

生命科学研究性学习丛书

生物化学 精要

龚祝南 主编



东南大学出版社

SOUTHEAST UNIVERSITY PRESS

要點容內

生命科学研究性学习丛书

生物化学精要

● 龚祝南 主编

编委: 赵智辉 刘 平 陈玉清
殷志敏 张双全 曹祥荣
助编: 盛晓玲 吴子刚 沈长云
王 霞 张宇思



东南大学出版社
· 南京 ·

内容提要

本书着眼于已初步获得生物化学课程教育的学生,按照氨基酸和蛋白质、核酸、酶与维生素、糖类及糖代谢、脂类及脂类代谢、生物氧化与代谢调控七个部分,有机整合结构、代谢与调控三个部分,从重要名词、主要知识点等入手,系统分析各部分的主要理论、技术及内在知识点中的相互联系,并通过多型的练习与测试训练(包括中科院等多单位的生物化学与分子生物学研究生入学全真试题及参考解答),巩固生物化学基本理论与技术知识,提高学生解析实际问题的能力。可作为生物科学、生物技术及相关专业学生参加本科考试、硕士研究生入学考试的指导用书,也可作为博士研究生入学考试参考用书,同时还可作为青年教师教学参考之用。

图书在版编目(CIP)数据

生物化学精要 / 龚祝南主编. 南京: 东南大学出版社, 2009. 12

(生命科学研究性学习丛书)

ISBN 978-7-5641-1939-3

I. 生… II. 龚… 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(2009)第 209985 号

出版发行 东南大学出版社

社 址 南京市四牌楼 2 号(邮编:210096)

出版人 江 汉

责任编辑 杨小军(025-83790586; bioyangxj@126.com)

印 刷 南京京新印刷厂

开 本 700mm×1000mm 1/16

印 张 17

字 数 357 千字

版 次 2009 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5641-1939-3

定 价 34.00 元

* 东大版图书若有印装质量问题,请直接联系读者服务部,电话:(025)83792328。



生物化学精要 PREFACE

生物化学是生命科学领域最重要的基础学科之一,也是生命科学中飞速发展的学科之一。生物化学的理论和技術已渗透到生命科学的各个分支领域,派生出诸如分子生物学、分子遗传学、分子免疫学、分子病理学和分子药理学等新兴交叉学科;另一方面,近代农业技术、医药技术的蓬勃发展,为生物化学的理论创新和技术进步提供了广阔的平台。在分子水平上探讨品种资源乃至物种的形成机制,各种疾病的发生发展机制,对农业品种资源的改良与创制、疾病的预防、诊断和治疗,又为生物化学的发展注入了新的活力。

生物化学学科如此迅猛发展带来的知识爆炸性增长,要求我们积极面对 21 世纪的生命科学教育,满足生物科学、生物技术及相关生命科学学科专业学生进行研究性学习的需求,使学生们在有限的时间内掌握生物化学的基础理论知识与基本技能。基于此,根据本科课程、硕士研究生入学复习考试大纲,参考目前国内多种版本《生物化学》规划教材,以我们多年的教学经验积累为基础,组织教师编写了本书。

本书着眼于已初步获得生物化学课程教育的学生,按照氨基酸和蛋白质、核酸、酶与维生素、糖类及糖代谢、脂类及脂类代谢、生物氧化与代谢调控七个部分,有机整合结构、代谢与调控三个部分,从重要名词、主要知识点等入手,系统分析各部分的主要理论、技术及内在知识点中的相互联系,并通过多型的练习与测试训练(包括中科院等多单位的生物化学与分子生物学研究生入学全真试题及参考解答),巩固生物化学基本理论与技术知识,提高学生解析实际问题的能力。

本书文字简练、条理清晰,深入浅出地讲述了生物化学基础理论、基本问题,并提供了大量测试题及其参考答案,可作为生物科学、生物技术及相关专业学生参加本科考试、硕士研究生入学考试的指导用书,也可作为博士研究生入学考试参考用书,同时还可作为青年教师教学参考之用。

龚祝南
2009 年 10 月于南京

生物化学精要 CONTENTS

第一章 氨基酸和蛋白质生物化学 (1)

第一节 氨基酸和蛋白质化学 (1)

一、氨基酸化学 (4)

二、蛋白质化学 (9)

(一) 蛋白质一级结构测定 (10)

(二) 蛋白质分离和纯化 (13)

(三) 分离和纯化主要步骤 (13)

(四) 蛋白质主要分析技术 (13)

(五) 研究蛋白质构象的方法 (14)

(六) 稳定蛋白质三维结构的作用力 (14)

(七) 蛋白质结构与功能的关系 (15)

(八) 多功能蛋白质 (17)

第二节 氨基酸的分解代谢与合成 (20)

一、尿素的形成 (23)

二、氨基酸碳骨架的代谢 (24)

三、生糖氨基酸和生酮氨基酸 (24)

四、由氨基酸衍生的重要物质 (25)

(一) 氨基酸与一碳单位 (25)

(二) 氨基酸与生物活性物质 (25)

五、氨基酸代谢缺陷症 (27)

第三节 蛋白质的生物合成 (28)

一、核糖体是蛋白质合成工厂 (29)

二、翻译的步骤 (29)

三、蛋白质翻译后的加工修饰 (30)

四、蛋白质的合成及转运 (30)

第二章 核酸化学和核酸代谢 (34)

一、核酸通论 (40)

CONTENTS

二、核酸的结构和生物功能	(41)
三、DNA 的高级结构	(44)
四、RNA 的高级结构	(46)
五、核酸的物理化学性质	(46)
六、核酸和核苷酸的分解代谢	(49)
七、核苷酸的生物合成	(49)
八、DNA 复制	(50)
九、DNA 的损伤修复	(53)
(一) 错配修复	(54)
(二) 光复活修复(直接修复)	(54)
(三) 切除修复	(54)
(四) 重组修复	(54)
(五) 应急反应(SOS)和易错修复	(54)
十、DNA 的突变	(55)
十一、RNA 的生物合成和加工	(55)

第三章 酶、维生素与辅酶

(70)

一、酶的化学本质	(74)
二、酶的作用机制	(74)
三、酶的活力测定	(75)
四、酶促反应动力学	(78)
五、酶的抑制作用	(81)
六、研究酶活性部位的方法	(85)
七、影响酶催化效率的有关因素	(85)
八、酶活性的调节	(86)
九、维生素	(87)

第四章 生物氧化与呼吸作用

(95)

一、电子传递链	(96)
---------------	------

生物化学精要 CONTENTS

二、电子传递链各个成员	(96)
三、电子传递的抑制剂	(98)



第五章 糖结构与代谢

(106)

一、糖的结构特点	(109)
二、糖工程	(110)
三、糖酵解作用	(110)
(一) 糖酵解和乙醇发酵全过程	(111)
(二) 酵解过程中能量转变估算	(114)
(三) 丙酮酸去路	(114)
(四) 准备阶段: 丙酮酸形成乙酰 CoA	(115)
(五) 柠檬酸循环的 8 个步骤	(116)
(六) 柠檬酸循环的化学总结	(119)
(七) 柠檬酸循环双重作用	(121)
(八) 柠檬酸循环的发现(略)	(122)



第六章 脂类结构与代谢

(123)



第七章 生物代谢调控

(132)

一、物质代谢的相互联系	(138)
(一) 代谢网络	(138)
(二) 分解代谢与合成代谢的单向性	(141)
(三) 能量的代谢	(142)
(四) 动物代谢调节的一般原理	(142)
二、酶活性的调节	(146)
(一) 前馈和反馈	(146)
(二) 能荷的调节	(147)
(三) 酶的连续激活和共价修饰	(147)

CONTENTS

三、细胞水平的调节	(147)
(一) 酶在细胞中的分布	(147)
(二) 膜结构对代谢的调控	(148)
(三) 蛋白质的定位控制	(148)
(四) 蛋白质寿命的控制	(148)
四、整体水平的调控	(148)
(一) 主要器官的代谢	(149)
(二) 激素的调节	(150)
(三) 饥饿时代谢的适应	(150)
五、基因表达的调节	(151)
(一) 原核生物:主要是转录水平调控	(151)
(二) 真核生物:多级调节,特有长期调控	(153)
(三) 基因表达调节的生物学意义	(154)

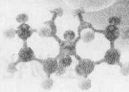
第八章 硕士研究生招生入学考试生物化学全真试卷

(158)

南京师范大学 2003 年硕士研究生招生入学考试试卷	(158)
南京师范大学 2004 年硕士研究生招生入学考试试卷	(162)
南京师范大学 2005 年硕士研究生招生入学考试试卷	(165)
南京师范大学 2006 年硕士研究生招生入学考试试卷	(168)
南京师范大学 2007 年硕士研究生招生入学考试试卷	(172)
南京师范大学 2008 年硕士研究生招生入学考试试卷	(175)
南京师范大学 2009 年硕士研究生招生入学考试试卷	(178)
中科院 2004 年研究生入学试题《生化与分子生物学》试题	(182)
中科院 2005 年硕士研究生招生考试生物化学试题	(188)
中科院 2006 年硕士研究生招生考试生物化学试题	(195)
中科院研究生院 2007 年招收攻读硕士学位研究生入学 统一考试试题	(201)
中科院 2008 年硕士研究生招生考试生物化学试题	(207)
武汉科技大学 2005 年生物化学考研试题	(211)
2008 年硕士统考农学联考(生物化学)试题	(214)

参考答案

(217)



第一章 氨基酸和蛋白质生物化学

第一节 氨基酸和蛋白质化学

重点提示

掌握氨基酸的化学结构、理化性质及其分类。掌握蛋白质元素组成的特点、肽键、一级结构和高级结构的概念及其基本形式；掌握蛋白质的两性电离、等电点及相关的理化性质及相关技术。

重要名词

1. 氨基酸(amino acid):是含有一个碱性氨基和一个酸性羧基的有机化合物,氨基一般连在 α -碳上。
2. 必需氨基酸(essential amino acid):指人(或其他脊椎动物)自己不能合成,需要从食物中获得的氨基酸,如赖氨酸、苏氨酸等。
3. 非必需氨基酸(nonessential amino acid):指人(或其他脊椎动物)自己能由简单的前体合成而不需要从食物中获得的氨基酸。
4. 等电点(isoelectric point, pI):使分子处于兼性分子状态,在电场中不迁移(分子的净电荷为零)的 pH 值。[pH 在等电点以下(酸性),分子带正电荷;pH 在等电点以上(碱性),分子带负电荷。]
5. 肽键(peptide bond):一个氨基酸的羧基与另一个氨基酸的氨基缩合,除去一分子水形成的酰胺键。
6. 肽(peptide):两个或两个以上氨基酸通过肽键共价连接形成的聚合物。
7. 肽单位(peptide unit):又称为肽基(peptide group),是肽键主链上的重复结构,是由参与肽链形成的氮原子、碳原子和它们的 4 个取代成分:羰基氧原子、酰胺氢原子和两个相邻 α -碳原子组成的一个平面单位。
8. 蛋白质一级结构(primary structure):指蛋白质中共价连接的氨基酸残基的排列顺序。
9. 蛋白质二级结构(secondary structure):指蛋白质分子中的局布区域内氨基酸残基的有规则的排列。常见的二级结构有 α -螺旋和 β -折叠。二级结构是通过骨架上的羰基和酰胺基团之间形成的氢键维持的。



10. 超二级结构(super-secondary structure):也称为基元(motif)。在蛋白质中,特别是球蛋白中,经常可以看到由若干相邻的二级结构单元组合在一起,彼此相互作用,形成有规则的在空间上能辨认的二级结构组合体,这就是超二级结构。

11. 结构域(domain):在蛋白质的三级结构内的独立折叠单元。结构域通常都是几个超二级结构单元的组合。

12. 蛋白质三级结构(protein tertiary structure):蛋白质分子处于天然折叠状态的三维构象。三级结构是在二级结构的基础上进一步盘绕、折叠形成的。三级结构主要是靠氨基酸侧链之间的疏水相互作用、氢键、范德华力和离子键维持的。

13. 蛋白质四级结构(protein quaternary structure):指多亚基蛋白质的三维结构。实际上是具有三级结构的多肽(亚基)以适当方式聚合所呈现的三维结构。

14. 构型(configuration):有机分子中各个原子特有的固定的空间排列。这种排列不经过共价键的断裂和重新形成是不会改变的。构型的改变往往使分子的光学活性发生变化。

15. 构象(conformation):指一个分子中,不改变共价键结构,仅单键周围的原子放置所产生的空间排布。一种构象改变为另一种构象时,不要求共价键的断裂和重新形成。构象改变不会改变分子的光学活性。

16. α -螺旋(α -helix):蛋白质中常见的二级结构,肽链主链绕假想的中心轴盘绕成螺旋状,一般为右手螺旋结构,螺旋是靠链内氢键维持的。每个氨基酸残基(第 n 个)的羰基与多肽链 C 端方向的第 4 个残基(第 $4+n$ 个)的酰胺氮形成氢键。在经典的右手 α -螺旋结构中,螺距为 0.54 nm,每一圈含有 3.6 个氨基酸残基,每个残基沿着螺旋的长轴上升 0.15 nm。

17. β -折叠(β -sheet):蛋白质中常见的二级结构,是由伸展的多肽链组成的。折叠片的构象是通过一个肽键的羰基氧和位于同一个肽链的另一个酰胺氢之间形成的氢键维持的、氢键几乎都与伸展的肽链垂直,这些肽链可以是平行排列(由 N 到 C 方向)或者是反平行排列(肽链反向排列)。

18. β -转角(β -turn):也是多肽链中常见的二级结构,是连接蛋白质分子中的二级结构(α -螺旋和 β -折叠),使肽链走向改变的一种非重复多肽区,一般含有 2~16 个氨基酸残基。含有 5 个以上的氨基酸残基的转角又常称为环(loop)。常见的转角含有 4 个氨基酸残基,有两种类型:转角 I 的特点是第一个氨基酸残基羰基氧与第四个残基的酰胺氮之间形成氢键;转角 II 的第三个残基往往是甘氨酸。这两种转角中的第二个残基大都是脯氨酸。

19. 纤维蛋白(fibrous protein):是一类主要的不溶于水的蛋白质,通常都含有呈现相同二级结构的多肽链,许多纤维蛋白结合紧密,并为单个细胞或整个生物体提供机械强度,起着保护或结构上的作用。

20. 肌红蛋白(myoglobin):是由一条肽链和一个血红素辅基组成的结合蛋白,



是肌肉内储存氧的蛋白质,它的氧饱和曲线为双曲线型。

21. 球蛋白(globular protein):紧凑的,近似球形的,含有折叠紧密的多肽链的一类蛋白质,许多都溶于水。典型的球蛋白含有能特异地识别其他化合物的凹陷或裂隙部位。

22. 角蛋白(keratin):由处于 α -螺旋或 β -折叠构象的平行的多肽链组成不溶于水的起着保护或结构作用的蛋白质。

23. 胶原(蛋白)(collagen):是动物结缔组织最丰富的一种蛋白质,它由原胶原蛋白分子组成。原胶原蛋白是一种具有右手超螺旋结构的蛋白。每个原胶原分子都是由3条特殊的左手螺旋(螺距0.95 nm,每一圈含有3.3个残基)的多肽链右手旋转形成的。

24. 疏水相互作用(hydrophobic interaction):非极性分子之间的一种弱的非共价的相互作用。这些非极性的分子在水相环境中具有避开水而相互聚集的倾向。

25. 伴娘蛋白(chaperone):与一种新合成的多肽链形成复合物,并协助它正确折叠成具有生物功能构象的蛋白质。伴娘蛋白可以防止不正确折叠中间体的形成和没有组装的蛋白亚基的不正确聚集,协助多肽链跨膜转运以及大的多亚基蛋白质的组装和解体。

26. 二硫键(disulfide bond):通过两个(半胱氨酸)巯基的氧化形成的共价键。二硫键在稳定某些蛋白的三维结构上起着重要的作用。

27. 范德华力(van der Waals force):中性原子之间通过瞬间静电相互作用产生的一种弱的分子之间的力。当两个原子之间的距离为它们范德华力半径之和时,范德华力最强。强的范德华力的排斥作用可防止原子相互靠近。

28. 蛋白质变性(denaturation):生物大分子的天然构象遭到破坏导致其生物活性丧失的现象。蛋白质在受到光照、热、有机溶剂以及一些变性剂的作用时,次级键受到破坏,导致天然构象的破坏,使蛋白质的生物活性丧失。

29. 复性(renaturation):在一定的条件下,变性的生物大分子恢复成具有生物活性的天然构象的现象。

30. 同源蛋白质(homologous protein):来自不同种类生物的序列和功能类似的蛋白质,例如血红蛋白。

31. 血红蛋白(hemoglobin):是由含有血红素辅基的4个亚基组成的结合蛋白。血红蛋白负责将氧由肺运输到外周组织,它的氧饱和曲线为S型。

32. 别构效应(allosteric effect):又称为变构效应,是寡聚蛋白与配基结合改变蛋白质的构象,导致蛋白质生物活性丧失的现象。

33. 镰刀型细胞贫血病(sickle-cell anemia):血红蛋白分子遗传缺陷造成的一种疾病,病人的大部分红细胞呈镰刀状。其特点是病人的血红蛋白 β -亚基N端的第六个氨基酸残基是缬氨酸(Val),而不是正常的谷氨酸残基(Glu)。



34. 波尔效应(Bohr effect): CO_2 浓度的增加会降低细胞内的 pH, 引起红细胞内血红蛋白氧亲和力下降的现象。

35. Edman 降解(Edman degradation): 从多肽链游离的 N 末端测定氨基酸残基序列的过程。N 末端氨基酸残基被苯异硫氰酸酯修饰, 然后从多肽链上切下修饰的残基, 再经层析鉴定, 余下的多肽链(少了一个残基)被回收再进行下一轮降解循环。

重要知识点

一、氨基酸化学

氨基酸可分为常见蛋白质氨基酸、不常见蛋白质氨基酸和非蛋白氨基酸, 目前已发现氨基酸 180 多种。但生物体内常见蛋白质氨基酸只有 20 种, 蛋白质水解最后成为氨基酸混合物:

(1) 酸水解: 得 19 种 L-氨基酸, 其中色氨酸被破坏。

(2) 碱水解: 得色氨酸, 其余氨基酸消旋破坏。

(3) 酶水解: 不消旋破坏, 但水解不彻底。

常见蛋白质氨基酸, 也称基本氨基酸。每个氨基酸可用 3 个字母或单字母简写表示。按侧链 R 基化学结构不同进行分类:

(1) 脂肪族氨基酸 15 个

① 中性氨基酸 5 个

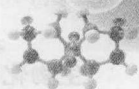
甘氨酸	Glycine	氨基乙酸	Gly	G	无旋光
丙氨酸	Alanine	α -氨基丙酸	Ala	A	
缬氨酸	Valine	α -氨基- β -甲基丁酸	Val	V	
亮氨酸	Leucine	α -氨基- γ -甲基戊酸	Leu	L	
异亮氨酸	Isoleucine	α -氨基- β -甲基戊酸	Ile	I	

② 含羟基或硫氨基酸 4 个

丝氨酸	Serine	α -氨基- β -羟基丙酸	Ser	S	
苏氨酸	Threonine	α -氨基- β -羟基丁酸	Thr	T	
半胱氨酸	Cysteine	α -氨基- β -巯基丙酸	Cys	C	
甲硫氨酸	Methionine	α -氨基- γ -甲硫基丁酸	Met	M	

③ 酸性氨基酸及其酰胺 4 个

天冬氨酸	Aspartic acid	α -氨基丁二酸	Asp	D	
谷氨酸	Glutamic acid	α -氨基戊二酸	Glu	E	
天冬酰胺	Asparagine	α -氨基丁二酸-酰胺	Asn	N	
谷氨酰胺	Glutamine	α -氨基戊二酸-酰胺	Gln	Q	



④碱性氨基酸 2 个

赖氨酸	Lysine	α, ϵ -二氨基己酸	Lys	K
精氨酸	Arginine	α -氨基- δ -胍基戊酸	Arg	R

(2) 芳香族氨基酸 3 个

苯丙氨酸	Phenylalanine	α -氨基- β -苯基丙酸	Phe	F
酪氨酸	Tyrosine	α -氨基- β -对羟苯基丙酸	Tyr	Y
色氨酸	Tryptophan	α -氨基- β -吲哚基丙酸	Trp	W

(3) 杂环族氨基酸 2 个

组氨酸	Histidine	α -氨基- β -咪唑基丙酸	His	H
脯氨酸	Proline	α -吡咯烷羧酸	Pro	P

按 R 基极性性质分为:非极性 R 基(8 个)、极性不带电 R 基(7 个)、带正电荷 R 基(3 个)、带负电荷 R 基(2 个)。

不常见蛋白质氨基酸为相应常见氨基酸修饰而来,如:5-羟赖氨酸,4-羟脯氨酸, γ -羧基谷氨酸,焦谷氨酸,磷酸丝氨酸,甲状腺素等。

非蛋白氨基酸有 L 型 α -氨基酸衍生物、 β 、 γ 或 δ -氨基酸、D-氨基酸,如 D-Glu 和 D-Ala。常见的有:肌氨酸(N-甲基甘氨酸), β -丙氨酸, γ -氨基丁酸,瓜氨酸,鸟氨酸,高半胱氨酸。

芳香族氨基酸在紫外区有强的光吸收。利用这一特性可测定溶液中这些氨基酸的浓度。比尔—朗伯定律显示在特定波长下,溶液中物质的光吸收与其浓度 c (以 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为单位)和溶液中光径长(以 cm 为单位)成正比: $A = \epsilon cl$ 。

其中 A 代表溶液的吸光值, ϵ 是摩尔吸光系数。吸光值是入射光强度(I_0)与出射光强度。

【例 1-1】 假定酪氨酸在 275 nm 时,水溶液中的摩尔吸光系数是 $1420 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$,则光径 1 cm 时吸光值为 0.71,那么酪氨酸在溶液中的浓度是多少?

解析:根据比尔—朗伯定律:

$$c = A/(\epsilon l) = 0.71/(1420 \times 1.0) = 5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

测定氨基酸兼性(两性)性质的方法之一是进行滴定研究。例如,假定对甘氨酸的盐酸盐溶液来进行滴定,其中两个基团均处于酸性形式。加入 NaOH 可增加溶液的 pH 值,同时解离的质子可与加入的 OH^- 反应生成水而促进其进一步解离,如图 1-1 所示。其是用 NaOH 溶液滴定 10 mmol 甘氨酸盐酸溶液。不连续的曲线代表在有甲醛存在时的滴定过程。

图 1-1 中的曲线有两个明显的拐点,其中一个代表甘氨酸盐酸中的两个酸性基团。在 A 点上,两个基团均为酸性(质子化)形式($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{NH}_3^+$)且分子所带电荷数为 +1,在加入 10 mmol NaOH 后(C 点, pH 接近 6.0),一个基团几乎完全去

质子化,且分子净电荷为0。继续加入 10 mmol NaOH 后,另外一个基团也去质子化(E 点),分子形式为 $^-OOC-CH_2-NH_2$,且电荷数为-1。

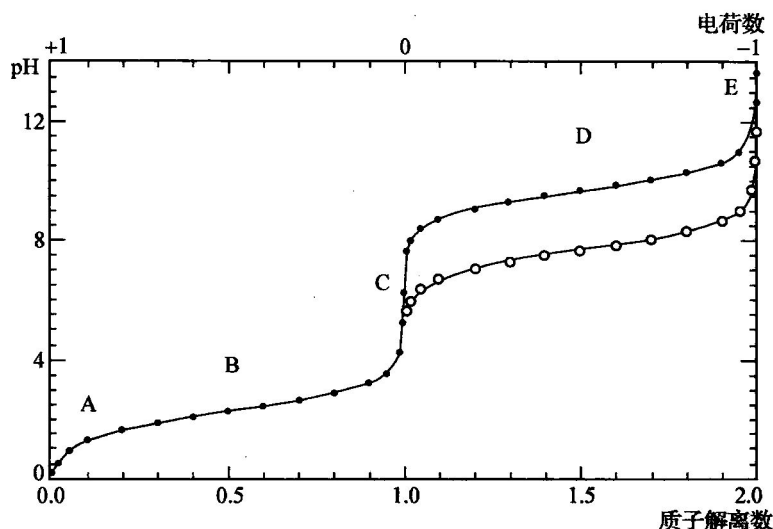


图 1-1 氨基酸滴定曲线示例

在 B 点和 D 点附近,加入一定量的 NaOH 后,pH 值变化最小;即溶液具有缓冲作用。在 B 点,pH 为 2.3,第一个基团有一半已被滴定生成其共轭碱,而另一半仍为酸性形式;即 $[酸]=[共轭碱]$ 。在这一点上, $pK_a=pH$,或就这一基团, $pK_a=2.3$ 。被滴定的第一个基团必须有相对较强的酸性,且这一基团是羧基。同理可知第二个基团——氨基的 pK_a 为 9.6。

【例 1-2】 氨基酸滴定实验中,当滴定到 pH 为 6.3 时,第一基团(羧基)的解离比例是多少?

解析: 根据 Henderson-Hasselbalch 公式:

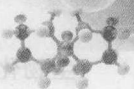
$$pH = pK_a + \lg \frac{[碱]}{[酸]}$$

pH 为 6.3 时,羧基的 pK_a 为 2.3:

$$\lg \frac{[碱]}{[酸]} = 6.3 - 2.3 = 4.0$$

因此, $[碱]=10^4 \times [酸]$ 。这一结果提示在 pH 为 6.3 时,100 000 个羧基是质子化的(0.01%)。

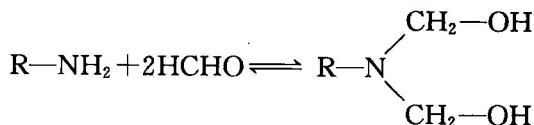
甘氨酸的等电点为 6.0。在 pH 为 6 的甘氨酸溶液中,任何时候都有一些分子以 $HOOC-CH_2-NH_3^+$ 形式存在,而有等量分子以 $^-OOC-CH_2-NH_2$ 形式存在,而以 $COOH-CH_2-NH_2$ 形式存在的分子较少。由于等电点附近滴定曲线的对称性给定某一 pK_a 值后,就可计算等电点的 pH 值。等电点时:



$$pI = \frac{pK_{a_1} + pK_{a_2}}{2}$$

在滴定氨基酸时,可利用化学修饰来改变 pK_a 值的分配。例如,加入甲醛后滴定,在图 1-1 中可发现 pK_{a_1} 指羧基, pK_{a_2} 指氨基。

甲醛与不带电的氨基可进行如下可逆反应:



因此在甲醛溶液中氨基的 pK_a 值发生了改变,而羧基保持原状未受影响。在甲醛溶液中发现氨基酸的 pK_a 值未变,因此它代表了羧基,而 pK_{a_2} 值降低(见图 1-1 中的不连续曲线部分),降低的程度依赖于甲醛的浓度。因此, pK_{a_2} 反映了氨基的解离。

总的来说,在简单化合物中,羧基酸性要强于 $-NH_3^+$ 基。羧基 pK_a 值一般小于 5,而 $-NH_3^+$ 基则大于 7。

【例 1-3】 为什么甘氨酸的羧基 pK_a 值(2.3)要小于乙酸的 pK_a 值(4.7)?

答:因为在 pH 值小于 6 的甘氨酸溶液中,氨基带正电荷。这些正电荷可以通过电子平衡相互作用来抵消羧基所带的负电荷,也就是说甘氨酸的羧基更容易失去质子,因此酸性更强(pK 值较小)。

【例 1-4】 在下面指出的 pH 下,下述蛋白质在电场中向哪个方向移动,即向正极、负极还是不动?

(1) 血清蛋白, pH 为 5.0; (2) β -乳球蛋白, pH 为 5.0 和 7.0; (3) 胰凝乳蛋白酶原, pH 为 5.0、9.1 和 11。

解析: (1) 卵清蛋白 $pI=4.6$, $pH=5.0 > 4.6$ 带负电,向正极移动;

(2) β -乳球蛋白 $pI=5.2$, $pH=5.0 < 5.2$ 带正电,向负极移动;

$pH=7.0 > 5.2$ 带负电,向正极移动;

(3) 胰凝乳蛋白酶原 $pI=9.1$, $pH=5.0 < 9.1$ 带正电,向负极移动;

$pH=9.1 = pI$ 净电荷为零,不动;

$pH=11 > 9.1$ 带负电,向正极移动。

【重要知识补充】 以前,人们一直认为,出现在蛋白质分子中的由遗传密码编码的标准氨基酸残基只有 20 种。到了 1986 年,科学家们终于在含硒蛋白中发现第 21 种标准氨基酸——含硒半胱氨酸(本氨基酸未见其编码基因,因此应该不能列为第 21 种标准氨基酸)。1998 年,由美国俄亥俄州立大学 Joseph A. Krzycki 和 Michael Chan 领导的两个研究小组在产甲烷细菌里发现了第 22 种标准氨基酸——吡咯赖氨酸,其由琥珀型终止密码子(amber codon)编码。

氨基酸部分综合练习

一、是非题(是“+”,非“-”)

1. 生糖氨基酸都是必需氨基酸。 ()
2. 生酮氨基酸都是必需氨基酸。 ()
3. 一碳单位的载体是泛酸。 ()
4. 蛋白质分子中所有氨基酸(除甘氨酸)都是左旋的。 ()
5. 天然氨基酸都具有一个不对称 α -碳原子。 ()
6. 某一蛋白质分子,当其酸性氨基酸数目等于碱性氨基酸数目时,此蛋白质的等电点为 7。 ()
7. 组蛋白是一类碱性蛋白,含有较多的组氨酸。 ()

二、选择题

1. 下列是生酮氨基酸的是 ()
A. 丙氨酸 B. 异亮氨酸 C. 亮氨酸 D. 酪氨酸
2. 下列氨基酸中,哪个为破坏 α -螺旋结构的氨基酸残基之一 ()
A. 谷氨酸 B. 亮氨酸 C. 脯氨酸 D. 丙氨酸
3. 在 pH 7 时带正电荷的氨基酸是 ()
A. 谷氨酸 B. 丙氨酸 C. 精氨酸 D. 天冬氨酸
4. 下列的 pH 值,何者代表天冬氨酸的等电点 [$pK_1(\alpha\text{-COOH}) 1.88$; $pK_2(\beta\text{-COOH}) 3.65$; $pK_3(-NH_3^+) 9.6$] ()
A. 2.77 B. 6.63 C. 5.74 D. 3.5
5. 蛋白质的糖基化是翻译后加工之一,糖基化往往与肽链中哪种氨基酸残基的侧链结合 ()
A. 谷氨酸 B. 赖氨酸 C. 酪氨酸 D. 丝氨酸
6. 必需氨基酸是指 ()
A. 可以在人体内由糖转变而来
B. 可以在人体内由脂肪酸转变而成
C. 不能在体内合成,必须从食物中获得
D. 能在体内由其他氨基酸转变而来

三、填空题

1. 必需氨基酸是指_____。
2. 氨基酸在等电点时,主要是以_____离子形式存在,在 $pH > pI$ 的溶液中,大部分以_____离子形式存在;在 $pH < pI$ 的溶液中,大部分以_____离子形式



存在。

3. 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____、____、____三种氨基酸的共轭双键有紫外吸收能力。

四、简述氨基酸一般代谢中脱氨基作用的主要类型。

二、蛋白质化学

生物界蛋白质种类估计有 $10^{10} \sim 10^{12}$ 种,其主要生物功能为:

- (1) 催化(酶):生物体内化学反应几乎都是在酶催化下进行的。
- (2) 调节:基因表达调控中的蛋白因子、阻遏蛋白和激素中许多为蛋白质,如胰岛素等。
- (3) 转运:血红蛋白输氧气,细胞色素 C 传递电子。
- (4) 贮存:如种子中谷蛋白,鸡蛋中卵清蛋白。
- (5) 运动:肌动蛋白,驱动蛋白。
- (6) 结构:胶原蛋白, α -角蛋白。
- (7) 信息传递:受体蛋白。
- (8) 防御和进攻:免疫球蛋白,毒蛋白如蛇毒。
- (9) 异常蛋白:胶质蛋白。

蛋白质平均含氮量为 16%,蛋白质含量 = 蛋白氮 $\times$ 6.25。可以根据化学组成、氨基酸含量及沉降系数测最低分子量。

【例 1-5】 测得一种血红蛋白蛋白质含铁 0.426%,计算最低相对分子质量。一种纯酶按重量计算含亮氨酸 1.65%和异亮氨酸 2.48%,问其最低相对分子质量是多少?

解析: ①蛋白质 $M_r = 55.8 \div 0.426\% = 13\ 100$ 。

②亮氨酸和异亮氨酸的分子质量都是 131 Da,根据两种氨基酸的含量来看,异亮氨酸:亮氨酸 = 2.48% : 1.65% = 3:2,所以在此蛋白质中的亮氨酸至少有 2 个,异亮氨酸至少有 3 个,那么:蛋白质 $M_r = 2 \times (131 - 18) / 1.65\% = 13\ 697$ Da。

蛋白质分子在溶液中受强大离心力作用时,蛋白质分子沉降,沉降速度与蛋白质分子大小和密度、分子形状等有关,可用于测分子量。蛋白质颗粒在单位离心场的沉降速度是个定值,称为沉降系数或沉降常数,用 s 表示。 s 常用来近似描述生物大分子的大小,蛋白质、核酸、核糖体和病毒的沉降系数介于 $1 \times 10^{-13} \sim 200 \times 10^{-13} s$ 范围。

