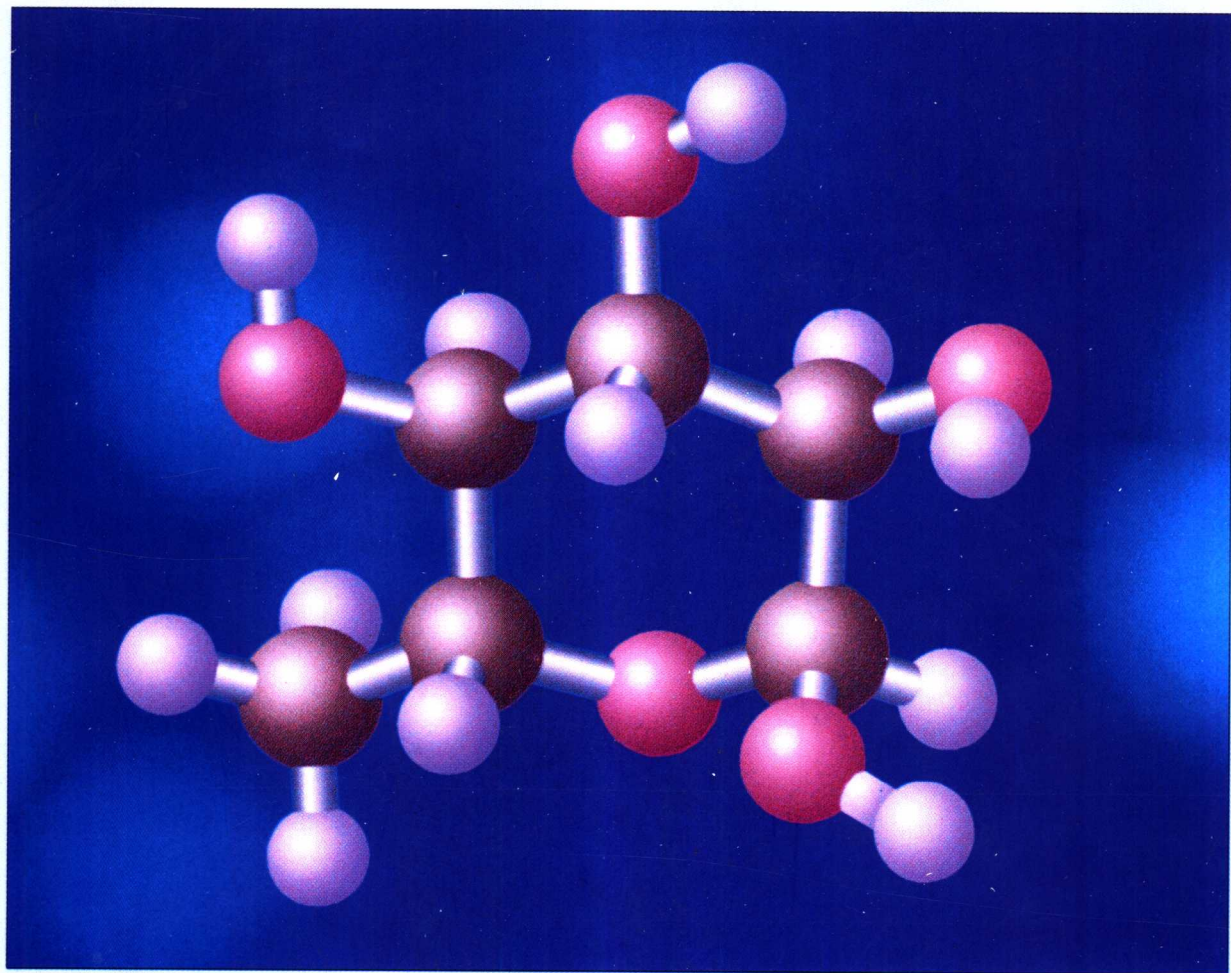




生物化学解题指导与测验

张楚富



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

图书在版编目(CIP)数据

生物化学解题指导与测验 / 张楚富. —北京:高等教育出版社, 2004. 6

ISBN 7-04-014591-X

I. 生... II. 张... III. 生物化学-高等学校-教学参考资料 IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 031246 号

策划编辑 吴雪梅 责任编辑 田 军 封面设计 张 楠 责任绘图 吴文信
版式设计 胡志萍 责任校对 杨雪莲 责任印制 韩 刚

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100011
总 机 010-82028899

购书热线 010-64054588
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>

经 销 新华书店北京发行所
印 刷 高等教育出版社印刷厂

开 本 850 × 1168 1/16
印 张 16.75
字 数 420 000

版 次 2004 年 6 月第 1 版
印 次 2004 年 6 月第 1 次印刷
定 价 21.70 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

前 言

“生物化学”是生命科学各专业学生的一门最基础的课程。相比较而言,生物化学涉及的面宽,学习的难度较大。为了帮助学生加深对生物化学原理的理解,开阔学生思路,提高学生分析及解决问题的能力,特编写了这本《生物化学原理解题指导与测验》。本书大部分内容曾作为武汉大学生命科学学院各专业学生学习“生物化学”的辅助教材,使用过多届。在这次出版之前,编者根据手头积累的资料,参阅了国内外一些主要的生物化学教材,重新进行了加工、整理,并补充了许多内容。

本书的“解题指导”部分分为 20 章,大体上与高等教育出版社出版的《生物化学原理》(张楚富主编)各章相对应。每章分为两大部分:第一部分是各章基本内容的简要提示;第二部分是根据各章的内容提出问题,进行分析解答。例题基本覆盖生物化学的基本内容,并有所扩充。列举的例题力求做到具有代表性、启发性和综合性,力求既能使学生巩固所学的知识,又能使学生做到举一反三。

本书的“测验”部分是在武汉大学生命科学学院历届本科生和研究生考试题的基础上加工整理而成的。“测验”共有 13 份试卷。除第 13 份试卷外,每份试卷分为判断题、填空题、选择题及综合题四种类型。“测验”同样力求覆盖普通生物化学的基本内容,做到重点突出、难易结合。

本书可作为综合性大学和师范院校生命科学学院以及医药和农业院校的本科生和研究生学习“生物化学”的辅助教材,亦可供有关教师教学参考。

本书的编写得到国家理科基地创建名牌课程项目和武汉大学教改项目“生物化学课程体系改革”的资助。本书在编写过程中,得到林清华教授的大力支持与帮助。本书初稿完成后,北京师范大学生命科学学院向本琼老师提出了宝贵的修改意见。高等教育出版社吴雪梅、田军等老师也为本书提出了很好的意见,并为本书的出版做了大量的工作。在此,作者一并表示衷心感谢。

尽管作出了极大的努力,但由于编者水平有限,对许多问题的提出、理解难免有错误之处,恳请读者批评和指正。

张楚富

2004 年 1 月

于武昌珞珈山

目 录

第一章	导论	1
第二章	氨基酸和蛋白质的一级结构	4
第三章	蛋白质的空间结构和功能	22
第四章	酶	30
第五章	核酸	52
第六章	糖类	65
第七章	脂质和膜	70
第八章	生物能学	74
第九章	糖酵解和磷酸戊糖途径	86
第十章	柠檬酸循环	97
第十一章	电子传递和氧化磷酸化	107
第十二章	糖原代谢和糖异生作用	115
第十三章	光合作用	123
第十四章	脂质代谢	131
第十五章	氨基酸代谢	146
第十六章	核苷酸代谢	160
第十七章	DNA 的复制、修复和重组	170
第十八章	RNA 的合成与加工	180
第十九章	蛋白质的合成	188
第二十章	基因表达调节	198
第二十一章	自我测验	203
试卷 1		203
试卷 2		205
试卷 3		207
试卷 4		210
试卷 5		214
试卷 6		218
试卷 7		222
试卷 8		225
试卷 9		228
试卷 10		233
试卷 11		237

试卷 12	241
试卷 13	245
参考答案	247

第一章 导 论

内容提要

生物化学是研究生物分子和生物体内化学反应的科学,是运用化学的原理在分子水平上解释生物学的科学。

生命系统具有复杂的结构和高度的组织形式,生命能准确地进行自我复制,能活跃地与外界环境进行物质交换和能量交换,因而生命系统是一个开放的系统。

生物分子是含碳的化合物。构成生命的分子是分级的。形成生物分子的主要前体是水、二氧化碳以及三种无机氮化合物(NH_4^+ 、 NO_3^- 和 N_2),生物能将这些无机小分子同化或转化成体内的代谢物。构成生物大分子的前体是单糖、氨基酸、核苷酸、甘油和脂肪酸等。蛋白质、DNA、RNA 以及多糖和脂质是生物大分子,它们可以装配成超分子复合物。酶复合物、核糖体、染色体和细胞骨架都是超分子装配体的例子。

细胞器是生物分子等级中层次较高的一级。细胞器只在真核生物中发现,主要包括细胞核、线粒体、叶绿体、内质网、高尔基体和液泡等。细胞器由膜包围着。膜主要由脂质和蛋白质组成,是细胞和细胞器的边界。

细胞是生命的单位,是唯一能展现生命特征的最小实体。细胞分为真核生物细胞和原核生物细胞两种类型。细胞是由膜包裹着的小团,内含悬浮于水的众多不同的物质,上面所提到生物分子都位于细胞内。

生物大分子和它们的构件具有方向性。许多生物分子是信息分子。生物大分子具有复杂的空间结构,非共价作用力维持生物大分子结构的稳定。

结构互补性是生物分子相互识别的手段。生物分子的相互识别,包括酶和它的底物、酶和它的专一性抑制剂、激素和受体、抗原和抗体以及精子和卵子,都是由弱的作用力介导的。这些弱的作用力使得生物只能在一个窄小的环境范围内(基本恒定的温度和压力以及生理 pH 下)展现它们的生命活动。

水起着生命的介质和连续统一体的作用。水分子本身也参与了许多生物化学过程。水在生物体内的存在影响着生物分子之间的相互关系,包括物质的溶解性以及与水分子间的行为关系。

由水分子解离产生的 H^+ 和 OH^- 是生物化学反应的基础。生物分子具有众多的可作为酸或碱的功能基团(例如氨基和羧基)。这些分子影响液态(水)介质的 pH,它们的结构和反应性也会受到周围 pH 的影响。

根据广义的酸和碱的概念,凡是能供出质子的物质即是酸,凡是能接受质子的物质即为碱。由于强酸在水中完全解离,因此当把它少量加入到纯水中时,会使水的 pH 发生极大的变化。但是弱酸在水中只能部分离子化,只引起 pH 发生很小的变化。所以弱酸(例如碳酸和磷酸)及其盐类是生物体内良好的缓冲剂,对于保护生物及生物分子的结构、生物分子的代谢反应是不可缺少的。

解题指导

1. 请解释为什么生物分子都是含碳的分子?

解答:碳原子的外层电子能与其他原子贡献的电子通过共用电子对形成四个共价键,从而表现出形成共价键的多面性。碳原子通常与 H、O、N 以及碳原子本身形成一个、两个、三个或四个共价键。碳的共价键有两个特别值得注意的性质:一是碳与自身形成共价键的能力,另一个是被键合的碳原子周围的四个共价键的四面体性质。这种性质对于碳形成线性、有分支或环状化合物的多样性是极为重要的,这种多样性由于 N、O 和 H 原子的参与而进一步扩大。由于 N、O 和 H 的参与,这些含碳化合物的结构和性质对于构成生物分子、尤其是生物大分子是必不可少的。

2. 从生物分子的分级来说,蛋白质、核糖体和线粒体三者哪个级别最低,哪个级别最高?

解答:蛋白质只是由它的单体氨基酸借肽键连接而成的大分子,核糖体是由几种 RNA 和多种蛋白质装配而成的超大分子聚合体,线粒体是由膜包围着的,内含许多无机离子、小分子代谢物、生物大分子和超分子聚合体。因此,在给出的生物分子的分级中,蛋白质的级别最低,线粒体的级别最高。

3. ① 蛋白质、DNA、RNA 和直链淀粉都是有方向性的分子? ② 它们都是信息分子吗?

解答:① 它们都是有方向性(或有极性)的生物大分子。因为构成它们的单体(氨基酸、核苷酸和葡萄糖)都是有极性的。氨基酸的一端是氨基,另一端是羧基;核苷酸的一端是 5'-磷酸基,另一端是 3'-OH;葡萄糖的一端是 C-4 醇羟基,另一端是 C-1 半缩醛羟基。蛋白质多肽链是由相邻氨基酸的 α -羧基和 α -氨基借肽键连接而成的,因此它的一端也是 α -氨基,另一端也是 α -羧基,故蛋白质是有方向性的分子。DNA 和 RNA 的多核苷酸链是由核苷酸经 3',5'-磷酸二酯键连接而成的,它的一端是 5'-磷酸基,另一端是 3'-OH,故 DNA 和 RNA 也是有方向性的分子。直链淀粉的糖链是由葡萄糖借 α -(1 $\rightarrow$ 4)糖苷键连接而成,它的一端是 C-4 醇羟基,另一端是 C-1 半缩醛羟基,因而直链淀粉也是有方向性的分子。

② 蛋白质、DNA 和 RNA 是生物信息分子,因为构成它们的单体有多种,而且这些单体是以非重复的方式排列,不出现过分简单的重复。当把它们的组成单位以文字表达出来时,可以组成有意义的句子。而直链淀粉只是以单一的单糖单位组成,构不成有意义的句子,故不含信息。

4. 请指出分子互补性存在的意义以及互补性的基础。

解答:生物分子的互补性是分子相互识别和作用的基础。如果一种分子的结构与另一种分子的结构是互补的,例如激素和它的受体,那么两者之间的相互作用就能准确地实现。结构互补性是生物分子识别的基本要素,为认识生物系统的功能特征提供了思路。酶和它的底物、抗原和它的抗体、精子和卵子的相互识别与作用都涉及到分子间的结构互补性。

由结构互补性所发生的分子识别过程是由非共价键介导的。超分子复合物的装配是由于被装配的分子之间存在众多有效的弱的相互作用力。酶与它的专一性底物的相互作用是由两者间的非共价作用力介导的,这种相互作用所释放的力用于降低酶催化反应所需的活化能。

5. 为什么离子化合物和不带电荷的极性分子能溶于水?

解答:溶解度取决于溶质分子与溶剂分子之间的相对亲和力以及溶质分子间的相对亲和力。由于水具有高极性,因而使得它对于极性物质是一种极好的溶剂。离子化合物,例如 NaCl,能溶解于水,因为偶极水分子与 Na^+ 和 Cl^- 离子具有很强的静电相互作用,导致在这些离子的周围形

成一层水化膜,削弱了 NaCl 相反离子间的吸引。不带电荷的极性分子的键偶极基与离子物质相同的理由使得它们在水中是可溶的。当这些极性物质具有羟基、羰基和氨基时,它们的溶解度可以提高,因为这些基团能与水分子形成氢键。

6. 中极两性分子是怎样形成类似生物膜的结构?

解答:含有极性基团和非极性基团的化合物称为中极两性分子。这类化合物既有亲水性又有疏水性。例如脂肪酸的钠盐就是这样一种分子。它们有一个长长的非极性的碳氢尾链和一个强极性的羧基头部基团。它们在水溶剂中的行为反映了这类化合物的极性和非极性两种性质的结合。离子化的羧基很容易水化,而长长的碳氢链是强不溶性的。因此,当中极两性分子与水溶剂相互作用时,众多的这类分子便形成了一种有序的结构形式(胶束或微团, micelle):疏水的碳氢链避开水的倾向使其彼此聚集而位于分子内部,极性的头部基团与水溶剂相互作用伸向外侧。中极两性分子也能形成另一种有序的结构形式即双分子层结构,与生物膜的结构相似。因此,中极两性化合物的这种特殊的性质是生物膜构成的基础。

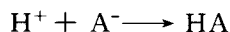
7. 请叙述熵对疏水效应的贡献。

解答:环绕非极性溶质的水分子的有序化产生了不利于非极性溶质水化的自由能,因此,非极性溶质趋向于从水相中排出。当非极性溶质彼此相遇而聚集时,它们所占据的空间的表面积小于它们各自单独占有空间的表面积之和。因此,非极性溶质的聚集能减少所占空间的表面积,随之导致非极性溶质表面的水的有序化程度总量降低。换句话说,非极性溶质相互吸引、避开水的倾向是水分子有序度的减少(或者说混乱度增加)所产生的熵增所推动的。熵是一个系统有序程度的一种量度。任何系统的有序度的减少或者混乱度的增高都会伴随熵的增加。

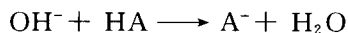
8. ① 请解释为什么 1 mol HCl 的水溶液的 pH 是 0? ② 为什么弱酸及其共轭碱具有缓冲能力?

解答:① 强酸(例如盐酸)解离常数 $\gg 1$,能快速地把它们的质子完全转移给水分子,而且能稳定的以 H_3O^+ 的形式存在于溶液中。由于它在水中完全离子化,因此当把它少量加入到纯水中时,会使水的 pH 发生极大的变化。方程: $\text{pH} = \text{pK} + \log([\text{A}^-]/[\text{HA}])$ 不能解释水本身的解离,不能计算强酸或强碱溶液的 pH,所以 1 mol HCl 的水溶液的 pH 是 0。

② 弱酸(例如醋酸)在水中只能部分离子化,它所释放出来的 H^+ 是可以被滴定的。当弱酸(HA)和它的共轭碱(A^-)几乎相等时,即在每个滴定中点附近,溶液的 pH 对于碱或者酸的加入是不敏感的。这样的溶液叫做缓冲液(buffer)。典型的缓冲液是由弱酸和它的共轭碱组成。当向弱酸和它的共轭碱组成的缓冲系统中加入酸(H^+)时,会发生下面的反应:



同样地,加入碱(OH^-)时,将发生下面的反应:



因此,无论向缓冲系统加入酸或者碱时,溶液的 pH 都将保持相对恒定。

第二章 氨基酸和蛋白质的一级结构

内容提要

蛋白质含有 20 种标准氨基酸,这些氨基酸在它们的 α 碳原子上分别含有一个氨基、一个羧基和一个侧链基团(或称 R 基团)。除甘氨酸外,所有其他氨基酸的 α 碳原子都是一个不对称的碳原子,即手性碳原子。蛋白质中的所有氨基酸都是 L-型的。

20 种标准氨基酸可以根据它们侧链的结构分为含脂肪烃基的氨基酸、含芳香基的氨基酸、含硫的(或含羟基的、或含酰胺基的)氨基酸。如果根据它们的侧链极性(以及在生理 pH 下的解离),可分为侧链非极性氨基酸、侧链不带电荷的极性氨基酸和侧链解离带正电荷或负电荷的氨基酸。氨基酸侧链的性质对于决定蛋白质的性质、结构和功能来说是很重要的。

氨基酸的 α -氨基和 α -羧基都是可解离的基团,它们的解离取决于介质的 pH。在生理 pH 下, α -氨基解离带正电荷($-\text{NH}_3^+$), α -羧基解离带负电荷($-\text{COO}^-$);侧链可解离基团的解离取决于它们的 pK 值和介质的 pH。氨基酸的解离性质是建立分离和分析氨基酸的方法的基础,它们的解离也影响蛋白质的性质、结构和功能。分离分析氨基酸的主要方法是离子交换法以及电泳法。

蛋白质是由氨基酸借肽键连接而成的多聚物。在蛋白质多肽链中,肽键是唯一的共价键,由一个氨基酸的 α -羧基和相邻氨基酸的 α -氨基脱水缩合而成。在多肽链中,氨基酸残基的顺序称为蛋白质的一级结构。

蛋白质是生物大分子,虽然它们具有与氨基酸相似的解离性质,但这一性质却比氨基酸复杂。蛋白质的许多重要的性质,例如,溶解性、极性、带电性质、分子大小以及配体亲和性等,是构成分离分析它们的方法的基础。离子交换法、凝胶过滤法、亲和层析法、超速离心法以及各种电泳法是常用的方法。

蛋白质一级结构的测定通常采用这样的程序,即纯净样品的末端分析、氨基酸组成分析、专一性酶或化学试剂进行部分水解、Edman 降解法测定肽碎片的氨基酸残基的顺序以及片段重叠。末端分析常用丹磺酰氯法和二硝基氟苯法;肽链的部分水解一般用胰蛋白酶法、胰凝乳蛋白酶法以及溴化氰法。

氨基酸顺序的分析能揭示不同来源的蛋白质彼此之间的进化关系,亦为分子病的诊断提供可靠的依据。

解题指导

1. 写出并标明 D-和 L-丝氨酸的立体化学结构,指出在每种情况下 α -碳原子的 R 或 S 位置。

解答:构型命名的 RS 系统有时也被用来描述氨基酸和其他分子的手性中心。RS 系统是基

于同手性碳原子结合的 4 个基团优先顺序的配置。一旦设定,基团的优先权被用来确定该分子的构型。优先权的顺序用序号 1、2、3 和 4 标示,并按照下面的规则配置基团:

① 对于直接同手性碳连接的原子来说,具有最低相对原子质量的原子被设定为最小优先权(No. 4)。② 如果有两个相同的原子连接到手性碳上,按下一个被结合原子的相对原子质量决定它的优先权。例如, $-\text{CH}_3$ 基的优先权小于 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 基,因为 $-\text{CH}_2\text{Br}$ 基 Br 的相对原子质量大于 H 的。③ 如果一个原子通过双键或三键被结合,对每一个正式的键来说,该原子都计算一次。于是,具有一个双键结合氧的 $-\text{CHO}$ 比 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 有更大的优先权。对大多数普通的基团来说,优先权从最低到最高的顺序是: $-\text{H}$ 、 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{C}_6\text{H}_5$ 、 $-\text{CH}_2\text{OH}$ 、 $-\text{CHO}$ 、 $-\text{COOR}$ 、 $-\text{NH}_2$ 、 $-\text{NHR}$ 、 $-\text{OH}$ 、 $-\text{OR}$ 、 $-\text{SH}$ 。

根据上面的规则,像转动汽车轮子那样转动手性分子,使其最小优先权的基团(No. 4)远离你(躲藏在手性碳的后面),其他 3 个基团沿着转动着的轮子边缘以最大优先权到最小优先权的顺序排列(1,2,3)并转动。如果这种运动(像转动着的圆柱)的方向是顺时针的,那么构型是 R(R 代表拉丁文 *rectus*, 右手之意),如果是逆时针方向运动,其构型是 S(S 代表拉丁文 *sinister*, 左手之意)。图 2-1 论证了 L-丝氨酸的 RS 系统的 S 构型的排列。(L-半胱氨酸有相反的构型 R)。由于不是所有的蛋白质氨基酸都有同样的 RS 标示,所以,DL 系统在生物化学中更常使用。

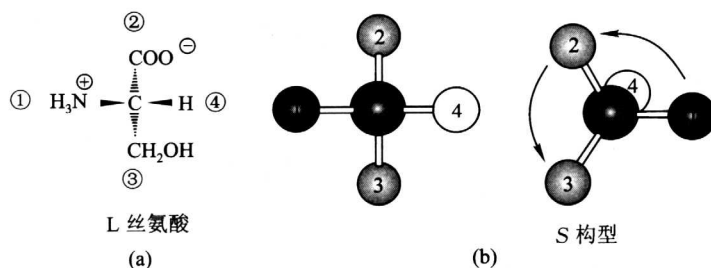


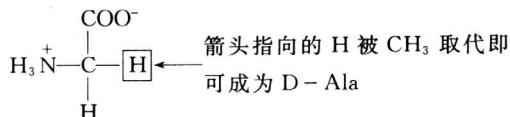
图 2-1 RS 系统的构型设置

2. 苯丙氨酸在水中的溶解度很低,而丝氨酸却易溶于水。为什么?

解答:苯丙氨酸的芳香环的侧链是非极性的,它被水的溶剂化作用伴随着熵减,这是它不利于溶于水的原因。相反,丝氨酸的侧链含有一个极性的羟基,有利于它与水分子形成氢键而促进它溶于水。

3. 甘氨酸与 C_α 连接的两个氢原子是前手性的,是因为这两个 H 原子中的任何一个被另一个基团取代, C_α 就会变成手性碳原子。写出甘氨酸的 Fischer 投影式,并指出哪一个 H 原子被甲基取代成为 D-丙氨酸。

解答:



4. 许多蛋白质在 280 nm 处具有很强的紫外吸收,但白明胶例外,为什么?

解答:许多蛋白质因含有具芳香环侧链的氨基酸残基,如色氨酸和苯丙氨酸,而使其具有紫

外吸收能力。白明胶系胶原蛋白的部分降解产物,胶原蛋白具有特殊的氨基酸组成,含芳香环的氨基酸比例太低,因而白明胶溶液在 280 nm 处不具吸收能力。

5. 根据天冬酰胺的结构指出它的氢键供体和氢键受体。

解答:氢键供体是弱酸性的 D—H 基,氢键受体是具孤对电子的原子 A。在生物系统中,D 和 A 两者通常都是高电负性的 N 和 O 以及 S 原子。在天冬酰胺中,氢键供体是 α -氨基(H)、酰胺氢;氢键的受体是 α -羧基(O)、酰胺羰基(O)。

6. 图 2-2 的滴定曲线描述了谷氨酸的解离情况。请回答下列问题:① 指出三个 pK'_a 的位置。② 指出 Glu^- 和 Glu^{2-} 各一半时的 pH。③ 指出谷氨酸总是带净正电荷的 pH 范围。④ 指出 Glu^+ 和 Glu^- 能作为一种缓冲液的共轭酸碱对的 pH 范围。

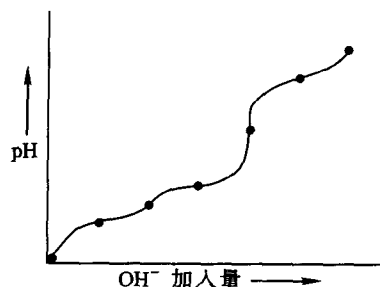


图 2-2 谷氨酸的酸碱滴定曲线

答:① 三个 pK'_a 的位置如图 2-3 所示

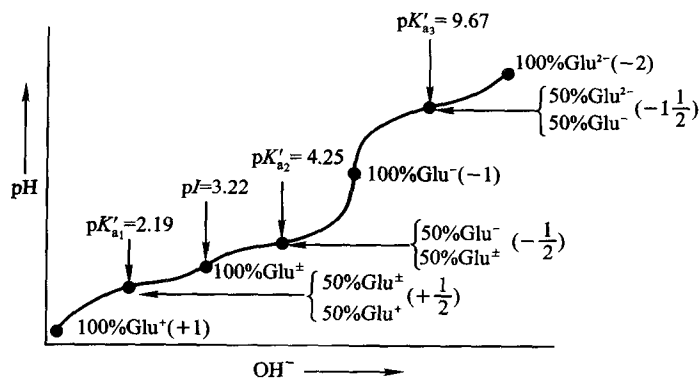


图 2-3 谷氨酸的酸碱滴定曲线显示出它的三个 pK'_a 的位置以及它在不同 pH 下的解离状态

- ② Glu^- 和 Glu^{2-} 各一半的 pH 为 9.67。③ 当 pH 小于 3.22 时,谷氨酸总是带净正电荷。④ Glu^+ 和 Glu^- 作为一种缓冲液的共轭酸碱对的 pH 范围是 4.25 左右。

7. pI 和 pH 之间的差别代表了一种氨基酸在该 pH 的净电荷程度。为什么这种差别是以 $pI - pH$,而不是以 $pH - pI$ 来计算?

解答:当一种氨基酸的净电荷用 $q = pI - pH$ 表达时,若 q 为正值,则该氨基酸带正电荷;若 q 为负值,则该氨基酸带负电荷。 q 值的正与负和该氨基酸所带电荷的种类是一致的。如果采用 $q = pH - pI$ 来表达,则会出现相反的结果,即 q 为负值时,氨基酸带正电荷; q 为正值时,氨基酸带负电荷。这种表达相矛盾,也不科学。

8. 哪些氨基酸可以在① pH4、② pH6 和③ pH7 具有有效的缓冲能力?

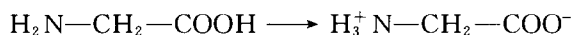
解答:缓冲剂能阻止由于酸或碱的加入而引起的 $[\text{H}^+]$ 的变化。缓冲作用是以弱酸或弱碱离子显示的。弱酸及其盐类的混合物能呈现出很好的缓冲作用。氨基酸是弱电解质,如同其他

弱电解质一样,不是在它的等电点而在它的 pK'_a 发挥其最大的缓冲作用。

因此:① 在 pH4 具有有效缓冲作用的氨基酸是天冬氨酸和谷氨酸,因为它们的 β -羧基和 γ -羧基的 pK'_a 分别为 3.86 和 4.25。② 在 pH6 具有有效缓冲作用的氨基酸是组氨酸,因为组氨酸侧链咪唑基的 pK'_a 为 6.0。③ 在 pH7 处没有任何氨基酸表现出有效的缓冲能力。

9. 为什么甘氨酸处在等电点时是以偶极离子的形式存在,而不是以完全不带电荷的形式存在? 处在等电点时,其完全不带电荷的形式是多少?

解答:因为羧基的酸性($pK'_{a1}=2.36$)比质子化的氨基的酸性强得多($pK'_{a2}=9.60$)。因此,羧基将倾向于供出质子使氨基质子化,并且其平衡常数是 10^7 。这表明平衡非常强烈地偏向右边:



因甘氨酸的等电点是 5.97,首先我们需要测定甘氨酸处在等电点时 $[-COO^-]/[-COOH]$ 和 $[H_3^+N-]/[-NH_2]$ 的比例。如果我们单独处理每个功能基团,并利用 Henderson - Hasselbalch 方程,就会得到:

$$pH = pK'_{a1} + \lg \frac{[\text{碱}]}{[\text{酸}]}, \quad 5.97 = 2.34 + \lg \frac{[R-COO^-]}{[R-COOH]}$$

于是:
$$\frac{[R-COO^-]}{[R-COOH]} = 10^{5.97-2.34} = 4.27 \times 10^3$$

又:
$$pH = pK'_{a2} + \lg \frac{[\text{碱}]}{[\text{酸}]}, \quad 5.97 = 9.6 + \lg \frac{[R-NH_2]}{[R-N^+H_3]}$$

于是:
$$\frac{[R-N^+H_3]}{[R-NH_2]} = 10^{9.6-5.97} = 4.27 \times 10^3$$

两者合并起来考虑时,两性离子与完全不带电荷的比例是:

$$\begin{aligned} \frac{[H_3^+N-CH_2-COO^-]}{[H_2N-CH_2-COOH]} &= \frac{[H_3^+N-R]}{[H_2N-R]} \cdot \frac{[R-COO^-]}{[R-COOH]} \\ &= (4.27 \times 10^3) \times (4.27 \times 10^3) = 1.82 \times 10^7 \approx 10^7 \end{aligned}$$

因此,甘氨酸处在等电点时,大约 $1/10^7$ 以不带电荷的形式存在的。

10. 计算① 谷氨酸、② 精氨酸和③ 丙氨酸的等电点。

解答:每个氨基酸可解离基团的 pK_a 在生化书中可以查到(也可根据酸碱滴定曲线确定),可以运用它们的 pK_a 进行计算。净电荷为零的 pH(即等电点, pI) 位于两个相应基团 pK_a 之间的中点,在这两个 pK_a 点上,它们的净电荷分别是 +0.5 和 -0.5。因此:

① 根据谷氨酸的解离曲线,其 pI 应该是它的 α -羧基和它的侧链羧基两者的 pK_a 值和的算术平均值,即 $pI = (2.1 + 4.07)/2 = 3.08$; ② 精氨酸 pI 应该是它的 α -氨基和它的侧链胍基两者的 pK_a 值和的算术平均值,即 $pI = (8.99 + 12.48)/2 = 10.7$; ③ 丙氨酸 pI 应该是它的 α -氨基和它的 α -羧基两者的 pK_a 值和的算术平均值,即 $pI = (2.35 + 9.87)/2 = 6.11$ 。

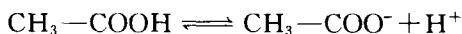
11. 甘氨酸是乙酸甲基上的氢被氨基取代生成的,但是,甘氨酸羧基的 pK'_a 比乙酸羧基 pK'_a 低。为什么?

解答:甘氨酸羧基的 pK'_a 为 2.34,乙酸羧基的 pK'_a 是 4.7。当甘氨酸溶液的 pH 低于 6.0 时,氨基以正电荷的形式存在。这种正电荷通过静电相互作用使带负电荷的羧基离子稳定。这

就意味着甘氨酸的羧基将比较容易失去它的质子,因而它是一种更强的酸(具有更低的 pK'_a)。

12. 计算 0.1 mol/L 的乙酸的 pH(注:羧基的 $pK'_a=4.7$)。

解答:虽然乙酸是一种弱酸,但它比水的酸性强。不考虑水形成的质子,那么乙酸的解离可表示如下:



设

$$[\text{H}^+] = [\text{CH}_3\text{COO}^-] = x$$

由于乙酸是一种弱酸,未解离部分的浓度仍接近初浓度,因此可以假定 $[\text{CH}_3\text{COOH}] = 0.1 \text{ mol/L}$ 。

这样,

$$K_a = \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-][\text{H}^+]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]} = \frac{x^2}{0.1}$$

$$x^2 = 0.1 \times K_a = 0.1 \times 10^{-4.7}$$

$$x = 0.0014 \text{ mol/L}$$

因此,

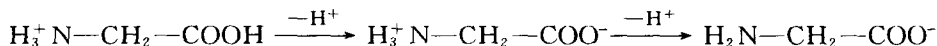
$$\text{pH} = 2.85$$

13. 甘氨酸常用来配制缓冲液。用 0.1 mol/L 的甘氨酸盐酸盐($\text{H}_3^+\text{NCH}_2\text{COOHCl}$)和甘氨酸($\text{H}_3^+\text{NCH}_2\text{COO}^-$)制备 1 L、pH 3.2、0.1 mol/L 的甘氨酸缓冲液,这两种溶液应各取多少毫升?

解答:甘氨酸盐酸盐电离顺序如下所示:

$$\text{p}K'_{a1} = 2.34$$

$$\text{p}K'_{a2} = 9.60$$



当溶液由等物质的量浓度的酸和共轭碱构成时,那么,溶液的 pH 与某个可电离基团的 pK'_a 值相等。对于接近该 pK'_a 值的 pH 来说,可通过 Henderson-Hasselbalch 方程确定所需要的浓度。

$$\text{pH} = \text{p}K'_{a1} + \lg \frac{[\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-]}{[\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}]}$$

$$3.2 = 2.34 + \lg \{ [\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-] / [\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}] \}$$

$$[\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-] / [\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}] = 10^{3.2-2.34} = 7.24$$

设溶液中的 $[\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-]$ 为 x , 则 $[\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}] = 0.1 - x$

$$x / (0.1 - x) = 7.24, \quad x = 0.724 / 8.24 = 0.0879$$

那么: $[\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COO}^-] = x = 0.0879 \text{ mol/L}$,

$$[\text{H}_3^+\text{N}-\text{CH}_2-\text{COOH}] = 0.1 - x = 0.0121 \text{ mol/L}$$

只要 121 mL 0.1 mol/L 的甘氨酸盐酸盐和 879 mL 的 0.1 mol/L 的甘氨酸混合即可得到 1000 mL、pH 3.2 的甘氨酸缓冲液。

14. 一种氨基酸的每个可电离基团都能以两种状态之一存在:带电状态或电中性状态。功能基团的带电状况由它的 pK'_a 和溶液的 pH 之间的相互关系决定。这种关系可由 Henderson-Hasselbalch 方程描述。

① 组氨酸有三个可解离的功能基团。写出它的三个解离基团的有关平衡方程,并指出每步电离的相应的平衡常数(pK'_a)、组氨酸每个解离状态的结构以及在每种解离状态下它的净电荷

情况。② 写出组氨酸在 pH 1、4、8 和 12 时占优势的解离结构。③ 在 pH 1、4、8 和 12 时,组氨酸的净电荷是怎样的? 对每个 pH 来说,当电泳时,组氨酸是向阳极还是向阴极迁移?

解答:① 解答如图 2-4 所示。②③ 如果 pH 被调到某个可电离基团的 pK'_a 值以下,该基团占优势的形式是质子化状态(酸形式);如果 pH 被调到该电离基团的 pK'_a 以上,它的占优势的形式是去质子化(游离碱)。例如,pH 1 在所有可电离基团的 pK'_a 以下,结果这些基团都被质子化,其结构相当于 1。在所列 pH 下的组氨酸的各种状态如表 2-1 所示。

表 2-1 组氨酸在不同 pH 下各种电离状态

pH	结构	净电荷	迁移方向	pH	结构	净电荷	迁移方向
1	1	+2	阴极	8	3	0	不移动
4	2	+1	阴极	12	4	-1	阳极

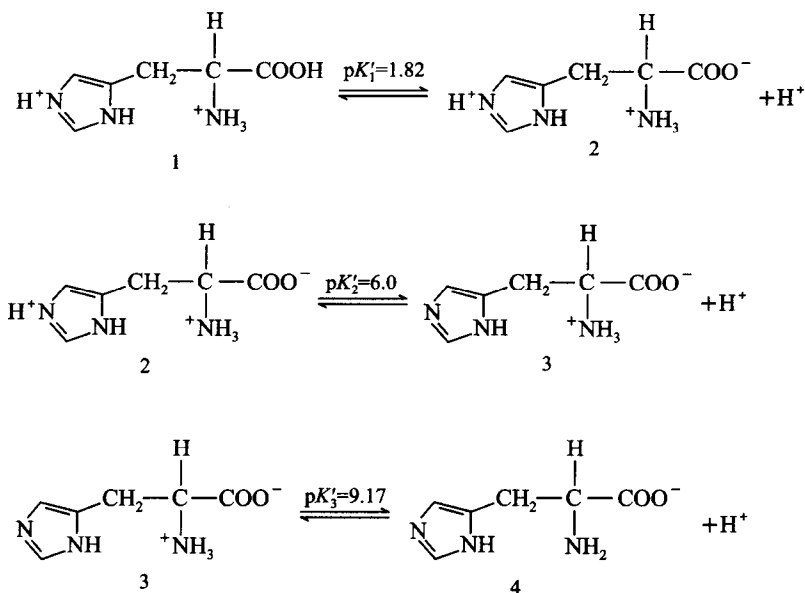
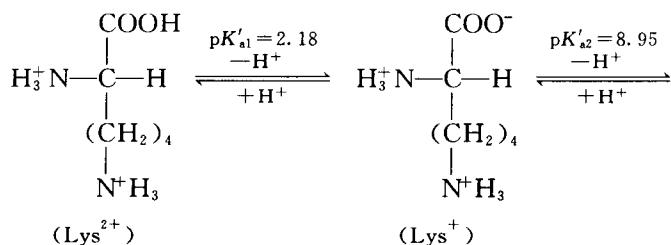
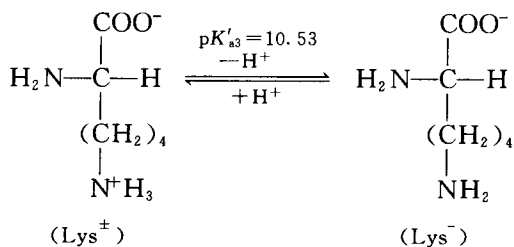


图 2-4 组氨酸三个可解离基团的解离平衡方程

15. 在 pH 9.0 时,计算赖氨酸的两性离子、阳离子以及阴离子所占的比例。已知赖氨酸三个可解离基团 $\alpha\text{-COOH}$, $\alpha\text{-NH}_3^+$ 和 $\epsilon\text{-NH}_3^+$ 的 pK'_a 分别为 2.18、8.95 和 10.53。

解答:赖氨酸有三个可解离的质子:





根据 Henderson - Hasselbalch 方程,

$$\text{pH} = \text{pK}'_{\text{a}1} + \log \frac{[\text{Lys}^+]}{[\text{Lys}^{2+}]}, \quad \text{即 } 9.0 = 2.18 + \log \frac{[\text{Lys}^+]}{[\text{Lys}^{2+}]}$$

亦即:
$$\frac{[\text{Lys}^+]}{[\text{Lys}^{2+}]} = 10^{6.82} = 6.61 \times 10^6$$

同理推导出:
$$\frac{[\text{Lys}^\pm]}{[\text{Lys}^+]} = 1.12; \quad \frac{[\text{Lys}^-]}{[\text{Lys}^\pm]} = 2.95 \times 10^{-2}$$

设: $[\text{Lys}^{2+}] + [\text{Lys}^+] + [\text{Lys}^\pm] + [\text{Lys}^-] = 100\%$

根据上述关系可推导出:

$$\frac{[\text{Lys}^+]}{6.61 \times 10^6} + [\text{Lys}^+] + 1.12[\text{Lys}^+] + 2.95 \times 10^{-2} \times 1.12[\text{Lys}^+] = 100\%$$

即:
$$[\text{Lys}^+] \left(\frac{1}{6.61 \times 10^6} + 1 + 1.12 + 0.033 \right) = 100\%$$

$$[\text{Lys}^+] = \frac{100\%}{2.153} = 46.45\%$$

于是:
$$[\text{Lys}^{2+}] = \frac{[\text{Lys}^+]}{6.61 \times 10^6} = \frac{46.45\%}{6.61 \times 10^6} = 7 \times 10^{-6}\%$$

$$[\text{Lys}^\pm] = 1.12[\text{Lys}^+] = 1.12 \times 46.45\% = 52\%$$

$$[\text{Lys}^-] = 2.95 \times 10^{-2}[\text{Lys}^\pm] = 2.95 \times 10^{-2} \times 52\% = 1.53\%$$

由此可见,在 pH 9.0 时, $[\text{Lys}^{2+}]$ 含量甚微,可以忽略不计, $[\text{Lys}^+]$ 占 46.45%, $[\text{Lys}^\pm]$ 为 52%, $[\text{Lys}^-]$ 为 1.53%, 整个分子带部分正电荷。

16. 根据溶液的 pH 和某基团的 pK'_{a} 值,推导出描述该质子移变基团 (prototropic group) 的平均净电荷。

解答: 将 Henderson - Hasselbalch 方程重排:

$$\text{pH} = \text{pK}'_{\text{a}} + \log \frac{[\text{共轭碱}]}{[\text{酸}]}$$

$$\text{pK}'_{\text{a}} - \text{pH} = \log \frac{[\text{酸}]}{[\text{共轭碱}]}$$

即:
$$\frac{[\text{酸}]}{[\text{共轭碱}]} = 10^{\text{pK}'_{\text{a}} - \text{pH}} \quad \text{或} \quad [\text{酸}] = 10^{\text{pK}'_{\text{a}} - \text{pH}} \cdot [\text{共轭碱}]$$

如果规定 α 代表该基团以酸形式存在的分数,

那么,
$$\alpha = \frac{[\text{酸}]}{[\text{酸}] + [\text{共轭碱}]} = \frac{10^{\text{pK}'_{\text{a}} - \text{pH}} \cdot [\text{共轭碱}]}{(10^{\text{pK}'_{\text{a}} - \text{pH}} \cdot [\text{共轭碱}]) + [\text{共轭碱}]}$$

$$= \frac{10^{pK'_a - pH}}{10^{pK'_a - pH} + 1} = \frac{1}{10^{pH - pK'_a} + 1}$$

因此,如果该基团以阳离子酸形式存在(例如 $-\text{NH}_3^+$),那么 α 代表以正电荷存在的分数:

$$z = +\alpha = \frac{+1}{1 + 10^{pH - pK'_a}}$$

当 $pH \ll pK'_a$ 时, z 接近于+1。相反,对于具有中性酸形式和阴离子共轭碱的基团(例如 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{COO}^-$)来说, α 代表不带电荷($-\text{COOH}$)的部分,那么带电荷的分数是:

$$z = -(1 - \alpha) = \alpha - 1 = \frac{-1}{1 + 10^{pK'_a - pH}}$$

在这种情况下,当 $pH \ll pK'_a$ 时, z 接近于0。

一般说来,当 pH 低于 pK'_a 2单位以上,那么该基团可以考虑为完全质子化。

例如,已知谷氨酸 α -羧基 $pK'_a = 2.19$, β -羧基 $pK'_a = 4.25$, α -氨基 $pK'_a = 9.67$ 。求该氨基酸处在 $pH 4.5$ 时的平均净电荷:

根据上面推导出的计算式,三个基团所带的净电荷分别为: α - COOH 为-1, β - COOH 为-0.67, α - NH_3^+ 为+1。该分子平均净电荷为-0.67。

17. 请指出天冬氨酸分别在① $pH 1.0$ 、② $pH 3.0$ 、③ $pH 6.0$ 和④ $pH 11$ 时的占优势的净电荷形式。

解答:根据题16给出的原则,①在 $pH 1.0$ 时净电荷为+1,②在 $pH 3.0$ 时净电荷为0,③在 $pH 6.0$ 时净电荷为-1,④在 $pH 11$ 时净电荷为-2。

18. 一滴含有甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸和组氨酸的溶液,点在滤纸条的中央,并干燥。用 $pH 6.0$ 的缓冲液浸湿,放入电场中,两端通以电流。① 哪些氨基酸移向正极? ② 哪些氨基酸移向负极? ③ 哪些氨基酸停留在原处或接近原处?

解答:根据题7和题16给出的表达氨基酸有效净电荷的方式,这些氨基酸在 $pH 6.0$ 时所带净电荷的情况很容易估算出。因此,①甘氨酸和丙氨酸因净电荷接近零而停留在原处。②谷氨酸因带净负电荷而向正极泳动。③赖氨酸、精氨酸和组氨酸因带净正电荷而移向负极,但它们移向负极的速度不同,精氨酸和赖氨酸移动速度大于组氨酸。

19. 用强酸型阳离子交换树脂分离下述每对氨基酸,当用 $pH 7.0$ 的缓冲液洗脱时,下述每对中先从柱上洗脱下来的是哪种氨基酸? ① 天冬氨酸和赖氨酸。② 精氨酸和甲硫氨酸。③ 谷氨酸和缬氨酸。④ 甘氨酸和亮氨酸。⑤ 丝氨酸和丙氨酸。

解答:氨基酸从离子交换柱上被洗脱下来的速度主要受两种因素的影响:①带负电荷的树脂磺酸基和氨基酸带正电荷的功能基团之间的离子吸附,吸附力大的在树脂上停滞的时间长,从柱上洗脱下来的速度慢;②氨基酸的侧链基团与树脂强非极性的骨架之间的疏水相互作用。非极性大的侧链R基氨基酸与树脂骨架间的疏水作用力强,从树脂柱上洗脱下来的速度慢。

根据氨基酸可电离基团的 pK'_a ,我们可以确定题中每组氨基酸的结构以及在 $pH 7$ 时它们的平均净电荷。如果平均净电荷相同,则取决于它们侧链基团的疏水性。①天冬氨酸净电荷为-1,赖氨酸净电荷为+1;赖氨酸与树脂磺酸基相反离子吸附力大。因此,天冬氨酸先被洗脱下来。②精氨酸净电荷为+1,甲硫氨酸净电荷接近零。因此,甲硫氨酸先被洗脱下来。③谷氨酸净电荷为-1,缬氨酸净电荷接近零,谷氨酸的负电荷与树脂带负电的磺酸基之间相互排斥,减

小了谷氨酸与树脂的附着力,故先被洗脱下来。④ 甘氨酸和亮氨酸的净电荷都接近零,但亮氨酸庞大的非极性侧链与树脂骨架之间的非极性相互作用力大。故甘氨酸先被洗脱下来。⑤ 丝氨酸和丙氨酸的净电荷都接近零,但丝氨酸的侧链非极性小,故先被洗脱下来。

20. 在 pH 6.0,用含羧甲基的离子交换柱分离 Arg、His 和 Leu,这些氨基酸的洗脱顺序是怎样的? 在 pH 8.0,用含二乙基氨基乙基的离子交换柱分离 Glu、Lys 和 Val,它们的洗脱顺序又是怎样的?

解答:在 pH 6.0,用含羧甲基的离子交换柱分离 Arg、His 和 Leu 时,其洗脱顺序是 Leu、His、Lys;在 pH 8.0,用含二乙基氨基乙基的离子交换柱分离 Glu、Lys 和 Val 时,它们的洗脱顺序是 Lys、Val、Glu。

21. 下述每组混合物分别用正丁醇-醋酸-水系统进行纸层析。指出每组中各组分的相对迁移率(假定水相的 pH 为 4.5)。

① Val 和 Lys。② Phe 和 Ser。③ Ala、Val 和 Leu。④ Glu 和 Asp。⑤ Tyr、Ala、Ser 和 His。⑥ Lys-Lys 和 Lys。⑦ Cys-Cy-Ser 和 Ala-Ala-Ser。

解答:纸层析分离氨基酸或小肽是根据它们的极性。层析时,流动相是非极性的有机溶剂,而固定相则是滤纸吸附的水。氨基酸或小肽的侧链非极性越强,与固定相的作用力越小,迁移速度越大;反之,侧链的极性越强,与固定相的作用力越大,迁移的速度就越小。

因此:① Val 迁移的速度大于 Lys。② Phe 迁移的速度大于 Ser。③ Ala、Val 和 Leu 迁移速度的顺序是 $\text{Leu} > \text{Val} > \text{Ala}$ 。④ Glu 迁移的速度大于 Asp,因 Glu 的侧链的疏水性相对比 Asp 大,而且 Glu 侧链在该 pH 下的非解离程度比 Asp 大。⑤ 迁移速度的大小顺序是: $\text{Tyr} > \text{Ala} > \text{Ser} \approx \text{His}$ 。Tyr 的侧链虽含有一 OH,但此时未电离,并且侧链的大部分是非极性的苯环;Ala 的侧链只是一个甲基,非极性相对小些,故 $\text{Tyr} > \text{Ala}$;Ser 的侧链小,并含有极性的一 OH,His 的侧链此时已大部分质子化,这两种氨基酸与固定相的作用力较大,因而它们迁移的速度小于 Ala,但 Ser 和 His 两者的迁移速度基本相等。⑥ Lys-Lys 的迁移速度与 Lys 几乎相同。尽管 Lys-Lys 在此时质子化程度较高,与固定相的作用力较大,但分子侧链的非极性部分增高,因此出现这样的结果。⑦ Ala-Ala-Ser 迁移速度大于 Cys-Cys-Ser,因为后者全部由侧链具极性的氨基酸残基组成。

22. 计算出由 Ala、Gly、His、Lys 和 Val 所构成的可能的五肽数目。

解答:五肽的第一个残基是五个残基中的一个,第二个残基是余下四个残基中的一个,依此类推。可能形成的五肽数目是: $5 \times 4 \times 3 \times 2 \times 1 = 120$ 。

23. 在大多数氨基酸中, $\alpha\text{-COOH}$ 的 pK'_a 都接近 2.0, $\alpha\text{-NH}_3^+$ 的 pK'_a 都接近 9.0。但是,在肽中, $\alpha\text{-COOH}$ 的 pK'_a 为 3.8,而 $\alpha\text{-NH}_3^+$ 的 pK'_a 比值为 7.8。你能解释这种差别吗?

解答:在游离的氨基酸中,邻近的电荷影响每个基团的 pK'_a 。带正电荷的 -NH_3^+ 的存在,使带负电荷的 -COO^- 稳定,使羧基成为一种更强的酸。相反地,带负电荷的羧酸使 -NH_3^+ 稳定,使它成为一种更弱的酸,因而使它的 pK'_a 升高。当肽形成时,游离的 α -氨基和 α -羧基分开的距离增大,相互影响降低,从而使它们的 pK'_a 值发生变化。

24. ① 计算六肽 ATLDAK 的大致的等电点;② 该肽在 pH 7.0 时的净电荷是多少? 已知该肽可解离侧链的 pK 分别是 3.90 (Asp) 和 10.54 (Lys)。假定 N-末端 Ala 的氨基的 pK 是 8.0, C-末端 Lys 的羧基 pK 是 3.5。

解答:① 六肽氨基酸残基的单字符号代表的是 Ala-Thr-Leu-Asp-Ala-Lys。在该六