

5 年制全国高等医学院校辅导教材

生物化学

要点与自测

■ 李 刚 主编



北京大学医学出版社

五年制全国高等医学院校辅导教材

生物化学要点与自测

主 编 李 刚

副主编 (以姓氏笔画为序)

于公元 刘淑萍 陈 瑞

编 者 (以姓氏笔画为序)

于公元 天津医科大学

王新娟 北京大学医学部

马康涛 北京大学医学部

刘淑萍 内蒙古医学院

李 刚 北京大学医学部

李平凤 北京大学医学部

关泽红 内蒙古医学院

陈 瑞 首都医科大学

张祖珣 首都医科大学

周 虹 哈尔滨医科大学

周春燕 北京大学医学部

倪菊华 北京大学医学部

贾弘禔 北京大学医学部

童坦君 北京大学医学部

解用虹 天津医科大学

北京大学医学出版社

SHENGWU HUAXUE YAODIAN YU ZICE

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学要点与自测/李刚主编. —北京: 北京大学医学出版社, 2003.4
ISBN 7-81071-414-7

I. 生… II. 李… III. 生物化学 - 医学院校 - 教学参考资料 IV. Q5

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 098131 号

本书从 2003 年 4 月第 1 次印刷起封面贴防伪标记, 无防伪标记不准销售。

北京大学医学出版社出版发行

(100083 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内)

责任编辑: 赵 蔚

责任校对: 焦 娴

责任印制: 张京生

莱芜市圣龙印务书刊有限责任公司印刷 新华书店经销

开本: 787mm × 1092mm 1/16 印张: 17 字数: 429 千字

2003 年 4 月第 1 版 2003 年 4 月第 1 次印刷 印数: 1—10000 册

定价: 24.00 元

版权所有 不得翻印

前 言

《生物化学要点与自测》是根据北京大学医学部、首都医科大学、天津医科大学、哈尔滨医科大学和内蒙古医学院五院校教师合编教材《生物化学》（北京大学医学出版社2003年出版）内容编写的，为医学本科生的辅导教材，并可作为研究生入学考试的参考用书。

本辅导教材与主教材章节相同，共十八章。每章有“教学纲要”、“教学基本要求”、“测试题”（A型题、B型题和X型题、名词解释和问答题）和“参考答案”四部分内容。其中“教学纲要”即主教材《生物化学》的教学大纲。“教学基本要求”是编写人员为帮助学生掌握生物化学基本理论，根据多年教学经验，归纳总结的要点和难点，并提出了一些学习和记忆的方法，使同学们在课堂讲授后，参考本书，能尽快掌握理论课学习的要点。“测试题”包括A型题（单选题）、B型题、X型题（多选题）、名词解释和问答题五种题型，这些题型是参编单位近年的基本考试题型。“测试题”内容占本书较大篇幅，这是考虑到生物化学课程在学习上历来有一定难度，要较好、较快地掌握本学科的各知识点，大量做习题是一种很好的办法。通过参照测试题所附的“参考答案”，同学们可以对理论知识的掌握情况进行自我检测和评估。

由于编者在教学中的经验及对教材中知识的认识能力有限，难免有疏漏和错误的地方，所以恳切希望广大的读者在本书使用之后，能够对其中的不当和错误给予指正，并及时将意见和建议反馈回来，以便我们今后对本书进行进一步的修改和补充，使其更加完善和实用。

李 刚

2002.10 北京

目 录

第一章 蛋白质化学 (1)	 (33)
教学纲要..... (1)	第二节 酶的分子结构..... (33)
教学基本要求..... (1)	第三节 酶促反应的特点..... (34)
第一节 蛋白质在生命活动中的重 要性..... (1)	第四节 酶促反应机制..... (35)
第二节 蛋白质的分子组成..... (1)	第五节 酶促反应动力学..... (35)
第三节 蛋白质的分子结构..... (2)	第六节 调节酶..... (37)
第四节 蛋白质结构与功能的关系 (4)	第七节 酶活性的测定..... (38)
第五节 蛋白质的理化性质及分离 纯化..... (5)	第八节 酶的命名与分类..... (38)
第六节 蛋白质一级结构测定简介 (6)	第九节 其他具有催化作用的生物 分子..... (38)
测试题..... (6)	第十节 酶与医学的关系..... (38)
参考答案..... (16)	测试题..... (39)
第二章 核酸化学 (21)	参考答案..... (49)
教学纲要..... (21)	第四章 维生素 (54)
教学基本要求..... (21)	教学纲要..... (54)
第一节 概述..... (21)	教学基本要求..... (54)
第二节 核酸的基本结构单位：核 苷酸..... (21)	第一节 总论..... (54)
第三节 DNA 分子的结构与功能 (22)	第二节 脂溶性维生素..... (54)
第四节 RNA 分子的结构与功能 (22)	第三节 水溶性维生素..... (55)
第五节 核酸的理化性质..... (23)	测试题..... (57)
第六节 核酸酶与核苷酸的序列测 定..... (24)	参考答案..... (61)
测试题..... (24)	第五章 糖代谢 (63)
参考答案..... (31)	教学纲要..... (63)
第三章 酶与生物催化剂 (33)	教学基本要求..... (63)
教学纲要..... (33)	第一节 概述..... (63)
教学基本要求..... (33)	第二节 糖的分解代谢..... (63)
第一节 酶在生命活动中的重要性	第三节 糖原的合成与分解 (66)
	第四节 糖异生作用..... (67)
	第五节 糖代谢紊乱..... (68)
	测试题..... (69)
	参考答案..... (78)
	第六章 生物氧化 (85)
	教学纲要..... (85)

教学基本要求	(85)
第一节 生物氧化的概念和意义	(85)
第二节 水的生成——线粒体氧化体系	(85)
第三节 ATP 的生成和储存利用	(87)
第四节 非线粒体氧化体系	(88)
测试题	(89)
参考答案	(95)
第七章 脂类代谢	(99)
教学纲要	(99)
教学基本要求	(99)
第一节 脂类的生理功能	(99)
第二节 脂类的消化吸收	(100)
第三节 血浆脂蛋白	(100)
第四节 甘油三酯的中间代谢	(102)
第五节 磷脂的代谢	(103)
第六节 胆固醇的代谢	(104)
测试题	(105)
参考答案	(114)
第八章 氨基酸代谢	(121)
教学纲要	(121)
教学基本要求	(121)
第一节 蛋白质的营养作用	(121)
第二节 蛋白质的消化, 吸收与腐败	(122)
第三节 氨基酸的一般代谢	(123)
第四节 氨的代谢	(123)
第五节 个别氨基酸的代谢	(125)
测试题	(127)
参考答案	(137)
第九章 核苷酸代谢	(141)
教学纲要	(141)
教学基本要求	(141)
第一节 核苷酸的合成	(141)
第二节 核苷酸的分解代谢	(146)
测试题	(147)

参考答案	(152)
第十章 物质代谢的相互联系与调节	(157)
教学纲要	(157)
教学基本要求	(157)
第一节 物质代谢的相互联系	(157)
第二节 物质代谢的调节	(158)
第三节 细胞信息传递	(160)
测试题	(162)
参考答案	(167)
第十一章 DNA 的生物合成	(170)
教学纲要	(170)
教学基本要求	(170)
第一节 DNA 复制	(171)
第二节 DNA 损伤的修复合成	(173)
第三节 反转录	(173)
测试题	(174)
参考答案	(179)
第十二章 RNA 生物合成	(183)
教学纲要	(183)
教学基本要求	(183)
第一节 转录体系	(183)
第二节 转录过程 (以原核为例)	(184)
第三节 转录后的加工过程	(185)
第四节 RNA 复制	(187)
测试题	(187)
参考答案	(192)
第十三章 蛋白质生物合成	(195)
教学纲要	(195)
教学基本要求	(195)
第一节 蛋白质合成体系的组成与作用	(195)
第二节 蛋白质的合成过程	(196)
第三节 蛋白质合成与医学	(197)

测试题	(198)	教学基本要求	(232)
参考答案	(204)	第一节 血液的基本成分与功能	(232)
第十四章 基因、基因组和基因表达调控	(209)	第二节 血浆蛋白质	(232)
教学纲要	(209)	第三节 血红蛋白的合成与红细胞代谢	(234)
教学基本要求	(209)	测试题	(236)
第一节 基因和基因组	(209)	参考答案	(239)
第二节 癌基因与抑癌基因	(210)	第十七章 肝生化	(242)
第三节 基因表达调控相关概念与原理	(211)	教学纲要	(242)
第四节 原核基因转录调节	(212)	教学基本要求	(242)
第五节 真核基因转录调节	(213)	第一节 肝在物质代谢中的作用	(242)
测试题	(215)	第二节 肝的生物转化作用	(243)
参考答案	(219)	第三节 胆汁与胆汁酸代谢	(244)
第十五章 重组 DNA 技术	(221)	第四节 胆色素代谢与黄疸	(245)
教学纲要	(221)	测试题	(248)
教学基本要求	(221)	参考答案	(255)
第一节 概述	(221)	第十八章 钙磷代谢与必需微量元素	(257)
第二节 重组 DNA 技术的基本步骤	(221)	教学纲要	(257)
第三节 重组 DNA 技术与分子医学	(222)	教学基本要求	(257)
测试题	(223)	第一节 钙磷代谢	(257)
参考答案	(229)	第二节 必需微量元素	(259)
第十六章 血液的生物化学	(232)	测试题	(259)
教学纲要	(232)	参考答案	(262)

第一章 蛋白质化学

教 学 纲 要

1. 在熟记蛋白质生理功能的基础上, 论述蛋白质是生命活动的物质基础。
2. 熟记蛋白质的元素组成特点; 多肽链的基本组成单位—— $L\alpha$ 氨基酸; 20 种氨基酸的缩写符号、结构式及主要特点。
3. 准确描述肽键, 多肽链, 蛋白质一级结构、高级结构的概念。
4. 结合实例论述蛋白质结构与功能的关系。
5. 熟记蛋白质重要的理化性质及有关的基本概念, 列举蛋白质的性质及医学的关系; 结合蛋白质的性质, 列举蛋白质分离纯化及测定方法。
6. 知道多肽链氨基酸序列分析的方法及关键试剂的名称。

教学基本要求

第一节 蛋白质在生命活动中的重要性

蛋白质是一切生命活动的重要的物质基础, 是构成生物体各种组织的主要有机成分。人体中蛋白质含量丰富, 约占固体成分的 45%。蛋白质具有多种多样的生物学功能: 催化生物体内代谢反应的酶大多是蛋白质; 调节代谢反应的某些激素是蛋白质; 免疫球蛋白对机体具有保护功能; 转运蛋白可在不同组织间载运代谢物; 结构蛋白对生物体起支持和保护作用, 还有运动蛋白、储存蛋白、甜味蛋白、抗冻蛋白等。蛋白质组 (proteome) 指的是基因组表达的全部蛋白质, 常用的研究方法是二维凝胶电泳 (2-DE) 和质谱 (MS) 分析。

第二节 蛋白质的分子组成

1. 蛋白质的元素组成 组成蛋白质的元素主要有碳、氢、氧、氮和硫, 有些蛋白质还含有少量磷和金属元素。各种蛋白质的含氮量很接近, 平均为 16%。这与样品中蛋白质含量的测定有关。

2. 蛋白质的基本组成单位 $L\alpha$ 氨基酸是蛋白质的基本组成单位, 常见者有 20 种。按其侧链 R 的结构和理化性质可分为 4 类: ①非极性、疏水氨基酸 (非极性 R 基氨基酸); ②极性、中性氨基酸 (不带电荷的极性 R 基氨基酸); ③酸性氨基酸; ④碱性氨基酸。

所有氨基酸都含有氨基 ($-NH_2$), 能与质子 (H^+) 结合而呈阳离子 (NH_3^+); 又含有羧基 ($-COOH$), 能与羟基 ($-OH$) 结合失去质子而变成阴离子 ($-COO^-$), 所以它

是一种两性电解质，具有两性游离的特性。在某 pH 环境中，氨基酸游离成阳离子及阴离子的趋势相等，成为氨基酸的兼性离子。兼性离子所带净电荷为零，在电场中不泳动。此时，氨基酸所处环境的 pH 称为该种氨基酸的等电点 (pI)。

氨基酸的 pI 是由 α -COOH、 α -NH₂ 解离常数的负对数 pK_1 和 pK_2 决定的。若一个氨基酸侧链 R 基团可以解离，则 pK_R 应予以考虑。具体每一种氨基酸 pI 的计算公式可分为三种情况：

- 为非极性基团或虽为极性基团但并非游离的氨基酸， $pI = 1/2 (pK_1 + pK_2)$ 。Tyr 的酚—OH 基虽具有弱酸性，但解离程度很小，故其 pI 按此情况计算。

- 酸性氨基酸 (谷、天冬)， $pI = 1/2 (pK_1 + pK_R)$ 。Cys 不属于酸性氨基酸，但其—SH 具有弱酸性，在 pH7.0 时，Cys 的—SH 大约解离 8%，故其 pI 按酸性氨基酸计算。

- 碱性氨基酸 (赖、精、组)， $pI = 1/2 (pK_2 + pK_R)$ 。

各种氨基酸的解离常数通过实验测得。

色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸在 280nm 波长附近具有最大吸收峰，大多数蛋白质中又含有这些氨基酸，故在 280nm 测定蛋白质溶液的吸收值，是定量测定溶液中蛋白质含量的一种最迅速简便的方法。利用氨基酸与茚三酮的颜色反应，也可作定量测定。

蛋白质的分子组成与蛋白质的结构、功能、序列分析、合成、测定、分离纯化以及蛋白质的分子设计等都关系密切，因而氨基酸这部分内容既是下一步学习的基础，也是今后从事相关工作的基础。20 种氨基酸的中、英文名字及中、英文缩写都应记忆，可结合氨基酸的化学结构、分类及其分子中的特征基团记忆；或按课本上的分类方法记忆；或自己进行分类记忆，例如：缬、亮、异亮、苏、赖、蛋、苯丙、色为 8 种必需氨基酸，其余为非必需氨基酸。含硫氨基酸包括蛋氨酸和半胱氨酸，两个 Cys 借二硫键连接起来就是胱氨酸。此外，二硫键在蛋白质结构的形成中起重要作用。芳香族氨基酸包括 Tyr、Trp、Phe，它们含有苯环，苯环有共轭双键，在波长 280nm 处有最大吸收。

第三节 蛋白质的分子结构

蛋白质的种类繁多，功能各异，这主要是与蛋白质的分子结构有关。氨基酸通过肽键连接成肽，一般将少于 10 个氨基酸的肽链称为寡肽，多于 10 个氨基酸的肽链称多肽。多肽链有方向性，从 N 末端指向 C 末端。体内及自然界有许多生物活性肽。例如谷胱甘肽、脑啡肽、催产素、短杆菌 S 等，它们都具有重要的生物学功能。

体内发挥不同功能的蛋白质都是有序结构，可将这种有序结构分为一、二、三、四级。一级结构是指蛋白质的多肽链中氨基酸的排列顺序，靠肽键连接，有些尚含有二硫键。二至四级结构称为蛋白质的空间结构，或构象，主要靠次级键维系，二硫键可使远离的肽段靠近，在空间结构的形成中也起着重要作用。

蛋白质的一级结构测定或称序列分析，常用的方法是 Edman 化学降解法和重组 DNA 法。前者是经典的化学方法，后者是基于分子克隆的分子生物学方法。重组 DNA 法测序首先需得到编码某种蛋白质的基因 (DNA 片段)，然后测定 DNA 分子中核苷酸的排列顺序，再根据 3 个核苷酸编码 1 个氨基酸的原则推演出氨基酸的排列顺序。不必首先纯化该种蛋白质。这一复杂的过程借助于计算机的帮助可变得比较简单并高效。而 Edman 化学

降解法则比较复杂,首先需要纯化一定量的待测蛋白质,分别作分子量测定、氨基酸组成分析、N末端分析、C末端分析;再用不同的化学试剂或特异的蛋白内切酶将待测蛋白质水解成大小不同的肽段,然后对每一肽段作序列分析,再拼接起来。两种方法各有其特点,可以相互印证和补充。目前,由于重组DNA法比化学降解法要快,已成为常用的蛋白质一级结构测定方法。

蛋白质空间结构的测定方法中常用的是X射线晶体衍射法。首先测定了肽单元是由6个原子($C_{\alpha 1}$ 、C、O、N、H和 $C_{\alpha 2}$)组成的一个酰胺平面。肽键具有一定双键性,不能自由旋转,但 C_{α} 分别相连的两个键可以旋转,因此相邻的两个肽单元可随所连的两个单键的旋转而形成相对的空间位置关系。蛋白质的二级结构是指多肽链骨架中原子的局部空间排列,不涉及侧链的构象,主要有 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角和无规卷曲。 α 螺旋为右手螺旋,主要靠氢键维系,氢键的方向基本与长轴平行,每3.6个氨基酸残基螺旋上升一圈,螺距为0.54nm,氨基酸侧链伸向螺旋外侧。在 β 折叠结构中,多肽链充分伸展,各肽键平面之间折叠成锯齿状结构,侧链R基团交错位于锯齿状结构的上下方,主要靠氢键维系,氢键的方向与折叠的长轴基本垂直。可有顺平行片层和反平行片层结构。肽链主链出现的180°回折部分称 β 转角,分为I型和II型,也各具特点。蛋白质分子中那些没有确定规律性的部分肽链构象称为无规卷曲。

在许多蛋白质中,有两个或三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,称为模序(motifs or modules)。有的将这种规则的二级结构的聚集体称为超二级结构(supersecondary structure),例如有 α 螺旋组合($\alpha\alpha$)、 β 折叠组合($\beta\beta$)及 α 螺旋和 β 折叠混合组合($\alpha\beta\alpha$)。又如锌指结构模序、亮氨酸拉链模序,它们可直接作为三级结构的“建筑块”或结构域(domain)的组成单位,是蛋白质发挥特定功能的基础。结构域是在较大的蛋白质分子中所形成的两个或多个在空间上可明显区别的局部区域。结构域具有独特的空间构象,与分子整体以共价键相连,并且各承担不同的生物学功能。例如,3-磷酸甘油醛脱氢酶有与其辅酶NAD结合的结构域,还有决定其与特定底物结合的结构域。结构域之间一般不能分开,这是它与亚基的区别。

蛋白质的三级结构是指在一条多肽链中所有原子的整体排布,包括主链和侧链。三级结构的形成使得在序列中相隔较远的氨基酸侧链相互靠近,疏水基团在内、亲水基团在外,形成亲水的球状蛋白质。有的蛋白质只由一条肽链组成,三级结构形成后即具有了生物学功能,例如肌红蛋白是由一条肽链和一个血红素辅基组成。有的蛋白质由几条肽链组成,每条肽链形成三级结构(亚基)后,还需聚集形成四级结构才会具有生物学功能。例如血红蛋白由两个 α 亚基和两个 β 亚基组成,每个亚基结合一分子亚铁血红素。血红素辅基可以与氧进行可逆结合。蛋白质的空间构象主要靠次级键维系。

蛋白质的一级结构是指氨基酸排列顺序,借肽键连接;一级结构是空间结构的基础。蛋白质分子形成一定的空间构象才能执行一定的功能。蛋白质分子结构复杂,为了便于认识而分一、二、三、四级结构,尤其是空间结构很抽象,需结合多种结构图去想像、理解。

第四节 蛋白质结构与功能的关系

体内各种蛋白质的分子结构纷纭万象，其功能也多种多样。每种蛋白质都执行着特异的生物学功能，而这些功能又都是与其特异的一级结构和空间结构密切相关。

1. 蛋白质一级结构与功能的关系

牛胰核糖核酸酶 (RNase) 变性和复性的实验是蛋白质结构与功能关系的很好例证。蛋白质空间结构遭到破坏，可导致蛋白质的理化性质和生物学性质的变化，这就是蛋白质变性。变性的蛋白质，只要其一级结构仍然完好，可在一定条件下恢复其空间结构，随之理化性质和生物学性质也可重现，这被称为复性。RNase 是由 124 个氨基酸残基组成的一条肽链，分子中 8 个半胱氨酸的巯基构成 4 对二硫键，进而形成具有一定空间构象的活性蛋白质。天然 RNase 遇尿素和 β 巯基乙醇时发生变性，其分子中的氢键和 4 个二硫键解开，严密的空间结构遭破坏，丧失了生物学活性，但一级结构完整无损。若去除尿素和 β 巯基乙醇，RNase 又可恢复其原有构象和生物学活性。RNase 分子中的 8 个巯基若随机排列成二硫键可有 105 种方式，有活性的 RNase 只是其中的一种，复性时之所以选择了自然活性酶的方式，则是由肽链中氨基酸排列顺序决定的。可见蛋白质一级结构是空间结构的基础。

在蛋白质合成过程中还需有形成空间结构的控制因子，称为分子伴侣 (molecular chaperons)。在蛋白质合成时，尚未折叠的肽段有许多疏水基团暴露在外，因此具有分子内或分子间聚集的倾向，从而影响蛋白质的正确折叠。分子伴侣可以与未折叠的肽段进行可逆的结合，引导肽链的正确折叠，并集合多条肽链成为较大的结构。例如，热休克蛋白就是分子伴侣的一个家族。

蛋白质一定的结构执行一定的功能，功能不同的蛋白质总是有不同的序列；一级结构相似的蛋白质，其空间构象和功能也相近；若一级结构变化，蛋白质的功能将发生很大的变化。例如，哺乳动物胰岛素分子结构都是由 A 链和 B 链构成，且二硫键配对和一级结构均相似，它们都执行相同的调节血糖代谢等功能。比较来源不同的胰岛素的一级结构，可能有某些差异，但与功能相关的结构却总是相同。不同种属来源的胰岛素，其一级结构的差异可能是分子进化的结果。细胞色素 C 是研究蛋白质一级结构的种属差异与分子进化的又一例证。不同来源的细胞色素 C 功能相同，即参加线粒体呼吸链的组成，并在细胞色素还原酶和细胞色素氧化酶之间传递电子。比较 60 种不同种属来源细胞色素 C 的一级结构，其中有些氨基酸残基易变，但却有 27 个氨基酸残基不变。这 27 个不变的氨基酸残基是保证结合血红素、识别与结合细胞色素氧化酶和细胞色素还原酶、维持构象和传递电子所必需的。若蛋白质的一级结构发生变化影响其正常功能，进一步引起疾病，被称为分子病。镰状红细胞贫血症就是分子病典型的例子。目前已知数千种分子病与某些蛋白质的分子结构改变有关。

2. 蛋白质空间结构与功能的关系

体内各种蛋白质都有特殊的生理功能，这与空间构象有着密切的关系。肌红蛋白和血红蛋白是阐述空间结构与功能关系的典型例子。肌红蛋白 (Mb) 和血红蛋白 (Hb) 都是含血红素辅基的结合蛋白质。Mb 有一条肽链，经盘曲折叠形成三级结构。整条肽链由 A

→H 8 段 α 螺旋盘曲折叠成为球状, 疏水氨基酸侧链在分子内部, 亲水氨基酸侧链在分子外部, 形成亲水的球状蛋白, 血红素辅基位于 Mb 分子内部的袋状空穴中。Hb 有 4 条肽链, 两条 β 链也有与 Mb 相似的 A→H 8 段 α 螺旋, 而两条 α 链只有 7 段 α 螺旋。Hb 与 Mb 的折叠方式相似, 也都能与氧进行可逆的结合。Hb 的一个亚基与氧结合后可引起构象变化, 使另一亚基更易于与氧结合, 这种带氧的亚基协助不带氧的亚基去结合氧的现象, 称为协同效应。氧与 Hb 结合后引起 Hb 构象变化, 这种蛋白质分子在表现功能的过程中引起构象变化的现象称为变构效应。小分子的氧称为变构剂, Hb 则称为变构蛋白。Hb 这种变构蛋白的氧解离曲线呈“S”形, Hb 的功能主要是运输氧, 而不是变构蛋白的 Mb, 其氧解离曲线为矩形双曲线, 功能主要是贮存氧。

蛋白质的结构与功能的关系是本章的学习重点。可从多种例子去理解一级结构与功能的关系及空间结构与功能的关系, 并结合随后章节的学习反复加深理解。例如, 酶原的激活、激素原、前激素原转变为有活性的激素等均可有力地说明一级结构决定空间结构, 一定的空间结构执行一定的功能。以后要学习的变构酶、变构调节等有许多具体的例子, 是以蛋白质的结构与功能为基础。同时, 变构效应是生物体内普遍存在的功能调节方式之一。将学习的各章节内容进行有机的联系、比较, 正确理解专业名词的概念, 使“概念”变成自己知识网上的“纽带”, 就会不断积累蛋白质结构与功能的知识。

第五节 蛋白质的理化性质及分离纯化

蛋白质由氨基酸构成, 一部分性质与氨基酸相同, 如两性游离和等电点, 某些呈色反应等。但蛋白质是由氨基酸借肽键构成的高分子化合物, 又有不同于氨基酸的性质, 如胶体性质、易沉降、不易透过半透膜、变性、沉淀、凝固等。通常可利用蛋白质的理化性质和生物学性质来纯化蛋白质, 而分离纯化蛋白质又是研究单个蛋白质结构与功能的先决条件。

蛋白质分子颗粒表面大多为亲水基团, 因而通过吸引水分子而形成一层水化膜, 这是蛋白质胶体稳定的重要因素。盐析就是利用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、NaCl 等中性盐破坏蛋白质的水化膜, 使之从溶液中析出, 将不同性质的蛋白质初步分离。蛋白质分子量较大, 不易透过半透膜, 故可利用透析的方法将其与小分子化合物分开。人们常常利用透析法去除蛋白质溶液中的盐等小分子, 为进一步纯化做准备。凝胶过滤层析法是一种根据各种蛋白质分子量的差异进行分离纯化蛋白质的方法。含有各种分子量的蛋白质溶液, 在通过带有小孔的葡聚糖颗粒所填充的长柱时, 大分子量蛋白质不能进入葡聚糖颗粒而直接流出, 分子量小的蛋白质则进入颗粒而流出滞后, 这样就将蛋白质分成不同分子量的若干组分。蛋白质具有两性游离的特性, 在某一 pH 条件下, 蛋白质颗粒表面带有电荷, 可利用电泳法和离子交换层析法将蛋白质分离纯化。蛋白质被分离纯化后, 可用于作一级结构及空间结构的分析。

蛋白质从溶液中析出现象称为沉淀, 使蛋白质沉淀的方法有盐析法、有机溶剂沉淀蛋白质等。蛋白质的变性是在某些理化因素作用下蛋白质的空间构象遭受破坏, 导致若干理化性质、生物学性质的改变, 蛋白质的一级结构并无改变。大家须注意变性与沉淀的区别。沉淀的蛋白质不一定变性, 例如, 用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 沉淀蛋白质; 反之, 变性的蛋白质

也不一定沉淀,例如,将牛奶煮沸,牛奶中的酪蛋白变性了,但并没有沉淀出来。蛋白质的颜色反应主要与蛋白质的定性、定量测定原理有关,应知道常用的蛋白质测定原理。

第六节 蛋白质一级结构测定简介

蛋白质的一级结构测定一般采用 Edman 化学降解法。该方法是利用苯异硫氰酸 (PITC) 标记肽段 N 末端残基,再在一定条件下,从肽段上裂解下 N 末端氨基酸残基进行鉴定。Edman 降解法不仅可用以测定 N 末端残基,更可以从 N 末端开始一地将氨基酸切割下来进行鉴定,对蛋白质肽段进行序列分析。可作为 N 末端鉴定的化学试剂还有 2,4-二硝基氟苯 (FDNB)、二甲基氨基萘磺酰氯 (DNS-Cl) 等。C 末端分析常采用羧基肽酶。蛋白质的一级结构分析也可利用重组 DNA 法,即根据蛋白质结构基因的碱基序列来推演蛋白质的氨基酸序列。蛋白质的空间构象分析主要利用蛋白质晶体进行 X 线衍射方法或二维核磁共振技术等。近年,根据蛋白质的一级结构和利用计算机技术预测其空间结构。

测 试 题

一、A 型题

1. 有一混合蛋白质溶液,各种蛋白质的 pI 分别为 4.6、5.0、5.3、6.7、7.3。电泳时欲使其中 4 种泳向正极,缓冲液的 pH 应该是
A. 5.0
B. 4.0
C. 6.0
D. 7.0
E. 8.0
2. Tyr 苯环上的—OH 大约解离 0.01%,其 pI 值按 R 为极性非游离氨基酸计算,实验测得 Tyr 的 $pK_1 = 2.20$, $pK_2 = 9.11$, $pK_R = 10.07$, Tyr 的 pI 应为
A. 6.135
B. 5.035
C. 9.59
D. 5.66
E. 以上都不是
3. 下列蛋白质通过凝胶过滤层析柱时最先被洗脱的是
A. 血清清蛋白 (分子量 68 500)
B. 马肝过氧化物酶 (分子量 247 500)
C. 肌红蛋白 (分子量 16 900)
D. 牛胰岛素 (分子量 5 700)
E. 牛 β -乳球蛋白 (分子量 35 000)
4. 下列哪一物质不属于生物活性肽
A. 胰高血糖素
B. 短杆菌素 S
C. 催产素
D. 胃泌素
E. 血红素
5. 球蛋白分子中哪一组氨基酸之间可形成疏水键
A. Glu-Arg
B. Tyr-Asp
C. Ser-Thr
D. Phe-Trp
E. Asp-Glu
6. 可以裂解肽链中蛋氨酸残基末端的试剂是
A. 羟胺

- B. 溴化氰
C. 胃蛋白酶
D. 中等强度的酸
E. 胰蛋白酶
7. 使蛋白质和酶分子显示巯基的氨基酸是
A. 半胱氨酸
B. 胱氨酸
C. 蛋氨酸
D. 谷氨酸
E. 赖氨酸
8. 蛋白质分子引起 280nm 光吸收的最主要成分是
A. 肽键
B. 半胱氨酸的—SH 基
C. 苯丙氨酸的苯环
D. 色氨酸的吲哚环
E. 组氨酸的咪唑环（异吡唑环）
9. 可用于测定多肽 N 端氨基酸的试剂是
A. 丹磺酰氯
B. β 巯基乙醇
C. 溴化氰
D. 羟胺
E. 甲酸
10. 侧链是环状结构的氨基酸是
A. Lys
B. Tyr
C. Val
D. Ile
E. Asp
11. 下列各类氨基酸中不含必需氨基酸的是
A. 酸性氨基酸
B. 含硫氨基酸
C. 支链氨基酸
D. 芳香族氨基酸
E. 碱性氨基酸
12. 变性蛋白质的特点是
A. 黏度下降
B. 丧失原有的生物活性
C. 颜色反应减弱
D. 溶解度增加
E. 不易被胃蛋白酶水解
13. 蛋白质变性是由于
A. 蛋白质一级结构改变
B. 蛋白质空间构象的改变
C. 辅基的脱落
D. 蛋白质水解
E. 以上都不是
14. 以下哪一种氨基酸不具备不对称碳原子
A. 甘氨酸
B. 丝氨酸
C. 半胱氨酸
D. 苏氨酸
E. 丙氨酸
15. 下列有关蛋白质 β 片层结构的叙述正确的是
A. β 角蛋白具有典型的 β 片层结构
B. 两个相邻的肽平面呈折扇式折叠
C. β 片层结构是一种较伸展的肽链结构
D. 若干锯齿状肽链骨架平行或反平行排列，链间靠氢键维系
E. 以上都正确
16. 可用于蛋白质定量的测定方法有
A. 双缩脲法
B. 紫外吸收法
C. Folin-酚试剂法
D. 凯氏定氮法
E. 以上都可以
17. 镰状红细胞贫血病患者 Hb 分子中氨基酸替换及位置是
A. β 链第六位 Glu $\rightarrow$ Val
B. α 链第六位 Val $\rightarrow$ Glu
C. α 链第六位 Glu $\rightarrow$ Val
D. β 链第六位 Val $\rightarrow$ Glu
E. 以上都不是
18. 甘氨酸的 $pK_{COOH} = 2.34$, $pK_{NH_2} = 9.60$,

- 故它 pI 为
- 11.94
 - 7.26
 - 5.97
 - 3.63
 - 2.34
19. 维系蛋白质一级结构的化学键是
- 氢键
 - 肽键
 - 盐键
 - 疏水键
 - 范德华力
20. α 氨基酸共有的颜色反应是
- 双缩脲反应
 - 茚三酮反应
 - 坂口反应
 - 米伦反应
 - Folin 酚试剂反应
21. 天然蛋白质中不存在的氨基酸是
- 半胱氨酸
 - 瓜氨酸
 - 羟脯氨酸
 - 蛋氨酸
 - 丝氨酸
22. 蛋白质多肽链具有的方向性是
- 从 3' 端到 5' 端
 - 从 5' 端到 3' 端
 - 从 C 端到 N 端
 - 从 N 端到 C 端
 - 以上都不是
23. 下列氨基酸不含极性侧链的是
- 丝氨酸
 - 苏氨酸
 - 亮氨酸
 - 酪氨酸
 - 半胱氨酸
24. 赖氨酸的 pK_1 为 2.18, pK_2 为 8.95, pK_R 为 10.53, 其 pI 是
- 9.74
 - 8.35
 - 6.34
 - 5.54
 - 5.27
25. 血浆蛋白质的 pI 大多为 pH5 ~ 6, 它们在血液中的主要存在形式是
- 兼性离子
 - 带负电荷
 - 带正电荷
 - 非极性分子
 - 疏水分子
26. 蛋白质分子中的 α 螺旋和 β 片层都属于
- 一级结构
 - 二级结构
 - 三级结构
 - 域结构
 - 四级结构
27. α 螺旋每上升一圈相当于氨基酸残基的个数是
- 4.5
 - 3.6
 - 3.0
 - 2.7
 - 2.5
28. 下列含有两个羧基的氨基酸是
- 缬氨酸
 - 色氨酸
 - 赖氨酸
 - 甘氨酸
 - 谷氨酸
29. 含有疏水侧链的氨基酸有
- 精氨酸、亮氨酸
 - 苯丙氨酸、异亮氨酸
 - 色氨酸、精氨酸
 - 天冬氨酸、谷氨酸
 - 蛋氨酸、组氨酸
30. 组成蛋白质的基本单位是
- L- α -氨基酸
 - D- α -氨基酸

- C. L- β -氨基酸
D. L, D- α 氨基酸
E. D- β -氨基酸
31. 蛋白质分子中的主要化学键是
A. 肽键
B. 盐键
C. 酯键
D. 二硫键
E. 氢键
32. 维持蛋白质二级结构的主要化学键是
A. 疏水键
B. 盐键
C. 肽键
D. 氢键
E. 二硫键
33. 蛋白质分子的 β 转角属于蛋白质的
A. 一级结构
B. 二级结构
C. 域结构
D. 三级结构
E. 四级结构
34. 关于蛋白质分子三级结构的描述, 其中错误的是
A. 具有三级结构的多肽链都具有生物学活性
B. 天然蛋白质分子均有这种结构
C. 三级结构的稳定性主要由次级键维系
D. 亲水基团多聚集在三级结构的表面
E. 决定盘曲折叠的因素是氨基酸序列
35. 具有四级结构的蛋白质特征是
A. 分子中必定含有辅基
B. 在两条或两条以上具有三级结构多肽链的基础上, 肽链进一步折叠, 盘曲形成
C. 依赖肽键维系四级结构的稳定性
D. 每条多肽链都具有独立的生物学活性
E. 由两条或两条以上的多肽链组成
36. 关于蛋白质的四级结构正确的是
A. 一定有多个不同的亚基
B. 一定有多个相同的亚基
C. 一定有种类相同, 而数目不同的亚基数
D. 一定有种类不同, 而数目相同的亚基
E. 亚基的种类, 数目都不定
37. 蛋白质的一级结构及高级结构决定于
A. 亚基
B. 分子中盐键
C. 氨基酸组成和顺序
D. 分子内部疏水键
E. 分子中氢键
38. 蛋白质形成的胶体颗粒, 在下列哪种条件下不稳定
A. 溶液 pH 大于 pI
B. 溶液 pH 小于 pI
C. 溶液 pH 等于 pI
D. 在水溶液中
E. 溶液 pH 等于 7.4
39. 蛋白质的等电点是
A. 蛋白质溶液的 pH 等于 7 时溶液的 pH
B. 蛋白质溶液的 pH 等于 7.4 时溶液的 pH
C. 蛋白质分子呈负离子状态时溶液的 pH
D. 蛋白质分子呈正离子状态时溶液的 pH
E. 蛋白质的正电荷与负电荷相等时溶液的 pH
40. 蛋白质溶液的稳定性因素是
A. 蛋白质溶液的黏度大
B. 蛋白质在溶液中有“布朗运动”
C. 蛋白质分子表面带有水化膜和同种电荷
D. 蛋白质溶液有分子扩散现象
E. 蛋白质分子带有电荷

41. 关于氨基酸的叙述哪一项是**错误**的
- 酪氨酸和丝氨酸含羟基
 - 酪氨酸和苯丙氨酸含苯环
 - 亮氨酸和缬氨酸是支链氨基酸
 - 赖氨酸和精氨酸是碱性氨基酸
 - 谷氨酸和天冬氨酸含两个氨基
42. 在 pH 7 时, 其侧链能向蛋白质分子提供电荷的氨基酸是
- 缬氨酸
 - 甘氨酸
 - 半胱氨酸
 - 酪氨酸
 - 赖氨酸
43. 蛋白质分子中不存在的含硫氨基酸是
- 同型半胱氨酸
 - 胱氨酸
 - 蛋氨酸
 - 半胱氨酸
 - 苏氨酸
44. 天然蛋白质中不存在的氨基酸是
- 鸟氨酸
 - 羟脯氨酸
 - 半胱氨酸
 - 蛋氨酸
 - 丝氨酸
45. 蛋白质分子中引起 280nm 光吸收的主要成分是
- 酪氨酸的酚基
 - 肽键
 - 色氨酸的吲哚环
 - 苯丙氨酸的苯环
 - 半胱氨酸的-SH 基
46. 血浆蛋白质的 pI 大多低于 pH7.4, 它们在血液中的主要存在形式是
- 兼性离子
 - 非极性离子
 - 带负电荷
 - 带正电荷
 - 疏水分子
47. 有关血红蛋白 (Hb) 和肌红蛋白 (Mb) 的叙述**不正确**的是
- 都可以与氧结合
 - Hb 和 Mb 都含铁
 - 都是含辅基的结合蛋白
 - 都具有四级结构形式
 - 都属于色蛋白类
48. 维持血浆胶体渗透压的主要蛋白质是
- 清蛋白
 - α_1 球蛋白
 - β 球蛋白
 - γ 球蛋白
 - 纤维蛋白原
49. 血清在饱和硫酸铵状态下析出的蛋白质是
- 纤维蛋白原
 - 球蛋白
 - 拟球蛋白
 - 清蛋白
 - β 球蛋白
50. 蛋白质的变性是由于
- 蛋白质一级结构改变
 - 蛋白质空间构象的破坏
 - 辅基的脱落
 - 蛋白质的水解
 - 以上都不是
51. 下列方法中哪一种**不能**将谷氨酸和赖氨酸分开
- 凝胶过滤
 - 阴离子交换层析
 - 阳离子交换层析
 - 纸层析
 - 电泳
52. 下列各类氨基酸中含必需氨基酸的是
- 碱性氨基酸
 - 芳香族氨基酸
 - 含硫氨基酸
 - 支链氨基酸
 - 以上都是