



★ 卫生部规划教材同步精讲精练 ★

生物化学与分子生物学


Biochemistry and Molecular Biology

第 8 版

主 编 黄 睿 宋军营

根据卫生部“十二五”规划教材编写
供全国高等学校基础、临床、预防、口腔医学类专业使用

- ▶ 紧跟教材变化趋势
- ▶ 学科权威专家编写
- ▶ 精准把握知识重点
- ▶ 复习考试事半功倍

 第四军医大学出版社



★ 卫生部规划教材同步精讲精练 ★

11. 2105, 出版由学大用早四第, 天四一, 编主营军宋, 套书(平活上十个以学讲精上

出版新电以精讲便解精主文

出版说明

生物化学与分子生物学

Biochemistry and Molecular Biology

第8版

主 编 黄 睿 宋军营
副主编 刘学芳 邹玉玺 武慧敏 马利刚

第四军医大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

生物化学与分子生物学/黄睿,宋军营主编.—西安:第四军医大学出版社,2015.11

卫生部规划教材同步精讲精练

ISBN 978 - 7 - 5662 - 0881 - 1

I. ①生… II. ①黄… ②宋… 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276186号

shengwuhuaxue yu fenzishengwuxue

生物化学与分子生物学

出版人:富明 责任编辑:朱德强 王雯

出版发行:第四军医大学出版社

地址:西安市长乐西路17号 邮编:710032

电话:029-84776765 传真:029-84776764

网址: <http://press.fmmu.edu.cn>

制版:天一文化

印刷:郑州泰宏印刷有限公司

版次:2015年11月第1版 2015年11月第1次印刷

开本:850×1168 1/16 印张:19 字数:638千字

书号:ISBN 978 - 7 - 5662 - 0881 - 1/Q·82

定价:38.00元

版权所有 侵权必究

购买本社图书,凡有缺、倒、脱页者,本社负责调换

出版说明

卫生部规划教材(第八轮)已在全国推广使用,为帮助医学院校的学生和临床医师全面系统地学习和掌握本套教材内容,提高理论水平和应试能力,我们组织了有丰富一线教学经验和深厚学术功底教师,在《卫生部规划教材(第七轮)同步精讲精练》丛书的基础上编写了本套《卫生部规划教材(第八轮)同步精讲精练》丛书。丛书的编写主要依据卫生部规划教材(第八轮),同时还参考了普通高等教育国家级规划教材等多本较权威的教科书(高教版等),尽可能多地汲取新理论、新技术、新成果。

本套丛书主要有以下几方面特点:

1. 内容设置科学:紧扣教学大纲的要求,密切联系教学过程中的重点、难点。书中明确给出了教学要点,并设专题对重点、难点进行剖析,帮助读者加强对概念的理解,深入了解其内在联系,以及在考试和今后的临床科研工作中正确地应用。具体体现在:

(1) 系统性:始终围绕教材的每一章节,环环相扣,系统编排,方便读者的阅读,加深对教材的认识和理解。

(2) 广泛性:覆盖教材内容的95%以上,力求全面满足读者自学和考试复习的需要。

(3) 新颖性:以教材为蓝本,在内容上增加了国内外的新近研究资料,便于读者进一步学习。

2. 题型编排合理:以研究生入学考试、本科生专业考试的题型为标准,设计了选择题(A型题、B型题、X型题)、填空题、名词解释、简答题、论述题、病例分析题等类型题目,使读者在解题的过程中了解各学科的特点和命题规律,加深对知识点的理解,提高解题的准确性,强化应试能力和技巧。

3. 强化实用性:为便于读者自学,对部分题目给出了“解析”,分析做题过程中的常见问题,帮助读者了解如何选、怎样选、考哪些概念、解题的小技巧等,培养分析能力,建立正确的思维方法,提高解决实际问题的能力。

4. 重视信息性:为了开拓读者的视野,我们认真遴选了近些年国内一些知名医学院校的研究生入学考试试题,希望对广大读者有所帮助。未来的应试更重视能力的考核,所以没有给出所谓的标准答案,目的是不想束缚读者的思路,让读者开动脑筋查阅文献,跟踪前沿发展态势,提升自身的竞争优势。

本套丛书是在校学生考试和研究生入学考试的理想参考书,也可作为同等学力人员在职攻读硕士学位的参考书,同时对各学科的试题库建设也会大有裨益。

前 言

为了使广大读者能高效、透彻地把握生物化学与分子生物学的知识体系,深入理解和掌握其基本理论,我们依据“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》第8版的内容,结合多年教学经验,参考研究生入学考试的要求,编写了这本读物。

本书共分26章,其顺序与第8版教材一致。每章分为四部分:一为教学要点,分为掌握、熟悉和了解三个层次。二为重点难点剖析,根据教学要点及教材系统讲解本章知识。三为同步综合练习,其题型包括选择题(A型题、B型题、X型题)、名词解释、填空题、简答题、论述题。最后一部分为参考答案及解析,列有同步综合练习的答案,并对重难题目给出解析。另附全真模拟试题3套及往年部分高校硕士研究生入学考题选登8套。

本书主要的读者对象是医学院校的本科生和临床医生,可作为本科生考试、研究生入学考试、国家执业医师考试的复习参考书,也可供其他院校相关专业师生教学或自学参考。

由于编者水平有限,虽力求严谨,但疏漏与不妥之处在所难免,敬请读者批评指正。

编 者

目 录

绪 论 1

教学要点 / 1
重点难点剖析 / 1

第一篇 生物分子结构与功能

第一章 蛋白质的结构与功能 5

教学要点 / 5
重点难点剖析 / 5
同步综合练习 / 11
参考答案及解析 / 16

第二章 核酸的结构与功能 22

教学要点 / 22
重点难点剖析 / 22
同步综合练习 / 27
参考答案及解析 / 32

第三章 酶 38

教学要点 / 38
重点难点剖析 / 38
同步综合练习 / 43
参考答案及解析 / 48

第四章 聚糖的结构与功能 53

教学要点 / 53
重点难点剖析 / 53
同步综合练习 / 55
参考答案及解析 / 57

第五章 维生素与无机盐 59

教学要点 / 59
重点难点剖析 / 59
同步综合练习 / 66
参考答案及解析 / 70

第二篇 物质代谢及其调节

第六章 糖代谢 75

教学要点 / 75
重点难点剖析 / 75
同步综合练习 / 81

参考答案及解析 / 85

第七章 脂质代谢 90

教学要点 / 90
重点难点剖析 / 90
同步综合练习 / 95
参考答案及解析 / 99

第八章 生物氧化 105

教学要点 / 105
重点难点剖析 / 105
同步综合练习 / 108
参考答案及解析 / 110

第九章 氨基酸代谢 113

教学要点 / 113
重点难点剖析 / 113
同步综合练习 / 117
参考答案及解析 / 122

第十章 核苷酸代谢 127

教学要点 / 127
重点难点剖析 / 127
同步综合练习 / 129
参考答案及解析 / 132

第十一章 非营养物质代谢 135

教学要点 / 135
重点难点剖析 / 135
同步综合练习 / 138
参考答案及解析 / 140

第十二章 物质代谢的整合与调节 143

教学要点 / 143
重点难点剖析 / 143
同步综合练习 / 146
参考答案及解析 / 149

第三篇 遗传信息的传递

第十三章 真核基因与基因组 155

教学要点 / 155
重点难点剖析 / 155
同步综合练习 / 157

	参考答案及解析 / 158
第十四章	DNA 的生物合成 160
	教学要点 / 160
	重点难点剖析 / 160
	同步综合练习 / 164
	参考答案及解析 / 166
第十五章	DNA 损伤与修复 169
	教学要点 / 169
	重点难点剖析 / 169
	同步综合练习 / 171
	参考答案及解析 / 173
第十六章	RNA 的生物合成 175
	教学要点 / 175
	重点难点剖析 / 175
	同步综合练习 / 178
	参考答案及解析 / 181
第十七章	蛋白质的生物合成 184
	教学要点 / 184
	重点难点剖析 / 184
	同步综合练习 / 189
	参考答案及解析 / 191
第十八章	基因表达调控 196
	教学要点 / 196
	重点难点剖析 / 196
	同步综合练习 / 201
	参考答案及解析 / 205
第十九章	细胞信号转导的分子机制 207
	教学要点 / 207
	重点难点剖析 / 207
	同步综合练习 / 211
	参考答案及解析 / 214

第四篇 分子医学专题

第二十章	常用分子生物学技术的原理及其应用 219
	教学要点 / 219
	重点难点剖析 / 219
	同步综合练习 / 222
	参考答案及解析 / 224
第二十一章	DNA 重组及重组 DNA 技术 226

	教学要点 / 226
	重点难点剖析 / 226
	同步综合练习 / 230
	参考答案及解析 / 233
第二十二章	基因结构与功能分析技术 235
	教学要点 / 235
	重点难点剖析 / 235
	同步综合练习 / 239
	参考答案及解析 / 240
第二十三章	癌基因、肿瘤抑制基因与生长因子 242
	教学要点 / 242
	重点难点剖析 / 242
	同步综合练习 / 245
	参考答案及解析 / 247
第二十四章	疾病相关基因的鉴定与基因功能研究 249
	教学要点 / 249
	重点难点剖析 / 249
	同步综合练习 / 251
	参考答案及解析 / 252
第二十五章	基因诊断和基因治疗 254
	教学要点 / 254
	重点难点剖析 / 254
	同步综合练习 / 256
	参考答案及解析 / 257
第二十六章	组学与医学 259
	教学要点 / 259
	重点难点剖析 / 259
	同步综合练习 / 263
	参考答案及解析 / 264

	全真模拟试题(一) 266
	全真模拟试题(二) 270
	全真模拟试题(三) 274
	往年部分高校硕士研究生入学考题选登 278

绪论

【教/学/要/点】

1. 掌握 生物化学与分子生物学的概念,生物化学研究的对象。
2. 熟悉 当代生物化学研究的主要内容。
3. 了解 生物化学发展简史、理论体系的基本结构。

【重/点/难/点/剖/析】

一、生物化学与分子生物学的概念

生物化学是一门用化学的理论和方法研究生物体的化学组成与化学反应的科学,从分子水平探讨生命现象的本质。分子生物学是指人们研究核酸、蛋白质等所有生物大分子的结构、功能及基因结构、表达与调控的内容。分子生物学是生物化学的重要组成部分,被视为生物化学的发展和延续。

二、生物化学与分子生物学发展简史

1. 叙述生物化学阶段

18世纪中叶至19世纪末是生物化学的初期阶段,主要研究生生物体的化学组成,并逐渐形成了一门独立的学科。

2. 动态生物化学阶段

20世纪初开始,生物化学进入了蓬勃发展期,开始认识体内各种分子的代谢变化。

3. 分子生物学时期

20世纪后半叶以来,分子生物学开始崛起。其间,代谢研究继续发展,核酸的空间结构、基因表达及其调控的研究成为焦点,基因组学及其他组学的研究迅速崛起。其中20世纪末的人类基因组计划是人类生命科学历史中又一伟大创举。

4. 我国科学家对生物化学发展的贡献

我国对生物化学的发展做出了重大贡献。特别是近年来,我国科学家对人类基因组序列草图的完成做出重大的贡献。

三、当代生物化学与分子生物学研究的主要内容

1. 生物分子的结构与功能
2. 物质代谢及其调节
3. 基因信息传递及其调控

四、生物化学与分子生物学和医学

1. 生物化学已成为生物学各学科之间、医学各学科之间相互联系的语言
2. 生物化学为推动医学各学科发展作出了重要贡献

生物化学是医学的一门基础学科,与医学有着紧密的联系;它的理论和技术已渗透至基础医学和临床医学的各个领域,不断推动着医学的发展。

生物分子 结构与功能

一、蛋白质的分子组成

(一)蛋白质的元素组成

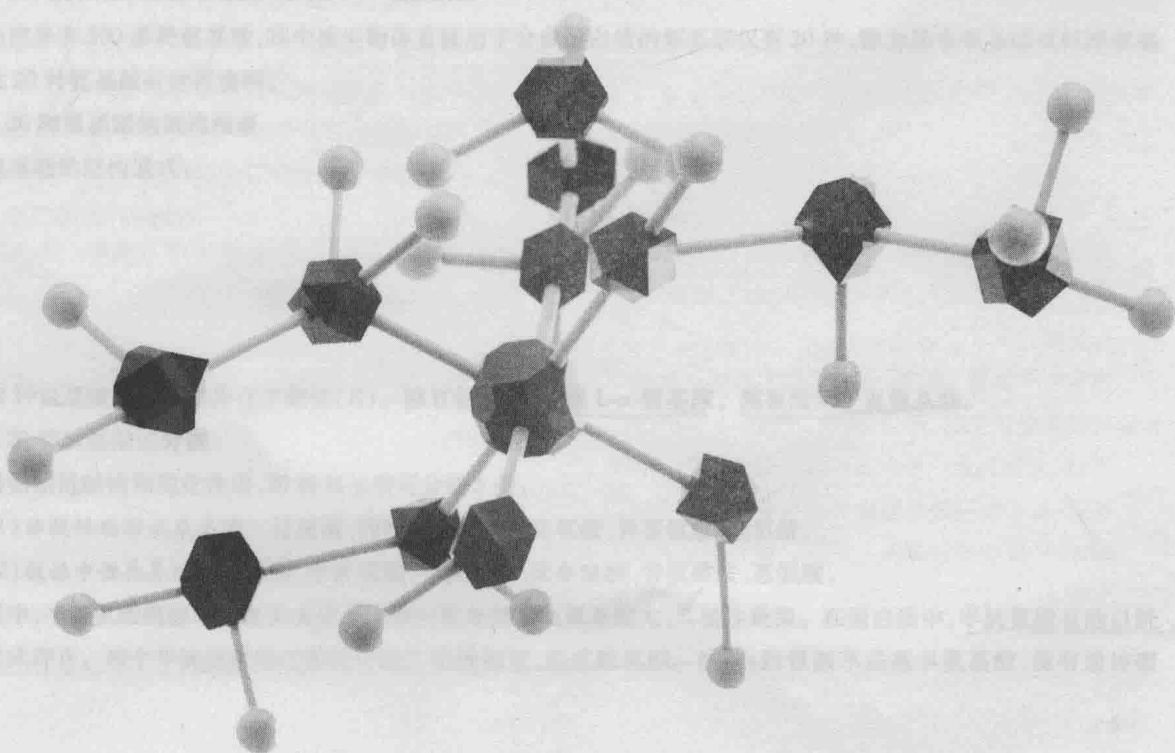
蛋白质是由多种氨基酸分子脱水缩合而成的大分子化合物。其元素组成除含有碳、氢、氧、氮外，还含有硫、磷、铁、铜、锌、碘、硒等。其中碳、氢、氧、氮是蛋白质的主要元素，其质量分数分别为50%、7%、16%和16%。

(二)蛋白质的基本组成单位——氨基酸

氨基酸是蛋白质的基本组成单位。在自然界中，氨基酸有20多种，其中19种是必需氨基酸，1种是非必需氨基酸。氨基酸的分子结构通式如下：

1. 氨基酸的分子结构通式

氨基酸的分子结构通式如下：



氨基酸的分子结构通式如下：
$$\begin{matrix} \text{R} \\ | \\ \text{H}_2\text{N}-\text{C}-\text{COOH} \\ | \\ \text{H} \end{matrix}$$

其中，R为侧链，不同的氨基酸具有不同的侧链。氨基酸在溶液中可以以两性离子形式存在，即同时带有正电荷和负电荷。氨基酸的等电点是其在溶液中呈电中性的pH值。氨基酸的溶解性、稳定性、反应活性等性质与其侧链的结构密切相关。

第一章 蛋白质的结构与功能

【教/学/要/点】

1. **掌握** 蛋白质的定义及生物学重要性,蛋白质的元素组成特点,组成蛋白质的 20 种氨基酸的结构特点、分类、理化性质,肽键和肽的概念,肽链的结构,蛋白质各级结构的概念及维持其稳定的作用力,蛋白质的理化性质(两性解离、沉淀、变性、凝固及呈色反应等)。
2. **熟悉** 蛋白质的分类,超二级结构、模体和结构域的概念,蛋白质结构与功能的关系,分离、纯化蛋白质的一般原理和方法。
3. **了解** 生物活性肽的概念、谷胱甘肽的结构和功能,胰岛素分子的结构、肽平面的特点,氨基酸序列分析及蛋白质空间结构测定方法。

【重/点/难/点/剖/析】

一、蛋白质的分子组成

(一) 蛋白质的元素组成

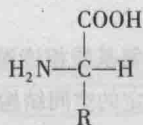
蛋白质是生物体中含量非常丰富的生物大分子,各种蛋白质的元素组成相似。C、H、O、N 是蛋白质的主要组成元素和共有元素;各种蛋白质的含氮量接近,平均为 16%,在生物体内,蛋白质是主要的含氮物质,可利用氮的含量推算蛋白质的大致含量。

(二) 蛋白质的基本组成单位——氨基酸

自然界有 300 多种氨基酸,其中被生物体直接用于合成蛋白质的氨基酸仅有 20 种,称为基本氨基酸或标准氨基酸。此 20 种氨基酸有遗传密码。

1. 20 种氨基酸的结构特点

氨基酸的结构通式:



20 种氨基酸的结构差异在于侧链(R)。除甘氨酸外,均属 L- α -氨基酸。脯氨酸属于亚氨基酸。

2. 20 种氨基酸的分类

根据侧链结构和理化性质,20 种氨基酸可分成 5 类:

(1) 非极性脂肪族氨基酸 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸。

(2) 极性中性氨基酸 丝氨酸、半胱氨酸、甲硫氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、苏氨酸。

其中,半胱氨酸侧链的巯基失去质子的倾向较此类其他氨基酸大,其极性最强。在蛋白质中,半胱氨酸有的以胱氨酸形式存在。两个半胱氨酸通过脱氢后以二硫键相连,形成胱氨酸。注意:胱氨酸不是基本氨基酸,没有遗传密

码,但是可存在于蛋白质中。

半胱氨酸、甲硫氨酸是20种基本氨基酸中的两个含硫氨基酸。

(3)芳香族氨基酸 苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸。

芳香族氨基酸含有苯环。色氨酸、酪氨酸有共轭双键,在波长280nm附近有最大吸收峰。

(4)酸性氨基酸 天冬氨酸、谷氨酸。

R基含有羧基。在生理条件下此类氨基酸分子带负电荷。

(5)碱性氨基酸 赖氨酸、精氨酸、组氨酸。

R基团含有可与质子结合的碱性基团:赖氨酸——氨基,精氨酸——胍基,组氨酸——咪唑基。在生理条件下此类氨基酸分子带正电荷。

3. 氨基酸的理化性质

(1)两性解离及等电点 氨基酸既有氨基又有羧基。氨基是碱性基团,可以结合质子而带正电荷: $-\text{NH}_2 + \text{H}^+ \rightarrow -\text{NH}_3^+$;羧基是酸性基团,可以释放质子而带负电荷: $-\text{COOH} \rightarrow -\text{COO}^- + \text{H}^+$;故氨基酸是两性电解质,具有两性解离的特性。

在某一pH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称为氨基酸的等电点(pI)。

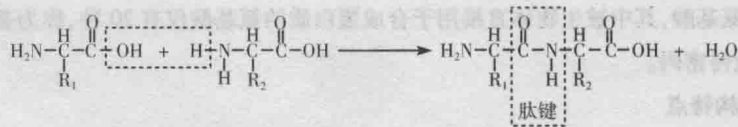
(2)紫外吸收性质 色氨酸、酪氨酸在280nm波长附近有最大吸收峰。由于大多数蛋白质中含有这两种氨基酸,故通过测定蛋白质溶液对280nm紫外光的吸收值,能快速简便分析溶液中的蛋白质含量。

(3)茚三酮反应 氨基酸的呈色反应是利用氨基酸的结构或某些基团的特性,使其与一些试剂发生反应而生成有色物质。茚三酮反应是其中之一,最终生成蓝紫色化合物。此蓝紫色化合物的颜色深度可作为氨基酸定量分析的依据。

(三)肽

1. 肽键

蛋白质由氨基酸构成,氨基酸之间通过肽键相连。肽键具有部分双键的性质,不能自由旋转。参与肽键的6个原子 $\text{C}\alpha_1, \text{C}, \text{O}, \text{N}, \text{H}, \text{C}\alpha_2$ 位于同一平面,此同一平面上的6个原子构成肽单元。肽单元的6个原子处于同一个平面,称为肽平面。



2. 肽

肽是氨基酸通过肽键连接的化合物。10个以内氨基酸相连而成的肽为寡肽,大于10个则称多肽。蛋白质是由许多(通常是50个以上)氨基酸残基组成、折叠成特定的空间结构、并具有特定生物学功能的多肽。

3. 肽链

多肽化学结构为链状,所以也称多肽链。肽链中的氨基酸分子因参加肽键的形成而不完整,称为氨基酸残基。肽链的结构包括主链、侧链、两端,并且具有方向性。

主链(骨架):由 $-\text{N}-\text{C}\alpha-\text{CO}-$ 序列重复排列而成。

侧链:氨基酸残基的侧链R基构成肽链的侧链。

两端:一端含有游离的 $\alpha-\text{NH}_2$,称为氨基端或N-端;另一端含有游离的 $\alpha-\text{COOH}$,称为羧基端或C-端。

方向:N-端被定为肽链的头,C-端为尾,肽链的方向是N-端 \rightarrow C-端。

4. 生物活性肽

(1) 谷胱甘肽 谷胱甘肽是由谷氨酸、半胱氨酸和甘氨酸组成的三肽,分子中半胱氨酸的巯基是主要功能基团。巯基具有还原性和嗜核特性,可以使蛋白质或酶处于活性状态,而且可以保护机体免遭嗜电子毒物损害。

(2) 多肽类激素及神经肽

二、蛋白质的分子结构

蛋白质的分子结构分为一、二、三、四级4个层次,一级结构是蛋白质空间结构和生物学功能的基础,二、三、四级结构统称为蛋白质的空间构象或高级结构。

(一) 蛋白质的一级结构

1. 概念

蛋白质的二级结构指蛋白质分子从N-端至C-端所有氨基酸的排列顺序,并且包括二硫键的位置,称为蛋白质的一级结构。

2. 化学键或作用力

肽键是蛋白质一级结构中的主要化学键,有的蛋白质还有二硫键。

(二) 蛋白质的二级结构

1. 概念

蛋白质的二级结构指蛋白质分子中某一段肽链的局部空间构象,也就是该段肽链主链骨架原子的相对空间位置,不涉及侧链构象。多肽链主链形成何种二级结构,与肽链中的氨基酸残基的结构和性质密切相关。

2. 化学键或作用力

蛋白质主链上的羰基氧和亚氨基氢之间形成的氢键($C=O \cdots H-N$),是稳定二级结构的主要作用力。

3. 类型

蛋白质的二级结构包括 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角以及无规卷曲等,其中 α -螺旋、 β -折叠是主要形式。

(1) α -螺旋 多肽链的主链围绕中心轴做有规律的螺旋式上升,螺旋的走向为顺时针方向(右手螺旋);每3.6个氨基酸旋转一周,螺距0.54nm;侧链R伸向螺旋外侧;氢键是稳定 α -螺旋结构的主要作用力。

(2) β -折叠 多肽链充分伸展,每个肽单元以 C_{α} 为转折点折叠成锯齿状;肽段可以同向平行或反向平行;R侧链交替地位于锯齿状结构的上下方;相邻 β 折叠肽段之间形成的氢键是稳定 β 折叠的主要作用力。

(3) β -转角 常发生于肽链进行 180° 回折的转角上,主要存在于蛋白质分子的表面; β -转角由4个氨基酸残基构成,第2个常为脯氨酸;第1个氨基酸残基的羰基氧与第4氨基酸残基的亚氨基氢之间形成氢键。

(4) 无规卷曲 没有确定规律性的肽链结构。

4. 超二级结构和模体

2个或2个以上具有二级结构的肽段在空间上相互接近,形成一个有规则的二级结构组合,称为超二级结构,目前已知的组合形式有 $\alpha\alpha$ 、 $\beta\alpha\beta$ 、 $\beta\beta$ 三种。

模体是蛋白质分子中具有特定空间构象和特定功能的结构成分。一个模体有其特征性的氨基酸序列,并发挥特殊的功能。如锌指结构、亮氨酸拉链等。

(三) 蛋白质的三级结构

1. 概念

蛋白质的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。三级结构是在二级结构基础上形成的进一步卷曲或折叠的状态。

2. 化学键或作用力

维持蛋白质三级结构的化学键主要包括疏水键、氢键、离子键和范德华力等非共价键(次级键)。一般认为疏水

键是维持蛋白质三级结构最主要的化学键。

3. 结构域

分子量较大的蛋白质常可折叠成多个结构较紧密的区域,并各行其功能。结构域是在三级结构层次上的独立功能区。

(四) 蛋白质的四级结构

1. 条件

并非所有的蛋白质都有四级结构。仅由1条肽链构成的蛋白质最终只能形成三级结构,没有四级结构。能有四级结构的蛋白质需要满足两个条件:①蛋白质由2条或2条以上肽链构成。②肽链之间无共价键相连。

在蛋白质的四级结构中,每条肽链都有完整的三级结构,称为亚基。亚基可以相同,也可以不同。每种蛋白质的亚基数目也多少不等。

2. 概念

蛋白质的四级结构指蛋白质分子中各亚基之间的空间排布及亚基接触部位的布局 and 相互作用。

3. 化学键或作用力

非共价键(氢键和离子键)。

(五) 蛋白质的分类

1. 根据蛋白质组成成分

分为单纯蛋白质和结合蛋白质。

2. 根据形状

分为纤维状蛋白质和球状蛋白质。

3. 蛋白质家族、超家族、同源蛋白质

三、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

(1)一级结构是空间结构的基础,但不是决定空间结构的唯一因素 蛋白质折叠成何种构象主要取决于多肽链氨基酸的排列顺序,除一级结构为决定因素外还需要一类称为分子伴侣的蛋白质参与。

(2)蛋白质一级结构相似,其空间结构及功能也相似。

(3)氨基酸序列由碱基序列决定 通过比较一些广泛存在于生物界不同种系间的蛋白质的一级结构,可以帮助了解物种进化间的关系。

(4)蛋白质的氨基酸序列改变会影响其功能 由蛋白质一级结构发生变异而引起的疾病称为分子病,其病因是基因突变。镰刀状细胞贫血病就是典型的分子病之一。

(二) 空间结构决定生物学功能

由一条多肽链构成的蛋白质,具有三级结构就有生物活性,三级结构一旦被破坏,生物活性就丧失。具有四级结构的蛋白质,单独的亚基一般没有生物学功能,当它们形成具有完整四级结构的蛋白质时,才表现出生物学活性。

1. 蛋白质在不改变一级结构的前提下,变构活性发生改变

效应剂通过改变蛋白质的空间构象从而导致蛋白质生物学活性随之变化即别构效应(或变构效应)。如血红蛋白的亚基与 O_2 (效应剂)结合后可引起另一亚基空间构象改变,使之与 O_2 的亲合力增加、更易和 O_2 结合,因此血红蛋白的氧离曲线呈“S”形。

2. 蛋白质构象改变可引起疾病——蛋白质构象病

在生物体内合成蛋白质发生折叠错误,尽管其一级结构不变,但蛋白质的构象发生改变,可影响其功能,严重时可导致疾病发生,此类疾病称为蛋白质构象病。如疯牛病、阿尔茨海默病。

四、蛋白质的理化性质

(一) 紫外吸收特征

蛋白质在紫外光区有两个吸收峰,一个出现在 200 ~ 220nm 处,一个在 280nm 波长处,可用于蛋白质定性和定量分析。

(二) 两性解离与等电点

蛋白质分子中除两端的氨基和羧基可以解离外,侧链上还有许多基团可解离,这些基团是否解离,取决于溶液的 pH。当蛋白质溶液处于某一 pH 值时,蛋白质解离成正、负离子的趋势相等,即成为兼性离子,净电荷为零,此时溶液的 pH 值称为蛋白质的等电点。

蛋白质的等电点与其所含的氨基酸的种类和数目有关:含酸性氨基酸较多的酸性蛋白,等电点偏酸;含碱性氨基酸较多的碱性蛋白,等电点偏碱。

体内各种蛋白质的等电点大多数接近于 pH 5.0,所以在人体体液 pH 7.4 的环境下,多数蛋白质带负电荷。溶液的 pH 离等电点越远,蛋白质带净电荷越多。

(三) 呈色反应

蛋白质的呈色反应是指利用蛋白质的结构或某些基团的特性,使其与一些试剂发生反应而生成有色物质。实际上是其氨基酸的一些基团以及肽键等与一定的试剂所产生的反应。蛋白质的颜色反应很多,用这些反应可作为蛋白质或氨基酸定性、定量分析的基础。

1. 茚三酮反应

茚三酮反应是蛋白质、氨基酸共有的呈色反应。凡具有氨基、能释放出氨的化合物几乎都有此反应。

2. 双缩脲反应

肽键在稀碱溶液中与硫酸铜共热(注意不是蛋白质与双缩脲反应),呈现紫色或红色,称为双缩脲反应,这是蛋白质分子中肽键的反应。肽键越多,颜色越深。氨基酸无此反应。可用于蛋白质定性、定量,测定蛋白质的水解程度。水解越完全则颜色越浅。

(四) 胶体性质

蛋白质分子的直径已经达到胶体颗粒大小的范围(1 ~ 100nm),蛋白质水溶液是一种比较稳定的胶体,有两个稳定因素:①蛋白质表面带有同性电荷:当 $\text{pH} \neq \text{pI}$ 时,同一种蛋白质颗粒表面皆带有同性电荷。同性电荷相互排斥,使蛋白质颗粒不致聚集而沉淀。②水化膜(层):由于蛋白质颗粒表面有许多亲水的极性基团,它们可以结合大量水分子,使蛋白质颗粒表面形成较厚的水化层。水化层的存在使蛋白质颗粒相互隔开,阻止其聚集而沉淀。

(五) 变性、复性、凝固

1. 变性

在一些理化因素作用下,蛋白质的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和生物学活性丧失。

(1) 导致蛋白质变性的因素 物理因素:高温、高压、紫外线、超声波、剧烈震荡等;化学因素:强酸、强碱、有机溶剂、生物碱、尿素、去污剂、重金属等。

(2) 变性的本质 破坏二硫键和非共价键,空间构象被破坏,不改变蛋白质一级结构。

(3) 变性的特征 生物活性丧失;理化性质改变——溶解度降低,易沉淀;结晶性破坏;黏度增加;不对称性增加;易被蛋白酶分解。

2. 复性

变性程度轻,如果除去变性因素,蛋白质仍能恢复或部分恢复其原来的构象及功能,这一现象称蛋白质复性。

3. 凝固

蛋白质经强酸、强碱作用发生变性后,仍能溶解于强酸或强碱溶液中,若将 pH 调至等电点,则变性蛋白质立即结成絮状的不溶解物,此絮状物仍可溶解于强酸或强碱溶液中。如再加热则絮状物可变成比较坚固的凝块,此凝块不易再溶解于强酸或强碱中,此现象称为蛋白质的凝固作用。

五、蛋白质的分离、纯化

利用蛋白质特殊的理化性质,采取透析、盐析、电泳、层析及超速离心等不损伤蛋白质空间构象的物理方法来分离、纯化蛋白质。

(一) 透析、超滤

原理:蛋白质是大分子,不能透过半透膜。

透析是利用透析袋把大分子蛋白质与小分子化合物分开的方法。超滤则是利用压力或离心力,强行使水和其他小分子溶质通过滤膜,而蛋白质被截留在膜上。(透析袋和滤膜都是半透膜。)

(二) 沉淀

1. 有机溶剂沉淀

向蛋白质溶液中加入极性有机溶剂(能与水互溶,如甲醇、乙醇、丙酮),能使蛋白质在水中的溶解度降低。低温下进行可减少蛋白质变性。

2. 盐析

(1) 定义 在蛋白质溶液中加入大量中性盐(硫酸铵、硫酸钠、氯化钠等),会破坏胶体稳定性而使其沉淀,称为盐析。不同蛋白质因颗粒大小、表面所带电荷不同,盐析时所需的盐浓度、pH 不同。

(2) 原理 高浓度中性盐破坏蛋白质胶体稳定性的两个因素(破坏水化膜、中和电荷层)。

(3) 优点 蛋白质不变性。

(4) 变性与沉淀的关系 变性的蛋白质有时可表现为沉淀,亦可表现为溶解状态;蛋白质沉淀有时可以是变性,亦可不是变性,这取决于沉淀的方法和条件以及对蛋白质的空间构象有无破坏。沉淀的蛋白质不一定变性,如盐析;变性的蛋白质不一定沉淀,如加热可使蛋白质变性沉淀。但加热使蛋白质变性沉淀与溶液的 pH 有关,在等电点时最易沉淀,而偏酸或偏碱时,蛋白质虽加热变性却不沉淀。

3. 免疫沉淀

利用特异性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沉淀分离获得抗原蛋白。

(三) 电泳

当溶液的 $\text{pH} \neq \text{pI}$ 时蛋白质带电荷,在电场中向电性相反的方向移动。常用的有 SDS-PAGE 电泳、等电聚焦电泳和双向凝胶电泳。

(四) 层析

层析同样是利用各种蛋白质的颗粒大小、带电荷情况和亲和力不同来分离纯化蛋白质。如凝胶过滤层析是根据蛋白质分子颗粒大小不同、离子交换层析主要是依据蛋白质带电荷情况各异从而将蛋白质进行分离提纯。

(五) 沉降

蛋白质分子在溶液中受到强大的离心力作用时,如果蛋白质的密度大于溶液的密度,蛋白质分子就会沉降。直至其浮力与离心所产生的力相等,此时沉降停止。

沉降系数(S):单位力场中的沉降速度。沉降速度与分子量及分子形状有关。对于大多数球状蛋白质,S 与分子量大致上成正比关系。

超速离心利用蛋白质在离心场中沉降系数不同而达到分离目的。