

生物化学进展

—— 第二次全国生物化学学术讨论会汇刊 ——

《生物化学进展》編輯委员会編

上海科学技术出版社

生物化学进展

——第二次全国生物化学学术讨论会汇刊——

《生物化学进展》編輯委员会 編

上海科学技术出版社

內 容 提 要

本书系就第二次全国生物化学学术讨论会的13篇专题报告汇编而成,分别报导了有关生物化学的进展和动态。内容包括:蛋白质化学、酶学、核酸、新陈代谢、病毒生化、肿瘤发病机制、免疫化学,以及放射生物化学等各个分支学科方面的最新成就和技术。

本书可供生化、生理、医学、农学等学科的研究工作者和有关院校师生参考。

生 物 化 学 进 展

——第二次全国生物化学学术讨论会汇刊——

《生物化学进展》編輯委员会 編

上海科学技术出版社出版(上海瑞金二路450号)

上海市书刊出版业营业许可证出093号

上海大众文化印刷厂印刷 新华书店上海发行所发行

开本850×1156 1/32 印张7 24/32 排版字数204,000

1965年6月第1版 1965年6月第1次印刷

印数1—3,000

统一书号 13119·641 定价(科七) 1.30 元

《生物化学进展》編輯委员会

(按姓名笔划順序)

王应睐*

王德宝

刘培楠

沈 同

沈昭文

邹承魯

张友端

梁植权

曹天欽

(* 主編)

前 言

生物化学是一门发展极为迅速的学科，全世界有关生物化学的学报近百种，文献繁多，浩如烟海。生化工作者要全面地掌握资料，几乎是不可能的。因此，由这门学科各领域的专家把自己熟悉方面的国际进展情况作综述介绍是非常必要的。全国性的生物化学学术会每次举行时都邀请一些专家作专题综合性报告，1960年第一次全国生物化学学术会后会曾汇集刊印，颇受广大读者的欢迎。这里发表的是1962年年底第二次会议上报告的一些综合性论文，原先准备在1963年初付印，后来因种种原因，一再推延，到现在才印出。但是我们相信其中绝大部分的资料还是很有用的。

王 应 睐

1964年11月30日

目 录

(1) 蛋白质化学的进展·····	曹天欽	1
(2) 酶学研究中的的一些新进展·····	邹承魯	24
(3) 近年来核酸的发展概况·····	王德宝	47
(4) 新陈代谢研究的现状和展望·····	沈昭文	59
(5) 脂质代谢的进展·····	王克勤	74
(6) 抗体的性质及生成机制·····	刘思职	95
(7) 糖类皮质激素对糖、蛋白质及脂肪代谢的 影响·····	刘士豪	111
(8) 結締組織的生化、病变及慢性过敏反应 ·····	王世中	124
(9) 肿瘤发病机制的一些生化研究·····	刘培楠	132
(10) 病毒生化研究的若干問題·····	柳元元	151
(11) 放射生物化学的发展方向·····	沈 同	166
(12) 放射生物化学中有关能量代谢和核酸代谢的 問題·····	陆如山	179
(13) 若干血浆蛋白研究的进展·····	任邦哲 卢义欽	197
附录 第二次全国生物化学学术討論会研究 論文(摘要)題目·····		236

蛋白质化学的进展

曹 天 钦

(中国科学院生物化学研究所)

近十年来,蛋白质化学有了飞速的发展,惊人的成果不断涌现。这是世界上各学派苦心钻研、长期积累的结果;是在广泛的坚实的基础上推陈出新的结果;是化学、物理学、生物化学等各门学科互相渗透、综合探讨的结果;是层析、X-射线衍射、酶的应用等各种研究技术不断革命革新的结果;是人造纤维、多肽抗菌素与激素、国防化学、病毒、免疫、遗传病害等有关的生产和医疗实践与基本理论进展相互促进的结果。

蛋白质化学的各个领域,进展速度并不相同。其中,突破重点、带动全局、对蛋白质化学已经产生或将有深远影响的重大成就,有下列三个方面。

一、蛋白质的壹级结构

蛋白质是由二十多种、为数成百上千的氨基酸按一定次序首尾相连所形成的生物高分子。全部化学结构、也即是壹级结构的测定,在以往被认为是一个极端复杂、几乎无从入手的难题。Sanger 和同工作者利用蛋白水解酶和酸将蛋白质局部水解为碎片、再用纸层析和纸电泳进行分离,以及二硝基氟苯标记测定氨基末端氨基酸等方法,经十年苦功,终于在1956年解决了胰岛素全部氨基酸排列次序的问题。其后, Hirs、Moore 和 Stein 采用酶解分肽逐段测定的系统方法,测出核糖核酸酶全部壹级结构。这两件工作简洁漂亮,一时模仿者颇不乏人。随着分肽与末端分析技术的进步,解决一个分子量较小的蛋白质所需的时间,越来越短。截至1962年秋,氨基酸排列次序全部解决的,还有烟草花叶病毒亚

基 (Schramm、Fraenkel-Conrat 等)、細胞色素 c (Tuppy, Smith 等)、人血紅蛋白 (Braunitzer 等) 等。即将解决的还有木瓜蛋白酶 (Smith 等)、肌紅蛋白 (Edmundson)、胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶 (Keil) 等。这些蛋白质或亚基, 分子量都在两万多以下。

我們前此^[1,2] 曾介紹过胰島素、核糖核酸酶和烟草花叶病毒亚基的壹級結構。现将功能上相近或相关的血紅蛋白、肌紅蛋白和細胞色素 c 的氨基酸排列次序列于图 1 和 2。

成年人正常血紅蛋白分子中有两条 α 鏈、两条 β 鏈。 α 鏈与 β 鏈的化学結構很相似, 在氨基酸排列次序中, 将近一半, 即共有 66 处相同。肌紅蛋白的功能一如血紅蛋白, 也是氧的载体, 但存在于肌肉而非血液之中。分子中只有一条肽鏈。鯨肌紅蛋白与 α 鏈和 β 鏈三者有 22 处相同。从图 1 可以看出, 几个主要的脯氨酸、組氨酸和賴氨酸出现的位置相当, 如果排齐, 則也有一些丙氨酸、白氨酸、酪氨酸和甘氨酸的位置互相符合。考虑到种属的差异^[1,2] 同种的血紅蛋白与肌紅蛋白之間, 壹級結構的相类之处可能更多。

至于另一个只具一条肽鏈的馬心細胞色素 c, 則氨基酸排列次序即沒有这类的规律性。它同血紅蛋白的 α 或 β 鏈和肌紅蛋白之間, 并无相似之处。这也是可以預期的, 因为从功能上看, 細胞色素 c 虽然参与体内的氧化还原作用, 但它并不象另两种蛋白那样做为氧的载体。

但在找寻結構与功能关系时, 有时还有一条捷徑, 即应用 Ingram 的所謂“指紋法”。例如, 有一种貧血病患者的紅血球在缺氧时形成镰刀状, 这种病可以遗传到下代。追根到底, 病态的血球起因于病态的血紅蛋白分子。为了追踪病态分子与正常分子在化学結構上有无差別, 将两种血紅蛋白都用蛋白水解酶在同样条件下切成多肽碎片, 比較其“指紋”, 即双向电泳及层析图谱 (图 3)。相同的点可以不顾, 只需比較有差异的肽段的化学結構即可。这样, 工作量不知节约多少。找出的“病因”是: 在镰刀状紅血球血紅蛋白的 β 鏈中, 第 6 个氨基酸是纈氨酸而不是正常的谷氨酸。在 574 个氨基酸中, 有两个这样的置換, 即引起如此严重的后果!

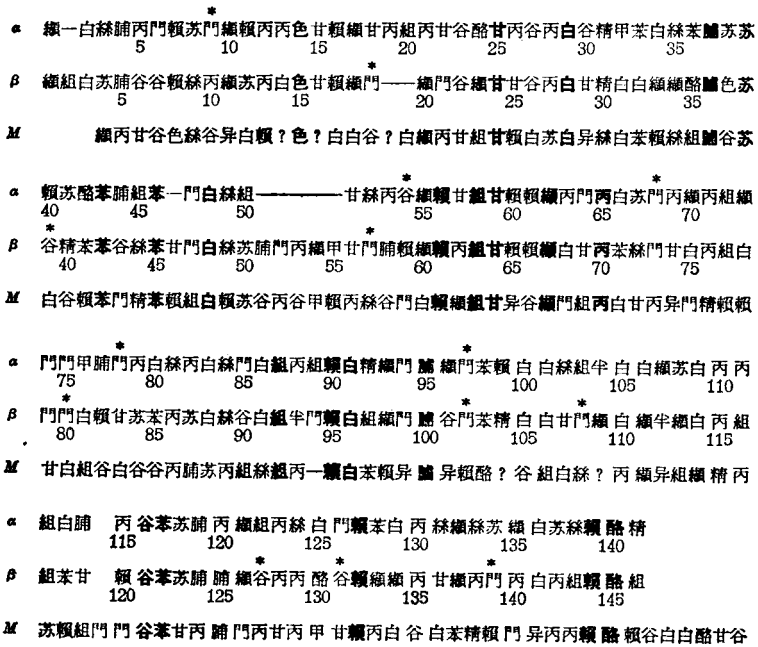


圖 1 人血紅蛋白和鯨肌紅蛋白的氨基酸排列次序

α ——人血紅蛋白 α 鏈 β ——人血紅蛋白 β 鏈 M ——鯨肌紅蛋白
 每個字系氨基酸簡稱。此中門、苯、甲、昇、半分別代表門冬、苯丙、甲硫、
 昇白和半胱氨酸

*——酰胺。以下同此。

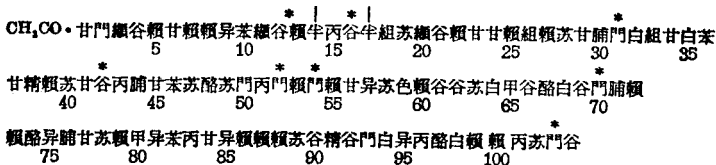


圖 2 馬心細胞色素 c 的氨基酸排列次序

|| 血紅素輔基聯結處

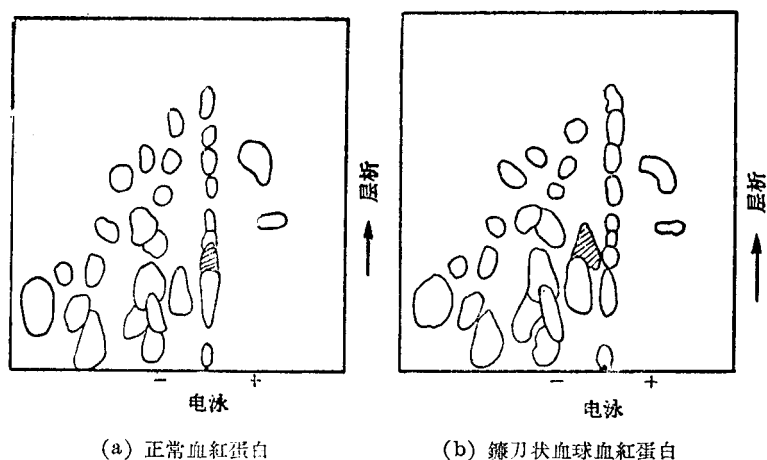


图3 人血紅蛋白的酶解图谱
(有差异的肽用横纹标出)

近几年来，发现有越来越多的与正常成年人血紅蛋白略有差异的血紅蛋白。它們很多引起貧血等病变，而且是可遗传的。分子的“病因”，都經指纹法証明：在于血紅蛋白分子的 α 鏈、 β 鏈，或两种鏈上，有个別氨基酸被置換。现将已知的几种病态血紅蛋白化学結構变异之处列于表1。

“指纹法”还被用来研究：(1)蛋白质分子的种属差异、即同一种蛋白质在不同动物中可能有的細微的壹級結構的差异。(2)微观差异，即同一动物的同一蛋白质有时可能具有两种甚至几种共存的变种，其間差別可能也仅在于少数氨基酸。(3)遗传变异，例如病毒的核酸經化学处理后，其所引起病毒后代变种的蛋白质部分中局部氨基酸排列次序相应的改变。

仅仅知道蛋白质的壹級結構，自然还不足以了解蛋白质的立体結構和功能；但如欲深入了解結構与功能間的关系，壹級結構实是必需的知識。上面所举的一些例子，已足以說明：这几年来蛋白质壹級結構的測定为探索結構和功能的关系上，打开了一个如何重要的缺口！它們也証明：在解决极其复杂的生物高分子的化学

表1 病态血红蛋白的化学结构

血 紅 蛋 白	氨 基 酸 的 置 換
正常 Hb A	α -鏈 1 16 30 57 58 68 * 116 141 纈...賴...谷...甘...組...門...谷...精
Hb I	門
Hb G _{Honolulu}	* 谷
Hb N	門
Hb M _{Boston}	酪
Hb G _{Philadelphia}	賴
Hb O _{Indonesia}	賴
Hb A	β -鏈 1 6 7 26 63 67 121 146 纈...谷...谷...谷...組...纈...谷...組
Hb S	纈
Hb C	賴
Hb G _{San José}	甘
Hb E	賴
Hb M _{Sarkatoon}	酪
Hb Zurich	精
Hb M _{Milwaukee}	谷
Hb D _{Spunjab} (=D _γ)	* 谷
Hb O _{Arabia}	賴

结构方面，生物化学的方法呈现了显著的优越性。核酸结构的研究，正沿着类似的道路发展。

二、蛋白质的立体结构

在蛋白质分子中，肽链按螺旋状卷曲，在圈与圈之间主要靠氢键维系固定，这是二级结构。螺旋又按一定方式折迭盘曲，是为三级结构。还有更复杂的蛋白质，它们是由许多条盘曲的螺旋肽链，即亚基，按一定方式、借氢键、疏水键或静电吸引堆积而成的，这是四级结构。

在蛋白质立体结构的研究中，一个划时代的贡献是鲸肌红蛋白和馬血红蛋白立体结构基本的解决。X-射线衍射技术发挥了巨

大作用。Perutz 试图解决馬血紅蛋白的空間构型已經 25 年，其同工作者 Kendrew 研究鯨肌紅蛋白也将 14 年。通过长期的摸索試探，几年来在技术上又有重金属标记、同晶置换等新的进展，从而先后于 1957、1959 年将两种蛋白质分子的貳、叁級結構初步闡明。

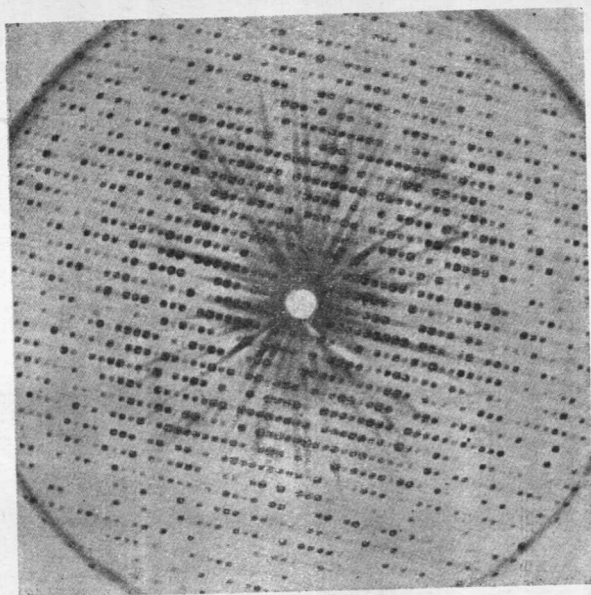
肌紅蛋白分子中有一个血紅素輔基，153 个氨基酸，2600 多个原子。对于 X-綫晶体分析，这是一个极其复杂的体系。在衍射图谱中，間距大于 6 Å 的衍射点有 400 个，大于 2Å 的有 9600 个，每一个都需測其位置、强度，并与标记同晶的衍射点相比。分析的工作异常繁复。我們前此^[1,2]曾介紹了 Kendrew 所获得的肌紅蛋白三度空間模型。这是一个不规则的几何形状，肽鏈螺旋盘来盘去，空隙中藏有一个血紅素輔基。截至 1962 年秋，我們所获知的重要細節是：

(1) 肽鏈的 75% 是螺旋，而且是右旋的 α -螺旋，第一次在球状蛋白中直接証实了 Pauling 和 Corey 的 α -螺旋肽鏈結構理論。根据他們的推断，肽鏈的一种最稳定的构型是螺旋状，每隔 3.6 个氨基酸单位，螺旋即上升一圈。螺旋靠鏈內氢鍵維系固定。这个理論自 1951 年提出之后，对蛋白质化学的发展，曾起了很大的促进作用。

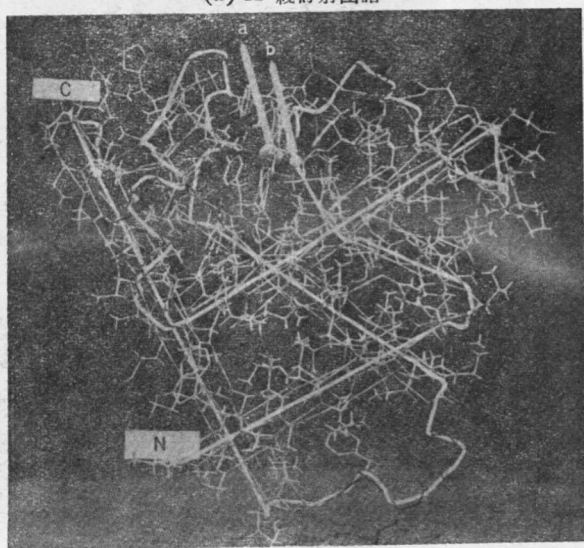
(2) 已能凭借 X-綫衍射数据，准确地或較准确地直接測出或可說“看到”这个分子 153 个氨基酸中几乎每个的位置。其結果与用生化方法所測得肽段局部排列次序的数据可互相參証。图 4 即显示 2 Å 水平分析的結果。(a) 是鯨肌紅蛋白的一张 X-綫衍射图谱，是謎語，(b) 是分析所得的結果，是謎底。

(3) 1.5 Å 水平分析的結果，显示肌紅蛋白是一紧密折叠而不透水的結構。极性側鏈，除了个别完成特殊功能者外，都分布于表面。表面电荷分布均匀。結合水和氢鍵、盐鍵、van der Waal 鍵等結構都清晰可“见”。

几十年来关于蛋白质結構所积累的重要的观念，在肌紅蛋白的晶体分析中，可以說全部得到直接的確証。



(a) X-綫衍射图谱



(b) 立体結構模型

图4 鯨肌紅蛋白的立体結構

血紅蛋白的晶体分析虽开始在先,但因探索途径,中間走了弯路。其后使用了与研究肌紅蛋白同样的方法,才获得进展。目前分析水平仅达 5.5 Å, 但已找出肽鏈盘曲的輪廓。一个惊人的发现即 α 鏈与 β 鏈的空間构型与肌紅蛋白极为相似^[1,2]。这与壹級結構研究的結果正好互为补充,相得益彰。

对于肌紅蛋白和血紅蛋白的 X-綫晶体分析,为蛋白质空間构型的研究找到了钥匙,打开了新的天地。利用同一个方法,可以准确地测知分子的壹級到肆級結構。这件开辟途径的成就,使得一些迄今悬而未决的蛋白质晶体分析工作,如 Hodgkin 和 Low 关于胰島素、Carlyle 和 Harker 关于核糖核酸酶的研究获得重要启示。胰凝乳蛋白酶原和溶菌酶晶体的分析,也有了初步成果。这一些蛋白质空間結構的闡明,估計将只是工作量与時間的問題。

值得重視的是:对于血紅蛋白和肌紅蛋白的一些嶄新的知識——空間結構、化学結構、分子病及其遺传、种属差异、微观差异等等——差不多都在同一时期开花結果,其相互之間及其对今后发展的影响是可以預期的。不同学科从不同角度对这一对象获得的知識,汇为洪流,在蛋白质研究的进展中,构成了动人心弦的一幕。

血紅蛋白分子的四个亚基,两条 α 鏈和两条 β 鏈,在空間中按一四面体方式紧密相接,我們前此曾介紹过这个肆級結構的示意图^[1,2]。我們也介紹了 X-綫衍射所获得的另一輝煌成果,即烟草花叶病毒 2,300 个亚基如何以螺旋状堆积排列,形成一棒状的大分子。从简单的空間排列原則出发, Crick 和 Watson 曾企图解释为什么小的病毒多是棒状或接近球状的多面体——这是大量相同亚基圍繞核酸排列最簡單和占有空間最經濟的方式。他們更推断球状病毒亚基的数目可能是 12 的倍数。近几年来,越来越多的例子証实了这种推断。在蛋白质肆級結構这一重要領域中, X-綫衍射与电子显微鏡两种技术胜利会师。自从 Horne 在制样品时引进了金属“反染法”以来,近两三年利用电子显微鏡揭露了不少較大的蛋白质,特別是病毒蛋白肆級結構的秘密(图 5~8)。我們直接

看到了一个何等美丽的、有着简洁规律的微观世界！

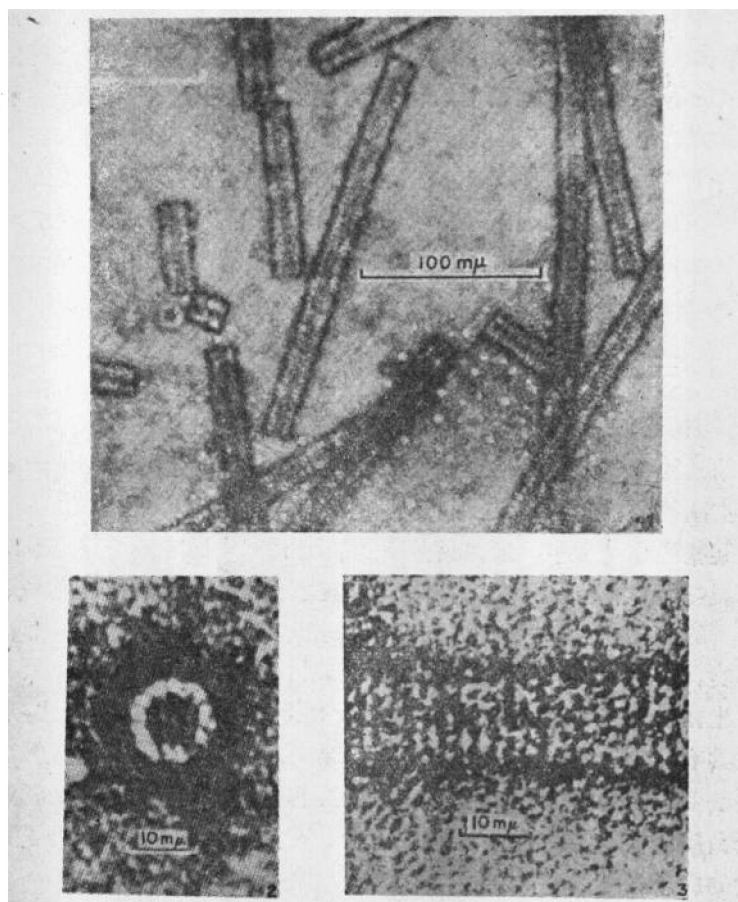


图5 电子显微镜下烟草花叶病毒的四级结构
(注意蛋白亚基的螺旋排列)

一个更为重要、更为艰巨的课题是测定蛋白质在溶液中的构型。更重要,是因为机体组成的大部分是水,一般蛋白质的活动是在水介质中进行的。更艰巨,是因为一在水中, X-射线衍射和电子显微镜观测便难发挥力量。但如何解决这个难题,几年来也有了重要的苗头。

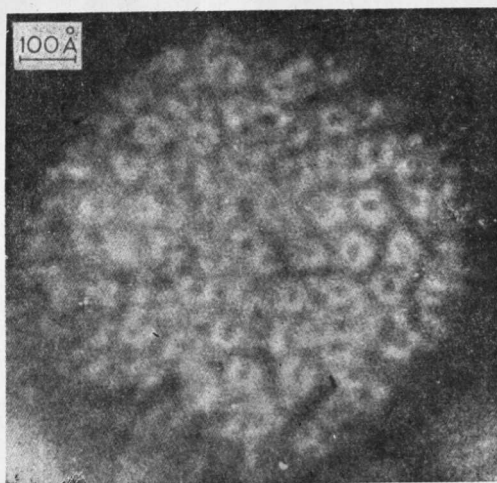
Linderstrøm-Lang 和 Doty 分别应用重氢交换法和旋光色散法证明在溶液中天然蛋白质具有螺旋构型。这些新技术、结合理论上的新发展,已逐渐趋向定量化。例如最近 Doty 等把旋光色散的研究从可见光推向紫外范围,大大增加了这个“翻新”技术的威力。他们证明了肌红蛋白中肽链的 75% 的右旋 α -螺旋,在晶体溶于水后,仍全部保留。在紫外范围对偏振光色散所呈现的所谓 Cotton 效应,和远紫外吸收光谱,也已被利用来测量肽链中的螺旋度。这些工作正在发展,未来几年中,我们将看到它们深远的影响。

三、蛋白质分子的局部仍可能具有生物活力

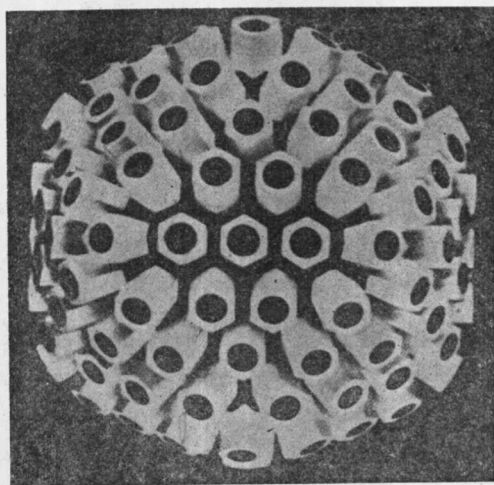
归根到底,每种蛋白质的特异性决定于壹级结构,它为更高级的结构提供了必需的基础。每种蛋白质有特定的壹级结构,一定的空间构型,一定的大小形状,并完成特殊的生化功能。但在机体的某些生化过程中,蛋白质分子的肽链需首先局部地按特定方式断裂,然后才呈现生物活力,例如血液凝固时血纤蛋白和凝血酶系复杂的变化,消化道中一系列蛋白质水解酶酶原激活的变化,都属此类。在这些实例中,机体首先所合成的,是无活力的蛋白,只有在生化功能需要时,才通过迅速而微妙的化学与物理化学变化,形成具有活力的新分子。另一方面,人为地、粗暴地将蛋白质壹级结构改变,观察其对功能的影响,寻找具有原活力的碎片,也是研究蛋白质结构功能关系的重要途径。几年来,这两方面都取得了重要的成果。

此中,血液凝固时血纤蛋白的变化,研究得比较深入,可做为这方面的范例。

当动物体受到创伤而流血时,由于血浆中有血纤蛋白原存在,受到凝血酶的作用,立即在伤口附近聚合成胶膜,即血纤蛋白,敷盖伤口,完成了止血的功能。除此而外,血液中还存在着另一体系,即血纤蛋白溶酶和其酶原。它的作用是使血纤蛋白溶解。这种与凝血相反的过程有着重要的生理意义,例如参与消炎、创伤愈合、



(a) 电子显微图



(b) 模 型

图6 疱疹病毒的肆級結構
(注意空心蛋白亚基按多面体的排列)