



博学厚德  
尚美健行

沈阳师范大学  
SHENYANG NORMAL UNIVERSITY

# 课程教案



课程名称: 生物化学

学习主体: 生物科学(技术) 2021级本科生

授课时间: 2022~2023 第1学期

主讲教师: 逢洪波

采用教材: 《生物化学》郑集主编

2020年8月修订

# 目录

|                        |     |
|------------------------|-----|
| 教案.....                | 1   |
| 第一章绪论.....             | 3   |
| 第二章糖类化学.....           | 6   |
| 第三章脂质化学.....           | 22  |
| 第四章蛋白质化学.....          | 31  |
| 第五章核酸化学.....           | 38  |
| 第六章酶化学.....            | 55  |
| 第七章维生素化学.....          | 83  |
| 第八章糖类代谢.....           | 93  |
| 第九章脂质代谢.....           | 106 |
| 第十章蛋白质酶促降解和氨基酸代谢.....  | 123 |
| 第十一章核酸酶促降解和核苷酸代谢.....  | 138 |
| 第十二章生物氧化.....          | 150 |
| 第十三章物质代谢的相互联系及其调节..... | 159 |
| 第十四章 DNA 的生物合成.....    | 170 |
| 第十五章 RNA 的生物合成.....    | 189 |
| 第十六章蛋白质的生物合成.....      | 207 |

## 教案

|                 |  |                       |      |           |
|-----------------|--|-----------------------|------|-----------|
| 课程基本情况          | 课程名称   | 生物化学                  | 课程代码 | 02100280  |
|                 | 授课对象   | 生物科学 2021 级           | 课程性质 | 学科必修      |
|                 | 学时   | 64                    | 学分   | 3.5       |
|                 | 考核方式   | 平时成绩占 20%，闭卷考试成绩占 80% |      |           |
| 教材及参考资料         | <p><b>教材：</b>《普通生物化学》，郑集、陈均辉编，高等教育出版社，2007 年第四版</p> <p><b>参考书：</b>(1)《生物化学》，王镜岩等主编，高等教育出版社，2002 年第三版。</p> <p>(2)《生物化学简明教程》，聂剑初等主编，高等教育出版，2008 年第三版。</p> <p>(3)《生物化学简明教程》，张丽萍等主编，高等教育出版，2015 年第五版。</p>  |                       |      |           |
| 教学目的            | <p>生物化学 (biochemistry) 是研究生命科学的科学，是介于生物学与化学之间的一门边缘科学。它运用物理学、化学和生物学的现代技术在分子水平探讨生命的本质，即研究生物体的分子结构与功能、物质代谢与调节及其在生命活动中的作用。生物化学是生命科学各专业本科生的一门必修基础课，是学习生物学其他课程最重要的基础。</p> <p>使学生掌握生物体内的物质组成、变化与生命现象之间的关系，培养学生运用生物化学认识和解释生命现象的能力，培养学生科学思维能力和自学能力，为后续课程学习打下一定的化学知识基础。通过合作式的理论教学方式和自主、探究式的实验教学方式，锻炼学生的自主学习知识、分析与创造知识与组织协调等综合能力。</p> |                       |      |           |
| <b>教学内容学时分配</b> |  |                       |      |           |
| <b>章次</b>       | <b>内容</b>  |                       |      | <b>学时</b> |
| 第一章             | 绪论   |                       |      | 2 学时      |
| 第二章             | 糖类化学   |                       |      | 4 学时      |
| 第三章             | 脂质化学   |                       |      | 2 学时      |
| 第四章             | 蛋白质化学  |                       |      | 8 学时      |

|      |               |       |
|------|---------------|-------|
| 第五章  | 核酸化学          | 4 学时  |
| 第六章  | 酶化学           | 8 学时  |
| 第七章  | 维生素化学         | 2 学时  |
| 第八章  | 糖代谢           | 8 学时  |
| 第九章  | 脂质代谢          | 4 学时  |
| 第十章  | 蛋白质酶促降解和氨基酸代谢 | 4 学时  |
| 第十一章 | 核酸酶促降解和核苷酸代谢  | 2 学时  |
| 第十二章 | 生物氧化          | 4 学时  |
| 第十三章 | 物质代谢的相互联系及其调节 | 2 学时  |
| 第十四章 | DNA 的生物合成     | 4 学时  |
| 第十五章 | RNA 的生物合成     | 2 学时  |
| 第十六章 | 蛋白质的生物合成      | 4 学时  |
| 合计   |               | 64 学时 |

## 第一章绪论

|               |   |
|---------------|---|
| <b>教学目标</b>   | 掌握生物化学的基本概念与研究目的和任务。理解生物化学在生物科学中的地位与作用。了解生物化学的发展。   |
| <b>教学重点</b>   | 生物化学及其研究内容  |
| <b>教学难点</b>   | 生物化学及其研究内容  |
| <b>学时分配</b>   | 2 学时  |
| <b>教学方法</b>   | 讲授法   |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体  |
| <b>知识结构体系</b> | <pre> graph TD     BC[生物化学] --- SW[现状与展望]     BC --- ROP[研究对象和目的]     BC --- Y[应用]     BC --- R[与其他学科的关系]          ROP --- G[概念]     ROP --- RG[研究范围]     ROP --- RP[研究目的]     ROP --- RT[学科任务]     ROP --- BC2[基本内容]          Y --- MH[医药卫生]     Y --- AS[农业生产]     Y --- MI[现代工业]     Y --- RL[居民生活]     </pre> |

| 授课题目  | 绪论   | 授课序次 | 1     |
|---|------|------|-------|
| 总学时数  | 2 学时 | 授课时长 | 40 分钟 |
| 教学过程及授课内容   |      |      | 备注    |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>北京时间下午 17:30, 2015 年诺贝尔生理学或医学奖公布, 奖项被分为两部分: 一半授予 William C. Campbell 和大村智为在治疗蛔虫引起的感染方面作出的贡献; 另一半授予屠呦呦, 以表彰她对疟疾治疗所做的贡献。</p> <p>诺贝尔奖是科研中的最高奖项, 华人诺贝尔奖得主——屠呦呦——研究青蒿素。屠呦呦, 女, 1930 年 12 月 30 日生, 药学家, 中国中医研究院终身研究员兼首席研究员, 青蒿素研究开发中心主任。多年从事中药和中西药结合研究, 突出贡献是创制新型抗疟药——青蒿素和双氢青蒿素。这个领域就是生物化学</p> <p>生物化学与人类的生活各个方面联系密切, 有重要的应用。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p><b>1 生物化学的概念和研究内容</b></p> <p>1.1 概念: 生物化学可以认为是生命的化学, 主要是应用化学的理论和研究方法研究微生物、植物、动物及人体等的化学组成、生命物质各组分的结构和性质、及它们在生命过程中的变化规律的一门科学。</p> <p>1.2 生物化学的基本内容包括:</p> <p>生物大分子的结构与功能; 物质代谢及其调节; 基因信息传递及调控; 其他专题; 生物化学实验技术。</p> <p><b>2 生物化学的发展简史</b></p> <p>18 世纪中—20 世纪初 (初级阶段) (静态), 生物体的化学组成 (糖, 脂, 氨基酸, 核酸)</p> <p>20 世纪初—20 世纪中 (蓬勃发展阶段) (动态), 代谢途径, 酶促反应, 三羧酸循环.....</p> <p>20 世纪后叶以来 (分子生物学崛起) (机能), 代谢调节, 合成.....</p> |      |      |       |

蛋白质结构, DNA 结构, 遗传信息, 基因工程, 基因重组, 人类基因组计划.....

### 3 生物化学在生物科学中的地位及其在工农业生产中的作用

### 4 生物化学的学习方法

#### 【讨论提问】

1. 同学们列举一些生物化学方面获得的诺贝尔奖的科学家?
2. 举例说明在日常的生活中, 哪些东西是与生物化学这个学科密切相关的?

#### 【本章小结】

掌握生物化学的基本概念与研究目的和任务。理解生物化学在生物科学中的地位与作用。了解生物化学的发展。本课程包括下列四方面的内容即: 1. 生物大分子糖、脂、蛋白质、酶、核酸的结构, 性质和生物功能。2. 能量的释放、转变和储存的代谢过程。3. 遗传信息的储存, 传递和表达。4. 代谢的调节控制。

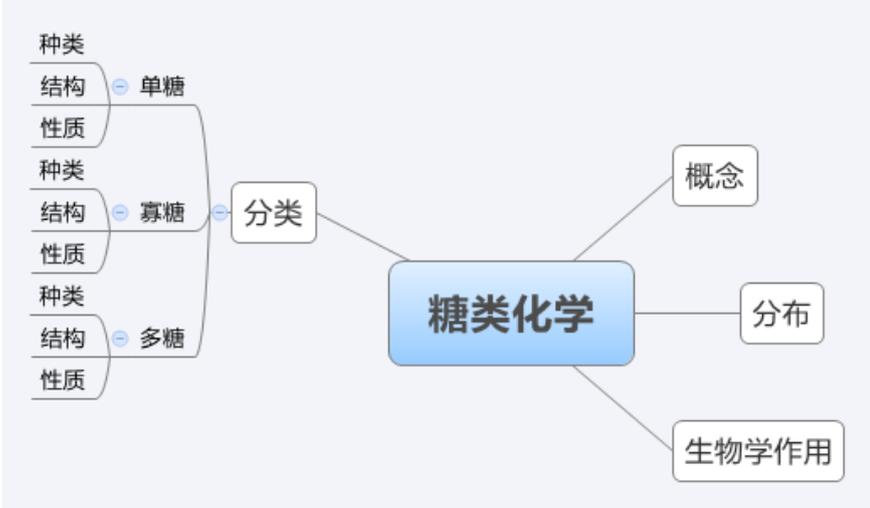
#### 【课后作业】

- 1、什么叫生物化学?
- 2、生物化学的研究内容?
- 3、生物化学发展简史?
- 4、应该如何学习生物化学?

#### 教学反思

生命科学的历史也是人类探究自身的历史, 在这一过程中许多科学家做出了杰出的贡献, 因而在介绍生物化学发展史的时候, 给大家讲述科学家的故事无疑能够起到激励同学们的作用。

## 第二章糖类化学

|        |   |
|--------|---|
| 教学目标   | 重点掌握典型单糖的结构和性质，理解二糖和多糖的结构和性质。比较分析各种重要糖类的特征。   |
| 教学重点   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 糖的概念、分类</li> <li>② 单糖的化学结构和性质</li> <li>③ 二糖和多糖的化学结构和性质</li> </ul>  |
| 教学难点   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 糖的分类</li> <li>② 单糖的化学结构和性质</li> <li>③ 二糖、多糖的性质</li> </ul>  |
| 学时分配   | 第一节单糖 2 学时<br>第二节二糖和三糖 1 学时<br>第三节多糖 1 学时   |
| 教学方法   | 讨论法+讲授法   |
| 教学手段   | 传统教学+现代多媒体  |
| 知识结构体系 |  <pre>           graph LR             Root[糖类化学] --- Concept[概念]             Root --- Distribution[分布]             Root --- Biology[生物学作用]             Root --- Classification[分类]             Classification --- Mono[单糖]             Classification --- Oligo[寡糖]             Classification --- Poly[多糖]             Mono --- MonoTypes[种类]             Mono --- MonoStruct[结构]             Mono --- MonoProp[性质]             Oligo --- OligoTypes[种类]             Oligo --- OligoStruct[结构]             Oligo --- OligoProp[性质]             Poly --- PolyTypes[种类]             Poly --- PolyStruct[结构]             Poly --- PolyProp[性质]           </pre> |

| 授课题目  | 糖类化学 | 授课序次 | 1、2、3  |
|---|------|------|--------|
| 总学时数  | 4 学时 | 授课时长 | 200 分钟 |
| 教学过程及授课内容   |      |      | 备注     |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>糖类是四大类生物分子之一，广泛存在于生物界，特别是植物界。糖类在生物体内不仅作为结构成分和能源，复合糖中的糖链作为细胞识别的信息分子参与许多生命过程，并因此出现一门性的学科，糖生物学。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p>一、糖的概念</p> <p>(一) 糖的化学概念 (糖类 saccharide)</p> <p>糖类物质是多羟基(2个或以上)的醛类(aldehyde)或酮类(Ketone)化合物，及其衍生物或聚合物的总称。</p> <p>糖也称碳水化合物 (carbohydrate)，用 <math>C_n(H_2O)_n</math> 表示。</p> <p>(二) 分布及其重要性</p> <p>糖是自然界分布很广的一类化合物，几乎所有的动物、植物和微生物体内都含有糖类。</p> <p><b>糖类的主要生物学作用：</b></p> <p>(1) 提供能量。</p> <p>(2) 可转变为生命所必需的其它物质，如脂类、蛋白质等。</p> <p>(3) 可作为生物体的结构物质，细胞的骨架。</p> <p>(4) 细胞间识别和生物分子间的识别。</p> <p>(三) 糖的分类 (classification)</p> <p>根据糖的结构单元数目多少分为：</p> <p><b>1、单糖 (monosaccharide)：</b>是多羟醛或多羟酮</p> <p>(1) <b>碳原子数目：</b>丙糖、丁糖、戊糖、己糖、庚糖等。</p> <p>(2) <b>醛糖、酮糖：</b></p> <p>醛糖：自然界存在的有 D-甘油醛糖，L-阿拉伯糖，D-木糖，D-核糖，D-2-脱</p> |      |      |        |

氧核糖, D-葡萄糖, D-甘露糖, D-及 L-半乳糖等。

酮糖: 甘油酮糖, L-木酮糖, D-果糖, L-山梨糖, 景天庚酮糖 (仅此几种存在自然界)。

## 2、寡糖 (oligosaccharide):

又称低聚糖, 由 2~10 分子单糖结合而成。可分为二糖、三糖、四糖、五糖等。

## 3、多糖 (polysaccharide): 由多分子单糖或单糖的衍生物聚合而成。

(1) 同多糖 (homopolysaccharide, 均一性多糖): 由同一种单糖聚合而成, 如淀粉、糖原、纤维素等。

(2) 杂多糖 (heteropolysaccharide, 不均一性多糖): 由不同种单糖或单糖的衍生物聚合而成, 如透明质酸等。

糖类还可和非糖物质如脂类、蛋白质等结合形成复合糖 (complex saccharide)

### 第一节 单糖

#### 一、单糖的结构

(一) 单糖的链状结构: 以葡萄糖为例

#### 1、确定链状结构的方法 (葡萄糖): $C_6H_{12}O_6 + (CH_3CO)_2O \rightarrow C_6H_7O_6(COCH_3)_5$

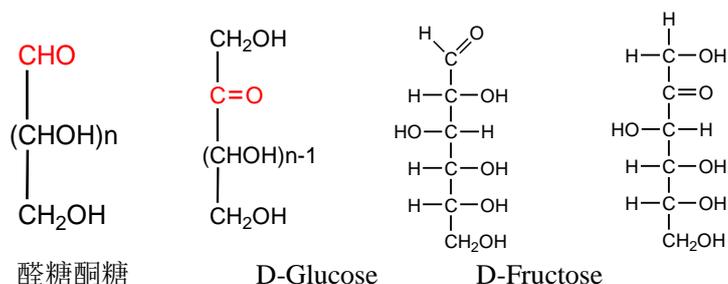
(1) 羟基: 葡萄糖分子内有 5 个羟基

(2) 醛基: 与 Fehling 试剂或其它醛试剂反应, 含有醛基。

(3) 被弄  $HNO_3$  氧化生成糖二酸 (二羧酸)。

(4) 被钠汞齐 (钠和汞的合金) 和  $HI$  还原生成正己烷。

#### 2、单糖的链状结构有醛糖和酮糖之分, 用下列通式表示醛糖和酮糖。

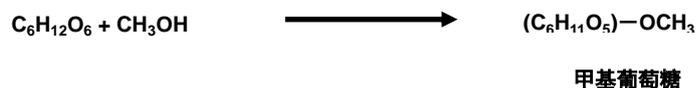
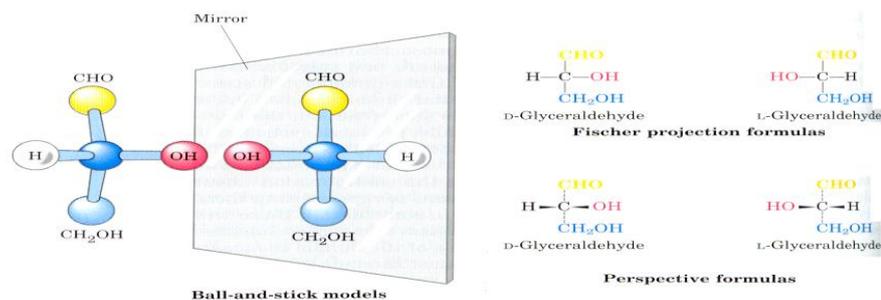


#### 3、单糖的构型 (configuration)

单糖有 D 型、L 型两种异构体，判断方法以甘油醛（D-Glyceraldehyde, L-Glyceraldehyde）作标准。

将单糖分子中离羰基最远的不对称碳原子上的-OH 的空间排布与甘油醛作比较，若与 D-甘油醛相同，即羟基在不对称碳原子右边的为 **D-型**，若与 L-甘油醛相同，即羟基在不对称碳原子左边的为 **L-型**。D-型和 L-型单糖互为对映体。

将甘油醛分子作成立体模型，如图。



## (二) 单糖的环状结构

链状结构不是单糖的唯一结构。在溶液中，含有 4 个以上碳原子的单糖以环状结构为主。

### 1、单糖的链状结构不能解释以下性质：

(1) 单糖是多羟醛，应显示醛的性质，但葡萄糖的醛基不能和  $\text{NaHSO}_3$  反应，也不能和 Schiff 试剂反应，说明葡萄糖的醛基不如一般醛基活泼。

(2) 1 分子葡萄糖只能与 1 分子甲醇结合成甲基葡萄糖而不能如一般醛类分子能与 2 分子甲醇作用形成缩醛。

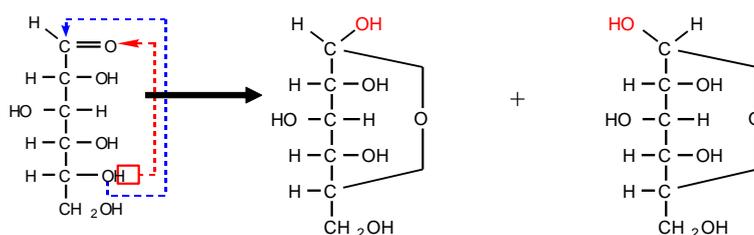
### (3) 葡萄糖有变旋现象

一般醛类在水溶液中只有一个比旋光度，但是新配置的葡萄糖水溶液的比旋光度随时间而改变。

## 2、单糖构型

### (1) Fischer 式

单糖的链状结构和环状结构实际上是同分异构体。单糖分子中的羟基能与醛基或酮基可逆缩合成环状的半缩醛(emiactal)。环化后，羰基 C 就成为一个手性 C 原子，称为**端异构性碳原子(anomeric carbon atom)**，环化后形成的两种非对映异构体称为**端基异构体**，或**异头物(anomer)**，分别称为 $\alpha$ -型及 $\beta$ -型头异构体。如 $\alpha$ -D-葡萄糖和 $\beta$ -D-葡萄糖。



### (2) Haworth 式

Fischer 投影式表示环状结构很不方便，Haworth 结构式比 Fischer 投影式更能正确反映糖分子中的键角和键长度，较准确地反映糖分子的立体构型。



吡喃吡喃糖呋喃呋喃糖

### (3) 链状、环状互变

单糖的链状、环状可以互变（1-5 氧桥的环形糖称为吡喃糖；1-4 氧桥的环形糖称为呋喃糖；氧桥-两个碳原子连接）：

## 3. 单糖的构象：

构象用来表示一个有机化合物结构中一切原子沿共价键转动而产生的不同空间结构。

构象的改变不涉及共价键的断裂和重新组成，也无光学活性的变化，构象形式有无数种。研究表明，己糖的 C-C 键都保持正常四面体价键的方向，不在一个平面上，折叠成椅式和船式两种构象。

### 几种重要的单糖的链状结构和环状结构

- (1) 丙糖: D-甘油醛二羟丙酮  
 (2) 丁糖: D-赤鲜糖    D-赤鲜酮糖  
 (3) 戊糖: D-核糖    D-脱氧核糖    D-核酮糖    D-木糖    D-木酮糖  
 (4) 己糖: D-葡萄糖( $\alpha$ -型及 $\beta$ -型)    D-果糖  
 (5) 庚糖: D-景天庚酮糖

## 二、单糖的物理化学性质

### (一) 物理性质

#### 1、构型与构象

##### (1) 构型:

分子中由于各原子或基团间特有的固定的空间排列方式不同而使它呈现出不同的较定的立体结构。一般情况下, 构型都比较稳定, 一种构型转变另一种构型则要求共价键的断裂、原子(基团)间的重排和新共价键的重新形成。

##### (2) 构象:

由于分子中的某个原子(基团)绕 C-C 单键自由旋转而形成的不同的暂时性的易变的空间结构形式, 不同的构象之间可以相互转变, 在各种构象形式中, 势能最低、最稳定的构象是优势对象。

#### 2、变旋现象

**变旋:** 一个有旋光性的溶液放置后, 其比旋光度改变的现象称变旋。

在溶液中, 糖的链状结构和环状结构( $\alpha$ 、 $\beta$ )之间可以相互转变, 最后达到一个动态平衡, 三者间的比例因糖种类而异。

#### 3、构型与旋光性

##### (1) 旋光性

旋光性是分子中具有不对称结构的物质的一种物理性质。一切单糖都含有不对称原子, 所以都有旋光的能力, 能使偏振光的平面向左或向右旋转。旋光性是鉴定糖的一个重要指标, 用比旋光度来表示。

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \times 100}{C \cdot l}$$

##### (2) 比旋光度:

一个物质的单位浓度 (g/ml) 在 1dm 长旋光管内, 20、钠光灯下的旋光读

数。与糖的性质、试验温度、光源的波长和溶剂的性质有关。

### (3) 甜度 (sweetness)

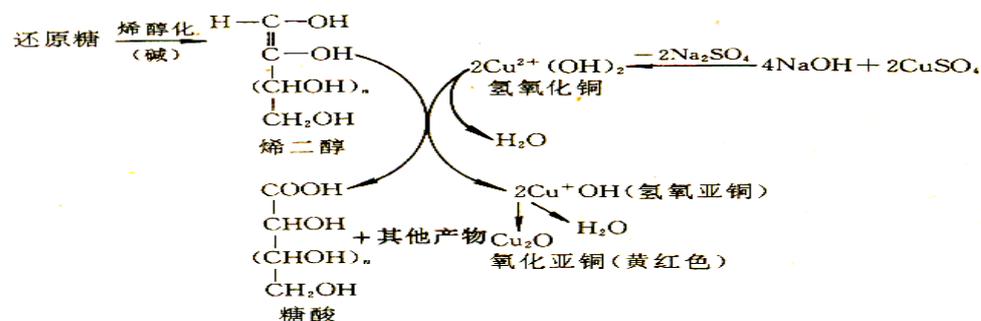
单糖有甜度，但甜度大小不同。以蔗糖的甜度为标准，定为 100 度。各糖甜度的大小次序：

果糖 > 转化糖 > 蔗糖 > 葡萄糖 > 木糖 > 鼠李糖 > 麦芽糖 > 半乳糖 > 棉子糖 > 乳糖

## (二) 化学性质

单糖的化学性质是与其分子中的功能基团醛基或酮基和醇基密切相关，凡醛基、酮基和醇基能产生的反应，醛糖或酮糖一般也产生。

### 1、由醛、酮基产生的化学性质

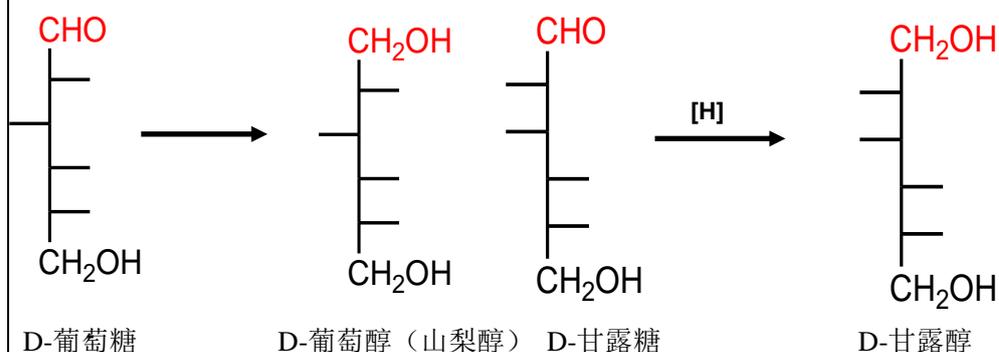


#### (1) 单糖的氧化 (即单糖的还原性):

在碱性溶液中，单糖的自由醛基和酮基变成非常活泼的烯二醇，具有还原性，能还原  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ag}^+$ 、 $\text{Hg}^{2+}$  等金属离子，同时糖被氧化成糖酸及其他产物。

#### (2) 单糖的还原反应

单糖可以被还原成相应的糖醇 (Sugar alcohol)。如 D-葡萄糖被还原成 D-葡萄糖醇，又称山梨醇 (D-Sorbitol)。果糖还原后可以得到葡萄糖醇和甘露醇的混合物，因为其第二碳原子上的 H 和 -OH 有两种可能的排列方式。

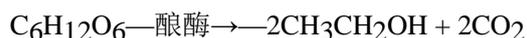


### (3) 单糖的异构化

在弱碱性溶液中，D-葡萄糖、D-甘露糖和 D-果糖，可以通过烯醇式相互转化(enediol intermediate)。

### (4) 发酵作用

单糖经酵母的酿酶的作用产生乙醇和 CO<sub>2</sub>。这一反应称醇发酵。



## 2、羟基（半缩醛羟基和醇性羟基）产生的性质

醛糖和酮糖具有多羟醇的特性，如成酯、成苷、脱水、脱氧和氨基化等单糖的各个醇基的活泼性不一致，C-1 的最活泼，其次末端一级醇基，其他二级的活泼性一般较低。

### (1) 成酯作用

单糖的一切醇基都可与酸结合成酯。

生物体中最常见也是最重要的糖酯是磷酸糖酯和硫酸糖酯。磷酸糖酯及其衍生物是糖的代谢活性形式(糖代谢的中间产物)。

### (2) 糖苷化

单糖环状结构上的半缩醛羟基与醇或酚的羟基缩合失水成为缩醛式衍生物，通称为糖苷(glycosides)。

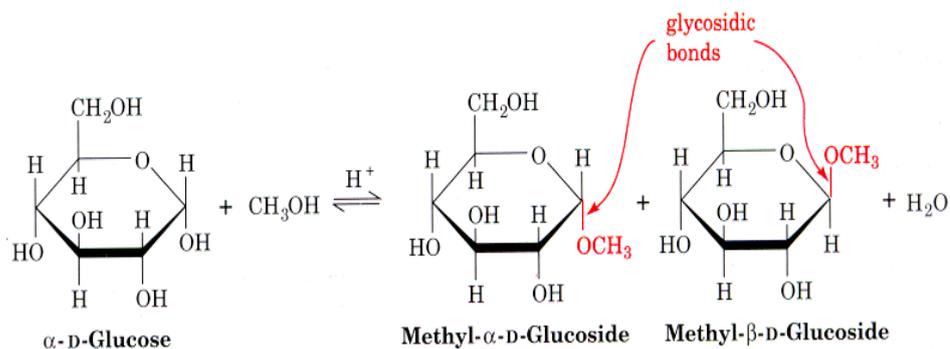
### (3) 脱水

单糖与强酸（如 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>，HCl）作用，单糖脱水生成糠醛或糠醛的衍生物。

糠醛或羟甲基糠醛能与酚类物质作用产生各种有色物质，可用作糖的定性测定。

### (4) 氨基化

### (5) 脱氧



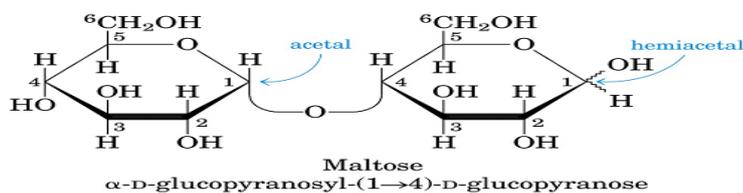
## 第二节双糖（二糖，disaccharide）和三糖

### 一、二糖

#### 1、麦芽糖(maltose, malt sugar)

它是直链淀粉的水解中间物( $\alpha$ -麦芽糖), 俗称饴糖。谷类种子发芽时淀粉酶水解淀粉产生麦芽糖。用麦芽(含淀粉酶)使淀粉水解成麦芽糖是民间常用的方法。

(1) 结构: 麦芽糖是由 2 分子 D-葡萄糖通过  $\alpha$ -1, 4 糖苷键连接而成。

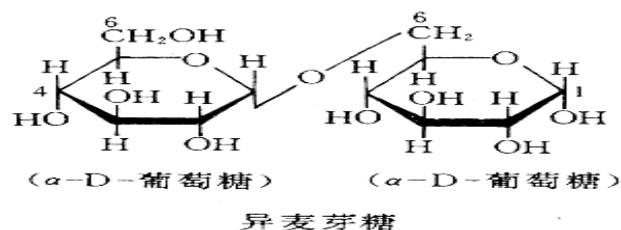


(2) 性质:

- ①变旋现象, 在水溶解中形成 $\alpha$ 、 $\beta$ 和开链的混合物。
- ②具有还原性。
- ③能成脎, 可被酵母发酵, 水解后产生两分子葡萄糖。

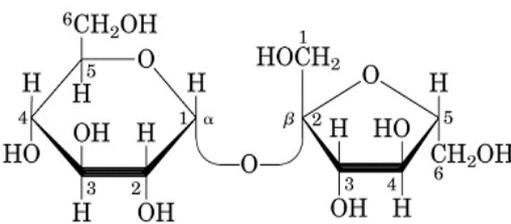
#### 2、异麦芽糖:

是由 2 分子 D-葡萄糖通过 $\alpha$ (1-6)糖苷键连接而成, 支链淀粉和糖元的水解产物。



| 3、蔗糖 (Sucrose) |                       |               |              |
|----------------|-----------------------|---------------|--------------|
|                | Sucrose               | Lactose       | Maltose      |
| 组成 (均为 D 型)    | 1Glc,1Fru             | 2Glc          | 1Glc,1Gal    |
| 苷键             | $\alpha, \beta$ -1, 2 | $\alpha$ -1,4 | $\beta$ -1,4 |
| 旋光             | +                     | +             | +            |
| 变旋             | -                     | +             | +            |
| 还原性            | -                     | +             | +            |
| 成脎             | -                     | +             | +            |

植物的茎、叶都可以产生蔗糖，它可在整个植物体中进行运输，也是光合产物的运输形式之一。



Sucrose  
 $\beta$ -D-fructofuranosyl  $\alpha$ -D-glucopyranoside  
 $\text{Fru}(\beta 2 \leftrightarrow 1\alpha)\text{Glc}$

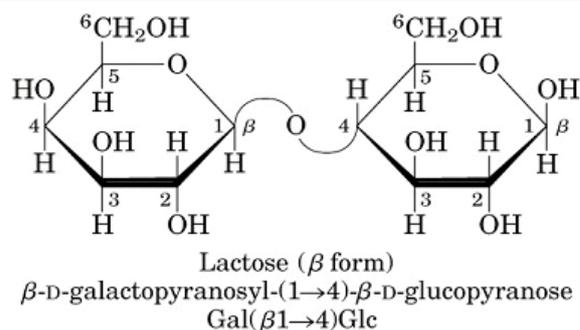
(1) 结构:  $\alpha$ -葡萄糖,  $\beta$ -果糖 $\alpha$ ,  $\beta$ (1-2)糖苷键, 无异构体

(2) 物理性质:  
 白色结晶, 易溶于水, 很甜。有旋光性, 无变旋现象 (因为没有  $\alpha$ -和  $\beta$ -型)。

(3) 化学性质: 无还原性, 不能成脎。

### 4、乳糖 (lactose)

(1) 结构: 乳糖由 1 分子 D-半乳糖和 1 分子 D-葡萄糖通过  $\beta$ -1, 4 糖苷键连接而成,  $\alpha$ -和 $\beta$ -两种异构体。



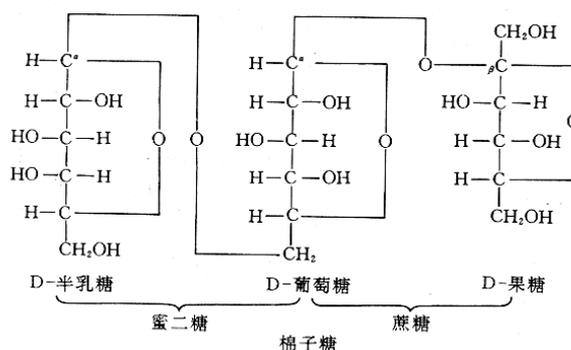
(2) 性质：①有变旋现象②具有还原性③能成脎

## 二、三糖

寡糖主要指三糖，三糖分为还原性和非还原性两类。棉子糖为非还原性三糖。

### 1、棉子糖

棉子糖主要存在于棉子和甜菜中。



## 第三节、多糖 (polysaccharide)

多糖是由多个单糖分子缩合脱水而形成的。由于构成它的单糖的种类、数量以及连接方式的不同，多糖的结构极其复杂而且数量、种类庞大。多糖是重要的能量贮存形式(如淀粉和糖原等)和细胞的骨架物质(如植物的纤维素和动物的几丁质)，此外多糖还有更复杂的生理功能(如粘多糖和血型物质等)。

### (一) 特性

1、分子量一般很大，在几万以上。在水中不能形成真溶液，有的根本不溶于水，如纤维素。

2、物理性质：有旋光性，但无变旋现象。无甜味。

多糖在水溶液中只形成胶体，虽然具有旋光性，但无变旋现象，也无还原性。

**3、化学性质：**无还原性，不能成脎。

**(二) 均一性多糖**

多糖可以分为均一性多糖(由同一种单糖分子组成)和不均一性多糖(由两种或两种以上单糖分子组成)。

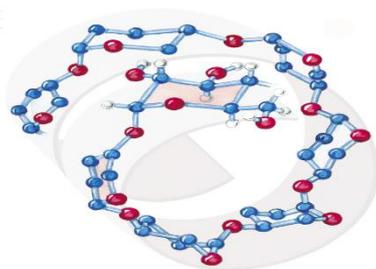
**1、淀粉**

植物营养物质的一种贮存形式，也是植物性食物中重要的营养成分。天然淀粉呈颗粒状，其外层为支链淀粉，约占 80~90%；内层为直链淀粉，约占 10~20%。

**(1) 直链淀粉 (amylose)：**

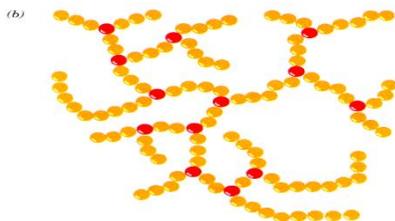
许多 $\alpha$ -葡萄糖以 $\alpha(1-4)$ 糖苷键依次相连成长而不分开的葡萄糖多聚物。

**结构：**长而紧密的螺旋管形。这种紧实的结构是与其贮藏功能相适应的。遇碘显兰色。



**(2) 支链淀粉**

在直链的基础上每隔 20-25 个葡萄糖残基就形成一个 $\alpha(1-6)$ 支链。不能形成螺旋管，遇碘显紫色。



**(3) 直链淀粉、支链淀粉性质**

|         |      |       |       |      |     |
|---------|------|-------|-------|------|-----|
| 水解      | 淀粉→  | 红色糊精→ | 无色糊精→ | 麦芽糖→ | 葡萄糖 |
| 与碘的呈色反应 | 蓝(紫) | 红色    | 不显色   | 不显色  | 不显色 |

|     |   |   |   |   |    |
|-----|---|---|---|---|----|
| 还原性 | 无 | 有 | 有 | 强 | 最强 |
|-----|---|---|---|---|----|

## 2、糖原 (glycogen)

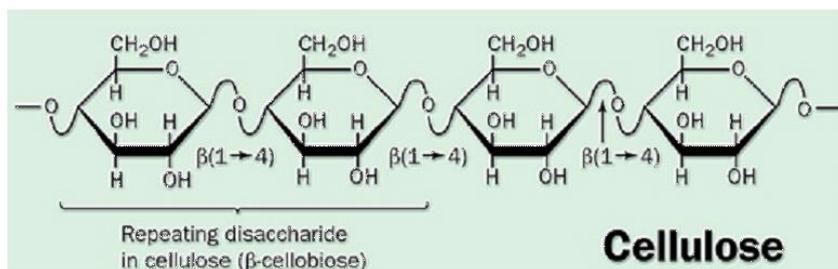
(1) **结构:**结构与支链淀粉相似, 由 D-Glc 以  $\alpha$ -1,4 和  $\alpha$ -1, 6 糖苷键相连。

(2) **性质:**糖元遇碘显红褐色。

## 3、纤维素 (Cellulose)

纤维素是植物细胞壁的主要结构成份, 占植物体总重量的 1/3 左右, 完整的细胞壁是以纤维素为主, 并粘连有半纤维素、果胶和木质素。

(1) **结构:**许多  $\beta$ -D-葡萄糖分子以  $\beta$ -(1-4)糖苷键相连而成直链, 不含支链。



(2) **性质:**纤维素的水解

### (三) 不均一性多糖 (heterosaccharide)

不均一性多糖种类繁多。有一些不均一性多糖由含糖胺的重复双糖系列组成, 称为**糖胺聚糖(glycosaminoglycans, GAGs)**, 又称**粘多糖 (mucopolysaccharides)**、**氨基多糖等**。

糖胺聚糖有以下几类: 透明质酸、硫酸软骨素、硫酸皮肤素、肝素。

#### 1、透明质酸 (hyaluronic acid)

由 N-乙酰葡萄糖胺和 D-葡萄糖醛酸组成, 分布于角膜、结缔组织、关节液等中。是细胞间的粘合物, 有润滑作用, 对组织起保护作用。

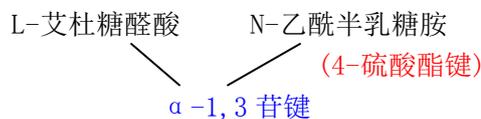
#### 2. 硫酸软骨素 (chondroitin sulfate)

是软骨的主要成分。由 D-葡萄糖醛酸和 N-乙酰半乳糖胺硫酸酯以  $\beta$ -1, 3 键结成的二糖单位的多聚物。由于硫酸酯的位置不同分为软骨素-4-硫酸 (硫酸软

骨素 A) 和软骨素-6-硫酸 (硫酸软骨素 C) 两类。

### 3. 硫酸皮肤素 (硫酸软骨素 B)

它的结构与硫酸软骨素 A 相似, 只不过二糖单位中的 D-葡萄糖醛酸基被 L-艾杜糖醛酸取代。



### 4. 肝素

肝脏中含量最丰富, 广布于哺乳动物组织和体液中。商品肝素通常是从猪小肠粘膜和牛肺中提取。

**主要功能:** 抗凝血, 降血脂。化学结构见课本 p37。

#### (四) 细菌多糖 (包括两类)

细菌细胞壁的多糖: 肽聚糖、磷壁酸、脂多糖; 抗原性的多糖: 肺炎菌多糖  
细菌多糖

**1、肽聚糖 (peptidoglycan):** 一切细菌和蓝藻的细胞壁都含有肽聚糖。

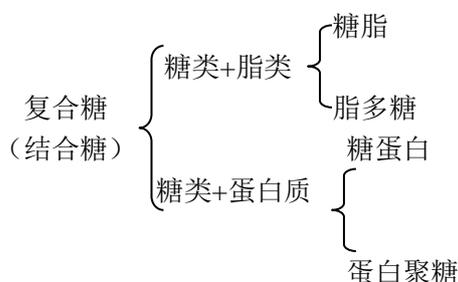
**功能:** 保护细菌细胞不易受破坏, 溶菌酶可以破坏肽聚糖, 抗菌素能抑制肽聚糖的生物合成。

### 2、磷壁酸

磷壁酸是革兰氏阳性细菌提出的含磷丰富的化合物。一类是甘油醇磷壁酸, 一类是核糖醇磷壁酸。

**功能:** 为同质膜结合的酶提供有利环境。

## 七、复合糖 (结合糖) (glycoconjugate)



### 1、脂多糖 (lipopolysaccharide)

脂多糖分子结构一般有三部分组成。细菌多糖分子中三段结构单位的排列顺序:

|  |       |    |  |
|--|-------|----|--|
| 外层专一性寡糖链   | 中心多糖链 | 脂质 |  |
| <p><b>2、糖蛋白 (glycoproteins)</b></p> <p>其总体性质更接近蛋白质。糖与蛋白质之间以蛋白质为主，其一定部位上以共价键与若干短的寡糖链相连，这些寡糖链常常是具分支的杂糖链，不呈现重复的双糖系列，一般由 2-10 个单体(少于 15)组成，末端成员常常是唾液酸或 L-岩藻糖。</p> <p>(1) <b>糖蛋白的概念</b>：短链寡糖与蛋白质以共价键连接而形成的复合物。</p> <p>(2) <b>糖蛋白中糖链与肽链的连接方式</b>：糖苷键相连，简称糖肽键。</p> <p><b>糖肽链的类型可以概况为：</b></p> <p><b>O-糖苷键</b>：糖基上的半缩醛羟基与肽链上的苏氨酸、丝氨酸、羟脯氨酸或羟基赖氨酸的羟基相连形成 O-糖苷键。</p> <p><b>N-糖苷键</b>：糖基上的半缩醛羟基与肽链上的天冬酰胺的氨基形成 N-糖苷键。</p> <p>(3) <b>糖蛋白的种类与功能</b>：血浆糖蛋白类；粘液糖蛋白类；胶原蛋白类</p> <p><b>3、蛋白聚糖 (proteoglycan)</b></p> <p>(1) <b>蛋白聚糖</b>：也称蛋白多糖，由蛋白质和糖胺聚糖通过共价键连接而成的大分子复合物。</p> <p>总体性质与多糖更为接近，与糖蛋白的区别是其糖的结构和性质不同。</p> <p>(2) <b>蛋白质和糖胺聚糖连接方式</b></p> <p>① D-木糖与丝氨酸的-OH 形成的 O-糖苷键；</p> <p>② N-乙酰半乳糖胺与苏氨酸或丝氨酸的-OH 形成的 O-糖苷键</p> <p>③ N-乙酰葡萄糖胺与天冬酰胺的一 NH<sub>2</sub> 形成的 N-糖苷键</p> <p>(3) <b>生理功能</b>：</p> <p>蛋白聚糖主要存在于软骨、腱等结缔组织，构成细胞间质。由于糖胺聚糖有密集负电荷，在组织中可吸收大量的水而赋予粘性和弹性，具有稳定、支持和保护细胞的作用。</p> <p><b>【讨论提问】</b></p> |       |    |  |

五只试剂瓶中分别装的是核糖、葡萄糖、果糖、蔗糖和淀粉溶液,但不知哪只瓶中装的是哪种糖液,可用什么最简便的化学方法鉴别?

用下列化学试剂依次鉴别

| 糖   | (1)碘 (I <sub>2</sub> ) | (2)斐林试剂或班乃德试剂 | (3)溴水  | (4)HCl, 甲基间苯二酚 |
|-----|------------------------|---------------|--------|----------------|
| 核糖  | -                      | + (黄色或红色)     | + (褪色) | + (绿色)         |
| 葡萄糖 | -                      | + (黄色或红色)     | + (褪色) | -              |
| 果糖  | -                      | + (黄色或红色)     |        |                |
| 蔗糖  | -                      | -             |        |                |
| 淀粉  | + (蓝色或紫红色)             |               |        |                |

“+”表示阳性反应

“-”表示阴性反应

### 【本章小结】

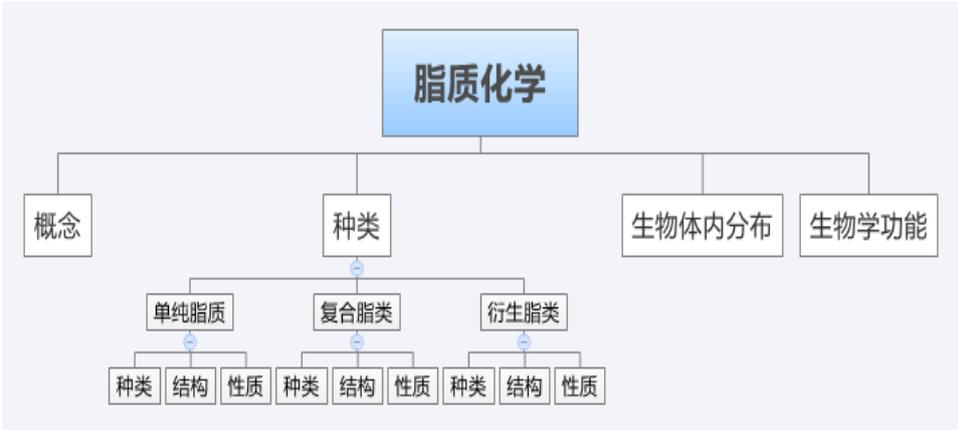
本章的主要内容是糖的概念、分类以及单糖、二糖和多糖的结构和化学性质。学生应掌握典型单糖的结构和性质,再从单糖的基础上去理解二糖和多糖的结构和性质。学会比较、分析的方法去认识各种重要糖类的特征。在学习单糖的结构和性质是要联系有机化学中醛、酮的化学性质。

### 【课后作业】

- 1、糖类有哪些重要的生物学作用?
- 2、试想想单糖有哪些重要性质? 你如何理解和记忆这些性质?
- 3、从蔗糖、麦芽糖和乳糖分子结构推出它们的化学性质。
- 4、有哪几种重要多糖? 这些多糖与人类的关系如何?
- 5、什么是糖蛋白? 什么是蛋白聚糖? 它们有什么区别?

### 教学反思

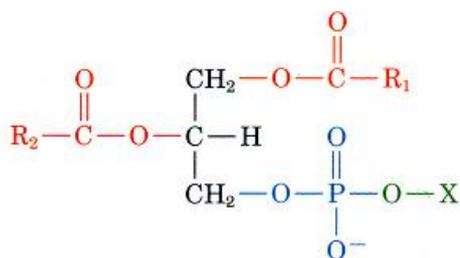
### 第三章脂质化学

|                      |   |
|----------------------|---|
| <p><b>教学目标</b></p>   | <p>对脂肪的结构和性质以及对固醇类物质的基本结构作彻底的了解。联系脂肪的结构学习复脂的结构，学习类固醇物质，掌握比较繁复难懂的物质。比较分析磷脂与糖脂的区别。</p>  |
| <p><b>教学重点</b></p>   | <p>① 脂肪的结构和性质<br/>② 磷脂、固醇类物质的基本结构</p>   |
| <p><b>教学难点</b></p>   | <p>磷脂、固醇类物质的基本结构</p>  |
| <p><b>学时分配</b></p>   | <p>磷脂、鞘脂 1 学时<br/>结合脂类、固醇脂 1 学时</p>   |
| <p><b>教学方法</b></p>   | <p>讨论法+讲授法</p>  |
| <p><b>教学手段</b></p>   | <p>传统教学+现代多媒体</p>   |
| <p><b>知识结构体系</b></p> |  <pre> graph TD     Root[脂质化学] --&gt; Concept[概念]     Root --&gt; Type[种类]     Root --&gt; Distribution[生物体内分布]     Root --&gt; Function[生物学功能]     Type --&gt; Simple[单纯脂质]     Type --&gt; Complex[复合脂类]     Type --&gt; Derived[衍生脂类]     Simple --&gt; Simple_Type[种类]     Simple --&gt; Simple_Struct[结构]     Simple --&gt; Simple_Property[性质]     Complex --&gt; Complex_Type[种类]     Complex --&gt; Complex_Struct[结构]     Complex --&gt; Complex_Property[性质]     Derived --&gt; Derived_Type[种类]     Derived --&gt; Derived_Struct[结构]     Derived --&gt; Derived_Property[性质]     </pre> |

| 授课题目   | 脂质化学 | 授课序次 | 4     |
|--|------|------|-------|
| 总学时数   | 2 学时 | 授课时长 | 80 分钟 |
| 教学过程及授课内容  |      |      | 备注    |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>脂类也称脂质，元素组成 C、H、O，有的还含有 N、P 等。化学观点：脂肪酸+醇→酯及酯的衍生物。按化学组成脂质大体上可分为三大类：单纯脂质、复合脂质、衍生脂质。本章主要介绍脂类的结构性质功能。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节生物体内的脂类</b></p> <p><b>一、单纯脂质 (simple lipid)</b></p> <p>1、概念：脂肪酸与醇类形成的酯。</p> <p>2、种类：</p> <div style="text-align: center;"> <p style="text-align: center;">甘油                      脂酸                      简单三酰甘油                      混合三酰甘油</p> </div> <p>(1) 三酰甘油或称甘油三酯：由 3 分子脂肪酸和 1 分子甘油组成。</p> <p>(2) 蜡 (wax)：高级脂酸与高级一元醇所成的酯，主要由长链脂肪酸和长链醇或固醇组成。</p> <p><b>二、复合脂类 (complex lipid)</b></p> <p>1、概念：指脂酸和醇生成的酯，同时含有其它非脂性物质。有两类：</p> <p>2、种类：</p> <p>(1) 磷脂：含磷酸、氮碱的单脂衍生物，分甘油醇磷脂、鞘氨醇磷脂；</p> <p>(2) 糖脂：含糖分子的单脂衍生物，分鞘糖脂和甘油糖脂；鞘氨醇磷脂和鞘糖脂合称鞘脂类。</p> <p><b>三、磷脂和糖脂</b></p> |      |      |       |

### 1. 甘油醇磷脂

甘油醇磷脂通式



Glycerophospholipid

①磷脂酰胆碱 (phosphatidyl Choline, PC): 也称卵磷脂 (lecithin)

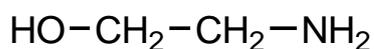
胆碱 (Choline)



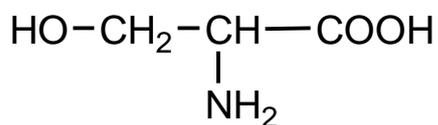
胆碱的生物功能

- (1) 乙酰胆碱是重要的神经递质，传导神经冲动。
- (2) 防止脂肪肝。胆碱的生物功能
- (3) 生物体内的甲基供体。

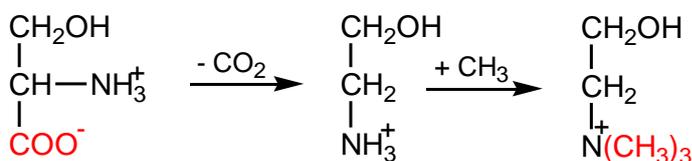
②磷脂酰乙醇胺: (phosphatidyl ethanolamine) 也称脑磷脂 (cephalin) X: 乙醇胺



③磷脂酰丝氨酸 (phosphatidyl serine): 也称脑磷脂 (cephalin) X: 丝氨酸



卵磷脂与脑磷脂在体内可互变



### 三、非皂化脂类

1、**概念**：即异戊二烯脂类,它不含脂肪酸,不能进行皂化。

2、**种类**：

(1) **甾醇类(固醇)**：包括固醇、胆酸、肾上腺皮质激素。

(2) **萜类化合物**：包括许多天然色素(如胡萝卜素), 香精油, 天然橡胶等。

### 四、脂类的生物学作用

1、**贮存脂质**

贮藏物质/能量物质, 脂肪是机体内代谢燃料的贮存形式, 它在体内氧化可释放大量能量以供机体利用。

2、**结构脂质**

(1) **作为细胞膜的主要成分**几乎细胞所含的磷脂都集中在生物膜中, 是生物膜结构的基本组成成分。

(2) **保护作用**脂肪组织较为柔软, 存在于各重要的器官组织之间, 使器官之间减少摩擦, 对器官起保护作用。

3、**活性脂质**

有专一的生物活性, 为脂溶性物质提供溶剂, 促进人及动物体吸收脂溶性物质; 提供必需脂酸; 脂类作为细胞表面的物质, 与细胞识别、免疫等密切相关; 有些脂类还具有维生素和激素的功能。用作药物, 卵磷脂、脑磷脂可用于肝病、神经衰弱及动脉粥样硬化的治疗等。

### 五、脂肪酸及其衍生物

1、**前列腺素类**

前列腺素类是花生四烯的衍生物。前列腺素类有一个环戊烷结构,  $C_{11}$ 、 $C_{15}$ 位点各有一个-OH。

2、**凝血恶烷类(thromboxanes)**

凝血恶烷类也是花生四烯酸的衍生物。与其他类二十烷酸不同的是凝血恶烷类有环醚的结构。凝血恶烷  $A_2(TxA_2)$ 是该类化合物中最重要的一种, 它主要由血小板产生, 促进血小板凝聚和平滑肌收缩。

### 3、白细胞三烯 (leucotriene,LT)

是花生四烯酸的羟基脂肪酸衍生物。最初是在白细胞中发现的，并且有三烯结构，故名白细胞三烯。

## 第二节 磷脂

磷脂是重要的两亲物质，它们是生物膜的重要组分、乳化剂和表面活性剂(表面活性剂是能降低液体，通常是水的，表面张力，沿水表面扩散的物质)。

磷脂有两类：甘油磷脂和鞘氨醇磷脂。

### 一、甘油磷脂

天然存在的甘油磷脂都是 L—构型。

#### 1、结构与分类

##### (1) 磷脂酰胆碱 (卵磷脂) (PC)

$\text{HO—CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$  (胆碱)

分布：植物：大豆等，

动物：脑、精液、肾上腺、红细胞，蛋卵黄 (8-10%)。

作用：控制肝脂代谢，防止脂肪肝的形成。

##### (2) 磷脂酰乙醇胺 (脑磷脂) (PE)

$\text{HO—CH}_2\text{CH}_2\text{—N}^+\text{H}_3$  (乙醇胺) 参与血液凝结。

##### (3) 磷脂酰丝氨酸 (PS)

$\text{HO—CH}_2\text{CH—COO}^-$  (丝氨酸)、 $\text{N}^+\text{H}_3$ 、(1) — (3) X 均为氨基醇。

##### (4) 磷脂酰肌醇 (PI)

##### (5) 磷脂酰甘油 (PG)

##### (6) 二磷脂酰甘油 (心磷脂)

### 2、甘油磷脂的性质

①极性：极性头、非极性尾②带电性 (可用于分离纯化)

### 二、鞘磷脂

高等动物组织中含量较丰富。

### 1、组成:

一个鞘氨醇一个脂肪酸一个磷酸一个胆碱或乙醇胺

### 2、结构与性质

鞘磷脂极性头部分是磷脂酰胆碱或磷脂酰乙醇胺。鞘磷脂结构与甘油磷脂相似，因此性质与甘油磷脂基本相同。

## 第三节鞘脂类

鞘脂类也是动植物生物膜的重要组分。鞘脂类含有一个长的氨基醇。

### 一、鞘氨醇

已发现的鞘氨醇类约有 30 种。

### 二、神经酰胺

鞘脂类的核心结构是神经酰胺 (ceramide)，由鞘氨醇氨基以酰胺键与长链 (18—26C) 脂肪酸的羟基相连。

在鞘磷脂中，神经酰胺 1 位的-OH 被磷酸胆碱(phosphorylcholine)或磷酸乙醇胺(phosphorylethanolamine)的磷酸基团酯化。除了动物细胞膜外，鞘磷脂在神经细胞的髓鞘中含量最丰富。

## 第四节结合脂类

### 一、糖脂 glycolipid

#### 1、甘油醇糖脂

#### 2、N—脂酰神经鞘氨醇糖脂 (神经酰胺糖脂)

神经酰胺还是糖脂的前体物，有时称鞘糖脂。在鞘糖脂中，单糖、双糖或寡糖通过 O-糖苷键与神经酰胺相连，重要的鞘糖脂有**脑苷脂(cerebroside)**、**硫脑苷脂(sulfatide)**和**神经节苷脂(ganglioside)**。

**脑苷脂**是单糖与神经酰胺形成的糖脂，是非离子型的。半乳糖脑苷脂(galatocerebroside)几乎全部存在于脑的细胞膜中。

脑苷脂被硫酸化后称为**硫脑苷脂**，在生理 pH 下带负电荷。寡糖链(带有一个或多个唾液酸残基)与神经酰胺形成的鞘糖脂称为神经节苷脂，最初是从神经

组织中分离到的，在其它组织中也有分布。

### (1) 脑苷脂（中性糖鞘脂类）

主要在神经、脑组织中，X 为 Glc 称 Glc 脑苷脂，X 为 Gal 称 Gal 脑苷脂。  
X 还可能是：Fuc、GlcNAc、GalNAc

### (2) 神经节苷酯（酸性糖鞘脂类）

含有唾液酸，在脑灰质和胸腺中含量高。中枢神经系统某些神经元膜的特征性脂，可能与通过神经元的神经冲动传递有关。人的神经系统细胞膜至少有 15 种神经节苷脂，它们的生物功能尚未完全了解。

## 3、糖脂的生物学功能

糖脂的功能还不十分清楚，有些动物细胞膜上的糖脂分子能与细菌毒素以及细菌细胞结合，起受体的作用。

- (1) 细胞结构的刚性
- (2) 抗原的化学标记血型抗原
- (3) 细胞分化阶段可鉴定的化学标记
- (4) 调节细胞的正常生长
- (5) 授予细胞与其它生物活性物质的反应性倾向。

## 第五节 萜类和固醇类化合物

可以统称为类异戊二烯类(isoprenoid)，由乙酰-CoA 经由异戊二烯焦磷酸生成的，而不是由异戊二烯合成的

### 一、萜类

一些真核蛋白质合成后经过异戊二烯化，常见的异戊二烯基团就是 farnesyl 和 geranylgeranyl group

### 二、固醇类

**结构：**含有环戊烷多氢菲母核的一类醇、酸及其衍生物。包括：固醇、固醇衍生物。

#### 1、胆固醇（二氢胆固醇、T—脱氢胆酸、胆固醇酯）

以游离或酯的形态存在于一切动物组织中，植物中没有。是最早由从动物

胆石中分离出的固醇。

### (1) 结构

C<sub>3</sub> 羟基

C<sub>10</sub> 和 C<sub>13</sub> 各一个甲基

C<sub>5</sub> 与 C<sub>6</sub> 间一个双键

C<sub>17</sub> 异辛烷

### (2) 性质

白色、斜方晶体。

- a. 醇基可与脂酸成酯（棕榈酸、硬脂酸、油酸）
- b. 双键可加氢

### (3) 分布及功能

a. 70 千克人体含 140 克左右，1/4 在脑及神经组织中，肝、肾含量较多。肾上腺、卵巢等合成固醇激素的腺体含量也较多，可达 1—5%。血清中含量升高，会增加患心血管疾病的可能性。

b. 胆固醇是生物膜的重要成分，羟基极性端分布于膜的亲水界面，母核及侧链深入膜双层，控制膜的流动性，阻止磷脂在相变温度以下时转变成结晶状态，保证膜在低温时的流动性及正常功能。

c. 胆固醇是合成胆汁酸、类固醇激素、维生素 D 等生理活性物质的前体。胆汁酸（在肝中合成）参与肠道脂类吸收肾上腺皮质激素、雌激素、雄激素

## 2、植物固醇

不能被动物吸收和利用。主要有：豆固醇（大豆中）麦固醇（麦芽中）

## 3、酵母固醇

麦角固醇，经紫外光照射可转化成维生素 D<sub>3</sub>。

## 三、固醇衍生物

### 1、胆汁酸

多数脊椎动物的胆酸，能以肽键与 Gly 或牛磺酸结合。胆酸与脂肪酸或其

他脂类结合（胆固醇，胡萝卜素）成盐，乳化肠腔内油脂，增加脂肪酶作用位点，便于油脂消化吸收。

## 2、类固醇激素

(1) 肾上腺皮质激素（7种）

(2) 性激素

雄性激素：睾丸酮 雌性激素：雌二醇、黄体酮

### 【讨论提问】

已知 250mg 纯橄榄油样品，完全皂化需要 47.5mg 的 KOH。计算橄榄油中甘油三酯的平均相对分子质量。

答案：因为 
$$M_r \text{ 平均} = \frac{3 \times 56 \times 1000}{\text{皂化价}}$$

要计算平均相对分子质量首先要求出皂化价，橄榄油皂化价为：

$$\frac{47.5}{0.250} = 190 \text{ (mg KOH/g 油)}$$

$$M_r \text{ 平均} = \frac{3 \times 56 \times 1000}{\text{皂化价}} = \frac{3 \times 56 \times 1000}{190} = 884$$

### 【本章小结】

对脂肪的结构和性质以及对固醇类物质的基本结构作彻底的了解。联系脂肪的结构学习复脂的结构，学习类固醇物质，掌握比较繁复难懂的物质。比较分析磷脂与糖脂的区别。

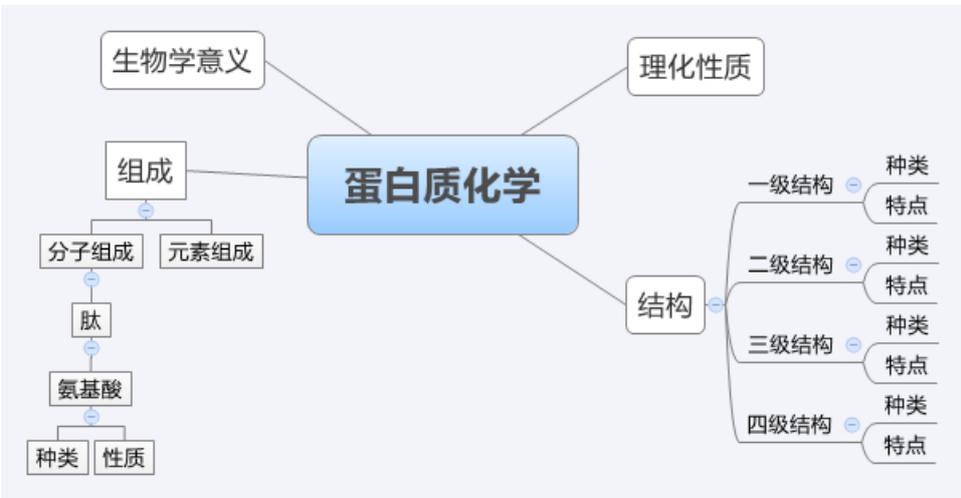
### 【课后作业】

1. 什么是脂质？它具有哪些特征？对人和生物体有何生理功用？
2. 什么是皂化值、碘值？它们各说明什么问题？
3. 磷脂分子结构上有何特点？

### 教学反思

脂类物质种类多结构复杂，抓重点的内容介绍，其他知识点建议学生自学。

## 第四章蛋白质化学

|               |   |
|---------------|---|
| <b>教学目标</b>   | <p>了解蛋白质对生物体的重要意义；蛋白质的分类，掌握蛋白质元素组成的特点；掌握蛋白质的基本构成单体；氨基酸的结构特点及理化性质；蛋白质一级结构的概念；蛋白质二级结构的概念；二级结构的基本类型；了解蛋白质三级结构、四级结构的概念及稳定因素；理解蛋白质结构与功能的关系；掌握蛋白质的理化性质以及这些性质的生理意义及实践意义；了解蛋白质分离提纯的常用方法及基本原理。</p> |
| <b>教学重点</b>   | <p>① 氨基酸的结构特点及理化性质；<br/>② 蛋白质一级结构的概念；<br/>③ 蛋白质二级结构的概念；<br/>④ 掌握蛋白质的理化性质以及这些性质的生理意义及实践意义②</p>   |
| <b>教学难点</b>   | <p>① 氨基酸的结构和理化性质<br/>② 蛋白质结构和功能关系</p>   |
| <b>学时分配</b>   | <p>第一节蛋白质的分子组成 1 学时<br/>第二节蛋白质的分子结构 2 学时<br/>第三节蛋白质结构与功能的关系 2 学时<br/>第四节蛋白质理化性质与分离纯化 3 学时</p>   |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法   |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体  |
| <b>知识结构体系</b> |   |

| 授课题目   | 蛋白质化学 | 授课序次 | 5、6、7、8 |
|--|-------|------|---------|
| 总学时数   | 8 学时  | 授课时长 | 320 分钟  |
| 教学过程及授课内容  |       |      | 备注      |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>人类对蛋白质的认识是经过长久时间的。从人类知道利用米、麦、大豆、和肉、蛋做食物起。就与蛋白质有了接触，到利用大豆做豆腐时，认识就更进一步了。分析化学和有机化学的发展，对蛋白质的认识就从感性认识进入了理性认识。通过生产斗争和科学实验，人们已经积累了许多有关于蛋白质的宝贵知识。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节蛋白质的分子组成</b></p> <p><b>一、氨基酸</b></p> <p><b>(一) 氨基酸的分类</b></p> <p>根据氨基酸侧链基团 <math>R</math> 的结构、性质分四类</p> <p><b>(二) 氨基酸的理化性质</b></p> <p><b>1. 两性解离、等电点</b></p> <p><b>2. 芳香族氨基酸紫外吸收</b></p> <p><b>3. 茚三酮反应(ninhydrin reaction)</b></p> <p><b>原理:</b> 氨基酸与茚三酮水合物共热，可生成蓝紫色化合物，其最大吸收峰在 570nm 处。</p> <p><b>应用:</b> 此法可以对氨基酸进行定量分析（吸收峰值与氨基酸的含量存在正比关系）。</p> <p><b>4. 氨基酸的其它性质</b></p> <p><b>二、肽 (peptide)</b></p> <p><b>三、生物活性肽</b></p> <p>谷胱甘肽 (glutathione, GSH)</p> <p>寡肽、多肽类激素：促甲状腺素释放激素、催产素、加压素等</p> |       |      |         |

## 第二节蛋白质的分子结构

### 一、蛋白质的一级结构

主要的化学键—肽键；有些蛋白质还包括二硫键

### 二、蛋白质的二级结构

蛋白质分子中某一段肽链的局部空间结构，即该段肽链主链骨架原子的相对空间位置，不涉及氨基酸残基侧链的构象。

二级结构的主要化学键—氢键

二级结构的基本单位—肽单元

#### (一) 二级结构的基础—肽单元

对肽单元的说明：

- $C\alpha_1$ 、C、O、N、H、 $C\alpha_2$  6 个原子在同一平面,称为肽键平面。
- $C\alpha_1$  和  $C\alpha_2$  为反式(trans)构型,O 和 H 也是反式构型。
- $0.127\text{ nm} < \text{肽键} < 0.149\text{ nm}$ ，键长  $0.132\text{ nm}$ ，部分双键性质,不能自由旋转。
- $C\alpha$  与羰基 Co 和 N 相连的单键能自由旋转，角度为  $\psi$ 、 $\phi$ ，该旋转角度决定了相邻 2 肽单元的相对空间位置。

#### (二) 蛋白质二级结构的主要形式

##### 1、 $\alpha$ -螺旋 ( $\alpha$ -helix)

**$\alpha$ -螺旋结构要点：**①外观：右手螺旋（顺）。②螺距：3.6 个氨基酸、 $0.54\text{ nm}$ 。③维持因素：氢键。④R 基团的位置：螺旋外侧，R 基团影响 $\alpha$ -螺旋的形成。

##### 2、 $\beta$ -折叠 ( $\beta$ -pleated sheet)

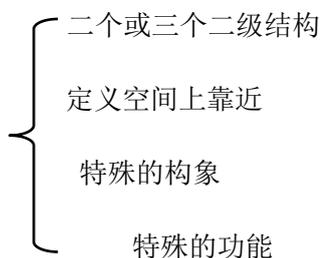
**$\beta$ -折叠结构要点：**①肽段折纸状、锯齿状，相对伸展。②几个肽段顺向平行、反向平行  $0.70\text{ nm}$ 。③维持因素：氢键。④R 基团的位置：锯齿的上下方。

##### 3、 $\beta$ -转角和无规卷曲

**$\beta$ -转角结构要点：**①4 个氨基酸残基。②第二个常为脯氨酸。③ $180^\circ$ 回折。  
④氢键维持。

**无规卷曲：**无确定规律性的肽段的结构

**4、模体(motif)**



**(三) 氨基酸侧链基团 R 对二级结构的影响**

R 基团的电荷、R 基团的大小、R 基团的形状

**三、蛋白质的三级结构**

**(一) 三维空间的位置排布**

维持蛋白质分子构象的各种化学键：氢键；离子键；疏水键

**(二) 结构域**

三级结构中、分割成折叠较为紧密的区域，各行使其功能。

**(三) 分子伴侣(chaperon)**

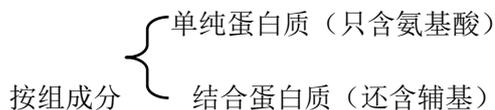
**四、蛋白质的四级结构(quaternary structure)**

四级结构——各亚基的空间排布，亚基间相互作用关系。

亚基 (subunit)——四级结构中每条具有完整三级结构的多肽链。

维持因素——离子键、氢键不包括共价键。

**五、蛋白质的分类**



**第三节蛋白质结构与功能的关系**

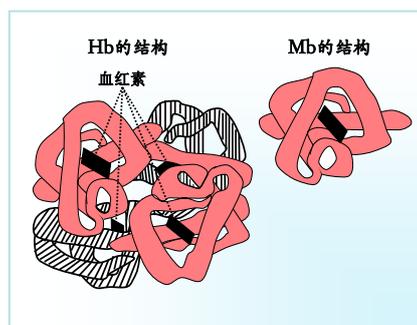
**一、一级结构与功能的关系**

(一) 一级结构是空间构象的基础

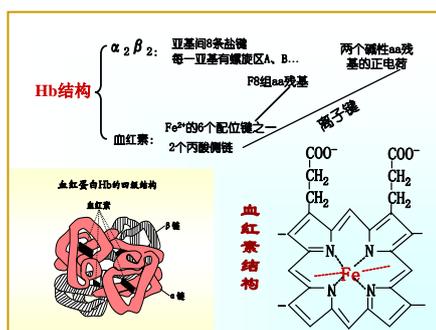
(二) 一级结构与功能的关系

二、空间结构与功能的关系

(一) 肌红蛋白与血红蛋白的结构



(二) 血红蛋白的构象变化与结合氧



(三) 蛋白质构象改变与疾病

蛋白质构象疾病：蛋白质的折叠错误 → 构象改变 → 影响功能 → 导致疾病。

发病机理：蛋白质错误折叠相互聚集，形成抗蛋白，水解酶的淀粉样纤维沉淀，产生毒性。

包括：人纹状体脊髓变性病、老年痴呆症、亨顿舞蹈病、疯牛病等。

第四节蛋白质的理化性质与分离纯化

一、理化性质

(一) 蛋白质的两性电离

蛋白质的两性电离和等电点( isoelectric point, pI) 情况基本同前述的氨基酸。

## (二) 蛋白质的胶体性质

蛋白质为生物大分子，分子直径在胶粒范围。

蛋白质胶体的稳定因素：颗粒表面电荷；水化膜。

## (三) 蛋白质的变性、沉淀和凝固

### 1. 蛋白质的变性(denaturation)与复性

**定义：**理化因素作用下→空间构象→理化性质改变活性的丧失。

**变性的本质：**破坏非共价键和二硫键，肽键未被破坏，一级结构未改变。

**应用：**变性和防止变性可用来消毒灭菌和保存蛋白质制剂等。

**复性(renaturation)：**若去除变性因素后，蛋白质仍可恢复原有的构象和功能。

### 2. 蛋白质沉淀

**定义：**一定条件下，疏水侧链暴露在外，肽链相互缠绕聚集，蛋白质从溶液中析出。

变性的蛋白质易于沉淀，沉淀并不一定变性。

### 3. 蛋白质的凝固作用(protein coagulation)

蛋白质变性后的絮状物加热可变成比较坚固的凝块，此凝块不易再溶于强酸和强碱中。

## (四) 蛋白质的紫外吸收

蛋白质分子中的酪氨酸和色氨酸，在 280nm 波长处有特征性吸收峰。可作蛋白质定量测定。

## (五) 蛋白质的呈色反应

1. 茚三酮反应(ninhydrin reaction)

2. 双缩脲反应(biuret reaction)

## 二、蛋白质的分离和纯化

(一) 透析及超滤法 (二) 丙酮沉淀、盐析及免疫沉淀 (三) 电泳

(四) 层析(chromatography) (五) 超速离心法(ultracentrifugation)

### 三、多肽链中氨基酸序列分析

氨基酸序列的测定

根据核酸推演蛋白质中的氨基酸序列

### 四、蛋白质空间结构测定

#### 1、二级结构的测定

一般采用圆二色光谱测定溶液状态下蛋白质二级结构的含量。 $\alpha$ -螺旋的 CD 峰有 222nm 处的负峰、208nm 处的负峰和 198nm 处的正峰三个成分； $\beta$ -折叠的 CD 谱不太固定。

#### 2、三级结构的测定

测定蛋白质三维空间结构准确的方法：X 射线衍射法；核磁共振技术。

#### 【讨论提问】

应用凯氏定氮法的原理解释 2008 年奶粉三聚氰胺事件；根据氨基酸的营养分类法解释营养价值的确定，食物当中如果是必需氨基酸含量多相对营养价值就高些，可以进一步理解为什么好多食品中通过添加必需氨基酸来提高营养价值的做法。

#### 【本章小结】

本章较全面地介绍了蛋白质化学的基础知识。重点阐述了氨基酸、肽和蛋白质的结构、性质和功能间的依存关系。对个别重要蛋白质的化学以及蛋白质的分离、纯化和鉴定也作了相应的介绍。

#### 【课后作业】

- 1、氨基酸和蛋白质的结构同它们各自的性质和功能的关系如何？
- 2、在制备蛋白质时需要考虑哪些问题？

### 教学反思

## 第五章核酸化学

|               |  |
|---------------|--|
| <b>教学目标</b>   | 了解核苷酸的化学结构及化学性质。掌握核酸二、三级结构及其碱基配对规律。分析比较核酸分子的组成和结构上的特点，联系他们的性质和生物学功能。         |
| <b>教学重点</b>   | ① 碱基、核苷酸的结构、性质<br>② 核酸的结构、性质和生物功能。   |
| <b>教学难点</b>   | ① DNA 的结构<br>② RNA 的结构<br>③ Sanger 法测序                                       |
| <b>学时分配</b>   | 第一节核酸化学组成和性质 1 学时<br>第二节 DNA 的结构 1 学时<br>第三节 RNA 的结构 1 学时<br>第四节核酸的研究技术 1 学时 |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法  |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体   |
| <b>知识结构体系</b> |  |

| 授课题目   | 核酸化学 | 授课序次 | 9、10   |
|--|------|------|--------|
| 总学时数   | 4 学时 | 授课时长 | 160 分钟 |
| 教学过程及授课内容  |      |      | 备注     |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>核酸是遗传物质，1868 年瑞士 Miesher.从脓细胞的细胞核中分离出可溶于碱而不溶于稀酸的酸性物质。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节核酸的化学组成</b></p> <p>核酸是一种线形多聚核苷酸，基本组成单位是核苷酸。</p> <p>结构层次：</p> <div style="text-align: center;"> <pre> graph TD     A[核酸] --&gt; B[核苷酸]     B --&gt; C[磷酸]     B --&gt; D[核苷]     D --&gt; E[戊糖]     D --&gt; F[碱基]             </pre> </div> <p>组成核酸的戊糖有两种：D-核糖和 D-2-脱氧核糖，据此，可以将核酸分为两种：核糖核酸（RNA）和脱氧核糖核酸（DNA）</p> <p><b>一、碱基</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li><b>1. 嘌呤碱：</b>腺嘌呤鸟嘌呤</li> <li><b>2. 嘧啶碱：</b>胞嘧啶尿嘧啶胸腺嘧啶</li> <li><b>3. 修饰碱基</b> <p>植物中有大量 5-甲基胞嘧啶。E.coli 噬菌体中，5-羟甲基胞嘧啶代替 C。</p> <p>稀有碱基：100 余种，多数是甲基化的产物。</p> <p>DNA 由 A、G、C、T 碱基构成。RNA 由 A、G、C、U 碱基构成。</p> </li> </ol> <p><b>二、核苷</b></p> <p>核苷由戊糖和碱基缩合而成，糖环上 C<sub>1</sub> 与嘧啶碱的 N<sub>1</sub> 或与嘌呤碱的 N<sub>9</sub></p> |      |      |        |

连接。核酸中的核苷均为  $\beta$ -型核苷

DNA 的戊糖是：脱氧核糖 RNA 的戊糖是：核糖

### 三、核苷酸

核苷中戊糖 C<sub>3</sub>、C<sub>5</sub> 羟基被磷酸酯化，生成核苷酸。

#### 1、构成 DNA、RNA 的核苷酸

#### 2、细胞内游离核苷酸及其衍生物

##### ①核苷 5'-多磷酸化合物

ATP、GTP、CTP、pppA、ppppG

在能量代谢和物质代谢及调控中起重要作用。

##### ②环核苷酸

cAMP (3', 5'-cAMP) cGMP (3', 5'-cGMP)

它们作为质膜的激素的第二信使起作用，cAMP 调节细胞的糖和脂代谢。

##### ③核苷 5'多磷酸 3'多磷酸化合物

ppGpp pppGpp ppApp

##### ④核苷酸衍生物

HSCoA、NAD<sup>+</sup>、NADP<sup>+</sup>、FAD 等辅助因子。

GDP-半乳糖、GDP-葡萄糖等是糖蛋白生物合成的活性糖基供体。

## 第二节 DNA 的结构

### 一、DNA 的一级结构

DNA 的一级结构是 4 种脱氧核苷酸 (dAMP、dGMP、dCMP、dTMP) 通过 3'、5'-磷酸二酯键连接起来的线形多聚体。3' 5'-磷酸二酯键是 DNA、RNA 的主链结构。

书写方法：5' → 3'：

5'-pApCpTpG-3'，或 5'...ACTG...3' (在 DNA 中，3'-OH 一般是游离的)

在 DNA 分子中，不变的骨架成分磷酸二酯键被逐渐省略，真正代表 DNA 生物学意义的是碱基的排列顺序。

遗传信息贮存在DNA的碱基排列顺序中,生物界生物的多样性即寓于DNA分子4种核苷酸千变万化的精确的排列顺序中。

## 二、DNA的二级结构

1953年,Watson和Crick根据Chargaff规律和DNA Na盐纤维的X光衍射数据提出了DNA的双螺旋结构模型。

### 1、Watson-Crick双螺旋结构建立的根据

#### ①Chargaff规律 1950年

- a. 所有DNA中,  $A=T$ ,  $G=C$  且  $A+G=C+T$ 。
- b. DNA的碱基组成具有种的特异性,即不同生物的DNA皆有自己独特的碱基组成。
- c. DNA碱基组成没有组织和器官的特异性。
- d. 年龄、营养状况、环境等因素不影响DNA的碱基组成。

#### ② DNA的Na盐纤维和DNA晶体的X光衍射分析。

相对湿度92%,DNA钠盐结晶,B-DNA。

相对湿度75%,DNA钠盐结晶,A-DNA。 Z-DNA。

生物体内DNA均为B—DNA。Franklin的工作

### 2、Watson-Crick双螺旋结构模型

a. 两条反平行的多核苷酸链绕同一中心轴相缠绕,形成右手双股螺旋,一条 $5' \rightarrow 3'$ ,另一条 $3' \rightarrow 5'$

b. 嘌呤与嘧啶碱位于双螺旋的内侧,磷酸与脱氧核糖在外侧。磷酸与脱氧核糖彼此通过3'/5'-磷酸二酯键相连接,构成DNA分子的骨架。

$$\left\{ \begin{array}{l} \text{大沟宽 } 1.2 \text{ nm} \\ \text{深 } 0.85 \text{ nm} \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{小沟宽 } 0.6 \text{ nm} \\ \text{深 } 0.75 \text{ nm} \end{array} \right.$$

c. 螺旋平均直径2nm;每圈螺旋含10个核苷酸;碱基堆积距离0.34nm;螺距:3.4nm

d. 两条核苷酸链,依靠彼此碱基间形成的氢链结合在一起。碱基平面垂直于螺旋轴。 $A=T$ ,  $G=C$

碱基互补原则具有极重要的生物学意义，DNA 的复制、转录、反转录等的分子基础都是碱基互补。

### 3、稳定双螺旋结构的因素

- ①碱基堆积力（主要因素）形成疏水环境。
- ②碱基配对的氢键。GC 含量越多，越稳定。
- ③磷酸基上的负电荷与介质中的阳离子或组蛋白的正离子之间形成离子键，中和了磷酸基上的负电荷间的斥力，有助于 DNA 稳定。
- ④碱基处于双螺旋内部的疏水环境中，可免受水溶性活性小分子的攻击。

### 三、DNA 二级结构的不均一性和多型性

#### （一）DNA 二级结构的不均一性

#### 1、反向重复序列（回文序列）

DNA 序列中，以某一中心区域为对称轴，其两侧的碱基对顺序正读和反读都相同，即对称轴一侧的片段旋转 180°后，与另一侧片段对称重复。

较长的回文结构，在某些因素作用下，可形成茎环式的十字结构和发夹结构。功能还不完全清楚，但转录的终止作用与回文结构有关。

较短的回文序列，可作为一种特别信号，如限制性核酸内切酶的识别位点。

#### 2、富含 AT 的序列

高等生物中，A+T 与 C+G 的含量差不多相等，但在它们的染色体的某一区域，AT 含量可能很高。

在很多有重要调节功能（不是蛋白质编码区）的 DNA 区段都富含 AT 碱基对。特别是在复制起点和启动的 Pribnow 框的 DNA 区中，富含 A T 对。这对于复制和转录的起始十分重要，因为 GC 对有三个氢键，而 AT 对只有两个氢键，此处双键易解开。

#### （二）DNA 二级结构的多型性

#### 1、B-DNA：典型的 Watson-Crick 双螺旋 DNA

右手双股螺旋；每圈螺旋 10.4 个碱基对；每对螺旋扭角 36°；螺距：3.32nm；

碱基倾角：1°

## 2、A-DNA

在相对湿度 75% 以下所获得的 DNA 纤维。A-DNA 也是右手双螺旋，外形粗短。RNA-RNA、RNA-DNA 杂交分子具有这种结构。

## 3、Z-DNA

左手螺旋的 DNA。天然 B-DNA 的局部区域可以形成 Z0-DNA。

## 4、DNA 三股螺旋

在多聚嘧啶和多聚嘌呤组成的 DNA 螺旋区段，序列中有较长的镜像重复时，可形成局部三股螺旋，称 H-DNA。

镜像重复：

TAT 配对

C<sup>+</sup>GC 酸对

DNA 的三链结构常出现在 DNA 复制、重组、转录的起始或调节位点，第三股链的存在可能使一些调控蛋白或 RNA 聚合酶等难以与该区段结合，从而阻遏有关遗传信息的表达。

## 四、环状 DNA

生物体内有些 DNA 是以双链环状 DNA 的形式存在，包括：某些病毒 DNA；某些噬菌体 DNA；某些细菌染色体 DNA；细菌质粒 DNA；真核细胞中的线粒体 DNA；叶绿体 DNA。

### 1、环形 DNA 的不同构象

- (1) 松弛环形 DNA 线形 DNA 直接环化
- (2) 解链环形 DNA 线形 DNA 拧松后再环化
- (3) 正超螺旋与负超螺旋 DNA

线形 DNA 拧紧或拧松后再环化，成为超螺旋结构。

绳子的两股以右旋方向缠绕，如果在一端使绳子向缠紧的方向旋转，再将绳子两端连接起来，会产生一个左旋的超螺旋，以解除外加的旋转造成的胁变，这样的超螺旋叫正超螺旋。

如果在绳子一端向松缠方向旋转，再将绳子两端连接起来，会产生一个右

旋的超螺旋，以解除外加的旋转所造成的胁变，这样的超螺旋称**负超螺旋**。

## 2、环形 DNA 的拓扑学特性

以 260bp 组成的线形 B-DNA 为例，螺旋周数  $260/10.4=25$ 。

### ①连环数 (L)

DNA 双螺旋中，一条链以右手螺旋绕另一条链缠绕的次数，以 L 表示。

松弛环:  $L=25$  解链环:  $L=23$  超螺旋:  $L=23$

### ②缠绕数 (T)

DNA 分子中的 Watson-Crick 螺旋数目，以 T 表示

松弛环  $T=25$  解链环  $T=23$  超螺旋  $T=25$

### ③超螺旋周数 (扭曲数 W)

松弛环  $W=0$  解链环  $W=0$  超螺旋  $W = -2L = T + W$

### ④比连环差 ( $\lambda$ )

表示 DNA 的超螺旋程度  $\lambda = (L - L_0) / L_0$

$L_0$  是指松弛环形 DNA 的 L 值

天然 DNA 的超螺旋密度一般为 -0.03~-0.09，平均每 100bp 上有 3-9 个负超螺旋。

负超螺旋 DNA 是由于两条链的缠绕不足引起，很易解链，易于参加 DNA 的复制、重组和转录等需要将两条链分开才能进行的反应。

## 3、拓扑异构酶

此酶能改变 DNA 拓扑异构体的 L 值。

### ①拓扑异构酶 I (拧紧)

能使双链负超螺旋 DNA 转变成松弛形环状 DNA，每一次作用可使 L 值增加 1，同时，使松弛环状 DNA 转变成正超螺旋。

### ②拓扑异构酶 II (拧松)

能使松弛环状 DNA 转变成负超螺旋形 DNA，每次催化使 L 减少 2，同时能使正超螺旋转变成松弛 DNA。

## 五、染色体的结构

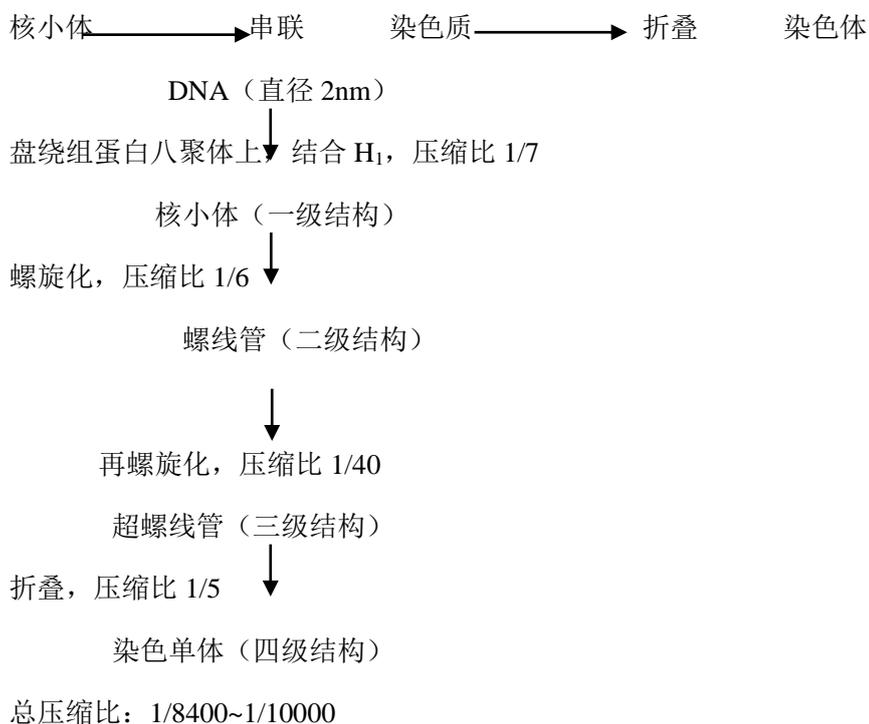
### 1、大肠杆菌染色体

大肠杆菌染色体是由  $4.2 \times 10^6$ bp 组成的双链环状 DNA 分子，约 3000 个基因。这些 DNA 结合蛋白，使  $4.2 \times 10^6$ bp 的 E.coli 染色体 DNA 压缩成为一个手脚架形结构，结构中心是多种 DNA 结合蛋白，DNA 双螺旋分子有许多位点与这些蛋白结合，形成约 100 个小区，每个小区的 DNA 都是负超螺旋，一个小区的 DNA 有两个端点被蛋白质固定，每个小区相对独立。

### 2、真核生物染色体

主要由组蛋白和 DNA 组成。

组蛋白是富含碱性 a.a(Lys、Arg)的碱性蛋白质，根据 ~~Lys/Arg~~ 比值不同，可分为 H<sub>1</sub>、H<sub>2</sub>A、H<sub>2</sub>B、H<sub>3</sub>、H<sub>4</sub> 五种，均为单链蛋白质，分子量 11000-21000。H<sub>2</sub>A、H<sub>2</sub>B、H<sub>3</sub>、H<sub>4</sub> 各两分子对称聚集成组蛋白八聚体。146bp 长度的 DNA 双螺旋盘绕在八聚体上形成核小体。核小体间 DNA 长度 15-100bp (一般 60bp) 其上结合有 H<sub>1</sub>、2H<sub>2</sub>A、2H<sub>2</sub>B、2H<sub>3</sub>、2H<sub>4</sub> 组蛋白八聚体 146bpDNA



## 六、DNA 的生物学功能

首次直接证明 DNA 的遗传功能的是 Avery 的肺炎双球菌转化实验。

### 第三节 RNA 的结构

### 一、RNA 的一级结构

RNA 是 AMP、GMP、CMP、UMP 通过 3'/5'磷酸二酯键形成的线形多聚体。

- ① 组成 RNA 的戊糖是核糖
- ② 碱基中 RNA 的 U 替代 DNA 中的 T，此外，RNA 中还有一些稀有碱基。
- ③ 天然 RNA 分子都是单链线形分子，只有部分区域是 A-型双螺旋结构。双螺旋区一般占 RNA 分子的 50%左右。

### 二、RNA 的类型

细胞中的 RNA，按其在蛋白质合成中所起的作用，主要可分为三种类型。

核糖体 RNA    rRNA

转运 RNA    tRNA

信使 RNA    mRNA

此外，真核生物细胞中有少量核内小 RNA (small nuclear RNA snRNA)

沉降系数：单位离心场中的沉降速度，以 S 为单位，即  $10^{-13}$  秒。

### 三、tRNA 的结构

tRNA 约占全部 RNA 的 15%

主要功能：在蛋白质生物合成过程中转运氨基酸。

已知一级结构的 tRNA 有 160 种，每种 tRNA 可运载一种特定的 a.a，一种 a.a 可由一种或多种 tRNA 运载。

#### 结构特点

- ①分子量在 25kd 左右，70-90b，沉降系数 4S 左右
- ②碱基组成中有较多稀有碱基
- ③3'末端为...CpCpA-OH，用来接受活化的氨基酸，此末端称接受末端。
- ④5'末端大多为 pG...或 pC...
- ⑤二级结构是三叶草形

#### 四、mRNA 的结构

mRNA 是从 DNA 上转录而来的，其功能是依据 DNA 的遗传信息，指导各种蛋白质的生物合成，每一种蛋白质都由一种相应的 mRNA 编码，细胞内 mRNA 种类很多，大小不一，每种含量极低。

从功能上讲，一个基因就是一个顺反子，原核生物的 mRNA 是多顺反子，真核 mRNA 是单顺反子。

**顺反子：**是由顺反试验所规定的遗传单位，相当于一种蛋白质的基因。

##### 1、真核 mRNA

###### (1) 3'-端有一段约 30-300 核苷酸的 polyA。

PolyA 是转录后，经 polyA 聚合酶添加上，polyA 聚合酶对 mRNA 专一。

原核 mRNA 一般无 polyA。polyA 与 mRNA 半寿期有关，新合成的 mRNA，其 polyA 较长；而衰老的 mRNA，其 polyA 较短。

**polyA 功能：**PolyA 是 mRNA 由核进入胞质所必需的形式。PolyA 大大提高 mRNA 在胞质中的稳定性。

###### (2) 5'-帽子帽子

5'末端的鸟嘌呤 N<sub>7</sub> 被甲基化，鸟嘌呤核苷酸经焦磷酸与相邻的一个核苷酸相连，形成 5'-5'-磷酸二酯键。

**帽子的功能：**

可抵抗 5'核酸外切酶降解 mRNA。可为核糖体提供识别位点，使 mRNA 很快与核糖体结合，促进蛋白质合成起始复合物的形成。

##### 2、原核 mRNA（多顺反子）

原核 mRNA 由先导区、插入序列、翻译区和末端序列组成。没有 5'帽子和 3'/polyA。

5'端先导区中，有一段富含嘌呤的碱基序列，典型的为 5'-AGGAGGU-3'，位于起始密码子 AUG 前约 10 核苷酸处，此序列由 Shine 和 Dalgarno 发现，称 **SD 序列**。

SD 序列和核糖体 16S 的 rRNA 的 3'末端富含嘧啶碱基的序列互补，这种互补序列与 mRNA 对核糖体的识别有关。

## 五、rRNA 的结构

rRNA 占总 RNA 的 80% 左右。

**功能:** rRNA 是构成核糖体的骨架, 与核糖体结合蛋白一起构成核糖体, 为蛋白质的合成提供场所。

**大肠杆菌中有三类 rRNA (原核):** 5S rRNA 16S rRNA 23S rRNA

**真核细胞有四类 rRNA:** 5S rRNA 5.8S rRNA 18S rRNA 28S rRNA

### 第四节核酸的性质

#### 一、解离性质

多聚核苷酸有两类可解离的基团: 磷酸和碱基能发生两性解离。

磷酸是中等强度的酸, 碱基的碱性较弱, 因此, 核酸等电点在较低的 pH 范围内。

DNA 等电点 4-4.5 RNA 等电点 2-2.5

RNA 链中, 核糖 C'<sub>2</sub>-OH 的氢能与磷酸酯中的羟基氧形成氢链, 促进磷酸酯羟基氢原子的解离。

#### 二、水解性质

##### 1、碱水解

室温, 0.1mol/L NaOH 可将 RNA 完全水解, 得到 2'-或 3'-磷酸核苷的混合物。在相同条件下, DNA 不被水解。这是因为 RNA 中 C'<sub>2</sub>-OH 的存在, 促进了磷酸酯键的水解。

DNA、RNA 水解难易程度的不同具有极为重要的生理意义。

DNA 稳定, 遗传信息。RNA 是 DNA 的信使, 完成任务后降解。

##### 2、酶水解

生物体内存在多种核酸水解酶。RNA 水解酶 RNase; DNA 水解酶 DNase

核酸外切酶; 核酸内切酶

最重要的: 限制性核酸内切酶

#### 三、光吸收性

碱基具有共轭双键，使碱基、核苷、核苷酸和核酸在 240~290nm 的紫外波段有强烈的光吸收， $\lambda_{\max}=260\text{nm}$

### 1、鉴定纯度

纯 DNA 的  $A_{260}/A_{280}$  应为 1.8 (1.65-1.85)，若大于 1.8，表示污染了 RNA。

纯 RNA 的  $A_{260}/A_{280}$  应为 2.0。

若溶液中含有杂蛋白或苯酚，则  $A_{260}/A_{280}$  比值明显降低。

### 2、含量计算

1 ABS 值相当于：50ug/mL 双螺旋 DNA 或：40ug/mL 单螺旋 DNA（或 RNA）或：20ug/mL 核苷酸

### 3、增色效应与减色效应

**增色效应：**在 DNA 的变性过程中，摩尔吸光系数增大

**减色效应：**在 DNA 的复性过程中，摩尔吸光系数减小。

### 四、沉降特性 (DNA)

不同构象的核酸（线形、环形、超螺旋），起密度和沉降速率不同，用 Cs-Cl 密度梯度离心就可以将它们区分开来，这一方法常用于质粒 DNA 的纯化。

相对沉降常数：线型双螺旋分子 (1.00)；松弛双链闭环 (1.14)；

切刻双链环 (1.14)；单链环 (1.14)；线型单链 (1.30)；

正超或负超螺旋双链环状 (1.41)；坍塌 (3.0)

### 五、变性、复性及杂交

变性、复性是核酸的重要的物化性质，相对蛋白质来说，核酸可以耐受反反复复的变性、复性。这也是核酸研究技术的基础。

#### 1、变性

##### (1) 变性：

核酸双螺旋区的氢键断裂，变成单链，不涉及共价键断裂。多核苷酸骨架上共价键的断裂称核酸的降解。

DNA 的变性是爆发式的，变性作用发生在一个很窄的温度范围内。

|     |   |                                    |
|-----|---|------------------------------------|
| 热变性 | { | 因素酸碱变性 (pH 小于 4 或大于 11, 碱基间氢键全部断裂) |
|     |   | 变性剂 (尿素、盐酸胍、甲醛)                    |
| 变性后 | { | 260nm 吸收值升高。                       |
|     |   | 粘度降低, 浮力密度升高。                      |
|     |   | 二级结构改变, 部分失活。                      |

### (2) 熔解温度 (T<sub>m</sub>) 或称熔点:

DNA 的双螺旋结构失去一半时对应的温度。DNA 的 T<sub>m</sub> 一般在 70—85℃ 之间。

浓度 50ug/mL 时, 双链 DNA A<sub>260</sub>=1.00, 完全变性 (单链) A<sub>260</sub>= 1.37 当 A<sub>260</sub> 增加到最大增大值一半时, 即 1.185 时, 对应的温度即为 T<sub>m</sub>。

### (3) 影响 DNA 的 T<sub>m</sub> 值的因素

①DNA 均一性均一性高, 熔解过程发生在很小的温度范围内。

②G-C 含量与 T<sub>m</sub> 值成正比, G-C 含量高, 则 T<sub>m</sub> 越高, 测定 T<sub>m</sub>, 可推知 G-C 含量。G-C% = (T<sub>m</sub>-69.3) × 2.44

#### ③介质中离子强度

其它条件不变, 离子强度高, T<sub>m</sub> 高。

## 2、复性

变性 DNA 在适当 (一般低于 T<sub>m</sub>20—25℃) 条件下, 两条链重新缔合成双螺旋结构。变性 DNA 在缓慢冷却时 (快速冷却可防止复性), 可以复性。DNA 片段越大, 复性越慢; DNA 浓度越大, 复性越快。

复性速度可用 C<sub>0</sub>t 衡量。C<sub>0</sub> 为变性 DNA 原始浓度 mol L<sup>-1</sup>, t 为时间, 以秒表示。

## 3、杂交 (DNA—DNA、 DNA—RNA)

将不同来源的 DNA 混合加热, 变性后, 慢慢冷却使它复性。若这些异源 DNA 之间, 在某些区域有相同的序列, 则复性时会形成杂交分子。

### 第五节核酸研究技术

## 一、核酸的分离纯化

**要求：**尽可能保持其天然状态。

条件温和，防止过酸、过碱。

避免剧烈搅拌，抑制核酸酶。

### 1、DNA 分离纯化

真核 DNA 以核蛋白 (DNP) 形式存在，DNP 溶于水或盐 (1mol/L)，但不溶于 0.14mol/L NaCl 中，利用此性质，可将 DNP 与 RNA 核蛋白分开，提取出 DNP。

DNA 核蛋白可用水饱和的酚抽提，去除蛋白质。还可用氯仿异戊醇去除蛋白质。

### 2、RNA 的制备 (重点介绍 mRNA 的分离、纯化)

用 0.14mol/L NaCl 使 DNP 沉淀，上清中即为 RNA 核蛋白 (RNP)。

去蛋白：盐酸胍、苯酚等；必须防止 RNA 酶对 RNA 的破坏。

## 二、核酸的凝胶电泳

### 1、琼脂糖电泳

- ① 核酸分子的大小，迁移率与分子量的对数成反比
- ② 凝胶浓度
- ③ DNA 的构象，超螺旋最快，线形其次，环形最慢。
- ④ 电流，不大于 5V/cm

### 2、PAGE 电泳

## 三、限制性核酸内切酶 (1979 年发现)

### 1、限制修饰系统

### 2、II 型核酸内切酶

核酸内切酶有 I、II、III 三种类型，其中 II 型酶在 DNA 克隆中十分有用。

**II 型酶的特点：**限制和修饰活性分开，蛋白质结构是单一成分，辅助因子  $Mg^{2+}$ ，位点序列旋转对称 (反向重复)。

**II 型酶的切割频率**

|        |             |
|--------|-------------|
| 识别位点 4 | $4^4=256$   |
| 6      | $4^6=4096$  |
| 8      | $4^8=65536$ |

**限制酶的命名: E.coRI**

第一位: 属名 E (大写)

第二、三位: 种名的头两个字母小写 co

第四位: 菌株 R

第五位: 罗马字, 从该细菌中分离出来的这一类酶的编号。

**星号活力:** 在一定条件下 (低离子强度, 碱性 pH, 或 50% 甘油), 限制酶的特异性降低。结果, 它的识别与切割所需的典型的核苷酸序列的数量和种类会发生变化。

**四、DNA 物理图谱及构建**

(限制酶切图谱、DNA 酶切位点图谱)

在研究某一种 DNA 时, 弄清该 DNA 分子有哪些限制酶切位点是很重要的。建立物理图谱是进一步分析此 DNA 的基础, 末端标记法构建 DNA 物理图谱:

(1) 单酶完全降解和部分降解 (2) 双酶降解

**五、分子杂交****1、Southern Blotting** P353 图 5-23

DNA 样品 → 酶切 → 电泳 → 变性 → 转膜  
 固定 → 杂交 → 洗涤 → 放射自显影

变性 (NaOH 0.5mol/L); 转膜 (NC 膜); 固定 (80°C, 4-6h); 杂交 (高盐浓度, 68°C, 几小时)。

Southern Blotting 可用于 DNA 之间同源性分析, 确定特异性 DNA 序列的大小和定位。可用 DNA 或 RNA 探针。

**2、Northern Blotting (研究对象是 mRNA)**

检测可与探针 DNA 同源杂交的 mRNA 分子的存在, 因而可以研究细胞内

特定 mRNA 的产生，即特定基因的表达。

mRNA 易形成局部二级结构，因此，总 RNA 或 mRNA 需在变性条件下电泳，乙二醛、甲醛可防止 RNA 形成二级结构。

### 3、Western Blotting

是研究克隆基因表达产物、鉴定克隆株的常用技术。

## 六、DNA 序列分析

### (一) 化学裂解法 (Maxam-Gilbert 法)

#### DNA 一级结构测定原理:

利用特异性的化学裂解法，制备出具有同一标记末端，而另一端是长度只差一个核苷酸的片段群，然后将此片段群在能够分辨长度只差一个核苷酸 DNA 片段的 PAGE 上分离。

### (二) 双脱氧终止法

英国 Sanger 1955 确定牛胰岛素结构 1958 获诺贝尔化学奖  
1980 设计出 DNA 测序法 1980 再获诺贝尔化学奖

### (三) 序列分析仪

四色荧光基团标记的 ddNTP

## 七、DNA 合成 (合成探针、引物、基因)

### 1、化学合成——DNA 合成仪

DNA 固相合成 (亚磷酸三酯法)

合成方向: 3'5'端 →

5'-OH 用二对甲氧三苯甲基 (DMT) 保护,

碱基上氨基用苯甲酸保护

3'-OH 用氨基磷酸化合物活化

保护: 5'-OH、活化 3'-OH、保护所有 NH<sub>2</sub>

### 2、DNA 的酶合成——PCR

用 DNA 聚合酶 I

**必备条件：**①模板 DNA（单链）②引物③DNA 聚合酶④dATP、 dGTP、 dCTP、 dTTP ⑤一定浓度的  $Mg^{2+}$

链合成方向：5' → 3'端

新的 DNA 链合成，从引物 DNA 的 3'-OH 开始。

链的增长反应是引物 DNA 的 3'-OH，对脱氧核糖核苷三磷酸的  $\alpha$ -磷原子亲核进攻的结果。

化学合成：方向 3'5'，不需 DNA 模板，不用酶。

生物合成：方向 5'3'，需模板，引物，用酶。

### 【讨论提问】

1. 某 DNA 分子中腺嘌呤的含量为 15%，则胞嘧啶的含量应为：
2. 关于 DNA 的碱基组成，正确的说法是：
  - A. 腺嘌呤与鸟嘌呤分子数相等，胞嘧啶与胸嘧啶分子数相等；
  - B. 不同种属 DNA 碱基组成比例不同；
  - C. 同一生物的不同器官 DNA 碱基组成不同；
  - D. 年龄增长但 DNA 碱基组成不变。

### 【本章小结】

本章主要介绍碱基、核酸和核苷酸的结构、性质以及核酸的结构、性质和生物功能。对核酸的分离、合成和鉴定也作了简要的介绍。

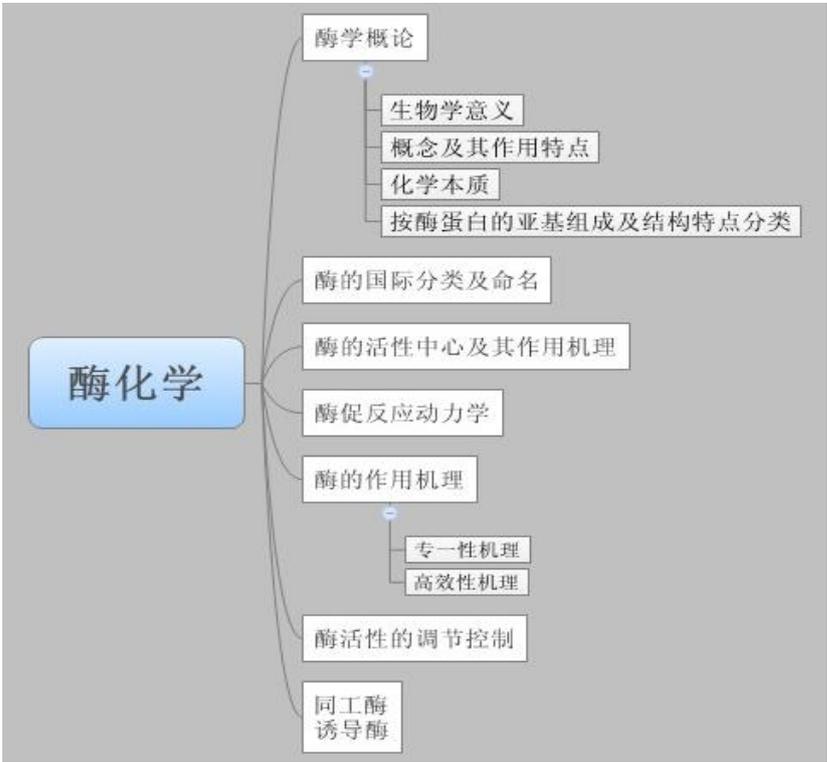
### 【课后作业】

- 1、细胞的核酸有哪几类？核酸的基本组分和结构是什么？
- 2、如何证明 DNA 是遗传物质？
- 3、如何看待 RNA 的功能多样性？它的核心作用是什么？

### 教学反思

在这一章学习过程中，对核酸的序列分析方法和分子杂交技术如果没有实验支持，理解起来还是有些困难的。

## 第六章酶化学

|               |  |
|---------------|--|
| <b>教学目标</b>   | 认识酶的本质，理解酶的特征、催化作用和催化机制。清楚辅酶的结构并把它与维生素和核苷酸联系起来。结合酶的化学本质和催化机制学习各种影响酶反应速率的因素。          |
| <b>教学重点</b>   | ① 酶的化学本质、结构、特性和功能、<br>② 酶反应动力学<br>③ 酶的应用   |
| <b>教学难点</b>   | ① 米氏方程的推导<br>② 酶活调节机制  |
| <b>学时分配</b>   | 第一节酶学概论、分类及命名 1 学时<br>第二节酶促反应动力学 3 学时<br>第三节酶的作用机理 2 学时<br>第四节酶活调节和抗体、同工酶 2 学时       |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法  |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体   |
| <b>知识结构体系</b> |  |

| 授课题目   | 酶化学  | 授课序次 | 11、12、13 |
|--|------|------|----------|
| 总学时数   | 8 学时 | 授课时长 | 240 分钟   |
| 教学过程及授课内容  |      |      | 备注       |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>酶是一类具有高效率、高度专一性、活性可调节的高分子生物催化剂。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节酶学概论</b></p> <p><b>一、酶的生物学意义</b></p> <p>大肠杆菌生命周期 20 分钟，生物体内化学反应变得容易和迅速进行的根本原因是体内普遍存在生物催化剂—酶。没有酶，生长、发育、运动等等生命活动就无法继续。</p> <p>限制性核酸内切酶（限制-修饰）</p> <p><b>二、酶的概念及其作用特点</b></p> <p><b>1、酶是一种生物催化剂</b></p> <p>生物催化剂：酶(enzyme)，核（糖）酶(ribozyme)，脱氧核（糖）酶(deoxyribozyme)</p> <p><b>2、酶催化反应的特点</b></p> <p>(1) <b>催化效率高</b>：酶催化反应速度是相应的无催化反应的 10<sup>8</sup>-10<sup>20</sup> 倍，并且至少高出非酶催化反应速度几个数量级。</p> <p>(2) <b>专一性高</b>：酶对反应的底物和产物都有极高的专一性，几乎没有副反应发生。</p> <p>(3) <b>反应条件温和</b>：温度低于 100℃，正常大气压，中性 pH 环境。</p> <p>(4) <b>活性可调节</b>：根据生物体的需要，许多酶的活性可受多种调节机制的灵活调节，包括：别构调节、酶的共价修饰、酶的合成、活化与降解等。</p> <p>(5) <b>酶的催化活性离不开辅酶、辅基、金属离子</b></p> <p><b>3、酶与非生物催化剂相比的几点共性：</b></p> <p>①催化效率高，用量少（细胞中含量低）。</p> |      |      |          |

②不改变化学反应平衡点。

③降低反应活化能。

④反应前后自身结构不变。

### 三、酶的化学本质

#### 1、酶的蛋白质本质

经典概念：所有的酶都是蛋白质，酶是具有催化功能的蛋白质，因此酶具有蛋白质的一切共性。

##### (1) 酶的蛋白质组成

有些酶仅由蛋白质组成，有些酶不仅含有蛋白质（酶蛋白），还含有非蛋白质成分（辅助因子），只有酶蛋白与辅助因子结合形成复合物（全酶）才表现出酶活性，如超氧化物歧化酶  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ ）、乳酸脱氢酶（ $\text{NAD}^+$ ）

酶的专一性由酶蛋白的结构决定，辅助因子传递电子或某些化学基团。

##### (2) 酶的辅助因子

酶的辅助因子主要有金属离子（ $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$ 、 $\text{Cu}^+$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{3+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mo}^{6+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 等）和有机化合物。

**辅酶：**与酶蛋白结合较松，可透析除去。

**辅基：**与酶蛋白结合较紧。

##### 酶辅助因子

CuZn-SOD                       $\text{Cu}^{2+}$      $\text{Zn}^{2+}$

Mn-SOD                          $\text{Mn}^{2+}$

过氧化物酶                     $\text{Fe}^{2+}$ 或  $\text{Fe}^{3+}$

II 型限制性核酸内切酶      $\text{Mg}^{2+}$

羧肽酶                          $\text{Zn}^{2+}$

#### 2、ribozyme 核酶（具有催化功能的 RNA）

ribozyme 种类：①自我剪接 ribozyme    ②自我剪切 ribozyme    ③催化分子间反应 ribozyme

#### 四、按酶蛋白的亚基组成及结构特点分类

##### 1、单体酶

由一条或多条共价相连的肽链组成的酶分子

##### 2、寡聚酶

由两个或两个以上亚基组成的酶，亚基可以相同或不同，一般是偶数，亚基间以非共价键结合。

大多数寡聚酶是胞内酶，而胞外酶一般是单体酶。

##### 3、多酶复合体

由两个或两个以上的酶，靠非共价键结合而成，其中每一个酶催化一个反应，所有反应依次进行，构成一个代谢途径或代谢途径的一部分。

##### 4、多酶融合体

一条多肽链上含有两种或两种以上催化活性的酶，这往往是基因融合的产物。

#### 五、酶在细胞中的分布

一个细胞内含有上千种酶，互相有关的酶往往组成一个酶体系，分布于特定的细胞组分中，因此某些调节因子可以比较特异地影响某细胞组分中的酶活性，而不使其它组分中的酶受影响。

##### 1. 分布于细胞核的酶

核被膜酸性磷酸酶

染色质三磷酸核苷酶

核仁核糖核酸酶

核内可溶性部分酵解酶系、乳酸脱氢酶

##### 2. 分布于细胞质的酶

参与糖代谢的酶酵解酶系

磷酸戊糖途径酶系

参与脂代谢的酶脂肪酸合成酶复合体

参与 a.a 蛋白质的酶      Asp 氨基转移酶

参与核酸合成的酶核苷激酶核苷酸激酶

### 3. 分布于内质网的酶

光滑内质网胆固醇合成酶系

粗糙内质网蛋白质合成酶系

(细胞质一侧)

### 4. 分布于线粒体的酶

外膜：酰基辅酶 A 合成酶

内膜：NADH 脱氢酶

基质：三羧酸循环酶系

脂肪酸  $\beta$ -氧化酶系

### 5. 分布于溶酶体的酶

水解蛋白质的酶、水解糖苷类的酶、水解核酸的酶、水解脂类的酶

### 6. 标志酶

有些酶只分布于细胞内某种特定的组分中，

核：尼克酰胺单核苷酸腺苷酰转移酶，功能：DNA、RNA 生物合成

线粒体：琥珀酸脱氢酶（电子转移、三羧酸循环）

溶酶体：酸性磷酸酶（细胞成分的水解）

微粒体：（核蛋白体、多核蛋白体、内质网）Glc-6-磷酸酶

上清液：乳酸脱氢酶

## 第二节酶的国际分类及命名

### 一、习惯命名

#### 1. (绝大多数酶) 依据底物来命名

如：催化蛋白质水解的酶称蛋白酶。催化淀粉水解的酶称淀粉酶。

#### 2. 依据催化反应的性质命名如：水解酶、转氨酶

3 结合上述两个原则命名，琥珀酸脱氢酶。

4. 有时加上酶的来源如：胃蛋白酶、牛胰凝乳蛋白酶

## 二、国际系统命名

系统名称应明确标明酶的底物及催化反应的性质。

如：草酸氧化酶（习惯名），系统名称：草酸：氧氧化酶

又如：谷丙转氨酶（习惯名），系统名：丙氨酸： $\alpha$ -酮戊二酸氨基转移酶

反应：丙氨酸+ $\alpha$ -酮戊二酸→Glu+丙酮酸

## 三、国际系统分类法及编号（EC 编号）

原则：将所有酶促反应按性质分为六类，分别用 1、2、3、4、5、6 表示。

再根据底物中被作用的基团或键的特点，将每一大类分为若干个亚类，编号用 1、2、3……，每个亚类又可分为若干个亚-亚类，用编号 1、2、3……表示。

每一个酶的编号由 4 个数字组成，中间以“·”隔开。第一个数字表示大类，第二个数字表示亚类，第三个表示亚-亚类，第四个数字表示在亚-亚中的编号。

### 1、氧化还原酶类

催化氧化还原反应： $A + 2H + B = A + B + 2H$

乳酸：NAD<sup>+</sup>氧化还原酶（EC1.1.1.27），习惯名：乳酸脱氢酶

### 2、转移酶类

$AB + C = A + BC$

Ala：酮戊二酸氨基移换酶（EC2.6.1.2），习惯名：谷丙转氨酶

### 3、水解酶类

催化水解反应，包括淀粉酶、核酸酶、蛋白酶、脂酶。

亮氨酸氨基肽水解酶（EC3.4.1.1），习惯名：Ile 氨肽酶。

### 4、裂合酶类（裂解酶）

催化从底物上移去一个基团而形成双键的反应或其逆反应

二磷酸酮糖裂合酶（EC4.1.2.7），习惯名：醛缩酶

### 5、异构酶 (EC5.3.1.9)

催化同分异构体相互转化, 6-磷酸 Glc 异构酶

### 6、合成酶 (连接酶)

催化一切必须与 ATP 分解相偶联、并由两种物质合成一种物质的反应。

举例: 乙醇脱氢酶的分类编号是 EC1.1.1.1, 乳酸脱氢酶 EC1.1.1.27, 苹果酸脱氢酶 EC1.1.1.37

第一个数字表示大类: 氧化还原

第二个数字表示反应基团: 醇基

第三个数字表示电子受体:  $\text{NAD}^+$ 或  $\text{NADP}^+$

第四个数字表示此酶底物: 乙醇, 乳酸, 苹果酸。

前面三个编号表明这个酶的特性: 反应性质、底物性质 (键的类型) 及电子或基团的受体, 第四个编号用于区分不同的底物。

### 第三节酶促反应动力学

酶促反应动力学是研究酶促反应的速度以及影响酶促反应速度的各种因素, 包括底物浓度、酶浓度、pH、温度、激活剂与抑制剂、等。

#### 一、酶的量度

酶的含量不能直接用重量和摩尔数表示 (不纯、失活、分子量不知), 而采用酶的活力单位表示

#### 1、酶活力与酶促反应速度

**酶活力:** 用在一定条件下, 酶催化某一反应的反应速度表示。反应速度快, 活力就越高。酶量—酶活力—反应速度

**酶促反应速度的表示方法:** 单位时间、单位体积中底物的减少量或产物的增加量。

**单位:** 浓度/单位时间

研究酶促反应速度, 以酶促反应的初速度为准。因为底物浓度降低、酶部分失活产物抑制和逆反应等因素, 会使反应速度随反应时间的延长而下降。

#### 2、酶的活力单位 (U)

**国际酶学会标准单位:** 在特定条件下, 1 分钟内能转化 1 $\mu$ mol 底物的酶量, 称一个国际单位 (IU)。

**特定条件:** 25 $^{\circ}$ C pH 及底物浓度采用最适条件 (有时底物分子量不确定时, 可用转化底物中 1 $\mu$ mol 的有关基团的酶量表示)。

### 3、酶的比活力 Specific activity

每毫克酶蛋白所具有的酶活力。酶的比活力是分析酶的纯度是重要指标。

**单位:** U/mg 蛋白质。

有时用每克酶制剂或每毫升酶制剂含有多少个活力单位表示。

酶的提纯过程中, 总蛋白减少, 总活力减少, 比活力增高。

$$\text{酶的纯化倍数: } \frac{\text{每一步比活力}}{\text{第一步总活力}}$$

$$\text{酶的回收率: } \times 100\% \frac{\text{每一步比活力}}{\text{第一步总活力}}$$

### 4、酶的转换数和催化周期

**分子活性定义:** 每 mol 的 enzyme 在 1 秒内转化 substrate 的 mol 数。

**亚基或催化中心活性定义:** 每 mol 的 active subunit 或 active center 在一秒内转化的 substrate 的 mol 数, 称为转换数  $K_{cat}$

**转换数的倒数即为催化周期:** 一个酶分子每催化一个底物分子所需的时间。

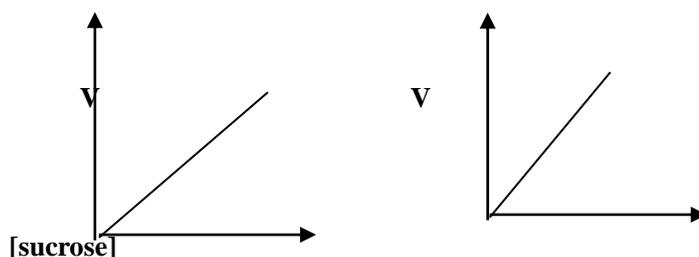
## 二、底物浓度对酶促反应速度的影响

单底物酶促反应, 包括异构酶、水解酶及大部分裂合催化的反应。

1913 Michaelis 和 Menten 提出米—曼方程。

### 1、底物浓度对酶促反应速度的影响——米式学说的提出

酸水解



**酶水解**

**底物浓度与酶促反应速度的关系：**

当底物浓度不断增大时，反应速度不再上升，趋向一个极限，酶被底物饱和（底物饱和现象）。

**中间产物假说：**酶与底物先络合成一个中间产物，然后中间产物进一步分解成产物和游离的酶。

**证据：**（1）竞争性抑制实验（2）底物保护酶不变性（3）结晶 ES 复合物的获得。

**米式学说：**

1913 年，Michaelis 和 Menten 继承和发展了中间产物学说，在前人工作基础上提出酶促动力学的基本原理，并以数学公式表明了底物浓度与酶促反应速度的定量关系，称米式学说：

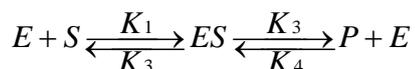
$$V = \frac{V_{\max} * [S]}{K_m + [S]}$$

**2、米式方程的导出：**

**（1）基于快速平衡假说——早年的米式方程**

最初，Michaelis 和 Menten 是根据“快速平衡假说”推出米式方程。

**快速平衡假说:**



- 1、在反应的初始阶段，底物浓度远远大于酶浓度，因此，底物浓度{S}可以认为不变。
- 2、游离的酶与底物形成 ES 的速度极快， $E + S \rightleftharpoons ES$ ，而 ES 形成产物的速度极慢，ES 分解成产物 P 对于[ES]浓度的动态平衡没有影响，不予考虑。
- 3、因为研究的是初速度，P 的量很小，由  $P \longrightarrow ES$  可以忽略不记。

**ES 的生成速度:**  $K_1 ([E] - [ES]) [S]$

**ES 的分解速度:**  $K_2[ES]$

$$K_1 ([E] - [ES]) [S] = K_2[ES]$$

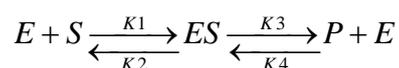
$$[ES] = \frac{K_1[E][S]}{K_2 + K_1[S]}$$

**反应速度:**

$$\begin{aligned} V &= K_3 [ES] \\ &= \frac{K_3 [E][S]}{\frac{K_2}{K_1} + [S]} \\ &= \frac{V_{\max} [S]}{K_s + [S]} \end{aligned}$$

$K_s$  现在称为底物常数

**(2) Briggs 和 Haldane 的“稳态平衡假说”及其对米式方程的发展:**



**稳态平衡假说:** [ES]的的生成与分解处于动态平衡（稳态），有时必须考虑 [ES]分解成产物 P 对于[ES]动态平衡的影响（[ES]分解速度）。或者说，[ES]的动态平衡（分解速度）不仅与  $ES \longrightarrow E+S$  有关，还与  $ES \longrightarrow P + E$  有关。

用稳态假说推导米氏方程:

ES 生成速度:  $k_1 ([E] - [ES]) [S]$

ES 分解速度:  $k_2[ES]+k_3[ES]$

以上两个速度相等。  $k_1 ([E] - [ES]) [S] = k_2[ES]+k_3[ES]$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{\frac{K_2 + K_3}{K_1} + [S]} = \frac{[E][S]}{K_m + [S]}$$

反应速度:

$$V = K_3 [ES] = \frac{K_3 [E][S]}{K_m + [S]} = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

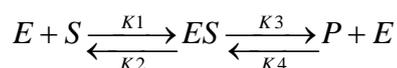
$$K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1}$$

$$V_{\max} = k_3 [E]$$

$K_m$  称米氏常数, 当  $K_m$  及  $V_{\max}$  已知时, 即可确定酶反应速度与底物浓度的关系。

### 3、米氏方程讨论

#### (1) 快速平衡假说与稳态平衡假说的实质区别



当  $K_1、K_2 \gg K_3$  时, 即  $ES \longrightarrow P$  是整个反应平衡中极慢的一步, 那么

$$K_m = \frac{K_2 + K_3}{K_1} \approx \frac{K_2}{K_1} \approx K_s$$

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \approx \frac{V_{\max} [S]}{K_s + [S]}$$

这就是早年提出的米氏方程

因此说, 稳态平衡 = 快速平衡 + 慢速平衡,

当  $ES \longrightarrow P$  (即  $K_3/K_1$ ) 极慢时, 稳态平衡基本等于快速平衡

**(2)  $K_m$  的物理意义**

当反应速度  $v=1/2 V_{\max}$  时,  $K_m = [S]$ ,

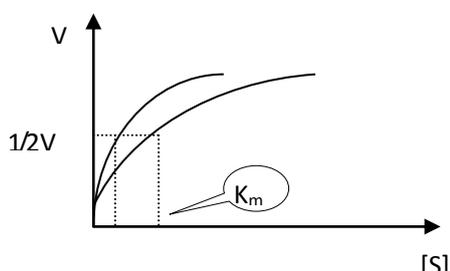
**$K_m$  的物理意义是:** 当反应速度达到最大反应速度的一半时底物的浓度。

**单位:** 与底物浓度的单位一致,  $\text{mol L}^{-1}$  或  $\text{mmol L}^{-1}$

$K_m$  是酶的特征常数之一。一般只与酶的性质有关, 与酶的浓度无关。不同的酶  $K_m$  值不同。

**(3)  $K_m$  与天然底物**

如果一个酶有几种底物, 则每一种底物各有一个特定的  $K_m$ , 其中  $K_m$  最小的底物称该酶的最适底物或天然底物。因为  $K_m$  愈小 (达到  $V_{\max}$  一半所需的底物浓度愈小) 表示  $V$  变化越灵敏底物。

**(4)  $K_m$ 、 $K_s$  与底物亲和力**

$K_m$  称米式常数,  $K_m = (K_2 + K_3) / K_1$ , 从某种意义上讲,  $K_m$  是 ES 分解速度 ( $K_2 + K_3$ ) 与形成速度 ( $K_1$ ) 的比值, 它包含 ES 解离趋势 ( $K_2 / K_1$ ) 和产物形成趋势 ( $K_3 / K_1$ )。

$K_s$  称为底物常数,  $K_s = K_2 / K_1$ , 它是 ES 的解离常数, 只反映 ES 解离趋势, 因此,  $1/K_s$  可以表示酶与底物的亲和力大小 (ES 形成趋势), 不难看出, 底物亲和力大不一定反应速度大 (产物形成趋势,  $K_3 / K_1$ )

只有当  $K_2, K_1 \gg K_3$  时,  $K_m \approx K_s$ , 因此,  $1/K_m$  只能近似地表示底物亲和力的大小。

**(5)  $K_m$  与米式方程的实际用途**

已知  $V$  求  $[S]$ ; 已知  $[S]$  求  $V$

**相对速度 (酶活性中心被占据分数  $Y$ ):**

$$Y = \frac{V}{V_{\max}} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad [S] = \frac{Y}{1-Y} \times K_m$$

当  $v=V_{\max}$  时, 表明酶的活性部位已全部被底物占据,  $v$  与  $[S]$  无关, 只和  $[E]$  成正比。当  $v=1/2 V_{\max}$  时, 表示活性部位有一半被占据。

设定达到最大反应速度的 0.9 倍时, 所需底物浓度为  $[S]_{0.9}$

$$[S]_{0.9}=9K_m$$

同理有:  $[S]_{0.8}=4K_m$ ;  $[S]_{0.7}=2.33K_m$ ;  $[S]_{0.6}=1.5K_m$

$[S]_{0.5}=1K_m$ ;  $[S]_{0.1}=1/9K_m$ ;  $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}=81$ ;  $[S]_{0.7}/[S]_{0.1}=21$

#### 4、 $K_m$ 和 $V_{\max}$ 的求解方法

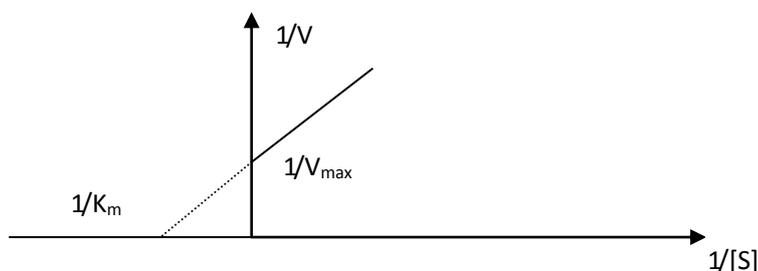
##### (1) 双倒数作图法

要从实验数据所得到的  $v$ - $[S]$  曲线来直接决定  $V_{\max}$  是很困难的, 也不易求出  $K_m$  值。

由米式方程两边取倒数:

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

将实验所得的初速度数据  $v$  和  $[S]$  取倒数, 得各种  $1/v$  和  $1/[S]$  值, 将  $1/v$  对  $1/[S]$  作图, 得



上图  $[S]$  范围在  $0.330-2.0K_m$ , 最适。

若  $[S]$  范围在  $3.3-20 K_m$ , 直线斜率太小。

若  $[S]$  范围在  $0.033-0.2 K_m$ , 直线斜率太大。

如当  $K_m=1 \times 10^{-5} \text{mol/L}$  时, 实验所取底物浓度范围应在  $0.33 \times 10^{-5} - 2.0 \times 10^{-5} \text{mol/L}$ 。

一般选底物浓度应考虑能否得到  $1/[S]$  的常数增量。

##### (2) $v-V/[S]$ 作图法

#### 三、多底物的酶促反应

前面讨论的米氏方程（推导米氏方程时用的是单底物），适用于单底物酶促反应，如异构、水解及大部分裂合反应，不适用于多底物反应。

A、B、C 表示底物，按照底物与酶的结合顺序，产物则按它们从酶产复合物中释放次序分别用 P、Q、R 表示。

双底物酶促反应已知有三种机理

### 1、有序顺序反应机理

底物 A、B 与酶结合的顺序是一定的，产物 P、Q 的释放顺序也是一定的。

举例：P251 乙醇脱氢酶

### 2、随机顺序反应机理

底物 A、B 与酶结合的顺序是随机的，产物 P、Q 的释放顺序也是随机的。

### 3、乒乓反应机理

先结合第一个底物 A，释放第一个产物 P，酶的构象发生变化，结合第二个底物 B，释放第二个产物 Q。

## 四、pH 对酶促反应速度的影响

### 1. pH 影响酶活力的因素

①影响酶蛋白构象，过酸或过碱会使酶变性。

②影响酶和底物分子解离状态，尤其是酶活性中心的解离状态，最终影响 ES 形成。

③影响酶和底物分子中另一些基团解离，这些基团的离子化状态影响酶的专一性及活性中心构象。

### 2. 酶的最适 pH 和稳定性 pH

**最适 pH:** 使酶促反应速度达到最大时的介质 pH。

**稳定性 pH:** 在一定 pH 范围内，酶不会变性失活，此范围称酶的稳定性 pH。

## 五、温度对酶促反应速度的影响

### 1. 最适温度及影响因素

温度对酶促反应速度的影响有两个方面：

①提高温度，加快反应速度。

②提高温度，酶变性失活。

这两种因素共同作用，在小于最适温度时，前一种因素为主；在大于最适温度时，后一种因素为主。最适温度就是这两种因素综合作用的结果。

**温度系数  $Q_{10}$ :** 温度升高  $10^{\circ}\text{C}$ ，反应速度与原来的反应速度之比， $Q_{10}$  一般为 1~2。

温血动物的酶，最适温度  $35^{\circ}\text{C}$ — $40^{\circ}\text{C}$ ，植物酶最适温度  $40^{\circ}\text{C}$ — $50^{\circ}\text{C}$ ，细菌 Taq DNA 聚合酶  $70^{\circ}\text{C}$ 。

## 2. 酶的稳定性温度

在某一时间范围内，酶活性不降低的最高温度称该酶的稳定性温度。

酶的稳定性温度有一定的时间限制。

**稳定性温度范围的确定方法:** 将酶分别在不同温度下预保温一定时间，然后回到较低温度（即酶的热变性失活作用可忽略的温度），测酶活性。酶浓度高、不纯、有底物、抑制剂和保护剂会使稳定性温度增高。

**酶的保存:**

①液体酶制剂可以利用上述 5 种因素中的几种，低温（几个月）。

②干粉，可在室温下放置一段时间，长期保存，应在低温冰箱中。

## 六、酶浓度对酶促反应速度的影响

如果底物浓度足够大，使酶饱和，则反应速度与酶浓度成正比。

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

$$V_{\max} = K_3 [E]$$

$$\begin{aligned} V &= \frac{K_3 [E][S]}{K_m + [S]} \\ &= \frac{K_3 [S]}{K_m + [S]} * [E] \end{aligned}$$

[S]过量且不变时， $v \propto [E]$ 。

## 七、激活剂对酶促反应速度的影响

凡是能提高酶活性的物质，都称为激活剂。

**激活剂作用包括两种情况:**

一种是由于激活剂的存在,使一些本来有活性的酶活性进一步提高,这一类激活剂主要是离子或简单有机化合物。

另一种是激活酶原,无活性→有活性,这一类激活剂可能是离子或蛋白质。

### 1、无机离子的激活作用

- (1) 金属离子:  $K^+$ 、 $Na^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Fe^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$
- (2) 阴离子:  $Cl^-$ 、 $Br^-$
- (3) 氢离子

### 2、简单有机分子的激活作用

①还原剂(如 Cys、还原型谷胱甘肽)能激活某些活性中心含有—SH 的酶。

②金属螯合剂(EDTA)能去除酶中重金属离子,解除抑制作用。

## 八、抑制剂对酶促反应速度的影响

酶是蛋白,凡可使酶蛋白变性而引起酶活力丧失的作用称为酶的失活作用。

**抑制作用:**使酶活力下降但并不引起酶蛋白变性的作用称为抑制作用。(不可逆抑制、可逆抑制)

**抑制剂(inhibitor):**不引起酶蛋白变性,但能使酶分子上某些必需基团(活性中心上一些基团)发生变化,引起酶活性下降,甚至丧失,此类物质称为酶的抑制剂。

**研究抑制剂对酶的作用有重大的意义:**

- 4、药物作用机理和抑制剂型药物的设计与开发:抗癌药
- 5、对生物体的代谢途径进行人为调控,代谢控制发酵
- 6、研究酶的活性中心的构象及其化学功能基团,不仅可以设计农药,而且也是酶工程和化学修饰酶、酶工业的基础

### (一)不可逆抑制作用(非专性必、专一性)

抑制剂与酶活性中心基团共价结合,使酶的活性下降,无法用透析法除去抑制剂。

#### 1、非专一性不可逆抑制剂

此类抑制剂可以和一类或几类基团反应。它们不但能和酶分子中的必需基团作用,同时也能和相应的非必需基团作用。

##### (1)酰化剂

二异丙基磷酰氟酯 (DFP, 神经毒气) 和许多有机磷农药都属于磷酰化剂, 能与酶活性中心 Ser 的—OH 结合, 抑制某些蛋白酶及酯酶。这类化合物的作用机理是强烈地抑制与中枢神经系统有关的乙酰胆碱脂酶, 使乙酰胆碱不能分解为乙酰和胆碱。乙酰胆碱的堆积, 引起一系列神经中毒症状。

### (2) 烷化剂

许多有机汞、有机砷都是烷化剂, 可以使酶的巯基烷化

有机汞、有机砷化合物和重金属还可以与还原型硫辛酸(人体重要的辅酶)反应

### (3) 氰化物

与含铁卟啉的酶中的  $Fe^{2+}$  结合, 阻抑细胞呼吸。

### (4) 重金属

Ag、Cu、Hg、Cd、Pb 能使大多数酶失活, EDTA 可解除。

### (5) 还原剂

以二硫键为必需基团的酶, 可以被巯基乙醇、二巯苏糖醇等巯基试剂还原失活。

### (6) 含活泼双键试剂 (与—S H、—NH<sub>2</sub>反应)

N—乙基顺丁烯二酰亚胺

### (7) 亲电试剂

四硝基甲烷, 可使 Tyr 硝基化。

## 2、专一性不可逆抑制

此类抑制剂仅仅和活性部位的有关基团反应。

### (1) K<sub>s</sub> 型专一性不可逆抑制剂

K<sub>s</sub> 型抑制剂不仅具有与底物相似的、可与酶结合的基团, 同时还有一个能与酶的其他基团反应的活泼基团。

**专一性:** 抑制剂与酶活性部位某基团形成的非共价络合物和抑制剂与非活性部位同类基团形成的非共价络合物之间的解离常数不同。

### (2) K<sub>cat</sub> 型专一性不可逆抑制剂

这种抑制剂是根据酶的催化过程来设计的, 它们与底物类似, 既能与酶结合, 也能被催化发生反应, 在其分子中具有潜伏反应基团 (latent reactive group), 该基团会被酶催化而活化, 并立即与酶活性中心某基团进行不可逆结合, 使酶受抑制。此种抑制专一性强, 又是经酶催化后引起, 被称为自杀性底物。

## (二) 可逆抑制作用 Reversible Inhibition

此类抑制剂与酶蛋白的结合是可逆的, 可以用透析法除去抑制剂, 恢复酶

的活性。

### 1、竞争性抑制 (Competitive inhibition)

抑制剂与底物竞争酶的活性中心。

竞争性抑制剂具有与底物类似的结构，可与酶形成可逆的 EI 复合物，阻止底物与酶结合。可以通过增加底物浓度而解除此种抑制。

### 2、非竞争性抑制

**特点：**抑制剂与酶活性中的以外的基团结合，其结构可能与底物无关。

酶可以同时与底物及抑制剂结合，但是，中间产物 ESI 不能进一步分解为产物，因此，酶的活性降低。显然，不能通过增加底物的浓度的办法来消除非竞争性抑制作用。

非竞争性抑制剂多是与酶活性中心之外的巯基可逆结合，包括某些含金属离子的化合物 (Cu<sup>2+</sup>、Hg<sup>2+</sup>、Ag<sup>+</sup>) 和 EDTA,。

### 3、反竞争性抑制

酶只有在与底物结合后，才能与抑制剂结合。E+S→ES+I≠P

#### (三) 可逆抑制作用的动力学

##### 1、竞争性抑制：

动力学方程：

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

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

**竞争性抑制作用小结：**

7、V<sub>max</sub> 不变，K<sub>m</sub> 变大。要达到同一个给定的 V<sub>max</sub> 分数，必须要有比无抑制剂时大得多的底物浓度。

8、竞争性抑制剂对酶促反应的抑制程度，决定于 [I]、[S]、K<sub>m</sub> 和 K<sub>i</sub>

A. [I] 一定，增加 [S]，可减少抑制程度。

B. [S] 一定，增加 [I]，可增加抑制程度 (K<sub>m</sub>' 增加)。

C. K<sub>i</sub> 值较低时，任何给定 [I] 和 [S]，抑制程度都较大，K<sub>i</sub> 越大，抑制作用越小。

D. [I]=K<sub>i</sub> 时，所作双倒数图直线的斜率加倍。

E. 在一定 [S]、[I] 下，K<sub>m</sub> 值愈低，抑制程度愈小。

## 2、非竞争性抑制

动力学方程:

$$V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{[I]}{K_i}} * \frac{[S]}{K_m + [S]}$$

相对速度

$$a = \frac{K_i}{K_i + [I]}$$

抑制分数:

$$i = 1 - \frac{K_i}{K_i + [I]} = \frac{[I]}{K_i + [I]}$$

非竞争性抑制剂可使酶促反应的  $V_{\max}$  降至  $V_{\max}/(1+[I]/K_i)$ ，而对  $K_m$  无影响。它对酶促反应的抑制程度决定于  $[I]$  和  $K_i$ ，与酶的  $K_m$  和  $[S]$  无关。

## 3、反竞争性抑制

### 九、有机介质中的酶促反应（只是一部分酶）

**传统观点：**酶是水溶性生物大分子，只能在水介质中进行催化反应，有机介质会使酶变性。

其实在细胞中，许多生物膜上的酶就是在低极性的微环境中发挥催化功能的。

**优点：**①利于疏水性底物的反应。②可提高酶的热稳定性，提高催化温度。③能催化在水中不能进行的反应。④可改变反应平衡移动方向。⑤可控制底物专一性。⑥防止由水引起的副反应。⑦可扩大 pH 值的适应性等等。

### 1、有机介质中酶促反应的条件

#### (1) 必需水（结合水）

酶催化活性所必需的构象，是由水分子直接或间接地通过氢键等非共价相互作用来维持的，因此只有与酶分子紧密结合的单层水分子，对酶的催化活性才是至关重要的。

这紧紧吸附在酶分子表面，维持酶催化活性所必需的最少量的水称为必需水（或结合水、束缚水）。

酶的活性由必需水决定，而与溶剂里的水含量无关，只要必需水不丢失，其它大部分水即使都被有机溶剂取代，酶仍然保持其催化活性。

#### (2) 对酶的要求

具有对抗有机介质变性的能力。

#### (3) 合适的溶剂及反应体系

#### (4) 合适的 pH

保证有机介质中酶的微环境具有最适 pH 值。酶应从具有最适 pH 值的缓冲液中冻干或沉淀出来。

### 2、有机介质对酶性质的影响

#### (1) 稳定性

大多数酶在低水有机介质中比在水介质中更稳定。

##### a. 热稳定性提高

例如：猪胰脂肪酶在醇和酯中进行催化反应，在 100℃ 半衰期长达 12h，其活性比 25℃ 时还高几倍

##### b. 储存稳定性提高

胰凝乳蛋白酶在 20℃ 时，在水中半衰期只几天。在辛烷中，可放 6 个月，仍保持全部活性。

#### (2) 活性

有两类影响升高活性降低活性

酶的超活性：高于水溶液中酶活性值的活性。

#### (3) 专一性

某些有机溶剂会使某些酶的专一性发生变化，如脂肪酶在有机介质中有合成肽键的功能。星号活力（第二活力）。

#### (4) 反应平衡

有机介质能改变某些酶催化的反应平衡。

#### (5) 分子印迹和 pH 记忆

酶在冻干前可用配体作印迹。

竞争性抑制剂，可诱导酶活性中心构象发生变化，形成一种高活性构象，而此种构象在除去抑制剂后，因酶在有机介质中的高度刚性而得到保持。

pH 记忆：

酶在有机介质中能“记住”它最后存在过的水溶液的 pH 值，因该 pH 值决定了酶分子上有关基团的解离状态，这种状态在冻干过程和分散到有机介质中之后仍得到保持。

### 第四节酶的作用机理

#### 一、专一性的机理

##### (一) 酶专一性类型

一般说来，一种分子能成为某种酶的底物，必须具备两个条件：

分子上有被酶作用的化学键。分子上有一个或多个结合基团能与酶活性中

心结合。

### 1、结构专一性

#### (1) 键专一性 (对底物结构要求最低)

酶只对其作用的键有要求，而对键两侧基团无特殊要求。

#### (2) 基团专一性 Group Specificity

酶不仅对键有要求，还对键一端基团有要求，但对另一端基团要求不严格。

#### (3) 绝对专一性

酶只能作用于一个底物，或只催化一个反应。

### 2、立体异构专一性

#### (1) 旋光异构专一性

当底物具有旋光异构体时，酶只能作用于其中的一种异构体，它是酶促反应中相当普遍的现象。

#### (2) 几何异构专一性

顺式反式异构体。立体化学专一性还表现在酶能区分从有机化学观点看属于对称分子中的两个等同的基团，只催化其中一个，而对另一个无作用。

### (二) 酶作用专一性的解释

#### 1、三点结合及锁钥模型 (刚性模板学说)

底物结合部位由酶分子表面的凹槽或空穴组成，这是酶的活性中心，它的形状与底物分子形状互补。底物分子或其一部分像钥匙一样，可专一地插入酶活性中心，通过多个结合位点的结合，形成酶—底物复合物，同时酶活性中心的催化基团正好对准底物的有关敏感键，进行催化反应。

三点结合学说指出，底物分子与酶活性中心的基团必须三点都互补匹配，酶才作用于这个底物。

刚性模板学说较好地解释了立体专一性，但不能解释酶专一性中所有的现象，如既能催化正反应，又能催化逆反应；那么，酶的结构不可能既适合于底物又适合于产物。

#### 2、诱导契合模型

酶分子与底物分子接近时，酶蛋白质受底物分子诱导，构象发生有利于与底物结合的变化，酶与底物在此基础上互补契合，进行反应。

### 二、高效性的机理

#### 1、邻近效应与定向效应

酶把底物分子 (一种或两种) 从溶液中富集出来，使它们固定在活性中心附近，反应基团相互邻近，同时使反应基团的分子轨道以正确方位相互交叠，

反应易于发生。

两种效应对反应速度的影响

- ①使底物浓度在活性中心附近很高
- ②酶对底物分子的电子轨道具有导向作用
- ③酶使分子间反应转变成分子内反应
- ④邻近效应和定向效应对底物起固定作用

## 2、扭曲变形和构象变化的催化效应

酶中某些基团可使底物分子的敏感键中某些基团的电子云密度变化，产生电子张力。

环状反应物 I 水解开环，环扭曲能量大量释放，加速反应。

底物与酶蛋白接触，加速反应。

- ①酶从低活性形式转变为高活性形式
- ②底物扭曲、变形
- ③底物构象变化，变得更像过渡态结构，大大降低活化能。

## 3、共价催化

酶作为亲核基团或亲电基团，与底物形成一个反应活性很高的共价中间物，此中间物易变成过渡态，反应活化能大大降低，提高反应速度。

- ①亲核共价催化：丝氨酸羟基、Cys 的-SH、His 的咪唑基。
- ②亲电共价催化：亲电基团攻击底物的富电子基团

## 4、酸碱催化

酶分子的一些功能基团起质子供体或质子受体的作用。

参与酸碱催化的基团：氨基、羧基、巯基、酚羟基、咪唑基。

影响酸碱催化反应速度的两个因素

(1)酸碱强度，咪唑基在 pH6 附近给出质子和结合质子能力相同，是最活泼的催化基团。

(2)给出质子或结合质子的速度，咪唑基最快

- ①酸催化酯、酰胺和肽的水解

**过程：**共轭酸与  $>C=O$  氧形成氢键，使  $>C=O$  碳带更多正电荷，更易吸引  $H_2O$  分子上的氧，降低  $>C=O$  碳与  $H_2O$  氧形成共价键的活化能；接着，共轭酸将  $H^+$  转移给  $>C=O$  氧，自己成为共轭碱，并从  $H_2O$  分子吸引一个  $H^+$ ，回复原状。

- ②碱催化酯、酰胺水解

**过程：**共轭碱先与  $H_2O$  中 H 形成氢键，使  $H_2O$  中氧的电负性增强，更易对  $>C=O$  碳进行亲核进攻，降低碳氧键生成的活化能。

## 5、活性中心的微环境

### (1)疏水环境

酶活性中心附近往往是疏水的，介电常数低，可加强极性基团间的反应。

### (2)电荷环境

在酶活性中心附近，往往有一电荷离子，可稳定过渡态的离子，增加酶促反应速度。如溶菌酶 Asp52 带负电荷，可以稳定过渡态的正离子。

酶催化反应的高效性，可能是由于以上五种因素中的几种因素协同作用的结果，而非酶催化反应往往只有一种催化机制。

## 三、某些酶的活性中心及其作用机理

### (一) 酶的活性中心

#### 1、活性中心的概念

对于不需要辅酶的酶来说，活性中心就是酶分子在三维结构上比较靠近的少数几个氨基酸残基或是这些残基的某些基团，它们在一级结构上相距可能很远，通过肽链的盘绕、折叠而在空间构象上相互靠近。

对于需要辅酶的酶来说，辅酶分子或辅酶分子的某一部分结构往往就是活性中心的组成部分。

一般认为，活性中心有两个功能部位：底物结合部位，催化部位

活性中心外的部位为活性中心的形成提供了结构基础。

#### 2、活性中心的氨基酸残基

有七种 a.a 在酶活性中心出现的频率最高，它们是 Ser、His、Cys、Tyr、Asp、Glu、Lys。

活性中心的 a.a 残基往往分散在相互较远的 a.a 顺序中，有的甚至分散在不同的肽链上。

##### (1) 接触残基

它们与底物接触，参与底物的化学转变，此类 a.a 残基的一个或几个原子与底物分子中一个或几个原子的距离都在一个键距离之内 (1.5-2Å)。

它们的侧链起与底物结合作用的称为结合基团，起催化作用的称为催化基团。

##### (2) 辅助残基

它不与底物接触，而是在使酶与底物结合及协助接触残基发挥作用方面起作用。

##### (3) 结构残基

在维持酶分子正常三维构象方面起重要作用，它们与酶活性相关，但不在

酶活性中心范围内，属于酶活性中心以外的必需残基

#### (4) 非贡献残基（非必需基团）

它们对酶活性的显示不起作用，可由其它 a.a 代替，且在酶分子中占很大比例。

它们可能在免疫，酶活性调节，运输转移，防止降解等方面起作用。

接触残基结合底物作用（结合残基）

活性中心辅助残基催化作用（催化基团）

必需基团

酶蛋白活性中心外（结构残基）非必需基团

### 3、活性中心区域的一级结构

由于一些酶的活性中心一级结构结构与催化机理极其相似，可把它们归为一族。

**蛋白水解酶就有几个族：**

(1) 丝氨酸蛋白酶（胰凝乳蛋白酶、胰乳蛋白酶、弹性蛋白酶、枯草杆菌蛋白酶等）

(2) 锌蛋白酶（羧肽酶等）

(3) 巯基蛋白酶（木瓜蛋白酶等）

(4) 羧基蛋白酶（胃蛋白酶等）

### 4、判断和研究活性中心的主要方法

(1) 通过酶的专一性 (2) 酶的化学修饰法 (3) 亲和标记法 (4) X 射线晶体衍射法

#### (二) 酶作用机理举例

##### 1、胰凝乳蛋白酶的作用机理：

###### (1) 专一性

该酶需要底物有一个疏水基团结合于酶上的疏水部位，这个结合起定位作用，使底物敏感键对准酶的催化基团。疏水定位基团：Phe、Tyr、Trp

###### (2) 催化机理

①活性中心：Ser195—His57—Asp102，三者构成一个氢键体系，His57 的咪唑基是 Ser195 的羟基和 Asp102 的羧基之间的桥梁，这个氢键体系称为电荷中继网（charge relay network）。通过电荷中继网，进行酸碱催化及共价催化。Ser195 由于 His57 和 Asp102 的影响而成为很强的亲核基团，它是活性中心的底物结合部位，His57 是活性中心的催化部位。

## 9、胰凝乳蛋白酶对多肽的水解过程

**第一阶段酰化：**Ser195--OH 中的氧攻击肽键的羰基碳，形成四联体过渡态（Ser195—OH、底物的酰基、底物的氨基、His 的咪唑），敏感肽键断裂，底物中的胺成分通过氢键与酶的 His57 咪唑基相连，底物的羧基部分酯化到 Ser195 的羟基上。

**第二阶段脱酰：**电荷中继网从水中吸收一个质子，结果产生的 OH<sup>-</sup> 攻击连在 Ser195 上底物的羧基碳原子，形成四联体过渡态，然后 His57 供出一个质子给 Ser195 上的氧原子，结果底物中的酸成分从 Ser195 上释放。

### 第五节多酶体系与酶活性的调节控制

#### 一、多酶体系

##### （一）多酶体系及其分类

**多酶体系：**multienzyme system 在完整细胞内的某一代谢途径中，由几个酶形成的反应链体系。

可分为三种类型：可溶性的（分散性的），结构化的（多酶复合体），在细胞结构上有定位关系的（结构化程度更高）。

##### （二）多酶体系的自我调节

（1）大部分具有自我调节能力的多酶体系，第一步反应就是限速步骤，它控制着全部反应序列的总速度。

##### （2）反馈抑制与底物激活

催化第一步反应的酶，大多都是别构酶，能被全部反应序列的最终产物所抑制，有时则是反应序列分叉处的酶受到最终产物的抑制，称为反馈抑制；有的被底物激活

**正调节物：**一般是别构酶的底物，可以激活别构酶。

**负调节物：**可以抑制别构酶，一般是代谢序列的最终产物。

#### 二、酶活性的调节控制和调节酶

**调节酶：**活性可被调节的酶，主要是别构酶和共价调节酶。

##### （一）别构效应的调控

**别构效应：**调节物（效应物）与别构酶分子中的别构中心（调节中心）结合后，诱导产生或稳定住酶分子的某种构象，使酶活性中心对底物的结合催化作用受到影响，从而调节酶促反应的速度。

#### 1、别构酶的结构特点和性质

已知的别构酶都是寡聚酶，含有两个或两个以上亚基

具有活性中心和别构中心（调节中心），活性中心负责底物结合和催化，

别构中心负责调节酶反应速度。活性中心和别构中心处在不同的亚基

上或同一亚基的不同部位上。

多数别构酶不止一个活性中心，活性中心间有同种效应，底物就是调节物：有的别构酶不止一个别构中心，可以接受不同的代谢物的调节。别构酶由于同位效应和别构效应，不遵循米氏方程，动力学曲线也不是典型的双曲线型，而是 S 型（同位效应为正协同效应）和压低的近双曲线（同位效应为负协同效应）。

## 2、别构酶的动力学曲线

### ①同位效应为正协同效应的别构酶是 S 型曲线

这种 S 形曲线体现为，当底物浓度发生较小变化时，别构酶可以极大地控制反应速度，这是别构酶可以灵活地调节反应速度的原因。

米氏酶： $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}=81$

别构酶： $[S]_{0.9}/[S]_{0.1}=3$

表明当底物浓度发生较小变化时，如上升 3 倍，别构酶的酶促反应速度可以从  $0.1V_{\max}$  升至  $0.9V_{\max}$ 。

当增加正调节物浓度时  $K_m$  减小，亲和力增大，协同性减小；当增加负调节物的浓度时  $K_m$  增加，亲和力减小，协同性增大（对底物浓度的反应灵敏度增加）。

### ②同位效应为负协同效应的别构酶是近似双曲线

负协同效应时酶的反应速度对底物浓度的变化不敏感

## 3、别构酶调节活性的机理

### ①序变模型：

酶分子中亚基结合底物后，构象逐个地依次变化。

### ②齐变模型：

## 4、别构酶的鉴定

①S 型曲线是必要但不充分条件

②脱敏作用

③ $[S]_{0.9} / [S]_{0.1}$

$R_s=81$  米氏酶  $R_s<81$  正协同  $R_s>81$  负协同

④ Hill 系数法

### （二）可逆共价修饰的调控（共价调节酶）

共价调节酶：酶分子被其它的酶催化进行共价修饰，从而在活性形式与非活性形式之间相互转变。

信号的级联放大：

1 分子磷酸化酶激酶，活化生成几千个磷酸化酶 a

1 分子磷酸化酶 a, 催化生成几千个 1-P-G

共价调节酶的两种常见类型

①磷酸化去磷酸化  $\rightleftharpoons$  -OH ATP

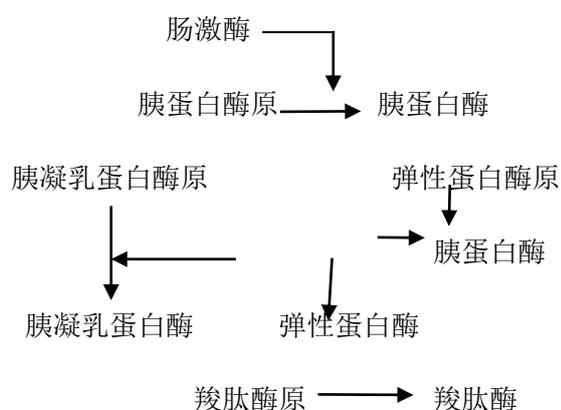
②腺苷酰化脱腺苷酰化腺苷酰基由 ATP 提供

### (三) 酶原的激活

具有不可逆性。属于此类的有消化系统中的酶(胰蛋白酶, 胰凝乳蛋白酶, 胃蛋白酶)和血液凝固系统中的酶。

#### 1、胰凝乳蛋白酶原的激活(由胰蛋白酶激活)

#### 2、胰蛋白酶对胰脏蛋白酶原的激活



### (四) 专一性调控蛋白(调控因子)对酶活性的调节控制

钙调蛋白、激素结合蛋白, 促进或抑制特异的酶活性

### 第六节酶与抗体——抗体酶 abzyme(antibody enzyme)

又称催化性抗体(catalytic antibody), 是一种具有催化功能的抗体分子。

**过渡态理论:** 酶与底物不是在基态, 而是在过渡态结构互补, 亲和力最强, 释放出的结合能使过渡态结合物能级降低, 利于反应物分子越过能垒, 加速反应。而抗体与抗原是基态结合。

### 第七节同工酶、诱导酶

#### 一、同工酶

能催化同一种化学反应, 但其酶蛋白本身的分子结构不同的一组酶, 存在于生物的同一种属或同一个体的不同组织中, 甚至同一组织、同一细胞中。

哺乳动物乳酸脱氢酶有 5 种

#### 二、诱导酶

酶可相对地区分为结构酶和诱导酶。

**结构酶:** 指正常细胞内存在的酶, 它的含量较稳定, 受外界因素影响很小。

**诱导酶:** 在正常细胞中含量极少或没有, 当细胞中加入特定诱导物后, 诱导产生的酶, 含量在诱导物存在下显著增高, 诱导物往往是该酶的底物或底物类似物。

### 【讨论提问】

1. 如果有一酶促反应其  $(S) = 1/2K_m$ , 则  $v$  值应等于多少  $V_{max}$ ?

A. 0. 25    B. 0. 33    C. 0. 50    D. 0. 67    E. 0. 75

2. 有机磷杀虫剂对胆碱酯酶的抑制作用属于:

A. 可逆性抑制作用    B. 竞争性抑制作用    C. 非竞争性抑制作用

D. 反竞争性抑制作用    E. 不可逆性抑制作用

### 【本章小结】

酶是一类具有高效率、高度专一性、活性可调节的高分子生物催化剂。通过本章学习认识酶的本质, 理解酶的特征、催化作用和催化机制。清楚辅酶的结构并把它与维生素和核苷酸联系起来。结合酶的化学本质和催化机制学习各种影响酶反应速率的因素。本章着重介绍酶的化学本质、结构、特性和功能、酶反应动力学和酶的作用。联系维生素的基础上, 对各种重要辅酶和辅基的结构与有关酶反应关系更作了扼要的阐述。对调节酶、同工酶、诱导酶等术语的含义和重要性也作了必要的介绍。

### 【课后作业】

1、 什么叫酶? 酶与一般非酶蛋白质和无机催化剂有何区别?

2、 酶有八大类? 每类的典型公用为何?

3、 哪些因素可影响酶的反应速率?

4、  $K_m$  的意义是什么?  $K_m$  的数值说明什么?

### 教学反思

影响酶促反应速度的因素是一个难点, 特别有关  $K_m$  值、 $V_m$  的计算方面需要多做练习才能理解深刻。

## 第七章维生素化学

|               |   |
|---------------|---|
| <b>教学目标</b>   | 了解维生素的概念及其重要性；维生素命名原则及分类方法。掌握脂溶性维生素：维生素 A、D、E、K 的生物学功能及其缺乏症。掌握 B 族维生素、维生素 C 的生物学功能及其缺乏症，重点掌握 B 族维生素与辅酶的关系及辅酶与整个物质代谢的关系。   |
| <b>教学重点</b>   | ① 各种维生素的结构、性质和功能<br>② 维生素与辅酶的关系   |
| <b>教学难点</b>   | ① 维生素缺乏症<br>② 维生素与辅酶的关系   |
| <b>学时分配</b>   | 第一节脂溶性维生素      1 学时<br>第二节水溶性维生素 1 学时   |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法   |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体  |
| <b>知识结构体系</b> | <pre> graph LR     A[维生素化学] --- B[维生素总论]     B --- C[概述]     B --- D[发现与认识]     C --- E[命名]     C --- F[分类]     E --- G[各种维生素结构及性质]     E --- H[各种维生素生理功能及缺乏症]     F --- I[脂溶性维生素]     F --- J[水溶性维生素]     I --- K[各种维生素结构及性质]     I --- L[各种维生素生理功能及缺乏症]     J --- M[各种维生素结构及性质]     J --- N[各种维生素生理功能及缺乏症]     </pre> |

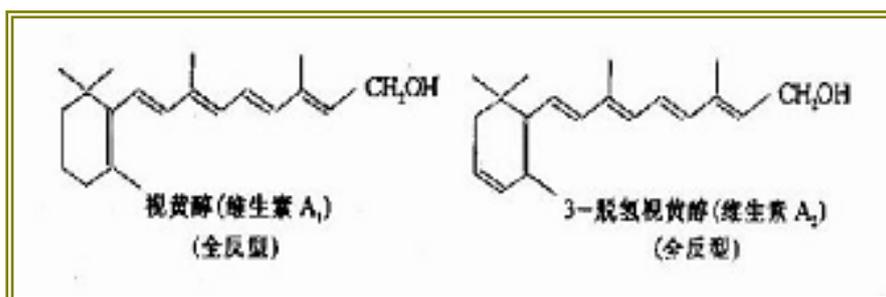
| 授课题目   | 维生素化学 | 授课序次 | 14    |
|--|-------|------|-------|
| 总学时数   | 2 学时  | 授课时长 | 80 分钟 |
| 教学过程及授课内容  |       |      | 备注    |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>长期缺乏某种维生素，会导致维生素缺乏症。对人体、动物体，多数维生素是体内不能合成或合成量不能满足机体的需要，必须从食物中摄取，属外源性物质。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节 维生素总论</b></p> <p><b>一、概述</b></p> <p>维生素 (vitamin) 是机体维持正常功能所必需，但在体内不能合成或合成量很少，必须由食物供给的一组低分子量有机物质。</p> <p>维生素的功能通常是作为酶的辅助因子 (辅酶与辅基)。因此，它对动物体正常生长与健康是必需的。</p> <p><b>二、维生素的发现与认识：来自医学实践</b></p> <p><b>三、命名与分类</b></p> <p><b>(一) 命名：采用习惯法</b></p> <p>用拉丁字母 A、B、C、D……来命名，但这些字母不表示发现该种维生素的历史次序(维生素 A 除外)，也不说明相邻维生素之间存在什么关系。</p> <p><b>(二) 分类</b></p> <p>维生素的种类繁多，化学结构差异很大，通常按溶解性质将其分为脂溶性维生素 (lipid-soluble vitamins) 和水溶性维生素 (water-soluble vitamins) 两大类。根据分布情况，水溶性维生素又可分为 B 族维生素与维生素 C 两类。</p> <p><b>1、脂溶性维生素</b></p> <p>(1) 维生素 A：又名抗干眼病维生素，或视黄醇。</p> <p>(2) 维生素 D：又名抗佝偻病维生素，或钙化醇。</p> <p>(3) 维生素 E：又名抗不育维生素或生育酚。</p> <p>(4) 维生素 K：又名凝血维生素。</p> |       |      |       |

## 第二节脂溶性维生素

脂溶性维生素包括维生素 A、D、E、K，它们不溶于水，而溶于脂类及脂肪溶剂。脂溶性维生素在食物中与脂类共同存在，并随脂类一同吸收。吸收后的脂溶性维生素在血液中与脂蛋白及某些特殊的结合蛋白特异地结合而运输。

### 一、维生素 A

#### (一) 结构

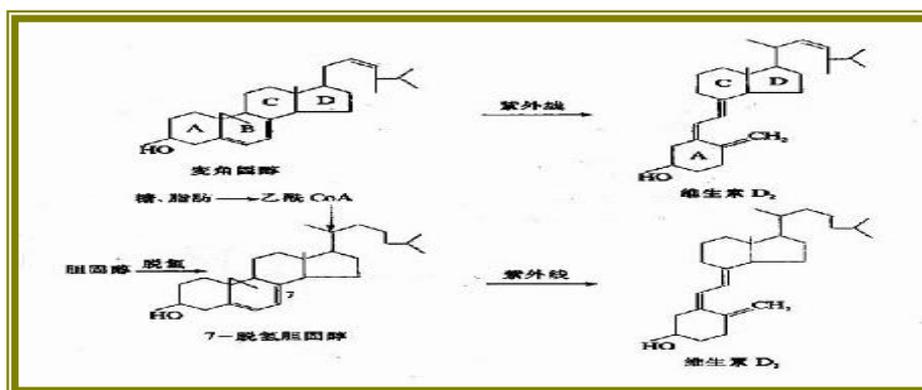


#### (二) 生理功能及缺乏症

1. 维生素 A 是视觉细胞内感受弱光的物质——视紫红质的组成成分
2. 维生素 A 也是维持上皮组织的结构与功能所必需的物质。

### 二、维生素 D

#### (一) 结构



#### (二) 生理功能及缺乏症

具有生物活性的 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> 的靶细胞是小肠粘膜、肾及肾小管。主要的作用是促进钙及磷的吸收，有利于骨的生成、钙化。当缺乏维生素 D 时，儿童可发生佝偻病，成人引起软骨病。

### 三、维生素 E

#### (一) 结构与性质



维生素 E 又称生育酚 (tocopherol), 有六种, 其中四种 α、β、γ 和 δ 种有生物活性。自然界以 α-生育酚 (结构如下图) 分布最广。维生素 E 在无氧条件下对热稳定, 但对氧十分敏感, 易自身氧化, 能避免脂质过氧化物的产生, 因而能保护生物膜的结构和功能。

#### (二) 生理功能及缺乏症

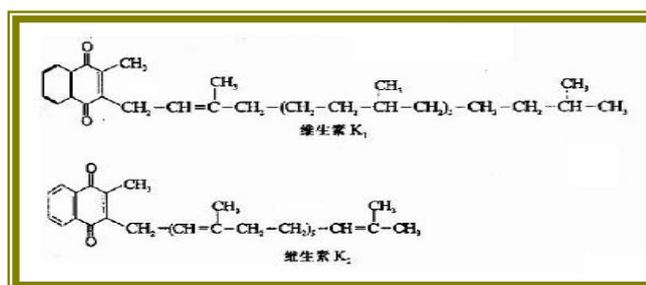
1. 维生素 E 是体内最重要的抗氧化剂, 能避免脂质过氧化物的产生, 保护生物膜的结构与功能。

2. 维生素 E 俗称生育酚, 动物缺乏维生素 E 时其生殖器官发育受损甚至不育, 但人类尚未发现因维生素 E 缺乏所致的不育症。临床上常用维生素 E 来治疗先兆流产及习惯性流产。

3. 促进血红蛋白代谢。新生儿缺乏维生素 E 时可引起贫血, 这可能与血红蛋白合成减少及红细胞寿命缩短有关。所以孕妇、哺乳期的妇女及新生儿应注意补充维生素 E。维生素 E 一般不易缺乏, 在某些脂肪吸收障碍等疾病时可引起缺乏, 表现为红细胞数量减少, 寿命缩短, 体外实验可见红细胞脆性增加等贫血症, 偶可引起神经障碍。

### 四、维生素 K

#### (一) 结构



## (二) 生理功能及缺乏症

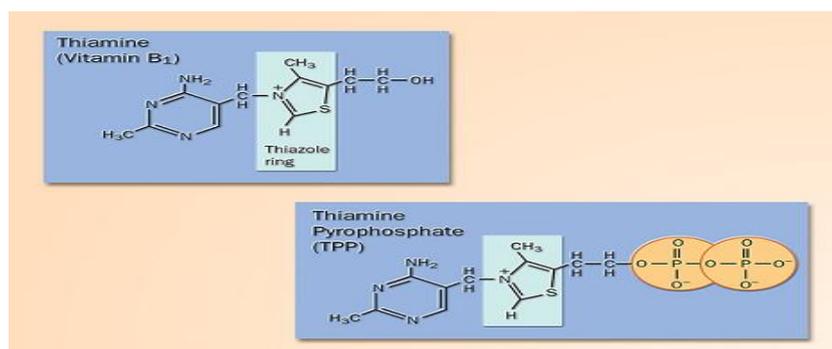
维生素 K 的主要生化作用是维持体内的第 II、IX、X 凝血因子在正常水平。这些凝血因子由无活性型向活性型的转变需要前体的 10 个谷氨酸残基 (Glu) 经羧化变为  $\gamma$ -羧基谷氨酸 (Gla)。Gla 具有很强的整合  $\text{Ca}^{2+}$  能力,因而使其转变为活性型。催化这一反应的为  $\gamma$ -羧化酶, 维生素 K 为该酶的辅助因子。

成人每日对维生素 K 的需要量为 60~80 $\mu\text{g}$ , 因维生素 K 广泛地分布于动植物, 且体内肠道中的细菌也能合成, 一般不易缺乏。但因维生素 K 不能通过胎盘, 出生后肠道内又无细菌, 所以新生儿有可能引起维生素 K 的缺乏。在正常小儿血液中的维生素 K 也可能稍低, 但进食可使其恢复正常。

维生素 K 缺乏的主要症状是凝血时间延长。长期应用抗生素及肠道抗菌药也可引起维生素 K 缺乏。

### 第三节水溶性维生素

#### 一、维生素 B1



## (二) 生理功能及缺乏症

以 TPP 形式参与糖代谢, 为丙酮酸、 $\alpha$ -酮戊二酸氧化脱羧酶系的辅酶。缺 VB1, TPP 不能合成, 糖类物质代谢中间产物  $\alpha$ -酮酸不能氧化脱羧而堆积, 造成“脚气病”。

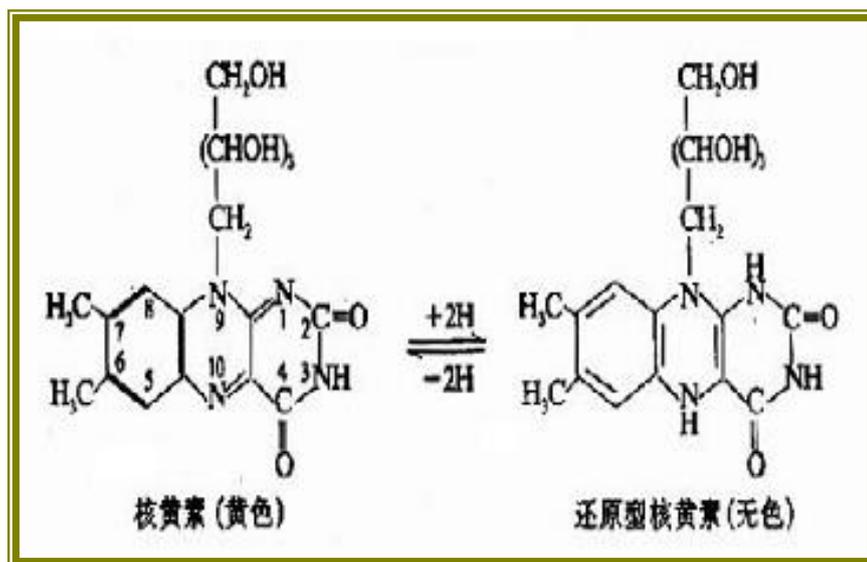
VB1 可抑制胆碱酯酶的活性, 减少乙酰胆碱水解。乙酰胆碱有增加肠道蠕动及腺体分泌的作用, 有助于消化。缺 VB1, 消化液分泌减少, 肠胃蠕动减少, 出现食欲不振, 消化不良。

#### 二、维生素 B2

##### (一) 结构及性质

维生素 B2 又名核黄素(riboflavin), 因其溶液呈黄色而得名。它的异咯嗪环

上的第 1 及第 10 位氮原子与活泼的双键连接，此这两个氮原子可反复接受或



释放氢，因而具有可逆的氧化还原性。

### (二) 生理功能及缺乏症

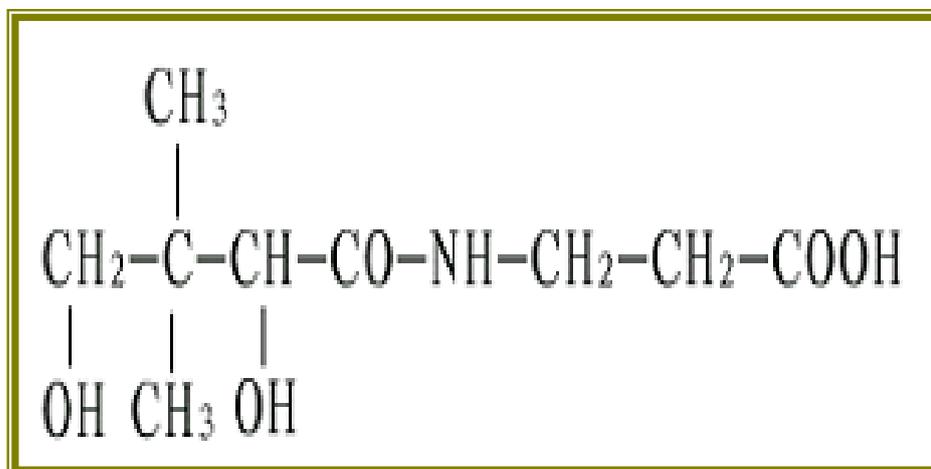
核黄素以辅酶 FMN 及 FAD 的形式参与体内各类氧化还原反应，与糖、脂和氨基酸代谢密切相关，在代谢中主要起氢传递体的作用。

维生素 B2 缺乏时，可引起口角炎、唇炎、阴囊炎、眼睑炎、羞明等症。

成人每日需要量为 1.2~1.5mg，常用红细胞中的谷胱甘肽还原酶活性来检查体内维生素 B2 的含量。

## 三、泛酸

### (一) 结构

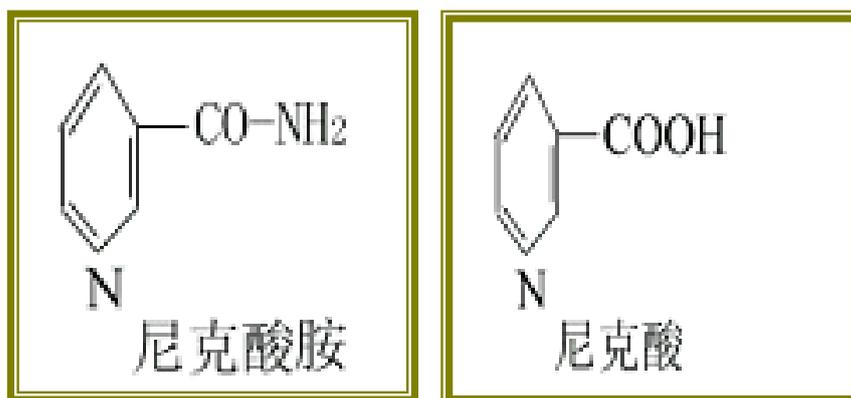


### (二) 生理功能及缺乏症

在体内 C0A 及 ACP 构成酰基转移酶的辅酶，广泛参与糖、脂类、蛋白质代谢，约有 70 多种酶需 C0A 及 ACP。因泛酸广泛存在于生物界，所以很少见泛酸缺乏症，但在二战时的远东战俘中曾有“脚灼热综合征”，为泛酸缺乏所致。

#### 四、维生素 PP

##### (一) 结构及性质



##### (二) 生理功能及缺乏症

NAD<sup>+</sup>和 NADP<sup>+</sup>在体内是多种不需氧脱氢酶的辅酶，分子中的尼克酰胺部分具有可逆的加氢及脱氢的特性。

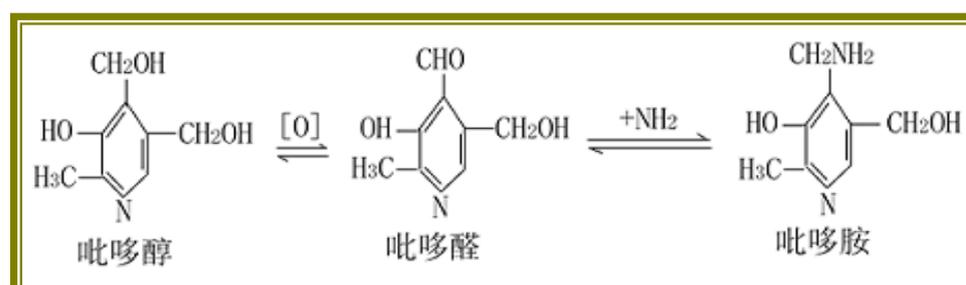
人类 VPP 缺乏症称为癞（糙）皮病（pellagra），PP 来自于拉丁文癞皮病防治一词（pellagra preven-talive），癞皮病主要表现是皮炎、腹泻及痴呆。皮炎常呈对称性，并出现于暴露部位；痴呆是因神经组织变性的结果。

抗结核药物异烟肼的结构与维生素 PP 十分相似，二者有拮抗作用，长期服用可能引起维生素 PP 缺乏。

最近尼克酸临床作为降胆固醇的药物，尼克酸能抑制脂肪组织的脂肪分解，从而抑制 FFA 的动员，可使肝中 VLDL 的合成下降，起到降胆固醇作用。

#### 五、维生素 B6

##### (一) 结构



## (二) 生理功能及缺乏症

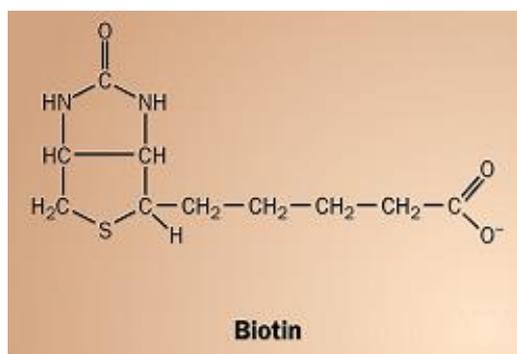
磷酸吡哆醛是氨基酸代谢中的转氨酶及脱羧酶的辅酶，能促进谷氨酸脱羧，增进  $\gamma$ -氨基丁酸的生成， $\gamma$ -氨基丁酸是一种抑制性神经递质。临床上常用维生素 B6 对小儿惊厥及妊娠呕吐进行治疗。

磷酸吡哆醛作为糖原磷酸化酶的重要组成部分，参与糖原分解为 1-磷酸葡萄糖的过程。肌磷酸化酶所含的维生素 B6 约占全身维生素 B6 的 70%~80%。

人类未发现维生素 B6 缺乏的典型病例。异烟肼能与磷酸吡哆醛结合，使其失去辅酶的作用，所以在服用异烟肼时，应补充维生素 B6。

## 六、生物素

### (一) 结构及性质



### (二) 生理功能及缺乏症

生物素是体内多种羧化酶的辅酶，如丙酮酸羧化酶等，参与  $\text{CO}_2$  的固定过程。在组织内生物素的分子侧链中，戊酸的羧基与酶蛋白分子中的赖氨酸残基上的  $\epsilon$ -氨基通过酰胺键共价结合，形成羧基生物素-酶复合物，又称生物胞素 (biocytin)。

生物胞素可将活化的羧基转移给酶的相应的底物。生物素来源极广泛，人体肠道细菌也能合成，很少出现缺乏症。新鲜鸡蛋中有一种抗生物素蛋白 (avidin)，它能与生物素结合使其失去活性并不被吸收，蛋清加热后这种蛋白便被破坏，也就不再妨碍生物素的吸收。长期使用抗生素可抑制肠道细菌生长，也可能造成生物素的缺乏，主要症状是疲乏、恶心、呕吐、食欲不振、皮炎及神经过敏等

## 七、叶酸

### (一) 结构及性质



**(二) 生理功能及缺乏症**

1. 促进胶原蛋白的合成。
2. 体内的胆固醇正常时有 40% 要转变成胆汁酸。
3. 肾上腺皮质含有大量维生素 C。
4. 维生素 C 参与芳香族氨基酸的代谢。
5. 有维生素 C 存在下，铁的吸收增加明显。
6. 维生素 C 参与体内氧化还原反应

**【讨论提问】**

指出下列症状分别是由于哪种(些)维生素缺乏引起的? (1)脚气病(2)坏血病

答案: (1)维生素B<sub>1</sub> (2)维生素C (3)维生素D (4)维生素A (5)维生素B<sub>6</sub> (6)维生素D (7)维生素K (8)维生素B<sub>12</sub>

(3)佝偻病(4)干眼病(5)蟾皮病(6)软骨病(7)新生儿出血(8)巨红细胞贫血

**【本章小结】**

通过本章学习了解维生素的概念及其重要性;维生素命名原则及分类方法。掌握脂溶性维生素:维生素 A、D、E、K 的生物学功能及其缺乏症。掌握 B 族维生素、维生素 C 的生物学功能及其缺乏症,重点掌握 B 族维生素与辅酶的关系及辅酶与整个物质代谢的关系。本章着重介绍各种维生素的结构、性质和功能,特别注意与辅酶的关系。

**【课后作业】**

- 1、试简要总结维生素 A、D、E、K 的功能。
- 2、试述维生素 B 族的各种维生素与辅酶是关系。

**教学反思**

## 第八章糖类代谢

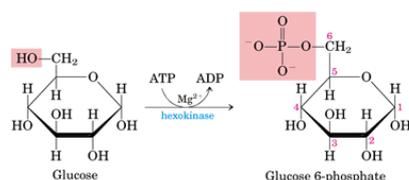
|               |  |
|---------------|--|
| <b>教学目标</b>   | 掌握糖酵解的过程、部位、关键酶和意义；掌握糖有氧氧化的过程、部位、关键酶和意义；掌握磷酸戊糖途径的意义；掌握糖原合成和分解的过程和关键酶；掌握糖异生的过程、部位、关键酶和意义；掌握血糖正常值、来源、去路和意义。  |
| <b>教学重点</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 糖酵解的过程、部位、关键酶；</li> <li>② 糖有氧氧化的过程、部位、关键酶；</li> <li>③ 糖原合成和分解的过程和关键酶；</li> <li>④ 糖异生的过程、部位、关键酶和意义。</li> </ul>   |
| <b>教学难点</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 糖酵解途径和能量变化</li> <li>② 糖有氧氧化的反应过程和能量变化</li> <li>③ 磷酸戊糖途径的反应过程和生理意义</li> </ul>  |
| <b>学时分配</b>   | <p>第一部分糖酵解 2 学时</p> <p>第二部分三羧酸循环 2 学时 糖的分解代谢</p> <p>第三部分磷酸戊糖途径 1 学时</p> <p>第四部分糖的合成代谢 3 学时</p>   |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法  |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体   |
| <b>知识结构体系</b> | <pre> graph LR     A[糖代谢] --&gt; B[糖的分解代谢]     A --&gt; C[糖的合成代谢]     B --&gt; B1[糖酵解]     B --&gt; B2[三羧酸循环]     B --&gt; B3[乙醛酸循环]     B --&gt; B4[葡萄糖有氧氧化]     B --&gt; B5[戊糖磷酸途径]     C --&gt; C1[糖异生]     C --&gt; C2[蔗糖的合成]     C --&gt; C3[淀粉的合成]     C --&gt; C4[糖原的合成与分解]     C --&gt; C5[血糖及血糖含量调节]     </pre> |

| 授课题目  | 糖类代谢 | 授课序次 | 15、16、17、18 |
|---|------|------|-------------|
| 总学时数  | 8 学时 | 授课时长 | 320 分钟      |
| 教学过程及授课内容   |      |      | 备注          |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>生物所需的能量，主要有糖的分解代谢所供给，成人每天所需的热能约 60%-70% 来自糖类。植物将二氧化碳和水合成糖类，人类和动物则利用植物所合成糖类以供给能量。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节糖概述</b></p> <p><b>一、糖的生理功能</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 氧化供能是糖的主要生理，每克葡萄糖约产生 4 千卡能量。</li> <li>2. 糖是机体重要的碳源，其中间产物可转变成氨基酸、脂肪酸和核苷等。</li> <li>3. 糖参与构成细胞的组成，如糖脂构成神经组织和生物膜的成分；氨基多糖及其与蛋白质的结合物是结缔组织的基本成分；核糖及脱氧核糖是 RNA 及 DNA 的结构成分；糖蛋白是细胞膜成分，此外还参与血浆球蛋白、某些激素、酶和凝血因子等的构成。</li> </ol> <p><b>二、多糖和低聚糖的酶促降解</b></p> <p><b>淀粉的酶促水解：</b>水解淀粉的淀粉酶有 <math>\alpha</math> 与 <math>\beta</math> 淀粉酶，二者只能水解淀粉中的 <math>\alpha</math>-1, 4 糖苷键，水解产物为麦芽糖。<math>\alpha</math>-淀粉酶可以水解淀粉（或糖原）中任何部位的 <math>\alpha</math>-1, 4 糖苷键，<math>\beta</math>-淀粉酶只能从非还原端开始水解。在动物的消化液中有 <math>\alpha</math>-淀粉酶，在植物的种子与块根中有 <math>\alpha</math>-及 <math>\beta</math>-淀粉酶。<math>\alpha</math>-、<math>\beta</math>-淀粉酶不能水解 <math>\alpha</math>-1, 6 糖苷键。</p> <p style="text-align: center;"><b>第二节 糖的分解代谢(catabolism of carbohydrate)</b></p> <p><b>一、糖酵解途径(glycolytic pathway)</b></p> <p><b>糖酵解途径</b>是指细胞在胞浆中分解葡萄糖生成丙酮酸(pyruvate)的过程，此过程中伴有少量 ATP 的生成。在缺氧条件下丙酮酸被还原为乳酸(lactate)称为糖酵解。有氧条件下丙酮酸可进一步氧化分解生成乙酰 CoA 进入三羧酸循环，生成 <math>\text{CO}_2</math> 和 <math>\text{H}_2\text{O}</math>。</p> <p><b>(一) 糖酵解过程</b></p> |      |      |             |

糖酵解分为两个阶段共 10 个反应,每个分子葡萄糖经第一阶段共 5 个反应,消耗 2 个分子 ATP 为耗能过程,第二阶段 5 个反应生成 4 个分子 ATP 为释能过程。

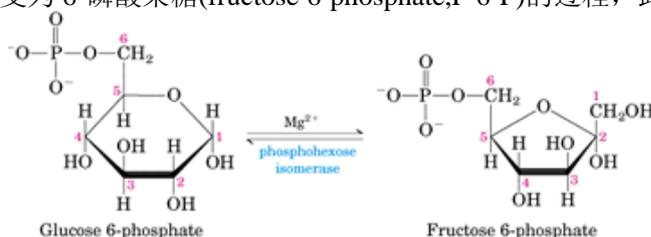
### 1. 葡萄糖的磷酸化(phosphorylation of glucose)

进入细胞内的葡萄糖首先在第 6 位碳上被磷酸化生成 6-磷酸葡萄糖 (glucose 6-phosphate, G-6-P), 磷酸根由 ATP 供给, 这一过程不仅活化了葡萄糖, 有利于它进一步参与合成与分解代谢, 同时还能使进入细胞的葡萄糖不再逸出细胞。



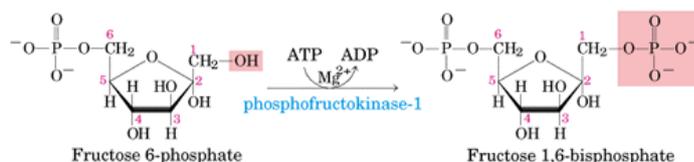
### 2. 6-磷酸葡萄糖的异构反应(isomerization of glucose-6-phosphate)

由磷酸己糖异构酶(phosphohexose isomerase)催化 6-磷酸葡萄糖(醛糖 aldose sugar)转变为 6-磷酸果糖(fructose 6-phosphate, F-6-P)的过程, 此反应是可逆的。



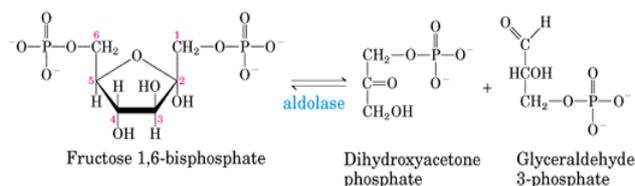
### 3. 6-磷酸果糖的磷酸化(phosphorylation of fructose 6-phosphate)

此反应是 6 磷酸果糖第一位上的 C 进一步磷酸化生成 1,6-二磷酸果糖, 磷酸根由 ATP 供给, 催化此反应的酶是磷酸果糖激酶 1(phosphofructokinase 1, PFK1)。



### 4. 1,6-二磷酸果糖裂解反应(cleavage of fructose 1,6-di/bisphosphate)

醛缩酶(aldolase)催化 1,6-二磷酸果糖生成磷酸二羟丙酮和 3-磷酸甘油醛, 此反应是可逆的。



### 5. 磷酸二羟丙酮的异构反应(isomerization of dihydroxyacetonephosphate)

磷酸丙糖异构酶(triose phosphate isomerase)催化磷酸二羟丙酮转变为 3-磷酸甘油醛, 此反应也是可逆的。

到此, 1 分子葡萄糖生成 2 分子 3-磷酸甘油醛, 通过两次磷酸化作用消耗 2 分子 ATP。

### 6. 3-磷酸甘油醛氧化反应(oxidation of glyceraldehyde 3-phosphate)

此反应由 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde 3-phosphatedehydrogenase)催化 3-磷酸甘油醛氧化脱氢并磷酸化生成含有 1 个高能磷酸键的 1,3-二磷酸甘油酸。本反应脱下的氢和电子转给脱氢酶的辅酶  $\text{NAD}^+$  生成  $\text{NADH} + \text{H}^+$ , 磷酸根来自无机磷酸。

### 7. 1,3-二磷酸甘油酸的高能磷酸键转移反应

在磷酸甘油酸激酶(phosphoglycerate kinase, PGK)催化下, 1,3-二磷酸甘油酸生成 3-磷酸甘油酸, 同时其 C1 上的高能磷酸根转移给 ADP 生成 ATP, 这种底物氧化过程中产生的能量直接将 ADP 磷酸化生成 ATP 的过程, 称为底物水平磷酸化(substrate level phosphorylation)。此激酶催化的反应是可逆的。

### 8. 3-磷酸甘油酸的变位反应

在磷酸甘油酸变位酶(phosphoglycerate mutase)催化下 3-磷酸甘油酸 C3 位上的磷酸基转变到 C2 位上生成 2-磷酸甘油酸。此反应是可逆的。

### 9. 2-磷酸甘油酸的脱水反应

由烯醇化酶(enolase)催化, 2-磷酸甘油酸脱水的同时, 能量重新分配, 生成含高能磷酸键的磷酸烯醇式丙酮酸(phosphoenolpyruvate PEP)。烯醇化酶需要  $\text{Mg}^{2+}$  或  $\text{Mn}^{2+}$  参与。本反应也是可逆的。

### 10. 磷酸烯醇式丙酮酸的磷酸转移

在丙酮酸激酶(pyruvate kinase,PK)催化下,磷酸烯醇式丙酮酸上的高能磷酸根转移至 ADP 生成 ATP,这是又一次底物水平上的磷酸化过程。但此反应是不可逆的。

## (二) 丙酮酸的去路

### 1. 丙酮酸在无氧条件下生成乳酸

氧供应不足时从糖酵解途径生成的丙酮酸转变为乳酸。缺氧时葡萄糖分解为乳酸称为糖酵解(glycolysis),因它和酵母菌生醇发酵非常相似。丙酮酸转变成乳酸由乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase)催化丙酮酸乳酸脱氢酶乳酸在这个反应中丙酮酸起了氢接受体的作用。由 3-磷酸甘油醛脱氢酶反应生成的  $\text{NADH}+\text{H}^+$ ,缺氧时不能经电子传递链氧化。正是通过将丙酮酸还原成乳酸,使  $\text{NADH}$  转变成  $\text{NAD}^+$ ,糖酵解才能继续进行。

### 2. 丙酮酸生成乙醇

在无氧条件下,将丙酮酸转化为乙醇和  $\text{CO}_2$ 。实际上包括 2 个反应步骤:(1)丙酮酸脱羧形成乙醛和  $\text{CO}_2$ ; (2)乙醛由  $\text{NADPH}+\text{H}$  还原生成乙醇同时产生氧化型的  $\text{NAD}^+$ 。

### 3. 丙酮酸形成乙酰辅酶 A

丙酮酸在有氧状态下,进入线粒体中,丙酮酸氧化脱羧生成乙酰 CoA 进入三羧酸循环,进而氧化生成  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ ,同时  $\text{NADH}+\text{H}^+$  等可经呼吸链传递,伴随氧化磷酸化过程生成  $\text{H}_2\text{O}$  和 ATP。

## (三) 糖酵解的生理意义

## (四) 糖酵解的调节

### 1. 激素的调节

### 2. 代谢物对限速酶的变构调节

## 二、三羧酸循环(tricarboxylic acid cycle)

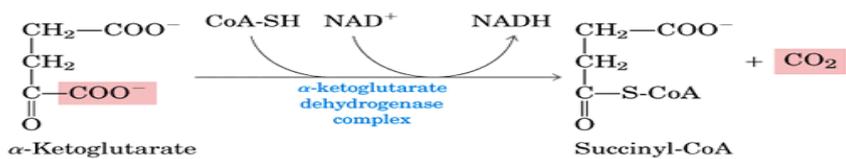
有氧氧化的反应过程分为三个阶段。

第一阶段:葡萄糖分解成丙酮酸,同糖酵解反应;

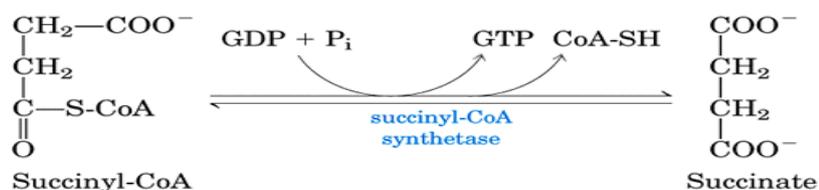
第二阶段:丙酮酸进入线粒体,氧化脱羧生成乙酰 CoA;

第三阶段:三羧酸循环。

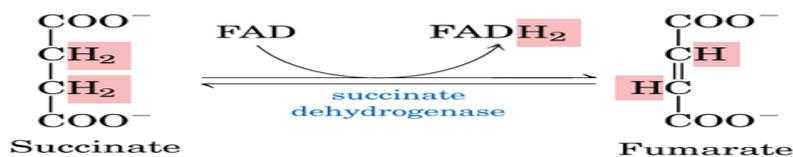




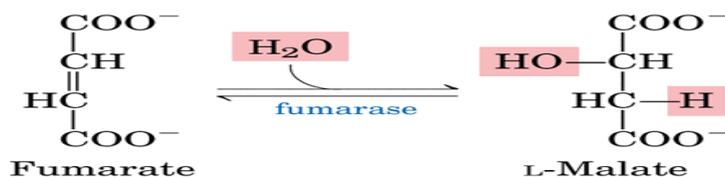
5. 琥珀酸的生成



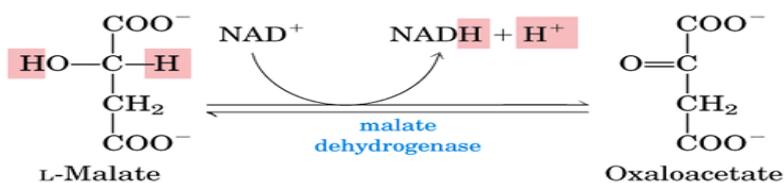
6. 琥珀酸脱氢生成延胡索酸



7. 延胡索酸的水合生成 L-苹果酸



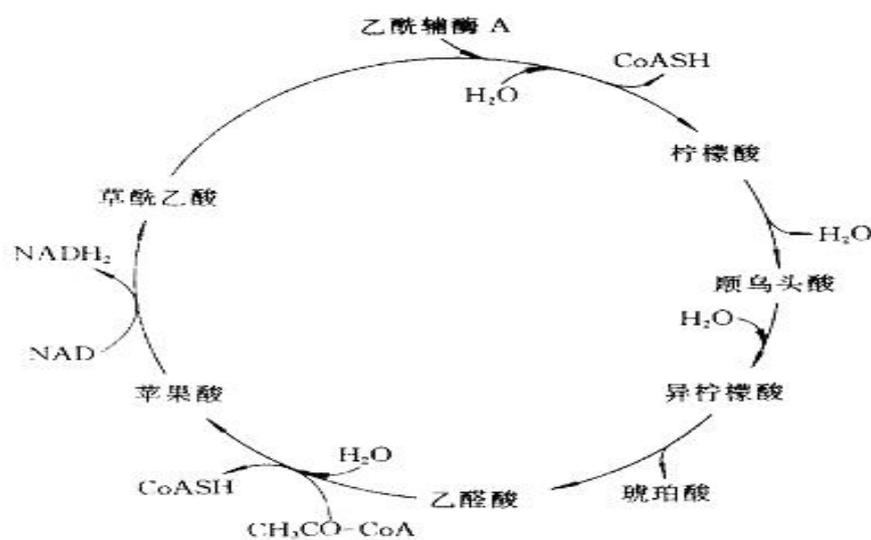
8. 苹果酸脱氢生成草酰乙酸（草酰乙酸再生）（TCA 的最后一个反应）



### (三) 三羧酸循环的生理意义

1. 三羧酸循环是机体获取能量的主要方式。
2. 三羧酸循环是糖，脂肪和蛋白质三种主要有机物在体内彻底氧化的共同代谢途径
3. 三羧酸循环是体内三种主要有机物互变的联结机构，因糖和甘油在体内代谢可生成  $\alpha$ -酮戊二酸及草酰乙酸等三羧酸循环的中间产物，这些中间产物可以转变成某些氨基酸；而有些氨基酸又可通过不同途径变成  $\alpha$ -酮戊二酸和草酰乙酸，再经糖异生的途径生成糖或转变成甘油，因此三羧酸循环不仅是三种主要的有机物分解代谢的最终共同途径，而且也是它们互变的联络机构。

### (四) 三羧酸循环的调节



### 三、乙醛酸循环——三羧酸循环支路

### 四、葡萄糖有氧氧化

**反巴斯德效应：**有些正常组织细胞如视网膜,小肠粘膜,粒细胞及多种癌细胞，在充分供给葡萄糖时，不论有氧与否，都进行很强的酵解反应。而有氧氧化反而相应降低。

葡萄糖在有氧条件下，氧化分解生成二氧化碳和水的过程称为糖的有氧氧化(aerobicoxidation)。有氧氧化是糖分解代谢的主要方式，大多数组织中的葡萄

糖均进行有氧氧化分解供给机体能量。糖的有氧氧化分两个阶段进行。第一阶段是由葡萄糖生成的丙酮酸，在细胞液中进行。第二阶段是上述过程中产生的  $\text{NADH}+\text{H}^+$  和丙酮酸在有氧状态下，进入线粒体中，丙酮酸氧化脱羧

生成乙酰 CoA 进入三羧酸循环，进而氧化生成  $\text{CO}_2$  和  $\text{H}_2\text{O}$ ，同时  $\text{NADH}+\text{H}^+$  等可经呼吸链传递，伴随氧化磷酸化过程生成  $\text{H}_2\text{O}$  和 ATP。

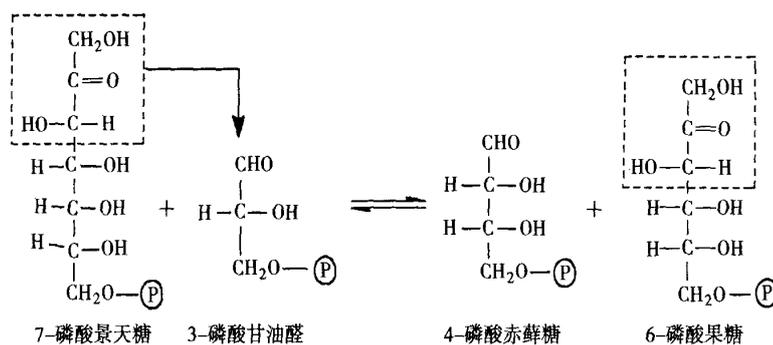


### 五、戊糖磷酸途径

戊糖磷酸途径(pentose phosphate pathway, PPP)，又称戊糖支路、磷酸葡萄糖酸氧化途径、己糖单磷酸途径(hexose monophosphate shut, HMS)。

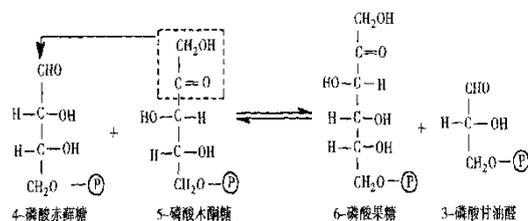
#### (一)、磷酸戊糖途径的反应

##### 1.氧化性分支



##### 2.非氧化分支

接着由转醛酸酶从景天糖-7-磷酸转移 3C 的二羟丙酮基给 3-磷酸甘油醛生成中磷酸赤藓糖和 6-磷酸果糖。



最后 4-磷酸赤藓糖在转酮醇酶催化下可接受来自 5-磷酸木酮糖的羟乙基，生成 6-磷酸果糖和 3-磷酸甘油醛。后者可进入酵解途径，从而完成代谢旁路。



## (二)、磷酸戊糖途径的生理意义

1. 核糖-5-磷酸的生成, 此途径是葡萄糖在体内生成核糖-5-磷酸的唯一途径, 故命名为磷酸戊糖通路, 体内需要的核糖-5-磷酸可通过磷酸戊糖通路的氧化阶段不可逆反应过程生成, 也可经非氧化阶段的可逆反应过程生成, 而在体内主要由氧化阶段生成, 核糖-5-磷酸是合成核苷酸辅酶及核酸的主要原料, 故损伤后修复、再生的组织(如梗塞的心肌、部分切除后的肝脏), 此代谢途径都比较活跃。

2.  $\text{NADPH}+\text{H}^+$  与  $\text{NADH}$  不同, 它携带的氢不是通过呼吸链氧化磷酸化生成  $\text{ATP}$ , 而是作为供氢体参与许多代谢反应, 具有多种不同的生理意义。

## 第三节 糖的合成代谢

### 一、糖异生

#### (一)、糖异生的途径

1. 由丙酮酸激酶催化的逆反应是由两步反应来完成的
2. 由己糖激酶催化的反应的逆行过程
3. 由磷酸果糖激酶催化的反应的逆行过程

#### (二)、糖异生的生理意义

1. 保证血糖浓度的相对恒定
2. 糖异生作用与乳酸的作用密切关系
3. 协助氨基酸代谢
4. 调节酸碱平衡

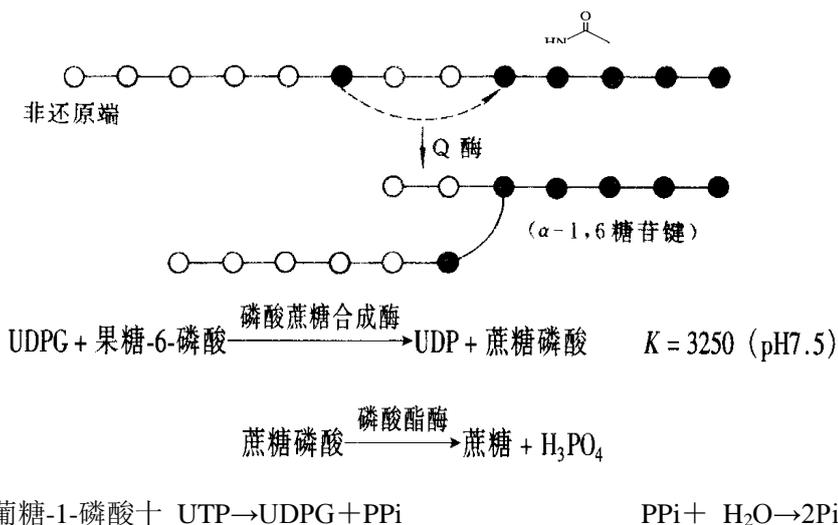
#### (三)、糖异生的调节

1. 激素对糖异生的调节
2. 代谢物对糖异生的调节

### 二、蔗糖的合成

蔗糖在高等植物中的合成主要有两种途径:

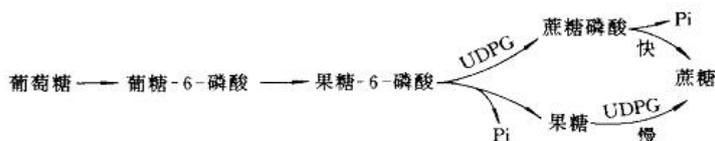
**1. 蔗糖合成酶**——利用尿苷二磷酸葡萄糖 ( $\text{UDPG}$ ) 作为葡萄糖给体与果糖合成蔗糖。而尿苷二磷酸葡萄糖是葡糖-1-磷酸与尿苷三磷酸 ( $\text{UTP}$ ) 在  $\text{UDPG}$  焦磷酸化酶催化下生成的。



**2. 蔗糖磷酸合成酶**——也利用 UDPG 作为葡萄糖给体，但果糖部分不是游离果糖，而是果糖磷酸酯，合成产物是蔗糖磷酸酯，再经专一的磷酸酯酶作用脱去磷酸形成蔗糖。

根据蔗糖磷酸合成酶的活性较大，且平衡常数有利，以及蔗糖磷酸的磷酸酯酶存在量大，一般认为途径（2）是植物合成蔗糖的主要途径。

由于发现蔗糖合成酶有两个同功酶，人们认为一个是催化蔗糖合成的，另一个是催化蔗糖分解的。因此有人认为蔗糖合成酶催化的途径（1）主要是分解蔗糖的作用，特别是在贮藏淀粉的组织器官里把蔗糖转变成淀粉的时候。



### 三、淀粉的合成

#### 1. $\alpha$ -1, 4 糖苷键的形成——高等植物淀粉合成的主要途径:

与淀粉合成有关的酶类主要是尿二磷葡萄糖（UDPG）转葡萄糖苷酶和腺二磷葡萄糖（ADPG）转葡萄糖苷酶。

在有“引物”存在的条件下，UDPG 可转移葡萄糖至引物上，引物的功能是作为  $\alpha$ -葡萄糖的受体。引物的分子可以是麦芽糖、麦芽三糖，麦芽四糖，甚至是一个淀粉分子。

近年来认为高等植物合成淀粉的主要途径是通过 ADPG 转葡萄糖苷酶。

## 2. 支链淀粉的合成

以上的酶催化  $\alpha$ -1, 4 糖苷键的形成, 但是支链淀粉除了  $\alpha$ -1, 4 糖苷键外, 其分支上尚有  $\alpha$ -1, 6 糖苷键, 需要另外的酶来完成。在植物中有 Q 酶, 能催化  $\alpha$ -1, 4 糖苷键转换为  $\alpha$ -1, 6 糖苷键, 使直链的淀粉转化为支链的淀粉。直链淀粉在 Q 酶作用下先分裂为分子较小的断片, 而后将断片移到  $C_6$  上, 并以其  $C_1$  与  $C_6$  形成  $\alpha$ -1, 6 键的支链。

有些微生物也能利用蔗糖和麦芽糖合成淀粉。例如过黄奈氏球菌可以利用蔗糖合成类似于糖原或淀粉的多糖。

## 四、糖原的合成与分解

### (一) 糖原的合成

由葡萄糖(包括少量果糖和半乳糖)合成糖原的过程称为糖原合成, 反应在细胞质中进行, 需要消耗 ATP 和 UTP, 合成反应包括以下几个步骤:

1. 葡萄糖 + ATP  $\rightarrow$  6-磷酸葡萄糖 + ADP
2. 6-磷酸葡萄糖  $\rightarrow$  1-磷酸葡萄糖
3. 1-磷酸葡萄糖 + UTP  $\rightarrow$  UTP-G + PPi
4. UTP-G + 糖原 ( $G_n$ )  $\rightarrow$  糖原 ( $G_{n+1}$ ) + UDP

### (二)、糖原的分解

1. 糖原磷酸化酶作用糖原磷酸化酶作用于糖原产生 1-磷酸葡萄糖, 由于磷酸化酶只能分解  $\alpha$ -1,4-糖苷键, 当糖链分解至分枝点约 4 个葡萄糖残基时, 由于位阻作用, 磷酸化酶不能再发挥作用。

2. 葡聚糖转移酶作用将磷酸化酶分解剩余的四个葡萄糖残基的三个转移到邻近糖链的末端, 仍以  $\alpha$ -1,4-糖苷键连接。

3.  $\alpha$ -1,6-糖苷酶作用对剩下的 1 个以  $\alpha$ -1,6-糖苷键与糖链形成分支的葡萄糖残基, 被  $\alpha$ -1,6-糖苷酶水解成游离葡萄糖。4. 脱枝酶目前认为葡聚糖转移酶和  $\alpha$ -1,6-糖苷酶是同一种酶的不同活性, 合称**脱枝酶**。

### (三)、糖原代谢的调节

糖原合成酶和磷酸化酶分别是糖原合成与分解代谢中的限速酶, 它们均受到变构与共价修饰两重调节。

1. 糖原代谢的别构调节

2. 激素的调节

## 五、血糖及血糖含量调节

(一)、血糖的来源和去路

(二)、激素对血糖的调节作用

(三)、神经调节

### 【讨论提问】

1. 肌糖原分解不能直接补充血糖的原因是：

- A. 肌肉组织是贮存葡萄糖的器官
- B. 肌肉组织缺乏葡萄糖激酶
- C. 肌肉组织缺乏葡萄糖-6-磷酸酶
- D. 肌肉组织缺乏磷酸酶
- E. 肌糖原分解的产物是乳酸

### 【本章小结】

本章主要内容是自然界糖类的分解和合成途径。对糖代谢的调节和调控以及糖代谢与生物，特别是与人类和动物的关系，也作了必要的阐述。

### 【课后作业】

- 1、葡萄糖的分解过程同合成过程是否为可逆反应？
- 2、人类糖代谢反应会引起哪些后果？

### 教学反思

糖代谢是几大物质代谢的枢纽，必须要全面掌握所有的代谢过程及重要的中间产物，记忆的内容较多，也是经常遇到的问题。

## 第九章脂质代谢

|               |  |
|---------------|--|
| <b>教学目标</b>   | 了解机体如何它们的甘油和脂酸，掌握脂酸的正常分解代谢途径。在理解三酰甘油的分解代谢途径后，进一步了解甘油、脂酸和三酰甘油的合成途径。 |
| <b>教学重点</b>   | ① 脂酸和三酰甘油的生物分解和合成。<br>②复脂类和脂质的某些分解产物的代谢的重要作用。                      |
| <b>教学难点</b>   | ① $\beta$ 氧化<br>② 酮体的生成和代谢   |
| <b>学时分配</b>   | 第一部分脂类和甘油三脂的分解代谢 2 学时<br>第二部分酮体的代谢合成 1 学时<br>第三部分甘油磷脂代谢 1 学时       |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法  |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体   |
| <b>知识结构体系</b> |  |

| 授课题目   | 脂质代谢 | 授课序次 | 19、20  |
|--|------|------|--------|
| 总学时数   | 4 学时 | 授课时长 | 320 分钟 |
| 教学过程及授课内容  |      |      | 备注     |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>脂质代谢是讨论脂质在机体内的分解和合成。脂质代谢与糖类代谢和某些氨基酸代谢有密切的联系。另外脂质代谢还与人类的某些疾病有密切的联系，对动物催肥也有重要的意义。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节脂类的消化、吸收和转运</b></p> <p><b>一、脂类的消化和吸收</b></p> <p><b>1、脂类的消化（主要在十二指肠中）</b></p> <p>食物中的脂类主要是甘油三酯 80-90%</p> <p>还有少量的磷脂 6-10%</p> <p>胆固醇 2-3%</p> <p>胃的食物糜（酸性）进入十二指肠，刺激肠促胰液肽的分泌，引起胰脏分泌 <math>\text{HCO}_3^-</math> 至小肠（碱性）。脂肪间接刺激胆汁及胰液的分泌。胆汁酸盐使脂类乳化，分散成小微团，在胰腺分泌的脂类水解酶作用下水解。</p> <p><b>胰腺分泌的脂类水解酶：</b></p> <p>① 三脂酰甘油脂肪酶（水解三酰甘油的 <math>\text{C}_1</math>、<math>\text{C}_3</math> 酯键，生成 2-单酰甘油和两个游离的脂肪酸。胰脏分泌的脂肪酶原要在小肠中激活）</p> <p>② 磷脂酶 <math>\text{A}_2</math>（水解磷脂，产生溶血磷脂和脂肪酸）</p> <p>③ 胆固醇脂酶（水解胆固醇脂，产生胆固醇和脂肪酸）</p> <p>④ 辅脂酶（Colipase）（它和胆汁共同激活胰脏分泌的脂肪酶原）</p> <p><b>2、脂类的吸收</b></p> <p>脂类的消化产物，甘油单脂、脂肪酸、胆固醇、溶血磷脂可与胆汁酸乳化形成更小的混合微团（20nm），这种微团极性增大，易于穿过肠粘膜细胞表面的水屏障，被肠粘膜的柱状表面细胞吸收。被吸收的脂类，在柱状细胞中重新合成甘油三酯，结合上蛋白质、磷脂、胆固醇，形成乳糜微粒（CM），经胞吐排至细胞外，再经淋巴系统进入血液。</p> <p>小分子脂肪酸水溶性较高，可不经淋巴系统，直接进入门静脉血液中。</p> <p><b>二、脂类转运和脂蛋白的作用</b></p> |      |      |        |

甘油三酯和胆固醇脂在体内由脂蛋白转运。

**脂蛋白:** 是由疏水脂类为核心、围绕着极性脂类及载脂蛋白组成的复合体, 是脂类物质的转运形式。

**载脂蛋白:** (已发现 18 种, 主要的有 7 种) 在肝脏及小肠中合成, 分泌至胞外, 可使疏水脂类增溶, 并且具有信号识别、调控及转移功能, 能将脂类运至特定的靶细胞中。

### 三、贮脂的动用

皮下脂肪在脂肪酶作用下分解, 产生脂肪酸, 经血浆白蛋白运输至各组织细胞中。

血浆白蛋白占血浆蛋白总量的 50%, 是脂肪酸运输蛋白, 血浆白蛋白既可运输脂肪酸, 又可解除脂肪酸对红细胞膜的破坏。

**贮脂的降解受激素调节。**

促进: 肾上腺素、胰高血糖素、肾上腺皮质激素

抑制: 胰岛素

植物种子发芽时, 脂肪酶活性升高, 能利用脂肪的微生物也能产生脂肪酶。

## 第二节脂肪酸和甘油三酯的分解代谢

### 一、甘油三酯的水解

甘油三酯的水解由脂肪酶催化。

组织中有三种脂肪酶, 逐步将甘油三酯水解成甘油二酯、甘油单酯、甘油和脂肪酸。

**这三种酶是:** 脂肪酶 (激素敏感性甘油三酯脂肪酶, 是限速酶)、甘油二酯脂肪酶、甘油单酯脂肪酶

### 二、甘油代谢

在脂肪细胞中, 没有甘油激酶, 无法利用脂解产生的甘油。甘油进入血液, 转运至肝脏后才能被甘油激酶磷酸化为 3-磷酸甘油, 再经磷酸甘油脱氢酶氧化成磷酸二羟丙酮, 进入糖酵解途径或糖异生途径。

### 三、脂肪酸的氧化

#### (一) 饱和偶数碳脂肪酸的 $\beta$ 氧化

#### 1、 $\beta$ 氧化学说

脂肪酸的氧化是从羧基端  $\beta$ -碳原子开始, 每次分解出一个二碳片断。

产生的终产物苯甲酸、苯乙酸对动物有毒害, 在肝脏中分别与 Gly 反应,

生成马尿酸和苯乙尿酸，排出体外。

$\beta$ -氧化发生在肝及其它细胞的线粒体内。

## 2、脂肪酸的 $\beta$ 氧化过程

脂肪酸进入细胞后，首先被活化成酯酰 CoA，然后再入线粒体内氧化。

### (1) 脂肪酸的活化（细胞质）



生成一个高能硫脂键，需消耗两个高能磷酸键，反应平衡常数为 1，由于 PPI 水解，反应不可逆。

**细胞中有两种活化脂肪酸的酶：**

内质网脂酰 CoA 合成酶，活化 12C 以上的长链脂肪酸

线粒体脂酰 CoA 合成酶，活化 4~10C 的中、短链脂肪酸

### (2) 脂肪酸向线粒体的转运

中、短链脂肪酸（4-10C）可直接进入线粒体，并在线粒体内活化生成酯酰 CoA。

长链脂肪酸先在胞质中生成脂酰 CoA，经肉碱转运至线粒体内。

肉(毒)碱：L- $\beta$  羟基-r-三甲基胺基丁酸

**线粒体内膜外侧（胞质侧）：**肉碱脂酰转移酶 I 催化，脂酰 CoA 将脂酰基转移给肉碱的  $\beta$  羟基，生成脂酰肉碱。

**线粒体内膜：**线粒体内膜的移位酶将脂酰肉碱移入线粒体内，并将肉碱移出线粒体。

**线粒体内：膜内侧：**肉碱脂酰转移酶 II 催化，使脂酰基又转移给 CoA，生成脂酰 CoA 和游离的肉碱。

脂酰 CoA 进入线粒体后，在基质中进行  $\beta$  氧化作用，包括 4 个循环的步骤。

### (3) 脂酰 CoA 脱氢生成 $\beta$ -反式烯脂酰 CoA

线粒体基质中，已发现三种脂酰 CoA 脱氢酶，均以 FAD 为辅基，分别催化链长为 C<sub>4</sub>-C<sub>6</sub>，C<sub>6</sub>-C<sub>14</sub>，C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub> 的脂酰 CoA 脱氢。

### (4) $\Delta^2$ 反式烯脂酰 CoA 水化生成 L- $\beta$ -羟脂酰 CoA

### (5) L- $\beta$ -羟脂酰 CoA 脱氢生成 $\beta$ -酮脂酰 CoA

### (6) $\beta$ -酮脂酰 CoA 硫解生成乙酰 CoA 和 (n-2) 脂酰 CoA

## 3、脂肪酸 $\beta$ -氧化作用小结

(1) 脂肪酸  $\beta$ -氧化时仅需活化一次，其代价是消耗 1 个 ATP 的两个高能键

(2) 长链脂肪酸由线粒体外的脂酰 CoA 合成酶活化，经肉碱运到线粒体内；

中、短链脂肪酸直接进入线粒体，由线粒体内的脂酰 CoA 合成酶活化。

(3)  $\beta$ -氧化包括脱氢、水化、脱氢、硫解 4 个重复步骤

(4)  $\beta$ -氧化的产物是乙酰 CoA, 可以进入 TCA

#### 4、脂肪酸 $\beta$ -氧化产生的能量

胞质中:

(1) 活化: 消耗 2ATP, 生成硬脂酰 CoA

线粒体内:

(2) 脂酰 CoA 脱氢:  $FADH_2$ , 产生 2ATP

(3)  $\beta$ -羟脂酰 CoA 脱氢: NADH, 产生 3ATP

(4)  $\beta$ -酮脂酰 CoA 硫解: 乙酰 CoA  $\rightarrow$  TCA, 12ATP

(n-2)脂酰 CoA  $\rightarrow$  第二轮  $\beta$  氧化

活化消耗: -2ATP

$\beta$  氧化产生:  $8 \times (2+3) \text{ ATP} = 40$

9 个乙酰 CoA:  $9 \times 12 \text{ ATP} = 108$

净生成: 146ATP

饱和脂酸完全氧化净生成 ATP 的数量:  $(8.5n-7)\text{ATP}$  (n 为偶数)

硬脂酸燃烧热值: -2651 kcal

$\beta$ -氧化释放:  $146\text{ATP} \times (-7.3\text{Kcal}) = -1065.8\text{Kcal}$

#### 5、 $\beta$ -氧化的调节

(1) 脂酰基进入线粒体的速度是限速步骤, 长链脂酸生物合成的第一个前体丙二酸单酰 CoA 的浓度增加, 可抑制肉碱脂酰转移酶 I, 限制脂肪氧化。

(2)  $[\text{NADH}]/[\text{NAD}^+]$  比率高时,  $\beta$ -羟脂酰 CoA 脱氢酶便受抑制。

(3) 乙酰 CoA 浓度高时; 可抑制硫解酶, 抑制氧化 (脂酰 CoA 有两条去路:

①氧化。②合成甘油三酯)

#### (二) 不饱和脂酸的 $\beta$ 氧化

##### 1、单不饱和脂肪酸的氧化

油酸的  $\beta$  氧化

$\Delta^3$  顺— $\Delta^2$  反烯脂酰 CoA 异构酶 (改变双键位置和顺反构型)

(146-2) ATP

## 2、多不饱和脂酸的氧化

亚油酸的  $\beta$  氧化

$\Delta^3$  顺— $\Delta^2$  反烯脂酰 CoA 异构酶（改变双键位置和顺反构型）

$\beta$ -羟脂酰 CoA 差向酶（改变  $\beta$ -羟基构型：D→L 型）

（146—2—2）ATP

### （三）奇数碳脂肪酸的 $\beta$ 氧化

奇数碳脂肪酸经反复的  $\beta$  氧化，最后可得到丙酰 CoA，丙酰 CoA 有两条代谢途径：

#### 1、丙酰 CoA 转化成琥珀酰 CoA，进入 TCA。

动物体内存在这条途径，因此，在动物肝脏中奇数碳脂肪酸最终能够异生为糖。

反刍动物瘤胃中，糖异生作用十分旺盛，碳水化合物经细菌发酵可产生大量丙酸，进入宿主细胞，在硫激酶作用下产丙酰 CoA，转化成琥珀酰 CoA，参加糖异生作用。

#### 2、丙酰 CoA 转化成乙酰 CoA，进入 TCA

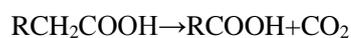
这条途径在植物、微生物中较普遍。

有些植物、酵母和海洋生物，体内含有奇数碳脂肪酸，经  $\beta$  氧化后，最后产生丙酰 CoA。

### （四）脂酸的其它氧化途径

#### 1、 $\alpha$ -氧化（不需活化，直接氧化游离脂酸）

植物种子、叶子、动物的脑、肝细胞，每次氧化从脂酸羧基端失去一个 C 原子。



$\alpha$ -氧化对于降解支链脂肪酸、奇数碳脂肪酸、过分长链脂肪酸（如脑中  $C_{22}$ 、 $C_{24}$ ）有重要作用

#### 2、 $\omega$ -氧化（ $\omega$ 端的甲基羟基化，氧化成醛，再氧化成酸）

动物体内多数是 12C 以上的羧酸，它们进行  $\beta$  氧化，

但少数的 12C 以下的脂酸可通过  $\omega$ -氧化途径，产生二羧酸，如 11C 脂酸可产生 11C、9C、和 7C 的二羧酸（在生物体内并不重要）。

$\omega$ -氧化涉及末端甲基的羟基化，生成一级醇，并继而氧化成醛，再转化成羧酸。

$\omega$ -氧化在脂肪烃的生物降解中有重要作用。泄漏的石油，可被细菌  $\omega$  氧

化, 把烃转变成脂肪酸, 然后经  $\beta$  氧化降解。

#### 四、酮体的代谢

脂肪酸  $\beta$ -氧化产生的乙酰 CoA, 在肌肉和肝外组织中直接进入 TCA, 然而在肝、肾脏细胞中还有另外一条去路: 生成乙酰乙酸、D- $\beta$ -羟丁酸、丙酮, 这三种物质统称酮体。

酮体在肝中生成后, 再运到肝外组织中利用。

##### 1、酮体的生成

酮体的合成发生在肝、肾细胞的线粒体内。

形成酮体的目的是将肝中大量的乙酰 CoA 转移出去, 乙酰乙酸占 30%,  $\beta$ -羟丁酸 70%, 少量丙酮。(丙酮主要由肺呼出体外)

肝脏线粒体中的乙酰 CoA 走哪一条途径, 主要取决于草酰乙酸的可利用性。饥饿状态下, 草酰乙酸离开 TCA, 用于异生合成 Glc。当草酰乙酸浓度很低时, 只有少量乙酰 CoA 进入 TCA, 大多数乙酰 CoA 用于合成酮体。

当乙酰 CoA 不能再进入 TCA 时, 肝脏合成酮体送至肝外组织利用, 肝脏仍可继续氧化脂肪酸。

肝中酮体生成的酶类很活泼, 但没有能利用酮体的酶类。因此, 肝脏线粒体合成的酮体, 迅速透过线粒体并进入血液循环, 送至全身。

##### 2、酮体的利用

肝外许多组织具有活性很强的利用酮体的酶。

**(1) 乙酰乙酸被琥珀酰 CoA 转硫酶 ( $\beta$ -酮脂酰 CoA 转移酶) 活化成乙酰乙酰 CoA**

心、肾、脑、骨骼肌等的线粒体中有较高的酶活性, 可活化乙酰乙酸。

乙酰乙酸+琥珀酰 CoA $\rightarrow$ 乙酰乙酰 CoA+琥珀酸

然后, 乙酰乙酰 CoA 被  $\beta$  氧化酶系中的硫解酶硫解, 生成 2 分子乙酰 CoA, 进入 TCA。

**(2)  $\beta$ -羟基丁酸由  $\beta$ -羟基丁酸脱氢酶催化, 生成乙酰乙酸, 然后进入上述途径。**

**(3) 丙酮可在一系列酶作用下转变成丙酮酸或乳酸, 进入 TCA 或异生成糖。**

肝脏氧化脂肪时可产生酮体, 但不能利用它(缺少  $\beta$ -酮脂酰 CoA 转移酶), 而肝外组织在脂肪氧化时不产生酮体, 但能利用肝中输出的酮体。

在正常情况下, 脑组织基本上利用 Glc 供能, 而在严重饥饿状态, 75% 的能量由血中酮体供应。

### 3、酮体生成的生理意义

酮体是肝内正常的中间代谢产物，是肝输出能量的一种形式。

酮体溶于水，分子小，能通过血脑屏障及肌肉毛细血管壁，是心、脑组织的重要能源。脑组织不能氧化脂酸，却能利用酮体。长期饥饿，糖供应不足时，酮体可以代替 Glc，成为脑组织及肌肉的主要能源。

正常情况下，血中酮体 0.03~0.5 mmol/L。在饥饿、高脂低糖膳食时，酮体的生成增加，当酮体生成超过肝外组织的利用能力时，引起血中酮体升高，导致酮症酸（乙酰乙酸、 $\beta$ -羟丁酸）中毒，引起酮尿。

### 4、酮体生成的调节。

**(1) 饱食：**胰岛素增加，脂解作用抑制，脂肪动员减少，进入肝中脂酸减少，酮体生成减少。

**饥饿：**胰高血糖素增加，脂肪动员量加强，血中游离脂酸浓度升高，利于  $\beta$  氧化及酮体的生成。

#### (2) 肝细胞糖原含量及代谢的影响：

进入肝细胞的游离脂酸，有两条去路：一条是在胞液中酯化，合成甘油三酯及磷脂；一是条进入线粒体进行  $\beta$  氧化，生成乙酰 CoA 及酮体。

肝细胞糖原含量丰富时，脂酸合成甘油三酯及磷脂。

肝细胞糖供给不足时，脂酸主要进入线粒体，进入  $\beta$ —氧化，酮体生成增多。

#### (3) 丙二酸单酰 CoA 抑制脂酰 CoA 进入线粒体

乙酰 CoA 及柠檬酸能激活乙酰 CoA 羧化酶，促进丙二酰 CoA 合成，后者能竞争性抑制肉碱脂酰转移酶 I，从而阻止脂酰 CoA 进入线粒体内进行  $\beta$  氧化。

## 第三节 脂肪酸及甘油三脂的合成代谢

### 一、饱和脂肪酸的从头合成

合成部位：细胞质中

合成的原料：乙酰 CoA（主要来自 Glc 酵解）NADPH（磷酸戊糖途径）

ATP

$\text{HCO}_3^-$

#### 1、乙酰 CoA 的转运

细胞内的乙酰 CoA 几乎全部在线粒体中产生，而合成脂肪酸的酶系在胞质中，乙酰 CoA 必须转运出来。

转运方式：柠檬酸-丙酮酸循环

#### 2、丙二酸单酰 CoA 的生成（限速步骤）

脂肪合成时，乙酰 CoA 是脂肪酸的起始物质（引物），其余链的延长都以

丙二酸单酰 CoA 的形式参与合成。

所用的碳来自  $\text{HCO}_3^-$  (比  $\text{CO}_2$  活泼), 形成的羧基是丙二酸单酰 CoA 的远端羧基

**乙酰 CoA 羧化酶:** (辅酶是生物素) 为别构酶, 是脂肪酸合成的限速酶, 柠檬酸可激活此酶, 脂肪酸可抑制此酶。

### 3、脂酰基载体蛋白 (ACP)

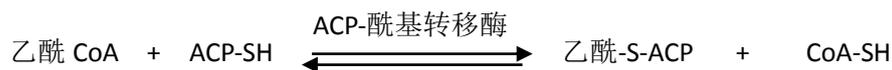
脂肪酸合成酶系有 7 种蛋白质, 其中 6 种是酶, 1 种是脂酰基载体蛋白 (ACP), 它们组成了脂肪酸合成酶复合体

ACP 上的 Ser 羟基与 4-磷酸泛酰巯基乙胺上的磷酸基团相连, 4-磷酸泛酰巯基乙胺是 ACP 和 CoA 的共同活性基团。

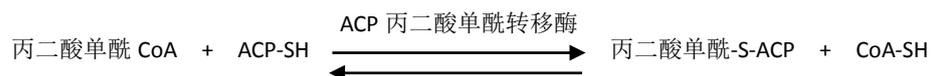
脂肪酸合成过程中的中间产物, 以共价键与 ACP 辅基上的 -SH 基相连, ACP 辅基就象一个摇臂, 携带脂肪酸合成的中间物由一个酶转到另一个酶的活性位置上。

### 4、脂肪酸的生物合成步骤

#### (1) 原初反应: 乙酰基连到 $\beta$ -酮脂酰 ACP 合成酶上



#### (2) 丙二酸酰基转移反应: 生成丙二酸单酰-S-ACP



此时一个丙二酸单酰基与 ACP 相连, 另一个脂酰基(乙酰基)与  $\beta$ -酮脂酰-ACP 合成酶相连。

#### (3) 缩合反应: 生成 $\beta$ -酮脂酰-S-ACP



同位素实验证明, 释放的  $\text{CO}_2$  来自形成丙二酸单酰 CoA 时所羧化的  $\text{HCO}_3^-$ , 羧化上的 C 原子并未掺入脂肪酸,  $\text{HCO}_3^-$  在脂酸合成中只起催化作用。

#### (4) 第一次还原反应: 生成 $\beta$ -羟脂酰-S-ACP

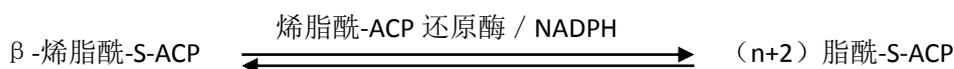


注意：形成的是 D 型  $\beta$  羟丁酰-S-ACP，而脂肪分解氧化时形成的是 L 型。

#### (5) 脱水反应：形成 $\beta$ -烯脂酰-S-ACP



#### (6) 第二次还原反应：形成 (n+2) 脂酰-S-ACP



第一次循环，产生丁酰-S-ACP。

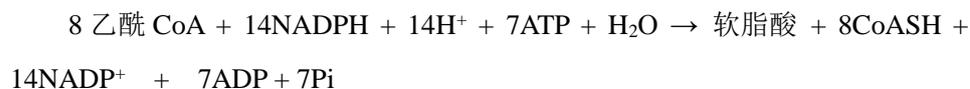
第二次循环，丁酰-S-ACP 的丁酰基由 ACP 转移至  $\beta$ -酮脂酰-ACP 合成酶上，再接受第二个丙二酸单酰基，进行第二次缩合。

奇数碳原子的饱和脂肪酸也由相此途径合成，只是起始物为丙二酸单酰-S-ACP，而不是乙酰-S-ACP，逐加的二碳单位也来自丙二酸单酰-S-ACP。

多数生物的脂肪酸合成步骤仅限于形成软脂酸（16C）。经过 7 次循环后，合成的软脂酰-S-ACP 经磷脂酶催化生成游离的软脂酸，或由 ACP 转到 CoA 上生成软脂酰 CoA，或直接形成磷脂酸。

对链长有专一性的酶是  $\beta$ -酮脂酰 ACP 合成酶，它不能接受 16C 酰基。

**由乙酰-S-CoA 合成软脂酸的总反应：**



### 5、各类细胞中脂肪酸合成酶系

#### (1) 细菌、植物（多酶复合体）

6 种酶 + ACP

#### (2) 酵母( $\alpha_6\beta_6$ )

电镜下直径为 25nm

$\alpha$ ：  $\beta$ -酮脂酰合成酶、 $\beta$ -酮脂酰还原酶

$\beta$ ： 脂酰转移酶、丙二酸单酰转移酶、 $\beta$ -羟脂酰脱水酶、 $\beta$ -烯脂酰还原酶

**(3) 哺乳动物( $\alpha_2$ , 多酶融合体)**

**结构域 I:** 底物进入酶系进行缩合的单元, 乙酰转移酶活性、丙二酸单酰转移酶、缩合酶

**结构域 II:** 还原反应物的单元, ACP、 $\beta$ -酮脂酰还原酶、 $\beta$ -羟脂酰脱水酶、 $\beta$ -烯脂酰还原酶

**结构域 III:** 释放软脂酸的单元, 硫脂酶。

**多酶融合体:** 许多真核生物的多酶体系是多功能蛋白, 不同的酶以共价键连在一起, 称为单一的肽链, 称为多酶融合体。生物进化中, 外显子跳动产生的结果。有利于酶的协同作用, 提高催化效率。

多酶融合体对酶工程的启示:  $E1\sim\sim\sim\sim E2\sim\sim\sim\sim E3$

**6、脂肪酸合成的化学计量 (从乙酰 CoA 开始)**

以合成软脂酸为例: (8 个乙酰 CoA)

$14\text{NADPH}, 7\text{ATP}$   
 $14*3+7=49\text{ATP}$

**7、乙酰 CoA 和 NADPH 的来源**

(1)乙酰 CoA : A.肉碱乙酰基转移酶 B.柠檬酸-丙酮酸、穿梭

(2)NADPH: 60%来自磷酸戊糖支路 40%来自柠檬酸-丙酮酸穿梭

**8、脂肪酸合成的调节****(1) 酶浓度调节(酶量的调节或适应性控制)**

**关键酶:** 乙酰 CoA 羧化酶(产生丙二酸单酰 CoA); 脂肪酸合成酶系; 苹果酸酶(产生还原当量);

饥饿时, 这几种酶浓度降低 3-5 倍, 进食后, 酶浓度升高。

喂食高糖低脂膳食, 这几种酶浓度升高, 脂肪合成加快。

**(2) 酶活性的调节**

乙酰 CoA 羧化酶是限速酶。

**别构调节:** 柠檬酸激活、软脂酰 CoA 抑制。

**共价调节:** 磷酸化会失活、脱磷酸化会复活

胰高血糖素可使此酶磷酸化失活，胰岛素可使此酶脱磷酸化而恢复活性。

### 9、脂肪酸氧化与合成途径的比较

软脂酸分解与合成代谢的区别。

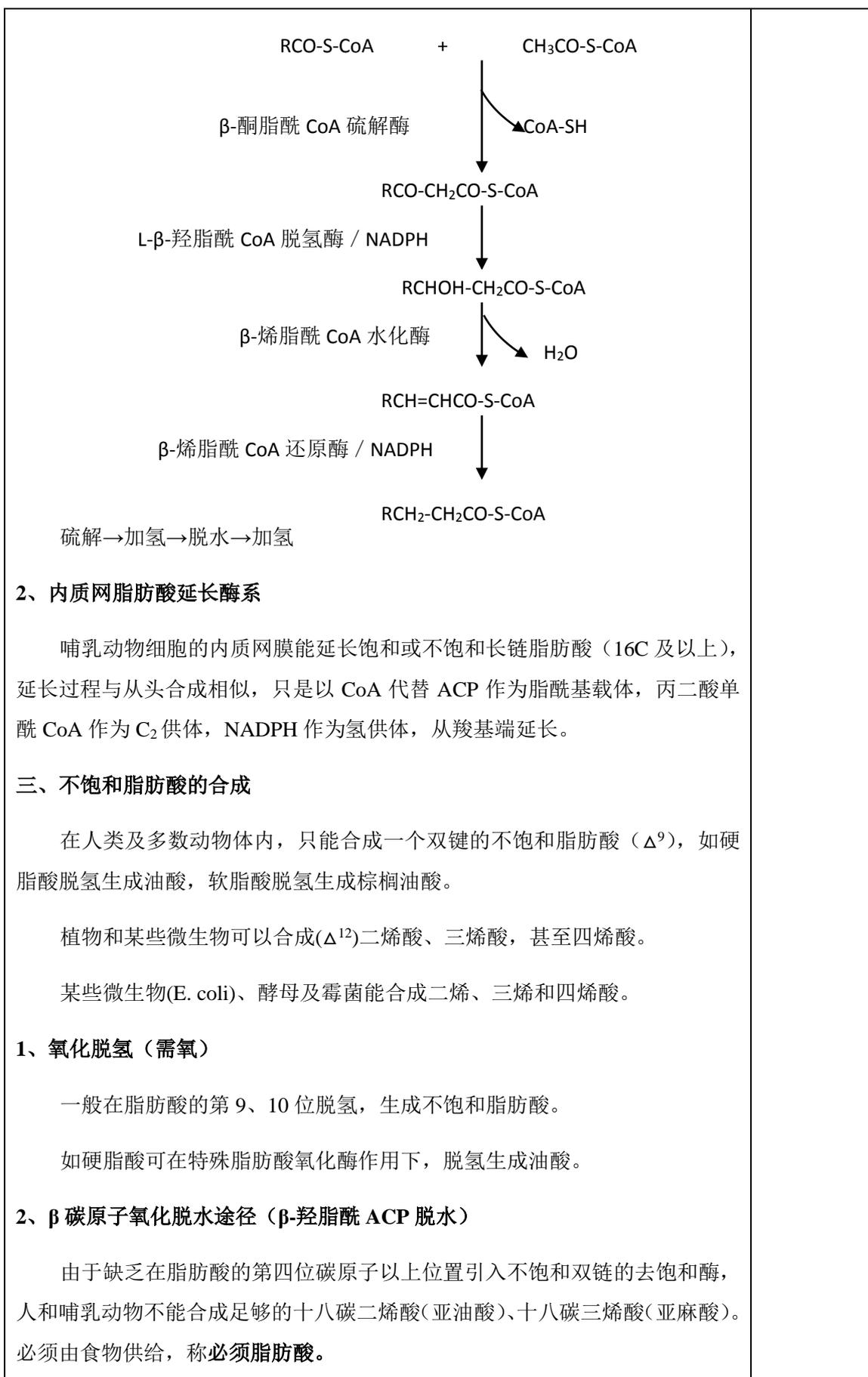
|   | 合成（从乙酰 CoA 开始）                   | 氧化（生成乙酰 CoA）                           |
|---|----------------------------------|--|
| 细胞中部位                                   | 细胞质                              | 线粒体                                    |
| 酶系                                      | 7 种酶，多酶                          | 4 种酶分散存在                               |
| 酰基载体                                    | ACP                              | CoA                                    |
| 二碳片段                                    | 丙二酸单酰 CoA                        | 乙酰 CoA                                 |
| 电子供体（受体）                                | NADPH                            | FAD、NAD                                |
| $\beta$ -羟脂酰基构型                         | D 型                              | L 型                                    |
| 对 HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> 及柠檬酸的要求 | 要求                               | 不要求                                    |
| 能量变化                                    | 消耗 7 个 ATP 及 14 个 NADPH，共 49ATP。 | 7FADH <sub>2</sub> +7NADH-2ATP 共 33ATP |
| 产物                                      | 只合成 16 碳酸以内的脂酸，延长需由别的酶完成。        | 18 碳酸可彻底降解<br>18 碳酸可彻底降解               |

### 二、线粒体和内质网中脂肪酸碳链的延长

$\beta$ -酮脂酰-ACP 合成酶最多只能接受 14 碳的酰基，不能接受 16 碳酰基。因此，从头合成只能合成 16C 软脂酸。

#### 1、线粒体脂肪酸延长酶系

能够延长中、短链（4-16C）饱和或不饱和脂肪酸，延长过程是  $\beta$ -氧化过程的逆转，乙酰 CoA 作为二碳片段的供体，NADPH 作为氢供体。



### 3、去饱和途径

脂酰 CoA 去饱和酶，催化软脂酰 CoA 及硬脂酰 CoA 分别在 C<sub>9</sub>-C<sub>10</sub> 脱氢，生成棕榈油酸 ( $\Delta^9$  16:1) 和油酸 ( $\Delta^9$  18:1)

### 4、其它转化途径

#### 四、三脂酰甘油的合成

动物肝脏、脂肪组织及小肠粘膜细胞中合成大量的三脂酰甘油，植物也能大量合成三脂酰甘油，微生物合成较少。

合成原料： $\left\{ \begin{array}{l} \text{L-}\alpha\text{-磷酸甘油(3-磷酸甘油)} \\ \text{脂酰 CoA} \end{array} \right.$

L- $\alpha$ -磷酸甘油的来源

(1) 磷酸二羟丙酮(糖酵解产物)还原生成 L- $\alpha$ -磷酸甘油

(2) 甘油磷酸化

#### 五、各组织中脂肪代谢的相互关系

#### 六、脂代谢与糖代谢的关系

- (1) 甘油  $\rightarrow$  磷酸二羟丙酮  $\rightarrow$  糖异生
- (2) 植物及微生物：脂肪酸  $\rightarrow$  乙酰 CoA  $\rightarrow$  琥珀酸  $\rightarrow$  糖异生
- (3) 动物：奇数碳脂肪酸  $\rightarrow$  丙酰 CoA  $\rightarrow$  琥珀酰 CoA  $\rightarrow$  糖异生
- (4) 糖  $\rightarrow$  磷酸二羟丙酮  $\rightarrow$  甘油  $\rightarrow$  甘油酯
- (5) 糖  $\rightarrow$  乙酰 CoA  $\rightarrow$  脂肪酸

#### 第四节 甘油磷脂代谢

##### 一、甘油磷脂的水解

以磷脂酰胆碱为例 (卵磷脂)

磷脂能被不同的磷脂酶水解，可水解位点如下：

##### 1、磷脂酶 A<sub>1</sub>

存在于动物细胞中，作用于①位置。生成二脂酰基甘油磷酸胆碱和一分子脂肪酸。

**2、磷脂酶 A<sub>2</sub>**

大量存在于蛇毒、蝎毒、蜂毒中，动物胰脏中有此酶原，作用于②位，生成 1-脂酰基甘油磷酸胆碱和脂肪酸。

**3、磷脂酶 C**

存在于动物脑、蛇毒和细菌毒素中。作用于③位，生成二酰甘油和磷酸胆碱。

**4、磷脂酶 D**

主要存在于高等植物中，作用于④位，水解产物是磷脂酸和胆碱。

**5、磷脂酶 B**

能同时水解①、②位；磷脂经过酶促分解脱去一个脂肪酸分子形成溶血磷脂（带一个游离脂肪酸和一个磷酸胆碱），催化溶血磷脂水解的酶称溶血磷脂酶（L<sub>1</sub> L<sub>2</sub>）；磷脂酶的催化作用使磷脂分解，促使细胞膜不断更新、修复。

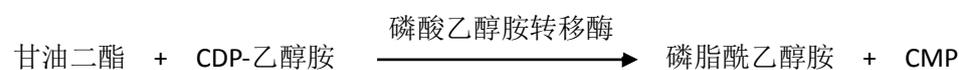
**二、甘油磷脂的生物合成****1、磷脂酰乙醇胺的合成（脑磷脂）**

参与血液凝结

- (1) 乙醇胺磷酸化
- (2) 磷酸乙醇胺生成 CDP-乙醇胺

磷酸乙醇胺胞嘧啶核苷酸（CTP）转移酶

- (3) CDP-乙醇胺与甘油二酯形成磷脂酰乙醇胺（脑磷脂）



甘油二酯的来源：甘油三酯合成的中间产物，还有磷酸酯磷酸酶（磷脂酶 C）催化磷脂酸水解的产物。

**2、磷脂酰胆碱的合成（卵磷脂）**

- (1) 节约利用（主要是细菌）

由磷脂酰乙醇胺的氨基直接甲基化，甲基的供体是 S-腺苷甲硫氨酸。

磷脂酰乙醇胺甲基转移酶的辅基是四氢叶酸。

**(2) 从头合成 (动物细胞)**

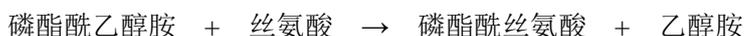
此途径与形成磷脂酰乙醇胺的途径相同。

由胆碱开始, 胆碱来源于食物或磷脂酰胆碱的降解。

- a. 胆碱+ATP                      胆碱激酶   磷酸胆碱+ADP
- b. 磷酸胆碱+CTP              磷酸胆碱胞嘧啶核苷酸转移酶    CDP-胆碱+ppi
- c. CDP-胆碱+甘油二酯   磷酸胆碱转移酶   磷脂酰胆碱+CMP

**3、磷脂酰丝氨酸的合成**

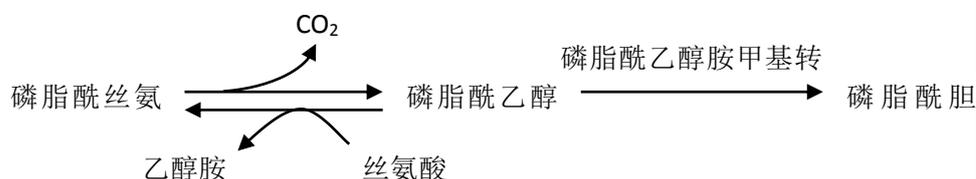
**(1) 丝氨酸与磷脂酰乙醇胺的醇基酶促交换**



动物、大肠杆菌中, 磷脂酰丝氨酸可脱羧生成磷脂酰乙醇胺。

**(2) 磷脂酸→CDP-二脂酰基甘油→磷脂酰丝氨酸 (细菌中)**

以上三个合成途径的关系:



糖原合成时, Glc 的活性形式是 UDP-葡萄糖 (尿嘧啶核苷二磷酸-Glc)。

**4、磷脂酰肌醇的合成**

**【讨论提问】**

一个农民的小女孩吃正常的均衡食物,但仍然表现轻度酮症。你作为她的儿科医生正要断定她患某些糖代谢先天性酶缺损时,突然发现她奇数碳原子脂酸的代谢不如偶数碳原子脂酸,并且她每天早晨偷偷地跑到鸡舍,吃生鸡蛋。请你对她的症状提出另一种解释。

答案：生蛋清中含有抗生物素蛋白，它能和生物素特异地结合，阻止了生物素的吸收。而生物素是所有需要ATP的羧化反应所需的辅酶。由于小女孩吃了生的鸡蛋清可能导致生物素缺乏，从而导致需要ATP的羧化酶活性降低。羧化酶之一—丙酮酸羧化酶是从丙酮酸羧化生成三羧酸循环中间物草酰乙酸所需的酶，该酶活性下降造成轻度酮症。另一个羧化酶是丙酰CoA羧化酶，它是奇数碳原子脂酸的末端三碳片段代谢所需的。生物素的缺乏导致丙酰CoA羧化酶活性下降，因此影响了奇数碳原子脂酸的代谢。

### 【本章小结】

本章侧重讨论脂酸和三酰甘油的生物分解和合成。则要介绍复脂质和脂质的某些产物的代谢。

### 【课后作业】

1. 脂肪在机体内如何分解和合成？
2. 酮体在体内如何产生？何种情况下机体会产生过多酮体？后果如何？
3. 胆固醇的来源和去路是什么？

### 教学反思

## 第十章蛋白质酶促降解和氨基酸代谢

|               |   |
|---------------|---|
| <b>教学目标</b>   | 了解脱氨的几种方式、氨的去路。掌握尿素的合成、氨的转运   |
| <b>教学重点</b>   | ① 脱氨的几种方式；氨的去路；<br>② 尿素的合成；<br>③ 氨的转运；脱氨后碳架的去向；<br>④ 氨基酸合成中的碳源氮源；Gln、Glu 合成；<br>⑤ 一碳单位及作用 |
| <b>教学难点</b>   | ① 联合脱氨<br>② 鸟氨酸循环   |
| <b>学时分配</b>   | 第一节氨基酸分解代谢      2 学时<br>第二节氨基酸合成代谢      2 学时  |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法   |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体  |
| <b>知识结构体系</b> |       |

| 授课题目  | 蛋白质降解和氨基酸代谢 | 授课序次 | 21    |
|---|-------------|------|-------|
| 总学时数  | 4 学时        | 授课时长 | 80 分钟 |
| 教学过程及授课内容   |             |      | 备注    |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>植物、微生物从环境中吸收氨、铵盐、亚硝酸盐、硝酸盐等无机氮，合成各种氨基酸、蛋白质、含氮化合物。</p> <p>人和动物消化吸收动、植物蛋白质，得到氨基酸，合成蛋白质及含氮物质。</p> <p>有些微生物能把空气中的 <math>N_2</math> 转变成氨态氮，合成氨基酸。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节蛋白质消化、降解及氮平衡</b></p> <p><b>一、蛋白质消化吸收</b></p> <p>哺乳动物的胃、小肠中含有胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、羧肽酶、氨肽酶、弹性蛋白酶。经上述酶的作用，蛋白质水解成游离氨基酸，在小肠被吸收。</p> <p>被吸收的氨基酸（与糖、脂一样）一般不能直接排出体外，需经历各种代谢途径。</p> <p>肠粘膜细胞还可吸收二肽或三肽，吸收作用在小肠的近端较强，因此肽的吸收先于游离氨基酸。</p> <p><b>二、蛋白质的降解</b></p> <p>人及动物体内蛋白质处于不断降解和合成的动态平衡。成人每天有总体蛋白的 1%~2% 被降解、更新。</p> <p>不同蛋白的半寿期差异很大，人血浆蛋白质的 <math>t_{1/2}</math> 约 10 天，肝脏的 <math>t_{1/2}</math> 约 1~8 天，结缔组织蛋白的 <math>t_{1/2}</math> 约 180 天，许多关键性的调节酶的 <math>t_{1/2}</math> 均很短。</p> <p><b>真核细胞中蛋白质的降解有两条途径：</b></p> <p>一条是不依赖 ATP 的途径，在溶酶体中进行，主要降解外源蛋白、膜蛋白及长寿命的细胞内蛋白。</p> <p>另一条是依赖 ATP 和泛素的途径，在胞质中进行，主要降解异常蛋白和短寿命蛋白，此途径在不含溶酶体的红细胞中尤为重要。</p> |             |      |       |

### 三、氨基酸代谢库

食物蛋白中，经消化而被吸收的氨基酸（外源性 a.a）与体内组织蛋白降解产生的氨基酸（内源性 a.a）混在一起，分布于体内各处，参与代谢，称为氨基酸代谢库。

氨基酸代谢库以游离 a.a 总量计算。

肌肉中 a.a 占代谢库的 50% 以上。肝脏中 a.a 占代谢库的 10%。

肾中 a.a 占代谢库的 4%。血浆中 a.a 占代谢库的 1~6%。

肝、肾体积小，它们所含的 a.a 浓度很高，血浆 a.a 是体内各组织之间 a.a 转运的主要形式。

### 四、氮平衡

食物中的含氮物质，绝大部分是蛋白质，非蛋白质的含氮物质含量很少，可以忽略不计。

**氮平衡：**机体摄入的氮量和排出量，在正常情况下处于平衡状态。即，摄入氮=排出氮。

**氮正平衡：**摄入氮>排出氮，部分摄入的氮用于合成体内蛋白质，儿童、孕妇。

**氮负平衡：**摄入氮<排出氮。饥饿、疾病。

## 第二节氨基酸分解代谢

氨基酸的分解代谢主要在肝脏中进行。

氨基酸的分解代谢一般是先脱去氨基，形成的碳骨架可以被氧化成 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O，产生 ATP，也可以为糖、脂肪酸的合成提供碳架。

### 一、脱氨基作用

主要在肝脏中进行

#### （一）氧化脱氨基

第一步，脱氢，生成亚胺。第二步，水解。

生成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 有毒，在过氧化氢酶催化下，生成 H<sub>2</sub>O+O<sub>2</sub>↑，解除对细胞毒害。

#### 1、催化氧化脱氨基反应的酶（氨基酸氧化酶）

##### （1）L—氨基酸氧化酶

有两类辅酶，E-FMNE-FAD（人和动物）

对下列 a.a 不起作用：

Gly、β-羟氨酸（Ser、Thr）、二羧 a.a（Glu、Asp）、二氨 a.a（Lys、Arg）

真核生物中，真正起作用的不是 L-a.a 氧化酶，而是谷氨酸脱氢酶。

**(2) D-氨基酸氧化酶 E-FAD**

有些细菌、霉菌和动物肝、肾细胞中有此酶，可催化 D-a.a 脱氨。

**(3) Gly 氧化酶 E-FAD**

使 Gly 脱氨生成乙醛酸。

**(4) D-Asp 氧化酶 E-FAD**

E-FAD 兔肾中有 D-Asp 氧化酶，D-Asp 脱氨，生成草酰乙酸。

**(5) L-Glu 脱氢酶 E-NAD<sup>+</sup> E-NADP<sup>+</sup>**

真核细胞的 Glu 脱氢酶，大部分在线粒体基质中，是不需 O<sub>2</sub> 的脱氢酶。

此酶是能使 a.a 直接脱去氨基的活力最强的酶，是一个结构很复杂的别构酶。在动、植、微生物体内都有。

ATP、GTP、NADH 可抑制此酶活性。

ADP、GDP 及某些 a.a 可激活此酶活性。

因此当 ATP、GTP 不足时，Glu 的氧化脱氨会加速进行，有利于 a.a 分解供能（动物体内有 10% 的能量来自 a.a 氧化）。

**(二) 非氧化脱氨基作用（大多数在微生物的中进行）**

①还原脱氨基（严格无氧条件下）②水解脱氨基

③脱水脱氨基④脱巯基脱氨基⑤氧化-还原脱氨基（两个氨基酸互相发生氧化还原反应，生成有机酸、酮酸、氨。）

⑥脱酰胺基作用

谷胺酰胺酶：谷胺酰胺 + H<sub>2</sub>O → 谷氨酸 + NH<sub>3</sub>

天冬酰胺酶：天冬酰胺 + H<sub>2</sub>O → 天冬氨酸 + NH<sub>3</sub>

谷胺酰胺酶、天冬酰胺酶广泛存在于动植物和微生物中

**(三) 转氨基作用**

转氨作用是 a.a 脱氨的重要方式，除 Gly、Lys、Thr、Pro 外，a.a 都能参与转氨基作用。

转氨基作用由转氨酶催化，辅酶是维生素 B<sub>6</sub>（磷酸吡哆醛、磷酸吡哆胺）。转氨酶在真核细胞的胞质、线粒体中都存在。

**转氨基作用：**是 α-氨基酸和 α-酮酸之间氨基转移作用，结果是原来的 a.a 生成相应的酮酸，而原来的酮酸生成相应的氨基酸。

大多数转氨酶，优先利用 α-酮戊二酸作为氨基的受体，生成 Glu。如丙氨酸转氨酶，可生成 Glu，叫谷丙转氨酶（GPT）。肝细胞受损后，血中此酶含量大增，活性高。肝细胞正常，血中此酶含量很低。

动物组织中，Asp 转氨酶的活性最大。在大多数细胞中含量高，Asp 是合成尿素时氮的供体，通过转氨作用解决氨的去向。

#### (四) 联合脱氨基

单靠转氨基作用不能最终脱掉氨基，单靠氧化脱氨基作用也不能满足机体脱氨基的需要，因为只有 Glu 脱氢酶活力最高，其余 L-氨基酸氧化酶的活力都低。

机体借助联合脱氨基作用可以迅速脱去氨基。

##### 1、以谷氨酸脱氢酶为中心的联合脱氨基作用

氨基酸的  $\alpha$ -氨基先转到  $\alpha$ -酮戊二酸上，生成相应的  $\alpha$ -酮酸和 Glu，然后在 L-Glu 脱氢酶催化下，脱氨基生成  $\alpha$ -酮戊二酸，并释放出氨。

##### 2、通过嘌呤核苷酸循环的联合脱氨基作用

#### 二、脱羧作用

生物体内大部分 a.a 可进行脱羧作用，生成相应的一级胺。

a.a 脱羧酶专一性很强，每一种 a.a 都有一种脱羧酶，辅酶都是磷酸吡哆醛。

a.a 脱羧反应广泛存在于动、植物和微生物中，有些产物具有重要生理功能，如脑组织中 L-Glu 脱羧生成  $\gamma$ -氨基丁酸，是重要的神经介质。His 脱羧生成组胺（又称组织胺），有降低血压的作用。Tyr 脱羧生成酪胺，有升高血压的作用。

但大多数胺类对动物有毒，体内有胺氧化酶，能将胺氧化为醛和氨。

#### 三、氨的去向

氨对生物机体有毒，特别是高等动物的脑对氨极敏感，血中 1% 的氨会引起中枢神经中毒，因此，脱去的氨必须排出体外。

氨中毒的机理：脑细胞的线粒体可将氨与  $\alpha$ -酮戊二酸作用生成 Glu，大量消耗  $\alpha$ -酮戊二酸，影响 TCA，同时大量消耗 NADPH，产生肝昏迷。

##### 氨的去向：

- (1) 重新利用合成 a.a、核酸。
- (2) 贮存 Gln, Asn 高等植物将氨基氮以 Gln, Asn 形式储存在体内。
- (3) 排出体外

排氨动物：水生、海洋动物，以氨的形式排出。

排尿酸动物：鸟类、爬虫类，以尿酸形式排出。

排尿动物：以尿素形式排出。

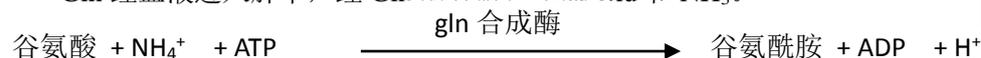
#### (一) 氨的转运（肝外→肝脏）

##### 1、Gln 转运 Gln 合成酶、Gln 酶（在肝中分解 Gln）

Gln 合成酶，催化 Glu 与氨结合，生成 Gln。

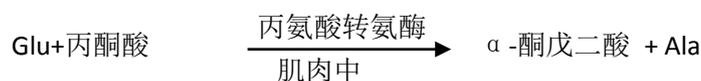
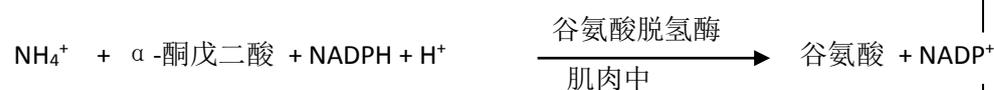
Gln 中性无毒，易透过细胞膜，是氨的主要运输形式。

Gln 经血液进入肝中，经 Gln 酶分解，生成 Glu 和 NH<sub>3</sub>。

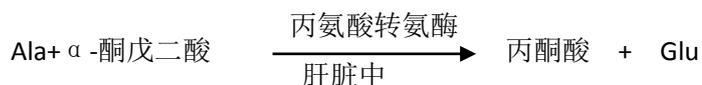


## 2、丙氨酸转运 (Glc-Ala 循环)

肌肉可利用 Ala 将氨运至肝脏，这一过程称 Glc-Ala 循环。



丙氨酸在 PH7 时接近中性，不带电荷，经血液运到肝脏



在肌肉中，糖酵解提供丙酮酸，在肝中，丙酮酸又可生成 Glc。

肌肉运动产生大量的氨和丙酮酸，两者都要运回肝脏，而以 Ala 的形式运送，一举两得。

## (二) 氨的排泄

### 1、直接排氨

排氨动物将氨以 Gln 形式运至排泄部位，经 Gln 酶分解，直接释放 NH<sub>3</sub>。游离的 NH<sub>3</sub> 借助扩散作用直接排除体外。

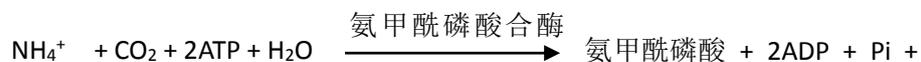
### 2、尿素的生成 (尿素循环)

排尿素动物在肝脏中合成尿素的过程称尿素循环

1932 年，Krebs 发现，向悬浮有肝切片的缓冲液中，加入鸟氨酸、瓜氨酸、Arg 中的任一种，都可促使尿素的合成。

#### (1) 氨甲酰磷酸的生成 (氨甲酰磷酸合酶 I)

肝细胞液中的 a.a 经转氨作用，与  $\alpha$ -酮戊二酸生成 Glu，Glu 进入线粒体基质，经 Glu 脱氢酶作用脱下氨基，游离的氨 ( $\text{NH}_4^+$ ) 与 TCA 循环产生的  $\text{CO}_2$  反应生成氨甲酰磷酸。



氨甲酰磷酸是高能化合物，可作为氨甲酰基的供体。

氨甲酰磷酸合酶 I: 存在于线粒体中，参与尿素的合成。

氨甲酰磷酸合酶 II: 存在于胞质中，参与尿嘧啶的合成。

N-乙酰 Glu 激活氨甲酰磷酸合酶 I、II

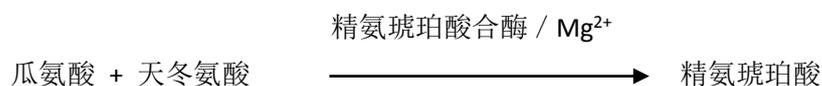
### (2) 合成瓜氨酸 (鸟氨酸转氨甲酰酶)

鸟氨酸接受氨甲酰磷酸提供的氨甲酰基，生成瓜氨酸。

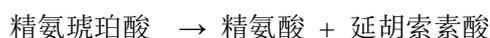
鸟氨酸转氨甲酰酶存在于线粒体中，需要  $\text{Mg}^{2+}$  作为辅因子。

瓜氨酸形成后就离开线粒体，进入细胞液。

### (3) 合成精氨琥珀酸 (精氨琥珀酸合酶)



### (4) 精氨琥珀酸裂解成精氨酸和延胡索素酸 (精氨琥珀酸裂解酶)



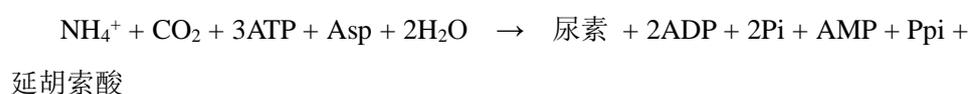
此时 Asp 的氨基转移到 Arg 上。

来自 Asp 的碳架被保留下来，生成延胡索素酸。延胡索素酸可以经苹果酸、草酰乙酸再生为天冬氨酸，

### (5) 精氨酸水解生成鸟氨酸和尿素

尿素形成后由血液运到肾脏随尿排除。

尿素循环总反应:



形成一分子尿素可清除 2 分子氨及一分子  $\text{CO}_2$ ，消耗 4 个高能磷酸键。

联合脱-NH<sub>2</sub> 合成尿素是解决-NH<sub>2</sub> 去向的主要途径。

**尿素循环与 TCA 的关系：**草酰乙酸、延胡索酸（联系物）。

肝昏迷（血氨升高，使  $\alpha$ -酮戊二酸下降，TCA 受阻）可加 Asp 或 Arg 缓解。

### 3、生成尿酸（见核苷酸代谢）

尿酸（包括尿素）也是嘌呤代谢的终产物。

## 四、氨基酸碳架的去向

20 种 aa 有三种去路

(1) 氨基化还原成氨基酸。(2)  $\text{CO}_2$  和水 (TCA)。(3) 生糖、生脂。

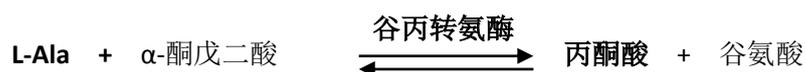
20 种 a.a 的碳架可转化成 7 种物质：丙酮酸、乙酰 CoA、乙酰乙酰 CoA、 $\alpha$ -酮戊二酸、琥珀酰 CoA、延胡索酸、草酰乙酸。

它们最后集中为 5 种物质进入 TCA：乙酰 CoA、 $\alpha$ -酮戊二酸、琥珀酰 CoA、延胡索酸、草酰乙酸。

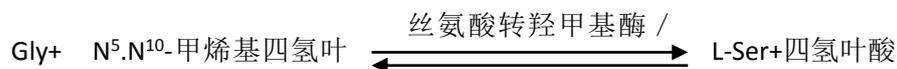
### 1、转变成丙酮酸的途径

Ala、Gly、Ser、Thr、Cys 形成丙酮酸的途径

(1) Ala 经与  $\alpha$ -酮戊二酸转氨（谷丙转氨酶）

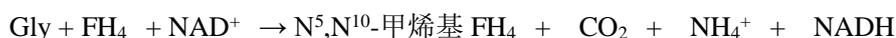


(2) Gly 先转变成 Ser，再由 Ser 转变成丙酮酸。



Gly 与 Ser 的互变是极为灵活的，该反应也是 Ser 生物合成的重要途径。

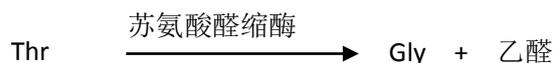
Gly 的分解代谢不是以形成乙酰 CoA 为主要途径，Gly 的重要作用是一碳单位的提供者。



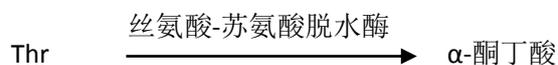
(3) Ser 脱水、脱氢，生成丙酮酸（丝氨酸脱水酶）

(4) Thr 有 3 条途径 P235

①由 Thr 醛缩酶催化裂解成 Gly 和乙醛, 后者氧化成乙酸 → 乙酰 CoA。



②



### (5) Cys 有 3 条途径

①转氨, 生成  $\beta$ -巯基丙酮酸, 再脱巯基, 生成丙酮酸。

②氧化成丙酮酸

③加水分解成丙酮酸

## 2、转变成乙酰乙酰 CoA 的途径

### (1) Phe → Tyr → 乙酰乙酰 CoA

Phe、Tyr 分解为乙酰乙酰 CoA 和延胡索酸的途径

### (2) Tyr

产物: 1 个乙酰乙酰 CoA (可转化成 2 个乙酰 CoA), 1 个延胡索酸, 1 个  $\text{CO}_2$

### (3) Leu

产物: 1 个乙酰 CoA, 1 个乙酰乙酰 CoA, 相当于 3 个乙酰 CoA。

反应中先脱 1 个  $\text{CO}_2$ , 后又加 1 个  $\text{CO}_2$ , C 原子不变。

### (4) Lys

产物: 1 个乙酰乙酰 CoA, 2 个  $\text{CO}_2$ 。

在反应途中转氨: a. 氧化脱氨, b. 转氨

### (5) Trp

产物: 1 个乙酰乙酰 CoA, 1 个乙酰 CoA, 4 个  $\text{CO}_2$ , 1 个甲酸。

## 3、 $\alpha$ -酮戊二酸途径

Arg、His、Gln、Pro、Glu 形成  $\alpha$ -酮戊二酸的途径

(1) **Arg** 产物: 1 分子 Glu, 1 分子尿素

(2) **His** 产物: 1 分子 Glu, 1 分子 NH<sub>3</sub>, 1 分子甲亚氨基

(3) **Gln** 三条途径

①. Gln 酶:  $\text{Gln} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Glu} + \text{NH}_3$

② Glu 合成酶:  $\text{Gln} + \alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NADPH} \rightarrow 2\text{Glu} + \text{NADP}^+$

③转酰胺酶:  $\text{Gln} + \alpha\text{-酮戊二酸} \rightarrow \text{Glu} + \text{r-酮谷酰氨基酸} \rightarrow \alpha\text{-酮戊二酸} + \text{NH}_4^+$

(4) **Pro** 产物:  $\text{Pro} \rightarrow \text{Glu}$        $\text{Hpro} \rightarrow \text{丙酮酸} + \text{丙醛酸}$

#### 4、琥珀酰 CoA 途径

Met、Ile、Val 转变成琥珀酰 CoA

(1) **Met** 给出 1 个甲基, 将-SH 转给 Ser (生成 Cys), 产生一个琥珀酰 CoA

(2) **Ile** 产生一个乙酰 CoA 和一个琥珀酰 CoA

(3) **Val**      P247 图 16-23

#### 5、草酰乙酸途径

Asp 和 Asn 可转变成草酰乙酸进入 TCA, Asn 先转变成 Asp (Asn 酶), Asp 经转氨作用生成草酰乙酸.

#### 6、延胡索酸途径

Phe、Tyr 可生成延胡索酸 (前面已讲过)。

### 五、生糖氨基酸与生酮氨基酸

生酮氨基酸: Phe、Tyr、Leu、Lys、Trp。在分解过程中转变为乙酰乙酰 CoA, 后者在动物肝脏中可生成乙酰乙酸和  $\beta$ -羟丁酸, 因此这 5 种 a.a. 称生酮 a.a.

生糖氨基酸: 凡能生成丙酮酸、 $\alpha$ -酮戊二酸、琥珀酸、延胡索酸、草酰乙酸的 a.a. 都称为生糖 a.a., 它们都能生成 Glc。

而 Phe、Tyr 是生酮兼生糖 a.a.

### 六、由氨基酸衍生的其它重物质

#### 1、由氨基酸产生一碳单位

一碳单位: 具有一个碳原子的基团, 包括: 亚氨基 (-CH=NH), 甲酰基

( $\text{HC=O-}$ ), 羟甲基 ( $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 亚甲基 (又称甲叉基,  $-\text{CH}_2$ ), 次甲基 (又称甲川基,  $-\text{CH=}$ ), 甲基 ( $-\text{CH}_3$ )

一碳单位不仅与 a.a. 代谢密切相关, 还参与嘌呤、嘧啶的生物合成, 是生物体内各种化合物甲基化的甲基来源。

Gly、Thr、Ser、His、Met 等 a.a. 可以提供一碳单位。

一碳单位的转移靠四氢叶酸 (5, 6, 7, 8-四氢叶酸), 携带甲基的部位是  $\text{N}^5$ 、 $\text{N}^{10}$

## 2、氨基酸与生物活性物质

### (1) Tyr 与黑色素

### (2) Tyr 与儿茶酚胺类

可生成多巴、多巴胺、去甲肾上腺素、肾上腺素, 这四种统称儿茶酚胺类。前二者是神经递质, 后二者是激素

### (3) Trp 与 5-羟色胺及吲哚乙酸

5-羟色胺是神经递质, 促进血管收缩

### (4) 肌酸和磷酸肌酸 (Arg、Gly、Met)

肌酸和磷酸肌酸, 在贮存和转移磷酸键能中起重要作用。它们存在于动物的肌肉、脑、血液中。

肌酸合成中的甲基化: S-腺苷 Met

### (5) His 与组胺

His 脱羧生成组胺, 是一种血管舒张剂, 在神经组织中是感觉神经的一种递质。

### (6) Arg $\rightarrow$ 水解 $\rightarrow$ 鸟氨酸 $\rightarrow$ 脱羧 $\rightarrow$ 腐胺 $\rightarrow$ 亚精胺 $\rightarrow$ 精胺

### (7) Glu 与 $\gamma$ -氨基丁酸

Glu 本身就是一种兴奋性神经递质 (还有 Asp), 在脑、脊髓中广泛存在。Glu 脱羧形成的  $\gamma$ -氨基丁酸是一种抑制性神经递质。

### (8) 牛磺酸和 Cys

Cys 的 SH 氧化成  $-\text{SO}_3^-$ , 并脱去  $-\text{COO}^-$  就形成了牛磺酸, 牛磺酸与胆汁酸结合, 乳化食物。

## 七、氨基酸代谢缺陷症

### 第三节氨基酸合成代谢

#### 一、氨基酸合成中的氮源和碳源

**(1) 生物固氮 (微生物)**

- a. 与豆科植物共生的根瘤菌
- b. 自养固氮菌蓝藻

**(2) 硝酸盐和亚硝酸盐 (植物、微生物)****(3) 各种脱氨基酸作用产生的  $\text{NH}_3$  (所有生物)****2、碳源**

直接碳源是相应的  $\alpha$ -酮酸，植物能合成 20 种 a.a. 相应的全部碳架或前体。  
人和动物只能直接合成部分 a.a. 相应的  $\alpha$ -酮酸。

主要来源：糖酵解、TCA、磷酸己糖支路。

必需氨基酸：Ile、Leu、Lys、Met、Phe、Thr、Trp、Val、(Arg、His)

**3、植物、部分微生物 a.a. 合成方式****①  $\alpha$ -酮戊二酸衍生类型 Glu、Gln、Pro、Arg、Lys (蕈类、眼虫)**

与 a.a. 分解进入  $\alpha$ -酮酸的途径比较，少了一种 a.a.，即 His。

**② 草酰乙酸衍生类型 Asp、Asn、Met、Thr、Ile (也可归入丙酮类)、Lys (植物、细菌)**

经 TCA 中间产物 ( $\alpha$ -酮戊二酸、草酰乙酸) 可合成 10 种 a.a.，即 Glu、Gln、Pro、Arg、Asp、Asn、Met、Thr、Ile、Lys。

**③ 丙酮酸衍生类型 Ala、Val (Ile)、Leu****④ 3-磷酸甘油酸衍生类型 Ser、Gly、Cys**

经酵解中间产物 (3-磷酸甘油酸、丙酮酸)，可合成 Ser、Cys、Gly、Ala、Val、Leu 等 6 种 a.a。

⑤ 经酵解及磷酸戊糖中间产物 (磷酸烯醇丙酮酸、4-磷酸赤藓糖)，可合成 Phe、Tyr、Trp 等 3 种芳香族 a.a。

⑥ His 有自己独特的合成途径，与其它氨基酸之间没有关系

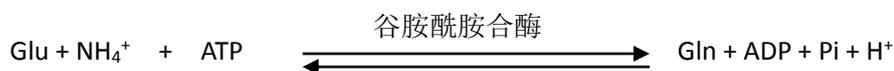
**二、脂肪族氨基酸生物合成途径****1、 $\alpha$ -酮戊二酸衍生类型 (Glu、Gln、Pro、Arg、Lys (蕈类、眼虫))****(1) Glu 的合成**

由  $\alpha$ -酮戊二酸与游离氨，经 L-Glu 脱氢酶催化。对于植物和微生物，氨的来源是 Gln 的酰胺基。



### (2) Gln 的合成

由  $\alpha$ -酮戊二酸形成 Glu，由 Glu 可以进一步形成 Gln，



Gln 合酶是催化氨转变为有机含氮物的主要酶，活性受 8 种含氮物反馈调控：

氨基 Glc-6-P、Trp、Ala、Gly、His 和 CTP、AMP、氨甲酰磷酸。

除 Gly、Ala，其余含氮物的氮都来自 Gln。

### (3) Pro 的合成 (Glu 环化而成)

### (4) Arg 合成

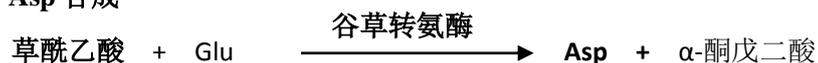
### (4) Lys 合成

①  $\alpha$ -酮戊二酸衍生型 (蕈类、眼虫)

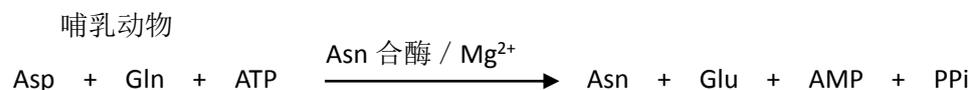
② 天冬氨酸、丙酮酸衍生型 (植物、细菌)

## 2、草酰乙酸衍生类型 (Asp、Asn、Met、Thr、Ile、Lys (植物、细菌))

### (1) Asp 合成



### (2) Asn 合成 (转移酰胺基)



**(3) Met 合成****(4) Thr 合成**

Lys、Met、Thr 合成中，有一段共同途径，即生成 Asp- $\beta$ -半醛，是一个分枝点化合物。

**(5) Ile 合成（与 Val 极为相似） P271 图 17-9**

Ile 的合成途径与 Val 极为相似。

6 个 C 中 4 个来自 Asp (Asp  $\rightarrow$  Thr)，2 个来自丙酮酸，所以也可以归入丙酮酸衍生型。

**(6) Lys（植物、细菌） P267 图 17-5****3、丙酮酸衍生型（Ala、Val (Ile)、Leu)****4、3-磷酸甘油酸衍生型（Ser、Gly、Cys)****三、芳香族氨基酸及 His 的生成合成 P274****1、Phe、Tyr、Trp 的合成**

分枝酸： 2 磷酸烯醇丙酮酸，1 个赤藓糖 4-P

**2、His 合成****四、氨基酸生物合成的调节**

最有效的调节是通过合成过程的终端产物，反馈抑制反应系列中第一个酶的活性，即通过别构效应调节第一个酶的活性。

**1、通过终端产物对 aa 合成的反馈抑制**

- (1) 简单的终端产物反馈抑制
- (2) 不同终端产物对共同合成途径的协同抑制
- (3) 不同分枝产物对多个同工酶的抑制
- (4) 顺序反馈抑制

终端产物 E 和 H，只分别抑制分道后自己的分支途径中第一个酶的活性。

**2、通过酶量调节****五、几种重要的 a.a.衍生物的生物合成**

1、谷光苷肽 2、肌酸 3、卟啉（血红素、细胞色素、叶绿素。卟啉由 Gly 和琥珀酰 CoA 合成）4、短杆菌肽

### 【讨论提问】

白血病是一种白细胞的恶性增殖。一临床医生在试用一种腺苷脱氨酶(ADA)

答案：ADA的缺乏可能导致了细胞内腺苷或脱氧腺苷的积累。而腺苷或脱氧腺苷的堆积又导致dATP的堆积。过分多的dATP可抑制NDP还原酶的所有活性。

的抑制剂作为治疗白血病的药物。你认为这种试剂会有效吗？为什么？

### 【本章小结】

对个别氨基酸的代谢特点亦根据各氨基酸的类型分别作了扼要的介绍，重点介绍氨基酸的主要代谢途径，氨基酸分解代谢和合成代谢的共同反应。

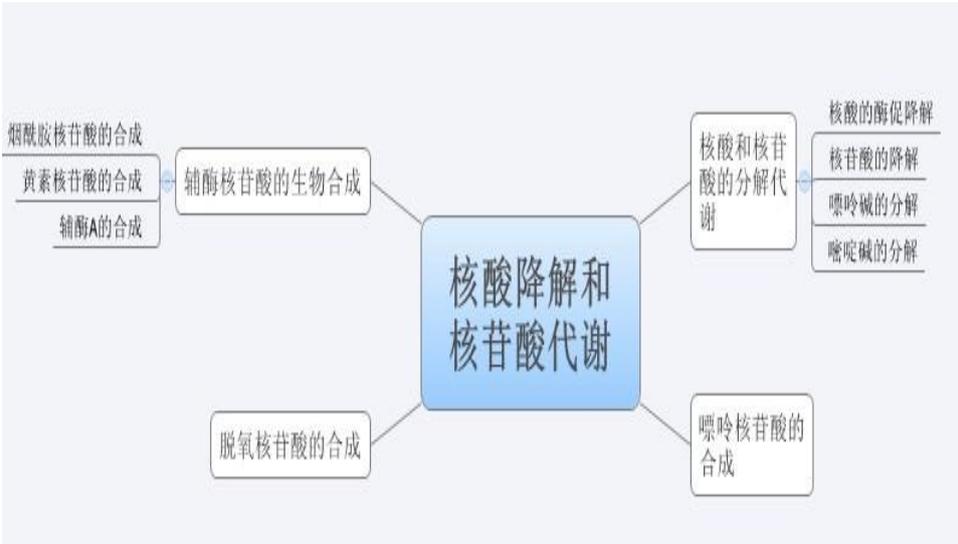
### 【课后作业】

- 1、氨基酸的分解和合成有哪些共同途径？其主要产物是什么？
- 2、氨基酸的代谢与酮体和糖的产生有何关系？
- 3、哪些氨基酸可转变为丙酮酸？哪些氨基酸可转变为乙酰辅酶 A？

### 教学反思

氨基酸分解代谢过程的氨的去路，能量的变化，和糖代谢脂代谢的关系，经常思路不够清晰，在教学过程中需要强调。

## 第十一章核酸酶促降解和核苷酸代谢

|               |  |
|---------------|--|
| <b>教学目标</b>   | 了解核酸在体内的分解概况，掌握两种核苷酸的生物合成途径及其调节以及其他核苷酸的生物合成途径。                                       |
| <b>教学重点</b>   | ① 嘌呤核苷酸的分解途径和生物合成<br>② 嘧啶核苷酸的分解途径和生物合成   |
| <b>教学难点</b>   | ① 嘌呤核苷酸的分解途径和生物合成<br>② 嘧啶核苷酸的分解途径和生物合成   |
| <b>学时分配</b>   | ③ 第一部分嘌呤核苷酸的合成与分解代谢            1 学时<br>④ 第二部分嘧啶核苷酸的合成与分解代谢            1 学时           |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法  |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体   |
| <b>知识结构体系</b> |  |

| 授课题目   | 核酸酶促降解和核苷酸代谢 | 授课序次 | 22    |
|--|--------------|------|-------|
| 总学时数   | 2 学时         | 授课时长 | 80 分钟 |
| 教学过程及授课内容  |              |      | 备注    |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>核苷酸是一类在代谢上极为重要的物质。无论动物、植物或微生物，通常都能由一些简单的前体物质合成嘌呤和嘧啶核苷酸。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节核酸和核苷酸的分解代谢</b></p> <p><b>一、核酸的酶促降解</b></p> <p>核酸是核苷酸以 3'、5'-磷酸二酯键连成的高聚物，核酸分解代谢的第一步就是分解为核苷酸，作用于磷酸二酯键的酶称核酸酶（实质是磷酸二酯酶）。</p> <p><b>根据对底物的专一性可分为：</b>核糖核酸酶、脱氧核糖核酸酶、非特异性核酸酶。</p> <p><b>根据酶的作用方式分：</b>内切酶、外切酶。</p> <p><b>1、核糖核酸酶</b></p> <p>只水解 RNA 磷酸二酯键的酶（RNase），不同的 RNase 专一性不同。</p> <p>牛胰核糖核酸酶（RNaseI），作用位点是嘧啶核苷-3'-磷酸与其它核苷酸间的连接键。核糖核酸酶 T1（RNaseT1），作用位点是 3'-鸟苷酸与其它核苷酸的 5'-OH 间的键。</p> <p><b>2、脱氧核糖核酸酶</b></p> <p>只能水解 DNA 磷酸二酯键的酶。DNase 牛胰脱氧核糖核酸酶（DNaseI）可切割双链和单链 DNA。产物是以 5'-磷酸为末端的寡核苷酸。</p> <p>牛胰脱氧核糖核酸酶（DNase I），降解产物为 3'-磷酸为末端的寡核苷酸。</p> <p>限制性核酸内切酶：细菌体内能识别并水解外源双链 DNA 的核酸内切酶，产生 3'-OH 和 5'-P。</p> <p>Pst I 切割后，形成 3'-OH 单链粘性末端。</p> <p>EcoR I 切割后，形成 5'-P 单链粘性末端。</p> |              |      |       |

### 3、非特异性核酸酶

既可水解 RNA，又可水解 DNA 磷酸二酯键的核酸酶。

小球菌核酸酶是内切酶，可作用于 RNA 或变性的 DNA，产生 3'-核苷酸或寡核苷酸。

蛇毒磷酸二酯酶和牛脾磷酸二酯酶属于外切酶。

蛇毒磷酸二酯酶能从 RNA 或 DNA 链的游离的 3'-OH 逐个水解，生成 5'-核苷酸。牛脾磷酸二酯酶从游离的 5'-OH 开始逐个水解，生成 3'核苷酸。

## 二、核苷酸的降解

### 1、核苷酸酶（磷酸单酯酶）

水解核苷酸，产生核苷和磷酸。

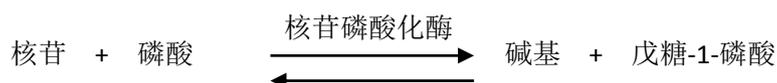
非特异性磷酸单酯酶：不论磷酸基在戊糖的 2'、3'、5'，都能水解下来。

特异性磷酸单酯酶：只水解 3'核苷酸或 5'核苷酸（3'核苷酸酶、5'核苷酸酶）

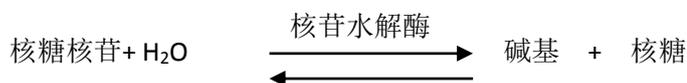
### 2、核苷酶

两种：

① 核苷磷酸化酶：广泛存在，反应可逆。



②核苷水解酶：主要存在于植物、微生物中，只水解核糖核苷，不可逆



### 三、嘌呤碱的分解

首先在各种脱氨酶的作用下水解脱氨，脱氨反应可发生在嘌呤碱、核苷及核苷酸水平上。

不同种类的生物分解嘌呤碱的能力不同，因此，终产物也不同。

**排尿酸动物：**灵长类、鸟类、昆虫、排尿酸爬虫类

**排尿酸素动物：**哺乳动物（灵长类除外）、腹足类

**排尿酸动物：**硬骨鱼类

**排尿素动物：**大多数鱼类、两栖类

某些低等动物能将尿素进一步分解成  $\text{NH}_3$  和  $\text{CO}_2$  排出。

植物分解嘌呤的途径与动物相似，产生各种中间产物（尿囊素、尿囊酸、尿素、 $\text{NH}_3$ ）。

微生物分解嘌呤类物质，生成  $\text{NH}_3$ 、 $\text{CO}_2$  及有机酸（甲酸、乙酸、乳酸、等）。

#### 四、嘧啶碱的分解

人和某些动物体内脱氨基过程有的发生在核苷或核苷酸上。脱下的  $\text{NH}_3$  可进一步转化成尿素排出。

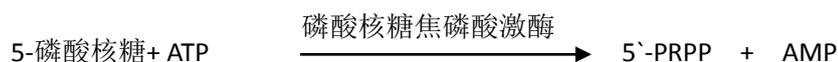
### 第二节 嘌呤核苷酸的合成

#### 一、从头合成

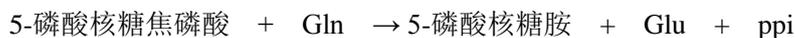
由 5'-磷酸核糖-1'-焦磷酸（5'-PRPP）开始，先合成次黄嘌呤核苷酸，然后由次黄嘌呤核苷酸（IMP）转化为腺嘌呤核苷酸和鸟嘌呤核苷酸。

嘌呤环合成的前体： $\text{CO}_2$ 、甲酸盐、Gln、Asp、Gly

#### 1、次黄嘌呤核苷酸的合成（IMP）

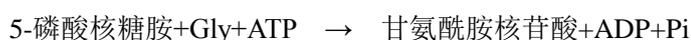


##### (1) 磷酸核糖焦磷酸转酰胺酶（转氨）

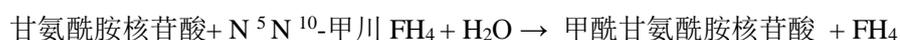


使原来  $\alpha$ -构型的核糖转化成  $\beta$  构型

##### (2) 甘氨酸核苷酸合成酶

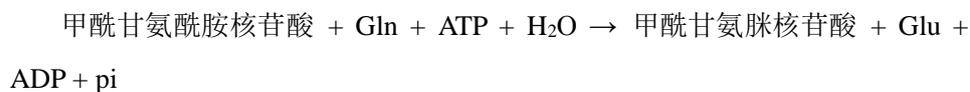


##### (3) 甘氨酸核苷酸转甲酰基酶



甲川基可由甲酸或氨基酸供给。

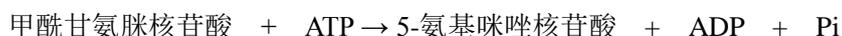
#### (4) 甲酰甘氨酸核苷酸合成酶



此步反应受重氮丝氨酸和 6-重氮-5-氧-正亮氨酸不可逆抑制，这两种抗菌素与 Gln 有类似结构。

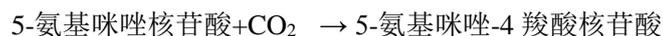
P 304 结构式：重氮丝氨酸、6-重氮-5-氧-正亮氨酸

#### (5) 氨基咪唑核苷酸合成酶

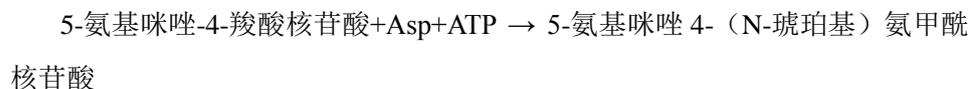


(1) ~ (5) 第一阶段，合成第一个环

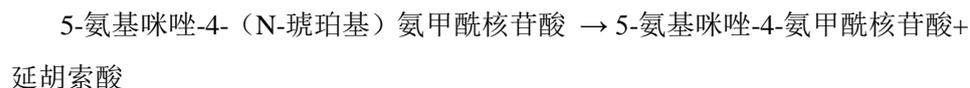
#### (6) 氨基咪唑核苷酸羧化酶



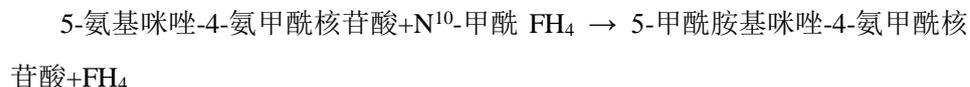
#### (7) 氨基咪唑琥珀基氨甲酰核苷酸合成酶



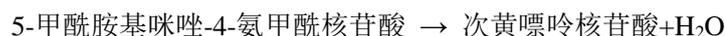
#### (8) 腺苷酸琥珀酸裂解酶



#### (9) 氨基咪唑氨甲酰核苷酸转甲酰基酶



#### (10) 次黄嘌呤核苷酸环水解酶



总反应式：



### 2、腺嘌呤核苷酸的合成 (AMP)

**腺苷酸琥珀酸合成酶**

IMP + Asp + GTP  $\xrightarrow{\hspace{10em}}$  腺苷酸琥珀酸 + GDP + Pi

↓ 腺苷酸琥珀酸裂解酶

AMP + 延胡索酸

从头合成: CO<sub>2</sub>、2 个甲酸盐、2 个 Gln、1 个 Gly、(1+1) 个 Asp、(6+1) 个 ATP, 产生 2 个 Glu、(1+1) 个延胡索酸。

Asp 的结构类似物羽田杀菌素, 可强烈抑制腺苷酸琥珀酸合成酶的活性, 阻止 AMP 生成。

羽田杀菌素: N-羟基-N-甲酰-Gly (P307)

### 3、鸟嘌呤核苷酸的合成

IMP + NAD<sup>+</sup> + H<sub>2</sub>O  $\xrightarrow{\text{IMP 脱氢酶}}$  黄嘌呤核苷酸 + NADH + H<sup>+</sup>

↓ GMP 合成酶

黄嘌呤核苷酸 + Gln (或 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) + ATP + H<sub>2</sub>O  $\xrightarrow{\hspace{10em}}$  GMP + Glu + AMP + PPi

### 4、AMP、GMP 生物合成的调节

5-磷酸核糖焦磷酸转酰胺酶是关键酶, 可被终产物 AMP、GMP 反馈抑制。

AMP 过量可反馈抑制自身的合成。

GMP 过量可反馈抑制自身的合成。

### 5、药物对嘌呤核苷酸合成的影响

筛选抗肿瘤药物, 肿瘤细胞核酸合成速度快, 药物能抑制。

①羽田杀菌素

与 Asp 竞争腺苷酸琥珀酸合成酶, 阻止次黄嘌呤核苷酸转化成 AMP。

②重氮乙酰丝氨酸、6-重氮-5-氧正亮氨酸, 是 Gln 的结构类似物, 抑制 Gln 参与的反应。

③氨基蝶呤、氨甲蝶呤

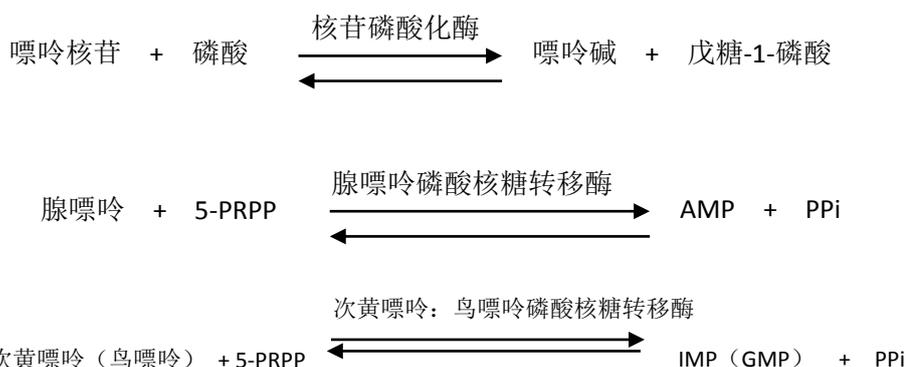
叶酸的结构类似物, 能与二氢叶酸还原酶发生不可逆结合, 阻止 FH<sub>4</sub> 的生成, 从而抑制 FH<sub>4</sub> 参与的各种一碳单位转移反应。

## 二、补救途径

利用已有的碱基和核苷合成核苷酸

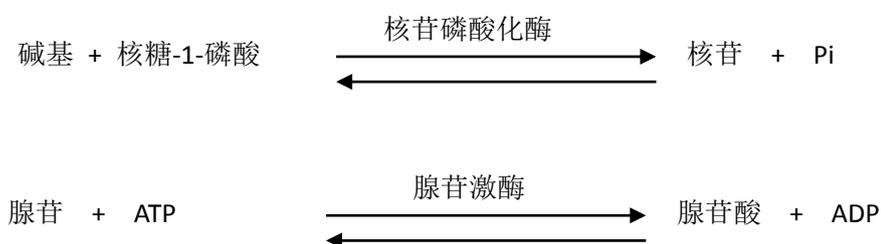
### 1、磷酸核糖转移酶途径（重要途径）

嘌呤碱和 5-PRPP 在特异的磷酸核糖转移酶的作用下生成嘌呤核苷酸



### 2、核苷激酶途径（但在生物体内只发现有腺苷激酶）

腺嘌呤在核苷磷酸化酶作用下转化为腺嘌呤核苷，后者在核苷磷酸激酶的作用下与 ATP 反应，生成腺嘌呤核苷酸。



嘌呤核苷酸的从头合成与补救途径之间存在平衡。Lesch-Nyan 综合症就是由于次黄嘌呤：鸟嘌呤磷酸核糖转移酶缺陷，AMP 合成增加，大量积累尿酸，肾结石和痛风。

## 第三节 嘧啶核苷酸的合成

### 一、从头合成

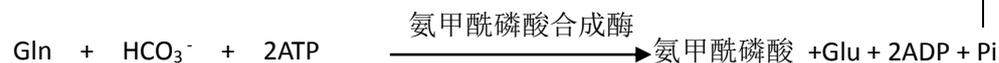
与嘌呤核苷酸合成不同，在合成嘧啶核苷酸时，首先合成嘧啶环，再与磷酸核糖结合，生成尿嘧啶核苷酸，最后由尿嘧啶核苷酸转化为胞嘧啶核苷酸和

胸腺嘧啶脱氧核苷酸。

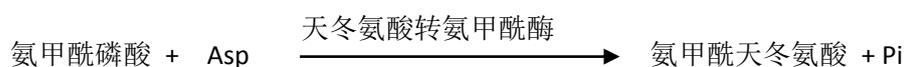
合成前体：氨甲酰磷酸、Asp

### 1、尿嘧啶核苷酸的合成

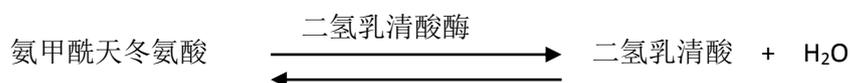
氨甲酰磷酸的合成



#### (1) 天冬氨酸转氨甲酰酶



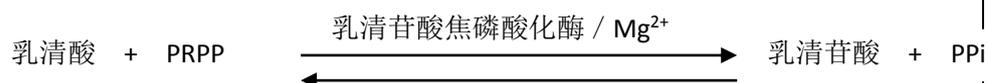
#### (2) 二氢乳清酸酶



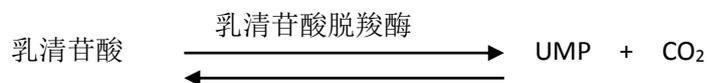
#### (3) 二氢乳清酸脱氢酶 (辅基: FAD、FMN)



#### (4) 乳清苷酸焦磷酸化酶

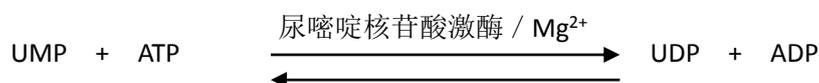


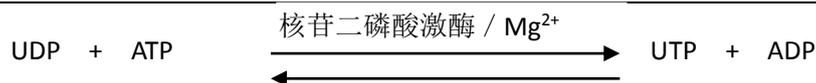
#### (5) 乳清苷酸脱羧酶



### 2、胞嘧啶核苷酸的合成

尿嘧啶核苷三磷酸可直接与  $\text{NH}_3$  (细菌) 或  $\text{Gln}$  (植物) 反应, 生成胞嘧啶核苷三磷酸。





### 3、嘧啶核苷酸生物合成的调节（大肠杆菌）

氨甲酰磷酸合成酶：受 UMP 反馈抑制

天冬氨酸转氨甲酰酶：受 CTP 反馈抑制

CTP 合成酶：受 CTP 反馈抑制

### 4、药物对嘧啶核苷酸合成的影响

有多种嘧啶类似物可抑制嘧啶核苷酸的合成。

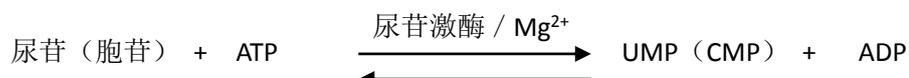
5-氟尿嘧啶抑制胸腺嘧啶脱氧核苷酸的合成。

5-氟尿嘧啶在人体内转变成相应的核苷酸，再转变成脱氧核苷酸，可抑制脱氧胸腺嘧啶核苷酸合成酶，干扰尿嘧啶脱氧核苷酸经甲基化生成脱氧胸苷的过程，DNA 合成受阻。

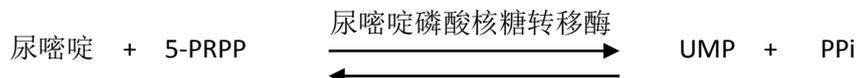
## 二、补救途径

### (1) 嘧啶核苷激酶途径（重要途径）

嘧啶碱与 1-磷酸核糖生成嘧啶核苷，然后由尿苷激酶催化尿苷和胞苷形成 UMP 和 CMP。



### (2) 磷酸核糖转移酶途径（胞嘧啶不行）



## 第四节 脱氧核苷酸的合成

脱氧核糖核苷酸是由相应的核糖核苷酸衍生而来的。

(1) 腺嘌呤、鸟嘌呤和胞嘧啶核糖核苷酸经还原，将核糖第二位碳原子的氧脱去，即成为相应的脱氧核糖核苷酸。

(2) 胸腺嘧啶脱氧核糖核苷酸：先由尿嘧啶核糖核苷酸还原形成尿嘧啶脱氧核糖核苷酸，然后尿嘧啶再经甲基化转变成胸腺嘧啶。

### 一、核糖核苷酸的还原

ADP、GDP、CDP、UDP 均可分别被还原成相应的脱氧核糖核苷酸：dADP、dGDP、dCDP、dUDP 等，其中 dUDP 甲基化，生成 dTDP。

还原反应一般在核苷二磷酸 (NDP) 水平上进行，ATP、dATP、dTTP、dGTP 是还原酶的变构效应物，个别微生物（赖氏乳菌杆菌）在核苷三磷酸水平上还原 (NTP)。

#### 1、核苷酸还原酶系 P312 图示

由硫氧还蛋白、硫氧还蛋白还原酶和核苷酸还原酶 (B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub>) 三部分组成。

B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 亚基结合后，才具有催化活性。

B<sub>1</sub> 上的巯基和 B<sub>2</sub> 上的酪氨酸残基是活性中心的催化基因。

另外核苷酸还原酶所需的还原当量还可来自谷胱甘肽。

①硫氧还蛋白 -SH

②硫氧还蛋白还原酶、辅酶 FAD

③谷胱甘肽氧还蛋白 (酶)

④谷胱甘肽还原酶 -SH

⑤核苷酸还原酶 (RR) -SH

#### 2、核苷酸还原酶结构模型及催化机理

##### (1) 结构模型

B<sub>1</sub> 亚基上有两个调节部位，一个影响整个酶的活性 (一级调节部位)，另一个调节对底物的专一性 (底物结合部位)

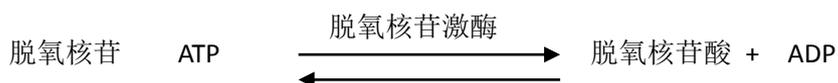
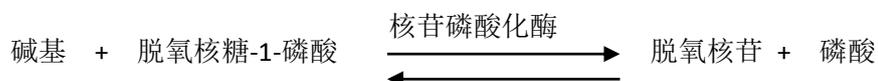
一级调节部位：ATP 是生物合成的信号分子，而 dATP 是核苷酸被还原的信号。

底物调节部位：①与 ATP 结合，可促进嘧啶类的 UDP、CDP 还原成 dUDP、dCDP；②与 dTTP 或 dGTP 结合，可促使 GDP (ADP) 还原成 dGDP (dADP)

##### (2) 催化机理自由基催化转换模型。

### 3、脱氧核苷酸的补救（脱氧核苷激酶途径）

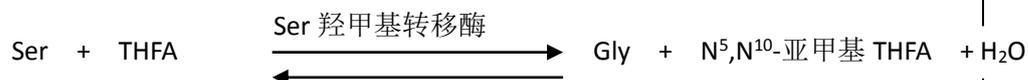
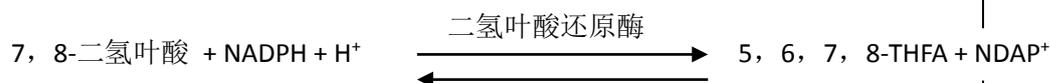
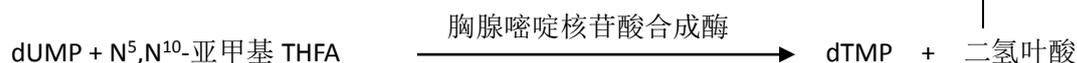
脱氧核苷酸也能利用已有的碱基或核苷进行合成（补救途径），但只有脱氧核苷激酶途径，不存在类似的磷酸核糖转移酶途径



### 二、胸腺嘧啶脱氧核苷酸的合成

由尿嘧啶脱氧核苷酸（dUMP）经甲基化生成。

Ser 提供甲基，NADPH 提供还原当量。



## 第五节 辅酶核苷酸的生物合成

### 一、烟酰胺核苷酸的合成（NAD、NADP）

NAD、NADP 是脱氢辅酶，在生物氧化还原系统中传递氢。

合成途径：

- (1) 烟酸单核苷酸焦磷酸化酶
- (2) 脱酰胺-NAD 焦磷酸化酶
- (3) NAD 合成酶

NADP 的合成：NAD 激酶催化 NAD 与 ATP 反应，使 NAD 的腺苷酸残基的核糖 2'-OH 磷酸化，生成 NADP。

## 二、黄素核苷酸的合成 (FMN、FAD)

## 三、辅酶 A 的合成

CoA-SH

前体: 腺苷酸、泛酸、巯基乙胺、磷酸

途径: (1) 泛酸激酶 (2) 磷酸泛酰半胱氨酸合成酶

(3) 磷酸泛酰半胱氨酸脱羧酶 (4) 脱磷酸辅酶 A 焦磷酸化酶

(5) 脱磷酸辅酶 A 激酶

### 【讨论提问】

答案: 别嘌呤醇是黄嘌呤氧化酶的抑制剂, 而黄嘌呤氧化酶是鸟类嘌呤代谢形成尿酸的关键酶, 形成的尿酸排除体外。如果让鸡服用别嘌呤醇, 尿酸将无法产生, 将会对鸟类嘌呤的代谢带来灾难性的后果。

如果让鸡服用别嘌呤醇, 则会有什么现象发生?

### 【本章小结】

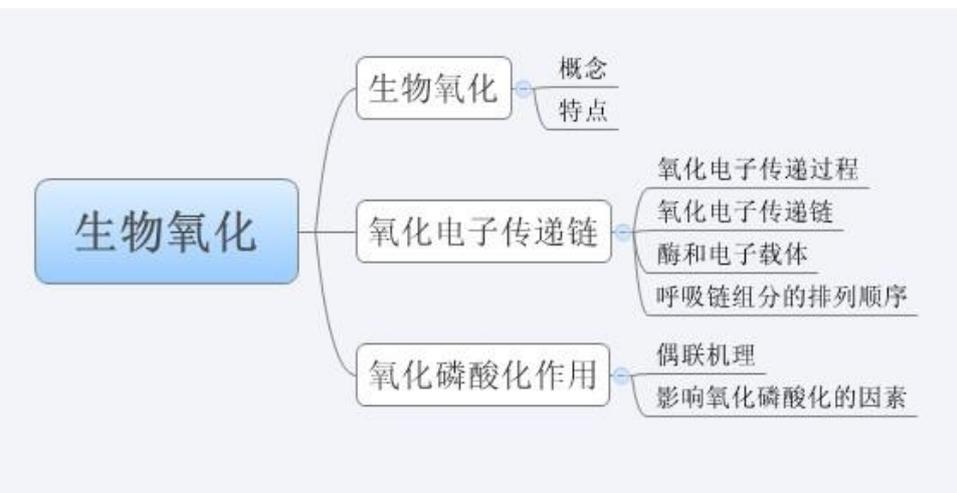
本章扼要的叙述了核酸的酶解, 生物体内嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸的分解途径和生物合成。对与生化反应有重要关系的核苷酸衍生物在机体中的合成途径也作了介绍。

### 【课后作业】

- 1、食物中的核酸在体内如何降解? 有哪些重要的酶参与?
- 2、简述生物体内嘌呤核苷酸和嘧啶核苷酸的生物合成和调节。
- 3、脱氧核苷酸是如何合成的?

### 教学反思

## 第十二章生物氧化

|               |   |
|---------------|---|
| <b>教学目标</b>   | 理解生物化学的概念，结合糖、脂、蛋白质、和核酸 4 大代谢的化学过程，进而认识生物氧化反应在物质代谢中的重要性。  |
| <b>教学重点</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 生物氧化的概念、基本原理。</li> <li>② 氧化类型、作用机制</li> <li>③ 有关酶类以及能量的长生和转移等</li> </ul> |
| <b>教学难点</b>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 电子呼吸链顺序</li> <li>② 氧化磷酸化机理</li> <li>③ 电子呼吸链抑制剂</li> </ul>                |
| <b>学时分配</b>   | 第一节生物能学几个概念 1 学时<br>第二节生物氧化和电子传递链 2 学时<br>第三节氧化磷酸化 1 学时   |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法   |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体  |
| <b>知识结构体系</b> |                               |

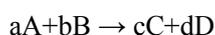
| 授课题目  | 生物氧化 | 授课序次 | 23、24  |
|---|------|------|--------|
| 总学时数  | 4 学时 | 授课时长 | 320 分钟 |
| 教学过程及授课内容   |      |      | 备注     |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>生物体所需的能量大都来至糖、脂肪、蛋白质等有机物的氧化。生物体内的氧化和外界的燃烧在化学本质上虽然最终产物都是水和二氧化碳，所释放的能量也完全相等，但二者所进行的方式却不大相同。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节生物能学的几个概念</b></p> <p>一、化学反应中的自由能变化及其意义</p> <p>1、化学反应中的自由能</p> <p><b>自由能：</b>在一个体系中，能够用来做有用功的那一部分能量称自由能，用符号 G 表示。</p> <p>在恒温、恒压下进行的化学反应，其产生有用功的能力可以用反应前后自由能的变化来衡量。</p> <p><b>自由能的变化：</b><math>\Delta G = G_{\text{产物}} - G_{\text{反应物}} = \Delta H - T\Delta S</math></p> <p><math>\Delta G</math> 代表体系的自由能变化，<math>\Delta H</math> 代表体系的焓变化，T 代表体系的绝对温度，<math>\Delta S</math> 代表体系的熵变化。</p> <p>焓与熵都是体系的状态函数。</p> <p><b>焓代表体系的内能与压力 P*体积 V 之和：</b><math>H = U + P*V</math>      <math>dH = dU + P*dV + V*dP</math></p> <p><b>熵代表体系中能量的分散程度，也就是体系的无序程度：</b><math>\Delta S = dQ / T</math>，<math>\Delta S = \Delta S_{\text{体系}} + \Delta S_{\text{环境}}</math>，只有<math>\Delta S \geq 0</math>，过程才能自发进行。</p> <p>2、<math>\Delta G</math> 是判断一个过程能否自发进行的根据</p> <p><math>\Delta G &lt; 0</math>，反应能自发进行，能做有用功。</p> <p><math>\Delta G &gt; 0</math>，反应不能自发进行，必须供给能量。</p> <p><math>\Delta G = 0</math>，反应处于平衡状态。</p> |      |      |        |

一个放热反应(或吸热反应)的总热量的变化 ( $\Delta H$ ), 不能作为此反应能否自发进行的判据, 只有自由能的变化才是唯一准确的指标。

$\Delta G < 0$  仅是反应能自发进行的必要条件, 有的反应还需催化剂才能进行, 催化剂(酶)只能催化自由能变化为负值的反应, 如果一个反应的自由能变化为正值, 酶也无能为力。

当 $\Delta G$  为正值时, 反应体系为吸能反应, 此时只有与放能反应相偶联, 反应才能进行。

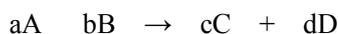
## 二、标准自由能变化及其与化学反应平衡常数的关系



标准自由能变化: 在规定的标准条件下的自由能变化, 用 $\Delta G^\circ$ 表示。

标准条件:  $25^\circ\text{C}$ , 参加反应的物质的浓度都是  $1\text{mol/L}$  (气体则是 1 大气压)。若同时定义  $\text{pH} = 7.0$ , 则标准自由能变化用 $\Delta G^{\circ'}$ 表示。

对于一个溶液中的化学反应:



$$\Delta G = \Delta G^{\circ'} + RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

当反应达到平衡时,  $\Delta G = 0$

$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ'} &= -RT \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \\ &= -RT \ln K' \\ &= -2.303 \log K' \end{aligned}$$

$K'$ 是化学反应的平衡常数, 因此,  $\Delta G^{\circ'}$  也是一个常数。

常见物质的标准生成自由能 $\Delta G^{\circ'}$ 已经列在各种化学手册中, 可以根据 $\Delta G^{\circ'} = -RT \ln K'$ 的公式求出平衡常数  $K'$ 。

## 三、自由能变化的可加和性。

在偶联的几个化学反应中, 自由能的总变化等于每一步反应自由能变化的总和。



第一步,  $\text{Glc} + \text{P}_i \rightarrow \text{G}-6\text{-P} + \text{H}_2\text{O}$ , 此反应不能自发进行。

第二步,  $\text{ATP} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$

总反应:  $\text{Glc} + \text{ATP} \rightarrow \text{G}-6\text{-P} + \text{ADP}$ .

因此, 一个热力学上不能进行的反应, 可与其它反应偶联, 驱动整个反应进行。此类反应在生物体内是很普遍的。

#### 四、高能磷酸化合物

**高能化合物:** 水解时释放 5000 卡/mol 及以上自由能的化合物。

**高能磷酸化合物:** 水解每摩尔磷酸基释放 5000cal 以上能量的磷酸化合物。

##### (一) 高能化合物的类型

#### 1、磷氧键型。

##### (1) 酰基磷酸化合物。

3—磷酸甘油酸磷酸, 乙酰磷酸, 氨甲酰磷酸, 酰基腺苷酸, 氨酰腺苷酸。

##### (2) 焦磷酸化合物。

无机焦磷酸, ATP, ADP

##### (3) 烯醇式磷酸化合物。

磷酸烯醇式丙酮酸。

#### 2、氮磷键型。

磷酸肌酸, 磷酸精氨酸。

#### 3、硫酯键型。

3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸, 酰基辅酶 A。

#### 4、甲硫键型。

S-腺苷甲硫氨酸。

##### (二) ATP 的特殊的作用。

#### 1、是细胞内产能反应和需能反应的化学偶联剂。

## 2、在磷酸基转移中的作用。

Glc 进入血液中，唯一出路是磷酸化。G-6-P 是 Glc 的一种活化形式。己糖激酶催化： $\text{Glc} + \text{ATP} \rightarrow \text{G-6-P} + \text{ADP}$ 。

3-磷酸甘油是甘油的活化形式，能参与脂肪合成。甘油激酶： $\text{甘油} + \text{ATP} \rightarrow \text{3-磷酸甘油} + \text{ADP}$ 。

### （三）磷酸肌酸、磷酸精氨酸的储能作用 P23

磷酸肌酸是易兴奋组织（如肌肉、脑、神经）唯一的能起暂时储能作用的物质。

磷酸精氨酸是无脊椎动物肌肉中的储能物质

## 第二节 生物氧化、氧化电子传递链和氧化磷酸化作用

### 一、生物氧化的概念和特点。

糖，脂，蛋白质等有机物质在细胞中进行氧化分解，生成  $\text{CO}_2$ ， $\text{H}_2\text{O}$  并释放出能量，这个过程称生物氧化。

生物氧化是需氧细胞呼吸代谢过程中的一系列氧化还原作用，又称细胞氧化或细胞呼吸。

**特点：**反应条件温和，多步反应，逐步放能。

生物氧化在活细胞中进行，pH 中性，反应条件温和，一系列酶和电子传递体参与氧化过程，逐步氧化，逐步释放能量，转化成 ATP。

真核细胞，生物氧化多在线粒体内进行，在不含线粒体的原核细胞中，生物氧化在细胞膜上进行。

### 生物氧化的三阶段

**第一阶段：**多糖，脂，蛋白质等分解为构造单位——单糖、甘油与脂肪酸、氨基酸，该阶段几乎不释放化学能。

**第二阶段：**构造单位经糖酵解、脂肪酸  $\beta$  氧化、氨基酸氧化等各自的降解途径分解为丙酮酸、乙酰 CoA 等少数几种共同的中间代谢物，这些共同的中间代谢物在不同种类物质的代谢间起着枢纽作用。该阶段释放少量的能量。

**第三阶段：**丙酮酸、乙酰 CoA 等经过三羧酸循环彻底氧化为  $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 。释放大量的能量。

在第二、第三阶段中，氧化脱下的电子（H<sup>-</sup>）经过一个氧化的电子传递过程（氧化电子传递链）最终传给 O<sub>2</sub>，并生成 ATP，以这种方式生成 ATP 的作用称为氧化磷酸化作用，它是一种很重要的将生物氧化和能量生成相偶连的机制。

生物氧化的终产物是 CO<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O，CO<sub>2</sub> 的形成是通过三羧酸循环过程，H<sub>2</sub>O 则是在电子传递过程的最后阶段生成。

## 二、氧化电子传递过程

生物氧化过程中形成的还原型辅酶（NADH 和 FADH<sub>2</sub>），通过电子传递途径，使其重新氧化，此过程称为电子传递过程。

在电子传递过程中，还原型辅酶中的氢以负质子（H<sup>-</sup>）形式脱下，其电子经一系列的电子传递体（电子传递链）转移，最后转移到分子氧上，质子和离子型氧结合生成 H<sub>2</sub>O。

## 三、氧化电子传递链 P57 图 12-2

由 NADH 到 O<sub>2</sub> 的氧化电子传递链主要包括 FMN、辅酶 Q（CoQ）、细胞色素 b、c<sub>1</sub>、c、a<sub>3</sub> 及一些铁硫蛋白。

氧化电子传递链位于原核生物的质膜上，真核生物中位于线粒体的内膜上。

电子载体的标准势能  $\Delta G^{\circ}$  是逐步下降的，电子沿着电势升高的方向流动。其中有三个部位的势能落差  $\Delta G$  较大，足以形成 ATP（ADP 磷酸化需要的自由能=7.3Kcal/mol.）。这三个部位正好是氧化磷酸化部位。

细胞内供能物质的彻底氧化产物是 CO<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>O 其中 CO<sub>2</sub> 主要是在三羧酸循环中产生，水是在电子传递过程的最后阶段产生。

## 四、电子传递链的酶和电子载体

呼吸链中的电子载体都是和蛋白质结合存在（包括 NAD<sup>+</sup>、FMN、铁硫中心、细胞色素）。这些蛋白质大都是水不溶性的，嵌在线粒体的内膜上。

NAD<sup>+</sup> 是许多脱氢酶的辅酶，FMN 是 NADH 脱氢酶的辅酶。

### 1、NAD<sup>+</sup>和 NADP<sup>+</sup>

脱氢酶分别与 NAD<sup>+</sup> 或 NADP<sup>+</sup> 结合，催化底物脱氢，这类酶称为与 NAD（P）相关的脱氢酶，

多数脱氢酶以  $\text{NAD}^+$  为辅酶，少数以  $\text{NADP}^+$  为辅酶（如 G-6-P 脱氢酶）少数酶能以  $\text{NAD}^+$  或  $\text{NADP}^+$  两种辅酶（Glu 脱氢酶）。

## 2、NADH 脱氢酶以及其它黄素蛋白酶类

NADH 脱氢酶含 FMN 辅基，铁-硫中心。

铁硫中心铁的价态变化 ( $\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ ) 可以将电子从 FMN 辅基上转移到呼吸链下一成员辅酶 Q 上。

含有核黄素辅基的酶还包括琥珀酸脱氢酶、脂酰 CoA 脱氢酶等。

## 3、辅酶 Q (泛醌)

电子传递链上唯一的非蛋白质成分。

辅酶 Q 在线粒体中有两种存在形式：膜结合型、游离型。

辅酶 Q 不仅可以接受 FMN 上的氢 (NADH 脱氢酶)，还可以接受线粒体  $\text{FADH}_2$  上的氢 (如琥珀酸脱氢酶、脂酰 CoA 脱氢酶以及其它黄素酶类)。

## 4、细胞色素类。

细胞色素类是含铁的电子传递体，铁原子处于卟啉结构中心，构成血红素。

细胞色素类是呼吸链中将电子从辅酶 Q 传递到  $\text{O}_2$  的专一酶类。

线粒体的电子传递链至少含有 5 种不同的细胞色素：b、c、 $c_1$ 、a、 $a_3$ 。

细胞色素 b 有两种存在形式：b562、b566

细胞色素 c 是唯一可溶性的细胞色素，同源性很强，可作为生物系统发生关系的一个指标。

细胞色素 a、 $a_3$  是以复合物的形式存在，又称细胞色素氧化酶，将电子从细胞色素 c 传到分子  $\text{O}_2$ 。

## 五、电子传递抑制剂

阻断呼吸链中某一部位的电子传递。

1、鱼藤酮、安密妥、杀粉蝶菌素 (都可阻断电子由 NADH 向 CoQ 传递。)

2、抗霉素 A (抑制电子从细胞色素 b 向细胞色素  $c_1$  传递)

3、氰化物、硫化氢、叠氮化物、CO (阻断电子从细胞色素  $a_3$  向  $\text{O}_2$  传递)

## 六、氧化磷酸化作用

氧化磷酸化作用：电子沿着氧化电子传递链传递的过程中所伴随的将 ADP 磷酸化为 ATP 的作用，或者说是 ATP 的生成与氧化电子传递链相偶联的磷酸化作用。

底物水平磷酸化作用：是指 ATP 的形成直接与一个代谢中间物（如 PEP）上的磷酸基团转移相偶联的作用。糖酵解中 1,3-二磷酸甘油酸，磷酸烯醇丙酮酸。

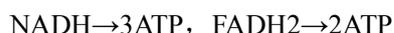
### 1、方程式：



三个 ATP 的形成获取了呼吸链中电子由 NADH 传递至氧所产生的全部自由能的 42%。（ $21.9/52.7 \times 100\%$ ）。

### 2、几个概念：

（1）P/O 比：一对电子通过呼吸链传至氧所产生的 ATP 的分子数。



#### （2）ATP 生成部位：

三个部位由三个酶复合体催化：

部位 I：NADP 与 CoQ 之间，NADH 脱氢酶。

部位 II：CoQ 与 CytC 之间，CytC 还原酶。

部位 III：Cyta 与 O<sub>2</sub> 之间，CytC 氧化酶。

#### （3）呼吸控制

ADP 作为关键物质，对氧化磷酸化的调节作用称为呼吸控制。

#### （4）解偶联剂，（2,4—硝基苯酚）

电子传递过程和 ATP 形成过程相分离，电子传递仍可进行，但不能形成 ATP。

#### （5）氧化磷酸化抑制剂：

抑制 O<sub>2</sub> 的利用和 ATP 的形成。

## 七、氧化磷酸化的偶联机理

**【讨论提问】**

以前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, 但不久即被放弃使用, 为什么?

**答案:** 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。

**【本章小结】**

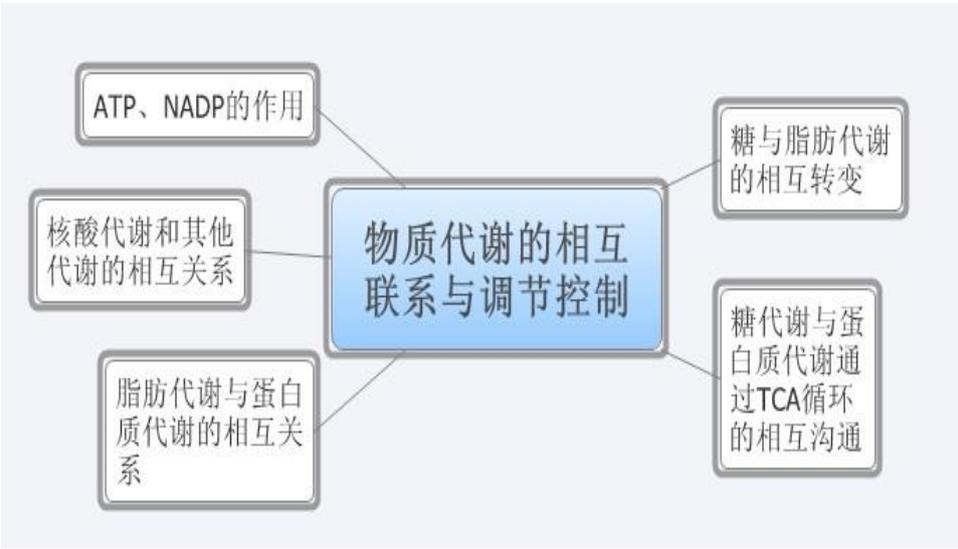
本章阐明了物质代谢各章的基本原理。主要介绍生物氧化的概念、基本原理、氧化类型、作用机制有关酶类以及能量的产生和转移等。。在糖类、脂质和蛋白质类等产能物质的代谢过程中都包含有生物氧化还原作用和能量的产生和转移作用, 本章是作为物质代谢各章的总结好概括。

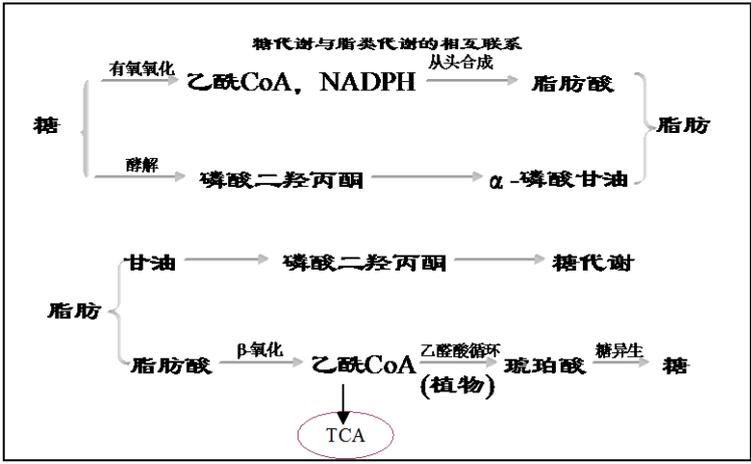
**【课后作业】**

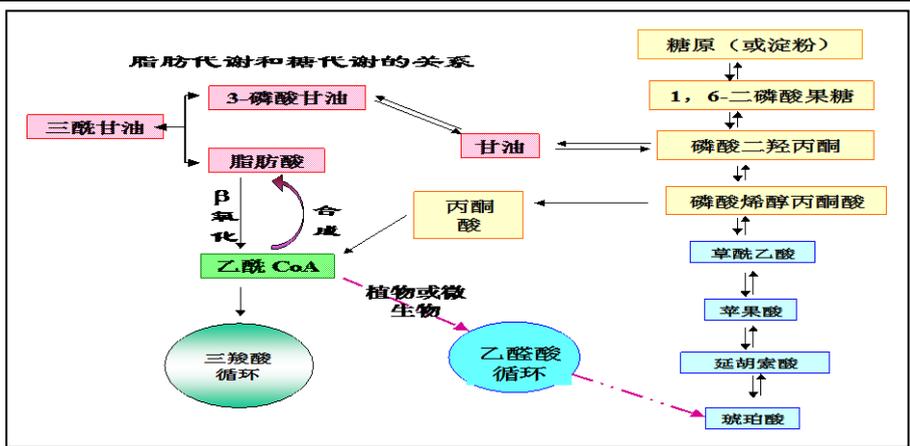
1. 什么叫氧化? 什么叫生物氧化和氧化磷酸化?
2. 参加电子转移的物质有哪些? 它们的结构特点是什么?

**教学反思**

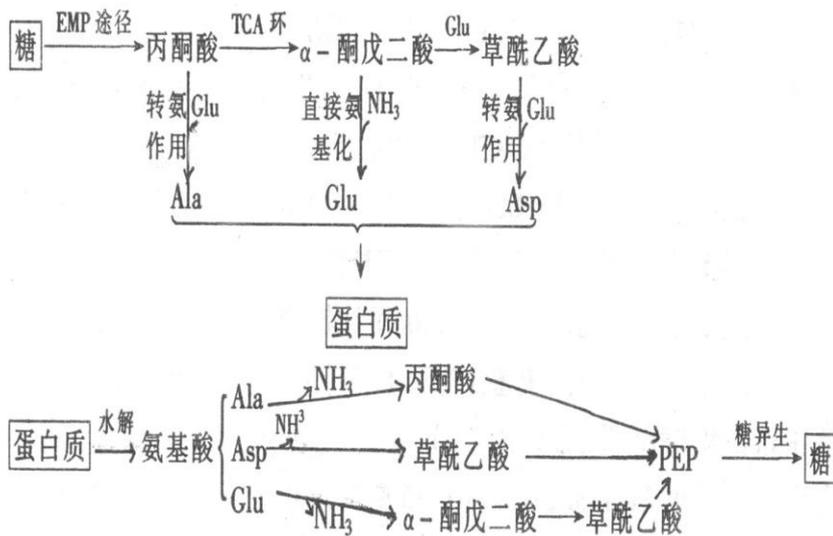
## 第十三章物质代谢的相互联系及其调节

|            |  |            |      |          |      |
|------------|--|------------|------|----------|------|
| 教学目标       | 学习本章的同时应复习酶、激素、维生素、和代谢各章的有关内容配合学习。   |            |      |          |      |
| 教学重点       | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 代谢之间的相互联系及其调控</li> <li>② 酶的变构调节</li> <li>③ 酶的反馈调节</li> </ul>  |            |      |          |      |
| 教学难点       | <ul style="list-style-type: none"> <li>① 糖类、脂类和蛋白质三大物质之间的联系</li> <li>② 酶的调节</li> </ul>   |            |      |          |      |
| 学时分配       | <table style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 60%;">第一节代谢的相互联系</td> <td style="width: 40%; text-align: right;">1 学时</td> </tr> <tr> <td>第二节代谢的调节</td> <td style="text-align: right;">1 学时</td> </tr> </table> | 第一节代谢的相互联系 | 1 学时 | 第二节代谢的调节 | 1 学时 |
| 第一节代谢的相互联系 | 1 学时   |            |      |          |      |
| 第二节代谢的调节   | 1 学时   |            |      |          |      |
| 教学方法       | 讨论法+讲授法  |            |      |          |      |
| 教学手段       | 传统教学+现代多媒体   |            |      |          |      |
| 知识结构体系     |    |            |      |          |      |

|  |               |      |           |
|--|---------------|------|-----------|
| 授课题目   | 物质代谢的相互联系及其调节 | 授课序次 | 25        |
| 总学时数   | 2 学时          | 授课时长 | 80 分钟     |
| <b>教学过程及授课内容</b>   |               |      | <b>备注</b> |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>物质代谢是生命现象的基本特征，是生命活动的物质基础。物质代谢是由许多连续的和相关的代谢途径所组成，而代谢途径(如糖的氧化，脂肪酸的合成等)又是由一系列的酶促化学反应组成。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节物质代谢的相互联系</b></p> <p>机体内各种组织、器官和各种细胞在功能上都不会独立于整体之外，而是处于一个严密的整体系统中。一个组织可以为其它组织提供底物，也可以代来自其它组织的物质。这些器官之间的相互联系是依靠神经—内分泌系统的调节来实现的。神经系统可以释放神经递质来影响组织中的代谢，又能影响内分泌腺的活动，改变激素分泌的状态，从而实现机体整体的代谢协调和平衡。</p> <p>不同代谢途径通过共同代谢中间代谢物形成代谢网络；不同的代谢途径通过交叉点上关键的共同中间代谢物得以沟通，形成经济有效、运转良好的代谢网络。</p> <p>最关键的中间物：6-磷酸葡萄糖、丙酮酸和乙酰 CoA。</p> <p>各代谢还有与其他代谢相同的中间物：磷酸二羟丙酮、磷酸烯醇式丙酮酸、草酰乙酸、<math>\alpha</math>-酮戊二酸、磷酸核糖等，在沟通代谢网络中也起着重要作用。</p> <p><b>一、糖与脂肪代谢的相互转变</b></p> <div style="text-align: center;">  <p>The diagram, titled '糖代谢与脂类代谢的相互联系', shows the following pathways:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li><b>Sugar to Lipid:</b> 糖 (Sugar) can be converted to 乙酰CoA, NADPH (Acetyl-CoA, NADPH) via 有氧氧化 (aerobic oxidation). This leads to 脂肪酸 (fatty acid) synthesis (从头合成). Alternatively, 糖 can be broken down (酵解) to 磷酸二羟丙酮 (DHAP), which is then converted to <math>\alpha</math>-磷酸甘油 (<math>\alpha</math>-glycerol-3-phosphate) to form 脂肪 (lipid).</li> <li><b>Lipid to Sugar:</b> 脂肪 can be broken down into 甘油 (glycerol) and 脂肪酸 (fatty acid). Glycerol is converted to 磷酸二羟丙酮 (DHAP), which enters 糖代谢 (sugar metabolism). Fatty acid undergoes <math>\beta</math>-oxidation to 乙酰CoA (Acetyl-CoA). In plants, this enters the 乙醛酸循环 (乙醛酸循环 (植物)), leading to 琥珀酸 (succinate), which can be converted to 糖 (sugar) via 糖异生 (gluconeogenesis). Acetyl-CoA also enters the TCA cycle (TCA).</li> </ul> </div> |               |      |           |

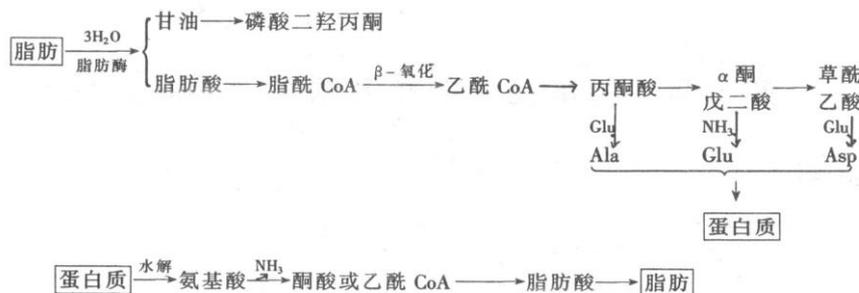


二、糖代谢与蛋白代谢通过 TCA 循环的相互沟通

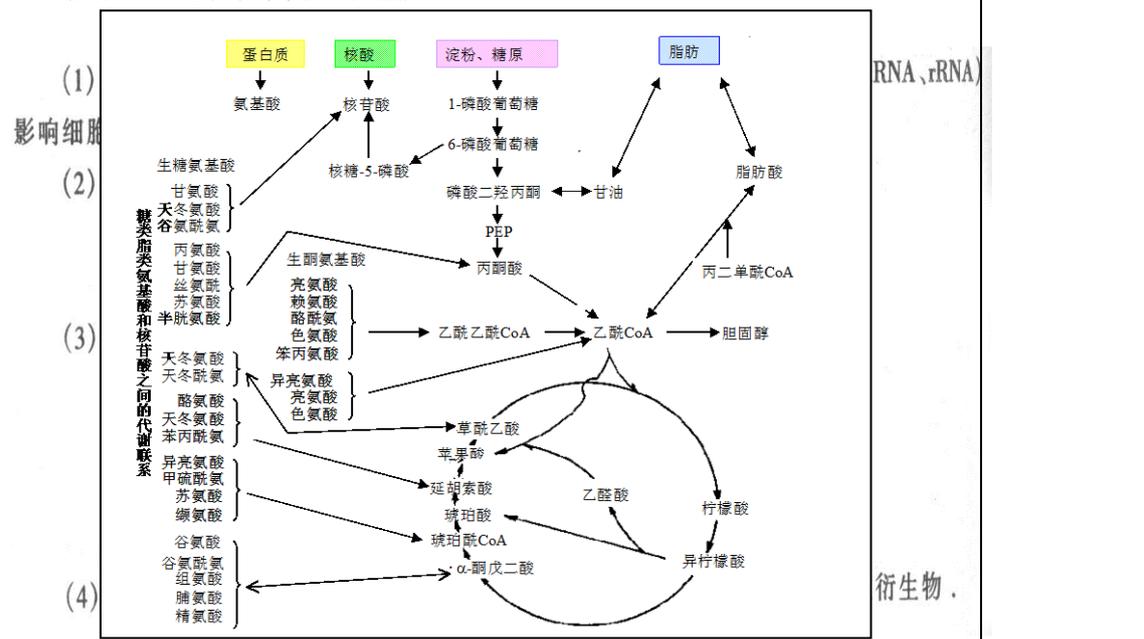


三、脂肪代谢与蛋白代谢的相互关系

生酮氨基酸可转变为脂肪，而脂肪酸有限合成蛋白质



### 四、核酸和其它物质代谢的相互关系



### 五、ATP、NADP 的作用

ATP 是通用的能量载体；NADP 以还原力的形式携带能量。

### 第二节 代谢的调节

#### I、酶水平的调节

细胞水平的调节主要是通过对酶的控制来实现，因此又称为酶调节，包括酶在胞内的分布差异、酶活性的改变及酶量的变化等方式改变代谢的速度。

#### 一、酶区域定位的调节

细胞内的不同部位分布着不同的酶，称为酶的区域定位或酶分布的分隔性，这个特性决定了细胞内不同的部位进行着不同的代谢。这种区域化的分布，使得各种代谢途径不致互相干扰，而又彼此协调。

#### 二、酶水平的调节

##### (一) 酶含量变化的调节（粗调）

细胞内酶的浓度的改变也可以改变代谢速度。其中主要是对基因表达的调节。活化基因则合成相应的酶，酶量增加；钝化基因则基因关闭，停止酶的合成，酶量降低。这种调节方式为迟缓调节，所需时间较长，但作用时间持久。

除通过改变酶分子的结构来调节细胞内原有酶的活性外，生物体还可通过改变酶的合成或降解速度以控制酶的绝对含量来调节代谢。要升高或降低某种酶的浓度，除调节酶蛋白合成的诱导和阻遏过程外，还必须同时控制酶降解的

速度。

### 1. 酶合成的调节

#### (1) 酶的底物或产物、激素以及药物等都可以影响酶的合成。

一般将加强酶合成的化合物称为诱导剂(inducer)，减少酶合成的化合物称为阻遏剂(repressor)。诱导剂和阻遏剂可在转录水平或翻译水平影响蛋白质的合成，但以影响转录过程较为常见。这种调节作用要通过一系列蛋白质生物合成的环节，故调节效应出现较迟缓。

#### (2) 底物对酶合成的诱导作用

受酶催化的底物常常可以诱导该酶的合成，此现象在生物界普遍存在。高等动物体内，因有激素的调节作用，底物诱导作用不如微生物体内那么重要，但是，某些代谢途径中的关键酶也受底物的诱导调节。

#### (3) 产物对酶合成的阻遏

代谢反应的终产物不但可通过变构调节直接抑制酶体系中的关键酶或催化起始反应作用的酶，有时还可阻遏这些酶的合成。

#### (4) 激素对酶合成的诱导作用

激素是高等动物体内影响酶合成的最重要的调节因素。糖皮质激素能诱导一些氨基酸分解代谢中起催化起始反应作用的酶和糖异生途径关键酶的合成，而胰岛素则能诱导糖酵解和脂肪酸合成途径中的关键酶的合成。

#### (5) 药物对酶合成的诱导作用

很多药物和毒物可促进肝细胞微粒体中单加氧酶(或称混合功能氧化酶)或其他一些药物代谢酶的诱导合成，从而促进药物本身或其他药物的氧化失活，这对防止药物或毒物的中毒和累积有着重要的意义。其作用的本质，也属于底物对酶合成的诱导作用。另一方面，它也会因此而导致出现耐药现象。如，长期服用苯巴比妥的病人，会因苯巴比妥诱导生成过多的单加氧酶而使苯巴比妥药效降低。氨甲喋呤治疗肿瘤时，也可因诱导叶酸还原酶的合成而使原来剂量的氨甲喋呤不足，而出现药物失效现象。

### 2. 酶分子降解的调节

细胞内酶的含量也可通过改变酶分子的降解速度来调节。饥饿情况下，精氨酸酶的活性增加，主要是由于酶蛋白降解的速度减慢所致。饥饿也可使乙酰辅酶 A 羧化酶浓度降低，这除了与酶蛋白合成减少有关外，还与酶分子的降解速度加强有关。苯巴比妥等药物可使细胞色素 b<sub>5</sub> 和 NADPH-细胞色素 P<sub>450</sub> 还原酶降解减少，这也是这类药物使单加氧酶活性增强的一个原因。

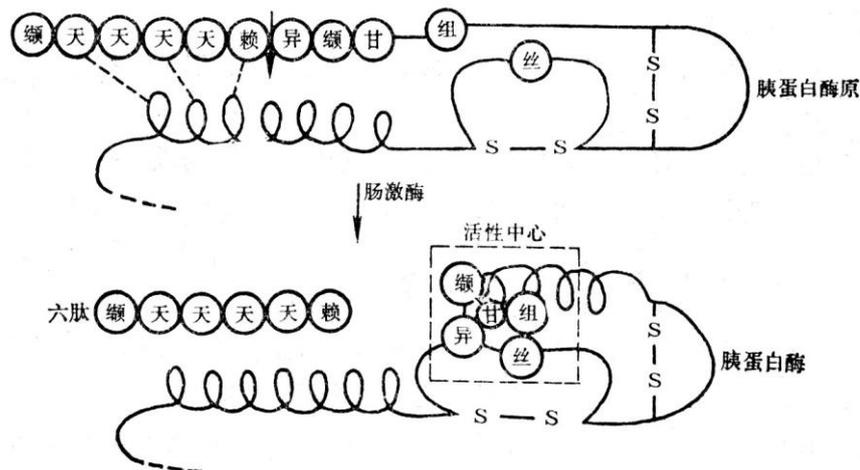
酶蛋白受细胞内溶酶体中蛋白水解酶的催化而降解，因此，凡能改变蛋白水解酶活性或蛋白水解酶在溶酶体内分布的因素，都可间接地影响酶蛋白的降

解速度。有关情况尚了解不多。总之，通过酶降解以调节酶含量的重要性不如酶的诱导和阻遏作用。

## (二) 酶活性的调节 (微调)

通过控制酶的活性来控制代谢速度。对酶的控制主要是由改变酶的分子结构来实现的。

### 1. 酶原的活化调节



### 2. 变构调节

#### (1) 概念

某些物质能与酶分子上的非催化部位特异地结合，引起酶蛋白的分子构象发生改变，从而改变酶的活性，这种现象称为酶的变构调节或称别位调节 (allosteric regulation)。受这种调节作用的酶称为别构酶或变构酶 (allosteric enzyme)，能使酶发生变构效应的物质称为变构效应剂 (allosteric effector)；如变构后引起酶活性的增强，则此效应剂称为激活变构剂 (allosteric activator) 或正效应物；反之则称为抑制变构剂 (allosteric inhibitor) 或负效应物。变构调节在生物界普遍存在，它是机体内快速调节酶活性的一种重要方式。

#### (2) 生理意义

变构效应在酶的快速调节中占有特别重要的地位。在前面已经提及，代谢速度的改变，常常是由于影响了整条代谢通路中催化第一步反应的酶或整条代谢反应中限速酶的活性而引起的。这些酶对底物不遵守米氏动力学原则。它们往往受到一些代谢物的抑制或激活，这些抑制或激活作用大多是通过变构效应来实现的。

#### (3) 变构调节的机理

能受变构调节的酶，常常是由两个以上亚基组成的聚合体。有的亚基与作用物结合，起催化作用，称为**催化亚基**；有的亚基与变构剂结合，发挥调节作

用,称**调节亚基**。但也可在同一亚基上既存在催化部位又存在调节部位。变构剂与调节亚基(或部位)间是非共价键的结合,结合后改变酶的构象(如变为疏松或紧密),从而使酶活性被抑制或激活。

### 3.酶的共价修饰

#### (1)酶分子化学修饰的概念

酶分子肽链上的某些基团可在另一种酶的催化下发生可逆的共价修饰,从而引起酶活性的改变,这个过程称为酶的酶促化学修饰(chemical modification)。如磷酸化和脱磷酸,乙酰化和去乙酰化,腺苷化和去腺苷化,甲基化和去甲基化以及-SH基和-S-S-基互变等,其中磷酸化和脱磷酸作用在物质代谢调节中最为常见。

#### (2)酶促化学修饰的机理

肌肉糖元磷酸化酶的酶促化学修饰是研究得比较清楚的一个例子。该酶有两种形式,即无活性的磷酸化酶 b 和有活性的磷酸化酶 a。磷酸化酶 b 是二聚体,分子量约为 85,000Da。它在酶的催化下,使每个亚基分别接受 ATP 供给的一个磷酸基团,转变为磷酸化酶 a,后者具有高活性。两分子磷酸化酶 a 二聚体可以再聚合成活性较低的(低于高活性的二聚体)磷酸化酶 a 四聚体。

#### (3)酶促化学修饰的特点

A.绝大多数酶促化学修饰的酶都具有无活性(或低活性)与有活性(或高活性)两种形式。

B.存在瀑布式效应

C.磷酸化与脱磷酸是常见的酶促化学修饰反应。

D.此种调节同变构调节一样,可以按着生理的需要来进行。

### 4.亚基的聚合与解聚

有一些寡聚酶通过与一些小分子调节因子结合,使得酶的亚基发生聚合或解聚,从而使酶发生活性态与非活性态间的互变。调节因子通常与酶的调节中心以非共价结合。在这种调节酶中,多数是聚合时为活性态,解聚是为非活性态,少数例外。

### 5.反馈调节

代谢底物、中间产物及终产物常常可以作为影响关键酶的效应物。对关键酶的活性起到促进或抑制作用,这就是前馈和反馈调节。

#### (1)前馈与反馈的概念

##### ①、前馈--代谢底物和调节作用

**前馈**是指代谢底物或代谢途径中早期的中间产物,对途径中后面某步反应

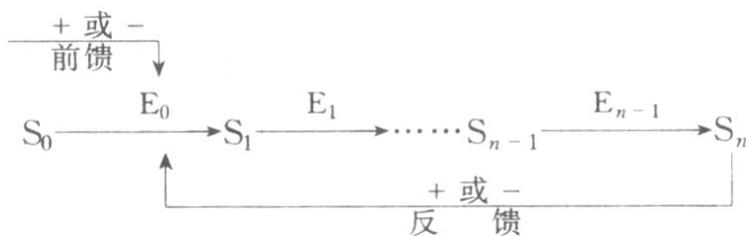
酶活性的影响，从而影响整个代谢途径的速度。如果底物（或中间产物）浓度增高，使酶激活，或酶的活性提高，称为**正前馈**；相反，底物浓度增高，酶活下降，使代谢速度减慢，称为**负前馈**。

②、**反馈—终产物的调节作用**

在更多的情况下，一个代谢途径的终产物（或某些中间产物）对关键酶的活性产生更重要的影响，称为**反馈**。如果终产物浓度增高，刺激关键酶的活性，称为**正反馈**；反之，终产物的积累抑制关键酶的活性，称为**负反馈**。

**反馈抑制的类型**

负反馈又称反馈抑制，是反馈调节中最普遍，最重要的形式。按代谢途径的不同，可以分为线性反馈与分支代谢反馈，在分支反馈中又有不同的类型。



(2)、**反馈抑制的类型**

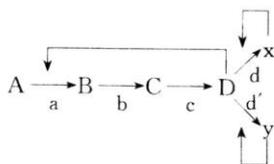
①、**线性代谢的反馈调节**

**线性代谢**是指由一定的代谢底物开始，一个反应接一个反应，前一个反应的产物是后一个反应的底物，形成连续的、线性代谢途径，直到整个代谢终产物的形成。

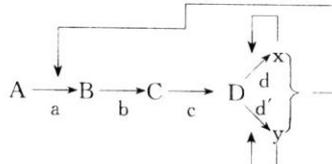
②**分支代谢的反馈调节**

在许多物质的合成中，常常由相同的原料合成两种或多种终末产物，称为**分支代谢**。

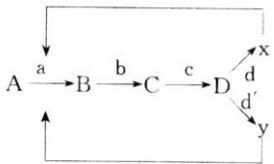
①**顺序反馈抑制**



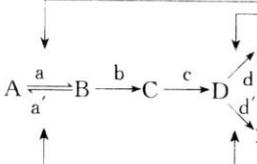
②**协同反馈抑制**



③**积累反馈抑制**



④**同工酶反馈抑制**



**a. 多价反馈抑制**

当一条代谢途径中有两个以上终产物时，每一终产物单独存在并不对整个代谢途径起抑制作用，只有几个最终产物同时过多时才能对途径中第一个酶产生抑制作用，这种调节方式称**多价反馈抑制**。

#### b. 协同反馈抑制

协同反馈抑制与多价反馈抑制的相同之处：是几个终产物同时过量时才抑制关键酶的活性。两者的区别在于：在多价反馈抑制中，一个终产物单独过量时并不产生抑制作用，但在协同反馈抑制中，一个终产物单独过量虽不抑制途径中的第一个酶，但是它可抑制相应分支上的第一个酶的活性，因而并不影响其他分支上的代谢，只有在所有终产物都过量时，才抑制整个途径中第一个酶。

#### c. 累积反馈抑制

几个最终产物中任何一个产物过多时都能对某一酶发生部分抑制作用，但要达到最大效果，则必须几个最终产物同时过多，各终产物的反馈抑制有累积作用，这样的调节方式称为**累积反馈抑制**。

#### d. 合作反馈抑制

任何一个终产物单独过多时，只部分地抑制第一个酶的活性，几个终产物同时过多时，可引起强烈抑制，其抑制程度大于各自单独存在时抑制作用的总和，这种调节称为**合作反馈抑制**，或**增效反馈抑制**。

#### e. 顺序反馈抑制

### (3) 反馈调节的机制

#### ① 变构酶调节

**别构酶**：通过构象的变化来改变酶的活性。

**脱敏作用**：由于别构酶的催化亚基和调节亚基具有不同的空间结构，可以选择性地利用一些变性条件使调节亚基的敏感性明显降低或丧失，但仍保留酶的催化活性（催化亚基不变性），这种现象称为**脱敏作用**。

#### ② 同工酶调节

在分支代谢中，在分支点之前的一个较早反应（关键反应）是由几个同工酶催化时，分支代谢的几个终产物分别对这几个同工酶产生抑制作用，从而起到协同调节的功效。一个终产物控制一种同工酶，只有在所有终产物都过量时，几个同工酶才全部被抑制，反应完全终止。

#### ③ 多功能酶调节

**多功能酶**是指一种酶分子具有两种或多种催化活力的酶。如果一个多功能酶既具有催化分支代谢中共同途径第一步反应的活性，又具有催化分支后第一步的活性，那么这种调节将是比同工酶调节更灵活、更精密的调节机制。因为

一个终产物的过量，在使共同途径第一步反应受到部分抑制的同时，分支途径第一步反应也受到抑制，使代谢沿着其他分支进行。因此，一个产物的过量不致干扰其他产物的生成。

## II 神经系统对代谢的调节作用

神经系统传递信息是靠一定的神经通路，以电位变化的形式传布的，它既能直接影响代谢活动，又能影响内分泌腺分泌激素而间接控制新陈代谢的进行。

## III 激素对代谢的调节作用

激素对物质代谢的起着调节控制的作用，不同激素对代谢的影响不同。对同一种物质的代谢，可由一种激素来调节，也可由作用相反的两种激素来调节；另一方面，一种激素也可以调节几种物质的代谢，以促进各种物质的分解代谢之间，分解代谢与合成代谢之间的调节。

### 一、激素分泌的调节

激素是一类由特殊的细胞合成并分泌的化学物质，它随血液循环于全身，作用于特定的组织或细胞(称为靶组织或靶细胞, target cell)，指导细胞物质代谢沿着一定的方向进行。

根据激素受体在细胞内存在的部位的不同，可将激素分为两类：

(1)膜受体激素：蛋白质类，肽类和儿茶酚类激素的受体存在于细胞质膜上，为膜镶嵌的糖蛋白。

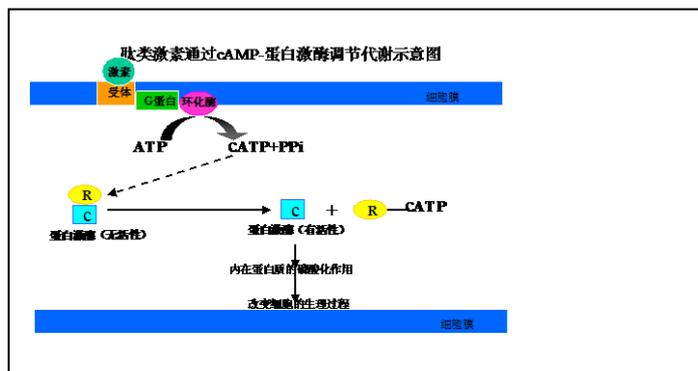
(2)胞内受体蛋白：一些相对分子质量较小的疏水性激素的受体存在于细胞内，主要存在于核内，或存在于胞液中，激素——受体结合后再转入核内，调节基因活性，刺激基因表达。

### 二、激素的调节效应

激素对代谢调节主要有两个特点：组织特异性和效应特异性。即一种激素只作用于一定的细胞，一种激素只产生一定的生理效应。

#### 1.级联系统调节

这种机制对于激素的分泌不仅受到多级控制而且具有逐级放大的作用。



**2.反馈调节**

激素的分泌积累对上一级内分泌腺的影响，或者由于激素效应所产生的产物对激素分泌的影响。如果这种影响是抑制的，即称为负反馈。

**3.激素活性的调节**

激素的活化是激素与其相应受体的结合，不同的激素受体存在于不同啊的细胞中，激素调节该细胞内的代谢后被迅速灭活，因此血清中激素的浓度很低，而且寿命也很短。

**【讨论提问】**

1. 长期饥饿时大脑的能量来源主要是：

A. 葡萄糖 B. 氨基酸 C. 甘油 D. 酮体 E. 糖原

2. 变构调节的特点是：

A. 变构剂与酶分子上的非催化部位结合 B. 使酶蛋白构象发生改变，从而改变酶活性 C. 酶分子多有调节亚基和催化亚基 D. 变构调节都产生正效应，即加快反应速度

**【本章小结】**

本章是将散见在前面各章中有关代谢之间的相互联系及其调控的内容作总结性的综合叙述，使读者能认识到全书各章内容发都是相互联系的，而且是如何通过这些内容的有机联系阐明生命过程中的化学现象。

**【课后作业】**

1、生物代谢机能用什么方法维持的？代谢失调会引起什么后果？、

2、试述操纵子模型说明酶合成的诱导和阻遏学说。

**教学反思**

物质代谢的调节过程经常会不大重视且知识点掌握不够清晰。

## 第十四章 DNA 的生物合成

|        |  |
|--------|--|
| 教学目标   | 掌握 DNA 的复制过程以及参与 DNA 复制的一些酶和蛋白质, 真核生物与原核生物 DNA 复制的主要差异。逆转录的过程及其生物学意义。                |
| 教学重点   | ① DNA 合成的两条途径;<br>② DNA 的损伤和修复。  |
| 教学难点   | ① 转录<br>② 转录后加工  |
| 学时分配   | 第一节 DNA 的复制 2 学时<br>第二节 DNA 的损伤与修复 1 学时<br>第三节 RNA 指导的 DNA 合成 1 学时                   |
| 教学方法   | 讨论法+讲授法  |
| 教学手段   | 传统教学+现代多媒体   |
| 知识结构体系 |  |

| 授课题目  | DNA 的生物合成 | 授课序次 | 26、27  |
|---|-----------|------|--------|
| 总学时数  | 4 学时      | 授课时长 | 160 分钟 |
| 教学过程及授课内容   |           |      | 备注     |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>生物体的遗传信息储存在 DNA 中，并通过 DNA 的复制由亲代传给子代。在子代的生长发育中遗传信息自 DNA 转录给 RNA，然后翻译成蛋白质以执行各种生命功能，使后代表现出与亲代相似的遗传性状。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节 DNA 的复制</b></p> <p><b>一、DNA 半保留复制</b></p> <p>1953 年，Watson 和 Crick 在提出 DNA 双螺旋结构模型时就推测 DNA 可能按照半保留机制进行自我复制。</p> <p>在复制过程中，首先亲代双链解开，然后每条链作为模板，在其上合成互补的子代链，结果新形成的两个子代 DNA 与亲代 DNA 分子的碱基顺序完全一样，而且每个子代 DNA 分子中有一条链完全来自亲代 DNA，另一条是新合成的。</p> <p>1958 年，Meselson 和 Stahl 用 <math>^{15}\text{N}</math> 标记 E.coli. DNA，证明了 DNA 的复制是半保留复制。</p> <p>1963 年，Cairns 用放射自显影法，在显微镜下首次观察到完整的正在复制的 E. coli. 染色体 DNA。</p> <p><math>^3\text{H}</math>-脱氧胸苷标记 E.coli. DNA，经过将近两代时间，用溶菌酶消化细胞壁，将 E.coli. DNA 转至膜上，干燥，压感光胶片，<math>^3\text{H}</math> 放出 <math>\beta</math> 粒子，还原银，在光学显微镜下观察。用这种方法证明了大肠杆菌染色体 DNA 是一个环状分子，并以半保留的形式进行复制。</p> <p>DNA 的半保留复制可以说明 DNA 在代谢上的稳定性。经过多代复制，DNA 的多核苷酸链仍可以保持完整，并存在于后代而不被分解掉。</p> <p><b>二、复制起点、单位和方向</b></p> <p>DNA 的复制是在起始阶段进行控制的，一旦复制起始，它就会继续下去直到整个复制子完成复制。</p> |           |      |        |

## 1、复制起点

复制起点是以一条链为模板起始 DNA 合成的一段序列。有时，两条链的复制起点并不总是在同一点上（如 D 环复制）。

一个完整的细胞周期中，每一个复制起点只使用一次，完成一次复制过程。

多数生物的复制起点，都是 DNA 呼吸作用强烈（甲醛变性实验）的区段，即经常开放的区段，富含 A.T。

★环状 DNA 复制起点的确定方法

★复制起点的克隆和功能分析——重组质粒转化法

大肠杆菌的复制起点 *oriC* 区 1Kb 的重组质粒在转化子中的复制行为与其染色体一样，受到严密控制，每个细胞只有 1-2 个拷贝，用核酸外切酶缩短 *oriC* 克隆片段的大小，最后得到 245bp 的基本功能区，携带它的质粒依然能够自我复制，拷贝数可以增加至 20 以上，这说明发动复制的序列在 245bp 的基本功能区，而决定拷贝数的序列在基本功能区之外和 1Kb 之间。

鼠伤寒沙门氏菌的起点位于一段 296bp 的 DNA 片段上，与大肠杆菌的复制起始区有 86% 同源性，而且有些亲缘关系较远的细菌，其复制起点在大肠杆菌中亦能起作用。因此，复制起始区的结构可能是很保守的。

起始序列含有一系列对称的反向重复和某些短的成簇的保守序列。

## 2、复制单位

**复制子(Replicon):** Genome 能独立进行复制的单位，每个复制子都含有一个复制起点。

原核生物的染色体和质粒、真核生物的细胞器 DNA 都是环状双链分子，它们都是单复制子，都在一个固定的起点开始复制，复制方向大多数是双向的，少数是单向复制。多数是对称复制，少数是不对称复制（一条链复制后才进行另一条链的复制）。

环状 DNA 的复制眼象  $\theta$ ，称  $\theta$  形复制。

真核生物的染色体 DNA 是线形双链分子，含有许多复制起点，因此是多复制子，每个复制子约有 100-200Kbp。人体细胞平均每个染色体含有 1000 个复制子。

病毒 DNA 多种多样，环状或线形，双链或单链，但都是单复制子。

### 3、复制方向

定点起始，复制方向大多数是双向的（等速进行或异速进行），形成两个复制叉，少数是单向复制，形成一个复制叉。

#### ★用放射自显影实验判断 DNA 的复制方向及速度

低放射性  $^3\text{H}$ -脱氧胸苷

高放射性  $^3\text{H}$ -脱氧胸苷

- a. 单向  
b. 双向等速  
c. 双向异速
- 三种结果图形

*E.coli.* 的一个温度敏感株，在  $42^\circ\text{C}$  时，能使 DNA 在完成复制后，不再开始新的复制过程，而在  $25^\circ\text{C}$  时复制功又能恢复。

### 4、DNA 的几种复制方式

#### (1) 直线双向复制

单点，双向，T7

多点，双向，真核染色体 DNA

#### (2) $\theta$ 型复制：环状双链 DNA，单向或双向 (*E. coli.*)

#### (3) 滚环复制：环状单链 DNA， $\Phi\text{x174}$

#### (4) D 环复制：线粒体、叶绿体 DNA

#### (5) 多复制叉复制：

第一轮复制尚未完成，复制起点就开始第二轮的复制。

在 *E. coli.* 富营养时，可采取多复制叉复制方式。*E. coli.* DNA 的复制最快可达  $50\text{Kb}/\text{min}$ ，完全复制需  $40\text{min}$ ，富营养时， $20\text{min}$  分裂。而真核染色体要 6-8 小时。

### 三、与 DNA 复制有关的酶及蛋白质因子

目前已发现 30 多种酶及蛋白质因子参与 DNA 复制

#### (一) DNA 的聚合反应和聚合酶

DNA 生物合成  $5' \rightarrow 3'$ ，化学合成  $3' \rightarrow 5'$

### 1、DNA 聚合反应必备的条件

- (1) DNA 聚合酶(2) DNA 模板(反转录时用 RNA 模板)
- (3) 引物 (DNA、RNA 或蛋白质)(4) 4 种 dNTP(5)  $Mg^{2+}$

### 2、聚合反应过程及特点

在链的延长过程中，链的游离  $3'$ -羟基，对进入的脱氧核糖核苷三磷酸  $\alpha$  磷原子发生亲核攻击，生成  $3',5'$ -磷酸二酯键，并脱下焦磷酸。

#### DNA 聚合酶的反应特点：

- (1)以 4 种 dNTP 为底物
- (2)反应需要接受模板的指导，不能催化游离的 dNTP 的聚合。
- (3)反应需有引物  $3'$ -羟基存在
- (4)链生长方向  $5' \rightarrow 3'$
- (5)产物 DNA 的性质与模板相同

### 3、由 DNA 聚合酶催化的几种 DNA 聚合类型

- (1) **发夹环结构**：加入单链 DNA 作为模板和引物， $3'$  羟基端回折成引物链。
- (2) **末端延伸聚合**：加入双链 DNA 作为模板和引物， $3'$  末端突出作为模板。
- (3) **分枝型和切口平移型聚合**：加双链 DNA，聚合发生在切口或末端单链区。
- (4) **环形聚合**：加入带引物的环形 DNA 作为模板。

### 4、E.coli DNA 聚合酶

#### (1) E.coli. DNA pol.I (Kornberg 酶, 400 copy/cell)

单体酶，分子量 109Kd，含一个  $Zn^{2+}$ ，每个细胞中含 400 个 DNA pol. I

催化活性：

$5' \rightarrow 3'$  聚合活性  $3' \rightarrow 5'$  外切活性  $5' \rightarrow 3'$  外切活性

用蛋白水解酶将 DNA pol. I 部分水解可得：

大片段 (Klenow)，75Kd，活性： $5' \rightarrow 3'$  聚合活性、 $3' \rightarrow 5'$  外切活性。

小片段, 36Kd, 活性:  $5' \rightarrow 3'$  外切活性 (只作用于双链 DNA 的碱基配对部分, 切除修复)。

**Klenow 片段的用途:**

- a. 补齐 DNA  $3'$  隐缩末端
- b. 标记 DNA 片段末端
- c. cDNA 合成第二链
- d. dDNA 测序

**(2) E.coli. DNA Pol. II (100 copy/cell)**

单体酶, 分子量 120Kd

催化活性:  $5' \rightarrow 3'$  聚合(活性很低)                       $3' \rightarrow 5'$  外切

可能在 DNA 的修复中起某中作用。

**(3) E.coli. DNA pol. III (复制酶, 10-20 copy/cell)**

寡聚酶, 全酶由 10 种共 22 个亚基组成,  $\alpha$ 、 $\epsilon$  和  $\theta$  三种亚基组成核心酶。

DNA pol. III 是合成新链 DNA 主要的酶, 又称复制酶(Replicase)

Pol. III 的  $5' \rightarrow 3'$  外切酶活性只作用于单链 DNA。

**★DNA 聚合酶有 6 个结合位点**

- (1) 模板 DNA 结合位点(2) 引物结合位点
- (3) 引物  $3'$ -OH 位点、反应位点(4) 底物 dNTP 结合位点
- (5)  $5' \rightarrow 3'$  外切位点(pol. II 没有)(6)  $3' \rightarrow 5'$  外切位点(校正)

**5、真核生物 DNA 聚合酶**

真核 DNA 聚合酶一般不具备外切活力, 可能由另外的酶在 DNA 复制中起校正功能。

- (1) DNA 聚合酶  $\alpha$ , 多亚基, 功能与 E.coli. pol. III 类似, 是真核 DNA 复制酶。
- (2) DNA 聚合酶  $\beta$ , 主要在 DNA 损伤的修复中起作用。
- (3) DNA 聚合酶  $\gamma$ , 从线粒体得到, 可能与线粒体 DNA 的复制有关。
- (4) DNA 聚合酶  $\delta$ , 特点: 有  $3' \rightarrow 5'$  外切活力。

**(二) 引物酶或 RNA 聚合酶 (引发酶)**

细胞内，DNA 的复制需要引物（DNA 或 RNA），引物酶或 RNA 聚合酶可合成 6-10 个碱基的 RNA 引物。

★DNA 复制为什么要用 RNA 引物？（为什么 DNA 聚合酶要用引物，RNA 聚合酶不需要引物？）

(1)从模板复制最初几个核酸时，碱基堆集力和氢键都较弱，易发生错配

(2)新复制的最初几个核苷酸，没有与模板形成稳定双链，DNA 聚合酶的 5' →3' 校对功能难发挥作用。

### （三）解螺旋酶

大肠杆菌的解螺旋酶 I、II、III 与 rep 蛋白共同作用，将 DNA 两链解开。

解螺旋酶 I、II、III 沿着模板链的 5' →3' 方向随着复制叉的前进而移动，而 rep 蛋白则在另一条模板链上沿 3' →5' 方向移动。

### （四）DNA 旋转酶

属 DNA 拓扑异构酶 II，可引入负超螺旋，消除复制叉前进时带来的扭曲张力。

拓扑异构酶分两类：I 和 II，广泛存在于原核生物和真核生物。

拓扑异构酶 I 使 DNA 的一条链发生断裂和再连接，反应无须供给能量，主要集中在活性转录区，与转录有关。

拓扑异构酶 II 使 DNA 的两条链同时断裂和再连接，当它引入超螺旋时需要由 ATP 供给能量。分布在染色质骨架蛋白和核基质部，与复制有关。

### （五）单链 DNA 结合蛋白（SSB）

复制叉上的解螺旋酶，沿双链 DNA 前进，产生单链区，大量的单链 DNA 结合蛋白与单链区结合，阻止复性和保护单链 DNA 不被核酸酶降解。

### （六）DNA 连接酶（ligase）

连接双链 DNA 上的切口。

大肠杆菌连接酶只能在模板上连接 DNA 缺口。T<sub>4</sub>DNA ligase 即可连接粘性末端的 DNA，又可连接平齐末端的双链 DNA。

E.coli.和其它细菌的 DNA ligase 以 NAD 为能源，动物细胞和噬菌体 DNA ligase 以 ATP 为能源。

### (七) DNA 复制的拓扑结构

#### 四、DNA 的半不连续复制

DNA 聚合酶催化的方向是 5' → 3'。前导链：滞后链：

1968 年，发现冈崎片段。长度：

细菌：1Kb-2Kb，相当于一个顺反子的大小。

真核：100-200bp，约等于一个核小体 DNA 的长度。

#### 五、DNA 复制过程 (E.coli.)

##### 1、复制的起始

**引发：**当 DNA 的双螺旋解开后，合成 RNA 引物的过程。

**引发体：**引物合成酶与各种蛋白质因子 (dnaB、dnaC、n、n' n'' I) 构成的复合物，负责 RNA 引物的合成。

引发体沿着模板链 5' → 3' 方向移动 (与冈崎片段合成的方向正好相反，而与复制叉移动的方向相同)，移到一定位置上即可引发 RNA 引物的合成。

E.coli.DNA 复制原点 ori C，由 245bp 组成，三组 13bp 重复序列 (近 5' 端处)，四组 9 bp 重复序列 (另一端处)。

大肠杆菌复制原点起始复制所需蛋白质：

DNaA                      在 原点处 打开 双螺旋

DNaB                      使 DNA 解旋

DNaC                      DNaB 结合在 原点所需

Hu                         刺激 起始

引物酶 (DNaG) 合成 RNA 引物

SSB                        结合 单链 DNA

RNA 聚合酶 促进 DNaA 活性

旋转酶 松弛 DNA 扭曲应力

20 个 DnaA 结合在 四组 9bp 重复区，形成 起始复合物，DNA 绕此复合物。

三组 13bp 重复区 依次 变性，产生 开放型复合物。

DnaB（在 DnaC 协助下）与开放复合物结合，进一步解链。

## 2、DNA 链的延长反应

前导链只需要一个 RNA 引物，后随链的每一个冈崎片段都需要一个 RNA 引物，链的延长反应由 DNA pol.III 催化。

**复制体：**在 DNA 合成的生长点（既复制叉上）分布着许多与复制有关的酶和辅助因子，它们在 DNA 的模板链形成离散的复合物，彼此配合进行高度精确的复制，称为复制体。

复制体沿着复制叉方向前进就合成 DNA。

## 3、RNA 引物的切除及缺口补齐

DNA pol I 的 5' → 3' 外切活力，切除 RNA 引物。

DNA pol I 的 5' → 3' 合成活性补齐缺口。

## 4、DNA 切口的连接

DNA ligase，动物、真核由 ATP 供能，原核由 NAD 供能。

## 5、DNA 合成的终止

环状 DNA、线性 DNA，复制叉相遇即终止。

### ◆ 小结：

- (1) DNA 解螺旋酶解开双链 DNA。
- (2) SSB 结合于 DNA 单链。
- (3) DNA 旋转酶引入负超螺旋，消除复制叉前进时带来的扭曲张力。
- (4) DNA 引物酶(在引发体中)合成 RNA 引物。
- (5) DNA pol.III 在两条新生链上合成 DNA。
- (6) DNA pol I 切除 RNA 引物，并补上 DNA。
- (7) DNA ligase 连接一个冈崎片段。

DNA 复制过程中，聚合酶对 dTTP 和 dUTP 的分辨能力高，有少量 dUTP 掺入 DNA 链中，此时，U-糖苷酶、AP 内切酶、DNA pol I、DNA ligase 共同作用，切除尿嘧啶，接上正确的碱基。

## 六、真核生物 DNA 的复制

### 1、复制起点和单位

真核生物染色体 DNA 是多复制子，有多个复制起点，可以多点起始，分段进行复制。每个复制子大多在 100-200bp 之间，比细菌染色体 DNA（单复制子）小得多。

#### ★试验证据：5-氟脱氧胞苷标记

真核生物 DNA 复制叉移动的速度比原核的慢，如哺乳动物复制叉移动的速度每分钟 1-3Kb，细菌每分钟 5Kb。

真核生物染色体全部复制完成前，起点不再从新开始复制。而在快速生长的原核生物中，起点可以连续发动复制。真核生物在快速生长时，可采用更多的复制起点同时复制。如黑腹果蝇，早期胚胎细胞中相邻复制起点的平均距离为 7.9kb，而在培养的成体细胞中，平均距离为 40kb，成体细胞只利用一部分复制起点。

### 2、复制过程中组蛋白的装配

核小体的结构（200bp 左右）

在真核生物的复制子上，亲代染色体的核小体被逐个打开，组蛋白以完整的八聚体形式直接转移到子代 DNA 的前导链上，新合成的组蛋白与后随链组装成核小体。因此，DNA 的复制是半保留的，而组蛋白则是全保留的。

#### ★试验证据：环己酮亚胺抑制组蛋白合成，电子显微镜下观察

### 3、真核生物 DNA 复制的终止

端粒：一段 DNA 序列与蛋白质形成的一种复合体，是真核细胞染色体末端所特有的结构。

#### 功能：

- (1)保证线性 DNA 的完整复制
- (2)保护染色体末端
- (3)决定细胞寿命，胚系细胞含端粒酶，体细胞不表达端粒酶。

端粒（telomeres）分布于线性真核染色体末端。酵母端粒约 100bp 的重复序列，形式为：5' (TxGy) n 3' (AxCy) n，x 和 y 一般为 1—4。

端粒末端的重复序列，通过端粒酶（telomerase）将其加到染色体末端。

端粒酶含有 RNA 和蛋白质（起 DNA 聚合酶的作用）两种组分，RNA 分子约 159b，含有多个 CyAx 重复序列，RNA 分子用作端粒 TxGy 链合成的模板。端粒酶是一种反转录酶，它只合成与酶自身的 RNA 模板互补的 DNA 片段。

人类体细胞的端粒长度，随个体年龄增加而逐渐缩短。细胞每分裂一次，端粒缩短 50-200bp，短至 1-4Kbp 时，细胞就停止分裂。若能重建端粒，则细胞可以永远分裂。恶性肿瘤细胞端酶表达多。

## 七、DNA 复制的调控

## 八、DNA 复制的真实性

生物体 DNA 复制具有高度真实性，复制  $10^7$ - $10^{11}$  碱基对，只一个错误碱基。

碱基对的自由能通常在 4-13KJ/mol，这样的自由能相当于平均参与 100 个核苷酸就可能出现一次错配，仅靠 Watson-Crick 双螺旋的碱基配对原则，突变率将高达  $10^{-2}$ 。

### 1、DNA 聚合酶对碱基的选择作用

**酶的被动论：**不同的核苷酸在聚合位点停留时间不同，正确的 dNTP 能长时间停留，而参与聚合。DNA 聚合酶能依照模板的核苷酸，选择正确的 dNTP 掺入引物末端。

**酶积极参与理论：**DNA 聚合酶对正确与错误的核苷酸，不仅亲和性不同，而且将它们插入 DNA 引物端的速度也不同。

**动力学校正阅读：**在新的磷酸二酯键未形成时，dNTP 结合在酶与模板—引物复合物的聚合位点上，DNA 聚合酶能识别正确与错误的 dNTP。

DNA 聚合酶对底物的识别作用，DNA 聚合酶有两种底物，一种是 DNA 模板—引物，另一种是 dNTP。

DNA 聚合酶先识别 DNA 模板和引物的 3' 末端，再识别底物 dNTP，是一种有序识别过程。

### 2、3' →5' 外切活性的校正阅读

E. coli. DNA pol. I 和 pol.III 有 3' →5' 外切活性，可删除错误插入的核苷酸。

缺失 3' →5' 外切活性的 E. coli. DNA pol. I，催化 DNA 合成时，出现错

误的几率增高 5-50 倍。因此, 3' →5' 外切活性可以使 DNA 复制的真实性, 提高 1-2 个数量级。

### 3、影响 DNA 合成真实性的因素

(1)高浓度 NMP(如 3' -AMP, 5' -GMP)

NMP 竞争酶的 dNTP 结合位点, 抑制 3' →5' 外切活性。

(2)某一种 dNTP 浓度很高, 可使引物 3' 末端离开外切活性中心。

(3)dNTP 一般与二价阳离子结合成活化形式,  $Mg^{2+}$  为主要的二价阳离子。当用其它二价阳离子 (如  $Mn^{2+}$ ) 代替  $Mg^{2+}$  时, 会改变酶的主体结构, 影响聚合活性和 3' →3' 外切活性。

### 4、为什么用 RNA 引物

(1)从模板复制最初几个核酸时, 碱基堆集力和氢键都较弱, 易发生错配

(2)新复制的最初几个核苷酸, 没有与模板形成稳定双链, DNA 聚合酶的 5' →3' 校对功能难发挥作用。

## 第二节 DNA 的损伤及修复

一些物理化学因子如紫外线、电离辐射和化学诱变剂均可引起 DNA 损伤, 破坏其结构与功能。然而在一定条件下, 生物机体能使这种损伤得到修复。

紫外线可使 DNA 分子中同一条链上两个相邻的胸腺嘧啶碱基之间形成二聚体 (TT), 两个 T 以共价键形成环丁烷结构。CT、CC 间也可形成少量二聚体 (CT、CC), 使复制、转录受阻。

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 的双螺旋结构。目前已知有 4 种酶修复系统: 光复活、切除修复、重组修复、SOS 反应诱导的修复, 后三种不需要光, 又称为暗修复。

### 一、直接修复

1949 年已发现光复活现象, 可见光 (最有效 400nm) 可激活光复活酶, 此酶能分解由于紫外线形成的嘧啶二聚体。高等哺乳动物没有此酶。

### 二、切除修复

在一系列酶的作用下, 将 DNA 分子中受损伤部分切除, 并以完整的那一条链为模板, 合成出切去部分, DNA 恢复正常结构。

### 1、结构缺陷的修复:

- (1) 核酸内切酶识别 DNA 损伤部位, 在其附近将其切开。
- (2) 核酸外切酶切除损伤的 DNA。
- (3) DNA 聚合酶修复。
- (4) DNA 连接酶连接。

### 2、无嘌呤无嘧啶——碱基缺陷或错配——脱碱基 (N-糖苷酶):

甲基磺酸甲酯可使鸟嘌呤第 7 位氮原子烷基化, 活化  $\beta$ -糖苷键, 造成脱嘌呤作用; 酸也能使 DNA 脱嘌呤。

DNA 复制时, DNA 聚合酶对 dTTP 和 dUTP 分辨力不高, 有少量 dUTP 掺入 DNA 链。细胞中的尿嘧啶-N-糖苷酶可以切掉尿嘧啶。腺嘌呤脱氨形成次黄嘌呤时也可以被次黄嘌呤-N-糖苷酶切掉次黄嘌呤。

对于无嘌呤无嘧啶的损伤有两种修复方法:

- (1) AP 核酸内切酶切开, 核酸外切酶切除, DNA 聚合酶修复, DNA 连接酶连接。
- (2) 插入酶插入正确碱基

### 三、重组修复

切除修复发生在 DNA 复制之前, 而当 DNA 发动复制时尚未修复的损伤部位, 可以先复制, 再重组修复。

在重组修复过程中, DNA 链的损伤并未除去。

重组修复至少需要 4 种酶组分。

重组基因 *recA* 编码一种分子量为 40000 的蛋白质, 它具有交换 DNA 链的活力。RecA 蛋白被认为在 DNA 重组和重组修复中均起关键作用。

*recB*、*recC* 基因分别编码核酸外切酶 V 的两个亚基。

此外, 修复合成还需要 DNA 聚合酶和连接酶。

### 四、易错修复和应急反应 (SOS 反应)

诱导修复是细胞 DNA 受到严重损伤或 DNA 复制系统受到抑制的紧急情况下, 为求得生存而出现的一系列诱导性修复。

SOS 反应诱导的修复系统包括避免差错的修复（无差错修复）和倾向差错的修复。

**避免差错的修复：**SOS 反应能诱导光复活切除修复和重组修复中某些关键酶和蛋白质的产生，从而加强光复活切除修复和重组修复的能力，这属于避免差错的修复。

**倾向差错的修复：**SOS 反应还能诱导产生缺乏校对功能的 DNA 聚合酶，它能在 DNA 损伤部位进行复制而避免了死亡，可是却带来了高的突变率，这属于倾向差错的修复。

SOS 反应是由 RecA 蛋白和 LexA 阻遏物相互作用引起的。RecA 蛋白不仅在同源重组中起重要作用，而且它也是 SOS 反应的最初发动因子。在有单链 DNA 和 ATP 存在时，RecA 蛋白被激活而表现出蛋白水解酶的活力，它能分解  $\lambda$  噬菌体的阻遏蛋白和 LexA 蛋白。LexA 蛋白（22Kd）许多基因的阻遏物，当它被 RecA 的蛋白水解酶分解后就可以使一系列基因得到表达其中包括紫外线损伤的修复基因 *uvrA*、*uvrB*、*uvrC*（分别编码核酸内切酶的亚基）以及 *recA* 和 *lexA* 基因本身，还有单链结合蛋白基因 *ssb*，与  $\lambda$  噬菌体 DNA 整合有关的基因 *himA*、与诱变作用有关的基因 *umuDC*，与细胞分裂有关的基因 *suIA*、*ruv*，和 *lon*，以及一些功能不清楚的基因 *dinA*，*B*，*D*，*F* 等。

### 第三节 RNA 指导的 DNA 合成（反转录）

**反转录**（reverse transcription）：以 RNA 为模板，合成 DNA。与通常转录过程中遗传信息流从 DNA 到 RNA 的方向相反。

#### 一、反转录酶

由一个  $\alpha$  亚基和一个  $\beta$  亚基组成，含有  $Zn^{2+}$ ，具有三种酶活力。

（1）RNA 指导的 DNA 聚合酶活力（以 RNA 为模板，合成一条互补的 DNA，形成 RNA—DNA 杂种分子）。

（2）RNase H 酶活力，水解 RNA—DNA 杂种分子中的 RNA，可沿 3'→5' 和 5'→3' 两个方向起外切酶作用。

（3）DNA 指导的 DNA 聚合酶活力。

#### 模板：RNA 或 DNA

以自身病毒类型的 RNA 为模板时，该酶的反转录活力最大，但是带有适当引物的任何种类的 RNA 都能作为合成 DNA 的模板。

引物: RNA 或 DNA 底物: dNTP 二价阳离子:  $Mg^{2+}$  或  $Mn^{2+}$

真核 mRNA 3'端有 polyA, 加入 oligo dT 后, 可以作为反转录酶的模板, 合成 cDNA。

## 二、病毒 RNA 的反转录过程

所有已知的致癌 RNA 病毒都含有反转录酶, 因此被称为反转录病毒 (retrovirus), 反转录病毒的复制需要经过一个 DNA 中间体 (前病毒)。

### 1、反转录病毒的基因组结构

- (1) 反转录病毒基因组通常由两条相同的 (+) RNA 链组成。5'端附近区域以氢键结合在一起, 全长 7-10Kb。
- (2) 每一条 RNA 链的两端具有相同的序列, 形成正向重复序列。
- (3) 5'端有帽子结构, 3'端有 polyA, 与真核 mRNA 相似。
- (4) 5'端带有 1 分子的宿主 tRNA, 作为反转录时的引物。某些鸟类反转录病毒携带的是 tRNA<sup>mp</sup>, 鼠类是 tRNA<sup>pro</sup>

### 2、反转录过程。

当致癌 RNA 病毒侵染宿主细胞时, 病毒 RNA 及反转录酶一起进入宿主细胞, 病毒自身带入的反转录酶使 RNA 反转录成双链 DNA。

- (1) 以病毒 (+) RNA 为模板, 合成互补的 (-) DNA。
- (2) 切除 RNA—DNA 杂种分子中的 RNA。
- (3) 以 (-) DNA 链为模板, 合成 (+) DNA 链, 最后形成两端带有 LTR (长末端重复序列) 的双链 DNA。

反转录病毒只有整合到宿主染色体 DNA 后才能被转录, 转录产物经拼接可以产生不同的病毒 mRNA。LTR (长末端重复序列) 对前病毒 DNA 整合到宿主染色体 DNA 以及整合后的转录均起着重要作用。

### 3、反转录病毒的生活周期

P354 图 19-29

- (1) 病毒粒子侵染细胞, 病毒 RNA 和反转录酶一起进入细胞。
- (2) RNA 被反转录成双链 DNA (前病毒), 环化, 进入细胞核。

- (3) 反转录病毒的 DNA 整合到宿主染色体 DNA 中。
- (4) 前病毒 DNA 进行复制, 转录出功能基因、基因组 RNA 和病毒蛋白。
- (5) 基因组 RNA 和病毒蛋白在胞质中组装成新病毒粒子, 转移到质膜, 通过出芽方式释放新病毒粒子。

### 三、反转录的生物学意义。

1. 反转录酶存在于所有致癌 RNA 病毒中, 它的存在与 RNA 病毒引起细胞恶性转化有关。

#### 2. 艾滋病病毒 (AIDS)

人类免疫缺陷病毒 (HIV), 也是一种反转录病毒, 主要感染 T<sub>4</sub> 淋巴细胞和 B 淋巴细胞。病毒粒子直径 100nm, 球状, 粒子外包被两层脂质质膜, 膜上有糖蛋白 (gp120、gp41), 另有两层衣壳蛋白 p24、p18。

HIV 基因组由两条单链正链 RNA 组成, 每个链长 9.7kb, RNA 5' 端有帽子结构, 3' 端有 PolyA, 链上结合有反转录酶。

#### 3. 乙肝病毒

|      |   |                    |
|------|---|--------------------|
| 核心抗原 | { | 大蛋白、中蛋白、主蛋白 (表面抗原) |
|      |   | 双链环状 DNA           |

#### 4、真核生物正常细胞内也存在反转录过程

真核生物的染色体基因组中存在为数众多的逆假基因和逆基因。

**逆假基因:** 无启动子和内含子, 但有 polyA 的残基, 推测是由 mRNA 反转录后整合到基因组中去的。

**逆基因:** 具有启动子和转录功能, 无内含子。可能是由于 mRNA 反转录后刚好整合到启动子的下游处, 或者是带启动子的 RNA 序列反转录后整合到基因组中

## 第四节 DNA 合成技术

### 一、cDNA 合成

## 1、cDNA 文库的构建

**cDNA:** 以 mRNA 为模板, 用反转录酶合成第一链, 去除 mRNA, 合成的第二链。

cDNA 文库是获得真核结构基因的最好方法, 成熟的 mRNA 无内含子。

### (1) 真核 mRNA 的分离纯化

**特点:** 含量少, 不均一, 表达具有发育阶段性和组织特异性。

|               |                 |        |
|---------------|-----------------|--------|
| <b>总 RNA:</b> | rRNA            | 80~85% |
|               | mRNA            | 1~5%   |
|               | tRNA 及其它小分子 RNA | 10~15% |

**不均一:** 在 1~5% 的 mRNA 中, 有 10000—30000 种 mRNA。

**分离、纯化:**

用 Oligo dT 纤维素柱 (亲和层析法), 加入总 RNA, 高盐洗脱, 先流出非 mRNA, 降低盐浓度, 加入 Oligo dA 竞争, 可洗出 mRNA 混合物。

免疫法可分离特定的 mRNA。

### (2) cDNA 合成 (反转录酶)

#### A. 自身引物法 (S1 核酸酶降解法)

Oligo(dT)15-18 个核苷酸 mRNA5'端序列有丢失。

#### B. 取代合成法 (较常用)

Oligo (dT) 与 mRNA3'端 AAA 杂交作为引物, 合成第一条 DNA 链。

RNaseH 在 mRNA 上产生多个切口。

DNA pol. I 切口平移, DNA ligase 连接, 合成出第二条 DNA 链。

T<sub>4</sub>DNA pol. 切去端头的 RNA-DNA 杂交链。

#### C. 引物合成法

可以合成全长 cDNA, mRNA 的 5'端不丢失。

### (3) cDNA 与载体连接

**(4) 重组体的转化****(5) 扩增、保存****2、获取特定 mRNA 的 cDNA**

(1) 免疫法分离特定的 mRNA (2) PCR 法

**二、PCR 技术（聚合酶链式反应）Polymerase chain Reaction**

以目的基因或 DNA 片段为模板，在引物介导及 Taq DNA 聚合酶催化下，在体外用核苷酸大量合成目的基因或 DNA 片段。

它能快速、专一地扩增所希望得到的目的基因或 DNA 片段。

**1、反应物****(1) 模板**

单、双链 DNA 或 cDNA 都可以作为 PCR 的模板，若以 RNA 为起始材料，则须经反转录，获得第一条 cDNA 后才能用于 PCR。

**(2) Taq DNA 聚合酶**

DNA 聚合酶是进行 PCR 扩增的关键，从水生栖热菌（*Thermus aquaticus* VT-1）分离出来。

Taq DNA 聚合酶有很好的热稳定性，92.5℃处理 130min，仍保留 50%的酶活性，在 74℃活性最高，错误掺入核苷酸的比率为 1/7500。

**(3) 引物**

引物是决定 PCR 结果的关键，它由寡核苷酸组成，15-30 个 b

**(4) 核苷酸 dNTP**

dNTP 的浓度 50-200umol/L。

**(5) 镁离子 Mg<sup>2+</sup>****2、PCR 原理**

变性 95℃

复性 55℃

延伸 72℃

**【讨论提问】**

如何证明 DNA 复制延伸的方向是从 5' → 3' ?

答案：将双脱氧核苷三磷酸 (ddNTP) 加到体外复制体系中，如果能够造成末端终止，则 DNA 复制的方向是 5' → 3'，因为当 DNA 复制是 3' → 5' 时，ddNTP 无法参入到 DNA 链的生长端 (无 3' - 羟基，不能与前一个核苷酸形成 3', 5' - 磷酸二酯键)，即 5' - 端，因此不可能造成末端终止。

**【本章小结】**

本章介绍 DNA 生物合成的两条途径，即 DNA 的复制和 RNA 的逆转录，其中 DNA 的复制的主要途径。此外，介绍了 DNA 损伤和修复等。

**【课后作业】**

- 1、什么是 DNA 的半保留复制？有何实验依据？
- 2、真核生物和原核生物 DNA 复制有哪些不同？

**教学反思**

## 第十五章 RNA 的生物合成

|               |  |
|---------------|--|
| <b>教学目标</b>   | 学习并掌握 RNA 生物合成的过程以及真核生物和原核生物转录的主要区别。   |
| <b>教学重点</b>   | 转录与 RNA 的复制  |
| <b>教学难点</b>   | ① 转录<br>② RNA 复制   |
| <b>学时分配</b>   | 第一节 DNA 指导的 RNA 合成 1 学时<br>第二节 RNA 转录后的加工、复制 1 学时                                    |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法  |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体   |
| <b>知识结构体系</b> |  |

| 授课题目   | RNA 的生物合成 | 授课序次 | 28    |
|--|-----------|------|-------|
| 总学时数   | 2 学时      | 授课时长 | 80 分钟 |
| 教学过程及授课内容  |           |      | 备注    |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>RNA 的生物合成与 DNA 相似，也有两种方式。一是用转录，另一种是用复制。前者以 DNA 为模板合成 RNA，后者以 RNA 为模板合成 RNA。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节 DNA 指导的 RNA 合成（转录）</b></p> <p>RNA 链的转录，起始于 DNA 模板的一个特定位点，并在另一位点终止，此转录区域称为一个转录单位。一个转录单位可以是一个基因（真核），也可以是多个基因（原核）。</p> <p>基因的转录是有选择性的，细胞不同生长发育阶段和细胞环境条件的改变，将转录不同的基因。</p> <p>转录的起始由 DNA 上的启动子区控制，转录的终止由 DNA 上的终止子控制，转录是通过 DNA 指导的 RNA 聚合酶来实现的。</p> <p><b>一、RNA 聚合酶</b></p> <p>RNA 合成的基本特征</p> <p>①底物：NTP（ATP、GTP、CTP、UTP）</p> <p>②RNA 链生长方向：5'→3'</p> <p>③不需引物</p> <p>④需 DNA 模板</p> <p><b>1、E.coli RNA 聚合酶（原核）</b></p> <p>E.coli 和其它原核细胞一样，只有一种 RNA 聚合酶，合成各种 RNA（mRNA、tRNA、rRNA）。</p> <p>一个 E.coli 细胞中约有 7000 个 RNA 聚合酶分子，在任一时刻，大部分聚合酶（5000 左右）正在参与 RNA 的合成，具体数量依生长条件而定。</p> <p>E.coli RNA 聚合酶全酶（holoenzyme）分子量 46 万 Da，由六个亚基组成，<math>\alpha_2\beta\beta'\sigma</math>，另有两个 <math>Zn^{2+}</math>。</p> |           |      |       |

**E.coli RNA 聚合酶各亚基的大小与功能:**

| 亚基       | 亚基数 | 分子量<br>(KD) | 基因   | 功能               |
|----------|-----|-------------|------|------------------|
| $\beta'$ | 1   | 160         | rpoC | 与模板 DNA 结合       |
| $\beta$  | 1   | 150         | rpoB | 与核苷酸结合, 起始和催化部位。 |
| $\sigma$ | 1   | 70          | rpoD | 起始识别因子           |
| $\alpha$ | 2   | 37          | rpoA | 与 DNA 上启动子结合     |
| $\omega$ | 1   | 9           | ---- | 不详               |

**$\sigma$  亚基的功能:** 核心酶在 DNA 上滑动,  $\sigma$  亚基能增加酶与 DNA 启动子的结合常数, 增加停留时间, 使聚合酶迅速找到启动子并与之结合,  $\sigma$  亚基本身无催化活性。

不同的  $\sigma$  因子识别不同的启动子, 从而表达不同的基因。

不同的原核生物, 都具有相同的核心酶, 但  $\sigma$  亚基有所差别, 这决定了原核基因表达的选择性。

**RNA 聚合酶的催化活性:** RNA 聚合酶以完整的双链 DNA 为模板, 转录时 DNA 的双链结构部分解开, 转录后 DNA 仍然保持双链的结构。

核心酶覆盖 60bp 的 DNA 区域, 其中解链部分 17bp 左右, RNA-DNA 杂合链约 12bp。

纯的 RNA 聚合酶, 在离体条件下可转录双链 DNA, 但在体内, DNA 的两条链中只有一条可用于转录, 这可能是由于 RNA 聚合酶在分离时丢失了  $\sigma$  亚基引起的。

解旋和重新螺旋化也是 RNA 聚合酶的内在特性, 在酶的前端解螺旋, 在后端以相反方向重新螺旋化, 活体状况中, 可能还有其它酶活性来帮助调整 DNA 的拓扑学性质。

**2、真核生物 RNA 聚合酶**

真核生物的转录机制要复杂得多, 有三种细胞核内的 RNA 聚合酶: RNA

聚合酶 I 转录 rRNA, RNA 聚合酶 II 转录 mRNA, RNA 聚合酶 III 转录 tRNA 和其它小分子 RNA。这三种 RNA 聚合酶分子量都在 50 万左右,亚基数分别为 6-15。

动物、植物、昆虫等不同来源的细胞, RNAPol II 的活性都可被低浓度的  $\alpha$ -鹅膏蕈碱抑制, 而 RNAPol I 不受抑制。

动物 RNAPol III 受高浓度的  $\alpha$ -鹅膏蕈碱抑制, 而酵母、昆虫的 RNAPol III 不受抑制。

除了细胞核 RNA 聚合酶外, 还分离到线粒体和叶绿体 RNA 聚合酶, 它们的结构简单, 能转录所有种类的 RNA, 类似于细菌 RNA 聚合酶。

### 3、噬菌体 T3 和 T7 编码的 RNA 聚合酶

仅为一条分子量 11KD 的多肽链, 这些聚合酶只需要识别噬菌体 DNA 的少数启动子, 并无选择地与其作用, 37°C 时的聚合速度 200nt/秒。

## 二、RNA 聚合酶催化的转录过程 (E.coli)

### 1、起始

RNA 聚合酶结合到 DNA 双链的特定部位, 局部解开双螺旋, 第一个核苷酸掺入转录起始位点, 从此开始 RNA 链的延伸。

在新合成的 RNA 链的 5' 末端, 通常为带有三个磷酸基团的鸟苷或腺苷 (pppG 或 pppA), 即合成的第一个底物是 GTP 或 ATP。

起始过程中,  $\sigma$  因子起关键作用, 它能使聚合酶迅速地与 DNA 的启动子结合,  $\sigma$  亚基与  $\beta'$  结合时,  $\beta'$  亚基的构象有利于核心酶与启动子紧密结合,。

正链: 与 mRNA 序列相同的两、链。

负链: 模板链。

转录起点是+1, 上游是-1。

### 2、延长

转录起始后,  $\sigma$  亚基释放, 离开核心酶, 使核心酶的  $\beta'$  亚基构象变化, 与 DNA 模板亲和力下降, 在 DNA 上移动速度加快, 使 RNA 链不断延长。

转录起始后,  $\sigma$  亚基便从全酶中解离出来, 然后 nusA 亚基结合到核心酶上, 由 nusA 亚基识别序列序列。

### 3、终止

RNA 聚合酶到达转录终止点时,在终止辅助因子的帮助下,聚合反应停止, RNA 链和聚合酶脱离 DNA 模板链, nusA 又被  $\sigma$  亚基所取代。。

由此形成 RNA 聚合酶起始复合物与终止复合物两种形式的循环。

### 三、启动子和转录因子

**启动子:** RNA 聚合酶识别、结合并开始转录所必需的一段 DNA 序列。

**转录因子:** RNA 聚合酶在进行转录时,常需要一些辅助因子(蛋白质)参与作用,此类蛋白质统称为转录因子。

足迹法和 DNA 测序法确定启动子的序列结构。

#### (一) 原核启动子结构与功能

分析比较上百种启动子序列,发现不同的启动子都存在保守的共同序列,包括 RNA 聚合酶识别位点和结合位点。

#### 1、-10 序列 (Pribnow 框)

在转录起点上游大约-10 处,有一个 6bp 的保守序列 TATAAT,称 Pribnow 框。此段序列出现在-4 到-13bp 之间,每个位点的保守性在 45%-100%。

**频度:** T<sub>89</sub> A<sub>89</sub> T<sub>50</sub> A<sub>65</sub> A<sub>65</sub> T<sub>100</sub>

据预测, Pribnow 框中,一开始的 TA 和第 6 位最保守的 T 在结合 RNA 聚合酶时起十分重要的作用。

目前认为, Pribnow 框决定转录方向。酶在此部位与 DNA 结合形成稳定的复合物, Pribnow 框中 DNA 序列在转录方向上解开,形成开放型起始结构,它是 RNA 聚合酶牢固的结合位点,是启动子的关键部位。

RNA 聚合酶的结合,诱导富含 AT 的 Pribnow 框的双链解开,然后进一步扩大成 17 个核苷酸长度的泡状物,在泡状物中 RNA 聚合酶从模板链开始转录 RNA 产物。

#### 1、-35 序列 (Sixfama box) (识别区域)

只含-10 序列的 DNA 不能转录,在-10 序列上游还有一个保守序列,其中心约在-35 位置,称为-35 序列,此序列为 RNA 酶的识别区域。

**各碱基出现频率如下:** T<sub>85</sub> T<sub>83</sub> G<sub>81</sub> A<sub>61</sub> C<sub>69</sub> A<sub>52</sub>, 其中 TTG 十分保守。

**-35 序列的功能：**它是原核 RNA 聚合酶全酶依靠  $\sigma$  因子的初始识别位点。因此，-35 序列对 RNA 聚合酶全酶有很高的亲和性。-35 序列的核苷酸结构，在很大程度上决定了启动子的强度，RNA 聚合酶易识别强的启动子。

-35 序列提供 RNA 聚合酶识别信号，

-10 序列有助于 DNA 局部双链解开，

启动子结构的不对称性决定了转录的方向。

## (二) 真核启动子

真核基因的转录十分复杂，对启动子的分析要比原核基因的困难得多。

真核生物有三种 RNA 聚合酶：RNA 聚合酶 I、II、III，分别转录 rRNA、mRNA、tRNA 和小分子 RNA，这三类聚合酶的启动子各有其结构特点。

### 1、RNA 聚合酶 II 的启动子

RNA 聚合酶 II 的启动子有三个保守区：

#### (1)、TATA 框 (Hogness 框)

中心在-25 至-30，长度 7bp 左右。

**碱基频率：**T<sub>82</sub> A<sub>97</sub> A<sub>85</sub> A<sub>63</sub> (T<sub>37</sub>) A<sub>83</sub> A<sub>50</sub> (T<sub>37</sub>) (全为 A-T，少数含有一个 G-C 对)。

**此序列功能：**使 DNA 双链解开，并决定转录的起点位置，失去 TATA 框，转录将可能在许多位点上开始。

TATA 框的改变或缺失，直接影响 DNA 与酶的结合程度，会使转录起始点偏移，因此，TATA 是绝大多数真核基因正确表达所必需的。

由于 RNA 聚合酶分子有相对固定的空间结构，同此框的结合位点和转录反应催化位点的距离，决定了起始位点的正确选择。启动子特定序列和酶的正确结构，这两者把酶置于一种正确的构象中，决定了识别的正确性和转录起始的正确性。

#### (2)、CAAT 框

中心在-75 处，9bp，共有序列 GGT (G) CAATCT

功能：与 RNA 聚合酶结合。

### (3) GC 框

在 CAAT 框上游，序列 GGGCGG，与某些转录因子结合。

CAAT 和 GC 框均为上游序列，对转录的起始频率有较大影响。

## 2、RNAPolIII的启动子

RNAPolIII的启动子在转录区内部。

## 四、终止子和终止因子

**终止子：**提供转录终止信号的一段 DNA 序列。

**终止因子：**协助 RNA 聚合酶识别终止子的蛋白质辅助因子。

有些终止子的作用可被特异的因子所阻止，使酶越过终止子继续转录，称为通读，这类引起抗终止作用的蛋白质称为抗终止因子。

终止子位于已转录的序列中，DNA 的终止子可被 RNA 聚合酶本身或其辅助因子识别。

### 1、大肠杆菌中的两类终止子

所有原核生物的终止子在终止点之前都有一个回文结构，它转录出来的 RNA 可以形成一个颈环式的发夹结构。

#### (1) 不依赖于 $\rho$ 的终止子（简单终止子）

简单终止子除具有发夹结构外，在终止点前有一寡聚 U 序列，回文对称区通常有一段富含 GC 的序列。

寡聚 U 序列可能提供信号使 RNA 聚合酶脱离模板。

#### (2) 依赖 $\rho$ 的终止子

依赖  $\rho$  的终止子，必需在  $\rho$  因子存在时，才发生终止作用。终止点前无寡聚 U 序列，回文对称区不富含 GC。

$\rho$  因子是 55KD 的蛋白质，可水解三磷酸核苷。

### 2、抗终止作用

通读往往发生在强启动子、弱终止子的基因上。

抗终止作用常见于某些噬菌体的时序控制。早期基因于后基因之间以终止子相隔开，通过抗终止作用可以打开后基因的表达。

$\lambda$  噬菌体前早期(immediate early)基因的产物 N 蛋白就是一种抗终止因子。它与 RNA 聚合酶作用使其在左右两个终止子处发生通读,从而表达晚早期(delayed early)基因。晚早期基因的产物 Q 蛋白也是一种抗终止因子,它能使晚早期基因得以表达。

## 五、转录过程的调节控制

基因的表达是受到严格的调节控制的,转录水平的调控是关键的一环,转录调控主要发生在起始和终止阶段。

**时序调控:** 生长、发育、分化、时间程序。

**适应调控:** 细胞内外环境改变。可位于基因的上游或下游区或内含子中。

**操纵子:** 原核生物基因表达的协调单位,包括结构基因、调节基因及由调节基因产物所识别的控制序列(启动子、操纵基因)。

**增强子:** 真核生物、病毒的基因组内,对转录起增强作用的一段 DNA 序列。它具有长距离效应,与方向无关,只作用于同一条 DNA 链上的启动子。

转录水平的调控取决于调节因子(RNA 或蛋白质)与启动子、增强子、终止子之间的相互作用。

### (一) 原核生物的转录调控

#### 1、操纵子模型

调节基因的产物可以是负调节物(如阻遏蛋白),也可以是正调节物,它们与操纵基因作用,关闭或打开结构基因的表达

#### 2、cAMP 能促进许多原核生物的基因表达

cAMP 可以活化环腺苷酸受体蛋白(cAMP receptor protein, CRP), CRP 作为一种广谱性的正调节物,结合于被调控的启动子上,促进 RNA 聚合酶与启动子的结合,从而促进转录的进行。

**葡萄糖效应:** 培养基中葡萄糖含量较高时,细菌首先利用葡萄糖,阻遏利用其它底物的酶类的合成。

**原因:** 葡萄糖的降解物可以抑制腺苷酸环化酶的活力,并激活磷酸脂酶,因而降低 cAMP 的水平,使这些酶的基因不能转录。

因此, CRP 又称降解物基因活化蛋白(catabolite gene activator

protein,CAP)。受 cAMP-CRP 调节的操纵子（既代谢降解物敏感的操纵子）包括许多负责糖类分解代谢的诱导性启动子，如乳糖操纵子，半乳糖操纵子，阿拉伯糖操纵子等，以及负责氨基酸合成代谢的可阻遏的操纵子，如 Ile-Val 操纵子 (iLV)。

**调节子：**受一种一种调节蛋白所控制的几个操纵子系统，这些操纵子通常都属于同一个代谢途径或与同一种功能有关。

**综合性调节子：**一种调节蛋白控制几个不同代谢途径的操纵子，如 cAMP-CRP 对各种分解代谢和合成代谢的调控系统。

### 3、衰减子的调控作用

#### (二) 真核生物的转录调控

#### 第二节 RNA 转录后的加工

RNA 聚合酶合成的原初转录产物，要经过剪切、修饰、拼接等过程，才能转变成成熟的 RNA 分子，此过程称 RNA 转录后的加工。

#### 原核、真核的 tRNA、rRNA（稳定的 RNA）

细胞内的 tRNA、rRNA 相对稳定，半衰期一般为几个小时。所有的 tRNA、rRNA 都不是原初转录产物，都要经过一系列的加工才能成为有活性的分子。

a. 原初转录产物的 5'是三磷酸 (pppG、pppA)，而成熟的 tRNA、rRNA，5'是单磷酸。

b. 成熟 tRNA、rRNA 分子都比原初转录物小。

c. 所有的 tRNA 分子，都有原初转录物所没有的稀有碱基 (A、G、C、U 以外的碱基)。

#### 真核的 mRNA

单顺反子，多内含子。寿命比原核 mRNA 的长。

**内含子、内元 (intron)：**在原初转录物中，通过 RNA 拼接反应而被去除的 RNA 序列，或基因中与这种序列对应的 DNA 序列。

**外显子、外元 (exon)：**原初转录物通过 RNA 拼接反应后，而保留于成熟 RNA 中的序列，或基因中与成熟 RNA 对应的 DNA 序列。

#### 原核 mRNA

多顺反子，半衰期只有几分钟。这是原核生物重要的调控机制，如果一种酶或蛋白质不再需要时，只需简单地关闭其 mRNA 的合成就行了。

### 一、原核生物 RNA 的加工

在原核生物中，rRNA 基因与某些 tRNA 基因组成混合操纵子，可提高效率、节省空间（增加有效信息）。其它的 tRNA 基因也成簇存在，并与编码蛋白质的基因组成操纵子，它们在形式多顺反子转录物后，断裂成为 rRNA 和 tRNA 的前体，然后进一步加工成熟。

#### 1、原核 rRNA 前体的加工 (E.coli)

E.coli 共有三种 rRNA

5S rRNA        120b

16S rRNA       1541b

23S rRNA       2904b

rRNA 原初转录物含 6300 个核苷酸，约 30S。

大肠杆菌有 7 个 rRNA 的转录单位（操纵子），它们分散在基因组的各处。每个转录单位由 16SrRNA、23SrRNA、5SrRNA 以及一个或几个 tRNA 基因所组成。每个操纵子中 tRNA 基因的种类、数量和位置都各不相同。

RNAaseIII 是一种 rRNA、多顺反子 mRNA 加工的内切酶，识别特定的 RNA 双螺旋区。

RNAase E 也可识别 P5（5SrRNA 前体）两端形成的双螺旋区。

#### 2、原核 tRNA 前体的加工

E.coli 染色体基因组有 60 个 tRNA 基因，即某种 a.a. 的 tRNA 基因不止一个拷贝。

tRNA 基因大多成簇存在，或与 rRNA 基因，或与蛋白质基因组成混合转录单位。

##### tRNA 前体加工步骤

- a. 核酸内切酶(RNAaseP、RNAaseF)在 tRNA 两端切断。
- b. 核酸外切酶(RNAaseD)从 3'端逐个切去附加序列。

c. 在 tRNA 3'端加上-CCA-OH。tRNA 核苷酰转移酶

d. 核苷的修饰（修饰酶）：甲基化酶/S-腺苷蛋氨酸（SAM），假尿苷合成酶。

### （1）RNAase P

能识别空间结构，很干净地切除 tRNA 前体的 5'端。

含有蛋白质和 RNA（M1 RNA）两部分。M1 RNA 含 375nt，在某些条件下，（提高[Mg<sup>2+</sup>]、或加入胺类），RNAase P 的 RNA 能单独地切断 tRNA 前体的 5'端序列。

### （2）RNAaseF

不干净地切除 tRNA 前体的 3'端序列，需要 RNAase D 进一步修剪。

## 3、原核 mRNA 前体的加工

由单顺反子构成 mRNA，一般不需加工，一经转录，即可直接进行翻译。有些多顺反子构成的 mRNA，须由核酸内切酶切成较小的 mRNA，然后再进行翻译。

## 二、真核生物 RNA 的加工

真核 rRNA、tRNA 前体的加工过程与原核的很相似，但 mRNA 的加工过程与原核的有很大不同。

### 1、真核 rRNA 前体的加工

真核生物核糖体的小亚基含：16-18S rRNA，大亚基含：26-28S rRNA、5S rRNA、5.8S rRNA（特有）。

真核 rRNA 基因拷贝数较多，几十至几千个之间。

真核 rRNA 基因也成簇排列在一起，18S、5.8S、28S rRNA 基因组成一个转录单位，彼此被间隔区分开，由 RNA 聚合酶 I 转录生成一个长的 rRNA 前体。5SrRNA 基因也成簇排列，间隔区不被转录，由 RNA 聚合酶 III 转录后经适当加工。

**哺乳动物：**45SrRNA 前体，含 18S、5.8S、28S rRNA

**果蝇：**38SrRNA 前体，含 18S、5.8S、28S rRNA

**酵母：**37SrRNA 前体，17S、5.8S、26S rRNA

rRNA 在成熟过程中可被甲基化，位点主要在核糖 2'-OH 上。真核 rRNA 甲基化程度比原核的高，约 1-2% 的核苷酸被甲基化。

真核生物的核仁是 rRNA 合成、加工和装配成核糖体的场所，大、小亚基分别组装后，通过核孔转移到胞质中参与核糖体循环。

## 2、真核 tRNA 前体的加工

真核 tRNA 基因的数目比原核 tRNA 的要多的多。例如，E.coli 有 60 个 tRNA 基因，啤酒酵母 250 个，果蝇 850 个，爪蟾 1150 个，人 1300 个。

真核 tRNA 基因也成簇排列，被间隔区分开，tRNA 基因由 RNA 聚合酶 III 转录。

真核 tRNA 前体的剪切、修饰过程与原核相似。

## 3、真核生物 mRNA 前体的加工

mRNA 原初转录物是分子量很大的前体，在核内加工过程中形成分子大小不等的中间产物，它们被称为核内不均一 RNA (hn RNA)。其中，约有 25% 可转变成成熟的 mRNA。

hnRNA 半寿期很短，比细胞质中的 mRNA 更不稳定，一般在几分钟至 1 小时。而细胞质 mRNA 的半寿期为 1-10 小时，神经细胞 mRNA 最长可达数年。

hnRNA 转变成 mRNA 的加工过程主要包括：

- a. 5' 末端形成帽子结构
- b. 3' 末端切断并加上 polyA
- c. 剪接除去内含子对应的序列
- d. 甲基化

### (1) 5' 末端加帽

RNA 三磷酸酶，mRNA 鸟苷酰转移酶，mRNA (鸟嘌呤-7) 甲基转移酶，mRNA (核糖-2') 甲基转移酶。

由于甲基化的程度不同，有三种类型的帽子：CAPO 型，CAPI 型，CAPII 型。

★5' 帽子也出现于 hnRNA，说明加帽过程可能在转录的早期阶段或转录终止前就已完成。

**★5'帽子的功能**

a. 在翻译过程中起信号识别作用，协助核糖体与 mRNA 结合，使翻译从 AUG 开始。

b. 保护 mRNA，避免 5'端受核酸外切酶的降解。

**(2) 3'端加 polyA**

hnRNA 链由 RNAaseIII 切断，由多聚腺苷酸聚合酶催化，加上 polyA，ATP 为供体。

加尾信号：AATAAA、YGTGTGY (Y 为嘧啶)。

高等真核生物和病毒的 mRNA 在靠近 3'端区都有一段非常保守的序列 AAUAAA，这一序列离多聚腺苷酸加入位点的距离在 11-30nt 范围之内。

核内 hnRNA 的 3'端也有多聚腺苷酸，表明加尾过程早在核内已经完成。hnRNA 中的 poly(A) 比 mRNA 略长，平均 150-200nt。

polyA 的功能

a. 防止核酸外切酶对 mRNA 信息序列的降解，起缓冲作用。

b. 与 mRNA 从细胞核转移到细胞质有关。

3'脱氧腺苷（既冬虫夏草素）是多聚腺苷酸化的特异抑制剂，但它不抑制 hnRNA 的转录。

**(3) mRNA 甲基化**

某些真核 mRNA 内部有甲基化的位点，主要是在 N<sup>6</sup>-甲基腺嘌呤 (m<sup>6</sup>A)。

**三、RNA 的拼接和催化作用（内含子的切除）**

多数真核基因是断裂基因，其转录产物通过拼接，去除内含子，使编码区（外显子）成为连续序列。

有些内含子可以催化自身的拼接（self-splicing），有些内含子需要在有关酶的作用下才能拼接。

**1、tRNA 前体的拼接**

酵母 tRNA 约有 400 个基因，有内含子的基因约占 1/10，内含子长度 14-46bp，没有保守性。

切除内含子的酶识别的是 tRNA 的二级结构，而不是什么保守序列。

拼接过程：

第一步切除内含子，第二步 RNA 连接酶将两个 tRNA 半分子连接。

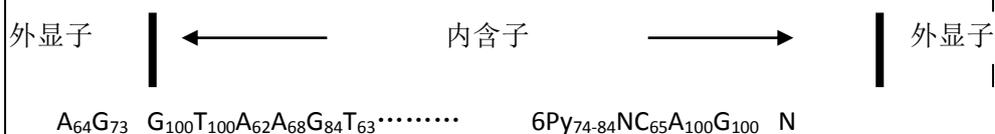
## 2、四膜虫 rRNA 前体的自我拼接

四膜虫 35S rRNA 前体，经加工可以生成 5.8S、17S 和 26SrRNA。

某些品系的四膜虫在其 26SrRNA 基因中有一个内含子，35S rRNA 前体需要拼接除去内含子。该拼接过程只需一价和二价阳离子和鸟苷酸(提供 3'-OH)，无需能量和酶。

## 3、mRNA 前体的拼接

真核生物所有编码蛋白质的核结构基因，其内含子的左端均为 GT，右端均为 AG。此规律称 GT-AG 规律（对于 mRNA 就是 GU-AG，此规律不适合于线粒体、叶绿体的内含子，也不适合于 tRNA 和某些 rRNA 的核结构基因）



酵母核基因的内含子在靠近 3'端还有一个保守序列，与 5'端序列互补，称为 TACTAAC box，也与拼接有关。

真核细胞内存在许多种类的小分子 RNA，大小在 100-300nt，有些由聚合酶 III 转录，有些由聚合酶 II 转录。

核内小 RNA (snRNA) 主要存在于核内，细胞质小 RNA (scRNA) 主要存在于细胞质。

重要的 snRNA 有 U 系列 snRNA，因其尿嘧啶含量高而得名。U 系列 snRNA 通常都与多肽或蛋白质结合形成核糖核蛋白颗粒(RNP)。U-snRNA 参与 hnRNA 的拼接过程。U3-snRNA 与 rRNA 前体的加工有关，U1、U2、U4、U5、U6 可能都与 hnRNA 的加工有关。

## 四、RNA 的催化功能

### 1、I 类内含子的自我剪接（顺式剪接）

I 类内含子包括四膜虫 rRNA 的内含子，几种酵母线粒体的内含子，噬菌体 T4 胸苷酸合成酶的内含子等。这些内含子有较大的同源性，可自我拼接。

1981, Cech (美国), 四膜虫 rRNA 前体 (约 6400nt) 能自动切除 413 个 nt 的内含子, 然后加工生成 5.8S、17S、26S rRNA。

1984, Apirion (美国), 噬菌体 T4 的 RNA 可以在没有蛋白质参与下自我断裂, 由 215nt 前体链切下 76nt 。

## 2、独具催化活性的小分子 RNA

1984, Altman, Pace (美国), 细菌加工 tRNA 前体的酶—RNAase P 中的 M<sub>1</sub>RNA (375nt) 在高浓度的 Mg<sup>2+</sup>或胺类存在时能单独切下 tRNA 前体的 5'端。

1, 4- $\alpha$  葡聚糖分支酶中的 RNA (31nt) 也单独具有分支酶活力。

真核的 U-snRNA 催化 rRNA 前体、hnRNA 前体的加工。

### 第三节 RNA 的复制

有些 RNA 病毒, 进入寄主细胞后, 借助复制酶而进行 RNA 病毒的复制。

从感染 RNA 病毒的细胞中可以分离出 RNA 复制酶, 这些 RNA 复制酶的模板特异性很强, 只识别病毒自身的 RNA, 它以病毒 RNA 为模板, 合成与模板性质相同的 RNA。

#### 一、噬菌体 Q $\beta$ RNA 的复制

噬菌体 Q $\beta$ : 直径 20nm, 正十二面体, 含 30%RNA, 其余为蛋白质, 单链 RNA, 4500 个核苷酸, 编码 3-4 个蛋白质。

结构: 5'端——成熟蛋白 (A 或 A<sub>2</sub> 蛋白) ——外壳蛋白 (或 A<sub>1</sub> 蛋白) ——复制酶  $\beta$  亚基——3'端

Q $\beta$  复制酶:  $\alpha\beta\gamma\delta$  四个亚基, 只有  $\beta$  是自己编码, 其余三个亚基来自寄主细胞。

进入 E.coli 细胞后, 其 RNA 即为 mRNA, 可以直接合成与病毒繁殖有关的蛋白质 (复制酶  $\beta$  亚基)。

#### Q $\beta$ RNA 的复制过程:

在 Q $\beta$  特异的复制酶合成并装备好后就开始病毒 RNA 的复制。

#### Q $\beta$ RNA 翻译和复制的自我调节:

Q $\beta$ RNA 的高级结构 (尤其是双螺旋区的结构) 参与翻译的调节控制:

- (1) 只有刚复制的 Q $\beta$ RNA, 成熟蛋白基因才能翻译。
- (2) 核糖体能直接启动外壳蛋白基因的翻译
- (3) 复制酶  $\beta$  亚基基因只有在外壳蛋白合成时双链打开才能进行翻译。

Q $\beta$ RNA 的翻译、复制受寄主细胞调节, 以正链 RNA 为模板复制负链 RNA 时, 另需寄主细胞的 HF I 和 HF II 因子。而以负链 RNA 为模板复制正链 RNA 时, 不需这两个因子, 感染后期大量合成的是正链 RNA。

## 二、病毒 RNA 复制的主要方式

### 1、正链 RNA 病毒 (mRNA): 噬菌体 Q $\beta$ 、灰质炎病毒等。

进入寄主细胞后, 利用寄主的翻译系统, 首先合成复制酶及有关的蛋白质, 然后进行病毒 RNA 的复制, 最后由病毒 RNA 和蛋白质装配成病毒颗粒。

### 2、负链 RNA 病毒 (带有复制酶): 狂犬病毒等

此类病毒带有复制酶, 侵入后, 复制酶首先合成出正链 RNA (mRNA), 再以正链 RNA 为模板, 合成负链 RNA 及蛋白质, 然后装配。

### 3、双链 RNA 病毒 (带有复制酶): 呼肠孤病毒等

以双链 RNA 为模板, 在复制酶作用下先转录正链 RNA (mRNA), 从而翻译出蛋白质, 然后合成负链 RNA, 形成双链 RNA, 再包装。

### 4、反转录病毒 (含反转录酶): 白血病病毒、肉瘤病毒等致癌 RNA 病毒

正链 RNA 病毒, 它们的复制需要经过 DNA 前病毒阶段。

## 第四节 RNA 生物合成的抑制剂

某些核酸代谢的拮抗物和抗生素可抑制核苷酸或核酸的合成, 因而可以用于抗病毒或抗肿瘤药物, 也可以用于核酸的研究

### 一、嘌呤和嘧啶类似物

抑制核苷酸的合成, 还能掺入核酸分子中去, 形成异常 DNA、RNA, 影响核酸功能。

主要有: 6-巯基嘌呤、硫鸟嘌呤、2,6-二氨基嘌呤、8-氮鸟嘌呤、5-氟尿嘧啶、6-氮尿嘧啶

碱基类似物进入体内后需转变成相应的核苷酸, 才表现出抑制作用。

## 二、DNA 模板功能的抑制剂

此类化合物能与 DNA 结合，使 DNA 失去模板功能，从而抑制其复制与转录。

### 1、烷化剂

氮芥（二（氯乙基）胺的衍生物）、磺酸酯、氮丙啶、乙撑亚胺类。它们带有活性烷基，使 DNA 烷基化。

**烷化位点：**鸟嘌呤 N<sub>7</sub>，腺嘌呤 N<sub>1</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>7</sub>，胞嘧啶 N<sub>1</sub>

烷基化后，碱基易被水解下来，留下的空隙可干扰 DNA 复制或引起错误碱基掺入。带有双功能基团的烷化剂，可同时与 DNA 两条链结合，使双链 DNA 交联，从而失去模板功能。

**环磷酰胺：**肿瘤细胞中磷酰胺酶活化，生成活性氮芥。

**苯丁酸氮芥：**癌细胞酵解作用强，乳酸多，pH 低，苯丁酸氮芥易进入。

### 2、放线菌素 D（对真核、原核细胞都起作用）

有抗菌和抗癌作用。

它可与 DNA 形成非共价复合物，使其多肽部分在 DNA 的“浅沟”上如同阻遏蛋白一样，抑制 DNA 的转录和复制。

此类机理的放线菌素还有色霉素 A<sub>3</sub>、橄榄霉素、光神霉素。

### 3、嵌入染料

扁平芳香族染料，可插入双链 DNA 相邻碱基对之间。

溴化乙锭插入后，使 DNA 在复制时缺失或增添一个核苷酸，从而导致移码突变，并能抑制 RNA 链的起始及质粒的复制。还有原黄素、吖啶黄、吖啶橙

## 三、RNA 聚合酶的抑制物

### 1、利福霉素

包括其衍生物利福平，特异地抑制细菌 RNA 聚合酶的活性。

强烈抑制革兰氏阳性菌和结核杆菌，它主要抑制 RNA 合成的起始。

### 2、利链菌素

与细菌 RNA 聚合酶  $\beta$  亚基结合，抑制转录过程中链的延长。

### 3、 $\alpha$ -鹅膏蕈碱

主要抑制真核 RNA 聚合酶 II 和 III，对细菌的 RNA 聚合酶作用极小。

#### 【讨论提问】

某些基因在转录的过程中，RNA 聚合酶会发生暂停的现象，即 RNA 聚合酶在到达某些位点停止转录，你如何检测到这种暂停现象。

#### 【本章小结】

本章介绍 RNA 生物合成的两条途径，即以 DNA 为模板合成 RNA 及 RNA 的复制。其中转录时 RNA 合成的主要途径，在转录后还需经加工成为成熟的 RNA。

#### 【课后作业】

答案：当 RNA 聚合酶在催化转录的过程中有暂停现象，则转录的速度将低于无暂停的 RNA 聚合酶催化转录的速度，这样在相同的时间内，转录物的长度将比一般转录物的长度短。使用放射性标记的 NTP 标记转录产物，然后进行凝胶电泳和放射自显影，有暂停现象的转录物的条带位置将会超前。

- 1、比较真核生物与原核生物 RNA 聚合酶的种类和主要功能。
- 2、试述真核 mRNA 的成熟加工过程。
- 3、什么是 RNA 复制？简述 RNA 复制过程。

#### 教学反思

## 第十六章、蛋白质的生物合成

|               |   |
|---------------|---|
| <b>教学目标</b>   | 掌握遗传密码的特性；原核生物蛋白质生物合成过程以及参与蛋白质生物合成的一些酶和蛋白质；原核生物和真核生物蛋白质合成的主要差异。                             |
| <b>教学重点</b>   | ① 蛋白质的生物合成过程。<br>② 蛋白质的加工和修饰  |
| <b>教学难点</b>   | ① 蛋白质的生物合成<br>② 蛋白质合成后修饰  |
| <b>学时分配</b>   | 第一节参与蛋白质生物合成的物质      1 学时<br>第二节蛋白质生物合成过程                2 学时<br>第三节蛋白质合成后分泌加工和修饰      1 学时 |
| <b>教学方法</b>   | 讨论法+讲授法   |
| <b>教学手段</b>   | 传统教学+现代多媒体  |
| <b>知识结构体系</b> |   |

| 授课题目  | 蛋白质的生物合成 | 授课序次 | 29、30  |
|---|----------|------|--------|
| 总学时数  | 4 学时     | 授课时长 | 160 分钟 |
| 教学过程及授课内容   |          |      | 备注     |
| <p><b>【课堂导入】</b></p> <p>在不同的蛋白质分子中，氨基酸有着特定的排列顺序，这种特定的排列顺序不是随机的，而是严格按照蛋白质的编码基因中的碱基排列顺序决定的。</p> <p><b>【探究新知】</b></p> <p style="text-align: center;"><b>第一节参与蛋白质生物合成的物质</b></p> <p><b>一、合成原料</b></p> <p>自然界由 mRNA 编码的氨基酸共有 20 种，只有这些氨基酸能够作为蛋白质生物合成的直接原料。某些蛋白质分子还含有羟脯氨酸、羟赖氨酸、<math>\gamma</math>-羧基谷氨酸等，这些特殊氨基酸是在肽链合成后的加工修饰过程中形成的。</p> <p>下图给出部分特殊氨基酸分子式：</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: flex-end;"> <div style="text-align: center;"> <math display="block">\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{OOC} \quad \text{COO}^- \end{array}</math> <p><math>\gamma</math>-Carboxyglutamate</p> </div> <div style="text-align: center;"> <math display="block">\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}_2^+ \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}</math> <p>Methyllysine</p> </div> <div style="text-align: center;"> <math display="block">\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}^+ \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}</math> <p>Dimethyllysine</p> </div> <div style="text-align: center;"> <math display="block">\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{N}^+ \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}</math> <p>Trimethyllysine</p> </div> <div style="text-align: center;"> <math display="block">\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}=\text{O} \\   \\ \text{O} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}</math> <p>Methylglutamate</p> </div> </div> <p><b>二、mRNA 是合成蛋白质的直接模板</b></p> <p>蛋白质是在胞质中合成的，而编码蛋白质的信息载体 DNA 却在细胞核内，所以必定有一种中间物质用来传递 DNA 上的信息，实验证明：<b>mRNA</b> 是遗传信息的传递者，是蛋白质生物合成过程中直接指令氨基酸掺入的模板，因此得名信使 RNA。</p> <p><b>1、遗传密码的破译</b></p> <p>破译遗传密码的突破性工作主要包括三个方面：一是体外翻译系统的建立；二是核酸的人工合成；三是核糖体结合技术。</p> <p><b>2.遗传密码具有以下特点：</b></p> <p>(1)按 5'→3'方向编码（方向性：阅读方向 5'→3'，与 mRNA 合成方向一致）、不重叠、无标点、连续的</p> |          |      |        |

(2)密码子的简并性（摆动性、变偶性）

(3).起始码与终止码（Initiation codon and termination codon）

(4)密码的通用性

### 三、tRNA 是活化氨基酸的运载工具

tRNA 在蛋白质生物合成过程中起关键作用。mRNA 推带的遗传信息被翻译成蛋白质一级结构，但是 mRNA 分子与氨基酸分子之间并无直接的对应关系。这就需要经过第三者“介绍”，而 tRNA 分子就充当这个角色。

tRNA 分子的二级结构呈三叶草型，三级结构呈倒L 型。

tRNA 是类小分子 RNA，长度为 73-94 个核苷酸，tRNA 分子中富含稀有碱基和修饰碱基，tRNA 分子 3'端均为 CCA 序列，氨基酸分子通过共价键与氨基酸结合，此处的结构也叫氨基酸臂。每种氨基酸都有 2-6 种各自特异的 tRNA，它们之间的特异性是靠氨酰 tRNA 合成酶来识别的。这样，携带相同氨基酸而反密码子不同的一组 tRNA 称为**同功 tRNA**，它们在细胞内合成量上有多和少的差别，分别称为**主要 tRNA** 和**次要 tRNA**。

### 四、核糖体

#### （一）核糖体的组成与结构

##### 1.概念

核糖体是由几十种蛋白质（一般均为单拷贝）和 rRNA 组成的亚细胞颗粒，由一个大亚基和小亚基构成，是蛋白质合成的场所。

##### 2. 组成

任何生物的核糖体都是由大、小两个亚基组成。核糖体是高度复杂的体系，它的任何个别组分或局部组分都不能起整体的作用，因此必须研究核糖体中蛋白质和 RNA 的空间结构和位置，才能更完全地了解蛋白质合成的具体过程。

**大亚基：**像一把特殊的椅子，三边带突起（中间一个最明显），中间凹下去形成一个**大空穴**。

**小亚基：**像动物的胚胎，长轴上有一凹下去的**颈部**。

小亚基水平的横摆在大亚基上，腹面与大亚基之空穴相抱，两亚基接合面上留有相当大的空隙，是蛋白质生物合成的场所。

| 核糖体种类亚基 | rRNA | 分子量 | 蛋白质分子数目 |     |
|---------|------|-----|---------|-----|
| 原核      | 70S  | 30S | 16S     | ~21 |
|         |      | 50S | 23S     | ~34 |
|         | 真核   | 80S | 40S     |     |
| 60S     |      |     | 28S     | ~50 |
|         |      |     | 5.8S    |     |

**3.分布**

核糖体位于胞浆内，可分为两类，一类附着于粗面内质网，主要参与白蛋白、胰岛素等分泌性蛋白质的合成；另一类游离于胞浆，主要参与细胞固有蛋白质的合成。核糖体是细胞中的主要成分之一，在一个生长旺盛的细菌中大约不 20000 个核糖体，其中蛋白质占细胞总蛋白质的 10%，RNA 占细胞总 RNA 的 80%。

**(二) 核糖体的功能**

核糖体作为蛋白质的合成场所具有以下结构特点和作用：

- (1) 具有 mRNA 结合位点
- (2) 具有 P 位点 (peptidyl tRNA site)
- (3) 具有 A 位点 (Aminoacyl-tRNA site)
- (4) 具有转肽酶活性部位
- (5) 结合参与蛋白质合成的因子

**(三) 多核糖体**

每个核糖体独立完成一条多肽链的合成，多个核糖体可以同时在一个 mRNA 分子上进行多条多肽链的合成，大大提高了翻译效率，象这样由一个 mRNA 分子与一定数目的单核糖体形成的念珠状结构称为多核糖体。

真核和原核细胞参与翻译的蛋白质因子

| 阶段   | 原核                | 真核   | 功能   |
|------|-------------------|--|--|
| 起始   | IF1<br>IF2<br>IF3 | eIF2<br>eIF3、eIF4C                         | 参与起始复合物的形成   |
|      |                   | CBP I<br>eIF4A B F<br>eIF5<br>eIF6<br>eIF6 | 与 mRNA 帽子结合<br>参与寻找第一个 AUG<br>协助 eIF2 、 eIF3、eIF4C 的释放<br>协助 60S 亚基从无活性的核糖体上解离<br>协助 60S 亚基从无活性的核糖体上解离 |
| 延长   | EF-Tu             | eEF1a                                      | 协助氨酰-tRNA 进入核糖体  |
|      | EF-Ts             | eEF1 gb                                    | 帮助 EF-Tu、eEF1a 周转  |
|      | EF-G              | eEF2                                       | 移位因子   |
| 移位因子 | RF-1              | eRF  | 释放完整的肽链  |
|      | RF-2              |  |  |

### 第二节蛋白质生物合成过程

翻译是把 mRNA 分子中碱基排列顺序转变为蛋白质或多肽链中的氨基酸排列顺序过程，也是基因表达的第二步，产生基因产物-蛋白质的最后阶段。不同的组织、细胞具有不同的生理功能，是因为它们表达不同的基因，产生具有特殊功能的蛋白质，参与蛋白质生物合成的成分至少有 200 种，其主要体系主要由 mRNA、tRNA、核糖核蛋白体以及有关的酶和蛋白质因子共同组成。

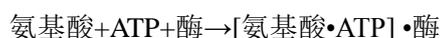
**蛋白质生物合成可分为 5 个阶段：**氨基酸的活化、多肽链合成的起始、肽链的延长、肽链的终止和释放、蛋白质合成后的加工修饰。

#### 一、氨基酸的活化

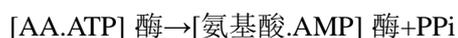
在进行合成多肽链之前，必须先经过活化，然后再与其特异的 tRNA 结合，带到 mRNA 相应的位置上，这个过程靠氨酰-tRNA 合成酶催化，此酶催化特定的氨基酸与特异的 tRNA 相结合，生成各种氨酰-tRNA。

分三步：

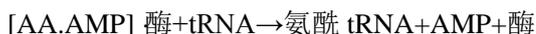
1、形成酶-氨基酸-ATP 复合物



2、形成酶-氨基酸-AMP 复合物

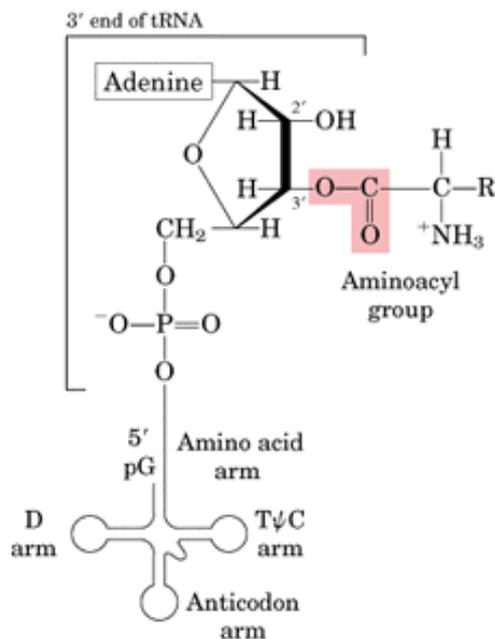


3、形成氨酰-tRNA



二、多肽链合成的起始

核糖体大小亚基, mRNA 起始 tRNA 和起始因子共同参与肽链合成的起始。



1、大肠杆菌细胞翻译起始复合物形成的过程:

(1) 核糖体 30S 小亚基附着于 mRNA 起始信号部位:

原核生物中每一个 mRNA 都具有其核糖体结合位点, 它是位于 AUG 上游 8-13 个核苷酸处的一个短片段叫做 **SD 序列**。这段序列正好与 30S 小亚基中的 16S rRNA 3'端一部分序列互补, 因此 SD 序列也叫做核糖体结合序列, 这种互补就意味着核糖体能选择 mRNA 上 AUG 的正确位置来起始肽链的合成, 该结合反应由起始因子 3 (IF-3) 介导, 另外 IF-1 促进 IF-3 与小亚基的结合, 故先形成 IF<sub>3</sub>-30S 亚基-mRNA 三元复合物。

(2) 30S 前起始复合物的形成:

在起始因子 2 作用下, 甲酰蛋氨酰起始 tRNA 与 mRNA 分子中的 AUG 相结合, 即密码子与反密码子配对, 同时 IF<sub>3</sub> 从三元复合物中脱落, 形成 30S 前起始复合物, 即 IF<sub>2</sub>-3S 亚基-mRNA-fMet-tRNA<sup>fmet</sup> 复合物, 此步需要 GTP 和 Mg<sup>2+</sup> 参与。

### (3) 70S 起始复合物的形成:

50S 亚基与上述的 30S 前起始复合物结合, 同时 IF2 脱落, 形成 70S 起始复合物, 即 30S 亚基-mRNA-50S 亚基-mRNA-fMet-tRNA<sup>fmet</sup> 复合物。此时 fMet-tRNA<sup>fmet</sup> 占据着 50S 亚基的肽酰位。而 A 位则空着有待于对应 mRNA 中第二个密码的相应氨基酰 tRNA 进入, 从而进入延长阶段。

## 2、真核细胞蛋白质合成的起始

### (1) 需要特异的起始 tRNA

即 Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>, 并且不需要 N 端甲酰化。已发现的真核起始因子有近 10 种 (eukaryote Initiation factor, eIF)

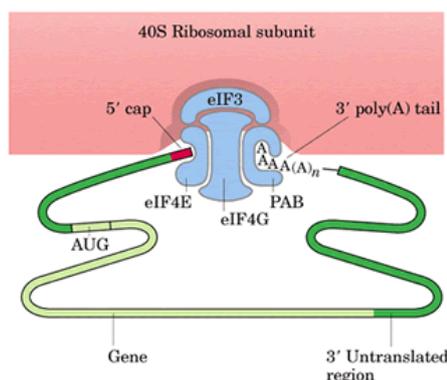
### (2) 起始复合物形成

在 mRNA 5' 端 AUG 上游的帽子结构。

### (3) ATP 水解为 ADP 供给 mRNA 结合所需要的能量。

真核细胞起始复合物的形成过程是:

翻译起始是由 eIF-3 结合在 40S 小亚基上而促进 80S 核糖体解离出 60S 大亚基, 同时 eIF-2 与 Met-tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup> 及 GTP 结合, 形成四元复合物, 形成的复合物在多种因子的帮助下与 mRNA 的 5' 端结合。这时, 核糖体小亚基就开始向 mRNA 的 3' 端移动, 直至移动到第一个 AUG, 移动由 ATP 水解来提供能量。



## 三、多肽链的延长

在多肽链上每增加一个氨基酸都需要经过进位、转肽和移位三个步骤:

1. 进位
2. 转肽—肽键的形成 (peptide bond formation)

### 3. 移位 (translocation)

#### 四、翻译的终止及多肽链的释放

无论原核生物还是真核生物都有三种终止密码子 UAG, UAA 和 UGA。没有一个 tRNA 能够与终止密码子作用,而是靠特殊的蛋白质因子促成终止作用。这类蛋白质因子叫做**释放因子**。

原核生物有三种释放因子: RF-1、RF-2、RF-3。

#### 五、多核糖体循环

上述只是单个核糖体的翻译过程,事实上在细胞内一条 mRNA 链上结合着多个核糖体,甚至可多到几百个。

蛋白质开始合成时,第一个核糖体在 mRNA 的起始部位结合,引入第一个蛋氨酸,然后核糖体向 mRNA 的 3'端移动一定距离后,第二个核糖体又在 mRNA 的起始部位结合,向前移动一定的距离后,在起始部位又结合第三个核糖体,依次下去,直至终止。两个核糖体之间有一定的长度间隔,每个核糖体都独立完成一条多肽链的合成,所以这种多核糖体可以在一条 mRNA 链上同时合成多条相同的多肽链,这就大大提高了翻译的效率。

### 第三节蛋白质合成后的分泌及加工、修饰

不论是原核,还是真核生物,在细胞浆内合成的蛋白质需定位于细胞特定的区域,有些蛋白质合成后要分泌到细胞外,这些蛋白质叫做**分泌蛋白**。

真核生物细胞结构更为复杂,而且有多种不同的细胞器,它们又具有各不相同的膜结构,因此合成好的蛋白质还要面临跨越不同的膜而到达各种细胞器,有些蛋白质在翻译完成后还要经过多种共价修饰,这个过程叫做**翻译后处理**。

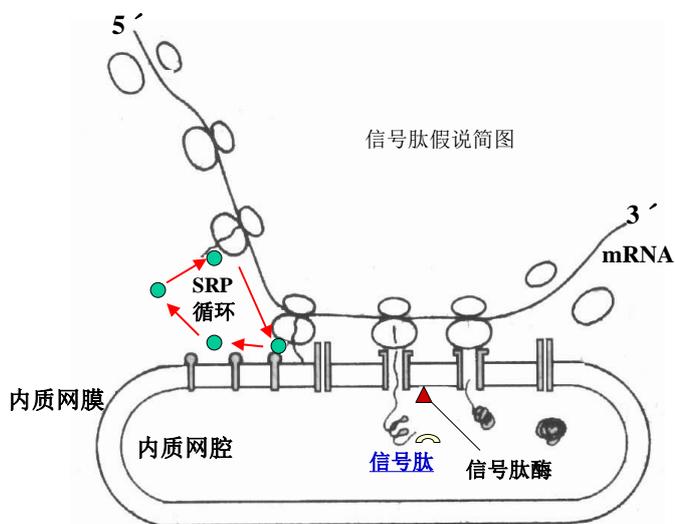
#### 一、细菌中蛋白质的越膜

绝大多数越膜蛋白的 N 端有 10-40 个氨基酸残基,其中中部具有大约 10-15 个以疏水氨基酸为主的 N 端信号序列或称**信号肽**(signal sequence)。

信号肽的疏水段能形成一段  $\alpha$  螺旋结构。在信号序列之后的一段氨基酸残基也能形成一段  $\alpha$  螺旋,两段  $\alpha$  螺旋以反平行方式组成一个发夹结构,很容易进入内膜的磷脂双分子层结构,一旦分泌蛋白质的 N 端锚定在膜内,后续合成的其它肽段部分将顺利通过膜。

疏水性信号肽对于新生肽链跨膜及把它固定的膜上起一个拐棍作用。之后

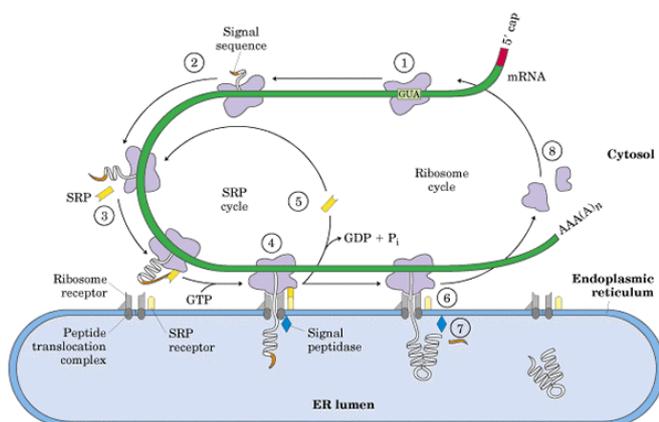
位于内膜外表面的信号肽酶将信号肽序列切除。当蛋白质全部翻译出来后，羧端穿过内膜，在周质中折叠成蛋白质的最终构象。



## 二、真核生物蛋白质的分泌

真核生物不但有细胞核、细胞质和细胞膜，而且还有许多膜性结构的细胞器。合成的蛋白质怎样的到达细胞的不同部位呢？了解比较清楚的是分泌性蛋白质的转运。

在胞浆中发现一种由小分子 RNA 和蛋白质共同组成的复合物，它能特异地与信号肽识别，名为信号肽识别体（SRP）。



## 三、蛋白质翻译后加工修饰

从核糖体上释放出来的多肽链，按照一级结构中氨基酸侧链的性质，自行

卷曲，形成一定的空间结构。过去一直认为，蛋白质空间结构的形成靠是其一级结构决定的，不需要另外的信息。近些年来发现许多细胞内蛋白质正确装配都需要一类称做“**分子伴侣**”的蛋白质帮助才能完成，这一概念的提出并未否定“氨基酸顺序决定蛋白空间结构”这一原则。而是对这一理论的补充，分子伴侣能介导其它蛋白质正确装配成有功能活性的空间结构，而它本身并不参与最终装配产物的组成。

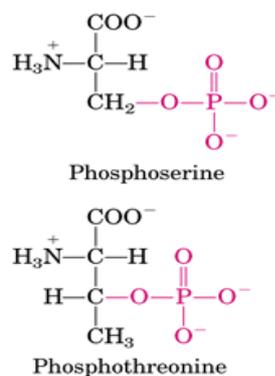
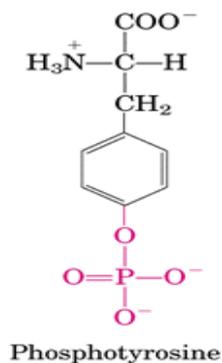
### 1. 氨基端和羧基端的修饰

在原核生物中，几乎所有蛋白质都是从 N-甲酰蛋氨酸开始，真核生物从蛋氨酸开始。甲酰基经酶水解而除去，蛋氨酸或者氨基端的一些氨基酸残基常由氨肽酶催化而水解除去；信号肽酶除去信号肽序列。因此，成熟的蛋白质分子 N-端没有甲酰基，或没有蛋氨酸。同时，某些蛋白质分子氨基端要进行乙酰化，在羧基端也要进行修饰。

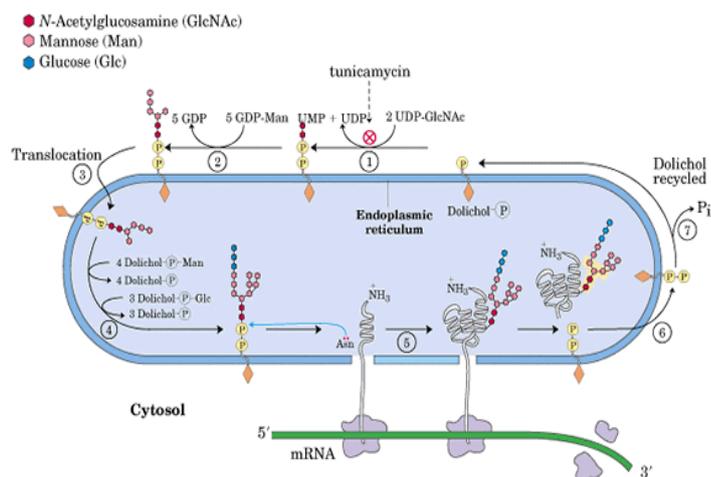
2. 共价修饰许多的蛋白质可以进行不同的类型化学基团的共价修饰，修饰后可以表现为激活状态，也可以表现为失活状态。

乙酰化、糖基化、酰胺化、羟基化、可逆磷酸化、甲基化、可逆的核苷酰化

#### (1) 磷酸化



#### (2) 糖基化



(3) 羟基化

(4) 二硫键的形成

3. 亚基的聚合

有许多蛋白质是由二个以上亚基构成的，这就需这些多肽链通过非共价键聚合成多聚体才能表现生物活性。

4. 水解断链

(1)N 端（甲酰）蛋氨酸的去除或切去一段肽

去甲酰酶氨肽酶

(2)信号肽的去除

信号肽：大多数分泌蛋白及与膜结合的糖蛋白在 N 端有一段序列，由 10-40 个氨基酸组成，其中包括 10-15 个疏水氨基酸，其作用是帮助主体蛋白穿过磷脂层，再经分泌小泡运出膜外至细胞的固定部位。

(3)肽链的水解裂解例酶原激活

一般真核细胞中一个基因对应一个 mRNA，一个 mRNA 对应一条多肽链，但也有少数的情况，即一种三思而行翻译后的多肽链经水解后产生几种不同的蛋白质或多肽。例如哺乳动物的鸦片样促黑皮激素原初翻译产物为 265 个氨基酸，它在脑下垂体前叶细胞中，POMC 初切割成为 N-端片段和 C 端片段的 β-促脂解激素。然后 N 端片段又被切割成较小的 N 端片段和 9 肽的促肾上腺皮质激素。而在脑下垂体中叶细胞中，β-促脂解激素再次被切割产生 β-内啡肽；ACTH

也被切割产生 13 肽的促黑激素 ( $\alpha$ -melanotropin)。

#### 第四节蛋白质合成的抑制剂

影响蛋白质生物合成的物质非常多,它们可以作用于 DNA 复制和 RNA 转录,对蛋白质的生物合成起间接作用,本节主要讨论抑制蛋白质生物合成翻译过程的抑制剂。

##### 一、抗生素类抑制剂

许多抗生素都是以直接抑制细菌细胞内蛋白质合成,而对人体副作用最小为目的而设计的,它们可作用于蛋白质合成的各个环节,包括抑制起始因子,延长因子及核糖核蛋白体的作用等等。

##### 1. 链霉素、卡那霉素、新霉素等

这类抗生素属于基甙类,它们主要抑制革兰氏阴性细菌蛋白质合成的三个阶段:

①S 起始复合物的形成,使氨基酰 tRNA 从复合物中脱落;

②在肽链延伸阶段,使氨基酰 tRNA 与 mRNA 错配;

③在终止阶段,阻碍终止因子与核蛋白体结合,使已合成的多肽链无法释放,而且还抑制 70S 核糖体的介离。右图为链霉素分子式。

##### 2. 四环素和土霉素

①作用于细菌内 30S 小亚基,抑制起始复合物的形成;

②抑制氨酰 tRNA 进入核糖体的 A 位,阻滞肽链的延伸;

③影响终止因子与核糖体的结合,使已合成的多肽链不能脱落离核糖体。

四环素类抗生素除对菌体 70S 核糖体有抑制作用外,对人体细胞的 80S 核糖体也有抑制作用,但对 70S 核糖体的敏感性更高,故对细菌蛋白质合成抑制作用更强。右图为四环素分子式。

##### 3. 氯霉素:属于广谱抗生素。

①氯霉素(右图为氯霉素分子式)与核糖体上的 A 位紧密结合,因此阻碍氨基酰 tRNA 进入 A 位;

②抑制转肽酶活性,使肽链延伸受到影响,菌体蛋白质不能合成,因此有较强的抑菌作用。

#### 4. 嘌呤霉素 (Puromycin)

结构与酪氨酰-tRNA 相似, 从而取代一些氨基酰 tRNA 进入核糖体的 A 位 (见右图), 当延长中的肽转入此异常 A 位时, 容易脱落, 终止肽链合成。由于嘌呤霉素对原核和真核生物的翻译过程均有干扰作用, 故难于用做抗菌药物, 有人试用于肿瘤治疗。

#### 5. 白喉毒素 (diphtheria toxin)

由白喉杆菌所产生的白喉毒素是真核细胞蛋白质合成抑制剂。白喉毒素实际上是寄生于白喉杆菌体内的溶源性噬菌体  $\beta$  基因编码的由白喉杆菌转运分泌出来, 进入组织细胞内, 它对真核生物的延长因子-2 (EF-2) 起共价修饰作用, 生成 EF-2 腺苷二磷酸核糖衍生物, 从而使 EF-2 失活, 它的催化效率很高, 只需微量就能有效地抑制细胞整个蛋白质合成, 而导致细胞死亡。

### 二、干扰素对病毒蛋白合成的抑制

干扰素 (interferon) 是病毒感染后, 感染病毒的细胞合成和分泌的一种小分子蛋白质。从白细胞中得到  $\alpha$ -干扰素, 从成纤维细胞中得到  $\beta$ -干扰素, 在免疫细胞中得到  $\gamma$ -干扰素。干扰素结合到未感染病毒的细胞膜上, 诱导这些细胞产生寡核苷酸合成酶、核酸内切酶和蛋白激酶。在细胞未被感染时, 不合成这三种酶, 一旦被病毒感染, 有干扰素或双链 RNA 存在时, 这些酶被激活, 并以不同的方式阻断病毒蛋白质的合成。干扰素和 dsRNA 激活蛋白激酶, 蛋白激酶使蛋白质合成的起始因子磷酸化, 使它失活, 另一种方式是 mRNA 的降解, 干扰素 dsRNA 激活 2,5 腺嘌呤寡核苷酸合成的酶的合成, 2,5 腺嘌呤寡核苷酸激活核酸内切酶, 核酸内切酶水解 mRNA。

由于干扰素具有很强的抗病毒作用, 因此在医学上有重大的实用价值, 但组织中含量很少, 难于从生物组织中大量分离干扰素。现在已难应用基因工程合成干扰素以满足研究与临床应用的需要。

#### 【讨论提问】

为什么  $m^7GTP$  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?

答案： $m^7GTP$ 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，能够竞争性地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 $m^7GTP$ 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16S rRNA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16S rRNA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。

### 【本章小结】

本章主要介绍蛋白质的生物合成、加工及转运。遗传密码的特性。原核生物蛋白质生物合成过程以及参与蛋白质生物合成的一些酶和蛋白质。原核生物和真核生物蛋白质合成的主要差异。

### 【课后作业】

- 1、遗传密码有哪些特性？
- 2、试比较原核细胞与真核细胞在蛋白质合成上的主要差异。
- 3、什么是遗传密码？遗传密码是怎么破译的？

### 教学反思