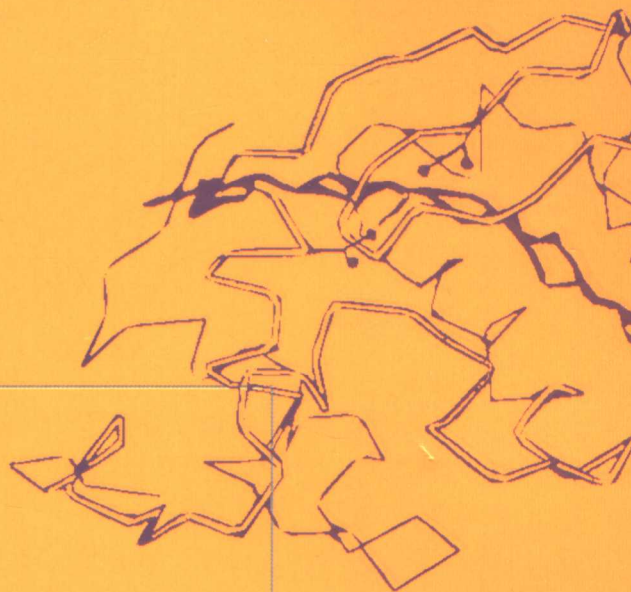


食品蛋白质化学

管 斌 林 洪 王广策 编著

SHIPIN DANBAIZHI HUAXUE



化学工业出版社

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

食品蛋白质化学/管斌, 林洪, 王广策编著. —北京:
化学工业出版社, 2005. 3
ISBN 7-5025-6649-X

I. 食… II. ①管…②林…③王… III. 食品-蛋白
质-生物化学 IV. TS201.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 011159 号

食品蛋白质化学

管斌 林洪 王广策 编著

责任编辑: 王秀鸾

文字编辑: 陈曦

责任校对: 顾淑云 吴静

封面设计: 于剑凝

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010)64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 23 字数 571 千字

2005 年 5 月第 1 版 2005 年 5 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6649-X/TS·251

定 价: 49.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

随着生命科学的迅速发展, 21 世纪被认为是生物科学的世纪。今天, 生物化学已经从静态生物化学、经动态生物化学, 向功能生物化学方向发展。蛋白质分子作为功能性生物大分子, 在现代生物化学和分子生物学中占有极重要的地位。生命最基本的特征是能够进行新陈代谢和自我复制。生物要完成这两个过程都离不开酶的催化作用, 而酶是具有催化功能的蛋白质。因此, 在生命活动过程中蛋白质分子发挥着不可替代的作用。蛋白质化学是一门发展十分迅速的学科, 随着其研究方法和手段的不断更新, 蛋白质化学不断进步和发展, 有力地带动了生命科学的研究。目前, 它已经成为生命科学中不可缺少的重要组成部分。

蛋白质与淀粉、脂肪、糖类是食品工业的四大基础原料, 广泛应用于各种食品中。它不仅具有提高营养价值的功能, 而且具有改善各种食品品质、质构的功效。随着各种蛋白质结构与功能关系的不断被揭示以及对其营养功能的深入了解, 在食品加工过程中可以更加有效地改善食品的品质和质构, 增强其保健功能。另外, 为满足人们不断提高生活水平的需求, 从合理饮食、保持营养平衡、保证健康的角度出发, 合理开发蛋白质资源、提高食品品质和营养功能, 已经成为食品工业迫切需要解决的问题。这些已经日益引起从事蛋白质化学、食品工业以及营养学工作的研究人员、工程师以及营养学家的高度重视。

《食品蛋白质化学》一书试图把蛋白质化学知识和研究进展应用于食品加工过程中以及改善食品品质和营养功能上, 使食品工业走一条“优质、合理、高效”的绿色食品开发途径, 这无疑将对提高全人类健康水平发挥重要作用。目前食品工业、农副产品加工业、发酵工业以及生物化工工业等相关工业急需这样一本专著, 因此作者为满足这种需求而组织编写了这本书。

参加本书编写的是长期从事食品科学和蛋白质化学教学和科研工作、富有经验的专家。本书以中国海洋大学食品工程专业开设的《食品蛋白质化学》课程教案为基础, 将“蛋白质结构与功能”与“食品品质、营养及加工功效”紧密联系起来, 从概念、原理以及方法上对蛋白质的结构、性质、分离提取、分析和检测方法等理论方面的内容进行了较详细的介绍。针对食品工程专业的特点, 对蛋白质原材料及其加工特性、食品蛋白质加工化学和食品蛋白质的营养价值等应用方面的现状、研究进展情况也进行了较详细的论述, 使其内容形成一个完整的体系。该书是一本适用于食品工程、营养学以及生物化学等专业的《食品蛋白质化

学》课程教材，又可作为食品工业的工程师、营养师以及从事蛋白质化学研究的人员进修提高的参考书。

该书由管斌教授主编，第一章、第二章、第三章、第五章和第八章的部分内容由管斌教授编写；第四章、第七章部分内容、第十一章、第十二章、第十三章和第十四章由林洪教授编写；第六章、第七章的部分内容、第九章和第十章由王广策研究员编写；第八章的第三节、第四节和附录由孙艳玲副教授编写。全书统稿工作由管斌和孙艳玲完成。

本书还得到了中国海洋大学食品工程系部分教师和中国科学院海洋研究所生物技术研究室部分研究人员的支持和帮助，他们还对本书提出了许多宝贵意见。本书文字和图表的处理得到了孙艳玲、齐祥明等同志的协助，在编写过程中得到了化学工业出版社的支持，本书的编写和出版得到了中国海洋大学出版基金的资助，在此表示衷心感谢！

由于编者水平有限，不足之处在所难免，恳请广大读者阅读后多提宝贵意见。

编著者

2004 年 11 月

目 录

第一章 绪论	1
一、蛋白质在生物体内的作用	1
二、蛋白质的分类	1
三、蛋白质的组成	4
四、蛋白质的特征	5
五、蛋白质的性质	6
参考文献	8
第二章 氨基酸化学	9
第一节 组成蛋白质的氨基酸	9
第二节 氨基酸的构型	10
第三节 氨基酸的两性性质	12
第四节 氨基酸的化学反应	16
第五节 氨基酸的分离与制备	19
参考文献	24
第三章 蛋白质的分离提纯与鉴定	26
第一节 蛋白质分离纯化的步骤	26
第二节 蛋白质材料的选择与预处理	28
第三节 蛋白质的分级分离技术	34
第四节 蛋白质的沉淀技术	45
第五节 蛋白质的膜分离技术	55
第六节 蛋白质的柱色谱分离技术	67
第七节 蛋白质的电泳技术	98
第八节 蛋白质的结晶技术	107
第九节 蛋白质分离纯化实验方案的设计	114
第十节 蛋白质分子量的测定	121
参考文献	126
第四章 蛋白质一级结构的测定	127
第一节 一级结构测定的战略原则	127
第二节 氨基酸序列测定的一般方法和步骤	127
第三节 氨基酸组成分析	128
第四节 二硫键的断裂	128
第五节 蛋白质的裂解	130
第六节 末端氨基酸残基的测定	132
第七节 肽链的氨基酸序列测定	139
参考文献	144

第五章 蛋白质分子的构象	145
第一节 蛋白质的结构层次.....	145
第二节 稳定蛋白质构象的作用力.....	146
第三节 蛋白质的二级结构.....	149
第四节 蛋白质的三级结构与结构域.....	158
第五节 蛋白质的四级结构和蛋白质体系.....	168
参考文献.....	173
第六章 研究蛋白质构象的技术和方法	175
一、X 射线衍射法.....	175
二、中子衍射法.....	176
三、核磁共振 (nuclear magnetic resonance, NMR) 波谱法	177
四、荧光光谱法.....	179
五、圆二色谱法.....	180
六、紫外差光谱法.....	181
七、激光拉曼光谱法.....	182
八、氢同位素交换法.....	183
参考文献.....	184
第七章 蛋白质分子构象与功能的关系	186
第一节 蛋白质结构与功能的关系.....	186
第二节 蛋白质构象病及其治疗.....	198
第三节 过敏原的研究进展.....	209
参考文献.....	213
第八章 酶分子的结构与功能	214
第一节 酶催化活性的结构基础.....	214
第二节 酶反应历程与方式.....	223
第三节 酶的专一性及作用机制.....	226
第四节 酶的催化作用机制.....	229
参考文献.....	241
第九章 蛋白质的表达与修饰	243
第一节 蛋白质生物合成各元件概述.....	243
第二节 原核生物的蛋白质生物合成.....	248
第三节 真核生物的蛋白质生物合成.....	254
第四节 蛋白质翻译后加工与修饰.....	257
第五节 蛋白质侧链基团的化学修饰.....	258
参考文献.....	261
第十章 蛋白质工程概述	262
第一节 生物技术.....	262
第二节 蛋白质工程概述.....	263
第三节 蛋白质的分子设计.....	265
参考文献.....	278

第十一章 肌肉蛋白质	279
第一节 肌肉蛋白质的结构与组成	279
第二节 宰后肌肉的生理生化变化	287
第三节 宰后化学变化对肉质的影响	289
第四节 肉在食品加工过程中的变化	292
第五节 肌肉化学成分的分析方法	292
参考文献	296
第十二章 蛋白质原材料及其加工特性	297
第一节 胶原蛋白质	297
第二节 乳蛋白质	302
第三节 大豆蛋白质	305
参考文献	310
第十三章 食品蛋白质加工化学	311
第一节 蛋白质的功能性质	311
第二节 蛋白质的变性作用	318
第三节 蛋白质与风味	323
参考文献	326
第十四章 蛋白质的营养价值	327
第一节 蛋白质的消化与吸收	327
第二节 氨基酸的代谢与合成	328
第三节 人对蛋白质和氨基酸的需求	331
第四节 蛋白质营养质量的改善和蛋白质的互补作用	336
参考文献	337
附录 1 常用单位及换算方法	338
附录 2 生化分离制备过程中常用缓冲液的配制方法	339
附录 3 常见蛋白质相对分子质量的参考值	348
附录 4 常见蛋白质等电点的参考值	349
附录 5 某些蛋白质的物理性质	350
附录 6 氨基酸的一些理化常数	351
附录 7 常用生化试剂的分子质量	352
附录 8 常用酸碱以及固态化合物的一些数据	353
附录 9 某些生物大分子制备及测定的参考资料	353

第一章 绪 论

一、蛋白质在生物体内的作用

1. 蛋白质是构成生物体的主要成分

核酸、蛋白质、碳水化合物（糖类）、脂质、维生素、无机盐、激素以及水等是构成生物体的基本成分。蛋白质是构成生物体的主要成分之一，是一种生物分子。生物分子是具有生物活性的物质，通常存在于生物体内。

2. 蛋白质是生命活动的物质基础

生命最基本的特征是可以进行新陈代谢和自我复制。新陈代谢是生物体与外界环境的物质和能量交换过程，主要包括营养物质的吸收、中间代谢和代谢物的排泄 3 个过程。新陈代谢过程的进行，离不开酶的催化作用，而酶又是具有催化功能的蛋白质。生物体的自我复制过程也离不开酶（蛋白质）的作用，是由脱氧核糖核酸（DNA）复制酶等催化完成的。生物与无生命物质的区别就在于生物体可以进行经常性的自我更新，生物体与外界进行物质交换是其生存的基本条件。由此可见，蛋白质是生命活动的物质基础。恩格斯在论述蛋白质的作用时曾指出：“第一，蛋白质是生命的物质基础；第二，生命是物质运动的特殊形式，是蛋白质的存在形式；第三，这种存在形式的本质就是蛋白质与外部自然界不断地进行新陈代谢。”这一论述也阐明了蛋白质在生命活动中的重要作用。

蛋白质是一种生物物质。生物机体的特征：①活机体最显著的特征是其结构极为复杂而且组织严密，构成活机体的细胞具有复杂的内部结构，并含有多种复杂的分子；②活机体的每一部分都具有特殊的用途和机能；③活机体有从它们周围环境中摄取营养物质并将部分物质转变为能量的能力，它们具有用简单物质来构建和维持它们本身的复杂结构的能力。蛋白质也同样具有生物机体的这些特征，因此说蛋白质是一种生物物质。

3. 蛋白质是生物体内功能性高分子（也称为功能性大分子）

生物体内的新陈代谢是由酶来催化完成的，酶是蛋白质。表达遗传信息的 DNA 片段——基因，其复制、表达是靠 DNA 聚合酶、组蛋白以及其他相关酶或蛋白质的共同作用来完成的。蛋白质在生物体内的主要功能包括催化生物体内的反应（酶）、代谢调节（多肽激素，如胰岛素）、机体运动（肌肉蛋白、纤毛蛋白和鞭毛蛋白）、物质运输（血红蛋白和膜运输蛋白）、免疫（抗体）、遗传控制（复制装置——DNA 聚合酶和螺旋-去稳定蛋白共同构成）。

总之，蛋白质分子几乎在所有的生命活动中都发挥着重要作用，因此研究蛋白质结构与功能的关系是目前分子生物学的中心课题之一，是从分子水平上来认识生命现象的一个重要方面。蛋白质分子的研究在生命起源、生物进化、遗传变异、代谢控制等生物学的基本理论等方面具有重大意义。

二、蛋白质的分类

生物体内的蛋白质种类极其繁多，分布极其广泛，所担负的任务也是多种多样。为了了解蛋

白质的全貌，在此介绍几种常见的分类方法（通常是依据蛋白质分子的某一特征来进行分类）。

1. 根据分子对称性分类

按分子对称性对蛋白质进行分类，可分为球状蛋白质和纤维状蛋白质两种。球状蛋白质分子接近于球状或椭圆状，溶解度较大、能结晶，大多数蛋白质属于这一类型。纤维状蛋白质分子很不对称，其分子形状类似细棒或纤维。纤维状蛋白质又可分为可溶性纤维状蛋白质（如许多肌肉的结构蛋白、血纤蛋白等）和不溶性纤维状蛋白质（如胶原、弹性蛋白、角蛋白以及丝心蛋白等）。这种分类方法在蛋白质研究中着重于分子大小与分子形状，虽十分简单但很有用，不足之处就是太笼统。

2. 根据溶解性与结构分类

对蛋白质的溶解性和结构进行综合考虑，可把蛋白质分为简单蛋白质和复合蛋白质。简单蛋白质（simple protein）仅由氨基酸构成的蛋白质组成，如核糖核酸酶、胰岛素等；有些蛋白质除了含有氨基酸组成的蛋白质之外还有非蛋白质成分，这种成分称为辅基（prosthetic group）或配基（ligand），这类蛋白质称为结合蛋白质（conjugated protein），如血红蛋白、核蛋白等。简单蛋白质可根据溶解度进行分类，如表 1-1 所示；结合蛋白质可以按其辅基成分进行分类，如表 1-2 所示。

表 1-1 简单蛋白质的分类

种 类	性 质	存在方式	例 子
清蛋白	溶于水及稀盐、稀酸或稀碱溶液，在 50% 饱和硫酸铵中析出；加热凝固	广泛存在于动植物体内	血清蛋白、乳清蛋白等
球蛋白	为半饱和硫酸铵所沉淀，不溶于水而溶于稀盐溶液的称优球蛋白，溶于水的称似球蛋白；加热凝固	普遍存在于动植物体内	血清球蛋白、肌球蛋白和种子球蛋白
谷蛋白	不溶于水及中性盐，溶于稀酸或稀碱	存在于谷物种子中	米谷蛋白、麦谷蛋白
醇溶蛋白	不溶于水或无水乙醇，但溶于 70%~80% 乙醇中；含脯氨酸和酰胺较多，分子中非极性侧链较极性侧链多	存在于谷物种子中	玉米醇溶蛋白、麦醇溶蛋白
组蛋白	溶于水及稀酸，在稀氨水中沉淀；分子中组氨酸、赖氨酸较多，呈碱性	存在于动物体内	小牛胸腺组蛋白
鱼精蛋白	溶于水及稀酸，不溶于氨水；分子中含碱性氨基酸较多，呈碱性	存在于成熟的生殖细胞中	鲑精蛋白
硬蛋白	不溶于水、盐、稀酸或稀碱；这类蛋白质是在动物体内组成结缔组织及具有保护功能的蛋白质	存在于毛发、结缔组织中	角蛋白、胶原、网硬蛋白和弹性蛋白

表 1-2 结合蛋白质的分类

种 类	其 他 成 分	存在方式	例 子
核蛋白	辅基是核酸	动植物细胞	核糖体
脂蛋白	与脂质结合，有磷脂或固醇	动植物细胞	卵黄球蛋白
黏蛋白和糖蛋白	含有糖类物质	动植物细胞	卵蛋白、免疫球蛋白
磷蛋白	磷酸基通过酯键与蛋白质中的丝氨酸或苏氨酸侧链相连	动植物细胞及体液	酪蛋白、胃蛋白酶
血红蛋白	辅基为血红素，卟啉环中心含有金属离子	动物体液	含铁的如血红素、细胞色素 c，含铜的如血蓝色素
黄素蛋白	辅基为黄素腺嘌呤二核苷酸		琥珀酸脱氢酶
金属蛋白	与金属直接结合	动植物细胞	铁蛋白

3. 根据蛋白质功能分类

根据蛋白质功能来分类,可把蛋白质分为活性蛋白质(active protein)和非活性蛋白质(passive protein)。活性蛋白质包括在生命运动过程中一切有活性的蛋白质以及它们的前体物质。绝大多数蛋白质属于这种类型,可以分为下列几种。

① 酶:具有催化功能的蛋白质。生物体内几乎所有的化学反应都是由酶来催化的。酶的催化效率比一般催化剂的催化效率高很多。不少蛋白水解酶的抑制蛋白也属于这一类。

② 激素蛋白:具有调节机体各种代谢过程功能的蛋白质及其相应的前体。激素蛋白的经典概念认为它们是由内分泌腺所分泌的。近年来这一概念越来越不严格,例如肠胃道所分泌的激素蛋白。蛋白质类激素中包括了大量的肽。

③ 运输和贮存蛋白:生物体内专一性输送各种小分子和离子(也包括电子)的蛋白质,如血清白蛋白、血红蛋白等。有许多专一性结合激素或其他小分子的蛋白质也属于这一类型。

④ 运动蛋白:维持生物有机体运动的蛋白质,如一系列肌肉蛋白、细菌的鞭毛或纤毛蛋白等。近年来发现,在非肌肉的运动体系中普遍存在着运动蛋白。

⑤ 防御蛋白和病毒外壳蛋白:在这一类蛋白质中,有一类具有防御异物侵入机体内的功能,如各种免疫球蛋白;防御病毒侵入致病的干扰素也属于这一类。血纤维蛋白和它的前体是另一类具有防御功能的蛋白质,它们的功能是防止体液大量损失和异物侵入。此外,病毒的外壳蛋白虽不能简单认为仅具有防御功能,但在功能上有许多相似之处。

⑥ 受体蛋白:接受和传递信息的蛋白质,如一系列专一地接受各种激素的受体蛋白。蛋白质类激素的受体在细胞膜上,甾体激素的受体在细胞内。接受外界刺激的蛋白质——感受蛋白也归为此类,如视网膜上的视色素、味蕾上的味觉蛋白等。此外,还有许多药物的受体蛋白。

⑦ 控制生长与分化的蛋白质:参与生长与分化调节的各种蛋白质,如组蛋白、阻遏蛋白等。各种生长因子也可归于这一类。

⑧ 毒蛋白:侵入动物体引起各种中毒症状甚至死亡的异物蛋白质。细菌毒素、蛇毒及虫蝎等的毒蛋白的结构类似,分子质量一般很小,硫-硫键含量高。植物毒蛋白种类也很多,但是它们属于另一类毒蛋白。

⑨ 膜蛋白:存在于膜上、具有各种生物活性的蛋白质。这类蛋白质多是脂溶性而不是水溶性的,在结构上具有自己的特征。

⑩ 非活性蛋白质主要是指担负生物体保护或支持作用的蛋白质,一般为不具有生物活性的物质,主要有以下几种。

a. 胶原:哺乳动物皮肤的主要成分,一般不溶解。从化学组成来看,它的脯氨酸及羟脯氨酸的含量特别高,肽链连接并非都是由二硫键连接。它能鞣制成革,部分水解成明胶,这类蛋白质可用作工业原料。

b. 角蛋白:一类化学性质十分稳定的、含二硫键特别多的蛋白质,通常不溶解。其功能是起保护作用或加强机械强度作用,包括毛发、羽毛、蹄角等,是一类重要的工业原料,如毛纺工业用的羊毛。

c. 弹性蛋白:存在于韧带、血管壁等处,性质与胶原类似,主要作用是有机体的支持与润滑。

d. 丝心蛋白:这种蛋白不易溶、含有丝氨酸特别多,就是蚕丝去丝胶后的纤维。

三、蛋白质的组成

通过对蛋白质的元素分析,发现它们的元素组成与糖和脂质不同,除含有碳、氢、氧外,还有氮和少量的硫。有些蛋白质还有其他一些元素,主要是磷、铁、铜、碘、锌和钼等。这些元素在生物蛋白质中的组成含量如表 1-3 所示。

表 1-3 生物体中蛋白质元素的组成含量

元素种类	碳	氢	氧	氮	硫
该元素含量/%	50~55	6~7	20~23	15~17	0.3~2.5

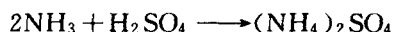
从表 1-3 中可以看出,蛋白质的平均含氮量为 16%,这是蛋白质元素组成的一个特点,也是凯氏 (Kjedahl) 定氮法测定蛋白质含量的一个计算基础:

$$\text{蛋白质含量}(\%) = \text{蛋白氮含量}(\%) \times 6.25$$

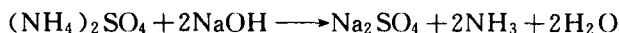
式中,6.25 即 16% 的倒数,为 1g 氮所代表的蛋白质量。

用凯氏定氮法来测定氮含量的测定方法主要包括以下几个步骤。

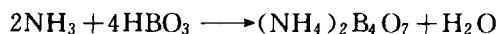
a. 消化:用浓硫酸作氧化剂(而且要加热)处理蛋白质使之生成氨(以硫酸铵形式存在),反应温度在 500℃ 以下(以甘氨酸为例来加以说明,反应式如下)。



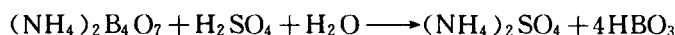
b. 蒸馏:经消化的产物置于碱性环境(40% 氢氧化钠溶液)中进行蒸馏。



用标准酸溶液收集氨(用硼酸收集氨,氨与溶液中氢离子结合生成铵离子,使溶液中氢离子浓度降低)。



c. 滴定:用标准强酸溶液滴定,直至恢复溶液中原来氢离子浓度,所用去的强酸的物质的量(mol)(摩尔)相当于样品中释放出氨的物质的量(mol)。



蛋白质可被酸水解,在水解过程中,逐渐降解成分子质量较小的肽、肽以及更小的肽段,最后被水解成氨基酸的混合物。根据蛋白质的水解程度,可分为完全水解和部分水解两种情况。完全水解又称为彻底水解,得到的水解产物是各种氨基酸的混合物。部分水解即不完全水解,得到的产物是各种大小不等的肽段和氨基酸。下面简略地介绍使用酸、碱和酶的 3 种水解方法及其优缺点。

酸水解:常用硫酸或盐酸进行水解。使用盐酸时浓度为 6mol/L,硫酸为 4mol/L;在真空条件下回流煮沸 20h 左右可使蛋白质完全水解。酸水解的优点是不引起消旋化现象(racemization),得到的是 L-氨基酸。缺点是色氨酸完全被沸酸所破坏,羟基氨基酸(丝氨酸及苏氨酸)有一小部分被分解,同时天冬酰胺和谷氨酰胺的酰胺基被水解下来。

碱水解:用 5mol/L 氢氧化钠在真空条件下煮沸 10~20h,即可使蛋白质完全水解。水解过程中多数氨基酸遭到不同程度的破坏,并且产生外消旋化现象,得到的产物是 D-型和 L-型氨基酸的混合物,称为外消旋物。此外,碱水解会引起精氨酸脱氨,生成鸟氨酸和尿素。

酶水解:不产生消旋化现象,也不破坏氨基酸。然而使用一种酶水解不彻底,需要

几种酶协同作用才能使蛋白质完全水解。此外，酶水解所需时间较长，因此酶水解常用于部分水解。

四、蛋白质的特征

1. 蛋白质是生物大分子

蛋白质分子质量变化范围很大，从 6000~1000000 Da 或更大。已经知道的绝大部分蛋白质的单肽链含有 100~300 个氨基酸残基（分子质量为 12000~36000Da）；许多分子质量大于 36000Da 的蛋白质含有两条或多条肽链。

2. 蛋白质具有一定的构象

各类蛋白质分子在天然状态下都有一定的特殊的三维空间形状，称为蛋白质的构象。按照它们的构象可将蛋白质分为两大类，即纤维状和球状蛋白质。纤维状蛋白质是由单轴平行排列的一些多肽链所组成，从而形成长的纤维或薄片。纤维状蛋白质物理性质是强韧、不溶于水或稀盐溶液。它们是高等动物结缔组织的基本结构成分，例如肌腱与骨基质的胶原、毛发、角和羽毛的 α -角蛋白以及弹性结缔组织的弹性蛋白。而在球状蛋白质中多肽链紧紧折叠成圆形或球形。绝大多数球状蛋白质是水溶性的，它们在细胞内通常具有活性的或动力学功能。大多数的酶、抗体、若干激素与许多具有转动功能的蛋白质（如血清白蛋白和血红蛋白）几乎都是球状蛋白。某些蛋白质形状介于纤维状与球状之间，它们的长杆状结构类似于纤维状蛋白，而它们在盐溶液中的溶解度又类似于球状蛋白质，如肌球蛋白与纤维蛋白原。前者是肌肉的一种重要结构成分，后者是血液凝块的结构成分——纤维蛋白的前身。

3. 蛋白质的变性作用

在变性因素（过酸、过碱以及高温等的环境条件）的作用下，天然蛋白质分子的高级结构发生异常变化，从而导致生物功能的丧失以及物理、化学性质的异常变化。变性作用引起蛋白质物理性质的变化表现为旋光性的改变、黏度增加、紫外吸收光谱和红外吸收光谱的变化、失去结晶能力、溶解度下降甚至出现凝结、沉淀等；引起的化学变化表现为变性的蛋白质易被水解，其可消化性大大提高；引起的生物功能的变化为生物功能的丧失以及酶的失活。

4. 蛋白质功能的多样性

生物界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是 20 种参与蛋白质组成的氨基酸在肽链中的排列顺序不同以及空间构象不同。根据排列组合理论，由 20 种氨基酸组成的 20 肽，其顺序异构体有： $A_{20}^{20} = 20! = 2 \times 10^{18}$ 种。如果一个分子质量为 34000Da 的蛋白质含有 12 种氨基酸，并假设每种氨基酸在蛋白质分子中的数目相等，则不难算出，其顺序异构体数目为 10^{300} 。蛋白质的这种顺序异构现象是蛋白质生物功能多样性和种属特异性的结构基础。

蛋白质一个最重要的生物功能是作为有机体新陈代谢的催化剂——酶，几乎所有的酶都是蛋白质。蛋白质另一个主要的生物功能是作为有机体的结构成分，如高等动物的胶原纤维、细胞膜、线粒体、叶绿体和内质网等都是由不溶性蛋白质与脂质组成的。某些蛋白质具有贮藏氨基酸的功能，用作有机体及其胚胎或幼体生长发育的原料，如禽类蛋中的卵清蛋白、乳品中的酪蛋白、小麦种子中的麦醇溶蛋白等。某些蛋白质具有运输的功能，如血红蛋白、血蓝蛋白以及细胞色素 c 等。还有具有调节功能的蛋白质，如某些激素（胰岛素等）；

具有运动功能的蛋白质，如肌纤维中的肌球蛋白和肌动蛋白、细菌的鞭毛蛋白和纤毛蛋白；具有免疫功能的蛋白质，如抗体等；具有调节或控制细胞的生长、分化和遗传信息表达功能的蛋白质，如组蛋白、阻遏蛋白等。

5. 蛋白质的物种特异性（即抗体与免疫反应）

某些异种蛋白质或其他蛋白质分子在脊椎动物的血清中会与某些细胞发生作用诱导出现抗体分子，这种引起抗体产生的异体巨分子称为抗原。以这种形式产生的特异性抗体分子，可以与引起它产生的抗原结合而形成抗原-抗体复合物，这种反应称为免疫反应。

6. 蛋白质的生物信息传递作用

蛋白质在生物合成过程中，它的氨基酸顺序是由核糖核酸（RNA）的核苷酸三联体排列顺序所决定的，而 RNA 的核苷酸顺序又与 DNA 的核苷酸顺序是互补的（为一条多肽链编码的 DNA 片段称为一个基因）。从这种意义上讲，又可把蛋白质间接称为生物信息大分子。

五、蛋白质的性质

1. 胶体性质

蛋白质的分子质量很大，一般在 $10^3 \sim 10^6$ Da 之间，在水中形成胶体溶液，具有布朗运动、光散射现象、电泳现象、不能透过半透膜以及具有吸附能力等特征。

蛋白质的水溶液是一种比较稳定的亲水胶体，蛋白质分子表面的亲水基团如 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{CONH}_2$ 等，在水溶液中能与水分子发生水化作用，在蛋白质分子表面形成一层水化膜。蛋白质分子表面的可解离基团在适当的 pH 值条件下，将带有相同数量的净电荷，与其周围的反离子构成稳定的双电子层。蛋白质溶液由于具有水化层和电离层的双电层的稳定因素，使蛋白质颗粒在水溶液中相互隔开而不易于凝聚发生沉淀。

蛋白质的亲水胶体性质具有十分重要的生物学意义。生物体中含量最多的就是水，蛋白质的运动是在水中进行的。少量的蛋白质亲水胶体与大量水构成的均一性胶体溶液，使生命活动和代谢反应都在这一胶体溶液系统中进行。各种细胞组织之所以具有一定形状、弹性和黏度，也是与蛋白质的胶体性质分不开的。蛋白质的亲水胶体性质还是许多蛋白质分离纯化的基础。当蛋白质亲水胶体的稳定作用被破坏以后，蛋白质颗粒就相互聚集而发生沉淀，这就是蛋白质盐析、有机溶剂沉淀法的基本原理。利用胶体对半透膜（如火棉胶、玻璃纸等薄膜）的不可渗透性，可将蛋白质溶液中的小分子杂质与蛋白质分离开来，以达到纯化蛋白质的目的，根据这一原理所采用的方法称为透析法。

2. 蛋白质的酸碱性质

在蛋白质分子中，具有可解离的基团，主要来自构成蛋白质的氨基酸侧链残基——R 基（ $\epsilon\text{-NH}_2$ 、 $\gamma\text{-COOH}$ 、咪唑基、胍基等）和肽链末端 α -氨基和 α -羧基；如果蛋白质是一个结合蛋白，则还有辅基或辅酶部分所包含的可解离基团，因此蛋白质和氨基酸一样也是两性电解质。蛋白质在水溶液中发生解离，解离程度和离子所处状态是由蛋白质分子中可解离基团数目和溶液的 pH 值所决定的。对某一蛋白质来说，在一定 pH 值的溶液中，它所带正电荷与负电荷数恰好相等，即净电荷为零时，这时溶液的 pH 值称为该蛋白质的等电点（ pI ）。此时，在电场中该蛋白质颗粒既不向阳极移动又不向阴极移动。当溶液 pH 值低于等电点时，蛋白质颗粒带正电荷，在电场中朝阴极移动；当溶液 pH 值大于等电点时，蛋白质颗粒带负电荷，在电场中朝阳极移动。

每种蛋白质具有特定的等电点,这和它所含有的氨基酸种类和数量有关,也与该蛋白质所含有的酸性和碱性氨基酸的比例有关。含碱性氨基酸残基较多的蛋白质,其等电点偏碱性,称为碱性蛋白质,如组蛋白、精蛋白的 pI 都大于 10;含酸性氨基酸残基较多的蛋白质,其等电点偏酸性,称为酸性蛋白质,如人血清白蛋白 pI 小于 6;而酸性和碱性氨基酸数目相近的蛋白质,其等电点大多近乎中性。

等电点与蛋白质性质有密切的关系。在等电点时,由于蛋白质分子的净电荷为零,颗粒相互吸引、分子间相互聚集,此时蛋白质的溶解度最小,其他性质如黏度、渗透压、电导性等也都是最小。

3. 蛋白质的紫外吸收性质

蛋白质分子具有紫外吸收现象。蛋白质分子中 Trp、Tyr、Phe 等侧链及肽键本身都具有紫外吸收,蛋白质在 260~300nm 之间的紫外吸收是由 Trp、Tyr、Phe 等侧链基团产生的。不同的吸光生色基团,其摩尔吸收系数不同。Trp 和 Tyr 在 280nm 附近有一个吸收峰;Phe 在 257nm 附近有一个吸收峰。大多数蛋白质在 280nm 附近有一个强吸收峰,这主要是由于 Trp 和 Tyr 残基对光吸收的结果。

肽键在 225nm 附近也有一个特征吸收峰。由于蛋白质 α -螺旋构象中上下肽键之间电子相互作用与无 α -螺旋构象的肽键对紫外线的吸收不相同,因此通过紫外吸收变化即可判断蛋白质二级结构的变化。

4. 蛋白质的颜色反应

蛋白质分子中的肽键以及某些氨基酸残基的一些特殊基团能与某些试剂起作用,产生颜色反应,利用这些颜色反应可以确定蛋白质的存在。

(1) 茚三酮反应 在 pH 值 5~7 的条件下,蛋白质与茚三酮丙酮溶液在加热条件下可产生蓝紫色物质,但反应随着蛋白质分子增大而灵敏度下降,该反应一般不作为蛋白质的检测方法。此外,多肽、氨基酸及伯胺类化合物与茚三酮都有同样的反应。

(2) 双缩脲反应 蛋白质在碱性溶液中可与二价铜发生反应产生紫红色物质,该反应可用于定性或定量测定蛋白质。双缩脲反应是用以测定肽键特性的反应,凡化合物中含有两个或两个以上的肽键结构都可发生双缩脲反应,肽键越多反应颜色越深。

(3) 米隆 (Millon) 反应 在蛋白质溶液中加入米隆试剂(含硝酸汞、亚硝酸汞、硝酸),加热后即有砖红色沉淀析出。含有酚基的化合物都有这一反应,所以含酪氨酸的蛋白质能与米隆试剂反应生成砖红色沉淀。

(4) 酚试剂反应 在碱性条件下,蛋白质分子中的酪氨酸和色氨酸可与磷钨酸-磷钼酸化合物反应,产生蓝色化合物,蓝色的深浅与蛋白质中所含有的酪氨酸和色氨酸的量成正比。该法是测定蛋白质浓度常用的方法。

(5) 乙醛酸反应 将浓硫酸缓缓加入蛋白质与乙醛酸的混合液中,色氨酸残基的吲哚基团与乙醛酸反应生成紫色化合物。

(6) 醋酸铅反应 凡含有半胱氨酸、胱氨酸的蛋白质都能与醋酸铅反应,生成黑色的硫化铅沉淀。

(7) 坂口 (Sakaguchi) 反应 蛋白质内精氨酸残基的胍基在碱性次氯酸钠溶液中与 α -萘酚发生反应,产生红色化合物。

(8) 鲍林 (Pauling) 反应 组氨酸残基的咪唑基和酪氨酸残基的酚基,在碱性条件下可与重氮化合物(如对氨基苯磺酸重氮盐)反应生成棕红色化合物。

参 考 文 献

- 1 陶慰孙编著. 蛋白质化学基础. 北京: 人民教育出版社, 1981 年
- 2 沈同, 王镜岩主编. 生物化学 (上、下册). 第二版. 北京: 高等教育出版社, 1990 年
- 3 Lubert S. Biochemistry. New York: W H Freeman and Company, 1988
- 4 杰弗里·佐贝主编. 生物化学 (上、下册). 曹凯鸣等译. 上海: 复旦大学出版社, 1989
- 5 谢来苏, 管斌编著. 制浆造纸生物技术. 北京: 化学工业出版社, 2003 年
- 6 孙崇荣, 李玉民编著. 蛋白质化学导论. 上海: 复旦大学出版社, 1991 年
- 7 罗贵民主编. 酶工程. 北京: 化学工业出版社, 2002 年
- 8 鲁子贤编著. 蛋白质化学. 北京: 科学出版社, 1981 年
- 9 王大成主编. 蛋白质工程. 北京: 化学工业出版社, 2002 年
- 10 Haschemeyer R H, Haschemeyer A E V Protein: A Guide to Study by Physical and Chemical Methods. New York: Wiley, 1973
- 11 王希成编著. 生物化学. 北京: 清华大学出版社, 2001
- 12 Nelson D L, Cox M M Lehninger Principle of Biochemistry. 3rd Edition. New York: Worth Publishers, 2000

第二章 氨基酸化学

蛋白质是复杂的有机物，其主要的元素组成为碳、氢、氧、氮、硫，有的还含有磷或金属元素（如铁、铜、锌、钼）等。各种蛋白质的氮含量一般在 16% 左右，因此通过分析样品中的含氮量可以测定蛋白质的含量。通常，根据蛋白质的组成可将其分为简单蛋白质和结合蛋白质两大类。简单蛋白质的基本组成单位是氨基酸；结合蛋白质除具有蛋白质基本组成外，还结合有其他成分，如核酸、糖类、脂类、磷酸、色素和金属离子等，它们一般是与氨基酸的侧链基团以共价键或配位键结合。对于具有功能性的蛋白质分子而言，其特定空间结构形式实际上是氨基酸单位上各种基团相互作用的结果，因此，学习蛋白质化学首先要了解氨基酸的性质。

第一节 组成蛋白质的氨基酸

含有氨基和羧基的有机化合物，可以称为氨基酸。在蛋白质分子中，除脯氨酸以外，全部氨基酸在 α -碳原子上都有一个游离羧基和一个游离未取代的氨基。组成蛋白质的氨基酸都是 α -型氨基酸（脯氨酸为 α -型亚氨基酸），各种蛋白质的差别在于氨基酸特殊侧链基团（R 基团）结构的不同，其结构如图 2-1 所示。

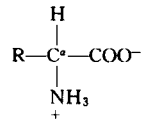


图 2-1 氨基酸的结构

把蛋白质完全水解并通过准确测定，发现构成生物体蛋白质的氨基酸有 20 种，在细胞内的 pH 值范围（pH 值 6~7）内，可按其侧链基团性质分为疏水性或非极性氨基酸、中性（无电荷）极性氨基酸、带正电荷氨基酸和带负电荷氨基酸四大类。它们的名称可用 3 个英文字母符号或者 1 个英文字母符号表示，其氨基酸名称、相对分子质量和化学结构如表 2-1 所示。构成蛋白质这 20 种氨基酸的平均相对分子质量为 137。

疏水性或非极性氨基酸包括丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和蛋氨酸，该类氨基酸在水中溶解度比极性氨基酸要小，可用纸上色谱方法进行分离；中性（无电荷）极性氨基酸包括甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、半胱氨酸、酪氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺，该类氨基酸比非极性氨基酸较易溶于水，它们的 R 基团含有中性（无电荷）极性基团，该基团能与水形成氢键，可用纸上色谱方法来分离；带正电荷氨基酸包括天冬氨酸、谷氨酸，该类氨基酸在 pH 值为 7 时 R 基团带有一个净正电荷，可用电泳方法来分离；带负电荷氨基酸包括赖氨酸、精氨酸、组氨酸，该类氨基酸在 pH 值为 7 时 R 基团带有一个净负电荷，可用电泳方法来分离。

除上述 20 种氨基酸外，蛋白质中还存在一些其他的氨基酸，它们都是蛋白质肽链合成后加工和修饰所形成的产物。最常见的有 L-胱氨酸（Cys-Cys）和 L-羟脯氨酸。前者实际上是两个 L-半胱氨酸侧链巯基氧化联结而成的，这种交联是肽链间或肽链内常见的交联，在角蛋白中含量较多。后者由 L-脯氨酸羟基化而形成，在胶原及弹性蛋白中含量较多。其他在蛋白质中所发现的氨基酸有 L-羟赖氨酸（胶原及弹性蛋白中）、L-甲基赖氨酸（组蛋白及肌肉蛋白中）和腺苷氨基酸（大肠杆菌谷氨酰胺合成酶中）。

表 2-1 蛋白质中存在的主要氨基酸

分类	名 称	英文代号	相对分子质量	氨基酸的结构式	备 注
疏水性 氨基酸 或非极 性氨基 酸	丙氨酸	Ala	89	$\text{CH}_3-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	两个手性碳原子 氨基酸是非游离态的
	缬氨酸	Val	117	$(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	异亮氨酸	Ile	131	$\text{C}_2\text{H}_5\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	亮氨酸	Leu	131	$(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	脯氨酸	Pro	115	$\text{C}_4\text{H}_9\text{N}^+ \text{COO}^-$	
	苯丙氨酸	Phe	165	$\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	色氨酸	Trp	204	$\text{C}_8\text{H}_6\text{NCH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	甲硫氨酸	Met	149	$\text{CH}_3\text{S}(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
中性 (无电荷) 极性氨 基酸	甘氨酸	Gly	75	$\text{H}-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	无手性碳原子
	丝氨酸	Ser	105	$\text{HOCH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	两个手性碳原子
	苏氨酸	Thr	119	$\text{CH}_3\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	半胱氨酸	Cys	121	$\text{HSCH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	酪氨酸	Tyr	181	$\text{HOC}_6\text{H}_4\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	天冬酰胺	Asn	132	$\text{NH}_2\text{COCH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	谷氨酰胺	Gln	146	$\text{NH}_2\text{CO}(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
带正电 荷氨基 酸	天冬氨酸	Asp	133	$^- \text{OOCCH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	谷氨酸	Glu	147	$^- \text{OOC}(\text{CH}_2)_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
带负电 荷氨基 酸	赖氨酸	Lys	146	$\text{H}_3\text{N}^+(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	精氨酸	Arg	174	$+ (\text{H}_2\text{N})_2\text{CNH}(\text{CH}_2)_3-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	
	组氨酸	His	155	$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2^+ \text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_3)^+ \text{COO}^-$	

第二节 氨基酸的构型

一、氨基酸的立体化学

当具有相同构造的几种分子在某些原子或基团的空间排列上不同时，称它们为立体异构体。立体异构体又可分为同分异构体和光学异构体两大类。在烷烃及其衍生物中，碳原子外层价电子经过 sp^3 杂化，形成 4 个价键，分别指向四面体的 4 个顶角。与碳原子共价结合的基团如果是 4 种不同的基团，这种碳原子称为不对称碳原子。不对称碳原子的 4 种基团可以有两种排列方式，互不重叠但互为镜像的称为对映体。对映体化合物的熔点、溶解度等物理性质几乎完全相同，但是旋光方向相反。对映异构体也称手性

(chirality) 分子或手征性分子。立体化学研究表明，凡是手性分子都具有光学活性或旋光性。

立体异构体常用构型的分类方法来彼此加以区别。构型常用 Fischer 惯用法来表征，即一个手性分子的构型，如它与 D-甘油醛的构型相似或与 L-甘油醛的构型相似那么就相应地规定为 D-型或 L-型，如图 2-2 所示。蛋白质中存在的氨基酸都是 L-型（甘氨酸没有手性碳原子，不具有旋光性），而且这 20 种氨基酸的 α -碳原子都是 L 型的。通常，微生物只能吸收 L-氨基酸，而 D-氨基酸对微生物等是有毒的。为什么蛋白质全部选择了 L-型氨基酸

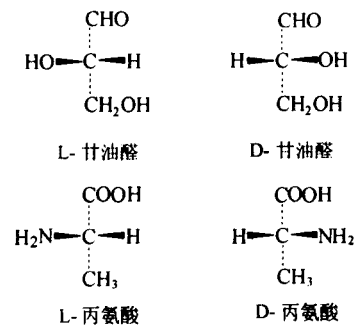


图 2-2 甘油醛与丙氨酸的构型