

文章编号: 1004-0374(2015)06-0766-05



曹天钦(1920—1995), 祖籍河北束鹿, 出生于北平, 生物化学家, 中国科学院院士。他是中国现代蛋白质研究的奠基人之一, 肌球蛋白轻链的发现者。曹天钦于1938年考入燕京大学化学系。1944年毕业, 1946年前往英国留学。1948年获剑桥大学化学系学士学位。之后改攻生物学, 主要从事肌球蛋白的物理化学研究。1951年当选剑桥大学冈维尔与凯斯学院院士。回国后在中国科学院生理生化研究所工作。曾参与领导了人工合成牛胰岛素的研究。

## 胰岛素人工合成的科学意义

曹天钦

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

胰岛素的全合成, 已经由我国科学工作者在世界上首先完成了, 它的结晶形状、激素活力和一些化学性质都同天然胰岛素无异。我国科学工作者在攀登科学高峰、赶超世界水平的努力中, 在蛋白质人工合成方面取得了领先地位。

蛋白质的结构极其复杂, 它们都是由为数几十或成百上千的氨基酸首尾相连所形成的多肽长链构成的。胰岛素是一种简单蛋白质, 自然情况下是人和动物胰脏中的胰岛细胞分泌的一种激素, 具有调节血糖代谢的生理功能, 在医学临床上可用来治疗糖尿病。胰岛素分子是由17种51个氨基酸按一定顺序结成的两条肽链通过两对二硫键联接组成的。一条是21肽, 叫A链, 一条是30肽, 叫B链。人工合成胰岛素, 要首先把氨基酸按一定的顺序合成A链和B链, 然后将两条链通过二硫键以正确方式连结成胰岛素。胰岛素分子中有碳、氧、氮、氢、硫五种共777个原子, 所以人工合成胰岛素, 也是迄今人类在实验室里以化学方法合成的最大的、具有特定大小与特定化学结构的天然有机化合物。

胰岛素的人工合成揭开了新时期的重要一页。通过胰岛素人工合成的实践, 使人们对蛋白质化学结构与立体结构之间的关系有了进一步的了解, 为

蛋白质结构与功能关系的研究开辟了新的途径。在科学工作者探索生命怎样从无机自然界中发生、并在实验室中进行合成的实践中, 1828年从无机物中取得了第一种有机物——尿素, 是第一个飞跃; 现在人工合成了第一个蛋白质, 我认为, 可以看做是第二个飞跃。

回顾现代自然科学的历史, 人们对蛋白质的认识有着一个自少而多、由表及里的过程。蛋白质的溶液, 一般是粘粘的胶液。古典的化学方法对这类体系本来不易进行定量的深入的研究。20世纪头20年, 是胶体化学促进蛋白质化学研究的时期。一些胶体化学的理论被应用到蛋白质体系上, 对蛋白质的溶解、沉淀、扩散、透析、膨胀、粘度、酸碱平衡等现象, 予以初步的说明与概括。但在这一历史时期, 对于蛋白质化学本质的了解, 还很模糊; 有着萌芽的多肽学说, 也有着形形色色为后来科学实践所淘汰了的其他看法。

20世纪20年代, 科学家发明了超离心机。利用在离心场中沉降速度的快慢, 首先来测量这类胶体颗粒的大小, 却意外地发现胶体的蛋白质, 每一项都具有特定的分子量, 一如简单的有机化合物。

其后，更多的物理化学新技术如渗透压力、光散射等等，都被运用来研究蛋白质的大小与形状，进一步证实了每种蛋白质的分子都有其特定的大小与形状。在此历史阶段中，还有一个重要的发现，即纤维状蛋白质，如毛发、肌肉、角、甲中的蛋白质和血纤维蛋白，同球状蛋白质一样，在化学结构上都是由多肽链状分子所构成的。一些球状蛋白质如种子蛋白、乳酪蛋白、卵白蛋白等，在经过适当的处理后，结构都可以松散，转变为纤维状。X-光衍射技术对人类认识上的这一深入，起了重要的作用，它揭示出各种不同蛋白质之间的内在联系，进一步确立了蛋白质的多肽学说。

继之而来的是一个探索蛋白质内部结构的阶段。经历了十年的苦功，利用了一系列的分离分析技术，胰岛素的全部化学结构首次获得阐明。这是一个重要的进展。这项结果揭示，在蛋白质分子中，氨基酸按严格的顺序一一结合（所谓一级结构）。X-光衍射研究，更揭示在一些纤维状蛋白质中，多肽长链以螺旋状盘曲（即所谓二级结构）。在球状蛋白（如血红蛋白、肌红蛋白）中，此螺旋又局部保留、局部盘折，形成特殊的立体结构（即所谓三级结构）。许多简单的蛋白质都只有一条肽链，但也有一些蛋白质，是由两条或两条以上的相同或互异的肽链构成的，链与链间由硫硫相连接的二硫键连接。胰岛素便是一例。但多链的蛋白质有时仅藉一些很弱的键如氢键、疏水键或藉静电吸引而使各键相连接。这后一类的蛋白质常可因环境条件的改变而分离成不具生物活力的单独的肽链，即所谓亚基。这些亚基在构成蛋白质分子时，按一定方式互相结合，形成蛋白质分子的四级结构。X-光衍射研究便使人们确切地获知血红蛋白中四个亚基在空间排列中的相互关系。

近年来的科学实践，证实而且丰富了上述的各级结构的概念。现在除了胰岛素外，一级结构已全部阐明的还有其他约10种蛋白质；除了肌红蛋白和血红蛋白外，二三级结构粗知轮廓的也有其他不到10种蛋白质。电子显微镜的观察可以直接看到在病毒巨大分子的蛋白质外壳中，成百上千的亚基按一定几何形式结合成多面体或长棒的细节，为四级结构提供了丰富的例证。对于各级、特别是二三级结构的概念，人们虽然还有着这样或那样不同的见解，但X-光衍射分析却说明，在肌红蛋白和血红蛋白等分子中，二级的螺旋结构像在一些纤维状

蛋白分子中一样，是客观存在。肌红蛋白的X-光衍射分析已达1.4 Å，即原子水平，为人们提供了最直接的、确切的知识。在肌红蛋白分子中，三级结构的每一细节，如肽链哪里有螺旋、哪里有弯曲，哪些氨基酸侧链基团与哪些另外的氨基酸侧链基团相互作用，也都“历历在目”。在溶液中，由于水分子的作用，蛋白质分子的立体结构可能不如在晶体中那样规则，但近年来出现的一些新技术，如重氮交换、旋光色散、荧光光谱、远紫外吸收光谱、紫外二色性等，提供不少证据：蛋白质分子在溶液中也保有很大程度的甚至接近全部的二、三级或四级结构。用最保守的提法，目前大家已一致认为：每种蛋白质都有其特殊的立体结构。生物化学的研究实践证明，这种结构与其生物活力之间有着不可分割的关系。破坏了此结构，生物活力也即随之而丧失。

任何有机化合物都有其一定的化学结构和一定的立体结构，但蛋白质的立体结构有其非常特殊点，除了核酸而外，还没有其他有机化合物能与之比拟。蛋白质立体结构的特点是：

(1) 具有上述的以一级结构为基础的二、三级甚至四级结构。

(2) 构成蛋白质的氨基酸虽然只有20多种，但基于氨基酸总数不同、各种氨基酸比例不同和排列顺序不同，它所可能形成的一级结构数目是几乎无限的。正如20几个拼音字母不同的排列组合可以记录表达几乎无限的知识一样。

(3) 一般简单有机化合物分子能具有的化学组成相同而空间结构不同的异构物是有限的。链状分子具有众多单键，由于围绕单键自由回转的可能，分子可以呈现的不同空间构型是为数很大的。对橡胶来说，这即是它具有弹性的分子基础。一个松散的多肽也是如此，它没有一定的、专一的立体结构。蛋白质的特点，即它的分子在具有天文数字可能性的构型中，通过众多弱键的协同作用，在一定条件下，只呈现一种特定的构型。

(4) 一般有机化合物中，碳原子与碳原子之间或碳原子与其他原子之间，主要是靠一种很结实的化学键即共价键连接起来的。分子之中，间或有个别较弱的键，如氢键等，但对维系立体构型并不起主要的作用。因此有人把有机化学看成是碳的共价键化合物的化学。在蛋白质分子中，肽键主链和氨基酸侧键都是通过共价键构成的，也即是一级结构

的形成主要靠共价键。但在形成立体结构也就是二、三、四级结构时，则全靠众多的弱键即所谓次级键起作用。次级键中有氢键、疏水键等等，一般键能只有1~6千卡，而有机化合物的共价键则键能一般在60千卡以上甚至一百几十千卡。在蛋白质分子的结构中，主链上不同部位的基团之间构成氢键，因而形成螺旋的二级结构，众多不同的侧链之间又通过形形色色的氢键、疏水键、盐键等形成三级结构。四级结构也是靠侧链之间的弱键所维系的。在蛋白质分子结构中，次级键的数目与比例非常大，除核酸外，是其他类有机化合物(包括多肽)所没有的。许多弱键的协同作用，使得蛋白质的立体构型具有相对的稳定性，但局部的弱键可因体内环境的改变而有所拆、合、交换，却又使蛋白质的立体结构具有相对的灵活性。有些蛋白质如肌肉收缩蛋白、参与新陈代谢的许多酶蛋白等，可以在不同的条件下，通过一种特定构型转变成另一种特定的构型，而完成不同的功能或同一功能的不同方面。

(5) 在有些蛋白质分子中，除去肽链而外，还有以特定比例与方式结合的金属离子或维生素、脂肪、糖或核酸分子等其他组分，这更加丰富了蛋白质结构变化与功能的多样性。

生命现象选择蛋白质和核酸这两类物质做为基本的物质，来完成奥妙无穷的、错综复杂的功能；而其他有机化合物，包括多肽在内，尽管非常重要，但却不起主导的作用，其关键可能即在此。

所以，从今日蛋白质化学的成就来理解，氨基酸接连成多肽、在肽键由短而长、肽的结构自简而繁终至出现蛋白质的过程，是一个量变到质变的过程。在蛋白质化学发展的不同历史时期中，人们基于认识的局限性，曾经用能否为某些试剂所沉淀、能否透过半透膜、分子量是在1万以上还是在1万以下等非本质的尺度来区分多肽与蛋白质。近年的科学实践、特别是各级结构的阐明，使得人们有可能更深入一层地探索事物内在的联系与区分。从本质上看问题，虽然胰岛素分子不算很大，其化学单位的分子量是5733，但却包含比一般多肽远较丰富的“信息”，“麻雀虽小，五脏俱全”，它是一个典型的蛋白质。由于胰岛素所具有的一些特点——分子量较小、容易结晶、容易纯化等——它是在所有简单蛋白质中被人研究得最多的一个，为整个蛋白质化学积累了丰富的经验。难怪许多科学工作者把胰岛素看成是一个理想的蛋白质研究对象。

作为一个典型的蛋白质，胰岛素是由我国第一次合成的，我国的科学工作者为祖国争得了一个世界冠军。

在胰岛素人工合成的过程中，人们关心的一个问题是，即使合成了胰岛素A、B两条肽链，但把它们通过二硫键连接时，能否按正确的方式使之结合呢？国外文献中讨论胰岛素A、B链的连接时，涉及到顺接、反接、多接等众多的可能性，对正确连接的百分比是很悲观的。毛主席教导我们：“辩证唯物论的认识论把实践提到第一的地位，认为人的认识一点也不能离开实践”，“一切真知都从直接经验发源的。”我们按照毛主席的指示，采取了唯一的科学态度，即尊重实践。根据把天然胰岛素A、B键拆开再使之重合的试验，证明它们按正确的方式连接的机遇至少不低于50%。在一般蛋白质分子中，二硫键起一个连接肽链、维系特定空间结构的重要作用；二硫键拆开，蛋白质即丧失其特有的生物活力。国外也有一些试验证明，像核糖核酸酶、溶菌酶的蛋白质分子，在还原拆开二硫键因而失活之后，可用重氧化而使之正确连接，重新恢复部分或大部分活力。我们的工作与他们是同时并进的，是最早获得的肯定结果之一；而我们的结果远胜于他们，因为胰岛素是一个两链的体系，重合的困难与意义远较国外单链的体系为大。就蛋白质的化学结构而言，人工合成胰岛素是第一次用合成的方法证明了在二硫键连接时，连接方式是有高度选择性的，肽键的氨基酸排列顺序基本上决定了此种最合适的连接方式。

这个成就还有其更深一层的意义。因为从现代蛋白质化学的知识来理解，合成的胰岛素具有与天然相同的结晶、活力、免疫特征以及一系列化学的性质，意味着在立体结构上也是相同的；换句话说，只要合成了一个具有正确的氨基酸排列顺序的肽链，则在适当的条件下，不但在连接二硫键时依照天然的方式连接起来的趋势是很强的，而且肽链也是按着天然方式取向折叠的；也就是说，在为数极多的可能的构型之中，肽链却自然而然地趋向于与天然胰岛素相同的特殊构型。

最初酝酿合成胰岛素的工作时，曾安排一部分力量探索控制肽链构型的问题，但当时和至今蛋白质化学所能掌握的方法是极其有限的。如果合成了排列顺序正确的肽链而无其特殊的立体构型，则只

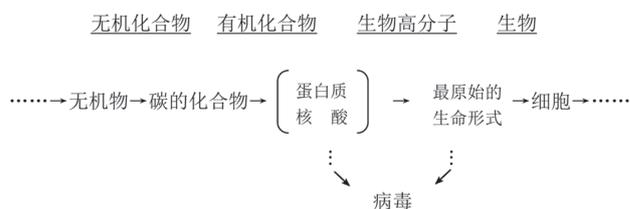
能算合成了一个变性的蛋白质、一个在结构上属于多肽范畴的物质。但实践证明，这个控制构型的难题，却比较容易地解决了。毛主席教导我们：“事物发展的根本原因，不是在外部的而是事物的内部，在于事物内部的矛盾性。任何事物内部都有这种矛盾性，因此引起了事物的运动和发展。事物内部的这种矛盾性是事物发展的根本原因，一事物和他事物的互相联系和互相影响则是事物发展的第二位原因。”看来蛋白质的一级结构具有形成高级结构的内因，但具体能否形成正确的高级结构，则要靠外因的作用，即寻找到合适的试验条件。在胰岛素人工合成的工作中，通过大量实践找到了这种合适的条件，因而形成了正确的立体结构，获得了与天然胰岛素一样的产物。目前，生物化学的研究，已阐明了蛋白质在生物体内如何通过复杂的核酸体系把氨基酸按一定顺序结合成蛋白质长链的若干主要环节，但对于二三级结构的形成，则需借助于“自行装配”的设想，即在生物体内的条件下，此肽链的主链和侧链基团间能自行逐个形成相应的弱键，这些弱键的协同作用便决定了分子的立体构型，因此，生物体系并不需要一些帮助形成高级结构的核酸样板或酶系。胰岛素的人工合成，从实践证明了“蛋白质高级结构决定于其一级结构”和“自行装配”这些概念具有丰盛的生命力。这不但为将来人工合成更多更大的蛋白质开辟了无限的远景，也给予蛋白质生物合成机制的阐明以有力的促进；它还使我们看到，物质运动的高级形式与简单低级形式之间的内在联系与质的差异。

经历从生物学属性、胶化性质、物化特征和结构细节等不同深度的认识蛋白质的阶段，目前，蛋白质研究的前线，已进入一个从生物属性考察结构与功能统一的阶段。这是一个螺旋的上升，是一个新的综合。当前要解决的中心问题是结构和功能之间的关系问题，也即是为什么一个蛋白质具有这样结构便有这样的功能，而那那样的结构便有那样的功能；也即是为什么酶能够催化，肌肉能收缩，毒素有毒，抗体是抗体？甚至为什么同一个酶在这种条件下催化这种生化反应，而在另一种条件下却催化其逆反应或另一种反应，从而在分子水平上调节新陈代谢的途径。分子生物学的研究已开始接触这些生命活动的机理。这里面自然也包含着一个问题，即为什么上述的和一些其他的功能都需要具有二、三级甚至四级结构的蛋白质分子，而只有激素横跨多

肽与蛋白质两个领域；也即是为什么对有些类的代谢调节控制只需要短的或长的多肽分子，如催产素、促黑激素、促肾上腺皮质激素等，即可以了，而对另些类的代谢调节控制却需要具有更高级结构的蛋白质分子，如胰岛素、促乳激素、生长激素等。

人工合成胰岛素，为研究蛋白质的结构和功能找到了一条新的研究途径。以往用合成和置换个别氨基酸组成的办法，只能对简单的多肽激素或抗菌素进行结构与功能关系的研究，并探索合成更高效少害的这类药物。对于蛋白质，则以往仅局限于对侧链基团稍加改变以观测其对生物活力的影响。人工合成了胰岛素，则蛋白质的禁区也打开了。可以设想，通过置换或增减蛋白质分子中的一些氨基酸，能够对结构功能关系有更深一层的了解。诚然，合成一个蛋白质不是件易事，目前我们所做的还是一条费力的途径。但认识与经验是不断在飞速进展的。在技术革命、技术革新的基础上，合成的方法是可以大大简化的。可以预期，人工合成对于蛋白质活力中心所必需的结构和作用机制等问题的阐明，一定会有其特殊的贡献；也可以预期，人工合成在酶的模拟研究中，会起极其重要的作用。

地球上生命的起源，是一个自然科学与哲学中重大的问题。从无机自然界出现生命，是一个亿万年物质运动发展的结果。在这个漫长的演化途中，蛋白质与核酸的出现，占有一关键的位置。我们可以用下图示意：



可以设想，在其他星球上如果有生命，其最基本的物质系统，如不是蛋白质与核酸，也必会是按类似的结构原则组成的“信息”高度集中的化合物。病毒的出现可以看做是演化途中的一条歧路，也可看成生命物质由于核酸“犯错误”而退化所成。无论怎样了解，所有的病毒，其主要组成都是蛋白质与核酸，最简单的病毒只有一种蛋白质外壳和一种核酸内含物。病毒虽然能够增殖，但自己不能进行新陈代谢，要依靠寄主的新陈代谢体系才能生存。

在19世纪初叶，所有当时的有机化合物都是生物的组成成分或生命活动过程中所产生的物质，再不然就是生物体死后所变化衍生出的物质。1828年味勒把腈酸铵溶液加热获得了尿素，第一次从无机物获得一个有机化合物。百余年来，化学家在实验室中合成了无数的有机化合物，其中有与生命现象有关的或生命过程中所产生的许多重要物质，如糖、性激素、胆碱、萜、靛蓝、维生素、青霉素、叶绿素、核苷酸、多肽激素等等，也有一些本非天然产物但对生物体有作用的药物。这些成就，科学界都给予了应有的评价。但直到我们合成了胰岛素以前，在生命现象中起主导作用的蛋白质，却只能是生物体活动的产物。现在人工合成了第一个蛋白质，从人类认识自然的前景来看，是一个重要的突破。

尽管尿素是一个简单的“蹩脚”的有机化合物，是生命活动所排泄出的废物，但人工合成尿素的成

就，在人类正确地认识生命现象的本质、从无机物中制造生命的历史上，却被看作是一个飞跃。因为它突破了无机世界与有机世界的界限。在蛋白质中，胰岛素也是最小的一个。胰岛素的功能是参与新陈代谢的调节控制，在有些人看来，不如一些其他的蛋白质如酶那样更引人注目。同时，有一些其他激素功能由很小的多肽分子即可完成，不像生物催化、新陈代谢、收缩、抗体、毒素等功能，都需要较大较复杂的蛋白质、而非多肽小分子所可完成的。尽管如此，胰岛素是一个蛋白质，人工合成了胰岛素，便突破了一般有机化合物与生物高分子之间的界限。所以人工合成胰岛素的成就，在人类认识并合成生命的历史上，可说是第二个飞跃。

本文原发表于《自然辩证法研究通讯》1966年第1期，后来作者对文章作了若干修改。