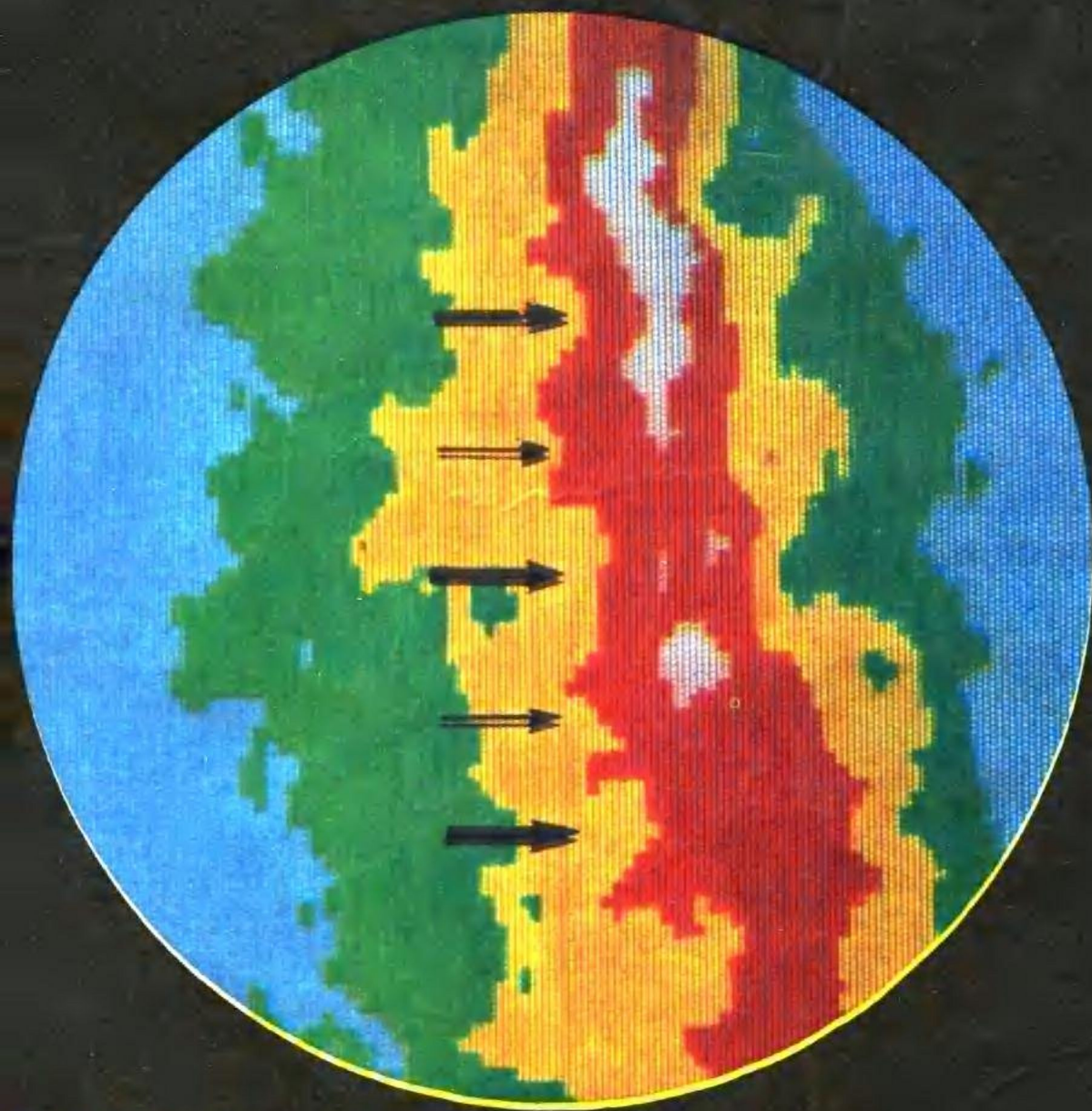


高等学校教材

基础分子生物学

【第二版】

刘培楠 吴国利 主编



高等教育出版社

V412.7127

高等学校教材

基础分子生物学

(第二版)

刘培楠 吴国利 主编

高等教育出版社

(京)112号

高等学校教材

基础分子生物学

(第二版)

刘培楠 吴国利 主编

*

高等教育出版社出版

高等教育出版社激光照排技术部照排

新华书店总店北京科技发行所发行

北京市顺新印刷厂印装

*

开本 787×1092 1/16 印张 32.75 字数 810 000

1983年5月第1版 1993年5月第2版 1993年5月第1次印刷

印数 0001—845

ISBN 7-04-003039-X/Q · 158

定价10.50元

第二版序

本书第一版是1983年出版的。在出版后的6年中，分子生物学有了飞速的进展，因此有必要对本书进行修订。

这次修订对全书作了较大幅度的调整和补充，并重新编写了大部分章节。“激素作用原理与激素受体”一章经扩充内容后，改名为“活性物质及其信息转导”；增加了“蛋白质的跨膜运送”、“生物膜质子泵与膜融合现象”、“生物膜与疾病”、“DNA的结构和构型”、“遗传工程技术的原理”、“单克隆抗体技术及其在肿瘤研究中的应用”6章；对于“遗传信息的传递”一章，因其内容在遗传学书籍中已有论述，故将此章删去。为方便读者查阅，在本书最后增补了“分子生物学大事年表”。

几年来接到理、农、医、师范等院校许多老师来信鼓励，并提出不少在使用教材过程中发现的问题，高等教育出版社谭丽霞同志在本书修订过程中作了大量的工作，宗小梅同志为本书描绘大部分的插图，在此一并致谢。

刘培楠 吴国利

1989年12月于北京

序

分子生物学成为一门独立的学科是本世纪生物学领域的一项重大发展。近几年来，基因工程研究工作又有了新的成就，即是分子生物学迅速发展的一个标志。这门学科不仅是一门发展较快的新兴学科，而且是一门十分重要的学科，它牵涉的面很广，是许多生物学之边缘学科的理论基础。

分子生物学领域的研究工作，在我国已受到重视。近年来在科学院和一些高等学校相继建立了研究机构，而且在蛋白质和核酸的人工合成的某些方面，已经取得了重大的研究成果。但是，在高等学校里还没有普遍开设这门课程，很显然这是不利于培养具有现代生物学水平的生物学教师和科学研究人员的。如果我们再不注意培养这方面的人才，我们将难以满足生物科学研究和教学，以及促进医学、农业应用分子生物学技术等方面的需要。北京师范大学大学生物学系生物化学教研室有鉴于斯，决定增设这门新课程，供高年级学生和研究生修习。因教学需要，我们组织编写了这本教材。

这门课程的内容，不可能罗列万象，而应以阐明基本原理和重要规律，以及近年来若干重大的发现作为重点，使学生能从中理解生物体中物质的结构与功能的关系，并学习如何进行科学研究的方法，因此，本课程的内容只是选择了分子生物学发展中的主要问题，分为十八章，称为“基础分子生物学”。为了使每个问题的讲授精炼扼要，又能反映出当前的进展，北师大生物化学教研室与北京市肿瘤防治研究所生物化学室联合邀请在北京从事分子生物学方面研究工作的生物化学家分别讲授各有关章节。由于各人的见解不同，每一章节的编排与深度，难求水平一致，各章之间的前后呼应与关联，也不能尽善，而且也难免有重复之处，这是本课程设计与实践中难以解决的一项缺点。但是从提供分子生物学的基础知识而言，基本上是符合原定方向的。

在本课程讲授过程中，由于准备匆促，只能印发讲义，供学生作学习参考之用，为了便于今后继续讲授此课程，有必要将此讲义重新整理、补充、修订为教材。现承高等教育出版社的支持允予出版。特于卷首略述此课程设置经过与意图。并谨在此对讲授本课程付出辛勤劳动的各位教师，对给予支持帮助的北京师范大学生物系生物化学教研室诸位同志，对协助作了大量编辑工作的谢安琪同志，对担任本书责任编辑，并对本书一些章节作了修改补充的高等教育出版社安名勋同志，一并表示衷心的感谢。

刘培楠 吴国利

1983年4月5日

目 录

第一章 绪论	邹承鲁 (1)	三、蛋白质一级结构的测定方法 ...	(28)
一、生物大分子	(1)	1. 直接测定法	(29)
1. 生物大分子化学结构的测定	(1)	2. 间接测定法	(41)
2. 生物大分子的高级结构	(2)	参考文献	(44)
3. 生物大分子溶液构象及其运动性 的研究	(3)	第三章 蛋白质分子的二级结构	王大威 (45)
4. 酶作用的过渡态	(4)	一、多肽链的折叠	(46)
5. 生物大分子的人工合成	(6)	二、 α 螺旋·角蛋白	(51)
二、分子遗传学	(7)	三、 β 折叠层·丝蛋白	(54)
1. 左旋 DNA 双螺旋的发现	(7)	四、三股螺旋·胶原	(57)
2. 遗传密码的例外	(8)	五、回折结构和 3_{10} 螺旋	(59)
3. 染色体的结构与功能	(9)	六、 β 凸起和 β 发夹结构	(61)
4. 真核基因的插入顺序	(9)	参考文献	(64)
5. 具有催化活性的 RNA	(10)	第四章 纤维状蛋白质	李玉瑞 (65)
三、生物膜	(11)	一、胶原蛋白	(65)
1. 蛋白质在生物合成中的前导肽段 ...	(11)	1. 胶原(蛋白)的命名	(66)
2. 化学渗透学说	(12)	2. 胶原的类型及结构特征	(67)
3. 膜表面的受体物质	(12)	3. 胶原的合成	(71)
四、分子生物学在其他领域的渗透和应用	(13)	二、弹性蛋白	(75)
1. 进化论	(13)	1. 弹性蛋白的氨基酸组成	(76)
2. 生态学	(13)	2. 弹性蛋白的交联	(77)
3. 老年学	(13)	3. 弹性蛋白的超分子结构	(77)
4. 基因工程与蛋白质工程	(15)	三、角蛋白	(78)
5. 癌基因与生长因子	(15)	四、肌细胞中的蛋白质	(80)
参考文献	(15)	1. 肌原纤维的结构	(80)
第二章 蛋白质的一级结构	缪时英、王琳芳 (17)	2. 肌原纤维的收缩——细丝的滑动 ...	(84)
一、一级结构的内容	(17)	五、纤维蛋白原	(85)
二、测定蛋白质一级结构的重要意义	(18)	1. 纤维蛋白原的分子组成	(85)
1. 蛋白质的一级结构与分子进化	(18)	2. 纤维蛋白原转变为纤维蛋白	(87)
2. 一级结构与脑激素	(21)	参考文献	(89)
3. 一级结构与分子病	(21)	第五章 蛋白质分子的三级结构	王大威 (90)
4. 蛋白质的一级结构与生物功能	(22)	一、蛋白质分子三维结构的组织 ...	(91)
5. 蛋白质工程	(27)	二、蛋白质分子三级结构的分类 ...	(97)
		1. α 型(逆平行 α 型)	(98)
		2. β 型(逆平行 β 型)	(99)

3. α/β 型(平行 α/β 型)	(99)
4. $\alpha+\beta$ 型	(99)
5. 无规型(富含二硫键和金属离子型)...	(99)
三、稳定三级折叠的主要作用力	(100)
1. 二硫键	(100)
2. 氢键	(101)
3. 疏水键——非极性作用	(103)
4. 离子键(盐键)	(104)
5. 范氏引力	(104)
四、蛋白质分子的折叠：三级结构的形成	(105)
1. 折叠的自发性：一级结构决定高级结构	(105)
2. 折叠机理	(106)
3. 折叠途径	(107)
五、蛋白质分子的构象运动	(109)
1. 构象运动的几种类型	(109)
2. 构象运动的功能意义	(112)
六、蛋白质结构的预测和模型构建...	(113)
参考文献	(115)

第六章 酶的作用原理

..... 李士诤、吴国利	(117)
一、“锁与钥匙”假说	(117)
二、酶与底物的“诱导契合”假说...	(119)
三、过渡态学说	(119)
四、酶促反应的本质和机制	(119)
1. 通过“应激”和“张力”效应使底物激活	(120)
2. 碰撞机率增强与“定向”效应	(121)
3. 催化基团的异常活性	(122)
4. 酶反应过程中过渡性共价中间物的形成	(123)
5. 活性中心部位的疏水环境效应	(124)
五、酶催化反应机制的实例	(125)
1. 溶菌酶	(125)
2. 核糖核酸酶 A	(130)
3. RNA 催化剂与酶	(132)
六、辅助因子在酶促反应中的应用...	(133)
1. 包含金属离子的催化反应	(133)
2. 包含辅酶的催化反应	(134)
七、酶原的激活	(135)

参考文献	(137)
------------	---------

第七章 抗体——免疫球蛋白

..... 赵武述、王世中	(139)
一、抗体的本质及一般性质	(139)
二、抗体分子的结构	(141)
三、抗原—抗体反应及抗体结合位点	(142)
四、人类免疫球蛋白的类型	(145)
五、特应型和特应型抗体	(147)
六、抗体的生物活性及其在组织区的分布	(148)
七、单克隆抗体和多克隆抗体	(150)
八、抗体的基因表达	(150)
九、抗体的生物合成	(154)
参考文献	(156)

第八章 球蛋白组装·四级结构

..... 吴国利	(157)
一、概述	(157)
1. 亚基数目和种类的确定	(157)
2. 亚基的排布	(158)
3. 亚基间的结合力	(159)
二、血红蛋白的结构与功能的关系...	(159)
1. 血红蛋白与氧的结合	(159)
2. H^+ , CO_2 和 2,3- 二磷酸甘油酸(DPG)对血红蛋白结合 O_2 的影响 ...	(163)
三、血红蛋白病	(165)
1. 血红蛋白的分子病理学	(165)
2. 镰刀状贫血症与四级结构	(166)
3. 地中海贫血症	(167)
四、无脊椎动物的携氧蛋白	(168)
1. 血蓝蛋白	(168)
2. 血绿蛋白	(169)
3. 无脊椎动物血红蛋白	(169)
4. 另一类血红蛋白	(169)
五、同工酶——乳酸脱氢酶(LDH)	(169)
六、四级结构与代谢反应的调节 ...	(170)
1. 终产物抑制作用	(170)
2. 终产物抑制的机制——变构效应 ...	(172)
3. 变构酶的动力学	(173)
4. 变构酶调节酶活力的机理	(173)

5. 天冬氨酸转氨甲酰酶的变构调节	(174)
6. 酶分子的解离和聚合	(176)
七、多酶体系	(177)
八、结论	(180)
参考文献	(181)
第九章 膜分子生物学	刘树森 (182)
一、引言	(182)
二、生物膜与细胞结构	(182)
1. 细胞中的膜系统	(182)
2. 细胞膜系统的分离和研究技术	(184)
3. 功能膜的重组和人工膜模拟	(186)
三、生物膜的化学成分	(188)
1. 生物膜的一般成分	(188)
2. 膜蛋白	(189)
3. 膜脂	(191)
4. 糖类和其他成分	(192)
四、生物膜的基本结构	(194)
1. 膜结构理论和膜分子之间力的作用	(194)
2. 脂双分子层的动态性质	(196)
3. 膜蛋白的结构和动态	(202)
4. 膜蛋白 - 脂相互作用	(205)
5. 生物膜结构模型	(207)
五、生物膜的透性	(210)
1. 膜的物质转运的一般性质	(210)
2. 钠钾泵和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATP 酶	(216)
六、膜的能量转换和信息传递	(218)
• 1. 光感受器膜	(219)
2. 突触膜及其受体	(223)
七、总结和展望	(224)
参考文献	(225)

第十章 生物换能器——叶绿体的结

构与功能 匡廷云 (226)

一、叶绿体膜的基本结构	(226)
二、叶绿体的功能——光合作用	
反应	(232)
1. 光能的吸收、传递和转化	(233)
2. 水的光解和氧的释放	(239)
3. 电子传递和光合磷酸化	(240)
4. 二氧化碳的同化	(242)
参考文献	(244)

第十一章 线粒体膜与能量转换

	杨福愉 (246)
一、线粒体的结构	(247)
二、线粒体内膜的电子传递链与	
氧化磷酸化	(248)
1. 电子传递链(呼吸链)的组分	(248)
2. $\text{H}^+ - \text{ATP}$ 合酶(又称 $\text{H}^+ - \text{ATP}$ 酶	
复合体, 复合体 V)	(252)
三、氧化磷酸化的偶联机制	(253)
1. 化学假说	(254)
2. 变构假说	(255)
3. 化学渗透假说	(255)
4. Williams 假说	(259)
5. 镶嵌质子偶联假说	(260)
6. Boyer 变构假说的新发展	(261)
7. 碰撞假说	(262)
参考文献	(263)

第十二章 蛋白质的跨膜运送

	杨福愉 (264)
一、蛋白质通过内质网膜的运送	(264)
1. 信号肽	(264)
2. 信号识别蛋白体 (SRP) 和停靠	
蛋白 (DP)	(266)
二、蛋白质跨越线粒体、叶绿体	
膜的运送	(266)
1. 线粒体蛋白质跨膜运送的特征	(267)
2. 异肽的作用与性质	(267)
3. 叶绿体蛋白质的跨膜运送	(269)
三、蛋白质跨膜运送的分子机理	(270)
1. 直线模型	(270)
2. 成环模型	(271)
3. 异肽在跨膜运送过程中形成两亲的	
α -螺旋结构	(271)
4. 跨膜运送过程中蛋白质的解折叠与	
重折叠	(272)
5. 蛋白质运送过程中脂双层是否需转	
变为脂非双层?	(272)
6. Singer 的蛋白质跨膜运送分子模型	(273)
参考文献	(275)

第十三章 活性物质受体及其信息转

导	张世荣 (277)
一、引言	(277)

二、受体研究中一些基本的概念	(277)
1. 受体	(277)
2. 配体	(277)
3. 效应器	(278)
三、受体的标准	(278)
1. 配体的专一性	(278)
2. 结合的可逆性	(279)
3. 受体对配体结合的饱和性	(279)
4. 传递生物效应	(280)
四、受体的类型及其信息的转导	
机理	(280)
1. 细胞表面受体及其信息转导机理	(281)
2. 细胞浆受体和信息转导	(296)
参考文献	(298)
第十四章 生物膜质子泵与膜融合	
现象	刘树森 (300)
一、膜系统中的质子泵	(300)
1. H^+ 化学及 H^+ 泵在生命现象中的	
重要地位	(300)
2. 质子泵的分类和分布	(302)
二、膜融合现象	(306)
1. 膜融合机制	(306)
2. 水化力与膜表面的物理性质	(311)
3. 膜融合与能量	(314)
三、膜融合技术在膜生物工程中的	
应用	(314)
参考文献	(317)
第十五章 生物膜与疾病	潘华珍 (318)
一、受体疾病	(318)
1. 受体的调节	(319)
2. 受体调节的机制	(319)
3. 受体疾病的分类	(320)
4. 胰岛素受体与疾病	(320)
5. 乙酰胆碱受体与重症肌无力	(321)
6. 低密度脂蛋白受体与动脉粥样硬化	(322)
7. 肾上腺素能受体与疾病	(325)
二、血小板膜与疾病	(327)
1. 血小板膜的组分	(327)
2. 血小板膜的功能	(327)
3. 血小板膜的异常与疾病	(332)
三、红细胞膜与溶血	(334)
1. 红细胞膜的基本组分	(334)

2. 红细胞破溶的机制	(335)
3. 溶血病的红细胞膜病变	(337)
参考文献	(339)
第十六章 染色质和染色体结构	
吴 昱 (340)	
一、核粒	(340)
二、染色体的结构	(348)
参考文献	(357)
第十七章 DNA 的结构和构型	
刘培楠 (359)	
一、引言	(359)
二、DNA 的一级结构	(359)
三、DNA 的二级结构 (双螺旋结构)	
(360)	
1. 变性和复性	(361)
2. 切变降解	(363)
3. 单链的断裂	(363)
四、DNA 的构型	(363)
1. DNA 构型的种类	(363)
2. 左旋 DNA (Z-DNA)	(365)
3. 蛋白质对 DNA 构型的控制	(368)
五、DNA 的三级结构 (超螺旋结构)	
(369)	
1. DNA 超螺旋结构的形成	(369)
2. 生物体内的超螺旋的存在	(369)
3. DNA 构型、超螺旋和生物学作用	(369)
六、DNA 的重复顺序	(370)
七、结束语	(371)
参考文献	(371)
第十八章 DNA 复制	韩复生 (373)
一、DNA 复制的生物功能和分子	
基础	(373)
1. 基因在绝大多数情况下是 DNA	(373)
2. DNA 合成的前体	(373)
3. 碱基配对是 DNA 复制的分子基础	(374)
二、DNA 复制的特点	(374)
1. DNA 复制叉的不对称性	(374)
2. DNA 复制的半保守性	(375)
3. $5' \rightarrow 3'$ 方向延伸新链	(376)
4. DNA 复制的高精确度	(377)
三、DNA 聚合酶	(377)

1. 原核细胞 DNA 聚合酶	(377)
2. 真核细胞 DNA 聚合酶	(380)
3. 病毒 DNA 聚合酶	(382)
四、其他参与 DNA 复制的蛋白和酶	(382)
1. 解旋酶	(382)
2. 单链 DNA 结合蛋白	(383)
3. 引物酶	(383)
4. DNA 拓朴异构酶	(384)
5. DNA 连接酶	(386)
五、DNA 复制机制	(386)
1. 原核细胞的突变株是研究 DNA 复制机制的有效手段	(386)
2. DNA 复制的起始	(387)
3. DNA 复制的终点	(388)
4. 滚动环 DNA 复制模型	(388)
5. 单链环状 DNA 复制	(388)
6. 线状 DNA 复制	(389)
7. 线粒体 DNA 复制模型	(389)
六、DNA 复制的调节和控制	(390)
1. 从代谢角度分析 DNA 复制的调节 ...	(390)
2. 从 DNA 复制原点的结构特点分析 ...	(390)
3. 细胞膜、核膜与 DNA 复制的关系 ...	(390)
4. 真核细胞 DNA 复制的调控	(391)
5. DNA 复制的抑制	(391)
七、DNA 修复	(392)
1. DNA 的损伤	(393)
2. DNA 修复机制	(393)
参考文献	(394)

第十九章 遗传信息的贮存——遗传密码

传密码	吴冠芸 (395)
一、遗传密码的提出	(395)
二、不重叠的三联体密码	(396)
三、遗传密码的转录——mRNA 的合成	(397)
四、密码的解译	(398)
五、遗传密码的特点	(400)
1. 简并性和变偶性	(400)
2. 氨基酸的特性与其密码子	(401)
3. 蛋白质中存在着不编码的氨基酸 ...	(402)
4. 基因与其产物多肽链的相关性	(402)

5. 密码的通用性	(402)
6. 起始密码与终止密码	(403)
六、线粒体的遗传密码	(404)
七、第二遗传密码	(405)
1. 问题的提出	(405)
2. 第二遗传密码的假设	(408)
参考文献	(409)

第二十章 DNA 的转录 ... 韩复生 (411)

一、DNA 转录的一般特征	(411)
1. 以 DNA 为模板的酶促合成 RNA ...	(411)
2. 每个基因只有一条 DNA 链做 RNA 的模板	(412)
3. 转录有固定的方向	(413)
二、RNA 聚合酶	(414)
1. 原核细胞 RNA 聚合酶	(414)
2. 真核细胞 RNA 聚合酶	(416)
3. 病毒 RNA 聚合酶	(417)
三、启动子即启动基因	(418)
1. 原核细胞 DNA 转录的启动子	(418)
2. 真核细胞 DNA 转录的启动子	(422)
四、DNA 转录启动阶段的调控	(424)
1. 增强子	(424)
2. 影响转录启动的蛋白因子	(426)
五、DNA 转录延长和其影响因素 ...	(429)
六、DNA 转录终止及其调控	(431)
1. 原核细胞 DNA 转录的终止和调控 ...	(431)
2. 真核细胞 DNA 转录终止信号和调节因素	(433)
七、DNA 转录后加工和运输	(434)
1. 转录后加工	(434)
2. RNA 运输细胞核外需要有分子信号	(435)
参考文献	(436)

第二十一章 遗传信息的转译：蛋白质

质的生物合成 ... 刘培楠	(437)
一、引言	(437)
二、蛋白质生物合成中的主要角色...	(438)
1. 转运核糖核酸 (tRNA)	(438)
2. 核糖体	(440)
3. 信使核糖核酸 (mRNA)	(443)
三、蛋白质生物合成中的三大步骤...	(444)

1. 肽链的启动	(444)	5. 重组体 DNA 的克隆	(490)
2. 肽链的延伸	(448)	五、基因工程技术的应用	(490)
3. 肽链的终止	(450)	参考文献	(491)
4. 聚核糖体	(451)	第二十四章 单克隆抗体技术及其在肿	
5. 遗传信息的“读出”方向	(451)	瘤研究中的应用 ... 董志伟	(493)
6. 单顺反子的和多顺反子的信使核糖		一、引言	(493)
核酸的转译	(452)	二、小鼠 B 淋巴细胞杂交瘤技术 ...	(493)
四、蛋白质生物合成的调节	(453)	1. 基本原理	(493)
五、蛋白质的转译后修饰	(455)	2. 技术流程	(494)
参考文献	(456)	3. 技术关键	(496)
第二十二章 病毒的分子生物学		三、其他种系的 B 淋巴细胞杂交瘤	
田 波 (457)		技术	(497)
一、病毒的蛋白质	(457)	1. 大鼠 - 大鼠杂交瘤体系	(497)
1. 病毒蛋白的组成	(457)	2. 人 - 人杂交瘤体系	(498)
2. 病毒蛋白的结构	(458)	3. 种系间的杂交瘤体系	(498)
3. 人工变异病毒株的蛋白质	(459)	四、筛选方法	(498)
二、病毒核酸的结构与功能	(460)	1. 固相放射免疫测定	(498)
1. 病毒 RNA 的结构与功能	(461)	2. 酶联免疫吸附测定	(499)
2. 病毒 DNA 的结构与功能	(469)	3. 免疫荧光	(500)
三、抗病毒的基因工程	(473)	4. 免疫化学发光测定	(501)
1. 由卫星 RNA 构建的抗病毒基因	(474)	五、抗原的分析与鉴定	(501)
2. 由外壳蛋白基因构建的抗病毒基因 ...	(475)	1. 抗原的生物化学性质	(501)
3. 构建抗病毒基因的其他途径	(477)	2. 抗原的定位及分布	(501)
四、亚病毒	(477)	3. 抗原的免疫沉淀	(502)
1. 类病毒的结构与功能	(478)	4. 抗原的免疫印迹	(503)
2. 朊病毒的本质	(479)	六、单克隆抗体的分离及纯化	(504)
3. 拟病毒与卫星 RNA 的关系	(482)	1. 硫酸铵沉淀与离子交换层析	(504)
参考文献	(483)	2. 蛋白 A-Sepharose 亲和层析	(504)
第二十三章 遗传工程技术的原理、		3. IgM 类单克隆抗体的纯化	(505)
发展概况及其应用		4. 单克隆抗体纯化仪	(505)
刘培楠 (485)		七、单克隆抗体在肿瘤诊治中的	
一、基因研究的意义	(485)	应用	(505)
二、基因工程技术的发展	(485)	1. 监视病情、预报复发、辅助诊断 ...	(505)
三、基因工程技术发展的里程碑 ...	(486)	2. 肿瘤的体内定位	(506)
四、基因工程技术的原理	(487)	3. 免疫病理分型	(506)
1. 基因的分离	(487)	4. 肿瘤治疗	(506)
2. DNA 的拼接	(488)	5. 抗独特型抗体的抗肿瘤效应	(508)
3. 载体的制备	(489)	参考文献	(508)
4. 基因和载体的重组	(490)	分子生物学大事年表	魏 群 (509)

第一章 绪 论

邹 承 鲁

(中国科学院生物物理研究所)

分子生物学是当前生物学发展的主流。自本世纪后半叶以来它是整个自然科学中发展最迅速的学科之一,不仅带动了生物学的全面发展,并且为农业、工业、医学以及国防方面的研究开辟了广阔的前景。

分子生物学大体可分为三大领域:一是蛋白质体系(包括酶),二是蛋白质-核酸体系(中心问题是分子遗传学),三是蛋白质-脂质体系(即生物膜)。现围绕这三大领域以及分子生物学在其他领域中的应用作些介绍。

一、生物大分子

1. 生物大分子化学结构的测定

这是研究生物大分子结构与功能关系的基础。在蛋白质方面,已经测定化学结构的蛋白质(如果把不同种属的同一种蛋白质都计算在内),总数在 4 000 种以上。其中最大的分子量已超过十万,如大肠杆菌的半乳糖苷酶和胶原蛋白。回想当初 Sanger 实验室,前后共五、六个人参加,历时八年,才完成了胰岛素这个仅 51 个氨基酸组成的最小的蛋白质化学结构的测定工作。20 多年来,蛋白质化学结构的分析技术有很大发展,借助于氨基酸自动分析仪和氨基酸顺序自动测定仪,顺利时一次可完成长达六、七十个氨基酸残基的顺序测定。近年来发展起来的气相顺序仪和快速原子轰击质谱仪甚至可以用 p mol 数量级的样品进行氨基酸序列的测定。

核酸化学结构的测定在 70 年代初期还落后于蛋白质顺序的测定。那时已知化学结构的核酸为数有限;测定一个由二十个核苷酸组成的核酸结构,一个熟练工作者需工作三年。但是近年来,核酸,特别是 DNA 化学结构的测定,有了飞跃的发展。所用方法主要有两种:一是英国发展起来的“正负法”,最近又改进为新的“末端终止法”,另一是美国发展的化学断裂法。今天像线粒体或 λ -噬菌体 DNA 那样上万个核苷酸片断的序列分析,已属常规工作。对于人的染色体 DNA 的 3×10^9 个核苷序列分析,可望在不久的将来全部完成。

对比之下,蛋白质结构分析技术相形见绌了;已经测定的结构还未曾达到象核酸这样的长度。目前,蛋白质序列分析,特别是较大蛋白质序列分析,多采用以该蛋白质部分肽段的氨基酸序列为基础,合成一段相应的 DNA 探针,然后用分子杂交技术,自基因文库中克隆出该蛋白质的对应基因,再根据 DNA 序列推导出氨基酸序列。

由于蛋白质特别是核酸序列资料增长异常迅速,截至目前为止,大约有 4 000 种蛋白质的氨基酸序列已经测定,为了便于国际间的交流,数据的分析,存贮实现了计算机化,并出现了

国际性的数据库。

2. 生物大分子的高级结构

X-光晶体衍射技术的发展解决了生物大分子三度空间结构，使人们几乎可看到每个原子的位置。这方面的工作对分子生物学的发展作出了重要的贡献。现在已有上百个蛋白质通过X光晶体衍射获得了高分辨率的三度空间的结构。

不同种属执行同一生物功能的蛋白质，其化学结构有一定的相似性，而空间结构的相似性表现得更为突出。鱼线粒体和细菌的细胞色素c，在氨基酸序列中相差60多处，即差别达到百分之六十左右，但从X光晶体衍射的结果看，二者的空间结构却非常近似。

用X光晶体衍射测定比较大的蛋白质分子是一些激酶、脱氢和转换酶，如乳酸脱氢酶，甘油醛-3-磷酸脱氢酶和磷酸化酶等，分子量从14万—20万左右。由于脱氢酶和激酶都以核苷酸化合物为底物，它们在空间结构上有很多相似之处。脱氢酶空间结构大体可分为两部分，这两部分都是较紧凑的结构，在蛋白质结晶学上称为结构域(Domain)，其中一部分与底物结合有关，另一部分则是与 NAD^+ 结合有关(图1-1)，这一部分结构域与许多激酶的空间结构有不少相似之处，这些相似之处可能是由于这两类酶都要和核苷酸结合所决定的。

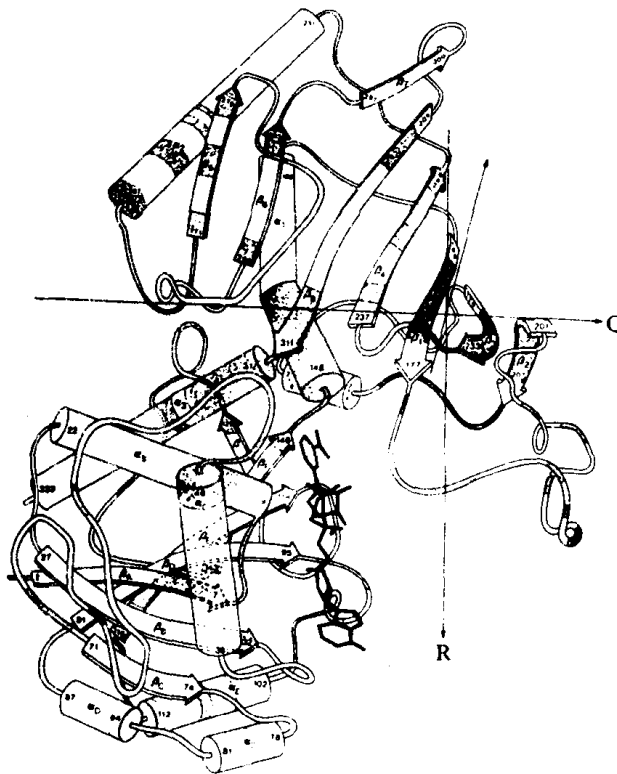


图1-1 甘油醛-3-磷酸脱氢酶示意图

上半是底物结合及催化结构域，下半是 NAD 结合结构域。圆筒代表 α -螺旋，箭头代表 β -折叠。黑线结构是 NAD ，灰色部分是已知5个种属的酶分子中氨基酸序列完全相同的部分。

对上述现象现在有两种解释。一种是“分化进化说”，即在很原始时脱氢酶和激酶是同一

个酶，承担两个不同的任务；随着生物的进化，逐渐分化成两类酶，但仍保持着原始祖先的某些相似之处。另一种是“会合进化说”即这两类酶原来是无关系的，但由于都要和核苷酸相结合，遂演变成了类似的结构。这两种学说并不矛盾。对整个生命世界，这两种情况也许都会发生，但对某一种酶，它只有一种可能性。看来在多数情况下分化进化的可能性比较大。

X-光晶体衍射也有它的不足之处。它测的是生物大分子晶态的结构，而绝大多数生物大分子在生物体内不是处于晶态，而是处于溶液中或者是与膜紧密结合的。从晶态结构能否了解其生物功能？晶态结构与溶液中及连在膜上时的结构是否一样？对此可以作一些回答。有一些蛋白质在晶态下仍表现一定的生物功能，如血红蛋白与氧的结合在晶态下一样可以进行，某些酶在晶态仍能表现活性。经过这样的比较，可得出的一个大致的结论是：二者基本相同，但有时有细微差异。这个差异用酶来说明是最恰当的，因为可对晶态与溶液的酶活性进行比较。当然，由于测定晶态酶活性的方法和计算不同，得出的结果总是基于一定的假设之上，但如果一个酶的晶态与溶液的活性在同一数量级，则可认为晶态结构基本上反应了溶液结构，反之，若二者有差别，象醇脱氢酶二者差一千倍，则两种状态可能会不大一样。

过去 X-光晶体衍射的另一不足之处是它测定的是静态结构，而生物大分子的功能则存在于运动之中。而最近的发展表明，研究蛋白质空间结构的动态变化，X-光晶体衍射也不是无能为力的，首先解决这一问题的手段之一是将X-光晶体衍射与低温生化结合起来。以酶催化的反应为例，这是非常快的过程。但温度每降低 10℃，反应速度就可降低一半，如果把温度降至 -50℃ 左右，反应速度就大大降低了，本来不稳定的中间物相对来说稳定了。如弹性蛋白酶的晶体在 70% 的甲醇溶液中冷至 -55℃，然后用它的专一性底物苯氧羰基丙氨酸对硝基苯酯浸泡，可以得到酶的酰化中间物，在上述条件下可稳定二天，仍维持相当高的酰化比例，因此就有可能进行晶体衍射分析。从底物浸泡前后的差电子密度图(图1-2)可清楚地看出在活性部位丝氨酸羟基上的苯氧羰基丙氨酸的酰化物。这是人们第一次直接观察到一个酶和它的专一性底物形成的、本来是不稳定的共价中间物。

事实上即使在晶体状态下，蛋白质分子也不是绝对静止的，所有的原子都仍然在不停地运动之中，不过有的幅度大些，有的幅度小些，衍射点所反映的只是其中心位置或者说是存在于这些位置时的几率最高。高分辨率的晶体结构分析，可以得到运动的信息。近年来的另一个重要发展是利用同步加速器所产生的强 X-射线源，可在 3 秒钟内收集全部衍射数据供结构分析用，这样就为用晶体衍射方法研究蛋白质分子在进行反应过程中的构象变化提供了有力的工具。

关于核酸的空间结构的研究远较蛋白质的情形落后。在开始阶段主要借助于 X-射线纤维衍射技术配合以合理的立体化学模型。1973 年才第一次解决了 tRNA^{phe} 的单晶晶体结构，继而一些 DNA 分子陆续得以解决，近年来最令人兴奋的是一些蛋白质与核酸复合物的空间结构的研究取得了重大突破，对于了解这两类重要生命大分子的相互作用，提供了结构认识的基础。

3. 生物大分子溶液构象及其运动性的研究

体内生物大分子主要是存在于溶液环境中，它们的功能也是在运动中体现的。因而生物大分子溶液构象及其运动性的研究日趋活跃，越来越显示出它的重要性。晶体衍射法中精

细修正技术的发展,紫外、荧光,激光拉曼,圆二色等波谱学的应用,特别是二维 NMR 技术的建立,使得蛋白质溶液构象的研究空前活跃。用二维 NMR 方法直接对溶液中蛋白质分子进行全部结构测定近年来也已经获得成功,对淀粉酶抑制剂的测定结果与晶体衍射的结果基本一致。这一方法目前还只能用于较小的蛋白质分子,当然 NMR 对于研究生物大分子的动态变化也是很有用的。

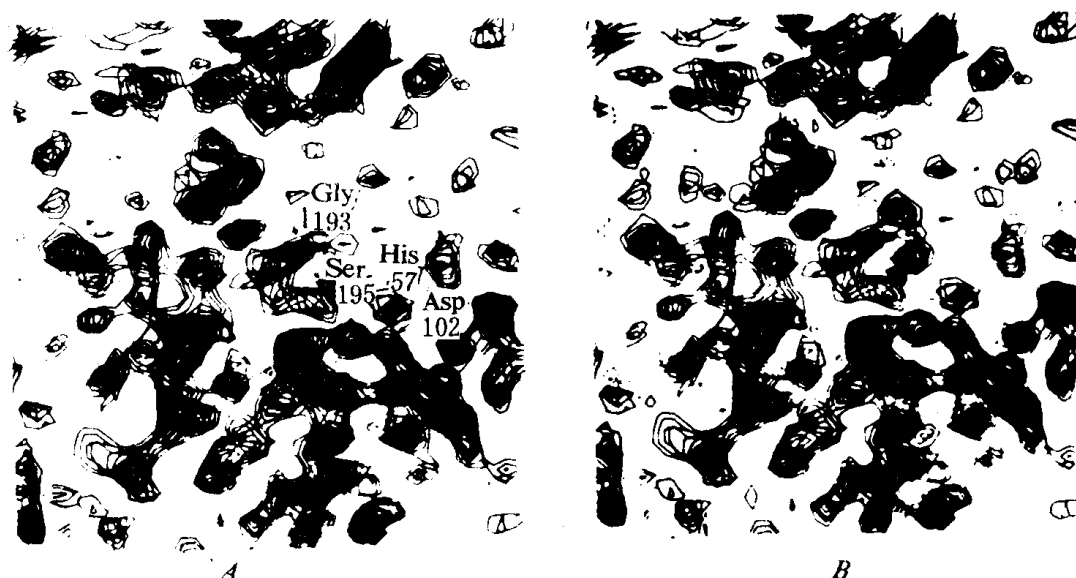


图 1-2 弹性蛋白酶的酰化中间物

A: 弹性蛋白酶晶体在 70% 甲醇溶液中在 -55°C 的 X 光衍射电子密度图,活性部位 Ser、His 和 Asp 的位置已在图上标明。
B: 与底物苯氧羰基丙氨酸酯浸泡后的电子密度图。与 A 相比在丝氨酸上新增的电子密度代表苯氧羰基丙氨酸酯。

已有研究结果表明某些蛋白质分子表面局部区域具有高度运动性。一些肽段的抗体与完整折叠的蛋白质分子有明显的反应,表明蛋白质分子表面是处在不停地运动状态,某一恰好合适的构象运动状态,刚好与肽段抗体相吻合。在某些酶的催化过程中,酶分子内的结构域或亚基间会发生呼吸式的开合运动,开放构象允许底物结合和产物释放,而闭合构象使催化反应在有利条件下进行。正是这种每秒钟成百上千次的往复运动,使得酶分子周而复始地完成着催化作用。酵母己糖激酶、肝乙醇脱氢酶、甘油醛-3-磷酸脱氢酶、天冬氨酸转氨酶等在催化其底物反应过程中,均有此种结构域的开合运动现象,而最典型的例证是柠檬酸合成酶的情形,如图 1-3 所示。

4. 酶作用的过渡态

70 年代以来酶学另一新进展是关于酶作用的过渡态的研究。过渡态的概念 Pauling 早在 40 年代就把它从化学动力学引入到生化领域,但当时并未引起重视。近十几年来由于积累了许多实验证据,才渐渐地受到注意。

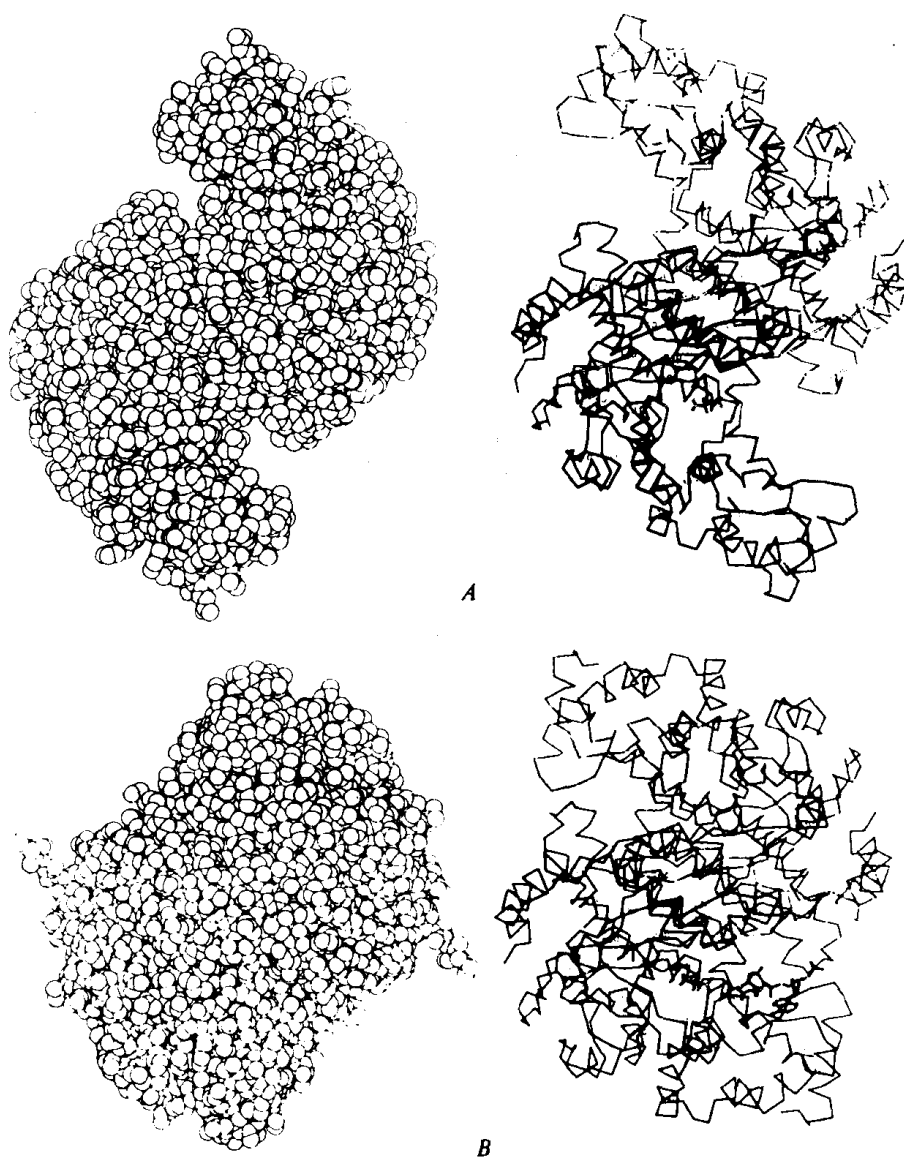


图 1-3 柠檬酸合成酶的两构象状态。A 开放式构象；B 闭合式构象。在催化循环中，两种构象交替出现，形成分子的开合式运动。

根据这个理论，酶所以具有很高的催化效率就是由于它与过渡态中间物紧密结合，从而降低了底物形成它的过渡态时所需克服的能障(图 1-4)。可见研究酶与过渡态中间物的结合方式对于了解酶作用的机理非常重要。但是 ES^* 的半寿期很短，约在 10^{-10} — 10^{-12} 秒的范围内，要研究它是很不容易的。目前的做法是寻找过渡态中间物的类似物，由于这些物质在结构上与 S^* 类似，它们与酶结合常常比底物还要紧密，研究它们与酶的结合方式对于说明酶的作用机理也是很有帮助的。现在已经有 60 多个酶发现了过渡态中间物的类似物。表 1-1 中是几个例子，从中可见，这些类似物通常都是酶的抑制剂。它们与酶的结合比底物还要牢固 3—5 个数量级，即 K_m/K_i 约为 1 000 至 10 万，说明它们在结构上比底物更接近于在反应过程中生成的过渡态中间物(真正的过渡态中间物与酶的结合应该比底物要牢固 10^7 — 10^{17} 倍)。

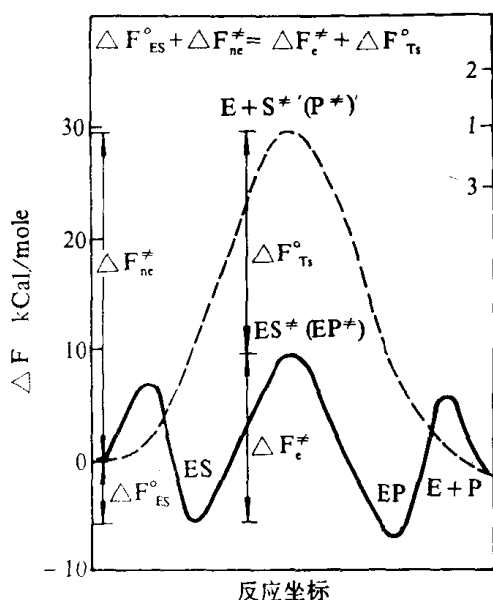
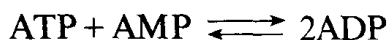


图 1-4 酶催化反应的过渡态

图中虚线代表非酶反应，实线代表酶反应； S^* 是反应物（底物）的过渡态中间物；ES、EP 分别代表酶与底物及产物的络合物； ES^* 是酶与过渡态中间物的络合物。

这些抑制剂本身的结构，往往已经能对酶反应的机理提供重要线索。例如腺苷酸激酶催化的反应是：



后来发现，两个腺苷分子在各自的核糖 5' 位上以五聚磷酸连接的分子 ($A_{P5}A$) 和相应以四聚磷酸连接的分子 ($A_{P4}A$) 对腺苷酸激酶的抑制能力极为不同，前者极强，后者很弱。这一事实表明在酶的活性部位同时存在结合 ATP 和 AMP 的部位，两者大体上是线性排列。处于过渡态时，ATP 分子的末端磷酸已略微离开它原来的位置，而趋近于 AMP 分子的磷酸基团。此时 ATP 和 AMP 两个分子的腺苷的距离大约相当于五聚磷酸的长度。

酶的过渡态的研究不仅对了解酶的催化机理有重要意义，而且也为药物设计指出了一条新的途径。过去设计药物总以为药物和底物的结构越象越好，而现在应从与酶的过渡态中间物的结构类似去考虑，才能获得更佳的效果。

表 1-1 一些酶的过渡态中间物的类似物

系 统 号	酶	底 物	类 似 物	K_i / K_m
1.1.3.2	乳酸氧化酶	乳 酸	草 酸	10^{-3}
1.1.1.27	乳酸脱氢酶	乳 酸	草 酸	10^{-4}
2.7.4.3	腺苷酸激酶	ATP	$A_{P5}A^*$	10^{-5}
3.4.4.10	木瓜蛋白酶	Ac-Phe-GlyOCH ₃	Ac-Phe-Glycinal [≠]	10^{-3}
4.1.2.7	醛 缩 酶	磷酸丙糖	磷酸乙醇酸	10^{-4}

* $A_{P5}A$ ，见正文

≠ 底物和类似物羧基末端的结构分别为 —C(=O)—OCH_3 、 —C(=O)—H 。

5. 生物大分子的人工合成

我们国家首先合成了胰岛素，现在又合成了酵母丙氨酸转移核糖核酸，在生物大分子的人工合成方面做出了不少成绩。但是无论是国际还是国内，在蛋白质的合成方面十几年来没有重大的突破，至今要合成一个蛋白质仍是非常艰巨的工作。在核酸的合成方面，美国 Khorana 和 24 位共同工作者经过 9 年努力，完成了大肠杆菌酪氨酸转移核糖核酸前体基因包括起动和终止信息的全合成工作。他们用的方法是化学合成和酶促合成相结合，合成的量极少，以至要设计出非常灵敏的测活方法，才能测出转录活性，即利用 *E. Coli* 噬菌体的变种，灵敏度为 10^{-14} 克分子。