

第一章 绪 论

生物化学是研究生命化学本质的科学，它主要研究生物体的分子结构与功能、物质代谢与调节，并探讨生命的本质及其活动规律。生物化学的研究主要采用化学的原理和方法，但也吸收、借鉴其他学科的理论与技术，并与包括生理学、细胞学、遗传学等在内的其他学科有着广泛的联系与交融。生物化学与分子生物学是两个密切相关的学科，分子生物学研究生物大分子结构、功能及其代谢调控。因此，从广义的角度来看，分子生物学是生物化学的重要组成部分。他们作为生命科学的重要成员，已经成为生命科学领域的前沿学科。

第一节 生物化学发展简史

生物化学是一门既古老又年轻的学科，它有着悠久的发展历史，其研究起始于 18 世纪，但作为一门独立的学科是在 20 世纪初期。

18 世纪中叶至 20 世纪初是生物化学发展的初期阶段，主要研究生物体的化学组成。其间重要贡献有：对脂类、糖类及氨基酸的性质进行了较为系统的研究；体外人工合成尿素；发现了核酸；明确了催化剂的概念；完成无细胞发酵作用，奠定了酶学的基础等。

进入 20 世纪，生物化学得到了蓬勃的发展。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；在内分泌学方面，发现了多种激素，并将其分离、合成；在酶学方面，酶结晶获得成功；在物质代谢方面，利用化学分析及同位素示踪技术，基本确定了生物体内主要物质的代谢途径，包括糖酵解的酶促反应过程、脂肪酸 β 氧化、氧化磷酸化、尿素合成途径及三羧酸循环等。

20 世纪 50 年代以来，生物化学全面进入生物分子时代，其主要标志是 1953 年 J.D.Watson 和 F.H.Crick 提出 DNA 双螺旋结构模型，并揭示了遗传信息传递的基本规律。这一阶段，生物大分子成为研究的焦点。例如：胰岛素的氨基酸全序列分析；核酸和蛋白质的三维空间结构研究；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研究；提出了遗传信息传递的中心法则，破译了 RNA 分子中的遗传密码等。这些成果深化了人们对核酸与蛋白质的关系及其在生命活动中作用的认识。70 年代，重组 DNA 技术的建立不仅促进了对基因表达调控机制的研究，而且使人们主动改造生物体成为可能。由此，相继获得了多种基因工程的产品，大大推动了医药工业和农业的发展。转基因动植物和基因敲除的成功是重组 DNA 技术发展的结果。80 年代，核酶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。这些成果都是生物化学与分子生物学领域的重大事件。

1990 年开始实施的人类基因组计划是生命科学领域有史以来最庞大的全球性研究计

划已基本确定了人基因组的全部序列以及人类约4万个基因的一级结构。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。这些研究结果必将进一步加深人们对生命本质的认识,也会极大地推动生命科学的发展。近20年来,几乎每年的诺贝尔医学和生理学奖以及一些诺贝尔化学奖都授予了从事生物化学和分子生物学的科学家。这个事实本身就足以说明生物化学和分子生物学在生命科学中的重要地位和作用。

我国对生物化学的发展做出了重大贡献。我国古代劳动人民早在公元前已能酿酒,在公元7世纪的《食疗本草》中就已记载了运用营养知识治疗疾病的原理。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、血糖测定和蛋白质变性方面均做出了突出贡献。新中国成立后,我国生物化学迅速发展,1965年,我国首先采用人工方法合成了具有生物学活性的牛胰岛素,由于种种原因,这一重大发现与诺贝尔奖擦肩而过。1981年,又成功地合成了酵母丙氨酸tRNA。2002年4月,世界著名的《科学》杂志发表了我国科学家独立绘制的水稻基因组工作框架图,使人类第一次在基因组层面“认识”水稻,这一消息在国际科学界引起强烈反响,它标志着我国已进入世界生物学研究的前沿。

第二节 生物化学研究的主要内容

一、生物分子的结构与功能

生物化学重点研究生物大分子。所谓生物大分子,是由某些基本结构单位按一定顺序和方式连接所形成的多聚体,分子质量一般大于10 000。蛋白质、核酸和聚糖等是大分子的典型代表。生物大分子的重要特征之一是具有信息功能,由此也称之为生物信息分子。

由于分子较大,结构复杂,因此常将其分成多个层次研究。其中一级结构是基本结构,它包括组成单位的种类、排列顺序和排列方式。空间结构及其与功能的关系则是结构与功能研究的重点。结构是功能的基础,而功能则是结构的体现。生物大分子的功能还体现在分子之间的相互识别和相互作用。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。可见,分子结构、分子识别和分子之间的相互作用是分子结构、功能研究的重要方面。这一领域是当今生物化学研究的热点之一。

二、物质的代谢及其调节

新陈代谢是生命的基本特征。生物体通过与外环境进行物质与能量交换以维持其内环境的相对稳定。据估计,一个人(以60岁计算)在一生中与环境进行的物质交换,约相当于60 000 kg水、10 000 kg糖类、600 kg蛋白质以及1 000 kg脂类。目前对生物体内的主要物质代谢途径虽已基本清楚。但仍有众多的问题有待进一步探讨。此外,细胞信息传递与多种物质代谢及其相关的生长、增殖、分化等生命过程的关系与调控机制都

是现代生物化学研究的重要课题。

三、基因信息的传递及其调控

基因信息传递涉及到遗传、变异、生长、分化等诸多生命过程，也与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更显重要。早已确定，DNA 是遗传的主要物质基础，中心法则是遗传信息传递的基本规律。基因研究从早期的单个基因到后来的基因组研究，并发展到后基因组、蛋白质组研究。深入研究基因信息传递过程及基因表达调控规律，以及复杂生命现象之间的作用规律将有力地推动生命科学领域的研究与发展。

第三节 生物化学与其他学科的关系

生物化学与分子生物学被看成是一对姊妹学科，她们携手把生命科学带入 21 世纪，成为生命科学的带头学科。尽管很难明确的划分，但一般认为，分子生物学倾向于研究生物大分子和生物膜的结构、性质、功能及其相互关系，并以此来阐明生命过程的一些基本问题，如生物进化、遗传变异、细胞增殖分化、个体发育和衰老死亡等问题。生物化学则偏重于研究上述问题的化学基础和化学变化，由此可见两者实际密不可分。

遗传规律决定生命活动基本方式，遗传学的研究与分子生物学和生物化学有着密切关系。遗传物质（核酸）的复制、转录 / 表达、调控及其与生命活动的关系研究需要将生物化学与遗传学知识相结合，分子遗传学正是这种结合的产物。

生物工程是在生物化学与分子生物学基础上发展起来的新兴技术学科，包括基因工程、酶工程、蛋白质工程、细胞工程、发酵工程和生化工程。利用基因工程技术可使人们按照自己的意愿设计新的物种、新的品系和新的性状，结合发酵和生化工程的原理和技术，生产出期望的生物产品。目前，许多基因工程产品已经问世，胰岛素、干扰素、生长素、肝炎疫苗等珍贵药物已能大量生产，转基因动植物的研究也取得了很大发展，这些成果充分展示了生物技术无可限量的应用前景，也反过来极大促进了生物化学与分子生物学的研究与发展。

生物化学与医学的发展密切相关，并相互促进。近年来，生物化学已渗透到医学科学的各个领域。使各基础医学的研究均深入到分子水平，并相继产生了分子免疫学、分子遗传学、分子药理学、分子病理学等新学科。同样，生物化学与临床医学的关系也很密切，其迅速发展，大大加深了人们对恶性肿瘤、心血管疾病等重大疾病本质的认识，出现了新的诊治方法。随着疾病相关基因克隆、基因诊断、基因治疗等研究的深入，将会使新世纪的医学产生新的突破。

（刘志国）

第二章 蛋白质的结构与功能

蛋白质一词来源于希腊文 Proteuo 意为“首要地位”。它最早由 Berzelius 提出，1838 年正式引入教科书中。说它首要是因为蛋白质在生物体内的重要性。因为生命现象总是和特定的蛋白质相关，没有蛋白质就没有生命。蛋白质是生物体含量最丰富的生物大分子，约占人体固体成分的 45%，且分布于几乎所有生物的细胞、组织。蛋白质也是机体的功能分子。它参与机体的一切生理活动，在体内发挥着重要作用。如酶的催化作用；多肽类激素的调节功能；血中蛋白质的运输功能；肌动蛋白和肌球蛋白的收缩运动功能；抗体、补体的免疫防御功能；凝血因子的凝血功能；膜蛋白、受体的物质运输及信息传递功能；组蛋白、酸性蛋白等的基因表达调控功能，以及与思维、记忆、情感等相关的心理活动过程，无一不是通过蛋白质来实现的。所以蛋白质是生命的物质基础。

第一节 蛋白质的分子组成

一、蛋白质的元素组成

组成蛋白质的元素除含有碳、氢、氧外都含有氮。有些蛋白质还含有少量硫、磷、铁、锰、锌、铜、碘等。

大多数蛋白质含氮量比较接近，平均为 16%，这是蛋白质元素组成的一个特点。由于蛋白质是体内的主要含氮物，因此通过测定生物样品的含氮量就能大致推算出蛋白质的含量，其计算公式为：

每 100g 样品中蛋白质含量 (g) = 每克样品中含氮量 (g) $\times 6.25 \times 100$

二、蛋白质的基本结构单位——氨基酸

氨基酸 (AA) 是组成蛋白质的基本单位。自然界已发现 300 余种氨基酸，但组成蛋白质的氨基酸仅有 20 种左右。这些构成蛋白质的氨基酸，结构上有一个共同特点，即在连接羧基的 α 碳原子上还有一个氨基，故称 α -氨基酸。

(一) 氨基酸的结构

组成蛋白质的 20 种氨基酸，除甘氨酸外，其他氨基酸的 α 碳原子 (C_α) 均属不对称碳原子，其与 C_α 碳原子连接的基团各不相同，形成特定的构型，构型分为两种，即 L-型和 D-型。这种构型是以甘油醛的构型为基础确定的。凡与 L-甘油醛构型相同的，均属于 L-型氨基酸；与 D-甘油醛相同，则为 D-氨基酸，如图 2-1 所示。

由图 2-1 可见，连接在 $-\text{COO}^-$ 上的碳即为 α -碳原子 (C_α)，不同氨基酸的侧链不同，但均属 L- α -氨基酸 (甘氨酸除外)。侧链的不同对蛋白质空间结构和理化性质有重要影响。

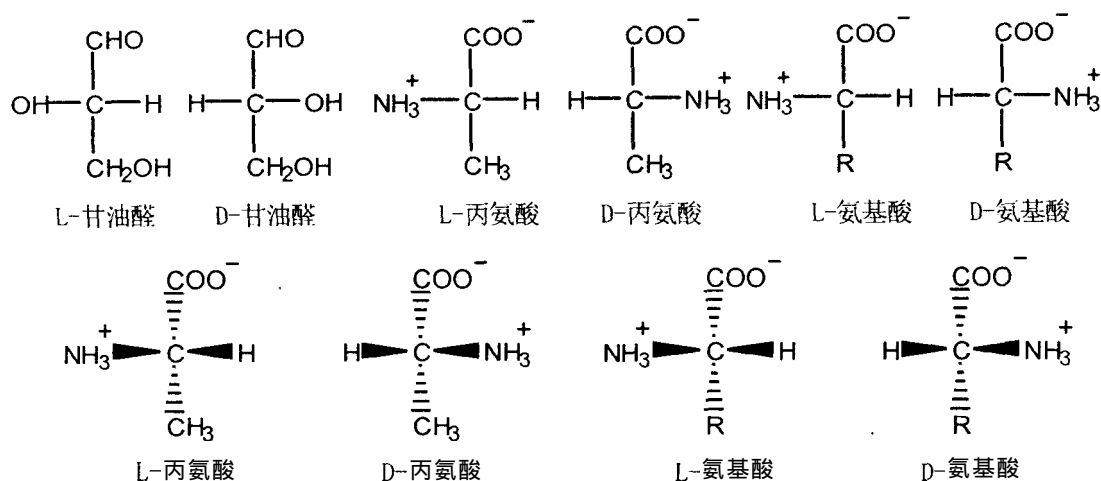


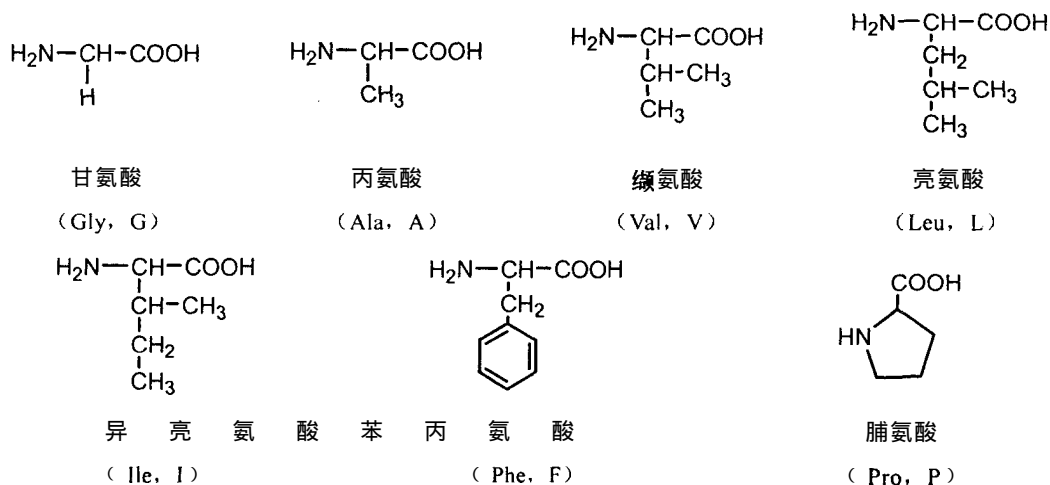
图 2-1 氨基酸的构型

(二) 氨基酸的分类

根据氨基酸侧链 R 基团的结构和性质，可将 20 种氨基酸分成四类。

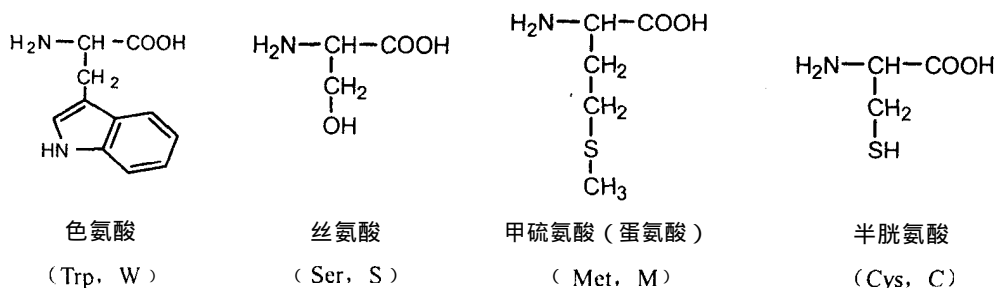
1. 非极性氨基酸

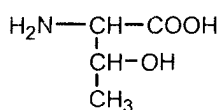
这类氨基酸的特征是在水中的溶解度小于极性氨基酸。



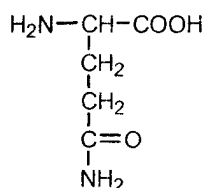
2. 极性中性氨基酸

极性中性氨基酸的 R 基团有极性但不能解离，易溶于水。

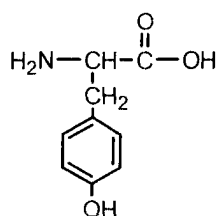




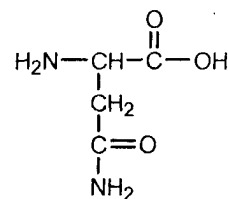
苏氨酸
(Thr, T)



谷氨酰胺
(Gln, Q)



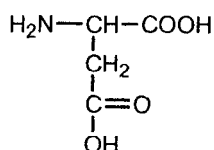
酪氨酸
(Tyr, Y)



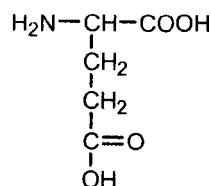
天冬酰胺
(Asn, N)

3. 酸性氨基酸

酸性氨基酸有两种，其 R 基团含羧基，在 pH 为 7 时，羧基解离而使分子带负电荷。有谷氨酸和天冬氨酸。



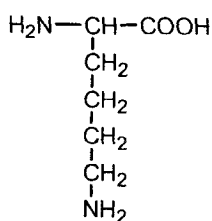
天冬氨酸
(Asp, D)



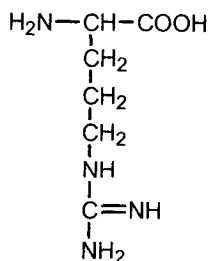
谷氨酸
(Glu, E)

4. 碱性氨基酸

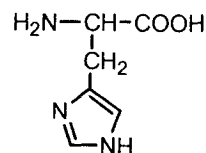
碱性氨基酸有三种，其 R 基团含碱性基团，这些基团可质子化而使分子带正电荷。有赖氨酸，精氨酸和组氨酸。



赖氨酸
(Lys, K)



精氨酸
(Arg, R)



组氨酸
(His, H)

20 种氨基酸中脯氨酸和半胱氨酸结构较为特殊。脯氨酸应属亚氨基酸，但其亚氨基仍能与另一羧基形成肽键。脯氨酸在蛋白质合成加工时可被修饰成羟脯氨酸。此外，2 个半胱氨酸通过脱氢后形成二硫键，生成胱氨酸，如图 2-2 所示。

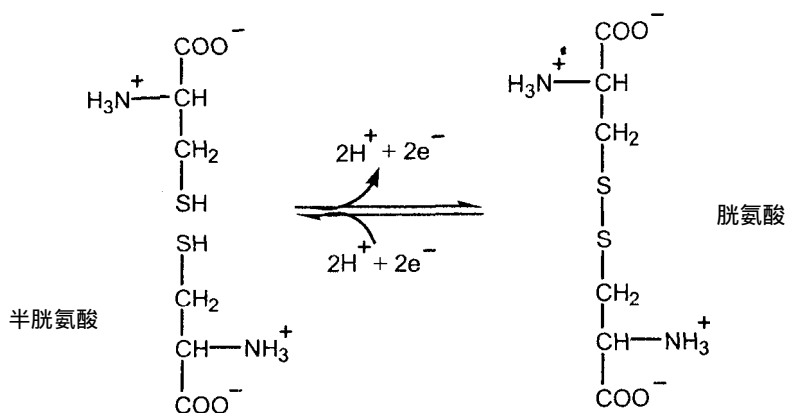


图2-2 胱氨酸和二硫键

(三) 氨基酸的重要理化性质

1. 一般物理性质

α -氨基酸为无色晶体，熔点极高，一般在 200 以上。在水中的溶解度差别很大，并能溶解于稀酸或稀碱中，但不溶于有机溶剂。通常用乙醇可以把氨基酸从其溶液中沉淀析出。氨基酸有些味苦、有些味甜、有些无味，谷氨酸的单钠盐有鲜味，是味精的主要成分。

2. 氨基酸的光学性质

从 α -氨基酸的结构通式可以看出，除甘氨酸外，其他 α -氨基酸中的 α -碳原子是不对称碳原子，因此有立体异构体。虽然从蛋白质的水解得到的 α -氨基酸，都属于 L-型，但是在生物体内特别是细菌中 D-型氨基酸还是广泛地存在，如细菌的细胞壁和某些抗菌素中都含有 D-型氨基酸。

由于不对称碳原子的存在，使得氨基酸具有旋光性。旋光性物质在化学反应过程中，只要其不对称原子经过对称状态的中间阶段，即可发生消旋现象并转变为 D-型和 L-型的等当量混合物，称消旋物。蛋白质与碱共热进行水解时，或用一般的有机合成方法人工合成氨基酸时，得到的氨基酸都是无旋光性的 dl-消旋物。

氨基酸的旋光方向和旋光度大小取决于它的侧链基团性质，并且与测定时的溶液 pH 有关，这是因为在不同的 pH 条件下氨基酸及其基团的解离状态不同。

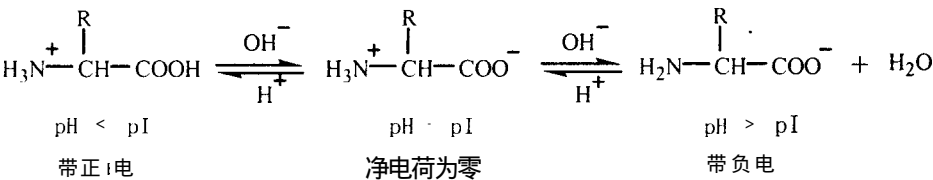
20 种蛋白质氨基酸在可见光区域都无光吸收，在近紫外 (220~300 nm) 区，侧链基团含有芳香环共轭双键系统的色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸具有光吸收能力。其最大吸收分别在 279、278 nm 和 259 nm 波长处。蛋白质由于含有这些氨基酸，一般最大吸收在 280 nm 波长处，因此可以利用分光光度法方便地测定蛋白质的含量。

3. 两性解离与等电点

过去认为，氨基酸在水溶液中是以中性分子的形式存在。后来许多实验事实否定了这种看法。大量实验证明，水溶液中氨基酸分子主要以两性离子或称兼性离子形式存在，不带电荷的中性分子为数极少。所谓两性离子是指在同一种氨基酸分子中带有能放出质子的一 NH_3^+ 正离子和能接受质子的一 COO^- 负离子，是两性电解质。

溶液中的氨基酸，其正负离子都能解离，但解离度与溶液的 pH 有关，向氨基酸溶液

中加酸时，其 COO^- 负离子接受质子，使氨基酸带正电荷，在电场中向阴极移动。加入碱时，其 NH_3^+ 正离子解离放出质子（与 OH^- 结合成水）氨基酸自身成为负离子，在电场中向阳极移动。当调节氨基酸溶液的 pH，使氨基酸分子上的 NH_3^+ 和 COO^- 的解离度完全相等时，即氨基酸所带净电荷为零，在电场中既不向阴极也不向阳极移动，此时溶液的 pH 称为该氨基酸的等电点，以符号 pI 表示。上述过程如下式所示：

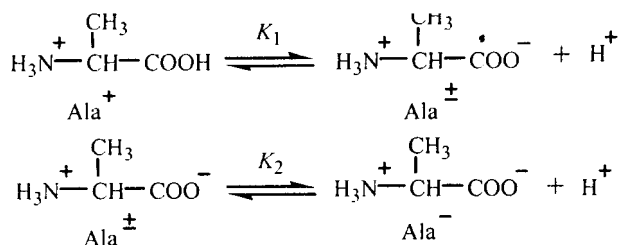


由于静电作用，在等电点时，氨基酸的溶解度最小，容易沉淀。利用这一性质可以分离制备某些氨基酸。

表 2-1 各种氨基酸在 25℃ 时的 pK 和 pI 的近似值

氨基酸名称	pK ₁ (α-COOH)	pK ₂	pK ₃ (R)	pI
甘氨酸	2.34	9.60		5.97
丙氨酸	2.34	9.69		6.02
缬氨酸	2.32	9.62		5.97
亮氨酸	2.36	9.60		5.98
异亮氨酸	2.36	9.68		6.02
丝氨酸	2.21	9.15		5.68
苏氨酸	2.71	9.62		6.18
天冬氨酸	1.88	3.65(β-COO ⁻)	9.60	2.77
天冬酰胺	2.02	8.80		5.41
谷氨酸	2.19	4.25(γ-COO ⁻)	9.67	3.22
谷氨酰胺	2.17	9.13		5.65
精氨酸	2.17	9.04	12.48(胍基)	10.76
赖氨酸	2.18	8.95	10.53(ε-NH ₃ ⁺)	9.74
组氨酸	1.82	6.00(咪唑基)	9.17	7.59
半胱氨酸 (30℃)	1.96	8.18(SH)	10.28	5.07
甲硫氨酸	2.28	9.21		5.74
苯丙氨酸	1.83	9.13		5.48
酪氨酸	2.20	9.11	10.07(OH)	5.66
色氨酸	2.38	9.39		5.89
脯氨酸	1.99	10.60		6.30

氨基酸的等电点可用酸碱滴定方法测定，也可通过氨基酸的可离解基团的 pK 计算（表 2-1）。现分别以丙氨酸、天冬氨酸和赖氨酸为例，介绍 pI 的计算。当丙氨酸全部质子化时，可以看做是一种二元酸。它分步解离如下：



根据质量作用定律得：

$$K_1 = \frac{[\text{Ala}^\pm][\text{H}^+]}{[\text{Ala}^+]}, \quad [\text{Ala}^+] = \frac{[\text{Ala}^\pm][\text{H}^+]}{K_1}$$

$$K_2 = \frac{[\text{Ala}^-][\text{H}^+]}{[\text{Ala}^\pm]}, \quad [\text{Ala}^-] = \frac{[\text{Ala}^\pm]K_2}{[\text{H}^+]}$$

K_1 、 K_2 为解离常数。因为等电点时净电荷为零，则 $[\text{Ala}^+] = [\text{Ala}^-]$ 。

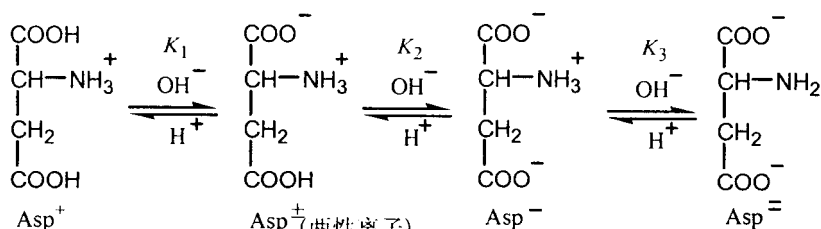
$$\text{所以, } \frac{[\text{Ala}^\pm][\text{H}^+]}{K_1} = \frac{[\text{Ala}^\pm]K_2}{[\text{H}^+]}, \text{ 即 } K_1 \times K_2 = [\text{H}^+]^2$$

方程两边取负对数， $-\lg[\text{H}^+]^2 = -\lg K_1 - \lg K_2$,

因为： $-\lg[\text{H}^+] = \text{pH}$ ， $-\lg K_1 = \text{p}K_1$ ， $-\lg K_2 = \text{p}K_2$ ，所以： $2\text{pH} = \text{p}K_1 + \text{p}K_2$ ，即 $\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2}$

从表 2-2 中查得丙氨酸的 $\text{p}K_1$ 和 $\text{p}K_2$ ，即可计算出其 $\text{pI} = (2.34 + 9.69) / 2 = 6.02$ 。由此可见，氨基酸的等电点 pI 相当于其两性离子状态两侧的基团 $\text{p}K$ 之和的一半。

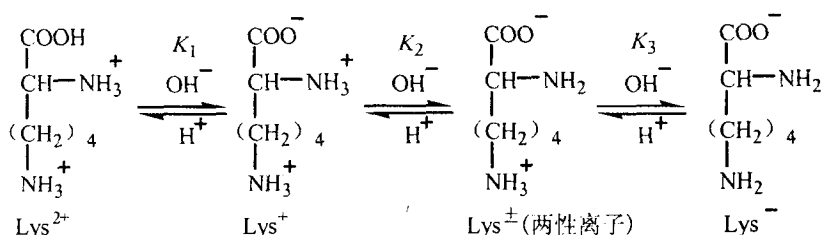
对于侧链有离解基团的氨基酸，其 pI 的计算，则分别以天冬氨酸和赖氨酸为例来说明。天冬氨酸的解离方程如下：



上述解离方程中，等电点两侧的 $\text{p}K$ 分别为 $\text{p}K_1$ 和 $\text{p}K_2$ ，因此，

$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_2}{2} = \frac{1.88 + 3.65}{2} = 2.77$$

赖氨酸的解离方程为：



赖氨酸的等电点为：

$$pI = \frac{pK_2 + pK_3}{2} = \frac{8.95 + 10.53}{2} = 9.74$$

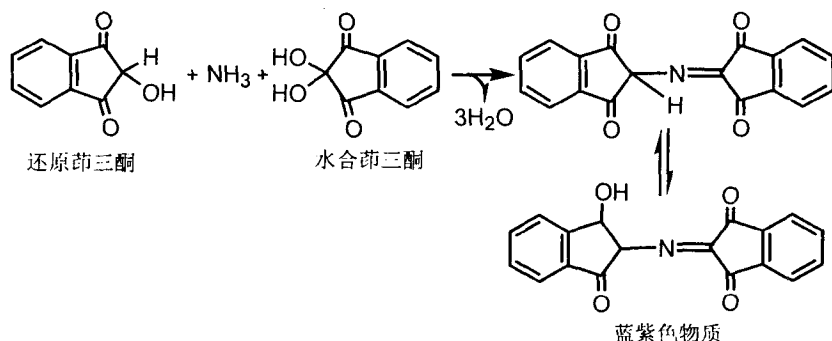
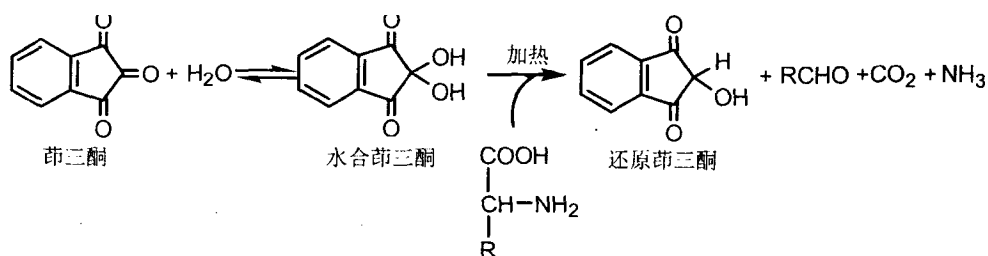
上述三个氨基酸作为代表，其他氨基酸 pI 的计算与上一致。

4. 氨基酸的化学性质

氨基酸的化学反应是指它的 α -氨基和 α -羧基以及侧链上的官能团所参与的那些反应。

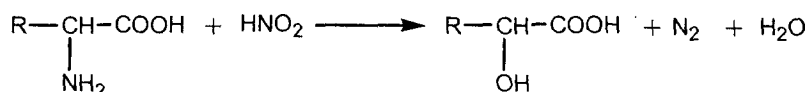
下面我们着重讨论在蛋白质化学中具有重要意义的氨基酸的化学反应。

(1) 与茚三酮的反应在氨基酸的分析化学中，具有特殊意义的是氨基酸与茚三酮的反应。茚三酮在微酸性溶液中与氨基酸加热，发生下列氧化、脱氨、脱羧作用：



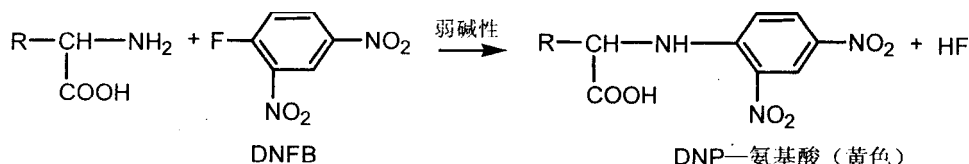
在第二步反应中，茚三酮与反应产物——氨和还原茚三酮发生作用而生成紫色化合物。两个亚氨基酸——脯氨酸羟脯氨酸与茚三酮反应形成黄色化合物。利用这个颜色反应可以作为氨基酸的比色测定方法。在用纸层析或柱层析把各种氨基酸分开后，利用茚三酮显色可以定性或定量地测定各种氨基酸。

(2) 与亚硝酸的反应氨基酸与亚硝酸的作用和伯胺的反应相同。

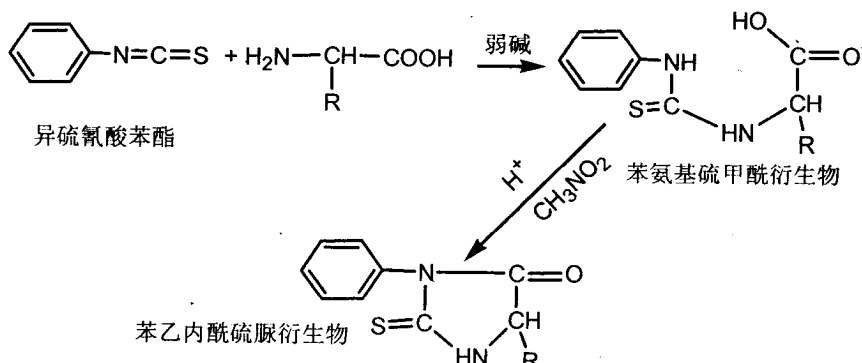


氨基酸在室温下与亚硝酸作用，很快生成氮气。在标准条件下测定生成氮气的体积，即可计算氨基酸的量，这是文司莱克法测定氨基酸的基础。

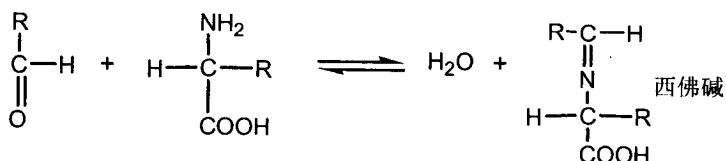
(3) 与 2, 4-二硝基氟苯 (DNFB) 的反应 氨基酸中的 α -氨基与 2, 4-二硝基氟苯在弱碱性溶液中作用生成二硝基苯基氨基酸。这个反应首先被英国的 Sanger 用来鉴定多肽或蛋白质的末端氨基，曾经广泛地应用于测定多肽或蛋白质中氨基酸的排列顺序。



(4) 与异硫氰酸苯酯的反应 α -氨基另一个重要的反应是与异硫氰酸苯酯在弱碱性条件下形成相应的苯氨基硫甲酰衍生物。后者在硝基甲烷中与酸作用发生环化，生成相应的苯乙内酰硫脲衍生物。这些衍生物是无色的 可用层析法加以分离鉴定。这个反应首先为 Edman 用来鉴定多肽或蛋白质的 N-末端氨基酸，在多肽或蛋白质中的氨基酸顺序分析方面占有重要地位。

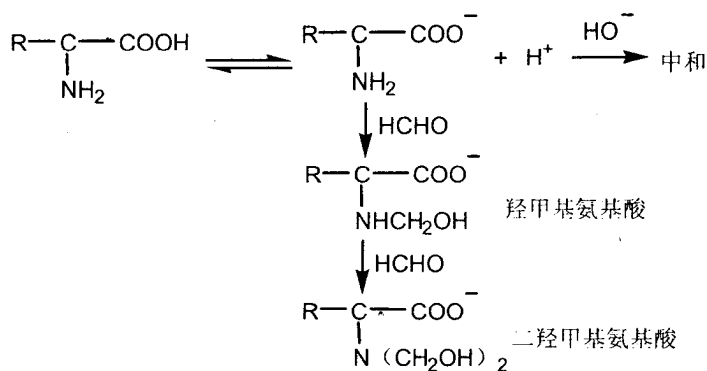


(5) 与醛类化合物反应生成西佛碱 西佛碱是以氨基酸为底物的某些酶促反应中的中间物。



(6) 与甲醛的反应 氨基酸的氨基可与甲醛反应生成羟甲基氨基酸和二羟甲基氨基酸，使氨基酸分子的一 NH_3^+ 解离释放出 H^+ ，而使溶液的酸度增加，可用 NaOH 滴定。

由滴定所用的 NaOH 量就可计算出氨基酸中氨基的含量，即氨基酸的含量。这被称为甲醛滴定法。蛋白质水解时，放出游离氨基，蛋白质合成时游离氨基减少，故可用此法测定游离氨基量，常用于判断蛋白质水解或合成的程度。



三、肽

(一) 肽的命名及结构

两分子氨基酸之间是通过肽键相连的。在蛋白质分子中，一分子氨基酸的 α -羧基与另一分子氨基酸的 α -氨基脱水生成的键称为肽键，如图 2-3 所示。肽键是蛋白质分子中基本的化学键。由两个氨基酸以肽键相连形成的肽称为二肽。二肽还可通过肽键与另一分子氨基酸相连生成三肽，并可继续反应，依次生成四肽、五肽以至多肽。习惯上，将 10 个以内氨基酸通过肽键相连生成的肽称为寡肽，10 个以上氨基酸连接生成的肽称为多肽。多肽呈链状结构，故称多肽链。多肽链中的氨基酸分子因脱水缩合而基团不全，故称为氨基酸残基。多肽链中组成肽键的 4 个原子和两侧的 α -碳原子构成多肽链的骨架或主链，余下的 R 基团部分，称为侧链。多肽链的一端有自由氨基称为氨基末端或 N-端，一般规定书写于左侧；另一端有自由羧基称为羧基末端或 C-端（书写于右侧）。

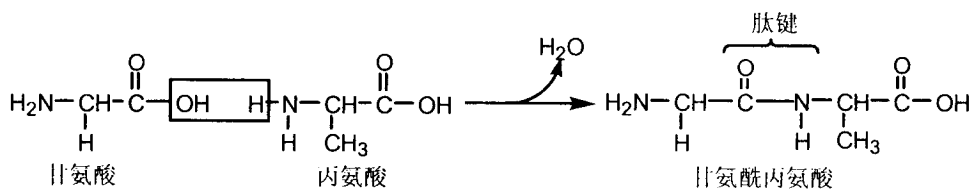


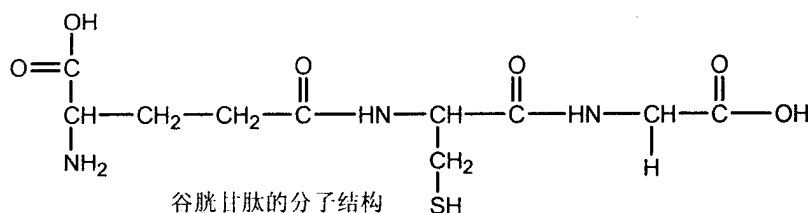
图 2-3 肽键和肽链

(二) 活性肽

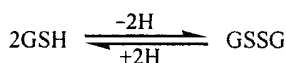
有一些肽在生物体内具有特殊功能，被称为活性肽。激素肽或神经肽都是常见的活性肽，它们广泛分布于整个生物界。作为主要的化学信使，它们在沟通细胞内部、细胞与细胞之间以及器官与器官之间的信息方面起着重要作用。近年来广泛开展了活性肽的研究。现在已经知道，生物的生长发育、细胞分化、大脑活动、肿瘤病变、免疫防御、生殖控制、抗衰老、生物钟规律及分子进化等均涉及到活性肽。肽的种类繁多，现选择介绍如下：

1. 谷胱甘肽

谷胱甘肽是存在于动植物和微生物细胞中的一个重要的三肽，简称 GSH，它由谷氨酸、半胱氨酸、甘氨酸组成。分子中有一个特殊的 γ 肽键，是由谷氨酸的 γ 羧基与半胱氨酸的 α -氨基缩合而成，显然这与蛋白质分子中的肽键不同。结构如下：



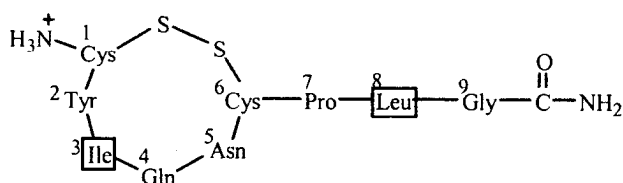
由于 GSH 中含有 1 个活泼的巯基，很容易氧化，2 分子 GSH 脱氢以二硫键相连成氧化型的谷胱甘肽（GSSG）。



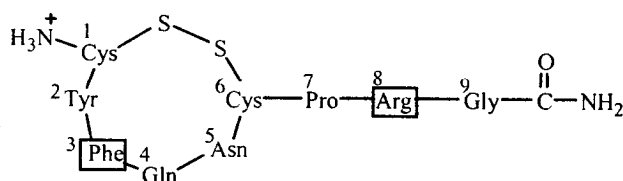
谷胱甘肽是某些酶的辅酶，在体内氧化还原过程中起重要作用。

2. 催产素和升压素

两者都是在下丘脑的神经细胞中合成的多肽激素，合成后与神经垂体运载蛋白相结合，经轴突运输到神经垂体，再释放到血液中。它们都是九肽，在它们的分子中都有环状结构。催产素的化学结构简式如下：



升压素的结构与催产素十分相近，仅第 3 位、第 8 位的两个氨基酸不同，它的化学结构简式如下：



催产素和升压素虽然结构相似，但由于有两个氨基酸不同（注意方框中氨基酸），所以两者在生理功能上有所不同。前者使子宫和乳腺平滑肌收缩，具有催产及使乳腺排乳作用，而后者则是促进血管平滑肌收缩，从而升高血压，并有减少排尿的作用，所以也称抗利尿激素。

近年来有资料指出升压素还参与记忆过程，并且还根据实验提出升压素分子的环状部分参与学习记忆的巩固过程，分子的直线部分则参与记忆的恢复过程。催产素对行为的影响正好与升压素相反，是促进遗忘的。

3. 脑肽

脑肽的种类也是很多的，其中脑啡肽是近年来在高等动物脑中发现的比吗啡更有镇痛作用的活性肽，1975 年底有人将其结构搞清，并从猪脑中分离出两种类型脑啡肽，一种的 C 端氨基酸残基为甲硫氨酸称 Met-脑啡肽，另一种的 C 端氨基酸残基为亮氨酸，称

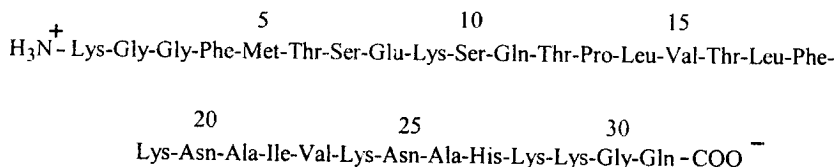
Leu-脑啡肽，它们都是 5 肽，其结构如下：

甲硫氨酸型 (Met-脑啡肽): $\text{H} \cdot \text{Tyr} \cdot \text{Gly} \cdot \text{Gly} \cdot \text{Phe} \cdot \text{Met} \cdot \text{OH}$

亮氨酸型 (Leu-脑啡肽): $\text{H} \cdot \text{Tyr} \cdot \text{Gly} \cdot \text{Gly} \cdot \text{Phe} \cdot \text{Leu} \cdot \text{OH}$

由于脑啡肽一类物质是高等动物脑组织中原来就有的，所以如果能合成出来，这必然是一类既有镇痛作用而又不会像吗啡那样使病人上瘾的药物，中国科学院上海生化所于1982年5月利用蛋白质工程技术成功地合成了亮氨酸-脑啡肽，不仅在应用方面而且在理论上都有重要意义，它为分子神经生物学的研究开拓了思路，从而可以在分子基础上阐明大脑的活动。

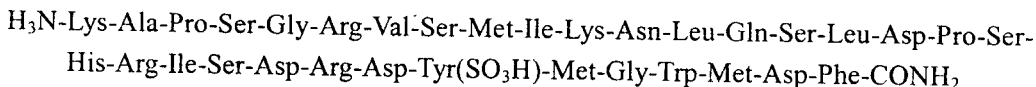
1975 年有人从猪脑中分离出一种三十一肽的具有较强的吗啡样活性与镇痛作用的 β -内啡肽。一级结构如下：



人类的 β -内啡肽第 23, 27 位分别为 Val、His, 而 31 位是 Gln。 β -内啡肽降解产物: 第 1~17 位的片段称为 γ -内啡肽, 无鸦片样活性也无镇痛作用, 但显示出行为效应, 具有抗精神分裂症的疗效。

4. 胆囊收缩素

消化管实际上是体内最大而又复杂的内分泌器官。它分泌一系列与消化机能相适应的活性肽，例如：肠上段黏膜分泌胃泌素，促进胃酸分泌。十二指肠、空肠分泌肠促胰泌素，可刺激胰脏分泌 HCO_3^- ，增强十二指肠对胆囊收缩素的分泌。回肠和结肠分泌肠高血糖素，以滋养肠细胞。胆囊收缩素是一种由 33 个氨基酸组成的肽，结构如下：



5. 其他活性肤

在功能性食品研究中发现有多种食物蛋白质水解产生的肽类物质具有明显的生物活性，被称为功能性活性肽。通常根据其原料来源分为：乳肽、大豆肽、玉米肽、豌豆肽卵白肽、畜产肽、水产肽和复合肽等，他们在调节人体代谢、促进免疫、促进消化吸收、抗菌、抗病毒、降血压等方面具有广泛作用，目前已成为功能性食品研究的热点之一。

第二节 蛋白质的分子结构

蛋白质分子是由 20 种左右的氨基酸借肽键连接形成的生物大分子。 每种蛋白质都有自己的氨基酸组成及排列顺序，同时具有特定的空间结构。 这些特性构成了蛋白质独特生理功能的结构基础。理论上分析， 组成蛋白质大分子的氨基酸种类、 数目、排列顺序及空间结构的不同所产生的各种蛋白质几乎是无穷无尽的， 为生物体行使千差万别的功

能需要提供了物质基础。蛋白质分子结构分成一级结构、二级结构、三级结构、四级结构四个层次，后三者统称为空间结构、高级结构或空间构象。蛋白质的空间结构涵盖了蛋白质分子中的每一原子在三维空间的相对位置，它们是蛋白质特有性质和功能的结构基础。

一、蛋白质的一级结构

蛋白质中氨基酸的排列顺序称为蛋白质的一级结构。肽键是一级结构的主要化学键。有些蛋白质还包含二硫键，即由两个半胱氨酸巯基脱氢氧化而成。图 2-4 为牛胰岛素的一级结构。胰岛素有 A 和 B 两条链，A 链有 21 个氨基酸残基，B 链有 30 个。如果把氨基酸序列标上数字，应以氨基末端（N-端）为 1 号，依次向羧基末端（C 端）排列。牛胰岛素分子中有 3 个二硫键，1 个位于 A 链内，由 A 链的第 6 位和第 11 位半胱氨酸的巯基脱氢而形成，另 2 个二硫键位于 A、B 两链间。

体内种类繁多的蛋白质，其一级结构各不相同，一级结构是蛋白质空间结构和特异生物学功能的基础。但一级结构并不是决定蛋白质空间结构的惟一因素。

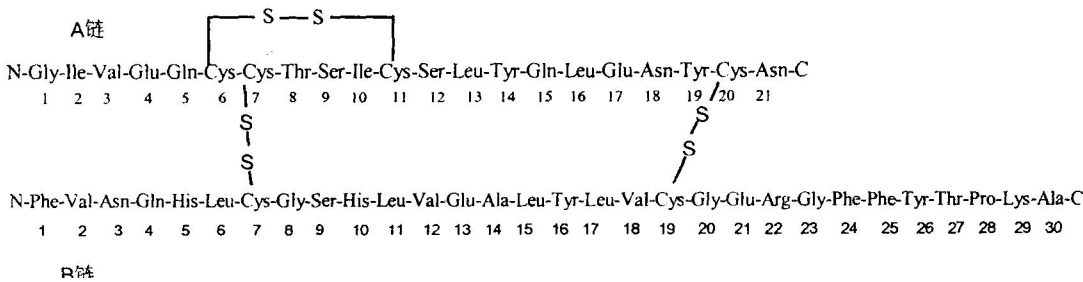


图 2-4 牛胰岛素的一级结构

二、蛋白质的二级结构

蛋白质的二级结构是指蛋白质分子中某一段肽链的局部空间结构，也就是该段肽链主链骨架原子的相对空间位置。不涉及氨基酸残基侧链的构象。

（一）肽单元

构成肽键的 4 个原子和与其相邻的两个 α 碳原子构成一个肽单元。由于参与肽单元的 6 个原子—— $C_{\alpha 1}$ 、C、O、N、H、 $C_{\alpha 2}$ 位于同一平面，故又称为肽键平面，如图 2-5 所示。其中肽键（C-N）的键长为 **0.132nm**，介于 C-N 的单键长 0.149nm 和 C=N 的双键长 0.127nm 之间，所以有部分双键的性质，不能自由旋转。而 C_{α} 与羰基碳原子及 C_{α} 与氮原子之间的连接（ C_{α} —C 和 C_{α} —N）都是单键，可以自由旋转。它们的旋转角度，就决定了相邻肽单元的相对空间位置，于是肽单元就成为肽链折叠的基本单位。

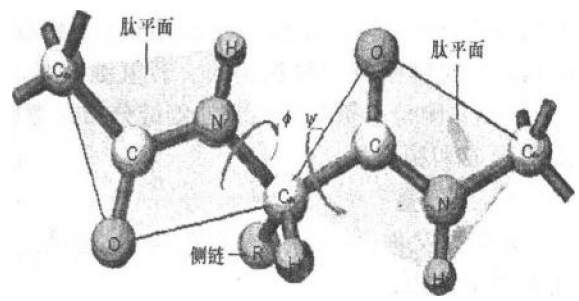


图 2-5 肽单元

(二) 主链构象的分子模型

虽然主链上 $C_\alpha-C$ 和 $C_\alpha-N$ 可以旋转，但也不是完全自由的。因为它们的旋转受角度、侧链基团和肽链中氢及氧原子空间占位的影响，使多肽链的构象数目受到很大限制。蛋白质二级结构的空间模型主要有 α -螺旋和 β -折叠两种。此外还有 β 转角和无规卷曲。

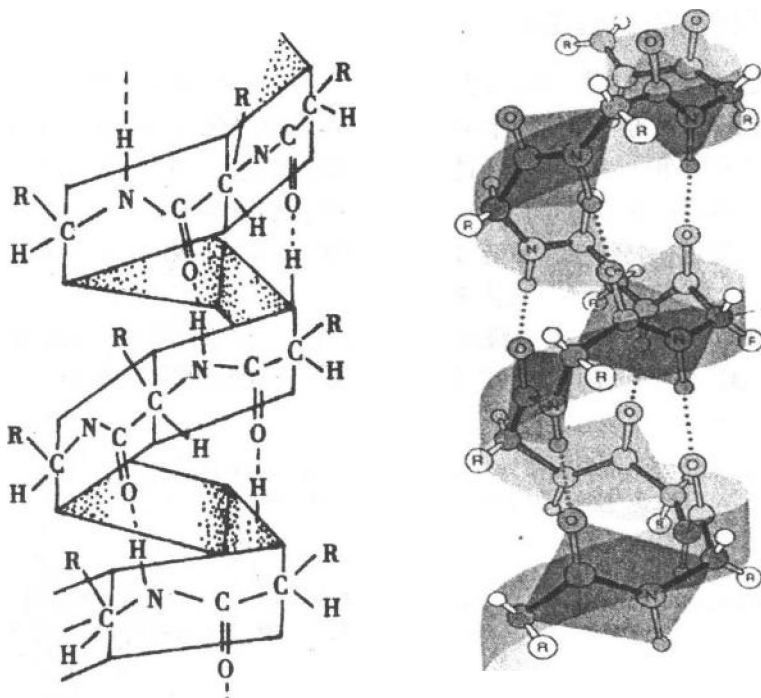


图 2-6 α -螺旋

1. α -螺旋

α -螺旋结构于 1951 年由 Pauling 和 Corey 提出，它由蛋白质分子中多个肽单元通过氨基酸 α -碳原子的旋转，使多肽链的主链围绕中心轴呈有规律的螺旋上升，盘旋成稳定的螺旋构象（图 2-6）。 α -螺旋具有以下特征：

(1) 螺旋的走向为右手螺旋，每 3.6 个氨基酸残基使螺旋上升一圈，每个氨基酸残基向上平移 0.15nm，故螺距为 0.54nm。

(2) 稳定因素氢键是螺旋稳定的主要次级键。 α -螺旋的每个肽键的氮原子上的 H 与第四个肽单元羧基上的 O 生成氢键。 α -螺旋构象允许所有肽键参与链内氢键形成，因此 α -螺旋靠氢键维持是很稳定的。若氢键破坏， α -螺旋构象即遭破坏。

(3) 侧链氨基酸残基的侧链分布在螺旋外侧，其形状、大小及电荷等均影响 α -螺旋的形成和稳定性。

2. β -折叠

β -折叠又称 β -片层结构（图 2-7），也是由 Pauling 等人提出，是一种相当舒展的结构，具有以下特点：

(1) 肽链的伸展使肽单元之间以 α -碳原子为旋转点，依次折叠成锯齿状。氨基酸残

基侧链及基团交替地位于锯齿状结构的上下方。

(2) 肽链平行排列，相邻肽链之间的肽键相互交替形成许多氢键，是维持 β -折叠结构的主要次级键。

(3) 两条以上肽链或一条肽链内若干肽段的锯齿状结构可平行排列。平行走向有同向(顺式)和反向(反式)两种，肽链的 N-端在同侧为顺式，不在同侧为反式。

3. β -转角

它是由伸展的肽链经 180° 回折，形成的转角结构。它由 4 个连续的氨基酸残基构成，在第一个氨基酸残基的羧基氧与第 4 个氨基酸残基上亚氨基的氢之间形成氢键，以维持其构象，如图 2-8 所示。

4. 无规卷曲

系指没有确定规律性的那部分肽链构象。

(三) 超二级结构和结构域

近年来在研究蛋白质结构、功能时常引入超二级结构和结构域的概念，作为蛋白质二级与三级结构之间的一种过渡态结构层次。

1. 超二级结构

超二级结构的概念是由 M. Rossmann 于 1973 年提出的，它是指若干相邻的二级结构中的结构单元彼此相互作用，形成有规律的空间上能够辨认的二级结构组合体。如常见的 $\alpha\alpha$ 、 $\beta\beta$ 、 $\beta\alpha\beta$ 、 $\beta\beta\beta$ 等。图 2-9 表示几种超二级结构。

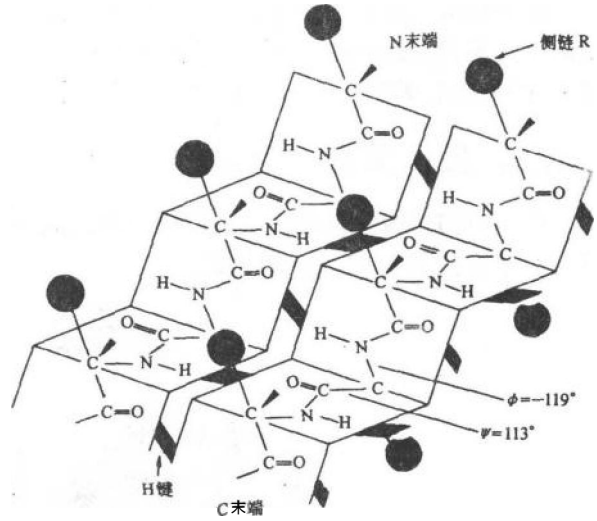


图 2-7 β -折叠

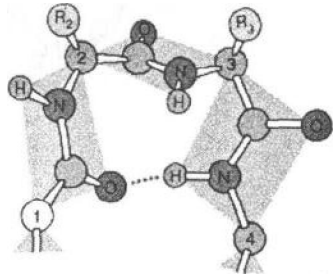


图 2-8 β -转角

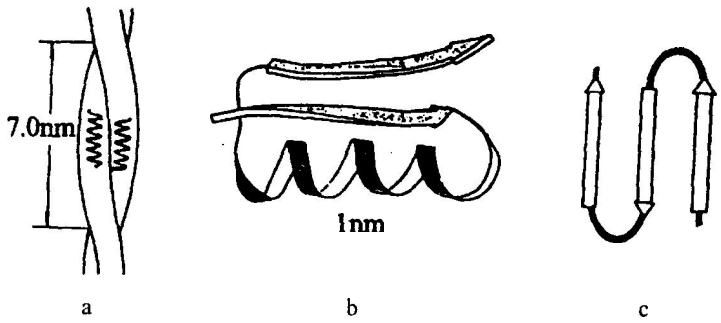


图 2-9 几种超二级结构

a— $\alpha\alpha$ b— $\beta\alpha\beta$ c— $\beta\beta\beta$

2. 结构域

结构域的概念由 Wetlaufer 于 1973 年提出，是指蛋白质亚基结构中明显分开的紧密