

生命科学专论

蛋白质 导论

王克夷
编著

 科学出版社
www.sciencep.com

蛋 白 质 导 论

王克夷 编著

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

蛋白质是生物体最重要的组成成分之一,具有多种多样的生物学功能,几乎参与了生命活动的全过程。本书的内容涵盖面较宽,大致可以概括为四个方面:1~2章是蛋白质的基本概念和分离纯化;3~7章是蛋白质结构层次的描述;8~12章是对蛋白质时空特性的阐述,包括了生物合成、转译后加工和降解代谢;13~17章是蛋白质功能、应用、设计和研究方法的介绍。

本书以原有的研究生课程教材为基础,可作为高等院校相关专业师生的教学参考用书,同时也可供从事蛋白质研究的科研工作者和相关人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

蛋白质导论/王克夷编著. —北京:科学出版社, 2007
ISBN 978-7-03-017237-2

I. 蛋… II. 王… III. 蛋白质-研究 IV. Q51

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 048295 号

责任编辑:王 静 彭克里 刘 晶/责任校对:张怡君
责任印制:钱玉芬/封面设计:福瑞来书装

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007年6月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2007年6月第一次印刷 印张:44 1/2 插页:6

印数:1—3 000 字数:1 030 000

定价:88.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

前 言

1979年,中国科学院上海生物化学研究所面向全国举办了一次高级生物化学训练班,随后,科学出版社向一些老师约稿,出版了几本专著,作为研究生课程的教材。2000年前后,生化所研究生部曾多次组织所内为研究生开课的老师,改写并再版原有的丛书,然而却因种种原因未果。如今我退休了,有时间可以将在所内十多年来为研究生上课的内容和心得体会整理一下,同时科学出版社也有出版研究生教材的愿望,这就促成了本书的出版。

虽然1977年以后,根据学科的发展,我对糖生物学产生了兴趣,并开展了糖类与蛋白质相互作用的研究,但是我的“本行”还是蛋白质研究。1962年,我在中国科学院上海生物化学研究所读研究生时,导师是曹天钦先生,并跟随了戚正武先生进行蛋白酶抑制剂物理化学性质的研究。在1979年的高级生物化学训练班上,为“蛋白质化学”开课的是鲁子贤先生,我担任了他的助教。在鲁子贤先生出国以后,我继续为生物化学研究所和其他相关研究单位的研究生讲授“蛋白质”课程,直至退休。同时,研究方向“糖类与蛋白质相互作用”中仍有蛋白质。因而,我对蛋白质仍是非常关注和眷恋的。

目前有很多关于蛋白质和蛋白质化学的书籍,但本书却以“蛋白质导论”为题,原因是蛋白质研究的发展已经远远超越了化学的范畴。蛋白质作为基因的表达产物,已经渗透在生命科学的方方面面,尤其是蛋白质已经成为细胞生物学中的一个不可或缺的内容。在近年出版的两部细胞生物学的巨著 *Cell Molecular Biology* 和 *Molecular Biology of the Cell* 中,有关蛋白质的内容占有相当的篇幅。为此,本书的内容也跟随学科的发展,不再局限于化学方面。蛋白质研究发展得飞快,每发现一个新基因,实际上也是一个新蛋白质的发现。因而著者个人的知识很难跟上快速膨胀的信息量,在本书中,只能根据个人的认识和体会,粗浅地为蛋白质研究的一些方面勾画出一个轮廓。尽管力求全面,难免挂一漏万,故本书是一个“导论”,作为研究生和对蛋白质有兴趣的入门者的一个引导。

在编写本书的过程中有很多困惑。一是面对如此浩瀚的文献如何引用?最后,经商定在全书最后列出部分值得进一步阅读的书籍和论文,同时在文中的图、表后面也标明了出处,以便查考;二是新的蛋白质层出不穷,如何命名?有的蛋白质有很多名称,如何统一?已经有的命名,以我的认识,是否确切?最终,这些命名基本按照最近“生物化学和分子生物学名词”审定委员会的讨论结果列出,如 motif 定名为模体,而非基序,但是其中一部分还是按照我个人的理解和习惯来命名的。例如,一些已经明确为蛋白质或肽的新名词,不用素,比如我宁愿用“泛蛋白”而不用“泛素”;“翻译”一词在本书中定名为“转译”,以期与“转录”、“转导”、“转位”等“配套”;膜上有很多蛋白质,它们的肽链是穿透脂双层的,而不是“跨”过脂双层,为此,对这类蛋白质,我用了“穿膜”,而非约定俗成的“跨膜”。

如前所说,著者个人的知识是跟不上快速膨胀的信息量的,因此,在本书中一定有

不足甚至不妥之处，还望有关专家和读者不吝指教。

最后，作为一个承上启下的“二传手”，我谨将本书献给我的导师曹天钦先生等前辈和刚进入蛋白质领域的年轻人。

王克夷

2006年3月

目 录

前言

第 1 章 引论	1
1.1 有关蛋白质的一些基本概念	1
1.1.1 蛋白质的定义和命名	1
1.1.2 蛋白质的基本组成——由核酸编码的氨基酸	5
1.1.3 肽链的最基本结构是肽键和肽平面	14
1.2 蛋白质的两个重要特性——结构层次和时空性.....	19
1.2.1 蛋白质的结构是多层次的.....	19
1.2.2 蛋白质的时空特性	30
1.2.3 蛋白质的功能是其结构层次和时空特性的综合	32
第 2 章 蛋白质的检测和分离	33
2.1 蛋白质的检测和定量.....	33
2.1.1 用于检测蛋白质的化学方法	33
2.1.2 用于检测蛋白质的物理方法	34
2.1.3 用于检测蛋白质的生物学方法	35
2.1.4 复合蛋白质中其他组分的检测	36
2.1.5 蛋白质定量的相对性	36
2.2 蛋白质的分离和纯化.....	36
2.2.1 蛋白质分离纯化的基础	37
2.2.2 蛋白质分离纯化的一般原则	46
2.3 纯度鉴定.....	48
2.3.1 分离纯化和鉴定的关系	48
2.3.2 纯度的相对性	48
2.3.3 蛋白质纯度有别于小分子化合物	50
第 3 章 蛋白质的一级结构	52
3.1 蛋白质的一级结构及其测定.....	52
3.1.1 蛋白质一级结构的定义	52
3.1.2 蛋白质肽链一级结构的形成	53
3.1.3 几种测定肽链中氨基酸残基序列的方法及准备工作	53
3.1.4 蛋白质化学测序法	55
3.1.5 复合蛋白质中非肽链的其他组分的检测和定位, 以及二硫键的测定	57
3.2 肽链的一级结构.....	59
3.2.1 多肽与寡肽	59
3.2.2 蛋白质中的肽链组成	61

3.2.3 蛋白质的不均一性	62
3.2.4 同工蛋白质	62
3.2.5 蛋白质的多态性	63
3.2.6 分子病	64
3.3 蛋白质中的非氨基酸组分	68
3.3.1 蛋白质中氨基酸残基的各种修饰方式	68
3.3.2 蛋白质中氨基酸残基侧链修饰的类型	69
3.3.3 蛋白质中氨基酸残基修饰的一些列举	70
3.3.4 蛋白质中氨基酸残基侧链的人为修饰	76
3.4 蛋白质一级结构同源性比较	78
3.4.1 同一肽链氨基酸残基序列的比较	78
3.4.2 “同宗”蛋白质的一级结构的比较	80
3.4.3 “近亲”蛋白质一级结构的比较	84
3.4.4 蛋白质一级结构的“远缘”比较	85
3.4.5 肽链氨基酸残基序列中的模体	88
3.4.6 蛋白质的家族与超家族	94
3.5 从蛋白质的一级结构能得到哪些信息	95
第4章 蛋白质的二级结构和超二级结构	100
4.1 蛋白质二级结构的定义和类型	100
4.1.1 蛋白质二级结构的定义和形成	100
4.1.2 规正的二级结构	100
4.1.3 部分规正的二级结构	108
4.1.4 “无规”卷曲	112
4.2 蛋白质二级结构的可变性	113
4.2.1 影响蛋白质二级结构的因素	113
4.2.2 两可肽	114
4.2.3 固有无结构蛋白质的结构改变	116
4.3 蛋白质二级结构的测定和预测	116
4.3.1 测定蛋白质二级结构的方法	116
4.3.2 蛋白质二级结构的预测	122
4.4 蛋白质的超二级结构	130
4.4.1 超二级结构的定义和由来	130
4.4.2 不同超二级结构的例举	131
第5章 蛋白质的三级结构和结构域	142
5.1 蛋白质三级结构的特征	142
5.1.1 三级结构的形成和定义	142
5.1.2 球状蛋白三级结构的主要特征	143
5.1.3 纤维状蛋白质的三级结构	147
5.1.4 膜蛋白的三级结构	148

5.1.5 三级结构的可变性	149
5.1.6 固有的无结构蛋白质	150
5.2 蛋白质的结构域	151
5.2.1 结构域的由来和定义	151
5.2.2 结构域的划分和制备	154
5.2.3 结构域的生物学意义	154
5.2.4 结构域/模体的举例	154
5.3 蛋白质三级结构/结构域的解剖	159
5.3.1 全 α 类	162
5.3.2 全 β 类	166
5.3.3 α/β 类	174
5.3.4 $\alpha+\beta$ 类	179
5.3.5 其他含有二级结构的类型	180
5.3.6 固有的无结构蛋白质	182
5.3.7 结构域的组合	184
5.3.8 一些常见的蛋白质结构数据库和分类方法	190
5.4 蛋白质立体结构中的模体	191
5.4.1 蛋白质的折叠模式	191
5.4.2 蛋白质折叠模式的数量	192
5.5 蛋白质三级结构中的非肽组分	192
5.5.1 蛋白质中的金属	193
5.5.2 蛋白质中的辅基	195
5.5.3 蛋白质中的糖和脂质	196
5.6 蛋白质三级结构的测定和预测	196
5.6.1 蛋白质三级结构的测定	196
5.6.2 蛋白质三级结构的预测	199
第 6 章 蛋白质的四级结构	201
6.1 蛋白质四级结构的定义和相关概念	201
6.1.1 蛋白质四级结构的定义、形成和分类	201
6.1.2 蛋白质的亚基和蛋白质的分子量	203
6.2 蛋白质四级结构的几个特性	204
6.2.1 具有四级结构蛋白质中的亚基种类与数量	204
6.2.2 稳定蛋白质四级结构的因素	206
6.2.3 四级结构的可变性	209
6.2.4 蛋白质四级结构的对称性	209
6.2.5 具有纤维状结构的蛋白质	216
6.2.6 与蛋白质组装有关的其他一些事件	221
6.2.7 蛋白质的聚集	222
6.2.8 蛋白质四级结构的实例	222

6.3	蛋白质四级结构的生物学意义	225
6.3.1	蛋白质的四级结构是一些蛋白质的生物活性所必需	225
6.3.2	亚基和结构域	226
6.4	蛋白质四级结构的测定	229
6.4.1	研究水溶性蛋白质四级结构的方法	229
6.4.2	研究膜蛋白四级结构的方法	230
第7章	蛋白质体系和蛋白质组	231
7.1	一些经典的蛋白质体系	231
7.1.1	经典的蛋白质体系给予的启示	231
7.1.2	几种蛋白质体系的类型	232
7.2	存在于细胞中的一些蛋白质体系	235
7.2.1	膜上的蛋白质体系	235
7.2.2	细胞质中的蛋白质体系	236
7.2.3	细胞核内的蛋白质体系	236
7.2.4	细胞外的蛋白质体系	240
7.3	蛋白质组	241
7.3.1	蛋白质组的提出	241
7.3.2	蛋白质组目标和内容	242
7.3.3	蛋白质组的研究方法	243
7.3.4	表达蛋白质组的研究事例	254
第8章	蛋白质新生肽链的生物合成及其调控	257
8.1	细胞外的刺激及其转化为进入细胞核内的信号	258
8.1.1	亲水分子对细胞的作用	258
8.1.2	亲脂分子对细胞的作用	264
8.1.3	转录因子和/或基因调节蛋白的激活	267
8.2	DNA 的转录和 mRNA 的成熟	267
8.2.1	DNA 链的包装和松散	267
8.2.2	转录因子和基因表达调节蛋白的种类与其作用位点	269
8.2.3	DNA 的转录	274
8.2.4	基因片段的组合	276
8.2.5	mRNA 前体的后加工	278
8.3	蛋白质新生肽链的生物合成	281
8.3.1	蛋白质新生肽链生物合成中的主角——tRNA 和氨酰基-tRNA 合成酶	282
8.3.2	蛋白质新生肽链生物合成的场所——核糖体	285
8.3.3	蛋白质新生肽链生物合成的过程	288
8.3.4	影响蛋白质肽链转译的外界因素	297
8.4	蛋白质生物合成小结	303
第9章	蛋白质变性和肽链折叠、组装	305
9.1	蛋白质的变性和复性	305

9.1.1	和蛋白质变性有关的一些基本概念	305
9.1.2	蛋白质变性、复性与新生肽链折叠	308
9.2	蛋白质变性和复性的热力学	308
9.2.1	蛋白质肽链折叠和蛋白质变性的驱动力	308
9.2.2	蛋白质稳定性的研究	309
9.3	肽链折叠的动力学	314
9.3.1	肽链的折叠速度和构象核	314
9.3.2	蛋白质肽链折叠的中间态以及互变	317
9.4	蛋白质肽链折叠的最终状态	326
9.4.1	淀粉样沉淀	327
9.4.2	同种蛋白质分子在同样条件下有可能具有两种不同的构象	329
9.5	研究蛋白质变性和肽链折叠的方法	330
9.6	四级结构的形成和肽链的聚集	333
9.6.1	组装的热力学	334
9.6.2	组装的动力学	334
9.6.3	影响组装的因素	335
9.6.4	组装的场所和后加工	337
9.6.5	肽链的聚集	338
9.7	蛋白质生物合成新生肽链在细胞内的折叠和组装	339
9.7.1	分子伴侣和热休克蛋白质	339
9.7.2	分子伴侣的作用机制	342
9.7.3	内质网中的分子伴侣和新生肽链折叠的质量控制	345
9.7.4	肽链的折叠和降解	348
9.7.5	分子伴侣和肽链的组装	349
9.7.6	分子伴侣的多样性	350
第 10 章	蛋白质新生肽链转译后的分拣和定位	357
10.1	蛋白质新生肽链进入内质网	358
10.1.1	进入内质网的信号肽	358
10.1.2	新生肽链进入内质网的载体	360
10.1.3	新生肽链的转运过程	364
10.1.4	信号肽的切除及随后发生的事件	366
10.1.5	新生肽链不依赖信号肽识别颗粒的转运	367
10.2	蛋白质定位在内质网中的机制	367
10.2.1	KDEL, 最常见的滞留于内质网的信号肽	367
10.2.2	其他滞留于内质网的信号肽	368
10.2.3	滞留于内质网内的蛋白质的功能	368
10.3	蛋白质在高尔基体的定位	369
10.4	蛋白质向溶酶体的分拣和投送	370
10.4.1	蛋白质进入溶酶体的信号	371

10.4.2	进入溶酶体的糖信号的形成	372
10.4.3	进入溶酶体糖信号的受体	373
10.4.4	酵母中液泡内蛋白质的定位信号	375
10.5	蛋白质在质膜上的定位	375
10.5.1	蛋白质肽段的穿膜定位	375
10.5.2	糖基磷脂酰肌醇化蛋白质在质膜上的定位	377
10.5.3	利用脂肪链定位的蛋白质	377
10.5.4	原核细胞中蛋白质的膜定位	379
10.6	蛋白质向细胞外的转运和分泌	379
10.7	蛋白质的核定位	382
10.7.1	核蛋白具有特定的进入核的信号肽	382
10.7.2	与人核有关的其他蛋白质	383
10.7.3	蛋白质进入细胞核的过程	386
10.7.4	核输出信号及其有关蛋白质	386
10.8	蛋白质在线粒体和叶绿体中的定位	388
10.8.1	分子伴侣帮助新生肽链向线粒体转运	388
10.8.2	蛋白质定位在线粒体中的信号	388
10.8.3	不同的蛋白质在线粒体中的定位过程	389
10.8.4	线粒体表面与蛋白质转运有关的受体, 以及蛋白质转运的机制	392
10.8.5	植物中一些蛋白质的定位和组装	394
10.9	蛋白质在过氧化体中的定位及在细胞质中的滞留	396
10.9.1	蛋白质在过氧化体中的定位	396
10.9.2	滞留在细胞质中的蛋白质	398
10.10	蛋白质进入细胞内的途径	398
10.10.1	胞吞作用的不同途径	398
10.10.2	有关内吞后的分拣信号	400
10.10.3	肌动蛋白在内化中的作用	403
10.10.4	毒素内吞后的分拣	403
第 11 章	蛋白质新生肽链转译后的剪接和修饰	405
11.1	蛋白质新生肽链转译后的剪接	405
11.1.1	新生肽链 N 端的信号肽的切除	405
11.1.2	前体的激活	406
11.1.3	新生肽链的剪接	410
11.2	蛋白质新生肽链转译后的修饰	416
11.2.1	糖基化	416
11.2.2	脂质修饰	421
11.2.3	糖基磷脂酰肌醇化	424
11.2.4	一些蛋白质肽链末端的修饰	426
11.2.5	一些动态的可逆性的修饰	427

11.3 蛋白质新生肽链各种转译后事件之间的关系	428
11.3.1 蛋白质新生肽链转译后各种事件间的关系	428
11.3.2 蛋白质新生肽链转译后事件有关概念的演化和发展	428
第12章 蛋白质的降解	431
12.1 蛋白质降解的一些基本概念	431
12.1.1 蛋白质降解的重要性	431
12.1.2 蛋白质/肽链可以在不同程度上被降解	432
12.1.3 蛋白质的寿命	433
12.1.4 蛋白质的降解场所	435
12.2 参与蛋白质降解的酶类	438
12.2.1 无所不在的蛋白酶	438
12.2.2 蛋白酶的分类	438
12.2.3 重要的蛋白酶	439
12.3 蛋白质限制性蛋白酶解的生物学意义	457
12.3.1 蛋白质新生肽链合成和折叠的质量控制	457
12.3.2 蛋白质抗原的提呈	458
12.3.3 前体蛋白质的激活	459
12.3.4 蛋白质的降解与信号转导	460
12.3.5 蛋白质的降解与细胞周期和细胞凋亡	462
12.3.6 蛋白酶与疾病	472
12.4 氨基酸的降解	474
12.4.1 氨基酸的脱羧	474
12.4.2 由一些氨基酸代谢得到的活性分子	476
第13章 活性肽类	480
13.1 概论	480
13.1.1 肽类的由来	480
13.1.2 肽类的分类	485
13.1.3 肽类的结构	491
13.2 来自血液的活性肽	491
13.2.1 舒缓激肽	492
13.2.2 血管紧张肽	492
13.3 脑和肠中的活性肽	493
13.3.1 垂体前叶和中叶内的活性肽	493
13.3.2 加压素和催产素	494
13.3.3 下丘脑释放和释放抑制激素家族	494
13.3.4 速激肽家族	495
13.3.5 类吗啡肽家族	495
13.3.6 神经肽 Y 家族	498
13.3.7 肠道肽	498

13.3.8	心钠肽 (ANP)	500
13.3.9	降钙素 (CT) 和降钙素基因相关肽 (CGRP)	500
13.4	来自皮肤的活性肽	501
13.4.1	蛙皮中的肽类与哺乳动物肽的同源性	501
13.4.2	蛙皮中抗菌肽	503
13.5	肽类毒素	504
13.5.1	芋螺肽毒素	504
13.5.2	蜘蛛肽毒素	506
13.5.3	一些结构共性	506
13.6	抗菌肽	508
13.6.1	天蚕抗菌肽类	509
13.6.2	防卫肽类	510
13.7	肽类抗菌素	512
13.7.1	环状肽	513
13.7.2	内酯类	513
13.7.3	含有羊毛氨酸的肽类	513
13.7.4	博莱霉素	514
13.8	环状肽	515
13.8.1	一些已知的环状肽	515
13.8.2	环状肽的生物合成	517
13.8.3	人工合成的环肽	518
第 14 章	蛋白质的功能及其结构基础	520
14.1	蛋白质的功能	520
14.1.1	作为信息分子和信号的转导分子	520
14.1.2	具有催化和转化功能	521
14.1.3	分子和物质的运载体	522
14.1.4	结构和支撑功能	524
14.1.5	蛋白质的运动和动力功能	525
14.1.6	防卫和保护功能	525
14.2	蛋白质功能和结构的关系	528
14.2.1	蛋白质的功能是蛋白质结构的延伸	528
14.2.2	蛋白质的结构是蛋白质功能的基础	529
14.2.3	蛋白质和其他分子相互作用中的互动	532
14.3	蛋白质功能和一级结构的关系	532
14.3.1	一级结构中保守氨基酸残基在蛋白质功能中的作用	532
14.3.2	一级结构中可变氨基酸残基在蛋白质功能中的作用	536
14.4	蛋白质功能与立体结构的关系	539
14.4.1	蛋白质功能区的定位	539
14.4.2	蛋白质/结构域解剖类型和活性的关系	547

14.4.3 超家族成员的活性部位	547
14.4.4 蛋白质的活化	549
14.4.5 蛋白质功能的共性和专一性的立体结构基础	552
14.4.6 一些多功能的蛋白质	558
14.4.7 固有无结构蛋白质的功能	558
14.5 蛋白质功能与聚集体、复杂体系的关系	562
14.5.1 以聚集状态行使功能的蛋白质	563
14.5.2 以一个体系行使功能的蛋白质(小)组	564
14.6 蛋白质行使功能时自身结构的改变	578
14.6.1 蛋白质行使功能时自身结构的诱导契合	578
14.6.2 蛋白质的变构效应	582
14.7 蛋白质在行使功能时发生的运动	590
14.7.1 细胞核中 DNA 复制酶中的可滑行钳子	591
14.7.2 细胞质中的动力型蛋白质	592
14.7.3 线粒体膜内 ATP 合成过程中亚基的旋转	594
14.8 研究蛋白质结构与功能关系的方法	597
14.8.1 活性部位的鉴定和作用机制的研究	597
14.8.2 定量研究	599
14.8.3 表面粒团共振	601
14.8.4 微阵列技术	602
14.9 研究蛋白质结构与功能关系的意义	602
第 15 章 蛋白质组学	605
15.1 蛋白质组学的研究目标和内容	605
15.1.1 蛋白质组学的目标	605
15.1.2 蛋白质组学的内容	608
15.2 蛋白质组中各个组分之间的相互作用	612
15.2.1 蛋白质-蛋白质相互作用图谱化的战略	612
15.2.2 酵母双杂交	613
15.2.3 其他类型的双杂交	616
15.2.4 噬菌体展示用于检测蛋白质-配体相互作用	618
15.2.5 用于蛋白质-蛋白质相互作用图谱化的质谱法	619
15.2.6 蛋白质阵列/芯片技术	620
15.2.7 蛋白质芯片和质谱联用	622
15.2.8 表面粒团共振生物传感器分析	623
15.3 蛋白质组内的网络	623
15.3.1 酵母中蛋白质-蛋白质相互作用的网络	623
15.3.2 蛋白质网络的建筑结构	626
15.3.3 蛋白质体系的拓扑学	627
15.4 结构蛋白质组学	627
15.4.1 结构蛋白质组学的目标和任务	628

15.4.2	结构基因组学的研究策略	629
15.4.3	结构蛋白质组学的研究方法	630
第 16 章	蛋白质工程和蛋白质的设计	634
16.1	蛋白质工程的定义及基础	634
16.1.1	蛋白质工程的定义	634
16.1.2	蛋白质结构和功能研究是蛋白质工程的基础	634
16.2	蛋白质工程的内容	635
16.2.1	蛋白质的改良	635
16.2.2	融合蛋白的应用	642
16.2.3	蛋白质的改造	644
16.2.4	含有非天然氨基酸的蛋白质	648
16.2.5	改变蛋白质的非基因工程方法	653
16.3	蛋白质的设计	658
16.3.1	设计蛋白质的最基本原则	658
16.3.2	实例	658
16.4	配体工程	661
16.4.1	随机肽库的噬菌体展示	662
16.4.2	通过化学合成研制新的配体	666
16.4.3	以天然的蛋白质为基础建立肽库	666
16.4.4	配体工程的关键	667
16.4.5	以蛋白质结构为基础的配体改良和设计	668
第 17 章	蛋白质研究中的技术和方法	672
17.1	蛋白质研究中的化学技术和方法	672
17.1.1	检测、定量和鉴定蛋白质的化学方法	672
17.1.2	对蛋白质中氨基酸残基侧链修饰的化学方法	673
17.1.3	分离和分析蛋白质的化学方法	676
17.1.4	用于蛋白质相互作用的物理化学方法	677
17.2	蛋白质研究中的物理学技术和方法	677
17.2.1	光学技术在蛋白质研究中的应用	678
17.2.2	磁学技术在蛋白质研究中的应用	683
17.2.3	力学技术在蛋白质研究中的应用	686
17.2.4	其他物理学技术在蛋白质研究中的应用	686
17.3	蛋白质研究中的生物学技术和方法	686
17.3.1	免疫技术	687
17.3.2	基因技术	687
17.3.3	酶学方法	689
17.3.4	芯片和微流技术	690
17.4	蛋白质研究中的生物信息学	690
主要参考文献		692
后记		695
彩版		

第 1 章 引 论

1.1 有关蛋白质的一些基本概念

1.1.1 蛋白质的定义和命名

在全面地介绍蛋白质以前，首先有必要对蛋白质的定义和命名做一些简要的讨论。

1. 蛋白质的定义

蛋白质是生物体最重要的组成成分之一。通常认为蛋白质是 α 氨基酸通过酰胺键连接而成的长链分子，这一分子的长链也被称为肽链。然而这样定义蛋白质还有若干不严密之处。第一，在自然界存在着许多种氨基酸，如 ω 氨基己酸，它可以作为单体，也可以通过形成分子间的酰胺键而成为长链分子，即我们日常生活中的尼龙 6。尼龙 6 可以制造成有弹性的织物，但是不可能具有蛋白质的空间结构，更没有蛋白质的生物活性。生物体内发现的氨基酸有几百种之多，但迄今在蛋白质中所鉴定到的 α 氨基酸却只有 22 种。除了常见的 20 种氨基酸外，还有硒代半胱氨酸和 2002 年才报道的吡咯赖氨酸，且这些氨基酸全是 L 型构型，由 DNA 编码的。第二，一些酸性或碱性的氨基酸，除了 α 氨基和 α 羧基可形成酰胺键外，氨基酸残基侧链上的基团也能形成酰胺键。应该认为，由 mRNA 转译*而成的新生肽链还不能说是蛋白质。转译所得的新生肽链只有经过一系列转译后的事件才能成为具有特定空间结构、呈现明确生物功能的蛋白质。为此，蛋白质的比较严格的定义应该是：一种由 DNA 编码的 L 型 α 氨基酸通过 α 碳原子上的氨基和羧基间形成酰胺键，连接而成肽链，经转译后加工形成的具有特定空间构象和生物功能的生物大分子。

给予蛋白质一个定义后，在深入展开以前，还有几点是应该补充说明的。

首先，就传统概念而言，蛋白质和肽链是两个不同的概念，两者相关，但是不能等同。肽链只是氨基酸残基连接而成的一种大分子，不一定有特定且特有的结构和功能；而蛋白质既具有特定的结构，又具有特定的功能。因此，可以认为蛋白质是经折叠后有特定结构和功能的肽链，而肽链则是未折叠或去折叠后松散的、没有活性的蛋白质。然而，近年来发现了一些固有无折叠的蛋白质，这些蛋白质是松散的，却仍有活性。相关内容在本书的其他章节中还会讨论。

其次，有相当多的蛋白质中除了氨基酸外，还有其他的组分，如糖类、脂质、金属和有机小分子。这些含有其他组分的蛋白质被称为复合蛋白质，而那些只含有氨基酸的蛋白质则称为简单蛋白质。因此，根据通常的定义，将蛋白质说成是 α 氨基酸通过酰胺

* 英文 translation 一词通常被译为“翻译”，基于 transcription、transduction、transport、translocation 等词已分别被译为转录、转导、转运和转位，故在本书中将一些词头“trans”统一为“转”，故“翻译”也改为“转译”。

键连成的长链分子,就将诸多的复合蛋白质排除在蛋白质的范畴以外了。

即使有了较严格的定义,仍有不少问题尚待澄清和取得统一的认识。一个最突出的问题是如何区分蛋白质及其亚基。有相当多的蛋白质是由亚基组成的,在讨论蛋白质的四级结构时将详细介绍(详见本书第6章)。对亚基数目不多的蛋白质,这两个概念不易混淆;然而对亚基数目极大的体系,蛋白质和亚基就较难区分。以烟草花叶病毒(TMV)的外壳蛋白为例,此病毒的外壳蛋白由约2000个相同亚基构成,总的分子质量达 4×10^7 Da。严格地说,141个氨基酸残基构成的肽链只是亚基,不能称之为蛋白质,只有整个外壳才是一个蛋白质分子。通常在此时,蛋白质和亚基就被混淆,常常会将其亚基与蛋白质等同而很少将TMV的外壳称为蛋白质。

近年来,在蛋白质工程方面取得了很大进展,有关的内容将在本书的第16章中讨论。这里要提及的是,通过蛋白质工程可以改造和构建一些自然界中并不存在的、具有特定结构和特定功能的蛋白质。对它们而言,根本没有其天然的基因,尽管利用基因工程技术,也可以构建DNA分子,并以此为“基因”。更有甚者,利用全新的基因技术,还可以用非天然的氨基酸密码,如四联体密码,将非天然氨基酸残基,甚至D型氨基酸掺入到人为的肽链中,并得到有功能的非天然的“蛋白质”。这些产物的出现是对传统蛋白质的挑战。

总之,“什么是蛋白质?”“蛋白质一词含有哪些内容?”这些问题在本书开始时,有重申和强调的必要。

2. 蛋白质的命名

蛋白质的命名和译名的审定是一个非常复杂而又令人烦心的问题。因为蛋白质的种类繁多,且新的蛋白质在不断地出现,其中有相当数量的蛋白质是某些物种所特有的,因此,若没有统一、规范的命名或译名,很难交流和讨论。为此,在本书开卷之际,有必要作一简要的说明。

1) 蛋白质与蛋白

蛋白质是一个集合名词,前面已经给予了一个较为严格的定义。目前很多书刊和文章中,在不经意间,常将蛋白质简称为蛋白。蛋白质是一个具有科学含义的名词,蛋白是一个常用的口语,可以看成是相对于“蛋黄”的物质。为此,在国家名词审定委员会出版的《生物化学与生物物理名词》(第一版)中,曾经对英文的“protein”一词的译名作了较详细的说明:必须使用“蛋白质”而不是“蛋白”。即作为抽象讨论的蛋白质,或是泛指所有蛋白质时,不应该将“蛋白质”简称为“蛋白”。对于一些作为专有名词、专指某种特定的蛋白质时,则可省去“质”字,如血红蛋白,在英文中也有相应的专用名词hemoglobin。至于许多的复合词组中的蛋白质,目前也多数是将“质”字省去,如血浆蛋白(plasma protein)、核糖体失活蛋白(ribosome inactivating protein)。就个人的意见,似乎分别称为“血浆型蛋白质”和“核糖体失活型蛋白质”更确切。

2) 特定蛋白质的命名

不同蛋白质名称的由来,即蛋白质的命名,与蛋白质学科的发展密不可分,从中也不难看出时代的烙印。