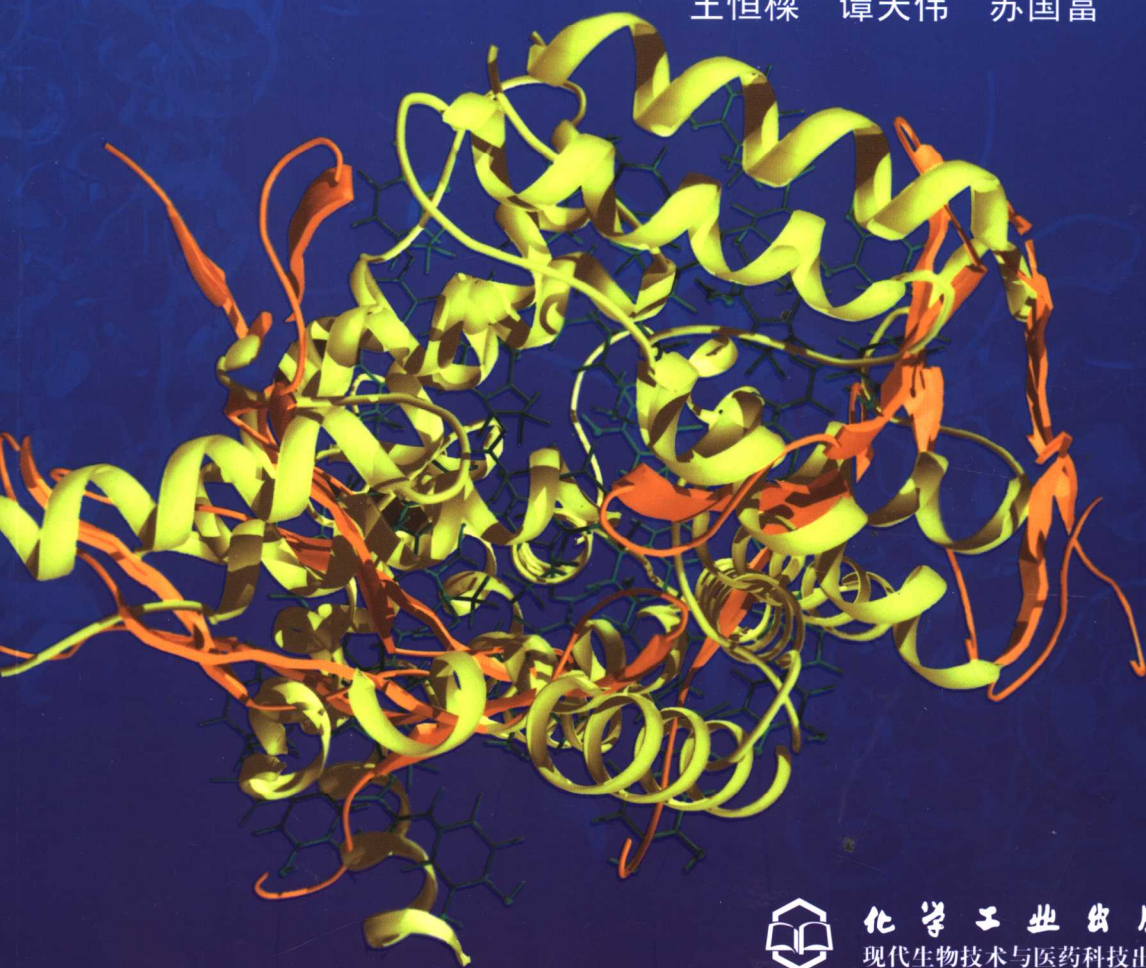


Proteins Biochemistry and Biotechnology

蛋白质生物化学 与生物技术

[爱尔兰] G. 沃尔什 (Gary Walsh) 著

王恒樑 谭天伟 苏国富 等译



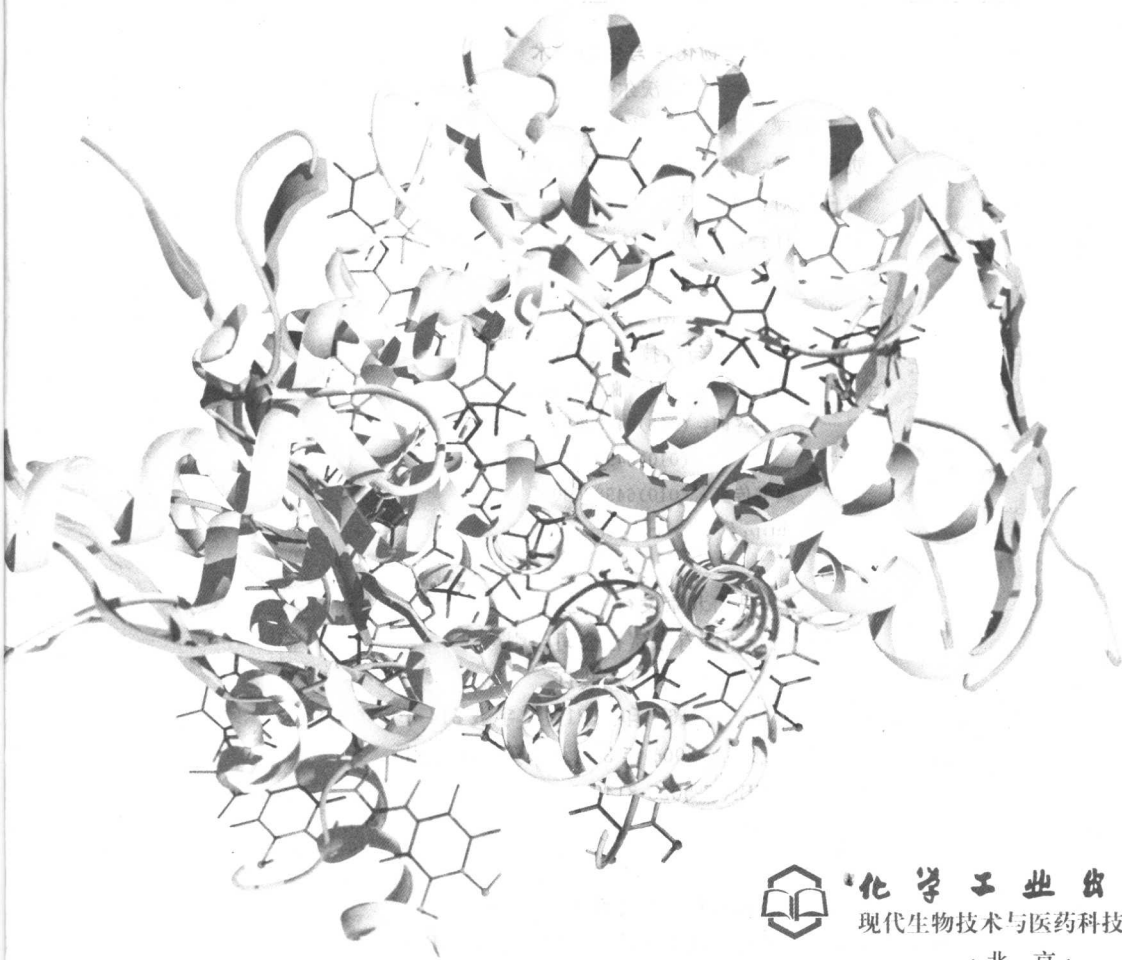
化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

Proteins
Biochemistry
and
Biotechnology

蛋白质生物化学 与生物技术

[爱尔兰] G. 沃尔什 (Gary Walsh) 著

王恒樑 谭天伟 苏国富 等译



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

蛋白质生物化学与生物技术/[爱尔兰] 沃尔什 (Walsh, G.) 著; 王恒樑等译. —北京: 化学工业出版社, 2005. 12

书名原文: Proteins Biochemistry and Biotechnology

ISBN 7-5025-8149-9

I. 蛋… II. ①沃…②王… III. ①蛋白质-生物化学②蛋白质-生物技术
IV. Q510.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 157960 号

Proteins Biochemistry and Biotechnology/by Gary Walsh

ISBN 0471899070

Copyright©2002 by John Wiley & Sons Ltd. All rights reserved.

Authorized translation from the English language edition published by John Wiley & Sons Ltd.

本书中文简体字版由 John Wiley & Sons 出版公司授权化学工业出版社独家出版发行。

未经许可, 不得以任何方式复制或抄袭本书的任何部分。

北京市版权局著作权合同登记号: 01-2004-1426

蛋白质生物化学与生物技术

[爱尔兰] G. 沃尔什 著

王恒樑 谭天伟 苏国富 等译

责任编辑: 郎红旗 傅四周 周 旭

责任校对: 宋 玮

封面设计: 胡艳玮

*

化 学 工 业 出 版 社
现代生物技术与医药科技出版中心 • 出版发行

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

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

*

新华书店北京发行所经销

大厂聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 21¼ 字数 514 千字

2006 年 3 月第 1 版 2006 年 3 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8149-9

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

译者名单

(按姓氏汉语拼音排序)

- | | |
|-----|-------------------|
| 董函竹 | 北京化工大学生命科学与技术学院 |
| 高荣凯 | 中国人民解放军海军总医院中心实验科 |
| 侯利华 | 军事医学科学院微生物流行病研究所 |
| 贾丽娜 | 北京化工大学生命科学与技术学院 |
| 阚微娜 | 北京化工大学生命科学与技术学院 |
| 李 霆 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 史兆兴 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 苏国富 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 谭天伟 | 北京化工大学生命科学与技术学院 |
| 王恒樑 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 王军军 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 王宇新 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 许凌峰 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 袁 静 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 岳俊杰 | 军事医学科学院生物工程研究所 |
| 张 艳 | 北京化工大学生命科学与技术学院 |
| 赵 颖 | 北京化工大学生命科学与技术学院 |
| 周晓巍 | 军事医学科学院生物工程研究所 |

译序

应译者之邀，代为中译本作序。1953 年詹姆斯·沃森和弗兰西斯·克里克发现了 DNA 的双螺旋结构，1972 年美国科学家伯格首创基因重组技术，开辟了现代生命科学研究的新时代。从此核酸的分离纯化、克隆和表达的研究进展迅速，并取得令人瞩目的成就，因此也出版了不少与此有关的书籍。1990 年人类基因组计划启动，并且其草图已在 2003 年完成，极大地促进了功能基因组学和蛋白质组学的研究，意味着未来现代生物技术的研究重点将由生命的遗传物质转移到生命功能的执行者——蛋白质。为了适应生物高技术发展的需要，军事医学科学院生物工程研究所和北京化工大学生命科学与技术学院的一些中青年科技工作者和教师在较短的时间内译出本书。

本书是关于蛋白质的生物化学和生物技术的专著，全面介绍了迄今为止的蛋白质研究概况，前 3 章着重介绍蛋白质的生物化学特性，其余 10 章是关于蛋白质的制备和它们在医学、分析和工业上的应用。本书不仅适用于生物化学专业的本科生，对生命科学领域相关专业的研究生和从事生物技术研究的科研工作者也是一本有益的参考书。

黄翠芬

中国工程院院士

军事医学科学院生物工程研究所研究员，名誉所长

2005 年 10 月

前言

本书是 John Wiley & Sons 出版公司于 1994 年出版的《蛋白质生物技术》的延伸，旨在全面介绍迄今为止蛋白质研究的概况，着重介绍蛋白质的生物化学和应用。第 1~3 章主要讲述蛋白质的生物化学基本原理，涉及蛋白质的来源、结构、折叠、稳定性、定量、纯化和鉴定。其余 10 章主要介绍蛋白质的制备及其在医学、分析技术和工业过程中的应用。

本书主要是为了满足生物技术专业学生的需要，但是应该也适合于生物化学、微生物学或生物医学等其他相关学科的研究生，而且对目前正在从事生物技术研究的人员也有重要的参考价值。

在此，我真诚地感谢对圆满完成本书作出贡献的有关人员：Sandy 自始至终都能很好地理解我的思想，她把我的许多原始草图（有的与抽象画没有多大区别）绘制成清楚易懂的图表；感谢 Kate 和 Grainne 在百忙之中帮助打印图表；感谢 Gérard Wall 对于蛋白质工程方面的许多有益讨论；也要感谢 Nancy，当我解释要为出版该书而不能帮助她承担一些家务时，她总是毫无怨言；当然，我也要感谢我的《蛋白质生物技术》的合作者 Denis Headon，他是我的良师益友，多年来一直鼓励着我；同时，感谢 John Wiley & Sons 出版公司的敬业精神和工作效率，以及对我延误交付手稿的宽容。另外，我还要对那些出版商表示感谢，因为他们允许我复制一些有版权的资料。

最后，谨以此书献给我所熟悉的最神奇和最珍贵的蛋白质组合——我漂亮的小女儿 Eithne。

G. 沃尔什
Gary Walsh
2001 年 6 月

内 容 提 要

这是一本蛋白质理论与技术方面的系统论著，书中汇集了蛋白质领域研究人员关注的权威信息资源，并对蛋白质在医药、分析技术以及工业过程中的应用进行了全面的总结。

本书原著是对早先出版并受到广泛关注的《蛋白质生物技术》（“Protein Biotechnology”）一书的全面拓展和延伸，由国内相关领域的科研一线专家翻译成中文，旨在提供给读者蛋白质技术方面国际上的最新进展与大量的相关研究案例。前面几章集中讲述蛋白质的结构、折叠、稳定性、纯化和鉴定，后文详细探讨蛋白质的工业化生产及其在医药、分析技术和工业过程中的应用。

本书对于生物技术、生物化学、微生物学与分子生物学专业本科生的学习和研究具有很大的参考价值，对于医学、药学和生物医学等领域从事蛋白质研究的人员也很有帮助，同时还是生物技术与生物制药工业的管理者和科学家的一本理想的参考书。

目录

第 1 章 蛋白质的结构	1
1.1 引言	1
1.2 蛋白质的结构概述	1
1.2.1 一级结构	2
1.2.2 肽键	6
1.2.3 氨基酸序列测定	6
1.2.4 多肽合成	11
1.3 高级结构	11
1.3.1 二级结构	11
1.3.2 三级结构	13
1.3.3 高级结构测定	16
1.4 蛋白质的翻译后修饰	18
1.4.1 蛋白酶水解过程	18
1.4.2 糖基化	18
1.4.3 磷酸化	20
1.4.4 乙酰化、酰化、氨基化	21
1.5 蛋白质的稳定性和折叠	22
1.5.1 折叠途径	25
1.5.2 蛋白质工程	27
1.6 进一步的阅读材料	29
第 2 章 蛋白质的来源	32
2.1 引言	32
2.2 微生物作为蛋白质的来源	33
2.2.1 基因工程菌生产蛋白质	35
2.2.2 大肠杆菌生产异源蛋白	35
2.2.3 酵母菌生产异源蛋白	38
2.2.4 真菌生产异源蛋白	39
2.3 植物蛋白质	40
2.4 动物组织作为蛋白质的来源	43

2.4.1	转基因动物生产异源蛋白	44
2.4.2	用动物细胞培养生产异源蛋白	46
2.4.3	昆虫细胞培养系统	47
2.5	直接化学合成	48
2.6	结论	50
2.7	进一步的阅读材料	50
第3章	蛋白质的纯化与鉴定	53
3.1	引言	53
3.2	蛋白质的初步回收	56
3.2.1	细胞破碎	56
3.2.2	微生物细胞破碎	57
3.3	去除完整细胞和细胞碎片	58
3.3.1	离心	58
3.3.2	过滤	58
3.3.3	双水相分离	60
3.3.4	核酸和脂类的去除	62
3.4	浓缩和初步纯化	63
3.4.1	沉淀浓缩	63
3.4.2	离子交换浓缩	64
3.4.3	超滤浓缩	65
3.4.4	渗滤	67
3.5	柱层析	67
3.5.1	空间排阻层析(凝胶过滤层析)	68
3.5.2	离子交换层析	71
3.5.3	疏水作用层析	74
3.5.4	亲和层析	76
3.5.5	羟基磷灰石层析	81
3.5.6	聚焦层析	82
3.5.7	基于双水相分离的蛋白质层析	82
3.5.8	蛋白质的高效液相层析	83
3.5.9	膨胀床层析	85
3.5.10	膜层析	87
3.5.11	重组蛋白的纯化	88
3.6	蛋白质的失活和稳定性	89
3.6.1	化学失活	90
3.6.2	生物或物理因素导致的失活	92
3.6.3	稳定蛋白质的方法	93
3.6.4	冷冻干燥	94
3.6.5	蛋白质的微量纯化	96

3.7 蛋白质的鉴定	96
3.7.1 功能研究	97
3.7.2 纯度证明	98
3.7.3 分子量的测定——质谱	100
3.8 进一步的阅读材料	101
第4章 大规模蛋白质纯化	104
4.1 一些基本原则	104
4.1.1 蛋白质纯化的规模化	105
4.1.2 纯化系统的规模化	106
4.1.3 大批量蛋白质生产	107
4.1.4 治疗或诊断用途的蛋白质的纯化	109
4.2 治疗性蛋白质产品——一些特殊的问题	110
4.2.1 清洁区	111
4.2.2 清洁、去污染和消毒	111
4.3 蛋白质类治疗性产品中杂质的种类及其在医学上的意义	113
4.3.1 微生物污染物	113
4.3.2 病毒污染物	114
4.3.3 热原质污染物	115
4.3.4 DNA 污染物	118
4.3.5 蛋白质污染物	118
4.3.6 化学和非细胞污染物	119
4.4 终产品的标记与包装	120
4.5 进一步的阅读材料	120
第5章 用于治疗蛋白质——血液制品和疫苗	122
5.1 引言	122
5.2 血液制品	122
5.2.1 全血和血浆	122
5.2.2 源于血液的蛋白质	123
5.2.3 血液凝集因子——生物化学和功能	123
5.3 血友病 A 和血友病 B	125
5.3.1 医用的凝血因子产品	125
5.3.2 重组血液因子	126
5.3.3 非遗传的凝固疾病	126
5.4 抗凝血剂	128
5.4.1 传统的抗凝血剂	128
5.4.2 水蛭素	129
5.4.3 安克洛	130
5.5 血栓溶解剂	130

5.5.1 纤维蛋白溶解系统	130
5.5.2 以组织纤溶酶原激活剂为基础的产品	131
5.5.3 其他血栓溶解剂	131
5.6 其他血液相关制剂	132
5.6.1 人血清白蛋白	132
5.6.2 α_1 -抗胰蛋白酶	133
5.6.3 血液代用品	133
5.7 疫苗技术	135
5.7.1 传统疫苗	135
5.7.2 重组疫苗	136
5.7.3 以乙型肝炎为基础的重组疫苗	137
5.7.4 设计疫苗的其他方法	138
5.7.5 抗独特型抗体作为疫苗	138
5.8 艾滋病疫苗	139
5.8.1 癌症疫苗	140
5.8.2 佐剂技术	141
5.9 进一步的阅读材料	141
第6章 治疗用抗体和酶	144
6.1 引言	144
6.2 应用于体内的抗体	144
6.2.1 多克隆抗体制剂	144
6.2.2 单克隆抗体	146
6.2.3 杂交瘤技术	148
6.2.4 已获批准体内应用的抗体	149
6.2.5 基于抗体的肿瘤检测和杀伤	150
6.2.6 治疗用抗体——初始效果令人失望	151
6.2.7 嵌合和人源化抗体	151
6.2.8 肿瘤表面抗原特异性	153
6.2.9 应用于临床的抗体的制备	153
6.3 治疗用酶类	155
6.3.1 天冬酰胺酶	155
6.3.2 清创和抗炎制剂	156
6.3.3 辅助消化的酶类	157
6.3.4 超氧化物歧化酶	157
6.3.5 囊性纤维症的核酸酶治疗	158
6.3.6 葡萄糖脑苷脂酶	159
6.4 进一步的阅读材料	159
第7章 激素和生长因子在医疗中的应用	161

7.1 引言	161
7.2 胰岛素	162
7.2.1 糖尿病	162
7.2.2 胰岛素的体内合成	162
7.2.3 常规胰岛素制剂	164
7.2.4 层析法纯化的胰岛素	164
7.2.5 人胰岛素制剂	165
7.2.6 胰岛素配方	167
7.2.7 工程胰岛素	167
7.3 胰高血糖素	167
7.4 促性腺激素	168
7.4.1 促卵泡成熟激素 (FSH)、黄体化激素 (LH) 和人绒毛膜 促性腺激素 (hCG)	168
7.4.2 促卵泡成熟激素 (FSH)、黄体化激素 (LH) 和人绒毛膜 促性腺激素 (hCG) 的来源	169
7.4.3 孕马血清促性腺激素	170
7.4.4 动物的超排卵	170
7.4.5 抑制素	171
7.5 生长激素	171
7.6 促红细胞生成素	173
7.7 其他生长因子	173
7.7.1 血小板源生长因子	174
7.7.2 胰岛素样生长因子	174
7.7.3 表皮生长因子	175
7.7.4 成纤维生长因子	175
7.7.5 转化生长因子	176
7.8 促甲状腺素	176
7.9 促肾上腺皮质激素	177
7.10 泌乳刺激素	177
7.11 多肽调控因子	178
7.11.1 催产素和加压素	178
7.11.2 黄体化激素释放因子	179
7.11.3 生长激素抑制素	179
7.12 进一步的阅读材料	180
第8章 干扰素、白介素和其他调节因子	183
8.1 调节因子——细胞因子和激素	183
8.2 干扰素	184
8.2.1 α 干扰素	184
8.2.2 β 干扰素	186

8.2.3	γ 干扰素	186
8.2.4	α 干扰素的生产和医疗应用	186
8.2.5	β 干扰素的生产和医疗应用	187
8.2.6	γ 干扰素的生产和医疗应用	188
8.2.7	ω 干扰素	188
8.2.8	τ 干扰素	188
8.3	白介素	189
8.3.1	白介素 2	190
8.3.2	白介素 2 的生产和医疗用途	192
8.3.3	白介素 11	193
8.3.4	白介素 1	193
8.3.5	白介素 4、白介素 6 和白介素 12	194
8.4	肿瘤坏死因子	195
8.4.1	α 肿瘤坏死因子	195
8.4.2	α 肿瘤坏死因子的生物学效应	196
8.4.3	α 肿瘤坏死因子的医疗用途	197
8.4.4	β 肿瘤坏死因子	197
8.5	集落刺激因子	197
8.6	细胞因子毒性	199
8.7	进一步的阅读资料	199

第 9 章	用于分析的蛋白质	202
9.1	引言	202
9.2	用于诊断/分析试剂的酶	203
9.2.1	终点法与动力学方法的比较	205
9.2.2	一些以酶为基础的普通诊断检测	206
9.2.3	血糖分析	207
9.2.4	血中胆固醇和甘油三酯的分析	208
9.2.5	血中尿素和尿酸的分析	209
9.2.6	作为诊断试剂的固定化酶	210
9.3	生物传感器	210
9.3.1	以酶为基础的生物传感器	212
9.3.2	不以酶为基础的生物传感器	213
9.4	作为分析试剂的抗体	214
9.4.1	放射免疫分析	214
9.4.2	酶免疫分析	215
9.4.3	酶联免疫吸附分析	215
9.4.4	在酶免疫分析中使用的酶	218
9.4.5	免疫分析发展的趋势	219
9.4.6	人体免疫缺陷病毒的免疫学分析	219

9.4.7 其他免疫分析应用	222
9.4.8 基于乳胶和其他的免疫分析系统	222
9.4.9 与膜相结合的诊断系统	225
9.5 进一步的阅读材料	227
第 10 章 工业酶概述	229
10.1 工业酶	229
10.1.1 工业酶的商业价值	231
10.1.2 工业酶传统(非重组)来源	231
10.1.3 基因工程对酶生产的影响	232
10.1.4 工程酶	233
10.2 固定化酶	233
10.2.1 凝胶包埋	234
10.2.2 吸附	234
10.2.3 酶的安全性	235
10.2.4 工业酶前景	236
10.3 极端菌	236
10.3.1 嗜热菌	237
10.3.2 由嗜热菌生产的酶	238
10.3.3 其他极端菌生产的酶	239
10.3.4 有机溶剂中催化反应的酶	240
10.4 进一步的阅读材料	241
第 11 章 工业酶——蛋白酶和糖酶	243
11.1 蛋白酶	243
11.1.1 蛋白酶的分类	243
11.1.2 洗涤剂用蛋白酶	245
11.1.3 干酪生产中使用的蛋白酶	247
11.1.4 蛋白酶和肉质嫩化	248
11.1.5 蛋白酶和皮革生产	249
11.1.6 阿斯巴甜的合成	250
11.1.7 酿造与烘制面包工业中使用的蛋白酶	250
11.1.8 蛋白废弃物的酶促转化	251
11.1.9 蛋白酶的其他应用	252
11.2 糖酶	252
11.2.1 淀粉酶	253
11.2.2 淀粉	253
11.2.3 α -淀粉酶	254
11.2.4 葡萄糖淀粉酶	255
11.2.5 β -淀粉酶	256

11.2.6	α 1 $\rightarrow$ 6 葡萄糖苷酶	257
11.2.7	葡萄糖异构酶	258
11.2.8	淀粉转化的工业价值	259
11.2.9	α -淀粉酶用作洗涤剂	260
11.2.10	α -淀粉酶用于纺织品脱浆	261
11.2.11	乳糖酶和蔗糖酶	262
11.3	木质纤维素降解酶	263
11.3.1	纤维素	263
11.3.2	半纤维素和木质素	264
11.3.3	纤维素酶	265
11.3.4	真菌纤维素酶	265
11.3.5	细菌纤维素酶	266
11.3.6	纤维素酶的结构	266
11.3.7	纤维素水解的工业应用	267
11.3.8	用作洗涤剂	268
11.3.9	砂洗和生物抛光	269
11.3.10	酶催化脱墨	269
11.4	果胶与果胶酶	269
11.4.1	果胶	269
11.4.2	果胶酶	271
11.4.3	果胶及果胶降解酶的工业价值	271
11.5	进一步的阅读材料	272
第 12 章	其他一些工业酶	274
12.1	脂肪酶	274
12.1.1	洗涤剂中的应用	275
12.1.2	其他应用	276
12.2	青霉素酰化酶	277
12.3	酰化氨基酸水解酶和氨基酸的生产	278
12.4	环糊精与环糊精糖基转移酶	280
12.5	酶与动物营养	282
12.5.1	除去不利于营养吸收的因素	282
12.5.2	肌醇六磷酸酶和植酸	283
12.5.3	影响饲料酶功效和稳定性的因素	285
12.5.4	检测加入到饲料中的酶	286
12.5.5	酶与动物营养以及未来发展方向	287
12.6	氧化还原酶	288
12.7	分子生物学用酶	290
12.7.1	限制性核酸内切酶和 DNA 连接酶	290
12.7.2	DNA 聚合酶	291

12.8 进一步的阅读材料.....	292
第 13 章 非催化的工业蛋白	294
13.1 引言.....	294
13.2 蛋白质的功能特性.....	294
13.2.1 黏度和增稠性.....	295
13.2.2 凝胶化、内聚力和弹性.....	295
13.2.3 脂类与香味的结合、乳化和发泡.....	296
13.3 乳汁和乳蛋白.....	297
13.3.1 酪蛋白的生化性质.....	298
13.3.2 酪蛋白的工业生产和应用.....	300
13.3.3 乳清蛋白的生化性质.....	304
13.3.4 乳清蛋白的工业化生产和应用.....	306
13.4 动物蛋白和微生物蛋白.....	307
13.4.1 明胶.....	307
13.4.2 卵清蛋白.....	308
13.4.3 单细胞蛋白.....	309
13.5 甜味和口味修饰蛋白.....	310
13.6 进一步的阅读材料.....	311
索引	313

第1章

蛋白质的结构

1.1 引言

本书后面的章节旨在探讨与蛋白质来源、纯化、特性和应用相关的问题。在本章这一引言式的章节中，着重于介绍蛋白质的结构。如果对这个主题涉及稍微广泛一点的话，就很容易写成一本这方面的书，而且这方面的文献很多，也很容易得到。本章的目的是提供一个有关这个主题的基本的概述。有兴趣的读者可以求助于本章的“进一步的阅读材料”部分，那里列出了很多本领域的优秀的专门出版物。通过本章提到的网页站点，也可以收集到更多额外的信息。

1.2 蛋白质的结构概述

蛋白质是由一条或几条多肽链组成的大分子（表 1.1）。每一条多肽都是由通过肽（酰胺）键连接的氨基酸组成的链。一条特定多肽的精确的氨基酸序列由编码这条多肽的基因决定。当一个多肽合成之后，这条多肽链就会折叠，呈现一个特定的三维形状（即特定的构象），这个构象对于这条多肽链来说是唯一的。多肽采取的构象取决于其氨基酸序列，并且主要通过大量的弱的相互作用力来实现稳定。任何破坏这种弱作用力的效应（如一定的化学和热）都会导致多肽链的天然构象的破坏，这个过程称为变性。变性常常导致功能活力的降低，这清楚地说明了蛋白质的功能对于蛋白质结构的依赖性。一个蛋白质的结构通常不能单独从其序列预测出来。但是蛋白质的结构信息可以通过实验技术，如 X 射线衍射和核磁共振谱（nuclear magnetic resonance, NMR）测定出来。

多肽链经常被描述为“纤维状”或“球状”。纤维状蛋白采取的是比较简单的三维外形，并且常常是完全拉长的。这类蛋白质在生物体系内起结构/保护性作用（表 1.2）。球状蛋白采取的是比较复杂的三维外形，其中的氨基酸链一般紧密地折叠成一个近似的球形。这种球状蛋白的直径一般是 5~10nm 数量级。蛋白质有时候也分为简单蛋白和结合蛋白两类。简