

全国医学类专业“十三五”规划创新教材

# 生物化学实践教程

赵 佳 王雨辰 李姝梅 主编



中国出版集团公司



世界图书出版公司

广州·上海·西安·北京

全国医学类专业“十三五”规划创新教材

《生物化学实践教程》编委会

主 编 赵 佳 王雨辰 李姝梅

副主编 李丽娟 阳 敬 任 远

编 委 (以下排名不分先后)

王雨辰 保山中医药高等专科学校

孔莲花 保山中医药高等专科学校

兰 慧 红河卫生职业学院

任 远 保山中医药高等专科学校

刘自单 红河卫生职业学院

阳 敬 红河卫生职业学院

李丽娟 红河卫生职业学院

李彦辉 北京理工大学

李姝梅 红河卫生职业学院

李瑞群 保山中医药高等专科学校

李 濛 保山中医药高等专科学校

赵 佳 红河卫生职业学院

# 前 言



生物化学是医学类专业必修的一门基础课程，针对生物化学内容抽象、知识点多等特点，我们编写了《生物化学实践教程》，它可作为医学类专业学生学习生物化学的教辅书，满足学生学习的需要。

全书内容包括学习指导及习题、实验指导两部分。在各章节编排上，力求符合学生的培养目标，每章之前列出知识目标和技能目标，便于学生掌握该章的重点；每个章节高度概括生化知识点，将本章的考点归纳、总结于知识点大集合模块中，由教师制作知识点小微课，配有“扫一扫”功能，让学生能随时进行学习；以思维导图形式高度概括各个生化知识点，突出电子信息的时代性与创新性，更有利于高职学生学习。精心编写自测习题，针对每一个知识点，从不同角度出题，让学生充分掌握知识要点；针对横向、纵向知识点进行出题，利用综合性考题让学生联系前后知识点，对考点进行系统化的归纳、总结，加深对所学知识的印象。

本书实验指导包括生化实验的基本操作、血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳、酶的特异性及影响酶活性的因素、血糖测定——葡萄糖氧化酶（GOD）法、尿淀粉酶活性测定、血清ALT活性测定（赖氏法）、血清尿素的测定、琥珀酸脱氢的竞争性抑制、肝中酮体的生成、血清白蛋白的测定（溴甲酚绿法）、血浆CO<sub>2</sub>结合力的测定方法。通过实验操作，不仅能加深对所学理论知识的理解，还可以培养学生实际动手操作能力，解决问题、分析问题的能力，以及实事求是的科研态度。

由于生物化学的内容涉及面广，编者学术水平有限，编写时间紧，书中难免会有疏漏或不足，敬请专家、使用本书的师生及读者提出宝贵意见。

编 者

2020年3月



# 目 录

<b>第一部分 学习指导及自测习题</b> .....	<b>1</b>
第一章 蛋白质的结构与功能 .....	2
第二章 酶 .....	15
第三章 核酸 .....	30
第四章 维生素 .....	53
第五章 生物氧化 .....	65
第六章 糖代谢 .....	73
第七章 脂类代谢 .....	93
第八章 蛋白质的代谢 .....	111
第九章 核苷酸的代谢 .....	132
第十章 基因表达调控与基因工程 .....	141
第十一章 肝脏生物化学 .....	151
第十二章 水和电解质代谢 .....	166
第十三章 酸碱平衡 .....	184
第十四章 血液的生物化学 .....	193
<b>第二部分 实验指导</b> .....	<b>203</b>
第一章 生物化学实验室规则 .....	204
第二章 生物化学实验 .....	205
实验一 生化实验的基本操作.....	205
实验二 血清蛋白质醋酸纤维素薄膜电泳.....	207
实验三 酶的特异性及影响酶活性的因素.....	210
实验四 血糖测定 [葡萄糖氧化酶 (GOD) 法] .....	213



实验五 尿淀粉酶活性测定	214
实验六 血清ALT活性测定(赖氏法)	216
实验七 血清尿素的测定(二乙酰一肟法)	218
实验八 琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制	220
实验九 肝中酮体的生成	221
实验十 血清白蛋白的测定(溴甲酚绿法)	223
实验十一 血浆CO <sub>2</sub> 结合力的测定方法	225

自测习题答案	227
--------	-----



## 第一部分

# 学习指导及自测习题

合眾大點得版

## 第一章

## 蛋白质的结构与功能

## 学习目标

## 知识目标:

1. 掌握蛋白质的元素组成及特点, 氨基酸的结构特点及连接方式, 蛋白质各级结构及维持各级结构稳定的作用力, 蛋白质的两性电离和等电点、电泳的概念和应用, 蛋白质的变性和应用。
2. 熟悉蛋白质的胶体性质、沉淀、紫外吸收和呈色反应, 氨基酸的分类及理化性质, 蛋白质结构与功能的关系。
3. 了解蛋白质的分类。

## 技能目标:

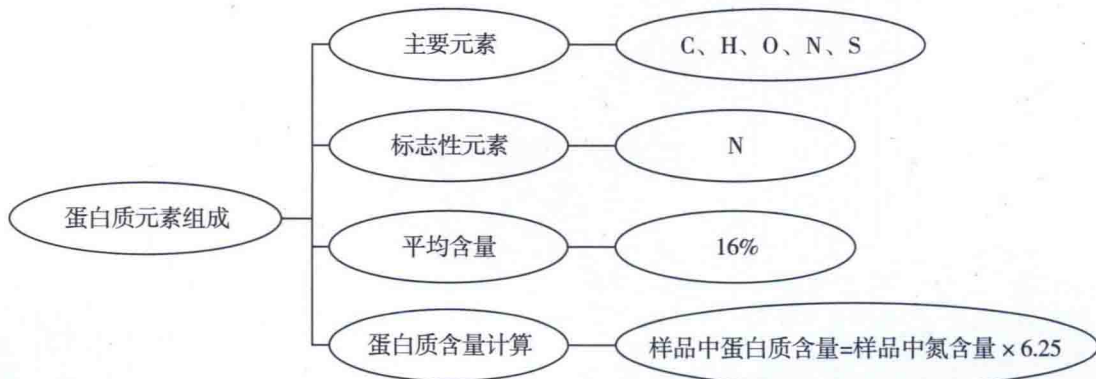
能根据样品的含氮量计算出样品中蛋白质的含量。

## 知识点大集合

## 知识点一: 蛋白质的元素组成

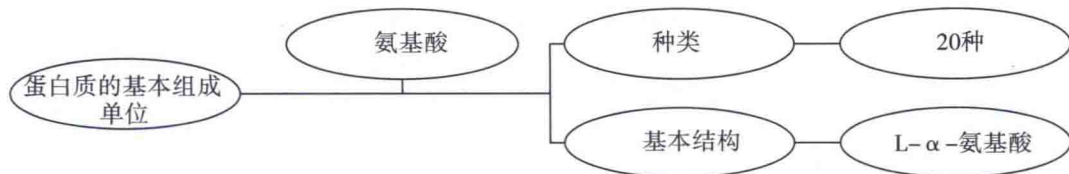
(1) 组成蛋白质的元素主要有碳、氢、氧、氮、硫。

(2) 不同的蛋白质, 其结构不相同, 但含氮量十分接近, 平均约为16%, 即每克氮相当于6.25g蛋白质。因此, 只要测出生物样品中的含氮量(常用凯氏定氮法), 即可推算出该样品中蛋白质的含量, 即: 样品中蛋白质含量(g) = 样品中氮含量 × 6.25。



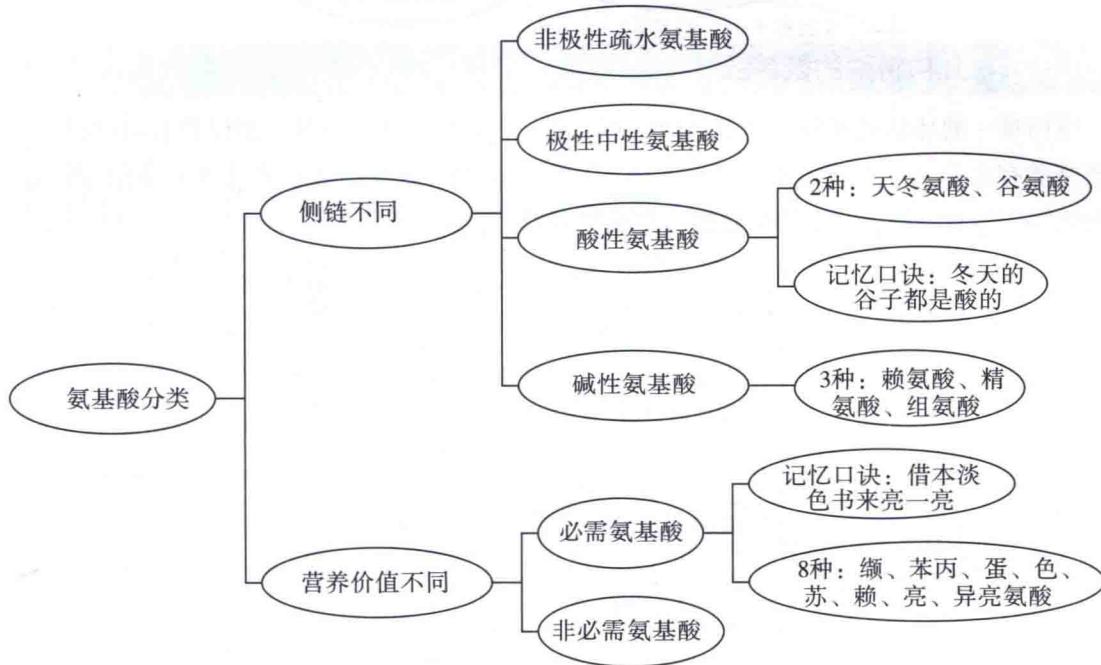
## 知识点二：蛋白质的基本组成单位

蛋白质的基本组成单位是氨基酸，组成人体蛋白质的编码氨基酸有20种，其中，除脯氨酸为 $\alpha$ -亚氨基酸外，其余19种编码氨基酸构型均为 $\alpha$ -氨基酸；氨基酸构型均为L- $\alpha$ -氨基酸。



## 知识点三：氨基酸的分类

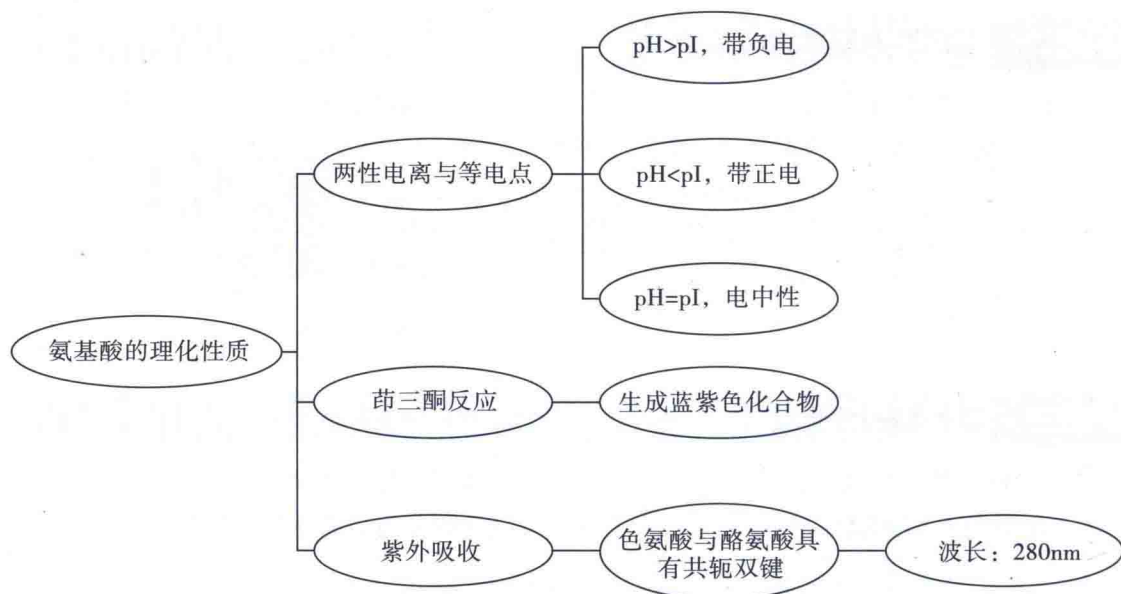
根据20种氨基酸侧链结构与理化性质的不同，可将它们分为非极性疏水氨基酸、极性中性氨基酸、酸性氨基酸和碱性氨基酸4类；根据营养价值不同分为必需氨基酸与非必需氨基酸。



## 知识点四：氨基酸的理化性质

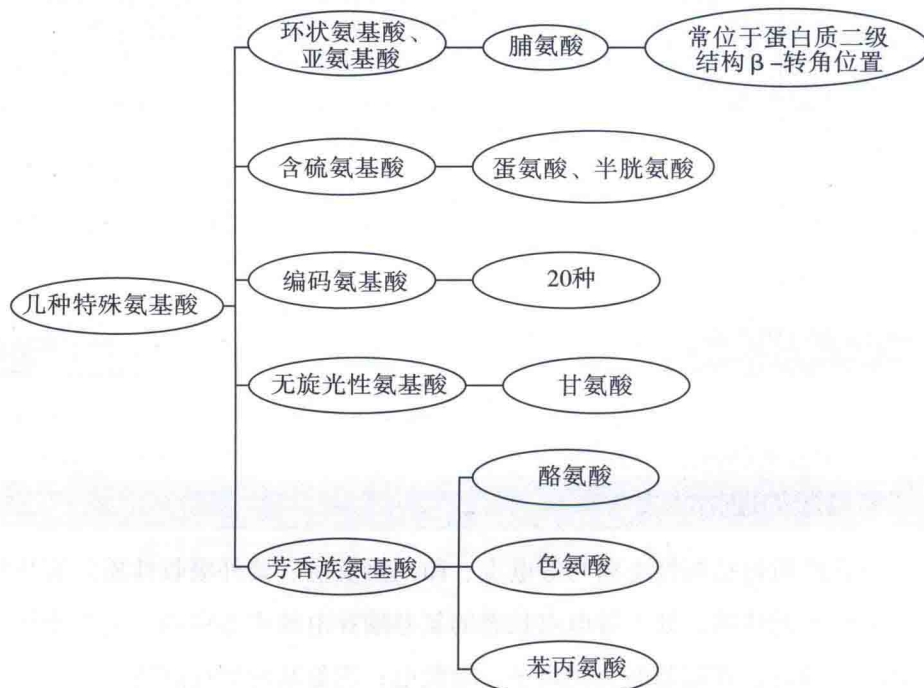
氨基酸的理化性质包括两性电离与等电点、茚三酮反应、紫外吸收性质。氨基酸是两性电解质，具有两性电离的性质，处于等电点状态的氨基酸在电场中不移动，呈电中性，当氨基酸所在溶液的pH大于pI时，该氨基酸为阴离子，带负电；当氨基酸所在溶液的pH小于pI时，该氨基酸为阳离子，带正电。 $\alpha$ -氨基酸与水合茚三酮试剂共同加热可生成一种蓝紫色的化合物，氨基酸中色氨酸与酪氨酸具有共轭双键，在280nm波长附近有一特殊吸收峰，利用这一特性可做蛋白质含量测定。





### 知识点五：几种特殊的氨基酸

体内唯一的环状氨基酸、亚氨基酸是脯氨酸，它常常位于蛋白质二级结构 $\beta$ -转角位置；含硫氨基酸有蛋氨酸、半胱氨酸；组成人体的编码氨基酸有20种，无旋光性的氨基酸为甘氨酸；芳香族氨基酸有三种，分别为酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸。



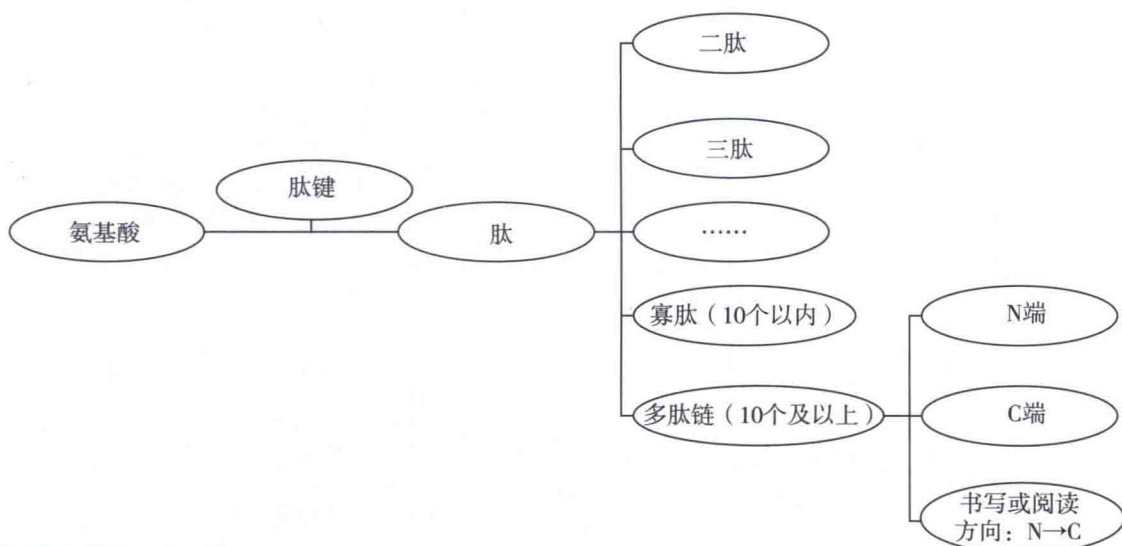
### 知识点六：蛋白质分子中氨基酸的连接方式

(1) 氨基酸经肽键连接而成蛋白质。肽键是指一个氨基酸的 $\alpha$ -氨基与另一个氨基酸的 $\alpha$ -羧基脱水缩合以后所形成的酰胺键。

(2) 氨基酸通过肽键相连而成的化合物叫作肽，由两个氨基酸脱水缩合而成的称二肽；

三个氨基酸脱水缩合而成的称三肽；含有10个以下氨基酸的肽，称为寡肽；10个以上的称为多肽；多肽是链状化合物，故也叫多肽链，是蛋白质的基本结构。

(3) 多肽链有两个端点，一个是游离的氨基末端或N端，另一个是游离的羧基末端或C端，多肽链书写或阅读的方向是N端到C端。



### 知识点七：蛋白质的分子结构

(1) 蛋白质的分子结构分为一级、二级、三级、四级结构。其中，一级结构称为蛋白质的基本结构，二至四级结构称为蛋白质的空间结构。

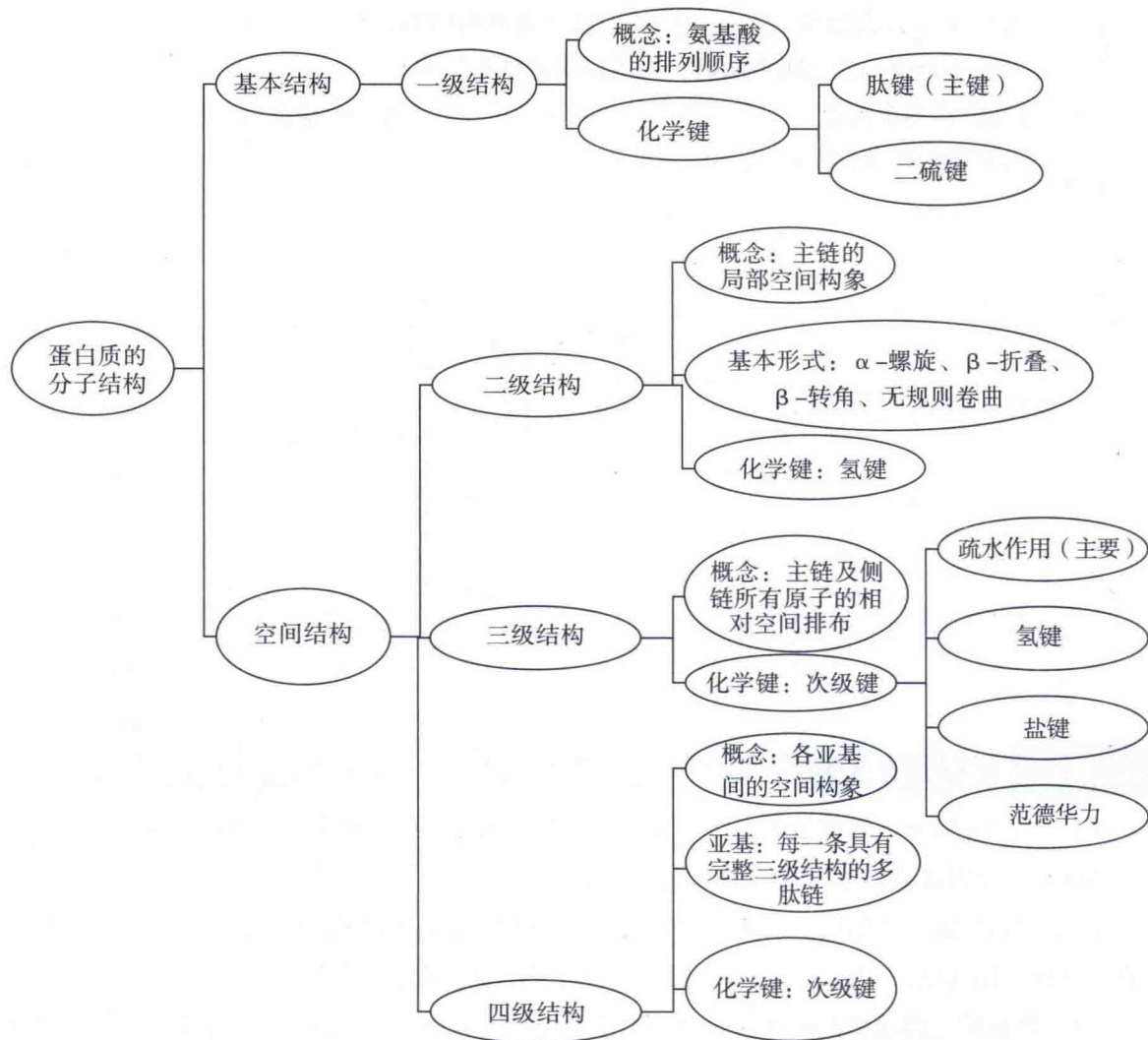
(2) 蛋白质的一级结构是指蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序，是蛋白质空间结构和特异生物功能的结构基础，稳定一级结构主要的化学键是肽键，有的还包括二硫键。

(3) 蛋白质二级结构是指蛋白质分子中主链沿长轴方向形成有规律的、重复出现的空间结构，它不涉及氨基酸残基排列，简单地说就是主链的局部空间构象，其基本形式有 $\alpha$ -螺旋、 $\beta$ -折叠、 $\beta$ -转角和无规则卷曲四种。其中 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠是蛋白质二级结构的主要形式，维持二级结构稳定的主要化学键是氢键。

(4) 蛋白质的三级结构是指蛋白质多肽链在二级结构的基础上进一步盘曲、折叠而形成的三维空间结构，是多肽链中所有原子或基团共同形成的一种空间构象，包括主链和侧链的构象。稳定三级结构的化学键主要有氢键、盐键（离子键）、疏水键、范德华力，有些蛋白质分子三级结构中还含有二硫键，这些键是蛋白质分子中的次级键。其中，疏水键是维持蛋白质三级结构最主要的次级键。

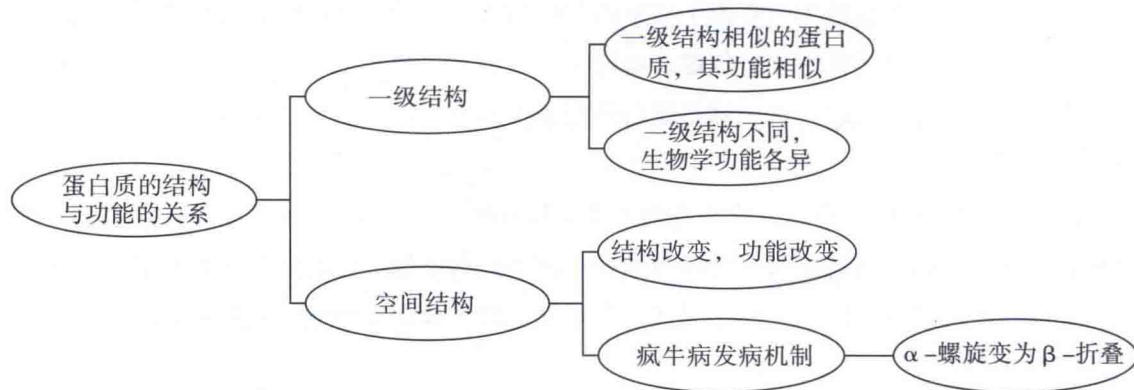
(5) 蛋白质的四级结构是由两条或两条以上具有独立三级结构的多肽链通过非共价键相互结合形成的空间结构，称为蛋白质的四级结构。其中，每一条具有独立三级结构的多肽链被称为一个亚基。维系四级结构稳定的化学键是各亚基之间形成的次级键（包括氢键、盐键、疏水键、范德华力等）。





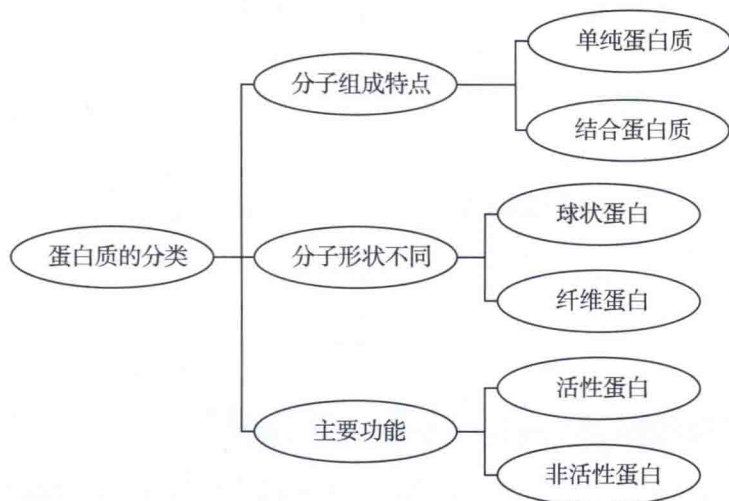
### 知识点八：蛋白质的结构与功能的关系

一级结构决定蛋白质空间结构，一级结构相似的蛋白质，其功能相似，一级结构不同，生物学功能各异；蛋白质的空间结构改变，其功能也随之改变，如疯牛病发病机制为朊病毒蛋白二级结构由 $\alpha$ -螺旋转变为 $\beta$ -折叠。



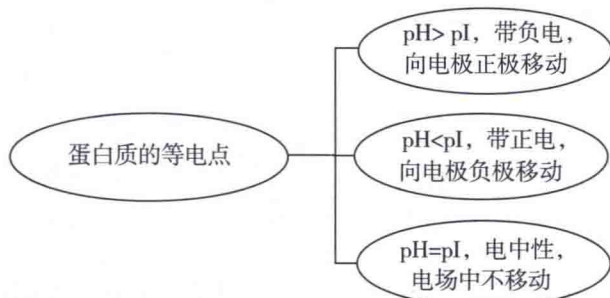
### 知识点九：蛋白质的分类

根据蛋白质的分子组成特点，可将蛋白质分为单纯蛋白质和结合蛋白质；根据蛋白质分子形状的不同，可分为球状蛋白和纤维蛋白；根据蛋白质的主要功能，可分为活性蛋白质和非活性蛋白质两大类。



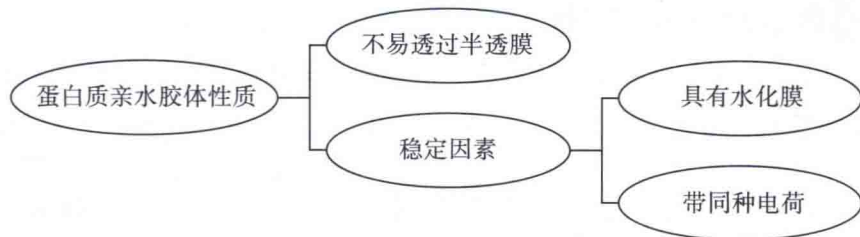
### 知识点十：蛋白质的等电点

蛋白质是两性电解质，具有两性电离的性质。当蛋白质在某溶液中所带正、负电荷数相等，即净电荷为零时，蛋白质成为兼性离子，此时溶液的pH为该蛋白质的等电点（ $pI$ ），处于等电点状态的蛋白质在电场中不移动；当蛋白质所在溶液的pH大于该蛋白质的 $pI$ 时，蛋白质颗粒带负电荷而成阴离子，在电场中向正极移动；当蛋白质所处溶液pH小于 $pI$ 时，蛋白质颗粒带正电荷而成为阳离子，在电场中向负极移动。



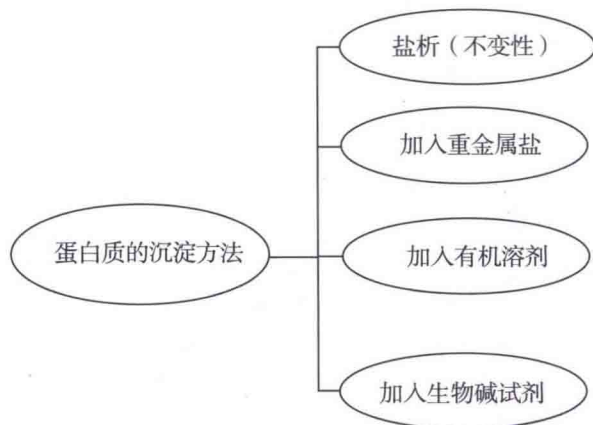
### 知识点十一：蛋白质亲水胶体性质

蛋白质溶液是胶体溶液，具有胶体的性质。蛋白质是高分子化合物，不易透过半透膜，蛋白质胶体溶液稳定的因素是蛋白质颗粒表面具有水化膜和蛋白质颗粒带同种电荷。



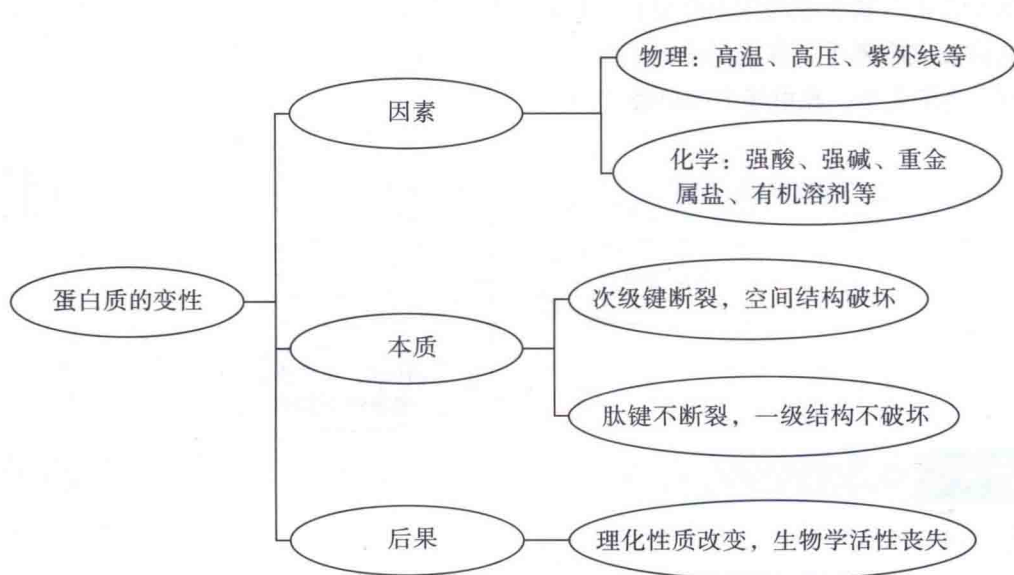
### 知识点十二：蛋白质的沉淀方法

蛋白质沉淀的方法有盐析、加入重金属盐、加入有机溶剂和加入生物碱试剂，除盐析外，其余方法均可以使蛋白质变性。



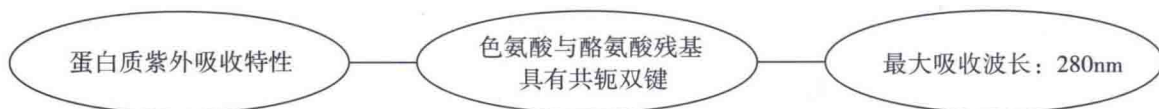
### 知识点十三：蛋白质的变性

蛋白质变性是指在某些理化因素下，蛋白质的空间结构被破坏，导致其理化性质改变和生物学活性丧失，变性的实质是蛋白质二硫键及各种次级键的断裂导致的天然构象破坏，涉及二、三、四级结构的改变，但肽键不断裂，一级结构不变。引起蛋白质变性的物理因素有高温、高压、紫外线、X射线、超声波及强烈震荡等，化学因素有强酸、强碱、重金属盐、有机溶剂等。



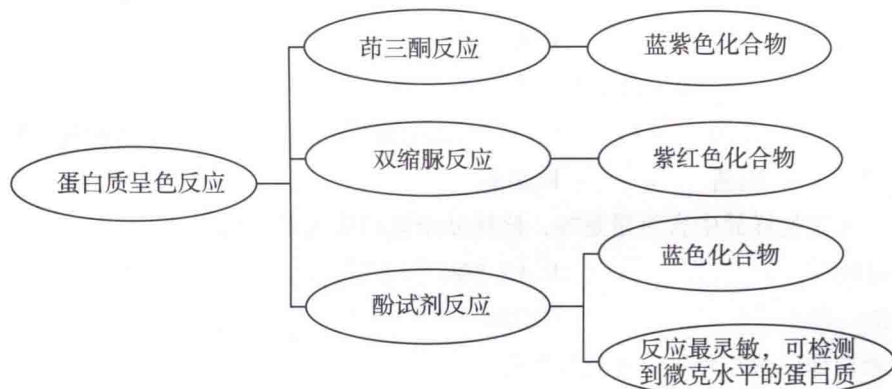
### 知识点十四：蛋白质紫外吸收特性

蛋白质分子中含有酪氨酸和色氨酸残基，由于它们的侧链基团中有共轭双键，因此，在280nm波长处出现特征性吸收峰。



### 知识点十五：蛋白质呈色反应

蛋白质与茚三酮反应生成蓝紫色化合物，与双缩脲试剂反应生成紫红色化合物，与酚试剂反应生成蓝色化合物，上述反应可用于蛋白质的定性与定量分析。



### 自测习题

#### 一、单项选择题

- 血清中某蛋白质的等电点为6.0，在下列哪种缓冲液中电泳时会向正极移动？（ ）  
 A. pH为4.3                      B. pH为5.0                      C. pH为6.0  
 D. pH为7.0                      E. pH为3.0
- 血浆清蛋白质 $pI=4.6$ ，如果在 $pH=7$ 的缓冲溶液中进行电泳，蛋白质颗粒（ ）  
 A. 带负电荷                      B. 带正电荷                      C. 不带电荷  
 D. 向负极移动                      E. 不移动
- 蛋白质多肽链的方向是（ ）  
 A. 从3'端到5'端                      B. 从5'端到3'端                      C. 从C端到N端  
 D. 从N端到C端                      E. 没有方向性
- 蛋白质的主要功能是（ ）  
 A. 代谢调节                      B. 氧化供能  
 C. 维持组织细胞的生长更新和修补  
 D. 合成核苷酸                      E. 合成脂肪
- 我国营养学会推荐成人每天蛋白质的需要量为（ ）  
 A. 20g                      B. 80g                      C. 30g  
 D. 60g                      E. 40g
- 蛋白质中氮的含量约为（ ）  
 A. 27%                      B. 19%                      C. 16%  
 D. 13%                      E. 6.25%
- 胰岛素分子A链和B链的交联是靠（ ）  
 A. 二硫键                      B. 疏水键                      C. 氢键  
 D. 范德华力                      E. 盐键

8. 蛋白质中的亚基属于 ( )
- A. 一级结构                      B. 二级结构                      C. 三级结构  
D. 四级结构                      E. 结构域
9. 在蛋白质中含量相近的元素是 ( )
- A. 碳                                  B. 氢                                  C. 氧  
D. 氮                                  E. 硫
10. 蛋白质分子中引起280nm波长处光吸收的主要成分是 ( )
- A. 丝氨酸上的羟基                  B. 天冬酰胺的酰胺基                  C. 色氨酸的吲哚环  
D. 半胱氨酸的巯基                  E. 肽键
11. 测定100g生物样品中含氮量是2g, 该样品中蛋白质含量大约是 ( )
- A. 6.25%                              B. 12.5%                              C. 1%  
D. 2%                                  E. 20%
12. 维持蛋白质一级结构的主要化学键是 ( )
- A. 盐键                                  B. 氢键                                  C. 疏水键  
D. 二硫键                              E. 肽键
13. 蛋白质变性是由于 ( )
- A. 蛋白质一级结构破坏              B. 蛋白质亚基的解聚              C. 蛋白质空间结构破坏  
D. 辅基的脱落                          E. 蛋白质水解
14. 以下氨基酸中没有旋光性的是 ( )
- A. 丙氨酸                              B. 甘氨酸                              C. 亮氨酸  
D. 丝氨酸                              E. 缬氨酸
15. 蛋白质中的 $\alpha$ -螺旋和 $\beta$ -折叠都属于 ( )
- A. 一级结构                              B. 二级结构                              C. 三级结构  
D. 四级结构                              E. 结构域
16. 以下氨基酸中酸性氨基酸是 ( )
- A. 丙氨酸                              B. 谷氨酸                              C. 亮氨酸  
D. 组氨酸                              E. 缬氨酸
17. 构成人体蛋白质的氨基酸属于 ( )
- A. L- $\alpha$ -氨基酸                          B. L- $\beta$ -氨基酸                          C. D- $\alpha$ -氨基酸  
D. D- $\beta$ -氨基酸                          E. L、D- $\alpha$ -氨基酸
18. 蛋白质变性不引起断裂的是 ( )
- A. 肽键                                  B. 疏水键                                  C. 共价键  
D. 盐键                                  E. 氢键
19. 蛋白质中的 $\alpha$ -螺旋属于 ( )
- A. 一级结构                              B. 二级结构                              C. 三级结构  
D. 四级结构                              E. 结构域



20. 蛋白质的pI是指 ( )
- A. 蛋白质分子带正电荷时溶液的pH    B. 蛋白质分子带负电荷时溶液的pH  
C. 蛋白质分子不带电荷时溶液的pH    D. 蛋白质分子净电荷为零时溶液的pH  
E. 以上都不是
21. 稳定蛋白质溶液的因素是 ( )
- A. 表面同性电荷和水化膜    B. 胶体性质    C. 二硫键  
D. 同性电荷    E. 水化膜
22. 蛋白质的最大吸收峰出现在多少波长处 ( )
- A. 280nm    B. 260nm    C. 240nm  
D. 220nm    E. 200nm
23. 以下氨基酸中碱性氨基酸是 ( )
- A. 丙氨酸    B. 甘氨酸    C. 亮氨酸  
D. 组氨酸    E. 缬氨酸
24. 天然蛋白质中有遗传密码的氨基酸有 ( )
- A. 12种    B. 61种    C. 8种  
D. 20种    E. 64种
25. 蛋白质的基本结构是 ( )
- A. 一级结构    B. 二级结构    C. 三级结构  
D. 四级结构    E. 高级结构
26. 抢救误服重金属盐中毒早期 ( )
- A. 用稀醇洗胃    B. 用高锰酸钾洗胃  
C. 用0.9%氯化钠溶液洗胃    D. 口服蛋清、牛奶后洗胃或催吐  
E. 大量饮水稀释胃内的毒物
27. 氨基酸的连接方式是 ( )
- A. 2', 3'-磷酸二酯键    B. 肽键  
C. 2', 5'-磷酸二酯键    D. 糖苷键  
E. 3', 5'-磷酸二酯键
28. 蛋白质分子中的肽键 ( )
- A. 是一个氨基酸的 $\alpha$ -氨基和另一个氨基酸的 $\alpha$ -羧基形成的  
B. 是由谷氨酸的 $\gamma$ -羧基与另一个氨基酸的 $\alpha$ -氨基形成的  
C. 氨基酸的各种氨基和各种羧基均可形成肽键  
D. 是由赖氨酸的 $\Sigma$ -氨基与另一分子氨基酸的 $\alpha$ -羧基形成的  
E. 以上都不是
29. 蛋白质一级结构是指 ( )
- A. 氨基酸的种类和数量    B. 分子中的各种化学键  
C. 多肽链的形态和大小    D. 多肽链中氨基酸残基的排列顺序  
E. 分子中的共价键
30. 下列不属于二级结构的是 ( )
- A.  $\alpha$ -螺旋    B.  $\beta$ -折叠    C. 双螺旋  
D.  $\beta$ -转角    E. 无规则卷曲



