

生物物理学

Biophysics

主编 赵南明 周海梦



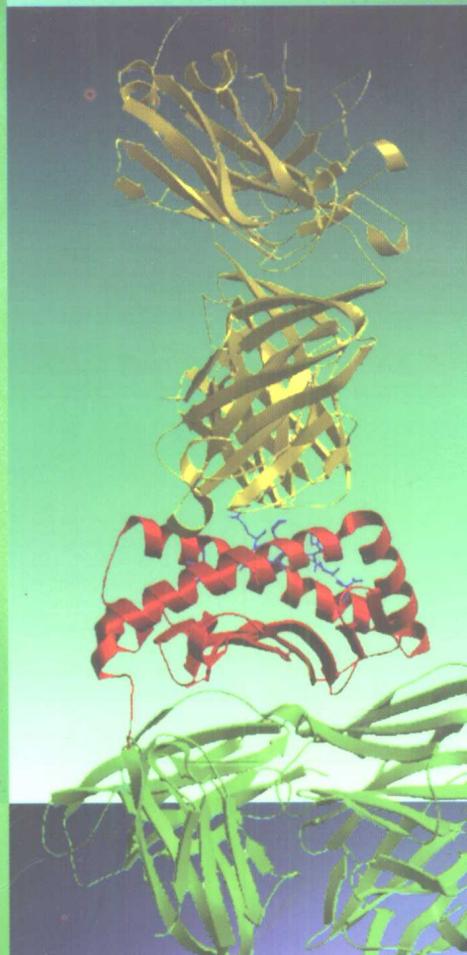
CHEP

高等教育出版社



Springer

施普林格出版社



生物物理学

主编 赵南明 周海梦

作者(按拼音顺序排列)

蔡国平 公衍道 饶子和 隋森芳
孙之荣 谢佐平 张日清 张秀芳
赵南明 周海梦 周玉祥



CHEP
高等教育出版社



Springer
施普林格出版社

F | 08 / 28

图书在版编目(CIP)数据

生物物理学 / 赵南明, 周海梦主编 . - 北京: 高等教育出版社;
海德堡: 施普林格出版社, 2000.7
ISBN 7-04-008615-8

I . 生 … II . ① 赵 … ② 周 … III . 生物物理学 IV . Q6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 63820 号

封面说明: T 细胞受体、MHC 和 CD8 复合体的三维结构模型
(丁怡 高福 设计)

生物物理学

赵南明 周海梦 主编

出版发行 高等教育出版社 施普林格出版社
社址 北京市东城区沙滩后街 55 号 邮政编码 100009
电话 010 - 64054588 传真 010 - 64014048
网址 <http://www.hep.edu.cn>

经 销 新华书店北京发行所

印 刷 北京外文印刷厂

开 本	850 × 1168 1/16	版 次	2000 年 7 月第 1 版
印 张	28.75	印 次	2000 年 7 月第 1 次印刷
字 数	650 000	定 价	45.00 元

© China Higher Education Press Beijing and Springer-Verlag Heidelberg 2000

版权所有 侵权必究

前　　言

生物物理学是应用物理学的概念、理论和方法研究生命现象中的物理过程和物理规律的一门科学,它是物理学和生物学相结合产生的一门边缘学科。

物理学与生物学的相互渗透与结合已有一段漫长的历史。例如,早在 17 世纪,波莱利(Borrelli)就曾在他所著的《动物的运动》一书中利用力学原理分析了血液循环和鸟的飞行问题;18 世纪伽伐尼(Galvani)通过青蛙神经接触两种金属引起肌肉收缩这一著名实验,揭示了生物电现象;19 世纪,梅耶(Mayer)从热、功和生理过程的关系研究建立了能量守恒定律等等。然而,物理学与生物学比较系统和深入的结合却是在 19 世纪物理学在诸多领域取得重大成就之后。众所周知,20 世纪是物理学的黄金时代,在此期间,物理学无论在理论上或是在实验技术上皆取得了影响深远的重大突破。例如,在理论方面建立了量子论、相对论及非平衡态统计理论等,在技术方面出现了 X 射线、中子衍射、激光、各种光谱、波谱技术以及各种成像技术等等。物理学的上述重大进展及其与生物学的结合大大推动了生物学研究的深入和发展。

近代生物物理学的诞生大致起始于 20 世纪的中叶。50 年代 DNA 双股螺旋结构的确立和 X 射线衍射蛋白质空间结构的测定,开创了分子生物学的新纪元,亦奠定了分子生物物理学的基础。生物物理学的发展对生命科学从定性向定量发展,从描述科学逐步向精确科学发展起着关键性的作用。生物物理学自 20 世纪 50 年代起逐步形成一门独立发展的学科至今已有半个世纪的历史。1961 年,国际纯粹与应用生物物理学联合会(International Union for Pure and Applied Biophysics, 简称 IUPAB)正式成立,以后每三年召开一次国际生物物理学学术会议。从历届国际会议的内容可以看出,生物物理学的覆盖面很宽,它的各分支学科几乎涉及当今生命科学中的各个重要领域。但从历届国际会议的资料中亦可以看出,分子生物物理、细胞与膜生物物理、神经生物物理和新的

生物物理技术这 4 个分支学科和领域仍是当今生物物理学的重点和热点。

本书是在清华大学生物科学与技术系多年开设生物物理学课程教学的基础上,由一批教授集体编写而成。全书包括分子生物物理、膜与细胞生物物理、神经生物物理、理论生物物理和研究生物系统的物理方法和技术 5 部分,共 25 章。各章的作者如下:

前言:赵南明

第 1 章,第 4 章:周海梦

第 2 章,第 24 章:隋森芳

第 3 章:饶子和

第 5 章,第 20 章:周玉祥

第 6 章 ~ 第 8 章:蔡国平,赵南明

第 9 章,第 10 章:谢佐平

第 11 章 ~ 第 15 章:孙之荣

第 16 章 ~ 第 18 章,第 23 章,第 25 章:公衍道,赵南明

第 21 章:张日清

第 19 章,第 22 章:张秀芳,赵南明

由于时间仓促及作者水平有限,本书的缺点和错误在所难免,诚挚地期望读者批评指正。

赵南明

2000 年 6 月

目 录

第一部分 分子生物物理

1	蛋白质分子的结构基础	3	3.7	修正	50
1.1	蛋白质的生物学功能	3	3.8	相关的信息	51
1.2	蛋白质分子的化学结构	5	4	蛋白质的折叠	54
1.3	蛋白质分子的空间结构	12	4.1	蛋白质的去折叠	54
2	蛋白质的二维结晶及结构重建	17	4.2	蛋白质结构的柔性	58
2.1	蛋白质晶体的类型	18	4.3	蛋白质折叠的机制	59
2.2	蛋白质的二维结晶化	19	5	大分子中的平衡配体反应	73
2.3	膜蛋白二维晶体形成的机制及条件	23	5.1	配体与结合部位	73
2.4	电镜观察与三维结构重建	25	5.2	微观平衡常数与宏观平衡常数	73
3	蛋白质晶体结构解析	32	5.3	平衡反应的基本类型	74
3.1	蛋白质结构测定的基本步骤	33	5.4	协同结合与协同相互作用	82
3.2	结晶	34	5.5	两种不同配基的结合和耦联自由能	90
3.3	数据收集	37	5.6	质子结合:滴定曲线	92
3.4	相位测定	43	5.7	对核酸的结合	95
3.5	相位改善及扩展	48	5.8	研究配体与生物大分子作用的方法	98
3.6	电子密度图的解释	49			

第二部分 膜与细胞生物物理

6	生物膜的结构与功能	103	7	跨生物膜的物质运输	145
6.1	生物膜功能的概述	104	7.1	小分子物质的跨生物膜输运	145
6.2	生物膜的结构	106	7.2	细胞自稳作用	163
6.3	生物膜的动态特性	133	7.3	生物大分子的跨膜输运	166
6.4	膜融合	140	8	细胞表面	170

8.1 细胞表面结构、表面特性 和表面活性	170	8.3 细胞粘附	174
8.2 质膜表面电荷和离子结合	172	8.4 细胞表面受体和跨膜信号传递	180

第三部分 神经生物物理

9 神经细胞的电信号系统	187	10.2 兴奋性信号与抑制性信号的组合 ——反差原则	200
9.1 静息电位	188	10.3 神经系统的分析功能 ——汇聚原则	201
9.2 动作电位	190	10.4 幅散原则	202
9.3 电压钳实验	191	10.5 脑功能柱——高等动物大脑皮层结构 和功能的基本构筑元件	202
9.4 离子单通道测量技术 ——膜片钳实验	193	10.6 神经通路信号流动的易化原则 ——学习与记忆机制	203
9.5 离子通道的分类与命名	194	10.7 神经系统的自我奖惩原则 ——情感活性分子的释放	204
9.6 局部电位	195	10.8 后放原则——信息流动后的回声	206
10 神经系统对生物电信号的调制	199		
10.1 神经信号的编码——抽象性和 数字化原则	199		

第四部分 理论生物物理

11 生物信息数据库	209	12.5 比对的统计学显著性	221
11.1 GenBank 基因序列数据库	209	12.6 FASTA	223
11.2 一级和二级数据库	210	12.7 BLAST	223
11.3 剖析 GenBank Flatfile	211	12.8 BLAST 的最新改进	223
11.4 生物大分子三维结构数据库	215	12.9 重复元件	224
11.5 MMDB:NCBI 的分子建模数据库	216	12.10 多序列比对的实际应用	224
12 序列比对和数据库搜索	217	12.11 多序列的渐进比对方法 ——CLUSTAL W	224
12.1 序列比对的进化基础	217	12.12 多序列比对方法——MultiAlin	226
12.2 局部比对	220	13 生物大分子结构和功能研究中的 几种数理方法	229
12.3 最佳比对方法	220		
12.4 取代分和空位处罚	221		

13.1 遗传算法 ······	230	14.4 基于知识的蛋白质结构预测 ······	247
13.2 人工神经网络方法 ······	234	14.5 蛋白质的二级结构预测 ······	251
13.3 统计物理学方法 ······	236	14.6 利用计算机互联网进行蛋白质 结构预测 ······	260
13.4 一些数理方法算法的进一步 讨论 ······	237	15 蛋白质分子动力学 ······	264
14 蛋白质结构预测 ······	242	15.1 分子动力学模拟方法 ······	265
14.1 蛋白质结构预测方法综述 ······	243	15.2 经验力场和位能函数 ······	266
14.2 正误构象的判断 ······	245	15.3 能量优化 ······	267
14.3 现阶段几种主要的简单评估 函数预测方法介绍 ······	246	15.4 自由能计算 ······	270
		15.5 模拟退火技术 ······	271

第五部分 研究生物系统的物理方法和技术

16 紫外 - 可见吸收光谱 ······	275	19 圆二色性光谱 ······	330
16.1 基本原理 ······	275	19.1 基本原理 ······	331
16.2 紫外 - 可见吸收光谱的测量 ······	277	19.2 圆二色光谱仪工作的基本原理 ···	336
16.3 从紫外 - 可见吸收光谱获得的信 息及影响测量结果的一些因素 ···	278	19.3 圆二色性测量在分子生物学研究 中的应用实例 ······	338
16.4 紫外 - 可见吸收光谱在生物 系统中的应用举例 ······	282	20 电子自旋共振 ······	345
17 荧光光谱 ······	287	20.1 电子自旋共振基本原理 ······	345
17.1 基本原理 ······	287	20.2 电子顺磁共振谱仪 ······	352
17.2 仪器结构与主要谱参量 ······	288	20.3 EPR 在生物中的应用 ······	355
17.3 荧光样品要求和实验中需要考虑 的一些因素 ······	294	21 核磁共振波谱 ······	367
17.4 荧光分析在生物学中的应用 ······	299	21.1 基本原理 ······	367
17.5 荧光技术与其他技术的结合 ······	309	21.2 仪器结构与样品要求 ······	369
18 分子振动光谱(红外光谱与 拉曼光谱) ······	312	21.3 获得的信息与主要参量 ······	371
18.1 基本原理 ······	313	21.4 核磁共振谱的应用 ······	374
18.2 仪器结构与样品要求 ······	318	22 穆斯堡尔谱 ······	386
18.3 从振动光谱得到的信息 与主要参量 ······	322	22.1 穆斯堡尔效应的基本原理 ······	386
18.4 振动光谱在生物系统中的 应用举例 ······	325	22.2 穆斯堡尔谱和穆斯堡尔谱仪 ······	388
		22.3 穆斯堡尔谱的主要参量 ······	391
		22.4 穆斯堡尔谱在生命科学研究中 的应用 ······	394
		23 时间分辨光谱 ······	401
		23.1 基本原理 ······	401

23.2	时间分辨光谱的数据处理	410	25	差示扫描量热技术	421
23.3	时间分辨光谱技术在生物科学 中的应用举例	411	25.1	原理	421
24	原子力显微镜在生物学 中的应用	414	25.2	差示扫描量热仪结构和影响测量 结果的一些因素	427
24.1	原子力显微镜的成像	414	25.3	从 DSC 获得的信息 与主要参量	428
24.2	原子力显微镜对膜 及蛋白的观测	416	25.4	DSC 在生物系统中 的应用举例	432
24.3	原子力显微镜测量分子间 相互作用力	419		参考文献	441
24.4	远景及其限制性	420		名词索引	445

第一部分

分子生物物理

1

蛋白质分子的结构基础

蛋白质(proteins)是一类重要的生物大分子，在体内占有特殊的地位，是生命活动的主要承担者，是生命现象的主要物质基础。许多蛋白质已经获得纯品，根据蛋白质元素分析表明，蛋白质主要含有碳、氢、氧、氮，此外还含有少量的硫。有些蛋白质还含有一些其他的元素，主要是磷、铜、铁、碘、锌和钼等。就其化学结构来说，有些蛋白质完全由氨基酸残基构成的多肽链组成，称为简单蛋白质(simple proteins)，如核糖核酸酶、胰岛素等。有些蛋白质除了肽链部分外，还有非肽链成分，这种成分称为辅基(prosthetic groups)或配基(ligand)，这类蛋白质称为结合蛋白质(conjugated proteins)，如血红蛋白、核蛋白。蛋白质的相对分子质量变化范围很大，大约 $5\,000 \sim 1\,000\,000$ 或更大一些。蛋白质分子的结构与功能的研究是生命科学中的一个核心问题。蛋白质是分子生物物理学研究的主要对象之一。本章将扼要介绍有关蛋白质的生物学功能和分子的结构基础。

1.1 蛋白质的生物学功能

生物界中蛋白质的种类估计在 $10^{10} \sim 10^{12}$ 数量级。造成种类如此众多的原因主要是20种参与蛋白质组成的氨基酸在肽链中排列顺序不同所引起的。蛋白质这种顺序的多样性是其生物学功能多样性和种属特异性的结构基础。蛋白质的主要生物学功能可以分为以下几类：

(1)催化功能 蛋白质在生物体内最主要的生物学功能是作为体内各种生化反应的催化剂——酶(enzyme)。我们知道新陈代谢的所有化学变化几乎都是在生物催化剂催化下进行的。生物催化剂是生物体内产生的具有催化功能的生物大分子，它包括两类物质：一类是蛋白质，称为Enzyme；另一类是核酸，称为Ribozyme。目前已知极少数反应是在核酸催化下进行的，体内几乎所有的化学反应都是在酶催化下进行的。酶的催化效率极高，某些在体外需要千万年才能完成的反应，在体

内酶的催化下仅需几秒钟即可完成。因此可以说,没有酶的存在就没有生命现象。

(2)运输功能 某些蛋白质具有运输功能。血液中的具有运输功能的蛋白质结合并携带着特殊的分子或离子从一个器官运输到另一个器官。脊椎动物红细胞中的血红蛋白和无脊椎动物中的血蓝蛋白在呼吸过程中起着运输氧的功能。红细胞中的血红蛋白将从肺中通过结合的氧分子输送到周围的组织中去并将其释放。生物氧化过程中某些色素蛋白如细胞色素 c 等起电子传递体的作用。血液中的脂蛋白随着血流输送脂质从肝到其他的器官。各种起跨膜主动运输的通道蛋白存在于生物体的细胞质膜和细胞内的膜上。这类蛋白结合葡萄糖分子、氨基酸分子或其他物质并转运它们跨膜。

(3)营养和贮存功能 有一类蛋白质具有贮存氨基酸的功能,用作有机体及其胚胎或幼体生长发育的原料。这类蛋白质有:由于种子发芽和生长的需要,许多植物的种子中有营养蛋白,如麦、谷和稻的种子蛋白、蛋类中的卵清蛋白(ovalbumin)、乳中的酪蛋白(casein)等。在一些细菌、植物及动物组织中发现的铁蛋白可以贮存铁离子。

(4)收缩和运动功能 有些蛋白赋予细胞和生物体收缩、变形或运动的能力。在骨骼肌的收缩系统和非肌肉细胞中,肌动蛋白和肌球蛋白行使这种功能。微管蛋白是微管的主要成分。微管和在鞭毛与纤毛中的动力蛋白共同作用推动细胞运动。

(5)结构功能 蛋白质另外一个主要的生物学功能是作为有机体的结构成分。在高等动物里,胶原纤维是主要的细胞结构蛋白质,参与结缔组织和骨骼作为机体的支架。细胞膜里的片层结构,如细胞膜、线粒体、叶绿体和内质网等都是由蛋白质和脂质组成。皮革几乎就是纯的胶原蛋白。韧带包含弹性蛋白(elastin),一种结构蛋白,在二维方向上具有拉伸能力。头发、指甲和羽毛主要由坚韧的、不溶的角蛋白组成。丝纤维和蜘蛛网的主要成分是丝纤蛋白(fibroin)。一些昆虫翅膀的铰合部是由节肢弹性蛋白(resilin)组成的,其具有近乎完美的弹性性质。

(6)防御功能 许多蛋白质具有保护生物体抵御外来侵袭的功能。由脊椎动物的淋巴细胞产生的免疫球蛋白(immunoglobulin)或抗体(antibody)能够识别来自于其他种类的细菌、病毒及外来蛋白,具有免疫功能。纤维蛋白原(fibrinogen)和凝血酶(thrombin)是凝血蛋白。当血管系统受到伤害时,可以保护血液的流失。细菌的毒素(toxins)和有毒的植物蛋白如蓖麻毒蛋白(ricin)显然也都具有保护的功能。这些有毒的蛋白质中,有一些还是酶,如纤维蛋白原(fibrinogen)、凝血酶和某些蛇的毒素(venoms)。

(7)调控功能 有些蛋白质具有调控功能,可以调节或控制细胞生长、分化以及遗传信息的表达,例如组蛋白、阻遏蛋白(repressor)等。这类蛋白中有一些是激素,如胰岛素(insulin)(调控糖代谢)和垂体的生长激素。细胞对激素信号的应答反应是由一类 GTP 结合蛋白介导的,称为 G 蛋白。其他的一些调控蛋白结合到 DNA 上,在原核及真核细胞分裂过程中调控酶和 RNA 的生物合成。

(8)其他功能 有许多其他的蛋白不易归类。如应乐果甜蛋白(monelin),它是

一种非洲植物蛋白,有很强的甜味。它作为一种低脂、无毒的人类甜食品而受到重视。有些南极的鱼的血液中含有抗冻蛋白,它可以防止鱼的血液冻凝。

令人非常惊奇的是具有上述不同性质和功能的所有蛋白质都是由相同的 20 种氨基酸组成的。

1.2 蛋白质分子的化学结构

蛋白质分子是一类结构极其复杂的生物大分子,其功能多样性的基础是分子结构的多样性和复杂性。蛋白质分子的结构大致可分为如下几个层次:

一级结构(primary structure)

二级结构(secondary structure)

超二级结构(supersecondary structure 或 motif)

结构域(domain)

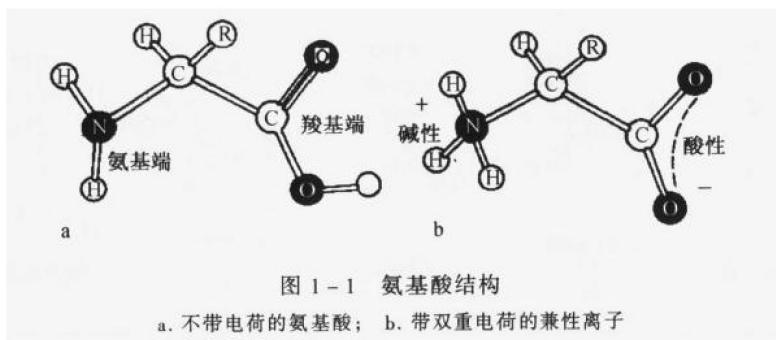
三级结构(tertiary structure)

四级结构(quaternary structure)

蛋白质分子的化学结构包括了肽链中氨基酸残基的排列顺序(即一级结构)、二硫键的连接方式及辅基的结合方式。

1.2.1 蛋白质分子的基本结构单位——氨基酸

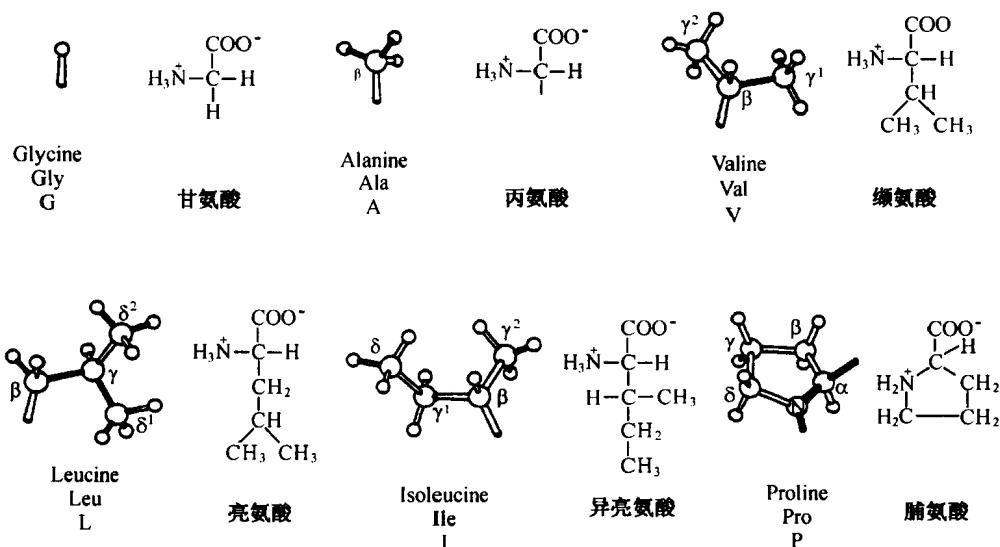
氨基酸是蛋白质分子的基本结构单位。已发现自然界中有 100 多种氨基酸,但是组成蛋白质的氨基酸却只有 20 种,这 20 种氨基酸称为组成蛋白质的常见氨基酸。除脯氨酸外,均为 α - 氨基酸。图 1-1a 表示常见氨基酸的结构(脯氨酸除外,因脯氨酸侧链包含 C 和 N 的环状结构),中间具有四面体结构的碳原子称为 α - 碳原子(C_α)。它以共价键的形式一侧与氨基($-NH_2$)相连,另一侧与羧基($-COOH$)相连,它的第三个键总是与氢原子相连,而第四个键与一个可变的侧链(R 基团)相连。20 种氨基酸的区别在于具有各自不同的 R 基团。在中性溶液($pH 7.0$)中羧基失去一个质子而带负电荷,氨基获得一个质子而带正电荷,而成为带有双重电荷的兼性离子(图 1-1b)。 α - 碳原子周围的 4 个不同的基团按四面体分布,使氨基酸具有旋光性。两个互为对映体的形式称为 L- 和 D- 异构体,而参与



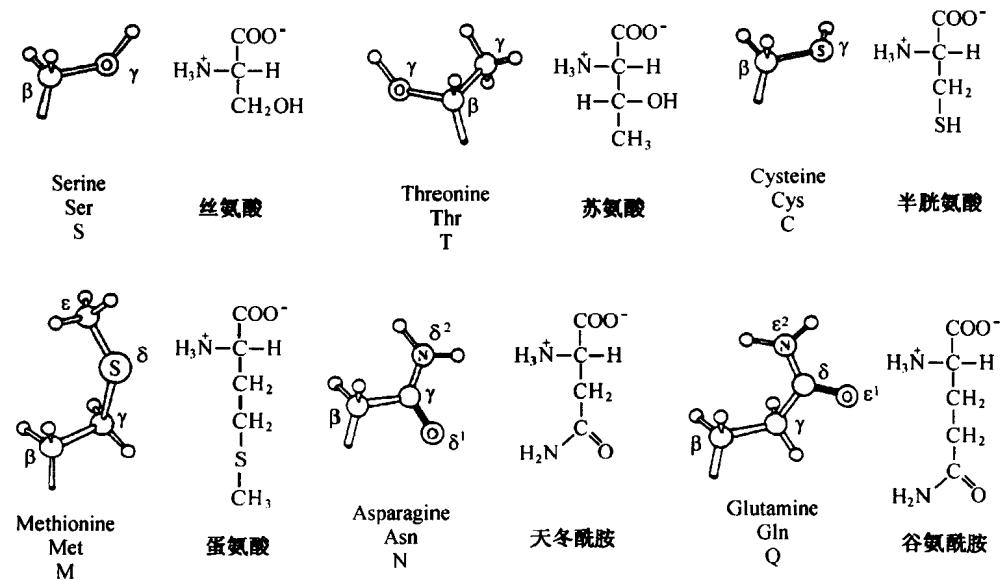
蛋白质组成的所有氨基酸都是 L 型(除没有不对称碳原子的甘氨酸外),因此以后非特定情况下不再指明是哪一种异构体了。这些氨基酸按照其侧链 R 基团的化学性质可以分为非极性脂肪链的、芳香的(一般也是非极性的)、极性但不带电荷的、带正电荷的和带负电荷的(表 1-1)。少数蛋白质含有上述 20 种以外的氨基酸,它

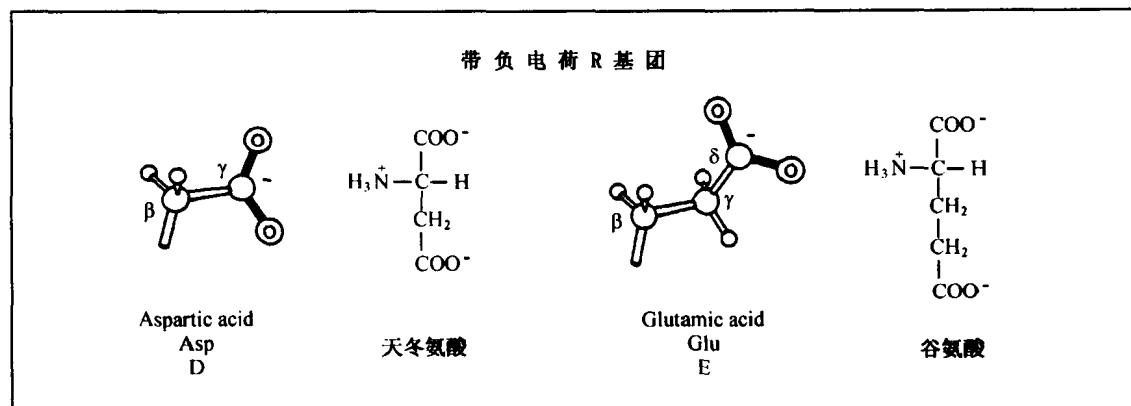
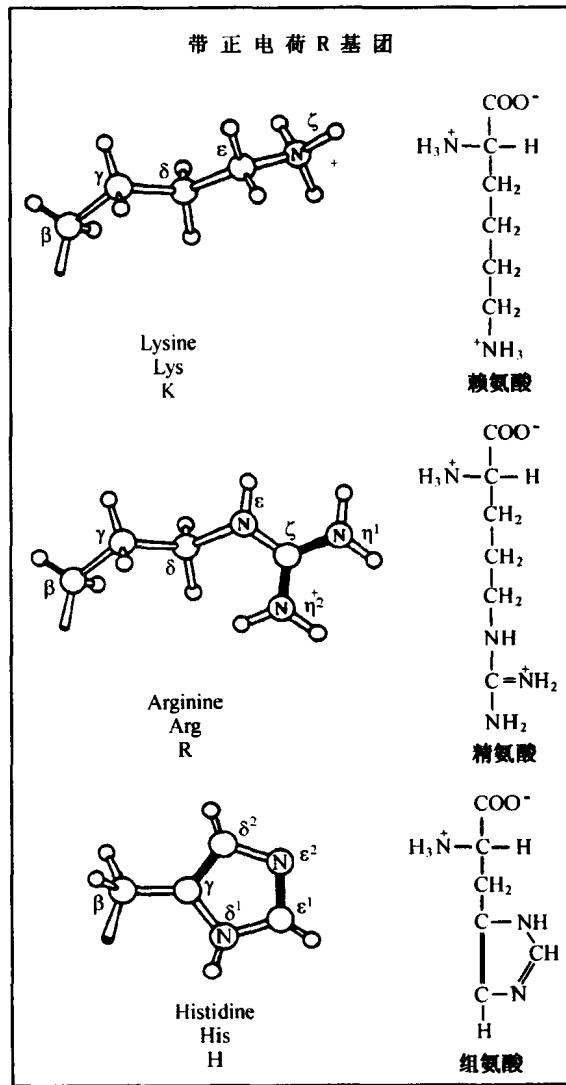
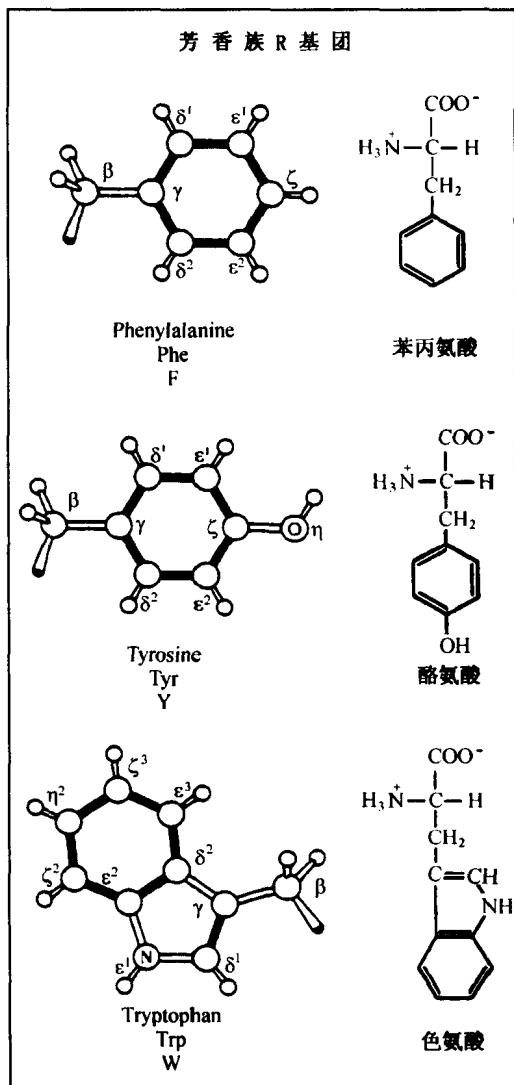
表 1-1 组成蛋白质的 20 种氨基酸

非极性、脂肪族R基团



极性、不带电荷R基团





们是在蛋白质合成以后,由这些氨基酸残基经过一定的酶反应对侧链修饰而形成的,例如原胶原蛋白中的羟脯氨酸,就是在肽链合成以后,由脯氨酸残基在羟化酶作用下在吡咯环上发生羟化生成的。

1.2.2 肽和肽键的结构

蛋白质分子中氨基酸连接的基本方式是肽键(peptide bond) $- \text{CO} - \text{NH} -$ 。最简单的肽是由两个氨基酸之间失去 1 分子水而形成的二肽。图 1-2 表示 2 个氨基酸分子之间失去 1 分子水而形成的一个肽键。肽键具有部分双键的性质,其结

果使肽键处于 1 个分子平面上。任何数目的氨基酸都能以这种方式连接成多肽链。多肽链中氨基酸由于参加肽键的形成已经不是原来完整的氨基酸分子了,因此称之为氨基酸残基(amino acid residue)。图 1-3 表示线性排列的蛋白质分子中的一段肽键结构。连续排列的酰胺平面构成蛋白质分子的主链骨架结构,每个氨基酸残基的 R 基团构成蛋白质分子的侧链基团。在蛋白质分子中氨基酸残基的排列具有特定的顺序,蛋白质分子中氨基酸残基的排列顺序称为蛋白质的一级结构。蛋白质一级结构的测定方法目前主要有两种,一种是利用 Edman 降解法直接测定蛋白质分子中的肽段的序列。通过用 2 套或 2 套以上酶解或裂解方法得到的肽段序列,并拼接出蛋白质分子的全序列。另一种方法是根据蛋白质分子的 cDNA 序列的测定,推断

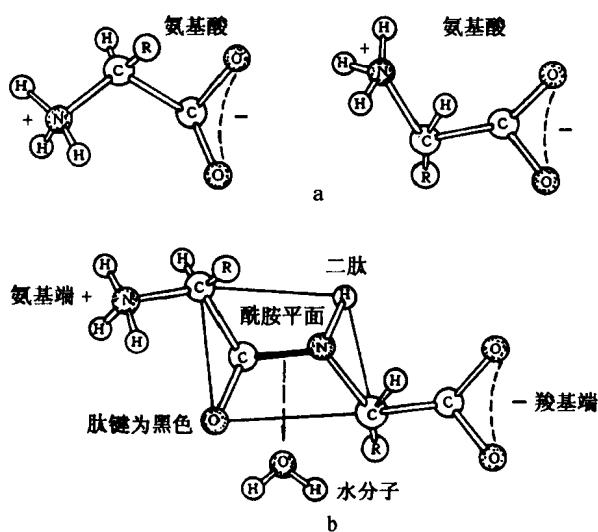


图 1-2 由两个氨基酸形成二肽

a. 2 个氨基酸; b. 一个氨基酸的羧基与另一个氨基酸的氨基失去 1 个分子水连接起来形成肽键

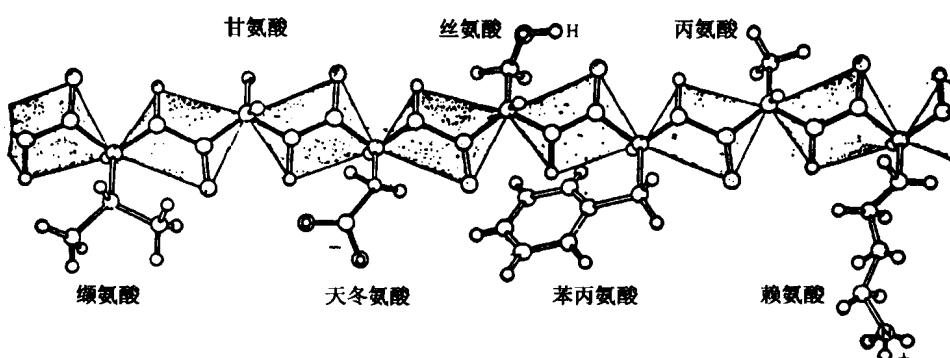


图 1-3 多肽链的结构