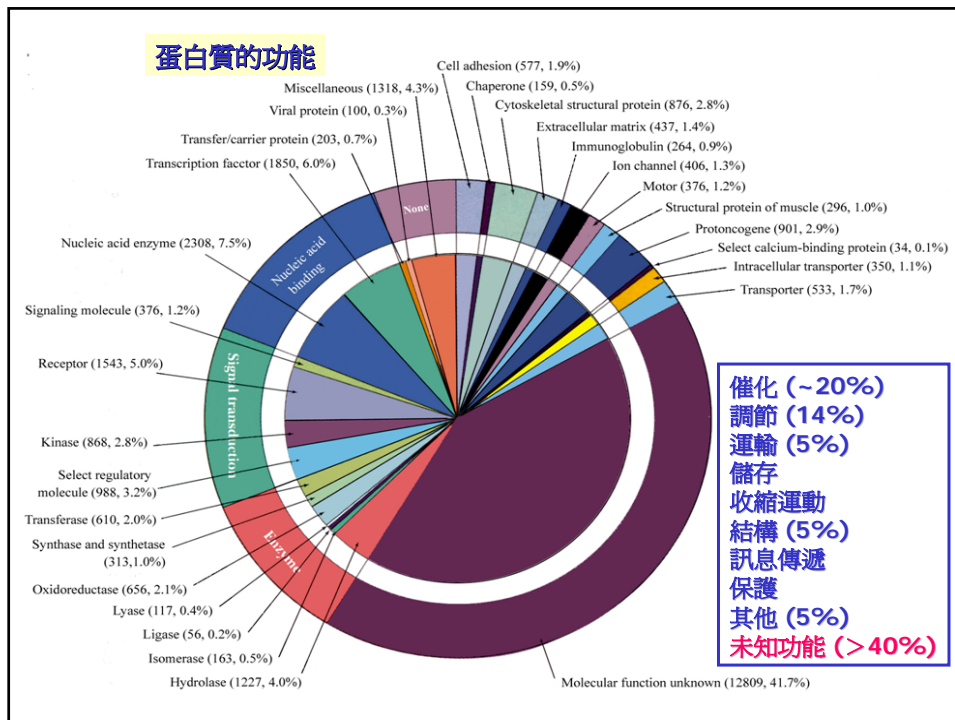


# 蛋白質

## 《緒論》

1. 蛋白質是細胞的主要有機成份，擔任多種功能，是**最重要**的生物大分子
2. 蛋白質是遺傳訊息的**表現者**  
蛋白質體學 (proteomics)
  - 研究蛋白質的種類、含量變化與分佈等，唯有了解蛋白質的特性與功能才可能回答有關生命奧秘的問題
  - **但未知功能的蛋白質仍佔多數**

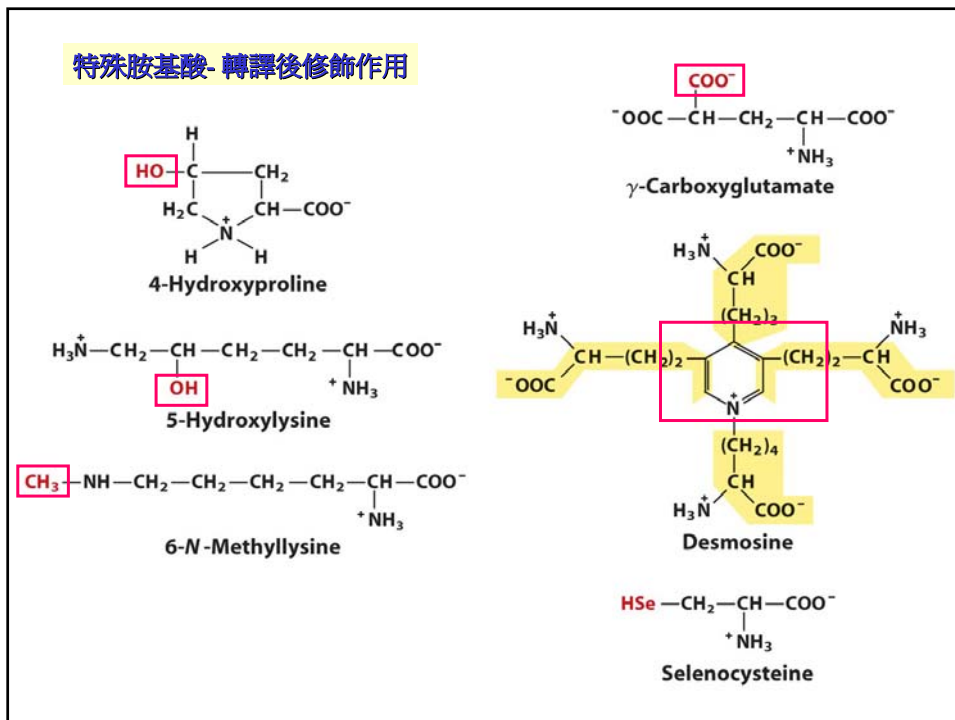
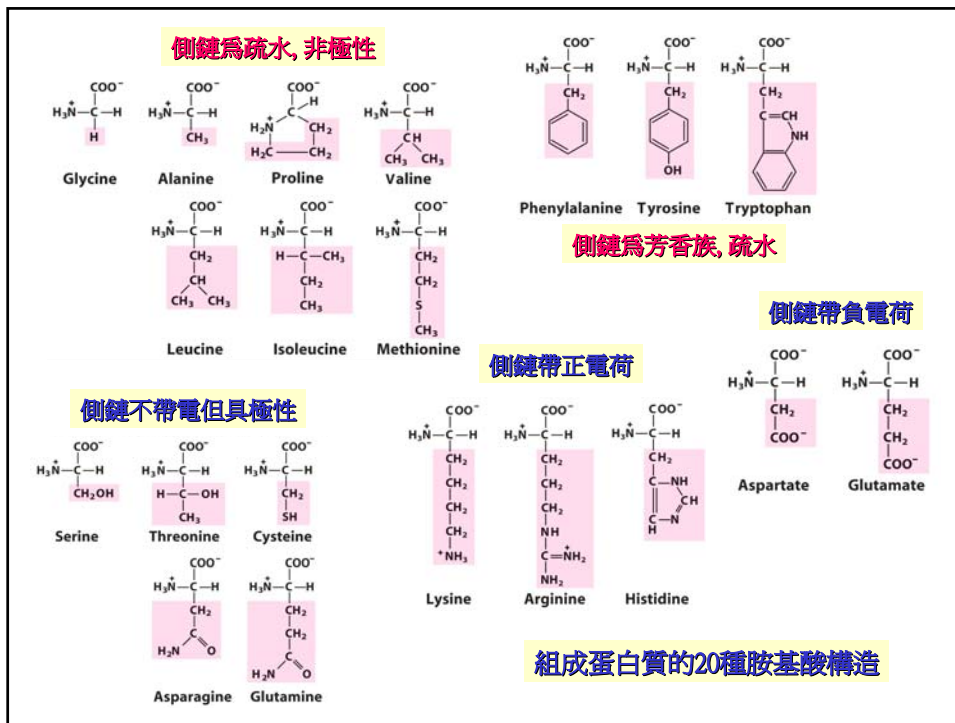


3. 蛋白質是由胺基酸組成的大分子  
 由20種(目前一說為22種)胺基酸構成，每種胺基酸的側鏈構造不同

- 極性或親水的(如帶電荷或不帶電具極性的)
- 非極性或疏水的
- 有些胺基酸併入蛋白質後可經轉譯後修飾作用\*加上其他官能基，此修飾作用與蛋白質的功能有關，如凝血因子與膠原蛋白等

蛋白質的大小範圍廣

- 如胰島素含51個胺基酸，細胞色素c含104個胺基酸，血紅素含574個胺基酸，肌聯蛋白(titin)含26,926個胺基酸



#### 4. 蛋白質的分類

依外觀形狀與溶解度

- 球狀蛋白，擔任功能性角色，以酵素最為重要
- 纖維狀蛋白，擔任結構支撐或保護性角色，如皮膚、韌帶、軟骨等構造的膠原蛋白，蠶絲的絲蛋白與頭髮的角蛋白等
- 膜蛋白(多為球狀蛋白)，形成通道控制物質進出(如運輸蛋白與離子通道)，參與外界訊號的傳遞(如激素的受體蛋白)，參與能量的產生(如細胞呼吸鏈與ATP合成酶)

依組成

- 簡單蛋白
- 複合蛋白\*

#### 複合蛋白

TABLE 3-4 Conjugated Proteins

Class	Prosthetic group	Example	
Lipoproteins	Lipids	$\beta_1$ -Lipoprotein of blood	脂蛋白
Glycoproteins	Carbohydrates	Immunoglobulin G	醣蛋白
Phosphoproteins	Phosphate groups	Casein of milk	
Hemoproteins	Heme (iron porphyrin)	Hemoglobin	血基質蛋白
Flavoproteins	Flavin nucleotides	Succinate dehydrogenase	核黃蛋白
Metalloproteins	Iron	Ferritin	金屬蛋白
	Zinc	Alcohol dehydrogenase	
	Calcium	Calmodulin	
	Molybdenum	Dinitrogenase	
	Copper	Plastocyanin	

## 《蛋白質的分離與純化》

### 1. 蛋白質純化

利用一系列步驟保留特定蛋白質，並將其他蛋白質自樣品中移除的過程

- 當分析特定蛋白質的結構與功能時，需將此蛋白質由其存在的環境(如細胞抽取液)中分離出

### 2. 純化蛋白質的用途

純化所得的蛋白質組成均一，可用於進行活性分析的生理生化研究、析出晶體的結構研究、工業上固定化酵素的應用

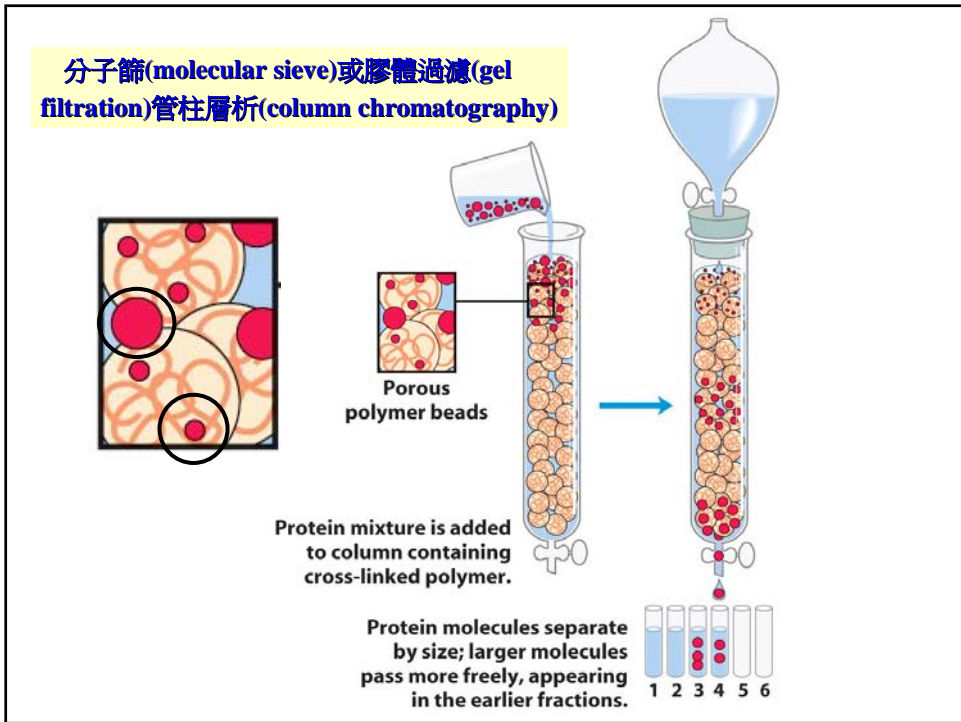
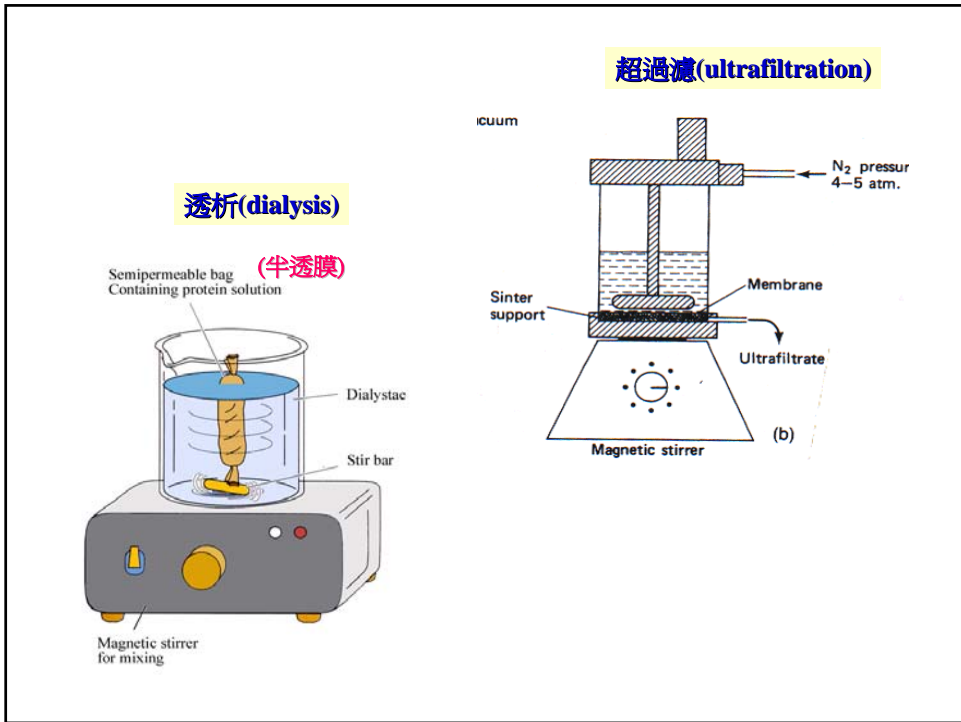
### 3. 蛋白質分離與純化的原理

分離的原理

- 利用蛋白質的分子量大小、帶電特性、溶解度或蛋白質與特定物質間的吸附作用等

利用分子量大小

- 透析\*
- 超過濾\*
- 分子篩或膠體過濾管柱層析\*



### 利用帶電特性

- 離子交換管柱層析法\*
- 等電點聚焦\*

在特定pH值時，蛋白質所帶的正、負電荷相等，分子的淨電荷為零，在電場中不移動，此pH值稱為等電點 (pI)

- 電泳

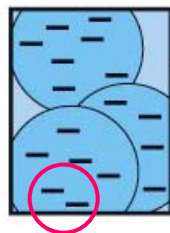
SDS-PAGE (SDS-polyacrylamide gel electrophoresis)\*

二維電泳(two-dimensional gel electrophoresis,

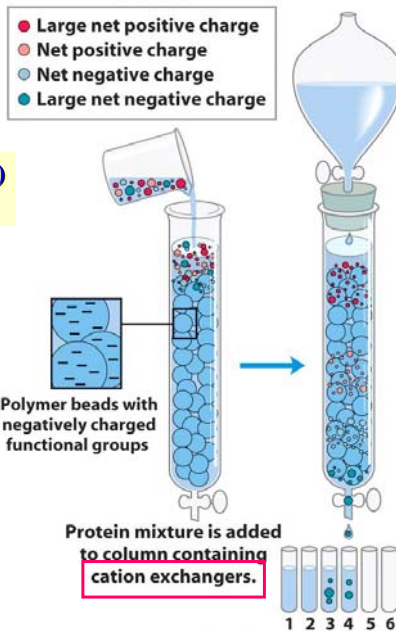
2D電泳)\*

毛細管電泳

### 離子交換(ion exchange) 管柱層析



Polymer beads with negatively charged functional groups

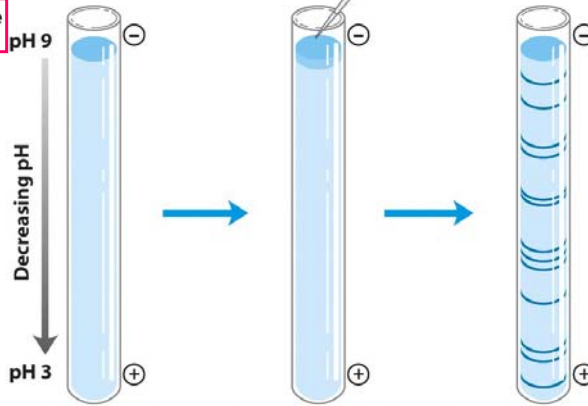


Protein mixture is added to column containing cation exchangers.

Proteins move through the column at rates determined by their net charge at the pH being used. With cation exchangers, proteins with a more negative net charge move faster and elute earlier.

### 等電點交集(isoelectric focusing)

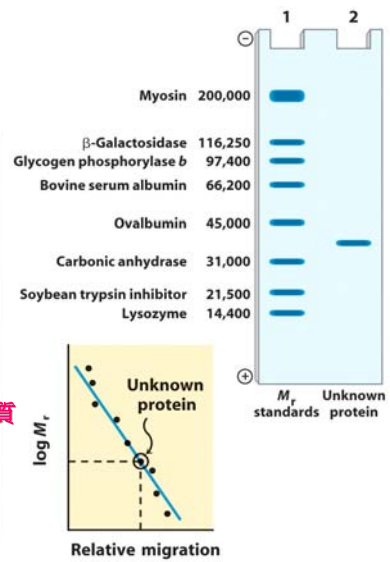
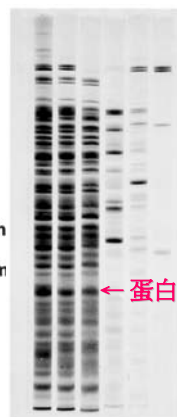
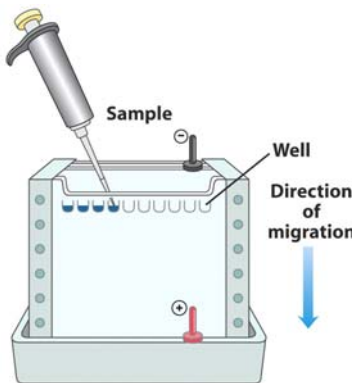
An ampholyte solution is incorporated into a gel.



A stable pH gradient is established in the gel after application of an electric field.

Protein solution is added and electric field is reapplied.

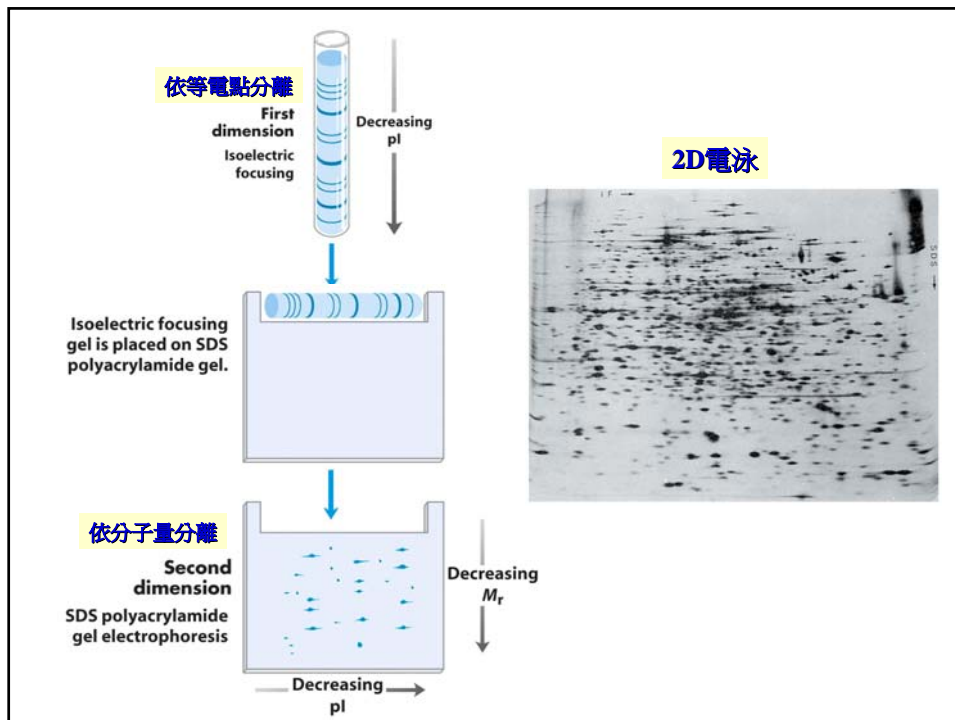
After staining, proteins are shown to be distributed along pH gradient according to their pI values.



### 膠體電泳(gel electrophoresis)

SDS-PAGE可用於估測蛋白質分子量





### 利用溶解度

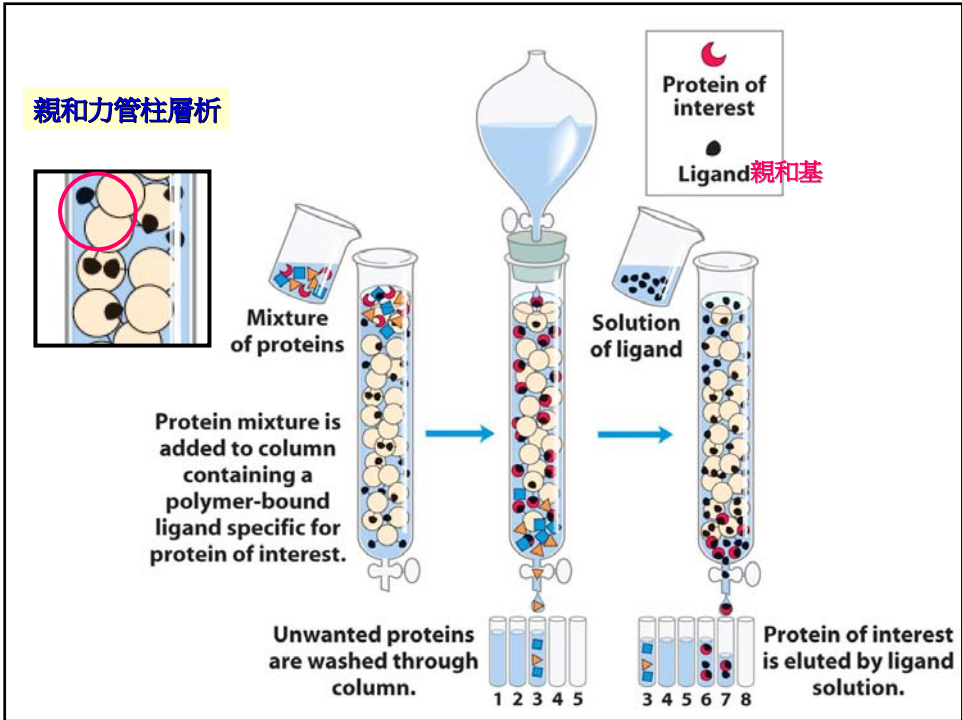
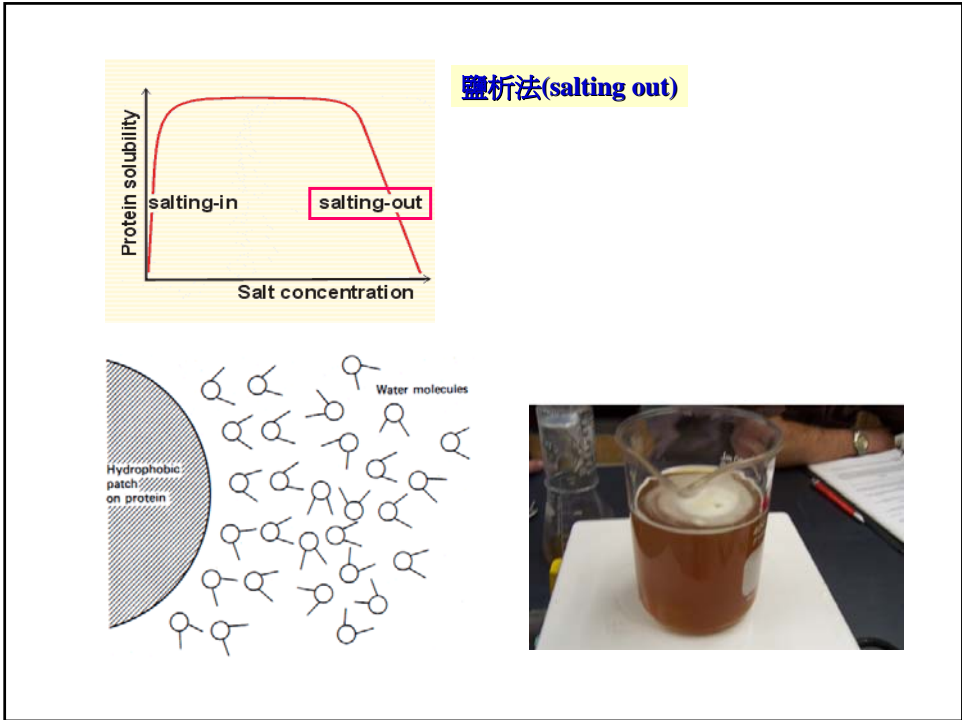
- 鹽析法\*

### 利用非專一性的吸附作用

- 活性炭
- 磷酸鈣

### 利用專一性的吸附作用

- 如抗體與抗原或酵素與受質間專一性的接合特性
- 親和力管柱層析\*



## 蛋白質的純化結果

TABLE 3-5 A Purification Table for a Hypothetical Enzyme

Procedure or step	Fraction volume (ml)	Total protein (mg)	Activity (units)	Specific activity (units/mg)
1. Crude cellular extract	1,400	10,000	100,000	10
2. Precipitation with ammonium sulfate	溶解度 280	3,000	96,000	32
3. Ion-exchange chromatography	帶電特性 90	400	80,000	200
4. Size-exclusion chromatography	分子大小 80	100	60,000	600
5. Affinity chromatography	專一性的吸附 <sup>6</sup> 3	3	45,000	15,000

Note: All data represent the status of the sample after the designated procedure has been carried out. Activity and specific activity are defined on page 94.

## 《蛋白質的結構》

### 1. 一級結構

(各)多肽中胺基酸的組成與排列次序\*

### 2. 二級結構

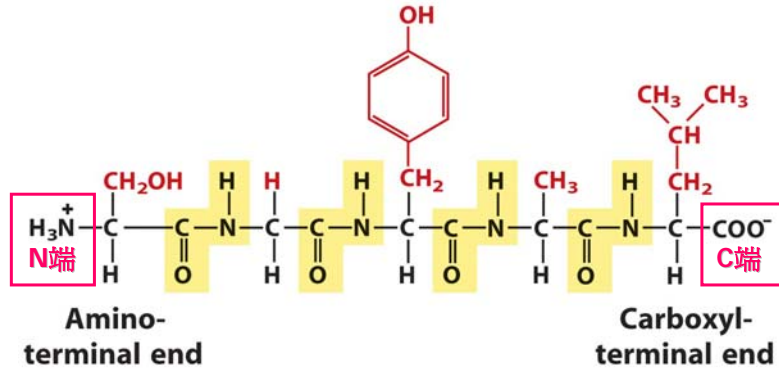
多肽因連接各胺基酸的肽鍵(peptide bond)間產生氫鍵，而形成重複出現的特殊結構

-  $\alpha$ -螺旋， $\beta$ -褶片

肽鍵的構造與特性

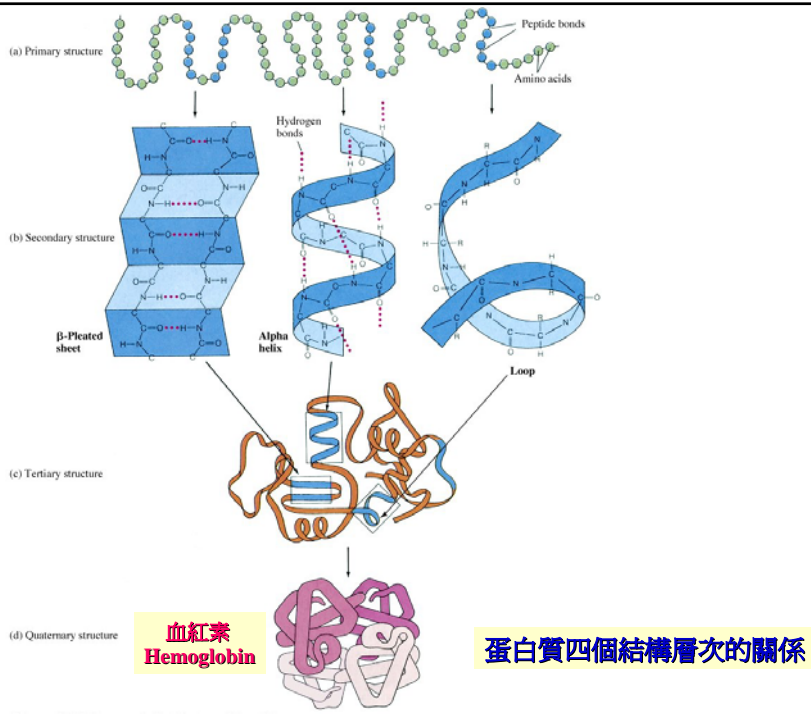
-- $C_{\alpha}$ - $C_o$ - $N$ - $C_{\alpha}$ -，具部份雙鍵特性\*

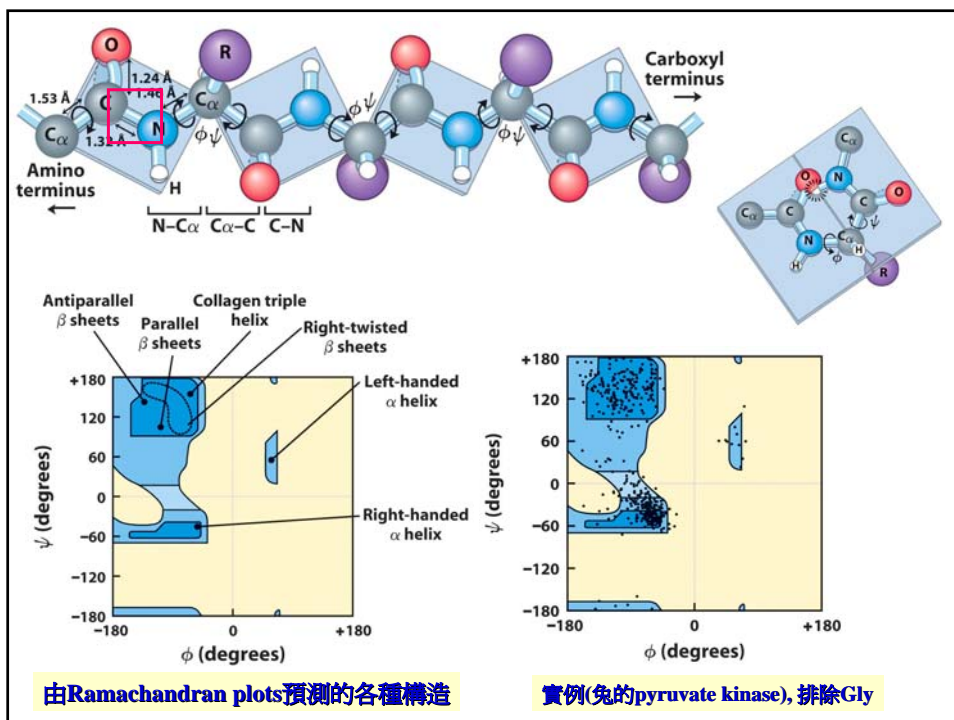
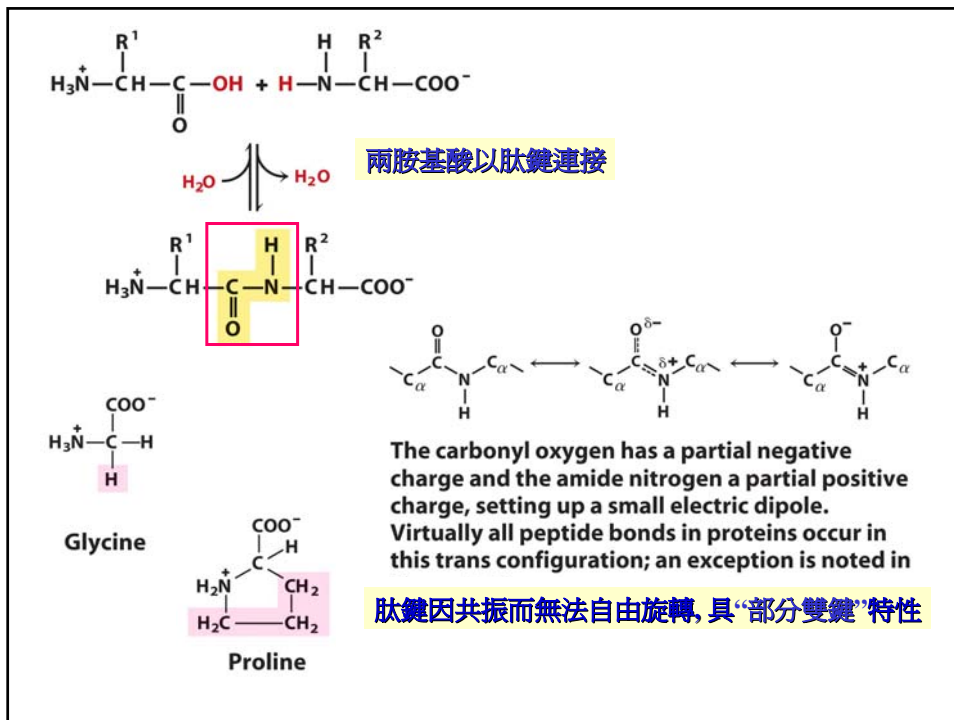
- 為一平面構造(amide plane, peptide plane)，自由旋轉度為 $\Phi$ 與 $\Psi$



**多肽的表示方式與方向性**

- Serylglycyltyrosylalanylleucine, Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu, **SGYAL**



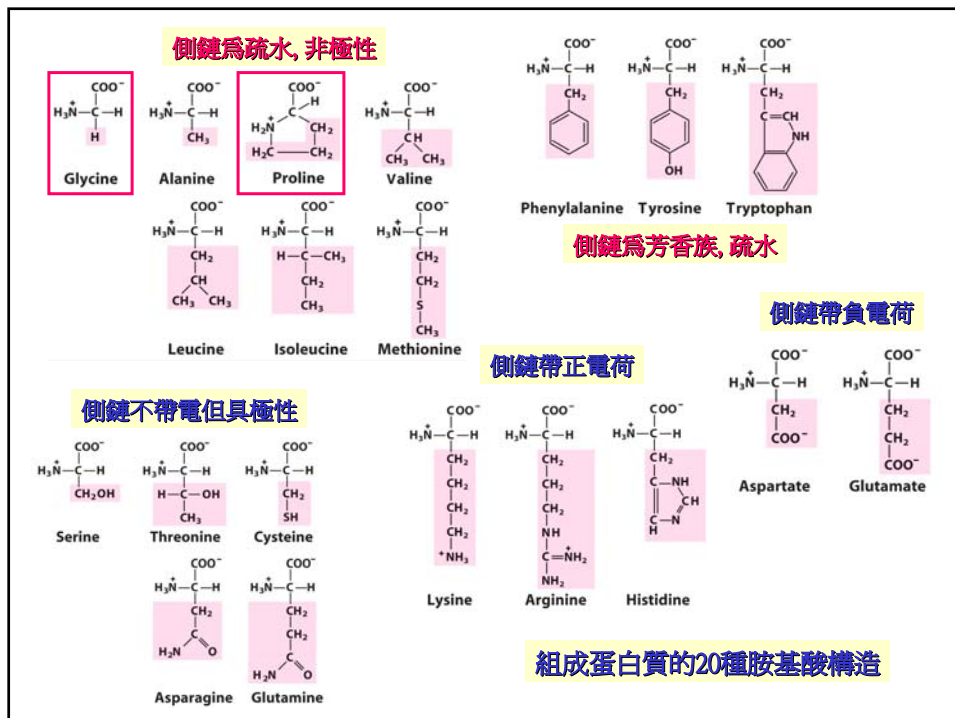


## Ramachandran plot\*

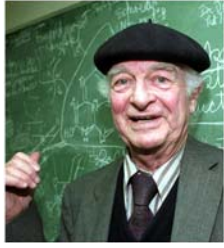
- 甘氨酸(glycine)\*與脯氨酸(proline)\*為 $\alpha$ -螺旋的破壞者

## 典型的二級構造

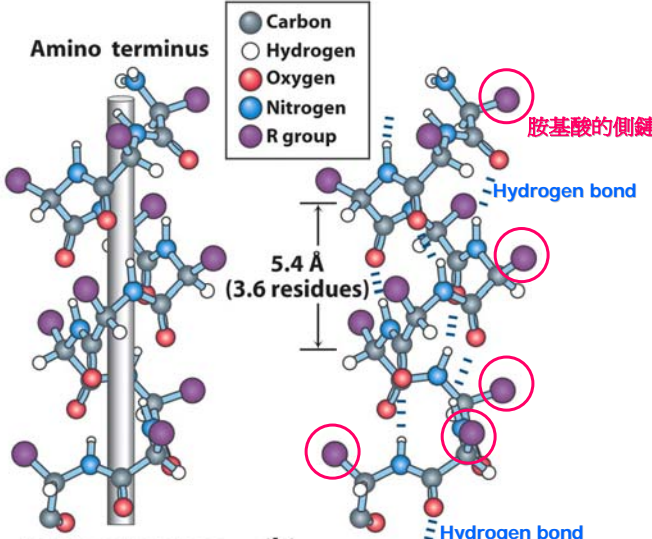
- 由Pauling與Corey提出\*，Pauling因而獲得1954年諾貝爾化學獎
- $\alpha$ -螺旋與 $\beta$ -褶片\*的結構特性
- 特定蛋白質中特定二級構造的含量\*
- $\beta$ -轉折\*的結構特性




**$\alpha$ -螺旋構造(1)**



**Linus Pauling (1901-1994)**  
- 1954年諾貝爾化學獎

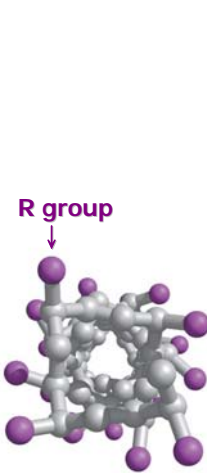


**(a)** Carboxyl terminus      **(b)**

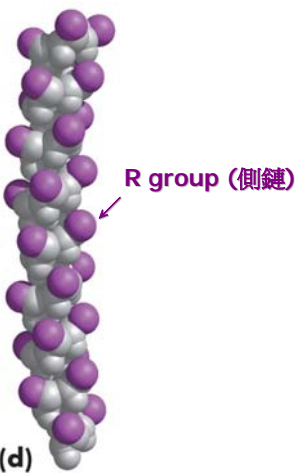


**Robert Corey (1897-1971)**

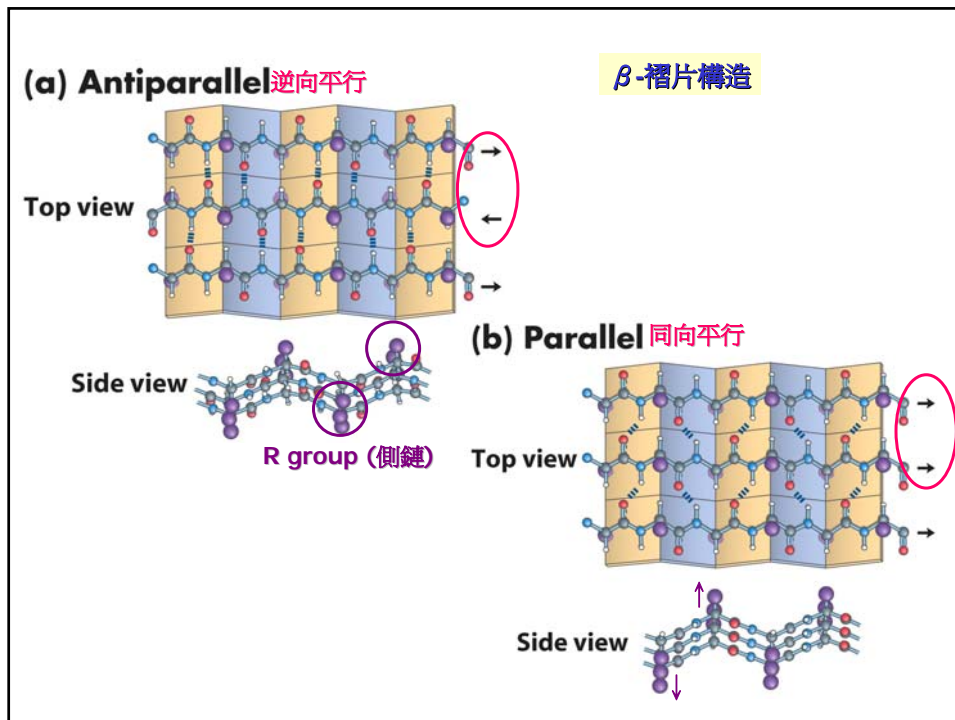
**$\alpha$ -螺旋構造(2)**



**(c)**



**(d)**



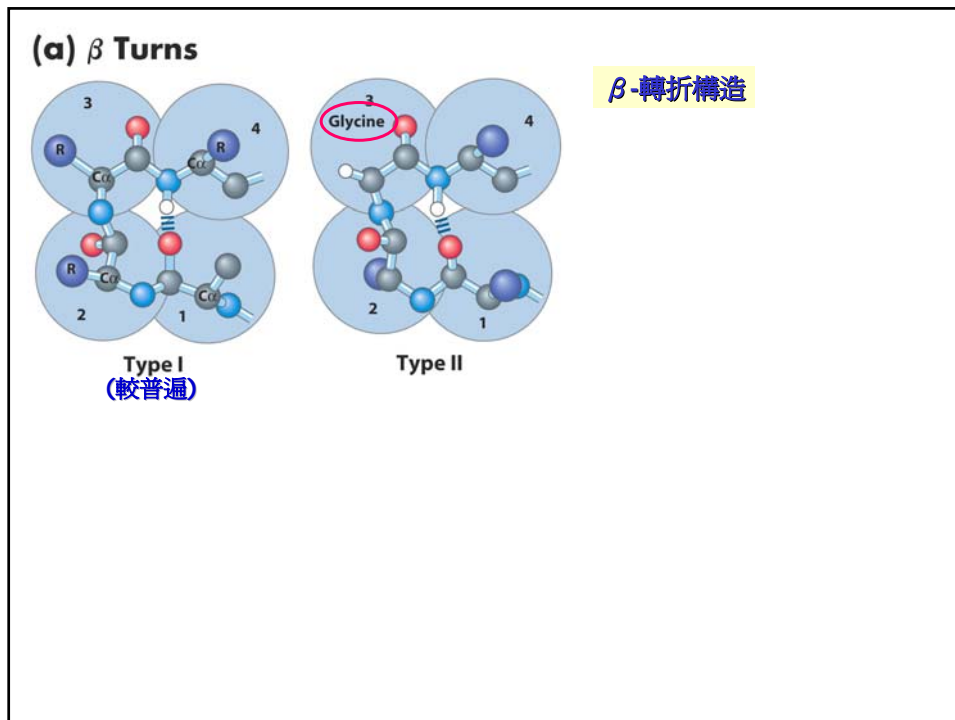
**TABLE 4-2** Approximate Amounts of  $\alpha$  Helix and  $\beta$  Conformation in Some Single-Chain Proteins

Protein (total residues)	Residues (%)*	
	$\alpha$ Helix	$\beta$ Conformation
Chymotrypsin (247)	14	45
Ribonuclease (124)	26	35
Carboxypeptidase (307)	38	17
Cytochrome c (104)	39	0
Lysozyme (129)	40	12
Myoglobin (153)	78	0

Source: Data from Cantor, C.R. & Schimmel, P.R. (1980) *Biophysical Chemistry, Part I: The Conformation of Biological Macromolecules*, p. 100, W. H. Freeman and Company, New York.

\*Portions of the polypeptide chains that are not accounted for by  $\alpha$  helix or  $\beta$  conformation consist of bends and irregularly coiled or extended stretches. Segments of  $\alpha$  helix and  $\beta$  conformation sometimes deviate slightly from their normal dimensions and geometry.





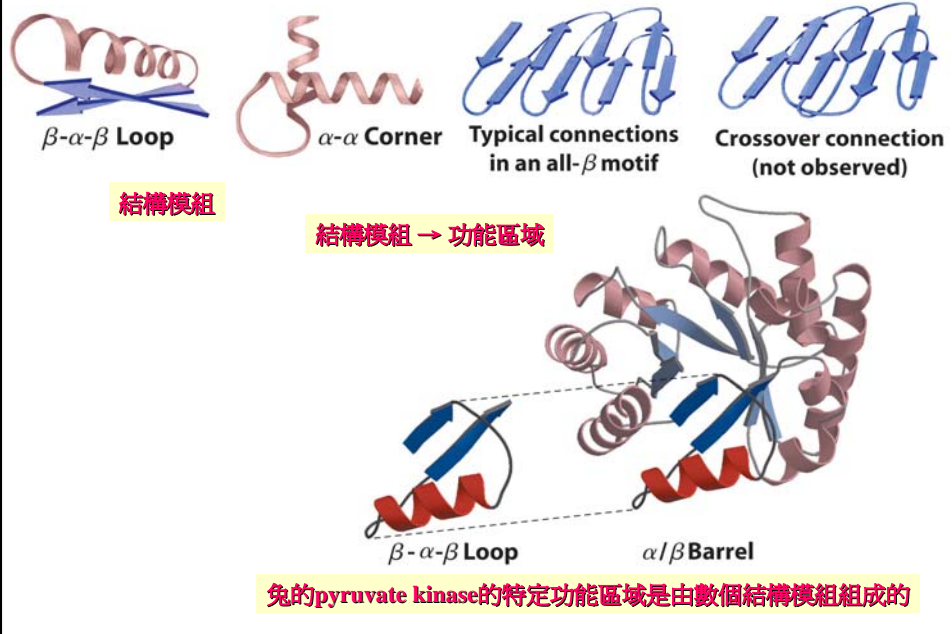
### 超二級構造(supersecondary structures)

- 結構模組(motif, fold)或結構區域\*，為二級構造的組合
- 功能區域(domain)\*，為具功能性的特定二級構造的組合

### Random coil or unorganized structures

- “Random coil is not random!”

蛋白質中常見的摺疊模式



$\beta$  Conformation  
 $2,000 \times 5 \text{ \AA}$

$\alpha$  Helix  
 $900 \times 11 \text{ \AA}$

Native globular form  
 $100 \times 60 \text{ \AA}$

球形蛋白具有緊密的構形

- 以人類血清白蛋白(human serum albumin)為例  
 Mr 64.500 kDa, 585 胺基酸 residues in a single chain

### 3. 三級結構

指已具有二級構造的多肽，因**胺基酸側鏈間的交互作用**而折疊扭轉成特有的緊密立體形狀

### 4. 四級結構

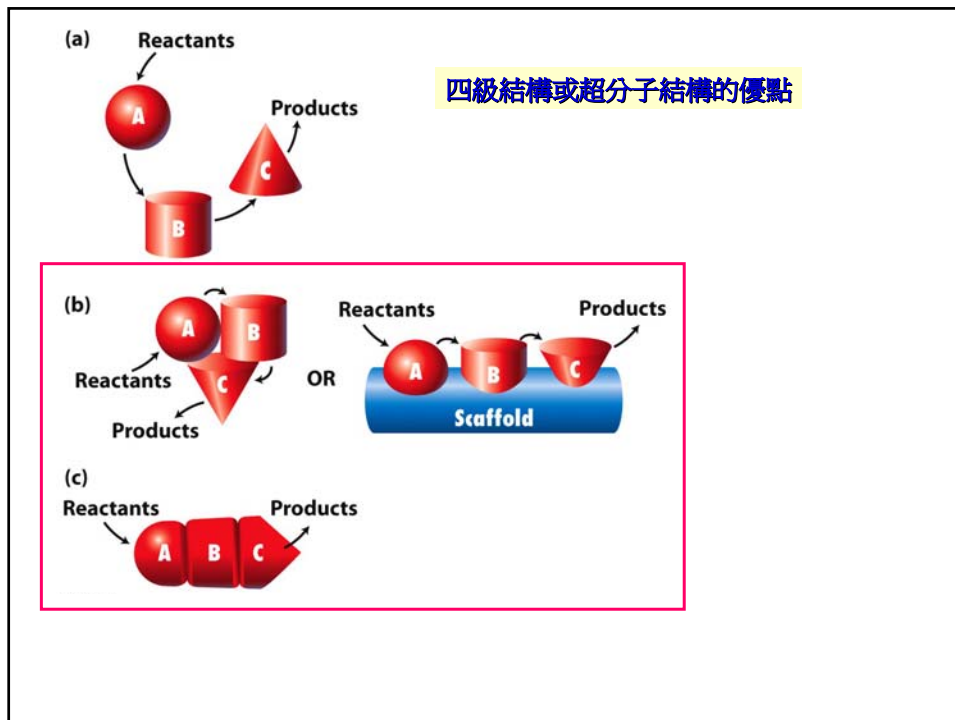
當具有生物功能的蛋白質\*是由兩條或兩條以上的多肽(次單元)組成時，次單元在立體空間的相互關係

形成四級構造的優點

- 增加結構安定性，遺傳物質能有效利用，形成功能或活性部位，調節與協同效應

**TABLE 3-2** Molecular Data on Some Proteins

	<i>Molecular weight</i>	<i>Number of residues</i>	<i>Number of polypeptide chains</i>
Cytochrome c (human)	13,000	104	1
Ribonuclease A (bovine pancreas)	13,700	124	1
Lysozyme (chicken egg white)	13,930	129	1
Myoglobin (equine heart)	16,890	153	1
Chymotrypsin (bovine pancreas)	21,600	241	3
Chymotrypsinogen (bovine)	22,000	245	1
Hemoglobin (human)	64,500	574	4
Serum albumin (human)	68,500	609	1
Hexokinase (yeast)	102,000	972	2
RNA polymerase ( <i>E. coli</i> )	450,000	4,158	5
Apolipoprotein B (human)	513,000	4,536	1
Glutamine synthetase ( <i>E. coli</i> )	619,000	5,628	12
Titin (human)	2,993,000	26,926	1



## 5. 超分子結構(supermolecular organization)

細胞內不同的蛋白質(具有三級或四級構造)因行使功能而產生交互作用的實際狀態

例子

- DNA複製體(replisome)
- 蛋白質降解體(proteasome)
- 轉錄體(transcriptosome)
- 凋亡體(apoptosome)
- 發炎體(inflammasome)
- ATP合成體(ATP synthasome)
- 呼吸體(respirasome)

## 6. 維持蛋白質結構的作用力

共價鍵結如一級構造中的肽鍵與三級結構中的雙硫鍵\*

非共價作用力如二，三，四級結構中的氫鍵，離子鍵，凡得瓦爾力與疏水作用

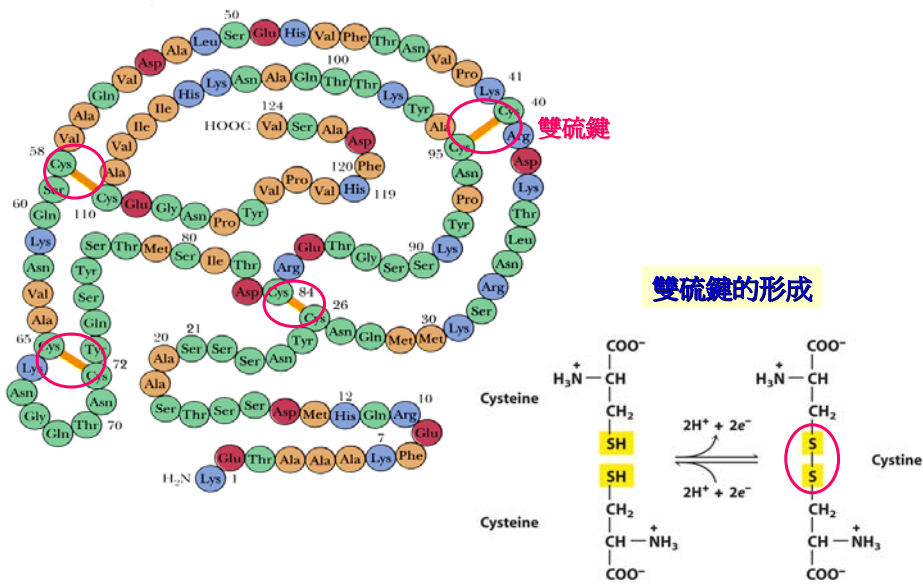
- 皆為**弱的作用力**，因此大部份蛋白質只能在溫和的環境(溫度, pH值)中發揮功能

## 7. 蛋白質的變性(denaturation)

蛋白質因維持結構的作用力受破壞而失去特有的結構與活性

- 變性通常是蛋白質特有的形狀遭受破壞，因此蛋白質變性有時是可逆的

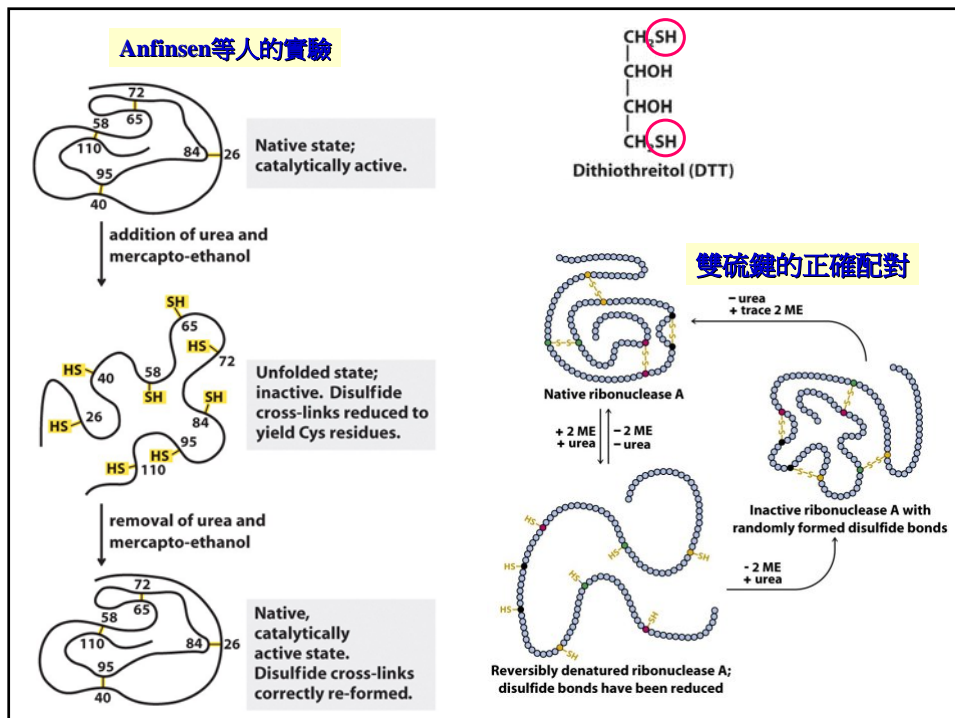
牛胰臟分泌的RNase由124個胺基酸組成, 含有4個雙硫鍵



## 8. 蛋白質結構與功能的密切關係

由Anfinsen等人以核糖核酸水解酶(RNase)所進行的一系列實驗證明

- RNase\*含124個胺基酸，有4個雙硫鍵，當以還原劑及尿素處理RNase\*時，雙硫鍵被還原，非共價作用力被破壞
- RNase發生“變性”，喪失水解RNA的活性
- 當以適當條件移除還原劑及尿素時，RNase的活性可完全恢復，而重新折疊的RNase，所測得的物理或化學特性均和原來酵素相同



### Anfinsen等人的實驗中

- 所有的處理皆不會破壞連接各胺基酸之間的共價鍵結，即蛋白質的一級構造不受影響
- 因此提出“蛋白質的一級構造決定蛋白質特定的立體構形”與“蛋白質的功能與其特有的構形有關”的論點
- 確立蛋白質結構與功能的關係，促進以生物分子為基礎探討演化過程的研究
- Anfinsen等人獲得1972年諾貝爾化學獎

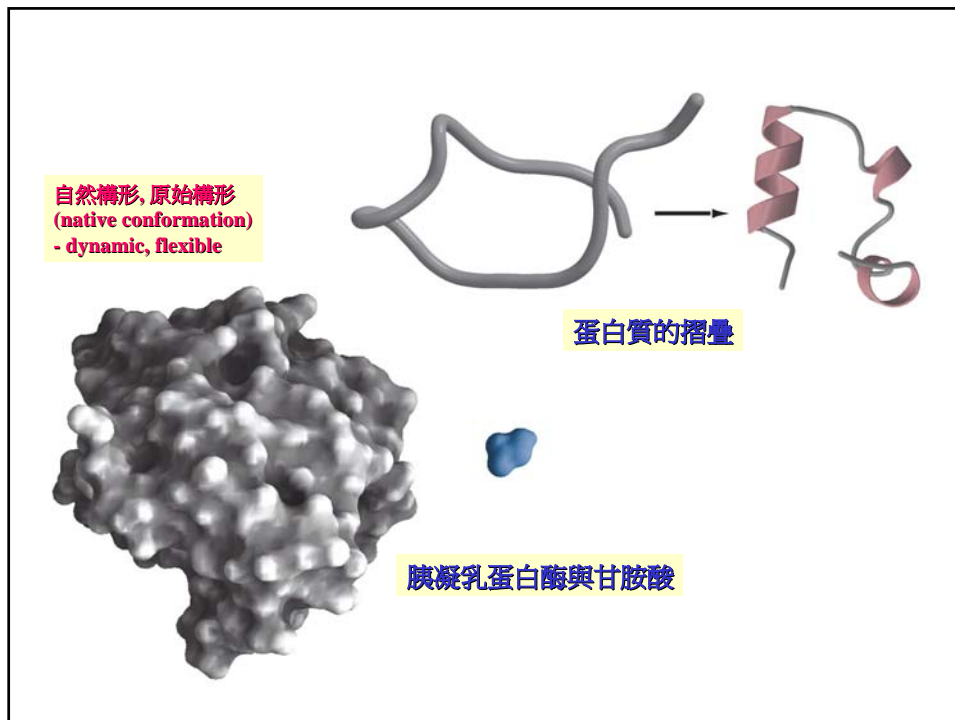
### 9. 蛋白質立體構造的摺疊

Anfinsen等人的研究結果提出“**All of the information necessary for folding the peptide chain into its “native” structure is contained in the amino acid sequence of the peptide**”

蛋白質特有構形的形成\*

- Levinthal's paradox (1968年)

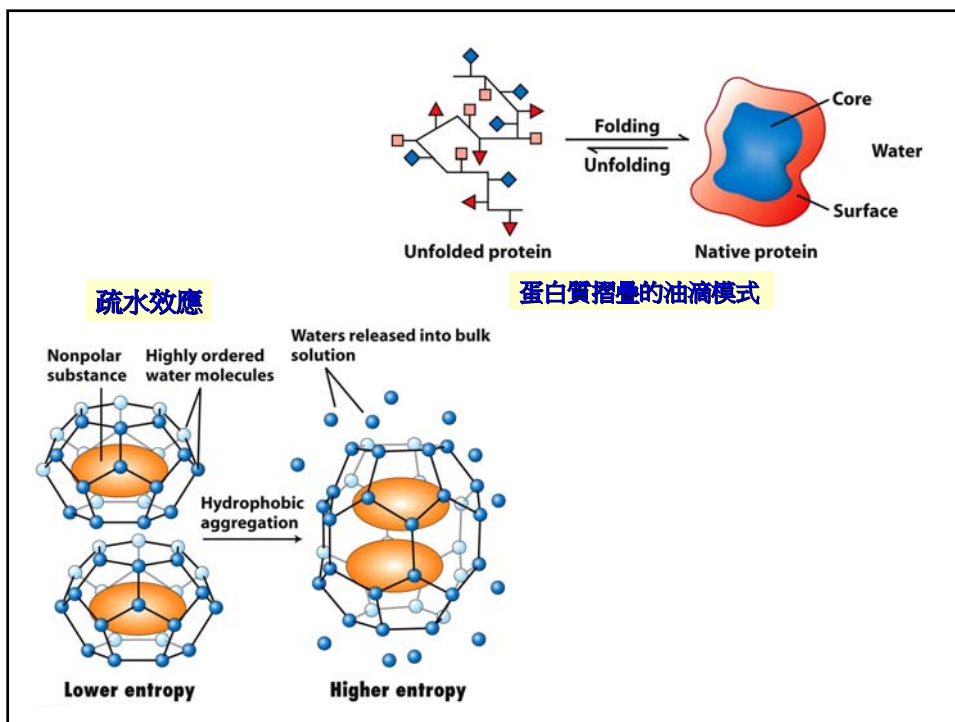
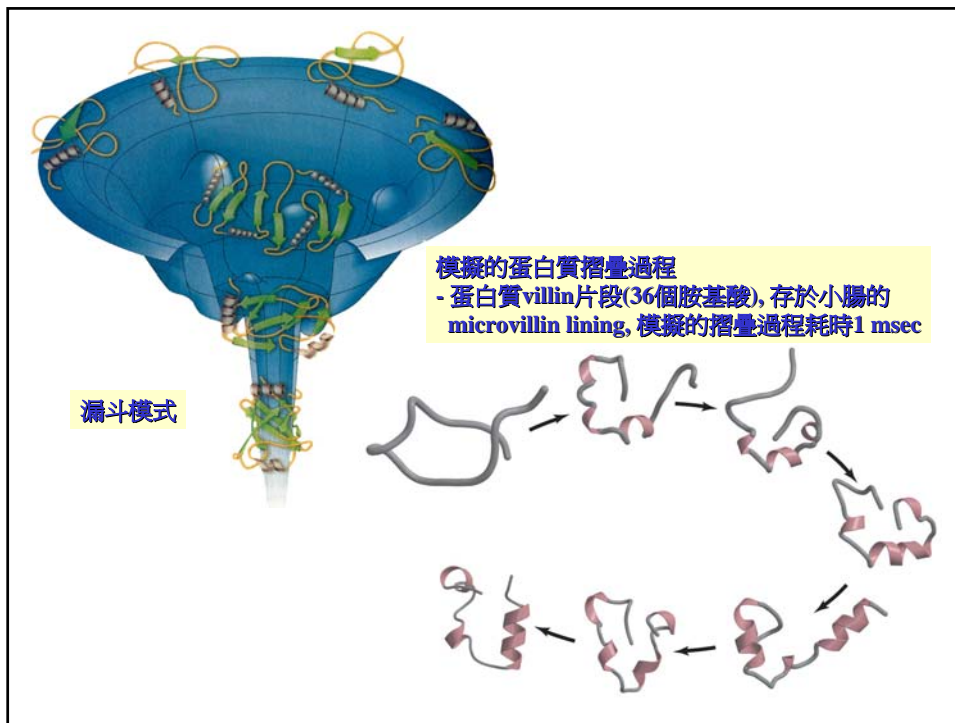
假設一蛋白質含有100胺基酸，若每一個胺基酸只有兩種可能的空間分佈情形，則此蛋白質的構形有 $2^{100}$ 個可能性，如測試每一種可能性需 $10^{-13}$ 秒，則需 $4 \times 10^9$ 年，但生理狀況(*in vivo*)下卻只需~5秒



### 摺疊的過程

- 以 overall energy minimum 為準則\*
- 摺疊的驅動力(driving force)為亂度(entropy)因素  
疏水的胺基酸側鏈分佈
- 漏斗模式(funnel model)\*  
漏斗為energy landscape (能量圖景, 位能鳥瞰)  
二級構造 → 功能區域



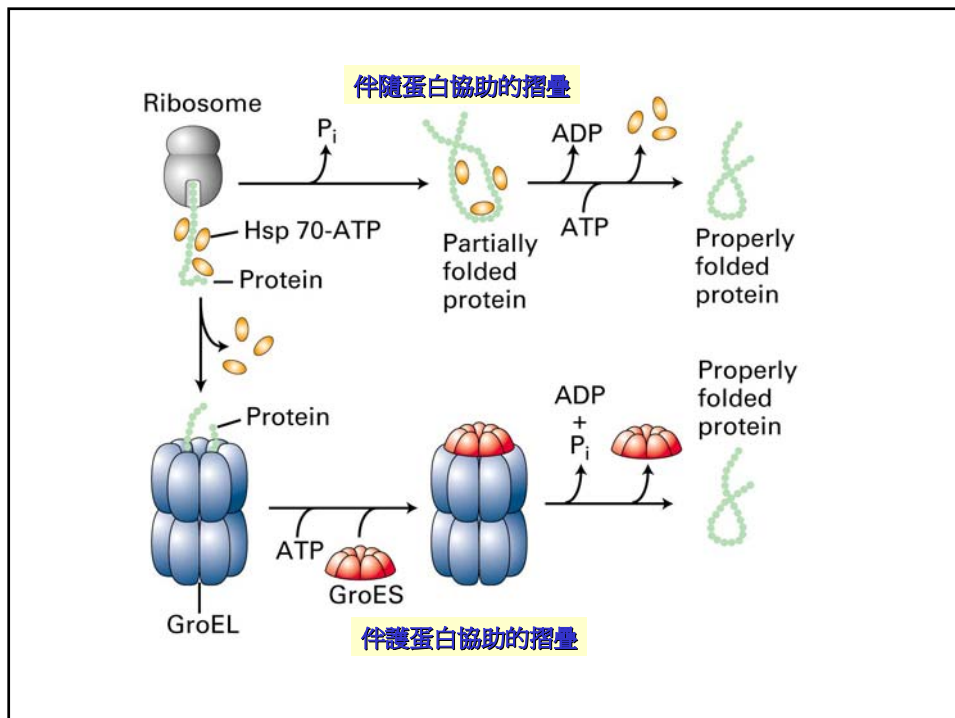


## 10. 參與摺疊的蛋白質

蛋白質在合成後，並非皆能及時自發摺疊成正確的構形，其快速正確的摺疊需許多其他蛋白質的協助

### 分子伴護蛋白(molecular chaperones)

- 伴隨蛋白或伴從蛋白(chaperones, 被動角色)\*  
會與未摺疊或部份摺疊的蛋白質接合，以避免未摺疊或部份摺疊的蛋白質黏集而被降解  
*in vivo* 的實驗顯示伴隨蛋白是蛋白質正確摺疊及形成四級構造所必需，如Hsp70s (熱休克蛋白70)
- 伴護蛋白(chaperonins, 主動角色)\*  
會直接促進蛋白質的摺疊，如Hsp60



其他蛋白

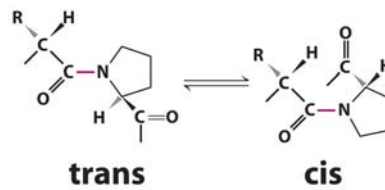
- Protein disulfide isomerase (PDI)

雙硫鍵的正確配對

- Peptide proyl *cis-trans* isomerase (PPI)

脯氨酸

### Proline isomers



多肽中含Pro時, 其肽鍵具有*trans*與*cis*異構形式  
- Pro為*cis*異構形式的機率為5 ~ 30%, 其他胺基酸則少於0.1%

## 11. 與蛋白質摺疊缺失有關的疾病

普昂疾病(the prion disease)

- Prion (**proteinaceous infectious only**)

Prusiner獲得1997年諾貝爾生醫獎

纖維囊腫(cystic fibrosis)

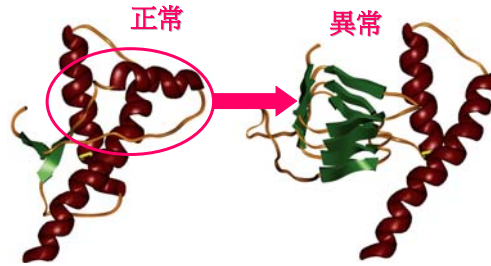
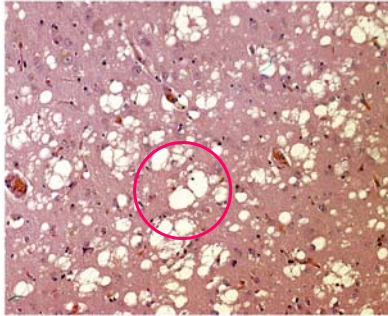
- Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR), 因胺基酸(F508)刪除突變, 導致摺疊過程的中間產物無法自伴隨蛋白脫離, CFTR無法抵達其最終作用場所

肺氣腫(emphysema)

-  $\alpha_1$ -Antitrypsin

抑制彈力蛋白酶(elastase), 彈力蛋白

Stained section of cerebral cortex from autopsy of a patient with C-J disease shows spongiform degeneration



The propagation of infectious prion protein Occurs via conversion of normal prion protein (left) to a disease-causing form (right)



人類PrP蛋白單體(左)與雙聚體(右)形式

## 《蛋白質結構與功能關係的研究實例》

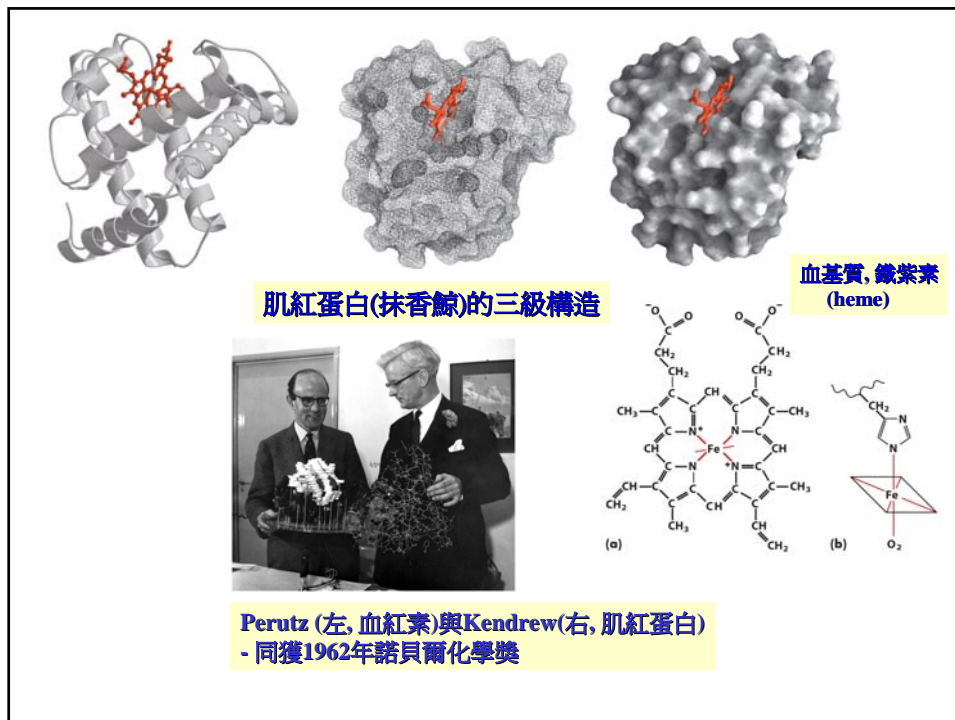
### 1. 肌紅蛋白與血紅素

#### 肌紅蛋白(myoglobin, Mb)

- 負責肌肉細胞內 $O_2$ 的輸送與儲存，屬功能性蛋白質，含153個胺基酸與血基質\*

- 肌紅蛋白的結構\*

由研判X光晶體繞射結果得知，整個分子為球狀，摺疊十分緊密，其中75%為 $\alpha$ -螺旋構造，血基質約位於分子中心並以所含的 $Fe^{+2}$ 與 $O_2$ 接合進行輸送及儲存 $O_2$ ，Kendrew因解出結構的貢獻獲得1962年諾貝爾化學獎

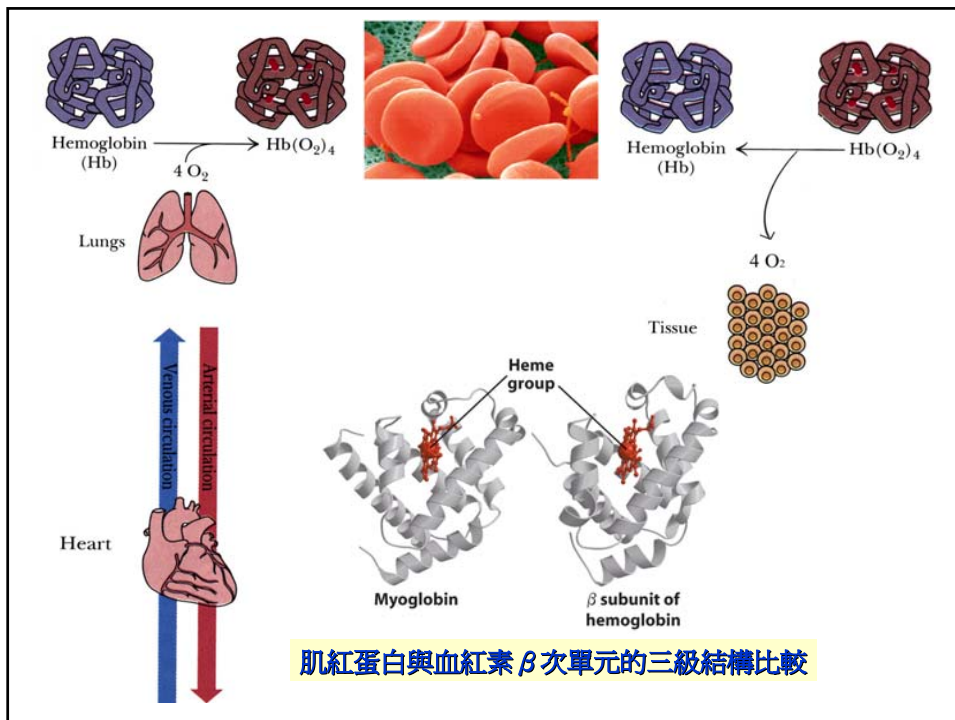


### 血紅素(hemoglobin, Hb)

- 在肺與組織細胞間擔任 $O_2$ 的輸送\*
- 具有四級構造\*

由兩個 $\alpha$ 次單元與兩個 $\beta$ 次單元構成一個四面體的立體排列，組成的 $\alpha$ 次單元(含141個胺基酸)與 $\beta$ 次單元(含146個胺基酸)的分子中心，分別含血基質可與 $O_2$ 接合，Perutz因解出構造而與Kendrew同獲諾貝爾獎

$\alpha$ 次單元與 $\beta$ 次單元的結構雖非完全相同但極類似，且其個別的立體構造也均與肌紅蛋白類似\*，顯示高度相似的立體結構與其同為攜氧蛋白的功能有關



	Mb	Hb $\alpha$	Hb $\beta$
NA1	IV	IV	IV
A1	L	L	L
	S	S	T
	E	P	P
	G	A	E
	E	D	E
	W	K	K
	Q	T	S
	L	N	A
	V	V	V
	L	K	T
	H	A	A
	V	A	L
	W	W	W
	A	G	G
	K	K	K
	V	V	V
A16	E	G	---
	A	A	---
B1	--20D	20H	20V
	V	A	D
	A	G	D
	G	E	E
	H	Y	V
	G	G	G
	Q	A	G
	D	E	E
	I	A	A
	L	L	L
	I	E	G
	R	R	R
	L	M	L
	F	F	L
	K	L	V
B16	---	S	S
	:	:	:
	:	:	:
	:	:	:

	Mb	Hb $\alpha$	Hb $\beta$
	K	A	A
	K	H	H
	K	V	L
	80G	D	D
	H	D	80N
	H	M	L
	E	P	K
	A	N	G
	E	A	T
F1	---	80L	F
	K	S	A
	P	A	T
	L	L	L
	A	S	S
	Q	D	E
	S	L	L
	H	H	H
Proximal His F8	---	A	C
	T	H	D
	K	K	K
	H	L	L
	K	R	H
	I	V	V
	I	V	V
G1	---	100P	D
	I	P	100P
	K	V	E
	Y	N	N
	L	F	F
	E	K	R
	F	100L	L
	I	L	L
	S	S	G
	E	H	N
	A	C	V
	I	L	L
	I	L	V
	:	:	:
	:	:	:
	:	:	:
	:	:	:

	Mb	Hb $\alpha$	Hb $\beta$
C1	---	H	F
	P	P	P
	E	T	W
	T	T	T
	40L	40K	Q
	E	T	40R
C7	---	K	Y
	F	F	F
	D	P	E
	R	H	S
	F	F	F
	K	---	G
	H	D	D
	L	L	L
D1	---	T	H
	E	---	P
	A	---	D
	E	---	A
	M	---	V
	K	---	M
D7	---	A	G
E1	---	S	S
	E	A	P
	40D	Q	K
	L	V	60V
	K	K	K
	K	G	A
	H	H	H
Distal His E7	---	V	V
	L	A	L
	T	D	G
	A	A	A
	L	L	F
	L	G	T
	A	N	D
	I	A	G

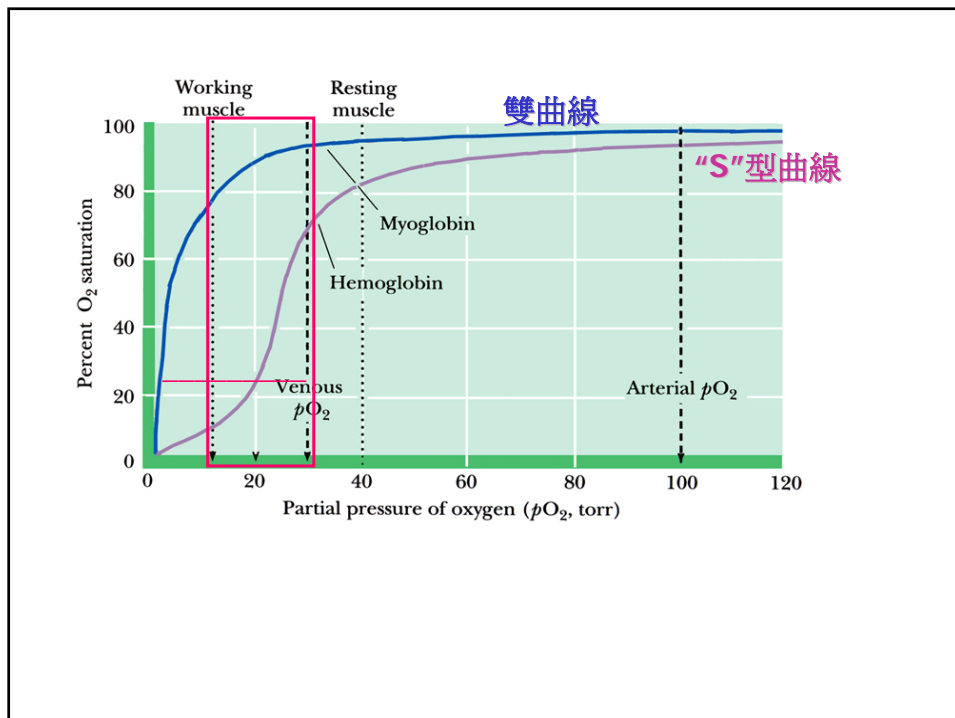
	Mb	Hb $\alpha$	Hb $\beta$
	H	V	C
	V	T	V
	L	L	L
	H	A	A
	S	A	H
	R	H	H
	H	L	F
	120P	P	G
	G	A	120K
	D	E	E
	F	F	F
H1	---	G	T
	A	P	P
	D	120A	P
	A	V	V
	Q	H	Q
	G	A	A
	A	S	A
	M	L	Y
	N	D	Q
	K	K	K
	A	F	V
	L	L	V
	L	L	V
	L	S	G
	F	V	V
	R	S	A
	140K	T	N
	D	V	140A
	I	L	L
	A	T	A
H21	---	A	S
	K	K	K
	Y	140Y	Y
	K	141R	144H
	E	---	---
H26	---	G	---
	Y	---	---
	Q	---	---

Hb $\alpha$  and Hb $\beta$  only

**鯨魚肌紅蛋白與人類血紅素  $\alpha$  次單元與  $\beta$  次單元的胺基酸序列比對**

血紅素具有四級構造對其功能的影響

- 在不同的 $O_2$ 濃度( $O_2$ 分壓,  $pO_2$ )下， $O_2$ 和血紅素的接合關係呈現“S”型曲線\*，而 $O_2$ 和肌紅蛋白間的接合關係則呈現“雙曲線”型關係
- 血紅素的4個次單元與 $O_2$ 的接合具有正的協同作用，即 $O_2$ 與任何一個次單元的接合會加速 $O_2$ 與其他次單元的接合



- 波爾效應

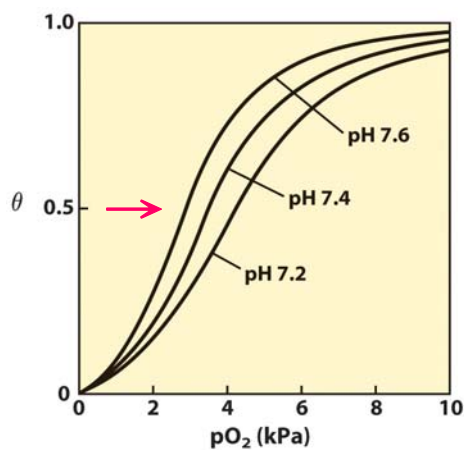
血紅素與 $O_2$ 的接合亦受到 $pO_2$ 與pH值的影響

$pO_2$ 愈高，pH值愈高，血紅素被 $O_2$ 飽和(接合)的程度愈高

在肺部， $pO_2$ 與pH值均高，大部分血紅素均被 $O_2$ 飽和

在組織， $pO_2$ 低且pH值因代謝產物及 $CO_2$ 而降低時，血紅素與 $O_2$ 的接合減弱，因而可因應組織的需求而釋出 $O_2$ 供利用

相同的條件下，肌紅蛋白不具有四級構造，其對 $O_2$ 的接合不具協同作用，也不受 $pO_2$ 或pH值的影響



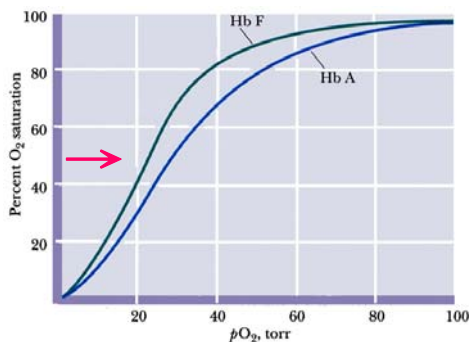
pH值對血紅素與 $O_2$ 接合的影響



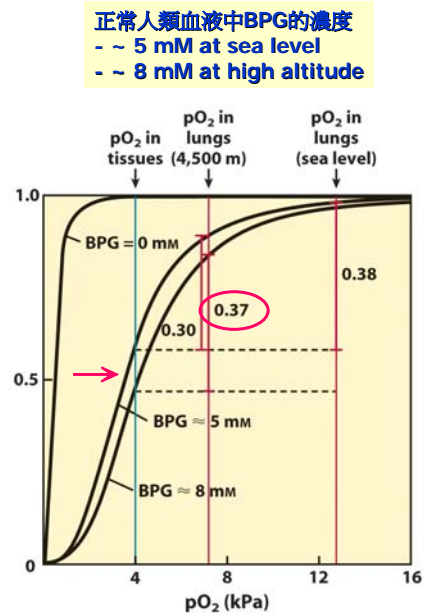
- 血紅素與 $O_2$ 的接合另可受2,3-bisphosphoglycerate (2,3-BPG)的調控，對胎兒的發育極為重要

成人的血紅素(HbA,  $\alpha_2\beta_2$ )分子，2,3-BPG可接合至 $\beta$ 次單元，使得成人血紅素對 $O_2$ 的親和性較低

胎兒血紅素(HbF,  $\alpha_2\gamma_2$ )分子，無 $\beta$ 次單元可與2,3-BPG可接合，不受2,3-BPG影響，對 $O_2$ 的親和性較成人血紅素高

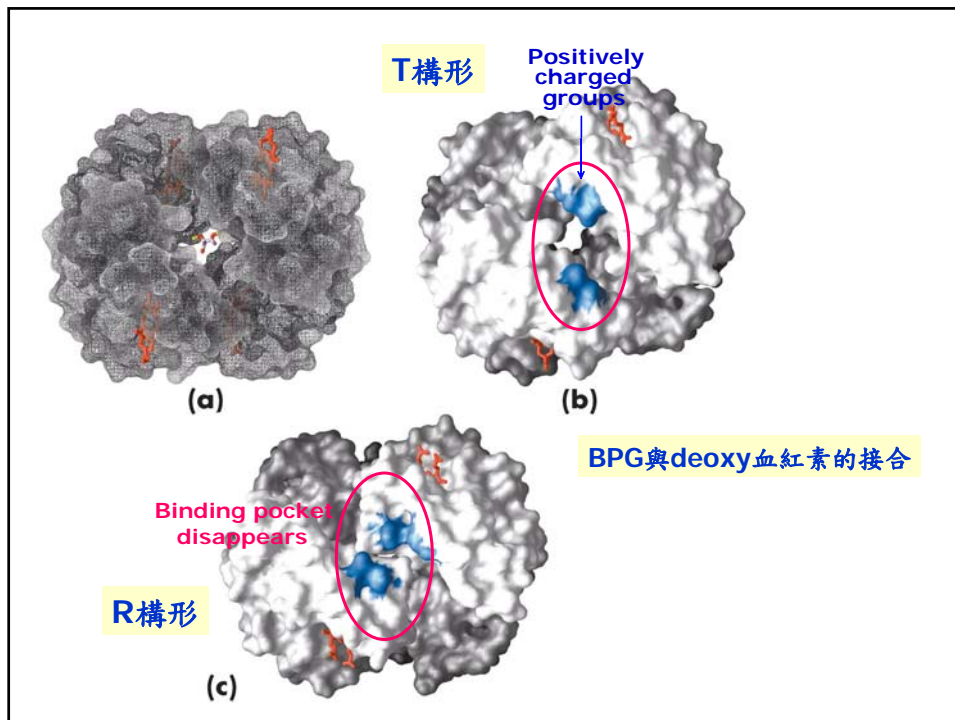


相同pH值與2,3-BPG濃度下，HbA與HbF對氧分壓的飽和曲線



2,3-BPG對血紅素與 $O_2$ 接合的影響

正常人類血液中BPG的濃度  
 -  $\sim$  5 mM at sea level  
 -  $\sim$  8 mM at high altitude



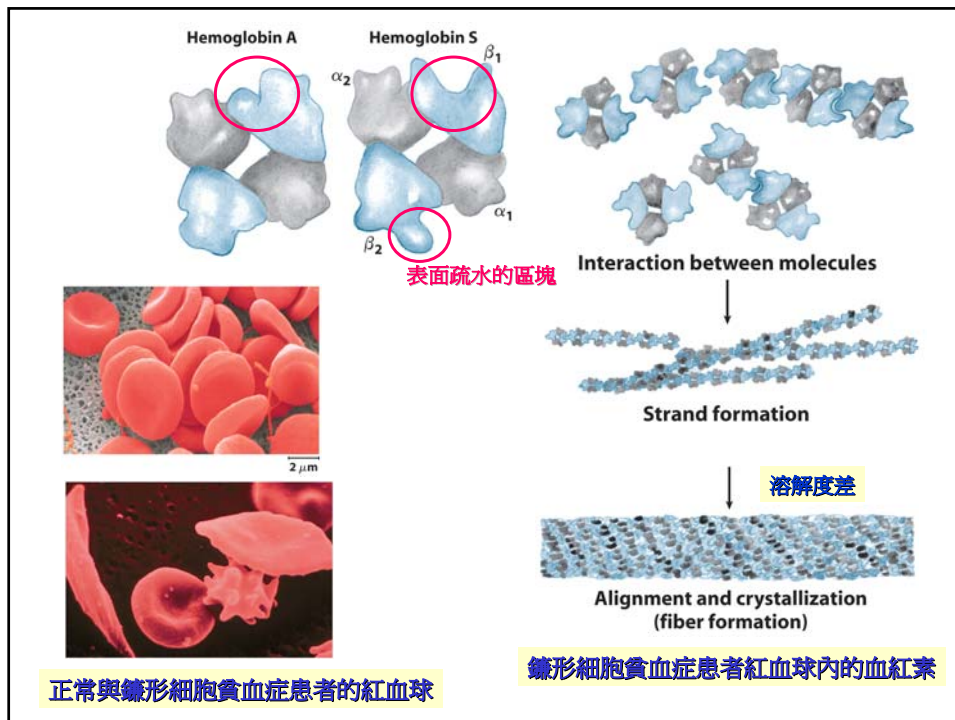
## 2. 與血紅素相關的疾病

### 鎌形細胞貧血症(sickle-cell anemia)\*

- 由Pauling於1949年提出的“molecular disease”
- Sickle-cell hemoglobin (HbS)，其 $\beta$ 次單元的Glu6 (側鏈帶負電)置換為Val6 (側鏈為疏水)

### 地中海型貧血症(thalassemias)

- $\alpha$ -thalassemias (甲型,  $\beta_4$ 或 $\gamma_4$ )，其 $\alpha$ 次單元有缺失
- $\beta$ -thalassemias (乙型)，其 $\beta$ 次單元有缺失



### 3. 角蛋白，膠原蛋白與絲纖維蛋白

均為扮演結構功能的纖維狀蛋白，通常由規則性的二級結構組合形成特殊的構造

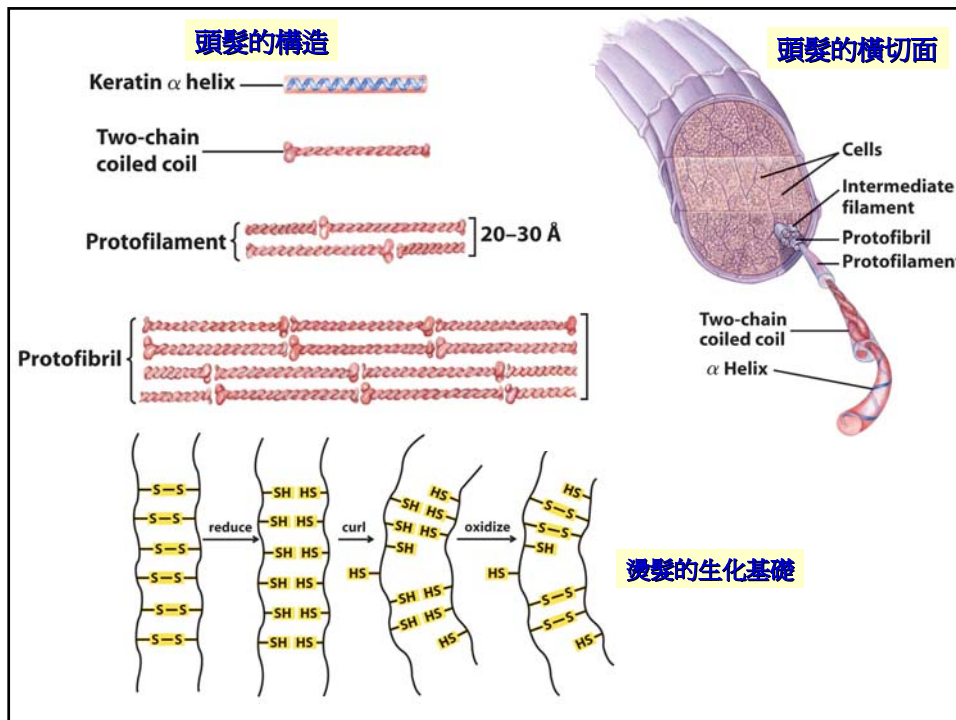
- 具有強韌與穩定的特性，符合擔任保護與支撐的功能  
角蛋白

- 由兩股  $\alpha$ -螺旋相互纏繞形成 coiled coils\*，其一級結構具有 (a-b-c-d-e-f-g)<sub>n</sub> 的序列，其中 a 與 d 為非極性胺基酸

- 頭髮的構造\*

共價的 cross-links

- 燙髮 (permanent wave) 的原理與所含的半胱胺酸 (具有 -SH 官能基) 有關



### 膠原蛋白

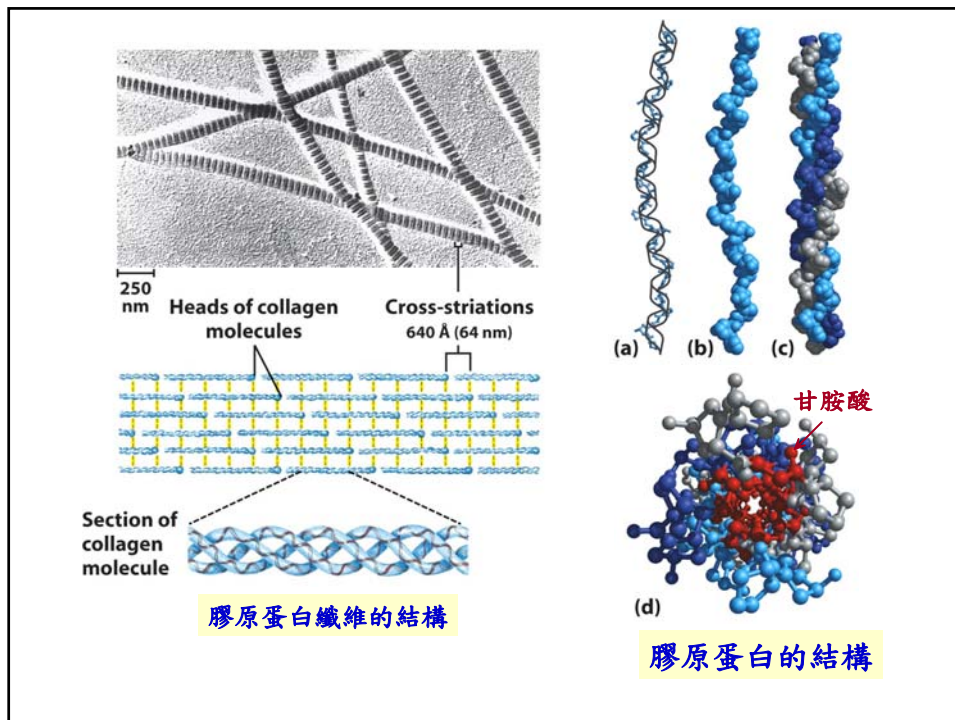
- 基本構造為特殊的三股螺旋狀構造\*
- 甘胺酸(Gly)含量佔1/3且富含脯胺酸(Pro)
- 一級構造具有Gly-X-Y序列，其中X為Pro，Y為Pro或Hyp (Gly佔35%，Pro或Hyp佔21%)

Hyp為Pro經轉譯後修飾作用加上-OH

- 修飾的酵素活性仰賴維生素C (抗壞血酸)，維生素C嚴重缺乏會導致壞血病(scurvy)

### Ehlers-Danlos syndrome

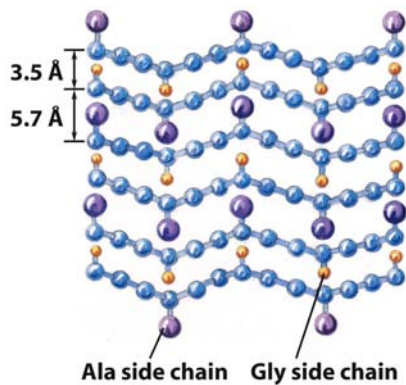
- 甘胺酸置換成側鏈較大的胺基酸，三股螺旋狀構造不穩定，與習慣性脫白有關



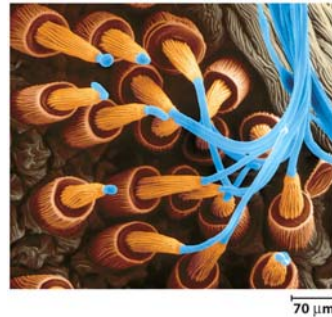
### 絲纖維蛋白

- 為 $\beta$ -褶片構造，層層相疊\*
- 富含甘胺酸與甲胺酸(Ala)，且每兩個胺基酸就有一個甘胺酸出現

纖維狀蛋白因具有特殊的一級結構(特定的胺基酸組成與排列)而形成特殊的結構，再次驗證Anfinsen等人對蛋白質結構的形成與結構功能關係的論點



絲的構造



絲纖維蛋白為層層β-褶片相疊的構造, 富含甘胺酸Gly與甲胺酸Ala

## 《蛋白質構形的變化》

### 1. 蛋白質的構形變化

蛋白質分子為dynamic

以球狀蛋白為例

- 分子振動，如胺基酸側鏈的擺動\*等微小的變化，有如“breathe”般
- 構形變化(conformational change)\*，較顯著，與蛋白質的活性有關

### 2. 蛋白質構形變化的例子

酵素與受質，**血紅素與O<sub>2</sub>**

肌肉收縮時肌凝蛋白與肌動蛋白，Ca<sup>+2</sup>的角色

Motion and Fluctuations in Proteins			
Type of Motion	Spatial Displacement (Å)	Characteristic Time (sec)	Source of Energy
Atomic vibrations	0.01–1	$10^{-15}$ – $10^{-11}$	Kinetic energy
Collective motions	0.01–5 or more	$10^{-12}$ – $10^{-3}$	Kinetic energy
1. Fast: Tyr ring flips; methyl group rotations 2. Slow: hinge bending between domains			
Triggered conformation changes	0.5–10 or more	$10^{-9}$ – $10^3$	Interactions with triggering agent

### 3. 氧的接合蛋白

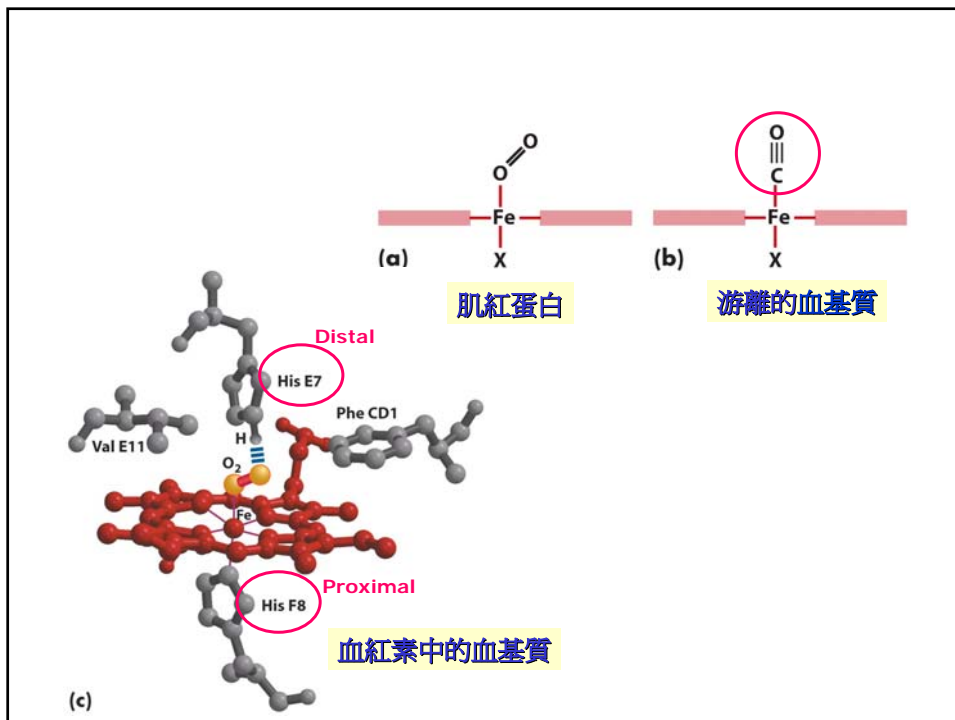
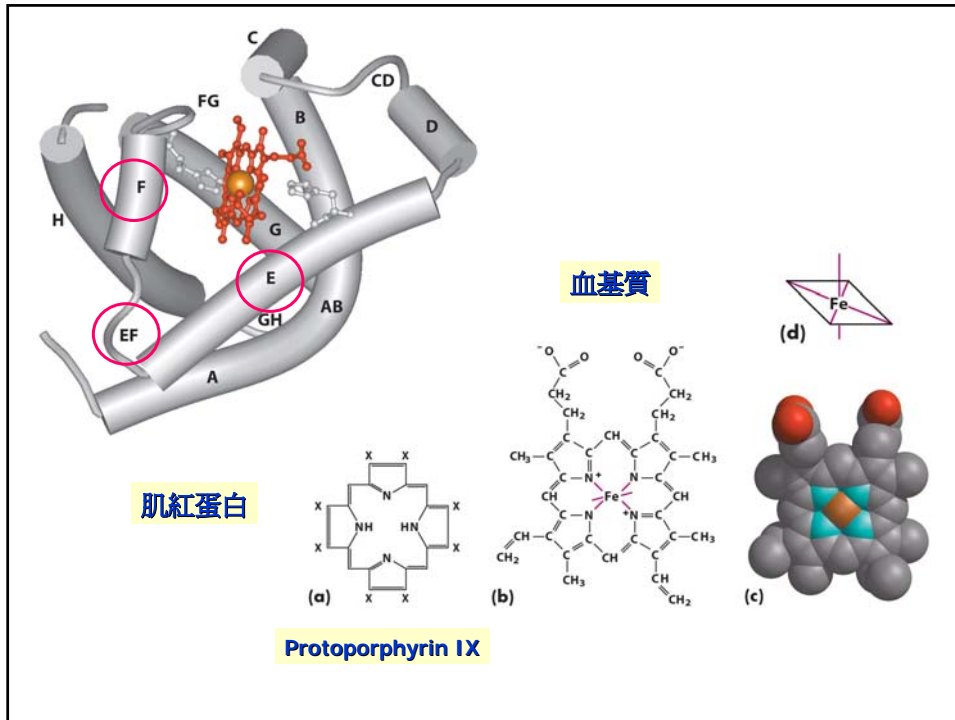
肌紅蛋白(Mb)與血紅素(Hb)

-  $O_2$ 的接合部位為鐵紫素或血基質(heme,  $Fe^{+2}$ )

- 血基質與 $O_2$ 接合的能力受蛋白質結構影響

游離的血基質，CO的接合:  $O_2$ 的接合 = 25,000 : 1

肌紅蛋白與血紅素\*，CO的接合:  $O_2$ 的接合 = 200 : 1





### 肌紅蛋白與血紅素的功能受結構影響

#### - 生物功能\*

肌紅蛋白負責 $O_2$ 的儲存，血紅素負責 $O_2$ 的輸送

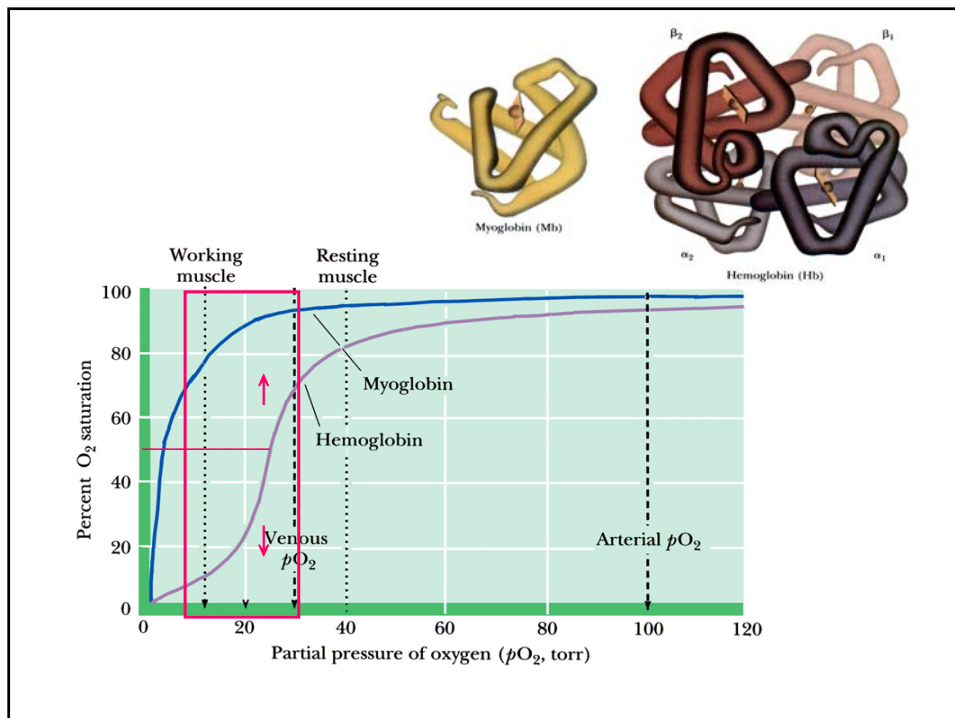
#### - 結構\*

肌紅蛋白具有三級構造，血紅素具有四級構造( $\alpha_2\beta_2$ )

#### - 與 $O_2$ 的接合\*

肌紅蛋白無協同性(雙曲線)，血紅素具協同性  
("S"形曲線)

肌紅蛋白不受調節，血紅素受調節



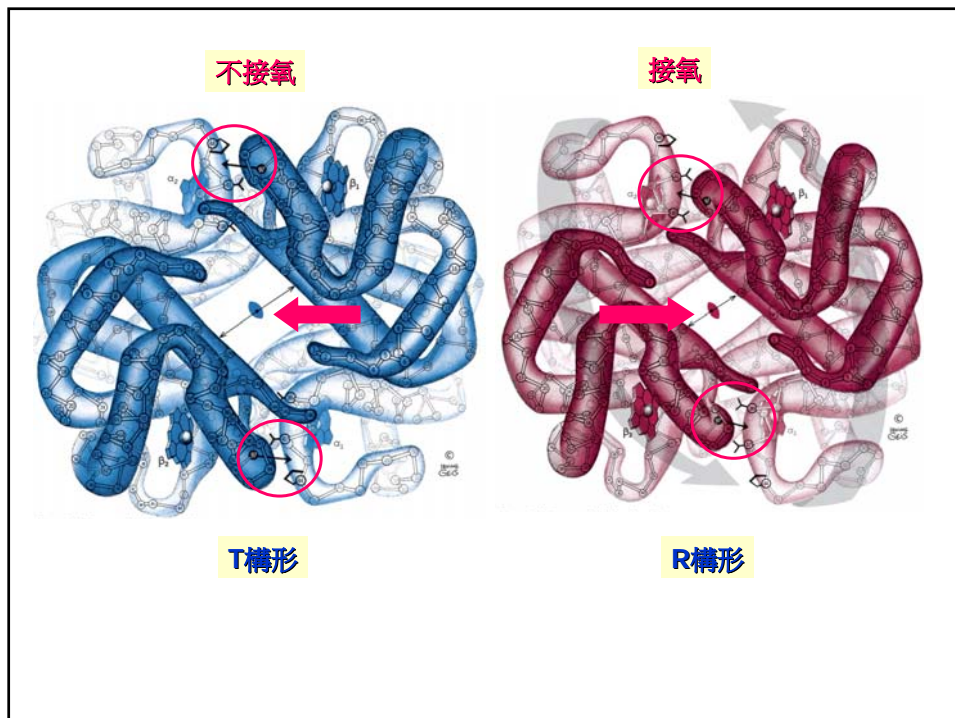
血紅素的構形變化\*

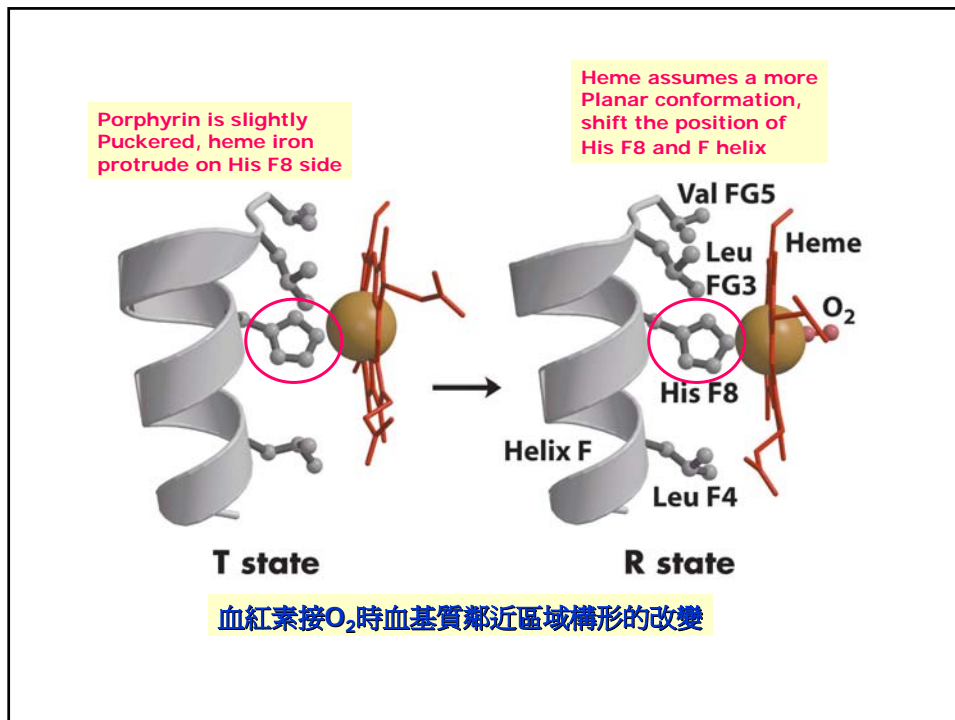
- T構形(T state, tensed或taut)

分子結構較緊縮，不接氧的形式(deoxy form)，  
對O<sub>2</sub>的親和力弱

- R構形(R state, relaxed)

分子結構較膨鬆，接氧的形式(oxy form)，  
對O<sub>2</sub>的親和力強





血紅素為異位蛋白(allosteric protein)

- Allos (希臘文意為other), Stereos (希臘文意為shape)

- 活性部位

血紅素接O<sub>2</sub>的部位，相當於酵素接受質的部位，與O<sub>2</sub>的接合有協同性

- 調節部位

調節劑的接合部位

阻礙劑，如2,3-BPG、H<sup>+</sup>、CO<sub>2</sub>等

活化劑

## 《蛋白質結構的測定與預測》

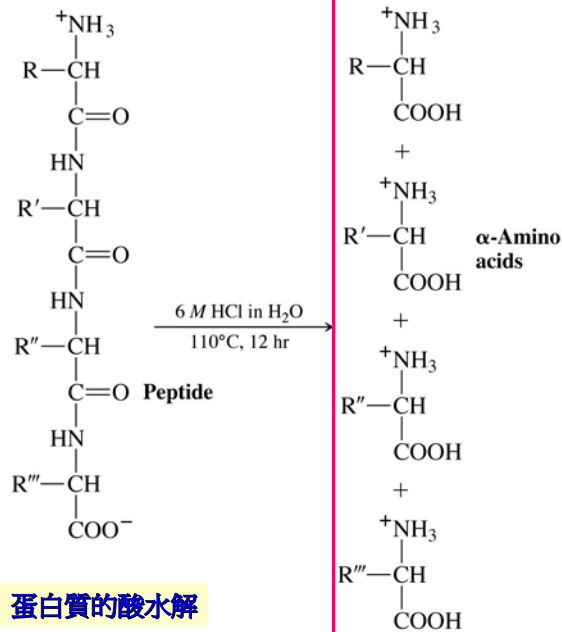
1. 蛋白質的一級構造決定其立體構造，而蛋白質的立體構造與其生物功能關係密切，因此研究蛋白質的功能需了解蛋白質的一級構造

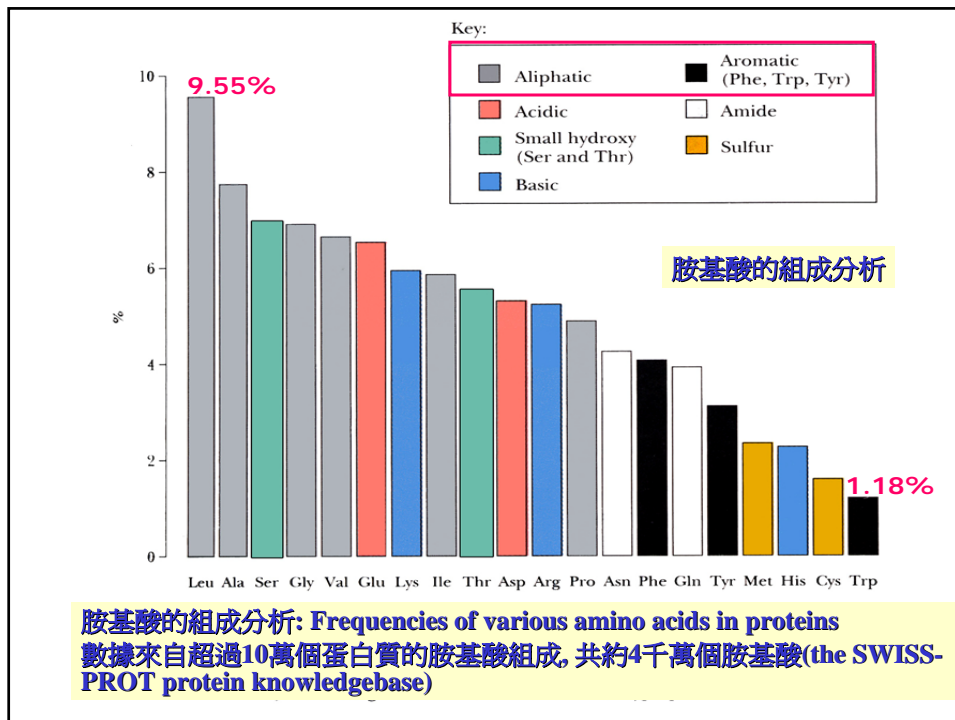
2. 蛋白質一級構造的測定

求出多肽中胺基酸的組成與排列次序

- 胺基酸的組成分析

蛋白質經酸水解\*後，再利用由1972年諾貝爾化學獎得主Stein & Moore所開發的胺基酸分析儀分析組成，胺基酸組成可提供的資訊\*





**TABLE 3-3 Amino Acid Composition of Two Proteins**

Number of residues per molecule of protein\*

Amino acid	Bovine cytochrome c	Bovine chymotrypsinogen
Ala	6	22
Arg	2	4
Asn	5	15
Asp	3	8
Cys	2	10
Gln	3	10
Glu	9	5
Gly	14	23
His	3	2
Ile	6	10
Leu	6	19
Lys	18	14
Met	2	2
Phe	4	6
Pro	4	9
Ser	1	28
Thr	8	23
Trp	1	8
Tyr	4	4
Val	3	23
Total	104	245

**細胞色素 c: 50/104 (48%)**  
**Chymotrypsin: 126/245 (51%)**  
Aliphatic, Aromatic, 疏水性

\*In some common analyses, such as acid hydrolysis, Asp and Asn are not readily distinguished from each other and are together designated Asx (or B). Similarly, when Glu and Gln cannot be distinguished, they are together designated Glx (or Z). In addition, Trp is destroyed. Additional procedures must be employed to obtain an accurate assessment of complete amino acid content.

Amino Acid Composition of Some Selected Proteins					
Values expressed are percent representation of each amino acid.					
Amino Acid	Proteins*				
	RNase	ADH	Mb	Histone H3	Collagen
Ala	6.9	7.5	9.8	13.3	11.7
Arg	3.7	3.2	1.7	13.3	4.9
Asn	7.6	2.1	2.0	0.7	1.0
Asp	4.1	4.5	5.0	3.0	3.0
Cys	6.7	3.7	0	1.5	0
Gln	6.5	2.1	3.5	5.9	2.6
Glu	4.2	5.6	8.7	5.2	4.5
Gly	3.7	10.2	9.0	5.2	32.7
His	3.7	1.9	7.0	1.5	0.3
Ile	3.1	6.4	5.1	5.2	0.8
Leu	1.7	6.7	11.6	8.9	2.1
Lys	7.7	8.0	13.0	9.6	3.6
Met	3.7	2.4	1.5	1.5	0.7
Phe	2.4	4.8	4.6	3.0	1.2
Pro	4.5	5.3	2.5	4.4	22.5
Ser	12.2	7.0	3.9	3.7	3.8
Thr	6.7	6.4	3.5	7.4	1.5
Trp	0	0.5	1.3	0	0
Tyr	4.0	1.1	1.3	2.2	0.5
Val	7.1	10.4	4.8	4.4	1.7
Acidic	8.4	10.2	13.7	8.1	7.5
Basic	15.0	13.1	21.8	24.4	8.8
Aromatic	6.4	6.4	7.2	5.2	1.7
Hydrophobic	18.0	30.7	27.6	23.0	6.5

### - 胺基酸的排列順序

利用胺基酸定序儀取得，Sanger\*因決定胰島素分子的構造並提出分析蛋白質一級構造的方法，而獲得1958年諾貝爾化學獎(Sanger因提出分析DNA序列的方法於1980年再獲得諾貝爾化學獎)

現今，大多數蛋白質的胺基酸序列可由基因的核苷酸序列推知，但一級構造的分析對研究蛋白質是否具有轉譯後的修飾作用仍深具價值

**A chain**

NH<sub>3</sub><sup>+</sup>

Gly

Ile

Val

Gln

5 Gln

Cys

Cys — S — S — Cys

5 Ala

5 Ser

10 Val

Cys

Ser

Leu

Tyr

15 Gln

Leu

Glu

Asn

Tyr

20 Cys — S — S — Cys

Asn

COO<sup>-</sup>

**B chain**

NH<sub>3</sub><sup>+</sup>

Phe

Val

Asn

Gln

5 His

Leu

Cys

Gly

Ser

10 His

Leu

Val

Glu

Ala

15 Leu

Tyr

Leu

Val

Cys

Gly

20 Glu

Arg

Gly

Phe

25 Phe

Tyr

Thr

Pro

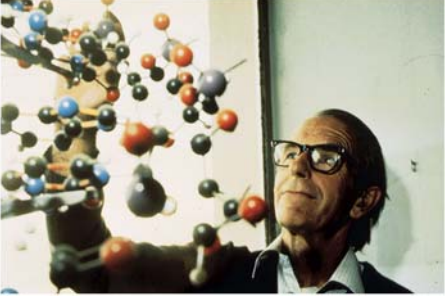
Lys

30 Ala

COO<sup>-</sup>

**牛胰島素的定序**

- 耗時約10年, 使用約100克的蛋白質



**Frederick Sanger (1918~)**

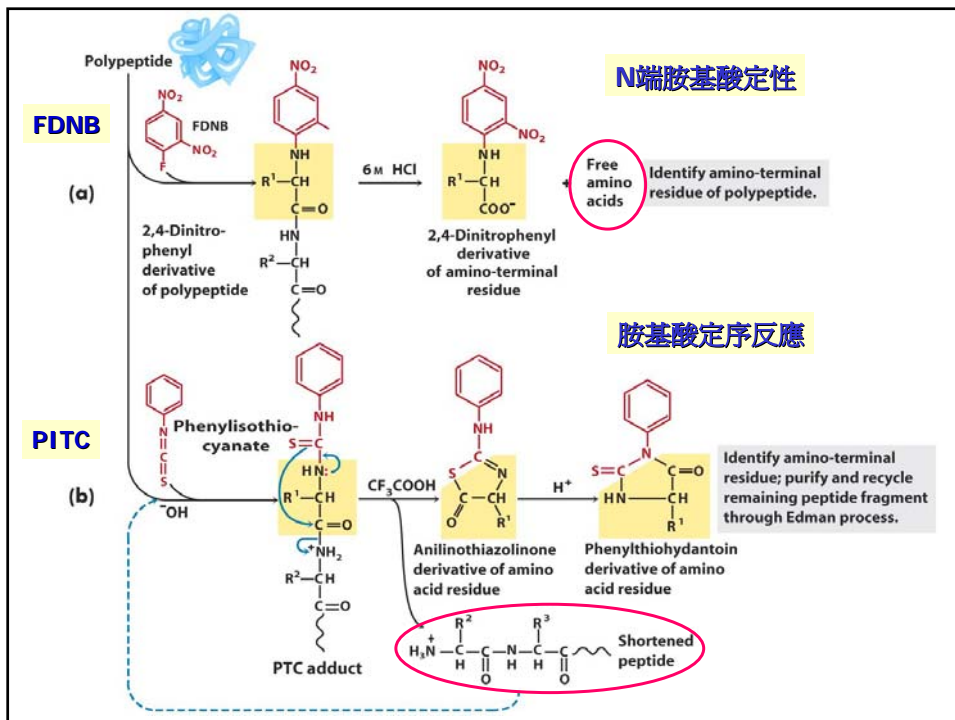
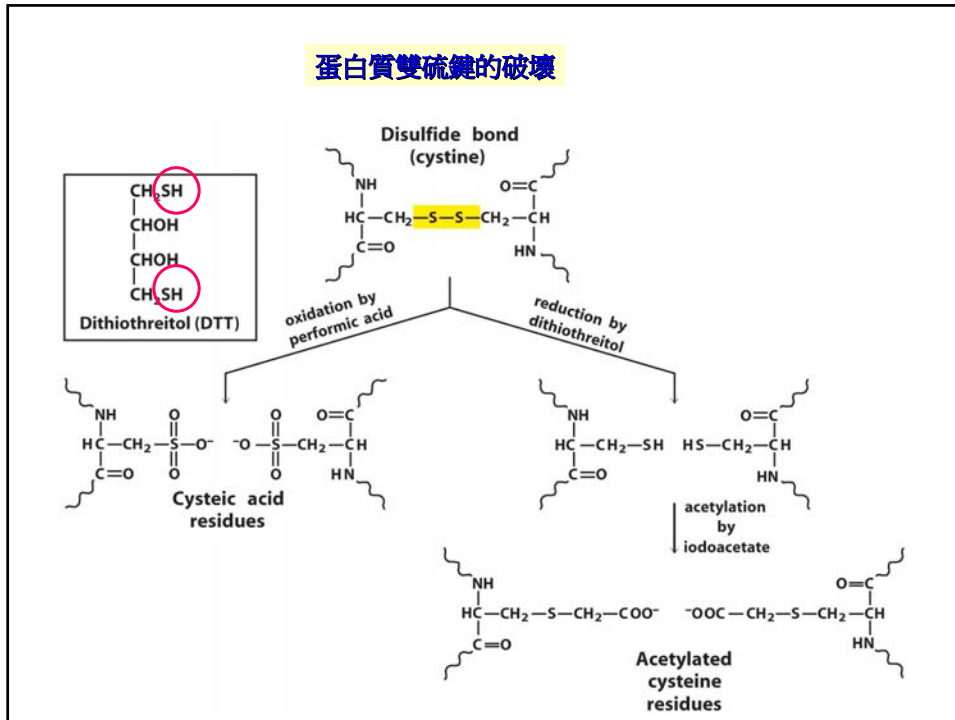
- 1958年諾貝爾化學獎(蛋白質定序)

- 1980年諾貝爾化學獎(DNA定序)

### 蛋白質定序步驟\*

- 蛋白質純化
- 次單元的分離
- N端與C端胺基酸的定性
- 將多肽鏈分割成小片段
- 胺基酸自動定序
- 序列重組
- 雙硫鍵定位\*

### 蛋白質雙硫鍵的破壞





專一性, 可預測

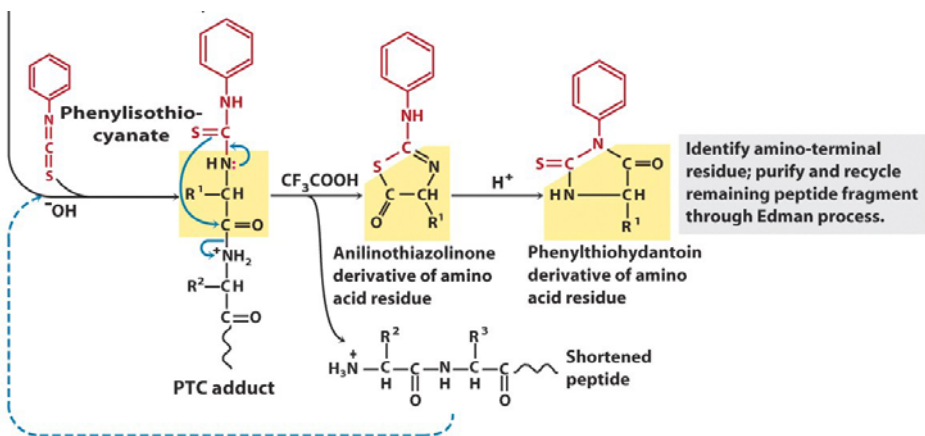
**TABLE 3-7** The Specificity of Some Common Methods for Fragmenting Polypeptide Chains

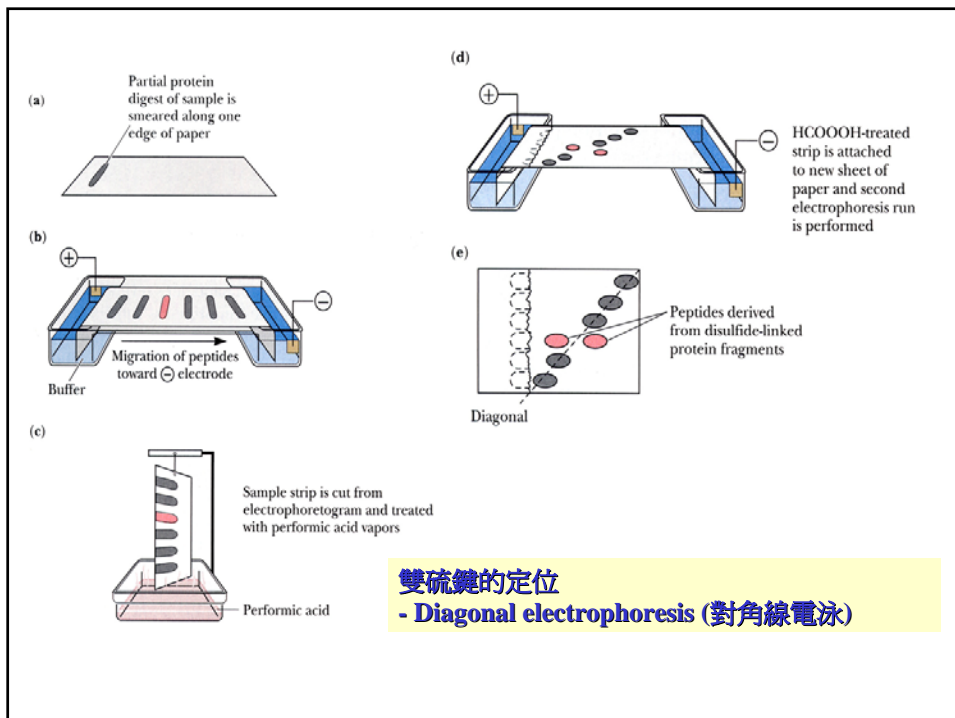
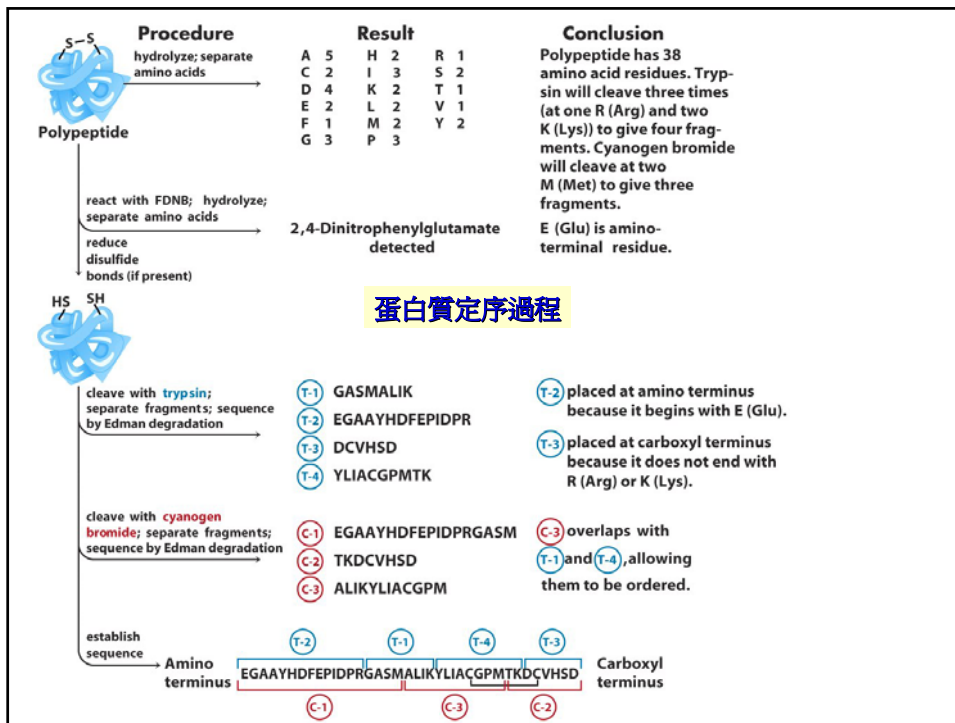
Reagent (biological source)*	Cleavage points†
Trypsin (bovine pancreas)	Lys, Arg (C)
Submaxillary protease (mouse submaxillary gland)	Arg (C)
Chymotrypsin (bovine pancreas)	Phe, Trp, Tyr (C)
<i>Staphylococcus aureus</i> V8 protease (bacterium <i>S. aureus</i> )	Asp, Glu (C)
Asp-N-protease (bacterium <i>Pseudomonas fragi</i> )	Asp, Glu (N)
Pepsin (porcine stomach)	Phe, Trp, Tyr (N)
Endoproteinase Lys C (bacterium <i>Lysobacter enzymogenes</i> )	Lys (C)
Cyanogen bromide	Met (C)

\*All reagents except cyanogen bromide are proteases. All are available from commercial sources.

†Residues furnishing the primary recognition point for the protease or reagent; peptide bond cleavage occurs on either the carbonyl (C) or the amino (N) side of the indicated amino acid residues.

**Edman降解反應**





### 其他定序方法

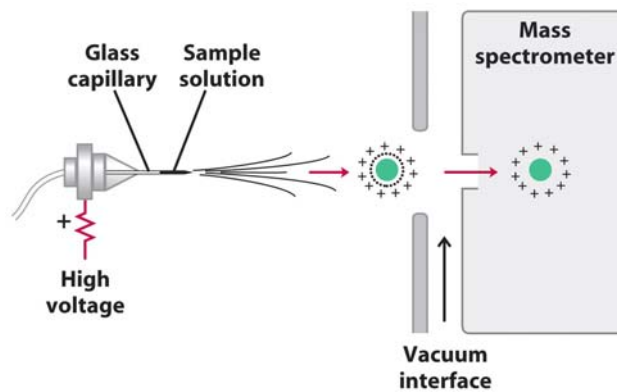
- 質譜分析法(mass spectrometry)\*  
蛋白質離子化，片段依質量電荷比分離(電場)  
Fenn與Tanaka同獲2002年諾貝爾化學獎
- 生物資訊學

### 3. 二級、三級與四級結構的研究

#### 利用物理的方法

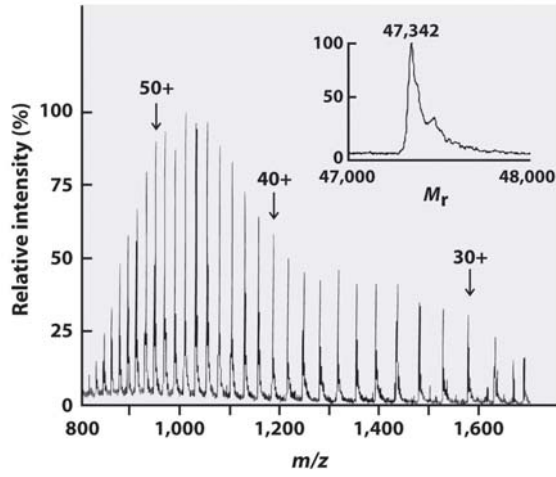
- 利用蛋白質分子對偏極光的轉向能力\*或核磁共振\*的原理，估測二級構造中 $\alpha$ -螺旋或 $\beta$ -褶片的含量
- 利用X光繞射法\*研究蛋白質結晶的構造，取得蛋白質的三級與四級結構等

### 蛋白質的電噴灑質譜分析



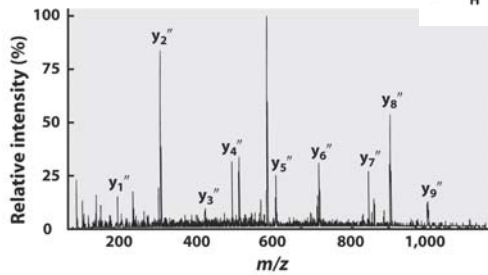
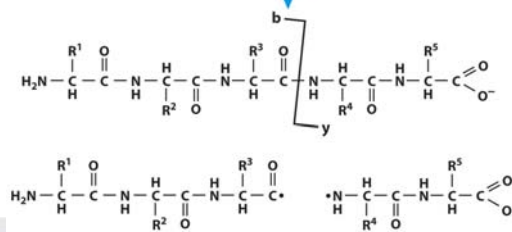
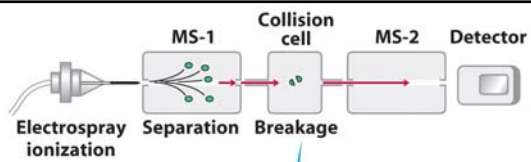
- (1) A Protein solution is dispersed into charged droplets by passage through a needle under a high-voltage electric field
- (2) The droplets evaporate and ions enter the mass spectrometer for m/z measurement

蛋白質的質譜分析圖譜

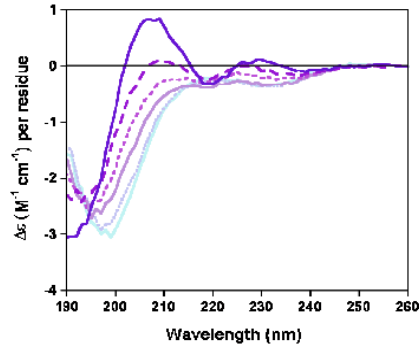


The spectrum generated and a computer-generated transformation of the spectrum

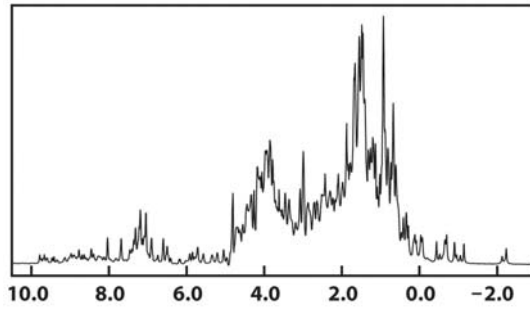
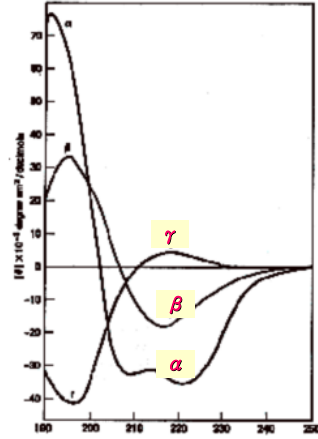
串聯的質譜分析



### CD光譜分析

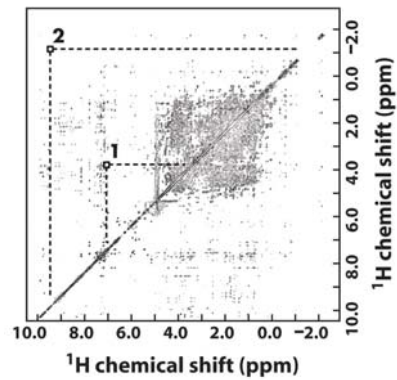


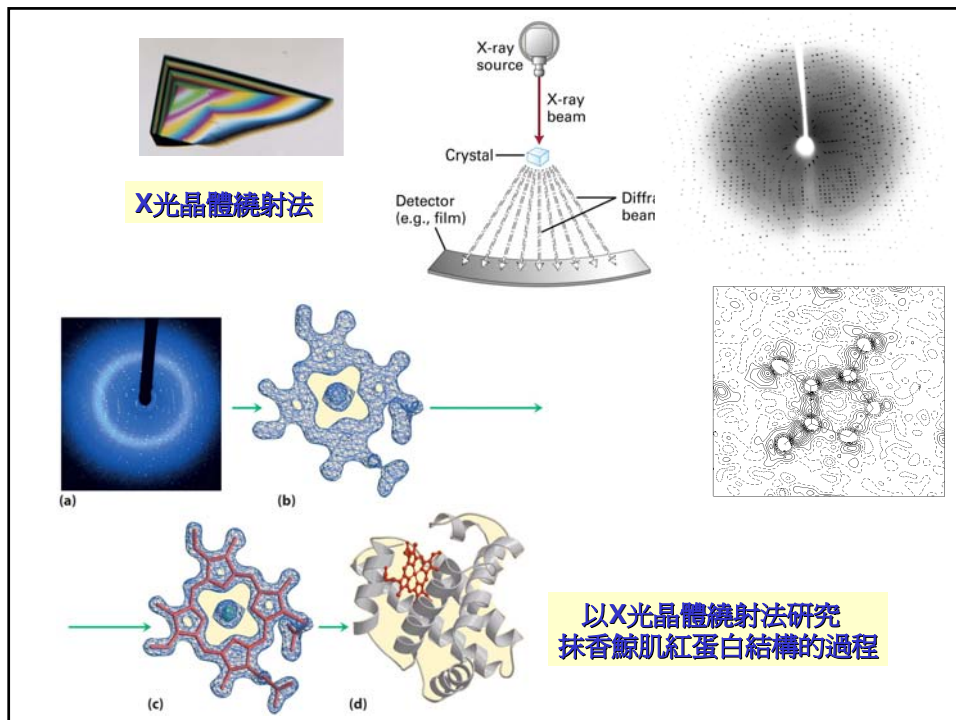
### Standard



One-dimensional NMR spectrum of a globin from a marine blood worm

### 2D核磁共振圖譜





#### 4. 蛋白質結構的預測

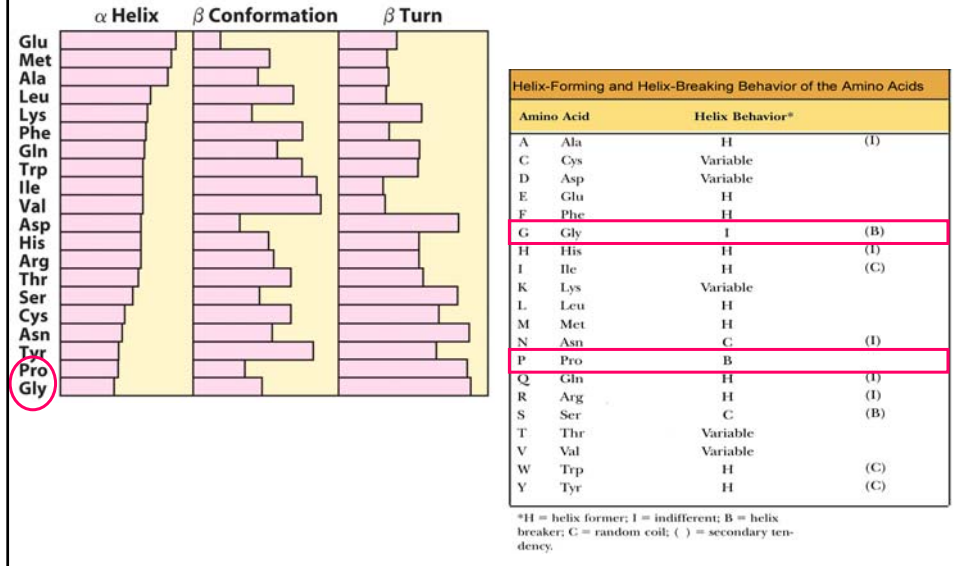
Anfinsen等人的實驗證明“蛋白質的一級構造決定其立體結構”，而蛋白質的立體結構又與其功能息息相關  
- 如能由蛋白質的一級構造預測蛋白質的立體結構，蛋白質體計劃的研究將大大加速

##### 二級構造的預測

- 目前多以分析已知結構的蛋白質中，各類二級構造所出現的胺基酸種類為準\*

由Chou與Fasman於1974年提出，對每一種胺基酸出現在各類二級構造中的相對頻率給予特定數值(如  $P_{\alpha}$ ,  $P_{\beta}$ ,  $P_{\gamma}$ )，經計算後可預測蛋白質的二級構造，此法經已知結構的蛋白質研究與預測結果比對驗證，其準確性可達95%以上

特定胺基酸出現在三種常見二級結構的相對機率



Amino Acid	$P_\alpha$	Helix Classification	$P_\beta$	Sheet Classification
A Ala	1.42	$H_\alpha$	0.83	$i_\beta$
C Cys	0.70	$i_\alpha$	1.19	$h_\beta$
D Asp	1.01	$I_\alpha$	0.54	$B_\beta$
E Glu	1.51	$H_\alpha$	0.37	$B_\beta$
F Phe	1.13	$h_\alpha$	1.38	$h_\beta$
G Gly	0.57	$B_\alpha$	0.75	$b_\beta$
H His	1.00	$I_\alpha$	0.87	$h_\beta$
I Ile	1.08	$h_\alpha$	1.60	$H_\beta$
K Lys	1.16	$h_\alpha$	0.74	$b_\beta$
L Leu	1.21	$H_\alpha$	1.30	$h_\beta$
M Met	1.45	$H_\alpha$	1.05	$h_\beta$
N Asn	0.67	$b_\alpha$	0.89	$i_\beta$
P Pro	0.57	$B_\alpha$	0.55	$B_\beta$
Q Gln	1.11	$h_\alpha$	1.10	$h_\beta$
R Arg	0.98	$i_\alpha$	0.93	$i_\beta$
S Ser	0.77	$i_\alpha$	0.75	$b_\beta$
T Thr	0.83	$i_\alpha$	1.19	$h_\beta$
V Val	1.06	$h_\alpha$	1.70	$H_\beta$
W Trp	1.08	$h_\alpha$	1.37	$h_\beta$
Y Tyr	0.69	$b_\alpha$	1.47	$H_\beta$

### 三級構造的預測

- 較為複雜，目前仍仰賴計算機龐大的資料存取與計算能力(computer-based calculation, 以energy minimum為原則)，配合進一步分析已知結構的蛋白質中不同層級的細部構造(knowledge-based method, database)，尚未能精準有效的預測結果
- 其他方法

## 《蛋白質的結構與演化》

1. 分析不同蛋白質的胺基酸序列，可推斷蛋白質是否為同源蛋白，源自同一祖先
2. 以肌紅蛋白與血紅素的研究為例  
肌紅蛋白的結構與血紅素的 $\alpha$ 次單元或 $\beta$ 次單元的結構均非常類似，且同樣具有攜氧的功能，極可能源自於一個共同的祖先(一個原始的球蛋白)\*



Myoglobin Gly - - - - - Leu - Ser - Asp - Gly - Glu - Trp - Gln - Leu - Val - Leu - Asn - Val - Trp - Gly - Lys - Val - Glu - Ala - Asp - Ile - Pro - Gly - His - Gly - Gln - Glu - Val -  
 $\alpha$  Val - - - - - Leu - Ser - Pro - Ala - Asp - Lys - Thr - Asn - Val - Lys - Ala - Ala - Trp - Gly - Lys - Val - Gly - Ala - His - Ala - Gly - Gln - Tyr - Gly - Ala - Glu - Ala -  
 $\beta$  Val - His - Leu - Thr - Pro - Glu - Glu - Lys - Ser - Ala - Val - Thr - Ala - Leu - Trp - Gly - Lys - Val - Asn - - - - - Val - Asp - Glu - Val - Gly - Gly - Glu - Ala -

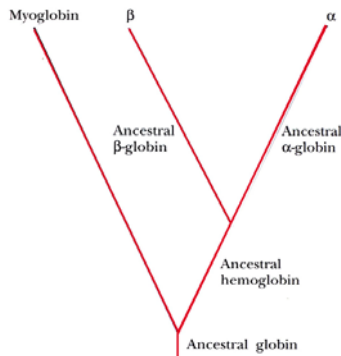
30 40 50 60  
 - Leu - Ile - Arg - Leu - Phe - Lys - Gly - His - Pro - Glu - Thr - Leu - Glu - Lys - Phe - Asp - Lys - Phe - Lys - His - Leu - Lys - Ser - Glu - Asp - Glu - Met - Lys - Ala - Ser - Glu -  
 - Leu - Glu - Arg - Met - Phe - Leu - Ser - Phe - Pro - Thr - Thr - Lys - Thr - Tyr - Phe - Pro - His - Phe - - - - - Asp - Leu - Ser - His - - - - - Gly - Ser - Ala -  
 - Leu - Gly - Arg - Leu - Leu - Val - Val - Tyr - Pro - Trp - Thr - Glu - Arg - Phe - Phe - Glu - Ser - Phe - Gly - Asp - Leu - Ser - Thr - Pro - Asp - Ala - Val - Met - Gly - Asn - Pro -

70 80 90  
 - Asp - Leu - Lys - Lys - His - Gly - Ala - Thr - Val - Leu - Thr - Ala - Leu - Gly - Gly - Ile - Leu - Lys - Lys - Lys - Gly - His - His - Glu - Ala - Glu - Ile - Lys - Pro - Leu - Ala -  
 - Gln - Val - Lys - Gly - His - Gly - Lys - Lys - Val - Ala - Asp - Ala - Leu - Thr - Asn - Ala - Val - Ala - His - Val - Asp - Asp - Met - Pro - Asn - Ala - Leu - Ser - Ala - Leu - Ser -  
 - Lys - Val - Lys - Ala - His - Gly - Lys - Lys - Val - Leu - Gly - Ala - Phe - Ser - Asp - Gly - Leu - Ala - His - Leu - Asp - Asn - Leu - Lys - Gly - Thr - Phe - Ala - Thr - Leu - Ser -

100 110 120  
 - Gln - Ser - His - Ala - Thr - Lys - His - Lys - Ile - Pro - Val - Lys - Tyr - Leu - Glu - Phe - Ile - Ser - Glu - Cys - Ile - Ile - Gln - Val - Leu - Gln - Ser - Lys - His - Pro - Gly -  
 - Asp - Leu - His - Ala - His - Lys - Leu - Arg - Val - Asp - Pro - Val - Asn - Phe - Lys - Leu - Leu - Ser - His - Cys - Leu - Leu - His - Thr - Leu - Ala - Ala - His - Leu - Pro - Ala -  
 - Glu - Leu - His - Cys - Asp - Lys - Leu - His - Val - Asp - Pro - Glu - Asn - Phe - Arg - Leu - Leu - Gly - Asn - Val - Leu - Val - Asn - Val - Leu - Ala - His - His - Phe - Gly - Lys -

130 140 150  
 - Asp - Phe - Gly - Ala - Asp - Ala - Gln - Gly - Ala - Met - Asn - Lys - Ala - Leu - Glu - Leu - Phe - Arg - Lys - Asp - Met - Ala - Ser - Asn - Tyr - Lys - Glu - Leu - Gly - Phe - Glu - Gly -  
 - Glu - Phe - Thr - Pro - Ala - Val - His - Ala - Ser - Leu - Asp - Lys - Phe - Leu - Ala - Ser - Val - Ser - Thr - Val - Leu - Thr - Ser - Lys - Tyr - Arg -  
 - Glu - Phe - Thr - Pro - Pro - Val - Gln - Ala - Ala - Tyr - Gln - Lys - Val - Val - Ala - Gly - Val - Ala - Asn - Ala - Leu - Ala - His - Lys - Tyr - His -

**肌紅蛋白與血紅素的 $\alpha$ 次單元或 $\beta$ 次單元的胺基酸序列比較**



肌紅蛋白與血紅素的 $\alpha$ 次單元及 $\beta$ 次單元極可能源自一個共同的祖先  
 -  $\alpha$ 次單元與 $\beta$ 次單元約140個胺基酸中有64個相同  
 - 肌紅蛋白與 $\alpha$ 次單元有38個胺基酸相同



**肌紅蛋白與血紅素的 $\alpha$ 次單元或 $\beta$ 次單元的立體結構比較**

### 3. 以細胞色素c的研究為例

比較不同來源的細胞色素c的胺基酸序列，說明蛋白質的結構研究對建立演化關係的重要性

- 細胞色素c是粒線體電子傳遞鏈的成分，對細胞的存活極為重要

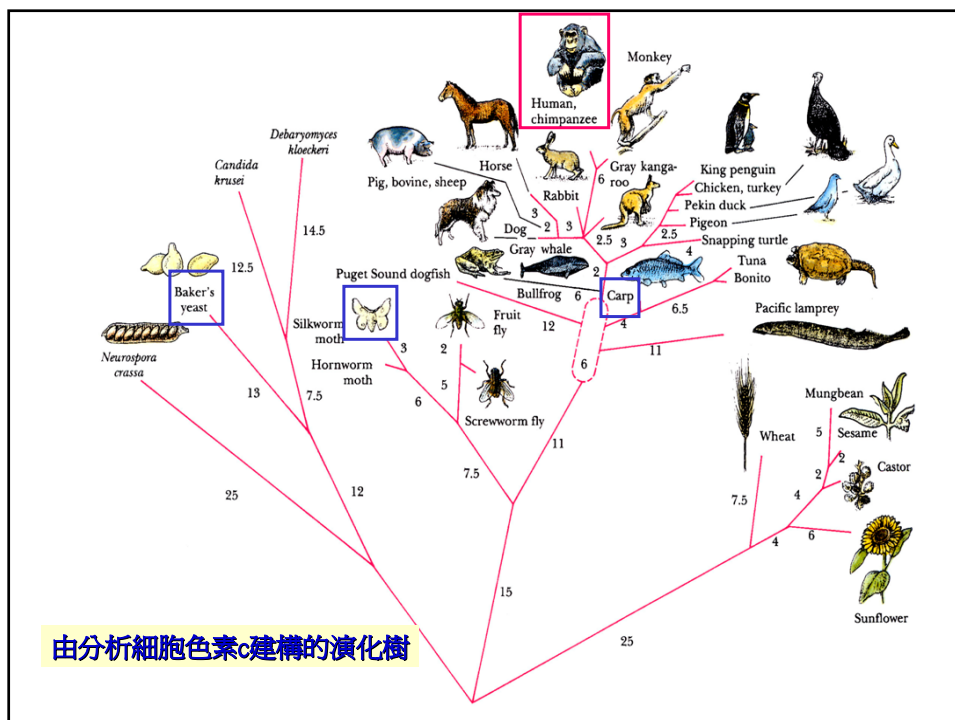
- 分析得自麵包酵母及人類等40多種不同來源的細胞色素c，雖然其蛋白質一級構造不盡相同但卻有令人訝異的相似處

細胞色素c平均含有104個胺基酸，其中有28個完全相同\*，目前已知此28個胺基酸和細胞色素c的功能有密切的關係，只要任一個胺基酸被其他種類的胺基酸取代時皆會影響細胞色素c的功能



當比較不同物種的細胞色素c的胺基酸序列，發現不同物種間的序列差異程度與其親緣關係有一定的比例關係\*

- 如人的細胞色素c胺基酸序列與黑猩猩的完全相同，與其他哺乳類有10個胺基酸的差異，與爬蟲類有14個差異，與魚類、軟體動物、昆蟲與酵母或高等植物則分別有18個、29個、31個與40個以上的差異
- 由分析細胞色素c的胺基酸序列差異所建構的“演化樹”(phylogenetic tree, 系統發生樹)與使用傳統方法所建立的演化關係極為符合\*
- 衍生出利用分析特定蛋白質的胺基酸序列以建構演化關係的分子演化學



## 《蛋白質與其它分子的交互作用》

1. 蛋白質表現生物功能時需與其它分子接合，此接合通常是緊密、專一、且會形成複合體，如調控基因表現的核酸蛋白或細胞辨識的糖蛋白與細胞膜上的脂蛋白等

此接合雖然與細胞的繁殖、生長與發育等不同生理作用有關，但其間的交互作用與專一辨識過程均十分相似

- 與特定蛋白質產生專一性接合的分子稱為親和基 (ligand)，如酵素的受質、產物、輔因子、阻害劑或活化劑，甚至運輸蛋白所輸送的物質等

2. 親和基的接合作用

蛋白質與其親和基的接合通常具有專一性

- 專一性來自兩者構造的互補與兩者接合後可產生新的安定作用力

蛋白質與親和基的接合多經由非共價的作用力，為一可逆的過程

每個蛋白質與親和基的接合可發生在分子內的一個或多個部位

- 多個部位中，與同一種親和基接合的能力可能相同或不同，因此可產生接合協同性，此種關係稱為同質性效應，如血紅素與 $O_2$ 的接合

一個蛋白質分子內也可有不同種類的親和基接合部位

- 不同親和基接合部位在親和基接合時會有相互溝通 (cross-talk) 的特性，此種關係稱為異質性效應，如血紅素與 $O_2$ 的接合受2,3-BPG與波爾效應的影響

### 3. 異位效應 (allostery)

蛋白質的不同部位之間的相互影響

- 異位效應為具有四級結構的蛋白質所特有
- 具有四級結構的蛋白質含有不同的次單元
  - 催化或活性次單元，是受質或反應物接合的部位
  - 調節次單元，是調節物接合的部位
- 當兩種不同親和基接合部位因親和基接合而引發構形改變，進而彼此溝通，血紅素攜氧特性與影響其攜氧能力的因子研究為此效應的最佳例子

## 《蛋白質活性的調節》

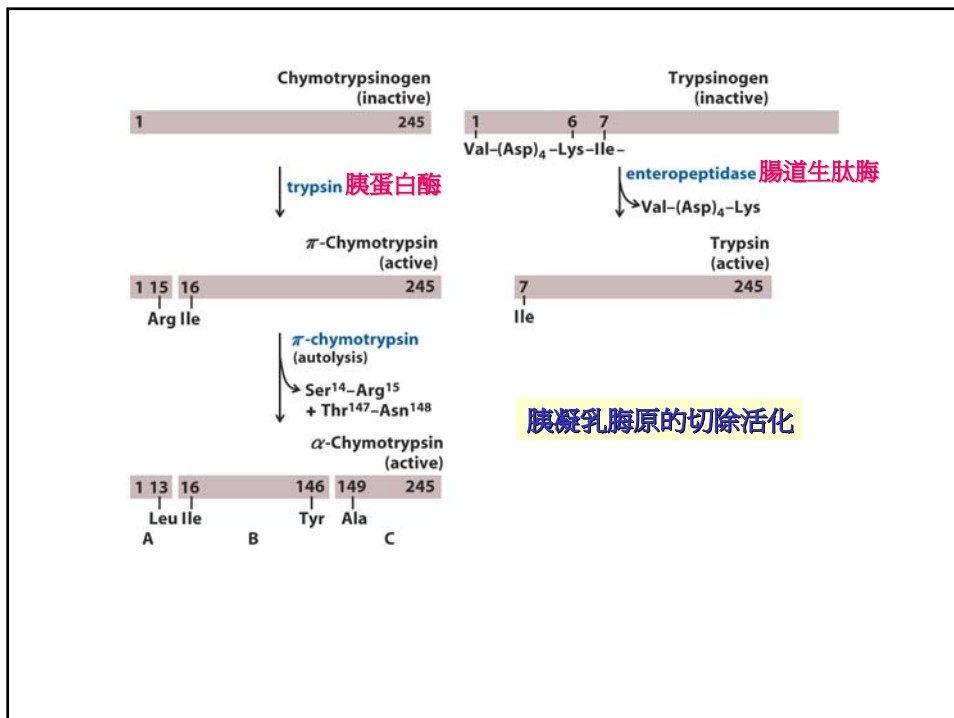
1. 影響蛋白質活性的因子除了溫度、pH值、受質、輔因子或調節劑濃度等外，尚有三個較為重要的機制

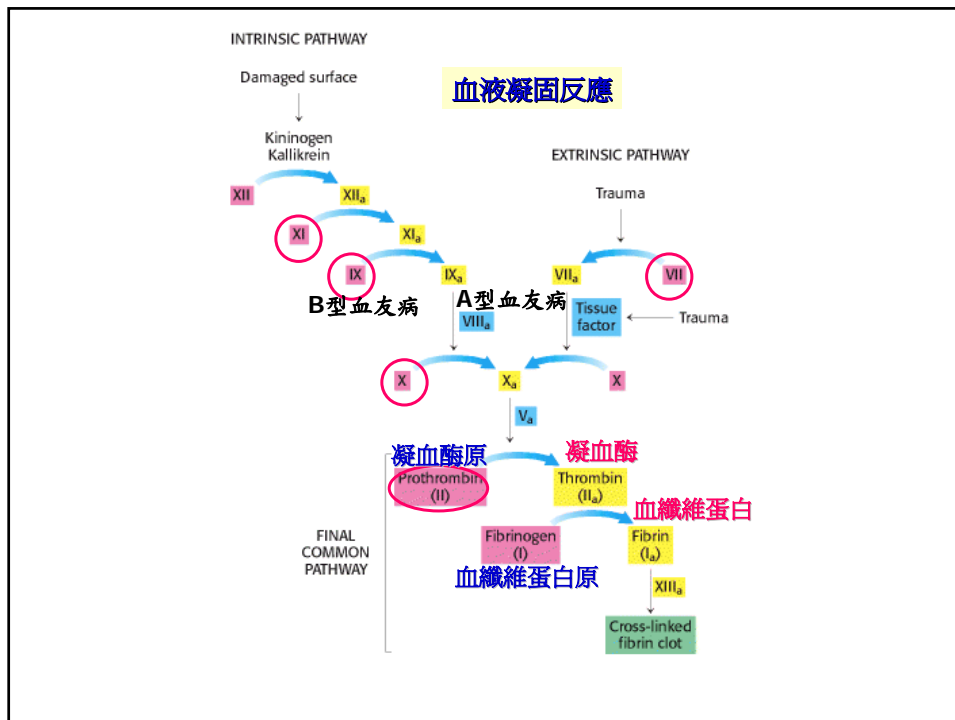
2. 切除活化作用\*

如消化酵素、凝血因子與一些激素

- 通常合成時是不具活性的先質(precursors)，當需要時會因一小段肽鏈被切除而具有活性

切除活化作用為一不可逆的調節方法

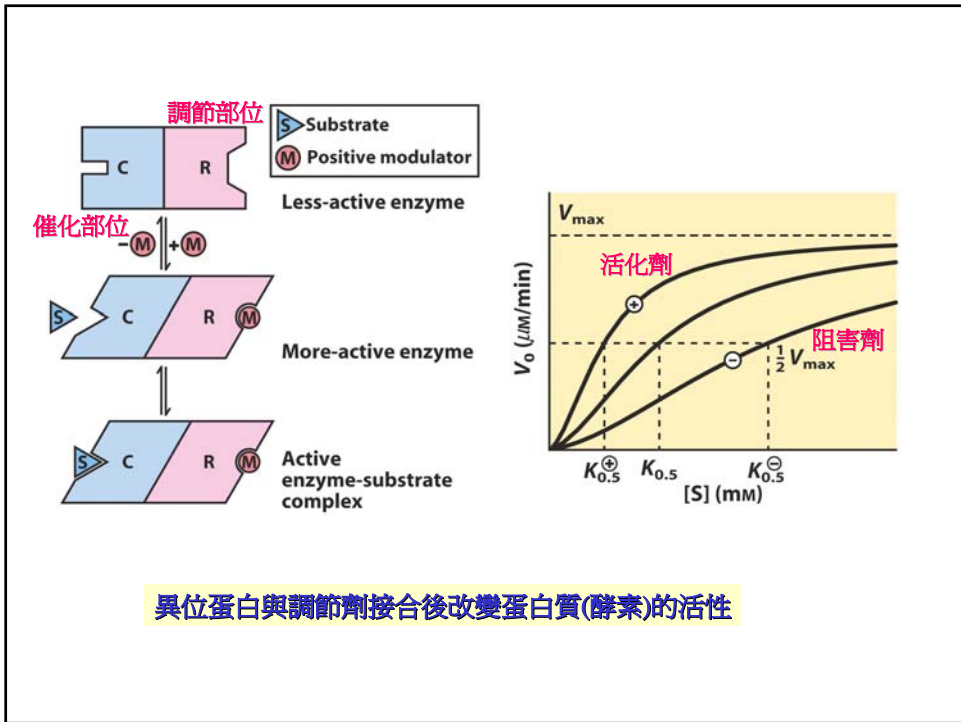
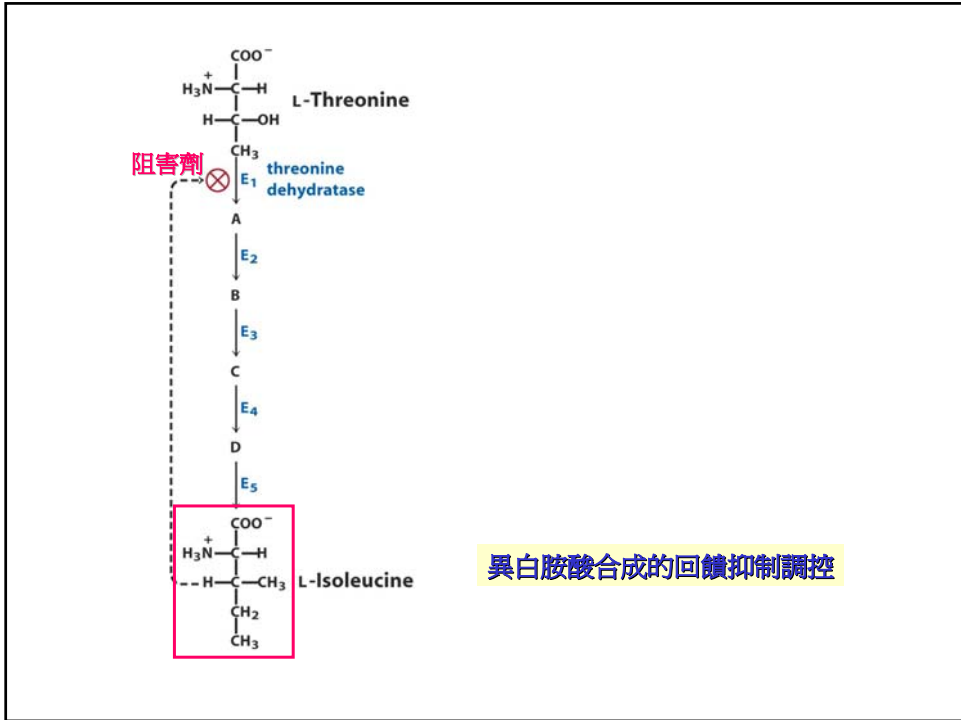




### 3. 異位調節作用

為多種代謝路徑中調節酵素或異位酵素的活性調控方式

- 如代謝路徑的終產物之回饋抑制調控\*
- 當調節劑與蛋白質的調節部位接合後，引發該部位的構型發生變化，此變化因四級結構中不同次單元的相互接觸而傳達到催化部位，因而改變催化部位的特性，使蛋白質的活性改變\*  
以酵素為例，較普遍的是改變酵素對受質的親和力，少數是改變酵素的催化效率



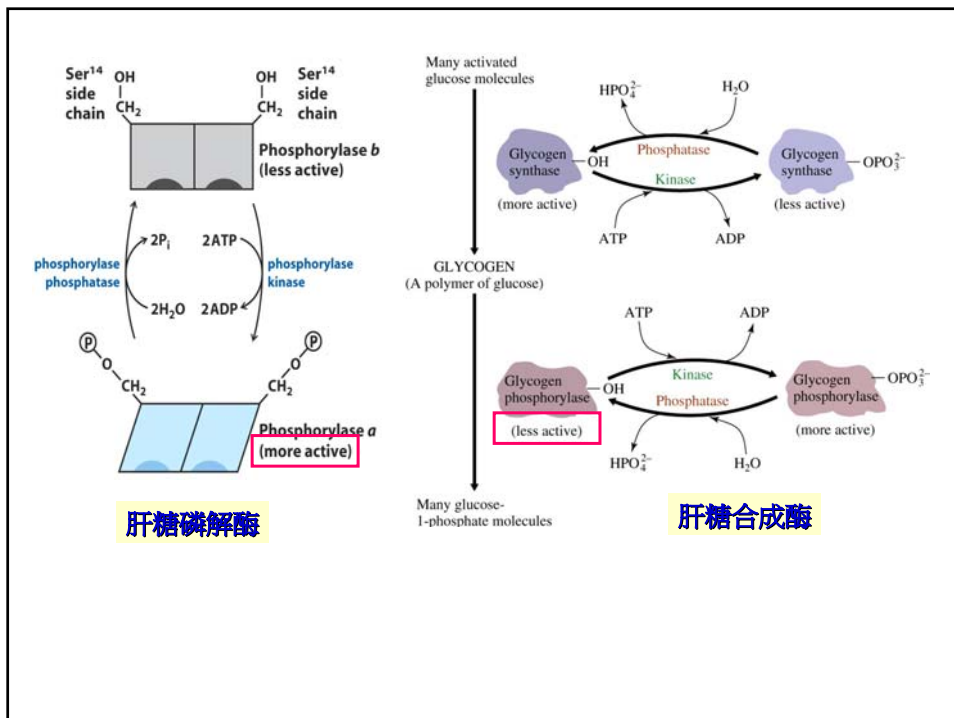


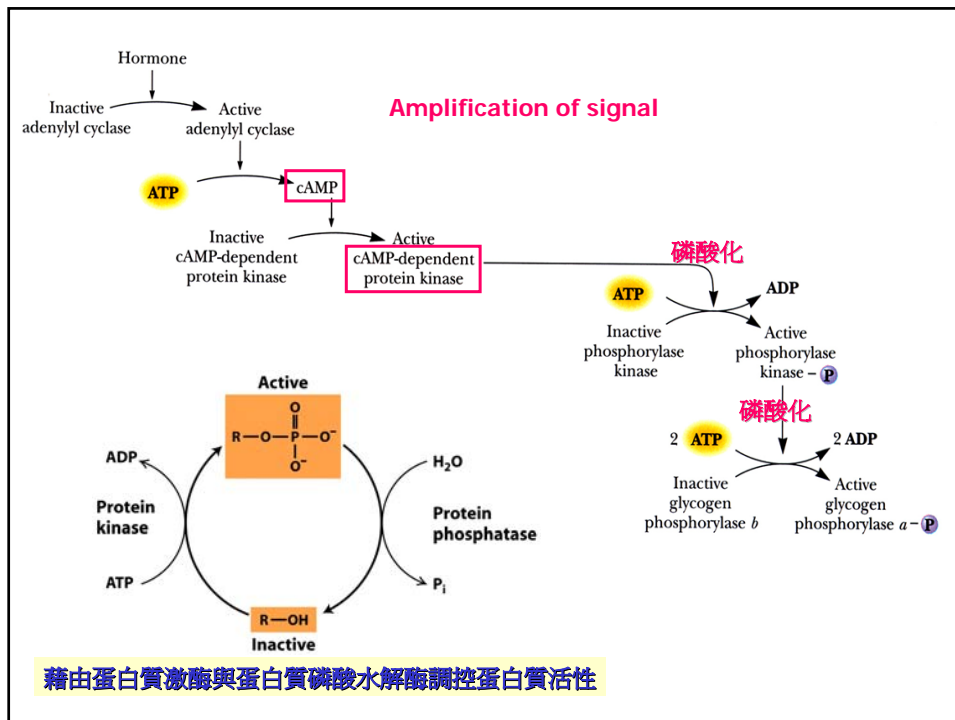
#### 4. 共價修飾作用

肝糖代謝的調控為最佳例子\*

蛋白質因特定胺基酸接上特定的化學基團後而改變其活性，此修飾作用屬共價鍵結的形成，因此活性變化之間需其他酵素的參與\*

- 此機制通常是細胞代謝受激素調節的方式，有訊號放大的效果





## 5. 其他機制

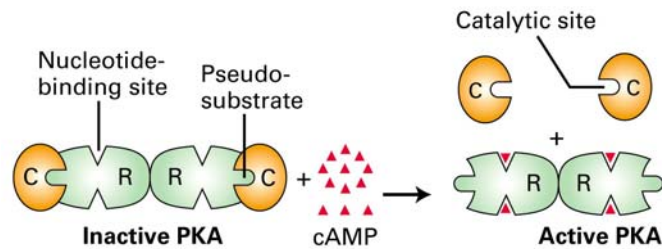
與其他蛋白質的接合作用

- 如蛋白質激酶A (protein kinase A, PKA)\*與調節次單元的接合

- 受Ca<sup>2+</sup>調控的蛋白質或酵素，如調鈣蛋白(calmodulin)

蛋白質的分佈(compartmentation或localization)

- 如葡萄糖運輸蛋白受胰島素的影響



蛋白質激酶A的活化

## 《蛋白質的新陳代謝》

### 1. 細胞內蛋白質的新陳代謝(分解)

蛋白質雖有驚人的特性，卻非“長生不老”，蛋白質隨著“年紀”的增長，會累積多種發生的化學反應而造成生物活性的喪失

- 如胺基酸支鏈的硫原子氧化，天門冬醯胺酸與麩醯胺酸的側鏈去醯胺作用，碳的異構化作用，胺基與葡萄糖間非酵素的反應(最普遍)等
- 不正常或老化的蛋白質需持續被分解移除

## 2. 細胞內特定蛋白質的量維持動態平衡的狀態

蛋白質持續地被製造與被分解

- 蛋白質持續地被分解除了是一般的新陳代謝代，也可移除外來的蛋白質及對環境的調適(如因應養份不足與不同發育階段的需求等)

## 3. 影響蛋白質分解速率的因子

蛋白質分解(水解)的過程

- 需要能量，具有一級反應的動力特性，被分解的蛋白質分子是隨機選取

正常細胞內不同的蛋白質有不同的分解速率

- 蛋白質的半生期(half-life)較短者，細胞內分解的速率較快

- 半生期較短的蛋白質通常分子量較大，具有酸性pI值，在細胞的新陳代謝中擔任關鍵的調節角色\*，在試管內對熱或蛋白酶的實驗處理較敏感

近年的研究發現蛋白質N端的胺基酸種類及特定序列(PEST)的數目與蛋白質的半生期有密切關係

- N端的胺基酸種類

穩定(半生期>20小時)者為Met、Ser、Gly、Ala、Thr、Val，不穩定(半生期7~30分鐘)者為Arg、Lys、Asp、Leu、Phe，高度不穩定(半生期2~3分鐘)者為Ile、Glu、Pro、Tyr、Gln

- PEST (Pro、Glu、Ser、Thr)序列

### 哺乳類細胞內蛋白質的半生期

酵素或蛋白質種類	半生期(hr)
c-myc, c-fos, p53 oncogene products	0.5
RNA polymerase I	1.3
Tyrosine aminotransferase	2.0
Deoxythymine kinase	2.6
Phosphoenolpyruvate carboxykinase	5.0
Aldolase	118
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	130
Lactate dehydrogenase (isozyme 5)	144
Cytochrome <i>c</i>	150

#### 4. 蛋白質降解的機制

細胞內蛋白質的降解主要經由兩個途徑

- 溶體或溶酶體系統，負責代謝外來或不正常的蛋白質
- 細胞液的蛋白質降解體(proteasome)系統，負責代謝一般正常蛋白質

蛋白質降解體媒介的蛋白質水解(proteasome-mediated proteolysis)

- Ciechanover, Hershko與Rose因其貢獻同獲2004年諾貝爾化學獎
- 泛素(ubiquitin)標記的蛋白質(ubiquitination)被26S蛋白質降解體\*辨識並分解，需ATP及多種蛋白質(酵素E1, E2, E3)參與蛋白質的降解

