

第一章 糖类

提要

糖类是四大类生物分子之一，广泛存在于生物界，特别是植物界。糖类在生物体内不仅作为结构成分和主要能源，复合糖中的糖链作为细胞识别的信息分子参与许多生命过程，并因此出现一门新的学科，糖生物学。

多数糖类具有 $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$ 的实验式，其化学本质是多羟醛、多羟酮及其衍生物。糖类按其聚合度分为单糖，1个单体；寡糖，含2-20个单体；多糖，含20个以上单体。同多糖是指仅含一种单糖或单糖衍生物的多糖，杂多糖指含一种以上单糖或加单糖衍生物的多糖。糖类与蛋白质或脂质共价结合形成的结合物称复合糖或糖复合物。

单糖，除二羟丙酮外，都含有不对称碳原子(C*)或称手性碳原子，含C*的单糖都是不对称分子，当然也是手性分子，因而都具有旋光性，一个C*有两种构型D-和L-型或R-和S-型。因此含n个C*的单糖有 2^n 个旋光异构体，组成 2^{n-1} 对不同的对映体。任一旋光异构体只有一个对映体，其他旋光异构体是它的非对映体，仅有一个C*的构型不同的两个旋光异构体称为差向异构体。

单糖的构型是指离羧基碳最远的那个C*的构型，如果与D-甘油醛构型相同，则属D系糖，反之属L系糖，大多数天然糖是D系糖Fischer E论证了己醛糖旋光异构体的立体化学，并提出了在纸面上表示单糖链状立体结构的Fischer投影式。许多单糖在水溶液中有变旋现象，这是因为开链的单糖分子内醇基与醛基或酮基发生可逆亲核加成形成环状半缩醛或半缩酮的缘故。这种反应经常发生在C5羟基和C1醛基之间，而形成六元环吡喃糖(如吡喃葡萄糖)或C5羟基和C2酮基之间形成五元环呋喃糖(如呋喃果糖)。成环时由于羰基碳成为新的不对称中心，出现两个异头差向异构体，称 α 和 β 异头物，它们通过开链形式发生互变并处于平衡中。在标准定位的Haworth式中D-单糖异头碳的羟基在氧环面下方的为 α 异头物，上方的为 β 异头物，实际上不像Haworth式所示的那样氧环面上的所有原子都处在同一个平面，吡喃糖环一般采取椅式构象，呋喃糖环采取信封式构象。

单糖可以发生很多化学反应。醛基或伯醇基或两者氧化成羧酸，羰基还原成醇；一般的羟基参与成脂、成醚、氨基化和脱氧等反应；异头羟基能通过糖苷键与醇和胺连接，形成糖苷化合物。例如，在寡糖和多糖中单糖与另一单糖通过O-糖苷键相连，在核苷酸和核酸中戊糖经N-糖苷键与心嘧啶或嘌呤碱相连。

生物学上重要的单糖及其衍生物有Glc, Gal, Man, Fru, GlcNAc, GalNAc, L-Fuc, NeuNAc (Sia), GlcUA等它们是寡糖和多糖的组分，许多单糖衍生物参与复合糖聚糖链的组成，此外单糖的磷酸脂，如6-磷酸葡萄糖，是重要的代谢中间物。

蔗糖、乳糖和麦芽糖是常见的二糖。蔗糖是由 α -Glc和 β -Fru在两个异头碳之间通过糖苷键连接而成，它已无潜在的自由醛基，因而失去还原，成脎、变旋等性质，并称它为非还原糖。乳糖的结构是Gal β (1-4)Glc，麦芽糖是Glc α (1-4)Glc，它们的末端葡萄糖残基仍有潜在的自由醛基，属还原糖。环糊精由环糊精葡萄糖基转移酶作用于直链淀粉生成含6, 7或8个葡萄糖残基，通过 α -1, 4糖苷键连接成环，属非还原糖，由于它的特殊结构被用作稳定剂、抗氧化剂和增溶剂等。

淀粉、糖原和纤维素是最常见的多糖，都是葡萄糖的聚合物。淀粉是植物的贮存养料，属储能多糖，是人类食物的主要成分之一。糖原是人和动物体内的储能多糖。淀粉可分直链淀粉和支链淀粉。直链淀粉分子只有 α -1, 4连键，支链淀粉和糖原除 α -1, 4连键外尚有 α -1, 6连键形成分支，糖原的分支程度比支链淀粉高。纤维素与淀粉、糖原不同，它是由葡萄糖通过 β -1, 4糖苷键连接而成的，这一结构特点使纤维素具有适于作为结构成分的物理特性，它属于结构多糖。

肽聚糖是细菌细胞壁的成分，也属结构多糖。它可看成由一种称胞壁肽的基本结构单位重复排列构成。胞壁肽是一个含四有序侧链的二糖单位，GlcNAc β (1-4)MurNAc，二糖单位间通过 β -1, 4连接成多糖，链相邻的多糖链通过转肽作用交联成一个大的囊状分子。青霉素就是通过抑制转肽干扰新的细胞壁形成而起抑菌作用的。磷壁酸是革兰氏阳性细菌细胞壁的特有成分；脂多糖是阴性细菌细胞壁的特有成分。

糖蛋白是一类复合糖或一类缀合蛋白质。许多膜内在蛋白质加分泌蛋白质都是糖蛋白糖蛋白和糖脂中的寡糖链，序列多变，结构信息丰富，甚至超过核酸和蛋白质。一个寡糖链中单糖种类、连接位置、异头碳构型和糖环类型的可能排列组合数目是一个天文数字。糖蛋白中寡糖链的还原端残基与多肽链氨基酸残基之间的连接方式有：N-糖苷键，如 β -GlcNAc-Asn 和 O-糖苷键，如 α -GalNAc-Thr/Ser, β -Gal-Hyl, β -L-Araf-Hyp, N-连接的寡糖链(N-糖链)都含有一个共同的结构花式称核心五糖或三甘露糖基核心，N-糖链可分为复杂型、高甘露糖型和杂合型三类，它们的区别主要在外周链，O-糖链的结构比N-糖链简单，但连接形式比N-糖链的多。

糖蛋白中的寡糖链在细胞识别包括细胞粘着、淋巴细胞归巢和精卵识别等生物学过程中起重要作用。

在人红细胞表面上存在很多血型抗原决定簇，其中多数是寡糖链。在 ABO 血型系统中 A, B, O (H) 三个抗原决定簇只差一个单糖残基，A 型在寡糖基的非还原端有一个 GalNAc, B 型有一个 Gal, O 型这两个残基均无。

凝集素是一类非抗体的能与糖类专一结合的蛋白质或糖蛋白，伴刀豆凝集素 A (ConA), 花生凝集素等属植物凝集素;细菌和病毒也有凝集素，如流感病毒含红细胞凝集素。作为各类白细胞 CAM 的选择蛋白家族也属于凝集素。此家族中已知有 L、E、P 三种选择蛋白，它们通过细胞粘着产生多种生物学效应，如免疫应答、炎症反应、肿瘤转移等。

糖胺聚糖和蛋白聚糖是动物细胞外基质的重要成分。糖胺聚糖是由己糖醛酸和己糖胺组成的二糖单位重复构成。多数糖胺聚糖都不同程度地被硫酸化如 4-硫酸软骨素、硫酸角质素等。糖胺聚糖多以蛋白聚糖形式存在，但透明质酸是例外。蛋白聚糖是一类特殊的糖蛋白，由一条或多条糖胺聚糖链和一个核心蛋白共价连接而成。有的蛋白聚糖以聚集体(透明质酸分子为核心)形式存在。它们是高度亲水的多价阴离子，在维持皮肤、关节、软骨等结缔组织的形态和功能方面起重要作用。

寡糖链结构分析的一般步骤是：分离提纯待测定的完整糖链，对获得的均一样品用 GLC 法测定单糖组成，根据高碘酸氧化或甲基化分析确定糖苷键的位置，用专一性糖苷酶确定糖苷键的构型。糖链序列可采用外切糖苷酶连续断裂或 FAB - MS 等方法加以测定。

习题

1. 环状己醛糖有多少个可能的旋光异构体，为什么？[$2^5=32$]

解：考虑到 C1、C2、C3、C4、C5 各有两种构象，故总的旋光异构体为 $2^5=32$ 个。

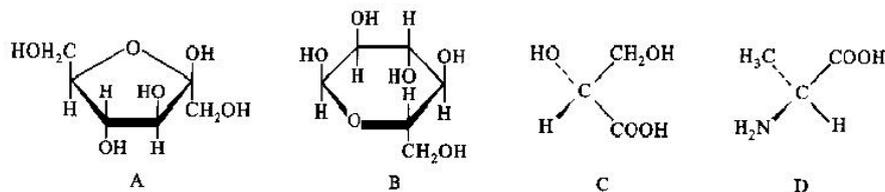
2. 含 D-吡喃半乳糖和 D-吡喃葡萄糖的双糖可能有多少个异构体(不包括异头物)?含同样残基的糖蛋白上的二糖链将有多少个异构体?[20; 32]

解：一个单糖的 C1 可以与另一单糖的 C1、C2、C3、C4、C6 形成糖苷键，于是 α -D-吡喃半乳糖-D-吡喃葡萄糖苷、 β -D-吡喃半乳糖-D-吡喃葡萄糖苷、 α -D-吡喃葡萄糖基-D-吡喃半乳糖苷、 β -D-吡喃葡萄糖基-D-吡喃半乳糖苷各有 5 种，共 $5 \times 4=20$ 个异构体。

糖蛋白上的二糖链其中一个单糖的 C1 用于连接多肽，C2、C3、C4、C6 用于和另一单糖的 C1 形成糖苷键，算法同上，共有 $4 \times 4=16$ 个，考虑到二糖与多肽相连时的异头构象，异构体数目为 $16 \times 2=32$ 个。

3. 写出 β -D-脱氧核糖、 α -D-半乳糖、 β -L-山梨糖和 β -D-N-乙酰神经氨酸(唾液酸)的 Fischer 投影式，Haworth 式和构象式。

4. 写出下面所示的(A). (B) 两个单糖的正规名称(D/L, α/β , f/p), 指出(C). (D) 两个结构用 RS 系统表示的构型(R/S)



[A、 β -D-f-Fru; B、 α -L-p-Glc; C、R; D、S]

5. L7-葡萄糖的 α 和 β 异头物的比旋 $[\alpha_D^{20}]$ 分别为 $+112.2^\circ$ 和 $+18.70^\circ$ 。当 α -D-吡喃葡萄糖晶体样品溶于水时，比旋将由 $+112.2^\circ$ 降至平衡值 $+52.70^\circ$ 。计算平衡混合液中 α 和 β 异头物的比率。假设开链形式和呋喃形式可忽略。[α 异头物的比率为36.5%， β 异头物为63.5%]

解：设 α 异头物的比率为 x ，则有 $112.2x + 18.7(1-x) = 52.7$ ，解得 $x = 36.5\%$ ，于是 $(1-x) = 63.5\%$ 。

6. 将500 mg糖原样品用放射性氰化钾($K^{14}CN$)处理，被结合的 $^{14}CN^-$ 正好是 $0.193 \mu\text{mol}$ ，另一500 mg同一糖原样品，用含3% HCl的无水甲醇处理，使之形成还原末端的甲基葡萄糖苷。然后用高碘酸处理这个还原端成为甲基葡萄糖苷的糖原，新产生的甲酸准确值是 $347 \mu\text{mol}$ 。计算(a)糖原的平均相对分子质量。(b)分支的程度(分支点%) [(a) 2.59×10^6 ; (b)11.24%]

解：(a) $Mr = 0.5 / (0.193 \times 10^{-6}) = 2.59 \times 10^6$

(b) $347 \times 10^{-6} \times 163 / 0.5 = 11.3\%$

7. D-葡萄糖在 31°C 水中平衡时， α -吡喃葡萄糖和 β -吡喃葡萄糖的相对摩尔含量分别为37.3%和62.7%。计算D-葡萄糖在 31°C 时由 α 异头物转变为 β 异头物的标准自由能变化。气体常数 R 为 8.314 J/molK 。[$\Delta G^\circ = -1.31 \text{ kJ/mol}$]

解： $\Delta G^\circ = -RT \ln(c_2/c_1) = -8.314 \times 300 \times \ln(62.7/37.3) = -1.30 \text{ kJ/mol}$

8. 竹子系热带禾本科植物，在最适条件下竹子生长的速度达 0.3 m/d 高，假定竹茎几乎完全由纤维素纤维组成，纤维沿生长方向定位。计算每秒钟酶促加入生长着的纤维素链的单糖残基数目。纤维素分子中每一葡萄糖单位约长 0.45 nm 。[7800 残基/s]

解： $[0.3 / (24 \times 3600)] / 0.45 \times 10^{-9} = 7800 \text{ 残基/s}$

9. 经还原可生成山梨醇(D-葡萄糖醇)的单糖有哪些? [L-山梨糖; D-葡萄糖; L-古洛糖; D-果糖]

10. 写出麦芽糖(α 型)、纤维二糖(β 型)、龙胆糖和水苏糖的正规(系统)名称的简单形式，并指出其中哪些(个)是还原糖，哪些(个)是非还原糖。

解：麦芽糖(α 型): $\text{Glc } \alpha(1 \rightarrow 4)\text{Glc}$

纤维二糖(β 型): $\text{Glc } \beta(1 \rightarrow 4)\text{Glc}$

龙胆糖: $\text{Glc } \beta(1 \rightarrow 6)\text{Glc}$

水苏糖: $\text{Gal } \alpha(1 \rightarrow 6)\text{Gal } \alpha(1 \rightarrow 6)\text{Glc } (\alpha 1 \leftrightarrow \beta 2)\text{Fru}$

11. 纤维素和糖原虽然在物理性质上有很大的不同，但这两种多糖都是1-4连接的D-葡萄糖聚合物，相对分子质量也相当，是什么结构特点造成它们在物理性质上的如此差别?解释它们各自性质的生物学优点。

12. 革兰氏阳性细菌和阴性细菌的细胞壁在化学组成上有什么异同?肽聚糖中的糖肽键和糖蛋白中的糖肽键是否有区别?

生物化学（第三版）课后习题解答

高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，
访问：www.kaoyancas.net

答：肽聚糖：革兰氏阳性细菌和阴性细菌共有；磷壁酸：革兰氏阳性细菌特有；脂多糖：革兰氏阴性细菌特有。两种糖肽键有区别：肽聚糖中为 NAM 的 C3 羟基与 D-Ala 羧基相连；糖蛋白中是糖的 C1 羟基与多肽 Asn γ -氨基 N 或 Thr/Ser/Hyl/Hyp 羟基 O 相连。

13. 假设一个细胞表面糖蛋白的一个三糖单位在介导细胞与细胞粘着中起关键作用。试设计一个简单试验以检验这一假设。[如果糖蛋白的这个三糖单位在细胞相互作用中是关键的，则此三糖本身应是细胞粘着的竞争性抑制剂]

14. 糖蛋白中 N-连接的聚糖链有哪典类型?它们在结构上有什么共同点和不同点?

答：(1)复杂型 (complex type) 这类 N-糖链，除三甘露糖基核心外，不含其他甘露糖残基。还原端残基为 GlcNAc β 1 \rightarrow 的外链与三甘露糖基核心的两个 α -甘露糖残基相连，在三类 N-糖链中复杂型结构变化最大。

(2)高甘露糖型 (high-mannose type) 此型 N-糖链除核心五糖外只含 α -甘露糖残基。

(3)杂合型 (hybrid type) 此型糖链具有复杂型和高甘露糖型这两类糖链的结构元件。

15. 举出两个例子说明糖蛋白寡糖链的生物学作用。

答：(1)糖链在糖蛋白新生肽链折叠和缔合中的作用；

(2)糖链影响糖蛋白的分泌和稳定性。(例见教材 P60~P61)

16. 写出人 ABH 血型抗原决定簇的前体结构，指出 A 抗原、B 抗原和 O 抗原(H 物质)之间的结构关系，[答案见表 1-9]

表 1-9 人 ABH 和 Lewis 抗原决定簇的结构

血型物质	结 构
I 型前体	Gal β 1 \rightarrow 3GlcNAc β 1 \rightarrow →R
II 型前体	Gal β 1 \rightarrow 4GlcNAc β 1 \rightarrow →R
H 物质(O 抗原)	L-Fuc α 1 \rightarrow 2Gal β 1 \rightarrow 3/4GlcNAc β 1 \rightarrow
A 抗原	GlcNAc α 1 \rightarrow 3(L-Fuc α 1 \rightarrow 2)Gal β 1 \rightarrow 3/4GlcNAc β 1 \rightarrow
B 抗原	Gal α 1 \rightarrow 3(L-Fuc α 1 \rightarrow 2)Gal β 1 \rightarrow 3/4GlcNAc β 1 \rightarrow
Le ^a	Gal β 1 \rightarrow 3(L-Fuc α 1 \rightarrow 4)GlcNAc β 1 \rightarrow
Le ^b	L-Fuc α 1 \rightarrow 2Gal β 1 \rightarrow 3(L-Fuc α 1 \rightarrow 4)GlcNAc β 1 \rightarrow

表中,R=蛋白质或脂质

17. 具有重复二糖单位, GlcUA β (1 \rightarrow 3)GlcNA, 而单位间通过 β (1 \rightarrow 4)连接的天然多糖是什么?[透明质酸]

18. 糖胺聚糖如硫酸软骨素, 其生物功能之一与该分子在水中所占的体积远比脱水时大这一性质有关。为什么这些分子在溶液中所占体积会这样大?

答：由于分子表面含有很多亲水基团，能结合大量的水，形成透明的高粘性水合凝胶，如一个透明质酸 (HA) 分子在水中将占据 1000~10000 倍于自身体积的空间。

19. 举例说明内切糖苷酶和外切糖苷酶在聚糖链结构测定中的作用。(见教材 P73)

20. 一种三糖经 β -半乳糖苷酶完全水解后，得到 D-半乳糖和 D-葡萄糖，其比例为 2: 1，将原有的三糖用 NaBH₄ 还原，继而使其完全甲基化和酸水解，然后再进行一次 NaBH₄ 还原，最后用醋酸酐乙酰化，得到二种产物：① 2, 3, 4, 6-四甲基-1, 5 二乙酰基-半乳糖醇，② 2, 3, 4-三甲基-1, 5, 6-三乙酰基-半乳糖醇，③

完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

1. 2. 3. 5. 6-五甲基-4-乙酰基-山梨醇。分析并写出此三糖的结构。[D-Gal β (1 \rightarrow 6)D-Gal β (1 \rightarrow 4)D-Glc]

第二章 脂质

提要

脂质是细胞的水不溶性成分，能用有机溶剂如乙醚、氯仿等进行提取。

脂质按化学组成可分为单纯脂质、复合脂质和衍生脂质；按生物功能可分为贮存脂质、结构脂质和活性脂质。

天然脂肪酸通常具有偶数碳原子，链长一般为 12-22 碳。脂肪酸可分为饱和、单不饱和与多不饱和脂肪酸。不饱和脂肪酸的双键位置，有一个双键几乎总是处于 C9-C10 之间(Δ 9)并且一般是顺式的。脂肪酸的物理性质主要决定于其烃链的长度与不饱和程度。

必需脂肪酸是指对人体的功能不可缺少，但必须由膳食提供的两个多不饱和脂肪酸，亚油酸和 α -亚麻酸；前者属 ω -6 家族，后者 ω -3 家族。

类二十碳烷主要是由 20 碳的花生四烯酸衍生而来并因此得名，包括前列腺素、凝血恶烷和白三烯，它们是体内的局部激素。

三酰甘油或甘油三脂 (TG) 是由脂肪酸与甘油形成的三脂。三酰甘油可分简单三酰甘油和混合三酰甘油。天然油脂是简单和混合三酰甘油的混合物。三酰甘油与碱共热可发生皂化，生成脂肪酸盐(皂)和甘油。三酰甘油也和游离脂肪酸一样，它的不饱和键能发生氢化、卤化和过氧化作用。测定天然油脂的皂化值、碘值、酸值和乙酰化值，可确定所给油脂的特性。三酰甘油主要作为贮存燃料，以油滴形式存在于细胞中。

蜡是指长链脂肪酸和长链一元醇或固醇形成的酯。天然蜡如蜂蜡是多种蜡酯的混合物。蜡是海洋浮游生物中代谢燃料的主要贮存形式。蜡还有其他的生物功能如防水、防侵袭等。

脂质过氧化定义为多不饱和脂肪酸或多不饱和脂质的氧化变质。它是典型的活性氧参与的自由基链式反应。活性氧(O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 H_2O_2 、 1O_2 等)使生物膜发生脂质过氧化，造成膜的损伤、蛋白质和核酸等大分子的异常。脂质过氧化与多种疾病有关。体内的抗氧化剂如超氧化物歧化酶(SOD)、维生素 E 等是与脂质过氧化抗衡的保护系统。

磷脂包括甘油磷脂和鞘磷脂。甘油磷脂是由 sn-甘油-3-磷酸衍生而来，最简单的甘油磷脂是 3-sn-磷脂酸，它是其他甘油磷脂的母体。磷脂酸进一步被一个极性醇(如胆碱、乙醇胺等)酯化，则形成各种甘油磷脂如磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。鞘磷脂是由鞘氨醇代替甘油磷脂中的甘油形成的磷脂。鞘氨醇是种长链的氨基醇。其 2-位氨基以酰胺键与脂肪酸连接形成神经酰胺，这是这类磷脂的母体。神经酰胺的 1-位羟基被磷酸胆碱或磷酸乙醇胺酯化则形成鞘磷脂。磷脂是两亲分子，有一个极性头基和一个非极性尾，在水介质中能形成脂双层；它们主要参与膜的组成。

糖脂主要是鞘糖脂，它也是神经酰胺的衍生物，在神经酰胺的 1-位羟基通过糖苷键与糖基连接而成鞘糖脂。重要的鞘糖脂有脑苷脂和神经节苷脂，后者含有唾液酸。作为膜脂的鞘糖脂与细胞识别以及组织、器官的特异性有关。

萜类可看成是异戊二烯(C5)的聚合物，有倍半萜、双萜、三萜、四萜等。萜的结构有线形的，也有环状的。许多植物精油、光合色素和甾类的前体鲨烯都是萜。

类固醇或称甾类，是环戊烷多氢菲的衍生物。固醇或甾醇是类固醇中的一大类，其结构特点是在甾核的 C3 上有一个 β 羟基，C17 上有一个含 8~10 个碳的烃链。固醇存在于大多数真核细胞的膜中但细菌不含固醇。胆固醇是最常见的一种动物固醇，参与动物细胞膜的组成。胆固醇也是体内类固醇激素和胆汁酸(胆酸、鹅胆酸和脱氧胆酸)的前体。胆固醇与动脉粥样硬化有关。植物固醇如谷固醇、豆固醇，它们自身不易被肠粘膜吸收并能抑制胆固醇吸收。

脂蛋白是由脂质和蛋白质以非共价键结合而成的复合体。脂蛋白中的蛋白质部分称载脂蛋白。血浆脂

蛋白是血浆中转运脂质的脂蛋白颗粒。由于各种血浆脂蛋白的密度不同可用超离心法把它们分成 5 个组分（按密度增加为序）：乳糜微粒，极低密度脂蛋白（VLDL），中间密度脂蛋白（IDL），低密度脂蛋白（LDL）和高密度脂蛋白（HDL）。血浆脂蛋白都是球形颗粒，有一个由三酰甘油和胆固醇脂组成的疏水核

心和一个由磷脂、胆固醇和载脂蛋白参与的极性外壳。载脂蛋白的主要作用是增溶疏水脂质和作为脂蛋白受体的识别部位。

测定脂质组成时，脂质可用有机溶剂从组织中提取，用薄层层析或气液色谱进行分离。单个的脂质可根据其层析行为，对专一性酶水解的敏感性或质谱分析加以鉴定。

习题

1. 天然脂肪酸在结构上有哪些共同的特点？

答：天然脂肪酸通常具有偶数碳原子，链长一般为 12-22 碳。脂肪酸可分为饱和、单不饱和与多不饱和脂肪酸。不饱和脂肪酸的双键位置，有一个双键几乎总是处于 C9-C10 之间 ($\Delta 9$)，并且一般是顺式的。

2. (a) 由甘油和三种不同的脂肪酸(如豆蔻酸、棕榈酸和硬脂酸)可形成多少种不同的三酰甘油(包括简单型和混合型在内)？(b) 其中定量上不同组成的三酰甘油可有多少种？ [(a) 27 种；(b) 10 种]

解：(a) $3^3=27$ 种；

(b) $3 \times 3 + 1 = 10$ 种

3. (a) 为什么饱和的 18 碳脂肪酸——硬脂酸的熔点比 18 碳不饱和脂肪酸——油酸的熔点高？(b) 干酪乳杆菌产生的乳杯菌酸(19 碳脂肪酸)的熔点更接近硬脂酸的熔点还是更接近油酸的熔点？为什么？

答：(a) 油酸有一个 $\Delta 9$ 顺式双键，有序性较差；而硬脂酸有序性高，故熔点也高；

(b) 硬脂酸。因为熔点随链长的增加而增加。

4. 从植物种子中提取出 1 g 油脂，把它等分为两份，分别用于测定该油脂的皂化值和碘值。测定皂化值的一份样品消耗 KOH 65 mg，测定碘值的一份样品消耗 I_2 510 mg。试计算该油脂的平均相对分子质量和碘值。 [1292; 102]

解： $M_r = (3 \times 56 \times 1000) / (2 \times 65) = 1292$

I_2 值 = $0.51 \times 100 / 0.5 = 102$ (100g 油脂卤化时吸收 I_2 的克数)

5. 某油脂的碘值为 68，皂化值为 210。计算每个油脂分子平均含多少个双键。 [2 个]

解：100g 油脂的物质的量 = $(210 \times 100) / (3 \times 56 \times 1000) = 0.125 \text{ mol}$

平均双键数 = $(68 / 254) / 0.125 \approx 2$ 个

6. (a) 解释与脂质过氧化有关的几个术语：自由基、活性氧、自由基链反应和抗氧化剂；(b) 为什么 PUFA 容易发生脂质过氧化？

答：(a)

自由基：自由基也称游离基，是指含有奇数价电子并因此在一个轨道上具有一个未(不)成对电子(unpaired electron)的原子或原子团。

活性氧：氧或含氧的高反应活性分子，如 O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 H_2O_2 、 1O_2 (单线态氧)等统称为活性氧。

自由基链反应：自由基化学性质活泼，能发生抽氢、歧化、化合、取代、加成等多种反应，但是自由基反应的最大特点是倾向于进行链「式」反应(chain reaction)，链反应一般包括 3 个阶段：引发、增长和终止。

抗氧化剂：凡具有还原性而能抑制靶分子自动氧化即抑制自由基链反应的物质称为抗氧化剂(antioxidant)。

(b) 多不饱和脂肪酸 (PUFA) 中的双键具有潜在的还原性，容易发生过氧化作用。

7. 为解决甘油磷脂构型上的不明确性，国际生物化学命名委员会建议采取立体专一编号命名原则。试以磷酸甘油为例说明此命名原则。

8. 写出下列化合物的名称：

(a) 在低 pH 时，携带一个正净电荷的甘油磷脂；(b) 在中性 pH 时携带负净电荷的甘油磷脂；(c) 在中性 pH 时，净电荷为零的甘油磷脂。

答：(a) 磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺；(b) 磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、磷脂酰甘油，-1；双磷脂酰甘油（心磷脂），-2；(c) 磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺。

9. 给定下列分子成分：甘油、脂肪酸、磷酸、长链醇和糖。试问 (a) 哪两个成分在蜡和鞘脂中都存在？(b) 哪两个成分在脂肪和磷脂酰胆碱中都存在？(c) 哪些 (个) 成分只在神经节苷脂而不在脂肪中存在？[(a) 脂肪酸，长链醇；(b) 甘油，脂肪酸；(c) 糖，长链醇]

10. 指出下列膜脂的亲水成分和疏水成分：(a) 磷脂酰乙醇胺；(b) 鞘磷脂；(c) 半乳糖基脑苷脂；(d) 神经节苷脂；(e) 胆固醇。

答：(a) 乙醇胺；脂肪酸
(b) 磷酸胆碱或磷酸乙醇胺；脂肪酸和烃链
(c) 半乳糖；脂肪酸和烃链
(d) 连有唾液酸的寡糖链；脂肪酸和烃链
(e) C3 羟基；甾核和 C17 烷烃侧链

11. (a) 造成类固醇化合物种类很多的原因是什么？(b) 人和动物体内胆固醇可转变为哪些具有重要生理意义的类固醇物质？

答：(a) ①环上的双键数目和位置不同；②取代基的种类、数目、位置和取向 (α β) 不同；③环和环稠合的构型 (顺反异构) 不同。

(b) 动物中从胆固醇衍生来的类固醇包括 5 类激素：雄激素、雌激素、孕酮、糖皮质激素和盐皮质激素，维生素 D 和胆汁酸。

12. 胆酸是人胆汁中发现的 A-B 顺式类固醇 (图 2-18)。请按图 2-15 所求椅式构象画出胆酸的构象式，并以直立键或平伏键标出 C3，C7 和 C12 上 3 个羟基。

13. 一种血浆脂蛋白的密度为 1.08 g/cm^3 ，载脂蛋白的平均密度为 1.35 g/cm^3 ，脂质的平均密度为 0.90 g/cm^3 。问该脂蛋白中载脂蛋白和脂质的质量分数是多少？[48.6% 载脂蛋白，51.4% 脂质]

解：设载脂蛋白的体积分数是 x ，则有 $1.35x + 0.90(1-x) = 1.08$ ，解得 $x = 0.4$

于是质量分数为 $(0.4 \times 1.35) / [0.4 \times 1.35 + (1-0.4) \times 0.90] = 0.5$

14. 一种低密度脂蛋白 (LDL 含 apoB-100 (M 为 500000) 和总胆固醇 (假设平均 Mr 为 590) 的质量分数分别为 25% 和 50%。试计算 apoB-100 与总胆固醇的摩尔比 [1:1695]

解：设摩尔比为 $1/x$ ，则有 $500000/590x = 25/50$ ，解得 $x = 1695$

15. 用化学方法把鞘磷脂与磷脂酰胆碱区分开来。

第三章 氨基酸

提要

α -氨基酸是蛋白质的构件分子, 当用酸、碱或蛋白酶水解蛋白质时可获得它们。蛋白质中的氨基酸都是 L 型的。但碱水解得到的氨基酸是 D 型和 L 型的消旋混合物。

参与蛋白质组成的基本氨基酸只有 20 种。此外还有若干种氨基酸在某些蛋白质中存在, 但它们都是在蛋白质生物合成后由相应的基本氨基酸(残基)经化学修饰而成。除参与蛋白质组成的氨基酸外, 还有很多种其他氨基酸存在与各种组织和细胞中, 有的是 β -、 γ -或 δ -氨基酸, 有些是 D 型氨基酸。

氨基酸是两性电解质。当 pH 接近 1 时, 氨基酸的可解离基团全部质子化, 当 pH 在 13 左右时, 则全部去质子化。在这中间的某一 pH (因不同氨基酸而异), 氨基酸以等电的兼性离子 ($H_3N^+CHRCOO^-$) 状态存在。某一氨基酸处于净电荷为零的兼性离子状态时的介质 pH 称为该氨基酸的等电点, 用 pI 表示。

所有的 α -氨基酸都能与茚三酮发生颜色反应。 $\alpha-NH_2$ 与 2,4-二硝基氟苯(DNFB)作用产生相应的 DNP-氨基酸(Sanger 反应); $\alpha-NH_2$ 与苯乙硫氰酸酯(PITC)作用形成相应氨基酸的苯胺基硫甲酰衍生物(Edman 反应)。胱氨酸中的二硫键可用氧化剂(如过甲酸)或还原剂(如巯基乙醇)断裂。半胱氨酸的 SH 基在空气中氧化则成二硫键。这几个反应在氨基酸蛋白质化学中占有重要地位。

除甘氨酸外 α -氨基酸的 α -碳是一个手性碳原子, 因此 α -氨基酸具有光学活性。比旋是 α -氨基酸的物理常数之一, 它是鉴别各种氨基酸的一种根据。

参与蛋白质组成的氨基酸中色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸在紫外区有光吸收, 这是紫外吸收法定量蛋白质的依据。核磁共振(NMR)波谱技术在氨基酸和蛋白质的化学表征方面起重要作用。

氨基酸分析分离方法主要是基于氨基酸的酸碱性质和极性大小。常用方法有离子交换柱层析、高效液相层析(HPLC)等。

习题

1. 写出下列氨基酸的单字母和三字母的缩写符号: 精氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺、谷氨酸、苯丙氨酸、色氨酸和酪氨酸。[见表 3-1]

表 3-1 氨基酸的简写符号

名称	三字母符号	单字母符号	名称	三字母符号	单字母符号
丙氨酸(alanine)	Ala	A	亮氨酸(leucine)	Leu	L
精氨酸(arginine)	Arg	R	赖氨酸(lysine)	Lys	K
天冬酰胺(asparagines)	Asn	N	甲硫氨酸(蛋氨酸)(methionine)	Met	M
天冬氨酸(aspartic acid)	Asp	D	苯丙氨酸(phenylalanine)	Phe	F
半胱氨酸(cysteine)	Cys	C	脯氨酸(praline)	Pro	P
谷氨酰胺(glutamine)	Gln	Q	丝氨酸(serine)	Ser	S
谷氨酸(glutamic acid)	Glu	E	苏氨酸(threonine)	Thr	T
甘氨酸(glycine)	Gly	G	色氨酸(tryptophan)	Trp	W
组氨酸(histidine)	His	H	酪氨酸(tyrosine)	Tyr	Y
异亮氨酸(isoleucine)	Ile	I	缬氨酸(valine)	Val	V
Asn 和/或 Asp	Asx	B	Gln 和/或 Glu	Glx	Z

2、计算赖氨酸的 ϵ -NH₃⁺20%被解离时的溶液 pH。[9.9]

解：pH = pKa + lg20% pKa = 10.53 (见表 3-3, P133)

$$\text{pH} = 10.53 + \lg 20\% = 9.83$$

3、计算谷氨酸的 γ -COOH 三分之二被解离时的溶液 pH。[4.6]

解：pH = pKa + lg2/3 pKa = 4.25

$$\text{pH} = 4.25 + 0.176 = 4.426$$

4、计算下列物质 0.3mol/L 溶液的 pH: (a)亮氨酸盐酸盐; (b)亮氨酸钠盐; (c)等电亮氨酸。[(a)约 1.46, (b)约 11.5, (c)约 6.05]

5、根据表 3-3 中氨基酸的 pKa 值, 计算下列氨基酸的 pI 值: 丙氨酸、半胱氨酸、谷氨酸和精氨酸。

[pI:6.02;5.02;3.22;10.76]

解: pI = 1/2 (pKa1+ pKa2)

$$\text{pI}(\text{Ala}) = 1/2 (2.34+9.69) = 6.02$$

$$\text{pI}(\text{Cys}) = 1/2 (1.71+10.78) = 5.02$$

$$\text{pI}(\text{Glu}) = 1/2 (2.19+4.25) = 3.22$$

$$\text{pI}(\text{Ala}) = 1/2 (9.04+12.48) = 10.76$$

6、向 1L1mol/L 的处于等电点的甘氨酸溶液加入 0.3molHCl, 问所得溶液的 pH 是多少? 如果加入 0.3mol NaOH 以代替 HCl 时, pH 将是多少? [pH: 2.71; 9.23]

解: pH1=pKa1+lg(7/3)=2.71

$$\text{pH2}=\text{pKa2}+\lg(3/7)=9.23$$

7、将丙氨酸溶液(400ml)调节到 pH8.0, 然后向该溶液中加入过量的甲醛, 当所得溶液用碱反滴定至 pH8.0 时, 消耗 0.2mol/L NaOH 溶液 250ml。问起始溶液中丙氨酸的含量为多少克? [4.45g]

8、计算 0.25mol/L 的组氨酸溶液在 pH6.4 时各种离子形式的浓度 (mol/L)。[His²⁺为 1.78×10⁻⁴, His⁺为 0.071, His⁰为 2.8×10⁻⁴]

解: 由 pH=pK1+lg(His²⁺/10^{-6.4}) =pKr+lg(His⁺/His²⁺) =pK2+lg(His⁰/His⁺)

$$\text{得 His}^{2+}\text{为 } 1.78 \times 10^{-4}, \text{ His}^{+}\text{为 } 0.071, \text{ His}^0\text{为 } 2.8 \times 10^{-4}$$

9、说明用含一个结晶水的固体组氨酸盐酸盐(相对分子质量=209.6; 咪唑基 pKa=6.0) 和 1mol/L KOH 配制 1LpH6.5 的 0.2mol/L 组氨酸盐缓冲液的方法[取组氨酸盐酸盐 41.92g(0.2mol), 加入 352ml 1mol/L KOH, 用水稀释至 1L]

10、为什么氨基酸的茚三酮反应液能用测压法定量氨基酸?

解: 茚三酮在弱酸性溶液中与 α -氨基酸共热, 引起氨基酸氧化脱氨脱羧反应, (其反应化学式见 P139), 其中, 定量释放的 CO₂ 可用测压法测量, 从而计算出参加反应的氨基酸量。

11、L-亮氨酸溶液(3.0g/50ml 6mol/L HCl) 在 20cm 旋光管中测得的旋光度为+1.81°。计算 L-亮氨酸在 6mol/L HCl 中的比旋 ([α])。[[α]=+15.1°]

12、标出异亮氨酸的 4 个光学异构体的 (R, S) 构型名称。[参考图 3-15]

13、甘氨酸在溶剂 A 中的溶解度为在溶剂 B 中的 4 倍，苯丙氨酸在溶剂 A 中的溶解度为溶剂 B 中的两倍。利用在溶剂 A 和 B 之间的逆流分溶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，试回答下列问题：(1) 利用由 4 个分溶管组成的逆流分溶系统时，甘氨酸和苯丙氨酸各在哪一号分溶管中含量最高？(2) 在这样的管中每种氨基酸各为多少毫克？[(1) 第 4 管和第 3 管；(2) 51.2mg Gly+24mg Phe 和 38.4mg Gly+36mg Phe]

解：根据逆流分溶原理，可得：

对于 Gly: $K_d = C_A/C_B = 4 = q(\text{动相})/p(\text{静相})$ $p+q = 1 = (1/5 + 4/5)$

4 个分溶管分溶 3 次: $(1/5 + 4/5)^3 = 1/125 + 2/125 + 48/125 + 64/125$

对于 Phe: $K_d = C_A/C_B = 2 = q(\text{动相})/p(\text{静相})$ $p+q = 1 = (1/3 + 2/3)$

4 个分溶管分溶 3 次: $(1/3 + 2/3)^3 = 1/27 + 6/27 + 12/27 + 8/27$

故利用 4 个分溶管组成的分溶系统中，甘氨酸和苯丙氨酸各在 4 管和第 3 管中含量最高，其中：

第 4 管: Gly: $64/125 \times 100 = 51.2 \text{ mg}$ Phe: $8/27 \times 81 = 24 \text{ mg}$

第 3 管: Gly: $48/125 \times 100 = 38.4 \text{ mg}$ Phe: $12/27 \times 81 = 36 \text{ mg}$

14、指出在正丁醇：醋酸：水的系统中进行纸层析时，下列混合物中氨基酸的相对迁移率（假定水相的 pH 为 4.5）：(1) Ile, Lys; (2) Phe, Ser (3) Ala, Val, Leu; (4) Pro, Val (5) Glu, Asp; (6) Tyr, Ala, Ser, His.

[Ile > Lys; Phe, > Ser; Leu > Val > Ala; Val > Pro; Glu > Asp; Tyr > Ala > Ser ≈ His]

解：根据 P151 图 3-25 可得结果。

15. 将含有天冬氨酸(pI=2.98)、甘氨酸(pI=5.97)、亮氨酸(pI=6.53)和赖氨酸(pI=5.98)的柠檬酸缓冲液，加到预先同样缓冲液平衡过的强阳离子交换树脂中，随后用爱缓冲液析脱此柱，并分别收集洗出液，这 5 种氨基酸将按什么次序洗脱下来？[Asp, Thr, Gly, Leu, Lys]

解：在 pH3 左右，氨基酸与阳离子交换树脂之间的静电吸引的大小次序是减刑氨基酸(A²⁺) > 中性氨基酸(A¹⁺) > 酸性氨基酸(A⁰)。因此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，由于氨基酸和树脂之间还存在疏水相互作用，所以其洗脱顺序为：Asp, Thr, Gly, Leu, Lys。

第四章 蛋白质的共价结构

提要

蛋白质分子是由一条或多条肽链构成的生物大分子。多肽链是由氨基酸通过肽键共价连接而成的，各种多肽链都有自己特定的氨基酸序列。蛋白质的相对分子质量介于 6000 到 1000000 或更高。

蛋白质分为两大类：单纯蛋白质和缀合蛋白质。根据分子形状可分为纤维状蛋白质、球状蛋白质和膜蛋白质。此外还可按蛋白质的生物学功能分类。

为了表示蛋白质结构的不同组织层次，经常使用一级结构、二级结构、三级结构和四级结构这样一些专门术语。一级结构就是共价主链的氨基酸序列，有时也称化学结构。二、三和四级结构又称空间结构（即三维结构）或高级结构。

蛋白质的生物功能决定于它的高级结构，高级结构是由一级结构即氨基酸序列决定的，二氨基酸序列是由遗传物质 DNA 的核苷酸序列规定的。

肽键(CO—NH)是连接多肽链主链中氨基酸残基的共价键，二硫键是使多肽链之间交联或使多肽链成完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

环的共价键。

多肽链或蛋白质当发生部分水解时，可形成长短不一的肽段。除部分水解可以产生小肽之外，生物界还存在许多游离的小肽，如谷胱甘肽等。小肽晶体的熔点都很高，这说明短肽的晶体是离子晶格、在水溶液中也是以偶极离子存在的。

测定蛋白质一级结构的策略是：（1）测定蛋白质分子中多肽链数目；（2）拆分蛋白质分子的多肽链；（3）断开多肽链内的二硫桥；（4）分析每一多肽链的氨基酸组成；（5）鉴定多肽链的N-末端和C-末端残基；（6）断裂多肽链成较小的肽段，并将它们分离开来；（7）测定各肽段的氨基酸序列；（8）利用重叠肽重建完整多肽链的一级结构；（9）确定半胱氨酸残基形成的S-S交联桥的位置。

序列分析中的重要方法和技术有：测定N-末端基的苯异硫氰酸酯（PITC）法，分析C-末端基的羧肽酶法，用于多肽链局部断裂的酶裂解和CNBr化学裂解，断裂二硫桥的巯基乙醇处理，测定肽段氨基酸序列的Edman化学降解和电喷射串联质谱技术，重建多肽链一级序列的重叠肽拼凑法以及用于二硫桥定位的对角线电泳等。

在不同生物体中行使相同或相似功能的蛋白质称同源蛋白质。同源蛋白质具有明显的序列相似性（称序列同源），两个物种的同源蛋白质，其序列间的氨基酸差异数目与这些物种间的系统发生差异是成比例的。并根据同源蛋白质的氨基酸序列资料建立起进化树。同源蛋白质具有共同的进化起源。

在生物体内有些蛋白质常以前体形式合成，只有按一定方式裂解除去部分肽链之后才出现生物活性，这一现象称蛋白质的激活。血液凝固是涉及氨基酸序列断裂的一系列酶原被激活的结果，酶促激活的级联放大，使血凝块迅速形成成为可能。凝血酶原和血清蛋白原是两个最重要的血凝因子。血纤蛋白原在凝血酶的作用下转变为血清蛋白凝块（血块的主要成分）。

我国在20世纪60年代首次在世界上人工合成了蛋白质——结晶牛胰岛素。近二、三十年发展起来的固相肽合成是控制合成技术上的一个巨大进步，它对分子生物学和基因工程也就具有重要影响和意义。至今利用Merrifield固相肽合成仪已成功地合成了许多肽和蛋白质。

习题

1. 如果一个相对分子质量为12000的蛋白质，含10种氨基酸，并假设每种氨基酸在该蛋白质分子中的数目相等，问这种蛋白质有多少种可能的排列顺序？ $[10^{100}]$

解： $10^{12000/120}=10^{100}$

2. 有一个A肽，经酸解分析得知为Lys、His、Asp、Glu₂、Ala以及Val、Tyr和两个NH₃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游离缬氨酸。如果我们在实验中将A肽用胰蛋白酶降解时，得到两种肽，其中一种（Lys、Asp、Glu、Ala、Tyr）在pH6.4时，净电荷为零，另一种（His、Glu以及Val）可给除DNP-His，在pH6.4时，带正电荷。此外，A肽用糜蛋白酶降解时，也得到两种肽，其中一种（Asp、Ala、Tyr）在pH6.4时全中性，另一种（Lys、His、Glu₂以及Val）在pH6.4时带正电荷。问A肽的氨基酸序列如何？[Asn-Ala-Tyr-Glu-Lys-His-Gln-Val]

解：1、N-末端分析：FDNB法得：Asp-；

2、C-末端分析：羧肽酶法得：-Val；

3、胰蛋白酶只断裂赖氨酸或精氨酸残基的羧基形成的肽键，得到的是以Arg和Lys为C-末端残基的肽断。酸水解使Asn→Asp+NH₄⁺，由已知条件（Lys、Asp、Glu、Ala、Tyr）可得：
Asn-()-()-()-Lys-()-()-Val；

4、FDNB法分析N-末端得DNP-His，酸水解使Gln→Glu+NH₄⁺由已知条件（His、Glu、Val）可得：
Asn-()-()-()-Lys-His-Gln-Val；

5、糜蛋白酶断裂Phe、Trp和Tyr等疏水氨基酸残基的羧基端肽键。由题，得到的一条肽（Asp、Ala、Tyr）结合（3）、（4）可得该肽的氨基酸序列为：Asn-Ala-Tyr-Glu-Lys-His-Gln-Val

生物化学（第三版）课后习题解答 高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，访问：www.kaoyancas.net

(1) 消化原多肽得到 (Ala、Cys2、Val)，说明链 1 在 2 位 Cys 后及 11 位 Val 前发生断裂，2 位 Cys 与 12 位 Cys 之间有二硫键；

(2) 由链 1 序列可得该肽段序列为：-Phe-Pro-Lys-Arg-；

(3) 由 (1)(2) 可知该肽段 (Arg2、Cys2、Trp、Tyr) 中必有一 Cys 来自链 2，另一 Cys 为链 1 中 8 位 Cys，即链 1 中 8 位 Cys 与链 2 中的一个 Cys 有二硫键；

(4) 嗜热菌蛋白酶能水解 Tyr、Phe 等疏水氨基酸残基，故此肽 (Cys2、Phe) 来自链 2，结合 (3) 中含 Tyr，可知 (3) 中形成的二硫键为链 1 8 位 Cys 与链 2 中 3 位 Cys 与链 2 中 3 位 Cys 之间；(4) 中 (Cys2、Phe) 说明链 2 中 1 位 Cys 与 5 位 Cys 中有二硫键。

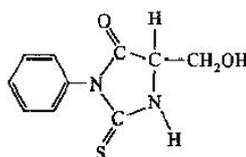
综合 (1)、(2)、(3)、(4) 可得结果。

7、一个十肽的氨基酸分析表明其水解液中存在下列产物：

NH₄⁺ Asp Glu Tyr Arg
Met Pro Lys Ser Phe

并观察下列事实：(1) 用羧肽酶 A 和 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) 溴化氢处理产生一个八肽和一个二肽，用单字母符号表示其序列为 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 降解给出下面的 PTH 衍生物：



写出该十肽的氨基酸序列。[Ser-Glu-Tyr-Arg-Lys-Lys-Phe-Met-Asn-Pro]

解：(1) 用羧肽酶 A 和 B 处理十肽无效说明该十肽 C-末端残基为-Pro；

(2) 胰蛋白酶专一断裂 Lys 或 Arg 残基的羧基参与形成的肽键，该十肽在胰蛋白酶处理后产生了两个四肽和有利的 Lys，说明十肽中含 Lys-…或-Arg-…-Lys-Lys-…或-Arg-Lys-…-Lys-…Arg-Lys-…四种可能的肽段，且水解位置在 4 与 5、5 与 6 或 4 与 5、8 与 9、9 与 10 之间；

(3) 梭菌蛋白酶专一裂解 Arg 残基的羧基端肽键，处理该十肽后，产生一个四肽和一个六肽，则可知该十肽第四位为-Arg-；

(4) 溴化氰只断裂由 Met 残基的羧基参加形成的肽键，处理该十肽后产生一个八肽和一个二肽，说明该十肽第八位或第二位为-Met-；用单字母表示二肽为 NP，即-Asn-Pro-，故该十肽第八位为-Met-；

(5) 胰凝乳蛋白酶断裂 Phe、Trp 和 Tyr 等疏水氨基酸残基的羧基端肽键，处理该十肽后，产生两个三肽和一个四肽，说明该十肽第三位、第六位或第七位为 Trp 或 Phe；

(6) 一轮 Edman 降解分析 N-末端，根据其反应规律，可得 N-末端氨基酸残基结构式为：
-NH-CH(-CH₂OH)-C(=O)-，还原为-NH-CH(-CH₂OH)-COOH-，可知此为 Ser；

结合 (1)、(2)、(3)、(4)、(5)、(6) 可知该十肽的氨基酸序列为：

Ser-Glu-Tyr-Arg-Lys-Lys-Phe-Met-Asn-Pro

8、一个四肽，经胰蛋白酶水解得两个片段，一个片段在 280nm 附近有强的光吸收，并且 Pauly 反应和坂口反应（检测胍基的）呈阳性。另一片段用溴化氰处理释放出一个与茚三酮反应呈黄色的氨基酸。写出此四肽的氨基酸序列。[YRMP]

解：胰蛋白酶专一水解 Lys 和 Arg 残基的羧基参与形成的肽键，故该四肽中含 Lys 或 Arg；一肽段在 280nm 附近有强光吸收且 Pauly 反应和坂口反应（检测胍基的）呈阳性，说明该肽段含 Tyr 和 Arg；溴化氰专一断裂 Met 残基的羧基参加形成的肽键，又因生成了与茚三酮反应呈黄色的氨基酸，故该肽段为-Met-Pro-；

完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研 13

所以该四肽的氨基酸组成为 Tyr-Arg-Met-Pro，即 YRMP。

9、蜂毒明肽 (apamin) 是存在蜜蜂毒液中的一个十八肽，其序列为 CNCKAPETALCARRCQQH，已知蜂毒明肽形成二硫键，不与碘乙酸发生反应，(1) 问此肽中存在多少个二硫键？(2) 请设计确定这些 (个) 二硫键位置的策略。

[(1) 两个；(2) 二硫键的位置可能是 1-3 和 11-15 或 1-11 和 3-15 或 1-15 和 3-11，第一种情况，用胰蛋白酶断裂将产生两个肽加 Arg；第二种情况和第三种，将产生一个肽加 Arg，通过二硫键部分氧化可以把后两种情况区别开来。]

10、叙述用 Mernfield 固相化学方法合成二肽 Lys-Ala。如果你打算向 Lys-Ala 加入一个亮氨酸残基使成三肽，可能会掉进什么样的“陷阱”？

解：(1) 用 BOC 保护 Ala 氨基端，然后将其羧基挂接在树脂上；

(2) 除去 N 端保护，将用 BOC 保护的 Arg 用缩合剂 DDC 与 Ala 相连；

(3) 将把树脂悬浮在无水三氟乙酸中，通入干燥的 HBr，使肽与树脂脱离，同时保护基也被切除。

若打算向 Lys-Ala 加入一个亮氨酸残基使成三肽，可能的坑为：Leu 可能接在 Arg 的非 α -氨基上。

第五章 蛋白质的三维结构

提要

每一种蛋白质至少都有一种构像在生理条件下是稳定的，并具有生物活性，这种构像称为蛋白质的天然构像。研究蛋白质构像的主要方法是 X 射线晶体结构分析。此外紫外差光谱、荧光和荧光偏振、圆二色性、核磁共振和重氢交换等被用于研究溶液中的蛋白质构像。

稳定蛋白质构像的作用有氢键、范德华力、疏水相互作用和离子键。此外二硫键在稳定某些蛋白质的构像种也起重要作用。

多肽链折叠成特定的构像受到空间上的许多限制。就其主链而言，由于肽链是由多个相邻的肽平面构成的，主链上只有 α -碳的二平面角 Φ 和 Ψ 能自由旋转，但也受到很大限制。某些 Φ 和 Ψ 值是立体化学所允许的，其他值则不被允许。并因此提出了拉氏构像，它表明蛋白质主链构象在图上所占的位置是很有限的 (7.7%-20.3%)。

蛋白质主链的折叠形成由氢键维系的重复性结构称为二级结构。最常见的二级结构元件有 α 螺旋、 β 转角等。 α 螺旋是蛋白质中最典型、含量最丰富的二级结构。 α 螺旋结构中每个肽平面上的羰氧和酰氨基都参与氢键的形成，因此这种构象是相当稳定的。氢键大体上与螺旋轴平行，每圈螺旋占 3.6 个氨基酸残基，每个残基绕轴旋转 100° ，螺距为 0.54nm。 α -角蛋白是毛、发、甲、蹄中的纤维状蛋白质，它几乎完全由 α 螺旋构成的多肽链构成。 β 折叠片中肽链主链处于较伸展的曲折 (锯齿) 形式，肽链之间或一条肽链的肽段之间借助氢键彼此连接成片状结构，故称为 β 折叠片，每条肽链或肽段称为 β 折叠股或 β 股。肽链的走向可以有平行和反平行两种形式。平行折叠片构象的伸展程度略小于反平行折叠片，它们的重复周期分别为 0.65nm 和 0.70nm。大多数 β 折叠股和 β 折叠片都有右手扭曲的倾向，以缓解侧链之间的空间应力 (steric strain)。蚕丝心蛋白几乎完全由扭曲的反平行 β 折叠片构成。胶原蛋白是动物结缔组织中最丰富的结构蛋白，有若干原胶原分子组成。原胶原是一种右手超螺旋结构，称三股螺旋。弹性蛋白是结缔组织中另一主要的结构蛋白质。

蛋白质按其外形和溶解度可分为纤维状蛋白质、球状蛋白质和膜蛋白。 α -角蛋白、丝心蛋白 (β -角蛋白)、胶原蛋白和弹性蛋白是不溶性纤维状蛋白质；肌球蛋白和原肌球蛋白是可溶性纤维状蛋白质，是肌纤维中最丰富的蛋白质。球状蛋白质是一类可溶性的功能蛋白，如酶、抗体、转运蛋白、蛋白质激素等，

膜蛋白是一类与膜结构和功能紧密相关的蛋白质，它们又可分为膜内在蛋白质、脂锚定蛋白质以及膜周边蛋白质。

蛋白质结构一般被分为4个组织层次（折叠层次），一级、二级、三级和四级结构。细分时可在二、三级和四级结构。细分时可在二、三级之间增加超二级结构和结构域两个层次。超二级结构是指在一级序列上相邻的二级结构在三维折叠中彼此靠近并相互作用形成的组合体。超二级结构有3种基本形式： $\alpha\alpha$ （螺旋束）、 $\beta\alpha\beta$ （如Rossmann折叠）、 $\beta\beta$ （ β 曲折和希腊钥匙拓扑结构）。结构域是在二级结构和超二级结构的基础上形成并相对独立的三级结构局部折叠区。结构域常常也就是功能域。结构域的基本类型有：全平行 α 螺旋结构域、平行或混合型 β 折叠片结构域、反平行 β 折叠片结构域和富含金属或二硫键结构域等4类。

球状蛋白质可根据它们的结构分为全 α -结构蛋白质、 α 、 β -结构蛋白质、全 β -结构蛋白质和富含金属或二硫键蛋白质等。球状蛋白质有些是单亚基的，称单体蛋白质，有些是多亚基的，称寡聚或多聚蛋白质。亚基一般是一条多肽链。亚基（包括单体蛋白质）的总三维结构称三级结构。球状蛋白质种类很多，结构也很复杂，各有自己独特的三维结构。但球状蛋白质分子仍有某些共同的结构特征：①一种分子可含多种二级结构元件，②具有明显的折叠层次，③紧密折叠成球状或椭球状结构，④疏水侧链埋藏在分子内部，亲水基团暴露在分子表面，⑤分子表面往往有一个空穴（活性部位）。

蛋白质受到某些物理或化学因素作用时，引起生物活性丢失，溶解度降低以及其他的物理化学常数的改变，这种现象称为蛋白质变性。变性实质是非共价键断裂，天然构象解体，但共价键未遭破坏。有些变性是可逆的。蛋白质变性和复性实验表明，一级结构规定它的三维结构。蛋白质的生物学功能是蛋白质天然构象所具有的性质。天然构象是在生理条件下热力学上最稳定的即自由能最低的三维结构。

蛋白质折叠不是通过随机搜索找到自由能最低构象的。折叠动力学研究表明，多肽链折叠过程中存在熔球态的中间体，并有异构酶和伴侣蛋白质等参加。

寡聚蛋白是由两个或多个亚基通过非共价相互作用缔合而成的聚集体。缔合形成聚集体的方式构成蛋白质的四级结构，它涉及亚基在聚集体中的空间排列（对称性）以及亚基之间的接触位点（结构互补）和作用力（非共价相互作用的类型）。

习题

1. (1) 计算一个含有78个氨基酸的 α 螺旋的轴长。(2) 此多肽的 α 螺旋完全伸展时多长？[11.7nm; 28.08nm]

解：(1) 考虑到 α 螺旋中每3.6个氨基酸残基上升0.54nm，故该 α 螺旋的轴长为：

$$78 \times 0.54 / 3.6 = 11.7 \text{ nm}$$

(2) 考虑到完全伸展时每个氨基酸残基约占0.36nm，故此时长为：

$$78 \times 0.36 = 28.08 \text{ nm}$$

2. 某一蛋白质的多肽链除一些区段为 α 螺旋构象外，其他区段均为 β 折叠片构象。该蛋白质相对分子质量为240000，多肽链外形的长度为 $5.06 \times 10^{-5} \text{ cm}$ 。试计算： α 螺旋占该多肽链的百分数。（假设 β 折叠构象中每氨基酸残基的长度为0.35nm）[59%]

解：一般来讲氨基酸的平均分子量为120Da，此蛋白质的分子量为240000Da，所以氨基酸残基数为 $240000 \div 120 = 2000$ 个。设有X个氨基酸残基呈 α 螺旋结构，则：

$$X \cdot 0.15 + (2000 - X) \times 0.35 = 5.06 \times 10^{-5} \times 10^7 = 506 \text{ nm}$$

解之得 $X = 970$ ， α 螺旋的长度为 $970 \times 0.15 = 145.5$ ，故 α -螺旋占该蛋白质分子的百分比为：

$$145.5 / 536 \times 100\% = 29\%$$

3. 虽然在真空中氢键键能约为20kJ/mol，但在折叠的蛋白质中它对蛋白质的稳定焓贡献却要小得多（<5kJ/mol）。试解释这种差别的原因。[在伸展的蛋白质中大多数氢键的供体和接纳体都与水形成氢键。这就是氢键能量对稳定焓贡献小的原因。]

4. 多聚甘氨酸是一个简单的多肽，能形成一个具有 $\phi = -80^\circ$ $\psi = +120^\circ$ 的螺旋，根据拉氏构象图（图 5-13），描述该螺旋的（a）手性；（b）每圈的碱基数。〔（a）左手；（b）3.0〕

解：据 P206 图 5-13 拉氏构象图， $\phi = -80^\circ$ $\psi = +120^\circ$ 时可知该螺旋为左手性，每圈残基数为 3.0。

5. α 螺旋的稳定性不仅取决于肽链间的氢键形成，而且还取决于肽链的氨基酸侧链的性质。试预测在室温下的溶液中下列多聚氨基酸那些种将形成 α 螺旋，那些种形成其他的有规则的结构，那些种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， $\text{pH}=7.0$ ；〔（1）（4）和（5）能形成 α 螺旋；（2）（3）和（6）不能形成有规则的结构；（7）有规则，但不是 α 螺旋〕

6. 多聚甘氨酸的右手或左手 α 螺旋中哪一个比较稳定？为什么？〔因为甘氨酸是在 α -碳原子上呈对称的特殊氨基酸，因此可以预料多聚甘氨酸的左右手 α 螺旋（他们是对映体）在能量上是相当的，因而也是同等稳定的。〕

7. 考虑一个小的含 101 残基的蛋白质。该蛋白质将有 200 个可旋转的键。并假设对每个键 ϕ 和 ψ 有两个定向。问：（a）这个蛋白质可能有多种随机构象（W）？（b）根据（a）的答案计算在当使 1mol 该蛋白质折叠成只有一种构象的结构时构想熵的变化（ $\Delta S_{\text{折叠}}$ ）；（c）如果蛋白质完全折叠成由 H 键作为稳定焓的唯一来源的 α 螺旋，并且每 mol H 键对焓的贡献为 -5kJ/mol ，试计算 $\Delta H_{\text{折叠}}$ ；（d）根据逆的（b）和（c）的答案，计算 25°C 时蛋白质的 $\Delta G_{\text{折叠}}$ 。该蛋白质的折叠形式在 25°C 时是否稳定？

〔（a） $W=2^{200}=1.61 \times 10^{60}$ ；（b） $\Delta S_{\text{折叠}}=1.15 \text{ kJ}/(\text{K} \cdot \text{mol})$ （c） $\Delta H_{\text{折叠}}=100 \times (-5 \text{ kJ/mol}) = -500 \text{ kJ/mol}$ ；注意，这里我们没有考虑在螺旋末端处某些氢键不能形成这一事实，但考虑与否差别很小。（d） $\Delta G_{\text{折叠}} = -157.3 \text{ kJ/mol}$ 。由于在 25°C 时 $\Delta G_{\text{折叠}} < 0$ ，因此折叠的蛋白质是稳定的。〕

8. 两个多肽链 A 和 B，有着相似的三级结构。但是在正常情况下 A 是以单体形式存在的，而 B 是以四聚体（ B_4 ）形式存在的，问 A 和 B 的氨基酸组成可能有什么差别。〔在亚基-亚基相互作用中疏水相互作用经常起主要作用，参与四聚体 B_4 的亚基-亚基相互作用的表面可能比单体 A 的对应表面具有较多的疏水残基。〕

9. 下面的序列是一个球状蛋白质的一部分。利用表 5-6 中的数据和 Chou-Faman 的经验规则，预测此区域的二级结构。RRPVVLMACLRPVVFITYGDDGGTYHWHYH

〔残基 4-11 是一个 α 螺旋，残基 14-19 和 24-30 是 β 折叠片。残基 20-23 很可能形成 β 转角〕

10. 从热力学考虑，完全暴露在水环境中完全埋藏在蛋白质分子非极性内部的两种多肽片段，哪一种更容易形成 α 螺旋？为什么？〔埋藏在蛋白质的非极性内部时更容易形成 α 螺旋。因为在水环境中多肽对稳定焓（ $\Delta H_{\text{折叠}}$ ）的贡献要小些。〕

11. 一种酶相对分子质量为 300000，在酸性环境中可解离成两个不同组分，其中一个组分的相对分子质量为 100000，另一个为 50000。大的组分占总蛋白质的三分之二，具有催化活性。用 β -巯基乙醇（能还原二硫桥）处理时，大的失去催化能力，并且它的沉降速度减小，但沉降图案上只呈现一个峰（参见第 7 章）。关于该酶的结构作出什么结论？〔此酶含 4 个亚基，两个无活性亚基的相对分子质量为 50000，两个催化亚基的相对分子质量为 100000，每个催化亚基是由两条无活性的多肽链（相对分子质量为 50000）组成。彼此间由二硫键交联在一起。〕

12. 今有一种植物的毒素蛋白，直接用 SDS 凝胶电泳分析（见第 7 章）时，它的区带位于肌红蛋白（相对完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

分子质量为 16900) 和 β -乳球蛋白 (相对分子质量 37100) 两种蛋白之间, 当这个毒素蛋白用 β -巯基乙醇和碘乙酸处理后, 在 SDS 凝胶电泳中仍得到一条区带, 但其位置靠近标记蛋白细胞素 (相对分子质量为 13370), 进一步实验表明, 该毒素蛋白与 FDNB 反应并酸水解后, 释放出游离的 DNP-Gly 和 DNP-Tyr。关于此蛋白的结构, 你能做出什么结论? [该毒素蛋白由两条不同的多肽链通过链间二硫键交联而成, 每条多肽链的相对分子质量各在 13000 左右。]

13. 一种蛋白质是由相同亚基组成的四聚体。(a) 对该分子说出两各种可能的对称性。稳定缔合的是哪种类型的相互作用 (同种或异种)? (b) 假设四聚体, 如血红蛋白, 是由两个相同的单位 (每个单位含 α 和 β 两种链) 组成的。问它的最高对称性是什么? [(a) C₄ 和 D₂, C₄ 是通过异种相互作用缔合在一起, D₂ 是通过同种相互作用缔合在一起, (b) C₂ 因为每个 $\alpha\beta$ 二聚体是一个不对称的原聚体]

14. 证明一个多阶段装配过程比一个单阶段装配过程更容易控制蛋白质的质量。考虑一个多聚体酶复合物的合成, 此复合物含 6 个相同的二聚体, 每个二聚体由一个多肽 A 和一个 B 组成, 多肽 A 和 B 的长度分别为 300 个和 700 个氨基酸残基。假设从氨基酸合成多肽链, 多肽链组成二聚体, 再从二聚体聚集成多聚体酶, 在这一建造过程中每次操作的错误频率为 10^{-8} , 假设氨基酸序列没有错误的话, 多肽的折叠总是正确的, 并假设在每一装配阶段剔除有缺陷的亚结构效率为 100%, 试比较在下列情况下有缺陷复合物的频率: (1) 该复合物以一条 6000 个氨基酸连续的多肽链一步合成, 链内含有 6 个多肽 A 和 6 个多肽 B。(2) 该复合物分 3 个阶段形成: 第一阶段, 多肽 A 和 B 的合成; 第二阶段, AB 二聚体的形成; 第三阶段, 6 个 AB 二聚体装配成复合物。

[(1) 有缺陷复合物的平均频率是 $6000 \times 10^{-8} = 6 \times 10^{-5}$]

[(2) 由于有缺陷的二聚体可被剔除, 因此有缺陷复合物的平均率只是最后阶段的操作次数 (5 次操作装配 6 个亚基) 乘以错误频率, 即: 5×10^{-8} 。因此它比一步合成所产生的缺陷频率约低 1000 倍。]

第六章 蛋白质结构与功能的关系

提要

肌红蛋白 (Mb) 和血红蛋白 (Hb) 是脊椎动物中的载氧蛋白质。肌红蛋白便于氧在肌肉中转运, 并作为氧的可逆性贮库。而血红蛋白是血液中的氧载体。这些蛋白质含有一个结合得很紧的血红素辅基。它是一个取代的卟啉, 在中央有一个铁原子。亚铁 (Fe^{2+}) 态的血红素能结合氧, 但高铁 (+3) 态的不能结合氧。血红素中的铁原子还能结合其他小分子如 CO、NO 等。

肌红蛋白是一个单一的多肽链, 含 153 个残基, 外形紧凑。Mb 内部几乎都是非极性残基。多肽链中约 75% 是 α 螺旋, 共分八个螺旋段。一个亚铁血红素即位于疏水的空穴内, 它可以保护铁不被氧化成高铁。血红素铁离子直接与一个 His 侧链的氮原子结合。此近侧 His (H8) 占据 5 个配位位置。第 6 个配位位置是 O_2 的结合部位。在此附近的远侧 His (E7) 降低在氧结合部位上 CO 的结合, 并抑制血红素氧化或高铁态。

氧与 Mb 结合是可逆的。对单体蛋白质如 Mb 来说, 被配体 (如) O_2 占据的结合部位的分数是配体浓度的双曲线函数, 如 Mb 的氧集合曲线。血红蛋白由 4 个亚基 (多肽链) 组成, 每个亚基都有一个血红素基。Hb A 是成人中主要的血红蛋白, 具有 $\alpha_2\beta_2$ 的亚基结构。四聚体血红蛋白中出现了单体血红蛋白所不具有的新性质, Hb 除运载氧外还能转运 H^+ 和 CO_2 。血红蛋白以两种可以相互转化的构象态存在, 称 T (紧张) 和 R (松弛) 态。T 态是通过几个盐桥稳定的。无氧结合时达到最稳定。氧的结合促进 T 态转变为 R 态。

氧与血红蛋白的结合是别构结合行为的一个典型例证。T 态和 R 态之间的构象变化是由亚基-亚基相互作用所介导的, 它导致血红蛋白出现别构现象。Hb 呈现 3 种别构效应。第一, 血红蛋白的氧结合曲线是 S 形的, 这以为着氧的结合是协同性的。氧与一个血红素结合有助于氧与同一分子中的其他血红素结合。第

二， H^+ 和 CO_2 促进 O_2 从血红蛋白中释放，这是生理上的一个重要效应，它提高 O_2 在代谢活跃的组织如肌肉的释放。相反的， O_2 促进 H^+ 和 CO_2 在肺泡毛细血管中的释放。 H^+ 、 CO_2 和 O_2 的结合之间的别构联系称为 Bohr 效应。第三，血红蛋白对 O_2 的亲合力还受 2、3-二磷酸甘油酸 (BPG) 调节，BPG 是一个负电荷密度很高的小分子。BPG 能与去氧血红蛋白结合，但不能与氧合血红蛋白结合。因此，BPG 是降低血红蛋白对氧的亲合力的。胎儿血红蛋白 ($\alpha_2\beta_2$) 比成年人的血红蛋白 ($\alpha_2\beta_2$) 有较高的氧亲和力，就是因为它结合 BPG 较少。

导致一个蛋白质中氨基酸改变的基因突变能产生所谓分子病，这是一种遗传病。了解最清楚的分子病是镰刀状细胞贫血病。这种病人的步正常血红蛋白称为 Hb S，它只是在两条 β 链第六位置上的 Glu 倍置换乘 Val。这一改变在血红蛋白表面上产生一个疏水小区，因而导致血红蛋白聚集成不溶性的纤维束，并引起红细胞镰刀状化和输氧能力降低。纯合子的病人出现慢性贫血而死亡。地中海贫血是由于缺失一个或多个编码血红蛋白链的基因造成的。

棉衣反映是由特化的白细胞——淋巴细胞和巨噬细胞及其相关的蛋白质之间的相互作用介导的。T 淋巴细胞产生 T 细胞受体，B 淋巴细胞产生免疫球蛋白，即抗体。所有的细胞都能产生 MHC 蛋白，它们在细胞表面展示宿主（自我）肽或抗原（非自我）肽。助 T 细胞诱导那些产生免疫球蛋白的 B 细胞和产生 T 细胞受体的胞毒 T 细胞 增殖。免疫球蛋白或 T 细胞受体能与特异的抗原结合。一个特定的祖先细胞通过刺激繁殖，产生一个具有同样免疫能力的细胞群的过程称为克隆选择。

人类具有 5 个类别的免疫球蛋白，每一类别的生物学功能都是不同的。最丰富的是 IgG 类，它由 4 条多肽链组成，两条重链，两条轻链，通过二硫键连接成 Y 形结构的分子。靠近 Y 的两“臂”顶端的结构域是多变区，形成来年各个抗原结合部位。一个给顶的免疫球蛋白一般只结合一个大抗原分子的一部分，称为表位。结合经常涉及 IgG 的构象变化，以便与抗原诱导契合。由于抗体容易制取并具有高度特异性，它成为许多分析和制备生化方法的核心，如酶联免疫吸附测定 (ELISA)、Western 印迹和单克隆抗体技术等得到广泛应用。

在发动机蛋白质中蛋白质-配体相互作用上空间和时间的组织达到相当完善的程度。肌肉收缩是由于肌球蛋白和肌动蛋白“精心安排”的相互作用的结果。肌球蛋白是由纤维状的尾和球状的头组成的棒状分子，在肌肉中倍组织成粗丝。G-肌动蛋白是一种单体，由它聚集成纤维状的 F-肌动蛋白，后者是细丝的主体。由粗丝和细丝构成肌肉收缩单位——肌节。肌球蛋白上的 ATP 水解与肌球蛋白头片的系列构象变化相偶联，引起肌球蛋白头从 F-肌动蛋白亚基上解离并与细丝前方的另一 F-肌动蛋白亚基再结合。因此肌球蛋白沿肌动蛋白细丝滑动。肌肉收缩受从肌质网释放的 Ca^{2+} 刺激。 Ca^{2+} 与肌钙蛋白结合导致肌钙蛋白-原肌球蛋白复合体的构象变化，引发肌动蛋白-肌球蛋白相互作用的循环发生。

习题

1. 蛋白质 A 和 B 各有一个配体 X 的结合部位，前者的解离常数 K_d 为 10^{-6} mol/L，后者 K_d 为 10^{-9} mol/L。(a) 哪个蛋白质对配体 X 的亲合力更高？(b) 将这两个蛋白质的 K_d 转换为结合常数 K_a 。[(a) 蛋白质 B；(b) 蛋白质 A 的 $K_a=10^6$ (mol/L) $^{-1}$ ，蛋白质 B 的 $K_a=10^9$ (mol/L) $^{-1}$]

2. 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？(a) 血浆的 pH 从 7.4 降到 7.2；(b) 肺中 CO_2 分压从 45 torr (屏息) 降到 15 torr (正常)；(c) BPG 水平从 4.5 mmol/L (海平面) 增至 7.5 mmol (高空)。
[对肌红蛋白：(a) 无；(b) 无；(c) 无。对血红蛋白：(a) 降低；(b) 增加；(c) 降低]

3. 在 37°C，pH 7.4， CO_2 分压 40 torr 和 BPG 正常胜利水平 (4.5 mmol/L 血) 条件下，人全血的氧结合测定给出下列数据：

$p(O_2)$	%饱和度 (=100×Y)
10.6	10

19.5	30
27.4	50
37.5	70
50.4	85
77.3	96
92.3	98

- (a) 根据这些数据，绘制氧结合曲线；估算在 (1) 100 torr p (O₂) (肺中) 和 (2) 30 torr p (O₂) (静脉血中) 下血的氧百分饱和度。
- (b) 肺中 [100 torr p (O₂)] 结合的氧有百分之多少输送给组织 [30 torr p (O₂)] ?
- (c) 如果在毛细血管中 pH 降到 7.0，利用图 6-17 数据重新估算 (b) 部分。
- [(a) (1) 98%，(2) 58%；(b) 约 40%；(c) 约 50%]

解：(a) 图略，从图中可知分别为 98% 和 58%；

(b) 98% - 58% = 40%，故约 40%；

(c) 当 pH 降到 7.0 时，据图 6-17 可知：96% - 46% = 50%。

4. 如果已知 P₅₀ 和 n，可利用方程 (6-15) $Y / (1 - Y) = [p(O_2) / P_{50}]^n$ 计算 Y (血红蛋白氧分数饱和度)。设 P₅₀ = 26 torr，n = 2.8，计算肺 (这里 p (O₂) = 100 torr) 中的 Y 和毛细血管 (这里 p (O₂) = 40 torr) 中的 Y。在这些条件下输氧效率 (Y 肺 - Y 毛细血管 = ΔY) 是多少？除 n = 1.0 外，重复上面计算。比较 n = 2.8 和 n = 1.0 时的 ΔY 值。并说出协同氧结合对血红蛋白输氧效率的影响。[n = 2.8 时，Y 肺 = 0.98，Y 毛细血管 = 0.77，所以，ΔY = 0.21，n = 1.0 时，Y 肺 = 0.79，Y 毛细血管 = 0.61，所以，ΔY = 0.18，两 ΔY 之差 0.21 - 0.18 = 0.03，差值似乎不大，但在代谢活跃的组织中 p (O₂) < 40 torr，因此潜在输氧效率不小，参见图 6-15]

解：Y 肺 / (1 - Y 肺) = [100/26]^{2.8} Y 肺 = 0.98

Y 毛 / (1 - Y 毛) = [40/26]^{2.8} Y 毛 = 0.77

ΔY = 0.98 - 0.77 = 0.21

当 n = 1.0 时，同理，Y 肺 = 0.79 Y 毛 = 0.61 ΔY = 0.18

5. 如果不采取措施，贮存相当时间的血，2,3-BPG 的含量会下降。如果这样的血用于输血可能会产生什么后果？[贮存过时的红血球经酵解途径代谢 BPG。BPG 浓度下降，Hb 对 O₂ 的亲合力增加，致使不能给组织供氧。接受这种 BPG 浓度低的输血，病人可能被窒息。]

6. HbA 能抑制 HbS 形成细长纤维和红细胞在脱氧后的镰刀状化。为什么 HbA 具有这一效应？[去氧 HbA 含有一个互补部位，因而它能加到去氧 HbS 纤维上。这样的纤维不能继续延长，因为末端的去氧 HbA 分子缺少“粘性”区。]

7. 一个单克隆抗体与 G-肌动蛋白结合但不与 F-肌动蛋白结合，这对于抗体识别抗原表位能告诉你什么？[该表位可能是当 G-肌动蛋白聚合成 F-肌动蛋白时被埋藏的那部分结构。]

8. 假设一个 Fab-半抗原复合体的解离常数在 25°C 和 pH7 时为 5 × 10⁻⁷ mol/L。(a) 结合的标准自由能 (25°C 和 pH7 时) 是多少？(b) 此 Fab 的亲合力结合常数是多少？(c) 从该复合体中释放半抗原的速度常数为 120 S⁻¹。结合的速度常数是多少？此说明在结合半抗原时抗体中的结构变化是大还是小？[(a) ΔG⁰ = -35.9 kJ/mol；(b) K_a = 2 × 10⁶ mol⁻¹L；(c) 结合速度常数 k = 2 × 10⁸ mol⁻¹S⁻¹L，此值接近于小分子与蛋白质相遇 (结合) 的扩散控制限制 (10⁸ 至 10⁹ mol⁻¹S⁻¹L)]

解：(a) ΔG⁰ = -RT ln K_a = -8.31 × 298 × ln 2000000 = -35.9 kJ/mol

(b) K_a = 1/Keq = 1/5 × 10⁻⁷ = 2 × 10⁶ mol⁻¹L

9. 抗原与抗体的结合方式与血红蛋白的氧结合相似。假设抗原是一价，抗体是 n 价，即抗体分子有 n 个结合部位，且各结合部位的结合常数 K_a 值是相同的，则可证明当游离抗原浓度为 $[L]$ 时，结合到抗体上的抗原浓度 $[L_p]$ 与抗体的总浓度 $[P_r]$ 之比值： $\bar{N} = [L_p]/[P_r] = (nK_a [L]) / (1 + K_a [L])$ ， \bar{N} 实际上表示被一个抗体分子结合的抗原分子平均数。

(a) 证明上面的方程可重排为 $\bar{N} / [L] = K_a n - K_a \bar{N}$

此方程式称 Scatchard 方程，方程表明， $\bar{N} / [L]$ 对 \bar{N} 作图将是一条直线。

(b) 根据 Scatchard 方程，利用下列数据作图求出抗体-抗原反应的 n 和 K_a 值。

$[L]$ mol/L	\bar{N}
1.43×10^{-5}	0.5
2.57×10^{-5}	0.77
6.00×10^{-5}	1.20
1.68×10^{-4}	1.68
3.70×10^{-4}	1.85

[(a) 第一个方程两边各乘 $(1 + K_a [L])$ ，然后两边各除以 $[L]$ ，并重排第 2 个方程；(b) 根据第二方程， $\bar{N} / [L]$ 对 \bar{N} 作图的斜率是 $-K_a$ ， $\bar{N} / [L] = 0$ 时的截距给出 n 。利用数据作图得 $K_a = 2.2 \times 10^4$ mol/L， $n = 2.1$ 。因为结合部位数目只可能是整数，所以 $n = 2$]

10. 一个典型的松弛肌节中细丝长约 $2 \mu\text{m}$ ，粗丝长约为 $1.5 \mu\text{m}$ 。

(a) 估算在松弛和收缩时粗丝和细丝的重叠情况。

(b) 一次循环中肌球蛋白沿细丝滑行“一步”移动约 7.5nm ，问一次收缩中每个肌动蛋白纤维需要进行多少个步？

[(a) 约 0.75nm ，(b) 约 67 步]

解：(a) 根据 P281 图 6-35A 所示，

当松弛时重叠总长度为： $(1+1) - (3-1.5) = 0.5 \mu\text{m}$ $0.5/2 = 0.25 \mu\text{m}$

当收缩时重叠总长度为： $(1+1) - (2-1.5) = 1.5 \mu\text{m}$ $1.5/2 = 0.75 \mu\text{m}$

(b) $(3-2) \div 2 \times 10^3 \div 7.5 \approx 67$ 步

第七章 蛋白质的分离、纯化和表征

提要

蛋白质也是一种两性电解质。它的酸碱性质主要决定于肽链上可解离的 R 基团。对某些蛋白质说，在某一 pH 下它所带的正电荷与负电荷相等，即净电荷为零，此 pH 称为蛋白质的等电点。各种蛋白质都有自己特定的等电点。在等电点以上的 pH 时蛋白质分子带净负电荷，在等电点以下的 pH 时带净正电荷。蛋白质处于等电点时溶解度最小。在无盐类干扰情况下，一种蛋白质的质子供体基团解离出来的质子数与质子受体基团结合的质子数相等时的 pH 是它的真正等电点，称为等离子点，它是该蛋白质的特征常数。

测定蛋白质相对分子质量 (M_r) 的最重要的方法是利用超速离心机的沉降速度法和沉降平衡法。沉降系数 (s) 的定义是单位离心场强度的沉降速度。 s 也常用来近似地描述生物大分子的大小。凝胶过滤是一种简便的测定蛋白质 M_r 的方法。SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE) 用于测定单体蛋白质或亚基的 M_r 。

蛋白质溶液是亲水胶体系统。蛋白质分子颗粒 (直径 $1 \sim 100\text{nm}$) 是系统的分散相，水是分散介质。蛋白质分子颗粒周围的双电层和水化层是稳定蛋白质胶体系统的主要因素。

分离蛋白质混合物的各种方法主要根据蛋白质在溶液中的下列性质：（1）分子大小；（2）溶解度；（3）电荷；（4）吸附性质；（5）对配体分子特异的生物学亲和力。透析和超过滤是利用蛋白质不能通过半透膜的性质使蛋白质分子和小分子分开，常用于浓缩和脱盐。密度梯度离心和凝胶过滤层析都已成功地用于分离蛋白质混合物。等电点沉淀、盐析和有机溶剂分级分离等方法常用于蛋白质分离的头几步。移动界面电泳、各种形式的区带电泳，特别是圆盘凝胶电泳、毛细血管电泳以及等电聚焦具有很高的分辨率。纤维素离子交换剂和 Sephadex 离子交换剂的离子交换柱层析已广泛地用于蛋白质的分离纯化。HPLC 和亲和层析法是十分有效的分离纯化方法。

蛋白质制品的纯度鉴定通常采用分辨率高的物理化学方法，例如 PAGE、等电聚焦、毛细血管电泳、沉降分析和 HPLC 等。如果制品是纯的，在这些分析的图谱上只呈现一个峰或一条带。必须指出，任何单独鉴定只能认为是蛋白质分子均一性的必要条件而不是充分条件。

习题

1. 测得一种血红素蛋白质含 0.426% 铁，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？[13110；15870]

解：（1）蛋白质 $M_r = 55.8 \div 0.426\% = 13100$

（2）亮氨酸和异亮氨酸的分子质量都是 131Da，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两个，异亮氨酸至少有三个，那么：蛋白质 $M_r = 2 \times (131 - 18) / 1.65\% = 13697\text{Da}$

2. 超速离心机的转速为 58000r/min 时，（1）计算角速度 ω ，以 rad/s 表示；（2）计算距旋转中心 6.2cm 处的离心加速度 a ；（3）此离心加速度相当于重力加速度“g”的多少倍？

[（1） $\omega = 6070.7\text{rad/s}$ （2） $a = 2.284 \times 10^8\text{cm/s}^2$ ；（3） $a = 233061g$]

解：（1） $\omega = 58000 \times 2\pi / 60 = 6070.7\text{rad/s}$

（2） $a = (6070.7)^2 \times 6.2 = 2.284 \times 10^8\text{cm/s}^2$

（3） $2.285 \times 10^6 / 9.8 = 233061$

3. 一种蛋白质的偏微比容为 $0.707\text{cm}^3/\text{g}$ ，当温度校正为 20°C ，溶剂校正为水时扩散系数 ($D_{20,w}$) 为 $13.1 \times 10^{-7}\text{cm}^2/\text{s}$ 。沉降系数 ($S_{20,w}$) 为 2.05S。20°C 时水的密度为 $0.998\text{g}/\text{cm}^3$ ，根据斯维德贝格公式计算该蛋白质的相对分子质量。[13000]

解： $M_r = (RTS) / [D(1 - v\rho)] = 8.314 \times (273 + 20) \times 2.05 / [13.1 \times 10^{-7} (1 - 0.707 \times 0.998)] = 13000$

4. 一个层析柱中固定相体积 (V_s) 为流动相体积 (V_m) 的 1/5。假设某化合物的分配系数，(a) $K_d = 1$ ；(b) $K_d = 50$ 。计算该化合物的有效分配系数 (K_{eff})，也称容量因子 (capacity)。[(a) $K_{\text{eff}} = 0.2$ ；(b) $K_{\text{eff}} = 10$]

5. 指出从分子排阻层析柱上洗脱下列蛋白质时的顺序。分离蛋白质的范围是 5000 到 400000；肌红蛋白、过氧化氢酶、细胞色素 C、肌球蛋白、胰凝乳蛋白酶原和血清清蛋白（它们的 M_r 见表 7-4）。[肌球蛋白、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]

6. 由第 5 题所述的，从分子排阻层析柱上洗脱细胞色素 C、 β -乳球蛋白、未知蛋白和血清红蛋白时，其洗脱体积分别为 118、58、37 和 24ml，问未知蛋白的 M_r 是多少？假定所有蛋白质都是球形的，并且都处于柱的分级分离范围。[52000]

7. 在下面指出的 pH 下，下述蛋白质在电场中相哪个方向移动，即向正极、负极还是不动？（根据表 7-2 的数据判断。）（1）血清蛋白，pH 5.0；（2） β -乳球蛋白，pH 5.0 和 7.0；（3）胰凝乳蛋白酶原，pH 5.0、

访问：www.kaoyancas.net

9.1 和 11。[(1) 正极；(2) 负极、正极；(3) 负极、不动、正极]

解：(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，不移动；

$pH=11 > 9.1$ 带负电，向正极移动；

8. (1) 当 Ala、Ser、Phe、Leu、Arg、Asp 和 His 的混合物在 $pH 3.9$ 进行纸电泳时，哪些氨基酸移向正极？哪些氨基酸移向负极？(2) 纸电泳时，带有相同电荷的氨基酸常有少许分开，例如 Gly 可与 Leu 分开，试说明为什么？(3) 设 Ala、Val、Glu、Lys 和 Thr 的混合物 pH 为 6.0 ，试指出纸电泳后氨基酸的分离情况。

PI 值：Ala: 6.02 Ser: 5.68 Phe: 5.48 Leu: 5.98 Arg: 10.76 Asp: 2.97 His: 7.59

[(1) Ala、Ser、Phe 和 Leu 以及 Arg 和 His 向负极，Asp 移向正极；(2) 电泳时，具有相同电荷的较大分子比较小分子移动得慢，因为电荷/质量之比较小，因而引起每单位质量迁移的驱动力也较小。(3) Glu 移向正极，Lys 移向负极，Val、Ala 和 Thr 则留在原点。]

9. 凝胶过滤层析和凝胶电泳中的分子筛效应有什么不同？为什么？

答：凝胶过滤层析中每一个凝胶珠相当于一个分子筛，故小分子所经过的路径长，落在大分子后面；而凝胶电泳中整块胶板相当于一个分子筛，故大分子受到的阻力大而迁移慢，落在小分子后面。

10. 配制一系列牛血清清蛋白 (BSA) 稀释液，每一种溶液取 $0.1ml$ 进行 Bradford 法测定。对适当的空白测定 $595nm$ 波长处的光吸收 (A_{595})。结果如下表所示：

BSA 浓度 ($mg \cdot L^{-1}$)	A_{595}
1.5	1.4
1.0	0.97
0.8	0.79
0.6	0.59
0.4	0.37
0.2	0.17

BSA 浓度对 A_{595} 作图得标准曲线。E. coli 的蛋白质提取液样品 ($0.1ml$) 测得的 A_{595} 为 0.84 。根据标准曲线算出 E. coli 提取液中的蛋白质浓度。[$0.85mg/ml$]

解：标准曲线略。由标准曲线可知，当 A_{595} 为 0.84 时，BSA 浓度为 $0.85mg/ml$ 。

第八章 酶通论

提要

生物体内的各种化学变化都是在酶催化下进行的。酶是由生物细胞产生的，受多种因素调节控制的具有催化能力的生物催化剂。与一般催化剂相比有其共同性，但又有显著的特点，酶的催化效率高，具有高度的专一性，酶的活性受多种因素调节控制，酶作用条件温和，但不够稳定。

酶的化学本质除有催化活性的 RNA 分子之外都是蛋白质。根据酶的化学组成可分为单纯蛋白质和缀合蛋白质两类。缀合蛋白质是由不表现酶活力的脱辅酶及辅因子（包括辅酶、辅基及某些金属离子）两部分

组成。脱辅酶部分决定酶催化的专一性，而辅酶（或辅基）在酶催化作用中通常起传递电子、原子或某些化学基团的作用。

根据各种酶所催化反应的类型，把酶分为六大类，即氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类和连接酶类。按规定每种酶都有一个习惯名称和国际系统名称，并且有一个编号。

酶对催化的底物有高度的选择性，即专一性。酶往往只能催化一种或一类反应，作用于一种或一类物质。酶的专一性可分为结构专一性和立体异构专一性两种类型。用“诱导契合说”解释酶的专一性已被人们所接受。

酶的分离纯化是酶学研究的基础。已知大多数酶的本质是蛋白质，因此用分离纯化蛋白质的方法纯化酶，不过要注意选择合适的材料，操作条件要温和。在酶的制备过程中，每一步都要测定酶的活力和比活力，以了解酶的回收率及提纯倍数，以便判断提纯的效果。酶活力是指在一定条件下酶催化某一化学反应的能力，可用反应初速率来表示。测定酶活力及测酶反应的初速率。酶活力大小来表示酶含量的多少。

20世纪80年代初，Cech和Altman分别发现了某些RNA分子具有催化作用，定名为核酶(ribozyme)。有催化分子内和分子间反应的核酶。具有催化功能RNA的发现，开辟了生物化学研究的新领域，提出了生命起源的新概念。根据发夹状或锤头状二级结构原理，可以设计出各种人工核酶，用作抗病毒和抗肿瘤的防治药物将会有良好的应用前景。

抗体酶是一种具有催化能力的蛋白质，本质上是免疫球蛋白，但是在易变区赋予了酶的属性。根据酶催化的过度态理论，设计各种过度态类似物作为半抗原免疫动物，筛选具有催化活性的单抗。抗体酶具有酶的一切性质。现已研制出催化多种反应的抗体酶。抗体酶的发现，不仅为酶的过度态理论提供了有力的实验证据，而且抗体酶将会得到广泛的应用。

酶工程是将酶学原理与化学工程技术及基因重组技术有机结合而形成的新型应用技术，是生物工程的支柱。根据研究和解决问题的手段不同将酶工程分为化学酶工程和生物酶工程。随着化学工程技术及基因工程技术的发展，酶工程发展更为迅速，必将成为一个很大的生物技术产业。

习题

1. 酶作为生物催化剂有哪些特点？

答：酶是细胞所产生的，受多种因素调节控制的具有催化能力的生物催化剂，与一般非生物催化剂相比较有以下几个特点：1、酶易失活；2、具有很高的催化效率；3、具有高度专一性；4、酶活性受到调节和控制。

2. 何谓酶的专一性？酶的专一性有哪些？如何解释酶作用的专一性？研究酶的专一性有何意义？

答：酶的专一性是指酶对催化的反应和反映物有严格的选择性。酶的专一性分为两种类型：1、结构专一性，包括绝对专一性、相对专一性（族专一性或基团专一性、键专一性）；2、立体异构专一性，包括旋光异构专一性、几何异构专一性。

通过对酶结构与功能的研究，确信酶与底物作用的专一性是由于酶与底物分子的结构互补，诱导契合，通过分子的相互识别而产生的。

对酶的专一性研究具有重要的生物学意义。它有利于阐明生物体内有序的代谢过程，酶的作用机制等。

3. 酶的活性受那些因素调节，试说明之。

答：酶的调节和控制有多种方式，主要有：

- (1) 调节酶的浓度：主要有2种方式：诱导或抑制酶的合成；调节酶的降解；
- (2) 通过激素调节酶活性、激素通过与细胞膜或细胞内受体相结合而引起一系列生物学效应，以此来调节酶活性；
- (3) 反馈抑制调节酶活性：许多小分子物质的合成是由一连串的反应组成的，催化此物质合成的第一步的酶，往往被他们终端产物抑制；

- (4) 抑制剂和激活剂对酶活性的调节：酶受大分子抑制剂或小分子物质抑制，从而影响酶活性；
- (5) 其他调节方式：通过别构酶、酶原的激活、酶的可逆共价修饰和同工酶来调节酶活性。

4. 辅基和辅酶有何不同？在酶催化反应中起什么作用？

答：辅酶通常指与脱辅酶结合比较松弛的小分子有机物质。通过透析方法可以除去，如辅酶 I 和辅酶 II 等。辅基是以共价键和脱辅酶结合，不能通过透析除去，需要经过一定的化学处理才能与蛋白分开，如细胞色素氧化酶中的铁卟啉，丙酮氧化酶中的黄素腺嘌呤二核苷酸（FAD）都属于辅基。它们的区别只在于它们与脱辅酶结合的牢固程度不同。辅酶、辅基在酶催化反应中通常是起着电子、原子或某些化学基团的传递作用。

5. 酶分哪几大类？举例说明酶的国际系统命名法及酶的编号。

答：国际酶学委员会根据酶所催化反应的类型，把酶分为 6 大类：即氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂合酶类、异构酶类和连接酶类。分别利用 1、2、3、4、5、6 来表示。例如：1.1.3 表示氧化还原酶，作用于 CHOH 基团，受体是分子氧。根据底物中别所用的基团或键的特点将每一大类分为若干亚类，每一个亚类又按顺序变成 1、2、3……等数字；每一个亚基可再分亚亚类，仍用 1、2、3……编号，每一个酶的分类编号由 4 个数字组成，数字间由“·”隔开。第一个数字指明该酶属于哪一个大类；第二个数字指明酶属于哪一个亚类；第三个数字指出该酶属于一个亚亚类；第四个数字则表明该酶在亚亚类中的序号。编号之间冠以 EC (Enzyme Commission)。

6. 什么叫酶的活力和比活力？测定酶活力应注意什么？为什么测定酶活力时以测定初速率为宜，并且底物浓度远远大于酶浓度？

答：酶活力指酶催化某一化学反应的能力，其大小可用在一定条件下所催化的某一化学反应的反应速率来表示；酶的比活力代表酶的纯度，根据国际酶学委员会的规定比活力用每 mg 蛋白质所含的酶活力单位数表示。

酶的催化作用受测定环境的影响，因此测定酶活力要在最适条件下进行，即最适温度、最适 pH、最适底物浓度和最适缓冲离子强度等。只有在最适条件下测定才能真实反映酶活力的大小。

随着时间的延长，酶促反应中底物浓度降低，产物浓度增加，加速逆反应的进行，产物对酶抑制或激活作用以及随着时间的延长引起酶本身部分分子失活等，酶促反应速率降低，因此测定活力，应测定酶促反应的初速率，从而避免上述种种复杂因素对反应速率的影响。

底物浓度太低时，5%以下的底物浓度变化实验上不易测准，所以在测定酶的活力时，往往使底物浓度足够大，这样整个酶反应对底物来说是零级反应，而对酶来说却是一级反应，这样测得的速率就比较可靠地反映酶的含量。

7. 什么叫核酶和抗体酶？它们的发现有什么重要意义？

答：具有催化功能的 RNA 叫核酶。它的发现，表明 RNA 是一种既能携带遗传信息又有生物催化功能的生物分子。因此很可能 RNA 早于蛋白质和 DNA，是生命起源中首先出现的生物大分子，而一些有酶活性的内含子可能是生物进化过程中残存的分子“化石”。酶 RNA 的发现，提出了生物大分子和生命起源的新概念，无疑促进对生物进化和生命起源的研究。

抗体酶是 20 世纪 80 年代后期才出现的一种具有催化能力的蛋白质，其本质上是免疫球蛋白，但是在易变区被赋予了酶的属性，所以又称“催化性抗体”，抗体酶的发现，不仅为酶的过渡态理论提供了有力的实验证据，而且抗体酶将会得到广泛的应用。

8. 解释下列名词：

- (1) 生物酶工程：酶学和以 DNA 重组技术为主的现代分子生物学技术相结合的产物。

完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

生物化学（第三版）课后习题解答 高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，

访问：www.kaoyancas.net

- (2) 固定化酶：将水溶性酶用物理或化学方法处理，使之成为不溶于水的、但仍具有酶活性的状态。
- (3) 活化能：在一定温度下 1mol 底物全部进入活化状态所需要的自由能 (kJ/mol)
- (4) 酶的转化数：在一定条件下每秒钟每个酶分子转换底物的分子数。
- (5) 寡聚酶：由两个以上亚基组成的酶。
- (6) Kat 单位：在最适条件下，每秒钟催化 1mol 底物转化为产物所需的酶量，为 Kat 单位。
- (7) 酶偶联分析法：由于分光光度法有其独特的优点，因此把一些原来没有光吸收变化的酶反应，可以通过与一些能引起光吸收变化的酶反映偶联使第一个酶反应的产物转变成第二个酶的具有光吸收变化的产物来进行测量。
- (8) 诱导契合说：1958 年 Koshland 提出，当酶分子与底物分子接近时，酶蛋白受底物分子诱导，其构象发生有利于底物结合的变化，酶与底物在此基础上互补契合进行反应。
- (9) 反馈抑制：许多小分子物质的合成是由一联串的反应组成的，催化此物质生成的第一步的酶，往往被它们终端产物抑制。这种抑制叫反馈抑制。
- (10) 多酶复合体：由几种酶靠非共价键彼此嵌合而成。

9. 用 AgNO_3 对在 10ml 含有 1.0mg/ml 蛋白质的纯酶溶液进行全抑制，需用 $0.342 \mu\text{mol AgNO}_3$ ，求该酶的最低相对分子质量。

解： $\text{Mr}=10 \times 10^{-3} / 0.342 \times 10^{-6} = 29240\text{Da}$

10. $1 \mu\text{g}$ 纯酶 ($\text{Mr}: 92 \times 10^3$) 在最适条件下，催化反应速率为 $0.5 \mu\text{mol}/\text{min}$ ，试计算：(1) 酶的比活力。[500U/mg] (2) 转换数。[766.7s⁻¹]

解：(1) 比活力 = $0.5 \mu\text{mol}/\text{min} / 1 \mu\text{g} = 500\text{U}/\text{mg}$

(2) 转换数 = $0.5/60 \div [1 / (92 \times 10^3)] = 766.7\text{s}^{-1}$

11. 1g 鲜重的肌肉含有 40 单位的某种酶，其转换数为 $6 \times 10^4 \text{min}^{-1}$ ，试计算该酶在细胞内浓度 (假设新鲜组织含水 80%，并且全部在细胞内)。[$8.33 \times 10^{-7} \text{mol}/\text{L}$]

解： $[10^{-6} / (6 \times 10^4)] \times 40 \div [(1 \times 80\%) / 10^3] = 8.33 \times 10^{-7} \text{mol}/\text{L}$

12. 焦磷酸酶可以催化焦磷酸水解或磷酸，其相对分子质量为 120×10^3 ，由 6 个相同亚基组成。纯酶的 V_{max} 为 2800U/mg 酶。它的一个活力单位规定为：在标准测定条件下，37°C、15min 内水解 $10 \mu\text{mol}$ 焦磷酸所需要的酶量。问：(1) 每 mg 酶在每秒钟内水解多少 mol 底物？[$3.11 \times 10^{-5} \text{mol}$]。(2) 每 mg 酶中有多少 mol 的活性部位 (假设每个亚基上有一个活性部位)？[$5 \times 10^{-8} \text{mol}$ 活性中心]。(3) 酶的转换数是多少？[622s⁻¹ 或 622mol 焦磷酸 / (s · mol) 酶活性中心]

解：(1) $2800 \times [(10 \times 10^{-6}) / (15 \times 60)] = 3.11 \times 10^{-5} \text{mol}$

(2) $(1 \times 10^{-3}) / (120 \times 10^3) \times 6 = 5 \times 10^{-8} \text{mol}$

(3) $\{ (3.11 \times 10^{-5}) / [(1 \times 10^{-3}) / (120 \times 10^3)] \} / 6 = 622$

13. 称取 25mg 蛋白酶粉配制制成 25ml 酶溶液，从中取出 0.1ml 酶液，以酪蛋白为底物，用 Folin-酚比色法测定酶活力，得知每小时产生 1500 μg 酪氨酸。另取 2ml 酶液，用凯氏定氮法测得蛋白氮为 0.2mg，若以每分钟产生 1 μg 酪氨酸的酶量为 1 个活力单位计算，根据以上数据，求出：(1) 1ml 酶液中所含蛋白质质量及活力单位。[0.625mg 蛋白质，250U] (2) 比活力。[400U/mg 蛋白质] (3) 1g 酶制剂的总蛋白含量及总活力。[0.625g， $2.5 \times 10^5\text{U}$]

解：(1) $(0.2 \times 6.25) / (2 \times 25/25) = 0.625\text{mg}$

$(1500/60) / (0.1 \times 25/25) = 250\text{U}$

(2) $250/0.625 = 400\text{U}/\text{mg}$

完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

访问：www.kaoyancas.net

$$(3) [0.625 / (1 \times 25 / 25)] \times 10^3 = 0.625 \times 10^3 \text{mg} = 0.625 \text{g}$$
$$[(1500 / 60) / (0.1 \times 25 / 25)] \times 10^3 = 2.5 \times 10^5 \text{U}$$

14. 有 1g 淀粉酶制剂，用水溶解成 1000ml，从中取出 1ml 测定淀粉酶活力，测知每 5min 分解 0.25g 淀粉。计算每 g 酶制剂所含淀粉酶活力单位数？[3000U]（淀粉酶活力单位定义：在最适条件下每小时分解 1g 淀粉的酶量称为 1 个活力单位）

解：(0.25 × 60 / 5) / (1 / 1000) = 3000U

15. 某酶的初提取液经过一次纯化后，经测定得到下列数据：试计算比活力、百分产量及纯化倍数。[比活力：180U/mg 蛋白质，百分产量：17%，纯化倍数：9 倍]

	体积/ml	活力单位/ (U/ml)	蛋白质/ (mg/ml)
初提取液	120	200	10
(NH ₄) ₂ SO ₄ 盐析	5	810	4.5

解：(1) 810 / 4.5 = 180U/mg

$$(2) 810 \times 5 \div (200 \times 120) \times 100\% = 17\%$$

$$(3) 180 \div (200 / 10) = 9$$

第九章 酶促反应动力学

提要

酶促反应动力学是研究酶促反应的速率以及影响此速率各种因素的科学。它是以化学动力学为基础讨论底物浓度、抑制剂、pH、温度及激活剂等对酶反应速率的影响。化学动力学中在研究化学反应速率与反应物浓度的关系时，常分为一级反应、二级反应及零级反应。研究证明，酶催化过正的第一步是生成酶-底物中间产物，Michaelis-Menten 根据中间产物学说的理论推导出酶反应动力学方程式，即 K_m 、 V_{max} 、 k_{cat} 、 k_{cat}/K_m 。 K_m 是酶的一个特征常数，以浓度为单位， K_m 有多种用途，通过直线作图法可以得到 K_m 及 V_{max} 。 k_{cat} 称为催化常数，又叫做转换数（TN 值），它的单位为 s^{-1} ， k_{cat} 值越大，表示酶的催化速率越高。 k_{cat}/K_m 常用来比较酶催化效率的参数。酶促反应除了单底物反应外，最常见的为双底物反应，按其动力学机制分为序列反应和乒乓反应，用动力学直线作图法可以区分。

酶促反应速率常受抑制剂影响，根据抑制剂与酶的作用方式及抑制作用是否可逆，将抑制作用分为可逆抑制作用及不可逆抑制作用。根据可逆抑制剂与底物的关系分为竞争性抑制、非竞争性抑制及反竞争性抑制 3 类，可以分别推导出抑制作用的动力学方程。竞争性抑制可以通过增加底物浓度而解除，其动力学常数 K'_m 变大， V_{max} 不变；非竞争性抑制 K_m 不变， V'_{max} 变小；反竞争性抑制 K'_m 及 V'_{max} 均变小。通过动力学作图可以区分这 3 种类型的可逆抑制作用。可逆抑制剂中最重要的是竞争性抑制，过渡态底物类似物为强有力的竞争性抑制剂。不可逆抑制剂中，最有意义的为专一性 K_s 型及 k_{cat} 型不可逆抑制剂。研究酶的抑制作用是研究酶的结构与功能、酶的催化机制、阐明代谢途径以及设计新药物的重要手段。

温度、pH 及激活剂都会对酶促反应速率产生重要影响，酶反应有最适温度及最适 pH，要选择合适的激活剂。在研究酶促反应速率及测定酶的活力时，都应选择酶的最适反应条件。

习题

1. 当一酶促反应进行的速率为 V_{max} 的 80% 时，在 K_m 和 $[S]$ 之间有何关系？[$K_m = 0.25[S]$]

解：根据米氏方程： $V = V_{max}[S] / (K_m + [S])$ 得：

生物化学（第三版）课后习题解答 高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，

访问：www.kaoyancas.net

$$0.8V_{\max} = V_{\max}[S]/(K_m + [S])$$

$$K_m = 0.25[S]$$

2. 过氧化氢酶的 K_m 值为 2.5×10^{-2} mol/L，当底物过氧化氢浓度为 100mmol/L 时，求在此浓度下，过氧化氢酶被底物所饱和的百分数。[80%]

解： $f_{ES} = [S]/(K_m + [S]) = 100 \times 10^{-3} / (2.5 \times 10^{-2} + 100 \times 10^{-3}) = 80\%$

3. 由酶反应 $S \rightarrow P$ 测得如下数据：

[S]/molL ⁻¹	V/nmolL ⁻¹ min ⁻¹
6.25×10^{-6}	15.0
7.50×10^{-5}	56.25
1.00×10^{-4}	60.0
1.00×10^{-3}	74.9
1.00×10^{-2}	75.0

- (1) 计算 K_m 及 V_{\max} 。 [$K_m: 2.5 \times 10^{-5}$, $V_{\max}: 75 \text{ nmolL}^{-1}\text{min}^{-1}$]
- (2) 当 $[S] = 5 \times 10^{-5}$ mol/L 时，酶催化反应的速率是多少？ [$50.0 \text{ nmolL}^{-1}\text{min}^{-1}$]
- (3) 若 $[S] = 5 \times 10^{-5}$ mol/L 时，酶的浓度增加一倍，此时 V 是多少？ [$100 \text{ nmolL}^{-1}\text{min}^{-1}$]
- (4) 表中的 V 是根据保温 10min 产物生成量计算出来的，证明 V 是真正的初速率。

解：(1) Lineweaver-Burk 双倒数作图法，或由米氏方程得：

$$15 = V_{\max} \cdot 6.25 \times 10^{-6} / (K_m + 6.25 \times 10^{-6}) \dots\dots ① \quad 60 = V_{\max} \cdot 10^{-4} / (K_m + 10^{-4}) \dots\dots ②$$

由①、②得： $K_m = 2.5 \times 10^{-5}$, $V_{\max} = 75 \text{ nmolL}^{-1}\text{min}^{-1}$

(2) $V = 75 \times 5 \times 10^{-5} / (2.5 \times 10^{-5} + 5 \times 10^{-5}) = 50.0 \text{ nmolL}^{-1}\text{min}^{-1}$

(3) $50 \times 2 = 100 \text{ nmolL}^{-1}\text{min}^{-1}$

(4) 底物转化率： $(15.0 \times 10^{-9} \times 10) / (6.26 \times 10^{-6}) = 0.024 = 2.4\% < 5\%$ ，故可证明。

5. 某酶的 K_m 为 4.7×10^{-5} molL⁻¹， V_{\max} 为 $22 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ ，底物浓度为 2×10^{-4} molL⁻¹。试计算：(1) 竞争性抑制剂，(2) 非竞争性抑制剂，(3) 反竞争性抑制剂的浓度均为 5×10^{-4} molL⁻¹ 时的酶催化反映速率？这 3 中情况的 K_i 值都是 3×10^{-4} molL⁻¹，(4) 上述 3 种情况下，抑制百分数是多少？ [(1) $13.54 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$, 24%; (2) $6.68 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$, 62.5%; (3) $7.57 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$, 57.5%]

解：(1) 竞争性抑制剂的米氏方程为： $V = V_{\max}[S]/(K_m(1+[I]/K_i) + [S])$

代入数据得： $V = 13.54 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$

$i\% = (1-a) \times 100\% = (1-V_i/V_0) \times 100\% = 24\%$

(2) 非竞争性抑制剂的米氏方程为： $V = V_{\max}[S]/((K_m + [S])(1+[I]/K_i))$

代入数据得： $V = 6.68 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$

$i\% = (1-a) \times 100\% = (1-V_i/V_0) \times 100\% = 62.5\%$

(3) 反竞争性抑制剂的米氏方程： $V = V_{\max}[S]/(K_m + [S](1+[I]/K_i))$

代入数据得： $V = 7.57 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$

$i\% = (1-a) \times 100\% = (1-V_i/V_0) \times 100\% = 57.5\%$

6. 今制得酶浓度相同、底物浓度不同的几个反应混合液，并测得反应初速率，数据见下表。请利用“Eadie-Hofstee”方程式，用图解法求出 K_m 值及 V_{\max} 值。这种作图法与 Lineweaver-Burk 作图法比较有何优点？ [$V_{\max} = 160 \mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$, $K_m = 8.0 \times 10^{-5}$ molL⁻¹]

[S]/molL ⁻¹	V/ $\mu\text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$
------------------------	---

4.0×10^{-4}	130
2.0×10^{-4}	110
1.0×10^{-4}	89
5.0×10^{-5}	62
4.0×10^{-5}	53
2.5×10^{-5}	38
2.0×10^{-5}	32

解：将米氏方程改写成： $V=V_{\max}-K_m \cdot V/[S]$ ，以 $V-V/[S]$ 作图，得一直线，其纵截距为 V_{\max} ，斜率为 $-K_m$ ，由图得 $V_{\max}=160 \mu \text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ ， $K_m=8.0 \times 10^{-5} \text{molL}^{-1}$

优点：实验点相对集中于直线上， K_m 和 V_{\max} 测定值较准确。

7. 对一个遵从米氏方程的酶来说，当底物浓度 $[S]=K_m$ ，竞争抑制剂浓度 $[I]=K_i$ 时，反应的初速率是多少？
[$V=1/3V_{\max}$]

解：根据米氏方程可得： $V=V_{\max}[S]/(K_m(1+[I]/K_i)+[S])$ ，其中 $[S]=K_m$ ， $[I]=K_i$

$$V=V_{\max}K_m/(K_m(1+K_i/K_i)+K_m)=1/3 V_{\max}$$

8. 用下列表中数据确定此酶促反应：(1) 无抑制剂和有抑制剂的 V_{\max} 和 K_m 值。[无抑制剂时 $K_m=1.1 \times 10^{-5} \text{molL}^{-1}$ ， $V_{\max}=50 \mu \text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ ，有抑制剂时： $K_m=3.1 \times 10^{-5} \text{molL}^{-1}$ ， $V_{\max}=50 \mu \text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$] (2) EI 复合物的解离常数 K_i 。[$K_i=1.10 \times 10^{-3} \text{molL}^{-1}$]

[S]/molL ⁻¹	V/μmolL ⁻¹ min ⁻¹	
	无抑制剂	有抑制剂 (2.0×10 ⁻³ molL ⁻¹)
0.3×10 ⁻⁵	10.4	4.1
0.5×10 ⁻⁵	14.5	6.4
1.0×10 ⁻⁵	22.5	11.5
3.0×10 ⁻⁵	33.8	22.6
9.0×10 ⁻⁵	40.5	33.8

解：(1) 无抑制剂时： $V=V_{\max}[S]/(K_m+[S])$ ，将表中数据代入此式可得 $K_m=1.1 \times 10^{-5} \text{molL}^{-1}$ ， $V_{\max}=45.1 \mu \text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$

对表中数据用 V 对 $[S]$ 作图，求 K_m 值，可判断有抑制剂时， K_m 值明显增大，故该抑制剂应为竞争性抑制剂。据 $V=V_{\max}[S]/(K_m(1+[I]/K_i)+[S])$ 以及 V_{\max} 不变的性质可得，此时 $V_{\max}=45.1 \mu \text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ ， $K_m=3.1 \times 10^{-5} \text{molL}^{-1}$ ， $K_i=1.10 \times 10^{-3} \text{molL}^{-1}$

9. 同上。

10. 从速率对底物浓度作图 9-31 中，求出下列参数（反应混合物中酶量为 $10^{-3} \mu \text{mol}$ ）。(1) K_m ；(2) V_{\max} ；(3) k_{cat}/K_m ；(4) 转换数。[$K_m:5 \times 10^{-4} \text{molL}^{-1}$ ； $V_{\max}:6 \mu \text{molL}^{-1}\text{min}^{-1}$ ； $k_{\text{cat}}/K_m:2 \times 10^5 \text{mol}^{-1}\text{Ls}^{-1}$ ；转换数： 100s^{-1}]

解： $V_{\max}=k_{\text{cat}} \cdot [E]_t=k_3 \cdot [E]=k_3 \cdot [ES]$

11. 下面的叙述哪一个是正确的？胰凝乳蛋白酶的转换数 100s^{-1} ，DNA 聚合酶是 15s^{-1} 。

- (1) 胰凝乳蛋白酶结合底物比 DNA 聚合酶有更高的亲和性。
- (2) 胰凝乳蛋白酶反映速率比 DNA 聚合酶反映速率更大。
- (3) 在特别的酶浓度和饱和底物水平下胰凝乳蛋白酶反应速率比 DNA 聚合酶在相同条件下更低。

生物化学（第三版）课后习题解答 高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，

访问：www.kaoyancas.net

- (4) 在饱和底物水平下，两种酶的反应速率，假若 DNA 聚合酶反应速率的 6.7 倍则与胰凝乳蛋白酶相等。

答：(4) 正确。原因： $K_s = K_{-1}/K_1$ 为酶与底物亲和性的度量；只有在饱和底物水平下，才有 $K_{cat} = V_{max}/[E]$ 。

12. 今有一酶反应，它符合 Michaelis-Menten 动力学，其 K_m 为 $1 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ 。底物浓度为 0.1 molL^{-1} 时，反应初速度为 $0.1 \mu \text{ molL}^{-1} \text{ min}^{-1}$ 。试问：底物浓度分别为 $10^{-2} \text{ molL}^{-1}$ 、 $10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ 和 $10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ 时的反应初速率是多少？ $[1 \times 10^{-7} \text{ molL}^{-1} \text{ min}^{-1}, 5 \times 10^{-8} \text{ molL}^{-1} \text{ min}^{-1}]$

解： $\because K_m = 1 \times 10^{-6} \text{ molL}^{-1}$ ， $[S] = 0.1 \text{ molL}^{-1}$ ， $\therefore V = V_{max} = 0.1 \mu \text{ molL}^{-1} \text{ min}^{-1}$

将题中数据代入米氏方程： $V = V_{max}[S]/(K_m + [S])$ 得：设 $[S] = xK_m$

$$V = V_{max} \cdot xK_m / ((x+1)K_m) = x / (x+1) \cdot V_{max} = 1 / (1+1/x) \cdot V_{max}$$

$$V_1 = 0.1 \quad V_2 = 0.09998 \quad V_3 = 1/2 \cdot V_{max} = 0.05$$

13. 假设 $2 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ 的 $[I]$ 抑制了一个酶催化反应的 75%，计算这个非竞争性抑制剂的 K_i ？ $[6.66 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}]$

解： $i\% = (1-a) \times 100\% = (1-V_i/V_o) \times 100\% = 75\%$ $V_i/V_o = 1/4 \rightarrow V_o = 4V_i \dots \dots \textcircled{1}$

再根据无抑制剂时的米氏方程： $V_o = V_{max}[S]/(K_m + [S]) \dots \dots \textcircled{2}$

加入非竞争性抑制剂后： $V = V'_{max}[S]/((K_m + [S])(1 + [I]/K_i)) \dots \dots \textcircled{3}$ ，此时 V_{max} 变小， K_m 不变。

由①②③得： $K_i = 2 \times 10^{-4} / (4 \cdot V'_{max} / V_{max} - 1)$

加入抑制剂时， $V'_{max} = V_{max}$ ， $\therefore K_i = 6.66 \times 10^{-5} \text{ molL}^{-1}$

14. 如果 K_m 为 $2.9 \times 10^{-4} \text{ molL}^{-1}$ 。 K_i 为 $2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 。在底物浓度为 $1.5 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 时，要得到 75% 的抑制，需竞争性抑制剂的浓度是多少？ $[3.7 \times 10^{-4} \text{ mol/L}]$

解： $i\% = (1-a) \times 100\% = (1-V_i/V_o) \times 100\% = 75\%$ $V_i/V_o = 1/4 \rightarrow V_o = 4V_i \dots \dots \textcircled{1}$

再根据无抑制剂时的米氏方程： $V_o = V_{max}[S]/(K_m + [S]) \dots \dots \textcircled{2}$

加入竞争性抑制剂后： $V = V'_{max}[S]/(K'_m(1 + [I]/K_i) + [S]) \dots \dots \textcircled{3}$ ，此时 V_{max} 不变， K_m 变大。

由①②③得： $[I] = 4K_m K_i / (K'_m - K_i + 3[S][K_i]/K'_m)$

加入抑制剂时， $K_m = K'_m$ $\therefore [I] = 3.7 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$

15. 举例说明什么是 K_s 型和 k_{cat} 型不可逆抑制剂。什么是过度态底物类似物？它属于何种类型抑制剂？

答： K_s 型抑制剂根据底物的化学结构设计，具有底物类似的结构，可以和相应的酶结合，同时还代有一个活泼的化学基团，能与酶分子中的必需基团反应进行化学修饰，从而抑制酶。因其专一性取决于抑制剂与活性部位必需基团在反应前形成非共价络合物的解离常数以及非活性部位同类基团形成非共价络合物的解离常数之比，即 K_s 比值，故这类抑制剂称不可逆 K_s 抑制剂。例如：胰蛋白酶要求催化的底物具有一个带正电荷的侧链，如 Lys、Arg 侧链。对甲苯磺酰-L-赖氨酰氯甲酮 (TLCK) 和胰蛋白酶活性部位必需基团 His₅₇ 共价结合，引起不可逆失活。

k_{cat} 型不可逆抑制剂具有天然底物的类似结构，其本身也是酶的底物，能与酶结合发生类似于底物的变化。但抑制剂还有一个潜伏的反应基团，当酶对它进行催化反应时，这个潜伏反应基团被暴露或活化，并作用于酶活性部位的必需基团或酶的辅基，使酶不可逆失活，其专一性极高。例如 β -卤代-D-Ala 是细菌中丙氨酸消旋酶 (AR) 的不可逆抑制剂，属于磷酸吡哆醛类的自杀性底物。

过渡态底物类似物是化学结构类似过渡态底物（底物和酶结合成中间复合物后被活化的过渡形式）的抑制剂，属于竞争性抑制剂，如嘌呤腺苷水合形成是小牛脱氨酶反应过渡类似物。

第十章 酶的作用机制和酶的调节

提要

酶的活性部位对于不需要辅酶的酶来说，就是指酶分子中在三维结构上比较靠近的几个氨基酸残基负责与底物的结合与催化作用的部位，对于需要辅酶的酶来说，辅酶分子或辅酶分子上的某一部分结构，往往也是酶活性部位的组成部分。酶活性部位有6个共同特点。研究酶活性部位的方法有：酶分子侧链基团的化学修饰法，动力学参数测定法，X射线晶体结构分析法和定点诱变法，这些方法可互相配合以判断某个酶的活性部位。

酶是催化效率很高的生物催化剂，这是由酶分子的特殊结构所决定的。经研究与酶催化效率的有关因素有7个，即底物和酶的邻近效应与定向效应，底物的形变与诱导契合，酸碱催化，共价催化，金属离子催化，多元催化和协同效应，活性部位微环境的影响。但这些因素不是同时在一个酶中起作用，也不是一种因素在所有的酶中起作用，对于某一种酶来说，可能分别主要受一种或几种因素的影响。

研究酶催化的反应机制，始终是酶学研究的一个重点，通过大量的研究工作，已经对一些酶的作用机制有深入了解，该章对溶菌酶、胰核糖核酸酶A、羧肽酶A、丝氨酸蛋白酶、天冬氨酸蛋白酶等的催化作用机制进行了详尽的讨论。

酶活性是受各种因素调节控制的，除了在第8章中已介绍的几种因素外，主要还有①别构调节，例如ATCase。②酶原的激活，如消化系统蛋白酶原的激活及凝血系统酶原的激活。③可逆共价修饰调控，如蛋白质的磷酸化，一系列蛋白激酶的作用。通过以上作用，使酶能在准确的时间和正确的地点表现出它们的活性。别构酶一般都是寡聚酶，有催化部位和调节部位，别构酶往往催化多酶体系的第一步反应，受反应序列的终产物抑制，终产物与别构酶的调节部位相结合，由此调节多酶体系的反应速率。别构酶有协同效应，[S]对 v 的动力学曲线呈S形曲线（正协同）或表现双曲线（负协同），两者均不符合米氏方程。ATCase作为别构酶的典型代表，已经测定了其三维结构，详细研究了别构机制和催化作用机制。为了解释别构酶协同效应的机制，有两种分子模型受到人们重视，即协同模型和序变模型。酶原经过蛋白水解酶专一作用释放出肽段，构象发生变化，形成酶的活性部位，变成有活性的酶，这个活化过程，是生物体的一种调控机制。可逆地共价修饰调控作用是通过共价调节酶进行的，通过其他酶对其多肽链某些基团进行可逆地共价修饰，使处于活性与非活性的互变状态，从而调节酶活性。共价修饰的基团主要是磷酸化、腺苷酰化、尿苷酰化及ADP-核糖基化等。

同工酶是指催化相同的化学反应，但其蛋白质分子结构、理化性质和免疫性能等方面不同的一组酶。同工酶是研究代谢调节、分子遗传、生物进化、个体发育、细胞分化和癌变的有力工具，在酶学、生物学及医学研究中占有重要地位。LDH同工酶研究的比较清楚，是由两种不同亚基组成的四聚体，有5种同工酶，在不同组织中含量不同，反映了同工酶的组织特异性。

习题

1. 阐明酶活性部位的概念。可使用那些主要方法研究酶的活性部位？

答：酶的活性部位对于不需要辅酶的酶来说，就是指酶分子在三维结构上比较靠近的几个氨基酸残基负责与底物的结合与催化作用的部分；对于需要辅酶的酶来说，辅酶分子或辅酶分子上的某一部分结构，往往也是酶活性部位的组成部分。

研究酶活性部位的方法有：酶分子侧链基团的化学修饰法、动力学参数测定法、X射线晶体结构分析法和定点诱变法。

2. 简要阐明胰Rnase A的活性部位如何确定？

答：用化学修饰法研究Rnase A活性的必须氨基酸残基。在pH5.5下，用等摩尔碘乙酸处理Rnase A，羧甲基化的His₁₁₉是主要产物，而羧甲基化的His₁₂产物较少。Rnase A中其他组氨酸对这个试剂的反应弱

生物化学（第三版）课后习题解答 高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，

访问：www.kaoyancas.net

得多。所得 Rnase A 的两个羧甲基化的衍生物均无活性，因此可推测 His₁₁₉ 和 His₁₂ 为酶活性的必需基团。2, 4 二硝基氟苯可选择性地同酶 Lys ε-NH₂ 反应，酶引起失活。该结果表明 Lys₄₁ 也是酶活性部位的必需氨基酸。以上研究结果可认为 His₁₁₉、His₁₂、Lys₄₁ 构成了 Rnase A 的活性部位。

3. 与酶催化效应有关的因素有哪些？它们是怎样提高反应速率的？

答：与酶催化速率有关的因素有 7 个：

1. 底物和酶的邻近效应与定向效应：酶和底物复合物的形成过程既是专一性的识别过程，更重要的是分子间反应变成分子内反应的过程。在这一过程中包括两种效应、邻近效应和定向效应。邻近效应是指酶与底物结合形成中间复合物以后，使底物和底物（如双分子反应）之间，酶的催化基团与底物之间结合于同一分子而使有效浓度得以极大的升高，从而使反应速率大大增加的一种效应。定向效应是指反应物的反应基团之间和酶的催化基团与底物的反应基团之间的正确取位产生的效应。
2. 底物的形变和诱导契合：当酶遇到其专一性底物时，酶中某些基团或离子可以使底物分子内敏感键中的某些基团的电子云密度增高或降低，产生“电子张力”，使敏感键的一端更加敏感，底物分子发生形变，底物比较接近它的过渡态，降低了反应活化能，使反应易于发生。
3. 酸碱催化：通过瞬时的向反应物提供质子或从反应物接受质子以稳定过渡态，加速反应的一类催化机制。
4. 共价催化（亲核催化或亲电子催化）：在催化时，亲核催化剂或亲电子催化剂能分别放出电子或吸取电子并作用于底物的缺电子中心或负电中心，迅速形成不稳定的共价中间复合物，降低反应活化能，使反应加速。
5. 金属离子催化：金属离子以 3 种主要途径参加催化过程：（1）通过结合底物为反应定向；（2）通过可逆地改变金属离子的氧化态调节氧化还原反应；（3）通过静电稳定或屏蔽负电荷，作用比质子强，不少金属离子有络合作用，并且在中性 pH 溶液中，H⁺ 浓度很低，但金属离子却容易维持一定浓度。金属离子通过电荷的屏蔽促进反应。金属离子通过水的离子化促进亲核催化。
6. 多元催化和协同效应：酶催化反应中常常几个基元催化反应配合在一起共同起作用，加速酶反应。
7. 活性部位微环境的影响：在酶分子的表面有一个裂缝，而活性部位就位于疏水环境的裂缝中，大大有利于酶的催化作用。

4. 推测下列寡聚糖被溶菌酶水解的相对速率：（G：N-乙酰氨基葡萄糖；M：N-乙酰氨基葡萄糖乳酸）

（1）M-M-M-M-M；（2）G-M-G-M-G-M；（3）M-G-M-G-M-G

5. 假设在合成（NAG）时 D 和 E 糖残基之间的糖苷氧已为 ¹⁸O 所标记，当溶菌酶水解时，¹⁸O 将出现在哪个产物中？

答：溶菌酶催化 C₁-O 键断裂，故 ¹⁸O 将出现在由 A、B、C、D 残基组成的四聚体中。

6. 请比较溶菌酶、羧肽酶 A、胃蛋白酶和胰凝乳蛋白酶：（1）哪一种酶的催化活性需要金属离子？（2）哪种酶只含一条多肽链？（3）哪种酶被 DFP 迅速地失活？（4）哪种酶是由酶原激活成的？

答：（1）羧肽酶 A；（2）溶菌酶；（3）胰凝乳蛋白酶；（4）羧肽酶 A、胃蛋白酶、胰凝乳蛋白酶。

7. 上题 4 种酶的催化机制中是否有从酶到底物的质子转移过程？若有请指出它们的质子供体是什么？

答：溶菌酶中的 Glu₃₅ 的 -COOH 提供一个 H⁺；羧肽酶 A 中的 Glu₂₇₀ 的 -COOH 提供一个 H⁺；胃蛋白酶中的 Asp₃₂ 的 -COOH 提供一个 H⁺；胰凝乳蛋白酶中 Ser₁₉₅ 提供一个 H⁺。

8. TPCK 是胰凝乳蛋白酶的亲和标记试剂，它对 His₅₇ 烷基化后使胰凝乳蛋白酶失活。（1）为胰蛋白酶设计完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

访问：www.kaoyancas.net

一个像 TPCK 那样的亲和标记试剂。(2) 你认为怎样可以检验它的专一性？(3) 能被胰蛋白酶的亲和标记试剂失去活性的还有哪个丝氨酸蛋白酶？

9. 胰凝乳蛋白酶、胰蛋白酶和弹性蛋白酶作为催化剂有哪些相似之处？有哪些不同之处？在酶的分子结构上是哪些因素引起这些差异？

答：相似之处：①执行相同的反应——裂解肽键；②其结构和作用机制很相似；③相对分子质量范围在 2.5×10^5 ，并且具有相似的顺序和三级结构；④3 个极性残基——His₅₇、Asp₁₀₂ 和 Ser₁₉₅ 在活性部位形成催化三联体。

不同之处：①专一性不同：胰蛋白酶裂解碱性氨基酸 Arg 和 Lys 羧基侧链肽；胰凝乳蛋白酶选择裂解芳香氨基酸如 Phe 和 Tyr 羧基侧链；弹性蛋白酶主要裂解小的中性氨基酸残基羧基侧链肽；②酶活性部位不同：胰蛋白酶口袋中，有一个负电荷 Asp₁₈₉ 在底部，有利于结合正电荷 Arg 和 Lys 残基；胰凝乳蛋白酶口袋被疏水氨基酸环绕，大的足以容纳一个芳香残基；弹性蛋白酶口袋浅，开口处具有大的 Thr 和 Val 残基，仅小的，部大的残基能够容纳在它的口袋中。

10. ATCase 是一种别构酶，其活性部位与别构效应物结合部位分别处于不同亚基之上，有可能设想别构酶上这两种部位存在于同一亚基上吗？为什么？

11. 对于 ATCase 来说，琥珀酸起着 Asp（两个底物中的一个）的竞争抑制作用。 v 对 [Asp] 的依赖关系见图 10-71A（假设这些实验中第二种底物是过量的并可忽略）。在图 10-71B 种 [Asp] 维持在低水平（图 10-71A 种箭头所指处）不变，并加入一系列含量递增的琥珀酸。琥珀酸不能作为底物参与反应。请解释这些结果。

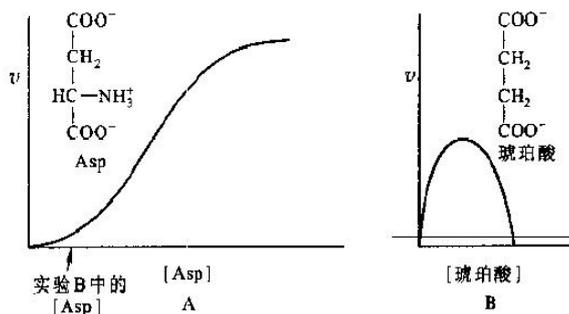


图 10-71 Asp 和琥珀酸浓度对 ATCase 催化速率的影响

答：琥珀酸的结合导致协同由 T 型向 R 型转变。

12. 试解释为什么胰凝乳蛋白酶不能像胰蛋白酶那样自我激活？

答：胰凝乳蛋白酶无法断裂 Arg₁₅ 羧基端肽键，故无法自我激活；而胰蛋白酶专一断裂碱性氨基酸羧基端肽键，故可断裂 Lys₆ 羧基端肽而自我激活。

13. 羧肽酶 A 促使底物的水解，下面哪个是其重要的机制：(1) 结构重排将必需氨基酸残基靠近敏感键。(2) 形成一个 C 端环肽的共价中间物。(3) 活性部位 Try 残基脱质子形成亲核作用。(4) 通过结合 Zn²⁺ 的活化水。

答：(4) 正确。

14. 左边列出的每一种酶，按照提出的催化机制，从右边选择出它们适当的过渡态或化学本质。

(1) 溶菌酶——(4)	(1) Zn ²⁺ 的活化水
(2) RNA 酶——(3)	(2) 氧阴离子
(3) 羧肽酶 A——(1)	(3) 五价磷
(4) 胰凝乳蛋白酶 (2) (5)	(4) 碳正离子
(5) 胃蛋白酶——(6)	(5) 四面体肽键
	(6) 天冬氨酸——活化水

5. 对蛋白酶激 A 的叙述中哪一个是正确的？

- (1) 通过 ATP 活化。
- (2) 在没有激活剂时有 2 个催化亚基 (C) 和两个调节亚基 (R) 组成。
- (3) 激活剂结合后解离成一个 C₂ 和 2 个 R 亚基。
- (4) 在 C 亚基中含有一个假底物顺序。

答：(2) 正确。原因：(1) 通过 cAMP 激活；(3) 激活剂结合后解离成一个 R₂ 和 2 个 C 亚基；(4) 在 R 亚基中含有一个假底物顺序，占据了 C 的催化部位。

16. 苯甲脒 (K_i=1.8×10⁻⁵mol/L) 和亮抑蛋白酶肽 (Leupeptin K_i=3.8×10⁻⁷mol/L) 是胰蛋白酶的两种特异竞争性抑制剂，试解释它们的抑制机制。设计亮抑蛋白酶肽的类似物抑制胰凝乳蛋白酶和弹性蛋白酶。

第十一章 维生素与辅酶

提要

维生素是维持生物体正常生长发育和代谢所必需的一类微量有机物质，不能由机体合成，或合成量不足，必须靠食物供给。由于维生素缺乏而引起的疾病称为维生素缺乏症。维生素都是小分子有机化合物，在结构上无共同性。通常根据其溶解性质分为脂溶性维生素和水溶性维生素两大类。脂溶性维生素由维生素 A、D、E、K 等，水溶性维生素有维生素 B₁、B₂、B₆、B₁₂、烟酸、烟酰胺、泛酸、生物素、叶酸、硫辛酸和维生素 C 等。现已知绝大多数维生素作为酶的辅酶或辅基的组成成分，在物质代谢中起重要作用。

维生素 A 的活性形式是 11-顺视黄醛，参与视紫红质的合成，与暗视觉有关。此外维生素 A 还参与糖蛋白的合成，在刺激组织生长分化中也起重要作用。维生素 D 为类甾醇衍生物，1, 25-二羟维生素 D₃ 是其活性形式，用以调节钙磷代谢，促进新骨的生成与钙化。维生素 E 是体内最重要的抗氧化剂，可保护生物膜的结构和功能，维生素 E 还可促进血红素的合成。维生素 K 与肝脏合成凝血因子 II、VII、IX 和 X 有关，作为谷氨酰化酶的辅助因子参与凝血因子前体转变活性凝血因子所必须的。除维生素 C 外，水溶性维生素主要为 B 族维生素，以辅酶和辅基的形式存在，参与物质代谢。硫胺素的辅酶形式为硫胺素焦磷酸 (TPP)，是 α-酮酸脱羧酶、转酮酶及磷酸酮酶的辅酶，在 α-裂解反应、α-缩合反应及 α-酮转移反应中起重要作用。核黄素和烟酰胺是氧化还原酶类的重要辅酶，核黄素以 FMN 和 FAD 是形式作为黄素蛋白酶的辅基；而烟酰胺以 NAD⁺ 和 NADP⁺ 形式作为许多脱氢酶的辅酶，至少催化 6 种不同类型的反应。泛酸是构成 CoA 和 ACP 的成分，CoA 起传递酰基的作用，是各种酰化反应的辅酶，而 ACP 与脂肪酸的合成关系密切。磷酸吡哆醛是氨基酸代谢种多种酶的辅酶，参加催化涉及氨基酸的转氨作用，α-和 β-脱羧作用，β-和 γ-消除作用，消旋作用和醛醇裂解反应。生物素是几种羧化酶的辅酶，包括乙酰 CoA 羧化酶和丙酮酸羧化酶，参与 CO₂ 的固定作用。维生素 B₁₂ 存在 5'-脱氧腺苷钴胺素和甲基钴胺素两种活性形式。它们参与分子内重排、核苷酸还原成脱氧核苷酸及甲基转移反应。叶酸的辅酶是四氢叶酸 (THF)，进行一碳单位的传递，参与甲硫氨酸核苷酸的合成。硫辛酸是一种酰基载体，作为丙酮酸脱氢酶和 α-酮戊二酸脱氢酶的辅酶参与糖代谢。抗坏血酸是一种水溶性抗氧化剂，参与体内羟化反应、氧化还原反应，有解毒和提高免疫力的作用。

某些金属离子作为微量元素构成一些酶的必需成分参与酶的催化反应，有的金属离子作为酶的辅基构成金属酶类，有的作为酶的激活剂成为金属激活酶类。发现最多的是铁金属酶类、铜金属酶类和锌金属酶类。

习题

1. 例举水溶性维生素与辅酶的关系及其主要生物学功能。

答：水溶性维生素包括维生素 B 族、硫辛酸和维生素 C。维生素 B 族的主要维生素有维生素 B₁、B₂、PP、B₆、泛酸、生物素、叶酸及 B₁₂ 等。

维生素 B 族在生物体内通过构成辅酶而发挥对物质代谢的影响。这类辅酶在肝脏内含量最丰富，体内不能多储存，多余的自尿中排出。

维生素 B₁ 在生物体内常以硫胺素焦磷酸（TPP）的辅酶形式存在，与糖代谢密切，可抑制胆碱脂酶活性。

维生素 PP 包括烟酸和烟酰胺，在体内烟酰胺与核糖、磷酸、腺嘌呤组成脱氢酶的辅酶，烟酰胺的辅酶是电子载体，在各种酶促氧化-还原过程中起着重要作用。

维生素 B₂ 有氧化型和还原型两种形式，在生物体内氧化还原过程中起传递氢的作用，以黄素单核苷酸（FMN）和黄素腺嘌呤二核苷酸（FAD）形式存在，是生物体内一些氧化还原酶（黄素蛋白）的辅基。

泛酸是辅酶 A 和磷酸泛酰巯基乙胺的组成成分，辅酶 A 主要起传递酰基的作用。

维生素 B₆ 包括 3 中物质：吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺；在体内以磷酸脂形式存在。

维生素 B₁₂ 在体内转变成 2 种辅酶形式，参与 3 种类型的反应：①分子内重排；②核苷酸还原成脱氧核苷酸；③甲基转移。

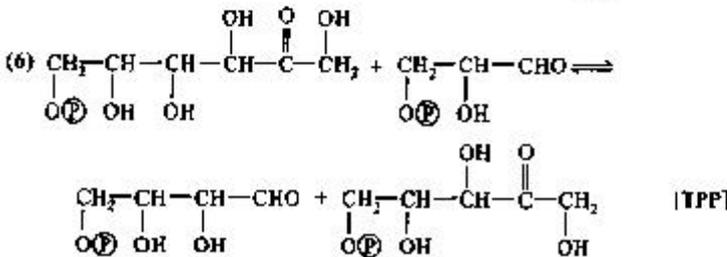
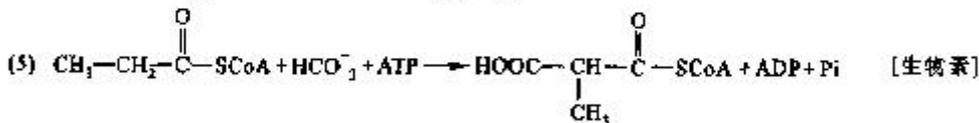
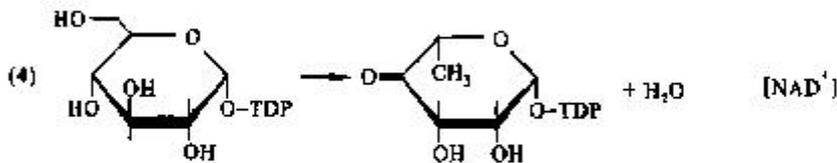
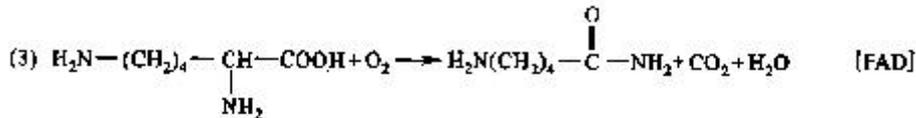
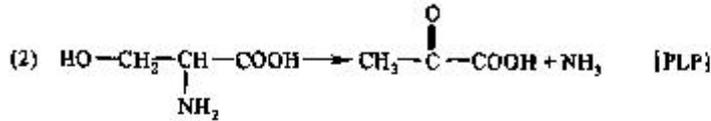
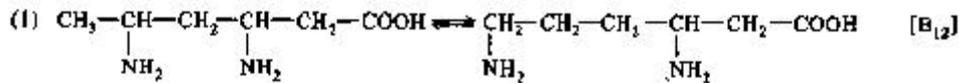
生物素在种种酶促羧化反应中作为活动羧基载体。

叶酸除了 CO₂ 外，是所有氧化水平碳原子一碳单位的重要受体和供体。四氢叶酸是叶酸的活性辅酶形式。

硫辛酸常不游离存在，而同酶分子中赖氨酸残基的 ε-NH₂ 以酰胺键共价结合，是一种酰基载体。

维生素 C 具有有机酸性质，有防治坏血病功能。

2. 对下列每一个酶促反应，写出参与反应的辅酶。



3. 为谷氨酸变位酶反应选择一种适宜的辅酶并写出一个正确的机制：[化学方程式略]

解：该反应适宜的辅酶可为 5'-脱氧腺苷钴胺素，重排机制：Co-碳键裂解，钴还原成 Co^{2+} 状态，产生一个 $-\text{CH}_2$ 基，从底物吸取氢原子形成 5'-脱氧腺苷，并脱离底物上的基团（未成电子对），该中间物重排， $-\text{CH}_2-$ 从一个碳原子移动到另一个碳原子，随后氢原子从 5'-脱氧腺苷是甲基转移，5'-脱氧腺苷钴胺素重生。

T4、T5、T6 与 T3 同类，略。

7. 蛋清可防止蛋黄的腐败，将鸡蛋贮存在冰箱 4-6 周不腐败。而分离的蛋黄（没有蛋清）甚至在冷冻下也迅速腐败。

- (1) 腐败是什么引起的？
 - (2) 你如何解释观察到的蛋清存在下防止蛋黄腐败？
- 答：(1) 细菌生长；
(2) 抗生物素蛋白结合生物素抑制细菌生长。

8. 肾营养不良 (renal osteodystrophy) 也叫肾软骨病，是和骨的广泛脱矿物质作用相联系的一种疾病，常发生在肾损伤的病人中。什么维生素涉及到肾的矿质化？为什么肾损伤引起脱矿物质作用？

答：1, 25-二羟维生素 D3 能诱导钙结合蛋白 (CaBP) 的合成和促进 Ca-ATP 酶的活性，这都有利于 Ca^{2+} 的吸收。它也能促进磷的吸收；促进钙盐的更新及新骨的生成；促进肾小管细胞对钙磷的重吸收，减少从尿中排出。1, 25-二羟维生素 D3 的主要靶细胞是小肠粘膜、骨骼和肾小管，肾损伤将影响 1, 25-二羟维生素 D3 的作用，故会引起脱矿物质作用。

9. 一个临床病人由于代谢紊乱引起酸中毒，即低血和低尿 pH。病人体液中化学分析显示分泌大量的甲基丙二酸。将这种化合物饲喂动物时，可以转变成琥珀酸。对于这一观察你能提供营养上的解释吗？

答：VB12（钴氨素）的缺乏，导致以腺苷钴氨素为辅因子的甲基丙二酸单酰 CoA 变位酶的酶促反应受阻，奇数碳脂肪酸代谢产生的丙酰 CoA 羧化生成甲基丙二酸单酰 CoA 后，无法进一步生成琥珀酰 CoA 而进入柠檬酸循环，于是在体内堆积。

10. 四氢叶酸（THF）都以何种形式传递一碳单位？

答：四氢叶酸（THF）传递一碳单位的形式有： N^5 -甲基-THF、 N^5 ， N^{10} -亚甲基-THF、 N^5 -甲酰基-THF、 N^{10} -甲酰基-THF、 N^5 -亚胺甲基-THF、 N^5 ， N^5 -次甲基-THF。

第十二章 核酸通论

提要

1868 年 Miescher 发现 DNA。Altmann 继续 Miescher 的研究，于 1889 年建立从动物组织和酵母细胞制备不含蛋白质的核酸的方法。RNA 的研究开始于 19 世纪末，Hammar 于 1894 年证明酵母核酸中的糖是戊糖。核酸中的碱基大部分是由 Kossel 等所鉴定。Levene 对核酸的化学结构以及核酸中糖的鉴定作出了重要贡献，但是他的“四核苷酸假说”是错误的，在相当长的时间内阻碍了核酸的研究。

理论研究的重大发展往往首先从技术上的突破开始。20 世纪 40 年代新的核酸研究技术证明 DNA 和 RNA 都是细胞重要组成成分，并且是特异的大分子。其时，Chargaff 等揭示了 DNA 的碱基配对规律。最初是 Astbury，随后 Franklin 和 Wilkins 用 X 射线衍射法研究 DNA 分子结构，得到清晰衍射图。Watson 和 Crick 在此基础上于 1953 年提出 DNA 双螺旋结构模型，说明了基因结构、信息和功能三者之间的关系，奠定了分子生物学基础。DNA 双螺旋结构模型得到广泛的实验支持。Crick 于 1958 年提出了“中心法则”。DNA 研究的成功带动了 RNA 研究出现一个新的高潮。20 世纪 60 年代 Holley 测定了酵母丙氨酸 tRNA 的核苷酸序列；Nirenberg 等被破译了遗传密码；阐明了 3 类 DNA 参与蛋白质生物合成的过程。

在 DNA 重组技术带动下生物技术获得迅猛发展。将 DNA 充足技术用于改造生物机体的性状特征、改造基因、改造物种，统称之为基因工程或遗传工程。与此同时出现了各种生物工程。技术革命改变了分子生物学的面貌，并推动了生物技术产业的兴起。在此背景下，RNA 研究出现了第二个高潮，发现了一系列新的功能 RNA，冲击了传统的观点。

人类基因组计划是生物学有史以来最伟大的科学工程。这一计划准备用 15 年时间（1990-2005 年），投资 30 亿美元，完成人类单倍体基因组 DNA 3×10^9 bp 全部序列的测定。它首先在美国启动，并得到国际科学界的高度重视，英国、日本、法国、德国和中国科学家先后加入了这项国际合作计划。由于测序技术的改进，人类基因组计划被大大提前完成，生命科学进入了后基因时代，研究重点已从测序转向对基因组功能的研究。功能基因组学需要从基因产物的结构研究入手，因此产生了结构基因组学。为研究蛋白质组和 DNA 组，产生了蛋白质组学和 RNA 组学。生物化学与分子生物学已成为自然科学中最活跃，发展最快的学科之一。

DNA 是主要的遗传物质，分布在原核细胞的核区，真核细胞的核细胞器以及许多病毒中也含 DNA。DNA 通常是双链分子。原核细胞的染色体 DNA、质粒 DNA、真核细胞的细胞器 DNA 以及某些病毒 DNA 都是环状双链分子。真核细胞染色体 DNA 以及某些病毒 DNA 是线型双链分子。病毒 DNA 还有环状单链和线型单链的分子。细胞 RNA 通常都是线型单链分子，单病毒 RNA 有双链、单链、环状、线型多种形式。

生物机体通过 DNA 复制而将遗传信息由亲代传递给子代；通过 RNA 转录和翻译而使遗传信息在子代得以表达。DNA 具有基因的所有属性，基因也就是 DNA 的一个片段。基因的功能最终需由蛋白质来执行，RNA

控制着蛋白质的合成。参与蛋白质合成的 DNA 有三类：rRNA 器装配和催化作用；tRNA 携带氨基酸并识别密码子；mRNA 携带 DNA 的遗传信息并作为蛋白质合成的模板。除参与蛋白质合成外，RNA 还有多种功能，几乎涉及细胞功能的所有方面，归根结底与遗传信息的表达和表达调控有关。

习题

1. 核酸是如何被发现的？为什么早期核酸研究的进展比蛋白质研究缓慢？

答：1868 年瑞士青年科学家 F. Mescher 由脓细胞分离得到细胞核，并从中提取出一种含磷量很高的酸性化合物，称为核素。

核酸中的碱基大部分由 Kossel 等所鉴定。1910 年因其在核酸化学研究中的成就授予他诺贝尔医学奖，但他却认为决定染色体功能的是蛋白质，以后转而研究染色体蛋白质。Levene 对核酸的化学结构以及核酸中糖的鉴定作出了重要贡献，但是他的“四核苷酸假说”认为核苷酸中含等量 4 种核苷酸，这 4 种核苷酸组成结构单位，核酸是由四核苷酸单位聚合而成。照这一假说，核酸只是一种简单的高聚物，从而使生物学家失去对它的关注，严重阻碍核酸的研究。当时还流行一种错误的看法，认为胸腺核苷酸代表动物核苷酸，酵母核苷酸代表植物核苷酸，这种观点也不利于对核酸生物功能的认识。

2. Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋结构模型的背景和依据是什么？

答：背景：20 世纪上半叶，数理学科进一步渗入生物学，生物化学本身是一门交叉学科，也就成为数理学科与生物学之间的桥梁。数理学科的渗入不仅带来了新的理论和思想方法，而且引入了许多新的技术和实验方法。

依据：已知核酸的化学结构知识；E. Chargaff 发现的 DNA 碱基组成规律；M. Wilkins 和 R. Franklin 得到的 DNA X 射线衍射结果。此外，W. T. Astbury 对 DNA 衍射图的研究以及 L. Pauling 提出蛋白质的 α -螺旋结构也都有启发作用。

2. 为什么科学界将 Watson 和 Crick 提出 DNA 双螺旋结构模型评为 20 世纪自然科学最伟大的成就之一？

答：因为 DNA 双螺旋结构模型的建立说明了基因的结构、信息和功能三者之间的关系，使当时分子生物学先驱者形成的三个学派（结构学派、信息学派和生化遗传学派）得到统一，并推动了分子生物学的迅猛发展。

4. 什么是 DNA 重组技术？为什么说它的兴起导致了分子生物学的第二次革命？

答：DNA 重组技术——在细胞体外将两个 DNA 片段连接成一个 DNA 分子的技术。在适宜的条件下，一个重组 DNA 分子能够被引入宿主细胞并在其中大量繁殖。

DNA 重组技术极大推动了 DNA 和 RNA 的研究，改变了分子生物学的面貌，并导致了一个新的生物技术产业群的兴起，所以被认为是分子生物学的第二次革命。

5. 人类基因组计划是怎样提出来的？它有何重大意义？

答：1986 年，著名生物学家、诺贝尔奖获得者 H. Dubecco 在 Science 杂志上率先提出“人类基因组计划”，经过了 3 年激烈争论，1990 年 10 月美国政府决定出资 30 亿美元，用 15 年时间（1990-2005 年）完成“基因组计划”。

重大意义：人类对自己遗传信息的认识将有益于人类健康、医疗、制药、人口、环境等诸多方面，并且对生命科学也将有极大贡献。

6. 为什么说生命科学已进入后基因时代？它的意思是什么？

答：由于技术上的突破，“人类基因组计划”进度一再提前，全序列的测定现已进入后基因组时代。意思：科学家的研究重心已从揭示基因组 DNA 的序列转移到在整体水平上对基因组功能的研究。

7. 核酸可分为哪几种类？它们是如何分布的？

答：核酸分为脱氧核糖核酸（DNA）和核糖核酸（RNA）两大类。

原核细胞中 DNA 集中在核区，其核细胞 DNA 分布在核内，病毒只含 DNA 或只含 RNA，RNA 存在于原核生物、真核生物或部分 RNA 病毒中。

8. 如何证明 DNA 是遗传物质？

答：用 ^{35}S 和 ^{32}P 标记的噬菌体 T2 感染大肠杆菌，结果发现只有 ^{32}P 标记的 DNA 进入大肠杆菌细胞内，而 ^{35}S 标记的蛋白质仍留在细胞外，由此证明：噬菌体 DNA 携带了噬菌体的全部遗传信息，DNA 是遗传物质。

9. 参与蛋白质合成的三类 RNA 分别起什么作用？

答：rRNA 起装配和催化作用；tRNA 携带氨基酸并识别密码子；mRNA 携带 DNA 的遗传信息并作为蛋白质合成的模板。

10. 如何看待 RNA 功能的多样性？它的核心作用是什么？

答：RNA 有 5 类功能：①控制蛋白质合成；②作用于 RNA 转录后加工与修饰；③基因表达与细胞功能的调节；④生物催化与其他细胞持家功能；⑤遗传信息的加工与进化。核心作用是：遗传信息由 DNA 到蛋白质的中间传递体。

第十三章 核酸的结构

提要

核酸分两大类：DNA 和 RNA。所有生物细胞都含有这两类核酸。但病毒则不同，DNA 病毒只含 DNA；RNA 病毒只含 RNA。核酸的研究是生物化学与分子生物学研究的重要领域。

核酸是一种多聚核苷酸，其基本结构单位是核苷酸。DNA 主要由四种脱氧核糖核苷酸组成。RNA 主要由四种核糖核苷酸组成。核苷酸又由含氮碱基、戊糖（核糖或脱氧核糖）及磷酸组成。核酸中还有少量稀有碱基。

核酸的共价结构也就是核酸的一级结构，通常是指具核苷酸序列。利用磷酸二酯酶从 RNA 分子的两端逐个水解下核苷酸，得到 3' 核苷酸和 5' 核苷酸，证明 RNA 分子中核苷酸之间的连键为 3'，5'-磷酸二酯键。DNA 无 2' OH 基，它的核苷酸连键只能是 3' → 5' 走向。原核生物基因序列是连续的，常组成操纵子，很少重复序列。真核生物基因序列是断裂的，不组成操纵子，含有较高比例的重复序列。RNA 有各种类型，常含有修饰核苷，tRNA 含有较多修饰碱基，rRNA 含有较多甲基化的核糖，两者均含有假尿嘧啶核苷。真核生物 mRNA 5' 端有甲基化鸟嘌呤核苷酸形成的帽子；3' 端有 poly (A) 尾巴。

DNA 的空间结构模型是在 1953 年由 Watson 和 Crick 两人提出的。建立 DNA 空间结构模型的根据有三个方面。一是一直核酸的化学结构。二是 DNA 碱基组成的分析资料，Chargaff 首先发现 A-T，G-C 之间相等的规律。三是 DNA 纤维的 X 射线衍射分析资料，提示了双螺旋结构的可能性。按照 Watson-Crick 的模型，DNA 是由两条反平行的多核苷酸链围绕同一中心轴相互缠绕，碱基位于结构之内侧，磷酸与糖基在外侧，通过磷酸二酯键相连，形成双螺旋分子的骨架。碱基平面与轴垂直，糖环平面则与轴平行。两条链皆为右手螺旋。双螺旋的直径为 2nm，碱基堆积距离为 0.34nm，两核苷酸之间的夹角是 36° ，每一螺旋由 10 对碱基组成。碱基按 A-T，G-C 配对互补，彼此以氢键相连系。维持 DNA 结构稳定的力量主要是氢键和碱基堆积力。双螺旋结构表面有两条螺形凹沟，一大一小。

Watson-Crick 所阐明的是 B 型 DNA。此外还有 A 型 DNA 及左旋 DNA (Z-DNA)。它们在结构上有明显不完整版，请访问 www.kaoyancas.net 科大科院考研网，专注于中科大、中科院考研

同。应用核酸晶体的 X 射线衍射分析技术研究发现，Watson-Crick 模型需要作某些补充才能反映 DNA 结构的真实情况。

DNA 的二级结构主要是形成双螺旋。但在某些情况下也能形成三股螺旋。Hoogsteen 最早发现寡聚嘌呤核苷酸-寡聚嘧啶核苷酸双螺旋的大沟可以结合第三条寡聚嘌呤或嘧啶核苷酸，形成 Hoogsteen 配对。H-DNA 是通过分子内折叠形成的三股螺旋，它存在于基因调控区，因而有重要生物学意义。

细胞内很多 DNA 是双链环状分子 (cccDNA)，一条链断裂可以形成开环分子 (oc DNA)，两条链断裂就成为线型分子 (linear DNA)。DNA 分子的两端如是固定的，或是环状分子，增加或减少螺旋圈数，可引起超螺旋。拓扑学的公式 $L=T+W$ 可用以说明连环数 (L)、扭转数 (T) 和缠绕数 (W) 之间的关系。比连环差 (λ) = $(L_1-L_0) / L_0$ 表示超螺旋的强度。DNA 超螺旋是 DNA 三级结构的一种形式。

DNA 与蛋白质复合物的结构是其四级结构。病毒、细菌拟核真核生物的染色体都存在 DNA 的组装核一定程度的压缩。核小体是真核生物染色质基本结构单位，它由 8 个组蛋白 (H2A、H2B、H3、H4)₂ 核心核外绕 1.8 圈的 DNA 所组成。由核小体链形成纤丝，进而折叠、螺旋化，组装成不同层次结构的染色质核染色体。

不同类型 RNA 分子可自身回折形成局部双螺旋，并折叠产生三级结构，RNA 与蛋白质复合物则是四级结构。tRNA 的二级结构呈三叶草形，三级结构为倒 L 形。rRNA 组装成核糖体，其结构已获得解析。已知有 8 种类型的核酶，它们的催化功能与空间结构有密切关系。信号识别颗粒中的 4.5S RNA 具有催化 SRP 的 Ffh 蛋白与 SRP 受体 FtsY 可逆结合的功能。

习题

1. 比较 DNA 和 RNA 在化学结构上、大分子结构上和生物学功能上的特点。

答：DNA 的一级结构中组成成分为脱氧核糖核苷酸，核苷酸残基的数目由几千至几千万个；而 RNA 的组成成分是核糖核苷酸，核苷酸数目仅有几十到几千个。另外在 DNA 分子中 A=T，G=C，而在 RNA 分子中 A≠U，G≠C。

二者的相同点在于：它们都是以单核苷酸作为基本组成单位，核苷酸残基之间都是由 3，5-磷酸二酯键连接的。

二级结构：DNA 是双链分子，2 条链之间通过氢键和碱基完全配对 (A-T，G-C) 形成双螺旋的二级结构，一般是右手螺旋，也有左手螺旋。RNA 是单链分子，分子内部的不同部位 (有的近距离，也有远距离) 能够通过碱基发生配对 (A-U，G-C 和 G-U)，形成既有单链，又有双链的 RNA 二级结构，RNA 二级结构元件有：茎环 (发夹) 结构、内部环结构、分支环结构和中心环结构等。

2. 从已经揭示的人类基因组结构有何特点？

答：人类细胞有 23 对染色体，单倍体基因组大约有 3×10^9 碱基对。

3. 原核生物与真核生物 mRNA 有何特点？

答：原核生物以操纵子为转录单位，产生顺反子 mRNA，即一条 mRNA 链上有多个编码区，5' 端和 3' 端各有一段非翻译区 (UTR)。原核生物 mRNA，包括噬菌体 RNA，都无修饰碱基。

真核生物的 mRNA 都是单顺反子，5' 端有帽子 (cap) 结构，然后依次是 5' 非编码区、编码区、3' 非编码区、3' 端为聚腺苷酸 (poly(A)) 尾巴，其分子内有时还有极少甲基化的碱基。

4. DNA 双螺旋结构类型有那些基本要点？这些特点能解释哪些基本的生命现象？

答：DNA 双螺旋结构模型的基本要点有：

(1) 两条反向平行的多核苷酸链围绕同一中心轴相互缠绕，两条链均为右手螺旋。

(2) 嘌呤与嘧啶位于双螺旋的内侧，磷酸与核糖在外侧，彼此通过 3'，5' -磷酸二酯键相连接，形成 DNA 分子的骨架，碱基平面与纵轴垂直，糖环平面则与纵轴平行。多核苷酸链的方向取决于核苷酸间磷

生物化学（第三版）课后习题解答 高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，

访问：www.kaoyancas.net

酸二酯键的走向，习惯上以 C_3' - C_5' 为正向。两条链配对偏向一侧，形成一条大沟和一条小沟。

(3) 双螺旋的平均直径为 2nm，两个相邻的碱基对之间的高度，即碱基堆积距离为 0.34nm，两个核苷酸之间的夹角为 36° ，沿中心轴每旋转一周有 10 个核苷酸，每一转的高度（即螺距）为 3.4nm。

(4) 两条核苷酸依靠彼此碱基之间形成的氢键相联系而结合在一起。

(5) 碱基在一条链上的排列顺序不受任何限制。但根据碱基配对原则，当一条多核苷酸链的序列彼此确定后，即可决定另一互补的序列。

解释生命活动：双螺旋 DNA 是储存遗传信息的分子，通过半保留复制，储存遗传信息，通过转录和翻译表达出生命活动所需信息（蛋白质和酶）。

5. 应用 DNA 晶体 X 射线衍射技术分析 DNA 对 Watson-Crick 模型有何修正？比较 A-DNA、B-DNA、Z-DNA 的主要特点。

答：(1) Watson-Crick 模型认为每一螺周含有 10 个碱基对，所以两个核苷酸之间夹角是 36° 。但在 Dickerson 的十二聚体中，两个碱基间的夹角可由 28° 至 42° 不等，实际平均每一螺周含 10.4 个碱基对。分子大小的各参数也随序列不同而有变动。

(2) Dickerson 所研究的十二聚体结构中，组成碱基对的两个碱基分布并非在同一平面上，而是碱基对沿长轴旋转一定角度，从而使碱基对的形状像螺旋桨叶片的样子，故称螺旋桨状扭曲，这种结构可提高碱基堆积力，使 DNA 结构更稳定。

A-DNA、B-DNA、Z-DNA 的主要特点：

	A 型	B 型	Z 型
外形	粗短	适中	细长
螺旋方向	右手	右手	左手
螺旋直径	2.55nm	2.37	1.84nm
碱基轴升	0.23nm	0.34	0.38nm
碱基夹角	32.7°	34.6°	60° (1)
每圈碱基数	11	10.4	12
螺距	2.53nm	3.54nm	4.56
轴心与碱基对	不穿过碱基对	穿过碱基对	不穿过碱基对
碱基倾角	19°	1°	9°
糖环折叠	C_3' 内式	C_2' 内式	嘧啶 C_2' 内式，嘌呤 C_3' 内式
糖苷键构象	反式	反式	嘧啶反式，嘌呤顺式
大沟	很狭、很深	很宽、较深	平坦
小沟	很宽、浅	狭、深	较狭、很深

(1) 注：Z-DNA 的嘌呤和嘧啶核苷酸交替出现顺反式，故以二个核苷酸为单位，转角为 60°

6. 如果人体有 10^{14} 个细胞，每一细胞 DNA 含量为 6.4×10^9 bp，试计算一下人体 DNA 的总长度为多少米？它相当于地球到太阳的距离 (2.2×10^9 km) 之几倍？ [2.2×10^{14} km, 100 倍]

解： $6.4 \times 10^9 \text{bp} \times 0.34 \text{nm} \times 10^{14} \text{个} = 2.2 \times 10^{14} \text{m} = 2.2 \times 10^{11} \text{km}$

$2.2 \times 10^{11} \div 2.2 \times 10^9 \text{km} = 100$ 倍。

7. 何谓 H-DNA？它有何生物学意义？

答：当 DNA 的一段多聚嘧啶核苷酸或多聚嘧啶核苷酸组成镜像重复时，可折回产生 H-DNA。由于这种结构形成分子内三螺旋时胞嘧啶需发生 H⁺化，故称为 H-DNA。H-DNA 存在于基因调控区和其他重要区域，

生物化学（第三版）课后习题解答 高参考价值的真题、答案、学长笔记、辅导班课程，

访问：www.kaoyancas.net

从而显示出它具有重要生物学意义。实验表明，启动子的 S1 核酸酶敏感区存在一些短的、同向或镜像重复的聚嘧啶-嘌呤区，该区域可以形成 H-DNA，因而产生可被 S1 酶消化的单链结构。

8. 何谓 Hoogsteen 碱基对?它与 Watson-Crick 碱基对有何不同?

答: Hoogsteen 于 1963 年首先描述了三股螺旋结构。在三股螺旋中,通常是一条同型寡核苷酸与寡嘧啶核苷酸-寡嘌呤核苷酸双螺旋的大沟结合。第三股的碱基可与 Watson-Crick 碱基对中的嘌呤碱形成 Hoogsteen 配对。Hoogsteen 模型,即第三个碱基以 A 或 T 与 A=T 碱基对中的 A 配对;G 或 C 与 G=C 碱基对中的 G 配对,C 必须质子化,以提供与 G 的 N7 结合的氢键供体,并且它与 G 配对只形成两个氢键(图 13-10)。

9. 病毒 DNA 有哪些种类?为什么病毒 DNA 的种类繁多、结构各异?

答: 动物病毒 DNA 通常是环状双链或线型双链。前者如乳头瘤病毒、多瘤病毒、杆状病毒和嗜肝 DNA 病毒等。后者如痘病毒、虹彩病毒、疱疹病毒和腺病毒的 DNA。痘病毒 DNA 的末端很特别,是封闭的,形成突环(loop)。微小病毒科的病毒,如小鼠微小病毒(Minute virus of mice, MVM),却是线型单链 DNA(linear single-stranded DNA),病毒粒子内正负链数量不同,末端常形成发夹结构。

植物病毒基因组大多是 RNA, DNA 较少见。少数植物病毒 DNA 或是环状双链,或是环状单链。

噬菌体 DNA 多数是线型双链,如 λ 噬菌体、T 系列噬菌体,也有为环状双链如覆盖噬菌体 PM2,或环状单链如微噬菌体 ϕ X174 和丝杆噬菌体 fd 和 M13。

10. 细菌拟核的主要结构特点是什么?

答: 拟核(nucleoid)约占细胞体积的三分之一,在细胞内紧密缠绕形成致密的小体。细菌的基因组为双链环状 DNA,其上结合碱性蛋白和少量 RNA,组成许多突一环(图 13-15)。其 DNA 分子长度大约是其菌体长度的 1000 倍,所以必须以一定的组织结构压缩在细胞内。

11. DNA 绕在组蛋白八聚体核心构成一个核小体,其 ΔL_0 平均为 -1.2,核小体链并无扭曲张力,为什么?试计算此 DNA 的超螺旋密度(每圈碱基对按 10 计算)。[$\lambda = 0.06$]

解: 每个核小体重复单位 DNA 约占 200bp, $L_0 = 200/10 = 20$, $\lambda = \Delta L_0 / L_0 = 0.06$

12. 简要叙述染色体的组装模型。

13. RNA 有哪些主要类型?比较其结构与功能特点。

14. 核酶主要有哪几种类型?它们各自催化什么反应?

15. 是否所有 RNA-蛋白质复合物中决定复合物功能的都是 RNA,蛋白质都只起辅助作用?