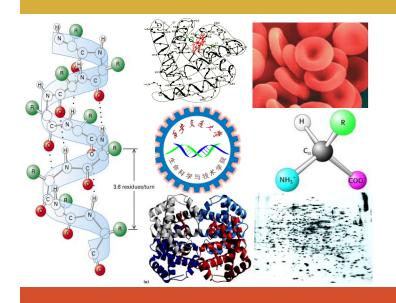
生命科学基础 I



第二章 细胞的物质基础 第三节 蛋白质

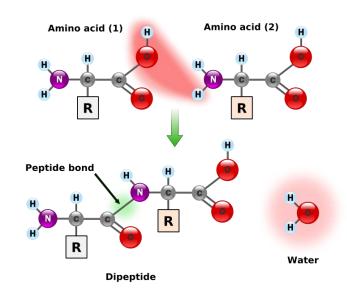
孔宇 教授 西安交通大学生命科学与技术学院 2021年9月26日

内容简介 1. 蛋白质概述 2. 氨基酸 3. 多肽 4. 蛋白质 5. 其他

~>>

0 蛋白质定义





西安克通大學



1.蛋白质概述-来源

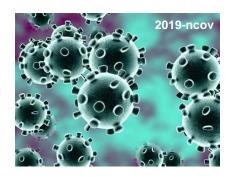


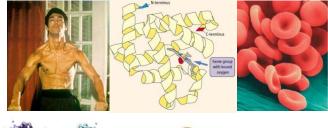
~>>

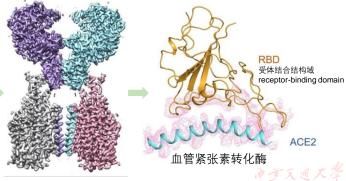
1.蛋白质概述-作用



- ❖生物体的结构物质
- *功能的载体
- ❖生命起源相关









1.蛋白质概述-化学组成



- ***C**(50~55%)
- **♦**H(6~8%)
- ***O**(20~23%)
- **❖N**(15~18%)
- **\$\$**(0~4%)
- ***** · · ·
- ❖N的含量平均为16%
- *凯氏定氮法: 氮量平均在 16%,取其倒数 100/16=6.25为蛋白质换算 系数: 1g元素氮,对应 6.25g蛋白质)
- ❖蛋白质含量=氮的量 ×100/16(6.25)
- ❖ CuSO₄催化,碱释放氨气,硼酸吸收,酸油定

分类方法-溶解度/形状等见思源学堂资料

西安交通大學



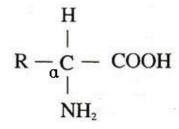
2. 氨基酸-蛋白质的结构单元

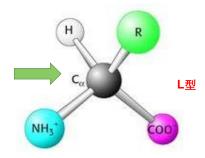


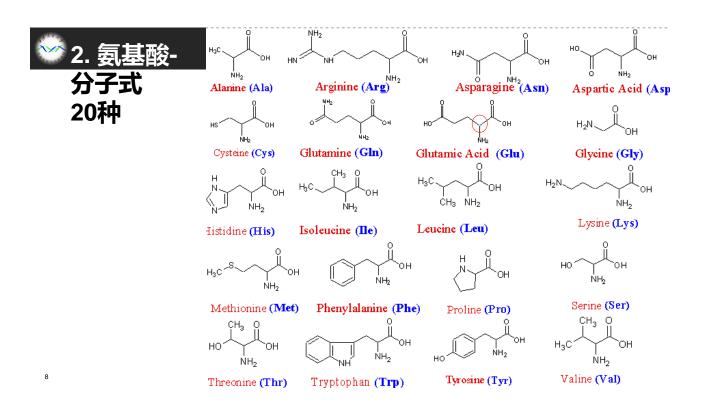
- ◆ 氨基酸 (amino acid, AA)
- ❖天然-L型
- ❖均含有α氨基(亚氨基)
- ❖R≠H: α碳原子手性
- ❖已有~300种,人体常见~21种

单糖、脂肪?

D_L



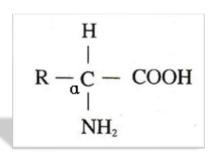






2. 氨基酸简介-分类





- ▶按含氨基和羧基的数目
- ▶按亲水(12)疏水(9)分
- >按照极性非极性
- ▶按照侧链基团来分…

西安克通大學



2. 氨基酸-分类



❖非极性脂肪族氨基酸

■ 廿氢酸 Glycine Gly G

■ 丙氨酸 Alanine Ala A

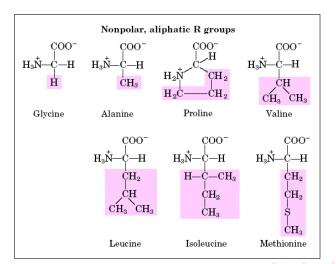
■ 脯氨酸 Proline Pro P

■ 缬氨酸 Valine Val V

■ 亮氨酸 Leucine Leu L

■ 异亮氨酸 Isoleucine Ile

■甲硫氨酸 Methionine Met M



西安克通大學



2. 氨基酸-分类

❖极性中性氨基酸

Serine Ser ■ 丝氨酸

Threonine ■ 苏氨酸 Thr Τ

■ 半胱氨酸 Cysteine Cys

■ 谷氨酰胺 Glutamine Gln

■ 天冬酰胺 Asparagine Asn

Polar, uncharged R groups ÇOO-ÇOO- $H_3\dot{N}$ —C—H $H_3\dot{N}-\dot{C}-H$ Ċ—H ĊH₂OH CH_2 CH_3 ŚН Serine Threonine Cysteine coo-COO- $H_3\dot{N}$ -H CH_2 CH_2 CH_2 Asparagine Glutamine

11

2. 氨基酸-分类

❖芳香族侧链氨基酸

■苯丙氨酸 Phenylalanine Phe F

Tyrosine Tyr Y ■酪氨酸

Tryptophan Trp W ■色氨酸



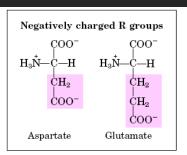
2. 氨基酸-分类

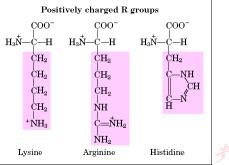
❖酸性氨基酸

- 天冬氨酸 Aspartate Asp D
- 谷氨酸 Glutamate Glu E

❖碱性氨基酸

- 精氨酸 Arginine Arg R
- 赖氨酸 Lysine Lys K
- 组氨酸 Histidine His H





安克通大學

单选题 19

13

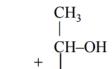


请判断下列氨基酸是极性or非极性氨基酸?

Identify each of the following amino acids as polar or nonpolar.

A.





B. H₃N-CH-COO⁻ Threonine

A

A: 极性; B: 非极性

В

A: 非极性; B: 极性

 $\left(\right)$

A: 极性; B: 极性

D

A: 非极性; B: 非极性

提交而安定通大學

人体是否需要补充氨基酸(可弹幕)

- A 不需要
- B 需要
- **宣** 看情况

提交為安久通大學

15



2. 氨基酸-人体必需氨基酸



- ❖指人体(或其它脊椎动物)不能合成或合成不足,必需由食物蛋白供给,这些氨基酸称为必需氨基酸;
- ❖必禽氨基酸: 甲硫氨酸、**缬**氨酸、**赖**氨酸、异 亮氨酸、苯丙氨酸、**亮**氨酸、色氨酸、苏氨酸
- ❖半必需:精氨酸、组氨酸

西安克通大學



人体是否需要补充氨基酸



- ❖正常人群:无需
- ❖特殊人群:老年、蛋白质代谢慢、糖尿病、必 需氨基酸:
- ❖危害:酸中毒等代谢紊乱



2. 氨基酸-性质

- ❖物理性质
- □ 吸光性、旋光性、溶解性、两性、等电点
- ❖化学性质
- □ 氨基
- □ 羧基
- □ 氨基和羧基
- □ 侧链基团



物理性质-等电点(isoelectric point, pI)



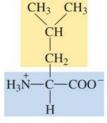
❖氨基酸分子中所含的-NH₃+和-C00-数目正好相等, 净电荷为0,此时溶液的pH值即为氨基酸的等电点

单选题 1分

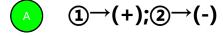


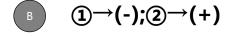
下列情况下该AA带点情况

Consider the amino acid leucine that has a pI of 6.0.



- ①. At a pH of 3.0
- ②. At a pH of 9.0



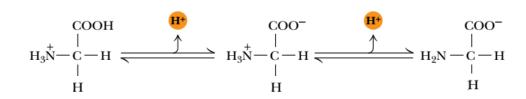






pl公式推导





酸性(带正电)形式 电中性形式 碱性(带负点)形式

板书

22



pl公式推导总结





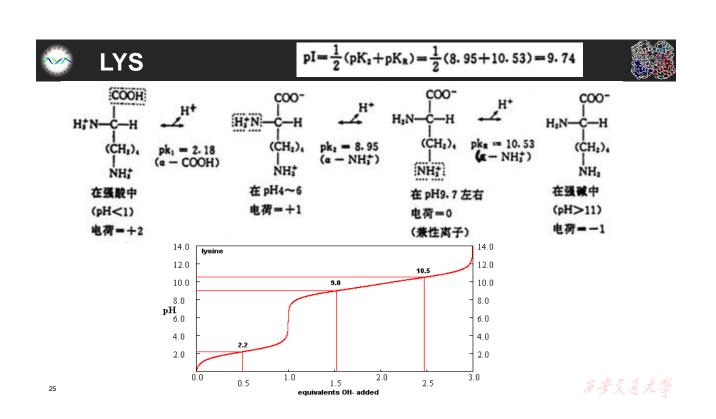
等电点计算-测试



- ■电中性两性离子左 右两侧pKa的平均值

- ❖中性AA
- ❖酸性AA
- ❖碱性AA

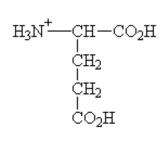
【大學





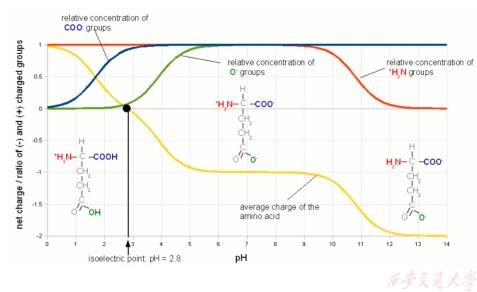
谷氨酸-Glutamic acid 等电点计算-课后练习





<u>pKa</u> α CO₂H 2.10 α NH₃ 9.47

side chain 4.07



26

2. 氨基酸-化学性质



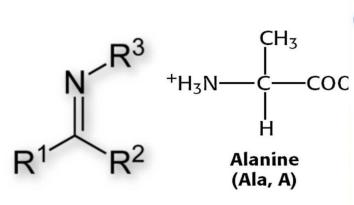
- ❖氨基
- ◆羧基-了解
- ❖氨基和羧基
- ❖其它侧链基团

西安克通大學

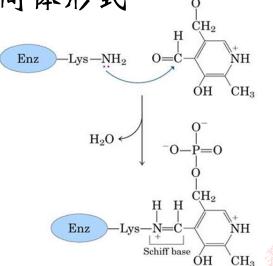


氨基-形成西佛碱(席夫碱)

❖体内转氨、脱氨的中间体形式



联合脱氨中的西佛碱状态以及其他反应参见思源学堂资料



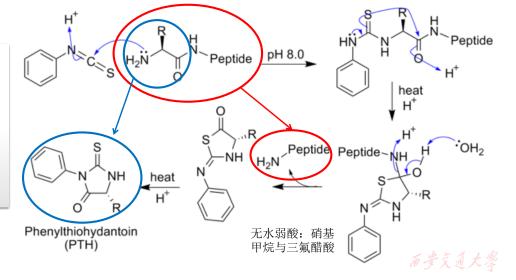


氨基-苯异硫氰酸-PITC phenyl-isothiocyanate



❖Edman (苯异硫氰酸酯法)氨基酸顺序分析法

重复循环, 可将肽链N-端氨基不高。 和解离。





羧基-成脂





■ 成盐和成酯反应:保护羧基,活化氨基。

活化酯:对硝基苯酚成脂

增强羧基的反应活性

$$O_2N$$

西安克通大学

30

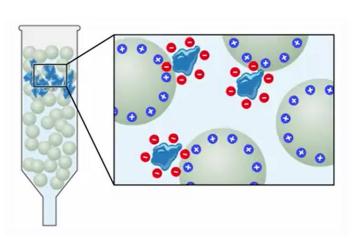
氨基和羧基共同参与的性质





- ❖成肽键
- ❖茚三酮

多肽有没有等电点?

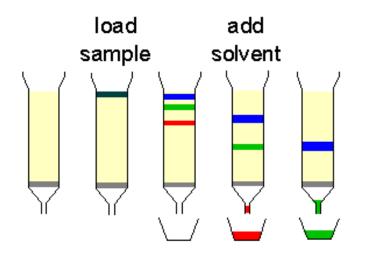


西安克通大學

~>>>

色谱分离过程-VR测试





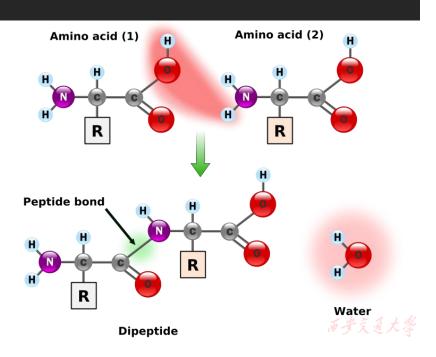
可根据蛋白质 (或其他待分 离物质)的不 同性质选择分 离模式

西安克通大學

32

成肽键等

❖形成多肽/蛋白 质的连接方式





侧链基团的性质-了解



- ❖羟基
- ❖巯基
- ❖咪唑基
- ❖吲哚基(思源学堂平台资料)
- ❖胍基(思源学堂平台资料)
- ❖苯基/酚基(思源学堂平台资料)

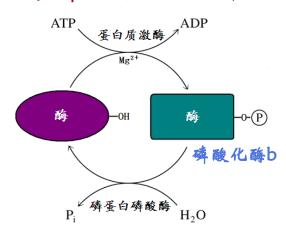
35

西安克通大學



羟基

- ❖磷酸化:酶活性的调节方式
- ❖二异丙基氯磷酸酯:蛋白质活性中心的修饰



西安克通大学



巯基

❖形成二硫键

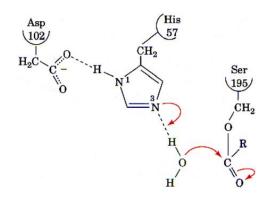
37

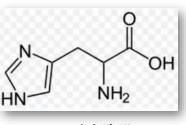
西安克通大学



咪唑基-自学

- ❖磷酸化:酶的活性调节位点
- ❖pKa(6.0)接近中性: 酶催化





组氨酸 His

西安克通大学



3. 多肽

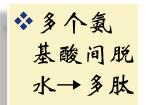


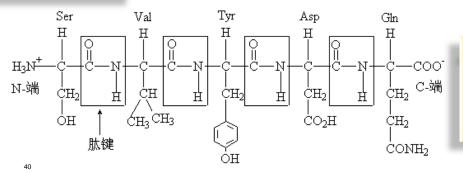
- ❖连接方式-肽键-掌握
- ❖功能-了解
- ❖(人工)合成(思源学堂平台资料)

39



多肽-连接方式-肽键

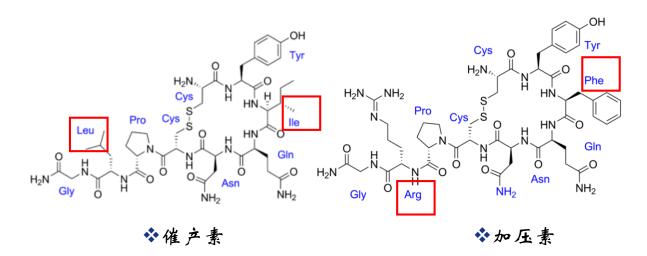




❖书写规则: 从左到右, N端→C端



功能-示例



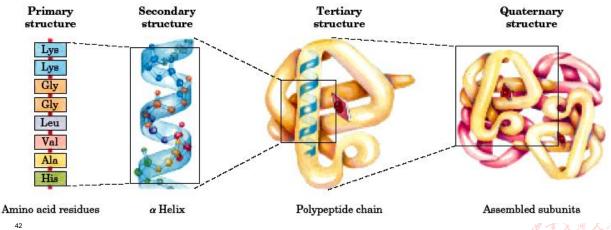
仅有两个氨基酸不同





4. 蛋白质-结构_{分子量>6,000}

- 一级结构 (primary structure)
- 三级结构(tertiary structure)
- ■二级结构(secondary structure)
- 四级结构 (quaternary structure)

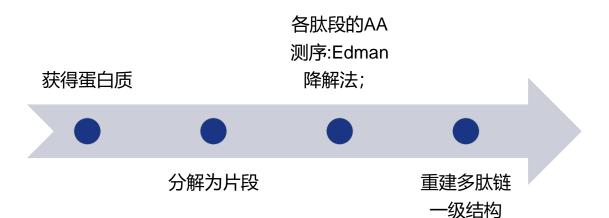


, 2 x C 2 . 3



补充知识:蛋白质一级结构测定流程





43

西安克通大學

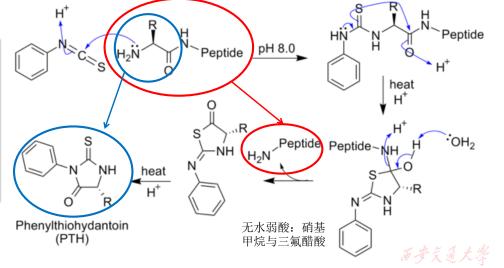


氨基-苯异硫氰酸-PITC phenyl-isothiocyanate



❖Edman (苯异硫氰酸酯法)氨基酸顺序分析法







重建一级结构



❖N-末端残基H

❖C-末端残基S

❖第一套肽段 第二套肽段

♦OUS SEO

◆PS WTOU

♦ EOVE VERL

❖RLA APS

♦HOWT HO

氨基酸顺序 怎样排列?

HOWTOUSEOVERLAPS

西安克通大海

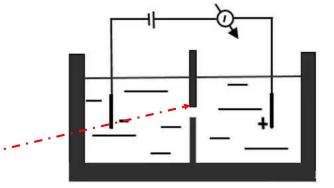


蛋白质-未解决的问题

❖体外扩增?

❖快速测序?

传感器



西安克通大学



蛋白质-高级结构



- ◆二级结构
- ◆三级结构
- ❖四级结构

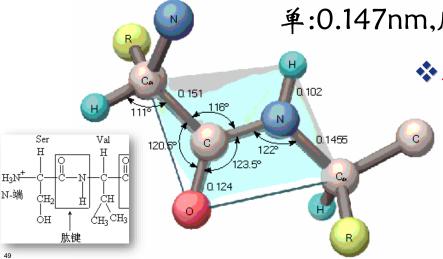


肽(酰胺)平面



❖肽键比一般C-N键短,双:0.127nm,

单:0.147nm,肽键:0.132nm



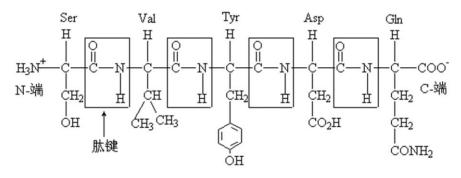
❖不能自由旋转

❖肽键原子 及相邻的α 碳原子组成 肽平面



蛋白质-二级结构

- *α-螺旋(α-helix) *转角结构
- ❖ β -折叠(β -fold)



50

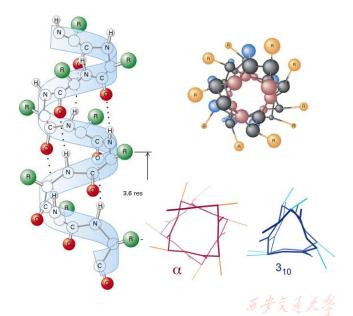




蛋白质-α-螺旋-helix-了解

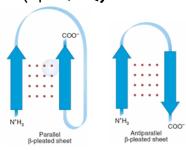


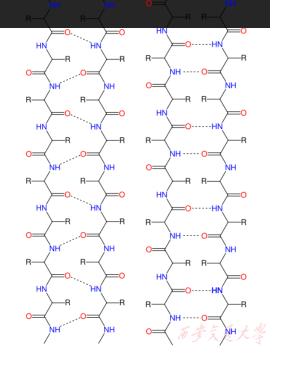
- **❖**右手螺旋
- $\phi = -57^{\circ}/\psi = -47^{\circ}$
- ❖每3.6个AA残基一圈
- ❖螺距=0.54nm
- ❖氢键维护1-C=O与4-NH。
- *****3.6₁₃
- *侧链在外



Seet-了解 蛋白质-β-折叠sheet-了解

- ❖氢键维系,方向垂直于长轴
- ❖有顺平行片层和反平行片层 两种形式
- ◆0.7nm(反平行式)2AA
- ❖0.65nm(平行式)2AA

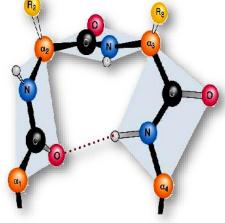


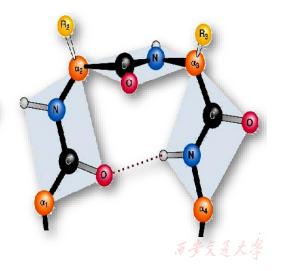


~>></

蛋白质-β-转角-了解

- ❖180°的回折,二级结构连接处,Gly-Pro;
- ◆第及C第基之氢一基O和介的和残H成







蛋白质-超二级结构-了解

❖在蛋白质分子中,若干具有二级结构的肽段在空间 上相互接近,形成具有特殊功能的结构区域,称模 体(motif),也可称为蛋白质分子的超二级结构。

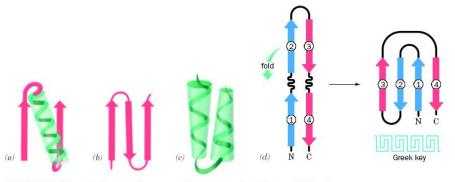


FIGURE 8-46 Schematic diagrams of supersecondary structures. (a) A $\beta \alpha \beta$ motif, (b) a β hairpin motif, (c) an $\alpha \alpha$ motif, and (d) a Greek key motif, showing how it is constructed from a folded-over β hairpin.



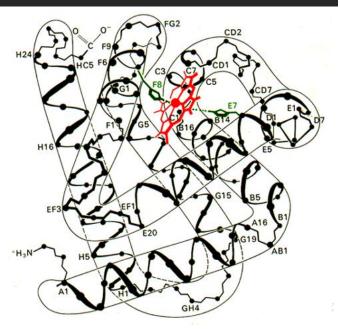
55

~

蛋白质-三级结构

其他蛋白质三级结构图见思源学堂资料

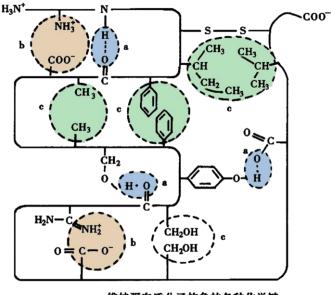
- ❖在二级结构的基础上, 以一定的方式形成三维 立体结构。
- ❖结构域: 一级结构相去较远 但三级结构相邻, 形成功能 相对独立的区域。
- ❖氢键、疏水键、离子 键和范德华力等





总结:三级结构相关化学键





静电(盐键) 共价 氢键 疏水键

. . .

57

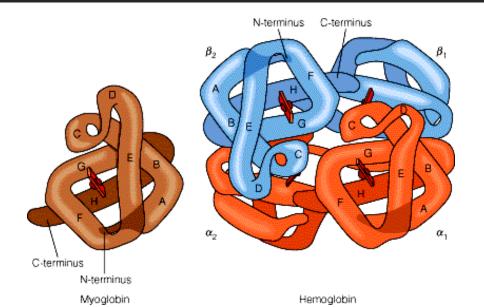
维持蛋白质分子构象的各种化学键

西安交通大学



蛋白质四级结构-血红蛋白





四级结构必要性?

西安克通大学



血红蛋白的别构效应



- ❖<mark>别构效应(allosteric effect)</mark>:蛋白质分子中亚基构 象改变而导致蛋白质分子功能发生改变的现象。
- ❖当血红蛋白的一个α亚基与氧分子结合后→引起其他亚基的构象发生改变,对氧的亲和力增加→整个分子的氧结合力迅速增高,使血红蛋白的氧饱和曲线呈"S"形

蛋白质与效应物结合后结构发生变化有/不利于后续分子的结合=正负别构效应

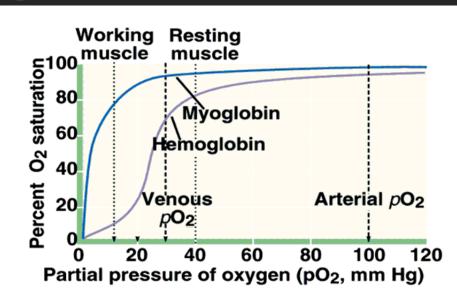
59

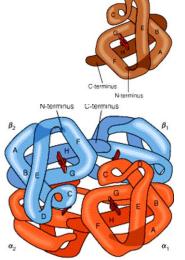


^\\

血红蛋白的氧饱和曲线





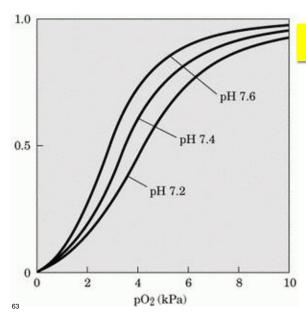


西安克通大学



Bohr效应





$HbO_2 + H^+ \rightarrow HbH^+ + O_2$

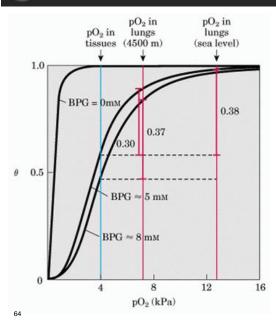
- H⁺和CO₂↑→Hb氧分数饱
 和曲线右移→Hb与氧亲合
 力↓→Hb释放O₂↑;
- · Bohr效应具有重要生理意 义: 肌肉中释放氧结合H⁺ 和CO₂,肺部结合氧而释 放H⁺和CO₂。

西安克通大学

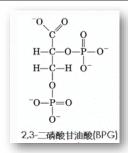
^×^

BPG的作用机制





- ◆BPG与Hb的结合使曲 线右移
- ◆无BPG时肺部结合的 O_2 几乎不能在组织释 放
- ◆海平面处红细胞中的 BPG摩尔数与Hb相 等,约为 4.5mmol/L,从肺部 运送到组织的○2约 38%被释放
- ◆进入海拔4500m时, 组织获得的○2降至 30%
- ◆2天后BPG增加到 7.5mmol/L,组织获 得的O₂升高至37%



 胎儿Hb F的γ链中第143 位以Ser替代成人β链中 的His,减少了BPG结合 部位的正电荷:有利于 通过胎盘从母体血循环 中吸收氧。

西安克通大學



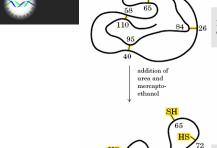
蛋白质-结构与功能的关系



- ❖一级结构与功能的关系
- ❖二级结构与功能的关系
- **❖**高级结构与功能的关系

65

西安克通大學



Native state; catalytically active.

HS 40 58 Unfolded state; inactive. Disulfide cross-links reduced to yield Cys residues.

mercapto-ethanol

72

58

110

84

26

Native, catalytically active state. Disulfide cross-links correctly re-formed.

乃**复性**过程 状态回到天然构象,称将菌酶可自发的有变性 级结构决定高级结

西安克通大学



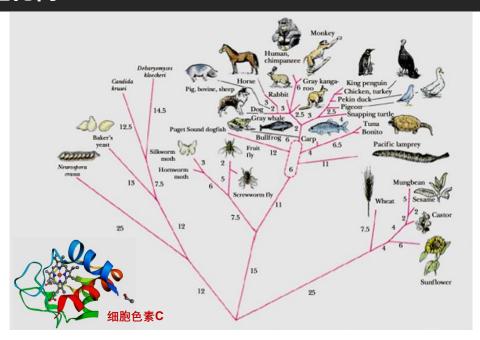
同源性



- ❖细胞色素C是真核细胞线粒体内膜上一种含Fe的蛋白质,在生 物氧化中起传递电子的作用
- ❖亲缘关系越近,AA顺序的同源性越大。
- ❖ 不同生物与人的细胞色素C相比较AA差异数目
- ❖ 黑猩猩 ○
- 鸡、火鸡 13
- ❖ 牛猪羊 10
- 海龟 15
- ❖ 狗驴 11
- 小麦
- 35
- ❖ 粗糙链孢霉43 酵母菌 44
- ❖尽管不同生物间亲缘关系差别很大,但与细胞色素C功能密切 相关的AA顺序却有共同之处,即保守顺序不变

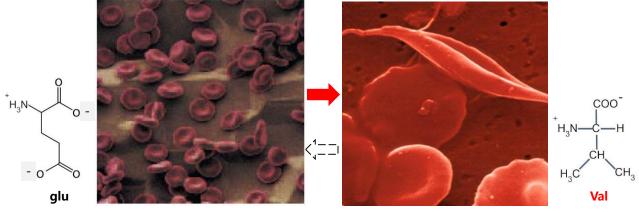
进化树







镰刀贫血症



- ❖N-val · his · leu · thr · pro · glu · · ·C(146)
- ❖N-val · his · leu · thr · pro · Val · glu · · · C(146)
- ❖静电作用减弱,细胞膜塌陷





一级结构与功能



- ❖胎血红蛋白143:His→ser
- ❖Lys: Asp67→His, 溶解度下降(沉淀), 阿尔兹海默氏病
- ❖体内酶的储藏形式:胰岛素、胰蛋白酶

西安克通大學

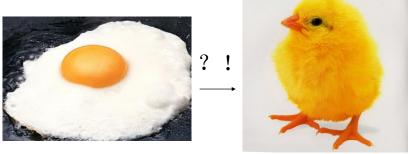
~>><

由热力学控制?





动力学控制?

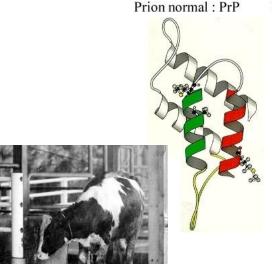




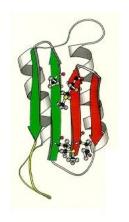


二级结构与功能

- ❖α-helix水溶性好
- ❖β-sheet水溶性差
- ❖分子构象病
- ❖疯牛病!
- ❖一级结构相同, 二级结构不同影 响生理功能!



Prion anormal: PrPsc



西安克通大学



高级结构与功能



- ❖Bohr效应
- ❖DPG作用
- ❖即别构效应(针对肌红蛋白)

73

西安克通大學



蛋白质-性质



- ❖物理性质: 260nm<280nm
- ❖化学性质:自学

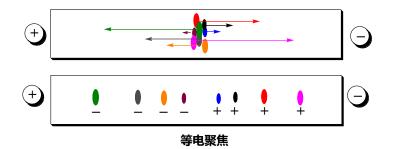
西安克通大學



蛋白质-物理性质



- ❖两性、等电点:等电聚焦-电泳现象
- ❖变性(T、X-ray、酸碱、变性剂等)
- ❖ % 光: 280nm、254nm、260nm、214nm
 芳香族氨基酸的贡献!



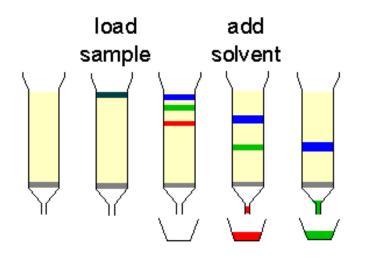
75

西安克通大学



色谱分离过程





可根据蛋白质 (或其他待分 离物质)的不 同性质选择分 离模式

西安克通大学



本章小结

- ❖AA的性质(DL分型); 等电点(掌握); 必需氨基酸; 常见氨基酸结构特点(熟悉):侧链基团-羟基
- ❖蛋白质: 1/2/3/4级结构概念, 二级结构中αhelix特点; bohr效应、别构效应、BPG的作用, 结构与功能的关系; 稳定蛋白质三级结构的化学 键或作用力

西安克通大学

77

~>>>**/**

作业:

- *试计算谷胱甘肽的等电点
- ❖请简述蛋白质结构与功能的关系
- ❖稳定蛋白质三级结构的化学键或 作用力

西安克通大學