

第 1 章 绪 论

生物化学 (biochemistry) 是研究生命科学的科学。它主要应用化学的理论和科学技术来研究生物体的化学组成及其化学变化,即生物体的分子结构与功能、物质代谢与调节、及其在生命活动中的作用。其本质是从分子水平探讨生命的奥秘。

医学生物化学以人体为主要研究对象。生物化学与医学关系非常密切,它对医学的发展起着重要的促进作用。

第一节 生物化学的内容

生物化学研究的范围广泛,主要内容可概括为以下几个方面:

1. 生物分子的结构与功能 人体的基本化学组分是蛋白质、核酸、脂类、糖、水和无机盐。这些组分按照严格的方式构成能够体现多种功能的生物结构。蛋白质、核酸等是生物体内特有的大分子有机化合物,常被称为生物大分子,分子量一般大于 10^4 。它们是由某些基本结构单位按一定顺序和方式形成的多聚体。例如;蛋白质是由 20 种 α -氨基酸按特定的排列顺序以肽键相连形成的多肽链;核酸是由 4 种核苷酸按特定的排列顺序通过磷酸二酯键相连形成的多核苷酸链。

研究生物大分子,首先要确定其一级结构,然后研究其空间结构及其与功能的关系。结构是功能的基础,功能则是结构的体现。生命大分子种类繁多,结构复杂,是体现生命现象最基本的物质,如繁殖、遗传、神经兴奋及肌肉收缩等无不依赖于生物大分子特有的结构与功能。

生物大分子具有信息功能,而分子结构、分子识别和分子间的相互作用是执行生物信息分子功能的基本要素。例如:蛋白质与蛋白质、蛋白质与核酸、核酸与核酸的相互作用在基因表达的调节中起着决定性作用。

2. 物质代谢及其调节 物质代谢又称新陈代谢,是生命现象的最基本特征。人体的物质代谢主要包括糖、脂类、氨基酸、核苷酸、水与无机盐等的代谢。机体不断从环境中摄取上述营养物质,进入组织细胞内的营养物质经过合成代谢和分解代谢以及伴随着能量的释放和利用、物质间的相互转化,构成了机体的代谢过程。一个人在一生中与环境进行着大量的物质交换,据估计,以 60 岁计算,约相当于 60 000kg 水,10 000kg 糖类,2 000kg 蛋白质以及 1 000kg 脂类。通过物质代谢,实现生物体与外环境的物质交换、自我更新以及内环境的相对稳定。物质代谢的调节,包括酶的调节、激素的调节和神经-体液的调节使机体更适应于环境的变化。

3. 基因信息传递及其调控 DNA 是遗传信息的载体,它作为生物遗传信息复制的模板和基因转录的模板,是生命遗传繁殖的物质基础,也是个体生命活动的基础。基因就是 DNA 分子的某一区段,经过复制可以遗传给后代,经过转录和翻译可以保证支持生命活动的各种蛋白质在细胞内有序合成。基因分子生物学研究 DNA 的复制、RNA 的转录、蛋白质的生物合

成等基因信息的传递过程及基因表达的调控。另外，还要研究基因重组与基因工程、新基因克隆、基因剔除、人类基因组计划及功能基因组计划等。

基因信息的传递涉及遗传、变异、生长、分化等诸多生命过程，也与遗传病、恶性肿瘤、心血管病等多种疾病的发病机制有关。因此，基因信息的研究在生命科学中的作用非常重要。

第二节 生物化学发展简史

生物化学的研究自 18 世纪开始到 20 世纪初期发展成为一门独立的学科。18 世纪中期至 20 世纪初是生物化学的初期阶段，主要研究生物体的化学组成。18 世纪中期，瑞典化学家 Scheele 研究了生物体（植物、动物）各种组织的化学组成。Lavoisier 于 1785 年证明，在呼吸过程中，吸进的氧气被消耗，呼出二氧化碳，同时放出能量。1828 年德国化学家 Wohler 在实验室里，用无机物氰酸铵合成了有机物尿素。德国著名化学家 Fischer 应用有机化学的方法对生物体内的糖类、脂类、蛋白质、氨基酸等化合物进行了比较详尽的研究，确定了蛋白质是由小分子的构件分子——氨基酸通过肽键连接起来的。后来，他又成功地用化学方法合成了由 18 个氨基酸残基组成的肽，在酶与底物的相互作用上提出了“锁钥”学说，证明了酶催化的高度特异性。此阶段还发现了核酸，在酵母发酵过程中发现了“可溶性催化剂”等。从 20 世纪初期开始，是生物化学蓬勃发展的阶段。在营养学方面，发现了人类必需氨基酸、必需脂肪酸及多种维生素；在物质代谢方面，应用化学分析及同位素示踪技术，基本确定了生物体内主要的物质代谢途径，如糖分解代谢的各条途径、脂肪酸 β 氧化、三羧酸循环等。同时发现了多种激素并将其分离、合成。20 世纪后期是分子生物学迅速发展的阶段。细胞内两类重要的生物大分子蛋白质与核酸成为研究的核心。1953 年，核酸研究取得了历史性突破，James Watson 和 Francis Crick 提出了著名的 DNA 双螺旋（double helix）结构模型。这一模型的提出是生物学发展的里程碑，它揭示了生物遗传性状得以世代相传的分子奥秘。此后，对 DNA 的复制机制、RNA 的转录过程以及各种 RNA 在蛋白质合成过程中的作用进行了深入研究，提出了遗传信息传递的中心法则，破译了 mRNA 分子中的遗传密码等。20 世纪 70 年代，重组 DNA 技术的建立使人们主动改造生物体成为可能。1967~1970 年 Yuan RR 和 Smith HO 等发现的限制性核酸内切酶为基因工程提供了有力的工具。1970 年 khorana HG 首次在试管内合成基因。转基因动植物和基因剔除动植物的成功是基因工程技术发展的结果。用转基因动物能获得治疗人类疾病的重要蛋白质，1996 年，转基因玉米、转基因大豆等相继投入生产。基因诊断与基因治疗是基因工程在医学领域发展的一个重要方面。1978 年 Kam. YW 等应用胎儿羊水细胞作出了胎儿镰刀形红细胞贫血症的出生前诊断。1978 年 Jeffreys. AJ 报道了首例 DNA 指纹，在法医学个体识别中产生了深远影响。20 世纪 80 年代，核酶（ribozyme）的发现补充了人们对生物催化剂本质的认识。聚合酶链反应（PCR）技术的发明，使人们有可能在体外高效率扩增 DNA。

目前，分子生物学的研究已发展到对生物体整个基因组结构与功能的研究。1990 年开始实施的人类基因组计划，全部基因组序列测定草图已于 2000 年提前完成，人类基因组由 23 条染色体、约 30 亿对核苷酸的 DNA 分子构成，估计可编码的基因数目为 10 万左右。将于 2003 年完成 23 条染色体上全部序列的排列分析，绘制出人类基因组精确图谱。在此基础上，后基因组计划将进一步深入研究各种基因的功能与调节。这些研究成果必将进一步加深人们对生

命本质的认识，也会极大地推动医学的发展。

在蛋白质的研究方面，20 世纪 50 年代初期发现了蛋白质 α 螺旋的二级结构形式；完成了胰岛素的氨基酸全部序列分析；20 世纪 50 年代后期揭示了蛋白质生物合成过程。

我国对生物化学的发展做出了重大贡献。古代劳动人民在饮食、营养、医药等方面的创造和发明，在实践上为生物化学的诞生和发展作出了贡献。早在公元前 21 世纪夏禹时，仪狄已能做酒，以曲为媒使五谷为酒，就是利用酒母作为媒介物，促进谷物中糖类转化为酒。公元前 12 世纪，已能利用发酵的原理，运用酶的作用，制造酱、酯等食品。公元 7 世纪，唐代孙思邈首先用富含维生素 A 的猪肝治雀目。用富含维生素 B₁ 的车前子、防风、杏仁、大豆等治疗脚气病。公元 10 世纪起，我国开始用动物的脏器治疗疾病，例如用紫河车（胎盘）作强壮剂、用蟾酥（蟾蜍皮肤疣的分泌物）治创伤、羚羊角治中风，可见古人对含内分泌物质的脏器在临床上的应用已有一定的感性认识。《黄帝内经素问》中记载“五谷为养，五果为助，五畜为益，五菜为充”，将食物分为四大类，并说明了其营养价值。综上所述，我国古代在生物化学的发展上，做出了积极的贡献。在近代生物化学发展时期，我国生物化学家吴宪等在血液化学分析方面创立了血滤液的制备和血糖测定法；在蛋白质研究中提出蛋白质变性学说；对抗原抗体反应机制的研究有重要发现。1965 年，我国首先采用人工方法合成了具有生物学活性的胰岛素。1981 年，又成功地合成了酵母丙氨酸-tRNA。1994 年我国启动了人类基因组计划研究的相关研究项目，并取得了重要的成果。同时，基因诊断与基因治疗、基因工程、基因表达、基因表达调控等诸方面的研究都取得了世界瞩目的成果。

第三节 生物化学与医学

生物化学与医学关系密切，并相互促进。生物化学是从有机化学和生理学发展起来的一门边缘学科，至今，仍运用生物化学的知识和方法以解释许多生理现象。分子免疫学主要采用生物化学的理论和技術来阐明免疫的分子机制。近代药理学往往以酶的活性、激素的作用及药物途径等作为其发展的依据，在研究药物的代谢转化、药物与生物分子相互作用的机制以及生化药物的临床应用中都与生物化学密切相关。病理生理学运用生物化学的原理与方法研究人体生理功能的失调和代谢紊乱，从分子水平阐明疾病发生的病因及发生、发展规律。病理解剖学运用分子生物学的知识与技术研究肿瘤的发生、心脑血管疾病等的发病机制；而毒理学所研究与阐明的内容，就是毒物作用于机体的生物化学反应及防治。近年来，生物化学已经渗透到医学科学的各个领域，医学各基础学科的研究也深入到分子水平，由此产生了“分子遗传学”、“分子药理学”、“分子病理学”等新学科。与生命相关的各学科之间的旧界限已经打破。

生物化学与临床医学关系也很密切。近代医学的发展经常运用生化的理论和技術诊断、治疗和预防疾病，而且许多疾病的发病机制也要从分子水平进行探讨。如通过测定血清酶及同工酶谱、血液化学成分，大大提高了疾病的诊断水平；随着分子遗传学的发展、重组 DNA 技术的建立、聚合酶链反应（PCR）技术的发明，基因诊断技术已可用于产前遗传疾病的诊断；由于癌基因与抑癌基因的发现，探讨控制癌基因的激活或异常表达已成为当前恶性肿瘤研究的热点。由于生物化学与分子生物学的迅速发展，大大加深了人们对免疫性疾病、心血管疾病、恶性肿瘤、神经系统疾病及衰老本质的认识，并出现了新的诊治方法。生化药物和基因药物在

治疗危害人类的新陈代谢疾病、内分泌疾病，在抗病毒、抗感染、抗肿瘤及预防乙型肝炎等方面起着重要作用。利用基因重组技术，以恢复糖尿病病人生产胰岛素的能力、治疗各种遗传性疾病等，都可能在不远的将来成为现实。

生物化学是一门重要的医学基础课程，医学院的学生必须学好这门课程。

（郭新民 王桂云）

第2章 蛋白质化学

组成生物体的成分很复杂，有许多有机分子和无机分子，包括各种各样的生物大分子，这些物质在生物体内都担负着不同的任务，其中蛋白质和核酸是和生命直接相关的两类大分子物质。蛋白质（protein）是生命的物质基础，是组成一切细胞和组织的重要成分，一切生命活动都离不开蛋白质，机体的各种生理功能大多是通过蛋白质来实现的。生命是蛋白质的特殊运动形式，生命与非生命的区别在于是否有核酸和蛋白质的代谢过程，这是生命的标志。从最低等的病毒、噬菌体到人类，凡是生物体无不含有蛋白质，蛋白质是体内含量最丰富的有机物，约占人体固体成分的45%。蛋白质种类繁多，但其基本组成单位均为氨基酸，氨基酸的种类、数量和排列顺序不同，组成了种类繁多的各种蛋白质，如同26个英语字母可组成成千上万个单词和句子一样。生物界蛋白质的种类估计在 $10^{10} \sim 10^{12}$ 之间。每种蛋白质各具有不同的特殊功能，如体内新陈代谢所进行的各种化学反应几乎都需要酶的催化，酶是具有催化功能的蛋白质；有许多蛋白质参与物质代谢调节，如胰岛素、生长激素等；免疫球蛋白、干扰素对机体具有免疫作用；其他诸如运输、肌肉收缩、血液凝固、损伤修复、生长、繁殖、遗传、变异和遗传信息的调控、细胞膜通透性等生命现象均与蛋白质有密切关系。当代分子生物学的研究还表明，高等动物的记忆、识别、思维、感觉等都与蛋白质有关。

第一节 蛋白质的分子组成

一、蛋白质的元素组成

大多数蛋白质的元素组成很接近，都含碳（50%~55%），氢（6%~8%），氧（19%~24%），氮（13%~19%）部分蛋白质含硫（0~4%），有些蛋白质含有少量的磷或金属元素铁、铜、锌、锰、钴、钼等，个别蛋白质还含有碘。

蛋白质元素组成的特点是含氮，各种蛋白质的含氮量很接近，平均约为16%。动植物组织内的含氮物质以蛋白质为主，所以只要测出生物样品中的含氮量，就可以大致算出样品中蛋白质的含量。

$$\begin{aligned}\text{样品中蛋白质含量} &= \text{样品含氮量} \times \frac{100}{16} \\ &= \text{样品含氮量} \times 6.25\end{aligned}$$

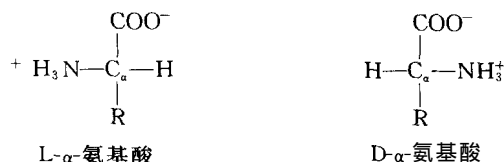
上式中的6.25为样品含氮量换算成蛋白质含量的换算系数。

二、蛋白质的基本组成单位——氨基酸

氨基酸 amino acid 是组成蛋白质的基本结构单位。用酸、碱或蛋白酶水解蛋白质，可以得到20种不同的氨基酸。

(一) 氨基酸的结构通式

组成天然蛋白质的 20 种氨基酸虽然结构各不相同，但它们之间有共性。除了脯氨酸为亚氨基酸外，在 α -碳原子上都有一个氨基和一个羧基，均属于 α -氨基酸，其中除甘氨酸（ $R=H$ ）没有不对称碳原子外，其余所有氨基酸的 α -碳原子均为不对称碳原子，故可有 L 和 D 两种构型。目前已知的天然蛋白质除甘氨酸外都是 L 型氨基酸，即氨基位于 α -碳原子的左侧。下列为氨基酸通式 其中 R 表示侧链。



D-氨基酸不存在于蛋白质分子中，大多来自细菌产生的某些抗生素和个别植物的生物碱中。如抗生素短杆菌肽 S 中含有 D-苯丙氨酸，组成细菌细胞壁的肽聚糖含有 D-谷氨酸和 D-丙氨酸。

(二) 氨基酸的分类

自然界存在的氨基酸约 300 余种，但构成蛋白质分子的氨基酸只有 20 种。氨基酸的分类方法有多种，常按侧链的理化性质将 20 种氨基酸分为四类，为表示蛋白质结构的需要，氨基酸的名称常使用英文三字缩写符号，有时也使用单字母符号（表 2-1）

1. 非极性侧链氨基酸侧链含有烃基，吡啶环或甲硫基等非极性基团。

包括脂肪族氨基酸 5 种（丙、缬、亮、异亮和甲硫），芳香族氨基酸 1 种（苯丙），杂环氨基酸 2 种（脯和色）以及甘氨酸共 9 种氨基酸。

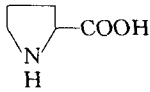
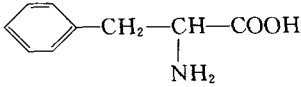
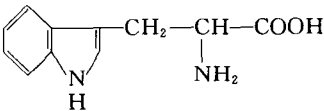
2. 非电离极性侧链氨基酸侧链含有酰胺基、巯基或羟基等极性基团，这些基团有亲水性，但在中性水溶液中不电离。其中酚羟基和巯基在碱性溶液中可以电离出 H^+ 而带负电荷。包括含羟基的氨基酸 3 种（丝、苏和酪）酰胺类氨基酸 2 种（天冬酰胺和谷氨酰胺）以及含巯基的半胱氨酸共 6 种氨基酸。

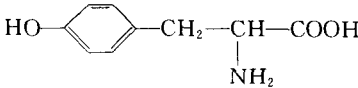
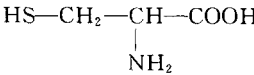
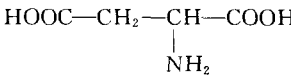
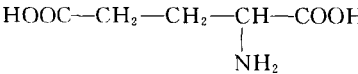
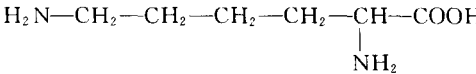
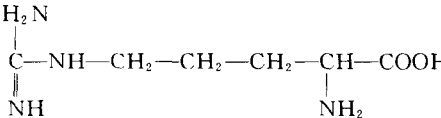
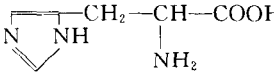
3. 酸性侧链氨基酸侧链上的羧基在水溶液中能解离出 H^+ 而带负电荷。包括谷氨酸和天冬氨酸 2 种氨基酸。

4. 碱性侧链氨基酸侧链上的氨基、胍基或咪唑基在水溶液中能结合 H^+ 而带正电荷。包括赖氨酸、精氨酸和组氨酸共 3 种氨基酸。

20 种氨基酸的结构差异在于 α -碳原子上的 R 基不同 如甘氨酸、丙氨酸、半胱氨酸和丝氨酸的 R 基分别是 $-H$ 、 $-CH_3$ 、 $-CH_2-SH$ 和 $-CH_2-OH$ 。以上 20 种氨基酸均有各自的遗传密码，是组成人体蛋白质的基本结构单位，故称之为编码氨基酸。少数蛋白质中还含有羟脯氨酸、羟赖氨酸、胱氨酸、四碘甲腺原氨酸（甲状腺球蛋白分子中）等，这些氨基酸在蛋白质生物合成中没有遗传密码，有的是蛋白质生物合成后由相应的氨基酸残基经加工修饰形成，也有的是由编码氨基酸代谢转变而成，这些氨基酸均称为非编码氨基酸。生物界还发现 150 多种非蛋白质氨基酸，它们以游离或结合形式存在，这类氨基酸中有些在代谢中起重要的前体或中间体的作用。如 β -丙氨酸是构成维生素（如泛酸）的成分；同型半胱氨酸是甲硫氨酸代谢的产物；瓜氨酸和鸟氨酸是尿素合成的中间产物。

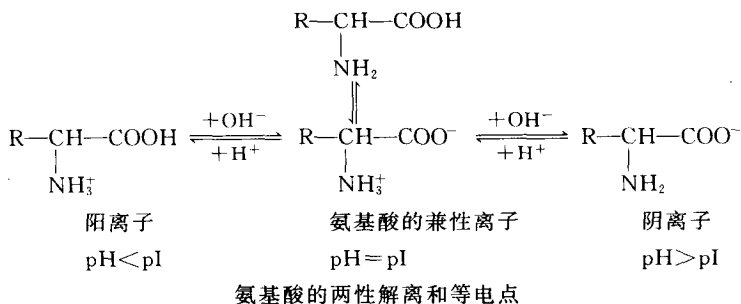
表 2-1 氨基酸的分类

氨基酸名称 及缩写	结 构 式	pK ₁ α-COO ⁻	pK ₂ α-NH ₃ ⁺	pK ₃	pI
1. 非极性侧链氨基酸					
甘氨酸(甘, Gly, G)	$\begin{array}{c} \text{H}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2.34	9.60		5.97
丙氨酸(丙, Ala, A)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2.34	9.69		6.02
缬氨酸(缬, Val, V)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.32	9.62		5.97
亮氨酸(亮, Leu, L)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.36	9.60		5.98
异亮氨酸(异亮, Ile, I)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.36	9.68		6.02
甲硫氨酸(蛋氨酸)(甲硫, 蛋, Met, M)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{CH}_3 \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.28	9.21		5.75
脯氨酸(脯, Pro, P)		1.99	10.60		6.30
苯丙氨酸(苯丙, Phe, F)		1.83	9.13		5.48
色氨酸(色, Trp, W)		2.39	9.39		5.89
2. 非电离极性侧链氨基酸					
天冬酰胺(天胺, Asn, N)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \\ \text{O} \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.02	8.80		5.41
谷氨酰胺(谷胺, Gln, Q)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \quad \quad \\ \text{O} \quad \quad \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.17	9.13		5.65
丝氨酸(丝, Ser, S)	$\begin{array}{c} \text{OH}-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	2.21	9.15		5.68
苏氨酸(苏, Thr, T)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	2.09	9.10		5.60

(续 表)					
氨基酸名称 及缩写	结 构 式	pK ₁ α-COO ⁻	pK ₂ α-NH ₃ ⁺	pK ₃	pI
酪氨酸(酪, Tyr, Y)		2.20	9.11	10.07 苯酚基	5.66
半胱氨酸(半胱, Cys, C)		1.96	8.18 巯基	10.28 α-NH ₃ ⁺	5.07
3. 酸性侧链氨基酸					
天冬氨酸(天, Asp, D)		1.88	3.65 β-COO ⁻	9.60 α-NH ₃ ⁺	2.77
谷氨酸(谷, Glu, E)		2.19	4.25 γ-COO ⁻	9.67 α-NH ₃ ⁺	3.22
4. 碱性侧链氨基酸					
赖氨酸(赖, Lys, K)		2.18	8.95	10.53 ε-NH ₃ ⁺	9.74
精氨酸(精, Arg, R)		2.19	9.04	12.48 胍基	10.76
组氨酸(组, His, H)		1.82	6.00 咪唑基	9.17 α-NH ₃ ⁺	7.59

(三) 氨基酸的理化性质

1. 氨基酸的两性解离和等电点氨基酸分子中既含有氨基又含有羧基, 在溶液中, 两者均可解离, 氨基酸可以兼性离子(两性离子)、阳离子和阴离子等共三种解离形式存在。氨基和羧基的解离取决于溶液的 pH 值, 在酸性溶液中羧基解离被抑制, 氨基酸带正电荷; 在碱性溶液中氨基解离被抑制, 氨基酸带负电荷, 这种现象称为两性解离。在一定的 pH 条件下, 氨基酸的羧基解离与氨基解离程度相等, 净电荷等于零, 此时溶液的 pH 值称为该氨基酸的等电点(isoelectric point, pI)。当氨基酸所处溶液的 pH 小于 pI 时, 氨基酸带正电荷, 在电场中向负极移动。相反, 当 pH 大于 pI 时, 氨基酸带负电荷, 在电场中向正极移动。在一定 pH 范围内, 氨基酸溶液的 pH 值离 pI 愈远, 氨基酸所带的净电荷愈多。



由于不同氨基酸所含的氨基和羧基等基团的数目不同，解离程度不同，故等电点也不同。中性氨基酸的羧基解离度大于氨基，故 pI 偏酸，略小于 7；酸性氨基酸 pI 则更小；碱性氨基酸 pI 大于 7。

氨基酸 pI 可根据其 pK 值计算：

$$pI = \frac{1}{2}(pK_n + pK_{n+1})$$

n = 氨基酸（多肽）完全质子化时所带正电荷的基团数目。

pK 值可在本节氨基酸分类表中查到。

例如：天冬氨酸 $n=1$

$$pI = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2)$$

$$= \frac{1}{2}(1.88 + 3.65)$$

$$= 2.77$$

赖氨酸 $n=2$

$$pI = \frac{1}{2}(pK_2 + pK_3)$$

$$= \frac{1}{2}(8.95 + 10.5)$$

$$= 9.74$$

20 种氨基酸中，赖氨酸、精氨酸和组氨酸等三种碱性氨基酸的 n 为 2，其余 17 种氨基酸的 n 均为 1。

2. 氨基酸的紫外吸收光谱 苯丙氨酸，酪氨酸和色氨酸对紫外光有吸收作用，它们在 280nm 波长处有最大吸收峰，其中以色氨酸吸收紫外光能力最强（图 2-1），但在大多数蛋白质分子中酪氨酸的含量远高于色氨酸，因此，蛋白质分子中大多数蛋白质的紫外吸收主要依赖于酪氨酸。常用此法测定蛋白质含量。

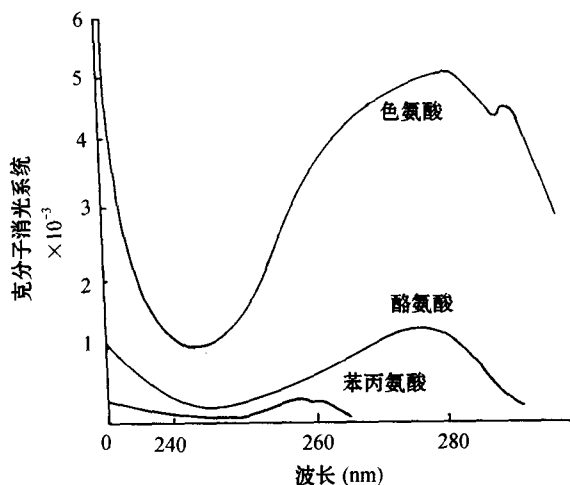
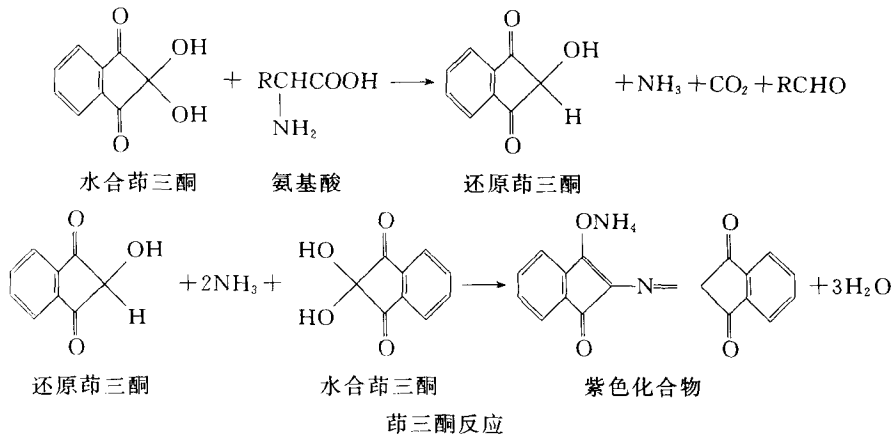


图 2-1 芳香族氨基酸的紫外吸收光谱

3. 茚三酮反应 α -氨基酸在弱酸性溶液中与茚三酮共热，引起氨基酸氧化脱氨、脱羧反

应，最后茛三酮和反应产物氨与还原茛三酮发生作用，生成紫色化合物（脯氨酸与茛三酮反应呈黄色）。利用茛三酮显色可定性或定量测定各种氨基酸，其反应如下：

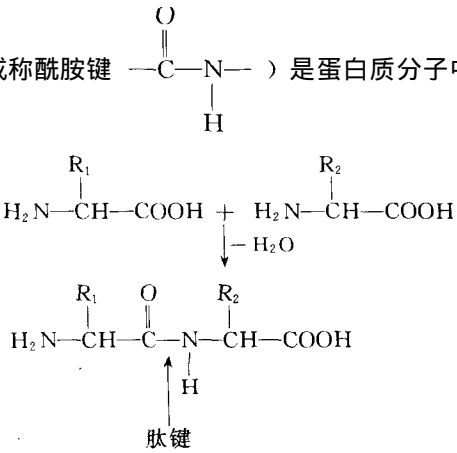


第二节 蛋白质的分子结构

一、蛋白质分子中氨基酸的连接方式

(一) 肽键

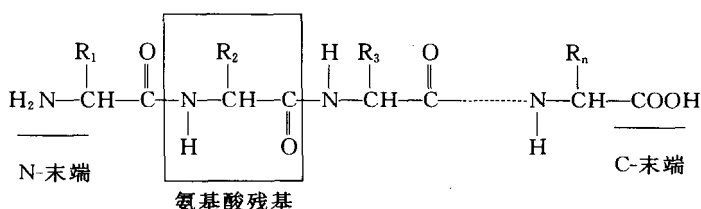
蛋白质分子中氨基酸之间是通过一个氨基酸的 α -羧基与另一个氨基酸的 α -氨基脱水缩合形成肽键相连的，肽键（或称酰胺键 $\text{—}\overset{\text{O}}{\parallel}\text{C—N—}$ ）是蛋白质分子中的主要共价键。



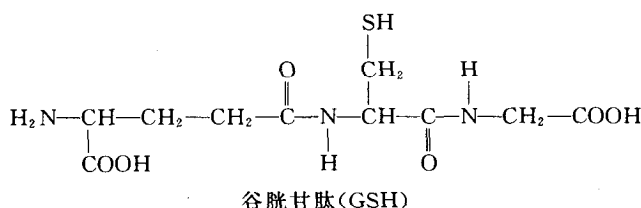
(二) 肽

氨基酸通过肽键连接起来的化合物称为肽 (peptide)。由 2 个氨基酸缩合成的肽为二肽，3 个氨基酸缩合成三肽。以此类推。一般由 10 个以下的氨基酸缩合成的肽称为寡肽，10 个以上的氨基酸形成的肽链称为多肽链，多肽链是蛋白质的基本结构。多肽链的两端有自由的 α -氨基和 α -羧基，分别称为氨基末端 (N-端) 和羧基末端 (C-端)。蛋白质多肽链中每个不完整的氨基酸称为氨基酸残基。多肽链的结构具有方向性，肽的命名从氨基酸残基的 N-端开始，体内多肽和蛋白质生物合成时，是从氨基端开始，延长到羧基端终止。通常把 N-端氨基酸残基

写在左边 ,C-端氨基酸残基写在右边。肽键是将氨基酸残基连接成为长链多肽的主键。



小分子肽可用化学命名法命名,如谷胱甘肽(glutathion GSH)是一种不典型三肽,谷氨酸通过 γ -羧基与半胱氨酸的 α -氨基形成肽键(上述蛋白质分子中的肽键是 α -羧基与 α -氨基间形成)。此三肽为 γ -谷氨酰半胱氨酰甘氨酸,N-端为谷氨酸,C-端为甘氨酸。此三肽的中文缩写为: γ -谷-半胱-甘。



在生物体内,除了合成蛋白质多肽链之外,还能合成一些具有调节功能的小分子肽,称之为生物活性肽,它们是传递细胞之间信息的重要信息分子,在调节代谢、生长、发育、繁殖等生命活动中起着重要作用。如促甲状腺素释放激素是三肽,缩宫素(催产素)和抗利尿激素均是9肽,而促肾上腺皮质激素则是39肽等。

二、蛋白质的一级结构

蛋白质的一级结构是指蛋白质多肽链中氨基酸残基的排列顺序。肽键是其主要的化学键。有些蛋白质含有二硫键(-S-S-),它是由两个半胱氨酸-SH脱氢形成的共价键。蛋白质分子中氨基酸的排列顺序是由遗传信息决定的,一级结构是蛋白质分子的基本结构,它决定蛋白质的空间结构,而蛋白质的空间结构又是实现其生物学功能的基础。例如胰岛素的一级结构是由一条A链(21肽)和一条B链(30肽)通过二硫键连接而成,结构中共有3个二硫键(图2-2);牛胰核糖核酸酶的一级结构是由一条多肽链组成,含124个氨基酸残基,链内有4个二硫键(图2-3)。

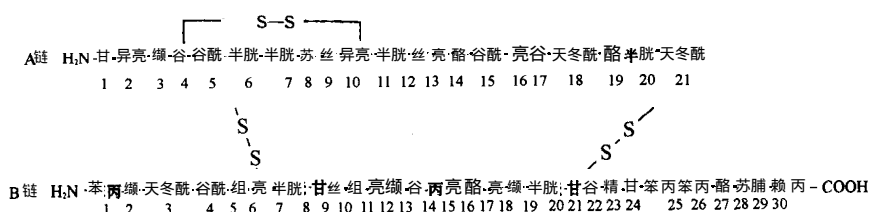


图 2-2 牛胰岛素的一级结构

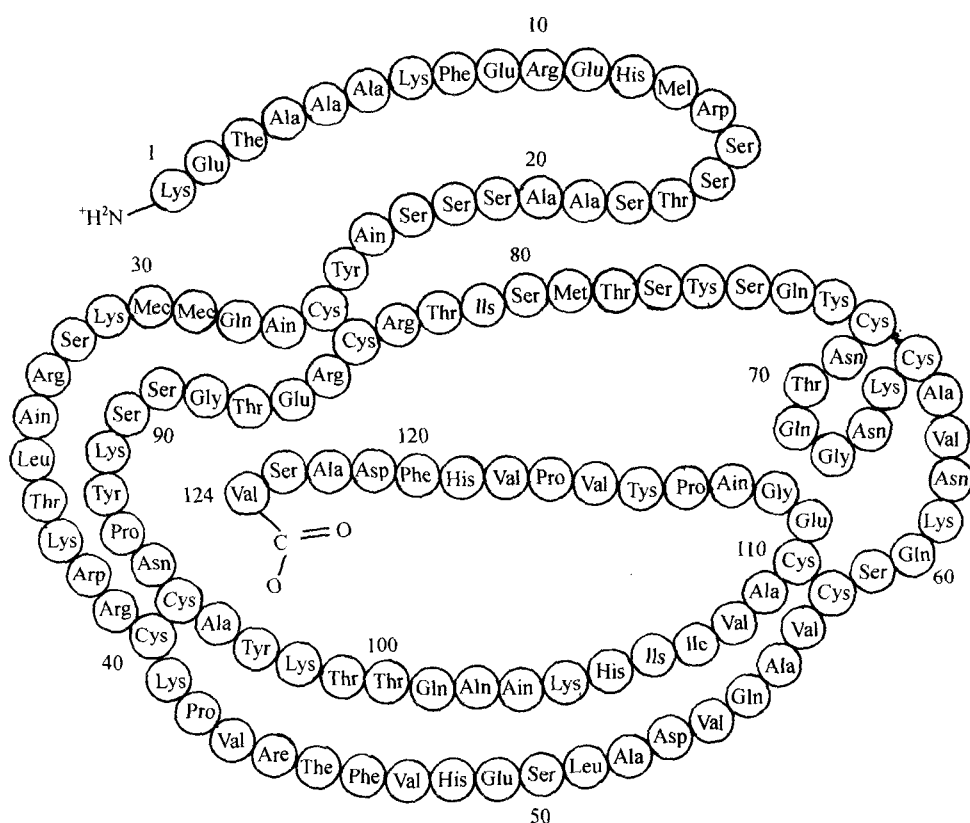


图 2-3 牛胰核糖核酸酶的一级结构 (链间黑色部分为二硫键的位置)

至今已有近千余种蛋白质的一级结构被阐明。

三、蛋白质的空间构象

天然蛋白质在一级结构基础上折叠、盘曲成各自特定的空间结构，这种空间结构称为构象。不同蛋白质的特定构象决定了蛋白质的分子形状、理化特性和生物学活性。

蛋白质构象可分为主链构象和侧链构象。主链构象指多肽链主链骨架上各原子的排布及相互间关系；侧链构象指各氨基酸残基侧链基团 (R) 中原子的排布及彼此关系。两者相互依赖，相互影响。一般根据蛋白质构象的范围和复杂程度，可将蛋白质的空间结构分为二级、三级和四级结构，统称为蛋白质的高级结构。

(一) 维持蛋白质空间构象的次级键

蛋白质空间构象由次级键维持 (图 2-4)。这些次级键包括氢键、范德华力、疏水键、离子键等非共价键和共价键的二硫键。主要依靠非共价键，虽然非共价键的键能很小，但因其数量大，足以使蛋白质形成空间构象并保持其稳定。

1. 氢键多肽主链与极性侧链之间或极性侧链相互之间都可形成氢键。它是蛋白质分子中最多的次级键，是由亚氨基氢或羟基氢与羰基氧之间形成的 ($-\text{CO}\cdots\text{HN}-$, $-\text{CO}\cdots$

HO—)。氢键是维持蛋白质二级结构最主要的次级键。

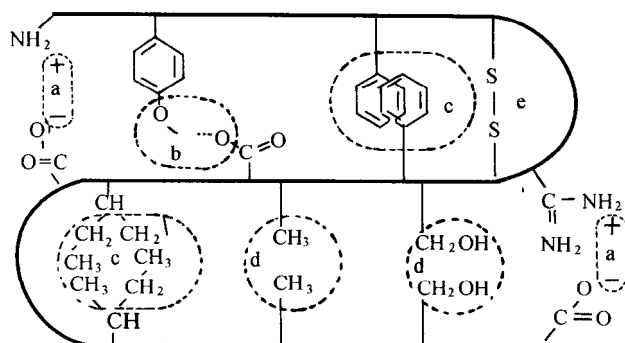


图 2-4 维系蛋白质分子构象的各种化学键和作用力

a. 离子键 b. 氢键 c. 疏水键 d. 范德华力 e. 二硫键

2. 范德华力 (Van der Waals force) 是一种很弱的作用力, 包括吸引力和斥力两种相互作用, 随非共价键原子或分子间的距离而变化。由于范德华力相互作用数量大并具有加和性, 因此在生物学上是不可忽视的作用力。

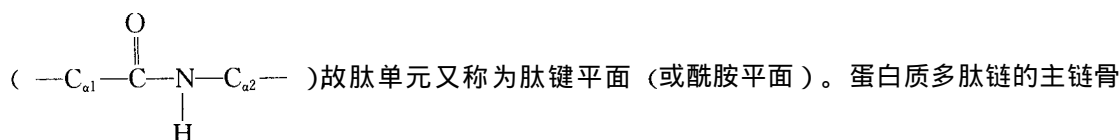
3. 疏水键又称疏水基团相互作用。非极性氨基酸疏水侧链为了避开水相被迫接近而形成疏水区域, 疏水区常存在于球状蛋白质分子内部。它在维持蛋白质三级结构方面起到主导作用。

4. 离子键又称盐键, 是指蛋白质分子中带正电荷基团和带负电荷基团之间的静电相互作用。

5. 二硫键二硫键是共价键, 由两个半胱氨酸残基侧链上的巯基脱氢缩合而成。蛋白质特定的三级结构主要由非共价键维系, 一般认为, 二硫键生成于蛋白质三级结构形成之后, 对维持蛋白质特有的构象起稳定作用。

(二) 蛋白质的二级结构

蛋白质的二级结构是指蛋白质多肽链中主链原子的局部空间排列, 不包括其侧链的构象。维系二级结构的次级键是氢键。肽键是构成蛋白质的主键, 肽键中的 C、O、N、H 与相邻的两个 α -碳原子称为肽单元 (或肽单位)。组成肽单元的 6 个原子基本处于同一平面



架是由许多重复的肽单元连接而成。在蛋白质分子中, 肽键平面上羧基的氧和氨基的氢呈反式结构 (图 2-5)。肽键中的 C—N 键的键长为 0.132nm, 比 $\text{C}_\alpha\text{---N}$ 单键 (键长 0.147nm) 短, 而比 $\text{C}=\text{N}$ 双键 (键长 0.127nm) 长, 因此, 肽键的 C—N 键具有部分双键的性质, 不能自由旋转。肽键中能够旋转的只有肽键两端的 α -碳原子所形成的单键, 此单键的旋转决定了两个肽键平面的相对关系。多肽链的盘曲或折叠是多肽链中许多 α -碳原子旋转所决定的, 而刚性的肽键平面是多肽链盘曲或折叠的基本单位。蛋白质二级结构包括 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷

曲。

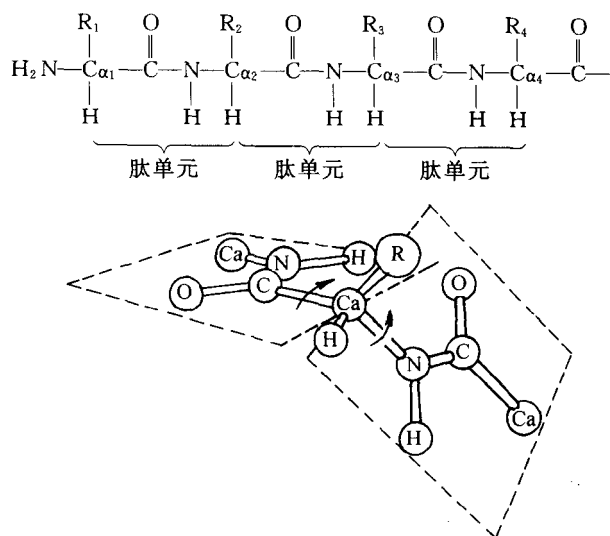
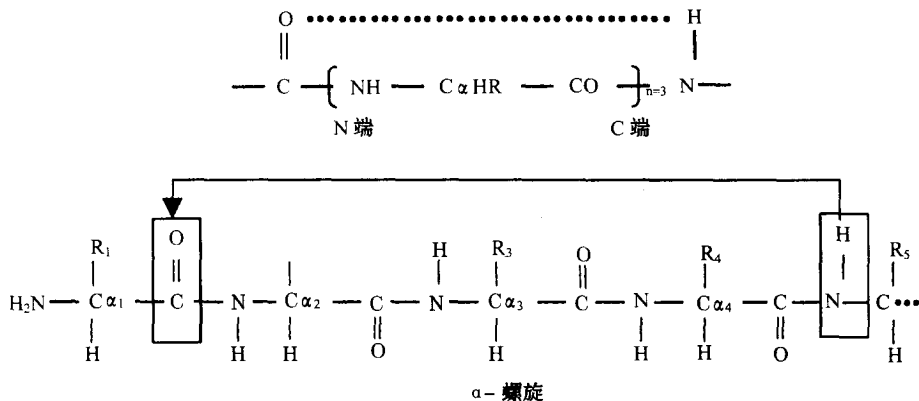


图 2-5 肽键平面图

1. α -螺旋 α -螺旋是指多肽链的主链骨架在空间构象中围绕中心轴形成紧密而有规律的螺旋结构，即形成具有周期性规则的构象（图 2-6）。



α -螺旋的特征有：多肽链顺时针走向，一般为右手螺旋式上升。② 螺旋旋转一圈包含 3.6 个氨基酸残基，螺距为 0.54nm，每个氨基酸残基绕轴旋转 100° 沿轴上升 0.15nm。③ 相邻螺圈之间形成链内氢键，氢键的取向几乎与中心轴平行。氢键是由肽键上 N—H 的氢和它后面(N端)的第 4 个氨基酸残基上 C=O 的氧之间形成的，常用 3.6₁₃-螺旋来代表 α -螺旋 这里的 n=3 其中 3.6 指每圈螺旋含 3.6 个氨基酸残基（非整数螺旋），3.6 右下角 13 表示氢键封闭的环内共包含 13 个原子（ $3 \times 3 + 4$ ）。④ 各氨基酸 R 基团伸向螺旋外侧。影响 α -螺旋形成的主要因素是氨基酸侧链的大小、形状及所带的电荷性质。如较大的 R 基（异亮氨酸、苯丙氨酸等）集中的区域产生位阻，妨碍 α -螺旋的形成；酸性或碱性氨基酸集中的区域由于同种电

荷相斥，不利于 α -螺旋的形成；脯氨酸和甘氨酸存在时也不能形成 α -螺旋。

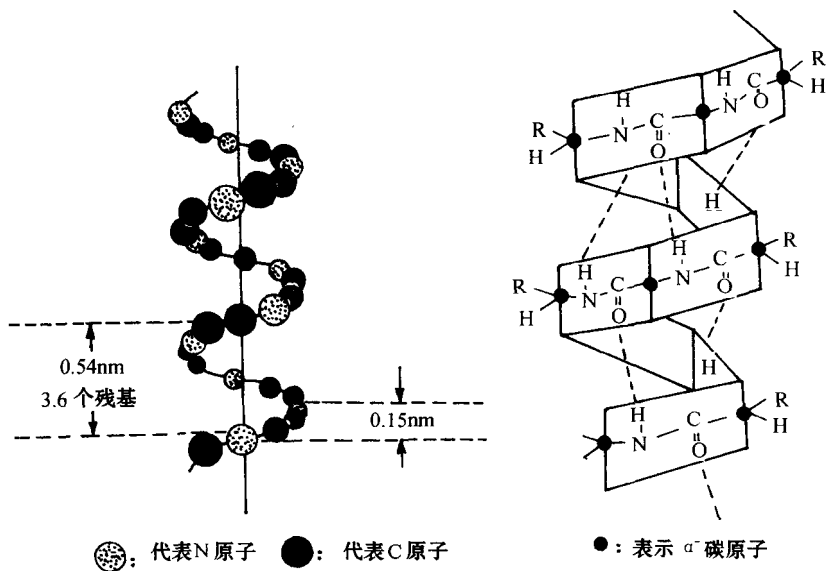


图 2-6 蛋白质分子中的 α -螺旋

2. β -折叠多肽链几乎完全伸展，多肽链的长轴互相平行，相邻肽链之间借氢键彼此连接，每个肽键平面以 C_α 为旋转点依次折叠成锯齿状结构，称为 β 折叠或 β -片层。相邻两段肽链的走向相同即为顺向平行，反之为逆向平行，后者较为稳定。肽链中各氨基酸的 R 基团伸向锯齿的外侧。缬氨酸、异亮氨酸和酪氨酸易形成 β -折叠（图 2-7）。

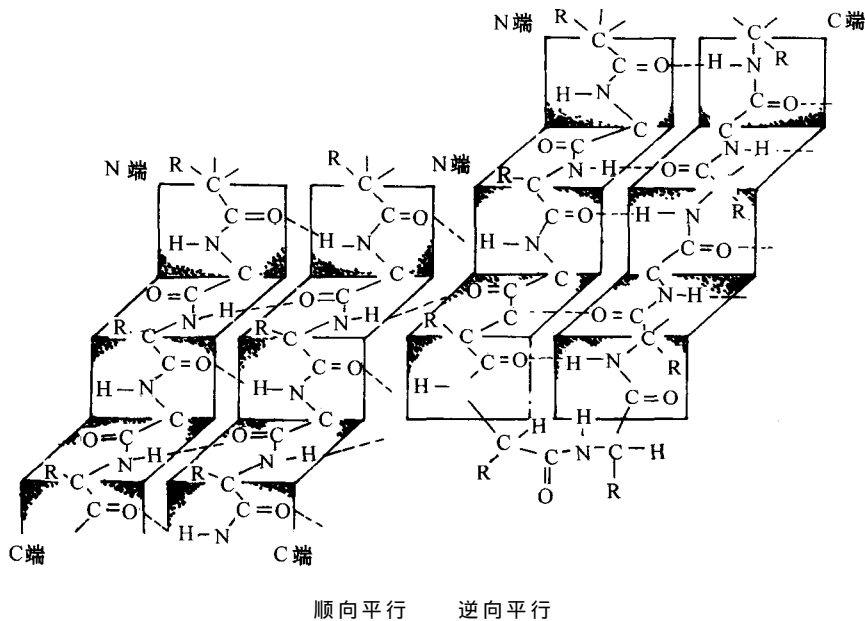


图 2-7 蛋白质分子中的 β -片层

3. β -转角 β -转角又称 β 回折,通常由 4 个氨基酸残基构成,由第 1 个残基 $\text{C}=\text{O}$ 与第 4 个残基 $\text{N}-\text{H}$ 形成氢键,使多肽链形成 180° 的回折。氢键所封闭的环内含 $10(3 \times 2 + 4)$ 个原子。它只存在于蛋白质的 β -转角中,蛋白质分子中的脯氨酸、甘氨酸和天冬酰胺等氨基酸残基容易形成 β -转角(图 2-8)。

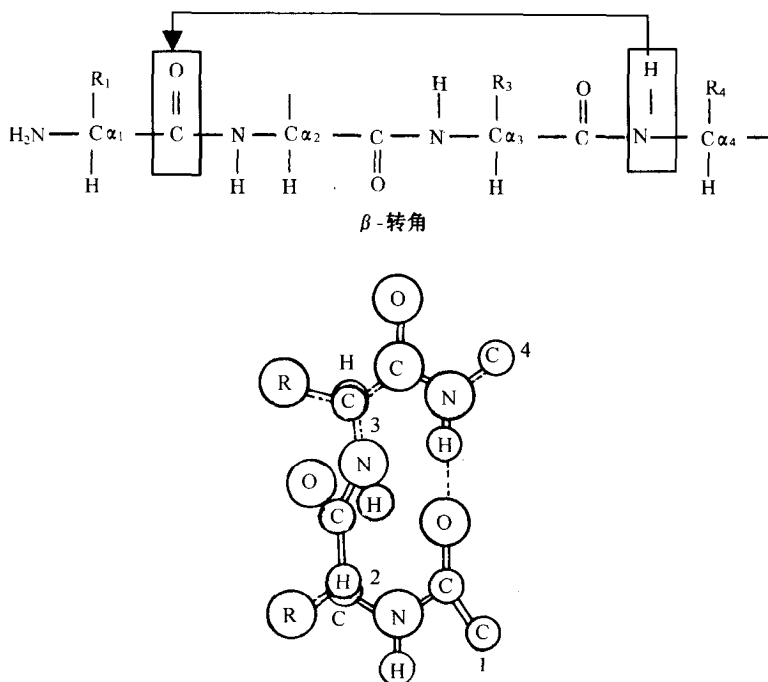


图 2-8 蛋白质分子中的 β -转角

4. 无规卷曲多肽链中无确定规律的卷曲。

各种蛋白质一级结构相异,不同区段形成的二级结构也不同,如丝心蛋白主要由 β -折叠形成,肌红蛋白中有 75% 的 α -螺旋而无 β -折叠,伴刀豆蛋白中有 59% 的 β -折叠而无螺旋,核糖核酸酶含 26% 的 α -螺旋和 35% 的 β -折叠,溶菌酶和乳酸脱氢酶中有 29% 的 α -螺旋, α -胰凝乳蛋白酶中只有 9% 的 α -螺旋。

(三) 蛋白质的三级结构

蛋白质的三级结构指每一条多肽链内所有原子的空间排布,包括整条多肽链分子内主链和侧链的全部构象。稳定和维系三级结构的因素是侧链基团相互作用的次级键,主要有氢键、范德华力、疏水键和离子键等非共价键的作用(其中以疏水键最为重要),二硫键(共价键)也起重要作用。

三级结构对于蛋白质分子形状及其功能活性的形成起重要作用。仅含一条多肽链的蛋白质只有形成三级结构才具有生物学功能。

(四) 蛋白质的四级结构

有些蛋白质分子是由两条或两条以上具有独立三级结构的多肽链，通过非共价键相互缔合而成，这种结构称为蛋白质的四级结构。其中，每一条具有三级结构的多肽链称为亚基或亚单位 (subunit)，亚基一般呈球状。蛋白质四级结构是指亚基间的空间排布及其相互作用，亚基之间无共价键。因此，仅含一条多肽链的蛋白质（如核糖核酸酶）或几条多肽链以共价键相连而成的蛋白质（如胰岛素）不属于四级结构范畴。具有四级结构的蛋白质分子中，亚基的种类、数目和亚基间的缔合方式各有不同，亚基可以相同也可以不同。由相同亚基构成的四级结构称为均一四级结构，如过氧化氢酶由 4 个相同亚基构成。若由不同亚基构成，则称为不均一四级结构，如血红蛋白 A 由 2 个 α -亚基和 2 个 β -亚基组成 即为 $\alpha_2\beta_2$ ，任何一个亚基单独存在时均无生物学功能。

不同的蛋白质有不同的空间构象 (图 2-9)。

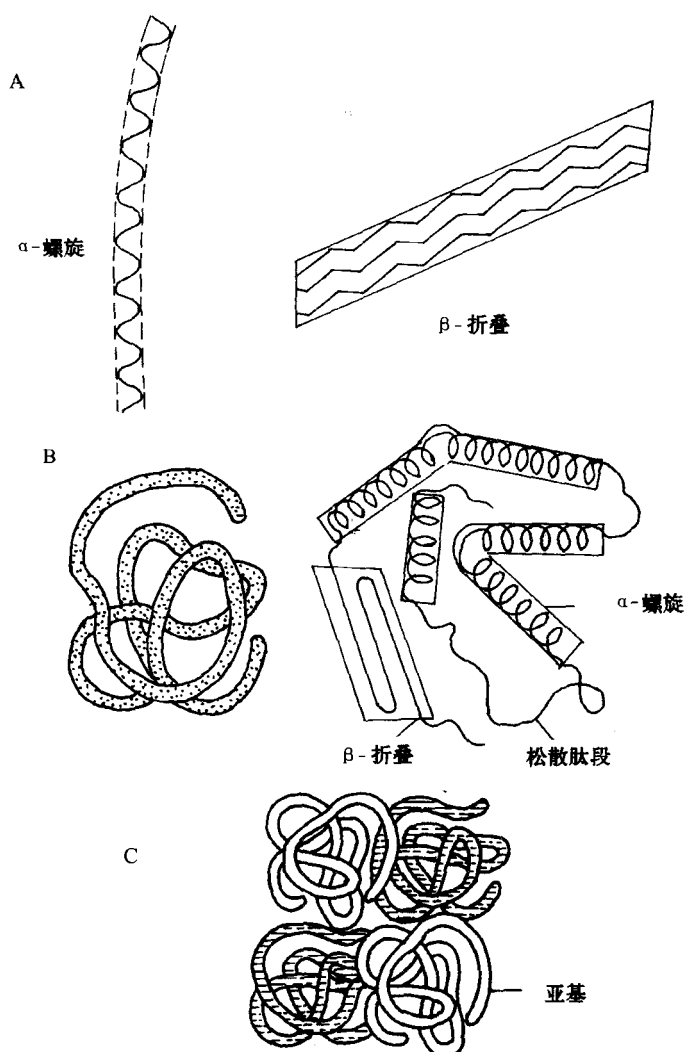


图 2-9 蛋白质分子的构象

A. 蛋白质二级结构 ;B 蛋白质三级结构 ;C. 蛋白质四级结构