

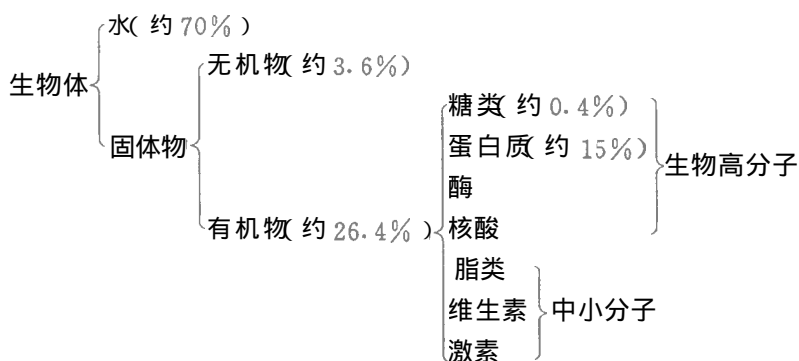
第一章 绪论

一、生物高分子与生物化学

生物化学即生命的化学，属交叉学科，主要研究生物机体的化学组成和生命过程的化学变化规律，即利用化学的理论和方法研究生命现象。生命现象包括生长、发育、遗传、变异、感觉、运动、记忆、衰老、死亡等。生命的基本特征是新陈代谢。新陈代谢包括物质代谢（分解与合成）和能量代谢（供能与产能）。新陈代谢有五大特点：(1)严格的细胞内定位关系，(2)特异的酶促反应，(3)共通的代谢关联，(4)严谨的反应序列，(5)高效率的调控机构。

高分子物质分为合成高分子物质（如塑料、橡胶和合成纤维三大合成材料）和天然高分子物质两大类。生物高分子物质是天然高分子物质中比较特殊的一类，它是生物体内的高分子。

生物体内存在的物质主要有：



生物高分子所讨论的是多糖、蛋白质、酶、核酸的结构、性质、功能及研究方法等，属于生物化学学科体系。

生物化学近几年来取得了突飞猛进的发展，这一方面当然是客观世界的要求和可能因素的作用，另一方面也与生物化学这门学科的特点有关。它是社会的需要以及社会提供的可能的客观条件的综合结果，另外，也体现了“杂交优势”这种生物学现象。交叉学科具有强大无比的生命力，也具有特殊的优势。

二、生物化学的发展

生物化学源于有机化学和生理学。它于18世纪萌芽，19世纪初步发展，20世纪初独立

为一门学科。该学科最初被称为“生理化学”，1903年德国的Carl Neuberg(1877—1956)初次使用“Biochemistry”(生物化学)这一名词，标志生物化学作为独立学科的诞生。

生物化学的发展，首先起源于法国，由法国传入德国，再由德国传到美国 and 英国，20世纪时由上述国家传到世界各国。

20世纪30年代，生化界的研究热点主要集中在对激素和各种维生素的分离和鉴定以及对人体功能和氨基酸的分离方面。福建师范大学化学系的首任主任余宝笙教授1935年在美国约翰斯霍普金斯大学攻读博士学位时，就曾师从于维生素A、B、C的发现者麦卡伦教授。美国的James B. Sumner(1877—1955)是世界上第一个得到脲酶结晶的人(1946年，J. B. Sumner和另两位美国学者J. H. Northrop和W. M. Stanley分享了诺贝尔化学奖，后两位也是从事纯净状态的酶和病毒蛋白质研究的专家)。还有Hans A. Krebs提出了著名的三羧酸循环，使糖、脂肪、蛋白质及氨基酸的代谢途径得到阐明。Otto Meyerhof(1884—1951)和Otto Warburg(1883—1970)则提出了ATP是代谢能产生和利用的关键物质，提出了呼吸链及氧化磷酸化的理论，从而建立了生物能量学(bioenergetics)这一分支学科。Michaelis-Menten等开展了酶反应动力学的研究，建立了具有普遍意义的米氏方程，使生物化学进入更成熟的阶段。随后便出现了生物物理化学、生物无机化学、生物有机化学、生物分析化学、生物化工等一系列更具体实用的分支。

20世纪50年代以来，生物大分子的结构和功能的研究进入飞跃发展时期。Pauling等人根据X射线的研究，提出了蛋白质的二级结构，特别是蛋白质的 α -螺旋结构的提出，促进了生物高分子结构研究的发展。1954年Pauling因阐明化学键的本质以及解释复杂分子结构而获诺贝尔化学奖；1953年Sanger因测定了胰岛素分子的一级结构，而于1958年获诺贝尔化学奖；1953年James D. Watson和Francis H. C. Crick提出了DNA双螺旋结构，此被认为是分子生物学的第一定律。其他方面如生物高分子三维结构、遗传密码、生物信息传递的中心法则及1961年乳糖操纵子——基因的表达调控等的阐明，都标志着生物化学进入了一个崭新的发展时期，从而使生命科学里的带头学科——分子生物学迅速兴起。该学科就是从生物高分子(蛋白质、酶、核酸、多糖)的水平上研究生命现象的一门科学。

更令人振奋的是在20世纪即将结束之际，继1997年英国维而穆特向世界宣告克隆羊多利诞生之后不到3年，2000年6月26日下午6时，美、英、日、德、法、中六国同时向世人宣布，人类历史上最伟大的科学工程——人类基因组的“工作草图”宣告绘制完成。这项历时10年，耗资30多亿美元，号称是继曼哈顿原子弹计划(1941—1943)耗资20亿美元和阿波罗登月计划(耗资300亿美元，1969年7月20日登月)之后的人类第三大计划的完成，将给人类带来根本性变化。人类不断完善的进化速度将大大加快，与人类相关的各种疾病以及衰老、死亡等均可得到预测、预防和早期诊断、治疗。有人预计由此派生出的产业年产值可达450亿美元，“基因经济”一触即发。

生物高分子领域取得如此突飞猛进的发展，一方面体现了交叉学科的优势。近30年来，在细胞学、免疫学、生理学、生物化学及生物物理学各领域都取得了迅速发展，特别是现代数学、物理学、化学等方面的新概念和新技术大量渗入到生物学科中，生物科学的研究重点逐渐由细胞水平转向分子水平。另一方面，也是社会客观需要和客观条件可能的综合结果，例如“巴氏消毒法”(目前仍用于酒、牛奶的消毒方法)的产生。1865年法国立耳城制酒坊里本

来芬芳的啤酒变酸，巴斯德借用显微镜找出了原因——乳酸杆菌，接着他采用 65 ℃ 左右保温 30 分钟的办法，消灭了乳酸杆菌。当时不少酒店老板还半信半疑，并配制了一系列的啤酒，当场请巴斯德试验、品尝，结果无不信服之。还有其他如卡介苗、牛痘、黄胺药物、青霉素等问世也有类似情况。正是社会的迫切需要，才使这些药品问世，并服务于人类。当前人类迫切要求的是：病毒控制、癌症控制、环境污染控制、衰老控制、记忆长青以及粮食生产方面的优良品种培育、光合效率提高、病虫害防治技术等。而当前客观条件也提供了这种可能，如创新的仪器层出不穷（如核酸、蛋白合成仪、分析仪的问世，更精密、微量的分析仪的产生），创新技术（如基因工程技术、分子杂交技术）以及创新的思维方法、理论等日新月异，可以乐观地估计，在未来 30 年内，生物高分子学科必将硕果累累，全方位地服务于人类。

三、中国的生物化学

在中国，生物化学成为一门独立学科较国外迟 20 年至 30 年，但也有不少令人振奋和世界一流的成就。

20 世纪 30 年代，我国生化学家吴宪（1893—1958，福州人）提出的蛋白质变性学说，至今仍为世界各国学者沿用。1931 年吴宪指出，蛋白质的变性就是它的肽链从卷曲变到伸展的过程，后来的工作都证明吴宪的说法是正确的。当然从现代主体结构角度可以确切地说，蛋白质的变性是它的高级结构被破坏，而一级结构不遭破坏导致生物学功能丧失的过程。这与吴宪的说法在本质上是是一致的。

1965 年，我国生化专家在世界上首次人工合成了具有生物活性的蛋白质——牛胰岛素。这是一个含有 51 个氨基酸残基的小蛋白，主要用于治疗糖尿病。1981 年，我国生化工作者又在世界上首次合成核糖核酸——酵母丙氨酸转移核糖核酸（一个含 41 个核苷酸的 tRNA），为天然核酸的人工合成打开了一条通路。这两项为我国赢得世界荣誉、载入史册成就的课题倡议人、负责人之一王应睐教授（1907—2001，福建金门人）为此付出了不少心血。

另外，近 20 年来，我国生化领域的一些成就也是不胜枚举：

1. 基因工程药物

乙型肝炎表面抗原基因工程疫苗是 20 世纪 90 年代生物技术头号攻关任务，进入中试后并完成了二期临床，1990 年底形成 100 万人份的生产能力。人生长激素基因分别在大肠杆菌和哺乳动物细胞得到高表达，前者表达产物分布在细胞质，易于分离提取，表达产物占菌体总蛋白的 6%，后者在 CHO 细胞的表达产率达 100 μg/(10⁵ 细胞 · 24 h)，达到国际先进水平。幼畜腹泻基因工程疫苗的中试正顺利取得进展，工程菌的高密度发酵有突破，从 20 L 发酵液中便可获得与常规 1 t 发酵相抵的产量，仔猪免疫试验效果良好。

2. 蛋白质工程

该领域涉及三大基础学科，即蛋白质空间结构、蛋白质化学及基因工程。科学院在这三方面拥有综合优势。在国家高技术计划中，枯草杆菌蛋白酶、胰岛素、天花粉蛋白、葡糖异构酶、凝乳酶和蛋白酶抑制剂等被列为第一批定位突变的靶分子，其中枯草杆菌蛋白酶 E 的定位突变进展较快，Asn-218-Ser 突变型酶稳定性提高了 3 倍，Met-222-Ala 突变型酶抗氧化能力明显增强。

3. 转基因动物

该技术的目的之一是改善动物的生产性能,如提高生长速率、改善肉质等。据已知初步获得转入生长激素基因的鲤鱼、团头鲂、金鱼和泥鳅等,其生长速率普遍提高。当然要获得遗传上稳定的、有经济价值的品种,还有相当长的路要走。人类对转基因动物的另一个兴趣是把动物个体当成生物反应器,借以从动物的体液及组织中分离外源基因的表达产物。最近,我国科学家已成功地将 HBsAg 及 hGH 基因导入家兔受精卵中,并证实这些基因已整合到家兔染色体基因组内,能传代和表达,从而使以动物个体作为生物反应器的设想得到了证实。

4. 转基因植物

我国科学家周光宇等人曾通过花粉管通道注入外源总 DNA 获得抗枯萎病的棉花 经过 10 代的观察筛选已获得遗传稳定的品系,现已推广种植 1333 公顷。近几年 在体外重组的基础上又先后获得抗 TMV、抗 CMV 烟草,抗除草剂大豆及抗 CMV 番茄工程植株,其中有的即将进入大田试验。总之,转基因植物近年的进展超过原来的预想,为今后的农业应用打下了良好基础。

5. 单克隆抗体

我国先后研究成功抗人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 单抗及抗 A、抗 B 人红细胞单抗 并制成定型临床诊断试剂盒。前者用于妇女妊娠检查,后两者则用于人血型鉴定,都具有快速、灵敏、准确等优点。在免疫毒素方面也有可喜进展:如天花粉蛋白 (TCS) 与抗肝癌单抗 (Hepama-1) 偶联 所得到的免疫毒素 (TCS-Hepama-1) 在裸鼠体内实验中,对肝癌细胞有强烈而专一的杀伤作用。

6. 动物细胞工程

继乳牛胚胎二分胚分割与移植成功之后,以黄牛为受体的移植也获成功,从而使受体范围扩大。最近四分胚再获成功,这一技术推广后将大大加快良种乳牛的增殖速度。在经济鱼类育种方面,采用单倍体育种和性别控制技术成功培养出全雌性杂交鲤鱼。由于雌鱼的长势在头一年里明显高于雄鱼 (快 30%),所以当年便可以上市。近两年已推广 130 多公顷水面,受到生产者的欢迎。另外,以移植技术把鲤鱼核移入鲫鱼的去核卵中,育成鲤鲫核质杂交鱼,其无论在生长速率,还是在鱼肉品质都明显优于亲本,已推广 1800 多公顷水面,获得良好的经济效益。

7. 植物细胞和组织培养

在技术及应用两方面我国均拥有一定优势。如用茎尖培养所获得的马铃薯种薯已推广二三十万公顷,以每公顷增产 3 750 kg 计,经济效益已超过亿元。又如近年我国已引进优良香蕉品种,采用工厂化育苗进行良种繁育,已形成 450 万株试管苗的生产能力,推广良种后每公顷增产 9 000 kg 而且已进入日本和港澳市场。此外 木薯的快繁技术、唐菖蒲的无病毒快繁技术等也获成功。“七五”期间我国原生质体再生植株的研究获大面积丰收,已先后实现了大豆、玉米、小麦、水稻、高粱、小米等重要农作物的原生质再生植株 使我国在这一领域继续处于世界领先地位,为细胞工程和遗传工程育种创造了良好条件。

8. 酶工程

在成功构建青霉素酰化酶基因工程菌之后,随之进入中试,并于 1988 年通过鉴定 这是

我国第一个完成中试的基因工程菌。最近固定化细胞反应器的研究又获良好进展，较明显地提高了 6-APA 的产率。在同一期间胞外青霉素酰化酶的研究也颇见成效，酶产量达 619 u/100 mL 并于 1989 年通过中试鉴定。以上各项技术推广之后将可以使 6-APA 的生产国产化，节约大量外汇。此外，在临床诊断用酶盒方面，部分酶盒已进入市场，更多的新型及热稳定的酶盒正陆续从实验室推出。

9. 发酵工程

在众多的成果中，以维生素 C 二步法发酵生产技术比较突出。第一步发酵依然沿用原来的工艺，即黑醋菌催化 D-山梨醇转化为梨糖。第二步则采用大小菌落混菌发酵生产 2-酮基古龙酸。该工艺具有降低成本、减少污染、简化工艺等优点。该成果以 550 万美元转让给瑞士 Roche 公司，是建国以来最大的一宗技术转让项目。

以上简要介绍了我国近 20 年来生化领域的最新进展和部分成果，的确给我们带来很大的鼓舞和刺激。我们这一代人正在享受和将要享受基因工程的硕果带给我们的好处。通过以上介绍，我们也可以看到，生物高分子的研究和发展是多方面的，几乎涉及自然科学领域的 1/3。生物化学根据对象不同又常细分为植物生化、动物生化、微生物生化；根据应用不同又分为工业生化、食品生化、农业生化、医学生化等。

四、生物化学与生产实践

1. 生物化学制品的应用

这一方面最主要的无疑是酶制剂的应用。酶制剂既可用于工农业产品的加工生产和改造，也可用来进行某些工艺的革新，还能用来处理“三废”。在医药实践上酶制剂的作用包括：帮助消化、消炎、治疗各种内外科疾患以及抗肿瘤等。固定化酶的开发还为制备“人工脏器”以取代功能衰竭的器官组织开辟了广阔的前景，同时也可能为先天性遗传病患者带来福音。

另一类生化制品是药物，如各种疫苗制品、血液制品、激素、维生素、核苷酸、氨基酸和它们的衍生物，以及某些蛋白质制剂等，此外还有某些抗代谢药物等。它们已广泛用于临床实践，起着十分重要的作用。

第三类是各种食品添加剂，包括通过抽提、发酵或者人工合成得到的甜味剂等，也包括各种营养补剂，还包括某些饲料添加剂等。

最后一类是生化制剂，如各种酶制剂、核酸、蛋白质试剂等，尤其是近年来发展极为迅速、层出不穷的为各种分子生物学、生物工程（学）研究所用的各种生化制剂，它们对近年来生物科学取得巨大进展做出了重要贡献；此外，还有各种临床检验的试剂盒等。

2. 生化分析和生化技术的应用

实际上生化分析现在已成为工农业生产和临床医学实践中常规的工作内容。对生产来说，生化分析不仅是产品质量的检验手段，也能指导生产、改造工艺过程，有助于提高产品的产量和质量。生化分析对于医学实践的意义是：辅助临床诊断，跟踪和指导治疗过程，并可能为探讨疾病产生机制提供某些线索。

生化分析中一个十分重要的内容是酶分析。酶分析包括两类：以酶为分析对象的分析和以酶为分析工具或试剂的分析。

值得指出的是，生化分析现在已不限于对组成成分的定量测定，也包括应用层析、电泳

等各种技术进行的组成定性分析。

至于所谓的生化技术的应用，包括生化分离纯化技术的应用、生物合成技术（包括肽合成和DNA合成技术）的应用。它们是推动近代生物化学，特别是分子生物学发展的强有力的工具。这些技术近年来进展十分迅速，并且已经达到极高的水平，各种层析技术和层析介质、各种合成仪和合成方法及试剂层出不穷、日新月异。现在的任务是如何将这些成就推向生产。

最后值得提到的是，在生化应用技术中还应包括酶法（特别是固定化酶）与化学法相结合的工艺技术，它现在已在生产中逐渐推广应用，并已显示出很大的优越性。

3.“生化知识”的应用

“生化知识”在生产实践中可以发挥两方面的作用：促进生产、提高产量；指导药物设计，制造出杀灭病虫害的专一有效药物。

在工业生产，特别是发酵工业上，如果人们能掌握产品的代谢规律，尤其是它的代谢调节规律，那么人们就可能通过控制生产条件，或者通过遗传手段改造生物，突破其限制环节的调控，使所需的产品产量大幅度提高。现在氨基酸的生产在这方面有许多出色的例证。

在医学和农业上，首先，人们可针对病虫害代谢上的特点，特别是代谢的关键环节，设计强有力的抑制药物或抗代谢药物，以破坏病虫害的正常代谢，促使其死亡；其次，人们可根据病虫害与正常机体在酶谱和代谢上的差异，在原来的强力药物上装上“导弹”，或设计出新的具有高选择性的药物，保证在杀灭病虫害的同时不致损伤正常机体；第三，药物长期使用后会产生抗药性，其主要原因是由于药物诱导了分解它的酶的合成，因此在了解药物的代谢规律后，人们可针对性地对药物进行改造，克服抗药性，使药效增强、延长。

“生化知识”还可能为农业做出重要贡献。例如对光合作用机制的深刻认识，将有助于解决提高辐射能的利用和CO₂的固定问题；生物固氮是近年来生物科学研究的热点之一，如果能解决主要作物的固氮，那么将会使农作物的产量大大提高、质量大大改善。

除此之外，“生化知识”还可能指导农副产品的贮藏和加工，保证产品免受损失，提高产品的质量。

生物化学的形成源于生产实践，而它近年来的迅速进步又反过来有力地推动了生产实践的发展，可以这样说，生物化学已进入了人们生活和生产的各个领域。

五、分子生物学与生物工程学

分子生物学是一门从分子水平研究生命过程的科学。具体地说，它是要从生物大分子，包括核酸、蛋白质、酶，也包括生物膜的结构、性质与功能的关系去阐明生物学的一些基本问题，诸如遗传变异、细胞分化、生物进化、肿瘤、免疫等。由于这些问题极为复杂，需要多种学科、多种技术的协同配合，因此分子生物学是一门边缘科学，但是生物化学是其基础和核心。由于遗传学近年来的迅速发展，已经逐渐清楚上述生物学基本问题都最终地和遗传相关，遗传成了分子生物学要研究的中心问题。也有人简单地将分子生物学定义为遗传学和生物化学相结合的科学。这种狭义的分子生物学，或者称为分子遗传学，主要研究遗传物质（核酸）的复制、转录、表达、调控以及和其他生命现象的关系。它实际上是广义分子生物学的重要组成部分，也是最核心的部分。

生物工程（学）或称生物技术（学）是在分子生物学基础上发展起来的新兴技术学科（或者说新兴的技术体系），它的最终目的就是要利用最新的生物科学成就，定向设计组建具有特定性状的新物种、新品系，结合发酵和生化工程的原理，进行生物材料的生产和加工，以满足人们生活和生产的需要。生物工程（学）包括 5 个方面：基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和生化工程。其中基因工程是整个生物工程的核心。由于生物工程（学）将给人类的生产和生活带来巨大而深远的影响，人们认为它是下一代新兴产业的基础技术之一。但是，不言而喻，生物工程（学）的发展依赖于其他学科，特别是分子生物学、生物化学的进步和支持。正因为如此，对将要投身这一领域的科技工作者来说，深入学习和了解生物化学、分子生物学的基本原理、基础知识和基础研究方法不无裨益。

第二章 多糖生物化学

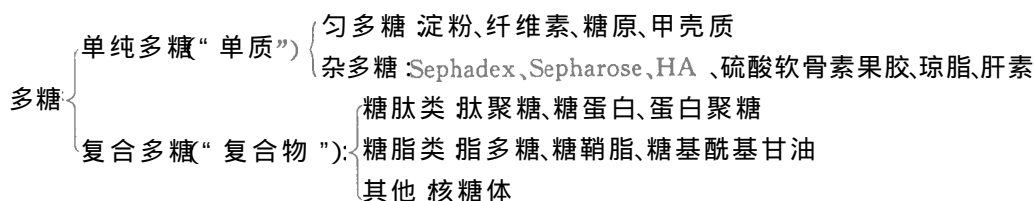
【本章要点】

- 一 多糖的分类和功能
- 二 多糖的结构及构象分析
- 三 几种常见的多糖
- 四 多糖物质的分离和分析
- 五 多糖的抗肿瘤活性及其药用功能

第一节 多糖的分类及功能

多糖是一类十分重要的生物高分子，是由许多单糖单位缩合、失水而连接起来的均聚物或共聚物。糖类的生物化学有别于糖化学，它是从生物化学角度研究多糖。多糖的生物化学是在糖化学基础上展开的。糖化学的基础在一般有机化学教材中均已介绍，在此不再重复。糖类是自然界分布最广、含量最多的有机化合物，也是自然界中分子结构复杂而且品系庞大的一类。它们与蛋白质、核酸、酶是生物体内最重要的四大家族。

一、多糖的分类



二、多糖的通性及功能

(1) 构成植物和动物骨架的材料：如植物的纤维素是细胞壁成分，线性的均多糖几丁质则是节肢动物的结构成分。

(2) 能源和碳源：多糖是各种生物能量的主要来源，这一点为人们所熟知。如“动物淀粉”——糖原在机体一旦需要时，即可通过生物体的酶系统作用而分解出单糖，进入代谢循环产生能量避免“低血糖”。多糖在体内通过代谢产生小分子碳物质为合成大分子提供碳骨架来源。

(3) 通过单糖间的糖甙键连接成生物大分子，有旋光性，但无变旋现象（这一点与单糖不

同)无甜味 无还原性 在水溶液中不能形成真溶液 只能形成胶体。

(4)生理功能,多糖分子作为接受信号的“天线”,在保证活性分子运往靶部位的过程中起着重要的作用。另外,还有人提出糖类成分能帮助糖蛋白延长活性寿命,稳定活性多肽三维空间结构,保护其蛋白质部分免遭其他酶类的攻击,或两者都有等。

多糖作为带有抗原的特殊免疫信息,是一种免疫促进剂,对防治肿瘤、肝炎和心血管疾病等都是有望的药物。

生物导弹:有人把可能用于治疗肿瘤的免疫毒素称为生物导弹。就词义而言,生物导弹似乎有更广泛的含义,它可理解为能专一地作用于特定靶位,并进而产生特定生物效应的装置 其中“弹头”是产生生物效应的分子 而起专一结合作用的分子则是“导航”装置(“导航”装置主要是多糖类分子所为)。

三、糖类研究今昔——老兵新传

19世纪末至20世纪初,德国化学家 Emil Fischer 就对糖类进行了开拓性的研究,就此而言,糖类和脂类的研究是同龄的。但由于蛋白质与很多的生物功能有关,蛋白质和多肽的研究在以后的几十年中是稳定和持续的,而糖类研究却出现过低谷,甚至在20世纪50年代以后为迅速崛起的核酸的研究抛在后面。出现这种情况的原因主要是人们认为糖类的结构复杂 而功能又显得非常单调。在20世纪30年代糖类的研究也曾有过辉煌的一页:糖类作为能量的来源以及与此有关的糖酵解是当时颇受重视的研究课题,同时也发现了一些多糖(粘多糖)在生物体内起到重要的结构支持作用。但有些科学家认为糖类的研究仅此而已,他们也就转向其他领域。

但是在受到近20年的冷遇后,20世纪60年代生物学和生化研究中的一些重大的进展使人们对糖类有了新的认识。在近20年中 糖类研究再次引起了人们的兴趣 与此同时 分离分析技术的发展,也为对糖类的检测和结构分析提供了有效的手段,为此糖类的研究取得了长足的进步,致使糖类这些“老兵”在生物学与生化飞快发展的年代中也谱写了新的传记。这主要表现在:

1. 糖类新的类型和结构的发现

在20世纪30年代 已知的单糖仅20余种,而就目前所知的单糖已超过100种 而且与它们相应的核苷酸衍生物很多也被发现,还有含糖的抗菌素的数目也与日俱增,新发现的糖蛋白的数目更是不胜枚举。动物血清中的糖蛋白有上百种,仅10余种是不含糖的简单蛋白。

以前人们注意的糖蛋白,或是在体液中,或是在细胞的表面(细胞壁和细胞质膜),最近几年却发现在细胞核内、细胞浆中也有糖蛋白。同样,蛋白聚糖也不仅存在于细胞间质中,也发现于细胞质膜,乃至细胞浆和细胞核中。另外,有些成熟的蛋白质并不含糖,但它们的前体是糖蛋白。

2. 糖类在生物体内的功能新发现

糖蛋白中的糖链可以改变蛋白质的溶解度,增加蛋白质的亲水性和水合度,进而影响它们的形态,提高蛋白质对热和被蛋白酶水解的稳定性。

有些蛋白质的功能和糖部分密切相关,失去糖基,蛋白质的活性改变或失活。糖类还是蛋白质、核酸以外的又一类重要信息分子,很多糖类具有抗原性,它们是人的血型、细胞和许

多微生物分类的分子基础。

植物和有些植物病原体细胞壁的多糖长期以来都被认为仅起到结构支持作用，但近年也发现有些结构多糖的降解碎片，被称为寡糖素，是一类新的植物调节分子。它们可以作为信息分子诱导植物基因表达，产生与抗病有关的小分子和蛋白质，也能影响体外培养的植物组织的分化和形态发生。

糖领域还有很多问题有待回答：

首先是糖类的生物合成还是模糊的，仅知它们的合成与蛋白质、核酸不同，没有模板，是在糖基转移酶的作用下进行合成的。但是合成是如何终止的？为什么有复杂的微观不均一性？哪些因素影响了糖链的合成，又是怎样影响的这些都未知。

糖类研究和核酸研究的结合将为分子生物学谱写新篇章。

糖类的研究也有巨大的应用前景，如植物细胞壁和甲壳质的开发利用等。特别是糖类在分子和细胞识别中的重要性，使得糖类在研究生物“导向”中成为最引人注目的一族大分子。

第二节 多糖的结构及构象分析

多糖结构的“元件”(或单体)是单糖及其简单的衍生物，通常由 10 种单糖或其衍生物中的一种或几种组成：

单糖 $\begin{cases} D \text{ 系列 (7 种): 葡萄糖, 甘露糖, 半乳糖, 果糖, 木糖, 葡萄糖醛酸, 半乳糖醛酸} \\ L \text{ 系列 (3 种): 岩藻糖, 鼠李糖, 阿拉伯糖} \end{cases}$

注意： D 与 L 是指构型，它们是以丙糖（甘油醛）为参照物界定的，与旋光性的正负有别。

由于单糖分子中各个碳原子具有不同性质的羟基，糖环存在竖立键和平伏键的不同空间配置，连接各个糖单位的糖苷键又有 α 、 β 之不同键型，因此任何一种单糖均可能组成 11 种不同的二聚体和 176 种三聚体。如果某种多糖含 3 种单糖单位，三聚体的异构数可达 1 056 种之多。含 100 个单糖残基的多糖分子是不大的，但其理论上的异构体数目则是天文数字。不仅如此，很多糖单位的羟基部分地被氨基、乙酰基、甲基或硫酸根取代，各个单糖的糖环构象还可能扭曲或转变，所以天然的多糖分子具有高度种质特异性是可以理解的。

一、多糖结构的层次

应该提到，蛋白质中的肽键和多糖中的糖苷键在结构和性质上很有相似之处：(1) 肽键平面上 $C-N$ 键带有双键性质，显示刚硬的平面结构。糖苷键连接的糖环平面上环氧与 C_1 间的连接也具有双键性质。(2) 多糖大分子的结构，虽然不像蛋白质分子那样有清楚的标准，但同样可以分为初级、二级、三级、四级等结构层次，其基本含义与对应的蛋白质结构相同，有关蛋白质大分子链型构造的原理和研究方法，同样是阐述多糖分子构象形态的基础。

1. 初级结构

多糖的初级结构指线性链中糖苷键连接单糖残基的顺序，不涉及任何次级的相互作用。具体地说，多糖的一级结构包括：(1) 糖链中糖基的排列顺序；(2) 糖基的构型 (D 、 L) 及糖苷键的键型 (α 、 β)；(3) 相邻各糖基是通过哪位碳原子上的羟基缩合而成糖苷键的；(4) 有无分支结构，分支又是通过哪位碳原子连接的。一级结构不同，它们的空间结构、性质和功能不

同。一级结构决定高级结构。

最简单的多糖是由相同的单糖残基以相同的键型连接成的线性链，其初级结构可以用下列典型的例子来说明。

表 2-1 两种最简单的多糖

多 糖	单体均是 <i>D</i> -葡萄糖	重复单位
直链淀粉	1,4 键合的 <i>D</i> -吡喃葡萄糖 α 型	麦芽糖(α -1,4)
纤 维 素	1,4 键合的 <i>D</i> -吡喃葡萄糖 β 型	纤维二糖(β -1,4)

2. 二级结构

多糖的二级结构指的是多糖骨架链间以氢键结合所形成的各种聚合体，显然，多糖的二级结构只涉及多糖分子主链的构象而不涉及侧链的空间排布。

常见的二级结构有带状的、螺旋状的和无规卷曲的三种，它们分别和纤维素、直链淀粉及细菌聚糖三者相对应。更多的多糖的构象介于典型的带状和螺旋之间。

伸展的带状：



代表：纤维素、几丁质

皱折的带状：



代表：少数多糖在溶液中的过渡态

空心的螺旋：



糖残基几乎与螺旋轴相垂直

代表：直链淀粉（能与 I_2 显色的原因）

柔顺的卷曲：



代表：一些细菌葡聚糖

图 2-1 多糖的二级结构

在多糖链中，糖环的几何形状基本上是刚性的，各个单糖残基绕糖苷键旋转而相对地定位可以决定多糖的整体构象。然而，单糖残基间旋转角或扭曲角的大小则直接受到两种作用的严格限制：其一是相邻糖环之间的空间阻碍，其二是相邻残基间的非共价相互作用。特别是含竖位基因和邻近横位含较大取代基的糖苷键能最大限度地降低糖残基旋转的自由度，从而限制旋转角的大小。这样的多糖链很僵硬，它们在溶液中往往采取各种卷曲形式。可见多糖的二级结构形式主要依赖于初级结构的排布。

像其他链状高分子一样，多糖分子一般存在各种构象类型：无规卷曲和有序的构象。

(1) 无规卷曲的多糖构象：通常在溶液中出现，那里由于构象熵的影响，使一个多糖链具有很多的结合键，因而每个绕键旋转就有相对小的内能变化。多糖链的无规卷曲就代表不断动荡于各种可能形状之间的状态（或称为“平均键合的构象”）。

(2) 有序的多糖构象：常存在于晶体结构，这里链间和链内的相互作用具有协同动作以保持构象稳定。例如： β -1,4 葡聚糖链中，每一对相邻单元各自的振动都引起多糖形态的变动，这种多糖的整体构象就是无规卷曲，但在一定条件下，无规卷曲可以向螺旋形转变（有序构象）。

3. 三级和四级结构

多糖链初级结构的重复顺序由于糖单位的一OH、—COOH、—NH₂、—SO₃H 等基团之间有利于非共价相互作用，因而存在有序的二级结构，导致空间有规则而粗大的构象，这就是多糖链的三级结构（也可以这样说：二级结构之间的作用产生三级结构）。

具有二级结构的多糖链段（包括糖苷键和侧链）在一定程度上可以看成是一个小单位，它们的表面性质（电荷性质，疏水性质，空间位阻等）也常是不均一或不对称的，因此它们还能与多糖链的其他链段进一步相互作用，进一步构成较紧密的结构形式（三级结构），也即由于螺旋与螺旋、螺旋与带状、带状与带状之间的作用而形成三级结构。

但也应当看到，在多糖初级和二级结构中，不规则的以及较大的分支结构都会阻碍三级结构形成，另外，外部环境的影响如溶液温度、离子强度改变，也会影响三级结构的形式。

生物多聚体的四级结构常称为亚单位现象。多糖链在形成固有三级结构之后，分子表面仍有一些可以和其他多糖分子链相互作用的基团，装配成一个功能更为完善的体系，这样的组合和结构方式是多糖的四级结构。四级结构并不是每一种生物大分子均有的（在蛋白质化学和多糖化学中，四级结构都是指多聚合物链间非共价键结合形成的聚集体）。多糖链的聚集作用能在同一个分子之间进行（如纤维素链间的氢键相互作用），也可以在不同的多糖链间进行，由此可见多糖初级结构间非共价作用形成的连接区已经包含聚集体在内。

如上所述，多糖结构形态乃是大分子中各个相邻单糖残基空间相对定位的综合，多糖链中相邻单糖残基之间糖苷结合的二糖单位，实际上是多糖的重复单位（链节），因此，要推测多糖二级以上的高级结构，可以从研究多糖链中二糖重复单位的构象入手。由于组成多糖的各种单糖各有已知的一定构象形态，因而多糖链中二糖单位的构象可以由相邻单糖残基和桥氧之间旋转角(ϕ 和 ψ) 的大小来描述。

二、多糖的构象

构象是有机分子因碳碳之间的单键旋转而引起的分子内各种基团或原子间的相对位置的改变，因此构象不同于由手性中心所衍生出的另一种立体异构的概念——构型。理论上说一个多糖可以有无数种不同的空间构象，如果没有某种因素的存在，绝大多数的构象都是处于不断运动的状态，也即多数构象是不稳定的，当然，也有一些因素对一些构象起到稳定的作用。

多糖构象是在一定条件下多糖分子结构的形态。此形态主要是由组成多糖链的单糖构象和连接的糖苷键型以及各个糖单位的空间排列决定的，同时，支链和邻近多糖分子相互之间的挤压常常使多糖形态发生强制性的扭曲。此外，多糖在溶液中的构象由于糖环本身也会扭转和弯曲，在任何瞬间的多糖链形态不可能一样，只能以保持构象平衡时的“平均”构象形态为代表。

第三节 几种常见的多糖

一、淀粉

1. 淀粉的组成单位

麦芽糖。淀粉根据其分支情况分为直链淀粉和支链淀粉，二者比较见表 2-2。

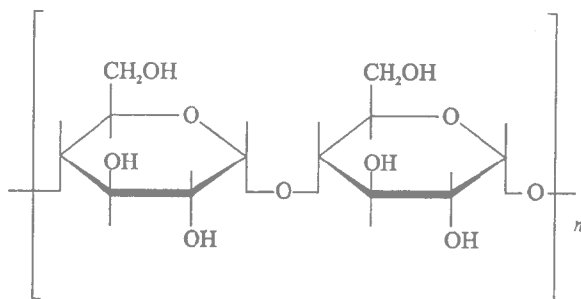


图 2-2 直链淀粉的化学结构

表 2-2 两种淀粉的性质比较

	直链淀粉	支链淀粉*
在天然淀粉中的含量(%)	20~30	70~80
链 长	250~400 个 D-葡萄糖残基	1 500~6 000 个 D-葡萄糖残基
糖苷键	α -1,4-糖苷键	分支为 α -1,6-糖苷键,主链及侧链内部为 α -1,4-糖苷键
分子量	5 万~10 万	10 万~100 万
70~80 °C 热水中	可 溶	不 溶
极性溶剂 (如正丁醇)	形成复合物而沉淀	不起作用(分层)
与 KI-I ₂ 的 呈色反应 及其他性质	含 36 个 D-葡萄糖残基(或螺旋 6 圈)以上的淀粉呈蓝色,较短的糖链呈红色、棕色或黄色等不同颜色,吸收 KI-I ₂ 量为 19%~20% 淀粉量,即: 淀粉→红色糊精→无色糊精→麦芽精→葡萄糖 (蓝色) (红色) (无色) (无色) (无色) 能与磷酸、脂肪酸形成复合物	与 KI-I ₂ 不起作用 可借助于甲基化测定支链淀粉的平均链长。分析支链淀粉甲基化以后水解产物: 左端残基(非还原性葡萄糖残基端)→2,3,4,6-四甲基葡萄糖 链中残基→2,3,6-三甲基葡萄糖 分支点残基→2,3-二甲基葡萄糖 由残基总数与左端残基数之比可计算支链淀粉的平均链长

* 由于测定末端的定量分析较为困难,而且水解中长链也可能水解而断裂,因此甲基化水解的方法不甚可靠 现已改用 β -淀粉酶、脱支酶、葡萄糖氧化酶等酶测定法来测定支链淀粉的分支结构。支链淀粉的分子量则以粘度测定法和超离心法较为简便、可靠。

生物化学的发展依赖于实验手段的突破。生化不断采用物理学、化学的新方法和新技术 如电镜、X 射线、电子计算机 才使得人们不断加深对核酸、蛋白质、酶、激素及其他细胞成分的认识。正是人们对分离提纯方法（如电泳、凝胶层析过滤等）的突破和发展，才使人们可以得到单一的组分，从而有可能进一步研究其结构和功能的关系。分离方法的突破促进了生化研究的发展，而新的研究成果又进一步促使更新更好的分离方法问世。

2. 淀粉改性举例

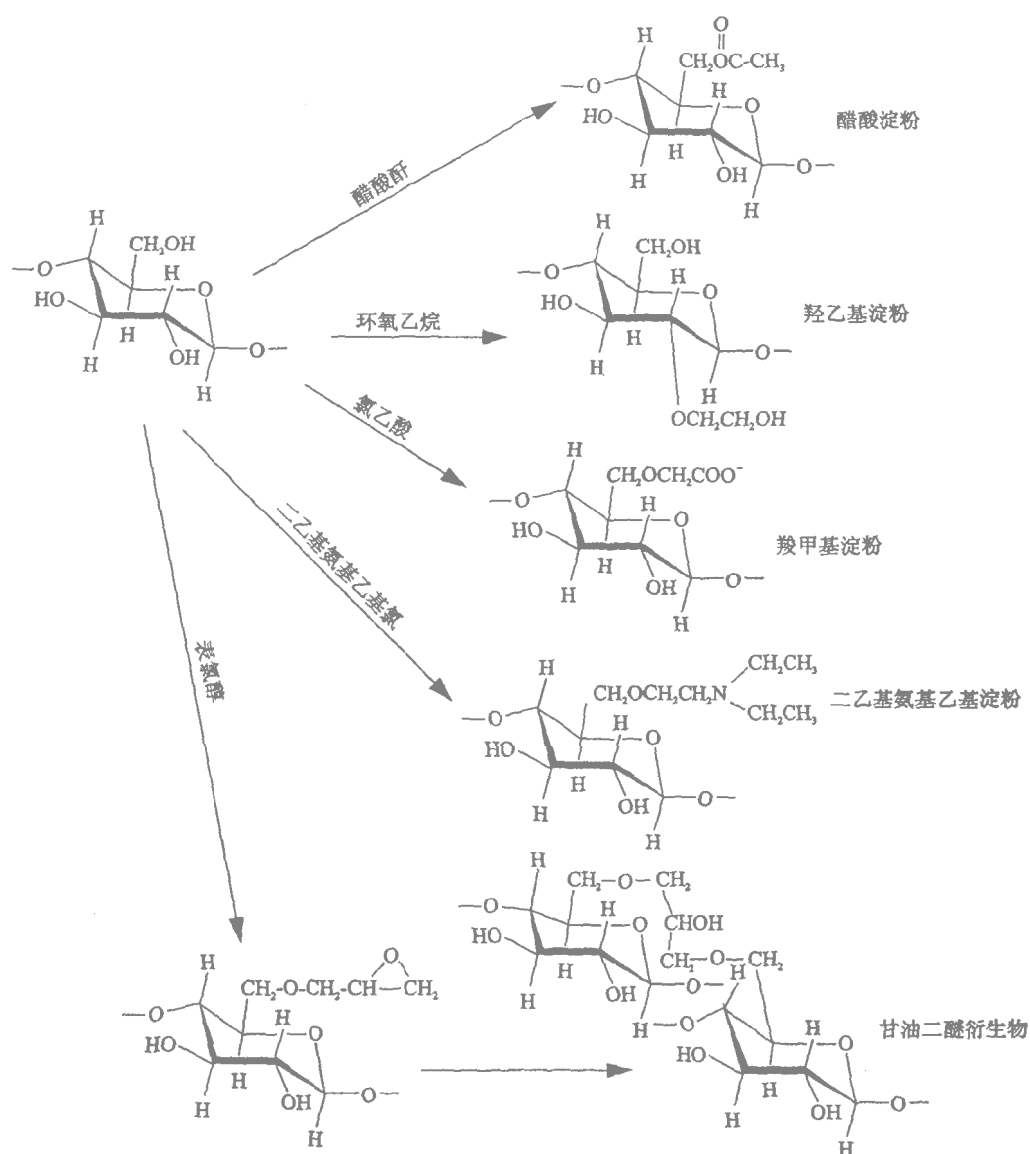


图 2-3 淀粉的部分接支反应

二、葡聚糖凝胶和琼脂糖凝胶

1. 葡聚糖凝胶

葡聚糖凝胶是人工产品，最常用的商品名为 Sephadex，是由右旋葡萄糖苷链与环氧氯丙烷结合形成甘油醚键，把许多右旋糖苷链互相交联而形成的网状大分子。Sephadex 是目前每个生化实验室都必备的试剂之一，主要用于生物大分子的分离。

我们知道在生化研究和分子生物学研究中，常常需要精细地从复杂的生物组织中分离纯化某种物质，并尽可能维持物质原来的性状（保持天然状态），尤其是一些生物活性物质，如酶，还得考虑其失活的可能性。高分子物质的表征，首先是取得样品，但如何取得样品却很不相同。生物大分子的研究首先是提取，因此有一整套完整的提取方法、试剂、仪器等，而合成高分子则是人工合成，因而也有完整系统的合成理论及方法、工艺条件及设备。生化工作者一直期待着更先进的分离分析方法，相继发展的离子交换层析（按物质的酸碱度、极性和分子大小的差异而加以分离）、电泳分离（根据物质所带电荷在电场中移动性质的不同而得以分离）和制备超离心（按物质的扩散系统、质量和浮力因子的不同而加以分离）等在推动生化和分子生物学发展上都曾起了一定作用。然而，这些方法或因设备昂贵、操作复杂，或因分离容量小，或因不够精确等都有一定的缺陷。20 世纪 60 年代初 瑞典的 Flodin 首先试制成交联葡聚糖（商品名 Sephadex），并用于生物化学研究中一些物质的分离，取得了甚为满意的结果。这种分离方法主要根据物质的分子量不同，通过固定相（凝胶）具有分子筛的性质，采用一般柱层析方法就能使物质达到分离纯化的目的。它具有比制备超离心简便易行而比透析法更正确可靠的特点。由于这种方法设备简单、易行、操作方便，因此各国科学工作者均普遍采用了这一技术，在短短数年时间内就发展成为生化研究中一种惯用的分离分析方法。随着交联葡聚糖凝胶的使用，又相继发展了聚丙烯酰胺凝胶（商品名为 Bio-Gel）和琼脂糖凝胶（商品名为 Sepharose）等等。目前凝胶层析这一技术不但广泛地应用于科学实验研究，而且已较大规模地用于工业生产。

合成 Sephadex 所用多糖的原料是由右旋葡萄糖残基组成的多糖，其分子间以 α -1,6-糖苷键相连（占 95%）与淀粉中的 α -1,4-糖苷键、纤维素中的 β -1,4-糖苷键有别。Sephadex 结构中链之间是 C_4 -OH 通过环氧氯丙烷与另一链上的 C_4 -OH 连接的，分支点为 1,3-糖苷键（占 5%）。这种葡聚糖通常用微生物厌氧培养法生产，菌种为肠膜状明串珠菌 NRRLB-512 (*Leuconostoc mesenteroides*)，以蔗糖为培养基，在 23℃ 静止培养 22~24 h 即能发酵生成高分子量（分子量分布为 $10 \times 10^6 \sim 300 \times 10^6$ ）的多聚糖的粘稠物质。由于发酵生成的葡聚糖分子量极高，需要降解成一定分子量的物质才能使用。一般采用部分酸水解的方法解聚，大致的方法是：100~120℃ 时用稀盐酸水解 60 min，即可水解成不同分子量的产物。在制备凝胶中所用的葡聚糖的平均分子量一般为 $4 \times 10^4 \sim 20 \times 10^4$ 。制备交联度高的凝胶用平均分子量较小的葡聚糖（Sephadex G-25，一般用 4 万至 5 万），制备交联度低的凝胶用平均分子量较大的葡聚糖（Sephadex G-200，一般用 20 万左右）。



Sephadex 是由一定平均分子量的葡聚糖和甘油基以醚桥（ $-\text{O}-\text{CH}_2\text{CH}-\text{CH}_2-\text{O}-$ ）形式相互交联形成三维空间的网状结构，而成为不溶于水的物质。其交联度的大小可通过控

续表

凝胶类型 (Sephadex)	颗粒直径 (μm)	工作范围(M. W.)		得水值 (mL/g 干胶)	床体积 (mL/g 干胶)	溶胀平衡的最少 时间(h)	
		肽或球状蛋白质	葡聚糖(线性分子)			室 温	沸水浴
G-75	40~120	3 000~70 000	1 000~50 000	7.5 $\pm$ 0.5	12~15	24	3
G-75(超细)	10~40						
G-100	40~120	4 000~150 000	1 000~100 000	10.0 $\pm$ 1.0	15~20	48	5
G-100(超细)	10~40						
G-150	40~120	5 000~400 000	1 000~150 000	15.0 $\pm$ 1.5	20~30	72	5
G-150(超细)	10~40						
G-200	40~120	5 000~800 000	1 000~200 000	20.0 $\pm$ 2.0	30~40	72	5
G-200(超细)	10~40						

注 颗粒直径指干胶粒 湿粒直径可从 $(1+W_r \cdot d)^{1/3}$ 计算, W_r 为得水值 d 为干胶的密度, 对于交联葡聚糖凝胶来说其约为 1.64 g/mL。

从上表可见：

- (1)得水值大的凝胶 (G-75 到 G-200) 可分离 1 万以上分子量的蛋白质。
- (2)得水值低的凝胶 (G-10 到 G-50) 只用于肽的分离或组别分离 (脱盐法), 一般脱盐用 G-25 比较适当。

注意几点：

- (1)层析 (分子筛) 与通常用网筛有别：“大先出 小后出”。
- (2)工作范围 (或叫排阻限度) 大于工作范围的分子不能进入胶内 直流而下。
- (3)床体积 (溶胀度)：每克干重凝胶颗粒在水中充分溶胀时所具有的凝胶总体积 (mL/g 干胶)。
- (4)得水值 (吸水量)：1 g 干重凝胶颗粒充分溶胀时所需水的毫升数 (不包括颗粒间隙的液体) (mL/g 干胶)。
- (5)不同型号 of 交联葡聚糖用英文字母 G 表示 如 G-25、G-200 在 G 后面的阿拉伯数字为凝胶的得水值再乘以 10。

2. 琼脂糖凝胶

自从 Sephadex 层析作为生化的一种分离方法以来, 有人再次做了琼脂作为层析凝胶载体的研究。根据琼脂的性质, 它的工作范围远大于 Sephadex 它的工作范围下限几乎相当于 Sephadex 工作范围的上限, 因此, 琼脂糖凝胶的应用扩大了层析凝胶使用的范围, 从而有可能分离一些分子量极高的物质 (如病毒)。

琼脂糖凝胶完全是天然的, 它来源于一种海藻, 主要是由 D-乳糖和 3,6-无水-L-乳糖为残基组成的线性多聚糖。Sephadex 属半合成的 还有一种聚丙烯酰胺 商品名生物凝胶—P; Bio-Gel P) 则完全是人工合成的。

- (1)琼脂在热水中易溶解, 低温时则凝固成胶体, 即使低至 0.5% 的浓度也能形成胶体;