

第一章 蛋白质

一、知识要点

(一) 氨基酸的结构

蛋白质是重要的生物大分子，其组成单位是氨基酸。组成蛋白质的氨基酸有 20 种，均为 α -氨基酸。每个氨基酸的 α -碳上连接一个羧基，一个氨基，一个氢原子和一个侧链 R 基团。20 种氨基酸结构的差别就在于它们的 R 基团结构的不同。

根据 20 种氨基酸侧链 R 基团的极性，可将其分为四大类：非极性 R 基氨基酸（8 种）；不带电荷的极性 R 基氨基酸（7 种）；带负电荷的 R 基氨基酸（2 种）；带正电荷的 R 基氨基酸（3 种）。

(二) 氨基酸的性质

氨基酸是两性电解质。由于氨基酸含有酸性的羧基和碱性的氨基，所以既是酸又是碱，是两性电解质。有些氨基酸的侧链还含有可解离的基团，其带电状况取决于它们的 pK 值。由于不同氨基酸所带的可解离基团不同，所以等电点不同。

除甘氨酸外，其它都有不对称碳原子，所以具有 D-型和 L-型 2 种构型，具有旋光性，天然蛋白质中存在的氨基酸都是 L-型的。酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸具有紫外吸收特性，在 280nm 处有最大吸收值，大多数蛋白质都具有这些氨基酸，所以蛋白质在 280nm 处也有特征吸收，这是紫外吸收法定量测定蛋白质的基础。

氨基酸的羧基和氨基具有化学反应性，另外，许多氨基酸的侧链还含有羟基、氨基、羧基等可解离基团，也具有化学反应性。较重要的化学反应有：(1) 茚三酮反应，除脯氨酸外，所有的 α -氨基酸都能与茚三酮发生颜色反应，生成蓝紫色化合物，脯氨酸与茚三酮生成黄色化合物。(2) Sanger 反应， $-\text{NH}_2$ 与 2,4-二硝基氟苯作用产生相应的 DNB-氨基酸。(3) Edman 反应， $-\text{NH}_2$ 与苯异硫氰酸酯作用产生相应的氨基酸的苯氨基硫甲酰衍生物（PIT-氨基酸）。Sanger 反应和 Edman 反应均可用于蛋白质多肽链 N 端氨基酸的测定。

氨基酸通过肽键相互连接而成的化合物称为肽，由 2 个氨基酸组成的肽称为二肽，由 3 个氨基酸组成的肽称为三肽，少于 10 个氨基酸肽称为寡肽，由 10 个以上氨基酸组成的肽称为多肽。

(三) 蛋白质的结构

蛋白质是具有特定构象的大分子，为研究方便，将蛋白质结构分为四个结构水平，包括一级结构、二级结构、三级结构和四级结构。一般将二级结构、三级结构和四级结构称为三维构象或高级结构。

一级结构指蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序。肽键是蛋白质中氨基酸之间的主要连接方式，即由一个氨基酸的 α -氨基和另一个氨基酸的 β -羧基之间脱去一分子水相互连接。肽键具有部分双键的性质，所以整个肽单位是一个刚性的平面结构。在多肽链的含有游离氨基的一端称为肽链的氨基端或 N 端，而另一端含有一个游离羧基的一端称为肽链的羧基端或 C 端。

蛋白质的二级结构是指多肽链骨架盘绕折叠所形成的有规律性的结构。最基本的二级结构类型有 α -螺旋结构和 β -折叠结构，此外还有 β -转角和自由回转。右手 α -螺旋结构是在纤维蛋白和球蛋白中发现的最常见的二级结构，每圈螺旋含有 3.6 个氨基酸残基，螺距为 0.54nm，螺旋中的每个肽键均参与氢键的形成以维持螺旋的稳定。 β -折叠结构也是一种常见的二级结构，在此结构中，多肽链以较伸展的曲折形式存在，肽链（或肽段）的排列可以有平行和反平行两种方式。氨基酸之间的轴心距为 0.35nm，相邻肽链之间借助氢键彼此连成片层结构。

结构域是介于二级结构和三级结构之间的一种结构层次，是指蛋白质亚基结构中明显分开的紧密球状结构区域。

超二级结构是指蛋白质分子中的多肽链在三维折叠中形成有规则的三级结构聚集体。

蛋白质的三级结构是整个多肽链的三维构象，它是在二级结构的基础上，多肽链进一步折叠卷曲形成复杂的球状分子结构。具有三级结构的蛋白质一般都是球蛋白，这类蛋白质的多肽链在三维空间中沿多个方向进行盘绕折叠，形成十分紧密的近似球形的结构，分子内部的空间只能容纳少数水分子，几乎所有的极性 R 基都分布在分子外表面，形成亲水的分子外壳，而非极性的基团则被埋在分子内部，不与水接触。蛋白质分子中侧链 R 基团的相互作用对稳定球状蛋白质的三级结构起着重要作用。

蛋白质的四级结构指数条具有独立的三级结构的多肽链通过非共价键相互连接而成的聚合体结构。在具有四级结构的蛋白质中，每一条具有三级结构的肽链称为亚基或亚单位，缺少一个亚基或亚基单独存在都不具有活性。四级结构涉及亚基在整个分子中的空间排布以及亚基之间的相互关系。

维持蛋白质空间结构的作用力主要是氢键、离子键、疏水作用力和范德华力等非共价键，又称次级键。此外，在某些蛋白质中还有二硫键，二硫键在维持蛋白质构象方面也起着重要作用。

蛋白质的空间结构取决于它的一级结构，多肽链主链上的氨基酸排列顺序包含了形成复杂的三维结构（即正确的空间结构）所需要的全部信息。

（四）蛋白质结构与功能的关系

不同的蛋白质，由于结构不同而具有不同的生物学功能。蛋白质的生物学功能是蛋白质分子的天然构象所具有的性质，功能与结构密切相关。

1. 一级结构与功能的关系

蛋白质的一级结构与蛋白质功能有相适应性和统一性，可从以下几个方面说明：

(1) 一级结构的变异与分子病

蛋白质中的氨基酸序列与生物功能密切相关，一级结构的变化往往导致蛋白质生物功能的变化。如镰刀型细胞贫血症，其病因是血红蛋白基因中的一个核苷酸的突变导致该蛋白分子中 α 链第 6 位谷氨酸被缬氨酸取代。这个一级结构上的细微差别使患者的血红蛋白分子容易发生凝聚，导致红细胞变成镰刀状，容易破裂引起贫血，即血红蛋白的功能发生了变化。

(2) 一级结构与生物进化

研究发现，同源蛋白质中有许多位置的氨基酸是相同的，而其它氨基酸差异较大。如比较不同生物的细胞色素 C 的一级结构，发现与人类亲缘关系接近，其氨基酸组成的差异越小，亲缘关系越远差异越大。

(3) 蛋白质的激活作用

在生物体内，有些蛋白质常以前体的形式合成，只有按一定方式裂解除去部分肽链之后才具有生物活性，如酶原的激活。

2. 蛋白质空间结构与功能的关系

蛋白质的空间结构与功能之间有密切相关性，其特定的空间结构是行使生物功能的基础。以下两方面均可说明这种相关性。

(1) 核糖核酸酶的变性与复性及其功能的丧失与恢复

核糖核酸酶是由 124 个氨基酸组成的一条多肽链，含有四对二硫键，空间构象为球状分子。将天然核糖核酸酶在 8mol/L 脲中用 β -巯基乙醇处理，则分子内的四对二硫键断裂，分子变成一条松散的肽链，此时酶活性完全丧失。但用透析法除去 β -巯基乙醇和脲后，此酶经氧化又自发地折叠成原有的天然构象，同时酶活性又恢复。

(2) 血红蛋白的变构现象

血红蛋白是一个四聚体蛋白质，具有氧合功能，可在血液中运输氧。研究发现，脱氧血红蛋白与氧的亲合力很低，不易与氧结合。一旦血红蛋白分子中的一个亚基与 O_2 结合，就会引起该亚基构象发生改变，并引起其它三个亚基的构象相继发生变化，使它们易于和氧结合，说明变化后的构象最适合与氧结合。

从以上例子可以看出，只有当蛋白质以特定的适当空间构象存在时才具有生物活性。

(五) 蛋白质的重要性质

蛋白质是两性电解质，它的酸碱性质取决于肽链上的可解离的 R 基团。不同蛋白质所含有的氨基酸的种类、数目不同，所以具有不同的等电点。当蛋白质所处环境的 pH 大于 pI 时，蛋白质分子带负电荷，pH 小于 pI 时，蛋白质带正电荷，pH 等于 pI 时，蛋白质所带净电荷为零，此时溶解度最小。

蛋白质分子表面带有许多亲水基团，使蛋白质成为亲水的胶体溶液。蛋白质颗粒周

围的水化膜（水化层）以及非等电状态时蛋白质颗粒所带的同性电荷的互相排斥是使蛋白质胶体系统稳定的主要因素。当这些稳定因素被破坏时，蛋白质会产生沉淀。高浓度中性盐可使蛋白质分子脱水并中和其所带电荷，从而降低蛋白质的溶解度并沉淀析出，即盐析。但这种作用并不引起蛋白质的变性。这个性质可用于蛋白质的分离。

蛋白质受到某些物理或化学因素作用时，引起生物活性的丧失，溶解度的降低以及其它性质的改变，这种现象称为蛋白质的变性作用。变性作用的实质是由于维持蛋白质高级结构的次级键遭到破坏而造成天然构象的解体，但未涉及共价键的断裂。有些变性是可逆的，有些变性是不可逆的。当变性条件不剧烈时，变性是可逆的，除去变性因素后，变性蛋白又可从新恢复到原有的天然构象，恢复或部分恢复其原有的生物活性，这种现象称为蛋白质的复性。

（六）测定蛋白质分子量的方法

1. 凝胶过滤法

凝胶过滤法分离蛋白质的原理是根据蛋白质分子量的大小。由于不同排阻范围的葡聚糖凝胶有一特定的蛋白质分子量范围，在此范围内，分子量的对数和洗脱体积之间成线性关系。因此，用几种已知分子量的蛋白质为标准，进行凝胶层析，以每种蛋白质的洗脱体积对它们的分子量的对数作图，绘制出标准洗脱曲线。未知蛋白质在同样的条件下进行凝胶层析，根据其所用的洗脱体积，从标准洗脱曲线上可求出此未知蛋白质对应的分子量。

2. SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法

蛋白质在普通聚丙烯酰胺凝胶中的电泳速度取决于蛋白质分子的大小、分子形状和所带电荷的多少。SDS（十二烷基磺酸钠）是一种去污剂，可使蛋白质变性并解离成亚基。当蛋白质样品中加入 SDS 后，SDS 与蛋白质分子结合，使蛋白质分子带上大量的强负电荷，并且使蛋白质分子的形状都变成短棒状，从而消除了蛋白质分子之间原有的带电荷量和分子形状的差异。这样电泳的速度只取决于蛋白质分子量的大小，蛋白质分子在电泳中的相对迁移率和分子质量的对数成直线关系。以标准蛋白质分子质量的对数和其相对迁移率作图，得到标准曲线，根据所测样品的相对迁移率，从标准曲线上便可查出其分子质量。

3. 沉降法（超速离心法）

沉降系数（S）是指单位离心场强度溶质的沉降速度。S 也常用于近似地描述生物大分子的大小。蛋白质溶液经高速离心分离时，由于比重关系，蛋白质分子趋于下沉，沉降速度与蛋白质颗粒大小成正比，应用光学方法观察离心过程中蛋白质颗粒的沉降行为，可判断出蛋白质的沉降速度。根据沉降速度可求出沉降系数，将 S 带入公式，即可计算出蛋白质的分子质量。

$$M = \frac{RTS}{D(1 - V)}$$

二、习 题

(一) 名词解释

1. 两性离子 (dipolarion)
2. 必需氨基酸 (essential amino acid)
3. 等电点(isoelectric point, pI)
4. 稀有氨基酸(rare amino acid)
5. 非蛋白质氨基酸(nonprotein amino acid)
6. 构型(configuration)
7. 蛋白质的一级结构(protein primary structure)
8. 构象(conformation)
9. 蛋白质的二级结构(protein secondary structure)
10. 结构域(domain)
11. 蛋白质的三级结构(protein tertiary structure)
12. 氢键(hydrogen bond)
13. 蛋白质的四级结构(protein quaternary structure)
14. 离子键(ionic bond)
15. 超二级结构(super-secondary structure)
16. 疏水键(hydrophobic bond)
17. 范德华力 (van der Waals force)
18. 盐析 (salting out)
19. 盐溶(salting in)
20. 蛋白质的变性(denaturation)
21. 蛋白质的复性(renaturation)
22. 蛋白质的沉淀作用(precipitation)
23. 凝胶电泳 (gel electrophoresis)
24. 层析 (chromatography)

(二) 填空题

1. 蛋白质多肽链中的肽键是通过一个氨基酸的_____基和另一氨基酸的_____基连接而形成的。
2. 大多数蛋白质中氮的含量较恒定, 平均为____%, 如测得 1 克样品含氮量为 10mg, 则蛋白质含量为____%。
3. 在 20 种氨基酸中, 酸性氨基酸有_____和_____2 种, 具有羟基的氨基酸是

- _____和_____,能形成二硫键的氨基酸是_____.
4. 蛋白质中的_____, _____和_____3种氨基酸具有紫外吸收特性,因而使蛋白质在280nm处有最大吸收值。
 5. 精氨酸的pI值为10.76,将其溶于pH7的缓冲液中,并置于电场中,则精氨酸应向电场的_____方向移动。
 6. 组成蛋白质的20种氨基酸中,含有咪唑环的氨基酸是_____,含硫的氨基酸有_____和_____。
 7. 蛋白质的二级结构最基本的有两种类型,它们是_____和_____。
 8. α -螺旋结构是由同一肽链的_____和_____间的_____键维持的,螺距为_____,每圈螺旋含_____个氨基酸残基,每个氨基酸残基沿轴上升高度为_____。天然蛋白质分子中的_____螺旋大都属于_____手螺旋。
 9. 在蛋白质的_____螺旋结构中,在环状氨基酸_____存在处局部螺旋结构中中断。
 10. 球状蛋白质中有_____侧链的氨基酸残基常位于分子表面而与水结合,而有_____侧链的氨基酸位于分子的内部。
 11. 氨基酸与茚三酮发生氧化脱羧脱氨反应生成_____色化合物,而_____与茚三酮反应生成黄色化合物。
 12. 维持蛋白质一级结构的化学键有_____和_____;维持二级结构靠_____键;维持三级结构和四级结构靠_____键,其中包括_____,_____,_____和_____。
 13. 稳定蛋白质胶体的因素是_____和_____。
 14. GSH的中文名称是_____,它的活性基团是_____,它的生化功能是_____。
 15. 加入低浓度的中性盐可使蛋白质溶解度_____,这种现象称为_____,而加入高浓度的中性盐,当达到一定的盐饱和度时,可使蛋白质的溶解度_____并_____,这种现象称为_____,蛋白质的这种性质常用于_____。
 16. 用电泳方法分离蛋白质的原理,是在一定的pH条件下,不同蛋白质的_____,_____和_____不同,因而在电场中移动的_____和_____不同,从而使蛋白质得到分离。
 17. 氨基酸处于等电状态时,主要是以_____形式存在,此时它的溶解度最小。
 18. 鉴定蛋白质多肽链氨基末端常用的方法有_____和_____。
 19. 测定蛋白质分子量的方法有_____,_____和_____。
 20. 今有甲、乙、丙三种蛋白质,它们的等电点分别为8.0、4.5和10.0,当在pH8.0缓冲液中,它们在电场中电泳的情况为:甲_____,乙_____,丙_____。
 21. 当氨基酸溶液的pH=pI时,氨基酸以_____离子形式存在,当pH>pI时,氨基酸以_____离子形式存在。

22. 谷氨酸的 $pK_1(-COOH) = 2.19$, $pK_2(-NH_3^+) = 9.67$, $pK_R(\text{R 基}) = 4.25$, 谷氨酸的等电点为_____。
23. 天然蛋白质中的_____螺旋结构, 其主链上所有的羰基氧与亚氨基氢都参与了链内_____键的形成, 因此构象相当稳定。
24. 将分子量分别为 a (90 000)、b (45 000)、c (110 000) 的三种蛋白质混合溶液进行凝胶过滤层析, 它们被洗脱下来的先后顺序是_____。
25. 肌红蛋白的含铁量为 0.34%, 其最小分子量是_____. 血红蛋白的含铁量也是 0.34%, 但每分子含有 4 个铁原子, 血红蛋白的分子量是_____。
26. 一个_____螺旋片段含有 180 个氨基酸残基, 该片段中有_____圈螺旋? 该_____螺旋片段的轴长为_____。

(三) 选择题

- 在生理 pH 条件下, 下列哪种氨基酸带正电荷?
 - 丙氨酸
 - 酪氨酸
 - 赖氨酸
 - 蛋氨酸
 - 异亮氨酸
- 下列氨基酸中哪一种是非必需氨基酸?
 - 亮氨酸
 - 酪氨酸
 - 赖氨酸
 - 蛋氨酸
 - 苏氨酸
- 蛋白质的组成成分中, 在 280nm 处有最大吸收值的最主要成分是:
 - 酪氨酸的酚环
 - 半胱氨酸的硫原子
 - 肽键
 - 苯丙氨酸
- 下列 4 种氨基酸中哪个有碱性侧链?
 - 脯氨酸
 - 苯丙氨酸
 - 异亮氨酸
 - 赖氨酸
- 下列哪种氨基酸属于亚氨基酸?
 - 丝氨酸
 - 脯氨酸
 - 亮氨酸
 - 组氨酸
- 下列哪一项不是蛋白质_____螺旋结构的特点?
 - 天然蛋白质多为右手螺旋
 - 肽链平面充分伸展
 - 每隔 3.6 个氨基酸螺旋上升一圈。
 - 每个氨基酸残基上升高度为 0.15nm.
- 下列哪一项不是蛋白质的性质之一?
 - 处于等电状态时溶解度最小
 - 加入少量中性盐溶解度增加
 - 变性蛋白质的溶解度增加
 - 有紫外吸收特性
- 下列氨基酸中哪一种不具有旋光性?
 - Leu
 - Ala
 - Gly
 - Ser
 - Val

9. 在下列检测蛋白质的方法中，哪一种取决于完整的肽链？
 A. 凯氏定氮法 B. 双缩尿反应 C. 紫外吸收法 D. 茚三酮法
10. 下列哪种酶作用于由碱性氨基酸的羧基形成的肽键？
 A. 糜蛋白酶 B. 羧肽酶 C. 氨肽酶 D. 胰蛋白酶
11. 下列有关蛋白质的叙述哪项是正确的？
 A. 蛋白质分子的净电荷为零时的 pH 值是它的等电点
 B. 大多数蛋白质在含有中性盐的溶液中会沉淀析出
 C. 由于蛋白质在等电点时溶解度最大，所以沉淀蛋白质时应远离等电点
 D. 以上各项均不正确
12. 下列关于蛋白质结构的叙述，哪一项是错误的？
 A. 氨基酸的疏水侧链很少埋在分子的中心部位
 B. 电荷的氨基酸侧链常在分子的外侧，面向水相
 C. 蛋白质的一级结构在决定高级结构方面是重要因素之一
 D. 蛋白质的空间结构主要靠次级键维持
13. 下列哪些因素妨碍蛋白质形成 α -螺旋结构？
 A. 脯氨酸的存在 B. 氨基酸残基的大的支链
 C. 酸性氨基酸的相邻存在 D. 碱性氨基酸的相邻存在
 E. 以上各项都是
14. 关于 β -折叠片的叙述，下列哪项是错误的？
 A. β -折叠片的肽链处于曲折的伸展状态
 B. β -折叠片结构是借助于链内氢键稳定的
 C. 有的 β -折叠片结构都是通过几段肽链平行排列而形成的
 D. 氨基酸之间的轴距为 0.35nm
15. 维持蛋白质二级结构稳定的主要作用力是：
 A. 盐键 B. 疏水键 C. 氢键 D. 二硫键
16. 维持蛋白质三级结构稳定的因素是：
 A. 肽键 B. 二硫键 C. 离子键 D. 氢键 E. 次级键
17. 凝胶过滤法分离蛋白质时，从层析柱上先被洗脱下来的是：
 A. 分子量大的 B. 分子量小的
 C. 电荷多的 D. 带电荷少的
18. 下列哪项与蛋白质的变性无关？
 A. 肽键断裂 B. 氢键被破坏
 C. 离子键被破坏 D. 疏水键被破坏
19. 蛋白质空间构象的特征主要取决于下列哪一项？
 A. 多肽链中氨基酸的排列顺序 B. 次级键

- C. 链内及链间的二硫键 D. 温度及 pH
20. 下列哪个性质是氨基酸和蛋白质所共有的？
- A. 胶体性质 B. 两性性质
C. 沉淀反应 D. 变性性质
E. 双缩脲反应
21. 氨基酸在等电点时具有的特点是：
- A. 不带正电荷 B. 不带负电荷
C. A 和 B D. 溶解度最大
E. 在电场中不泳动
22. 蛋白质的一级结构是指：
- A. 蛋白质氨基酸的种类和数目 B. 蛋白质中氨基酸的排列顺序
C. 蛋白质分子中多肽链的折叠和盘绕 D. 包括 A,B 和 C

(四) 是非判断题

- () 1. 氨基酸与茚三酮反应都产生蓝紫色化合物。
- () 2. 因为羧基碳和亚氨基氮之间的部分双键性质，所以肽键不能自由旋转。
- () 3. 所有的蛋白质都有酶活性。
- () 4. α -碳和羧基碳之间的键不能自由旋转。
- () 5. 多数氨基酸有 D 和 L 两种不同构型，而构型的改变涉及共价键的断裂。
- () 6. 所有氨基酸都具有旋光性。
- () 7. 构成蛋白质的 20 种氨基酸都是必需氨基酸。
- () 8. 蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序在很大程度上决定了它的构象。
- () 9. α -氨基- β -羧基氨基酸的 pI 为中性，因为 $-\text{COOH}$ 和 $-\text{NH}_2$ 的解离度相同。
- () 10. 蛋白质的变性是蛋白质立体结构的破坏，因此涉及肽键的断裂。
- () 11. 蛋白质是生物大分子，但并不都具有四级结构。
- () 12. 血红蛋白和肌红蛋白都是氧的载体，前者是一个典型的变构蛋白，在与氧结合过程中呈现变构效应，而后者却不是。
- () 13. 用 FDNB 法和 Edman 降解法测定蛋白质多肽链 N-端氨基酸的原理是相同的。
- () 14. 并非所有构成蛋白质的 20 种氨基酸的 α -碳原子上都有一个自由羧基和一个自由氨基。
- () 15. 蛋白质是两性电解质，它的酸碱性质主要取决于肽链上可解离的 R 基团。
- () 16. 在具有四级结构的蛋白质分子中，每个具有三级结构的多肽链是一个亚基。
- () 17. 所有的肽和蛋白质都能和硫酸铜的碱性溶液发生双缩脲反应。
- () 18. 一个蛋白质分子中有两个半胱氨酸存在时，它们之间可以形成两个二硫键。
- () 19. 盐析法可使蛋白质沉淀，但不引起变性，所以盐析法常用于蛋白质的分离制备。
- () 20. 蛋白质的空间结构就是它的三级结构。

- () 21. 维持蛋白质三级结构最重要的作用力是氢键。
- () 22. 具有四级结构的蛋白质，它的每个亚基单独存在时仍能保存蛋白质原有的生物活性。
- () 23. 变性蛋白质的溶解度降低，是由于中和了蛋白质分子表面的电荷及破坏了外层的水膜所引起的。
- () 24. 蛋白质二级结构的稳定性是靠链内氢键维持的，肽链上每个肽键都参与氢键的形成。

(五) 问答题

1. 什么是蛋白质的一级结构？为什么说蛋白质的一级结构决定其空间结构？
2. 什么是蛋白质的空间结构？蛋白质的空间结构与其生物功能有何关系？
3. 蛋白质的 螺旋结构有何特点？
4. 蛋白质的 折叠结构有何特点？
5. 举例说明蛋白质的结构与其功能之间的关系。
6. 什么是蛋白质的变性作用和复性作用？蛋白质变性后哪些性质会发生改变？
7. 简述蛋白质变性作用的机制。
8. 蛋白质有哪些重要功能
9. 下列试剂和酶常用于蛋白质化学的研究中：CNBr、异硫氰酸苯酯、丹黄酰氯、脲、6mol/L HCl、 β -巯基乙醇、水合茚三酮、过甲酸、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶。其中哪一个最适合完成以下各项任务？
 - (1) 测定小肽的氨基酸序列。
 - (2) 鉴定肽的氨基末端残基。
 - (3) 不含二硫键的蛋白质的可逆变性；如有二硫键存在时还需加什么试剂？
 - (4) 在芳香族氨基酸残基羧基侧水解肽键。
 - (4) 在蛋氨酸残基羧基侧水解肽键。
 - (5) 在赖氨酸和精氨酸残基羧基侧水解肽键。
10. 根据蛋白质一级氨基酸序列可以预测蛋白质的空间结构。假设有下列氨基酸序列(如图):

1	5	10	15
Ile-Ala-His-Thr-Tyr-Gly-Pro-Glu-Ala-Ala-Met-Cys-Lys-Trp-Glu-Ala-Gln-			
20	25	27	
Pro-Asp-Gly-Met-Glu-Cys-Ala-Phe-His-Arg			

- (1) 预测在该序列的哪一部位可能会出弯或 β -转角。
- (2) 何处可能形成链内二硫键？

(3) 假设该序列只是大的球蛋白的一部分，下面氨基酸残基中哪些可能分布在蛋白的外表面，哪些分布在内部？

天冬氨酸；异亮氨酸；苏氨酸；缬氨酸；谷氨酰胺；赖氨酸

三、习题解答

(一) 名词解释

1. 两性离子：指在同一氨基酸分子上含有等量的正负两种电荷，又称兼性离子或偶极离子。
2. 必需氨基酸：指人体（和其它哺乳动物）自身不能合成，机体又必需，需要从饮食中获得的氨基酸。
3. 氨基酸的等电点：指氨基酸的正离子浓度和负离子浓度相等时的 pH 值，用符号 pI 表示。
4. 稀有氨基酸：指存在于蛋白质中的 20 种常见氨基酸以外的其它罕见氨基酸，它们是正常氨基酸的衍生物。
5. 非蛋白质氨基酸：指不存在于蛋白质分子中而以游离状态和结合状态存在于生物体的各种组织和细胞的氨基酸。
6. 构型：指在立体异构体中不对称碳原子上相连的各原子或取代基团的空间排布。构型的转变伴随着共价键的断裂和重新形成。
7. 蛋白质的一级结构：指蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序，以及二硫键的位置。
8. 构象：指有机分子中，不改变共价键结构，仅单键周围的原子旋转所产生的原子的空间排布。一种构象改变为另一种构象时，不涉及共价键的断裂和重新形成。构象改变不会改变分子的光学活性。
9. 蛋白质的二级结构：指在蛋白质分子中的局部区域内，多肽链沿一定方向盘绕和折叠的方式。
10. 结构域：指蛋白质多肽链在二级结构的基础上进一步卷曲折叠成几个相对独立的近似球形的组装体。
11. 蛋白质的三级结构：指蛋白质在二级结构的基础上借助各种次级键卷曲折叠成特定的球状分子结构的构象。
12. 氢键：指负电性很强的氧原子或氮原子与 N-H 或 O-H 的氢原子间的相互吸引力。

13. 蛋白质的四级结构：指多亚基蛋白质分子中各个具有三级结构的多肽链以适当方式聚合所呈现的三维结构。
14. 离子键：带相反电荷的基团之间的静电引力，也称为静电键或盐键。
15. 超二级结构：指蛋白质分子中相邻的二级结构单位组合在一起所形成的有规则的、在空间上能辨认的二级结构组合体。
16. 疏水键：非极性分子之间的一种弱的、非共价的相互作用。如蛋白质分子中的疏水侧链避开水相而相互聚集而形成的作用力。
17. 范德华力：中性原子之间通过瞬间静电相互作用产生的一种弱的分子间的力。当两个原子之间的距离为它们的范德华半径之和时，范德华力最强。
18. 盐析：在蛋白质溶液中加入一定量的高浓度中性盐（如硫酸铵），使蛋白质溶解度降低并沉淀析出的现象称为盐析。
19. 盐溶：在蛋白质溶液中加入少量中性盐使蛋白质溶解度增加的现象。
20. 蛋白质的变性作用：蛋白质分子的天然构象遭到破坏导致其生物活性丧失的现象。蛋白质在受到光照、热、有机溶剂以及一些变性剂的作用时，次级键遭到破坏导致天然构象的破坏，但其一级结构不发生改变。
21. 蛋白质的复性：指在一定条件下，变性的蛋白质分子恢复其原有的天然构象并恢复生物活性的现象。
22. 蛋白质的沉淀作用：在外界因素影响下，蛋白质分子失去水化膜或被中和其所带电荷，导致溶解度降低从而使蛋白质变得不稳定而沉淀的现象称为蛋白质的沉淀作用。
23. 凝胶电泳：以凝胶为介质，在电场作用下分离蛋白质或核酸等分子的分离纯化技术。
24. 层析：按照在移动相（可以是气体或液体）和固定相（可以是液体或固体）之间的分配比例将混合成分分开的技术。

（二）填空题

1. 氨基；羧基；
2. 16；6.25
3. 谷氨酸；天冬氨酸；丝氨酸；苏氨酸
4. 苯丙氨酸；酪氨酸；色氨酸；紫外吸收
5. 负极
6. 组氨酸；半胱氨酸；蛋氨酸
7. 螺旋结构；折叠结构
8. C=O；N-H；氢；0.54nm；3.6；0.15nm；右
9. 脯氨酸；羟脯氨酸
10. 极性；疏水性
11. 蓝紫色；脯氨酸

12. 肽键；二硫键；氢键；次级键；氢键；离子键；疏水键；范德华力
13. 表面的水化膜；同性电荷
14. 谷胱甘肽；巯基
15. 增加；盐溶；减小；沉淀析出；盐析；蛋白质分离
16. 带电荷量；分子大小；分子形状；方向；速率
17. 两性离子；最小
18. FDNB 法 (2,4-二硝基氟苯法)；Edman 降解法 (苯异硫氨酸酯法)
19. 沉降法；凝胶过滤法；SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳法 (SDS-PAGE 法)
20. 不动；向正极移动；向负极移动；
21. 两性离子；负；
22. 3.22
23. 氢键；
24. C；a；b
25. 16 672；66 687；
26. 50 圈；27nm

(三) 选择题

1. D：5 种氨基酸中只有赖氨酸为碱性氨基酸，其等电点为 9.74,大于生理 pH 值，所以带正电荷。
2. B：人 (或哺乳动物) 的必需氨基酸包括赖氨酸、色氨酸、甲硫氨酸、苯丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苏氨酸 8 种，酪氨酸不是必需氨基酸。
3. A：酪氨酸和苯丙氨酸在 280nm 处的克分子消光系数分别为 540 和 120,所以酪氨酸比苯丙氨酸有较大吸收,而且大多数蛋白质中都含有酪氨酸。肽键的最大吸收在 215nm,半胱氨酸的硫原子在 280nm 和 215nm 均无明显吸收。
4. D：在此 4 种氨基酸中，只有赖氨酸的 R 基团可接受氢质子，作为碱，而其它 3 种氨基酸均无可解离的 R 侧链。
5. B：氨基酸的 α 碳上连接的是亚氨基而不是氨基，所以实际上属于一种亚氨基酸，而其它氨基酸的 α 碳上都连接有氨基，是氨基酸。
6. B：天然蛋白质的 α 螺旋结构的特点是，肽链围绕中心轴旋转形成螺旋结构，而不是充分伸展的结构。另外在每个螺旋中含有 3.6 个氨基酸残基，螺距为 0.54nm,每个氨基酸残基上升高度为 0.15nm,所以 B 不是 α 螺旋结构的特点。
7. C：蛋白质处于等电点时，净电荷为零，失去蛋白质分子表面的同性电荷互相排斥的稳定因素，此时溶解度最小；加入少量中性盐可增加蛋白质的溶解度，即盐溶现象；因为蛋白质中含有酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸，所以具有紫外吸收特性；变性蛋白质的溶解度减小而不是增加，因为蛋白质变性后，近似于球状的空间构象被破坏，

变成松散的结构，原来处于分子内部的疏水性氨基酸侧链暴露于分子表面，减小了与水分子的作用，从而使蛋白质溶解度减小并沉淀。

8. C：甘氨酸的 α -碳原子连接的 4 个原子和基团中有 2 个是氢原子，所以不是不对称碳原子，没有立体异构体，所以不具有旋光性。
9. B：双缩脲反应是指含有两个或两个以上肽键的化合物（肽及蛋白质）与稀硫酸铜的碱性溶液反应生成紫色（或青紫色）化合物的反应，产生颜色的深浅与蛋白质的含量成正比，所以可用于蛋白质的定量测定。茚三酮反应是氨基酸的游离的 $-\text{NH}_2$ 与茚三酮之间的反应；凯氏定氮法是测定蛋白质消化后产生的氨；紫外吸收法是通过测定蛋白质的紫外消光值定量测定蛋白质的方法，因为大多数蛋白质都含有酪氨酸，有些还含有色氨酸或苯丙氨酸，这三种氨基酸具有紫外吸收特性，所以紫外吸收值与蛋白质含量成正比。
10. D：糜蛋白酶即胰凝乳蛋白酶作用于酪氨酸、色氨酸和苯丙氨酸的羧基参与形成的肽键；羧肽酶是从肽链的羧基端开始水解肽键的外肽酶；氨肽酶是从肽链的氨基端开始水解肽键的外肽酶；胰蛋白酶可以专一地水解碱性氨基酸的羧基参与形成的肽键。
11. A：蛋白质的等电点是指蛋白质分子内的正电荷总数与负电荷总数相等时的 pH 值。蛋白质盐析的条件是加入足量的中性盐，如果加入少量中性盐不但不会使蛋白质沉淀析出反而会增加其溶解度，即盐溶。在等电点时，蛋白质的净电荷为零，分子间的净斥力最小，所以溶解度最小，在溶液中易于沉淀，所以通常沉淀蛋白质应调 pH 至等电点。
12. A：在蛋白质的空间结构中，通常是疏水性氨基酸的侧链存在于分子的内部，因为疏水性基团避开水相而聚集在一起，而亲水侧链分布在分子的表面以充分地与水作用；蛋白质的一级结构是多肽链中氨基酸的排列顺序，此顺序即决定了肽链形成二级结构的类型以及更高层次的结构；维持蛋白质空间结构的作用力主要是次级键。
13. E：脯氨酸是亚氨基酸，参与形成肽键后不能再与 $\text{C}=\text{O}$ 氧形成氢键，因此不能形成 α -螺旋结构；氨基酸残基的支链大时，空间位阻大，妨碍螺旋结构的形成；连续出现多个酸性氨基酸或碱性氨基酸时，同性电荷会互相排斥，所以不能形成稳定的螺旋结构。
14. C： β -折叠结构是一种常见的蛋白质二级结构的类型，分为平行和反平行两种排列方式，所以题中 C 项的说法是错误的。在 β -折叠结构中肽链处于曲折的伸展状态，氨基酸残基之间的轴心距离为 0.35nm，相邻肽链（或同一肽链中的几个肽段）之间形成氢键而使结构稳定。
15. C：蛋白质二级结构的两种主要类型是 α -螺旋结构和 β -折叠结构。在 α -螺旋结构中肽链上的所有氨基酸残基均参与氢键的形成以维持螺旋结构的稳定。在 β -折叠结构中，相邻肽链或肽段之间形成氢键以维持结构的稳定，所以氢键是维持蛋白质二

级结构稳定的主要作用力。离子键、疏水键和范德华力在维持蛋白质的三级结构和四级结构中起重要作用，而二硫键在稳定蛋白质的三级结构中起一定作用。

16. E：肽键是连接氨基酸的共价键，它是维持蛋白质一级结构的作用力；而硫键是 2 分子半胱氨酸的巯基脱氢氧化形成的共价键，它可以存在于 2 条肽链之间也可以由存在于同一条肽链的 2 个不相邻的半胱氨酸之间，它在维持蛋白质三级结构中起一定作用，但不是最主要的。离子键和氢键都是维持蛋白质三级结构稳定的因素之一，但此项选择不全面，也不确切。次级键包括氢键、离子键、疏水键和范德华力，所以次项选择最全面、确切。
17. A：用凝胶过滤柱层析分离蛋白质是根据蛋白质分子大小不同进行分离的方法，与蛋白质分子的带电状况无关。在进行凝胶过滤柱层析过程中，比凝胶网眼大的分子不能进入网眼内，被排阻在凝胶颗粒之外。比凝胶网眼小的颗粒可以进入网眼内，分子越小进入网眼的机会越多，因此不同大小的分子通过凝胶层析柱时所经的路程距离不同，大分子物质经过的距离短而先被洗出，小分子物质经过的距离长，后被洗脱，从而使蛋白质得到分离。
18. A：蛋白质的变性是其空间结构被破坏，从而引起理化性质的改变以及生物活性的丧失，但其一级结构不发生改变，所以肽键没有断裂。蛋白质变性的机理是维持其空间结构稳定的作用力被破坏，氢键、离子键和疏水键都是维持蛋白质空间结构的作用力，当这些作用力被破坏时空间结构就被破坏并引起变性，所以与变性有关。
19. A：蛋白质的一级结构即蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序决定蛋白质的空间构象，因为一级结构中包含着形成空间结构所需要的所有信息，氨基酸残基的结构和化学性质决定了所组成的蛋白质的二级结构的类型以及三级、四级结构的构象；二硫键和次级键都是维持蛋白质空间构象稳定的作用力，但不决定蛋白质的构象；温度及 pH 影响蛋白质的溶解度、解离状态、生物活性等性质，但不决定蛋白质的构象。
20. B：氨基酸即有羧基又有氨基，可以提供氢质子也可以接受氢质子，所以即是酸又是碱，是两性电解质。由氨基酸组成的蛋白质分子上也有可解离基团，如谷氨酸和天冬氨酸侧链基团的羧基以及赖氨酸的侧链氨基，所以也是两性电解质，这是氨基酸和蛋白质所共有的性质；胶体性质是蛋白质所具有的性质，沉淀反应是蛋白质的胶体性质被破坏产生的现象；变性是蛋白质的空间结构被破坏后性质发生改变并丧失生物活性的现象，这三种现象均与氨基酸无关。
21. E：氨基酸分子上的正电荷数和负电荷数相等时的 pH 值是其等电点，即净电荷为零，此时在电场中不泳动。由于净电荷为零，分子间的净电斥力最小，所以溶解度最小。
22. B：蛋白质的一级结构是指蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序，蛋白质中所含氨基酸的种类和数目相同但排列顺序不同时，其一级结构以及在此基础上形成的空间结构均有很大不同。蛋白质分子中多肽链的折叠和盘绕是蛋白质二级结构的内容，所

以 B 项是正确的。

(四) 是非判断题

1. 错：脯氨酸与茚三酮反应产生黄色化合物，其它氨基酸与茚三酮反应产生蓝色化合物。
2. 对：在肽平面中，羧基碳和亚氨基氮之间的键长为 0.132nm，介于 C—N 单键和 C=N 双键之间，具有部分双键的性质，不能自由旋转。
3. 错：蛋白质具有重要的生物功能，有些蛋白质是酶，可催化特定的生化反应，有些蛋白质则具有其它的生物功能而不具有催化活性，所以不是所有的蛋白质都具有酶的活性。
4. 错：α-碳和羧基碳之间的键是 C—C 单键，可以自由旋转。
5. 对：在 20 种氨基酸中，除甘氨酸外都具有不对称碳原子，所以具有 L 型和 D 型 2 种不同构型，这两种不同构型的转变涉及到共价键的断裂和重新形成。
6. 错：由于甘氨酸的 α-碳上连接有 2 个氢原子，所以不是不对称碳原子，没有 2 种不同的立体异构体，所以不具有旋光性。其它常见的氨基酸都具有不对称碳原子，因此具有旋光性。
7. 错：必需氨基酸是指人（或哺乳动物）自身不能合成机体又必需的氨基酸，包括 8 种氨基酸。其它氨基酸人体自身可以合成，称为非必需氨基酸。
8. 对：蛋白质的一级结构是蛋白质多肽链中氨基酸的排列顺序，不同氨基酸的结构和化学性质不同，因而决定了多肽链形成二级结构的类型以及不同类型之间的比例以及在此基础上形成的更高层次的空间结构。如在脯氨酸存在的地方 α-螺旋中断，R 侧链具有大的支链的氨基酸聚集的地方妨碍螺旋结构的形成，所以一级结构在很大程度上决定了蛋白质的空间构象。
9. 错：一氨基-羧基氨基酸为中性氨基酸，其等电点为中性或接近中性，但氨基和羧基的解离度，即 pK 值不同。
10. 错：蛋白质的变性是蛋白质空间结构的破坏，这是由于维持蛋白质构象稳定的作用力次级键被破坏所造成的，但变性不引起多肽链的降解，即肽链不断裂。
11. 对：有些蛋白质是由一条多肽链构成的，只具有三级结构，不具有四级结构，如肌红蛋白。
12. 对：血红蛋白是由 4 个亚基组成的具有 4 级结构的蛋白质，当血红蛋白的一个亚基与氧结合后可加速其它亚基与氧的结合，所以具有变构效应。肌红蛋白是仅有一条多肽链的蛋白质，具有三级结构，不具有四级结构，所以在与氧的结合过程中不表现出变构效应。
13. 错：Edman 降解法是多肽链 N 端氨基酸残基被苯异硫氰酸酯修饰，然后从多肽链上切下修饰的残基，经层析鉴定可知 N 端氨基酸的种类，而余下的多肽链仍为一条完

整的多肽链，被回收后可继续进行下一轮 Edman 反应，测定 N 末端第二个氨基酸。反应重复多次就可连续测出多肽链的氨基酸顺序。FDNB 法 (Sanger 反应) 是多肽链 N 末端氨基酸与 FDNB(2,4-二硝基氟苯) 反应生成二硝基苯衍生物(DNP-蛋白)，然后将其进行酸水解，打断所有肽键，N 末端氨基酸与二硝基苯基结合牢固，不易被酸水解。水解产物为黄色的 N 端 DNP-氨基酸和各种游离氨基酸。将 DNP-氨基酸抽提出来并进行鉴定可知 N 端氨基酸的种类，但不能测出其后氨基酸的序列。

14. 对：大多数氨基酸的 α -碳原子上都有一个自由氨基和一个自由羧基，但脯氨酸和羟脯氨酸的 α -碳原子上连接的氨基氮与侧链的末端碳共价结合形成环式结构，所以不是自由氨基。
15. 对：蛋白质是由氨基酸组成的大分子，有些氨基酸的 R 侧链具有可解离基团，如羧基、氨基、咪唑基等等。这些基团有的可释放 H^+ ，有的可接受 H^+ ，所以使得蛋白质分子即是酸又是碱，是两性电解质。蛋白质分子中可解离 R 基团的种类和数量决定了蛋白质提供和接受 H^+ 的能力，即决定了它的酸碱性质。
16. 对：在具有四级结构的蛋白质分子中，每个具有三级结构的多肽链是一个亚基。
17. 错：具有两个或两个以上肽键的物质才具有类似于双缩脲的结构，具有双缩脲反应，而二肽只具有一个肽键，所以不具有双缩脲反应。
18. 错：二硫键是由两个半胱氨酸的巯基脱氢氧化而形成的，所以两个半胱氨酸只能形成一个二硫键。
19. 对：盐析引起的蛋白质沉淀是由于大量的中性盐破坏了蛋白质胶体的稳定因素(蛋白质分子表面的水化膜及所带同性电荷互相排斥)，从而使蛋白质溶解度降低并沉淀，但并未破坏蛋白质的空间结构，所以不引起变性。根据不同蛋白质盐析所需的盐饱和度分段盐析可将蛋白质进行分离和纯化。
20. 错：蛋白质的空间结构包括二级结构、三级结构和四级结构三个层次，三级结构只是其中一个层次。
21. 错：维持蛋白质三级结构的作用力有氢键、离子键、疏水键、范德华力以及二硫键，其中最重要的是疏水键。
22. 错：具有四级结构的蛋白质，只有所有的亚基以特定的适当方式组装在一起时才具有生物活性，缺少一个亚基或单独一个亚基存在时都不具有生物活性。
23. 错：蛋白质变性是由于维持蛋白质构象稳定的作用力(次级键和而硫键)被破坏从而使蛋白质空间结构被破坏并山个丧失生物活性的现象。次级键被破坏以后，蛋白质结构松散，原来聚集在分子内部的疏水性氨基酸侧链伸向外部，减弱了蛋白质分子与水分子的相互作用，因而使溶解度将低。
24. 错：蛋白质二级结构的稳定性是由链内氢键维持的，如 α -螺旋结构和 β -折叠结构中的氢键均起到稳定结构的作用。但并非肽链中所有的肽键都参与氢键的形成，如脯氨酸与相邻氨基酸形成的肽键，以及自由回转中的有些肽键不能形成链内氢键。

(五) 问答题 (解题要点)

1. 答：蛋白质一级结构指蛋白质多肽链中氨基酸残基的排列顺序。因为蛋白质分子肽链的排列顺序包含了自动形成复杂的三维结构（即正确的空间构象）所需要的全部信息，所以一级结构决定其高级结构。
2. 答：蛋白质的空间结构是指蛋白质分子中原子和基团在三维空间上的排列、分布及肽链走向。蛋白质的空间结构决定蛋白质的功能。空间结构与蛋白质各自的功能是相适应的。
3. 答：(1) 多肽链主链绕中心轴旋转，形成棒状螺旋结构，每个螺旋含有 3.6 个氨基酸残基，螺距为 0.54nm,氨基酸之间的轴心距为 0.15nm。
(2) α -螺旋结构的稳定主要靠链内氢键，每个氨基酸的 N-H 与前面第四个氨基酸的 C=O 形成氢键。
(3) 天然蛋白质的 α -螺旋结构大都为右手螺旋。
4. 答： β -折叠结构又称为片层结构，它是肽链主链或某一肽段的一种相当伸展的结构，多肽链呈扇面状折叠。
(1) 两条或多条几乎完全伸展的多肽链（或肽段）侧向聚集在一起，通过相邻肽链主链上的氨基和羧基之间形成的氢键连接成片层结构并维持结构的稳定。
(2) 氨基酸之间的轴心距为 0.35nm（反平行式）和 0.325nm（平行式）。
(3) β -折叠结构有平行排列和反平行排列两种。
5. 答：蛋白质的生物学功能从根本上来说取决于它的一级结构。蛋白质的生物学功能是蛋白质分子的天然构象所具有的属性或所表现的性质。一级结构相同的蛋白质，其功能也相同，二者之间有统一性和相适应性。
6. 答：蛋白质变性作用是指在某些因素的影响下，蛋白质分子的空间构象被破坏，并导致其性质和生物活性改变的现象。蛋白质变性后会发生以下几方面的变化：
(1) 生物活性丧失；
(2) 理化性质的改变，包括：溶解度降低，因为疏水侧链基团暴露；结晶能力丧失；分子形状改变，由球状分子变成松散结构，分子不对称性加大；粘度增加；光学性质发生改变，如旋光性、紫外吸收光谱等均有所改变。
(3) 生物化学性质的改变，分子结构伸展松散，易被蛋白酶分解。
7. 答：维持蛋白质空间构象稳定的作用力是次级键，此外，二硫键也起一定的作用。当某些因素破坏了这些作用力时，蛋白质的空间构象即遭到破坏，引起变性。
8. 答：蛋白质的重要作用主要有以下几方面：
(1) 生物催化作用 酶是蛋白质，具有催化能力，新陈代谢的所有化学反应几乎都是在酶的催化下进行的。
(2) 结构蛋白 有些蛋白质的功能是参与细胞和组织的建成。
(3) 运输功能 如血红蛋白具有运输氧的功能。

- (4) 收缩运动 收缩蛋白(如肌动蛋白和肌球蛋白)与肌肉收缩和细胞运动密切相关。
- (5) 激素功能 动物体内的激素许多是蛋白质或多肽,是调节新陈代谢的生理活性物质。
- (6) 免疫保护功能 抗体是蛋白质,能与特异抗原结合以清除抗原的作用,具有免疫功能。
- (7) 贮藏蛋白 有些蛋白质具有贮藏功能,如植物种子的谷蛋白可供种子萌发时利用。
- (8) 接受和传递信息 生物体中的受体蛋白能专一地接受和传递外界的信息。
- (9) 控制生长与分化 有些蛋白参与细胞生长与分化的调控。
- (10) 毒蛋白 能引起机体中毒症状和死亡的异体蛋白,如细菌毒素、蛇毒、蝎毒、蓖麻毒素等。
9. 答:(a) 异硫氨酸苯酯;(b) 丹黄酰氯;(c) 脲、-巯基乙醇;(d) 胰凝乳蛋白酶;(e) CNBr; (f) 胰蛋白酶。
10. 答:(1) 可能在 7 位和 19 位打弯,因为脯氨酸常出现在打弯处。
- (2) 13 位和 24 位的半胱氨酸可形成二硫键。
- (3) 分布在外表面的为极性和带电荷的残基: Asp、Gln 和 Lys;分布在内部的是非极性的氨基酸残基: Try、Leu 和 Val; Thr 尽管有极性,但疏水性也很强,因此,它出现在外表面和内部的可能性都有。

第二章 核 酸

一、知识要点

核酸分两大类：DNA 和 RNA。所有生物细胞都含有这两类核酸。但病毒不同，DNA 病毒只含有 DNA，RNA 病毒只含 RNA。

核酸的基本结构单位是核苷酸。核苷酸由一个含氮碱基（嘌呤或嘧啶），一个戊糖（核糖或脱氧核糖）和一个或几个磷酸组成。核酸是一种多聚核苷酸，核苷酸靠磷酸二酯键彼此连接在一起。核酸中还有少量的稀有碱基。RNA 中的核苷酸残基含有核糖，其嘧啶碱基一般是尿嘧啶和胞嘧啶，而 DNA 中其核苷酸含有 2'-脱氧核糖，其嘧啶碱基一般是胸腺嘧啶和胞嘧啶。在 RNA 和 DNA 中所含的嘌呤基本上都是鸟嘌呤和腺嘌呤。核苷酸在细胞内有许多重要功能：它们用于合成核酸以携带遗传信息；它们还是细胞中主要的化学能载体；是许多种酶的辅因子的结构成分，而且有些（如 cAMP、cGMP）还是细胞的第二信使。

DNA 的空间结构模型是在 1953 年由 Watson 和 Crick 两个人提出的。建立 DNA 空间结构模型的依据主要有两方面：一是由 Chargaff 发现的 DNA 中碱基的等价性，提示 A=T、G=C 间碱基互补的可能性；二是 DNA 纤维的 X-射线衍射分析资料，提示了双螺旋结构的可能性。DNA 是由两条反向直线型多核苷酸组成的双螺旋分子。单链多核苷酸中两个核苷酸之间的唯一连键是 3',5'-磷酸二酯键。按 Watson-Crick 模型，DNA 的结构特点有：两条反相平行的多核苷酸链围绕同一中心轴互绕；碱基位于结构的内侧，而亲水的糖磷酸主链位于螺旋的外侧，通过磷酸二酯键相连，形成核酸的骨架；碱基平面与轴垂直，糖环平面则与轴平行。两条链皆为右手螺旋；双螺旋的直径为 2nm，碱基堆积距离为 0.34nm，两核酸之间的夹角是 36°，每对螺旋由 10 对碱基组成；碱基按 A=T、G=C 配对互补，彼此以氢键相连系。维持 DNA 结构稳定的力量主要是碱基堆积力；双螺旋结构表面有两条螺形凹沟，一大一小。

DNA 能够以几种不同的结构形式存在。从 B 型 DNA 转变而来的两种结构 A 型和 Z 型结构已在结晶研究中得到证实。在顺序相同的情况下 A 型螺旋较 B 型更短，具有稍大的直径。DNA 中的一些特殊顺序能引起 DNA 弯曲。带有同一条链自身互补的颠倒重复能形成发卡或十字架结构，以镜影排列的多嘧啶序列可以通过分子内折叠形成三股螺旋，被称为 H-DNA 的三链螺旋结构。由于它存在于基因调控区，因而有重要的生物学意义。

不同类型的 RNA 分子可自身回折形成发卡、局部双螺旋区，形成二级结构，并折叠产生三级结构，RNA 与蛋白质复合物则是四级结构。tRNA 的二级结构为三叶草形，

三级结构为倒 L 形。mRNA 则是把遗传信息从 DNA 转移到核糖体以进行蛋白质合成的载体。

核酸的糖苷键和磷酸二酯键可被酸、碱和酶水解，产生碱基、核苷、核苷酸和寡核苷酸。酸水解时，糖苷键比磷酸酯键易于水解；嘌呤碱的糖苷键比嘧啶碱的糖苷键易于水解；嘌呤碱与脱氧核糖的糖苷键最不稳定。RNA 易被稀碱水解，产生 2'-和 3'-核苷酸，DNA 对碱比较稳定。细胞内有各种核酸酶可以分解核酸。其中限制性内切酶是基因工程的重要工具酶。

核酸的碱基和磷酸基均能解离，因此核酸具有酸碱两性。碱基杂环中的氮具有结合和释放质子的能力。核苷和核苷酸的碱基与游离碱基的解离性质相近，它们是兼性离子。

核酸的碱基具有共轭双键，因而有紫外吸收的性质。各种碱基、核苷和核苷酸的吸收光谱略有区别。核酸的紫外吸收峰在 260nm 附近，可用于测定核酸。根据 260nm 与 280nm 的吸收光度 (A_{260}) 可判断核酸纯度。

变性作用是指核酸双螺旋结构被破坏，双链解开，但共价键并未断裂。引起变性的因素很多，升高温度、过酸、过碱、纯水以及加入变性剂等都能造成核酸变性。核酸变性时，物理化学性质将发生改变，表现出增色效应。热变性一半时的温度称为熔点或变性温度，以 T_m 来表示。DNA 的 G+C 含量影响 T_m 值。由于 G-C 比 A=T 碱基对更稳定，因此富含 G-C 的 DNA 比富含 A=T 的 DNA 具有更高的熔解温度。根据经验公式 $x_{G+C} = (T_m - 69.3) / 2.44$ 可以由 DNA 的 T_m 值计算 G+C 含量，或由 G+C 含量计算 T_m 值。

变性 DNA 在适当条件下可以复性，物化性质得到恢复，具有减色效应。用不同来源的 DNA 进行退火，可得到杂交分子。也可以由 DNA 链与互补 RNA 链得到杂交分子。杂交的程度依赖于序列同源性。分子杂交是用于研究和分离特殊基因和 RNA 的重要分子生物学技术。

染色体中的 DNA 分子是细胞内最大的大分子。许多较小的 DNA 分子，如病毒 DNA、质粒 DNA、线粒体 DNA 和叶绿体 DNA 也存在于细胞中。许多 DNA 分子，特别是细菌的染色体 DNA 和线粒体、叶绿体 DNA 是环形的。病毒和染色体 DNA 有一个共同的特点，就是它们比包装它们的病毒颗粒和细胞器要长得多，真核细胞所含的 DNA 要比细菌细胞多得多。

真核细胞染色质组织的基本单位是核小体，它由 DNA 和 8 个组蛋白分子构成的蛋白质核心颗粒组成。其中 H_2A , H_2B , H_3 , H_4 各占两个分子，有一段 DNA (约 146bp) 围绕着组蛋白核心形成左手性的线圈型超螺旋。细菌染色体也被高度折叠，压缩成拟核结构，但它们比真核细胞染色体更富动态和不规则，这反映了原核生物细胞周期短和极活跃的细胞代谢。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 单核苷酸(mononucleotide)
2. 磷酸二酯键 (phosphodiester bonds)
3. 不对称比率 (dissymmetry ratio)
4. 碱基互补规律(complementary base pairing)
5. 反密码子 (anticodon)
6. 顺反子 (cistron)
7. 核酸的变性与复性 (denaturation、renaturation)
8. 退火 (annealing)
9. 增色效应 (hyper chromic effect)
10. 减色效应 (hypo chromic effect)
11. 噬菌体 (phage)
12. 发夹结构 (hairpin structure)
13. DNA 的熔解温度 (melting temperature T_m)
14. 分子杂交 (molecular hybridization)
15. 环化核苷酸(cyclic nucleotide)

(二) 填空题

1. DNA 双螺旋结构模型是_____于____年提出的。
2. 核酸的基本结构单位是_____。
3. 脱氧核糖核酸在糖环_____位置不带羟基。
4. 两类核酸在细胞中的分布不同，DNA 主要位于____中，RNA 主要位于____中。
5. 核酸分子中的糖苷键均为_____型糖苷键。糖环与碱基之间的连键为_____键。核苷与核苷之间通过_____键连接成多聚体。
6. 核酸的特征元素_____。
7. 碱基与戊糖间是 C-C 连接的是_____核苷。
8. DNA 中的____嘧啶碱与 RNA 中的____嘧啶碱的氢键结合性质是相似的。
9. DNA 中的____嘧啶碱与 RNA 中的____嘧啶碱的氢键结合性质是相似的。
10. DNA 双螺旋的两股链的顺序是_____关系。
11. 给动物食用 ^3H 标记的_____, 可使 DNA 带有放射性，而 RNA 不带放射性。
12. B 型 DNA 双螺旋的螺距为____, 每匝螺旋有____对碱基，每对碱基的转角是_____。

13. 在 DNA 分子中, 一般来说 G-C 含量高时, 比重____, T_m (熔解温度) 则____, 分子比较稳定。
14. 在____条件下, 互补的单股核苷酸序列将缔结成双链分子。
15. ____RNA 分子指导蛋白质合成, ____RNA 分子用作蛋白质合成中活化氨基酸的载体。
16. DNA 分子的沉降系数决定于____、____。
17. DNA 变性后, 紫外吸收____, 粘度____、浮力密度____, 生物活性将____。
18. 因为核酸分子具有____、____, 所以在__nm 处有吸收峰, 可用紫外分光光度计测定。
19. 双链 DNA 热变性后, 或在 pH2 以下, 或在 pH12 以上时, 其 OD_{260} ____, 同样条件下, 单链 DNA 的 OD_{260} ____。
20. DNA 样品的均一性愈高, 其溶解过程的温度范围愈____。
21. DNA 所在介质的离子强度越低, 其溶解过程的温度范围愈____, 溶解温度愈____, 所以 DNA 应保存在较____浓度的盐溶液中, 通常为____mol/L 的 NaCl 溶液。
22. mRNA 在细胞内的种类____, 但只占 RNA 总量的____, 它是以____为模板合成的, 又是____合成的模板。
23. 变性 DNA 的复性与许多因素有关, 包括____, ____ , ____ , ____ , ____ , 等。
24. 维持 DNA 双螺旋结构稳定的主要因素是____, 其次, 大量存在于 DNA 分子中的弱作用力如____, ____和____也起一定作用。
25. mRNA 的二级结构呈__形, 三级结构呈__形, 其 3' 末端有一共同碱基序列____其功能是____。
26. 常见的环化核苷酸有__和__。其作用是____, 他们核糖上的__位与__位磷酸-OH 环化。
27. 真核细胞的 mRNA 帽子由__组成, 其尾部由__组成, 他们的功能分别是____, ____。
28. DNA 在水溶解中热变性之后, 如果将溶液迅速冷却, 则 DNA 保持____状态; 若使溶液缓慢冷却, 则 DNA 重新形成____。

(三) 选择题

1. ATP 分子中各组分的连接方式是:
 - A. R-A-P-P-P
 - B. A-R-P-P-P
 - C. P-A-R-P-P
 - D. P-R-A-P-P
2. hnRNA 是下列哪种 RNA 的前体?
 - A. tRNA
 - B. rRNA
 - C. mRNA
 - D. SnRNA
3. 决定 tRNA 携带氨基酸特异性的关键部位是:
 - A. -XCCA3' 末端
 - B. T C 环;

- C. DHU 环 D. 额外环 E. 反密码子环
4. 根据 Watson-Crick 模型, 求得每一微米 DNA 双螺旋含核苷酸对的平均数为: :
A. 25400 B. 2540 C. 29411 D. 2941 E. 3505
5. 构成多核苷酸链骨架的关键是:
A. 2 3 磷酸二酯键 B. 2 4 磷酸二酯键
C. 2 5 磷酸二酯键 D. 3 4 磷酸二酯键 E. 3 5 磷酸二酯键
6. 与片段 TAGAp 互补的片段为:
A. AGATp B. ATCTp C. TCTAp D. UAUAp
7. 含有稀有碱基比例较多的核酸是:
A. 胞核 DNA B. 线粒体 DNA C. tRNA D. mRNA
8. 真核细胞 mRNA 帽子结构最多见的是:
A. $m^7A_{ppp}N_{mp}N_{mp}$ B. $m^7G_{ppp}N_{mp}N_{mp}$
C. $m^7U_{ppp}N_{mp}N_{mp}$ D. $m^7C_{ppp}N_{mp}N_{mp}$ E. $m^7T_{ppp}N_{mp}N_{mp}$
9. DNA 变性后理化性质有下述改变:
A. 对 260nm 紫外吸收减少 B. 溶液粘度下降
C. 磷酸二酯键断裂 D. 核苷酸断裂
10. 双链 DNA 的 T_m 较高是由于下列哪组核苷酸含量较高所致:
A. A+G B. C+T C. A+T D. G+C E. A+C
11. 密码子 G A, 所识别的密码子是:
A. CAU B. UGC C. CGU D. UAC E. 都不对
12. 真核生物 mRNA 的帽子结构中, m^7G 与多核苷酸链通过三个磷酸基连接, 连接方式是:
A. 2 -5 B. 3 -5 C. 3 -3 D. 5 -5 E. 3 -3
13. 在 pH3.5 的缓冲液中带正电荷最多的是:
A. AMP B. GMP C. CMP D. UMP
14. 下列对于环核苷酸的叙述, 哪一项是错误的?
A. cAMP 与 cGMP 的生物学作用相反
B. 重要的环核苷酸有 cAMP 与 cGMP
C. cAMP 是一种第二信使
D. cAMP 分子内有环化的磷酸二酯键
15. 真核生物 DNA 缠绕在组蛋白上构成核小体, 核小体含有的蛋白质是
A. H_1 、 H_2 、 H_3 、 H_4 各两分子 B. H_{1A} 、 H_{1B} 、 H_{2B} 、 H_{2A} 各两分子
C. H_{2A} 、 H_{2B} 、 H_{3A} 、 H_{3B} 各两分子 D. H_{2A} 、 H_{2B} 、 H_3 、 H_4 各两分子
E. H_{2A} 、 H_{2B} 、 H_{4A} 、 H_{4B} 各两分子

(四) 是非判断题

- () 1. DNA 是生物遗传物质, RNA 则不是。
- () 2. 脱氧核糖核苷中的糖环 3' 位没有羟基。
- () 3. 原核生物和真核生物的染色体均为 DNA 与组蛋白的复合体。
- () 4. 核酸的紫外吸收与溶液的 pH 值无关。
- () 5. 生物体的不同组织中的 DNA, 其碱基组成也不同。
- () 6. 核酸中的修饰成分 (也叫稀有成分) 大部分是在 tRNA 中发现的。
- () 7. DNA 的 T_m 值和 AT 含量有关, AT 含量高则 T_m 高。
- () 8. 真核生物 mRNA 的 5' 端有一个多聚 A 的结构。
- () 9. DNA 的 T_m 值随 $(A+T)/(G+C)$ 比值的增加而减少。
- () 10. B-DNA 代表细胞内 DNA 的基本构象, 在某些情况下, 还会呈现 A 型、Z 型和三股螺旋的局部构象。
- () 11. DNA 复性 (退火) 一般在低于其 T_m 值约 20 的温度下进行的。
- () 12. 用碱水解核酸时, 可以得到 2' 和 3'-核苷酸的混合物。
- () 13. 生物体内, 天然存在的 DNA 分子多为负超螺旋。
- () 14. mRNA 是细胞内种类最多、含量最丰富的 RNA。
- () 15. tRNA 的二级结构中的额外环是 tRNA 分类的重要指标。
- () 16. 对于提纯的 DNA 样品, 测得 $OD_{260}/OD_{280} < 1.8$, 则说明样品中含有 RNA。
- () 17. 基因表达的最终产物都是蛋白质。
- () 18. 两个核酸样品 A 和 B, 如果 A 的 OD_{260}/OD_{280} 大于 B 的 OD_{260}/OD_{280} , 那么 A 的纯度大于 B 的纯度。
- () 19. 毫无例外, 从结构基因中 DNA 序列可以推出相应的蛋白质序列。
- () 20. 真核生物成熟 mRNA 的两端均带有游离的 3'-OH。

(五) 简答题

1. 将核酸完全水解后可得到哪些组分? DNA 和 RNA 的水解产物有何不同?
2. 计算下列各题:
 - (1) T_7 噬菌体 DNA, 其双螺旋链的相对分子质量为 2.5×10^7 。计算 DNA 链的长度 (设核苷酸的平均相对分子质量为 650)。
 - (2) 相对分子质量为 130×10^6 的病毒 DNA 分子, 每微米的质量是多少?
 - (3) 编码 88 个核苷酸的 tRNA 的基因有多长?
 - (4) 编码细胞色素 C (104 个氨基酸) 的基因有多长 (不考虑起始和终止序列)?
 - (5) 编码相对分子质量为 9.6 万的蛋白质的 mRNA, 相对分子质量为多少 (设每个氨基酸的平均相对分子量为 120)?
3. 对一双链 DNA 而言, 若一条链中 $(A+G)/(T+C) = 0.7$, 则:

- (1) 互补链中 $(A+G)/(T+C) = ?$
 (2) 在整个 DNA 分子中 $(A+G)/(T+C) = ?$
 (3) 若一条链中 $(A+T)/(G+C) = 0.7$, 则互补链中 $(A+T)/(G+C) = ?$
 (4) 在整个 DNA 分子中 $(A+T)/(G+C) = ?$
4. DNA 热变性有何特点? T_m 值表示什么?
5. 在 pH7.0, 0.165mol/L NaCl 条件下, 测得某一 DNA 样品的 T_m 为 89.3。求出四种碱基百分组成。
6. 述下列因素如何影响 DNA 的复性过程:
 (1) 阳离子的存在 ;(2) 低于 T_m 的温度 ;(2) 高浓度的 DNA 链。
7. 核酸分子中是通过什么键连接起来的?
8. DNA 分子二级结构有哪些特点?
9. 在稳定的 DNA 双螺旋中, 哪两种力在维系分子立体结构方面起主要作用?
10. 简述 tRNA 二级结构的组成特点及其每一部分的功能。
11. 用 1mol/L 的 KOH 溶液水解核酸, 两类核酸 (DNA 及 RNA) 的水解有何不同?
12. 如何将分子量相同的单链 DNA 与单链 RNA 分开?
13. 计算下列各核酸水溶液在 pH7.0 通过 1.0cm 光径杯时的 260nm 处的 A 值(消光度)。
 已知: AMP 的摩尔消光系数 $A_{260} = 15400$
 GMP 的摩尔消光系数 $A_{260} = 11700$
 CMP 的摩尔消光系数 $A_{260} = 7500$
 UMP 的摩尔消光系数 $A_{260} = 9900$
 dTMP 的摩尔消光系数 $A_{260} = 9200$
- 求: (1) $32 \mu\text{mol/L}$ AMP, (2) $47.5 \mu\text{mol/L}$ CMP, (3) $6.0 \mu\text{mol/L}$ UMP 的消光度,
 (4) $48 \mu\text{mol/L}$ AMP 和 $32 \mu\text{mol/L}$ UMP 混合物的 A_{260} 消光度。(5) $A_{260} = 0.325$ 的 GMP 溶液的摩尔浓度(以摩尔/升表示, 溶液 pH7.0)。(6) $A_{260} = 0.090$ 的 dTMP 溶液的摩尔浓度(以摩尔/升表示, 溶液 pH7.0)。
14. 如果人体有 10^{14} 个细胞, 每个体细胞的 DNA 量为 6.4×10^9 个碱基对。试计算人体 DNA 的总长度是多少? 是太阳-地球之间距离 (2.2×10^9 公里) 的多少倍?
15. 指出在 pH2.5、pH3.5、pH6、pH8、pH11.4 时, 四种核苷酸所带的电荷数 (或所带电荷数多少的比较), 并回答下列问题:
 (1) 电泳分离四种核苷酸时, 缓冲液应取哪个 pH 值比较合适? 此时它们是向哪一极移动? 移动的快慢顺序如何?
 (2) 当要把上述四种核苷酸吸附于阴离子交换树脂柱上时, 应调到什么 pH 值?
 (3) 如果用洗脱液对阴离子交换树脂上的四种核苷酸进行洗脱分离时, 洗脱液应调到什么 pH 值? 这四种核苷酸上的洗脱顺序如何? 为什么?

三、习题解答

(一) 名词解释

1. 单核苷酸(mononucleotide): 核苷与磷酸缩合生成的磷酸酯称为单核苷酸。
2. 磷酸二酯键 (phosphodiester bonds): 单核苷酸中, 核苷的戊糖与磷酸的羟基之间形成的磷酸酯键。
3. 不对称比率 (dissymmetry ratio): 不同生物的碱基组成由很大的差异, 这可用不对称比率 $(A+T)/(G+C)$ 表示。
4. 碱基互补规律(complementary base pairing): 在形成双螺旋结构的过程中, 由于各种碱基的大小与结构的不同, 使得碱基之间的互补配对只能在 G C (或 C G)和 A T (或 T A) 之间进行, 这种碱基配对的规律就称为碱基配对规律 (互补规律)。
5. 反密码子 (anticodon): 在 tRNA 链上有三个特定的碱基, 组成一个密码子, 由这些反密码子按碱基配对原则识别 mRNA 链上的密码子。反密码子与密码子的方向相反。
6. 顺反子 (cistron): 基因功能的单位; 一段染色体, 它是一种多肽链的密码; 一种结构基因。
7. 核酸的变性、复性 (denaturation、renaturation): 当呈双螺旋结构的 DNA 溶液缓慢加热时, 其中的氢键便断开, 双链 DNA 便脱解为单链, 这叫做核酸的“溶解”或变性。在适宜的温度下, 分散开的两条 DNA 链可以完全重新结合成和原来一样的双股螺旋。这个 DNA 螺旋的重组过程称为“复性”。
8. 退火 (annealing): 当将双股链呈分散状态的 DNA 溶液缓慢冷却时, 它们可以发生不同程度的重新结合而形成双链螺旋结构, 这现象称为“退火”。
9. 增色效应 (hyper chromic effect): 当 DNA 从双螺旋结构变为单链的无规则卷曲状态时, 它在 260nm 处的吸收便增加, 这叫“增色效应”。
10. 减色效应 (hypo chromic effect): DNA 在 260nm 处的光密度比在 DNA 分子中的各个碱基在 260nm 处吸收的光密度的总和小得多 (约少 35%~40%), 这现象称为“减色效应”。
11. 噬菌体 (phage): 一种病毒, 它可破坏细菌, 并在其中繁殖。也叫细菌的病毒。
12. 发夹结构 (hairpin structure): RNA 是单链线形分子, 只有局部区域为双链结构。这些结构是由于 RNA 单链分子通过自身回折使得互补的碱基对相遇, 形成氢键结合而成的, 称为发夹结构。
13. DNA 的熔解温度 (T_m 值): 引起 DNA 发生“熔解”的温度变化范围只不过几度, 这个温度变化范围的中点称为熔解温度 (T_m)。
14. 分子杂交 (molecular hybridization): 不同的 DNA 片段之间, DNA 片段与 RNA 片

段之间，如果彼此间的核苷酸排列顺序互补也可以复性，形成新的双螺旋结构。这种按照互补碱基配对而使不完全互补的两条多核苷酸相互结合的过程称为分子杂交。

15. 环化核苷酸(cyclic nucleotide)：单核苷酸中的磷酸基分别与戊糖的 3'-OH 及 5'-OH 形成酯键，这种磷酸内酯的结构称为环化核苷酸。

(二) 填空题

1. Watson-Crick; 1953
2. 核苷酸
3. 2'
4. 细胞核；细胞质
5. ；糖苷；磷酸二酯键
6. 磷
7. 假尿嘧啶
8. 胸腺；尿
9. 胸腺；尿
10. 反向平行、互补
11. 胸腺嘧啶
12. 3.4nm；10；36
13. 大；高
14. 退火
15. mRNA；tRNA
16. 分子大小；分子形状
17. 增加；下降；升高；丧失
18. 嘌呤；嘧啶；260
19. 增加；不变
20. 窄
21. 宽；低；高；1
22. 多；5%；DNA；蛋白质
23. 样品的均一度；DNA 的浓度；DNA 片段大小；温度的影响；溶液离子强度
24. 碱基堆积力；氢键；离子键；范德华力
25. 三叶草；倒 L 型；CCA；携带活化了的氨基酸
26. cAMP；cGMP；第二信使；3'；5'
27. m⁷G；polyA；m⁷G 识别起始信号的一部分；polyA 对 mRNA 的稳定性具有一定影响
28. 单链；双链

(三) 选择题

1. B: ATP 分子中各组分的连接方式为:腺嘌呤-核糖-三磷酸,既 A-R-P-P-P。
2. C: hnRNA 是核不均一 RNA,在真核生物细胞核中,为真核 mRNA 的前体。
3. E: tRNA 的功能是以它的反密码子区与 mRNA 的密码子碱基互补配对,来决定携带氨基酸的特异性。
4. D: 根据 Watson-Crick 模型,每对碱基间的距离为 0.34nm,那么 1 μ m DNA 双螺旋平均含有 1000nm/0.34nm 个核苷酸对数,即 2941 对。
5. E: 核苷酸是通过 3'5'-磷酸二酯键连结成多核苷酸链的。
6. C: 核酸是具有极性的分子,习惯上以 5' 3'的方向表示核酸片段,TAGAp 互补的片段也要按 5' 3'的方向书写,即 TCTAp。
7. C: tRNA 含有稀有碱基比例较多的核酸。
8. B: 真核细胞 mRNA 帽子结构最多见的是通过 5',5'-磷酸二酯键连接的甲基鸟嘌呤核苷酸,即 m⁷G_{ppp}N_mP。
9. B: 核酸的变性指核酸双螺旋区的氢键断裂,变成单链的无规则的线团,并不涉及共价键的断裂。一系列物化性质也随之发生改变:粘度降低,浮力密度升高等,同时改变二级结构,有时可以失去部分或全部生物活性。DNA 变性后,由于双螺旋解体,碱基堆积已不存在,藏于螺旋内部的碱基暴露出来,这样就使得变性后的 DNA 对 260nm 紫外光的吸光率比变性前明显升高(增加),这种现象称为增色效应。因此判断只有 B 对。
10. D: 因为 G₁C₁ 对比 A=T 对更为稳定,故 G₁C₁ 含量越高的 DNA 的变性是 T_m 值越高,它们成正比关系。
11. D: 为假尿苷酸,其中的 U 可以与 A 配对,所以反密码子 G A,所识别的密码子是 UAC。
12. D: 参照选择题 8。
13. C: 在 pH3.5 的缓冲液中,C 是四种碱基中获得正电荷最多的碱基。
14. A: 在生物细胞中存在的环化核苷酸,研究得最多的是 3',5'-环腺苷酸(cAMP)和 3',5'-环鸟苷酸(cGMP)。它们是由其分子内的磷酸与核糖的 3',5'碳原子形成双酯环化而成的。都是一种具有代谢调节作用的环化核苷酸。常被称为生物调节的第二信使。
15. D: 真核染色质主要的组蛋白有五种 H₁、H₂A、H₂B、H₃、H₄。DNA 和组蛋白形成的复合物就叫核小体,核小体是染色质的最基本结构单位,成球体状,每个核小体含有 8 个组蛋白,各含两个 H₂A、H₂B、H₃、H₄ 分子,球状体之间有一定间隔,被 DNA 链连成串珠状。

(四) 是非判断题

1. 错：RNA 也是生命的遗传物质。
2. 错：脱氧核糖核苷中的糖环 2' 位没有羟基。
3. 错：真核生物的染色体为 DNA 与组蛋白的复合体，原核生物的染色体为 DNA 与碱性精胺、亚精胺结合。
4. 错：核酸的紫外吸收与溶液的 pH 值有关。
5. 错：生物体的不同组织中的 DNA，其碱基组成也不同。
6. 对：核酸中的修饰成分（也叫稀有成分）大部分是在 tRNA 中发现的。
7. 错：DNA 的 T_m 值和 GC 含量有关，GC 含量高则 T_m 高。
8. 错：真核生物 mRNA 的 3' 端有一个多聚 A 的结构。
9. 对：(G+C) 含量减少，DNA 的 T_m 值减少，(A+T)/(G+C) 比值的增加。
10. 对：在细胞内，B-DNA 代表 DNA 的基本构象，但在不同某些情况下，也会呈现 A 型、Z 型和三股螺旋的局部构象。
11. 对：DNA 复性（退火）一般在低于其 T_m 值约 20~25 的温度下进行的。
12. 对：用碱水解核酸时，先生成 2',3'-环核苷酸，再水解为 2' 或 3'-核苷酸。
13. 对：生物体内，负超螺旋 DNA 容易解链，便于进行复制、转录等反应。
14. 错：mRNA 是细胞内种类最多、但含量很低的 RNA。细胞中含量最丰富的 RNA 是 rRNA。
15. 对：不同 tRNA 中额外环大小差异很大，因此可以作为 tRNA 分类的重要指标。
16. 错：对于提纯的 DNA 样品，如果测得 $OD_{260}/OD_{280} < 1.8$ ，则说明样品中有蛋白质。
17. 错：基因表达的最终产物可以是蛋白质或 RNA。
18. 错：核酸样品的纯度可以根据样品的 OD_{260}/OD_{280} 的比值判断，纯的 DNA 样品 $OD_{260}/OD_{280} = 1.8$ ，纯的 RNA 样品 $OD_{260}/OD_{280} = 2.0$ 。
19. 错：真核生物的结构基因中包括内含子和外显子部分，经转录、加工后只有外显子部分翻译成蛋白质，与蛋白质氨基酸序列相对应。
20. 对：真核生物成熟 mRNA 的 5' 为帽子结构，即 $m^7G(5')_{PPP}(5')N_m^-$ ，因此两 5' 端也是 3'-OH。

(五) 问答题及计算题（解题要点）

1. 答：核酸完全水解后可得到碱基、戊糖、磷酸三种组分。DNA 和 RNA 的水解产物戊糖、嘧啶碱基不同。
2. 答：(1) $(2.5 \times 10^7 / 650) \times 0.34 = 1.3 \times 10^4 \text{ nm} = 13 \mu \text{ m}$ 。
(2) $650 / 0.34 = 1.9 \times 10^6 / \mu \text{ m}$ 。
(3) $88 \times 0.34 \text{ nm} = 30 \text{ nm} = 0.3 \mu \text{ m}$ 。
(4) $104 \times 3 \times 0.34 = 106 \text{ nm} = 0.11 \mu \text{ m}$ 。

$$(5) (96000/120) \times 3 \times 320 = 76800.$$

3. 答:(1) 设 DNA 的两条链分别为 和 , 那么:

$$A = T, T = A, G = C, \therefore C = G,$$

$$\text{因为, } (A + G) / (T + C) = (A + G) / (A + G) = 0.7$$

$$\text{所以, 互补链中 } (A + G) / (T + C) = 1/0.7 = 1.43$$

$$(2) \text{ 在整个 DNA 分子中, 因为 } A = T, G = C,$$

$$\text{所以, } A + G = T + C, (A + G) / (T + C) = 1$$

(3) 假设同(1), 则

$$A + T = T + A, G + C = C + G,$$

$$\text{所以, } (A + T) / (G + C) = (A + T) / (G + C) = 0.7$$

(4) 在整个 DNA 分子中

$$(A + T + A + T) / (G + C + G + C) = 2(A + T) / 2(G + C) = 0.7$$

4. 答: 将 DNA 的稀盐溶液加热到 70~100 几分钟后, 双螺旋结构即发生破坏, 氢键断裂, 两条链彼此分开, 形成无规则线团状, 此过程为 DNA 的热变性, 有以下特点: 变性温度范围很窄, 260nm 处的紫外吸收增加; 粘度下降; 生物活性丧失; 比旋度下降; 酸碱滴定曲线改变。T_m 值代表核酸的变性温度(熔解温度、熔点)。在数值上等于 DNA 变性时摩尔磷消光值(紫外吸收)达到最大变化值半数时所对应的温度。

5. 答: 为 $(G + C) \% = (T_m - 69.3) \times 2.44 \times \%$

$$= (89.3 - 69.3) \times 2.44 \times \%$$

$$= 48.8\%$$

$$G = C = 24.4\%$$

$$(A + T)\% = 1 - 48.8\% = 51.2\%$$

$$A = T = 25.6\%$$

6. 答:(1) 阳离子的存在可中和 DNA 中带负电荷的磷酸基团, 减弱 DNA 链间的静电作用, 促进 DNA 的复性;

(2) 低于 T_m 的温度可以促进 DNA 复性;

(3) DNA 链浓度增高可以加快互补链随机碰撞的速度、机会, 从而促进 DNA 复性。

7. 答: 核酸分子中是通过 3',5'-磷酸二酯键连接起来的。

8. 答: 按 Watson-Crick 模型, DNA 的结构特点有: 两条反相平行的多核苷酸链围绕同一中心轴互绕; 碱基位于结构的内侧, 而亲水的糖磷酸主链位于螺旋的外侧, 通过磷酸二酯键相连, 形成核酸的骨架; 碱基平面与轴垂直, 糖环平面则与轴平行。两条链皆为右手螺旋; 双螺旋的直径为 2nm, 碱基堆积距离为 0.34nm, 两核酸之间的夹角是 36°, 每对螺旋由 10 对碱基组成; 碱基按 A=T, G_i⊙ 配对互补, 彼此以

氢键相连系。维持 DNA 结构稳定的力量主要是碱基堆积力；双螺旋结构表面有两条螺形凹沟，一大一小。

9. 答：在稳定的 DNA 双螺旋中，碱基堆积力和碱基配对氢键在维系分子立体结构方面起主要作用。

10. 答：tRNA 的二级结构为三叶草结构。其结构特征为：

(1) tRNA 的二级结构由四臂、四环组成。已配对的片断称为臂，未配对的片断称为环。

(2) 叶柄是氨基酸臂。其上含有 CCA-OH^{3'}，此结构是接受氨基酸的位置。

(3) 氨基酸臂对面是反密码子环。在它的中部含有三个相邻碱基组成的反密码子，可与 mRNA 上的密码子相互识别。

(4) 左环是二氢尿嘧啶环 (D 环)，它与氨基酰-tRNA 合成酶的结合有关。

(5) 右环是假尿嘧啶环 (T C 环)，它与核糖体的结合有关。

(6) 在反密码子与假尿嘧啶环之间的是可变环，它的大小决定着 tRNA 分子大小。

11. 答：不同。RNA 可以被水解成单核苷酸，而 DNA 分子中的脱氧核糖 2' 碳原子上没有羟基，所以 DNA 不能被碱水解。

12. 答：(1) 用专一性的 RNA 酶与 DNA 酶分别对两者进行水解。

(2) 用碱水解。RNA 能够被水解，而 DNA 不被水解。

(3) 进行颜色反应。二苯胺试剂可以使 DNA 变成蓝色；苔黑酚 (地衣酚) 试剂能使 RNA 变成绿色。

(4) 用酸水解后，进行单核苷酸的分析 (层析法或电泳法)，含有 U 的是 RNA，含有 T 的是 DNA。

13. 答：已知：(1) 32 μmol/L AMP 的 A₂₆₀ 消光度

$$A_{260} = 32 \times 10^{-6} \times 15400 = 0.493$$

(2) 47.5 μmol/L CMP 的 A₂₆₀ 消光度

$$A_{260} = 47.5 \times 10^{-6} \times 7500 = 0.356$$

(3) 6.0 μmol/L UMP 的 A₂₆₀ 消光度

$$A_{260} = 6.0 \times 10^{-6} \times 9900 = 0.0594$$

(4) 48 μmol/L AMP 和 32 μmol/L UMP 混合物的 A₂₆₀ 消光度

$$A_{260} = 32 \times 10^{-6} \times 9900 + 48 \times 10^{-6} \times 15400 = 0.493 + 0.736 = 1.229$$

(5) $0.325/11700 = 2.78 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

(6) $0.090/9200 = 9.78 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$

14. 答：(1) 每个体细胞的 DNA 的总长度为：

$$6.4 \times 10^9 \times 0.34 \text{ nm} = 2.176 \times 10^9 \text{ nm} = 2.176 \text{ m}$$

(2) 人体内所有体细胞的 DNA 的总长度为：

$$2.176 \text{ m} \times 10^{14} = 2.176 \times 10^{11} \text{ km}$$

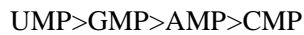
(3) 这个长度与太阳-地球之间距离 (2.2×10^9 公里) 相比为:

$$2.176 \times 10^{11} / 2.2 \times 10^9 = 99 \text{ 倍}$$

15. 答: 种核苷酸带电荷情况:

	pH2.5	pH3.5	pH6	pH8	pH11.4
UMP	负电荷最多	-1	-1.5	-2	-3
GMP	负电荷较多	-0.95	-1.5	-2	-3
AMP	负电荷较少	-0.46	-1.5	-2	-2
CMP	带正电荷	-0.16	-1.5	-2	-2

(1) 电泳分离四种核苷酸时应取 pH3.5 的缓冲液, 在该 pH 值时, 这四种单核苷酸之间所带负电荷差异较大, 它们都向正极移动, 但移动的速度不同, 依次为:



(2) 应取 pH8.0, 这样可使核苷酸带较多负电荷, 利于吸附于阴离子交换树脂柱。虽然 pH11.4 时核苷酸带有更多的负电荷, 但 pH 过稿对树脂不利。

(3) 洗脱液应调到 pH2.5。当不考虑树脂的非极性吸附时洗脱顺序为 $\text{CMP} > \text{AMP} > \text{UMP} > \text{GMP}$ (根据 pH2.5 时核苷酸负电荷的多少来决定洗脱速度), 但实际上核苷酸和聚苯乙烯阴离子交换树脂之间存在着非极性吸附, 嘌呤碱基的非极性吸附是嘧啶碱基的 3 倍。静电吸附与非极性吸附共同作用的结果使洗脱顺序为: $\text{CMP} > \text{AMP} > \text{UMP} > \text{GMP}$ 。

第三章 酶与辅酶

一、知识要点

在生物体的活细胞中每分每秒都进行着成千上万的大量生物化学反应，而这些反应却能有条不紊地进行且速度非常快，使细胞能同时进行各种降解代谢及合成代谢，以满足生命活动的需要。生物细胞之所以能在常温常压下以极高的速度和很大的专一性进行化学反应，这是由于生物细胞中存在着生物催化剂——酶。酶是生物体活细胞产生的具有特殊催化能力的蛋白质。

酶作为一种生物催化剂不同于一般的催化剂，它具有条件温和、催化效率高、高度专一性和酶活可调控性等催化特点。酶可分为氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、裂解酶类、异构酶类和合成酶类六大类。酶的专一性可分为相对专一性、绝对专一性和立体异构专一性，其中相对专一性又分为基团专一性和键专一性，立体异构专一性又分为旋光异构专一性、几何异构专一性和潜手性专一性。

影响酶促反应速度的因素有底物浓度（S）、酶液浓度（E）、反应温度（T）、反应pH值、激活剂（A）和抑制剂（I）等。其中底物浓度与酶反应速度之间有一个重要的关系为米氏方程，米氏常数（ K_m ）是酶的特征性常数，它的物理意义是当酶反应速度达到最大反应速度一半时的底物浓度。竞争性抑制作用、非竞争性抑制作用和反竞争性抑制作用分别对 K_m 值与 V_{max} 的影响是各不相同的。

酶的活性中心有两个功能部位，即结合部位和催化部位。酶的催化机理包括过渡态学说、邻近和定向效应、锁钥学说、诱导契合学说、酸碱催化和共价催化等，每个学说都有其各自的理论依据，其中过渡态学说或中间产物学说为大家所公认，诱导契合学说也为对酶的研究做了大量贡献。

胰凝乳蛋白酶是胰脏中合成的一种蛋白水解酶，其活性中心由 Asp₁₀₂、His₅₇ 及 Ser₁₉₅ 构成一个电荷转接系统，即电荷中继网。其催化机理包括两个阶段，第一阶段为水解反应的酰化阶段，第二阶段为水解反应的脱酰阶段。

同工酶和变构酶是两种重要的酶。同工酶是指有机体内能催化相同的化学反应，但其酶蛋白本身的理化性质及生物学功能不完全相同的一组酶；变构酶是利用构象的改变来调节其催化活性的酶，是一个关键酶，催化限速步骤。

酶技术是近年来发展起来的，现在的基因工程、遗传工程、细胞工程、酶工程、生化工程和生物工程等领域都有酶技术的参与。

维生素是生物生长和生命活动中所必需的微量有机物，在天然食物中含量极少，人体自身不能合成，必须从食物中摄取。这些维生素既不是构成各种组织的主要原料，也

不是体内能量的来源，它们的生理功能主要是在物质代谢过程中起着非常重要的作用，因代谢过程离不开酶，而结合蛋白酶中的辅酶和辅基绝大多数都含有维生素成份。机体缺乏某种维生素时，代谢受阻，表现出维生素缺乏症，而植物体内能合成维生素。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 米氏常数 (K_m 值)
2. 底物专一性 (substrate specificity)
3. 辅基 (prosthetic group)
4. 单体酶 (monomeric enzyme)
5. 寡聚酶 (oligomeric enzyme)
6. 多酶体系 (multienzyme system)
7. 激活剂 (activator)
8. 抑制剂 (inhibitor/inhibitor)
9. 变构酶 (allosteric enzyme)
10. 同工酶 (isozyme)
11. 诱导酶 (induced enzyme)
12. 酶原 (zymogen)
13. 酶的比活力 (enzymatic compare energy)
14. 活性中心 (active center)

(二) 英文缩写符号

1. NAD^+ (nicotinamide adenine dinucleotide)
2. FAD (flavin adenine dinucleotide)
3. THFA (tetrahydrofolic acid)
4. $NADP^+$ (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)
5. FMN (flavin mononucleotide)
6. CoA (coenzyme A)
7. ACP (acyl carrier protein)
8. BCCP (biotin carboxyl carrier protein)
9. PLP (pyridoxal phosphate)

(三) 填空题

1. 酶是_____产生的,具有催化活性的_____。
2. 酶具有_____,_____、_____和_____等催化特点。
3. 影响酶促反应速度的因素有_____,_____,_____,_____,_____和_____。
4. 胰凝乳蛋白酶的活性中心主要含有_____,_____、和_____基,三者构成一个氢键体系,使其中的_____上的_____成为强烈的亲核基团,此系统称为系统或_____。
5. 与酶催化的高效率有关的因素有_____,_____,_____,_____,_____、_____等。
6. 丙二酸和戊二酸都是琥珀酸脱氢酶的_____抑制剂。
7. 变构酶的特点是:(1)_____,(2)_____,它不符合一般的_____,当以V对[S]作图时,它表现出_____型曲线,而非_____曲线。它是_____酶。
8. 转氨酶的辅因子为_____即维生素_____。其有三种形式,分别为_____,_____,_____,其中_____在氨基酸代谢中非常重要,是_____,和_____的辅酶。
9. 叶酸以其_____起辅酶的作用,它有_____和_____两种还原形式,后者的功能作为_____载体。
10. 一条多肽链 Asn-His-Lys-Asp-Phe-Glu-Ile-Arg-Glu-Tyr-Gly-Arg 经胰蛋白酶水解可得到_____个多肽。
11. 全酶由_____和_____组成,在催化反应时,二者所起的作用不同,其中_____决定酶的专一性和高效率,_____起传递电子、原子或化学基团的作用。
12. 辅助因子包括_____,_____和_____等。其中_____与酶蛋白结合紧密,需要除去,_____与酶蛋白结合疏松,可以用_____除去。
13. T. R. Cech 和 S. Altmann 因各自发现了_____而共同获得 1989 年的诺贝尔奖(化学奖)。
14. 根据国际系统分类法,所有的酶按所催化的化学反应的性质可分为六类_____,_____,_____,_____,_____,_____和_____。
15. 根据国际酶学委员会的规定,每一种酶都有一个唯一的编号。醇脱氢酶的编号是 EC1.1.1.1, EC 代表_____,4 个数字分别代表_____,_____,_____和_____。
16. 根据酶的专一性程度不同,酶的专一性可以分为_____,_____,_____和_____。
17. 酶的活性中心包括_____和_____两个功能部位,其中_____直

接与底物结合，决定酶的专一性，_____是发生化学变化的部位，决定催化反应的性质。

18. 酶活力是指_____，一般用_____表示。
19. 通常讨论酶促反应的反应速度时，指的是反应的_____速度，即_____时测得的反应速度。
20. 解释别构酶作用机理的假说有_____模型和_____模型两种。
21. 固定化酶的优点包括_____，_____，_____等。
22. pH 值影响酶活力的原因可能有以下几方面：影响_____，影响_____，影响_____。
23. 温度对酶活力影响有以下两方面：一方面_____，另一方面_____。
24. 脲酶只作用于尿素，而不作用于其他任何底物，因此它具有_____专一性；甘油激酶可以催化甘油磷酸化，仅生成甘油-1-磷酸一种底物，因此它具有专一性。
25. 酶促动力学的双倒数作图（Lineweaver-Burk 作图法），得到的直线在横轴的截距为_____，纵轴上的截距为_____。
26. 磺胺类药物可以抑制_____酶，从而抑制细菌生长繁殖。
27. 判断一个纯化酶的方法优劣的主要依据是酶的_____和_____。
28. 维生素是维持生物体正常生长所必需的一类_____有机物质。主要作用是作为_____的组分参与体内代谢。
29. 根据维生素的_____性质，可将维生素分为两类，即_____和_____。
30. 维生素 B₁ 由_____环与_____环通过_____相连，主要功能是以_____形式，作为_____和_____的辅酶，转移二碳单位。
31. 维生素 B₂ 的化学结构可以分为二部分，即_____和_____，其中_____原子上可以加氢，因此有氧化型和还原型之分。
32. 维生素 B₃ 由_____与_____通过_____相连而成，可以与_____，_____和_____共同组成辅酶_____，作为各种_____反应的辅酶，传递_____。
33. 维生素 B₅ 是_____衍生物，有_____，_____两种形式，其辅酶形式是_____与_____，作为_____酶的辅酶，起递_____作用。
34. 生物素可看作由_____，_____，_____三部分组成，是_____的辅酶，在_____的固定中起重要的作用。
35. 维生素 B₁₂ 是唯一含_____的维生素，由_____，_____和氨

基丙酸三部分组成，有多种辅酶形式。其中_____是变位酶的辅酶，
_____是转甲基酶的辅酶。

36. 维生素 C 是_____的辅酶，另外还具有_____作用等。

(四) 选择题

- 酶的活性中心是指：
A. 酶分子上含有必需基团的肽段 B. 酶分子与底物结合的部位
C. 酶分子与辅酶结合的部位 D. 酶分子发挥催化作用的关键性结构区
E. 酶分子有丝氨酸残基、二硫键存在的区域
- 酶催化作用对能量的影响在于：
A. 增加产物能量水平 B. 降低活化能 C. 降低反应物能量水平
D. 降低反应的自由能 E. 增加活化能
- 竞争性抑制剂作用特点是：
A. 与酶的底物竞争激活剂 B. 与酶的底物竞争酶的活性中心
C. 与酶的底物竞争酶的辅基 D. 与酶的底物竞争酶的必需基团；
E. 与酶的底物竞争酶的变构剂
- 竞争性可逆抑制剂抑制程度与下列那种因素无关：
A. 作用时间 B. 抑制剂浓度 C. 底物浓度
D. 酶与抑制剂的亲和力的大小 E. 酶与底物的亲和力的大小
- 哪一种情况可用增加[S]的方法减轻抑制程度：
A. 不可逆抑制作用 B. 竞争性可逆抑制作用 C. 非竞争性可逆抑制作用
D. 反竞争性可逆抑制作用 E. 无法确定
- 酶的竞争性可逆抑制剂可以使：
A. V_{max} 减小, K_m 减小 B. V_{max} 增加, K_m 增加
C. V_{max} 不变, K_m 增加 D. V_{max} 不变, K_m 减小
E. V_{max} 减小, K_m 增加
- 下列常见抑制剂中，除哪个外都是不可逆抑制剂：
A. 有机磷化合物 B. 有机汞化合物 C. 有机砷化合物
D. 氰化物 E. 磺胺类药物
- 酶的活化和去活化循环中，酶的磷酸化和去磷酸化位点通常在酶的哪一种氨基酸残基上：
A. 天冬氨酸 B. 脯氨酸 C. 赖氨酸
D. 丝氨酸 E. 甘氨酸
- 在生理条件下，下列哪种基团既可以作为 H^+ 的受体，也可以作为 H^+ 的供体：
A. His 的咪唑基 B. Lys 的 α 氨基 C. Arg 的胍基

- D. Cys 的巯基 E. Trp 的吲哚基
10. 对于下列哪种抑制作用, 抑制程度为 50% 时, $[I]=K_i$:
- A. 不可逆抑制作用 B. 竞争性可逆抑制作用
C. 非竞争性可逆抑制作用 D. 反竞争性可逆抑制作用 E. 无法确定
11. 下列辅酶中的哪个不是来自于维生素 :
- A. CoA B. CoQ C. PLP D. FH₂ E. FMN
12. 下列叙述中哪一种是正确的 :
- A. 所有的辅酶都包含维生素组分
B. 所有的维生素都可以作为辅酶或辅酶的组分
C. 所有的 B 族维生素都可以作为辅酶或辅酶的组分
D. 只有 B 族维生素可以作为辅酶或辅酶的组分
13. 多食糖类需补充 :
- A. 维生素 B₁ B. 维生素 B₂ C. 维生素 B₅
D. 维生素 B₆ E. 维生素 B₇
14. 多食肉类, 需补充 :
- A. 维生素 B₁ B. 维生素 B₂ C. 维生素 B₅
D. 维生素 B₆ E. 维生素 B₇
15. 以玉米为主食, 容易导致下列哪种维生素的缺乏 :
- A. 维生素 B₁ B. 维生素 B₂ C. 维生素 B₅
D. 维生素 B₆ E. 维生素 B₇
16. 下列化合物中除哪个外, 常作为能量合剂使用 :
- A. CoA B. ATP C. 胰岛素 D. 生物素
17. 下列化合物中哪个不含环状结构 :
- A. 叶酸 B. 泛酸 C. 烟酸 D. 生物素 E. 核黄素
18. 下列化合物中哪个不含腺苷酸组分 :
- A. CoA B. FMN C. FAD D. NAD⁺ E. NADP⁺
19. 需要维生素 B₆ 作为辅酶的氨基酸反应有 :
- A. 成盐、成酯和转氨 B. 成酰氯反应 C. 烷基化反应
D. 成酯、转氨和脱羧 E. 转氨、脱羧和消旋

(五) 是非判断题

- () 1. 酶促反应的初速度与底物浓度无关。
- () 2. 当底物处于饱和水平时, 酶促反应的速度与酶浓度成正比。
- () 3. 某些酶的 K_m 由于代谢产物存在而发生改变, 而这些代谢产物在结构上与底物无关。

- () 4. 某些调节酶的 V - $[S]$ 的 S 形曲线表明, 酶与少量底物的结合增加了酶对后续底物分子的亲和力。
- () 5. 测定酶活力时, 底物浓度不必大于酶浓度。
- () 6. 测定酶活力时, 一般测定产物生成量比测定底物消耗量更为准确。
- () 7. 在非竞争性抑制剂存在下, 加入足量的底物, 酶促的反应能够达到正常 V_{max} 。
- () 8. 碘乙酸因可与活性中心-SH 以共价键结合而抑制巯基酶, 而使糖酵解途径受阻。
- () 9. 诱导酶是指当细胞加入特定诱导物后, 诱导产生的酶, 这种诱导物往往是该酶的产物。
- () 10. 酶可以促成化学反应向正反应方向转移。
- () 11. 对于可逆反应而言, 酶既可以改变正反应速度, 也可以改变逆反应速度。
- () 12. 酶只能改变化学反应的活化能而不能改变化学反应的平衡常数。
- () 13. 酶活力的测定实际上就是酶的定量测定。
- () 14. 从鼠脑分离的己糖激酶可以作用于葡萄糖 ($K_m=6 \times 10^{-6} \text{mol/L}$) 或果糖 ($K_m=2 \times 10^{-3} \text{mol/L}$), 则己糖激酶对果糖的亲和力更高。
- () 15. K_m 是酶的特征常数, 只与酶的性质有关, 与酶浓度无关
- () 16. K_m 是酶的特征常数, 在任何条件下, K_m 是常数。
- () 17. K_m 是酶的特征常数, 只与酶的性质有关, 与酶的底物无关。
- () 18. 一种酶有几种底物就有几种 K_m 值。
- () 19. 当 $[S] \gg K_m$ 时, V 趋向于 V_{max} , 此时只有通过增加 $[E]$ 来增加 V 。
- () 20. 酶的最适 pH 值是一个常数, 每一种酶只有一个确定的最适 pH 值。
- () 21. 酶的最适温度与酶的作用时间有关, 作用时间长, 则最适温度高, 作用时间短, 则最适温度低。
- () 22. 金属离子作为酶的激活剂, 有的可以相互取代, 有的可以相互拮抗。
- () 23. 增加不可逆抑制剂的浓度, 可以实现酶活性的完全抑制。
- () 24. 竞争性可逆抑制剂一定与酶的底物结合在酶的同部位。
- () 25. 由 1g 粗酶制剂经纯化后得到 10mg 电泳纯的酶制剂, 那么酶的比活较原来提高了 100 倍。
- () 26. 酶反应的最适 pH 值只取决于酶蛋白本身的结构。
- () 27. 所有 B 族维生素都是杂环化合物。
- () 28. B 族维生素都可以作为辅酶的组分参与代谢。
- () 29. 脂溶性维生素都不能作为辅酶参与代谢。
- () 30. 除了动物外, 其他生物包括植物、微生物的生长也有需要维生素的现象。
- () 31. 植物的某些器官可以自行合成某些维生素, 并供给植物整体生长所需。
- () 32. 维生素 E 不容易被氧化, 因此可做抗氧化剂。

(六) 问答题及计算题

- 怎样证明酶是蛋白质？
- 简述酶作为生物催化剂与一般化学催化剂的共性及其个性？
- 简述 Cech 及 Altman 是如何发现具有催化活性的 RNA 的？
- 试指出下列每种酶具有哪种类型的专一性？
 - 脲酶（只催化尿素 NH_2CONH_2 的水解，但不能作用于 $\text{NH}_2\text{CONHCH}_3$ ）；
 - AD-葡萄糖苷酶（只作用于 AD-葡萄糖形成的各种糖苷，但不能作用于其他的糖苷，例如果糖苷）；
 - 酯酶（作用于 R_1COOR_2 的水解反应）；
 - L-氨基酸氧化酶（只作用于 L-氨基酸，而不能作用于 D-氨基酸）；
 - 反丁烯二酸水合酶[只作用于反丁烯二酸（延胡索酸），而不能作用于顺丁烯二酸（马来酸）]；
 - 甘油激酶（催化甘油磷酸化，生成甘油-1-磷酸）。
- 称取 25mg 蛋白酶配成 25mL 溶液，取 2mL 溶液测得含蛋白氮 0.2mg，另取 0.1mL 溶液测酶活力，结果每小时可以水解酪蛋白产生 1500 μg 酪氨酸，假定 1 个酶活力单位定义为每分钟产生 1 μg 酪氨酸的酶量，请计算：
 - 酶溶液的蛋白浓度及比活。
 - 每克纯酶制剂的总蛋白含量及总活力。
- V_{\max} 与米氏常数可以通过作图法求得，试比较 $V\sim[S]$ 图，双倒数图， $V\sim V/[S]$ 作图， $[S]/V\sim[S]$ 作图及直接线性作图法求 V_{\max} 和 K_m 的优缺点？
- 为什么某些肠道寄生虫如蛔虫在体内不会被消化道内的胃蛋白酶、胰蛋白酶消化？
 - 为什么蚕豆必须煮熟后食用，否则容易引起不适？
- 使用下表数据，作图判断抑制剂类型（竞争性还是非竞争性可逆抑制剂）？

[S] mmol/L	2.0	3.0	4.0	10.0	15.0
每小时形成产物的量 (μmol) (没有抑制剂)	13.9	17.9	21.3	31.3	37.0
每小时形成产物的量 (μmol) (有抑制剂)	8.8	12.1	14.9	25.7	31.3
- 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (M_r 150 000) 的活性位点有一个 Cys 残基，假定为使 5mL 的 1.2mg/mL 的酶溶液完全失活，需要 $3.0 \times 10^{-2}\text{mg}$ 碘乙酰胺 (M_r 185)，计算酶的催化亚基的数目？
- 对活细胞的实验测定表明，酶的底物浓度通常就在这种底物的 K_m 值附近，请解释其生理意义？为什么底物浓度不是大大高于 K_m 或大大低于 K_m 呢？

11. 有时别构酶的活性可以被低浓度的竞争性抑制剂激活, 请解释?
12. (1) 对于一个遵循米氏动力学的酶而言, 当 $[S]=K_m$ 时, 若 $V=35\text{ }\mu\text{mol/min}$, V_{\max} 是多少 $\mu\text{mol/min}$?
- (2) 当 $[S]=2 \times 10^{-5}\text{ mol/L}$, $V=40\text{ }\mu\text{mol/min}$, 这个酶的 K_m 是多少?
- (3) 若 I 表示竞争性抑制剂, $K_I=4 \times 10^{-5}\text{ mol/L}$, 当 $[S]=3 \times 10^{-2}\text{ mol/L}$ 和 $[I]=3 \times 10^{-5}\text{ mol/L}$ 时, V 是多少?
- (4) 若 I 是非竞争性抑制剂, 在 K_I 、 $[S]$ 和 $[I]$ 条件与(3)中相同时, V 是多少?
- (2) 计算 $[S]=1.0 \times 10^{-6}\text{ mol/L}$ 和 $[S]=1.0 \times 10^{-1}\text{ mol/L}$ 时的 v ?
- (3) 计算 $[S]=2.0 \times 10^{-3}\text{ mol/L}$ 或 $[S]=2.0 \times 10^{-6}\text{ mol/L}$ 时最初5min内的产物总量?
- (4) 假如每一个反应体系中酶浓度增加到4倍时, K_m , V_{\max} 是多少?
13. 在很多酶的活性中心均有 His 残基参与, 请解释?
22. 将下列化学名称与 B 族维生素及其辅酶形式相匹配?
- (A) 泛酸;(B) 烟酸;(C) 叶酸;(D) 硫胺素;(E) 核黄素;(F) 吡哆素;(G) 生物素。
- (1) B_1 ; (2) B_2 ; (3) B_3 ; (4) B_5 ; (5) B_6 ; (6) B_7 ; (7) B_{11} ; (8) B_{12} 。
() FMN;() FAD;() NAD^+ ;() NADP^+ ;() CoA;() PLP;() PMP;() FH_2 , FH_4 ;() TPP。

三、习题解答

(一) 名词解释

- 米氏常数 (K_m 值): 用 K_m 值表示, 是酶的一个重要参数。 K_m 值是酶反应速度 (V) 达到最大反应速度 (V_{\max}) 一半时底物的浓度 (单位 M 或 mM)。米氏常数是酶的特征常数, 只与酶的性质有关, 不受底物浓度和酶浓度的影响。
- 底物专一性: 酶的专一性是指酶对底物及其催化反应的严格选择性。通常酶只能催化一种化学反应或一类相似的反应, 不同的酶具有不同程度的专一性, 酶的专一性可分为三种类型: 绝对专一性、相对专一性、立体专一性。
- 辅基: 酶的辅因子或结合蛋白质的非蛋白部分, 与酶或蛋白质结合得非常紧密, 用透析法不能除去。
- 单体酶: 只有一条多肽链的酶称为单体酶, 它们不能解离为更小的单位。分子量为 13,000 ~ 35,000。
- 寡聚酶: 有几个或多个亚基组成的酶称为寡聚酶。寡聚酶中的亚基可以是相同的, 也可以是不同的。亚基间以非共价键结合, 容易为酸碱, 高浓度的盐或其它的变性

剂分离。寡聚酶的分子量从 35 000 到几百万。

6. 多酶体系：由几个酶彼此嵌合形成的复合体称为多酶体系。多酶复合体有利于细胞中一系列反应的连续进行，以提高酶的催化效率，同时便于机体对酶的调控。多酶复合体的分子量都在几百万以上。
7. 激活剂：凡是能提高酶活性的物质，都称激活剂，其中大部分是离子或简单的有机化合物。
8. 抑制剂：能使酶的必需基团或酶活性部位中的基团的化学性质改变而降低酶的催化活性甚至使酶的催化活性完全丧失的物质。
9. 变构酶：或称别构酶，是代谢过程中的关键酶，它的催化活性受其三维结构中的构象变化的调节。
10. 同工酶：是指有机体内能够催化同一种化学反应，但其酶蛋白本身的分子结构组成却有所不同的一组酶。
11. 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，这种诱导物往往是该酶底物的类似物或底物本身。
12. 酶原：酶的无活性前体，通常在有限度的蛋白质水解作用后，转变为具有活性的酶。
13. 酶的比活力：比活力是指每毫克蛋白质所具有的活力单位数，可以用下式表示：

$$\text{比活力} = \frac{\text{活力单位数}}{\text{蛋白质量 (mg)}}$$

14. 活性中心：酶分子中直接与底物结合，并催化底物发生化学反应的部位，称为酶的活性中心。

(二) 英文缩写符号

1. NAD^+ (nicotinamide adenine dinucleotide)：烟酰胺腺嘌呤二核苷酸；辅酶。
2. FAD (flavin adenine dinucleotide)：黄素腺嘌呤二核苷酸。
3. THFA (tetrahydrofolic acid)：四氢叶酸。
4. NADP^+ (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)：烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸；辅酶。
5. FMN (flavin mononucleotide)：黄素单核苷酸。
6. CoA (coenzyme A)：辅酶 A。
7. ACP (acyl carrier protein)：酰基载体蛋白。
8. BCCP (biotin carboxyl carrier protein)：生物素羧基载体蛋白。
9. PLP (pyridoxal phosphate)：磷酸吡哆醛。

(三) 填空题

1. 活细胞；蛋白质
2. 高效性；专一性；作用条件温和；受调控
3. [E]；[S]；pH；T（温度）；I（抑制剂）；A（激活剂）
4. Ser₁₉₅；His₅₇；Asp₁₀₂；Ser₁₉₅；氧原子；电荷转接；电荷中继网
5. 邻近效应；定向效应；诱导应变；共价催化；活性中心酸碱催化
6. 竞争性
7. 由多个亚基组成；除活性中心外还有变构中心；米氏方程；S；双；寡聚酶
8. 磷酸吡哆醛；V_{B6}；磷酸吡哆醛；磷酸吡哆胺；磷酸吡哆醇；磷酸吡哆醛；转氨酶；脱羧酶；消旋酶
9. 还原性产物；DHFA；THFA；一碳单位
10. 三
11. 酶蛋白；辅助因子；酶蛋白；辅助因子
12. 辅酶；辅基；金属离子；辅基；化学方法处理；辅酶；透析法
13. 核酶（具有催化能力的 RNA）
14. 氧化还原酶类；转移酶类；水解酶类；裂合酶类；异构酶类；合成酶类
15. 酶学委员会；氧化还原酶类；作用-CHOH 基团的亚类；受体 NAD⁺或 NADP⁺的亚类；序号为 1
16. 绝对专一性；相对专一性；立体专一性
17. 结合部位；催化部位；结合部位；催化部位
18. 酶催化化学反应的能力；一定条件下，酶催化某一化学反应的反应速度
19. 初；底物消耗量<5%
20. 齐变；序变
21. 稳定性好；可反复使用；易于与反应液分离
22. 底物分子的解离状态；酶分子的解离状态；中间复合物的解离状态
23. 温度升高，可使反应速度加快；温度太高，会使酶蛋白变性而失活
24. 绝对；立体
25. $-1/K_m$ ； $1/V_{max}$
26. 二氢叶酸合成酶
27. 比活力；总活力
28. 微量；辅酶
29. 溶解；水溶性维生素；脂溶性维生素
30. 嘧啶；噻唑；亚甲基；TPP；脱羧酶；转酮酶
31. 二甲基异咯嗪基；核糖醇基；1，10 位氮
32. 丁酸衍生物；-丙氨酸；酰胺键；巯基乙胺；焦磷酸；3'-AMP；CoA；酰化；酰

基

33. 吡啶；烟酸；烟酰胺； NAD^+ ； NADP^+ ；脱氢；氢
34. 尿素；噻吩；戊酸侧链；羧化酶； CO_2
35. 金属元素；咕啉环；核苷酸；5'-脱氧腺苷钴胺素；甲基钴胺素
36. 羟化；解毒

(四) 选择题

1. D：酶活性中心有一个结合部位和一个催化部位，分别决定专一性和催化效率，是酶分子发挥作用的一个关键性小区域。
2. B：酶是生物催化剂，在反应前后没有发生变化，酶之所以能使反应快速进行，就是它降低了反应的活化能。
3. B：酶的竞争性抑制剂与酶作用的底物的结构基本相似，所以它与底物竞争酶的活性中心，从而抑制酶的活性，阻止酶与底物反应。
4. A：竞争性可逆抑制剂抑制程度与底物浓度、抑制剂浓度、酶与抑制剂的亲和力、酶与底物的亲和力有关，与作用时间无关。
5. B：竞争性可逆抑制作用可用增加[S]的方法减轻抑制程度。
6. C：酶的竞争性可逆抑制剂可以使 V_{\max} 不变， K_m 增加。
7. E：磺胺类药物是竞争性可逆抑制剂。
8. D：蛋白激酶可以使 ATP 分子上的 γ -磷酸转移到一种蛋白质的丝氨酸残基的羟基上，在磷酸基的转移过程中，常伴有酶蛋白活性的变化，例如肝糖原合成酶的磷酸化与脱磷酸化两种形式对糖原合成的调控是必需的。
9. A：His 咪唑基的 pK 值在 6.0~7.0 之间，在生理条件下一半解离，一半未解离，解离的部分可以作为 H^+ 的受体，未解离的部分可以作为 H^+ 的供体。
10. C：对于非竞争性可逆抑制作用，抑制程度为 50% 时， $[\text{I}]=K_i$ 。
11. B：CoQ 不属于维生素，CoA 是维生素 B_3 的衍生物，PLP 是维生素 B_6 的衍生物， FH_2 是维生素 B_{11} 的衍生物，FMN 是维生素 B_2 的衍生物。
12. C：很多辅酶不包含维生素组分，如 CoQ 等；有些维生素不可以作为辅酶或辅酶的组分，如维生素 E 等；所有的 B 族维生素都可以作为辅酶或辅酶的组分，但并不是只有 B 族维生素可以作为辅酶或辅酶的组分，如维生素 K 也可以作为 γ -羧化酶的辅酶。
13. A：维生素 B_1 以辅酶 TPP 的形式参与代谢，TPP 是丙酮酸脱氢酶系、 α -酮戊二酸脱氢酶系、转酮酶等的辅酶，因此与糖代谢关系密切。多食糖类食物消耗的维生素 B_1 增加，需要补充。
14. D：维生素 B_6 以辅酶 PLP，PMP 的形式参与氨基酸代谢，是氨基酸转氨酶、脱羧酶和消旋酶的辅酶，因此多食用蛋白质类食物消耗的维生素 B_6 增加，需要补充。

15. C: 玉米中缺少合成维生素 B₅ 的前体—色氨酸, 因此以玉米为主食, 容易导致维生素 B₅ 的缺乏。
16. D: CoA、ATP 和胰岛素常作为能量合剂使用。
17. B: 泛酸是 B 族维生素中唯一不含环状结构的化合物。
18. B: FMN 是黄素单核苷酸, 不含腺苷酸组分。
19. E: VB₆ 以辅酶 PLP, PMP 的形式参与氨基酸代谢, 是氨基酸转氨酶、脱羧酶和消旋酶的辅酶。

(五) 是非判断题

1. 错: 酶促反应的初速度与底物浓度是有关的, 当其它反应条件满足时, 酶促反应的初速度与底物浓度成正比。
2. 对: 当底物足够时, 酶浓度增加, 酶促反应速度也加快, 成正比。
3. 对: K_m 是酶的特征性常数, 反应的代谢产物可能影响酶性质的改变从而影响 K_m 的变化, 而这些代谢产物在结构上并不与底物一致。
4. 对: 调节酶大多数为变构酶, 变构酶是利用构象的改变来调节其催化活性的酶, 是一个关键酶, 催化限速步骤, 当少量底物与酶结合后, 使酶的构象发生改变从而能结合更多的底物分子。
5. 错: 底物应该过量才能更准确的测定酶的活力。
6. 对: 产物生成量比底物消耗量更易测得且准确。
7. 错: 非竞争性抑制剂只和酶与底物反应的中间产物结合, 酶促反应的 V_{max} 是减小的, 不能通过增加底物来达到正常的 V_{max}。而竞争性抑制剂可以通过增加底物的浓度来达到 V_{max}。
8. 对: 碘乙酸是糖酵解过程中的一个抑制剂, 与半胱氨酸或蛋氨酸的-SH 结合, 使糖酵解途径受阻。
9. 错: 诱导物一般为酶的作用底物, 可诱导细胞产生特定的诱导酶。
10. 错: 对于可逆反应而言, 酶既可以改变正反应速度, 也可以改变逆反应速度, 但不改变化学反应的平衡点。
11. 对。
12. 对: 酶通过降低化学反应的活化能加快化学的反应速度, 但不改变化学反应的平衡常数。
13. 对: 检查酶的含量及存在, 不能直接用重量或体积来表示, 常用它催化某一特定反应的能力来表示, 即用酶的活力来表示, 因此酶活力的测定实际上就是酶的定量测定。
14. 错: K_m 值可以近似地反应酶与底物亲和力, K_m 越低, 亲和力越高, 因此已糖激酶对葡萄糖的亲和力更高。

15. 对： K_m 是酶的特征常数之一，一般只与酶的性质有关，与酶浓度无关。不同的酶， K_m 值不同。
16. 错： K_m 作为酶的特征常数，只是对一定的底物、一定的 pH 值、一定的温度条件而言。
17. 错：见上题，同一种酶有几种底物就有几种 K_m 值，其中 K_m 值最小的底物一般称为酶的最适底物。
18. 对。
19. 对：当 $[S] \gg K_m$ 时， V 趋向于 V_{max} ，因此 $v = K_3[E]$ ，所以可以通过增加 $[E]$ 来增加 V 。
20. 错：酶的最适 pH 值有时因底物种类、浓度及缓冲液成分不同而不同，并不是一个常数。
21. 错：酶最适温度与酶的作用时间有关，作用时间越长，则最适温度低，作用时间短，则最适温度高。
22. 对：金属离子作为酶的激活剂，有的可以相互取代，如 Mg^{2+} 作为激酶等的激活剂可以被 Mn^{2+} 取代；有的可以相互拮抗，如 Na^+ 抑制 K^+ 的激活作用。
23. 对：不可逆抑制剂通常以比较牢固的共价键与酶结合，而使酶失活，不能用透析、超滤等物理方法除去抑制剂而恢复酶的活性，因此增加不可逆抑制剂的浓度，可以实现酶活性的完全抑制。
24. 错：竞争性可逆抑制剂可以与酶的底物结合在酶的另一部位，也可以与酶的底物结合在酶的不同部位，由于空间位阻或构象改变的原因而不能同时结合。
25. 错：因为不知道纯化前后的比活分别是多少，因此无法计算比活的提高倍数。
36. 错：酶反应的最适 pH 值不仅取决于酶蛋白本身的结构，还与底物种类、浓度及缓冲液成分有关。
27. 错：B 族维生素中维生素 B_3 不含环状结构，其余都是杂环化合物。
28. 对：所有 B 族维生素都可以作为辅酶或辅酶的组分参与代谢。
29. 错：维生素 K 可以作为 γ -羟化酶的辅酶，促进凝血。
30. 对：如酵母的生长需要维生素 B_6 等，植物的生长也有需要维生素的现象。
31. 对：如豌豆子叶可以合成维生素 C，供整体使用；去除子叶后，则豌豆子叶生长不良。
32. 错：维生素 E 极易被氧化，因此可做抗氧化剂。

(六) 问答题及计算题 (解题要点)

1. 答：(1) 酶能被酸、碱及蛋白酶水解，水解的最终产物都是氨基酸，证明酶是由氨基酸组成的。
- (2) 酶具有蛋白质所具有的颜色反应，如双缩脲反应、茚三酮反应、米伦反应、乙醛酸反应。

- (3) 一切能使蛋白质变性的因素,如热、酸碱、紫外线等,同样可以使酶变性失活。
- (4) 酶同样具有蛋白质所具有的大分子性质,如不能通过半透膜、可以电泳等。
- (5) 酶同其他蛋白质一样是两性电解质,并有一定的等电点。

总之,酶是由氨基酸组成的,与其他已知的蛋白质有着相同的理化性质,所以酶的化学本质是蛋白质。

2. 答:(1) 共性:用量少而催化效率高;仅能改变化学反应的速度,不改变化学反应的平衡点,酶本身在化学反应前后也不改变;可降低化学反应的活化能。
(2) 个性:酶作为生物催化剂的特点是催化效率更高,具有高度的专一性,容易失活,活力受条件的调节控制,活力与辅助因子有关。
3. (1) 1982年,美国的 T.Cech 发现原生动物的四膜虫的 26S rRNA 前体能够在完全没有蛋白质的情况下,自我加工、拼接,得到成熟的 rRNA。
(2) 1983年, S.Atman 和 Pace 实验室研究 RNase P 时发现,将 RNase P 的蛋白质与 RNA 分离,分别测定,发现蛋白质部分没有催化活性,而 RNA 部分具有与全酶相同的催化活性。
(3) 1986年, T.Cech 发现在一定条件下, L19 RNA 可以催化 Poly C 的切割与连接。
4. 答:(1) 绝对专一性;(2) 相对专一性(族专一性);(3) 相对专一性(键专一性);
(4) 立体专一性(旋光异构专一性);(5) 立体专一性(顺反异构专一性);(6) 立体专一性(识别从化学角度看完全对称的两个基团)。
5. 答:(1) 蛋白浓度= $0.2 \times 6.25\text{mg}/2\text{mL}=0.625\text{mg/mL}$;
(2) 比活力= $(1500/60 \times 1\text{ml}/0.1\text{mL}) \times 0.625\text{mg/mL}=400\text{U/mg}$;
(3) 总蛋白= $0.625\text{mg/mL} \times 1000\text{mL}=625\text{mg}$;
(4) 总活力= $625\text{mg} \times 400\text{U/mg}=2.5 \times 10^5\text{U}$ 。
6. 答:(1) $V \sim [S]$ 图是双曲线的一支,可以通过其渐近线求 V_{\max} , $V=1/2V_{\max}$ 时对应的 $[S]$ 为 K_m ;优点是直观,缺点是实际上测定时不容易达到 V_{\max} ,所以测不准。
(2) $1/V \sim 1/[S]$ 图是一条直线,它与纵轴的截距为 $1/V_{\max}$,与横轴的截距为 $-1/K_m$,优点是使用方便, V_{\max} 和 K_m 都容易求,缺点是实验得到的点一般集中在直线的左端,作图时直线斜率稍有偏差, K_m 就求不准。
(3) $V \sim V/[S]$ 图也是一条直线,它与纵轴的截距为 V_{\max} ,与横轴的截距为 V_{\max}/K_m ,斜率即为 $-K_m$,优点是求 K_m 比较方便,缺点是作图前计算较繁。
(4) $[S]/V \sim [S]$ 图也是一条直线,它与纵轴的截距为 K_m/V_{\max} ,与横轴的截距为 $-K_m$,优缺点与 $V \sim V/[S]$ 图相似。
(5) 直接线性作图法是一组交于一点的直线,交点的横坐标为 K_m ,纵坐标为 V_{\max} ,是求 V_{\max} 和 K_m 的最好的一种方法,不需计算,作图方便,结果准确。
7. 答:(1) 一些肠道寄生虫如蛔虫等可以产生胃蛋白酶和胰蛋白酶的抑制剂,使它在动物体内不致被消化。

- (2) 蚕豆等某些植物种子含有胰蛋白酶抑制剂，煮熟后胰蛋白酶抑制剂被破坏，否则食用后抑制胰蛋白酶活性，影响消化，引起不适。
8. 答：作 $1/V \sim 1/[S]$ 图，可知是竞争性可逆抑制剂。
9. 答：(1) 酶量 (mmol) = $1.2 \times 5 / 150\,000 = 4.0 \times 10^{-5}$ mmol；
 (2) 碘乙酰胺量 (mmol) = $3.0 \times 10^{-2} / 185 = 1.6 \times 10^{-4}$ mmol，所以酶的催化亚基数为 4。
10. 答：据 $V \sim [S]$ 的米氏曲线，当底物浓度大大低于 K_m 值时，酶不能被底物饱和，从酶的利用角度而言，很不经济；当底物浓度大大高于 K_m 值时，酶趋于被饱和，随底物浓度改变，反应速度变化不大，不利于反应速度的调节；当底物浓度在 K_m 值附近时，反应速度对底物浓度的变化较为敏感，有利于反应速度的调节。
11. 答：底物与别构酶的结合，可以促进随后的底物分子与酶的结合，同样竞争性抑制剂与酶的底物结合位点结合，也可以促进底物分子与酶的其他亚基的进一步结合，因此低浓度的抑制剂可以激活某些别构酶。
12. 答：(1) 当 $[S] = K_m$ 时， $V = 1/2 V_{max}$ ，则 $V_{max} = 2 \times 35 = 70 \mu\text{mol}/\text{min}$ ；
 (2) 因为 $V = V_{max} / (1 + K_m/[s])$ ，所以 $K_m = (V_{max}/V - 1)[s] = 1.5 \times 10^{-5} \text{mol}/\text{L}$ ；
 (3) 因为 $[S] \gg K_m, [I]$ ，所以 $V = V_{max} = 70 \mu\text{mol}/\text{min}$ ；
 (4) $V = V_{max} / (1 + [I]/K_i) = 40 \mu\text{mol}/\text{min}$ 。
13. 答：酶蛋白分子中组氨酸的侧链咪唑基 pK 值为 6.0~7.0，在生理条件下，一半解离，一半不解离，因此既可以作为质子供体（不解离部分），又可以作为质子受体（解离部分），既是酸，又是碱，可以作为广义酸碱共同催化反应，因此常参与构成酶的活性中心。
14. 答：(A) (3) ()；
 (B) (4) (), ()；
 (C) (7) ()；
 (D) (1) ()；
 (E) (2) (), ()；
 (F) (5) (), ()；
 (G) (6)。

第四章 生物氧化与氧化磷酸化

一、知识要点

生物氧化的实质是脱氢、失电子或与氧结合，消耗氧生成 CO_2 和 H_2O ，与体外有机物的化学氧化（如燃烧）相同，释放总能量都相同。生物氧化的特点是：作用条件温和，通常在常温、常压、近中性 pH 及有水环境下进行；有酶、辅酶、电子传递体参与，在氧化还原过程中逐步放能，放出能量大多转换为 ATP 分子中活跃化学能，供生物体利用。体外燃烧则是在高温、干燥条件下进行的剧烈游离基反应，能量爆发释放，并且释放的能量转为光、热散失于环境中。

（一）氧化还原电势和自由能变化

1. 自由能

生物氧化过程中发生的生化反应的能量变化与一般化学反应一样可用热力学上的自由能变化来描述。自由能（free energy）是指一个体系的总能量中，在恒温恒压条件下能够做功的那一部分能量，又称为 Gibbs 自由能，用符号 G 表示。物质中的自由能（ G ）含量是不易测定的，但化学反应的自由能变化（ ΔG ）是可以测定的。 ΔG 很有用，它表示从某反应可以得到多少有用功，也是衡量化学反应的自发性的标准。例如，物质 A 转变为物质 B 的反应：



$$G = G_B - G_A$$

当 ΔG 为负值时，是放能反应，可以产生有用功，反应可自发进行；若 ΔG 为正值时，是吸能反应，为非自发反应，必须供给能量反应才可进行，其逆反应是自发的。

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[A]}{[B]}$$

如果 $\Delta G = 0$ 时，表明反应体系处于动态平衡状态。此时，平衡常数为 K_{eq} ，由已知的 K_{eq} 可求得 ΔG° ：

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$

2. 氧化还原电势

在氧化还原反应中，失去电子的物质称为还原剂，得到电子的物质称为氧化剂。还原剂失去电子的倾向（或氧化剂得到电子的倾向）的大小，则称为氧化还原电势。将任何一对氧化还原物质的氧化还原对连在一起，都有氧化还原电位的

产生。如果将氧化还原物质与标准氢电极组成原电池，即可测出氧化还原电势。标准氧化还原电势用 E° 表示。 E° 值愈大，获得电子的倾向愈大； E° 愈小，失去电子的倾向愈大。

3. 氧化还原电势与自由能的关系

在一个氧化还原反应中，可从反应物的氧化电势 E° ，计算出这个氧化还原反应的自由能变化 (ΔG)。 ΔG 与氧化还原电势的关系如下：

$$\Delta G = - nF E^{\circ}$$

n 表示转移的电子数， F 为法拉第常数 (1 法拉第 = 96485 库仑 / 摩尔)。 E° 的单位为伏特， ΔG 的单位为焦耳 / 摩尔。当 E° 为正值时， ΔG 为负值，是放能反应，反应能自发进行。 E° 为负值时， ΔG 为正值，是吸能反应，反应不能自发进行。

(二) 高能磷酸化合物

生物体内有许多磷酸化合物，其磷酸基团水解时可释放出 20.92kJ / mol 以上自由能的化合物称为高能磷酸化合物。按键型的特点可分为：

1. 磷氧键型：焦磷酸化合物如腺三磷 (ATP) 是高能磷酸化合物的典型代表。ATP 磷酸酐键水解时，释放出 30.54kJ / mol 能量，它有两个高能磷酸键，在能量转换中极为重要；酰基磷酸化合物如 1,3 二磷酸甘油酸以及烯醇式磷酸化合物如磷酸烯醇式丙酮酸都属此类。

2. 磷键型化合物如磷酸肌酸、磷酸精氨酸。

3. 酯键型化合物如乙酰辅酶 A。

4. 甲硫键型化合物如 S-腺苷甲硫氨酸。

此外，脊椎动物中的磷酸肌酸和无脊椎动物中的磷酸精氨酸，是 ATP 的能量贮存库，作为贮能物质又称为磷酸原。

(三) 电子传递链

电子传递链是在生物氧化中，底物脱下的氢 ($H^+ + e^-$)，经过一系列传递体传递，最后与氧结合生成 H_2O 的电子传递系统，又称呼吸链。呼吸链上电子传递载体的排列是有一定顺序和方向的，电子传递的方向是从氧化电势较负的化合物流向氧化电势较正的化合物，直到氧。氧是氧化电势最高的受体，最后氧被还原成水。

电子传递链在原核细胞存在于质膜上，在真核细胞存在于线粒体的内膜上。线粒体内膜上的呼吸链有 NADH 呼吸链和 $FADH_2$ 呼吸链。

1. 构成电子传递链的电子传递体成员分五类：

(1) 烟酰胺核苷酸 (NAD^+) 多种底物脱氢酶以 NAD^+ 为辅酶，接受底物上脱下的氢成为还原态的 $NADH^+ + H^+$ ，是氢 (H^+ 和 e^-) 传递体。

(2) 黄素蛋白 黄素蛋白以 FAD 和 FMN 为辅基，接受 $NADH^+ + H^+$ 或底

物（如琥珀酸）上的质子和电子，形成 FADH_2 或 FMNH_2 ，传递质子和电子。

（3）铁硫蛋白或铁硫中心 也称非血红素蛋白，是单电子传递体，氧化态为 Fe^{3+} ，还原态为 Fe^{2+} 。

（4）辅酶 Q 又称泛醌，是脂溶性化合物。它不仅能接受脱氢酶的氢，还能接受琥珀酸脱氢酶等的氢（ $\text{H}^+ + \text{e}^-$ ）。是处于电子传递链中心地位的载氢体。

（5）细胞色素类是含铁的单电子传递载体。铁原子处于卟啉的中心，构成血红素。它是细胞色素类的辅基。细胞色素类是呼吸链中将电子从辅酶 Q 传递到氧的专一酶类。线粒体的电子至少含有 5 种不同的细胞色素（即 b、c、 c_1 、 a 、 a_3 ）。通过实验证明，它们在电子传递链上电子传递的顺序是 b c_1 c aa_3 ，细胞色素 aa_3 以复合物形式存在，称为细胞色素氧化酶。是电子传递链中最末端的载体，所以又称末端氧化酶。

2. 电子传递抑制剂

能够阻断呼吸链中某一部位电子传递的物质称为电子传递抑制剂。常用的抑制剂有：

（1）鱼藤酮：阻断电子由 NADH 向 CoQ 的传递。它是一种极毒的植物物质，常用作杀虫剂。

（2）抗霉素 A：能阻断电子从 Cytb 到 Cytc_1 的传递。

（3）氰化物、硫化氢、叠氮化物、 CO 能阻断电子由 Cytaa_3 到氧的传递。

由于这三个部位的电子流被阻断，因此，也抑制了磷酸化的进行，即不能形成 ATP 。

（四）氧化磷酸化作用

氧化磷酸化作用是需氧细胞生命活动的基础，是主要的能量来源。真核细胞是在线粒体内膜上进行。

1. 氧化磷酸化作用

高势能电子从 NADH 或 FADH_2 沿呼吸链传递给氧的过程中，所释放的能量转移给 ADP 形成 ATP ，即 ATP 的形成与电子传递相偶联，称为氧化磷酸化作用，其特点是需要氧分子参与。

氧化磷酸化作用与底物水平磷酸化作用是有区别的：底物水平磷酸化作用是指代谢底物由于脱氢或脱水，造成其分子内部能量重新分布，产生的高能键所携带的能量转移给 ADP 生成 ATP ，即 ATP 的形成直接与一个代谢中间高能磷酸化合物（如磷酸烯醇式丙酮酸、1,3-二磷酸甘油酸等）上的磷酸基团的转移相偶联，其特点是不需要分子氧参加。

2. P/O 比和磷酸化部位

磷氧比（P/O）是指一对电子通过呼吸链传递到氧所产生 ATP 的分子数。由 NADH 开始氧化脱氢脱电子，电子经过呼吸链传递给氧，生成 3 分子 ATP ，

则 P/O 比为 3。这 3 分子 ATP 是在三个部位上生成的，第一个部位是在 NADH 和 CoQ 之间，第二个部位是在 Cytb 与 Cyt_{c1} 之间；第三个部位是在 Cytaa₃ 和氧之间。如果从 FADH₂ 开始氧化脱氢脱电子，电子经过呼吸链传递给氧，只能生成 2 分子 ATP，其 P/O 比为 2。

3. 氧化磷酸化的解偶联作用

(1) 氧化磷酸化的解偶联作用 在完整线粒体内，电子传递与磷酸化是紧密偶联的，当使用某些试剂而导致的电子传递与 ATP 形成这两个过程分开，只进行电子传递而不能形成 ATP 的作用，称为解偶联作用。

(2) 氧化磷酸化的解偶联剂 能引起解偶联作用的试剂称为解偶联剂，解偶联作用的实质是解偶联剂消除电子传递中所产生的跨膜质子浓度或电位梯度，只有电子传递而不产生 ATP。

(3) 解偶联剂种类 典型的解偶联剂是化学物质 2,4-二硝基苯酚 (DNP)，DNP 具弱酸性，在不同 pH 环境可结合 H⁺ 或释放 H⁺；并且 DNP 具脂溶性，能透过磷脂双分子层，使线粒体内膜外侧的 H⁺ 转移到内侧，从而消除 H⁺ 梯度。此外，离子载体如由链霉素产生的抗菌素 缬氨霉素，具脂溶性，能与 K⁺ 离子配位结合，使线粒体膜外的 K⁺ 转运到膜内而消除跨膜电位梯度。另外还有存在于某些生物细胞线粒体内膜上的天然解偶联蛋白，该蛋白构成的质子通道可以让膜外质子经其通道返回膜内而消除跨膜的质子浓度梯度，不能生成 ATP 而产生热量使体温增加。

解偶联剂与电子传递抑制剂是不同的，解偶联剂只消除内膜两侧质子或电位梯度，不抑制呼吸链的电子传递，甚至加速电子传递，促进呼吸底物和分子氧的消耗，但不形成 ATP，只产生热量。

4. 氧化磷酸化的作用机理

与电子传递相偶联的氧化磷酸化作用机理虽研究多年，但仍不清楚。曾有三种假说试图解释其机理。这三种假说为：化学偶联假说、构象偶联假说、化学渗透假说。

(1) 化学偶联假说 认为电子传递中所释放的自由能以一个高能共价中间物形式暂时存在，随后裂解将其能量转给 ADP 以形成 ATP。但不能从呼吸链中找到高能中间物的实例。

(2) 构象偶联假说 认为电子沿呼吸链传递释放的自由能使线粒体内膜蛋白质发生构象变化而形成一种高能形式暂时存在。这种高能形式将能量转给 F₀F₁-ATP 酶分子使之发生构象变化，F₀F₁-ATP 酶复原时将能量转给 ADP 形成 ATP。

(3) 化学渗透假说 该假说由英国生物化学家 Peter Mitchell 提出的。他认为电子传递的结果将 H⁺ 从线粒体内膜上的内侧“泵”到内膜的外侧，于是在内

膜内外两侧产生了 H^+ 的浓度梯度。即内膜的外侧与内膜的内侧之间含有一种势能，该势能是 H^+ 返回内膜内侧的一种动力。 H^+ 通过 F_0F_1 -ATP 酶分子上的特殊通道又流回内膜的内侧。当 H^+ 返回内膜内侧时，释放出自由能的反应和 ATP 的合成反应相偶联。该假说目前得到较多人的支持。

实验证明氧化磷酸化作用的进行需要完全的线粒体内膜存在。当用超声波处理线粒体时，可将线粒体内膜嵴打成片段：有些片段的嵴膜又重新封闭起来形成泡状体，称为亚线粒体泡（内膜变为翻转朝外）。这些亚线粒体泡仍具有进行氧化磷酸化作用的功能。在囊泡的外面可看到 F_1 球状体。用尿素或胰蛋白酶处理这些囊泡时，内膜上的球体 F_1 脱下， F_0 留在膜上。这种处理过的囊泡仍具有电子传递链的功能，但失去合成 ATP 的功能。当将 F_1 球状体再加回到只有 F_0 的囊泡时，氧化磷酸化作用又恢复。这一实验说明线粒体内膜嵴上的酶（ F_0 ）起电子传递的作用，而其上的 F_1 是形成 ATP 的重要成分， F_0 和 F_1 是一种酶的复合体。

5. 能荷

细胞中存在三种腺苷酸即 AMP、ADP、ATP，称为腺苷酸库。在细胞中 ATP、ADP 和 AMP 在某一时间的相对数量控制着细胞活动。Atkinson 提出了能荷的概念。认为能荷是细胞中高能磷酸状态的一种数量上的衡量，能荷大小可以说明生物体中 ATP-ADP-AMP 系统的能量状态。

$$\text{能荷} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2} [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

可看出，能荷的大小决定于 ATP 和 ADP 的多少。能荷的从 0 到 1.0，当细胞中都是 ATP 时，能荷为 1.0。此时，可利用的高能磷酸键数量最大。都为 ADP 时，能荷为 0.5，系统中有一半的高能磷酸键。都为 AMP 时，能荷为 0，此时无高能磷酸化合物存在。实验证明能荷高时可抑制 ATP 的生成，却促进 ATP 的利用。也就是说，能荷高可促进合成代谢而抑制分解代谢，相反，能荷低则促进分解代谢而抑制合成代谢。

能荷调节是通过 ATP、ADP 和 AMP 分子对某些酶分子进行变构调节来实现的。

5、线粒体的穿梭系统

真核生物在细胞质中进行糖酵解时所生成的 NADH 是不能直接透过线粒体内膜被氧化的，但是 $NADH + H^+$ 上的质子可以通过一个穿梭的间接途径而进入电子传递链。3-磷酸甘油的穿梭过程是最早发现的。其过程是胞质中 $NADH + H^+$ 在 3-磷酸甘油脱氢酶作用下与磷酸二羟丙酮反应生成 3-磷酸甘油。3-磷酸甘油可进入线粒体，在线粒体内膜上的 3-磷酸甘油脱氢酶（辅基为 FAD）作用下，生成磷酸二羟丙酮和 $FADH_2$ 。磷酸二羟丙酮透出线粒体，继续作为氢的受体，

FADH₂ 将氢传递给 CoQ 进入呼吸链氧化，这样只能产生 2 分子 ATP。

在动物的肝、肾及心脏的线粒体存在另一种穿梭方式，即草酰乙酸-苹果酸穿梭。这种方式在胞液及线粒体内的脱氢酶辅酶都是 NAD⁺，所以胞液中的 NADH+H⁺ 到达线粒体内又生成 NADH + H⁺。从能量产生来看，草酰乙酸-苹果酸穿梭优于 β -磷酸甘油穿梭机制；但 β -磷酸甘油穿梭机制比草酰乙酸-苹果酸穿梭速度要快很多。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 生物氧化 (biological oxidation)
2. 呼吸链 (respiratory chain)
3. 氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation)
4. 磷氧比 P/O (P/O)
5. 底物水平磷酸化 (substrate level phosphorylation)
6. 能荷 (energy charge)

(二) 填空题

1. 生物氧化有 3 种方式：_____、_____和_____。
2. 生物氧化是氧化还原过程，在此过程中有_____、_____和_____ 参与。
3. 原核生物的呼吸链位于_____。
4. G^0' 为负值是_____反应，可以_____进行。
5. G^0' 与平衡常数的关系式为_____，当 $K_{eq} = 1$ 时， G^0' 为_____。
6. 生物分子的 E_0' 值小，则电负性_____，供出电子的倾向_____。
7. 生物体内高能化合物有_____、_____、_____、_____、_____、_____等类。
8. 细胞色素 a 的辅基是_____与蛋白质以_____键结合。
9. 在无氧条件下，呼吸链各传递体都处于_____状态。
10. NADH 呼吸链中氧化磷酸化的偶联部位是_____、_____、_____。
11. 磷酸甘油与苹果酸经穿梭后进入呼吸链氧化，其 P/O 比分别为_____和_____。
12. 举出三种氧化磷酸化解偶联剂_____、_____、_____。
13. 举出 4 种生物体内的天然抗氧化剂_____、_____、_____、_____。
14. 举出两例生物细胞中氧化脱羧反应_____、_____。

15. 生物氧化是_____在细胞中_____, 同时产生_____的过程。
16. 反应的自由能变化用_____表示, 标准自由能变化用_____表示, 生物化学中 pH 7.0 时的标准自由能变化则表示为_____。
17. 高能磷酸化合物通常指水解时_____的化合物, 其中最重要的是_____, 被称为能量代谢的_____。
18. 真核细胞生物氧化的主要场所是_____, 呼吸链和氧化磷酸化偶联因子都定位于_____。
19. 以 NADH 为辅酶的脱氢酶类主要是参与_____作用, 即参与从_____到_____电子传递作用; 以 NADPH 为辅酶的脱氢酶类主要是将分解代谢中间产物上的_____转移到_____反应中需电子的中间物上。
20. 在呼吸链中, 氢或电子从_____的载体依次向_____的载体传递。
21. 线粒体氧化磷酸化的重组实验证实了线粒体内膜含有_____, 内膜小瘤含有_____。
22. 鱼藤酮, 抗霉素 A, CN^- 、 N_3^- 、CO, 的抑制作用分别是_____, _____, 和_____。
23. 磷酸源是指_____。脊椎动物的磷酸源是_____, 无脊椎动物的磷酸源是_____。
24. H_2S 使人中毒机理是_____。
25. 线粒体呼吸链中电位跨度最大的一步是在_____。
26. 典型的呼吸链包括_____和_____两种, 这是根据接受代谢物脱下的氢的_____不同而区别的。
27. 解释氧化磷酸化作用机制被公认的学说是_____, 它是英国生物化学家_____于 1961 年首先提出的。
28. 化学渗透学说主要论点认为: 呼吸链组分定位于_____内膜上。其递氢体有_____作用, 因而造成内膜两侧的_____差, 同时被膜上_____合成酶所利用、促使 $\text{ADP} + \text{Pi} \rightarrow \text{ATP}$
29. 每对电子从 FADH_2 转移到_____必然释放出 2 个 H^+ 进入线粒体基质中。
30. 细胞色素 aa_3 辅基中的铁原子有_____结合配位键, 它还保留_____游离配位键, 所以能和_____结合, 还能和_____, _____结合而受到抑制。
31. 体内 CO_2 的生成不是碳与氧的直接结合, 而是_____。
32. 线粒体内膜外侧的 磷酸甘油脱氢酶的辅酶是_____; 而线粒体内膜内侧的 磷酸甘油脱氢酶的辅酶是_____。
33. 动物体内高能磷酸化合物的生成方式有_____和_____两种。
34. 在离体的线粒体实验中测得 羟丁酸的磷氧比值 (P/O) 为 2.4~2.8, 说明 羟丁酸氧化时脱下来的 2H 是通过_____呼吸链传递给 O_2 的; 能生成_____分子

ATP。

(三) 选择题

1. 如果质子不经过 F_1 / F_0 -ATP 合成酶回到线粒体基质, 则会发生:
A. 氧化 B. 还原 C. 解偶联、 D. 紧密偶联
2. 离体的完整线粒体中, 在有可氧化的底物存时下, 加入哪一种物质可提高电子传递和氧气摄入量:
A. 更多的 TCA 循环的酶 B. ADP C. $FADH_2$ D. NADH
3. 下列氧化还原系统中标准氧化还原电位最高的是:
A. 延胡索酸琥珀酸 B. $CoQ / CoQH_2$
C. 细胞色素 a (Fe^{2+} / Fe^{3+}) D. $NAD^+ / NADH$
4. 下列化合物中, 除了哪一种以外都含有高能磷酸键:
A. NAD^+ B. ADP C. NADPH D. FMN
5. 下列反应中哪一步伴随着底物水平的磷酸化反应:
A. 苹果酸 草酰乙酸 B. 甘油酸 -1,3 -二磷酸 甘油酸 -3 磷酸
C. 柠檬酸 酮戊二酸 D. 琥珀酸 延胡索酸
6. 乙酰 CoA 彻底氧化过程中的 P/O 值是:
A. 2.0 B. 2.5 C. 3.0 D. 3.5
7. 肌肉组织中肌肉收缩所需要的大部分能量以哪种形式贮存:
A. ADP B. 磷酸烯醇式丙酮酸 C. ATP D. 磷酸肌酸
8. 呼吸链中的电子传递体中, 不是蛋白质而是脂质的组分为:
A. NAD^+ B. FMN C. CoQ D. Fe S
9. 下述哪种物质专一性地抑制 F_0 因子:
A. 鱼藤酮 B. 抗霉素 A C. 寡霉素 D. 缬氨霉素
10. 胞浆中 1 分子乳酸彻底氧化后, 产生 ATP 的分子数:
A. 9 或 10 B. 11 或 12 C. 15 或 16 D. 17 或 18
11. 下列不是催化底物水平磷酸化反应的酶是:
A. 磷酸甘油酸激酶 B. 磷酸果糖激酶
C. 丙酮酸激酶 D. 琥珀酸硫激酶
12. 在生物化学反应中, 总能量变化符合:
A. 受反应的能障影响 B. 随辅因子而变
C. 与反应物的浓度成正比 D. 与反应途径无关
13. 在下列的氧化还原系统中, 氧化还原电位最高的是:
A. $NAD^+ / NADH$ B. 细胞色素 a (Fe^{3+}) / 细胞色素 a (Fe^{2+})
C. 延胡索酸/琥珀酸 D. 氧化型泛醌/还原型泛醌

14. 二硝基苯酚能抑制下列细胞功能的是：
 A. 糖酵解 B. 肝糖异生 C. 氧化磷酸化 D. 柠檬酸循环
15. 活细胞不能利用下列哪些能源来维持它们的代谢：
 A. ATP B. 糖 C. 脂肪 D. 周围的热能
16. 如果将琥珀酸(延胡索酸/琥珀酸氧化还原电位 + 0.03V)加到硫酸铁和硫酸亚铁(高铁/亚铁氧化还原电位 + 0.077V)的平衡混合液中,可能发生的变化是：
 A. 硫酸铁的浓度将增加 B. 硫酸铁的浓度和延胡索酸的浓度将增加
 C. 高铁和亚铁的比例无变化 D. 硫酸亚铁和延胡索酸的浓度将增加
17. 下列关于化学渗透学说的叙述哪一条是不对的：
 A. 吸链各组分按特定的位置排列在线粒体内膜上
 B. 各递氢体和递电子体都有质子泵的作用
 C. H^+ 返回膜内时可以推动 ATP 酶合成 ATP
 D. 线粒体内膜外侧 H^+ 不能自由返回膜内
18. 关于有氧条件下, NADH 从胞液进入线粒体氧化的机制, 下列描述中正确的是：
 A. NADH 直接穿过线粒体膜而进入
 B. 磷酸二羟丙酮被 NADH 还原成 3-磷酸甘油进入线粒体, 在内膜上又被氧化成磷酸二羟丙酮同时生成 NADH
 C. 草酰乙酸被还原成苹果酸, 进入线粒体再被氧化成草酰乙酸, 停留于线粒体内
 D. 草酰乙酸被还原成苹果酸进入线粒体, 然后再被氧化成草酰乙酸, 再通过转氨基作用生成天冬氨酸, 最后转移到线粒体外
19. 胞浆中形成 $NADH+H^+$ 经苹果酸穿梭后, 每摩尔产生 ATP 的摩尔数是：
 A. 1 B. 2 C. 3 D. 4
20. 呼吸链的各细胞色素在电子传递中的排列顺序是：
 A. c_1 b c aa_3 Q; B. c c_1 b aa_3 Q;
 C. c_1 c b aa_3 Q; D. b c_1 c aa_3 Q;

(四) 是非判断题

- () 1. NADH 在 340nm 处有吸收峰, NAD^+ 没有, 利用这个性质可将 NADH 与 NAD^+ 区分开来。
- () 2. 琥珀酸脱氢酶的辅基 FAD 与酶蛋白之间以共价键结合。
- () 3. 生物氧化只有在氧气的存在下才能进行。
- () 4. NADH 和 NADPH 都可以直接进入呼吸链。
- () 5. 如果线粒体内 ADP 浓度较低, 则加入 DNP 将减少电子传递的速率。
- () 6. 磷酸肌酸、磷酸精氨酸等是高能磷酸化合物的贮存形式, 可随时转化为 ATP 供机体利用。

- () 7. 解偶联剂可抑制呼吸链的电子传递。
- () 8. 电子通过呼吸链时，按照各组分子氧还电势依次从还原端向氧化端传递。
- () 9. NADPH / NADP⁺的氧还势稍低于 NADH / NAD⁺，更容易经呼吸链氧化。
- () 10. 寡霉素专一地抑制线粒体 F₁F₀-ATPase 的 F₀，从而抑制 ATP 的合成。
- () 11. ADP 的磷酸化作用对电子传递起限速作用。
- () 12. ATP 虽然含有大量的自由能，但它并不是能量的贮存形式。

(五) 完成反应方程式

1. 4-细胞色素 a₃-Fe²⁺ + O₂ + 4H⁺ → 4-细胞色素 a₃-Fe³⁺ + ()
催化此反应的酶是：()
2. NADH + H⁺ + 0.5O₂ + 3ADP + () → NAD⁺ + 3ATP + 4H₂O

(六) 问答题 (解题要点)

1. 常见的呼吸链电子传递抑制剂有哪些？它们的作用机制是什么？
2. 氰化物为什么能引起细胞窒息死亡？其解救机理是什么？
3. 在磷酸戊糖途径中生成的 NADPH，如果不去参加合成代谢，那么它将如何进一步氧化？
4. 在体内 ATP 有哪些生理作用？
5. 有人曾经考虑过使用解偶联剂如 2,4 -二硝基苯酚 (DNP) 作为减肥药，但很快就被放弃使用，为什么？
6. 某些植物体内出现对氰化物呈抗性的呼吸形式，试提出一种可能的机制。
7. 什么是铁硫蛋白？其生理功能是什么？
8. 何为能荷？能荷与代谢调节有什么关系？
9. 氧化作用和磷酸化作用是怎样偶联的？

三、习题解答

(一) 名词解释

1. 生物氧化：生物体内有机物质氧化而产生大量能量的过程称为生物氧化。生物氧化在细胞内进行，氧化过程消耗氧放出二氧化碳和水，所以有时也称之为“细胞呼吸”或“细胞氧化”。生物氧化包括：有机碳氧化变成 CO₂；底物氧化脱氢、氢及电子通过呼吸链传递、分子氧与传递的氢结成水；在有机物被氧化成 CO₂ 和 H₂O 的同时，释放的能量使 ADP 转变成 ATP。

2. 呼吸链：有机物在生物体内氧化过程中所脱下的氢原子，经过一系列有严格排列顺序的传递体组成的传递体系进行传递，最终与氧结合生成水，这样的电子或氢原子的传递体系称为呼吸链或电子传递链。电子在逐步的传递过程中释放出能量被用于合成 ATP，以作为生物体的能量来源。
3. 氧化磷酸化：在底物脱氢被氧化时，电子或氢原子在呼吸链上的传递过程中伴随 ADP 磷酸化生成 ATP 的作用，称为氧化磷酸化。氧化磷酸化是生物体内的糖、脂肪、蛋白质氧化分解合成 ATP 的主要方式。
4. 磷氧比：电子经过呼吸链的传递作用最终与氧结合生成水，在此过程中所释放的能量用于 ADP 磷酸化生成 ATP。经此过程消耗一个原子的氧所要消耗的无机磷酸的分子数（也是生成 ATP 的分子数）称为磷氧比值（P/O）。如 NADH 的磷氧比值是 3，FADH₂ 的磷氧比值是 2。
5. 底物水平磷酸化：在底物被氧化的过程中，底物分子内部能量重新分布产生高能磷酸键（或高能硫酯键），由此高能键提供能量使 ADP（或 GDP）磷酸化生成 ATP（或 GTP）的过程称为底物水平磷酸化。此过程与呼吸链的作用无关，以底物水平磷酸化方式只产生少量 ATP。
如在糖酵解（EMP）的过程中，3-磷酸甘油醛脱氢后产生的 1,3-二磷酸甘油酸，在磷酸甘油激酶催化下形成 ATP 的反应，以及在 2-磷酸甘油酸脱水后产生的磷酸烯醇式丙酮酸，在丙酮酸激酶催化形成 ATP 的反应均属底物水平的磷酸化反应。另外，在三羧酸环（TCA）中，也有一步反应属底物水平磷酸化反应，如 酮戊二酸经氧化脱羧后生成高能化合物琥珀酰 ~ CoA，其高能硫酯键在琥珀酰 CoA 合成酶的催化下转移给 GDP 生成 GTP。然后在核苷二磷酸激酶作用下，GTP 又将末端的高能磷酸根转给 ADP 生成 ATP。
6. 能荷：能荷是细胞中高能磷酸状态的一种数量上的衡量，能荷大小可以说明生物体中 ATP-ADP-AMP 系统的能量状态。

$$\text{能荷} = \frac{[\text{ATP}] + \frac{1}{2} [\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]}$$

（二）填空题

1. 脱氢；脱电子；与氧结合
2. 酶；辅酶；电子传递体
3. 细胞质膜上
4. 放能；自发进行
5. $G^{\circ} = -RT \ln K'_{eq} ; 0$
6. 大；大
7. 焦磷酸化合物；酰基磷酸化合物；烯醇磷酸化合物；胍基磷酸化合物；硫酯化合物；

甲硫键化合物

8. 血红素 A ; 非共价
9. 还原
10. 复合物 I ; 复合物 II ; 复合物 III
11. 2 ; 3
12. 2,4-二硝基苯酚 ; 缬氨霉素 ; 解偶联蛋白
13. 维生素 E ; 维生素 C ; GSH ; β -胡萝卜素
14. 丙酮酸脱氢酶 ; 异柠檬酸脱氢酶 ;
15. 燃料分子 ; 分解氧化 ; 可供利用的化学能
16. G^- ; G^- ; G^-
17. 释放的自由能大于 20.92kJ/mol ; ATP ; 即时供体
18. 线粒体 ; 线粒体内膜上
19. 呼吸 ; 底物 ; 氧 ; 电子 ; 生物合成
20. 低氧还电势 ; 高氧还电势
21. 电子传递链的酶系 ; F_1F_0 复合体
22. NADH 和 CoQ 之间 $Cytb$ 和 $Cytc_1$ 之间 $Cytaa_3$ 和 O_2
23. 贮存能量的物质 ; 磷酸肌酸 ; 磷酸精氨酸
24. 与氧化态的细胞色素 aa_3 结合 , 阻断呼吸链
25. 细胞色素 aa_3 O_2
26. NADH ; $FADH_2$; 初始受体
27. 化学渗透学说 ; 米切尔 (Mitchell)
28. 线粒体 ; 质子泵 ; 氧化还原电位 ; ATP
29. CoQ
30. 5个 ; 1个 ; O_2 ; CO ; CN^- 。
31. 有机酸脱羧生成的
32. NAD ; FAD
33. 氧化磷酸化 ; 底物水平磷酸化
34. NADH 呼吸链 ; 3个分子 ATP

(三) 选择题

1. C : 当质子不通过 F_0 进入线粒体基质的时候 , ATP 就不能被合成 , 但电子照样进行传递 , 这就意味着发生了解偶联作用。
2. B : ADP 作为氧化磷酸化的底物 , 能够刺激氧化磷酸化的速率 , 由于细胞内氧化磷酸化与电子传递之间紧密的偶联关系 , 所以 ADP 也能刺激电子的传递和氧气的消耗。

3. C: 电子传递的方向是从标准氧化还原电位低的成分到标准氧化还原电位高的成分, 细胞色素 a ($\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$) 最接近呼吸链的末端, 因此它的标准氧化还原电位最高。
4. D: NAD^+ 和 NADPH 的内部都含有 ADP 基团, 因此与 ADP 一样都含有高能磷酸键, 烯醇式丙酮酸磷酸也含有高能磷酸键, 只有 FMN 没有高能磷酸键。
5. B: 甘油酸-1,3-二磷酸 甘油酸-3-磷酸是糖酵解中的一步反应, 此反应中有 ATP 的合成。
6. C: 乙酰 CoA 彻底氧化需要消耗两分子氧气, 即 4 个氧原子, 可产生 12 分子的 ATP, 因此 P/O 值是 $12 / 4 = 3$
7. D: 当 ATP 的浓度较高时, ATP 的高能磷酸键被转移到肌酸分子之中形成磷酸肌酸。
8. C: CoQ 含有一条由 n 个异戊二烯聚合而成的长链, 具脂溶性, 广泛存在于生物系统, 又称泛醌。
9. C: 寡霉素是氧化磷酸化抑制剂, 它能与 F_0 的一个亚基专一结合而抑制 F_1 , 从而抑制了 ATP 的合成。
10. D: 1 分子乳酸彻底氧化经过由乳酸到丙酮酸的一次脱氢、丙酮酸到乙酰 CoA 和乙酰 CoA 再经三羧酸循环的五次脱氢, 其中一次以 FAD 为受氢体, 经氧化磷酸化可产生 ATP 为 $1 \times 3 + 4 \times 3 + 1 \times 2 = 17$, 此外还有一次底物水平磷酸化产生 1 个 ATP, 因此最后产 ATP 为 18 个; 而在真核生物中, 乳酸到丙酮酸的一次脱氢是在细胞质中进行产生 NADH, 此 NADH 在经 磷酸甘油穿梭作用进入线粒体要消耗 1 分子 ATP, 因此, 对真核生物最后产 ATP 为 17 个。
11. B: 磷酸甘油酸激酶、丙酮酸激酶与琥珀酸硫激酶分别是糖酵解中及三羧酸循环中的催化底物水平磷酸化的转移酶, 只有磷酸果糖激酶不是催化底物水平磷酸化反应的酶。
12. D: 热力学中自由能是状态函数, 生物化学反应中总能量的变化不取决于反应途径。当反应体系处于平衡系统时, 实际上没有可利用的自由能。只有利用来自外部的自由能, 才能打破平衡系统。
13. B: 由于电子是从低标准氧化还原电位向高标准氧化还原电位流动, 而题目中所给的氧化还原对中, 细胞色素 a_3 ($\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$) 在氧化呼吸链中处于最下游的位置, 所以细胞色素 a_3 ($\text{Fe}^{2+} / \text{Fe}^{3+}$) 的氧化还原电位最高。
14. C: 二硝基苯酚抑制线粒体内的氧化磷酸化作用, 使呼吸链传递电子释放出的能量不能用于 ADP 磷酸化生成 ATP, 所以二硝基苯酚是一种氧化磷酸化的解偶联剂。
15. D: 脂肪、糖和 ATP 都是活细胞化学能的直接来源。阳光是最根本的能源, 光子所释放的能量被绿色植物的叶绿素通过光合作用所利用。热能只有当它从热物体向冷物体传递过程中才能做功, 它不能作为活细胞的可利用能源, 但对细胞周围的温度有影响。

16. D: 氧化还原电位是衡量电子转移的标准。延胡索酸还原成琥珀酸的氧化还原电位和标准的氢电位对比是+ 0.03V 特, 而硫酸铁 (高铁 Fe^{3+}) 还原成硫酸亚铁 (亚铁 Fe^{2+}) 的氧化还原电位是+ 0.077V 伏特, 这样高铁对电子的亲合力比延胡索酸要大。所以加进去的琥珀酸将被氧化成延胡索酸, 而硫酸铁则被还原成硫酸亚铁。延胡索酸和硫酸亚铁的量一定会增加。
17. B: 化学渗透学说指出在呼吸链中递氢体与递电子体是交替排列的, 递氢体有氢质子泵的作用, 而递电子体却没有氢质子泵的作用。
18. D: 线粒体内膜不允许 NADH 自由通过, 胞液中 NADH 所携带的氢通过两种穿梭机制被其它物质带人线粒体内。糖酵解中生成的磷酸二羟丙酮可被 NADH 还原成 3-磷酸甘油, 然后通过线粒体内膜进入到线粒体内, 此时在以 FAD 为辅酶的脱氢酶的催化下氧化, 重新生成磷酸二羟丙酮穿过线粒体内膜回到胞液中。这样胞液中的 NADH 变成了线粒体内的 FADH_2 。这种 β -磷酸甘油穿梭机制主要存在于肌肉、神经组织。
- 另一种穿梭机制是草酰乙酸-苹果酸穿梭。这种机制在胞液及线粒体内的脱氢酶辅酶都是 NAD^+ , 所以胞液中的 NADH 到达线粒体内又生成 NADH。就能量产生来看, 草酰乙酸-苹果酸穿梭优于 β -磷酸甘油穿梭机制; 但 β -磷酸甘油穿梭机制比草酰乙酸-苹果酸穿梭速度要快很多。主要存在于动物的肝、肾及心脏的线粒体中。
19. C: 胞液中的 NADH 经苹果酸穿梭到达线粒体内又生成 NADH, 因此, 1 分子 NADH 再经电子传递与氧化磷酸化生成 3 分子 ATP。
20. D: 呼吸链中各细胞色素在电子传递中的排列顺序是根据氧化还原电位从低到高排列的。

(四) 是非判断题

1. 对:
2. 对: 琥珀酸脱氢酶的辅基 FAD 与酶蛋白的一个组氨酸以共价键相连。
3. 错: 只要有合适的电子受体, 生物氧化就能进行。
4. 错: NADPH 通常作为生物合成的还原剂, 并不能直接进入呼吸链接受氧化。只是在特殊的酶的作用下, NADPH 上的 H 被转移到 NAD^+ 上, 然后由 NADH 进入呼吸链。
5. 错: 在正常的生理条件下, 电子传递与氧化磷酸化是紧密偶联的, 低浓度的 ADP 限制了氧化磷酸化, 因而就限制了电子的传递速率。而 DNP 是一种解偶联剂, 它可解除电子传递和氧化磷酸化的紧密偶联关系, 在它的存在下, 氧化磷酸化和电子传递不再偶联, 因而 ADP 的缺乏不再影响到电子的传递速率。
6. 对: 磷酸肌酸在供给肌肉能量上特别重要, 它作为储藏~P 的分子以产生收缩所需要的 ATP。当肌肉的 ATP 浓度高时, 末端磷酸基团即转移到肌酸上产生磷酸肌酸; 当 ATP 的供应因肌肉运动而消耗时, ADP 浓度增高, 促进磷酸基团向相反方向转移,

即生成 ATP。

7. 错：解偶联剂使电子传递与氧化磷酸化脱节，电子传递释放的能量以热形式散发，不能形成 ATP。
8. 对：组成呼吸链的各成员有一定排列顺序和方向，即由低氧还电位到高氧还电位方向排列。
9. 错：NADPH / NADP⁺的氧还势与 NADH / NAD⁺相同，并且 NADPH / NADP⁺通常不进入呼吸链，而主要是提供生物合成的还原剂。
10. 对：寡霉素是氧化磷酸化抑制剂，它与 F₁F₀-ATPase 的 F₀ 结合而抑制 F₁，使线粒体内膜外侧的质子不能返回膜内，造成 ATP 不能合成。
11. 对：在正常的生理条件下，电子传递与氧化磷酸化是紧密偶联的，因而 ADP 的氧化磷酸化作用就直接影响电子的传递速率。
12. 对：在生物系统中 ATP 作为自由能的即时供体，而不是自由能的储藏形式。

(五) 完成反应方程式

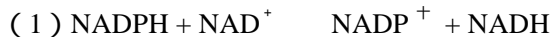
1. $4\text{-细胞色素 } a_3\text{-Fe}^{2+} + \text{O}_2 + 4\text{H}^+ \rightarrow 4\text{-细胞色素 } a_3\text{-Fe}^{3+} + (2\text{H}_2\text{O})$
催化此反应的酶：(细胞色素氧化酶或末端氧化酶)
2. $\text{NADH} + \text{H}^+ + 0.5\text{O}_2 + 3\text{ADP} + (3\text{H}_3\text{PO}_4) \rightarrow \text{NAD}^+ + 3\text{ATP} + 4\text{H}_2\text{O}$

(六) 问答题 (解题要点)

1. 答：常见的呼吸链电子传递抑制剂有：
 - (1) 鱼藤酮 (rotenone)、阿米妥 (amytal) 以及杀粉蝶菌素 (piericidin-A)，它们的作用是阻断电子由 NADH 向辅酶 Q 的传递。鱼藤酮是从热带植物 (Derris elliptica) 的根中提取出来的化合物，它能和 NADH 脱氢酶牢固结合，因而能阻断呼吸链的电子传递。鱼藤酮对黄素蛋白不起作用，所以鱼藤酮可以用来鉴别 NADH 呼吸链与 FADH₂ 呼吸链。阿米妥的作用与鱼藤酮相似，但作用较弱，可用作麻醉药。杀粉蝶菌素 A 是辅酶 Q 的结构类似物，由此可以与辅酶 Q 相竞争，从而抑制电子传递。
 - (2) 抗霉素 A (antimycin A) 是从链霉菌分离出的抗菌素，它抑制电子从细胞色素 b 到细胞色素 c₁ 的传递作用。
 - (3) 氰化物、一氧化碳、叠氮化合物及硫化氢可以阻断电子细胞色素 aa₃ 向氧的传递作用，这也就是氰化物及一氧化碳中毒的原因。
2. 答：氰化钾的毒性是因为它进入人体内时，CN⁻ 的 N 原子含有孤对电子能够与细胞色素 aa₃ 的氧化形式 高价铁 Fe³⁺ 以配位键结合成氰化高铁细胞色素 aa₃，使其失去传递电子的能力，阻断了电子传递给 O₂，结果呼吸链中断，细胞因窒息而死亡。而亚硝酸在体内可以将血红蛋白的血红素辅基上的 Fe²⁺ 氧化为 Fe³⁺。部分血

红蛋白的血红素辅基上的 Fe^{2+} 被氧化成 Fe^{3+} 高铁血红蛋白，且含量达到 20%-30% 时，高铁血红蛋白 (Fe^{3+}) 也可以和氰化钾结合，这就竞争性抑制了氰化钾与细胞色素 aa3 的结合，从而使细胞色素 aa3 的活力恢复；但生成的氰化高铁血红蛋白在数分钟后又能逐渐解离而放出 CN^- 。因此，如果在服用亚硝酸的同时，服用硫代硫酸钠，则 CN^- 可被转变为无毒的 SCN^- ，此硫氰化物再经肾脏随尿排出体外。

3. 答：葡萄糖的磷酸戊糖途径是在胞液中进行的，生成的 NADPH 具有许多重要的生理功能，其中最重要的是作为合成代谢的供氢体。如果不去参加合成代谢，那么它将参加线粒体的呼吸链进行氧化，最终与氧结合生成水。但是线粒体内膜不允许 NADPH 和 NADH 通过，胞液中 NADPH 所携带的氢是通过转氢酶催化过程进入线粒体的：



(2) NADH 所携带的氢通过两种穿梭作用进入线粒体进行氧化：

a 磷酸甘油穿梭作用；进入线粒体后生成 FADH_2 。

b 苹果酸穿梭作用；进入线粒体后生成 NADH。

4. 答：ATP 在体内有许多重要的生理作用：

(1) 是机体能量的暂时贮存形式：在生物氧化中，ADP 能将呼吸链上电子传递过程中所释放的电化学能以磷酸化生成 ATP 的方式贮存起来，因此 ATP 是生物氧化中能量的暂时贮存形式。

(2) 是机体其它能量形式的来源：ATP 分子内所含有的高能键可转化成其它能量形式，以维持机体的正常生理机能，例如可转化成机械能、生物电能、热能、渗透能、化学合成能等。体内某些合成反应不一定都直接利用 ATP 供能，而以其他三磷酸核苷作为能量的直接来源。如糖原合成需 UTP 供能；磷脂合成需 CTP 供能；蛋白质合成需 GTP 供能。这些三磷酸核苷分子中的高能磷酸键并不是在生物氧化过程中直接生成的，而是来源于 ATP。

(3) 可生成 cAMP 参与激素作用：ATP 在细胞膜上的腺苷酸环化酶催化下，可生成 cAMP，作为许多肽类激素在细胞内体现生理效应的第二信使。

5. 答：DNP 作为一种解偶联剂，能够破坏线粒体内膜两侧的质子梯度，使质子梯度转变为热能，而不是 ATP。在解偶联状态下，电子传递过程完全是自由进行的，底物失去控制地被快速氧化，细胞的代谢速率将大幅度提高。这些将导致机体组织消耗其存在的能源形式，如糖原和脂肪，因此有减肥的功效。但是由于这种消耗是失去控制的消耗，同时消耗过程中过分产热，这势必会给机体带来强烈的副作用。

6. 答：某些植物体内出现对氰化物呈抗性的呼吸形式，这种呼吸形式可能并不需要细胞色素氧化酶，而是通过其他的对氰化物不敏感的电子传递体将电子传递给氧气。

7. 答：铁硫蛋白是一种非血红素铁蛋白，其活性部位含有非血红素铁原子和对酸不稳定的硫原子，此活性部位被称之为铁硫中心。铁硫蛋白是一种存在于线粒体内膜上的与电子传递有关的蛋白质。铁硫蛋白中的铁原子与硫原子通常以等摩尔量存在，铁原子与蛋白质的四个半胱氨酸残基结合。根据铁硫蛋白中所含铁原子和硫原子的数量不同可分为三类：FeS 中心、Fe₂-S₂ 中心和 Fe₄-S₄ 中心。在线粒体内膜上，铁硫蛋白和递氢体或递电子体结合为蛋白复合体，已经证明在呼吸链的复合物 I、复合物 II、复合物 III 中均结合有铁硫蛋白，其功能是通过二价铁离子和三价铁离子的化合价变化来传递电子，而且每次只传递一个电子，是单电子传递体。

8. 答：细胞内存在着三种经常参与能量代谢的腺苷酸，即 ATP、ADP 和 AMP。这三种腺苷酸的总量虽然很少，但与细胞的分解代谢和合成代谢紧密相联。三种腺苷酸在细胞中各自的含量也随时在变动。生物体中 ATP-ADP-AMP 系统的能量状态（即细胞中高能磷酸状态）在数量上衡量称能荷。

能荷的大小与细胞中 ATP、ADP 和 AMP 的相对含量有关。当细胞中全部腺苷酸均以 ATP 形式存在时，则能荷最大，为 100%，即能荷为满载。当全部以 AMP 形式存在时，则能荷最小，为零。当全部以 ADP 形式存在时，能荷居中，为 50%。若三者并存时，能荷则随三者含量的比例不同而表现不同的百分值。通常情况下细胞处于 80% 的能荷状态。

能荷与代谢有什么关系呢？研究证明，细胞中能荷高时，抑制了 ATP 的生成，但促进了 ATP 的利用，也就是说，高能荷可促进分解代谢，并抑制合成代谢。相反，低能荷则促进合成代谢，抑制分解代谢。

能荷调节是通过 ATP、ADP 和 AMP 分子对某些酶分子进行变构调节进行的。例如糖酵解中，磷酸果糖激酶是一个关键酶，它受 ATP 的强烈抑制，但受 ADP 和 AMP 促进。丙酮酸激酶也是如此。在三羧酸环中，丙酮酸脱氢酶、柠檬酸合成酶、异柠檬酸脱氢酶和 α-酮戊二酸脱氢酶等，都受 ATP 的抑制和 ADP 的促进。呼吸链的氧化磷酸化速度同样受 ATP 抑制和 ADP 促进。

9. 答：目前解释氧化作用和磷酸化作用如何偶联的假说有三个，即化学偶联假说、结构偶联假说与化学渗透假说。其中化学渗透假说得到较普遍的公认。该假说的主要内容是：

(1) 线粒体内膜是封闭的对质子不通透的完整内膜系统。

(2) 电子传递链中的氢传递体和电子传递体是交叉排列，氢传递体有质子 (H⁺) 泵的作用，在电子传递过程中不断地将质子 (H⁺) 从内膜内侧基质中泵到内膜外侧。

(3) 质子泵出后，不能自由通过内膜回到内膜内侧，这就形成内膜外侧质子 (H⁺) 浓度高于内侧，使膜内带负电荷，膜外带正电荷，因而也就形成了两侧质子浓度梯度和跨膜电位梯度。这两种跨膜梯度是电子传递所产生的电势，是质

子回到膜内的动力，称质子移动力或质子动力势。

(4) 一对电子 ($2e^-$) 从 NADH 传递到 O_2 的过程中共有 3 对 H^+ 从膜内转移到膜外。复合物 I、III、IV 起着质子泵的作用，这与氧化磷酸化的三个偶联部位一致，每次泵出 2 个 H^+ 。

(5) 质子移动力是质子返回膜内的动力，是 ADP 磷酸化成 ATP 的能量所在，在质子移动力驱使下，质子 (H^+) 通过 F_1F_0 -ATP 合酶回到膜内，同时 ADP 磷酸化合成 ATP。

第五章 糖代谢

一、知识要点

(一) 糖酵解途径：

糖酵解途径中，葡萄糖在一系列酶的催化下，经 10 步反应降解为 2 分子丙酮酸，同时产生 2 分子 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 和 2 分子 ATP。

主要步骤为 (1) 葡萄糖磷酸化形成二磷酸果糖；(2) 二磷酸果糖分解成为磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮，二者可以互变；(3) 磷酸甘油醛脱去 2H 及磷酸变成丙酮酸，脱去的 2H 被 NAD^+ 所接受，形成 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 。

(二) 丙酮酸的去路：

(1) 有氧条件下，丙酮酸进入线粒体氧化脱羧转变为乙酰辅酶 A，同时产生 1 分子 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 。乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环，最后氧化为 CO_2 和 H_2O 。

(2) 在厌氧条件下，可生成乳酸和乙醇。同时 NAD^+ 得到再生，使酵解过程持续进行。

(三) 三羧酸循环：

在线粒体基质中，丙酮酸氧化脱羧生成的乙酰辅酶 A，再与草酰乙酸缩合成柠檬酸，进入三羧酸循环。柠檬酸经脱水加水转变成异柠檬酸，异柠檬酸经连续两次脱羧和脱羧生成琥珀酰 CoA，琥珀酰 CoA 发生底物水平磷酸化产生 1 分子 GTP 和琥珀酸；琥珀酸再脱氢，加水及再脱氢作用依次变成延胡索酸，苹果酸及循环开始的草酰乙酸。三羧酸循环每循环一次放出 2 分子 CO_2 ，产生 3 分子 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 和一分子 FADH_2 。

(四) 磷酸戊糖途径：

在胞质中，在磷酸戊糖途径中磷酸葡萄糖经氧化阶段和非氧化阶段被氧化分解为 CO_2 ，同时产生 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 。

其主要过程是 G-6-P 脱氢生成 6-磷酸葡萄糖酸，再脱氢，脱羧生成核酮糖-5-磷酸。6 分子核酮糖-5-磷酸经转酮反应和转醛反应生成 5 分子 6-磷酸葡萄糖。中间产物甘油醛-3-磷酸，果糖-6-磷酸与糖酵解相衔接；核糖-5-磷酸是合成核酸的原料，4-磷酸赤藓糖参与芳香族氨基酸的合成； $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 提供各种合成代谢所需要的还原力。

(五) 糖异生作用：

非糖物质如丙酮酸，草酰乙酸和乳酸等在一系列酶的作用下合成糖的过程，称为糖异生作用。糖异生作用不是糖酵解的逆反应，因为要克服糖酵解的三个不可逆反应，且反应过程是在线粒体和细胞液中进行的。2 分子乳酸经糖异生转变为 1 分子葡萄糖

需消耗 4 分子 ATP 和 2 分子 GTP。

(六) 蔗糖和淀粉的生物合成

在蔗糖和多糖合成代谢中糖核苷酸起重要作用，糖核苷酸是单糖与核苷酸通过磷酸酯键结合所形成的化合物。在植物体中主要以 UDPG 为葡萄糖供体，由蔗糖磷酸合酶催化蔗糖的合成；淀粉的合成以 ADPG 或 UDPG 为葡萄糖供体，小分子寡糖引物为葡萄糖受体，淀粉合酶催化直链淀粉合成，Q 酶催化分枝淀粉合成。

糖代谢中有很多变构酶可以调节代谢的速度。酵解途径中的调控酶是己糖激酶，6-磷酸果糖激酶和丙酮酸激酶，其中 6-磷酸果糖激酶是关键反应的限速酶；三羧酸反应的调控酶是柠檬酸合酶，柠檬酸脱氢酶和 酮戊二酸脱氢酶，柠檬酸合酶是关键的限制酶。糖异生作用的调控酶有丙酮酸羧激酶，二磷酸果糖磷酸酯酶，磷酸葡萄糖磷酸酯酶。磷酸戊糖途径的调控酶是 6-磷酸葡萄糖脱氢酶；它们受可逆共价修饰、变构调控及能荷的调控。

二、习 题

(一) 名词解释：

1. 糖异生 (glycogenolysis)
2. Q 酶 (Q-enzyme)
3. 乳酸循环 (lactate cycle)
4. 发酵 (fermentation)
5. 变构调节 (allosteric regulation)
6. 糖酵解途径 (glycolytic pathway)
7. 糖的有氧氧化 (aerobic oxidation)
8. 肝糖原分解 (glycogenolysis)
9. 磷酸戊糖途径 (pentose phosphate pathway)
10. D-酶 (D-enzyme)
11. 糖核苷酸 (sugar-nucleotide)

(二) 英文缩写符号：

1. UDPG (uridine diphosphate-glucose)
2. ADPG (adenosine diphosphate-glucose)
3. F-D-P (fructose-1,6-bisphosphate)
4. F-1-P (fructose-1-phosphate)

5. G-1-P (glucose-1-phosphate)

6. PEP (phosphoenolpyruvate)

(三) 填空题

1. 淀粉酶和 α -淀粉酶只能水解淀粉的_____键, 所以不能够使支链淀粉完全水解。
2. 1 分子葡萄糖转化为 2 分子乳酸净生成_____分子 ATP
3. 糖酵解过程中有 3 个不可逆的酶促反应, 这些酶是_____, _____ 和 _____。
4. 糖酵解抑制剂碘乙酸主要作用于_____酶。
5. 调节三羧酸循环最主要的酶是_____, _____、_____。
6. 2 分子乳酸异升为葡萄糖要消耗_____ATP。
7. 丙酮酸还原为乳酸, 反应中的 NADH 来自于_____的氧化。
8. 延胡索酸在_____酶作用下, 可生成苹果酸, 该酶属于 EC 分类中的_____酶类。
9. 磷酸戊糖途径可分为_____阶段, 分别称为_____和_____, 其中两种脱氢酶是_____和_____, 它们的辅酶是_____。
10. _____是碳水化合物在植物体内运输的主要方式。
11. 植物体内蔗糖合成酶催化的蔗糖生物合成中葡萄糖的供体是_____, 葡萄糖基的受体是_____ ;
12. 糖酵解在细胞的_____中进行, 该途径是将_____转变为_____, 同时生成_____和_____的一系列酶促反应。
13. 淀粉的磷酸解过程通过_____酶降解 α -1, 4 糖苷键, 靠 _____ 和 _____ 酶降解 α -1, 6 糖苷键。
14. TCA 循环中有两次脱羧反应, 分别是由_____和_____催化。
15. 乙醛酸循环中不同于 TCA 循环的两个关键酶是_____和_____。
16. 乳酸脱氢酶在体内有 5 种同工酶, 其中肌肉中的乳酸脱氢酶对_____亲和力特别高, 主要催化_____反应。
17. 在糖酵解中提供高能磷酸基团, 使 ADP 磷酸化成 ATP 的高能化合物是 _____ 和_____。
18. 糖异生的主要原料为_____, _____和_____。
19. 参与 α -酮戊二酸氧化脱羧反应的辅酶为_____, _____, _____, _____和_____。
20. 在磷酸戊糖途径中催化由酮糖向醛糖转移二碳单位的酶为_____, 其辅酶为_____ ; 催化由酮糖向醛糖转移三碳单位的酶为_____。

21. α -酮戊二酸脱氢酶系包括 3 种酶，它们是_____，_____，_____。
22. 催化丙酮酸生成磷酸烯醇式丙酮酸的酶是_____，它需要_____和_____作为辅因子。
23. 合成糖原的前体分子是_____，糖原分解的产物是_____。
24. 植物中淀粉彻底水解为葡萄糖需要多种酶协同作用，它们是_____，_____，_____。
25. 将淀粉磷酸解为 G-1-P，需_____，_____，_____三种酶协同作用。
26. 糖类除了作为能源之外，它还与生物大分子间_____有关，也是合成_____，_____，_____等的碳骨架的共体。

(四) 选择题

1. 由己糖激酶催化的反应的逆反应所需要的酶是：
 A. 果糖二磷酸酶 B. 葡萄糖-6-磷酸酶
 C. 磷酸果糖激酶 D. 磷酸化酶
2. 正常情况下，肝获得能量的主要途径：
 A. 葡萄糖进行糖酵解氧化 B. 脂肪酸氧化
 C. 葡萄糖的有氧氧化 D. 磷酸戊糖途径 E. 以上都是。
3. 糖的有氧氧化的最终产物是：
 A. $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{ATP}$ B. 乳酸
 C. 丙酮酸 D. 乙酰 CoA
4. 需要引物分子参与生物合成反应的有：
 A. 酮体生成 B. 脂肪合成
 C. 糖异生合成葡萄糖 D. 糖原合成 E. 以上都是
5. 在原核生物中，一摩尔葡萄糖经糖有氧氧化可产生 ATP 摩尔数：
 A. 12 B. 24 C. 36 D. 38
6. 植物合成蔗糖的主要酶是：
 A. 蔗糖合酶 B. 蔗糖磷酸化酶
 C. 蔗糖磷酸合酶 D. 转化酶
7. 不能经糖异生合成葡萄糖的物质是：
 A. α -磷酸甘油 B. 丙酮酸
 C. 乳酸 D. 乙酰 CoA E. 生糖氨基酸
8. 丙酮酸激酶是何途径的关键酶：
 A. 磷酸戊糖途径 B. 糖异生
 C. 糖的有氧氧化 D. 糖原合成与分解 E. 糖酵解

9. 丙酮酸羧化酶是那一个途径的关键酶：
 A. 糖异生 B. 磷酸戊糖途径
 C. 胆固醇合成 D. 血红素合成 E. 脂肪酸合成
10. 动物饥饿后摄食，其肝细胞主要糖代谢途径：
 A. 糖异生 B. 糖有氧氧化
 C. 糖酵解 D. 糖原分解 E. 磷酸戊糖途径
11. 下列各中间产物中，那一个是磷酸戊糖途径所特有的？
 A. 丙酮酸 B. 3-磷酸甘油醛
 C. 6-磷酸果糖 D. 1, 3-二磷酸甘油酸 E. 6-磷酸葡萄糖酸
12. 糖蛋白中蛋白质与糖分子结合的键称：
 A. 二硫键 B. 肽键
 C. 脂键 D. 糖肽键 E. 糖苷键，
13. 三碳糖、六碳糖与七碳糖之间相互转变的糖代谢途径是：
 A. 糖异生 B. 糖酵解
 C. 三羧酸循环 D. 磷酸戊糖途径 E. 糖的有氧氧化
14. 关于三羧酸循环那个是错误的
 A. 是糖、脂肪及蛋白质分解的最终途径
 B. 受 ATP/ADP 比值的调节
 C. NADH 可抑制柠檬酸合酶
 D. NADH 氧经需要线粒体穿梭系统。
15. 三羧酸循环中哪一个化合物前后各放出一个分子 CO_2 ：
 A. 柠檬酸 B. 乙酰 CoA C. 琥珀酸 D. α -酮戊二酸
16. 磷酸果糖激酶所催化的反应产物是：
 A. F-1-P B. F-6-P C. F-D-P D. G-6-P
17. 醛缩酶的产物是：
 A. G-6-P B. F-6-P C. F-D-P D. 1, 3-二磷酸甘油酸
18. TCA 循环中发生底物水平磷酸化的化合物是？
 A. α -酮戊二酸 B. 琥珀酰
 C. 琥珀酸 CoA D. 苹果酸
19. 丙酮酸脱氢酶系催化的反应不涉及下述哪种物质？
 A. 乙酰 CoA B. 硫辛酸
 C. TPP D. 生物素 E. NAD^+
20. 三羧酸循环的限速酶是：
 A. 丙酮酸脱氢酶 B. 顺乌头酸酶
 C. 琥珀酸脱氢酶 D. 延胡索酸酶 E. 异柠檬酸脱氢酶

21. 生物素是哪个酶的辅酶：
 A. 丙酮酸脱氢酶 B. 丙酮酸羧化酶
 C. 烯醇化酶 D. 醛缩酶 E. 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶
22. 三羧酸循环中催化琥珀酸形成延胡索酸的酶是琥珀酸脱氢酶，此酶的辅因子是
 A. NAD^+ B. CoASH
 C. FAD D. TPP E. NADP^+
23. 下面哪种酶在糖酵解和糖异生中都起作用：
 A. 丙酮酸激酶 B. 丙酮酸羧化酶
 C. 3-磷酸甘油醛脱氢酶 D. 己糖激酶 E. 果糖 1, 6-二磷酸酯酶
24. 原核生物中，有氧条件下，利用 1 摩尔葡萄糖生成的净 ATP 摩尔数与在无氧条件下利用 1 摩尔生成的净 ATP 摩尔数的最近比值是：
 A. 2:1 B. 9:1 C. 18:1 D. 19:1 E. 25:1
25. 催化直链淀粉转化为支链淀粉的酶是：
 A. R-酶 B. D-酶
 C. Q-酶 D. -1, 6-糖苷酶 E. 淀粉磷酸化酶
26. 淀粉酶的特征是：
 A. 耐 70 左右的高温 B. 不耐 70 左右的高温
 C. 属巯基酶 D. 在 pH3 时稳定
27. 糖酵解时哪一对代谢物提供 P 使 ADP 生成 ATP：
 A. 3-磷酸甘油醛及磷酸烯醇式丙酮酸
 B. 1, 3-二磷酸甘油酸及磷酸烯醇式丙酮酸
 C. 1-磷酸葡萄糖及 1, 6-二磷酸果糖
 D. 6-磷酸葡萄糖及 2-磷酸甘油酸
28. 在有氧条件下，线粒体内下述反应中能产生 FADH_2 步骤是：
 A. 琥珀酸 延胡索酸 B. 异柠檬酸 -酮戊二酸
 (C) -戊二酸 琥珀酰 CoA (D) 苹果酸 草酰乙酸
29. 丙二酸能阻断糖的有氧氧化，因为它：
 (A) 抑制柠檬酸合成酶 (B) 抑制琥珀酸脱氢酶
 (C) 阻断电子传递 (D) 抑制丙酮酸脱氢酶
30. 由葡萄糖合成糖原时，每增加一个葡萄糖单位消耗高能磷酸键数为：
 (A) 1 (B) 2 (C) 3 (D) 4 (E) 5

(五) 是非判断题

- () 1. α -淀粉酶和 β -淀粉酶的区别在于 α -淀粉酶水解 -1, 4 糖苷键， β -淀粉酶水解 -1, 4 糖苷键。

- () 2. 麦芽糖是由葡萄糖与果糖构成的双糖。
- () 3. ATP 是果糖磷酸激酶的变构抑制剂。
- () 4. 沿糖酵解途径简单逆行, 可从丙酮酸等小分子前体物质合成葡萄糖。
- () 5. 所有来自磷酸戊糖途径的还原能都是在该循环的前三步反应中产生的。
- () 6. 发酵可以在活细胞外进行。
- () 7. 催化 ATP 分子中的磷酸基转移到受体上的酶称为激酶。
- () 8. 动物体内的乙酰 CoA 不能作为糖异生的物质。
- () 9. 柠檬酸循环是分解与合成的两用途。
- () 10. 在糖类物质代谢中最重要的糖核苷酸是 CDPG。
- () 11. 淀粉, 糖原, 纤维素的生物合成均需要“引物”存在。
- () 12. 联系糖原异生作用与三羧酸循环的酶是丙酮酸羧化酶。
- () 13. 糖异生作用的关键反应是草酰乙酸形成磷酸烯醇式丙酮酸的反应。
- () 14. 糖酵解过程在有氧无氧条件下都能进行。
- () 15. 在缺氧条件下, 丙酮酸还原为乳酸的意义是使 NAD^+ 再生。
- () 16. 在高等植物中淀粉磷酸化酶既可催化 $-1, 4$ 糖苷键的形成, 又可催化 $-1, 4$ 糖苷键的分解。
- () 17. TCA 中底物水平磷酸化直接生成的是 ATP。
- () 18. 三羧酸循环的中间产物可以形成谷氨酸。
- () 19. 在植物体内, 蔗糖的合成主要是通过蔗糖磷酸化酶催化的。

(六) 完成反应式:

1. 丙酮酸 + CoASH + NAD^+ 乙酰 CoA + CO_2 + ()
 催化此反应的酶和其它辅因子:()()()()
2. α -酮戊二酸 + NAD^+ + CoASH () + $\text{NADH} + \text{CO}_2$
 催化此反应的酶和其它辅因子:()()()()
3. 7-磷酸景天庚酮糖 + 3-磷酸甘油醛 6-磷酸-果糖 + ()
 催化此反应的酶:()
4. 丙酮酸 + CO_2 + () + H_2O () + $\text{ADP} + \text{P}_i + 2\text{H}^+$
 催化此反应的酶:()
5. () + F-6-P 磷酸蔗糖 + UDP
 催化此反应的酶是:()

(七) 问答题

1. 糖类物质在生物体内起什么作用?
2. 为什么说三羧酸循环是糖、脂和蛋白质三大物质代谢的共通路?

3. 糖代谢和脂代谢是通过那些反应联系起来的？
4. 什么是乙醛酸循环？有何意义？
5. 磷酸戊糖途径有什么生理意义？
6. 为什么糖酵解途径中产生的 NADH 必须被氧化成 NAD^+ 才能被循环利用？
7. 糖分解代谢可按 EMP-TCA 途径进行，也可按磷酸戊糖途径，决定因素是什么？
8. 试说明丙氨酸的成糖过程。
9. 糖酵解的中间物在其它代谢中有何应用？
10. 琥珀酰 CoA 的代谢来源与去路有哪些？

三、参考答案

(一) 名词解释：

1. 糖异生：非糖物质（如丙酮酸 乳酸 甘油 生糖氨基酸等）转变为葡萄糖的过程。
2. Q 酶：Q 酶是参与支链淀粉合成的酶。功能是在直链淀粉分子上催化合成（-1, 6）糖苷键，形成支链淀粉。
3. 乳酸循环乳：酸循环是指肌肉缺氧时产生大量乳酸，大部分经血液运到肝脏，通过糖异生作用肝糖原或葡萄糖补充血糖，血糖可再被肌肉利用，这样形成的循环称乳酸循环。
4. 发酵：厌氧有机体把糖酵解生成 NADH 中的氢交给丙酮酸脱羧后的产物乙醛，使之生成乙醇的过程称之为酒精发酵。如果将氢交给丙酮酸丙生成乳酸则叫乳酸发酵。
5. 变构调节：变构调节是指某些调节物能与酶的调节部位结合使酶分子的构象发生改变，从而改变酶的活性，称酶的变构调节。
6. 糖酵解途径：糖酵解途径指糖原或葡萄糖分子分解至生成丙酮酸的阶段，是体内糖代谢最主要途径。
7. 糖的有氧氧化：糖的有氧氧化指葡萄糖或糖原在有氧条件下氧化成水和二氧化碳的过程。是糖氧化的主要方式。
8. 肝糖原分解：肝糖原分解指肝糖原分解为葡萄糖的过程。
9. 磷酸戊糖途径：磷酸戊糖途径指机体某些组织（如肝、脂肪组织等）以 6-磷酸葡萄糖为起始物在 6-磷酸葡萄糖脱氢酶催化下形成 6-磷酸葡萄糖酸进而代谢生成磷酸戊糖为中间代谢物的过程，又称为磷酸己糖旁路。
10. D-酶：一种糖苷转移酶，作用于 -1, 4 糖苷键，将一个麦芽多糖的片段转移到葡萄糖、麦芽糖或其它多糖上。
11. 糖核苷酸：单糖与核苷酸通过磷酸酯键结合的化合物，是双糖和多糖合成中单糖的活化形式与供体。

(二) 英文缩写符号：

1. UDPG：尿苷二磷酸葡萄糖，是合成蔗糖时葡萄糖的供体。
2. ADPG：腺苷二磷酸葡萄糖，是合成淀粉时葡萄糖的供体。
3. F-D-P：1, 6-二磷酸果糖，由磷酸果糖激酶催化果糖-1-磷酸生成，属于高能磷酸化合物，在糖酵解过程生成。
4. F-1-P：果糖-1-磷酸，由果糖激酶催化果糖生成，不含高能磷酸键。
5. G-1-P：葡萄糖-1-磷酸。由葡萄糖激酶催化葡萄糖生成，不含高能键。
6. PEP：磷酸烯醇式丙酮酸，含高能磷酸键，属于高能磷酸化合物，在糖酵解过程生成。

(三) 填空题

1. -1, 4 糖苷键
2. 2 个 ATP
3. 己糖激酶；果糖磷酸激酶；丙酮酸激酶
4. 磷酸甘油醛脱氢酶
5. 柠檬酸合成酶；异柠檬酸脱氢酶； α -酮戊二酸脱氢酶
6. 6 个 ATP
7. 甘油醛 3-磷酸
8. 延胡索酸酶；氧化还原酶
9. 两个；氧化阶段；非氧化阶段；6-磷酸葡萄糖脱氢酶；6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶；NADP
10. 蔗糖
11. UDPG；果糖
12. 细胞质；葡萄糖；丙酮酸；ATP NADH
13. 淀粉磷酸化酶；转移酶；-1, 6 糖苷酶
14. 异柠檬酸脱氢酶； α -酮戊二酸脱氢酶
15. 异柠檬酸裂解酶；苹果酸合成酶
16. 丙酮酸；丙酮酸 乳酸
17. 1, 3-二磷酸甘油酸；磷酸烯醇式丙酮酸
18. 乳酸；甘油；氨基酸
19. TPP； NAD^+ ；FAD；CoA；硫辛酸； Mg
20. 转酮醇酶；TPP；转醛醇酶
21. α -酮戊二酸脱氢酶；琥珀酰转移酶；二氢硫辛酸脱氢酶
22. 磷酸烯醇式丙酮酸激酶；ATP；GTP
23. UDP-葡萄糖；G-1-P
24. α -淀粉酶； β -淀粉酶；R 酶；麦芽糖酶
25. 淀粉磷酸化酶；转移酶；脱支酶

26. 识别；蛋白质；核酸；脂肪

(四) 选择题

1. B：该步骤是不可逆步骤逆反应由葡萄糖-6-磷酸酶催化。
2. B：
3. A：三羧酸循环最终消耗 2 个乙酰 CoA 释放 2 个 CO_2 ，产生的 H^+ 被 NAD^+ 和 FAD 接受生成 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 和 FADH_2 ，进入电子传递链通过氧化磷酸化作用生成水和 ATP
4. D：糖原，纤维素和淀粉合成反应需引物分子参与。
5. D：由葡萄糖生成丙酮酸产生 8 个 ATP，丙酮酸生成乙酰 CoA 可产生 3 个 ATP，乙酰 CoA 进入三羧酸循环可生成 12 个 ATP，2 个丙酮酸可 15 个 ATP，共生成 38 个 ATP。
6. C：
7. D：乙酰 CoA 只能进入三羧酸循环分解，不能经糖异生合成葡萄糖。
8. E：丙酮酸激酶是糖酵解途径的 3 个关键酶之一。
9. A：丙酮酸羧化酶是糖异生途径的关键酶，催化丙酮酸生成草酰乙酸的反应。
10. B：人在饥饿后摄食，肝细胞的主要糖代谢是糖的有氧氧化以产生大量的能量。
11. E：6-磷酸葡萄糖酸是磷酸戊糖途径所特有的其它都是糖酵解的中间产物。
12. D：糖蛋白中糖和蛋白质连接的键称糖肽键。
13. D：在磷酸戊糖途径的非氧化阶段发生三碳糖，六碳糖和九碳糖的相互转换。
14. D：
15. D：三羧酸循环共生成 2 个 CO_2 ，分别在生成-酮戊二酸的反应和它的下一步释放。
16. C：
17. C：醛缩酶催化的是可逆反应，可催化磷酸二羟丙酮和 3-磷酸甘油醛生成果糖 1，6-二磷酸。
18. C：三羧酸循环中只有一步底物水平磷酸化，就是琥珀酰 CoA 生成琥珀酸的反应。
19. D：丙酮酸脱氢酶催化丙酮酸生成乙酰 CoA，需要的辅酶是 NAD^+ ，CoA，TPP，FAD，硫辛酸。
20. E：异柠檬酸脱氢酶催化的反应是三羧酸循环过程的三个调控部位之一。
21. B：生物素是羧化酶的辅酶，这里只有丙酮酸羧化酶需要生物素作为辅酶。
22. C：在三羧酸循环过程中，发生氧化还原反应的酶中，只有琥珀酸脱氢酶的辅因子是 FAD。
23. C：在糖酵解和糖异生过程都发生反应的酶是在糖酵解中催化可逆反应步骤的酶，这里只有 3-磷酸甘油醛脱氢酶。
24. D：在有氧的情况下 1 摩尔葡萄糖氧化生成 38 个 ATP，在无氧条件下生成 2 个 ATP，二者比值是 19：1。

25. C: 催化直链淀粉转化为支链淀粉的酶是 Q 酶, 而催化支链淀粉脱支的酶是 R 酶。
26. A: α-淀粉酶和 β-淀粉酶的区别是前者耐 70 高温, 而后者耐酸, α-淀粉酶是巯基酶。
27. B: 在糖酵解过程发生了两次底物水平磷酸化反应, 一次是 1,3-二磷酸甘油酸生成 3-磷酸甘油酸的反应, 另外是磷酸烯醇式丙酮酸生成丙酮酸的反应。
28. C: 由 α-酮戊二酸生成琥珀酰 CoA 产生一个 NADH, 由琥珀酰 CoA 生成琥珀酸的反应产生一个 GTP
29. B: 丙二酸是琥珀酸的竞争性抑制剂, 竞争与琥珀酸脱氢酶结合。
30. B 由葡萄糖生成 6-磷酸葡萄糖消耗一个高能磷酸键。1-磷酸葡萄糖转变成 UDPG, 然后 UDP 脱落, 相当于 1 分子 UTP 转化为 UDP, 消耗一个高能磷酸键

(三) 是非判断题

1. 错: α-淀粉酶和 β-淀粉酶的区别是 α-淀粉酶耐 70 度的高温, β-淀粉酶耐酸。
2. 错: 麦芽糖是葡萄糖与葡萄糖构成的双糖
3. 对: 磷酸果糖激酶是变构酶, 其活性被 ATP 抑制, ATP 的抑制作用可被 AMP 所逆转, 此外, 磷酸果糖激酶还被柠檬酸所抑制。
4. 错: 糖异生并不是糖酵解的简单逆行, 其中的不可逆步骤需要另外的酶催化完成。
5. 对: 戊糖磷酸途径分为氧化阶段和非氧化阶段, 氧化阶段的 3 步反应产生还原能, 非氧化阶段进行分子重排, 不产生还原能。
6. 对:
7. 对:
8. 对: 动物体内不存在乙醛酸循环途径, 不能将乙酰 CoA 转化成糖。
9. 对: 三羧酸循环中间产物可以用来合成氨基酸, 草酰乙酸可经糖异生合成葡萄糖, 糖酵解形成的丙酮酸, 脂肪酸氧化生成的乙酰 CoA 及谷氨酸和天冬氨酸脱氨氧化生成的 α-酮戊二酸和草酰乙酸都经三羧酸循环分解。
10. 错: 糖异生的关键反应是丙酮酸生成草酰乙酸的反应由丙酮酸羧化酶催化, 丙酮酸羧化酶是变构酶, 受乙酰 CoA 的调控。
11. 对:
12. 对: 丙酮酸羧化酶是变构酶, 受乙酰 CoA 的变构调节, 在缺乏乙酰 CoA 时没有活性, 细胞中的 ATP/ADP 的比值升高促进羧化作用。草酰乙酸既是糖异生的中间产物, 又是三羧酸循环的中间产物。高含量的乙酰 CoA 使草酰乙酸大量生成。若 ATP 含量高则三羧酸循环速度降低, 糖异生作用加强。
13. 错: 在植物体内, 蔗糖的合成主要是通过磷酸蔗糖合成酶途径。
14. 对: 糖酵解是由葡萄糖生成丙酮酸的过程, 它是葡萄糖有氧氧化和无氧发酵的共同途径。
15. 对:

16. 对：淀粉磷酸化酶催化的反应是可逆反应，正反应催化 -1, 4 糖苷键的合成，逆反应催化 -1, 4 糖苷键的分解。
17. 错：TCA 中底物水平磷酸化直接生成的是 GTP，相当于一个 ATP。
18. 对：三羧酸循环的中间产物-酮戊二酸经转氨作用生成谷氨酸。
19. 错：在糖代谢中最重要糖核苷酸是 UDPG。

(六) 完成反应式：

- 丙酮酸 + CoASH + NAD⁺ → 乙酰 CoA + CO₂ + (NADH + H⁺)
催化此反应的酶和其它辅因子：(丙酮酸脱氢酶)(TPP)(FAD)(Mg²⁺)
- 酮戊二酸 + NAD⁺ + CoASH → (琥珀酰-S-CoA) + NADH + CO₂
催化此反应的酶和其它辅因子：(-酮戊二酸脱氢酶)(TPP)(FAD)(Mg²⁺)
- 7-磷酸景天庚酮糖 + 3-磷酸甘油醛 → 6-磷酸-果糖 + (4-磷酸赤藓糖)
催化此反应的酶：(转醛酶)
- 丙酮酸 + CO₂ + (ATP) + H₂O → (草酰乙酸) + ADP + P_i + 2H⁺
催化此反应的酶：(丙酮酸羧化酶)
- (UDPG) + F-6-P → 磷酸蔗糖 + UDP
催化此反应的酶：(蔗糖磷酸合酶)

(七) 问答题 (解题要点)

- 答：(1) 糖类物质是异氧生物的主要能源之一，糖在生物体内经一系列的降解而释放大量的能量，供生命活动的需要。
(2) 糖类物质及其降解的中间产物，可以作为合成蛋白质 脂肪的碳架及机体其它碳素的来源。
(3) 在细胞中糖类物质与蛋白质 核酸 脂肪等常以结合态存在，这些复合物分子具有许多特异而重要的生物功能。
(4) 糖类物质还是生物体的重要组成成分。
- 答：(1) 三羧酸循环是乙酰 CoA 最终氧化生成 CO₂ 和 H₂O 的途径。
(2) 糖代谢产生的碳骨架最终进入三羧酸循环氧化。
(3) 脂肪分解产生的甘油可通过有氧化进入三羧酸循环氧化，脂肪酸经 -氧化产生乙酰 CoA 可进入三羧酸循环氧化。
(4) 蛋白质分解产生的氨基酸经脱氨后碳骨架可进入三羧酸循环，同时，三羧酸循环的中间产物可作为氨基酸的碳骨架接受氨后合成必需氨基酸。所以，三羧酸循环是三大物质代谢共同通路。
- 答：(1) 糖酵解过程中产生的磷酸二羟丙酮可转变为磷酸甘油，可作为脂肪合成中甘油的原料。

- (2) 有氧氧化过程中产生的乙酰 CoA 是脂肪酸和酮体的合成原料。
- (3) 脂肪酸分解产生的乙酰 CoA 最终进入三羧酸循环氧化。
- (4) 酮体氧化产生的乙酰 CoA 最终进入三羧酸循环氧化。
- (5) 甘油经磷酸甘油激酶作用后，转变为磷酸二羟丙酮进入糖代谢。
4. 答：乙醛酸循环是有机酸代谢循环，它存在于植物和微生物中，可分为五步反应，由于乙醛酸循环与三羧酸循环有一些共同的酶系和反应，将其看成是三羧酸循环的一个支路。循环每一圈消耗 2 分子乙酰 CoA，同时产生 1 分子琥珀酸。琥珀酸产生后，可进入三羧酸循环代谢，或经糖异生途径转变为葡萄糖
- 乙醛酸循环的意义：
- (1) 乙酰 CoA 经乙醛酸循环可以和三羧酸循环相偶联，补充三羧酸循环中间产物的缺失。
- (2) 乙醛酸循环是微生物利用乙酸作为碳源的途径之一。
- (3) 乙醛酸循环是油料植物将脂肪转变为糖和氨基酸的途径。
5. 答：(1) 产生的 5-磷酸核糖是生成核糖，多种核苷酸，核苷酸辅酶和核酸的原料。
- (2) 生成的 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 是脂肪酸合成等许多反应的供氢体。
- (3) 此途径产生的 4-磷酸赤藓糖与 3-磷酸甘油酸可以合成莽草酸，进而转变为芳香族氨基酸。
- (4) 途径产生的 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 可转变为 $\text{NADH}+\text{H}^+$ ，进一步氧化产生 ATP，提供部分能量。
6. 答：糖分解代谢可按 EMP-TCA 途径进行，也可按磷酸戊糖途径，决定因素是能荷水平，能荷低时糖分解按 EMP-TCA 途径进行，能荷高时可按磷酸戊糖途径
7. 答：丙氨酸成糖是体内很重要的糖异生过程。首先丙氨酸经转氨作用生成丙酮酸，丙酮酸进入线粒体转变成草酰乙酸。但生成的草酰乙酸不能通过线粒体膜，为此须转变成苹果酸或天冬氨酸，后二者到胞浆里再转变成草酰乙酸。草酰乙酸转变成磷酸烯醇式丙酮酸，后者沿酵解路逆行而成糖。总之丙氨酸成糖须先脱掉氨基，然后绕过“能障”及“膜障”才能成糖。
8. 答：磷酸二羟丙酮可还原 α -磷酸甘油，后者可参与合成甘油三酯和甘油磷脂。
- 3-磷酸甘油酸是丝氨酸的前体，因而也是甘氨酸和半胱氨酸的前体。
- 磷酸烯醇式丙酮酸两次用于合成芳香族氨基酸的前体---分支酸。它也用于 ADP 磷酸化成 ATP。在细菌，糖磷酸化反应（如葡萄糖生成 6-磷酸葡萄糖）中的磷酸基不是来自 ATP，而是来自磷酸烯醇式丙酮酸。
- 丙酮酸可转变成丙氨酸；它也能转变成羟乙基用以合成异亮氨酸和缬氨酸（在后者需与另一分子丙酮酸反应）。两分子丙酮酸生成 α -酮异戊酸，进而可转变成亮氨酸。
9. 答：(1) 琥珀酰 CoA 主要来自糖代谢，也来自长链脂肪酸的 β -氧化。奇数碳原子

脂肪酸，通过 氧化除生成乙酰 CoA，后者进一步转变成琥珀酰 CoA。此外，蛋氨酸，苏氨酸以及缬氨酸和异亮氨酸在降解代谢中也生成琥珀酰 CoA。

(2) 琥珀酰 CoA 的主要代谢去路是通过柠檬酸循环彻底氧化成 CO_2 和 H_2O 。琥珀酰 CoA 在肝外组织，在琥珀酸乙酰乙酰 CoA 转移酶催化下，可将辅酶 A 转移给乙酰乙酸，本身成为琥珀酸。此外，琥珀酰 CoA 与甘氨酸一起生成 氨基- - 酮戊酸 (ALA)，参与血红素的合成。

第六章 脂类代谢

一、 知识要点

(一) 脂肪的生物功能：

脂类是指一类在化学组成和结构上有很大差异,但都有一个共同特性,即不溶于水而易溶于乙醚、氯仿等非极性溶剂中的物质。通常脂类可按不同组成为五类,即单纯脂、复合脂、萜类和类固醇及其衍生物、衍生脂类及结合脂类。

脂类物质具有重要的生物功能。脂肪是生物体的能量提供者。

脂肪也是组成生物体的重要成分,如磷脂是构成生物膜的重要组成部分,油脂是机体代谢所需燃料的贮存和运输形式。脂类物质也可为动物机体提供溶解于其中的必需脂肪酸和脂溶性维生素。某些萜类及类固醇类物质如维生素 A、D、E、K、胆酸及固醇类激素具有营养、代谢及调节功能。有机体表面的脂类物质有防止机械损伤与防止热量散发等保护作用。脂类作为细胞的表面物质,与细胞识别,种特异性和组织免疫等有密切关系。

(二) 脂肪的降解

在脂肪酶的作用下,脂肪水解成甘油和脂肪酸。甘油经磷酸化和脱氢反应,转变成磷酸二羟丙酮,纳入糖代谢途径。脂肪酸与 ATP 和 CoA 在脂酰 CoA 合成酶的作用下,生成脂酰 CoA。脂酰 CoA 在线粒体内膜上肉毒碱:脂酰 CoA 转移酶系统的帮助下进入线粒体衬质,经 β -氧化降解成乙酰 CoA,在进入三羧酸循环彻底氧化。 β -氧化过程包括脱氢、水合、再脱氢和硫解四个步骤,每次 β -氧化循环生成 FADH₂ NADH 乙酰 CoA 和比原先少两个碳原子的脂酰 CoA。此外,某些组织细胞中还存在 α -氧化生成 α -羟脂肪酸或 CO₂和少一个碳原子的脂肪酸;经 ω -氧化生成相应的二羧酸。

萌发的油料种子和某些微生物拥有乙醛酸循环途径。可利用脂肪酸 β -氧化生成的乙酰 CoA 合成苹果酸,为糖异生和其它生物合成提供碳源。乙醛酸循环的两个关键酶是异柠檬酸裂解酶和苹果酸合成酶前者催化异柠檬酸裂解成琥珀酸和乙醛酸,后者催化乙醛酸与乙酰 CoA 生成苹果酸。

(三) 脂肪的生物合成

脂肪的生物合成包括三个方面:饱和脂肪酸的从头合成,脂肪酸碳链的延长和不饱和脂肪酸的生成。脂肪酸从头合成的场所是细胞液,需要 CO₂ 和柠檬酸的参与,C₂ 供体是糖代谢产生的乙酰 CoA。反应有二个酶系参与,分别是乙酰 CoA 羧化酶系和脂肪酸合成酶系。首先,乙酰 CoA 在乙酰 CoA 羧化酶催化下生成,然后在脂肪酸合成酶系的催化下,以 ACP 作酰基载体,乙酰 CoA 为 C₂ 受体,丙二酸单酰 CoA 为 C₂ 供体,经过缩合、还原、脱水、再还原几个反应步骤,先生成含 4 个碳原子的丁酰 ACP,每次延伸循环消耗一分子丙二酸单酰 CoA、两分子 NADPH,直至生成软脂酰 ACP。产物再活化成软脂酰 CoA,参与脂肪合成或在微粒体系统或线粒体系统延长成 C₁₈、C₂₀ 和少

量碳链更长的脂肪酸。在真核细胞内，饱和脂肪酸在 O₂ 的参与和专一的去饱和酶系统催化下，进一步生成各种不饱和脂肪酸。高等动物不能合成亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸，必须依赖食物供给。

3 磷酸甘油与两分子脂酰 CoA 在磷酸甘油转酰酶作用下生成磷脂酸，在经磷酸酶催化变成二酰甘油，最后经二酰甘油转酰酶催化生成脂肪。

(四) 磷脂的生成

磷脂酸是最简单的磷脂，也是其他甘油磷脂的前体。磷脂酸与 CTP 反应生成 CDP - 二酰甘油，在分别与肌醇、丝氨酸、磷酸甘油反应，生成相应的磷脂。磷脂酸水解成二酰甘油，再与 CDP - 胆碱或 CDP - 乙醇胺反应，分别生成磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 必需脂肪酸 (essential fatty acid)
2. 脂肪酸的 β -氧化(β -oxidation)
3. 脂肪酸的 α -氧化(α -oxidation)
4. 脂肪酸的 ω -氧化(ω -oxidation)
5. 乙醛酸循环 (glyoxylate cycle)
6. 柠檬酸穿梭(citrate shuttle)
7. 乙酰 CoA 羧化酶系 (acetyl-CoA carboxylase)
8. 脂肪酸合成酶系统 (fatty acid synthase system)
- 9.

(二) 填空题：

1. _____ 是动物和许多植物主要的能源贮存形式，是由 _____ 与 3 分子 _____ 酯化而成的。
2. 在线粒体外膜脂酰 CoA 合成酶催化下，游离脂肪酸与 _____ 和 _____ 反应，生成脂肪酸的活化形式 _____，再经线粒体内膜 _____ 进入线粒体衬质。
3. 一个碳原子数为 n (n 为偶数) 的脂肪酸在 β -氧化中需经 _____ 次 β -氧化循环，生成 _____ 个乙酰 CoA，_____ 个 FADH₂ 和 _____ 个 NADH+H⁺。
4. 乙醛酸循环中两个关键酶是 _____ 和 _____，使异柠檬酸避免了在循环中的两次 _____ 反应，实现从乙酰 CoA 净合成 _____ 循环的中间物。
5. 脂肪酸从头合成的 C₂ 供体是 _____，活化的 C₂ 供体是 _____，还原剂是 _____。

6. 乙酰 CoA 羧化酶是脂肪酸从头合成的限速酶, 该酶以 _____ 为辅基, 消耗 _____, 催化 _____ 与 _____ 生成 _____, 柠檬酸为其 _____, 长链脂酰 CoA 为其 _____.
7. 脂肪酸从头合成中, 缩合、两次还原和脱水反应时酰基都连接在 _____ 上, 它有一个与 _____ 一样的 _____ 长臂。
8. 脂肪酸合成酶复合物一般只合成 _____, 动物中脂肪酸碳链延长由 _____ 或 _____ 酶系统催化; 植物的脂肪酸碳链延长酶系定位于 _____。
9. 真核细胞中, 不饱和脂肪酸都是通过 _____ 途径合成的; 许多细菌的单烯脂肪酸则是经由 _____ 途径合成的。
10. 三酰甘油是由 _____ 和 _____ 在磷酸甘油转酰酶的作用下先形成 _____, 再由磷酸酶转变成 _____, 最后在 _____ 催化下生成三酰甘油。
11. 磷脂合成中活化的二酰甘油供体为 _____, 在功能上类似于糖原合成中的 _____ 或淀粉合成中的 _____。

(三) 选择题

1. 下列哪项叙述符合脂肪酸的 氧化:
 - A. 仅在线粒体中进行
 - B. 产生的 NADPH 用于合成脂肪酸
 - C. 被胞浆酶催化
 - D. 产生的 NADPH 用于葡萄糖转变成丙酮酸
 - E. 需要酰基载体蛋白参与
2. 脂肪酸在细胞中氧化降解
 - A. 从酰基 CoA 开始
 - B. 产生的能量不能为细胞所利用
 - C. 被肉毒碱抑制
 - D. 主要在细胞核中进行
 - E. 在降解过程中反复脱下三碳单位使脂肪酸链变短
3. 下列哪些辅因子参与脂肪酸的 氧化:

A ACP B FMN C 生物素 D NAD^+
4. 下列关于乙醛酸循环的论述哪些是正确的 (多选)?
 - A 它对于以乙酸为唯一碳源的微生物是必要的;
 - B 它还存在于油料种子萌发时形成的乙醛酸循环体;
 - C 乙醛酸循环主要的生理功能就是从乙酰 CoA 合成三羧酸循环的中间产物;
 - D 动物体内不存在乙醛酸循环, 因此不能利用乙酰 CoA 为糖异生提供原料。

5. 脂肪酸从头合成的酰基载体是：
 A. ACP B. CoA C. 生物素 D. TPP
6. 下列关于脂肪酸碳链延长系统的叙述哪些是正确的（多选）？
 A. 动物的内质网酶系统催化的脂肪酸链延长，除以 CoA 为酰基载体外，与从头合成相同；
 B. 动物的线粒体酶系统可以通过 氧化的逆反应把软脂酸延长为硬脂酸；
 C. 植物的 型脂肪酸碳链延长系统分布于叶绿体间质和胞液中，催化软脂酸 ACP 延长为硬脂酸 ACP，以丙二酸单酰 ACP 为 C₂ 供体，NADPH 为还原剂；
 D. 植物的 型延长系统结合于内质网，可把 C₁₈ 和 C₁₈ 以上的脂肪酸进一步延长。
7. 下列哪些是人类膳食的必需脂肪酸（多选）？
 A. 油酸 B. 亚油酸 C. 亚麻酸 D. 花生四烯酸
8. 下述关于从乙酰 CoA 合成软脂酸的说法，哪些是正确的（多选）？
 A. 所有的氧化还原反应都以 NADPH 做辅助因子；
 B. 在合成途径中涉及许多物质，其中辅酶 A 是唯一含有泛酰巯基乙胺的物质；
 C. 丙二酰单酰 CoA 是一种“被活化的”中间物；
 D. 反应在线粒体内进行。
9. 下列哪些是关于脂类的真实叙述（多选）？
 A. 它们是细胞内能源物质；
 B. 它们很难溶于水
 C. 是细胞膜的结构成分；
 D. 它们仅由碳、氢、氧三种元素组成。
10. 脂肪酸从头合成的限速酶是：
 A. 乙酰 CoA 羧化酶 B. 缩合酶
 C. 酮脂酰 -ACP 还原酶 D. , 烯脂酰-ACP 还原酶
11. 下列关于不饱和脂肪酸生物合成的叙述哪些是正确的（多选）？
 A. 细菌一般通过厌氧途径合成单烯脂肪酸；
 B. 真核生物都通过氧化脱氢途径合成单烯脂肪酸，该途径由去饱和酶催化，以 NADPH 为电子供体，O₂ 的参与；
 C. 植物体内还存在 ¹²-、¹⁵-去饱和酶，可催化油酰基进一步去饱和，生成亚油酸和亚麻酸。
 D. 植物体内有 ⁶-去饱和酶、转移地催化油酰基 ⁹ 与羧基间进一步去饱和。
12. 以干重计量，脂肪比糖完全氧化产生更多的能量。下面那种比例最接近糖对脂肪的产能比例：
 A. 1 2 B. 1 3 C. 1 4 D. 2 3 E. 3 4
13. 软脂酰 CoA 在 氧化第一次循环中以及生成的二碳代谢物彻底氧化时，ATP 的总

量是：

A . 3ATP B . 13ATP C . 14 ATP D . 17ATP E . 18ATP

14. 下述酶中哪个是多酶复合体？

- A . ACP-转酰基酶
- B . 丙二酰单酰 CoA- ACP转酰基酶
- C . 酮脂酰 -ACP 还原酶
- D . 羟脂酰 -ACP 脱水酶
- E . 脂肪酸合成酶

15 . 由 3 磷酸甘油和酰基 CoA 合成甘油三酯过程中，生成的第一个中间产物是下列那种？

- A . 2 -甘油单酯 B . 1 , 2 -甘油二酯 C . 溶血磷脂酸
- D . 磷脂酸 E . 酰基肉毒碱

16 . 下述哪种说法最准确地描述了肉毒碱的功能？

- A . 转运中链脂肪酸进入肠上皮细胞
- B . 转运中链脂肪酸越过线粒体内膜
- C . 参与转移酶催化的酰基反应
- D . 是脂肪酸合成代谢中需要的一种辅酶

(四) 是非判断题

- () 1. 脂肪酸的 β -氧化和 α -氧化都是从羧基端开始的。
- () 2. 只有偶数碳原子的脂肪才能经 β -氧化降解成乙酰 CoA。
- () 3. 脂肪酸从头合成中，将糖代谢生成的乙酰 CoA 从线粒体内转移到胞液中的化合物是苹果酸。
- () 4. 脂肪酸的从头合成需要柠檬酸裂解提供乙酰 CoA。
- () 5. 脂肪酸 β -氧化酶系存在于胞浆中。
- () 6. 肉毒碱可抑制脂肪酸的氧化分解。
- () 7. 萌发的油料种子和某些微生物拥有乙醛酸循环途径，可利用脂肪酸 β -氧化生成的乙酰 CoA 合成苹果酸，为糖异生和其它生物合成提供碳源。
- () 8. 在真核细胞内，饱和脂肪酸在 O_2 的参与下和专一的去饱和酶系统催化下进一步生成各种长链脂肪酸。
- () 9. 脂肪酸的生物合成包括两个方面：饱和脂肪酸的从头合成及不饱和脂肪酸的合成。
- () 10. 甘油在甘油激酶的催化下，生成 3-磷酸甘油，反应消耗 ATP，为可逆反应。

(五) 完成反应式

1. 脂肪酸 + ATP + () () + () + ()
催化此反应的酶是：脂酰 CoA 合成酶
2. 甘油二酯 + R₃CO-S-CoA () + HSCoA
催化此反应的酶是：()
3. 乙酰 CoA + CO₂ + ATP () + ADP + Pi
催化此反应的酶是：()
4. 3-磷酸甘油 + () () + NADH + H⁺
催化此反应的酶是：磷酸甘油脱氢酶

(六) 问答题及计算题

1. 按下述几方面，比较脂肪酸氧化和合成的差异：
 - (1) 进行部位；
 - (2) 酰基载体；
 - (3) 所需辅酶
 - (4) 羟基中间物的构型
 - (5) 促进过程的能量状态
 - (6) 合成或降解的方向
 - (7) 酶系统
2. 在脂肪生物合成过程中，软脂酸和硬脂酸是怎样合成的？
3. 什么是乙醛酸循环，有何生物学意义？
4. 在脂肪酸合成中，乙酰 CoA 羧化酶起什么作用？
5. 说明动物、植物、细菌在合成不饱和脂肪酸方面的差异。
6. 1mol 软脂酸完全氧化成 CO₂ 和 H₂O 可生成多少 mol ATP？若 1g 软脂酸完全氧化时的 G = 9kcal, 软脂酸的分子量位 56.4, 试求能量转化为 ATP 的效率。
7. 1mol 甘油完全氧化成 CO₂ 和 H₂O 时净生成可生成多少 mol ATP？假设在外生成 NADH 都通过磷酸甘油穿梭进入线粒体。

三、习题解答

(一) 名词解释：

1. 必需脂肪酸：为人体生长所必需但有不能自身合成，必须从事物中摄取的脂肪酸。在脂肪中有三种脂肪酸是人体所必需的，即亚油酸，亚麻酸，花生四烯酸。
2. 氧化：氧化作用是以具有 3-18 碳原子的游离脂肪酸作为底物，有分子氧间接参与，经脂肪酸过氧化物酶催化作用，由 碳原子开始氧化，氧化产物是 D- 羟脂肪酸或少一个碳原子的脂肪酸。

3. 脂肪酸的 β -氧化：脂肪酸的 β -氧化作用是脂肪酸在一系列酶的作用下，在 α -碳原子和 β -碳原子之间断裂， β -碳原子氧化成羧基生成含 2 个碳原子的乙酰 CoA 和比原来少 2 个碳原子的脂肪酸。
4. 脂肪酸 ω -氧化： ω -氧化是 C5、C6、C10、C12 脂肪酸在远离羧基的烷基末端碳原子被氧化成羟基，再进一步氧化而成为羧基，生成 ω -二羧酸的过程。
5. 乙醛酸循环：一种被修改的柠檬酸循环，在其异柠檬酸和苹果酸之间反应顺序有改变，以及乙酸是用作能量和中间物的一个来源。某些植物和微生物体内有此循环，他需要二分子乙酰辅酶 A 的参与；并导致一分子琥珀酸的合成。
6. 柠檬酸穿梭：就是线粒体内的乙酰 CoA 与草酰乙酸缩合成柠檬酸，然后经内膜上的三羧酸载体运至胞液中，在柠檬酸裂解酶催化下，需消耗 ATP 将柠檬酸裂解回草酰乙酸和 α -酮戊二酸，后者就可用于脂肪酸合成，而草酰乙酸经还原后再氧化脱羧成丙酮酸，丙酮酸经内膜载体运回线粒体，在丙酮酸羧化酶作用下重新生成草酰乙酸，这样就可又一次参与转运乙酰 CoA 的循环。
7. 乙酰 CoA 羧化酶系：大肠杆菌乙酰 CoA 羧化酶含生物素羧化酶、生物素羧基载体蛋白 (BCCP) 和转羧基酶三种组份，它们共同作用催化乙酰 CoA 的羧化反应，生成丙二酸单酰-CoA。
8. 脂肪酸合酶系统：脂肪酸合酶系统包括酰基载体蛋白 (ACP) 和 6 种酶，它们分别是：乙酰转酰酶；丙二酸单酰转酰酶； α -酮脂酰 ACP 合成酶； α -酮脂酰 ACP 还原酶； β -羟脂酰 ACP 脱水酶；烯脂酰 ACP 还原酶。

(二) 填空题

1. 脂肪；甘油；脂肪酸
2. ATP-Mg^{2+} ；CoA-SH；脂酰 S-CoA；肉毒碱-脂酰转移酶系统
3. $0.5n-1$ ； $0.5n$ ； $0.5n-1$ ； $0.5n-1$
4. 异柠檬酸裂解酶；苹果酸合成酶；三羧酸；脱羧；三羧酸
5. 乙酰 CoA；丙二酸单酰 CoA； $\text{NADPH}+\text{H}^+$
6. 生物素；ATP；乙酰 CoA； HCO_3^- ；丙二酸单酰 CoA；激活剂；抑制剂
7. ACP；CoA；4'-磷酸泛酰巯基乙胺
8. 软脂酸；线粒体；内质网；细胞溶质
9. 氧化脱氢；厌氧；
10. 3-磷酸甘油；脂酰-CoA；磷脂酸；二酰甘油；二酰甘油转移酶
11. CDP-二酰甘油；UDP-G；ADP-G

(三) 选择题

1. A：脂肪酸 β -氧化酶系分布于线粒体基质内。酰基载体蛋白是脂肪酸合酶系的蛋

- 白辅酶。脂肪酸 β -氧化生成 NADH，而葡萄糖转变成丙酮酸需要 NAD^+ 。
2. A：脂肪酸氧化在线粒体进行，连续脱下二碳单位使烃链变短。产生的 ATP 供细胞利用。肉毒碱能促进而不是抑制脂肪酸氧化降解。脂肪酸形成酰基 CoA 后才能氧化降解。
 3. D：参与脂肪酸 β -氧化的辅因子有 CoASH, FAD , NAD^+ , FAD 。
 4. ABCD：
 5. A：脂肪酸从头合成的整个反应过程需要一种脂酰基载体蛋白即 ACP 的参与。
 6. ABCD：
 7. BCD：必需脂肪酸一般都是不饱和脂肪酸，它们是亚油酸、亚麻酸、花生四烯酸。
 8. AC：在脂肪酸合成中以 NADPH 为供氢体，在脂肪酸氧化时以 FAD 和 NAD^+ 两者做辅助因子。在脂肪酸合成中，酰基载体蛋白和辅酶 A 都含有泛酰基乙胺，乙酰 CoA 羧化成丙二酸单酰 CoA，从而活化了其中乙酰基部分，以便加在延长中的脂肪酸碳键上。脂肪酸合成是在线粒体外，而氧化分解则在线粒体内进行。
 9. ABC：脂类是难溶于水、易溶于有机溶剂的一类物质。脂类除含有碳、氢、氧外还含有氮及磷。脂类的主要储存形式是甘油三酯，后者完全不能在水中溶解。脂类主要的结构形式是磷脂，磷脂能部分溶解于水。
 10. A：乙酰 CoA 羧化酶催化的反应为不可逆反应。
 11. ABC：
 12. A：甘油三酯完全氧化，每克产能为 9.3 千卡；糖或蛋白质为 4.1 千卡/克。则脂类产能约为糖或蛋白质的二倍。
 13. D：软脂酰 CoA 在 β -氧化第一次循环中产生乙酰 CoA、 FADH_2 、 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 以及十四碳的活化脂肪酸个一分子。十四碳脂肪酸不能直接进入柠檬酸循环彻底氧化。 FADH_2 和 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 进入呼吸链分别生成 2ATP 和 3ATP。乙酰 CoA 进入柠檬酸循环彻底氧化生成 12ATP。所以共生成 17ATP。
 14. E：
 15. D：3-磷酸甘油和两分子酰基辅酶 A 反应生成磷脂酸。磷脂酸在磷脂酸磷酸酶的催化下水解生成磷酸和甘油二酯，后者与另一分子酰基辅酶 A 反应生成甘油三酯。
 16. C：肉毒碱转运胞浆中活化的长链脂肪酸越过线粒体内膜。位于线粒体内膜外侧的肉毒碱脂酰转移酶 催化脂酰基由辅酶 A 转给肉毒碱，位于线粒体内膜内侧的肉毒碱脂酰转移酶 催化脂酰基还给辅酶 A。中链脂肪酸不需借助肉毒碱就能通过线粒体内膜或细胞质膜。

(四) 是非题

1. 对：
2. 错：

3. 错：脂肪酸从头合成中，将糖代谢生成的乙酰 CoA 从线粒体内转移到胞液中的化合物是柠檬酸
4. 对：
5. 错：脂肪酸 氧化酶系存在于线粒体。
6. 错：肉毒碱可促进脂肪酸的氧化分解。
7. 错：萌发的油料种子和某些微生物拥有乙醛酸循环途径，可利用脂肪酸 氧化生成的乙酰 CoA 合成苹果酸，为糖异生和其它生物合成提供碳源。
8. 错：在真核细胞内，饱和脂肪酸在 O₂ 的参与下和专一的去饱和酶系统催化下进一步生成各种不饱和脂肪酸。
9. 错：脂肪酸的生物合成包括三个方面：饱和脂肪酸的从头合成、脂肪酸碳链的延长及不饱和脂肪酸的合成。
10. 错：甘油在甘油激酶的催化下，生成 磷酸甘油，反应消耗 ATP, 为不可逆反应

(五) 完成反应式

1. 脂肪酸 + ATP + (CoA) (脂酰-S-CoA) + (AMP) + (PPi)
催化此反应的酶是：脂酰 CoA 合成酶
2. 甘油二酯 + R₃CO-S-CoA (甘油三酯) + HSCoA
催化此反应的酶是：(甘油三酯转酰基酶)
3. 乙酰 CoA + CO₂ + ATP (丙二酰单酰 CoA) + ADP + Pi
催化此反应的酶是：(丙二酰单酰 CoA 羧化酶)
4. 3-磷酸甘油 + (NAD⁺) (磷酸二羟丙酮) + NADH + H⁺
催化此反应的酶是：磷酸甘油脱氢酶

(六) 问答题及计算题 (解题要点)

1. 答：氧化在线粒体，合成在胞液；氧化的酰基载体是辅酶 A，合成的酰基载体是酰基载体蛋白；氧化是 FAD 和 NAD⁺，合成是 NADPH；氧化是 L 型，合成是 D 型。氧化不需要 CO₂，合成需要 CO₂；氧化为高 ADP 水平，合成为高 ATP 水平。氧化是羧基端向甲基端，合成是甲基端向羧基端；脂肪酸合成酶系为多酶复合体，而不是氧化酶。
2. 答：(1) 软脂酸合成：软脂酸是十六碳饱和脂肪酸，在细胞液中合成，合成软脂酸需要两个酶系统参加。一个是乙酰 CoA 羧化酶，他包括三种成分，生物素羧化酶、生物素羧基载体蛋白、转羧基酶。由它们共同作用，催化乙酰 CoA 转变为丙二酰单酰 CoA。另一个是脂肪酸合成酶，该酶是一个多酶复合体，包括 6 种酶和一个酰基载体蛋白，在它们的共同作用下，催化乙酰 CoA 和丙二酰单酰 CoA，合成软脂酸其反应包括 4 步，即缩合、还原、脱水、再缩合，每经过 4 步循环，可延长 2 个碳。

如此进行，经过 7 次循环即可合成软脂酰 ACP。软脂酰 ACP 在硫激酶作用下分解，形成游离的软脂酸。软脂酸的合成是从原始材料乙酰 CoA 开始的所以称之为从头合成途径。

(2) 硬脂酸的合成，在动物和植物中有所不同。在动物中，合成地点有两处，即线粒体和粗糙内质网。在线粒体中，合成硬脂酸的碳原子受体是软脂酰 CoA，碳原子的给体是乙酰 CoA。在内质网中，碳原子的受体也是软脂酰 CoA，但碳原子的给体是丙二酸单酰 CoA。在植物中，合成地点是细胞溶质。碳原子的受体不同于动物，是软脂酰 ACP；碳原子的给体也不同与动物，是丙二酸单酰 ACP。在两种生物中，合成硬脂酸的还原剂都是一样的。

1. 答：乙醛酸循环是一个有机酸代谢环，它存在于植物和微生物中，在动物组织中尚未发现。乙醛酸循环反应分为五步（略）。总反应说明，循环每转 1 圈需要消耗 2 分子乙酰 CoA，同时产生 1 分子琥珀酸。琥珀酸产生后，可进入三羧酸循环代谢，或者变为葡萄糖。

乙醛酸循环的意义有如下几点：(1) 乙酰 CoA 经乙醛酸循环可琥珀酸等有机酸，这些有机酸可作为三羧酸循环中的基质。(2) 乙醛酸循环是微生物利用乙酸作为碳源建造自身机体的途径之一。(3) 乙醛酸循环是油料植物将脂肪酸转变为糖的途径。

2. 答：在饱和脂肪酸的生物合成中，脂肪酸碳链的延长需要丙二酸单酰 CoA。乙酰 CoA 羧化酶的作用就是催化乙酰 CoA 和 HCO_3^- 合成丙二酸单酰 CoA，为脂肪酸合成提供三碳化合物。乙酰 CoA 羧化酶催化反应（略）。乙酰 CoA 羧化酶是脂肪酸合成反应中的一种限速调节酶，它受柠檬酸的激活，但受棕榈酸的反馈抑制。
3. 答：在植物中，不仅可以合成单不饱和脂肪酸，而且可以合成多不饱和脂肪酸，例如亚油酸、亚麻酸和桐油酸等。植物体中单不饱和脂肪酸的合成，主要是通过氧化脱氢途径进行。这个氧化脱氢反应需要氧分子和 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 参加，另外还需要黄素蛋白和铁氧还蛋白参加，由去饱和酶催化。植物体中多不饱和脂肪酸的合成，主要是在单不饱和脂肪酸基础上进一步氧化脱氢，可生成二烯酸和三烯酸，由专一的去饱和酶催化并需氧分子和 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 参加。

在哺乳动物中，仅能合成单不饱和脂肪酸，如油酸，不能合成多不饱和脂肪酸，动物体内存在的多不饱和脂肪酸，如亚油酸等，完全来自植物油脂，由食物中摄取。动物体内单不饱和脂肪酸的合成，是通过氧化脱氢途径进行的。由去饱和酶催化，该酶存在于内质网膜上，反应需要氧分子和 $\text{NADPH}+\text{H}^+$ 参与，此外还需要细胞色素 b_5 和细胞色素 b_5 还原酶存在，作为电子的传递体。整个过程传递 4 个电子，所形成的产物含顺式 9 烯键。

细菌中，不饱和脂肪酸的合成不同于动、植物，动植物是通过有氧途径，而细菌是通过厌氧途径，细菌先通过脂肪酸合成酶系，合成十碳的 Δ^9 -烯酰-SACP；然后在脱水酶作用下，形成顺 Δ^9 -烯酰-SACP，再在此化合物基础上，形成不同

长度的单烯酰胺。

(七) 计算题

1. 答：软脂酸经 β -氧化，则生成 8 个乙酰 CoA，7 个 FADH_2 和 7 个 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 。
乙酰 CoA 在三羧酸循环中氧化分解，一个乙酰 CoA 生成 12 个 ATP，
所以 $12 \times 8=96\text{ATP}$ ，7 个 FADH_2 经呼吸链氧化可生成 $2 \times 7=14\text{ATP}$ ，
7 $\text{NADH}+\text{H}^+$ 经呼吸链氧化可生成 $3 \times 7=21\text{ATP}$ ，三者相加，减去消耗掉 1 个 ATP，
实得 $96+14+21-1=130\text{mol/LATP}$ 。

每有 1mol/L 软脂酸氧化，即可生成 130mol/LATP。

软脂酸的分子量为 256.4，所以软脂酸氧化时的 $G^0 = 256.4 \times 9000 = 2.31 \times 10^6 \text{cal/mol}$ ，130molATP 贮存能量 $7.3 \times 130 = 949\text{Kcal}$

贮存效率 $= 949 / 2.31 \times 10^3 = 41.08\%$

2. 答：甘油磷酸化消耗	- 1ATP
磷酸甘油醛脱氢， FADH_2 ，生成	2 ATP
磷酸二羟丙酮酵解生成	2 ATP
磷酸甘油醛脱氢 NAD、 $\text{NADH}(\text{H}^+)$ 穿梭生成	2 或 3 ATP
丙酮酸完全氧化	15 ATP
<hr/>	
	20 或 21 mol/LATP

第八章 含氮化合物代谢

一、知识要点

蛋白质和核酸是生物体中有重要功能的含氮有机化合物,它们共同决定和参与多种多样的生命活动。在自然界的氮素循环中,大气是氮的主要储库,微生物通过固氮酶的作用将大气中的分子态氮转化成氨,硝酸还原酶和亚硝酸还原酶也可以将硝态氮还原为氨,在生物体中氨通过同化作用和转氨基作用等方式转化成有机氮,进而参与蛋白质和核酸的合成。

(一) 蛋白质和氨基酸的酶促降解

在蛋白质分解过程中,蛋白质被蛋白酶和肽酶降解成氨基酸。氨基酸用于合成新的蛋白质或转变成其它含氮化合物(如卟啉、激素等),也有部分氨基酸通过脱氨和脱羧作用产生其它活性物质或为机体提供能量,脱下的氨可被重新利用或经尿素循环转变成尿素排出体外。

(二) 氨基酸的生物合成

转氨基作用是氨基酸合成的主要方式。转氨酶以磷酸吡哆醛为辅酶,谷氨酸是主要的氨基供体,氨基酸的碳架主要来自糖代谢的中间物。不同的氨基酸生物合成途径各不相同,但它们都有一个共同的特征,就是所有氨基酸都不是以 CO_2 和 NH_3 为起始原料从头合成的,而是起始于三羧酸循环、糖酵解途径和磷酸戊糖途径的中间物。不同生物合成氨基酸的能力不同,植物和大部分微生物能合成全部 20 种氨基酸,而人和其它哺乳动物及昆虫等只能合成部分氨基酸,机体不能合成的氨基酸称为必需氨基酸,人有八种必需氨基酸,它们是:Lys、Trp、Phe、Val、Thr、Leu、Ile 和 Met。

(三) 核酸的酶促降解

核酸通过核酸酶降解成核苷酸,核苷酸在核苷酸酶的作用下可进一步降解为碱基、戊糖和磷酸。戊糖参与糖代谢,嘌呤碱经脱氨、氧化生成尿酸,尿酸是人类和灵长类动物嘌呤代谢的终产物。其它哺乳动物可将尿酸进一步氧化生成尿囊酸。植物体内嘌呤代谢途径与动物相似,但产生的尿囊酸不是被排出体外,而是经运输并贮藏起来,被重新利用。

嘧啶的降解过程比较复杂。胞嘧啶脱氨后转变成尿嘧啶,尿嘧啶和胸腺嘧啶经还原、水解、脱氨、脱羧分别产生 β -丙氨酸和 β -氨基异丁酸,两者经脱氨后转变成相应的酮酸,进入 TCA 循环进行分解和转化。 β -丙氨酸还参与辅酶 A 的合成。

(四) 核苷酸的生物合成

生物能利用一些简单的前体物质从头合成嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸。嘌呤核苷酸的

合成起始于 5-磷酸核糖经磷酸化产生的 5-磷酸核糖焦磷酸 (PRPP)。合成原料是二氧化碳、甲酸盐、甘氨酸、天冬氨酸和谷氨酰氨。首先合成次黄嘌呤核苷酸,再转变成腺嘌呤核苷酸和鸟嘌呤核苷酸。嘧啶核苷酸的合成原料是二氧化碳、氨、天冬氨酸和 PRPP,首先合成尿苷酸,再转变成 UDP、UTP 和 CTP。

在二磷酸核苷水平上,核糖核苷二磷酸 (NDP) 可转变成相应的脱氧核糖核苷二磷酸。催化此反应的酶为核糖核苷酸还原酶系,此酶由核苷二磷酸还原酶、硫氧还蛋白和硫氧还蛋白还原酶组成。脱氧胸苷酸 (dTMP) 的合成是由脱氧尿苷酸 (dUMP) 经甲基化生成的。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 蛋白酶 (Proteinase)
2. 肽酶 (Peptidase)
3. 氮平衡 (Nitrogen balance)
4. 生物固氮 (Biological nitrogen fixation)
5. 硝酸还原作用 (Nitrate reduction)
6. 氮的同化 (Incorporation of ammonium ions into organic molecules)
7. 转氨作用 (Transamination)
8. 尿素循环 (Urea cycle)
9. 生糖氨基酸 (Glucogenic amino acid)
10. 生酮氨基酸 (Ketogenic amino acid)
11. 核酸酶 (Nuclease)
12. 限制性核酸内切酶 (Restriction endonuclease)
13. 氨基蝶呤 (Aminopterin)
14. 一碳单位 (One carbon unit)

(二) 英文缩写符号

- | | | | | |
|--------|--------|--------|--------|---------|
| 1. GOT | 2. GPT | 3. APS | 4. PAL | 5. PRPP |
| 6. SAM | 7. GDH | 8. IMP | | |

(三) 填空

1. 生物体内的蛋白质可被_____和_____共同作用降解成氨基酸。
2. 多肽链经胰蛋白酶降解后,产生新肽段羧基端主要是_____和_____氨基酸残基。

3. 胰凝乳蛋白酶专一性水解多肽链由_____族氨基酸_____端形成的肽键。
4. 氨基酸的降解反应包括_____、_____和_____作用。
5. 转氨酶和脱羧酶的辅酶通常是_____。
6. 谷氨酸经脱氨后产生_____和氨，前者进入_____进一步代谢。
7. 尿素循环中产生的_____和_____两种氨基酸不是蛋白质氨基酸。
8. 尿素分子中两个 N 原子，分别来自_____和_____。
9. 生物固氮作用是将空气中的_____转化为_____的过程。
10. 固氮酶由_____和_____两种蛋白质组成，固氮酶要求的反应条件是_____、_____和_____。
11. 硝酸还原酶和亚硝酸还原酶通常以_____或_____为还原剂。
12. 芳香族氨基酸碳架主要来自糖酵解中间代谢物_____和磷酸戊糖途径的中间代谢物_____。
13. 组氨酸合成的碳架来自糖代谢的中间物_____。
14. 氨基酸脱下氨的主要去路有_____、_____和_____。
15. 胞嘧啶和尿嘧啶经脱氨、还原和水解产生的终产物为_____。
16. 参与嘌呤核苷酸合成的氨基酸有_____、_____和_____。
17. 尿苷酸转变为胞苷酸是在_____水平上进行的。
18. 脱氧核糖核苷酸的合成是由_____酶催化的，被还原的底物是_____。
19. 在嘌呤核苷酸的合成中,腺苷酸的 C-6 氨基来自_____；鸟苷酸的 C-2 氨基来自_____。
20. 对某些碱基顺序有专一性的核酸内切酶称为_____。
21. 多巴是_____经_____作用生成的。
22. 生物体中活性蛋氨酸是_____，它是活泼_____的供应者。

(四) 选择题

1. 转氨酶的辅酶是：
 - A. NAD^+
 - B. NADP^+
 - C. FAD
 - D. 磷酸吡哆醛
2. 下列哪种酶对有多肽链中赖氨酸和精氨酸的羧基参与形成的肽键有专一性：
 - A. 羧肽酶
 - B. 胰蛋白酶
 - C. 胃蛋白酶
 - D. 胰凝乳蛋白酶
3. 参与尿素循环的氨基酸是：
 - A. 组氨酸
 - B. 鸟氨酸
 - C. 蛋氨酸
 - D. 赖氨酸
4. γ -氨基丁酸由哪种氨基酸脱羧而来：
 - A. Gln
 - B. His
 - C. Glu
 - D. Phe
5. 经脱羧后能生成吲哚乙酸的氨基酸是：

- A . Glu B . His C . Tyr D . Trp
- 6 . L-谷氨酸脱氢酶的辅酶含有哪种维生素：
A . V_{B1} B . V_{B2} C . V_{B3} D . V_{B5}
- 7 . 磷脂合成中甲基的直接供体是：
A . 半胱氨酸 B . S-腺苷蛋氨酸 C . 蛋氨酸 D . 胆碱
- 8 . 在尿素循环中，尿素由下列哪种物质产生：
A . 鸟氨酸 B . 精氨酸 C . 瓜氨酸 D . 半胱氨酸
- 9 . 需要硫酸还原作用合成的氨基酸是：
A . Cys B . Leu C . Pro D . Val
- 10 . 下列哪种氨基酸是其前体参入多肽后生成的：
A . 脯氨酸 B . 羟脯氨酸 C . 天冬氨酸 D . 异亮氨酸
- 11 . 组氨酸经过下列哪种作用生成组胺的：
A . 还原作用 B . 羟化作用
C . 转氨基作用 D . 脱羧基作用
- 12 . 氨基酸脱下的氨基通常以哪种化合物的形式暂存和运输：
A . 尿素 B . 氨甲酰磷酸 C . 谷氨酰胺 D . 天冬酰胺
- 13 . 丙氨酸族氨基酸不包括下列哪种氨基酸：
A . Ala B . Cys C . Val D . Leu
- 14 . 组氨酸的合成不需要下列哪种物质：
A . PRPP B . Glu C . Gln D . Asp
- 15 . 合成嘌呤和嘧啶都需要的一种氨基酸是：
A . Asp B . Gln C . Gly D . Asn
- 16 . 生物体嘌呤核苷酸合成途径中首先合成的核苷酸是：
A . AMP B . GMP C . IMP D . XMP
- 17 . 人类和灵长类嘌呤代谢的终产物是：
A . 尿酸 B . 尿囊素 C . 尿囊酸 D . 尿素
- 18 . 从核糖核苷酸生成脱氧核糖核苷酸的反应发生在：
A . 一磷酸水平 B . 二磷酸水平
C . 三磷酸水平 D . 以上都不是
- 19 . 在嘧啶核苷酸的生物合成中不需要下列哪种物质：
A . 氨甲酰磷酸 B . 天冬氨酸
C . 谷氨酰胺 D . 核糖焦磷酸
- 20 . 用胰核糖核酸酶降解 RNA，可产生下列哪种物质：
A . 3'-嘧啶核苷酸 B . 5'-嘧啶核苷酸
C . 3'-嘌呤核苷酸 D . 5'-嘌呤核苷酸

(五) 是非判断题

- () 1. 蛋白质的营养价值主要决定于氨基酸的组成和比例。
- () 2. 谷氨酸在转氨作用和使游离氨再利用方面都是重要分子。
- () 3. 氨甲酰磷酸可以合成尿素和嘌呤。
- () 4. 半胱氨酸和甲硫氨酸都是体内硫酸根的主要供体。
- () 5. 生物固氮作用需要厌氧环境, 是因为钼铁蛋白对氧十分敏感。
- () 6. 磷酸吡哆醛只作为转氨酶的辅酶。
- () 7. 在动物体内, 酪氨酸可以经羟化作用产生去甲肾上腺素和肾上腺素。
- () 8. 固氮酶不仅能使氮还原为氨, 也能使质子还原放出氢气。
- () 9. 芳香族氨基酸都是通过莽草酸途径合成的。
- () 10. 丝氨酸能用乙醛酸为原料来合成。
- () 11. 限制性内切酶的催化活性比非限制性内切酶的催化活性低。
- () 12. 尿嘧啶的分解产物 β -丙氨酸能转化成脂肪酸。
- () 13. 嘌呤核苷酸的合成顺序是, 首先合成次黄嘌呤核苷酸, 再进一步转化为腺嘌呤核苷酸和鸟嘌呤核苷酸。
- () 14. 嘧啶核苷酸的合成伴随着脱氢和脱羧反应。
- () 15. 脱氧核糖核苷酸的合成是在核糖核苷三磷酸水平上完成的。

(六) 反应方程式

1. 谷氨酸 + $\text{NAD(P)}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightarrow$ () + $\text{NAD(P)H} + \text{NH}_3$
催化此反应的酶是: ()
2. 谷氨酸 + $\text{NH}_3 + \text{ATP} \rightarrow$ () + () + $\text{Pi} + \text{H}_2\text{O}$
催化此反应的酶是: ()
3. 谷氨酸 + () \rightarrow () + 丙氨酸
催化此反应的酶是: 谷丙转氨酶
4. 5-磷酸核糖 + $\text{ATP} \rightarrow$ () + ()
催化此反应的酶是: PRPP 合成酶:
5. $\text{NMP} + \text{ATP} \rightarrow$ () + ADP
催化此反应的酶是: ()
4. $\text{dUMP} + \text{N}^{5,10}\text{亚甲四氢叶酸} \rightarrow$ () + ()
催化此反应的酶是: 胸腺嘧啶核苷酸合酶:

(七) 问答题

1. 举例说明氨基酸的降解通常包括哪些方式?
2. 用反应式说明 β -酮戊二酸是如何转变成谷氨酸的, 有哪些酶和辅因子参与?

3. 什么是尿素循环，有何生物学意义？
4. 什么是必需氨基酸和非必需氨基酸？
5. 为什么说转氨基反应在氨基酸合成和降解过程中都起重要作用？
6. 核酸酶包括哪几种主要类型？
7. 嘌呤核苷酸分子中各原子的来源及合成特点怎样？
8. 嘧啶核苷酸分子中各原子的来源及合成特点怎样？

三、参考答案

(一) 名词解释

1. 蛋白酶：以称肽链内切酶 (Endopeptidase)，作用于多肽链内部的肽键，生成较原来含氨基酸数少的肽段，不同来源的蛋白酶水解专一性不同。
2. 肽酶：只作用于多肽链的末端，根据专一性不同，可在多肽的 N-端或 C-端水解下氨基酸，如氨肽酶、羧肽酶、二肽酶等。
3. 氮平衡：正常人摄入的氮与排出氮达到平衡时的状态，反应正常人的蛋白质代谢情况。
4. 生物固氮：利用微生物中固氮酶的作用，在常温常压条件下将大气中的氮还原为氨的过程 ($N_2 + 3H_2 \rightarrow 2NH_3$)。
5. 硝酸还原作用：在硝酸还原酶和亚硝酸还原酶的催化下，将硝态氮转变成氨态氮的过程，植物体内硝酸还原作用主要在叶和根进行。
6. 氨的同化：由生物固氮和硝酸还原作用产生的氨，进入生物体后被转变为含氮有机化合物的过程。
7. 转氨作用：在转氨酶的作用下，把一种氨基酸上的氨基转移到 α -酮酸上，形成另一种氨基酸。
8. 尿素循环：尿素循环也称鸟氨酸循环，是将含氮化合物分解产生的氨转变成尿素的过程，有解除氨毒害的作用。
9. 生糖氨基酸：在分解过程中能转变成丙酮酸、 α -酮戊二酸乙、琥珀酰辅酶 A、延胡索酸和草酰乙酸的氨基酸称为生糖氨基酸。
10. 生酮氨基酸：在分解过程中能转变成乙酰辅酶 A 和乙酰乙酰辅酶 A 的氨基酸称为生酮氨基酸。
11. 核酸酶：作用于核酸分子中的磷酸二酯键的酶，分解产物为寡核苷酸或核苷酸，根据作用位置不同可分为核酸外切酶和核酸内切酶。
12. 限制性核酸内切酶：能作用于核酸分子内部，并对某些碱基顺序有专一性的核酸内

切酶，是基因工程中的重要工具酶。

13. 氨基蝶呤：对嘌呤核苷酸的生物合成起竞争性抑制作用的化合物，与四氢叶酸结构相似，又称氨基叶酸。
14. 一碳单位：仅含一个碳原子的基团如甲基（ CH_3- ）、亚甲基（ CH_2- ）、次甲基（ CH ）、甲酰基（ $\text{O}=\text{CH}-$ ）、亚氨甲基（ $\text{HN}=\text{CH}-$ ）等，一碳单位可来源于甘氨酸、苏氨酸、丝氨酸、组氨酸等氨基酸，一碳单位的载体主要是四氢叶酸，功能是参与生物分子的修饰。

（二）英文缩写符号

1. GOT (Glutamate-oxaloacetate transaminase): 谷草转氨酶，
2. GPT (Glutamate-pyruvate transaminase): 谷丙转氨酶
3. APS (Adenosine phosphosulfate): 腺苷酰硫酸
4. PAL (Phenyl-lalanine ammonia lyase): 苯丙氨酸解氨酶
5. PRPP (Phosphoribosyl pyrophosphate): 5-磷酸核糖焦磷酸
6. SAM (S-adenosylmethionine): S-腺苷蛋氨酸
7. GDH (Glutamate dehydrogenase): 谷氨酸脱氢酶
8. IMP (Inosinic acid): 次黄嘌呤核苷酸

（三）填空

1. 蛋白酶；肽酶
2. 赖氨酸；精氨酸
3. 芳香；羧基
4. 脱氨；脱羧；羟化
5. 磷酸吡哆醛
6. α -酮戊二酸；三羧酸循环；
7. 鸟氨酸；瓜氨酸
8. 氨甲酰磷酸；天冬氨酸
9. N_2 ； HN_3
10. 钼铁蛋白；铁蛋白；还原剂；ATP；厌氧环境
11. NAD(P)；铁氧还蛋白
12. 磷酸烯醇式丙酮酸；4-磷酸赤藓糖
13. 核糖
14. 生成尿素；合成谷氨酰胺；再合成氨基酸
15. α -丙氨酸
16. 甘氨酸；天冬氨酸；谷氨酰胺
17. 尿苷三磷酸

18. 核糖核苷二磷酸还原酶；核苷二磷酸
19. 天冬氨酸；谷氨酰胺
20. 限制性核酸内切酶
21. 酪氨酸；羟化
22. S-腺苷蛋氨酸；甲基

(四) 选择题

1. (D) A、B 和 C 通常作为脱氢酶的辅酶，磷酸吡哆醛可作为转氨酶、脱羧酶和消旋酶的辅酶。
2. (B) 胰蛋白酶属于肽链内切酶，专一水解带正电荷的碱性氨基酸羧基参与形成的肽键；羧肽酶是外肽酶，在蛋白质的羧基端逐个水解氨基酸；胰凝乳蛋白酶能专一水解芳香族氨基酸羧基参与形成的肽键；胃蛋白酶水解专一性不强。
3. (B) 氨基酸降解后产生的氨累积过多会产生毒性。游离的氨先经同化作用生成氨甲酰磷酸，再与鸟氨酸反应进入尿素循环（也称鸟氨酸循环），产生尿素排出体外。
4. (C)
5. (D)
6. (D) 谷氨酸脱氢酶催化的反应要求 NAD^+ 和 NADP^+ ， NAD^+ 和 NADP^+ 是含有维生素 B_5 （烟酰胺）的辅酶。焦磷酸硫胺素是维生素 B_1 的衍生物，常作为 α -酮酸脱羧酶和转酮酶的辅酶。FMN 和 FAD 是维生素 B_2 的衍生物，是多种氧化还原酶的辅酶。辅酶 A 是含有维生素 B_3 的辅酶，是许多酰基转移酶的辅酶。
7. (B) S-腺苷蛋氨酸是生物体内甲基的直接供体。
8. (B) 尿素循环中产生的精氨酸在精氨酸酶的作用下水解生成尿素和鸟氨酸。
9. (A) 半胱氨酸的合成需要硫酸还原作用提供硫原子。半胱氨酸降解也是生物体内生成硫酸根的主要来源。
10. (B) 羟脯氨酸不直接参与多肽合成，而是多肽形成后在脯氨酸上经脯氨酸羟化酶催化形成的。是胶原蛋白中存在的一种稀有氨基酸。
11. (D) 组氨是组氨酸经脱羧基作用生成的。催化此反应的酶是组氨酸脱羧酶，此酶与其它氨基酸脱羧酶不同，它的辅酶不是磷酸吡哆醛。
12. (C) 谷氨酰胺可以利用谷氨酸和游离氨为原料，经谷氨酰胺合酶催化生成，反应消耗一分子 ATP。
13. (B)
14. (D)
15. (A)
16. (C) 在嘌呤核苷酸生物合成中首先合成次黄嘌呤核苷酸 (IMP)，次黄嘌呤核苷酸氨基化生成嘌呤核苷酸，次黄嘌呤核苷酸先氧化成黄嘌呤核苷酸 (XMP)，再氨基化

生成鸟嘌呤核苷酸。

17. (A) 人类、灵长类、鸟类及大多数昆虫嘌呤代谢的最终产物是尿酸，其它哺乳动物是尿囊素，某些硬骨鱼可将尿囊素继续分解为尿囊酸，大多数鱼类生成尿素。
18. (B) 脱氧核糖核苷酸的合成，是以核糖核苷二磷酸为底物，在核糖核苷二磷酸还原酶催化下生成的。
19. (C)
20. (A) 胰核糖核酸酶是具有高度专一性的核酸内切酶，其作用位点为嘧啶核苷-3' 磷酸基与下一个核苷酸的-5' 羟基形成的酯键。因此，产物是 3' 嘧啶核苷酸或以 3' 嘧啶核苷酸结尾的寡核苷酸。

(五) 是非判断题

1. 对：摄入蛋白质的营养价值，在很大程度上决定于蛋白质中必需氨基酸的组成和比例，必需氨基酸的组成齐全，且比例合理的蛋白质营养价值高。
2. 对：在转氨基作用中谷氨酸是最主要的氨基供体，用于合成其它氨基酸；谷氨酸也可在谷氨酰氨合成酶的催化下结合游离氨形成谷氨酰氨，谷氨酰氨再与 α -酮戊二酸反应生成二分子谷氨酸，使游离氨得到再利用。
3. 错：氨甲酰磷酸可以经尿素循环生成尿素，也参与嘧啶核苷酸的合成，但与嘌呤核苷酸的合成无关。
4. 错：半胱氨酸体内硫酸根的主要供体，甲硫氨酸是体内甲基的主要供体。
5. 错：固氮酶包括钼铁蛋白和铁蛋白二种蛋白质组分，其中铁蛋白对氧十分敏感，要求严格厌氧环境，以便有较低的氧化还原电位还原钼铁蛋白。
6. 错：磷酸吡哆醛除作为转氨酶的辅酶外，还可作为脱羧酶和消旋酶的辅酶。
7. 对：酪氨酸在酪氨酸酶催化下发生羟化生成多巴（3, 4-二羟苯丙氨酸），多巴脱羧生成多巴胺（3, 4-二羟苯乙胺），多巴和多巴胺可进一步生成去甲肾上腺素和肾上腺素。
8. 对：固氮酶能还原质子（ H^+ ）而放出氢（ H_2 ），氢在氢酶的作用下将电子传给铁氧还蛋白，使氢作为还原氮的电子供体。
9. 对：磷酸烯醇式丙酮酸和磷酸赤藓糖首先形成莽草酸，进而形成色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸，反应过程称为莽草酸途径。
10. 对：在光合生物中，由光呼吸产生的乙醛酸经转氨作用可生成甘氨酸，二分子甘氨酸脱羧脱氨形成一分子丝氨酸。
11. 错：限制性内切酶比非限制性内切酶专一性高，与酶活力高低无关。
12. 对：尿嘧啶分解产生的 β -丙氨酸脱氨后生成甲酰乙酸，再脱羧生成乙酸，进而转化成乙酰辅酶 A，参与脂肪酸合成。
13. 对：生物体可以利用二氧化碳、甲酸盐、甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺和磷酸核糖

合成嘌呤核苷酸，首先合成次黄嘌呤核苷酸，再经转氨基作用形成腺嘌呤核苷酸和鸟嘌呤核苷酸。

14. 对：在嘧啶合成过程中，氨甲酰磷酸和天冬氨酸合成的氨甲酰天冬氨酸首先脱氢生成乳清酸，氢受体是 NAD^+ ，乳清酸与 PRPP 结合形成乳清酸核苷酸，后者脱羧形成尿苷酸。
15. 错：脱氧核糖核苷酸的合成是在核糖核苷二磷酸水平上由核糖核苷二磷酸还原酶催化完成的，反应需要还原剂，大肠杆菌中为硫氧还蛋白和 NADPH。

(六) 反应方程式

1. 谷氨酸 + $\text{NAD(P)}^+ + \text{H}_2\text{O}$ (-酮戊二酸) + $\text{NAD(P)H} + \text{NH}_3$
催化此反应的酶是：(谷氨酸脱氢酶)
2. 谷氨酸 + $\text{NH}_3 + \text{ATP}$ (谷氨酰胺) + (ADP) + $\text{Pi} + \text{H}_2\text{O}$
催化此反应的酶是：(谷氨酰胺合酶)
3. 谷氨酸 + (丙酮酸) (-酮戊二酸) + 丙氨酸
催化此反应的酶是：谷丙转氨酶
4. 5 磷酸核糖 + ATP (5 磷酸核糖焦磷酸) + (AMP)
催化此反应的酶是：PRPP 合成酶：
5. $\text{NMP} + \text{ATP}$ (NDP) + ADP
催化此反应的酶是：(核苷酸激酶)
6. $\text{dUMP} + \text{N}^{5,10}$ 亚甲四氢叶酸 (dTMP) + (二氢叶酸)
催化此反应的酶是：胸腺嘧啶核苷酸合酶：

(七) 问答题 (答题要点)

1. 答：(1) 脱氨基作用：包括氧化脱氨和非氧化脱氨，分解产物为 -酮酸和氨。
(2) 脱羧基作用：氨基酸在氨基酸脱羧酶的作用下脱羧，生成二氧化碳和胺类化合物。
(3) 羟化作用：有些氨基酸 (如酪氨酸) 降解时首先发生羟化作用，生成羟基氨基酸，再脱羧生成二氧化碳和胺类化合物。
2. 答：(1) 谷氨酸脱氢酶反应：
$$\text{-酮戊二酸} + \text{NH}_3 + \text{NADH} \quad \text{谷氨酸} + \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{O}$$

(2) 谷氨酸合酶-谷氨酰胺合酶反应：
$$\text{谷氨酸} + \text{NH}_3 + \text{ATP} \quad \text{谷氨酰胺} + \text{ADP} + \text{Pi} + \text{H}_2\text{O}$$

$$\text{谷氨酰胺} + \text{-酮戊二酸} + 2\text{H} \quad 2 \text{谷氨酸}$$

还原剂 (2H)：可以是 NADH、NADPH 和铁氧还蛋白
3. 答：(1) 尿素循环：尿素循环也称鸟氨酸循环，是将含氮化合物分解产生的氨经过

- 一系列反应转变成尿素的过程。有解除氨毒害的作用
- (2) 生物学意义：有解除氨毒害的作用
4. 答：(1) 必需氨基酸：生物体本身不能合成而为机体蛋白质合成所必需的氨基酸称为必需氨基酸，人的必需氨基酸有 8 种。
- (2) 非必需氨基酸：生物体本身能合成的蛋白质氨基酸称为非必需氨基酸，人的非必需氨基酸有 12 种。
5. 答：(1) 在氨基酸合成过程中，转氨基反应是氨基酸合成的主要方式，许多氨基酸的合成可以通过转氨酶的催化作用，接受来自谷氨酸的氨基而形成。
- (2) 在氨基酸的分解过程中，氨基酸也可以先经转氨基作用把氨基酸上的氨基转移到 酮戊二酸上形成谷氨酸，谷氨酸在谷氨酸脱羟酶的作用上脱去氨基。
6. 答：(1) 脱氧核糖核酸酶 (DNase)：作用于 DNA 分子。
- (2) 核糖核酸酶 (RNase)：作用于 RNA 分子。
- (3) 核酸外切酶：作用于多核苷酸链末端的核酸酶，包括 3' 核酸外切酶和 5' 核酸外切酶。
- (4) 核酸内切酶：作用于多核苷酸链内部磷酸二酯键的核酸酶，包括碱基专一性核酸内切酶和碱基序列专一性核酸内切酶 (限制性核酸内切酶)
7. 答：(1) 各原子的来源：N₁-天冬氨酸；C₂ 和 C₈-甲酸盐；N₇、C₄ 和 C₅-甘氨酸；C₆-二氧化碳；N₃ 和 N₉-谷氨酰胺；核糖-磷酸戊糖途径的 5' 磷酸核糖
- (2) 合成特点：5' 磷酸核糖开始 5' 磷酸核糖焦磷酸 (PRPP) 5' 磷酸核糖胺 (N₉) 甘氨酰胺核苷酸 (C₄、C₅、N₇) 甲酰甘氨酰胺核苷酸 (C₈) 5' 氨基咪唑核苷酸 (C₃) 5' 氨基咪唑-4-羧酸核苷酸 (C₆) 5' 氨基咪唑甲酰胺核苷酸 (N₁) 次黄嘌呤核苷酸 (C₂)。
8. 答：(1) 各原子的来源：N₁、C₄、C₅、C₆-天冬氨酸；C₂-二氧化碳；N₃-氨；核糖-磷酸戊糖途径的 5' 磷酸核糖。
- (2) 合成特点：氨甲酰磷酸 + 天冬氨酸 乳清酸
 乳清酸 + PRPP 乳清酸核苷-5' 磷酸 尿苷酸

第九章 核酸的生物合成

一、知识要点

在细胞分裂过程中通过 DNA 的复制把遗传信息由亲代传递给子代，在子代的个体发育过程中遗传信息由 DNA 传递到 RNA，最后翻译成特异的蛋白质；在 RNA 病毒中 RNA 具有自我复制的能力，并同时作为 mRNA，指导病毒蛋白质的生物合成；在致癌 RNA 病毒中，RNA 还以逆转录的方式将遗传信息传递给 DNA 分子。这种遗传信息的流向称为中心法则。

复制是指以原来 DNA 分子为模板，合成出相同 DNA 分子的过程；转录是在 DNA（或 RNA）分子上合成出与其核苷酸顺序相对应的 RNA（或 DNA）的过程；翻译是在以 rRNA 和蛋白质组成的核糖核蛋白体上，以 mRNA 为模板，根据每三个相邻核苷酸决定一种氨基酸的三联体密码规则，由 tRNA 运送氨基酸，合成出具有特定氨基酸顺序的蛋白质肽链的过程。

（一）DNA 的生物合成

在 DNA 复制时，亲代 DNA 的双螺旋先行解旋和分开，然后以每条链为模板，按照碱基配对原则，在这两条链上各形成一条互补链，这样从亲代 DNA 的分子可以精确地复制成 2 个子代 DNA 分子。每个子代 DNA 分子中，有一条链是从亲代 DNA 来的，另一条则是新形成的，这叫做半保留复制。通过 ^{14}N 和 ^{15}N 标记大肠杆菌实验证实了半保留复制。

1. 复制的起始点与方向

DNA 分子复制时，在亲代分子一个特定区域内双链打开，随之以两股链为模板复制生成两个子代 DNA 双链分子。开始时复制起始点呈现一叉形（或 Y 形），称之为复制叉。DNA 复制要从 DNA 分子的特定部位开始，此特定部位称为复制起始点（origin of replication），可以用 ori 表示。在原核生物中复制起始点常位于染色体的一个特定部位，即只有一个起始点。真核生物的染色体是在几个特定部位上进行 DNA 复制的，有几个复制起始点的。酵母基因组与真核生物基因组相同，具有多个复制起始点。

复制的方向可以有三种不同的机制。其一是从两个起始点开始，各以相反的单方向生长出一条新链，形成两个复制叉。其二是从一个起始点开始，以同一方向生长出两条链，形成一个复制叉。其三是从一个起始点开始，沿两个相反的方向各生长出两条链，形成两个复制叉。

2. DNA 聚合反应有关的酶及相关蛋白因子

DNA 的合成是以四种三磷酸脱氧核糖核苷为底物的聚合反应，该过程除了需要酶

的催化之外，还需要适量的 DNA 为模板，RNA（或 DNA）为引物和镁离子的参与。催化这个反应的酶也有多种：DNA 聚合酶、RNA 引物合成酶（即引发酶）、DNA 连接酶、拓扑异构酶、解螺旋酶及多种蛋白质因子参与。

3. DNA 的复制过程

DNA 的复制按一定的规律进行，双螺旋的 DNA 是边解开边合成新链的。复制从特定位点开始，可以单向或双向进行，但是以双向复制为主。由于 DNA 双链的合成延伸均为 5' → 3' 的方向，因此复制是以半不连续的方式进行，即其中一条链相对地连续合成，称之为领头链，另一条链的合成是不连续的，称为随后链。在 DNA 复制叉上进行的基本活动包括双链的解开；RNA 引物的合成；DNA 链的延长；切除 RNA 引物，填补缺口，连接相邻的 DNA 片段。

（二）逆向转录

在逆转录酶作用下，以 RNA 为模板，按照 RNA 中的核苷酸顺序合成 DNA，这与通常转录过程中遗传信息流从 DNA 到 RNA 的方向相反，故称为逆向转录。逆转录酶需要以 RNA（或 DNA）为模板，以四种 dNTP 为原料，要求短链 RNA（或 DNA）作为引物，此外还需要适当浓度的二价阳离子 Mg^{2+} 和 Mn^{2+} ，沿 5' → 3' 方向合成 DNA，形成 RNA-DNA 杂交分子（或 DNA 双链分子）。逆转录酶是一种多功能酶，它除了具有以 RNA 为模板的 DNA 聚合酶和以 DNA 为模板的 DNA 聚合酶活性外还兼有 RNaseH、DNA 内切酶、DNA 拓扑异构酶、DNA 解链酶和 tRNA 结合的活性。

几乎所有真核生物的 mRNA 分子的 3' 末端都有一段多聚腺苷酸。当加入寡聚 dT 作引物时，mRNA 就可以成为逆转录酶的模板，在体外合成与其互补的 DNA，称为 cDNA。

（三）DNA 突变

DNA 突变是指 DNA 的碱基顺序发生突然而永久性地变化，从而影响 DNA 的复制，并使 DNA 的转录和翻译也跟着改变，表现出异常的遗传特征。DNA 的突变可以有几种形式：（1）一个或几个碱基对被置换；（2）插入一个或几个碱基对；（3）一个或多个碱基对缺失。置换和插入的变化是可逆的，缺失则是不可逆的。最常见的突变形式是碱基对的置换。嘌呤碱之间或嘧啶碱之间的置换称为转换，嘌呤和嘧啶之间的置换称为颠换。突变有自发突变和诱发突变。在 DNA 的合成中，自发突变的机率很低，大约每 10^9 个碱基对发生一次突变；各种 RNA 肿瘤病毒具有很高的自发突变频率。诱发突变可以由物理因素或化学因素引起，物理因素如电离辐射和紫外光等均可以诱发突变。化学因素的诱变，如脱氨剂和烷化试剂均可诱发突变。亚硝酸为强脱氨剂，可使腺嘌呤转变为次黄嘌呤，鸟嘌呤转变为黄嘌呤，胞嘧啶转变为尿嘧啶，而导致碱基配对错误。烷化剂如硫酸二甲酯（DMS）可使鸟嘌呤的 N₇ 位氮原子甲基化，使之成为带一个正电荷的季铵基团，减弱 N₉ 位上的 N-糖苷键，至使脱氧核糖苷键不稳定，发生水解而丢失嘌呤碱，以后可被其它碱基取代，或引起 DNA 的链断裂。

(四) DNA 损伤与修复

某些物理化学因子,如紫外线、电离辐射和化学诱变剂等,都能引起生物突变和致死。因为它们均能作用于 DNA,造成其结构和功能的破坏。但细胞内具有一系列起修复作用的酶系统,可以除去 DNA 上的损伤,恢复 DNA 的正常双螺旋结构。目前已经知道有四种修复系统:光复活,切除修复,重组修复和诱导修复。后三种机制不需要光照,因此又称为暗修复。

1. 光复活

光复活的机制是可见光(最有效波长为 400nm 左右)激活了光复活酶,它能分解由于紫外线照射而形成的嘧啶二聚体。光复活作用是一种高度专一的修复方式。

2. 切除修复

又称为复制前修复。所谓切除修复,即是在一系列酶的作用下,将 DNA 分子中受损伤部分切除掉,并以完整的那一条链为模板,合成出切去的部分,然后使 DNA 恢复正常结构的过程。这是比较普遍的一种修复机制,它对多种损伤均能起修复作用。参与切除修复的酶主要有:特异的核酸内切酶、外切酶、聚合酶和连接酶。

3. 重组修复

遗传信息有缺损的子代 DNA 分子可通过遗传重组而加以弥补,即从完整的母链上将相应核苷酸序列片段移至子链缺口处,然后用再合成的序列来补上母链的空缺。此过程称为重组修复,因为发生在复制之后,又称为复制后修复。

参与重组修复的酶系统包括与重组有关的主要酶类以及修复合成的酶类。重组基因 *rec A* 编码的蛋白质,具有交换 DNA 链的活力。*rec A* 蛋白被认为在 DNA 重组和重组修复中均起着关键的作用。*rec B* 和 *rec C* 基因分别编码核酸外切酶 V 的两个亚基,该酶亦为重组和重组修复所必需。修复合成时需要 DNA 聚合酶和连接酶。

4. 诱导修复

许多能造成 DNA 损伤或抑制复制的处理均能引起一系列复杂的诱导效应,称为应急反应(SOS response)。SOS 反应包括诱导出现的 DNA 损伤修复效应、诱变效应、细胞分裂的抑制以及溶原性细菌释放噬菌体等等。

(五) RNA 的生物合成

以 DNA 的一条链为模板在 RNA 聚合酶催化下,以四种核糖核苷酸为底物按照碱基配对原则,形成 3'—5' 磷酸二酯键,合成一条与 DNA 链的一定区段互补的 RNA 链的过程称为转录。RNA 的转录起始于 DNA 模板的一个特定位点,并在另一位点处终止。在生物体内, DNA 的二条链中仅有一条链可作为转录的模板,这称为转录的不对称性。用作模板的链称为反义链,另一条链称为有义链,因为有义链的脱氧核苷酸序列正好与转录出的 RNA 的核苷酸序列相同(只是 T 与 U 的区别),所以也称编码链。但各个基因的有义链不一定位于同一条 DNA 链。RNA 的合成沿 5'—3' 方向进行(DNA 模板链方向为 3'—5'), 5' 末端为核糖核苷三磷酸,即 5' 位保留 PPP。

在真核生物细胞里，转录是在细胞核内进行的。合成的 RNA 包括 mRNA、rRNA 和 tRNA 的前体。rRNA 的合成发生在核仁内，而合成 mRNA 和 tRNA 的酶则定位在核质中。另外叶绿体和线粒体也进行转录。原核细胞中转录酶类存在于细胞液中。

1. RNA 聚合酶

原核细胞大肠杆菌的 RNA 聚合酶研究的较深入。这个酶的全酶由 5 种亚基 (α , β , β' , γ , ω) 组成，还含有 2 个 Zn 原子。在 RNA 合成起始之后， σ 因子便与全酶分离。不含 σ 因子的酶仍有催化活性，称为核心酶。 σ 亚基具有与启动子结合的功能， σ 亚基催化效率很低，而且可以利用别的 DNA 的任何部位作模板合成 RNA。加入 σ 因子后，则具有了选择起始部位的作用， σ 因子可能与核心酶结合，改变其构象，从而使它能特异地识别 DNA 模板链上的起始信号。

真核细胞的细胞核内有 RNA 聚合酶 I、II 和 III，通常由 4~6 种亚基组成，并含有 Zn^{2+} 。RNA 聚合酶 I 存在于核仁中，主要催化 rRNA 前体的转录。RNA 聚合酶 II 存在于核质中，分别催化 mRNA 前体和小分子量 RNA 的转录。此外线粒体和叶绿体也含有 RNA 聚合酶，其特性类似原核细胞的 RNA 聚合酶。

2. RNA 的转录过程

RNA 转录过程为起始位点的识别、起始、延伸、终止。

起始位点的识别：RNA 聚合酶先与 DNA 模板上的特殊启动子部位结合， σ 因子起着识别 DNA 分子上的起始信号的作用。在 σ 亚基作用下帮助全酶迅速找到启动子，并与之结合生成较松弛的封闭型启动子复合物。这时酶与 DNA 外部结合，识别部位大约在启动子的 -35 位点处。接着是 DNA 构象改变活化，得到开放型的启动子复合物，此时酶与启动子紧密结合，在 -10 位点处解开 DNA 双链，识别其中的模板链。由于该部位富含 A-T 碱基对，故有利于 DNA 解链。开放型复合物一旦形成，DNA 就继续解链，酶移动到起始位点。

3. 起始：在起始位点的全酶结合第一个核苷三磷酸。第一个核苷三磷酸常是 GTP 或 ATP。形成的启动子、全酶和核苷三磷酸复合物称为三元起始复合物，第一个核苷酸掺入的位置称为转录起始点。这时 σ 亚基被释放脱离核心酶。

4. 延伸：从起始到延伸的转变过程，包括 σ 因子由缔合向解离的转变。DNA 分子和酶分子发生构象的变化，核心酶与 DNA 的结合松弛，核心酶可沿模板移动，并按模板序列选择下一个核苷酸，将核苷三磷酸加到生长的 RNA 链的 3'-OH 端，催化形成磷酸二酯键。转录延伸方向是沿 DNA 模板链的 3'→5' 方向按碱基配对原则生成 5'→3' 的 RNA 产物。RNA 链延伸时，RNA 聚合酶继续解开一段 DNA 双链，长度约 17 个碱基对，使模板链暴露出来。新合成的 RNA 链与模板形成 RNA-DNA 的杂交区，当新生的 RNA 链离开模板 DNA 后，两条 DNA 链则重新形成双股螺旋结构。

4. 终止 在 DNA 分子上有终止转录的特殊碱基顺序称为终止子 (terminators)，它具有使 RNA 聚合酶停止合成 RNA 和释放 RNA 链的作用。这些终止信号有的能被 RNA

聚合酶自身识别，而有的则需要有 σ 因子的帮助。 σ 因子是一个四聚体蛋白质，它能与 RNA 聚合酶结合但不是酶的组分。它的作用是阻 RNA 聚合酶向前移动，于是转录终止，并释放出已转录完成的 RNA 链。对于不依赖于 σ 因子的终止子序列的分析，发现有两个明显的特征：即在 DNA 上有一个 15~20 个核苷酸的二重对称区，位于 RNA 链结束之前，形成富含 G-C 的发夹结构。接着有一串大约 6 个 A 的碱基序列它们转录的 RNA 链的末端为一连串的 U。寡聚 U 可能提供信号使 RNA 聚合酶脱离模板。在真核细胞内，RNA 的合成要比原核细胞中的复杂得多。

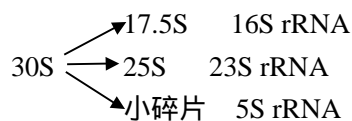
(六) 转录后加工

在转录中新合成的 RNA 往往是较大的前体分子，需要经过进一步的加工修饰，才转变为具有生物学活性的、成熟的 RNA 分子，这一过程称为转录后加工。主要包括剪接、剪切和化学修饰。

1. mRNA 的加工 在原核生物中转录翻译相随进行，多基因的 mRNA 生成后，绝大部分直接作为模板去翻译各个基因所编码的蛋白质，不再需要加工。但真核生物里转录和翻译的时间和空间都不相同，mRNA 的合成是在细胞核内，而蛋白质的翻译是在胞质中进行，而且许多真核生物的基因是不连续的。不连续基因中的插入序列，称为内含子；被内含子隔开的基因序列称为外显子。一个基因的外显子和内含子都转录在一条很大的原初转录本 RNA 分子中，故称为核内不均一 RNA (hnRNA)。它们首先降解为分子较小的 RNA，再经其它修饰转化为 mRNA。真核细胞 mRNA 的加工包括：(1) hnRNA 被剪接，除去由内含子转录来的序列，将外显子的转录序列连接起来。(2) 在 3' 末端连接上一段约有 20~200 个腺苷酸的多聚腺苷酸 (poly A) 的“尾巴”结构。不同 mRNA 的长度有很大差异。(3) 在 5' 末端连接上一个“帽子”结构 $m^7GpppmNP$ 。(4) 在内部少数腺苷酸的腺嘌呤 6 位氨基发生甲基化 (m^6A)。

2. tRNA 的加工 原核生物的 tRNA 基因的转录单元大多数是多基因的。不但相同或不同的 tRNA 的几个基因可转录在一条 RNA 中，有的 tRNA 还与 rRNA 组成转录单元，因此 tRNA 前体的加工过程包括剪切、剪接，在 3' 末端添加 CCA_{OH} ，以及核苷酸修饰转化为成熟的 tRNA。tRNA 中含有许多稀有碱基，所有这些碱基均是在转录后由四种常见碱基经修饰酶催化，发生脱氨、甲基化、羟甲基化等化学修饰而生成的。

3. rRNA 的加工 原核细胞首先生成的是 30S 前体 rRNA，经核糖核酸酶作用，逐步裂解为 16S、23S 和 5S 的 rRNA，其裂解过程可归纳如下：



原核生物 16S rRNA 和 23S rRNA 含有较多的甲基化修饰成分，特别是 2-甲基核糖。一般 5S rRNA 中无修饰成分。在真核细胞中 rRNA 的转录后加工与原核细胞类似，但更为复杂。rRNA 在核仁中合成，生成一个更大 35~45S 前体 rRNA。前体分裂而转变为 28S、

18S 和 5.8S 的 rRNA 分子。真核生物 5S rRNA 前体是由独立于上述三种 rRNA 之外的基因转录的。真核生物 rRNA 中与含有较多的甲基化成分。

有关 RNA 剪接、剪切机制的研究不仅发现了 RNA 分子本身具有催化功能,这种具有剪接功能的 RNA 催化剂命名为核酶。目前已发现的具有催化功能的 RNA 有磷酸二酯酶(核糖核酸酶)、磷酸单酯酶、核苷酸转移酶、磷酸转移酶、RNA 限制性内切酶、tRNA 5' 端成熟酶、-1,4-葡聚糖分支酶和肽基转移酶等。目前研究表明核酶催化 rRNA、tRNA、mRNA 的剪接机理是不相同的。RNA 内含子有四种类型,即 I 型自我拼接内含子、II 型自我拼接内含子、核 mRNA 内含子和核 tRNA 内含子。

(七) RNA 的复制

大多数生物的遗传信息贮藏在 DNA 中,遗传信息按中心法则由 DNA 转录成 RNA,再由 RNA 翻译成蛋白质的。对 RNA 病毒的研究表明,某些 RNA 病毒是以 RNA 作模板复制出病毒 RNA 分子。

Q_β 噬菌体 RNA 的复制可分为两个阶段:(1)当 Q_β 噬菌体侵染大肠杆菌细胞后,其单链 RNA 充当 mRNA,利用宿主细胞中的核糖体合成噬菌体外壳蛋白质和复制酶亚基;(2)当复制酶的亚基和宿主细胞原有的 RNA 聚合酶亚基自动装配成 RNA 复制酶以后,就进行 RNA 复制。以侵染的噬菌体 RNA 作模板,通过 RNA 复制酶合成互补的 RNA 链。常把具有 mRNA 功能的链称为正链,与它互补的链称为负链。在噬菌体特有的复制酶装配好后不久酶就吸附到正链 RNA 的 3' 末端,以它为模板合成出负链,至合成结束,然后负链从正链模板上释放出来。同一个酶又吸附到负链 RNA 的 3' 末端,合成出病毒正链 RNA,正链 RNA 与外壳蛋白装配成噬菌体颗粒,所以正链和负链的合成方向都是由 5' → 3'。

(八) 基因工程的操作技术

1. 目的基因

体外操作 DNA 的主要步骤之一是提取载体 DNA 和所需要的外源目的基因。在细胞中 DNA 并非以游离态分子存在,而是和 RNA 及蛋白质结合在一起形成复合体。DNA 纯化的基本步骤是:(1)从破坏的细胞壁和膜里释放出可溶性的 DNA;(2)通过变性或蛋白质分解,使 DNA 和蛋白质的复合体解离;(3)将 DNA 从其它大分子中分离出来;(4)DNA 浓度和纯度的光学测定。

2. 载体

外源 DNA 片段(目的基因)要进入受体细胞,必须有一个适当的运载工具将带入细胞内,并载着外源 DNA 一起进行复制与表达,这种运载工具称为载体。

载体必须具备下列条件:(1)在受体细胞中,载体可以独立地进行复制。所以载体本身必须是一个复制单位,称复制子(replicon),具有复制起点。而且插入外源 DNA 后不会影响载体本身复制的能力。(2)易于鉴定、筛选。也就是说,容易将带有外源 DNA 的重组体与不带外源 DNA 的载体区别开来。(3)易于引入受体细胞。

常用的载体主要有以下几类：细菌和酵母的质粒，噬菌体和 M13 以及病毒。

3. 连接

外源 DNA 与载体 DNA 之间可以通过多种方式相连接，主要有以下几种(1) 粘性末端连接；(2) 平头末端连接；(3) 接头连接等。

4. 转化

任何外源 DNA 重组到载体上，然后转入受体细胞中复制繁殖，这一过程称为 DNA 的克隆。外源 DNA 进入受体细胞并使它获得新遗传特性的过程称为转化。转化作用是将外源 DNA 引入细胞的过程。

5. 筛选 由于细胞转化的频率较低，所以从大量的宿主细胞中筛选出带有重组体的细胞并不是很容易的，当前，在实验室中，常用的筛选手段有以下几种：(1) 插入失活；(2) 菌落原位杂交；(3) 免疫学方法。此外，对重组体转化的鉴定还可以采用表现型的鉴定；对重组质粒纯化并重新转化；限制性酶切图谱的绘制；重组质粒上的基因定位等更深入的方法。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 半保留复制 (semiconservative replication)
2. 不对称转录 (asymmetric transcription)
3. 逆转录 (reverse transcription)
4. 冈崎片段 (Okazaki fragment)
5. 复制叉 (replication fork)
6. 领头链 (leading strand)
7. 随后链 (lagging strand)
8. 有意义链 (sense strand)
9. 光复活 (photoreactivation)
10. 重组修复 (recombination repair)
11. 内含子 (intron)
12. 外显子 (exon)
13. 基因载体 (genomic vector)
14. 质粒 (plasmid)

(二) 填空题

1. DNA 复制是定点双向进行的，_____股的合成是_____，并且合成方向和复制叉移动

- 方向相同；____股的合成是____的，合成方向与复制叉移动的方向相反。每个冈崎片段是借助于连在它的____末端上的一小段____而合成的；所有冈崎片段链的增长都是按____方向进行。
2. DNA 连接酶催化的连接反应需要能量，大肠杆菌由____供能，动物细胞由____供能。
 3. 大肠杆菌 RNA 聚合酶全酶由____组成；核心酶的组成是____。参与识别起始信号的是____因子。
 4. 基因有两条链，作为模板指导转录的那条链称____链。
 5. 以 RNA 为模板合成 DNA 称____，由____酶催化。
 6. DNA 或 UpGpCpA 分别经 0.3NKOH、RNaseT₁ 和牛胰 RNaseI 处理所得结果：
DNA: 0.3NKOH：____；RNaseT₁：____；RNase I：____；
UpGpCpA：0.3NKOH：____；RNaseT₁：____；RNase I：____。
 7. 基因突变形式分为：____，____，____和____四类。
 8. 亚硝酸是一个非常有效的诱变剂，因为它可直接作用于 DNA，使碱基中____基氧化成____基，造成碱基对的____。
 9. 所有冈崎片段的延伸都是按____方向进行的。
 10. 前导链的合成是____的，其合成方向与复制叉移动方向____；随后链的合成是____的，其合成方向与复制叉移动方向____。
 11. 引物酶与转录中的 RNA 聚合酶之间的差别在于它对____不敏感，并可以作为底物。
 12. DNA 聚合酶 I 的催化功能有____、____、____、____和____。
 13. DNA 回旋酶又叫____，它的功能是____。
 14. 细菌的环状 DNA 通常在一个____开始复制，而真核生物染色体中的线形 DNA 可以在____起始复制。
 15. 大肠杆菌 DNA 聚合酶 的____活性使之具有____功能，极大地提高了 DNA 复制的保真度。
 16. 大肠杆菌中已发现____种 DNA 聚合酶，其中____负责 DNA 复制，____负责 DNA 损伤修复。
 17. DNA 切除修复需要的酶有____、____、____和____。
 18. 在 DNA 复制中，____可防止单链模板重新缔合和核酸酶的攻击。
 19. DNA 合成时，先由引物酶合成____，再由____在其 3 端合成 DNA 链，然后由切除引物并填补空隙，最后由____连接成完整的链。
 20. 原核细胞中各种 RNA 是____催化生成的，而真核细胞核基因的转录分别由____种 RNA 聚合酶催化，其中 rRNA 基因由____转录，hnRNA 基因由____转录，各类小分子量 RAN 则是____的产物。

21. 一个转录单位一般应包括_____序列、_____序列和_____顺序。
22. 真核细胞中编码蛋白质的基因多为_____。编码的序列还保留在成熟 mRNA 中的是_____, 编码的序列在前体分子转录后加工中被切除的是_____。在基因中_____被_____分隔, 而在成熟的 mRNA 序列被拼接起来。
23. 染色质中的_____蛋白和_____蛋白对转录均有调节作用, 其中_____的调节作用具有组织特异性。

(三) 选择题

1. DNA 按半保留方式复制。如果一个完全放射标记的双链 DNA 分子, 放在不含有放射标记物的溶液中, 进行两轮复制, 所产生的四个 DNA 分子的放射活性将会怎样:
- A. 半数分子没有放射性 B. 所有分子均有放射性
- C. 半数分子的两条链均有放射性 D. 一个分子的两条链均有放射性
- E. 四个分子均无放射性
2. 参加 DNA 复制的酶类包括:(1)DNA 聚合酶 ;(2)解链酶 ;(3)DNA 聚合酶 ;(4)RNA 聚合酶(引物酶);(5)DNA 连接酶。其作用顺序是:
- A. (4) (3) (1) (2) (5) B. (2) (3) (4) (1) (5)
- C. (4) (2) (1) (5) (3) D. (4) (2) (1) (3) (5)
- E. (2) (4) (1) (3) (5)
3. 如果 ^{15}N 标记的大肠杆菌转入 ^{14}N 培养基中生长了三代, 其各种状况的 DNA 分子比例应是下列哪一项:
- | | 纯 ^{15}N
- DNA | $^{15}\text{N} - ^{14}\text{N}$
杂种 DNA | 纯 ^{14}N
- DNA |
|----|----------------------------|---|----------------------------|
| A. | 1/8 | 1/8 | 6/8 |
| B. | 1/8 | 0 | 7/8 |
| C. | 0 | 1/8 | 7/8 |
| D. | 0 | 2/8 | 6/8 |
| E. | 0 | 4/8 | 4/8 |
4. 下列关于 DNA 复制特点的叙述哪一项错误的:
- A. RNA 与 DNA 链共价相连 B. 新生 DNA 链沿 5' → 3' 方向合成
- C. DNA 链的合成是不连续的 D. 复制总是定点双向进行的
- E. DNA 在一条母链上沿 5' → 3' 方向合成, 而在另一条母链上则沿 3' → 5' 方向合成
5. DNA 复制时, 5' - TpApGpAp - 3 序列产生的互补结构是下列哪一种:
- A. 5' - TpCpTpAp - 3 B. 5' - ApTpCpTp - 3
- C. 5' - UpCpUpAp - 3 D. 5' - GpCpGpAp - 3
- E. 3' - TpCpTpAp - 5

6. 下列关于 DNA 聚合酶 I 的叙述哪一项是正确的：
- 它起 DNA 修复酶的作用但不参加 DNA 复制过程
 - 它催化 dNTP 聚合时需要模板和引物
 - 在 DNA 复制时把冈崎片段连接成完整的随从链
 - 它催化产生的冈崎片段与 RNA 引物链相连
 - 有些细菌突变体其正常生长不需要它
7. 下列关于真核细胞 DNA 聚合酶活性的叙述哪一项是正确的：
- 它仅有一种
 - 它不具有核酸酶活性
 - 它的底物是二磷酸脱氧核苷
 - 它不需要引物
 - 它按 3' → 5' 方向合成新生链
8. 从正在进行 DNA 复制的细胞分离出的短链核酸 冈崎片段，具有下列哪项特性：
- 它们是双链的
 - 它们是一组短的单链 DNA 片段
 - 它们是 DNA-RNA 杂化双链
 - 它们被核酸酶活性切除
 - 它们产生于亲代 DNA 链的糖-磷酸骨架的缺口处
9. 切除修复可以纠正下列哪一项引起的 DNA 损伤：
- 碱基缺失
 - 碱基插入
 - 碱基甲基化
 - 胸腺嘧啶二聚体形成
 - 碱基烷基化
10. 大肠杆菌 DNA 连接酶需要下列哪一种辅助因子？
- FAD 作为电子受体
 - NADP⁺ 作为磷酸供体
 - NAD⁺ 形成活性腺苷酰酶
 - NAD⁺ 作为电子受体
 - 以上都不是
11. 下列关于 RNA 和 DNA 聚合酶的叙述哪一项是正确的：
- RNA 聚合酶用二磷酸核苷合成多核苷酸链
 - RNA 聚合酶需要引物，并在延长链的 5' 端加接碱基
 - DNA 聚合酶可在链的两端加接核苷酸
 - DNA 仅能以 RNA 为模板合成 DNA
 - 所有 RNA 聚合酶和 DNA 聚合酶只能在生长中的多核苷酸链的 3' 端加接核苷酸
12. 紫外线照射引起 DNA 最常见的损伤形式是生成胸腺嘧啶二聚体。在下列关于 DNA 分子结构这种变化的叙述中，哪项是正确的：
- 不会终止 DNA 复制
 - 可由包括连接酶在内的有关酶系统进行修复
 - 可看作是一种移码突变
 - 是由胸腺嘧啶二聚体酶催化生成的
 - 引起相对的核苷酸链上胸腺嘧啶间的共价联结
13. 下列哪种突变最可能是致死的：

- A. 腺嘌呤取代胞嘧啶 B. 胞嘧啶取代鸟嘌呤
 C. 甲基胞嘧啶取代胞嘧啶 D. 缺失三个核苷酸
 E. 插入一个核苷酸
14. 镰刀形红细胞贫血病是异常血红蛋白纯合子基因的临床表现。β-链变异是由下列哪种突变造成的：
 A. 交换 B. 插入 C. 缺失 D. 染色体不分离 E. 点突变
15. 在培养大肠杆菌时，自发点突变的引起多半是由于：
 A. 氢原子的互变异构移位 B. DNA 糖-磷酸骨架的断裂
 C. 插入一个碱基对 D. 链间交联 E. 脱氧核糖的变旋
16. 插入或缺失碱基对会引起移码突变，下列哪种化合物最容易造成这种突变：
 A. 吡啶衍生物 B. 5-溴尿嘧啶
 C. 氮杂丝氨酸 D. 乙基乙磺酸 E. 咪唑硫嘌呤
17. 在对细菌 DNA 复制机制的研究中，常常用到胸腺嘧啶的类似物 5-溴尿嘧啶，其目的在于：
 A. 引起特异性移码突变以作为顺序研究用
 B. 在胸腺嘧啶参入部位中止 DNA 合成
 C. 在 DNA 亲和载体中提供一个反应基
 D. 合成一种密度较高的 DNA 以使用离心分离法予以鉴别
 E. 在 DNA 中造成一个能被温和化学方法裂解的特异部位
18. 关于 DNA 指导的 RNA 合成，下列叙述哪一项是错误的：
 A. 只有在 DNA 存在时，RNA 聚合酶才能催化磷酸二酯键的生成
 B. 转录过程中，RNA 聚合酶需要引物
 C. RNA 链的合成是从 5' → 3' 端
 D. 大多数情况下只有一股 DNA 链作为模板
 E. 合成的 RNA 链从来没有环状的
19. 下列关于 σ 因子的叙述哪一项是正确的：
 A. 是 RNA 聚合酶的亚基，起辨认转录起始点的作用
 B. 是 DNA 聚合酶的亚基，容许按 5' → 3' 和 3' → 5' 双向合成
 C. 是 50S 核蛋白体亚基，催化肽链生成
 D. 是 30S 核蛋白体亚基，促进 mRNA 与之结合
 E. 在 30S 亚基和 50S 亚基之间起搭桥作用，构成 70S 核蛋白体
20. 真核生物 RNA 聚合酶 I 催化转录的产物是：
 A. mRNA B. 45S-rRNA
 C. 5S-rRNA D. tRNA E. SnRNA
21. 下列关于真核细胞 DNA 复制的叙述哪一项是错误的：

- A. 是半保留式复制 B. 有多个复制叉
 C. 有几种不同的 DNA 聚合酶 D. 复制前组蛋白从双链 DNA 脱出
 E. 真核 DNA 聚合酶不表现核酸酶活性
22. 下列关于原核细胞转录终止的叙述哪一项是正确的：
 A. 是随机进行的 B. 需要全酶的 σ 亚基参加
 C. 如果基因的末端含 G C 丰富的回文结构则不需要 σ 亚基参加
 D. 如果基因的末端含 A T 丰富的片段则对转录终止最为有效
 E. 需要 ρ 因子以外的 ATP 酶
23. 下列关于大肠杆菌 DNA 连接酶的叙述哪些是正确的：
 A. 催化 DNA 双螺旋结构之断开的 DNA 链间形成磷酸二酯键
 B. 催化两条游离的单链 DNA 分子间形成磷酸二酯键
 C. 产物中不含 AMP
 D. 需要 ATP 作能源
24. 下列关于真核细胞 mRNA 的叙述不正确的是：
 A. 它是从细胞核的 RNA 前体 核不均 RNA 生成的
 B. 在其链的 3 端有 7-甲基鸟苷，在其 5 端连有多聚腺苷酸的 PolyA 尾巴
 C. 它是从前 RNA 通过剪接酶切除内含子连接外显子而形成的
 D. 是单顺反子的

(四) 是非判断题

- () 1. 中心法则概括了 DNA 在信息代谢中的主导作用。
- () 2. 原核细胞 DNA 复制是在特定部位起始的，真核细胞则在多个位点同时起始进行复制。
- () 3. 逆转录酶催化 RNA 指导的 DNA 合成不需要 RNA 引物。
- () 4. 原核细胞和真核细胞中许多 mRNA 都是多顺反子转录产物。
- () 5. 因为 DNA 两条链是反向平行的，在双向复制中一条链按 5' → 3' 的方向合成，另一条链按 3' → 5' 的方向合成。
- () 6. 限制性内切酶切割的 DNA 片段都具有粘性末端。
- () 7. 已发现一些 RNA 前体分子具有催化活性，可以准确地自我剪接，被称为核糖酶 (ribozyme)，或称核酶。
- () 8. 重组修复可把 DNA 损伤部位彻底修复。
- () 9. 原核生物中 mRNA 一般不需要转录后加工。
- () 10. RNA 聚合酶对弱终止子的识别需要专一的终止因子(如 ρ 蛋白)。
- () 11. 原核细胞启动子中 RNA 聚合酶牢固结合并打开 DNA 双链的部分称为 Pribnow box，真核细胞启动子中相应的顺序称为 Hogness box，因为富含 A-T，又称 TATA

box。

- () 12. 增强子 (enhancer) 是真核细胞 DNA 上一类重要的转录调节元件, 它们自己并没有启动子活性, 却具有增强启动子活性转录起始的效能。

(五) 问答题

1. 简述中心法则。
2. DNA 复制的基本规律?
3. 简述 DNA 复制的过程?
4. 简述 DNA 复制时酶系。
5. 简述原核细胞和真核细胞的 RNA 聚合酶有何不同?
6. 简述 RNA 转录的过程?
7. 简述基因工程过程。

三、参 考 答 案

(一) 名词解释

1. 半保留复制: 双链 DNA 的复制方式, 其中亲代链分离, 每一子代 DNA 分子由一条亲代链和一条新合成的链组成。
2. 不对称转录: 转录通常只在 DNA 的任一条链上进行, 这称为不对称转录。
3. 逆转录: Temin 和 Baltimore 各自发现在 RNA 肿瘤病毒中含有 RNA 指导的 DNA 聚合酶, 才证明发生逆向转录, 即以 RNA 为模板合成 DNA。
4. 冈崎片段: 一组短的 DNA 片段, 是在 DNA 复制的起始阶段产生的, 随后又被连接酶连接形成较长的片段。在大肠杆菌生长期间, 将细胞短时间地暴露在氚标记的胸腺嘧啶中, 就可证明冈崎片段的存在。冈崎片段的发现为 DNA 复制的科恩伯格机理提供了依据。
5. 复制叉: 复制 DNA 分子的 Y 形区域。在此区域发生链的分离及新链的合成。
6. 领头链: DNA 的双股链是反向平行的, 一条链是 5' 3' 方向, 另一条是 3' 5' 方向, 上述的起点处合成的领头链, 沿着亲代 DNA 单链的 3' 5' 方向 (亦即新合成的 DNA 沿 5' 3' 方向) 不断延长。所以领头链是连续的。
7. 随后链: 已知的 DNA 聚合酶不能催化 DNA 链朝 3' 5' 方向延长, 在两条亲代链起点的 3' 端一侧的 DNA 链复制是不连续的, 而分为多个片段, 每段是朝 5' 3' 方向进行, 所以随后链是不连续的。
8. 有意义链: 即华森链, 华森 克里格型 DNA 中, 在体内被转录的那股 DNA 链。简称为 W strand。

9. 光复活：将受紫外线照射而引起损伤的细菌用可见光照射，大部分损伤细胞可以恢复，这种可见光引起的修复过程就是光复活作用。
10. 重组修复：这个过程是先进行复制，再进行修复，复制时，子代 DNA 链损伤的对应部位出现缺口，这可通过分子重组从完整的母链上，将一段相应的多核苷酸片段移至子链的缺口处，然后再合成一段多核苷酸键来填补母链的缺口，这个过程称为重组修复。
11. 内含子：真核生物的 mRNA 前体中，除了贮存遗传序列外，还存在非编码序列，称为内含子。
12. 外显子：真核生物的 mRNA 前体中，编码序列称为外显子。
13. 基因载体：外源 DNA 片段（目的基因）要进入受体细胞，必须有一个适当的运载工具将带入细胞内，并载着外源 DNA 一起进行复制与表达，这种运载工具称为载体。
14. 质粒：是一种在细菌染色体以外的遗传单元，一般由环形双链 DNA 构成，其大小从 1 200Kb。

（二）填空题答案

1. 领头链；连续的；随从链；不连续的；5' RNA；5' 3'。
2. NAD⁺；ATP。
3. α_2 ' σ ； α_2 '； σ
4. 有意义链。
5. 反向转录；逆转录酶。
6. 不作用；不作用；不作用；Up+Gp+Cp+A；UpGp+CpA；GpCp+Up+A；
7. 转换；颠换；插入；缺失。
8. 氨基；酮基；转换。
9. 5' 3'
10. 连续 相同 不连续 相反
11. 利福平 dNTP
12. 5' 3' 聚合 3' 5' 外切 5' 3' 外切 焦磷酸解作用，焦磷酸交换作用
13. 拓扑异构酶 使超螺旋 DNA 变为松弛状
14. 复制位点 多位点
15. 3' 5' 核酸外切酶 校对
16. 3' DNA 聚合酶 DNA 聚合酶
17. 专一的核酸内切酶 解链酶 DNA 聚合酶 DNA 连接酶
18. SSB（单链结合蛋白）

19. RNA 引物 DNA 聚合酶 DNA 聚合酶 DNA 连接酶
 20. 同一 RNA 聚合酶 3 RNA 聚合酶 RNA 聚合酶 RNA 聚合酶
 21. 启动子 编码 终止子
 22. 隔裂基因 外显子 内含子 外显子 内含子
 23. 组 非组 非组

(三) 选择题

1. (A) DNA 半保留复制需要来自亲代的每一条标记链作模板合成互补链, 以保持与亲代相同的完整结构。因此, 在无记溶液中进行第一轮复制将产生两个半标记分子。第二轮复制将产生两个半标记分子和两个不带标记的双链 DNA 分子。
2. (E) 在 DNA 真正能够开始复制之前, 必须由解链酶使 DNA 双链结构局部解链。在每股单链 DNA 模板上, 由 RNA 聚合酶 (引物酶) 催化合成一小段 (大约 10-50 个核苷酸) 互补 RNA 引物。然后由 DNA 聚合酶 向引物 3 端加入脱氧核苷 5 三磷酸, 从 5-3 方向合成 DNA 片段 (冈崎片段), 直至另一 RNA 引物的 5 末端。接着在 DNA 聚合酶 的作用下将 RNA 引物从 5 端逐步降解除去与之相邻的 DNA 片段由 3 端延长, 以填补 RNA 除去后留下的空隙。最后由 DNA 连接酶将 DNA 片段连接成完整连续的 DNA 链。
3. (D) DNA 复制三代后, 每八个完整 DNA 双链中将有两个双链分子含有一股亲代链。
4. (E) DNA 是由 DNA 聚合酶 复合体复制的。该酶催化脱氧三磷酸核苷以核苷酸的形式加到 RNA 引物链上, 选择只能与亲链 DNA 碱基互补配对的核苷酸参入。参入的第一个脱氧核苷酸以共价的磷酸二酯键与引物核苷酸相连。链的生长总是从 5 向 3 延伸的。DNA 复制开始于特异起始点, 定点双向进行。
5. (A) DNA 复制必需胸腺嘧啶 (T) 与腺嘌呤 (A) 配对, 鸟嘌呤 (G) 与胞嘧啶 (C) 配对, 从而使双螺旋两链之间部分地靠氨基与酮基间形成的氢键维系起来。链本身是反向平行方向合成的, 即题中所述之磷酸二酯键的 5-3 顺序决定其沿 3-5 方向互补。
6. (B) DNA 聚合酶 在起聚合酶作用时必须要有模板和引物。这个一条肽链的蛋白质除聚合酶活性外还具有 3' 和 5' 外切核酸酶活性。在正常 DNA 复制时, 它的作用是水解 RNA 引物链 (5' 外切核酸酶活性) 并用模板指导的脱氧核苷酸取代它们 (聚合功能)。DNA 聚合酶 也参与 DNA 修复。例如在切除胸腺嘧啶二聚体中起 5' 外切核酸酶的作用。在正常 DNA 复制时, DNA 聚合酶 表现 3' 外切核酸酶活性, 切除错误参入的脱氧核苷酸残基。冈崎片段是由 DNA 聚合酶 复合体产生的, 而不是 DNA 聚合酶 。在除去 RNA 引物链后, DNA 片段通过 DNA 连接酶连接。DNA 聚合酶 , 其功能目前还不清楚, 一些细菌突变体, 虽无 DNA 聚合酶 , 但却能正常生长。DNA 聚合酶 则是正常生长所必需的。

- 7.(B) 真核生物中有三种 DNA 聚合酶, α 及 γ 。DNApol 在细胞核 DNA 复制中起作用; DNApol 在细胞核 DNA 修复中起作用;而 DNApol 则在线粒体 DNA 复制中起作用。它们都需要引物,都用脱氧三磷酸核苷作底物,都按 5' → 3' 方向合成新生 DNA 链。真核生物 DNA 聚合酶任何一种均不表现核酸酶活性。
- 8.(B) DNA 复制时,如果两股链按 5' → 3' 方向先合成短的 DNA 片段,然后再连接成连续的链,这就能使 DNA 的两条反向互补链能够同时按 5' → 3' 方向的聚合机制进行复制。冈崎首先从大肠杆菌中分离出正在复制的新生 DNA,并发现这新生 DNA 是由一些不连续片段(冈崎片段)所组成。在大肠杆菌生长期间,将细胞短时间地暴露在氚标记的胸腺嘧啶中,在将细胞 DNA 变性处理(也就是解链)之后,冈崎分离得到了标记的 DNA 片段。它们是单链的,并且由于 DNA 聚合酶 复合体用 RNA 作引物,因此新生冈崎片段以共价键连着小段 RNA 链,但它们既不是碱基互补的 RNA-DNA 双链杂合体,也不是来自亲链的片段。新生冈崎片段决不会被核酸酶切除。
- 9.(D) DNA 链内胸腺嘧啶二聚体可因紫外线(UV)照射而形成。专一的修复系统依赖 UV 特异的内切核酸酶,它能识别胸腺嘧啶二聚体,并且通常在二聚体 5' 侧切断磷酸二酯键从而在 DNA 链内造成一个缺口。损伤序列的切除以及用完整的互补链作为模板重新合成切去的片段都是由 DNA 聚合酶 来完成的。主链与新合成片段之间的裂口则由 DNA 连接酶接合。碱基缺失、插入、甲基化,或烷基化均不能作为切除修复体系靶子而为 UV 特异性内切核酸酶所识别。
- 10.(C) DNA 连接酶能够连接留有缺口的 DNA 链或闭合单股 DNA 链以形成环状 DNA 分子。该酶需要一股链末端的游离 3'-OH 和另一股链末端的 5'-磷酸,并且要求这两股链是双链 DNA 的一部分。反应是吸能的,因此需要能源。在大肠杆菌和其它细菌中,能源是 NAD⁺分子中的焦磷酸键。NAD⁺先与酶形成酶-AMP 复合物,同时释放 NAD 的尼克酰胺单核苷酸;酶-AMP 复合物上的 AMP 再转移到 DNA 链的 5'-磷酸基上,使其活化,然后形成磷酸二酯键并释放 AMP。
- 11.(E) RNA 聚合酶和 DNA 聚合酶都是以三磷酸核苷(NTP 或 dNTP)为其底物,这两种聚合酶都是在生长中的多核苷酸链的 3' 端加接核苷酸单位。DNA 聚合酶合成与 DNA 互补的 DNA。合成与 RNA 互补的 DNA 的酶称作逆转录酶。
- 12.(B) 紫外线(260nm)照射可引起 DNA 分子中同一条链相邻胸腺嘧啶之间形成二聚体,并从该点终止复制。该二聚体可由包括连接酶在内的酶系切除和修复,或在光复合过程中,用较长(330-450nm)或较短(230nm)波长的光照射将其分解。
- 13.(E) DNA 链中插入一个额外核苷酸会引起移码突变并使突变点以后转录的全部 mRNA 发生翻译错误。题中列出的所有其它突变通常仅引起一个氨基酸的错误(如题中的 A 或 B),或从氨基酸序列中删除一个氨基酸(D),或在氨基酸顺序中完全没有错误。需要指出的是,如果 A 或 B 突变导致生成“无意义”或链终止密码子,

则这种突变所造成的后果也会象移码突变那样是致死的。

14. (E) 在 Hbs 中， α 链上一个缬氨酸残基替换了谷氨酸，这是由于一个核苷酸碱基的点突变所造成的后果。即位于三联体第二位的胸腺嘧啶转换为腺嘌呤。
15. (A) 自发点突变多半是由于嘌呤或嘧啶碱中氢原子的互变异构移位而引起的。在 DNA 复制中，这种移位会引起碱基配对的改变。某些诱变剂如 5-溴尿嘧啶和 2-氨基嘌呤可促进 DNA 碱基的互变异构。
16. (A) 吡啶衍生物可导致一个碱基对的插入或缺失，从而引起移码突变。5-溴尿嘧啶可引起转换突变，因为溴取代了胸腺嘧啶的甲基，这样则增加了烯醇式互变异构物与鸟嘌呤而不是腺嘌呤进行碱基配对的可能性。咪唑硫嘌呤可转变为 6-巯基嘌呤，后者是嘌呤的类似物。乙基乙磺酸可通过使鸟嘌呤烷基化引起转换突变。
17. (D) 5-溴尿嘧啶可代替胸腺嘧啶参入到 DNA 中，从而产生密度较高的 DNA。然后可在氯化铯密度梯度中用离心法对新合成的 DNA 进行定量分析。DNA 中的 5-溴尿嘧啶较正常胸腺嘧啶既不更活泼又不更易被断裂，也不能象吡啶染料那样引起移码突变。
18. (B) RNA 聚合酶必须以 DNA 为模板催化合成 RNA，通常只转录双螺旋 DNA 其中的一条链。RNA 链的合成方向是从 5' 到 3' 端，产物从来没有环状分子。与 DNA 聚合酶不同，RNA 聚合酶不需要引物。
19. (A) σ 因子是 RNA 聚合酶的一个亚基， σ 因子本身没有催化功能，它的作用是与核心酶结合，对转录的起始特异性起决定性的作用。在有 σ 因子的情况下，RNA 聚合酶将选择 DNA 准备转录的那条链，并在适当的启动基因部位开始转录。
20. (B) 真核生物有三种 RNA 聚合酶，它们分别催化 45S rRNA (RNA 聚合酶 I)、mRNA 和 5.8S rRNA (RNA 聚合酶 II)，以及 tRNA 和 5S rRNA (RNA 聚合酶 III) 的合成。这三种酶可以根据它们对抗生素放线菌素的敏感度不同加以区别：RNA 聚合酶 I 耐受；RNA 聚合酶 II 极敏感；RNA 聚合酶 III 中等敏感。RNA 聚合酶 I 催化合成的 45S 原始转录本，经转录后加工而成为成熟的 18S rRNA，5.8S rRNA 和 28S rRNA。
21. (D) 真核生物 DNA 在多个复制叉上按半保留方式复制。真核生物有三种 DNA 聚合酶： α 、 β 及 γ 。分别参加细胞核 DNA 复制，细胞核 DNA 修复，以及线粒体 DNA 复制。真核生物 DNA 聚合酶一般都不具有核酸酶活性。真核 DNA 复制时，组蛋白不从 DNA 解离下来，而是留在含有领头子链的双链 DNA 上。新合成的组蛋白则与随从子链结合。
22. (C) 原核细胞转录终止不是随机进行的，据目前所知有两种转录终止方式即依赖 Rho 因子与不依赖 Rho 因子的方式。不依赖 Rho 因子的转录终止与转录产物形成二级结构有关，即在基因的末端含 G-C 丰富的回文结构，当 RNA 转录延长至该部位时，按模板转录出的 RNA 碱基序列会立即形成发夹型的二级结构，这种二

级结构是阻止转录继续向下游推进的关键。Rho 因子是 RNA 聚合酶之外的一种蛋白质，有控制转录终止的作用。Rho 因子本身似乎就具有 ATP 酶的活性。

23. B: DNA 连接酶催化 DNA 链两段之间形成磷酸二酯键，但这两段必须是在 DNA 双螺旋结构之中，它不能将两条游离的单链 DNA 分子连接起来。在大肠杆菌中，成键所需能量来自 NAD，产物是 AMP 和烟酰胺单核苷酸；而在某些动物细胞以及噬菌体中，则以 ATP 作为能源。DNA 连接酶在 DNA 合成、修复以及重组中都是十分重要的。

24. B: 真核 mRNA 是从 2 至 20 千碱基长的细胞核 RNA 前体 核不均 RNA (hnRNA) 形成的。所有真核 mRNA 5 端均具有 5' 5 焦磷酸连接的 7-甲基鸟苷 (帽结构)。大多数真核 mRNA 的 3 端连有 150 至 200 个核苷酸长度的聚腺苷酸尾链。从 mRNA 前体切除内含子是由具有高度专一性的酶性催化完成的。内含子是不被翻译的。真核生物 mRNA 是单顺反子的。

(四) 是非题

1. 对 2. 对 3. 错 4. 错 5. 错 6. 错
7. 对 8. 错 9. 对 10. 对 11. 对 12. 对

(五) 问答题

1. 答: 在细胞分裂过程中通过 DNA 的复制把遗传信息由亲代传递给子代, 在子代的个体发育过程中遗传信息由 DNA 传递到 RNA, 最后翻译成特异的蛋白质; 在 RNA 病毒中 RNA 具有自我复制的能力, 并同时作为 mRNA, 指导病毒蛋白质的生物合成; 在致癌 RNA 病毒中, RNA 还以逆转录的方式将遗传信息传递给 DNA 分子。

2. 答: (1) 复制过程是半保留的。

(2) 细菌或病毒 DNA 的复制通常是由特定的复制起始位点开始, 真核细胞染色体 DNA 复制则可以在多个不同部位起始。

(3) 复制可以是单向的或是双向的, 以双向复制较为常见, 两个方向复制的速度不一定相同。

(4) 两条 DNA 链合成的方向均是从 5' 向 3' 方向进行的。

(5) 复制的大部分都是半不连续的, 即其中一条领头链是相对连续的, 其他随后链则是不连续的。

(6) 各短片段在开始复制时, 先形成短片段 RNA 作为 DNA 合成的引物, 这一 RNA 片段以后被切除, 并用 DNA 填补余下的空隙。

3. 答: DNA 复制从特定位点开始, 可以单向或双向进行, 但是以双向复制为主。由于 DNA 双链的合成延伸均为 5' → 3' 的方向, 因此复制是以半不连续的方式进行, 可以概括为: 双链的解开; RNA 引物的合成; DNA 链的延长; 切除 RNA 引物,

填补缺口，连接相邻的 DNA 片段。

- (1) 双链的解开 在 DNA 的复制原点，双股螺旋解开，成单链状态，形成复制叉，分别作为模板，各自合成其互补链。在复制叉上结合着各种各样与复制有关的酶和辅助因子。
- (2) RNA 引物的合成 引发体在复制叉上移动，识别合成的起始点，引发 RNA 引物的合成。移动和引发均需要由 ATP 提供能量。以 DNA 为模板按 5' → 3' 的方向，合成一段引物 RNA 链。引物长度约为几个至 10 个核苷酸。在引物的 5' 端含 3 个磷酸残基，3' 端为游离的羟基。
- (3) DNA 链的延长 当 RNA 引物合成之后，在 DNA 聚合酶的催化下，以四种脱氧核糖核苷酸 5'-三磷酸为底物，在 RNA 引物的 3' 端以磷酸二酯键连接上脱氧核糖核苷酸并释放出 PPi 。DNA 链的合成是以两条亲代 DNA 链为模板，按碱基配对原则进行复制的。亲代 DNA 的双股链呈反向平行，一条链是 5' → 3' 方向，另一条链是 3' → 5' 方向。在一个复制叉内两条链的复制方向不同，所以新合成的二条子链极性也正好相反。由于迄今为止还没有发现一种 DNA 聚合酶能按 3' → 5' 方向延伸，因此子链中有一条链沿着亲代 DNA 单链的 3' → 5' 方向（亦即新合成的 DNA 沿 5' → 3' 方向）不断延长。
- (4) 切除引物，填补缺口，连接修复 当新形成的冈崎片段延长至一定长度，其 3'-OH 端与前面一条老片断的 5' 端接近时，在 DNA 聚合酶的作用下，在引物 RNA 与 DNA 片段的连接处切去 RNA 引物后留下的空隙，由 DNA 聚合酶催化合成一段 DNA 填补上；在 DNA 连接酶的作用下，连接相邻的 DNA 链；修复掺入 DNA 链的错配碱基。这样以两条亲代 DNA 链为模板，就形成了两个 DNA 双股螺旋分子。每个分子中一条链来自亲代 DNA，另一条链则是新合成的。

4. 答：(1) 原核细胞大肠杆菌的 RNA 聚合酶研究的较深入。这个酶的全酶由 5 种亚基（ σ 、 β 、 β' 、 α 、 ω ）组成，还含有 2 个 Zn 原子。在 RNA 合成起始之后， σ 因子便与全酶分离。不含 σ 因子的酶仍有催化活性，称为核心酶。 σ 亚基具有与启动子结合的功能， β 亚基催化效率很低，而且可以利用别的 DNA 的任何部位作模板合成 RNA。加入 σ 因子后，则具有了选择起始部位的作用， σ 因子可能与核心酶结合，改变其构象，从而使它能特异地识别 DNA 模板链上的起始信号。

(2) 真核细胞的细胞核内有 RNA 聚合酶 I、II 和 III，通常由 4~6 种亚基组成，并含有 Zn^{2+} 。RNA 聚合酶 I 存在于核仁中，主要催化 rRNA 前体的转录。RNA 聚合酶 II 和 III 存在于核质中，分别催化 mRNA 前体和小分子量 RNA 的转录。此外线粒体和叶绿体也含有 RNA 聚合酶，其特性类似原核细胞的 RNA 聚合酶。

5. 答：RNA 转录过程为起始位点的识别、起始、延伸、终止。

(1) 起始位点的识别 RNA 聚合酶先与 DNA 模板上的特殊启动子部位结合， σ 因子起着识别 DNA 分子上的起始信号的作用。在 σ 亚基作用下帮助全酶迅速找到

启动子,并与之结合生成较松弛的封闭型启动子复合物。这时酶与 DNA 外部结合,识别部位大约在启动子的-35 位点处。接着是 DNA 构象改变活化,得到开放型的启动子复合物,此时酶与启动子紧密结合,在-10 位点处解开 DNA 双链,识别其中的模板链。由于该部位富含 A-T 碱基对,故有利于 DNA 解链。开放型复合物一旦形成, DNA 就继续解链,酶移动到起始位点。

(2) 起始留在起始位点的全酶结合第一个核苷三磷酸。第一个核苷三磷酸常是 GTP 或 ATP。形成的启动子、全酶和核苷三磷酸复合物称为三元起始复合物,第一个核苷酸掺入的位置称为转录起始点。这时 亚基被释放脱离核心酶。

(3) 延伸 从起始到延伸的转变过程,包括 因子由缔合向解离的转变。DNA 分子和酶分子发生构象的变化,核心酶与 DNA 的结合松弛,核心酶可沿模板移动,并按模板序列选择下一个核苷酸,将核苷三磷酸加到生长的 RNA 链的 3'-OH 端,催化形成磷酸二酯键。转录延伸方向是沿 DNA 模板链的 3'→5' 方向按碱基配对原则生成 5'→3' 的 RNA 产物。RNA 链延伸时, RNA 聚合酶继续解开一段 DNA 双链,长度约 17 个碱基对,使模板链暴露出来。新合成的 RNA 链与模板形成 RNA-DNA 的杂交区,当新生的 RNA 链离开模板 DNA 后,两条 DNA 链则重新形成双股螺旋结构。

(4) 终止 在 DNA 分子上有终止转录的特殊碱基顺序称为终止子,它具有使 RNA 聚合酶停止合成 RNA 和释放 RNA 链的作用。这些终止信号有的能被 RNA 聚合酶自身识别,而有的则需要有 因子的帮助。 因子是一个四聚体蛋白质,它能与 RNA 聚合酶结合但不是酶的组分。它的作用是阻 RNA 聚合酶向前移动,于是转录终止,并释放出已转录完成的 RNA 链。对于不依赖于 因子的终止子序列的分析,发现有两个明显的特征:即在 DNA 上有一个 15~20 个核苷酸的二重对称区,位于 RNA 链结束之前,形成富含 G-C 的发夹结构。接着有一串大约 6 个 A 的碱基序列它们转录的 RNA 链的末端为一连串的 U。寡聚 U 可能提供信号使 RNA 聚合酶脱离模板。在真核细胞内, RNA 的合成要比原核细胞中的复杂得多。

6. 答:(1) 目的基因调取 体外操作 DNA 的主要步骤之一是提取载体 DNA 和所需要的外源目的基因。在细胞中 DNA 并非以游离态分子存在,而是和 RNA 及蛋白质结合在一起形成复合体。DNA 纯化的基本步骤是:(1) 从破坏的细胞壁和膜里释放出可溶性的 DNA ;(2) 通过变性或蛋白质分解,使 DNA 和蛋白质的复合体解离 ;(3) 将 DNA 从其它大分子中分离出来 ;(4) DNA 浓度和纯度的光学测定。

(2) 载体选择 外源 DNA 片段(目的基因)要进入受体细胞,必须有一个适当的运载工具将带入细胞内,并载着外源 DNA 一起进行复制与表达,这种运载工具称为载体。载体必须具备下列条件: 在受体细胞中,载体可以独立地进行复制。所以载体本身必须是一个复制单位,称复制子,具有复制起点。而且插入外源 DNA 后不会影响载体本身复制的能力。 易于鉴定、筛选。也就是说,容易将带有外源

DNA 的重组体与不带外源 DNA 的载体区别开来。易于引入受体细胞。

(3) 连接 外源 DNA 与载体 DNA 之间可以通过多种方式相连接，主要有以下几种：
粘性末端连接；平头末端连接；接头连接等。

(4) 转化 任何外源 DNA 重组到载体上，然后转入受体细胞中复制繁殖，这一过程称为 DNA 的克隆。外源 DNA 进入受体细胞并使它获得新遗传特性的过程称为转化。转化作用是将外源 DNA 引入细胞的过程。

(5) 筛选 由于细胞转化的频率较低，所以从大量的宿主细胞中筛选出带有重组体的细胞并不是很容易的，当前，在实验室中，常用的筛选手段有以下几种：
插入失活；菌落原位杂交；免疫学方法。此外，对重组体转化的鉴定还可以采用表现型的鉴定；对重组质粒纯化并重新转化；限制性酶切图谱的绘制；重组质粒上的基因定位等更深入的方法。

第十二章 蛋白质的生物合成

一、知识要点

(一) 蛋白质生物合成体系的重要组分

蛋白质生物合成体系的重要组分主要包括 mRNA、tRNA、rRNA、有关的酶以及几十种蛋白质因子。其中，mRNA 是蛋白质生物合成的直接模板。tRNA 的作用体现在三个方面：3' CCA 接受氨基酸；反密码子识别 mRNA 链上的密码子；连接多肽链和核糖体。rRNA 和几十种蛋白质组成合成蛋白质的场所——核糖体。

遗传密码的特点：无标点性、无重叠性；通用性和例外；简并性；变偶性。

(二) 蛋白质生物合成的过程

蛋白质生物合成的过程分四个步骤：氨基酸活化、肽链合成的起始、延伸、终止和释放。

其中，氨基酸活化即氨酰 tRNA 的合成，反应由特异的氨酰 tRNA 合成酶催化，在胞液中进行。氨酰 tRNA 合成酶既能识别特异的氨基酸，又能辨认携带该氨酰基的一组同功受体 tRNA 分子。

肽链合成的起始对于大肠杆菌等原核细胞来说，是 70S 起始复合物的形成。它需要核糖体 30S 和 50S 亚基、带有起始密码子 AUG 的 mRNA、fMet-tRNA_f、起始因子 IF₁、IF₂、IF₃（分子量分别为 10 000、80 000 和 21 000 的蛋白质）以及 GTP 和 Mg²⁺ 的参加。

肽链合成的延伸需要 70S 起始复合物、氨酰-tRNA 三种延伸因子：一种是热不稳定的 EF-Tu，另一种是热稳定的 EF-Ts，第三种是依赖 GTP 的 EF-G 以及 GTP 和 Mg²⁺。

肽链合成的终止和释放需要三个终止因子 RF₁、RF₂、RF₃ 蛋白的参与。

比较真核细胞蛋白质生物合成与原核细胞的不同。

(三) 蛋白质合成后的修饰

蛋白质合成后的几种修饰方式：氨基末端的甲酰甲硫氨酸的切除、肽链的折叠、氨基酸残基的修饰、切去一段肽链。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 密码子(codon)
2. 反义密码子(synonymous codon)
3. 反密码子(anticodon)
4. 变偶假说(wobble hypothesis)
5. 移码突变(frameshift mutant)
6. 氨基酸同功受体(isoacceptor)
7. 反义 RNA(antisense RNA)
8. 信号肽(signal peptide)
9. 简并密码(degenerate code)
10. 核糖体(ribosome)
11. 多核糖体(poly some)
12. 氨酰基部位(aminoacyl site)
13. 肽酰基部位(peptidy site)
14. 肽基转移酶(peptidyl transferase)
15. 氨酰- tRNA 合成酶(amino acy-tRNA synthetase)
16. 蛋白质折叠(protein folding)
17. 核蛋白体循环(polyribosome)
18. 锌指(zinc finger)
19. 亮氨酸拉链(leucine zipper)
20. 顺式作用元件(cis-acting element)
21. 反式作用因子(trans-acting factor)
22. 螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix)

(二) 英文缩写符号

1. IF (initiation factor):
2. EF (elongation factor):
3. RF (release factor):
4. hnRNA (heterogeneous nuclear RNA):
5. fMet-tRNA_f :
6. Met-tRNA_i :

(三) 填空题

1. 蛋白质的生物合成是以_____作为模板, _____作为运输氨基酸的工具, _____作为合成的场所。
2. 细胞内多肽链合成的方向是从_____端到_____端, 而阅读 mRNA 的方向是从_____端到_____端。
3. 核糖体上能够结合 tRNA 的部位有_____部位, _____部位。
4. 蛋白质的生物合成通常以_____作为起始密码子, 有时也以_____作为起始密码子, 以_____, _____, 和_____作为终止密码子。
5. SD 序列是指原核细胞 mRNA 的 5' 端富含_____碱基的序列, 它可以和 16SrRNA 的 3' 端的_____序列互补配对, 而帮助起始密码子的识别。
6. 原核生物蛋白质合成的起始因子 (IF) 有_____种, 延伸因子 (EF) 有_____种, 终止释放 (RF) 有_____种; 而真核生物细胞质蛋白质合成的延伸因子通常有_____种, 真菌有_____种, 终止释放因子有_____种。
7. 原核生物蛋白质合成中第一个被掺入的氨基酸是_____。
8. 无细胞翻译系统翻译出来的多肽链通常比在完整的细胞中翻译的产物要长, 这是因为_____。
9. 已发现体内大多数蛋白质正确的构象的形成需要_____的帮助。
10. 分子伴侣通常具_____酶的活性。
11. 蛋白质内含子通常具有_____酶的活性。
12. 某一 tRNA 的反密码子是 GGC, 它可识别的密码子为_____和_____。
13. 环状 RNA 不能有效地作为真核生物翻译系统的模板是因为_____。
14. 在真核细胞中, mRNA 是由_____经_____合成的, 它携带着_____。它是由_____降解成的, 大多数真核细胞的 mRNA 只编码_____。
15. 生物界总共有_____个密码子。其中_____个为氨基酸编码; 起始密码子为_____; 终止密码子为_____, _____, _____。
16. 氨酰-tRNA 合成酶对_____和_____均有专一性, 它至少有两个识别位点。
17. 原核细胞内起始氨酰-tRNA 为_____; 真核细胞内起始氨酰-tRNA 为_____。
18. 原核生物核糖体 50S 亚基含有蛋白质合成的_____部位和_____部位, 而 mRNA 结合部位_____。
19. 许多生物核糖体连接于一个 mRNA 形成的复合物称为_____。
20. 肽基转移酶在蛋白质生物合成中的作用是催化_____和_____。
21. 核糖体_____亚基上的_____协助识别起始密码子。
22. 延长因子 G 又称_____, 它的功能是_____, 但需要_____。

23. ORF 是指____, 已发现最小的 ORF 只编码____个氨基酸。
24. 基因表达包括____和____。
25. 遗传密码的特点有方向性、连续性____和____。
26. 氨酰-tRNA 合成酶利用____供能, 在氨基酸____基上进行活化, 形成氨基酸 AMP 中间复合物。
27. 原核生物肽链合成起始复合体由 mRNA ____和____组成。
28. 真核生物肽链合成起始复合体由 mRNA ____和____组成。
29. 肽链延伸包括进位____和____三个步骤周而复始的进行。
30. 原核生物肽链合成后的加工包括____和____。
31. 链霉素和卡那霉素能与核蛋白体____亚基结合, 改变其构象, 引起____导致合成的多肽链一级结构改变。
32. 氯霉素能与核蛋白体____亚基结合, 抑制____酶活性, 从而抑制蛋白质合成。
33. 乳糖操纵子的控制区启动子上游有____结合位点, 当此位点与____结合时, 转录可增强一千倍左右。
34. 真核生物蛋白质因子与 DNA 相互作用的基元较常见的有____和____。
35. 乳糖操纵子的诱导物是____, 色氨酸操纵子的辅阻遏物是____。
36. 分泌性蛋白质多肽链合成后的加工包括____、剪裁和天然构象的形成。
37. Ras 癌基因的产物是____, src 癌基因的产物是____。

(四) 选择题

1. 预测一下哪一种氨酰-tRNA 合成酶不需要有校对的功能：
 - A. 甘氨酸-tRNA 合成酶
 - B. 丙氨酸-tRNA 合成酶
 - C. 精氨酸-tRNA 合成酶
 - D. 谷氨酰-tRNA 合成酶
2. 某一种 tRNA 的反密码子是 5' UGA³, 它识别的密码子序列是：
 - A. UCA
 - B. ACU
 - C. UCG
 - D. GCU
3. 为蛋白质生物合成中肽链延伸提供能量的是：
 - A. ATP
 - B. CTP
 - C. GTP
 - D. UTP
4. 一个 N 端氨基酸为丙氨酸的 20 肽, 其开放阅读框架至少应由多少核苷酸残基组成：
 - A. 60
 - B. 63
 - C. 66
 - D. 69
5. 在蛋白质生物合成中 tRNA 的作用是：
 - A. 将一个氨基酸连接到另一个氨基酸上
 - B. 把氨基酸带到 mRNA 指定的位置上
 - C. 增加氨基酸的有效浓度
 - D. 将 mRNA 连接到核糖体上
6. 下列对原核细胞 mRNA 的论述那些是正确的：

- A . 原核细胞的 mRNA 多数是单顺反子的产物
 B . 多顺反子 mRNA 在转录后加工中切割成单顺反子 mRNA
 C . 多顺反子 mRNA 翻译成一个大的蛋白质前体，在翻译后加工中裂解成若干成熟的蛋白质
 D . 多顺反子 mRNA 上每个顺反子都有自己的起始和终止密码子；分别翻译成各自的产物
- 7 . 在蛋白质分子中下面所列举的氨基酸哪一种最不容易突变？
 A . Arg B . Glu C . Val D . Asp
- 8 . 根据摆动学说，当一个 tRNA 分子上的反密码子的第一个碱基为次黄嘌呤时，它可以和 mRNA 密码子的第三位的几种碱基配对：
 A . 1 B . 2 C . 3 D . 4
- 9 . 以下有关核糖体的论述哪项是不正确的：
 A . 核糖体是蛋白质合成的场所
 B . 核糖体小亚基参与翻译起始复合物的形成，确定 mRNA 的解读框架
 C . 核糖体大亚基含有肽基转移酶活性
 D . 核糖体是储藏核糖核酸的细胞器
- 10 . 关于密码子的下列描述，其中错误的是：
 A . 每个密码子由三个碱基组成 B . 每一密码子代表一种氨基酸
 C . 每种氨基酸只有一个密码子 D . 有些密码子不代表任何氨基酸
- 11 . 如果遗传密码是四联体密码而不是三联体，而且 tRNA 反密码子前两个核苷酸处于摆动的位置，那么蛋白质正常合成大概需要多少种 tRNA：
 A . 约 256 种不同的 tRNA B . 150~250 种不同的 tRNA
 C . 与三联体密码差不多的数目 D . 取决于氨酰-tRNA 合成酶的种类
- 12 . 摆动配对是指下列哪个碱基之间配对不严格：
 A . 反密码子第一个碱基与密码子第三个碱基
 B . 反密码子第三个碱基与密码子第一个碱基
 C . 反密码子和密码子第一个碱基
 D . 反密码子和密码子第三个碱基
- 13 . 在蛋白质合成中，把一个游离氨基酸掺入到多肽链共须消耗多少高能磷酸键：
 A . 1 B . 2 C . 3 D . 4
- 14 . 蛋白质的生物合成中肽链延伸的方向是：
 A . C 端到 N 端 B . 从 N 端到 C 端
 C . 定点双向进行 D . C 端和 N 端同时进行
- 15 . 核糖体上 A 位点的作用是：
 A . 接受新的氨酰-tRNA 到位 B . 含有肽基转移酶活性，催化肽键的形成

- C. 可水解肽酰 tRNA、释放多肽链 D. 是合成多肽链的起始点
16. 蛋白质的终止信号是由：
 A. tRNA 识别 B. 转肽酶识别
 C. 延长因子识别 D. 以上都不能识别
17. 下列属于顺式作用元件的是：
 A. 启动子 B. 结构基因 C. RNA 聚合酶 D. 录因子
18. 下列属于反式作用因子的是：
 A. 启动子 B. 增强子 C. 终止子 D. 转录因子
19. 下列有关癌基因的论述，哪一项是正确的：
 A. 癌基因只存在病毒中 B. 细胞癌基因来源于病毒基因
 C. 癌基因是根据其功能命名的 D. 细胞癌基因是正常基因的一部分
20. 下列何者是抑癌基因
 A. ras 基因 B. sis 基因 C. P₅₃ 基因 D. src 基因

(五) 是非判断题

- () 1. 由于遗传密码的通用性真核细胞的 mRNA 可在原核翻译系统中得到正常的翻译。
- () 2. 核糖体蛋白不仅仅参与蛋白质的生物合成。
- () 3. 在翻译起始阶段，有完整的核糖体与 mRNA 的 5 端结合，从而开始蛋白质的合成。
- () 4. 所有的氨酰-tRNA 的合成都需要相应的氨酰-TRNA 合成酶的催化。
- () 5. EF-Tu 的 GTPase 活性越高，翻译的速度就越快，但翻译的忠实性越低。
- () 6. 在蛋白质生物合成中所有的氨酰-tRNA 都是首先进入核糖体的 A 部位。
- () 7. tRNA 的个性即是其特有的三叶草结构。
- () 8. 从 DNA 分子的三联体密码可以毫不怀疑的推断出某一多肽的氨基酸序列，但氨基酸序列并不能准确的推导出相应基因的核苷酸序列。
- () 9. 与核糖体蛋白相比，rRNA 仅仅作为核糖体的结构骨架，在蛋白质合成中没有什么直接的作用。
- () 10. 多肽链的折叠发生在蛋白质合成结束以后才开始。
- () 11. 人工合成多肽的方向也是从 N 端到 C 端。
- () 12. 核糖体活性中心的 A 位和 P 位均在大亚基上。
- () 13. 蛋白质合成过程中所需的能量都由 ATP 直接供给。
- () 14. 每个氨酰-tRNA 进入核糖体的 A 位都需要延长因子的参与，并消耗一分子 GTP。
- () 15. 每种氨基酸只能有一种特定的 tRNA 与之对应。
- () 16. 密码子与反密码子都是由 AGCU 4 种碱基构成的。

- () 17. 泛素是一种热激蛋白。
- () 18. 原核细胞新生肽链 N 端第一个残基为 fMet；真核细胞新生肽链 N 端为 Met。
- () 19. 蛋白质合成过程中，肽基转移酶起转肽作用核水解肽链作用。
- () 20. 色氨酸操纵子中存在衰减子，故此操纵系统有细调节功能。

(六) 问答题

1. 什么 m^7GTP 能够抑制真核细胞的蛋白质合成，但不抑制原核细胞的蛋白质合成？相反人工合成的 SD 序列能够抑制原核细胞的蛋白质合成，但不抑制真核细胞的蛋白质合成？
2. 遗传密码如何编码？有哪些基本特性？
3. 简述 tRNA 在蛋白质的生物合成中是如何起作用的？
4. mRNA 遗传密码排列顺序翻译成多肽链的氨基酸排列顺序，保证准确翻译的关键是什么？
5. 述真核生物反式作用因子与 DNA 靶区和 RNA 聚合酶相互作用的基本方式。
6. 癌基因异常激活有哪些方式？
7. 简述抑癌基因与癌变的关系。

三、参考答案

(一) 名词解释

1. 密码子 (codon): 存在于信使 RNA 中的三个相邻的核苷酸顺序，是蛋白质合成中某一特定氨基酸的密码单位。密码子确定哪一种氨基酸参入蛋白质多肽链的特定位置上；共有 64 个密码子，其中 61 个是氨基酸的密码，3 个是作为终止密码子。
2. 同义密码子 (synonym codon): 为同一种氨基酸编码的几个密码子之一，例如密码子 UUU 和 UUC 二者都为苯丙氨酸编码。
3. 反密码子 (anticodon): 在转移 RNA 反密码子环中的三个核苷酸的序列，在蛋白质合成中通过互补的碱基配对，这部分结合到信使 RNA 的特殊密码上。
4. 变偶假说 (Wobble hypothesis): 克里克为解释 tRNA 分子如何去识别不止一个密码子而提出的一种假说。据此假说，反密码子的前两个碱基 (3' 端) 按照碱基配对的一般规律与密码子的前两个 (5' 端) 碱基配对，然而 tRNA 反密码子中的第三个碱基，在与密码子上 3' 端的碱基形成氢键时，则可有某种程度的变动，使其有可能与几种不同的碱基配对。
5. 移码突变 (frame-shift mutation): 一种突变，其结果为导致核酸的核苷酸顺序之间的

正常关系发生改变。移码突变是由删去或插入一个核苷酸的点突变构成的，在这种情况下，突变点以前的密码子并不改变，并将决定正确的氨基酸顺序；但突变点以后的所有密码子都将改变。且将决定错误的氨基酸顺序。

6. 氨基酸同功受体 (isoacceptor): 每一个氨基酸可以有多个 tRNA 作为运载工具, 这些 tRNA 称为该氨基酸同功受体。
7. 反义 RNA (antisense RNA): 具有互补序列的 RNA。反义 RNA 可以通过互补序列与特定的 mRNA 相结合, 结合位置包括 mRNA 结合核糖体的序列 (SD 序列) 和起始密码子 AUG, 从而抑制 mRNA 的翻译。又称干扰 mRNA 的互补 RNA。
8. 信号肽 (signal peptide): 信号肽假说认为, 编码分泌蛋白的 mRNA 在翻译时首先合成的是 N 末端带有疏水氨基酸残基的信号肽, 它被内质网膜上的受体识别并与之相结合。信号肽经由膜中蛋白质形成的孔道到达内质网内腔, 随即被位于腔表面的信号肽酶水解, 由于它的引导, 新生的多肽就能够通过内质网膜进入腔内, 最终被分泌到胞外。翻译结束后, 核糖体亚基解聚、孔道消失, 内质网膜又恢复原先的脂双层结构。
9. 简并密码 (degenerate codon): 或称同义密码子 (synonym codon), 为同一种氨基酸编码几个密码子之一, 例如密码子 UUU 和 UUC 二者都为苯丙氨酸编码。
10. 核糖体 (ribosome): 核糖体是很多亚细胞核蛋白颗粒中的一个, 由大约等量的 RNA 和蛋白质所组成, 是细胞内蛋白质合成的场所。每个核糖核蛋白体在外形上近似圆形, 直径约为 20nm。由两个不相同的亚基组成, 这两个亚基通过镁离子和其它非共价键地结合在一起。已证实有四类核糖核蛋白体 (细菌、植物、动物和线粒体) 它们以其单体的、亚单位的和核糖核蛋白体 RNA 的沉降系数相区别。细菌核蛋白体含有约 50 个不同的蛋白质分子和 3 个不同的 RNA 分子。小的亚单位含有约 20 个蛋白质分子和 1 个 RNA 分子。大的亚单位含有约 30 个蛋白质分子和 2 个 RNA 分子。核蛋白体有两个结合转移 RNA 的部位 (部位和部位), 并且也能附上信使 RNA, 简称为 Rb。
11. 多核糖体 (polysome): 在信使核糖核酸链上附着两个或更多的核糖体。
12. 氨酰基部位 (aminoacyl site): 在蛋白质合成过程中进入的氨酰 - tRNA 结合在核蛋白体上的部位。
13. 肽酰基部位 (peptidyl site): 指在蛋白质合成过程中, 当下一个氨酰基转移 RNA 接到核糖核蛋白体的氨基部位时, 肽酰 tRNA 所在核蛋白体上的结合点。
14. 肽基转移酶 (peptidyl transferase): 蛋白质合成中的一种酶。它能催化正在增长的多肽链与下一个氨基酸之间形成肽键。在细菌中此酶是 50S 核糖核蛋白体亚单位中的蛋白质之一。
15. 氨酰 tRNA 合成酶 (amino acy-tRNA synthetase): 催化氨基酸激活的偶联反应的酶, 先是一种氨基酸连接到 AMP 生成一种氨酰腺苷酸, 然后连接到转移 RNA 分子生成

氨酰 tRNA 分子。

16. 蛋白质折叠 (protein folding): 蛋白质的三维构象, 称为蛋白质的折叠。是由蛋白质多肽链的氨基酸顺序所决定的。不同的蛋白质有不同的氨基酸顺序, 也就各自按照一定的方式折叠而成该蛋白质独有的天然构象。这个蛋白质折叠是在自然条件下自发进行的, 在生物体内条件下, 它是在热力学上最稳定的形式。多肽链在核糖体上一面延长, 一面自发地折叠成其本身独有的构象。当肽链终止延长并从核糖体上脱落时, 它也就折叠成天然的三维结构。
17. 核蛋白体循环 (polyribosome): 是指已活化的氨基酸由 tRNA 转运到核蛋白体合成多肽链的过程。
18. 锌指 (zinc finger): 是调控转录的蛋白质因子中与 DNA 结合的一种基元, 它由大约 30 个氨基酸残基的肽段与锌整合形成的指形结构, 锌以 4 个配位键与肽链的 Cys 或 His 残基结合, 指形突起的肽段含 12-13 个氨基酸残基, 指形突起嵌入 DNA 的大沟中, 由指形突起或其附近的某些氨基酸侧链与 DNA 的碱基结合而实现蛋白质与 DNA 的结合。
19. 亮氨酸拉链 (leucine zipper): 这是真核生物转录调控蛋白与蛋白质及与 DNA 结合的基元之一。两个蛋白质分子近处 C 端肽段各自形成两性 α 螺旋, α 螺旋的肽段每隔 7 个氨基酸残基出现一个亮氨酸残基, 两个 α 螺旋的疏水面互相靠拢, 两排亮氨酸残基疏水侧链排列成拉链状形成疏水键使蛋白质结合成二聚体, α 螺旋的上游富含碱性氨基酸 (Arg、Lys) 肽段借 Arg、Lys 侧链基团与 DNA 的碱基互相结合而实现蛋白质与 DNA 的特异结合。
20. 顺式作用元件 (cis-acting element): 真核生物 DNA 的转录启动子和增强子等序列, 合称顺式作用元件。
21. 反式作用因子 (trans-acting factor): 调控转录的各种蛋白质因子总称反式作用因子。
22. 螺旋-环-螺旋 (helix-loop-helix): 这种蛋白质基元由两个两性 α 螺旋通过一个肽段连接形成螺旋-环-螺旋结构, 两个蛋白质通过两性螺旋的疏水面互相结合, 与 DNA 的结合则依靠此基元附近的碱性氨基酸侧链基团与 DNA 的碱基结合而实现。

(二) 英文缩写符号

1. IF (initiation factor): 原核生物蛋白质合成的起始因子。
2. EF (elongation factor): 原核生物蛋白质合成的延伸因子。
3. RF (release factor): 原核生物蛋白质合成的终止因子 (释放因子)。
4. hnRNA (heterogeneous nuclear RNA): 核不均一 RNA。
5. fMet-tRNA_f: 原核生物蛋白质合成的第一个氨酰基转移 RNA。
6. Met-tRNA_i: 真核生物蛋白质合成的第一个氨酰基转移 RNA。

(三) 填空题

1. mRNA ; tRNA ; 核糖体
2. N 端 C 端 ; 5 端 3 端
3. P 位点 ; A 位点。
4. AUG ; GUG ; UAA ; UAG ; UGA
5. 嘌呤 ; 嘧啶
6. 3 ; 3 ; 3 ; 2 ; 3 ; 1
7. 甲酰甲硫氨酸
8. 没有经历后加工 , 如剪切
9. 分子伴侣
10. ATPase
11. 核酸内切酶
12. GCU ; GCC
13. 缺乏帽子结构 , 无法识别起始密码子
14. DNA ; 转录 ; DNA 的遗传信息 ; hnRNA ; 一条多肽链
15. 64 ; 61 ; AUG ; UAA ; UAG ; UGA
16. 氨基酸 ; tRNA
17. fMet-tRNA ; Met-tRNA
18. 氨酰基 ; 肽酰基 ; 大小亚基的接触面上
19. 多核糖体
20. 肽键的形成 ; 肽链从 tRNA 上分离出来
21. 小亚基 ; 16SRNA
22. 移位酶 ; 催化核糖体沿 mRNA 移动 ; GTP
23. 开放的阅读框架 ; 7
24. 转录 ; 翻译
25. 简并性 ; 通用性
26. ATP ; 羧
27. 70S 核蛋白体 ; fMet-tRNA^{fMet}
28. 80S 核蛋白体 ; Met-tRNA^{iMet}
29. 转肽、移位
30. 剪裁 ; 天然构象的形成
31. 30S ; 读码错误
32. 50S ; 肽基转移
33. 分解代谢基因活化蛋白 ; CAP-cAMP 复合物
34. 锌指、亮氨酸拉链

35. 别乳糖、色氨酸
36. 信号肽的水解切除
37. P21 蛋白；PP60 蛋白

(四) 选择题

1. A：甘氨酸是 20 种基本氨基酸中唯一的一个不具旋光性的氨基酸，甘氨酰-tRNA 合成酶很容易将它与其他的氨基酸分开，不会出现误载的情况。
2. A：读码顺序均为 5' → 3'。
3. C：肽链延伸包括进位、成肽、移位三个步骤，进位、移位分别消耗一分子 GTP。
4. C：该开放的阅读框架由 20 × 3(起始密码子) + 3(终止密码子) = 66 个核苷酸组成。
5. B：tRNA 分子的 3' 端的碱基顺序是 CCA，“活化”的氨基酸的羧基连接到 3' 末端腺苷的核糖 3'-OH 上，形成氨酰-tRNA。
6. D：
7. A：4 种氨基酸中 Arg 的同义密码子最多，为 6 个，因此碱基突变对它的影响最少。
8. C：根据摆动学说，如果反密码子的第一个碱基为次黄嘌呤时，它可以与 U、C、或 A 配对。
9. D：核糖体是储藏核糖核酸的细胞器。
10. C：
11. C：
12. A：
13. D：活化时消耗一分子 ATP 中两个高能磷酸键；延伸时消耗两分子 GTP。
14. B：第一个氨基酸的氨基和第二个氨基酸的羧基形成肽键，所以蛋白质合成方向是 N → C。
15. A：
16. D：蛋白质终止过程是终止因子 RF₁ 和 RF₂ 识别 mRNA 上的终止密码子。
17. A：真核生物 DNA 的转录启动子和增强子等序列，合称顺式作用元件。
18. D：调控转录的各种蛋白质因子总称反式作用因子。
19. D：
20. C：

(五) 是非判断题

1. 错：真核细胞 mRNA 的 5' 端无 SD 序列，因此在原核细胞翻译系统中，不能有效地翻译。
2. 对：核糖体蛋白质可在核糖外参与复制、转录、后加工等过程。
3. 错：核糖体需要解离成大小两个亚基才能够与 mRNA 结合，启动翻译。

4. 错：某些生物缺乏谷氨冬酰胺 - tRNA 合成酶或天冬酰胺酰 - tRNA 合成酶，相应的 Gln-tRNA^{Asn}-tRNA^{Gln}Asn 的合成先是由谷氨酰 - tRNA 合成酶或天冬氨酰 - tRNA 合成酶催化形误载的 Glu-tRNA^{Gln}Asp-tRNA^{Asn}，再经过酰胺化反应生成 Gln-tRNA 或 Asn-tRNA^{Asn}。
5. 对：EF-Tu 的 GTPase 活性越高，允许密码子和反密码子校对的时间就越短，因而忠实性就降低，而翻译的速度反而提高。
6. 错：起始 tRNA 进入 P 位点。
7. 错：tRNA 是一个 tRNA 分子上决定所携带氨基酸性质的核苷酸序列和阻止其它氨基酸被携带的核苷酸序列。不同种的 tRNA 的个性是不同的。
8. 错：从 DNA 的核苷酸序列并不能始终根据三联体密码推断出某一蛋白质的氨基酸序列，这是因为某些蛋白质的翻译经历再次程序化的解码，而且大多数真核细胞的蛋白质基因为断裂基因。
9. 错：越来越多的证据表明 rRNA 在翻译中，决不是仅仅充当组装核糖体的结构骨架作用，它能主动参与蛋白质的合成，如作为 ribozyme 发挥作用。
10. 错：多数多肽链的折叠与肽链延伸反应同时进行。
11. 错：人工合成多肽的方向正好与体内的多肽链延伸的方向相反，是从 C 端到 N 端。
12. 错：核糖体活性中心的 A 位和 P 位均在大亚基上。
13. 错：蛋白质合成过程中所需的能量都由 ATP 直接供给。
14. 对：每个氨酰 - tRNA 进入核糖体的 A 位都需要延长因子的参与，并消耗一分子 GTP。
15. 错：每种氨基酸只能有一种特定的 tRNA 与之对应。
16. 错：反密码子中含有胸腺嘧啶碱基 (T)。
17. 对：泛素是一种热激蛋白，它在温度升高的情况下表达量提高，有利于机体清除受热变性的蛋白质。
18. 对：原核细胞新生肽链 N 端第一个残基为 fMet；真核细胞新生肽链 N 端为 Met。
19. 对：蛋白质合成过程中，肽基转移酶起转肽作用核水解肽链作用。
20. 对。

(六) 问答题 (解题要点)

1. 答：m⁷GTP 之所以能够抑制真核细胞的蛋白质合成是因为它是真核细胞 mRNA 的 5 帽子结构的类似物，能够竞争性的结合真核细胞蛋白质合成起始阶段所必需的帽子结合蛋白 (一种特殊的起始因子) 原核细胞 mRNA 的 5 端没有帽子结构，因此 m⁷GTP 不会影响到它翻译的起始。SD 序列是存在于原核细胞 mRNA 的 5 端非编码区的一段富含嘌呤碱基的序列，它能够与核糖体小亚基上的 16SrRNA 的 3 端的反 SD 序列通过互补结合，这种结合对原核细胞翻译过程中起始密码子的识别非常重要，将人工合成的 SD 序列加到翻译体系中，必然会干扰到 mRNA 所固有的

SD 序列与 16SrRNA 的反 SD 序列的相互作用，从而竞争性抑制原核细胞蛋白质合成的起始。

2. 答：mRNA 上每 3 个相邻的核苷酸编成一个密码子，代表某种氨基酸或肽链合成的起始或终止信（4 种核苷酸共组成 64 个密码子）。其特点有：方向性：编码方向是 5' → 3'；无标点性：密码子连续排列，既无间隔又无重叠；简并性：除了 Met 和 Trp 各只有一个密码子之外，其余每种氨基酸都有 2~6 个密码子；通用性：不同生物共用一套密码；摆动性：在密码子与反密码子相互识别的过程中密码子的第一个核苷酸起决定性作用，而第二个、尤其是第三个核苷酸能够在一定范围内进行变动。
3. 答：在蛋白质合成中，tRNA 起着运载氨基酸的作用，将氨基酸按照 mRNA 链上的密码子所决定的氨基酸顺序搬运到蛋白质合成的场所——核糖体的特定部位。tRNA 是多肽链和 mRNA 之间的重要转换器。其 3' 端接受活化的氨基酸，形成氨酰-tRNA。tRNA 上反密码子识别 mRNA 链上的密码子。合成多肽链时，多肽链通过 tRNA 暂时结合在核糖体的正确位置上，直至合成终止后多肽链才从核糖体上脱下。
4. 答：保证翻译准确性的关键有二：一是氨基酸与 tRNA 的特异结合，依靠氨酰-tRNA 合成酶的特异识别作用实现；二是密码子与反密码子的特异结合，依靠互补配对结合实现，也有赖于核蛋白体的构象正常而实现正常的装配功能。
5. 答：这些基本方式主要有锌指、亮氨酸拉链、螺旋-环-螺旋基元，参看名词解释的 18、19、22 答案。
6. 答：癌基因异常激活的方式有：癌基因的点突变；癌基因的扩增；癌基因或其增强子甲基化程度降低；增强子等序列的插入对癌基因转录的促进；癌基因易位。
7. 答：抑癌基因突变失活、缺失或抑癌基因产物失活均可引起细胞癌变。

第十一章 代谢调节

一、知识要点

代谢调节是生物在长期进化过程中，为适应外界条件而形成的一种复杂的生理机能。通过调节作用细胞内的各种物质及能量代谢得到协调和统一，使生物体能更好地利用环境条件来完成复杂的生命活动。根据生物的进化程度不同，代谢调节作用可在不同水平上进行：低等的单细胞生物是通过细胞内酶的调节而起作用的；多细胞生物则有更复杂的激素调节和神经调节。因为生物体内的各种代谢反应都是通过酶的催化作用完成的，所以，细胞内酶的调节是最基本的调节方式。酶的调节是从酶的区域化、酶的数量和酶的活性三个方面对代谢进行调节的。

细胞是一个高效而复杂的代谢机器，每时每刻都在进行着物质代谢和能量的转化。细胞内的四大类物质糖类、脂类、蛋白质和核酸，在功能上虽各不相同，但在代谢途径上却有明显的交叉和联系，它们共同构成了生命存在的物质基础。代谢的复杂性要求细胞有数量庞大、功能各异和分工明确的酶系统，它们往往分布在细胞的不同区域。例如参与糖酵解、磷酸戊糖途径和脂肪酸合成的酶主要存在胞浆中；参与三羧酸循环、脂肪酸 β -氧化和氧化磷酸化的酶主要存在于线粒体中；与核酸生物合成有关的酶大多在细胞核中；与蛋白质生物合成有关的酶主要在颗粒型内质网膜上。细胞内酶的区域化为酶水平的调节创造了有利条件。

生物体内酶数量的变化可以通过酶合成速度和酶降解速度进行调节。酶合成主要来自转录和翻译过程，因此，可以分别在转录水平、转录后加工与运输和翻译水平上进行调节。在转录水平上，调节基因感受外界刺激所产生的诱导物和辅阻遏物可以调节基因的开闭，这是一种负调控作用。而分解代谢阻遏作用通过调节基因产生的降解物基因活化蛋白(CAP)促进转录进行，是一种正调控作用，它们都可以用操纵子模型进行解释。操纵子是在转录水平上控制基因表达的协调单位，由启动子(P)、操纵基因(O)和在功能上相关的几个结构基因组成；转录后的调节包括，真核生物 mRNA 转录后的加工，转录产物的运输和在细胞中的定位等；翻译水平上的调节包括，mRNA 本身核苷酸组成和排列(如 SD 序列)，反义 RNA 的调节，mRNA 的稳定性等方面。

酶活性的调节是直接针对酶分子本身的催化活性所进行的调节，在代谢调节中是最灵敏、最迅速的调节方式。主要包括酶原激活、酶的共价修饰、反馈调节、能荷调节及辅因子调节等。

二、习 题

(一) 名词解释

1. 诱导酶 (Inducible enzyme)
2. 标兵酶 (Pacemaker enzyme)
3. 操纵子 (Operon)
4. 衰减子 (Attenuator)
5. 阻遏物 (Repressor)
6. 辅阻遏物 (Corepressor)
7. 降解物基因活化蛋白 (Catabolic gene activator protein)
8. 腺苷酸环化酶 (Adenylate cyclase)
9. 共价修饰 (Covalent modification)
10. 级联系统 (Cascade system)
11. 反馈抑制 (Feedback inhibition)
12. 交叉调节 (Cross regulation)
13. 前馈激活 (Feedforward activation)
14. 钙调蛋白 (Calmodulin)

(二) 英文缩写符号

1. CAP (Catabolic gene activator protein):
2. PKA (Protein kinase):
3. CaM (Calmodulin):
4. ORF (Open reading frame):

(三) 填空题

1. 哺乳动物的代谢调节可以在_____、_____、_____和_____四个水平上进行。
2. 酶水平的调节包括_____、_____和_____。其中最灵敏的调节方式是_____。
3. 酶合成的调节分别在_____、_____和_____三个方面进行。
4. 合成诱导酶的调节基因产物是_____, 它通过与_____结合起调节作用。
5. 在分解代谢阻遏中调节基因的产物是_____, 它能与_____结合而被活化, 帮助_____与启动子结合, 促进转录进行。
6. 色氨酸是一种_____, 能激活_____, 抑制转录过程。
7. 乳糖操纵子的结构基因包括_____、_____和_____。

8. 在代谢网络中最关键的三个中间代谢物是_____、_____和_____。
9. 酶活性的调节包括_____、_____、_____、_____、_____和_____。
10. 共价调节酶是由_____对酶分子进行_____，使其构象在_____和_____之间相互转变。
11. 真核细胞中酶的共价修饰形式主要是_____，原核细胞中酶共价修饰形式主要是_____。

(四) 选择题

1. 利用操纵子控制酶的合成属于哪一种水平的调节：
A. 翻译后加工 B. 翻译水平 C. 转录后加工 D. 转录水平
2. 色氨酸操纵子调节基因产物是：
A. 活性阻遏蛋白 B. 失活阻遏蛋白
C. cAMP 受体蛋白 D. 无基因产物
3. 下述关于启动子的论述错误的是：
A. 能专一地与阻遏蛋白结合 B. 是 RNA 聚合酶识别部位
C. 没有基因产物 D. 是 RNA 聚合酶结合部位
4. 在酶合成调节中阻遏蛋白作用于：
A. 结构基因 B. 调节基因 C. 操纵基因 D. RNA 聚合酶
5. 酶合成的调节不包括下面哪一项：
A. 转录过程 B. RNA 加工过程
C. mRNA 翻译过程 D. 酶的激活作用
6. 关于共价调节酶下面哪个说法是错误的：
A. 都以活性和无活性两种形式存在 B. 常受到激素调节
C. 能进行可逆的共价修饰 D. 是高等生物特有的调节方式
7. 被称作第二信使的分子是：
A. cDNA B. ACP C. cAMP D. AMP
8. 反馈调节作用中下列哪一个说法是错误的：
A. 有反馈调节的酶都是变构酶 B. 酶与效应物的结合是可逆的
C. 反馈作用都是使反速度变慢 D. 酶分子的构象与效应物浓度有关

(五) 是非判断题

- () 1. 分解代谢和合成代谢是同一反应的逆转，所以它们的代谢反应是可逆的。
- () 2. 启动子和操纵基因是没有基因产物的基因。
- () 3. 酶合成的诱导和阻遏作用都是负调控。

- () 4 衰减作用是在转录水平上对基因表达进行调节的一种方式。
- () 5.与酶数量调节相比，对酶活性的调节是更灵敏的调节方式。
- () 6 果糖 1,6二磷酸对丙酮酸激酶具有反馈抑制作用。
- () 7 序列反应中几个终产物同时过多时的调节作用叫累积调节。
- () 8 酶的共价修饰能引起酶分子构象的变化。
- () 9 脱甲基化作用能使基因活化。
- () 10 连锁反应中，每次共价修饰都是对原始信号的放大。

(六) 问答题

1. 糖代谢与脂类代谢的相互关系?
2. 糖代谢与蛋白质代谢的相互关系?
3. 蛋白质代谢与脂类代谢的相互关系?
4. 简述酶合成调节的主要内容?
5. 以乳糖操纵子为例说明酶诱导合成的调控过程?
6. 以糖原磷酸化酶激活为例，说明级联系统是怎样实现反应信号放大的?
7. 二价反馈抑制作用有哪些主要类型?
8. 代谢的区域化有何意义?

三、答 案

(一) 名词解释：

1. 诱导酶：由于诱导物的存在，使原来关闭的基因开放，从而引起某些酶的合成数量明显增加，这样的酶称为诱导酶
2. 标兵酶：在多酶促系列反应中，受控制的部位通常是系列反应开头的酶，这个酶一般是变构酶，也称标兵酶。
3. 操纵子：在转录水平上控制基因表达的协调单位，包括启动子 (P) 操纵基因 (O) 和在功能上相关的几个结构基因。
4. 衰减子：位于结构基因上游前导区调节基因表达的功能单位，前导区转录的前导 RNA 通过构象变化终止或减弱转录。
5. 阻遏物：由调节基因产生的一种变构蛋白，当它与操纵基因结合时，能够抑制转录的进行。
6. 辅阻遏物：能够与失活的阻遏蛋白结合，并恢复阻遏蛋白与操纵基因结合能力的物质。辅阻遏物一般是酶反应的产物。
7. 降解物基因活化蛋白：由调节基因产生的一种 cAMP 受体蛋白，当它与 cAMP 结合

时被激活，并结合到启动子上促进转录进行。是一种正调节作用。

8. 腺苷酸环化酶：催化 ATP 焦磷酸裂解产生环腺苷酸 (cAMP) 的酶。
9. 共价修饰：某种小分子基团可以共价结合到被修饰酶的特定氨基酸残基上，引起酶分子构象变化，从而调节代谢的方向和速度。
10. 级联系统：在连锁代谢反应中一个酶被激活后，连续地发生其它酶被激活，导致原始调节信号的逐级放大，这样的连锁代谢反应系统称为级联系统。
11. 反馈抑制：在代谢反应中，反应产物对反应过程中起作用的酶产生的抑制作用。
12. 交叉调节：代谢产物不仅对本身的反应过程有反馈抑制作用，而且可以控制另一代谢物在不同途径中的合成。
13. 前馈激活：在反应序列中，前身物质对后面的酶起激活作用，使反应向前进行。
14. 钙调蛋白：一种依赖于钙的蛋白激酶，酶蛋白与钙结合引起酶分子构象变化，调解酶的活性。如磷酸化酶激酶是一种依赖于钙的蛋白激酶。

(二) 英文缩写符号

1. CAP (Catabolic gene activator protein): 降解物基因活化蛋白
2. PKA (Protein kinase): 蛋白激酶 A
3. CaM (Calmodulin): 钙调蛋白
4. ORF (Open reading frame): 开放阅读框架

(三) 填空题

1. 细胞内酶水平；细胞水平；激素水平；神经水平
2. 酶的区域化；酶数量的调节；酶活性的调节
3. 转录水平；转录后加工和运输；翻译水平
4. 阻遏蛋白；操纵基因
5. 降解物基因活化蛋白 (CAP); 环腺苷酸 (cAMP); RNA聚合酶
6. 辅阻遏物；阻遏蛋白
7. LacZ ; LacY ; LacA
8. 6-磷酸葡萄糖；丙酮酸；乙酰辅酶 A
9. 酶原激活；酶共价修饰；变构调节；反馈调节；辅因子调节；能荷调节
10. 小分子基团；共价修饰；有活性；无活性
11. 磷酸化和脱磷酸化；核苷酰化和脱核苷酰化

(四) 选择题

1. D：操纵子在酶合成的调节中是通过操纵基因的开关来控制结构基因表达的，所以是转录水平的调节。细胞中酶的数量也可以通过其它三种途径进行调节。

2. B : 色氨酸操纵子控制合成色氨酸五种酶的转录, 色氨酸是蛋白质氨基酸, 正常情况下调节基因产生的是无活性阻遏蛋白, 转录正常进行。但当细胞中色氨酸的含量超过蛋白质合成的需求时, 色氨酸变成辅阻遏物来激活阻遏蛋白, 使转录过程终止; 诱导酶的操纵子调节基因产生的是活性阻遏物; 组成酶的操纵子调节基因不产生阻遏蛋白; 有分解代谢阻遏作用的操纵子调节基因产物是 cAMP 受体蛋白 (降解物基因活化蛋白)。
3. A : 操纵基因是阻遏蛋白的结合部位。
4. C : 活性阻遏蛋白与操纵基因结合使转录终止。
5. D : 酶的激活作用是对酶活性的调节, 与酶合成的调节无关。
6. D : 共价调节酶是高等生物和低等生物都具有的一种酶活性调节方式。
7. C : cDNA 为互补 DNA, ACP 为酰基载体蛋白, AMP 为腺苷酸。cAMP 由腺苷酸环化酶催化 ATP 焦磷酸裂解环化生成, 腺苷酸环化酶可感受激素信号而被激活, 所以, 一般把激素称为“第一信使”, 把 cAMP 称为“第二信使”。
8. C : 反馈作用包括正反馈 (反馈激活) 和负反馈 (反馈抑制), 正反馈对酶起激活作用, 负反馈对酶起抑制作用。

(五) 是非判断题

1. 错 : 分解代谢和合成代谢虽然是同一反应的逆转, 但它们各自的代谢途径不完全相同, 如在糖酵解途径中, 葡萄糖被降解成丙酮酸的过程有三步反应是不可逆的, 在糖异生过程中需要由其它的途径或酶来代替。
2. 对 : 操纵子包括启动子、操纵基因和结构基因, 启动子是 RNA 聚合酶识别和结合部位, 操纵基因可以与阻遏蛋白结合控制基因表达, 两者都没有基因产物。结构基因的转录产物为与 DNA 互补的 RNA。
3. 对 : 在酶合成的诱导中, 调节基因产生的活性阻遏物在没有诱导物的情况下, 能与操纵基因结合, 使转录终止和减弱; 在酶合成的阻遏中, 调节基因产生的失活阻遏物与辅阻遏物结合后被活化, 再与操纵基因结合, 也能使转录终止和减弱;
4. 对 : 衰减作用是通过已转录的前导 RNA 翻译后形成的终止子, 对已开始的转录过程进行调节。
5. 对 : 酶合成的调节需要经过转录、翻译、加工等过程, 酶的降解需要蛋白酶的作用, 它们都是慢速的调节过程。酶活性的调节则直接作用于酶分子本身, 所以是更灵敏更迅速的调节过程。
6. 错 : 果糖 1,6二磷酸对丙酮酸激酶具有前馈激活作用。因为, 在糖酵解的序列反应中, 果糖 1,6二磷酸位于丙酮酸激酶催化的反应之前, 果糖 1,6二磷酸对丙酮酸激酶的前馈激活作用有利于酵解反应的进行。
7. 错 : 叫协同调节。几个终产物中任何一个产物过多都能部分抑制某一酶的活性, 要达

到最大的效果几个终产物必需同时过多，这种调节作用叫累积调节。

8.对：在酶分子中共价引入或去除某种小分子基团，能使酶蛋白的空间结构在有活性和无活性构象之间发生转变。

9.对：DNA 的碱基通过脱甲基化作用能使染色质变疏松，基因得到活化。而甲基化作用可关闭某些基因的表达。

10.对：因为在连锁反应中，每次共价修饰都相当于增加一级酶促反应，使原始信号得到一次放大。

(六) 问答题 (解题要点)

1. 答：(1) 糖转变为脂肪：糖酵解所产生的磷酸二羟丙酮还原后形成甘油，丙酮酸氧化脱羧形成乙酰辅酶 A 是脂肪酸合成的原料，甘油和脂肪酸合成脂肪。
(2) 脂肪转变为糖：脂肪分解产生的甘油和脂肪酸，可沿不同的途径转变成糖。甘油经磷酸化作用转变成磷酸二羟丙酮，再异构化变成 3-磷酸甘油醛，后者沿糖酵解逆反应生成糖；脂肪酸氧化产生乙酰辅酶 A，在植物或微生物体内可经乙醛酸循环和糖异生作用生成糖，也可经糖代谢彻底氧化放出能量。
(3) 能量相互利用：磷酸戊糖途径产生的 NADPH 直接用于脂肪酸的合成，脂肪分解产生的能量也可用于糖的合成。
2. 答：(1) 糖是蛋白质合成的碳源和能源：糖分解代谢产生的丙酮酸、 α -酮戊二酸、草酰乙酸、磷酸烯醇式丙酮酸、4-磷酸赤藓糖等是合成氨基酸的碳架。糖分解产生的能量被用于蛋白质的合成。
(2) 蛋白质分解产物进入糖代谢：蛋白质降解产生的氨基酸经脱氨后生成 α -酮酸， α -酮酸进入糖代谢可进一步氧化放出能量，或经糖异生作用生成糖。
3. 答：(1) 脂肪转变为蛋白质：脂肪分解产生的甘油可进一步转变成丙酮酸、 α -酮戊二酸、草酰乙酸等，再经过转氨基作用生成氨基酸。脂肪酸氧化产生乙酰辅酶 A 与草酰乙酸缩合进入三羧酸循环，能产生谷氨酸族和天冬氨酸族氨基酸。
(2) 蛋白质转变为脂肪：在蛋白质氨基酸中，生糖氨基酸通过丙酮酸转变成甘油，也可以氧化脱羧后转变成乙酰辅酶 A，用于脂肪酸合成。生酮氨基酸在代谢反应中能生成乙酰乙酸，由乙酰乙酸缩合成脂肪酸。丝氨酸脱羧后形成胆氨，胆氨甲基化后变成胆碱，后者是合成磷脂的组成成分。
4. 答：(1) 转录水平的调节：负调控作用（酶合成的诱导和阻遏）；正调控作用（降解物基因活化蛋白）；衰减作用（衰减子）。
(2) 转录后的的调节：转录后 mRNA 的加工，mRNA 由细胞核向细胞质的运输，mRNA 细胞中的定位和组装。
(3) 翻译水平的调节：mRNA 本身核苷酸组成和排列（如 SD 序列），反义 RNA 的活性，mRNA 的稳定性等都是翻译水平的调节的重要内容。

5. 答:(1) 乳糖操纵子:操纵子是指在转录水平上控制基因表达的协调单位,包括启动子(P)、操纵基因(O)和在功能上相关的几个结构基因,操纵子可受调节基因的控制。乳糖操纵子是三种乳糖分解酶的控制单位。
- (2) 阻遏过程:在没有诱导物(乳糖)情况下,调节基因产生的活性阻遏蛋白与操纵基因结合,操纵基因被关闭,操纵子不转录。
- (3) 诱导过程:当有诱导物(乳糖)的情况下,调节基因产生的活性阻遏蛋白与诱导物结合,使阻遏蛋白构象发生改变,失去与操纵基因结合的能力,操纵基因被开放,转录出三种乳糖分解酶(LacZ、LacY、LacA)。
6. 答:(1) 级联系统:在连锁代谢反应中一个酶被激活后,连续地发生其它酶被激活,导致原始调节信号的逐级放大,这样的连锁代谢反应系统称为级联系统。糖原磷酸化酶的激活过程就是一个例子。
- (2) 放大过程:a-激素(如肾上腺素)使腺苷酸环化酶活化,催化ATP和生成cAMP。
b- cAMP使蛋白激酶活化,使无活力的磷酸化酶b激酶转变成有活力的磷酸化酶b激酶。
c-磷酸化酶b激酶使磷酸化酶b转变成激活态磷酸化酶a。
d-磷酸化酶a使糖原分解为磷酸葡萄糖。
- 每次激活都是一次共价修饰,也是对原始信号的一次放大过程。
7. 答:(1) 二价反馈抑制:在有分支的序列反应中,产生两种或两种以上的终产物,都对序列反应开头的酶起反馈抑制作用。
- (2) 主要类型:同工酶反馈抑制;顺序反馈抑制;协同反馈抑制;累积反馈抑制。
8. 答:(1) 消除酶促反应之间的干扰。
- (2) 使代谢途径中的酶和辅因子得到浓缩,有利于酶促反应进行。
- (3) 使细胞更好地适应环境条件的变化。
- (4) 有利于调节能量的分配和转换。