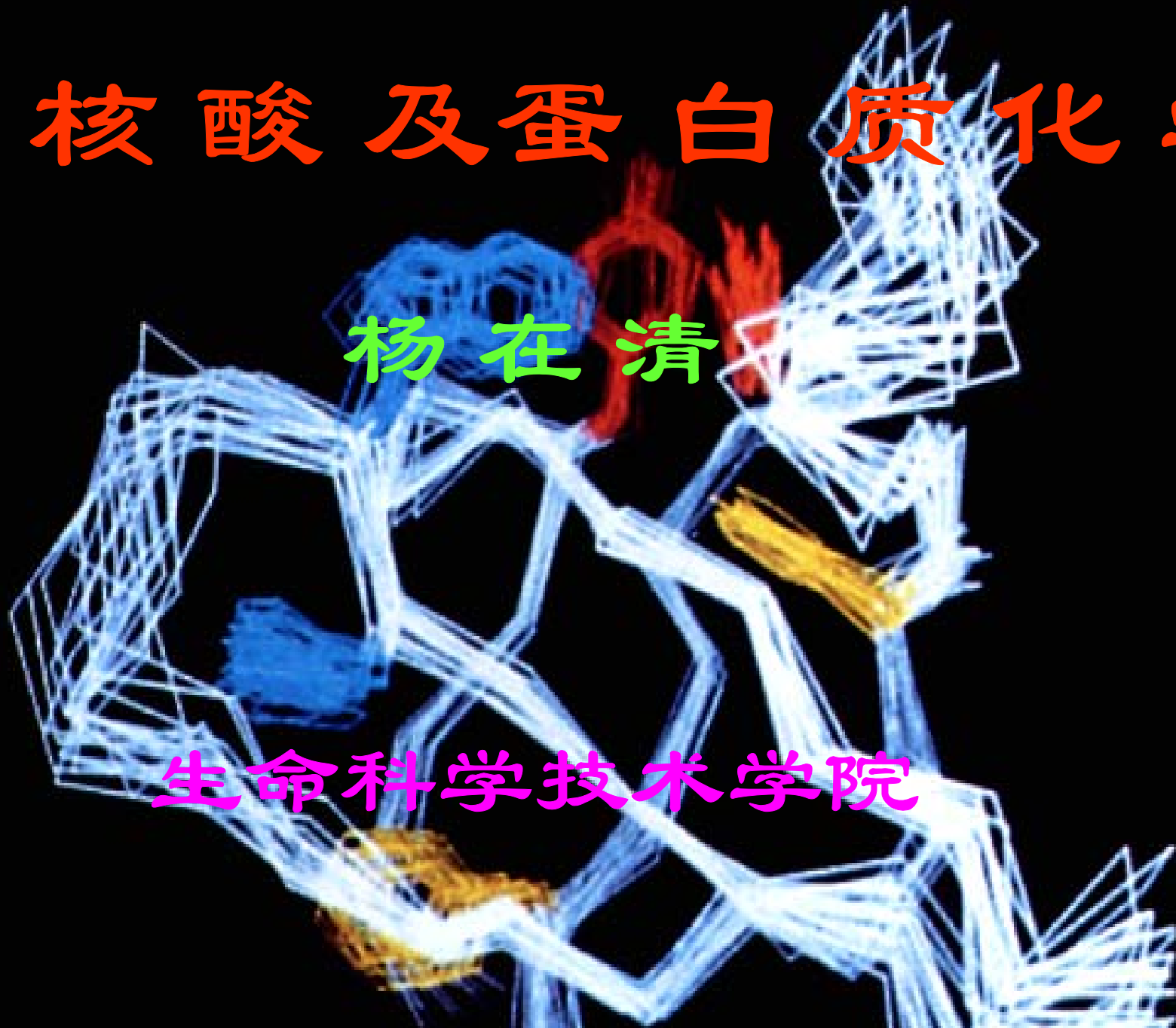


核酸及蛋白质化学

杨在清

生命科学技术学院



蛋白质部分

第一章 蛋白质组成及结构

第一节 组成蛋白质的氨基酸

第二节 蛋白质的一级结构与进化

第三节 蛋白质的空间结构

第四节 蛋白质各级结构之间的关系

第五节 球状蛋白质构象的运动

第一节 组成蛋白质的氨基酸

根据侧链结构和性质的不同分为：

1. 脂肪族氨基酸
2. 芳香族氨基酸
3. 羟基氨基酸与含硫氨基酸
4. 酸性氨基酸及其酰胺
5. 碱性氨基酸

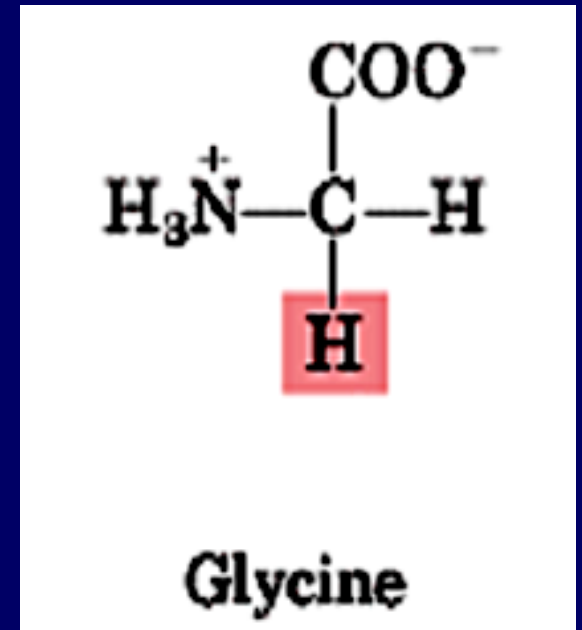
另外，蛋白质中还常含有修饰氨基酸

1. 脂肪族氨基酸

甘氨酸	(Gly, G)	亮氨酸	(Leu, L)
丙氨酸	(Ala, A)	异亮氨酸	(Ile, I)
缬氨酸	(Val, V)	脯氨酸	(Pro, P)

Gly

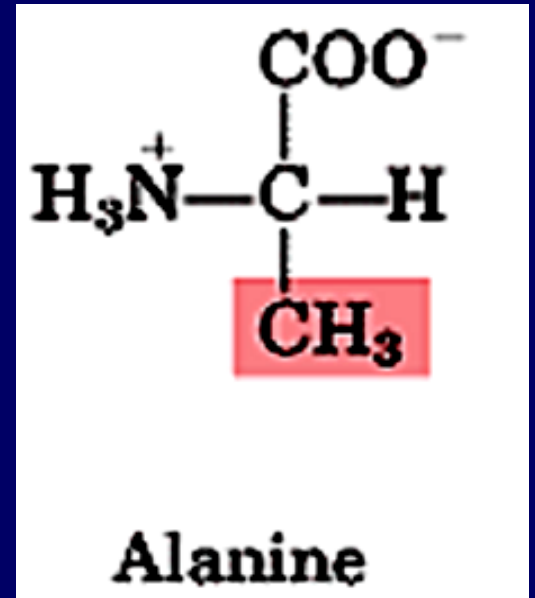
- 无侧链;
- 双面角可自由转动,无空间位阻;
- 任意扭曲, 柔性大;
- 常出现在需要运动或转折的肽链片段中。



甘氨酸

Ala

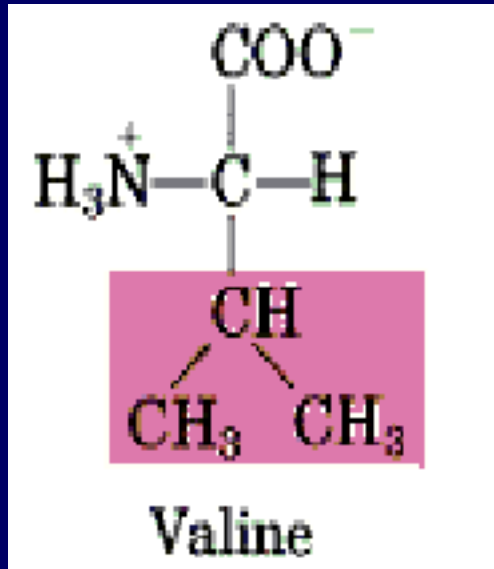
- 小，侧链只有一个甲基
- 无化学活性
- 在蛋白质分子中可处于内部或表面



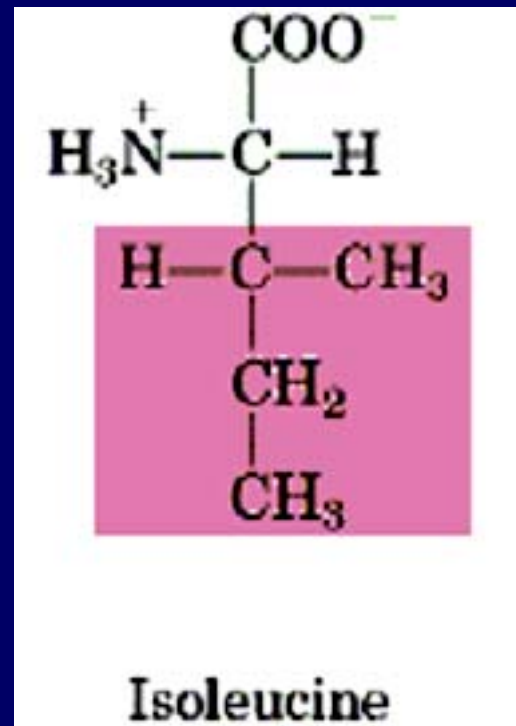
丙氨酸

Val、Ile、Leu

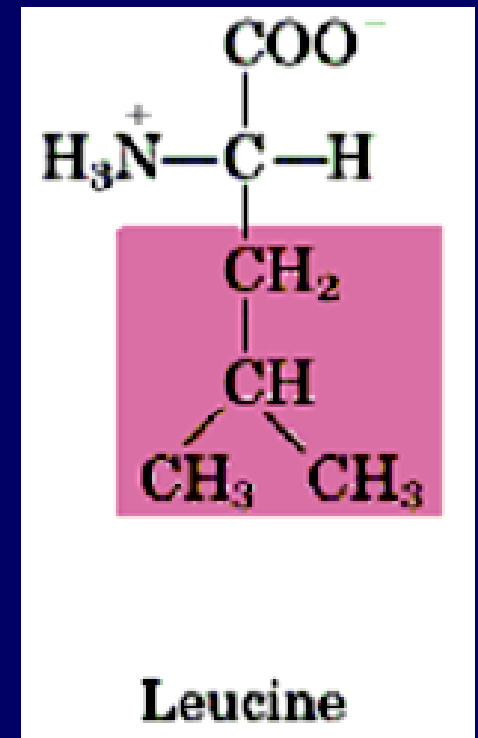
- 带有分支的支链氨基酸，产生的位阻也更大；
- 易于在蛋白质分子中固定于一定位置，并有利于链的折叠



缬氨酸



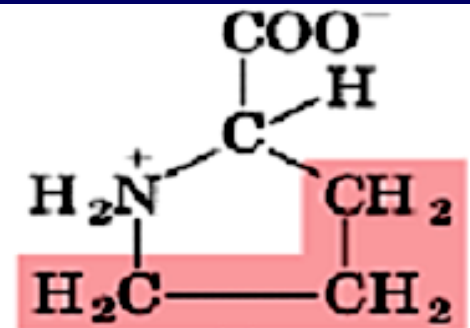
亮氨酸



异亮氨酸

Pro

- 一种亚氨基酸,具有固定的构型
- α 氨基与侧链C原子成环, 很强的立体化学效应
- 使肽链形成一个转角而改变主链方向
- 对二级结构有破坏作用, 但仍能出现在这些结构末端或弯曲部位
- 常暴露于蛋白质分子表面



Proline
脯氨酸

2. 芳香族氨基酸

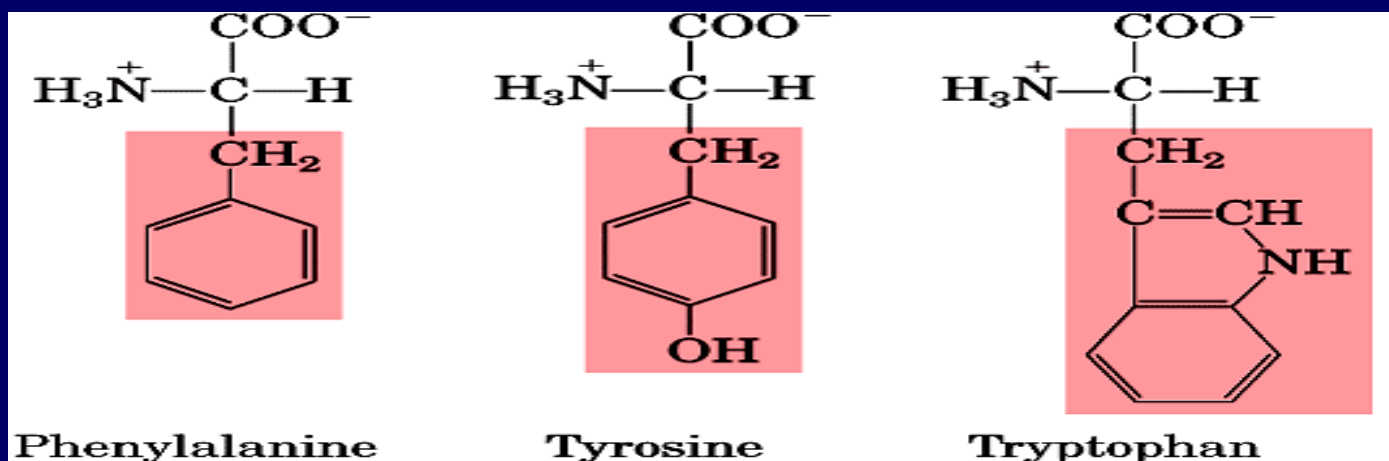
苯丙氨酸 (**Phe, F**)

酪氨酸 (**Tyr, Y**)

色氨酸 (**Trp, W**)

Phe、Tyr、Trp

- **Phe** 疏水作用很强; 而 **Tyr**、**Trp** 带极性侧链, 疏水性较差; **Tyr** 酚基易解离, 易形成较强的氢键, 故常出现在分子内。
- 三种氨基酸 C_{α} 与芳环之间仅有一个可转动的 C_{β} 甲基, 从而限制了侧链的柔性, **Trp**有大的吲哚环, 影响更大。
- 侧链环堆积不规则, 常以相互垂直的“人”字型排列, 其存在形式对周围结构有很大影响。



苯丙氨酸

酪氨酸

色氨酸

3. 羟基氨基酸与含硫氨基酸

丝氨酸 (Ser, S)

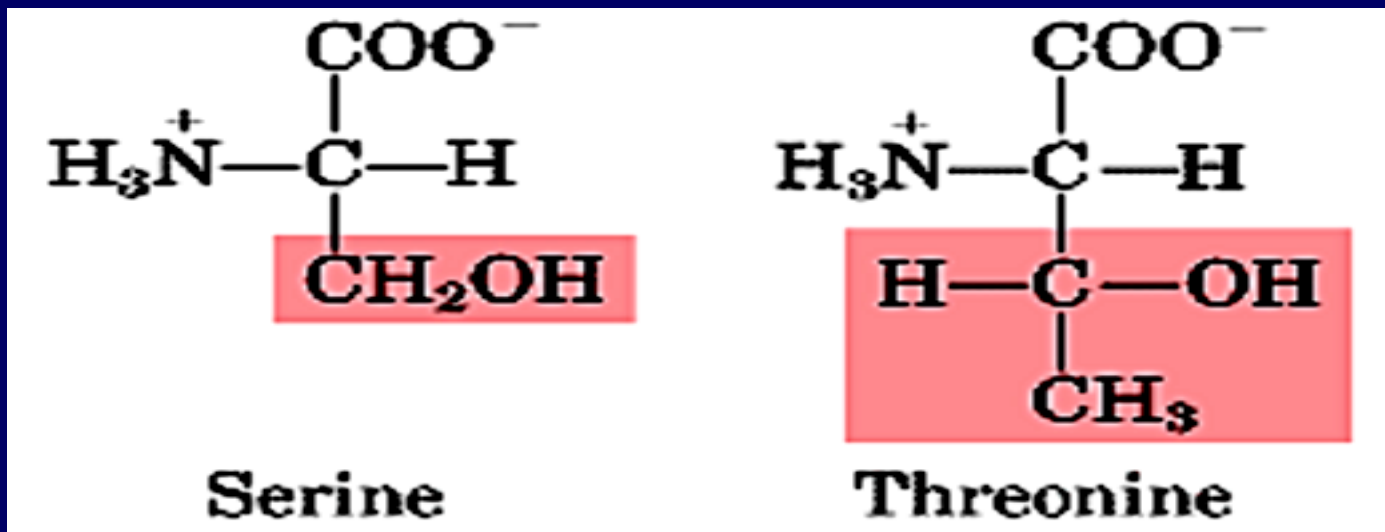
半胱氨酸 (Cys, C)

苏氨酸 (Thr, T)

甲硫氨酸 (Met, M)

Ser、Thr

- 侧链带有羟基，可形成氢键，也可通过水分子间接形成氢键
- 化学性质活泼，具有重要的功能



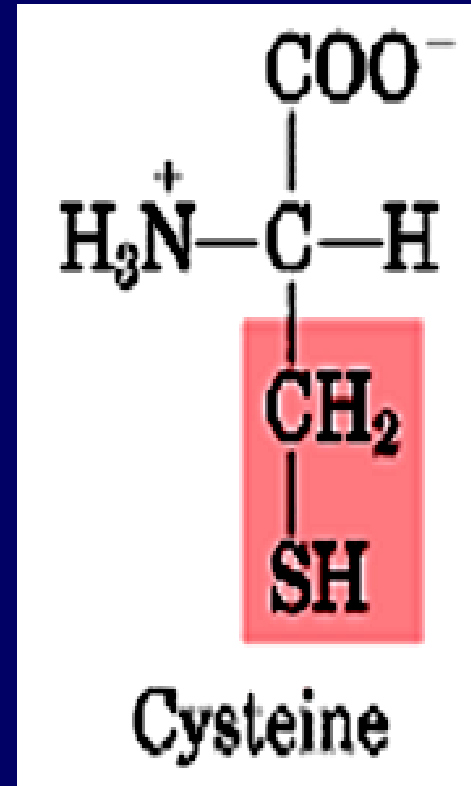
丝氨酸

苏氨酸

Cys

巯基 (-SH)

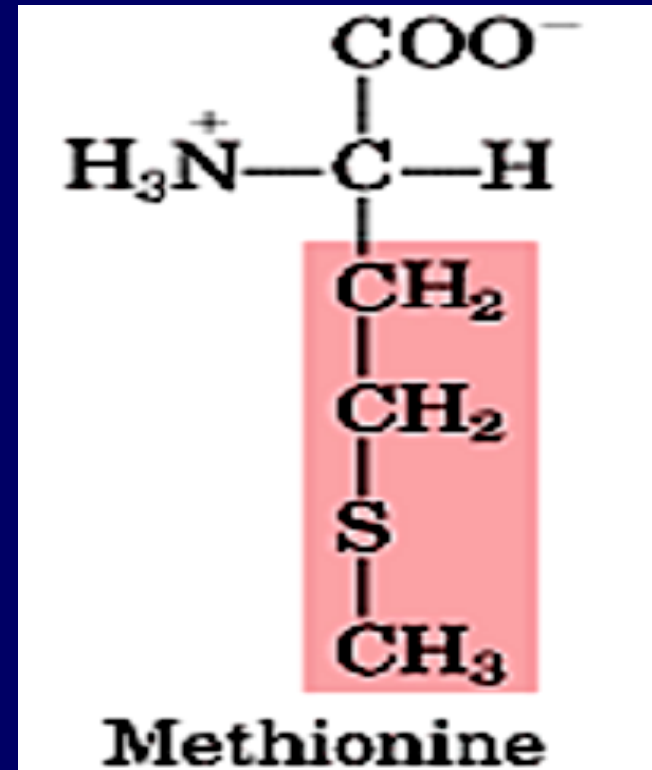
- 易氧化形成带有二硫键的胱氨酸
- 与金属离子如 **Fe**、**Zn**、**Cu** 等配位结合
- 结合蛋白质中一些非蛋白基团
- 在蛋白质空间结构中成簇聚集，因此，



常藏在蛋白分子内部，形成特定的模体 (**motif**) 结构

Met

- 疏水性大
- 柔性大
- 常埋藏在蛋白质分子内部



4. 酸性氨基酸及其酰胺

天冬氨酸 (**Asp, D**)

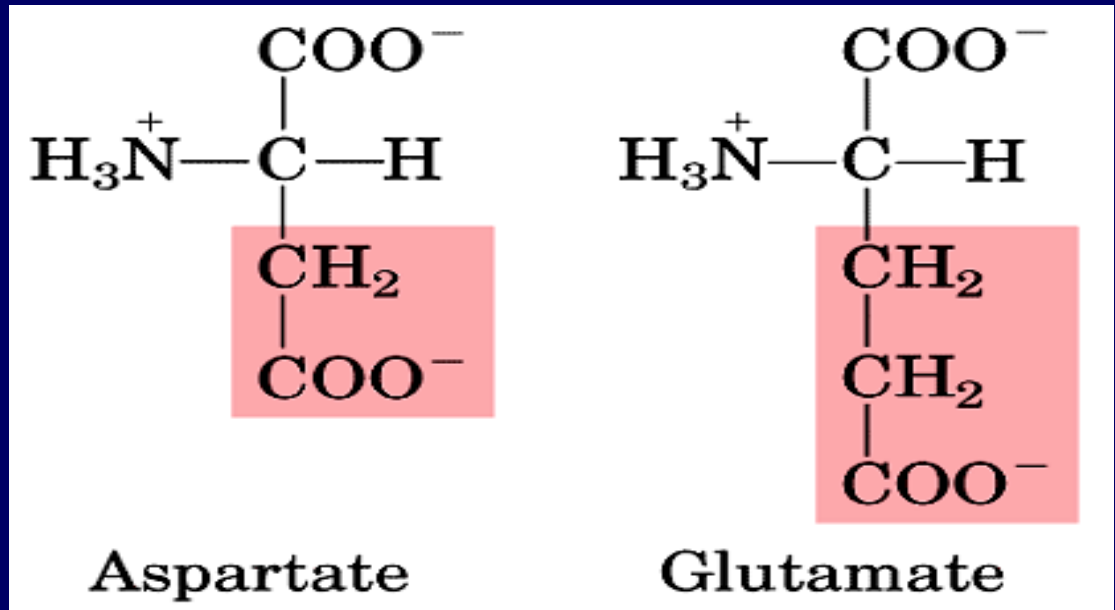
谷氨酸 (**Glu, E**)

天冬酰胺 (**Asn, N**)

谷氨酰胺 (**Gln, Q**)

Asp、Glu

- 两个-COO⁻带负电荷，在蛋白质内形成盐键；
- Glu的γ羧基带负电荷



天冬氨酸

谷氨酸

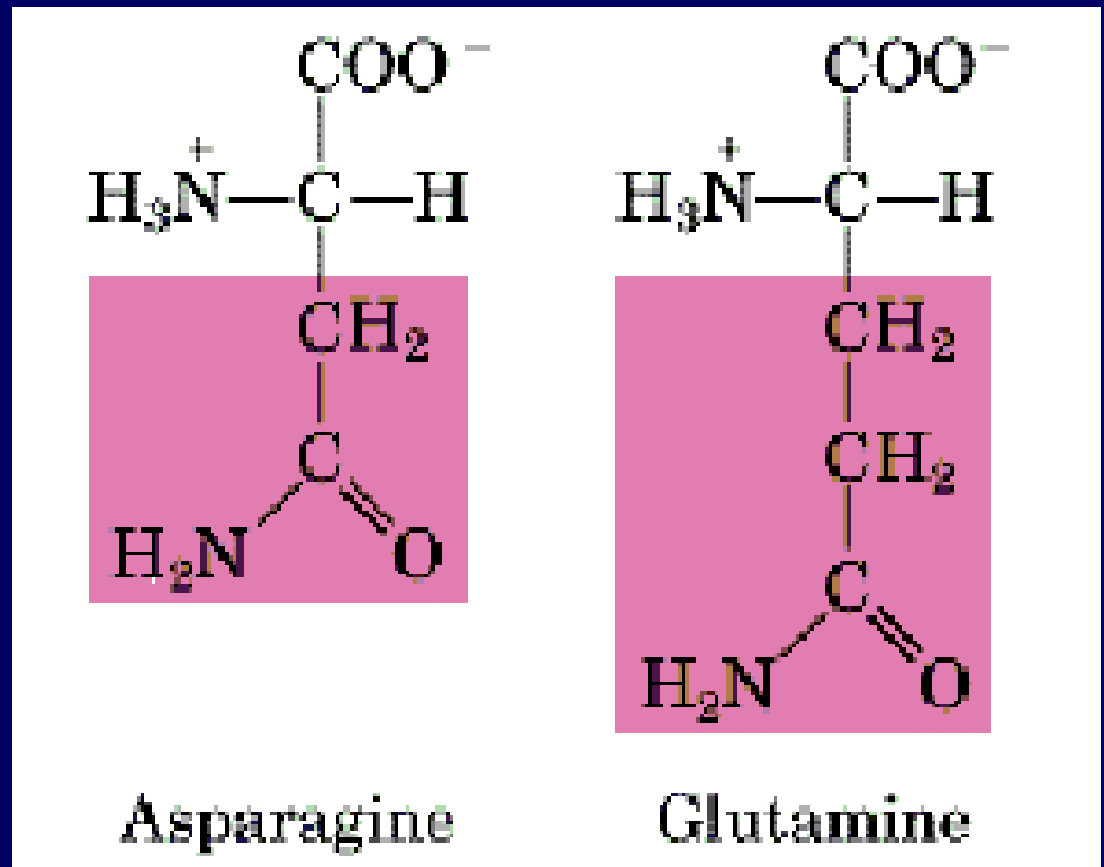
- 常位于蛋白质分子表面，与钙结合
- 在肽段序列中成簇存在，使分子表面形成不对称电荷分布。

从而成为蛋白质分子与其他大分子物质相互作用的位点。

Asn、Gln

📖 侧链虽有极性，但不解离，不带电荷。

📖 易形成氢键。



5. 碱性氨基酸

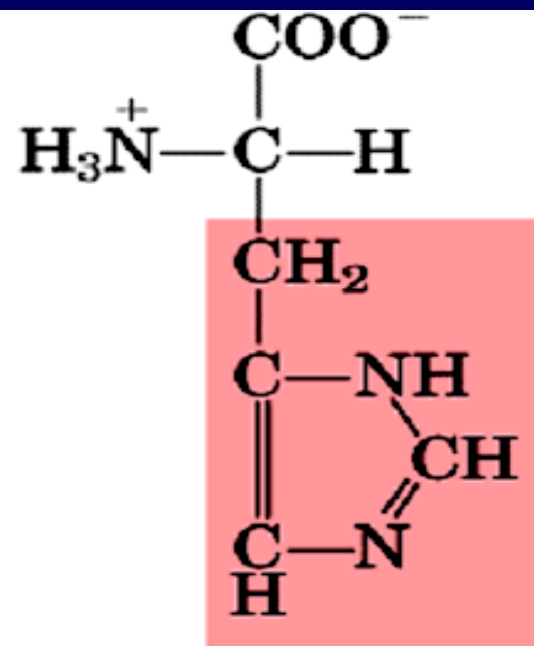
赖氨酸 (Lys, K)

精氨酸 (Arg, R)

组氨酸 (His, H)

His

- 含咪唑基；
- 参与酶促反应中的质子传递反应，为多种酶的活性中心；
- 易与金属离子形成配位化合物，参与组成各种金属蛋白质。



Histidine

组氨酸

Lys、Arg

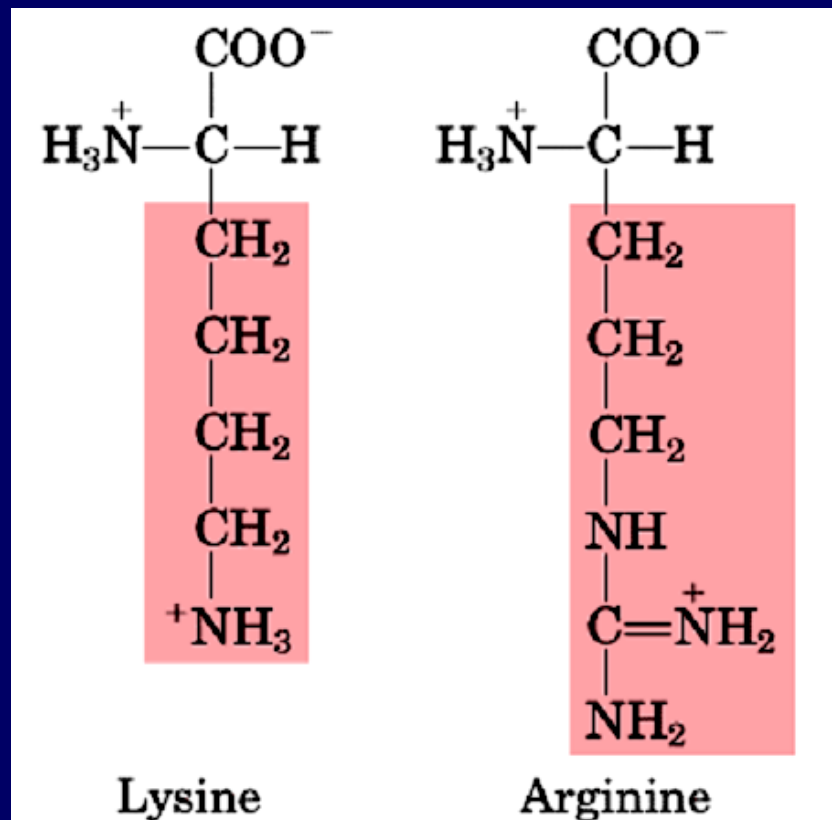
☎ 一般带正电荷，存在于蛋白质分子表面；

☎ 可与酸性氨基酸残基、肽链 C 端、核酸中的磷酸基团形成盐键；

☎ 与蛋白质活性有关：

Lys 长侧链可自由伸展在外，与蛋白质结合功能有关

Arg 可沿着侧链卷曲成疏水表面埋藏在蛋白质分子内，也可与蛋白质分子内的氧形成氢键从而稳定蛋白质，与酶的催化功能有关



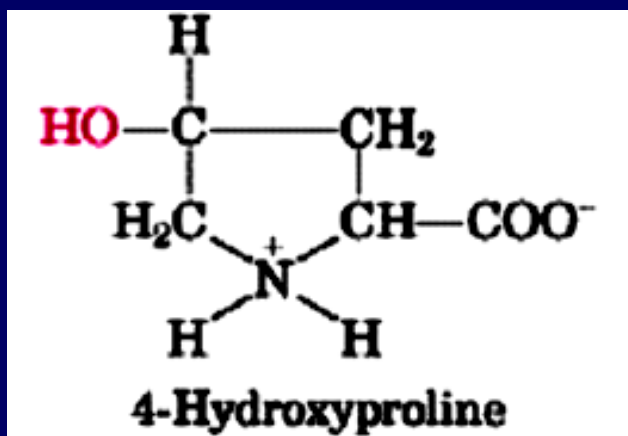
修饰氨基酸

- ▣ 翻译后修饰：即肽链中氨基酸残基的修饰，如O-磷酸化，羟基化，碘化，酰氨化，糖基化等
- ▣ 翻译时修饰：即翻译过程中氨基酸先经过修饰，然后掺入肽链中

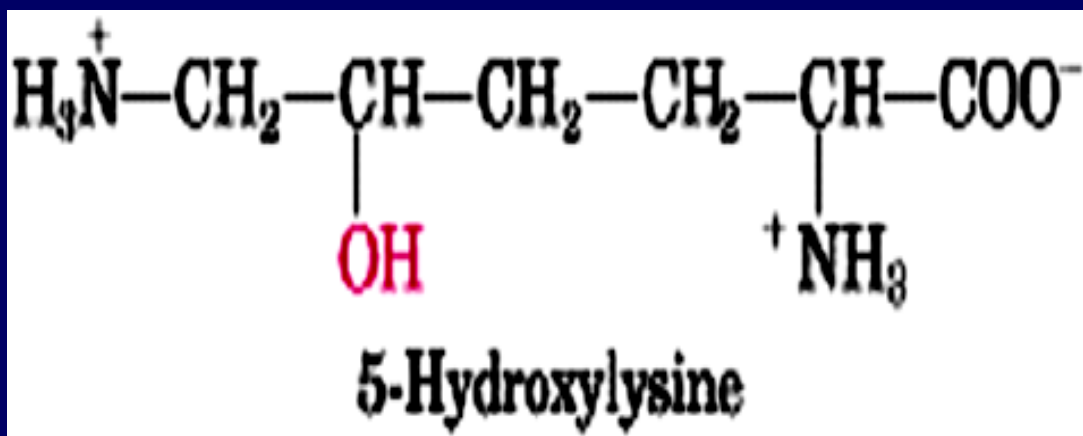
作用：

1. 保护蛋白质
2. 使蛋白质出现新的结构和功能

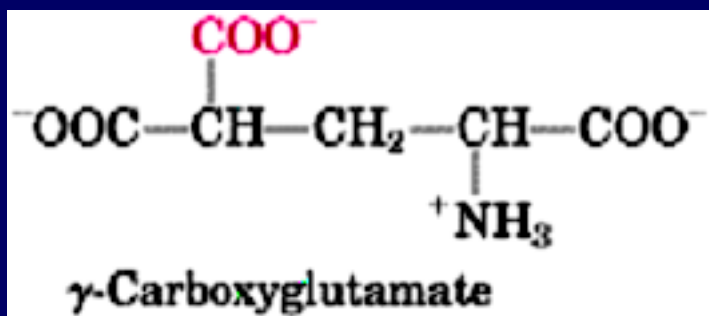
例一：翻译后修饰的氨基酸



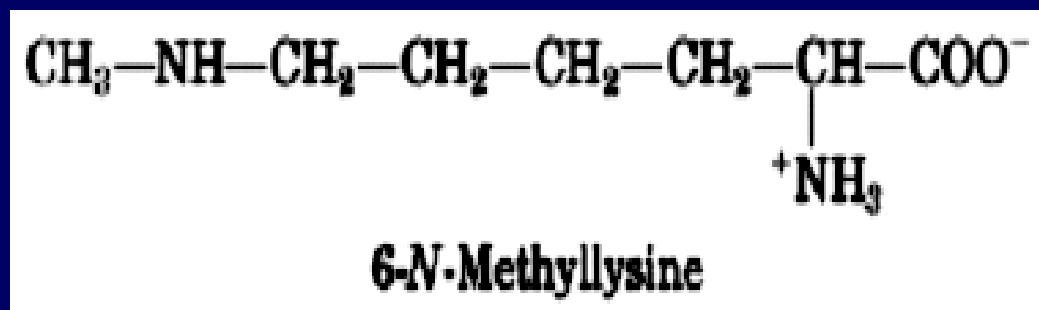
4-羟脯氨酸（胶原蛋白）



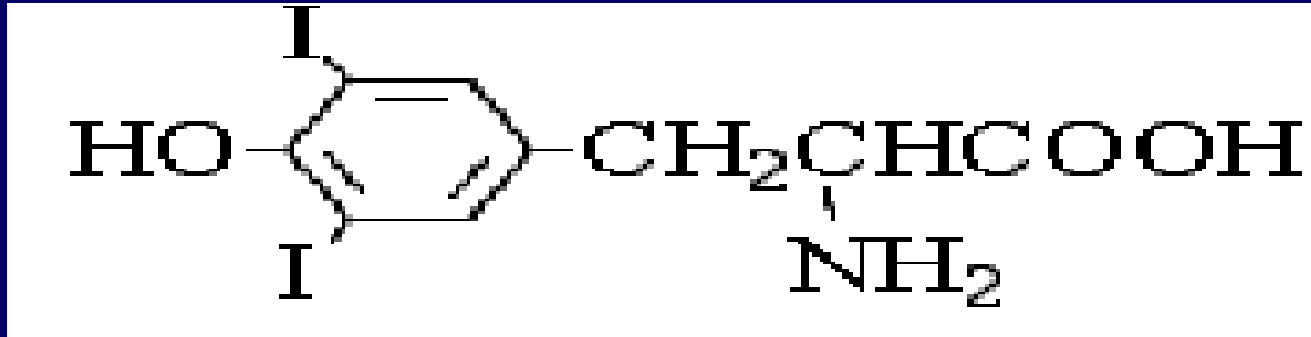
5-羟赖氨酸（结缔组织）



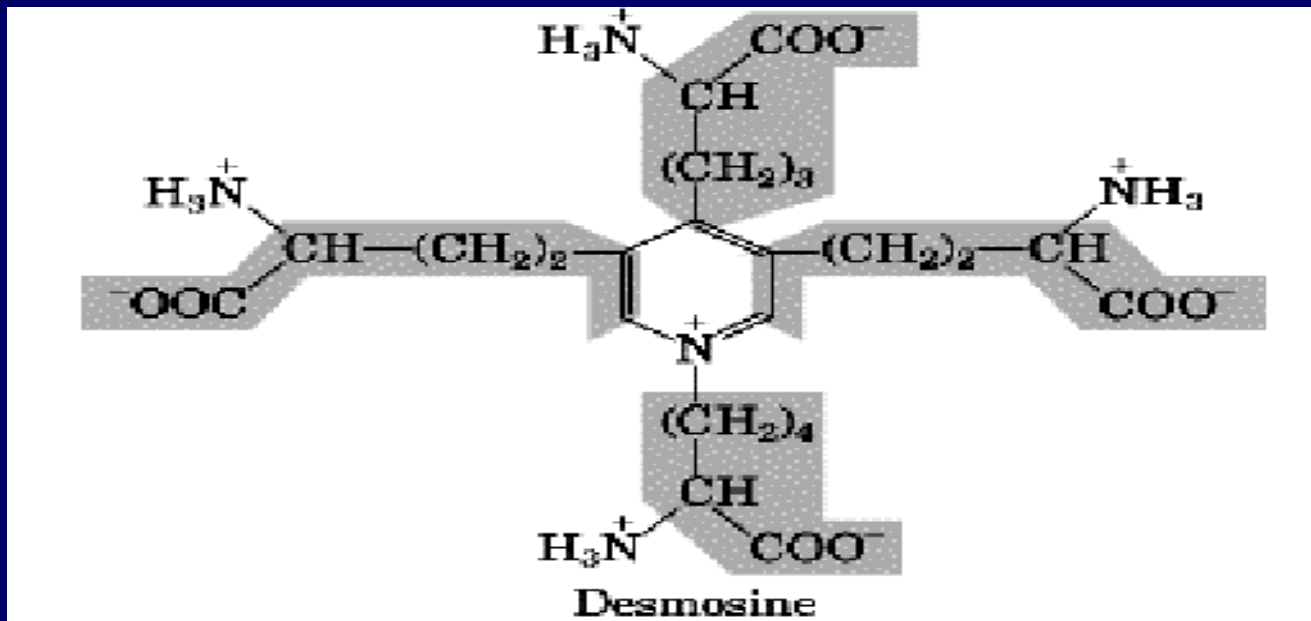
γ-羧基谷氨酸（凝血酶）



6-N-甲基赖氨酸



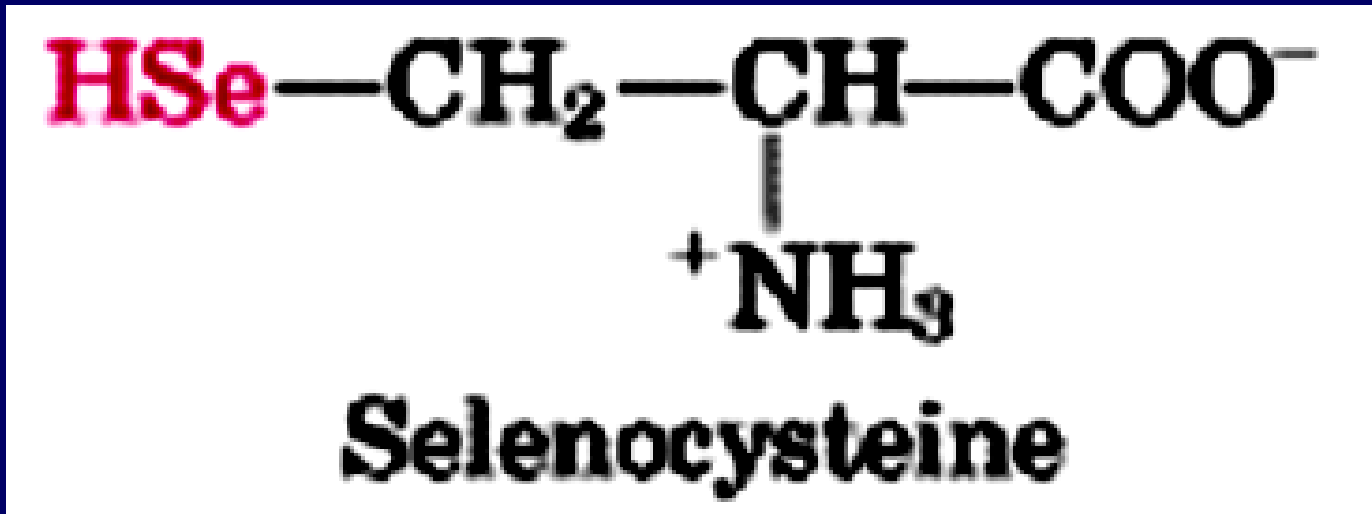
3, 5-二碘酪氨酸(甲状腺)



锁链（赖氨）素（弹性蛋白）

4个赖氨酸酶促生成，理论上可交联4条肽，但弹性蛋白只交联2条肽

例二：翻译时修饰的氨基酸



硒代半胱氨酸

翻译过程中，识别终止密码子 UGA 的特殊丝氨酸 tRNA 与丝氨酸结合后，酶促催化丝氨酸而形成硒代半胱氨酸，再进入核糖体参与某些蛋白质合成。

第二节 蛋白质一级结构与进化

一、蛋白质一级结构（primary structure）

蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序。


N → C

- 包括两个方面：
 - ▣ 蛋白质分子中多肽链的数目
 - ▣ 多肽链中氨基酸的精确排列

二、一级结构与进化

- 1、同源蛋白质 (**homologous protein**)
- 2、蛋白质家族与超家族 (**protein family and superfamily**)

1、同源蛋白质

 **定义：** 来自同一祖先蛋白质，随着进化而分化为具有不同功能特征的蛋白质

 **产生原因：**

- ♣ **趋异突变（divergent mutation）：** 导致蛋白质一级结构改变，使蛋白质被淘汰或形成新蛋白质
- ♣ **中性突变（neutral mutation）：** 不影响蛋白质功能

特征:

- ♣ 同源蛋白质的种属差异多见于蛋白质分子表面的氨基酸残基，内部残基的变异不仅少见，还往往借其他改变来进行补偿，借以减少肽链主体的任何紊乱，且变异常常是类似性质氨基酸；
- ♣ 任何两个无关的蛋白质肽链之间，一般都可能出现 5% 位置上残基相同的情况；
- ♣ 至少 15%（去除间隔与插入）位置上残基相同的蛋白质才有可能是一家族，15%~25% 的残基相同者属于准同源；

- ♣ 同源蛋白质某一特定位置的氨基酸残基可以相同 (**invariable**), 保守 (**conservative**) / 相似 (**similar**) 和可变 (**variable**) ;
- ♣ 高度保守的氨基酸残基对维持蛋白质的结构和功能非常重要;
- ♣ 同源蛋白质拥有共同的三维结构。

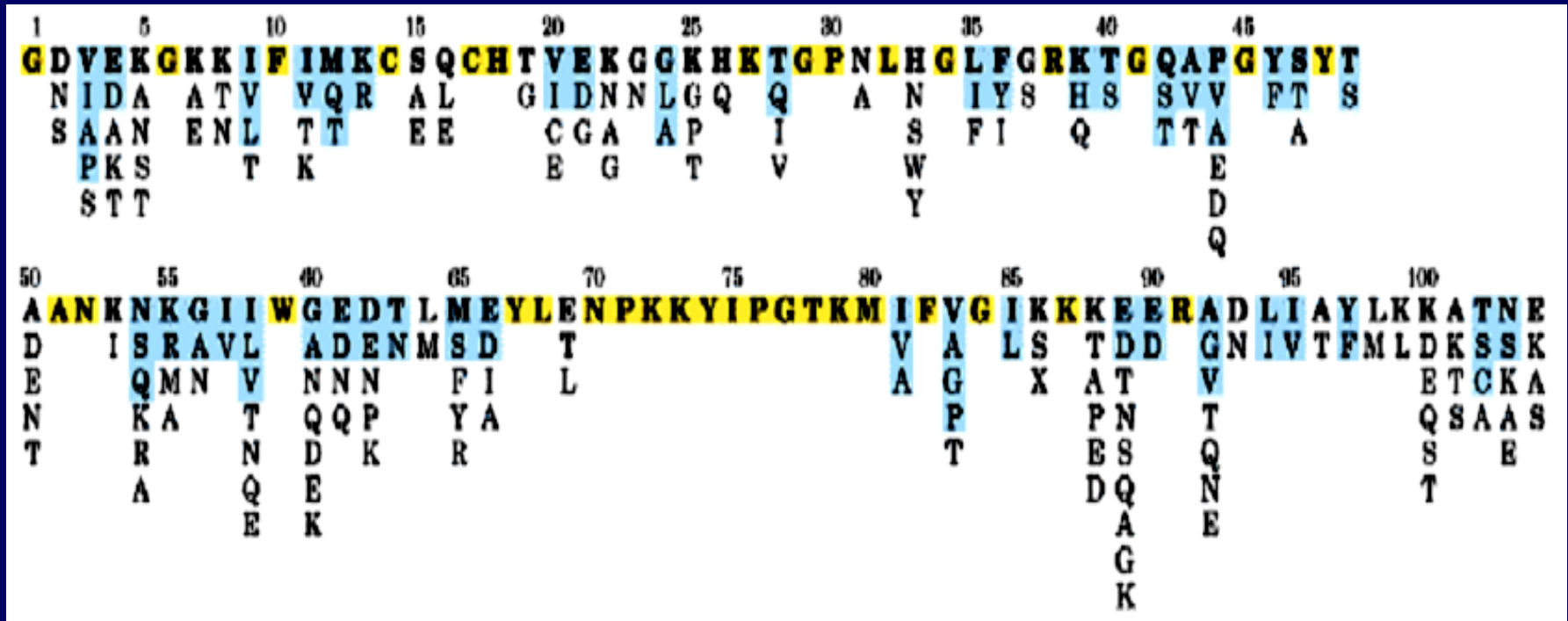
2、蛋白质家族与超家族

- ♥ 同源蛋白质序列中，残基相同多于 **50%** 者属于**同一家族蛋白质**
- ♥ 少于 **50%** 者属于**超家族蛋白质**。还应考虑蛋白质立体结构中结构域或模体的相似性及其与功能进化的关系
- ♥ 在蛋白质家族中根据其氨基酸序列相差少于 **20%** 者可划分为**亚家族 (subfamily)**

举例：细胞色素 C (cytochrome C)

- ✂ 60 各物种中，有 27 个位置上的氨基酸残基完全不变，是维持其构象中发挥特有功能所必要的部位，属于不变残基
- ✂ 可变残基可能随着进化而变异，而且不同种属的细胞色素 C 氨基酸差异数与种属之间的亲缘关系相关。亲缘关系相近者，氨基酸差异少，反之则多（进化树）
- ✂ 单位进化周期 (unit evolution period): 蛋白质在进化过程中每一个残基的变异所需时间

细胞色素 C (cytochrome C)



黄色： 不变残基 (invariable residues)

蓝色： 保守氨基酸 (conservative residues)

未标记： 可变残基 (variable residues)

第三节 蛋白质的空间结构

一. 稳定蛋白质空间结构的化学键和作用力

二. 蛋白质的二级结构

三. 蛋白质的三级结构

四. 蛋白质的四级结构

概 念

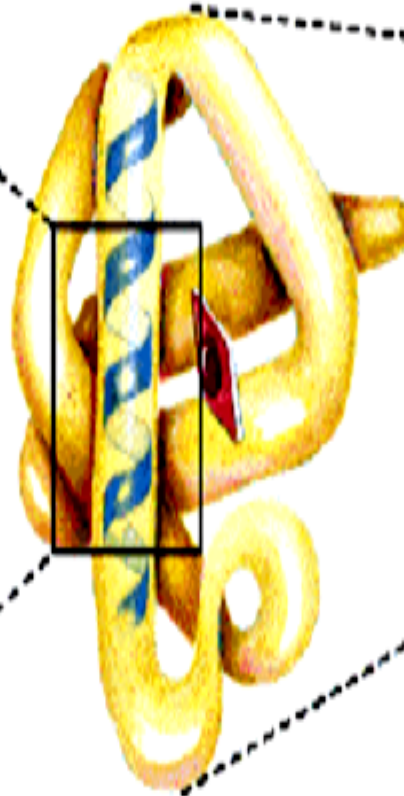
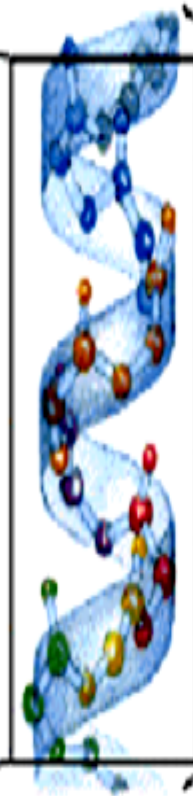
- 构象：蛋白质多肽链的所有碳原子由于单链旋转而稳定于一定的空间排布。
- 构象于蛋白质的各种功能相关。

Primary structure

Secondary structure

Tertiary structure

Quaternary structure



Amino acid residues

α Helix

Polypeptide chain

Assembled subunits

蛋白质空间结构的层次

一. 稳定蛋白质空间结构的化学键和作用力

1、**Van der Waals 力**

2、**氢键 (hydrogen bond)**

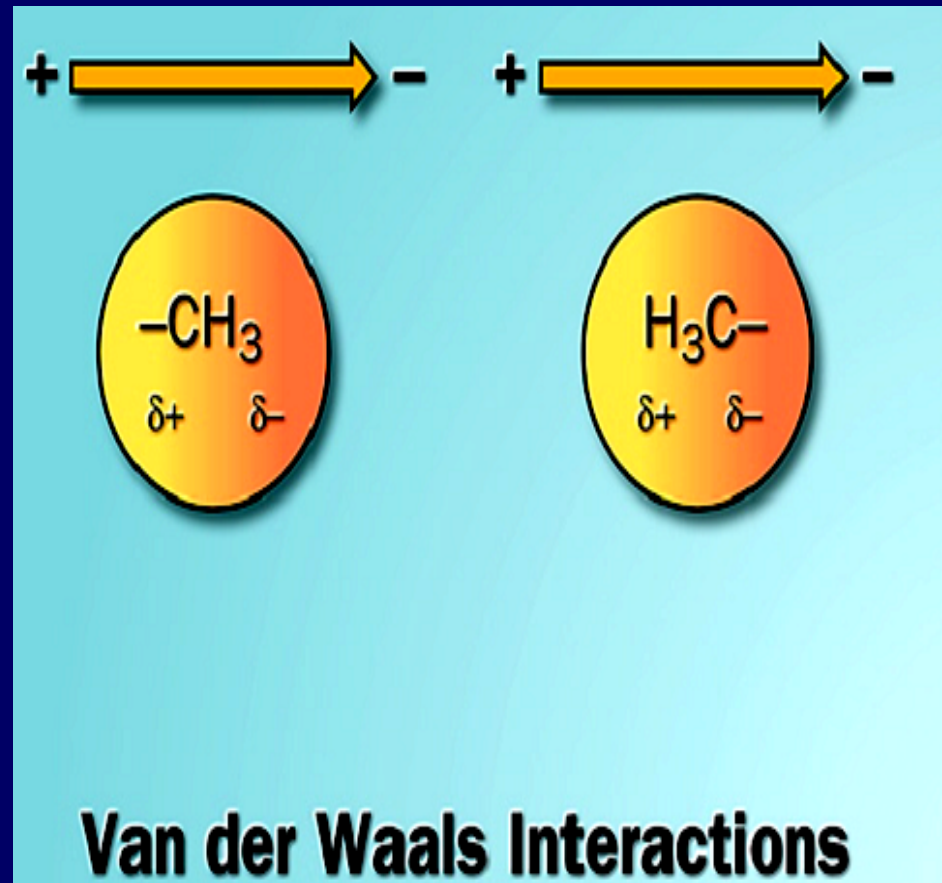
3、**盐键 (ionic bond)**

4、**疏水相互作用 (hydrophobic interaction)**

5、**二硫键 (disulfide bond)**

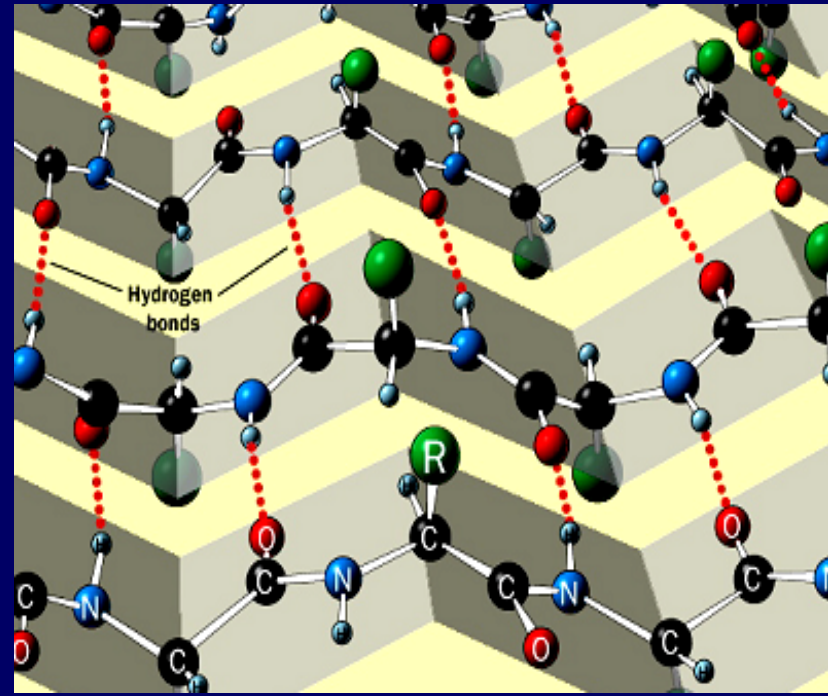
1、Van der Waals 力

- 非特异性相互作用
- 存在于所有分子中及分子之间
- 能量：1 kcal/mol
- 在两个结构互补的大分子之间大量形成
- 介导酶与底物、抗原抗体结合

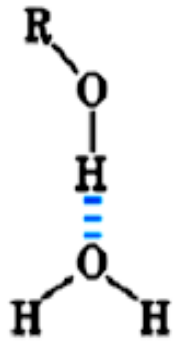


2、氢键 (hydrogen bond)

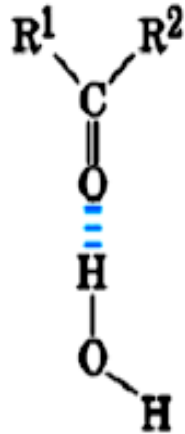
- 形成氢键的主要基团：
羟基，氨基，羰基等；
- 蛋白质中至少 50% 的内部
极性基团参与形成氢键；
- 氢键多呈直线排列，键能较大，是维持蛋白质
构象的重要化学键；
- 蛋白质侧链残基之间及残基与主链之间也能形
成氢键。



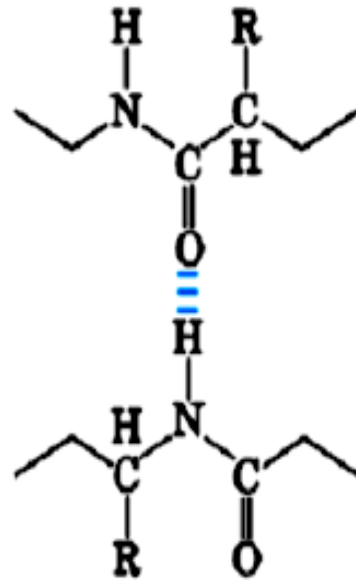
Between the hydroxyl group of an alcohol and water



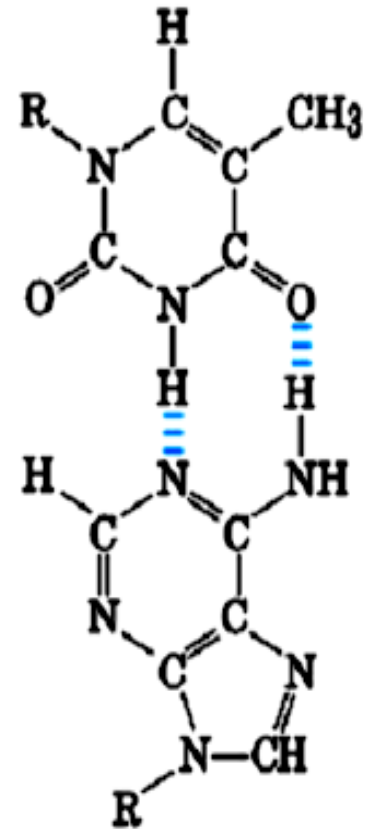
Between the carbonyl group of a ketone and water



Between peptide groups in polypeptides



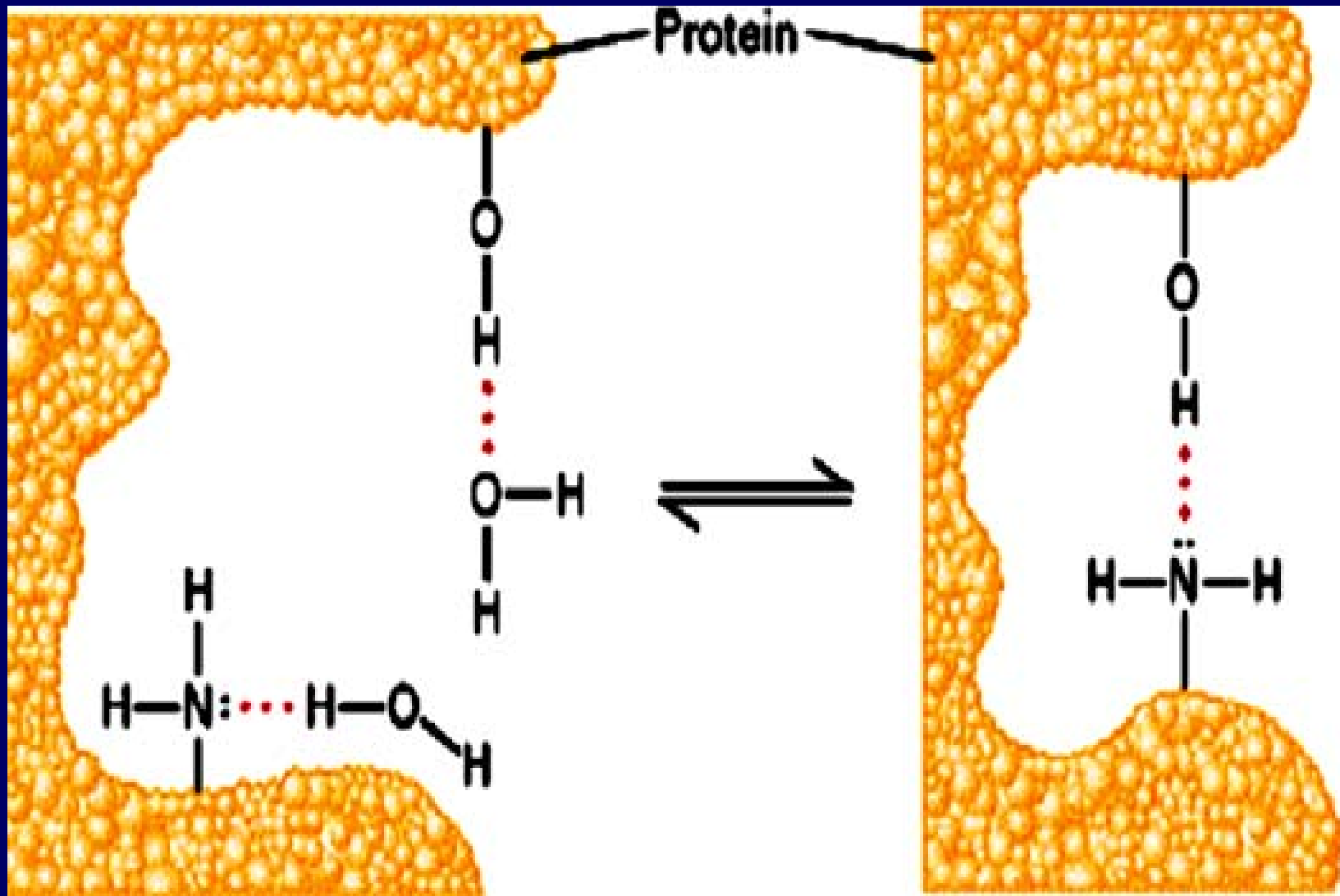
Between complementary bases of DNA



Thymine

Adenine

不同基团间形成氢键



蛋白质中的氢键

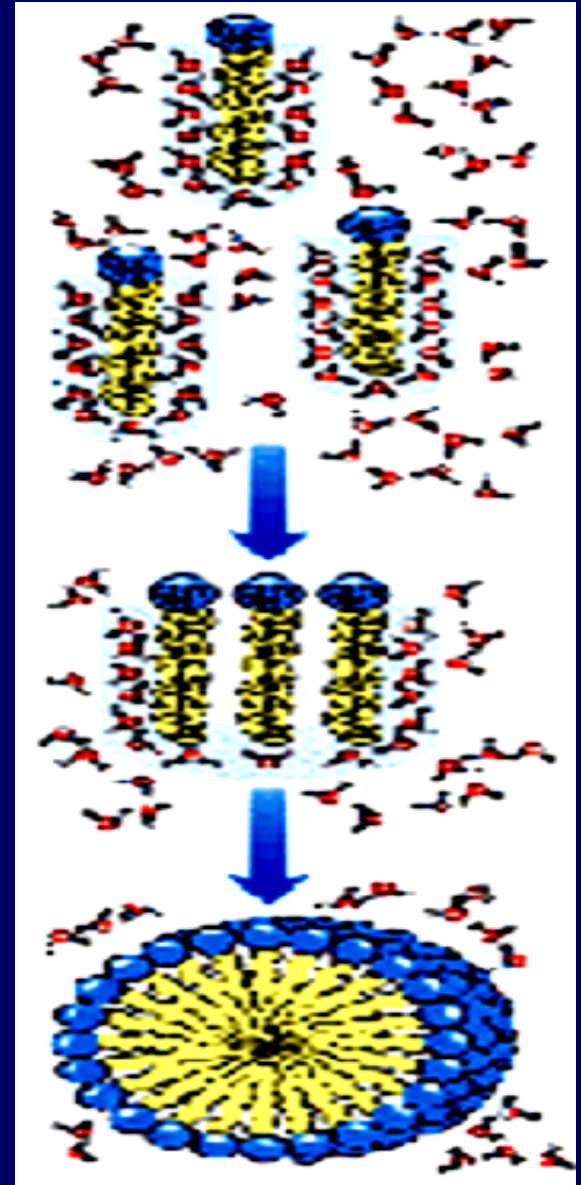
3、盐键（ionic bond）

- 蛋白质的酸性或碱性氨基酸侧链间；
- 多般分布在蛋白质分子表面；
- 盐键较其他键较少，作用有限。

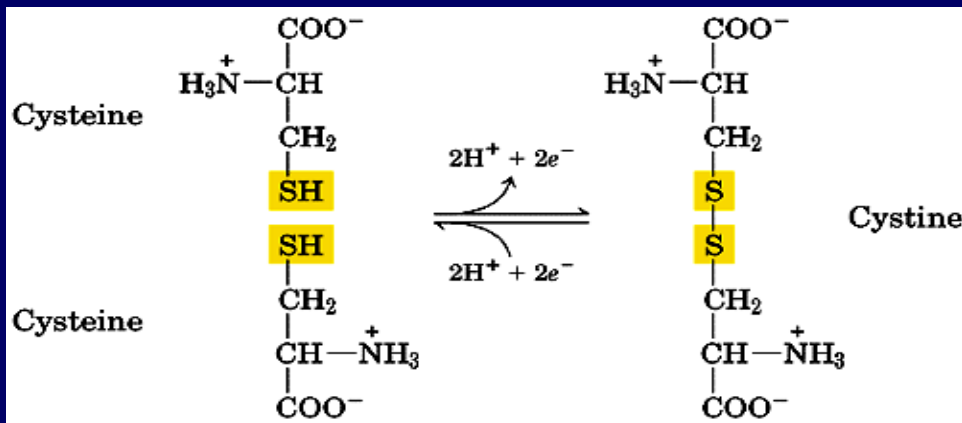


4、疏水作用 (hydrophobic interaction)

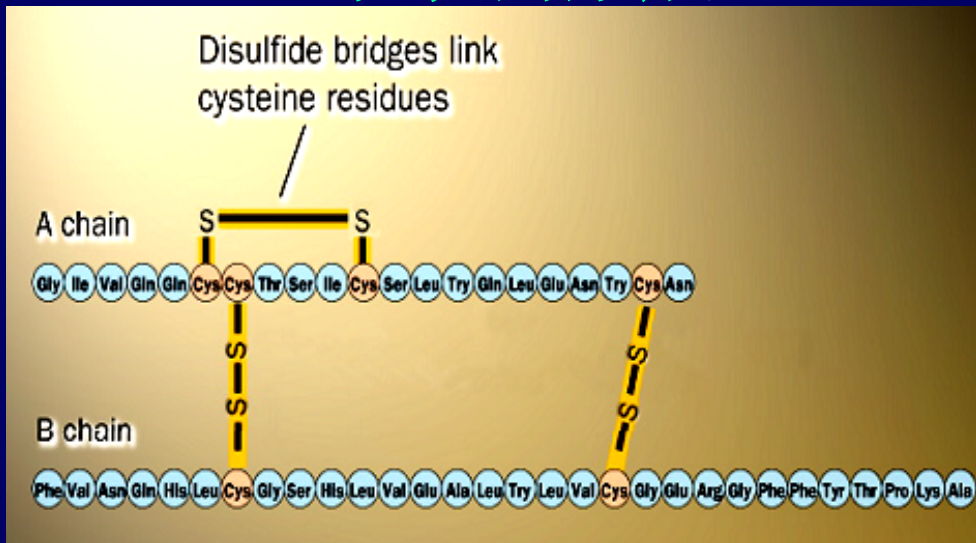
- 在水介质中，非极性基团趋于聚集，以减少非极性基团与水的界面，从而使蛋白质形成疏水核心；
- 是球状蛋白形成稳定构象的主要作用力。



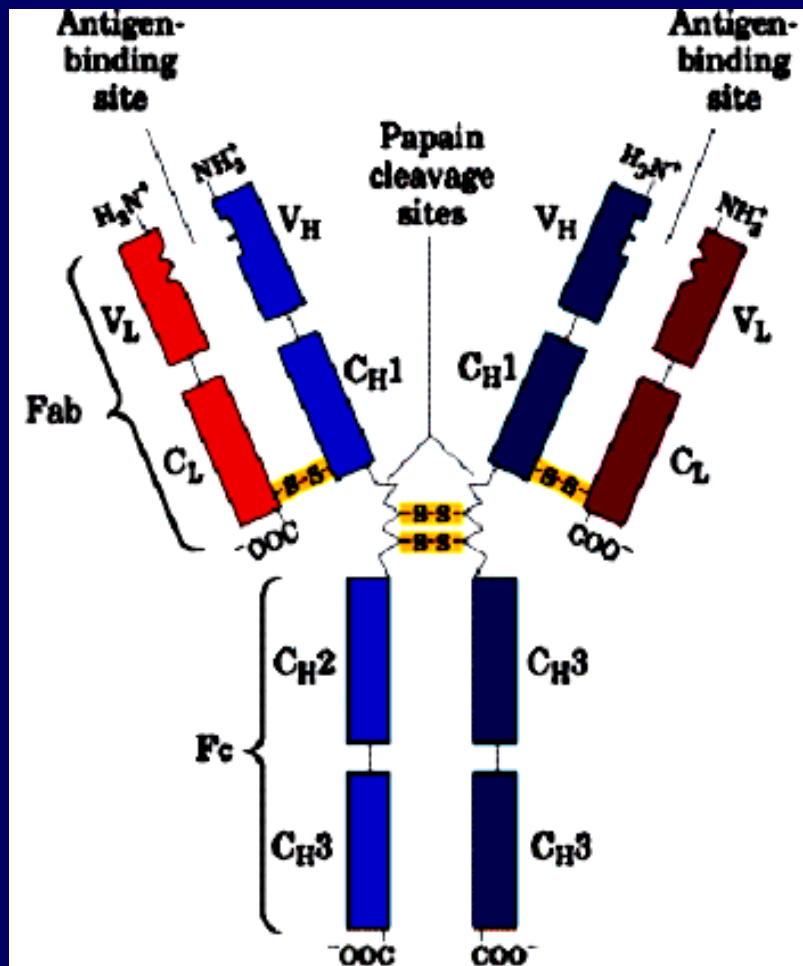
5、二硫键 (disulfide bond)



二硫键的形成



胰岛素 (insulin)



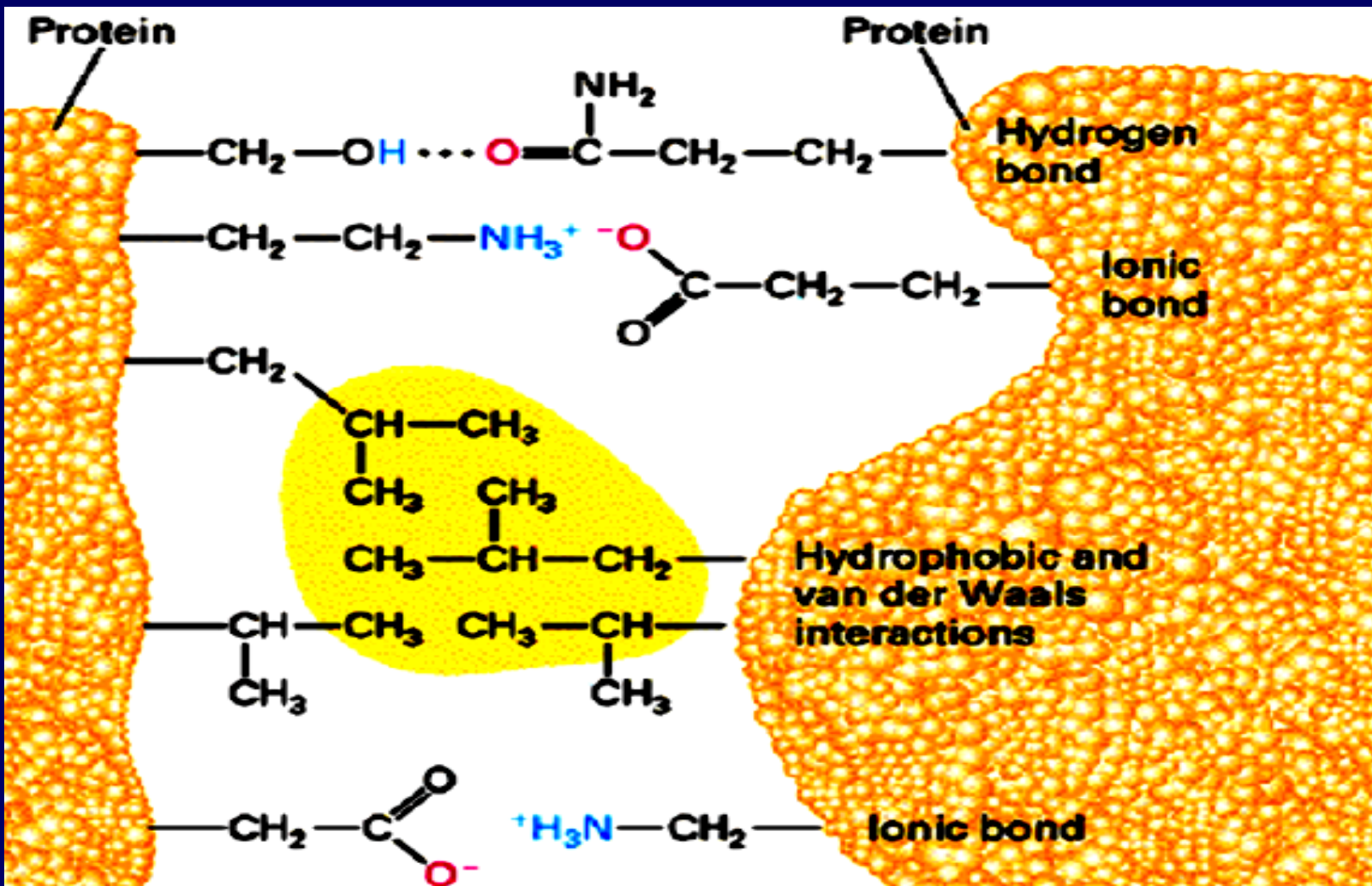
免疫球蛋白

(immunoglobulin)

二硫键（disulfide bond）

- 蛋白质半胱氨酸之间自发形成二硫键；
- 分子量较大的蛋白或分泌性蛋白多借二硫键维持其结构；
- 胞内蛋白质的二硫键与其功能密切关系，如收缩蛋白质及微管蛋白依赖于**巯基与二硫键的转换**调节其功能；
- 亚基间二硫键是维持许多蛋白质功能必不可少的条件，如**免疫球蛋白重链与轻链通过二硫键结合**，有利于维持其抗原结合部位的特异性。

蛋白质表面结构的互补产生了众多的弱键，这些弱键反过来又增强了蛋白质之间的结合特异性。



一. 蛋白质的二级结构

1、 α -螺旋 (α -helice)

2、 β -折叠 (β -pleated sheet)

3、 β -转角 (β -turn)

4、无规卷曲 (random coil)

5、无序结构

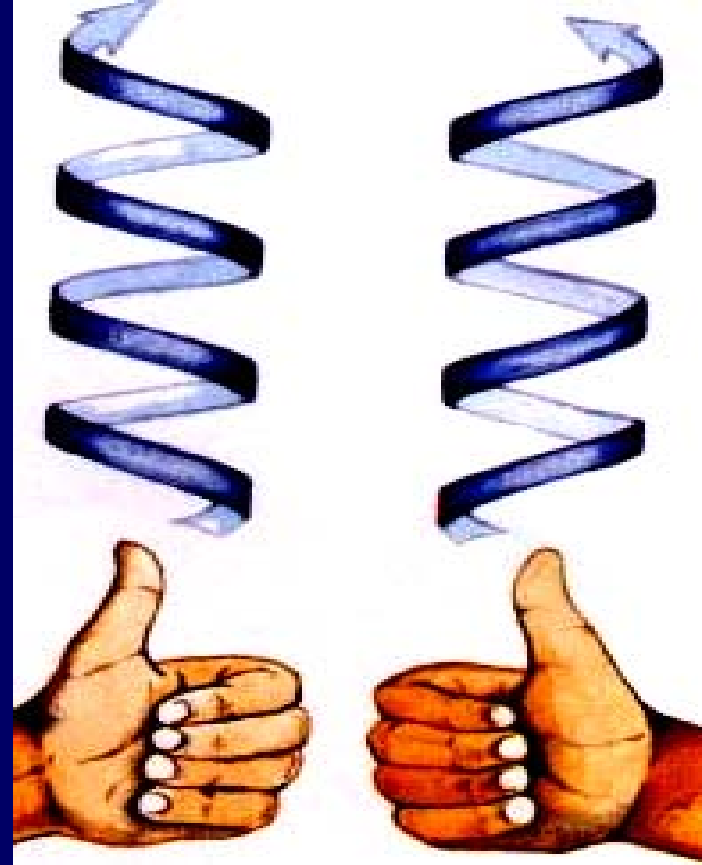
1、 α -螺旋（ α -helice）

- ① 结构特点
- ② 球状蛋白质中的 α -helice
- ③ α -helice 稳定性影响因素
- ④ 两亲 α -helice（amphipathic α -helices）
- ⑤ 举例： α -角蛋白（ α -keratin）

α -螺旋 (α -helice)



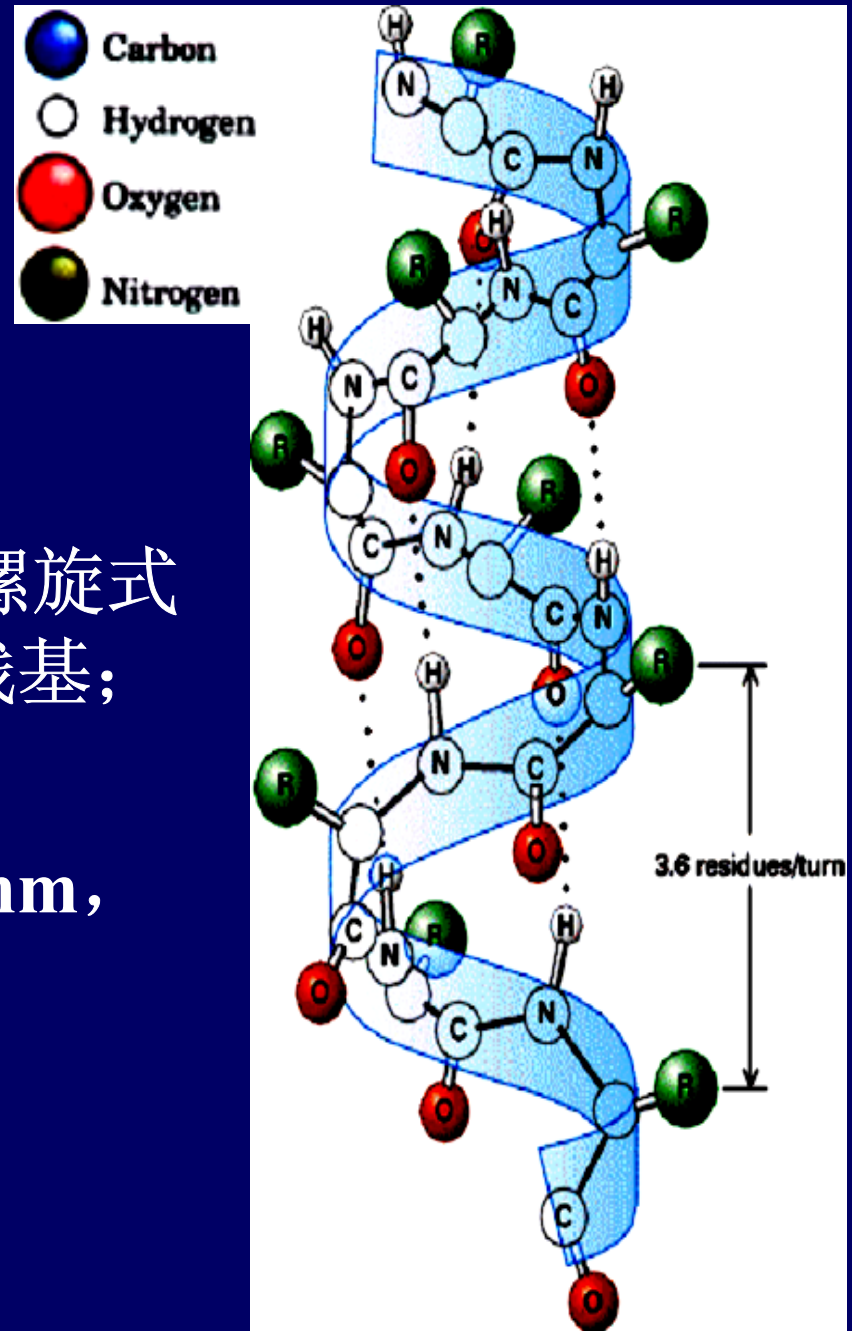
α -helice



左手和右手螺旋

① 结构特点

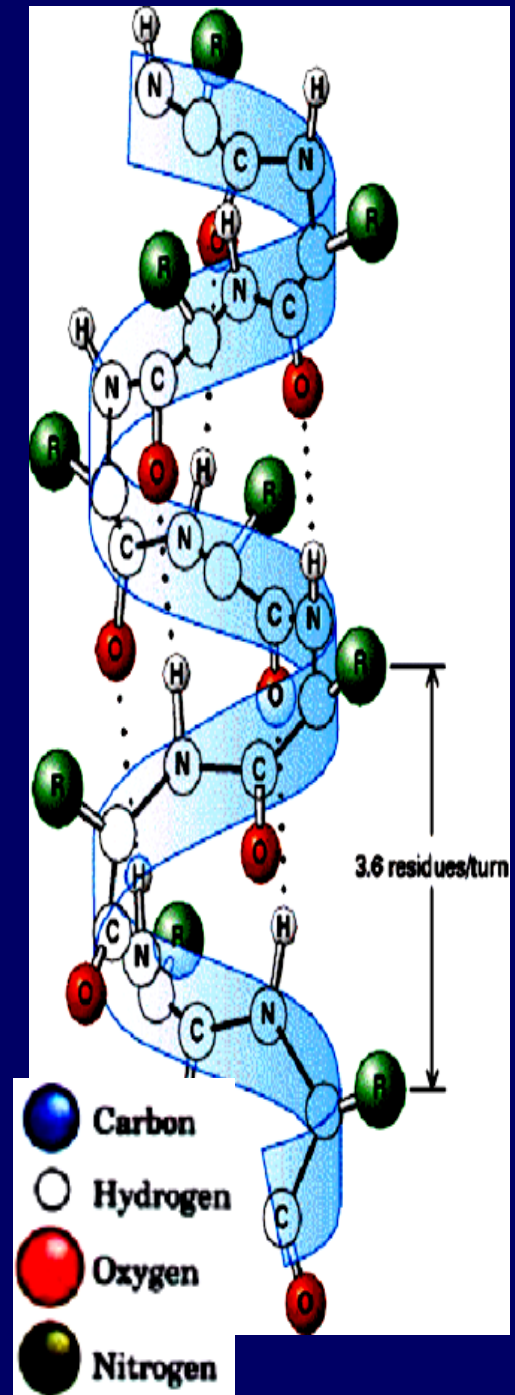
- 蛋白质中多为右手螺旋；
- 多肽链主链骨架围绕中心轴螺旋式上升，每上升一圈为 3.6 个残基；
- 每个残基沿中心轴上升 0.15 nm，旋转 100°



结构特点（续）

- 氢键所封闭的环由共价键和氢键构成，包含13个原子，涉及3.6个氨基酸，用 3.6_{13} 表示；理论上还有 3_{10} 螺旋和 π 螺旋（ 4.4_{16} 螺旋）；
- 亲水和疏水性完全取决于侧链。因为肽链骨架中的极性基团都参与了氢键的形成；
- 肽链主体的各个原子具有紧密堆积的结构特征，中心轴旁几乎不存在空间。因此 α -螺旋是相当稳定的结构状态。

蛋白质的功能区常不在 α -螺旋区，而在其附近



② 球状蛋白质中的 α -helice

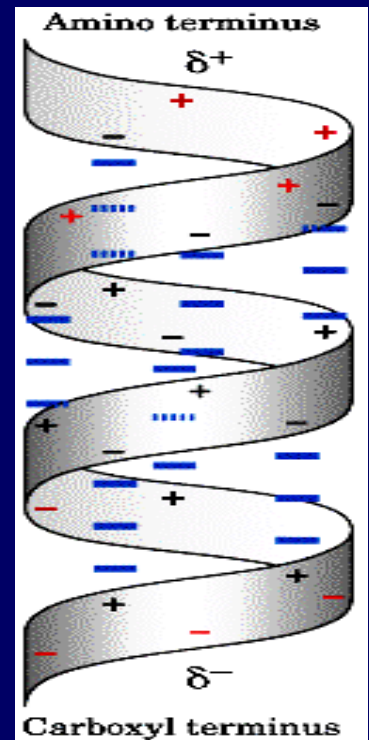
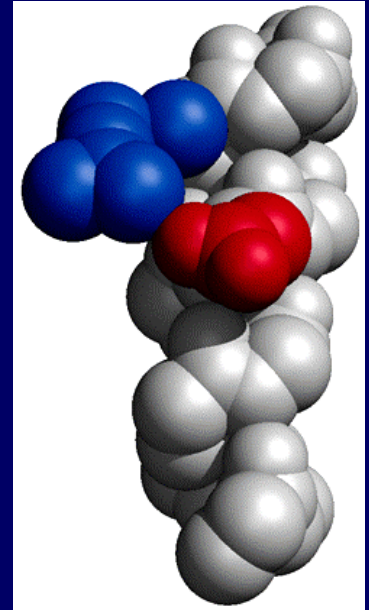
- α -螺旋的末端一圈常形成不典型的 3.6_{13} 螺旋，称为 α_{II} 螺旋，故不能继续形成螺旋；
- 球蛋白中的各个 α -螺旋段均较短，平均为 12 个氨基酸残基组成。
- α -螺旋稳定性最好，故主链各种氨基酸（除了 Gly、Pro 外）都有折叠成 α -螺旋的倾向。但侧链结构的构象、疏水性、极性、荷电等特点，以及周围肽链、环境的实际情况，都影响 α -螺旋的延伸

③ α -helice 稳定性影响因素

- C_{α} 连接的 R 侧链之间的相互作用 (相隔 2~4 个氨基酸, 或相邻氨基酸的大 R 基团), 影响 α -螺旋的稳定或形成;

- Pro 的吡咯烷环阻止 α -螺旋的形成;

- 肽链上连续存在的极性基团之间的相互作用, 影响螺旋的稳定性;

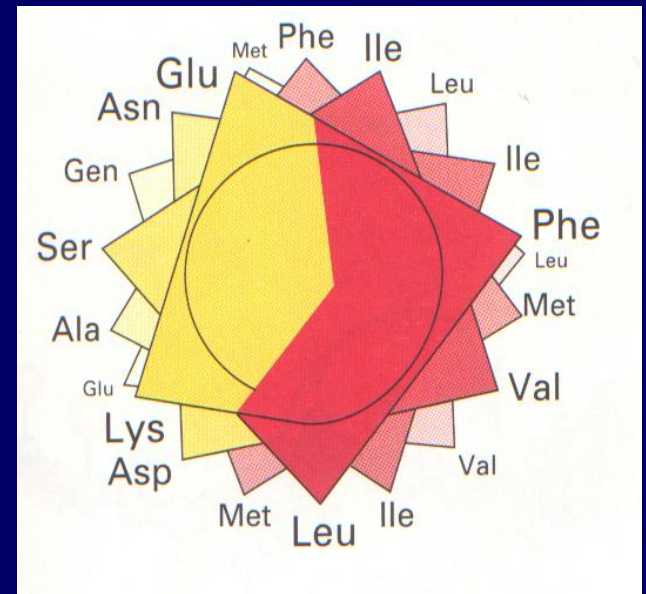
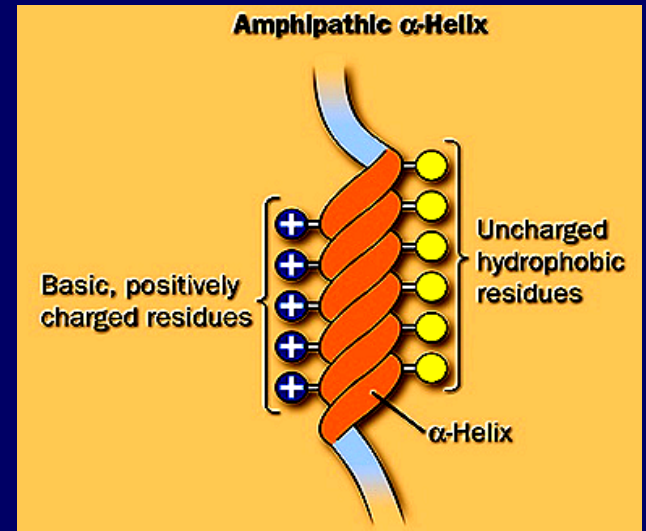


α -helice 稳定性影响因素（续）

- Gly 残基处酰胺平面的自由旋转，二面角很难固定在 α -螺旋所许的范围内，不易形成 α -螺旋；
- N-terminus 的酸性氨基酸残基（Glu, Asp）能稳定带正电的 α -螺旋；
- C-terminus 的碱性氨基酸残基（Lys, Arg）能稳定带负电的 α -螺旋。

④ 两亲 α -helice (amphipathic α -helices)

- 亲水侧链伸向一侧，疏水侧链位于相反的一侧；
- 残基的排列象一个“车轮”：亲水性残基都位于“车轮”的一面，疏水性残基在另一面
- 在纤维状和球状蛋白质中非常重要，使蛋白质形成亲水的表面和疏水的核心



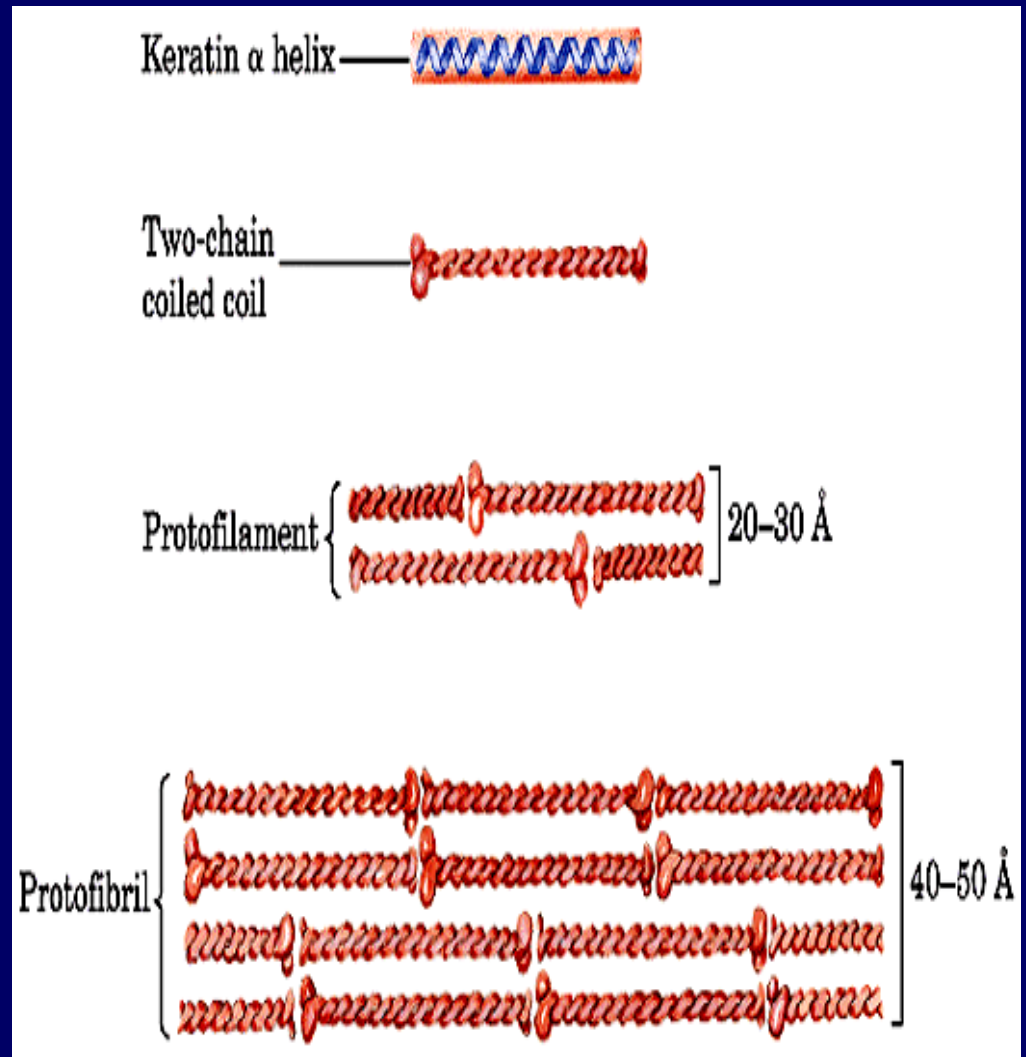
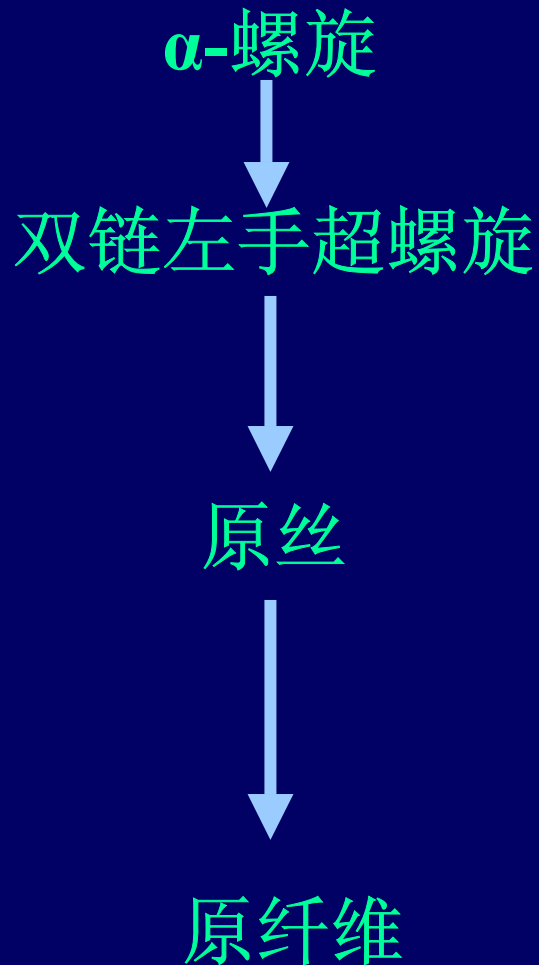
⑤ 例： α -角蛋白（ α -keratin ）

特点：

- 动物毛发、皮肤、及指、趾甲等结构；
- 富含疏水性氨基酸，如 Phe, Ile, Val, Met, 和 Ala，故不溶于水；
- 基本单位：角蛋白原纤维（**protofibril**）；
- 原纤维单体由两条 α -螺旋相互盘曲形成的左手超螺旋（**superhelix**）；
- 链间作用力：van der Waals 力和二硫键。

α -角蛋白 (α -keratin)

结构:



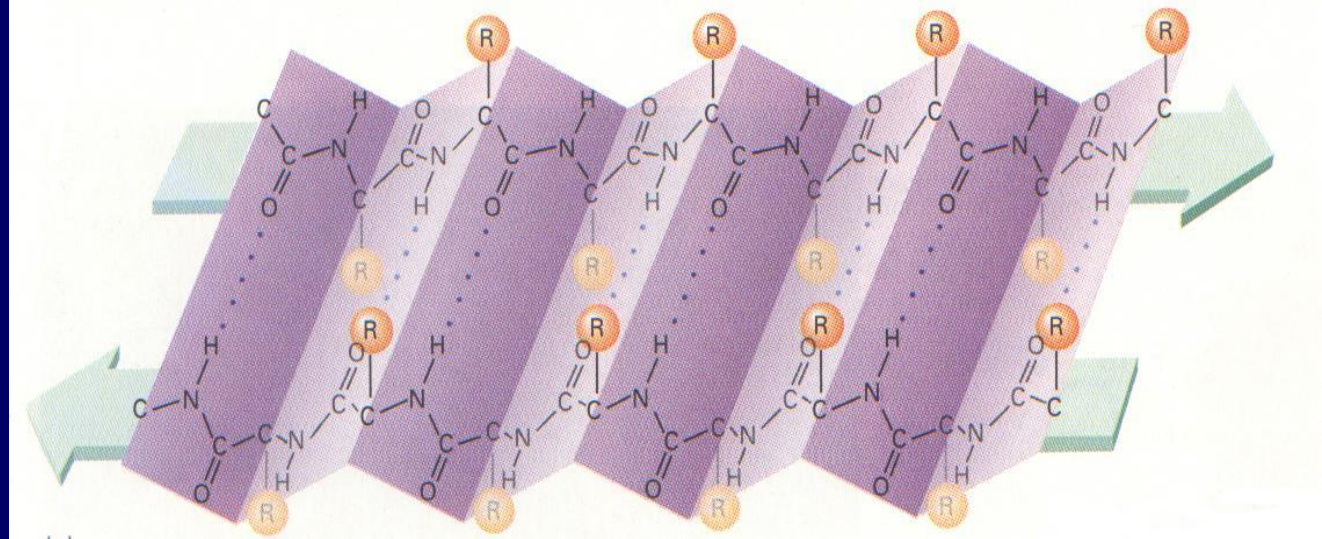
2、 β -折叠 (β -pleated sheet)

① 结构特点

② 球状蛋白质中的 β -pleated sheet

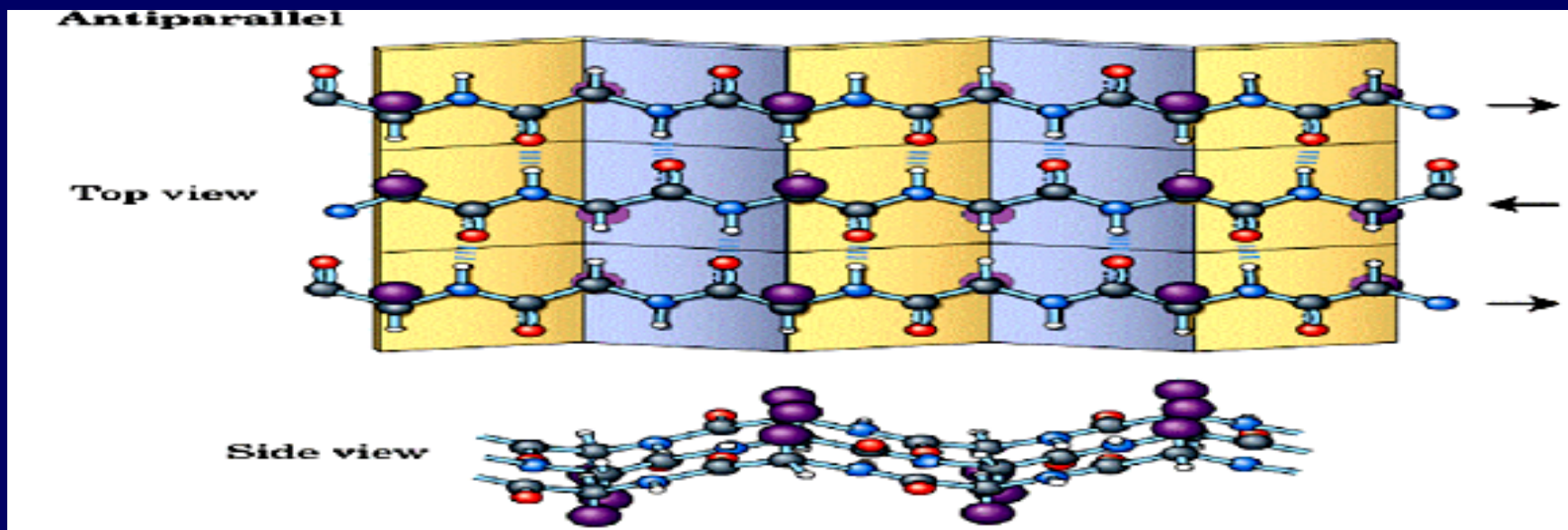
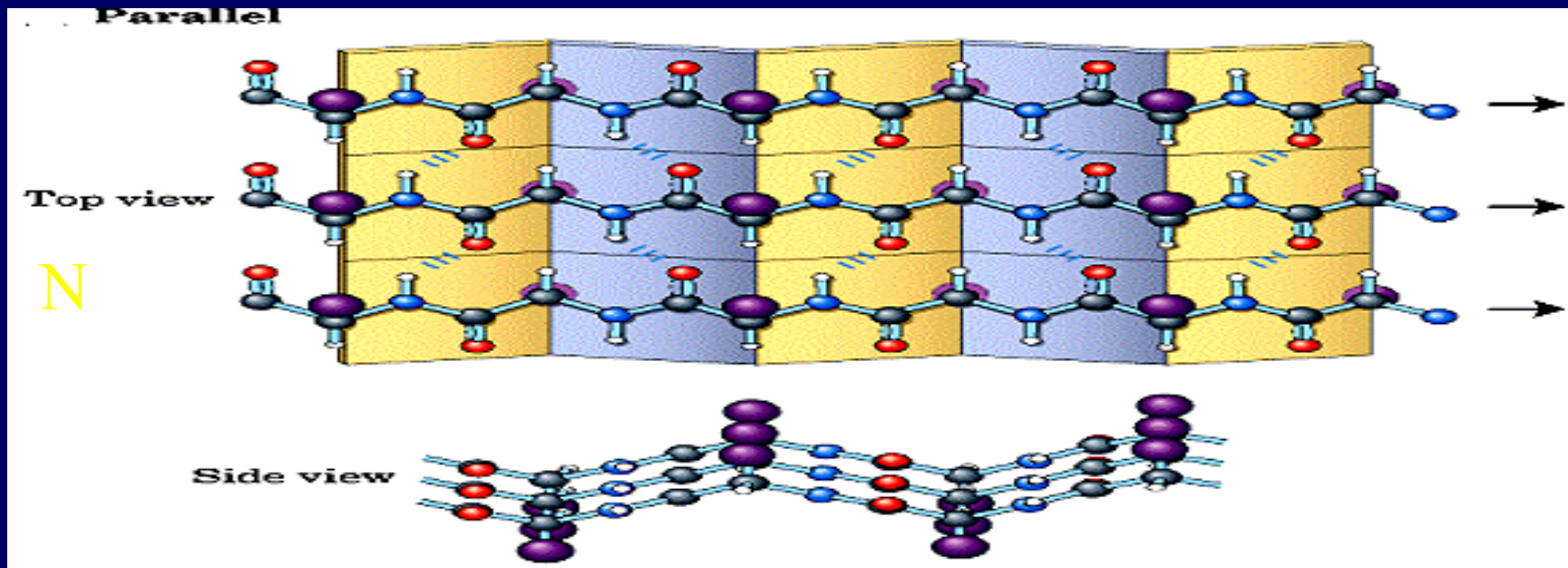
③ 举例：丝心蛋白

① 结构特点

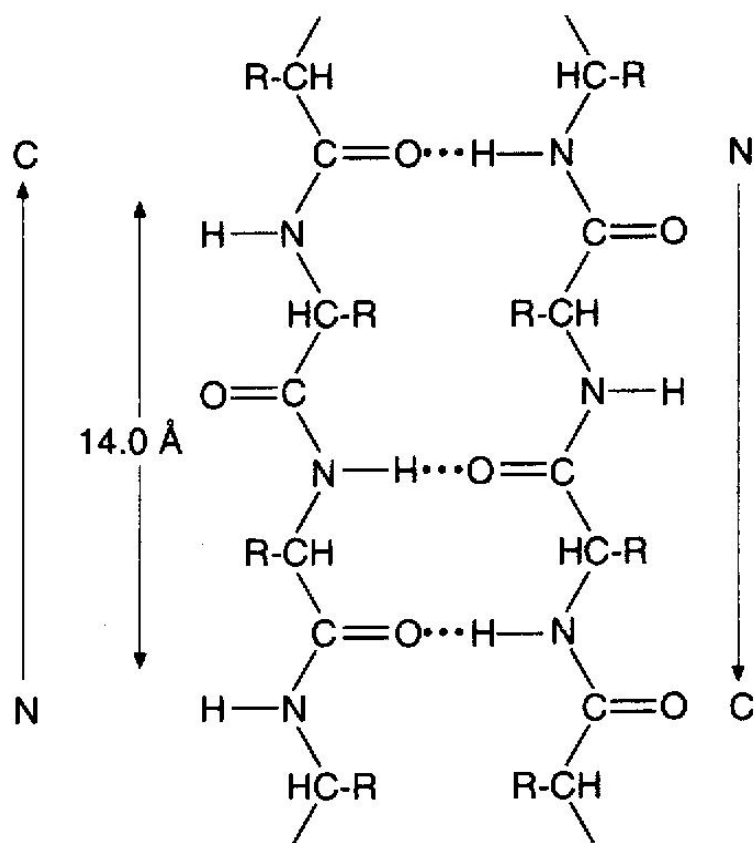


- 两个或多个几乎完全伸展的肽链平行排列；
- 相邻肽链间通过 N-H 与 C=O 形成规则的氢键；
- 相邻 β 折叠层之间的距离约为 0.35 nm；
- 相邻残基的 R 基团向着相反的方向；
- 平行式 (parallel) 和反平行式 (antiparallel) 两种

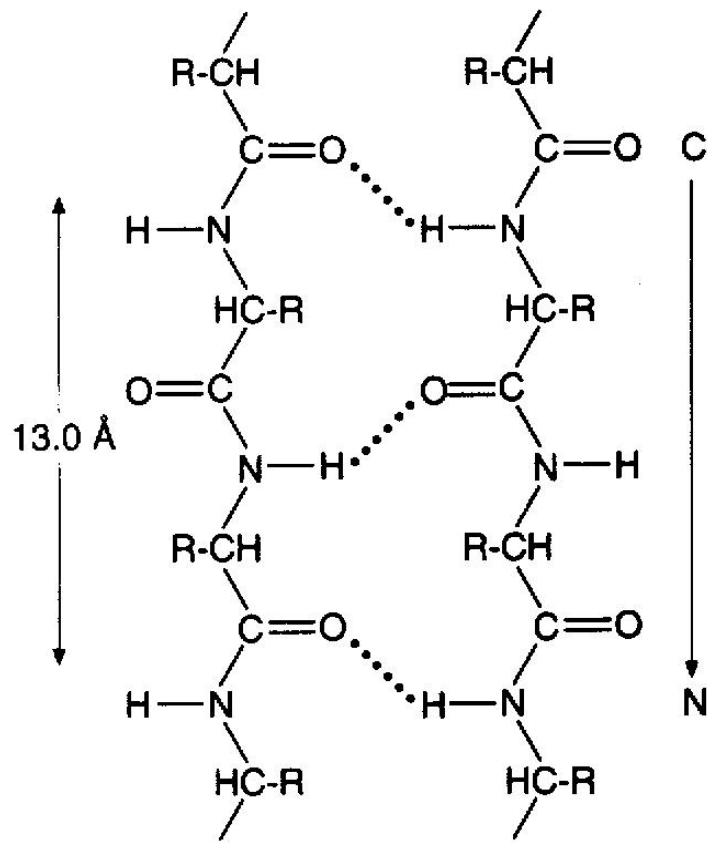
β -折叠的平行式和反平行式



β -折叠的平行式和反平行式



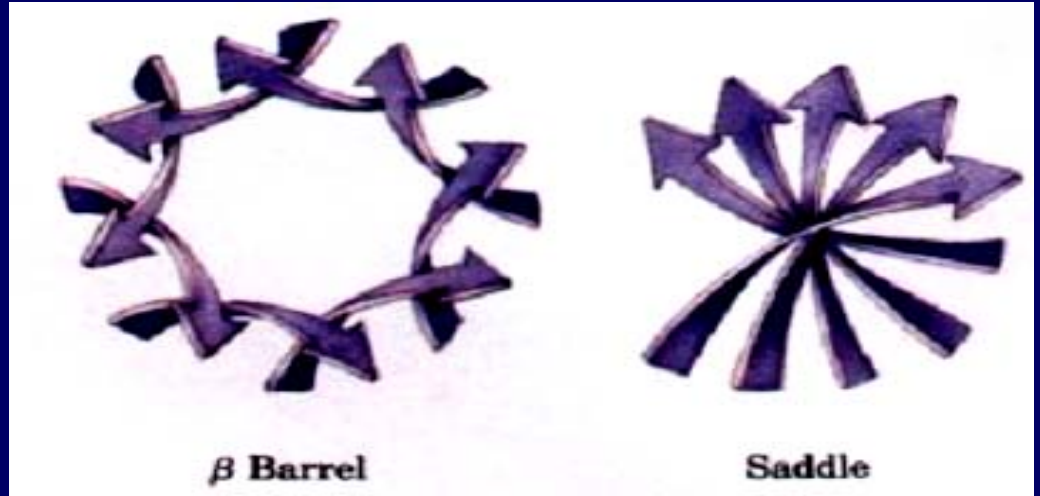
Antiparallel



Parallel

② 球状蛋白质中的 β -pleated sheet

- 球蛋白中常含有短肽链的 β -折叠；
- 平行 β -折叠常出现于多股肽链中，而反平行的两股肽链则出现明显的右手扭曲，每 5 个残基就能扭曲 180° 。这种扭曲导致 β 片层整体形成缓慢的大扭曲片层，如**马鞍形结构**（saddle）和 **β -桶**（ β -barrels）

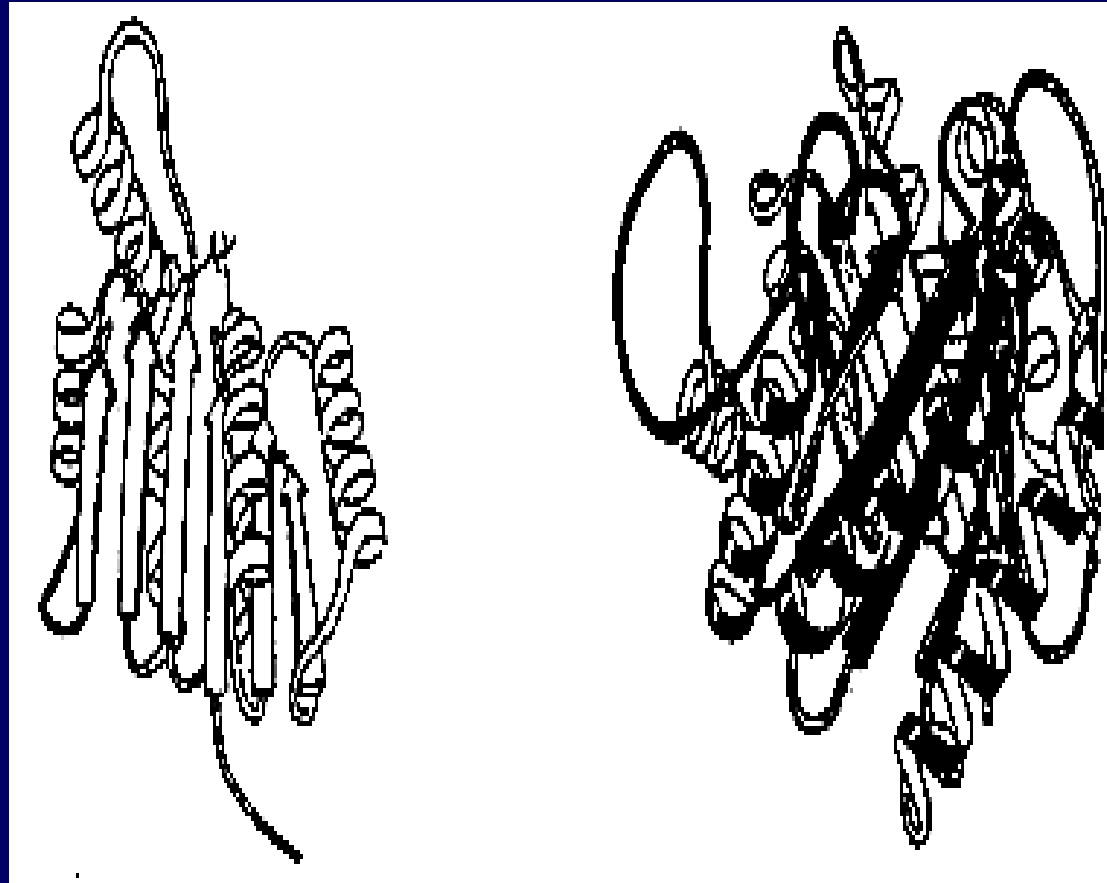


β -桶

马鞍形结构

球状蛋白质中的 β -pleated sheet

- 平行 β -折叠常出现在分子内部，而反平行 β -折叠则一侧埋藏在内，另一侧暴露于溶剂，故其氨基酸序列常为亲水性与疏水性交替；
- 富含 β -折叠的蛋白质稳定性较差，易变，常与蛋白质的生物学功能有关。

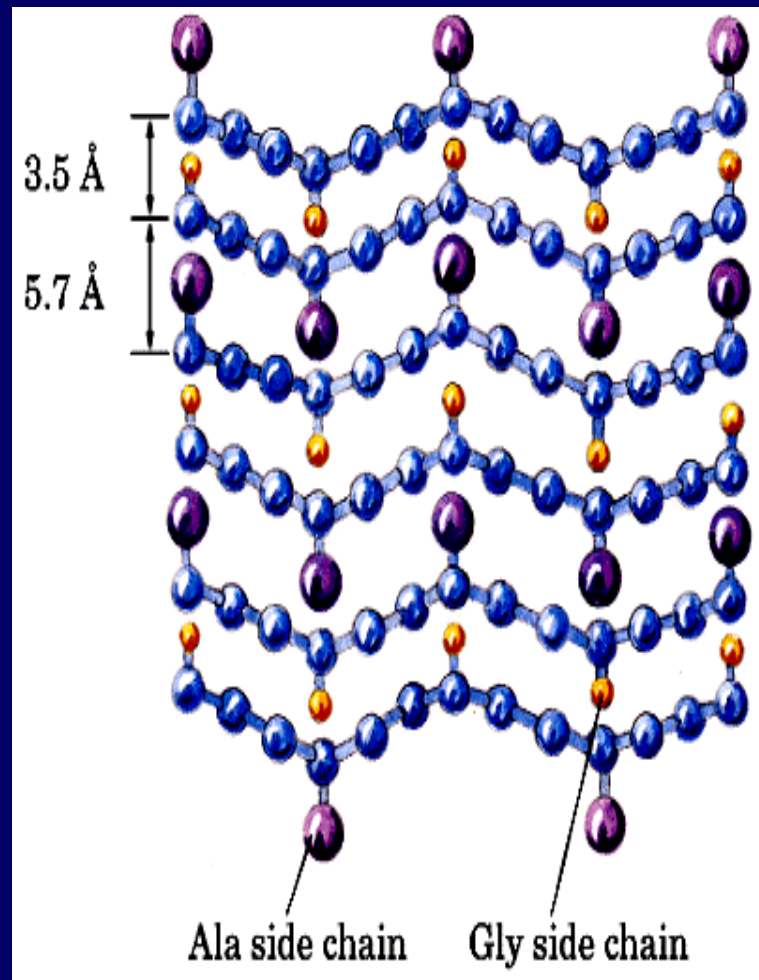


乳酸脱氢酶结构域

磷酸甘油醛异构

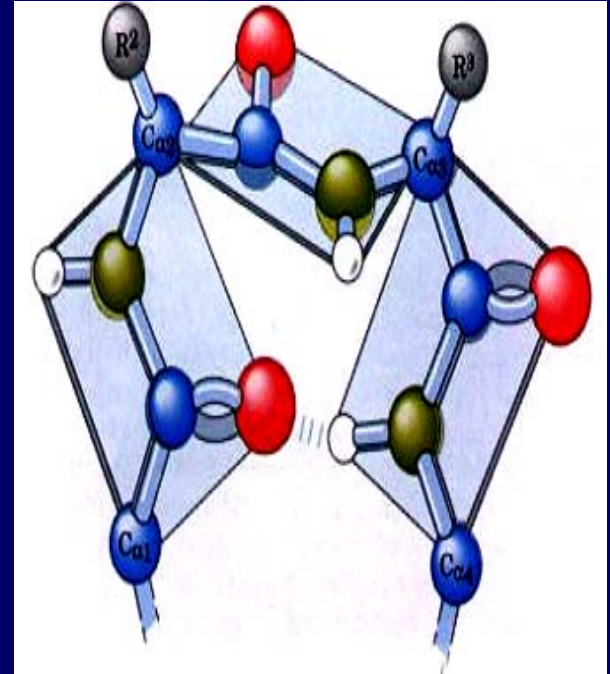
③ 例：丝心蛋白

- 蚕丝中的主要蛋白质；
- 由大片的反平行 β -折叠堆积成的多层结构；
- 一级结构含以下重复序列：
[甘-丙-甘-丙-甘-丝-甘-丙-丙-甘-丝-甘-丙-甘-丙-甘)₈];
- Gly 残基几乎呈隔位排列，Gly 残基之间为结构简单的 Ala 或 Ser 残基；
- Gly 残基位于 β -折叠层的同侧，Ala 及 Ser 残基位于 β -折叠层的另一侧；
- β 片层之间的作用力：van der Waals 力和氢键，故丝比较柔软，但又相当牢固。

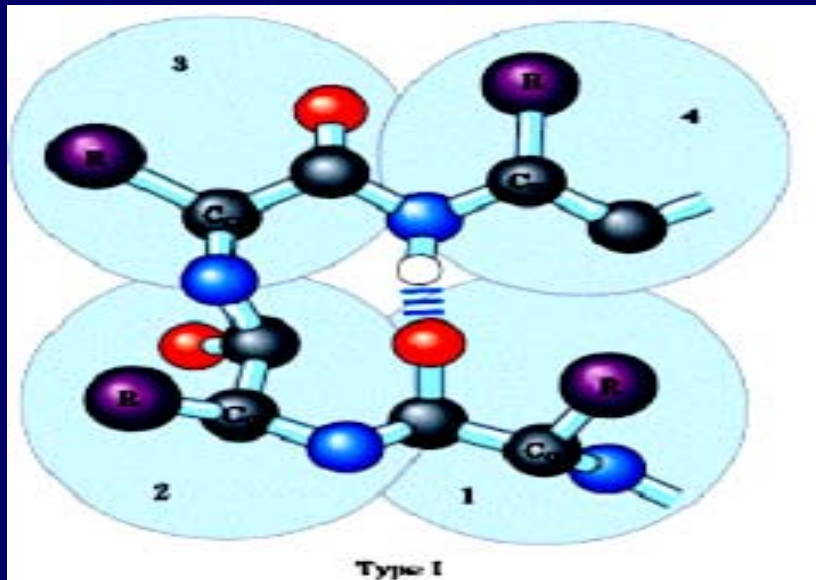


(3) β -转角 (β -turn)

- 在各种二级结构之间起连接作用：
如 α -helice 与 α -helice, α -helice 与 β -pleated sheet, antiparallel 与 antiparallel;
- 亲水性氨基酸残基易形成 β -转角，故常位于分子表面；
- 甘、脯AA常出现在 β -转角中，转角的中间多为脯-天或脯-甘；
- 转角使肽链分子出现 180° 回折，第一残基的C=O 与第四残基的 N-H间形成氢键，成为稳定的 β -转角结构。

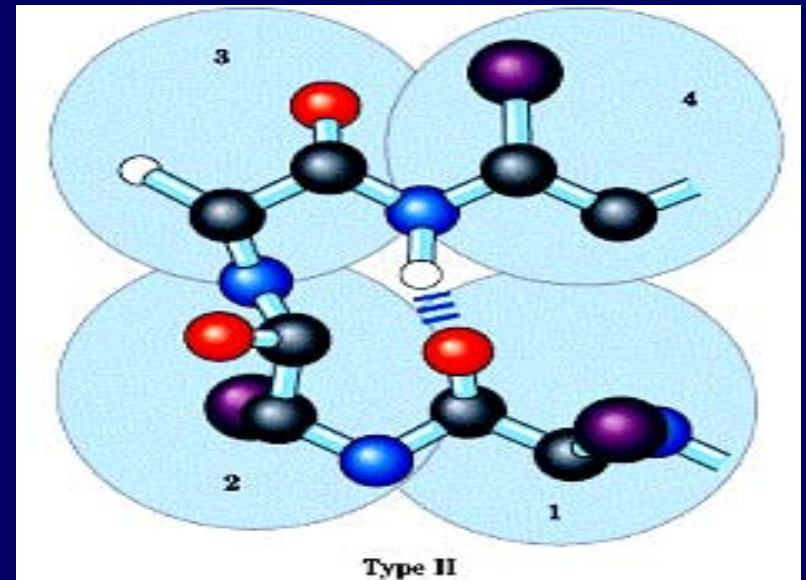


β -转角 (β -turn)



普通转角 (β_I)

4个C_α不在同一平面上
而有+45° 双面角



甘氨酸转角 (β_{II})

4个C_α与氢键几乎在同一个平面上。第二个残基大多为甘氨酸

此外，还有一些非典型的 β 转角，可以有两个氢键，或者没有氢键而靠邻近侧链间的作用，乃至远程作用力来维系其转角结构。

(4) 无规卷曲 (**random coil**)

- ❖ 没有确定规律性的肽链构象，但仍是紧密有序的稳定结构；
- ❖ 通过主链间及主链与侧链间氢键维持其构象。

分两类：

① 紧密环 (**compact loop**)

② 连接条带 (**connection straps**)

① 紧密环 (compact loop)

- 肽链主体结构卷曲成一端开放的环状，象希腊字母 Ω ，又称 Ω 环；
- 肽链由 6~16 个残基组成，Gly、Pro、Asp、Asn、Ser 和 Tyr 较常见。由于亲水性氨基酸残基较多，故常位于蛋白质分子表面；
- 残基侧链可堆积在环内，通过疏水作用或氢键等，形成紧密的结构；
- 可能与蛋白质的识别功能有关，并参与催化作用。

② 连接条带（**connection straps**）

三种类型：S 形的 α - α 连接；长度及构象不一的 α - β 和 β - α 连接； β 弓连接不相邻的 β 链，形成“希腊花边连接（**Greek key connection**）”

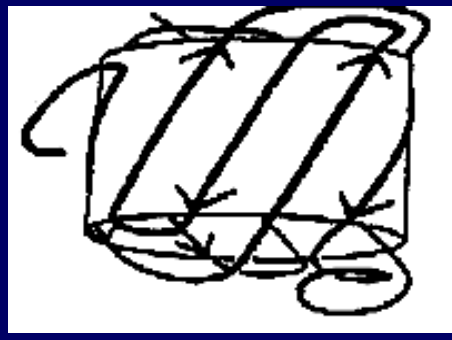
- 各种连接条带的长度、走向不规则，在蛋白质肽链的卷曲、折叠过程中具有明确的结构作用；
- 连接条带主链 **C=O** 和 **NH** 间一般不形成氢键；
- 常位于蛋白质分子表面，残基常带电荷或具有极性，能与介质水形成氢键。

连接条带 (connection straps)

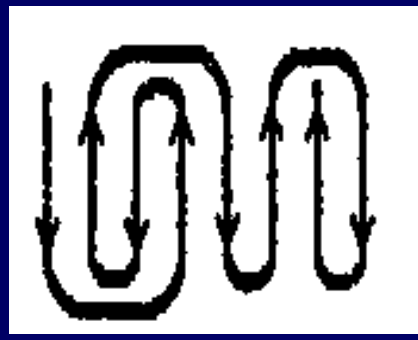
- 同源性比较发现，连接区常有残基出现插入、替换、缺失的变异，说明在蛋白质进化过程中连接肽段易致突变
- 功能上，连接条带往往参与形成蛋白质的一些结合位点或酶的活性位点
前白蛋白单体的希腊花边 β 桶结构



前白蛋白构象



前蛋白三维拓扑图



摊开后的二维
拓扑图



希腊花边图案

(5) 无序结构

- 暴露在介质中的带电荷长链残基常是无序的，如 Lys、Arg、Ile；
- 肽链末端的几个残基如不是疏水性氨基酸，常表现为无序结构；
- 有些蛋白质的配体结合部位，无配体时是无序结构，一旦结合配体则成为有序结构。

3. 蛋白质的三级结构

蛋白质分子或亚基内所有原子的空间排布，是多肽链折叠、卷曲的最终状态。

(1) 超二级结构

(2) 三级结构的折叠类型

(3) 模体 (**motif**)

(4) 结构域 (**structural domain**) 和
功能域 (**functional domain**)

(1) 超二级结构

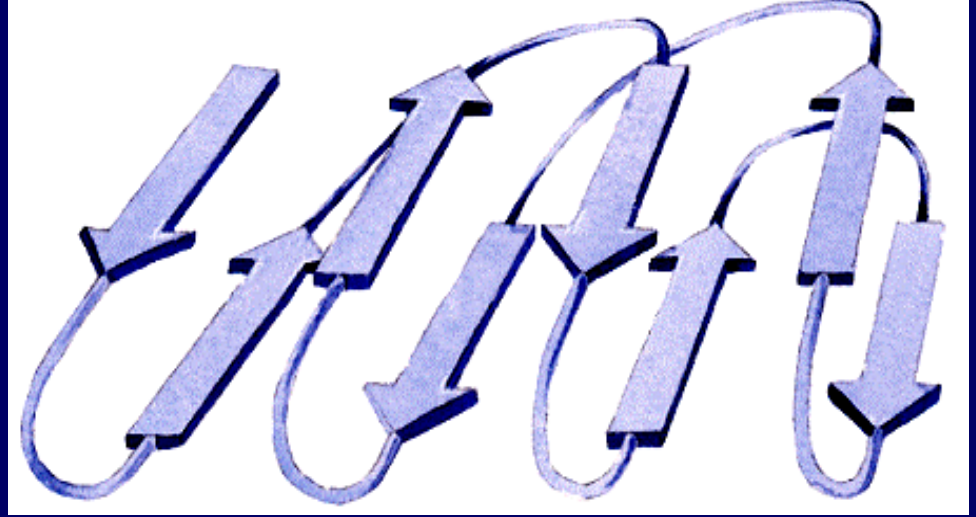
(supersecondary structure)

- ❖ 二级结构单元通过多种连接多肽组合而成的特殊几何排列的折叠类型，又称标准折叠单位（**standard folding units**）；
- ❖ 超二级结构产生的构象形式与所连接的二级结构单元种类、连接肽的长度、残基构象或其极性、带电性及疏水性有关。
- ❖ 常见的有三种：
 - ① $\alpha\alpha$ ：相邻的两条 α -helices 通过肽链连接而成；
 - ② $\beta\beta$ ： β -pleated sheet 链逆转形成的发夹结构；
 - ③ $\beta\alpha\beta$ ：由一个不规则的环链或 α -helice 将两条平行的 β -pleated 末端以右手或左手交叉方式连接起来。

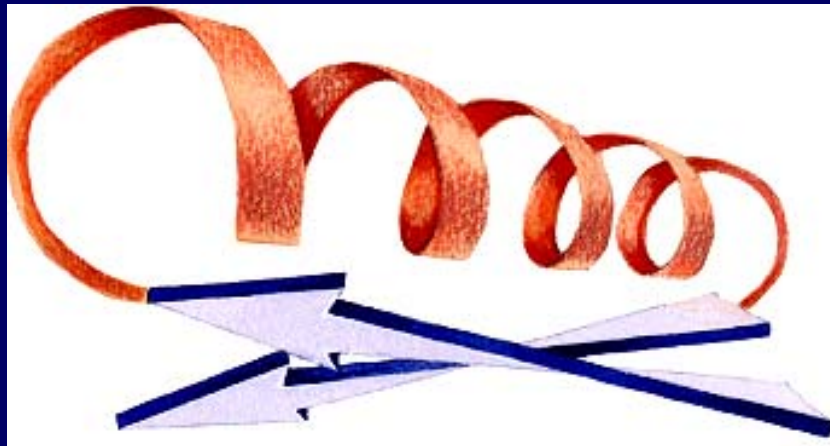
超二级结构 (supersecondary structure)



$\alpha\alpha$

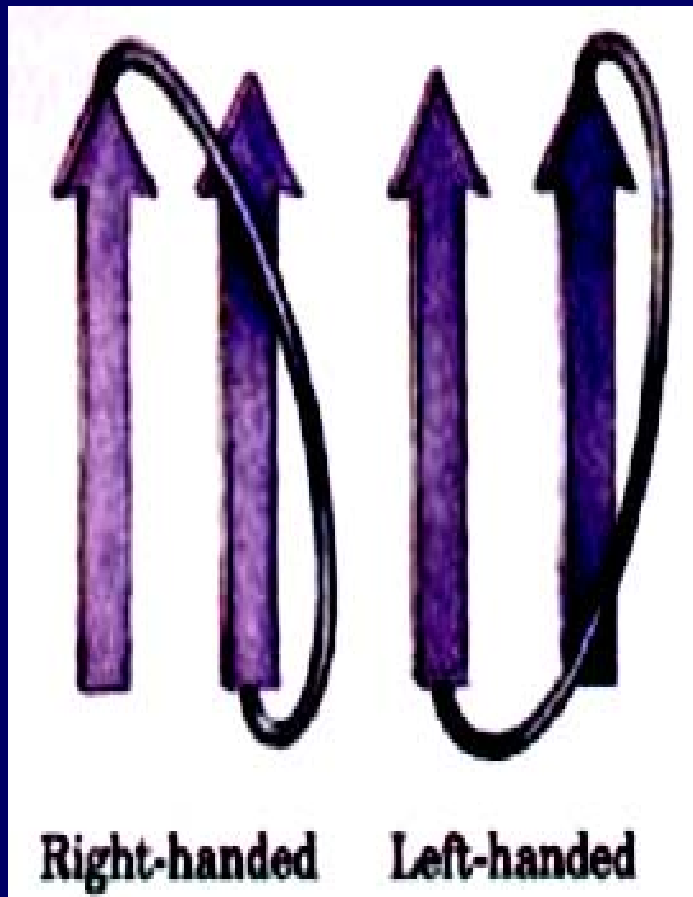


$\beta\beta$

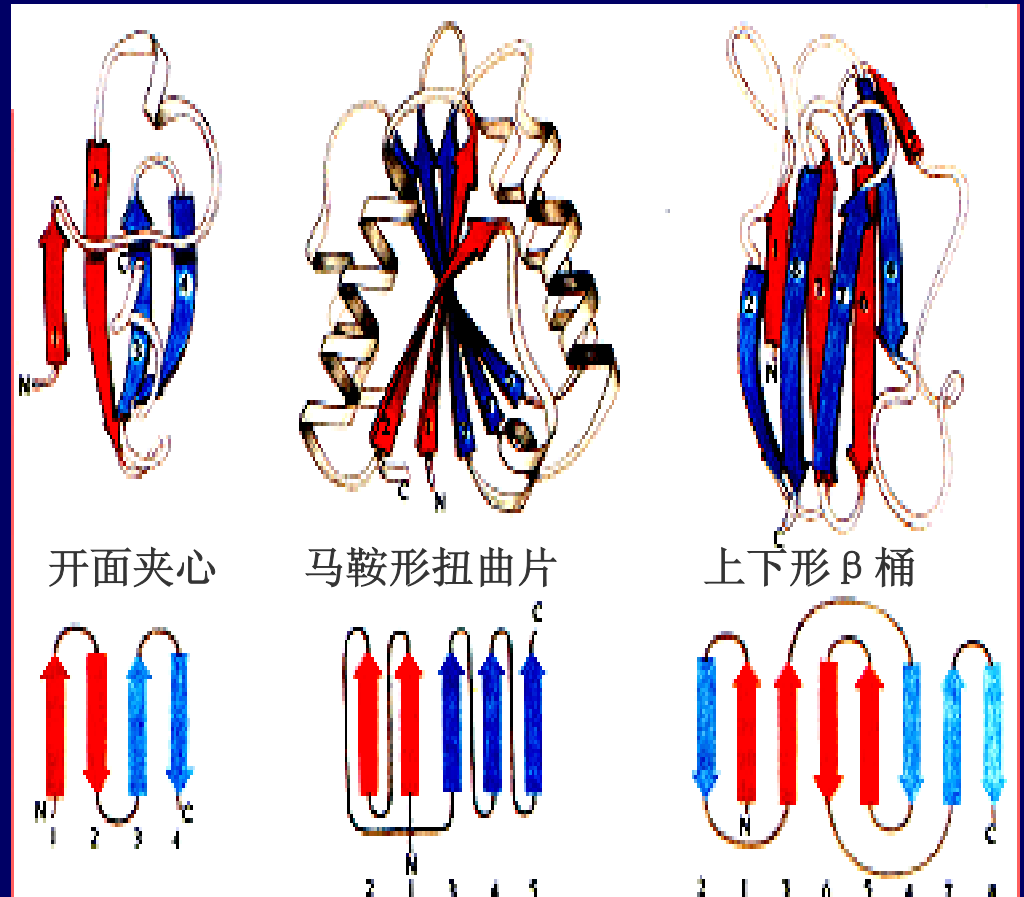


$\beta\alpha\beta$

超二级结构 (supersecondary structure)



平行 β 链的的右手及左手交叉连接



β 折叠在蛋白质中的不同形式

(2) 三级结构的折叠类型

以结构域 (**domain**) 为单位, 根据其中二级结构类型、数量、组合方式及拓扑构象, 大致分为 4 种主要类型:

- ① 全 α 类型
- ② 平行 α/β 类型
- ③ 反平行 β 类型
- ④ 不规则结构类型

① 全 α 类型

各段 α -helices 通过反平行或近于互相垂直的状态而连接，排列成层，再平行叠起，从而形成三级结构的构象基础。


分为两种亚型：

I. 升降螺旋捆 (**up and down helix bundle**)

II. 希腊花边螺旋捆 (**Greek key helix bundle**)

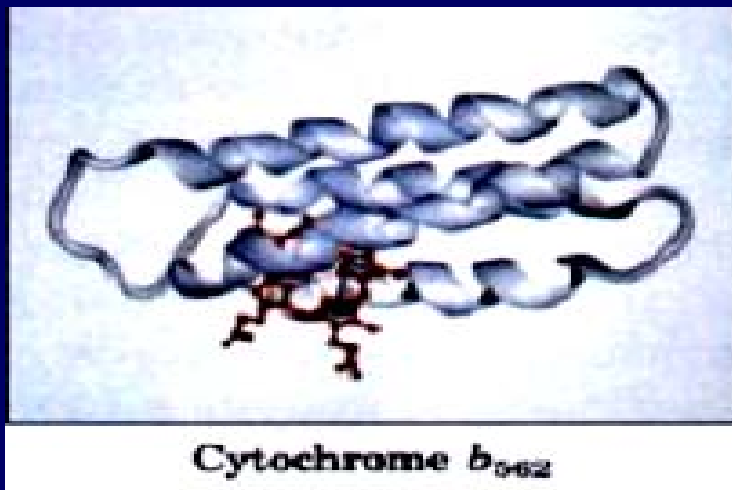
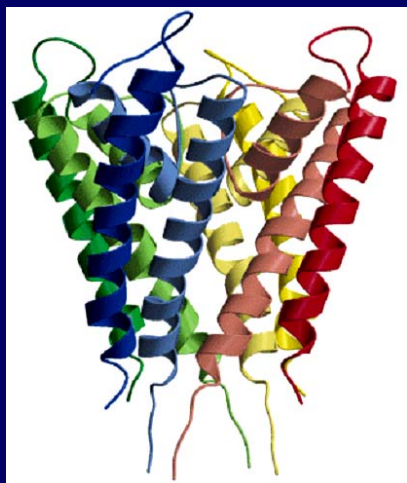
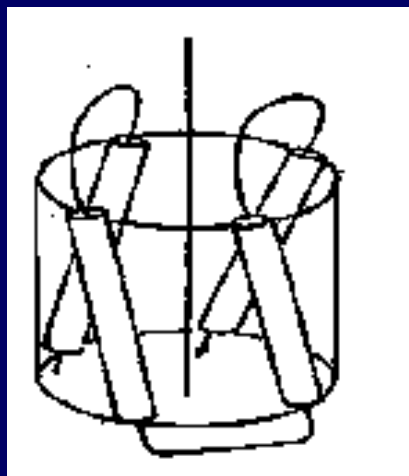
I. 升降螺旋捆 (up and down helix bundle)

 各相邻 α -helices 头尾相连，反向排列，形成桶状；

 常见为四螺旋捆，如**细胞色素 b_{562}** 、**Rop** (repressor of primer) 蛋白、载脂蛋白 E_3 、人生长激素、去铁蛋白单体、白介素-2、白介素-4、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子、朊病毒 (prion)；

 也有蛋白质呈三捆螺旋或较大的五或六螺旋捆。

升降螺旋捆 (up and down helix bundle)



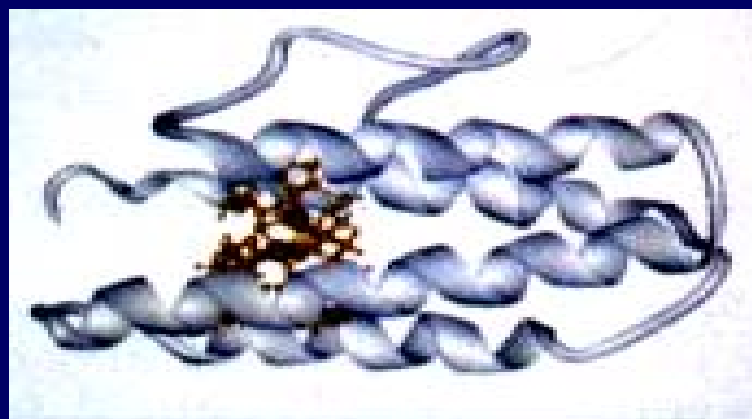
Cytochrome b₅₆₂

升降螺旋捆模式

细胞色素b₅₆₂



Myohemerythrin
(top view)



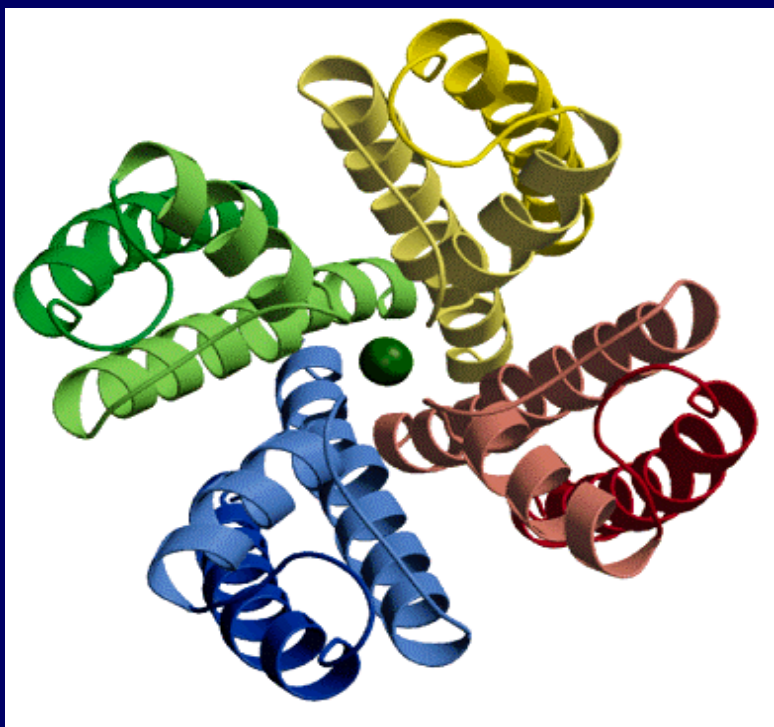
Myohemerythrin
(side view)

蚯蚓肌红蛋白 (上面观)

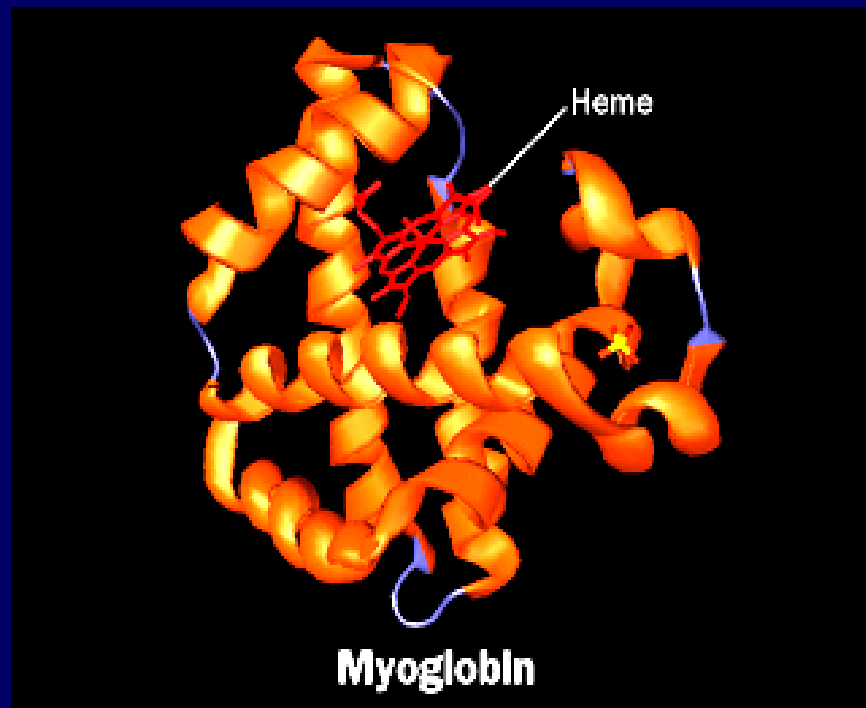
蚯蚓肌红蛋白 (侧面观)

II. 希腊花边螺旋捆 (Greek key helix bundle)

多个 α -helices 段近于垂直的相互连接，并卷曲成近似古希腊花瓶上的回形花边。 如肌红蛋白 (myoglobin)、血红蛋白 (hemoglobin)



血红蛋白



肌红蛋白

② 平行 α/β 类型

☞ 整个肽链中 α -helices 与 β -pleated sheet 交替存在，卷曲组成多层；

☞ 通常平行的 β -pleated sheet 在结构域的内部， α -helices 覆盖在外部

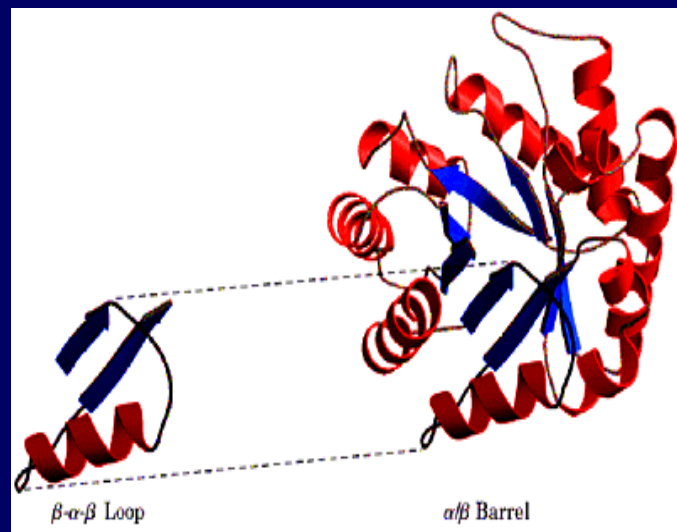
☞ 多数卷曲成右手交叉连接，如平行 β 桶（parallel β barrel），马鞍形结构

平行 α/β 类型 (续)

平行 β 桶 (parallel β barrel)

- 8 条平行 β 链在中央，相互连成氢键网，排列成内桶；
- 与各 β 链连接的 8 条 α -helices 在其间沿着相同的方向排列在 β 桶的外侧，成为外桶；
- 整个 β 桶结构为 $(\beta\alpha)_8$ ；
- 约 10% 的酶分子属此类型；
- 桶高低不一，催化反应多样；

如磷酸丙糖异构酶、木糖异构酶、丙酮酸激酶等



磷酸甘油醛异构酶

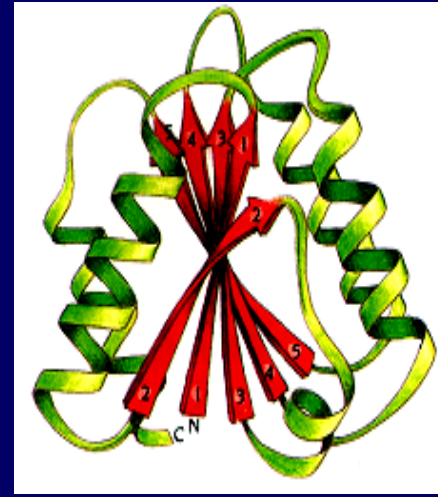
平行 α/β 类型 (续)

马鞍形

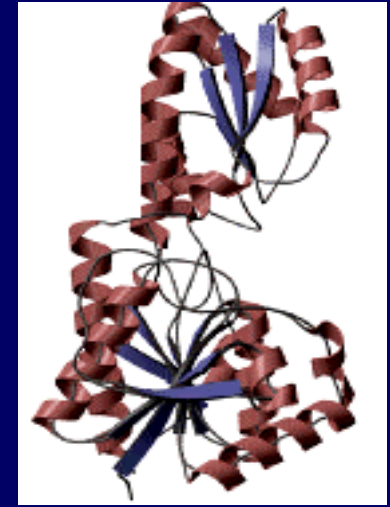
☞ 常见核苷酸结合结构域是由多个 β -pleated sheet 形成马鞍形;

☞ β 链之间由 α -helices 右手交叉连接, 排在 β -pleated sheet 两侧;

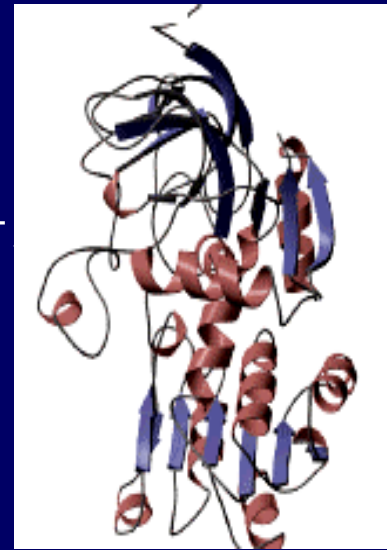
☞ β -pleated sheet 末端有核苷酸结合位点, 可以结合 NAD^+ 、 FMN 、或 ATP 。如相应的脱氢酶, 腺苷酸激酶, F_1ATP 酶, 肌球蛋白, 延长因子 EF-Tu , P21^{ras} , 己糖激酶等。



黄素氧还蛋白



磷酸果糖激酶



乙醇脱氢酶



脂酰辅酶酶A水合酶



③ 反平行 β 类型

 由 β -pleated sheet 反平行排列而成， β 链之间以 β 转角或连接条带连接

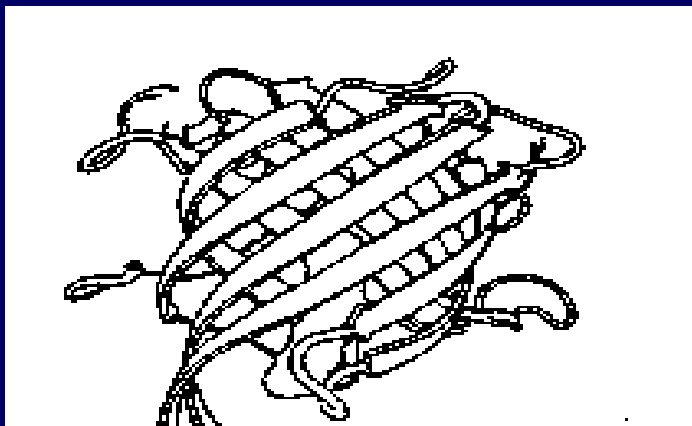
 常见的有希腊花边 β 桶和开面夹心 (open face sandwich)

反平行 β 类型

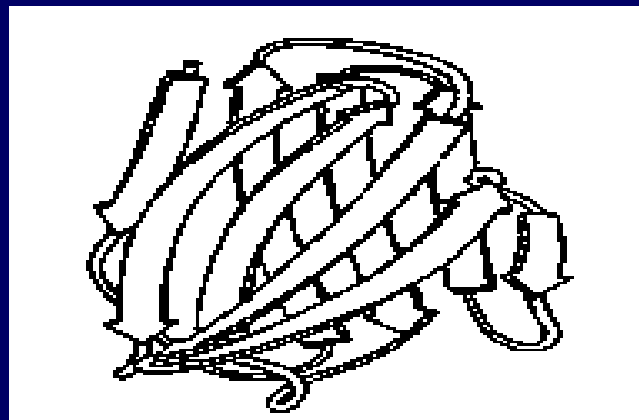
希腊花边 β 桶

-  β 链呈反时针方向盘绕；
-  桶的两边 β 链呈右手交叉连接。

如超氧化物歧化酶、免疫球蛋白结构域及仅为升降 β 桶的视黄醇结合蛋白、伴刀豆球蛋白 A 等。



视黄醇结合蛋白



免疫球蛋白 V_L 结构域

反平行 β 类型

开面夹心 (**open face sandwich**)

反平行 β -pleated sheet 排列成单层，不成桶状；

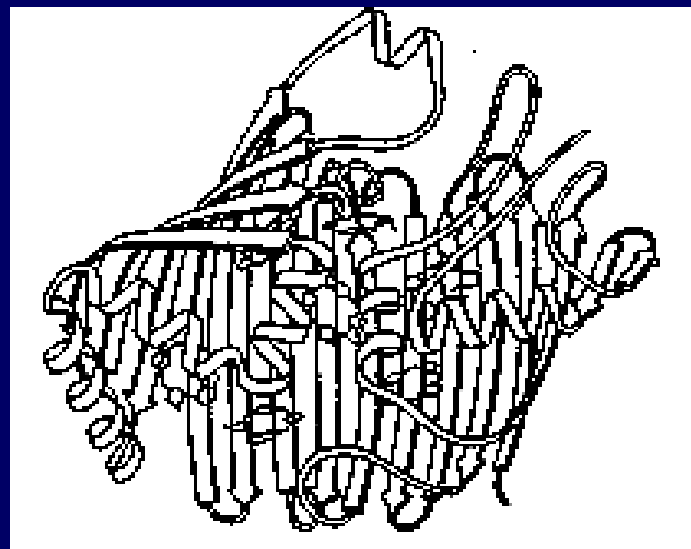
一侧可有一些 α -helices 或环的组成，也有的一侧暴露于溶剂中，或与其他结构域结合

如细菌叶绿素蛋白



Insecticyanin

昆虫花青苷



细菌叶绿素蛋白

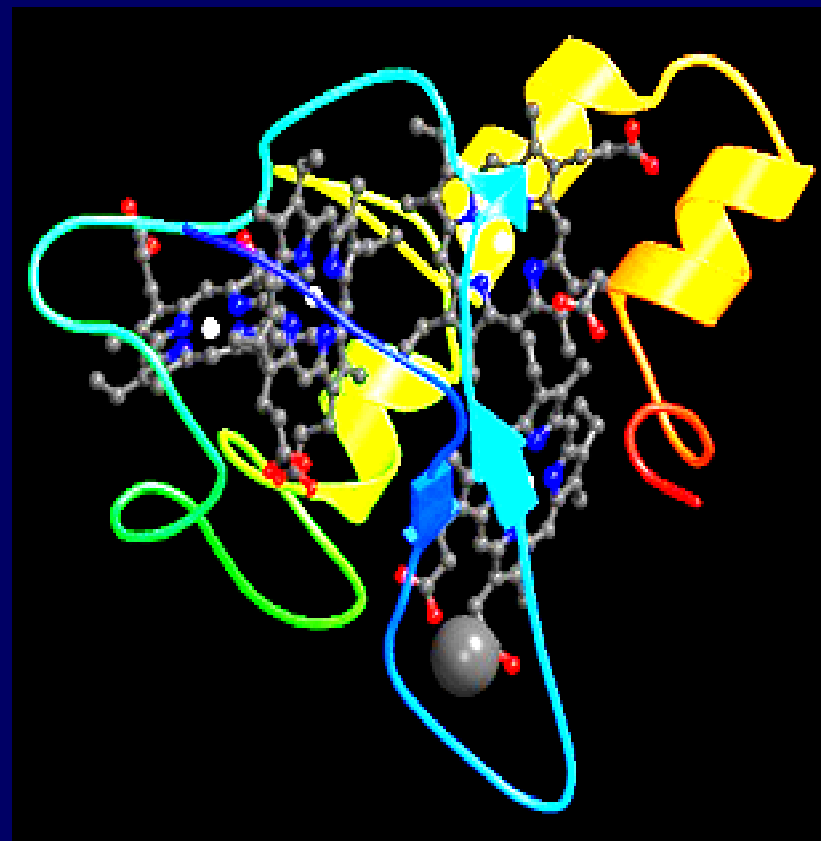
④ 不规则结构类型

存在于小蛋白质中；

正规的二级结构单元很少；

富含金属元素或二硫键，失去金属或二硫键时可能失去其天然三级结构

如细胞色素C₃



细胞色素C₃（仅有一小段
 α -helices，结合一个 Ca^{2+} ）

(3) 模体 (motif)

蛋白质分子中存在的某些立体形状或拓扑结构类似的局部区域

- ❖ 二级结构的特定组合，常有特殊的结合功能。可在不同的蛋白质中出现，甚至重复出现；
- ❖ 小型motif由20~30个AA残基组成； motif存在于多种进化上不同的蛋白质中；
- ❖ 模体大小不均一，属于不同的蛋白质结构水平，故不能单纯以模体作为蛋白质分类的标准；

几种典型的模体

① **HLH**（螺旋-环-螺旋）钙结合模体

② **DNA** 结合模体

③ β 螺旋 (β helix) 模体

① HLH（螺旋-环-螺旋）钙结合模体

📖 12个AA残基的钙结合环连接在两段 α -helices之间

📖 形似拇指与食指（E及F螺旋）直角相交，配位结合 Ca^{2+} ，又称**EF手模体**



② DNA 结合模体

I. 亮氨酸拉链 (leucine zipper)

II. HLH (螺旋-环-螺旋) 模体

III. HTH (螺旋-转角-螺旋) 模体

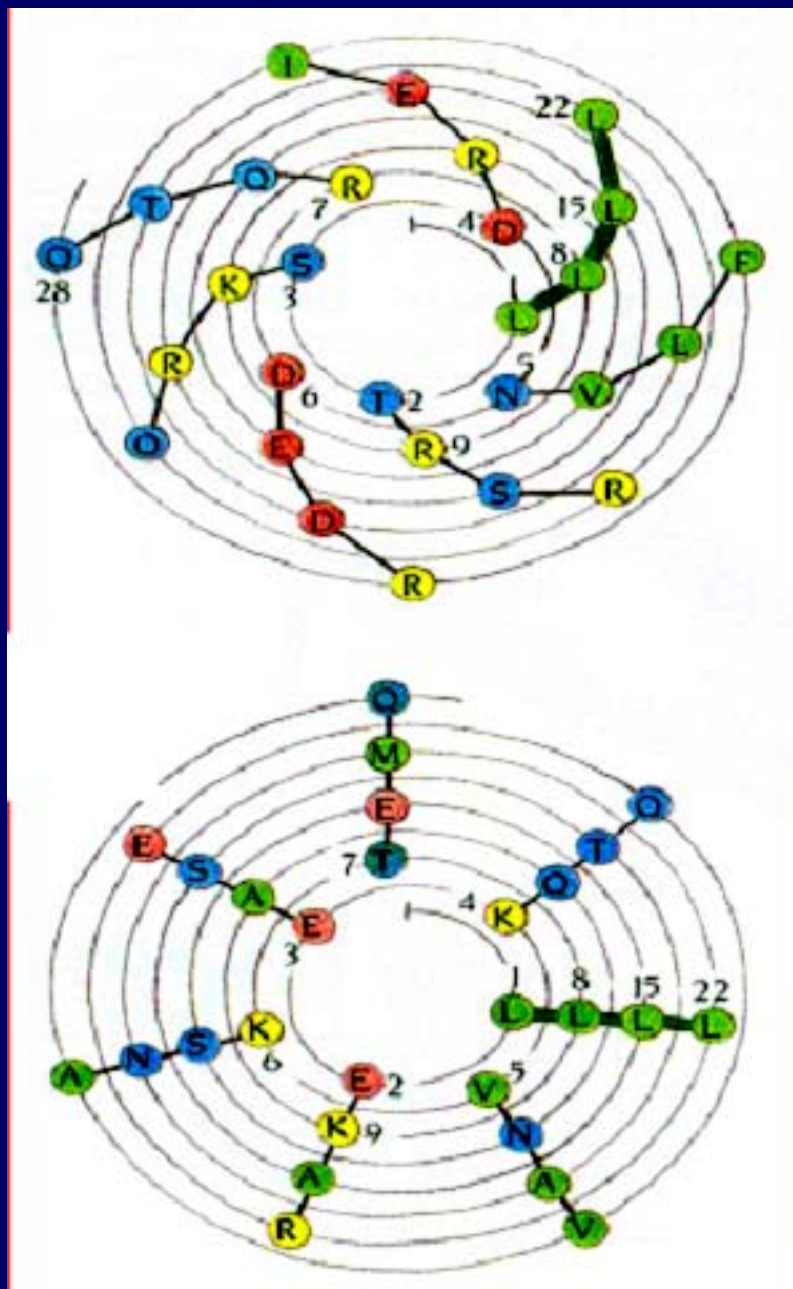
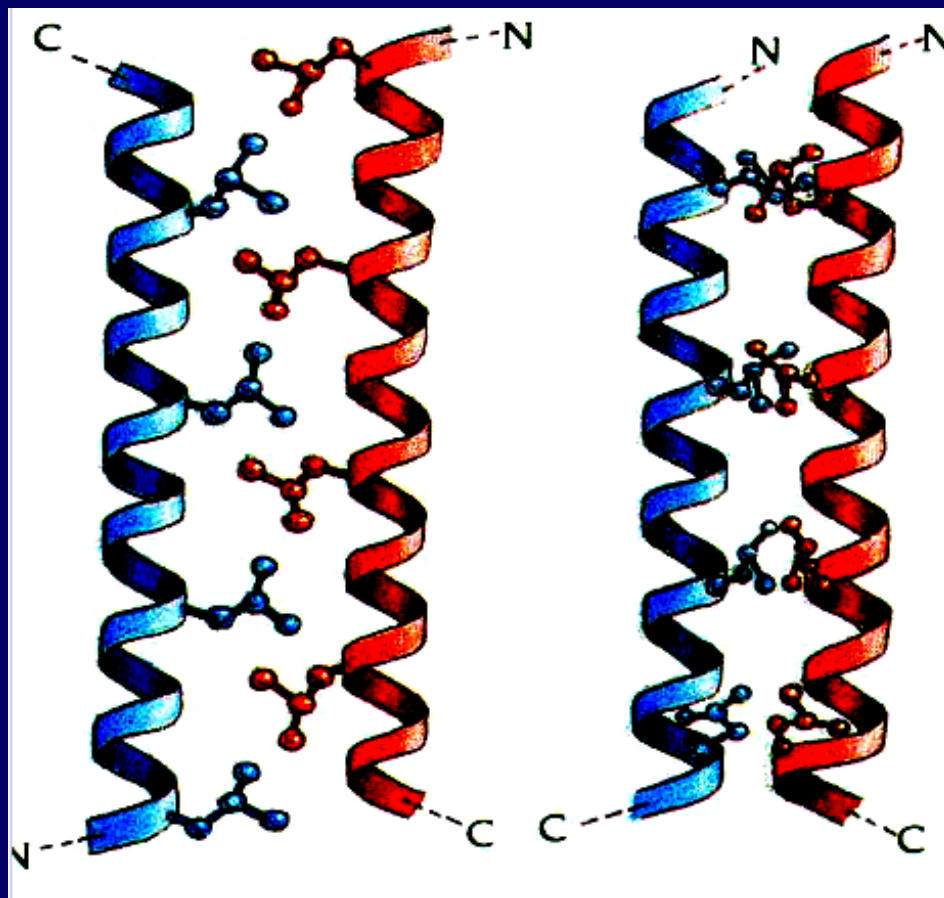
IV. 锌指模体 (zinc finger motif)

I. 亮氨酸拉链 (leucine zipper)

- 🏆 两条 α -helices 由重复的七氨基酸残基形成;
- 🏆 第 1、4 位氨基酸呈疏水性;
- 🏆 两条 α -helices 相互借疏水性交叉连接

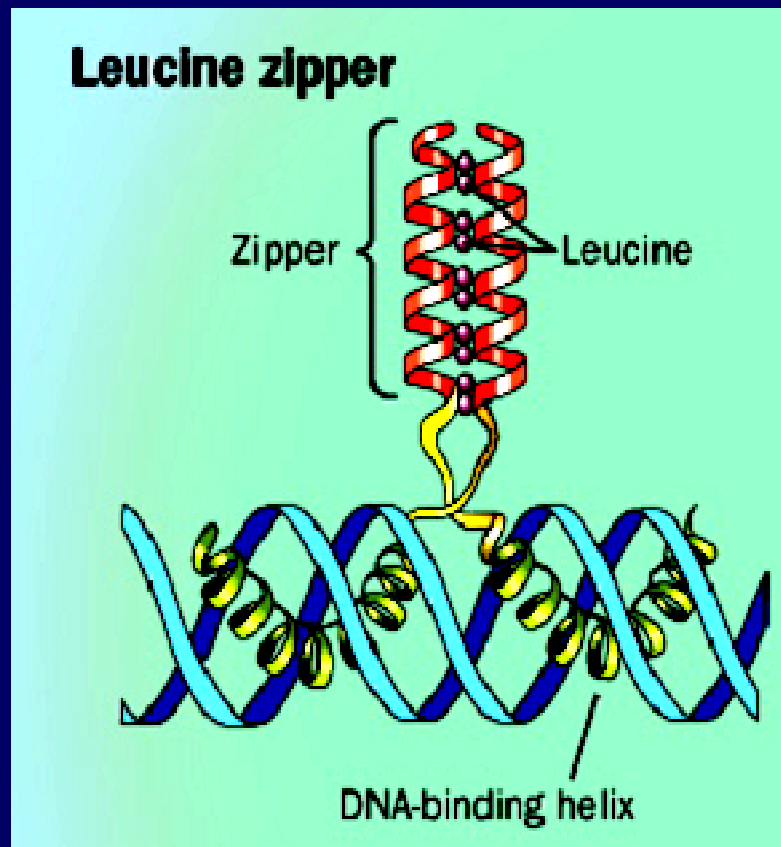
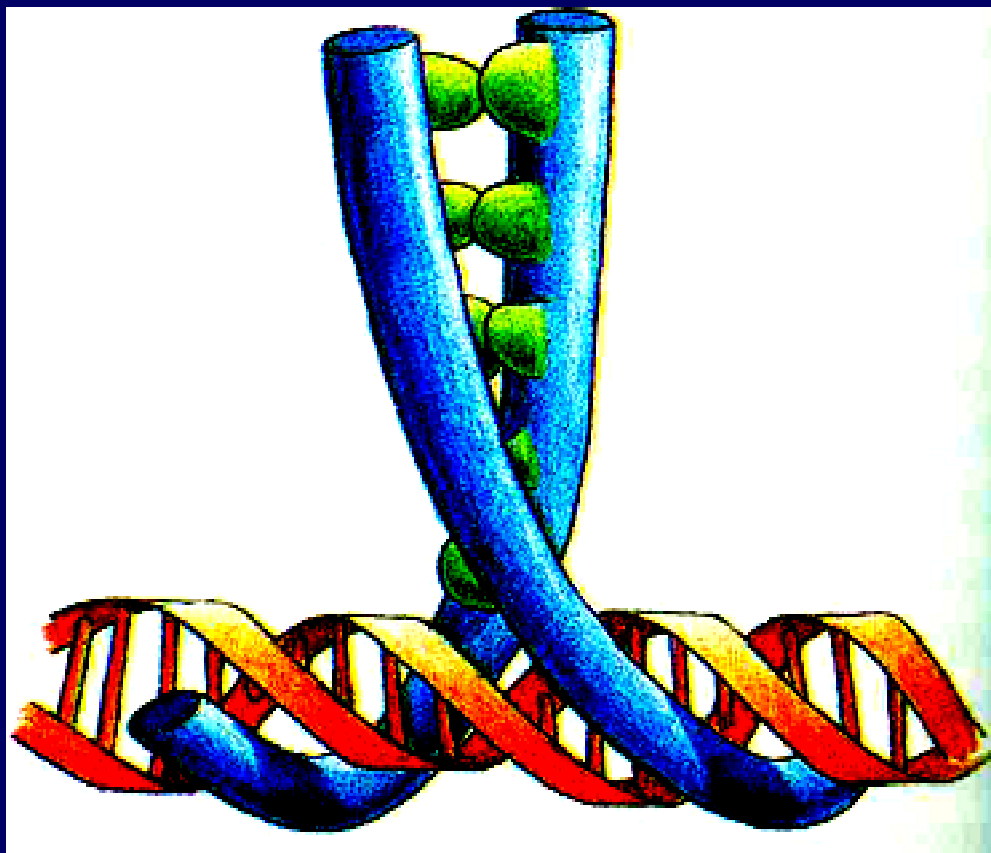
亮氨酸拉链 (leucine zipper)

leucine zipper 的结构特征



亮氨酸拉链 (leucine zipper)

leucine zipper 与 DNA 的结合 (剪刀型结合模式)

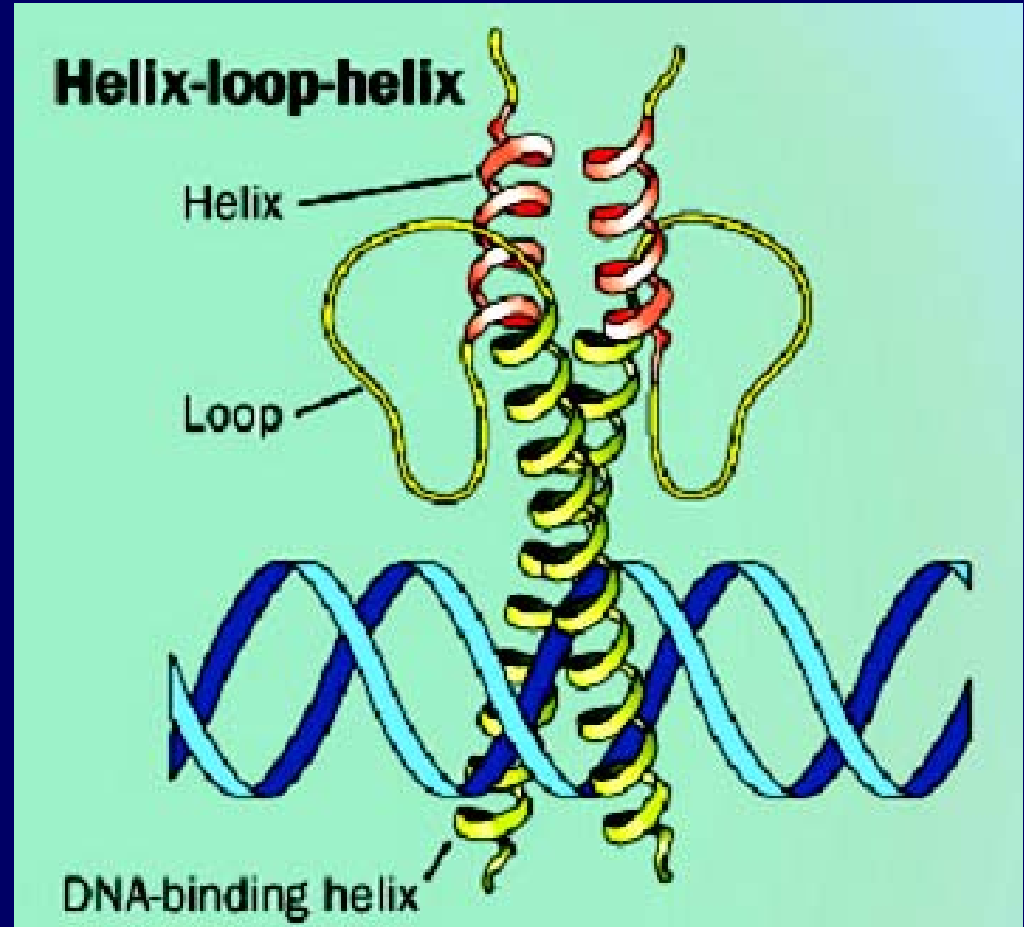
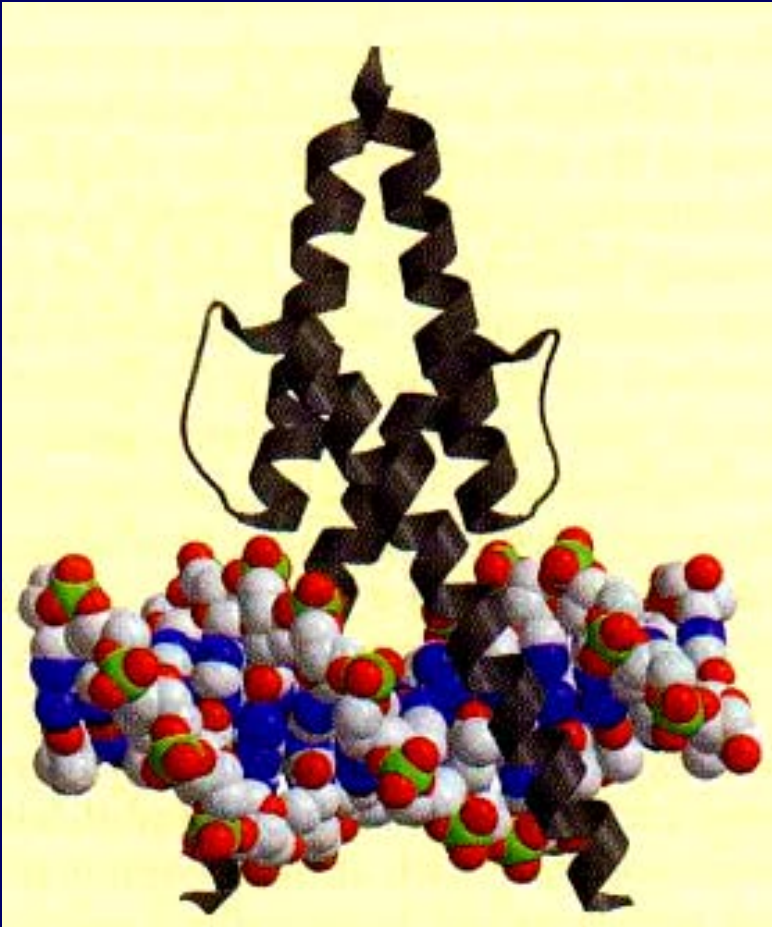


II. HLH（螺旋-环-螺旋）模体

- ▶ 存在于真核**转录因子**中；
- ▶ 由**5~24**个残基组成的环，连接在两条 α -helices 之间；
- ▶ 螺旋中疏水AA十分保守，易形成**二聚体**疏水核心，再参与**DNA**结合；
- ▶ 也可形成**三链**（如层连蛋白、纤维蛋白原、血影蛋白、辅肌动蛋白及甘露糖结合蛋白等）、**四链**（更常见，如肿瘤抑制物 **P₅₃**、**Lac** 阻抑物及细菌荧光素酶等），甚至**更大的螺旋捆**（如大肠杆菌的延胡索酸酶 **C** 和天冬氨酸受体）

HLH（螺旋-环-螺旋）模体

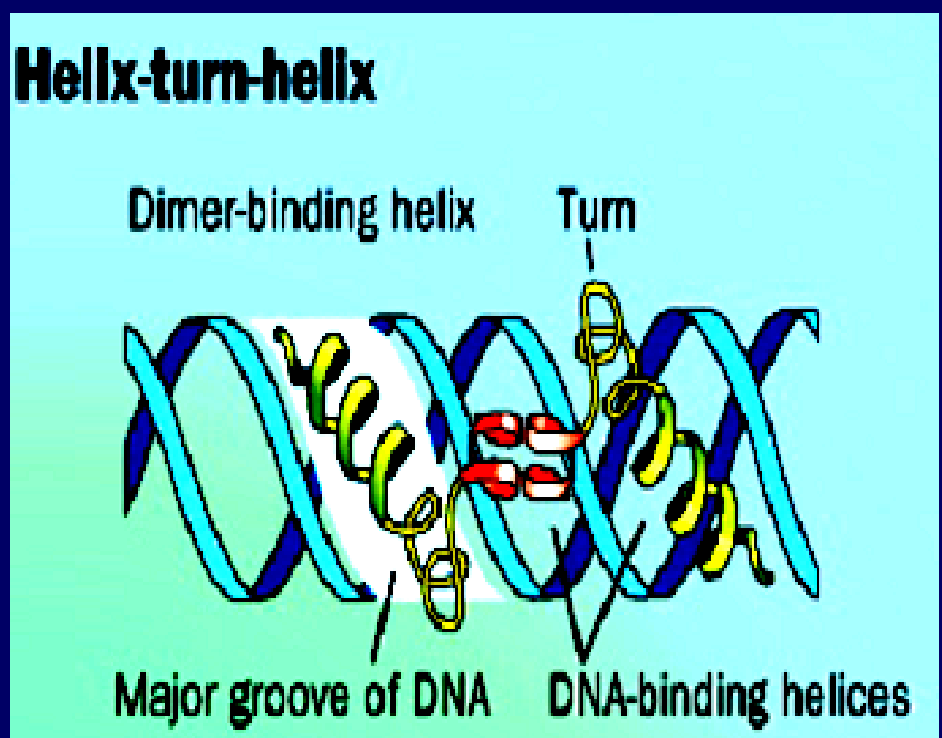
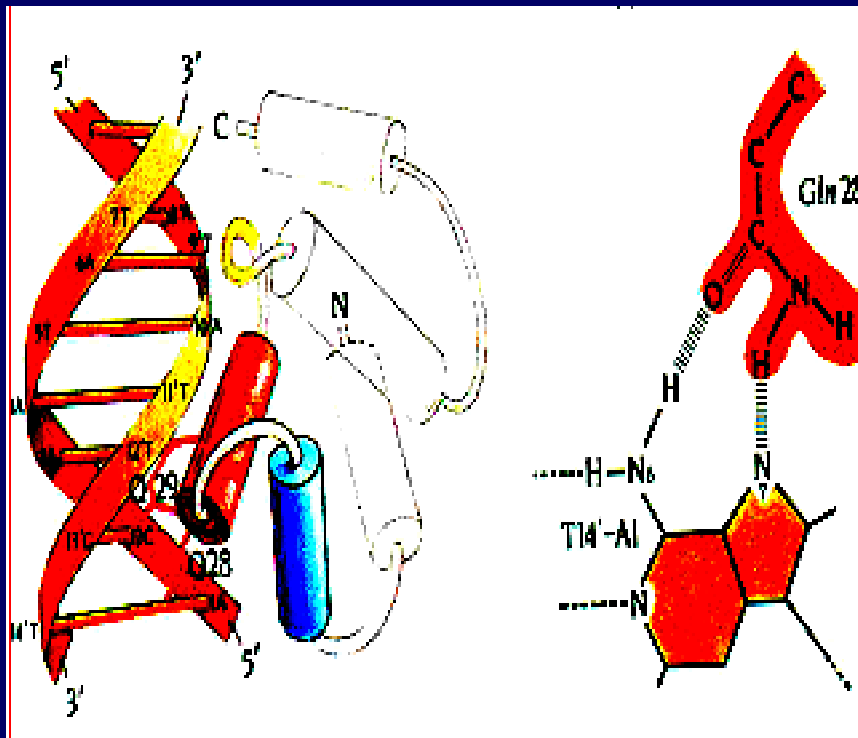
HLH与DNA的结合



III. HTH (螺旋-转角-螺旋) 模体

第二螺旋常在 DNA 双螺旋大沟中与碱基特异结合，成为识别螺旋

HTH 与 DNA 的结合



IV. 锌指模体 (zinc finger motif)

✿ 主要存在于转录因子中

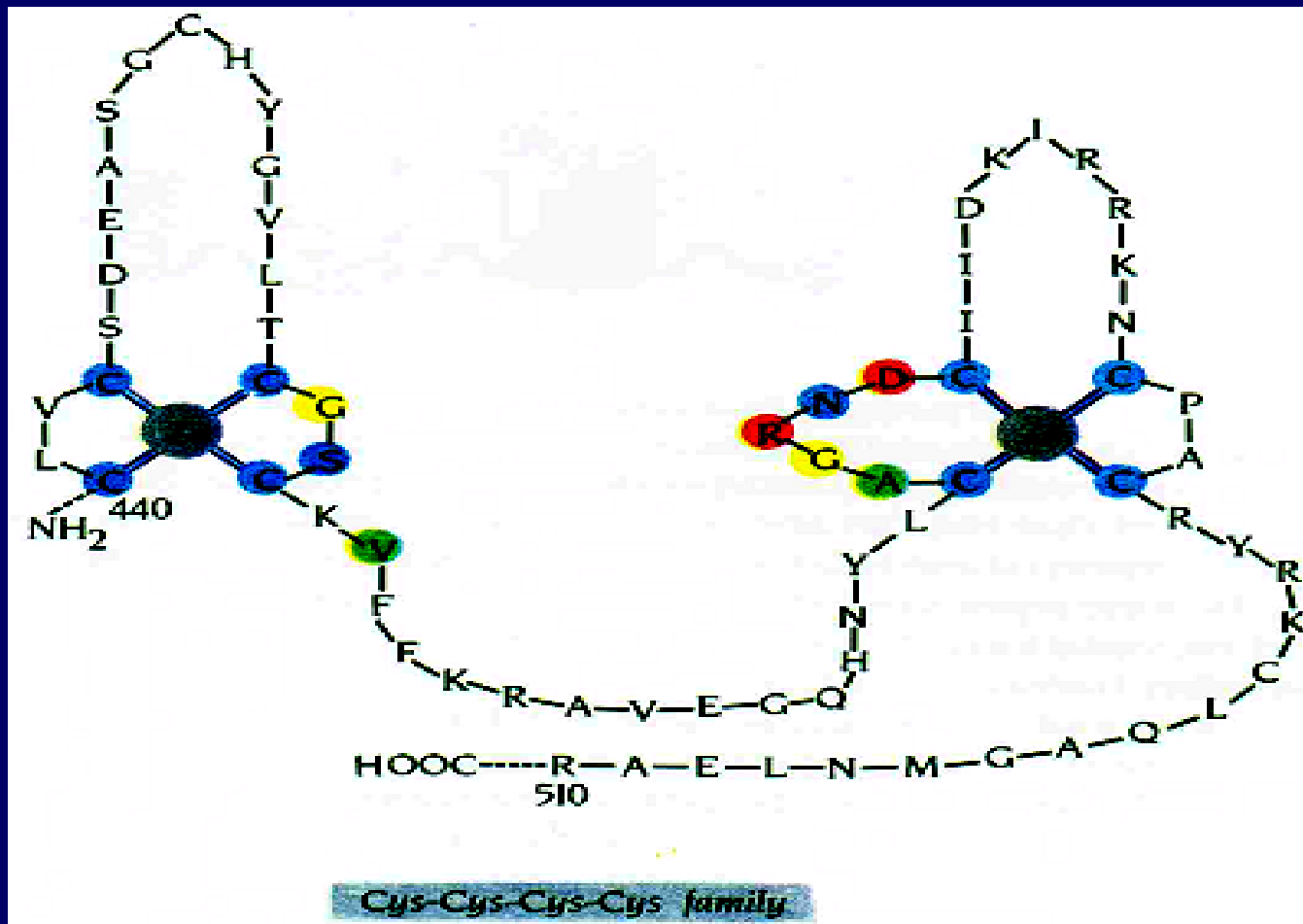
✿ 两条反平行 β -pleated sheets 通过 2~5 个残基连接而形成 β 发夹结构;

✿ 发夹中两个 Cys 残基与连接在发夹后的 α -helix 上两个 His 残基共同配位结合锌原子, 形成 $\beta\beta\alpha$ 构象而具有 DNA 结合功能。也有 C2/C2、C2/C 锌指;

✿ 某些类固醇激素受体、爱滋病毒核壳蛋白也有锌指模体。有些还能与 RNA 结合并发挥作用。

锌指模体 (zinc finger motif)

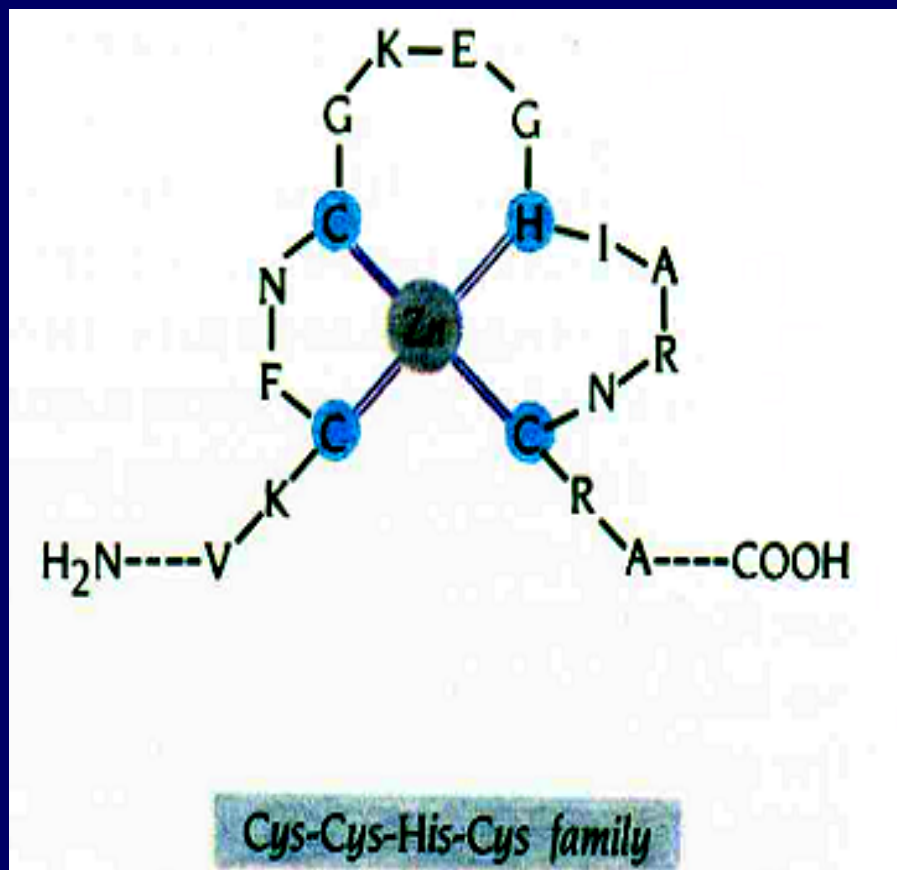
锌指模体结构特征



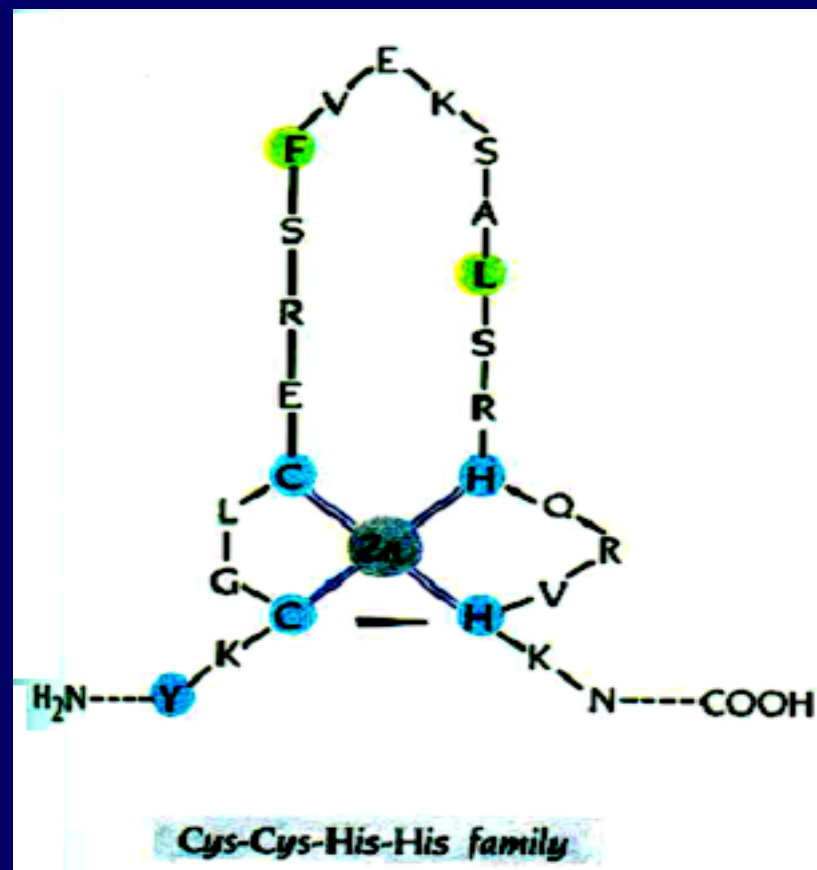
4↑Cys

锌指模体 (zinc finger motif)

锌指模体结构特征

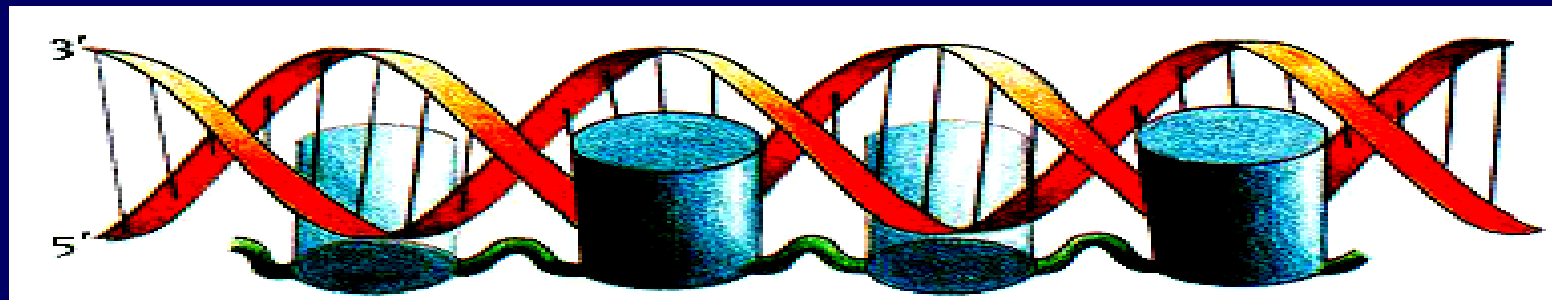


3Cys, 1His



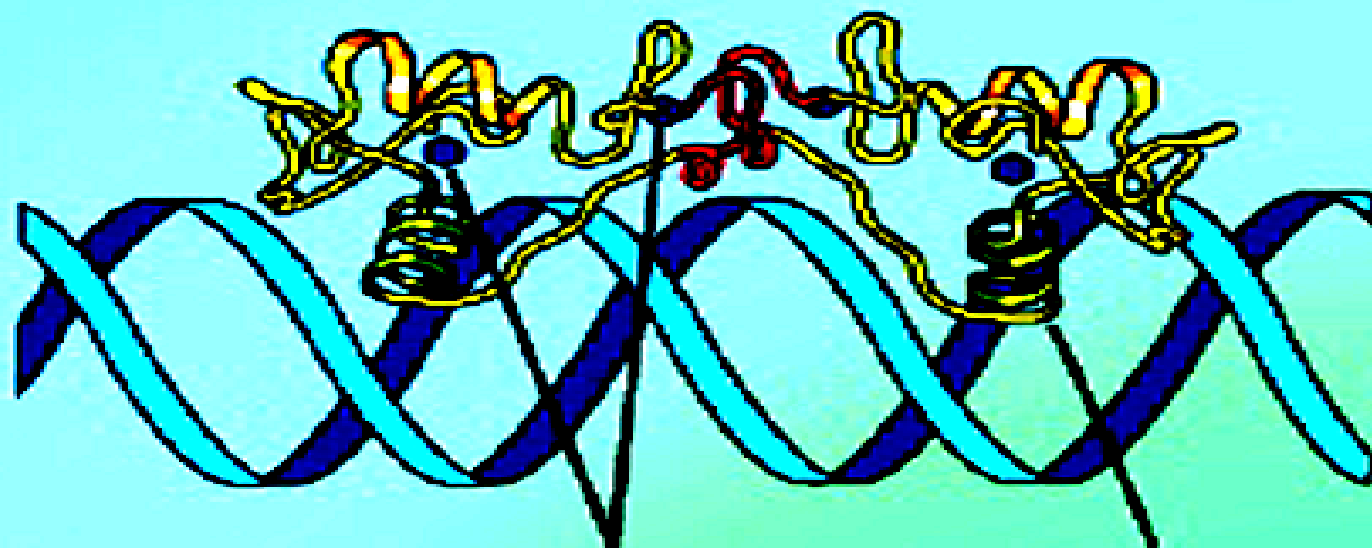
2Cys, 2His

锌指模体 (zinc finger motif)



锌指模体与 DNA 的结合

Zinc finger



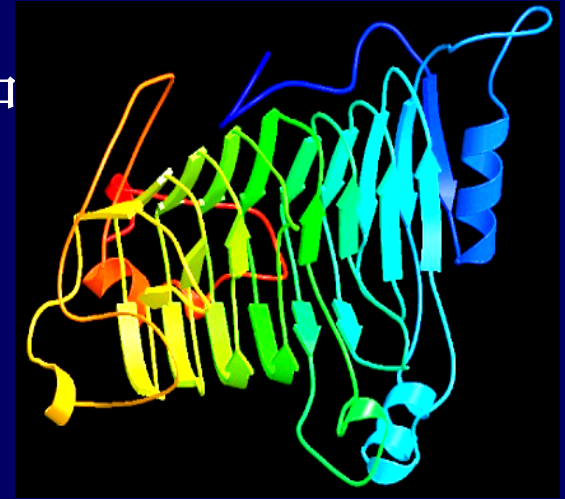
Zinc ions

"Finger"

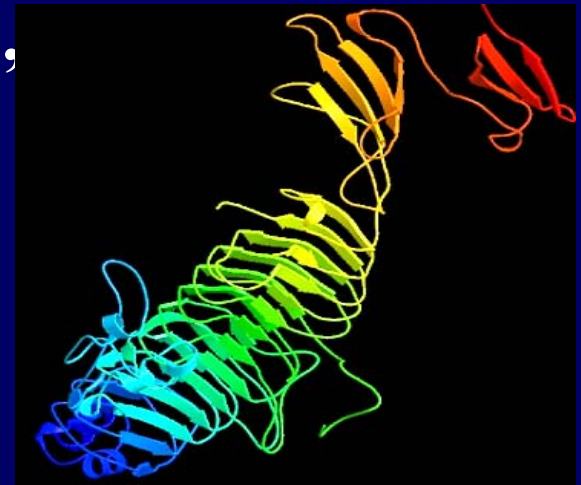
③ β 螺旋 (β helix) 模体

- 许多平行的 β -pleated sheets 在肽链中依次卷曲形成宽大的螺旋圆柱构象;
- 首先在细菌的果胶裂解酶 C (pectate lyase C) 中发现;
- 果胶裂解酶 C 中 3 条 β 片层围成螺旋, 直径达 0.17~0.27 nm, 共有 7 圈右手螺旋;

在一些细菌的碱性蛋白酶及噬菌体 P22 尾刺蛋白 (tailspike protein) 中也存在



果胶裂解酶 C



噬菌体P22尾刺蛋白

(4) 结构域 (structural domain) 和 功能域 (functional domain)

① 结构域 (structural domain)

② 功能域 (functional domain)

① 结构域 (structural domain)

☞ 一条肽链卷曲折叠形成的一个或几个紧密包装的稳定结构

☞ 由 α -helice, β -pleated sheet, turns, 和 random coils 以多种方式组合而成. 可根据进行分类:

✿ 富含一种特定的氨基酸: Pro-rich domain; acid domain; Gly-rich domain

✿ 序列同源性: SH3 (Src homology region 3) domain

✿ 含特定的二级结构模体: Kringle domain (三环域, 含 zinc finger motif)

结构域（structural domain）

- 100~200 个氨基酸残基组成，但大小范围可达40~400 个残基；
- 氨基酸可以是连续的，也可以不连续；
- 各结构域可以相似，也可以不同相似；
- 结构域之间常形成裂隙，比较松散，往往是蛋白质优先被水解的部位。酶的活性中心往往位于两个结构域的界面上；
- 在蛋白质分子内，结构域可作为结构单位进行相对独立的运动，水解后的结构域仍可维持稳定的结，甚至保留某些生物活性；
- 有时一个结构域就是蛋白质的功能域，但功能域不等同于结构域。



免疫球蛋白的结构域

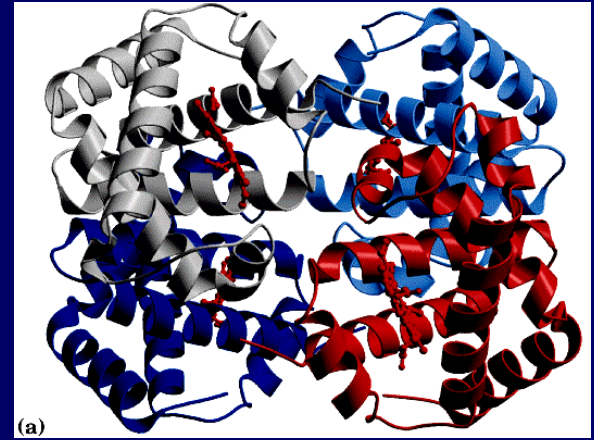
② 功能域 (functional domain)

☞ 包含一个但通常是多个结构域;

☞ 可用蛋白酶裂解法或基因重组 (或突变) 法验证蛋白质的功能域。

4. 蛋白质的四级结构

寡聚体蛋白，中各亚基的空间排布及各亚基间的相互作用。



血红蛋白



Ecoli.DNA Pol III

(10种亚基形成二十聚体)

- ❖ 主要作用力：疏水作用、氢键及盐键。盐键易受环境 **PH** 或其他成分的影响，这在亚基的缔合及解离中具调节作用，从而影响蛋白质整体的结构和功能。
- ❖ 多数蛋白由多个亚基结合完成其功能，如 **Ecoli. DNA Pol III**。不少蛋白质借亚基的解离与缔合来调节结构和功能，如 **G 蛋白**。

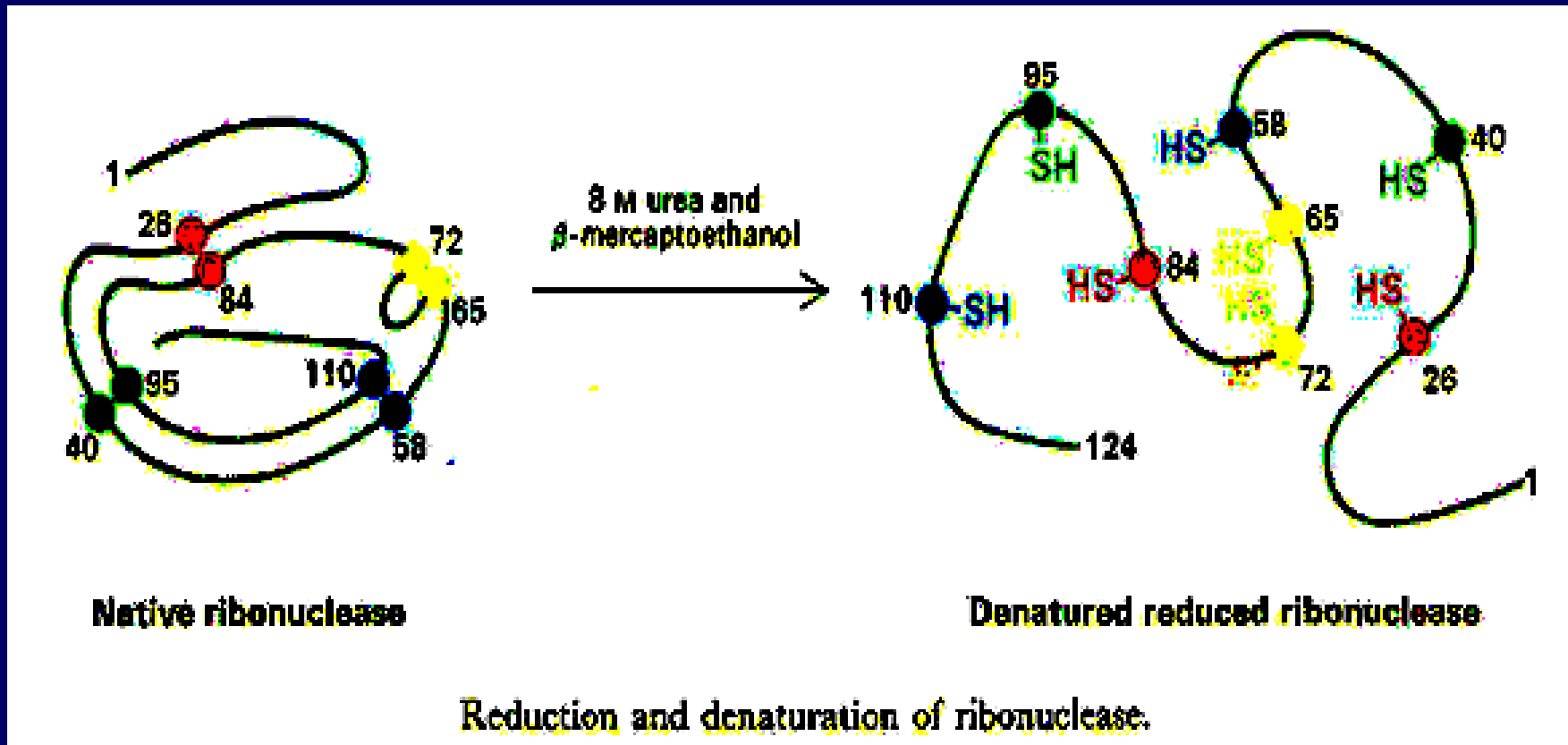
第四节 蛋白质各级结构之间的关系

- 一级结构决定其高级结构。换言之，三维立体结构完全取决于氨基酸的序列。蛋白质的天然立体结构一般是自由能最低的状态。
- 生物体内的每一个基因均受到来自生物进化的选择压，故每个蛋白质均有其独特（和唯一的）的立体结构和生理生化功能
- 蛋白质合成后，要形成特定的立体结构才有生理活性。拥有生理活性的立体结构对每种蛋白质而言，是特定的和唯一的，通常称之为天然结构（**native structure**）。
- 蛋白质的天然立体结构在溶液中有一定的可塑性。

蛋白质的一级结构决定高级结构

— Anfinsen 的实验

第一步：8 M 尿素和 β 巯基乙醇使核糖核酸酶变性



蛋白质的一级结构决定高级结构

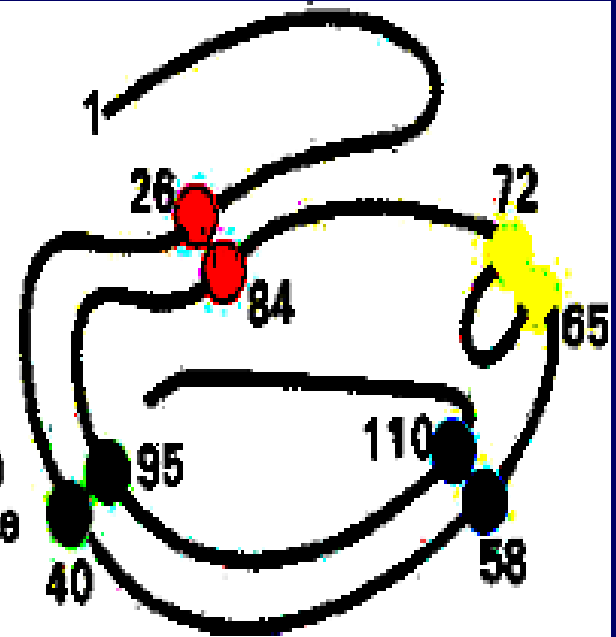
—Anfinsen 的实验

第二步：透析除去尿素和巯基乙醇，空气中氧化
恢复二硫键

Denatured
reduced
ribonuclease

Dialysis to
remove urea and
 β -mercaptoethanol

Air oxidation of the
sulfhydryl groups in
reduced ribonuclease



Native ribonuclease

蛋白质的一级结构决定高级结构—— **Anfinsen** 的实验

结果：蛋白质完全恢复了天然结构（**native structure**）

说明：蛋白质一级结构包含了决定其高级结构的所有信息。

Christian Anfinsen 因此获得 1972 年诺贝尔奖

应用：根据蛋白质的一级结构预测其三级结构,或根据已知氨基酸序列和结构的蛋白质, 预测另一个与它序列相似的蛋白质结构。

第五节 球状蛋白质构象的运动

球状蛋白质虽然有稳定的紧密构象，但绝不是静止不动的

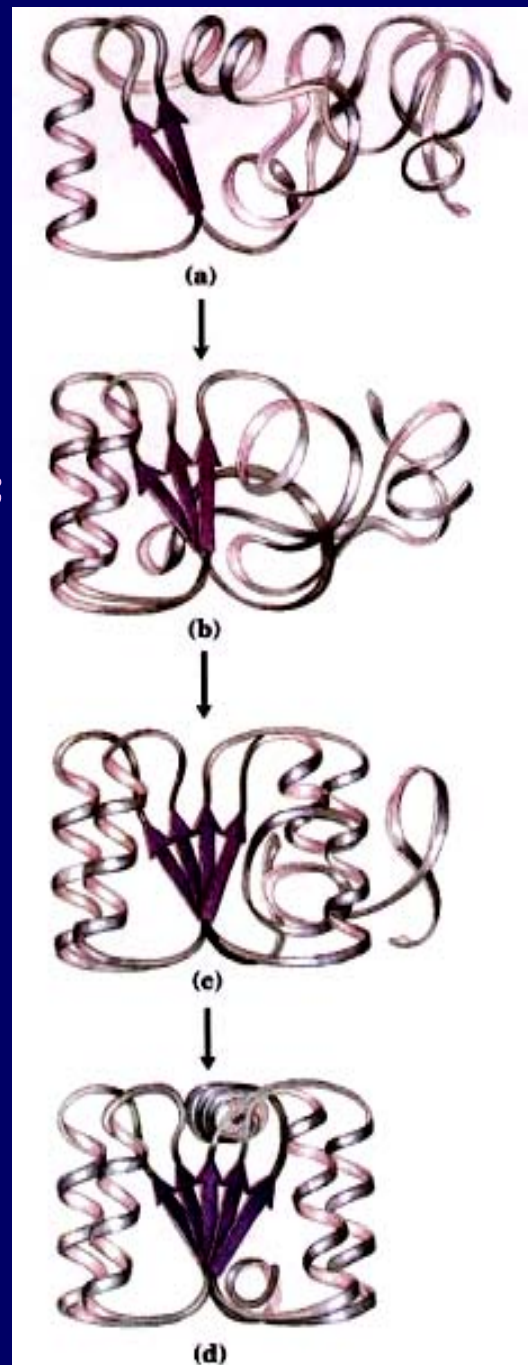
比如：

- 肽链合成时不断的折叠及构象的不断调整
- 酶催化活性的调节
- 离子通道（**ion channel**）的开闭
- 配体（**ligand**）与受体（**receptor**）的结合

球状蛋白质构象的运动 —蛋白质折叠

一种假定的蛋白质折叠模式：

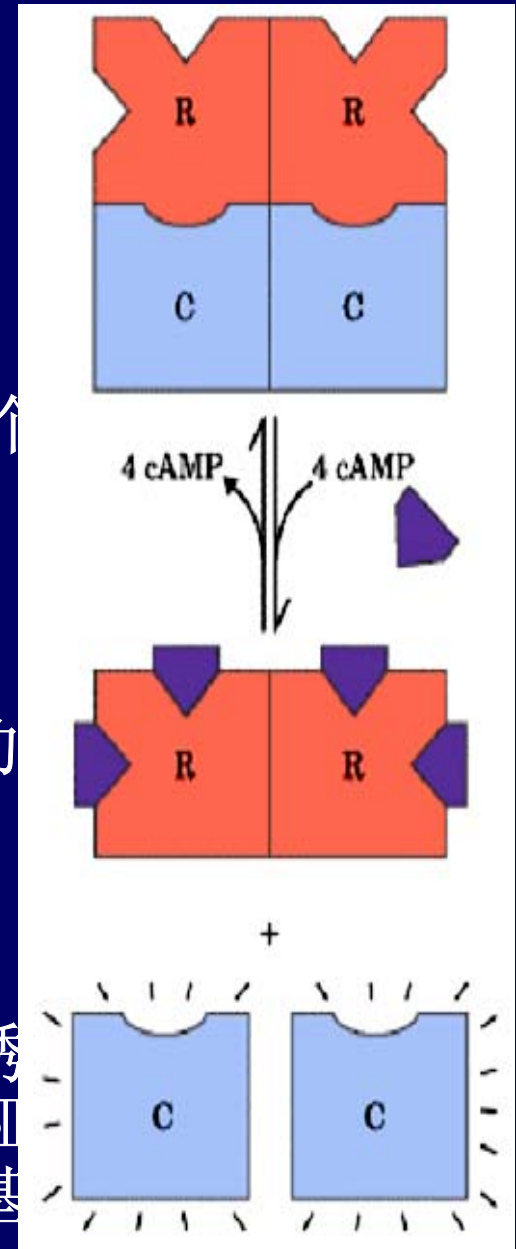
- (a) 肽链自发形成部分稳定二级结构的结构核；
- (b) 其他区域也形成二级结构，通过与结构核的相互作用来稳定自身；
- (c) 过程继续进行，直到大部分肽链形成规则的二级结构；
- (d) 最终形成的结构代表了最稳定构象。



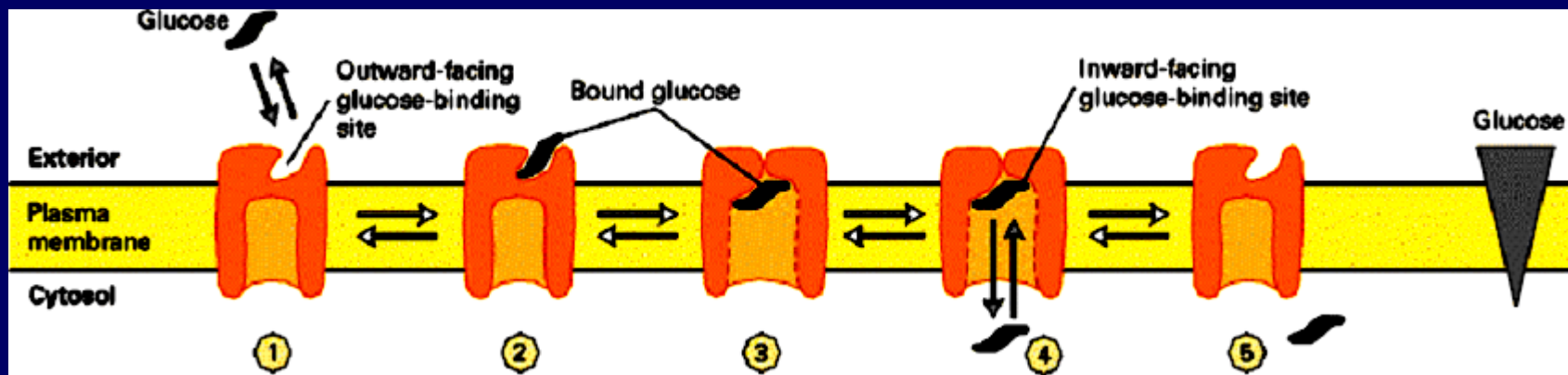
球状蛋白质构象的运动 — 酶活性调节

cAPK- cAMP 依赖的蛋白激酶

- ① 含 4 个亚基：2 个相同的催化亚基（C）和 2 个相同的调节亚基（R）
- ② 每个 R 亚基含一段假底物（pseudosubstrate）序列，与 C 亚基的活性位点结合，抑制了酶的催化活性，使酶处于无活性的四聚体（tetramer）状态
- ③ cAMP 作为变构效应分子与 R 亚基结合后，诱导假底物序列产生构象变化，使其不再与 C 亚基结合。因此四聚体解聚，有活性的催化亚基释放，进而使靶蛋白磷酸化



球状蛋白质构象的运动—跨膜转运

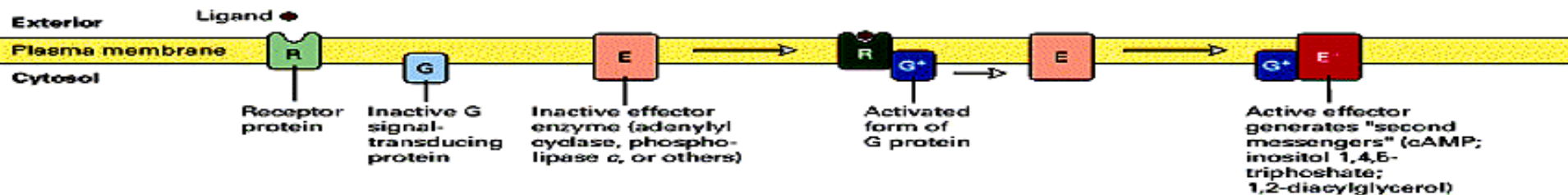


GLUT1葡萄糖转运子（Glucose transporter）

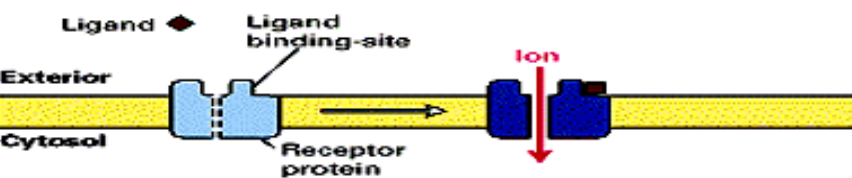
- ① 细胞外葡萄糖浓度高，葡萄糖结合位点向胞外（①、②）
- ② 结合葡萄糖后，蛋白质构象变化，使葡萄糖在蛋白质内移动，同时结合位点转向细胞内（③），然后释放葡萄糖（④）
- ③ 最后，转运子构象发生逆转（④ ⑤），向内的结合位点失活，同时重新产生向外的结合位点
- ④ 若开始时胞内葡萄糖浓度高，此过程相反（④ ①）

球状蛋白质构象的运动—配体与受体的结合

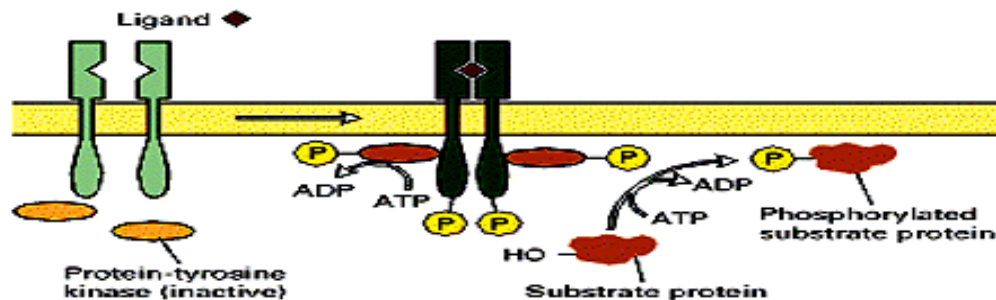
(a) G protein-coupled receptors (epinephrine, glucagon, serotonin)



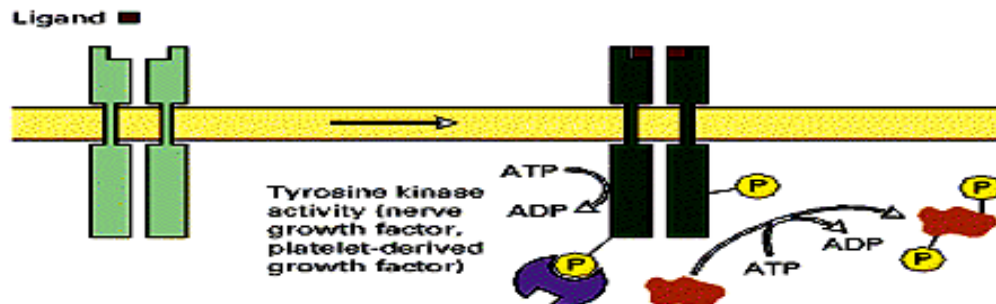
(b) Ion-channel receptors (acetylcholine)



(c) Tyrosine kinase-linked receptors (erythropoietin, interferons)



(d) Receptors with intrinsic enzymatic activity



(a) G蛋白偶联的受体

(b) 离子通道受体

(c) 酪氨酸激酶受体

(d) 内源性酶活性受体