



2012 全国硕士研究生入学统一考试

农学门类联考辅导丛书

生物化学

复习指南暨习题解析

刘国琴 杨海莲 编著

(第5版)

面向农学门类 名校名师编审 融通主流教材 轻松复习应考
解读考研大纲 精讲重点考点 解析习题试题 提供备考捷径



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE



2012 全国硕士研究生入学统一考试

农学门类联考辅导丛书

生物化学

复习指南暨习题解析

刘国琴 杨海莲 编著

(第5版)

面向农学门类 名校名师编审 融通主流教材 轻松复习应考
解读考研大纲 精讲重点考点 解析习题试题 提供备考捷径



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

图书在版编目(CIP)数据

生物化学复习指南暨习题解析/刘国琴,杨海莲编著.—5版.—北京:中国农业大学出版社,2011.8

ISBN 978-7-5655-0360-3

I. ①生… II. ①刘… ②杨… III. ①生物化学-研究生-入学考试-自学参考资料
IV. ①Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 151348 号

书 名 生物化学复习指南暨习题解析(第 5 版)

作 者 刘国琴 杨海莲 编著

策划编辑 丛晓红 席 清

责任编辑 尹 静

封面设计 郑 川

责任校对 陈 莹 王晓凤

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62818525,8625

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs @ cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2011 年 8 月第 5 版 2011 年 8 月第 1 次印刷

规 格 787×1092 16 开本 17.75 印张 438 千字

定 价 30.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

出版说明

2012年《全国硕士研究生入学统一考试农学门类联考辅导丛书》又要和广大考生见面了。本版辅导丛书是以教育部最新《联考考试大纲》为依据,分析往年农学门类联考试题及考试情况,征询有关权威专家的意见和建议,充分吸纳各有关高校辅导老师的教学经验,以前4版为基础,经过必要的扩充和修改而成的。

本丛书包括“复习指南暨习题解析”和“历年真题与全真模拟题解析”两个系列,根据考生复习备考的通常做法,按照基础知识的复习、知识的梳理与归纳以及冲刺模拟训练等不同阶段分别组织编写而成。

“复习指南暨习题解析”系列辅导书,主要是依据考纲对知识点进行全面阐述和总结梳理,按照数学(含高等数学、线性代数、概率论与数理统计)、化学(含无机及分析化学、有机化学)、动物生理学、植物生理学、生物化学5个科目分别组织编写和出版。其中,对重点难点进行详细的剖析,对疑点作了详尽的解释;对考点要点、重要公式和结论也都一一总结和梳理;对例题进行详解,每个步骤做到详细、不缺少跳步,便于考生理解和熟悉解题思路;每章节后还附有一定量的习题,对复习内容及时进行训练和巩固。

“历年真题与全真模拟题解析”系列辅导书,是考生在冲刺阶段的复习用书,采取历年真题加模拟题的训练和解析的模式编写。真题部分包含了2008—2011年4年统考试题,其中包含了诸多有价值的信息,例如出题角度、试题题型、内容的涵盖面以及出题规律等。考生可以通过这部分的演练进一步掌握命题规律,查缺补漏,了解考研试题的解答方式、得分点以及解题的技巧,达到“观千剑而后识器”的目的。模拟题针对考生在复习阶段出现的问题,从考研热考内容和重点题型中多角度设计题目,旨在冲刺阶段进行考前摸底与练兵,增强考生在应试中的变通能力。

为了编好这套书,我们邀请了学术水平高、治学严谨、经验丰富、权威性强的知名专家学者担当主编,编写队伍汇聚了教育部直属的5所国家重点农林高校和多所省属重点高校常年从事相关学科教学的骨干教师和考研辅导专家,其中大多是往年负责或参加研究生考试命题和阅卷工作的。各位编写人员本着为考生着想、对教学负责的态度,牺牲了大量休息时间,反复斟酌拿捏内容的广度和深度,把握例题、习题和模拟题的代表性,尽心尽力从考生的角度去组织内容和体系。这种高度的责任心和奉献精神使我们深受感动,在此向他们表示诚挚的感谢和崇高的敬意!

自该套丛书出版发行以来,受到农学门类考生的格外青睐。这既是在全国范围内率先正式出版发行、最系统全面的农学门类考研辅导书,同时也是目前权威性高、适用性广、实用性强的考研宝典。我们真诚地希望考生能通过这套丛书的学习和引导,熟悉各科考试大纲,温习贯

通考试内容,巩固和掌握所学知识,提高解题能力和应试技巧。同时,希望本丛书也能成为大学生在校学习有关课程的好帮手、好伙伴。

尽管我们本着帮助考生更好地系统复习和备考的良好愿望,尽力组织编写好和出版好这套书,但仍不免有疏漏之处,恳请各位同学及老师们批评指正,以利我们今后不断地改进和提高。

最后,预祝各位考生取得好成绩!

中国农业大学出版社
2011年7月

第5版前言

基于生物化学知识的重要性、繁杂性和现行生物化学教材的多样性,以及生物化学被生物科学、生物技术、食品科学与工程、生物工程、食品科学与安全、动物科学、草业科学、动物医学、农学、植物保护、园艺、种子科学、资源环境科学、环境科学、生态学等众多专业设为研究生考试科目的广泛性,我们面向正在学习生物化学的大学本科生以及正在准备研究生入学考试的考生,编写了这本学习辅导书。

该书编写的着眼点是帮助读者理清思路,使您能快速、系统地掌握生物化学的基本知识和基本理论。在编写过程中,我们参考多部国内外生物化学教材,结合自己多年的教学经验,针对考生在生物化学考试中存在的普遍问题,采用了章节简图概括和要点内容总结的方式,并运用了大量图表,旨在加强生物化学知识的内在联系,重点突出,难点简化,使读者在系统复习生物化学教材的基础上,通过本书的辅导,能够开阔思路,对生物化学基本知识融会贯通,在生物化学课程考试或研究生入学考试中“以不变应万变”。为了加深读者对重点和难点内容的理解,提高恰当分析考题、准确回答考题的能力,我们将过去两年统考的出题倾向融汇于本书,新编了大量选择题,保留了问答题、实验题以及综合分析题,并附有答案或答案要点。本书共有15章,其中第一章至第八章为刘国琴编写,第九章至第十五章为杨海莲编写。

该书在对生物化学知识的分析、总结中,为加强读者的复习效果,用下划线或黑体字突出了知识点;为提高选择题的正确率,对大量易混淆的名词进行了对比分析;为方便生物专业学生的复习和非生物专业考生知识面的拓展,我们编写了一些难度稍大的考题,以加注“*”的形式给予区分。

本书编写一定存在许多错误,欢迎读者批评指正。

亲爱的同学,请不要期望“不系统复习,只做练习题”就能获得高分。系统复习、融会贯通是提高考分的根本保障。祝您成功!

编者

2011年8月

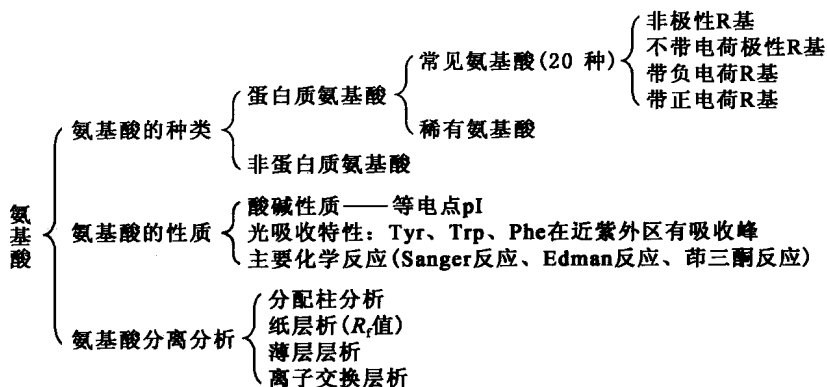
于北京

目 录

第一章 蛋白质构件分子——氨基酸	(1)
第二章 蛋白质结构与功能	(11)
第三章 蛋白质分离、分析	(30)
第四章 碳水化合物	(45)
第五章 核酸	(56)
第六章 酶与辅酶	(73)
第七章 脂类与生物膜	(97)
第八章 生物氧化	(110)
第九章 糖代谢	(127)
第十章 脂代谢	(152)
第十一章 氨基酸代谢	(176)
第十二章 核苷酸代谢	(192)
第十三章 核酸的生物合成	(202)
第十四章 蛋白质生物合成	(226)
第十五章 代谢调控	(245)
模拟试题	(258)
75分生物化学模拟试题(1)	(258)
75分生物化学模拟试题(2)	(262)
75分生物化学模拟试题(3)	(265)
全国统一考试试题	(269)
2011年全国硕士研究生入学统一考试农学门类联考试题(生物化学 部分,75分)	(269)
2011年全国硕士研究生入学统一考试农学门类联考试题参考答案 (生物化学部分,75分)	(271)
附录 生物化学领域著名科学家列表	(273)
参考文献	(275)

第一章 蛋白质构件分子——氨基酸

一、本章总结简图



本章重点是 20 种常见蛋白质氨基酸的结构特征、三字母符号、单字母符号,氨基酸等电点的概念和计算, Tyr、Trp、Phe 的紫外吸收特性及其应用,氨基酸主要化学反应原理和应用。此外还有氨基酸分离、鉴定常见方法的基本原理和应用特点。

二、要点内容与问题分析

1. 重要氨基酸

通常将 20 种氨基酸按照侧链的电荷情况和疏水性质分为四类。一般在复习时最好按照氨基酸特征归类,如下表。下工夫记清楚这些基本知识,可以应对许多有关氨基酸单字母符号、三字母符号、侧链特征的选择题及相关实验题,还利于阐述关于蛋白质结构、性质和功能分析论述题。

结构特征	三字母符号 (单字母符号)	特 征
含共轭双键氨基酸	Phe(F)、Trp(W)、Tyr(Y)	280 nm 有吸收峰,是定量这些氨基酸和紫外法定量蛋白质的基本依据。其中 Phe 高度疏水
含羟基氨基酸	Ser(S)、Thr(T)、Tyr(Y)	常作为蛋白质磷酸化修饰位点
含巯基氨基酸	Cys(C)	巯基具有高反应性能;在某些蛋白质中可通过形成二硫键而稳定其高级结构
含甲硫基氨基酸	Met(M)	高度疏水;原核细胞蛋白合成起始氨基酸;甲基的供体
含酰胺基氨基酸	Asn(N)、Gln(Q)	高度亲水;易发生转氨基反应

续表

结构特征	三字母符号 (单字母符号)	特 征
酸性氨基酸	Asp(D)、Glu (E)	生理 pH 下带负电
碱性氨基酸	Lys(K)、Arg(R)、His(H)	生理 pH 下带正电;其中 His 是一种很好的质子供体和受体
亚氨基氨基酸	Pro(P)	侧链具有环状刚性结构,不参与蛋白质 α -螺旋形成,在蛋白质三维构象中常位于多肽链回折处;与茚三酮反应呈黄色(其他氨基酸的反应为蓝紫色)
侧链为脂肪烃基的氨基酸	Gly(G)、Ala (A)、Val (V)、 Leu (L)、Ile (I)	这些氨基酸侧链 R 基疏水性依次增加,后三者为高度疏水;Gly 是最小的氨基酸,无旋光性

2. 蛋白质氨基酸、稀有氨基酸、非蛋白质氨基酸

我们一般说的 20 种氨基酸是蛋白质常见氨基酸,从原核生物到真核细胞,它们的蛋白质组成单元是相同的,都是这 20 种氨基酸,均为 L-氨基酸,除脯氨酸外都含有 α -氨基。

实际上在生物体内氨基酸的种类远远超过 20 种,现已发现 800 多种。包括蛋白质常见氨基酸、稀有氨基酸、非蛋白质氨基酸。

稀有氨基酸是指参与蛋白质构成,但出现频率很小的氨基酸,如 4-羟脯氨酸。稀有氨基酸一般是常见蛋白质氨基酸经修饰产生的衍生物,没有自己的密码子(注意:近年发现的蛋白质稀有氨基酸——硒代氨基酸和吡咯酮氨基酸有自己的密码子)。

非蛋白质氨基酸不参与蛋白质构成,大多为蛋白质氨基酸的衍生物,有些是氨基酸代谢物的前体或中间物,如鸟氨酸。非蛋白质氨基酸没有自己的密码子。

3. 氨基酸的两性解离与氨基酸的酸碱滴定曲线

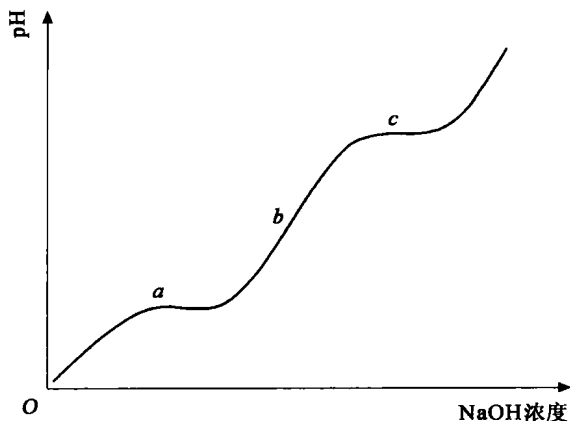
如果能清楚地解释氨基酸滴定曲线,并从中得出正确结论,就能应对多种类型的考题。因此,有必要花一些功夫进行深刻分析。

用酸和碱对氨基酸进行滴定时,溶液 pH 的变化不是随酸或碱的加入呈线性变化,而是出现多个平缓曲线段,这是氨基酸酸碱滴定的一个特征。平缓曲线段中点(或称拐点,如下图所示 Gly 滴定时的 a 拐点、c 拐点)的出现表明此时的氨基酸对加入的酸、碱不敏感,换句话说就是对酸碱变化有缓冲作用,这种缓冲作用恰好说明氨基酸在滴定时呈现出的两性解离本质。

a 点反应了氨基酸的 $-\text{COOH}$ 在此 pH 时有一半为解离形式(碱性形式, $-\text{COO}^-$),可以获得质子;有一半为非解离形式(酸性形式, $-\text{COOH}$),可以给出质子。c 点反应了氨基酸的 $-\text{NH}_2$ 在此 pH 时表现出强缓冲能力,也就是 NH_2 有一半发生了质子化($-\text{NH}_3^+$)。因此,a 点对应的 pH 代表了羧基的解离常数 $\text{pK}-\text{COOH}$ (或 pK_1),c 点对应的 pH 表示氨基的解离常数 $\text{pK}-\text{NH}_2$ (或 pK_2)。b 点对应的是整个氨基酸分子正电荷和负电荷相等时的 pH,也就是氨基酸的 pI (详见下题)。需要明确的是这是一氨基、一羧基氨基酸的等电点,如果是碱性氨基酸或酸性氨基酸,则会另外多出一个拐点(侧链的 pK_R)。

氨基酸 α -羧基的 pK 一般在 2.0 左右,因此,当 pH 大于 3.5 时, α -羧基主要以 $-\text{COO}^-$ 形式存在。 α -氨基的 pK 在 9.4 左右,因此,当 pH 小于 8.0 时,主要以 $-\text{NH}_3^+$ 形式存在。可见,

氨基酸在 pH 3.5~8.0 时,带有相反电荷,是两性离子。在溶液中,氨基酸带有的电荷性质和电荷量随 pH 值的变化而变化。换句话说,氨基酸的解离状态是 pH 的函数。



一氨基、一羧基氨基酸的解离曲线

4. 氨基酸 pI 与氨基酸电荷性质

氨基酸 pI,就是氨基酸分子所带正电荷与负电荷相等(净电荷为零)时溶液的 pH。

(1)从氨基酸的羧基解离常数(pK_1)、氨基解离常数(pK_2)、侧链解离常数(pK_R)可以计算出氨基酸等电点。

普通氨基酸: $pI = 1/2(pK_1 + pK_2)$;

酸性氨基酸: $pI = 1/2(pK_1 + pK_R)$;

碱性氨基酸: $pI = 1/2(pK_2 + pK_R)$ 。

(2)从氨基酸 pI 可以推测氨基酸分子带电情况:

pH > pI 时,该氨基酸带负电,在电场中向正极移动;

pH < pI 时,氨基酸带正电荷,在电场中向负极移动;

pH = pI 时,分子不带电,在电场中不移动。

5. 氨基酸的几种常见反应

“桑格反应”、“艾德曼反应”和“茆三酮反应”是最常见的几种氨基酸反应,可以作为选择题或小的问答题出现。应该记清反应试剂、反应基本条件、反应本质、产物颜色以及应用特点。用比较法可以加强学习效果。下表是对几种反应的比较:

反应类型	桑格反应	艾德曼反应	茆三酮反应
反应试剂	DNFB 2,4-二硝基氟苯	PITC 异硫氰酸苯酯	水合茆三酮
反应基团	α -氨基	α -氨基	氨基、羧基
反应条件	弱碱性	弱碱性	弱酸性
反应本质	烃基化(亲核芳香取代)	烃基化	脱羧、脱氨
成色	黄色 2,4-二硝基苯基氨基酸	无色	蓝紫色 (Pro 为黄色)
应用	结合酸水解和层析分离,鉴定多肽链氨基末端氨基酸	鉴定多肽链氨基末端氨基酸;多肽序列测定	定量氨基酸;结合层析可定性氨基酸

6. 半胱氨酸残基对蛋白质结构的贡献

半胱氨酸因侧链含有巯基而具有高反应性。巯基—SH 易失去一个 H 原子,形成—S[·],其化学性质非常活跃。两个彼此足够接近的半胱氨酸侧链容易形成二硫键—S—S—。蛋白质中的半胱氨酸残基有的以二硫键形式存在,在维持蛋白质高级结构中起重要作用;有的以还原形式存在于蛋白质表面或酶活中心,保证蛋白质正常功能的实现。

在蛋白质溶液中加入含有巯基的还原剂,如 β -巯基乙醇,会使蛋白质二硫键被还原而断裂,从而破坏蛋白质构象,引起蛋白溶解度降低,造成蛋白质失活。顺便提一下,就是蛋白质的这类失活一般是可逆的,在一定条件下伸展的蛋白质多肽链可以重新折叠为天然构象(详见第二章蛋白质结构与功能)。

7. 氨基酸紫外吸收特性在氨基酸、蛋白质浓度测定中的应用

含有共轭双键的氨基酸(Tyr、Phe、Trp)在近紫外区有光吸收,最大吸收峰在 280 nm 左右。根据 Lambert-Beer 定律($A = \epsilon cl$),如果测出光吸收度 A ,便可求出浓度 c 。同样的道理,由于蛋白质中含有这类氨基酸,因此也可通过测定 280 nm 处的光吸收来计算其浓度,这便是紫外分光光度法测定蛋白质浓度的理论基础。需要注意的是,不同蛋白质中 Tyr、Phe、Trp 的含量是有差别的,如白明胶蛋白,因不含有这类氨基酸而不适合用紫外法测定蛋白质浓度。可见,用紫外分光光度法测定蛋白质浓度是粗略的,不适合用于比较不同蛋白质的浓度,而更适合在蛋白纯化过程中寻找蛋白质峰。相对于其他方法(双缩脲、Folin-酚、考马斯亮蓝法),紫外分光光度法的优点是简便、快捷,而且测后样品可以回收。

有同学可能有疑问:怎么有时用 275 nm 测 Tyr 浓度、用 257 nm 测 Phe 浓度呢?这是因为具体每一种氨基酸,其最高吸收峰有细微差别。从应用的角度看,一般记住 280 nm 这个数字,记清楚用紫外法测蛋白质浓度是在 280 nm 进行(注意核酸是在 260 nm)即可。需要注意的是,理解要准确,比如“蛋白质只有在 280 nm 有光吸收”这句话显然是不准确的。因为“光吸收”和“最大吸收峰”含义不同。蛋白质在 200~400 nm 近紫外区均有吸收,只是最大吸收峰大多在 280 nm。

8. 关于氨基酸层析技术的几个常见问题

分离氨基酸的常见层析技术有分配柱层析、纸层析、薄层层析、离子交换柱层析等。这里需要弄清楚的是:

(1)虽然不同的方法所采用的支持介质(在柱层析中称为填料)不同,但按照分离原理,前三种方法的分离原理均基于氨基酸的溶解度差异,而离子交换层析则是基于氨基酸的解离状况。需要指出的是:在分配层析中,一定温度下,当一种溶质在互不相溶的溶剂中分配达到平衡时,溶质在 A、B 两相中的浓度比值称为分配系数 K_d ,即 $K_d = c_A / c_B$ 。

(2)柱层析系统通常由两个相组成:固定相和流动相。流动相指穿过支持介质的流动溶液,而固定相是指结合在填料亲水基团上的不流动的水。许多人往往将固定相理解为柱子中的固体填料,这是错误的。

(3)分配柱层析、纸层析、薄层层析除用于分离、鉴定氨基酸外还可用于其他有机小分子的分离,但不适于分离蛋白质。纸层析中,注意 R_f 值的定义: R_f 值表示氨基酸的相对迁移率,即氨基酸离开原点的迁移距离与溶剂前沿的距离之比。在固定实验条件下,每种氨基酸的 R_f 值是恒定的。

(4)氨基酸离子交换柱层析是一个学习重点,下面给予重点讨论。

氨基酸离子交换柱层析常用离子交换树脂作为填料。离子交换树脂是由人工合成的聚苯乙烯-苯二乙烯不溶性化合物制备成的具有网状结构的高聚物。在该聚合物上引入带电基团,如引入的是酸性基团(如 $-\text{SO}_3\text{H}$, $-\text{COOH}$),则可解离出 H^+ ,溶液中的阳离子会和 H^+ 发生交换而选择性地结合到树脂上,这类交换树脂叫阳离子交换树脂;如引入的是碱性基团(如 $-\text{NH}_2$, OH^-),则可解离出 OH^- ,溶液中的阴离子能和 OH^- 发生交换而挂在树脂上,这类树脂称为阴离子交换树脂。

氨基酸与离子交换树脂的作用力主要有两个:静电引力和疏水力。静电引力是首要因素,与氨基酸的解离状态直接相关。在解离状态相近的氨基酸中,侧链疏水性越高,与树脂的作用力越大,在层析柱中停留的时间越长。

在实际应用中,离子交换树脂要进行适当处理,使之带上所需要的电荷。如强酸型阳离子交换剂,可用碱处理成钠型,将拟分离的氨基酸混合液调为 $\text{pH } 2\sim 3$,使氨基酸都带上正电荷。当这样的氨基酸样品流经层析柱时,便与树脂上的钠离子发生交换,被“挂”在树脂上。然后用洗脱液进行洗脱时,逐步提高洗脱液的 pH ,以减少氨基酸所带的正电荷,降低氨基酸与树脂的结合力;同时不断提高洗脱液的盐浓度,进一步减小氨基酸与树脂的结合力。因此,随着洗脱进行,混合液中氨基酸按照正电荷从少到多(疏水力从弱到强)的顺序被洗脱、分离出来。酸性氨基酸与碱性氨基酸相比,侧链为极性不带电荷的氨基酸与芳香族氨基酸相比,疏水性弱的氨基酸与疏水性强的氨基酸相比,都是前者先于后者被洗脱。

需要注意的是:虽然离子交换层析也可以用来分离蛋白质,但所用的离子交换剂是不同的。分离氨基酸常用阳离子交换树脂、阴离子交换树脂;分离蛋白质常用阳离子交换纤维素、阴离子交换纤维素、离子交换葡聚糖等(详见蛋白质性质与分离鉴定)。

此外,HPLC (high performance liquid chromatography)为高效液相色谱,是一种借助于高压装置,高效、快速分离分析有机小分子(包括氨基酸、多肽等)的层析技术。注意 FPLC 与 HPLC 只差一个字母,但含义不同。FPLC (fast protein liquid chromatography),即快速蛋白质液相色谱。FPLC 也借助一定压力,但比 HPLC 所采用的压力小,更适合各种具有高级结构的蛋白质大分子的分离、分析。

三、选择题

1. 在 20 种标准氨基酸中,_____。
 - A. 含有 3 种酸性氨基酸
 - B. 含有 3 种碱性氨基酸
 - C. 含有 3 种巯基氨基酸
 - D. 含有 3 种羟基氨基酸
2. 谷氨酸的 α -羧基 $\text{p}K_1=2.1$, α -氨基 $\text{p}K_2=9.5$, 侧链 $\text{p}K_R=4.1$, 因此,_____。
 - A. 谷氨酸 $\text{pI}=3.1$
 - B. 谷氨酸 $\text{pI}=5.2$
 - C. 谷氨酸 $\text{pI}=5.8$
 - D. 谷氨酸 $\text{pI}=6.8$

3. 赖氨酸的 α -羧基 $pK_1=2.2$, α -氨基 $pK_2=9.1$, 侧链 $pK_R=10.5$, 因此, _____。

- A. 赖氨酸 $pI=5.6$
- B. 赖氨酸 $pI=6.3$
- C. 赖氨酸 $pI=7.3$
- D. 赖氨酸 $pI=9.8$

4. 下述氨基酸哪一个可以通过多肽链的共价连接实现对蛋白质高级结构的稳定?

- A. Met
- B. Glu
- C. Cys
- D. Ser

5. 下述哪一个氨基酸常在酶活性中心起酸碱催化作用?

- A. E
- B. H
- C. C
- D. R

6. 已知:氨基酸 α -羧基的 $pK_1=2$, α -氨基的 $pK_2=9$, Lys 侧链氨基的 $pK_R=11$, Glu 侧链羧基的 $pK_R=4$ 。那么,寡肽 Lys-Gly-Ala-Glu _____。

- A. 在 $pH=2$ 时带有 1.5 个正电荷
- B. 在 $pH=4$ 时带有 1.5 个正电荷
- C. 在 $pH=6$ 时带有 1.5 个正电荷
- D. 在 $pH=11$ 时带有 1.5 个正电荷

7. 赖氨酸在中性 pH 下, _____。

- A. 整个分子带负电
- B. 羧基带负电,氨基带正电
- C. 整个分子带正电
- D. B, C

8. _____ 在波长 280 nm 附近有光吸收。

- A. Val
- B. Met
- C. Tyr
- D. Ser

(答案:1C 2A 3D 4C 5B 6A 7D 8C)

选择题要点解析

1. 选择 B。

[考点] 重要标准氨基酸。

[解析] 在 20 种标准氨基酸中, 含天冬氨酸、谷氨酸 2 种酸性氨基酸; 赖氨酸、精氨酸和组氨酸 3 种碱性氨基酸; 2 种羟基(包括酚羟基)氨基酸, 即丝氨酸和酪氨酸; 巯基氨基酸仅半胱氨酸 1 种。

2. 选择 A。

[考点] 酸性氨基酸等电点计算。

[解析] 谷氨酸的侧链带有一个羧基, 在生理 pH 下带负电荷, 属于酸性氨基酸。对于酸性氨基酸, 等电点的计算依据:

$$pI = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_R)$$

3. 选择 D。

[考点] 碱性氨基酸等电点计算。

[解析] 赖氨酸的侧链带有一个氨基, 在生理 pH 下带正电荷, 属于碱性氨基酸。对于碱性氨基酸, 等电点的计算依据:

$$pI = \frac{1}{2} (pK_2 + pK_R)$$

4. 选择 C。

[考点] 可形成二硫键的氨基酸及其三字母符号。

[解析] 多肽链一般为线性结构。多肽链之间的共价连接只有二硫键, 而形成二硫键的氨基酸只有半胱氨酸, 其三字母符号为“Cys”。

5. 选择 B。

[考点] 组氨酸的重要作用及单字母符号。

[解析] 组氨酸(单字母符号为“H”)含有咪唑基, 在生理 pH 下可以接受一个质子而带正电荷, 也可以给出一个质子, 这取决于它的局部微环境。组氨酸常存在于酶分子的活性部位, 在酸碱催化中起重要作用。

6. 选择 A。

[考点] 氨基酸解离。

[解析] 环境 pH 小于氨基酸 pK 时, 该基团将发生质子化(羧基不解离, 因此不带电荷; 氨基发生质子化而带一个正电荷)。环境 pH 等于氨基酸某基团的 pK 时, 有一半基团解离(对于羧基, 一半分子带负电, 一半分子不带电, 平均每分子带 0.5 个负电荷; 对于氨基, 一半分子不带电荷, 一半分子带正电荷, 平均每个分子带 0.5 个正电荷)。环境 pH 大于某基团的 pK 时, 羧基解离带一个负电荷, 氨基不带电。在 pH=2 时, 该四肽中 Lys 的 α -氨基带 1 个正电荷, 侧链基团带 1 个正电荷; Glu 的 α -羧基带 0.5 个负电荷, 侧链羧基不带电; Gly 和 Ala 的氨基和羧基均已成肽键, 没有带电荷基团。所以 A 是正确答案。

7. 选择 D。

[考点] 氨基酸带电情况。

[解析] 赖氨酸为碱性氨基酸, 其等电点高于生理 pH。在生理 pH 下, 赖氨酸侧链的 ϵ -氨基发生质子化而带正电荷; 此时, 它的羧基为解离状态而带负电, 它的氨基发生质子化而带

正电。

8. 选择 C。

[考点] 芳香族氨基酸特征吸收。

[解析] 氨基酸在可见光区没有吸收,在红外区和远紫外区都有光吸收。在近紫外区(200~400 nm),三个芳香族氨基酸-酪氨酸(Tyr)、色氨酸(Trp)和苯丙氨酸(Phe)因为含有共轭双键表现出特征吸收峰。虽然酪氨酸的最大吸收波长是 275 nm,色氨酸的最大吸收波长是 280 nm,而苯丙氨酸的最大吸收波长更短一些,为 257 nm,但通常以“280 nm”为这三种芳香族氨基酸的特征吸收峰值。大部分(而非所有)蛋白质因为含有这些氨基酸,在 280 nm 处也有特征吸收峰,光吸收值与浓度成正比,这是紫外法定量蛋白质的理论基础。

四、简答题

1. 为什么用紫外法可以测定 Tyr、Phe、Trp 的含量?

解:Tyr、Phe、Trp 是含有共轭双键的氨基酸,其溶液在近紫外区有光吸收,吸收峰在 280 nm。根据 Lambert-Beer 定律($A=\epsilon cl$),一个样品的吸光值 A 与浓度 c 为线性关系。已知比色杯光径 $l=1$ cm,并且这三种氨基酸有自己特定的摩尔消光系数 ϵ ,因此,如果测出光吸收度 A ,便可求出浓度 c 。

2. 用阳离子交换柱分离氨基酸,在 pH=2 时,碱性氨基酸和酸性氨基酸相比,哪一个先被洗脱?为什么?

解:酸性氨基酸先于碱性氨基酸被洗脱。

阳离子交换柱层析是一种用阳离子交换树脂作支持剂的层析法。阳离子交换树脂上含有的酸性或弱酸性基团可以解离出氢离子,与溶液中的阳离子发生交换。在 pH=2 时,氨基酸的羧基不发生解离,而氨基会发生质子化,因此氨基酸主要以阳离子形式存在。碱性氨基酸带有两个氨基、一个羧基;酸性氨基酸带有两个羧基,一个氨基。发生质子化后,碱性氨基酸所带正电荷明显多于酸性氨基酸。氨基酸与树脂的亲合力主要取决于它们之间的静电吸引,因此,碱性氨基酸与树脂上的阳离子发生交换而被“挂”在树脂上机会多,结合力强;相反,酸性氨基酸则结合力弱。因此当用缓冲液洗脱氨基酸时,酸性氨基酸将先于碱性氨基酸被洗出。

3. 蛋白质的水解产物是什么?

解:蛋白质是由氨基酸残基靠肽键连接起来的,其完全水解产物是氨基酸。实际上,蛋白质水解方法不同,所得到的水解产物是有区别的:

蛋白质经酸水解(如 6 mol/L HCl,煮沸 20 h),产生的氨基酸为 L-氨基酸,但色氨酸被破坏,羟基氨基酸部分分解,酰胺类氨基酸的酰胺基团也会遭到破坏。

蛋白质经碱水解(如 5 mol/L NaOH,煮沸 10 h)后的产物中,除色氨酸稳定外,大多数氨基酸被不同程度破坏。

蛋白质的蛋白酶水解往往是不完全水解,产物是不同大小的肽段。不同蛋白酶水解位点专一性不同,对同一种蛋白质水解产生的肽段大小也不同。

4. 请按顺序写出肽段 WFYPCSKE 氨基酸残基的名称,并注明哪个是碱性氨基酸? 哪个是酸性氨基酸?

解:W(色氨酸)F(苯丙氨酸)Y(酪氨酸)P(脯氨酸)C(半胱氨酸)S(丝氨酸)K(赖氨酸:碱性氨基酸)E(谷氨酸:酸性氨基酸)。

5. 组氨酸各基团的 pK 值分别为:羧基为 1.8(pK_1),氨基为 9.3(pK_2),侧链为 6(pK_R)。赖氨酸各基团的 pK 值分别为:羧基为 2.2(pK_1),氨基为 9.1(pK_2),侧链为 10.5(pK_R)。请分析这两种氨基酸中哪种更适合作为细胞的缓冲剂? 为什么?

解:组氨酸。因为赖氨酸的 pK_1 、 pK_2 和 pK_R 都远离生理 pH,这三个基团在生理 pH 下都处于带电状态(α 羧基带负电、 α 氨基和侧链均带正电),不具备缓冲能力。而组氨酸,虽然其 pK_1 、 pK_2 远离 pH 7,但 pK_R 为 6,因此在生理 pH 下,咪唑基几乎有一半为质子化的,一半没有质子化。此时它既能从环境中获取质子,又能释放出质子,因而更适合作为细胞的缓冲剂。

五、实验题

1. 有两种氨基酸的水溶液:酪氨酸,谷氨酸。请问如何快速区分这两种氨基酸? 并说明原因。

解:用蒸馏水作空白对照,利用紫外分光光度计在 280 nm 分别测定两种溶液的吸光值。有吸光值的为酪氨酸,没有读数或吸光值很低的样品即为谷氨酸。

因为酪氨酸侧链含有共轭双键,在近紫外区有吸收峰;而谷氨酸不含共轭双键,在 280 nm 光吸收很低。

2. 一个氨基酸混合样品,经过常规纸层析有效分离后,需要用试剂显色出氨基酸位点。请问:(1)常用显色试剂是什么?(2)显色原理是什么?(3)如何设计对照才能使氨基酸得到定性?(4)如果有一个氨基酸点呈黄色,请说出该氨基酸的特征。

解:

(1)水合茚三酮。

(2)在弱酸性条件下, α -氨基酸与水合茚三酮共热,氨基氧化脱氨,羧基发生脱羧反应,生成紫色化合物;脯氨酸为亚氨基酸,显色特殊,为黄色。

(3)用标准氨基酸(已知氨基酸)为对照,在同样条件下进行纸层析分离、显色反应,比较未知样品和对照样品位点的 R_f 值,则可确定未知氨基酸的种类。

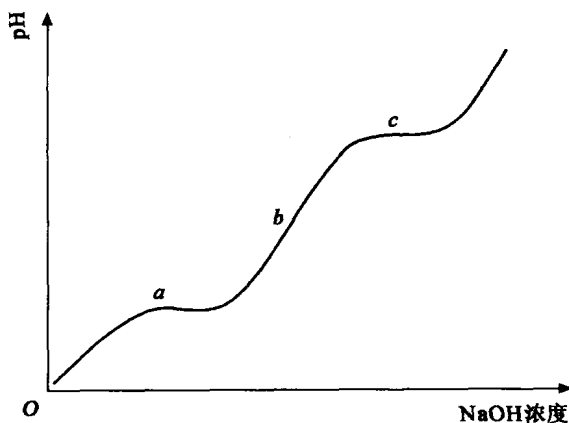
(4)为脯氨酸,属于 α -亚氨基酸,没有自由的 α -氨基,侧链为杂环结构。

3. 如何证明氨基酸的酸碱性?

解:对氨基酸进行酸碱滴定。在一组相同氨基酸溶液中分别加入等量增加的碱,测定溶液 pH;同样,在另一组氨基酸溶液中分别加入等量增加的酸,测定溶液 pH。以 pH 为纵坐标,以酸、碱加入量为横坐标,绘出滴定曲线。

从滴定曲线可以看出,氨基酸溶液 pH 的变化并不随酸的等量加入呈线性降低,也不随碱的等量加入成线性增加,而是出现多个拐点,说明氨基酸有获得质子和解离质子的能力来缓冲因酸碱加入引起的 pH 的变化,也就是说氨基酸具有酸碱两性性质。

4*. 下图是 Gly 的滴定曲线。请回答：



Gly 的滴定曲线

(1) 从该图可以得出什么结论？

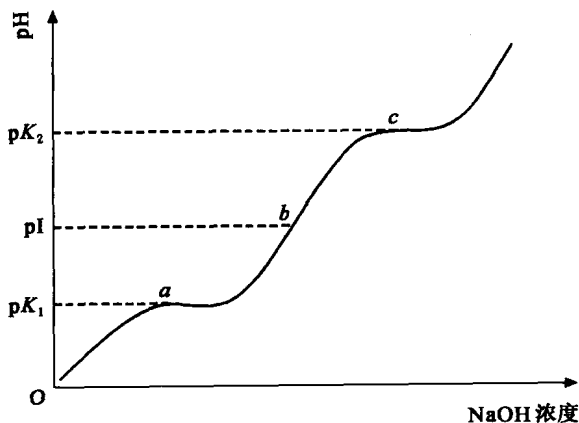
(2) 如果用 pK_1 表示羧基解离常数, 用 pK_2 表示氨基解离常数, 请在图上标出 pK_1 、 pK_2 、 pI 的位置, 并阐述其含义和三者的关系。

(3) 当溶液 pH 大于、等于、小于氨基酸 pI 时, Gly 分子分别带什么电荷？

解：

(1) 结论有两个：Gly(甘氨酸)具有酸碱性质, 在溶液中可以发生两性解离；甘氨酸的解离状态(带电情况)是 pH 的一个函数(随溶液 pH 而变化)。

(2) pK_1 是甘氨酸的羧基解离一半时溶液的 pH； pK_2 是甘氨酸氨基解离一半时溶液的 pH； pI 为氨基酸分子净电荷为零时的溶液 pH。三者的关系是： $pI = 1/2(pK_1 + pK_2)$ 。



(3) pH 小于 pI 时, 甘氨酸带正电；pH 大于 pI 时, 甘氨酸带负电；pH 等于 pI 时, 甘氨酸不带电。