

111.261

生 物 化 学

张迺衡 主编

编写者(以姓氏笔划为序)

王新娟	张迺衡	张宗玉
张家萍	李平风	杜国光
周爱儒	贾弘祺	曹西南
梁 康	童坦君	

北 京 医 科 大 学
中国协和医科大学 联合出版社

(京)新登字 147 号

图书在版编目(CIP)数据

生物化学/张迺衡主编·—北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1995.3

ISBN 7-81034-459-5

I. 生… II. 张… III. 生物化学—医学院校—教材 IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(94)第 16599 号

北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社出版发行

(100083 北京学院路 38 号 北京医科大学院内)

怀柔燕东印刷厂印刷 新华书店经销

※ ※ ※

开本 787×1092 1/16 印张 30.25 字数 758 千字

1995 年 3 月第 1 版 1995 年 3 月北京第 1 次印刷 印数 1—5000 册

定价:25.20 元

前 言

本书是根据北京医科大学生物化学与分子生物学系近年来为本科生讲授生化课程所采用的教案或讲义编写而成。1993 年秋,在我校各级领导的鼓励与支持下开始了编写工作,历时一年完成了初稿。由于编者学识水平有限,时间又较仓促,内容中错误与遗漏在所难免,为了能在 95 年春季试用,此次先行付印,望读者多提意见,以便修正。

编写者的老师刘思职教授与张昌颖教授曾主编《生物化学大纲》及《生物化学》教材多本,是国内生化界享有盛名的优秀教材。编者应秉承老师的意愿,为编写生化教材作贡献,但限于水平及能力,恐难达到老师的要求,愿今后继续努力。

近年来,生化与分子生物学发展迅速,在医学科学各领域内显示出其重要性。本教材中既要给学生以生化的基础知识,又要能反映出分子生物学的进展,而且要结合医学科学的特点。全书共 19 章,包括有四个部分内容。第一部分为蛋白质、核酸、酶及维生素的化学,着重于结构与功能的联系与调节。第二部分为物质代谢,包括糖类、脂类、氨基酸及核苷酸代谢,围绕着能量代谢与生物氧化,及物质代谢之间的联系与调节。第三部分以遗传学中心法则为核心,介绍了遗传信息的流动,有复制、转录、翻译及基因表达调控,并简要介绍重组 DNA 技术。第四部分属机能生化内容。根据我校生化与生理、病理生理学科的分工,选择了肝胆生化、血液化学及无机盐代谢。

本书编写过程中,梁康教授在编辑审阅稿件中,作了大量深入细致工作,并提出宝贵意见;张家萍教授全面组织安排编写工作;朱滨同志负责大量编务组织工作,在此谨致谢意。

编者

1994 年 12 月

目 次

第一章 蛋白质的化学	(1)
第一节 蛋白质在生命活动中的重要性.....	(1)
第二节 蛋白质的分子组成.....	(3)
第三节 蛋白质的分子结构	(12)
第四节 蛋白质结构与功能的关系	(23)
第五节 蛋白质的理化性质及其分离纯化	(31)
第六节 蛋白质的一级结构测定	(39)
第二章 核酸	(48)
第一节 核苷酸及其连接	(48)
第二节 DNA 分子的双螺旋结构.....	(51)
第三节 RNA 的结构与功能.....	(56)
第四节 核酸的理化性质	(62)
第五节 核酸酶	(63)
第六节 核酸的核苷酸序列测定	(65)
第三章 酶	(70)
第一节 酶在生命活动中的重要性	(70)
第二节 酶的化学本质	(70)
第三节 酶的分子结构	(70)
第四节 酶促反应的特点	(74)
第五节 酶促反应的机理	(75)
第六节 酶促反应的动力学	(78)
第七节 调节酶	(85)
第八节 酶活性的测定	(87)
第九节 酶的命名与分类	(89)
第十节 酶与医学的关系	(91)
第四章 维生素	(97)
第一节 总论	(97)
第二节 脂溶性维生素	(99)
第三节 水溶性维生素.....	(110)
第五章 糖的代谢	(129)
第一节 概述.....	(129)
第二节 糖的无氧分解.....	(129)
第三节 糖的有氧氧化.....	(136)
第四节 磷酸戊糖途径.....	(143)

第五节	糖原的合成与分解	(145)
第六节	糖异生	(151)
第七节	血糖及其调节	(154)
第六章	脂类代谢	(157)
第一节	脂类的生理功用	(157)
第二节	脂类的消化吸收及转运	(158)
第三节	甘油三酯的中间代谢	(167)
第四节	磷脂的代谢	(188)
第五节	胆固醇的代谢	(198)
第七章	生物氧化	(207)
第一节	概述	(207)
第二节	生物氧化过程中水的生成	(211)
第三节	ATP 的生成和储存利用	(218)
第八章	氨基酸代谢	(231)
第一节	蛋白质营养作用	(231)
第二节	蛋白质的消化、吸收与腐败	(232)
第三节	氨基酸的一般代谢	(237)
第四节	氨的代谢	(242)
第五节	个别氨基酸的代谢	(249)
第九章	核苷酸代谢	(264)
第一节	嘌呤核苷酸代谢	(265)
第二节	嘧啶核苷酸代谢	(274)
第十章	物质代谢间的相互联系	(281)
第一节	体内物质代谢的特点	(281)
第二节	代谢途径间的相互联系	(282)
第三节	器官间的代谢联系	(284)
第四节	各器官有其不同的代谢方式	(285)
第五节	不同生理或病理状态时代谢的调整	(286)
第十一章	代谢调节	(289)
第一节	细胞水平的调节	(289)
第二节	激素的调节	(296)
第三节	整体调节	(304)
第四节	代谢调节障碍	(306)
第十二章	DNA 的合成	(309)
第一节	DNA 的复制	(309)
第二节	反转录作用	(324)
第三节	DNA 的修复合成	(329)
第十三章	RNA 的合成	(335)
第一节	转录作用	(335)

第二节	转录后的加工过程·····	(340)
第三节	酶 RNA ·····	(348)
第四节	RNA 的复制 ·····	(351)
第十四章	蛋白质生物合成 ·····	(354)
第一节	蛋白质合成体系·····	(355)
第二节	蛋白质合成的过程·····	(358)
第三节	蛋白质合成与某些医学问题·····	(369)
第十五章	基因表达调控 ·····	(374)
第一节	概述·····	(374)
第二节	基因表达调控的基本原理·····	(377)
第三节	原核基因表达调控·····	(383)
第四节	真核基因表达调控·····	(394)
第十六章	重组 DNA 技术 ·····	(404)
第一节	重组 DNA 技术概念 ·····	(404)
第二节	重要的工具酶·····	(405)
第三节	目的基因的获取·····	(407)
第四节	基因载体·····	(410)
第五节	基因与载体的连接·····	(413)
第六节	转化、转染与感染 ·····	(415)
第七节	重组体的筛选·····	(416)
第八节	克隆基因的表达·····	(418)
第九节	重组 DNA 技术与分子医学 ·····	(420)
第十七章	血液的生物化学 ·····	(425)
第一节	血浆蛋白质·····	(425)
第二节	血细胞的代谢·····	(429)
H 第十八章	肝脏的生物化学 ·····	(437)
第一节	肝脏在物质代谢中的作用·····	(437)
第二节	肝脏的生物转化作用·····	(440)
第三节	胆汁与胆汁酸·····	(447)
第四节	胆色素代谢与黄疸·····	(452)
第十九章	无机盐代谢 ·····	(461)
第一节	钙磷代谢·····	(461)
第二节	镁的代谢·····	(470)
第三节	微量元素·····	(471)

第一章 蛋白质的化学

第一节 蛋白质在生命活动中的重要性

一、生命的物质基础

生物体可以看作是一个由物质组成的不均一体系。此体系的特征是其构成部分布置合适,变化协调,并可以自我更新。体系的另一个特征是它含有大量的蛋白质(protein)和核酸(nucleic acid)。病毒(virus)能够生长繁殖、遗传、致病,然而它却连最简单的细胞形态或结构都没有,它只是一种蛋白质与核酸相结合生成的核蛋白(nucleoprotein)。例如烟草斑纹病毒(tobacco mosaic virus, TMV),它能使烟草致病,人们将其纯化结晶,并储存数年后再接种到宿主烟叶上,它照样能够生长、繁殖并使烟叶感染斑纹病,同时病毒核蛋白大量增加。因此说明核蛋白是最简单的生命形式。

存在于生物体中除水外的所有物质,都含有一种或多种蛋白质。蛋白质参与有机体结构组成;催化细胞中化学反应并执行着无数的、各式各样的重要功能。绝大多数遗传信息最终以蛋白质形式表达出来,每种蛋白质由其特异的 DNA 片段(基因)编码,在典型的细胞中有成千上万不同种类的蛋白质。生物体越复杂,所含蛋白质的种类也越多,即使在单细胞生物中所发现的蛋白质也有数千种。有些蛋白质的功能相当特异,例如生活在南极零下水域中的某些鱼类,其血液中含有抗冻蛋白(antifreeze proteins),保护血液不被冻凝,使生物体在低温下得以生存,生命得以繁衍。综上所述,蛋白质是生命的物质基础。

二、生物体内的蛋白质含量

蛋白质是细胞中含量最丰富的高分子有机化合物。特别是动物中,除脂肪组织以外,其它一切组织所含蛋白质的数量比糖类和脂类的数量都多。可以说蛋白质是构成动物各种组织的主要有机成分。例如,人体按总量计算,干重的 45% 是蛋白质,即除去水分之后,蛋白质约占体重的一半左右。脾脏、肺脏及横纹肌的蛋白质含量较高;而骨骼、牙齿及脂肪组织的蛋白质含量较低(表 1-1)。

表 1-1 人体各器官组织的蛋白质含量

器官与组织	蛋白质的含量		器官与组织	蛋白质的含量	
	干组织中 含量, %	占体内蛋白质 总量的 %		干组织中 含量, %	占体内蛋白质 总量的 %
皮 肤	63	11.5	肺 脏	82	3.7
骨 骼	28	18.7	脾 脏	84	0.2
肌 肉	80	34.7	肾 脏	72	0.5
神经组织	45	2.0	胰 脏	47	0.1
肝 脏	57	3.6	消 化 道	63	1.8
心 脏	60	0.7	脂肪组织	14	6.4

三、蛋白质的生物学功能

(一) 酶——某些蛋白质是酶,催化生物体的代谢反应。如己糖激酶催化三磷酸腺苷(ATP)的磷酸根转移至葡萄糖,使葡萄糖磷酸化而活化;乳酸脱氢酶可催化乳酸脱氢转变成丙酮酸;DNA聚合酶参与DNA的复制和修复。

(二) 调节蛋白——某些蛋白质是激素,具有一定的调节功能。如调节糖代谢的胰岛素(insulin);与生长与生殖有关的促甲状腺素(thyrotropin),促生长素(somatotropin),促黄体生长激素(Inteinizing hormone, LH)和促滤泡素(follicle stimulating hormone, FSH)等。一般来说,分子量低于5 000者称为肽。重要的肽类激素包括促肾上腺皮质激素(ACTH),抗利尿激素(antidiuretic hormone),胰高血糖素(glucagon)和降钙素(calcitonin)。另外,许多激素的信号常常通过G蛋白(GTP结合蛋白)介导。其它还有转录和翻译调控蛋白,包括与DNA紧密结合的组蛋白,它们可以阻遏或增强基因的表达。

(三) 转运蛋白——某些蛋白质具有运载功能,它们携带小分子从一处到另一处,通过细胞膜,在血液循环中,在不同组织间载运代谢物。如血红蛋白是转运氧气和二氧化碳的工具;血清清蛋白可运输自由脂肪酸及胆红素等。

(四) 收缩或运动蛋白——某些蛋白质赋予细胞和器官收缩的能力,可使其改变形状或运动。如骨骼肌收缩靠肌动蛋白(actin)和肌球蛋白(myosin),这两种蛋白在非肌肉细胞中也存在。微管蛋白用于构建微管,微管的作用是与鞭毛及纤毛中的动力蛋白(dynein)协同推动细胞运动。

(五) 防御蛋白——有些蛋白质具有保护或防御功能。凝血酶与纤维蛋白原参与血液凝固,从而防止血管系统失血。最重要的起保护作用的蛋白质是抗体或免疫球蛋白,它们可以中和外来的有害物质。

(六) 营养和储存蛋白——像卵清蛋白和牛奶中的酪蛋白是提供氨基酸的储存蛋白。在某些植物、细菌及动物组织中发现的铁蛋白可以储存铁。

(七) 结构蛋白——许多蛋白质起支持“细丝”、“薄片”或“缆绳”作用,给生物结构以强度及保护。肌腱和软骨的主要成分是胶原蛋白(collagen),它具有很高的抗张强度。韧带含有弹性蛋白(elastin),形成蛋白质“缆绳”,具有双向抗拉强度。头发、指甲和皮肤主要由坚韧的不溶性角蛋白(keratin)组成。蚕丝和蜘蛛网的主要成分是纤维蛋白(fibrin)。某些昆虫的翅膀具有近

乎完美无缺的回弹特性,它是由节枝弹性蛋白(resilin)构成。

(八) 其它蛋白——有些蛋白质的功能相当奇异,像莫涅林(monellin)是非洲的一种植物蛋白,味很甜,正被研究作为一种非脂肪性、非毒性的甜味剂。还有蛋白质毒素,如蓖麻蛋白、白喉毒素、厌氧性肉毒杆菌毒素、蛇毒和棉子毒,很少量就可引起高等动物产生强烈的毒性反应。另外,病毒和噬菌体是核蛋白。病毒可以致病;噬菌体则是可以寄生在细菌体内的病毒。

第二节 蛋白质的分子组成

一、蛋白质的元素组成

从各种动、植物组织提出的蛋白质,经元素分析表明,含碳 50%—55%、氢 6%—8%、氧 19%—24%、氮 13%—19%、硫 0%—4%。除此之外,有些蛋白质还含有少量磷或金属元素铁、铜、锌、锰、钴、钼等,个别蛋白质还含有碘。

各种蛋白质的含氮量很接近,平均为 16%。动植物组织中含氮物又以蛋白质为主,因此只要测定生物样品中的含氮量,就可以按下式推算出样品的蛋白质大致含量。

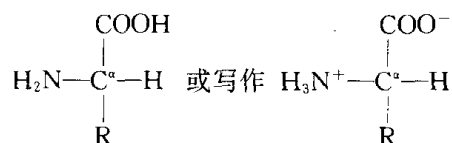
每克样品中含氮克数 $\times 6.25 \times 100 = 100$ 克样品中蛋白质含量(克%)

二、蛋白质的基本结构单位——氨基酸

蛋白质是高分子化合物,可以受酸、碱或蛋白酶(proteinase)作用而水解成为其基本组成单位——氨基酸(amino acid)。蛋白质水解液中的各种氨基酸须进行分离鉴定,才能确定其分子组成。各种层析法及电泳法等均为分离鉴定氨基酸的手段。

(一) 氨基酸的一般结构式

蛋白质水解生成的天然氨基酸有 20 余种之多,但其化学结构式具有一个共同的特点,即在连结羧基的 α 碳原子上还有一个氨基;故称 α 氨基酸。 α 氨基酸的一般结构式可用下式表示:



由上式可以看出,除 R 为 H 外,与 α 碳原子相连的四个原子或基团各不相同。所以除甘氨酸外其余氨基酸的 α 碳原子是一个不对称碳原子,因而都具有旋光异构现象(optical isomerism),也都会有 D 系和 L 系两种可能性。组成天然蛋白质的 20 种氨基酸都属于 L- α -氨基酸。生物界中已发现的 D 系氨基酸大都存在于某些细菌产生的抗生素及个别植物的生物碱中。

(二) 氨基酸的分类

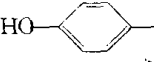
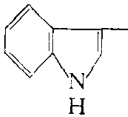
组成蛋白质的氨基酸已知有二十余种,但极大多数蛋白质只由二十种氨基酸组成(表 1-2)。现根据它们的侧链 R 的结构和性质分为以下几类:

1. 脂肪族类——甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸。
2. 含羟基类——丝氨酸和苏氨酸。
3. 含硫类——半胱氨酸、胱氨酸和蛋氨酸(甲硫氨酸)。

4. 酸性氨基酸和酰胺类——天冬氨酸、谷氨酸、天冬酰胺和谷氨酰胺。
5. 碱性氨基酸类——精氨酸、赖氨酸和组氨酸。
6. 芳香族氨基酸——苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸。
7. 亚氨基酸——脯氨酸和羟脯氨酸。

表 1-2 蛋白质中存在的 L-α-氨基酸

名称及缩写	英文名及缩写	结 构 式	等电点 pI	pK ₁ α-COOH	pK ₂ α-NH ₂	pK _R R-基团
脂肪族类						
甘氨酸 甘	glycine Gly G	CH ₂ (NH ₂)COOH	5.97	2.34	9.60	
丙氨酸 丙	alanine Ala A	CH ₃ CH(NH ₂)COOH	6.02	2.34	9.69	
缬氨酸 缬	valine Val V	(CH ₃) ₂ CHCH(NH ₂)COOH	5.97	2.32	9.62	
亮氨酸 亮	leucine Leu L	(CH ₃) ₂ CHCH ₂ CH(NH ₂)COOH	5.98	2.36	9.60	
异亮氨酸 异亮	isoleucine Ile I	CH ₃ CH ₂ CH(CH ₃)CH(NH ₂)COOH	6.02	2.36	9.68	
侧链包含羟基类						
丝氨酸 丝	serine Ser S	HOCH ₂ CH(NH ₂)COOH	5.68	2.21	9.15	13.60
苏氨酸 苏	threonine Thr T	CH ₃ CH(OH)CH(NH ₂)COOH	5.60	2.11	9.62	13.60
侧链包含硫类						
半胱氨酸 半胱	cysteine Cys C	HSCH ₂ CH(NH ₂)COOH	5.07	1.96	10.28	8.18 巯基
胱氨酸 胱		$ \begin{array}{c} \text{S}-\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \\ \\ \text{S}-\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \end{array} $	4.6~5.0			
蛋氨酸 蛋	methionine Met M	H ₃ C-S-CH ₂ CH ₂ CH(NH ₂)COOH	5.75	2.28	9.21	
酸性氨基酸和酰胺类						
天冬氨酸 天冬	aspartic acid Asp D	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \end{array} $	2.98	2.09	9.60	3.86 β 羧基
天冬酰胺 天胺	asparagine Asn N	$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{O} \end{array} $	5.41	2.02	8.80	
谷氨酸 谷	glutamic acid Glu E	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \end{array} $	3.22	2.19	9.67	4.25 γ 羧基
谷氨酰胺 谷胺	glutamine Gln Q	$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CHNH}_2\text{COOH} \\ \\ \text{O} \end{array} $	5.65	2.17	9.13	
碱性氨基酸						

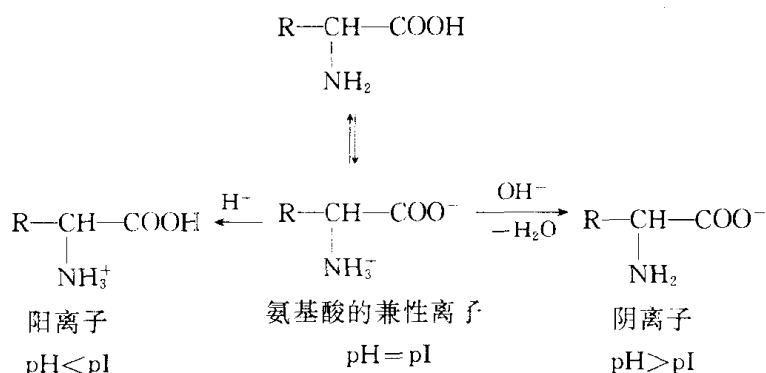
名称及缩写	英文名及缩写	结 构 式	等电点 pI	pK ₁ α-COOH	pK ₂ α-NH ₂	pK _R R-基团
精氨酸 精	arginine Arg R	$\begin{array}{c} \text{NH}_2 \\ \\ \text{HN}=\text{C}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \end{array}$	10.75	2.17	9.04	12.48 胍基
赖氨酸 赖	lysine Lys K	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_4-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$	9.74	2.18	8.95	10.53 ε-氨基
组氨酸 组	histidine His H	$\begin{array}{c} \text{HC}=\text{C}-\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH} \\ \quad \\ \text{N} \quad \text{NH} \\ \quad \\ \text{C} \quad \text{H} \end{array}$	7.59	1.82	9.17	6.00 咪唑基
芳香族氨基酸						
苯丙氨酸 苯丙	phenylalanine Phe F		5.48	1.83	9.13	
酪氨酸 酪	tyrosine Tyr Y		5.66	2.20	9.11	10.07 苯酚羟基
色氨酸 色	tryptophane Trp W		5.89	2.38	9.39	
亚氨基酸						
脯氨酸 脯	proline Pro P	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H} \end{array}$	6.48	1.99	10.96	
羟脯氨酸 羟脯	hydroxyproline Hyp	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HOC}-\text{CH}_2 \\ \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{N} \\ \\ \text{H} \end{array}$	5.83			

(三) 氨基酸的理化性质

1. 一般物理性质 α-氨基酸都是白色的晶体,熔点很高(>200℃),并多在融化时分解。α-氨基酸都能溶在强酸及强碱溶液中;其在水中的溶解度大小不同。在水中精氨酸和赖氨酸的溶解度最大,酪氨酸的溶解度最小。脯氨酸能溶于酒精。在乙醚中,氨基酸多不能溶解。

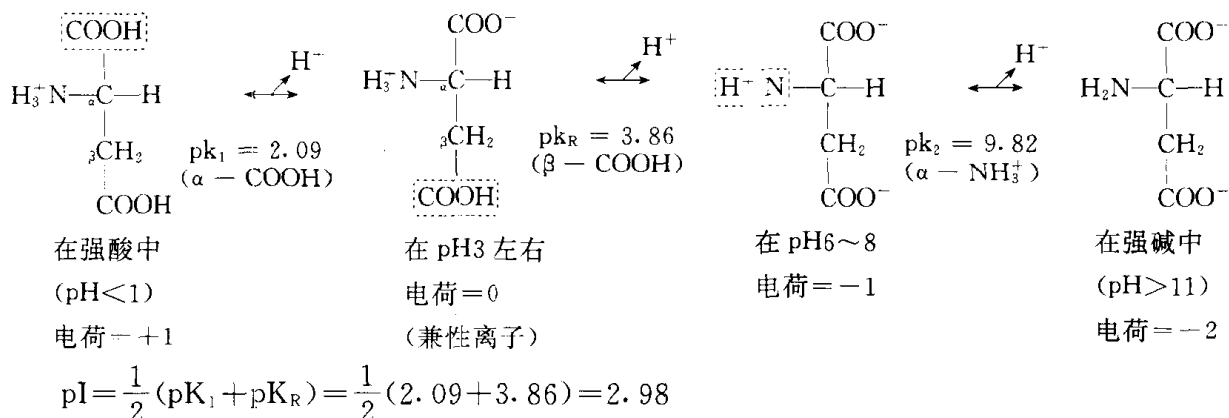
2. 两性游离及等电点 所有氨基酸都含有碱性的氨基(或亚氨基),又含有酸性的羧基;能在酸性溶液中与质子(H⁺)结合而呈阳离子(-NH₃⁺);也能在碱性溶液中与OH⁻结合,失去质子而变成阴离子(-COO⁻);所以它是一种两性电解质,具有两性游离的特性。氨基酸的游离方式决定于其所处环境的酸碱度。在某种 pH 环境中,氨基酸可能不游离,也可能游离成阳离子及阴离子的程度及趋势相等,成为氨基酸的兼性离子(zwitterion)。在电场中它既不移向阴极,也不移向阳极。此时,氨基酸所处环境的 pH 值称为该氨基酸的等电点(isoelectric

point, pI)。

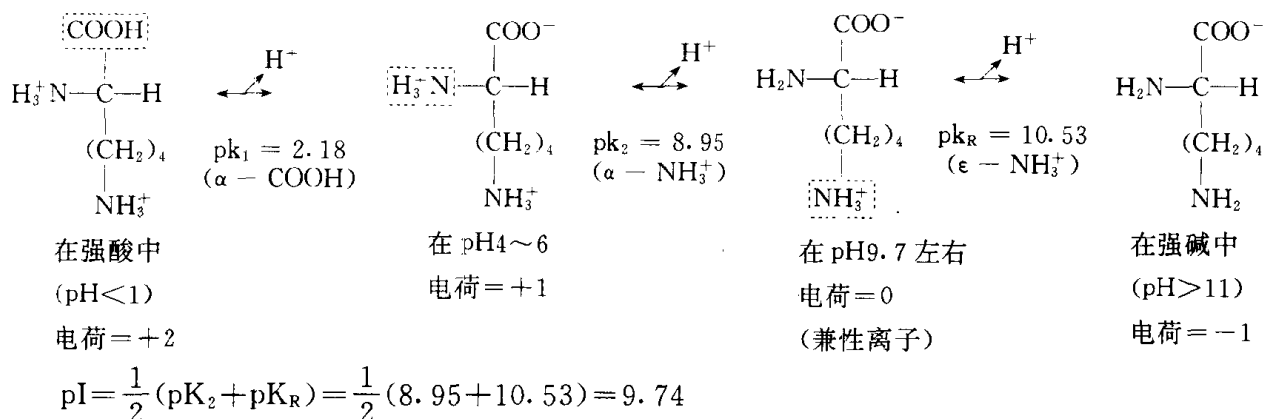


3. 等电点的计算 R 为非极性基团或虽为极性基团但并非游离的,氨基酸的等电点是由 α -COOH 和 α -NH₂ 的解离常数的负对数 pK₁ 和 pK₂ 来决定。pI 计算方法为: $\text{pI} = \frac{1}{2} (\text{pK}_1 + \text{pK}_2)$ 。如甘氨酸 $\text{pK}_{-\text{COOH}} = 2.34$, $\text{pK}_{-\text{NH}_2} = 9.60$, 故 $\text{pI} = \frac{1}{2} (2.34 + 9.60) = 5.97$

酸性和碱性氨基酸的 R 基团上均有可游离的极性基团,其等电点由 α -COOH, α -NH₂ 及 R 基团的游离情况共同决定。对此种有三个可解离基团的氨基酸来说,只要写出它们的电离式,然后取兼性离子两边的 pK 值的平均值,即得其 pI 值。如天门冬氨酸可表示为:



又如赖氨酸可表示为:



各种氨基酸的解离常数通过实验测定而得,它们的 pI, pK₁, pK₂ 及 PK_R 见表 1-2。需要说明的是 Cys 的 -SH 和 Tyr 的酚 -OH 具有弱酸性。在 pH7 时, Cys 的 -SH 大约解离 8%; Tyr 苯环上的 -OH 大约解离 0.01%。Cys 的 pI 按酸性氨基酸计算。Tyr 的游离程度较小,按 R 为极性非游离情况计算。

4. 芳香族氨基酸的紫外吸收性质 色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸在 280nm 波长附近具有最大的光吸收峰(图 1-1)。由于大多数蛋白质含有酪氨酸、色氨酸残基,所以在分光光度计中测定它对 280nm 波段的光吸收,是定量测定溶液中蛋白质含量的一种最迅速简便的方法。

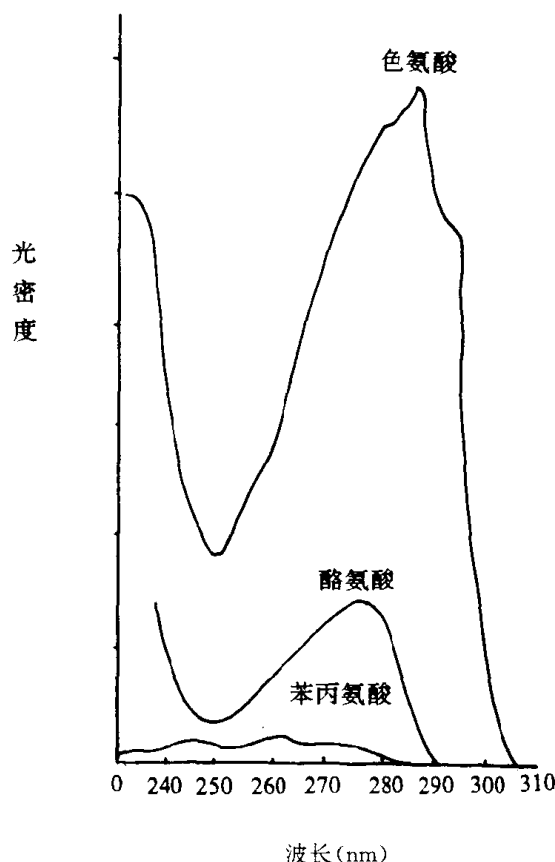
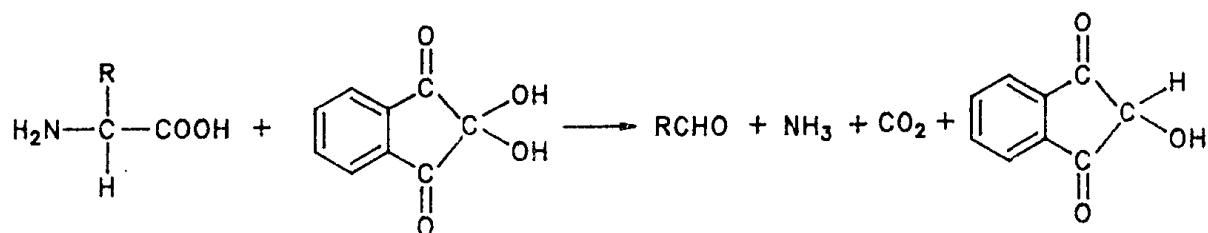


图 1-1 芳香族氨基酸的紫外吸收

5. 茚三酮及荧光胺反应 氨基酸与茚三酮(ninhydrin)的水合物共同加热,氨基酸则被氧化分解,生成醛、氨及二氧化碳;茚三酮水合物则被还原。在弱酸性溶液中,茚三酮的还原产物还可与氨及另一分子茚三酮缩合成为蓝紫色的化合物。蓝紫色化合物颜色的深浅与来自氨基酸的氨成正比,其最大吸收峰在波长 570nm 处($\lambda_{\max}=570\text{nm}$)。据此可以作氨基酸的定量分析,该反应的灵敏度为 $1\mu\text{g}$ 。因为凡具有氨基、能放出氨的化合物几乎都有此反应,故也能广泛适用于多肽与蛋白质的定性及定量分析。但脯氨酸与羟脯氨酸与茚三酮呈黄色($\lambda_{\max}=440\text{nm}$);天冬酰胺与茚三酮反应生成棕色产物,这对它们也有定量、定性意义。

荧光胺(fluorescamine)是一种更灵敏的试剂,它可与氨基酸发生更快速反应,产生具有很高荧光强度的复合物,可定量测定 ng 水平的氨基酸。还有丹磺酰氯(dansyl-Cl),丹伯磺酰氯(Dabsyl-Cl)及 1 氟 2,4 二硝基苯(1-fluoro-2,4-dinitrobenzene,FDNB,又叫 Sanger's 试剂)可以与氨基酸的 $\alpha\text{-NH}_2$ 形成有颜色的衍生物,并可在蛋白质水解液中保持稳定。因此这几种试剂比茚三酮更具优点;即氨基酸的 R 基团可保留于产物中。由于不同氨基酸的 R 基团各不相同,从而对蛋白质中各种氨基酸还可进行定性、定量鉴定(见蛋白质的序列分析)。

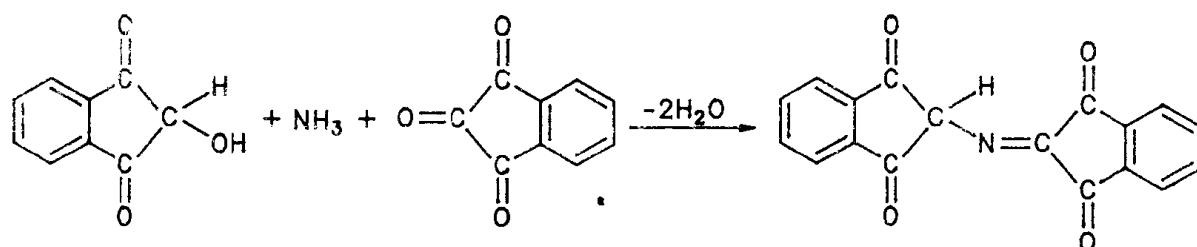
6. 其它呈色反应 某些氨基酸由于具有特殊的 R 基团,能够与某种试剂产生独特的颜色反应。利用这些反应可作为氨基酸或蛋白质定性、定量分析的基础(表 1-3)。



氨基酸

茛三酮水合物

还原茛三酮



还原茛三酮

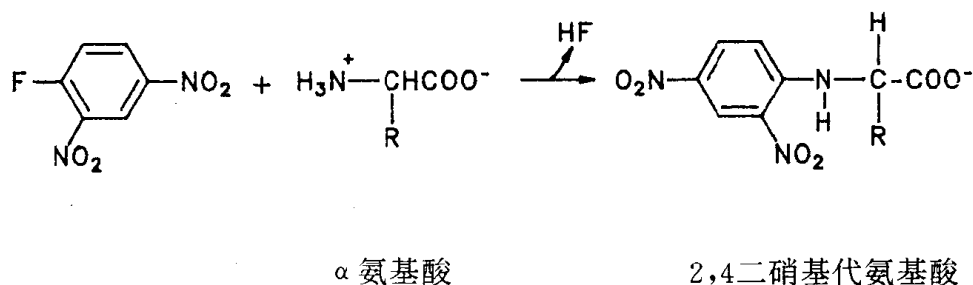
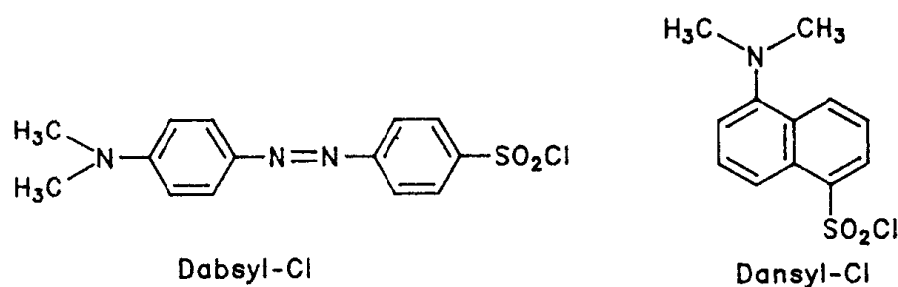
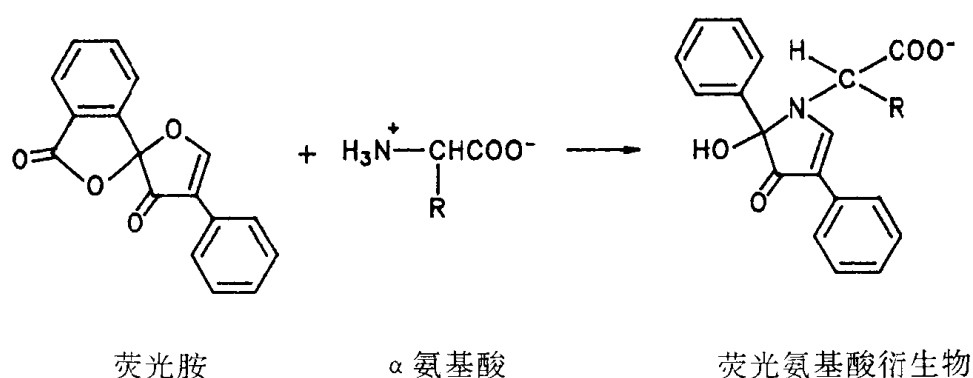
茛三酮

蓝紫色化合物

表 1-3 氨基酸的特殊呈色反应

氨基酸	反应名称	试 剂	颜 色
酪氨酸*	Millon 反应	硝酸汞溶于亚硝酸	红色
	酚试剂反应	磷钼钨酸	蓝色
	黄色蛋白反应	浓硝酸	黄色
色氨酸*	乙醛酸反应	乙醛酸+浓硫酸	紫色
	Ehrlich 蛋白反应	对二甲氨基苯甲醛+浓盐酸	蓝色
精氨酸*	坂口(Sakaguchi)反应	α 萘酚+次氯酸钠碱性溶液	深红色
组氨酸*	Pouly 反应	偶氮磺胺酸碱性溶液	桔红色
半胱氨酸	硝普盐试验	亚硝酰铁氰化钠+稀氨水	红色
脯氨酸		酸性吲哚醌	蓝色
甘氨酸		邻苯二醛乙醇溶液	墨绿
含硫氨基酸	醋酸铅反应	强碱+醋酸铅	黑色沉淀
芳香族氨基酸	黄色蛋白反应	浓硝酸	黄色 $\xrightarrow{\text{碱}}$ 橙黄
α 氨基酸	Folin 反应	1,2 萘醌 4 磺酸钠在碱性液	深红

※含有此类氨基酸的肽也有相同反应



三、肽

(一)氨基酸的成肽反应 两分子氨基酸可借一分子所含的氨基与另一分子所含的羧基去水缩合成为最简单的肽,即二肽(dipeptide)。在这两个氨基酸之间新产生的酰胺键

($\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{N}- \\ | \\ \text{H} \end{array}$)称为肽键(peptide bond)。二肽仍有自由氨基和羧基,故能同样借肽键与另一分子

氨基酸缩合成三肽;三肽借肽键再与氨基酸缩合则顺序生成四肽、五肽;由10个以内氨基酸连成的小肽称为寡肽(oligopeptide)。而许多氨基酸可连成多肽(polypeptide)。多肽分子中的氨基酸相互衔接,形成长链,称为多肽链(polypeptide chain)。肽链中的氨基酸分子因脱水缩合而稍有残缺,故称为氨基酸残基(residue)。蛋白质就是由许多氨基酸残基组成的多肽链,通常将分子量在10 000以上的称为蛋白质,以下的称为多肽(胰岛素的分子量为 5 733,也可称蛋白质)。多肽链中有自由氨基的一端称为氨基末端(amino-terminal)或N末端;有自由羧基的一端称羧基末端(carboxyl-terminal)或C末端。按照惯例,命名短肽从N-末端开始指向C末端(图1-2)。

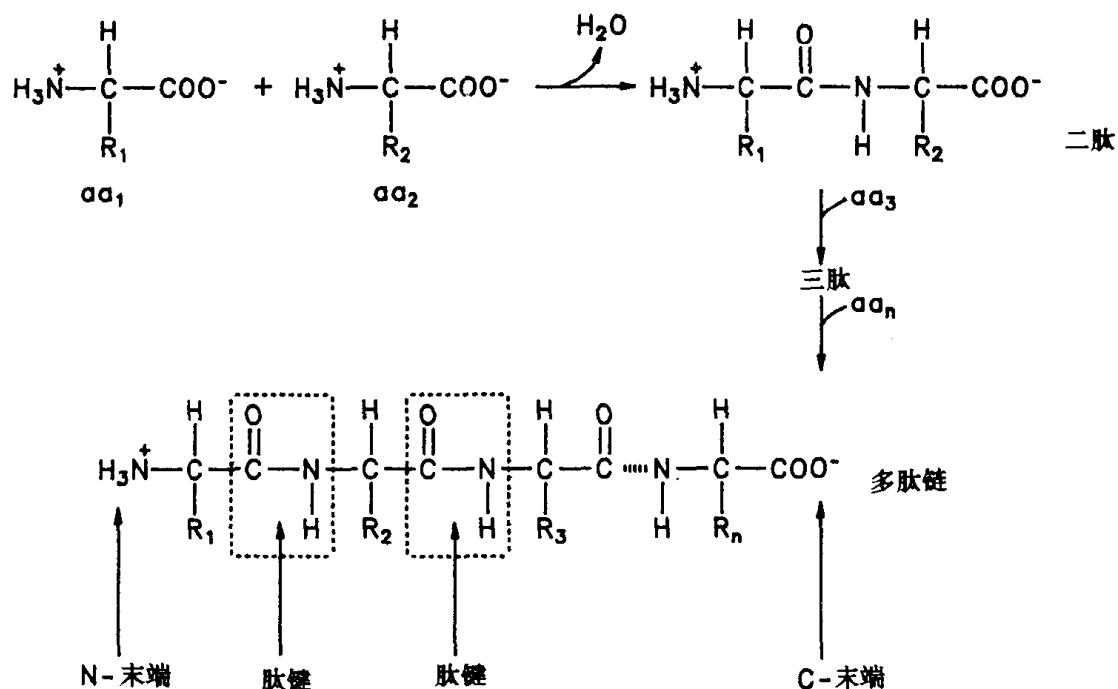


图1-2 多肽链结构模式

(二) 生物活性肽 自然界的动物、植物和微生物中存在某些小肽或寡肽(3—100个氨基酸残基),它们有着各种重要的生物学活性。肽类激素如催产素、加压素等;与神经传导等有关的神经肽如P物质、脑啡肽等;抗生素肽如短杆菌素S、短杆菌肽A、缬氨霉素(valinomycin)及博莱霉素(bleomycin),还有广泛存在于细胞中的谷胱甘肽(GSH)(表1-4)。通过重组DNA技术还可得到肽类药物、疫苗等。越来越多的小肽可作为药剂,具有重要的应用价值,但由于它们天然存在量极微而难以提取及纯化,故化学合成小肽成为重要的途径。如化学合成的二肽——L-天冬氨酰苯丙氨酰甲酯(L-aspartyl-L-phenylalanyl methyl ester),就是一种人造甜味剂,其商品名为“NutraSweet”。

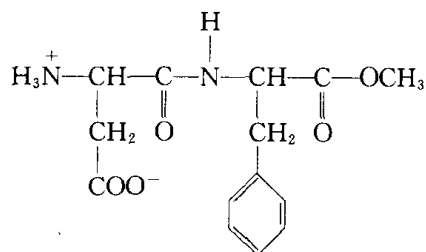
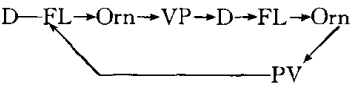


表1-4 几种生物活性肽的序列及功能

名 称	氨基酸序列	来源与生物学作用
催产素 (oxytocin)	$\begin{array}{c} \text{S-S} \\ \quad \\ \text{CYFQNCPRG-NH}_2 \end{array}$	垂体后叶分泌 (9肽) 刺激子宫收缩
加压素 (vasopressin)	$\begin{array}{c} \text{S-S} \\ \quad \\ \text{CYFQNCPRG} \end{array}$	垂体后叶分泌 (9肽) 使肾保水
胰高血糖素(牛)(glucagon)	HSQGTFTSDYSLYL D- SRRAQDFVQWLMDT	胰脏分泌,参与调节葡萄糖 (29肽) 代谢
舒缓激肽(牛) (bradykinin)	RPPGFSPFR	抑制组织的炎症反应,降低 (9肽) 平滑肌张力
促甲状腺释放因子(thyrotropin-releasing factor)	* pyroGlu-His-Pro (焦谷氨酰组氨酰脯氨酸)	(3肽) 在下丘脑形成,刺激垂体前叶释放甲状腺素
胃泌素(人)(little gastrin)	* pyroGlu-GPWLEEEEEAYGW MDF	胃粘膜细胞分泌,引起胃膜 (17肽) 壁细胞分泌酸
血管紧张素Ⅱ(马) (angiotensin Ⅱ)	DRVYIHPF	(8肽) 刺激肾上腺释放醛固酮
P物质(substance)	RPKPQFFGLM	(10肽) 神经递质
脑啡肽 (enkephalins)	1. YGGFM 2. YGGFL	(5肽) 在中枢神经系统生成抑制痛觉
※※短杆菌肽 S (gramicidin S)	D—FL→Orn→VP→D→FL→Orn 	(环10肽) 细菌产生抗生素
谷胱甘肽 (glutathione)	δ-ECG	动、植物细胞, (3肽) 参与氧化一还原反应

※ pyroGlu 焦谷氨酸

※※ D-F D型苯丙氨酸, Orn 鸟氨酸

四、蛋白质的分类

蛋白质是由许多氨基酸借肽键形成的高分子化合物,分子量在 $10^4 \sim 10^6$ 。如人的细胞色素C由104个氨基酸残基组成(MW: 1.3×10^4);而牛肝中谷氨酸脱氢酶则由8300个氨基酸残基组成(MW: 10^6)。按计算,20种氨基酸可组成天文数字种类的蛋白质;实际上人体内的蛋白质也有十来万种,它们有着千变万化的生物学功能,确有分类的必要。可以根据不同的方法分类,如分子的组成、分子的溶解性质、分子的形状或空间构象及功能等。

根据分子的组成可将蛋白质分为单纯蛋白质(simple protein)和结合蛋白质(conjugated protein)。单纯蛋白质只由氨基酸组成,其水解最终产物只有氨基酸。单纯蛋白质按其溶解性质