

第一章 绪论

第一节 生物化学及其研究的内容

一、生物化学涵义

生物化学是运用化学的理论和方法研究生物体的化学组成、化学变化（物质代谢）以及其与生理功能之间联系的一门学科。因其是在分子水平上探讨生命现象本质，因此生物化学即是生命的化学。

二、生物化学的研究对象和内容

（一）研究对象

生物化学研究的对象是生物，研究范围涉及整个生物界。根据研究对象的不同，生物化学可分为微生物生化、植物生化、动物生化和人体生化等。各种生物化学的内容都与人类的生产、生活等相关。本教材着重介绍人体生物化学方面的知识。

（二）生物化学研究的主要内容

生物化学是一门年轻的边缘学科，直至 1903 年引用生物化学（biochemistry）这一名称才成为一门独立学科。随着科学技术的进步，生物化学已有长足的发展，生物化学内容已渗透到生物学科的各个领域，成为各学科必备的基础知识。根据生物化学发展过程，生物化学内容大体可归纳为叙述生化、动态生化和机能生化三个方面。

1. 叙述生化

研究生物体的化学组成。生物体是由各种组织器官构成，组织器官又以细胞为基本单位，细胞中又包含着成千上万的基本化学分子。人体的基本化学组成包括蛋白质、核酸、脂类和糖类有机化合物，以及水、无机盐等化学成分，仅以蛋白质而论，人体蛋白质种类不下十万种，不同的蛋白质分子，有着不同结构，具有不同的功能。这些化学物质不是杂乱无章地堆在一起，而是以一定的组织形式，构成一定的能够体现各种功能的有序的生物化学结构。叙述生化的任务就是确定生物体的化学组成和含量，研究这些化学分子的结构、性质和功能。

2. 动态生化

研究生物体内的物质代谢。生物与非生物之间最本质的差别是生物不断地进行新陈代谢。新陈代谢是生物体所进行的一切化学变化的综合，也是生物体进行除旧更新的过程，是生物体生长、发育、繁殖、运动等生命活动的基础，新陈代谢若停止，生命活动也就随之停止。新陈代谢包含物质代谢和能量代谢，物质代谢与能量代谢又是互相密切联系的。营

养物质在生物细胞中进行的新陈代谢，通常称为物质代谢或中间代谢。物质代谢可分为合成代谢、分解代谢及物质间互相转换。合成代谢一般是指小分子合成较大分子，即利用吸收的外源营养物质与体内原有物质混合一起，合成生物体的自身结构物质和具有生物活性的物质，使生物体得以生长、发育、繁殖、修补、更新，以保持机体的健康。合成代谢过程是需要能量的代谢，也是生物体内贮存能量的过程。分解代谢是生物体组成成分的分解作用，即由复杂的大分子降解为简单分子和代谢产物的过程。营养物质分解伴随着能量释放，释放的能量供生物体生命活动的需要。分解的代谢产物则排泄体外交回外环境。合成代谢和分解代谢与需能代谢和产能代谢之间是互相依存、互为条件的。通过合成代谢生物体不断摄取外界环境中的营养物质转化为自身的结构成分，而分解代谢又将自身的结构成分不断分解，将其代谢物排出体外，这样，生物体与外周环境不断进行物质交换，达到除旧更新的目的。体重 60kg 的人，在一生中，通过物质代谢与外界环境交换的物质，水约有 60000kg，糖类 10000kg，蛋白质 1600kg，脂类 1000kg。

3. 机能生化

研究化学分子的结构与功能、代谢与功能的关系。生物学的研究任务是揭示生命的奥秘，这就需要研究生物体内化学分子结构与生物活性之间、各种物质代谢变化与复杂的生命现象之间的关系。组成生物体的各种化学分子都具有其特殊功能，功能与结构是密切相关的，分子的结构是功能的基础，如 DNA 的遗传特性与 DNA 结构密切相关；酶的催化功能，各种蛋白质的生物学功能都与其分子结构密不可分。生物化学技术进步，使得在研究蛋白质，核酸和酶分子方面从提纯、制成结晶发展到确定其化学组成、序列、三维结构，进而发展到人工模拟、人工合成、活性测定和晶体结构分析，使生命本质研究进入新的发展时期。另外，各种化学分子代谢途径之间，各代谢途径与生理功能之间都具有复杂的规律，存在着精密、细致、完善的调控机制。代谢调节机制任何环节失调，均表现为代谢异常即病态。这些也属于机能生化的研究内容。

第二节 生物化学与医药学的关系

生物化学理论和技术已渗透到生物学科各个领域，对医药卫生和临床实践都具有重要意义。

一、生物化学与其它医学课程的关系

生物化学是从有机化学和生理学基础上发展起来的，三者关系十分密切。叙述生化研究多依附于有机化学，研究生物分子的化学结构、性质，成为有机化学和生物化学的共同课题。动态生化研究与生理学的发展密切相关，在分子水平研究化学分子的结构、功能及其生命本质，是生理学与生物化学的共同目标。

生物化学与其它基础医学课程也是密不可分的。生物学、组织学、生理学、微生物学、免疫学、药理学等学科的研究已深入到分子水平，这样生物化学的内容已是所有生物学科的必需知识。生物学科领域中，核酸的生物化学是遗传学的中心内容；免疫学大量采用生化原理和生化技术；微生物学研究也毫无例外应用生化知识和技术。生物化学也是临床医

学的重要基础，从生化角度来说，代谢过程的紊乱即表现为疾病，生物化学与疾病的病因、发病机制、诊断、治疗都密切相关。可见，生物化学在这些学科中处于中心地位。由于各学科研究已深入到分子水平，使各学科已有界限被打破，生物化学已渗透到各种学科之中，甚至成为它们的“共同语言”。

二、生物化学与药学的关系

生物化学与药学的关系也十分密切。药（物）学和药理学在很大程度上是以生物化学和生理学为基础的，由于大多数药物都通过酶催化反应进行代谢，因此要了解药物在体内如何进入细胞，在细胞内如何代谢转化，并在分子水平上探讨药物作用机制等，都必须以生物化学知识为基础。由于生物化学理论和技术大量应用于药理学研究，使药理学研究深入发展，并派生出生化药理学和分子药理学。生化药物是一类用生物化学理论和技术制取的具有治疗作用的生物活性物质，目前常用的生化药物已有 200 余种。80 年代生物化学已进入生物工程的崭新领域，现代生物工程技术——发酵工程、酶工程、细胞工程和基因工程等的应用为生化药物生产开拓了广阔前景。

第三节 本教材的内容和学习方法

一、本教材的内容

本教材包括叙述生物化学、动态生物化学和机能生物化学，共十四章，全书内容分四部分。第一部分介绍蛋白质化学、核酸化学、酶、维生素、糖类及脂等生物分子结构功能方面的内容。第二部分讨论糖代谢、脂类代谢、氨基酸代谢、生物氧化、无机盐等的代谢及代谢调节。第三部分是基因的遗传和表达，介绍遗传信息的贮存、传递和表达。第四部分为生物膜结构与功能和生化药物。

二、学习生物化学应注意的几个问题

生物化学理论性和实践性强，内容比较复杂、抽象，初学者会感到有一定难度。根据多年的教学实践，我们认为在学习生物化学过程中，要处理好几个问题：（1）抓住特点，记住要点。生物化学反应过程十分复杂，学习中应侧重于反应性质、条件及生理意义，不要把精力用于死记结构式，否则将事倍功半。（2）纲目清楚，才能多而不乱。学习时应先抓住各章框架，然后补充内容，否则就可能张冠李戴。（3）循序渐进，前后联系。教材前面介绍的内容，在后续章节经常应用，因此应反复复习。这样既有利于旧有知识的加深巩固，又有利于新内容的理解记忆。（4）适当归纳对比。难记是学生学习生化普遍遇到的问题，要解决好这个难题，首先要在理解的基础上记忆，同时还要善于归纳总结和对比，如来源去路可采用图表式归纳；又如一些相似易混淆的内容，采用对比归纳。有比较才有鉴别，有鉴别才能分辨事物，经对比、分辨，知识点便容易记住。

（赖炳森）

第二章 蛋白质的化学

蛋白质 (protein) 是由氨基酸组成的、具有复杂结构的大分子物质。它是构成各种生物体的最基本物质之一。从简单的病毒到高等动物乃至人类,无不含有蛋白质。人体含蛋白质多达十万种以上,按总量计占人体干重的 45%,各组织中的含量约为 17%~20%,它们在人体生长、发育、繁殖、遗传等生命活动中起着极其重要的作用,几乎所有的生命现象和生理功能都是通过蛋白质来实现的,所以蛋白质又是生命活动的主要物质基础。凡是有蛋白质的地方,就一定会存在生命,整个生物界可能存在着上百亿种不同的蛋白质,致使生物体表现出千差万别生命现象。

随着医药工业的发展,用动物、植物为原料,通过微生物发酵法,或采用生物工程技术制备的许多蛋白类、肽类药物如胰岛素、干扰素、生长素、白细胞介素、细胞色素 C 和胸腺素等,在疾病的预防和治疗中起到了十分重要的作用。因此充分认识蛋白质结构、功能和性质,对发展我国生化制药事业具有重要的意义。

第一节 蛋白质的化学组成

一、蛋白质的元素组成

元素分析结果表明 蛋白质主要含碳 (50%~60%)、氢 (6%~8%)、氧 (19%~24%)、氮 (13%~19%) 四种元素,此外尚含有硫 (0~4%)。有些蛋白质还含有磷,少数蛋白质还含有铁、铜、锰、钴和钼等金属元素。

各种蛋白质的含氮量十分接近且恒定,平均为 16%,即 100g 蛋白质中含有 16g 氮,而每克氮相当于 100/16 即 6.25g 蛋白质。由于测定生物样品中含氮量比直接测定其中蛋白质量要容易得多,因此,只要测出样品中的氮含量,按下式就可以计算出生物样品中蛋白质的大致含量。

每克样品中蛋白质的含量 = 每克样品中含氮量 $\times$ 6.25

测定蛋白质分子中的含氮量一般采用微量凯氏定氮法。

二、蛋白质的基本结构单位——氨基酸

(一) 氨基酸的概念

氨基酸 (amino acid) 是羧酸分子中 α -碳原子上的一个氢原子被氨基取代而生成的化合物,故又称 α -氨基酸。其一般结构式可写为:



R 代表氨基酸侧链基团，R 不同代表了不同氨基酸。

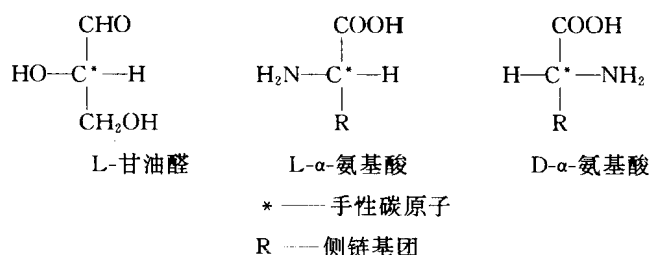
天然蛋白质经酸、碱或酶彻底水解后的最终产物为氨基酸，所以氨基酸是蛋白质的基本结构单位。

(二) 氨基酸的结构特点

组成蛋白质的天然氨基酸主要有 20 种，新近发现的硒代半胱氨酸，被列为第 21 种氨基酸，不过，目前仅在几种蛋白质中发现含有这种氨基酸。各种氨基酸结构各不相同，但都具有以下共同特点：

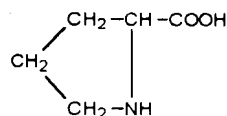
(1) 既具有酸性的羧基 (α-COOH)，也具有碱性的氨基 (α-NH₂) 故为两性电解质，决定了由这些氨基酸组成的蛋白质也是两性电解质。

(2) 除甘氨酸外，其它氨基酸的 α-碳原子都是手性碳原子，故它们具有旋光异构现象，用 (-) 号表示左旋体，用 (+) 号表示右旋体。若以甘油醛的构型为参考，这些氨基酸又存在 D-型和 L-型两种异构体。凡氨基在 α-碳原子右侧者为 D 型，在左侧者为 L-型。组成天然蛋白质的氨基酸大多数是 L-α-氨基酸，在一些抗生素及个别植物的生物碱中发现含有 D-α-氨基酸。它们的化学结构通式如下：



(3) 各种氨基酸的侧链 R 基团的结构和性质不同，它们是氨基酸分类的基础，它们在决定蛋白质性质、结构和功能上有重要作用。

20 种氨基酸中的脯氨酸因含有亚氨基 (NH)，所以它是亚氨基酸，其化学结构式如下：



(三) 氨基酸的分类

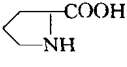
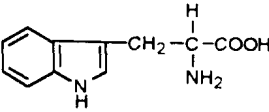
根据侧链 R 基团的结构和性质可将 20 种氨基酸分为四类，见表 2-1。

1. 酸性氨基酸
R 基团含羧基，在 pH7 时，羧基可完全解离，而使分子带负电荷。如谷氨酸和天门冬氨酸。
2. 碱性氨基酸
R 基团含碱性基团，在 pH7 时，这些基团可质子化而使分子带正电荷。如赖氨酸（R 中含氨基）、精氨酸（R 中含胍基）、组氨酸（R 中含咪唑基）。
3. 极性非电离氨基酸
R 基团具极性，但在中性溶液中不解离。如甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸、半胱氨酸、天冬酰胺及谷氨酰胺等 7 种氨基酸。
4. 非极性疏水氨基酸
R 基团具疏水性。如丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、蛋氨酸（甲硫氨酸）、苯丙氨酸、色氨酸及脯氨酸等 8 种氨基酸。

表 2-1 氨基酸的分类、结构及某些性质

分类	名称	结构式	分子量	pK (α-COOH)	pK (α-NH ₂)	pK (R)	pI
极性非电离氨基酸	甘氨酸(甘) (glycine) Gly,G	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	75.05	2.34	9.60		5.97
	丝氨酸(丝) (serine) Ser,S	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	105.6	2.21	9.15		5.68
	苏氨酸(苏) (threonine) Thr,T	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{C}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	119.08	2.71	9.62		6.17
	半胱氨酸(半)(半胱) (cysteine) Cys,C	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HS}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	121.12	1.96	10.28	8.18 (-SH)	5.07
	酪氨酸(酪) (tyrosine) Tyr,Y	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	181.09	2.20	9.11	10.07 (-OH)	5.66
	天冬酰胺(天胺) (asparagine) Asn,N	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	132.12	2.02	8.08		5.41
	谷氨酰胺(谷胺) (glutamine) Gln,Q	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_2 \end{array}$	146.15	2.17	9.13		5.65

续表

分 类	名 称	结构式	分子量	pK (α -COOH)	pK (α -NH ₂)	pK (R)	pI
非 极 性 疏 水 氨 基 酸	丙氨酸(丙) (alanine) Ala, A	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	89.06	2.43	9.69		6.0
	缬氨酸(缬) (valine) Val, V	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \\ \text{CH}-\text{C}-\text{COOH} \\ \diagup \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	117.09	2.32	9.62		5.96
	亮氨酸(亮) (leucine) Leu, L	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{H} \\ \diagdown \quad \\ \text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \diagup \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	131.11	2.36	9.60		5.98
	异亮氨酸(异) (isoleucine) Ile, I	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C}-\text{COOH} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \quad \text{NH}_2 \end{array}$	131.11	2.36	9.68		6.02
	脯氨酸(脯) (proline) Pro, P		115.13	1.99	10.60		6.30
	苯丙氨酸(苯)(苯丙) (phenylalanine) Phe, F	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	165.09	1.83	9.13		5.48
	色氨酸(色) (tryptophan) Tre, W		204.22	2.38	9.39		5.89
酸 性 氨 基 酸	甲硫氨酸(蛋) (methionine) Met, M	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	149.15	2.28	9.21		5.74
	天冬氨酸(天) (aspartic acid) Asp, D	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	133.60	1.88	9.60	3.65 (β -COOH)	2.77
	谷氨酸(谷) (glutamic acid) Glu, E	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$	147.08	2.19	9.67	4.25 (γ -COOH)	3.22

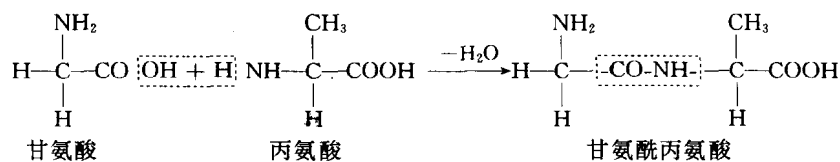
续表

分类	名称	结构式	分子量	pK (α-COOH)	pK (α-NH ₂)	pK (R)	pI
碱性氨基酸	赖氨酸(赖) (lysine) Lys, K	$\text{H}_2\text{N}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{COOH}$	146.13	2.18	8.95	10.53 (ε-NH ₂)	9.74
	精氨酸(精) (arginine) Arg, R	$\text{H}_2\text{N}-\overset{\text{NH}}{\underset{\text{ }}{\text{C}}}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{COOH}$	174.14	2.17	9.04	12.48 (胍基)	10.76
	组氨酸(组) (histidine) His, H	$\text{HN} \begin{array}{c} \diagup \diagdown \\ \text{N} \end{array} \text{CH}_2-\overset{\text{H}}{\underset{\text{NH}_2}{\text{C}}}-\text{COOH}$	155.16	1.82	9.17	6.00 (咪唑基)	7.59

(四) 氨基酸的连接方式

1. 肽键

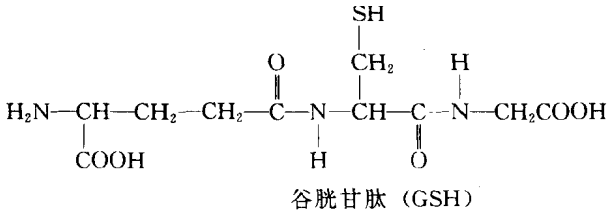
一个氨基酸的 α-羧基与另一个氨基酸的 α-氨基脱水缩合形成的共价键 (CO-NH-) 称为肽键 (peptide bond)，又称酰胺键。如甘氨酸与丙氨酸脱水缩合生成甘氨酸丙氨酸。甘氨酸丙氨酸分子中的 -CO-NH- 即为肽键。在蛋白质分子中各个氨基酸分子通过肽键彼此相连。由于氨基酸在形成肽键连接时发生脱水，而致结构不完整，所以蛋白质分子中的氨基酸称为氨基酸残基。



2. 肽

氨基酸通过肽键连接起来的化合物称为肽 (peptide)。由二个氨基酸形成的肽称为二肽，三个氨基酸形成的肽称三肽，其余以此类推。通常将十肽以下者称为寡肽 (oligopeptide)，十肽以上者称为多肽 (polypeptide)。

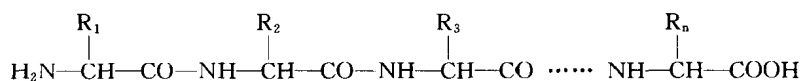
蛋白质部分水解可以得到长短不一的肽段，生物体内也存在许多游离的活性肽，它们具有各种特殊的生物学功能。如谷胱甘肽 (glutathione)，是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的三肽，结构式如下：



它含有半胱氨酸的活性巯基 (-SH), 用 GSH 代表。GSH 参与细胞内的氧化还原作用, 在体内具有保护某些蛋白质的活性-SH 不被氧化的作用。临床上常用它作为解毒、抗辐射和治疗肝病的药物。许多多肽具有激素的功能, 如脑垂体分泌的促肾上腺皮质激素 (adrenocorticotrophic hormone, ACTH) 是一种 39 肽, 参与调节肾上腺皮质激素的合成; 催产素、生长素、胸腺素和下丘脑激素在体内起调节控制新陈代谢的作用; 脑啡肽与抑制痛觉有关。近年来活性肽作为疾病治疗药物的研究逐渐为更多的科学家所关注, 活性肽类用于疾病的治疗将有广阔发展前景。

3. 多肽链

由多个氨基酸借肽键连接而成的链状化合物称为多肽链 (polypeptide chain)。它的基本结构为:



多肽链的结构

多肽链中, 每一个氨基酸残基上都有一个侧链 R, 不同的侧链 R 有不同的功能基团, 赋予了多肽链参加多种化学反应的能力。多肽链有两端, 一端具有自由的 α -氨基, 称氨基末端 (或 N-末端) 通常写在多肽链的左端, 另一端具有 α -羧基, 称为羧基末端 (或 C-末端), 通常写在多肽链的右端。多肽链的方向从 N-端到 C-端, 肽链也是从 N-端到 C-端按氨基酸残基的顺序来命名的。如从 N-端到 C-端依次由甘氨酸、丙氨酸、酪氨酸、色氨酸缩合形成的四肽, 正规化学名称应为“甘氨酰丙氨酰酪氨酰色氨酸”, 简称为“甘·丙·酪·色”。

在多肽链中, 连接各氨基酸残基之间的共价键除了肽键外, 还有两个半胱氨酸残基之间形成的二硫键。它在稳定蛋白质的构象中起重要作用。

第二节 蛋白质的分子结构

蛋白质是生物大分子, 其种类繁多、结构复杂、功能多样。因此不仅要了解蛋白质分子的氨基酸组成和排列顺序, 还必须了解蛋白质分子中多肽链如何卷曲、折叠而形成空间构象。所以, 需要对蛋白质的分子结构进行研究。

蛋白质分子的结构分为一级结构、二级结构、三级结构和四级结构。二级以上的结构又总称为空间结构或构象 (conformation), 即三维结构 (three dimensional structure)。

一、蛋白质的一级结构

(一) 一级结构的概念

构成蛋白质的各种氨基酸在多肽链中的排列顺序, 称为蛋白质的一级结构 (primary structure)。多肽链中氨基酸排列的顺序是由基因上遗传信息, 即 DNA 分子中有遗传密码的核苷酸排列顺序所决定, 一级结构是蛋白质的基本结构。在一级结构中的主要化学键是肽键, 在某些蛋白质分子的一级结构中尚含有少量的二硫键。因共价键的键能大, 故蛋白

质一级结构稳定性较强。

胰岛素（insulin）是胰脏胰岛 β -细胞分泌的一种激素。它由 A、B 两条多肽链组成，A 链含 21 个氨基酸残基，B 链含 30 个氨基酸残基，A、B 两条链通过两个二硫键连接起来，A 链本身还有一个链内二硫键。人胰岛素的一级结构见图 2-1。

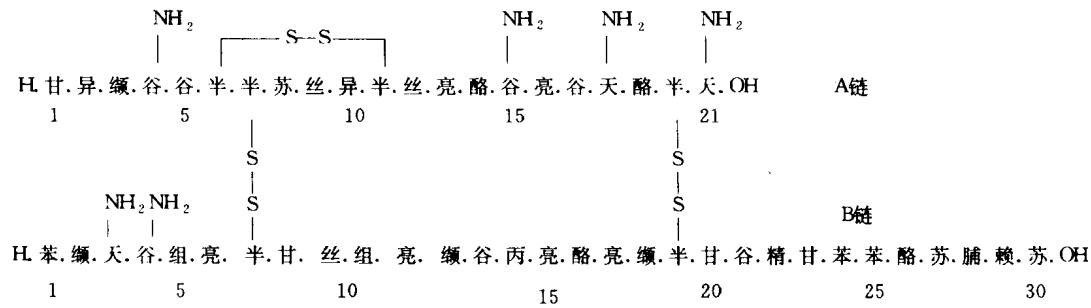


图 2-1 人胰岛素一级结构示意图

1954 年英国生物化学家 Sanger 首次发表了牛胰岛素全部氨基酸排列顺序的研究成果，揭开了测定蛋白质一级结构的序幕。1965 年我国生物化学家又首先成功地合成了具有生物活性的结晶牛胰岛素，开创了人工合成具有生物活性蛋白质的新纪元，标志着人类在揭开生命奥秘的伟大历程中迈进了一大步，我国科学家的功绩将载入史册。目前已有数千种蛋白质的氨基酸序列被确定，为人工合成蛋白质奠定了基础。

（二）一级结构研究的意义

蛋白质一级结构的阐明，使人们能够从根本上去认识种类有限的氨基酸，由于排列顺序的不同，导致了多种多样蛋白质的形成，使其行使着各种不同的生理功能。蛋白质的一级结构是基础结构，它决定了蛋白质的三维结构，对它的研究为蛋白质结构与功能的研究奠定了基础。由于一级结构中氨基酸的种类和排列顺序受基因上遗传密码的种类和排列顺序所控制，因此了解一级结构就能从分子水平上对蛋白质结构和功能进行研究，就能从根本上寻找出遗传疾病的病因和提出治疗的原则。

随着基因工程技术的发展和应用，一级结构的阐明，不仅为蛋白质人工合成提供了蓝图，也为人工合成基因以及为诊断遗传病合成基因探针等现代技术提供了蓝图。因此，蛋白质一级结构的研究具有重要意义。

二、蛋白质的三维结构

（一）蛋白质分子的构象

天然蛋白质都具有一定的三维结构（空间结构），它决定蛋白质的分子形状、理化特性和生物活性。一旦三维结构受到破坏，蛋白质的功能随之丧失。

蛋白质的三维结构是指蛋白质分子内各原子各基团围绕某些共价键旋转，而形成的各种空间排布及相互关系，蛋白质的这种三维结构又称为构象。构象可分为主链构象和侧链构象，主链构象指多肽链上各原子的排布及相互关系；侧链构象是指各氨基酸侧链基团中原子的排布及彼此关系。主链构象决定侧链基团的排布，侧链构象影响主链构象的卷曲和

折叠，二者相互依存，相互影响。

维持蛋白质分子构象的化学键，主要是一些次级键，也称副键。主要的次级键有氢键、疏水键、盐键、配位键和范德华引力等，如图 2-2 所示。它们的键能小，稳定性较差，但蛋白质分子内次级键数量较多，因此，在维持蛋白质分子的三维结构中仍起决定性作用。构象发生改变时，蛋白质分子中的原子和基团空间位置发生改变，但共价键不被破坏。

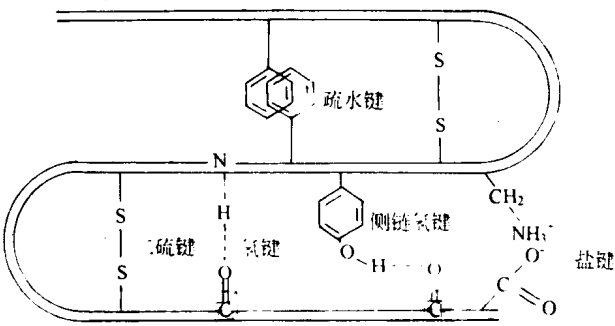


图 2-2 蛋白质分子中次级键示意图

各种蛋白质的分子形状、理化特性和生物学活性，主要取决于蛋白质分子特定构象。一旦空间构象遭破坏，蛋白质功能也随之丧失。

(二) 肽平面

肽键中的 C、O、N、H 四个原子和与它们相邻的两个 α 碳原子（即 $-\text{C}\alpha_1-\text{CO}-\text{NH}-\text{C}\alpha_2-$ 六个原子）都处于同一个平面上，此平面称为肽平面（peptide plane）或酰胺平面（amide plane）如图 2-3。

经 X-射线衍射分析证明，肽平面中肽键键长为 0.132nm ，短于 C-N 单键（ 0.147nm ），而长于 $\text{C}=\text{N}$ 双键（ 0.127nm ），故肽键具有部分双键的性质，不能自由旋转，但肽平面上与 α -碳原子间形成的单键可以自由旋转，这样，肽平面围绕 α -碳原子旋转，就可以牵动多肽链形成各种形式的主链和侧链构象，构成蛋白质的三维结构。因此，肽平面是蛋白质构象的基本结构单位，是蛋白质三维结构的基础，可称为肽单位（peptide unit）。多肽链就是由许多重复的肽单位连接而成。肽键、肽单位和多肽链的结构如图 2-4 所示。

(三) 蛋白质的二级结构

蛋白质的二级结构（secondary structure）是指多肽链主链沿中心轴螺旋盘绕、

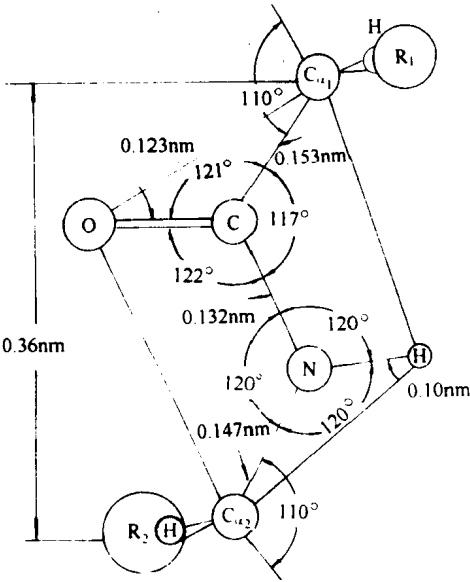


图 2-3 肽键平面示意图

折叠所形成的有规则主链构象。天然蛋白质的二级结构有以下几种基本形式：

1. α -螺旋 (α -helix)

1951 年 Pauling 等人对头发的 α -角蛋白进行 X 线衍射分析研究后提出了 α -螺旋的结构模型。如图 2-5 所示。后来研究发现，这是蛋白质普遍存在的一种二级结构类型。

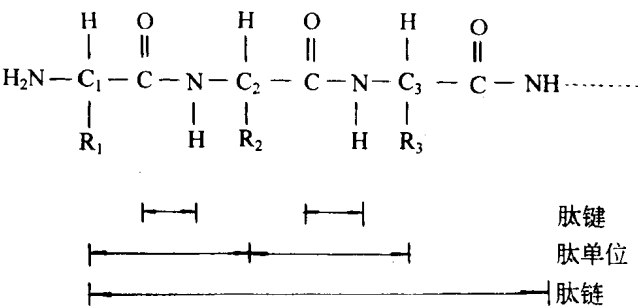


图 2-4 肽键、肽单位、肽链示意图

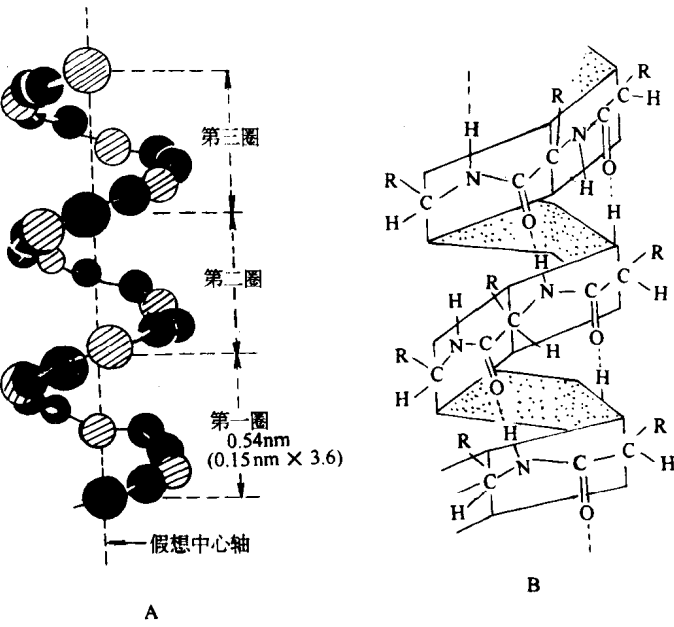


图 2-5 α -螺旋结构示意图

A：黑球代表主链上碳原子，白球代表氮原子；
B：肽键平面示意图

α -螺旋是指蛋白质分子中多个肽平面通过氨基酸的 α -碳原子旋转 沿长轴方向 按一定规律盘绕形成的稳定 α -螺旋构象。其结构特点如下：

(1) 由 L- α -氨基酸构成的多肽链旋转，折叠绝大多数形成稳定的右手螺旋。仅在极个别的蛋白质分子中存在左手螺旋。

(2) α -螺旋一周(旋转 360° 为一周)含 3.6 个氨基酸残基, 每个氨基酸残基高度为 0.15nm, 螺旋上升一圈的高度(螺距)为 0.54nm ($3.6 \times 0.15\text{nm}$)。

(3) 相邻两个螺旋中的氨基酸残基之间形成链内氢键。这些氢键方向大体上与螺旋中心轴相平行。氢键是维持稳定 α -螺旋构象的主要次级键。

(4) 肽链中氨基酸残基的 R 侧链基团均伸向螺旋外侧, 其空间形状、大小及电荷对 α -螺旋的形成和稳定有重要影响。酸性或碱性氨基酸集中的区域, 由于同电相斥, 不利 α -螺旋形成。较大的 R 侧链(如苯丙氨酸、色氨酸、异亮氨酸)集中的区域产生空间位阻, 也妨碍 α -螺旋的形成。脯氨酸是亚氨基酸, 不能参与氢键的形成, 因此也不易形成 α -螺旋。

纤维状蛋白质主要由 α -螺旋组成, 球状蛋白质具有较多的 α -螺旋, 如血红蛋白和肌红蛋白, 有的球状蛋白只含少量 α -螺旋, 如溶菌酶和糜蛋白酶。

2. β -折叠

又称 β -片层结构(β -pleated sheet structure)。蛋白质多肽链主链中肽平面折叠成锯齿状的结构。其结构模型如图 2-6。该结构特点是:

(1) 肽链延伸, 肽平面之间折叠成锯齿状。

(2) 若干条多肽链或一条多肽链迂回, 形成的若干肽段互相靠拢, 平行排列, 通过氢键连接, 氢键与主链互相垂直, 是维持该构象的主要次级键。

(3) 侧链基团较小, 分布在片层的上下。

(4) 相邻排列的两条 β -折叠结构的走向相同时, 称为顺向平行, 反之, 称为逆向平行。

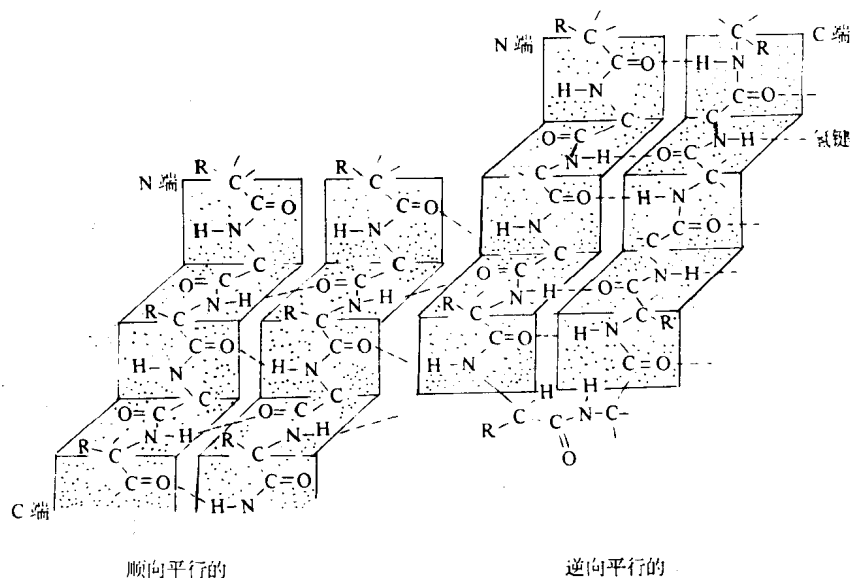


图 2-6 β -片层结构示意图

丝心蛋白具典型的 β -片层结构, 所以蚕丝具有十分柔软的特性。

3. β 转角(β -turn)

蛋白质多肽链形成 180° 回折, 回折角处的构象就是 β -转角, 或称 β -回折, 氢键是维持

该构象稳定的主要次级键。

4. 无规则卷曲

多肽主链没有确定规律的折叠称为无规则卷曲 (random coil)。往往存在于 α -螺旋与 β -片层之间, 或 β -片层与 β -片层之间。

(四) 蛋白质的三级结构

蛋白质的三级结构 (tertiary structure)是指多肽链在二级结构的基础上, 由于氨基酸侧链基团相互作用, 进一步卷曲折迭成似不规则, 但具一定规律的特定构象, 包括主链构象和侧链构象。肽链上各氨基酸残基侧链上的功能基团相互作用生成的各种次级键, 是维持三级结构的主要化学键。如疏水键、盐键、氢键和分子引力, 其中以疏水键数量最多, 对维持蛋白质的三级结构具有重要的作用。有些蛋白质分子中还有二硫键参与稳定三级结构。蛋白质分子的三级结构

见图 2-7 蛋白质在形成三维结构时, 疏水的侧链基团往往避水而居于分子内部, 形成疏水键; 极性的侧链基团则趋向水而暴露或接近于分子的表面。研究证明具有三级结构的蛋白质才具有生物学功能, 三级结构一旦破坏, 蛋白质的生物学功能便可丧失。

(五) 蛋白质的四级结构

蛋白质的四级结构 (quarternary structure)系指由两个或两个以上具有独立三级结构的多肽链借次级键缔合而成的复杂结构, 如图 2-8。

蛋白质分子四级结构中每条具有独立三级结构的多肽链是构成蛋白质的单体, 称为亚基或亚单位 (sub unit)。由相同类型亚基构成的四级结构, 称均一四级结构, 如过氧化氢酶是由四个相同的亚基组成。由不同类型亚基构成的四级结构, 称非均一四级结构。如血红蛋白 (hemoglobin Hb) 分子的四级结构是由 2 个 α -亚基和 2 个 β -亚基构成。四级结构的蛋白质具有复杂的生物功能, 当四级结构的蛋白质解聚成亚基, 蛋白质就不能执行正常功能。一些只具有三级结构, 不具有四级结构的蛋白质, 如胰岛素、免疫球蛋白 G 等。当其三级结构遭受破坏, 它们的生物功能就会丧失。蛋白质分子之间的聚合, 蛋白质与核酸、脂类等的结合, 均不是蛋白质的四级结构, 它们是更为复杂的超分子复合体。蛋白质一、二、三、四级结构示意, 如图 2-9。

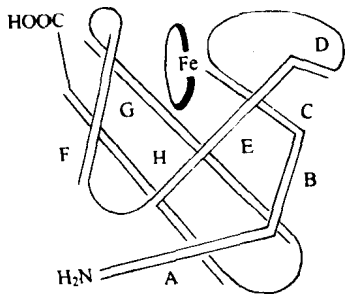


图 2-7 蛋白质分子的三级结构模式图

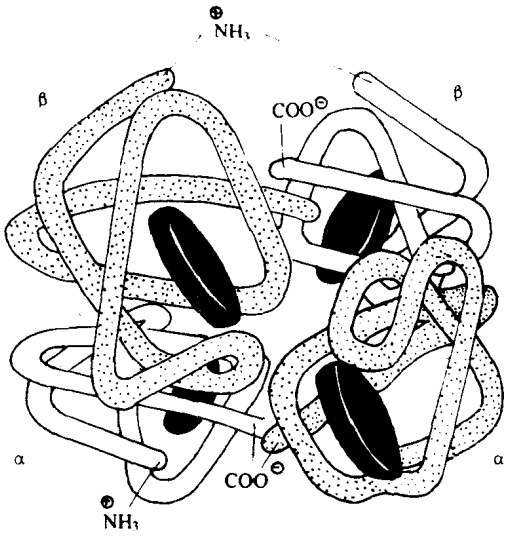


图 2-8 蛋白质分子的四级结构模式图

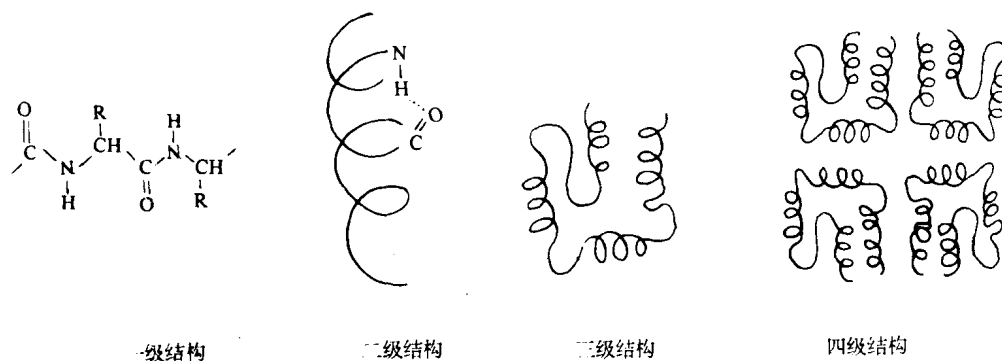


图 2-9 蛋白质一、二、三、四级结构示意图

三、蛋白质结构与功能的关系

蛋白质结构与功能有着密切的关系，研究它们之间的关系，可以从分子水平上去认识各种生命现象，为药物的研制，疾病（如肿瘤、遗传性疾病）的预防和治疗提供重要的理论依据。

（一）蛋白质一级结构与功能的关系

一级结构决定蛋白质的三维结构，而三维结构又与蛋白质的生物功能密切相关。因此，蛋白质一级结构不同，表现出的生物功能各异。例如丝心蛋白和胶原蛋白因其氨基酸组成中甘氨酸含量较高，故不能形成 α -螺旋。又如正常人血红蛋白（HbA）是由两条 α -肽链和两条 β -肽链（共 574 个氨基酸残基）与血红素所组成，四条多肽链通过各种次级键的作用形成四级结构，行使其运输 O_2 和 CO_2 的生理功能。镰刀型贫血症病人的红血球呈镰刀状，易溶血，就是因为其血红蛋白（HbS）分子中有一个氨基酸残基与正常人的 Hb 不同，从而严重地影响了 Hb 与 O_2 结合的能力，致使病人产生贫血。这种由于蛋白质一级结构中个别氨基酸的改变，而导致的机体疾病，称为分子病。

		1	2	3	4	5	6	7	8
HbA	β -链	H_2N -缬氨酸	-组氨酸	-亮氨酸	-苏氨酸	-脯氨酸	-谷氨酸	-谷氨酸	-赖氨酸
HbS	β -链	H_2N -缬氨酸	-组氨酸	-亮氨酸	-苏氨酸	-脯氨酸	-缬氨酸	-谷氨酸	-赖氨酸

不同动物来源的胰岛素，其氨基酸种类和顺序不完全相同，可它们都具有降低血糖的相同功能，其原因是组成不同动物胰岛素的 51 个氨基酸中有 24 个氨基酸残基恒定不变；分子中半胱氨酸残基的数量（6 个）及其排列位置恒定不变，它们在决定胰岛素三维结构中起关键作用，因此它们具有相同的生物功能。如果将这个部位中甘氨酸残基去掉，胰岛素的活性会降低 90% 以上。这在生化制药工业中，为扩大制剂原料来源，制备多种多样的蛋白制剂提供了理论依据。

现已发现有上百种遗传病都源于遗传物质缺失，突变，致使蛋白质一级结构发生改变

所致。

（二）蛋白质的三维结构与功能的关系

蛋白质的三维结构决定其生物学功能。 Anfinsen 用蛋白变性剂尿素和二硫键还原剂 β -巯基乙醇处理核糖核酸酶，由于核糖核酸酶氢键遭到破坏，二硫键断裂，致使其正常三维构象发生改变，酶蛋白变性，生物活性丧失。如果采用透析法除去尿素和 β -巯基乙醇，酶活性几乎恢复到变性前的水平，经测定证明，此时核糖核酸酶的构象已经恢复，说明了三维结构与生物功能之间的直接关系。

蛋白质分子因与某种小分子物质相互作用，致使构象发生轻度改变，生物活性发生显著改变的现象称为蛋白质的别构效应。体内许多酶的别构效应在物质代谢调节中具有十分重要的意义。体内还存在一些无活性的酶原，或其它无活性的蛋白质前体，当它们在某种条件的作用下，形成了特定的三维构象时，它们便具有了生物活性。

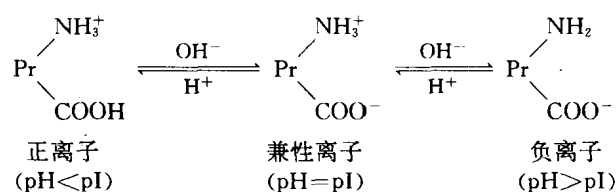
第三节 蛋白质的理化性质

一、蛋白质的两性解离和等电点

（一）蛋白质两性解离

蛋白质同氨基酸一样，都具有两性解离的特性，因此均是两性电解质。蛋白质分子中每条肽链两个末端的自由 α -氨基和 α -羧基可解离出正离子或负离子，其侧链上的不少基团，也可以解离出正离子或负离子，如赖氨酸残基上的氨基，精氨酸残基上的胍基和组氨酸残基上的咪唑基都能解离成正离子基团，谷氨酸残基和天冬氨酸残基上的羧基可解离成负离子基团。因此，蛋白质分子在溶液中所带电荷的数量和性质，既取决于蛋白质分子中酸性氨基酸和碱性氨基酸的相对含量，也受溶液 pH 的影响。溶液 pH 愈低，蛋白质分子带正电荷愈多，负电荷愈少，反之，溶液 pH 愈高，蛋白质分子带负电荷愈多，正电荷愈少。

蛋白质解离成正离子、负离子可简单表示如下：



（二）蛋白质等电点

使蛋白质分子所带正电荷与负电荷相等，即净电荷等于零的溶液 pH 值称为蛋白质的等电点 (isoelectric point, pI)。等电点是蛋白质的特征常数。不同蛋白质的等电点不同，含碱性氨基酸较多的蛋白质，等电点偏碱，如组蛋白、鱼精蛋白等；相反，含酸性氨基酸较多的蛋白质，等电点偏酸，如酪蛋白、胃蛋白酶等。人体绝大部分蛋白质的等电点在 pH5 左右，故在生理情况下 (pH7.4)，大多数蛋白质以负离子形式存在。

蛋白质在等电点时溶解度最小，易从溶液中析出，利用这个特点，既可测定某种蛋白质的等电点，亦可将蛋白质从溶液中沉淀出来。生化制药工业中，常用这个方法分离纯化蛋白类药物。

表 2-2 几种蛋白质的等电点

蛋白质	等电点	蛋白质	等电点
胃蛋白酶	1.0	血红蛋白	6.7
血清清蛋白（人）	4.64	RNA 酶	7.8
α_1 -球蛋白	5.06	胰蛋白酶（牛）	8.0
α_2 -球蛋白	5.06	α -凝乳蛋白酶	8.3
β -球蛋白	5.12	α -凝乳蛋白酶原	9.1
γ -球蛋白	6.85~7.3	核糖核酸酶	9.5
大豆球蛋白	5.0	细胞色素 C	10.7
胰岛素（牛）	5.3	溶菌酶	11.0

电泳（electrophoresis）是带电离子在电场中向电性相反的电极移动的现象。带电离子在电场中移动的速度主要取决于带电粒子所带净电荷的数量。不同的蛋白质在偏离其等电点的溶液中，会带上不同的电荷，在电场中也会发生移动，其移动的速度由蛋白质分子中所含电荷性质、数量以及分子大小形状所决定，利用这个原理，通过电泳的方法。可以对蛋白质进行分离、纯化和鉴定。

二、蛋白质的高分子性质

蛋白质是高分子化合物，其分子量在一万到数十万，最大者可达数千万，直径在 1nm ~100nm，属胶体颗粒范围，所以蛋白质是胶体物质。

蛋白质是亲水胶体，蛋白质分子表面有不少亲水基团，能与水产生水合作用，水分子受蛋白质极性基团影响，定向排列在蛋白质分子的周围，形成较厚的水化层，将蛋白质颗粒分开，不致相聚而沉淀。在偏离等电点的溶液中，蛋白质分子表面带上电荷，形成电荷层，因同种电荷相斥，防止了蛋白质颗粒相聚而沉淀。所以蛋白质易溶于水，是稳定的亲水胶体。蛋白质表面的水化层和电荷层是维持蛋白质亲水胶体稳定的两个主要因素，一旦稳定因素遭到破坏，蛋白质则因分子间引力增加而聚集沉淀，如图 2-10。

蛋白质胶体颗粒不易透过半透膜，故可通过透析的方法，将蛋白质与小分子物质分离，而使蛋白质纯化。最简单的透析装置是将蛋白质溶液放入半透膜做成的袋内，然后将袋浸于蒸馏水或适宜的缓冲液中，小分子物质即从袋中透出，大颗粒的蛋白质保留在袋中，这种透析的方法，是纯化蛋白质的方法之一。

蛋白质分子不易透过半透膜的性质，决定了它在维持生物体内渗透压平衡中起着重要的作用。

蛋白质分子在一定溶剂中，经超速离心，可以发生沉降。单位力场中的沉降速度即为