

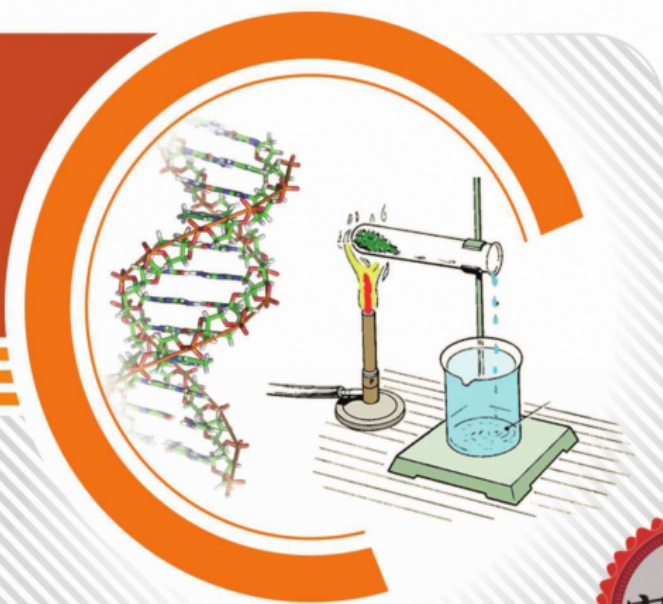


高等学校规划教材 | 畜牧兽医类

# 动物 生物化学

主编 ● 甘玲 罗献梅

DONGWU SHENGWU  
HUAXUE



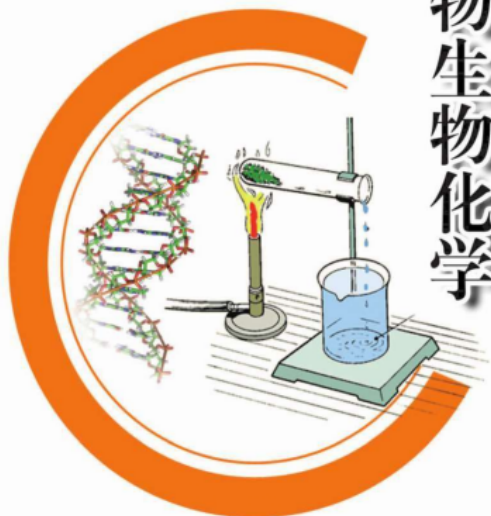
案例版



西南师范大学出版社  
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位

◎责任编辑：杜珍辉

◎封面设计：·魏显锋 熊艳红



# 动物生物化学

 HUAXUE

DONGWU SHENGWU

ISBN 978-7-5621-7025-9



9 787562 170259 >

ISBN 978-7-5621-7025-9

定价：40.00元

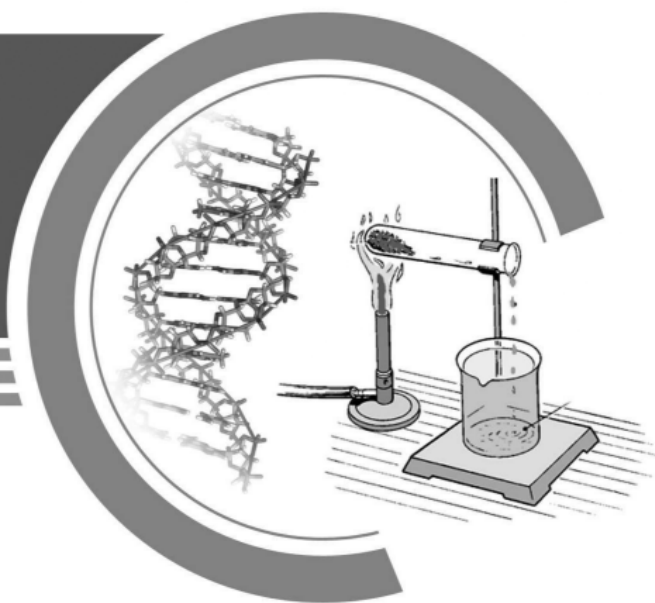


高等学校规划教材 | 畜牧兽医类

# 动物 生物化学

主编 ● 甘玲 罗献梅

DONGWU SHENGWU  
HUAXUE



西南师范大学出版社  
国家一级出版社 全国百佳图书出版单位

### 图书在版编目(CIP)数据

动物生物化学 / 甘玲, 罗献梅主编. — 重庆: 西南师范大学出版社, 2014.9

ISBN 978-7-5621-7025-9

I. ①动… II. ①甘… ②罗… III. ①动物学-生物化学 IV. ①Q5

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第187296号

# 动物生物化学

DONGWU SHENGWU HUAXUE

主 编 甘 玲 罗献梅

副主编 郭建华 张恩平 赵素梅 申 红

责任编辑: 杜珍辉

封面设计:  魏显锋 熊艳红

出版发行: 西南师范大学出版社

地址: 重庆市北碚区天生路1号

邮编: 400715

市场营销部电话: 023-68868624

<http://www.xschs.com>

经 销: 新华书店

印 刷: 重庆荟文印务有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

印 张: 22.5

字 数: 570千字

版 次: 2015年2月第1版

印 次: 2015年2月第1次印刷

书 号: ISBN 978-7-5621-7025-9

定 价: 40.00元

衷心感谢被收入本书的图书资料的原作者, 由于条件限制, 暂时无法和部分原作者取得联系。恳请这些原作者与我们联系, 以便付酬并奉送样书。

若有印装质量问题, 请联系出版社调换。

版权所有 翻印必究

## 高等学校规划教材·畜牧兽医类

### 总编委会 / ZONG BIAN WEI HUI

---

总主编:王永才 刘娟

编委(排名不分先后):

刘娟	黄庆洲	伍莉	朱兆荣
罗献梅	甘玲	谢和芳	刘安芳
兰云贤	曾兵	杨远新	黄琳凯
陈超	王鲜忠	帅学宏	黎德斌
段彪	伍莲	陈红伟	左福元
蒲德伦	朱海生	王玲	

## 编委会 / BIAN WEI HUI

---

主 编:甘 玲 (西南大学)

罗献梅 (西南大学)

副主编:郭建华 (西南大学)

张恩平 (西北农林科技大学)

赵素梅 (云南农业大学)

申 红 (石河子大学)

编 委(排名不分先后):

申 红 (石河子大学)

甘 玲 (西南大学)

李卫真 (云南农业大学)

李凤鸣 (新疆农业大学)

张恩平 (西北农林科技大学)

张 耕 (西南大学)

罗献梅 (西南大学)

陈知龙 (西北农林科技大学)

张春冬 (重庆医科大学)

赵素梅 (云南农业大学)

钟 凯 (河南农业大学)

徐秀容 (西北农林科技大学)

郭建华 (西南大学)

# 前 言

生物化学是生物科学的基础,动物生物化学课程是动物科学、动物医学和水产养殖等专业的专业基础课。生物化学学科研究领域广泛,研究的最大特点是学科的前沿性及极强的交叉性,是现代养殖技术不可或缺的支撑学科。学好动物生物化学对深刻理解畜禽机体内物质代谢和能量代谢的状况,对于临床上畜禽代谢疾病的诊断与治疗具有重要的作用。

伴随学科建设进程的推进,为了深化课程体系与教学方法的改革,加强动物生物化学与专业课程密切的融合,提高畜牧兽医及水产养殖的教育教学质量,全国多所高校长期以来从事动物生物化学本科教学及科研的专家、教授编写了这本创新性的《动物生物化学》(案例版)教材。本教材可作为动物科学、动物医学和水产养殖等专业教材或参考书。所涵盖的内容可以满足教育部制定的畜牧兽医及水产养殖本科生教学要求、全国执业兽医医师资格和研究生入学考试的需求。

本教材共分20章。其中,第一章为绪论,主要对生物化学的概念、研究内容、发展简史、应用前景及与动物养殖及健康之间的关系等方面进行了系统的介绍。第二至五章介绍生物分子的结构和功能,重点描述核酸、蛋白质及酶等生物大分子结构与功能。第六至十一章,重点阐述糖、脂、蛋白质及核酸的中间代谢及相伴而行的能量代谢。第十二至十六章与遗传信息的传递相关,主要介绍遗传信息流向、基因表达的调控及核酸技术。鉴于基因组学和蛋白质组学技术目前在动物科学研究领域产生的巨大推动作用,基因组学与蛋白质组学也被纳入该部分。第十七至二十章归属于动物机能生化内容,主要包含了动物血液、部分组织、乳和蛋的生物化学知识。本教材各章节强调理论知识和实践技能的平衡发展,将理论知识与知识应用、学科发展、案例分析等有机地融合。另外,在教材呈现形式上,也将创新编写体例,提高教材的可读性和适用性,同时增强相关专业学生对动物生物化学的学习兴趣和创新思维方式。

生物化学学科发展突飞猛进,所涉及的知识广泛而深入,在编写过程中难免有疏漏或遗误,敬请各位同行及师生们在使用过程中提出宝贵意见。

甘 玲 罗献梅  
2014 年4 月于重庆

# 目 录

## 第一章 绪论

- 第一节 生物化学的概念 .....(001)
- 第二节 生物化学的研究内容 .....(001)
- 第三节 生物化学的发展简史 .....(002)
- 第四节 生物化学的应用和前景 .....(006)
- 第五节 生物化学与动物养殖及动物健康的关系 .....(007)

## 第二章 核酸的结构与功能

- 第一节 核酸的种类和化学组成 .....(009)
- 第二节 DNA 的分子结构 .....(012)
- 第三节 RNA 的分子结构 .....(014)
- 第四节 核酸的性质及应用 .....(016)

## 第三章 蛋白质的结构与功能

- 第一节 概述 .....(021)
- 第二节 蛋白质的化学组成 .....(022)
- 第三节 氨基酸 .....(023)
- 第四节 肽 .....(029)
- 第五节 蛋白质的分子结构 .....(031)
- 第六节 蛋白质结构与功能的关系 .....(039)
- 第七节 蛋白质的重要性质 .....(042)
- 第八节 蛋白质的分离提纯及应用 .....(046)

## 第四章 酶

- 第一节 概述 .....(048)
- 第二节 酶的组成与辅酶 .....(052)





第三节	酶的结构与功能的关系	·····	(060)
第四节	酶的作用机理	·····	(061)
第五节	酶促反应动力学	·····	(063)
第六节	酶的分离纯化和活力测定	·····	(072)
第七节	酶的活性调节	·····	(076)
第八节	酶工程简介	·····	(080)
<b>第五章</b>	<b>生物膜与物质运输</b>		
第一节	动物细胞形态的生物化学	·····	(085)
第二节	生物膜的化学组成	·····	(088)
第三节	生物膜的结构特点	·····	(090)
第四节	生物膜的功能	·····	(092)
<b>第六章</b>	<b>糖类代谢</b>		
第一节	概述	·····	(097)
第二节	糖类化合物	·····	(099)
第三节	葡萄糖的无氧分解	·····	(106)
第四节	糖的有氧氧化	·····	(113)
第五节	磷酸戊糖途径	·····	(120)
第六节	糖异生作用	·····	(122)
第七节	糖原的合成与分解	·····	(124)
第八节	糖代谢各个途径之间的关系	·····	(128)
<b>第七章</b>	<b>生物氧化</b>		
第一节	生物氧化概述	·····	(132)
第二节	生成ATP的氧化体系	·····	(134)
第三节	其他氧化体系	·····	(141)
<b>第八章</b>	<b>脂代谢</b>		
第一节	脂类及其生理功能	·····	(144)
第二节	脂肪的分解代谢	·····	(145)
第三节	脂肪的合成代谢	·····	(153)
第四节	脂肪代谢的调控	·····	(158)
第五节	类脂的代谢	·····	(160)



第六节 脂类在体内运转的概况 .....	(164)
<b>第九章 蛋白质的一般分解代谢</b>	
第一节 蛋白质在动物体内的生理功能 .....	(167)
第二节 蛋白质的酶促降解 .....	(167)
第三节 氨基酸的一般分解代谢 .....	(170)
第四节 氨的代谢 .....	(173)
<b>第十章 核酸的降解与核苷酸的代谢</b>	
第一节 核酸的降解 .....	(180)
第二节 核苷酸的降解 .....	(181)
第三节 核苷酸的生物合成 .....	(183)
<b>第十一章 物质代谢调节和细胞间信号转导</b>	
第一节 物质代谢联系与调节 .....	(192)
第二节 细胞间信号转导 .....	(196)
<b>第十二章 核酸的生物合成</b>	
第一节 DNA的生物合成(复制) .....	(206)
第二节 RNA的生物合成 .....	(217)
<b>第十三章 蛋白质的生物合成</b>	
第一节 蛋白质生物合成体系 .....	(227)
第二节 原核生物蛋白质合成过程 .....	(232)
第三节 真核生物蛋白质的生物合成 .....	(237)
第四节 蛋白质合成的调节 .....	(239)
第五节 蛋白质合成后的加工 .....	(240)
<b>第十四章 基因表达调控</b>	
第一节 概述 .....	(244)
第二节 基因表达的基本原理 .....	(245)
第三节 原核生物基因的表达调控 .....	(247)
第四节 真核生物的基因表达调控 .....	(252)



## 第十五章 核酸技术

- 第一节 DNA 重组技术 .....(260)
- 第二节 基因操作的主要技术 .....(268)
- 第三节 核酸技术的应用与发展 .....(275)

## 第十六章 基因组学与蛋白质组学

- 第一节 基因组学 .....(278)
- 第二节 蛋白质组学简介 .....(283)
- 第三节 基因组学及蛋白质组学研究在动物生产中的应用 .....(288)

## 第十七章 水盐代谢及酸碱平衡

- 第一节 体 液 .....(290)
- 第二节 水的代谢 .....(292)
- 第三节 钠、钾、氯的代谢 .....(294)
- 第四节 体液酸碱平衡 .....(300)

## 第十八章 血液生物化学

- 第一节 血液的化学成分 .....(307)
- 第二节 血浆蛋白 .....(308)
- 第三节 免疫球蛋白 .....(311)
- 第四节 血细胞代谢 .....(314)

## 第十九章 部分机体组织与器官的生物化学

- 第一节 神经组织生化 .....(319)
- 第二节 肌肉生物化学 .....(322)
- 第三节 肝脏生物化学 .....(325)
- 第四节 结缔组织生化 .....(331)

## 第二十章 乳和蛋的生物化学

- 第一节 乳的生物化学 .....(336)
- 第二节 蛋的生物化学 .....(341)

- 参考文献 .....(347)

# 第一章 绪论

地球上生物种类繁多,数量巨大,生命现象错综复杂,就自然科学而论,没有一门科学比生命科学更为复杂,更为神秘,更与人类自身息息相关。长期以来,人们为探索生命进行了不懈的努力,而生物化学是研究生命属性的一门学科,旨在从分子水平阐明生物的结构与功能,揭示生命的奥秘,探索生命现象的化学本质,以保障人类的健康和提高人类的生存质量。

## 第一节 生物化学的概念

生物化学是介于生物学与化学之间的一门边缘学科。传统的定义认为,生物化学是以生物体为研究对象,利用物理、化学或生物学的理论和方法,了解生物体的化学组成、结构以及物质和能量的化学变化过程与变化规律,同时研究这些化学变化过程或变化规律与生物体的生理机能和外界环境关系的学科。现代的定义则认为,生物化学是从分子水平阐明生物有机体化学变化规律以揭示生命现象本质的一门科学,即研究生物体的分子结构与功能、物质代谢与调节及其在生命活动中的作用。因此,生物化学(Biochemistry)是生命的化学,即以化学的观点从分子水平解释生命活动,探讨生命的奥秘。

按照研究对象的不同,生物化学可分为动物生物化学(Animal Biochemistry)、植物生物化学(Plant Biochemistry)和昆虫生物化学(Insect Biochemistry)等。如果以一般生物为研究对象,则称为普通生物化学或者直接称为生物化学。如果以生物不同进化阶段的化学特征(包括化学组成和代谢方式)为研究对象,则又派生出进化生物化学和比较生物化学。若以生物体的不同组织为研究对象,可分为肌肉生物化学和神经生物化学等。若以研究的物质不同来区分,又可分为蛋白质化学、核酸化学和酶化学等。此外,根据应用领域进行分类,生物化学还有更多的分支,如医学生物化学、农业生物化学、工业生物化学、环境生物化学和营养生物化学等。

## 第二节 生物化学的研究内容

生物化学研究的内容十分广泛,当代生物化学的研究主要集中在以下三个方面,这三个方面之间存在着密切的有机联系。

### 一、生物体的化学组成、分子结构及其功能

组成生物体的化学元素有30多种,主要是氢、氧、碳、氮、磷、硫、钙、镁、钠、钾、氯、铁等元素。这些元素又形成了成千上万的生物小分子。其中氨基酸(Amino Acid)、核苷酸(Nucleotide)和葡萄糖(Glucose)最重要,它们分别作为基本结构单元构建出了生物大分子蛋白质(Protein)、核酸(Nucleic Acids)和多糖(Polysaccharide)。生物大分子巨大的分子量、复杂的空间结构使它们具备了执行各种生物学功能的本领。细胞的组织结构、生物催化、物质运输、信号传递、代谢调节以及遗传信息的贮存、传递与表达等都是通过生物大分子及其相互作用来实现的。因此研究这些生物大分子具有重要的理论意义和实践意义。作为生物化学重要组成部分



的分子生物学便是以蛋白质、核酸等生物大分子的结构与功能、代谢与调节等为研究对象的一门科学。研究生物大分子的结构与功能及其相互关系、分子间的相互识别与相互作用是当代生物化学与分子生物学研究的热点。

此外,无机元素在生物体内也有其独特的作用,许多无机元素是蛋白质和酶(Enzyme)的重要组成部分,也参与体内的物质代谢、能量代谢以及信息传递和代谢调控。

## 二、新陈代谢及其调节

新陈代谢是生命的基本特征之一,正常的新陈代谢是生物体进行健康生命活动的必要条件。广义的新陈代谢是指生物机体与外界进行的物质和能量交换的过程,即物质的消化、吸收经中间代谢到废物排泄过程;狭义的新陈代谢是指中间代谢(Intermediary Metabolism),包括细胞中的物质代谢与能量代谢,也就是细胞中进行的化学过程。它们是由许多代谢途径(Metabolic Pathway)构成的网络。代谢途径指的是由酶催化的一系列定向的化学反应,是生物化学研究的重要内容之一。合成代谢将小分子的前体(Precursor)经过特定的代谢途径,构建为较大的分子,并且消耗能量;而分解代谢将较大的分子经过特定的代谢途径,分解成小的分子并且释放能量。在这个过程中,三磷酸腺苷(ATP)是能量转换和传递的中间体。合成代谢与分解代谢之间既互相联系,又彼此独立进行,这些代谢活动受到一系列精细、完善的调控,并按一定的规律有条不紊地进行。因此,动物机体中一旦物质代谢紊乱或调节失控就可能引起疾病。细胞中几乎所有的代谢反应都是由酶催化的,通过对酶的调节可改变细胞内的物质代谢。此外,细胞内存在的各种信号转导系统调节着细胞的生长、增殖、分化、衰老等生命过程。深入研究物质代谢有序调节的分子机制及其参与的细胞信号转导途径是近代动物生物化学研究的重要课题。

## 三、生物信息的传递及其调控

生命现象的另一个基本属性是能够进行自我复制,自我繁殖。动物机体通过个体的繁衍,将其遗传信息传给后代。DNA是主要的遗传物质,基因是DNA分子中编码活性产物的一段碱基序列(或功能片段)。细胞通过DNA复制将遗传信息由亲代传递给子代。在后代发育过程中,遗传信息自DNA传递给RNA,即按需要以特定的一段DNA为模板,在RNA聚合酶作用下,合成与之互补的RNA。在细胞质中又以mRNA为模板,在核糖体、tRNA和多种蛋白因子的共同参与下,将mRNA中由核苷酸序列决定的遗传信息转变为由20种常见氨基酸组成的各种蛋白质,并由蛋白质执行各种生命活动。基因信息传递参与了遗传、变异、生长、发育与分化等诸多生命过程,与动物机体的许多遗传性、代谢异常性疾病等的发病机制密切相关。

基因表达与调控是核酸结构与功能研究的一个重要内容,目前,对原核生物的基因调控已有较深入的了解。真核生物基因表达调控较复杂,内容涉及异染色质与常染色质活化;DNA构象变化与化学修饰等。随着DNA重组、转基因、基因诊断与治疗等生物技术的发展,动物遗传育种、营养调控及基因疾病学的研究和临床诊断等必将被推向新的台阶。

**【思考】** 动物生化研究的内容相互之间有什么关联?

## 第三节 生物化学的发展简史

生物化学像其他学科的建立和发展一样,一般很难准确判定这门学科是何时何地、由何人创立的。它是社会的产物,是人们从生产劳动中不断总结和归纳的人类知识的结晶。生物化学的发展,在欧洲约在200年前开始,并逐渐发展,一直到1903年才引用“生物化学”这个名称

而成为一门独立的学科。而在我国,生物化学在生产实践中的应用,可追溯到公元前21世纪,如相传夏人仪狄借助于“曲”(酒母)酿酒,公元前12世纪,劳动人民将谷、豆发酵,捣烂后加盐而制成酱。另外在医药方面,许多因膳食不平衡而导致的营养代谢性疾病在古代医学都有独到的治疗方法,如公元4世纪,葛洪所著《肘后备急方》记载用富含碘的海藻酒治疗瘰病,即地方性甲状腺肿。孙思邈(公元581~682年)认为可用富含维生素 $B_1$ 的车前子、杏仁、大豆等来治疗脚气病,用富含维生素A的猪肝可治疗夜盲症。古代劳动人民已经开始用动物脏器和腺体治病,如将紫河车(胎盘)用作强壮剂,蟾酥(蟾蜍的皮肤疣分泌物)用于消炎,古人还掌握了利用皂角汁从尿中沉淀固醇物质(称为秋石)的技术。因此生物化学是一门既古老又年轻的学科。

根据很多史实的记载,我们可以粗略地把生物化学的发展分为三个阶段,即生物化学学科的早期启蒙阶段、生物化学学科的确立与发展阶段以及现代生物化学的发展阶段。

### 一、生物化学学科的早期启蒙阶段(萌芽时期)

这个阶段也称为生物化学初期,主要经历了从18世纪中叶至20世纪初长达一个多世纪的阶段。在这个阶段,主要的研究工作集中在对生物体化学组成的客观描述,包括组成生物体的物质含量、分布、结构、性质与功能,故又称为叙述性生物化学阶段或静态生物化学阶段。该阶段主要的研究贡献是分离和鉴定了各种氨基酸、羧酸、糖类等生物小分子;对三大供能营养素——糖、脂肪和蛋白质的性质进行了较为系统的研究;证实了肽链中肽键的作用,发现了淀粉酶、蛋白水解酶,开始进行酶学研究;人工合成简单多肽化合物并可被消化酶水解;提出了酶催化作用专一性机理“锁钥学说”;发现核酸并确定嘌呤和嘧啶环的结构。此阶段部分重要历史事件列举如下。

1770~1774年,英国J.Priestly发现了氧气,并指出动物消耗氧而植物产生氧;1770~1786年,瑞典人C.W.Scheele分离了甘油、柠檬酸、苹果酸、乳酸、尿酸等;1779~1796年,荷兰人J.Ingenbousz证明在光照条件下绿色植物吸收 $CO_2$ 并放出 $O_2$ ;1828年,Wohler合成了有机物尿素;1877年,Hoppe-Seyler首先使用“Biochemie”,生物化学作为一门新兴学科诞生;1897年,Buchner证实不含细胞的酵母提取液也能使糖发酵。

事实上,该时期,物质代谢方面的研究也取得了一定的成果。例如,在19世纪20年代,研究表明动物在呼吸过程中消耗氧的同时,呼出 $CO_2$ 并释放出热量,科学家认为这是物质在体内“燃烧”的结果,从而开启了生物氧化及能量代谢的研究。另外,19世纪40年代提出的新陈代谢概念,表明体内的物质处于合成与分解的动态化学过程。

### 二、生物化学学科的确立与发展阶段(1900~1953年)

20世纪以来,随着分析鉴定技术的进步,尤其是放射性同位素技术的应用,生物化学进入动态生物化学的阶段。在此阶段,西方科学家一方面在营养、酶学及内分泌的研究方面做出了重大贡献,如研究了动物机体对蛋白质的需要,尤其是必需氨基酸、必需脂肪酸、多种维生素及微量元素在机体中的重要性;发现了多种激素并对其进行纯化与合成;制备出多种酶的结晶。另一方面,该阶段最主要的进展是利用化学分析及放射性核素示踪技术基本弄清了动物机体内的主要物质代谢途径,尤其是物质分解代谢途径,如脂肪酸的 $\beta$ -氧化途径、糖酵解、鸟氨酸循环及三羧酸循环途径,因此,该阶段又被称为动态生物化学阶段,标志了生物化学发展的新纪元。下面列举一些主要事件说明生物化学在这个阶段的发展经历。

1911年,Funk结晶出治疗“脚气病”的维生素B复合物,提出“Vitamine”,意即“生命胺”。后来又将“Vitamine”改为“Vitamin”。1926年,Sumner首先从刀豆中把脲酶分离结晶出来,并证明脲酶的化学本质是蛋白质,具有酶的活性。同年Svedberg创建第一台分析用超高速离心机,并用其测定了血红蛋白的相对分子量。同年Went从燕麦胚芽鞘中分离出植物的生长素。1928



年,Griffith 等通过肺炎双球菌的转化实验提出了“转化因子”的概念。20世纪30年代,德国科学家Krebs向悬浮有肝切片的缓冲液中加入鸟氨酸(Ornithine)、瓜氨酸(Citrulline)或精氨酸(Arginine)中的任何一种时,都可促进肝切片加快尿素合成,由此提出了鸟氨酸循环。1934年,Bernal和Crowfoot获得第一张胃蛋白酶晶体的详尽X射线衍射图谱。Astbury于1941年获得第一张DNA的X射线衍射图谱。

20世纪40年代,德国科学家Krebs对生物体内有机化合物被氧化成各种中间产物(如柠檬酸、琥珀酸、延胡索酸及乙酸等)进行了系统的研究,提出代谢物质最后共同的氧化途径——三羧酸循环。这是生物学史上又一个里程碑。为此,他获得了1953年的诺贝尔生理学或医学奖。1944年,Avery用实验证明,使无毒的R型肺炎双球菌转变成致病的S型肺炎双球菌,DNA是转变的基本要素,提供了在细菌的转化中携带遗传信息的是DNA,而不是蛋白质的证据。1952年,Hershey和Chase又用同位素示踪技术证明T<sub>2</sub>噬菌体感染大肠杆菌,主要是核酸进入细菌体内,而病毒外壳蛋白留在细胞外。烟草花叶病毒的重建实验进一步证明,病毒蛋白质的特性由RNA决定,即遗传物质是核酸而不是蛋白质。至此,核酸作为遗传物质才被普遍地接受。

20世纪50年代,Chargaff根据不同生物来源DNA碱基组成,提出了Chargaff原则,即DNA的碱基组成有一个共同的规律,胸腺嘧啶的摩尔含量总是等于腺嘌呤的摩尔含量,胞嘧啶的摩尔含量总是等于鸟嘌呤的摩尔含量。1951年,Pauling和Corey应用X射线衍射晶体学理论研究了氨基酸和多肽的精细空间结构,提出两种有周期规律性的多肽结构学说,即 $\alpha$ 螺旋和 $\beta$ 折叠模型。1953年是开创生命科学新时代的一年,具有里程碑意义的是Watson和Crick发表了《脱氧核糖核酸的结构》的著名论文,他们在Franklin和Wilkins的X射线衍射研究结果的基础上,推导出DNA双螺旋结构模式,开创了生物科学的新纪元;同年,Sanger历经8年的研究,完成了第一个蛋白质——胰岛素的氨基酸全序列分析。

综上所述,在这一阶段,科学家们基本上阐明了酶的化学本质以及能量代谢有关的物质代谢途径。此外也测定了相关蛋白质一级结构和二级结构及DNA二级结构,使生物化学获得空前的发展,以强有力的态势跨入生命科学中最富影响的学科行列。

### 三、现代生物化学的发展阶段(1953年至今)

20世纪50年代以来,生物化学的发展进入了一个新的高潮——分子生物学崛起,即分子生物学时期。所以,分子生物学被视为生物化学的发展与延续。在此阶段,科学家们借助于各种理化技术,对蛋白质、酶、核酸等生物大分子进行化学组成、序列、空间结构及其生物学功能的研究,并发展到人工合成,创立了基因工程,而且完成了人类基因组DNA测序计划,跨入了“由蛋白质组到基因组”的新时代。重要的历史事件如下。

1958年Crick提出分子遗传的中心法则,从而揭示了核酸与蛋白质之间的内在关系,以及RNA作为遗传信息传递者的生物学功能,指出信息在复制、传递及表达过程中的一般规律,即DNA→RNA→蛋白质。

1960年,Marmur和Dofy发现DNA的复性作用,确定了核酸杂交反应的专一性和可靠性;Rich证明DNA→RNA杂交分子与核酸间的信息传递有关。与此同时,在蛋白质结构研究方面,Kendrew等得到肌红蛋白0.2 nm分辨率的结构,Perutz等得到血红蛋白0.55 nm分辨率的结构。1961年是生物化学暨分子生物学发展史上不平凡的一年。Jacob和Monod提出操纵子学说,发表了论文《蛋白质合成的遗传调节机制》;同年,Brenner等获得mRNA的证据;Crick等证明了遗传密码的通用性。1962年,Arber提出限制性核酸内切酶存在的第一个证据,推动了之后对该类酶的纯化,并由Nathans和Smith将其应用于DNA图谱和序列分析中。1965年,Holley等用重叠法首次测定了酵母丙氨酰tRNA的一级结构,为广泛、深入地研究tRNA的高级结构奠定了基础。1967年,Gellert发现DNA连接酶,能将具有相同黏性末端或者平末端的DNA片段连接在一

起;同年,Phillips及其同事确定了溶菌酶0.2 nm分辨率的三维结构。

1970年, Temin和Baltimore几乎同时发现逆转录酶,证实了Temin 1964年提出的“前病毒假说”,阐明在劳氏肉瘤病毒(RSV)感染以后,首先产生含RNA病毒基因组全部遗传信息的DNA前病毒,而子代病毒的RNA则以前病毒的DNA为模板进行合成。1972~1973年, Berg等成功地进行了DNA体外重组;Cohen创建了分子克隆技术,在体外构建成具有生物学功能的细菌质粒,开创了基因工程新纪元。与此同时,Boyer等在*E.coli*中成功表达了人工合成的生长激素释放抑制因子基因。1975年,Southern发明了凝胶电泳分离DNA片段的印迹法;Gruenstein和Hogness建立了克隆特定基因的新方法;Farrell发明了双向电泳分析蛋白质的方法,为生物化学检测创造了重要的技术条件;Blobel等报道了蛋白质合成中的信号肽。1977年,Berget等发现“断裂”基因;Sanger和Gilbert分别创立“酶法”“化学法”测定DNA序列,标志着分子生物学新时代的到来。1979年,Solomon和Bodmer最先提出至少200个限制性片段长度多态性(Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP),可作为连接人的整个基因组图谱之基础;与此同时我国学者洪国藩创立了测定DNA序列直读法。

1982年,美国加州大学的神经病学教授Prusiner发表了一篇论文,提出“毒蛋白”即“朊病毒”的新概念,并提出“蛋白质构象致病假说”,认为这种蛋白质是引起人和动物某些脑神经病变的原因。1985年,Saiki等发明了聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction, PCR),Smith等报道了DNA测序中应用荧光标记取代同位素标记的方法,Miller等发现DNA结合蛋白的锌指结构。1985年5月,美国加州大学Santa Cruz分校校长Sinsheimer提出“人类基因组研究计划”(Human Genome Project, HGP)。美国、英国、法国、德国、日本和中国科学家共同参与了“人类基因组计划”。2003年4月14日,科学家们宣布人类基因组序列图绘制成功。1989年,Greider等首先在纤毛原生动物中发现的端粒酶(Telomerase)是以内源性RNA为模板的逆转录酶,从而改变了对DNA全程复制模式的认识,增强了对DNA结构多变性的层次性观念。

1993年, Lee等人在对秀丽新小杆线虫(*C.elegans*)进行突变体的遗传分析中,意外发现了一种控制细胞发育时序的长度约为22 bp的lin-4 RNA,后期研究表明这种小分子RNA为microRNA。1994年,日本科学家在Nature Genetics上发表了水稻基因组遗传图。1997年,Wilmot等首次不经过受精,用成年母羊体细胞的遗传物质,成功地获得克隆羊——多莉(Dolly)。1999年, Blobel发现了细胞中蛋白质有其内在的运输和定位信号,并具体显示了这种信号发送过程中的分子状态,为此荣获该年度诺贝尔生理学或医学奖。

2001年, Hartwell发现并研究细胞周期分裂基因, Nurse和Hunt分别发现了调节细胞周期的关键分子——周期蛋白依赖性激酶(Cyclin Dependent Kinases, CDKs)及调节CDKs功能的因子——细胞周期蛋白。2003年, Peter Agre发现真核细胞膜水通道蛋白并描述了其特征, Mackinnon阐述了钾离子通道结构及其功能机制。两者均解决了前4次诺贝尔奖获得者所遗留的尚不清楚的问题。2009年诺贝尔生理学或医学奖授予美国加利福尼亚旧金山大学的Elizabeth Blackburn、美国巴尔的摩约翰·霍普金斯医学院的Carol Greider、美国哈佛医学院的Jack Szostak以及霍华德休斯医学研究所,以表彰他们发现了端粒和端粒酶保护染色体的机理。

从上述的生物化学发展中可以看出,自20世纪50年代以来以核酸的研究为核心,带动着分子生物学纵向深入发展。如50年代的双螺旋结构,60年代的操纵子学说,70年代的DNA重组,80年代的PCR技术,90年代的DNA测序都具有里程碑的意义,从而将生命科学带向一个由宏观到微观再到宏观的发展过程。现代生物化学正在进一步发展,其基本理论和实验方法均已渗透到生命科学的各个领域,并不断取得重要进展;新学科的不断出现与发展又为生物化学提供了新的理论和研究手段。

**【讨论】** 了解生物化学发展中获得诺贝尔奖的重大事件及其实验方案。



## 第四节 生物化学的应用和前景

生物化学理论与医药、轻工业、农业生产等重要领域的发展关系密切,其技术方法与化学工程技术相结合并被广泛应用于这些领域。生物化学正在并已经为社会经济发展和提高人民物质生活水平发挥着重要作用。

生物化学是生命科学中其他学科的基础。根据生物学原理,结构是为功能而设计的,结构的解析要为功能表达服务。所以生物化学的中心任务就是要把生物分子结构落实到功能上。当前随着人类基因组研究的重点正在由结构向功能转移,一个以基因功能研究为主要内容的后基因组(Post-genome)时代已经到来,它在理论上的主要任务是研究细胞全部蛋白图式,或者说“从基因组到蛋白质组”。显然,这就提示我们,生物化学研究的重点又将回到蛋白质上来。随着21世纪的发展,生命科学将进入一个新的时代,同时许多新型学科(如生物信息学等)也应运而生。作为学习“生物化学”课程的学生,不但要牢固掌握本学科的基本特征和原理,而且要了解本学科的发展趋势,从而更好地适应新世纪对生命科学发展的需要。

### 一、功能基因组学

通过对DNA序列的了解,可深入研究影响个体发育和整个生物体特定序列表达的规律即功能基因组学。该项研究是在选择典型生物材料的基础上,搞清楚全部染色体的序列、基因组的碱基长度、可能编码蛋白质的基因以及编码rRNA、snRNA和tRNA的基因等。在此基础上进一步研究生物体全套基因在不同生长发育期内有多少基因协同表达,阐明适应于某一时期的全套基因表达谱(Gene Expression Profile)。面对上述复杂的问题,需要在方法上有重大突破。创造出高效、快速并能同时测定基因组中成千上万基因的功能的方法。

目前用于检测分化细胞基因表达谱的方法有基因表达连续分析法(Serial Analysis of Gene Expression, SAGE)、微阵列法(Microarray)、有序差异显示(Ordered Differential Display, ODD)、DNA芯片(DNA chip)技术以及高通量测序(Deep-sequencing)等。随着今后功能基因组学的深入发展,将会有更好的方法和技术出现。

### 二、蛋白质组学

以特定基因组在特定条件下所表达的全部蛋白质为研究对象,研究细胞内蛋白质及其动态变化规律。通过对蛋白质动态性、时空性、可调节性以及细胞和生命有机体整体水平上活动规律的研究,回答仅通过DNA序列尚不能回答的某些基因的表达时间、表达量,蛋白质翻译后加工和修饰及亚细胞定位等问题。

为了尽可能分辨细胞或组织内所有蛋白质,目前一般采用高分辨率的双向凝胶电泳。一种正常细胞的双向电泳图谱通过扫描并数字化,运用二维分析软件可对数字化图谱进行各种图像分析,包括分离蛋白在图谱上的定位、分离蛋白的计数、图谱间蛋白质差异表达的检测等。

从1944年提出蛋白质组的概念,第一个完整的蛋白质组数据库——酵母蛋白质数据库(Yeast Protein Database, YPD)已于1997年构建完成,进展速度极快。新的思路和技术不断涌现,蛋白质组学这门新兴学科,在今后的实践中将会不断完善,充实壮大,发展成为后基因组时代的带头学科。