

# Chapter 1

## 蛋白质的结构与功能

### Structure and Function of Protein

生化与分子生物学教研室

蚌埠医学院

# Major Object

**[教学时数]** 5.5学时

**[掌握内容]:** 蛋白质的基本组成单位和平均含氮量。20种氨基酸的名称及三字母英文缩写符号。氨基酸的理化性质。蛋白质一级结构的定义及维系的键、蛋白质二级结构的定义及维系的键，肽单元和蛋白质二级结构的主要类型，模体的概念。蛋白质三级结构的定义及维系的键，结构域的定义。蛋白质四级结构的定义及维系的键，亚基的定义。蛋白质变性的定义及影响因素，蛋白质沉淀及维持蛋白质胶体溶液的稳定因素。蛋白质等电点的定义。

**[熟悉内容]:** 氨基酸的分类，肽的概念基本结构，蛋白质一级结构和空间结构与蛋白质功能之间的关系。氨基酸和蛋白质的紫外吸收作用。蛋白质的分离和纯化。

**[了解内容]:** 生物活性肽，蛋白质的模序结构，分子病的定义。

**[自学内容]:** 蛋白质分类，多肽链中氨基酸的序列分析、蛋白质空间结构测定。

# 一. 什么是蛋白质 (*protein*) ?

**蛋白质**是由许多氨基酸通过肽键  
相连形成的高分子含氮化合物。

## 二. 蛋白质的生物学重要性

### 1. 生物体重要组成成分

**分布广：**所有器官、组织都含蛋白质，每个细胞的各个部分都含蛋白质。

**含量高：**是细胞内最丰富的有机分子，占人体干重的45%，某些组织含量更高，例如脾、肺及横纹肌等高达80%。

## 2. 具有重要的生物学功能

- 1) 作为生物催化剂 (酶);
- 2) 代谢调节作用 (激素);
- 3) 免疫保护作用 (抗体);
- 4) 物质的转运和存储;
- 5) 运动与支持作用;
- 6) 参与细胞间信息传递。

## 3. 氧化供能

- 1. 1蛋白质的分子组成
- 1. 2蛋白质的分子结构
- 1. 3蛋白质结构与功能的关系
- 1. 4蛋白质的理化性质及其分离纯化

# 第一节

## 蛋白质的分子组成

### The Molecular Component of Protein

# 一、蛋白质的元素组成：

主要有C、H、O、N和S。

有些蛋白质还含有少量磷或金属元素铁、铜、锌、锰、钴、钼，有些蛋白质还含有碘。



## ➤ 蛋白质元素组成的特点：

各种蛋白质的含氮量很接近，平均为16%。

由于体内的含氮物质以蛋白质为主，因此只要测定生物样品中的含氮量就可以根据以下公式推算出蛋白质的大致含量：

$$100\text{克样品中蛋白质的含量 (g\% ) = \text{每克样品含氮克数} \times 6.25 \times 100$$

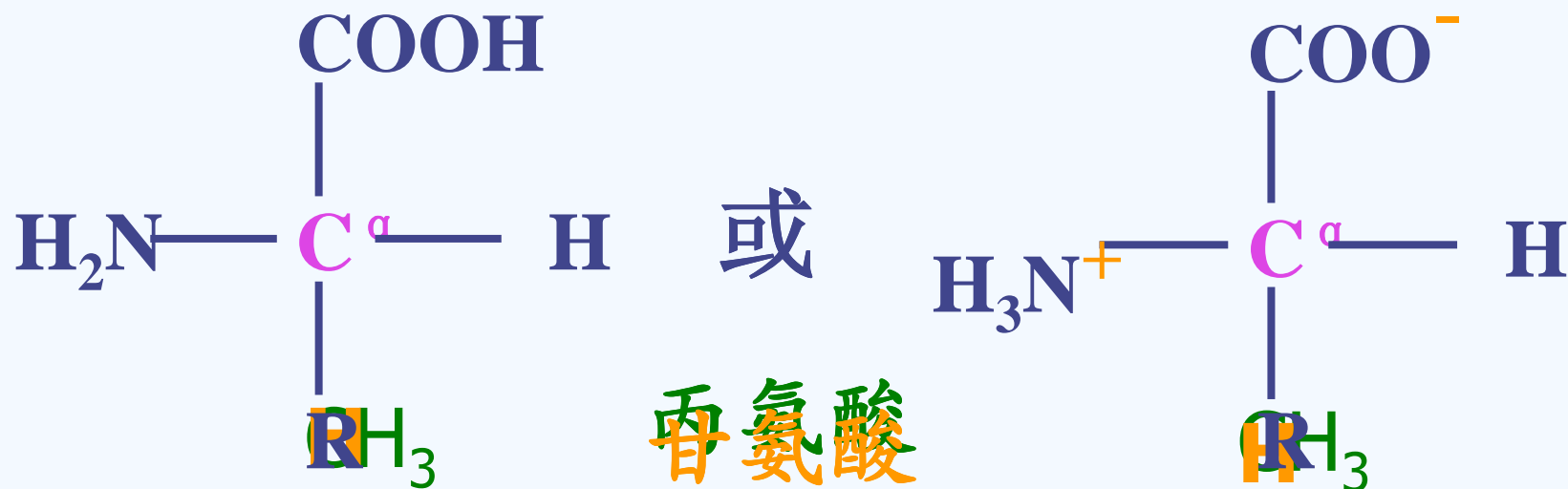
**1/16%**

## 二、氨基酸 amino acid,aa.

### ——蛋白质的基本组成单位

存在自然界的氨基酸有300余种，但组成人体蛋白质的氨基酸仅有20种。

## ❖ 氨基酸结构通式

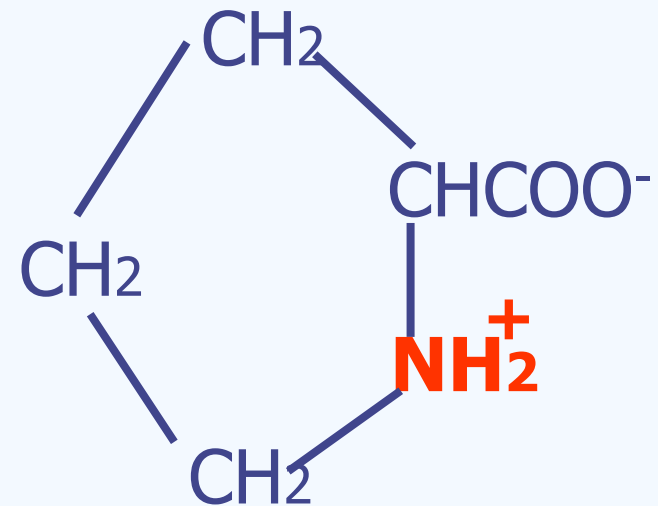


## \* 构成蛋白质的氨基酸的结构特点:

1.  $\alpha$ -碳原子为不对称碳原子或手性碳原子, 呈L-氨基酸 (甘氨酸除外)

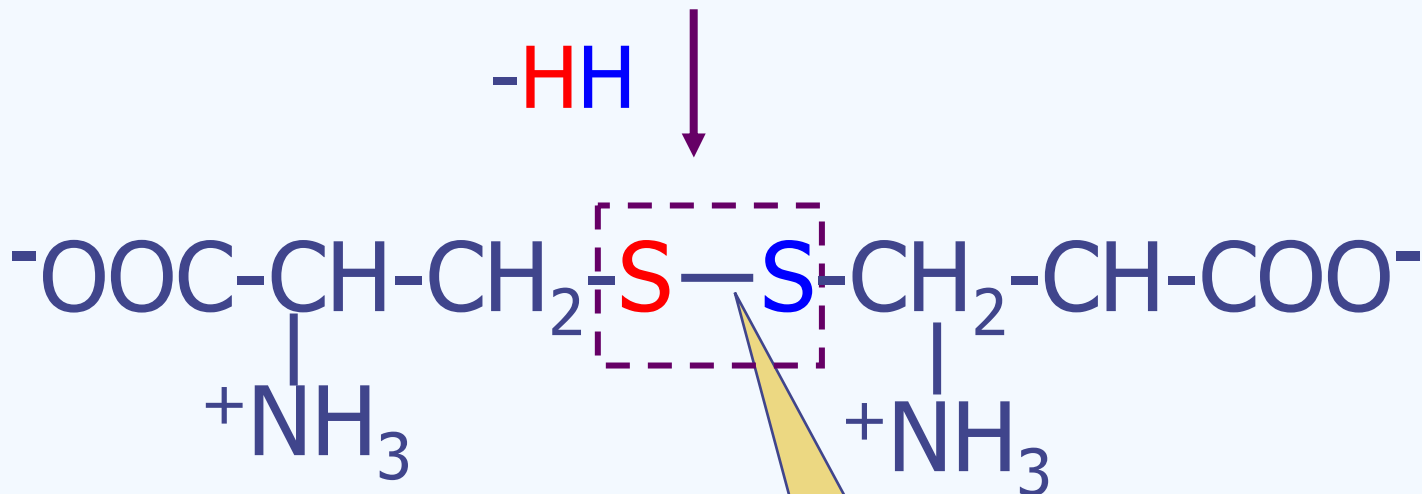
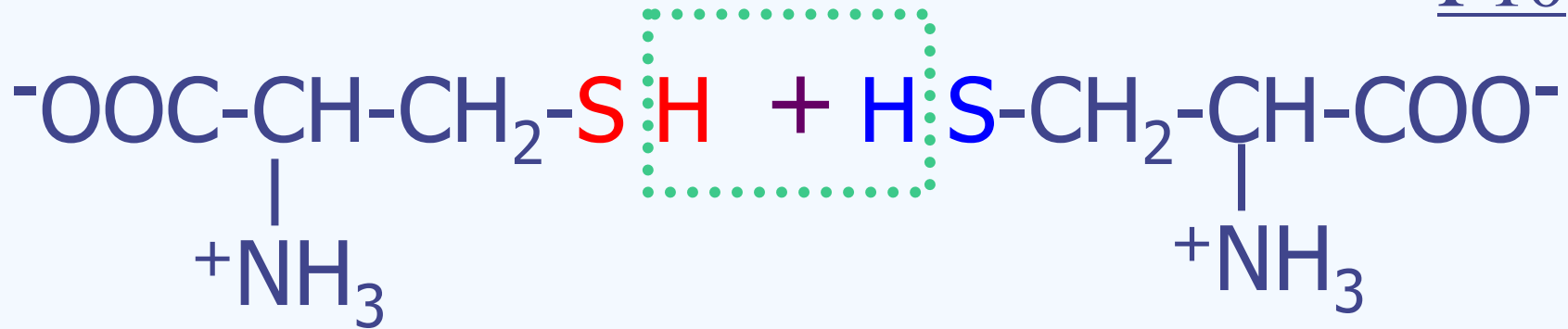
2. 在  $\alpha$ -碳原子上均连有一个氨基, 为  $\alpha$ -氨基酸 (脯氨酸除外)

▲ 其余均为L- $\alpha$ 氨基酸



➤ 两个半胱氨酸易脱氢，形成二硫键

P10



二硫键

胱氨酸

## (一) 氨基酸的分类

(1) 非极性疏水性氨基酸

(2) 极性中性氨基酸

(3) 酸性氨基酸

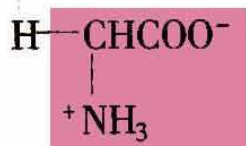
(4) 碱性氨基酸

亲水性氨基酸

\* 20种氨基酸的英文名称、缩写符号及分类如下：

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
-----	-----	-----	------	------	----------

## 1、非极性疏水性氨基酸



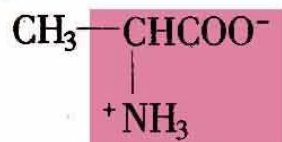
甘氨酸

glycine

Gly

G

5.97



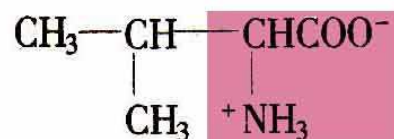
丙氨酸

alanine

Ala

A

6.00



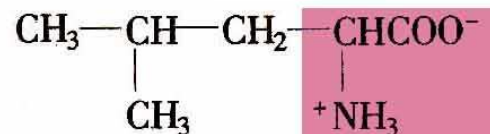
缬氨酸

valine

Val

V

5.96



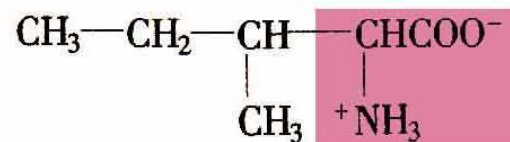
亮氨酸

leucine

Leu

L

5.98



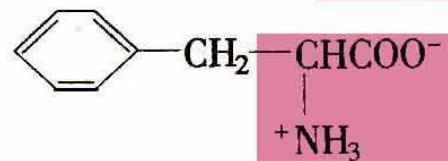
异亮氨酸

isoleucine

Ile

I

6.02



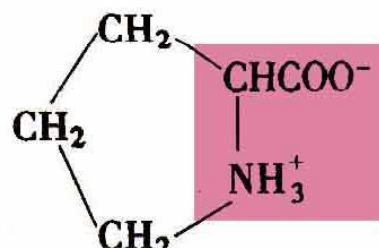
苯丙氨酸

phenylalanine

Phe

P

5.48



脯氨酸

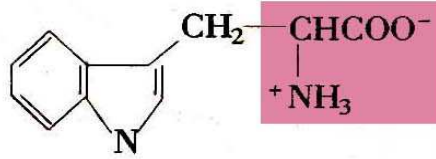
proline

Pro

P

6.30

## 2、极性中性氨基酸



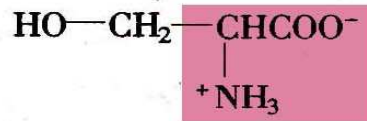
色氨酸

tryptophan

Try

W

5.89



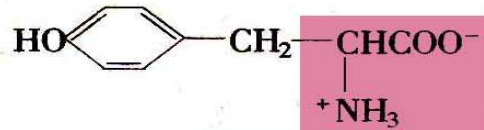
丝氨酸

serine

Ser

S

5.68



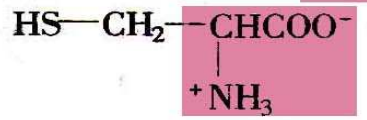
酪氨酸

tyrosine

Try

Y

5.66



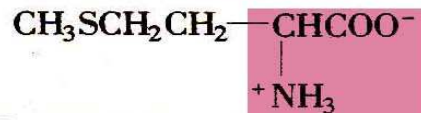
半胱氨酸

cysteine

Cys

C

5.07



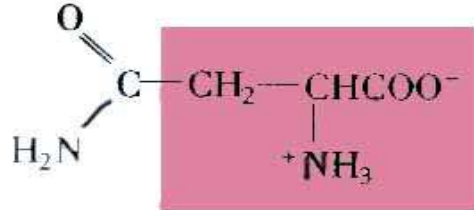
蛋氨酸

methionine

Met

M

5.74



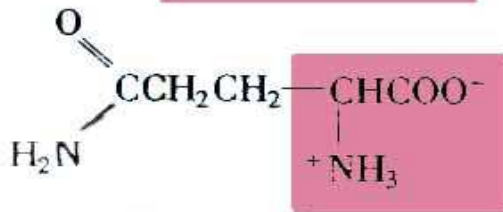
天冬酰胺

asparagine

Asn

N

5.41



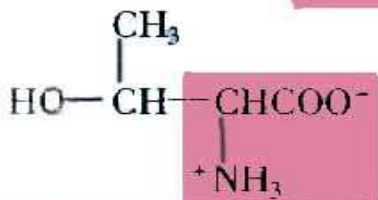
谷氨酰胺

glutamine

Gln

Q

5.65



苏氨酸

threonine

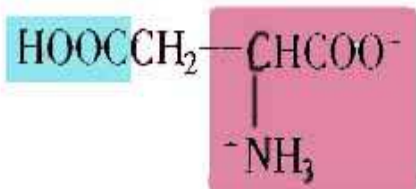
Thr

T

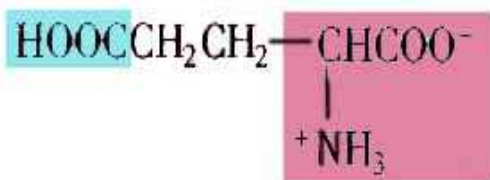
5.60



### 3、酸性氨基酸

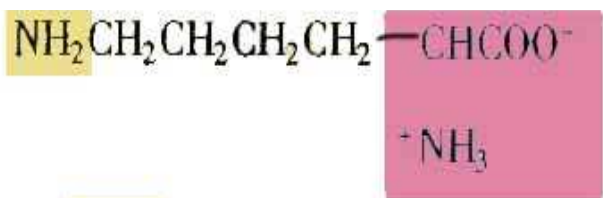


天冬氨酸    aspartic acid    Asp    D    2.97

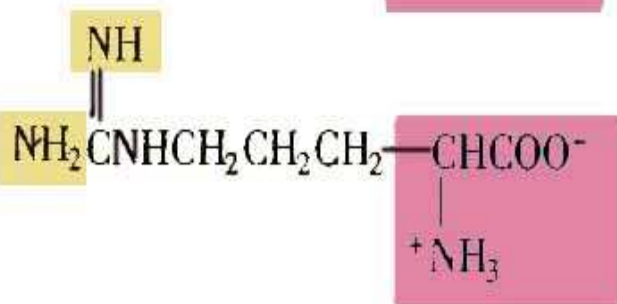


谷氨酸    glutamic acid    Glu    E    3.22

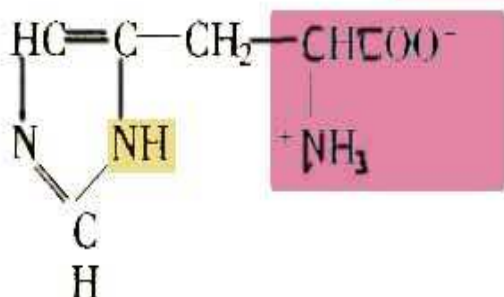
### 4、碱性氨基酸



赖氨酸    lysine    Lys    K    9.74



精氨酸    arginine    Arg    R    10.76



组氨酸    histidine    His    H    7.59

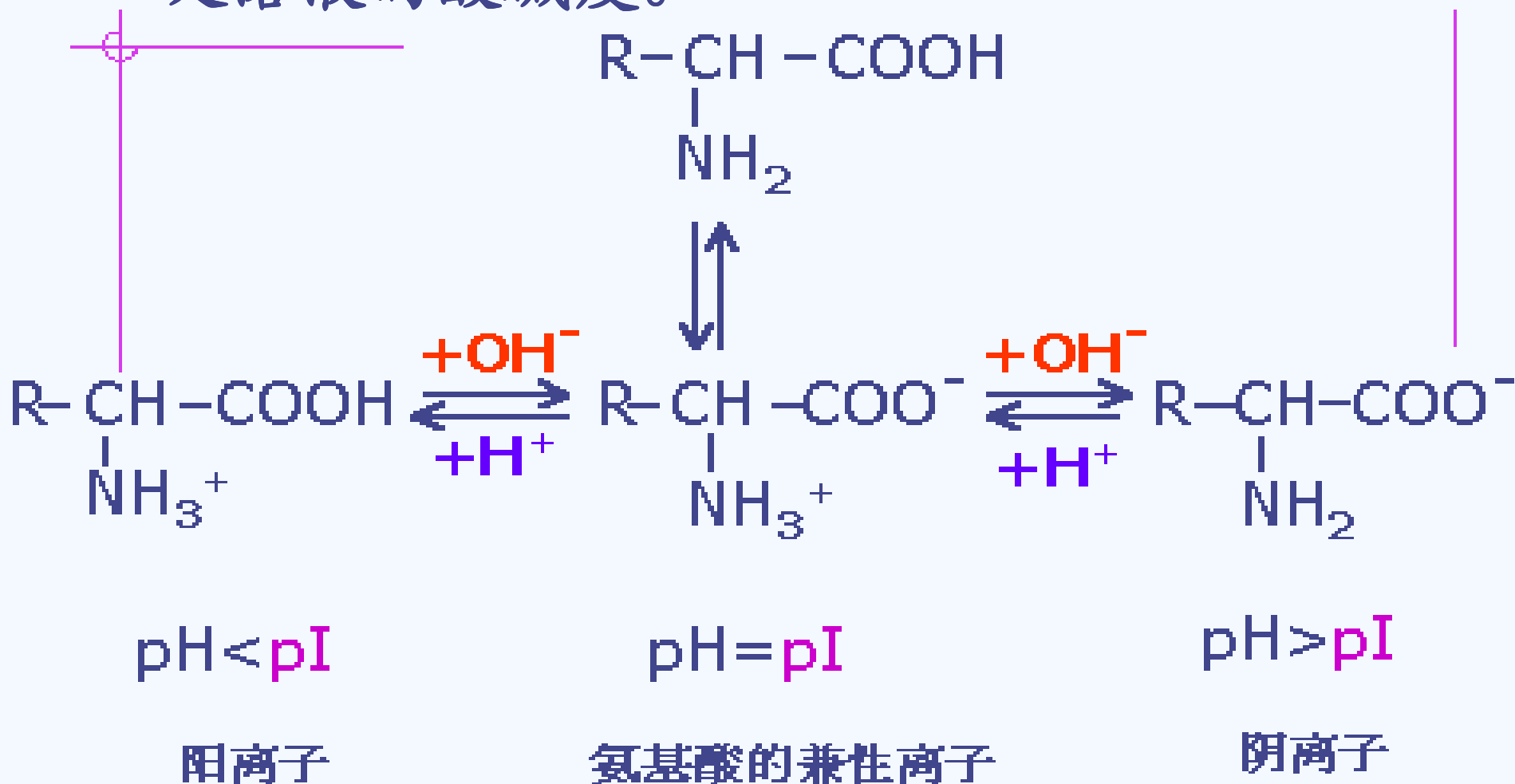
## (二) 氨基酸的理化性质

P10

1. 两性解离性质
2. 紫外吸收性质
3. 茚三酮反应

# 1. 两性解离性质

氨基酸是两性电解质，其解离程度取决于所处溶液的酸碱度。



## ➤ 等电点 (*isoelectric point, pI*)

在某一pH的溶液中，氨基酸解离成阳离子和阴离子的趋势及程度相等，成为兼性离子，呈电中性。此时溶液的pH值称为该氨基酸的等电点。

❖ 除碱性氨基酸外，其余氨基酸的等电点均小于pH7

## 2. 紫外吸收性质

苯丙氨酸Phe、  
色氨酸Trp、  
酪氨酸Tyr  
均有紫外吸收

大多数蛋白质含有  
这几种氨基酸残基，所以  
测定蛋白质溶液280nm  
的光吸收值是分析溶液  
中蛋白质含量的快速简  
便的方法。

### 苯环共轭双键

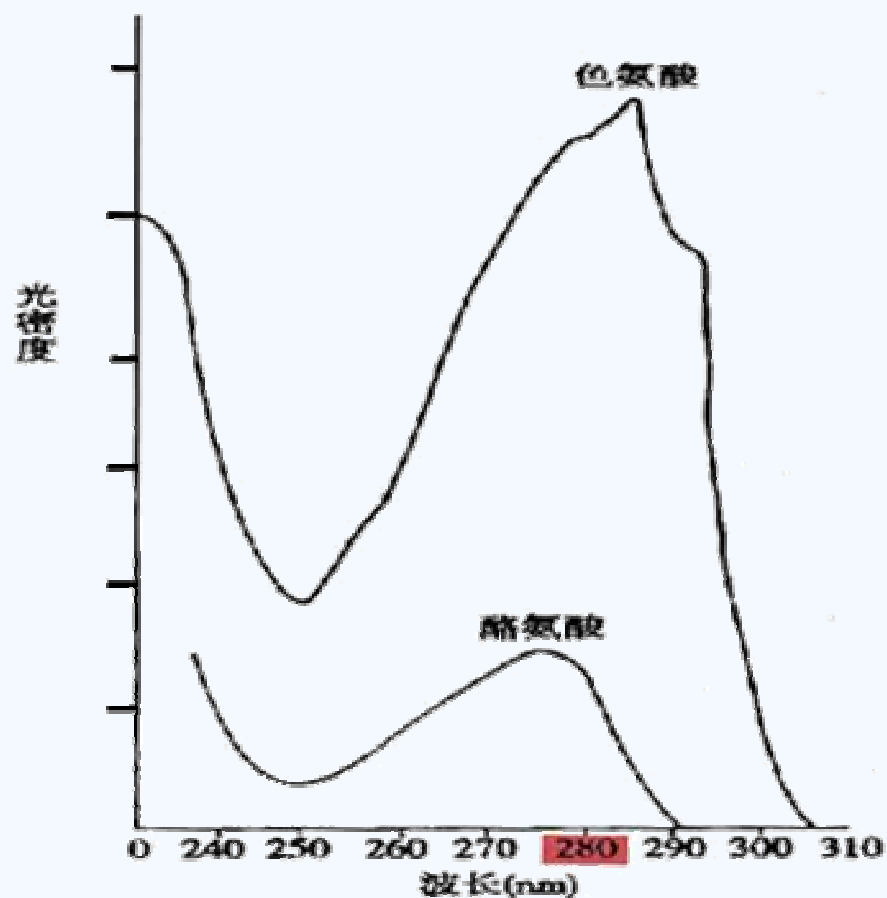


图 2-3 芳香族氨基酸的紫外吸收

### 3. 茚三酮反应

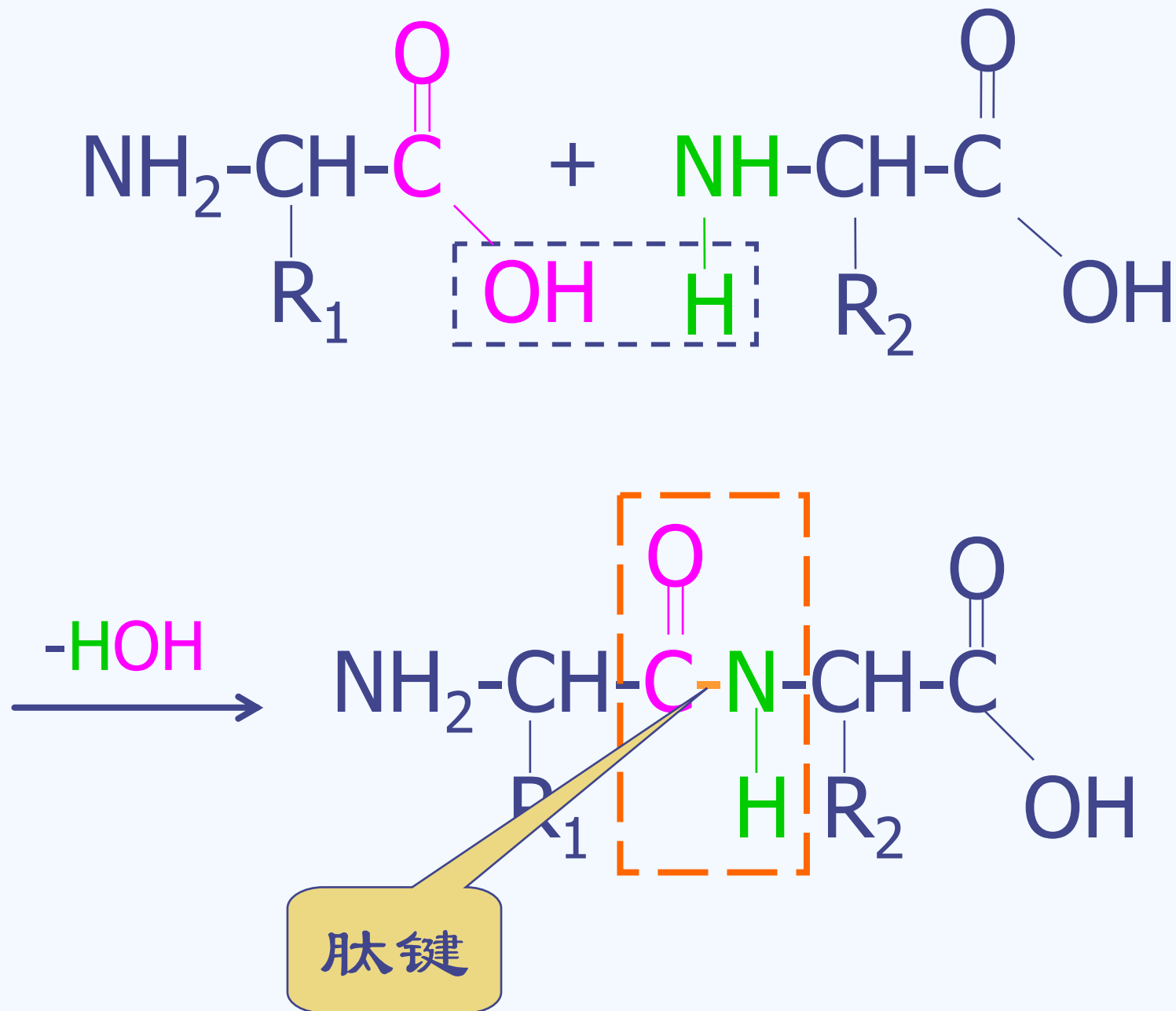
氨基酸与茚三酮水合物共热，可生成蓝紫色化合物，其最大吸收峰在570nm处。由于此吸收峰值与氨基酸的含量存在着正比关系，因此可作为氨基酸定性定量分析方法。

# 三、氨基酸的连接方式

P11

## (一) 肽键 (*peptide bond*)

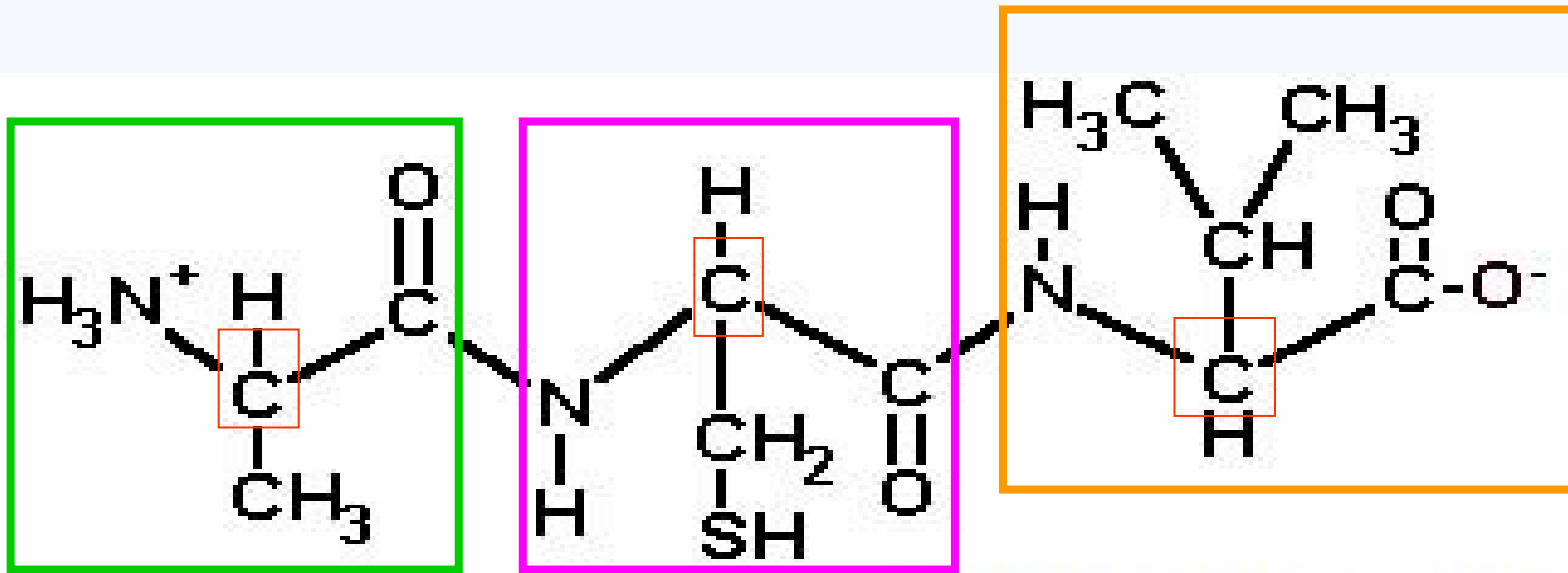
➤ 肽键是由前一个氨基酸的 $\alpha$ -羧基与后一个氨基酸的 $\alpha$ -氨基脱水缩合而形成的化学键。





# 氨基酸残基

氨基酸在形成肽链时丢失了一分子水，肽链中的氨基酸分子已不完整，称为**氨基酸残基**(amino acid residue)。



## (二) 肽 (*peptide*)

氨基酸借肽键相连而形成的化合物称**肽**。

- 根据氨基酸的组成个数可以依次称为二肽、三肽、四肽.....
- 寡肽 (oligopeptide) 由10个以内氨基酸连成的小肽
- 多肽 (polypeptide) 由更多氨基酸连成的肽
- 蛋白质 (protein) 就是由许多氨基酸残基组成的多肽链

NH<sub>2</sub> Met Phe Phe Cys Ser Thr Val COOH

氨基末端(N一端)

羧基末端(C一端)

蛋-苯丙-苯丙-半胱-丝-苏-缬

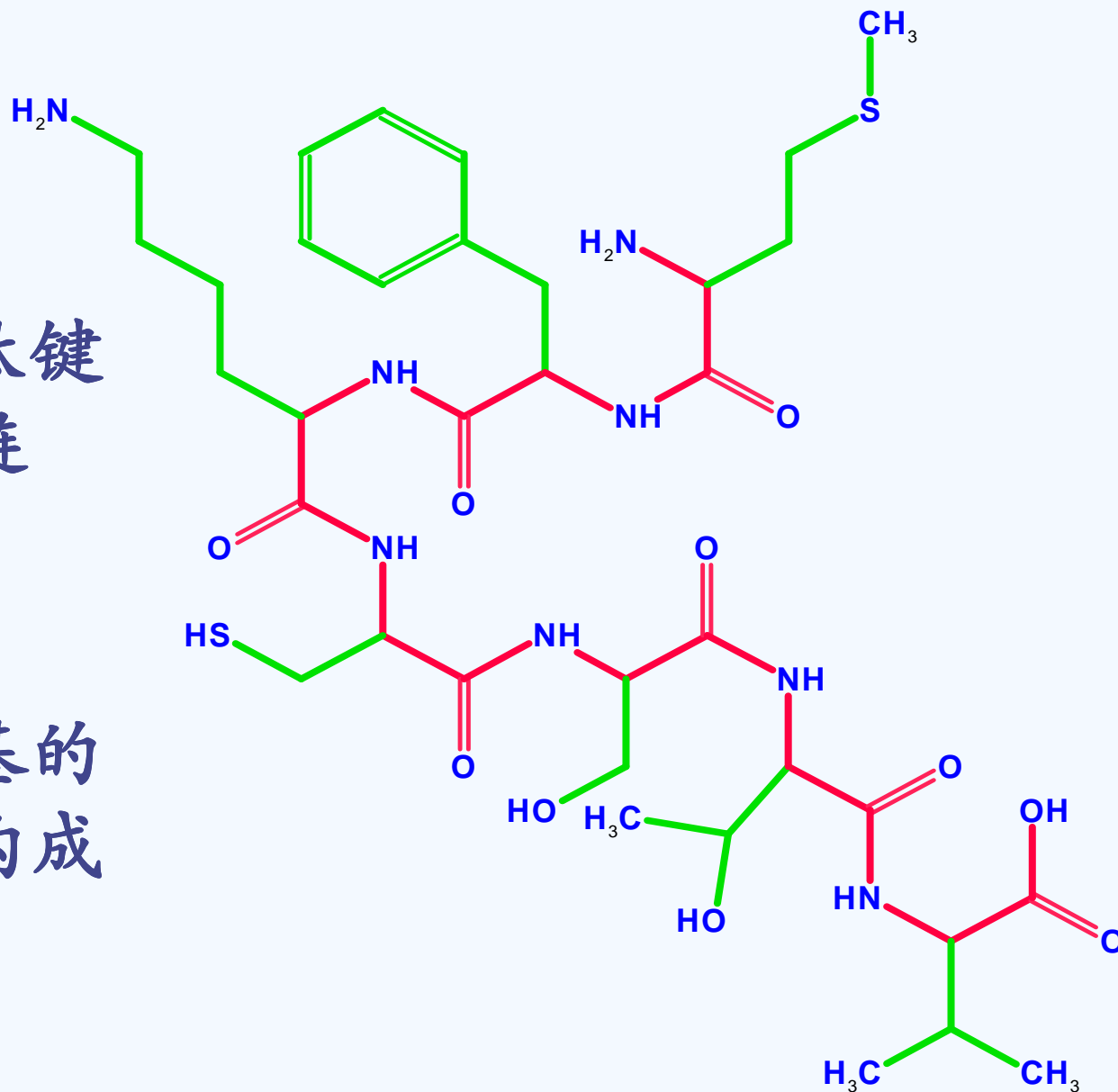
■ 书写多肽链时一般把氨基端放在左侧，羧基端放在右侧。

## 主链:

多肽链中由肽键  
连接成的长链

## 侧链:

各氨基酸残基的  
侧链基团所构成  
的短链

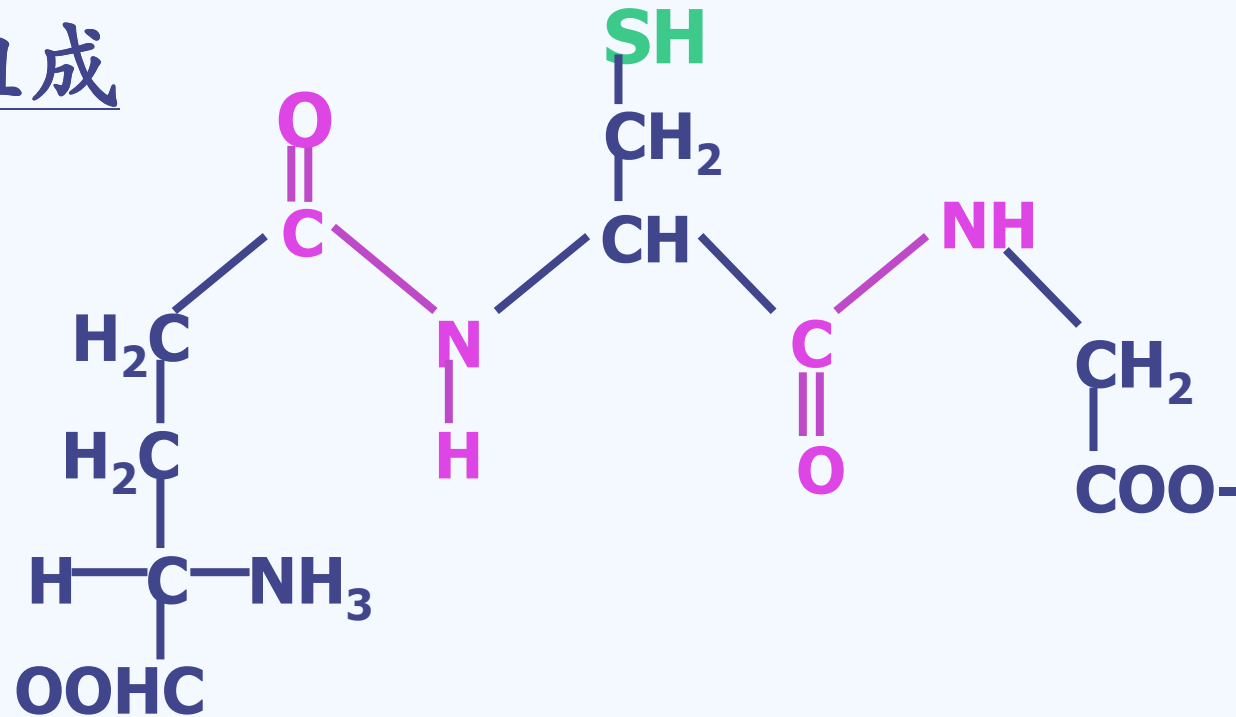


# (三) 几种生物活性肽

P11

## 1. 谷胱甘肽 (*glutathione, GSH*)

### ■ 组成



谷氨酸 — 半胱氨酸 — 甘氨酸

- 功能：GSH是体内重要的还原剂，使 $H_2O_2$ 还原为水，保护蛋白质或酶分子中巯基免遭氧化，避免蛋白质或酶失活。



## 2. 多肽类激素及神经肽

- 体内许多激素属寡肽或多肽

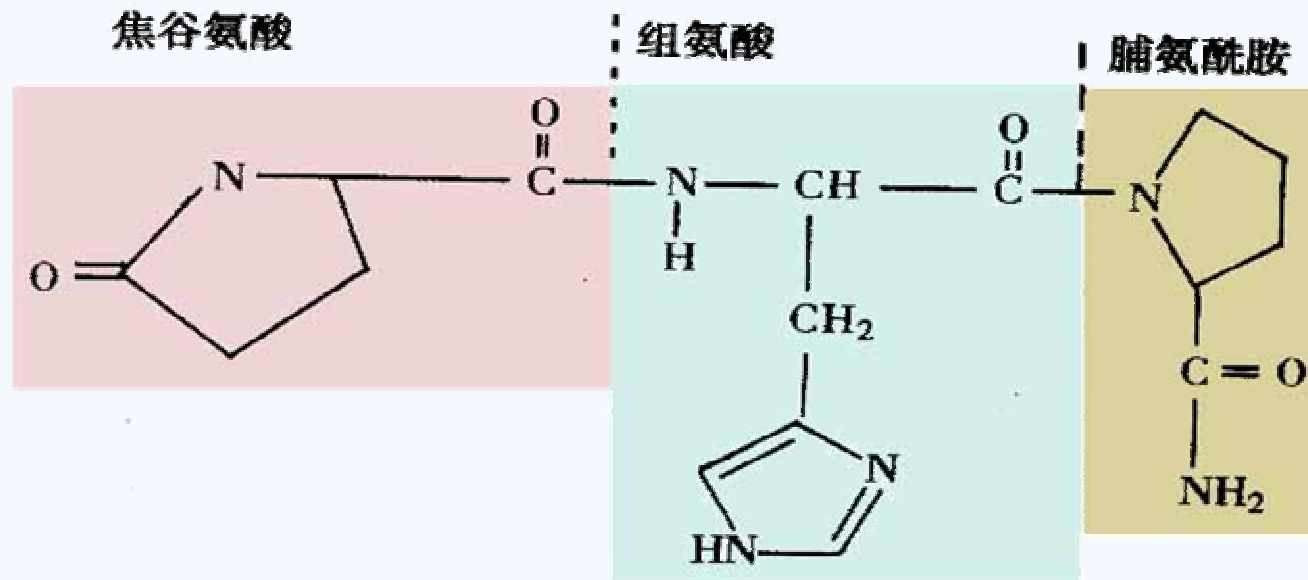


图 2-7 促甲状腺素释放激素(TRH)

- 神经肽 (neuropeptide)

## 第二节

# 蛋白质的分子结构

## The Molecular Structure of Protein



# 蛋白质的分子结构包括：

一级结构  
二级结构  
三级结构  
四级结构

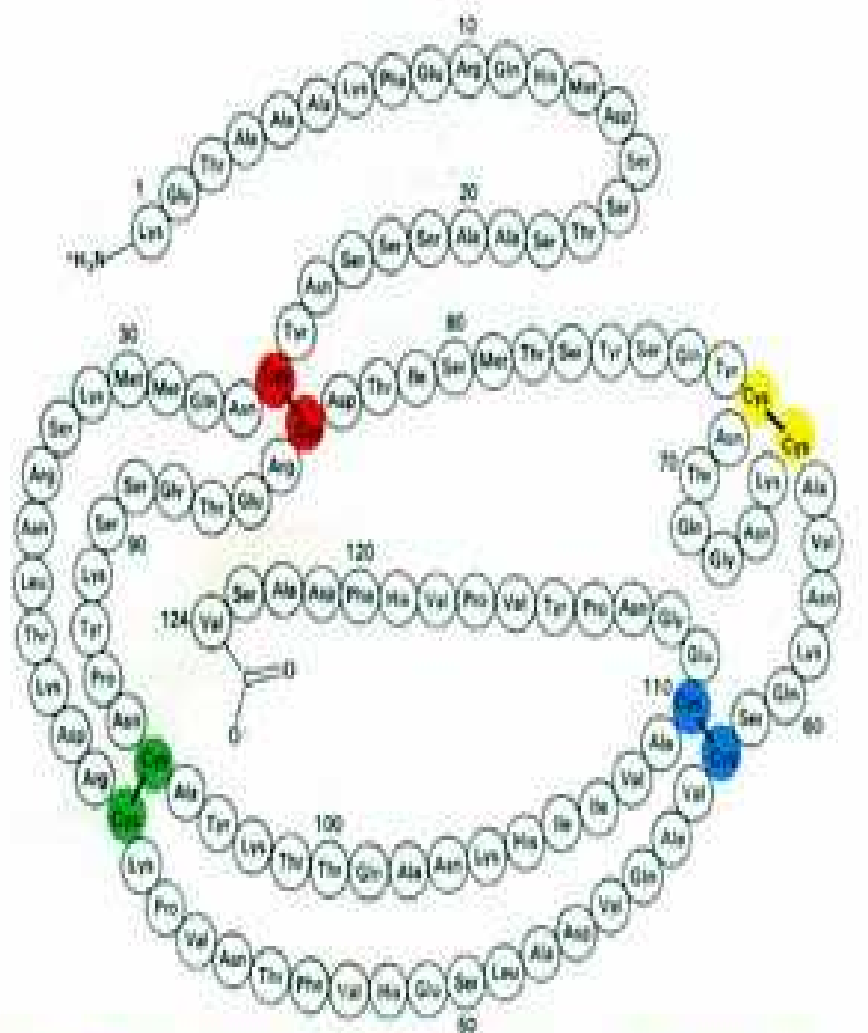
} 高级结构

# 一、蛋白质的一级结构

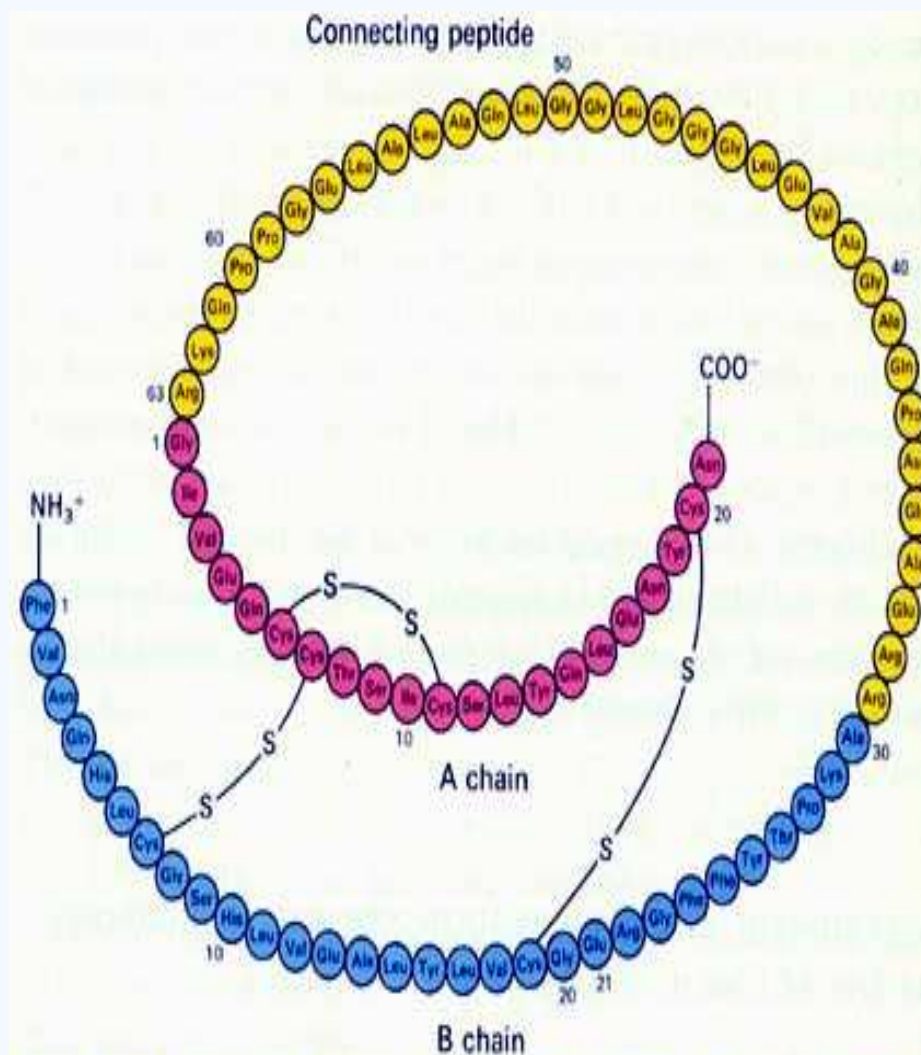
*(primary structure)*

- **定义：**多肽链中氨基酸残基的排列顺序。
- **主要的化学键：** 肽键

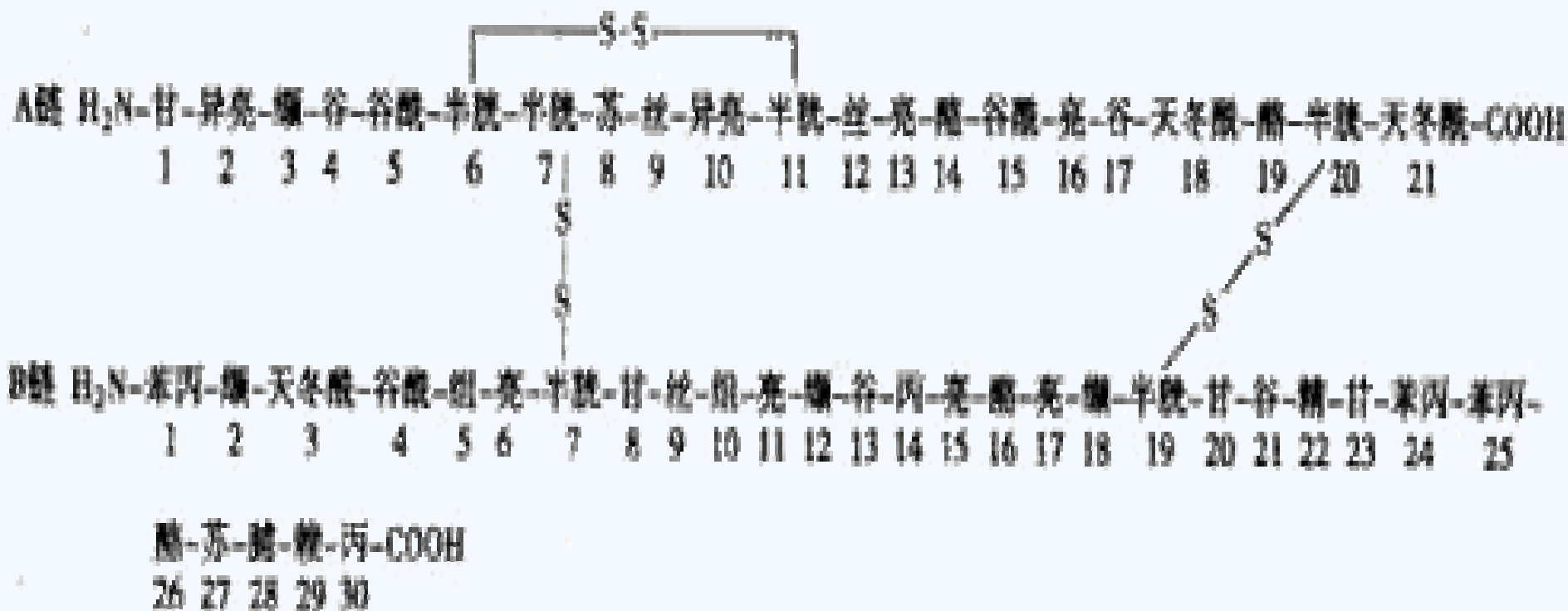
# 各种蛋白质的根本差异在于一级结构的不同



牛胰核糖核酸酶的一级结构



胰岛素的一级结构



### 牛胰胰岛素的一级结构

一级结构是蛋白质空间构象和特异生物学功能的基础。

## 二、蛋白质的二级结构

*(secondary structure)*

### ■ 定义：

蛋白质分子中某一段肽链的局部空间结构，即该段肽链主链骨架原子的相对空间位置。

### ■ 主要的化学键：氢键

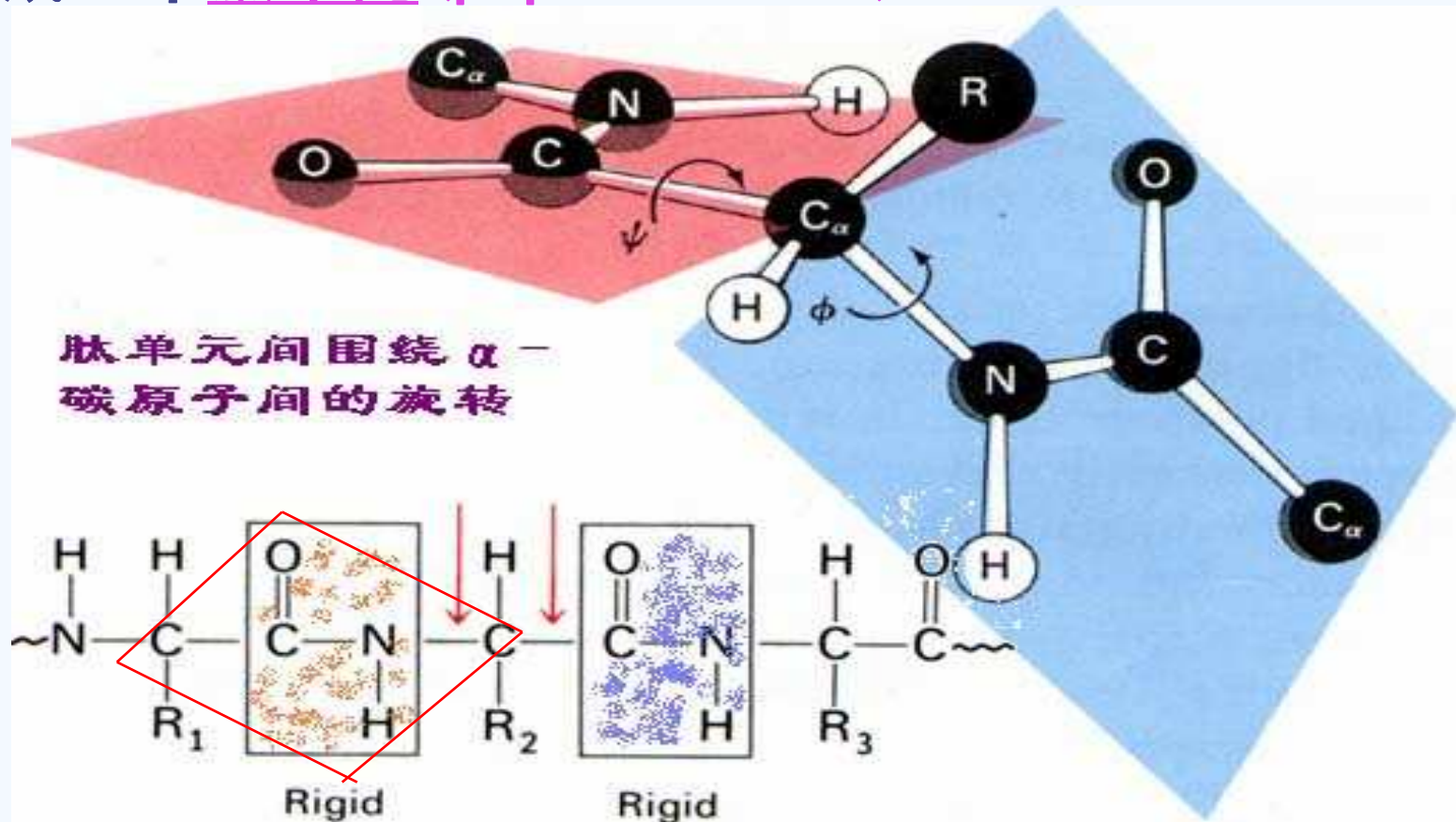
## ■ 蛋白质二级结构的主要形式:

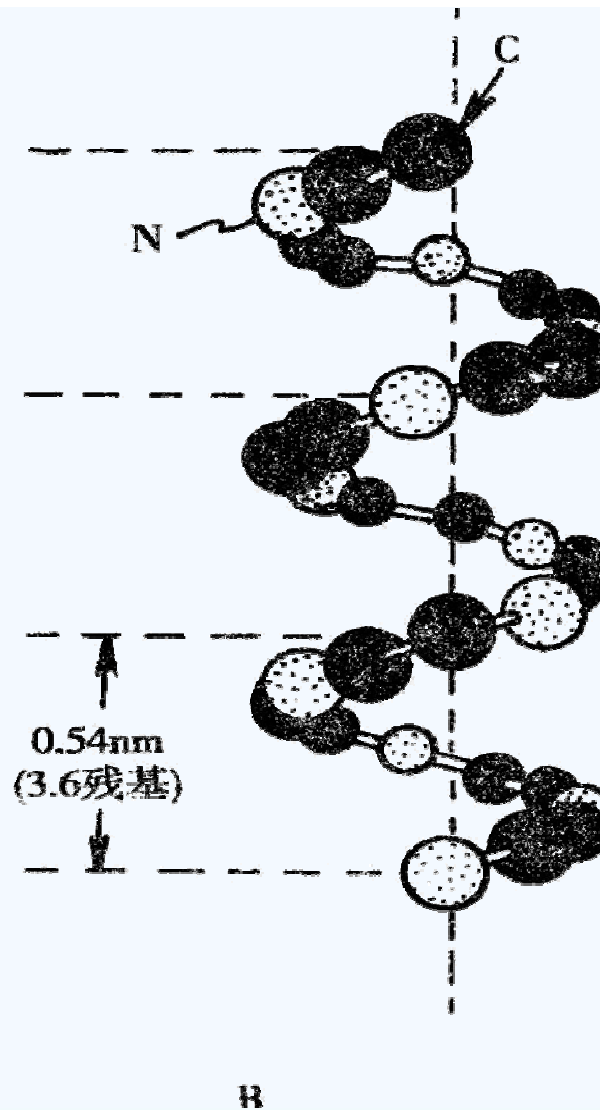
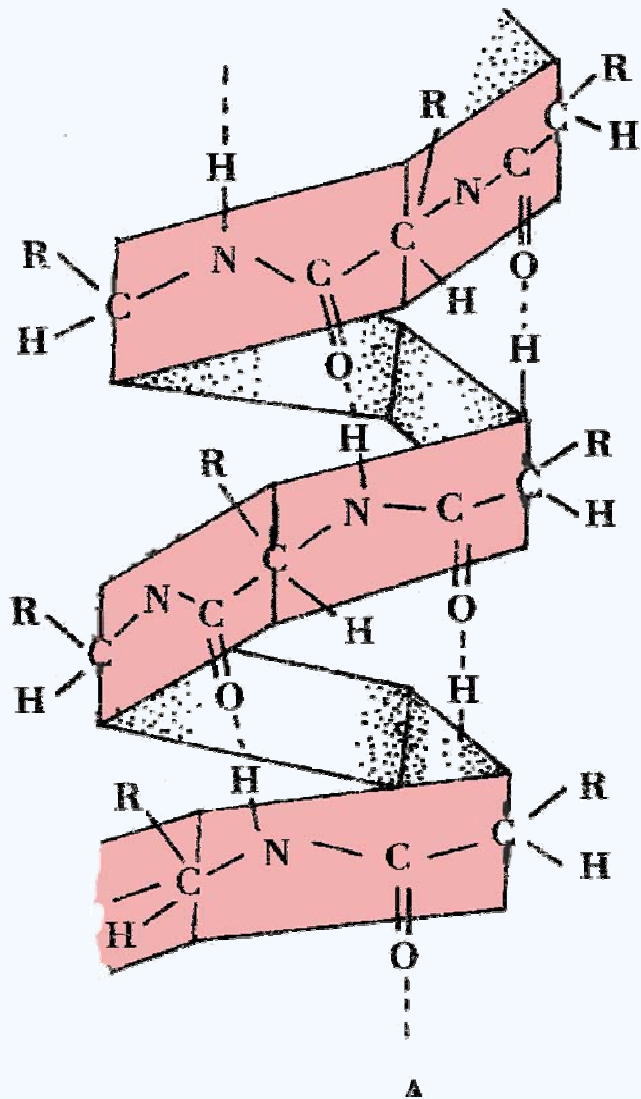
- $\alpha$  - 螺旋
- $\beta$  - 折叠
- $\beta$  - 转角
- 无规则卷曲

# 肽单元（肽键平面、酰胺平面）

P14

肽键中的  $C=O$  和  $C-N$  均不能自由旋转，  
肽键 ( $-CONH-$ ) 中的 4 个原子和 2 个  $\alpha$  碳原子  
( $C_\alpha$ ) 被约束在一个刚性平面（即肽键平面）上，  
构成一个肽单元 (peptide unit)。



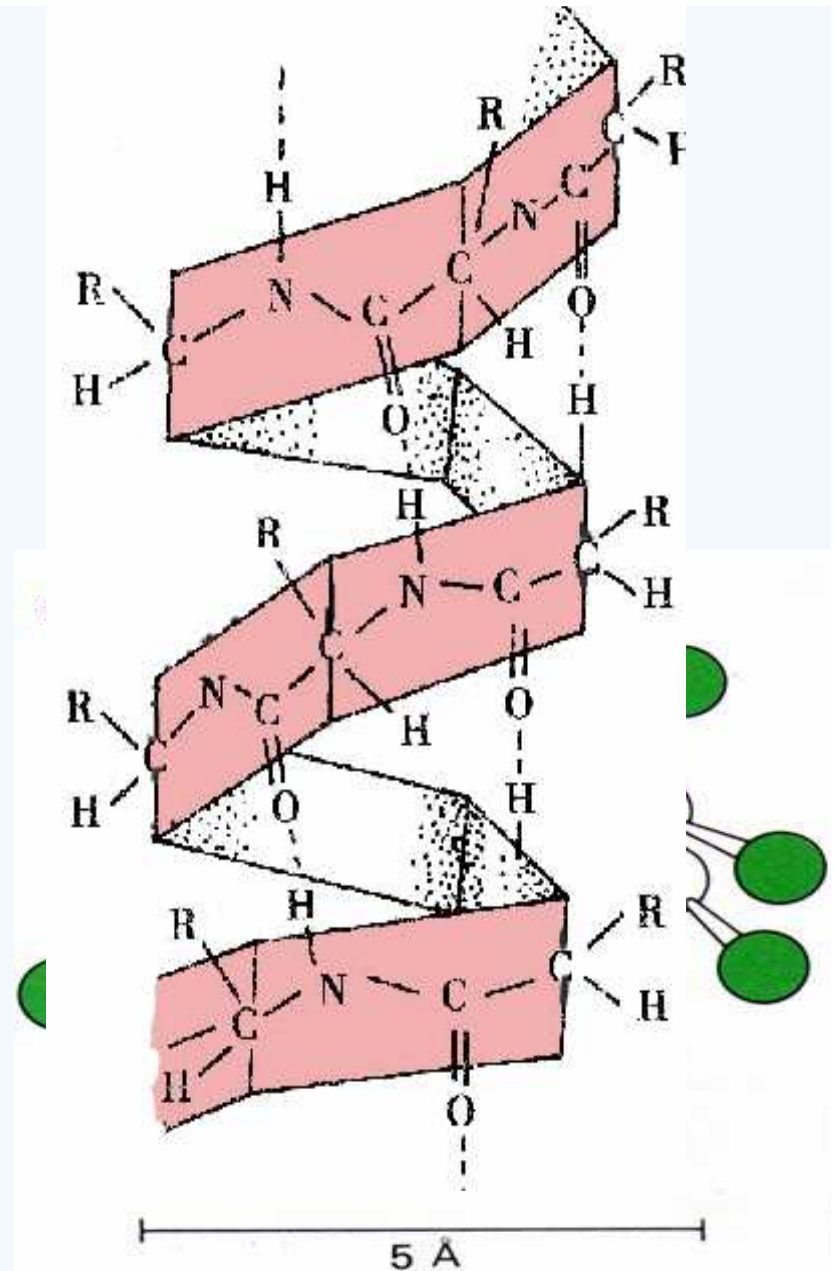


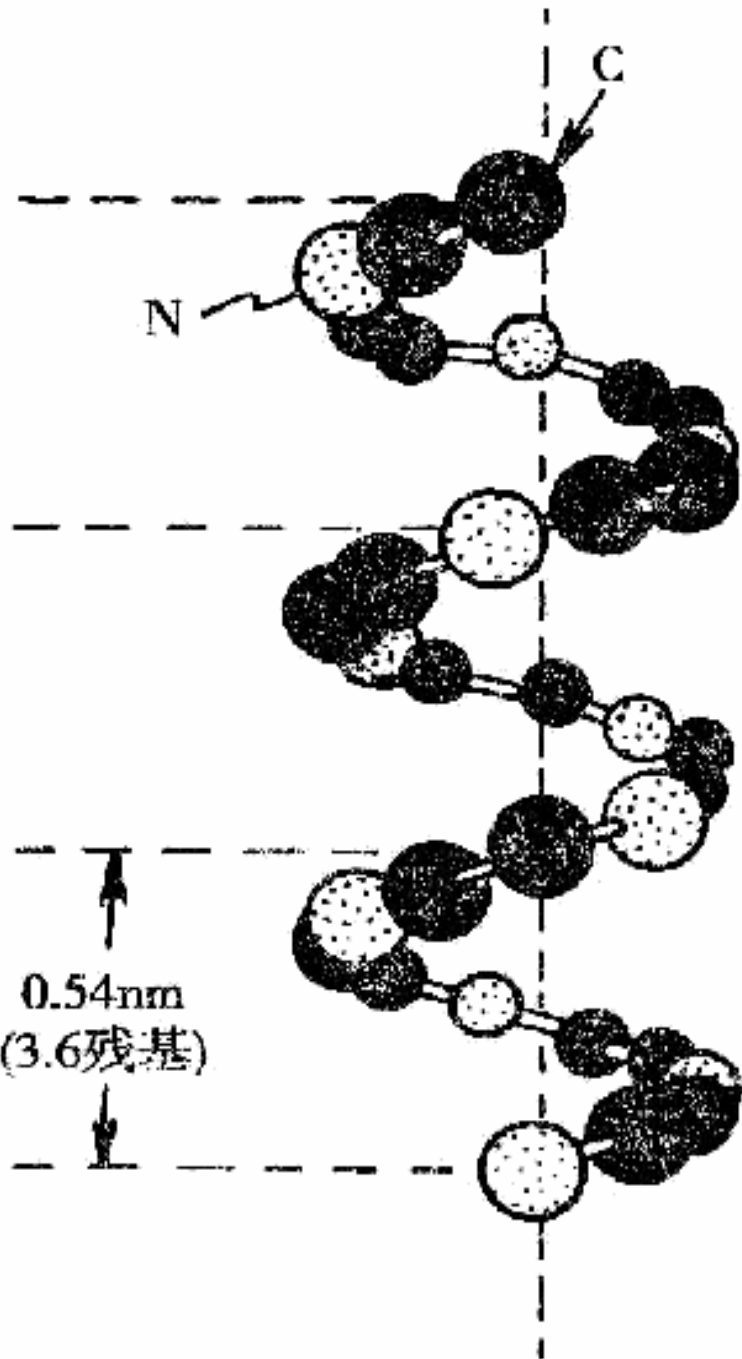
# 1. $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha$ -helix)

以肽键平面为单位,以 $\alpha$ -碳原子为转折盘旋形成**右手螺旋**



- a. 氢键是由肽键上的N-H和它后面第四个肽键的C=O形成
- b. 主链原子构成螺旋的主体, 侧链在其外部
- c. 作用: 增强了机械强度, 具有弹性





#### d. $\alpha$ -螺旋参数:

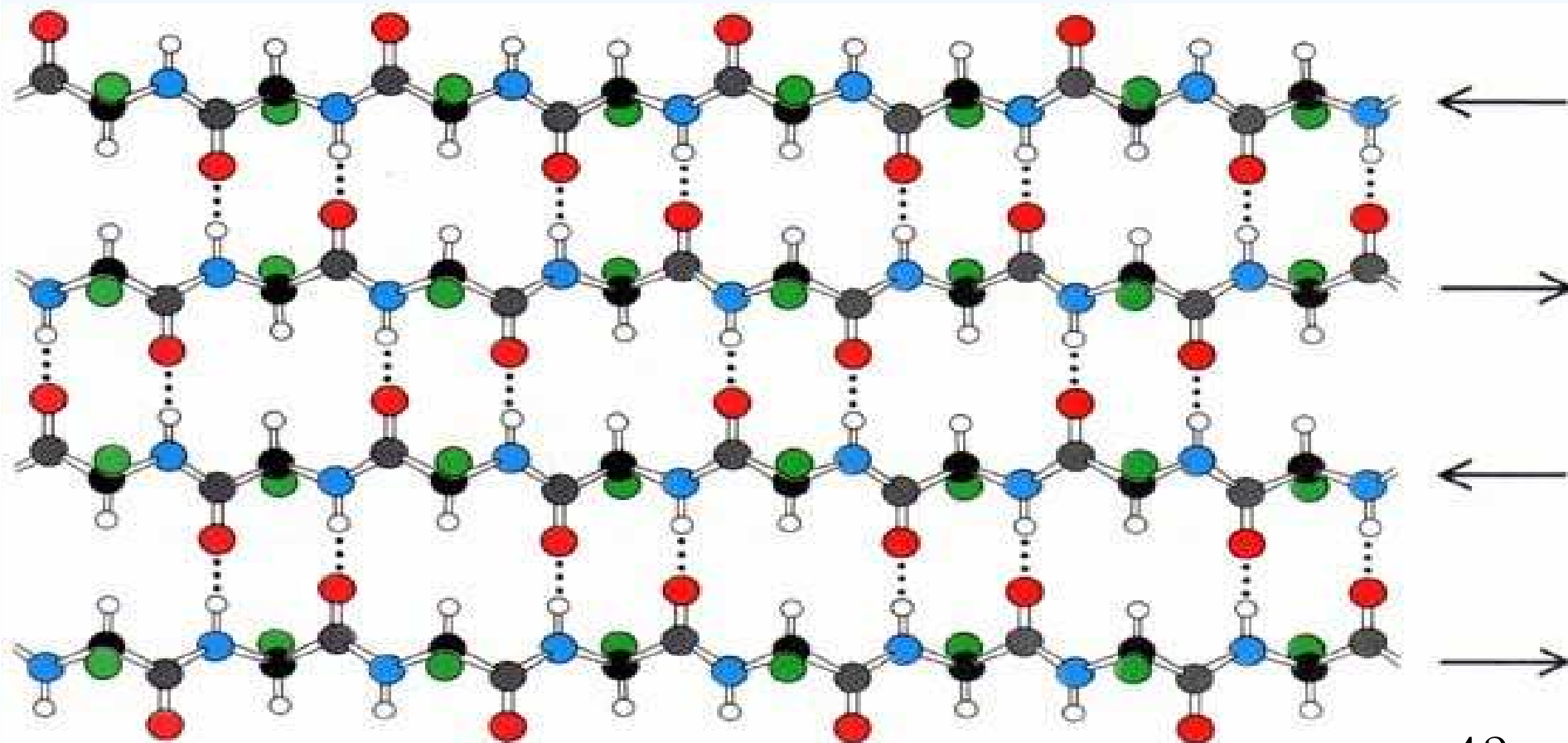
- 每3.6个氨基酸残基绕成一个螺圈 ( $360^\circ$ )

- 螺距为0.54nm

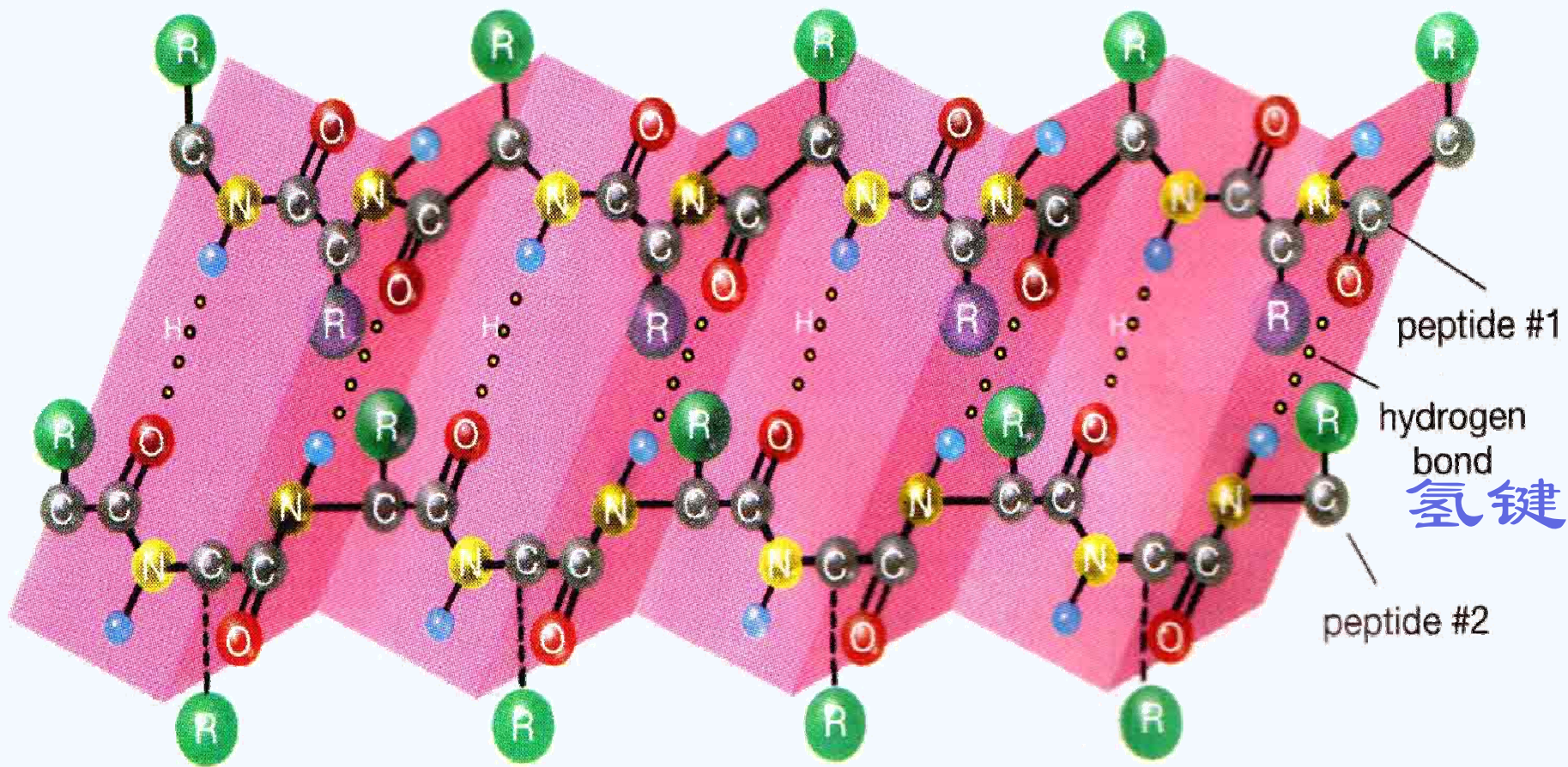
- 每个氨基酸残基上升  $0.54/3.6=0.15\text{nm}$

## 2. $\beta$ -折叠 ( $\beta$ -pleated sheet)

肽键平面呈伸展的锯齿状排列形成的结构称 $\beta$ -折叠。

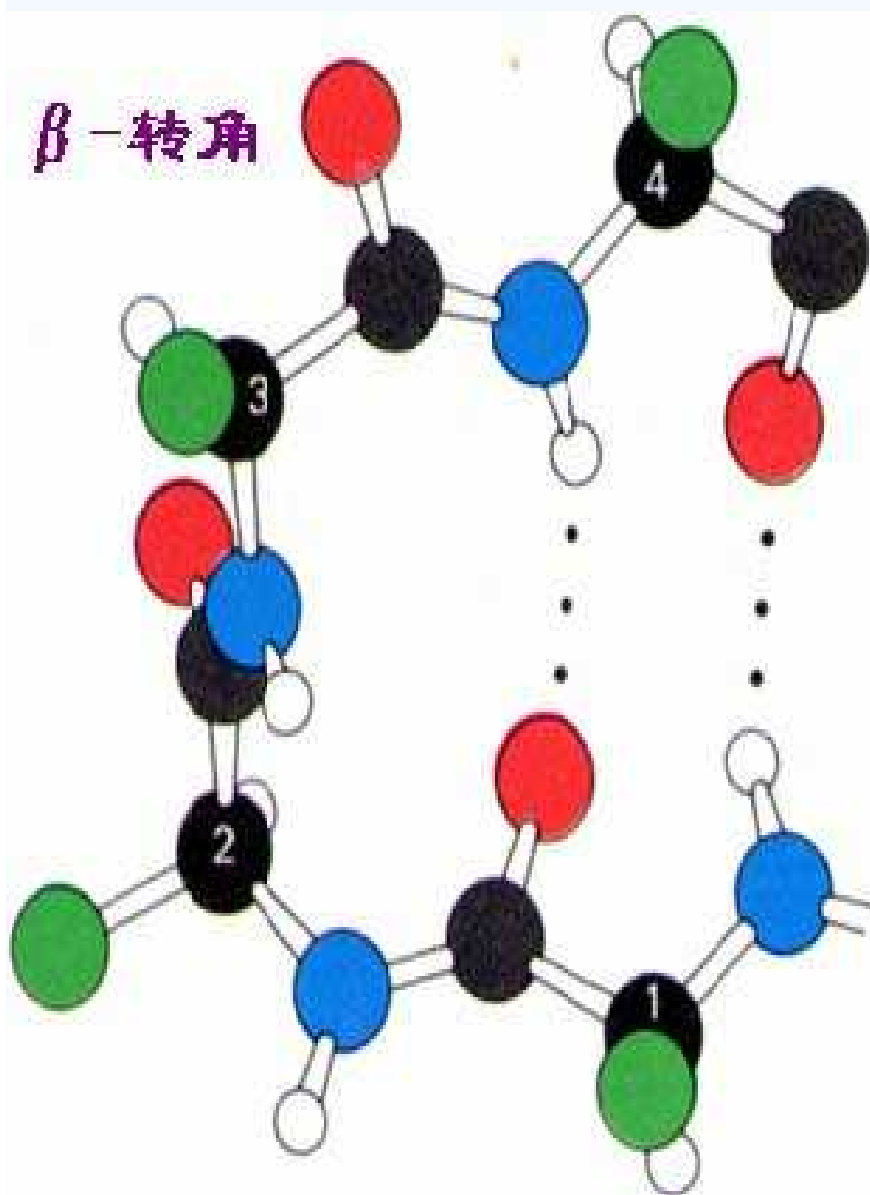


反平行的 $\beta$ -片层



Pleated sheet

### 3. $\beta$ -转角 ( $\beta$ -turn)



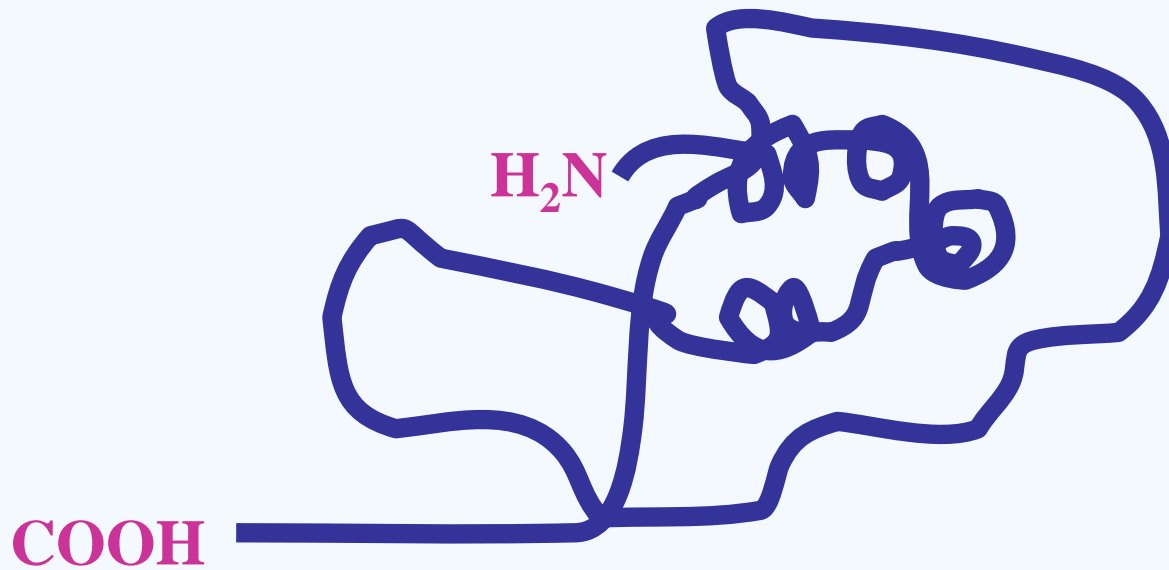
肽链出现 $180^\circ$ 回折的转角处结构称为 $\beta$ -转角。

- \* 常见于球状蛋白质分子表面
- \* 第一个残基的C=O与第四个残基的N-H形成氢键
- \* 第二个残基常为脯氨酸Pro

## 4. 无规卷曲 (random coil)

没有确定规律性的肽键构象

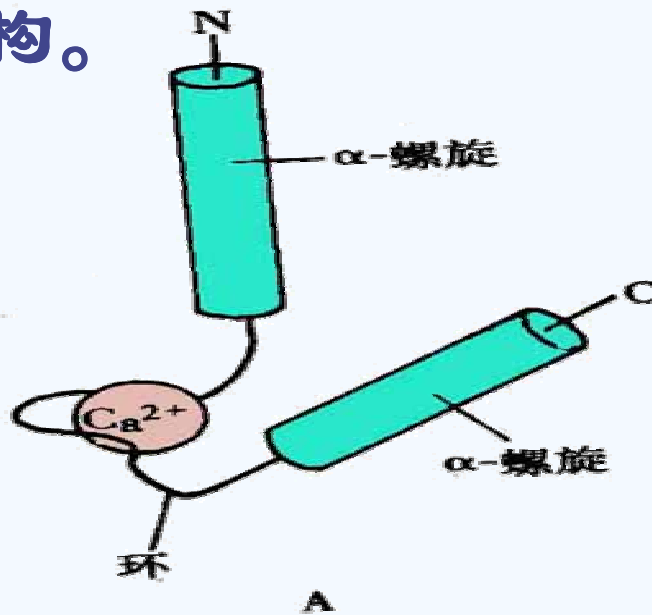
常见于球状蛋白质分子中，在其它类型二级结构肽段之间起活节作用，有利于整条肽链盘曲折叠



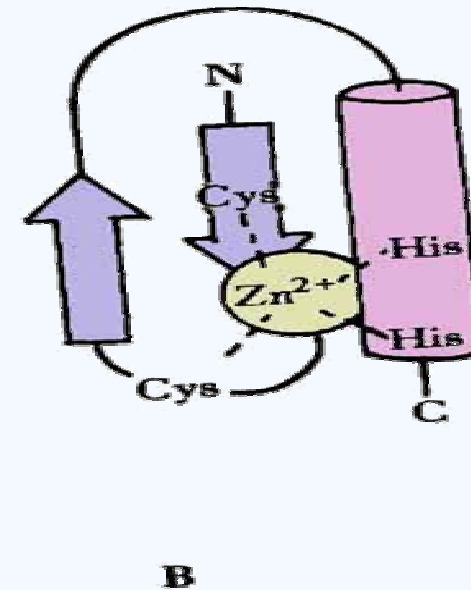
# • 模体 (*motif*)

P16

几个具有二级结构的肽段在空间上互相接近，形成的一个具有特殊功能的空间结构。



钙结合蛋白中结合钙离子的模体



锌指结构

模体的特征性构象是其特殊功能的结构基础

# • 一级结构对二级结构的影响 P16

## 侧链原子的影响

□ R基的电荷性质-多个带相同电荷的氨基酸在肽链中连续出现 (polyLys, polyGlu)

□ R基的基团大小-侧链基团较大的氨基酸残基的集中部位 (polyIle)

□ 脯氨酸, 羟脯氨酸

都会妨碍  $\alpha$ -螺旋的形成

$\beta$ -折叠要求氨基酸残基的侧链较小



# 三、蛋白质的三级结构

(tertiary structure)

## ■ 定义:

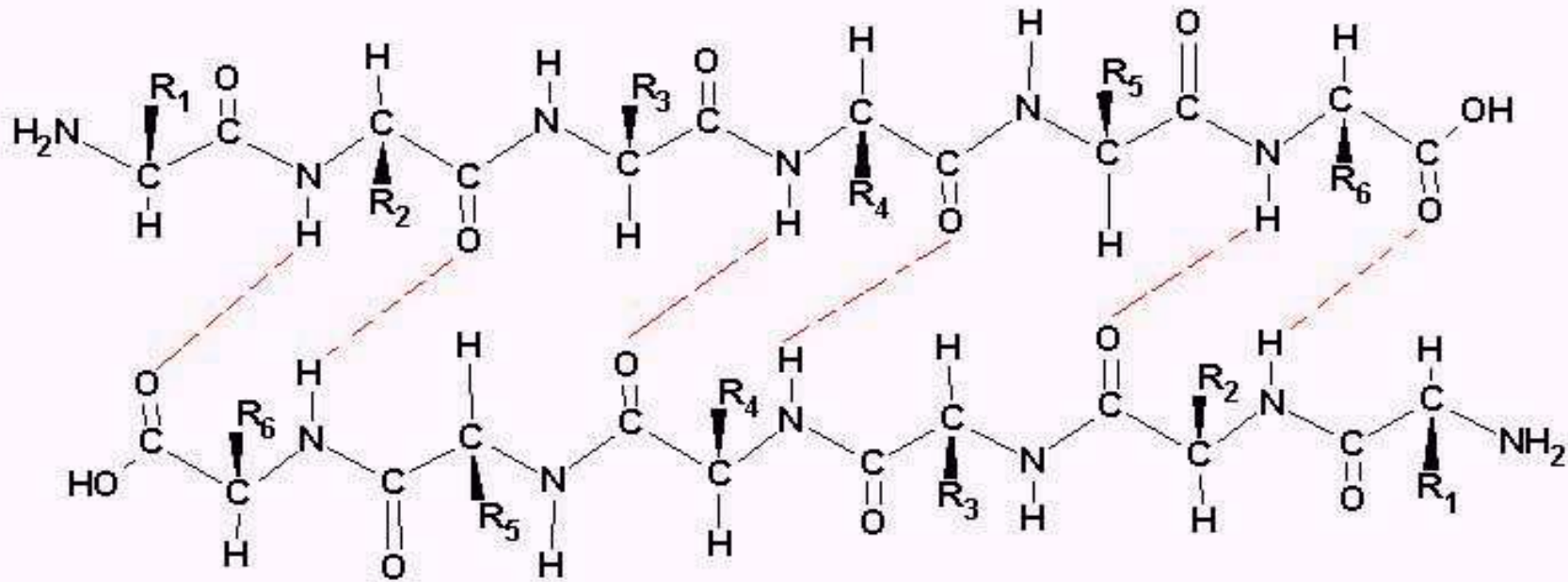
整条肽链中全部氨基酸残基的相对空间结构。即肽链中所有原子在三维空间的排布位置(包括主链侧链在内)

## ■ 主要的化学键:

次级键: 疏水键、离子键、氢键和范德华力  
(Van der Waals力)

二硫键 (共价键)

**氢键** 负电性很强的原子（如氧或氮） 和与氧或氮共价结合的氢原子相互吸引，这种作用力称为氢键。

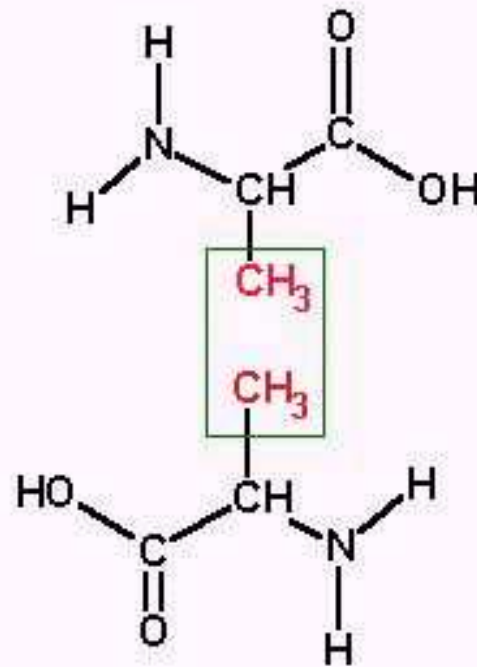


蛋白质分子中的氢键示意图

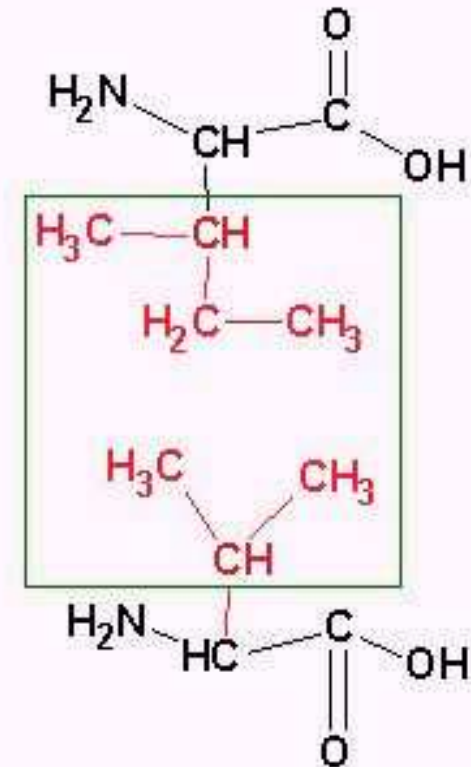


# 疏水相互作用

由非极性基团受到水分子排斥相互聚集在一起的作用力



丙氨酸-丙氨酸



亮氨酸-缬氨酸

疏水作用示意图

**离子键** 由异性电荷间的静电吸引形成的键。



离子键（盐键）示意图

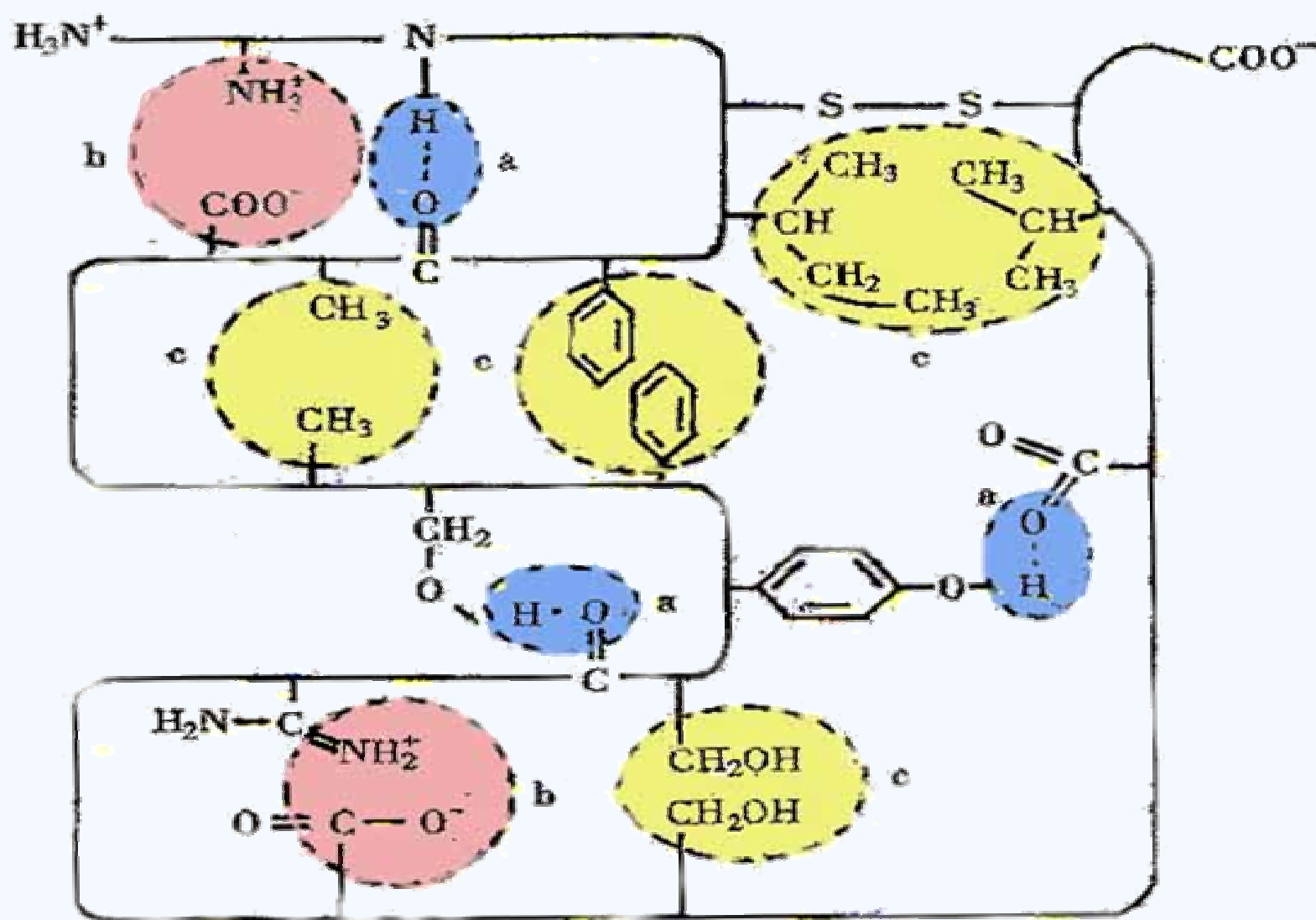
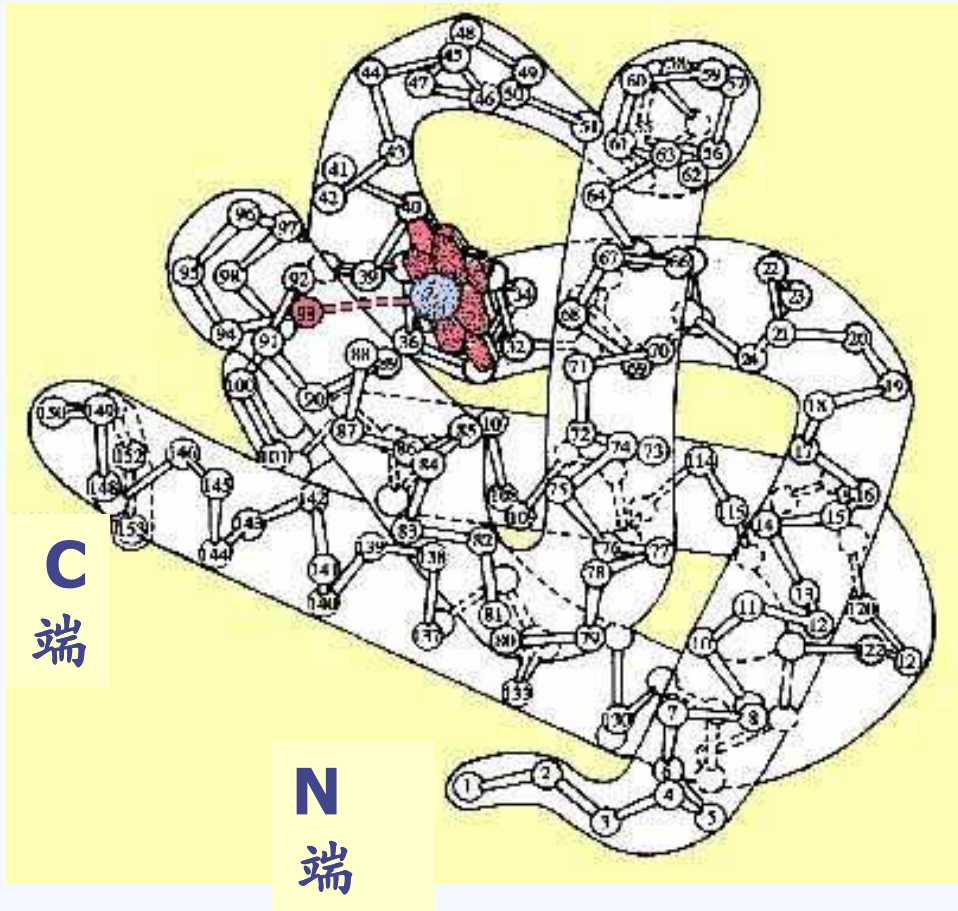


图 2-14 维持蛋白质分子构象的各种化学键

a. 氢键    b. 离子键    c. 疏水作用

## • 肌红蛋白 (Mb)



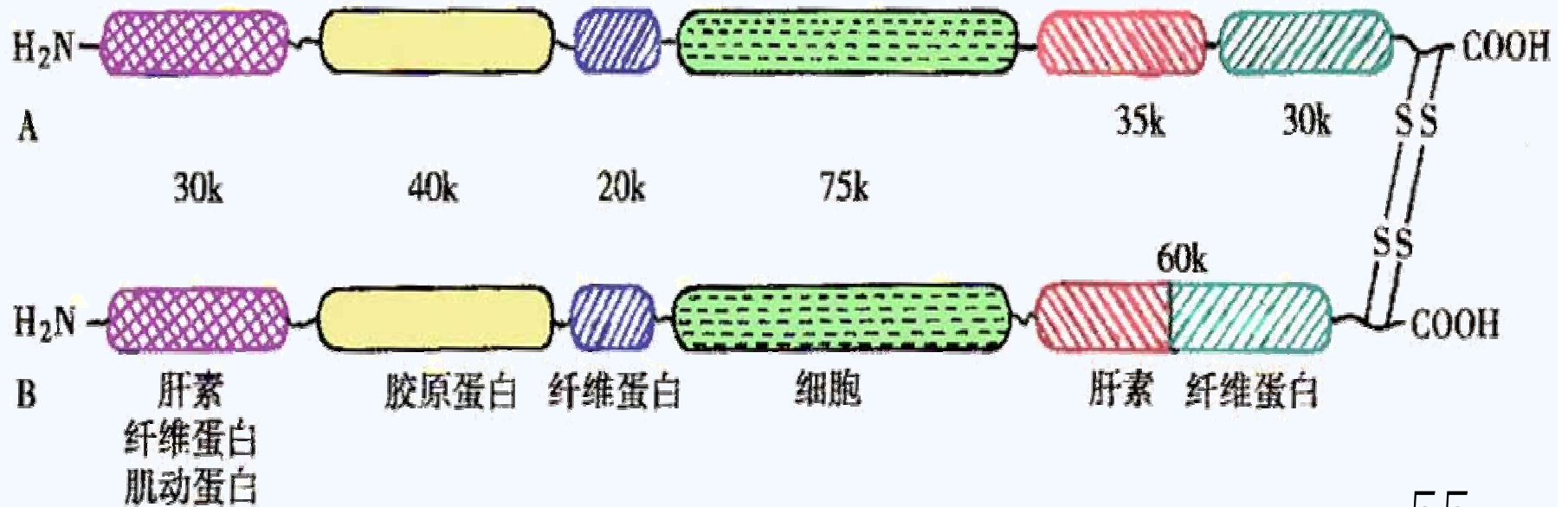
**亲水区：** 亲水区多位于分子表面，故球形蛋白质水溶性较好。

**疏水核：** 疏水区多位于分子内部，往往是与辅酶/基或底物结合位点。

对于只含有一条肽链的蛋白质来说，具备了三级结构后，就具有了生物学功能。

# • 结构域 (domain)

一条肽链通过盘曲折叠,常形成2个或  
多个在空间上可以明显区分的折叠实  
体各行其功能,称为结构域。



纤连蛋白分子的结构域

## •分子伴侣（chaperon）

P18

分子伴侣通过提供一个保护环境加速蛋白质折叠成天然构象或形成四级结构。

如：热休克蛋白

- 分子伴侣可逆地与未折叠肽段的疏水部分结合随后分开，如此重复进行可防止错误的聚集发生，使肽链正确折叠。
- 分子伴侣也可与错误聚集的肽段结合，使之解聚后，再诱导其正确折叠。
- 分子伴侣在蛋白质分子折叠过程中二硫键的正确形成起到重要的作用。

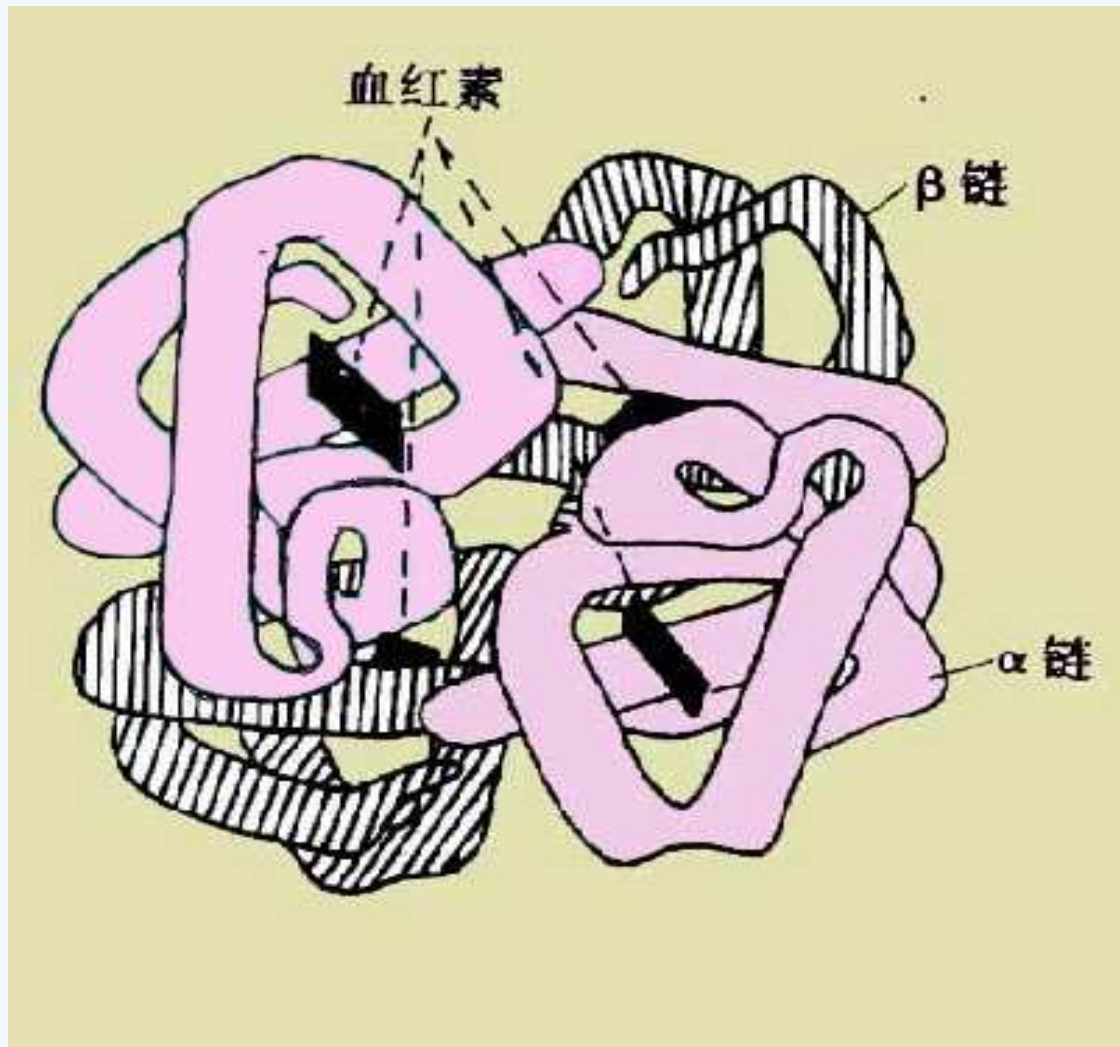


## 四、蛋白质的四级结构 (*quaternary structure*)

有些蛋白质分子含有二条或多条多肽链，其中每一条多肽链都有完整的三级结构，称为蛋白质的亚基 (*subunit*)。

蛋白质分子中各亚基以非共价键相连而形成的空间排布及相互接触关系，称为蛋白质的四级结构

## 血红蛋白的四级结构



\*亚基之间的结合力主要是氢键和离子键；  
单独的亚基一般没有生物学功能。

# 维系蛋白质结构的作用力

主键： 肽键（共价键）                      一级结构

次级键： 疏水键、离子键、氢键和范德华力  
(Van der Waals力)

二硫键（共价键）

空间结构

## 五、蛋白质的分类

### \* 根据蛋白质组成成分:

{ 单纯蛋白质

{ 结合蛋白质 = 蛋白质部分 + 非蛋白质部分

### \* 根据蛋白质形状:

{ 纤维状蛋白质

{ 球状蛋白质

## 第三节

# 蛋白质结构与功能的关系

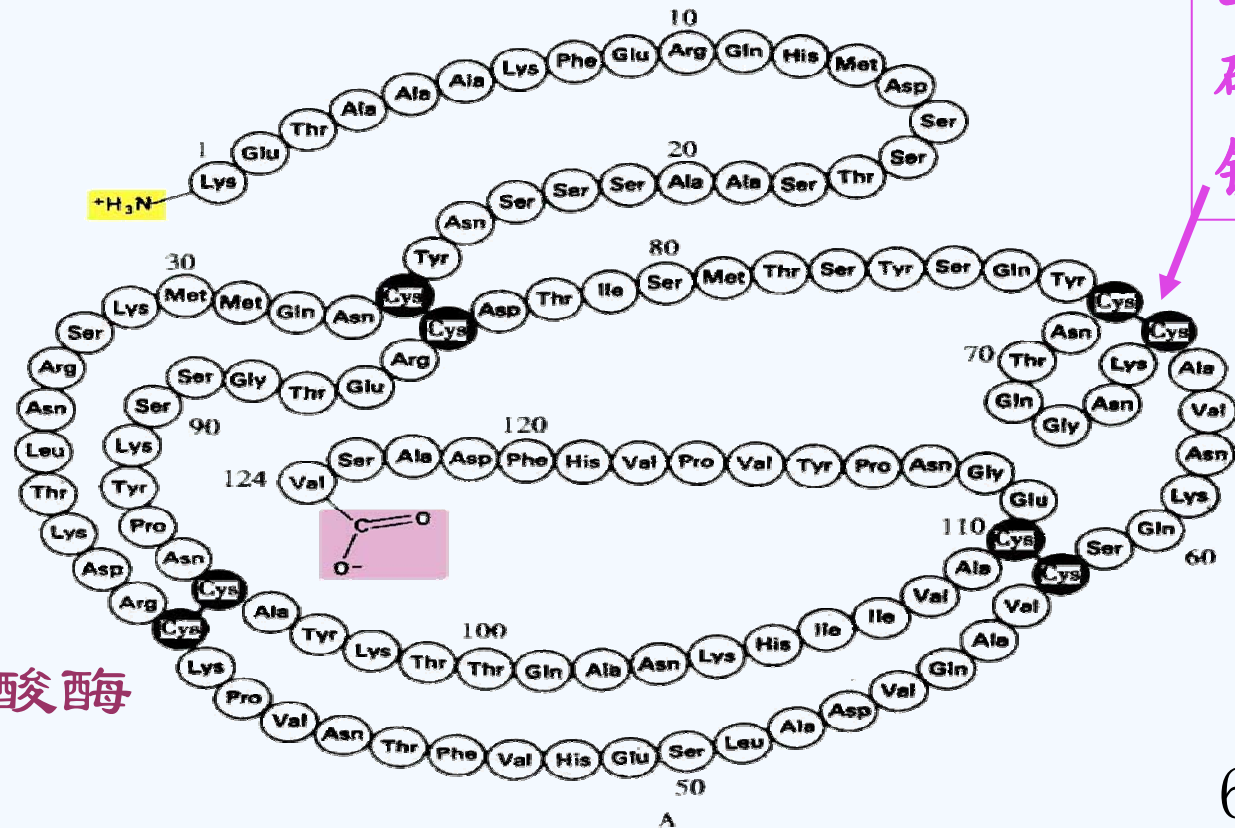
## The Relation of Structure and Function of protein

# 一、蛋白质一级结构与功能的关系

## (一) 一级结构是空间构象的基础

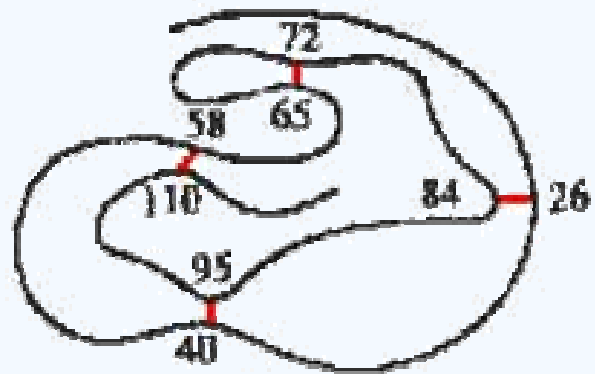
1. 氨基酸侧链基团影响高级结构的形成

2. 一级结构决定二硫键形成的位置



二硫键

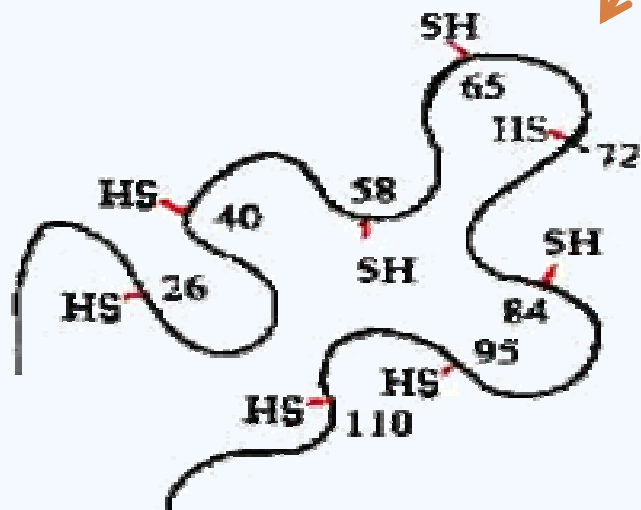
牛核糖核酸酶



天然状态，  
有催化活性

去除尿素、  
 $\beta$ -巯基乙醇

尿素、  
 $\beta$ -巯基乙醇



非折叠状态，无活性

## (二) 一级结构与功能的关系

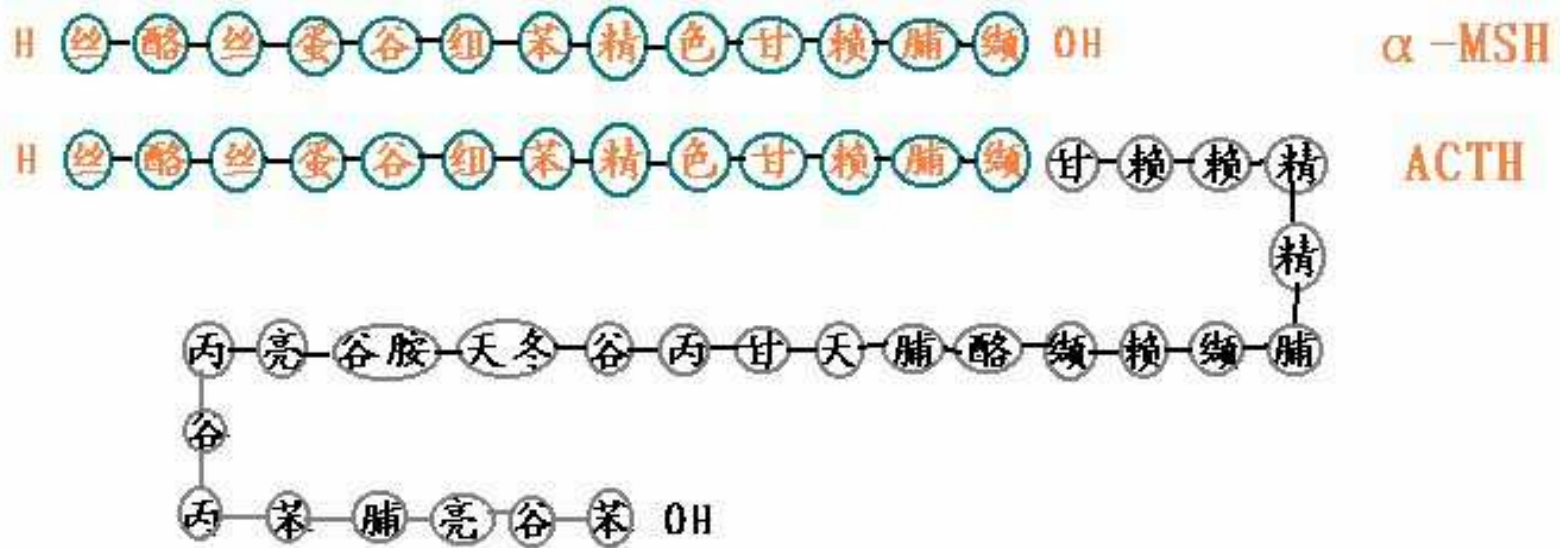
1. 一级结构相似的蛋白质功能相似

一级结构不同的蛋白质功能不同

表1-2 哺乳类动物胰岛素氨基酸序列的差异

胰岛素	氨基酸残基序号			
	A5	A6	A10	B30
人	Thr	Ser	Ile	Thr
猪	Thr	Ser	Ile	Ala
狗	Thr	Ser	Ile	Ala
兔	Thr	Gly	Ile	Ser
牛	Ala	Gly	Val	Ala
羊	Ala	Ser	Val	Ala
马	Thr	Ser	Ile	Ala

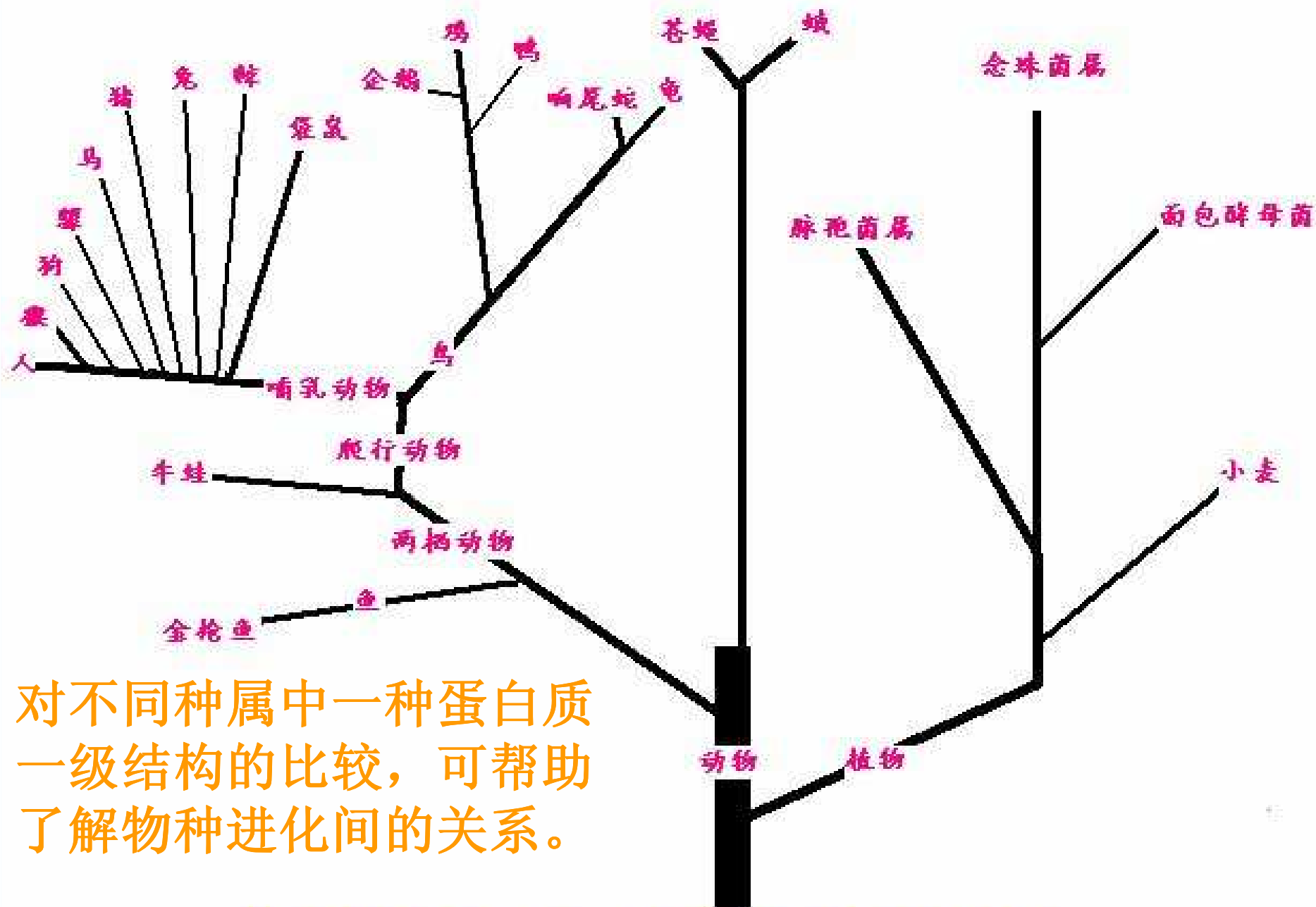




### ACTH 与 $\alpha$ -MSH 一级结构比较

ACTH 促肾上腺素皮质激素

MSH 促黑激素



从细胞色素C的一级结构看生物进化

## 2.关键的氨基酸残基变异可导致“分子病”

例：镰刀形红细胞贫血

HbA  $\beta$  肽链

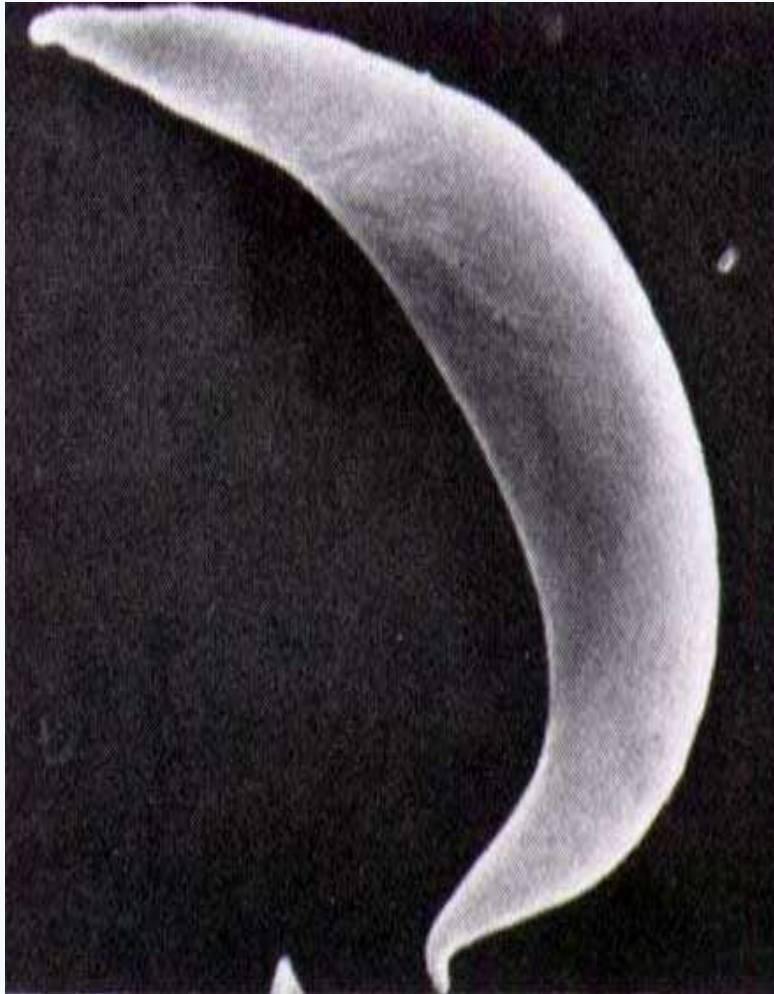
N-val · his · leu · thr · pro · glu · glu · · · · C(146)

HbS  $\beta$  肽链

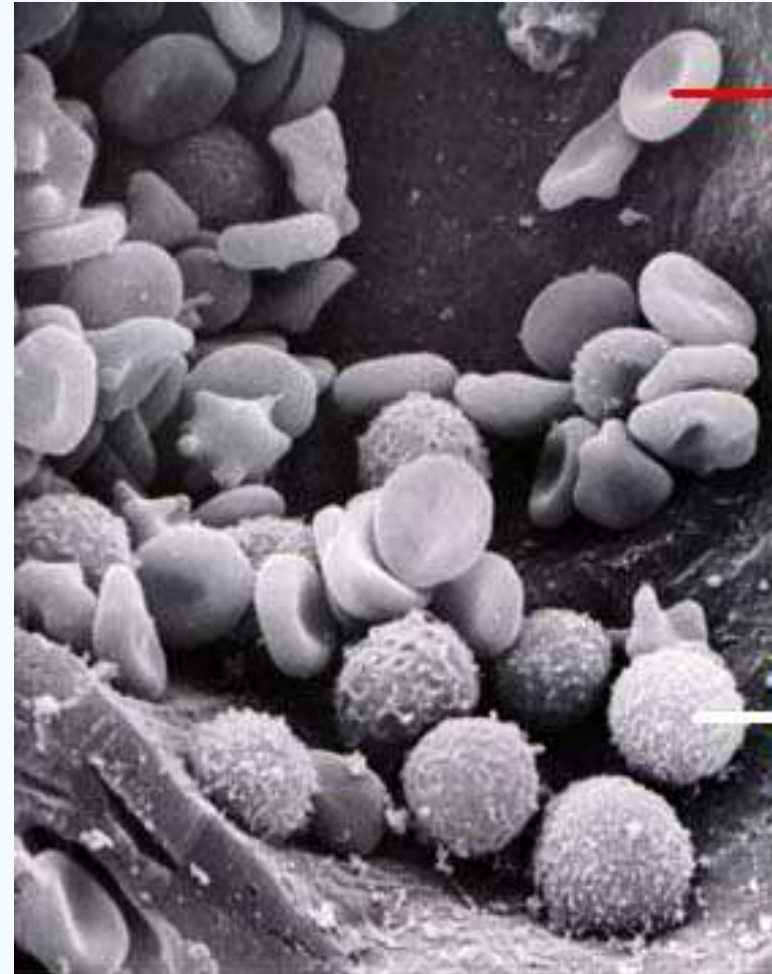
N-val · his · leu · thr · pro · val · glu · · · · C(146)

这种由蛋白质分子发生变异所导致的疾病，称为“分子病”。

# HbS与HbA的区别



电镜下的镰刀形细胞

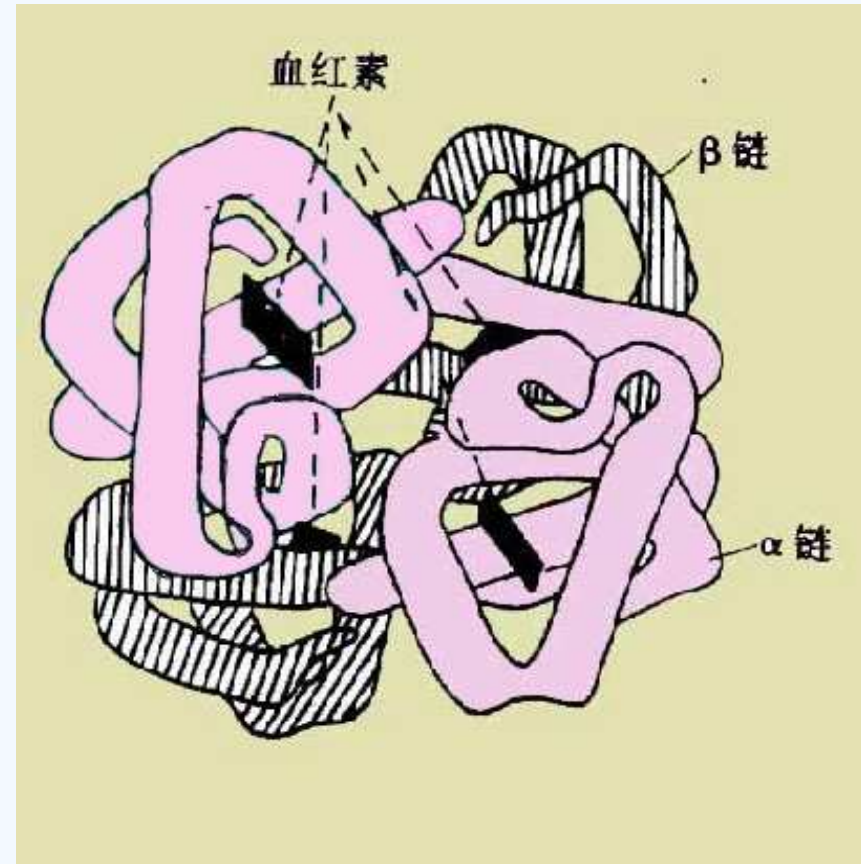
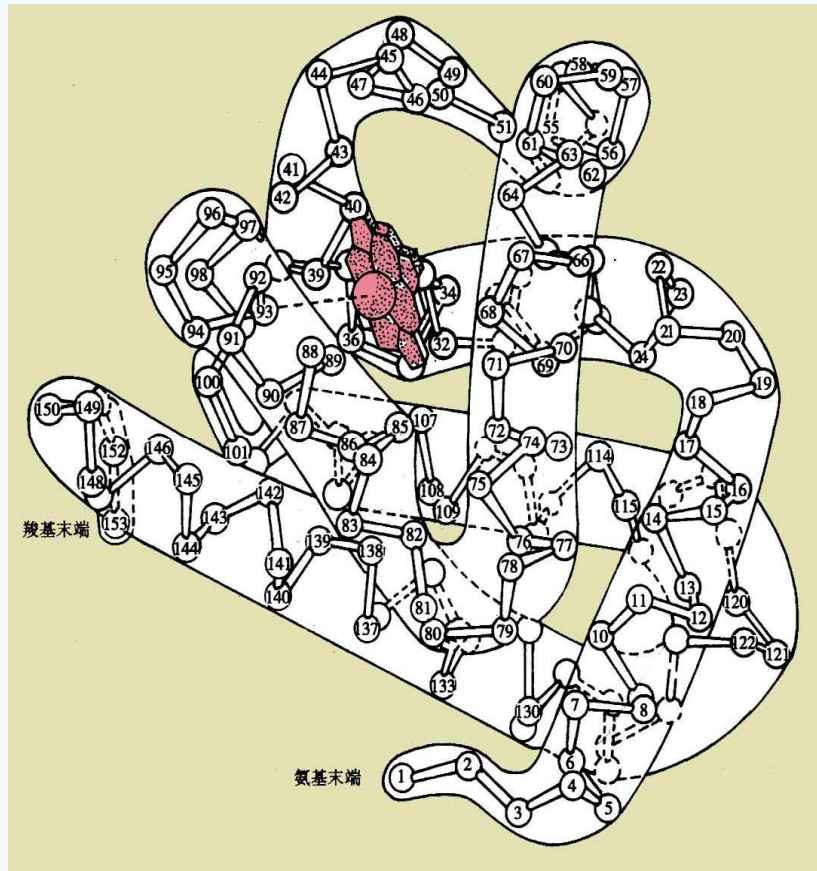


红细胞

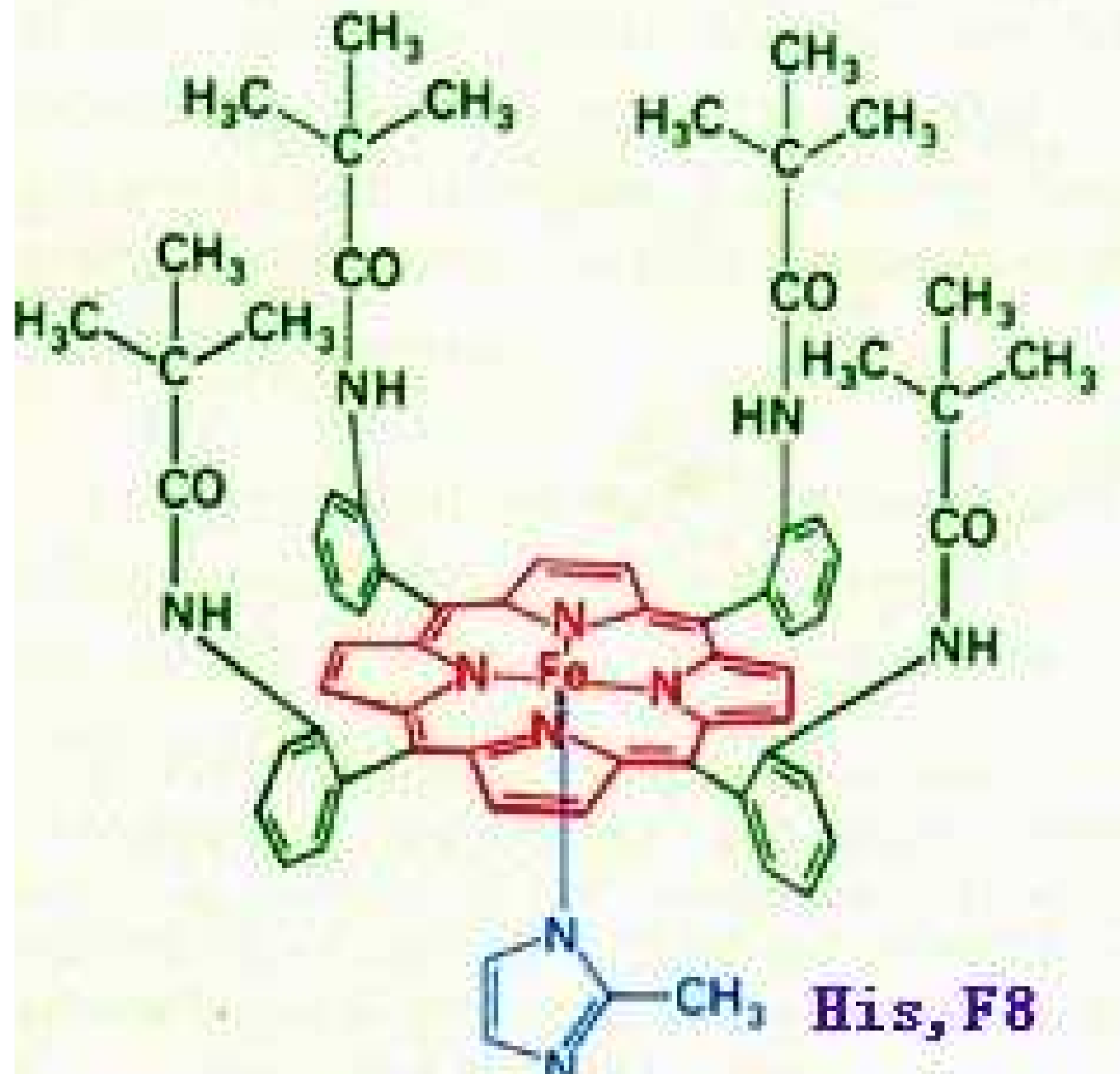
白细胞

## 二、蛋白质空间结构与功能的关系

### 空间结构是生物学功能的基础

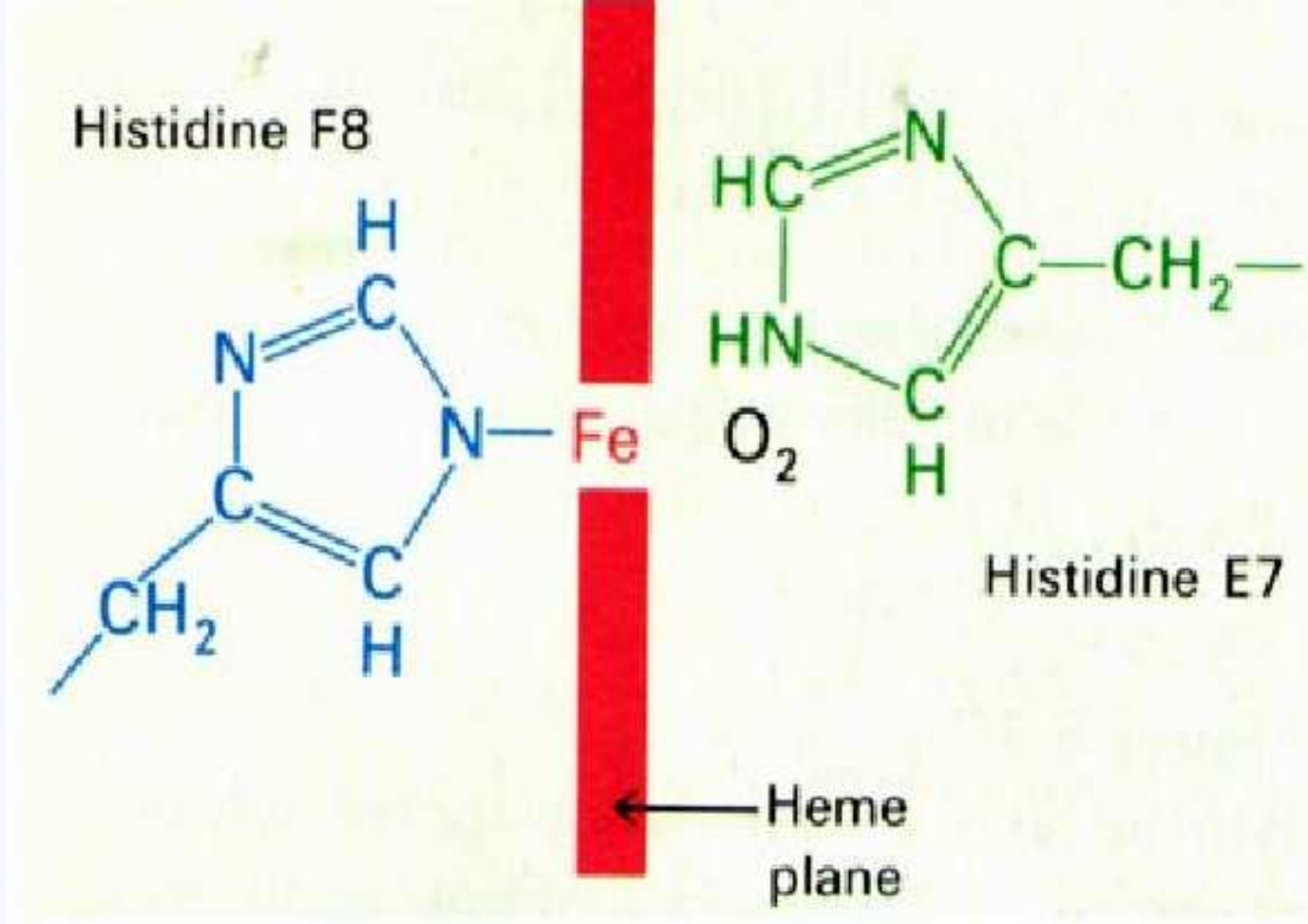


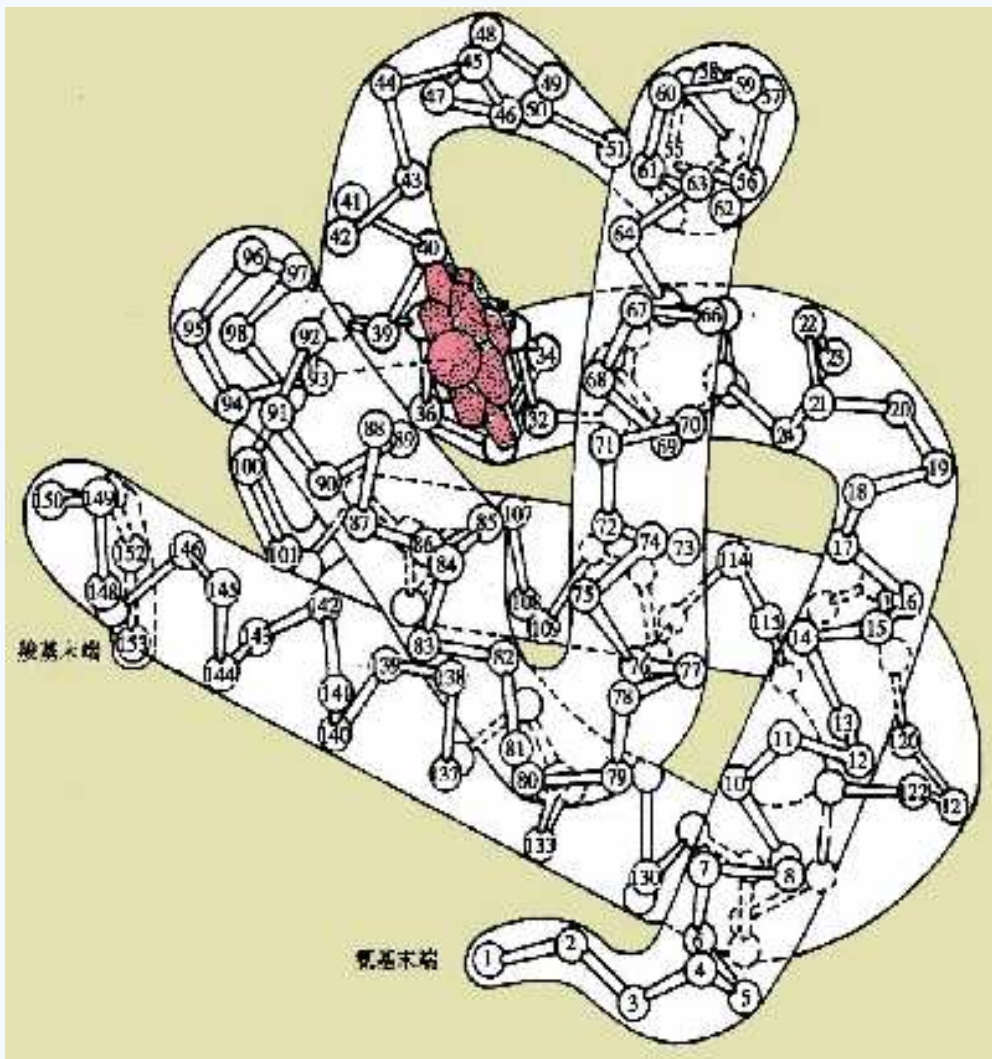
(一) 肌红蛋白与血红蛋白的结构  
都有血红素为辅基



血红素的结构

1. 血红素：  
 由4个吡咯环通过4个甲炔基连成一个环，  
 $\text{Fe}^{2+}$ 位于环中，有6个配位键，其中一个可结合 $\text{O}_2$





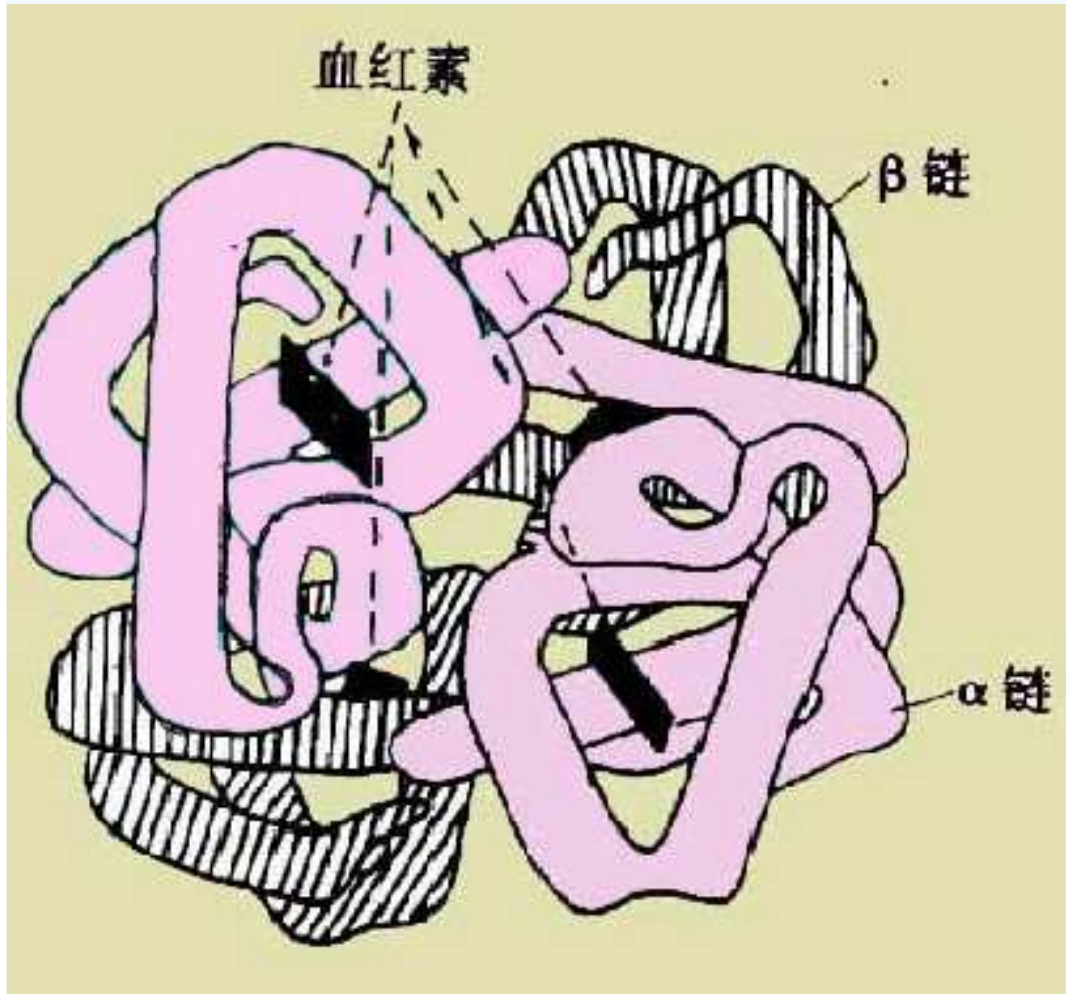
## 2.肌红蛋白：

具有三级结构的球形单链蛋白质。

有8段 $\alpha$ -螺旋，分别称为A—H。血红素位于球形分子的袋状空穴中



### 3. 血红蛋白 = 珠蛋白(globin) + 血红素(heme)



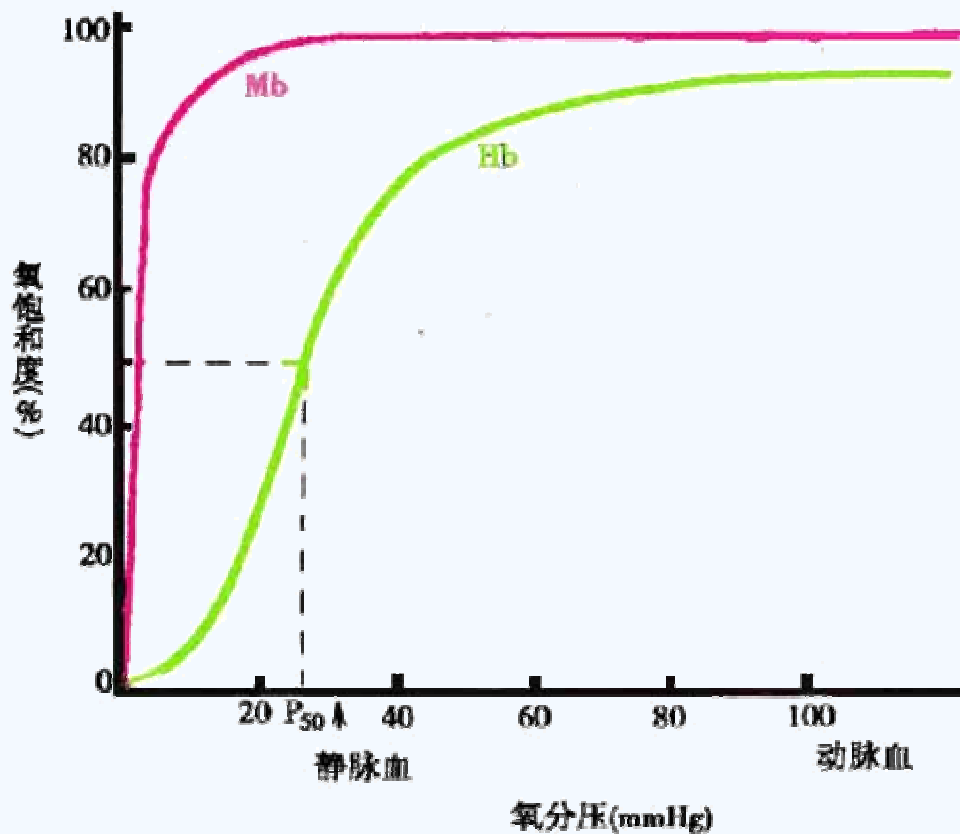
HbA:  $\alpha_2\beta_2$

各亚基的三级结构与Mb相似



四亚基之间通过8对盐键紧密缔合，使整个分子呈球形。

## (二) 血红蛋白的构象变化与结合氧



**Mb** 直角双曲线

易与氧结合

**Hb** S形曲线

在氧分压低时较难与氧结合

氧合Hb占总Hb的百分数  
(称氧饱和度)

肌红蛋白 (Mb) 和血红蛋白 (Hb) 的氧解离曲线

## Hb与氧结合时构象的改变:

由未结合氧时的紧张态 (T态) 转变为结合氧时的松弛态 (R态)

\*T态转变成R态是逐个结合 $O_2$ 而完成的

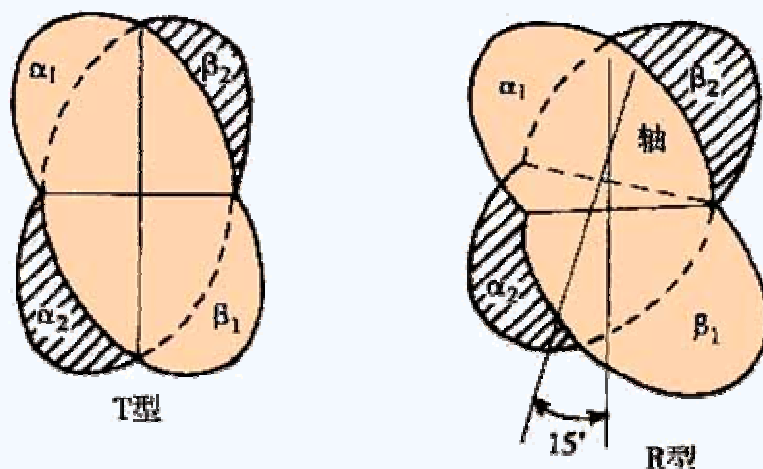
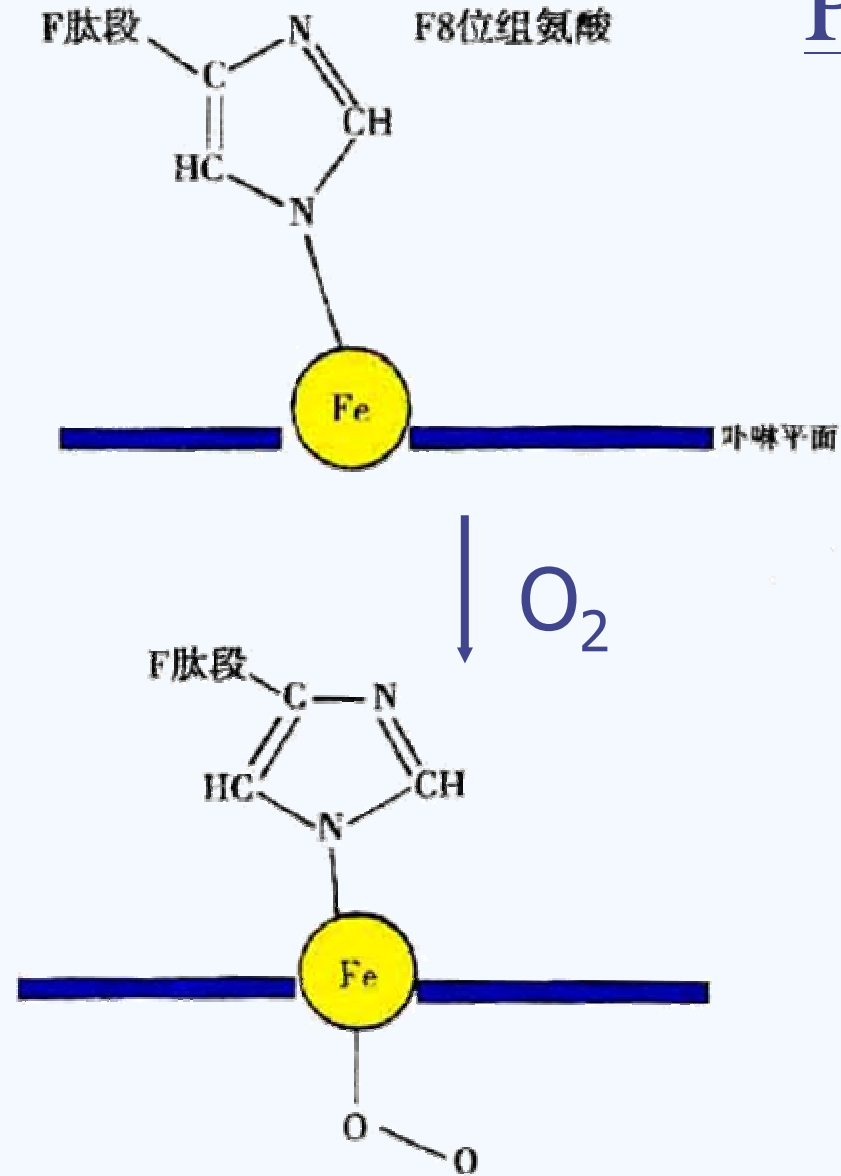


图 2-23 Hb T 态和 R 态互变

血红素与氧结合后，铁原子变小，就能进入卟啉环的小孔中，继而引起肽链位置的变动。

造成两个亚基间盐键断裂结合松弛，促进第二个亚基与 $O_2$ 结合，如此可影响第三、四个亚基与 $O_2$ 结合。



## 变构效应 (*allosteric effect*)

当配体与亚基（蛋白）结合后，引起该亚基构象变化，称为变构效应。

## 协同效应 (*cooperativity*)

一个寡聚体蛋白质的一个亚基与其配体结合后，能影响此寡聚体中另一个亚基与配体结合能力的现象，称为协同效应。

**促进**      正协同效应      (*positive cooperativity*)

**抑制**      负协同效应      (*negative cooperativity*)

### (三) 蛋白质的构象改变与疾病

**蛋白质构象疾病：**若蛋白质的折叠发生错误，使蛋白质的构象发生改变，尽管其一级结构不变，仍可影响其功能，严重时可导致疾病发生。

**机理：**有些蛋白质错误折叠后相互聚集，常形成抗蛋白水解酶的淀粉样纤维沉淀，产生毒性而致病。

**包括：**人纹状体脊髓变性病、老年痴呆症、亨丁顿舞蹈病、疯牛病等。

# 第四节

## 蛋白质的理化性质与分离纯化

# 一、理化性质

1、蛋白质的两性电离

2、蛋白质的胶体性质

3、蛋白质的变性与复性

4、蛋白质的紫外吸收

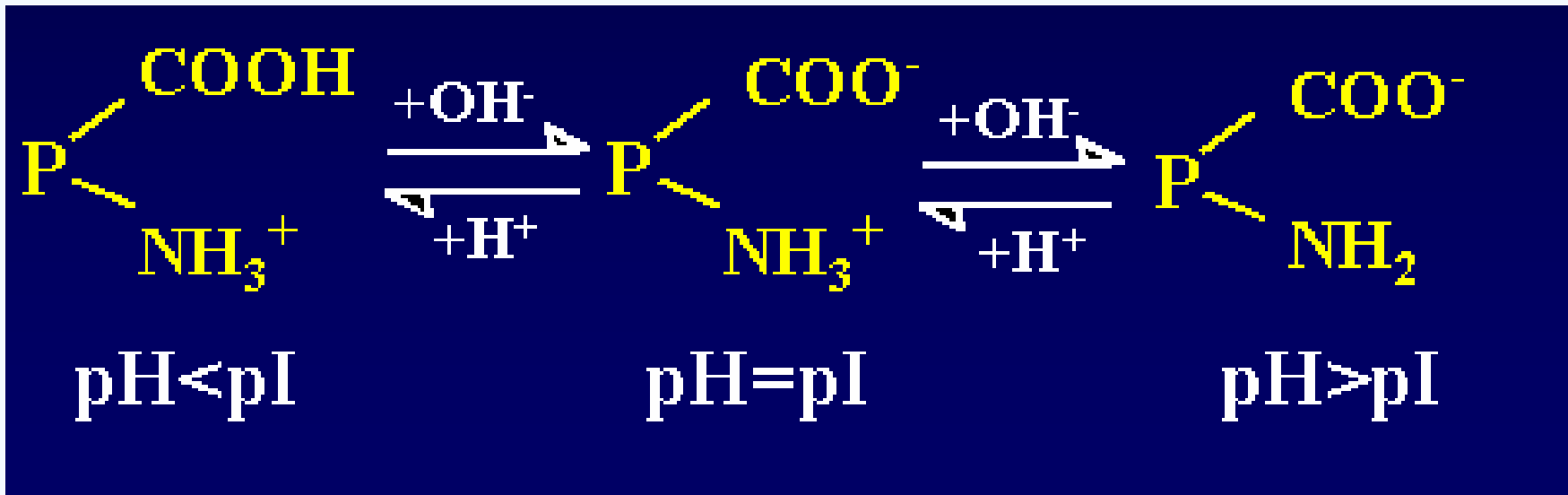
5、蛋白质的呈色反应



## (一) 两性电离

蛋白质两端分别有 $\alpha$ -氨基和 $\alpha$ -羧基，其中氨基酸侧链上也有一些可解离的基团，如：胍基、咪唑基等

在不同酸碱性环境中能解离或结合 $H^+$ ，并达到平衡，是两性电解质。



在某一pH值溶液中，蛋白质酸性基团和碱性基团的解离程度相当蛋白质分子所带正负电荷相等，净电荷为零此时溶液的pH值称为蛋白质的等电点(pI)。

## (二) 胶体性质

蛋白质分子量在0.6~100万之间,颗粒大小在 $10^{-9}$ ~ $10^{-7}$ m范围,能稳定的分散在水中,主要有两方面原因:

表面形成水化膜

表面同种电荷的斥力

## (三) 蛋白质的变性 (denaturation)

### 1. 定义

在某些理化因素作用下，蛋白质特定的空间构象被破坏，导致其理化性质改变和生物学活性的丧失，称为蛋白质的变性。

### 2. 变性的本质

蛋白质的空间结构被破坏，但不改变蛋白质的一级结构

### 3.使蛋白质变性的因素

- 物理因素：高温、高压、紫外线、剧烈振荡
- 化学因素：强酸、强碱、有机溶剂、生物碱、尿素、重金属

## 4. 变性蛋白质的主要特征

- 生物活性丧失
- 变性蛋白质的溶解度降低（析出形成沉淀）
- 粘度增加而扩散系数减小
- 变性蛋白质容易被水解

## 5. 应用

消毒灭菌

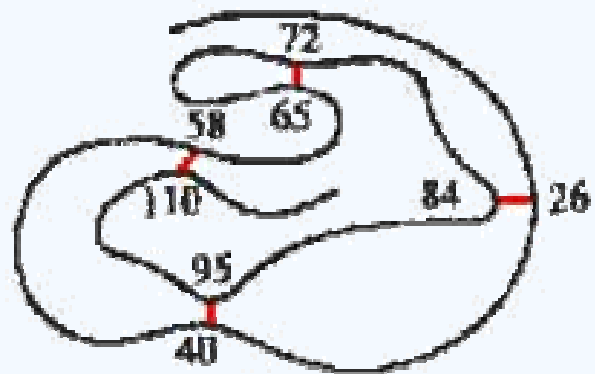
制备和保存蛋白质

## 6. 蛋白质的复性

若蛋白质变性程度较轻，去除变性因素后，有些蛋白质仍可恢复或部分恢复其原有的构象和功能，称为复性 (*renaturation*)

## 7. 蛋白质的凝固作用protein coagulation

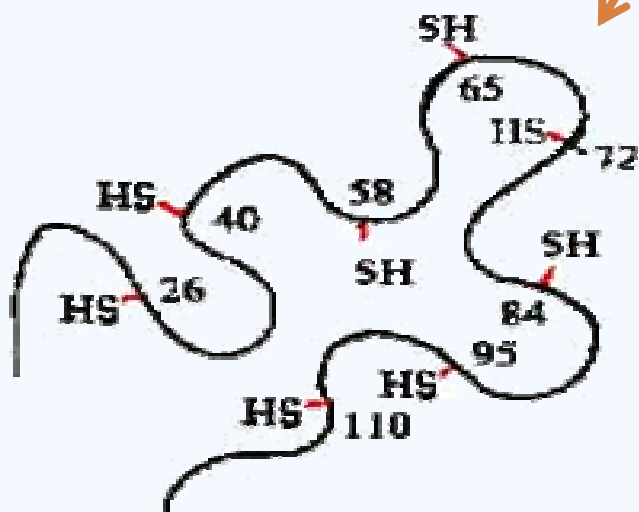
蛋白质变性后的絮状物加热可变成比较坚固的凝块，不易再溶于强酸和强碱中，实际上是蛋白质变性后进一步发展的不可逆结果。



天然状态，  
有催化活性

去除尿素、  
 $\beta$ -巯基乙醇

尿素、  
 $\beta$ -巯基乙醇



非折叠状态，无活性



## (四) 蛋白质的紫外吸收性质

$OD_{280}$

(色氨酸，酪氨酸的最大吸收峰)

## (五) 蛋白质的呈色反应

- 茚三酮反应(Ninhydrin Reaction)
- 双缩脲反应(Biuret Reaction)

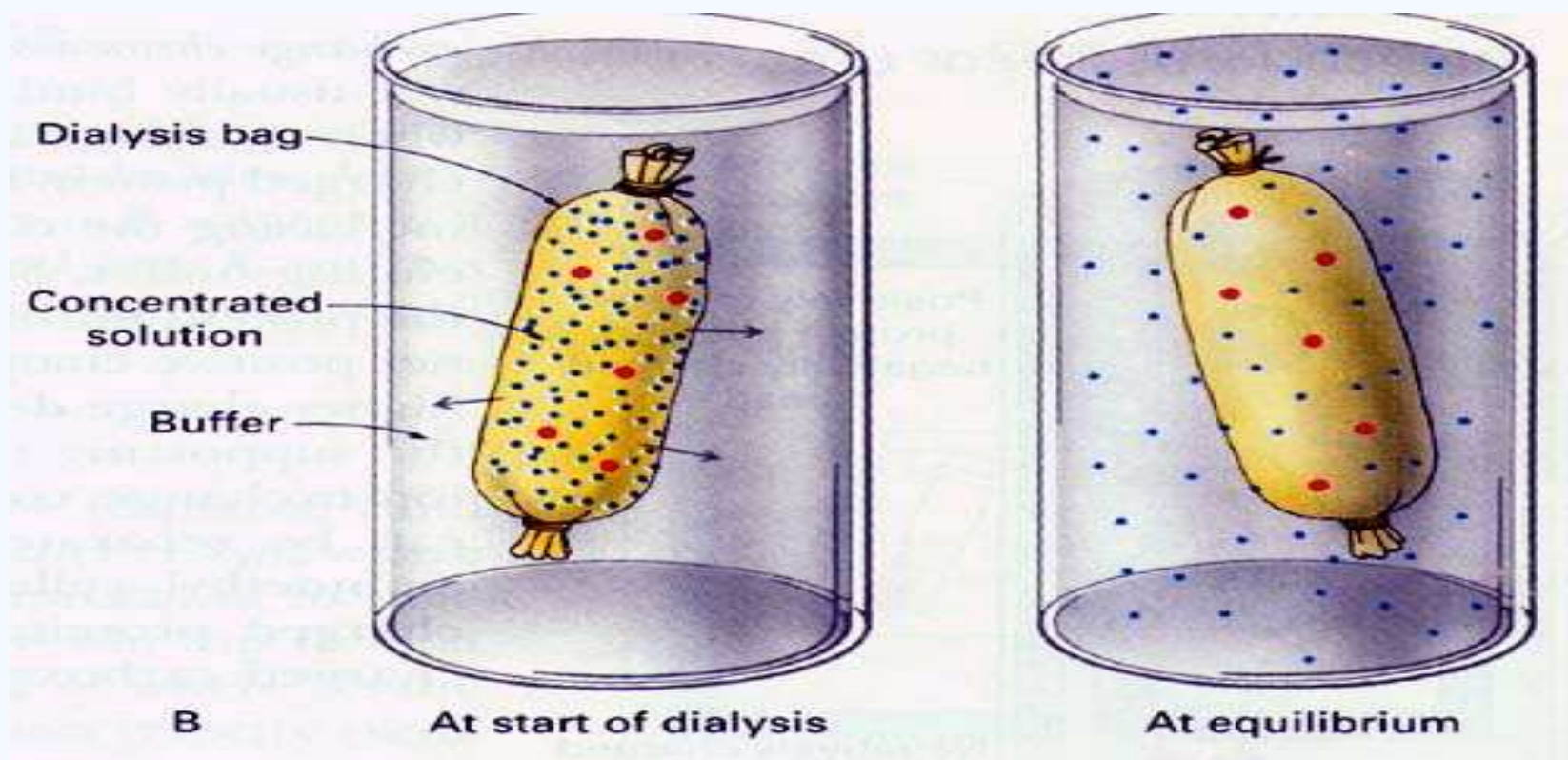


## 二、蛋白质的分离和纯化

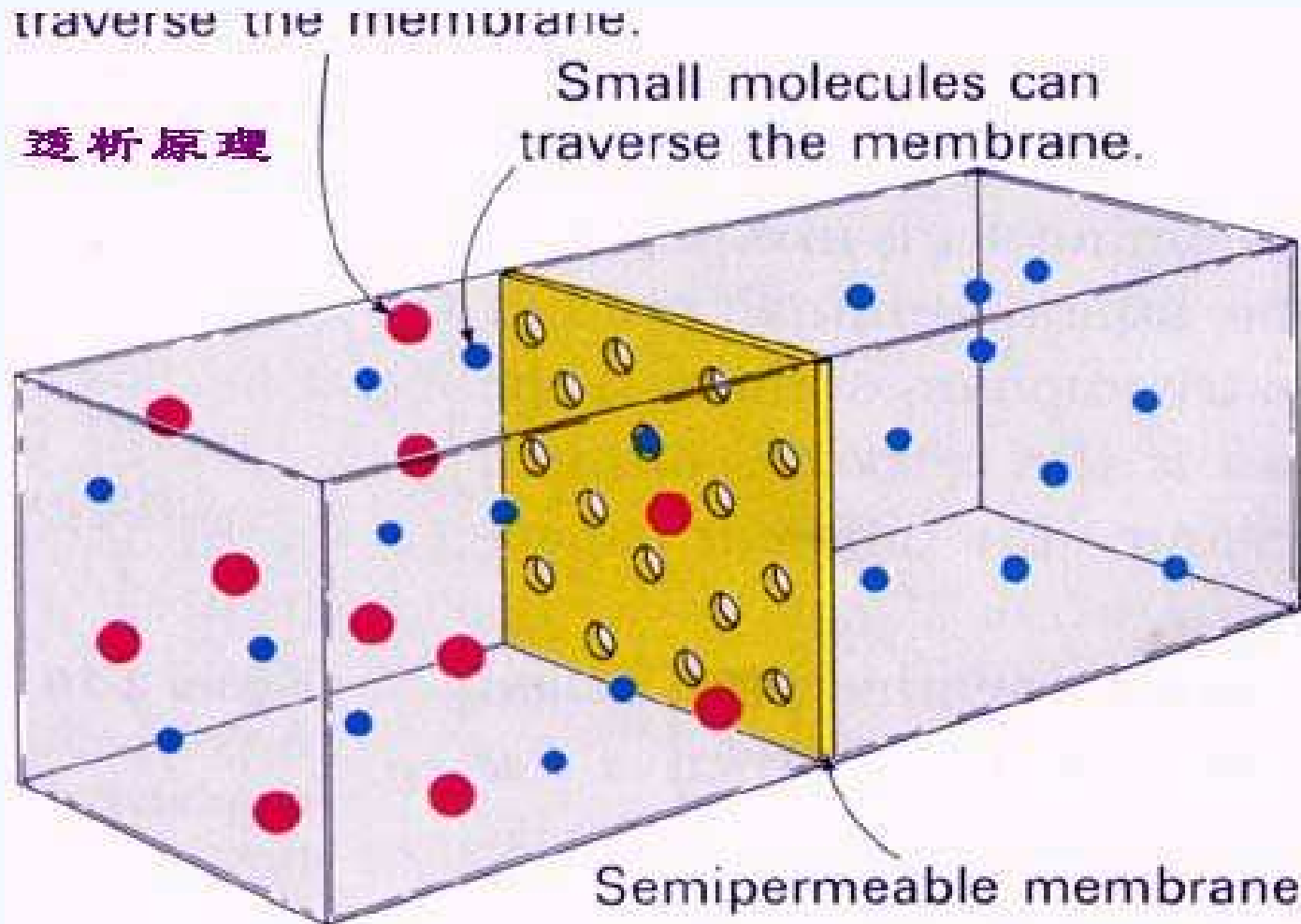
- 1、透析及超滤法
- 2、丙酮沉淀、盐析及免疫沉淀
- 3、电泳
- 4、层析
- 5、超速离心

# (一) 透析及超滤法

将蛋白质溶液放在半透膜的袋内，置于流动的适当的缓冲液（如纯水）中，小分子杂质（如硫酸铵、氧化钠等）从袋中透出，而蛋白质保留于袋中从而将蛋白质纯化，这种方法称为**透析**。



**超滤法：**应用正压或离心力使蛋白质溶液透过有一定截留分子量的超滤膜，达到浓缩蛋白质溶液的目的。



## (二) 丙酮沉淀、盐析及免疫沉淀

# 有机溶剂沉淀法

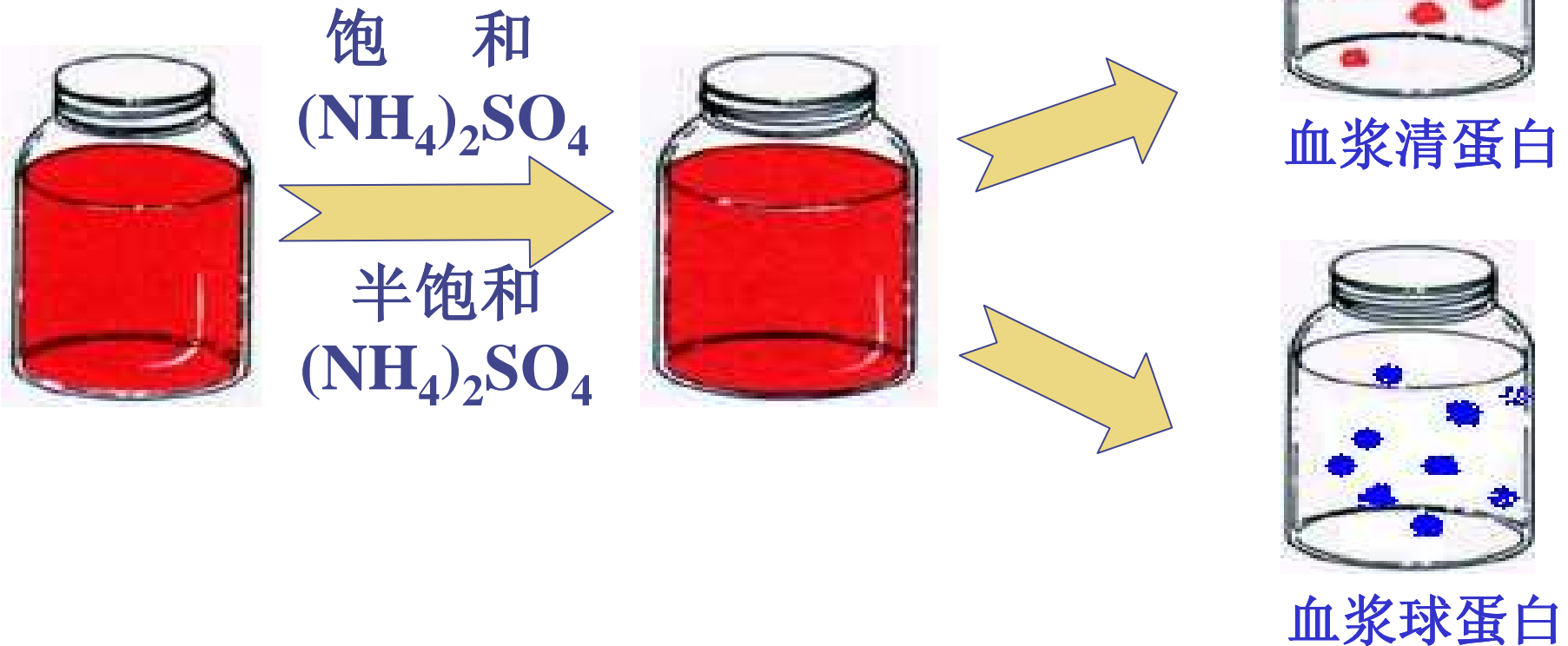
- **作用原理:**使蛋白质脱去水化层,又能降低溶液的介电常数使蛋白质表面电荷减少,导致蛋白质分子聚集而沉淀。
- **常用有机溶剂:**甲醇、乙醇、丙酮
- **缺点:**常会使蛋白质变性
- **注意事项:**必须在低温下操作,尽量缩短处理的时间,及时将蛋白质中残存的有机溶剂除去。

# 盐析法( salting out)

- **定义:**向蛋白质溶液中加入大量中性盐使蛋白质沉淀称为盐析
- **常用的中性盐:** 硫酸铵、硫酸钠、氯化钠等
- **作用原理:**盐离子与水亲和力极强夺去蛋白质的水化层,减少分子间静电斥力
- **特点:** 不破坏蛋白质的构象, 蛋白质不发生变性。



调节盐析所用的盐浓度和溶液的pH值，可将溶液中混合的各种蛋白质逐个分开。  
称为**分段盐析法**



**免疫沉淀法：**将某一纯化蛋白质免疫动物可获得抗该蛋白的特异抗体。利用特异抗体识别相应的抗原蛋白，并形成抗原抗体复合物的性质，可从蛋白质混合液中分离获得抗原蛋白。

### (三) 电 泳

**定义：**带电颗粒在电场中向着所带电荷相反方向移动的现象称为电泳。

**原理：**不同的蛋白质因结构、形状和带电量的不同而有不同的泳动速度，从而达到分析和分离蛋白质的目的。

**分类：**根据支持物的不同，电泳可分为：薄膜电泳、凝胶电泳。

**应用：**电泳技术是生化常用分析技术之一

## (四) 层析

层析种类很多，常见有以下几种：

薄层层析

亲和层析

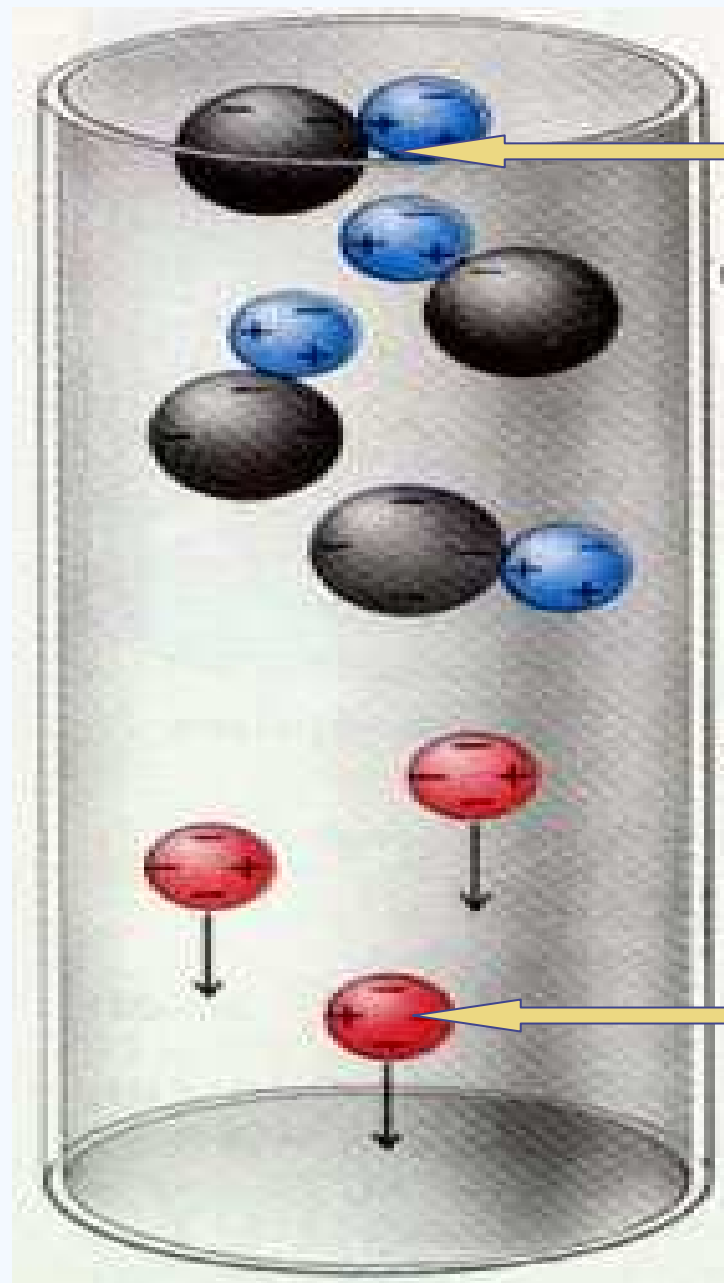
凝胶过滤： 又称分子筛

离子交换层析： 利用某一特定pH时，各蛋白质的电荷量和性质不同来进行分离。

阴离子交换树脂： 带正电，分离带负电的蛋白质

阳离子交换树脂： 带负电，分离带正电的蛋白质

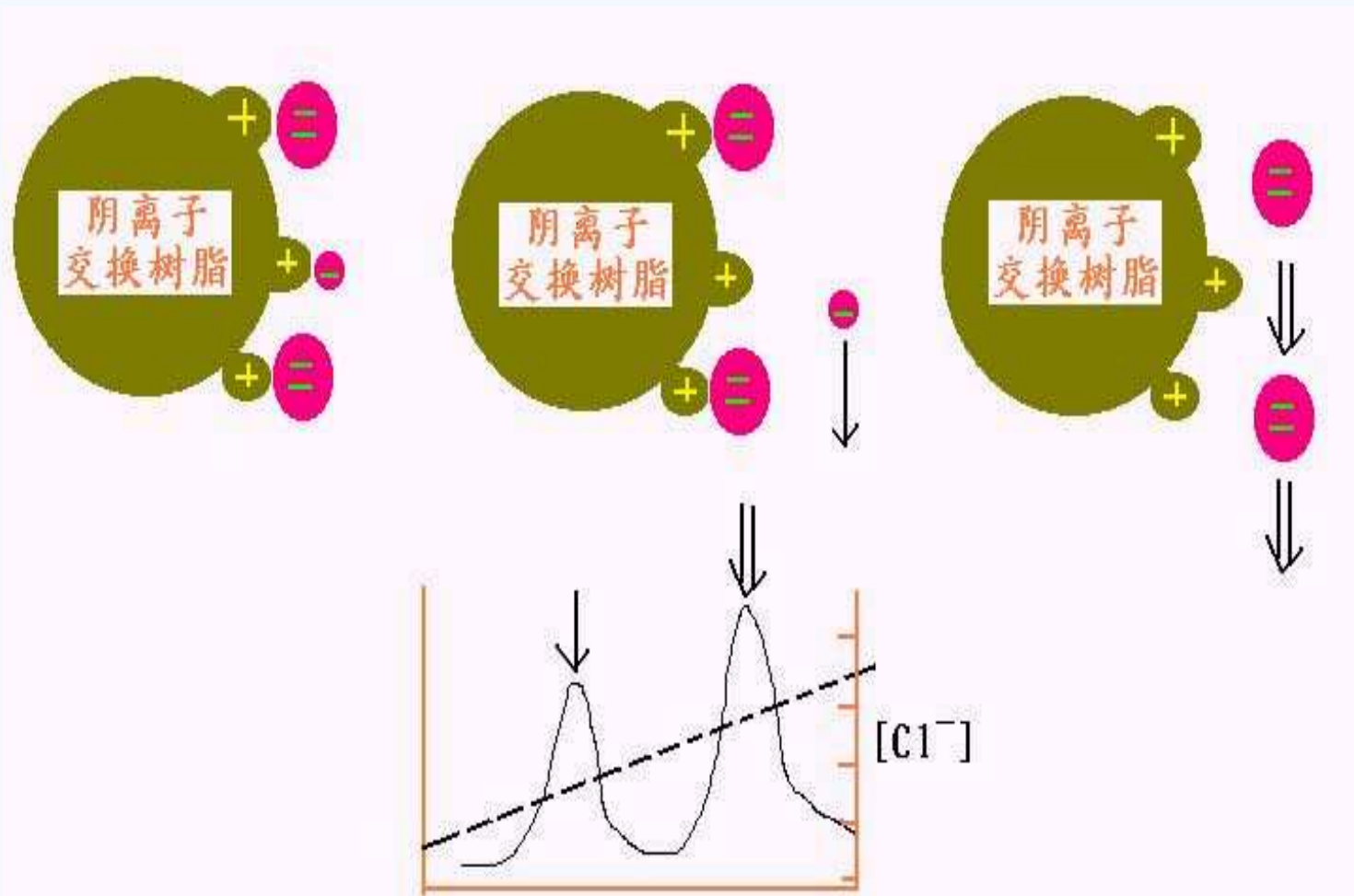
# 阳离子交换树脂工作示意图



带正电荷多蛋白紧密结合

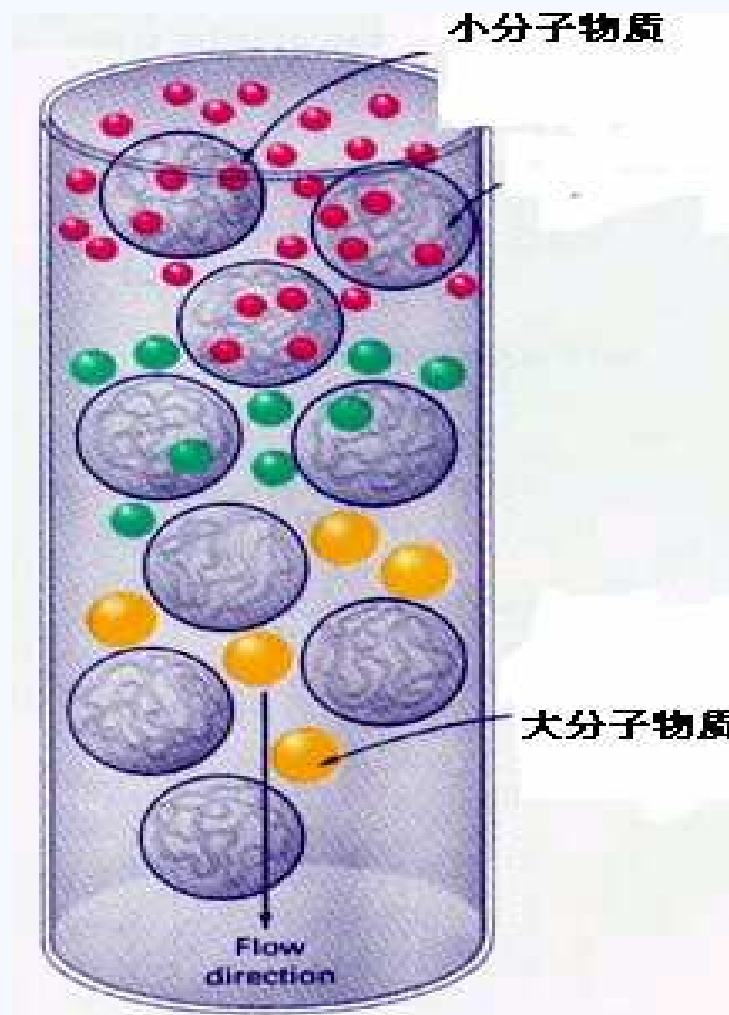
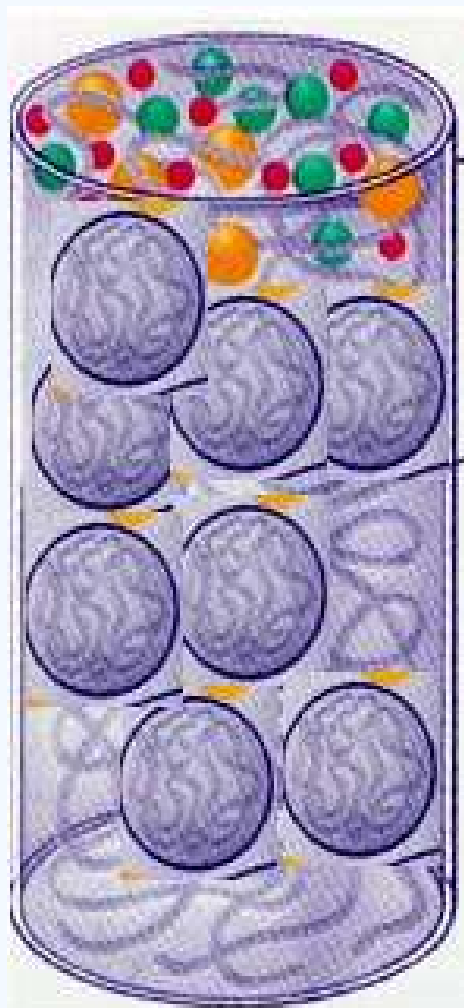
带正电荷少蛋白先流过层析柱

# 阴离子交换树脂工作示意图

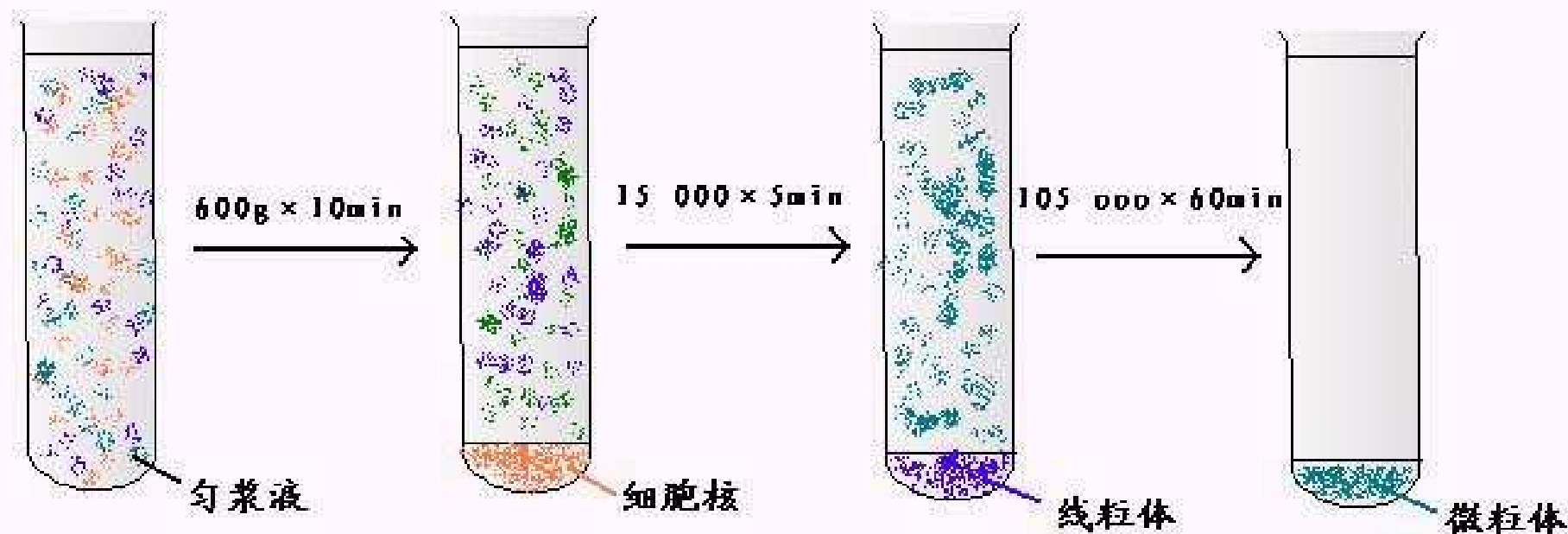


离子交换层析分离蛋白质示意图

# •分子筛层析



## (五) 超速离心



超速离心法工作原理示意图



# 1.3 蛋白质结构与功能的关系

1. 一级结构与功能的关系

2. 空间结构与功能的关系

(血红蛋白的协同效应)

# 1.4 蛋白质的理化性质及其分离纯化

两性解离和等电点

蛋白质的胶体性质

蛋白质的变性、沉淀

蛋白质的紫外吸收

蛋白质的呈色反应

透析及超滤法

盐析和有机溶剂沉淀

电泳

层析

超速离心

# Key Points

1. 蛋白质的分子组成：包括Pr.的元素组成；AA.的通式、分类、理化性质；多肽的相关概念（肽键 肽单元 氨基酸残基 主链和侧链 氨基末端和羧基末端）。
2. 蛋白质的分子结构：各级结构的定义；维系蛋白质结构的作用力；模体、结构域。
3. 蛋白质结构与功能的关系。
4. 蛋白质的理化性质及其分离纯化。