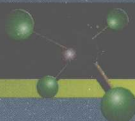


蒋霞云 王晓辉 李燕 编著



生物化学学习指导

SHENGWU HUAXUE XUEXI ZHIDAO



化学工业出版社

生物化学学习指导

生物化学学习指导

SHENGWU HUAXUE XUEXI ZHIDAO

· 1 ·

生物化学学习指导

蒋霞云 王晓辉 李 燕 编著



化学工业出版社

· 北 京 ·

本书为王镜岩等编《生物化学教程》的配套辅导书。根据教学重点, 安排有典型例题讲解, 并精选部分国家题库中的习题, 分为基础型和提高型两个层次, 覆盖各章节的主要知识点。题型多样, 针对性强, 方便读者从易到难掌握本课程的内容, 并提高灵活应用的能力。

本书适合高等院校相关专业学生使用, 也可作为研究生入学考试和青年教师的参考用书。

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学学习指导/蒋霞云, 王晓辉, 李燕编
著. —北京: 化学工业出版社, 2009. 12
ISBN 978-7-122-06796-8

I. 生… II. ①蒋…②王…③李… 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 181796 号

责任编辑: 刘亚军 史 懿
责任校对: 陈 静

装帧设计: 刘丽华

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 刷: 北京市振南印刷有限责任公司
装 订: 三河市宇新装订厂
787mm×1092mm 1/16 印张 9¼ 字数 224 千字 2010 年 1 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 20.00 元

版权所有 违者必究

前 言

生命科学被公认为 21 世纪的带头学科之一，其重要分支——生物化学的理论和技術已渗透到了生物、医药、农林、食品及发酵等诸多领域。生物化学课程被越来越多的专业列入了必修课或选修课的范围。全面地学习、灵活地运用生物化学的基本理论、基础知识，对于相关专业学生后续课程的学习及专业能力的提高是至关重要的。另一方面，随着生物学科的飞速发展，生物化学的理论和技術不断有新发现和新进展，生物化学学科的知识体系越来越庞大，知识结构尽显纷繁复杂，初学者往往觉得无所适从。作为在高等教育一线从事生物化学教学工作十余年的教师，我们编写此书的目的在于帮助初学者尽快地熟悉、适应生物化学学科的特点，准确地把握基本概念，深刻地理解基本理论和全面地掌握基本内涵，学好生物化学，为专业课程的学习奠定坚实基础。

本书是北京大學王鏡岩教授等编写的《生物化学教程》（普通高等教育“十五”国家级规划教材，2008 年出版）的配套辅导书，主要体现以下 3 个特色：①对于教材中的大部分习题，尤其是初学者感到比较困难的部分，对其进行了详细解答，期望学习者举一反三，从中获得启发；②从全国普通高等学校农林类主要课程国家试题库（基础生物化学）中精选了部分试题，分为基础型和提高型两个层次，覆盖各个章节的主要知识点，供不同需求的学习者练习、复习，以巩固所学内容；③精选的练习题重点突出，涵盖均匀，启发思维，使学生在答题的过程中能全面理解知识、综合考虑问题，达到培养和提高学生自学能力、独立分析问题和灵活解决问题能力的目的。本书适合高等院校本科相关专业学生课后复习、练习使用，也可作为研究生入学考试和青年教师的参考用书。

上海海洋大学教务处和食品学院对此书的出版给予了大力支持，特致以由衷的感谢。由于笔者水平和精力有限，书中不足之处在所难免，真诚希望读者批评指正。

目 录

第一部分	蛋白质化学	1
第二部分	糖类化学	18
第三部分	脂类化学	23
第四部分	酶化学	28
第五部分	核酸化学	39
第六部分	激素	48
第七部分	新陈代谢总论和生物能学	51
第八部分	糖类代谢	55
第九部分	脂类代谢	72
第十部分	蛋白质代谢	79
第十一部分	核酸的降解和核苷酸代谢	86
第十二部分	基础分子生物学	90
参考答案		104
参考文献		144

第一部分 蛋白质化学

1 主要内容

- 第1章 生物分子导论
- 第2章 蛋白质的构件——氨基酸
- 第3章 蛋白质的通性、纯化和表征
- 第4章 蛋白质的共价结构
- 第5章 蛋白质的三维结构
- 第6章 蛋白质的功能与进化

2 典型例题解析

2.1 氨基酸和蛋白质溶液的 pH 及 pI

【例题 1】 计算谷氨酸的 γ -COOH $2/3$ 被解离时的溶液 pH。

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \lg \frac{[\text{质子接纳体}]}{[\text{质子供体}]} = 4.25 + \lg \frac{2/3}{1/3} = 4.55$$

每个氨基酸中至少有 2 个基团可以解离，只要知道解离部分与未解离部分的比例，就可计算出此时的 pH 值，这点在溶液等电点的计算中也是有用的。

注： pK_a 的值见教材，本书中不一一给出，下同。

【例题 2】 计算下列氨基酸的 pI 值：丙氨酸、半胱氨酸、谷氨酸和精氨酸。

20 种常见氨基酸的计算方法如下：

- ① 酸性氨基酸（如 Asp、Glu）， $\text{pI} = \frac{\text{pK}_a(\text{非 } \alpha \text{ 羧基}) + \text{pK}_a(\alpha \text{ 羧基})}{2}$
- ② 中性氨基酸（如 Ala、Gly 等）， $\text{pI} = \frac{\text{pK}_a(\alpha \text{ 氨基}) + \text{pK}_a(\alpha \text{ 羧基})}{2}$
- ③ 碱性氨基酸（如 Arg、Lys、His）， $\text{pI} = \frac{\text{pK}_a(\text{非 } \alpha \text{ 氨基}) + \text{pK}_a(\alpha \text{ 氨基})}{2}$

丙氨酸、半胱氨酸属于中性氨基酸范围，所以等电点分别为 6.02、5.02；谷氨酸属于酸性氨基酸，故等电点为 3.22；精氨酸属于碱性氨基酸，故等电点为 10.76。

【例题 3】 计算下列物质（0.3mol/L）溶液的 pH：①亮氨酸盐酸盐；②亮氨酸钠盐；③等电亮氨酸。

在亮氨酸盐酸盐中，可以解离出氢离子的基团均还未解离，可作为二元弱酸来计算 pH：

$$[\text{H}^+] = \sqrt{cK_a} = \sqrt{0.3 \times 10^{-2.36}}$$

通过计算， $\text{pH} = 1.46$

同理，亮氨酸钠盐可作为二元弱碱来计算 pH：

$$[\text{OH}^-] = \sqrt{cK_b} = \sqrt{0.3 \times 10^{9.60-14}}$$

通过计算， $\text{pH} = 11.54$

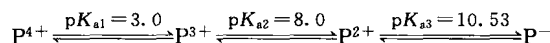
等电亮氨酸则是计算等电点 pH 的方法，即取兼性离子两边的 pK_a 值的平均值，与溶液的浓度无关。

$$\text{pH} = \frac{\text{pK}_1 + \text{pK}_2}{2} = \frac{2.36 + 9.60}{2} = 5.98$$

【例题 4】 三肽 Lys-Lys-Lys 的 pI 值必定大于它的任何一个个别基团的 pK_a 值。这种说法是否正确，为什么？

这道题实际上还是计算等电点的问题，所不同的是，处于等电点时，质子受体与质子供体的比例并不相同。

按照等电点计算的常规方法，先写出三肽（简称为 P）的解离过程。



此时，问题即转化为当 P^{2+} 2/3 解离时的 pH，按照【例题 1】的方法，计算此时 $\text{pH} = 10.83$ 。即题中原结论正确。

【例题 5】 一个八肽的氨基酸序列是：Glu-Trp-His-Ser-Ile-Arg-Pro-Gly。①在 pH3.8 和 pH11 时，此肽的净电荷和数量为多少？②估算此八肽的 pI 值。

各基团解离顺序从先到后分别为：Gly ($\alpha\text{-COOH}$)、Glu (非 $\alpha\text{-COOH}$)、His (咪唑基)、Glu ($\alpha\text{-NH}_2$)、Arg (非 $\alpha\text{-NH}_2$)

八肽的完全质子化形式为： $\text{Glu}^+ \text{-Trp-His}^+ \text{-Ser-Ile-Arg}^+ \text{-Pro-Gly}$ (P^{3+})

解离过程为： $\text{P}^{3+} - 2.34 - \text{P}^{2+} - 4.25 - \text{P}^+ - 6.0 - \text{P}^0 - 8.80 - \text{P}^- - 12.48 - \text{P}^{2-}$ ，pH3.8 时，此肽带 2 个正电荷；pH11 时，此肽带 1 个负电荷。此肽的等电点为 7.4。

【例题 6】 说明用含一个结晶水的固体组氨酸盐酸盐 ($M_r 209.6$ ；咪唑基 $\text{pK}_a = 6.0$) 和 1mol/L KOH 配制 1L pH6.5 的 0.2mol/L 组氨酸盐缓冲液的方法。

参照《普通化学》中缓冲溶液 pH 计算方法：

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \lg \frac{C_{\text{碱}}}{C_{\text{酸}}}$$

$$6.5 = 6.0 + \lg \frac{C_{\text{碱}}}{C_{\text{酸}}}$$

再根据 $C_{\text{酸}} + C_{\text{碱}} = 0.2 \times 1$ ，解出： $C_{\text{酸}} = 0.048 \text{mol/L}$ ， $C_{\text{碱}} = 0.152 \text{mol/L}$ 。

组氨酸盐酸盐分子中可解离出质子的基团有： $\alpha\text{-COOH}$ ($\text{pK}_a = 1.82$)，咪唑基 ($\text{pK}_a = 6.0$)， $\alpha\text{-NH}_2$ ($\text{pK}_a = 9.17$)。题中的过程实质是：加入 KOH 后，先中和了全部 $\alpha\text{-COOH}$ (0.2mol/L)，再中和掉部分咪唑基，数值上为 $C_{\text{碱}}$ 。

所以，需组氨酸盐酸盐的量为 0.2mol，即 41.92g，需 KOH 的量为 (0.2+0.152) mol。

2.2 氨基酸和蛋白质的分离分析

【例题 1】 甘氨酸在溶剂 A 中的溶解度为溶剂 B 中的 4 倍，苯丙氨酸在溶剂 A 中的溶解度仅为溶剂 B 中的 2 倍。利用在溶剂 A 和 B 之间的逆流分布方法将甘氨酸和苯丙氨酸分开。在起始溶液中，甘氨酸含量为 100mg，苯丙氨酸为 81mg。试回答：利用由 4 个分布管组成的逆流分布系统时，甘氨酸和苯丙氨酸各在哪一个分布管中含量最高？

这是一道考察逆流分布原理的题。仿照教材 27 页的图 2-14，得下表：

甘氨酸($K_a=4$)的分配情况					苯丙氨酸($K_a=2$)的分配情况				
溶剂 A	100				溶剂 A	81			
溶剂 B					溶剂 B				
平衡后	80				平衡后	54			
	20					27			
转移 1	16	64			转移 1	18	36		
	4	16				9	18		
转移 2	3.2	25.6	51.2		转移 2	6	24	24	
	0.8	6.4	12.8			3	12	12	
转移 3	0.8	3.2+6.4	25.6+12.8	51.2	转移 3	3	6+12	24+12	24
管号	1	2	3	4	管号	1	2	3	4

所以，甘氨酸在第 4 管分布最多，苯丙氨酸在第 3 管分布最多。由此可知，如果有更多的分布管，两种氨基酸可以实现完全分离。

【例题 2】 将含有天冬氨酸 ($pI=2.98$)、甘氨酸 ($pI=5.97$)、苏氨酸 ($pI=6.53$)、亮氨酸 ($pI=5.98$) 和赖氨酸 ($pI=9.74$) 的 pH3.0 柠檬酸缓冲液，加到预先用同样缓冲液平衡过的强阳离子交换树脂中，随后用该缓冲液洗脱此柱，并分步收集洗出液。这 5 种氨基酸将按什么次序洗脱下来？

这是氨基酸分析的典型问题，按照等电点可以把上述氨基酸排序，天冬氨酸 ($pI=2.98$) < 甘氨酸 ($pI=5.97$)、亮氨酸 ($pI=5.98$)、苏氨酸 ($pI=6.53$) < 赖氨酸 ($pI=9.74$)，由于氨基酸的洗出顺序大体上是酸性氨基酸、中性氨基酸，最后是碱性氨基酸。等电点接近的中性氨基酸之间又需考虑氨基酸和树脂之间的疏水相互作用。就氨基酸侧链的疏水性而言，亮氨酸 > 甘氨酸 > 苏氨酸，所以洗脱顺序从先到后分别为：天冬氨酸、苏氨酸、甘氨酸、亮氨酸、赖氨酸。

【例题 3】 指出从凝胶过滤层析柱（分级分离范围 5000~400000）上洗脱下列蛋白质时的顺序：肌红蛋白、过氧化氢酶、细胞色素 c、胰凝乳蛋白酶原和血清清蛋白。

凝胶过滤层析的方法可以用来分离不同分子量（形状）的蛋白质，并且测定其分子量。对于天然蛋白质，如果不考虑形状的影响，分子量越大，洗脱出峰越早，否则反之。参考数据，肌红蛋白、过氧化氢酶、细胞色素 c、胰凝乳蛋白酶原和血清清蛋白的分子量分别为：16900、247500、13370、23240（来自教材 40 页表 3-4）及 67000（来自教材 39 页图 3-8）。所以，洗脱蛋白质的顺序从先到后（对应分子量从大到小）为：过氧化氢酶、血清清蛋白、胰凝乳蛋白酶原、肌红蛋白、细胞色素 c。

【例题 4】 从凝胶过滤层析柱上洗脱细胞色素 c、 β -乳球蛋白、未知蛋白质和血红蛋白时，其洗脱体积分别为 118ml、58ml、37ml 和 24ml，未知蛋白质的 M_r 是多少？（假定所有蛋白质都是球形的，并且都处在柱的分级分离范围内）

这是计算蛋白质分子量的例子，类似的有用电泳法计算蛋白质分子量。

由于凝胶层析中， $\lg M_r = a - bV_e$ ，列出数据表：

M_r	$\lg M_r$	V_e
13370	4.13	118
64500	4.57	58
37100	4.81	24

由 EXCEL 作图并线性回归得: $\lg M_r = 4.9864 - 0.0072V_e$ ($R^2 = 0.9999$)

代入 $V_e = 37$, 即得 $M_r = 52000$ 。

需要注意的是: 题中假定所有蛋白质都是球形的, 并且都处在柱的分级分离范围内, 在实际分离蛋白质的过程中, 情况却不一定如此, 由此会带来偏差。这就是不同方法测得分子量也不同的原因之一。

【例题 5】 在正丁醇-醋酸-水溶剂系统中进行纸层析, 比较下列各级中几种氨基酸的相对迁移率的大小 (水相的 pH 为 4.5): ① Ile 和 Lys; ② Phe 和 Ser; ③ Ala、Val 和 Leu; ④ Val 和 Pro; ⑤ Glu 和 Asp。

纸层析是依据氨基酸侧链的极性进行分离的方法, 侧链极性越高, R_f 值越小, 则移动越慢。反之亦然。所以结果如下:

- ① Ile (非极性氨基酸) > Lys (极性氨基酸);
- ② Phe (非极性氨基酸) > Ser (极性氨基酸);
- ③ Leu (非极性氨基酸) > Val (非极性氨基酸) > Ala (非极性氨基酸);
- ④ Val (非极性氨基酸) > Pro (非极性氨基酸);
- ⑤ Glu (极性氨基酸) > Asp (极性氨基酸)。

【例题 6】 在下面所指的 pH 条件下, 下述蛋白质在电场中向正极移动还是向负极移动, 或者不动? ① 卵清蛋白, pH5.0; ② β -乳球蛋白, pH5.0 和 pH7.0; ③ 胰凝乳蛋白酶原, pH5.0、pH9.1 和 pH11。

电泳是分离蛋白质的常用方法, 蛋白质的带电荷状况与其本身特性和所处 pH 环境有关。

- ① 若 $pH < pI$, 蛋白质分子带正电荷, 在电场中向阴极移动;
- ② 若 $pH = pI$, 蛋白质分子净电荷为 0, 在电场中不移动;
- ③ 若 $pH > pI$, 蛋白质分子带负电荷, 在电场中向阳极移动。

所以, 各蛋白的移动方向分别为: ① 正极; ② 负极, 正极; ③ 负极, 不动, 正极。

2.3 蛋白质一级结构的测定

【例题 1】 有一个七肽, 经分析, 它的氨基酸组成是: Lys、Pro、Arg、Phe、Ala、Tyr 和 Ser。此肽未经糜蛋白酶处理时, 与 FDNB 反应不产生 α -DNP-氨基酸。经糜蛋白酶作用后, 裂解成两个肽段, 其氨基酸组成分别为 Ala、Tyr、Ser 和 Pro、Phe、Lys、Arg。这两个肽段分别与 FDNB 可分别产生 DNP-Ser 和 DNP-Lys。此肽与胰蛋白酶反应, 同时生成两个肽段, 其氨基酸组成为: Arg、Pro 和 Phe、Tyr、Lys、Ser、Ala。试写出七肽的一级结构。

这是蛋白质化学章节中较难的题目, 主要是因为它涉及了很多氨基酸及蛋白质的性质, 且需一定的推断过程。常规方法是“逐字逐句解析, 逐步确定, 最后验证”。

由“此肽未经糜蛋白酶处理时, 与 FDNB 反应不产生 α -DNP-氨基酸”可知: 此肽为环肽或不具备 α -氨基 (Pro 处在 N-末端)。

由“经糜蛋白酶作用后, 裂解成两个肽段, 其氨基酸组成分别为 Ala、Tyr、Ser 和 Pro、Phe、Lys、Arg”, 结合糜蛋白酶 (即胰凝乳蛋白酶) 的作用特点可知: 三肽以 Tyr 结尾, 四肽以 Phe 结尾。

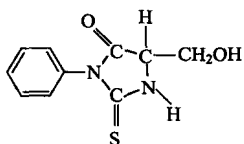
由“这两个肽段分别与 FDNB 可分别产生 DNP-Ser 和 DNP-Lys”, 三肽顺序确定为 Ser-Ala-Tyr, 四肽顺序初步定为: Lys-(Pro, Arg)-Phe, 并由此排除 Pro 在七肽的第一位可能, 确定此肽为环肽。

由“此肽与胰蛋白酶反应, 同时生成两个肽段, 其氨基酸组成为: Arg、Pro 和 Phe、

Tyr、Lys、Ser、Ala”，结合胰蛋白酶的作用特点可知：二肽为 Pro-Arg，五肽以 Lys 结尾。

最后利用片段重叠法，确定环肽的顺序为：Phe-Ser-Ala-Tyr-Lys-Pro-Arg。

【例题 2】 一个十肽的氨基酸分析表明水解液中存在下列产物： NH_4^+ 、Asp、Glu、Tyr、Arg、Met、Pro、Lys、Ser、Phe。并观察到下列事实：①用羧肽酶 A 和羧肽酶 B 处理该十肽无效；②胰蛋白酶处理产生两个四肽和游离的 Lys；③梭菌蛋白酶处理产生一个四肽和一个六肽；④溴化氰处理产生一个八肽和一个二肽（NP）；⑤胰凝乳蛋白酶处理产生两个三肽和一个四肽。N-末端的胰凝乳蛋白酶水解肽段在中性 pH 时携带 -1 净电荷，在 pH12 时携带 -3 净电荷；⑥一轮 Edman 降解得下面的 PTH 衍生物：



写出该十肽序列。

由“十肽的氨基酸分析表明水解液中存在下列产物： NH_4^+ 、Asp、Glu、Tyr、Arg、Met、Pro、Lys、Ser、Phe”，可知：某氨基酸出现了 2 次， NH_4^+ 可能来源于 Asp 或 Glu，即原为 Asn 或 Gln。

由“用羧肽酶 A 和羧肽酶 B 处理该十肽无效”可知：十肽以 Pro 结尾。

由“胰蛋白酶处理产生两个四肽和游离的 Lys”，结合胰蛋白酶作用位点（Arg 或 Lys）可知：第 4、5、6 位氨基酸为 Arg-Lys-Lys。

由“梭菌蛋白酶处理产生一个四肽和一个六肽”可验证：第 4 位氨基酸为 Arg。

由“溴化氰处理产生一个八肽和一个二肽（NP）”可确定：第 8、9、10 位氨基酸分别为 Met-Asn-Pro。

由“胰凝乳蛋白酶处理产生两个三肽和一个四肽”可确定：第 3、7 位氨基酸为 Phe 或 Tyr（顺序不能确定）。

由“N-末端的胰凝乳蛋白酶水解肽段在中性 pH 时携带 -1 净电荷，在 pH12 时携带 -3 净电荷”可确定：第 3 位氨基酸为 Tyr（侧链酚基在极端 pH 会解离），因此第 7 位氨基酸为 Phe。

由“Edman 降解的 PTH 衍生物”可验证：第 1 位氨基酸为 Ser。

所以，十肽顺序为：Ser-Glu-Tyr-Arg-Lys-Lys-Phe-Met-Asn-Pro。

【例题 3】 有一个 A 肽：经酸解分析得知由 Lys、His、Asp、Glu₂、Ala 以及 Val、Tyr 和两个 NH_3 分子组成。当 A 肽与 FDNB 试剂反应后，得 DNP-Asp；当用羧肽酶处理后得到游离缬氨酸。如果在试验中将 A 肽用胰蛋白酶降解时，得到两种肽，其中一种肽（Lys、Asp、Glu、Ala 和 Tyr）在 pH6.4 时，净电荷为零；另一种肽（His、Glu 和 Val）可给出 DNP-His，在 pH6.4 时，带正电荷。此外，A 肽用胰凝乳蛋白酶降解时，也得到两种肽，其中一种（Asp、Ala 和 Tyr）在 pH6.4 时呈中性，另一种（Lys、His、Glu₂ 和 Val）在 pH6.4 时，带正电荷。写出 A 肽的氨基酸序列。

由“经酸解分析得知由 Lys、His、Asp、Glu₂、Ala 以及 Val、Tyr 和两个 NH_3 分子组成”可推断：这是一个八肽，两个 NH_3 分子来源于酰胺氨基酸的酸水解即有 2 个氨基酸可能是酰胺。

由“A 肽与 FDNB 试剂反应后得 DNP-Asp”，可知：此八肽的 N-末端（1 位）为 Asp

或 Asn。

由“当用羧肽酶处理后得到游离缬氨酸”可知：此八肽的 C-末端（8 位）为 Val。

由“将 A 肽用胰蛋白酶降解，得到两种肽（Lys、Asp、Glu、Ala 和 Tyr）和（His、Glu 和 Val）”可知，第 5 位氨基酸为 Lys。

由“一种肽（His、Glu 和 Val）可给出 DNP-His”可知，第 6 位氨基酸为 His。

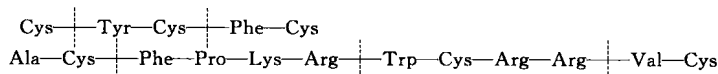
由“A 肽用胰凝乳蛋白酶降解得到两种肽（Asp、Ala 和 Tyr）和（Lys、His、Glu₂、Val）”可知，第 3 位氨基酸为 Tyr。

由“三肽（Asp、Ala 和 Tyr）在 pH6.4 时呈中性”可知，Ala 在第二位，第一位确定为 Asn（否则由于侧链羧基的解离，在 pH6.4 时会带负电荷）；结合前面五肽片段的组成，确定第 4 位氨基酸为 Glu 或 Gln，在根据“此五肽在 pH6.4 时静电荷为 0”的叙述，排除 Gln 的可能（此五肽含有 Lys 侧链，可带正电荷；若再含有带负电荷侧链的 Glu，两者可以抵消）。

至此，8 肽的位置已可以确定，第 7 位氨基酸应为 Gln。再代入验证各肽段的带电荷状况，确定八肽为：Asn-Ala-Tyr-Glu-Lys-His-Gln-Val。

【例题 4】 一个多肽可还原为两个肽段，它们的序列如下：链 2 为 Cys-Tyr-Cys-Phe-Cys，链 1 为 Ala-Cys-Phe-Pro-Lys-Arg-Trp-Cys-Arg-Arg-Val-Cys。当用胃蛋白酶消化原多肽（具有完整的二硫键）时可得下列各肽：①（Ala、Cys₂ 和 Val）；②（Arg、Lys、Phe 和 Pro）；③（Arg₂、Cys₂、Trp 和 Tyr）；④（Cys₂ 和 Phe）。试指出该天然多肽中二硫键的位置。

根据胃蛋白酶的专一性特性，两条链可能的酶切位点如下：



依据①片段的氨基酸组成，判断：链 1 的 Cys₂ 和 Cys₁₂ 之间原本存在二硫键。

依据③片段的氨基酸组成，判断：链 1 的 Cys₈ 和链 2 的 Cys₃ 之间原本存在二硫键。

依据④片段的氨基酸组成，判断：链 2 的 Cys₁ 和 Cys₅ 之间原本存在二硫键。

2.4 蛋白质的三维结构

【例题 1】 计算一个含有 78 个氨基酸的 α 螺旋的轴长。此肽的 α 螺旋完全伸展时有多长？

每一个氨基酸残基的轴向高度为 0.15nm， α 螺旋的轴长为 11.7nm。

肽键完全伸展时每一个氨基酸残基的轴向高度为 0.36nm（比 β 折叠稍大）， α 螺旋完全伸展时长度 = 28.08nm。

【例题 2】 某一蛋白质的多肽链有些区段为 α 螺旋构象，另一些区段为 β 折叠构象（不存在 β 转角和松散肽段）。该蛋白质的分子量为 240000，多肽链的长度为 5.06×10^{-5} cm，试计算分子中 α 螺旋占多肽链的百分数？（假设 β 构象中每氨基酸残基的长度为 0.35nm）

因为氨基酸残基的平均分子量为 110，则该蛋白质共有氨基酸数目为 240000/110 个；设多肽链中有个 n 氨基酸残基处于 α 螺旋构象，则：

$$\begin{aligned}
 0.15n + 0.35 \times (240000/110 - n) &= 5.06 \times 10^{-5} \times 10^7 \\
 n &= 1288
 \end{aligned}$$

α 螺旋氨基酸残基占总数的百分数为： $n/(240000/110) = 59\%$

【例题 3】 α 螺旋的稳定性不仅取决于肽键间的氢键形成，而且还取决于肽链的氨基酸侧链

性质。试预测在室温下的溶液中下列多聚氨基酸哪些将形成 α 螺旋，哪些形成其他有规则的结构，哪些不能形成有规则的结构，并说明理由。①多聚亮氨酸， $\text{pH}=7.0$ ；②多聚异亮氨酸， $\text{pH}=7.0$ ；③多聚精氨酸， $\text{pH}=7.0$ ；④多聚精氨酸， $\text{pH}=13$ ；⑤多聚谷氨酸， $\text{pH}=1.5$ ；⑥多聚苏氨酸， $\text{pH}=7.0$ ；⑦多聚脯氨酸， $\text{pH}=7.0$ 。

一条肽链能否形成 α 螺旋，与它的氨基酸组成和序列有极大关系，如R基的大小以及带电荷状况。①多聚亮氨酸（ $\text{pH}=7.0$ ）侧链不带电荷且不大（笔者认为，但从理论推断难以判断该侧链是否会影响螺旋的形成，最终的结论来自于实验），可以形成 α 螺旋；②多聚异亮氨酸（ $\text{pH}=7.0$ ），侧链不带电荷且较大（此实例在教材60页中明确提及），不能形成有规则的结构；③多聚精氨酸（ $\text{pH}=7.0$ ），由于侧链R基在此条件下带正电荷，静电排斥以致不能形成链内氢键，不能形成有规则的螺旋结构；④多聚精氨酸（ $\text{pH}=13$ ），由于侧链R基在此条件下已不带电荷，因此能形成 α 螺旋；⑤多聚谷氨酸（ $\text{pH}=1.5$ ），由于侧链R基在此条件下不带电荷，因此能形成 α 螺旋；⑥多聚苏氨酸（ $\text{pH}=7.0$ ），由于苏氨酸的侧链较小且为极性的，不利于螺旋疏水核心的形成，不能形成有规则的结构；⑦多聚脯氨酸（ $\text{pH}=7.0$ ），由于缺少酰胺氢，不能形成链内氢键，虽能形成有规则的结构，但不是 α 螺旋。

2.5 蛋白质的结构与功能

【例题1】 下列变化对肌红蛋白和血红蛋白的 O_2 亲和力有什么影响？①血浆的 pH 从7.4降到7.2；②肺中 CO_2 分压从6kPa（屏息）降到2kPa（正常）；③BPG水平从4.5mmol/L（海平面）增至7.5mmol/L（高空）。

肌红蛋白的半饱和分压很低（0.27kPa），一般情况下是高度氧合的，且不是别构蛋白质，上述这些变化对它没有影响。

血红蛋白结合氧具有协同性，且存在别构效应。血红蛋白与 O_2 结合且与 H^+ （或 CO_2 ）是拮抗的，降低血浆 pH 即增加 H^+ 能降低其与 O_2 亲和力，降低 CO_2 浓度可增加其与 O_2 亲和力；BPG是血红蛋白的重要别构抑制剂，增加BPG水平能降低血红蛋白与 O_2 亲和力。

【例题2】 如果已知 n 和 P_{50} [注意 $K=(P_{50})^n$]，可利用教材78页方程6-9计算 Y 值（血红蛋白氧分数饱和度）。设 $n=2.8$ ， $P_{50}=3.5\text{kPa}$ ，计算 $p(\text{O}_2)=13\text{kPa}$ （肺部）时的 Y 。这些条件下输氧效率（ $Y_{\text{肺}}-Y_{\text{毛细血管}}=\Delta Y$ ）是多少？当 $n=1.0$ 时，重复上面计算。比较 $n=2.8$ 和 $n=1.0$ 时的 ΔY 值，并说出协同性氧结合对血红蛋白输氧效率的影响。

ΔY 是血红蛋白输氧效率的指标。

$$\text{当 } n=2.8 \text{ 时, } \frac{Y}{1-Y} = \frac{p^n(\text{O}_2)}{K} = \frac{p^n(\text{O}_2)}{(P_{50})^n} = \frac{13^{2.8}}{3.5^{2.8}}$$

经计算， $Y_{\text{肺}}=0.98$ 。

在毛细血管中， $p(\text{O}_2)$ 约为3kPa，同理用上式计算得： $Y_{\text{毛细血管}}=0.39$ ， $\Delta Y=0.59$ 。

当 $n=1.0$ 时，计算得 $Y_{\text{肺}}=0.79$ ， $Y_{\text{毛细血管}}=0.46$ ， $\Delta Y=0.33$ 。

两次 ΔY 之差为0.26，由于血红蛋白具有协同性，使得氧的运输效率大大提高。

【例题3】 如果不采取措施，贮存时间过久的血，BPG的含量会下降。这样的血用于输血可能产生什么后果？

贮存过期的红细胞经酵解途径代谢BPG，结果BPG浓度下降，血红蛋白对 O_2 的亲

力增加,致使不能给组织供氧。接受这种 BPG 浓度低的输血,病人可能会窒息。

3 课后练习题

3.1 判断题

基 础 型

- (1) 脯氨酸属于脂肪族氨基酸。答 ()
- (2) 色氨酸是人体的非必需氨基酸。答 ()
- (3) 血红蛋白由 4 个亚基组成,而肌红蛋白只有一条肽链,因此血红蛋白与氧的亲合力较肌红蛋白更强。答 ()
- (4) 蛋白质分子主链骨架的原子排列总是以 NCCCNCCC 方式的重复。答 ()
- (5) 多肽链中氨基酸残基总是按特定顺序排列,而不是随机连接的。答 ()
- (6) 多数蛋白质分子所带电荷是由其 N-末端和 C-末端氨基酸残基所贡献的。答 ()
- (7) 寡聚蛋白质是具有一、二、三、四级结构的蛋白质。答 ()
- (8) 生物体内的氨基酸都是 L 型的。答 ()
- (9) 氨基酸溶液 pH 值在它的等电点附近缓冲容量最大。答 ()
- (10) 肽链中的肽键都是反式构型,但含有脯氨酸的肽键,可以是反式或顺式的。答 ()
- (11) 纸层析中氨基酸 R_f 值固定不变,不受溶剂系统、温度、湿度等条件影响。答 ()
- (12) 由于肽键是单键,因此可以自由旋转。答 ()
- (13) 胰岛素分子是由两条多肽链构成的,也可以说它是由两个亚基构成的。答 ()
- (14) 天然蛋白质中的 α 螺旋,几乎都是右手螺旋。答 ()
- (15) 蛋白质的氨基酸顺序(一级结构)在很大程度上可决定其三维构象。答 ()
- (16) 蛋白质变性后分子量发生改变。答 ()
- (17) 血红蛋白是变构(或别构)蛋白,与氧结合呈协同效应。答 ()
- (18) 蛋白质分子的肽链中一个氨基酸残基改变,必定引起蛋白质构象的显著变化。答 ()
- (19) 维持蛋白质三级结构稳定最重要的作用力是氢键。答 ()
- (20) 蛋白质变性后,疏水基外露,溶解度降低,分子相互凝集,形成沉淀。答 ()
- (21) 一般说来,在水溶液中蛋白质的亮氨酸残基倾向于包埋在分子内部。答 ()
- (22) 用极性有机溶剂沉淀蛋白质是因为它能与蛋白质形成不溶性的盐。答 ()
- (23) 蛋白质溶液的光吸收(A)是和蛋白质浓度的对数成正比的。答 ()

提 高 型

- (1) 肌球蛋白是纤维状蛋白质。答 ()
- (2) 氨基酸羧基转变为钠盐形式,可使羧基活化。答 ()
- (3) 溶质在两相中的分配系数不会由于两相体积的变化而改变,但有效分配系数的大小可通过改变两相的体积比进行调整。答 ()
- (4) 羟脯氨酸与茚三酮反应不释放 NH_3 。答 ()
- (5) Pauly 反应可用来测定酪氨酸。答 ()
- (6) Ellman 试剂(二硫硝基苯甲酸)可用于测定半胱氨酸中巯基的含量。答 ()
- (7) 肌肉中存在的鹅肌肽和肌肽都是二肽。答 ()
- (8) 2,4-二硝基氟苯与蛋白质 N-末端氨基形成的键对酸水解的稳定性比肽键低。答 ()

- (9) 一般用嗜热菌蛋白酶水解多肽链产生的肽段数多于用胰蛋白酶水解产生的肽段。 答 ()
- (10) 在人工合成肽时, 可用五氧化二磷保护羧基。 答 ()
- (11) 脯氨酸和羟脯氨酸可溶于乙醇或乙醚中。 答 ()
- (12) 肌球蛋白中含有 6-N-甲基赖氨酸。 答 ()
- (13) 多肽主链的亚氨基在 pH1~14 范围内有明显解离和质子化的倾向。 答 ()
- (14) 水介质中蛋白质的折叠伴随着多肽链熵的增加。 答 ()
- (15) 在蛋白质分子中尽管 C_{α} -N 和 C_{α} -C 键是可以自由旋转的单键, 但是 ϕ 角和 φ 角并不能任意取值。 答 ()
- (16) γ -球蛋白、肌球蛋白和原肌球蛋白都是由几条多肽链组成的球形分子。 答 ()
- (17) 免疫球蛋白由两条轻链和两条重链组成。它和抗原的结合只涉及轻链。 答 ()
- (18) 胶原蛋白每条肽链都含有 Gly-x-pro 或 Gly-x-Hyp 的三肽重复序列 (x 代表任何一种氨基酸残基)。 答 ()
- (19) 胰岛素分子的两个二硫键断裂后, 活性并不改变。 答 ()
- (20) 在凝血过程中, 纤维蛋白借助非共价键聚合形成不溶性的血凝块。 答 ()
- (21) 高山地区居民血液中 2,3-二磷酸甘油酸浓度比平原居民的低。 答 ()

3.2 选择题

基 础 型

- (1) 下列哪种氨基酸是人体的必需氨基酸?
① 丝氨酸 ② 丙氨酸 ③ 酪氨酸 ④ 苯丙氨酸 答 ()
- (2) 每分子血红蛋白含铁原子数为:
① 1 ② 2 ③ 3 ④ 4 答 ()
- (3) 每分子血红蛋白可结合氧的分子数为:
① 1 ② 2 ③ 4 ④ 6 答 ()
- (4) 谷蛋白易溶于下面的哪种溶剂?
① 水 ② 稀碱 ③ 中性盐溶液 ④ 醇 答 ()
- (5) 纤维状蛋白质:
① 都不溶于水 ② 都溶于水 ③ 有少数溶于水 ④ 大多数溶于水 答 ()
- (6) 下列哪项是属于二级结构的概念?
① 多肽链共价主链的氨基酸序列
② 多肽链通过侧链基团相互作用形成的构象
③ 蛋白质亚基的排列方式
④ 多肽链借助主链氢键形成的 α 螺旋和 β 折叠 答 ()
- (7) 用于蛋白质氨基酸组成测定的水解方法主要是:
① 酸水解法 ② 碱水解法 ③ 上述两种水解法 ④ 酶水解法 答 ()
- (8) 下列氨基酸中疏水性最强的氨基酸是:
① 异亮氨酸 ② 甘氨酸 ③ 丙氨酸 ④ 丝氨酸 答 ()
- (9) 在波长 280nm 光吸收最大的氨基酸是:
① His ② Phe ③ Tyr ④ Trp 答 ()
- (10) 下面哪种蛋白质不是结合蛋白?
① 牛胰核糖核酸酶 ② 血红蛋白 ③ 细胞色素 c ④ 黄素蛋白 答 ()
- (11) 生物体内具有遗传密码的氨基酸共有:

- ① 180 多种 ② 150 多种 ③ 20 多种 ④ 20 种 答 ()
- (12) 下列哪种氨基酸没有遗传密码?
① 脯氨酸 ② 羟脯氨酸 ③ 赖氨酸 ④ 色氨酸 答 ()
- (13) 在下面所列的 4 种氨基酸中, 没有旋光性的氨基酸是:
① Gly ② Arg ③ Phe ④ His 答 ()
- (14) 溶液中的氢离子浓度可用 pH 表示。该数值等于:
① $\log [H^+]$ ② $-\log [H^+]$ ③ $\ln [H^+]$ ④ $-\ln [H^+]$ 答 ()
- (15) 下列关于 β 折叠的叙述哪一项是正确的?
① 常呈左手螺旋
② 只在两条不同的肽链间形成
③ 主要靠链间的氢键维持其稳定性
④ 主要靠链间的疏水作用力维持其稳定性 答 ()
- (16) 下列关于蛋白质 α 螺旋的叙述哪一项是正确的?
① 属于蛋白质的三级结构
② 多为右手 α 螺旋, 每升高一圈相当于 3.6 个氨基酸残基
③ 二硫键起稳定作用
④ 所有的蛋白质都以 α 螺旋为主链 答 ()
- (17) 蛋白质分子中维持 α 螺旋稳定的主要作用力是:
① 疏水键 ② 氢键 ③ 离子键 ④ 范德华力 答 ()
- (18) 下列哪种蛋白质具有四级结构?
① 细胞色素 c ② 胰岛素 ③ α -胰凝乳蛋白酶 ④ 血红蛋白 答 ()
- (19) 下列关于蛋白质亚基的描述, 哪一项是正确的?
① 由一条多肽链卷曲成螺旋结构 ② 由两条以上多肽链卷曲成二级结构
③ 由两条以上多肽链与辅基结合 ④ 都有各自完整的三级结构 答 ()
- (20) 血红蛋白氧合曲线呈 S 形, 这是由于下列哪种原因引起?
① 氧与血红蛋白各个亚基的结合是互不相关的独立过程
② 第一个亚基与氧结合后增加其余亚基与氧的亲力的正协同效应
③ 第一个亚基与氧结合后降低其余亚基与氧的亲力的负协同效应
④ 氧使铁变成高价 答 ()
- (21) 具有四级结构的蛋白质分子特征是:
① 必定含有辅基 ② 含有两条或两条以上的多肽链
③ 每条多肽链都具有独立的生物学活性 ④ 依赖肽键维系稳定 答 ()
- (22) 蛋白质分子中 β 回折处常见的氨基酸残基是:
① Ala ② Ser ③ Cys ④ Pro 答 ()
- (23) 下列关于球状蛋白质的叙述哪一项是正确的?
① 球状蛋白质的整个肽链具有均一的二级结构
② 球状蛋白质都是无规线团结构
③ 多数的细胞内酶类、血浆蛋白质及蛋白类激素都属于球状蛋白
④ 骨骼及皮肤的蛋白质多属于球状蛋白质 答 ()
- (24) 下列哪种氨基酸一般位于球状蛋白质分子的表面?
① 亮氨酸 ② 苯丙氨酸 ③ 蛋氨酸 ④ 天冬氨酸 答 ()

(25) 用于测定蛋白质分子量的层析方法是:

- ① 离子交换层析 ② 吸附层析 ③ 凝胶过滤层析 ④ 气液层析法 答 ()

(26) 蛋白质形成三级结构的驱动力是:

- ① 范德华力 ② 疏水作用 ③ 氢键 ④ 离子键 答 ()

(27) 下面关于 α -氨基酸与茚三酮反应的叙述, 哪一项是错误的?

- ① 反应有 CO_2 放出
② 反应是氨基酸的 α -氨基和 α -羧基共同参加的
③ 所有氨基酸与茚三酮反应都生成紫色物质
④ 反应需要在弱酸性条件下进行 答 ()

提 高 型

(1) 血红蛋白对氧的亲合力增强是由于:

- ① 红细胞内 2,3-二磷酸甘油酸浓度增加 ② 酸中毒
③ CO_2 含量增加 ④ 氧的分压升高 答 ()

(2) 免疫球蛋白是一种:

- ① 糖蛋白 ② 铜蛋白 ③ 脂蛋白 ④ 铁蛋白 答 ()

(3) 在人工合成多肽时, 下述的哪种基团不能保护氨基?

- ① 对甲苯磺酰基 ② 苄酯基 ③ 苄氧甲酰基 ④ 叔丁氧甲酰基 答 ()

(4) 胶原蛋白在生物体内的主要功能是:

- ① 作为细胞外的结构蛋白 ② 作为细胞内的结构蛋白
③ 作为细胞外的贮存蛋白 ④ 作为细胞内的贮存蛋白 答 ()

(5) 氨基酸的等电点与下列哪种因素有关?

- ① 溶液的离子强度 ② 兼性离子的正、负电荷基团的 pK 值
③ 氨基酸的浓度 ④ 质子供体的浓度 答 ()

(6) 采用强酸型离子交换树脂分离混合氨基酸时, 氨基酸样品应调至适当 pH , 使多数氨基酸:

- ① 以阳离子形式存在 ② 以阴离子形式存在
③ 以偶极离子形式存在 ④ 以非离子形式存在 答 ()

(7) 人工合成肽时, 氨基酸用五氯化二磷处理, 其目的是:

- ① 活化氨基 ② 活化羧基 ③ 保护氨基 ④ 保护羧基 答 ()

(8) 下列哪种氨基酸有米伦反应?

- ① 色氨酸 ② 酪氨酸 ③ 苯丙氨酸 ④ 组氨酸 答 ()

(9) 下列哪种试剂不能断裂二硫键?

- ① 过甲酸 ② 二硫苏糖醇 ③ 二硫赤藓糖醇 ④ 碘乙酸 答 ()

(10) 在正丁醇: 醋酸: 水溶剂系统中进行纸层析, 发现氨基酸的 R_f 值太小, 为使 R_f 值加大, 应在:

- ① 层析缸中多加一些展层溶剂 ② 溶剂系统中加大丁醇的比例
③ 溶剂系统中加大乙酸的比例 ④ 溶剂系统中加大水的比例 答 ()

(11) β -丙氨酸存在于下列哪种物质中?

- ① 催产素 ② 加压素 ③ 肌肽 ④ 多黏菌素 E 答 ()

(12) 所有的 PTH-氨基酸在紫外区有强吸收, 最大吸收值在波长:

- ① 280nm 处 ② 220nm 处 ③ 260nm 处 ④ 268nm 处 答 ()

(13) 为测定蛋白质中二硫键位置, 常采用对角线电泳法, 点样时样品应点在滤纸哪个位置?