

生物化学

生物化學

90611279

江南大学图书馆

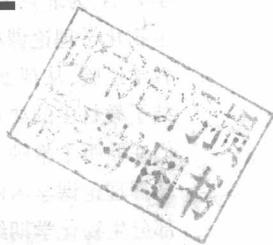


90611279

25/052

专业必修课考试辅导丛书

生物化学



主 编 李 刚

审 校 张家萍 贾弘禔

编 者 (按姓氏笔划排列)

王子梅 王新娟 毛泽斌

马康涛 刘晓军 刘新文

李平风 李 刚 李载权

李凌松 江 洪 周爱儒

张力刚 张晓伟 张家萍

俞文华 段新华 贾弘禔

倪菊华 董坦君 冀朝辉

作者单位: 北京大学医学部生物化学与分子生物学系

藏 书

科学技术文献出版社

Scientific and Technical Documents Publishing House

北 京

图书在版编目(CIP)数据

生物化学/李刚主编. -北京:科学技术文献出版社,
2001.10

(医学专业必修课考试辅导丛书)

ISBN 7-5023-3859-4

I. 生… II. 李… III. 生物化学-医学院校-教学参考
资料 IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第 051981 号

出 版 者:科学技术文献出版社

地 址:北京市复兴路 15 号(中央电视台西侧)/100038

图书编务部电话:(010)68514027,(010)68537104(传真)

图书发行部电话:(010)68514035(传真),(010)68514009

邮 购 部 电 话:(010)68515381,(010)68515544-2172

网 址:<http://www.stdph.com>

E-mail:stdph@istic.ac.cn;stdph@public.sti.ac.cn

策 划 编 辑:薛士滨

责 任 编 辑:薛士滨

责 任 校 对:李正德

责 任 出 版:周永京

发 行 者:科学技术文献出版社发行 全国各地新华书店经销

印 刷 者:三河市富华印刷包装有限公司

版 (印) 次:2001 年 10 月第 1 版第 1 次印刷

开 本:850×1168 32 开

字 数:387 千

印 张:12.75

印 数:1~8000 册

定 价:19.00 元

© 版权所有 违法必究

购买本社图书,凡字迹不清、缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责调换。

(京)新登字 130 号

内 容 简 介

本书除去教材中不予讲授的第二十二章神经组织的生物化学外,共二十一章内容。每章内容包括“教学大纲”、“教材内容要”、“典型试题分析”、“测试题”和“参考答案”共五部分。其中“学大纲”为北京大学医学部生物化学与分子生物学系目前使用生物化学理论课教学大纲。“教材内容精要”是编写人员根据多教学经验,从帮助学生掌握生物化学理论的基本要求出发,归纳总结了教材中的要点和难点,提出一些学习和记忆的方法。使同学们在聆听了教师理论课讲授后,再通过参考本书的内容,能尽快地掌握理论课学习的基本要求。“典型试题分析”收集了历年来该系部分生物化学学期终考试典型试题和研究生入学考试试题,并指出试题的考点和对试题进行了分析。此部分内容旨在使同学们了解生物化学考试的基本形式和难度。“测试题”包括 A 型题(单选题)、B 型题和 X 型题(多选题)三种选择题型,其中 A 型题和 X 型题也是该系历年来的基本考试题型。“测试题”内容占了本书的较大篇幅,这是考虑到生物化学课程在学习上历来有一定的难度,要较好、较快地掌握本学科的各知识点,大量做习题是一种很好的办法。通过参照测试题所附的“参考答案”,同学们可以对理论课知识学习的掌握情况进行自我检测。

本书可作为医药院校本科生和研究生入学考试辅导用书。

我们所有的努力都是为了使您增长知识和才干

科学技术文献出版社是国家科学技术部所属的综合性出版机构,主要出版医药卫生、农业、数学辅导,以及科技政策、科技管理、信息科学、实用技术等各类图书。

前 言

《医学专业必修课考试辅导丛书》之一——《生物化学》分册出版了。

生物化学是生命科学领域一门重要的基础学科,也是医学院校重要的基础课程之一。这些年来,随着教育部“高等医学教育面向 21 世纪教学内容和课程体系改革计划”项目的实施,生物化学教材内容更新很多,这一变化符合现代生物化学学科发展趋势,也适应面向 21 世纪教学改革的需要。在这一改革浪潮中,北京大学医学部生物化学与分子生物学系结合“更新知识,探索生物化学与分子生物学教学新途径”教学改革项目的实施,组织再版了《生物化学》(张迺衡主编,北京医科大学 中国协和医科大学联合出版社,1999)。这本教材在内容、章节安排上与全国高等医药院校教材《生物化学》(第五版)(周爱儒主编,人民卫生出版社,2000)大同小异。为在教学中组织、应用好这本教材,我们同时编写了新的教学大纲。新编教学大纲在参考“行为目标模式”的同时,又未完全抄袭这一模式,结合多年的教学经验和体会按章制定了单元目标。在表达目标时,避

免使用“熟悉”、“掌握”、“了解”等界限含混和评价时难以定标的行为,而是采用了“叙述”、“解释”、“说明”、“记忆”等比较具体的行为动词,使学员容易领会目标要求。

在生物化学学习过程中,教员经常会面对学员们提出的各种问题,其中最多的就是“老师,这章的重点是什么?”“应该重点掌握哪些内容?”“学到什么程度才是‘掌握’”等等。本辅导材料就是结合大纲目标及教学实践中经常遇到的学生问题,每章按“教学大纲要求”、“教材内容精要”、“典型试题分析”、“测试题”、“参考答案”顺序编写。可以说,这是本书的主要特点。在“教学大纲要求”、“教材内容精要”指导学习的基础上,学员可以运用“典型试题分析”和“测试题”自我检查对有关基本概念、基本原理的理解、掌握的程度,提高学习成绩。青年教师也可利用此书指导教学实践。应该说,本书对其他各层次学习生物化学者也有助益。

很高兴看到这本书的出版。本书的作者们愿意将他们在教学实践中收获和体会与敬爱的读者们分享。从这本书的编写过程可以看到青年一教师在老一代教师的指导下茁壮成长,因为这是老、中、青相结合的产物。老一代教师们的经验是有限的,青年教师们在继承、发展经验的过程中,免有不足之处,渴望指正,以便再版时“更上一层楼”。

于北京

于北京

目 录

第一章	蛋白质化学 ✓	(1)
第二章	核酸化学 ✓	(33)
第三章	酶 ✓	(56)
第四章	维生素 ✓	(85)
第五章	糖代谢	(99)
第六章	脂类代谢	(125)
第七章	生物氧化	(158)
第八章	氨基酸代谢	(178)
第九章	核苷酸代谢	(204)
第十章	物质代谢间的相互联系	(218)
第十一章	代谢调节	(223)
第十二章	DNA 的生物合成	(238)
第十三章	RNA 的生物合成	(255)
第十四章	蛋白质生物合成	(272)
第十五章	基因表达调控	(293)
第十六章	重组 DNA 技术	(313)

第十七章	细胞信息传递·····	(324)
第十八章	癌基因与生长因子·····	(342)
第十九章	血液的生物化学·····	(350)
第二十章	肝的生物化学·····	(366)
第二十一章	无机盐代谢·····	(387)

第一章

蛋白质化学

一、教学大纲要求

(1) 在熟记蛋白质生理功能的基础上, 论述蛋白质是生命活动的物质基础。

(2) 熟记蛋白质元素组成特点; 多肽链的基本组成单位——L, α -氨基酸; 20 种氨基酸缩写符号、结构式及主要特点。

(3) 准确描述肽键、多肽链、蛋白质一级结构、高级结构概念。

(4) 结合实例论述蛋白质结构与功能的关系。

(5) 熟记蛋白质重要的理化性质及有关的基本概念, 并列举蛋白质性质与医学的关系; 结合蛋白质的性质, 列举蛋白质分离纯化及测定方法。

(6)知道多肽链氨基酸序列分析方法及关键试剂名称。

二、教材内容精要

(一)蛋白质的生物学功能

蛋白质是一切生命活动重要的物质基础,是构成生物体各种组织的主要有机成分。人体中蛋白质含量丰富,约占固体成分的45%。蛋白质具有多种多样的生物学功能:催化生物体内代谢反应的酶大多是蛋白质;调节代谢反应的某些激素是蛋白质;免疫球蛋白对机体具有防御保护功能;转运蛋白可在不同组织间载运代谢物;结构蛋白对生物体起支持和保护作用,还有运动蛋白、储存蛋白、甜味蛋白、抗冻蛋白等。

(二)蛋白质的分子组成

1. 蛋白质的元素组成

组成蛋白质的元素主要有碳、氢、氧、氮和硫,有些蛋白质还含有少量磷和金属元素。各种蛋白质的含氮量很接近,平均为16%。这与样品中蛋白质含量的测定有关。

2. 蛋白质的基本组成单位——氨基酸

L- α -氨基酸是蛋白质的基本组成单位,常见者有20种。按其侧链(R)的结构和理化性质可分为4类:①非极性、疏水氨基酸(非极性R基氨基酸);②极性、中性氨基酸(不带电荷的极性R基氨基酸);③酸性氨基酸;④碱性氨基酸。

所有氨基酸都含有氨基($-\text{NH}_2$)能与质子(H^+)结合而呈阳离子(NH_3^+);又含有羧基($-\text{COOH}$)能与羟基($-\text{OH}$)结合失去质子而变成阴离子($-\text{COO}^-$),所以它是一种两性电解质,具有两性游离的特性。在某一pH环境中,氨基酸游离成阳离子及阴离子的趋势相等,成为氨基酸的兼性离子。兼性离子所带净电荷为零,在电场中不泳动。此时,氨基酸所处环境的pH值称为该种氨基酸的等电点(pI)。

PI的计算:

氨基酸的 pI 是由 $\alpha\text{-COOH}$ 、 $\alpha\text{-NH}_2$ 解离常数的负对数 pK_I 和 pK_2 决定的。若一个氨基酸侧链 R 基团可以解离, 则 pK_R 应予以考虑。具体每一种氨基酸 pI 的计算公式可分为三种情况:

(1) 为非极性基团或虽为极性基团但并非游离的氨基酸, $pI = 1/2(pK_I + pK_2)$ 。Tyr 的酚—OH 基虽具有弱酸性, 但解离程度很小, 故其 pI 按此情况计算。

(2) 酸性氨基酸(谷、天冬), $pI = 1/2(pK_I + pK_R)$ 。半胱氨酸(Cys)不属于酸性氨基酸, 但其—SH 具有弱酸性, 在 $pH 7.0$ 时, Cys 的—SH 大约解离 8%, 故其 pI 按酸性氨基酸计算。

(3) 碱性氨基酸(赖、精、组), $pI = 1/2(pK_2 + pK_R)$ 。

各种氨基酸的解离常数通过实验测得。

色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸在 280nm 波长附近具有最大吸收峰, 大多数蛋白质中又含有这些氨基酸, 故在 280nm 测定蛋白质溶液的光吸收值, 是定量测定溶液中蛋白质含量的一种最迅速简便的方法。利用氨基酸与茚三酮的颜色反应, 也可定量测定。

蛋白质的分子组成与蛋白质的结构、功能、序列分析、合成、测定、分离纯化以及蛋白质的分子设计等都关系密切, 因而氨基酸这部分内容既是下一步学习的基础, 也是今后从事相关工作的基础。20 种氨基酸的中、英文名字及中、英文缩写都应记忆, 可结合氨基酸的化学结构、分类及其分子中的特征基团记忆。可按课本上的分类方法记忆, 也可自己进行分类记忆, 例如: 缬、亮、异亮、苏、赖、蛋、苯丙、色, 为八种必需氨基酸。其余为非必需氨基酸。含硫氨基酸包括蛋氨酸和半胱氨酸, 两个 Cys 借二硫键连接起来就是胱氨酸。此外, 二硫键在蛋白质结构的形成中起重要作用。芳香族氨基酸包括酪氨酸(Tyr)、色氨酸(Trp)、苯丙氨酸(Phe), 它们含有苯环, 苯环有共轭双键, 在波长 280nm 处有最大吸收。

(三) 蛋白质的分子结构

蛋白质的种类繁多, 功能各异, 这主要是与蛋白质的分子结构有关。氨基酸通过肽键连接成肽, 少于 10 个氨基酸的肽链称为寡肽, 大于 10 个氨基酸的肽链称多肽。多肽链有方向性, 从 N 末端指向 C 末端。体内及自然界

N → C

有许多生物活性肽。例如谷胱甘肽、脑啡肽、催产素等肽类激素、生长因子、短杆菌 S、甜味肽等,它们都具有重要的生物学功能。

体内发挥不同功能的蛋白质都是有序结构,可将这种有序结构分为一、二、三、四级。一级结构是指蛋白质的多肽链中氨基酸的排列顺序及其靠肽键连接,有些尚含有二硫键。二至四级结构称为蛋白质的空间结构,或构象,主要靠次级键维系,二硫键可使远离的肽段靠近,在空间结构的形成中也起着重要作用。

蛋白质的一级结构测定或称序列分析常用的方法是 Edman 降解和重组 DNA 法。前者是经典的化学方法,后者是基于分子克隆的分子生物学方法。重组 DNA 测序法首先需得到编码某种蛋白质的基因(DNA 片段),然后测定 DNA 分子中核苷酸的排列顺序,再根据三个核苷酸编码一个氨基酸的原则推演出氨基酸的排列顺序。不必首先纯化该种蛋白质。这一复杂的过程借助于计算机的帮助可变得比较简单并高效。而 Edman 化学降解法则比较复杂。这首先需要纯化一定量的待测蛋白质,再分别作分子量测定;氨基酸组成分析;N-末端分析;C-末端分析;用不同的化学试剂或特异的蛋白内切酶水解将待测蛋白质裂解成大小不同的肽段;将每一肽段作序列分析,再连接起来。两种方法各有其特点可以相互印证和补充。

蛋白质空间结构的测定方法中常用的是 X 射线晶体衍射法。首先测定了肽单元是由 6 个原子(C_{α} 、C、O、N、H 和 C_{ω})组成的一个酰胺平面。肽键具有一定双键性,不能自由旋转,但 C_{α} 分别相连的两个键可以旋转,因此相邻的两个肽单元可随所连的两个单键的旋转而形成相对的空间位置关系。蛋白质的二级结构是指多肽链骨架中原子的局部空间排列,不涉及侧链的构象,主要有 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角和无规则卷曲。 α -螺旋为右手螺旋,主要靠氢键维系,氢键的方向基本与长轴平行,每 3、6 个氨基酸残基螺旋上升一圈,螺距为 0.54nm,氨基酸侧链伸向螺旋外侧。在 β -折叠结构中,多肽链充分伸展,各肽键平面之间折叠成锯齿状结构,侧链 R 基团交错位于锯齿状结构的上下方,主要靠氢键维系,氢键的方向与折叠的长轴基本垂直。可有顺平行片层和反平行片层结构。肽链主链出现的 180° 回折部分称 β 转角,分为 I 型和 II 型,也各具特点。蛋白质分子中那些没有确定规律性的部分肽链构象称为无规卷曲。

在许多蛋白质中,有两个或三个具有二级结构的肽段在空间上相互接近,形成一个特殊的空间构象,称为模序(motifs)。有的将这种规则的二级结构的聚集体称为超二级结构(supersecondary structure),例如有 α -螺旋组合($\alpha\alpha$)、 β -折叠组合($\beta\beta$)及 α -螺旋和 β -折叠混合组合($\alpha\beta\alpha$)。又如锌指结构模序,亮氨酸拉链模序。它们可直接作为三级结构的“建筑块”或域结构(domain)的组成单位,是蛋白质发挥特定功能的基础。域结构是在较大的蛋白质分子中所形成的两个或多个在空间上可明显区别的局部区域。结构域具有独特的空间构象,与分子整体以共价键相连,并且各承担不同的生物学功能。例如3-磷酸甘油醛脱氢酶有与其辅酶 NAD^+ 结合结构域,还有决定其与特定底物结合的结构域。结构域之间一般不能分开,这是它与亚基的区别。

蛋白质的三级结构是指在一条多肽链中所有原子的整体排布,包括主链和侧链。三级结构的形成使得在序列中相隔较远的氨基酸侧链相互靠近,疏水基团在内,亲水基团在外,形成亲水的球状蛋白质。有的蛋白质只有一条肽链组成,三级结构形成后即具有了生物学功能,例如肌红蛋白是由一条肽链和一个血红素辅基组成。有的蛋白质由几条肽链组成,每条肽链形成三级结构(亚基)后,还需聚集形成四级结构才会具有生物学功能。例如血红蛋白有两个 α 亚基和两个 β 亚基组成,每个亚基结合一分子亚铁血红素。血红素辅基可以与氧进行可逆结合。蛋白质的空间构象主要靠次级键维系。

蛋白质的一级结构是指氨基酸排列顺序及借肽键连接一级结构是空间结构的基础,蛋白质分子形成一定的空间构象才能执行一定的功能。蛋白质分子结构复杂,为了便于认识而分一、二、三、四级结构,尤其是空间结构很抽象,需结合多种结构图去想象、理解。

(四) 蛋白质结构与功能的关系

体内各种蛋白质的分子结构纷纭万象,其功能也多种多样。每种蛋白质都执行着特异的生物学功能,而这些功能又都是与其特异的一级结构和空间结构密切相关。

1. 蛋白质一级结构与功能的关系

牛胰核糖核酸酶(RNase)变性和复性的实验是蛋白质结构与功能关系的很好例证。蛋白质空间结构遭到破坏,可导致蛋白质的理化性质和生物学性质的变化,这就是蛋白质变性。变性的蛋白质,只要其一级结构仍然完好,可在一定条件下恢复其空间结构,随之理化性质和生物学性质也可重现,这被称为复性。RNase是由124个氨基酸残基组成的一条肽链,分子中8个半胱氨酸的巯基构成4对二硫键,进而形成具有一定空间构象的活性蛋白质。天然RNase遇尿素和 β -巯基乙醇时发生变性,其分子中的氢键和4个二硫键断裂,严密的空间结构遭破坏,丧失生物学活性,但一级结构完整无损。若去除尿素和 β -巯基乙醇,RNase又恢复其原有构象和生物学活性。RNase分子中的8个巯基若随机排列成二硫键可有105种方式,有活性的RNase只是其中的一种,复性时之所以选择了自然活性酶的方式则是由肽链中氨基酸排列顺序决定的。可见蛋白质一级结构是空间结构的基础。

在蛋白质合成过程中还需有形成空间结构的控制因子,称为分子伴侣(molecular chaperons)。在蛋白质合成时,尚未折叠的肽段有许多疏水基团暴露在外,因此具有分子内或分子间聚集的倾向,从而影响蛋白质的正确折叠。分子伴侣可以与未折叠的肽段进行可逆的结合,引导肽链的正确折叠并集合多条肽链成为较大的结构。例如,热休克蛋白就是分子伴侣的一个家族。

蛋白质一定的结构执行一定的功能,功能不同的蛋白质总是有不同的序列;一级结构相似的蛋白质,其空间构象和功能也相近;若一级结构变化,蛋白质的功能将发生很大的变化。例如,哺乳动物胰岛素分子结构都是由A链和B链构成,且二硫键配对和一级结构均相似,它们都执行相同的调节血糖代谢等功能。比较来源不同的胰岛素的一级结构,可能有某些差异,但与功能相关的结构却总是相同。不同种属来源的胰岛素,其一级结构的差异可能是分子进化的结果。细胞色素C是研究蛋白质一级结构的种属差异与分子进化的又一例证。不同来源的细胞色素C功能相同,即参加线粒体呼吸链的组成,并在泛醌细胞色素C还原酶和细胞色素氧化酶之间传递电子。比较60种不同种属来源细胞色素C的一级结构,其中有些氨基酸残

基易变,但更有 27 个氨基酸残基不变。这 27 个不变的氨基酸残基是保证结合血红素、识别与结合细胞色素氧化酶和泛醌细胞色素 C 还原酶、维持构象和传递电子所必要的。若蛋白质的一级结构发生变化影响其正常功能,进一步引起疾病,被称为分子病。镰刀形红细胞贫血症就是分子病典型的例子。目前已知数千种分子病与某些蛋白质的分子结构改变有关。

2. 蛋白质空间结构与功能的关系

体内各种蛋白质都有特殊的生理功能,这与空间构象有着密切的关系。肌红蛋白和血红蛋白是阐述空间结构与功能关系的典型例子。肌红蛋白(Mb)和血红蛋白(Hb)都是含血红素辅基的结合蛋白质。Mb 有一条肽链,经盘曲折叠形成三级结构。整条肽链由 A→H 8 段 α -螺旋盘曲折叠成为球状,疏水氨基酸侧链在分子内部,亲水氨基酸侧链在分子外部,形成亲水的球状蛋白,血红素辅基位于 Mb 分子内部的袋状空穴中。Hb 有 4 条肽链,两个 β 链也有与 Mb 相似的 A→H 8 段 α -螺旋,而两个 α 链只有 7 段 α -螺旋。Hb 与 Mb 的折叠方式相似,也都能与氧进行可逆的结合。Hb 的一个亚基与氧结合后可引起构象变化,使另一亚基更易于与氧结合,这种带氧的亚基协助不带氧的亚基去结合氧的现象,称为协同效应。氧与 Hb 结合后引起 Hb 构象变化,这种蛋白质分子在表现功能的过程中引起构象变化的现象称为变构效应。小分子的氧称为变构剂,Hb 则称为变构蛋白。Hb 这种变构蛋白的氧解离曲线呈“S”型,Hb 的功能主要是运输氧。而不是变构蛋白的 Mb,其氧解离曲线为矩形双曲线,其功能主要是贮存氧。

蛋白质的结构与功能的关系是本章学习的重点。可从多个例子去理解一级结构与功能的关系、空间结构与功能的关系,并结合随后章节的学习反复加深理解。例如,酶原的激活、激素原、前激素原转变为有活性的激素等均可有力地说明一级结构决定空间结构,一定的空间结构执行一定的功能。以后要学习的变构酶、变构调节等有许多具体的例子,是以蛋白质的结构与功能为基础。同时,变构效应是生物体内普遍存在的功能调节方式之一。将学习的各章节内容进行有机的联系、比较,正确理解专业名词的概念,使“概念”变成自己知识网上的纽带,就会不断积累蛋白质结构与功能的知识。

(五) 蛋白质的理化性质及分离纯化

蛋白质由氨基酸构成,一部分性质与氨基酸相同,如两性游离和等电点,某些呈色反应等。但蛋白质是由氨基酸借肽键构成的高分子化合物,又有不同于氨基酸的性质,如胶体性质,易沉降,不易透过半透膜,变性,沉淀,凝固等。通常可利用蛋白质的理化性质和生物学性质来纯化蛋白质。而分离纯化蛋白质又是研究单个蛋白质结构与功能的先决条件。

蛋白质分子颗粒表面大多为亲水基团,因而通过吸引水分子而形成一层水化膜,这是蛋白质胶体稳定的重要因素之一。盐析就是利用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NaCl 等中性盐破坏蛋白质的水化膜,使之从溶液中析出,使不同性质的蛋白质初步得到分离。蛋白质分子量较大,不易透过半透膜,故可利用透析的方法将其与小分子化合物分开。人们常常利用透析法去除蛋白质溶液中的盐等小分子,为进一步纯化作准备。凝胶过滤层析法是一种根据各种蛋白质分子量的差异进行分离纯化蛋白质的方法。含有各种分子量的蛋白质溶液,在通过带有小孔的葡聚糖颗粒所填充的长柱时,大分子量蛋白质不能进入葡聚糖颗粒而直接流出,分子量小的蛋白质则进入颗粒而流出滞后,这样就将蛋白质分成不同分子量的若干组分。蛋白质具有两性游离的特性,在某一 pH 条件下,蛋白质颗粒表面带有电荷,可利用电泳法和离子交换层析法将蛋白质分离纯化。蛋白质被分离纯化后,可用于作一级结构及空间结构的分析。

蛋白质从溶液中析出现象称为沉淀。使蛋白质沉淀的方法有盐析法、有机溶剂沉淀蛋白质等。蛋白质的变性是在某些理化因素作用下蛋白质严密的空间构象破坏,导致若干理化性质、生物学性质改变,蛋白质的一级结构并无改变。大家需注意变性与沉淀的区别。沉淀的蛋白质不一定变性。例如,用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀蛋白质;反之,变性的蛋白质也不一定沉淀,例如,将牛奶煮沸,牛奶中的酪蛋白变性了,但并没沉淀出来。蛋白质的颜色反应主要与蛋白质的定性、定量测定有关,常用的蛋白质测定原理应知道。

(六) 蛋白质一级结构测定简介

蛋白质的一级结构测定一般采用 Edman 化学降解法。该方法是利用