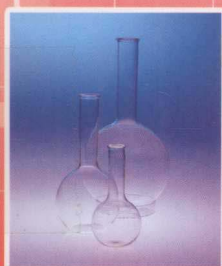


DNA

全国高等院校医学实验教学规划教材

生物化学精要与技术原理

主 编 王晓华 朱文渊



科学出版社

www.sciencep.com

Q5
W382

全国高等院校医学实验教学规划教材

生物化学精要 与技术原理

主 编 王晓华 朱文渊

主 审 王燕菲

副主编 陈新美 赵 青 黄 炜

编 委 (以姓氏笔画为序)

王晓华 王燕菲 朱文渊 李雅楠

余利红 陈克念 陈新美 欧阳永长

赵 青 黄 炜 章喜明 路 蕾

廖兆全 戴建威

秘 书 李雅楠

科学出版社

北 京

· 版权所有 侵权必究 ·

举报电话:010-64030229;010-64034315;13501151303(打假办)

内 容 简 介

随着当今生命科学领域的迅速发展,生物化学的内容越来越丰富,涉及的范围越来越广泛。本教材旨在能够帮助学生学习和掌握生物化学课程各章节的重点内容,加深对生化技术基本原理的理解和应用,对学习生物化学课程具有一定的指导意义。

本教材第一章依据最新版本的《生物化学》教材,归纳总结了各章的内容精要,提出目的要求,并选择了一些典型例题。第二章以实验项目为纲,介绍生物化学的基本研究技术,其中包括生物高分子化合物——蛋白质及核酸的分离和纯化技术、离心技术、电泳技术等。第三章包括生物化学基本实验,重点加强基本技能训练和综合性的实验,注重提高学生的创新能力、科研思维能力和综合素质。

本教材可供临床医学、医学检验等相关学科本科学生使用。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学精要与技术原理 / 王晓华,朱文渊主编. —北京:科学出版社, 2010.6

(全国高等院校医学实验教学规划教材)

ISBN 978-7-03-027532-5

I. 生… II. ①王… ②朱… III. 生物化学-医学院校-教材 IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 084207 号

策划编辑:胡治国 / 责任编辑:胡治国 / 责任校对:张小霞

责任印制:刘士平 / 封面设计:黄 超

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

2010年6月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2010年6月第一次印刷 印张:15

印数:1—5 000

字数:362 000

定价:28.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

前言

随着当今生命科学领域突飞猛进的发展,生物化学的内容越来越丰富,涉及的范围越来越广泛,使之在医学、生物学等领域占据的地位越来越显著。生物化学实验技术也是生命科学许多相关学科研究的重要手段。这就要求教学一线的教师能够在有限的教学学时内讲授更多的知识,给学生展现出一个较为全面、系统的生物化学研究概况,培养学生的思维能力、实践能力和创新能力。我们编写本书力求简明、实用,旨在能够帮助学生学习和掌握生物化学课程各章节的重点内容,加深对生化技术基本原理的理解和应用,对学习生物化学课程具有一定的指导意义。

本书分为三章:第一章依据最新版本的《生物化学》教材,结合多年教学经验,归纳总结了各章的内容精要,指出了其中的重点、难点及提出目的要求,并选择了一些典型例题。第二章以实验项目为主线,介绍生物化学的基本实验技术,其中包括生物高分子化合物——蛋白质及核酸的分离和纯化技术、离心技术、电泳技术等。第三章包括生物化学基本实验,目的是加强基本技能训练和提高综合性实验能力,注重提高学生的创新能力、科研思维能力和综合素质。

本书可供临床医学、医学检验、影像学、预防医学、生物技术等相关学科本科学生使用。

参加本教材编写的广州医学院生物化学与分子生物学教研室教师从事生物化学教学多年,在自编教材的基础上,结合多年的教学实践经验和近年来最新进展完成此教材的编写。另外,科学出版社也做了大量细致的工作,编者在此对他们表示真挚的感谢!

由于编写本教材的时间仓促,加之编者水平有限,书中难免出现错误和不妥之处,恳请同行专家批评,也敬请使用本教材的读者指正,万分感激。

王晓华 朱文渊
2010年3月

目 录

前言

第一章 生物化学精要与例题	(1)
第一节 蛋白质的结构与功能	(1)
第二节 核酸的结构与功能	(6)
第三节 酶	(10)
第四节 糖代谢	(15)
第五节 脂类代谢	(20)
第六节 生物氧化	(25)
第七节 氨基酸代谢	(29)
第八节 核苷酸代谢	(34)
第九节 物质代谢的联系与调节	(38)
第十节 DNA 的生物合成	(41)
第十一节 RNA 的生物合成	(46)
第十二节 蛋白质的生物合成	(50)
第十三节 基因表达调控	(54)
第十四节 癌基因、抑癌基因与生长因子	(58)
第十五节 细胞信息转导	(61)
第十六节 血液的生物化学	(64)
第十七节 肝的生物化学	(68)
第十八节 维生素	(72)
第二章 生物化学技术原理	(76)
第一节 离心技术	(76)
第二节 蛋白质的制备	(84)
第三节 蛋白质分离纯化技术	(96)
第四节 电泳技术	(110)
第五节 核酸分子杂交技术	(127)
第六节 核酸分子的分离与纯化	(135)
第三章 生物化学实验	(151)
第一节 基础生物化学实验	(151)
实验一 分光光度计的使用	(151)
实验二 Folin-酚试剂法(Lowry 法)测定蛋白质浓度	(154)
实验三 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离血清乳酸脱氢酶同工酶	(156)
实验四 过氧化氢酶 K_m 的测定	(159)

实验五	温度、pH 和抑制剂对酶活性的影响	(162)
实验六	蔗糖酶的专一性	(167)
实验七	运动对全血乳酸含量的影响	(169)
实验八	转氨基作用(圆形纸层析鉴定)	(171)
第二节	临床生物化学实验	(174)
实验一	血清丙氨酸氨基转移酶活性的测定	(174)
实验二	血清钙的测定——甲基麝香草酚蓝比色法	(177)
实验三	尿淀粉酶活性测定	(178)
实验四	血清尿素氮的测定	(180)
实验五	血清载脂蛋白 AI 和载脂蛋白 B 的测定——免疫透射比浊法	(182)
实验六	过氧化脂质测定(丙二醛测定法)	(183)
实验七	维生素 C 的定量测定	(185)
实验八	维生素 B ₁ 的荧光测定法	(187)
实验九	免疫组化技术检测组织中 VEGF 的表达——链霉菌抗生物素蛋白-过氧 化物酶联结法	(189)
实验十	糖化血红蛋白的测定	(191)
第三节	综合性生物化学实验	(193)
实验一	激素对血糖浓度的影响	(193)
实验二	血清白蛋白的分离及电泳鉴定	(196)
实验三	血清 γ 球蛋白的分离与纯度鉴定	(199)
实验四	核酸的分离提取、成分鉴定及含量测定	(202)
实验五	离子交换层析等方法纯化鸡卵黏蛋白及其活性测定	(212)
实验六	蛋白质的原核表达、分离、纯化和鉴定	(215)
第四节	分子生物学实验	(219)
实验一	感受态细胞制备及外源 DNA 的转化	(219)
实验二	质粒 DNA 的提取	(222)
实验三	限制性内切酶对质粒 DNA 的酶切	(224)
实验四	DNA 的琼脂糖凝胶电泳	(226)
实验五	PCR 基因扩增	(227)
实验六	核酸杂交	(230)
主要参考资料		(232)

第一章 生物化学精要与例题

第一节 蛋白质的结构与功能

一、教学内容要求

(一) 掌握

(1) 蛋白质的元素组成特点,氨基酸的结构通式,组成蛋白质的 20 种氨基酸的分类及三字英文缩写符号。几种特殊氨基酸。

(2) 肽、肽键与肽链的概念,多肽链的写法,体内重要的生物活性肽。

(3) 蛋白质一级结构的概念及其主键。

(4) 蛋白质的二级结构的概念,主要化学键和形式: α -螺旋、 β -折叠、 β -转角与无规卷曲。掌握 α -螺旋、 β -折叠的结构特点。

(5) 蛋白质的三级结构概念和维持其稳定的化学键:疏水作用、离子键、氢键和范德华引力。掌握亚基的概念。

(6) 蛋白质的四级结构的概念和维持稳定的化学键。

(7) 蛋白质的结构(包括一级结构与空间结构)与功能的关系。

(8) 蛋白质的理化性质:两性电离性质、胶体性质、蛋白质变性、蛋白质等电点的概念和意义。

(9) 蛋白质分离和纯化技术:透析、超滤、盐析、电泳、层析和离心的原理。

(二) 熟悉

(1) 氨基酸的理化性质、成肽反应。

(2) 肽单元概念和特点。

(3) 模体(motif)、锌指结构、分子伴侣的概念。

(4) 结构域(domain)的特点。

(5) 蛋白质的沉淀、紫外吸收和呈色反应、凝胶过滤、超过滤和超速离心。

(三) 了解

(1) 蛋白质的生物学功能及分类。

(2) 胰岛素一级结构的特点。

(3) 蛋白质组学的基本概念和研究技术。

(4) 分析血红蛋白的四级结构特点。

(5) 蛋白质一级结构测定(即多肽链的氨基酸序列分析)的原理。

(6) 蛋白质空间结构预测和测定的原理和意义。

二、重点及难点

(一) 重点

蛋白质的化学组成;氨基酸的分类;蛋白质的结构特点;蛋白质的理化性质。

(二) 难点

蛋白质的结构(包括一级和空间结构)及其与功能的关系,分离纯化蛋白质的原理和方法。

三、内容精要

蛋白质是生物体内最重要的生物大分子之一,是生命的物质基础,没有蛋白质就没有生命。蛋白质种类和功能繁多,组成蛋白质分子的主要元素有碳、氢、氧、氮、硫,有些还含有少量磷或金属元素。各种蛋白质的含氮量很接近,平均为 16%。

蛋白质的基本组成单位是 L - α -氨基酸(甘氨酸除外),共有 20 种。根据它们的侧链 R 的结构和性质可分为:非极性脂肪族氨基酸、极性中性氨基酸、芳香族氨基酸、酸性氨基酸、碱性氨基酸。几种特殊的氨基酸:含硫氨基酸(甲硫氨酸)、亚氨基酸(脯氨酸)、支链氨基酸(缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸)。氨基酸属于两性电解质,在溶液 pH 等于其 pI 时,氨基酸呈兼性离子,氨基酸的性质还有紫外吸收性质和茚三酮反应。氨基酸可通过肽键连接形成肽。由 10 个以内的氨基酸缩合而成的肽称为寡肽,更多的氨基酸相连而构成多肽。体内存在许多重要的生物活性肽,如谷胱甘肽、催产素、促肾上腺皮质激素、促甲状腺激素等。

蛋白质的分子结构可分为一级、二级、三级、四级结构,后三者统称为高级结构或空间构象。蛋白质的空间构象涵盖了蛋白质分子中每一个原子在三维空间的相对位置,并非所有蛋白质都有四级结构,由两条或两条以上多肽链形成的蛋白质才有四级结构。

蛋白质一级结构是指蛋白质分子中氨基酸的排列顺序,其连接键是肽键,还包括二硫键的位置。形成肽键的 6 个原子 C_{α_1} 、C、O、N、H、 C_{α_2} 位于同一平面,此 6 个原子即构成了肽单元,其中的肽键有一定程度双键性质,不能自由旋转。

蛋白质二级结构指蛋白质分子中某一段肽链的局部空间结构,也就是该段肽链主链骨架原子的相对空间位置,并不涉及氨基酸残基侧链的构象。维系二级结构的化学键主要是氢键。二级结构的主要形式包括: α -螺旋结构、 β -折叠、 β -转角和无规则卷曲。在许多蛋白质分子中,可发现两个或三个具有二级结构的肽段,在空间上相互接近,形成一个具有特殊功能的空间结构,称为模体,实际上它是一种超二级结构,如锌指结构。

蛋白质三级结构指整条肽链中全部氨基酸残基的相对空间位置,也就是整条肽链所有原子在三维空间的排布位置。三级结构的形成和稳定主要靠疏水键、盐键、二硫键、氢键和范德华力等次级键,其中疏水键是最主要的稳定力量。分子量大的蛋白质三级结构其整条肽链中常可分割成多折叠得较为紧密的结构域,实际上结构域也是一种介于二级和三级结构之间的结构层次,每个结构域执行一定的特殊功能。

蛋白质的四级结构是由有生物活性的两条或多条肽链组成,每条多肽链都有其完整的

三级结构,称为蛋白质的亚基,这种蛋白质分子中各个亚基的空间排布及亚基接触部位的布局 and 相互作用,称为蛋白质的四级结构。在四级结构中,各亚基之间的结合力主要是疏水作用,氢键和离子键,不通过共价键相连。单独的亚基一般没有生物学功能,只有完整的四级结构才有生物学功能。

蛋白质一级结构是空间构象和功能的基础,一级结构相似,其空间构象及功能也相似。但一级结构中有些氨基酸的作用非常重要,若蛋白质分子中起关键作用的氨基酸残基缺失或被替代,都会严重影响其空间构象或生理功能,产生某种疾病,这种由蛋白质分子发生变异所导致的疾病,称为“分子病”。蛋白质多种多样的功能与各种蛋白质特定的空间构象密切相关,其构象发生改变,功能活性也随之改变。

蛋白质既具有氨基酸的相关性质,又具有作为生物大分子的一些独特的性质。如蛋白质的两性电离、等电点、紫外吸收特性和呈色反应,这与氨基酸的性质相似。蛋白质区别于氨基酸的特有性质还有蛋白质的变性、沉淀和凝固。蛋白质作为生物大分子还具有胶体性质。可利用蛋白质的这些理化特性,来分离纯化蛋白质,如沉淀法、电泳法、层析法等。

四、例题

(一) A 型题(请从备选答案中选出 1 个最佳答案)

- 测得某一蛋白质样品的氮含量为 0.40g,此样品约含蛋白质多少克 ()
A. 2.00g B. 2.50g C. 6.40g
D. 3.00g E. 6.25g
- 下列含有两个羧基的氨基酸是 ()
A. 精氨酸 B. 赖氨酸 C. 甘氨酸
D. 色氨酸 E. 谷氨酸
- 下列有关蛋白质一级结构的描述,错误的是 ()
A. 多肽链中氨基酸的排列顺序
B. 肽键是蛋白质一级结构中的主要化学键
C. 蛋白质一级结构包括各原子的空间位置
D. 从 N 至 C 端氨基酸残基排列顺序
E. 多肽链中的氨基酸分子因脱水缩合而基团不全
- 关于蛋白质二级结构的描述,错误的是 ()
A. 有的蛋白质几乎全是 α -螺旋结构
B. 有的蛋白质几乎全是 β -折叠结构
C. 大多数蛋白质分子中有 β -转角结构
D. 每种蛋白质只能含有一种二级结构形式
E. 几种二级结构可同时出现于同一种蛋白质分子中
- 具有四级结构的蛋白质特征是 ()
A. 分子中必定含有辅基 B. 所有蛋白质均有四级结构
C. 每条多肽链都具有独立的生物学活性 D. 依赖肽键维系四级结构的稳定性
E. 由两条或两条以上具有完整三级结构的多肽链组成
- 蛋白质的等电点是 ()

- A. 蛋白质溶液的 pH 等于 7 时溶液的 pH
B. 蛋白质溶液的 pH 等于 7.4 时溶液的 pH
C. 蛋白质分子呈正离子状态时溶液的 pH
D. 蛋白质分子呈负离子状态时溶液的 pH
E. 蛋白质的正电荷与负电荷相等时溶液的 pH
7. 有一混合蛋白质溶液, 各种蛋白质的 pI 为 4.6; 5.0; 5.3; 6.7; 7.3。电泳时欲使其中 4 种泳向正极, 1 种泳向负极, 则缓冲液的 pH 应该是 ()
A. 4.0 B. 4.8 C. 6.0
D. 7.0 E. 8.0
8. 蛋白质沉淀、变性和凝固的关系, 下面叙述正确的是 ()
A. 变性蛋白一定要凝固 B. 蛋白质凝固后一定变性
C. 蛋白质沉淀后必然变性 D. 变性蛋白一定沉淀
E. 变性蛋白不一定失去活性
9. 用生牛奶或生蛋清解救重金属盐中毒是依据蛋白质具有 ()
A. 胶体性质 B. 兼性性质 C. 变性作用
D. 沉淀作用 E. 紫外吸收特性
10. 有关蛋白质变性的描述, 下列正确的是 ()
A. 蛋白质变性后不易沉淀 B. 蛋白质变性后不易被蛋白酶水解
C. 蛋白质变性后理化性质不变 D. 蛋白质变性后丧失生物学活性
E. 蛋白质变性后导致分子量的下降

(二) X 型题(请从备选答案中选出 2 个或 2 个以上正确答案)

1. α -螺旋的特点是 ()
 - A. 一圈螺旋由 3.6 个氨基酸组成
 - B. 螺旋中的全部 N—H 都和 C=O 生成氢键
 - C. 氢键方向与螺旋的长轴基本平行
 - D. 氨基酸残基的侧链伸向外侧
 - E. 螺旋的走向都为顺时针方向
2. 血清白蛋白(pI 为 4.7)在下列哪种 pH 溶液中带正电荷? ()
 - A. pH4.0
 - B. pH3.0
 - C. pH6.0
 - D. pH7.0
 - E. pH8.0
3. 关于蛋白质的二级结构,正确的说法是 ()
 - A. 一种蛋白质分子只存在一种二级结构类型
 - B. 是多肽链主链折叠盘曲而形成
 - C. 包括 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角及无规卷曲结构
 - D. 维持二级结构稳定的键是肽键
 - E. 二级结构类型的形成受侧链基团的特性影响
4. 蛋白质三级结构 ()
 - A. 存在于每个天然蛋白质分子中
 - B. 是指局部肽段空间构象
 - C. 包括模体(motif)结构
 - D. 属于高级结构
 - E. 主要靠次级键维持稳定

5. 下列哪些 α -氨基酸可通过转氨基作用生成三羧酸循环中对应的 α -酮酸 ()

- A. 丙氨酸 B. 甘氨酸 C. 天冬氨酸
D. 谷氨酸 E. 色氨酸

(三) 名词解释

1. α -螺旋
2. 结构域(domain)

(四) 问答题

1. 为什么说蛋白质是生命重要的物质基础? 蛋白质在体内执行哪些功能?
2. 什么是蛋白质的变性作用? 举例说明实际工作中应用和避免蛋白质变性的例子。

五、参 考 答 案

(一) A 型题

1. B 2. E 3. C 4. D 5. E 6. E 7. D 8. B 9. D 10. D

(二) X 型题

1. ABCDE 2. AB 3. BCE 4. ABDE 5. ABCD

(三) 名词解释

1. α -螺旋: 蛋白质二级结构类型之一。在 α -螺旋中, 多肽链主链围绕中心轴作顺时针向的螺旋式上升, 即所谓右手螺旋。每 3.6 个氨基酸残基上升一圈, 氨基酸残基的侧链伸向螺旋的外侧。 α -螺旋的稳定依靠 α -螺旋每个肽键的亚氨基氢和第四个肽键的羰基氧形成的氢键维系。

2. 结构域(domain): 蛋白质三级结构中一个或数个折叠较紧密的区域, 各行其功能, 称为结构域。

(四) 问答题

1. 为什么说蛋白质是生命重要的物质基础? 蛋白质在体内执行哪些功能?

蛋白质是最重要的生命活动的载体, 更是功能执行者。没有蛋白质就没有生命。蛋白质的重要作用主要有:

(1) 生物催化作用: 酶是蛋白质, 具有催化能力, 新陈代谢的所有化学反应几乎都是在酶的催化下进行的。

(2) 结构蛋白: 有些蛋白质参与细胞和组织的构成。

(3) 运输功能: 如血红蛋白具有运输氧的功能。

(4) 收缩运动: 收缩蛋白(如肌动蛋白和肌球蛋白)与肌肉收缩和细胞运动密切相关。

(5) 调节新陈代谢: 动物体内的激素许多是蛋白质或多肽。

(6) 免疫保护功能: 抗体是蛋白质, 能与特异抗原结合, 具有免疫功能。

(7) 储藏蛋白: 有些蛋白质具有储藏功能, 如植物种子的谷蛋白可供种子萌发时利用。

(8) 接受和传递信息: 生物体中的受体蛋白能专一性地接受和传递外界的信息。

(9) 控制生长与分化: 有些蛋白参与细胞生长与分化的调控。

(10) 毒蛋白: 能引起机体中毒症状和死亡的异体蛋白, 如细菌毒素——蛇毒、蝎毒、蓖麻毒素等。

2. 什么是蛋白质的变性作用? 举例说明实际工作中应用和避免蛋白质变性的例子。

(1) 在某些理化因素作用下,蛋白质空间构象受到破坏,其理化性质改变及生物学活性丧失,称为蛋白质变性,而一级结构完整。

(2) 变性的应用:乙醇、加热和紫外线消毒灭菌;钨酸,三氯乙酸沉淀蛋白制备无蛋白血滤液,用于化验室检测,热凝法检测尿蛋白。

(3) 避免变性:制备或保存酶、疫苗、免疫血清等蛋白质制剂时,应选用不引起变性的沉淀,并在低温等适当条件下保存。

(陈新美)

第二节 核酸的结构与功能

一、教学内容要求

(一) 掌握

(1) 核苷酸的结构和 DNA、RNA 的分子组成。掌握核酸分子中核苷酸的连接方式,核酸的一级结构及其表示法。

(2) DNA 二级结构的特点,真核生物染色体的基本单位—核小体的结构以及 DNA 的生物学功能。

(3) RNA 的种类与功能。信使 RNA、转运 RNA 二级结构的特点和功能。

(4) DNA 的变性、复性和杂交的概念和特点,掌握核酸的紫外吸收、增色效应、 T_m 值的概念。

(5) 核酸酶的概念。

(二) 熟悉

(1) 熟悉核糖体 RNA 的结构与功能。

(2) 熟悉核酸分子杂交原理。

(三) 了解

(1) 了解 snmRNAs 的概念与功能。

(2) 了解核酸酶的分类与功能。

二、重点及难点

(一) 重点

(1) 核酸分子的组成、结构特点。

(2) DNA 二级结构特点、稳定力、三级结构特点及有关概念。

(3) 真核 mRNA 一级结构特点;tRNA 二级结构特点、类型。

(二) 难点

- (1) DNA 二级结构要点与功能的关系。
- (2) tRNA 二级结构特点与功能的关系;真核生物 mRNA 一级结构特点。
- (3) 核酸理化性质的应用。

三、内容精要

核酸是以核苷酸为基本单位组成的线性多聚生物信息大分子,分为 DNA 和 RNA 两大类。 $3', 5'$ -磷酸二酯键是基本结构键。核苷酸由碱基、戊糖(脱氧戊糖)和磷酸组成。DNA 分子中的碱基成分为 A、G、C 和 T 四种,戊糖是 β -D-2' 脱氧核糖;而 RNA 分子中的碱基成分则为 A、G、C 和 U 四种,戊糖为 β -D-核糖。

DNA 的一级结构是指脱氧核苷酸的排列顺序。其二级结构是右手双螺旋,由两条反向平行的脱氧多核苷酸链组成。双螺旋的稳定靠氢键和碱基堆积的疏水键维持。碱基之间形成氢键配对,即 A 与 T 形成两个氢键,G 与 C 形成三个氢键。DNA 在形成双链螺旋式结构的基础上还将进一步折叠成为超螺旋结构,并且在蛋白质的参与下构成核小体。DNA 的基本功能是以基因的形式携带遗传信息,并作为基因复制和转录的模板。

RNA 主要分为三大类。①mRNA 的功能是作为遗传信息的传递者,将核内 DNA 的碱基顺序(遗传信息)按碱基互补原则抄录并转送至核糖体,指导蛋白质的合成。真核生物成熟 mRNA 的结构特点是 $5'$ -末端含有特殊的“帽子”结构, $3'$ -末端具有多聚腺苷酸尾巴结构,中间是多肽链编码序列。②tRNA 的功能是在蛋白质生物合成过程中作为各种氨基酸的运载体和识别密码子的作用。tRNA 二级结构呈三叶草形,含有稀有碱基较多。③rRNA 的功能是与多种蛋白构成核糖体,为多肽链合成所需要的 mRNA、tRNA 以及多种蛋白因子提供了相互结合的位点和相互作用的空间环境。在蛋白质生物合成中起着“装配机”的作用。

核酸具有多种重要理化性质。核酸分子在紫外 260nm 波长处有最大吸收峰,这一特点常被用来对核酸进行定性、定量分析。核酸在酸、碱或加热情况下可发生变性,即双链解离为单链;通常将加热变性使 DNA 的双螺旋结构解开一半时的温度称为该 DNA 的熔点或熔解温度,用 T_m 表示。变性的核酸可以复性。利用核酸变性、复性原理发明的核酸分子杂交,这一项分子生物学技术,已应用于核酸结构与功能研究的各个方面。

利用核酸的物理化学特点,采用酚抽提法、超速离心法、凝胶电泳法、层析法分离等方法对核酸进行分离与纯化。常用紫外分光光度法、定磷法、定糖法等测定核酸的含量。用酶法和化学法等对核酸进行序列分析。

核酸酶是指所有水解核酸的酶。依据作用底物的不同将其分为 DNA 酶和 RNA 酶两类;依据切割的部位不同分为核酸内切酶和核酸外切酶;具有序列特异性的核酸酶为限制性核酸内切酶。

四、例 题

(一) A 型题(请从备选答案中选出 1 个最佳答案)

1. DNA 与 RNA 完全水解后,其产物的特点是 ()
 - A. 核糖相同,碱基部分相同
 - B. 核糖不同,碱基相同
 - C. 核糖相同,碱基不同
 - D. 核糖不同,部分碱基不同
 - E. 磷酸核糖不同,稀有碱基种类含量相同
2. 有关 DNA 的二级结构,下列说法哪种是错误的 ()
 - A. DNA 双螺旋结构是二级结构
 - B. 双螺旋结构中碱基之间相互配对
 - C. 双螺旋结构中两条多核苷酸链方向相同
 - D. 双螺旋碱基之间借非共价键相连
 - E. 磷酸与脱氧核糖组成了双螺旋的骨架
3. 关于 tRNA 的叙述哪一项是错误的 ()
 - A. tRNA 的二级结构呈三叶草形
 - B. tRNA 分子中含有较多的稀有碱基
 - C. tRNA 的 3'末端为 CCA-3'
 - D. 反密码子能识别和结合氨基酸
 - E. tRNA 的三级结构呈倒 L 形
4. 关于碱基配对,下列哪项是错误的 ()
 - A. 嘌呤与嘧啶相配对比值相等
 - B. A 与 T(U),G 与 C 相配对
 - C. A 与 T 之间有两个氢键
 - D. G 与 C 之间有三个氢键
 - E. G 与 T(U),A 与 C 相配对
5. DNA 的 T_m 值较高是由于下列哪组核苷酸含量较高所致 ()
 - A. G+A
 - B. C+G
 - C. A+T
 - D. C+T
 - E. A+C
6. tRNA 在发挥功能时的两个重要部位是 ()
 - A. 密码子和反密码子
 - B. 氨基酸臂的 CCA-3'和 DHU 环
 - C. T ψ C 环与可变环
 - D. T ψ C 环与反密码子
 - E. 氨基酸臂的 CCA-3'和反密码子
7. 有关 RNA 结构的描述,下列哪一项是正确的 ()
 - A. 为双链结构
 - B. 单核苷酸之间是通过磷酸二酯键相连
 - C. 自身不能形成茎环(发夹)结构
 - D. 磷酸和脱氧核糖交替形成骨架
 - E. mRNA 的一级结构决定了 DNA 的核苷酸顺序
8. 与 mRNA 中的 ACG 密码相对应的 tRNA 反密码子是 ()
 - A. UGC
 - B. TGC
 - C. GCA
 - D. CGU
 - E. TGC
9. X 和 Y 两种核酸提取物,经紫外光检测,提取物 X 的 $A_{260}/A_{280}=2$,提取物 Y 的 $A_{260}/A_{280}=1$,结果表明 ()
 - A. 提取物 X 的纯度高于提取物 Y
 - B. 提取物 Y 的纯度高于提取物 X
 - C. 提取物 X 和 Y 的纯度都低
 - D. 提取物 X 和 Y 的纯度都高
 - E. 不能表明二者的纯度
10. 有关染色体的描述,下列哪一项是错误的 ()
 - A. 染色体是细胞核中由 DNA 和蛋白质组成的
 - B. 染色体在细胞分裂时高度凝缩
 - C. 染色体的基本单位是核小体
 - D. 染色体的长度随细胞周期而变化
 - E. 染色体的数目和形态是物种的特异性

- A. 是 DNA 的高级结构
- B. 包含超螺旋结构
- C. 其基本组成单位为核小体
- D. 蛋白质成分主要为组蛋白
- E. 存在于原核细胞中

(二) X 型题(请从备选答案中选出 2 个或 2 个以上正确答案)

1. tRNA 的叙述正确的是 ()
 - A. 分子中含有稀有碱基
 - B. 空间结构中含有密码环
 - C. 细胞内含量最多的一种 RNA
 - D. 主要存在于胞液中
 - E. 每种 tRNA 可携带与其相对应的氨基酸
2. 维持 DNA 双螺旋结构稳定的因素有 ()
 - A. 分子中的磷酸二酯键
 - B. 配对碱基之间的氢键
 - C. 范德华力
 - D. 骨架上磷酸之间的负电斥力
 - E. 碱基平面间的疏水性堆积力
3. 蛋白质变性和 DNA 变性的共同点是 ()
 - A. 高温可导致变性
 - B. 不易恢复天然状态
 - C. 氢键断裂
 - D. 结构松散
 - E. 易恢复为天然构象
4. 关于 mRNA 的叙述,正确的是 ()
 - A. 在三种 RNA 中代谢速度最快
 - B. 含有密码子
 - C. 由大小两个亚基构成
 - D. 有 m⁷Gppp 帽子和 polyA 尾巴
 - E. 含有遗传信息
5. DNA 的 T_m 值的叙述,正确的是 ()
 - A. 与 DNA 的均一性有关
 - B. 与 DNA 中(G+C)含量呈正相关
 - C. DNA 链越长, T_m 值越大
 - D. DNA 中稀有碱基越多, T_m 值越大
 - E. 与 DNA 所处介质的离子强度有关

(三) 名词解释

1. 碱基互补
2. T_m

(四) 问答题

1. 简述 DNA 双螺旋结构模式的要点及其与 DNA 生物学功能的关系。
2. 试比较 RNA 和 DNA 在分子组成及结构上的异同点。

五、参 考 答 案

(一) A 型题

1. D 2. C 3. D 4. E 5. B 6. E 7. B 8. D 9. A 10. E

(二) X 型题

1. ADE 2. BE 3. ACD 4. ABDE 5. ABCE

(三) 名词解释

1. 碱基互补:在核酸分子中,腺嘌呤与胸腺嘧啶、鸟嘌呤与胞嘧啶总是通过氢键相连形成固定的碱基配对,称为碱基互补。

2. T_m : 核酸在加热变性过程中, 对 260nm 紫外光吸收值达到最大值的 50% 时的温度称为 T_m (融解温度, 也称为解链温度)。

(四) 问答题

1. 简述 DNA 双螺旋结构模式的要点及其与 DNA 生物学功能的关系:

(1) DNA 双螺旋结构模式的要点是: ① 两条反向平行的多核苷酸链围绕同一轴心盘绕成双螺旋结构, 为右手螺旋。② 脱氧核糖和磷酸骨架位于双链的外侧, 碱基位于内部。两条链通过碱基之间形成的氢键并联起来, 碱基互补配对的规律是 $A=T$ 、 $G\equiv C$ 。③ 维持双螺旋稳定的力是横向的互补碱基间的氢键和纵向的碱基平面间的疏水性碱基堆积力。④ 双螺旋表面有一个大沟和一个小沟。

(2) 与 DNA 生物学功能的关系: ① DNA 链的碱基排列顺序携带了整套生物个体的遗传信息。② DNA 双链的碱基互补关系保证了遗传信息的稳定性。③ 亲代 DNA 两条链都是作为复制子代 DNA 的模板, DNA 模板链是作为转录 RNA 的模板。

2. 试比较 RNA 和 DNA 在分子组成及结构上的异同点:

(1) 分子组成上的异同点: DNA 和 RNA 都含有碱基、戊糖和磷酸。DNA 中的戊糖为脱氧核糖, 碱基为 A、T、G、C; RNA 中的戊糖为核糖, 碱基为 A、U、G、C。

(2) 分子结构上的异同点: ① 两者都以单核苷酸为基本组成单位, 都是以 3', 5'-磷酸二酯键相连而成。② DNA 的一级结构指多核苷酸链中脱氧核糖核苷酸的排列顺序。二级结构为双螺旋结构。三级结构为超螺旋结构。③ RNA 的一级结构指多核苷酸链中核糖核苷酸的排列顺序。二级结构以单链为主, 也有少部分形成局部双螺旋结构, 进而形成发夹结构, tRNA 典型的二级结构为三叶草型结构, 三级结构为倒“L”形结构。

(李雅楠)

第三节 酶

一、教学内容要求

(一) 掌握

- (1) 酶的概念, 酶的化学本质。
- (2) 酶的分子组成, 单纯酶和全酶的概念。
- (3) 酶的活性中心的概念。必需基团的分类及其作用。
- (4) 酶促反应的特点: 高效性、高敏感性、高特异性和可调节性。
- (5) 底物浓度对酶促反应的影响: 米-曼方程, K_m 与 V_{max} 值的意义。
- (6) 抑制剂对酶促反应的影响: 不可逆抑制的作用, 可逆性抑制包括竞争性抑制、非竞争性抑制、反竞争性抑制的动力学特征及其生理学意义。
- (7) 酶原与酶原激活的过程与生理意义。
- (8) 变构酶和变构调节的概念、机理和动力学特征。掌握酶的共价修饰的概念和作用特点。
- (9) 同工酶的概念和生理意义。

(二) 熟悉

- (1) 酶促反应的机理,酶与底物复合物的形成即中间产物学说。
- (2) 酶浓度、底物浓度、温度、pH、激活剂对酶促反应的影响。
- (3) 酶活性的测定与酶活性单位概念。
- (4) 酶含量的调节特点和调控。

(三) 了解

- (1) 酶的作用原理:诱导契合学说、邻近反应及定向排列、多元催化、表面效应。
- (2) 酶的分类与命名的原则。
- (3) 酶在疾病发生、疾病诊断、疾病治疗中的应用。

二、重点及难点

(一) 重点

- (1) 酶的活性中心、酶与辅助因子的关系。
- (2) 酶促反应特点。
- (3) K_m 与 V_{max} 的意义。
- (4) 多因素对酶促反应速度的影响。
- (5) 竞争性抑制、非竞争性抑制、反竞争性抑制作用特点。
- (6) 酶原的概念及酶原激活的机制及其生理意义。
- (7) 变构调节和变构酶。
- (8) 同工酶的概念及其意义。

(二) 难点

- (1) 诱导契合假说。
- (2) 酶促反应机制。
- (3) 底物浓度和酶促反应速度的关系。
- (4) 竞争性抑制的作用机制与应用。
- (5) 三种可逆性抑制作用的特征和比较。

三、内容精要

酶是由活细胞合成的对其特异底物起高效催化作用的蛋白质。单纯酶是仅由氨基酸残基组成的蛋白质,结合酶除含有蛋白质部分外,还含有非蛋白质辅助因子,为金属离子或小分子有机化合物。酶蛋白与辅助因子结合形成的复合酶即全酶才有催化作用。酶蛋白决定酶促反应的特异性,辅酶决定酶促反应的种类与性质。

酶分子中一些在一级结构上可能相距很远的必需集团,在空间结构上彼此靠近,组成具有特定空间结构的区域,能与底物特异的结合并将底物转化为产物,这一区域称为酶的