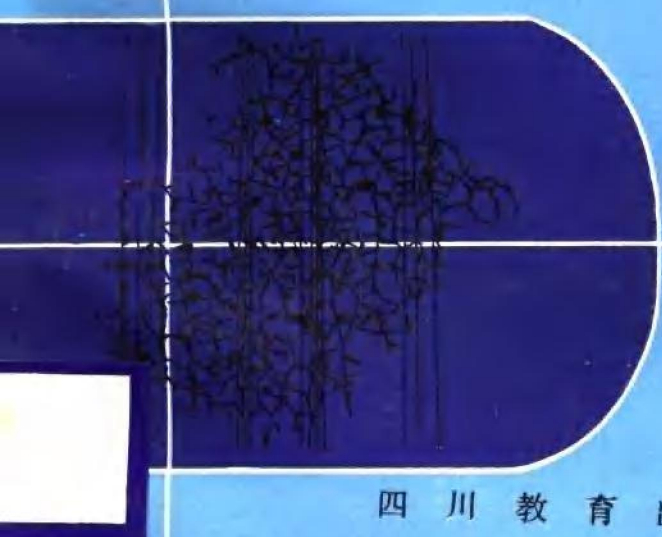


· 现代高分子科学丛书 ·

吴大诚 主编

生物大分子晶体结构研究

李家瑶 著



四川教育出版社

责任编辑：杨亚雄

封面设计：邱云松

版面设计：刘 工

现代高分子科学丛书 吴大诚 主编
*生物大分子晶体结构研究 李家瑶 著

四川教育出版社出版 (成都盐道街三号)

四川省新华书店发行 四川新华印刷厂印刷

开本850×1168毫米 1/32 印张7.5 插页2 字数195千

1987年11月第一版 1987年11月第一次印刷

印数：1—750册

ISBN7-5408-0033-X/G·34

书号：7344·784

定价：2.77 元

内容提要

本书对生物大分子晶体结构研究，即大分子晶体学的学科发展史、物理原理、实验技术及其国内外最新研究成果作了一个较全面而概括的介绍，同时对生物大分子结构研究的其它方法，特别是与衍射有关的方法作了介绍。

本书适合于生物学工作者、教师、大学生、研究生阅读，特别适合于与生物化学和分子生物学有关的读者阅读，并可作为大分子晶体学研究工作者的入门书。

序

Herman Staudinger是本世纪最富有独创精神的化学家之一，由于他坚韧不拔的努力，高分子化学终于在二十年代后期作为一门独立学科而诞生了。尔后，愈来愈多的合成化学家、物理化学家和物理学家参加了高分子科学的研究工作，逐渐形成了包括高分子化学、物理化学和物理学的完整知识体系。在过去的半个多世纪中，出现了一代伟大的开拓者，除公认的奠基者Staudinger之外，其中的杰出代表还有Carothers、Natta、Kirkwood、Kramers、Kuhn、Debye和Flory。今天，十分遗憾，上面提及姓名的各位大师都已经谢世，他们的同龄人中，健在者也已经停止研究工作。由这些先驱所建立的高分子科学已经发展到比较完善的程度，可以称之为经典高分子科学 (Classical Polymer Science)，其内容充分反映在国内外繁多的教材和专著中。

高分子材料工业自三十年代后期开始跃进，天然高分子在生命现象中的重要性，都是高分子科学发展的动力和源泉。目前，这些领域的研究并非山穷水尽；相反，仍然有许多挑战性问题摆在科学界面

前。这些问题中，有一些用经典理论并不能很好解释，甚至完全不能解释。例如，高分子物理化学中最有影响、目前仍然流行的Flory-Huggins晶格模型就是一种“经典”的平均场理论。借鉴于固体物理学中对临界现象和相变研究的发展历史，可以肯定，“近代”理论的兴起并取代“经典”理论是一种必然的趋势。在高分子科学的其他分支领域中，也有这种趋势，只是在近代与经典理论之间的界限很难如此明确划分。或许，唯一可以肯定的仅仅是：近代高分子科学 (Modern Polymer Science) 的大厦已经破土动工。

这套丛书不可能对近代高分子科学作完整介绍，仅约请中国科学院化学研究所、生物学部、复旦大学、中国科学技术大学和成都科技大学数位中年科学家和教授，执笔撰写，介绍近代高分子科学的部分主要内容，涉及到高分子流体的动力学和分子理论、高分子的断裂、天然大分子的晶体结构、高分子合金、聚合物中的孤子、高分子的分离、开环聚合与体积膨胀、高分子液晶以及高分子科学中的计算机模拟。本丛书仍然涉及到众多不同领域，作者的专业背景不尽相同，写作风格也因人而异。每位作者在各自专门领域中显然有更大的发言权，他们对于选材的取舍拥有充分的自由，主编者对此不作过多限制。值得提出的是，本丛书作者中有些自1979年

开始陆续在国外进修并学成归国，有些目前仍在海外工作，各书中介绍的基础理论和最近发展，就是他们多年来潜心研究的心得，包括一部分他们自己的最新成果。本丛书适于高分子专业及相邻学科的大学生、高年级学生、研究生、教师以及科学工作者和工程技术人员学习参考。

在本丛书即将陆续发排付印之际，主编者愿借此机会，向具有精深学术造诣并表现友好合作精神的各位作者，向为出版丛书而付出辛勤劳动的四川教育出版社的同志，表示衷心的感谢。

当然，与其他任何书籍一样，这套丛书中的各本著作，其缺点和错误也绝不能幸免，尤其当论及一些最新结果时，论点的正确与否还有待时间的考验。但是，阅读手稿的经验使我深信，本丛书的读者从这里肯定可以更快了解到近代高分子科学中一些飞速发展的前沿。

吴大诚

1985年9月23日

作者序

生物大分子晶体结构研究属于生物大分子晶体学学科范围，或称大分子晶体学 (Macromolecular Crystallography)，又称蛋白质晶体学 (Protein Crystallography)，是近年来新兴的一门学科分支，近二十余年来发展很快，在分子水平上揭示了许多生物学者感兴趣的问题，是分子生物学研究的一个重要组成部分。由于分子生物学和生物化学难以区分，有人甚至认为大分子晶体学就是生物化学中的分子生物学。

大分子晶体学在分子水平上所揭示的生物学问题是多方面的，比如：蛋白质与核酸的结构规律、生物大分子结构与功能的关系、生物进化、遗传信息传递的分子结构基础等等。但是，由于这门学科发展十分迅速，知识增长得太快，又由于这门杂交的边缘学科的特点，使这门学科的成就虽然为世人所瞩目，但有些人对此并不十分了解，我国广大生物学工作者可能更是如此。

目前，该学科的科研最新成果，仍不断见于最新的科学论文之中，虽然国际上每年都有几篇综述，但远不能包括它的全部研究内容。有关的书籍也逐渐增多，但多侧重于某一专题的全面总结和综述。那么，这门学科的特点是什么呢？这门学科是在X射线晶体学的基础上发展起来的，但又有它作为一门独立学科而存在的特有的内涵，若就从事这门学科的研究人员的学科范围而言，它包括了物理学、化学、数学、生物化学、生物物理学和计算数学，等等。简单的说，这门学科是用物理、数学的原理和方法，以计算技术和X射线衍射仪或照相机等有关仪器为工具来研究生物大分子的结构与功能的关系。由于方法、仪器还没有成熟到象光学显微镜那样人人可以掌握，因此，尽管有些生物学工作者

急于想了解该领域的最新科研成果，但难于涉足其间。另一方面，大分子晶体学工作者过去多出身于物理学和化学，他们在有了晶体之后（往往是生化工作者提供的原料甚至晶体），有可能解出它的晶体结构，却又由于生物学知识不够，而不能圆满地解释其结构。

鉴于以上情况，为广大生物学工作者写的这本书就面临着一定的困难，作者力图做到深入浅出，但又不失其科学的严谨性及材料的新颖性。作者及其同事近几年发表了一些综述论文，多是报导这个领域的某些方面的新进展，需要不断的补充、完善和系统化。因此，作者在我国目前尚无一本较为系统地介绍该学科的专著问世的情况下，作此尝试，以奉献给生物学领域的研究者，以期能够对大分子晶体学有一个概括而全面的了解，对该学科的研究方法、工具和手段，特别是文献中经常碰到的术语能够熟悉起来，从而对阅读有关的文献有所帮助，进而推动本学科的发展，这在国际上也是一种趋势，它必然改变只有物理、化学工作者开拓这门学科的现状。另外，以一本书的形式对该学科的研究成果进行综合、整理，似乎也是有必要的。然而，这方面的科研成果层出不穷，读者还必需对文献随时跟踪，永葆耳聪目明，方能在探索大自然的奥秘中，取得硕果。我国大分子晶体学工作者的出身很不相同，本书或许在某些方面也会对他们有所裨益。另外，作者试图在生化工作者和晶体学工作者之间搭个桥，促使他们有更多的共同语言，交流信息、提高科技水平。

本书第一章是学科简介，重点阐述它与分子生物学的关系以及它在生物学研究中的地位。这仅是作者所赞同的观点，并不奢望得到人人一致的意见。第二章写了本学科几个重要的历史发展阶段，它包含了某些非常有趣的历史事件，希望读者读后会对自己的科学研究有所启迪。第三章阐明衍射的基本原理及其应用。它的内容应包括有关的物理学、几何晶体学、X射线晶体学等学科的全部知识。就每一方面的知识而言都可以写一本或几本专

著，作者在本书中采取深入浅出的方式从宏观角度交待最基本的物理学原理和概念，以期给广大的生物学工作者，特别是物理学、数学知识不够的读者有一个基础。第四章概括地讲述本学科的有关实验技术。对第三、四两章所涉及的知识将在附录中作为较为深入的讨论，这无疑对那些准备从事该领域研究的读者提供了具体帮助和深入钻研的方向。第五章综述了本学科内最新的几个研究成果。第六章介绍了学科的横向联系，从而达到学科之间交流的目的。

作者在完成本书写作的过程中得到吴大诚教授的指导并审阅定稿，陈世芝、林政炯、王家槐等同志分别提供或介绍了病毒、蛇毒、合成疫苗等方面的有关材料或文献，特此一并致谢。

李家瑶

1985年6月 北京

目 录

序

作者序

第一章	大分子晶体学学科简介	1
第二章	大分子晶体学发展历史的几个阶段	5
2.1	第一张蛋白质X射线衍射照片的诞生	5
2.2	第一张蛋白质结构的电子密度图	7
2.3	大分子晶体学的发展成熟阶段	13
2.4	大分子晶体学在中国	18
第三章	X射线衍射原理及晶体结构分析浅释	20
3.1	X射线	20
3.2	晶体对X射线的衍射	23
3.3	晶体的本质	28
3.4	富里哀综合法图解	34
第四章	大分子晶体学实验技术	39
4.1	对原料的要求	39
4.2	晶体生长	42
4.3	数据收集	47
4.4	制备重原子衍生物	52
4.5	分析技术	57
4.6	解释电子密度图	63
第五章	大分子晶体学的成就	72
5.1	蛋白质空间结构与功能关系研究举例	72
5.2	蛋白质空间结构的运动性与功能关系的研究	83
5.3	蛋白质与蛋白质在三维结构水平上的相互作用	98

5.4	蛋白质与核酸在三维结构水平上的相互作用·····	111
5.5	蛋白质进化和空间结构·····	129
5.6	蛋白质结构折叠规律·····	144
第六章	生物大分子结构研究的其他方法·····	167
6.1	中子衍射·····	167
6.2	纤维衍射·····	172
6.3	小角散射·····	175
6.4	电子显微镜和显微图象的三维重组·····	178
6.5	核磁共振·····	180
6.6	同步加速器辐射应用于X射线衍射的实验·····	181
第七章	附录·····	187
7.1	空间点阵中点阵点和平面点阵的指标·····	187
7.2	倒易点阵中点阵点的指标·····	188
7.3	布拉格公式·····	188
7.4	倒易点阵和晶体衍射方向的关系·····	190
7.5	空间群的测定·····	191
7.6	衍射线的强度·····	194
7.7	电子密度函数·····	199
7.8	帕特森函数·····	201
7.9	联合概率法计算母体位相·····	204
7.10	最小二乘修正·····	206
7.11	回摆法原理简介·····	207

第一章 生物大分子晶体学学科简介

生物大分子晶体结构研究是用X射线衍射的方法研究生物大分子单晶体的三维结构，并在此基础上研究生物大分子结构与功能的关系。这是五十年代后期发展起来的一门新兴学科，叫做大分子晶体学或蛋白质晶体学。

在介绍大分子晶体学以前，首先简述分子生物学的发展及其研究内容。当然，作者不可能对分子生物学的各个方面下定义，但通过这种介绍，读者可以体会到大分子晶体学在其中所处的地位和它的重要性。

据说，英国自然科学协会会长Warren Weaver于1938年第一次创造了“分子生物学”这个名称，但分子生物学的迅猛发展还是在二次世界大战以后。所以，美国生物学史家Garland E. Allen在他的《二十世纪的生命科学》中说：“二次世界大战以后的二十五年来，恐怕只有分子生物学可以代表这个时期的科学发展，并将以分子生物学时期这一历史名称为后几代科学工作者所熟知。当然，这个时期自然科学的许多领域都发生了巨大的变化，但发生了最深远的和革命性进展的还是生物学领域。在这些年里，分子研究和生物化学研究的成熟和一体化，甚至已经达到了在本世纪头几十年里最空谈理论的机械论者所能想象的深度和广度。”

近年来，“分子生物学”这个词确实变得越来越时髦，但也有些混乱，学术界的争论也时有发生。比如：分子生物学和生物化学的关系和区别到底在哪？有人认为，分子生物学不过是深入到分子结构水平上的超微结构的生物学分支，而C.H. Waddington就主张这个领域的恰当名称应该是“超微结构生物学”。也有

人认为，生物化学家和分子生物学家都企图从分子角度来解释生命现象，两者的主要区别是后者吸引了一批具有不同专长的科学家并带来了新的技术装备，并认为分子生物学最初的概念主要是由一些物理学家提出来的等等。因此，大分子晶体学的先驱和创始人之一John Kendrew博士曾经说过：“尽管‘分子生物学’这个术语经常被人们所引用，但事实上许多分子生物学家甚至没有准确地弄清楚他们的学科是什么。”作为“分子生物学”术语的另一位提出者和宣传者W.T.Astbury曾于1950年给分子生物学下了一个定义，其中谈到：“……分子生物学主要是研究三维的和结构的分子形态，……它必须同时探讨遗传和功能，……。”但是，Allen又认为分子生物学不仅包含了结构与功能的成分，而且也包含了信息的成分。例如：人们是从生命的两大物质——蛋白质和核酸如何携带特定生物信息方面来看它们的结构的。所以，他认为从历史上看有三方面的思想通向当今分子生物学的形成：

(1) 生物大分子的结构方面，特别是三维结构。(本书所使用的‘三维结构’、‘三级结构’、‘空间结构’都是一个意思，在英语中也经常混用：Three Dimentional Structure or Tertiary Structure)

(2) 生化方面，与生物分子如何在细胞新陈代谢和遗传过程中相互作用的问题有关。

(3) 信息方面，信息代代传递及如何转译等。

以上三方面的工作，在五十年代以前还一直是分开的，但他以分子生物学的一个分支——分子遗传学的发展为例，来说明三方面共同工作的结果。众所周知，核酸是德国化学家Friedrich Miescher于1869年发现的，但它的真正含义直到二十世纪才被人们充分认识。这是由于蛋白质数量多、分布广，再加上有人强调生命物质基础的‘原生质’胶体性质。后来，当弄清蛋白质的20种氨基酸组成时，更感到它比只有四种核苷酸的核酸组成复杂得

多，适合于携带遗传信息。所以，长期以来把蛋白质看成是遗传信息的载体。50年代才了解到这些物质的结构细节，并确立了核酸才是遗传信息的载体。这项显著的成就是上述三个方面独立研究领域在40年代末以前所做的努力的结果：测定蛋白质、核酸结构的结构主义者和证明代谢途径有关的基因和酶之间联系的生物化学家以及那些认为至少在几种细菌和病毒中的核酸是遗传信息的载体的信息主义者所获得的资料的综合。

且不谈信息主义学派的产生，也不谈生化遗传学学派的发展，为什么早期研究生物分子的X射线晶体学家被称为结构主义者，这是不无理由的。一方面，大部分早期的研究生物分子的X射线晶体学家们的经历和爱好（这个时候我们所指的大分子晶体学还没有问世），使他们带有经验主义的色彩。虽然他们并不是对研究蛋白质和核酸的生物学含义不感兴趣，但其主要兴趣和动力似乎还是分子的结构，他们并不倾向于大量的推理，而以非常审慎和理性的方法发现事实，并踌躇地和持有几分谨慎的态度建立他们的分子模型。另一方面，研究生物分子的晶体学家们大多出身于化学、物理学，当时的X射线衍射方法还没有当今这样的发展，对几十个原子的单晶结构分析已经很了不起的了，而纤维蛋白的X射线衍射数据量很少，信息量低，要从不多的直观信息中分析出一些结论，不但需要多方面知识的配合，而且需要科学家发挥想象力。大分子晶体学的先驱原英国医学研究委员会分子生物学实验室主任Max Perutz教授就是学化学出身的，他在谈到1950年Jim Watson来到他们实验室的感受时，曾经这样表示：“Jim的到来，不仅对Crick而且对我们大家都产生了巨大的影响，因为我们这些化学家和物理学家所受的启发都是来自那样一些生化、生理学家，他们主要对蛋白质功能感兴趣而从不问蛋白质是从何而来的，Watson却把我们的注意力集中于生物学的最基本问题。”众所周知，正是Watson和Crick1953年在Perutz的实验室里完成了DNA双螺旋结构模型。如上所述，这是X射线晶体

学和生物学、生化和遗传学共同研究的结晶。1953年在Perutz的实验室里，除了发现DNA双螺旋结构模型以外，还有一些其他方面的惊人的科研成果，其中Hugh Huxley和稍晚一点的Jean Hanson（后者在麻省理工学院）发现了肌肉收缩的滑动机理。他本人发现了用于大分子单晶结构研究的同晶置换法，从而开创了一门新的学科分支——大分子晶体学。所以那时他说：“我似乎感到，生物系统分子结构研究的中心已转到剑桥了。”而‘生物系统分子结构’这个名称是Hugh Huxley和Kendrew加入医学研究委员会研究机构后从事大分子结构研究所使用的名称，经过了九年的时间，也就是到1956年，他才形成把‘生物系统分子结构’这个名称缩短为‘分子生物学’的想法。

大分子晶体学的问世，使该学科的科学家用摆脱了结构主义者的称号。大分子晶体学所给出的结果是那样的完整和彻底，以致于人们运用这个结果（这个结果是分子中每个原子在空间中的三维排布）就可以做出许许多多的推论，进一步分析就可以解释许许多多生化工作或分子生物学工作的疑难。所以，大分子晶体学首先把蛋白质的结构研究（到后来也包括了核酸的晶体结构研究）推进到了生物大分子的结构与功能关系研究这样一个高度，这正是分子生物学的主要研究课题之一。随着该学科的不断发 展，其中包括仪器技术的不断改进，研究方法的不断创新，使它的研究内容几乎渗透到了分子生物学研究的各个角落。比如：分子的运动性及其与功能的关系，蛋白质的折叠机制，分子遗传进化，生物膜的结构与功能，等等。如果说生物大分子的空间动态结构与功能关系的研究是分子生物学的研究核心并将对整个生物学起重大作用的话，如果说分子生物学对生物学的统一做出了贡献，即用分子生物学的语言解释生物学在不同层次上所描述的现象的话，那么是否就可以说生物大分子X射线衍射晶体结构研究在目前就是这类研究的一个重要组成部分。

第二章 大分子晶体学发展历史的几个阶段

大分子晶体学和X射线晶体学是两门紧密相关的学科。它们涉及到的物理原理、仪器和某些方法都极为相近，可以说由于研究对象从无机、有机化合物向生物大分子的“进化”，使大分子晶体学在X射线晶体学的基础上脱颖而出。大分子晶体学之所以堪称为一门独立的学科，有它发生、发展的历史。下面扼要介绍大分子晶体学发展的几个重大历史阶段。

2.1 第一张蛋白质X射线衍射照片的诞生

早在1830年Baumgürtner就得到了血红蛋白的晶体。之后，还陆续得到了一些生物大分子的晶体。但在1895年 W.C.Röntgen发现X射线以前，特别是1912年Max Von Laue发现晶体有X射线衍射现象以前，人们对生物大分子晶体的本质所知甚少。其后，X射线晶体学诞生了。同时，许多科学家在为探索蛋白质晶体的奥秘奋斗着，下面的一段记述就是英国著名晶体学家、科学学创始人之一J.Bernal对自己发现的描述。

“那是三十年代初，当时X射线晶体学对于晶胞内只有几个、十几个甚至几十个原子的无机、有机化合物的晶体结构分析，人们已经有了一些办法，并有一大批这样的结构已经解出。但是对于蛋白质的结构分析，人们只是开始看清这个问题的重要性，而实质上它还是个迷。因为蛋白质是极其复杂的物质，每个分子内有成千上万个原子，对那时的化学家和晶体学家来说都是难以解决的问题。

另一方面，蛋白质是晶体物质，血红蛋白晶体是早就知道的。人们还发

现，有些蛋白质很容易形成晶体。当晶体学家用X光机看到晶体的时候，就马上想揭示它的结构，想用X光机拍下它的衍射图象。可以这样说，自1913年Bragg父子研究了X射线在氯化钠晶面上的反射时起，许多人就想拍下蛋白质的X光片，但毫无结果。蛋白质晶体看上去是非常好的晶体，晶面平，边界清楚，可是衍射斑点非常模糊。这到底是为什么？我感到必须要搞清楚这种奇怪的现象。但是我没有晶体，虽然我有时也能在显微镜下看到蛋白质的小晶体，但真正有用的晶体从未见到过。我常听说有很好的蛋白质晶体，但每次又说晶体溶解或被扔掉了，现在已经没有了。

蛋白质晶体还有另外一个奇特的性能，可使人们有理由认为，它实际上完全不是晶体。那就是有时它的面间角能变化。因此许多人认为蛋白质晶体是一种假晶体，好象X光片拍不好是不足为奇的。而我却认为一定能拍好，并把这个想法告诉所有我碰到的人和所有我去过的实验室。（因为他认为蛋白质的晶体在本质上和无机分子的晶体没有什么差别，是成百万同类型蛋白质分子有规则排列的结果。他曾在他的大老式带有尼科耳偏光镜的显微镜上见到了胃蛋白酶晶体的双折射现象，他把胃蛋白酶晶体浸在硫酸铵溶液中，当溶液逐渐挥发，晶体变干后，其双折射逐渐变弱，最后晶体破裂。——作者注）

1934年的夏天，机会终于来到了。有一个叫G. Millikan的青年化学家是我的朋友，到北拉普兰去登山，途经斯德哥尔摩返回时，在Svedberg的实验室停留了一下，后者是超离心机的发明者。Millikan与一个工作人员交谈了一下，习惯地看了一下实验室，发现架子上面什么东西闪烁了一下。

‘那瓶子里面是什么东西？’他好奇地问道。谁也记不得了，大家看了看标签，原来瓶子里放的是胃蛋白酶，即胃消化酶。蛋白酶放在架子上已经很久了，被人遗忘了，因此结晶了，而且晶体很大，肉眼明显可见，长度足有两个毫米。Millikan想起我需要好的蛋白质晶体，因此要了几粒，还在试管里倒了一些胃蛋白酶晶体的原液。

到了剑桥，Millikan迅速将晶体交给了我。我十分高兴地想：瞧，现在就能拍好X光片啦！我取出一粒晶体，把它放到X光机上拍片，可是片子上仍旧什么也看不见，我所需要的东西的确确什么也看不到！这使我非常失望。要知道，这一次什么都有了，晶体有了，晶体能使X射线衍射，可是衍射没有出现。这就是说，一定有什么问题。什么问题呢？难道是因为我从自然介质中取出晶体吗？我突然想到要在晶体生成的胃蛋白酶液中