



高等院校医学专业必修课程考试同步辅导丛书



配套“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

供医学专业本科生课程考试复习使用 供医学硕士研究生入学考试复习使用

生物化学与分子生物学应试向导

Biochemistry and Molecular Biology Exam Guide

(第二版)

主 编 翟 静 吴 剑



同济大学出版社
TONGJI UNIVERSITY PRESS



高等医学院校医学专业必修课程考试同步辅导丛书



配套“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材

供医学专业本科生课程考试复习使用

供医学硕士研究生入学考试复习使用

生物化学与分子生物学 应试向导（第二版）

Biochemistry and Molecular Biology Exam Guide

主 编 翟 静 吴 剑

副主编 伊淑莹 叶 勇 郭晨光

编 委 （按姓氏拼音排序）

陈志丹（复旦大学生物医学研究院）

陈治松（同济大学医学院）

成 亮（上海交通大学附属瑞金医院）

戴 春（复旦大学生物医学研究院）

高崇兰（同济大学医学院）

郭晨光（首都医科大学附属朝阳医院）

蒋国良（复旦大学生物医学研究院）

李 磊（复旦大学生物医学研究院）

马 宏（复旦大学附属中山医院）

吴 剑（复旦大学生物医学研究院）

叶 勇（复旦大学生物医学研究院）

伊淑莹（泰山医学院）

翟 静（泰山医学院）

周鹂鹂（同济大学医学院）

朱俊杰（苏州大学医学院）

朱晓宇（同济大学医学院）

朱欣茹（复旦大学上海医学院）



同济大学出版社
TONGJI UNIVERSITY PRESS

内 容 提 要

生物化学与分子生物学为基础医学主干课程,本书编写以第8版国家级规划教材《生物化学与分子生物学》为依据,紧扣教学大纲要求,对教材内容和知识要点进行系统梳理。全书各章设有【大纲要求】、【内容精析】、【同步练习】和【参考答案】4个栏目,精要提示教学大纲要求,系统解析教材内容,结合大纲精心设计试题和提供试题答案,便于学生同步复习,及时巩固所学知识,完成课程考试。全书另附【词汇讲解】,阐释主要专业词汇及其词根记忆的演绎,并提供数套“模拟试卷”及参考答案,以供学生自测和考前全面复习。

本书适合于医学本科生,研究生的课程考试辅导,也可作为医学本科教学的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学应试向导/翟静,吴剑主编.—2版.

—上海:同济大学出版社,2015.4

(高等医学院校医学专业必修课程考试同步辅导丛书)

ISBN 978-7-5608-5791-6

I. ①生… II. ①翟…②吴… III. ①生物化学—医学院
校—教学参考资料②分子生物学—医学院校—教学参考资料

IV. ①Q5②Q7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2015)第 049021 号

高等医学院校必修课程考试同步辅导丛书

生物化学与分子生物学应试向导(第二版)

主 编 翟 静 吴 剑

责任编辑 沈志宏 陈红梅

责任校对 徐春莲

装帧设计 陈益平

出版发行 同济大学出版社 www.tongjipress.com.cn

(地址:上海市四平路 1239 号 邮编:200092 电话:021-65985622)

经 销 全国各地新华书店

印 刷 同济印刷厂

开 本 787 mm×1092 mm 1/16

印 张 14.5

印 数 1—5100

字 数 361000

版 次 2015 年 4 月第 2 版 2015 年 4 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5608-5791-6

定 价 32.00 元

本书若有印装质量问题,请向本社发行部调换 版权所有 侵权必究

再版前言

生物化学与分子生物学是一门运用化学的理论和方法,从分子水平研究生命现象的课程,它阐明了生命现象的化学本质。生物化学所阐述的是人体物质组成、物质代谢过程、代谢平衡的调控、物质代谢与生理功能之间的关系等内容,最新版国家级规划教材将“生物化学”与“分子生物学”两本教材进行了整合,避免了两本教材中不必要的重复;调整了部分章节的内容,增加了疾病相关基因的鉴定与基因功能研究、基因诊断和治疗、组学与医学等内容,使知识更加完整、系统。“生物化学与分子生物学”是进一步学习基础医学和临床医学课程必备的基础知识。《生物化学与分子生物学应试向导》是专门为帮助医学生更有效地学习和掌握该门课程而精心编写的教学辅导和应试参考书。

本书以第八版“十二五普通高等教育本科国家级规划教材”《生物化学与分子生物学》为蓝本,以相应教学大纲为指导编写而成。全书共二十六章,每个章节由【大纲要求】、【内容精析】、【同步练习】和【参考答案】4部分组成。

【大纲要求】对学生学习本课程需要掌握和了解的内容提出了具体要求。

【内容精析】系统梳理、阐释各章节的重点内容,力求做到框架清晰、内容精要。

【同步练习】包括选择题、名词解释、填空题和简答题等4种常考题型,便于学生复习之余及时自测,有利于知识的巩固。

【参考答案】便于学生自我测试时参考,及时更正和补充知识点。

本书适合于医学专业本科生、研究生及生物化学教师应用,也可作为生物化学的配套学习用书。

本书是在第一版《生物化学应试向导》的基础上改编而成,在此对参加第一版配套教材编写的专家和在本次教材编写中给予帮助的专家表示衷心的感谢。

由于时间限制和作者水平有限、经验不足,书中难免有错误疏漏之处,恳请同行和广大读者予以批评和指正。

主 编

2015年3月

目 录

再版前言

第一篇 生物分子结构与功能	1
第一章 蛋白质的结构与功能	1
第一节 蛋白质的分子组成	1
第二节 蛋白质的分子结构	2
第三节 蛋白质结构与功能的关系	3
第四节 蛋白质的理化性质	4
第五节 蛋白质的分离、纯化与结构分析	4
第二章 核酸的结构与功能	11
第一节 核酸的化学组成及一级结构	11
第二节 DNA 的空间结构与功能	12
第三节 RNA 的结构与功能	13
第四节 核酸的理化性质	14
第五节 核酸酶	14
第三章 酶	19
第一节 酶的分子结构与功能	19
第二节 酶的工作原理	20
第三节 酶促反应动力学	21
第四节 酶的调节	22
第五节 酶的分类与命名	22
第六节 酶与医学的关系	23
第四章 聚糖的结构与功能	29
第一节 糖蛋白分子中聚糖及其合成过程	29
第二节 蛋白聚糖分子中的糖胺聚糖	29
第三节 糖脂	29
第四节 聚糖结构中蕴含大量生物信息	29
第五章 维生素与无机盐	32
第一节 脂溶性维生素	32
第二节 水溶性维生素	32
第三节 微量元素	33
第四节 钙、磷及其代谢	34
第二篇 物质代谢及其调节	37
第六章 糖代谢	37
第一节 糖的消化吸收与转运	38
第二节 糖的无氧氧化	38
第三节 糖的有氧氧化	39
第四节 磷酸戊糖途径	42



第五节 糖原合成与分解	43
第六节 糖异生	43
第七节 葡萄糖的其他代谢产物	44
第八节 血糖及其调节	45
第七章 脂质代谢	51
第一节 脂质的构成、功能及分析	51
第二节 脂质的消化和吸收	52
第三节 甘油三酯的代谢	53
第四节 磷脂的代谢	57
第五节 胆固醇的代谢	57
第六节 血浆脂蛋白的代谢	58
第八章 生物氧化	66
第一节 氧化呼吸链	66
第二节 氧化磷酸化生成 ATP	67
第三节 氧化磷酸化的影响因素	68
第四节 其他氧化与抗氧化体系	68
第九章 氨基酸代谢	75
第一节 蛋白质的生理功能和营养价值	75
第二节 蛋白质的消化 吸收和腐败	76
第三节 氨基酸的一般代谢	77
第四节 氨的代谢	79
第五节 个别氨基酸的代谢	81
第十章 核苷酸代谢	91
第一节 嘌呤核苷酸的合成与分解代谢	91
第二节 嘧啶核苷酸的合成与分解代谢	92
第十一章 非营养物质代谢	98
第一节 生物转化作用	98
第二节 胆汁与胆汁酸的代谢	98
第三节 血红素的生物合成	99
第四节 胆色素的代谢与黄疸	99
第十二章 物质代谢的整合与调节	106
第一节 物质代谢的特点	106
第二节 物质代谢的相互联系	106
第三节 肝在物质代谢中的作用	107
第四节 肝外重要组织器官的物质代谢特点及联系	108
第五节 物质代谢调节的主要方式	108
第三篇 遗传信息的传递	115
第十三章 真核基因与基因组	115
第一节 真核基因的结构与功能	115
第二节 真核基因组的结构与功能	115
第十四章 DNA 的生物合成	117
第一节 DNA 复制的基本规律	117
第二节 DNA 复制的酶学和拓扑学变化	118
第三节 原核生物 DNA 复制过程	120

第四节 真核生物 DNA 生物合成过程	120
第五节 逆转录和其他复制方式	120
第十五章 DNA 损伤与修复	126
第一节 DNA 损伤	126
第二节 DNA 损伤的修复	126
第三节 DNA 损伤和修复的意义	127
第十六章 RNA 的生物合成	129
第一节 原核生物转录的模板和酶	129
第二节 原核生物的转录过程	131
第三节 真核生物 RNA 的生物合成	132
第四节 真核生物 RNA 的加工和降解	133
第十七章 蛋白质的生物合成	140
第一节 蛋白质生物合成体系	140
第二节 氨基酸与 tRNA 的连接	141
第三节 肽链的生物合成过程	142
第四节 肽链生物合成后的加工和靶向输送	143
第五节 蛋白质合成的干扰和抑制	144
第十八章 基因表达调控	150
第一节 基因表达与基因表达调控的基本概念与特点	150
第二节 原核基因表达调控	151
第三节 真核基因表达调控	151
第十九章 细胞信号转导的分子机制	158
第一节 细胞信号转导概述	158
第二节 细胞内信号转导分子	160
第三节 细胞受体介导的细胞内信号转导	161
第四节 信号转导的基本规律和复杂性	162
第五节 细胞信号转导异常与疾病	163
第四篇 分子医学专题	169
第二十章 常用分子生物学技术的原理及其应用	169
第一节 分子杂交与印迹技术	169
第二节 PCR 技术的原理与应用	169
第三节 基因文库	170
第四节 生物芯片技术	170
第五节 生物大分子相互作用研究技术	170
第二十一章 DNA 重组及重组 DNA 技术	173
第一节 自然界的 DNA 重组和基因转移	173
第二节 重组 DNA 技术	173
第三节 重组 DNA 技术在医学中的应用	175
第二十二章 基因结构与功能分析技术	180
第一节 基因结构分析技术	180
第二节 基因表达产物分析技术	181
第三节 基因的生物学功能鉴定技术	181
第二十三章 癌基因、肿瘤抑制基因与生长因子	183
第一节 癌基因	183



第二节 肿瘤抑制基因	183
第三节 生长因子	183
第二十四章 疾病相关基因的鉴定与基因功能研究	185
第一节 鉴定疾病相关基因的原则	185
第二节 疾病相关基因克隆的策略和方法	185
第三节 疾病相关基因的功能研究	185
第二十五章 基因诊断和基因治疗	186
第一节 基因诊断	186
第二节 基因治疗	186
第二十六章 组学与医学	188
第一节 基因组学	188
第二节 转录组学	189
第三节 蛋白质组学	189
第四节 代谢组学	189
第五节 其他组学	189
第六节 组学在医学上的应用	190
附录 A 词汇讲解	191
附录 B 模拟试卷及参考答案	206



第一篇 生物分子结构与功能

第一章 蛋白质的结构与功能

【大纲要求】

1. 掌握:①蛋白质的元素组成特点(氮含量占16%);②组成人体蛋白质的20种氨基酸的结构特点、三字符缩写,氨基酸的两性解离和等电点,芳香族氨基酸的紫外吸收;③肽键和肽的概念、结构特点;④蛋白质各级结构的概念、结构特点和维持力, α -螺旋和 β -折叠的结构特点;⑤模体、结构域和分子伴侣的概念、模体的结构特点;⑥蛋白质结构与功能的关系(举例说明);⑦蛋白质变性的概念和临床应用;⑧蛋白质的高分子性质(胶体溶液稳定的因素)。

2. 熟悉:①蛋白质的生理功能与重要性;②蛋白质的两性解离和等电点、沉淀、凝固、复性;③谷胱甘肽的结构特点和功能;④蛋白质分离纯化的原理(电泳、层析、盐析等)。

3. 了解:①氨基酸的茚三酮反应,氨基酸分类;②氨基酸序列测定;③其他生物活性肽。

▲提示:“蛋白质的结构与功能”这一章常常与“氨基酸代谢”这一章结合起来考,复习时要重点注意氨基酸的分类及所包含的氨基酸,蛋白质的四级结构,以及理化性质中的紫外吸收和呈色反应

【内容精析】

第一节 蛋白质的分子组成

元素组成:主要元素有碳(50%~55%)、氢(6%~7%)、氧(19%~24%)、氮(13%~19%)、硫(0~4%)。有些蛋白质还含少量的磷或金属元素,如铁、铜、锌、锰、钴、钼等,个别蛋白质还含有碘。含氮量恒定,平均为16%。

$$\text{蛋白质含量} = \text{含氮量} \div 16\% = \text{含氮量} \times 6.25$$

一、氨基酸

氨基酸:组成人体蛋白质的氨基酸仅有20种,且均属L- α -氨基酸(甘氨酸除外)。根据它们的侧链R的结构和理化性质可分为五类:

1. 非极性疏水性氨基酸 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸(在水中的溶解度小于极性中性氨基酸)。

2. 极性中性氨基酸 丝氨酸、半胱氨酸、蛋氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、苏氨酸(比非极性氨基酸易溶于水)。

3. 芳香族氨基酸 苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸(苯基的疏水性较强)。

4. 酸性氨基酸 天冬氨酸、谷氨酸(含有两个羧基,生理条件下带负电)。

5. 碱性氨基酸 赖氨酸、精氨酸、组氨酸(含有两个氨基,生理条件下带正电)。

▲注意:各类氨基酸之间的关系

芳香族氨基酸:苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸	必需氨基酸 赖氨酸、苯丙氨酸、色氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苏氨酸、蛋氨酸
支链氨基酸:缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸	必需氨基酸=芳香族+支链+苏(氨酸)、蛋(氨酸)



续 表

含硫氨基酸: 甲硫氨酸、半胱氨酸	或记忆: “但(蛋)”求“借(缬)”“本(苯丙)”“色(色)”情“书(苏)” “来(赖)”“晾(亮)”“一晾(异亮)”
亚氨基酸: 脯氨酸	也可记忆为: “借(缬)一(异亮)两(亮)本(苯丙)淡(蛋)色(色)书(苏)来(赖)”

在蛋白质翻译后的修饰过程中,脯氨酸和赖氨酸可分别被羟化为羟脯氨酸和羟赖氨酸。两个半胱氨酸通过脱氢后可以二硫键相结合,形成胱氨酸。蛋白质分子中 20 种氨基酸残基的某些基团还可被甲基化、甲酰化、乙酰化、异戊二烯化和磷酸化等。这些翻译后修饰,可改变蛋白质的溶解度、稳定性、亚细胞定位和与其他细胞蛋白质的相互作用的性质等,体现了蛋白质生物多样性的一个方面。

二、氨基酸可根据侧链结构和理化性质进行分类

- (1) 侧链含烃链的氨基酸属于非极性脂肪族氨基酸;
- (2) 侧链有极性但不带电荷的氨基酸是极性中性氨基酸;
- (3) 侧链含芳香基团的氨基酸是芳香族氨基酸;
- (4) 侧链含负性解离基团的氨基酸是酸性氨基酸;
- (5) 侧链含正性解离基团的氨基酸属于碱性氨基酸。

三、20 种氨基酸具有共同或特异的理化性质

1. 两性解离及等电点 所有氨基酸都含有碱性的 α -氨基和酸性的 α -羧基,可在酸性溶液中与质子(H^+)结合成带有正电荷的阳离子($-NH_3^+$),也可在碱性溶液中与 OH^- 结合,失去质子变成带负电荷的阴离子($-COO^-$),因此氨基酸是一种两性电解质,具有两性解离的特性。氨基酸的解离方式取决于其所处溶液的酸碱度。在某一 pH 的溶液中,氨基酸解离成阳离子和阴离子的趋势及程度相等,成为兼性离子,呈电中性,此时溶液的 pH 称为该氨基酸的等电点(isoelectric point, pI)。

氨基酸的 pI 是由 α -氨基和 α -羧基的解离常数的负对数 pK_1 和 pK_2 决定的。 $pI = 1/2(pK_1 + pK_2)$

2. 紫外吸收性质 根据氨基酸的吸收光谱,含共轭双键的色氨酸、酪氨酸的最大吸收峰在 280 nm 波长附近。大多数蛋白质含有酪氨酸和色氨酸残基。因此,测定蛋白质溶液 280 nm 的光吸收值,是分析溶液中蛋白质含量的快速简便的方法。

3. 茚三酮反应 氨基酸与茚三酮水合物共加热,茚三酮水合物被还原,其还原物可与氨基酸加热分解产生的氨结合,再与另一分子茚三酮缩合成为蓝紫色化合物,此化合物最大吸收峰在 570 nm 波长处。此吸收峰值大小与氨基酸释放出的氨量成正比,因此可作为氨基酸定量分析方法。

四、氨基酸通过肽键连接而形成蛋白质或活性肽

1. 氨基酸通过肽键连接而形成肽

肽键:由一个氨基酸的 α -羧基与另一个氨基酸的 α -氨基脱水缩合而形成的化学键。

2. 重要的生物活性肽

谷胱甘肽(GSH):由谷氨酸、甘氨酸、半胱氨酸组成的三肽。第一个肽键由谷氨酸 γ -羧基与半胱氨酸的氨基组成。巯基是功能基团。巯基有还原性,可作为体内重要的还原剂保护体内蛋白质或酶分子中巯基免遭氧化,使蛋白质或酶处在活性状态。在谷胱甘肽过氧化物酶的催化下, GSH 可还原细胞内产生的 H_2O_2 ,使其变成 H_2O ,而 GSH 被氧化成氧化型谷胱甘肽(GSSG),后者在谷胱甘肽还原酶催化下,再生成 GSH。此外, GSH 的巯基还有嗜核特性,能与外源的嗜电子毒物如致癌剂或药物等结合,从而阻断这些化合物与 DNA、RNA 或蛋白质结合,以保护机体免遭毒物侵害。

多肽类激素及神经肽:体内有许多激素属寡肽或多肽,如缩宫(催产)素(9 肽)、加压素(9 肽)、促肾上腺皮质激素(39 肽)、促甲状腺素释放激素(3 肽)等。神经肽是一类在神经传导过程中起信号转导作用的肽类,如脑啡肽(5 肽)、 β -内啡肽(31 肽)、强啡肽(17 肽)等。此外,神经肽还包括 P 物质、神经肽 Y 等。

第二节 蛋白质的分子结构

见表 1-1。



表 1-1

蛋白质的分子结构

定 义		结构形式	主要化学键
一级结构	蛋白质分子中氨基酸的排列顺序	肽链	肽键和二硫键
二级结构	主链局部骨架原子的相对空间位置 不涉及氨基酸残基侧链的构象	α -螺旋 β -折叠 β -转角 无规则卷曲	氢键
三级结构	整条多肽链所有原子在三维空间的排布位置	球状或纤维状	疏水作用、氢键 离子键和范德华力
四级结构	亚基的空间排布	多亚基聚集体	氢键、离子键

▲注意：一级结构是蛋白质空间构象和特异生物学功能的基础，但并不是决定蛋白质空间构象的唯一因素

1. **肽单元** 参与肽键的 6 个原子 C_{α} , C, O, H, N, C_{ω} 位于同一平面, C_{α} 和 C_{ω} 在平面上所处的位置为反式构型, 此同一平面上的 6 个原子构成了所谓的肽单元。

2. **α -螺旋** 多肽链的主链围绕中心轴作有规律的螺旋式上升, 螺旋的走向为顺时针方向, 所谓右手螺旋。氨基酸侧链伸向螺旋外侧。每 3.6 个氨基酸残基螺旋上升一圈, 螺距为 0.54 nm。 α -螺旋的每个肽键的 N—H 和第四肽键的羰基氧形成氢键, 氢键的方向与螺旋长轴基本平行。肽链中的全部肽键都可形成氢键, 以稳固 α -螺旋结构。

3. **β -折叠** 多肽链充分伸展, 每个肽单元以 C_{α} 为旋转点, 依次折叠成锯齿状结构, 氨基酸残基侧链交替地位于锯齿状结构的上下方。两条以上肽链或一条肽链内的若干肽段的锯齿状结构可平行排列, 两条肽链走向可相同, 也可相反。通过肽链间的肽键羰基氧和亚氨基氢形成氢键从而稳固 β -折叠结构。

4. **β -转角** 常发生与肽链进行 180° 回折时的转角上。 β -转角通常有 4 个氨基酸残基组成, 其第一个残基的羰基氧(O)与第四个残基的氨基氢(H)可形成氢键。第二个残基常为脯氨酸, 其他常见残基有甘氨酸、天冬氨酸、天冬酰胺和色氨酸。

5. **无规则卷曲** 用来阐述没有确定规律性的那部分肽链结构。

6. **模序(体)** 由 2 个或 3 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, 被称为模体。常见的二级结构有 α -螺旋-环- α -螺旋结构、锌指结构等。

7. **结构域** 分子量大的蛋白质三级结构常可分割成 1 个和数个球状或纤维状的区域, 折叠得较为紧密, 各行其功能。

8. **分子伴侣** 除一级结构为决定因素外, 蛋白质空间构象的正确形成还需要一类称为分子伴侣的蛋白质参与。其通过提供一个保护环境从而加速蛋白质折叠成天然构象或形成四级结构。蛋白质在合成时, 未折叠的肽段有许多疏水基团暴露在外, 具有分子内或分子间聚集的倾向, 使蛋白质不能形成正确空间的构象。分子伴侣可逆地与未折叠肽段的疏水部分结合随后松开, 如此重复进行可防止错误的聚集发生, 使肽链正确折叠。分子伴侣也可与错误聚集的肽段结合, 使之解聚后, 再诱导其正确折叠。分子伴侣对蛋白质分子折叠过程中二硫键正确形成起到重要的作用, 有些分子伴侣具有形成二硫键的酶活性。

第三节 蛋白质结构与功能的关系

一、蛋白质一级结构与功能的关系

一级结构是空间构象的基础, 也是功能的基础。一级结构相似的多肽或蛋白质, 其空间构象及功能也相似。

分子病: 有时蛋白质分子中起关键作用的氨基酸残基缺失或被替代, 会严重影响空间构象乃至生理功能, 甚至导致疾病产生。这种由蛋白质分子发生变异所导致的疾病, 被称为“分子病”, 其病因为基因突变所致。例如, 镰刀形贫血患者血红蛋白中, β 亚基的第六位氨基酸由谷氨酸变成了缬氨酸, 本是水溶性的血



红蛋白,就聚集成丝,相互粘着,导致红细胞变形为镰刀状而极易破碎,导致贫血。

二、蛋白质空间结构与功能的关系

蛋白质空间构象与功能有密切关系。蛋白质空间构象改变后,可导致其生理功能丧失。

1. **协同效应** 一个寡聚体蛋白质的一个亚基与其配体结合后,能影响此寡聚体中另一亚基与配体的结合能力。如果起促进作用则称为**正协同效应**;反之则为**负协同效应**。

2. **蛋白构象性疾病** 蛋白质一级结构不变,而空间构象发生改变,仍可影响其功能,严重时可导致疾病的发生,此类疾病称为蛋白构象性疾病。这类疾病包括人纹状体脊髓变性病、老年痴呆症、亨丁顿舞蹈病、疯牛病等。

第四节 蛋白质的理化性质

一、蛋白质具有两性电离性质

蛋白质的等电点(pI)是指当蛋白质溶液处于某一 pH 值时,蛋白质解离成正、负离子的趋势和程度相等,即成为兼性离子,净电荷为零,此时溶液的 pH 值即为 pI。pH 大于 pI 时,该蛋白质颗粒带负电荷,反之带正电荷。

体内蛋白质 pI 大多接近于 pH 值 5.0,在 pH 值 7.4 的环境下,多数蛋白质解离成阴离子,带负电荷。

二、蛋白质具有胶体性质

蛋白质作为溶液稳定存在的两大因素:一是蛋白质颗粒表面多为亲水基团,可吸引水分子,使颗粒表面形成一层水化膜;二是蛋白质颗粒表面可带有相同电荷颗粒,使蛋白质颗粒之间相互排斥不易聚集沉淀。

三、蛋白质空间结构破坏而引起变性

1. **变性** 在理化因素作用下,其特定的空间构象被破坏,即有序的空间结构变成无序,从而导致其理化性质改变并失去其生物活性,称为变性。

变性主要为二硫键和非共价键的破坏,不涉及一级结构中氨基酸序列的改变。

变性常见因素:加热、乙醇等有机溶剂、强酸、强碱、重金属离子及生物碱试剂等。

变性后,其溶解度降低,黏度增加,结晶能力消失,生物活性丧失,易被蛋白酶水解,紫外吸收能力增强(280 nm)。

2. **复性** 变性不涉及一级结构,在去除变性因素后,仍可恢复或部分恢复原有的构象和功能,称为复性。但若其空间构象遭到严重破坏,则去除变性因素也不能复性,称为不可逆变性。

3. **凝固作用** 是蛋白质变性后进一步发展的不可逆的结果。蛋白质经强酸、强碱作用发生变性后,仍能溶解于强碱或强酸溶液;若 pH 值调至等电点,则变性蛋白质立即结成絮状的不溶解物,仍可溶于强酸和强碱中;如再加热则絮状物可变成较坚固的凝块,此凝块不易再溶于强酸与强碱中,这种现象称为蛋白质的凝固作用。实际上凝固是蛋白质变性后进一步发展的不可逆的结果。

四、蛋白质的紫外吸收及呈色反应

1. **蛋白质的紫外吸收** 由于蛋白质分子中含有共轭双键的色氨酸、酪氨酸,因此在 280 nm 波长处有特征性吸收峰。在此波长范围内,蛋白质的 OD_{280} 与其浓度成正比关系,可作蛋白质的定量测定。

2. 蛋白质的呈色反应

(1) **茚三酮反应** 蛋白质经水解后产生的氨基酸也可发生茚三酮反应,最大吸收峰在 570 nm 波长处(详见本章第一节)。

(2) **双缩脲反应** 肽键在稀碱溶液中与硫酸铜共热,呈现紫色或红色,称为双缩脲反应。氨基酸不出此反应。当蛋白质溶液中蛋白质的水解不断加强时,氨基酸浓度上升,其双缩脲呈色的深度就逐渐下降,因此双缩脲反应可检测蛋白质水解程度。

第五节 蛋白质的分离、纯化与结构分析

一、透析及超滤法可去除蛋白质溶液中的小分子化合物

1. **透析** 利用透析袋把大分子蛋白质与小分子化合物分开的方法。

2. **超滤法** 应用正压或离心力使蛋白质溶液透过有一定截留分子量的超滤膜,达到浓缩蛋白质溶液的目的。

二、丙酮沉淀、盐析及免疫沉淀是常用的蛋白质沉淀方法

1. **沉淀** 凡是能消除蛋白质表面的水化膜并中和电荷的试剂均可以引起蛋白质的沉淀。常用的试剂



有中性盐、有机溶剂、某些生物碱试剂、大分子酸类及重金属盐类等。

2. 盐析 向蛋白质溶液中加入大量高浓度中性盐,破坏了维持蛋白质溶液稳定的两个因素:水化膜和电荷,导致蛋白质在水溶液中的稳定性因素去除而沉淀,称为盐析。

3. 免疫沉淀 将某一纯化蛋白质免疫动物可获得抗该蛋白的特异抗体,利用特异抗体识别相应的抗原蛋白,并形成抗原抗体复合物的性质,可从蛋白质混合溶液中分离获得抗原蛋白,这就是免疫沉淀法。

三、利用荷电性质可用电泳法将蛋白质分离

1. 电泳 蛋白质在高于或低于等电点的溶液中是带电的,能向电场的正极或负极移动,这种通过蛋白质在电场中泳动而达到分离各种蛋白质的技术,称为电泳。多数蛋白质生理条件下带负电,向正极移动。带电荷少,分子量大的蛋白质泳动慢。

2. 几种重要的蛋白质电泳 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电聚焦电泳、双向凝胶电泳等。

四、应用相分配或亲和原理可将蛋白质进行层析分离

1. 离子交换层析 利用各蛋白质的电荷量及性质不同进行分离。

2. 凝胶过滤 又称分子筛层析,利用各蛋白质分子大小不同分离。

▲注意:凝胶过滤首先过滤下来的是大分子蛋白质

五、利用蛋白质颗粒沉降行为不同可进行超速离心分离

超速离心法 蛋白质在离心场中的行为用沉降系数(S)表示,沉降系数与蛋白质的密度和形状相关。可以用来分离纯化蛋白质也可以用作测定蛋白质的分子量。

六、多肽链中氨基酸序列分析

首先分析已纯化蛋白质的氨基酸残基组成。第二步测定多肽链的氨基末端与羧基末端为何种氨基酸残基,即肽链头、尾的氨基酸残基。当鉴定了头、尾两端的氨基酸残基以后,此二头可作为整条肽链的标志点。第三步是把肽链水解成片段,分别进行分析。胰蛋白酶能水解赖氨酸或精氨酸的羧基所形成的肽键,胰凝乳蛋白酶水解芳香族氨基酸羧基侧的肽键,溴化氰水解甲硫氨酸(蛋氨酸)羧基侧的肽键。然后测定各肽段的氨基酸排列顺序,一般采用Edman降解法。一般需用数种水解法,并分析出各肽段中的氨基酸顺序,然后经过组合排列对比,最终得出完整肽链中氨基酸顺序的结果。

近年来,人们开始通过核酸来推演蛋白质中的氨基酸顺序。先分离编码蛋白质的基因,测定DNA序列,排列出mRNA序列,按照三联密码的原则推演出氨基酸的序列。目前多数蛋白质的氨基酸序列都是通过此方法而获知的。

七、蛋白质空间结构测定

1. 圆二色光谱 测定溶液状态下的蛋白质二级结构含量。

2. X线衍射法和核磁共振技术 是研究蛋白质三维空间结构最准确的方法。

【同步练习】

一、名词解释

1. 蛋白质等电点(isoelectric point, pI)
2. 肽单元(peptide unit)
3. 结构域(domain)
4. 模体(motif)
5. 分子伴侣(Chaperone)
6. 协同效应(cooperative effect)
7. 蛋白质变性(Protein denaturation)、复性(renaturation)
8. 盐析(salt precipitation)
9. 透析(dialysis)

二、选择题

(一) 单选题

1. 已知某血清标本的含氮量为1 g/L,蛋白质的浓度大约是()
A. 5.75 g/L B. 6.25 g/L C. 5.25 g/L D. 6.75 g/L E. 7.25 g/L
2. 含有两个羧基的氨基酸是()
A. 赖氨酸 B. 丝氨酸 C. 苏氨酸 D. 酪氨酸 E. 谷氨酸
3. 蛋白质前体分子合成加工后才出现的氨基酸是()
A. 丝氨酸 B. 赖氨酸 C. 胱氨酸 D. 谷氨酰胺 E. 脯氨酸
4. 属于含硫氨基酸的是()



A. Thr B. Trp C. Pro D. Met E. Phe

5. 关于氨基酸等电点的描述,下列哪项是正确的()
 - A. 一氨基-羧基氨基酸的 pI 值等于 7
 - B. 非极性氨基酸的 pI 值等于 7
 - C. 有极性不带电荷氨基酸的 pI 值都 > 7
 - D. 带电荷氨基酸的 pI 值都 < 7
 - E. 中性氨基酸的 pI 值都 < 7
6. 280 nm 波长处有吸收峰的氨基酸为()
 - A. 谷氨酸
 - B. 丝氨酸
 - C. 精氨酸
 - D. 色氨酸
 - E. 蛋氨酸
7. 关于谷胱甘肽的描述,正确的是()
 - A. 所含的肽键均为 α -肽键
 - B. 其中的谷氨酸 α -羧基是游离的
 - C. 是体内重要的氧化剂
 - D. C 端羧基是主要的功能基团
 - E. 含有胱氨酸
8. 蛋白质三维结构的构象特征主要取决于()
 - A. 氨基酸的组成、顺序和数目
 - B. 氢键、盐键、Van der Waals 力和疏水力等构象维系力
 - C. 温度、pH 和离子强度等环境条件
 - D. 肽链间及肽链内的二硫键
 - E. 各氨基酸间彼此借以相连的肽键
9. 维系蛋白质 α -螺旋结构的主要化学键是()
 - A. 肽键
 - B. 肽键原子间的氢键
 - C. 侧链原子间的氢键
 - D. 盐键
 - E. 疏水键
10. 具有四级结构的蛋白质进行一级结构分析时,其特点是()
 - A. 只有一个游离的氨基和一个羧基
 - B. 有一个以上的游离氨基和羧基
 - C. 没有游离的氨基和羧基
 - D. 一定存在二硫键
 - E. 仍存在 α -螺旋和 β -折叠构象
11. 维持蛋白质一级结构的主要化学键是()
 - A. 氢键
 - B. 疏水作用力
 - C. 二硫键
 - D. 肽键
 - E. 离子键
12. 蛋白质的空间构象主要取决于()
 - A. 肽链中的氢键
 - B. 肽链中的二硫键
 - C. 肽链氨基酸的排列顺序
 - D. 肽链中肽键的构象
 - E. α -螺旋和 β -折叠
13. α -螺旋的特点是()
 - A. 左手螺旋
 - B. 由 4.6 个氨基酸残基构成一圈
 - C. 由肽键维持稳定
 - D. 在脯氨酸残基处螺旋最稳定
 - E. 以上都不对
14. 蛋白质分子构象的结构单元是()
 - A. 氨基酸残基
 - B. 二硫键
 - C. 肽键
 - D. 肽键平面
 - E. 氢键
15. 蛋白质一级结构与功能关系的特点是()
 - A. 一级结构中任何氨基酸的改变,其生物活性消失
 - B. 不同生物来源的同源蛋白质,其一级结构相同
 - C. 一级结构相近的蛋白质,功能一定类似
 - D. 相同氨基酸组成的蛋白质,功能一定相同
 - E. 蛋白质的一级结构决定其功能
16. 关于血红蛋白变性的描述,正确的是()
 - A. 空间构象改变,稳定性降低,生物活性丧失
 - B. 一级结构改变,生物活性丧失
 - C. 空间构象改变,但仍有生物活性
 - D. 肽键断裂,生物活性丧失
 - E. 并不改变一级结构,仍有生物活性
17. 已知血红蛋白(Hb)是有两两相同的四条多肽链组成的,如无其他佐证,下列哪项是本结论的最好证据()



- A. 每分子 Hb 含有 4 个 Fe 原子 B. 1 分子 Hb 能结合 4 个氧分子
C. Hb 可以结晶 D. Hb 分子量为 64 000
E. 每分子 Hb 有 4 个 N-末端缬氨酸残基
18. 下列氨基酸中没有手性碳原子的是下列哪种氨基酸()
A. His B. Gly C. Cys D. Asp E. Glu
19. 下列哪个因素不能使蛋白质变性()
A. 加热震荡 B. 强酸强碱 C. 有机溶剂 D. 重金属盐 E. 低温冷冻
20. 蛋白质变性后会产生的是()
A. 肽键断裂 B. 等电点变为零 C. 空间构象改变
D. 生成大量肽片段 E. 大量氨基酸游离出来
21. 蛋白质溶液的的稳定因素是()
A. 蛋白质分子中的肽键 B. 蛋白质不带电荷
C. 蛋白质分子表面带有水化膜和电荷层 D. 蛋白质分子表面的疏水基团相互排斥
E. 蛋白质溶液的黏度大
22. 含 a, b, c, d 4 种蛋白质的混合液,等电点分别为:5.0, 8.6, 6.8, 9.2 在 pH 值 8.6 的条件下用醋酸纤维素薄膜电泳分离,4 种蛋白质电泳区带自正极开始的排列顺序应为()
A. a, c, b, d B. a, b, c, d C. d, b, c, a D. c, b, a, d E. b, d, c, a
23. 盐析法沉淀蛋白质的原理是()
A. 破坏水化膜,中和电荷 B. 破坏蛋白质的一级结构
C. 调节蛋白质溶液的等电点 D. 降低蛋白质溶液的介电常数
E. 无机盐与蛋白质结合成不溶性的蛋白盐
24. 蛋白质在电场中移动的方向决定于蛋白质的()
A. 三级结构 B. 净电荷 C. 侧链的游离基团 D. 空间结构 E. 二级结构
25. 既可以分离蛋白质,又可以测定其分子量的实验技术是()
A. 醋酸纤维薄膜电泳 B. 超速离心 C. 离子交换层析
D. 透析 E. 亲和层析
26. 蛋白质通过凝胶过滤层析柱时最先被洗脱流出的是()
A. 马肝过氧化氢酶(Mw:247 500) B. 牛胰岛素(Mw:5 700)
C. 血清清蛋白(Mw:68 500) D. 牛 β 乳球蛋白(Mw:35 000)
E. 肌红蛋白(Mw:16 900)
- 27~28 题共用备选答案
A. 二级结构 B. 四级结构 C. 模体 D. 三级结构 E. 结构域
27. 锌指结构是()
28. 无规则卷曲是()
- 29~32 题共用备选答案
A. 蛋白质变性剂 B. 根据蛋白质等电点差异分离蛋白质
C. 分子筛 D. 阴离子交换剂 E. 阳离子交换剂
29. 阳离子交换层析的固定相是()
30. 凝胶过滤是()
31. 等电聚焦电泳是()
32. 阴离子交换层析的固定相是()

(二) 多选题

1. 蛋白质三级结构的形成与稳定主要靠()
A. 肽键 B. 疏水键 C. 盐键 D. 氢键
2. 分子伴侣是()
A. 可维持蛋白质空间构象 B. 在二硫键正确配对中起重要作用



- C. 亚基聚合时发挥重要作用 D. 帮助肽链正确折叠
3. 如果人血红蛋白 β 链上第六位的谷氨酸被缬氨酸取代, 将导致()
- A. 红细胞容易破裂 B. 血红蛋白一级结构改变
- C. 镰刀形红细胞贫血症 D. 血红蛋白结合氧能力显著降低
4. 蛋白质变性时()
- A. 分子量改变 B. 高级结构破坏 C. 一级结构不改变 D. 溶解度降低
5. 下列能使蛋白质沉淀的试剂有()
- A. 丙酮 B. 浓氢氧化钠 C. 硫酸铵 D. 浓盐酸

三、填空题

- 组成蛋白质分子的芳香族氨基酸有____、____和____; 酸性氨基酸有____和____。
- 通常可用紫外分光光度法测定蛋白质的含量, 这是因为蛋白质分子中的____、____两种氨基酸的最大吸收峰在波长 280 nm 附近。
- 蛋白质的二级结构是指____本身折叠或盘曲所形成的局部空间构象, 主要有____和____结构。
- Pauling 等人提出的蛋白质 α -螺旋模型, 每圈包含____个氨基酸残基, 高度为____。每个氨基酸残基沿轴上升____, 并沿轴旋转____度。
- 蛋白质空间构象的正确形成, 除____为决定因素外, 还需一类称为____蛋白质参与。
- 血红蛋白与氧的结合呈现____效应, 是通过 Hb 的____现象实现的。
- 蛋白质颗粒表面有许多____, 可吸引水分子, 使颗粒表面形成一层____, 可防止蛋白质从溶液中____。
- 蛋白质为两性电解质, 大多数在酸性溶液中带____电荷, 在碱性溶液中带____电荷。当蛋白质的净电荷为____时, 此时溶液的 pH 值称为____。
- 蛋白质的最大吸收波长是____nm, 核酸的最大吸收波长是____nm。
- 蛋白质颗粒在电场中移动, 移动的速率主要取决于____和____, 这种分离蛋白质的方法称为____。
- 用凝胶过滤法分离蛋白质, 分子量较小的蛋白质在柱中滞留的时间较____, 因此最先流出凝胶柱的蛋白质, 其分子量最____。
- ____能水解赖氨酸和精氨酸的羧基所形成的肽键, ____水解芳香族氨基酸羧基所形成的肽键。

四、问答题

- 简述 α -螺旋和 β -折叠的主要特点。
Please briefly describe the main features of α -helix and β -pleated sheet.
- 维持蛋白质溶液稳定的因素是什么?
What are the factors to maintain the stability of the protein solution?
- 用于沉淀蛋白质的方法有哪些?
What are the methods for precipitating protein?
- 有一蛋白质混合液含有 3 种蛋白质, 它们的相对分子质量和等电点如下:
There is a protein mixture containing 3 proteins, relative molecular mass and isoelectric point are as follows:

蛋白质	相对分子质量	等电点
A	20 000	8.5
B	21 000	5.9
C	5 000	6.0

请设计一个实验来分离纯化这种蛋白质。

Please design a experiment to separation and purification of the 3 proteins.



【参考答案】

一、名词解释

1. 蛋白质等电点(pI) 在某一 pH 值的溶液中,蛋白质解离成正、负离子的趋势和程度相等,即成为兼性离子,蛋白质所带的正电荷和负电荷相等,净电荷为零,此溶液的 pH 值称为该蛋白质的等电点。
2. 肽单元 参与肽键的 6 个原子 $C_{\alpha 1}$, C, O, H, N, $C_{\alpha 2}$ 位于同一平面, $C_{\alpha 1}$ 和 $C_{\alpha 2}$ 在平面上所处的位置为反式构型,此同一平面上的 6 个原子构成了所谓的肽单元。
3. 结构域 分子量大的蛋白质三级结构常可分割成 1 个和数个球状或纤维状的区域,折叠得较为紧密,各行其功能。
4. 模体 2 个或 3 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。常见的二级结构有 α -螺旋-环- α -螺旋结构、锌指结构。
5. 分子伴侣 通过提供一个保护环境从而加速蛋白质折叠成天然构象或形成四级结构。
6. 协同效应 一个寡聚体蛋白质的一个亚基与其配体结合后,能影响此寡聚体中另一亚基与配体的结合能力。如果是促进作用则称为正协同效应;反之则称为负协同效应。
7. 蛋白质变性、复性 在理化因素作用下,其特定的空间构象被破坏,即有序的空间结构变成无序的空间结构,从而导致其理化性质改变并失去其生物活性,称为变性。复性:变性不涉及一级结构,在去除变性因素后,仍可恢复或部分恢复原有的构象和功能,称为复性。
8. 盐析 向蛋白质溶液中加入大量中性盐,破坏了维持蛋白质溶液的两个稳定因素:水化膜和电荷,导致蛋白质在水溶液中的稳定性因素去除而沉淀,称为盐析。
9. 透析 利用透析袋把大分子蛋白质与小分子化合物分开的方法。透析方法是利用仅能通透小分子化合物的半透膜,使大分子蛋白质和小分子化合物分离,达到浓缩蛋白质或去除盐类小分子的目的。

二、选择题

(一) 单选题

1. B 2. E 3. C 4. D 5. E 6. D 7. B 8. A 9. B 10. B 11. D 12. C
 13. E 14. D 15. E 16. A 17. E 18. B 19. E 20. C 21. C 22. A 23. A
 24. B 25. B 26. A 27. C 28. A 29. E 30. C 31. B 32. D

(二) 多选题

1. BCD 2. BD 3. ABCD 4. BCD 5. ABCD

三、填空题

1. 苯丙氨酸 酪氨酸 色氨酸 天冬氨酸 谷氨酸 2. 色氨酸 酪氨酸 3. 肽链主链 α -螺旋 β -折叠
 4. 3.6 0.54 nm 0.15 nm 100 5. 一级结构 分子伴侣 6. 协同 变构 7. 电荷 水化膜 沉淀
 8. 正 负 0 等电点 9. 280 260 10. 分子大小 带电量 电泳 11. 长 大 12. 胰蛋白酶 胰凝乳蛋白酶

四、问答题

1. 简述 α -螺旋和 β -折叠的主要特点。

答: α -螺旋的主要特点:①多肽链的主链围绕中心轴呈有规律的螺旋式上升,螺旋的走向为顺时针方向,即右手螺旋;②氨基酸侧链伸向螺旋外侧;③每个肽键的 N-H 和第 4 个肽键的羰基氧形成氢键,氢键方向与螺旋长轴平行;④每 3.6 个氨基酸残基螺旋上升一圈,螺距为 0.54 nm。

β -折叠的主要特点:①多肽链充分伸展,每个肽单元以 C_{α} 为旋转点,依次折叠成锯齿结构;②氨基酸侧链交替地位于锯齿状结构上下方;③两条以上肽链或一条肽链内的若干肽段平行排列,通过链间羰基氧和亚氨基氢形成氢键,从而稳固 β -折叠结构;④两条肽链走向可相同也可相反。

2. 维持蛋白质溶液稳定的因素是什么?

答:维持蛋白质溶液稳定的因素如下:

(1) 水化膜:蛋白质颗粒表面大多为亲水基团,可吸引水分子,使颗粒表面形成一层水化膜,从而阻断蛋白质颗粒的相互聚集,防止溶液中蛋白质的沉淀析出。

(2) 颗粒表面电荷:在 $pH \neq pI$ 的溶液中,蛋白质带有同种电荷。同种电荷相互排斥,阻止蛋白质颗粒相互聚

