

第2单元 蛋白质

(一) 名词解释

1. 兼性离子 (zwitterion); 2. 等电点 (isoelectric point, pI); 3. 构象 (conformation); 4. 别构效应 (allosteric effect); 5. 超二级结构 (super-secondary structure); 6. 结构域 (structural domain, domain); 7. 蛋白质的三级结构 (tertiary structure of protein); 8. Edman 降解法 (Edman degradation); 9. 蛋白质的变性作用 (denaturation of protein); 10. Bohr 效应 (Bohr effect); 11. 多克隆抗体 (polyclonal antibody) 和单克隆抗体 (monoclonal antibody); 12. 分子伴侣 (molecular chaperone); 13. 盐溶与盐析 (salting in and salting out)。

(二) 填空题

- 氨基酸在等电点时，主要以_____离子形式存在，在 $\text{pH} > \text{pI}$ 的溶液中，大部分以_____离子形式存在，在 $\text{pH} < \text{pI}$ 的溶液中，大部分以_____离子形式存在。
- 组氨酸的 $\text{pK}_1(\alpha\text{-COOH})$ 值是 1.82, pK_2 (咪唑基) 值是 6.00, $\text{pK}_3(\alpha\text{-NH}_3^+)$ 值是 9.17, 它的等电点是_____。
- Asp 的 $\text{pK}_1=2.09$, $\text{pK}_2=3.86$, $\text{pK}_3=9.82$, 其 pI 等于_____。
- 在近紫外区能吸收紫外光的氨基酸有_____、_____和_____。其中_____的摩尔吸光系数最大。
- 蛋白质分子中氮的平均含量为_____, 故样品中的蛋白质含量常以所测氮量乘以_____即是。
- 实验室常用的甲醛滴定是利用氨基酸的氨基与中性甲醛反应, 然后用碱(NaOH)来滴定_____上放出的_____。
- 除半胱氨酸和胱氨酸外, 含硫的氨基酸还有_____, 除苏氨酸和酪氨酸外, 含羟基的氨基酸还有_____, 在蛋白质中常见的 20 种氨基酸中, _____是一种亚氨基酸, _____不含不对称碳原子。
- 蛋白质的氨基酸残基是由_____键连接成链状结构的, 其氨基酸残基的_____称蛋白质的一级结构。
- β -折叠片结构的维持主要依靠两条肽键之间的肽键形成_____来维持。
- 在 α 螺旋中 C=O 和 N-H 之间形成的氢键与_____基本平行, 每圈螺旋包含_____个氨基酸残基, 高度为_____, 每个氨基酸残基使螺旋轴上升_____, 并沿轴旋转_____度。
- 蛋白质颗粒在电场中移动的速率主要取决于_____的大小和_____量的多少。
- 用凝胶过滤法分离蛋白质, 相对分子质量较小的蛋白质在柱中滞留的时间较_____, 因此最先流出凝胶柱的蛋白质, 其相对分子质量最_____。
- 血红蛋白的辅基是_____, 当其中的 1 个亚基与氧结合后, 其余亚基与氧的亲合力_____, 这种现象称_____, 当 CO_2 或 H^+ 浓度增高时, 血红蛋白与氧的亲合力_____, 这种现象称_____。
- 蛋白质变性时空间结构_____, 而一级结构_____, 变性后, 蛋白质的溶解度一般会_____, 生物学功能_____。
- 稳定蛋白质胶体溶液的因素是_____和_____。
- 凝集素是一类能与_____相互作用的蛋白质。
- 免疫球蛋白 G (IgG) 含有_____条重链, _____条轻链, 通过_____键联接成 Y 形结构, 每一分子含有_____个抗原结合部位。

18.球状蛋白质形成空间结构时，肽链的熵_____，而环境中水的熵_____。

19.一般说来，球状蛋白质在其分子内部含有_____性氨基酸残基，而在分子外表面含_____性氨基酸残基。

20.胰蛋白酶专一性地切断_____和_____的羧基端肽键。

(三) 选择题 (在备选答案中选出 1 个或多个正确答案)

1.下列蛋白质组分中，哪一种在 280nm 具有最大的光吸收？

- A. 色氨酸的吡咯环 B. 酪氨酸的酚环 C. 苯丙氨酸的苯环
D. 半胱氨酸的硫原子 E. 肽键

2.关于氨基酸的叙述哪一项是错误的？

- A. 酪氨酸和丝氨酸含羟基 B. 酪氨酸和苯丙氨酸含苯环
C. 亮氨酸和缬氨酸是支链氨基酸 D. 赖氨酸和精氨酸是碱性氨基酸
E. 谷氨酸和天冬氨酸含两个氨基

3.在 pH7 时，其 R 基带有电荷的氨基酸是

- A. 缬氨酸 B. 甘氨酸 C. 半胱氨酸 D. 酪氨酸 E. 赖氨酸

4.每个蛋白质分子必定具有的结构是什么

- A. α -螺旋 B. β -折叠 C. 三级结构 D. 四级结构

5.下列哪一种氨基酸侧链基团的 pKa 值最接近于生理 pH 值？

- A. 半胱氨酸 B. 谷氨酸 C. 谷氨酰胺 D. 组氨酸 E. 赖氨酸

6. Arg 的 $pK_1' = 2.17$, $pK_2' = 9.04$, $pK_3' = 12.48$ 其 pI' 等于

- A. 5.613 B. 7.332 C. 7.903 D. 10.76

7.关于蛋白质中 L-氨基酸之间形成的肽键，下列哪些叙述是正确的

- A. 具有部分双键的性质 B. 比通常的 C-N 单键短
C. 通常有一个反式构型 D. 能自由旋转

8.典型的 α 螺旋是

- A. 2.6_{10} B. 3_{10} C. 3.6_{13} D. 4.0_{15} E. 4.4_{16}

9.维持蛋白质分子中的 α 螺旋主要靠

- A. 盐键 B. 范德华键 C. 共价键 D. 氢键

10.维系蛋白质三级结构稳定的最重要的键或作用力是

- A. 盐键 B. 二硫键 C. 氢键 D. 疏水作用力 E. 范德华力

11.血红蛋白的氧合曲线是

- A. 双曲线 B. 抛物线 C. S 形曲线 D. 直线 E. 钟罩形

12.维持蛋白质二级结构的主要化学键是

- A. 肽键 B. 二硫键 C. 氢键 D. 疏水键

13.存在于蛋白质分子中的下列作用力，哪项不是次级键

- A. 氢键 B. 肽键 C. 盐键 D. 疏水键 E. 二硫键

14.关于蛋白质三级结构的描述错误的是

- A. 有三级结构的蛋白质均有酶活性 B. 球蛋白均有三级结构
C. 三级结构的稳定性由多种次级键维系 D. 亲水基团多分布在三级结构的表面
E. 决定盘曲折叠的因素是氨基酸序列

15.某蛋白质的等电点为 7.5，在 pH6.0 的条件下进行电泳，它的泳动方向是

- A. 在点不动 B. 向正极移动 C. 向负极移动 D. 无法预测.

16.用凝胶过滤层析柱分离蛋白质时，下列哪项是正确的

- A. 分子体积最大的蛋白质最先洗脱下来 B. 分子体积最小的蛋白质最先洗脱下来

- C.不带电荷的蛋白质最先洗脱下来 D.带电荷的蛋白质最先洗脱下来
E.没有被吸附的蛋白质最先洗脱下来
17.有一蛋白质水解产物在 pH6 用阳离子交换柱层析时，第一个被洗脱下来的氨基酸是
A. Val (pI 为 5.96) B. Lys (pI 为 9.74)
C. Asp (pI 为 2.77) D. Arg (pI 为 10.76)
18.为获得不变性的蛋白质，常用的方法有
A.用三氯醋酸沉淀 B.用苦味酸沉淀 C.用重金属盐沉淀
D.低温盐析 E.常温醇沉淀
19.用 6mol/L HCl 水解某种蛋白质时能检出的氨基酸种类是
A. 20 种 B. 19 种 C. 18 种 D. 17 种或更少
20.SDS 凝胶电泳分离蛋白质是根据各种蛋白质
A.pI 的差异 B.分子大小的差异 C.分子极性的差异
D.溶解度的差异 E.以上说法都不对
21.血红蛋白的氧合曲线向右移动是由于
A.O₂ 分压降低 B.CO₂ 分压降低 C.CO₂ 分压增高
D.N₂ 分压增高 E.pH 值降低
22.如果要测定一个小肽的氨基酸顺序，下列试剂中你认为最合适使用哪一个
A.茚三酮 B.CNBr C.胰蛋白酶 D.异硫氰酸苯酯
23.下列有关血红蛋白运输氧的叙述哪些是正确的？
A.四个血红素基各自独立地与氧结合，彼此之间并无联系
B.以血红蛋白结合氧的百分数对氧分压作图，曲线呈 S 形
C.氧与血红蛋白的结合能力比一氧化碳弱
D.氧与血红蛋白的结合并不引起血红素中铁离子价数的变化
24.关于蛋白质变性的叙述哪些是正确的？
A.蛋白质变性是由于特定的肽键断裂 B.是由于非共价键破裂引起的
C.用透析法除去尿素有时可以使变性蛋白质复性 D.变性的蛋白质一定会沉淀
25.一个生物样品的含氮量为 5%，它的蛋白质含量为
A. 12.50% B. 16.00% C. 38.00% D. 31.25%

(四) 判断题

- 1.氨基酸为氨基取代的羧酸，可直接用酸碱滴定法进行定量测定。
- 2.当溶液的 pH 等于某一可解离基团的 pK_a 时，该基团一半被解离。
- 3.在 pH 很高或很低的溶液中，氨基酸主要以非离子化形式出现。
- 4.肽链的主链有 1/3 化学键不能旋转。
- 5.溴化氰可以断裂甲硫氨酸的氨基参与形成的肽链。
- 6.体内合成肽链的方向是从 N 端向 C 端，而在体外用固相化学合成法合成多肽时，通常是从 C 端向 N 端合成。
- 7.核磁共振研究蛋白质三维结构的主要优势是可以研究溶液中的蛋白质三维结构，并能提供有关的动态信息。
- 8.在水溶液中，蛋白质折叠形成疏水核心，会使水的熵增加。
- 9.原子之间的距离越小，范德华引力越强。
- 10.在 α -螺旋中，每 3.6 个氨基酸绕一圈，并形成 1 个氢键。
- 11.胶原蛋白的原胶原分子是 3 股右手螺旋扭曲成的左手螺旋。
- 12.球蛋白的三维折叠多采取亲水侧基在外，疏水侧基藏于分子内部的结构模式。

13. 胎儿血红蛋白与 2, 3-二磷酸甘油 (2,3-DPG) 的结合力较弱。
14. 血红蛋白与氧的结合能力随 pH 降低而增高。
15. 由于一级结构可以决定空间结构，基因工程表达的肽链一定可以自然地形成天然构象。
16. 测定别构酶的相对分子质量可以用 SDS-PAGE。
17. 当溶液的 pH 小于某蛋白质的 pI 时，该蛋白质在电场中向阳极移动。
18. 用凝胶过滤分离蛋白质，小分子蛋白由于所受的阻力小首先被洗脱出来。
19. 若蛋白质与阴离子交换剂结合较牢，可用增加 NaCl 浓度或降低 pH 的方法将其从层析柱洗脱出来。
20. 糖蛋白的 N-糖肽键是指与天冬酰胺的 γ -酰胺 N 原子与寡糖链形成糖苷键。
23. 糖蛋白的 O-糖肽键是指氨基酸残基的羧基 O 原子与寡糖链形成的糖苷键。

(五) 分析和计算题

1. 判断氨基酸所带的净电荷，用 pI-pH 比 pH-pI 更好，为什么？
2. 分别计算谷氨酸、精氨酸和丙氨酸的等电点。
3. 在下面指出的 pH 条件下，下列蛋白质在电场中向哪个方向移动？A 表示向阳极，B 表示向阴极，C 表示不移动。人血清蛋白：pH5.5, pH3.5；血红蛋白：pH7.07, pH9.0；胸腺组蛋白：pH5.0, pH8.0, pH11.5；已知：人血清蛋白的 pI=4.64 血红蛋白的 pI=7.07 胸腺组蛋白的 pI=10.8。
4. 简述蛋白质溶液的稳定性因素，和实验室沉淀蛋白质的常用方法。
5. 简要叙述蛋白质形成寡聚体的生物学意义。
6. 在体外，用下列方法处理，对血红蛋白与氧的亲合力有何影响？(1) pH 值从 7.0 增加到 7.4；(2) CO₂ 分压从 1000 Pa 增加到 4 000 Pa；(3) O₂ 分压从 6000 Pa 下降到 2000 Pa；(4) 2,3-二磷酸甘油酸的浓度从 8×10^{-4} mol/L 下降到 2×10^{-4} mol/L；(5) $\alpha_2\beta_2$ 解聚成单个亚基。
7. 胎儿血红蛋白 (Hb F) 在相当于成年人血红蛋白 (Hb A) β 链 143 残基位置含有 Ser，而成年人 β 链的这个位置是具阳离子的 His 残基。残基 143 面向 β 亚基之间的中央空隙。(1) 为什么 2, 3-二磷酸甘油酸 (2, 3-BPG) 同脱氧 Hb A 的结合比同脱氧 Hb F 更牢固？(2) Hb F 对 2, 3-BPG 低亲和力如何影响到 Hb F 对氧的亲和力？这种差别对于氧从母体血液向胎儿血液的运输有何意义。
8. 试述蛋白质二级结构的三种基本类型。
9. 蛋白质变性后，其性质有哪些变化？
10. 为什么大多数球状蛋白质在溶液中具有下列性质。(1) 在低 pH 值时沉淀。(2) 当离子强度从零逐渐增加时，其溶解度开始增加，然后下降，最后出现沉淀。(3) 在一定的离子强度下，达到等电点 pH 值时，表现出最小的溶解度。(4) 加热时沉淀。(5) 加入一种可和水混溶的非极性溶剂减小其介质的介电常数，导致溶解度的减小。(6) 如果加入一种非极性强的溶剂。使介电常数大大地下降会导致变性。
11. 凝胶过滤和 SDS-PAGE 均是利用凝胶，按照分子大小分离蛋白质的，为什么凝胶过滤时，蛋白质分子越小，洗脱速度越慢，而在 SDS-PAGE 中，蛋白质分子越小，迁移速度越快？
12. 已知牛血清白蛋白含色氨酸 0.58% (按质量计)，色氨酸相对分子质量为 204。(1) 计算牛血清白蛋白的最低相对分子质量 (2) 用凝胶过滤测得牛血清白蛋白相对分子质量大约为 7 万，问牛血清白蛋白分子中含几个色氨酸残基？

参考答案

（一）名词解释

1. 氨基酸、蛋白质等分子既含有酸性基团，又含有碱性基团，在中性 pH 的水溶液中，羧基等酸性基团脱去质子带负电荷，氨基等碱性基团结合质子带正电荷，这种既有带负电荷基团，又有带正电荷基团的离子称兼性离子或两性离子，亦称偶极离子（dipolar ion）

2. 调节两性离子（氨基酸、蛋白质等）溶液的 pH，使该两性离子所带的净电荷为零，在电场中既不向正极，也不向负极移动，此时，溶液的 pH 称该两性离子的等电点（pI）。不同结构的两性离子有不同的 pI 值。

3. 构象是指具有相同结构式和相同构型的分子在空间里可能的多种形态，构象形态间的改变不涉及共价键的断裂。一个给定的蛋白质理论上可采取多种构象，但在生理条件下，只有一种或很少几种在能量上是有利的。

4. 多亚基蛋白质一般具有多个配体结合部位，结合在蛋白质分子的特定部位上的配体对该分子的其它部位所产生的影响(如改变亲和力或催化能力)称为别构效应。别构效应可分为同促效应和异促效应。

5. 在蛋白质中，特别是球状蛋白质中，经常可以看到由若干相邻的二级结构单元组合在一起，彼此相互作用，形成有规则、在空间上能辨认的二级结构组合体，充当三级结构的构件，称为超二级结构。称为超二级结构在结构的组织层次上高于二级结构，但没有构成完整的结构域。常见的超二级结构有 $\alpha\alpha$ ， $\beta\alpha\beta$ ，Rossmann 折叠， β -发夹， β -曲折，希腊花式拓扑结构（Greek key topology）等。

6. 蛋白质的三级结构常可区分成 1 个和数个球状区域，折叠得较为紧密，各行其功能，称为结构域。

7. 蛋白质的三级结构指肽链在二级结构，超二级结构，结构域（对分子较大，由多个结构域的蛋白质而言）基础上形成的完整空间结构，一个三级结构单位通常由一条肽链组成，但也有一些三级结构单位是由经二硫键连接的多条肽链组成的，如胰岛素就是由两条肽链折叠成的 1 个三级结构单位。

8. 为肽链氨基酸测序的方法。异硫氰酸苯脂与肽段氨基末端的游离 α -氨基作用，再用冷稀酸处理，氨基末端残基从肽链上脱落下来，成为异硫氰酸苯酯的衍生物，用层析的方法可鉴定为何种氨基酸的衍生物。残留的肽链可继续与异硫氰酸苯酯作用，逐个鉴定出氨基酸的排列顺序。

9. 天然蛋白质因受物理的或化学的因素影响，其分子内部原有的高度规律性结构发生变化，致使蛋白质的理化性质和生物学性质都有所改变，但并不导致蛋白质一级结构的破坏，这种现象称变性作用。

10. H^+ 和 CO_2 浓度增加，会降低氧和血红蛋白的亲和力，使得血红蛋白的氧合曲线向右移动，提高了 O_2 从血红蛋白的释放量，这种作用称作 Bohr 效应。

11. 多克隆抗体是识别一个抗原的不同抗原决定簇的多种抗体的混合物。单克隆抗体由同一个 B 细胞克隆合成并分泌，是一种均一的抗体，识别同一个抗原决定簇。

12. 是一个协助新合成的多肽链正确折叠和转运的蛋白质家族。它们能够阻止部分肽段的错误折叠，抑制新生肽链的不恰当聚集，排除与其他蛋白质的不合理结合，协助多肽链的正确折叠和跨膜转运，协助寡聚蛋白的组装。

13. 低浓度的中性盐可以增加蛋白质的溶解度，这种现象称为盐溶。盐溶作用主要是由于蛋白质分子吸附某种盐类离子后，带电层使蛋白质分子彼此排斥，而蛋白质分子与水分子间的相互作用却加强，因而溶解度增高。当离子强度增加到足够高时，很多蛋白质可以从水溶液中沉淀出来，这种现象称为盐析。盐析作用主要是由于大量中性盐的加入使水的活度降低，原来溶液中的大部分甚至全部的自由水转变为盐离子的结合水。盐析法沉淀出来的蛋白

质一般不变性，且不同的蛋白质可以用不同浓度的盐沉淀出来，称作分段盐析。盐析法是对蛋白质进行粗分离的常用方法。

(二) 填充题

1. 两性，负，正； 2. 7.59； 3. 2.97； 4. 苯丙氨酸，酪氨酸，色氨酸，色氨酸； 5. 16%，6.25； 6. $-NH_3^+$ ， H^+ ； 7. 甲硫氨酸，丝氨酸，脯氨酸，甘氨酸； 8. 肽，排列顺序； 9. 氢键； 10. 螺旋轴，3.6，0.54，0.15，100； 11. 分子，净电荷； 12. 长，大； 13. 血红蛋白，增加，正协同效应，下降，Bohr 效应； 14. 破坏，不变，下降，丧失； 15. 水化层，双电层； 16. 糖基； 17. 2，2，二硫，2； 18. 减少，增加； 19. 疏水，亲水； 20. 赖氨酸，精氨酸；

(三) 选择题

1. (A) 色氨酸、酪氨酸和苯丙氨酸在 280nm 的摩尔消光系数分别为 5500，540，120，显然色氨酸的光吸收最大。由于大多数蛋白质中含酪氨酸的量比色氨酸多，蛋白质在 280nm 处的光吸收主要来源于酪氨酸。肽键在 215nm 处具有最大的光吸收，胱氨酸中的二硫键在 240nm 处只有微弱的光吸收。半胱氨酸中的硫原子在这一波长范围内无明显光吸收。

2. (E) 谷氨酸和天冬氨酸含有两个羧基，而不是含有两个氨基。其它选项的叙述均是正确的。

3. (E) 在 pH7 时，赖氨酸的 R 基上的 $-NH_3^+$ 带有正电荷，缬氨酸和甘氨酸的 R 基不含可解离的基团，半胱氨酸的-SH 和酪氨酸的-OH 在 pH7 时不可能解离，因而不会带电荷。

4. (C) α -螺旋是蛋白质常见的、最典型的一种结构元件。而丝心蛋白没有 α -螺旋结构。羊毛、猪毛、鸟毛等蛋白质几乎全是 α -螺旋结构，不存在 β -折叠。不少蛋白质没有四级结构，但所有的蛋白质都具有三级结构。

5. (D) 组氨酸咪唑基的 pK_a 为 6.0，最接近于生理 pH 值。

6. (D) Arg 是碱性氨基酸，其等电点 $pI = 1/2 (pK_2 + pK_3) = 1/2 (9.02 + 12.48)$

7. (A, B, C) 肽键的部分双键性质防止了肽键的自由旋转。肽键通常有反式构型，并且比 C-N 单键短。

8. (C) 典型的 α 螺旋是 3.6_{13} 。表示每圈螺旋包含 3.6 个氨基酸残基，氢键所封闭的环有 13 个原子。

9. (D) α 螺旋的构象是相当稳定的，这是因为所有氨基酸残基参与了链内氢键的形成。

10. (D) 维持蛋白质三级结构最主要的作用力是疏水作用力，二硫键是一种很强的共价键，但蛋白质形成特定的空间结构，最主要的作用力是氨基酸残基侧链的疏水相互作用。

11. (C) 血红蛋白与氧的结合有正协同效应，所以氧合曲线呈 S 形。

12. (C) 蛋白质的二级结构如 α 螺旋， β 折叠， β 转角等都是由氢键维持的。

13. (B, E) 肽键和二硫键属于共价键，氢键、盐键、疏水键、范德华力属于次级键。

14. (A) 有些有三级结构的蛋白质没有催化功能。

15. (C) 在 pH6.0 的条件下， pI 为 7.5 的蛋白质带正电荷，向负极移动。

16. (A) 凝胶过滤时，分子体积最大的蛋白质最先被洗脱，蛋白质的带电状况和吸附作用对洗脱速度影响不大。

17. (C) 氨基酸与阳离子交换树脂作用力的大小次序是碱性氨基酸 > 中性氨基酸 > 酸性氨基酸。溶液的 pH 高于等电点时氨基酸带正电，低于等电点时氨基酸带负电。选项中 Arg (pI 为 10.76) 所带正电荷最多，与交换树脂亲和力最强，后被洗脱。Asp (pI 为 2.77) 所带负电荷最多，与交换树脂亲和力最弱，先被洗脱。

18. (D) 低温盐析沉淀的蛋白质不会变性，题中列出的其它方法沉淀的蛋白质均会变性。

19. (D) 用 6mol/L HCl 水解蛋白质时，色氨酸完全破坏，天冬酰胺被水解成天冬氨酸，谷氨酰胺被水解成谷氨酸，丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸遭到部分破坏。

20. (B) SDS 使蛋白质解离成亚基，并结合大量的 SDS，从而使蛋白质分子带有足够的负电荷，消除了蛋白质分子原有的电荷差异，所以电泳速度只取决于蛋白质分子的大小。

21. (C, E) 曲线向右移动表明血红蛋白结合氧的能力降低，降低 pH 值或增加 CO₂ 的分压均会导致血红蛋白与氧亲和力的下降，促使氧合血红蛋白释放氧，这就是所谓的波耳 (Bohr) 效应。

22. (D) 茚三酮反应可以鉴定并定量测定各种氨基酸，CNBr 只断裂由甲硫氨酸残基的羧基参加形成的肽链，胰蛋白酶是蛋白水解酶，只断裂赖氨酸或精氨酸残基的羧基参与形成的肽键，多肽或蛋白质的末端氨基能与异硫氰酸苯酯反应，生成 PTC-多肽或蛋白质。此方法可以用来测定氨基酸序列。

23. (B, C, D) 由于分子中四个氧结合位的协同作用使其饱和曲线呈 S 形。氧与血红蛋白结合并不引起亚铁离子价数的变化。一氧化碳和氰化物与血红蛋白的亲合力比氧大。

24. (B, C) 蛋白质变性是由于次级链断裂引起空间结构破坏，但一级结构保持完整，用透析法除去尿素有时可以使变性蛋白质复性，稀溶液中的蛋白质用弱酸、弱碱等变性后，有时可以不沉淀。

25. (D) 各种蛋白质含氮量的平均值是 16%。因此含氮量为 5%，它的蛋白质含量为 $5 \div 16 = 31.25\%$

(四) 判断题

1. 错。不能用酸碱滴定法直接进行滴定，只能用甲醛滴定法滴定氨基。

2. 对。

4. 对。在多肽链的主链中 1/3 为不能旋转的肽键。

5. 错。溴化氰专一性地断裂甲硫氨酸的羧基参与形成的肽键。

6. 对。

7. 对。

8. 对。

9. 错。原子间的距离小于两个原子的范德华半径之和会产生范德华斥力。

10. 错。 α -螺旋每 3.6 个氨基酸绕一圈，但除螺旋一端的 4 个 -N-H 和另一端的 4 个 -C=O 不参与形成氢键外，其余的 -N-H 和 -C=O 均参与氢键的形成。

11. 错。原胶原分子是由 3 股左手螺旋扭曲成的右手螺旋。

12. 对。

13. 对。胎儿血红蛋白与 2, 3-DPG 的结合力弱，因而与氧的结合力强，有利于胎儿从母体血液获取氧。

14. 错。随着 pH 的降低，血红蛋白与氧的结合力降低，这有利于血红蛋白在 CO₂ 含量较高的组织释放氧。

15. 错。真核生物的蛋白质折叠常有分子伴侣参与，所以，用原核生物表达的真核蛋白质不一定能自然地形成天然构象。另外，基因工程表达的蛋白质有时会形成包含体，需要先分离包含体，裂解包含体后，再使蛋白质复性，才能形成天然构象。

16. 错。别构酶一般由多个亚基构成，SDS-PAGE 只能测定亚基的相对分子质量。

17. 错。当溶液的 pH 小于某蛋白质的 pI 时，该蛋白质带净正电荷，向阴极移动。

18. 错。用凝胶过滤法分离蛋白质时，相对分子质量大的蛋白质先流出层析柱。

19. 对。

20. 对。

21.错。O-糖肽键是指氨基酸残基的羟基 O 原子与寡糖链形成的糖苷键。

(五) 分析和计算题

1.当一种氨基酸的净电荷用 $q=pI-pH$ 表达时，若 q 为正值，则该氨基酸带正电荷；若 q 为负值，则该氨基酸带负电荷。 q 值的正与负和该氨基酸所带电荷的种类是一致的。如果采用 $q=pH-pI$ 来表达，则会出现相反的结果，即 q 为负值时，氨基酸带正电荷； q 为正值时，氨基酸带负电荷。因此，用 $pI-pH$ 更好。

2.每个氨基酸可解离基团的 pK_a 在生化书中可以查到（也可根据酸碱滴定曲线确定），氨基酸的净电荷为零时溶液的 pH （即等电点， pI ）在滴定曲线上位于两个相应基团 pK_a 之间的中点，在这两个 pK_a 点上，它们的净电荷分别是+0.5 和-0.5。因此：（1）根据谷氨酸的解离曲线，其 pI 应该是它的 α -羧基和侧链羧基 pK 。值之和的算术平均值，即 $pI=(2.1+4.07)/2=3.08$ ；（2）精氨酸 pI 应该是它的 α -氨基和侧链胍基的 pK 。和之的算术平均值，即 $pI=(8.99+12.48)/2=10.7$ ；（3）丙氨酸 pI 应该是它的 α -氨基和 α -羧基 pK_a 值之和的算术平均值，即 $pI=(2.35+9.87)/2=6.11$ 。

3.人血清蛋白的 $pI=4.64$ ，在 $pH5.5$ 的电场中带负电荷，向阳极移动；在 $pH3.5$ 的电场中带正电荷，向负极移动。血红蛋白的 $pI=7.07$ ，在 $pH7.07$ 不带净电荷，在电场中不移动；在 $pH9.0$ 时带负电荷，向阳极移动。胸腺组蛋白的 $pI=10.8$ ，在 $pH5.0$ 和 $pH8.0$ 时带正电荷，向阴极移动；在 $pH11.5$ 时带负电荷，在电场中向阳极移动。

4.维持蛋白质溶液稳定的因素有两个：（1）水化膜：蛋白质颗粒表面大多为亲水基团，可吸引水分子，使颗粒表面形成一层水化膜，从而阻断蛋白质颗粒的相互聚集，防止溶液中蛋白质的沉淀析出。（2）同种电荷：在 $pH \neq pI$ 的溶液中，蛋白质带有同种电荷。若 $pH > pI$ ，蛋白质带负电荷；若 $pH < pI$ ，蛋白质带正电荷。同种电荷相互排斥，阻止蛋白质颗粒相互聚集而发生沉淀。沉淀蛋白质的方法，常用的有：（1）盐析法，在蛋白质溶液加入大量的硫酸铵、硫酸钠或氯化钠等中性盐，去除蛋白质的水化膜，中和蛋白质表面的电荷，使蛋白质颗粒相互聚集，发生沉淀。用不同浓度的盐可以沉淀不同的蛋白质，称分段盐析。盐析是对蛋白质进行粗分离的常用方法。（2）有机溶剂沉淀法：使用丙酮沉淀时，必须在 $0 \sim 4^\circ C$ 低温下进行，丙酮用量一般 10 倍于蛋白质溶液的体积，蛋白质被丙酮沉淀时，应立即分离，否则蛋白质会变性。除了丙酮以外，也可用乙醇沉淀。此外，还可用加重金属盐，加某些有机酸，加热等方法将样品中的蛋白质变性沉淀。

5.（1）能提高蛋白质的稳定性。亚基结合可以减少蛋白质的表面积/体积比，使蛋白质的稳定性增高。（2）提高遗传物质的经济性和有效性。编码一个能装配成同聚体的单位所需的基因长度比编码一个与同聚体相同相对分子质量的超长肽链所需的基因长度要小得多（如烟草花叶病毒的外壳有 2130 多个亚基）。（3）形成功能部位。不少寡聚蛋白的单体相互聚集可以形成新的功能部位。（4）形成协同效应。寡聚蛋白与配体相互作用时，有可能形成类似血红蛋白或别构酶那样的协同效应，使其功能更加完善。有些寡聚蛋白的不同亚基可以执行不同的功能，如一些酶的亚基可分为催化亚基和调节亚基。

6.（1） pH 值增加，Hb 与氧的亲合力增加。（2） CO_2 分压增加，Hb 与氧的亲合力下降。（3） O_2 分压下降，Hb 与氧的亲合力下降。（4）2, 3-DPG 浓度下降，Hb 与氧的亲合力增加。（5） $\alpha_2\beta_2$ 解聚成单个亚基，Hb 与氧的亲合力增加。

7.（1）由于 2, 3-BPG 是同脱氧 Hb A 中心空隙带正电荷的侧链结合，而脱氧 Hb F 缺少带正电荷的侧链（ β 链 143 位的 His 残基），因此 2, 3-BPG 是同脱氧 Hb A 的结合比同脱氧 Hb F 的结合更紧。（2）2, 3-BPG 稳定血红蛋白的脱氧形式，降低血红蛋白的氧饱和度。由于 Hb F 同 2, 3-BPG 亲合力比 Hb A 低，HbF 受血液中 2, 3-BPG 影响小，因此 Hb F 在任何氧分压下对氧的亲合力都比 Hb A 大，（3）亲和力的这种差别允许氧从母亲血向胎儿有

效转移。

8. (1) α -螺旋：右手螺旋，一圈为 3.6 个氨基酸残基，螺旋轴延伸 0.54nm；任一个氨基酸残基的亚氨基均与其后第四个氨基酸残基的羰基形成氢键，氢键与螺旋轴基本平行，氢键封闭的原子为 13 个，称作 3.6₁₃；肽平面维持刚性结构，侧链伸向外侧，原子之间堆积紧密，螺旋内基本无空隙，因此结构稳定。(2) β -折叠：多肽链充分伸展，各肽键平面之间折叠成锯齿状结构，侧链 R 基团交错位于锯齿状结构的上下方；两条以上肽键或一条肽键内的若干肽段平行排列，靠肽键羰基氧和亚氨基氢形成氢键维系，使构象稳定；两条肽键走向相同或相反。(3) β -转角：在球状蛋白质分子中，肽链主链常常会出现 180° 回折，回折部分成为 β 转角，在 β 转角中第一个残基的 C=O 与第四个残基的 N-H 形成氢键，使 β 转角成为比较稳定的结构。

9. 蛋白质变性后，氢键等次级键被破坏，蛋白质分子就从原来有秩序卷曲的紧密结构变为无秩序的松散伸展状结构。即二、三级以上的高级结构发生发生改变或破坏，但一级结构没有破坏。变性后，蛋白质的溶解度降低，是由于高级结构受到破坏，使分子表面结构发生变化，亲水基团相对减少，容易引起分子间相互碰撞发生聚集沉淀，蛋白质的生物学功能丧失，由于一些化学键的外露，使蛋白质的分解更加容易。

10. (1) 在低 pH 值时，羧基质子化，蛋白质分子带有大量的净正电荷，分子内正电荷相斥使许多蛋白质变性，蛋白质分子内部疏水基团因此而向外暴露，使蛋白质溶解度降低，因而产生沉淀。(2) 加入少量盐时，对稳定带电基团有利，增加了蛋白质的溶解度。但是随着盐离子浓度的增加，盐离子夺取了与蛋白质结合的水分子，降低了蛋白质的水合程度。使蛋白质水化层破坏，从而使蛋白质沉淀。(3) 在等电点时，蛋白质分子之间的静电斥力最小，所以其溶解度最小。(4) 加热会使蛋白质变性，蛋白质内部的疏水基团被暴露，溶解度降低，从而引起蛋白质沉淀。(5) 非极性溶剂减小了表面极性基团的溶剂化作用，使蛋白质分子与水之间的氢键减少，促使蛋白质分子之间形成氢键，蛋白质的溶解度因此而降低。(6) 介电常数的下降对暴露在溶剂中的非极性基团有稳定作用，促使蛋白质肽链的展开而导致变性。

11. 凝胶过滤时，凝胶颗粒排阻 M_r 较大的蛋白质，仅允许 M_r 较小的蛋白质进入颗粒内部，所以 M_r 较大的蛋白质只能在凝胶颗粒之间的空隙中通过，可以用较小体积的洗脱液从层析柱中洗脱出来。而 M_r 小的蛋白质必须用较大体积的洗脱液才能从层析柱中洗脱出来。SDS-PAGE 分离蛋白质时，所有的蛋白质均要从凝胶的网孔中穿过，蛋白质的相对分子质量越小，受到的阻力也越小，移动速度就越快。

12. (1) 设最低相对分子质量为 X，根据题义可列出：

$$\frac{100}{0.58} = \frac{X}{204} \quad \text{或} \quad X = \frac{100 \times 204}{0.58} \approx 35172$$

(2) 用凝胶过滤测得牛血清白蛋白相对分子质量大约为 SDS-PAGE 的两倍，说明该蛋白质含有 2 个色氨酸残基，若色氨酸百分含量的测定值准确，则牛血清蛋白较准确的相对分子质量为 $3517 \times 2 = 70344$