

第 2-6 章 氨基酸和蛋白质的结构和功能 答案

一、填空

- 20, 非极性, 极性, 疏水, 亲水, 赖, 精, 天, 冬。
- 酪氨酸 (或 Tyr), 苯丙氨酸 (或 Phe), 色氨酸 (或 Trp)。
- OH, -SH, -COOH, N, NH。
- 氨基, 紫红, 亮黄。
- 肽, 氢键, 二硫键, 疏水作用 (键), 范德华力, 二硫键。
- 谷, 缬, 极, 非极。
- 异硫氰酸苯酯, 从 N-端依次对氨基酸进行分析鉴定。
- α -螺旋, β -折叠, β -转角, 无规卷曲, 氢。
- 分子表面的水化膜, 同性电荷斥力。
- 溶解度最低, 电场中无电泳行为。
- 空间结构, 二硫, 氢, 复性。
- 正电, 负电。
- 谷, 天冬, 赖, 精, 组。
- 兼性离子, 负, 正。
- 丝氨酸, 苏氨酸, 酪氨酸, 半胱氨酸, 甲硫氨酸, 甲硫氨酸。
- Lys, Phe, Met, Ile, Leu, Val, Thr, Trp, Arg, His。
- 3.22。
- 10.76。
- α -角蛋白, β -角蛋白。
- 肽键, 氢键。
- 9.74。
- 血红素。

二、选择

- D 2. B 3. C 4. C 5. D
- B 7. A 8. D 9. C 10. C
- D 12. D 13. B 14. C 15. C
- A 17. C 18. B 19. B 20. A
- C 22. B 23. A 24. B 25. B
- B 27. B 28. C 29. D 30. B
- A 32. C 33. A 34. C 35. B

三、名词解释

- pI (Isoelectric point, 等电点): 氨基酸所带的净电荷为零时的 pH 值。
- Primary structure (蛋白质的一级结构): 指多肽链的氨基酸序列, 也包括多肽链中连接氨基酸残基的共价键, 主要是肽键和二硫键。
- Secondary structure (二级结构): 指多肽链借助氢键排列成有规律的 α 螺旋和 β 折叠等元件。常见二级结构包括 α 螺旋、 β -折叠、 β -转角和无规卷曲。
- Tertiary structure (三级结构): 指多肽链借非共价力折叠成特定走向的球状实体, 即一条多肽链的完整三维结构。

5. **Quarternary structure** (四级结构): 指具有三级结构的亚基借助非共价力彼此缔合成寡聚或多聚蛋白质。
6. **Supersecondary structure** (超二级结构): 在蛋白质中经常可以看到由若干相邻的二级结构元件组合在一起, 彼此相互作用, 形成种类不多, 有规则、稳定的二级结构组合或二级结构串。
7. **Structural domain** (结构域): 含数百个氨基酸残基的多肽链经常折叠成两个或多个稳定的、相对独立的球状实体, 称为结构域。
8. **α -helix** (α -螺旋): 蛋白质中常见的一种二级结构, 肽链主链骨架围绕假想的中心轴盘绕成螺旋状, 一般都是右手螺旋结构, 螺旋是靠链内氢键维持的。
9. **β -pleated sheet** (β -折叠): 是蛋白质中的常见的二级结构, 是由伸展的多肽链组成的。折叠片的构象是通过一个肽键的羰基氧和位于同一个肽链或相邻肽链的另一个酰胺氢之间形成的氢键维持的。氢键几乎都垂直伸展的肽链, 这些肽链可以是平行排列(走向都是由 N 到 C 方向); 或者是反平行排列(肽链反向排列)。
10. **Protein denaturation** (蛋白质的变性作用): 在与细胞不同的条件可以使蛋白质结构发生足以引起生物功能丢失的三维结构改变称为变性; 其实质是蛋白质分子中的非共价力被破坏引起天然构象解体, 但不涉及共价键的破坏, 一级结构仍保持完好。
11. **Renaturation** (复性作用): 当变性因素除去后, 变性蛋白质有又可重新回复到天然构象的现象称为复性。
12. **Allosteric effect** (别构效应): 一个配体与蛋白质上的一个结合部位的结合影响同一蛋白质上其他结合部位的亲和力。
13. **Sickle-cell anemia** (镰刀状细胞贫血病): 是一种常染色体显性遗传血红蛋白病。因 β -肽链第 6 位氨基酸谷氨酸被缬氨酸所代替, 构成镰状血红蛋白取代了正常血红蛋白。临床表现为慢性溶血性贫血、易感染和再发性疼痛危象以致慢性局部缺血导致器官组织损害。
14. **Essential amino acids** (必需氨基酸): 指的是人体自身不能合成或合成速度不能满足人体需要, 必须从食物中摄取的氨基酸。
15. **Nonessential amino acids** (非必需氨基酸): 人或动物机体能自身合成, 不需通过食物补充的氨基酸。

四、问答题

1. 组成蛋白质的 20 种氨基酸依据什么分类? 各类氨基酸的共同特性是什么? 这种分类在生物学上有何重要意义?

答: 组成蛋白质的 20 种氨基酸分类依据: 区分氨基酸就是通过 R 基的不同。

各类氨基酸的共同特性: 氨基酸是蛋白质的基本单位, 每个氨基酸都是有一个氨基, 一个羧基, 还有一个 R 基组成。

这种分类在生物学上重要意义: 每个氨基酸都有相对应的密码子, 也就是说, 在转录的过程中, 氨基酸的种类由基因决定, 进而决定了蛋白质的种类, 蛋白质是生物性状的表现。

2. 蛋白质的基本结构与高级结构之间存在的关系如何?

答: 一般把一级结构看做是基本结构, 他经过折叠, 形成的空间构像是高级结构。其中通过二硫键, 非共价键等维系空间结构。

3. 举例说明蛋白质一级结构与功能关系。

答: 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会引起高级结构发生改变, 进而导致蛋白质生物功能的变化。

例：镰刀形红细胞贫血病是由于血红蛋白发生了遗传突变引起的，成人的血红蛋白是由两条相同的 α 链和两条相同的 β 链组成 $\alpha_2\beta_2$ ，镰刀形红细胞中血红蛋白 β 链第 6 位的 aa 残基由正常的 Glu 变成了疏水性的 Val。

从三级结构看，由于这个氨基酸位于分子表面，因此 Val 取代 Glu，等于在分子表面安了一个疏水侧链，在缺氧时引起血红蛋白线性凝集，导致红细胞变成镰刀状，使红细胞容易破裂，发生溶血，即血红蛋白的功能发生了变化。

4. 何谓蛋白质等电点？等电点时蛋白质的存在特点是什么？

答：蛋白质的等电点 (pI)：氨基酸所带的净电荷为 0 时的 pH 值。

等电点时蛋白质的存在特点是：蛋白质极性基团解离的正负离子数相等，净电荷为 0，因此在电场中无电泳行为；溶解度最低。

5. α -螺旋的特征是什么？如何以通式表示？

答： α -螺旋的特征：

①每一圈包含 3.6 个残基，螺距 0.54nm，残基高度 0.15nm，螺旋直径 0.5nm。

②每一个 ϕ 角等于 -57° ，每一个 ψ 角等于 -47° 。

③相邻螺圈之间形成链内氢键。一个肽单位的 C=O 基氧原子（氨基酸残基 n）与其前的第三个肽基的 N-H 氢原子（氨基酸残基 n+4）氢键的取向与螺旋轴几乎平行。由氢键封闭的环包括 13 个原子。

以通式表示为： 3.6_{13} -螺旋。

6. 哪些因素可引起蛋白质变性？变性后蛋白质的性质有哪些改变？

答：可引起蛋白质变性的因素：温度、pH、盐、有机溶剂、尿素和盐酸胍、去垢剂。

变性后蛋白质的性质发生改变：

① 生物活性丧失：生物活性丧失是蛋白质变性的主要特征。有时蛋白质的空间结构只要轻微变化即可引起生物活性的丧失。

② 某些理化性质的改变：如溶解度降低而产生沉淀，因为有些原来在分子内部的疏水基团由于结构松散而暴露出来，分子的不对称性增加，蛋白质分子凝聚从溶液中析出，因此粘度增加，扩散系数降低。

③ 生物化学性质的改变：蛋白质变性后，分子结构松散，不能形成结晶，易被蛋白酶水解。

7. 蛋白质分离分析技术常用的有哪几种，简述凝胶过滤层析和电泳的基本原理。

答：蛋白质分离分析技术常用的有：透析和超过滤、盐溶和盐析、有机溶剂分级分离法、超速离心、层析（色谱）、电泳。

凝胶过滤层析(Gel filtration chromatography)：又称分子排阻层析 (molecular-exclusion chromatography) 或分子筛层析(molecular sieve chromatography)，是按照分子大小分离和纯化蛋白质或其它分子混合物的层析技术。层析柱中的填料是某些惰性的多孔网状结构物质，多是交联的聚糖（如葡聚糖或琼脂糖）类物质，使蛋白质混合物中的物质按分子大小的不同进行分离，一般是高分子先流出来，小分子后流出来。

电泳基本原理：电泳是指带电颗粒在电场的作用下发生迁移的过程。许多重要的生物分子，如氨基酸、多肽、蛋白质、核苷酸、核酸等都具有可电离基团，它们在某个特定的 pH 值下可以带正电或负电，在电场的作用下，这些带电分子会向着与其所带电荷极性相反的电极方向移动。电泳技术就是利用在电场的作用下，由于待分离样品中各种分子带电性质以及

分子本身大小、形状等性质的差异，使带电分子产生不同的迁移速度，从而对样品进行分离、鉴定或提纯的技术。

8. 有哪些沉淀蛋白质的方法？试述每种沉淀方法的原理。

答：沉淀蛋白质的方法有：盐析法、有机溶剂、重金属盐、生物碱试剂、某些酸类、加热变性沉淀法。

盐析法：中性盐（硫酸铵、硫酸钠、氯化钠）主要针对蛋白质的水化层，不使蛋白质变性。沉淀后如果将盐除去，还可使蛋白质溶解。

有机溶剂沉淀法：是用极性有机溶剂（甲醇、乙醇、丙酮），主要针对蛋白质的水化层，降低介电常数。低温下快速操作可减慢变性速度。

重金属盐沉淀法：重金属（ Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Ag^{2+} ）与带负电荷蛋白质形成不溶性盐。如果误服重金属盐，可以服用大量的牛乳或豆浆，再服用催吐剂排出体外，可使蛋白质变性。

生物碱和酸类：生物碱如鞣酸、苦味酸、钨酸、碘化钾，某些酸类如三氯醋酸、磺基水杨酸、硝酸等，当溶液的 pH 大于或者小于蛋白质的等电点时，蛋白质带负电荷或正电荷，蛋白质分子相互碰撞可生成沉淀。

加热变性沉淀法：使蛋白质天然结构解体，疏水基外露，破坏水化层和双电层。

9. 试述汞中毒的原因，为什么服用鸡蛋清可以减轻汞中毒的症状？

答：（1）汞中毒的原因：汞中毒的直接作用形式是由于汞在组织中蓄积。

汞离子易与巯基结合，使与巯基有关的细胞色素氧化酶、丙酮酸激酶、琥珀酸脱氢酶等失去活性。汞还与氨基、羧基、磷酸基结合而影响功能基团的活性。由于这些酶和功能基团的活性受影响，阻碍了细胞生物活性和正常代谢，最终导致细胞变性和坏死。

汞蒸气较易透过肺泡壁含脂质的细胞膜，与血液中的脂质结合，很快分布到全身各组织。

汞在红细胞和其它组织中被氧化成 Hg^{2+} ，并与蛋白质结合而蓄积，很难再被释放。

金属汞在胃肠道几乎不吸收，仅约摄食量的万分之一，汞盐在消化道的吸收量约 10%。汞主要由尿和粪中排出，唾液、乳汁、汗液亦有少量排泄，肺部呼出甚微。体内汞元素半寿期为 60 天，汞盐约 40 天，在初 4 天内排泄量较多。

近年来，发现汞对肾脏损害，以肾近曲小管上皮细胞为主。汞还可引起免疫功能紊乱，产生自身抗体，发生肾病综合征或肾小球肾炎

（2）误服汞后，吞入大量鸡蛋清（鸡蛋清中含有大量蛋白质），可使汞先与鸡蛋清反应，减少汞与机体组织蛋白的接触机会，进而减轻毒性。所以鸡蛋清只是代替我们的身体组织中中和毒性而已，并不是解毒剂。

10. 试述蛋白质的变构效应与意义。

答：蛋白质变构效应，又称别构效应，是指一个蛋白质与它的配体结合后，蛋白质的构象发生变化，使它更适合于功能的需要。

变构效应的意义：是构成代谢的负反馈调节。即当一个代谢途径的代谢产物增多时，单鞋产物可以反馈抑制这个代谢反应中的关键酶，使代谢速度减慢，避免代谢产物的大量堆积。

11. 高浓度的硫酸铵（pH 5 时）可使蛋清蛋白沉淀析出，并用于初步分离该种蛋白的早期步骤，简要说明其原理。

答：硫酸铵属于中性盐，能够使蛋白质凝集析出，因其析出过程中蛋白质水化层不变，所以除盐后可以再溶解，所以可用于分离蛋清蛋白的早期步骤。

12. 一样品液中蛋白质组分为 A (30KD)、B (20KD)、C (60KD), 分析说明用 SephadexG100 凝胶过滤分离此样品时, 各组分被洗脱出来的先后次序。

答: 各组分被洗脱出来的先后次序是 C、A、B。

13. 试述血红蛋白与肌红蛋白结构的异同?

答: 血红蛋白与肌红蛋白结构与功能的异同点见下面的表格

	肌红蛋白	血红蛋白
存在	肌肉	血液 (红细胞)
形状	扁平的棱形	近似球形
功能	与氧结合, 贮存和分配氧	与氧结合, 结合并转运氧
三维结构	单体蛋白质: 三级结构 一条多肽链 (153 个氨基酸残基) 8 个 α 螺旋单链组成	寡聚蛋白质: 四级结构 四条多肽链 两条 α 链 (141 个残基) 两条 β 链 (146 个残基) 每条链为 8 个 α 螺旋组成
血红素辅基结合位点	1 个, 一条多肽链的疏水空隙内	4 个, 每条多肽链的疏水空隙内
对氧的亲合力	更大 (饱和程度高)	大
氧合曲线	双曲线	S 型曲线

血红蛋白与肌红蛋白结构上最大不同在于肌红蛋白只有三级结构, 而血红蛋白有四级结构, 是四聚体, 因此血红蛋白运载氧能力增强。另外, 氧结合引起血红蛋白构象变化, 氧合血红蛋白和去氧血红蛋白在四级结构上有显著不同, 发生构象变化。氧与血红蛋白结合是协同进行的, 具有正协同性同促效应, 即一个氧分子与血红蛋白结合, 使同一血红蛋白分子中其余空的氧结合部位对氧亲和力增加, 再结合第二、三、四个氧分子则比较容易。

14. 在冰箱内鸡蛋可贮存 4~6 周不腐败。而去除蛋清的蛋黄甚至在冷冻下也迅速腐败。请解释下面的问题。(1) 腐败是什么引起的? (2) 如何解释观察到的蛋清存在下防止蛋黄腐败? (3) 这种保护模式对鸟类有什么益处?

答: (1) 细菌。

(2) 蛋清中含有抗生素, 生物素具有促进细胞分裂, 加快细菌生长的作用, 所以蛋清存在下能防止蛋黄腐败。

(3) 对鸟类繁殖有益。

15. 由下列信息求八肽的序列, 请写出详细的分析过程。

答: 八肽氨基酸序列为: Ala-Thr-Arg-Val-Val-Met-Leu-Phe

(1) 酸水解得: Ala, Arg, Leu, Met, Phe, Thr, 2Val; 可知氨基酸的种类和数量。

(2) Sanger 试剂处理得 DNP-Ala: 由于 Sanger 试剂 (DNFB) 反应可鉴定 N 末端氨基酸残基, 所以 Ala 位于此八肽的 N 端。N 末端: Ala。

(3) 胰蛋白酶处理再结合 Sanger 试剂处理: 胰蛋白酶能水解 Lys 和 Arg 的羧基形成的肽键。由于处理后三肽 Ala, Arg, Thr 的 N 末端为 Ala, 所以三肽的顺序为 Ala-Thr-Arg。另一个五肽的 N 末端为 Val, 所以前四肽的顺序为 Ala-Thr-Arg-Val.....

(4) 溴化氰处理再结合 Sanger 试剂处理: 由于溴化氰 (CNBr) 断裂 Met 的羧基形成的

肽键。

Ala, Arg, 高丝氨酸内酯, Thr, 2Val 和 DNP-Ala, 所以此六肽的序列为 Ala.....Met。

Leu, Phe 和 DNP-Leu, 所以此二肽的序列为 Leu- Phe。

综合以上结果八肽序列为: Ala.....Met- Leu- Phe。

(5) 重叠肽段法: Ala-Thr-Arg-Val....

Ala.....Met-Leu- Phe

所以八肽氨基酸序列为: Ala-Thr-Arg-Val- Val- Met-Leu- Phe。

16. 请回答在给定的 pH 条件下, 下述蛋白质在电场中的运动方向。

答: (1) 卵清蛋白 (pH=5.5) A

(2) β -球蛋白 (pH=5.1) B

(3) β -球蛋白 (pH=7.0) A

(4) α -胰凝乳蛋白酶原 (pH=5.0) B

(5) α -胰凝乳蛋白酶原 (pH=9.1) C

(6) α -胰凝乳蛋白酶原 (pH=11) A

17. 蜂毒素是蜂毒的主要毒素, 它破坏细胞膜引起内部的酶和蛋白泄漏。下面是其氨基酸序列, 从序列看蜂毒素的分子特性有哪些? 如何从这些特性解释蜂毒素对细胞膜的作用的?

答: 除了 Lys-7 外, 蜂毒素 N 端的 20 个氨基酸残基或者是疏水的或者是不带电荷的残基, 而 6 个 C 端氨基酸残基都是带电荷的残基, 所以该多肽是一个双亲性的多肽。蜂毒素可能像去污剂作用方式那样整合到膜内, 干扰膜脂的装配, 从而引起膜渗透性变化, 导致细胞内含物的泄漏。