

高等医学院校选用教材

# 医用生物化学

林雪松 韩德文 张 悅 主编

科学出版社

2001

## 内 容 简 介

本书为全国医学院校选用教材,是为适应我国教育改革的需要编写而成的。内容紧密联系基础医学与临床医学,且打破传统教材的编写方式,即将“临床相关问题”独立成文,不仅可增强学生对生化知识的兴趣和理解,又有助于学生运用生化原理解释某些临床现象。全书分两篇共11章,各章首列有学习要点,章末列有本章小结,便于学生掌握重点,实用性强。可供全国医学院校各专业学生使用,也可供有关人员参考。

### 图书在版编目(CIP)数据

医用生物化学/林雪松等主编.-北京:科学出版社,2001.3

(高等医学院校选用教材)

ISBN 7-03-009226-0

I. 医… II. 林… III. 医学:生物化学-医学院校-教材 IV. R313

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 07651 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

北京双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2001 年 3 月第一 版 开本:850×1168 1/16

2001 年 3 月第一次印刷 印张:20 1/2

印数:1—5 000 字数:423 000

定价:29.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(北燕))

# 前 言

---

生物化学是医学的基础学科,与临床各科的联系已越来越密切,临床医疗质量的提高和掌握现代生化原理与方法密切相关。因此,医学院校的生物化学教材必须紧密联系基础医学与临床医学方能达目的。这就给教材内容改革提供了一个新的课题。按传统方式编排,势必脱离临床医学,学生不易理解生化在医学中的地位和重要性。常有学生到了学习临床课程乃至做了医生之后,才发觉生化知识如此重要,却又无暇再深入钻研而深表遗憾。如以临床带动生化,又不可避免地大大削弱系统生化的内函,加之低年级学生医学知识较少,使其不易接受。根据编者多年的教学及临床经验,我们试图做一些新的尝试和探索,把生物化学基础知识与临床医学相关内容有机地连为一体,值得欣慰的是,这一想法得到了同行、有关领导及出版社的大力支持。

本书从生物大分子的结构、功能开始探讨,继之以生物分子在人体内的代谢方式与途径为主干,加以系统而扼要的阐述,并适当地增加一些新进展。当教材内容与临床医学有密切联系时,即把生化知识向临床延伸,同时挑选一些便于理解的临床问题加以详细阐述,并以“临床相关问题”的形式单独编排成段,既与相应生化知识密切联系,又不打乱教材整体内容的系统性。这样不仅可增强学生对生化知识的兴趣和理解,又能引发他们对临床医学的向往。“临床相关问题”为学生提供理论联系实践的参考,为进一步深入钻研奠定基础;临床医生也可查找书中相关内容,解释某些疑难问题。此外,本书也将有助于学生进入临床工作后,运用生化原理解释某些临床现象或为基础医学中有关问题提供必要的参考。

全书分两篇共 11 章,第一篇 1~3 章介绍生物大分子的结构与功能,把与酶的结构、功能联系紧密的维生素一并加以讨论;4~11 章介绍能量代谢和各种物质代谢,包括代谢间的相互联系与代谢调节。各章首列有学习要点,章末列有本章小结,以便学生学习时掌握重点。

本书在编写过程中得到有关领导及同行们的大力支持,在此深表感谢。由于我们个人学识、能力有限,所以无论从书的内容和编排上不尽人意之处在所难免。谨希同道专家和读者多提宝贵意见,我们不胜期盼,衷心感谢。

编者

2000 年 12 月

# 第一篇

# 生物大分子的结构与功能

生物大分子主要是指与生命现象直接相关联的蛋白质和核酸。一切有生命的物质均含有这两类生物大分子，因此，它是生命的标志，是生命与非生命在化学组成上的分界。

在自然界，所有生命现象的体现都离不开蛋白质和核酸，如生长、繁殖、运动、遗传、新陈代谢等。而且无论动物或植物、高等或低等生物，蛋白质和核酸这两类大分子在化学组成上都很相似，即所有蛋白质都由 20 种氨基酸组成；所有核酸都由数种基本核苷酸组成。因此，要想深入了解生命现象必须从这两类生物大分子结构入手，研究生物大分子的结构和功能之间的相互关系。

生命现象的基本特征是新陈代谢。而新陈代谢又是由许多化学反应组成的，有机体内化学反应的进行离不开生物催化剂——酶。酶也是蛋白质。它的催化功能几乎主宰着生物体内一切化学反应而影响着新陈代谢的进行。故而酶的结构和功能也归入本篇讨论。同时本篇还加入了部分与酶的功能相关的维生素化学。



# 第一章

## 蛋白质的结构和功能

### 学习要点

1. 掌握氨基酸的结构与分类，蛋白质的一级结构；蛋白质的重要理化性质。
2. 熟悉蛋白质空间结构的基本概念，蛋白质的结构与功能的关系。
3. 了解蛋白质一级结构及其序列的分析方法；蛋白质的分类。

蛋白质(protein)是人体细胞和细胞间质的构成成分，它几乎参与机体的一切生理活动，并起着关键的作用。机体各器官组织的生理功能大多是通过蛋白质完成的。人体内的蛋白质约有 10 万余种，各种蛋白质都有特定的结构和功能，蛋白质具有众多生物活性的基础就是其结构的多样性。要了解蛋白质的功能及其在生命活动中的重要性，必须首先了解它的结构。

### 第一节 蛋白质的组成与结构

#### 一、蛋白质的分子组成

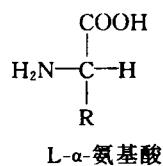
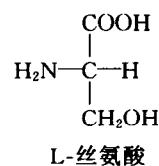
##### (一) 蛋白质的元素组成

通过元素分析结果证明，所有的蛋白质分子都含有碳、氢、氧、氮、硫等元素，有的蛋白质还含有磷、硒或其他金属元素。蛋白质的氮元素含量较为稳定，多种蛋白质的含氮量约为 16%，因此，测定生物样品中的蛋白质含量时，可以用测定生物样品中氮元素含量的方法间接求得蛋白质的大致含量。

##### (二) 蛋白质的基本单位——氨基酸

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  $\alpha$ -氨基酸。构成天然蛋白质的  $\alpha$ -氨基酸共有 20 种，除甘氨酸外，蛋白质中的氨基酸均属 L- $\alpha$ -氨基酸。

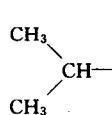
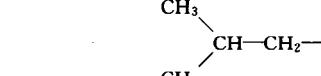
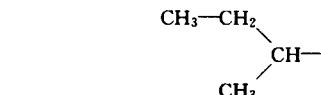
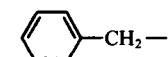
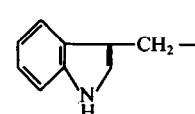
它们都具有一部分相同的分子结构,只是侧链(R)各异。



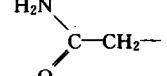
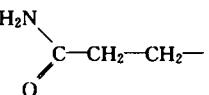
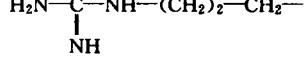
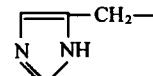
20种天然氨基酸(表 1-1),按侧链的理化性质分为四组:

- (1) 非极性侧链氨基酸;
- (2) 非电离极性侧链氨基酸;
- (3) 酸性侧链氨基酸;
- (4) 碱性侧链氨基酸。

表 1-1 组成蛋白质的 20 种编码氨基酸

| 氨基酸名称              | 缩写符号 |        | R 基结构  |
|--------------------|------|--------|--|
|                    | 中文   | 英文     |  |
| <b>I. 非极性侧链氨基酸</b> |      |        |  |
| 1. 甘氨酸             | 甘    | Gly, G | H—   |
| 2. 丙氨酸             | 丙    | Ala, A | CH <sub>3</sub> —  |
| 3. 缬氨酸             | 缬    | Val, V |  |
| 4. 亮氨酸             | 亮    | Leu, L |  |
| 5. 异亮氨酸            | 异    | Ile, I |  |
| 6. 苯丙氨酸            | 苯    | Phe, F |  |
| 7. 色氨酸             | 色    | Trp, W |  |
| 8. 脯氨酸             | 脯    | Pro, P | (见前)   |
| 9. 蛋氨酸             | 蛋    | Met, M | CH <sub>3</sub> —S—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —                                |

续表 1-1

| 氨基酸名称                | 缩写符号 |       | R 基结构  |
|----------------------|------|-------|--|
|                      | 中文   | 英文    |  |
| <b>I. 非电离极性侧链氨基酸</b> |      |       |  |
| 10. 丝氨酸              | 丝    | Ser,S | HO—CH <sub>2</sub> —   |
| 11. 苏氨酸              | 苏    | Thr,T | CH <sub>3</sub> —CH(OH)—   |
| 12. 酪氨酸              | 酪    | Tyr,Y | HO—  —CH <sub>2</sub> — |
| 13. 半胱氨酸             | 半    | Cys,C | HS—CH <sub>2</sub> —   |
| 14. 天冬酰胺             | 天胶   | Asn,N |                         |
| 15. 谷氨酰胺             | 谷胶   | Gln,Q |                         |
| <b>II. 酸性侧链氨基酸</b>   |      |       |  |
| 16. 天冬氨酸             | 天    | Asp,D | HOOC—CH <sub>2</sub> —   |
| 17. 谷氨酸              | 谷    | Glu,E | HOOC—CH <sub>2</sub> —CH <sub>2</sub> —  |
| <b>III. 碱性侧链氨基酸</b>  |      |       |  |
| 18. 赖氨酸              | 赖    | Lys,K | H <sub>2</sub> N—(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> —CH <sub>2</sub> —                                      |
| 19. 精氨酸              | 精    | Arg,R |                      |
| 20. 组氨酸              | 组    | His,H |                       |

20 种天然氨基酸中有两种为特殊, 它们是脯氨酸与半胱氨酸。脯氨酸属亚氨基酸, 但此亚氨基酸仍能与另一羧基形成肽键; 不过 N 在环中, 移动的自由度受到限制, 当它处于多肽链中时, 往往使肽链的走向形成折角。

两个分子的半胱氨酸脱氢后以二硫键结合成胱氨酸, 在蛋白质分子中两个临近的半胱氨酸亦可脱氢形成二硫键(图 1-1)。

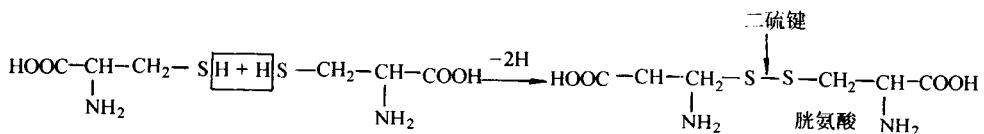


图 1-1 胱氨酸与二硫键

## 二、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  $\alpha$ -羧基与另一个氨基酸的  $\alpha$ -氨基脱水缩合,即形成肽键(图 1-2)。

#### 2. 肽与多肽链

氨基酸通过肽键相连而形成的化合物称为肽(peptide)。由两个氨基酸缩合成的肽称为二肽(图 1-2),三个氨基酸缩合成三肽,以此类推,几个氨基酸缩合成几肽。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。

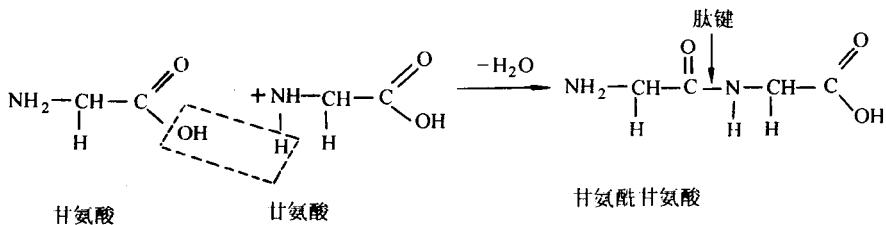


图 1-2 肽与肽键

氨基酸在形成肽链后,因有部分基团已参加肽键的形成,已经不是完整的氨基酸,故将蛋白质肽链中的每一个氨基酸部分称为氨基酸残基。肽键连接各氨基酸残基形成肽链的长链骨架,即  $\text{C}_{\alpha}-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}_{\alpha}$  结构称为多肽主链。各氨基酸侧链基团称为多肽侧链。

每个肽分子都有一个游离的  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> 末端(称 N 末端或 N 端,常用“H-”表示),和一个游离  $\alpha$ -COOH 末端(称 C 末端或 C 端,常用“-OH”表示)。每条多肽链中氨基酸顺序编号是从 N 端开始的。书写某多肽的简式时,一般将 N 端符号写在书写人的左侧端。

### (二) 蛋白质分子的一级结构

#### 1. 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。氨基酸排列顺序是由遗传信息决定的,遗传信息决定氨基酸的排列顺序,氨基酸的排列顺序决定蛋白质的

空间结构。所以,一级结构是蛋白质分子的基本结构,它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。

1953年,英国生物化学家 Fred Sanger 报道了胰岛素(insulin)的一级结构。这是世界上第一个被确定一级结构的蛋白质(图 1-3)。

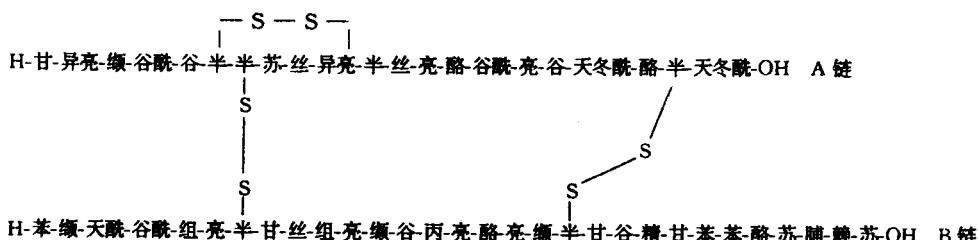


图 1-3 人胰岛素的一级结构

同年,Watson 与 Crick 发现 DNA 的双螺旋结构。从此开始了生物化学迈向更高一个层次——分子生物学时代。

## 2. 蛋白质多肽链氨基酸顺序测定的原理

自从英国生物化学家 Fred Sanger 于 1954 年首先测出了胰岛素的全部氨基酸顺序,揭开了测定蛋白质一级结构的序幕之后,这一工作迅速蓬勃发展。迄今已有近千个蛋白质的氨基酸顺序被测定,而且测定技术也更趋成熟。

(1) 蛋白质的分离提纯与鉴定:不同蛋白质有不同的氨基酸顺序,因此,欲测定某一种蛋白质的氨基酸顺序,必须先获其纯品。这是做氨基酸顺序分析的关键前提。一般说来,如杂蛋白含量超过 3%~5%,分析就难获得满意的结果。蛋白质的分离提纯是一项十分艰巨的工作。迄今为止,还没有单独成套的现成方法能把任何一种蛋白质从复杂的混合蛋白质中提取出来。按一般经验,头几步方法通常是盐析、有机溶剂分级分离及等电点沉淀等。接着可应用各种层析法,如离子交换层析和凝胶过滤。最后可运用亲和层析和各种区带电泳,包括垂直平板电泳、盘状电泳和等电聚焦电泳等。

纯度鉴定可用物理、化学及生物学方法。例如电泳和层析法、超离心测沉降速率以及分离蛋白质能否结晶;也可测其生物活力或做免疫学鉴定。通常同时利用两种方法,或者一种方法用两种以上不同条件进行鉴定。

(2) 顺序测定的一般步骤:在获得纯净的蛋白质样品后,即可按下列步骤进行测定:

1) 准备工作:测定蛋白质的大致分子量以及判定是否含有辅基或配体,目的在于估计测定工作的难易程度。其次将样品彻底水解( $6\text{mol/L HCl}$ ,  $110^\circ\text{C}$ ,密封水解  $18\sim36\text{h}$ )测定其氨基酸组成。据此可推算出蛋白质分子中各种氨基酸残基的个数,而且可为顺序测定时选择水解肽段的方法。

2) N 端或 C 端测定:目的是① 判定蛋白质的肽链数;② 鉴定样品纯度;③ 有利于最后进行肽段拼接确定顺序;④ 判定是否为环状肽或末端残基是否被修饰。

3) 拆开各组成肽链并分离纯化。

- 4) 选择部分水解方法,将多肽链裂解成少数较小肽段,分离纯化之。
- 5) 测定各小肽段的 N 和 C 末端,同时水解测定其氨基酸组成。
- 6) 另取 1 份样品,选择另一种部分水解法(要求肽链断点与第一种完全不同),并按 4)~6)步同样方法测出 N 和 C 末端氨基酸、氨基酸组成及顺序。
- 7) 比较上述两套肽段的氨基酸顺序,拼接出该多肽链的完整氨基酸顺序。
- 8) 确定多肽链中二硫键或其他修饰基团的位置。

### (三) 蛋白质分子的空间结构

蛋白质分子并非如一级结构那样是完全展开的“线状”,而是处于更高级的水平。天然蛋白质可折叠、盘曲成一定的空间结构(三维结构)。蛋白质的空间结构指蛋白质分子内各原子围绕某些共价键的旋转而形成的各种空间排布及相互关系,这种空间结构称为构象。按不同层次,蛋白质的高级结构可分为二、三和四级结构。

#### 1. 蛋白质的二级结构

多肽链主链中各原子在各局部的空间排布称为蛋白质的二级结构。

(1) 形成二级结构的基础——肽键平面:20世纪30年代末,Pauling L 和 Corey R 开始对肽进行 X 线结晶衍射图研究,以探索蛋白质的精细结构。他们测定了分子中各原子间的标准键长和键角,发现肽单元(主链的—CCN—)呈刚性平面(rigid plane),即肽键平面(图 1-4)。

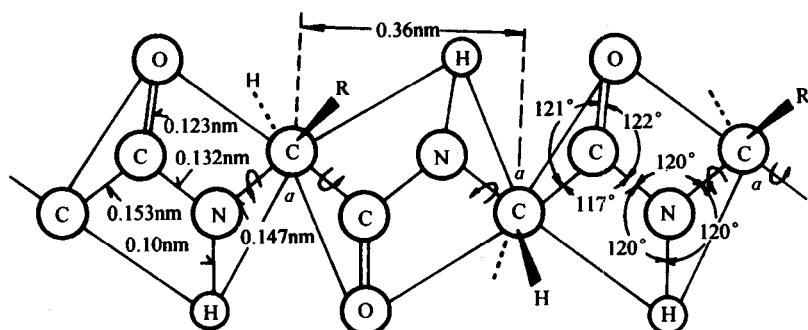


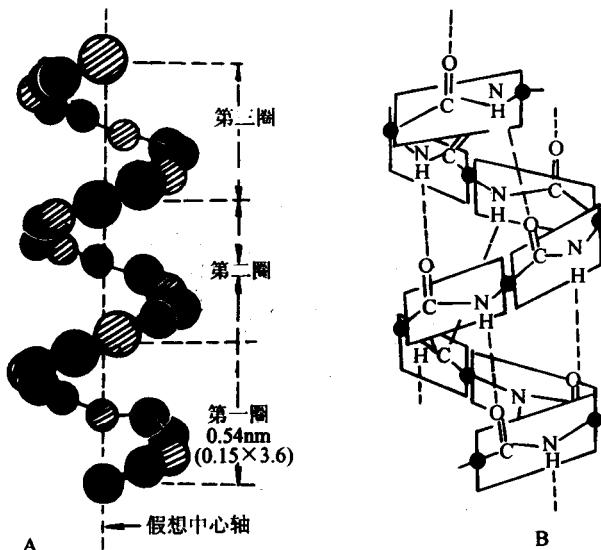
图 1-4 肽键平面示意图

由于 C—N 键具有部分双键性质,而 C=O 和 C—N 均不能自由旋转。所以整个肽链的主链原子(—C<sub>α</sub>CN—C<sub>α</sub>CN—)中只有 C<sub>α</sub>—C 和 C<sub>α</sub>—N 之间的单键可以旋转,C<sub>α</sub>—C 之间的旋转角为  $\psi$ (psi),C<sub>α</sub>—N 之间的旋转角为  $\phi$ (phi)。 $\psi$  和  $\phi$  的大小就决定了 C<sub>α</sub> 相邻两个肽键平面之间的相对位置关系,于是肽键平面就成为主链构象的结构基础。如每个氨基酸的  $\psi$  和  $\phi$  已知,整个多肽链的主链构象就确定了。

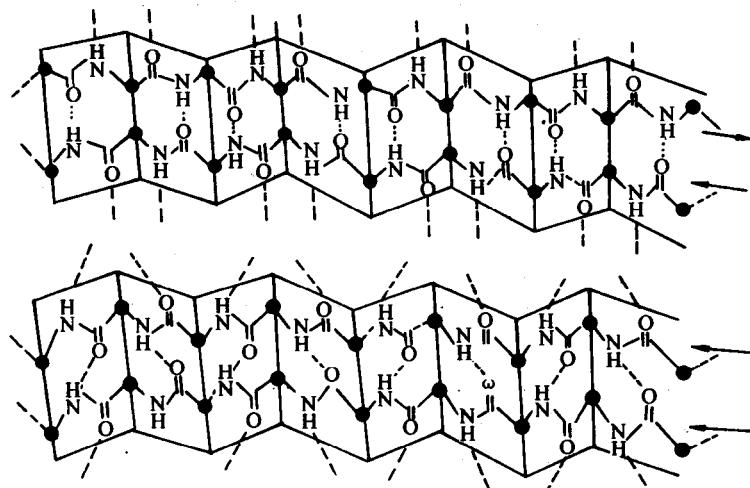
(2) 蛋白质二级结构的基本形式:蛋白质的肽链局部盘曲、折叠的主要形式有  $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和不规则卷曲等几种。

1)  $\alpha$ -螺旋:肽链的某段局部盘曲成螺旋形结构,称为  $\alpha$ -螺旋(图 1-5)。 $\alpha$ -螺旋的特征是:①一般为右手螺旋;②每螺旋圈包含 3.6 个氨基酸残基,每个残基跨距

为  $0.15\text{nm}$ , 螺旋上升 1 圈的距离(螺距)为  $3.6 \times 0.15 = 0.54\text{nm}$ ; ③螺旋圈之间通过肽键上的  $\text{C}=\text{O}$  和  $-\text{NH}-$  间形成若干氢键以保持螺旋结构的稳定; ④影响  $\alpha$ -螺旋形成的主要因素是氨基酸侧链的大小、形状及所带电荷等性质。

图 1-5  $\alpha$ -螺旋示意图

2)  $\beta$ -折叠: 为一种比较伸展、呈锯齿状的肽链结构。两段以上的  $\beta$ -折叠结构平行排布并以氢键相连所形成的结构称为  $\beta$ -片层或  $\beta$ -折叠层。 $\beta$ -片层可分顺向平行(肽链的走向相同, 即 N、C 端的方向一致)和逆向平行(两肽段走向相反)结构(见图 1-6)。

图 1-6  $\beta$ -折叠结构示意图

3)  $\beta$ -转角: 此种结构指多肽链中出现的一种  $180^\circ$  的转折。 $\beta$ -转角通常由 4 个氨

基酸残基构成,由第1个残基的—C=O与第4个残基的—NH—形成氢键,以维持转折结构的稳定。

4) 不规则卷曲:此种结构为多肽链中除以上几种比较规则的构象外,多肽链中其余规则性不强的一些区段的构象。

各种蛋白质依其一级结构特点在其多肽链的不同区段可形成不同的二级结构。如胰核糖核酸酶分子中有几段 $\alpha$ -螺旋及 $\beta$ -折叠层,也有 $\beta$ -转角和几处不规则卷曲(图1-7)。

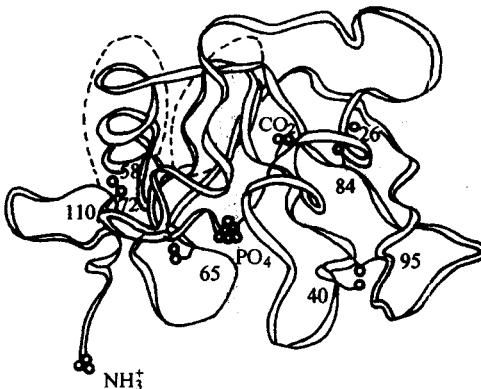


图 1-7 · 牛胰核糖核酸酶的三级结构

## 2. 蛋白质的三级结构

多肽链中,各个二级结构的空间的排布方式及有关侧链基团之间的相互作用关系,称为蛋白质的三级结构。换言之,蛋白质的三级结构系指每一条多肽链内所有原子的空间排布,包括每条多肽链分子内的主链、侧链构象的全部内容。例如,图1-7所示的核糖核酸酶构象亦即核糖核酸酶的三级结构。稳定和维系三级结构的重

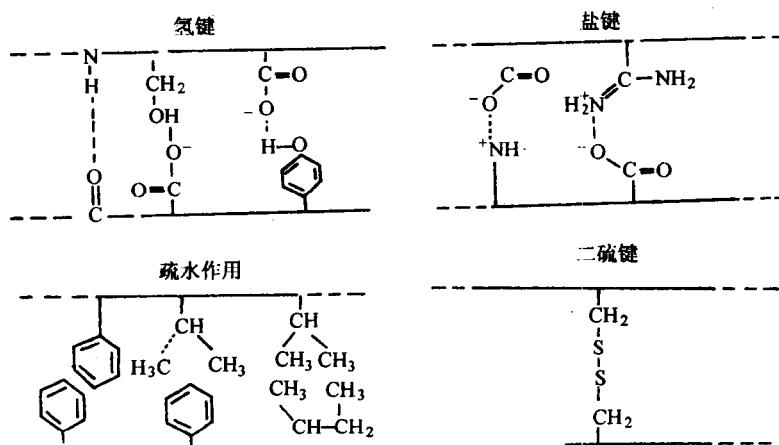


图 1-8 稳定和维系蛋白质三级结构的键

要因素是侧链基团的相互作用,有氢键、盐键、疏水作用等非共价键及由两个半胱氨酸巯基共价结合成的二硫键(图 1-8)。

三级结构对于蛋白质的分子形状及其功能活性部位的形成起重要作用,通过三级结构的形成,可将肽链中某些局部的几个二级结构汇成“口袋”或“洞穴”状,把这种结构称为结构域,它们的核心部分多为疏水氨基酸构成,结合蛋白质的辅基常镶嵌在其中,这种结构域多半是蛋白质的活性部位。有的蛋白质分子中只有一个特异的结构域,有的则有多个结构域。最近,在很多蛋白质分子中发现有两段  $\beta$ -折叠之间通过一段  $\alpha$ -螺旋相连而形成的球状结构,以及多个  $\alpha$ -螺旋形成的螺旋束,或三个二硫键将肽链连接成的三环状结构等,此种结构域与功能活性有密切关系。

### 3. 蛋白质的四级结构

有的蛋白质分子由两条以上具有独立三级结构的肽链通过非共价键相连聚合而成,其中每一条肽链称为一个亚基或亚单位(subunit)。各亚基在蛋白质分子内的空间排布及相互接触称为蛋白质的四级结构。具有四级结构的蛋白质,其几个亚基的结构可以相同,也可以不同。如红细胞内的血红蛋白(hemoglobin, Hb)是由 4 个亚基聚合而成的,4 个亚基两两相同,即含两个  $\alpha$  亚基和两个  $\beta$  亚基,在一定条件下,这种蛋白质分子可以解聚成单个亚基,亚基在聚合或解聚时对某些蛋白质具有调节活性的作用。有的蛋白质虽由两条以上肽链构成,但几条肽链之间是通过共价键(如二硫键)连接的,这种结构不属于四级结构,如前面提到过的胰岛素就是 1 例。

## 第二节 蛋白质的理化性质和生物学特性

### 一、蛋白质的胶体性质

蛋白质是高分子化合物,分子量一般在 6~1000kDa(Da 等于 C-12 原子的绝对质量的 1/12,相当于  $1.66033 \times 10^{-27}$ kg)。根据测定所知,如分子量为 34 500Da 的球状蛋白,其颗粒的直径为 4.3nm。所以,蛋白质分子颗粒的直径一般在 1~100nm,在水溶液中呈胶体溶液,具有丁铎尔现象、布朗运动、不能透过半透膜、扩散速度减慢、黏度大等特征。

蛋白质分子表面含有很多亲水基团,如氨基、羧基、羟基、巯基、酰胺基等,能与水分子形成水化层,把蛋白质分子颗粒分隔开来。此外,蛋白质在一定 pH 溶液中都带有相同电荷,因而使颗粒相互排斥。水化层的外围,还可有被一层带相反电荷的离子所包围形成双电层(图 1-9)。这些因素都是防止蛋白质颗粒的互相聚沉,致使蛋白质成为稳定的胶体溶液。

蛋白质分子不能透过生物膜的特点,在生物学上有重要意义,它能使各种蛋白质分别在细胞内外

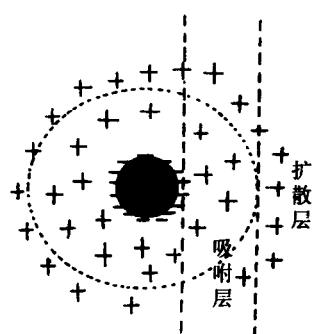
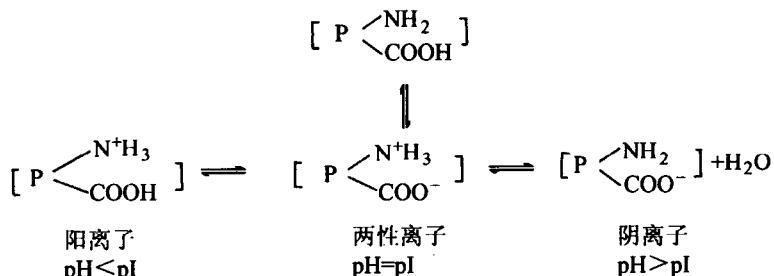


图 1-9 双电层结构示意图

不同的部位,对维持细胞内外水和电解质分布平衡、物质代谢的调节都起着非常重要的作用。另外,利用蛋白质不能透过半透膜的特性,将含有小分子杂质的蛋白质溶液放入半透膜袋内,然后将袋浸于蒸馏水中,小分子物质由袋内移至袋外水中,蛋白质仍留在袋内,这种方法叫做透析。透析是纯化蛋白质的方法之一。

## 二、蛋白质的两性性质

蛋白质和氨基酸一样,均是两性电解质,在溶液中可呈阳离子、阴离子或兼性离子,这取决于溶液的 pH 值、蛋白质游离基团的性质与数量。当蛋白质在某溶液中,带有等量的正电荷和负电荷时,此溶液的 pH 值即为该蛋白质的等电点(pI)。当 pH 偏酸时,蛋白质分子带正电荷。相反,pH 偏碱时,蛋白质分子带负电荷。用反应式示意:



蛋白质溶液的 pH 值在等电点时,蛋白质的溶解度、黏度、渗透压、膨胀性及导电能力均最小,胶体溶液呈最不稳定状态。凡碱性氨基酸含量较多的蛋白质,等电点往往偏碱,如组蛋白和精蛋白。反之,含酸性氨基酸较多的蛋白质如酪蛋白、胃蛋白酶等,其等电点往往偏酸。人体内血浆蛋白质的等电点大多是 pH 5.0 左右(表 1-2)。而体内血浆 pH 值正常时在 7.40 ± 0.05,故血浆中蛋白质均呈负离子形式存在。由于各种蛋白质的等电点不同,在同一 pH 值缓冲溶液中,各蛋白质所带电荷的性质和数量不同。因此,它们在同一电场中移动方向和速度均不相同。利用这一性质来进行蛋白质的分离和分析,称为蛋白质电泳分析法。血清蛋白电泳是临床检验中最常用的项目之一。

表 1-2 人体血浆蛋白的分子量和等电点

| 蛋白 质            | 分 子 量 (Da)      | 等 电 点    |
|-----------------|-----------------|----------|
| 清蛋白             | 69 000          | 4.64     |
| $\alpha_1$ -球蛋白 | 200 000         | 5.06     |
| $\alpha_2$ -球蛋白 | 300 000         | 5.06     |
| $\beta$ -球蛋白    | 90 000~150 000  | 5.12     |
| $\gamma$ -球蛋白   | 150 000~300 000 | 6.35~7.3 |
| 纤维蛋白原           | 341 000         | 5.5~5.8  |
| 血红蛋白            | 67 000          | 7.07     |

### 三、蛋白质的沉淀

蛋白质从溶液中以固体状态析出的现象称为蛋白质的沉淀。它的作用机制主要是破坏了水化膜或中和蛋白质所带的电荷。沉淀出来的蛋白质，根据实验条件，可以是变性或不变性。主要沉淀方法有：

#### (一) 中性盐沉淀蛋白质——盐析

蛋白质溶液中加入大量中性盐时，蛋白质便从溶液中沉淀出来，这种过程称为盐析。它的机制是高浓度的盐溶液破坏了蛋白质颗粒的水化层，蛋白质所带的电荷也被异性离子所中和，失去了蛋白质胶体溶液的稳定因素，降低了溶解度，使蛋白质从水溶液中沉淀出来。盐析所得蛋白质加水稀释尚可复溶。常用的中性盐有硫酸铵、硫酸钠、氯化钠等。盐析时，若把溶液 pH 值调节至该蛋白质的等电点，则沉淀效果更好(图 1-10)。根据各种蛋白质的颗粒大小、亲水性的程度不同，在盐析时需要盐的浓度也不一致(表 1-3)。因此，调节中性盐的浓度，可使蛋白溶液中的几种蛋白质分段析出，这种方法称分段盐析法。临床检验中常用此法来分离和纯化蛋白质。

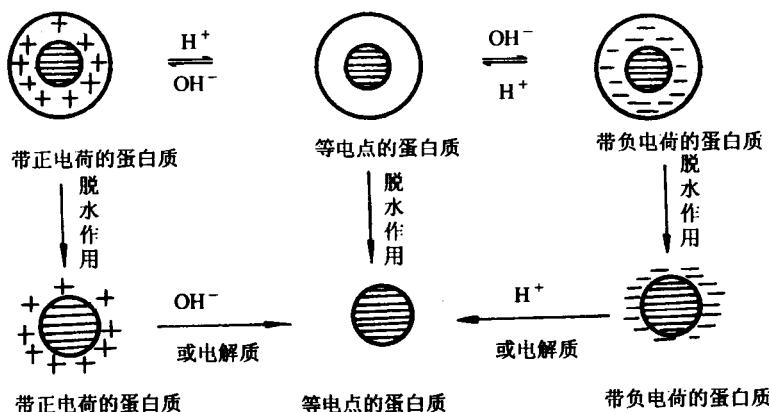


图 1-10 蛋白质胶体颗粒的沉淀示意图

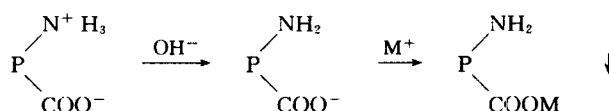
表 1-3 清、球蛋白在不同盐溶液中的溶解情况

|     | 10% 氯化钠 | 70%~80% 硫酸铵 | 35%~40% 硫酸铵 | 23% 硫酸钠 | 21% 亚硫酸钠 |
|-----|---------|-------------|-------------|---------|----------|
| 清蛋白 | 溶解      | 不溶          | 溶解          | 溶解      | 溶解       |
| 球蛋白 | 溶解      | 不溶          | 溶解          | 溶解      | 溶解       |

#### (二) 重金属盐沉淀蛋白质

蛋白质可以与重金属离子(如汞、铅、铜、锌等)结合生成不溶性盐而沉淀。此反

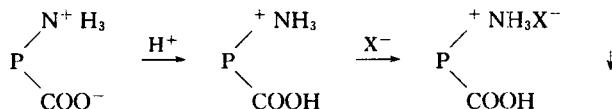
应的条件是溶液的 pH 值应稍大于该蛋白质的等电点,使蛋白质带较多的负电荷,易与金属离子结合。



临幊上常用蛋清或牛乳解救误服重金属盐的病人,目的是使重金属离子与蛋白质结合而沉淀,阻止重金属离子的吸收。然后,用洗胃或催吐的方法,将重金属离子的蛋白质盐从胃内清除出去,也可用导泻药将毒物从肠管排出。

### (三) 某些酸类沉淀蛋白质

蛋白质可与钨酸、苦味酸、鞣酸、三氯醋酸、碘基水杨酸等发生沉淀。反应条件是溶液的 pH 值应小于该蛋白质的等电点,使蛋白质带正电荷,与酸根结合生成不溶盐而沉淀。生化检验中常用钨酸或三氯醋酸作为蛋白沉淀剂,以制备无蛋白血滤液。



### (四) 有机溶剂沉淀蛋白质

乙醇溶液、甲醇、丙酮等有机溶剂可破坏蛋白质的水化层,因此,能发生沉淀反应。如把溶液的 pH 值调节到该蛋白质的等电点时,则沉淀更加完善。在室温条件下,有机溶剂沉淀所得蛋白质往往已发生变性。若在低温条件下进行沉淀,则变性作用进行缓慢,故可用有机溶剂在低温条件下分离和制备各种血浆蛋白。此法优于盐析,因不需透析去盐,而且有机溶剂很易通过蒸去。

乙醇溶液作为消毒剂,作用机制是使细菌内的蛋白质发生变性沉淀,而起到杀菌作用。

## 四、蛋白质的变性与凝固

天然蛋白质受理化因素的作用,使蛋白质的构象发生改变,导致蛋白质的理化性质和生物学特性发生变化,但并不影响蛋白质的一级结构,这种现象叫变性作用。变性后的蛋白质称变性蛋白质,其特点如下:

- (1) 蛋白质的亲水性减少,其溶解度降低。在等电点的 pH 溶液中可发生沉淀,但仍能溶于偏酸或偏碱的溶液。
- (2) 生物活性丧失,如酶的催化功能消失,蛋白质的免疫性能改变等。
- (3) 变性蛋白质溶液的黏度往往增加。