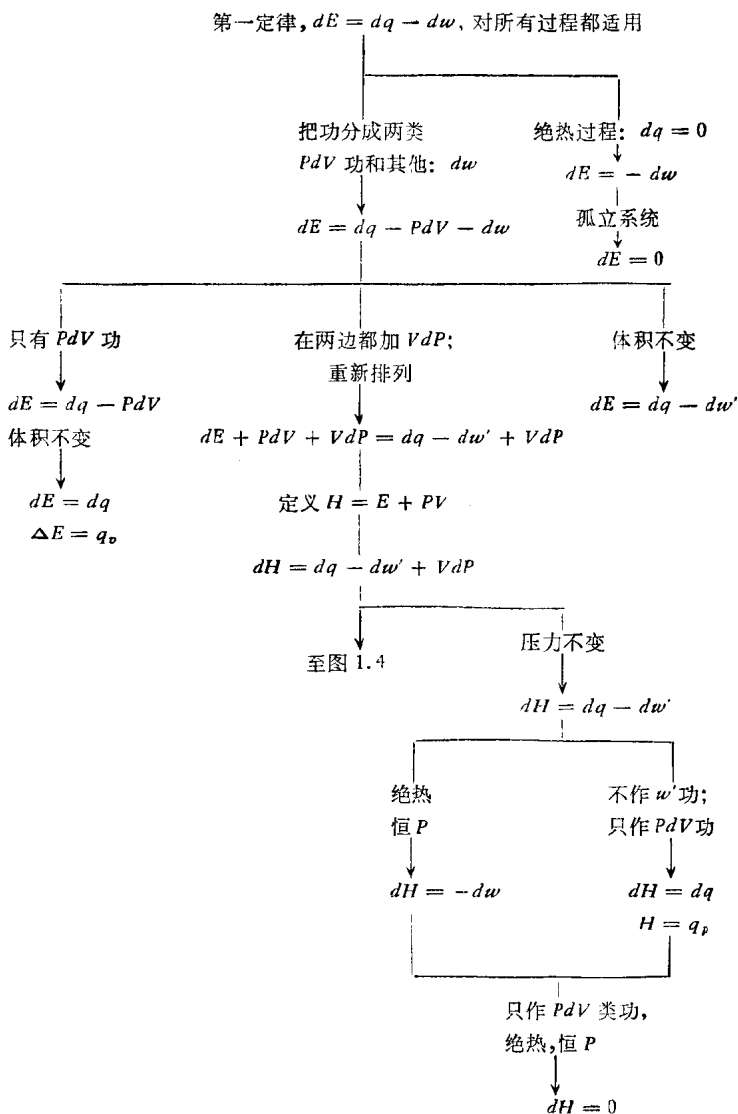


图 1.1 第一定律的结果和 ΔH 的定义. 其他种功, dw' , 可能指电力功, 表面延展时作的功等等.

生物系统的热化学几乎总是涉及 ΔH ，因为绝大多数天然生物化学过程发生在几乎接近于压力不变的条件下要比发生在体积不变的条件下多得多。然而，因为绝大多数这类过程是在液体或固体中而不是在气体中进行的，所以体积变化微小。不失为一种很好的近似，人们往往可以在生物化学中忽略 ΔH 和 ΔE 间的差别，而简称某一反应所伴生的“能量变化”。

图 1.1 紧凑地总结了量 q , w , ΔE 和 ΔH 之间的联系。注意，我们从完全是一般的第一定律出发，通过逐步添加条件来说明特种过程。

1.2 热力学量的分子解释

我们已经看到，可以从第一定律连同内能是一系统的态函数的说法一起推断出有力的和一般性的结论。虽然这些不需要分子模型来证实它们的正确性，但学生们还应记住，象内能和化学反应中的能量变化这些量最终是可以用原子和分子的行为来表达的。这值得我们更仔细地探讨这一点。

假设我们提问下述这样的问题：如果我们把能量放到一系统中，使内能增加，那么能量到那里去了呢？当然有些表现成为动能增加，但是假若分子较复杂，有些必然以转动和振动能的形式以及以分子间相互作用的形式贮藏着，并且有些甚至用少许分子的电子激发态来加以说明。所以，问题的实质是能量如何分布。

就热力学性质而言，涉及的一般都是处于平衡态或接近平衡态的大量分子。第一层意思是：可以采取一种统计观点；我们毋需追究任一分子的行为。第二层意思是：我们要求能量的最可几分布，因为我们不会指望一个平衡态是一个不可

几态。如果说由于瞬时间的起伏,任何系统偶然可能以某种不可几的方式分布其能量(如几乎全部能量都在少数分子中),那么当分子数非常庞大时,这种极端起伏的出现相对次数变得微乎其微。

为了了解所涉及的原理,取一极简单的系统,一个粒子的集合,例如可以将它想象为气体中的原子或溶液中的蛋白质。假定每个粒子都有一组能态,如图 1.2 所示。一个粒子具有的能态不要与一个多粒子系统的热力学“态”相混淆。说得确切一点,它们是在全体粒子集合都遵守的约束条件下任何粒

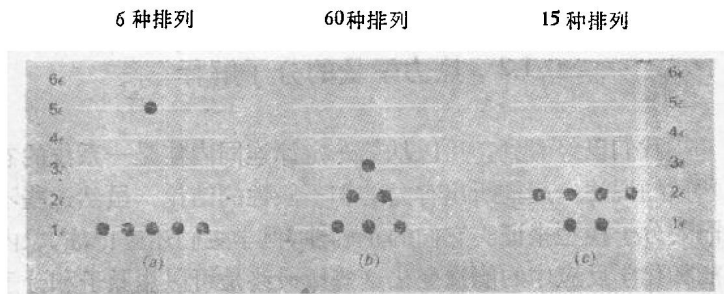


图 1.2 在 $N = 6$ 和 $E = 10\epsilon$ 的约束条件下, 粒子在能态上的某些分布. 数目是从方程 (1.8) 计算出来的 (记住 $0! = 1$). 波兹曼分布与 (b) 最相象. 当然, 在此简单的情形中粒子数之少不足使它精确地成立.

子所能达到的量子化能态. 假定有 6 个粒子, 其总能为 10ϵ . 图 1.2 是一些分布, 它们中每一个都满足总能的要求. 现在让我们申明. 任何粒子都同等地可以采取任何能态. 这只是说没有任何原因使一粒子偏于挑选某一能态. 因此最可几分布就是那种相当于把粒子在态上重新排列的方式最多的分布. 如果对粒子作标记, 我们看到只有 6 种方式造成 (a), 造成 (b) 或 (c) 的方式要多得多. 把 N 个粒子排列成一组 n_1 个、另一组 n_2 个等等的方式数目是