



# 四川轻化工大学课程实施大纲

课程名称：生物化学

---

授课班级：生物制药 20213

---

任课教师：毛新芳

---

工作部门：化学工程学院

---

联系方式：18281375127

---

四川轻化工大学 制

2022 年 8 月

# 《生物化学》课程实施大纲

## 基本信息

课程代码：16443010-2

课程名称：生物化学

学 分：3

总 学 时：48

学 期：2022-2023 第 1 学期

上课时间：1-12 周

上课地点：N1-223

答疑时间和方式：网课答疑、雨课堂、电子邮件、QQ、电话

答疑地点：腾讯会议、雨课堂、班级 QQ 群、微信群

授课班级：生物制药 20213

任课教师：毛新芳

学 院：化学工程学院

邮 箱：1849283294@qq.com

联系电话：18281375127

# 目 录

1. 教学理念.....	1
2. 课程介绍.....	8
2.1 课程的性质	
2.2 课程在学科专业结构中的地位、作用	
2.3 课程的历史与传统文化传统	
2.4 课程的前沿及发展趋势	
2.5 课程与经济社会发展的关系	
2.6 课程内容可能涉及到的伦理与道德问题	
2.7 学习本课程的必要性	
3. 教师简介.....	8
3.1 教师的职称、学历	
3.2 教育背景	
3.3 研究兴趣（方向）	
4. 先修课程.....	8
5. 课程目标.....	9
6. 课程内容.....	10
6.1 课程的内容概要	
6.2 教学重点、难点	
6.3 学时安排	
7.课程实施.....	11
7.1 教学单元一	

7.1.1 教学日期

7.1.2 教学目标

7.1.3 教学内容（含重点、难点）

7.1.4 教学过程

7.1.5 教学方法

7.1.6 作业安排及课后反思

7.1.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

7.1.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

## 7.2 教学单元二

7.2.1 教学日期

7.2.2 教学目标

7.2.3 教学内容（含重点、难点）

7.2.4 教学过程

7.2.5 教学方法

7.2.6 作业安排及课后反思

7.2.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

7.2.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

.....

## 8. 课程要求.....98

8.1 学生自学要求

8.2 课外阅读要求

8.3 课堂讨论要求



8.4 课程实践要求	
<b>9. 课程考核</b>	<b>99</b>
9.1 出勤（迟到、早退等）、作业、报告等的要求	
9.2 成绩的构成与评分规则说明	
9.3 考试形式及说明	
<b>10. 学术诚信</b>	<b>99</b>
10.1 考试违规与作弊处理	
10.2 杜撰数据、信息处理等	
10.3 学术剽窃处理等	
<b>11. 课堂规范</b>	<b>100</b>
11.1 课堂纪律	
11.2 课堂礼仪	
<b>12. 课程资源</b>	<b>100</b>
12.1 教材与参考书	
12.2 专业学术著作	
12.3 专业刊物	
12.4 网络课程资源	
<b>13. 教学合约</b>	<b>101</b>
13.1 师德师风承诺	
13.2 阅读课程实施大纲，理解其内容	
13.3 同意遵守课程实施大纲中阐述的标准和期望	
<b>14. 其他说明</b>	<b>102</b>

## 1. 教学理念

### 1.1 关注学生的发展

作为一名高校教师，应该明确认识到教学过程中真正的主体是学生。在课堂教学的过程中，始终关注学生的全面发展，帮助学生把握自身专业的特点和发展方向，把学生的个人发展作为教学的重中之重。对于制药专业的本科学生，经过数年的大学教育后，大多数将会进入到制药相关的行业，成为我国医药事业建设中的一员，因此学生的全面发展不仅与其自身的职业发展密切相关，而且会影响整个医药行业的发展。作为大学教师，我们需要给予学生的不仅仅是专业知识和技能，更需为其未来的发展进行筹谋，培养其综合能力，使其在毕业后能够在相关领域有一番建树。

### 1.2 关注教学的有效性

随着国际竞争的日趋激烈，教育的竞争，尤其是针对肩负重任的青年一代的大学教育职责越来越大，而对于当代大学生而言，要在将来有很好的发展，必须在其学生阶段打下良好的知识基础和能力基础，无论从个人的发展还是民族的振兴而言，实现全民知识化，增强个人创造力都是一种必然的趋势。因此，大学本科教育必须强化教学的有效性，包括增强学生的知识储备和能力的提升。

知识基础：《生物化学》作为现代生物科学、制药、生物技术、生物工程等相关学科的重要基础，又是处于生命科学前沿的极具潜力的独立学科。因此，在课堂的教学过程中，教师应该仔细研读教材，使学生掌握生物大分子的结构与功能、物质代谢、遗传信息传递等方面的基本理论和基本知识，了解现代生物化学在医药科学中的新进展。熟悉最基本的生物化学实验方法和操作技术，并适当地学习最新的生物化学技术；使学生具备运用生物化学知识理解、分析、解决医学问题，解释相应病理生理现象的能力。同时，增加当今生物化学研究领域的前沿、热点或工程实践中的难点等

相关知识，讲解时做到逐渐展开，层层深入，为学生步入社会后较快、较好的适应工作岗位，真正做到学以致用打下良好基础。

**能力基础：**在课堂教学过程中教师除了传授专业知识，更重要的是要培养学生的综合能力（学习能力、分析问题能力、解决问题能力、为人处世能力等）。目前，存在大学本科毕业的学生找工作相对较难，且在进入工作岗位后存在与企业需求脱节的现象。反应出高等教育工作者在大学教学过程中往往过多的纠结于纷繁复杂的公式推导或理论知识讲授，而忽视了公式或理论知识的灵活实际应用，导致学生在进入工作岗位后，发现学到的许多知识似乎仅是“课本上的知识”，实际上并没有实际应用价值，而一些需要学习的知识却没有学到。但从长远来看，大学本科毕业的学生在专业道路上明显要比专科或高职院校毕业的学生走得更远，这必然与大学本科教育注重综合能力的培养密切相关。针对这个问题，作为专业课的教师，除了在授课过程中向学生传授理论知识，对学生的综合能力产生潜移默化的影响外；还需有针对性地设计一些相应的教学环节，例如：增加当今研究热点或工程实践中具体案例的分析；引导学生针对具体应用中遇到的问题，查阅资料，分析问题产生的原因并提出解决方案；鼓励学生针对授课过程中感兴趣的点进行资料查阅并制作 PPT 进行汇报，扩充知识面；增加相配套的实验（实践）课程的比重，尤其是其中的综合设计类型的比重，让学生充分实践分析问题和解决问题的能力，使其在毕业后的生活和工作中有更深层次的发展潜力。

### 1.3 关注教学的策略

采用合理的教学策略对于教学的有效性起着至关重要的作用。在《生物化学》这门课程的讲授中，课堂教学仍以教师讲授为主，辅以提问、作业、学生报告、在雨课堂平台上进行每章节结束后的测验、期中考试，课堂内容整理记录笔记等多种教学方

式。在课堂授课中不求贪多，把一些重点知识、难点知识，尤其是与现代研究热点或实际生产相关的知识点讲透。对于具体的应用多列举一些案例加深学生印象；围绕多种疾病的生物化学致病机制，以及如何利用生物大分子的“结构、性质和功能”这一主要脉络进行生物药物的设计和开发两个核心问题，采用启发式教学，组织学生查阅相关的资料后进行分组讨论，提高学生的课堂参与度，进一步激发学生的学习热情和兴趣，增长学生的见识。除了课程理论教学外，本门课程配套进行了实验教学环节，使学生通过相关的实验设计和操作，能够对课堂讲授的内容有更直观、深刻的认识，从而提高学生的实践动手能力。

#### 1.4 关注教学价值观

通过大学本科的教育，除了使我们所培养的学生具有较强的生物制药专业知识，能够在将来的研究或工作中学以致用外；更重要的则是培养他们学习知识的能力，分析问题、解决问题的能力 and 为人处世的态度等；这样才能够让他们在将来能够较好的适应工作岗位，在日益激烈的竞争中脱颖而出，闯出属于自己的一片天地。

## 2. 课程介绍

### 2.1 课程的性质

生物化学（biochemistry）是应用化学与分子生物学的基本理论和方法研究生命现象的科学，其特点是在分子水平上探讨生命现象的本质。生物化学主要研究生物体分子的结构与功能，物质代谢及其调节，遗传信息传递的分子基础与调控规律。其中核酸、蛋白质等生物大分子的结构与功能及基因结构、基因表达与调控等内容被视为分子生物学，分子生物学是生物化学的重要组成部分，也被视作生物化学的发展和延续。

**生物化学是研究生命的化学组成及其在生命活动中变化规律的一门学科。其任务**

主要是从分子水平阐明生物体的化学组成，及其在生命活动中所进行的化学变化与其调控规律等生命现象的本质。当今生物化学越来越多的成为生命科学共同语言，尤其是基因信息的传递、基因重组与基因工程、基因组学与医药学等领域已成为生命科学的前沿学科。在工业、农业、食品工业和医药的发展中也发挥出越来越明显的促进作用。是细胞生物学、遗传学、微生物学、免疫学、病毒学、进化论和分类学的基础，研究药学、医学、制药工程、食品和营养等学科也离不开生物化学的理论和方法。

## 2.2 课程在学科专业结构中的地位、作用

四川轻化工大学开设的生物制药专业旨在培养具有扎实的生物技术和药学基础理论、基本知识，熟练掌握现代生物制药生产的原理、技术和方法，了解生物制药企业设备、生产、储存、销售和管理等环节的基本知识和技能，具有良好的开拓精神、创新意识和实践能力，能够胜任现代生物制药企业及其相关的科研院所岗位基本要求的德、智、体、美全面发展的应用型高级专业人才。而《生物化学》作为生物技术和制药专业的主要基础学科，在生物制药专业学生的整个培养发展中起到了至关重要的作用。一方面，《生物化学》与人类生活息息相关，随着新冠肺炎疫情的爆发，更需要学生对疾病的致病机理以及药物开发的机制等有更深入的了解，作为相关专业学生从基础理论课程到专业理论课程的过度课程，能够充分地调动学生的学习积极性，起到较好的承上启下作用；另一方面，《生物化学》作为后续课程如《微生物学》、《细胞与分子生物学》、《基因工程》和《免疫学》等课程的基础，与其紧密相连，并与其一起构成了生物制药专业完整的专业课程体系。

## 2.3 课程的历史与文化传统

生物化学是当今生命科学领域中发展最为迅速、涉及面最广的基础学科之一，其

着眼点在于使用化学、物理学和生物学等方法去研究各类生物分子的结构与功能，在分子水平上阐明生命的本质、原理和规律。如今，生物化学的理论和实验技术已渗透到生命科学的方方面面，它的发展一次又一次地带动了整个生命科学的发展。

生物化学是在有机化学和生理学的基础上发展起来的，与有机化学、生理学、物理化学、分析化学有着密切的联系，19 世纪末 20 世纪初发展为独立的学科，是生物学中发展最快的一门前沿学科，是细胞生物学、遗传学、微生物学、免疫学、病毒学、进化论和分类学的基础，研究药学、制药工程、食品和营养等学科也离不开生物化学的理论和方法。同样，近代医学的发展经常运用生物化学的理论和方法来诊断、治疗和预防疾病，而且许多疾病的机理也需要从分子水平上加以探讨。

生物化学主要包括三个方面的内容：一是结构生物化学，主要研究各种生物分子的结构、功能和性质，这些生物分子包括氨基酸、蛋白质、核苷酸、核酸、酶、辅酶、激素、糖类和脂类等；二是代谢生物化学，主要研究生物体内的各种化学反应；三是分子生物学，主要研究遗传信息的贮存、传递、表达及其调控。

结构生物化学的内容可以说是生物化学最基础的部分，有人把这一部分的内容说成是“静态生化”。其主要内容是各种生物分子的结构、性质与功能，特别是三类生物大分子即蛋白质、核酸和酶的结构、性质与功能。

## **2.4 课程的前沿及发展趋势**

《生物化学》是二十一世纪生物工程相关领域的一门关键学科。随着分子生物学等新技术的不断出现，生物化学的研究迅速向纵深发展，已经从细胞水平、酶学水平逐渐进入到基因水平、分子水平和后基因组水平。而生物化学与其他学科的交叉则孕育了许多新的分支学科。在生物制药、新材料（药物）、新能源及新功能等方面均表现出了无尽的潜力。

## 2.5 课程与经济社会发展的关系

众所周知，当今经济社会面临着多种危机，如粮食危机、能源匮乏、资源紧缺、生态恶化、人口爆炸、老龄化等。而生物化学的基础知识和研究技术因为其独特的性质，在解决当今经济社会中人类面临的各种危机中发挥了其不可替代的作用。具体而言，利用生物化学的基础原理和技术进行微生物改造，可提高土壤的肥力、改进作物的特性、促进粮食增产、防治病虫害，甚至在各种食品的生产过程中都可发挥重要的作用（粮食）；生化方法可用于再生资源产乙醇、甲烷、氢气，提高石油采收率等（能源）以及将地球上的可再生资源转化为各种化工及制药等所需的原料（能源）；用于生产肥料、杀虫剂，可用于净化污水，可用于制造可降解材料等环境保护方面（生态恶化）；生物化学与人类健康密切相关，尤其是抗生素、抗癌药物的开发和发展取得了瞩目的成绩。除此之外，随着分子生物学及基因工程等技术的飞速发展，各种生物化学的新方法、新技术也在微生物、工业、食品以及医药的研究中得到了广泛的应用，从而推动了生物化学的快速发展，进一步为经济社会的发展贡献力量。同时，此次新冠肺炎大流行也亟待科学家们在对病毒的生理生化机制的深入研究基础上尽快开发出特效药物以及预防和治疗疫苗。

## 2.6 课程内容可能涉及到的伦理与道德问题

《生物化学》课程中关于“基因工程”部分的内容可能会涉及到伦理与道德问题。具体来讲，主要体现在转基因生物的安全性，包括各种重组微生物、转基因植物、动物等。因为，生物的基因一旦发生改变，不仅会引起生物体内一系列未知的结构和功能发生变化；也会进一步通过遗传进行传递。例如，现在人们比较关心的是转基因生物是否会导致难以消灭的新病原物出现？是否会破坏食物链，从而造成生态学灾难？如果人类大量摄入转基因食物后是否会对其健康甚至后代产生影响？疾病的传

播是否会跨越物种障碍等？此次，新冠病毒在全球的肆虐就再次给人类敲响了警钟，促使我们每一个人去思考我们与自然的关系，以及在疫情之下人与人之间，人与其它生物之间的关系。

## 2.7 学习本课程的必要性

生物化学是研究生命的化学组成及其在生命活动中变化规律的一门学科，也是生命科学中最前沿的学科之一。在生命科学大发展的今天，生物化学作为生物制药专业多门主干课程的基础支撑课程，起着承上启下、多学科贯穿的重要作用。通过本课程学习，要求学生掌握生物化学的基本理论知识，使学生掌握生物大分子的结构与功能、物质代谢、遗传信息传递等方面的基本理论和基本知识，了解现代生物化学在医药科学中的新进展。熟悉最基本的生物化学实验方法和操作技术，并适当地学习最新的生物化学技术；使学生具备运用生物化学知识理解、分析、解决医学问题，解释相应病理生理现象的能力，并进一步运用这些知识和技能去进行药物研发和生产，从而造福人类和推动社会的进步。

## 3. 教师简介

### 3.1 教师的职称、学历

毛新芳 副教授 博士

### 3.2 教育背景

时 间	学习或工作单位	职位
1993.09-1997.07	新疆大学	学士
1997.09-2000.07	新疆大学	硕士
2007.09-2011.07	新疆大学	博士

### 3.3 研究兴趣（方向）

生物制药、蛋白质的结构与功能研究、功能基因的资源挖掘

## 4. 先修课程



《有机化学》、《物理化学》及《普通生物学》等课程是本课程的基础。学生如若要学习并掌握好本门课程，需要提前复习这些相关课程，这样才能够在进行本课程的学习时进行较好的运用。除此之外，后续开设的《微生物学》、《细胞生物学》《基因工程》、《药物分子生物学》、《发酵工程》及《生物制药工艺学》等课程均与本门课程密切相关、相辅相成，互为补充。

## **5. 课程目标**

### **5.1 知识与技能方面**

从知识层面上讲，通过本课程的学习，学生们可以熟悉或掌握重要生物大分子（蛋白质、酶、核酸）的结构、性质和功能；生物能的基本概念及相关基础知识；生物体内各种代谢反应及过程的共同规律和重要生物分子的代谢反应过程；学会运用生物学和化学两方面的知识来理解生物化学的理论与方法；通过现代生物制药领域中前沿问题的探究，提高学生把握学科动态、综合运用知识和创新思维和能力，加深学生对科学研究真谛（求真务实、探索创新）的理解，从而为学生更好地进行后续课程的学习或研究工作的展开奠定坚实的理论基础。在技术层面上讲，通过开展与理论课程配套的实验课程，使学生切身的体会到生物化学技术的重要性；更为直观地了解生物大分子的结构、特征和功能；加深对新陈代谢过程以及生物大分子分离、纯化的了解，从而达到熟练操作应用的目的。

### **5.2 过程与方法方面**

从与学生生活息息相关的方面入手，调动学生学习生物化学课程的兴趣，使其了解学习生物化学的重要意义。让学生知道生化很有用，从而喜欢上生化。从生化课中，得到很多与健康、疾病、医药、营养、保健、防病和治病等有关的知识。这些知识可以受用一辈子，而且也可以将这些生化知识传播给家人和朋友。电视上每天都充

斥着各种骗人的医药、保健品的广告，这些广告利用的就是大众缺乏生化知识这一点。爱斯基摩人为什么少得心血管疾病？正常的人需要补脑黄金（DHA）吗？为什么过夜的韭菜不能吃？骆驼为什么几个月可以不喝水？为什么狗急会跳墙、人急会生智？蜘蛛丝和钢筋相比，哪一个强度更强？生化中的“近朱者赤近墨者黑”是指什么？什么是反式脂肪？阿司匹林是如何消炎的？在学完这门课程以后，你自然就知道这些问题的答案了。其次，学好生化还是学好生命科学其他课程的基础，比如细胞生物学、遗传学和分子生物学、植物生理学。而在教学过程中，除了采用传统的讲授法向学生传授相关知识外，本课程还将采用启发性的教学方式，具体来讲即对学生进行分组，各组针对某一重点问题，查阅最新的文献资料后进行总结归纳和讲解，全班同学进行提问或补充。这样不仅能充分调动学生的思考能力和获取新知识的能力，有效启发其学习兴趣，而且能够使学生了解生物化学领域相关的最新发展动态，明白生物化学理论和技术在制药领域的重要意义，从而为其将来进入工作岗位或从事科学研究打下基础。

课程着重构建如下的专业能力模型：1. 扎实的生物化学基础知识：学生应牢固掌握重要生物大分子（糖、脂、蛋白质、酶、核酸）的结构、性质和功能；牢固掌握生物能的基本概念及相关基础知识；牢固掌握生物体内各种代谢反应及过程的共同规律和重要生物分子的代谢反应过程。2. 严谨的逻辑思维能力：学生应深刻理解“结构决定性质、结构决定功能”这一逻辑主线，学会运用生物学和化学两方面的知识来理解生物化学的理论与方法，具备分析和解决具体问题的能力。

同时，在教学过程中重视学生对所学知识吸收和掌握的及时反馈，每一小节后都做一个课堂总结，每一章节结束后都会进行一次课堂测验，题型包括选择题、多选题、填空题和判断题，让学生对考察的知识点有更明确的认识，通过测验成绩也可以

及时掌握学生的薄弱环节，在随后课堂上进行巩固和强调；除每章节布置一定的作业外，要求每一名学生对章节的知识体系和重点进行梳理、整理成笔记形式，以两次作业的形式计入平时分，帮助学生逐渐形成生物化学的整体知识框架的架构。

### 5.3 情感、态度与价值观方面

通过本门课程的学习，不仅使学生掌握生物化学的基础理论、知识和技术相关，而且培养学生获取新知识的能力和实事求是的科学作风。与课程相关的实验环节，不仅很好地加深了学生对理论知识的理解程度，培养了学生的动手能力；而且培养了学生科学严谨、实事求是、尊重实验结果的科研道德；不弄虚作假、尊重他人成果的科学态度。而这种能力、道德及态度将继续深深地影响着学生的发展，使其在将来的学习、生活和工作中都受益匪浅。

## 6. 课程内容

### 6.1 课程的内容概要

《生物化学》是生命科学中的极其重要的一门学科。课程的主要内容包括：1）生物大分子的结构与功能：生物体内的生物大分子主要是信息大分子——核酸和功能大分子——蛋白质（包括酶）等，其种类、结构、功能的多样性决定了生物体生命活动中多种多样的生理功能；2）新陈代谢及其调节：生命活动的维持依赖于生物体内所进行的众多物质代谢和能量代谢，包括生物氧化、糖代谢、脂代谢、氨基酸代谢、核苷酸代谢等。这些物质和能量的代谢之所以有条不紊的进行，依赖于体内多方面有序的调节。因此正常新陈代谢是生命过程的必要条件，而代谢发生紊乱则可引起疾病。而本课程的主要目的即在于使学生牢固掌握重要生物大分子（糖、脂、蛋白质、酶、核酸）的结构、性质和功能；牢固掌握生物能的基本概念及相关基础知识；牢固掌握生物体内各种代谢反应及过程（糖、脂、氨基酸、核苷酸）的共同规律和重要生物分

子的代谢反应过程。同时，培养严谨的逻辑思维能力：学生应深刻理解“结构决定性质、结构决定功能”这一逻辑主线，学会运用生物学和化学两方面的知识来理解生物化学的理论与方法，具备分析和解决具体问题的能力。为学生进行后续课程如《微生物学》、《细胞生物学》、《基因工程》、《发酵工程》等的学习和相关研究工作的开展打下坚实的理论基础。

## 6.2 教学重点、难点

教学重点：氨基酸、蛋白质、酶、核酸的结构、性质和功能；生物能的基本概念及相关基础知识；各种物质代谢（糖代谢、脂代谢、氨基酸分解代谢、核苷酸代谢）反应及过程；培养严谨的逻辑思维能力。

教学难点：理解“结构决定性质、结构决定功能”这一逻辑主线；代谢途径调控以及物质代谢的转变与协调。

## 6.3 学时安排

周次及日期	讲课（教学大纲分章和题目的名称）	讲课学时
第1周 (08/30)	第一章 绪论（生物化学的定义及研究内容和意义）	2
第1周 (09/01)	第二章 蛋白质化学（氨基酸的结构、种类、性质与功能）	2
第2周 (09/06)	第二章 蛋白质化学（肽、蛋白质的结构）	2
第2周 (09/08)	第二章 蛋白质化学（蛋白质的结构与功能的关系）	2
第3周 (09/13)	第二章 蛋白质化学（蛋白质的性质与纯化和鉴定）	1
第3周 (09/15)	第三章 核酸化学（核苷酸与核酸的结构）	2

第 4 周 (09/20)	第三章 核酸化学（核酸及核苷酸的性质与研究技术）	2
第 4 周 (09/22)	第四章 酶（酶的特性、分类与催化机理）	2
第 5 周 (09/27)	第四章 酶（酶反应动力学-米氏方程、[E],[S],T,pH 的影响）	2
第 5 周 (09/29)	第四章 酶（酶反应动力学-激活剂、抑制剂对酶反应速率的影响）	2
第 7 周 (10/11)	第四章 酶（酶活性测定，酶的多样性及活性调节）	2
第 7 周 (10/13)	第五章 维生素与激素（水溶性微生物与辅酶、脂溶性维生素；激素的类别及作用机理）	2
第 8 周 (10/18)	第六章 生物氧化（生物氧化的方式及特点；呼吸链的组成）	2
第 8 周 (10/20)	第六章 生物氧化（氧化磷酸化的机制与解偶联）	2
第 9 周 (10/25)	第七章 糖代谢（EMP 途径、调节及生理意义）	2
第 9 周 (10/27)	第七章 糖代谢（TCA 途径、调节及生理意义）	2
第 10 周 (10/01)	第七章 糖代谢（HMP 途径、生理意义；乙醛酸循环；糖异生、调节及生理意义）	2
第 10 周 (11/03)	第七章 糖代谢（糖原的合成与分解代谢途径及调节；糖尿病）	2
第 11 周 (11/08)	第八章 脂代谢（脂质的分解代谢-甘油，脂肪酸的 $\beta$ -氧化）	2
第 11 周 (11/10)	第八章 脂代谢（酮体代谢，脂肪的合成代谢）	2
第 12 周 (11/15)	第八章 脂代谢（磷脂和胆固醇代谢）	2
第 12 周 (11/17)	第九章 氨基酸的分解代谢（脱氨基、脱羧基作用，鸟氨酸循环）	3
第 13 周 (11/22)	第十章 核苷酸代谢（嘌呤核苷酸，嘧啶核苷酸的分解与合成）	2
第 13 周 (11/24)	第十一章 三大物质代谢的关系（糖、脂类、蛋白质代谢转变与协调）	2

--	--	--

## 7. 课程实施

### 7.1 教学单元一 第一章 绪论（2 学时）

#### 7.1.1 教学日期

第一周第一次课（08/30）

#### 7.1.2 教学目标

掌握生物化学的概念、研究内容、研究体系以及意义；了解生物化学作为一门独立的学科在生命科学尤其是生物制药领域的重要意义。布置课程论文（包含 PPT 制作）大作业。

了解生物化学在科学前沿领域的进展与突破。

#### 7.1.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：生物化学的研究内容、任务、研究体系

难 点：生物化学与生产、生活的关系；结构与性质、结构决定功能的逻辑主线

主要知识点：生物化学的概念、研究内容

#### 7.1.4 教学过程

一、课程引入：

（1）新冠病毒变异株：α -（英国），β -（南非），γ -（古巴），δ -（印度），λ -（秘鲁），奥密克戎O-

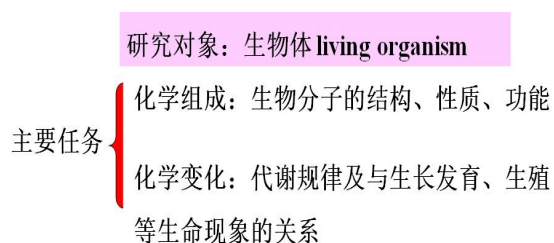
（2）癌症治疗：化疗药物（标准 CDOP 化疗（环磷酰胺、多柔比星、长春新碱、强的松）以及靶向药物（美罗华（利妥昔单抗注射液）-罗氏-CD20 阳性弥漫大 B 细胞性非霍奇金淋巴瘤（DLBCL）；伊马替尼治疗 CML 慢性粒细胞白血病-《我不是药神》）

- 什么是生命？生命的基本属性/特征是什么？
- 什么是生物化学？生物化学的研究内容及任务是什么？
- 为什么要进行生物化学的研究/研究意义是什么？它与人类的关系是什么？

## 二、生物化学的定义、任务和研究内容（1）

### （1）定义及任务

生物化学是一门应用化学的理论和方法来研究生命现象，阐明生命现象化学本质的学科。生物化学在分子水平上探讨生物体的化学组成和生命过程中化学变化规律的一门科学。



本课程着重构建如下的专业能力模型：

1. 扎实的生物化学基础知识：牢固掌握重要生物大分子（蛋白质、酶、核酸）的结构、性质和功能；牢固掌握生物能的基本概念及相关基础知识；牢固掌握生物体内重要生物分子的代谢反应及过程的共同规律。
2. 严谨的逻辑思维能力：深刻理解“结构决定性质、结构决定功能”这一逻辑主线，学会运用生物学和化学两方面的知识来理解生物化学的理论与方法，具备分析和解决具体问题的能力。

### （2）内容体系以及逻辑关系

组成生物体的主要成分是蛋白质、核酸、糖类、脂类、维生素和激素，生物化学就是研究这些物质的化学组成、结构、理化性质、生物学功能（结构生物化学），以及它们的合成、分解、相互转化、能量转换等问题（代谢生物化学）。

自身内容体系及与其它学科的关系

## 三、研究前沿进展与突破 Nobel Prize

## 四、生物化学发展与人类进步

医药研发、神经科学与脑科学（dopamine-抑郁症和焦虑症）、AI、信息技术（DNA 电

脑-镜像 DNA)、发酵工业

## 生物化学的应用

- ★农业：基因修饰的食品
- ★医学：生化诊断和疾病治疗、基因治疗
- ★营养：抗肥胖
- ★药学：卡托普利（肽衍生物-酶抑制剂）、



- AZT（齐多夫定,叠氮胸苷HIV-代谢抑制剂）和万艾可（Viagra, 小分子抑制剂-磷酸二酯酶PDE5）
- ★毒物学：蓖麻毒素（Ricin），肉毒杆菌毒素（BTX, 最强烈的生物毒素，抑制神经末梢释放乙酰胆碱，引起肌肉松弛麻痹）

### 五、本课程改革思路、学习方法和考核方式

雨课堂平台：课程预习，课堂测验、单元测验以及期中测验、课程作业提交及批阅；

课堂：讲授、作业分析、主题讨论、课程论文以及 PPT 展示。

QQ 群或微信群：课程相关的以及与课程论文相关文献的推送，课程内容解疑答惑。

预习+反复练习（课堂测验、单元测验、作业）+知识点的系统整理（笔记）+学习反馈（期中测验、作业分析）+成果鉴定（论文 PPT 展示、期末考试）



<b>1. 绪论</b>	<b>2学时</b>	<b>7. 糖代谢</b>	<b>8学时</b>
<b>2. 蛋白质化学</b>	<b>8学时</b>	糖的分解代谢（ <b>EMP</b> 途径、 <b>HMP</b> 途径、 <b>TCA</b> 循环）；糖原合成与分解；	
氨基酸；肽；蛋白质的结构与功能；蛋白质的性质及纯化鉴定技术		<b>8. 脂代谢</b>	<b>6学时</b>
<b>3. 核酸化学</b>	<b>4学时</b>	脂肪的分解代谢（甘油、脂肪酸）；酮体代谢；脂肪的合成代谢；胆固醇代谢	
核酸的组成、分类、结构及功能；核酸的性质及研究技术		<b>9. 氨基酸代谢</b>	<b>3学时</b>
<b>4. 酶</b>	<b>8学时</b>	氨基酸的分解代谢；鸟氨酸循环；	
酶的特性、分类；酶反应动力学；酶催化反应机理；酶活性测定		<b>10. 核苷酸代谢</b>	<b>2学时</b>
<b>5. 维生素与激素（自学）</b>	<b>2学时</b>	核苷酸的分解代谢；核苷酸的合成代谢	
<b>6. 生物氧化</b>	<b>4学时</b>	<b>11. 糖、脂类、蛋白质三大物质代谢的关系</b>	<b>1学时</b>
电子传递链；氧化磷酸化的机制；氧化与磷酸化的解偶联			

平时成绩（考勤、作业含笔记、课程论文（PPT报告）、单元测验）30%，期中测验10%，期末考试 60%

### 7.1.5 教学方法

本单元的教学方法主要采用课堂讲授的形式展开。为了提高同学们对生物化学课程的兴趣，本单元主要从与同学们生活息息相关的方面入手；讲解生化研究领域的重大事件；并进一步拔高到当今生物化学各个领域的研究热点和难点，以充分调动同学们的学习热情；章节后有总结，要求学生整理笔记。

### 7.1.6 作业安排及课后反思

（1）思考身边与生物化学相关的事情，如食品、疾病等；

（2）试做课后的复习思考题，以章节的小结为框架整理笔记内容。

（3）思考新冠病毒的爆发对人类社会的影响。

（4）选择任意一个感兴趣的生化主题，撰写课程论文（一定要有正规参考文献的引用）并准备一个大约 3min 的 PPT 报告。

### 7.1.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》课程相关内容进行预习。对物理化学、有机化学和生物化学的基础有一定要求。

### 7.1.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》2016, 四川大学出版社, 第一章绪论 P:1-4

## 7.2 教学单元二 第二章 蛋白质化学-1（氨基酸的结构、种类、性质与功能）（2 学时）

### 7.2.1 教学日期

第一周第二次课（09/01）

### 7.2.2 教学目标

掌握 20 种蛋白质氨基酸的结构与英文缩写、氨基酸的性质（手性、两性解离与等电点）、氨基酸的化学反应（Sanger 反应、Edman 反应、茚三酮反应等）；熟悉疏水氨基酸与亲水氨基酸、必需氨基酸与非必需氨基酸；了解非蛋白质氨基酸的功能。

### 7.2.3 教学内容（含重点、难点）

**重 点：**20 种蛋白质氨基酸的结构与英文缩写；氨基酸的光学性质与两性解离；可用于氨基酸、蛋白质鉴定、定量测定及测序的重要反应（氨基、羧基以及 R 基参与的反应）。

**难 点：**蛋白质氨基酸的结构记忆以及英文缩写。

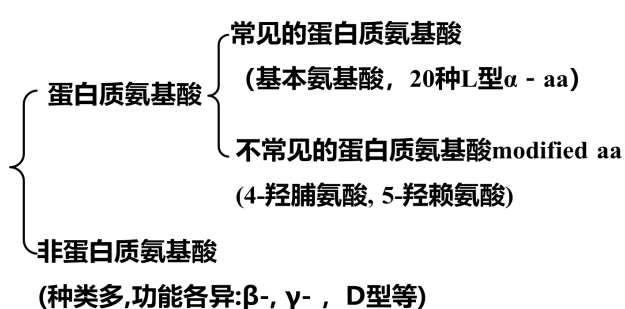
**主要知识点：**20 种蛋白质氨基酸的结构与缩写、蛋白质氨基酸、非蛋白质氨基酸、手性、立体异构体、两性解离、等电点、Sanger 反应、Edman 反应、茚三酮反应

## 7.2.4 教学过程

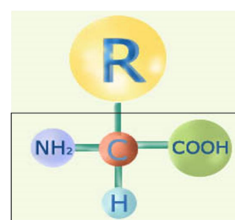
### 第二章 蛋白质化学

#### 第一节 氨基酸

##### 一、氨基酸的结构及分类



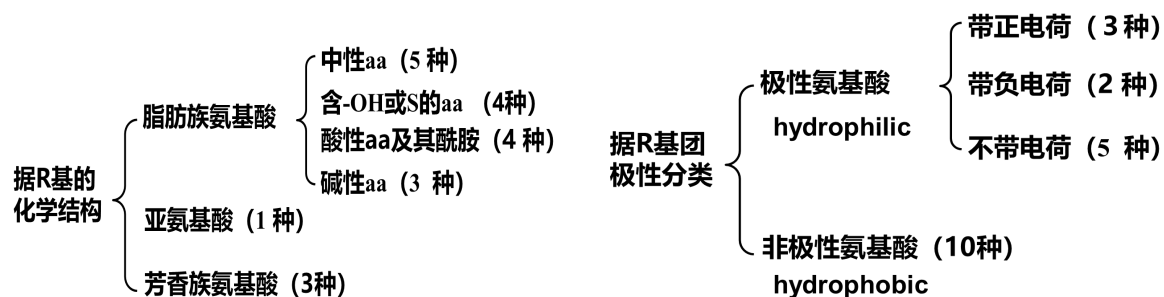
氨基酸的通式：



19种氨基酸的R基是不相同的

大多数氨基酸所共有的结构

\*氨基酸通式的写法，应注意氨基（左）、羧基（右）与R基（下）的位置及解离；与氨基酸的缩合反应、肽链的延伸方向以及氨基酸的光学性质以及两性解离、等电点有关。



脂肪族化合物 中文名称:脂肪族化合物 英文名称:aliphatic compound 定义：由碳氢链构成的有机化合物或其衍生物。一般具有开链结构，呈饱和或不饱和，包括无环结构的烃、醇、醛、酮、羧酸和糖类。

极性氨基酸（亲水氨基酸，10种）：（1）不带电荷的极性氨基酸 Ser、Thr、Asn、Gln、Cys；（2）带正电荷的氨基酸 Lys、Arg、His；（3）带负电荷的氨基酸 Asp、Glu。

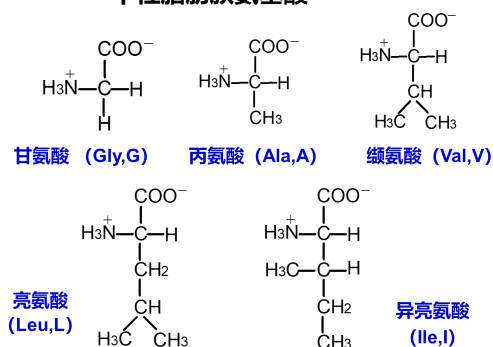
非极性氨基酸(疏水氨基酸，共10种)：Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Met、Pro、Phe、Tyr、Trp

## 必需氨基酸与非必需氨基酸：

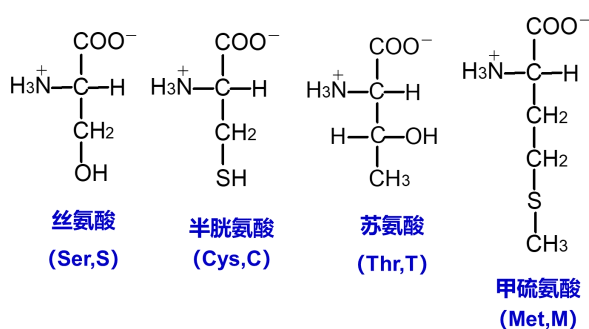
必需氨基酸是指人体或动物体必不可少，但却不能合成，或者虽能合成，但合成量不够，必须从食物中补充的氨基酸。如果饮食中经常缺少它们，就会影响到机体的健康。一共有 8 种：Lys、Trp、Phe、Met、Thr、Ile、Leu 和 Val。人体虽能够合成 Arg 和 His，但合成的量在特定的阶段（如青少年发育和妇女在怀孕期间对氨基酸需求比较大）不能满足正常的需要，因此这两种氨基酸又称为半必需氨基酸（semi-essential amino acids）

余下的氨基酸则属于非必需氨基酸，动物体自身可以进行有效的合成，它们是：Ala, Asn、Asp、Gln、Glu、Pro、Ser、Cys、Tyr 和 Gly。

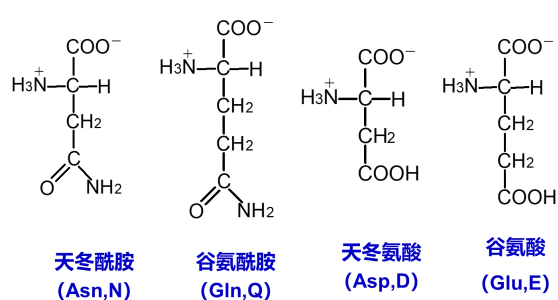
### 中性脂肪族氨基酸



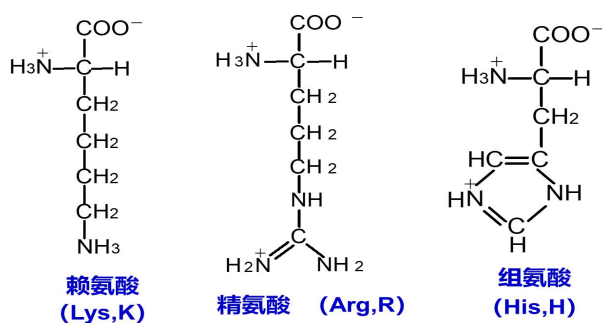
### 含羟基或硫脂肪族氨基酸



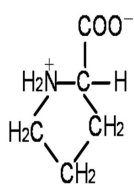
### 酸性氨基酸及酰胺



### 碱性氨基酸

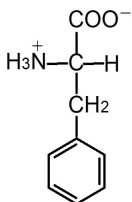


### 杂环氨基酸

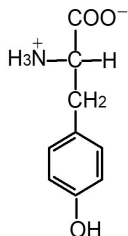


脯氨酸  
(Pro,P)

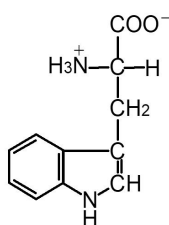
### 芳香族氨基酸



苯丙氨酸  
(Phe,F)



酪氨酸  
(Tyr,Y)



色氨酸  
(Trp,W)

### Tips for memory

以Ala为结构单位，加减CH<sub>3</sub>,NH<sub>2</sub>和COO<sup>-</sup>;

记忆碳数，结合其它分类结果同时记忆

\*Tips: 结构记忆中以 Ala 为核心（记忆碳数），Gly 和 Pro 为特例，结合 R 基结构（芳香族、含-OH、S、酰胺）和 R 基电荷

## 二、氨基酸的理化性质

### 1. 光学特性：旋光性和光吸收

除甘氨酸外，其它氨基酸的  $\alpha$ -碳原子均为不对称碳原子，有光学异构现象（手性 chirality）。光学异构体可使偏振光平面旋转方向发生改变，但旋转角度相同，这种性质就是旋光性（Rotation）。手性碳—光学异构体/对映体---旋光性

**思考：**光学异构体 D-, L-产生的旋光方向和旋光角度大小是严格对应的吗？举个特殊的例子—胱氨酸（多个手性碳存在以及内消旋体）

紫外吸收：Tyr(Y)、Phe(F)和 Trp(W)在近紫外区有光吸收能力。可以通过测定 280nm 处的紫外吸收值的方法对蛋白溶液进行定量。

### 2. 两性解离与等电点

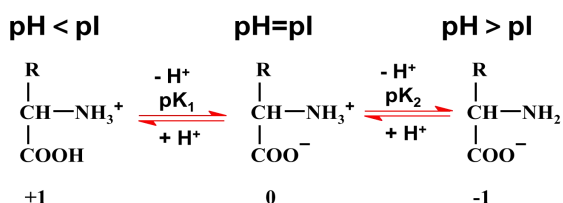
**兼性离子：**在同一分子上带有能释放质子的正离子基团和又带有能接受质子的负离子基团，即可以和酸反应，也可以和碱反应。氨基酸由于同时含有碱性的氨基和酸性的羧基，因此具有特殊的解离性质，但一种氨基酸的碱性和酸性分别弱于单纯的胺和羧酸。一个氨基酸分子内部的酸碱反应使氨基酸能同时带有正负两种电荷，以这种形式

存在的离子称为两性离子或兼性离子。氨基酸在水溶液中或在晶体状态时，都以兼性离子形式存在。

**等电点(pI):** 分子处于兼性离子状态，在电场中不迁移时溶液的 pH 值(或分子的净电荷为零时溶液的 pH 值)。如果将 R 基团考虑进去，那么有十种蛋白质氨基酸的 R 基团具有解离的性质，这些 R 基团是否解离可直接影响到这十种氨基酸的带电状态。然而，对于任何一种氨基酸来说，总存在一定的 pH 值，使其净电荷为零，这时的 pH 值称为等电点 (pI)。一氨基一羧基的氨基酸等电点在 pH6，碱性氨基酸 pI 在 pH10 左右，酸性氨基酸的 pI 在 pH3 左右。

**pI 与 pH 的关系:** 不同 pH 下的解离/带电荷情况 (离子交换、电泳; 溶解度; 构象)

### pI 与 pH 的关系



**pI 的计算:** 写解离式—计算等电点 pI (净电荷为零的兼性离子两侧基团的 pK 值得平均值)

pI 是一种氨基酸的特征常数。当一种氨基酸处于 pH = pI 的溶液中，这种氨基酸绝大多数处于两性离子状态，少数可能解离成阳离子和阴离子，但解离成阴、阳离子的趋势和数目相等，由于所带的净电荷为 0，因而若处在电场中，则不会向两极移动。利用上述性质，很容易推导出各种氨基酸 pI 的计算公式，也可以使用酸、碱滴定的方法直接测出各种氨基酸的 pI 值。计算一种氨基酸的 pI 的具体步骤是：(1) 找出这种氨基酸的所有可解离基团，并注明它们各自的 pKa；(2) 假定将它放在极低的 pH 下，

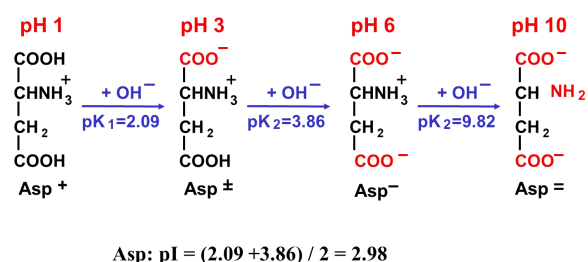


这时它所有的可解离基团都处于非解离的质子化状态；（3）逐步提高溶液的 pH，可解离基团按照 pKa 从低到高的顺序依次释放出质子，即 pKa 越低的就越先释放出质子；（4）写出所有可能的解离形式，并找出净电荷为 0 的形式；（5）将净电荷为 0 形式两侧的 pKa 相加除以 2。根据上述计算的方法，不难得出：对于只含有两个 pKa 的即侧链上无可解离基团的氨基酸（A、F、G、I、L、M、N、P、Q、V、W）而言，它们的 pI 是将两个 pKa 相加除以 2，对于两个酸性氨基酸（D 和 E）而言，是将两个最低的 pKa 相加除以 2，而对于三个碱性氨基酸（H、K、R）而言，是将两个最高的 pKa 相加除以 2。

### pI 的计算

- 侧链不含解离基团的中性氨基酸，其等电点是它的 pK1 和 pK2 的算术平均值：
  - $pI = (pK_1 + pK_2) / 2$
- 对于有三个解离基团的氨基酸，其等电点 pI 值可由兼性离子两侧基团的 pK 值相加除以 2 得到。  
 （写出它的电离式，然后取兼性离子两边的 pK 值的平均值，即得其 pI 值）。
- An acidic amino acid:  $pI = (pK_1 + pK_{R-COOH}) / 2$   
 A basic amino acid:  $pI = (pK_2 + pK_{R-NH_2}) / 2$

### Asp 在 pH3、pH6、pH10 解离式



## 三、氨基酸的化学反应

### ① 氨基的化学反应:

- 与亚硝酸的反应      Van Slyke 定氮
- 与甲醛的反应      氨基滴定
- 与二甲基氨基萘磺酰氯 (DNS-Cl) 的反应      N 端标记
- 与 2,4-二硝基氟苯 (DNFB) 的反应      N 端鉴定
- 与 Edman 试剂 (PITC 苯异硫氰酸酯)      测序

1) Van Slyke 定氮法：氨基酸与亚硝酸盐反应生成 α-羟基酸放出氮气。

氨基酸在室温下与亚硝酸反应，会发生脱氨，生成羟基酸和氮气。赖氨酸的侧链氨基也能反应，但速度较慢。这个反应可用于蛋白质的化学修饰及氨基酸定量。氨基酸在转氨酶的催化下脱去氨基，会生成相应的酮酸。

思考：Van Slyke 定氮法与凯氏定氮的区别与联系？

2) 氨基酸的甲醛滴定：可以用来直接测定氨基酸的浓度

3) 5-二甲氨基萘-1-磺酰氯反应（丹磺酰氯）：在碱性条件下，丹磺酰氯（二甲氨基萘磺酰氯 DNS-Cl）可以与 N-端氨基酸的游离氨基作用，得到丹磺酰-氨基酸(DNS-AA)。此法的优点是丹磺酰-氨基酸有很强的荧光性质，检测灵敏度可以达到  $1 \sim 10^{-9} \text{mol}$ 。用于蛋白质 N 端鉴定与标记。

4) Sanger 反应

在弱碱性溶液中，氨基酸的  $\alpha$ -氨基很容易与 2,4-二硝基氟苯（2,4-dinitrofluorobenzene, DNFB）起反应，生成稳定的黄色物质——2,4-二硝基苯氨基酸（DNP-氨基酸）。此反应最初由 Frederick Sanger 发现，因此也叫 Sanger 反应，而 DNFB 也称为 Sanger 试剂。

多肽或蛋白质在 N-端游离的  $\alpha$ -氨基也能与 DNFB 反应，但生成的是 DNP-多肽或 DNP-蛋白质。由于 DNP 与氨基结合牢固，不易被水解，因此当 DNP-多肽被酸完全水解以后，原来的 N-端氨基酸成为黄色的 DNP-氨基酸。因为 DNP-氨基酸溶于乙酸乙酯或乙醚等有机溶剂，所以可以用这两种试剂对其进行抽提，随后进行色谱分析，并以标准的 DNP-氨基酸作为对照，就可以鉴定出此氨基酸的种类。Sanger 当初就是使用上述方法，测出胰岛素两条链在 N-端的氨基酸。现在仍然有人使用他发明的方法，来鉴定多肽或蛋白质的 N-端氨基酸。

5) Edman 降解

在弱碱性条件下，氨基酸的  $\alpha$ -氨基可与苯异硫氰酸酯（phenylisothiocyanate, PITC）反应，生成相应的苯氨基硫甲酰氨基酸（PTC-氨基酸）。在酸性条件下，PTC-氨基酸会迅速环化，形成稳定的苯乙内酰硫脲氨基酸（PTH-氨基酸）。

多肽链 N-端氨基酸的  $\alpha$ -氨基如果没有被封闭，例如乙酰化修饰，那么也能发生此



反应，生成 PTC-肽。在酸性溶液中，PTC-肽会释放出末端的 PTH-氨基酸，而产生比原来少 1 个氨基酸残基的肽链。新暴露出来的 N-端氨基可再次进行同样的反应。经过多次重复，N-端的氨基酸依次释放出来，成为 PTH-氨基酸。由于 PTH-氨基酸在酸性条件下极稳定，并可溶于乙酸乙酯，因此在每一次反应结束以后用乙酸乙酯抽提，再经高压液相层析，就可以确定肽链 N-端氨基酸的种类，并逐步确定出一个完整的多肽链上的氨基酸顺序。氨基酸自动顺序分析仪就是根据该反应原理而设计的。

## 2. $\alpha$ -羧基参与的反应

1) 成盐反应：与氢氧化钠反应生成氨基酸钠盐；

2) 成酯反应：与乙醇反应生成氨基酸乙酯的盐酸盐

## 3. $\alpha$ -氨基和羧基共同参与的反应

茚三酮反应：氨基酸与水合茚三酮一起在水溶液中加热，可发生反应，生成蓝紫色物质，此反应被称为茚三酮反应。所有的氨基酸以及具有游离 $\alpha$ -氨基和 $\alpha$ -羧基的肽和蛋白质都与茚三酮起反应，并产生蓝紫色物质，只有脯氨酸和它的修饰产物（羟脯氨酸）与茚三酮反应产生黄色物质。

## 4. 氨基酸的缩合反应

在一定的条件下，一个氨基酸分子的氨基可以和另外一个氨基酸分子的羧基发生缩合反应，以酰胺键或肽键相连形成肽。此反应是肽的人工合成或生物合成的分子基础。

## 5. 巯基（-SH）的性质

二巯苏糖醇(DTT)使蛋白质分子中二硫键断裂，也可以用来打开胱氨酸上的二硫键。半胱氨酸必须用碘乙酸保护。巯基与金属离子的螯合性质可用于体内解毒。

## 7.2.5 教学方法

教学方法主要采用课堂讲授和提问与讨论与练习的形式展开。为了提高同学们对生物化学课程的兴趣，本单元主要从与同学们生活息息相关的方面入手介绍；讲解氨基酸研究中与其形态和构造密切相关的事件，以此充分调动同学们的学习热情。

### 7.2.6 作业安排及课后反思

**课后作业：**结合氨基酸的类型总结氨基酸的功能（蛋白质氨基酸、非蛋白质氨基酸）

**拓展：**1. 2 种不常见的蛋白质氨基酸：硒代半胱氨酸 Sec/U—含硒蛋白—克山病；

吡咯赖氨酸 Pyl/O—产甲烷菌

2. 氨基酸药物有哪些？(氨基酸输液、口服液、牛磺酸)主要的生产方法？

### 7.2.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》、南京师范大学-《微生物学模块化实验》课程相关内容进行预习。对物理化学、有机化学和生物化学的基础有一定要求。

### 7.2.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学原理》，四川大学出版社，2016，第三章（p62-p71）

## 7.3 教学单元三 第二章 蛋白质化学（蛋白质的分类及化学结构）（2 学时）

### 7.3.1 教学日期

第二周，第三次课（09/06）

### 7.3.2 教学目标

掌握肽的结构和命名，维持蛋白质一级结构的化学键以及一级结构的测定；

### 7.3.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：肽键及其性质，蛋白质的一级结构测定

难点：蛋白质一级结构测定的一般策略（直接法）

主要知识点：酰胺平面/肽平面、二面角、肽键、蛋白质等电点计算、肽链断裂的方法、二硫键的确定、片段重叠法。

### 7.3.4 教学过程

## 第二节 蛋白质的共价结构

### 一、肽

#### 1. 肽的结构与命名

肽就是氨基酸之间通过  $\alpha$ -氨基和  $\alpha$ -羧基缩合以酰胺键或肽键相连的聚合物，它包括寡肽、多肽和蛋白质。构成肽的每一个氨基酸单位被称为氨基酸残基。各氨基酸残基以肽键相连形成的链状结构被称为肽链。

肽的命名和分类的主要依据是氨基酸残基的数目和组成。

肽的分类可根据氨基酸残基的数目而直呼其为几肽。例如，2 个氨基酸形成的肽称为二肽，3 个氨基酸构成的肽称为三肽，以此类推。一般将 2~10 个氨基酸残基组成的肽称为寡肽，由 11~50 个氨基酸残基组成的肽称为多肽，由 50 个以上的氨基酸残基组成的肽通常被称为蛋白质。

除了少数环状肽链以外，多肽具有方向性： $\alpha$ -氨基的一端被称为氨基端或 N 端，含有自由  $\alpha$ -羧基的一端称为羧基端或 C 端：N 至 C。

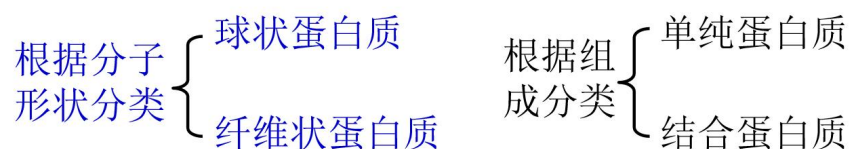
多肽的命名是从 N-端的氨基酸残基开始，称：某氨酰某氨酰-----某氨基酸。

#### 2. 天然活性肽：

还原性谷胱甘肽，脑啡肽，P-物质，短杆菌肽 S(环十肽)，artificial sweetener-aspartame or NutraSweet；多肽类激素-胰高血糖素、催产素；多肽类抗生素；蛇毒多肽（卡托普利）等。

## 二、蛋白质的分类

蛋白质的多样性：组成、大小、结构、功能的多样性



单纯蛋白：清蛋白和球蛋白；谷蛋白和醇溶谷蛋白；精蛋白和组蛋白；硬蛋白（角蛋白、胶原蛋白、弹性蛋白、丝蛋白）

结合蛋白：核蛋白、色蛋白（血红蛋白，肌红蛋白，细胞色素，血蓝蛋白）、糖蛋白；脂蛋白（LDL, HDL）；磷蛋白（酪蛋白、卵黄蛋白）

蛋白质的结构分为四个结构层次：一级结构、二级结构、三级结构、四级结构。一级结构是蛋白质中氨基酸的排列顺序和二硫键的位置，即化学结构；二、三、四级结构这是蛋白质的空间结构。

## 三、蛋白质的一级结构

### 1. 蛋白质一级结构的测定

蛋白质的一级结构也叫蛋白质的共价结构，是指氨基酸在多肽链上的排列顺序。如果一种蛋白质含有二硫键，那么其一级结构还包括二硫键的数目和位置。

蛋白质一级结构测定是研究蛋白质其他层次的结构和蛋白质功能的基础。测定一级结构的方法有直接测定法和间接测定法。

间接测定法：了解

间接测定法是先得到某一种蛋白质基因的核苷酸序列，然后根据通用的遗传密码表间接推导出由其决定的氨基酸序列。如果是原核生物，可先直接从它的基因组 DNA（genomic DNA）中得到目标蛋白的基因，然后测定基因的碱基序列，找出可读框（open reading frame, ORF），最后根据遗传密码反推出氨基酸序列；如果是真核生物，可以先得到目标蛋白的 cDNA，然后测定 cDNA 的碱基序列，找出 ORF，最后同样根据遗传密码反推出氨基酸序列。真核生物一般不能直接从基因组 DNA 得到基因序列来推断其决定的氨基酸序列，是因为真核生物的蛋白质基因内部大多含有不决定任何氨基酸序列的内含子（intron）。间接测定法的优点是快速，不需要纯化蛋白质，与直接测定多肽链的氨基酸序列相比，测定 DNA 的碱基序列要容易得多。但其缺点是，无法确定经后加工的蛋白质的最终序列，无法确定修饰的氨基酸，也得不到任何二硫键的信息。间接测定法对含量低、不容易纯化的蛋白质很有用。许多难以纯化的膜内在蛋白都是用这种方法最先得到的它们的一级结构的。另外，对于一些未知的蛋白质，间接测定法也很有用。例如，人们本来并不知道有神经珠蛋白的存在，更不知道它只在脑和视网膜中表达。但在分析脑 cDNA 库序列的时候，发现其中的一种 cDNA 似乎编码一种与 Mb 相似的蛋白质。在使用这种 cDNA 制作的探针对脑细胞进行检测以后，证明了脑细胞的确能表达神经珠蛋白的 mRNA。

**直接测定法：**直接测定法前后需要 9 大步，依次是：

- 1) 纯化目标蛋白
- 2) 拆分肽链。如果目标蛋白含有 2 条或 2 条以上不同的肽链，必须先进行拆分，然后纯化出各条单链，再进入下一步，分别测定各条肽链的序列。
- 3) 打破二硫键。有许多方法可用来切开二硫键。Anfinsen 曾经使用巯基乙醇将胰核糖核酸酶的链内二硫键还原，使其破坏。这种方法也适用于亚基之间的链间二硫

键。另外也可以用还原型的二硫苏糖醇（dithiothreitol, DTT）代替巯基乙醇来还原二硫键。

- 4) 分析各单链的氨基酸组成
- 5) 末端氨基酸残基的鉴定
- 6) 将肽链切成小的片段，再测定各小片段的氨基酸序列

测定肽段序列的方法有 Edman 降解和质谱。质谱的基本原理是：待测样品在特定的条件下可转变为高速运动的离子。这些离子根据质量、电荷比的不同在静电场和磁场的作用下得到分离，使用特定的检测器可记录各种离子的相对强度并形成质谱图。根据质谱图，不仅可以确定分子的结构、大小，还可测定蛋白质的氨基酸序列。化学裂解法（CNBr），酶水解（胰蛋白酶，双向纸层析和电泳-茚三酮显色—指纹图谱）

- 7) 选择不同的切点，重复步骤 6
- 8) 根据片段重叠法，推断出肽链的全序列
- 9) 二硫键的定位 如果一种蛋白质分子含有二硫键，则还需要对二硫键进行准确定位。

根据 Edman 降解法设计的氨基酸测序仪（液相测序仪、固相测序仪、气相测序仪）--蛋白质序列库 PDB

- 1) 测定蛋白质分子中**多肽链的数目**
- 2) 肽链的拆开和分离 **纯化目标蛋白**
- 3) **二硫键的断裂**
- 4) 测定每条多肽链的**氨基酸组成**，并计算出氨基酸成分的分子比
- 5) 肽链**N端、C端的测定**
- 6) **多肽链断裂**（不同方法）
- 7) 测定每个肽段的氨基酸顺序。
- 8) 确定肽段在多肽链中的次序（**片段重叠法**）。
- 9) 确定原多肽链中**二硫键的位置**。

### 3) 二硫键的断裂

在**8mol/L**尿素或**6mol/L**盐酸胍存在下，用过量的 **$\beta$ -巯基乙醇**处理，使二硫键还原为巯基，然后用**烷基化试剂（碘乙酸）**保护生成的巯基，以防止它重新被氧化。

#### 4) 测定每条多肽链的氨基酸组成及占比

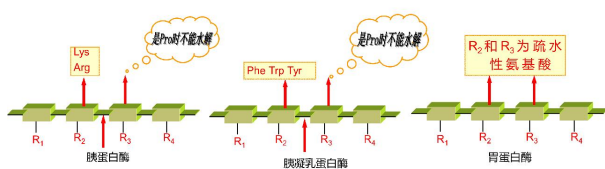
##### 酸水解

**6 mol/L**盐酸或**4 mol/L**硫酸，**105-110°C**水解约**20h**。  
**优点**：不容易引起水解产物的消旋；  
**缺点**：**Trp**被完全破坏；**Ser**和**Thr**一小部分被分解；**Asn**和**Gln**酰胺基被水解，生成相应的氨基酸和氨。

##### 碱水解

**5 mol/L**氢氧化钠煮沸**10-20h**。  
**优点**：**Trp**不受破坏  
**缺点**：许多氨基酸都受到不同程度的破坏，产率不高；  
**产生消旋现象**；  
**Arg**脱氨生成鸟氨酸和尿素。

### 6) 多肽链的部分裂解



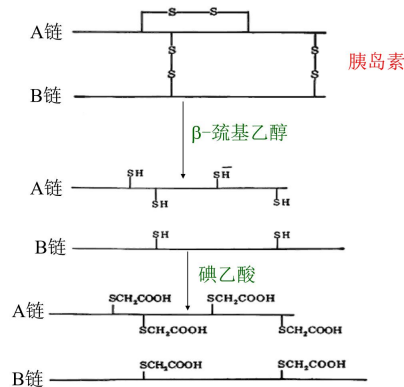
**化学法**：溴化氰水解法，选择性地切割由甲硫氨酸**Met**的羧基所形成的肽键。

### 1) 测定蛋白质分子中多肽链的数目

测定**N-端**或**C-端**氨基酸残基的摩尔数确定多肽链的数目

### 2) 肽链的拆开和分离

几条多肽链借助非共价键连接在一起，称为寡聚蛋白质，如血红蛋白为四聚体；可用**8mol/L**尿素或**6mol/L**盐酸胍处理，即可分开多肽链(亚基)。



### 5) 肽链N端、C端的测定

在肽链氨基酸顺序分析中，最重要的是**N-端**氨基酸分析



#### N-端测定

- (1) Sanger法
- (2) Edman法
- (3) DNS-Cl
- (4) 氨肽酶法

#### C-端测定

- (5) 肼解法
- (6) 羧肽酶法

### 7) 测定每个肽段的氨基酸顺序

采用Edman降解法测定各肽段的氨基酸序列

### 8) 确定肽段在多肽链中的次序

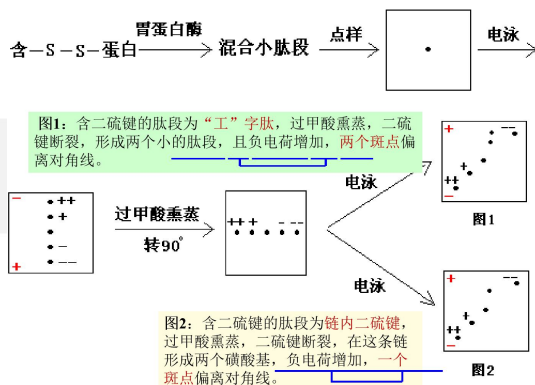
利用两套或多套肽段的氨基酸顺序彼此间的交错**重叠**，拼凑出整条多肽链的氨基酸顺序。





### 9) 确定原多肽链中二硫键的位置

一般先采用胃蛋白酶处理没有断开二硫键的多肽链；然后利用双向电泳技术（对角线电泳）分离出各个肽段；（过甲酸熏蒸，区分链内二硫键、链间二硫键）



**练习 1:** 有一个九肽，用胰蛋白酶水解得到：（1）Ala-Ala-Trp-Gly-Lys；（2）Thr-Phe-Val-Lys；用胰凝乳蛋白酶/糜蛋白酶水解得到：（3）Val-Lys-Ala-Ala-Trp；（4）Thr-Phe；（5）Gly-Lys；确定此九肽的氨基酸顺序。

解：用胰蛋白酶水解得到：

（1）Ala-Ala-Trp-Gly-Lys （2）Thr-Phe-Val-Lys

这两个片段哪个在前哪个在后不能确定

用胰凝乳蛋白酶/糜蛋白酶水解得到：

（3）Val-Lys-Ala-Ala-Trp （4）Thr-Phe （5）Gly-Lys

（3）和（1）比可确定Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Gly-Lys

（4）和（2）比可知Thr-Phe在Val-Lys之前。

因此顺序为：Thr-Phe-Val-Lys-Ala-Ala-Trp-Gly-Lys

**练习 2:** 有一肽链，用下述试剂降解后，结果如下：

1. 酸解：（1）（Ala, Asp, Glu<sub>2</sub>, Lys<sub>2</sub>, Met, Phe）

（1）表明此肽是一个八肽

2. 羧肽酶：（2）第一次降解出的氨基酸是Glu

（2）C端的氨基酸是Glu

3. 胰蛋白酶：（3）（Glu, Lys）（4）（Asp, Lys, Phe）

（5）（Ala, Glu, Met）

（3）Glu-Lys-，（4）\_ \_ Lys，（5）\_ \_ Glu(位于C端)



4. CNBr水解: (6) (Asp, Glu, Lys<sub>2</sub>, Met, Phe)

(7) (Ala, Glu)

(6) \_ \_ \_ \_ -Met, (7) 由(5)可知Met-Ala-Glu

5. 糜蛋白酶: (8) (Glu, Lys, Phe)

(9) (Ala, Asp, Glu, Lys, Met)

(8) 由(3)可知Glu-Lys-Phe

(9) 由(7)可知\_ \_ -Met-Ala-Glu, 由(8)知Glu-Lys-

Phe, 所以, (4)顺序为: Phe-Asp-Lys

此肽的aa顺序为:

Glu-Lys-Phe- Asp-Lys -Met-Ala-Glu

**作业 1:** 有一八肽, 氨基酸组成为 Asp、Ser、Gly、Ala、Met、Phe、2Lys, 又做了一

系列分析, 结果如下: a. 与 DNFB 反应, 再酸水解得 DNP-Ala;

b. 用胰凝乳蛋白酶处理, 得到一个四肽, 其组成为 Asp、Gly、Lys、Met 此四肽与 DNFB 反应后得 DNP-Gly;

c. 胰蛋白酶处理得到两个三肽和一个二肽, 两个 三肽的氨基酸组成分别为 Lys、Ala、Ser 和 phe、Lys、Gly。一个二肽经 CNBr 处理后游离出自由的 Asp。请推出此八肽的一级结构。

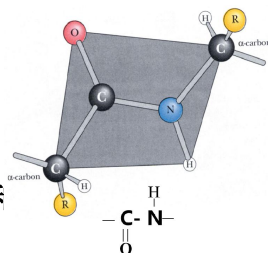
#### 四、蛋白质的二级结构

蛋白质的二级结构是指多肽链的主链 (backbone) 部分 (不包括 R 基团) 在局部形成的一种有规律的折叠和盘绕, 其稳定性主要由主链上的氢键决定。

常见的二级结构有  $\alpha$  螺旋 (alpha-helix)、三股螺旋 (triple helix)、 $\beta$  折叠 (beta-sheet)、 $\beta$  转角 (beta-turn)、 $\beta$  凸起 (beta-bulge)、环和无规则卷曲 (random coil)。其中前六种比较有规律。

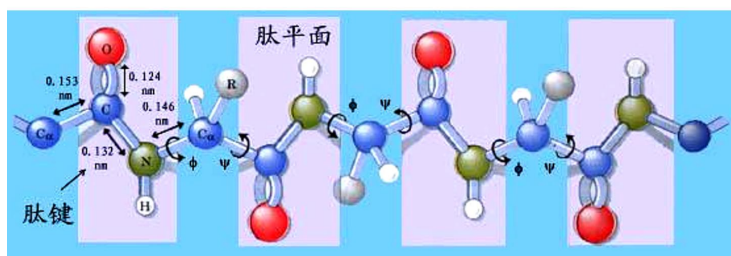
##### 肽键的性质、酰胺平面与二面角

➤ 具有部分双键的性质, 其键长为 0.133nm, 介于一个典型的单键和双键之间。



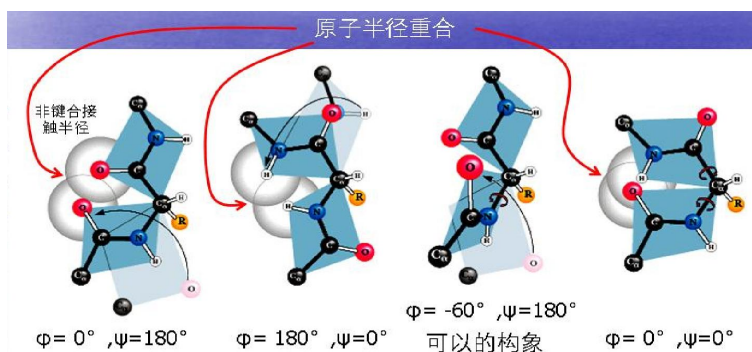
- 多为反式，但是 X-Pro 是例外。
- 具有双键性质的肽键不能自由旋转，与肽键相关的 6 个原子共处于一个平面，此平面结构被称为酰胺平面或肽平面
- 与  $C^\alpha$  相连的两个单键可以自由旋转，由此产生两个旋转角（ $C^\alpha - N - \phi(\text{phi})$ ， $C^\alpha - C - \psi(\text{psi})$ ），确定所有氨基酸残基的二面角，可确定肽链主链骨架的基本走向。

多肽链的主链可以看成是由一系列坚硬的平面组成，平面之间被  $\alpha$ -碳原子隔开。



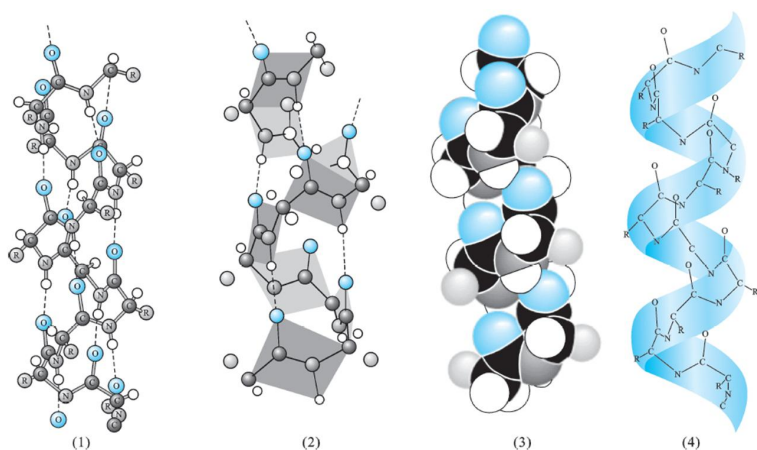
肽链的结构分析：链上的  $C^\alpha - N$ 、 $C^\alpha - C$  键可以旋转，但也不是完全自由的：

- 主链上有三分之一是不能旋转的  $C-N$  键；
- 这两个键旋转时将受到  $\alpha$ -碳原子上的侧链 R 基的空间阻碍影响；
- $C^\alpha - N$  和  $C^\alpha - C$  键旋转  $0^\circ$  时  $C^\alpha$  相邻的两个肽键上羰基氧原子与亚氨基氢原子将互相重叠。



多肽链的构象数目受酰胺平面的很大限制：肽链中的任何一个氨基酸残基只有2个角度（ $C-N$ 单键旋转的  $\phi(\text{phi})$ ， $C-C$ 单键旋转的  $\psi(\text{psi})$ ）。确定所有氨基酸残基的二面角，该肽链主链骨架的基本走向也就确定了。

1.  $\alpha$  螺旋:  $\alpha$  螺旋是一种最常见的二级结构, 最先由 Linus Pauling 和 Robert Corey 于 1951 年提出。其主要内容包括:



(1) 肽链主链围绕一个虚拟的轴以螺旋的方式伸展。

(2) 螺旋的形成是自发的, 主要由主链上的氢键来稳定。氢键在  $n$  位氨基酸残基上的  $C=O$  与  $n+4$  位残基上的  $N-H$  之间形成。被氢键封闭的环共含有 13 个原子, 因此  $\alpha$  螺旋也称为  $3.6_{13}$  螺旋。螺旋的前、后 4 个氨基酸残基通常不能形成全套螺旋内氢键, 这些残基需要与水分子或蛋白质内部的其他基团形成氢键后才能稳定下来。

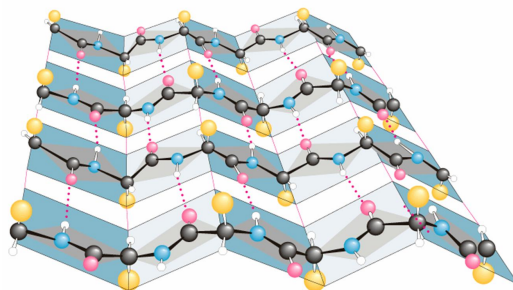
(3) 每隔 3.6 个残基, 螺旋上升一圈。每一个氨基酸残基环绕螺旋轴  $100^\circ$ , 螺距为  $0.54\text{nm}$ , 即每个氨基酸残基沿轴上升  $0.15\text{nm}$ 。螺旋的半径为  $0.23\text{nm}$ , 二面角 ( $\phi$ ,  $\psi$ ) 约为 ( $-57^\circ, -47^\circ$ )。

(4)  $\alpha$  螺旋有左手和右手之分, 但在蛋白质分子中发现的  $\alpha$  螺旋主要是右手螺旋, 左手螺旋很少见。这是因为蛋白质中的氨基酸只有 L 型, 若形成左手螺旋, L 型氨基酸的  $\beta$  碳和羰基氧在空间上会发生冲突, 其稳定性会降低。

(5) 氨基酸残基的 R 基团伸展在螺旋的表面, 虽不参与螺旋的形成, 但其大小、形状和带电状态却能影响到螺旋的形成和稳定性。

## 2. $\beta$ 折叠

$\beta$  折叠又称为  $\beta$  折叠片层，这是 Pauling 和 Corey 继发现  $\alpha$  螺旋结构后，同年发现



的又一种重要的蛋白质二级结构。

与  $\alpha$  螺旋相比， $\beta$  折叠是肽链的一种更加伸展的结构，主链呈扇面状展开。其主要特征包括：（1）肽段几乎完全伸展，肽平面之间成锯齿状。

（2）相邻肽段呈现平行排列，相邻肽段之间的肽键形成氢键，其中的每一股肽段称为  $\beta$  股（ $\beta$  strand）。

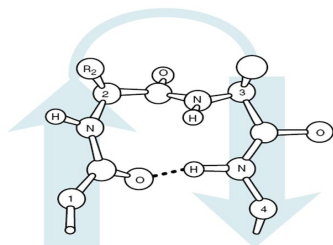
（3）R 基团垂直于相邻两个肽平面的交线，并交替分布在折叠片层的两侧。

（4）肽段的走向有正平行和反平行两种。正平行经常简称为平行，指相邻  $\beta$  股的 N-端位于同侧，反平行正好相反。在反平行折叠中，氢键的三个原子（N-H-O）几乎位于同一直线上，因此反平行折叠更加稳定，其存在的机会就更大。

（5）反平行  $\beta$  折叠的每一个氨基酸残基上升  $0.347\text{nm}$ ，二面角（ $\phi, \psi$ ）约为（ $-135^\circ, +140^\circ$ ），平行  $\beta$  折叠的每一个氨基酸残基上升  $0.325\text{nm}$ ，二面角（ $\phi, \psi$ ）约为（ $-120^\circ, +105^\circ$ ）。

### 3. $\beta$ 转角

$\beta$  转角也称  $\beta$  弯曲 (beta-bend)、 $\beta$  回折 (beta-reverse turn)、紧密转角 (tight turn) 或发夹结构(hairpin structure)。这种结构是指伸展的肽链形成  $180^\circ$  的 U 形回折。



其主要特征包括：

- (1) 主链以  $180^\circ$  的回折而改变了方向。
- (2) 由肽链上四个连续的氨基酸残基组成，其中  $n$  位氨基酸残基的  $\text{C}=\text{O}$  与  $n+3$  位氨基酸残基的  $\text{N}-\text{H}$  形成氢键。
- (3) Gly 和 Pro 经常出现在这种结构之中。这是因为 Gly 的 R 基团最小，很容易调整其在  $\beta$  转角中的位置，降低与其他残基（尤其是 R 基团大的残基）之间可能形成的空间位阻，而 Pro 则具有相对刚性的环状结构和固定的  $\phi$ ，在某种程度上能迫使转角的形成。
- (4) 有利于反平行  $\beta$  折叠的形成。这是因为  $\beta$  转角改变了肽链的走向，促进相邻的肽段各自作为  $\beta$  股，形成  $\beta$  折叠。

#### 4. 无规卷曲

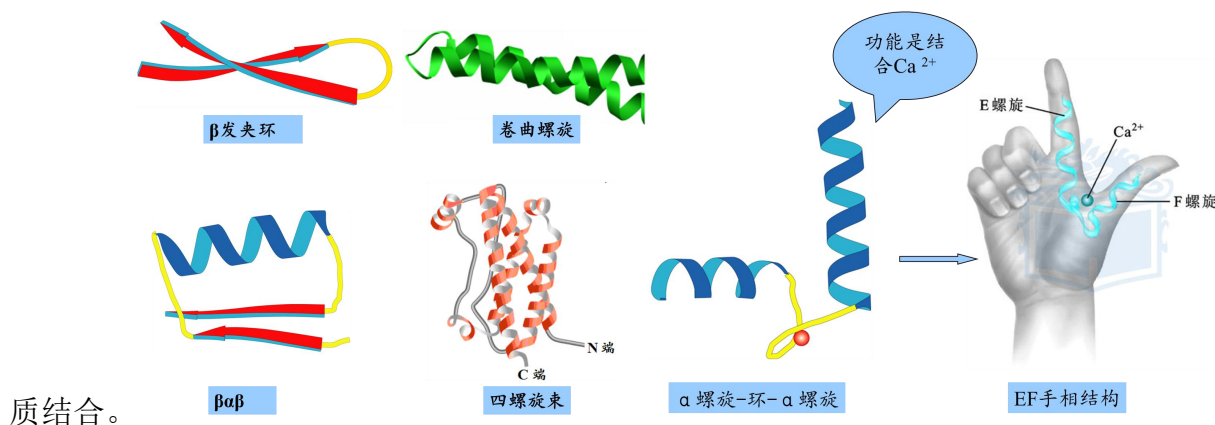
- (1) 相对于上述三种有序的二级结构外，蛋白质分子中存在一些没有一定规律的松散肽链结构，通称为无规卷曲结构，但它决不是任意的，对每一种蛋白质的无规卷曲而言，也是特定的。
- (2) 酶的活性中心常常处于这种构象区域里。
- (3) 主要存在于球状蛋白中

## 五、超二级结构和结构域

若干相邻的二级结构单元组合在一起，彼此相互作用，形成有规则的、在空间上能辨认的二级结构组合体叫做超二级结构，充当三级结构的构件。在球状蛋白中较为多见。

模体：相当于超二级结构（super-secondary structure），介于蛋白质二级结构和三级结构之间，由相邻的二级结构单元彼此相互作用，组合在一起，排列成规则的、在空间结构上能够辨认的二级结构组合体，并充当三级结构的构件。如果一种结构模体对应于一种特定的生物功能，这种结构模体可称为功能模体（functional motif）。

例如，EF 手相是一种典型的功能模体。它是由 E 螺旋、F 螺旋和螺旋之间的一个环组成，已被发现存在于多种与  $\text{Ca}^{2+}$  结合的  $\text{Ca}^{2+}$  传感器蛋白上， $\text{Ca}^{2+}$  在环上与蛋白

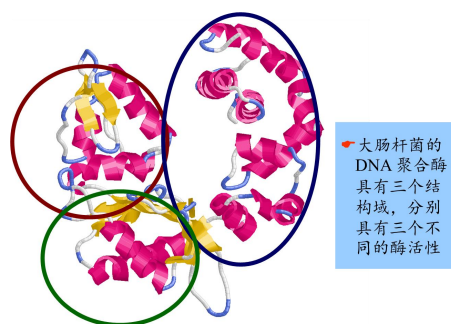


结构域：较大的蛋白质一般会折叠成两个或多个相对独立的球状区域。这些相对独立的球状结构和/或功能模块称为结构域。每一个结构域通常是独自折叠形成的，内部都有一个疏水的核心，并含有一个或几个模体结构。疏水的核心是结构域稳定存在所必需的。

结构域在结构上是相对独立的，在功能上也是如此。许多蛋白质的结构域在特殊的条件下被分开以后，每一个结构域仍然保留各自原有的功能。例如，大肠杆菌 DNA



聚合酶 I 含有三个结构域，分别有 DNA 聚合酶、3' -外切核酸酶和 5' -外切核酸酶的活性。使用胰蛋白酶可以将其中的一个结构域和另外两个结构域分开。利用这种方法游离出来的小结构域具有 5' -外切核酸酶活性，另外两个结构域保留 DNA 聚合酶和 3' -外切核酸酶活性。在许多参与激活基因转录的激活蛋白分子上，结构域所具有的相对独立性更是表现得淋漓尽致：这些激活蛋白一般有两个结构域，一个负责与 DNA 特异性结合，另一个负责激活基因的表达。当将 DNA 结合结构域与一种本来并不能结合 DNA 的蛋白质 A 融合，再将激活基因表达的结构域与另外一种并不能激活基因表达的蛋白质 B 融合以后，令人惊奇的是，如果 AB 之间能够发生特异性相互作用，那么，AB 在相互结合以后，竟然能够作为一个整体，去激活报告基因的表达。有人正是根据这一点，发明了一种研究蛋白质与蛋白质相互作用的酵母双杂交技术。当然，并不是所有的蛋白质在结构域被人为分开以后，可以保证功能不受到影响。如果一种蛋白质的某项功能由它的两个结构域共同承当，显然，对于这样的蛋白质，其结构域的分离必然会影响到它的功能。还有一种情形，一个结构域的功能是调节另外一个结构域的活性，例如某些酶的催化中心在一个结构域上，调节酶活性的别构中心在另外一个结构域上，如果将这两个结构域分开的话，这些酶的活性将不再受原来的与别构中



心结合的别构效应物的调节。

## 六、蛋白质的三级结构

三级结构是指构成蛋白质的多肽链在二级结构的基础上，进一步盘绕、卷曲和折叠，形成的特定空间结构，它包括了肽链上所有原子的空间排布。三级结构通常由模体（motif）和结构域（domain）组成。一种蛋白质的全部三维结构又可以称为它的构象（conformation）。

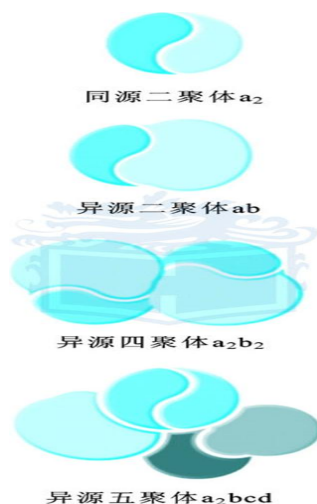
稳定三级结构的化学键主要是次级键，其包括氢键、疏水键、离子键、范德华力。有的金属蛋白还借助于金属配位键来稳定它们的三级结构。此外，属于共价键的二硫键也参与稳定许多蛋白质的三维结构。

疏水键：

构成蛋白质的疏水残基上的各种非极性 R 基团或者其他生物分子上的疏水基团避开水相，互相聚集在一起而形成的作用力称为疏水键，也称疏水作用力，其键能 $<40 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。疏水键并不是发生在疏水基团之间的一种主动吸引力，而是一种受热力学第二定律驱动的作用力。将疏水基团集中在蛋白质内部的疏水核心在能量上是有利的，因为它降低了疏水基团与水分子之间不利的作用，反而使疏水基团之间的范德华力大大增加。

## 七、蛋白质的四级结构

蛋白质的四级结构



具有两条或两条以上多肽链的蛋白质如果不是以二硫键相连，则认为它们具有四级结构，其中的每一个亚基都有自己的三级结构。蛋白质的四级结构内容包括亚基的种类、数目、空间排布以及亚基之间的相互作用。

驱动四级结构形成或稳定四级结构的作用力包括氢键、疏水键、范德华力和离子键，这与一个单亚基蛋白稳定其内



部折叠结构的键是一样的。虽然亚基之间的结合伴随着有序性的提高而导致熵的减少，这似乎在热力学上是不利的，但亚基结合使本来暴露在表面的疏水残基埋入到内部（亚基间的界面）却在热力学上又是有利的。 **血红蛋白**

具有四级结构的蛋白质具有特殊的优势，总结起来有八点：（1）通过减少蛋白质表面积和体积的比率而提高蛋白质的稳定性；（2）提高遗传学上的经济与效率。如果有大小相同的两种蛋白质，一种只有一条多肽链组成，另一种由两个相同的亚基组成，显然编码后者比前者所需要的碱基序列要少，而且表达的效率更高；（3）有利于某些酶的活性中心的组装。如果蛋白质是酶，形成寡聚体可将催化位点聚集在一起。许多酶是从亚基的聚合获得催化或部分催化能力的。有时，单个亚基可能建立不了一个完整的活性中心，只有形成寡聚体才能将所有必需的催化基团集中在一起，组成一个有活性的酶。；（4）能产生协同效应；（5）减少翻译出差错的机会。因为与同样大小的单体蛋白相比，构成寡聚体蛋白质的肽链更短，翻译出错的机会就更小；（6）改变一种蛋白质功能的特异性。例如，细菌的 RNA 聚合酶由  $\sigma$  因子和核心酶组成，只有结合有  $\sigma$  因子的核心酶才能识别启动子，启动基因的转录；（7）有利于酶活性的调控。许多酶由调节亚基和催化亚基组成，当调节亚基与特殊的配体分子结合以后，会影响到催化亚基的活性。还有些酶具有单体（无四级结构）和寡聚体（具有四级结构）两种形式，但只有一种形式有活性；（8）有利于包装成更加庞大的结构。例如，病毒的衣壳通常由同一个相同的亚基自组装而成。

**拓展：1. 抗菌肽以及多肽类药物（卡托普利）**

**思考：蛋白质结构与功能之间的关系（一级结构与高级结构，高级结构与功能）**

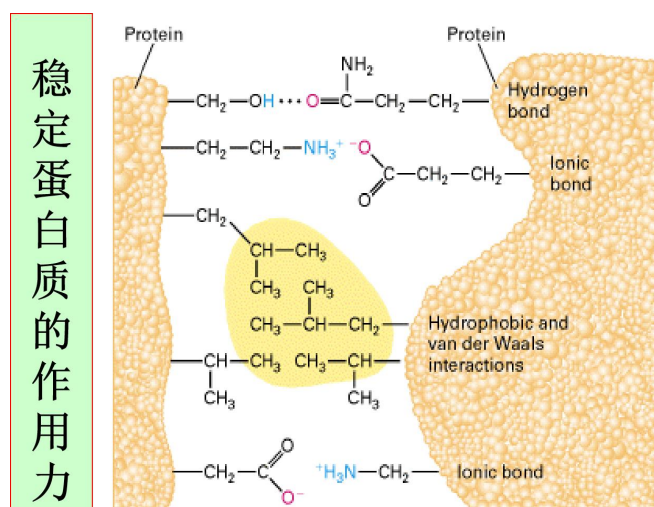
## 八、维持蛋白质结构的空作用力

共价键：肽键、 二硫键、 配位键；

肽键是维持蛋白质一级结构的主要键；二硫键和配位键有时在维持一级结构起作用,有时在维持三级结构起作用。

次级键：氢键、疏水作用、范德华力、离子键；

次级键较弱，但各种次级键加在一起，就产生足以维持蛋白质空间结构的强大作用力。



维持蛋白质一级结构的化学键是共价键，如肽键、二硫键、配位键。但二硫键和配位键有时是维持蛋白质空间结构的键。维持蛋白质二级结构的化学键主要是氢键。维持蛋白质三级和四级结构的化学键是疏水键、离子键、氢键、范德华力。

### 7.3.5 教学方法

本单元的教学方法主要采用课堂讲授和举例分析的形式进行。

### 7.3.6 作业安排及课后反思

**作业 1：**有一八肽，氨基酸组成为 Asp、Ser、Gly、Ala、Met、Phe、2Lys，又做了一系列分析，结果如下：a.与 DNFB 反应，再酸水解得 DNP-Ala；  
b. 用胰凝乳蛋白酶处理，得到一个四肽，其组成为 Asp、Gly、Lys、Met 此四肽与 FDNB 反应后得 DNP-Gly；  
c. 胰蛋白酶处理得到两个三肽和一个二肽，两个三肽的氨基酸组成分别为 Lys、Ala、Ser 和 phe、Lys、Gly。一个二肽经 CNBr 处理后游离出自由的 Asp。请推出此八

肽的一级结构。

**思考题：**结合蛋白质的组成、结构及维持的作用力思考在预测蛋白质结构时需要考虑哪些因素？

### 7.3.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。对物理化学、有机化学和生物化学的基础有一定要求。

### 7.3.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学原理》，科学出版社，2016，第三章蛋白质（P83-99）

《生物化学原理》（第3版）杨荣武. 高等教育出版社, 2019

中国大学 MOOC 网-南京大学-《结构生物化学》

## 7.4 教学单元四 第二章 蛋白质化学-蛋白质的构效关系（2 学时）

### 7.4.1 教学日期

第二周第四次课(09/08)

### 7.4.2 教学目标

掌握血红蛋白结构与功能的关系；熟悉纤维状蛋白以及球状蛋白的结构特点；了解一级结构对高级结构的影响、一级结构与功能的关系、高级结构与功能的关系。

### 7.4.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：血红蛋白的结构与功能的关系。

难 点：一级结构、高级结构与功能的关系。

主要知识点：S 型氧结合曲线、波尔效应、变构蛋白、分子病、 $\alpha$ -角蛋白、 $\beta$ -角

蛋白、胶原蛋白

#### 7.4.4 教学过程

### 第三节 蛋白质的结构与功能的关系

#### 一、蛋白质的功能

#### 二、蛋白质结构与功能关系的一般原则

#### 三、几种重要的蛋白质的结构与功能

◆ 纤维状蛋白质的结构与功能： $\alpha$  角蛋白、 $\beta$  角蛋白、胶原蛋白

◆ 球状蛋白质的结构与功能：肌红蛋白、血红蛋白

#### 一、蛋白质的生物功能

👉 酶 ——核糖核酸酶

👉 信号转导——胰岛素与其受体

👉 基因表达的调控——转录因子

👉 免疫——抗体

👉 运输和贮存——血红蛋白和肌红蛋白

👉 结构蛋白——毛发和胶原

👉 收缩蛋白——肌动蛋白和肌球蛋白

👉 奇异蛋白——南极鱼的抗冻蛋白

👉 兼职蛋白——具有两个或两个以上不同功能的蛋白质

#### ➤ 兼职蛋白（moonlighting proteins）

定义：一些蛋白质虽然只有一种结构，但却能行使几种甚至多种不同的功能。这些兼有其他功能的蛋白质被称为兼职蛋白。

实例：磷酸己糖异构酶除了在细胞内参与糖酵解以外，还能由 T 淋巴细胞分泌到胞外充当一种神经白介素，促进胚胎内某些脊髓神经元和感觉神经元的存活，以及促进 B

淋巴细胞的成熟。还有一种自分泌运动因子在由某些癌细胞分泌以后，可刺激癌细胞的迁移和扩散；参与糖酵解的 3-磷酸甘油醛脱氢酶以四聚体的形式存在于细胞液，而当以单体的形式存在于细胞核的时候，它却是一种尿嘧啶-DNA 糖苷酶，参与 DNA 的碱基切除修复。

## 二、蛋白质结构与功能关系的一般原则

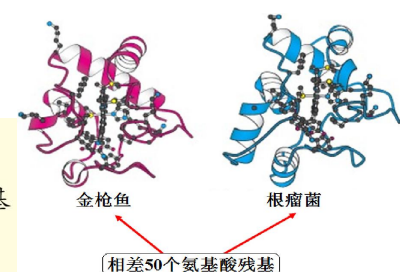
- (1) 每一种蛋白质都具有特定的结构，也具有特定的功能。一旦结构（特别是高级结构）破坏，其功能随之丧失。
- (2) 蛋白质的高级结构决定蛋白质的功能。
- (3) 蛋白质的一级结构决定其高级结构，因此，最终决定了蛋白质的功能。
- (4) 一级结构相似的蛋白质具有相似的功能。
- (5) 功能相似的蛋白往往能显示它们在进化上的亲缘关系，这是研究分子进化的基础。
- (6) 许多疾病是蛋白质结构异常引起，属于构象病。

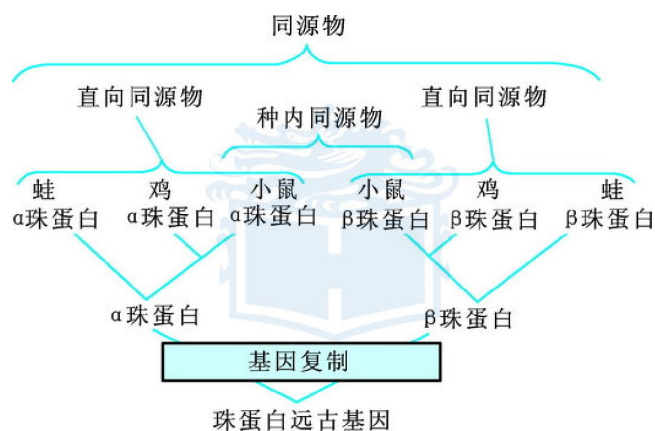
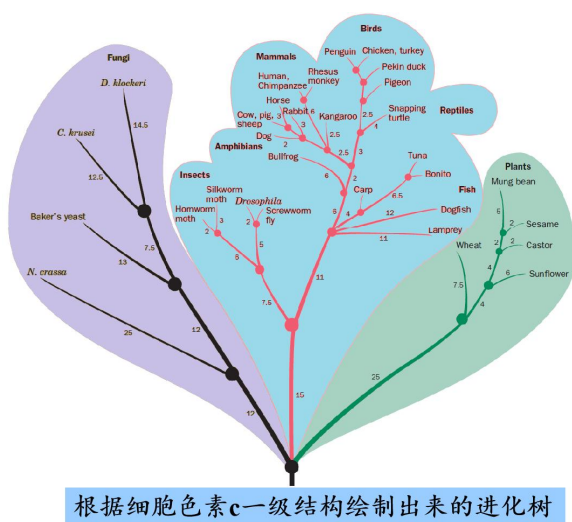
### 实例：细胞色素 c：相似的序列-相似的结构-相同的功能

	人	黑猩猩	绵羊	响尾蛇	鲫鱼	蜗牛	烟草小菜蛾	面包酵母	花椰菜	欧防风
人	0	10	14	18	29	31	44	44	43	43
黑猩猩		10	14	18	29	31	44	44	43	43
绵羊			20	11	24	27	44	46	46	46
响尾蛇				26	28	33	47	45	43	43
鲫鱼					26	26	44	47	46	46
蜗牛						28	48	51	50	50
烟草小菜蛾							44	44	41	41
面包酵母								47	47	47
花椰菜									13	13

不同物种的细胞色素c一级结构的比较

- ① 存在于所有的需氧生物：从细菌到人类
- ② 大多数都由104个氨基酸组成，26/104不变
- ③ 在15亿年之前，动、植物开始“分家”并进化
- ④ 两个物种之间氨基酸的差异程度反映了它们之间的亲缘关系，据此可绘出进化树
- ⑤ 氨基酸的差异不是随机的
- ⑥ 氨基酸的差异由自然选择才保留下来





### 蛋白质进化的几种情形:

- 类似物 (analog)。专指具有相同的功能，但起源于不同的祖先基因的蛋白质，它们是基因趋同进化的产物 (convergent evolution)。
- 同源物 (homolog)。专指存在于不同生物或者同种生物，来源于某一共同祖先基因的蛋白质。
  - ✧ 种间同源物 (ortholog)，也称为直向同源物或直系同源物，属于同源物中的一种，专指来自于不同物种的由垂直家系 (物种形成) 进化而来的蛋白质，它们通常保留与原始蛋白相同的功能，但也不尽然。
  - ✧ 种内同源物或旁系同源物 (paralog)。属于同源物中的另外一种，专指同一物种内由于基因复制、分离产生的同源物。

### 三、几种重要的蛋白质的结构与功能

#### 1. 纤维状蛋白质的结构与功能: α角蛋白、β角蛋白、胶原蛋白

**纤维蛋白(fibrous protein):** 一类广泛分布于脊椎和无脊椎动物体内的蛋白质，是动物体的基本支架和外保护成分，占脊椎动物体内蛋白质总量的一半以上。通常都含有呈现相同二级结构的多肽链。许多纤维蛋白结合紧密，为单个细胞或整个生物体提供机



械强度，起保护或结构上的作用。

**角蛋白 keratin:** 广泛存在于动物的皮肤及皮肤的不溶性蛋白质，如毛发、甲、角、鳞和羽等，属于结构蛋白，角蛋白可分为  $\alpha$ -角蛋白和  $\beta$ -角蛋白。

### (1) $\alpha$ 角蛋白的结构层次

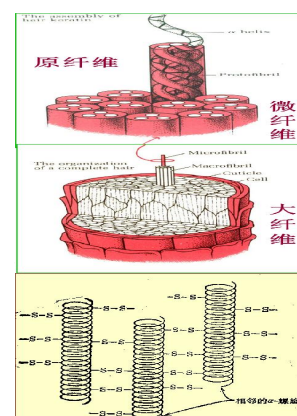
毛发中的  $\alpha$ -角蛋白是由三条右手  $\alpha$ -螺旋肽链向左缠绕，形成一个原纤维，

原纤维（9+2）排列成微纤维，成百根微纤维组成大纤维。

原纤维的链间形成多个二硫键，进一步提高  $\alpha$  角蛋白的强度；

**烫发或直发的原理:**

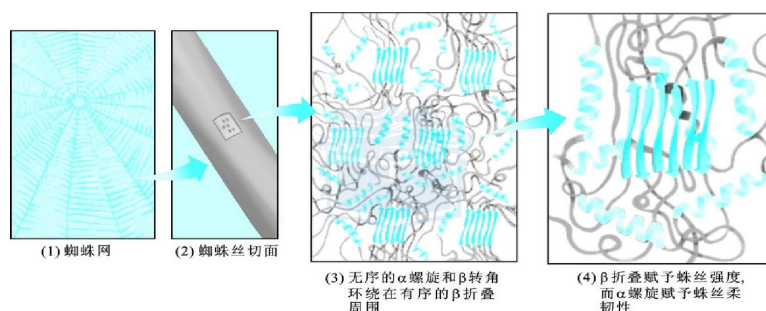
- ✓ 加热或外力拉直，氢键被破坏后可转变为  $\beta$  角蛋白（ $\beta$  折叠结构）
- ✓ 侧链 R 基较大，不适于处在  $\beta$ -折叠构象状态；
- ✓ 多肽链间有很多二硫键交联，当外力解除后能使肽链恢复原状。



### (2) $\beta$ -角蛋白

丝心蛋白(fibroin, 蚕丝和蜘蛛丝) 抗张强度高，质地柔软特性。

- 一级结构: 富含 Ala 和 Gly, 具有重复序列 Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala;
- 二级结构: 主要是有序的反平行  $\beta$  折叠，还有一些无序的  $\alpha$  螺旋和  $\beta$  转角环绕在  $\beta$  折叠的周围。Gly 和 Ala/Ser 分别分布于折叠片层的两侧，使得相邻的  $\beta$  折叠更加紧密地堆积形成网状结构，从而赋予丝较高的抗张性能。同时  $\alpha$  螺旋又使蛛丝具有一定的柔软性。与  $\alpha$  角蛋白不同的是，相邻的  $\beta$  角蛋白之间没有共价交联。



(3) 胶原蛋白(collagen): 或称胶原, 很多脊椎动物和无脊椎动物体内(肌腱、骨骼、皮肤、血管)含量最丰富的蛋白质, 属于结构蛋白质。

**胶原蛋白的三股螺旋:** 胶原蛋白的基本组成单位-**原胶原分子**, 是由 3 条特殊的左手  $\alpha$  螺旋肽链组成的右手超螺旋结构。3 条  $\alpha$  链可以相同, 也可以不同。

原胶原蛋白的一级结构: 约 1/3 是 Gly, Pro 含量也很高 (~ 12%), 具有三种修饰的氨基酸, 即 4-羟脯氨酸、3-羟脯氨酸 (~ 9%) 和 5-羟赖氨酸; 每一条肽链都具有重复的 Gly-X-Y 三联体序列。X 和 Y 通常是 Pro, 但也可能是 Lys。

富含 Gly 和 Pro 的性质使得它难以形成  $\alpha$ -螺旋, 但有规律重复的三联体序列促进了三条链之间形成三股螺旋。

**思考题:** Pro 和 Lys 的羟基化反应与维生素 C 缺乏引发坏血病的关系。

- ✓ Pro 和 Lys 的羟基化是为了弥补 Pro 亚氨基形成肽键后造成的氢键供体的不足, 有助于三股螺旋的稳定。
- ✓ Pro 和 Lys 的羟基化反应需要维生素 C, 因此维生素 C 的缺乏可引起坏血病。
- ✓ 在果蝇体内, 溴被证明作为一种新的生命元素参与其胶原蛋白 IV 之间硫亚胺共价交联的形成。Bromine Is an Essential Trace Element for Assembly of Collagen IV Scaffolds in Tissue Development and Architecture (Cell 157, 1380–1392, June 5, 2014 )

纤维蛋白的结构比较

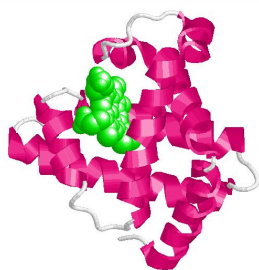
$\alpha$ -角蛋白	丝心蛋白	胶原蛋白
含疏水氨基酸和 Cys	含Gly、Ala、Ser	含Gly、Ala、Pro、羟脯氨酸
三条右手 $\alpha$ -螺旋向左缠绕成三股螺旋	反平行的 $\beta$ -折叠	三条左手螺旋相互缠绕成右手超螺旋
三股螺旋中的各条肽链靠—S—S—交联	$\beta$ 片层之间靠范德华力联系	三股螺旋中的各条肽链靠甘氨酸残基的肽键形成氢键



## 2. 球状蛋白质的结构与功能：肌红蛋白、血红蛋白

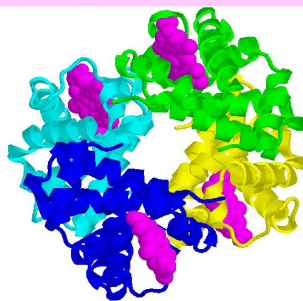
珠蛋白家族：这一家族的蛋白质都含有血红素辅基，都能够可逆地结合氧气，都含有珠蛋白折叠这样的结构模体。属于这一类家族的蛋白质有：肌红蛋白（Mb）、血红蛋白（Hb）、神经珠蛋白（Ngb）和细胞珠蛋白（Cygb）。

肌红蛋白Mb：哺乳动物肌肉细胞中运输和储藏氧的蛋白质，由一条含153个氨基酸残基的多肽链和一个血红素辅基构成。抹香鲸肌红蛋白的三维结构由John Kendrew和同事在1963年测定完成。

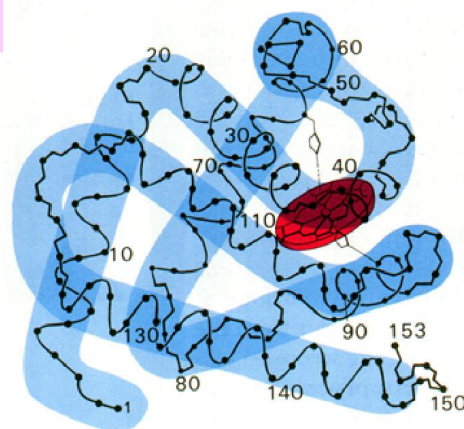


Mb在肌肉中贮存氧气

血红蛋白Hb：是脊椎动物红细胞主要组成成份，主要功能是运输氧和二氧化碳。由四个亚基构成的寡聚蛋白。三级结构于1959年由Max Perutz及其同事测定的，历经23年。

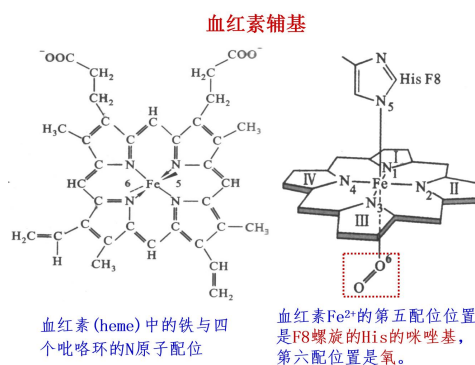


Hb在血液中运输氧气



### (1) Mb 的结构与功能

- 肽链(153aa)由长短不等的 8 段直的  $\alpha$ -螺旋组成(A-H)。在 N 端和 C 段有松散的肽链，脯氨酸存在于拐角处。
- 非极性氨基酸埋在分子的内部，极性氨基酸分布在分子的表面,内部形成一个疏水核。
- 血红素(heme)辅基位于疏水的空穴中，允许  $O_2$  进入而阻止  $H_2O$  的进入，既保证  $Fe^{2+}$  结合  $O_2$  又可防止  $Fe^{2+}$  被氧化成  $Fe^{3+}$ 。

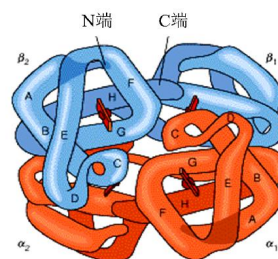


**思考：一氧化碳的中毒机制？** 血红素通过与口袋内的氨基酸残基以次级键以及血红素铁与 His F8 形成的配位键而“藏”在疏水穴中，防止  $Fe^{2+}$  被氧化成  $Fe^{3+}$  失去氧结合能力。CO 也能与血红素结合。CO 的毒性是因为它与血红素的亲和力更大（250 倍），

从而阻止 O<sub>2</sub> 与血红素的结合。

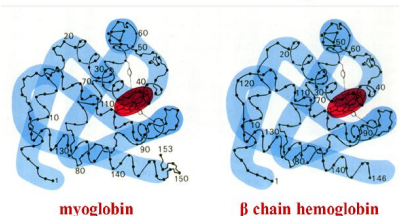
## (2) Hb 的结构与功能

- Hb 由两条相同的  $\alpha$ -链和两条相同的  $\beta$ -链构成，四个亚基组成具有四级结构，每一个亚基称为珠蛋白；可看做 $(\alpha\beta)_2$ 。
- $\alpha$  和  $\beta$  链的一级结构与 Mb 有很大差异（ $\alpha$  链-141aa， $\beta$  链-146aa，只有 24 个位置上的氨基酸是相同的），但二级和三级结构非常相似，肽链的走向基本相同，都有疏水核，血红素的配位也相同。



血红蛋白

肌红蛋白分子和血红蛋白的 $\beta$ -亚基



myoglobin

$\beta$  chain hemoglobin

## Mb 和 Hb 的功能比较

从单链的 Mb 进化为四条链的 Hb 出现了新的功能，除运载氧之外，还运载 H<sup>+</sup>和 CO<sub>2</sub>，同时，受 H<sup>+</sup>、CO<sub>2</sub>和二磷酸甘油酸（BPG）的调节。

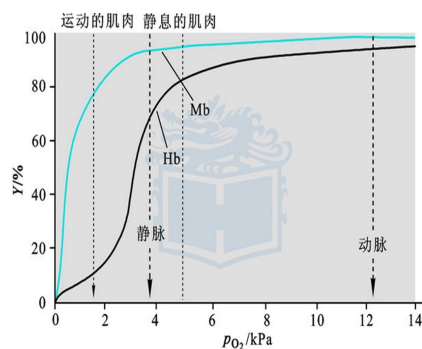
Hb 因为具有四级结构，是**变构蛋白(allosteric protein)**，可通过改变构象来改变其生物活性。因此具有**正协同效应、波尔效应和别构效应**，这三个效应都有利于 Hb 行使运输氧气的功能。

✓ Hb 结合氧具有协同性(cooperation)，而 Mb 与氧的结合不具协同性。协同效应

氧合曲线(氧饱和度-氧分压作图):

Mb-双曲线; Hb-S 形曲线

- 在给定 pO<sub>2</sub> 下，肌红蛋白对氧的亲和力远大于血红蛋白；
- 一个氧原子的结合增加了同一 Hb 分子中



肌红蛋白和血红蛋白的氧合曲线

其它空的氧合部位对氧的亲合力，即它们的结合具有协同性。

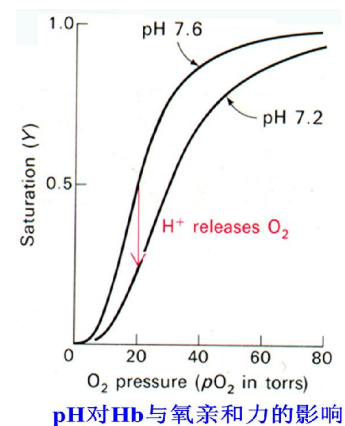
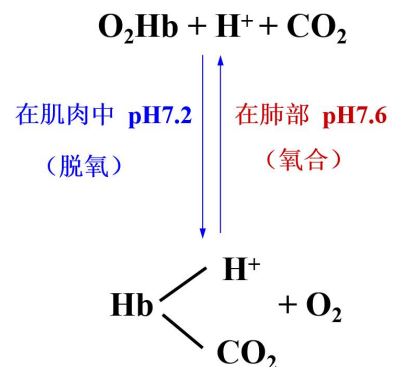
- 协同效应促进 Hb 对氧的释放。氧合的血红蛋白释放氧时也具有协同性，因此 Hb 运输氧的效率比肌红蛋白高。

氧分压比较高（肺部、动脉），有利于Hb与氧结合；  
氧分压低（组织、静脉），Hb氧和能力减弱，有利于氧的释放，  
以供细胞呼吸的需要。

- ✓ Hb 对氧的亲合性与 pH（[H<sup>+</sup>]）和 CO<sub>2</sub> 有关，而 Mb 对氧的亲合性与 pH([H<sup>+</sup>]) 和 CO<sub>2</sub> 无关。波尔效应

在代谢旺盛的组织，H<sup>+</sup>和 CO<sub>2</sub> 的浓度高，促进 Hb 释放氧，满足代谢旺盛组织对氧的需要。这是 Christian Bohr（波尔）在 1914 发现。十年后霍尔登在肺泡中发现高浓度的氧会使 Hb 释放[H<sup>+</sup>]和 CO<sub>2</sub>，二者结合称为波尔效应。

- ◇ Hb 在一定氧分压下，随酸度的增加对氧的亲合性降低；CO<sub>2</sub> 的浓度增加也会降低对氧的亲合力，从而促进 Hb 释放氧。
- ◇ 可解释 Hb 为什么在肺中吸氧排 CO<sub>2</sub>，而在肌肉中吸 CO<sub>2</sub> 排氧。



- ✓ 血红蛋白对氧的亲合性还进一步受 2,3-二磷酸甘油酸（BPG）的调节。别构效应

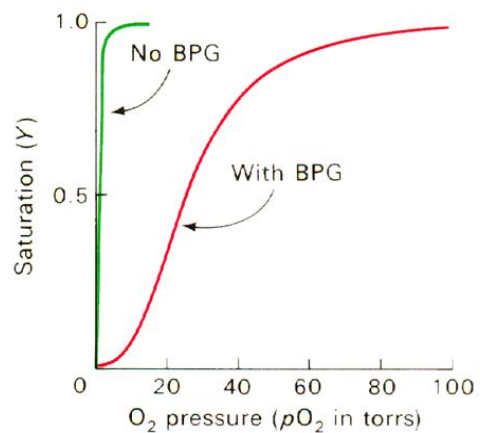
2,3-二磷酸甘油酸(BPG)降低 Hb 对氧的亲合力

BPG 能与 Hb 结合，降低 Hb 对氧的亲合力（脱氧 Hb-紧密构象(T 构象 Tense state):

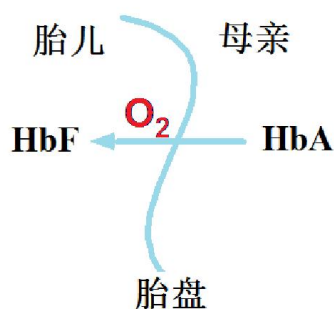
各亚基之间形成八个盐键,且两个  $\beta$  链间夹有一分子 BPG, 它们屏蔽了分子表面疏水的空穴, 使得 Hb 结合  $O_2$  的能力降低)。在低氧分压的组织红细胞中 BPG 明显增加, 促进氧的释放, 满足组织对氧的需要。

高山缺氧时, BPG 浓度升高, 促进氧的释放。

思考: 哪些人群的红细胞内 BPG 浓度会生理性升高?



## 分子水平的母爱



☆HbF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) 与  $O_2$  的亲合力明显高于HbA, 这显然有利于它们从母体胎盘(氧分压大大低于肺)中获取  $O_2$ 。之所以HbF 与  $O_2$  亲和力高于HbA, 是因为与  $\alpha$  亚基结合的  $\gamma$  亚基不能结合BPG。



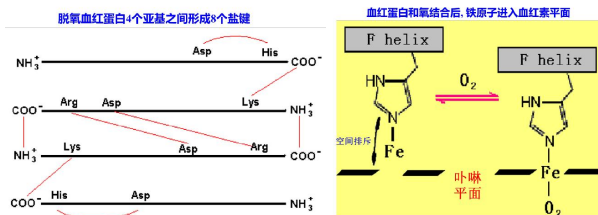
## 肌红蛋白和血红蛋白的比较

类别	肌红蛋白 (Mb)	血红蛋白 (Hb)
来源	肌肉细胞	红细胞
种类	一种	三种: HbA <sub>1</sub> (成人 98%)、HbA <sub>2</sub> (成人 2%) 和 HbF (胎儿)
一级结构	单条肽链, 153 个 aa	四条肽链, $\alpha$ 亚基约 141aa, $\beta$ 亚基约 146aa, 两者低于半数的氨基酸残基是相同的; $\alpha$ 、 $\beta$ 和 Mb 只有 27 个位置的氨基酸残基是相同的; HbA <sub>1</sub> : $\alpha_2\beta_2$ ; HbA <sub>2</sub> : $\alpha_2\delta_2$ ; HbF: $\alpha_2\gamma_2$
二级结构	75% $\alpha$ 螺旋, 有 A、B、C、D、E、F、G 和 H 共 8 段螺旋, 中间由无小环和 $\beta$ 转角来连接	每条链同 Mb, 但 D 螺旋极短
三级结构	典型的球蛋白, 内部含有珠蛋白折叠模体, 分子表面有一个疏水口袋, 血红素藏在其中	每条链同 Mb
四级结构	无	4 个亚基占据着 4 面体的 4 个角, 链间以盐键结合, 一条 $\alpha$ 链与一条 $\beta$ 链形成二聚体, Hb 可以看成是由 2 个二聚体组成的 ( $\alpha\beta$ ) <sub>2</sub> , 在二聚体内结合紧密, 在二聚体之间结合疏松
辅基	血红素 ( $\text{Fe}^{2+}$ ), 结合氧气	每个亚基结合 1 分子血红素 ( $\text{Fe}^{2+}$ ), 1 分子血红蛋白最多可结合 4 分子氧气。
协同效应	无	正协同效应
Hill 系数 (h)	1	2.8
氧合曲线	双曲线	S 型曲线
2,3-BPG	很难结合	两条 $\beta$ 链之间可结合 1 分子 BPG
Bohr 效应	无	有
功能	在肌肉细胞中储存氧气	将氧气从肺部运输到外周组织

### 血红蛋白的变构机理

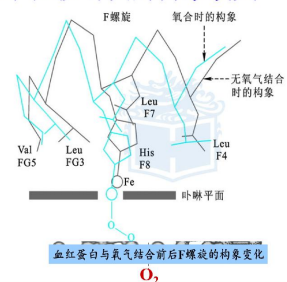
氧和Hb-松散构象 (R构象 Relaxed state) ;

脱氧Hb-紧密构象 (T构象 Tense state): 各亚基之间形成八个盐键, 且两个  $\beta$  链间夹有一分子BPG, 它们屏蔽了分子表面疏水的空穴, 使得Hb结合O<sub>2</sub>的能力降低。



### 氧合过程中铁原子位移引发的构象改变

Fe<sup>2+</sup>移动, 拖动HisF8残基, 进而引起螺旋F和拐弯EF和FG的位移。这些移动传递到亚基的界面, 引发构象的重排, 导致盐键断裂, 四级结构T→R的改变, Hb对氧的亲合力增加。



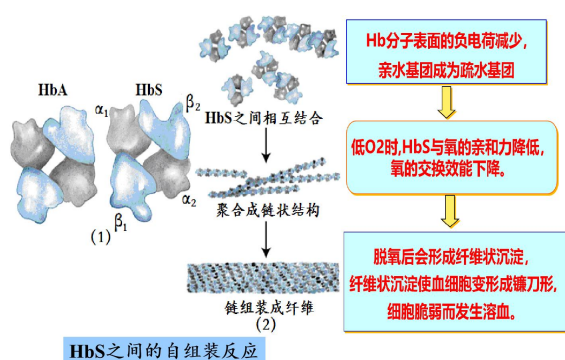
Hb在结合第一个氧时, 需要拆断较多的盐键, 需要的能量较多, 不容易结合, 结合第二个氧、第三个氧、第四个氧时, 需要拆断盐键的数目依次减少, 需要的能量依次降低, 与氧的结合越来越容易, 表现出S形曲线 (正协同效应)。

## 3. 镰状细胞贫血症与 HbS

## β-链N端氨基酸排列顺序

	1	2	3	4	5	6	7	8
<b>Hb-A</b> (正常人)	Val	His	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys...
<b>Hb-S</b> (患者)	Val	His	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys...

### 异常的血红蛋白与分子病



人血红蛋白中氨基酸的置换情况举例

不正常的α-链				不正常的β-链			
残基 顺序号	不正常Hb命名	在HbA中的 残基 (正常)	不正常Hb 中的残基	残基 顺序号	不正常Hb命名	在HbA中的 残基 (正常)	不正常Hb 中的残基
16	I	Lys	Asp	6	C	Glu	Lys
30	G 檀香山	Glu	Gly	6	S	Glu	Val
	G 新加坡			7	G 圣约翰	Glu	Gly
	G 香港			26	E	Glu	Lys
57	诺福克	Gly	Asp	63	M 萨斯卡通	His	Tyr
58	波士顿	His	Tyr		M 爱牟利	His	Tyr
68	G 菲利普	Asp	Lys	63	苏黎克	His	Arg
	G 布里斯托尔	Asp	Lys	67	M 密尔瓦斯	Lys	Glu
116	O 印尼	Glu	Lys	121	D 劳庶普	Glu	Gln

## 7.4.5 教学方法

本单元的教学方法主要采用课堂讲授、举例分析和分组课堂演讲、讨论的形式进行。

## 7.4.6 作业安排及课后反思

思考题：（1）Pro 和 Lys 的羟基化反应与维生素 C 缺乏引发坏血病的关系。

（2）一氧化碳的中毒机制？

（3）为什么 2,3-二磷酸甘油酸(BPG)降低 Hb 对氧的亲合力？

（4）哪些人群的红细胞内 BPG 浓度会生理性升高？

（5）试做课后的复习思考题；布置章节作业，进行章节测验。

（6）阐述血红蛋白的结构与功能的高度统一性。

拓展：1. 常见的蛋白类药物有哪些？

## 2. 蛋白类药物常见的给药形式是什么？为什么？

## 3. 试想怎样利用蛋白质的结构与功能之间的关系进行药物筛选与设计？

### 7.4.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。对物理化学、有机化学和生物化学的基础有一定要求。

### 7.4.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学原理》，科学出版社，2016，第三章（p114-131）

## 7.5 教学单元五 第二章 蛋白质化学-蛋白质的性质与纯化、鉴定技术（2 学时）

### 7.5.1 教学日期

第三周第五次课（09/13）

### 7.5.2 教学目标

掌握蛋白质的两性解离和胶体性质、沉淀作用与变性作用以及相对分子量的测定方法；熟悉蛋白质纯化的一般原则以及常用的层析、电泳技术；

### 7.5.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：蛋白质的沉淀与变性、相对分子量测定、纯化方法

难 点：区分蛋白质沉淀与变性过程；特定蛋白质纯化方法的选择

主要知识点：蛋白质等电点、胶体性质/半通透性、沉淀、变性、离子交换层析、凝胶过滤层析、亲和层析、SDS-PAGE 电泳、相对分子量测定

### 7.5.4 教学过程

#### 第四节 蛋白质的性质与纯化、鉴定技术

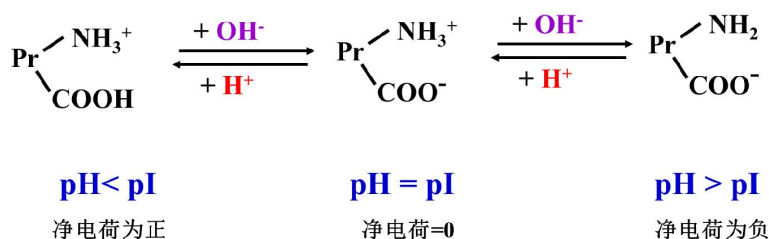
## 一、蛋白质的理化性质

### 1. 两性性质及等电点

蛋白质分子所带电荷的性质和数目是由蛋白质中的可解离基团的种类和数目以及溶液的 pH 值所决定的。

可解离基团：肽链末端的  $\alpha$ -氨基和  $\alpha$ -羧基；R 基上的侧链基团，如  $\varepsilon$ -NH<sub>2</sub>、 $\gamma$ -COOH、 $\beta$ -COOH、咪唑基、胍基、-OH 等。

**等电点：**在某一定 pH 值时，蛋白质分子上所带正负电荷相等，净电荷为零，在电场中既不向阳极也不向阴极移动，此时溶液的 pH 值即为该蛋白质的等电点（isoelectric point, pI）；不能直接计算，使用等电聚焦(IEF)等方法进行测定。



### 2. 蛋白质的胶体性质与蛋白质的沉淀

蛋白质分子量很大，在水溶液中形成 1-100nm 的颗粒，具有胶体溶液的特征胶体溶液具有布朗运动、丁达尔现象、不能透过半透膜以及具有吸附能力等特性。

#### （1）维持蛋白质溶液胶体系统稳定的条件：

- 水化层（hydration mantle）-亲水基团与水分子起水化作用（hydration）
- 双电层（electric double layer）-分子表面电荷，与周围的反离子构成

#### （2）蛋白质胶体性质的应用：

- 透析法（dialysis）：利用蛋白质不能透过半透膜的的性质，去除蛋白质溶液中的小分子杂质（脱盐），以达到纯化蛋白质的目的。



➤ 蛋白质的沉淀作用（precipitation）：加入适当的试剂破坏蛋白质分子双电层或除去水化层，蛋白质胶体溶液就不再稳定并将产生沉淀。

- ✓ 调 pH 值- 加酸加碱后，调至蛋白质的等电点，使蛋白质分子沉淀。
- ✓ 盐析（salting out）- 溶液加入大量硫酸铵、氯化钠等中性盐，有效地破坏蛋白质颗粒的水化层，使蛋白质颗粒集聚而生成沉淀，这种现象称为盐析。**可逆过程**
- ✓ 有机溶剂沉淀- 与水互溶的有机溶剂（丙酮、乙醇等），使蛋白质颗粒脱去水化层，同时有机溶剂的介电常数低，分子间引力加大，蛋白质溶解度降低而沉淀。**低温短时间处理**
- ✓ 重金属盐沉淀  $\text{pH} > \text{pI}$  时，蛋白质带负电，更易与重金属（ $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ ）结合形成不容性的盐而沉淀。
- ✓ 生物碱试剂和某些酸类沉淀- 单宁酸、钨酸、三氯醋酸、磺基水杨酸、硝酸等;  $\text{pH} < \text{pI}$  时，蛋白质带正电，与生物碱试剂和酸根负离子易反应形成沉淀。
- ✓ 抗体对蛋白质的沉淀抗原与特异性的抗体蛋白结合发生沉淀。

1. 调pH值  
加酸加碱  
后，调至  
蛋白质的  
等电点，  
使蛋白质  
分子沉淀。

2. 盐析（salting  
out） 溶液加入大量  
硫酸铵、氯化钠等中  
性盐，有效地破坏蛋  
白质颗粒的水化层，  
使蛋白质颗粒集聚而  
生成沉淀，这种现象  
称为盐析。**可逆过程**

3. 有机溶剂沉淀 与水  
互溶的有机溶剂（丙酮、  
乙醇等），使蛋白质颗粒  
脱去水化层，同时有机溶  
剂的介电常数低，分子间  
引力加大，蛋白质溶解度  
降低而沉淀。**低温短时间  
处理**

#### 4. 重金属盐沉淀

pH > pI 时，蛋白质带负电，更易与重金属 ( $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ ) 结合形成不容性的盐而沉淀。

#### 5. 生物碱试剂和某些酸类沉淀

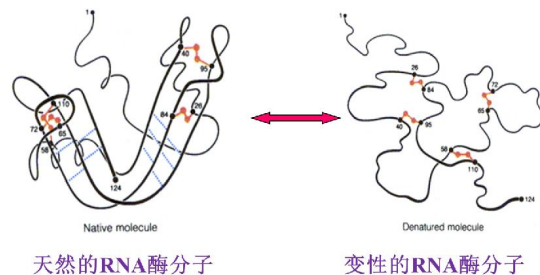
单宁酸、钨酸、三氯醋酸、磺基水杨酸、硝酸等；pH < pI 时，蛋白质带正电，与生物碱试剂和酸根负离子易反应形成沉淀。

#### 6. 抗体对蛋白质的沉淀

抗原与特异性的抗体蛋白结合发生沉淀。

### 3. 蛋白的变性与复性 (denaturation and renaturation)

(1) 变性 denaturation: 天然蛋白质受到某些物理或化学因素的影响，分子原有的天然构象发生变化，蛋白质的理化性质和生物学功能随之改变或丧失，但其一级结构未发生改变，这种现象称为变性作用。



#### (2) 变性因素及作用机制

➤ 物理因素：加热、紫外线、X-射线、剧烈搅拌

加热变性沉淀：几乎所有的蛋白质都因加热变性而凝固；等电点及少量盐类都会促进蛋白质加热凝固。preparation of bean curd

➤ 化学因素 (denaturing agent)：强酸强碱、有机溶剂、重金属盐、生物碱试剂、去污剂、尿素和盐酸胍

- ✓ 酸碱变性 破坏蛋白质的盐键,导致蛋白质变性。
- ✓ 有机溶剂变性 降低蛋白质溶液的介电常数，蛋白质内部的疏水基团暴露，肽链内静电斥力增加，导致蛋白质变性。
- ✓ 重金属盐变性 -带负电的蛋白质易与重金属离子 ( $\text{Hg}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ ) 结合

形成沉淀，导致变性。

- ✓ 生物碱试剂和某些酸变性 -带正电的蛋白质与有机酸根离子易结合形成沉淀，导致变性。
- ✓ 去污剂（detergent）-十二烷基磺酸钠（SDS）-破坏蛋白质分子内的疏水作用使非极性基团暴露于介质水中。
- ✓ 尿素(urea)和盐酸胍(guanidine HCL)变性：8M 脲和 5M 盐酸胍使寡聚蛋白解离成亚单位，以高度伸展的构象存在。变性作用的主要原因是增加非极性侧链的溶解度，降低维持三级结构的疏水作用。它们还能与多肽链上主链竞争氢键，破坏蛋白质的二级结构。

#### ➤ 变性蛋白质的特性

- ✓ 生物活性丧失或者降低- Hb 变性不能输送 O<sub>2</sub>,酶变性失去催化作用。
- ✓ 物理性质改变如：溶解度降低，粘度升高，失去结晶能力，旋光值改变。
- ✓ 化学性质改变如：原来在分子内部包藏而不易与化学试剂起反应的侧链活性基团暴露，易与化学试剂反应（SH、咪唑基、OH）
- ✓ 生物化学性质改变-变性后，分子结构伸展松散，易为蛋白质水解酶所分解。

**应用：消毒灭菌，加工食品,解毒，抗衰老**

**思考：变性蛋白质的特性在食品加工、营养学以及化妆品工业中的应用。**

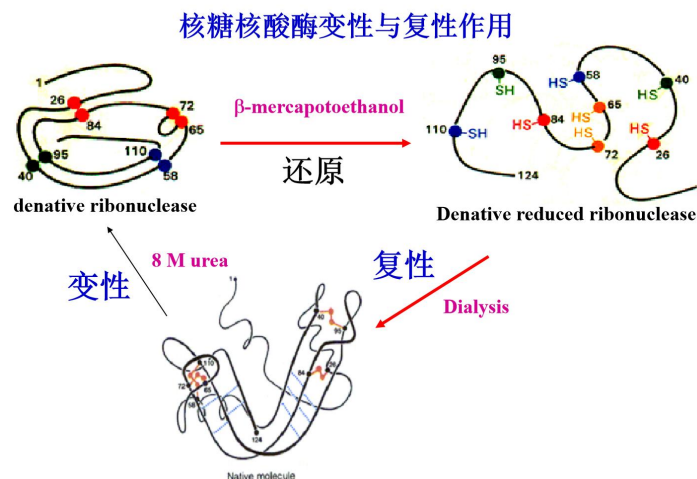
**吃煮熟鸡蛋更有营养？喝牛奶可以解毒？VC、VE 润肤乳/护肤水的设计理念？**

## 蛋白质变性

- ⊗ 蛋白质受到某些理化因素的作用，其高级结构受到破坏、生物活性随之丧失的现象。
- ⊗ 导致蛋白质变性的物理因素有：加热、冷却、机械作用、流体压力和辐射；化学因素有强酸、强碱、高浓度盐、尿素、重金属盐、疏水分子和有机溶剂。
- ⊗ 蛋白质变性以后，其理化性质发生一系列的变化。这些变化可以作为检测蛋白质变性的指标。主要变化包括：(1) 溶解度降低。(2) 黏度增加。(3) 生物活性丧失。(4) 更容易被水解。(5) 结晶行为发生变化。

### (3) 复性(renaturation)

除去变性因素，变性蛋白质重新自发折叠恢复到天然构象，恢复原有的理化性质和生物活性，这种现象称为复性。



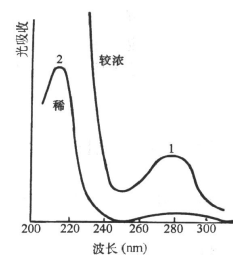
变性蛋白质为什么能复性？

变性理论（1931年，吴宪）：是维持蛋白质空间结构的次级键的破坏所导致的结构变化，从紧密有序向松散无序的构象转变；变性是一个协同过程；变性的可逆性

- 在一定的环境条件下，蛋白质的一级结构能够决定二、三、四级结构；
- 蛋白质天然构象处于能量最低的状态。

### 4. 蛋白质的紫外吸收

蛋白质在 280nm 有一特征吸收峰。可利用这一特性对蛋白质进行定性定量分析。

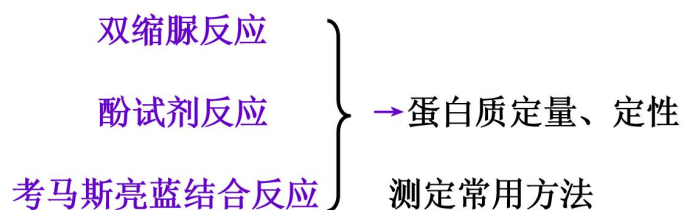


特

$$\text{蛋白质质量浓度} / (\text{mg/ml}) = 1.55 A_{280}^{1\text{cm}} - 0.76 A_{260}^{1\text{cm}}$$

测定范围：0.1~0.5mg/ml

## 5. 蛋白质的呈色反应



## 6. 最低分子量法测蛋白质分子量

根据化学组成测定最低相对分子量

用化学分析方法测出蛋白质中某一微量元素的含量。并假设蛋白质分子中只含有一个被测元素的原子，则可由此计算出蛋白质的最低相对分子量。如果蛋白质中存在含量特少的氨基酸，也可以用同样的原理计算蛋白质的最低相对分子量。

$$Mw = \frac{\text{元素的原子量}}{\text{元素在蛋白质中的百分含量}}$$

**例1：猪心细胞色素C含铁量0.43%，求其最低分子量。**

解： CytC Mw =  $\frac{55.85}{0.43\%} = 13000$

其它方法测CytC Mw 也是13000，说明CytC只含一个Fe。

**例2：Hb含铁量0.34%，求其最低分子量。**

解： Hb Mw =  $\frac{55.85}{0.34\%} = 16700$

其它方法测得Mw是68000，说明Hb中含4个Fe。

$$Mw = \frac{\text{元素的原子量}}{\text{元素在蛋白质中的百分含量}}$$

## 二、蛋白质的研究方法

假定你发现一种新的蛋白质：蛋白质X

1. 如何得到这种蛋白质？

蛋白质的分离、纯化技术

2. 这种蛋白质的大小？（SDS-PAGE和质谱）

3. 它的pI是多少？（等电聚焦）

4. 其他细胞或其他生物体内是否存在？（Western印迹）

5. 其一级结构如何？（序列分析）

6. 其三维结构又如何？

7. 其功能是什么？

### 蛋白质分离纯化的一般步骤和原则



1. 层析技术(chromatography)（分配层析、离子交换、层析凝胶过滤层析、亲和层析）

一种物理分离方法，由互不相溶的两个相组成，固定相为固体或吸附在固体上的液体，流动相通常为液体或气体；利用混合物中各组分理化性质（如吸附力、分子形状和大小、分子极性、分子亲和力、溶解度等）的差异，使各组分不同程度地分布在两相中，随着流动相从固定相上流过，不同组分以不同速度移动而最终被



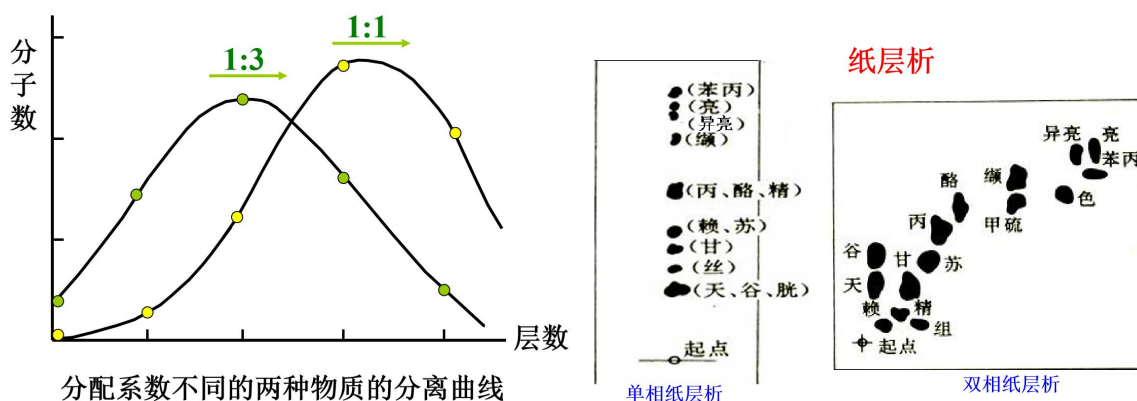
分离。

### ➤ 分配层析 (distribution chromatography) 溶解度

混合物在层析系统中的分离决定于该混合物的组分在两相中的分配情况，一般用分配系数(distribution coefficient,  $K$ )来描述。混合物各组分的分配系数差异越大，越容易分离。

$$K = \frac{\text{物质在流动相中的浓度}}{\text{物质在固定相中的浓度}}$$

以纸层析为例讨论分配层析的原理：固定相-滤纸的结合水；流动相-水饱和的有机溶剂（展开剂）；流动经过样品点，样品点中的溶质在水和有机相中溶解度不同而不均匀地分配在两相中，各种组分按其各自的分配系数进行不断分配，从而使物质得到分离和纯化。

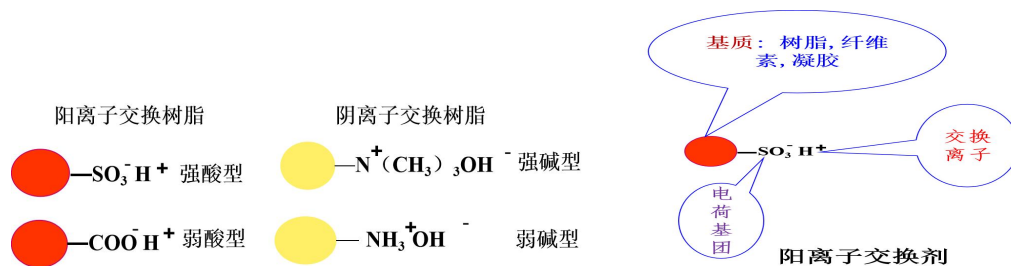


### ➤ 离子交换层析 (ion exchange chromatography) 电荷性质

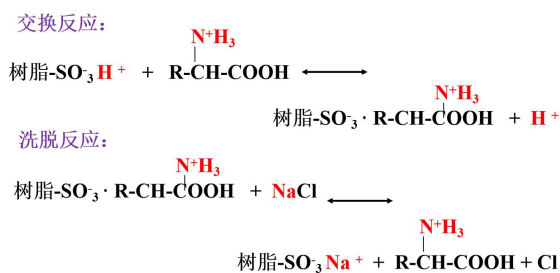
用离子交换剂作支持剂的层析方法；离子交换树脂有阳离子交换树脂和阴离子交换树脂。离子交换树脂的基质是聚苯乙烯-苯二乙烯高分子化合物。

离子交换层析原理：根据被分离物质所带电荷的多少，以及被分离物质疏水性的强弱进行分离。

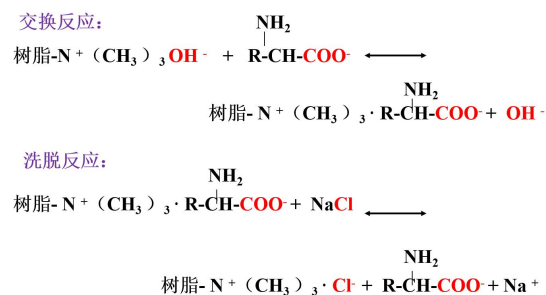
应用：制备纯化生物物质；定性、定量测定混合物中各组分。



#### 阳离子交换树脂上的反应



#### 阴离子交换树脂上的反应



### ➤ 凝胶过滤层析（gel-filtration chromatography） 分子大小

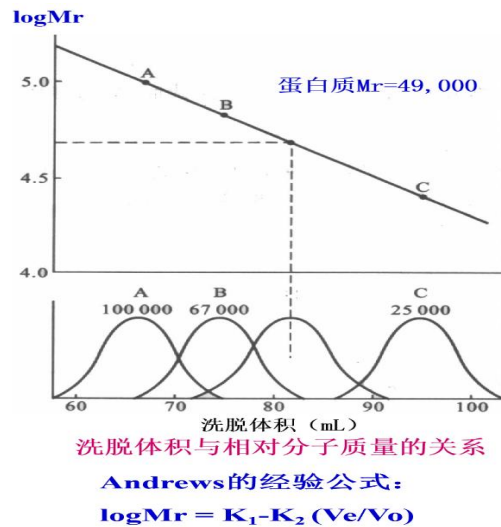
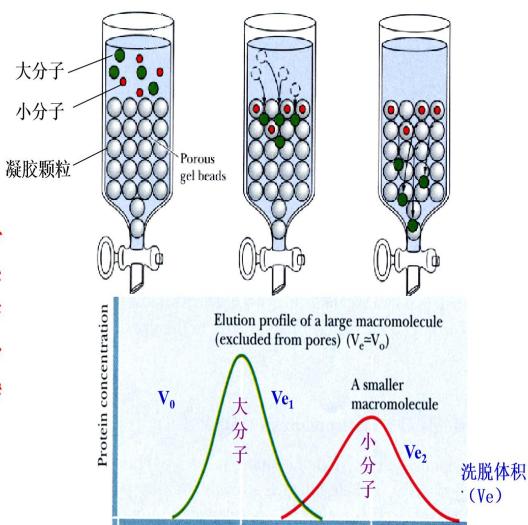
也称凝胶排阻层析和分子筛层析，利用凝胶上的网孔把物质按分子大小不同进行分离的一种方法。凝胶颗粒：葡聚糖凝胶（sephadex）、琼脂糖凝胶（sepharose）。

凝胶过滤层析分离原理：被分离物质的分子大小（直径）和形状不同，洗脱时，大分子物质由于直径大于凝胶网孔不能进入凝胶内部，只能沿着凝胶颗粒间的孔隙，随溶剂向下移动，因此流程短，首先流出层析柱，而小分子物质，由于直径小于凝胶网孔，能自由进出胶粒网孔，使之洗脱时流程增长，移动速度慢而后流出层析柱。

凝胶过滤层析的应用：测定分子量、脱盐、分离提纯生物大分子



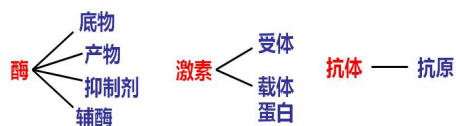
## 分子筛层析与洗脱曲线



## ➤ 亲和层析 (affinity chromatography) 生物亲和力

利用生物分子与其特定的固相化的配基（或配体）之间具有的亲和力使生物分子分离纯化方法。

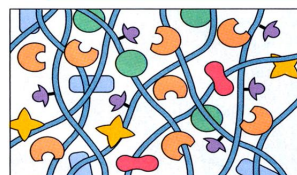
亲和力：一些生物分子具有能和某些专一分子可逆结合的特性，分子间通过某些次级键（范德华力，疏水力，氢键等）结合，在一定条件下又可解离。



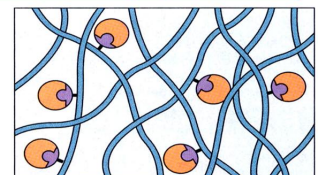
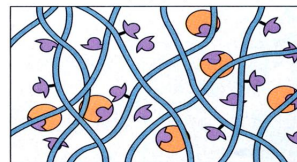
亲和层析的应用：

- ✓ 分离纯化酶、抗原、抗体
- ✓ 分离纯化核酸
- ✓ 研究酶的结构与功能

## 亲和层析 (affinity chromatography)



1. 在固定了配基的载体上  
加入生物分子混合物



2. 与配基能发生专一结合的生物分子结合到配基上

3. 生物分子被洗脱下来

## 2. 电泳（SDS-PAGE、等电聚焦电泳）

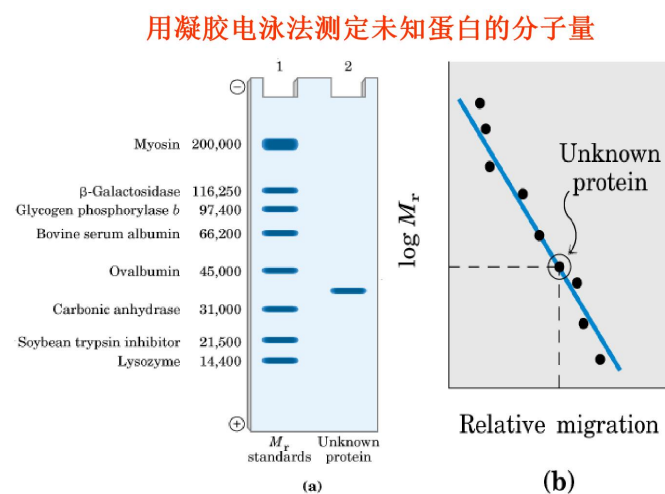
带电颗粒在电场中向与其所带电荷相反的电极移动，这种现象称为电泳。蛋白质电泳的方向和速度主要决定于其所带电荷的正负性、所带电荷的多少以及分子大小和形状等。

- **聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE):** 以孔径大小不同的聚丙烯酰胺凝胶(PAG)作为支持物，采用电泳基质的不连续体系(即凝胶层的不连续性、缓冲液离子成分的不连续性、pH的不连续性及电位梯度的不连续性)或连续体系（一层凝胶、一种 pH 和一种缓冲溶液），进行电泳分离的方法。（电荷效应、分析筛效应、浓缩效应）
- **SDS-PAGE 电泳:** 在 PAGE 中加入 SDS（十二烷基磺酸钠），与蛋白质分子结合（1.4 : 1）形成复合物，带来了两种后果：SDS 的结合使蛋白质分子上带大量的负电荷，掩盖了原有的电荷差别；寡聚蛋白解聚成亚基，多肽链伸展，形状趋向一致，所以各种 SDS -蛋白质复合物在电泳时迁移率只取决于分子量的差异。

在此条件下，样品分子量的对数与其在凝胶中的迁移率呈直线关系： $\log M_r = a - bmr$

$M_r$ : 分子量     $a$  和  $b$ : 常数     $mr$ : 迁移率

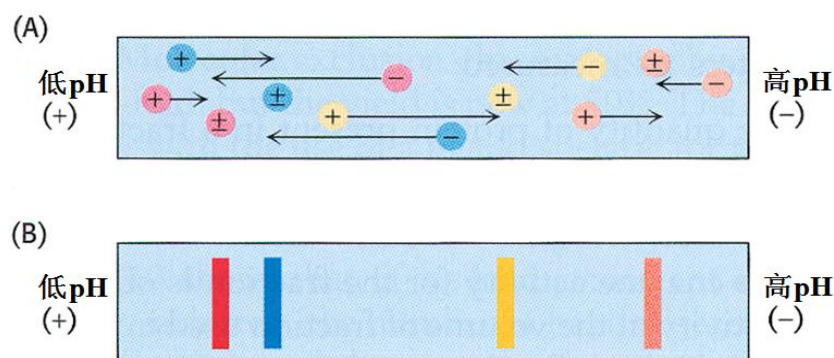
应用：SDS-PAGE 既可以分离分子大小不同的蛋白，又可以测定蛋白质的分子量。



### ➤ 蛋白质 X 的 pI 测定-等电聚焦电泳

凝胶中加入两性电解质载体(Ampholyte), 直流电通过形成一个由阳极到阴极 pH 值逐步上升的梯度。电泳过程中, 蛋白质被富集在与其 pI 相等的 pH 区域, 从而按各自等电点的不同得到分离。

两性电解质载体: 一种多氨基多羧基的混合物, 由异构物和同系物组成, 其 pK 和 pI 值各自相异却又相近。



等电点聚焦的应用: 高效分离纯化蛋白质, 测定蛋白质等电点

### 单元测验

思考: 蛋白质的性质与其结构组成的关系? 如何利用蛋白质的性质选择不同的分离纯化方法?

拓展: 请设计从牛奶中分离酪蛋白的方案; 鸡蛋中分离溶菌酶的方案; 发酵液中分离重组蛋白的方案;

### 7.5.5 教学方法

本单元的教学方法主要采用课堂讲授和举例分析的形式进行。

### 7.5.6 作业安排及课后反思

思考: (1) 变性蛋白质的特性在食品加工、营养学以及化妆品工业中的应用。

(2) 吃煮熟鸡蛋更有营养？喝牛奶可以解毒？VC、VE 润肤乳/护肤水的设计理念？

(3) 蛋白质的性质与其结构组成的关系？如何利用蛋白质的性质选择不同的分离纯化方法？

(4) 试做课后的复习思考题。

拓展：请设计从牛奶中分离酪蛋白的方案；鸡蛋中分离溶菌酶的方案；发酵液中分离重组蛋白的方案；

### 7.5.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.5.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学原理》，科学出版社，2016，第三章（p132-149）

## 7.6 教学单元六 第三章 核酸化学—核酸的分类、组成、结构及功能-1（2 学时）

### 7.6.1 教学日期

第三周第六次课（09/16）

### 7.6.2 教学目标

掌握碱基、核苷酸类型、DNA 的二级结构；核酸的紫外吸收及变、复性；熟悉核酸功能以及分离纯化的一般原则。

### 7.6.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：碱基、核苷酸类型、DNA 的结构；

难 点：DNA 二级结构

主要知识点：碱基、核苷、核苷酸、双螺旋

#### 7.6.4 教学过程

### 第三章 核酸化学（4 学时）

#### 第一节 核酸通论

##### 一、核酸的发现和研究进展

- 1869, 瑞士的内科医生 Friedrich Miescher 从外科医院包扎伤口的绷带上的脓细胞核中提取到一种富含磷元素的酸性化合物, 将其称为核素(nuclein); 后来他又从鲑鱼精子中分离出类似的物质, 并指出它是由一种碱性蛋白质与一种酸性物质组成的, 此酸性物质即是现在所知的核酸(nucleic acid)。
- 1944 Avery 等成功进行肺炎球菌转化试验;
- 1952 年 Alfred Hershey 和 Martha Chase 的同位素标记噬菌体感染细菌的实验进一步证明 DNA 是遗传物质。
- 1953 Watson 和 Crick 建立了 DNA 结构的双螺旋模型, 说明了基因的结构、信息和功能三者间的关系, 推动了分子生物学的迅猛发展。
- 1958 Crick 提出遗传信息传递的中心法则;
- 60 年代 RNA 研究取得大发展 (操纵子学说、遗传密码, 逆转录酶);
- 70 年代 建立 DNA 重组技术, 改变了分子生物学的面貌;
- 80 年代 RNA 研究二次高潮: ribozyme、反义 RNA、“RNA 世界”假说;
- 90 年代 实施人类基因组计划 (HGP), 开辟了生命科学新纪元;
- 生命科学进入后基因时代: 结构基因组学 (structural genomics)、功能基因组学 (functional genomics)、蛋白质组学 (proteomics)、RNA 组学 (RNomics) 或核糖核酸组学 (ribonomics)、宏基因组学 (Metagenomics)、代谢组学 (metabolomics)、基因编辑 (gene editing)、合成生物学 (synthetic biology)



知识拓展:

宏基因组学:又叫微生物环境基因组学、元基因组学。通过直接从环境样品中提取全部微生物的DNA,构建宏基因组文库,利用基因组学的研究策略研究全部微生物的遗传组成及其群落功能。

宏基因组不依赖于微生物的分离与培养;在土壤、海洋和一些极端环境中也发现了许多新的微生物种群和新的基因或基因簇,通过克隆和筛选,获得了新的生理活性物质,包括抗生素、酶以及新的药物等。

代谢组学(metabonomics/metabolomics)是效仿基因组学和蛋白质组学的研究思想,对生物体内所有代谢物进行定量分析,并寻找代谢物与生理病理变化的相对关系的研究方式,是系统生物学的组成部分。其研究对象大都是相对分子质量1000以内的小分子物质。先进分析检测技术结合模式识别和专家系统等计算分析方法是代谢组学研究的基本方法。

合成生物学是生物科学在二十一世纪刚刚出现的一个分支学科,近年来合成生物物质的研究进展很快。合成生物学与传统生物学通过解剖生命体以研究其内在构造的办法不同,合成生物学的研究方向完全是相反的,它是从最基本的要素开始一步步建立零部件。目的在于建立人工生物系统(artificial biosystem),让它们像电路一样运行。

### RNA 组学 (RNomics)

美国《科学》杂志和其发行者美国科学促进会在 2000 年 12 月介绍 2000 年重大科学成就时,把人类基因组工作草图绘制工作排在第一位,其中介绍了生命可能始于 RNA 而非 DNA。而在 2002 年评出的十大科学进展中。排榜第一的是被称为“小 RNA”的分子控制基因的许多行为的发现。一个真正的 RNA 组学的时代开始了。

#### 过去百年中 RNA 研究的主要成果:

Kossel 发现了四种碱基,因为他在核的生物化学方面的贡献,获 1910 年诺贝尔生理与医学奖。他是核酸和 RNA 研究的主要奠基人。

Ochoa 纯化了 PNP 酶并用它合成了高分子 RNA,从而获 1959 年诺贝尔生理与医学奖。

Holley 测定了第一个核酸(酵母丙氨酸 tRNA)的一级结构,

Khorana 和 Nirenberg 破译遗传密码而获 1968 年诺贝尔生理与医学奖。

Sutherland 发现作为第二信使的 cAMP,从而获 1971 年诺贝尔生理与医学奖、Temin 和 Baltimore 因发现以 RNA 为模板合成 DNA 的反转录酶,而获 1978 年诺贝尔生理与医学奖。

Altman 和 Cech 因发现 RNA 具生物催化活力,而获 1989 年诺贝尔化学奖。

Robert 和 Sharp 因发现断裂基因(与 RNA 剪接有关),获 1993 年诺贝尔生理与医学奖。

作为四级学科的 RNA 研究导致了七次诺贝尔奖的获得,说明 RNA 研究的重要。

[国内的 RNA 研究工作](#),我国酵母丙氨酸 tRNA 的人工合成在国际上享有盛誉,在 tRNA 与合成酶、核酶、核糖体等方面我国均有很好的研究基础.近年来,屈良鹄教授在 SnoRNA 方面的工作达到国际领先的水平。中国科学院生化细胞研究所分子生物学国家重点实验室 金由辛研究员带领的 group 在这个领域做出了很好的工作。网上有个介绍性的文章: "RNA 组学与 21 世纪的生命科学"

[RNA 研究的三个阶段](#): 第一个高潮在十九世纪的八十年代至二十世纪初,解决了核酸的组成和核苷酸的结构。第二个高潮在本世纪五、六十年代,发现了 tRNA、rRNA、mRNA,破译了遗传密码,基本搞清了 RNA 将遗传信息从 DNA 传递至蛋白质的途径。本世纪八十年代开始形成的第三次高潮,其研究重点是重新认识 RNA 传递遗传信息的功能和全面认识 RNA 生物功能的多样性。

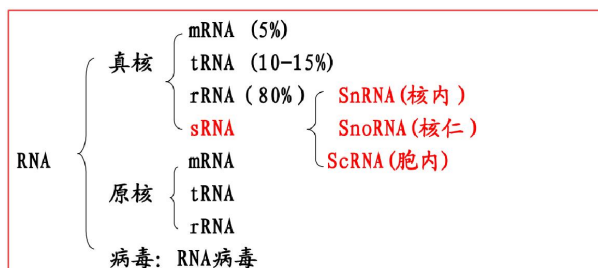
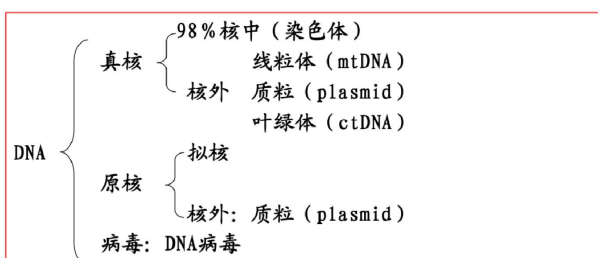
RNA 并非简单地传递遗传信息,而是通过各种类型的 RNA 剪接, RNA 编辑和 RNA 再编码来控制遗传信息的表达。它通过调控和催化蛋白质的生物合成而控制着生命的中枢。已发现的 RNA 种类正在不断增加,它们具有全部 DNA 和蛋白质的生物功能:携带遗传信息(病毒 RNA)、催化活力(Ribozyme)、调控功能(反义 RNA、ppGpp oxySRNA、某些抑癌基因、调控 X 染色体活性的 Xist)、运动功能(pRNA)、信使功能

(cAMP)。此外，snRNA 参与 mRNA 剪接、snoRNA 参与 rRNA 成熟加工、gRNA 参与 RNA 编辑、SRP-RNA 参与蛋白质的分泌、端粒 RNA 参与 DNA 端粒合成并影响细胞的生命、tmRNA 参与破损 mRNA 蛋白质合成的终止等。尚有很多 RNA 的功能还未鉴定，如很多 scRNA(细胞质小分子 RNA)、用沉降系数命名的 7S，10SRNA 等。

## 二、核酸的种类和分布

脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA) --遗传信息的贮存和携带者，生物的主要遗传物质。

核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA)：参与遗传信息的传递、表达和调控过程。

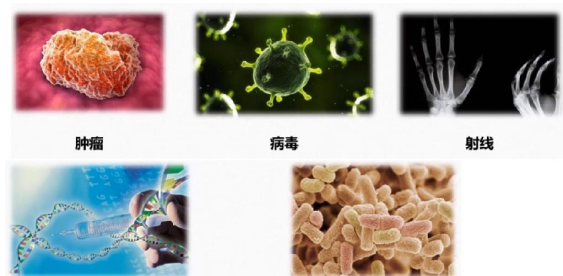
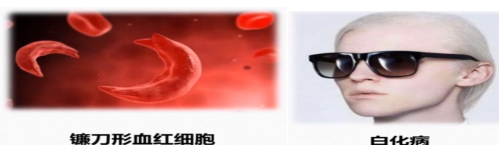


主要存在于细胞质中，少量存在于细胞核中，病毒中RNA本身就是遗传信息的储存者（类病毒-不含蛋白质的游离的RNA分子），还发现有些RNA具生物催化作用（ribozyme）。

## 三、核酸的应用

近 2000 种遗传性疾病与 DNA 结构有关；

基因工程-重组蛋白药物；基因治疗；基因编辑





## 第二节 核酸的基本结构单位

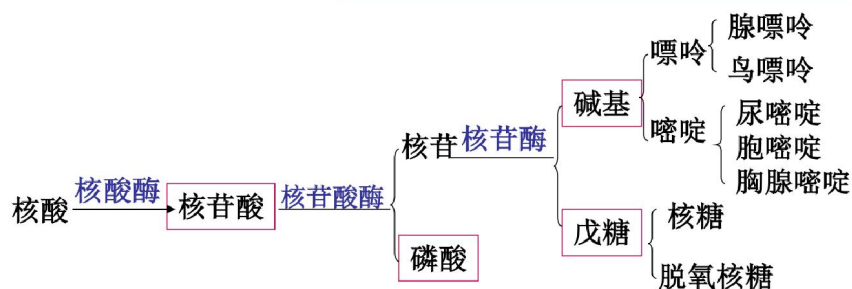
### 元素组成

C H O N P (9%–9.9%)

DNA: 9.9%, RNA: 9%

### 核酸的组成成分

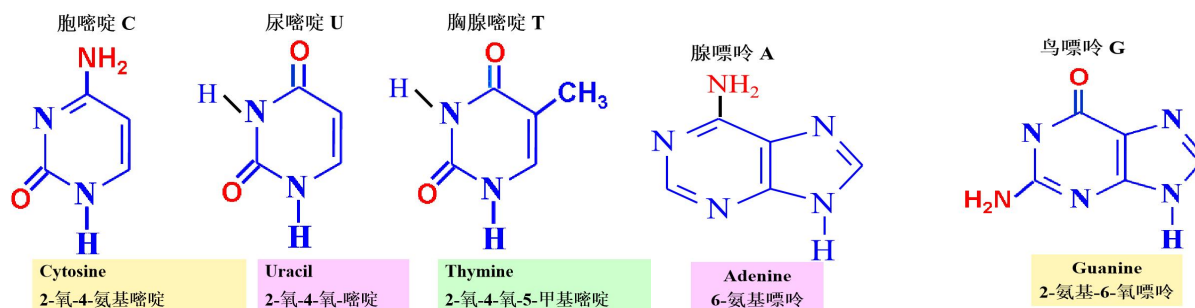
核酸的组成单位：核苷酸  
核酸的组成成分：碱基，戊糖，磷酸



### 一、碱基的结构 (basic structure)

碱基是含氮的杂环化合物嘧啶和嘌呤的衍生物；

1. 常见的碱基有以下 5 种：3 种嘧啶、2 种嘌呤



#### ★ 嘧啶

- ① 胞嘧啶 (DNA, RNA)
- ② 尿嘧啶 (RNA)
- ③ 胸腺嘧啶 (DNA)

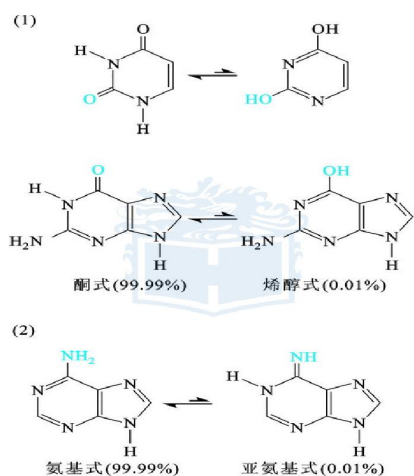
#### ★ 嘌呤

- ① 腺嘌呤 (DNA, RNA)
- ② 鸟嘌呤 (DNA, RNA)

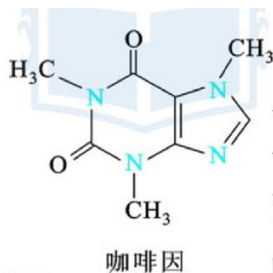
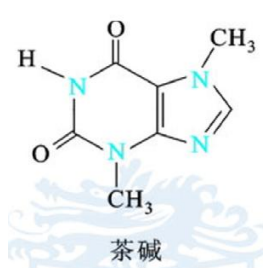
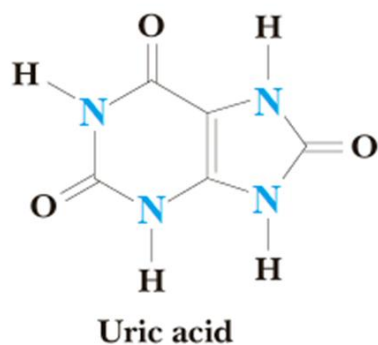
### 2. 碱基的性质

- 碱基几乎不溶于水，这与其芳香族的杂环结构有关；
- 强烈的紫外吸收，其最大吸收值在 260nm；

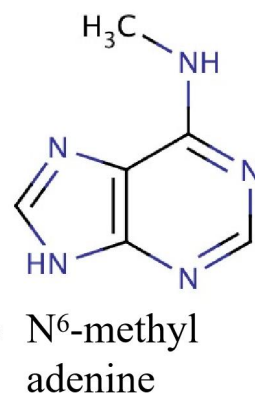
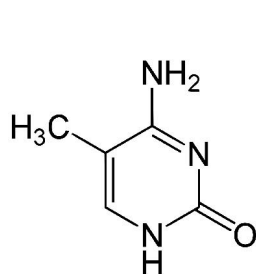
➤ 互变异构（酮式-烯醇式，氨基-亚氨基：影响碱基配对的特异性）。



### 3. 其它碱基

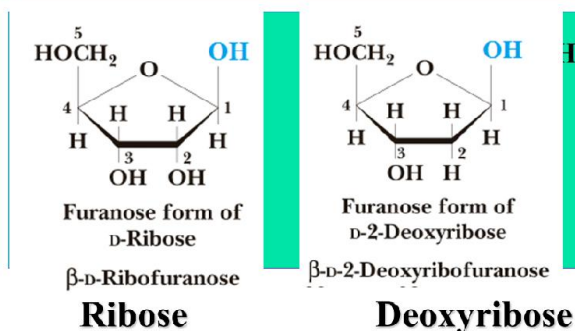


拓展：The fifth and sixth base of DNA



## 二、戊糖（五碳糖）

组成核酸的戊糖有两种。DNA所含的糖为  $\beta$ -D-2-脱氧核糖；RNA所含的糖则为 $\beta$ -D-核糖。



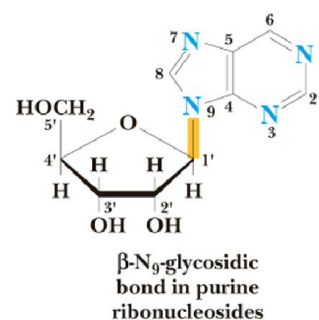
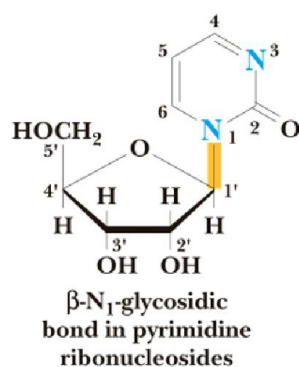
- D-核糖 存在于RNA
- 2-脱氧-D-核糖 存在于DNA
- 差别：- 2'-OH vs 2'-H
- 这种差别影响到二级结构和稳定性。

都以呋喃型环状结构存在

## 三、核苷 nucleosides 的结构和稀有核苷

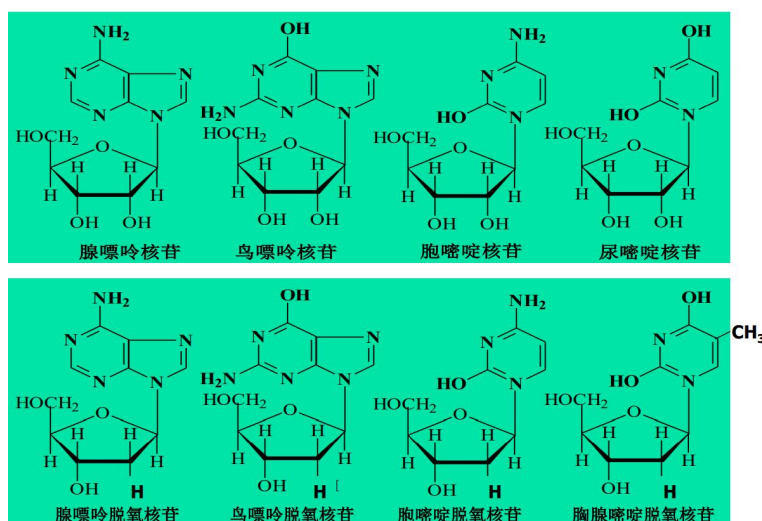
### 1. 核苷的组成及类型

由戊糖和碱基通过  $\beta$ -C-N 糖苷键形成的糖苷。糖苷键由戊糖的 C1' 原子与嘧啶碱基的 N1 或嘌呤碱基 N9 形成。（为了避免碱

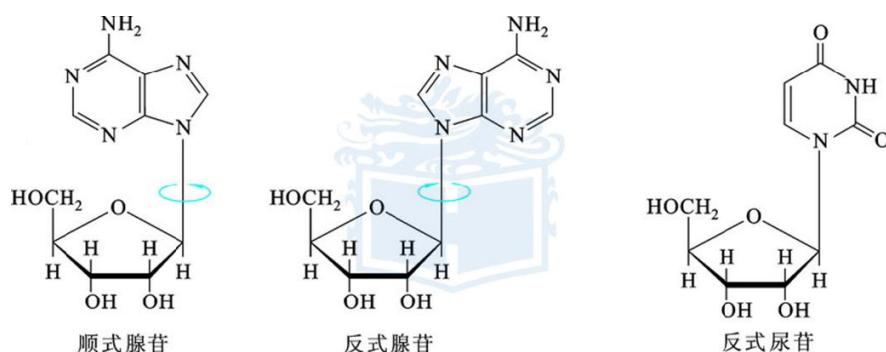


基环上原子的编号与呋喃糖环上原子编号混淆，在呋喃环上各原子编号的阿拉伯数字后需加“' ”）

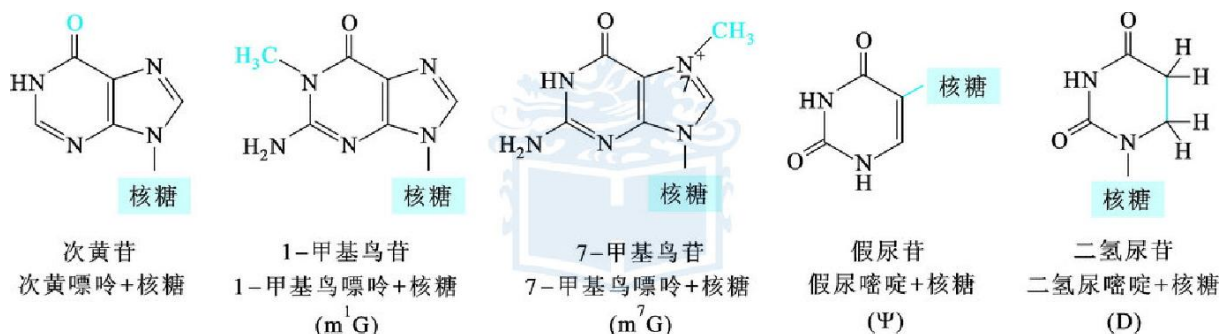
- D-核糖形成核糖核苷；
  - 2-脱氧-D-核糖形成脱氧核苷
- 共 8 种



**2. 核苷的性质：**核苷和核苷酸能以顺式和反式两种构象存在。顺式核苷的碱基与戊糖环在同一个方向，反式核苷的碱基与戊糖环在相反的方向。碱基在糖苷键上的旋转受到空间位阻的限制。由于嘧啶环 O2 和戊糖环 C5' 之间的空间位阻，**嘧啶核苷通常为反式构象**。嘌呤核苷可采取两种构象。自由的嘌呤核苷（特别是鸟苷）更容易形成顺式构象，但是，DNA 和 RNA 螺旋中的**嘌呤核苷主要为反式构象**。



### 3. 几种修饰核苷

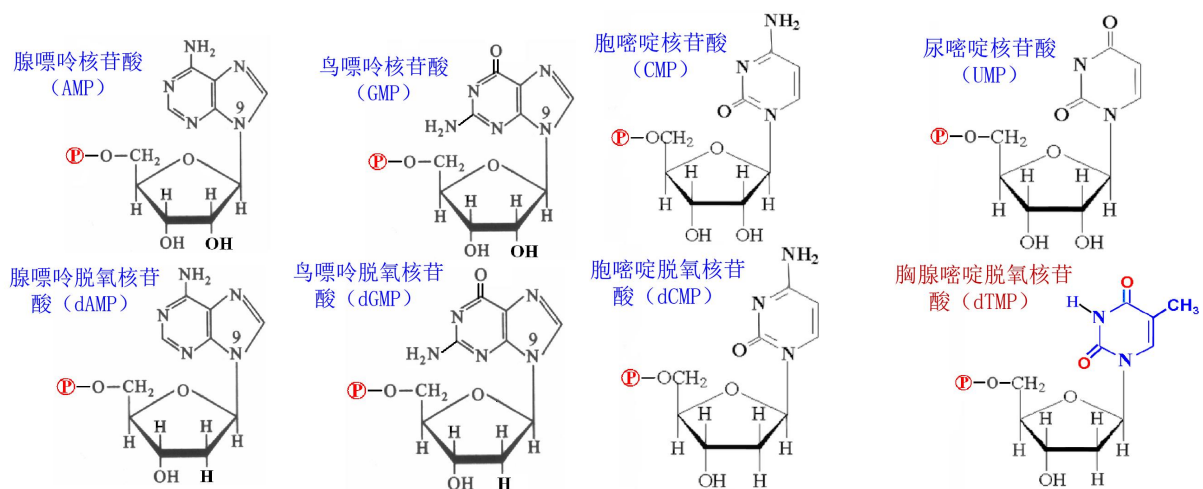


## 四、核苷酸 nucleotide 结构、多磷酸核苷酸和环化核苷酸

核苷酸是核苷的磷酸酯。核糖核苷的磷酸酯为核糖核苷酸，脱氧核苷的磷酸酯为脱氧核苷酸。

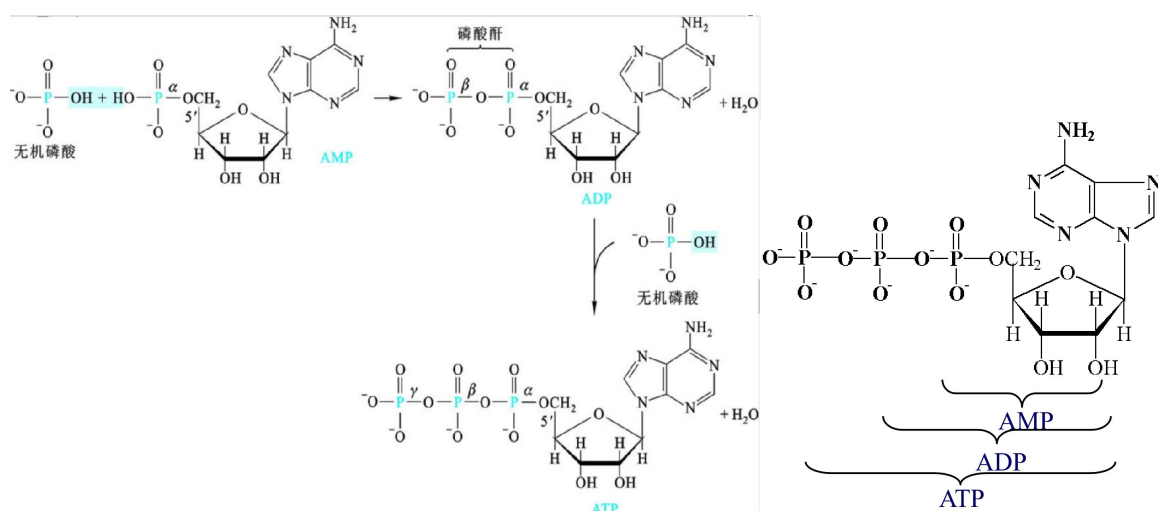
### 1. 核苷酸的结构和命名

理论上，核苷的 5'-OH、3'-OH 和 2'-OH 均可以被磷酸化而分别形成核苷-5'-磷酸、核苷-3'-磷酸和核苷-2'-磷酸。但是，自然界的核苷酸多为核苷-5'-磷酸。

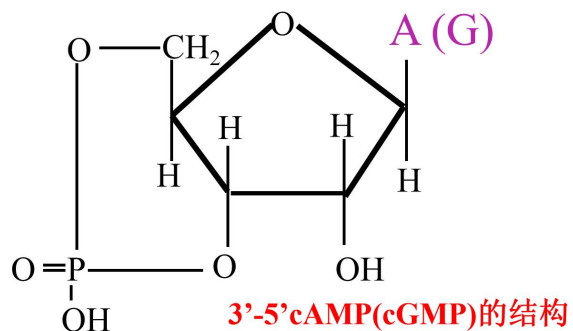


## 2. 多磷酸核苷酸

核苷单磷酸 (NMP) 是指核苷的单磷酸酯。核苷单磷酸可以通过一次成酐反应形成核苷二磷酸 (NDP)。核苷二磷酸再通过一次成酐反应生成核苷三磷酸 (NTP)。为了将核苷二磷酸和核苷三磷酸上不同的磷酸根区分开来，将直接与戊糖 5'-羟基相连的磷酸定为 $\alpha$ 磷酸根，其余两个磷酸根从里到外依次被称为 $\beta$ 磷酸根和 $\gamma$ 磷酸根。



## 3. 环化核苷酸



Cyclic adenylie (Guanine)acid

练习：请给下列化

5' -NMP

5' -dNMP

合物命名

5' -NDP

5' -dNDP

5' -NTP

5' -dNTP

N = A、 G、 C、 U

N = A、 G、 C、 T

#### 4. 核苷酸的生物功能（了解）

- 核酸合成的前体：NTP→RNA，dNTP→DNA；
- 能量货币，通常是 ATP，有时使用 UTP（糖原合成）、CTP（磷脂合成）和 GTP（蛋白质合成）；
- 信号转导，例如 cAMP 和 cGMP 作为某些激素的第二信使，鸟苷酸能够调节 G 蛋白的活性；
- 作为其他物质的前体或辅酶/辅基的成分，如 ADP 为辅酶 I 和 II 的组分，鸟苷酸作为第一类内含子的辅酶；
- 活化的中间物，如 UDPGlc 和 CDP-乙醇胺分别参与糖原和磷脂酰乙醇胺的合成；
- 作为酶的别构效应物参与代谢的调节，如 ATP 为磷酸果糖激酶-1 的负别构效应物，AMP 作为糖原磷酸化酶的正别构效应物。

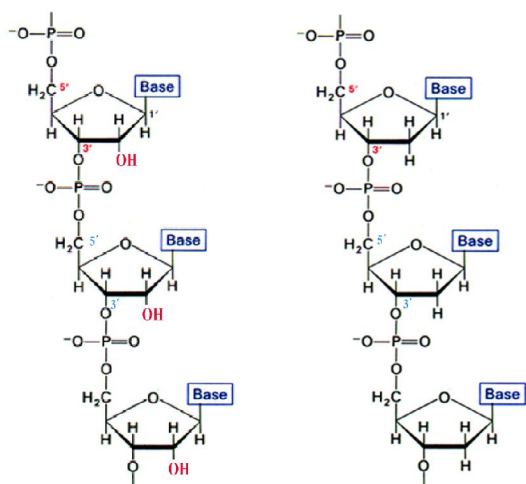


### 第三节 核酸的结构和功能

#### 一、DNA 的分子结构

##### 1. DNA 一级结构（共价键及一级结构测定）

- 核酸分子中的共价键--核酸分子中核苷酸之间通过 3'-5' 磷酸二酯键相连



##### ➤ DNA 一级结构

定义：核苷酸或碱基的排列顺序；

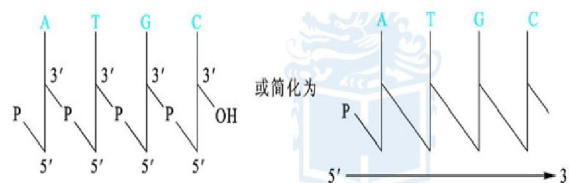
写法：从左到右，5'端到 3'端；

意义：DNA 一级结构贮存各种遗传信息。

##### ➤ DNA 一级结构的表示法

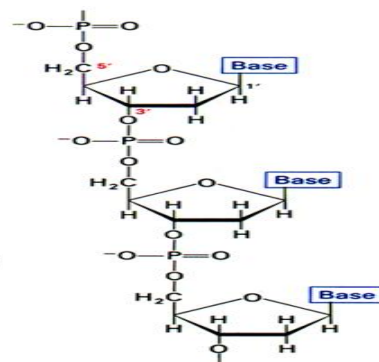
结构式

线条式

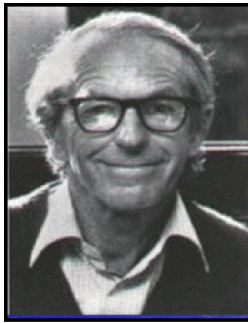


或简化为

字母式 **5' ACTGCATAGCTCGA 3'**



##### ➤ DNA 一级结构的测定



20世纪60年代，R.W.Holley首先测定了酵母tRNA<sup>Ala</sup>的碱基顺序，采用了类似氨基酸的重叠法，非常繁琐。

1975年，Sanger采用了一种新型的快速测序方法——加减法。

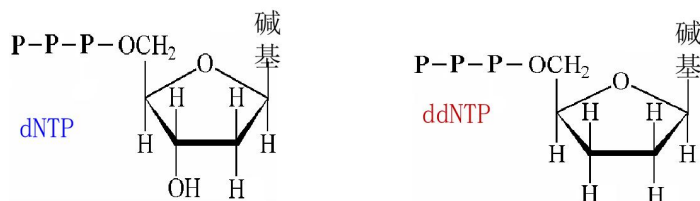
1977年，Sanger改进了测序方法，称为末端终止法，速度更快。

根据 Sanger 的**末端终止法**，现

在已经有各种自动化测序仪，DNA 的测序更加快捷，人类基因组测序因此得以完成。

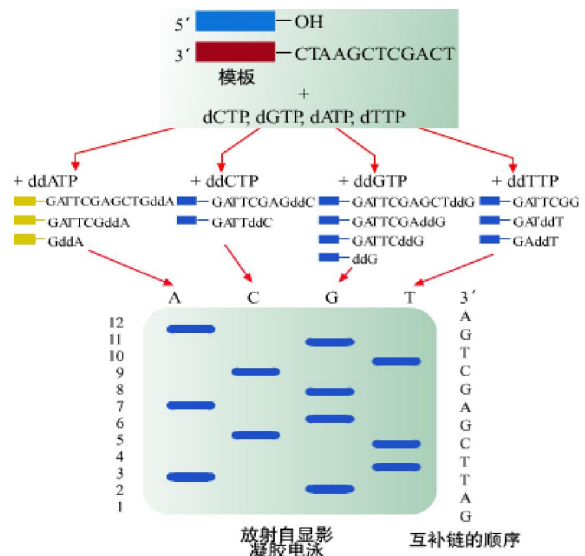
**酶法测序(Sanger)--末端终止法的原理：**2' ,3' 双脱氧核苷酸 ddNTP 可以像 2'-脱氧核苷酸那样直接掺入新合成的 DNA 链中，但因 3' 端不具-OH，DNA 链合成至此中断。

ddNTP（带同位素标记）在每个 DNA 分子中掺入的位置不同，可根据不同长度的 DNA 片段测定出核苷酸序列。



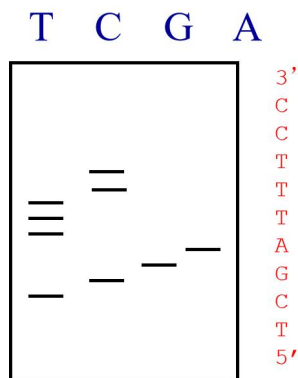
### DNA 的测序过程:

制备 ssDNA→与引物退火→分为 4 个反应系统→每个系统中加入 dNTP 和一种双脱氧核苷酸（带同位素标记）→DNA 聚合酶聚合反应→反应产物变性后电泳→凝胶干燥→放射自显影。



**练习：请读出以下末端终止法测定的 DNA 序列的结果**



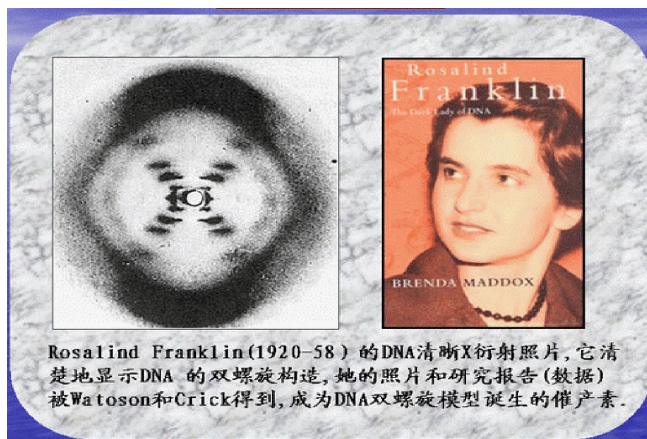


## 2. DNA 的二级结构（DNA 碱基组成的 Chargaff 规则）

### （1）DNA 碱基组成的 Chargaff 规则

- ✓ Chargaff 首先注意到 DNA 碱基组成的某些规律性（1950）：
- ✓ 同一生物的不同组织的 DNA 碱基组成相同；
- ✓ 同一种生物 DNA 碱基组成不随生物体的年龄、营养状态或者环境变化而改变；
- ✓ 几乎所有的 DNA，无论种属来源如何，都有： $A=T$      $G=C$      $A + C = G + T$   
 $A + G = C + T$
- ✓ 不同生物来源的 DNA 碱基组成不同，表现在  $A+T/G+C$  比值的不同。这些结果后来为 DNA 的双螺旋结构模型提供了一个有力的佐证。

### （2）DNA X-射线的研究



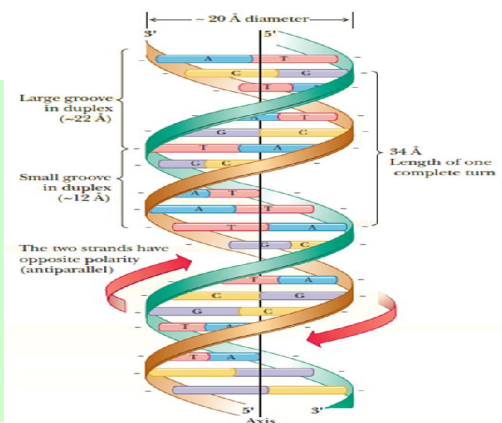
### (3) DNA 的二级结构

DNA 的二级结构主要是各种形式的螺旋，特别是 B-型双螺旋，此外还有 A-型双螺旋、Z-型双螺旋、三链螺旋和四链螺旋等。

#### ➤ DNA 的双螺旋结构(Watson-Crick 模型- B-型双螺旋)

DNA 的双螺旋模型特点：

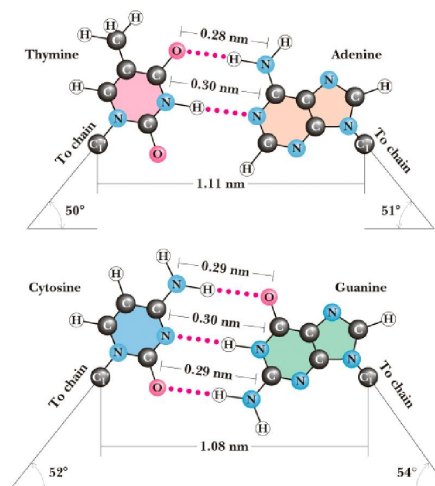
双链逆行螺旋绕，磷酸为架碱内包。  
碱面双垂糖与轴，碱基堆积配对牢。  
十碱成圈高三四，外径二十要记好。  
嘌呤相对距离严，内径大致为一一。



- ✓ DNA 双螺旋中的两股链走向是反平行的，一股链是 5'→3'走向，另一股链是 3'→5'走向。两股 DNA 链围绕一假想的共同轴心形成一右手螺旋结构，双螺旋的表面形成一条大沟，一条小沟。大沟与小沟是蛋白质识别 DNA 的碱基序列，与其发生作用的基础。---双链逆行螺旋绕
- ✓ 链的骨架(backbone)由交替出现的亲水的脱氧核糖基和磷酸基构成，位于双螺旋的外侧。碱基位于双螺旋的内侧，两股链中的嘌呤和嘧啶碱基以其疏水的、近于平面的环形结构与双螺旋的长轴相垂直。---磷酸为架碱内包；碱面双垂糖与轴
- ✓ 一股链中的嘌呤碱基与另一股链中位于同一平面的嘧啶碱基之间以氢键相连，称为碱基互补或碱基配对(base pairing)，碱基互补是 A 与 T 配对(A=T)，形成两个氢键；G 与 C 配对之间(G=C)，形成三个氢键。---碱基堆积配对牢
- ✓ 螺旋直径 2nm，相邻碱基平面垂直距离 0.34nm，每隔 10 个碱基对 (base pair, bp)

螺旋上升一圈，高度为 3.4nm。---十碱成圈高三四，外径二十要记好。

- ✓ T and GC base pairs---嘌呤相对距离严，内径大致为一一



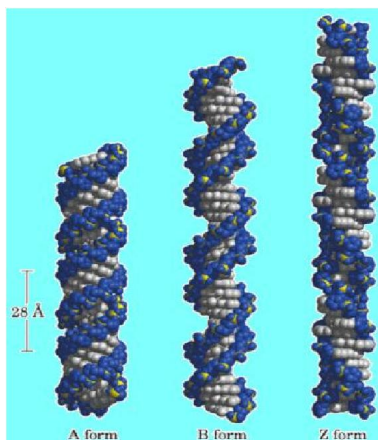
#### (4) DNA 的双螺旋结构稳定因素:

- ✓ 氢键--主要决定碱基配对的特异性，而对双螺旋稳定的贡献不是最重要的。对双螺旋稳定起决定性作用的是碱基的堆积力。
- ✓ 碱基堆积力--碱基对之间在垂直方向上的相互作用所产生的力。包括疏水作用和范德华力。碱基间相互作用的强度与相邻碱基之间环重叠的面积成正比。总的趋势是嘌呤与嘌呤之间>嘌呤与嘧啶之间>嘧啶与嘧啶之间。碱基的甲基化能提高碱基的堆积力。
- ✓ 细胞内组蛋白或带正电荷的化合物对磷酸基团上负电荷的中和

#### (5) DNA 双螺旋结构意义

该模型揭示了 DNA 作为遗传物质的稳定性特征，最有价值的是确认了碱基配对原则，这是 DNA 复制、转录和反转录的分子基础，亦是遗传信息传递和表达的分子基础。该模型的提出是本世纪生命科学的重大突破之一，它奠定了生物化学和分子生物学乃至整个生命科学的飞速发展。

## (6) DNA 双螺旋的多态性-- DNA 双螺旋的不同构象



DNA	A	B	Z
直径 nm	2.3	2.0	1.8
螺距 nm	2.8	3.4	4.5
螺旋一周	11 Nt	10 Nt	12 Nt
碱基垂距 nm	0.255	0.34	0.37

A型双螺旋、B型双螺旋和Z型双螺旋的比较

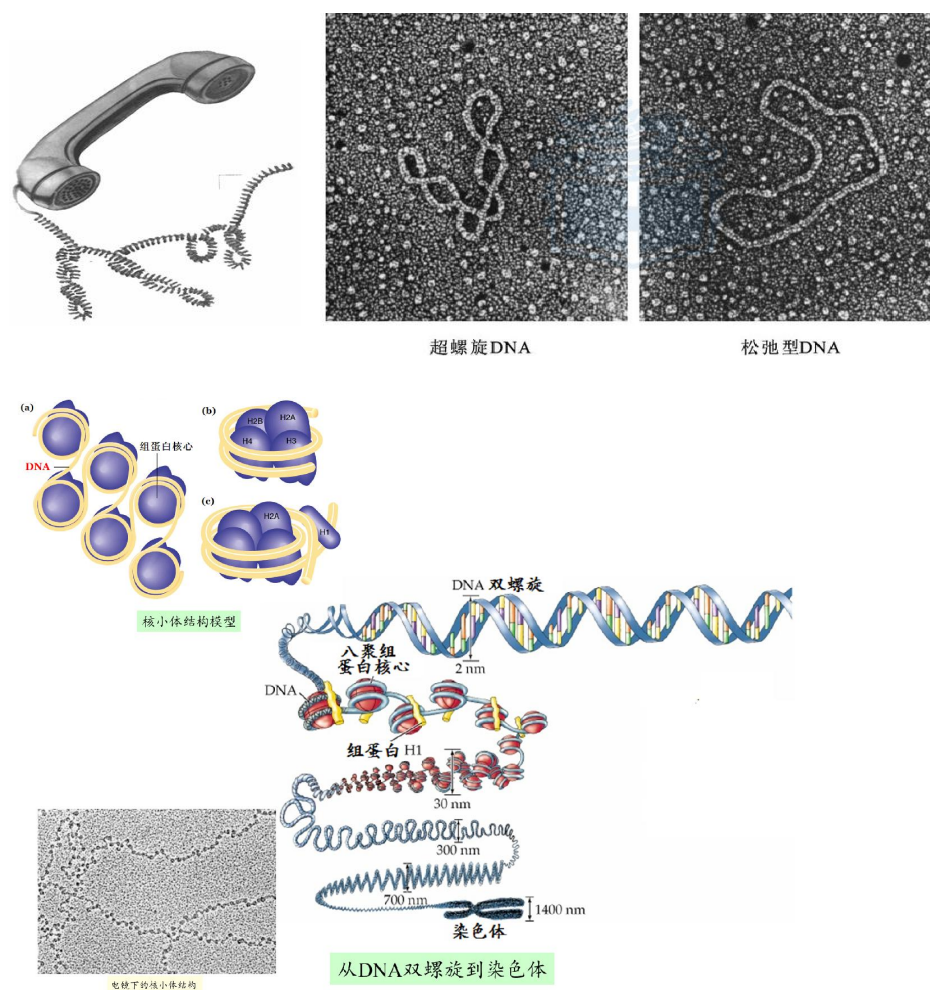
参数	A 型双螺旋	B 型双螺旋	Z 型双螺旋
外形	短而宽	长而瘦	长而细
每 bp 上升的距离	0.23nm	0.332±0.19nm	0.38nm
螺旋直径	2.55nm	2.37nm	1.84nm
螺旋方向	右手	右手	左手
螺旋内每重复单位的 bp 数	1	1	2
每圈 bp 数	~11	~10	12
碱基夹角	32.7°	34.6°	60°/2
螺距	2.46nm	3.32nm	4.56nm
碱基对倾角	+19°	1.2°±4.1°	-9°
螺旋轴位置	大沟	穿过碱基对	小沟
大沟	极度窄、很深	很宽，深度中等	平坦
小沟	很宽、浅	窄，深度中等	极度窄、很深
糖苷键构象	反式	反式	C 为反式，G 为顺式
糖环折叠	C <sub>3'</sub> 内式	C <sub>2'</sub> 内式	嘧啶 C <sub>2'</sub> 内式，嘌呤 C <sub>3'</sub> 内式
存在	双链 RNA，RNA/DNA 杂交双链，低温度 DNA (75%)	双链 DNA (高温度，92%)	嘧啶和嘌呤交替存在的双链 DNA 或 DNA 链上嘧啶和嘌呤交替存在的区域

## 3. DNA 的三级结构 --超螺旋 (supercoiled DNA)

如果通过某种手段使得 DNA 双螺旋每一圈的碱基对数目多于或少于 10 对，将导致 DNA 双螺旋缠绕过多或缠绕不足；如果这时的 DNA 两端被固定或者 DNA 本来是共价

闭环的，则 DNA 会因张力无法释放而自发地形成超螺旋结构。

DNA 超螺旋分为正超螺旋和负超螺旋，其中正超螺旋为左手超螺旋，由 DNA 双螺旋过度缠绕引起，负超螺旋为右手超螺旋，由 DNA 双螺旋缠绕不足引起。



## DNA 超螺旋结构形成的意义

- 使 DNA 形成高度致密状态从而得以装入核中；
- 推动 DNA 结构的转化以满足功能上的需要。负超螺旋分子所受张力会引起互补链分开导致局部变性，利于复制和转录。



### 7.6.5 教学方法

本单元的教学方法主要采用课堂讲授、举例和讨论的形式进行。

### 7.6.6 作业安排及课后反思

1. 什么是 B 型双螺旋 DNA？它的结构特征和稳定因素。
2. A 型双螺旋、Z 型双螺旋
3. 核苷酸的命名：CMP,ADP,GTP,cAMP, dTMP
4. 核酸的书写：5' --3 '；互补链的书写；
5. 末端终止法测定的 DNA 序列的结果书写：5' -3' ；
6. DNA 的三级结构及其形成意义。
7. 试做课后的复习思考题；章节作业，章节测验。

### 7.6.7 课前准备情况及其他相关特殊要求（教师、学生）

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.6.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第四章核酸（p151-180）

## 7.7 教学单元七 第三章 核酸化学 -2（2 学时）

### 7.7.1 教学日期

第四周第七次课 (09/20)

### 7.7.2 教学目标

掌握核酸的理化性质；理解 RNA 的结构及其与 DNA 结构的差异及生理意义；熟

喜爱核酸研究的技术和方法（核酸的化学合成，核酸的分离、纯化和定量）。

### 7.7.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：核酸的理化性质（酸碱性、光吸收、稳定性、变/复性）

难 点：核酸的分离、纯化和定量方法。

主要知识点：增色效应、减色效应、退火、分子杂交、RNA 的组成及结构特点、tRNA 的二级和三级结构、核酸的分离、纯化和定量。

### 7.7.4 教学过程

## 第三节 核酸的结构和功能

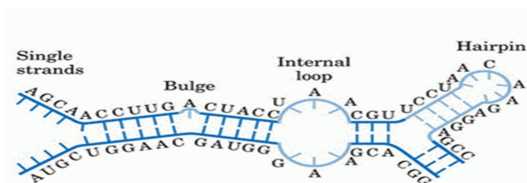
### 二、RNA 的分子结构

#### 1. RNA 类别和一级结构

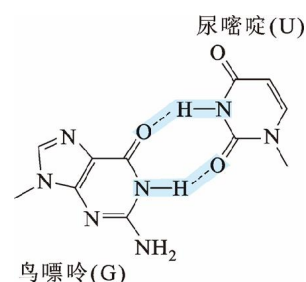
- 信使 RNA（messenger RNA，mRNA）：在蛋白质合成中起模板作用；
- 核糖体 RNA（ribosomal RNA，rRNA）：与蛋白质结合构成核糖体（ribosome），核糖体是蛋白质合成的场所；
- 转移 RNA（transfer RNA，tRNA）：在蛋白质合成时起着携带活化氨基酸的作用。

RNA 分子中各核苷之间的连接方式（3'-5' 磷酸二酯键）和排列顺序叫做 **RNA 的一级结构**。

- ✓ RNA 是**单链线性分子**，通过自身回折，可以形成碱基配对区域形成**双螺旋结构**，而不能进行碱基配对的区域形成**突环**。



- ✓ RNA 分子中的双螺旋结构的碱基配对是:  $A=U$     $G\equiv C$
- ✓ 但在 RNA 分子中的碱基配对并不像 DNA 分子中的严格配





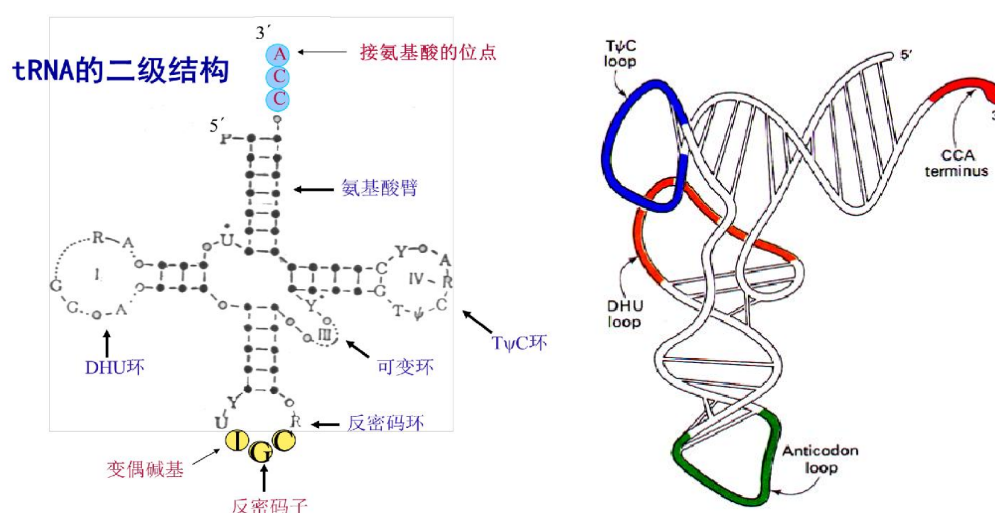
对。如：G 与 U 之间的配对等。

## 2. tRNA 的分子结构--氨基酸的运载工具

**tRNA 的一级结构：** 73~94 bp；含稀有碱基；3'端均为-CpCpA-OH；23 个碱基位置固定不变（都在三叶草结构上非氢键区域）。tRNA 只由一条链组成，含有 73~94 个核苷酸，其中有不少是修饰的，3' 端的最后三个核苷酸总是 CCA，链内的大多数碱基通过氢键相连，但几乎所有的 tRNA 分子上不变的核苷酸都在三叶草结构上非氢键区域。

**二级结构特征：** 三叶草形：四环四茎（A-型双螺旋）+AA 臂

**三级结构特征：** 在二级结构基础上进一步折叠扭曲形成倒 L 型



**拓展：** tRNA 上的稀有碱基是普通碱基转录后修饰产生的。这些稀有碱基的功能还不十分清楚。其中反密码子上的次黄嘌呤（I）可与 U，C 和 A 配对，与密码子的简并性有关，能提高密码子-反密码子识别时的容错率。

tRNA 三级结构形成的原因是 D 环上的碱基与不变碱基以及 T $\psi$ C 环上的碱基之间发生的氢键作用。这些氢键将 D 臂和 T $\psi$ C 臂折叠到一起，并将三叶草二级结构弯曲成稳定的倒 L 型三级结构。参与三级结构形成的许多氢键并不是通常的 AU 和 GC 碱

基对。

### 3. rRNA 的分子结构

**特征：**单链，螺旋化程度较 tRNA 低，与蛋白质组成核糖体发挥功能。

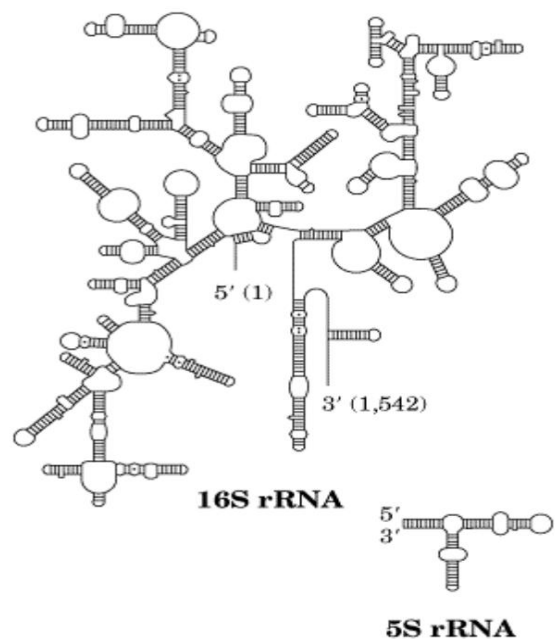
核糖体都含有大小两个亚基；

rRNA 约占据核糖体的 2/3，高度的链内互补序列导致大量的碱基配对，充当核糖体蛋白的支架；

**大肠杆菌的 23S rRNA 是转肽酶！**

一级结构上相似性并不高，但二级结构却惊人地相似。

核糖体的整体构象由 rRNA 决定，核糖体蛋白质一般正好位于 RNA 螺旋之间。



### 4. mRNA 的分子结构

DNA 的转录产物，蛋白质的翻译模板

原核生物多为多顺反子；

真核生物多为单顺反子，5'端具帽子，3'端具多聚腺苷酸尾；出现在 mRNA 分子上最多的二级结构部件也是茎环结构，mRNA 分子的二级结构，特别是两端的二级结构对于翻译有影响，而某些 mRNA 借助于末端特殊的二级结构对基因的表达进行调控。



## 三、核酸的功能

✂ DNA —— 一种类型，一种功能  
 ✂ RNA —— 多种类型，多种功能  
 编码RNA和非编码 (NcRNA)

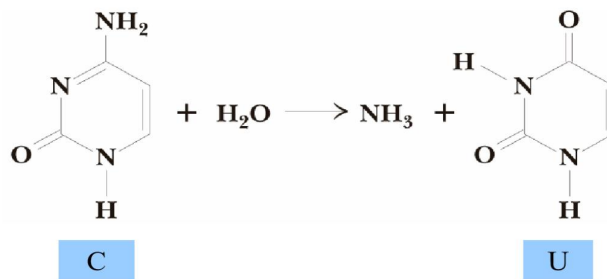
WHY?

## DNA和RNA的结构异同

性质	RNA	DNA
戊糖	D-核糖	2'-D-脱氧核糖
碱基	第四个碱基通常是 U	第四个碱基通常是 T
多聚核苷酸链的数目	多为单链	多为双链
在细胞内的双螺旋	A 型	B 型和 Z 型
种类	多种	只有一种
功能	功能多样	只有一种功能，即充当遗传物质
碱溶液下的稳定性	不稳定，很容易水解	稳定

思考：（1）为什么 DNA 的第四个碱基通常是 T？

- ✓ C 自发脱氨基变成 U；
- ✓ 修复酶能够识别这些突变，以用 C 取代这些 U；
- ✓ 如何区分正常的 U 和突变而来的 U？
- ✓ 使用 T 就很容易解决以上问题。



（2）为什么 DNA 2'-脱氧，RNA 不是？

RNA 临近的-OH 使其更容易在碱性条件下水解；DNA 缺乏 2'-OH 更加稳定；

遗传物质必须更加稳定；RNA 需要的时候合成，不需要的时候需要迅速降解。

（3）为什么 RNA 通常单链，DNA 通常双链？

- ✓ RNA 处于单链状态，使其能够自我折叠成可以和蛋白质相媲美的各种类型的二级结构和三级结构，这是形成 RNA 结构多样性的基础，否则所有的 RNA 与 DNA 一

样，只能形成千篇一律的双螺旋；

- ✓ RNA 在三维结构的多样性使其在细胞内能行使**多项生物学功能**；
- ✓ DNA 通常是双链的，使其能够充分地行使作为遗传物质这项唯一的功能。

不同类型的RNA的功能和分布

名称	功能	存在
信使 RNA (mRNA)	翻译模板	所有的生物
转移 RNA (tRNA)	携带氨基酸，参与翻译	同上
核糖体 RNA (rRNA)	核糖体组分，参与翻译	同上
核小 RNA (snRNA)	参与真核细胞核 mRNA 前体的剪接	真核生物
核仁小 RNA (snoRNA)	参与真核 rRNA 前体的后加工	真核生物
微 RNA (microRNA, miRNA)	主要在翻译水平上抑制特定基因的表达，也可能是诱导染色质重塑成异染色质或 DNA 的甲基化修饰而阻遏基因的表达	除了真菌、藻类和海洋植物以外几乎所有的真核生物
小干扰 RNA (siRNA)	主要在翻译水平上抑制特定基因的表达	同上
小激活 RNA (saRNA)	“瞄准”特定基因的启动子，激活它们的转录	某些真核生物
piRNA 或 piwi RNA	反转位子的基因沉默，对于胚胎发育和某些动物的精子发生十分重要	脊椎动物或无脊椎动物的生殖细胞
长间插非编码 RNA (lincRNA)	在基因表达的多个环节调节基因的表达	真核生物
7SL RNA	作为信号识别颗粒 (SRP) 的一部分，参与蛋白质的定向和分泌	真核生物
7SK RNA	抑制 RNA 聚合酶 II 催化的转录延伸	脊椎动物

核仁小 RNA (snoRNA) -真核 rRNA 前体加工； siRNA-在翻译水平抑制基因表达；

长间插非编码 lincRNA-调节基因表达；

不同类型的RNA的功能和分布

名称	功能	存在
RMRP RNA	参与线粒体DNA复制过程中RNA引物的加工；参与 rRNA 的后加工；参与切除一种阻滞细胞周期的蛋白质的 mRNA 的 5'-非翻译序列，而促进细胞周期的前进	真核生物
转移信使 RNA (tmRNA)	兼有 mRNA 和 tRNA 的功能，参与原核生物无终止密码子的 mRNA 的抢救翻译	原核生物
向导 RNA (gRNA)	参与锥体虫线粒体 mRNA 的编辑	某些真核生物
病毒 RNA	作为 RNA 病毒的遗传物质	RNA 病毒
类病毒	最小的感染性致病因子	植物
端聚酶 RNA	作为端聚酶的模板，有助于端粒 DNA 的完整	真核生物
核开关或 RNA 开关 (riboswitch)	在转录或翻译水平上调节基因的表达	原核生物和少数低等的真核生物
核酶	催化特定的生化反应，如核糖核酸酶 P 和核糖体上的转肽酶	原核或真核生物以及某些 RNA 病毒
Y RNA	与细胞质中的 Ro 蛋白形成核糖核酸蛋白复合物，抑制 Ro 的活性；参与人细胞 DNA 的复制	脊椎动物
Xist RNA	促进哺乳动物一条 X 染色体转变成高度浓缩的巴氏小体 (Barr body)	雌性哺乳动物
鞍马状 RNA (vault RNA)	与细胞质某些特殊的蛋白质形成鞍马状复合物，与肿瘤细胞对多种药物的抗性有关，参与胞内某些大分子的组装和运输	大多数真核生物

向导 RNA (gRNA)-锥体虫线粒体 mRNA 的编辑；核酶--核糖核酸酶 P 和转肽酶；  
类病毒-植物致病因子；XistRNA-哺乳动物一条 X 染色体浓缩成巴氏小体。

#### 第四节 核酸的性质及研究方法

##### 一、核酸的理化性质

##### 1. 一般性质（分子量、溶解度（无水乙醇沉淀）、粘度-分离纯化及鉴定）

- 分子量：DNA 和 RNA 分子都是大分子。RNA 分子量在 10<sup>4</sup>-10<sup>7</sup>，DNA 在 10<sup>6</sup>-10<sup>9</sup>，或更大。
- 性状：RNA 及其组分核苷酸、核苷、嘌呤碱、嘧啶碱的纯品都呈白色的粉末或结晶；DNA 为纤维状固体。
- 粘性：核酸的水溶液粘度很大，粘度 DNA 大于 RNA。
- 溶解度：RNA 和 DNA 都微溶于水，不溶于乙醇、乙醚、氯仿等有机溶剂。它们的

钠盐易溶于水。

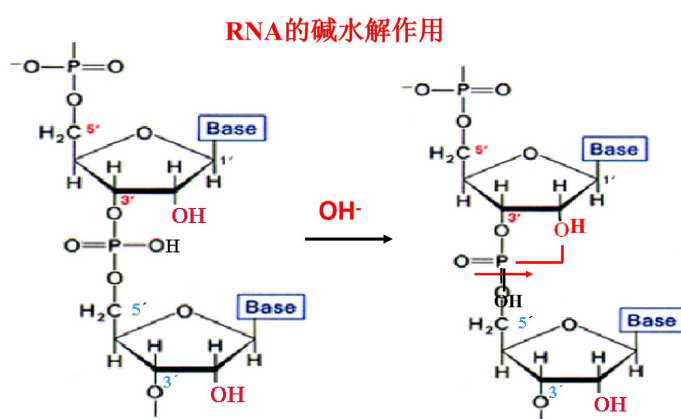
## 2. 水解（酸碱稳定性，核酸酶-保存条件）

- 在酸性溶液中 DNA 分子比 RNA 分子中嘌呤碱更易脱落，形成无嘌呤的酸。
- RNA 在稀碱溶液中水解成核苷酸，DNA 在稀碱中较稳定。

RNA 核糖基上 2'-OH 在碱的作用形成 2',3'-环状磷酸酯，进一步水解产生 2'-核苷酸和 3'-核苷酸。DNA 的脱氧核糖无 2'-OH，不能生成碱水解的中间产物——2',3'-环状磷酸酯，故对碱有一定的抗性。

**思考：提取的 DNA 通常保存在什么样的缓冲液中？**

**抗碱水解的生理意义：**作为遗传物质的 DNA 不易水解更稳定；而 RNA（主要是 mRNA）是 DNA 的信使，完成任务后应该迅速降解。

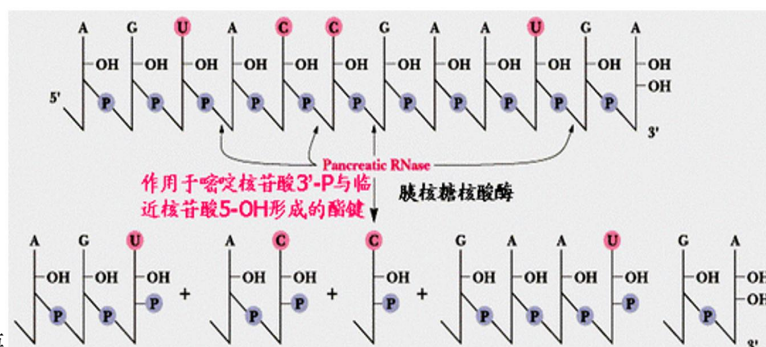
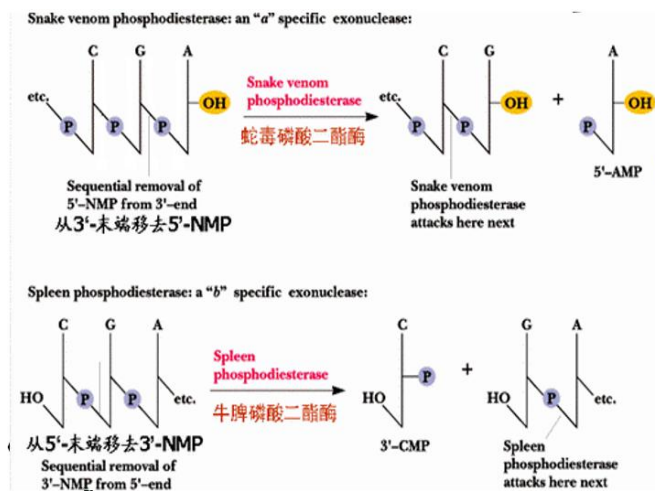


- 核酸酶类：按底物分：RNase , DNase;

按对底物的作用方式分：内切酶，外切酶；

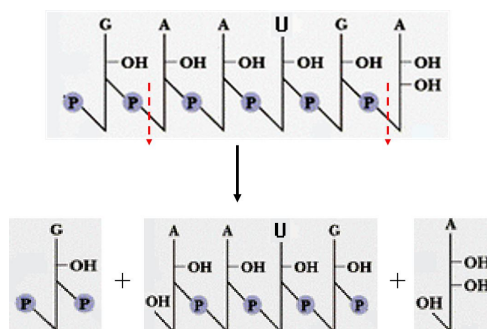
按对磷酸二酯键的方式分：作用于 3' -磷酸酯键的酶和作用于 5' -磷酸酯键的酶。





(1) 牛胰核糖核酸酶

(2) 核糖核酸酶 T1



## ➤ 限制性内切酶 RE

限制性内切酶专一性强，识别 DNA 分子上的特定的 4-8 对碱基回文顺序，在特定位置进行切割。回文顺序：正读反读相同的 DNA 序列。

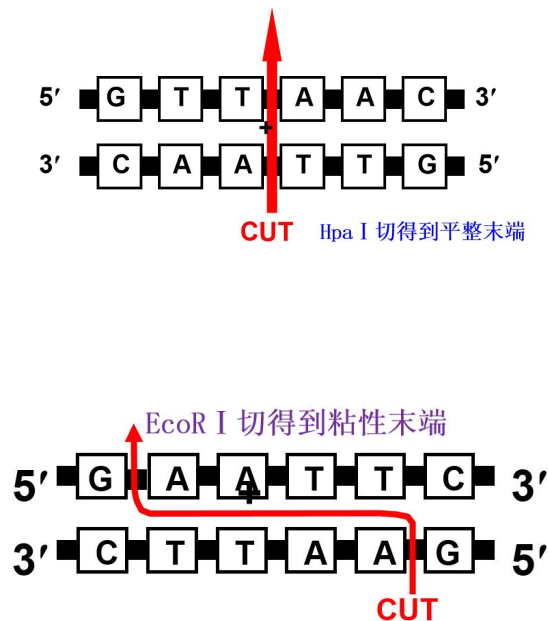
**GAATTC**  
**CTTAAG**

舟行水面水行舟

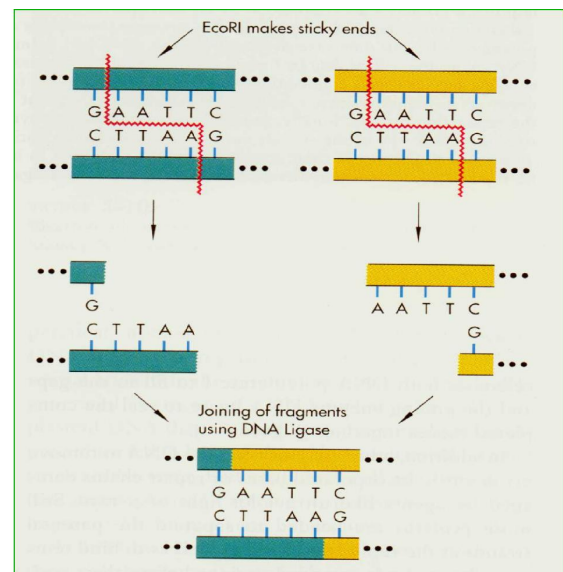
限制性内切酶切 DNA，得到的 DNA 片段有两种形



式：平整末端（blunt end）；粘性末端（sticky end）。



粘性末端连接



## Hydrolysis of Nucleic Acids

- ✗ RNA is resistant to dilute acid
- ✗ RNA is hydrolyzed by dilute base
- ✗ DNA is depurinated by dilute acid (pH 3-4) and completely hydrolyzed to bases, riboses/deoxyribose, and phosphate by strong acid at high temperature
- ✗ DNA is not susceptible to base, but high pH changes the tautomeric state of the bases. Because of the change of tautomeric states of the bases, base pairing is not stable anymore, resulting in DNA denaturation

### 拓展：Some important nucleases

- ✓ S1 nuclease （来源于稻谷曲霉(*Aspergillus oryzae*), 是一种高度单链特异的核酸内切酶，在最适的酶催反应条件下，降解单链 DNA 或 RNA，产生带 5'-磷酸的单核苷酸或寡核苷酸）

- ✓ **RNase H**（核糖核酸内切酶，可以特异性地水解 DNA-RNA 杂合链中的 RNA。在 cDNA 第二链合成前去除 mRNA，DNA-RNA 杂交体的鉴定）
- ✓ **RNase P** - 核酶（1978 年 Altman 发现 RNaseP 的 RNA 具有催化活性）
- ✓ Restriction endonuclease
- ✓ **Cas9**（Cas9 蛋白中的两个核酸酶活性位点分别切割靶序列中的两条链 [一个核酸酶活性位点作用于一条链]，产生双链断裂。双链断裂通常通过非同源末端连接来修复，这通常会删除或改变连接发生部位的核苷酸）

### 3. 紫外吸收（定量测定、纯度鉴定）

碱基上共轭双键体系，核酸在 240-290 nm 具有紫外吸收特性；最大吸收值在 260 nm。

- 利用这一特性可以对纯核酸样品进行核酸定量：1 OD260 值：

相当于 50 微克/mL 双螺旋 DNA；相当于 40 微克/mL 单螺旋 DNA（或 RNA）；相当于 20 微克/mL 寡核苷酸。

- 通过 OD260/OD280 的比值判断核酸样品的纯度。纯的 DNA OD260/OD280 ≥ 1.8；纯的 RNA OD260/OD280 = 2.0

- 光吸收值的比较：A 天然核酸 < A 变性核酸 < A 核苷酸

有时核酸溶液的紫外吸收用**摩尔磷消光系数**表示：

$$\epsilon (P) = \frac{A}{c L} \quad c = \frac{\text{每升溶液中磷的重量 (克) } W}{\text{磷的原子量 (30.98)}}$$

A: 260 nm 的光吸收

c: 每升溶液中磷的摩尔数

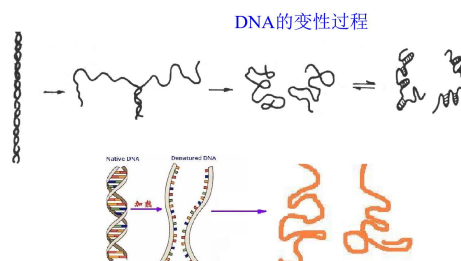
L: 比色杯的内径

$$\epsilon (P) = \frac{30.98 A}{W L}$$

### 4. 变性、复性（变性标准-增色效应、减色效应；高温；T<sub>m</sub> 和退火温度；均一性、[GC]、[I]）

- 变性：能够破坏核酸中的氢键的因素，如

95

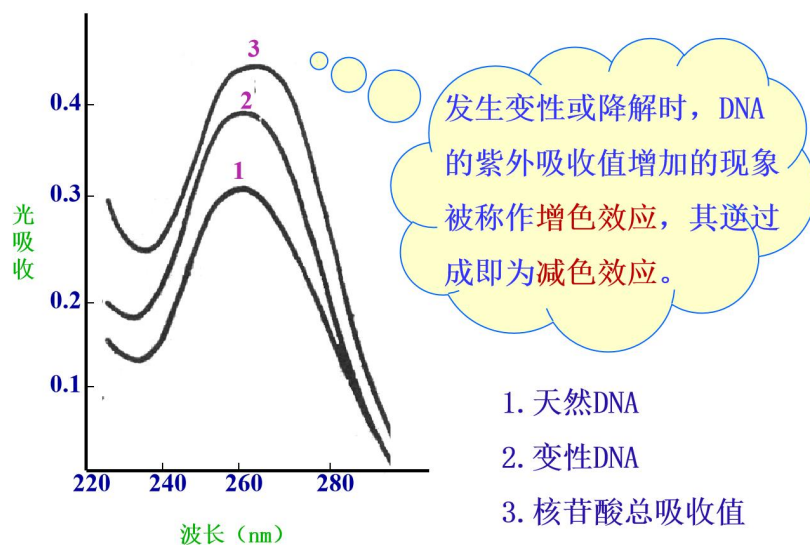


高温、酸、碱及某些变性剂(如尿素)均能使双螺旋结构变成单链的无规则线团，此过程称为的变性。

- 复性:核酸变性在一定条件下是可逆的。除去变性因素后，变性时解开的互补单链全部或部分恢复到天然双螺旋结构的现象称为复性。热变性 DNA 经缓慢冷却后即可复性，此过程被称为退火。
- 变性不引起共价键的断裂。发生变性或降解时,核酸的紫外吸收值增加的现象被称作**增色效应**，其逆过程即为**减色效应**。所以，紫外吸收值常用作核酸变性或复性的指标。

紫外吸收值增加；粘度下降；浮力密度增加；生物活性丧失。

### 双链DNA、变性DNA及核苷酸的紫外吸收



- 退火和熔解温度 ( $T_m$ )

DNA 热变性时，双螺旋结构失去一半时的温度被称为熔解温度 (melting temperature)，用  $T_m$  表示。

热变性的 DNA，缓慢降温使 DNA 复性被称为退火。如果迅速降温 DNA 不能复性,复

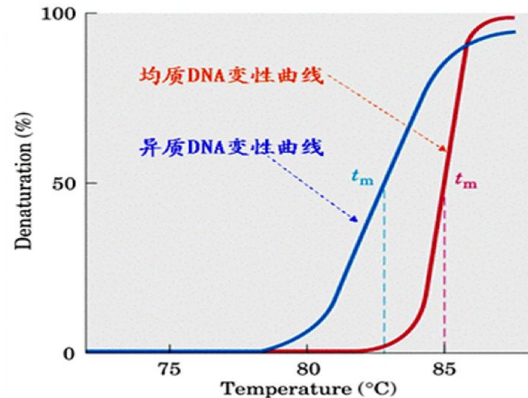
性的退火温度一般控制在比  $T_m$  低  $25^{\circ}\text{C}$  的温度。

Application: **Hybridization** - renaturation of complementary sequences between different nucleic acid molecules.  
(examples: Northern or Southern hybridization)

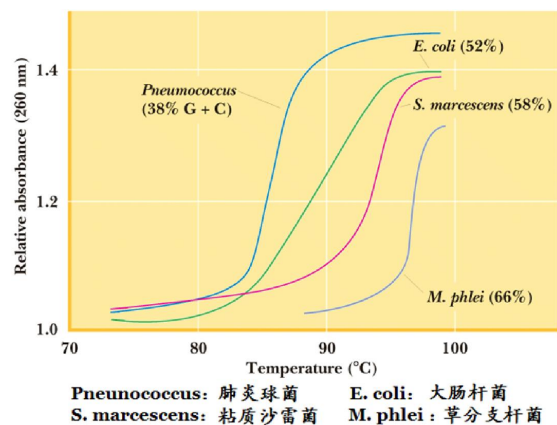
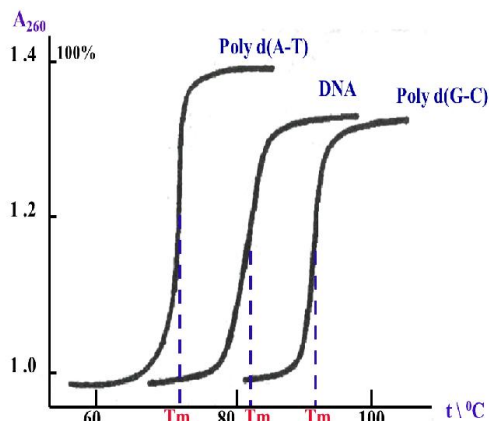
DNA 的  $T_m$  值与下列因素有关:

- ✓ DNA 的均一性 均一性越高, 样品熔解过程温度范围越小。
- ✓ [G-C] 含量越高,  $T_m$  越高 (G-C 比 A-T 更稳定);

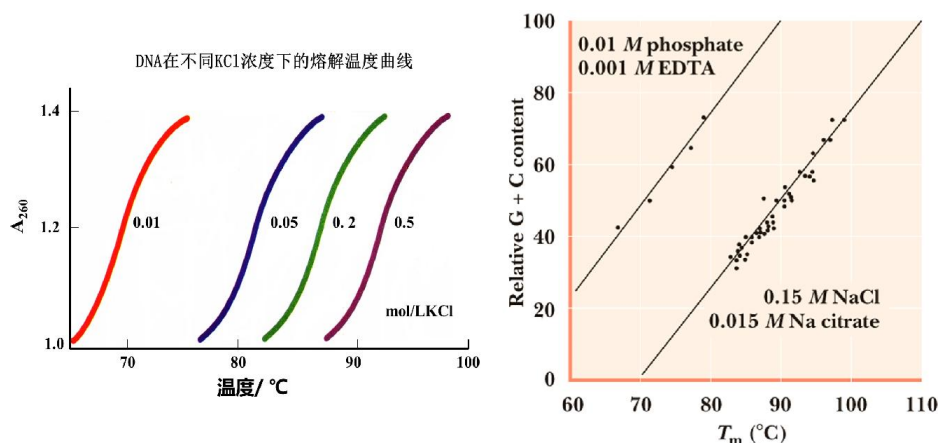
经验公式:  $(\text{G-C})\% = (T_m - 69.3) \times 2.44$



均质和异质DNA的变性曲线



- ✓ 介质中的离子强度 离子强度低, DNA 的  $T_m$  低, 溶解温度的范围宽; 介质的离子强度高, DNA 的  $T_m$  高, 溶解温度的范围窄。因此 DNA 样品应保存在较高离子强度的缓冲液中。

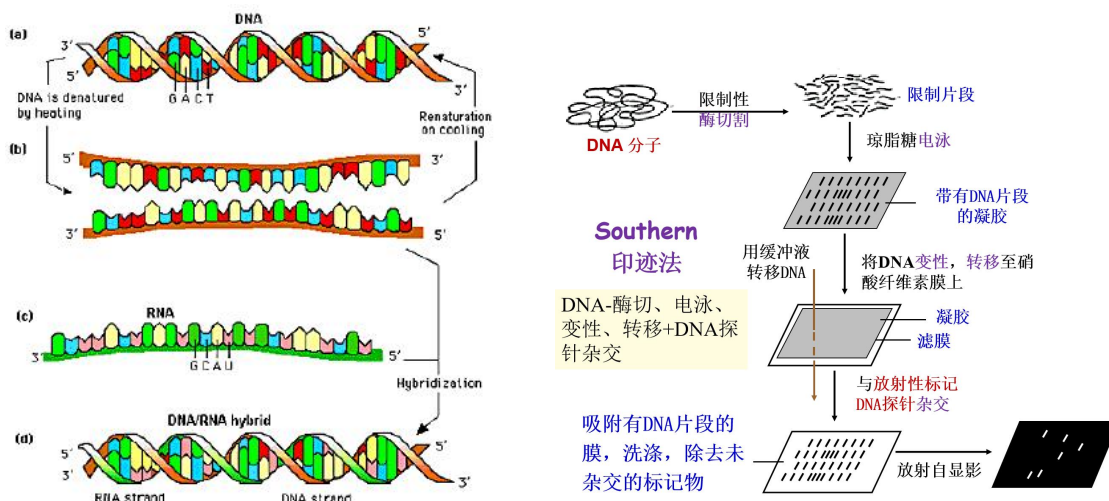


具有双螺旋的 RNA 也具有变性性质，但 RNA 的双螺旋区段少，因此  $T_m$  小。tRNA 具有较多的双螺旋区，具有较高的  $T_m$  值。

## 二、核酸研究的技术和方法（核酸的分离、纯化和定量）

### 1. 核酸分子杂交 hybridization--研究核酸功能的重要手段

核酸分子杂交：不同来源的 DNA 单链间或单链 DNA 与 RNA 之间只要有碱基配对的区域，在复性时可形成局部双螺旋区，称核酸分子杂交-hybridization。制备特定的探针 probe，通过杂交技术进行基因的检测和定位研究。



- Southern 印迹法：DNA--DNA,DNA-酶切、电泳、变性、转移+DNA 探针杂交;
- Northern 印迹法：RNA 电泳后，变性，转移到硝酸纤维素膜上，用带有放射性同



位素的 DNA 探针进行杂交。

- Western 印迹法：将蛋白质(抗原)进行变性电泳，转移到硝酸纤维素膜上，用带有放射性同位素的探针(抗体)杂交。

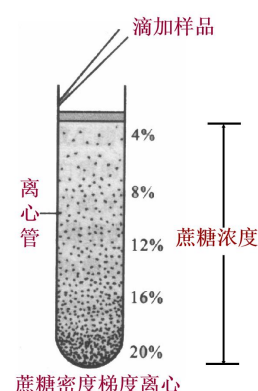
## 2. 核酸的分离、纯化和定量

- 密度梯度离心 (density gradient) 核酸的沉降特性

不同构象的核酸（线性、开环、超螺旋）、蛋白质在超离心机的强大引力场中，沉降速率不同。利用超离心沉降可以分离纯化核酸。

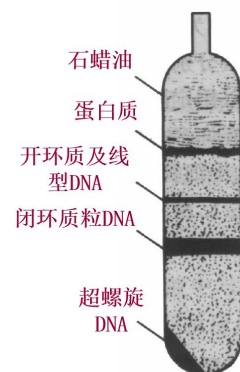
- ✓ 分离 DNA 常用氯化铯密度梯度离心
- ✓ 分离 RNA 常用蔗糖密度梯度离心

生物大分子颗粒的沉降决定于它的大小和密度；具有密度梯度的介质中离心时，质量和密度大的颗粒沉降的快，并且每种质颗粒沉降到与自身密度相等的介质密度梯度时，即停止不前，最后各自在离心管中被分离成独立的区带；分成区带的样品可以在管底刺一个小孔逐滴放出，分步收集；常用的介质有蔗糖（RNA）、氯化铯（DNA）。



### 密度梯度沉降平衡法在核酸研究中的应用

- ✓ 核酸密度的测定： $\rho = \rho_0 + 4.2\omega^2 (\gamma^2 - \gamma_0^2) \times 10^{-10}$
- ✓ 测定 DNA 中 G-C 含量：
- ✓ Rolfe-Meselson 公式： $\rho = 0.100x_{G-C} + 1.658$
- ✓ 溶液中核酸构象的研究： $\rho$ : 单链 DNA > 双链 DNA > 蛋白质 > 双链 RNA > RNA;



经染料-氯化铯密度梯度超离心后，质粒DNA及各种杂质的分布

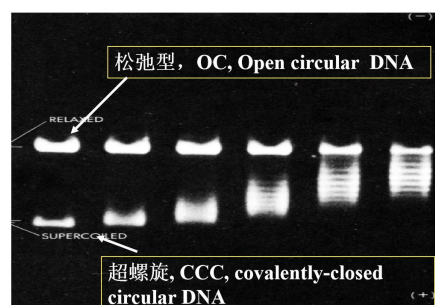
✓ 核酸的制备：氯化铯密度梯度超离心

## ➤ 凝胶电泳

琼脂糖凝胶电泳常用于核酸样品的定量和片段大小的测定。

聚丙烯酰胺电泳常用于 DNA 序列测定。

不同形状的DNA分子在琼脂糖中的迁移率



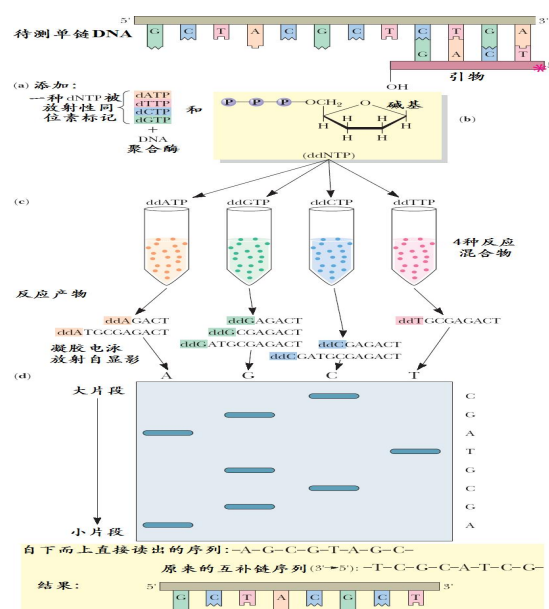
## 三、核酸一级结构的测定（自学）

**Sanger** 发明的末端终止法或双脱氧法：

末端终止法原理：ddNTP 参入可导致 DNA 复制的末端终止

步骤：

进行四组平行反应；每一组反应混合物含有四种 dNTP；每一组反应含有一种少量的 ddNTP；在多数情况下，聚合酶使用正常的核苷酸，DNA 合成正常延伸有时，聚合酶使用 ddNTP，而导致末端终止；每一组反应中 ddNTP 的随机插入留下一系列长度不等的以该双脱氧核苷酸结尾的 DNA 链。对每一组反应混合物走凝胶电泳，片段越短，走的越快，就越靠近凝胶的底部



从凝胶的底部向上读出序列；将读出的序列转化成互补链的序列。

**Maxam 和 Gilbert** 发明的化学断裂法



原理：是用特殊的化学试剂，处理待测的具有末端放射性同位素（ $^{32}\text{P}$ ）标记的单链 DNA 或者只有一条链的末端被放射性同位素标记的双链 DNA 片段，造成特定碱基的修饰、脱落和戊糖-磷酸骨架被特异性切割，从而产生一组长度不同的 DNA 链降解产物，经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离和放射自显影之后，可直接读出待测 DNA 片段的核苷酸序列。

步骤：进行四组平行的反应；

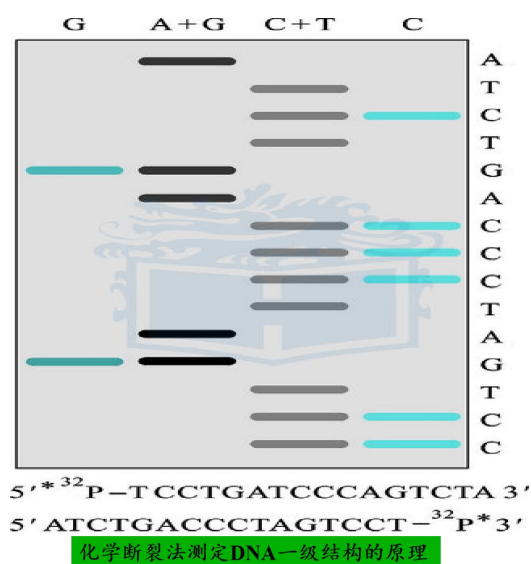
G 特异性剪切 —— 在碱性条件下，先用硫酸二甲酯（DMS）处理，然后再使用哌啶处理。

嘌呤碱基特异性剪切 —— DNA 先进行酸处理，然后再加 DMS。

嘧啶碱基特异性剪切 —— 先用胍处理，然后用哌啶

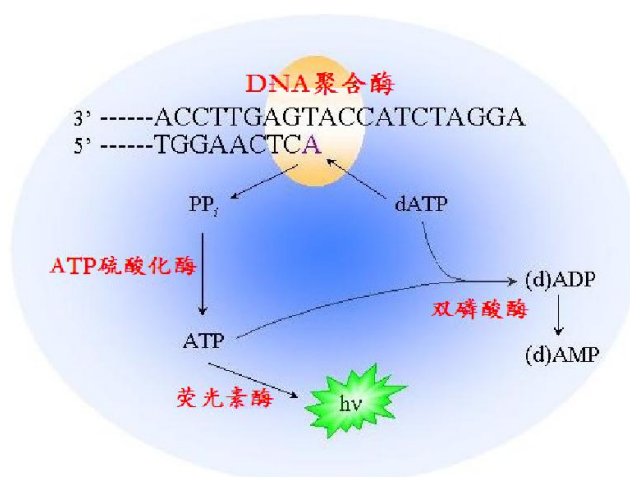
处理。C 特异性剪切 —— 在高盐下，先用胍处理，然后用哌啶处理。

进行聚丙烯酰胺凝胶电泳和放射自显影。比较 G、A+G、C+T 和 C 各个泳道，自下而上从自显影片上就可读出 DNA 序列。



## 焦磷酸测序与深度测序

焦磷酸测序需要在同一反应体系 中发生由 4 种特异性酶催化的级联化学发光反应，在每一轮测序反应中，只加入一种 dNTP，若该 dNTP 与模板配对，聚合酶就可以将其掺入到引物链的 3'端并释放出等量  $\text{PPi}$ 。 $\text{PPi}$  可转化为可见光信号，并最终转化为一个峰值。每个峰值的高度与反应中掺入的核苷酸数目成正比。



第一轮反应结束后，再加入下一种 dNTP，继续下一轮 DNA 链的合成。

### 深度测序

除了焦磷酸测序法，近几年来，科学家还发明了一些新的测序方法，例如单分子测序法（single-molecule sequencing）。建立在这些新的测序方法基础之上的高通量测序技术堪称测序技术发展历程的一个里程碑，该技术可以对数百万个 DNA 分子同时进行测序，操作极为简便，大大节约了成本和时间。这使得对一个物种基因组和转录组进行细致全面的分析成为可能，因此也称其为深度测序（deep sequencing）

#### 7.7.5 教学方法

本单元的教学方法采用课堂讲授、案例分析和分组课堂 PPT 演讲、讨论和点评的形式进行。

#### 7.7.6 作业安排及课后反思

- (1) 常用于核酸的分离和纯化的方法有哪些？
- (2) 核酸分子杂交、增色效应、减色效应、退火、熔解温度
- (3) 影响 DNA 的  $T_m$  值的因素有哪些？
- (4) 提取的 DNA 通常保存在什么样的缓冲液中？
- (5) DNA 抗碱水解的生理意义。
- (6) 核酸变性后有哪些理化性质发生改变？
- (7) 简述 DNA 和 RNA 的功能以及结构基础。
- (8) 简述氨基酸的运载工具 tRNA 的结构。
- (9) 试做课后的复习思考题；章节作业，章节测验。

#### 7.7.7 课前准备情况及其他相关特殊要求（教师、学生）

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生

物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.7.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》, 科学出版社, 2016, 第四章核酸 (p185-200)

## 7.8 教学单元八 第四章 酶 -1 (2 学时) --酶的特性、分类与催化机理

### 7.8.1 教学日期

第四周第八次课 (09/22)

### 7.8.2 教学目标

熟悉酶的定义、性质；了解酶的分类及命名；掌握酶的催化机制。

### 7.8.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：米氏方程及其意义

难 点：米氏方程及其转换

主要知识点：酶的性质及分类、米氏方程、米氏常数。

### 7.8.4 教学过程

#### 第一节 酶学概论

##### 一、酶的化学本质

**酶的定义：**酶就是由细胞合成的，在机体内行使催化功能的生物催化剂。主要是蛋白质，极少数是 RNA（**核酶 ribozyme**）。

**酶的生物学意义：**生物的新陈代谢、生长发育、繁殖、遗传、运动、神经传导等生命活动都与酶的催化过程紧密相关，没有酶的参与，生命活动一刻也不能进行。

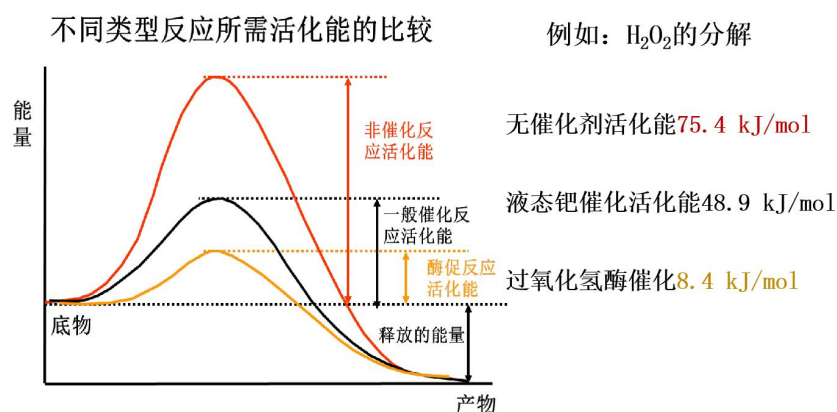
1978 年 Altman 发现 **RNaseP** 的 RNA 具有催化活性。1982 年 Cech 发现**四膜虫 rRNA** 前体具有自我剪接和自我拼接的能力，证明 rRNA 自身有催化作用。

**核酶的生物学意义：**打破了所有酶都是蛋白质的传统观念；在生命起源问题上，为先有核酸提供了依据；为治疗乙肝，肿瘤等疾病提供手段。

## 二、酶的催化性质

### 1. 酶与非酶催化剂的共同性质：

- 用量少而催化效率高，本身不被消耗或变化，即可以重复使用；（tiny with high efficiency）
- 不改变化学反应的平衡点，只加快到达平衡的速度或缩短到达平衡的时间；（the same balance coefficient with shortening reaction time）
- 降低反应的活化能（reduce the activation energy）。



### 2. 酶特有的催化性质

- **高效性：**酶催化反应的反应速率比非生物催化反应高  $10^8$ - $10^{20}$  倍。

**Example1: carbonic anhydrase** catalyzes:  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{CO}_3$

nonenzymatic rate constant =  $1.3 \times 10^{-1} \text{ s}^{-1}$

enzymatic rate constant =  $1 \times 10^6 \text{ s}^{-1}$  (x  $7.7 \times 10^6$ )

**Example2: Staphylococcal nuclease** catalyzes nucleic acid hydrolysis

nonenzymatic rate constant =  $1.7 \times 10^{-13} \text{ s}^{-1}$

enzymatic rate constant =  $95 \text{ s}^{-1}$  (x  $5.6 \times 10^{14}$ )

- **高度专一性：** 酶对催化的反应和反应物有严格的选择性。即一种酶仅能作用于一种底物，或一类分子结构相似的底物，发生某种特定类型的化学反应，产生特定的产物。---酶最重要的特点之一，也是和一般催化剂最主要的区别

#### 专一性一般有四种类型：

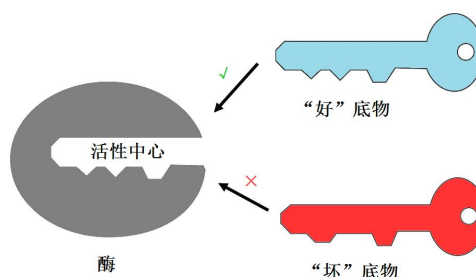
- (1) 绝对专一性： 是指一种酶仅催化一个特定的反应。例如，脲酶只能催化尿素的水解反应；
- (2) 基团专一性： 是指一种酶只作用于含有特定官能团的分子。如磷酸酶只水解特定底物分子上的磷酸基团；
- (3) 键专一性： 是指一种酶只作用于含有一种特定化学键的分子，而不管底物分子其他部分的结构。如二肽酶识别的是二肽分子中的肽键，而不管构成这个肽键的两个氨基酸残基是哪一种；
- (4) 立体专一性

#### 解释酶专一性的三种模型：

- (1) 锁与钥匙学说 The ‘Lock & Key’ hypothesis Emil Fischer (1894)；

整个酶分子的天然构象具有**刚性结构**，酶表面具有特定的形状。底物与酶的结合如同一把钥匙对一把锁一样。

**酶的活性中心也称为活性部位**，是指酶分子上直接与底物结合，并与催化作用直接相关的区域。



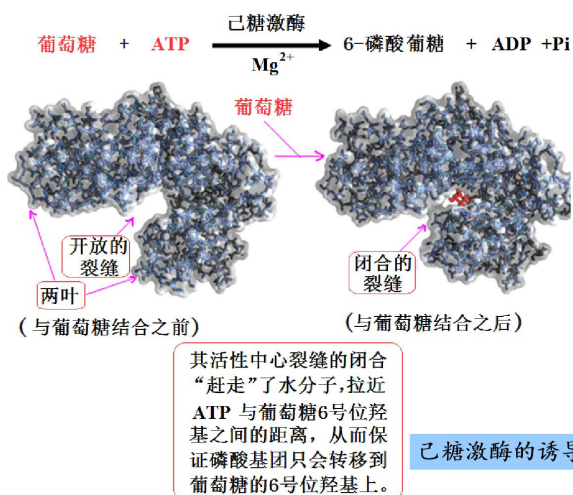
#### 拓展：酶活性中心的主要特征

- ✓ 活性中心是一个三维实体，通常由在一级结构上并不相邻的氨基酸残基组成；
- ✓ 活性中心只占酶总体积很小的一部分（约 1%~2%）；

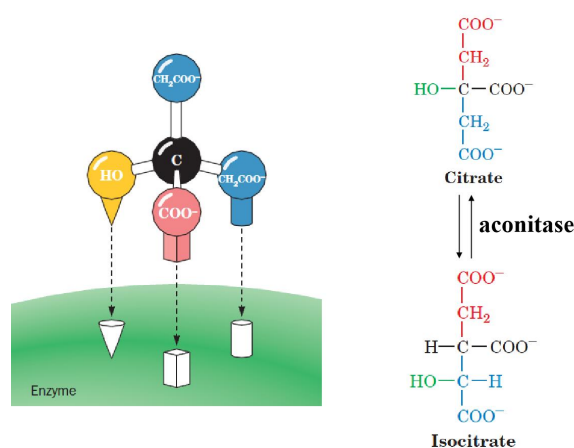
- ✓ 活性中心为酶分子表面的一个裂缝、空隙或口袋，中心内多为疏水氨基酸残基，但也有少量极性氨基酸残基，以便底物结合和进行催化；
- ✓ 与底物结合为多重次级键，包括氢键、疏水键和范德华力；
- ✓ 底物结合的专一性一定程度上取决活性中心和底物之间在结构上的互补性；
- ✓ 活性中心的构象不是固定不变的，而是具有一定的柔性。

## (2) 诱导契合学说 ‘Induced Fit’ hypothesis Dan Koshland: (1958)

该学说认为酶表面并没有一种与底物互补的固定形状，而只是由于底物的诱导才形成了互补形状。如：己糖激酶的诱导契合催化



## An Example – Aconitase 顺乌头酸酶

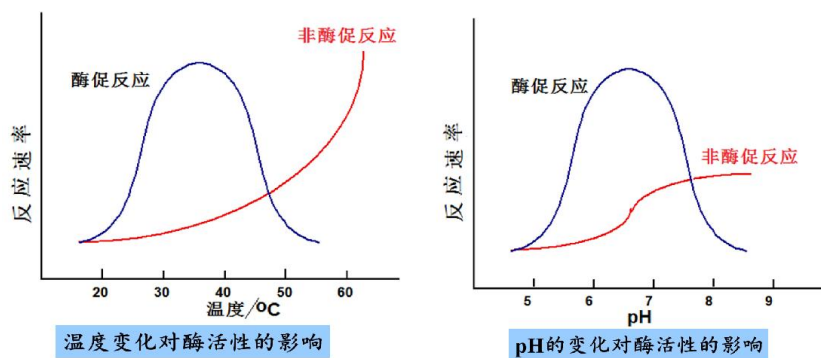


## (3) “三点附着”模型（解释酶作用的立体专一性）Three-point attachment model。

该学说解释酶作用的立体专一性，如顺乌头酸酶的三点附着催化柠檬酸生成异柠檬酸

### ➤ 酶的活性受调节和控制

酶浓度的调节：合成与降解速率的调节； 酶活性的调节：共价调节，别构调节；  
激素调节：胰岛素、肾上腺素等。



### ➤ 酶催化反应条件温和，易失活

大多数的酶都是蛋白质，能引起蛋白质变性的因素（高温、强碱、强酸等）都能使酶失去催化活性。因此酶催化的反应在温和条件下，常温、常压、接近中性 pH 条件下进行。

### Summary: 酶特有的催化性质

高效性、酶在活性中心与底物结合、专一性、反应条件温和，对反应条件敏感，容易失活、受到调控、许多酶的活性还需要辅助因子的存在，作为辅助因子的多为维生素或其衍生物。

## 三、酶的分类和命名

1. 根据酶的化学组成分：单纯酶：只含有蛋白质如脲酶、蛋白酶等；

**结合酶：**酶蛋白+辅因子=全酶 如羧肽酶等。

在结合酶蛋白中，酶蛋白决定酶催化的专一性，辅因子起着电子、原子或化学基团的传递作用。

➤ **辅因子 cofactor：**包括金属离子及复杂的小分子有机化合物。本身无催化作用，但参与氧化还原或转运载体。辅因子耐热，而酶蛋白不耐热。



**辅基 Prosthetic group**—酶蛋白与辅

因子结合牢固，不能通过透析除去。

**辅酶 Coenzyme**— 酶蛋白与辅因子结

合松弛，能通过透析除去。

辅因子

**辅基** 酶蛋白与辅因子结合牢固，不能通过透析除去。

**辅酶** 酶蛋白与辅因子结合松弛，能通过透析除去。

**Apoenzyme 脱辅酶/酶蛋白**: the protein part of an enzyme without coenzymes or prosthetic groups that are required for the enzyme to have activity.

**Holoenzyme 全酶**: the apoenzyme with the coenzyme or prosthetic group bound to it .

## 2. 根据酶分子的特点分:

- **单体酶**: 一条多肽链组成 如溶菌酶;
- **寡聚酶**: 两个或两个以上的亚基组成的酶，亚基既可以是相同的也可以是不同的。如糖代谢过程中的很多酶均属于寡聚酶。
- **多酶复合体**: 几种酶嵌合形成复合体，使一系列的反应连续进行。如丙酮酸脱氢酶系。

根据酶分子的特点

单体酶: 一条多肽链组成 如溶菌酶

寡聚酶: 两个或两个以上的亚基组成的酶，亚基既可以是相同的也可以是不同的。

多酶复合体: 几种酶嵌合形成复合体，使一系列的反应连续进行。如丙酮酸脱氢酶系。

## 3. 国际系统分类及酶的编号

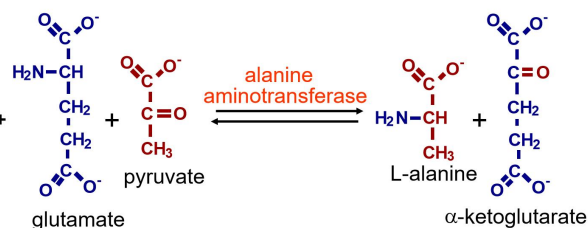
国际酶学委员会 (Enzyme Commission EC) 根据酶催化的反应类型，把酶分为六大类:

(1) oxidoreductase 氧化还原酶类

- 👉 **Oxidoreductases** (EC Class 1)  
Transfer electrons (RedOx reactions)
- 👉 **Transferases** (EC Class 2)  
Transfer functional groups between molecules
- 👉 **Hydrolases** (EC Class 3)  
Break bonds by adding  $H_2O$
- 👉 **Lyases** (EC Class 4)  
Elimination reactions to form double bonds
- 👉 **Isomerases** (EC Class 5)  
Intramolecular rearrangements
- 👉 **Synthetase or Ligases** (EC Class 6)  
Join molecules with new bonds

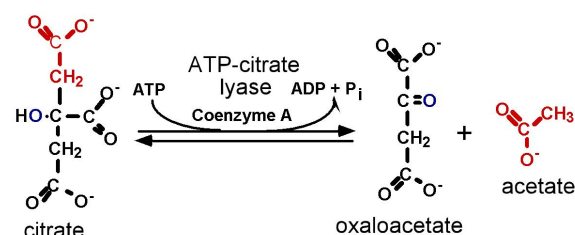
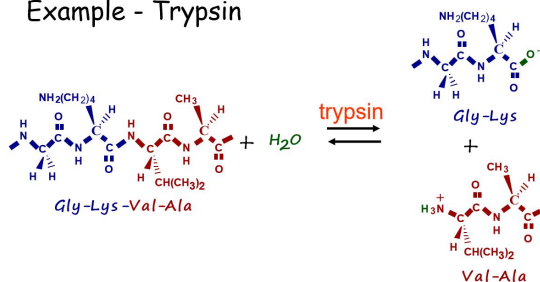
***Oxidoreductases catalyze the transfer of hydrogen atoms and electrons***

*Transferases catalyze the transfer of functional groups from donors to acceptors*

$$\begin{array}{ccc} \begin{array}{c} \text{O}=\text{C}-\text{O}^- \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array} + \text{NADH} + \text{H}^+ & \xrightleftharpoons{\text{lactate dehydrogenase}} & \begin{array}{c} \text{O}=\text{C}-\text{O}^- \\ | \\ \text{HO}-\text{CH} \\ | \\ \text{CH}_3 \end{array} + \text{NAD}^+ \\ \text{pyruvate} & & \text{L-lactate} \end{array}$$


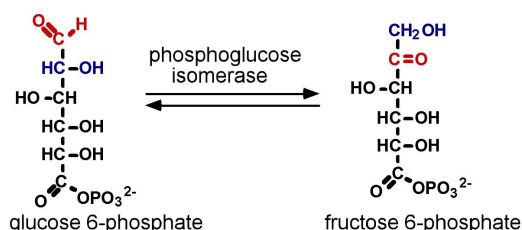
*Lyases catalyze the addition of groups to double bonds or formation of double bonds by removal of groups*

### Example - ATP-citrate lyase



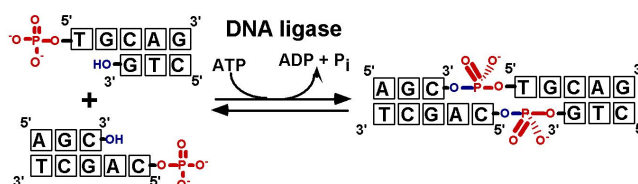
**Isomerases catalyze the transfer of functional groups within the same molecule**

Example - Phosphoglucose isomerase



**Ligases use ATP to catalyze the formation of new covalent bonds**

Example - DNA ligase



## 乳酸脱氢酶 LDH 在酶表中的编号

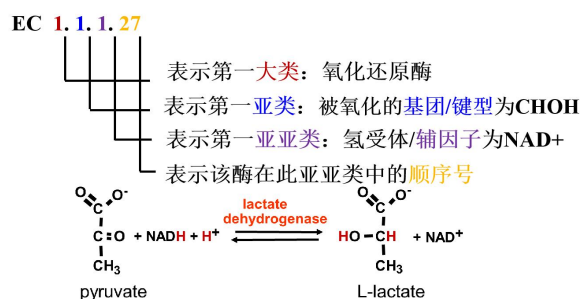
EC-国际酶学委员会 (Enzyme Commission)

大类编号-酶催化反应类型

亚类编号-作用的基团和键型

亚亚类编号-作用的辅因子等

第四位数字编号-该酶在亚亚类中的位置



EC 1. 1. 2 表示氧化还原酶，作用于 CHOH，受体是细胞色素 c。

EC 1. 1. 3 表示氧化还原酶，作用于 CHOH，受体是分子氧。

## ➤ 习惯命名主要依据原则——缺乏系统性

- ✓ 根据酶的底物命名：水解淀粉的酶叫淀粉酶，水解蛋白的酶叫蛋白酶，有时还加上酶的来源，以区别不同来源的同一类酶。如胃蛋白酶、胰蛋白酶。
- ✓ 根据酶催化的反应性质命名：催化氨基转移的酶为转氨酶
- ✓ 结合上述两个原则命名：酶所作用的底物是乳酸，催化的反应是脱氢反应称为乳酸脱氢酶。

## ➤ 国际系统命名

确切地表明底物的化学本质及酶的催化性质。两种底物中间用“： ”分开，若底物之一是水，可略去不写。

酶催化的反应	系统命名	习惯命名
(1) 乙醇 + NAD <sup>+</sup> → 乙醛 + NADH + H <sup>+</sup>	乙醇：NAD <sup>+</sup> 氧化还原酶	乙醇脱氢酶
(2) 乙酰辅酶A + H <sub>2</sub> O → 乙酸 + 辅酶A	乙酰辅酶A水解酶	乙酰辅酶A水解酶
(3) 丙氨酸 + α-酮戊二酸 → 谷氨酸 + 丙酮酸	丙氨酸：α-酮戊二酸氨基转移酶	谷丙转氨酶

## 第二节 酶动力学

### 酶的反应速度及酶活力

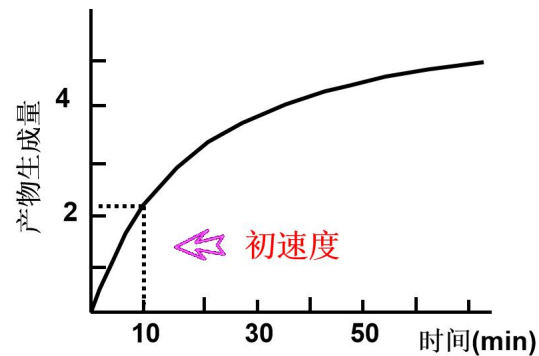
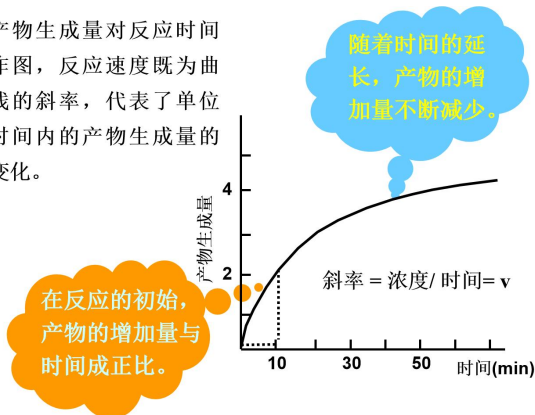
**酶的反应速度：**用单位时间内底物的减少量或产物的增加量来表示。一般以产物的增加量表示较为准确。

**酶活力：**又称酶活性，一般把酶催化一定化学反应的能力称为酶活力，通常以在一定条件下酶所催化的化学反应速度来表示。酶的活力的大小既酶含量的多少。

酶的反应速度一定要以初速度来表示。

后期由于逆反应增大、产物对酶的激活和抑制等因素的影响，此时不能代表真正的酶反应速度。

产物生成量对反应时间作图，反应速度既为曲线的斜率，代表了单位时间内的产物生成量的变化。



## 一、影响酶促反应的因素

1. 底物浓度的影响 Substrate concentration

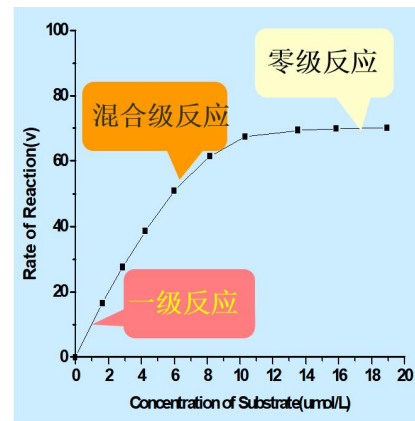
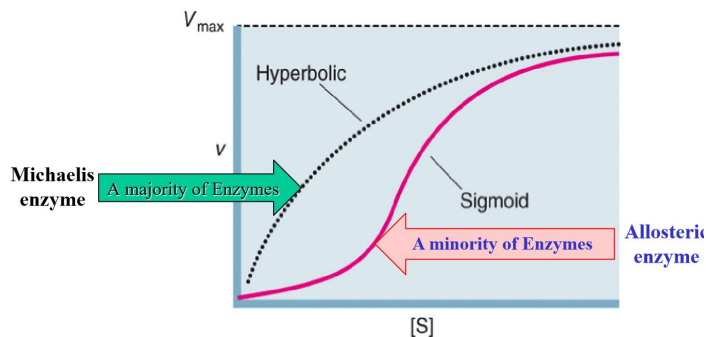
Which one is the most important?

2. 酶浓度的影响 Enzyme concentration

How?

3. pH、温度对酶促反应速度的影响 pH, temperature and ionic strength

4. 激活剂、抑制剂的影响 The presence of inhibitors or activators



酶浓度不变时，不同的底物浓度下测反应速度，以反应速度对底物浓度作图

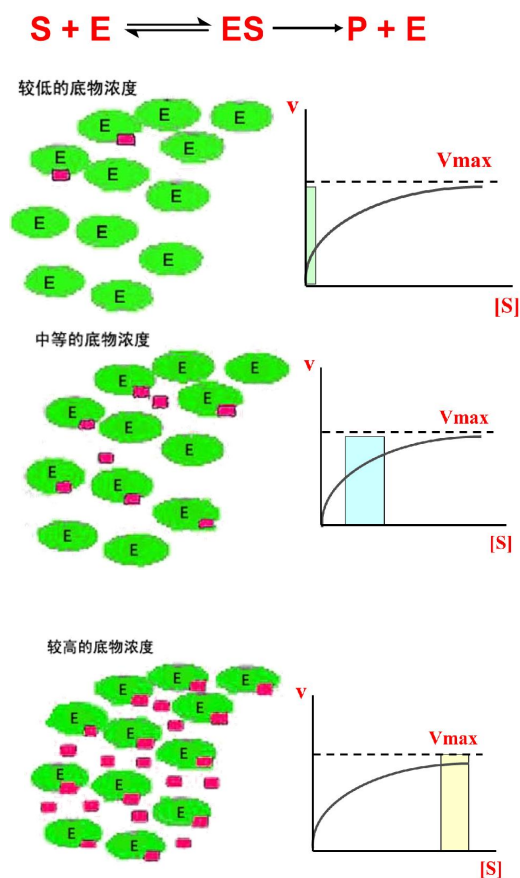
➤ 当底物浓度较低时，反应速率与底物浓度的关系成正比关系，表现为一级反应；

➤ 底物浓度的增加，反应速率增加缓慢，[S]与v不成正比，表现为混合级反应；

➤ 当底物浓度很大时，反应速率与底物浓度无关，反应达到最大速率（ $V_{max}$ ），表现为零级反应。

**中间产物学说：**Henri 和 Wurtz 提出了酶底物中间络合物学说：当酶催化某一化学反应时酶首先和底物结合生成中间复合物，然后生成产物，并释放出酶。

- ✓ 酶浓度大，底物浓度小，反应速度随着底物浓度增加而增大，反应速率与底物浓度成正比；
- ✓ 底物浓度为中等浓度时，底物浓度增大，酶浓度不变，反应速度不再成比例加速，反应为混合级。
- ✓ 底物浓度相当高时，酶全部被底物饱和，增加底物浓度也没有多余的酶与之结合，此时底物浓度与反应速率无关，达到最大速度，表现为零级反应。



**思考：**如果要增大酶促反应速度，该怎么办？

## 二、米氏反应动力学

**米氏方程-稳定平衡状态：**1913 年，Michaelis 和 Menten 根据酶反应的中间产物学说，提出稳定平衡状态（ES 浓度不发生变化），并推导出米氏方程；酶反应动力学最简单的模型，又名 Michaelis-Menten 模型或 M-M 模型。



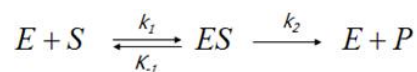
$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

1. 米氏方程推导设定的 3 个条件：



- 反应速率为初速率 (K-2 可忽略;  $v = k_2[ES]$ ;  $[S] \rightarrow \infty$  时  $v =$

$k_2[E_t] = V_{\max}$  ) ;



- 酶底物复合物处于稳态即 ES 浓度不发生变化 (在稳态时, ES 形成的速率与 ES 解离的速率相等:  $k_1[E][S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$  ) ;

- 符合质量守恒定律 (  $[E_t] = [E] + [ES]$  ) 。

米氏方程表明了已知  $K_m$  及  $V_{\max}$  时, 酶的反应速度和底物浓度之间的关系。

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

2. 根据米氏方程式可以说明以下关系:

(1) 当  $[S] \ll K_m$  时, 米氏方程变为:  $V_{\max}$  和  $K_m$  为常数, 二者的比可用一常数  $K$  表示。此时, 反应速率与底物浓度成正比,  $v$  与  $[S]$  的关系符合一级反应动力学。

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m} = K[S]$$

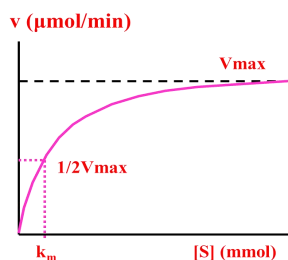
(2) 当  $[S] \gg K_m$  时, 米氏方程变为: 此时, 反应速率已达到最大速率, 这时酶全部被底物饱和,  $v$  与  $[S]$  无关, 符合零级反应动力学。

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{[S]} = V_{\max}$$

(3) 当  $[S] = K_m$  时, 米氏方程变为

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{[S] + [S]} = \frac{V_{\max}}{2}$$

$K_m$  值就是反应速率达到最大反应速率一半的底物浓度。



3. 米氏常数的意义及在实际工作中的应用



### (1) $K_m$ 是酶的特征常数

$K_m$  的大小只与酶的性质有关，与酶所催化的底物和酶促反应条件（如温度、pH、有无抑制剂等）有关，而与酶的浓度无关。

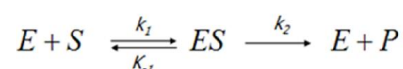
在一定条件下（pH、T 等），对某一酶促反应而言，都有特定的  $K_m$  值，可以用于酶的鉴别。

### (2) 判断酶与底物的亲和力大小

在  $k_2$  很小时， $K_m \approx K_s$ ；

$K_m \neq K_s$ （ $K_s$  是 ES 的解离平衡常数），但在许多酶促反应中， $ES \rightarrow E+P$  的速度很小， $k_2 \ll k_1$ 、 $k_{-1}$  时， $K_2$  可忽略不计，所以：

$$K_m \approx \frac{k_{-1}}{k_1} = K_s$$



$K_m$  小，ES 解离少，酶与底物的亲和力大；

$K_m$  大，ES 解离多，酶与底物的亲和力小。

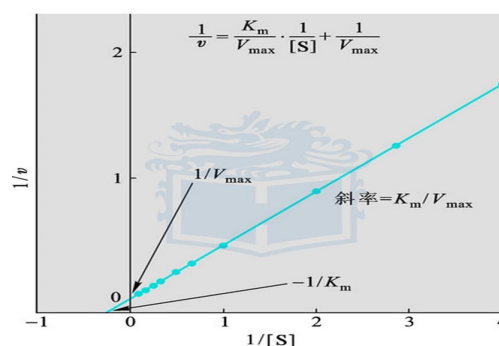
常用  $1/K_m$  表示酶与底物亲和力的大小。

如果一个酶有几种底物，在一定条件下对每一种底物各有一个特定的  $K_m$  值，其中  $K_m$  值最小的底物称为该酶的最适底物。

## 4. 米氏常数 $K_m$ 和 $V_m$ 的求法

米氏常数可通过实验测定不同底物浓度下的反应初速度，以作图法求出  $V_m$  和  $K_m$ 。

### ➤ Lineweaver-Burk 双倒数作图法



米氏酶的双倒数作图

将米氏方程两边取倒数

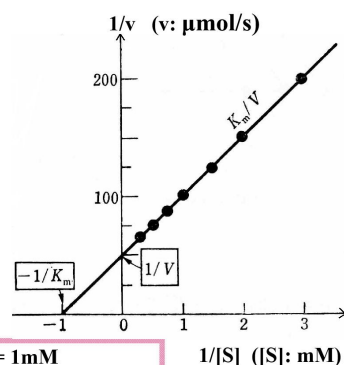
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

整理

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]}$$

得到: 
$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

以 $1/v$ 对 $1/[S]$ 作图，  
得到一条直线。通过直线的横轴截距 $-1/K_m$ 可求出 $K_m$ ，  
通过直线的纵轴截距 $1/V_m$ 可求出 $V_m$ 。



$-1/K_m = -1$      $K_m = 1\text{mM}$   
 $1/V_m = 50$      $V_m = 0.02 \mu\text{mol/s}$

练习：下表是一个酶促反应的实验数据，请用数字 计算法（不用图解）解答下列问题。

[S] (mol/L)	v (μmol/min)
$5.0 \times 10^{-2}$	0.25
$5.0 \times 10^{-3}$	0.25
$5.0 \times 10^{-4}$	0.25
$5.0 \times 10^{-5}$	0.20
$5.0 \times 10^{-6}$	0.071
$5.0 \times 10^{-7}$	0.0096

- (1) 此酶的  $V_m$  和  $K_m$  是多少？
- (2) 这个酶促反应是否遵循米氏方程？
- (3)  $[S]=1.0 \times 10^{-6}\text{mol/L}$  时，反应速度是多少？
- (4) 如果每一反应混合液中酶浓度增加四倍， $K_m$  和  $V_m$  是多少？此时  $[S]=5.0 \times 10^{-6}\text{mol/L}$  时，反应速度是多少？

解:

- (1) 根据所给的数据, 底物浓度增加 (从  $5.0 \times 10^{-4}$  mol/L 增加到  $5.0 \times 10^{-2}$  mol/L) 酶促反应速度不变, 即达到酶促反应最大速度。所以  $V_m = 0.25 \mu\text{mol/min}$

将  $v < V_m$  的任何一组  $v$  和  $[S]$  值代入米氏方程, 可求出  $K_m$ 。

当  $[S] = 5 \times 10^{-5}$  mol/L,  $v = 0.20 \mu\text{mol/min}$  时, 代入米氏方程:

$$v = \frac{V_m [S]}{K_m + [S]} \quad 0.20 = \frac{0.25 \times 5 \times 10^{-5}}{K_m + 5 \times 10^{-5}}$$

$$K_m = 1.25 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

- (3)  $[S] = 1.0 \times 10^{-6}$  mol/L 时

$$v = \frac{0.25 \times 1.0 \times 10^{-6}}{1.25 \times 10^{-5} + 1.0 \times 10^{-6}} = 0.018 \mu\text{mol/min}$$

- (4)  $K_m$  与酶浓度无关

所以  $K_m$  仍等于  $1.25 \times 10^{-5}$  mol/L。

因为:  $V_m = K_2 [E]$ , 酶浓度增加4倍,  $V_m$  也增加4倍。

所以:  $V_m = 0.25 \times 4 = 1 \mu\text{mol/min}$

$[S] = 5.0 \times 10^{-6}$  mol/L 时

$$v = \frac{1 \times 5.0 \times 10^{-6}}{1.25 \times 10^{-5} + 5.0 \times 10^{-6}} = 0.28 \mu\text{mol/min}$$

## Summary: 解读米氏方程

- (1) 解读米氏常数  $K_m$ :

✧  $K_m$  是酶反应初速率为  $V_{\max}$  一半时底物的浓度。在一定条件下, 可以使用它来表示酶与底物的亲和力。一个酶的  $K_m$  越大, 意味着该酶与底物的亲和力越低; 反之,  $K_m$  越小, 该酶与底物的亲和力越高。

✧  $K_m$  可以帮助判断体内一个可逆反应进行的方向。如果酶对底物的  $K_m$  值小于对产物的  $K_m$  值, 则反应有利于正反应。否则, 有利于逆反应。

- (2) 解读  $V_{\max}$ :  $V_{\max}$  也是酶的特征常数, 但随着酶浓度的变化而变化。

- (2) 如果该反应遵循米氏方程, 则对  $v < V_m$  的任何一组  $v$  和  $[S]$  值代入米氏方程, 都应得出相同的  $K_m$  值。

将  $[S] = 5.0 \times 10^{-6}$  mol/L,  $v = 0.071 \mu\text{mol/min}$

值代入米氏方程

$$0.071 = \frac{0.25 \times 5.0 \times 10^{-6}}{K_m + 5.0 \times 10^{-6}}$$

$$K_m = 1.26 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

将  $[S] = 5.0 \times 10^{-7}$  mol/L,  $v = 0.0096 \mu\text{mol/min}$

$$\text{值代入米氏方程} \quad 0.0096 = \frac{0.25 \times 5.0 \times 10^{-7}}{K_m + 5.0 \times 10^{-7}}$$

$$K_m = 1.25 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$$

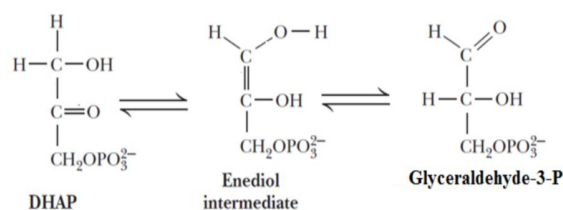
$K_m$  值一致, 所以该反应遵循米氏方程。

(3) 解读  $k_{cat}$ : 称为**酶的催化常数或转换数或周转数**，具体是指在单位时间内，一个酶分子将底物转变成产物的分子总数。 $k_{cat}$  的单位是  $s^{-1}$ 。如果一个酶遵守米氏方程，则  $k_{cat}=k_2=V_{max}/E_t$ 。

(4) 解读  $k_{cat}/K_m$ : 通常被用来**衡量酶的催化效率**，还可以反映一个酶的完美程度。大的  $k_{cat}$  和（或）小的  $K_m$  将给出大的  $k_{cat}/K_m$  值。

### 拓展：Miss Enzyme--Triose Phosphate

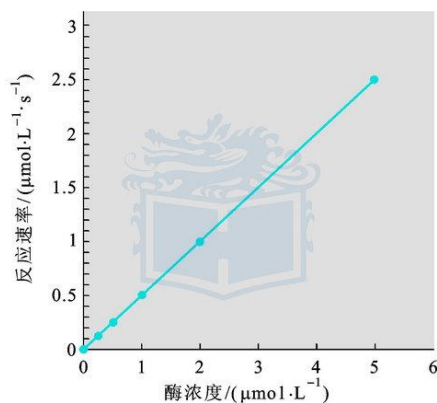
#### Isomerase (TIM)



### 几种酶的动力学参数

酶	底物	$K_m$ ( $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	$k_{cat}$ ( $\text{s}^{-1}$ )	$k_{cat}/K_m$ ( $\text{mol}^{-1}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$ )
乙酰胆碱酯酶	乙酰胆碱	$9.5\times 10^{-5}$	$1.4\times 10^4$	$1.5\times 10^8$
碳酸酐酶	$\text{CO}_2$	$1.2\times 10^{-2}$	$1.0\times 10^6$	$8.3\times 10^7$
	$\text{HCO}_3^-$	$2.6\times 10^{-2}$	$4.0\times 10^5$	$1.5\times 10^7$
磷酸丙糖异构酶	3-磷酸甘油醛	$1.8\times 10^{-5}$	$4.3\times 10^3$	$2.4\times 10^8$
过氧化氢酶	$\text{H}_2\text{O}_2$	1.1	$4.0\times 10^7$	$4.0\times 10^7$
胰凝乳蛋白酶	N-乙酰甘氨酸乙酯	$4.4\times 10^{-1}$	$5.1\times 10^{-2}$	$1.2\times 10^{-1}$
	N-乙酰缬氨酸乙酯	$8.8\times 10^{-2}$	$1.7\times 10^{-1}$	1.9
	N-乙酰酪氨酸乙酯	$6.6\times 10^{-4}$	$1.9\times 10^2$	$2.9\times 10^5$
顺乌头酸酶	顺乌头酸	$5.0\times 10^{-6}$	$8.0\times 10^2$	$1.6\times 10^8$
	苹果酸	$2.5\times 10^{-5}$	$9.0\times 10^2$	$3.6\times 10^7$
脲酶	尿素	$2.5\times 10^{-2}$	$1.0\times 10^4$	$4.0\times 10^5$

## 5. 酶浓度的影响 Enzyme concentration



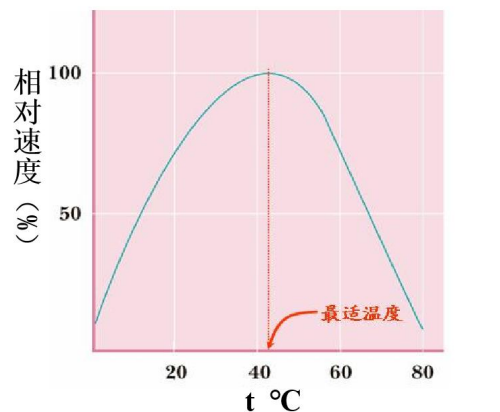
## 6. 温度对酶促反应速度的影响

**温度系数  $Q_{10}$ :** 化学反应中温度每增加  $10^{\circ}\text{C}$  反应速度增加的倍数称为温度系数  $Q_{10}$ 。

一般的化学反应的  $Q_{10}$  为  $2\sim 3$ ，而酶促反应的  $Q_{10}$  为  $1\sim 2$ 。

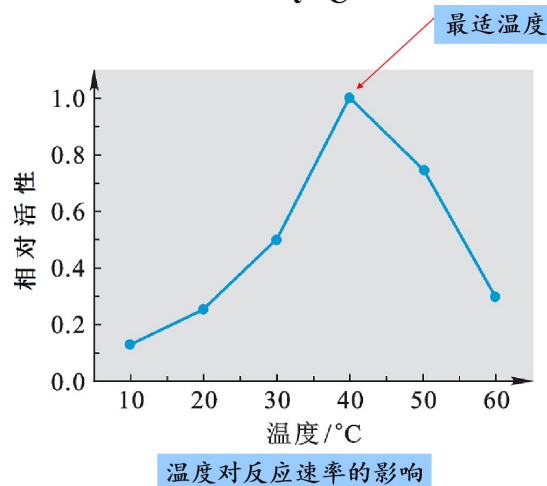
**最适温度:** 反应速度达到最大时的温度称为酶促反应的最适温度 (optimum temperature,  $T$ )。

动物组织中的酶最适温度  $37\sim 50^{\circ}\text{C}$ ，植物与微生物中的酶最适温度  $45\sim 60^{\circ}\text{C}$ ，少数酶可达  $60^{\circ}\text{C}$  以上，如细菌淀粉水解酶最适温度  $90^{\circ}\text{C}$  以上。



### 温度对酶促反应速度的影响机理

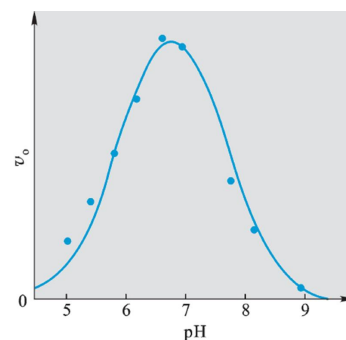
- 温度影响反应体系中的**活化分子数**：温度增加，活化分子数增加，反应速度增加。
- 温度影响**酶的活性**：过高的温度使酶变性失活，反应速度下降。



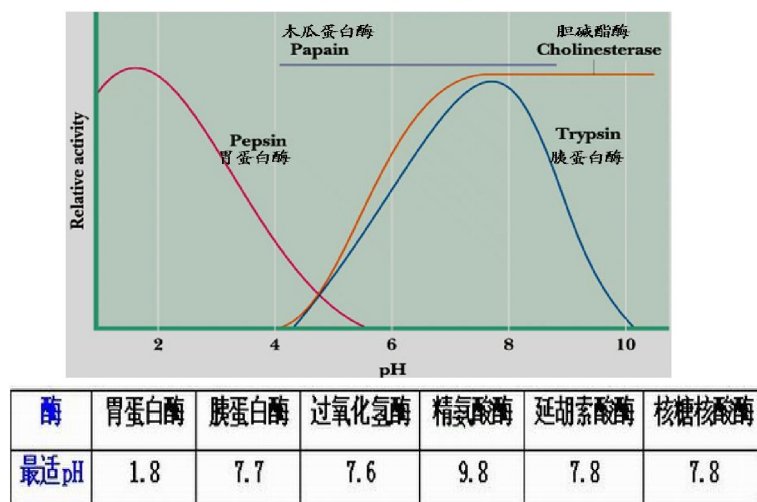
## 7. pH 对酶促反应速度的影响

**最适 pH:** 通常把酶表现出最大活力的 pH 称为酶的最适 pH。

动物体内多数酶的最适 pH 值接近中性。例外，如胃蛋白酶的最适 pH 约 1.8，肝精氨酸酶最适 pH 约为 9.8。



## 几种酶的最适 pH



## pH 影响酶活力的机理

- 过酸过碱使酶的空间结构破坏，酶蛋白**变性**而失活。
- 当 pH 改变不剧烈时，酶不变性，但活力受到影响：
  - ✓ pH 影响底物的**解离状态**
  - ✓ pH 影响 ES 的解离状态
  - ✓ pH 影响酶活性中心上有关基团的解离状态

## 学生参与课堂部分

对病毒感兴趣的大组，根据课堂所学知识和自身的兴趣点确定专题讲座主线，然后再分小组进行讲授。教师在整个过程中发挥辅助作用，对相关知识点内容进行把关、延伸或复习，全班同学进行讨论。教师与学生对该组的整个表现进行打分、点评，该总分数将计入平时成绩。

## 7.8.5 教学方法

教学方法主要采用课堂讲授、案例分析和课堂讨论的形式进行。

## 7.8.6 作业安排及课后反思

章节作业，章节测验。

**复习思考题：（1）什么是酶？核酶的生物学意义？**

**（2）酶特有的催化性质；酶催化高度专一性的解释机制？**

**（3）如果要增大酶促反应速度，该怎么办？**

**（4） $K_m$  的解读及意义，及测定方法。**

**（5） $V_{max}$ ， $K_{cat}$ ， $K_{cat}/K_m$  的含义及应用。**

### 7.8.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.8.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第五章 酶学（p193-215）

## 7.9 教学单元九 第四章 酶 -2（2 学时）

### 7.9.1 教学日期

第五周第九次课（09/27）

### 7.9.2 教学目标

掌握可逆抑制剂的类型及动力学特点；别构酶的特点；熟悉酶的催化机制。

### 7.9.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：可逆抑制剂类型及动力学，别构酶的特点

难 点：酶的抑制剂动力学、酶的催化机制。

主要知识点：可逆性抑制剂、不可逆性抑制剂、别构酶、过渡态稳定学说、邻近定向效应、广义的酸碱催化、静电催化、金属催化、共价催化、底物形变



## 7.9.4 教学过程

### 第二节 酶动力学

#### 三、酶抑制剂作用的动力学

##### 1. 激活剂对酶反应速度的影响

凡是能提高酶反应速度的物质都称为酶的激活剂。**激活剂对酶的作用具有选择性。**

- 金属离子 ( $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$  等)
- 阴离子 ( $Cl^-$ 、 $Br^-$ 、 $I^-$ 、 $CN^-$  等)
- 小分子有机化合物 (半胱氨酸、还原性谷胱甘肽、EDTA)
- 生物大分子 (蛋白激酶)

##### 2. 酶抑制剂的类型

酶抑制剂：能引起酶分子活性中心上的必需基团化学性质发生改变（结合，构象变化等），但酶未变性，从而导致酶活力的降低或丧失的物质。

几种常见的酶抑制剂药物

药物名称 (中文)	药物名称 (英文)	靶酶	医用或药用
阿司匹林	Aspirin	前列腺素合成 中的环加氧酶	消炎
青霉素	Penicillin	肽聚糖转肽酶	抗生素
甲氨蝶呤	Methotrexate	二氢叶酸还原酶	抗肿瘤
叠氮胸苷	azidothymine (AZT)	HIV 逆转录酶	艾滋病治疗
利托那韦	Ritonavir	HIV 蛋白酶	艾滋病治疗
万艾可	Viagra	cGMP 磷酸二酯酶-5	勃起功能障碍 (ED)

#### 酶抑制剂的类型

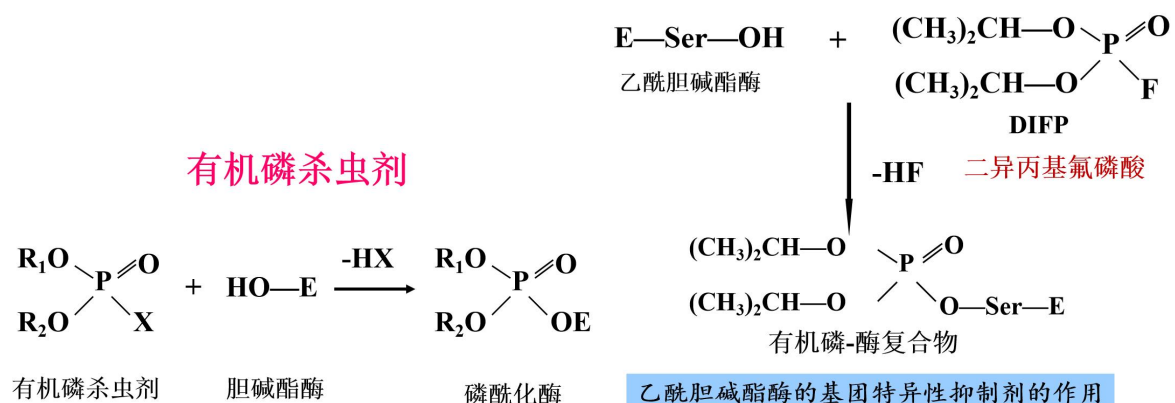
- **可逆性抑制剂 (reversible inhibition)**：抑制剂与酶以非共价键结合而引起酶活力降低或丧失，能用物理方法除去抑制剂而使酶恢复活性，这种抑制作用是可逆的，称

为可逆抑制。根据可抑制剂与底物的关系不同，分为 3 种类型：竞争性抑制（competitive inhibition）、非竞争性抑制（noncompetitive inhibition）、反竞争性抑制（uncompetitive inhibition）。

➤ 不可逆性抑制剂（irreversible inhibition）：也称为酶灭活剂，通常与酶的必需基团以共价键结合（过渡态类似物抑制剂除外）而引起酶活力丧失，不能用透析、超滤等物理方法除去而使酶复活。如果想恢复酶的活性，唯一的手段只能是补充新酶。包括有机磷化合物（丝氨酸酶类）、有机汞和有机砷化合物、重金属盐（巯基酶类）、氰化物、硫化物和 CO 和青霉素（转肽酶）。

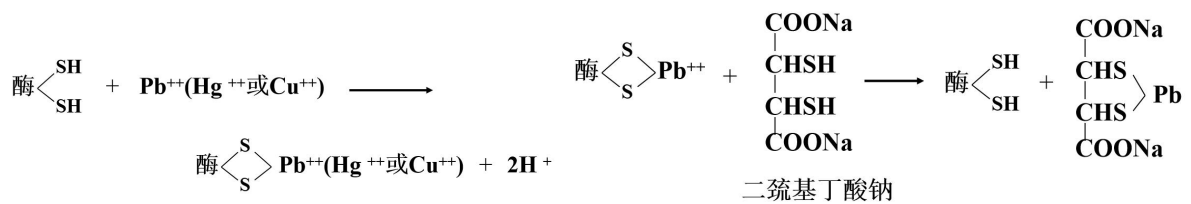
### 3. 不可逆抑制剂的影响

（1）基团特异性抑制剂：结构上与底物无相似之处，但能共价修饰酶活性中心上的必需侧链基团而导致酶活性不可逆的失活。由于许多氨基酸残基含有亲核侧链基团，所以充当基团特异性抑制剂的一般是亲电试剂。如有机磷化合物：DIFP(二异丙基氟磷酸)，沙林毒气（甲氟磷酸异丙酯）。



重金属盐与巯基酶类的作用

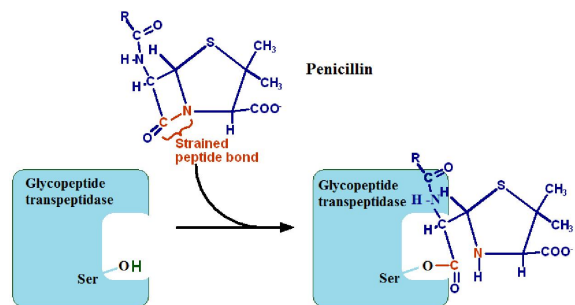
二巯基丁酸钠的解毒作用



## (2) 自杀型抑制剂--青霉素的不可逆抑制作用

糖肽转肽酶的自杀型抑制剂-结构与底物相

似，与酶活性中心上的必需基团结合被催化后，导致酶活性的丧失。青霉素结合后经催化与酶 Ser 羟基结合，使酶失活，细菌细胞壁合成受阻。



Good candidate for drug due to minimal side effect。 WHY?

思考：为什么酶的自杀性底物这种不可逆抑制剂作为药物有更小的副作用？（特异性、专一性）哪一种不可逆抑制剂会成为更高效的药物？

N,N-二甲基炔丙胺对单胺氧化酶的自杀型抑制

拓展：

## 不可逆性抑制剂

### 1. 基团特异性抑制剂-DIFP, 有机磷化合物, 沙林毒气

这类抑制剂在结构上与底物无相似之处, 但能共价修饰酶活性中心上的必需侧链基团而导致酶活性不可逆的失活。由于许多氨基酸残基含有亲核侧链基团, 所以充当基团特异性抑制剂的一般是亲电试剂。

### 2. 底物类似物抑制剂-TPCK

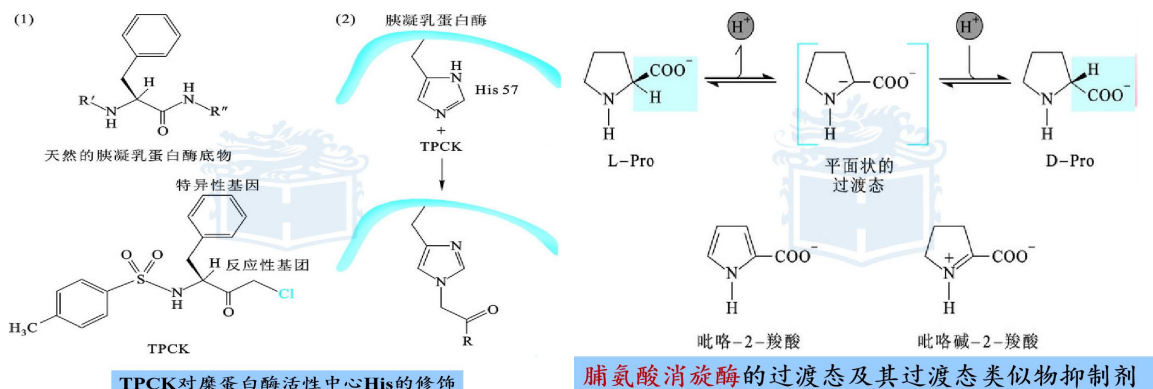
这类抑制剂在结构上相似于底物, 因此在活性中心与酶结合, 然后不可逆地修饰酶活性中心上的必需基团, 导致酶活性的丧失。

### 3. 过渡态类似物抑制剂-可以不形成共价键

这类抑制剂与酶促反应的过渡态极为相似, 它们在化学结构和分子形状上与酶的活性中心十分般配, 能够以**极高的亲和力与活性中心结合**, 从而导致底物无法进入而使得酶活性受到不可逆性抑制。

### 4. 自杀型抑制剂 (农夫与蛇的故事) -青霉素

这类抑制剂受酶本身的激活, 在与酶结合以后, 受到酶的催化发生几步反应, 但并不形成产物, 而是变成高度反应性的化合物后, 转而修饰酶的必需基团导致酶活性的丧失。

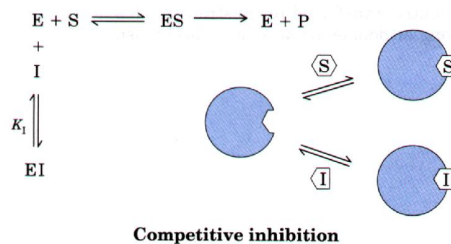


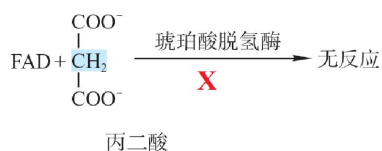
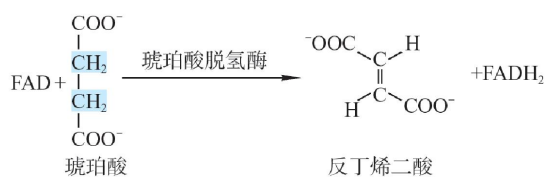
## 4. 可逆酶抑制剂对米氏酶动力学性质的影响

### (1) 竞争性抑制 (competitive inhibition)

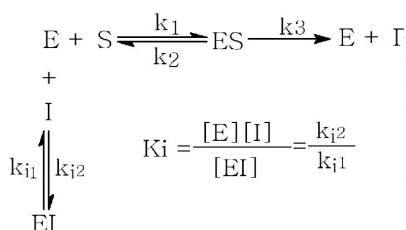
大多数竞争性抑制剂的结构与底物结构类似, 因此能与酶的活性部位结合, 与酶形成可逆的 EI 复合物, 但 EI 不能分解成产物 P, 酶反应速率下降。

抑制剂 I 和底物 S 竞争酶的结合部位, 从而影响底物与酶的正常结合。最常见的一种可逆抑制。





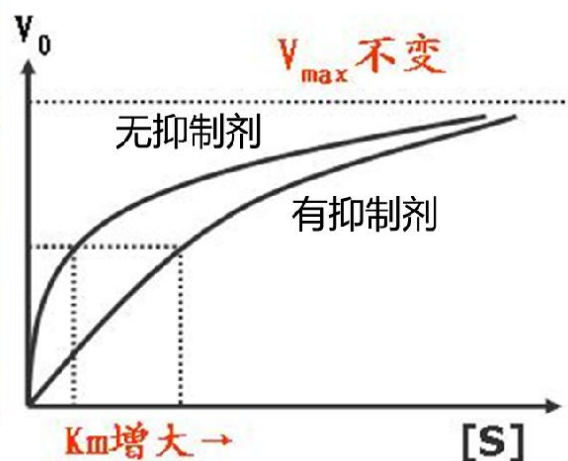
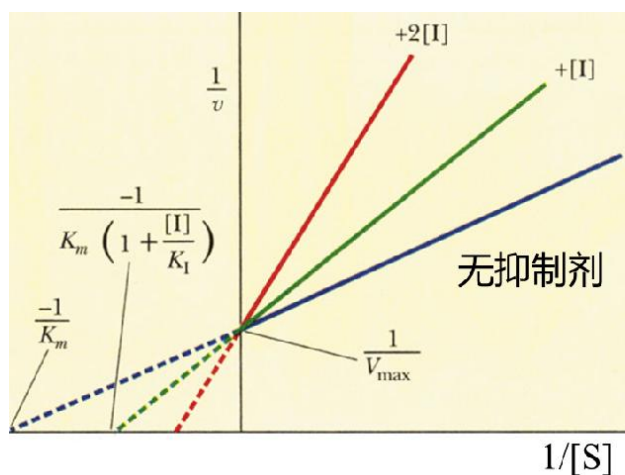
琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制



$$K_i = \frac{[\text{E}][\text{I}]}{[\text{EI}]} = \frac{k_{i2}}{k_{i1}}$$

$K_i$ 为抑制剂常数，即  
EI的解离平衡常数。  
 $K_m$ 为ES的解离平衡  
常数

$$V = \frac{V_{\max} (S)}{K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) + [S]}$$



➤ 有竞争性抑制剂时， $K_m$  值比没有抑制剂时大，而  $V_m$  不变。

**竞争性抑制的特点：**

- ✓ 竞争性抑制剂的结构与底物类似；
- ✓ 这种抑制作用可以通过增加底物浓度而解除；
- ✓ 不影响  $V_m$ ， $K_m$  值增大。

**举例：**5'-氟尿嘧啶的结构与尿嘧啶十分相似，能抑制胸腺嘧啶合成酶的活性，阻碍胸腺嘧啶合成，使体内核酸不能正常合成，使癌细胞的增殖受阻，起到抗癌作用。

**磺胺类药**作用于二氢叶酸合成酶；

**TMP 甲氧苄啶**--细菌二氢叶酸还原酶

抑制剂，属**磺胺增效药**。其抗菌作用

原理为干扰细菌的叶酸代谢。主要为

选择性抑制细菌的二氢叶酸还原酶的

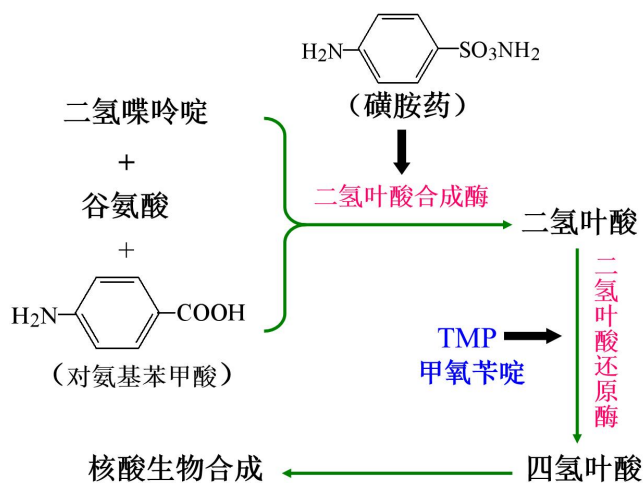
活性，使二氢叶酸不能还原为四氢叶

酸，从而抑制细菌的生长繁殖。甲氧

苄啶对多数革兰阳性菌及革兰阴性菌有抗菌活性；此外，甲氧苄啶对疟原虫及某些真

菌，如奴卡菌、组浆菌，酵母菌也有一定作用。在革兰阳性菌中，链球菌属含肺炎链

球菌对甲氧苄啶敏感。



**甲氨蝶呤-抗叶酸类抗肿瘤药**，主要通过对二氢叶酸还原酶的抑制，抑制肿瘤细胞的生

长与繁殖。主要作用于细胞周期的 S 期，属细胞周期特异性药物。

## (2) 非竞争性抑制 (noncompetitive inhibition)

抑制剂与酶活性部位以外的基团结合，其结构

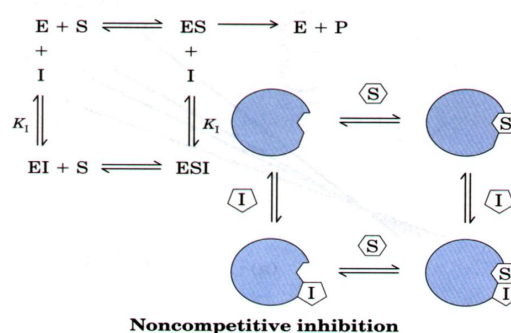
与底物无类似之处。不能用增加底物浓度来解

除抑制。

S 和 I 可同时和酶结合，二者没有竞争作用。三

元复合物 (ESI) 不能进一步分解为产物，因此

酶活力降低。





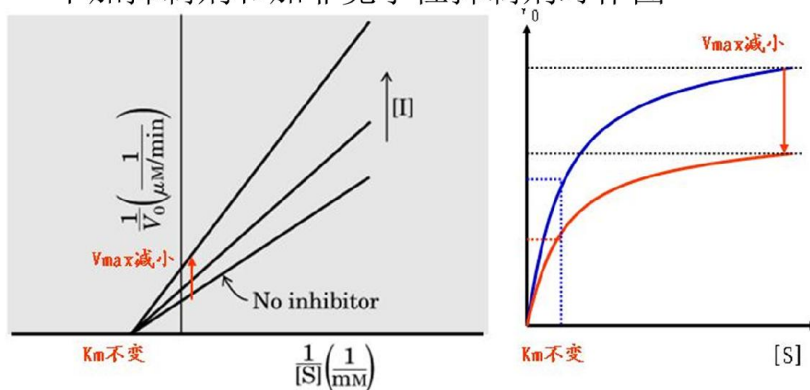
非竞争性抑制的方程

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) (K_m + [S])}$$

非竞争性抑制的倒数方程

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

不加抑制剂和加非竞争性抑制剂时作图



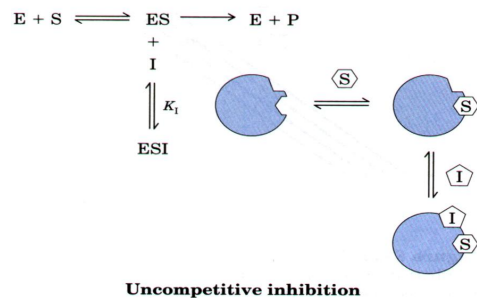
➤ 有非竞争性抑制剂时  $K_m$  值不变， $V_m$  比没有抑制剂时小。

非竞争性抑制的特点：

- ✓ 非竞争性抑制剂的结构与底物不类似；
- ✓ 不能用增加底物浓度来解除抑制；
- ✓ 这种抑制作用可降低最大反应速度，不影响  $K_m$  值。

### (3) 反竞争性抑制 (uncompetitive inhibition)

抑制剂只与酶-底物复合物结合，其结构与底物无类似之处。不能用增加底物浓度来解除抑制。酶只有与底物结合后，才能与抑制剂结合，三元复合物 (ESI) 不能进一步分解为产物。





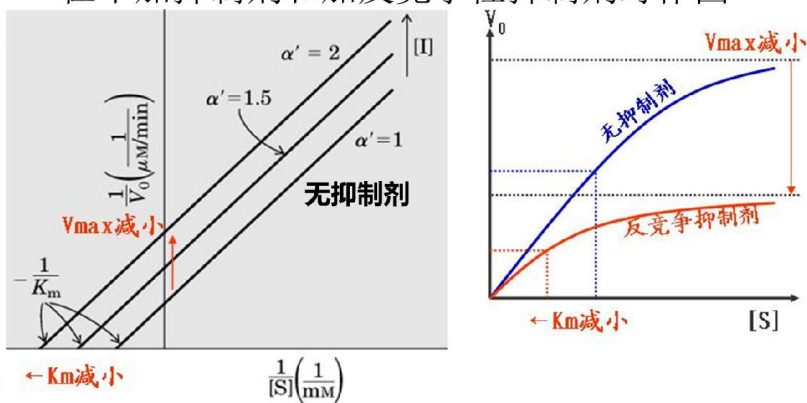
反竞争性抑制的方程

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)}$$

反竞争性抑制的倒数方程

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_m} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_m} \left(1 + \frac{[I]}{K_i}\right)$$

在不加抑制剂和加反竞争性抑制剂时作图



➤ 反竞争性抑制剂存在下， $K_m$ 、 $V_{\max}$  都变小。

反竞争性抑制的特点：

- ✓ 降低最大反应速度；
- ✓  $K_m$  值减小，增加酶对底物的亲和力；
- ✓ 不能用增加底物浓度来解除抑制。

**Summary:** 可逆性抑制剂--竞争性、非竞争性和反竞争性抑制剂

可分为竞争性、非竞争性和反竞争性抑制剂

### 1. 竞争性抑制剂

- ① 性质：有两类，一类与底物在结构和化学上具有很强的相似性；**第二类与底物无结构和化学性质的相似性。**
- ② 动力学： $K_m$ 值提高，但 $V_{max}$ 不变。

### 2. 非竞争性抑制剂

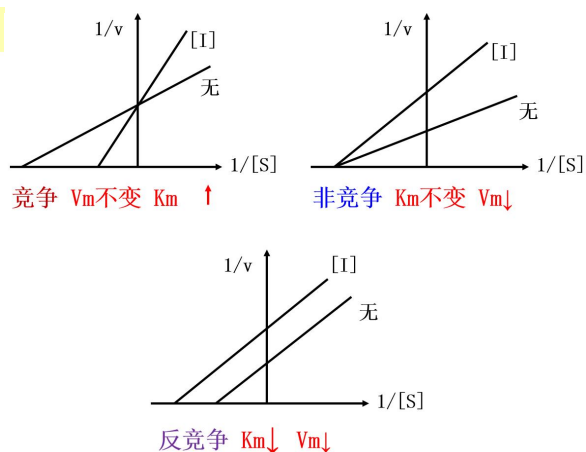
- ① 性质：既能与ES结合，又能与游离的酶结合。一旦它们与E结合，将导致酶活性受到抑制。
- ② 动力学： $K_m$ 不变， $V_{max}$ 降低。

### 3. 反竞争性抑制剂

- ① 性质：只能与ES结合，但**不能与游离的酶结合**。一旦它们与ES结合，将导致与活性中心结合的底物不再能够转变为产物。
- ② 动力学： $K_m$ 降低， $V_{max}$ 降低。

米氏方程与不同类型可逆抑制作用方程和常数的比较

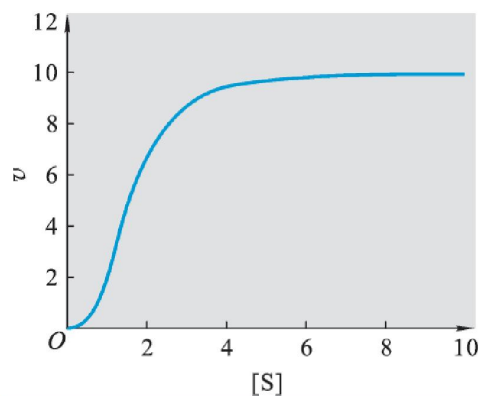
类 型	方 程	$V_m$	$K_m$
无抑制	$v = \frac{V_{max} (S)}{K_m + [S]}$	$V_m$	$K_m$
竞争抑制	$v = \frac{V_{max} (S)}{K_m (1 + \frac{[I]}{K_i}) + [S]}$	不变	增加
非竞争抑制	$v = \frac{V_{max} (S)}{(K_m + [S]) (1 + \frac{[I]}{K_i})}$	减少	不变
反竞争抑制	$v = \frac{V_{max} (S)}{K_m + [S] (1 + \frac{[I]}{K_i})}$	减少	减少



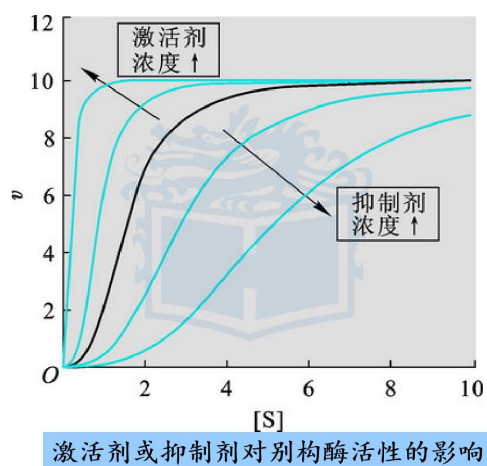
## 四、别构酶的动力学（了解）

### 1. 别构酶的性质

- 通常是寡聚酶；具有别构效应物；
- 速率/底物浓度曲线为S型；
- 对竞争性抑制的作用表现双相反应；
- 温和变性可导致别构效应的丧失；
- 与非别构酶相比，别构酶占少数。



130 典型的别构酶催化的反应速率与底物浓度的S型曲线



## 2. S 形曲线和 Hill 方程

Hill 方程——能够很好地说明别构酶的动力学

$$v = \frac{V_{\max} \cdot [S]^h}{K_{0.5}^h + [S]^h}$$

**h: Hill系数**

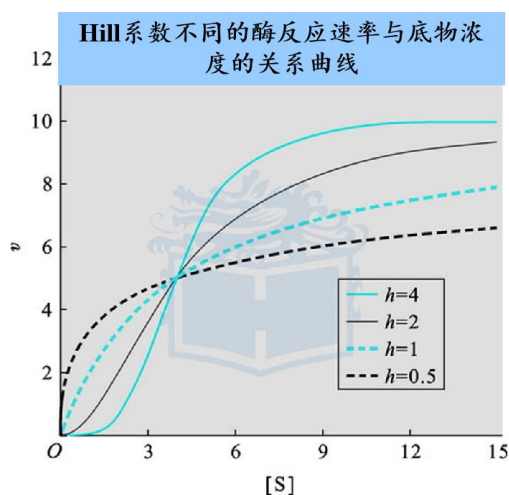
与米氏方程的主要差别：底物浓度 [S] 被提高到 h 数量级；  
方程常数是  $K_{0.5}$ （指速率为最大速率一半时候的底物浓度），也提高了 h 数量级。

**Hill 系数能够反映底物协同性的程度：**

$h=1$ ，Hill 方程实际上与米氏方程相同，酶不是别构酶，无底物协同性，速率对 [底物] 作图应该为双曲线， $K_{0.5}=K_m$ ；

$h>1$ ，速率对底物浓度作图呈 S 型曲线，酶具有正底物协同性；意味着酶对环境中底物浓度的变化更为敏感，更加灵敏的调节；

$h<1$ ，则意味着酶具负底物协同性，酶对底物浓度的变化极度不敏感。



### 3. 协同性的优点

#### ➤ 正协同性的优势

对于无协同性的米氏酶而言，将其反应速率从  $V_{\max}$  的 10% 增加到 90% 时，需要较大的底物浓度增加。正协同效应意味着酶对环境中底物浓度的变化更为敏感。这样的结果可以使得机体内某些重要的调节酶能够根据环境的变化对代谢进行更加灵敏的调节。

#### ➤ 负协同性的优势

呈现负协同效应的别构酶 ( $h=0.5$ ) 要将其反应速率从  $V_{\max}$  的 10% 增加到 90%，需要将底物浓度提高 6 561 倍。如此大幅度的提高就意味着该酶对底物浓度的变化极度不敏感。

### 7.9.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授、案例分析和课堂 PPT 汇报、讨论、点评的形式进行。

### 7.9.6 作业安排及课后反思

- (1) 不可逆抑制剂、基团特异性抑制剂、自杀型抑制剂；可逆性抑制剂
- (2) 为什么酶的自杀性底物这种不可逆抑制剂作为药物有更小的副作用？（特异性、专一性）哪一种不可逆抑制剂可能会成为更高效的药物？
- (3) 可逆抑制剂、竞争性抑制剂、非竞争性抑制剂、反竞争性抑制剂
- (4) 别构酶的特点
- (5)

### 7.9.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.9.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》, 科学出版社, 2016, 第五章 酶学 (p216-230)

### 7.10 教学单元十 第四章 酶 -3 (2 学时) -酶反应动力学-激活剂、抑制剂对酶反应速率的影响

#### 7.10.1 教学日期

第五周第十次课 (09/29)

#### 7.10.2 教学目标

掌握丝氨酸蛋白酶的结构与功能, 酶活力的测定方法; 熟悉酶的应用及研究方法。

#### 7.10.3 教学内容 (含重点、难点)

重 点: 丝氨酸蛋白酶结构与功能。

难 点: 酶活力测定方法、酶的分离纯化

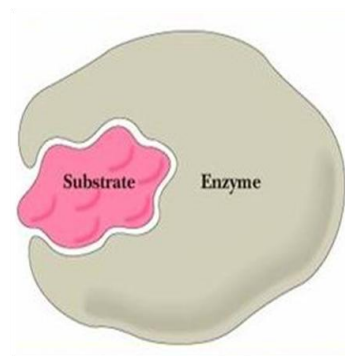
主要知识点: 丝氨酸蛋白酶结构与功能、酶活力、酶活力测定、酶的分离纯化。

#### 7.10.4 教学过程

##### 第三节 酶的催化机制

##### 一、 酶催化机理研究的主要方法--酶催化作用的结构基础--活性中心

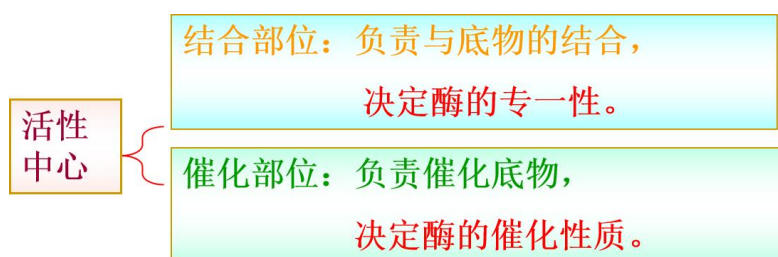
- 找出保守性的氨基酸残基
- 三维结构的研究
- 定点突变
- 动力学分析
- 化学修饰



## ➤ 计算机模拟

### 1. 酶催化作用的结构基础——活性中心

**酶的活性部位**，也称活性中心，是酶分子中直接参与结合底物，并与酶催化作用直接相关的部位；是酶行使催化功能的结构基础；由三维结构上相互靠近的几个氨基酸残基组成。对需要辅酶的酶来说，辅酶分子或辅酶分子上的一部分结构，也是酶活性部位的组成部分。



#### 酶活性中心的共同特点：

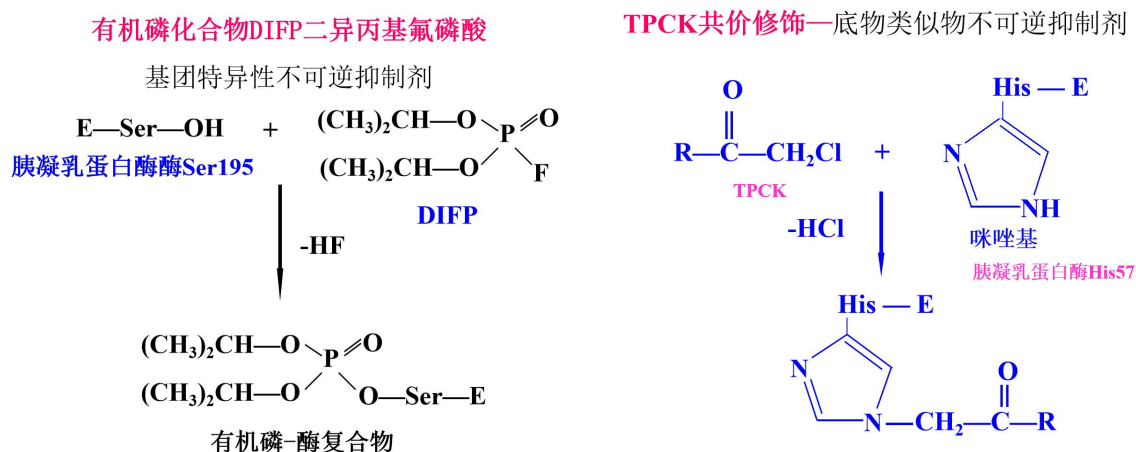
- ✓ 活性部位在酶分子的总体中只占相当小的一部分；
- ✓ 酶的活性部位位于酶分子表面的一个凹穴内；
- ✓ 酶的活性部位的结构并不是正好和底物的结构互补；
- ✓ 酶的活性部位具有柔性和可运动性；
- ✓ 底物常常通过次级键与酶结合；
- ✓ 酶活性中心的形成首先依赖于整个酶分子的结构。没有酶蛋白结构的完整性（木瓜蛋白酶 N-20aa），酶蛋白分子稳定性下降，活性中心也就不存在。
- ✓ 必需基团与维持酶分子活性部位的空间构象有关（胰凝乳蛋白酶 His57-Asp102-Ser195, Ile16NH-COOAsp194）。

### 2. 活性中心存在的实验证明：

**切除法（小分子，结构已知的酶）、化学修饰法、亲和标记法、X 射线衍射分析法**

(1) **化学修饰法**：某些化学试剂能和酶分子中的氨基酸侧链基团反应而引起共价结合、氧化或还原的修饰反应，使氨基酸侧链基团的结构和性质发生改变。如果酶活力降低或丧失，则表明此基团可能是酶的必需基团，反之，酶活力不发生变化，说明该基团与酶的活性中心无关。如：DIFP（二异丙基氟磷酸）——胰凝乳蛋白酶（Ser-195）

(2) **亲和标记法**：根据酶与底物特异性结合的性质，设计合成的底物类似物，作为活性部位基团的亲和标记试剂，进入酶的活性部位，并以其活泼的化学基团与酶活性部位的某些基团共价结合，使酶失去活性。如：TPCK 共价修饰活性中心的 His（胰凝乳蛋白酶 His57）、组氨酸酶。

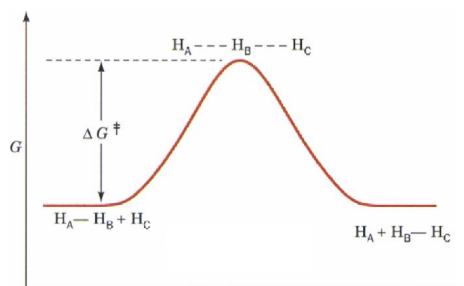


## 二、过渡态稳定学说 “The transition-state stabilization”



1946年 Pauling 提出，酶与过渡态的亲合力要比对基态（底物）的亲合力高得多，酶的催化源于其对过渡态的稳定作用。根据过渡态理论，在任何一个化学反应体系中，反应物需要到达一个特定的高能状态以后才能发生反应。这种不稳定的高能状态被称为过渡态。达到过渡态要求反应物必须含有足够的能量以克服活化能。

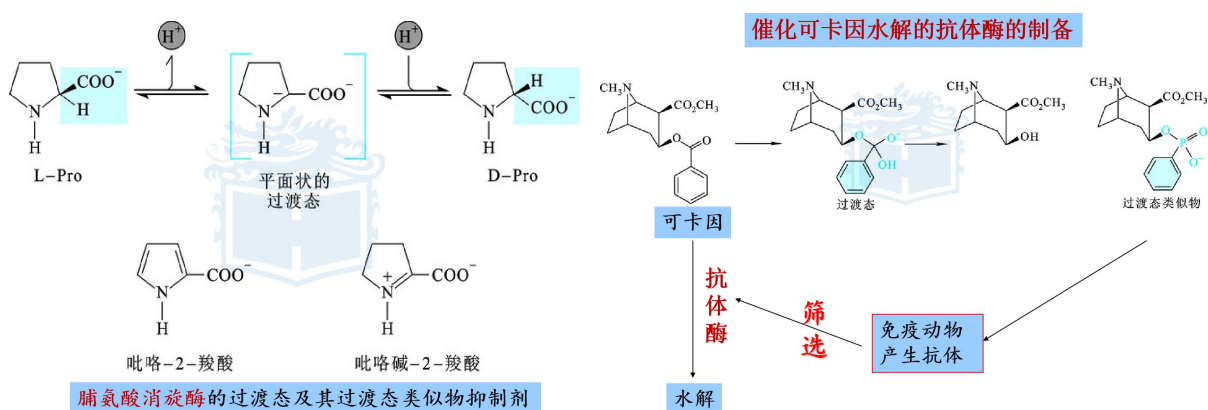




化学反应的过渡态及其前后的自由能变化

支持过渡态稳定学说的证据：

- **过渡态类似物抑制剂**-Transition analogues are potent inhibitors: 根据过渡态的结构设计的过渡态类似物可作为酶的强抑制剂，**抑制效果远高于竞争性抑制剂**。
- **抗体酶 Abzyme**- Catalytic Antibodies: 利用过渡态类似物作为抗原或半抗原免疫动物，产生的具有类似酶的催化作用的抗体。



## Drug design: Transition state analogues

### 三、过渡态稳定的化学机制

与酶催化相关联的过渡态稳定是酶活性中心结构和反应性以及活性中心与结合底物之间的相互作用的必然结果。酶充分使用一系列的化学机制来实现过渡态的稳定并由此加速反应。包括邻近定向效应、广义的酸碱催化、静电催化、金属催化、共价催化、底物形变。

### 1. 邻近定向效应-Catalysis by proximity and orientation

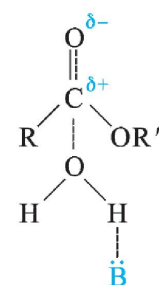
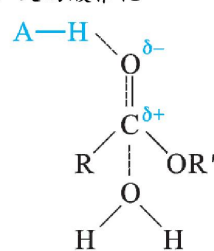
两种或两种以上的底物（特别是双底物）同时结合在酶活性中心上，相互靠近（邻近），并采取正确的空间取向（定向），大大提高了底物的有效浓度，使分子间反应近似分子内反应从而加快了反应速度。

底物与活性中心的结合不仅使底物与酶催化基团或其他底物接触，而且强行“冻结”了底物的某些化学键的转动，促使它们采取正确的方向，有利于键的形成。

### 2. 广义的酸碱催化 General Acid-base catalysis

指水分子以外的分子作为质子供体或受体参与催化，这种机制参与绝大多数酶的催化。蛋白质分子上的某些侧链基团（如 Asp、Glu 和 His）可以提供质子并将质子转移到反应的过渡态中间物而达到稳定过渡态的效果。如果一个侧链基团的 pKa 值接近 7，那么该侧链基团就可能是最有效的广义的酸碱催化剂。His 残基的咪唑基就是这样的基团，因此它

广义的酸催化



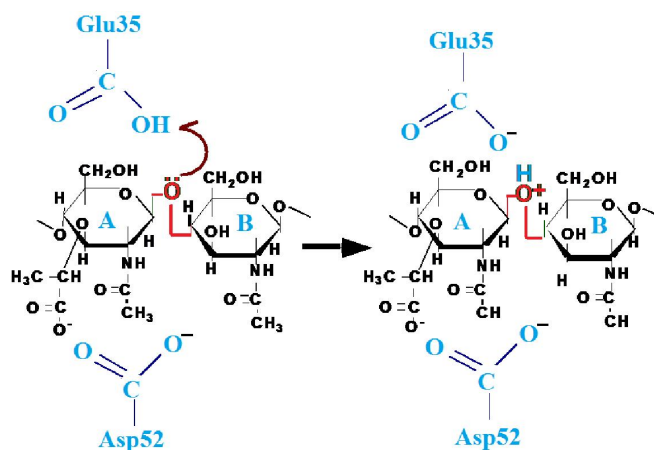
广义的碱催化

作为很多酶的催化残基。如：溶菌酶 Glu35 的广义酸催化

### 3. 静电催化 Electrostatic catalysis

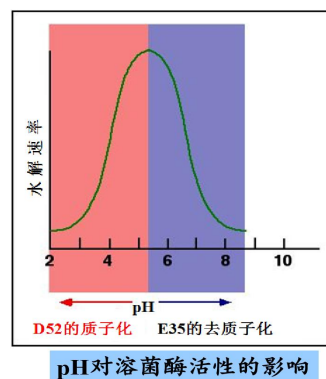
活性中心电荷的分布可用来稳定酶促反应的过渡态，酶使用自身带电基团去中和一个反应过渡态形成时产生的相反电荷而进行的催化称为静电催化。

有时，酶通过与底物的静电作用将底物引入活性中心。



如：溶菌酶 Asp52 的静电催化

Glu35 和 Asp52 分别所起的广义酸催化和静电催化，  
释了溶菌酶的活性与 pH 之间的关系以及它的最适 pH  
(5.3~6.4)。



解

#### 4. 金属催化 Metal catalysis

近 1/3 酶的活性需金属离子的存在，分为两类：

- 金属酶- 含有紧密结合的金属离子，多为过渡金属，如  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 或  $\text{Co}^{3+}$ ；
- 金属激活酶- 与金属离子松散结合，通常是碱金属或碱土金属，如  $\text{Na}^{+}$ 、 $\text{K}^{+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 或  $\text{Ca}^{2+}$ 。

以 5 种方式参与催化：作为 Lewis 酸起作用；

与底物结合，促进底物在反应中正确定向；

作为亲电催化剂，稳定过渡态中间物上的电荷；

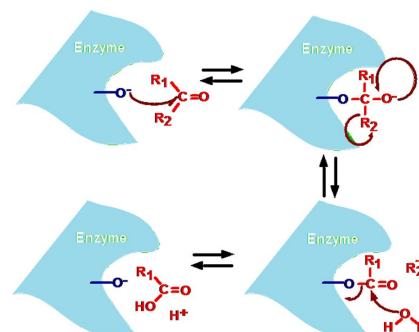
通过价态的可逆变化，作为电子受体或电子供体参与氧化还原反应；

酶结构的一部分；

如：碳酸酐酶的金属催化机制-Zn functions as a Lewis acid in carbonic anhydrase

#### 5. 共价催化 Covalent catalysis

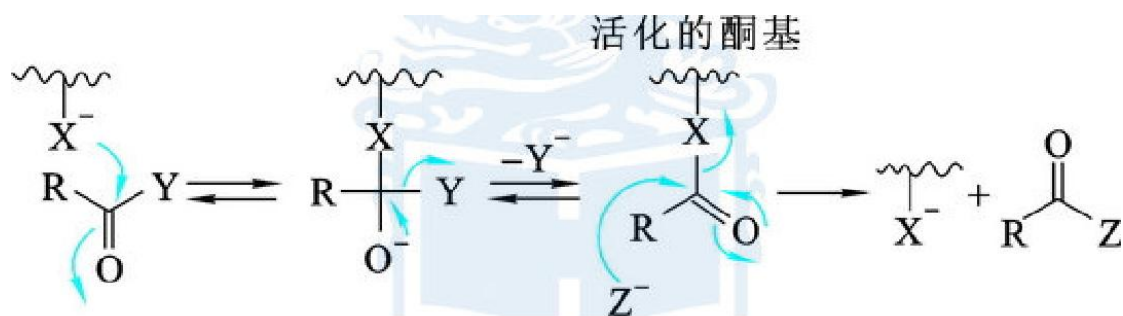
共价催化是指酶在催化过程中必须与底物上的某些基团暂时形成不稳定的共价中间物的一种催化方式。许多氨基酸残基的侧链可作为共价催化剂，例如 Lys、



His、Cys、Asp、Glu、Ser 或 Thr，此外，一些辅酶或辅基也可以作为共价催化剂，例如硫胺素焦磷酸（TPP）和磷酸吡哆醛。

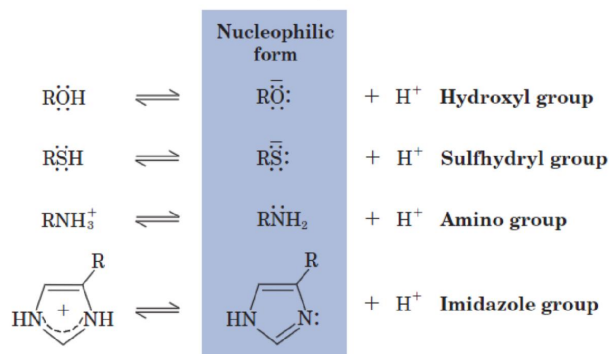
### 几种酶的共价催化

亲核基团	实例	共价中间物
Ser (-OH)	丝氨酸蛋白酶	脂酰化酶
Cys (-SH)	半胱氨酸蛋白酶	脂酰化酶
Asp (-COO <sup>-</sup> )	Na <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATP 酶	磷酸化酶
Lys (ε-NH <sub>2</sub> )	乙酰乙酸脱羧酶和第一类醛缩酶	希夫碱
His (咪唑基)	甘油酸磷酸变位酶	磷酸化酶
Tyr (-OH)	谷氨酰胺合成酶	腺苷酸化酶
TPP	丙酮酸脱羧酶和转酮酶	羟乙基化酶



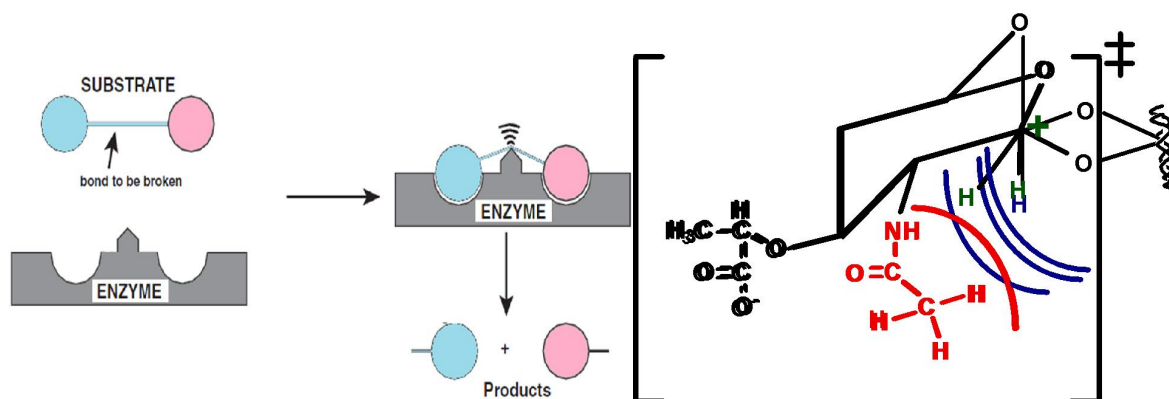
### 亲核共价修饰反应

#### Biologically important nucleophilic groups



#### 6. 底物形变 Substrate strain

酶与底物相遇，诱导底物分子内敏感键更加敏感，产生“电子张力”发生形变，比较接近它的过渡态。如：溶菌酶催化中的底物形变。与活性中心结合的六碳糖在溶菌酶的诱导下，从椅式构象变成半椅式构象而发生形变，周围的糖苷键更容易发生断裂。



#### Summary: Lysozyme catalyzed cleavage of polysaccharides involves:

- ✓ General acid catalysis: Glu 35 donates a proton
- ✓ Electrostatic catalysis: the positively charged carbonium ion is stabilized by Asp 52
- ✓ Strained substrate conformation: the sugar bound to the active site on the enzyme is forced to adopt a half chair conformation

#### 四、蛋白酶的结构与功能

肽键水解在热力学上十分有利，但无蛋白酶的催化，1 个肽键在中性 pH 和 25℃ 条件下约需 300~600 年才能完成水解。

##### 1. 根据活性中心催化基团的性质，蛋白酶可分为四类：

(1) 丝氨酸蛋白酶——催化基团包括 1 个不可缺少的 Ser 残基，DIFP 是它们的不可逆抑制剂；

(2) 金属蛋白酶——活性中心结合有金属离子，其活性绝对需要金属离子，金属离子螯合剂可导致活性的丧失；

(3) 天冬氨酸蛋白酶——催化基团包括 2 个 Asp，在偏碱性的 pH 下无活性；

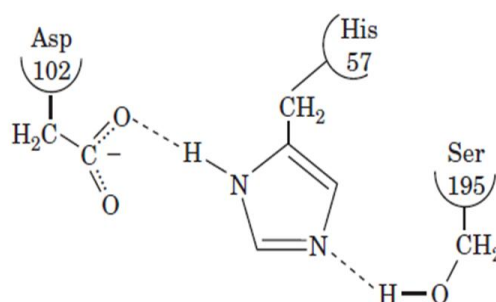
(4) 巯基蛋白酶——催化基团包括 1 个 Cys 的巯基，碘代乙酸为它们的不可逆抑制剂。

## 2. 丝氨酸蛋白酶

属于该家族成员的有胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶/糜蛋白酶、弹性蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶、激肽释放酶、凝血酶、纤溶酶等。

### (1) 胰凝乳蛋白酶的催化机理

胰凝乳蛋白酶：241 个氨基酸残基，分子量 25000，呈椭圆状，含  $\alpha$ -螺旋较少。活性部位由 Ser195、His57、Asp102 残基形成催化三联体。



### 胰凝乳蛋白酶催化机制的特点：

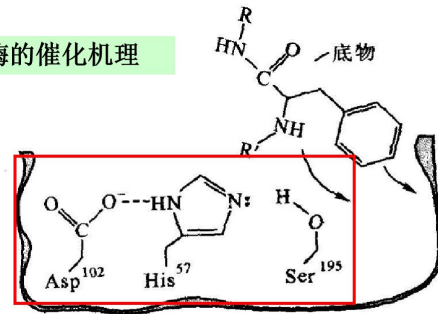
- 共价催化和广义酸碱催化的混合体；
- 亲核基团进攻肽键的羰基碳形成四面体的过渡态。

### 构成催化三元体的 3 个氨基酸残基在催化中的具体功能：

- Ser195 充当进攻底物的亲核基团；
- His57 作为广义的酸碱催化剂；
- Asp102 的功能是定向 His57，影响 His 的 pKa，改变其酸碱性质。

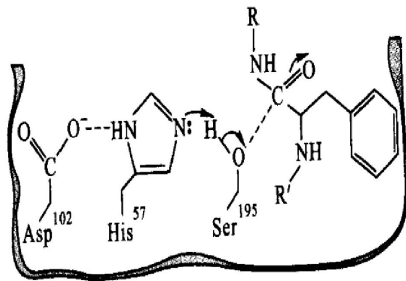
## 胰凝乳蛋白酶的催化机理

酶活性中心的  
三个氨基酸



第一步

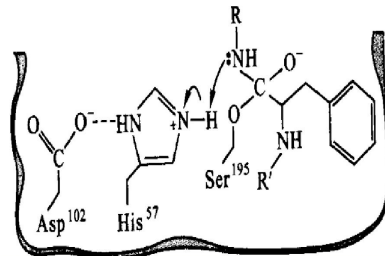
电子云向底物羰基氧原子转移



His<sub>57</sub>作为质子的受体从Ser<sub>195</sub>吸取一个质子，形成共价键，使Ser<sub>195</sub>-O<sup>-</sup>成为很强的亲核试剂，攻击底物羰基碳原子，二者形成共价键。

第二步

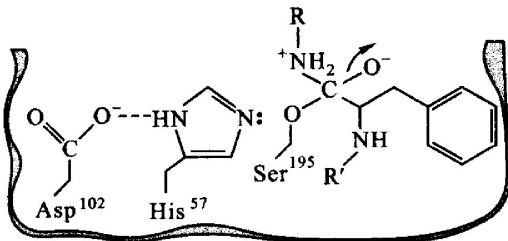
亲核基团进攻肽键的羰基碳形成四面体的过渡态



底物-NH上的电子云向酶分子的His<sub>57</sub>-N<sup>+</sup>H转移，His<sub>57</sub>作为酸向中间产物提供质子。

第三步

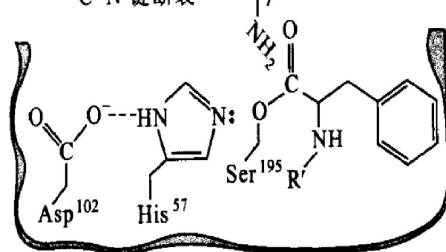
四面体过渡态-1



底物的 C-N 键断裂

第四步

C-N 键断裂

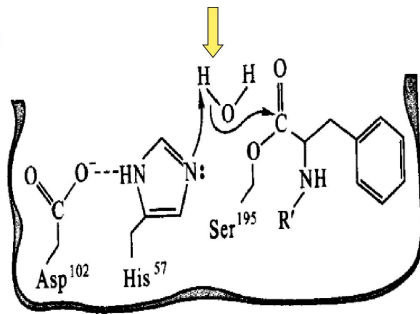


底物氨基端产物释放

第一阶段：酰化作用 (acylation)  $E + S \rightarrow ES$

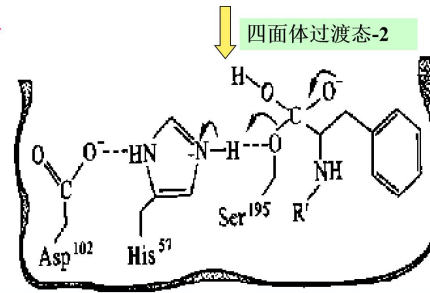


第五步



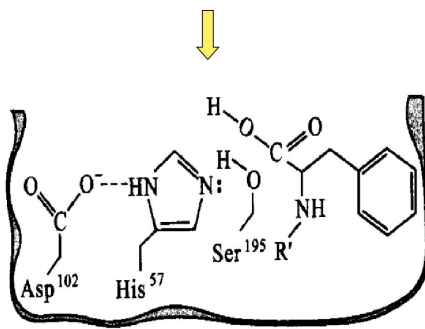
水分子的-OH亲核攻击底物羰基碳原子, 形成共价键。His<sub>57</sub>作为质子的受体从水分子上接受质子。

第六步

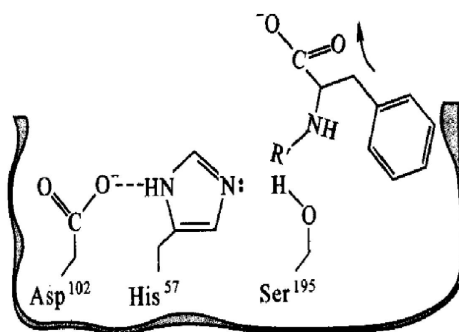


底物C-O的电子云向His<sub>57</sub>-N<sup>+</sup>H转移, Ser<sub>195</sub>的氧与底物的碳之间共价键断开。Ser<sub>195</sub>作为质子的受体从His<sub>57</sub>接受质子, 酶恢复原状。

第七步

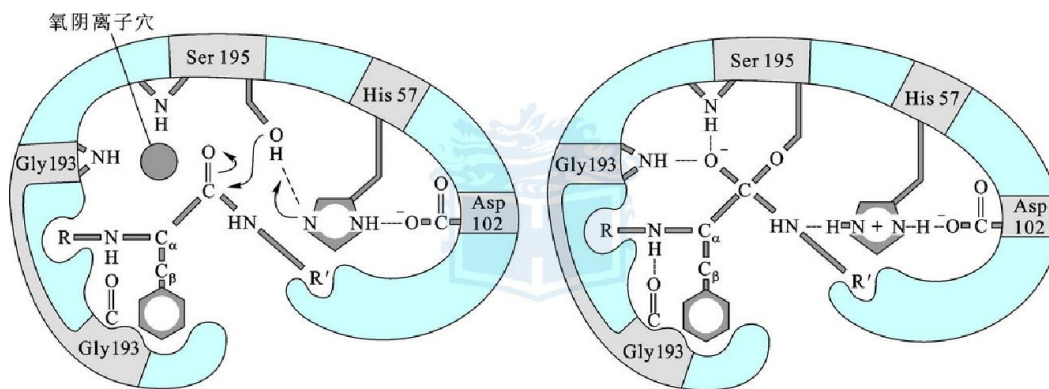


第八步



羧基端产物释放

## 第二阶段：脱酰化作用（deacylation）ES-E+P



### 胰凝乳蛋白酶催化的四面体中间物的形成及其稳定

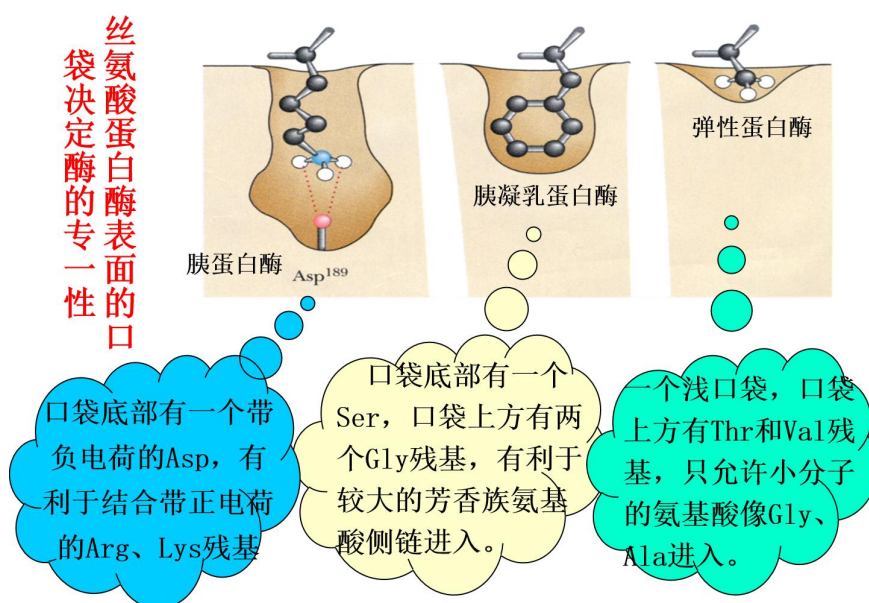
(2) 胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、弹性蛋白酶为消化酶, 在胰腺中合成以非活性的酶原形式分泌到消化道, 在消化道中转化成有活性的酶。

➤ 一级结构上有 40%的氨基酸顺序是相同的; 三维结构也很相似;

- 都有 Ser195、His57、Asp102 三个氨基酸残基构成的催化三联体，具相似的催化机理；
- 都以无活性前体形式存在，经单一肽键的断裂而被激活。

### 丝氨酸蛋白酶表面的口袋决定酶的专一性

- **胰蛋白酶：**口袋底部有一个带负电荷的 Asp，有利于结合带正电荷的 Arg、Lys 残基；
- **胰凝乳蛋白酶：**口袋底部有一个 Ser，口袋上方有两个 Gly 残基，有利于较大的芳香族氨基酸侧链进入。
- **弹性蛋白酶：**一个浅口袋，口袋上方有 Thr 和 Val 残基，只允许小分子的氨基酸像 Gly、Ala 进入。



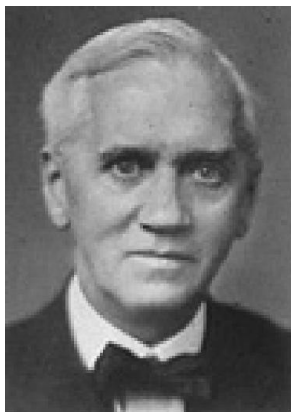
**Summary:** 丝氨酸蛋白酶的催化机制属于共价催化和广义酸碱催化的混合体，还有氧阴离子穴对过渡态的稳定。由 3 个不变的 Ser、His 和 Asp 残基构成的催化三元体起主导作用，这 3 个氨基酸任何一种突变或修饰均可导致酶活性的丧失。

构成催化三元体的 3 个氨基酸在催化中的具体功能是：1) Ser195 充当进攻底物的亲

核基团；2) His57 作为广义的酸碱催化剂；3) Asp102 的功能仅仅是定向 His57，影响 His 的 pKa，改变其酸碱性质。

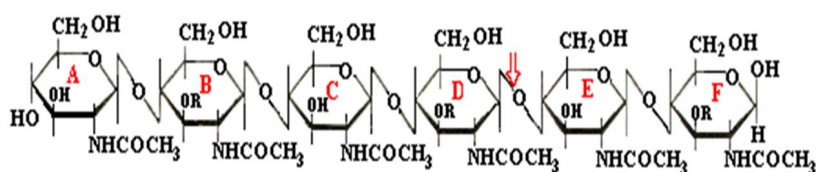
所有蛋白酶在催化中都经历四面体的过渡态，该过渡态形成的原因是反应涉及一个亲核基团进攻肽键的羰基碳。若是丝氨酸蛋白酶和巯基蛋白酶，进攻的亲核基团分别是 Ser 残基的羟基和 Cys 残基的巯基，否则就是水分子。

## 五、溶菌酶的结构、功能及催化机理

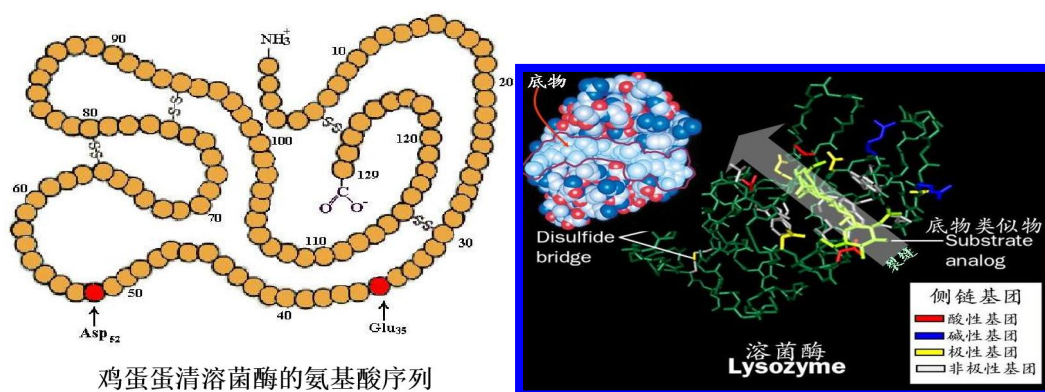


亚历山大·弗莱明(Alexander Fleming)，1881年8月6日出生于苏格兰，是苏格兰农民的后裔，家境贫寒。因发现了青霉素以及它对多种传染性疾病的治疗作用，荣获1945年诺贝尔生理学 and 医学奖。

- 溶菌酶生物学功能是催化某些细菌细胞壁的多糖水解，从而溶解细菌的细胞壁，主要存在于鸡蛋清和动物的眼泪中。溶菌酶是第一个用 X-射线衍射法阐明其全部结构和功能的酶。是 1922 年伦敦细菌学家弗莱明(Fleming)首次发现的。
- 细菌细胞壁的肽聚糖由两种糖组成：N-乙酰葡萄糖胺(NAG)，N-乙酰胞壁酸(NAM)；NAG 和 NAM 交替排列通过  $\beta$ -1,4 糖苷键相连形成多聚物。
- 溶菌酶的最适小分子底物：NAG-NAM 交替形成的六糖。6 个糖环分别用 A、B、C、D、E、F 表示。溶菌酶水解 D 糖环和 E 糖环之间的糖苷键。



溶菌酶由 129 个氨基酸残基构成，是一个单链蛋白，分子内含有四对二硫键。活性中心的氨基酸残基是 Glu35 和 Asp52。从表面构像看，酶的结构不很紧密，大多数极性氨基酸残基分布在分子的表面，非极性氨基酸残基分布在分子的内部。整个酶分子中有一狭长的凹穴。最适底物正好与酶分子的凹穴相结合，凹穴中的 Glu35 和 Asp52 是活性中性的氨基酸残基。



**溶菌酶催化特点小结：**靠近与定向、底物形变的诱导契合、一般酸碱催化、静电催化

## 六、重要酶类及其活性调节

### 酶活性的调节机制：

- 酶的“量变”：即酶浓度发生变化，改变酶量的方式有两种，一种是通过同工酶，另外一种是通过控制酶基因的表达和酶分子的降解。
- 酶的“质变”：在不改变酶浓度的前提下，对已有的酶的活性进行的调控-别构调节、共价修饰调节、水解激活、调节蛋白的激活或抑制、聚合与解离 Monomer ↔ Multimer

## 酶的“量变”和“质变”的比较

	量变	质变
调节速度	慢，几小时~几天	快速，几秒钟~几分钟
能耗	高（通常涉及酶基因的表达，因此需要消耗大量的ATP）	低（除非使用抑制蛋白，因为在解除抑制的时候，通常需要将抑制蛋白水解）
决定酶最高活性的主要因素	酶合成与水解的相对速率	已有的酶浓度
活性变化的持续时间	长	短

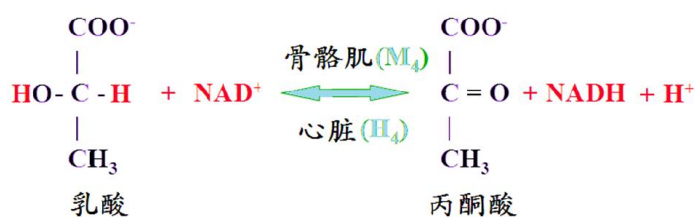
### 1. 同工酶

**定义：**是指催化相同的反应但性质不同（ $V_{max}$  和/或  $K_m$  不同）的酶。它们可能以不同的量出现在一种动物不同的组织或器官，也可能出现在任何真核生物细胞不同的细胞器。

**实例：**高等动物的乳酸脱氢酶（LDH）有五种形式—M<sub>4</sub>、M<sub>3</sub>H、M<sub>2</sub>H<sub>2</sub>、MH<sub>3</sub> 和 H<sub>4</sub>。

M<sub>4</sub> 由四个 M 亚基组成，主要存在于骨骼肌，H<sub>4</sub> 由四个 H 亚基组成，主要存在于心脏。

**应用：**疾病诊断；组织代谢情况判断（LDH<sub>1</sub>, LDH<sub>5</sub>-H<sub>4</sub>）



### 2. 调节酶

酶活性的别构调节、共价修饰和水解激活调节的异同

性质	别构调节	共价修饰	水解激活
可逆性	是	是	否
全或无	否	是	是
酶调节	否	是（蛋白质激酶和磷酸酯酶）	是（蛋白酶）

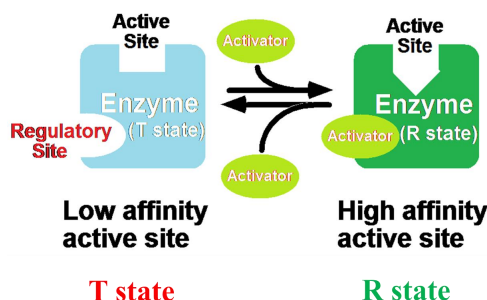


### (1) 别构酶及别构调节

别构酶也称变构酶，含有两个或多个亚基；除活性中心外，还有别构中心，可与调节物结合，调节酶促反应速度。

调节物也称别构效应物，一般是酶的底物或底物类似物，以及小分子的代谢产物。与酶别构

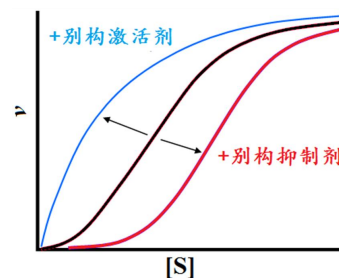
中心结合，诱导或稳定构象，调节酶的反应速度及代谢过程，此效应称为别构效应。



➤ 协同效应 cooperative effect: 一个效应物分子与别构酶的别构中心结合后对第二个效应物/底物结合的影响。

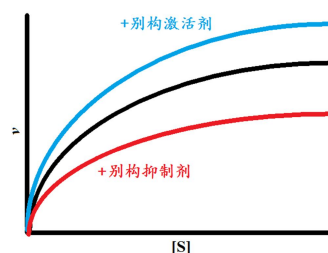
正协同效应: 有利于后续底物或调节物的结合，S 型曲线。

具有正协同效应别构酶



负协同效应: 不利于后续底物或效应物的结合，双曲线，即酶反应速度对外界环境中底物浓度变化不敏感。

负协同效应的别构酶



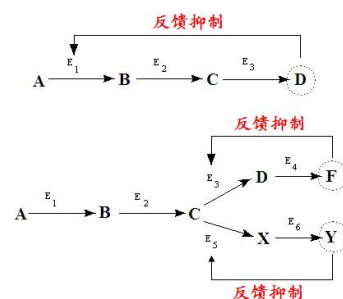
➤ 解释别构酶别构效应和与底物结合的协同效应的两个模型

别构酶的亚基以两种不同的构象形式存在：R 态，T 态。

齐变模型（MWC 模型）：构成亚基之间的相互作用使酶分子的每一个亚基在某一个时候采取同一种构象。两种构象可以相互转变，并处于动态的平衡中。

序变模型（KNF 模型）：底物对活性中心的“诱导契合”导致亚基从 T 态转变成 R 态，相邻亚基之间存在相互作用，并且这种相互作用可以影响到其他亚基的构象状态。

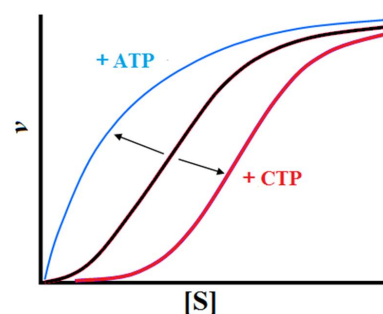
别构调节最多出现在代谢途径中的反馈抑制，它是指一条代谢途径（通常是合成代谢途径）的终产物作为别构抑制剂抑制代谢途径前面限速酶的活性，因此也被称为终产物抑制。



### ➤ 别构酶实例——氨甲酰转移酶

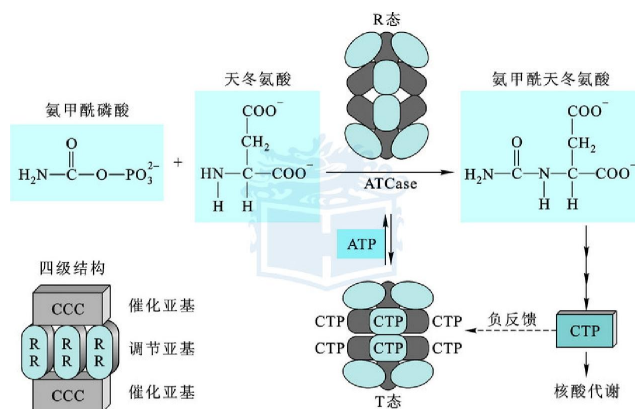
ATC 是大肠杆菌嘧啶核苷酸从头合成途径中的限速酶，催化氨甲酰磷酸和 Asp 形成 N-氨甲酰天冬氨酸。

大肠杆菌 ATC 的动力学曲线为 S 型-酶与底物结合具有**正协同性**；活性受嘧啶合成的终产物 CTP 的反馈抑制，受到嘌呤核苷酸 ATP 的激活。



ATP 和 CTP 作为别构效应物对 ATC 活性调节的**生理意义**：有利于平衡胞内嘌呤核苷酸库和嘧啶核苷酸库。

ATP和CTP对ATC活性的调节



氨甲酰转移酶的结构及其催化的反应

### Summary:

➤ 别构调节的原理在于一些酶除了活性中心以外，还含有别构中心，该中心能够结合一些特殊的配体分子（有时为底物）。当别构中心结合配体以后，酶构象发生改变，从而影响到活性中心与底物的亲和力，并最终导致酶活性发生变化。



- 能够进行别构调节的酶称为别构酶，与别构中心结合调节酶活性的配体分子称为别构效应物。起抑制作用的别构效应物称为别构抑制剂，起激活作用的别构效应物称为别构激活剂。由底物作为别构效应物产生的别构效应称为同促效应，否则，就称为异促效应。许多别构酶具有多个别构中心，能够与不同的别构效应物结合。
- 具有协同效应的酶和无协同效应的酶都可以受到别构调节
- 别构调节最多出现在代谢途径中的反馈抑制（feedback inhibition），有时候还有前馈激活（feed-forward activation）和底物激活（substrate activation）。

#### 7.10.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授、案例分析和课堂讨论的形式进行

#### 7.10.6 作业安排及课后反思

- 复习思考题：
- （1）同工酶、调节酶、别构酶、协同效应、别构调节
  - （2）氨甲酰磷酸转移酶 ATC 的别构调节及其生理意义。
  - （3）简述溶菌酶的催化机制。
  - （4）简述胰凝乳蛋白酶的催化机制。
  - （5）为什么以胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、弹性蛋白酶为代表的丝氨酸蛋白酶其催化的底物专一性不同？

#### 7.10.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### 7.10.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第五章 酶学（p231-238）

7.11 教学单元十一 第四章 酶 -4（2 学时）-酶活性测定，酶的多样性及活性调节

7.11.1 教学日期

第七周第十一次课（10/11）

7.11.2 教学目标

酶（酶反应动力学-激活剂、抑制剂对酶反应速率的影响

7.11.3 教学内容（含重点、难点）

7.11.4 教学过程

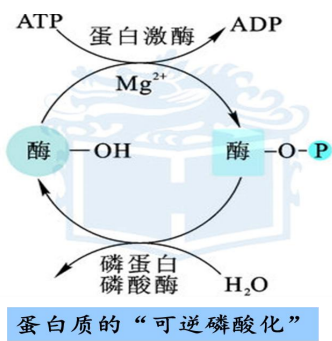
第三节 酶的催化机制

五、重要酶类及其活性调节

2. 调节酶

(1) 别构酶和别构调节

(2) 可逆的共价调节



- 指酶活性因其分子内的某些氨基酸残基在其他酶催化下发生共价修饰而发生变化的过程。这种调节方式比别构调节要慢。
- 共价修饰的方式有：磷酸化、腺苷酸化、尿苷酸化、ADP-核糖基化和甲基化，其中磷酸化是最为常见的形式。

酶共价修饰的几种形式

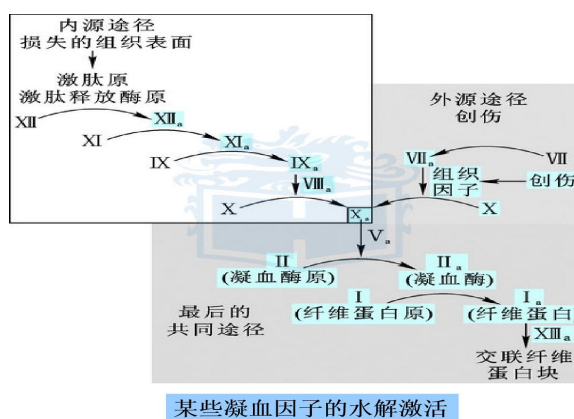
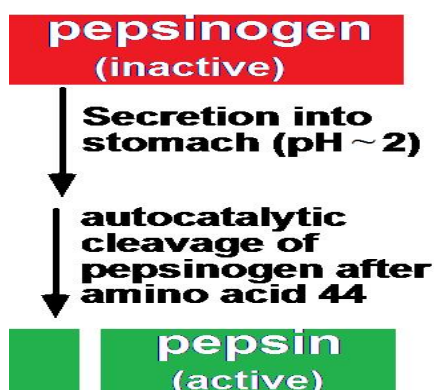
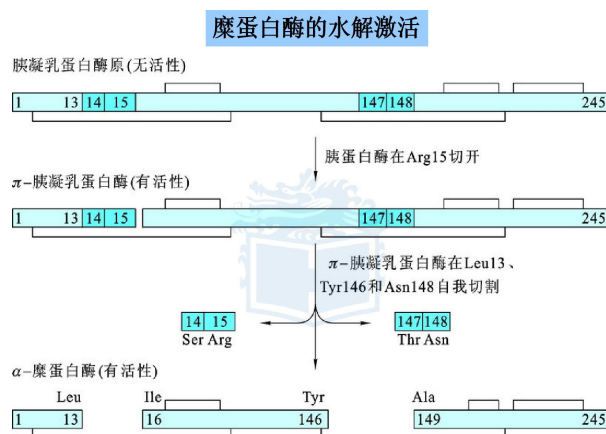
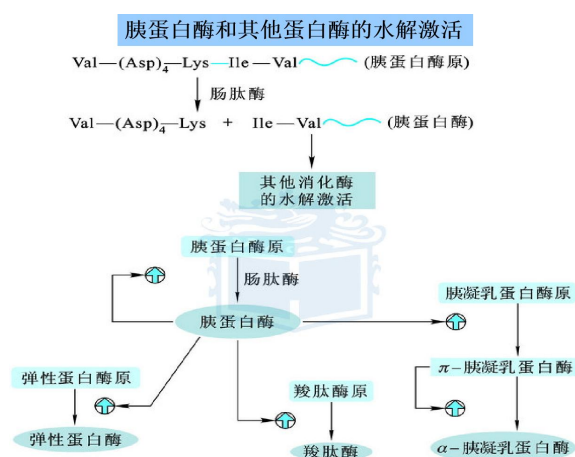
修饰方式	基团供体	基团受体	分布
磷酸化	ATP	真核通常为 S、T 和 Y； 原核通常为 H 和 D	主要是真核细胞， 少数为原核细胞
腺苷酸化	ATP	Y	原核细胞
尿苷酸化	UTP	Y	原核细胞
ADP-核糖基化	NAD <sup>+</sup>	R、E、K、C 和 H	原核细胞和真核细胞
甲基化	S-腺苷甲硫氨酸	D、E、K、H 和 Q	原核细胞和真核细胞
形成二硫键	硫氧还蛋白	C	植物

#### (4) 水解激活

大多数蛋白酶以无活性的酶原形式被合成，需通过水解（由其他蛋白酶催化或自我催化）去除一些氨基酸序列才活性，这种调节酶活性的方式被称为水解激活。

与共价修饰一样，水解激活是也一种全或无的调节方式，酶原状态没有活性；与共价修饰不同的是其不可逆，一旦被激活就不能回到非活性的酶原状态。

实例：消化道内各种蛋白酶的激活（胰蛋白酶原、胰凝乳蛋白酶原、羧肽酶原、弹性蛋白酶原、胃蛋白酶原）；血浆内凝血因子的激活；细胞凋亡胱天蛋白酶（Caspases）的激活。



拓展：

**Enzymes involved in protein digestion, blood clotting, and tissue and bone remodeling are synthesized in an inactive conformation, then activated by proteolytic cleavage**

<u>Zymogen</u>	<u>Active Enzyme</u>	<u>Function</u>
Pepsinogen	Pepsin	protein digestion
Chymotrypsinogen	Chymotrypsin	protein digestion
Trypsinogen	Trypsin	protein digestion
Procarboxypeptidase	Carboxypeptidase	protein digestion
Proelastase	Elastase	protein digestion
Prothrombin	Thrombin	blood clot formation
Fibrinogen	Fibrin	blood clot formation
Factor VII	Factor VIIa	blood clot formation
Factor X	Factor Xa	blood clot formation
Proinsulin	Insulin	plasma glucose
Procollagen	Collagen	homeostasis
Procollagenase	Collagenase	component of skin and bone remodeling processes during metamorphosis, etc.

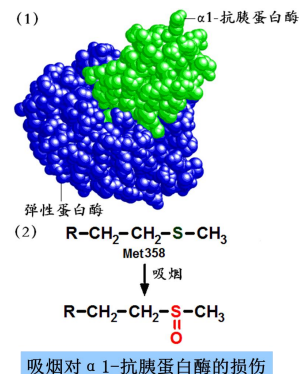
### (5) 调节蛋白的激活或抑制

某些蛋白质能够作为配体与特定的酶结合而调节被结合酶的活性，这些调节酶活性的蛋白质称为调节蛋白，其中，激活酶活性的调节蛋白称为激活蛋白，抑制酶活性的蛋白称为抑制蛋白。抑制蛋白通常结合在酶的活性中心阻止底物与活性中心结合而达到抑制的效果。

➤ **实例：**丝氨酸蛋白酶抑制剂抑制丝氨酸蛋白酶，周期蛋白激活 CDKs。

**蛋白酶与蛋白酶抑制剂**

蛋白酶	抑制剂
丝氨酸蛋白酶	Serpins
糜蛋白酶	$\alpha$ 1-抗糜蛋白酶
补体因子 1	C1 抑制剂
弹性蛋白酶（嗜中性细胞分泌）	$\alpha$ 1-抗胰蛋白酶
凝血因子 X	抗凝血酶 III
凝血酶	抗凝血酶 III
纤溶酶	$\alpha$ 2-抗纤溶酶
胰蛋白酶	胰胰蛋白酶抑制剂



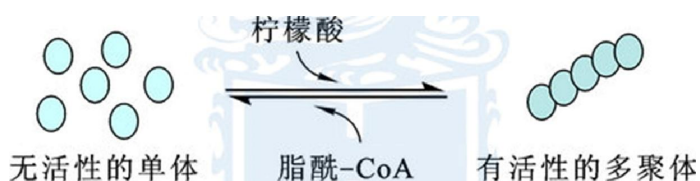
思考：

- 为什么吸烟易引发肺部损伤及炎症？ $\alpha$ 1-抗胰蛋白酶？
- 为什么未煮熟的豆浆不能喝？胰蛋白酶抑制

### （6）聚合和解离

某些蛋白质能够通过多聚体的形成与解聚来调节其活性。

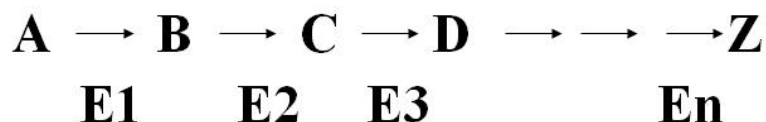
实例：乙酰 CoA 羧化酶的聚合和解离。



### （7）多酶体系（multiple enzyme）

某一代谢由几个酶组成的反应链体系，具有组织性的多酶复合体。

反馈抑制：反应终产物的过量对催化第一步反应酶的抑制作用。



## 第五节 酶的应用及研究方法

### 一、酶的活力测定

### 二、酶的分离纯化

### 三、酶工程

- ✂ Assay of enzyme activities
  1. Methods for expressing enzyme activities
  2. Methods for determining enzyme activities
- ✂ Separation and purification of enzymes (can be skipped)
- ✂ Enzyme engineering (self-study)

### 1. 酶活力和酶活力单位

酶活力 enzyme activity：又称酶活性，指酶催化一定化学反应的能力，常以在一

定条件下酶催化的化学反应速度来表示。

酶的活力的大小既酶含量的多少，用酶活力单位表示。

酶活力单位：是在一定条件下，一定时间内将一定量的底物转化为产物所需要的酶量。

➤ 国际单位 U：在最适条件下，每分钟催化 1 微摩尔底物转化为产物的酶量为一个酶活力单位。既： $1\text{U} = 1\ \mu\text{mol min}^{-1}$ ；

➤ Kat 单位（Katal）：每秒钟催化 1mol 底物转化的酶量；

$$1\text{katal} = 1\text{ mol s}^{-1} \quad (1\text{ kat} = 6 \times 10^7 \text{U}, 1\text{U} = 16.67 \times 10^{-9} \text{kat})。$$

➤ 习惯单位 如：淀粉酶的活力单位可用每小时催化 1 克淀粉的酶量表示 ( $\text{g h}^{-1}$ )，也可用每小时催化 1mL 2% 淀粉所需要的酶量表示。

## 2. 比活力和转换数

比活性或比活力（specific activity）：用每毫克蛋白所含的酶活力单位数表示。 $\mu\text{mol min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ ；比活力代表酶的纯度，比活力越大表示酶的纯度越高。

转换数 kcat：指每秒钟每一活性中心或每分子酶所能转换的底物分子数，单位： $\text{S}^{-1}$ ；代表酶的催化效率。

当酶被底物完全饱和时，底物浓度远远

大于酶的总浓度下，最大反应速度是一

定的。 $V_{\max} = K_2 [E]$ ， $K_2 \approx \text{kcat}$

$$\text{转换数} = \frac{\text{转化底物的微摩尔/秒}}{\text{酶的微摩尔}}$$

例：1  $\mu\text{g}$  纯酶，分子量为  $92 \times 10^3$ ，在最适条件下催化反应的速率为  $0.5\ \mu\text{mol/min}$ ，计算酶的比活力和转换数。

$$\text{比活力} = \frac{0.5}{10^{-3}} = 500 \text{ U/mg}$$

$$\text{转换数} = \frac{0.5 / 60}{1/92 \times 10^{-3}} = 771.6 / \text{S}$$

### 3. 酶活力测定方法

#### (1) 基本原理

测定一种酶的活力实际上就是测定它所催化的化学反应的最佳反应速率。方法原则上有两种，检测单位时间内底物的减少量，或测定单位时间内产物的增加量。

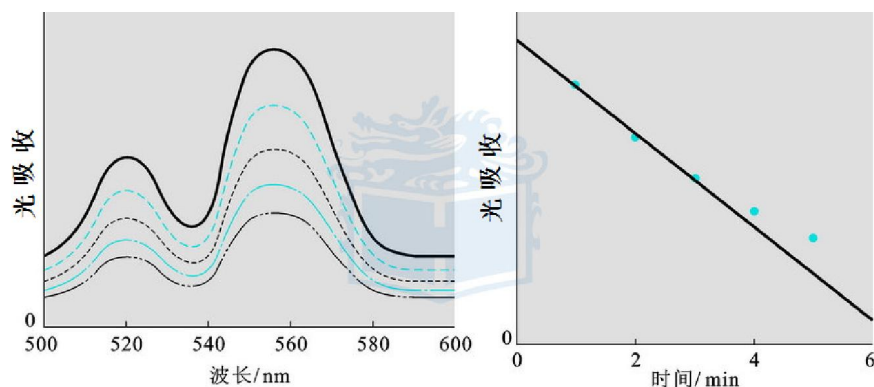
#### (2) 基本条件

反应条件为最适条件，包括最适 pH、最适温度和最适离子强度等；反应速率为初速率；底物浓度过量。

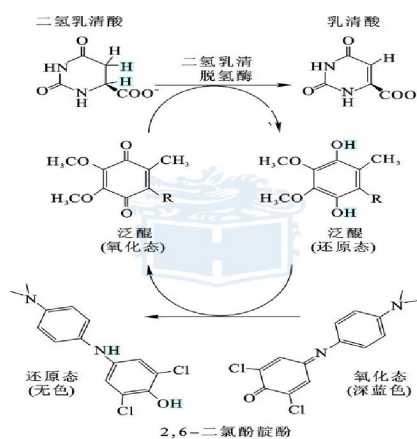
#### (3) 常用测定方法

- 比色法：酶反应产物与特定化学试剂反应生成稳定的颜色物质，颜色的深浅与产物浓度在一定范围内呈线性关系。
- 分光光度法：利用底物和产物光吸收性质的不同，直接测定反应混合物中底物的减少量或产物的增加量。氧化还原酶 LDH
- 量气法：有气体产生的酶促反应，如氨基酸脱羧酶、脲酶。
- 滴定法：产物含有酸性物质的酶促反应，如脂肪酶。
- 放射测量法
- 酶偶联分析

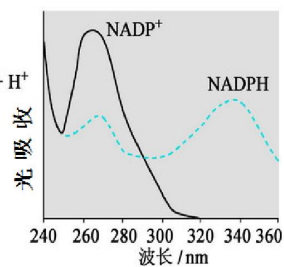
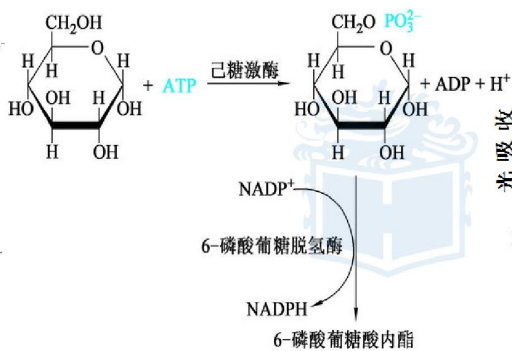




### 细胞色素氧化酶活力的直接测定



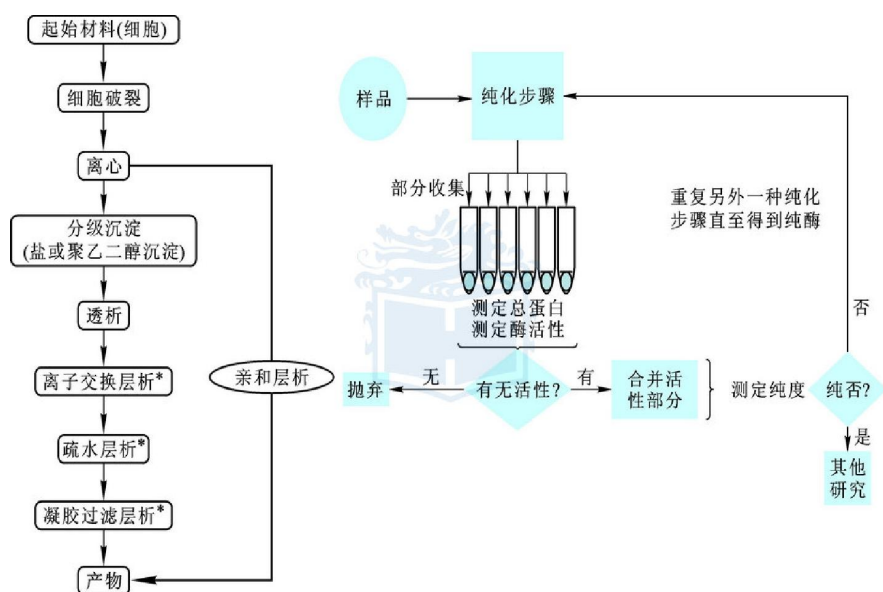
### 二氢乳清酸脱氢酶的间接测定



### 己糖激酶活力的偶联测定

## 二、酶的分离纯化

### 酶蛋白纯化的一般流程



## 酶纯化过程的实例

步骤	体积 (ml)	蛋白浓度 (mg/ml)	总蛋白 (mg)	活力 (U/ml)	总活力 (U)	比活力 (U/mg)	纯化 倍数	回 收 率
匀浆液	8500	40	340000	1.8	15300	0.045	1	100
硫酸铵 沉淀	530	194	103000	23.3	12350	0.12	2.7	81
CM- 纤维素	420	19.5	8190	25	10500	1.28	28.4	69
亲和 层析	48	2.2	105.6	198	9500	88.4	1964	62
DEAE- Sephrose	12	2.3	27.5	633	7600	275	6110	50

纯化倍数：提纯后与提纯前酶比活力的比值。

酶的收率：纯化过程中酶活性的收率。

(1) 总活力 = 活力单位数/ml × 总体积

(2) 比活力 =  $\frac{\text{活力单位数 / ml}}{\text{毫克蛋白 / ml}}$

或

比活力 =  $\frac{\text{总活力单位数}}{\text{总蛋白 mg}}$

(3) 纯化倍数 =  $\frac{\text{每次的比活力}}{\text{第一次比活力}}$

(4) 回收率（产率） =  $\frac{\text{每次的总活力}}{\text{第一次总活力}} \times 100\%$

酶纯化表（purification table）

- ① 酶溶液体积（ml）
- ② 酶溶液蛋白质含量（mg/ml）
- ③ 酶溶液活性（U/ml）

- ④ 酶总量或酶总活性 (U) = 酶活力 (U/ml) × 体积 (ml)
- ⑤ 比活性 (U/mg) = 酶活力 (U/ml) / 蛋白质质量 (mg/ml)
- ⑥ 总蛋白 (mg) = 酶溶液蛋白质含量 (mg/ml) × 体积 (ml)
- ⑦ 得率 (%) = 每一步纯化后的酶总量 / 每一步纯化之前的酶总量 × 100%;
- ⑧ 纯化倍数 (purification factor) = 每一步纯化后的酶比活性 / 每一步纯化之前的酶比活性。

酶纯化示例表

纯化步骤	酶溶液体积 (ml)	总蛋白 (mg)	总活性 (U)	比活性 (U · mg <sup>-1</sup> )	纯化倍数	得率 (%)
粗细胞提取物	1 400	10 000	10 0000	10	1	100
凝胶过滤	90	400	80 000	200	20	80
离子交换	80	100	60 000	600	3	75

拓展:

## Enzyme engineering

Immobilized enzymes, Artificial enzymes, Site-directed mutagenesis of enzymes,

Enzyme-directed evolution, Hybrid enzymes, Abzymes

固定化酶--是指将一种可溶性酶与不溶性的有机或无机基质结合, 或者将其包埋到特殊的具有选择透过性的膜内, 从而提高酶的稳定性、便于重复和持续使用。与可溶性酶相比, 固定化酶具有方便、经济和稳定等优点。

人工酶--也称为人工合成酶 (synzyme), 它们一般是具有类似酶活力的合成多聚物或寡聚物, 有时还包括具有酶活力的天然蛋白的衍生物。

杂交酶--现代分子生物学技术的发展已允许人们将两种不同的生物分子融合在一起, 以获得具有新性质、新功能的杂合分子。杂交酶就是酶与其他生物分子融合在一起的

产物。

#### 7.11.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授和课堂讨论的形式进行

#### 7.11.6 作业安排及课后反思

**思考：**（1）为什么吸烟易引发肺部损伤及炎症？ $\alpha$  1-抗胰蛋白酶？

（2）为什么未煮熟的豆浆不能喝？胰蛋白酶抑制

（3）简述酶蛋白分离纯化及活性测定的一般步骤和方法

（4）试做课后的复习思考题。

#### 7.11.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### 7.11.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第五章 酶学（p239-255）

### 7.12 教学单元十二 第五章 维生素和激素 -1（2 学时）

#### 7.12.1 教学日期

第七周第十二次课（10/13）

#### 7.12.2 教学目标

了解脂溶性维生素；熟悉水溶性维生素与辅酶；熟悉激素的种类、性质及特征；了解激素作用机制及激素的分泌及其调节。

#### 7.12.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：水溶性维生素与辅酶；激素的种类、性质及特征；

难点：脂溶性维生素；激素的作用机制

主要知识点：B 族维生素、辅酶、脂溶性维生素；激素的定义、分类、特征；脂溶性激素的作用机制、水溶性激素的作用机制、信号转导的整合；激素的调节

#### 7.12.4 教学过程

##### 第一节 水溶性维生素

###### B 族维生素

###### 维生素 C

##### 第二节 脂溶性维生素

###### 维生素 A

###### 维生素 D

###### 维生素 E

###### 维生素 K

##### 第三节 激素的一般性质及特征

###### 一、激素的定义、化学本质、分类和生物合成

###### 二、激素作用的一般特征

- 特异性
- 高效性
- 水溶性激素的作用往往需要“第二信使”
- 激素的作用可能产生“快反应”或“慢反应”
- 脱敏性和时效性

##### 第四节 激素作用的详细机制

- 脂溶性激素的作用机制

➤ 水溶性激素的作用机制

➤ 信号转导的整合

## 第五节 激素的分泌及其调节

### 7.12.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授、案例分析和课堂 PPT 汇报、讨论、点评的形式进行。

### 7.12.6 作业安排及课后反思

试做课后的复习思考题。

### 7.12.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.12.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第六、七章 维生素和辅酶；激素化学（p256-270；276-287）

## 7.13 教学单元十三 第六章 生物氧化 -1（2 学时）

### 7.13.1 教学日期

第八周第十三次课（10/18）

### 7.13.2 教学目标

掌握生物氧化的定义及特点；熟悉生物能学；了解代谢的基本概念、特征及研究方法。

### 7.13.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：生物氧化、生物能、高能生物分子；

难点：代谢研究方法、生物能学。

主要知识点：代谢特征、代谢组学、生物能学、生化反应的方向性与自由能之间的关系、高能生物分子、生物氧化与非生物氧化

#### 7.13.4 教学过程

##### 第一节 代谢的基本概念、特征及研究方法

一、代谢的基本概念及基本特征

二、代谢研究的基本方法

三、代谢组和代谢组学

##### 第二节 生物能学

一、生物能学的基本概念

二、生化反应的方向性与自由能之间的关系

三、生命系统内的偶联反应

四、高能生物分子

##### 第三节 生物氧化

一、生物氧化与非生物氧化

#### 7.13.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授、案例分析、举例和课堂讨论的形式进行。

#### 7.13.6 作业安排及课后反思

#### 7.13.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。



#### 7.13.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》, 科学出版社, 2016, 第八章 生物氧化 (p303-312)

### 7.14 教学单元十四 第六章 生物氧化 -2 (2 学时)

#### 7.14.1 教学日期

第八周第十四次课 (10/20)

#### 7.14.2 教学目标

掌握呼吸链的组成及功能, 氧化磷酸化及其解偶联与抑制。

#### 7.14.3 教学内容 (含重点、难点)

重 点: 氧化磷酸化及其解偶联与抑制。

难 点: ATP 合酶的结构与功能。

主要知识点: 呼吸链、氧化磷酸化、偶联机制、氧化磷酸化的解偶联与抑制。

#### 7.14.4 教学过程

##### 第三节 生物氧化

##### 二、呼吸链

1. 呼吸链的定义
2. 呼吸链的类型及其在细胞中的定位和功能
3. 呼吸链的组分
4. 呼吸链组分的排列顺序
5. 复合体 I、II、III 和 IV 的结构与功能

##### 三、氧化磷酸化

1. 氧化磷酸化的偶联机制

## **2. F1F0-ATP 合酶的结构与功能**

## **3. 氧化磷酸化的解偶联与抑制**

### **7.14.5 教学方法**

教学方法主要采用课堂讲授、举例和课堂讨论的形式进行。

### **7.14.6 作业安排及课后反思**

### **7.14.7 课前准备情况及其他相关特殊要求**

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### **7.14.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）**

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第八章 生物氧化（p317-336）

## **7.15 教学单元十五 第七章 糖代谢 -1（2 学时）**

### **7.15.1 教学日期**

第九周第十五次课（10/25）

### **7.15.2 教学目标**

了解糖类的消化和吸收；掌握糖酵解的全部反应及其生理功能；熟悉糖酵解的调节。

### **7.15.3 教学内容（含重点、难点）**

重 点：糖酵解的全部反应及其生理功能。

难 点：糖酵解的调节。

主要知识点：糖酵解生理功能及调节。

#### 7.15.4 教学过程

##### 第一节 糖类的消化和吸收

一、双糖、寡糖和多糖的酶促降解

二、单糖的吸收和转运

##### 第二节 糖酵解 EMP

一、糖酵解概述及全部反应

二、NADH 和丙酮酸的命运

三、其他物质进入糖酵解

四、糖酵解的生理功能

五、糖酵解的调节

1. 葡萄糖的可得性
2. 己糖激酶和葡萄糖激酶的调节
3. PFK-1 的调节
4. 丙酮酸激酶的调节

#### 7.15.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授、案例分析、举例和课堂讨论的形式进行。

#### 7.15.6 作业安排及课后反思

- (1) 复习测定微生物生长繁殖的方法。

#### 7.15.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### 7.15.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》, 科学出版社, 2016, 第九章 糖代谢 (p337-350)

### 7.16 教学单元十六 第七章 糖代谢 -2 (2 学时)

#### 7.16.1 教学日期

第九周第十六次课 (10/27)

#### 7.16.2 教学目标

掌握羧酸循环及其生理功能、乙醛酸循环；熟悉三羧酸循环的回补反应，了解三羧酸循环的调控。

#### 7.16.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：三羧酸循环反应及生理功能，乙醛酸循环。

难 点：单细胞微生物的典型生长曲线。

主要知识点：羧酸循环及其生理功能、乙醛酸循环、三羧酸循环的回补反应、三羧酸循环的调控

#### 7.16.4 教学过程

##### 第三节 三羧酸循环

##### 一、三羧酸循环概述

##### 二、三羧酸循环的全部反应

##### 三、三羧酸循环小结及其生理功能

##### 四、乙醛酸循环

##### 五、三羧酸循环的回补反应

## 六、三羧酸循环的调控

1. 柠檬酸合酶的调控
2. 异柠檬酸脱氢酶的调控
3.  $\alpha$ -酮戊二酸脱氢酶系的调控
4. 丙酮酸脱氢酶系的调控

### 7.16.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授、案例分析和课堂讨论的形式进行。

### 7.16.6 作业安排及课后反思

- (1) 了解本学院哪些实验室在从事微生物相关的研究，具体研究方向。
- (2) 对于自己感兴趣的方面进行资料查阅，扩充知识面。
- (3) 试做课后的复习思考题。

### 7.16.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.16.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第九章 糖代谢（p352-369）

## 7.17 教学单元十七 第七章 糖代谢 -3（2 学时）

### 7.17.1 教学日期

第十周第十七次课（11/01）

### 7.17.2 教学目标

掌握磷酸戊糖途径的生理功能，了解磷酸戊糖途径的调节。

### 7.17.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：磷酸戊糖途径的功能

难 点：磷酸戊糖途径的调节

主要知识点：磷酸戊糖途径、磷酸戊糖途径的调节

### 7.17.4 教学过程

#### 第四节 磷酸戊糖途径

##### 一、磷酸戊糖途径概述

##### 二、磷酸戊糖途径的全部反应

###### 1. 氧化相

###### 2. 非氧化相

##### 三、磷酸戊糖途径小结

##### 四、磷酸戊糖途径的功能

###### 1. 与 NADPH 有关的功能

###### 2. 与 5-磷酸核糖有关的功能

##### 五、磷酸戊糖途径的调节

### 7.17.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

### 7.17.6 作业安排及课后反思

### 7.17.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### 7.17.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》, 科学出版社, 2016, 第九章 糖代谢 (p352-369)

### 7.18 教学单元十八 第七章 糖代谢 -4 (2 学时)

#### 7.18.1 教学日期

第十周第十八次课 (11/03)

#### 7.18.2 教学目标

掌握糖异生的功能, 糖原的分解, 熟悉糖异生以及糖原代谢调节。

#### 7.18.3 教学内容 (含重点、难点)

重 点: 糖异生的功能, 糖原的分解

难 点: 糖异生以及糖原代谢调节

主要知识点: 糖异生的功能、调节; 糖原的分解、合成及调节

#### 7.18.4 教学过程

##### 第五节 糖异生

##### 一、糖异生概述

##### 二、糖异生涉及的主要反应

##### 三、糖异生的功能

##### 四、糖异生的调节

##### 第六节 糖原代谢

##### 一、糖原的分解

##### 二、糖原的合成

##### 三、糖原代谢的调节



### 7.18.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

### 7.18.6 作业安排及课后反思

### 7.18.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

### 7.18.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第九章 糖代谢（p370-386）

## 7.19 教学单元十九 第八章 脂代谢 -1（2 学时）

### 7.19.1 教学日期

第十一周 第十九次课（11/08）

### 7.19.2 教学目标

掌握脂肪酸的  $\beta$ -氧化，熟悉脂肪、磷脂代谢；了解脂质的消化和吸收。

### 7.19.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：脂肪酸的  $\beta$ -氧化

难 点：脂肪、磷脂代谢

主要知识点：脂质的消化和吸收、脂肪、磷脂代谢、脂肪酸的  $\beta$ -氧化

### 7.19.4 教学过程

第一节 脂质的消化和吸收

第二节 脂肪、磷脂和糖脂的代谢

一、脂肪代谢

二、磷脂代谢

三、糖脂代谢（自学）

### 第三节 脂肪酸代谢

一、脂肪酸的分解

脂肪酸的  $\beta$ -氧化

#### 7.19.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

#### 7.19.6 作业安排及课后反思

#### 7.19.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### 7.19.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》，科学出版社，2016，第十一章 脂代谢（p415-426）

### 7.20 教学单元二十 第八章 脂代谢 -2（2 学时）

#### 7.20.1 教学日期

第十一周第二十次课（11/10）

#### 7.20.2 教学目标

掌握酮体的生成和利用，熟悉脂肪酸合成及调控，了解脂肪酸的  $\alpha$ -氧化和  $\omega$ -氧化

#### 7.20.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：酮体的生成和利用

难 点：脂肪酸合成及调控

主要知识点：脂肪酸的  $\alpha$ -氧化和  $\omega$ -氧化、酮体的生成和利用、脂肪酸合成及调控

#### 7.20.4 教学过程

##### 第三节 脂肪酸代谢

##### 一、脂肪酸的分解

1. 脂肪酸的  $\alpha$ -氧化和  $\omega$ -氧化(自学)
2. 酮体的生成和利用

##### 二、脂肪酸的合成

1. 脂肪酸合成的一般性质
2. 脂肪酸合成的详细机制

##### 三、脂肪酸代谢的调控

1. 脂肪酸分解代谢的调控
2. 脂肪酸合成代谢的调控

#### 7.20.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

#### 7.20.6 作业安排及课后反思

#### 7.20.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### 7.20.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊,《生物化学教程》,科学出版社,2016,第十一章 脂代谢 (p427-433)

## **7.21 教学单元二十一 第八章 脂代谢 -3 (2 学时)**

### **7.21.1 教学日期**

第十二周第二十一节课 (11/15)

### **7.21.2 教学目标**

掌握胆固醇的合成的关键酶,了解胆固醇的运输、代谢转变和调节。

### **7.21.3 教学内容 (含重点、难点)**

重 点: 胆固醇的合成

难 点: 胆固醇的代谢转变及调节

主要知识点: 胆固醇的合成、胆固醇的运输、代谢转变和调节

### **7.21.4 教学过程**

#### **第四节 胆固醇代谢**

##### **一、胆固醇的合成**

##### **二、胆固醇的运输**

##### **三、胆固醇的代谢转变**

##### **四、胆固醇代谢的调节**

### **7.21.5 教学方法**

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

### **7.21.6 作业安排及课后反思**

### **7.21.7 课前准备情况及其他相关特殊要求**

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### **7.21.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）**

张洪渊,《生物化学教程》，科学出版社，2016，第十一章 脂代谢（p434-446）

### **7.22 教学单元二十二 第九章 蛋白质降解和氨基酸代谢（2 学时）**

#### **7.22.1 教学日期**

第十二周第二十二次课（11/17）

#### **7.22.2 教学目标**

掌握氨基的代谢和碳骨架的代谢，熟悉氨的进一步代谢转变，了解蛋白质的消化和吸收。

#### **7.22.3 教学内容（含重点、难点）**

重 点：氨基的代谢和碳骨架的代谢

难 点：氨的进一步代谢转变

主要知识点：尿素循环、碳骨架的代谢、氨的进一步代谢转变

#### **7.22.4 教学过程**

##### **第一节 蛋白质的消化和吸收**

###### **一、蛋白质的酶促降解**

###### **二、氨基酸、二肽和三肽的吸收**

##### **第二节 氨基酸的分解代谢**

###### **一、氨基的代谢**

###### **二、氨的进一步代谢转变**

### 三、碳骨架的代谢

#### 第三节 氨基酸及其衍生物的合成（自学）

##### 7.22.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

##### 7.22.6 作业安排及课后反思

##### 7.22.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

##### 7.22.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学教程》，科学出版社，2016，第十二章（p448-470）

#### 7.23 教学单元二十三 第十章 核苷酸代谢（2 学时）

##### 7.23.1 教学日期

第十三周第二十三次课（11/22）

##### 7.23.2 教学目标

掌握核苷酸的从头合成、核苷酸的补救合成，熟悉苷二磷酸和核苷三磷酸的合成、脱氧核苷酸的合成、胸苷酸的合成；了解核酸的消化和吸收，核苷酸合成的调节、与核苷酸代谢相关的疾病、常见的抗核酸代谢药物。

##### 7.23.3 教学内容（含重点、难点）

重 点：核苷酸的从头合成、核苷酸的补救合成、脱氧核苷酸的合成

难点：核苷酸合成的调节

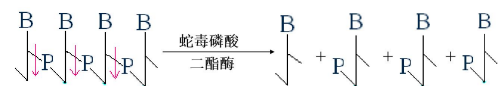
主要知识点：核苷酸的从头合成、核苷酸的补救合成、脱氧核苷酸的合成、胸苷酸的合成、核苷酸合成的调节、与核苷酸代谢相关的疾病、常见的抗核酸代谢药物。

## 7.23.4 教学过程

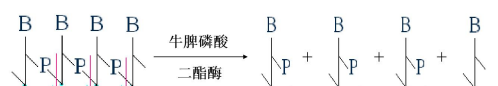
### 第一节 核酸和核苷酸的分解代谢

#### 一、核酸分解

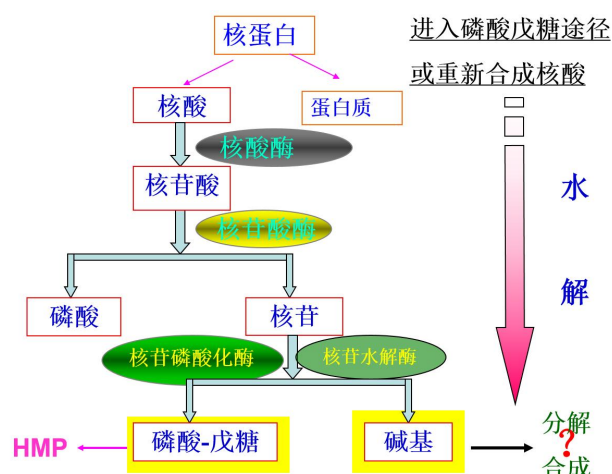
核酸是许多核苷酸以 3', 5' - 磷酸二酯键连接而成的大分子化合物。核酸在酶的作用下，水解生成磷酸、戊糖和碱基。



从3'-OH端水解，得到5'-核苷酸。

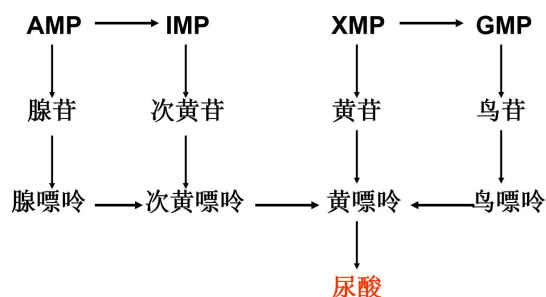


从5'-P端水解，得到3'-核苷酸。



#### 二、嘌呤的分解

#### 核苷酸和核苷水平的降解

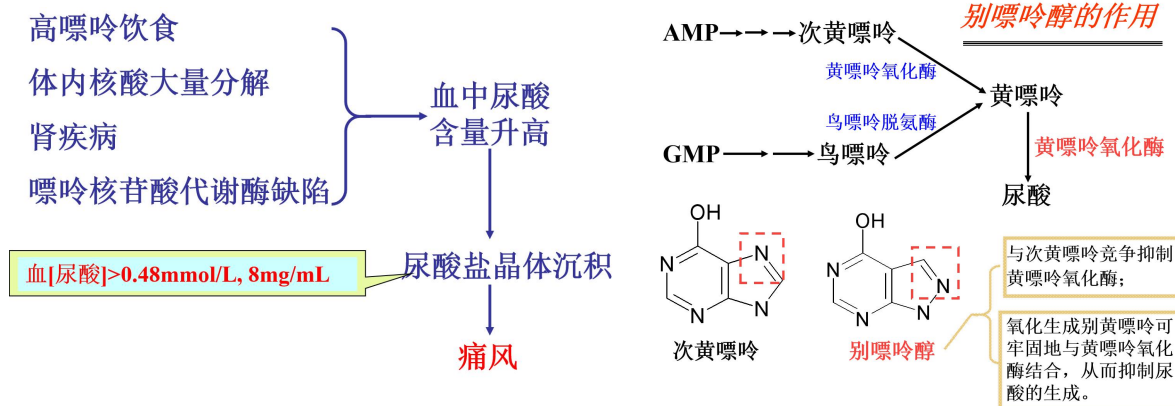


不同种类动物分解嘌呤的产物不同，总结如下：

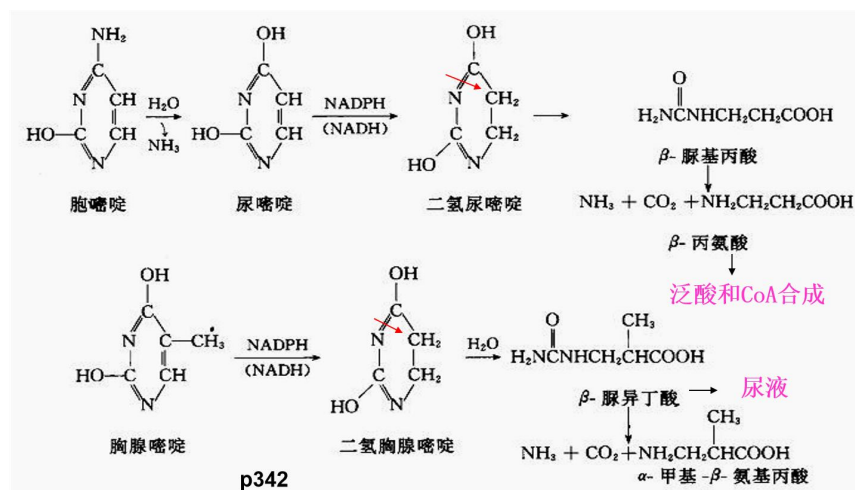
动物类别	嘌呤分解终产物
人类、灵长类、爬虫类以及大多数昆虫	尿酸
除此之外其他哺乳类	尿囊素
某些硬骨鱼	尿囊酸
大多数鱼类两栖类	尿素
某些低等动物	氨和二氧化碳



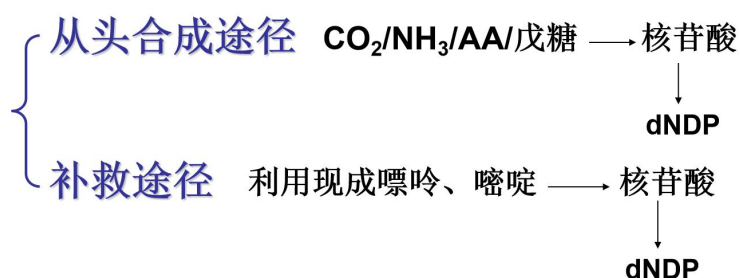
## 嘌呤核苷酸的分解代谢与痛风



## 三、嘧啶碱的分解代谢 --主要在肝脏中进行

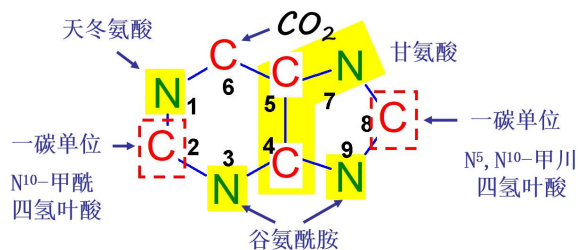


## 第二节 核苷酸的生物合成

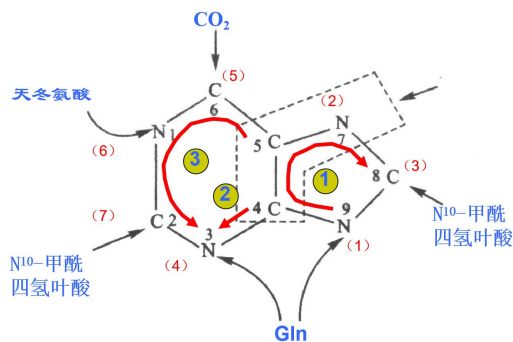


### 一、嘌呤核糖核苷酸的合成

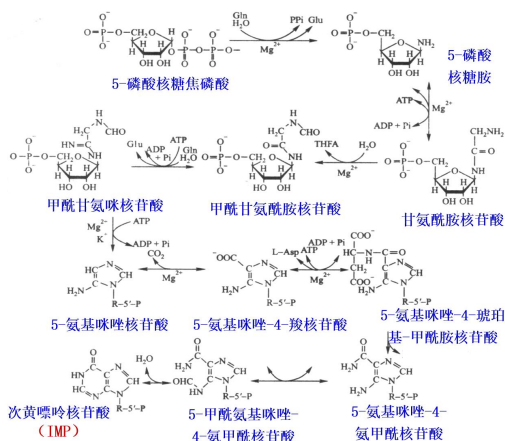
#### 1. 嘌呤核糖核苷酸的从头合成途径



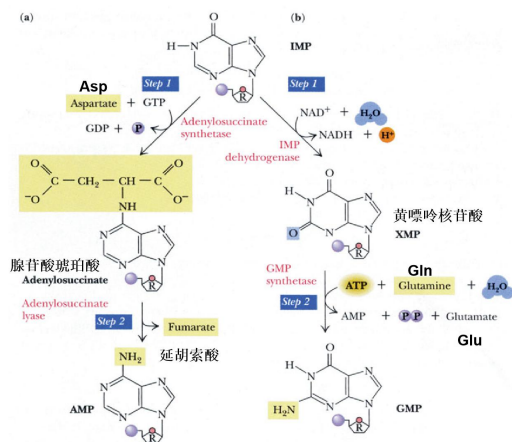
## 嘌呤环的合成顺序



## IMP的生物合成

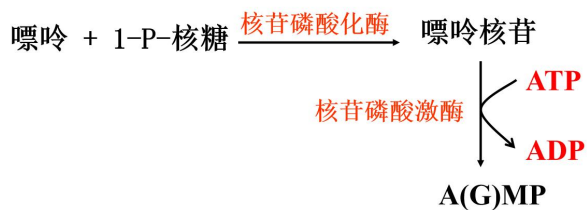


## AMP和GMP的生物合成



## 2. 嘌呤核糖核苷酸的补救途径

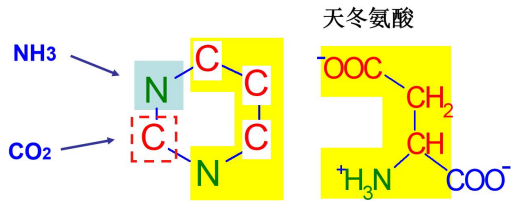
(1)



磷酸核糖转移酶催化5'-磷酸核糖-1'焦磷酸中磷酸核糖部分转移

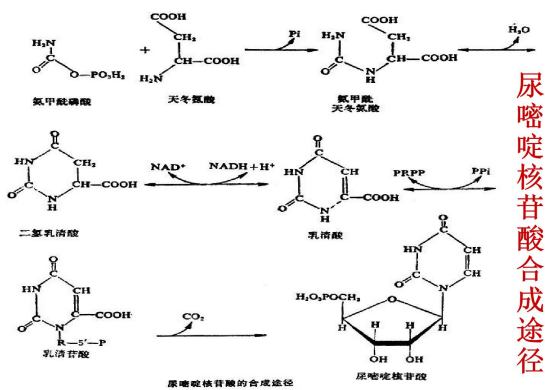
## 二、嘧啶核糖核苷酸的合成

## 嘧啶环元素的来源

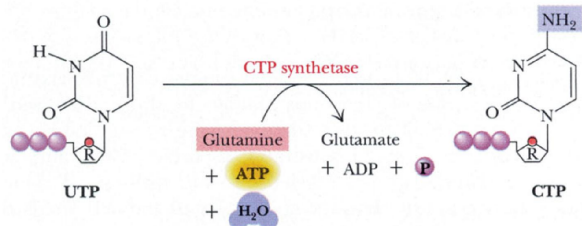


## 1. 嘧啶核糖核苷酸的从头合成途径

### 尿嘧啶核苷酸合成途径



### 胞嘧啶核苷酸合成途径



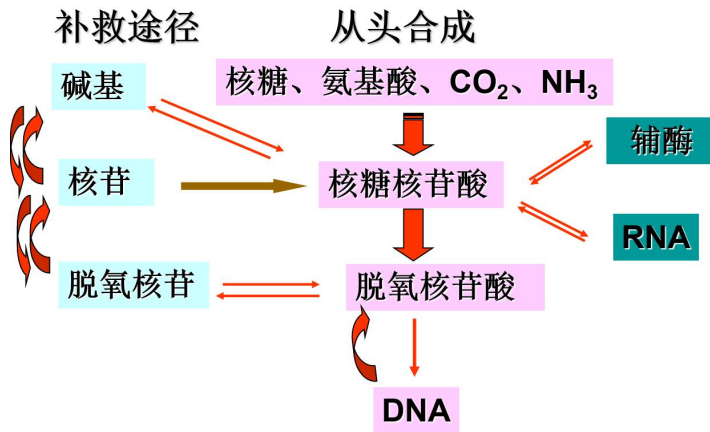
## 2. 嘧啶核糖核苷酸的补救途径



胞嘧啶不能与PRPP作用，但

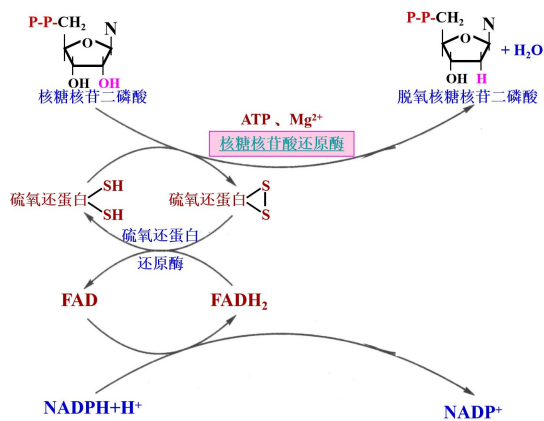


## 核苷酸合成的两条途径



### 三、脱氧核糖核苷酸的合成

#### 1. 核糖核苷酸的还原



#### 核糖核苷二磷酸的来源

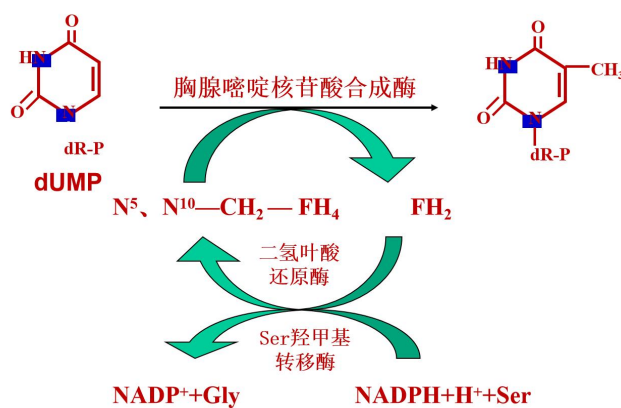
##### AMP生成ADP



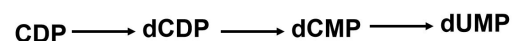
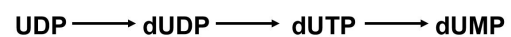
##### 核苷二磷酸和核苷三磷酸之间的转化



#### 2. 脱氧胸腺嘧啶核苷酸的合成



#### dUMP 的来源



#### **10.4 几种与核苷酸代谢相关的疾病（自学）**

#### **10.5 常见的抗核酸代谢药物（自学）**

#### **7.23.5 教学方法**

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

#### **7.23.6 作业安排及课后反思**

#### **7.23.7 课前准备情况及其他相关特殊要求**

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### **7.23.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）**

张洪渊，《生物化学原理》，科学出版社，2009，第十四章 P348-355

#### **7.24 教学单元二十四 第十一章 三大物质代谢的关系（2 学时）**

#### **7.24.1 教学日期**

第十三周第二十四次课（11/24）

#### **7.24.2 教学目标**

掌握物质代谢的相互联系，熟悉酶活性的调节机制，了解酶的合成和降解、核酸代谢与糖、脂及蛋白质代谢的相互联系。

#### **7.24.3 教学内容（含重点、难点）**

重 点：物质代谢的相互联系

难 点：酶活性的调节机制

主要知识点：糖代谢和蛋白质代谢的关系、脂代谢和蛋白代谢的关系、糖代谢与脂代

谢的相互联系，酶活性的调节机制-酶的“质变”：别构调节、共价修饰调节、诱导酶、结构酶、操纵子 (operon)、酶的降解

#### 7.24.4 教学过程

### 第一节 物质代谢的相互联系

生物体内各种代谢是一个完整统一的过程。各类物质的代谢均不是一个独立的事件——它们之间有相互影响和相互转化。糖、脂、蛋白和核酸之间都存在相互转化的。

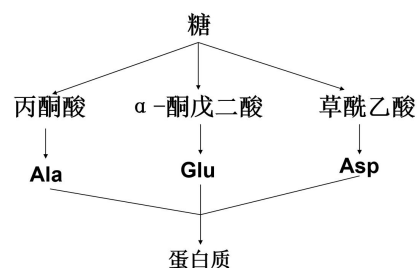
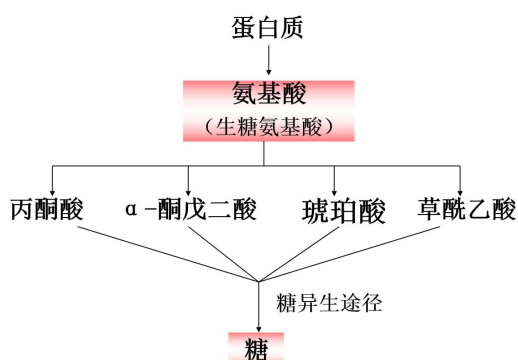
#### 一、糖代谢和蛋白质代谢的关系

糖可以合成各种非必需氨基酸的碳链结构，经氨基化或转氨基作用后，即生成相应的氨基酸。糖代谢产生的能量可以供氨基酸和蛋白质合成。（GTP）

蛋白质可以分解成氨基酸，氨基酸中的生糖氨基酸脱氨后，变成酮酸，再经糖异生作用生成糖。

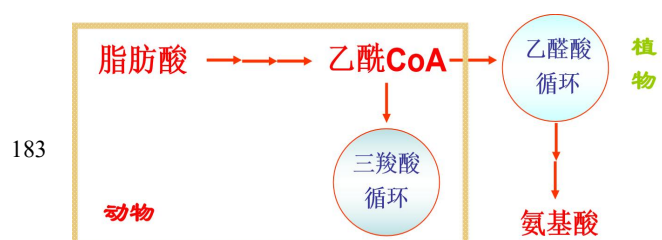
1. 糖分解代谢的中间产物为氨基酸合成提供碳骨架

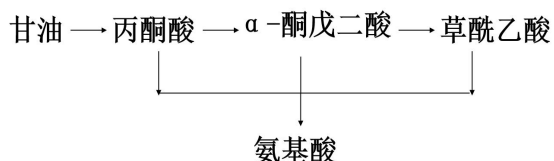
2. 生糖氨基酸的碳骨架可转变为糖



#### 二、脂代谢和蛋白代谢的关系

脂类分子的甘油部分可转变为丙酮酸，丙酮酸可转变为草酰乙酸，α-酮戊二酸，然后接受氨基后转变为相应的氨基酸。

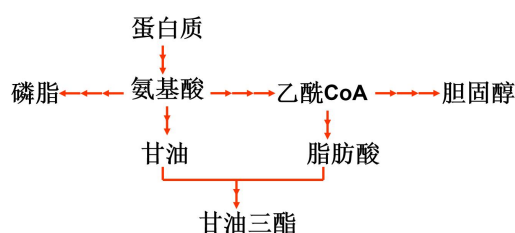




脂类中的脂肪酸的分解产物乙酰-CoA 不能合成氨基酸。

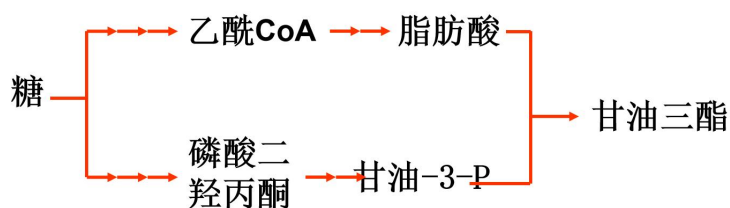
在植物和微生物中，存在乙醛酸循环。可由 2 分子的乙酰-CoA 合成一分子草酰乙酸，因此，脂肪酸可转变为非必需氨基酸。

蛋白质可以转变为脂肪。此外，乙酰 CoA 是合成胆固醇的原料，Ser 还可以合成胆胺和胆碱，因此氨基酸也是合成磷脂的原料。

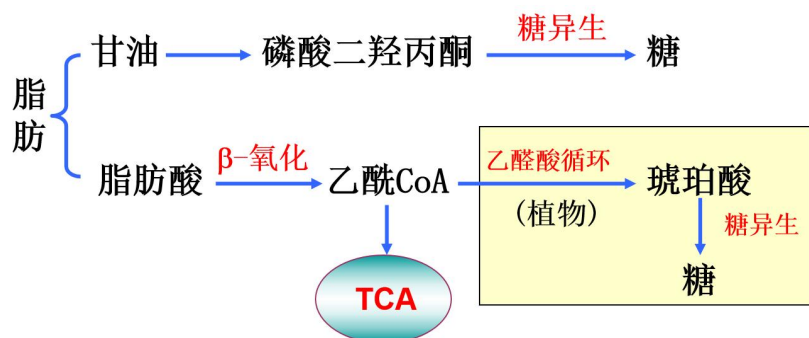


### 三、糖代谢与脂代谢的相互联系

糖可以转变为脂肪。糖分解产生的乙酰 CoA 可合成脂肪酸，糖分解产生的磷酸二羟丙酮又可生成甘油，二者可生成脂肪。

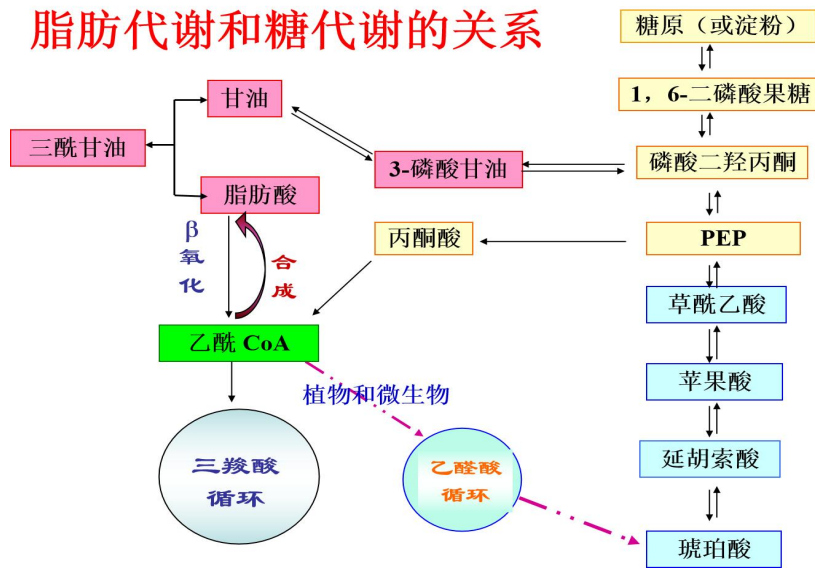


在动物中，脂肪转变为糖是有限的。在植物和微生物中，脂肪可以转变为糖。



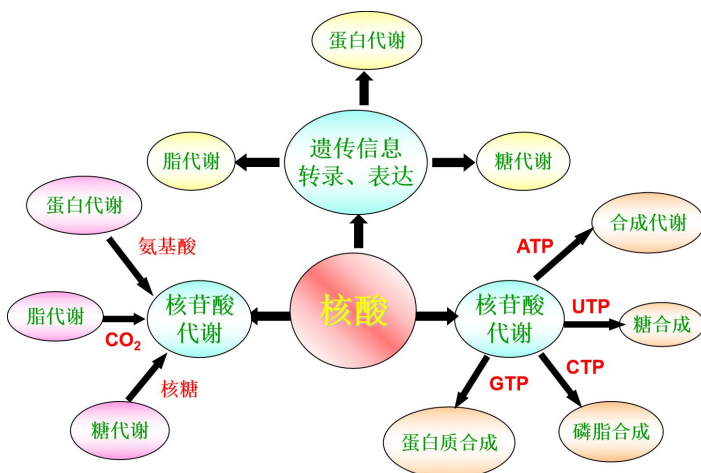


## 脂肪代谢和糖代谢的关系



## 四、核酸代谢与糖、脂及蛋白质代谢的相互联系

核酸及其衍生物和多种物质代谢有关。但脂类代谢，除供应嘌呤环合成原料  $\text{CO}_2$  外，和核酸代谢并无明显的关系；糖代谢中的戊糖循环提供核糖，是合成核酸的原料；蛋白质代谢能为嘌呤和嘧啶的合成提供许多原料，如 Gly、Asp、Gln、甲酸盐等。



许多核苷酸在代谢中起着重要作用：

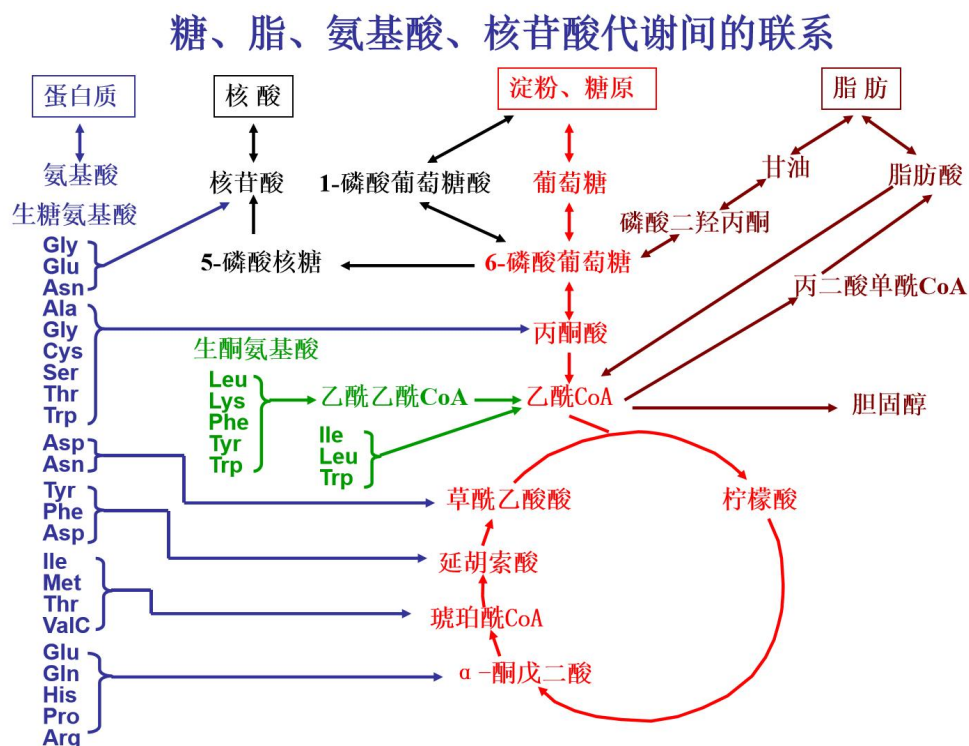
- ATP 提供能量和磷酸基团
- UTP 参与糖原合成

- GTP 参与蛋白质合成
- CTP 参与磷脂合成
- 许多辅酶均为核苷酸的衍生物 CoA、NAD、NADP、FAD。因此，核苷酸与很多代谢有着密切的关系。

核酸与其他物质代谢关系中更为重要的一点是：作为细胞内的重要遗传物质，通过控制蛋白质合成，影响细胞的组成成份和代谢类型。

核酸与其它各类代谢物质之间存在着一种交互作用的关系，各类代谢物为核酸及其衍生物的合成提供原料，而核酸及其衍生物反过来又对其他物质的代谢方式和反应速度发生影响。

Summary:



## 第二节 细胞代谢的调节和控制

生物体内存在着相互联系，错综复杂的代谢过程。这些代谢不是杂乱无章的，生物

体内存在着调节控制，使各种代谢有条不紊地进行，否则生物也就不能存活。

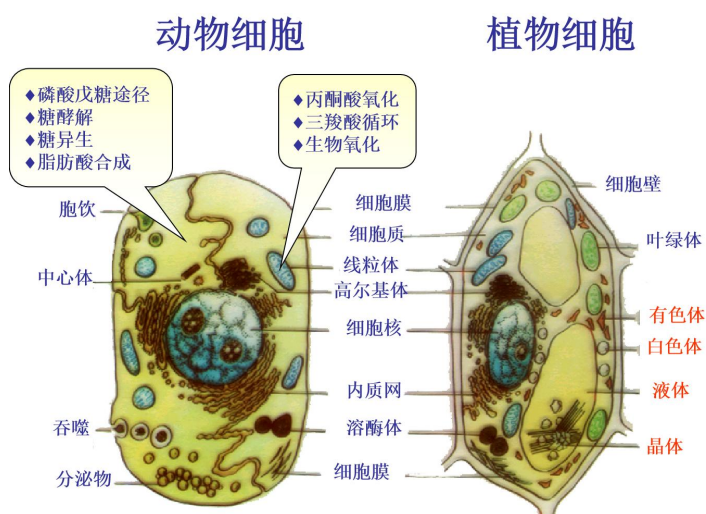
生物体内的代谢调节，在三种不同水平上进行。即（1）神经调节；（2）激素调节；（3）细胞内调节

细胞代谢的调节，主要是通过控制酶的作用而实现的。这种酶水平的调节，是最基本的调节方式。激素和神经调节是随着生物进化、发展而完善起来的调节机制，但是它们仍然是通过“酶水平”的调节而发挥其作用。所有这些调节又受生物遗传因素的控制。

## 一、动物细胞的结构和物质代谢的关系

在线粒体中进行：TCA、生物氧化、脂肪酸的 $\beta$ -氧化、urea cycle（前2步）。

在细胞质中进行：酵解、戊糖循环、脂肪酸（16C）合成，urea cycle（后3步）。



## 二、酶水平的调节

酶水平的调节作用主要有两种方式：

- 激活或抑制酶的活性；
- 影响酶的合成或降解速度，即改变细胞内酶的含量。这种酶水平的调节作用是生物调控最重要的形式。

根据作用的性质和时间的快慢不同，在酶水平的调节至少有三种方式：一级调节机制（非共价调节）；二级调节机制（共价调节）；三级调节机制（合成和降解调节）

### 1. 一级调节机制：别构调节

酶的催化活力由内在因素（[S]、辅因子、T、pH、离子强度等）直接调节，或某些其他因素（代谢产物或其他小分子调节物）间接调节。这类调节作用具有非共价作用的特点，以及作用快速，时间在毫秒范围。

- 别构调节 **allosteric regulation**：酶分子的别构部位与某些化合物可逆地非共价结合后发生构象的改变，进而改变酶活性状态，称为酶的别构调节。
- 由别构酶起作用调节代谢过程称别构调节。

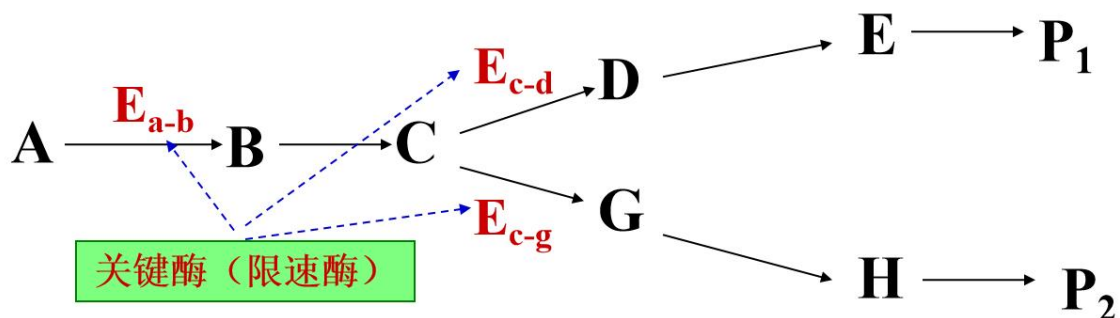
### 2. 二级调节机制：共价修饰调节

此类调节主要包括共价调节，这类酶通过其它酶的作用，对其结构进行共价修饰或脱去共价修饰，而使其活性在有活性和无活性形式之间相互转变。

许多酶被翻译后都要进行共价修饰。生理意义广泛，反应灵敏，它们常受激素甚至神经的指令，导致级联式放大反应。这种调节方式快速、效率极高。

**共价调节酶（covalently modulated enzymes）**：这类酶通过其他酶对其多肽链上某些基团进行可逆的共价修饰，使其在活性与非活性之间转变，从而调节酶活性，称为共价调节酶。目前发现有数百种酶被翻译后都要进行共价修饰，其中一部分处于分支代谢途径，成为对代谢流量起调节作用的关键酶和限速酶。

这种调节反应灵敏，节约能量，机制多样，在体内显得十分灵活，它们常受激素甚至神经的指令，导致级联放大反应，日益引人注目。



3. 三级调节机制：酶的合成和降解速度-诱导酶、结构酶、操纵子 (operon)、酶的降解

此类调节包括酶的合成和降解速度(synthesis and degradation)的调节。如：酶的作用物，激素或药物可以诱导酶的合成；代谢产物有的可以阻遏酶的合成；另一方面改变酶分子的降解速度，也能调节细胞内的量。这种调节较慢，要数小时或几天的时间。

一些分解代谢的酶类只在底物或底物类似物存在时才能诱导合成。

一些合成代谢的酶类在产物或产物类似物存在时，其合成被阻遏。

### 1.酶的诱导和阻遏

(induce and repression of enzyme)

某些物质可以诱导细胞内产生诱导酶，这种作用叫做酶的诱导生成作用。

**诱导酶：**是指当细胞中加入特定诱导物后诱导产生的酶，它的含量在诱导物存在下显著增高，这种诱导物往往是酶底物的类似物或底物本身。

**结构酶：**细胞内天然存在的酶，它含量稳定，受外界影响小。

### ➤ 操纵子 (operon)

1961 年 Monod 和 Jacob 提出了操纵子学说，阐明了酶的诱导阻遏和基因的关系。

操纵子：包括一个操纵基因，一个启动子和一群功能彼此相关的结构基因。

操纵基因 (operator)：没有基因产物的基因，在 DNA 序列中它接近结构基因。有阻遏蛋白的结合位置，控制结构基因的转录。

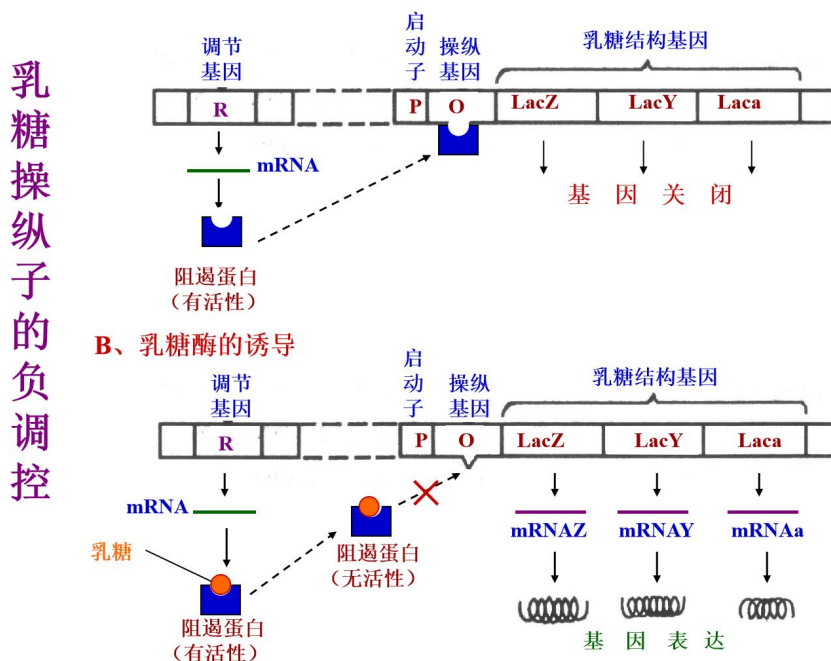
结构基因：可以转录出 mRNA 合成酶蛋白，决定蛋白质中的氨基酸顺序，或决定 mRNA 中核苷酸顺序的基因。

启动基因 promotor：（在调节基因和操纵基因之间），有 RNA 聚合酶的结合部位，启动 DNA 转录。

调节基因 regulator：负责阻遏蛋白的合成。

乳糖操纵子 当把 E.coli 培养在仅含乳糖的培养液中，可以诱导产生利用乳糖的酶。

E.coli 乳糖操纵子的结构基因 Z, Y, A, 可转录并翻译出利用乳糖的三个酶， $\beta$ 半乳糖苷酶，半乳糖苷透性酶、 $\beta$ 半乳糖苷转乙酰酶。



## ➤ 酶的降解

酶分子的降解速度也能调节细胞内酶的含量。例如，饥饿时，乙酰 CoA 羧化酶活力下

降，除因酶蛋白合成减少外，还与酶分子的降解速度有关。

#### 7.24.5 教学方法

教学方法采用课堂讲授和案例分析的形式进行。

#### 7.24.6 作业安排及课后反思

#### 7.24.7 课前准备情况及其他相关特殊要求

教师认真备课；学生上课前对参考教材以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。

#### 7.24.8 参考资料（具体到哪一章节或页码）

张洪渊，《生物化学原理》，科学出版社，2009，第十五章 p359-364

### 8. 学生课程学习要求

#### 8.1 学生自学的要求

学生上课前，需对课本进行预习。预习时可参考本大纲的内容进行快速阅读以及中国大学 MOOC 网浙江工业大学《生物化学》或南京大学《结构生物化学》相关内容进行预习。课后，学生需对课堂上重点强调的内容进行复习，以及老师给的练习题进行练习，以达到熟练掌握理论知识的目的。

#### 8.2 课外阅读的要求

课外，对于参考教材中的内容，特别是课堂上进行重点强调、补充的内容可通过查阅相关的书籍，或者通过网络（如中国大学 MOOC、中国知网、万方、小木虫、优酷视频、Wikipedia 等）进行相关知识的延伸阅读和了解，以达到扩充知识面的目的。

#### 8.3 课堂讨论的要求



对老师提出的讨论题目结合所学知识、自身经验等进行认真思考，积极参与，踊跃发言。在整个讨论过程中，教师不得限制学生的发言，可适当地进行点拨，从而达到最大限度地调动学生学习本门课程的积极性，启发学生的思考能力的目的。

## **8.4 课程实践的要求**

按照课程的安排要求，学生需准时参加，不得无故迟到、早退甚至旷课，认真完成课程相关的专题汇报和实验工作。对于专题汇报，需先进行大组讨论，确定总的中心思想和具体实施途径后，再查阅文献具体实施。对于实验课程，在实验前需对实验项目进行认真预习，了解其原理和基本的实验操作过程；在实验过程中需积极思考，认真动手，对于实验过程中遇到的不确定因素应先查阅相关资料或向老师提问，不能肆意揣测；实验结束后，需认真撰写实验报告、查阅相关资料分析和讨论实验结果及实验过程中遇到的种种问题。

## **9. 课程考核方式及评分规程**

### **9.1 出勤（迟到、早退等）、作业、报告等的要求**

对于教师：不得无故调课、停课、迟到和早退，且至少需在每堂课开始前 15-20 分钟到达上课地点，检查多媒体教学设备（腾讯会议）及课件播放情况是否正常，若有问题需及时调整。

对于学生：要求提前至少 5 分钟到达教室，每堂课严格考勤。若无故缺课达到本门课程 1/3 学时的，取消其考试资格，该门课成绩为不合格。

课堂专题汇报和讨论以班级大作业的形式布置，鼓励学生积极认真地准备，教师需鼓励大家积极发言、点评，并对学生发言过程中错误的知识点和认知进行纠正和解释。

课堂专题汇报主要以 PPT 的形式进行展现；实验报告的书写方式按照四川轻化工

大学实验报告的要求认真书写，要求认真、客观、科学。

## 9.2 成绩的构成与评分规则说明

该门课程成绩构成如下：期末考试卷面成绩占总成绩 60%，期中考试成绩占 10%，线上预习占 5%，平时测验占 5%，单元测试占 10%，课后作业占 10%。

总评成绩=线上预习×5%+在线测试×5%+课后作业×10%+单元测试×10%+期中测试×10%+期末考试×60%

## 9.3 考试形式及说明（含补考）

考试形式为闭卷形式，相关要求按照四川轻化工大学考试相关要求执行。

# 10. 学术诚信规定

## 10.1 考试违规与作弊

考试违规和作弊者，按照四川轻化工大学有关规定进行处理。

## 10.2 杜撰数据、信息等

杜撰数据和信息者，按照四川轻化工大学有关规定，交学校学术委员会讨论处理。

## 10.3 学术剽窃等

学术剽窃者，按照四川轻化工大学有关规定，交学校学术委员会讨论处理。

# 11. 课堂规范

## 11.1 课堂纪律

按照四川轻化工大学关于课堂纪律的要求执行。

教师认真授课，上课时不得接听或拨打电话，不得讲授与课程无关的内容，在整

个教学过程中需维持课堂良好的纪律，以保证教学质量。

学生认真听讲，积极踊跃发言，在教师授课时，对于不懂的或有争议的问题，可以随时举手打断老师，进行讨论式的学习和讲解。不得在上课时打闹，吃零食，玩手机，做任何与课程无关的事。

## 11.2 课堂礼仪

教师和学生的课堂礼仪按照四川轻化工大学关于课堂礼仪的规定执行。总的要求是教师应衣着规范，干净整洁，普通话标准，给人为人师表的形象，如无特殊情况，不得坐着授课；学生同样应衣着整齐，不奇装异服，应具备大学生应有的青春风貌。

## 12. 课程资源

### 12.1 教材与参考书

《生物化学教程》（张洪渊主编，四川大学出版社）

### 12.2 专业学术专著

《生物化学原理》（张洪渊主编，高等教育出版社）

《生物化学原理》（第3版）（杨荣武. 高等教育出版社）

《生物化学》（第4版）（朱圣庚，徐长法. 高等教育出版社）

Lehninger principles of biochemistry. 6th ed. David L. Neslson and Michael M. Cox.  
W.H. Freeman and Company.

### 12.3 专业刊物

JBC

PNAS

CELL

SCIENCE

NATURE

## 12.4 网络课程资源

中国大学 MOOC（地址：<https://www.icourse163.org>）

百度文库（地址：<http://wenku.baidu.com>）

小木虫论坛（地址：<http://emuch.net/bbs>）

丁香园（地址：<http://www.dxy.cn>）

### 推荐网址

1. <https://www.coursera.org/learn/shengwu-huaxue/home/welcome>：全球著名的 coursera 慕课即 MOOC 平台，内有南京大学杨荣武教授讲授的“结构生物化学”MOOC 课程。
2. [http://www.icourses.cn/coursestatic/course\\_6275.html](http://www.icourses.cn/coursestatic/course_6275.html)：中国国家资源共享课程平台，内有南京大学杨荣武教授讲授的“结构生物化学”MOOC 和生物化学国家级精品资源共享课程以及国内其他高校教授讲授的与生命科学有关的课程。
3. <https://www.edx.org/course/principles-biochemistry-harvardx-mcb63x-1#.VR6lMGbZFVx>：全球又一著名的 edX 慕课，即 MOOC 平台，内有哈佛大学 Alain Viel 和 Rachelle Gaudet 讲授的 Principles of Biochemistry 课程。
4. <http://pdb101.rcsb.org>：蛋白质三维结构数据库（protein data bank）为初学者提供的如何认识蛋白质三维结构的地方。

5. <http://www.wiley.com/legacy/college/boyer/0470003790/animations/animations.htm>: 一个十分有用的生化和分子生物学学习动画互动网站。
6. [http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/Molecular\\_Biology\\_Table\\_of\\_Contents.html](http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/Molecular_Biology_Table_of_Contents.html): 印度班加罗尔大学 G. R. Kantharaj 教授提供的免费的面向硕士研究生的分子生物学课程。
7. <http://www.web-books.com/MoBio/>: 一个在线的免费分子生物学教材。
8. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21154/>: 在线的 Stryer《生物化学》第 5 版。
9. <http://themedicalbiochemistrypage.org/>: 一个在线的免费医学生物学教材。
10. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>: 美国生物技术信息中心 (NCBI), 一个学生物学的人必用的网站。
11. <https://www.sciencedaily.com/>: 每日提供最新的科技新闻, 许多是关于生命科学的新闻。
12. <http://www.bioon.com/>: 即生物谷——一个十分有用的生物医学门户网站。
13. <http://www.protocol-online.org/>: 一个在线提供各种生命科学实验方法的网站。
14. <http://www.science.com/>: 科学杂志。
15. <http://www.nature.com/>: 自然杂志。
16. <http://www.cell.com/>: 细胞杂志。
17. <http://www.pnas.com/>: 美国科学院院刊。
18. <http://en.wikipedia.org/>: 维基百科。
19. <https://gold.jgi.doe.gov/>: 各种生物的基因组数据。

## 12.5 课外阅读资源

图书馆的相关资源

电子图书馆中的中国知网、万方的相关资源。

## 13. 教学合约

### 13.1 教师的师德师风承诺

为了更好地贯彻国家的相关规定，履行教师的职业道德，塑造良好的教师形象，我承诺在整个教学过程中将始终遵守《教师职业道德规范》，教书育人，爱岗敬业；认真执行《中国教育改革和发展纲要》及《教师法》等有关法律法规；积极参加教改实验和科研，探索更好的教育教学方法；关爱学生，尊重学生，理解和亲近学生，不对学生进行体罚，杜绝任何有损学生身心健康的行为；自觉遵守学校各项规章制度和工作纪律，以德立身。

### 13.2 阅读课程实施大纲，理解其内容

学生应认真阅读课程实施大纲，如有异议或建议，可以向授课教师提出，教师根据实际情况做修改和调整；如无异议，则视为同意遵守课程实施大纲当中所确定的责任与义务。

### 13.3 同意遵守课程实施大纲中阐述的标准和期望

课程实施大纲编写完成后旨在提高教学规范和效率，学生需按照达到本课程实施大纲所要求的标准进行学习。

## 14. 其他说明

无