

普通高等医学院校辅导教材

生物化学学习指导

主编:刘用璋

学苑出版社

普通高等医学院校辅导教材

生物化学学习指导

主 编:刘用璋

副主编:王桂忱

于鸿儒

编 者:刘用璋

肖建英

朱艳玲

王翠瑶

曲淑梅

傅秀琳

王桂忱

于鸿儒

李 红

刘 莹

肖建英

曲淑梅

傅秀琳

贾玉海

学苑出版社

图书在版编目(CIP)数据

定价:5.80 元

前 言

我们以全国统编生物化学教材为蓝本,参照其他生物化学教材和参考书的内容,编写“生物化学学习指导”一书。

本书可做为自学生物化学者,医学院校在校生活和报考硕士研究生的同志复习生物化学用书。全书共分为十二章。每章有内容提要,是按教学大纲将需要掌握的内容,做了归纳和概述。选择题分为A型题、B型题、C型题和X型题。A型题为单项选择题,从A、B、C、D和E中选择一个最佳答案;B型题为配伍选择题,从A、B、C、D和E中选择适合1、2、3……的答案;C型题有四个答案,即A、B、C(A+B)、D(非A非B),选择其中最佳答案;X型题为多项选择题,要从A、B、C和D中选择出一个以上的正确答案。本书对问答题做出简要的答案,仅供参考。

本书编写过程中,得到生化教研室和兄弟院校生化同仁的支持,特此致谢。在编写过程中,由于编者水平有限,难免有不当之处,恳请广大读者提出批评意见。

编者

目 录

✓第一章	蛋白质化学	(3)
第二章	核酸化学	(8)
✓第三章	酶	(13)
✓第四章	三羧酸循环和氧化磷酸化	(21)
✓第五章	糖代谢	(30)
✓第六章	脂类代谢	(41)
✓第七章	氨基酸代谢	(52)
✓第八章	核苷酸代谢	(60)
✓第九章	血红素代谢	(63)
✓第十章	代谢调节	(66)
✓第十一章	无机盐代谢	(72)
✓第十二章	基因信息的传递	(76)

第一章 蛋白质的结构与功能

内容提要

蛋白质是细胞组份中含量最丰富、功能最多的高分子物质。

一、蛋白质的元素组成

各种蛋白质都是由碳、氢、氧和氮元素组成。各种蛋白质含氮量相对恒定,平均为16%。

含N量:

二、蛋白质的分子组成

蛋白质的基本组成单位是氨基酸。构成天然蛋白质的氨基酸共20种。除甘氨酸外,均属于L- α -氨基酸。

(一)氨基酸的分类

按侧链的性质,可将20种氨基酸分为四类:

1. 非极性疏水氨基酸,侧链具有疏水性基团,如甘氨酸(Gly)、丙氨酸(Ala)、缬氨酸(Val)、亮氨酸(Leu)、异亮氨酸(Ile)、苯丙氨酸(Phe)、脯氨酸(Pro)、蛋氨酸(Met)八种。
2. 极性中性氨基酸,侧链呈中性但带有极性基团,有亲水性。如丝氨酸(Ser)、苏氨酸(Thr)、半胱氨酸(Cys)、酪氨酸(Tyr)、色氨酸(Trp)、天冬酰胺(Asn)、谷氨酰胺(Gln)七种。
3. 酸性氨基酸。侧链含有羧基。如谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)。
4. 碱性氨基酸。侧链含有氨基、胍基或咪唑基。如赖氨酸(Lys)、精氨酸(Arg)、组氨酸(His)。

(二)肽键与肽链

各种氨基酸通过肽键连接形成多肽链。肽键是由一个氨基酸的 α -羧基与另一个氨基酸的 α -氨基脱水缩合形成的化学键。

多肽链中的氨基酸单位称为氨基酸残基。肽键和 α -碳原子形成多肽链骨架。在书写时多肽链末端氨基写在左侧,称N-末端,末端羧基写在右侧,称C-末端。

三、蛋白质的分子结构

蛋白质分子具有一、二、三、四级结构。

(一)蛋白质的一级结构

构成蛋白质的各种氨基酸按一定的数量、一定的排列顺序构成的多肽链骨架称为蛋白质分子的一级结构。各氨基酸残基之间通过肽键连接。肽键不能自由转动,氨基上的氢与羧基上的氧总是反式存在。 $-\text{CO}-\text{NH}-$ 是一个刚性平面结构。所以多肽链骨架是由 α -碳原子与两侧不能自由转动的肽键平面连接而成。

(二)蛋白质的二级结构

蛋白质分子的二级结构包括 α -螺旋和 β -折叠两种周期性结构。

1. α -螺旋结构为多肽链围绕一个轴心盘旋形成右手螺旋,侧链伸向外侧,每3.6个氨基酸残基一圈,靠氢键维持螺旋的稳定。R基团的性质对螺旋的形成和稳定有一定影响。如肽链上某一段出现多个带同种电荷的氨基酸残基,彼此排斥,妨碍 α -螺旋形成。侧链过大,也影响 α -螺旋的形成。肽链上出现脯氨酸残基时不能形成氢键,不能形成 α -螺旋。

2. β -折叠为折纸状, 依靠不同链间的氢键维持稳定。

3. 蛋白质的二级结构还包括 β -转角和无规卷曲结构。 β -转角发生在肽链进行 180° 回折时的转角上。无规卷曲为没有确定规律的那部分肽链。

(三) 蛋白质的三级结构

蛋白质分子进一步折叠成球形、具有空间构象的结构为蛋白质的三级结构。三级结构的稳定性依赖于氨基酸残基上R基团的相互作用及-S-S-键。主要的化学键为疏水键、离子键和范德华氏力。有的蛋白质具有三级结构即可表现出生物学活性。

(四) 蛋白质的四级结构

有的蛋白质由二条或多条肽链组成, 每条肽链称为亚基。各亚基聚合在一起形成四级结构。蛋白质的四级结构中亚基之间靠非共价键维持稳定。

四、蛋白质的理化性质

(一) 两性游离及等电点

蛋白质分子中含有多个酸性或碱性游离基团, 是两性电解质。在溶液中荷电状态受pH的影响。在偏酸溶液中蛋白质分子上的羧基解离受到抑制, 蛋白质带正电荷; 在偏碱溶液中, 氨基解离受到抑制, 蛋白质带负电荷。在某一pH条件下蛋白质带正负电荷相等, 这时溶液的pH值称为该蛋白质的等电点。人体体液中大多数蛋白质的等电点为pH5左右, 故以负离子形式存在。

(二) 蛋白质的高分子性质

1. 蛋白质为高分子化合物。蛋白质颗粒大小已达胶体范围, 分子表面多亲水基团, 其水溶液为亲水胶体溶液。

2. 蛋白质分子表面电荷及水化膜是维持蛋白质溶液稳定的因素。

3. 蛋白质胶体颗粒不易透过半透膜, 故可通过透析或超滤分离蛋白质。

(三) 蛋白质的沉淀

蛋白质从溶液中析出现象称为沉淀。沉淀蛋白质的方法很多, 主要有:

✓ 1. 盐析: 利用中性盐破坏蛋白质颗粒周围的水化膜和中和电荷, 蛋白质从溶液中析出。常用中性盐有硫酸钠、硫酸铵等。盐析法沉淀蛋白质不变性。

✓ 2. 有机溶剂沉淀。用乙醇、丙酮等有机溶剂破坏蛋白质胶体稳定性、使蛋白质析出。

3. 酸类沉淀。用三氯醋酸、过氯酸、钨酸等与蛋白质颗粒上正电荷结合, 使之沉淀。一般会使蛋白质变性。

4. 重金属盐沉淀。 Cu^{2+} 、 Hg^{2+} 等可与蛋白质阴离子结合而产生沉淀。一般会使蛋白质变性。

5. 加热凝固。加热使蛋白质变性, 疏水基团暴露, 可形成凝块。

(四) 蛋白质的变性

在某些物理化学因素作用下, 蛋白质分子的次级键断裂, 空间结构被破坏, 生物学活性丧失称为蛋白质的变性作用。蛋白质变性作用的实质是次级键断裂, 二、三、四级结构破坏。应用: 用酒精消毒、高压灭菌、低温下保存生物活性制剂等。

五、蛋白质的分离和纯化

分离纯化蛋白质的方法很多, 主要有盐析、电泳、透析、层析、分子筛和超速离心等。

六、纤维状蛋白和球状蛋白

按形状可将蛋白质分为纤维状蛋白与球状蛋白。

1. 纤维状蛋白多数为结构蛋白质。主要有胶原蛋白、弹性蛋白、角蛋白等。胶原蛋白分子中甘氨酸残基占三分之一,脯氨酸与羟脯氨酸残基占 20%,酪氨酸含量甚少。缺乏色氨酸和半胱氨酸,为营养上不完全蛋白质。

2. 球状蛋白近于球形,主要为一些酶类、蛋白质激素、免疫球蛋白等。

七、血浆蛋白质

正常人血浆蛋白质含量为 6—8g%,清蛋白与球蛋白比值(A/G)为 1.5~2.5/1。用盐析法可将血浆蛋白质分为两类:球蛋白和清蛋白。用电泳法可分为六类:清蛋白、 α_1 -球蛋白、 α_2 -球蛋白、 β -球蛋白、纤维蛋白原和 γ -球蛋白。

血浆蛋白中含量最丰富的是清蛋白(即白蛋白)。白蛋白是球状蛋白质,一条肽链、分子量为 66300。主要在肝细胞合成再分泌入血浆。白蛋白的主要功能有二:①运输水溶性较差的小分子有机物和一些无机离子。②在毛细血管内提供胶体渗透压。

选择题

A 型题

1. 构成天然蛋白质的氨基酸有:

- A. 12 种 B. 18 种 ☒ C. 20 种 D. 22 种 E. 30 种

2. 下面氨基酸具有两个羧基的是:

- A. Leu B. Phe C. Trp ☒ D. Asp E. Lys

3. 下面氨基酸具有两个氨基的是:

- A. Pro B. Tyr C. Met D. Glu ☒ E. Lys

4. 肽链转折处常见的氨基酸是:

- A. 丙氨酸 B. 苏氨酸 C. 天冬氨酸 ☒ D. 脯氨酸 E. 天冬酰胺

5. 关于蛋白质 α -螺旋的描述不正确的是:

A. α -螺旋为蛋白质的二级结构 ☒

B. 螺旋一周由 3.6 个氨基酸残基组成 ☒

C. 螺距为 0.54nm ☒

☒ D. 螺旋的走向为顺时针方向

☒ E. 依靠肽键维持螺旋稳定

6. 关于蛋白质变性作用的描述不正确的是:

A. 蛋白质空间结构被破坏 ☒

B. 次级键断裂 ☒

C. 蛋白质理化性质改变 ☒

☒ D. 变性蛋白质不易发生沉淀

E. 生物学活性丧失 ☒

7. 不参与蛋白质组成的氨基酸是:

- A. 甘氨酸 ☒ B. 鸟氨酸 C. 精氨酸 D. 脯氨酸 E. 蛋氨酸

8. 下面能使蛋白质变性的因素是:

- A. 硫酸钠 B. 硫酸铵 C. 层析 ☒ D. 尿素 E. 超速离心

9. 胶原蛋白中缺乏的氨基酸是:

- A. 甘氨酸 B. 丙氨酸 C. 赖氨酸 ☒ D. 色氨酸 E. 苏氨酸

10. 下面蛋白质具有四级结构的是:

- A. 细胞色素 C B. 肌红蛋白 C. 胃蛋白酶 D. 胰蛋白酶 E. 血红蛋白

B 型题

- A. Leu B. Phe C. Trp D. Met E. Asp

11. 在人体内能转变成尼克酸的氨基酸是: C

12. 在人体内不能转变成糖的氨基酸是: A

13. 能转变成 Tyr 的氨基酸是: B

14. 能提供甲基的氨基酸是: D

15. 与尿素合成过程有关的氨基酸是: E

C 型题

- A. 甘氨酸 B. 丙氨酸 C. 二者皆是 D. 二者皆不是

16. α -碳原子为不对称碳原子的氨基酸是: B

17. α -碳原子不属于不对称碳原子的氨基酸是: A

18. 属于非极性疏水氨基酸的是: C

19. 属于极性中性氨基酸的是: D

- A. 肽键 B. 氢键 C. 二者皆是 D. 二者皆不是

20. 具有三级结构的蛋白质分子中含有: C

21. 一级结构的蛋白质分子中含有: A

22. 维持蛋白质二级结构稳定的化学键是: B

23. 维持蛋白质三级结构稳定最主要的因素是: D

X 型题

24. 关于蛋白质三级结构的描述正确的是:

✓ A. 疏水基团位于内部

B. 亲水基团位于内部

✓ C. 可解离基团位于分子表面

D. 羧基多位于内部

25. 关于 β -折叠结构的描述正确的是

✓ A. β -折叠的肽链呈锯齿状

✓ B. 依靠不同肽链之间的氢键维持稳定

✓ C. 蚕丝蛋白几乎全部为 β -折叠结构

✓ D. β -折叠为蛋白质的二级结构

问答题

1. 蛋白质的一级结构与功能有什么关系?

2. 影响蛋白质 α -螺旋结构稳定的因素有哪些?

✓ 3. 何谓蛋白质的变性作用? 蛋白质变性作用的原理有何实用价值?

4. 某蛋白质的等电点为 5.06, 在 pH 8.6 的缓冲溶液中荷什么电? 在电场中向哪极移动?

5. 为什么血浆蛋白质多数荷负电?

6. 胶原蛋白的氨基酸组成有什么特点?

7. 白蛋白有什么生理功能?

答案

选择题

1. C 2. D 3. E 4. D 5. E 6. D 7. B 8. D 9. D 10. E 11. C 12. A 13. B
14. D 15. E 16. B 17. A 18. C 19. D 20. C 21. A 22. B 23. D 24. A、C 25. A、
B、C、D

问答题

1. 蛋白质的一级结构是二、三、四级结构的基础,也是决定蛋白质生物学活性的基础。
2. 影响蛋白质 α -螺旋结构稳定的因素有①带有相同电荷的氨基酸残基侧链相邻、互相排斥。②R基团过大。③脯氨酸残基不能形成 α -螺旋。
3. 蛋白质在某些物理化学因素作用下,次级键断裂、空间结构被破坏,生物学活性丧失称为蛋白质的变性作用。用酒精消毒、高压灭菌、低温保存生物制剂等。
4. 荷负电、向正极移动。
5. 血浆蛋白质的等电点多为pH5左右,血浆的pH值为7.35~7.45之间,大于蛋白质的等电点,所以血浆蛋白质多荷负电。
6. 胶原蛋白含甘氨酸丰富,占三分之一,肽链中部每三个氨基酸残基就有一个是甘氨酸。酪氨酸含量甚少,色氨酸及半胱氨酸缺乏。
7. 白蛋白的主要生理功能是①运输水溶性较差的小分子有机物。②维持毛细血管内血浆胶体渗透压。

第二章 核酸的结构与功能

内容提要

核酸包括脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)两大类。DNA是遗传信息的贮存和携带者。RNA参与遗传信息表达的各过程。核酸的基本组成单位是核苷酸。

一、核苷酸及其连接

(一)核苷酸

核苷酸由碱基、核糖或脱氧核糖和磷酸组成。碱基与糖通过糖苷键连接而成核苷,核苷与磷酸以酯键结合生成核苷酸。构成核酸的碱基主要有五种:腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶和胸腺嘧啶。在DNA中主要为A、G、C和T。在RNA中主要为A、G、C和U。核苷酸主要有八种。DNA中四种:dAMP、dGMP、dCMP、dTMP。RNA中四种:AMP、GMP、CMP、UMP。

(二)核苷酸的连接

各种单核苷酸按一定数量、一定的排列顺序构成的多核苷酸链为核酸的一级结构。核苷酸与核苷酸之间通过3',5'-磷酸二酯键连接。

二、DNA的分子结构

五十年代初Chargaff应用紫外分光光度法及层析技术分析DNA分子的碱基组成,发现有一定规律:①A=T ②G=C ③A+G=C+T。DNA分子的二级结构为右手双螺旋结构。特点为:①DNA分子由两条脱氧多核苷酸链组成,以右手螺旋的方式围绕同一个轴心有规律地盘旋。②两条链互相平行,方向相反。③两条链互补,碱基之间以氢键相连构成碱基平面。④靠氢键和碱基平面之间的碱基堆积力维持稳定。右手螺旋DNA也称B型DNA。现在发现有左手螺旋DNA,也称Z型DNA,可能与突变的发生有关。

三、DNA的理化性质及其应用

(一)DNA的变性

在DNA溶液中加入过量酸、碱或加热均可以使DNA双链分开成两条单链,这种现象称DNA的变性作用。变性的实质是维系碱基配对的氢键断裂。引起DNA变性的因素很多,由于温度升高而引起的变性称为热变性。解链过程通常是当溶液温度达到一定值时才发生。使50%DNA变性的温度称为变性温度或称解链温度,以 T_m 表示。 T_m 的大小与DNA的G+C含量百分数成正比。DNA变性后会使溶液 OD_{260} 增加,这种现象称为高色效应。

(二)杂交

把不同的DNA链放在同一溶液中作变性处理,然后使之复性,不同DNA单链可以通过碱基互补形成双链,这一过程称为杂交。

(三)探针

在核酸杂交的基础上发展起来的一种用于研究和诊断的新技术称探针技术。一小段核苷酸单链用放射性同位素标记其末端或全链,就可作为探针。把待测DNA变性并吸附在一种特殊的滤膜上,然后把滤膜与探针的溶液共同培育一段时间,使发生杂交。用缓冲液冲洗滤膜,根据探针与待测DNA是否发生杂交,判断待测DNA与探针是否有同源性。

四、DNA的功能

DNA 是生物体的遗传物质。DNA 分子的片段就是基因。基因具有复制、转录等主要功能，是生物遗传繁殖的物质基础。

五、RNA 的结构和功能

RNA 通常以单链存在。动物细胞中主要含有核糖体 RNA(rRNA)、转运 RNA(tRNA)、信息 RNA(mRNA)、杂化核 RNA(hnRNA)、小核 RNA(snRNA)。

(一)mRNA

真核生物的 mRNA 在 5'一端以 7-甲基鸟嘌呤及三磷酸鸟苷为分子的起始结构，称为帽子结构。在 3'一端有一段多聚腺苷酸(polyA)的尾，通称“聚 A 尾巴”。mRNA 的功能是把 DNA 的碱基顺序按碱基互补的原则转录下来，并转变成蛋白质分子中氨基酸的排列顺序。mRNA 分子上每 3 个核苷酸为一组，可决定肽链上一个氨基酸，称为三联体密码。共有 64 种不同密码。有的氨基酸只有一个密码，有的氨基酸有多个密码。AUG 是蛋氨酸密码，又是蛋白质合成的起始密码。当 AUG 出现在 mRNA 5'一端时，它作为蛋白质合成开始的信号，当 AUG 位于 mRNA 中部时，又作为蛋氨酸的密码。UAA、UAG、UGA 三种密码，不代表任何氨基酸，为“终止密码”是蛋白质合成终止信号。

(二)tRNA

tRNA 是细胞内分子量最小的一类核酸，已发现有 60 多种，都由 70 至 90 余个核苷酸组成，tRNA 都含有 10—20% 的稀有碱基，如双氢尿嘧啶、假尿嘧啶和甲基化的嘌呤等。3'一端有特殊的—CCA_{3'}OH 末端，是氨基酸的结合部位。tRNA 的二级结构为三叶草形。由氨基酸臂、二氢尿嘧啶环、反密码环、T_ψ 环和额外环组成。其中氨基酸臂由 7 对碱基组成，3'一端有一 CCA_{3'}OH 末端，蛋白质合成时用于连接活化氨基酸的部位。反密码环由 7 个核苷酸组成，其中 3 个碱基组成反密码子。tRNA 的三级结构呈倒 L 形。

(三)rRNA

rRNA 是细胞内含量最多的 RNA，约占总量 RNA 的 80% 以上。rRNA 与核糖体蛋白共同构成核蛋白体，是蛋白质合成的场所。核蛋白体由大小两个亚基组成，原核生物的核蛋白体小亚基由 16S-rRNA 和 20 多种蛋白质组成，大亚基由 5S 及 23S-rRNA 和 30 多种蛋白质组成。

选择题

A 型题

- 核酸一级结构中主要化学键是：
A. 肽键 B. 氢键 ☒ C. 酯键 D. 离子键 E. 疏水键
- DNA 分子中不存在的核苷酸是：
A. dAMP B. dGMP C. dTMP ☒ D. dUMP E. dCMP
- RNA 分子中不存在的核苷酸是：
A. AMP B. GMP ☒ C. TMP D. UMP E. CMP
- DNA 分子中碱基组成的特点是：
☒ A. $A+C=G+T$ $A=G$ $C=T$
☒ B. $A+G=C+T$ $A=T$ $G=C$
☒ C. $A+G=C+U$ $A=T$ $G=U$
☒ D. $A+G=C+T$ $A=C$ $G=T$
☒ E. $A+G=T+U$ $A=T$ $G=U$
- mRNA 上具有起始作用的密码是：
☒ A. AUG B. UAG C. UGA D. ACG E. GAU
- mRNA 上不代表氨基酸的密码是：
A. AUG B. UUU C. UGC D. UCG ☒ E. UAA
- 关于 DNA 分子双螺旋结构的描述错误的是：
A. 为右手双螺旋
☒ B. 两条链方向相同为 $5' \rightarrow 3'$
C. 两条链互相平行
D. 两条链之间碱基互补
E. 氢键和碱基堆积力维持稳定
- tRNA 分子的二级结构为：
A. 双螺旋 B. 直链伸展
C. 麻花形 ☒ D. 三叶草形
E. 倒 L 形
- mRNA 分子上分别与 20 种氨基酸相对应的密码有：
A. 64 种 B. 63 种 ☒ C. 61 种
☒ D. 60 种 E. 20 种
- RNA 的水解产物中不含：
A. AMP B. GMP C. CMP
D. UMP ☒ E. TMP

11. DNA 的解链温度与:

A. DNA 分子量成正比

B. DNA 长度成正比

C. A+C 含量成正比

☒ D. G+C 含量成正比

E. DNA 浓度成正比

12. 使 DNA 溶液有最大吸光度的波长是:

A. 240nm ☒ B. 260nm C. 280nm

D. 360nm E. 420nm

13. 维持 DNA 双螺旋结构稳定的因素是:

A. 氢键和肽键 B. 疏水键和离子键

☒ C. 氢键和碱基堆积力

D. 二硫键和氢键 E. 以上皆不是

14. 只出现在 DNA 分子中的碱基是:

A. 腺嘌呤 B. 鸟嘌呤 C. 胞嘧啶

D. 尿嘧啶 ☒ E. 胸腺嘧啶

15. 只出现在 RNA 分子中的碱基是:

A. 腺嘌呤 B. 鸟嘌呤 C. 胞嘧啶

☒ D. 尿嘧啶 E. 胸腺嘧啶

B 型题

A. ATP

B. GMP C. dCTP

D. cAMP

E. dTMP

16. 合成 DNA 的原料是: ☒ C

17. 合成 RNA 的原料是: ☒ A

18. DNA 分子的组成单位是: ☒ E

19. RNA 分子的组成单位是: ☒ B

20. 激素的第二信使是: ☒ D

问答题

1. DNA 双螺旋结构有哪些特点?

2. 何谓 DNA 的变性作用?

3. 何谓低色效应? 何谓高色效应?

4. 探针技术有什么应用价值?

5. mRNA 结构上有什么特点?

6. mRNA、tRNA、rRNA 在蛋白质合成中有什么作用?

7. tRNA 分子的二级结构有什么特点?

答 案

选 择 题

1. C 2. D 3. C 4. B 5. A 6. E 7. B 8. D 9. C 10. E 11. D 12. B 13. C
14. E 15. D 16. C 17. A 18. E 19. B 20. D

问答题

1. DNA 双螺旋结构由两条多核苷酸链组成。两条链互相平行,方向相反,碱基互补。两条链碱基之间的氢键相连构成碱基平面。两条链围绕同一轴心盘旋成右手双螺旋。靠氢键和碱基堆积力维持稳定。

2. DNA 溶液中加入过量的酸、碱或加热使 DNA 双链之间氢键断裂解开成两条单链,这种作用称为 DNA 的变性作用。

3. 各种单核苷酸组成 DNA 分子双链后会使得在 260nm 波长处紫外吸光度降低,这种作用称为低色效应。当 DNA 变性后会使得 260nm 波长处紫外吸光度增加,这种作用称为 DNA 的高色效应。

4. 探针技术是在核酸杂交基础上发展起来的一种用于研究和诊断的新技术。把一段被标记的核苷酸单链,作为探针,把待测 DNA 变性,与探针共同培育,通过待测 DNA 与探针是否发生杂交,判断待测 DNA 与探针是否有同源性。用此法可以判断某种病毒和某种肿瘤是否有关,也可以用于临床上对某种遗传性疾病的诊断。

5. 真核生物 mRNA,在 5'一端以 7-甲基鸟嘌呤及三磷酸鸟苷为分子的起始结构,称为帽子结构。在 3'一端有多聚腺苷酸(PolyA),称为尾巴结构。

6. mRNA 在蛋白质合成中起模板作用。

tRNA 为氨基酸的载体。rRNA 是合成蛋白质的场所。

7. tRNA 的二级结构为三叶草形,在 3'一端 5'一端部分碱基配对,形成柄部,3'一端 CCAOH 结合氨基酸,也称氨基酸臂。有双氢尿嘧啶环、反密码环和 T_ψ 环组成,还有额外环。反密码环有反密码子,与 mRNA 上密码子相对应。

第三章 酶

内容提要

酶是活细胞产生的有高度专一性和高催化效率的蛋白质。在生物体内的新陈代谢过程中，几乎所有的化学反应都是在酶的催化下进行的。目前已发现的酶有 2000 种以上。

一、酶的催化作用

(一)酶的作用特点

1. 酶与一般催化剂一样，能加速化学反应而其自身在反应前后不发生改变。
2. 酶加速化学反应使之达到平衡且不影响平衡常数。
3. 酶有高度的催化效率，可提高反应速度达 10^7-10^{12} 倍。
4. 酶有高度的专一性，即一种酶只作用于一类化合物或一定的化学键，以促进一定的化学变化，生成一定的产物。有三种情况：①绝对专一性。②相对专一性。③立体异构专一性。

(二)酶—底物复合物

1. 酶催化反应时，首先与其底物结合，生成酶—底物复合物。然后复合物分解得到酶和产物。 $E+S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons E+P$

2. 酶的活性中心。酶与底物结合，只能在酶分子表面的一个区域，称为酶的活性中心。即在酶分子表面有一个必需基团比较集中，与底物有较高的亲合力，直接参与将底物转变成产物的区域称为酶的活性中心。活性中心的功能基团有： $-COOH$ 、 $-NH_2$ 、 $-OH$ 、 $-SH$ 、咪唑基等。分为两类：直接与底物结合的基团称为结合基团；能催化底物转变成产物的基团称为催化基团。还有活性中心以外的必需基团。

(三)酶催化作用原理

酶加速化学反应的根本原因是酶与底物结合成复合物，降低了反应的活化能。作用是：①趋近效应与定向作用。②化学催化作用。③张力作用。④诱导契合作用。

二、酶的动力学

酶的动力学是指影响酶催化速度的各种因素。主要有底物浓度、酶浓度、温度、pH、激活剂和抑制剂等因素。在研究某一因素对酶促反应速度的影响时，其它因素不变。

(一)酶浓度的影响

在底物浓度达到饱和、一定温度和一定 pH 条件下，反应速度与酶浓度成正比。

(二)底物浓度的影响

在酶浓度、温度和 pH 恒定的条件下，对大多数酶来说，底物浓度对反应速度的影响呈矩形双曲线关系。根据中间产物学说，当底物浓度很低时，反应速度与底物浓度成正比增加；当底物浓度增加时，反应速度的增加越来越小；当底物浓度很大时，反应速度接近最大值，称最大反应速度。此种关系可用米—曼氏方程式表示：

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]}{K_M + [S]}$$

式中 V 为酶促反应速度， $V_{\max}$ 为最大反应速度， K_M 为米氏常数， $[S]$ 为底物浓度。

1. 米氏常数的意义。

(1). 米氏常数是当酶促反应速度为最大反应速度一半时的底物浓度。即当 $v = \frac{1}{2} V_{\max}$ 时 $K_M = [S]$ 。

(2) K_M 值是酶的特征性常数之一, 只与酶的性质有关, 而与酶的浓度无关。

(3) $\frac{1}{K_M}$ 可近似地表示酶对底物亲和力的大小, $\frac{1}{K_M}$ 越大, 酶对底物的亲和力越大。

(4) 同一种酶有不同的底物时有不同的 K_M , 其中 K_M 最小的底物是该酶的最适底物

2. K_M 和 $V_{\max}$ 的测定

主要用双倒数作图法。将米氏方程两边取倒数可转换成下列形式:

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{V_{\max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

以 $\frac{1}{v}$ 对 $\frac{1}{[S]}$ 作图为一一直线。通过测定不同底物浓度 $[S]$ 下的酶促反应速度 v , 以 $\frac{1}{v}$ 对 $\frac{1}{[S]}$ 作图, 得一直线, 直线与纵轴交点为 $\frac{1}{V_{\max}}$, 与横轴交点为 $-\frac{1}{K_M}$, 即可计算出 $V_{\max}$ 和 K_M 值。

另外还有 Hanes 作图法等。

(三) pH 的影响

只有在特定的 pH 条件下, 酶、底物和辅酶的解离情况, 最适宜于它们互相结合, 并发生催化作用, 使酶催化反应速度达最大值。使酶促反应速度达最大值的 pH 值称酶的最适 pH。

(四) 温度的影响

化学反应的速度随温度增高而加快, 但酶是蛋白质, 可随温度的升高而变性。在温度较低时, 酶促反应速度随温度的升高而加快。但温度超过一定数值后, 反应速度随温度升高而减慢, 在某一温度时, 酶促反应速度最大, 此温度称为酶的最适温度。

(五) 酶的激活剂

凡能提高酶活性的物质, 都称为激活剂。

(六) 抑制剂的影响。

凡能减慢或完全停止酶促反应的物质称为酶的抑制剂。通常分为不可逆抑制和可逆性抑制两类。

1. 不可逆抑制

当抑制剂与酶作用时, 以共价方式与酶的必需基团进行不可逆地结合, 使酶丧失活性。

2. 可逆性抑制

抑制剂与酶以非共价键结合, 用透析等物理方法可以除去, 使酶的活性恢复。有三类:

(1) 竞争性抑制: 抑制剂与底物结构相似, 抑制剂与酶结合的部位就是底物与酶结合的部位, 竞争酶的活性中心。抑制剂与酶结合后使酶与底物的亲和力下降。增加底物浓度, 可以使抑制作用减弱, 可以达到原来的最大反应速度。所以 K_M 值变大, 最大反应速度 $V_{\max}$ 不变。如丙二酸、草酰乙酸对琥珀酸脱氢酶的抑制作用属于竞争性抑制。磺胺类药物的抑菌作用属于竞争性抑制。

(2) 非竞争性抑制: 抑制剂与底物在结构上一般无相似之处, 无竞争关系。抑制剂常与酶分子上活性中心以外的必需基团结合。抑制剂与酶结合不影响底物与酶结合, 酶与底物亲和力不变。增加底物浓度不能减轻抑制作用。所以 K_M 不变, $V_{\max}$ 减小。

(3) 反竞争性抑制: 抑制剂仅能与酶-底物复合物结合, 而不能与游离酶结合。抑制剂与复合物结合后使酶与底物的亲和力增加。增加底物浓度不能减轻抑制。所以 K_M 变小, 最大反应