

“十三五”职业教育国家规划教材

动物生物化学

(第3版)

赵 丽 程 丰 杨继远 主编

河南科学技术出版社

河南科学技术出版社

· 郑州 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

动物生物化学/赵丽, 程丰, 杨继远主编. —3 版. —郑州: 河南科学技术出版社, 2017. 10 (2021. 6 重印)

“十三五”职业教育国家规划教材

ISBN 978-7-5349-8259-0

I. ①动… II. ①赵… ②程… ③杨… III. ①动物学-生物化学-职业教育-教材
IV. ①Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2016) 第 165874 号

出版发行: 河南科学技术出版社

地址: 郑州市经五路 66 号 邮编: 450002

电话: (0371) 65737028 65788613 65788631

网址: www.hnstp.cn

策划编辑: 陈淑芹 编辑信箱: hnstpys@126.com

责任编辑: 李义坤

责任校对: 王晓红

封面设计: 张 伟

版式设计: 栾亚平

责任印制: 张 巍

印 刷: 河南新华印刷集团有限公司

经 销: 全国新华书店

幅面尺寸: 185 mm×260 mm 印张: 14.5 字数: 330 千字

版 次: 2017 年 10 月第 3 版 2021 年 6 月第 8 次印刷

定 价: 39.80 元

如发现印、装质量问题, 影响阅读, 请与出版社联系并调换。

“十三五”职业教育国家规划教材 编委会名单

主任 郭长华

副主任 张晓根 刘源 俞浩

编委 (以姓氏笔画为序)

王华杰 王国栋 邓继辉 田玉民
朱金凤 朱钱龙 刘万钧 刘永录
李文刚 李德立 杨继远 宋东亮
张周 张玉科 张传师 陈文钦
陈宏智 赵跃 赵聘 秦华
黄炎坤

《动物生物化学》编写人员名单

主 编 赵 丽 程 丰 杨继远

副主编 向金梅 汤 莉 张自芳 连瑞丽

编 者 (按姓氏笔画排序)

卢婷婷 向金梅 汤 莉 杨玉能

杨艳玲 杨继远 连瑞丽 张 华

张自芳 庞 坤 赵 丽 索江华

程 丰

河南科学技术出版社

前 言

根据教育部《关于加强高职高专教育教材建设的若干意见》文件精神，紧紧围绕《高职高专畜牧兽医类专业人才培养指导方案》，针对高职高专教育发展的特点，充分突出新知识、新技术、新方法，结合各地教学改革及课程设置具体情况，我们组织编写了本教材。本教材立意新颖，实训内容丰富，强化理论和实践相结合。

本教材是畜牧兽医及相关专业的重要专业基础课程，对学生学习后续的课程，提高学生的综合素质，培养适应生产、管理、服务等第一线的应用型专门人才，具有十分重要的意义。为了适应分子生物学的迅速发展，本教材在满足专业基础要求之外，还融入了新的知识和技术，以便更好地适应畜牧业发展的需要。

本教材共分9章，每章前有知识目标，使学生能抓住重点，明确学习目的和要求；每章后有本章小结和思考与练习，便于学生学习和教师教学。本教材简单介绍了糖类、脂类、蛋白质、核酸等生物大分子的结构、性质和功能；在此基础上，主要讲述了三大物质代谢和核酸代谢的基本过程。实验技能与基本训练主要介绍离心分离技术、分光光度技术、电泳技术、层析技术等相关的实训练习。本教材的编写体现“基础性、实用性、适用性、够用性”的原则，注重理论联系实际，突出职业性，以提高教材的科学性、启发性和实用性。在语言上力求做到深入浅出、通俗易懂、言简意赅，在内容上做到条理清晰、简明扼要。为了丰富学生的专业知识，提高学生的理解能力和学习动力，激发学生的学习兴趣，本教材每章后面都附有知识拓展部分，使教材在一定程度上体现了本学科发展的最新动态，以便能更好地适应畜牧业的快速发展。

本教材适于高职院校畜牧兽医类和其他生物技术类专业使用。

本教材在编写过程中，得到了河南牧业经济学院、信阳农林学院、商丘职业技术学院、湖北生物科技职业学院、云南农业职业技术学院、遵义职业技术学院等多家单位领导和一线教师的大力支持，同时，河南科学技术出版社的编辑老师对本书的出版也付出了艰辛的劳动，在此表示衷心感谢！

由于编者水平有限，书中可能存在疏漏和不足之处，敬请读者和同行专家给予批评指正。

编者

2014年12月

河南科学技术出版社

目 录

绪 论	(1)
第一章 蛋白质与核酸化学	(6)
第一节 蛋白质的分子组成	(6)
第二节 蛋白质的分子结构	(12)
第三节 蛋白质的理化性质	(19)
第四节 核酸的分子组成	(23)
第五节 核酸的分子结构	(27)
第六节 核酸的理化性质	(32)
第二章 酶与维生素	(37)
第一节 酶的概述	(37)
第二节 酶的结构与功能的关系	(40)
第三节 酶的催化作用机制	(44)
第四节 影响酶促反应速率的因素	(45)
第五节 酶工程	(52)
第六节 维生素与辅酶	(56)
第三章 生物氧化	(72)
第一节 生物氧化概述	(72)
第二节 生物氧化中二氧化碳的生成	(73)
第三节 生物氧化中水的生成	(74)
第四节 生物氧化中能量的生成与利用	(78)
第四章 糖类代谢	(83)
第一节 糖类代谢概述	(83)
第二节 糖的分解代谢	(88)
第三节 糖异生作用	(102)
第五章 脂类代谢	(108)
第一节 脂类代谢概述	(108)
第二节 脂肪的分解代谢	(110)



第三节	脂肪的合成代谢	(116)
第四节	类脂代谢	(121)
第五节	血脂与血浆脂蛋白	(127)
第六章	含氮小分子的代谢	(132)
第一节	蛋白质的营养作用	(132)
第二节	氨基酸的一般分解代谢	(134)
第三节	个别氨基酸的代谢	(143)
第四节	核苷酸的代谢	(148)
第七章	物质代谢的相互关系与代谢的调节	(157)
第一节	糖类、脂类、蛋白质和核酸代谢的相互关系	(157)
第二节	物质代谢的调控	(159)
第八章	核酸和蛋白质的生物合成	(165)
第一节	DNA 的生物合成	(165)
第二节	RNA 的生物合成	(170)
第三节	蛋白质的生物合成	(173)
第九章	水和无机盐代谢	(188)
第一节	体液	(188)
第二节	水与电解质的平衡及调节	(190)
第三节	铁、镁及畜禽体内微量元素代谢概述	(192)
生物化学实验技能及基本训练		(196)
第一部分	生物化学实验基本技术	(196)
第二部分	生物化学实训	(202)
参考文献		(222)

绪 论

【知识目标】

- ◆掌握生物化学的概念。
- ◆了解生物化学的发展。
- ◆掌握生物化学的研究内容。

一、生物化学的概念

生物化学 (biochemistry) 是生命的化学。它是以生物体为研究对象, 在分子水平上研究生物体的化学组成、结构、理化性质、生物功能及其在生命活动中化学变化规律与生理功能的关系, 从而揭示生命现象本质的一门科学。它是生理学、医学化学和生物科学等发展到一定阶段的产物。

生物体中任何一种物质, 都不能独立地表现出生命活动, 只有当它们以特定的方式结合在一起时才能表现出生命活动, 如肌肉收缩。在体内执行肌肉收缩功能的主要物质是肌动蛋白和肌球蛋白, 肌肉的收缩是肌动蛋白和肌球蛋白发生相对运动的结果, 这个过程受 Ca^{2+} 的调节, 并需要水解 ATP (腺苷三磷酸) 提供能量。生物化学的研究目的就是探讨构成生物的各种物质 (特别是生物大分子) 是怎样表现出生命活动现象的。

因此, 科学家将现代生物化学定义为: 研究生物分子, 特别是生物大分子相互作用、相互影响以表现生命活动现象原理的科学。其中以动物体为研究对象的生物化学叫动物生物化学。

二、生物化学的发展

生物化学发展到现在只有 100 多年的历史。一般认为 1877 年德国的霍佩·赛勒 (E. F. Hoppe-Seyler) 第一次提出“生物化学”一词, 并建立第一个生理化学实验室, 又率先创办一种生物化学专业杂志——《生理化学杂志》, 标志着生物化学的诞生。生物化学的发展大致经过了四个时期。

1. 生物化学产生前时期 实际上, 生物化学的产生最早可追溯到 4 000 多年前, 我们的祖先在公元前 22 世纪就会用谷物酿酒, 公元前 12 世纪中国人就会制酱、制饴, 公元前 7 世纪我国医学家孙思邈就能用车前子、杏仁治疗脚气病等, 这个时期人们只是依



靠经验自发地利用生物化学规律，而没有认识其本质。

2. 静态生物化学时期 (1770~1903 年) 18 世纪中叶到 20 世纪初，主要完成了各种生物体化学组成的分析研究，发现了生物体主要由糖类、脂肪、蛋白质和核酸四大类有机物质组成。1794 年，法国化学家拉瓦锡 (A. L. Lavoisier) 研究的燃烧现象和质量守恒定律，成为现代生物氧化和能量代谢的基础。1828 年，魏勒 (F. Wohlen) 在实验室将无机物氰酸钠合成为哺乳动物的代谢产物——尿素。1842 年，德国生理学家李比希 (J. Liebig) 首次提出“新陈代谢”的概念。1877 年，德国霍佩·赛勒首次提出“生物化学”一词。1897 年，布克纳兄弟 (Hans Buchner 和 Edward Buchner) 将蔗糖放入已磨碎的酵母细胞的液汁中，结果发现蔗糖发酵了，蔗糖酵母发酵实验推翻了“活力论”(认为生命过程是由一种神秘和超物质的生命力所支配)，也打开了现代生物化学的大门，即生命体的新陈代谢反应过程可以在体外研究。生物化学进入了发展的新时代。

3. 动态生物化学发展时期 (1904~1950 年) 这一时期人们对物质的代谢途径有了一定的了解，如物质代谢的动态平衡，能量转化，光合作用，生物氧化，糖类的分解和合成代谢，蛋白质合成，核酸的遗传，维生素、激素等的代谢。

1905 年，哈登 (A. Harden) 和杨 (W. Young) 发现酶和辅酶，他们发现把破碎后的酵母汁液加入葡萄糖溶液中，发酵立即开始，但要保持反应速率需要加入无机磷酸盐，他们推断无机磷酸盐掺入到糖中形成了磷酸酯，并分离出了一种六碳糖二磷酸酯，即后来的果糖 1, 6-二磷酸。这些是对发酵过程认识的开始。

1926 年，萨姆纳 (J. B. Sumner) 首次用丙酮从刀豆中获得了结晶的脲酶，稍后那士洛普 (Nothrop) 等又制得活性很高的胃蛋白酶、胰蛋白酶等。这些都证明酶的化学本质是蛋白质。由于酶都是蛋白质，具有催化性，那么与其他蛋白质的差异在什么地方呢？由此开始了蛋白质分子结构与功能的研究，英国生物化学家桑格尔 (F. Sanger) 用 10 年 (1945~1955 年) 的时间完成了牛胰岛素的氨基酸组成结构的分析，这是第一个蛋白质分子组成结构的分析。

自 1905 年哈登和杨开始用酵母菌榨汁研究糖的酵解起，许多国家的研究者又花费了几十年的时间辛勤工作，直到 1940 年糖酵解全过程的研究才获得圆满的结果。其中恩伯顿 (G. Embden)、迈耶霍夫 (O. Meyerhof) 等为此做出了重大贡献。

20 世纪关于糖有氧分解、脂肪代谢、蛋白质的分解和氨基酸代谢的研究也齐头并进地开展起来。许多结果是很多科学家各自研究又相互补充印证而完成的。糖的有氧分解于 1937 年由克雷布斯 (S. H. A. Krebs) 完成，其中圣·乔治 (A. Szent-Gyorgyi)、马提乌斯 (C. Martius) 和克努普 (F. Knoop) 做出了重要贡献。

在此前，克雷布斯还用肾脏浸出液观察了 *D*-氨基酸和 *L*-氨基酸的代谢，并证明了脱氨基的机制。在前人的基础上，1932 年克雷布斯用组织切片实验证明了尿素的合成反应，提出了鸟氨酸循环理论。

关于脂肪酸的代谢，1904 年克努普制备了一系列的 ω -苯基脂肪酸，即在距羧基最远的一个碳原子上导入一个苯环作为“标记”，并饲喂给狗，然后检查尿中含苯环的化合物。结果发现凡烃链碳原子是偶数的脂肪酸均生成苯乙酸，凡奇数脂肪酸均生成苯甲



酸。因此，他提出 β -氧化学说。1949年肯尼迪（E. Kennedy）等证明脂肪氧化是在线粒体中进行的， β -氧化生成乙酰 CoA。脂肪酸合成的细节到20世纪60年代才完成。

4. 机能生物化学时期（1950年以后） 机能生物化学研究重点是核酸、蛋白质等生物大分子的结构、功能及基因结构、表达与调控的内容，揭示生命本质的高度有序性和一致性，生物化学研究深入到生命的本质。

1944年，艾弗里（O. Aoery）等转化试验首次证明DNA是遗传物质。于是DNA成为研究焦点，其中1946年威尔金斯（M. Wilkins）完成了DNA的X射线衍射研究。1950年查加夫（E. Chargaff）证明了DNA中腺嘌呤与胸腺嘧啶、鸟嘌呤与胞嘧啶之比接近于1.0。双螺旋DNA碱基对互补的原则，成为DNA复制、转录、逆转录及翻译的分子基础。1953年沃森（J. D. Watson）和克里克（F. Crick）在分析了威尔金斯所摄制的DNA纤维的X射线衍射图后，提出了DNA双螺旋三维空间结构模型，开辟了从分子水平去理解基因功能的道路，成为当今分子生物学的起点。

1961年，S. Spiegelman用分子杂交技术证明了mRNA的存在，其碱基顺序与DNA模板互补。mRNA来自DNA，随后证明tRNA和rRNA也是基因的产物。接着J. Hurwith和S. Weiss分别发现了RNA聚合酶，DNA转录机制得到了阐明。

1966年，雷仑伯格（M. Nirenberg）和科拿那（H. G. Khorana）两位学者合作破译了遗传密码。至此，遗传信息在生物体由DNA至蛋白质的传递过程已经弄清。

到20世纪70年代初随着对病毒的认识的深入，如RNA病毒遗传信息编码在RNA中而不是在DNA中，自身有复制能力并产生mRNA；另外，如RNA肿瘤病毒，带有一种逆转录病毒，能将病毒RNA复制成DNA分子等，这些重要的发现丰富了生物基因遗传信息传递的知识。1971年，克里克完善了中心法则，清楚地表述了生物世界遗传信息的传递方向及相互关系。

20世纪50年代以来，随着电泳、层析、电镜、同位素、高速离心等新技术新方法的不断改进和发展，于20世纪70年代初出现了DNA重组技术。这项技术的特点在于根据生物基因遗传的规律，按人为的预先设计，通过体外DNA重组将外源基因转入生物体，最终使生物体的遗传性状发生改变。人类在一定程度上实现了按自己的愿望改变生物遗传性状的目的。

1978年，桑格尔提出的末端终止法核苷酸顺序测定、DNA自动合成仪和1988年莫里斯（Kary Mullis）发明的DNA体外快速扩增的聚合酶链式反应（PCR），极大地丰富了DNA重组技术，形成了当今分子生物学技术的主要内容。今天利用这些技术可从蛋白质来找基因组，从基因组又可以了解相应的蛋白质。基于这些特点，很快提出了以“定点突变”技术为核心的“蛋白质工程”。蛋白质是生命存在的形式，而结构决定它的功能，DNA重组技术与定点突变等技术的应用对蛋白质结构与功能的研究产生了深远的影响。

DNA重组技术等的另一个结果是促使人们在分子水平上来解释基因和表达之间错综复杂的相互关系及如何被调控的。早在1960年雅可布（F. Jacob）和佩林（J. Monod）等发现了原核生物的操纵子，并且说明基因的表达是受到生物严格调控的，从而开始了原核生物基因表达调控的研究。但真核生物的表达不同于原核生物，方法也



完全不同，DNA 重组技术的出现才促进了真核生物基因表达调控机制的研究，现已成为生物化学中研究的热点，其成果将为揭示细胞生长、增殖和分化的本质奠定基础。

1982 年，帕尔米特 (Palmiter) 将大白鼠生长激素的基因重组后注射到小鼠受精卵，再将受精卵植入小鼠子宫，发育成的小鼠长得比原小鼠大两倍而成为“硕鼠”，证明转入的外源基因改变了生物的性状，创立了转基因技术。

1991 年，苏格兰人运用转基因技术使绵羊的乳腺表达 α -抗胰蛋白酶基因成功，产量十分可观。这种转基因动物称为“生物反应器”。

1997 年，英国人威尔穆特等运用羊的体细胞（乳腺细胞）克隆出了羊（多利），震惊了世界。

5. 我国生物化学的发展 20 世纪 30 年代吴宪等建立了血糖测定方法、蛋白质变性理论；1965 年我国科学家人工合成了具有生物学活性的结晶牛胰岛素，有力地证明了人类对蛋白质结构认识的正确性，也有力地证明了蛋白质结构与功能的统一性；1981 年合成了酵母丙氨酸转移核糖核酸，为核酸的人工全合成开辟一条道路；同时我国又参与了人类基因组、水稻基因组等的研究。

三、生物化学的研究内容

1. 生物体的物质组成 高等生物体主要由蛋白质、核酸、糖类、脂类以及水、无机盐等组成，此外还含有一些低分子物质，如维生素、激素、氨基酸、多肽、核苷酸及一些分解产物。

2. 物质代谢 生物体与其外环境之间的物质交换过程称为物质代谢（新陈代谢）。物质代谢的基本过程主要包括消化、吸收、中间代谢、排泄。其中，中间代谢过程是在细胞内进行的，它包括合成代谢、分解代谢、物质互变、代谢调控、能量代谢几方面的内容。

3. 生物分子的结构与功能 研究物质结构、代谢和生物功能与复杂的生命现象之间的关系；研究生物体遗传的物质基础，基因信息传递、表达及其调控规律。

四、生物化学与畜牧兽医学科的关系

生物化学是生物科学的基础，也是畜牧和兽医学科主要的专业基础课程。学好生物化学是学好畜牧兽医专业课程的保证。

利用蛋白质、酶和 DNA 等的遗传多态性作为遗传标记，进行畜禽品种亲缘关系、种间遗传距离的分析，筛选与优良生产性状相关的遗传标记，为培养高产优质的畜禽品种（如瘦肉型猪、高产蛋鸡等）提供理论依据，目前这些遗传标记在遗传育种中已取得明显的成果。

运用转基因动物制成的“生物反应器”来生产多种人畜需要的蛋白质和药物，如运用 DNA 重组技术使大肠杆菌生产一些特有的蛋白质和药物，如猪、牛的生长激素，乙肝疫苗，干扰素等。



运用体细胞克隆个体的技术，将为保存优良畜禽品种发挥积极的作用。

用分子生物学技术深入了解各种病毒基因的分子结构与功能，才能有目的地制备有效的基因工程疫苗。反义 RNA 等分子调控机制正被运用于猪、牛的某些疾病的基因治疗。

在畜禽饲养中深刻理解畜禽机体内物质代谢和能量代谢的状况，掌握体内营养物质代谢间相互转变及相互影响的规律，是提高饲料营养作用的基础。现在许多新型添加剂、生理调节剂、酶制剂的研制及应用都是基于对动物体内代谢过程的调控，以达到机体内营养成分更加合理、有效地进行转化，提高饲料的营养作用，促进畜禽的生产效益，避免因营养配比不当、饲养不合理而引起各种代谢的疾病（如酮症、产蛋疲劳综合征等）。

掌握正常畜禽的代谢规律，对于临床上畜禽代谢疾病的诊断与治疗具有重要的作用。许多疾病如酮症是脂肪酸正常代谢的产物——酮体过多造成的，但多数是在低糖的情况下才会出现酮症。因此，找到引起低糖的病因是治疗该病的根本。对正常代谢规律的认识也有利于临床上药物的使用。

总之，生物化学及生物技术应成为每个畜牧兽医专业学生必备的知识与技能，应该运用这些知识和技术为发展我国的畜牧兽医事业做出贡献。



思考与练习

1. 何谓生物化学？
2. 试述生物化学的发展历程。
3. 简述生物化学的研究内容。

第一章 蛋白质与核酸化学

【知识目标】

- ◆了解蛋白质的元素组成及特点。
- ◆掌握组成蛋白质的基本单位和氨基酸的理化性质。
- ◆熟悉蛋白质的分子结构及其与功能的关系，掌握蛋白质的理化性质和分类。
- ◆掌握核酸的化学组成、分子结构和理化性质。

蛋白质 (protein) 是生物体中广泛存在的生物大分子, 约占人体干重的 45%, 在肝、脾、心、肺、肾、肌肉等器官中可达 60%~80%, 动物体中的每个细胞和重要组成部分都有蛋白质参与。核酸 (nucleic acid) 存在于所有动植物细胞、微生物体内, 生物体内的核酸与蛋白质常结合而形成核蛋白。

第一节 蛋白质的分子组成

蛋白质是生物体内最重要的物质之一, 参与体内各种物质代谢, 包括物质的消化吸收、分解与合成、物质转运与利用以及各种化学变化, 近代分子生物学的研究还表明, 蛋白质在遗传信息的控制、细胞膜的通透性以及高等动物的记忆、识别等方面都起到重要作用。因此, 蛋白质有着极其重要的生物学意义。

一、蛋白质的元素组成

蛋白质是含氮的有机化合物, 其含氮量占生物组织中一切含氮物质的绝大部分。氮元素是蛋白质区别于糖类和脂肪的特征性元素, 根据对大多数蛋白质的氮元素分析, 其氮元素的含量都相当接近, 一般在 15%~17%, 平均为 16%, 即 100 g 蛋白质中含有 16 g 氮。这是凯氏 (Kjeldahl) 定氮法测定粗蛋白质含量的计算基础。测定公式如下:

$$\text{蛋白质含量 (g/100 g)} = \text{每克样品中含氮克数} \times 6.25 \times 100$$

蛋白质除含有氮元素外, 还含有下述几种主要元素: C, 50%; H, 7%; O, 23%; S, 0~3%。有些蛋白质含有少量的磷, 还有些蛋白质含有微量的金属元素, 如 Fe、Cu、Mn、Zn 等。

二、蛋白质的基本结构单位

蛋白质是一类含氮的生物大分子, 结构复杂, 功能多样。经酸、碱或蛋白酶处理,



使蛋白质彻底水解可以得到各种氨基酸。现已证明氨基酸是蛋白质的基本组成单位，组成蛋白质的氨基酸共有 20 种，组成蛋白质的氨基酸称为蛋白质氨基酸。

目前从各种生物体中发现的氨基酸已有 180 多种，除去组成蛋白质的 20 种氨基酸外，其余氨基酸被称为非蛋白质氨基酸。

蛋白质氨基酸的一般结构特点及其分类 氨基酸是含有氨基及羧基的有机化合物。从蛋白质水解产物中分离出来的常见的 20 种氨基酸除脯氨酸外，其余 19 种氨基酸在结构上的共同特点是与羧基相邻的 α -碳原子上都有一个氨基，因而称为 α -氨基酸。结构通式如图 1.1 所示。

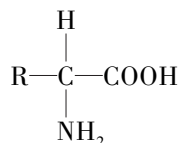


图 1.1 α -氨基酸的结构通式

除甘氨酸外，所有 α -氨基酸的 α -碳原子都是不对称碳原子 (asymmetric carbon) 或称手性中心，因此都具有旋光性，都能使偏振光平面向左或向右旋转，左旋通常用 (-) 表示，右旋通常用 (+) 表示。其次每种氨基酸都有 *D*-型和 *L*-型两种立体异构体，这是与甘氨酸相比较确定的。书写时将羧基写在 α -碳原子的上端，则氨基在左边的为 *L*-型，氨基在右边的为 *D*-型。从蛋白质水解得到的 α -氨基酸都属于 *L*-型的，所以习惯上书写氨基酸都不标明构型和旋光方向。

从 α -氨基酸的结构通式可以知道，各种 α -氨基酸的区别就在于侧链 R 基团的不同，即不同的氨基酸有不同的 R 基团。这样，组成蛋白质的 20 种常见氨基酸可以按照 R 基团的化学结构或极性大小进行分类。在此，我们按照各种氨基酸侧链 R 基团的极性差别进行分类，这对于认识蛋白质的性质、结构与功能更为便利。按照这种分类方法可将氨基酸分为四大类，其结构见表 1.1。

表 1.1 组成蛋白质的 20 种氨基酸

氨基酸名称	结构式	三字母符号	单字母符号
非极性氨基酸			
丙氨酸 (alanine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Ala	A
缬氨酸 (valine)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Val α -氨基异戊酸	V



续表

氨基酸名称	结构式	三字母符号	单字母符号
亮氨酸 (leucine)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Leu α -氨基异己酸	L
异亮氨酸 (isoleucine)	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \quad \text{H} \\ \quad \\ \text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Ile α -氨基- β -甲基戊酸	I
脯氨酸 (proline)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ / \quad \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2-\text{NH}_2 \\ + \end{array}$	Pro β -吡咯烷基- α -羧酸	P
苯丙氨酸 (phenylalanine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C}_6\text{H}_5-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Phe α -氨基- β -苯基丙酸	F
色氨酸 (tryptophan)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{C}_8\text{H}_6\text{N}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Trp α -氨基- β -吲哚基丙酸	W
蛋氨酸 (甲硫氨酸) (methionine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Met α -氨基- γ -甲硫基丁酸	M
具有极性不带电荷的 R 基团的氨基酸			
甘氨酸 (glycine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H}-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Gly 氨基乙酸	G



续表

氨基酸名称	结构式	三字母符号	单字母符号
丝氨酸 (serine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Ser α -氨基- β -羟基丙酸	S
苏氨酸 (threonine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{CH}_3-\text{CH}-\text{C}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{OH} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	Thr α -氨基- β -羟基丁酸	T
半胱氨酸 (cysteine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HS}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Cys α -氨基- β -巯基丙酸	C
酪氨酸 (tyrosine)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{HO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Tyr α -氨基- β -对羟基苯基丙酸	Y
天冬酰胺 (asparagine)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	Asn	N
谷氨酰胺 (glutamine)	$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N} \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{C}-\text{COO}^- \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	Gln	Q
R 基团带负电荷的氨基酸			
天冬氨酸 (aspartic acid)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{O}^- - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COO}^- \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	Asp α -氨基丁二酸	D
谷氨酸 (glutamic acid)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{O}^- - \text{C} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C} - \text{COO}^- \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{NH}_3^+ \end{array}$	Glu α -氨基戊二酸	E



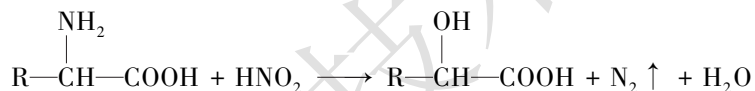
中既不向正极移动也不向负极移动，即处于兼性离子（极少数为中性分子）状态，少数离子成阳离子和阴离子，但解离成阳离子和阴离子的数目相等。在等电点以上的任何 pH，氨基酸带净负电荷，因此在电场中向正极移动。在低于等电点的任一 pH，氨基酸带有净正电荷，在电场中向负极移动。在一定 pH 范围内，氨基酸溶液的 pH 离等电点越远，氨基酸所携带的净电荷越大。

2. 吸收光谱 参与蛋白质组成的 20 种氨基酸，在可见光区域都没有光吸收，但在远紫外区域（<220 nm）均有光吸收。在近紫外区域（220~300 nm）只有酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸有吸收光的能力，因为它们的 R 基含有苯环共轭双键系统。酪氨酸的最大光吸收波长在 275 nm，苯丙氨酸在 258 nm，色氨酸在 280 nm。

蛋白质由于含有这些氨基酸，因此也有紫外吸收能力。一般最大光吸收波长在 280 nm 处，因此利用分光光度法能很方便地测定蛋白质的含量。但是在不同的蛋白质中这些氨基酸的含量不同，所以它们的消光系数（或称吸收系数）是不完全一样的。

3. 重要化学反应 氨基酸的化学反应主要是指它的 α -氨基和 α -羧基以及侧链上的功能团所参与的反应。

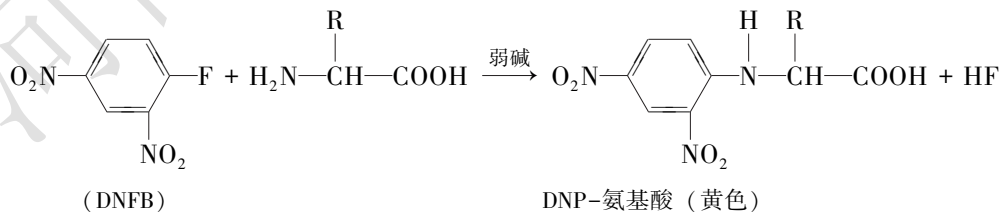
(1) 与亚硝酸反应：在室温下，亚硝酸能与含游离 α -氨基的氨基酸起反应，定量地放出氮气，氨基酸被氧化成羟酸（含亚氨基的脯氨酸则不能与亚硝酸反应）。其反应式如下：



在标准条件下通过测定生成的氮气体积，即可计算出氨基酸的量。此方法反应很快，也较为准确，是定量测定氨基酸的方法之一（此反应是 Vanslyke 氨基氮测定法的基础）。此法还可用于蛋白质水解程度的测定。

这里值得注意的是生成的氮气（ N_2 ）只有一半来自氨基酸。此外应该指出，除 α - NH_2 外，赖氨酸的 ϵ - NH_2 也能与亚硝酸反应，但速度较慢，而 α - NH_2 作用 3~4 min 即可完成反应。

(2) 与 2,4-二硝基氟苯（DNFB）的反应：弱碱性溶液中，氨基酸的 α -氨基很容易与 2,4-二硝基氟苯作用，生成稳定的黄色物质 2,4-二硝基苯基氨基酸（简称为 DNP-氨基酸）。



这个反应首先被英国的桑格尔用来鉴定多肽或蛋白质的 N 末端氨基酸。

(3) 与茚三酮反应：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。茚三酮在弱酸性溶液中与 α -氨基酸共热，引起氨基酸氧化脱氨、脱羧反应，最后茚三酮与氨和还原茚三酮发生作用，生成蓝紫色物质。其反应如下：

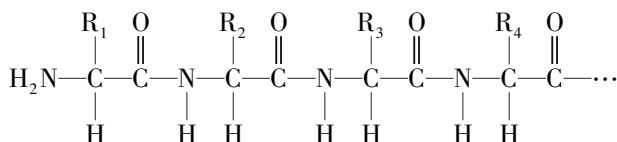


肽单位的特点有以下几点:

(1) 主链肽键 C—N 具有双键性质而不能自由旋转, C—N 单键的键长是 0.148 nm; C=O 双键的键长是 0.127 nm; X 射线衍射分析证实, 肽键中 C—N 的键长为 0.132 nm。

(2) 肽键的所有 4 个原子和与之相连的 2 个 α -碳原子 (习惯上称为 C_α) 都处于一个平面内, 此刚性结构的平面称为肽平面 (peptide plane) 或酰胺平面 (图 1.2), 每个肽单位实际上就是一个肽平面。

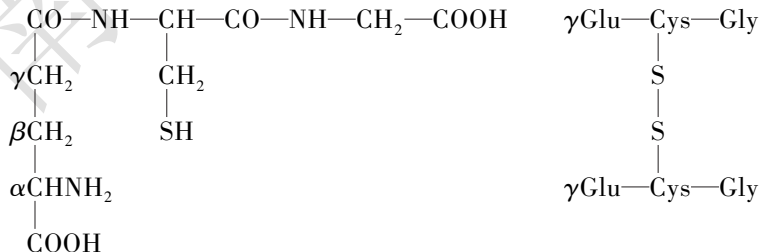
(3) 肽平面内的 C=O 与 N—H 呈反式排列, 各原子间的键长和键角都是固定的。



从上面四肽的化学结构可以看出, 肽链中的骨干是由若干单位规则地重复排列而成的, 称之为共价主链 (main backbone)。各种肽链的主链结构都是一样的, 但侧链 R 基的顺序即氨基酸残基顺序不同。肽链主链上的重复结构称为肽单位 (peptide unit) 或肽基 (peptide group)。

4. 重要的寡肽及其应用 肽广泛存在于动植物组织中, 有一些在生物体内具有特殊功能。据近年来对活性肽的研究, 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活性肽。

(1) 谷胱甘肽: 动植物细胞中都含有一种三肽, 称为还原型谷胱甘肽 (reduced glutathion), 即 γ -谷氨酰半胱氨酰甘氨酸, 因为它含有游离的—SH, 所以常用 GSH 来表示。它的分子中有一特殊的 γ -肽键, 是谷氨酸的 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。结构式如下:



还原型谷胱甘肽 (GSH)

氧化型谷胱甘肽 (GSSG)

由于 GSH 中含有一个活泼的巯基, 很容易氧化, 两分子 GSH 脱氢以二硫键相连就成为氧化型谷胱甘肽 (GSSG)。谷胱甘肽作为清除剂与有害的氧化剂作用, 可以保护含巯基的蛋白质, 同时它还是某些酶的辅酶, 在体内氧化还原过程中起重要作用。

(2) 脑啡肽: 在小的活性肽中有一类称为脑啡肽 (enkephalin) 的物质近年来很引

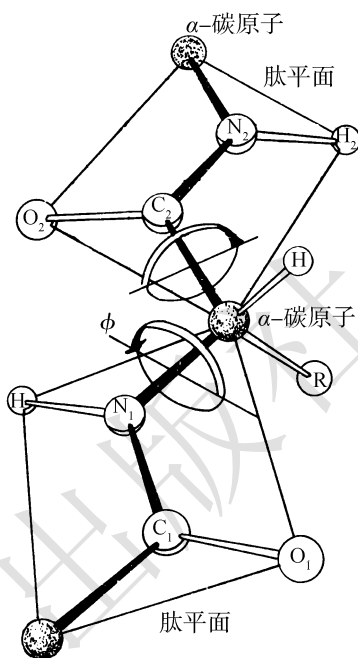


图 1.2 完全伸展的肽链构象 (显示出肽平面)

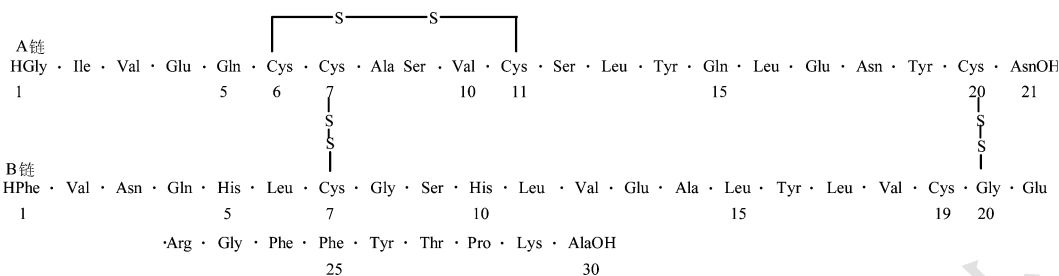


图 1.3 牛胰岛素的化学结构

类型的二级结构并不是均匀地分布在蛋白质中。某些蛋白质，如血红蛋白和肌红蛋白含有大量的 α -螺旋，而另一些蛋白质如铁氧还原蛋白 (ferredoxin) 则不含任何的 α -螺旋。不同蛋白质中 β -折叠的含量和 β -转角的数目也有很大的变化。

1. α -螺旋 α -螺旋 (α -helix) 是蛋白质中最常见、含量最丰富的二级结构。 α -螺旋中每个残基呈对二面角， Φ 和 Ψ 各自取一数值， $\Phi = -57^\circ$ ， $\Psi = -48^\circ$ 即形成具有周期性规则的构象。每隔 3.6 个氨基酸残基螺旋上升一圈，沿螺旋轴方向上升 0.54 nm，每个残基绕轴旋转 100° ，沿轴上升 0.15 nm (图 1.4)。 α -螺旋中氨基酸残基的侧链伸向外侧。相邻的螺圈之间形成链内氢键，氢键的取向几乎与中心轴平行。氢键是由肽键上的 N—H 中的氢和它后面 (N 端) 第四个残基上的 C=O 中的氧之间形成的。

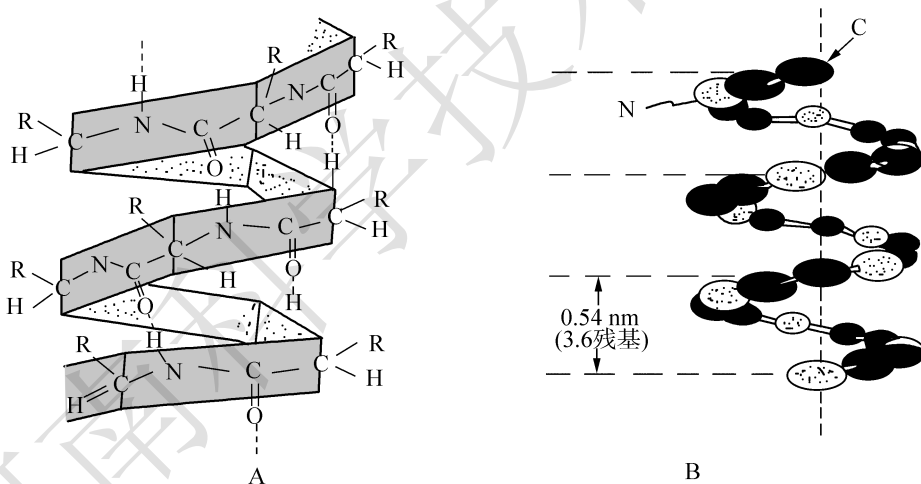


图 1.4 α -螺旋结构示意图

氢原子参与肽键的形成后，再没有多余的氢原子形成氢键，所以多肽链顺序上有脯氨酸残基时，肽链就拐弯，不再形成 α -螺旋。

2. β -折叠 (β -pleated sheet) 蛋白质中另一类常见的二级结构是 β -折叠。两条或多条几乎完全伸展的肽链并排在一起便形成 β -折叠，这时相邻肽链主链上的—NH和 C=O 之间形成有规则的氢键。

3. β -转角 β -转角 (β -turn) 也称为回折、 β -弯曲或发夹结构，它是球状蛋白质中发现的又一种二级结构。它有三种类型，每种类型都有 4 个氨基酸残基 (图 1.5)。在所有这三种类型的 β -转角中，弯曲处的第一个残基的 C=O 和第四个残基的 NH 之



性侧链总是暴露在分子的表面形成亲水区。极性基团的种类、数目与排布决定了蛋白质的功能。有不少较大的蛋白质分子含有几个区域即结构域，它们都是紧密的球状构象。结构域的划分往往是与功能相联系的。

3. 维持蛋白质三级结构的力 稳定三级结构的化学键是次级键，包括氢键、盐键、疏水键、范德华力和二硫键，其中二硫键是共价键，其余均为非共价键，它们是由多肽链中氨基酸侧链基团的相互作用形成的。

蛋白质的三级结构是由一级结构决定的，每种蛋白质都有自己特定的氨基酸排列顺序，从而构成其固有的独特三级结构。由一条多肽链构成的蛋白质，具有三级结构才具有生物学活性，三级结构一旦被破坏，生物学活性便丧失。

(三) 蛋白质的四级结构

许多生物活性蛋白质是由两条或多条肽链构成的，肽链与肽链之间并不是通过共价键相连，而是由非共价键缔合在一起。每条多肽链都有自己的一级、二级和三级结构。在这种蛋白质中，每条肽链就被称为亚基或亚单位 (subunit)。亚基一般只是一条多肽链，但有的亚基由两条或多条多肽链组成，这些多肽链相互间以二硫键相连。蛋白质分子的亚基数目一般为偶数，其中含 2 个或 4 个亚基的蛋白质占多数，奇数亚基构成的蛋白质就目前所知，只不过 10 多种。由四个亚基组成的称为四 (聚) 体蛋白质，在四级结构中，亚基可以是相同的或不同的。由相同亚基构成的四级结构叫均一四级结构，由不同亚基构成的四级结构叫非均一四级结构。无四级结构的蛋白质称为单体蛋白质。

二聚体：由两个亚基组成的蛋白质称为二聚体蛋白质。

寡聚蛋白：由两个或两个以上亚基组成的蛋白质统称寡聚蛋白质或多体蛋白质。

四级结构：所谓蛋白质的四级结构，就是指各个亚基在寡聚蛋白质的天然构象中的几何位置和它们之间的相互关系。

一般认为，亚基在蛋白质分子中的空间排布问题是四级结构研究的重要内容，根据 X 射线结构分析和电子显微镜的观察，多数寡聚蛋白质分子亚基的排列是对称的，对称性是四级结构蛋白质分子最重要的性质之一。对称的寡蛋白质分子是由两个或多个不对称的等同结构成分组成的。这种等同结构成分被称为原体，原体一般就是亚基，但是原体可以是两个或两个以上亚基的聚集体。例如，血红蛋白分子是由两个原体组成的对称二体，其中每个原体是由 α -亚基 (一条 α 珠蛋白链) 和 β -亚基 (一条 β 珠蛋白链) 所构成的聚集体 ($\alpha\beta$)。这里把原体看作单体，所以称血红蛋白为二体。如果以亚基为单体，血红蛋白则为四体。

四、蛋白质结构与功能的关系

蛋白质的结构与功能之间具有高度的统一性，蛋白质分子具有多种多样的生物功能是以其化学组成和极其复杂的结构为基础的。这不仅在于其具有一定的化学结构，而且还在于其有一定的空间构象。研究蛋白质的结构与生物功能的关系正成为当前分子生物学的一个重要方面。

(一) 蛋白质的一级结构与生物功能的关系

1. 同源蛋白质一级结构的种属差异与生物进化 同源蛋白质是指在不同的有机体



中实现同一功能的蛋白质。例如，细胞色素 c 广泛存在于需氧生物细胞的线粒体中，在生物氧化过程中起传递电子的作用。不同种属来源的同源蛋白质一般具有相同长度或接近相同长度的多肽链。同源蛋白质的氨基酸顺序中有许多位置的氨基酸对所有的种属来说都是相同的，因此称为不变残基。但是其他位置的氨基酸因种属不同而有相当大的变化，因此称为可变残基。同源蛋白质的氨基酸顺序中这样的相似性被称为顺序同源现象。

顺序同源的生物学意义从细胞色素 c 分子上看得最清楚。细胞色素 c 是一种传递电子的载体，分子中含有血红素，相对分子质量为 12 400，由 64 个氨基酸残基组成。血红素 Fe 上的两个配位键与 His 及 Met 络合。细胞色素 c 是一种古老的蛋白质，从低等生物到高等生物，包括人类在内都有细胞色素 c。现在已经对将近 100 个生物种属（包括动物、植物、真菌、细菌等）的细胞色素 c 的一级结构进行了测定和比较，发现亲缘关系越近，其结构越相似。例如，人和黑猩猩、猴、狗、金枪鱼、飞蛾、酵母的细胞色素 c 比较，则可变的氨基酸残基数目依次为 0、1、10、21、31 和 44。虽然各种生物在亲缘关系上差别很大，但与功能密切相关部分的氨基酸顺序都有共同之处，在 25 种生物来源的细胞色素 c 中，发现只有 35 个氨基酸残基完全不变。这 35 个氨基酸残基中除 11 个残基（第 70~80 个残基）是在一起形成一个肽段外，其他的不变残基则分散在肽链的一定位置上。细胞色素 c 实现它的功能只需要肽链中的一部分氨基酸顺序，如第 14 和第 17 位置上的半胱氨酸残基可能保证了与辅基血红素连接的必要位置。第 70~80 位置上的不变肽段可能是细胞色素 c 与酶相结合的部分。这样，部分顺序稳定的肽链可能在形成构象时已能实现它的生物功能。

2. 一级结构的变异与分子病 蛋白质分子化学结构中的细微差异，在某些情况下可能引起生物功能的显著变化，甚至使有机体出现病态现象，突出的例子如镰刀形红细胞贫血病。该病在非洲人中比较常见，其显著的特点是有相当一部分红细胞的形状是镰刀状或新月状。这是由于患者的血红蛋白分子（用 HbS 表示）与正常人的血红蛋白分子（HbA）相比，在 574 个氨基酸中有两个氨基酸的差异引起的，正常人 HbA 的 β -链 N-端第 6 位氨基酸为谷氨酸，而患者 HbS 的 β -链 N-端第 6 位氨基酸为缬氨酸。

β -链 N-端氨基酸排列顺序：

HbA: $\text{H}_2\text{N}-\text{Val}-\text{His}-\text{Leu}-\text{Thr}-\text{Pro}-\text{Glu}-\text{Glu}-\text{Lys}\cdots\text{COO}^-$

HbS: $\text{H}_2\text{N}-\text{Val}-\text{His}-\text{Leu}-\text{Thr}-\text{Pro}-\text{Val}-\text{Glu}-\text{Lys}\cdots\text{COO}^-$

由于这两个氨基酸性质上的差别（谷氨酸在生理 pH 下为带负电荷 R 基氨基酸，而缬氨酸却是一种非极性 R 基氨基酸），就使得 HbS 分子表面的负电荷数减少，影响分子的正常聚集，致使体积下降，溶解度降低，血细胞随之收缩成镰刀形，以致输氧功能下降，细胞变得脆弱而发生溶血。血红蛋白是由两条 α -链和两条 β -链共 574 个氨基酸构成的蛋白质，仅仅只有两条 β -链的两个氨基酸残基发生改变，竟导致功能上有如此重大的变化，足见结构与功能关系的高度统一。

血红蛋白一级结构的改变是由于编码它的基因发生了点突变。这种因基因突变产生异常蛋白从而导致的先天性疾病叫作分子病或遗传病。血红蛋白一级结构发生改变而导致分子病的例子很多，镰刀形红细胞贫血病只是其中的一种。了解到分子病发生的原因



后,可以设计出一些新药给予治疗。例如,异氰酸盐($\text{H}-\text{N}=\text{C}=\text{O}$),可以与HbS的N-端缬氨酸残基上的游离氨基结合,使其氨甲酰化,可以恢复其分子表面的电荷数,从而改善病情。

(二) 蛋白质的空间结构与功能的关系

蛋白质特定的生理功能是由它特定的空间构象决定的。蛋白质空间构象被破坏时,它失去了执行生理功能的能力,如酶不再具有催化作用,蛋白激素不再起调节代谢的作用,膜蛋白不再作为通透的载体。改变蛋白质周围的环境,就有可能破坏蛋白质天然的空间结构,使之丧失功能。

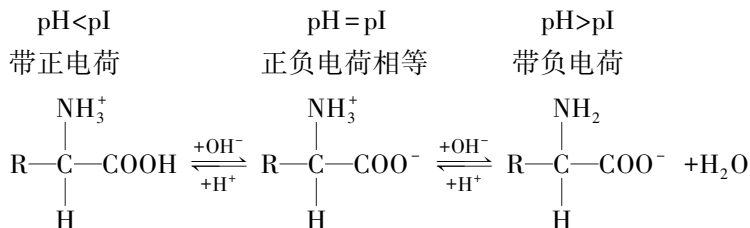
第三节 蛋白质的理化性质

由于蛋白质是由氨基酸组成的,因此它具有某些与氨基酸有关的性质,但它与氨基酸有着本质的区别,表现出单个氨基酸所没有的性质。认识和理解蛋白质的性质,对于蛋白质的分离、纯化工作以及研究蛋白质的结构与功能等都是极为重要的。

一、蛋白质的两性解离及电泳

蛋白质分子由氨基酸组成,而氨基酸是两性电解质,虽然蛋白质多肽链中的氨基酸的 α -氨基和 α -羧基都已结合成肽键,但是N-末端和C-末端仍具有游离的 α -氨基和 α -羧基。组成蛋白质的许多氨基酸具有可解离的侧链基团,如 ϵ -氨基、 β -羧基、 γ -羧基、咪唑基、胍基、酚基、巯基等,这些侧链基团在一定的pH条件下可以释放或接受 H^+ ,它们构成了蛋白质两性解离的基础。基于上述两方面的原因,我们说蛋白质是两性电解质。在一定的pH条件下能解离为带电基团,从而使蛋白质带电。当溶液在某一特定pH的条件下,使蛋白质所带正电荷与负电荷恰好相等,即总净电荷为零时,在电场中蛋白质分子既不向阳极移动,也不向阴极移动,这时溶液的pH称为该蛋白质的等电点(pI)。蛋白质的等电点和它所含的酸性氨基酸和碱性氨基酸的种类数量有关。

蛋白质在等电点时以两性离子的形式存在,其总净电荷为零,这样的蛋白质颗粒在溶液中因为没有相同电荷互相排斥的影响,所以最不稳定,溶解度最小,极易借静电引力迅速结合成较大的聚集体,从而沉淀析出。同时在等电点时蛋白质的黏度、渗透压、膨胀性以及导电能力均为最小。当溶液的pH值高于或低于等电点时,蛋白质的带电状况如下:





根据蛋白质净电荷的差异来分离蛋白质的方法被称为电泳法。这种方法的依据是在外电场的作用下，带电颗粒（不处在等电状态的蛋白质分子）将向着与其电性相反的电极移动，这种现象称为电泳。

目前对蛋白质分离有着高分辨率的电泳首推聚丙烯酰胺凝胶电泳。因为聚丙烯酰胺凝胶系微孔介质，使样品不易扩散，同时兼有分子筛的作用，所以分离效果相当好。如果将凝胶装入玻璃管中，蛋白质的不同组分形成环状圆盘，称为圆盘电泳。在铺有凝胶的玻璃板上进行的电泳称为平板电泳。蛋白质分子有一定的等电点，当它处在一个由阳极到阴极 pH 梯度逐渐增加的介质中，在通过直流电时，它便“聚焦”在与其等电点相同的 pH 位置上，等电点不同的蛋白质泳动后形成位置不同的区带而得到分离，这种电泳方法便称为等电聚焦电泳。此外，还有双向电泳、免疫电泳等。而纸电泳、醋酸纤维薄膜电泳也仍然在一定范围内应用。由于以上这些电泳方法可以将被分离物形成带状区域，因此称为区带电泳。

二、蛋白质的胶体性质与蛋白质的沉淀

（一）蛋白质的胶体性质

按照胶体化学的概念，胶体是这样定义的：把 1~100 nm 的粒子在介质中分散所形成的体系称为胶体。根据胶体物质的溶解性质可分为亲水胶体和疏水胶体。胶体溶液的稳定应具备三个条件：第一，分散相质点大小在 1~100 nm，这样大小的质点在动力学上是稳定的，介质分子对这种质点碰撞的合力不等于零，使它能在介质中不断地做布朗运动；第二，分散相的质点带有同种电荷，互相排斥，不易聚集成大颗粒而沉淀；第三，分散相的质点能与溶剂形成溶剂化层，如与水形成水化层，质点有了水化层，相互间不易靠拢聚集。

蛋白质分子的大小属于胶体质点的范围。蛋白质溶液是一种亲水胶体，蛋白质分子颗粒是分散相，水是分散介质，蛋白质分子表面的亲水基团，如—NH₂、—COOH、—OH 以及—CO—NH—等，在水溶液中能与水分子起水化作用，使蛋白质分子表面形成一个水化层。蛋白质分子表面上的可解离基团在适当的 pH 条件下都带有相同的净电荷，与周围的反离子构成稳定的双电层。蛋白质溶液由于具有水化层与双电层两方面的稳定因素，所以作为胶体系统是相对稳定的。蛋白质溶液和一般的胶体系统一样，具有丁达尔现象、做布朗运动以及不能通过半透膜等性质。

（二）蛋白质的沉淀

蛋白质在溶液中的稳定性是有条件的、相对的。如果条件改变，破坏了蛋白质溶液的稳定性的，蛋白质就会从溶液中沉淀出来。若向蛋白质溶液中加入适当的试剂，破坏它的水膜或中和它的电荷，就很容易使其失去稳定而发生沉淀。

沉淀蛋白质的方法有以下几种：

1. 盐析法 向蛋白质溶液中加入大量的中性盐（硫酸铵、硫酸钠或氯化钠等），使蛋白质脱去水化层而聚集沉淀。盐析沉淀一般不引起蛋白质变性。

2. 有机溶剂沉淀法 向蛋白质溶液中加入一定量的极性有机溶剂（甲醇、乙醇或丙酮等），因引起蛋白质脱去水化层以及降低介电常数而增加带电质点间的相互作用，



致使蛋白质颗粒容易凝集沉淀。

3. 重金属盐沉淀法 当溶液 pH 大于等电点时, 蛋白质颗粒带负电荷, 这样就容易与重金属离子 (Mg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ag^+ 等) 结成不溶性盐而沉淀。

4. 某些酸类 如苦味酸、单宁酸、三氯乙酸等能和蛋白质结合成不溶解的蛋白质盐而沉淀。这类沉淀反应经常被临床检验部门用来除去体液中干扰测定的蛋白质。

5. 加热变性沉淀法 几乎所有的蛋白质都因加热变性而凝固。少量盐促进蛋白质加热凝固。当蛋白质处于等电点时, 加热凝固最完全和迅速。我国很早便创造了将大豆蛋白质的浓溶液加热并点入少量盐卤 (含 $MgCl_2$) 的豆腐制作方法, 这是成功地应用加热变性沉淀蛋白的一个例子。

上述蛋白质的沉淀包括两种情况, 一是不影响蛋白质的空间结构, 所得到的蛋白质具有生物活性; 另一种是变性后的沉淀, 它涉及空间结构的解体 and 生物活性的丧失。用盐析法或在低温时加入有机溶剂 (将蛋白质用酸碱调节到等电点状态) 等方法制取的蛋白质, 仍然保持天然蛋白质的一切特性 (如原有生物活性), 将蛋白质重新溶解于水仍然成为稳定的胶体溶液等。但如在温度稍高的情况下加入有机溶剂来沉淀分离蛋白质或用有机溶剂沉淀分离得到的蛋白质没有及时与有机溶剂分开, 都会引起蛋白质的性质改变。

三、蛋白质的变性与复性

(一) 变性作用的概念

天然蛋白质分子在某些理化因素的影响下, 其分子内部原有的高度规律性结构发生变化, 致使蛋白质的理化性质和生物学性质都有改变, 但并不导致蛋白质一级结构的破坏, 这种现象叫变性作用。蛋白质变性作用的实质是维持蛋白质分子特定结构的次级键和二硫键被破坏, 引起天然构象解体, 但主链共价键并未打断, 即一级结构保持完好。

(二) 变性的原因和结果

能使蛋白质变性的因素很多, 化学因素有强酸、强碱、尿素、胍、去污剂、重金属盐、三氯乙酸、磷钨酸、苦味酸、浓乙醇等; 物理因素有加热 ($70\sim 100\text{ }^\circ\text{C}$)、剧烈振荡或搅拌、紫外线及 X 射线照射、超声波等。但不同的蛋白质对各种因素的敏感程度是不同的。蛋白质变性过程中, 往往出现下列现象:

(1) 生物活性丧失: 蛋白质的生物活性是指蛋白质所具有的酶、激素、抗原与抗体等的活性。生物活性的丧失是蛋白质变性的主要特征。

(2) 一些侧链基团暴露出来: 蛋白质变性时, 有些原来在分子内部包藏而不易与化学试剂起反应的侧链基团由于结构的伸展松散而暴露出来。

(3) 一些理化性质改变: 蛋白质变性后, 疏水基外露、溶解度降低, 一般在等电点区域不溶解, 分子相互凝集形成沉淀。其他如结晶能力丧失, 球状蛋白质变性后分子形状也发生改变。

(4) 生物化学性质的改变: 蛋白质变性后, 分子结构伸展松散, 易为蛋白水解酶分解。

(三) 变性机制及其应用

目前认为蛋白质的变性作用主要是由蛋白质分子内部的结构发生改变所引起的。天



然蛋白质分子内部通过氢键等次级键使整个分子具有紧密结构。变性后，氢键等次级键被破坏，蛋白质分子就从原来有秩序的卷曲紧密结构变为无秩序的松散伸展结构，也就是二级或三级以上的高级结构发生改变或破坏，但一级结构没有破坏。所以变性后的蛋白质在结构上虽有改变，但组成成分和相对分子质量不变。变性后的蛋白质溶解度降低是由于其高级结构受到破坏，使分子表面结构发生变化，亲水基团相对减少，原来藏在分子内部的疏水基团大量暴露在分子表面，使蛋白质颗粒不能与水相溶而失去水膜，很容易引起分子间相互碰撞而发生聚集沉淀，或者随着二、三级结构的破坏，发生解离或聚合现象。

当变性因素除去后，变性蛋白质又可重新恢复其天然构象和生物活性，这一现象称为蛋白质的复性。是否所有蛋白质的变性都是可逆的，这一问题至今仍有疑问。至少实践中未能使所有蛋白质在变性后都重新恢复活力。然而多数人都接受变性是可逆的概念，认为天然构象是处于能量最低的状态。有些蛋白质变性后之所以不能逆转，主要是所需条件复杂、不易满足的缘故。

蛋白质的变性与凝固已有许多实际应用，如豆腐就是大豆蛋白质的浓溶液加热加盐而成的变性蛋白凝固体。临床分析化验血清中非蛋白质成分时，常常加三氯乙酸或磷钨酸使血液中的蛋白质变性沉淀而去掉。为鉴定尿中是否有蛋白质，常用加热法来检验。在急救重金属盐（如氯化汞）中毒时，可给患者吃大量乳品或蛋清，其目的就是使乳品或蛋清中的蛋白质在消化道中与重金属离子结合成不溶解的变性蛋白质，从而阻止重金属离子被吸收入体内，最后设法将沉淀物从肠胃中洗出。

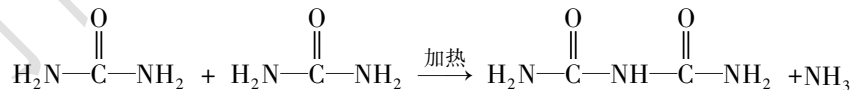
此外，在制备蛋白质和酶制剂过程中，为了保持其天然性质，就必须防止发生变性，因此在操作过程中必须注意保持低温，避开强酸、强碱、重金属盐类，防止振荡等。相反，那些不必需的杂蛋白则可通过变性作用而沉淀除去。

四、蛋白质的颜色反应

在蛋白质的分析工作中，常利用蛋白质分子中某些氨基酸或某些特殊结构与某些试剂产生颜色反应，作为测定的根据。重要的颜色反应如下：

（一）双缩脲反应

双缩脲是由2分子尿素缩合而成的化合物。将尿素加热到180℃，则2分子尿素缩合成1分子双缩脲，并释放出1分子氨气，反应如下：



双缩脲在碱性溶液中能与硫酸铜反应产生紫红色络合物，此反应称为双缩脲反应。

蛋白质分子中含有许多和双缩脲结构相似的肽键，因此也能起双缩脲反应，形成紫红色络合物。通常可用此反应来定性鉴定蛋白质，也可根据反应产生的颜色在540 nm处比色，定量测定蛋白质。

（二）蛋白黄色反应

此反应是含有芳香族氨基酸的蛋白质，特别是含有酪氨酸和色氨酸的蛋白质所特有的反应。蛋白质溶液遇硝酸后，先产生白色沉淀，加热则白色沉淀变成黄色，再加碱则



颜色加深呈橙黄色。这是由于硝酸将蛋白质分子中的苯环硝化，产生了黄色硝基苯衍生物。

(三) 米伦反应

蛋白质溶液中加入米伦试剂（硝酸、硝酸汞和亚硝酸汞的混合物）后产生白色沉淀，加热后沉淀变成红色。含有酚基的化合物都有这个反应，故酪氨酸及含有酪氨酸的蛋白质都能与米伦试剂反应。

(四) 乙醛酸反应

在蛋白质溶液中加入乙醛酸，并沿试管壁慢慢注入浓硫酸，在两液层之间就会出现紫色环，凡含有吡啶基的化合物都有这一反应。色氨酸及含色氨酸的蛋白质有此反应，不含色氨酸的白明胶就无此反应。

(五) 胍反应

精氨酸分子中含有胍基，能与次氯酸钠（或次溴酸钠）及 α -萘酚在 NaOH 溶液中产生红色产物。此反应可以用来鉴定含有精氨酸的蛋白质，也可以用来测定精氨酸的含量。

(六) 酚试剂（福林试剂）反应

蛋白质分子一般都含有酪氨酸，而酪氨酸中的酚基能将福林试剂中的磷钼酸及磷钨酸还原成蓝色化合物（钼蓝和钨蓝的混合物）。这一反应常用来测定蛋白质含量。

(七) 水合茚三酮反应

凡含有 α -氨基酸的蛋白质都能与水合茚三酮生成蓝紫色化合物。

第四节 核酸的分子组成

从 1868 年瑞士的年轻科学家 F. Miescher 发现核酸起，经过不断地研究证明，核酸（nucleic acid）存在于任何有机体中，包括病毒、细菌、动植物等。核酸是生物高分子，它的基本构成单位是核苷酸。核酸分为脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid, DNA）和核糖核酸（ribonucleic acid, RNA）两大类。

一、核酸的物质组成

核酸的基本构成单位是核苷酸（nucleotide）。核苷酸是由核苷和磷酸组成的，而核苷又是由碱基和戊糖组成的。

1. 碱基 核酸中的碱基分为两类：嘧啶碱和嘌呤碱。

(1) 嘧啶碱：嘧啶碱是母体化合物嘧啶的衍生物。核酸中常见的嘧啶有三类：胞嘧啶、尿嘧啶和胸腺嘧啶。植物 DNA 中有相当量的 5'-甲基胞嘧啶。在一些大肠杆菌噬菌体中 5'-羟甲基胞嘧啶代替了胞嘧啶。如图 1.6 所示。

(2) 嘌呤碱：嘌呤碱是母体化合物嘌呤的衍生物。核酸中常见的嘌呤有两类：腺嘌呤和鸟嘌呤。如图 1.7 所示。

(3) 稀有碱基：除以上五类基本的碱基外，核酸中还有一些含量极少的碱基称为

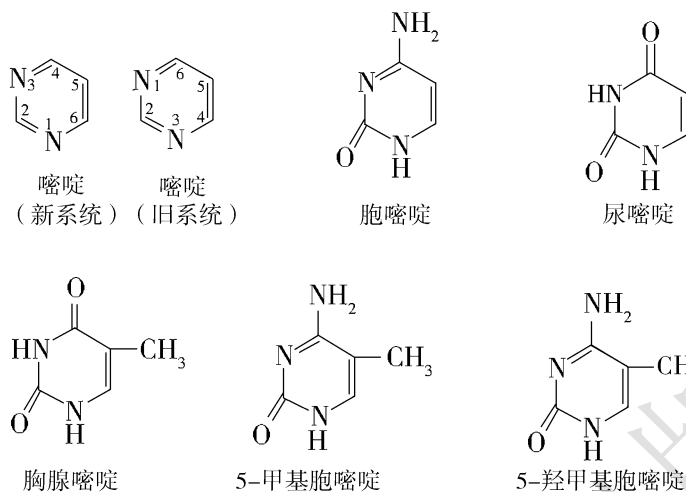


图 1.6 嘧啶碱

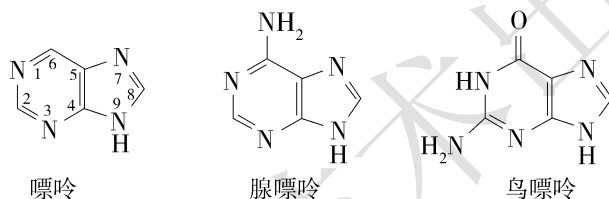


图 1.7 嘌呤碱

稀有碱基。稀有碱基种类很多。大多数都是五类基本碱基衍生出的甲基化碱基。tRNA 中含有较多的稀有碱基。

2. 戊糖 核酸中的戊糖有两类：*D*-核糖 (*D*-ribose) 和 *D*-2-脱氧核糖 (*D*-2-deoxyribose)。

3. RNA 和 DNA 物质组成的区别 核酸的分类就是根据两种戊糖种类不同而分为 RNA 和 DNA 的。

碱基在 RNA 中主要有四种：腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶，DNA 中也有四种碱基，与 RNA 不同的是胸腺嘧啶代替了尿嘧啶（表 1.2）。

表 1.2 两种核酸的基本化学组成

核酸的成分	DNA	RNA
嘌呤碱 (purine bases)	腺嘌呤 (adenine) 鸟嘌呤 (guanine)	腺嘌呤 鸟嘌呤
嘧啶碱 (pyrimidine bases)	胞嘧啶 (cytosine) 胸腺嘧啶 (thymine)	胞嘧啶 尿嘧啶 (uracil)
戊糖	<i>D</i> -2-脱氧核糖	<i>D</i> -核糖
酸	磷酸	磷酸



二、核酸的基本组成单位——核苷酸

(一) 形成方式

1. 核苷 核苷由戊糖和碱基缩合而成，并以糖苷键相连接。糖环上的 C_1 与嘧啶碱的 N_1 和嘌呤碱的 N_9 相连接。这种糖与碱基之间的连接键是 $N-C$ 键，称为 N -糖苷键。

核苷中的 D -核糖与 D -2-脱氧核糖均为呋喃型环状结构。糖环中 C_1 是不对称碳原子，所以有 α 及 β 两种构型。但核酸分子中的糖苷键均为 β -糖苷键。核苷的碱基与糖环平面互相垂直。核苷可分为核糖核苷和脱氧核糖核苷两大类。腺嘌呤核苷、胞嘧啶脱氧核苷的结构见图 1.8。

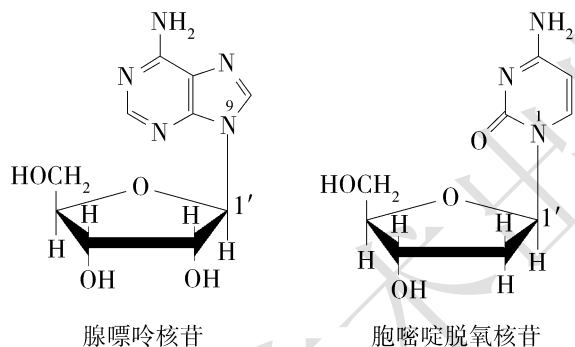


图 1.8 腺嘌呤核苷和胞嘧啶脱氧核苷

2. 核苷酸 核苷酸是核苷的磷酸酯。核苷酸可分为核糖核苷酸与脱氧核糖核苷酸两大类。下面为两种核苷酸的结构式。

生物体内存在的游离核苷酸多是 5'-核苷酸。用碱水解 RNA 时，可得到 2'-核苷酸与 3'-核苷酸的混合物。常见的核苷酸如图 1.9 所示。

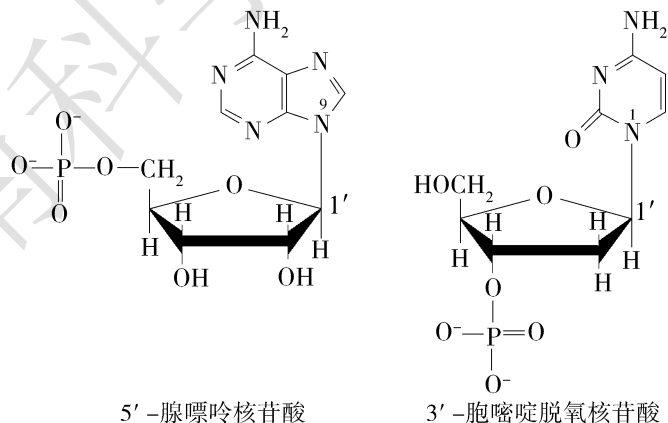


图 1.9 腺嘌呤核苷酸和胞嘧啶脱氧核苷酸

(二) 细胞内的游离核苷酸及其衍生物

1. 多磷酸核苷酸 在生物体内以游离形式存在的单核苷酸为核苷-5'-磷酸酯。有一些单核苷酸的衍生物在生物体的能量代谢中起着重要作用。

腺苷一磷酸 (AMP 或腺苷酸) 与 1 分子磷酸结合成腺苷二磷酸 (ADP)，腺苷二磷



酸再与 1 分子磷酸结合成腺苷三磷酸 (ATP)。常见的核苷酸如表 1.3 所示。

表 1.3 常见的核苷酸

碱基	核糖核苷酸	脱氧核糖核苷酸
腺嘌呤	腺嘌呤核苷酸 (adenosine monophosphate, AMP)	脱氧腺嘌呤核苷酸 (deoxyadenosine monophosphate, dAMP)
鸟嘌呤	鸟嘌呤核苷酸 (guanosine monophosphate, GMP)	脱氧鸟嘌呤核苷酸 (deoxyguanosine monophosphate, dGMP)
胞嘧啶	胞嘧啶核苷酸 (cytidine monophosphate, CMP)	脱氧胞嘧啶核苷酸 (deoxycytidine monophosphate, dCMP)
尿嘧啶	尿嘧啶核苷酸 (uridine monophosphate, UMP)	
胸腺嘧啶		脱氧胸腺嘧啶核苷酸 (deoxythymidine monophosphate, dTMP)

磷酸与磷酸之间的连接键水解裂开时能产生较大能量，称为高能磷酸键，习惯以“~”表示。含高能磷酸键的化合物叫高能化合物。ATP 含有两个高能磷酸键。物质代谢所产生的能量使 ADP 和磷酸合成 ATP，这是生物体内贮能的一种方式。ATP 分解又释放能量。高能磷酸键水解裂开时，每生成 1 mol 磷酸就放出能量约 30.5 kJ (一般磷酸酯水解释能 8.4~12.5 kJ/mol)。放出的能量可以支持生理活动 (如肌肉的收缩)，也可用以促进生物化学反应 (如蛋白质的合成)。所以 ATP 是体内蕴藏可利用能量的主要仓库，也是体内所需能量的主要来源。

其他单核苷酸可以和腺苷酸一样磷酸化，产生相应的高能磷酸化合物。各种核苷三磷酸化合物 (可简写为 ATP, CTP, GTP, UTP) 实际是体内 RNA 合成的直接原料。各种脱氧核苷三磷酸化合物 (可简写为 dATP, dCTP, dGTP 和 dTTP) 是 DNA 合成的直接原料。它们在连接起来构成核酸大分子的过程中脱去“多余”的二分子磷酸。有些核苷三磷酸还参与特殊的代谢过程，如 UTP 参加磷脂的合成、GTP 参加蛋白质和嘌呤的合成等。

此外，在生物体内还有一些参与代谢作用的重要核苷酸衍生物，如烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (辅酶 I, NAD)、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (辅酶 II, NADP)、黄素单核苷酸 (FMN)、黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD) 等与生物氧化作用的关系很密切，是重要的辅酶。

2. 环化核苷酸 近年来，对 3', 5'-环腺苷酸 (cAMP 或环腺一磷) 的作用有了新的认识。cAMP 在体内由 ATP 转化而来，是与激素作用密切相关的代谢调节物。cAMP 具有如图 1.10 结构式。

类似的化合物还有环鸟一磷 (cGMP) 和环胞一磷 (cCMP)。

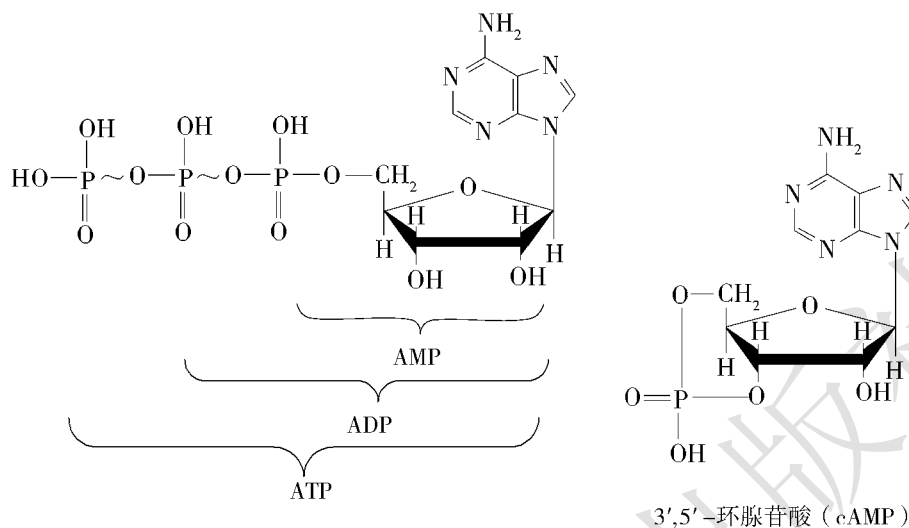


图 1.10 ATP、ADP、AMP 和 cAMP 结构式

第五节 核酸的分子结构

一、核酸的一级结构

(一) 形成方式

核酸分子中核苷酸与核苷酸之间彼此通过 3', 5'-磷酸二酯键相连, 即前一个核苷酸的 3'-羟基与下一个核苷酸 5'位磷酸间形成 3', 5'-磷酸二酯键, 许多核苷酸通过 3', 5'-磷酸二酯键连接成长的多核苷酸链, 称多核苷酸, 即核酸。多核苷酸链中核苷酸的排列顺序成为核酸的一级结构。

(二) 表示方法

由一级结构可以看出, 多核苷酸链的骨架仅由戊糖和磷酸交替构成。碱基只是在骨架上游离, 所以核酸中遗传信息的携带和传递过程是靠链上游离碱基的排列来实现的。任何一个碱基顺序的变换或缺失都将引起核酸结构和生物学性质的变异, 并可以代代遗传。由于核苷酸之间的差异主要是碱基不同, 因此, 核苷酸序列也称碱基序列。

图 1.11 所示的右侧是多核苷酸的几种缩写法。B 为线条式缩写, 竖线表示核糖的碳链, A、C、T、G 表示不同的碱基, P 代表磷酸基, 由 P 引出的斜线一端与 C_{3'} 相连, 另一端与 C_{5'} 相连。C 为文字式缩写, P 在碱基的左侧, 表示 P 在 C_{5'} 位置上。P 在碱基之右侧, 表示 P 与 C_{3'} 相连接。有时, 多核苷酸中磷酸二酯键上的 P 也可省略, 而写成...pA—C—T—G...这两种写法对 DNA 和 RNA 分子都适用。

(三) DNA 的空间结构

1. DNA 的双螺旋结构 DNA 的双螺旋结构模型是沃森 (Watson) 和克里克于 1953 年提出的。双螺旋结构模型 (图 1.12) 的要点如下:

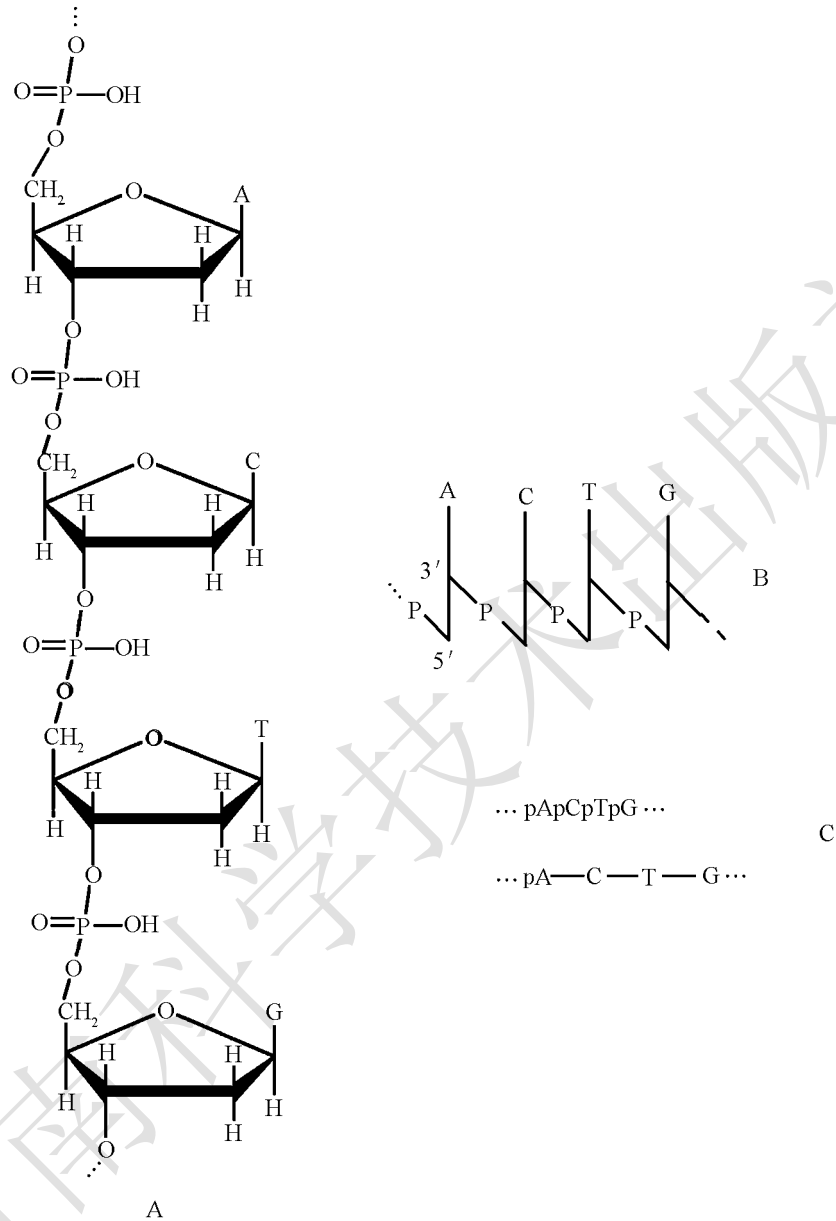


图 1.11 DNA 中多核苷酸链的一个小片段及缩写符号

A. DNA 中多核苷酸链的一个小片段 B. 条线式缩写 C. 文字式缩写

(1) 两条反向平行的多核苷酸链围绕同一中心轴相互缠绕，一条链的方向是 5'→3'，另一条链则是 3'→5'，两条链均为右手螺旋，螺旋直径为 2 nm。螺旋表面有一条大沟和一条小沟。

(2) 嘌呤与嘧啶碱位于双螺旋的内侧。磷酸与核糖以磷酸二酯键相连接形成的主链在外侧，两条链由碱基间的氢键相连。

(3) 碱基对的平面约与螺旋轴垂直，相邻碱基对平面间的距离（碱基堆积距离）



是 0.34 nm。双螺旋的每一转有 10 对核苷酸，每转高度为 3.4 nm。

(4) 碱基成对有一定规律，腺嘌呤一定与胸腺嘧啶成对，鸟嘌呤一定与胞嘧啶成对。因此有四种可能的碱基对，即 A—T, T—A, G—C 和 C—G。A 和 T 间构成两个氢键，G 和 C 间构成三个氢键。

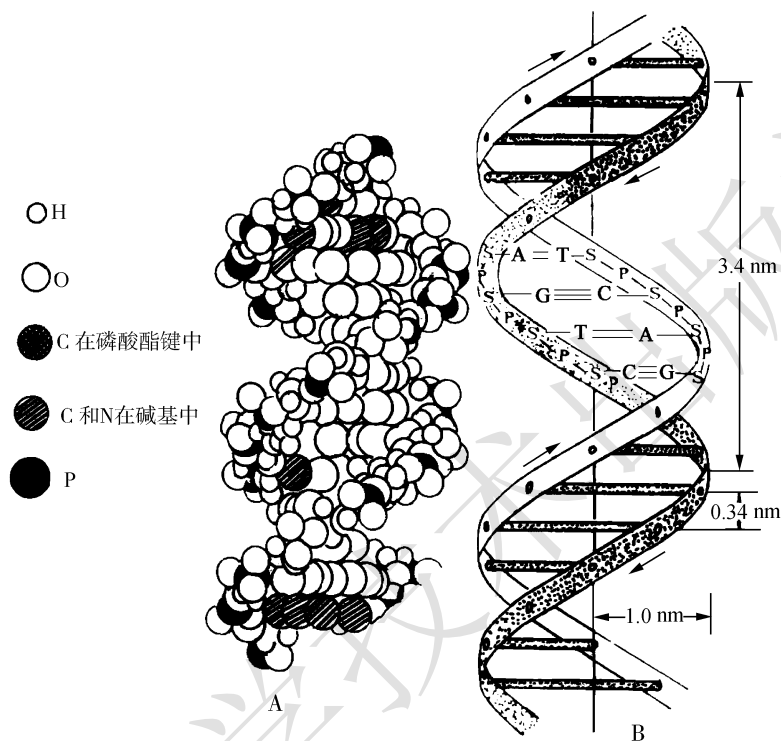


图 1.12 DNA 分子双螺旋结构模型 (A) 及其图解 (B)

由于四种碱基对都适合此模型，每条链可以有任意的碱基顺序，但由于碱基成对的规律性，如一条链的碱基顺序已确定，则另一条链必有相对应的碱基顺序。两条链的碱基组成和排列顺序并不一定相同。

大多数天然 DNA 具有双链结构。某些小细菌病毒如 ϕ X174 和 M_{13} 的 DNA 是单链分子。

DNA 双螺旋模型最主要的成就是引出“互补”（碱基配对）概念。根据碱基互补原则，当一条多核苷酸的序列被确定以后，即可推知另一条互补链的序列。碱基互补原则具有极其重要的生物学意义。DNA 复制、转录、逆转录等的分子基础都是碱基互补。

DNA 双螺旋结构在生理状态下是很稳定的。维持这种稳定性的主要因素是碱基堆积力 (base stacking force)。嘌呤与嘧啶形状扁平，呈疏水性，分布于双螺旋结构内侧。大量碱基层层堆积，两相邻碱基的平面十分贴近，于是使双螺旋结构内部形成一个强大的疏水区，与介质中的水分子隔开。其次，大量存在于 DNA 分子中的其他弱键在维持双螺旋结构的稳定上也起一定作用。这些弱键包括：互补碱基对间的氢键；磷酸基团上的负电荷与介质中的阳离子之间的离子键；范德华引力。

2. DNA 的超螺旋结构 双链 DNA 多数为线形，少数为环形。某些小病毒、线粒体、叶绿体以及某些细菌中的 DNA 为双链环形。在细胞内，这些环形 DNA 进一步扭曲



成“超螺旋”的三级结构，如图 1.13、图 1.14 所示。

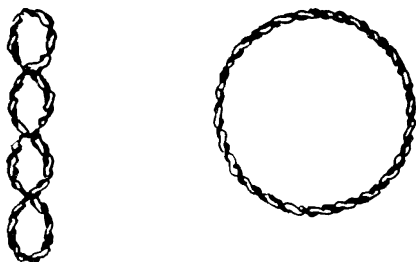


图 1.13 多瘤病毒的环状分子和超螺旋结构

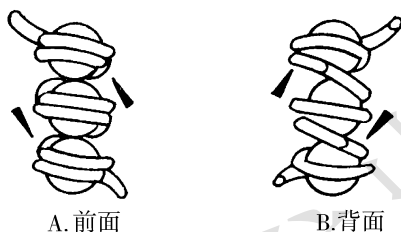


图 1.14 核粒结构示意图

注：圆球代表组蛋白，缠绕在组蛋白上的带子为 DNA 超螺旋

真核细胞染色质和一些病毒的 DNA 是双螺旋线形分子。染色质 DNA 的结构极其复杂。双螺旋 DNA 先盘绕组蛋白形成核粒（超螺旋），许多核粒（或称核小体）由 DNA 链连在一起构成念珠状结构，念珠状结构进一步盘绕成更复杂更高层次的结构。据估算，人的 DNA 大分子在染色质中反复折叠盘绕，共压缩 1/10 000~1/8 000 倍。

二、核糖核酸（RNA）的空间结构

RNA 也是无分支的线形多聚核糖核苷酸，组成 RNA 的核苷酸也是以 3', 5'-磷酸二酯键彼此连接起来的，主要由四种核糖核苷酸组成，即腺嘌呤核糖核苷酸、鸟嘌呤核糖核苷酸、胞嘧啶核糖核苷酸和尿嘧啶核糖核苷酸。这些核苷酸中的戊糖不是脱氧核糖，而是核糖。RNA 分子中也还有某些稀有碱基。

动物、植物和微生物细胞内都含有三种主要 RNA，即核糖体 RNA（rRNA）、转运 RNA（tRNA）、信使 RNA（mRNA）。

（一）mRNA 的结构

真核细胞 mRNA 的结构有某些特点：

（1）核细胞 mRNA 5'-末端有一个特殊的结构：5'-末端的鸟嘌呤 N₇ 被甲基化的帽结构。鸟嘌呤核苷酸经焦磷酸与相邻的一个核苷酸相连，形成 3', 5'-磷酸二酯键。这种结构有抗 5'-核酸外切酶降解的作用。目前认为 5'-帽子可能与蛋白质合成的正确起始作用有关，它可能协助核糖体与 mRNA 相结合，使翻译作用在 AUG 起始密码子处开始。某些真核细胞病毒也有 5'-帽子结构。

（2）RNA 的 3'-末端有一段多聚腺苷酸的尾结构，长短可由数十个腺苷酸到 200 个不等。它不是从 DNA 转录过来的，而是在 mRNA 合成后经加工修饰上去的。原核生物



一般无此结构。该结构可能与 mRNA 在胞核内合成后移至胞质的过程有关。

(3) RNA 分子内有信息区(编码区)和非信息区(非编码区)。信息区内每三个核苷酸组成一个密码子,称遗传密码或三联体密码,每个密码子代表一个氨基酸。因此,信息区是 RNA 分子的主要结构部分,在蛋白质生物合成中决定蛋白质的一级结构。

(二) tRNA 的二级结构和三级结构

细胞内 tRNA 的种类很多,每一种氨基酸都有其相应的一种或几种 tRNA。许多 tRNA 的一级结构早就被阐明,tRNA 的二级结构(图 1.15)和三级结构也比较清楚。

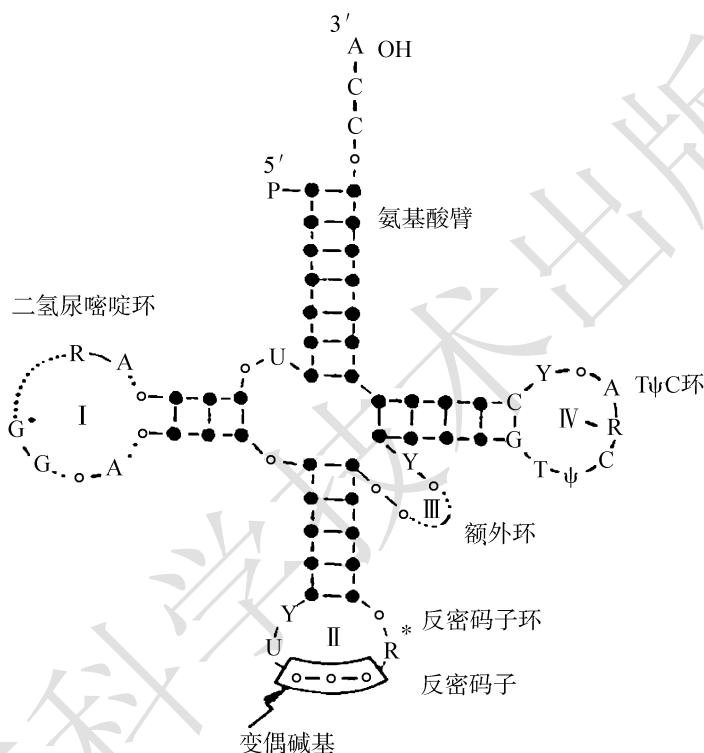


图 1.15 tRNA 三叶草形二级结构模型

R. 嘌呤核苷酸 Y. 嘧啶核苷酸 T. 胸腺嘧啶核苷酸 ψ. 假尿嘧啶核苷酸

*. 可以被修饰的碱基 ●. 螺旋区的碱基 ○. 不互补的碱基

- (1) 相对分子质量在 2.5 万左右,由 70~90 个核苷酸组成,沉降系数在 4S 左右。
- (2) 碱基组成中有较多的稀有碱基。
- (3) 3'-末端都为 $\cdots\text{C}_p\text{C}_p\text{AOH}$,用来接受活化的氨基酸,所以这个末端称为接受末端。

(4) 5'-末端大多为 $_p\text{G}\cdots$,也有 $_p\text{C}\cdots$ 的。

(5) tRNA 的二级结构都呈三叶草形(图 1.15)。双螺旋区构成了叶柄,突环区好像是三叶草的三片小叶。由于双螺旋结构所占比例甚高,tRNA 的二级结构十分稳定。三叶草形结构由氨基酸臂、二氢尿嘧啶环、反密码子环、额外环和 TψC 环等五个部分组成。



氨基酸臂：由 7 对碱基组成，富含鸟嘌呤，末端为—CCA—OH，接受活化的氨基酸。

二氢尿嘧啶环：由 8~12 个核苷酸组成，具有两个二氢尿嘧啶，故得名。通过由 3~4 对碱基组成的双螺旋区（也称二氢尿嘧啶臂）与 tRNA 分子的其余部分相连。

反密码子环：由 7 个核苷酸组成。环中部为反密码子，由 3 个碱基组成。次黄嘌呤核苷酸（也称肌苷酸，缩写成 I）常出现于反密码子中。反密码子环通过由 5 对碱基组成的双螺旋区（反密码臂）与 tRNA 的其余部分相连。

额外环：由 3~18 个核苷酸组成。不同的 tRNA 具有不同大小的额外环，所以它是 tRNA 分类的重要指标。

假尿嘧啶核苷—胸腺嘧啶核糖核苷环（ T_{ψ} 臂）与 tRNA 的其余部分相连。除个别例外，几乎所有 tRNA 在此环中都含有 T_{ψ} 。

(三) rRNA 的结构

rRNA 含量大，占细胞 RNA 总量的 80% 左右，是构成核糖体的骨架。大肠杆菌核糖体中有三类 rRNA，5S rRNA、16S rRNA、23S rRNA。动物细胞核糖体 rRNA 有四类：5S rRNA，5.8S rRNA，18S rRNA，28S rRNA。许多 rRNA 的一级结构及由一级结构推导出来的二级结构都已阐明，但是对许多 rRNA 的功能迄今仍不十分清楚。图 1.16 为大肠杆菌 5S rRNA 的结构。

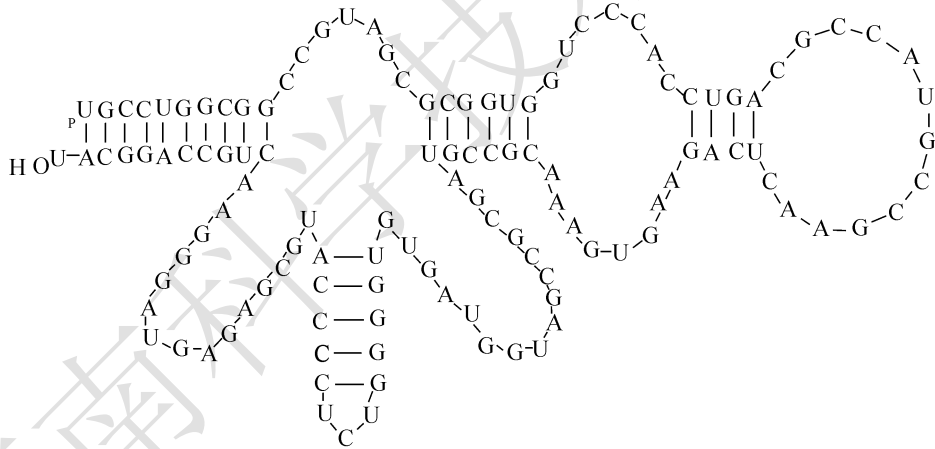


图 1.16 大肠杆菌 5S rRNA 的结构

第六节 核酸的理化性质

一、核酸的一般性质

1. 溶解度 DNA 和 RNA 均微溶于水，它们的钠盐在水中的溶解度较大。DNA 和 RNA 均能溶于 2-甲氧乙醇，但不溶于乙醇、乙醚等有机溶剂，所以在分离核酸时，加



入乙醇即可使之从溶液中沉淀出来。

2. 分子大小、形状和黏度 大多数 DNA 为线形分子，分子极不对称，其长度可以达到几厘米，而分子的直径只有 2 nm。因此，DNA 溶液的黏度极高。RNA 分子比 DNA 分子小得多，RNA 溶液的黏度要小得多。

3. 酸碱度 核酸分子中有酸性的磷酸基团和含氮碱基上的碱性基团，故为两性电解质，因磷酸基团酸性较强，所以核酸分子通常表现为酸性。

二、核酸的变性与复性

1. 核酸的变性 高温、酸、碱以及某些变性剂（如尿素）能破坏核酸中的氢键，使之断裂，核酸中的双螺旋区变成单链，并不涉及共价键的断裂，这一过程称为核酸的变性。

当将 DNA 的稀盐溶液加热到 80~100 °C 时，双螺旋结构即发生解体，两条链分开，形成无规则线团（图 1.17），一系列理化性质也随之发生改变：260 nm 区紫外吸收值升高，黏度降低，浮力、密度升高，同时二级结构改变，有时可以失去部分或全部生物活性。DNA 变性的特点是爆发式的，变性作用发生在一个很窄的温度范围内。



图 1.17 DNA 的变性过程

通常把 DNA 的双螺旋结构失去一半时的温度称为该 DNA 的熔点或熔解温度（melting temperature），用 T_m 表示。DNA 的 T_m 值一般在 70~85 °C。

DNA 的 T_m 值大小与下列因素有关：

(1) DNA 的均一性：均一性愈高的样品，熔解过程愈是发生在一个很小的温度范围内。

(2) G—C 含量：G—C 含量越高， T_m 值越高，它们成正比关系。这是 G—C 对比 A—T 对更为稳定的缘故。所以测定 T_m 值可推算出 G—C 对的含量。其经验公式为

$$G-C (\%) = (T_m - 69.3) \times 2.44$$

(3) 介质中的离子强度：一般说来，在离子强度较低的介质中，DNA 的熔解温度较低，熔解温度的范围也较窄。而在较高的离子强度的介质中，情况则相反。所以 DNA 制品应保存在较高浓度的缓冲液或溶液中，故常在 1 mol/L 的 NaCl 中保存。

RNA 分子中有局部的双螺旋区，所以 RNA 也可发生变性。

2. 核酸的复性 变性 DNA 在适当条件下，又可使两条彼此分开的链重新缔合成为双螺旋结构，这一过程称为复性。DNA 复性后，许多物理化学性质又得到恢复，生物



活性也可以得到部分恢复。

将不同来源的 DNA 放在试管里，经热变性后，慢慢冷却，让其复性，若这些异源 DNA 之间在某些区域有相同的序列，则复性时会形成杂交 DNA 分子。

■拓展与应用

1. 蛋白质变性在临床上的应用 蛋白质的变性作用，已普遍应用在实践中。如制备活性酶制剂和蛋白类激素时，要注意在处理过程中的变性和失活；乙醇消毒、高温、高压及紫外线灭菌，就是利用变性原理使微生物体内的蛋白质失活；利用蛋白质对变性剂的不同敏感性，在提取、分离和纯化时选择合适的条件与不同处理，使所需要的蛋白质不变性，不需要的蛋白质因变性沉淀而除去等。生物的生命现象有不少与蛋白质变性现象有关。如机体衰老时，某些蛋白质的亲水性减弱，同时逐渐缓慢地变性；有许多实质性的病理变化，也常伴随蛋白质的变性。

2. 多聚酶链式反应 (PCR 技术) 这是 20 世纪 80 年代中期发展起来的一种体外扩增特异 DNA 的方法，此方法操作简便，可在短时间内在试管中获得数百万个特异的目的 DNA 序列的拷贝。PCR 技术虽然问世时间不长，但它已迅速渗透到分子生物学的各个领域，引起了生物技术发展的一次革命，目前它在分子克隆、目的基因检测、遗传病的基因诊断、法医学、考古学等方面得到了广泛的应用。PCR 使用一种耐热的多聚酶以及两个含有 20 个碱基的单链引物，经过高温变性将模板 DNA 分离成两条链，低温退火使得引物和一条模板单链结合，然后中温延伸，反应液的游离核苷酸紧接着引物从 5' 端到 3' 端合成一条互补的新链。而新合成的 DNA 又可以继续进行上述循环，因此 DNA 的数目不断倍增。

PCR 用于扩增位于两端已知序列之间的 DNA 区段，即通过引物延伸而进行的重复双向 DNA 合成。基本原理及过程如下：PCR 循环过程中有三种不同的事件发生：模板变性；引物退火；热稳定 DNA 聚合酶进行 DNA 合成。

(1) 变性：加热使模板 DNA 在高温下 (94~95 °C) 变性，双链间的氢键断裂而形成两条单链，即变性阶段。

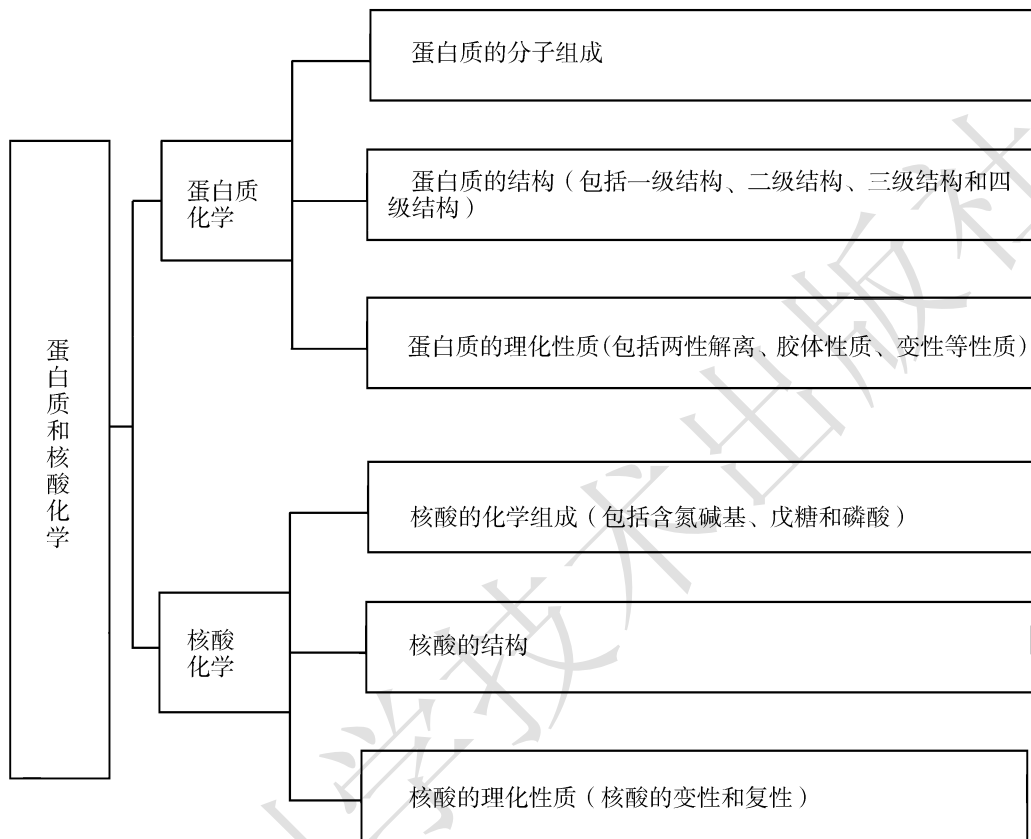
(2) 退火：在体系温度降至 37~65 °C，模板 DNA 与引物按碱基配对原则互补结合，使引物与模板链 3' 端结合，形成部分双链 DNA，即退火阶段。

(3) 延伸：体系反应温度升至中温 72 °C，耐热 DNA 聚合酶以单链 DNA 为模板，在引物的引导下，利用反应混合物中的 4 种脱氧核苷三磷酸 (dNTP)，按 5'→3' 方向复制出互补 DNA，即引物的延伸阶段。

上述 3 步为一个循环，即高温变性、低温退火、中温延伸 3 个阶段。从理论上讲，每经过一个循环，样本中的 DNA 量应该增加 1 倍，新形成的链又可成为新一轮循环的模板，经过 25~30 个循环后 DNA 可扩增 $10^6 \sim 10^9$ 倍。



本章小节



思考与练习

1. 蛋白质分为哪些类型？各行使何种功能？
2. 试述自然界存在的氨基酸种类、结构和性质？
3. 肽键有何特点？对蛋白质构象的形成有何影响？
4. 何谓蛋白质的一、二、三、四级结构？维系蛋白质构象的作用力有哪些？
5. 何谓蛋白质的超二级结构和结构域？
6. 试述蛋白质一级结构和高级结构与功能的关系。
7. 何谓蛋白质的变性作用与复性作用？
8. 蛋白质的元素组成有何特点？这一特点有何实际应用？
9. 何谓蛋白质的两性解离及等电点？蛋白质的等电点与其氨基酸组成有何关系？
10. 何谓蛋白质的沉淀？沉淀蛋白质的方法有哪些？



11. 何谓蛋白质变性? 有哪些因素可引起蛋白质变性?
12. 试比较 DNA 与 RNA 在组成成分和生理功能上的异同。
13. DNA 双螺旋结构模型的要点是什么?
14. 何谓分子杂交?

河南科学技术出版社

第二章 酶与维生素

【知识目标】

- ◆掌握酶的概念。
- ◆掌握酶的结构与功能的关系，酶的化学组成。
- ◆掌握影响酶促反应速度的因素。
- ◆了解酶的分类、命名。
- ◆熟悉酶原、酶原激活及其生理意义。
- ◆了解常见的水溶性维生素的化学本质和辅酶名称、生理功能，以及脂溶性维生素化学本质、生理功能和缺乏症。
- ◆关注酶与动物生产实践的关系以及竞争性抑制药物（磺胺类）的生化机制。

第一节 酶的概述

一、酶的概念和酶促反应

新陈代谢是生物体的基本特征，都是通过在体内环境下进行的高效、有条不紊的一系列生化反应来实现的。

体内生化反应不需要一般化学反应（体内）的特殊催化条件（高温、酸、碱等），而是在生物体内的催化剂——酶的参与下进行的。

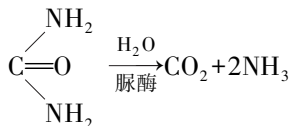
1. 酶的概念 酶是生物活细胞产生的以蛋白质为主要成分的生物催化剂，或者说酶是一种高效能、高专一性、高度可变性的高分子生物催化剂。1926年，萨姆纳（Sumner）提出并纯化了第一种酶——脲酶结晶，并证明它是蛋白质。此后，确证了酶的化学本质是蛋白质，它具有蛋白质的所有特性：它是由氨基酸组成的具有复杂结构的大分子化合物，具有两性电离等蛋白质所具有的理化性质，具有特定的免疫原性和高分子性质。

近年来，随着对酶的深入研究，人们发现除了蛋白质可作为生物催化剂外，还有其他物质具有催化活性，如核糖核酸、脱氧核糖核酸、抗体等，前两者称为核酶，后者称为抗体酶。

2. 酶促反应 酶的种类极多，所催化的反应因而多种多样。在生物化学中，常把



由酶催化的化学反应称为酶促反应 (enzymatic reaction)。在酶促反应中, 被催化的物质称为底物 (substrate), 反应后生成的物质称为产物 (product)。比如, 脲酶可作用于尿素, 使尿素分解为二氧化碳和氨气。这个反应就是酶促反应, 其中尿素为底物, 二氧化碳和氨气为产物。反应式如下:



二、酶的分类和命名

1. 酶的分类 1961年国际生物化学联合会酶委员会 (Enzyme Commission of IUB, EC) 根据酶所催化反应的性质, 将酶分为六大类。

(1) 氧化还原酶类: 凡能催化底物发生氧化还原反应的酶, 均称为氧化还原酶。生物体内的氧化还原反应以脱氢为主, 还有脱电子及直接与氧化合的反应。反应通式为



其中, 种数最多的是脱氢酶, 如乳酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶等。该类酶的辅酶是 NAD^+ 或 NADP^+ , FMN 或 FAD 。

(2) 转移酶类: 凡能催化底物发生基团转移或交换的酶, 均称为转移酶。根据所转移的基团种类的不同, 常见的转移酶有氨基转移酶、甲基转移酶、酰基转移酶、激酶及磷酸化酶。反应通式为



式中, R 为被转移的基团。

(3) 水解酶类: 凡能催化底物发生水解反应的酶, 皆称为水解酶。常见的水解酶有淀粉酶、麦芽糖酶、蛋白酶、肽酶、酯酶及磷酸酯酶等。反应通式为



(4) 裂解酶类: 凡能催化底物分子中 C—C (C—O、C—N 等) 化学键断裂, 断裂后一分子底物转变为两分子产物的酶, 均称为裂解酶。反应通式为



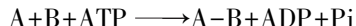
这类酶催化的反应多数是可逆的, 从左向右进行的反应是裂解反应, 由右向左是合成反应, 所以又称为裂合酶。

(5) 异构酶类: 催化各种同分异构体间相互转化的酶类。反应通式为

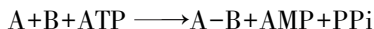


异构酶所催化的反应都是可逆的。

(6) 合成酶类: 催化两分子底物合成为一分子化合物, 并伴随有 ATP 分子中的高能磷酸键断裂的一类酶, 又称连接酶。反应通式为



或



此类反应多数不可逆。反应式中的 P_i 或 PP_i 分别代表无机磷酸与焦磷酸。反应中必须有 ATP 或 GTP 等参与。常见的合成酶如柠檬酸合成酶、丙酮酸羧化酶、谷氨酰胺



合成酶、谷胱甘肽合成酶等。

2. 酶的命名 迄今已鉴定出 4 000 多种酶, 如此种类繁多、催化反应各异的酶, 为防止混乱, 需要一个统一的命名。

(1) 习惯命名法: 习惯命名没有统一规定, 名称多来自最初人们的叫法, 而后成习。大致上可以分为以下几种情况: ①底物+酶: 如淀粉酶、蛋白酶、脲酶; ②底物+反应性质+酶: 如琥珀酸脱氢酶、淀粉水解酶; ③酶来源+底物(或反应性质)+酶: 如胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、细菌淀粉酶、牛胰核糖核酸酶; ④反应性质+酶: 如水解酶、转氨基酶、脱氢酶。

习惯命名较简单、随意, 缺乏系统性, 易造成“一酶多名”, 如分解淀粉的酶, 若按习惯命名法则有三个名字, 分别为淀粉酶、水解酶、细菌淀粉酶, 还会出现“一名数酶”, 如脱氢酶, 该酶的全酶中辅助因子是 NAD^+ 或者是 FAD , 作为底物脱下来的氢载体, 如乳酸脱氢酶、琥珀酸脱氢酶等。为此, 国际生物化学协会酶学委员会于 1961 年提出了一个新的系统命名原则——系统命名法。

(2) 系统命名法: 系统命名的组成原则是: ①反应的底物名称+催化反应的性质+酶; ②若有多个底物, 则底物名之间以“:”隔开, 且全部列出; ③底物之一为水时, 可将水字略去, 但“:”不省(表 2.1)。

表 2.1 酶的习惯命名和系统命名的比较

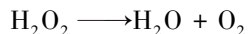
习惯名称	系统名称	催化反应
谷丙转氨酶	<i>L</i> -丙氨酸: α -酮戊二酸氨基转移酶	<i>L</i> -丙氨酸+ α -酮戊二酸 \rightarrow 丙酮酸+ <i>L</i> -谷氨酸
己糖激酶	ATP: 己糖磷酸基转移酶	ATP+葡萄糖 \rightarrow 6-磷酸葡萄糖+ADP

按照严格的规则对酶进行系统命名后, 获得的新名过于冗长而使用不便, 因此, 尽管系统命名科学严谨, 读者一见酶名, 就知道该酶所催化的反应。但实际上, 只在关键时刻, 需要鉴别一种酶的时候, 或在国际科学文献中初始出现该酶的名字时, 才予以引用, 而在绝大多数情况下, 使用的都是简单明了的习惯名称。

三、酶的催化作用特点

酶作为生物催化剂具有一般催化剂的特征: ①用量少而催化效率高, 在化学反应前后没有质和量的改变; ②只能催化热力学上允许进行的化学反应; ③仅能改变化学反应的速率, 并不能改变化学反应的平衡点; ④对可逆反应的正反应和逆反应都具有催化作用。同时, 酶作为生物催化剂又具有与一般催化剂不同的特征。

1. 高度的催化效率 酶的催化活性比化学催化剂的催化活性要高很多。如过氧化氢酶(catalase)(含 Fe^{2+})和无机铁离子都催化过氧化氢发生如下的分解反应:



实验得知, 1 mol 的过氧化氢酶 1 min 内可催化 5×10^6 mol 的 H_2O_2 分解。同样条件下, 1 mol 的化学催化剂 Fe^{2+} 只能催化 6×10^{-4} mol 的 H_2O_2 分解。二者相比, 过氧化氢酶



的催化效率大约是 Fe^{2+} 的 10^{10} 倍。

2. 高度的专一性 酶对其所催化的底物具有严格的选择性，称为酶的专一性或特异性。如糖苷键、酯键、肽键等都能被酸碱催化而水解，但水解这些化学键的酶却各不相同，分别为相应的糖苷酶、酯酶和肽酶，即它们分别被具有专一性的酶作用才能水解。一般将酶的专一性分为绝对专一性、相对专一性和立体异构专一性三类。

(1) 绝对专一性：具有绝对专一性的酶仅作用于一种底物，催化一种反应。如脲酶只作用于尿素，麦芽糖酶只作用于麦芽糖，对其衍生物如甲基取代物不起作用。

(2) 相对专一性：有些酶的专一性较低，它们能作用于一类化合物或一类化学键。这种专一性称为相对专一性。其又可分为族类专一性（或称基团专一性）和键专一性，前者对底物化学键两端的基团有要求。

(3) 立体异构专一性：酶与底物作用时，只作用于一种底物的一种异构体。这种现象相当普遍，几乎所有已知的酶都具有立体异构专一性。比如：*D*-氨基酸氧化酶只能催化 *D*-氨基酸发生氧化脱氨反应，对 *L*-氨基酸，则无催化作用。

3. 反应条件温和 因为酶大多为蛋白质，高酸、高碱、高温易使其变性而失活，故酶促反应要求常温、常压和接近中性的酸碱度。酶对外界环境的变化比较敏感，容易变性失活，在应用时，必须严格控制反应条件。

4. 酶催化活性的可调控性 与化学催化剂相比，酶催化作用的另一个特征是其催化活性可以自动调控。生物体内进行的化学反应，虽然种类繁多，但非常协调有序。底物浓度、产物浓度以及环境条件的改变，都有可能影响酶催化活性，从而控制生化反应协调有序地进行。任一生化反应的错乱与失调，必将造成生物体产生疾病，严重时甚至导致死亡。生物体为适应环境的变化，保持正常的生命活动，在漫长的进化过程中，形成了自动调控酶活性的系统。酶的调控方式很多，包括抑制剂调节、反馈调节、共价修饰调节、酶原激活及激素控制等。

5. 酶催化的活性与辅酶、辅基及金属离子有关 有些酶是复合蛋白质，其中的小分子物质辅酶、辅基及金属离子与酶的催化活性密切相关。若将它们除去，酶就失去活性。

总之，酶催化的高效性、专一性以及温和的作用条件使酶在生物体新陈代谢中发挥强有力的作用，酶活性的调控使生命活动中的各个反应得以有条不紊地进行。

第二节 酶的结构与功能的关系

一、酶的化学组成

酶和其他蛋白质一样，根据其化学组成可分为单纯蛋白酶（simple proteinases）和结合蛋白酶（conjugated proteases）两大类。

1. 单纯蛋白酶 单纯蛋白酶分子中完全只由蛋白质组成，不含辅助因子，包括一般的水解酶。如脲酶、蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、核糖核酸酶等属于单成分酶。



2. 结合蛋白酶 结合蛋白酶由蛋白质部分和非蛋白部分结合而成。许多氧化还原酶类、转氨酶类、乳酸脱氢酶 (LDH)、碳酸酐酶等均属结合蛋白酶。在结合蛋白酶中, 蛋白质部分称为酶蛋白 (apoenzyme), 非蛋白部分称为辅助因子 (cofactor)。酶蛋白与辅助因子单独存在时, 均无催化活性, 只有二者结合成完整的分子时, 才具有酶活性。此完整的酶分子称为全酶 (holoenzyme)。

全酶 = 酶蛋白 + 辅助因子

酶的辅助因子有的是金属离子, 有的是小分子有机化合物。有时这两者对酶的活性都是必需的。通常将这些小分子有机化合物称为辅酶或辅基。在全酶的催化反应中, 酶蛋白与辅助因子所起的作用不同, 酶蛋白本身决定酶反应的专一性及高效性, 而辅助因子直接作为电子、原子或某些化学基团的载体起传递作用, 参与反应并促进整个催化过程。

通常一种酶蛋白只能与一种辅酶结合, 组成一种酶, 作用一种底物, 向着一个方向进行化学反应。而一种辅酶, 则可以与若干种酶蛋白结合, 组成为若干个酶, 催化若干种底物发生同一类型的化学反应。如乳酸脱氢酶的酶蛋白, 只能与 NAD^+ 结合, 组成乳酸脱氢酶, 使底物乳酸发生脱氢反应。但可以与 NAD^+ 结合的酶蛋白则有很多种, 如乳酸脱氢酶、苹果酸脱氢酶 (MDH) 及磷酸甘油脱氢酶 (GDH) 中都含 NAD^+ , 能分别催化乳酸、苹果酸及磷酸甘油发生脱氢反应。由此也可看出, 酶蛋白决定了反应底物的种类, 即决定该酶的专一性, 而辅酶 (基) 决定底物的反应类型。

二、酶的活性中心和必需基团

1. 酶活性中心的概念 酶分子很大, 构成酶分子的化学基团有很多, 例如 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{COOH}$ 、 $-\text{SH}$ 、 $-\text{OH}$ 等, 并不是这些基团都与酶活性有关。在反应过程中酶与底物接触结合时, 只限于酶分子的少数基团或较小的部位。酶分子中直接与底物结合并催化底物发生化学反应的部位, 称为酶的活性中心。酶的种类不同, 酶的活性中心组成也不一致。

2. 酶活性中心的组成 构成酶的活性中心有两个功能部位, 一是与底物结合的必需基团称为结合基团, 它决定酶对底物的专一性; 二是促进底物发生化学变化的基团称为催化基团, 它决定酶促反应的类型, 即酶的催化性质。活性中心中有的必需基团可同时具有这两方面的功能。还有些必需基团虽然不参加酶的活性中心的组成, 但为维持酶活性中心应有的空间构象所必需, 这些基团是酶的活性中心以外的必需基团。酶活性中心的结构如图 2.1 所示。

3. 酶活性中心的特点 活性中心往往是酶分子表面上的一个凹穴; 对于单纯蛋白酶, 其活性中心通常由酶分子中几个氨基酸残基侧链上的极性基团组成。构成酶的活性中心的氨基酸有天冬氨酸 (Asp)、谷氨酸 (Glu)、丝氨酸 (Ser)、组氨酸 (His)、半胱氨酸 (Cys)、赖氨酸 (Lys) 等, 它们的侧链上分别含有羧基、羟基、咪唑基、巯基、氨基等极性基团, 称为必需基团。对于需要辅助因子的结合蛋白酶来说, 辅酶 (或辅基) 分子或其分子上某一部分结构往往也是活性中心的组成部分。

构成酶活性中心的几个氨基酸, 虽然在一级结构上并不紧密相邻, 可能相距很远,

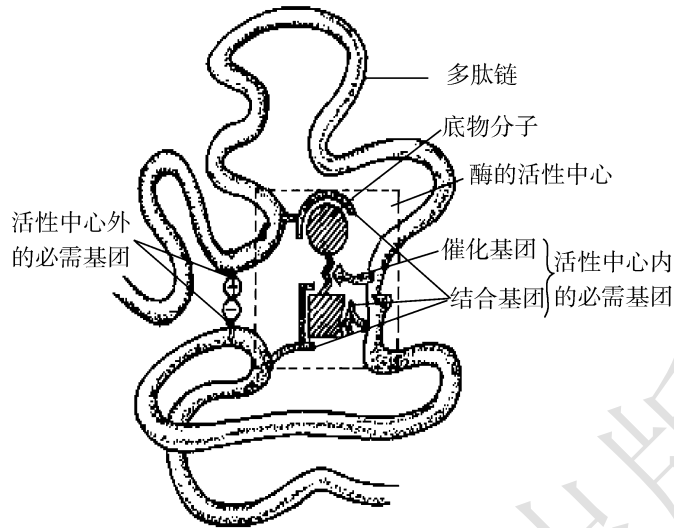


图 2.1 酶活性中心示意

甚至可能在不同的肽链上，但由于肽链的折叠与盘绕使它们在空间结构上彼此靠近，形成具有一定空间结构的位于酶分子表面的、呈裂缝状的小区域。活性中心的基团都是必需基团，当然必需基团还包括那些在活性中心以外的对维持酶空间构象必需的基团。

三、酶原与酶原的激活

动物体内有些酶在细胞内合成和分泌时，没有催化活性，如消化系统中的各种蛋白酶，只有当体内需要时，经特异性蛋白水解酶的作用转变为有活性的酶而发挥作用。这些不具催化活性的酶的前体称为酶原（zymogen），如胃蛋白酶原、胰蛋白酶原和胰凝乳蛋白酶原等。某种物质作用于酶原使之转变成有活性的酶的过程称为酶原的激活。使无活性的酶原转变为有活性的酶的物质称为活化素。活化素对于酶原的激活作用具有一定的特异性。

例如，胰蛋白酶原进入小肠后，受肠激酶或胰蛋白酶本身的激活，第6位赖氨酸与第7位异亮氨酸残基之间的肽键被切断，水解掉一个六肽，酶分子空间构象发生改变，产生酶的活性中心，于是胰蛋白酶原变成了有活性的胰蛋白酶。如图2.2所示。

在正常情况下，血浆中大多数凝血因子基本上是以无活性的酶原形式存在，只有当组织或血管内膜受损后，无活性的酶原才能转变为有活性的酶，从而触发一系列的级联式酶促反应，最终导致可溶性的纤维蛋白原转变为稳定的纤维蛋白多聚体，网罗血小板等形成血凝块。

酶原激活的本质是切断酶原分子中特异肽键或去除部分肽段后有利于酶活性中心的形成。酶原激活有重要的生理意义，一方面它保证合成酶的细胞本身不受蛋白酶的消化破坏，另一方面使它们在特定的生理条件和规定的部位受到激活并发挥其生理作用。如组织或血管内膜受损后激活凝血因子；胃主细胞分泌的胃蛋白酶原和胰腺细胞分泌的糜蛋白酶原、胰蛋白酶原、弹性蛋白酶原等分别在胃和小肠激活成相应的活性酶，促进食物蛋白质的消化。特定肽键的断裂所导致的酶原激活在生物体内广泛存在，是生物体的

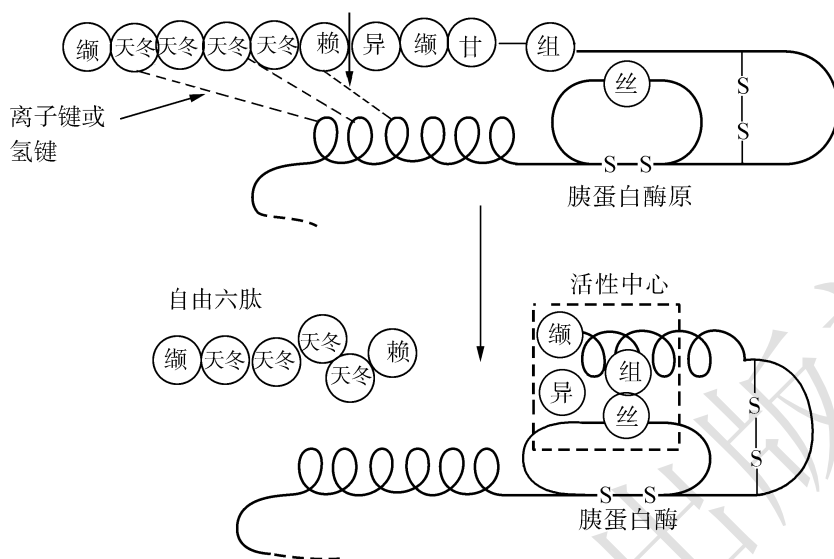


图 2.2 胰蛋白酶原激活示意

一种重要的调控酶活性的方式。如果酶原的激活过程发生异常，将导致一系列疾病的发生。出血性胰腺炎的发生就是由于蛋白酶原在未进入小肠时就被激活，激活的蛋白酶水解自身的胰腺细胞，导致胰腺出血、肿胀。

四、同工酶

同工酶 (isoenzyme) 是指催化的化学反应相同，酶蛋白的分子结构、理化性质乃至免疫学性质不同的一组酶。这类酶存在于生物的同一种属或同一个体的不同组织，甚至同一组织或细胞中。

现已发现百余种同工酶。如 6-磷酸葡萄糖脱氢酶、乳酸脱氢酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶、谷丙转氨酶和谷草转氨酶等。发现最早、研究最多的同工酶是乳酸脱氢酶，乳酸脱氢酶 (LDH) 有五种同工酶 (图 2.3)，它们的相对分子质量在 130 000 ~ 150 000，都由四个亚基组成。LDH 的亚基可以分为两种类型：骨骼肌型 (M 型) 和心肌型 (H 型)。两种亚基以不同比例组成五种四聚体，即为一组 LDH 同工酶。

LDH 同工酶组织中的比例不同，心肌中以 LDH₁ 和 LDH₂ 较为丰富，骨骼肌及肝中含 LDH₅ 及 LDH₄ 较多。这都与它们的生理功能有关。LDH₁ 和 LDH₂ 对乳酸亲和力高，易使乳酸脱氢氧化生成丙酮酸，后者进一步氧化可释放出能量供心肌活动的需要；LDH₅ 与 LDH₄ 对丙酮酸的亲和力高，而使它得氢还原成乳酸，这可保证肌肉在短暂缺氧时仍可获得能量 (详见第四章糖类代谢部分)。

在临床检验方面，通过观测患者血清中 LDH 同工酶的电泳图谱，辅助诊断哪些器官组织发生病变，这较单纯测定血清 LDH 总活性的方法敏感。例如，心肌受损患者血清 LDH₁ 含量上升，肝细胞受损患者血清 LDH₅ 含量增高。

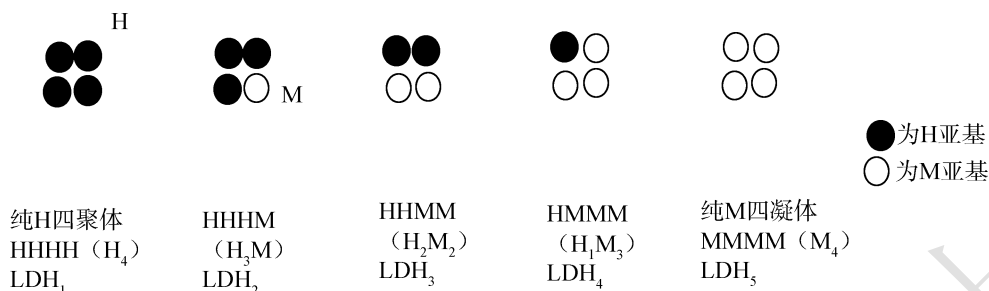


图 2.3 LDH 同工酶结构模式

第三节 酶的催化作用机制

一、酶的催化作用与分子活化能的关系

在化学反应中，任何反应物分子必须超过一定的能阈成为活化的状态时，才能发生变化，形成产物。这种提高低能分子达到活化状态的能量，称为活化能。在一个反应体系中，活化分子越多，反应就越快，设法增加活化分子的数目就能加快反应的速率。降低活化能，能使本来不够活化水平的分子也成为活化分子，从而增加了活化分子的数目。活化能越低，则活化分子的数目就越多。酶的催化作用就是降低化学反应的活化能，以致相同的能量能使更多的分子活化，从而加快反应的进行。如 2.4 图所示。

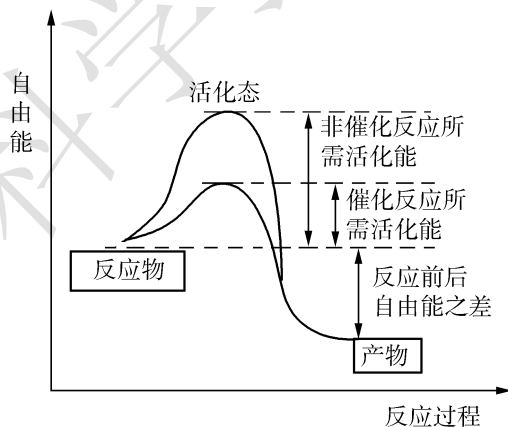


图 2.4 非催化过程和催化过程自由能的变化

二、中间产物学说

酶如何使反应的活化能降低而体现出极为强大的催化效率呢？目前比较圆满的解释是中间产物学说。该学说认为酶在催化底物发生变化之前，首先与底物结合成一个不稳定的中间产物 ES（也称为中间络合物）。由于 S 与 E 的结合导致底物分子内的某些化学键发生不同程度的变化，呈不稳定状态，也就是其活化状态，使反应的活化能降



低。然后，经过原子间的重新键合，中间产物 ES 便转变为酶与产物。这一过程可用下面的反应式说明：



式中，E 代表酶；S 代表底物；ES 为中间产物；P 是产物。

目前，有实验证据表明中间产物确实存在，比如用电子显微镜可以直接看到核酸和它的聚合酶形成的络合物。但结合机制、为什么能加快反应速率的问题尚无统一解释。

三、诱导契合学说

近年来大量的试验证明，酶和底物在游离状态时，其形状并不精确地互补。但酶的活性中心不是僵硬的结构，它具有一定的柔性。当底物与酶相遇时，可诱导酶蛋白的构象发生相应的变化，使活性中心上有关的各个基团达到正确的排列和定向，因而使酶和底物契合而结合成中间络合物，并引起底物发生反应。这就是 1958 年由 D. E. Koshland 提出的“诱导契合学说”（induced-fit theory）。如图 2.5 所示。

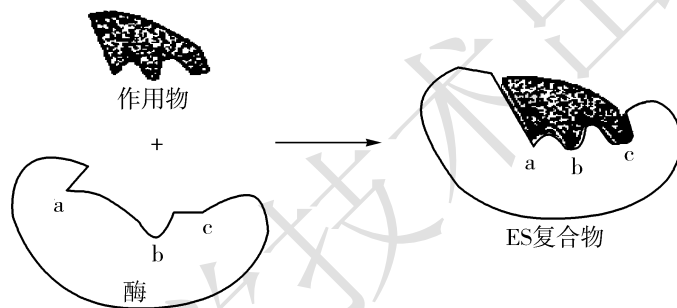


图 2.5 底物与酶相互作用的“诱导契合”模式

第四节 影响酶促反应速率的因素

酶促反应速率及其影响因素是酶促反应动力学研究的重要内容。酶促反应速率通常是指酶促反应开始的速率，即初速率。这些因素主要包括酶的浓度、底物的浓度、pH 值、温度、抑制剂和激活剂等。在研究某一因素对酶促反应速率的影响时，应该维持反应中其他因素不变，而只改变要研究的因素。

一、底物浓度对酶促反应速率的影响

在酶浓度、温度、pH 值不变的情况下，实验测得酶反应速率与底物浓度的关系如图 2.6 所示。

从图 2.6 中可以看出：当底物的浓度很低时， v 与 $[S]$ 呈线性关系，这时随着底物浓度的增加，反应速率按一定比率加快，为一级反应。当底物的浓度增加到一定程度后，虽然酶促反应速率仍随底物浓度的增加而不断地加大，但加大的比率已不是定值，



而呈逐渐减弱的趋势, 表现为混合级反应。当底物的浓度增加到足够大的时候, v 值便达到一个极限值, 此后, v 不再受底物浓度的影响, 表现为零级反应。 v 的极限值, 称为酶的最大反应速率, 用 v_{\max} 表示。

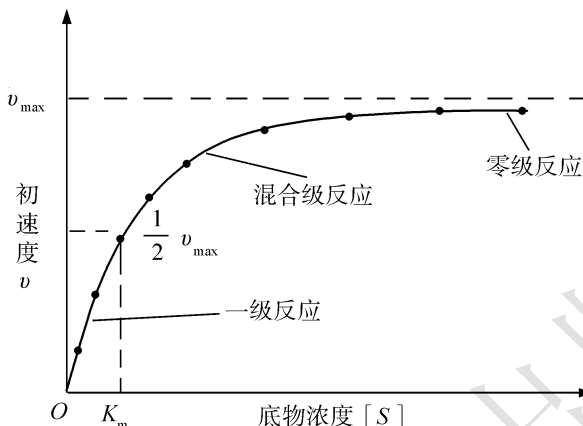


图 2.6 底物浓度对酶促反应速率的影响

v . 酶促反应速率 $[S]$. 底物浓度 v_{\max} . 最大反应速率 K_m . 米氏常数

v - $[S]$ 的变化关系, 可用中间产物学说进行解释。在底物浓度较低时, 只有少数的酶与底物作用生成中间产物, 在这种情况下, 增加底物的浓度, 就会增加中间产物, 从而增加酶促反应的速率; 但是当底物浓度足够大时, 所有的酶都与底物结合生成中间产物, 体系中已经没有游离态的酶了, 在底物充分过量的条件下, 继续增加底物的浓度, 对于酶促反应的速率, 显然已毫无作用。我们把酶的活性中心都被底物分子结合时的底物浓度称为饱和浓度。各种酶都表现出这种饱和效应, 但不同的酶产生饱和效应时所需要的底物浓度是不同的。

(一) 米-曼方程式

1913 年 Michaelis-Menten 提出了酶促反应动力学理论, 利用中间产物学说, 得出了一个底物浓度 $[S]$ 与酶促反应速率 v 之间定量关系的数学方程式, 即著名的米-曼方程式, 简称米氏方程式 (Michaelis equation)。

$$v = v_{\max} [S] / (K_m + [S])$$

式中, v_{\max} 表示该酶促反应的最大速率; $[S]$ 为底物浓度; K_m 是米氏常数, v 是在某一底物浓度时相应的反应速率。当底物浓度很低时, $[S] \ll K_m$, 则 $v \cong \frac{v_{\max}}{K_m} [S]$, 反应速率与底物浓度成正比。当底物浓度很高时, $[S] \gg K_m$, 此时 $v \cong v_{\max}$, 反应速率达最大速率, 底物浓度再增高也不影响反应速率。

(二) K_m 与 v_{\max} 的意义

1. 物理意义 当酶促反应处于 $v = 1/2 v_{\max}$ 时, 可从米氏方程式得到 $K_m = [S]$ 。由此可知, K_m 值是酶促反应速率为最大速率一半时的底物浓度。它的单位与底物浓度一样, 为 mol/L。



2. 酶学意义

(1) 反映酶的种类： K_m 值对某一特定酶来说是个常数。可以利用酶的 K_m 值比较来源于同一器官不同组织，或同一组织不同发育期的具有同样作用的酶，来判断这些酶是完全相同的酶，或是催化同一反应的一类酶。

(2) 反映酶与底物的亲和力： K_m 值越大，酶与底物亲和力越小； K_m 值越小，酶与底物亲和力越大。在酶的多种底物中， K_m 值最小， v_{max}/K_m 值最大者是对酶亲和力最大的底物，一般称为天然底物或最适底物。

二、酶浓度对酶促反应速率的影响

当底物足够并且酶促反应不受其他因素影响的情况下，则酶促反应的速率 (v) 与酶浓度 (E) 成正比 (图 2.7)，即

$$v = K [E]$$

式中， K 为反应速率常数。

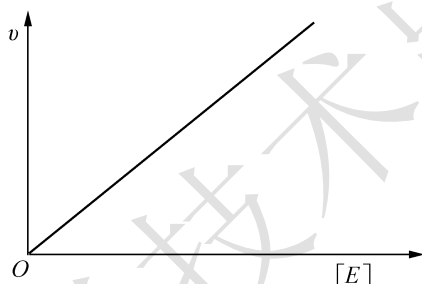


图 2.7 酶浓度对酶促反应速率的影响

在酶促反应中，酶分子首先与底物分子作用，生成活化的中间产物（或活化络合物），而后再转变为最终产物。在底物充分过量的情况下，酶的数量越多，则生成的中间产物越多，反应速率也就越快。相反，如果反应体系中底物不足，酶分子过量，现有的酶分子尚未发挥作用，中间产物的数目比游离酶分子数还少，在此情况下，再增加酶浓度，也不会增大酶促反应的速率。

三、温度对酶促反应速率的影响

在酶促反应中，其他条件不变的情况下，温度对酶促反应速率的影响很大，表现为双重作用：①温度升高，酶促反应速率加快，对许多酶来说，每提高反应温度 $10\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，酶反应速率增加 $1\sim 2$ 倍。②由于酶是蛋白质，随着温度升高而酶活性不再升高，反而降低甚至失活，导致酶促反应速率反而减缓，形成倒“V”形或倒“U”形曲线。在此曲线顶点所代表的温度，反应速率最大，称为酶的最适温度 (图 2.8)。动物体内的酶最适温度一般在 $35\sim 40\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，植物体内的酶最适温度为 $40\sim 55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。温度达 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上，多数酶的变性不可逆。

温度对酶促反应速度的影响在临床实践中具有指导意义。在低温条件下，酶的活性虽然下降，但低温一般不破坏酶的活性，温度回升后，酶又恢复活性。临床上低温麻醉就是利用酶的这一性质以减慢组织细胞的代谢速度，提高机体对氧和营养物质缺乏的耐



受力,有利于进行手术治疗。另外,在管理技术操作中酶制剂和酶检测标本(如血清等)应放在冰箱中低温保存,需要时从冰箱中取出,在室温条件下等温度回升后再使用或检测。温度超过 80°C 后,多数酶变性失活,临床应用这一原理进行高温灭菌。

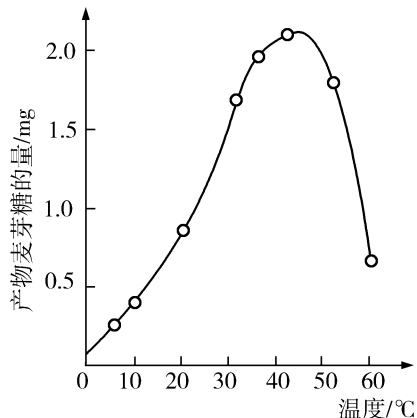


图 2.8 温度对酶促反应速率的影响

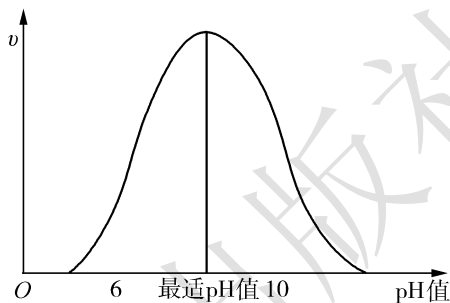


图 2.9 pH 值对反应速率的影响

四、pH 值对酶促反应速率的影响

酶促反应速度与体系的 pH 值有密切关系。在一定 pH 值下,酶反应具有最大速度,高于或低于此值,反应速度下降,通常将酶表现最大活力时的 pH 值称为酶反应的最适 pH 值(图 2.9)。动物体内的酶,最适 pH 值大多在 $6.5\sim 8.0$;植物及微生物体内的酶,最适 pH 值多在 $4.5\sim 6.5$ 。但也有例外,如胃蛋白酶为 1.8,精氨酸酶(肝脏中)为 9.8(表 2.2)。

表 2.2 几种常见酶的最适 pH 值

酶	最适 pH 值	酶	最适 pH 值	酶	最适 pH 值
胃蛋白酶	1.8	过氧化氢酶	7.6	延胡索酸酶	7.8
胰蛋白酶	7.7	精氨酸酶	9.8	核糖核酸酶	7.8

pH 值会对酶促反应速度有影响,主要原因有三:一是过酸、过碱会影响酶蛋白构象,使酶本身变性失活。二是因为溶液 pH 值影响酶分子中活性基团的解离,在最适 pH 值时,酶分子上活性基团的解离状态最适于与底物结合,使其发挥催化作用。偏离最适 pH 值时,活性基团的解离状态发生改变,酶和底物的结合力和催化作用降低,因而酶反应速度降低。三是 pH 值影响底物和辅酶的解离程度,进而影响酶与底物的结合,最终影响酶促反应速度。

溶液的 pH 值高于或低于最适 pH 值时,酶的活性降低,甚至会变性失活。因此在酶的提纯或应用中测定酶活力时,要选择适当的缓冲液,以保持酶活性的相对恒定。如胃蛋白酶应和稀盐酸配合使用,不能与碱液[碳酸氢钠(小苏打)]混用。

五、激活剂对酶促反应速率的影响

凡是能提高酶活性的物质都称为激活剂(activator,活化剂)。酶的激活剂大部分是离子,如 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Fe^{2+} 、 Ca^{2+} 、 H^+ 、 Cl^- 等,如 Cl^- 是唾液淀粉酶的激活



剂, Mg^{2+} 是多种激酶及合成酶的激活剂, Mg^{2+} 、 Zn^{2+} 是蛋白酶类的激活剂; 有的激活剂为小分子有机化合物, 如半胱氨酸、还原型谷胱甘肽、抗坏血酸等能激活某些酶, 使含巯基酶中被氧化的二硫键还原成巯基, 从而提高酶活性。

激活剂的作用是相对的, 一种酶的激活剂对另一种酶来讲, 也许是抑制剂。需要注意的是激活剂和抑制剂不是绝对的, 有些物质在低浓度时为某种酶的激活剂, 而在高浓度时则成为该酶的抑制剂。例如 NaCl 溶液是唾液淀粉酶的激活剂, 但 NaCl 溶液浓度达到 1/3 饱和度时就可抑制唾液淀粉酶的活性。

六、抑制剂对酶促反应速率的影响

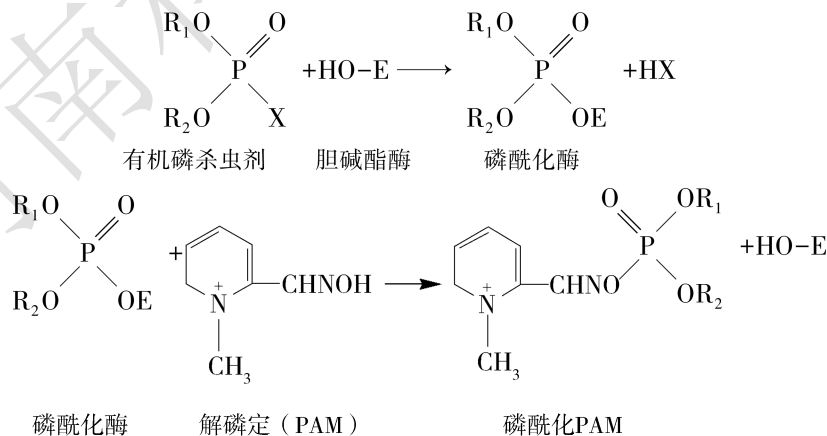
某些物质不引起酶蛋白变性, 但能使酶分子上某些必需基团发生变化, 因而引起酶活力下降, 甚至丧失, 这种作用称为抑制作用。起抑制作用的物质称为抑制剂, 如药物、抗生素、毒物等。抑制作用分为不可逆抑制作用与可逆抑制作用两大类。

(一) 不可逆抑制作用

抑制剂通常以共价键与酶活性中心的必需基团结合而使酶失活, 抑制剂不可用透析、超滤等方法去除。这种抑制作用称为不可逆抑制作用。

常见的不可逆抑制剂有: 有机磷化合物, 如二异丙基氟磷酸(DIFP)、1605、敌百虫、敌敌畏等农药, 它们能与胰凝乳蛋白酶或乙酰胆碱酯酶活性中心的丝氨酸残基上的—OH 以共价键结合, 使胆碱酯酶失活。胆碱酯酶的作用是催化乙酰胆碱水解为乙酸和胆碱。

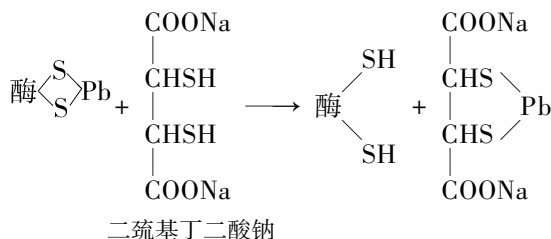
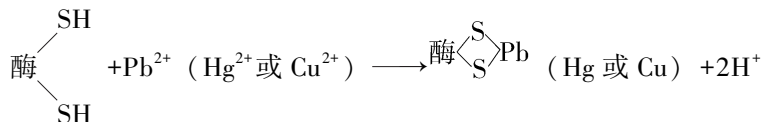
有机磷农药进入机体后, 和体内的胆碱酯酶结合形成磷酰化胆碱酯酶(中毒酶), 胆碱酯酶的活性受到抑制, 失去水解乙酰胆碱(Ach)的活性, 造成 Ach 蓄积, 持续作用于胆碱能受体, 从而出现神经过度兴奋的一系列症状, 甚至会出现昏迷和呼吸衰竭而导致死亡。强效有机磷农药与酶结合很难解离, 用透析、超滤等物理方法根本无法去除。但通过化学方法可恢复酶的活性。临床上常用解磷定解除有机磷对胆碱酯酶的危害。这是由于解磷定与磷酰化胆碱酯酶结合生成磷酰化胆碱酯酶和碘解磷定的复合物, 后者进一步裂解成为磷酰化碘解磷定, 使胆碱酯酶游离, 恢复其活性。



某些重金属 (Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Hg^{2+}) 及对氯汞苯甲酸等, 能与酶分子的—SH 不可逆结合, 许多以巯基作为必需基团的酶(通称巯基酶)会因此而遭受抑制。在临床上,



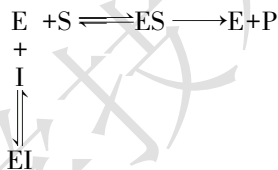
常用二巯基丙醇或二巯基丁二酸钠等来解除重金属离子对酶的抑制，从而使酶复活。



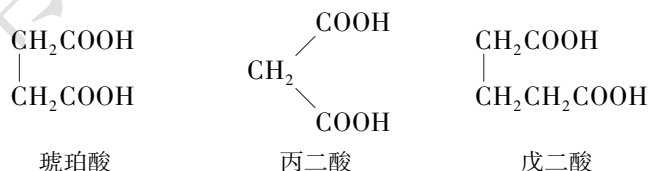
(二) 可逆抑制作用

抑制剂通常以非共价键与酶或酶-底物复合物可逆性结合使酶的活性降低或丧失，抑制剂可用透析、超滤等方法除去。这种抑制作用称为可逆抑制作用。根据抑制剂与底物的关系，可逆抑制作用分为三种类型。

1. 竞争性抑制 这类抑制剂与底物的结构相似，能与底物竞争酶的活性中心，从而阻碍酶底物复合物的形成，使酶的活性降低。若用大写英文字母 I 表示抑制剂，竞争性的抑制可用下式表示：



竞争性抑制剂的作用机制，在于它占据了酶分子的活性中心，使酶的活性中心无法与底物分子结合，因而也就无法催化底物发生反应。这时，抑制剂并没有破坏酶分子的特定构象，也没有使酶分子的活性中心解体。由于竞争性抑制剂与酶的结合是可逆的，可用加入大量底物、提高底物竞争力的办法，消除竞争性抑制剂的抑制作用。例如，琥珀酸脱氢酶可催化琥珀酸脱氢变成延胡索酸，与琥珀酸结构相似的丙二酸、草酰乙酸、苹果酸是该酶的竞争性抑制剂。



很多药物都是酶的竞争性抑制剂。例如磺胺药与对氨基苯甲酸 (PABA) 具有类似的结构，如图 2.10 所示，而对氨基苯甲酸、二氢蝶啶及谷氨酸是某些细菌合成二氢叶酸的原料，后者能转变为四氢叶酸，它是细菌合成核酸不可缺少的辅酶。由于磺胺药是二氢叶酸合成酶的竞争性抑制剂，进而减少菌体内四氢叶酸的合成，使核酸合成受阻，导致细菌死亡。抗菌增效剂——甲氧苄氨嘧啶 (TMP) 能特异地抑制细菌的二氢叶酸还原为四氢叶酸，故能增强磺胺药的作用。

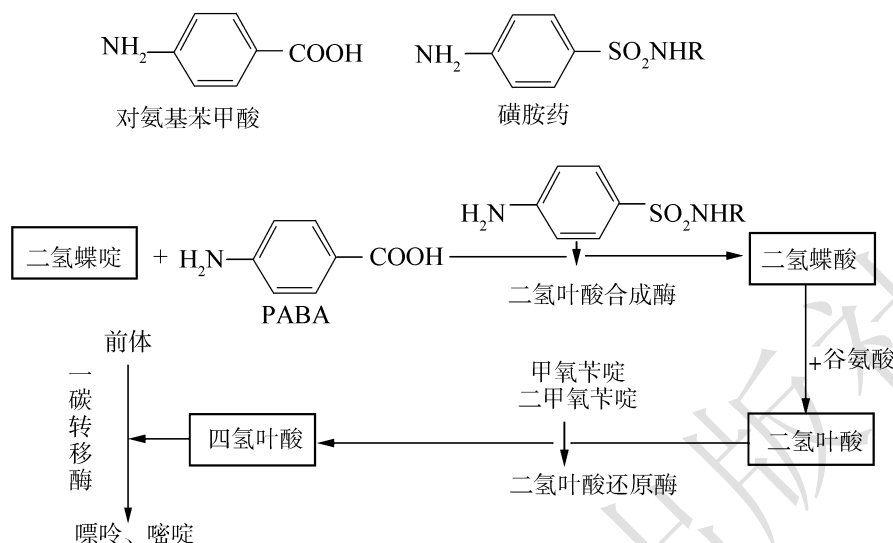
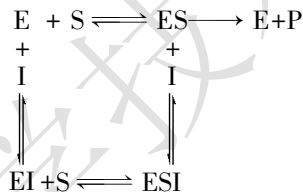


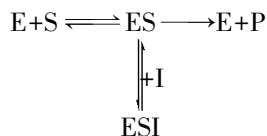
图 2.10 磺胺药物的抑菌作用

2. 非竞争性抑制 非竞争性抑制剂不与底物竞争酶的活性中心，而是与活性中心以外的必需基团相结合，生成抑制剂-酶-底物三者的复合物（IES），使酶的构象改变而失去活性。非竞争性抑制作用可用下面的反应式表示：



底物和非竞争性抑制剂在与酶分子结合时，互不排斥，无竞争性，因而不能用增加底物浓度的方法来消除这种抑制作用。大部分非竞争性抑制作用都是由一些可以与酶的活性中心之外的巯基可逆结合而引起的。某些金属离子（ Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 、 Ag^+ 、 Pb^{2+} 等）的抑制作用属于此类。

3. 反竞争性抑制 有些抑制剂 I 不和游离酶结合，只能和酶-底物（ES）中间复合物结合成抑制剂-酶-底物三者的复合物 EIS，但 EIS 不能释出产物。S 和 E 的结合不但不排斥 I，反而促进了 I 和 E 的结合，故称为反竞争性抑制作用。可用下式表示：



反竞争性抑制剂的化学结构不一定与底物的分子结构类似；抑制剂与底物可同时与酶的不同部位结合；反竞争性抑制必须有底物存在时，抑制剂才能对酶产生抑制作用；抑制程度随底物浓度的增大而增加。



第五节 酶工程

酶工程 (enzyme engineering) 又叫酶技术, 是生物工程的主要内容之一, 是将酶所具有的生物催化功能, 借助工程学的手段, 应用于生产、生活、医疗诊断和环境保护等方面的一门科学技术。简单地说, 酶工程是酶制剂大规模生产和应用的生物学技术。酶工程的主要内容包括核酶、抗体酶、化学酶工程、生物酶工程。

一、核酶

核酶 (ribozyme) 是具有催化功能的 RNA 分子, 又称为核酸类酶、酶 RNA、类酶 RNA。核酶的作用底物可以是不同的分子, 有些作用底物就是同一 RNA 分子中的某些部位。核酶的功能很多, 有的能够切割 RNA, 有的能够切割 DNA, 有些还具有 RNA 连接酶、磷酸酶等的活性。与蛋白质酶相比, 核酶的催化效率较低, 是一种较为原始的催化酶。

(一) 核酶的发现

20 世纪 80 年代初期, 美国科罗拉多大学博尔德分校的 T. Cech 和美国耶鲁大学的 S. Altman 各自独立地发现 RNA 具有生物催化功能, 从而改变了生物催化剂的传统概念。这个发现曾被认为是近十年来生物化学领域内最令人鼓舞的发现之一。为此, T. Cech 和 S. Altman 共同获得了 1989 年度诺贝尔化学奖。

(二) 核酶的种类

目前, 已发现的核酶有 6 种类型, 即 I 型内含子、II 型内含子、RNaseP、锤头状核酶、发夹状核酶、丁型肝炎核酶。从结构上主要分为两大类: 锤头状核酶和发夹状核酶。

(三) 核酶的结构和功能

锤头状核酶和发夹状核酶是目前应用较为广泛的核酶。

锤头状核酶长约 30 个核苷酸, 由 3 个碱基配对的螺旋区、2 个单链区和膨出的核苷酸构成。该酶可分为 3 个部分, 中间是以单链形式存在的 13 个保守核苷酸和螺旋 II 组成的催化核心, 两侧的螺旋 I/III 为可变序列, 共同组成特异性序列, 决定核酶的特异性。发夹状核酶切割活性所需最小长度为 50 个核苷酸, 其中 15 个是必需的。该酶由 4 个螺旋区 (H) 和数个环状区 (J) 组成。螺旋 I、螺旋 II 的主要功能是与靶序列结合, 决定核酶切割部位的特异性, 螺旋 III 配对碱基及其 3' 端的未配对碱基均为切割活性所必需, 如图 2.11 所示。

核酶的具体作用主要有:

- (1) 核苷酸转移作用。
- (2) 水解反应, 即磷酸二酯酶作用。
- (3) 磷酸转移反应, 类似磷酸转移酶作用。
- (4) 脱磷酸作用, 即酸性磷酸酶作用。

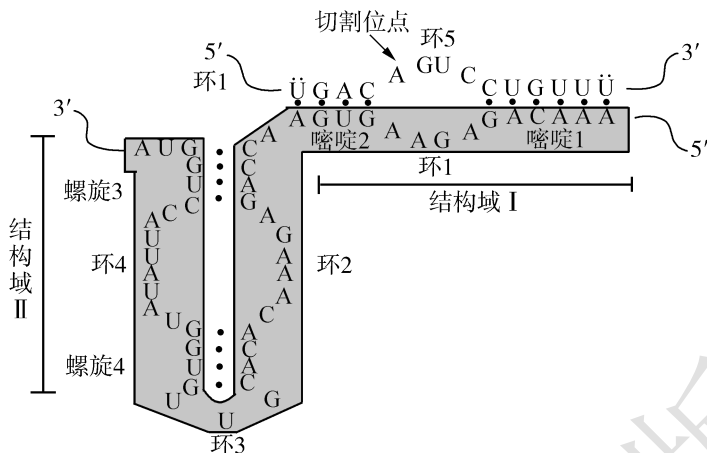


图 2.11 锤头状核酶示意

(5) RNA 内切反应，即 RNA 限制性内切酶作用。

核酶的作用原理为核酶的特异性序列通过互补碱基对形成识别并结合特异性靶 RNA，根据这一特性可以人工设计针对某一 RNA 的核酶分子，破坏病毒转录产物而对机体无害，将针对多个位点的核酶序列串联成一个多靶位核酶分子，可以大大提高切割效率，达到治疗目的。其具有独特的优点：①序列特异性；②不编码蛋白质，无免疫原性；③可以重复使用。因而其在基因治疗领域中备受青睐，研究进展也相当迅速。

二、抗体酶

抗体酶 (abzyme) 又叫催化抗体 (catalytic antibody)，属于新型人工酶制剂，是一类具有催化功能的抗体，是抗体的专一性与酶的高效能力二者巧妙结合的产物。它是利用现代生物学与化学的理论与技术交叉研究的成果。其研究内容包括抗体酶制备、结构、特性、作用机制、催化反应类型及应用等。

临床上，有人曾用人工抗体酶的被动免疫阻断可卡因上瘾，达到戒毒目的。另外，抗体酶在提高肿瘤化疗效果方面也有一定的作用。抗体酶作为一种新型人工酶制剂，在实际应用方面有待进一步研究。

三、化学酶工程

化学酶工程又称为初级酶工程，它是由酶化学和化学工程技术相结合的产物。它的主要研究内容是：酶的制备工艺、酶和细胞的固定化技术、酶分子化学修饰、人工酶的合成、酶反应器、酶传感器以及酶的应用等。其中，酶和细胞的固定化在工农业生产以及医疗等应用上具有巨大的潜力，引起了人们特别的关注。现对固定化酶做简单介绍。

(一) 固定化酶概念

固定化酶，是指采用物理或化学的方法使酶与水不溶性大分子载体结合或把酶包在其中，使其成为不溶于水或不易散失和多次使用的生物催化剂。简而言之，固定化酶就是能反复使用的酶。



(二) 固定化酶的优缺点

1. 优点 可多次使用，稳定性高；纯化简单，底物与产物容易分开；反应条件易控制，便于实现连续化和自动化；较水溶性酶更适用于多酶反应；辅助因子的再生和固定化，使固定化酶与能量再生体系、氧化还原体系偶联，扩大应用范围；增加产物的收率，提高产物质量。

2. 缺点 载体与试剂较贵，酶固定化回收率低；胞内酶固定化还要增加分离成本；适用于水溶性小分子底物，大分子由于载体阻拦，不易触及酶；固定化酶反应为多酶反应，尤其是辅助因子固定化需进一步开发。

(三) 制备方法

固定化酶的制备方法目前有四种：吸附法（包括电吸附法）、共价法（无机多孔材料）、交联法（多功能试剂）、包埋法（微胶囊法），如图 2.12 所示。

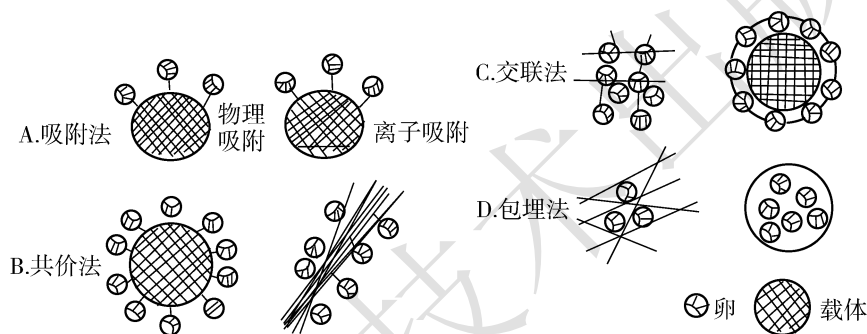


图 2.12 制备固定化酶的四种方法

1. 吸附法 它主要通过载体与细胞间的静电引力，即细胞表面与载体之间范德华作用力、离子键和氢键作用力，才使细胞固定在载体上的。运用此法可以将酶分子吸附在固相的吸附剂或离子交换剂上，从而制成固定化酶，常用多孔玻璃、火棉胶膜、胶质膜、DEAE-纤维素等载体。

2. 共价法 共价法又叫共价偶联法，是将酶与聚合物载体以共价键结合的固定化方法。运用该方法将酶分子上的非必需基团与固相载体上基团共价结合，从而制成固定化酶。常用的载体有纤维素、葡萄糖、琼脂糖及其衍生物等。

3. 交联法 交联法是使用双功能或多功能试剂使酶分子之间相互交联呈网状结构的固定化方法。由于酶蛋白的功能团，如氨基、酚基、巯基和咪唑基参与此反应，所以酶的活性中心构造可能受到影响而使酶失活明显。但是尽可能地降低交联剂浓度和缩短反应时间将有利于固定化酶活力的提高。常用的载体有戊二醛等。

4. 包埋法 包埋法是在微生物细胞自身并不与凝胶基体发生化学键合的情况下将其包埋在半透性聚合物颗粒（或膜）内的一种固定化方法。通常分为凝胶格子型和微胶囊型两种。将酶包裹在凝胶的微小格子中称为格子型，用半透性聚合物膜将酶包裹起来称为微胶囊型。

目前，已有一些固定化酶，如固定化青霉素酰化酶、固定化葡萄糖异构酶等已投入大规模的工业生产，并显示了巨大的优越性。



四、生物酶工程

生物酶工程（高级酶工程）（advanced enzyme engineering）是在化学酶工程基础上发展起来的，是以酶学与基因重组技术为主的现代分子生物学技术相结合的产物。

（一）生物酶工程主要研究内容

（1）用基因工程技术大量生产酶（克隆酶）：如尿激酶原和尿激酶是治疗血栓病的有效药物。用 DNA 重组技术将人尿激酶原的结构基因转移到大肠杆菌中，可使大肠杆菌细胞生产人尿激酶原，从而取代从大量的人尿中提取尿激酶。

（2）用蛋白质工程技术定点改变酶结构基因（突变酶）：如酪氨酰-tRNA 合成酶，用 Ala5（第 5 位的丙氨酸）取代 Thr51（第 51 位的苏氨酸），使该酶对底物 ATP 的亲合力提高了 100 倍。

（3）设计新的酶结构基因，生产自然界从未有过的性能更稳定、活性更高的新酶。

（二）克隆酶

克隆酶在实际应用中较为广泛，下面对克隆酶定义、要求、应用的实例做一说明。

1. 克隆酶的定义 通过基因工程手段，克隆各种天然酶的基因，将其克隆到表达载体中，然后将表达载体转化到适当的宿主中，得到表达特定酶的基因工程菌，通过基因工程菌的繁殖大量产生的酶称为克隆酶。克隆酶形成如图 2.13 所示。

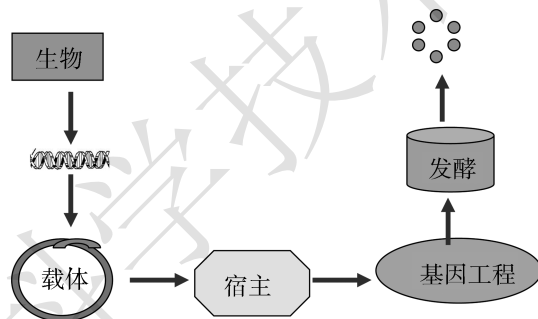


图 2.13 克隆酶形成

2. 克隆酶对载体的要求

- （1）在宿主细胞内可以自主复制。
- （2）容易引入受体细胞。
- （3）具有合适的筛选标记基因。
- （4）具有少数限制性酶切位点。

3. 克隆酶对宿主的要求

- （1）安全可靠，非致病菌。
- （2）外源基因在宿主内能够表达且不被分解。
- （3）有利于酶的分离和纯化。
- （4）能利用廉价的原料，发酵周期短、产量高。
- （5）容易培养和管理。

4. 克隆酶应用的实例 如纤维素酶基因工程菌的构建。纤维素酶（cellulase）是能



将纤维素水解为葡萄糖等简单糖类的一组酶的总称。

纤维素酶在食品、饲料、造纸、纺织等行业具有广泛的用途，但由于天然纤维素酶产量低、来源有限而导致其大规模应用受到限制。为此，通过基因工程技术，克隆福寿螺体内的纤维素酶基因，构建含有 *cel* 的基因工程菌，以期通过液体培养或固体培养的方式得到大量的克隆纤维素酶。

(三) 生物酶工程原理和基本过程

生物酶工程原理和基本过程较为复杂，下面以线路图说明：

菌种 → 扩大培养 → 发酵 → 发酵酶液 → 酶的提取 → 酶成品

↓ 酶的固定化

原料 → 前处理 → 杀菌 → 酶反应器 → 反应液 → 产品提取 → 产品

(四) 生物酶工程的前景

随着各种高新技术的广泛应用及酶工程研究工作的不断深入，生物酶工程研究必将取得更快更大的发展。可以相信，将来人们可以采用生物学方法在生物体外构造出性能优良的产酶工程菌为生产和生活服务，酶工程技术必将在工业、医药、农业、化学分析、环境保护、能源开发和生命科学理论研究等各个方面发挥越来越大的作用。

第六节 维生素与辅酶

一、维生素的概念

维生素是维持人和动物正常代谢所必需的，在体内不能合成或不能足量合成的一类化学结构不同、生理功能各异的小分子有机化合物。维生素既不是参与机体的组织原料，也不是体内能量的来源，而是作为辅酶或辅基的组成成分，起到调节和控制新陈代谢的作用。如果体内缺少了它们，就会引起一系列营养性疾病，这些疾病称为维生素缺乏症，如坏血病（缺维生素 C）、软骨病（缺维生素 D）、夜盲症（缺维生素 A）。维生素摄入过多时，也会引起中毒现象，称为维生素过多症。正常饲喂不会出现过多症，只有在临床上使用维生素制剂（主要是脂溶性维生素 D 和维生素 A）的量过多时，才可能出现。

二、维生素的分类和命名

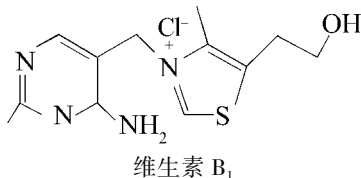
维生素的分类一般根据其溶解性质分为脂溶性维生素和水溶性维生素两大类。脂溶性维生素包括维生素 A（视黄醇）、维生素 D（钙化醇）、维生素 E（生育酚）、维生素 K（凝血维生素）。常见的水溶性维生素有 B 族维生素和维生素 C，B 族维生素包括维生素 B₁（硫胺素）、维生素 B₂（核黄素）、泛酸（维生素 B₃）、烟酸（维生素 B₅）、维生素 B₆、生物素（维生素 H）、叶酸（维生素 B₉）、维生素 B₁₂（钴胺素）。



三、常见的水溶性维生素与辅酶

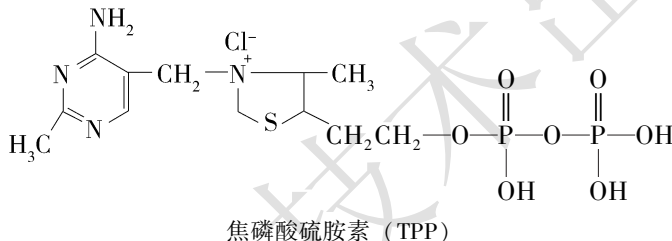
(一) 维生素 B₁

1. 化学本质 维生素 B₁ 又称硫胺素。其化学结构是由一个嘧啶环和一个噻唑环通过亚甲基桥连接而成的。其结构式如下：



维生素 B₁ 主要存在于种子外皮及胚芽（未研磨大米、全麦粒）中，豆类、酵母、青绿饲料、白菜、芹菜中也富含维生素 B₁。

2. 辅酶 在人和动物体内维生素 B₁ 常与磷酸结合生成焦磷酸硫胺素（TPP），它是维生素 B₁ 在体内的活性形式。焦磷酸硫胺素结构式如下：

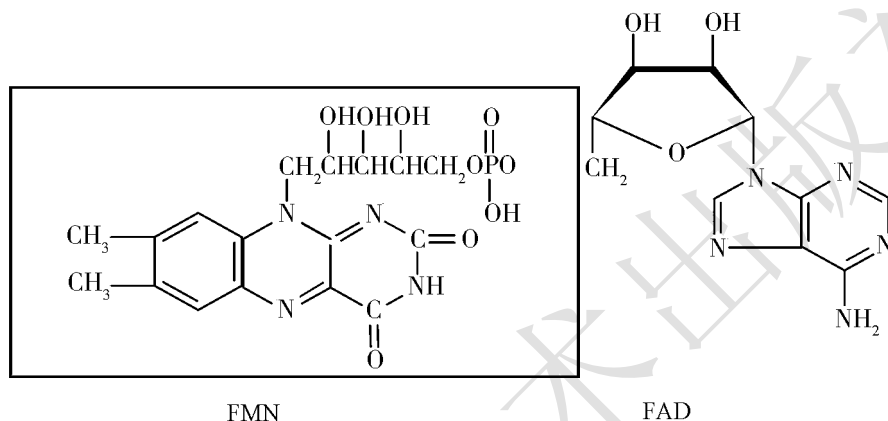
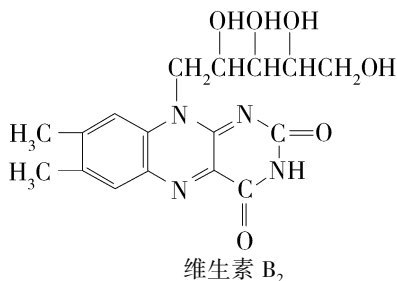


焦磷酸硫胺素是丙酮酸脱氢酶系、转酮醇酶、 α -酮戊二酸脱氢酶系的辅酶，参与体内三大产能营养素的代谢，如丙酮酸和 α -酮戊二酸的氧化脱羧反应都需要 TPP，丙酮酸和 α -酮戊二酸是糖代谢的重要中间产物。在正常情况下，机体神经组织和心肌所需的能量主要由糖氧化供应。当维生素 B₁ 缺乏时，TPP 含量减少，丙酮酸和 α -酮戊二酸的氧化脱羧作用受阻，导致体内能量供应发生障碍，尤其是神经组织能量供应受到影响，影响神经组织的代谢功能，出现手足麻木、四肢无力等多发性周围神经炎的症状。同时因丙酮酸脱羧作用受阻，丙酮酸会还原生成乳酸，使组织和血液中乳酸含量大增，临床上称此症状为脚气病 (beriberi)，因此又称维生素 B₁ 为抗脚气病维生素。

此外，维生素 B₁ 还能抑制胆碱酯酶的活性，减少乙酰胆碱的分解。乙酰胆碱能增加胃肠蠕动、促进消化液分泌。当维生素 B₁ 缺乏时，胆碱酯酶活性增强，乙酰胆碱迅速被水解，使胆碱能神经正常传导受到影响，造成胃肠蠕动减慢，伴有消化不良、食欲不振等症状。因此，在临床上常用维生素 B₁ 作为辅助药物治疗神经炎、消化不良、食欲减退、心肌炎等疾病。

(二) 维生素 B₂

1. 化学本质 维生素 B₂ 由核醇与 6,7-二甲基异咯嗪缩合而成，又名核黄素。它在自然界中主要以磷酸酯的形式存在于两种辅酶中，即黄素单核苷酸 (FMN) 和黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD)，结构式如下：



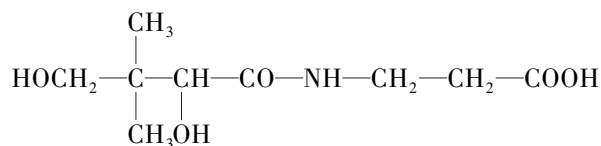
维生素 B₂ 广泛存在于谷物外皮、油饼、酵母、青绿饲料、青贮饲料、发酵饲料中，尤其是苜蓿叶片中含量丰富。

2. 辅酶 在人和动物体内，维生素 B₂ 主要以黄素单核苷酸 (FMN) 和黄素腺嘌呤二核苷酸 (FAD) 形式存在。而 FMN 和 FAD 是多种氧化还原酶的辅基，在氧化还原反应中传递氢原子，参与生物氧化过程，促进物质代谢。以 FMN 或 FAD 为辅基的酶统称称为黄素酶，相应地将 FMN 和 FAD 称为黄素辅酶。

维生素 B₂ 是合成 FMN 和 FAD 的原料，缺乏维生素 B₂ 时，就会影响黄素辅酶的合成，因而使体内生物氧化发生障碍。家畜缺乏维生素 B₂，常发生口角炎、舌炎、阴囊炎及角膜血管增生和巩膜充血等。幼畜缺乏时则出现生长迟缓、脱毛等症状。

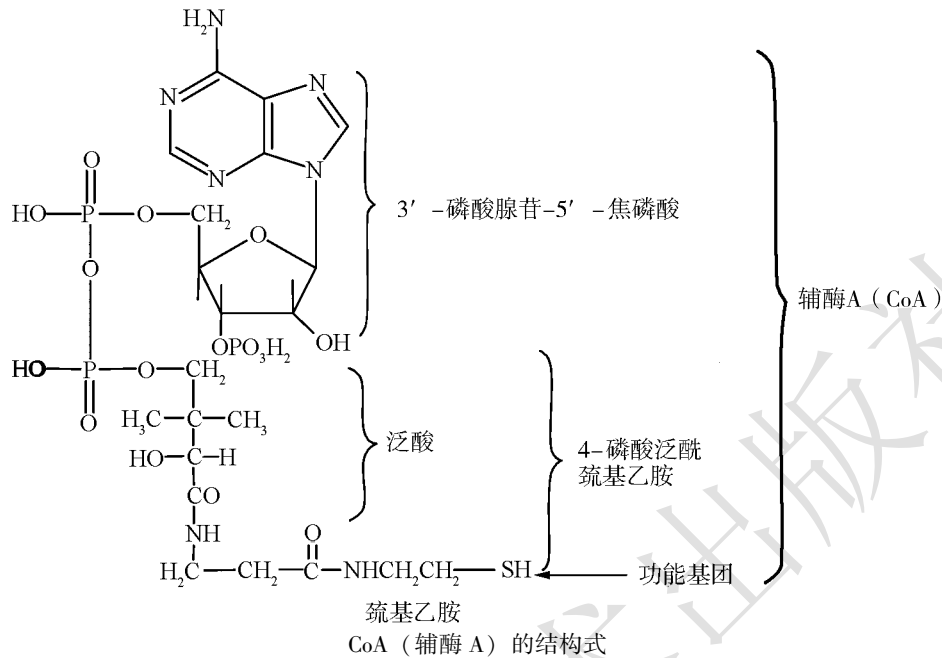
(三) 泛酸

1. 化学本质 由 β-丙氨酸与羟基丁酸结合而构成，因其广泛存在于动植物组织中，故名泛酸或遍多酸。其结构式如下：



泛酸

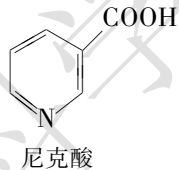
2. 辅酶 泛酸在体内能合成辅酶 A (coenzyme A, CoA)。辅酶 A 是酰基转移酶的辅酶，在糖类、脂肪、蛋白质代谢中起重要作用。其结构式如下：



由于泛酸广泛存在动植物体中，所以很少有泛酸缺乏症。

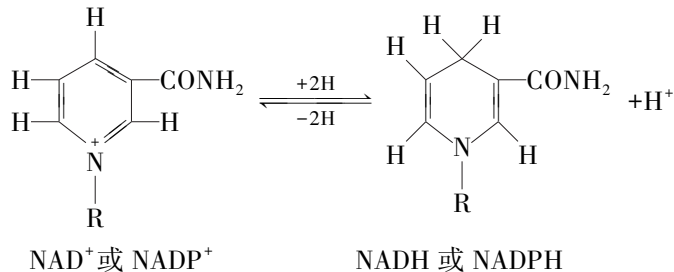
(四) 烟酸

1. 化学本质 维生素 PP 包括烟酸和烟酰胺，在维生素中是结构最简单、性质最稳定的一种，不易被酸、碱、热破坏，是吡啶-3-羧酸及其衍生物的总称。其结构式如下：



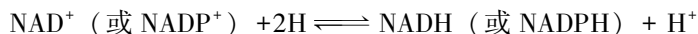
维生素 PP 在谷物胚芽、花生饼、苜蓿饲料中含量丰富。

2. 辅酶 维生素 PP 在体内可转变为尼克酰胺（烟酰胺），尼克酰胺可合成尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸（ NAD^+ 或辅酶 I）和尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（ NADP^+ 或辅酶 II）， NAD^+ 或 NADP^+ 是不需氧脱氢酶的辅酶，参与体内氧化还原反应，起传递氢的作用。其递氢的变化方式如下：





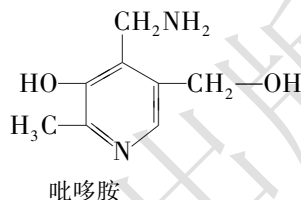
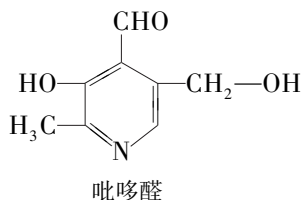
用简式表示为



当维生素 PP 缺乏时, 导致辅酶 I 和辅酶 II 的合成不足, 影响了生物氧化, 使新陈代谢发生障碍。动物缺乏维生素 PP, 可引起癞皮病 (也叫对称性皮炎), 伴有口炎、舌炎、胃肠功能失常, 导致腹泻。

(五) 维生素 B₆

1. 化学本质 它是一组含氮的化合物, 包括吡哆醇、吡哆醛及吡哆胺三种物质, 统称吡哆素。在体内吡哆醇可转变为吡哆醛和吡哆胺, 吡哆醛和吡哆胺不能转变为吡哆醇, 吡哆醛则可与吡哆胺互变。



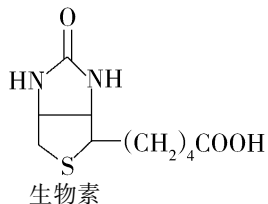
维生素 B₆ 在自然界分布很广, 谷物、豆类、种子外皮及禾本科植物含量较多, 酵母、蛋黄、肝脏也富含维生素 B₆, 人和动物肠道细菌可以合成少量。

2. 辅酶 在体内维生素 B₆ 可与磷酸结合成磷酸吡哆醛、磷酸吡哆胺, 两者是转氨酶的辅酶, 在氨基酸代谢中起传递氨基的作用。磷酸吡哆醛还是某些氨基酸脱羧酶的辅酶, 可促进氨基酸转变为胺, 并释放二氧化碳。

维生素 B₆ 缺乏时, 幼小动物生长缓慢或停止, 导致血红蛋白过少性贫血。人类未发现维生素 B₆ 缺乏的典型病例。临床上常用其辅助治疗妊娠呕吐、婴儿惊厥等症状, 是因为维生素 B₆ 可促进生成抑制性神经递质的物质——γ-氨基丁酸的缘故。

(六) 生物素 (维生素 H)

1. 化学本质 生物素 (biotin) 是噻吩和尿素缩合成的双环化合物, 并带有戊酸侧链。结构式如下:



生物素广泛分布于动植物组织中, 如肝、肾、蛋黄、酵母、蔬菜和谷物中都有, 肠道细菌能够合成。

2. 辅酶 生物素本身就是多种羧化酶 (如丙酮酸羧化酶) 的辅基, 参与 CO₂ 的羧化反应, 参与体内脂肪酸和糖类的代谢, 促进蛋白质的合成, 还参与维生素 B₁₂、叶酸、泛酸的代谢。

长期使用抗生素会抑制肠道细菌生长, 也可能造成生物素的缺乏。因生物素在植物中分布广泛, 肠道细菌又能合成, 所以人体一般不会缺乏。大量食用生鸡蛋时会导致生物素缺乏, 因为生鸡蛋蛋清中含有抗生物素的蛋白, 与生物素结合后使生物素失活而又

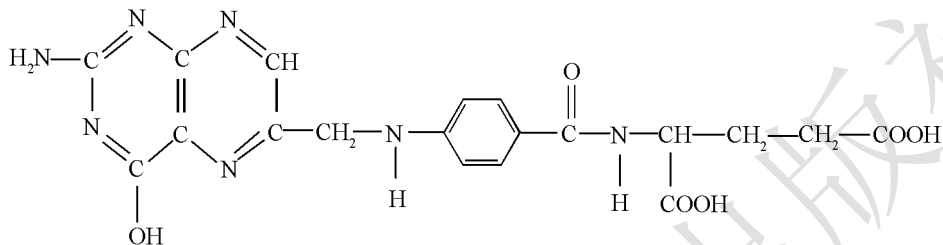


不易被肠道吸收。

实验大白鼠严重缺乏辅酶时，后脚瘫痪、皮肤发炎、毛发脱落。人类缺少生物素可能导致皮炎、肌肉疼痛、感觉过敏、怠倦、厌食、轻度贫血等症状。

(七) 叶酸 (维生素 B₉)

1. 化学本质 叶酸简称 FA，又叫蝶酰谷氨酸 PGA。叶酸的分子由 2-氨基-4-羟基-6-甲基蝶呤、对氨基苯甲酸与 L-谷氨酸三种成分组成。



叶酸

2. 辅酶 叶酸在体内被叶酸还原酶催化，它以 NADPH 为辅酶，在维生素 C 的参与下，可加氢成为 5,6,7,8-四氢叶酸 (FH₄ 或 THFA)。FH₄ 是体内一碳单位转移酶系统中的辅酶，故又称为辅酶 F (CoF)，参与一碳单位的代谢。

由于叶酸参与核苷酸的合成，因此叶酸缺乏时会影响骨髓中的巨红细胞和白细胞的成熟和分裂，造成巨红细胞贫血症。

人类肠道细菌能合成叶酸，故一般不发生缺乏症，但当吸收不良、代谢失常或组织需要过多，以及长期使用肠道抑菌药物或叶酸拮抗药等情况下，则可造成叶酸缺乏。

(八) 维生素 B₁₂ (钴胺素，抗恶性贫血维生素)

1. 化学本质 维生素 B₁₂ 的分子中含有金属钴，故又称为钴胺素。其结构非常复杂，分子中除含有钴原子外，还含有 5,6-二甲基苯并咪唑、3'-磷酸核糖、氨基丙醇和类似叶啉环的钴啉环成分。主要有 5'-脱氧腺苷钴胺素、氰钴胺素、羟钴胺素和甲基钴胺素等。其中 5'-脱氧腺苷钴胺素是维生素 B₁₂ 在体内的主要存在形式，又称为 B₁₂ 辅酶。

2. 辅酶 维生素 B₁₂ 中的一 CN (氰基) 以 5'-脱氧腺苷代替，即形成 5'-脱氧腺苷钴胺素或辅酶维生素 B₁₂，它是传递一碳基团的辅酶，参与蛋氨酸、胸腺嘧啶等的合成，促进红细胞的发育和成熟。5'-脱氧腺苷钴胺素和四氢叶酸的作用是相互联系的。

动物性食品中含维生素 B₁₂ 较多，如肝、肉、鱼、蛋等富含维生素 B₁₂。一般不缺乏，但长期素食者维生素 B₁₂ 很容易缺乏；此外，维生素 B₁₂ 的吸收与胃分泌的一种糖蛋白有关，缺乏这种糖蛋白则无法吸收，造成恶性贫血等疾病，通过注射维生素 B₁₂ 可得到治疗。

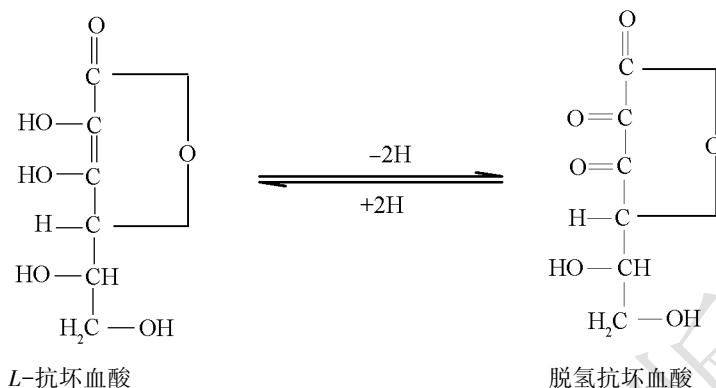
(九) 维生素 C

1. 化学本质 维生素 C 又称 L-抗坏血酸，是一个具 6 个碳原子的酸性多羟基化合物。其中 C₂ 和 C₃ 的两个烯醇羟基极易解离为 H⁺ 而被氧化为脱氢抗坏血酸 (氧化性)。因此，维生素 C 具有较强的酸性和较强的还原性。其氧化性和还原性在生物体内可相互转化。

维生素 C 主要存在于蔬菜和水果中，蔬菜中的番茄、菜花及各种深色叶菜和野菜



类，水果中的柑橘、柠檬、猕猴桃等含量十分丰富。



2. 生理功能 维生素 C 具有广泛的生理作用，通过自身的氧化还原体系在生物氧化中作为氢的载体，能防治坏血病。临床上还有许多应用，维生素 C 参与体内代谢功能主要有以下几个方面。

(1) 参与体内的羟化反应：维生素 C 对于许多物质的羟化反应都有重要作用，而羟化反应又是体内许多重要化合物的合成或分解的必经步骤，例如胶原的生成、类固醇的合成与转变以及许多有机药物或毒物的生物转化等，都需要羟化作用才能完成。

(2) 参与体内氧化还原反应：维生素 C 在体内作为重要的还原剂而起作用，主要有以下几个方面作用。

一是保护巯基酶的活性和谷胱甘肽的还原状态：动物体内许多含巯基的酶催化活性需要有自由的巯基（—SH），而维生素 C 能使酶分子中—SH 保持在还原状态，从而保持酶有一定的活性。某些毒物如铅、砷、苯能与体内的巯基酶的巯基（—SH）结合，使其失活以致发生中毒。维生素 C 可使氧化型的谷胱甘肽（G—S—S—G）转变为还原型的谷胱甘肽（G—SH），后者与重金属结合排出体外，故维生素 C 能保护巯基酶的活性，具有解毒作用。

二是促进铁的吸收和利用：维生素 C 能使难吸收的 Fe^{3+} 还原成易吸收的 Fe^{2+} ，促进铁的吸收；维生素 C 能促进红细胞中的高铁血红蛋白还原为血红蛋白，从而提高血红蛋白的输氧功能；维生素 C 还能促进叶酸转变为四氢叶酸。所以，维生素 C 对缺铁性贫血和巨幼细胞性贫血的治疗起辅助作用。

一般畜禽都能自行合成维生素 C，经大鼠试验证明，维生素 C 可由葡萄糖在体内转变而来，故一般情况下不必考虑添加维生素 C，但临床上为了促进伤口愈合或解毒时则经常用。

现将主要水溶性维生素的辅酶名称、主要功能及主要缺乏病列于表 2.3 中。

表 2.3 水溶性维生素概况

维生素名称	辅酶名称	主要功能	主要缺乏症
维生素 B ₁ (硫胺素)	焦磷酸硫胺素 (α-酮酸氧化脱羧酶的辅酶)	α-酮酸氧化脱羧酶的辅酶，抑制胆碱酯酶的活性	脚气病，多发性神经炎胃 肠功能障碍



续表

维生素名称	辅酶名称	主要功能	主要缺乏症
维生素 B ₂ (核黄素)	FMA、FAD (脱氢酶的辅基)	黄素酶类的辅酶, 参与体内氧化还原反应	口腔炎, 舌炎、角膜炎、皮炎等
维生素 PP (烟酸与烟酰胺)	NAD ⁺ 、NADP ⁺ (不需氧脱氢酶的辅基)	为 NAD ⁺ 、NADP ⁺ 的成分, 参与体内氧化还原反应, 起传递氢的作用	神经营养障碍, 出现皮炎 (癞皮病)
维生素 B ₆ (吡哆醇、吡哆醛与吡哆胺)	磷酸吡哆醛与磷酸吡哆胺 (转氨酶的辅基)	构成转氨酶、脱羧酶辅酶组成成分, 参与氨基酸代谢	幼小動物生长缓慢或停止, 血红蛋白过少性贫血
泛酸 (维生素 B ₃)	辅酶 A	酰基转移酶辅酶的成分, 参与酰基的转移作用	角膜炎, 出现神经症状
生物素 (维生素 H)	生物素 (羧化酶的辅酶)	生物素是多种羧化酶的辅酶, 参与 CO ₂ 的羧化过程	精神抑郁、皮炎、脱屑、红皮病等
叶酸 (维生素 B ₉)	四氢叶酸 (一碳单位转移酶的辅酶与一碳载体)	以四氢叶酸形式参与一碳单位的代谢。参与核酸和蛋白质合成, 促进红细胞和白细胞的生长	巨幼红细胞贫血
维生素 B ₁₂ (钴胺素)	N ⁵ -CH ₃ FH ₄ 转甲基酶的辅酶	参与一碳单位的代谢。参与核酸和蛋白质合成以及其他中间代谢	巨幼红细胞贫血, 神经系统损害
维生素 C (L-抗坏血酸)	羟化酶的辅助因子	参与氧化还原反应, 参与体内羟化反应, 促进胶原蛋白的合成, 促进铁的吸收	坏血病

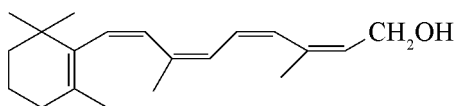
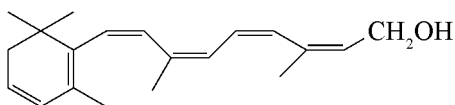
四、脂溶性维生素

脂溶性维生素都能溶于脂肪及脂肪溶剂, 如乙醇、氯仿等, 不溶于水。

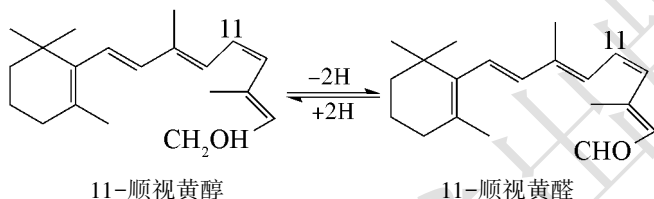
(一) 维生素 A

1. 化学本质 维生素 A 又称视黄醇或抗干眼病维生素。有维生素 A₁ (视黄醇) 和维生素 A₂ (3-脱氢视黄醇) 两种, 最常见的是维生素 A₁。它们都是由 β-白芷酮环构成的不饱和一元醇。维生素 A₁ 和维生素 A₂ 的差别仅后者在 3、4 碳原子之间多一个双键。其结构如下:

维生素 A 的侧链含有 4 个双链, 故可形成多种顺反异构体, 其中较重要的有全反型和 11-顺型。维生素 A₁ (视黄醇) 在体内可被氧化成视黄醛 (retinal), 此反应是可

维生素A₁ (视黄醇)维生素A₂ (3-脱氢视黄醇)

逆的。



11-顺视黄醇

11-顺视黄醛

维生素A主要来源是动物性食品，以肝、乳制品及鱼肝油中含量最多，在淡水鱼肝油中还发现另一种维生素A，称为维生素A₂，其生理功能仅及维生素A₁的40%。从化学结构上比较，维生素A₂在β-白芷酮环上比维生素A₁多一个双键。植物体内虽不含维生素A，但胡萝卜、黄玉米、红辣椒中含有维生素A的前体——类胡萝卜素和玉米黄素等，此类物质在体内能转变成维生素A。这类本身不具有维生素A活性，但在肠和肝中可以转变为维生素A的物质，称为维生素A原。

2. 生理功能及缺乏症 维生素A的主要生理功能为维持上皮组织的完整性，维持正常视觉、基因调节、动物繁殖和免疫功能。近年来的研究还发现，维生素A能增强机体抗感染能力，参与蛋白质的合成，维持骨骼的正常生长代谢。

(1) 构成视觉细胞内感光物质：人及动物的视网膜内有两种感光细胞：视锥细胞和视杆细胞，后者对弱光敏感，与暗视觉有关。视杆细胞内的感光物质是视紫红质，维生素A在体内可氧化成11-顺视黄醛，后者与视蛋白结合成视紫红质，形成暗视觉。当人和动物缺乏维生素A时，视紫红质合成不足，所以在弱光下看不见物体，此即为夜盲症。

(2) 维持上皮组织的完整性：维生素A对上皮组织的生长和分化是必需的，它参与与结缔组织中黏多糖的合成，维持细胞膜及细胞器（如线粒体、溶酶体等）膜结构的完整性及正常的通透性。缺乏维生素A时，上皮细胞分泌黏液的能力丧失，出现上皮干燥、角化、脱屑，如果泪腺上皮受波及，会使泪液分泌减少，结膜、角膜上皮组织变性，结膜出现皱纹，失去正常光泽，造成眼干燥症。故维生素A又称视黄醇或抗干眼病维生素。

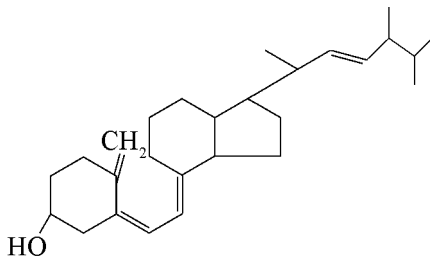
(3) 促进幼小動物正常生长发育：维生素A具有类似固醇激素的作用，影响细胞分化和发育。缺乏维生素A时，会引起幼小動物生长迟缓，发育不良。

(二) 维生素D (抗佝偻病维生素)

1. 化学本质 维生素D又称钙化醇或抗佝偻病维生素，属于固醇类的衍生物，维



生素 D 中最常见的有维生素 D₂ 和维生素 D₃ 两种。维生素 D₂ 又名钙化醇，由植物中的麦角固醇经紫外线照射后产生。维生素 D₃ 又名胆钙化醇，是由 7-脱氢胆固醇经紫外线照射而得。



维生素 D₂

维生素 D₃ 在鱼肝油、动物肝脏、牛奶和蛋黄内含量丰富，也可由皮下的 7-脱氢胆固醇经紫外线照射转变而来。所以，7-脱氢胆固醇又称维生素 D₃ 原。故动物放牧多接触日光可满足维生素 D 的需要。青草和酵母中含有麦角固醇，它们在紫外线照射下可转变为维生素 D₂，故麦角固醇为维生素 D₂ 原。

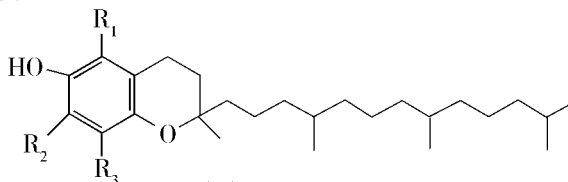
2. 生理功能 维生素 D 本身无生物活性，必须先经肝内羟化形成 25-OH-维生素 D₃，然后在肾内再羟化生成 1, 25-(OH)₂-维生素 D₃ 才能发挥生理作用。1, 25-(OH)₂-维生素 D₃ 作用于肠黏膜细胞和骨细胞，与受体结合后启动钙结合蛋白的合成，从而促进小肠对钙磷的吸收，使血钙和血磷的浓度增加，有利于骨和牙内钙磷的沉积，使骨正常钙化。

3. 缺乏症 维生素 D 缺乏时，主要由于肠道对钙磷的吸收减少，因而骨骼沉积钙的能力也降低。在幼畜会引起成骨作用障碍而出现佝偻病，牙齿生长迟缓。对成年家畜特别哺乳期母畜，则出现骨软化症。

对人和家畜，维生素 D₂ 和维生素 D₃ 的生理效能近乎相等；但对家禽来说，则维生素 D₃ 的生理效能比维生素 D₂ 高得多。

(三) 维生素 E

1. 化学本质 维生素 E 又称生育酚、抗不育维生素。天然存在的已知有 8 种，其中 α、β、γ、δ 四种较为重要，以 α 维生素 E 抗不育作用的活性最高，它们的通式为



维生素 E

维生素 E 主要存在于蔬菜、麦胚油、玉米油中。

2. 生理功能及缺乏症

(1) 抗氧化作用。机体代谢中不断产生自由基，自由基具有强氧化性，易损害生物膜，并促进细胞衰老，出现褐色色素沉着现象。



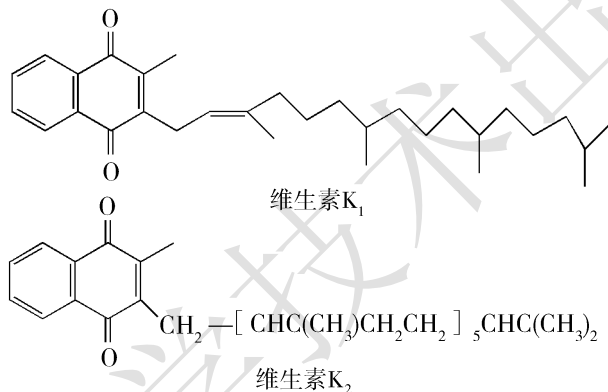
维生素 E 是体内自由基的良好清除剂，能使细胞膜上不饱和脂肪酸免受氧化而破坏，从而保护细胞膜、细胞器的完整性，还能减少各组织细胞内褐色素的产生，从而延缓衰老现象。

(2) 维持生殖器官正常生殖能力。维生素 E 维持公畜正常产生精子，母畜胚胎正常发育。动物缺乏维生素 E 时，常引起睾丸变形、卵巢退化，造成不育症。

(3) 维持肌肉及外周血管系统结构与功能的正常，维持中枢神经系统功能的完整性。维生素 E 缺乏时，可引起肌肉萎缩及营养性退化，造成溶血性贫血。

(四) 维生素 K

1. 化学本质 维生素 K 又叫抗出血维生素。天然维生素 K 有维生素 K₁、维生素 K₂ 两种，都由 2-甲基-1, 4-萘醌构成。维生素 K₁ 主要存在于青绿植物，如苜蓿、菠菜、菜花及动物肝脏中，维生素 K₂ 主要存在于微生物体内，人工合成的维生素 K 即甲基萘醌，称为维生素 K₃。



2. 生理功能及缺乏症

(1) 维生素 K 能促进肝脏合成凝血因子 II、VII、IX 和 X，参与凝血作用。当缺乏维生素 K 时，血中凝血酶原及凝血因子浓度降低，凝血时间延长，出血时难以止血。外科手术前常预先注射维生素 K，以减少出血。

双香豆素的化学结构图与维生素 K 相似，是维生素 K 的拮抗物。家畜过食双香豆素含量高的苜蓿时，会使凝血因子的合成减少，发生维生素 K 缺乏症。另外，口服大量抗菌药物，会杀灭肠道细菌而出现维生素 K 的缺乏。

(2) 维生素 K 可能作为电子传递体系的一个组成部分，参与氧化磷酸化过程，有可能参与黄酶与细胞色素之间氢和电子的传递。因此，维生素 K 缺乏时，肌肉中 ATP 及磷酸肌酸含量减少。在临床上维生素 K 缺乏常见于胆道梗阻、脂肪痢、长期服用广谱抗生素以及新生儿中，使用维生素 K 可予以纠正。

现将脂溶性维生素的主要性质、来源、生理功能及缺乏症列于表 2.4。



表 2.4 脂溶性维生素概况

维生素名称	主要性质	主要来源	主要生理功能	主要缺乏症
维生素 A (视黄醇或抗干眼病维生素)	耐热, 但易受紫外线及氧化剂破坏	鱼肝油、蛋黄。有胡萝卜素存在的植物有胡萝卜、甜菜、植物绿叶和青草	维持上皮组织的健全和正常视觉, 诱导上皮细胞分化, 促进生长发育	夜盲症、眼干燥症, 上皮组织角质化, 牙齿发育不正常
维生素 D (钙化醇或抗佝偻病维生素)	稳定, 不易被酸、碱、热等破坏	鱼肝油、干草、家畜经日光照射在体内生成	促进肠壁对钙和磷的吸收, 有利于新骨的形成与钙化	幼畜佝偻病、成畜软骨病
维生素 E (生育酚、抗不育维生素)	对热、酸稳定, 对碱较不稳定, 易氧化	植物油、绿色植物、谷物种子	维持动物的生殖功能 (抗动物不育症), 具有抗氧化作用	溶血性贫血、生殖功能障碍、肌肉萎缩、麻痹症
维生素 K (抗出血维生素)	耐热、但易被光、碱破坏	绿色植物, 肠内细菌能合成	促进肝脏合成凝血酶原, 调节凝血因子 VII、IX、X 的合成	凝血时间延长, 会发生皮下、肌肉和胃肠道出血

■拓展与应用

1. 酶与动物生产实践的关系 随着我国畜牧业的发展和生物工程技术的不断进步, 酶制剂在饲料工业中的应用越来越普遍。酶制剂能够提高饲料原料的利用率, 1975 年美国饲料工业首次把微生物酶作为添加剂应用于配合饲料中, 在饲养方面取得显著效果, 酶作为饲料添加剂正式登上历史舞台。饲用酶制剂 20 世纪 90 年代初才进入中国, 在短短的 10 多年时间里已从探索性研究发展到广大养殖者较广泛地认同和使用, 发展异常迅速。

(1) 酶制剂在家禽生产中的应用。家禽的消化道较短, 肠道微生物菌群少, 对养分的消化吸收不彻底和肠道食糜黏度的存在进而影响了营养物质的消化吸收。因此, 在家禽日粮中添加酶制剂可提高家禽的产蛋性能和饲料转化率以及能量和蛋白质的利用率。

(2) 酶制剂在养猪生产中的应用。一般来说, 酶制剂对猪的应用效果不如家禽那么明显。可在仔猪日粮中添加以消化酶为主的复合酶, 补充仔猪内源酶分泌量的不足, 提高淀粉、蛋白质等饲料养分消化利用率, 促进消化道的发育, 有利于提高仔猪的消化功能, 减少腹泻, 增强机体抵抗力。因此, 断奶仔猪日粮中添加包含淀粉酶和蛋白酶等复合酶制剂, 能明显提高仔猪生产性能和饲料转化率, 降低腹泻的发生率。

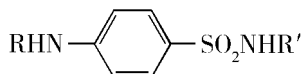
(3) 酶制剂在反刍动物生产中的应用。在反刍动物日粮中使用外源酶始于 20 世纪 60 年代, 饲用酶制剂用于反刍动物生产在过去一直有争议。长期认为反刍动物瘤胃中瘤胃微生物产生的纤维分解酶活性本来就很高, 其瘤胃纤维分解酶活性不可能用简单添加外源酶的方法得到提高。然而, 最近有关酶制剂在反刍动物中的推广应用和作用机制的研究越来越多, 将酶制剂添加到反刍动物日粮中, 可以显著提高生产性能并减少饲料



营养物质的浪费。草食动物添加以纤维素酶为主的复合酶制剂，可补充瘤胃微生物产酶的不足，提高生产性能。研究表明，在以玉米青贮或以苜蓿草为主的日粮中喷洒液体羟甲基纤维素酶和木聚糖酶可以提高奶牛产奶量。

所以，酶制剂在畜牧生产上已取得了很好的应用效果，能够很好地开发非常规饲料原料，但对酶制剂在动物体内的作用机制研究得还不够。从动物营养学角度出发，在猪的低品质以及消化性差的原料组成的日粮中添加酶制剂及酶制剂在动物体内的作用机制是当前研究的重点。

2. 竞争性抑制药物（磺胺类）的生化机制 磺胺类药物为对氨基苯磺酰胺的衍生物，具有以下基本结构：



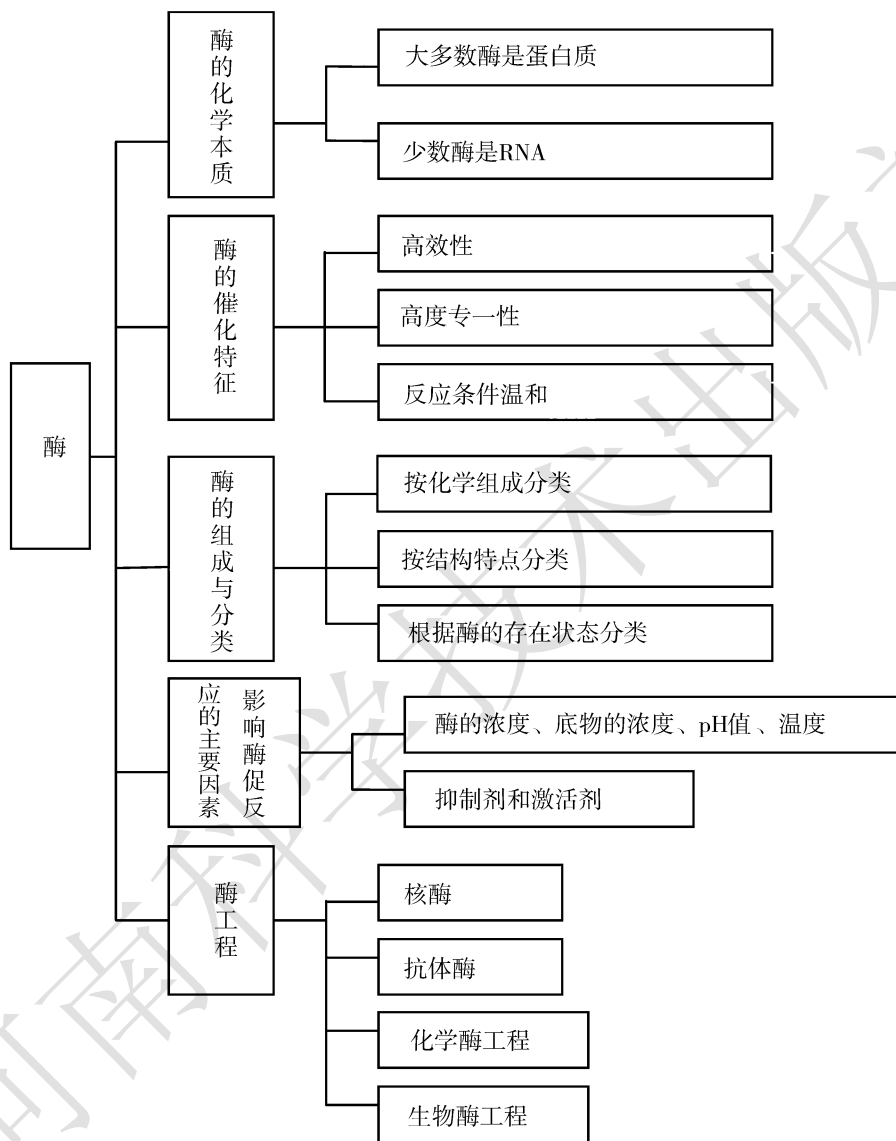
磺胺类药物在 20 世纪 30 年代发展很快，临床上应用的药物曾有 20 余种，40 年代以后由于青霉素等抗生物素的出现，磺胺类药物在化学治疗药物中的地位下降，但是磺胺类药物有抗菌谱广、疗效确切、可以口服、吸收较迅速等特点，与抗菌增效剂甲氧苄啶（trimethoprim）合用可使抗菌作用增强，仍为比较常用的抗菌药。磺胺类药物作用机制的阐明确立了抗代谢学说，为发展新药开辟了一条新途径。目前临床上使用较多的药物有磺胺嘧啶（sulfadiazine）和磺胺甲噁唑（sulfamethoxazole）。

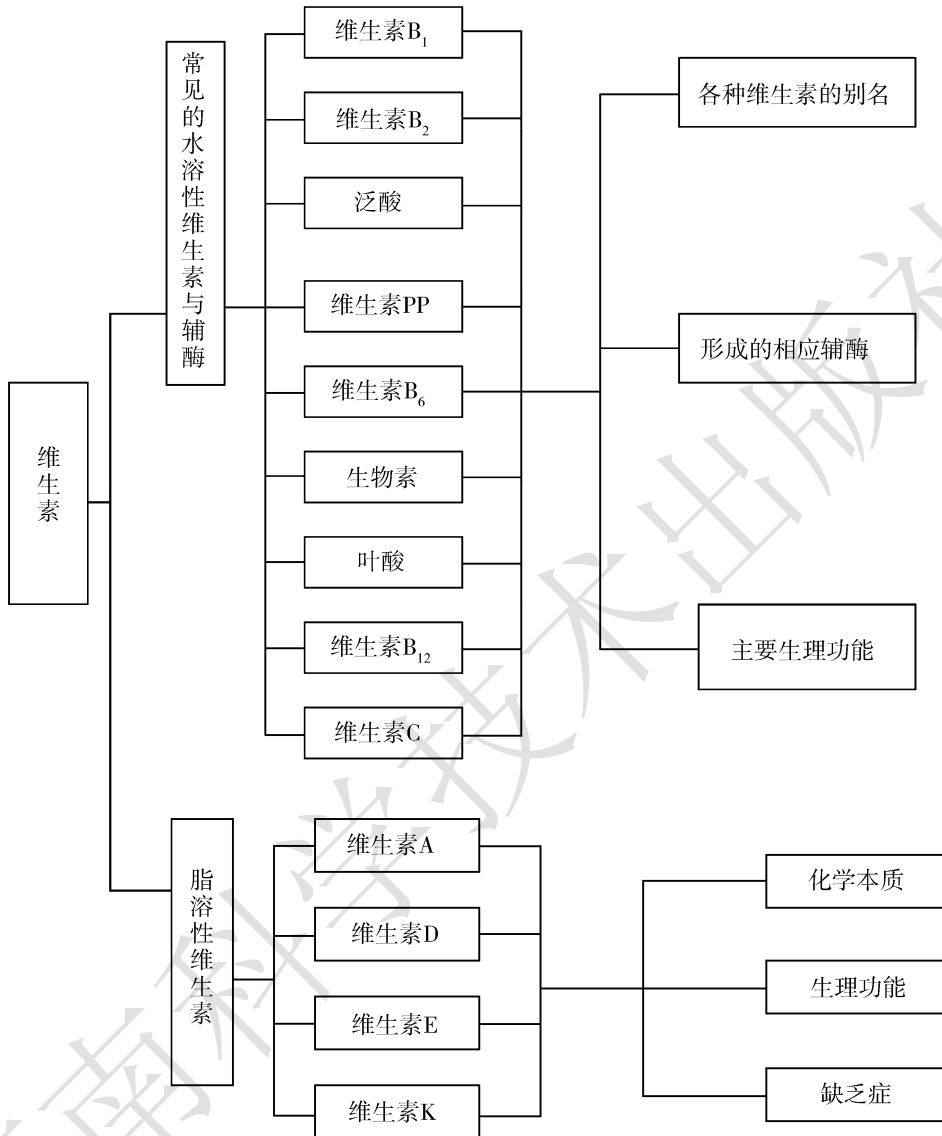
磺胺类药物能与细菌生长所必需的对氨基苯甲酸（PABA）产生竞争性拮抗，干扰了细菌酶系统对 PABA 的利用，PABA 是叶酸的组成部分，叶酸为微生物生长中的必要物质，也是构成体内叶酸辅酶的基本原料。PABA 在二氢叶酸合成酶的催化下，与二氢蝶啶焦磷酸酯及谷氨酸或二氢蝶啶焦磷酸酯与对氨基苯甲酰谷氨酸合成二氢叶酸，再在二氢叶酸还原酶的作用下还原成四氢叶酸，为细菌合成核酸提供叶酸辅酶。

由于磺胺类药物分子大小及电荷分布和 PABA 极为相似，使得在二氢叶酸的生物合成中可以取代 PABA 位置，磺胺类药物抑制二氢叶酸合成酶，阻断了二氢叶酸的生物合成。二氢叶酸经二氢叶酸还原酶作用还原为四氢叶酸，后者进一步合成辅酶 F。辅酶 F 为 DNA 合成中所必需的嘌呤、嘧啶碱基的合成提供一个碳单位。人体作为微生物的宿主，可以从食物中摄取四氢叶酸，因此，磺胺类药物不影响正常叶酸代谢，而微生物靠自身合成四氢叶酸，一旦叶酸代谢受阻，生命就不能继续，因此微生物对磺胺类药物敏感。



本章小结







思考与练习

一、名词解释

1. 米氏常数 (K_m 值) 2. 酶的专一性 3. 辅基 4. 维生素 5. 激活剂 6. 竞争性抑制作用 7. 酶原激活 8. 酶的活性中心

二、问答题

1. 何谓酶作用的专一性? 举例说明有哪几种类型。
2. 什么叫全酶? 全酶中酶蛋白和辅酶在催化反应中各有何作用?
3. 什么是维生素? 维生素与辅酶有何联系?
4. 何谓酶的活性中心? 什么是酶的必需基团? 必需基团有几类? 它们的功能有哪些?
5. 什么是酶原和酶原的激活? 简述胰凝乳蛋白酶原的激活过程。
6. 简述影响酶促反应速度的因素。
7. 举例说明何谓竞争性抑制作用和非竞争性抑制作用。
8. 什么是酶? 酶与化学催化剂有哪些相同点和不同点?