

蛋白质化学及其特性

М.Ф.古勒 В.А.别里泽尔編

科学出版社

251
3919

~~54.2681~~ ~~0.239-57~~
421

蛋白質化学及其特性

M. Ф. 古勒 B. A. 別里澤尔 編
浙江医学院生化教研組 譯

科 学 出 版 社

1958

М. Ф. ГУЛЫЙ и В. А. БЕЛИЦЕР
БЕЛКИ ИХ СПЕЦИФИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА

Изд. АН УССР, Киев, 1955

內 容 提 要

本書系根据苏联烏克蘭科学院出版社1955年出版的蛋白質化学及其特性一書譯出。这是一本論文集，内容为烏克蘭科学院生物化学研究所和苏联医学科学院生物化学及医学化学研究所联合召开的关于蛋白質問題的會議上所报告的論文和討論时的發言。

全書計有 А. В. 巴拉金院士的开幕詞和閉幕詞，以及蛋白質問題的論文报告(和討論时的發言)六篇：(1) М. Ф. 古勒：关于某些純化和結晶的蛋白質的生物学活性；(2) С. Е. 布烈斯列尔：关于酶促反应的机轉；(3) В. А. 別里澤尔：蛋白質顆粒在特異反应下的相互作用；(4) А. Г. 帕孙斯基：关于蛋白質結構变化的本質；(5) И. Н. 布朗庚：关于球形蛋白質变性的本質；(6) П. В. 阿法納西也夫：关于球形蛋白質的物理化学和生物化学的性質与存在状态的关系。

本書内容丰富，說理透徹，是现代蛋白質問題的研究資料方面一本極重要的文獻。

蛋白質化学及其特性

М. Ф. 古勒 В. А. 別里澤尔編

浙江医学院生化教研組譯

科学出版社出版 (北京朝陽門大街117号)

北京市書刊出版業營業許可証出字第061号

中国科学院印刷厂印刷 新华書店总經售

1955年5月第一版

書号：1144 印張：8 1/2

1955年5月第二次印刷

开本：850×1168 1/32

(京) 1,966—2,965

字數：209,800

定价：(10) 1.60元

目 录

開幕詞.....A. B. 巴拉金 (1)

關於某些純化和結晶的蛋白質的生物學活性...M. Ф. 古勒 (6)

M. Ф. 古勒報告的討論

B. И. 戈爾德什欽..... (32)

C. A. 內法赫..... (34)

И. И. 伊凡諾夫..... (41)

B. A. 楊格里加爾脫..... (42)

B. И. 柯羅特柯魯契柯..... (44)

И. Д. 德沃爾尼科娃..... (47)

A. E. 勃朗什吞..... (51)

B. И. 柯羅特柯魯契柯..... (54)

И. Д. 德沃爾尼科娃..... (55)

結束語.....M. Ф. 古勒 (57)

關於酶促反應的機轉.....C. E. 布烈斯列爾 (70)

C. E. 布烈斯列爾報告的討論

A. E. 勃朗什吞..... (90)

A. T. 帕孫斯基..... (93)

C. Г. 馬爾達舍夫..... (97)

A. M. 烏切夫斯基..... (100)

B. A. 別里澤爾..... (103)

M. Ф. 古勒..... (105)

B. И. 柯羅特柯魯契柯..... (108)

A. A. 土斯塔諾夫斯基..... (111)

E. A. 施洛夫..... (112)

M. И. 切爾尼科夫..... (114)

結束語.....	C. E. 布烈斯列尔	(119)
蛋白質顆粒在特異反應下的相互作用.....	B. A. 別里澤尔	(122)
B. A. 別里澤尔報告的討論		
C. E. 布烈斯列尔.....		(136)
B. C. 伊尔英.....		(137)
C. Я. 卡普朗斯基.....		(147)
B. A. 楊格里加爾脫.....		(148)
A. Г. 帕孫斯基.....		(150)
E. Л. 霍多羅娃.....		(152)
C. E. 布烈斯列尔.....		(155)
結束語.....	B. A. 別里澤尔	(156)
關於蛋白質結構變化的本質.....	A. Г. 帕孫斯基	(159)
A. Г. 帕孫斯基報告的討論		
К. И. 斯特拉奇茨基.....		(174)
A. A. 土斯塔諾夫斯基.....		(176)
И. Н. 布朗庚.....		(178)
C. E. 布烈斯列尔.....		(180)
Н. С. 昂德烈也娃.....		(183)
Г. А. 傑波凌.....		(186)
Б. И. 戈爾德什欽.....		(193)
A. C. 周彼羅維奇.....		(196)
B. A. 別里澤尔.....		(197)
結束語.....	A. Г. 帕孫斯基	(199)
關於球形蛋白質變性的本質.....	И. Н. 布朗庚	(204)
И. Н. 布朗庚報告的討論		
М. Ф. 古勒.....		(219)
A. Г. 帕孫斯基.....		(222)
К. И. 斯特拉奇茨基.....		(226)
О. В. 洛巴切夫斯卡婭.....		(228)
Н. В. 捷林斯基.....		(233)

A. C. 周彼罗維奇	(238)
B. A. 別里澤尔	(244)
結束語	П. H. 布朗庚 (246)
关于球形蛋白質的物理化学和生物化学的性質与其存在	
状态的关系	П. B. 阿法納西也夫 (249)
П. B. 阿法納西也夫报告的討論	
M. П. 切尔尼科夫	(258)
C. Э. 什諾里	(260)
結束語	П. B. 阿法納西也夫 (261)
閉幕詞	A. B. 巴拉金 (263)

开 幕 詞

A. B. 巴拉金

烏克蘭蘇維埃社会主义共和国科学院生物化学研究所和苏联医学科学院生物化学及医学化学研究所召开的關於蛋白質問題的會議，是為了討論現代科學中具有特殊意義的最重要的問題之一，即蛋白質問題。沒有對蛋白質、它的化學結構及其特殊功能性質的正確知識，要認識基本的生命過程，了解生命的本質是不可能的，由此可以看出這問題的重要意義。況且蛋白質問題又有着巨大的實踐意義，如食品工業、紡織工業和制革工業的許多問題，治療血清、酶和其他制劑的生產都直接地與廣闊的蛋白質問題的各方面相聯系着。

蛋白質問題是最重要的科學的生物學問題之一，同時也是最困難的研究之一。有關研究蛋白質化學結構方面的著作指出了，經典的有機化學方法對於解決這一問題是不夠的，由此使得在這研究領域中停滯了許多年代。我們需要新的、顯然更精密且有效的工作方法。這些方法現在已經出現了。例如結合色層分析法來測定多肽鏈末端基團的化學“標記”便是屬於這些方法之列。然而，這些方法目前還是研究得不够，並且不完全可以做到。

在採用X-射線結構分析法(рентгено-структурный анализ)研究蛋白質時產生了極複雜的問題，雖然有許多卓越的專家們在這一領域中進行工作，但是其中許多問題目前仍無法解決。

在蛋白質的物理化學領域中應用超離心法、电泳法、現代光學方法，例如利用螢光極化計算(учет поляризации флуоресценции)

来研究逆扩散(вращательная диффузия)的方法已得到显著的成就。但是,無論这些方法所开辟的可能性怎样大,在許多重要問題上它們還不可能得出明确的答案,甚至在某些場合下产生了使互相間不易協調的矛盾的結果。

關於蛋白質特殊的生物学机能的性質和分子机轉(молекулярный механизм)的問題研究得很少,考虑到只能以關於蛋白質的化学結構与物理化学特性的材料来闡明它們。

同时,蛋白質問題的研究給了我們許多基本的、已被严格証实了的原理。例如,已牢固地肯定了,联結蛋白質分子的構成單位——氨基酸——的化学鍵,基本上是丹尼列夫斯基(Александр-Данилевский)所最先提出的肽鍵。

蛋白質分子中还有起着联結相隣多肽鏈的“桥樑”作用的二硫鍵是毫無疑义的了。

蛋白質的物理化学性質与生物学性質不仅和蛋白質的多肽鏈的化学結構有关,並且也和蛋白質分子中这些鏈的結構或“組織”的类型有关,換句話說,即与蛋白質的“巨分子”結構有关,这一事实也可認為已經肯定。

其次,蛋白質和各种其他物質形成复合物的能力也已搞清了,这种复合物形成作用具有特殊性,並且是蛋白物質的特殊机能的基础。酶-被作用物(基質)中間化合物的形成便是这种特殊的复合物形成作用的例子。

苏維埃學者們——生物化学家們和化学家們意識到蛋白質問題的特殊科学意义和巨大的实际重要性,不顧研究這一問題時有多大困难,仍緊張地研究着其中的各種問題,制訂出新的方法,确定新的事实,檢查和重新审查現有的學說,並提出新學說。

在研究像蛋白質問題这样复杂的問題時,对已得結果和研究方法的批評性討論,在專題学术会和會議的不同見解的爭論等是有着特別重要意义的。

在战后的年代里，莫斯科已举行过两次关于蛋白质问题的会议：第一次在1947年，第二次在1950年。

在1947年的会议上已涉及蛋白质问题方面的各种问题，并且除了关于蛋白质物理化学的报告以外，还提出了关于蛋白质的细胞学性质以及研究植物中蛋白质代谢问题的诸报告。

1950年的会议是为工业和农业中的蛋白质问题而开的，会上基本上讨论了蛋白质在工业和农业中的实用性问题，虽然第一个报告是关于蛋白质的结构。

现在这次会议的任务并不是把所有的蛋白质问题，包括蛋白质的化学及化学结构、蛋白质的物理化学、蛋白质的可变性、蛋白质物质的新陈代谢、蛋白质的工业应用等问题都加以讨论。我们会议的目的是仅将在苏联研究最广的蛋白质问题的某些少数问题进行总结，讨论其结果并拟定进一步研究的远景。

在蛋白质问题研究的现阶段适当地召开包含一定范围的问题的会议，以便使这些问题能得到深刻的批评性讨论、开展广泛的交换意见，为此一般不把会议时间多化在许多各式各样的问题和大量的报告上。所以，在这次会议上仅仅是提出7篇论文报告，而将其余时间用作讨论。

所有的报告大体上是关于蛋白质的特殊的物理化学性质和生物学性质与蛋白质的结构之间的关联性问题，并涉及蛋白质化学和生物化学方面的一些原则上重要的问题。个体蛋白质的不同性，也就是，结构和机能十分接近甚至几乎相同的蛋白质组成的变异性问题便是这些问题中的一个。В. Н. 奥烈霍维奇 (Орехович) 所报告的问题是蛋白质结构的种族特异性和生物变异性问题相联系的。

在 С. Е. 布烈斯列尔 (Бреслер) 和 М. Ф. 古勒 (Гулый) 的关于蛋白质的酶机能问题的报告中引用了新的实验材料，并发表涉及酶的催化作用的本质与蛋白质实现催化机能时的活动方式以及

某些酶反应的动力学的見解；这些見解也牽涉到酶蛋白分子內特殊反应中心的直接机能問題，並且提出在一定的、大致一相的酶反应的催化作用中2种特異蛋白質參加的可能性問題。M. B. 阿法納西也夫(Афанасьев)的報告中也和这些報告相銜接。

在 B. A. 別里澤尔(Белицер)的報告中討論蛋白質顆粒在某些反应，如抗原与抗体的反应时的相互作用問題，並且探究相当的特殊蛋白質的反应中心的机能特性。

A. Г. 帕孙斯基(Пасынский)和 И. Н. 布朗庚(Буланкин)的報告是關於蛋白質的結構变化問題，特別是蛋白質的变性作用和凝集作用問題，在報告中从各种不同的观点闡明並解釋了關於蛋白質結構变化机轉的基本概念的許多要点。

可以看出，我們會議的報告涉及酶促作用的本質和蛋白質的其他極重要的机能性質，它們的變異性和結構变化的問題，也就是蛋白質生物化学上特別重要和迫切的問題。

在我們會議上要討論的这些問題是非常复杂的，其中許多問題还不清楚，研究的直接目的和方法是多种多样的。報告中提出了新的、有时是矛盾的概念和观点，以及提出工作假定。所有这些均需要深入的討論，以便正确地評價所得的結果及結論和工作假定，並且拟定对所提出的問題作进一步实验研究的正确途徑。

我希望所有的報告將得到深刻的創造性的同志式的討論，和將受到严肃的科学批評。那么，毫無疑問的，我們的會議，对会上所提出的蛋白質問題中的許多問題的进一步研究起着重要的作用。

不久以前，我們庆祝过烏克蘭与俄罗斯合併300週年紀念。这是俄罗斯、烏克蘭以及苏联全体人民的全国性的大节日。在許多世紀的历史过程中烏克蘭人民的文化受到了偉大的俄罗斯人民的文化的良好影响。在許多世紀的历史过程中卓越的俄罗斯学者們对烏克蘭科学發生了影响，並帮助了烏克蘭科学的發展。另一

方面，傑出的烏克蘭學者們的著作，成為祖國科學和世界科學寶庫的有價值的貢獻。

在節日中，又一次地表現了俄羅斯、烏克蘭以及蘇聯全體人民的學者們的緊密團結和科學合作。在基輔舉行的烏克蘭蘇維埃社會主義共和國科學院的紀念會和在莫斯科舉行的蘇聯科學院會議，都証實了這個事實，所有 12 個共和國的科學院和蘇聯科學院都參加了這些會議的工作。

我們的這個基輔和莫斯科的科學工作者們召開的會議，也可以作為烏克蘭人民和俄羅斯人民緊密的科學友誼的範例。無疑地，我們的友誼是為了進一步改進我們的工作的事業，以及為了在研究像蛋白質問題這樣重要的問題上獲得更加有效的成果。

關於某些純化和結晶的蛋白質的 生物學活性

М. Ф. 古勒

(烏克蘭科學院生物化學研究所, 基輔)

這篇報告是以 М. Ф. 古勒、П. Л. 德沃尔尼科娃(Дворникова) 和 В. П. 柯罗特柯魯契柯(Коротколучко) 所得的實驗資料為基礎的, 我們在這裡將討論兩個問題, 這兩個問題, 相互聯系着, 但在一定程度上却是獨立的。第一個問題, 我們是以磷酸己糖激酶反應為例, 來說明酶促過程的強度並不決定於一種蛋白質, 而是決定於兩種蛋白質的相互作用或結合。第二個問題, 是關於某種蛋白質(黃嘌呤氧化酶) 的酶促功能的多样性的本質問題, 對於這種現象, 曾經假設為存在着引起這些功能的多個反應中心。

如所周知, 蛋白質是活體內新陳代謝和生理功能的體現者。同時十分明顯, 蛋白質的合成是所有蛋白質發生的根本。不過, 現在我們以已知的一切事實為根據, 完全有根據可以認為, 蛋白質所完成的代謝和某些其他的生理功能, 即使不是經常的, 那麼也是在極大多數的情況下, 並不在合成這些功能的具体表現者——蛋白質的同時, 而是在後來由於機體內經過蛋白質第二級變化的結果才表現出來的。舉例來說, 如果僅就蛋白質的代謝, 催化功能, 並考慮到活體內物質代謝的實際條件, 那麼顯然可以肯定, 蛋白質由於第二級變化而表現生物學功能, 乃是一般生物學性質的事實。我們知道, 例如, 胃腸道消化液的蛋白酶是以無活性的蛋白質出現的, 而只有在以後脫去低分子肽時才具有在消化過程中分解蛋白

質的生理學功能，只有通過第二級變化使胃蛋白酶元、胰蛋白酶元和糜蛋白酶元相應地變成胃蛋白酶、胰蛋白酶和糜蛋白酶之後，它們才表現出生理學的、酶的功能。

纖維蛋白元具有形成血塊的能力，也不是在纖維蛋白元合成過程的同時發生的，而是由於第二級酶作用的結果，也就是使纖維蛋白元變成另一種蛋白質——纖維蛋白的結果。

值得指出，也有一些組織蛋白質，如 1,6 二磷酸果糖酶，是以無活性的蛋白質出現的，而在組織內組織蛋白酶的蛋白質分解作用影響下才具備了酶的功能^[1]。近來也已經肯定，*Neurospora* 的酪氨酸酶是由酪氨酸酶元生成的^[2]。由此可見，上述這些酶促功能的表現並不是機體內合成一定蛋白質的結果，而常常是從一定蛋白質分解出低分子多肽的第二級蛋白質變化的結果。

據文獻所載，蛋白質的酶功能也可由於形成一定蛋白質複合物而表現出來。例如邦加(Banga)等^[3]指出，肌肉蛋白質中的肌凝蛋白，是一種由基本骨架蛋白質和許多吸附在這蛋白質上面的、具有高度耐酸和耐熱性的其它蛋白質所組成的蛋白質體系，這些蛋白質，以每一個別地來看，都是沒有活性的，只有在它們的全部的體系，整個地，才能表現酶反應和完成收縮功能。作者們列舉了許多生化過程，根據他們的資料，其中每一過程並非取決於一種蛋白質，而是取決於基本骨架蛋白質和某些吸附在這蛋白質上面、但可從其分離出來的其他附加蛋白質的複合物。三磷酸腺苷(ATP)與二磷酸腺苷(ADP)的轉變反應，以及三磷酸腺苷的脫氨基反應等便是如此的。

費爾德芒(Фердман)和涅契坡令柯(Нечипоренко)^[4]也證明了經三次反復沉淀的兔肌肉肌凝蛋白僅在另一種蛋白質即用丙酮、三氯醋酸或 80—100% 飽和的硫酸銨，從抽提液中沉淀出來的耐酸和耐熱性的肌肉蛋白質存在下，才可使三磷酸腺苷脫去氨基。

從上述資料看出來，活體內酶功能的完成似乎有時不是某一

個別蛋白質所完成的，而是蛋白質的結合，蛋白質的復合物。

因此在此種情況下，生物學功能（酶功能）的表現，既不是在合成形成上述複合体所必需的蛋白質的同時，也不是直接地由於在出現這些蛋白質的結果，而是由於第二級變化的結果，即這些蛋白質結合成具有酶活性的複合物的結果。

正如現在所知，不是蛋白質與蛋白質，而是蛋白質與非蛋白質結合成複合物的時候，也常常使許多蛋白質由於第二級變化結果，出現酶功能。這裡所指的是所有含有二種組成的酶。如果其組成成分之一是蛋白質，那麼另一成分便是非蛋白有機物，後者多半是某種維生素的衍生物，通常被稱為輔酶或酶的輔基。

我們知道，這些酶的催化功能在作用及機轉方面與參加催化過程中的各個組成的名稱和性狀沒有關係，而這種功能是被上述成分的複合物所決定的，也並不是隨伴著蛋白質或輔酶出現時就有，而是在它們形成了上述複合物時才發生的。

因此，在此種狀況下，酶的生理功能是靠著蛋白質與各種非蛋白有機物的複合物完成的。

如所週知，蛋白質和無機物質，特別是金屬（酶——含金屬的結合蛋白質）的複合物常常完成類似酶的功能。

人工抗體的形成過程乃是由於蛋白質變化而發生生物學功能的例子之一。

我們祖國學者們所發現（Г. А. 斯米爾諾夫（Смирнов）^[6]）和所擬定獲得人工抗體的方法[И. И. 奧斯特羅賈斯忒斯基（Остро-мысленский）^[7]，巴什基爾澤夫（Башкирцев）^[8]，克留柴諾夫斯基（Крыжановский）^[9]，茲德拉瓦斯賈斯洛夫（Здравосмыслов）及柯斯特羅明（Костромин）^[10]等^[11, 12]的許多資料証實動物組織蛋白質在適當的抗原作用下，具有了它原先所沒有的防禦性的，亦即特異性的生物學功能。

所有上面列舉的由於蛋白質第二級變化結果而出現生物學功

能的例子，也就是從一種蛋白質變成生物學和物理化學的性質有所不同於原來的另一種蛋白質的例子。

一種蛋白質轉變成性質上不同的另一種蛋白質的原則，在自然界是存在着的，以上所述在很大程度上還能夠以許多其他類似的事實來補充。例如，在 B. H. 奧烈霍維奇及其同工^[13-18]的工作中已証實膠元是從專一的蛋白質——前膠元發生的。也已經確定，蟑螂(таракан)的脂蛋白可轉變成角質蛋白質(склеротин)^[19]，通過酶作用使血清清蛋白變成球蛋白^[20]，卵清蛋白變成片晶卵清蛋白^[21]以及許多其他事例^[38]。

很明显，與表現蛋白質特有代謝的催化功能有關的蛋白質第二級變化的性質可以完全不同：蛋白質的分解，蛋白質複合物的形成，蛋白質與非蛋白質的有機及無機化合物複合物的形成。

最後，在對動物體外，由血清蛋白質形成人工抗體的觀察的基礎上，可以認為，在這種情況下，蛋白質受適當的抗原作用並不變更化學組成與分子量。所改變的，似乎僅是蛋白質的結構。我們不知道這種結構變化究竟是什麼，但可以想像，可能在抗原作用下蛋白質生成了與抗原相適應的表面，亦即生成與抗原的特異免疫生物學反應有效的特異反應中心。

能夠催化不只一種，而是數種性質不同的基質的酶，現在並未否定，而相反地承認它的存在。這種現象，不僅說明非特異性，而且也說明在這些酶的顆粒表面上不只有一個、而有多個性質不同的決定基質特異作用的活性中心存在着。

乳及動物組織的黃嘌呤氧化酶，以及其他的一些酶，乃是上述酶的典型代表，黃嘌呤氧化酶制劑具有高度的醛氧化酶性質，又可強烈地氧化氧嘌呤。

從上述事實可以看出，蛋白質特有的生物學性質非常密切地和可變性相聯系，所以研究蛋白質生物學活性的本質，以及活性的出現和消失的條件常常能指示這時蛋白質本身變化所發生的性

質，並可闡明蛋白質的物理化學性質和生物學性質的相互關係。顯然這種研究可成功地引用於已被分離出來的純化蛋白質。

從這個前提出發，在幾年以前，我們已得出了自兔肌肉制取具有不同物理化學性質的六份結晶蛋白質的方法^[87]，以及分離和純化動物組織黃嘌呤氧化酶的方法，並且還研究了這些結晶的和純化的蛋白質製劑的生物學活性。

研究了大多數自兔肌制取的六份結晶蛋白質的生物學性質，這時我們確定了其中的一份像黃瓜子那樣的橢圓形細長薄片的結晶，我們稱它為 0.45 部份，具有磷酸己糖激酶的活性，或者按楊格里加爾脫(Энгельгардт)^[22]的說法，是磷酸移換酶 II，這種酶即是將三磷酸腺苷上的磷酸基團移換至 6-磷酸果糖，而形成二磷酸果糖的酶。

由於這個酶蛋白自動物組織分離出結晶狀態還是第一次，它

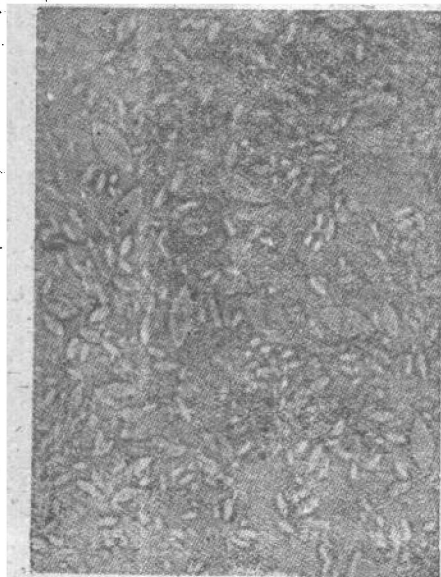


圖1

的性質知道的也少，所以研究以再結晶法進一步純化的條件和深入研究酶的和其它的性質是恰當的。經過研究已得到以重復再結晶來純化蛋白質 0.45 部份結晶製劑的方法，並確定了，磷酸己糖激酶功能的強度與不僅一種而是兩種蛋白質，0.45 部份和肌溶蛋白 A，或 0.50 部份的存在有關，可以通過巴拉諾夫斯基(Барановский)的方法^[23]，П. Д. 德沃爾尼科娃^[24]，М. Ф. 古勒等^[87]在我們研究所中所設計の方

法，以及 A. 季斯切奇 (A. Distèche) 的方法^[25] 獲得結晶形式。

我們從 0.25% K_2HPO_4 溶液制取兔的肌肉抽提液中以硫酸銨 0.35 至 0.45 飽和獲得結晶蛋白質部分。若以離心法收集在上述飽和範圍內形成的蛋白質沉淀，再溶於少量 0.25% K_2HPO_4 溶液中，那麼將溶液在溫度約 $1^{\circ}C$ 的冰箱中放置到第二天便析出相當多量的蛋白質結晶。

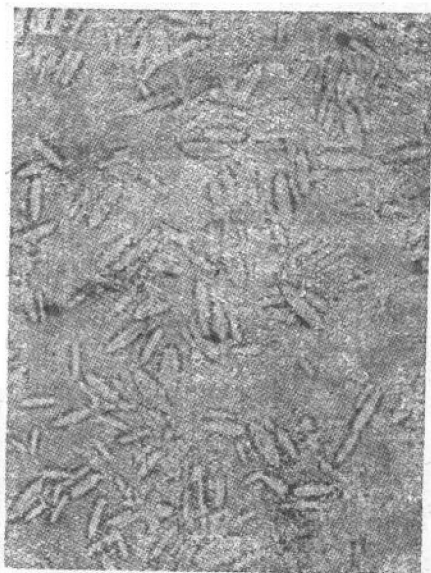


圖 2

應當指出，所得結晶的大小，變動範圍很大，並且與大結晶一起經常有許多小結晶。得到大小相等的結晶的情況很少。大結晶的邊緣，可清楚看到平行的界面（圖 1）。

結晶形狀也有變化的。有時結晶不是黃瓜子狀，而是伸長加粗末端尖削的小棒狀（圖 2）。

蛋白質 0.45 部份結晶制劑的酶功能

蛋白質結晶 0.45 部分具有很高的磷酸己糖激酶活性。戰前，索科夫 (Саков)^[52] 曾在 B. A. 楊格里加爾脫實驗室中從事於研究肌肉水提取液中磷酸己糖激酶的作用。不過，僅在取用未經再結晶的結晶制劑時才觀察到高度的酶活性。而若是取反復結晶的蛋白質制劑，那末在每次再結晶後，它們的活性迅速降至很低。並且在三次再結晶接着二次在 0.45 飽和硫酸銨下再沉淀之後活性往