

生化要点

Lecture 1

- 生物化学：研究活细胞内的生物分子如何发生生化反应
- 生物化学的主要领域
 - 结构与功能
 - 代谢
 - 分子遗传学
- 生命体所具有的功能
 - 自我复制、自我组装、自我调节
- 生物化学的发展
 - 拉瓦锡：呼吸作用实际上是缓慢的燃烧过程
 - 佩恩：发现了第一个酶：淀粉酶
 - 李比希：发表了代谢的化学理论基础
 - 比希纳：利用从酵母中提取的酶完成了酒精的发酵（获得了1907年的诺贝尔奖）
 - 费舍尔：通过甘油合成果糖、蔗糖、甘露糖;; 提出了酶作用的“lock and key” model（获得了1902年的诺贝尔奖）
 - 1946年诺贝尔奖：发现蛋白质可以结晶，成功提取纯的蛋白与病毒蛋白
 - Hans Adolf Krebs：三羧酸循环（1953年诺贝尔奖）
 - Pauling：蛋白质的二级结构（1954年诺贝尔奖）
 - 1962年诺贝尔奖：DNA的双螺旋结构
 - 1958年诺贝尔奖：DNA重组技术与DNA测序技术
 - 2018年的诺贝尔奖：酶的定向进化与多肽与抗体的噬菌体展示技术
 - 2020年的诺贝尔奖：基因编辑技术
- 生物化学的基础

- 细胞学基础、化学基础、物理基础、基因基础、进化基础
- 细胞基础：细胞是生物体结构与功能的基本单位
- 化学基础：只有少于30种元素在生物体中很重要，痕量元素对一些蛋白质的结构与功能很重要
- 物理基础：系统
 - 生物体从环境中获得能量
 - 将这些获得的能量转化为有用的能量形式
 - 部分以热量的形式返还给环境
 - 最终产物的熵比原来更高
 - 系统熵的增加体现为生物大分子的复杂性
- 基因基础：DNA复制与修复的结构保证了其保真性
- 进化基础：生物进化可能出现在35亿年前
 - 生物进化的基础是化学物质的演变
 - RNA及其前体或许是第一个基因以及催化剂

Lecture 2

- 20种常见的氨基酸
- 除了甘氨酸，其他的氨基酸都是手性的
- 所有蛋白质中的氨基酸都是L型的
- 氨基酸的特征吸收峰：280nm处的色氨酸
- 第一个发现：天冬酰胺，最后一个发现：苏氨酸
- 两个半胱氨酸之间的巯基被氧化生成二硫键，形成胱氨酸
- 蛋白质的修饰是发生在合成完之后
- 在中性PH下，氨基酸以zwitterion的形式存在
- 等电点：氨基酸净电荷为0时的PH
- 蛋白质：氨基酸的复合物

- 肽键：以共价的形式连接两个氨基酸的酰胺键
- 残基：氨基酸形成蛋白质时脱水后形成的单元
- 结合蛋白上存在辅基
- 蛋白质纯化方法
 - 硫酸铵沉淀法
 - 改变蛋白质的溶解度，高浓度时蛋白质析出
 - 硫酸铵优点：高溶解度、稳定蛋白质结构、密度小、容易获得、价格低廉
 - 在低浓度下，盐浓度增加蛋白质溶解度增加（盐溶）
 - 盐析：在高浓度盐溶液的作用下蛋白质析出的过程
 - 不同蛋白质在高浓度盐溶液下的溶解度差异很大
 - 色谱或者层析法
 - 离子交换层析
 - 阴离子交换层析中填充柱显正电荷
 - 通过改变溶液的pH洗脱，也可以使用NaCl溶液洗脱
 - 凝胶过滤层析
 - 分子量大的移动的快，先出来
 - 亲和层析
 - 色谱柱中存在能与特定蛋白质结合的配体
 - 洗脱：free ligand, high concentration of salt
 - 透析
 - 小分子能透过透析袋但是大分子蛋白质不能
 - 脱盐柱
- 纯化后，总的蛋白质量减少，总的活性减小，specific activity 增大
 - purified by a factor of: 看specific activity
 - yield看活性
- 电泳
 - 检验蛋白质的纯度与分子量

- SDS-PAGE **十二烷基硫酸钠 聚丙烯酰胺凝胶电泳**
 - 每一个氨基酸残基几乎都会与一分子SDS结合
 - SDS使得他们具有相似的质荷比，通过分子质量来分离
- 蛋白质结构
 - 一级结构：氨基酸的排列
 - 二级结构：局域空间结构
 - α -螺旋 3.6个残基每转，上升5.4Å
 - L-氨基酸都是右手螺旋
 - β -sheet
 - 平行与反相平行
 - 三级结构：总的三维结构
 - 四级结构：包括亚单位的三维结构
- 根据形态分类，蛋白质可以被分为纤维状蛋白与球状蛋白
- 变性：三维结构被破坏导致的功能的丧失
- **变性经常导致蛋白质的沉淀**
- 蛋白质折叠中的关键词
 - 配体：能与蛋白质可逆性地结合

Lecture 3

- 碳水化合物是地球上含量最丰富的的生物大分子
- **碳水化合物的生物功能**
 - 作为结构或者保护性的物质（植物细胞与细菌的细胞壁，动物的结缔组织）
 - 被氧化释放能量
 - 提供其他生物大分子合成的骨架
 - 作为信号传递分子
- 糖的定义：多羟基的醛或酮或者水解能产生多羟基醛或酮的物质
- 糖的分类
 - 单糖：只包含一个醛或酮单元的物质

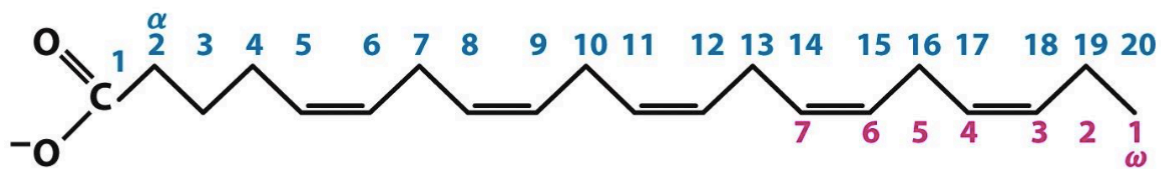
- 寡糖：包含2-20个单糖单元，单糖单元之间通过糖苷键连接
- 多糖：包含20个以上的单糖单元
- 糖复合物
- 羟基在左的为L-糖，在右的为D
 - 通过离羰基最远的碳上的羟基来判断是D还是L构型，当羟基向右则为D构型，向左则为L构型
 - 在环状结构中，羟甲基冲上的为D型
- 生物体中大部分的六碳糖都是D型的
 - 蛋白质中的氨基酸都是L构型的
- 差向异构体是只有一个碳的构型不同的物质
- 异头物：只有一个半羧醛/半缩酮C的构型不同的同分异构体
 - α 与 β 异头物可以相互变旋
 - α 异头物中新生成的羟基与羟甲基在异侧，而 β 异头物中羟基与羟甲基在同侧
 - 变旋是可逆的，通常情况下 β 异头物更为稳定
- 二糖
 - 乳糖（半乳糖+葡萄糖）、麦芽糖（2分子葡萄糖）、蔗糖（葡萄糖+果糖）
 - 二糖中的两个单糖单元通过糖苷键进行连接
 - 一个单糖分子中的羟基与另一个单糖分子的异头碳上的羟基进行反应
 - 麦芽糖Glc ($\alpha 1-\alpha 4$) Glc
 - 乳糖：Gal ($\beta 1-4$) Glc
 - 蔗糖：Glc ($\alpha 1-2\beta$) Fru
- 甜度：将蔗糖的甜度定为100，糖精最甜
- 多糖的是分子量中到高的多聚物
- 同多糖：仅由同种单糖组成
- 多糖通常没有特定的分子量：没有模板，完全由酶的催化控制，因此没有确定的停止点
- 多糖举例
 - 直链淀粉：没有分支， $\alpha 1 \rightarrow 4$

- 支链淀粉：高度分支化，主链通过 $\alpha 1 \rightarrow 4$ 糖苷键，支链通过 $\alpha 1 \rightarrow 6$ 糖苷键
- 糖原：由D-葡萄糖组成，**更加分支化**，主要存在于肝脏与肌肉中
- 葡聚糖：细菌与酵母合成；主链由 $\alpha 1 \rightarrow 6$ 构成，所有的都含有 $\alpha 1 \rightarrow 3$ 支链，有些含有 $\alpha 1 \rightarrow 2$ ， $\alpha 1 \rightarrow 4$ 支链
- 纤维素：没有分支，通过 $\beta 1 \rightarrow 4$ 糖苷键连接
 - 是地球上含量最丰富的多糖
- 几丁质：**没有分支**，由**N-乙酰氨基葡萄糖**组成， $\beta 1 \rightarrow 4$ 糖苷键
- 琼脂：杂多糖，D-半乳糖与L-半乳糖的养生物组成
 - 琼脂糖是琼之中含有最少带电基团的组成成分
- 糖复合物的主要种类
 - 糖蛋白：蛋白表面有寡糖修饰的蛋白
 - 与蛋白质通过异头碳上的羟基形成糖苷键（O-linked, N-linked）
 - 蛋白聚糖：是糖蛋白质的分支
 - 鞘糖脂：细胞膜的组成成分
- 哺乳动物中大约50%的蛋白质都是糖基化了的

Lecture 4

- 脂类的特性：难溶于水，易溶于有机溶剂
- 脂质的分类：
 - 储存脂质：生物体内主要的储能形式（三酰甘油）
 - 结构脂质：生物膜的主要组成成分
 - 活性脂质：作为酶的辅因子，电子传递者，作为吸光色素等等
- 根据结构分类
 - 饱和脂肪酸
 - 不饱和脂肪酸
 - 单不饱和脂肪酸
 - 多不饱和脂肪酸
- 脂肪酸属于羧酸，带有一条含**4 到 36 个**不等的碳原子的碳氢链

- 脂肪酸可以有侧链
- 脂肪酸的命名
 - 羧基碳定位1
 - 下标n代表在n与n+1碳原子之间存在一个双键
 - 对于多不饱和脂肪酸可以用 ω 来代表离羧基最远的C，双键的位置是相对于 ω -C而言的
- 单不饱和脂肪酸常常是 Δ^9 的，多不饱和脂肪酸的其余双键位置常常是 Δ^{12}, Δ^{15}
- 多不饱和脂肪酸中的双键是**非共轭**的，常常**被一个亚甲基分离**



**(b) 20:5($\Delta^{5,8,11,14,17}$) Eicosapentaenoic acid (EPA),
an omega-3 fatty acid**

二十碳五烯酸

- 自然界中的不饱和脂肪酸中的双键大部分都是**顺式**的
- **脂肪酸的物理性质在很大程度上被碳氢链的C数与双键的数量所决定**
 - 碳氢链中C数越多，双键的数目越少脂肪酸在水中溶解度越差
 - 碳数越多，双键数越少，熔点越高
- 三酰甘油又称为： triacylglycerol ,triglyceride, fats, neutral fats
- 三酰甘油不溶于水
- 用脂肪而非糖类储存能量的优势：
 - C的氧化态更低，完全氧化放能更多
 - 由于不亲水，储存脂肪的器官不用额外储存水的质量
- Biological Wax: long chain(c14 - c36) saturated fatty acids with long-chain(c16 - c30) alcohols
- 生物膜的最重要的结构特点是磷脂双分子层
- 膜脂质是两性的，具有亲水头部与疏水尾部
- 膜脂质主要由五大类：**甘油磷脂、半乳糖脂、古菌四醚脂、神经鞘脂、甾醇**

- 甘油磷脂与部分神经鞘脂亲水头部与疏水尾部之间通过**磷酸二酯键**连接，这两种为磷脂
- 所有途中所示的膜磷脂都以甘油或者鞘氨醇作为骨架，上面连有一个或者更多的烷基与一个极性的基团
- 磷脂：分为甘油磷脂与鞘磷脂
- 甘油磷脂的结构：
 - 甘油
 - C-1: C16 or C18饱和脂肪酸
 - C-2: C18 or C20不饱和脂肪酸
 - C-3: 磷脂酸
 - 在PH = 7时带有电荷
- 有些甘油磷脂中的两个中的一个酰基侧链通过醚键与甘油连接而非酯键
- **植物细胞**中最主要的膜脂为**半乳糖脂**
 - 一个或者两个半乳糖通过糖苷键与甘油二酯中的C-3连接
 - 其余的两个烷基侧链都是多不饱和的并且头部不带电荷
- 鞘脂是鞘氨醇的衍生物：
 - 鞘氨醇+ 长链脂肪酸+ 极性头部基团（糖苷键或者磷酸酯键连接）
 - 极性头部与两个非极性尾部
- 鞘磷脂极性头部可能含有磷酸胆碱或者磷酸乙醇胺
- 活性脂质分子可以作为：信号；酶的辅因子；色素；信息素
- 萜类化合物通过异戊二烯的聚合生成
- 维他命不能通过人体合成，只能从饮食中获取
- 初级代谢产物是每个生物体中都有的，是必须的，而次级代谢产物不是必须的

Lecture 5

- 中心法则:DNA能够自我复制；DNA中的基因信息能通过转录流动到RNA中，RNA能够翻译形成蛋白质
- 核酸（脱氧核酸，核糖核酸）由核苷酸组成
- DNA的功能：储存并传递生物信息

- RNA的功能
 - 核糖体RNA (rRNA)：核糖体的组成成分，核糖体能够合成蛋白质
 - 信使RNA (mRNA)：携带一个或者多个基因的信息，并将其传递给核糖体
 - 转运RNA (tRNA)：将mRNA中的信息翻译为特定的氨基酸序列
- 基因：含有合成具有生物功能的产物（无论是蛋白质还是RNA）所必需信息的DNA分子片段
 - 不是所有的基因都用于编码蛋白质
- 核苷酸 (nucleotides) 的组成
 - 含氮碱基
 - 嘌呤或者嘧啶碱
 - 连在1号碳上，1C-β碳
 - 与嘌呤的N-1相连，与嘧啶的N-9相连
 - 五碳糖
 - 脱氧核糖是核糖2'位上的OH换成了H
 - 都是D型的五碳糖
 - 一个或者多个磷酸基团
 - 磷酸基团连在5'上
 - 没有磷酸基团的部分被称为核苷（五碳糖+碱基）
- DNA中有胸腺嘧啶，RNA中有尿嘧啶
- 碱基并不是只有ATCG这四种
- 稀有碱基 (minor base)：经常是碱基被甲基化
- 磷酸二酯键是5'上的磷酸基团与3'上的羟基脱水形成的
 - 5'端有游离的磷酸基团，3'端有游离的羟基
 - 经常将5'端写在左，3'端写在右
- 寡核苷酸是指含有小于50个核苷酸的核酸（寡糖为小于20个单糖组成的糖）
- 核苷酸的特征吸收峰在260nm，氨基酸的特征吸收峰在280nm（色氨酸），盐的特征吸收峰在230nm，腺嘌呤核糖核酸吸收峰最高
- 碱基的共有的官能团：环状N，羰基，环外氨基

- A-T之间有两个氢键，C-G之间有三个
- DNA的结构
 - DNA中每10.5对碱基，或者36Å为一转
 - 脱氧核糖与磷酸基团处于双螺旋之外，配对的碱基处于内侧
 - 碱基的偏向配对造成了DNA中的大沟与小沟
- 使得DNA结合的两种力：配对碱基之间的氢键与碱基堆积力
- DNA中的特殊结构
 - 回文结构（palindrome）：两条链正着读与反着读都相同
 - 镜相对称
 - 发卡结构
 - 十字结构
 - 这些作用能形成DNA的次级结构
- RNA中的配对并不如DNA中那么严格，G与U也能配对，中间为两根氢键
- RNA的保守性比较高
- 可逆的变性、退火/复性
 - 加热与极端的PH会导致DNA变性，DNA双链被解开
 - 退火：两条DNA单链找到彼此
 - 复性：双链结构完全恢复
- 不同的DNA有不同的变性温度，**半数DNA解螺旋的温度称为DNA的熔点**
 - C-G含量越高，熔点越高
 - A-T含量越高，熔点越低
- A-T含量高的位置经常为复制起点
- 如果在退火/复性的时候两条单链有很高的互补程度，那么他们有一定概率会形成杂交链
- **突变：DNA中的结构改变导致所携带的遗传信息的改变**
- 核苷酸的非酶促反应
 - 脱氨

- 脱嘌呤
- PCR（聚合酶链式反应）：用于大规模扩增特定的DNA片段
- PCR所需要的物质
 - DNA模板
 - DNA聚合酶
 - 两个DNA引物（寡核苷酸）
 - dNTPs（含有三磷酸基团）：提供building block
 - 缓冲液
- PCR的步骤
 - 95°C变性
 - 55-60°C退火：两段引物结合到两条DNA单链上（温度根据G-C含量决定）
 - 72°C延伸：DNA聚合酶的最适温度
- 核苷酸的其他功能
 - 能量载体
 - ATP（腺苷三磷酸）是最常见的三磷酸核苷
 - 作为酶的辅因子
 - 腺苷能作为酶的辅因子
 - 调控因子
 - cAMP是常见的第二信使
 - ppGpp能减速蛋白质的合成

Lecture 6

- 酶：能提高生化反应速率的生物催化剂
- 酶的五大特点
 - 具有很高的催化效率
 - 具有高度的专一性
 - 作用条件温和
 - 易失活

- 活性在代谢过程中受到调控
- 2018年的诺贝尔化学奖：酶的定向进化、多肽和抗体的噬菌体展示技术
- 大部分的酶都是蛋白质，少部分的是RNA
- 酶的分类
 - 单纯酶
 - 结合酶
 - 脱辅酶
 - 辅因子
 - 无机金属离子
 - 辅酶，结合的很松散
 - 作为短暂的官能团携带者
 - 辅基，以共价的形式紧密结合
- 每个酶都有一个E.C number, class - subclass - ...
- 酶的分类
 - 合成酶
 - 水解酶
 - 裂解酶
 - 异构酶
 - 易位酶
 - 转移酶
 - 氧化还原酶
- 酶的活性位点：底物完成反应的疏水口袋
- 底物：与酶的活性位点结合并被酶催化的物质
- 在过渡态，物质生成S与P的概率相同
- 催化剂使得正逆反应速率都增大
- 反应速率由底物浓度与速率常数共同决定

Lecture 7

- 从葡萄糖到丙酮酸的过程称为糖酵解
- 在糖酵解过程中，一分子的葡萄糖在一系列酶促反应的作用下被分解为两分子的丙酮酸，并伴随着两分子ATP与两分子NADH的净生成
- 糖酵解能被分为准备阶段与放能阶段，每阶段各5步，共计10步
 - 准备阶段
 - 葡萄糖 + 2ATP → 2x甘油醛-3-磷酸
 - 放能阶段
 - 2x甘油醛-3-磷酸 → 丙酮酸 + 4ATP + 2NADH
 - 糖酵解阶段共计产生2分子ATP，2分子NADH，2分子丙酮酸
- 除了葡萄糖与丙酮酸，中间的9种产物都是磷酸化的
 - 磷酸化的物质不能离开细胞
 - 能给ADP提供磷酸基团使其形成ATP
 - 在与酶的相互作用中起到重要作用，降低反应活化能
- 糖酵解10步骤
 - 在己糖激酶（需要Mg²⁺作为辅因子）的作用下，葡萄糖与ATP反应生成葡萄糖-6-磷酸。反应过程不可逆。
 - 在磷酸己糖异构酶的作用下，葡萄糖-6-磷酸转化为果糖-6-磷酸。该反应过程可逆。
 - 在磷酸果糖激酶的作用下，果糖-6-磷酸与ATP转化为果糖-1,6-二磷酸。该过程不可逆。
 - 当ATP含量不足或者ADP/AMP含量过高时活性增加
 - 在果糖-1,6-二磷酸缩醛酶的作用下，果糖-1,6-二磷酸被转化为甘油醛-3-磷酸与二羟丙酮磷酸。该反应可逆。
 - 在磷酸丙糖异构酶的作用下，二羟丙酮磷酸被转化为甘油醛-3-磷酸。该反应可逆。
 - 在甘油醛-3-磷酸脱氢酶的作用下，甘油醛-3-磷酸与无机磷酸反应生成1,3-二磷酸甘油酸与NADH。该反应可逆。
 - （生成高能的酰基磷酸酯）

- 在磷酸甘油酸激酶的作用下，1,3-二磷酸甘油酸与ADP反应生成3-磷酸甘油酸与ATP。该反应可逆。
 - 6+7两个步骤合并称为底物水平的磷酸化
- 在磷酸甘油酸变位酶的作用下，3-磷酸甘油酸转化为2-磷酸甘油酸。该反应可逆。
- 在烯醇化酶的作用下，2-磷酸甘油酸脱水形成磷酸烯醇式丙酮酸。该反应可逆。
- 在丙酮酸激酶的作用下，磷酸烯醇式丙酮酸与ADP形成ATP与丙酮酸。该反应不可逆。
- 糖酵解反应的总结：一分子的葡萄糖经历准备阶段与放能阶段生成了2分子的丙酮酸、2分子ATP与2分子NADH。在准备阶段投入2分子ATP，在放能阶段生成4分子ATP。
- 发酵：在无氧条件下，葡萄糖分解成为其他有机物质并产生能量。
 - 在乳酸脱氢酶的作用下，NADH与丙酮酸反应生成乳酸
 - 乙醇的生成
 - 在第一步中，在丙酮酸脱羧酶的作用下，丙酮酸脱羧形成乙醛。反应不可逆。
 - 在第二步中，在乙醇脱氢酶的作用下，乙醛与NADH反应生成乙醇
- 在有氧条件下，丙酮酸进入三羧酸循环生成CO₂与水。
- 糖异生作用：将丙酮酸以及相关的三碳或者四碳物质转化为葡萄糖的过程
 - 在动物细胞中，糖异生作用的前体可能是：乳酸、丙酮酸、甘油、一些氨基酸
- 在哺乳动物中，糖异生作用主要发生在肝脏中。
- 由于糖酵解中有三步是不可逆的(体内)，因此糖异生时，只有7步是糖酵解作用的逆反应。
 - 在线粒体中，丙酮酸与碳酸氢根+ATP在丙酮酸羧化酶的作用下转化为草酰乙酸
 - 在细胞质中，草酰乙酸与GTP在磷酸烯醇式丙酮酸激酶的作用下转化为磷酸烯醇式丙酮酸
 - 在果糖1,6-二磷酸酶的作用下，果糖-1,6-二磷酸转化为果糖-6-磷酸。该反应是磷酸酯的水解，不可逆。
 - 在葡萄糖-6-磷酸酶的作用下，葡萄糖-6-磷酸水解产生葡萄糖
- 糖异生作用总结： $2\text{丙酮酸} + 4\text{ATP} + 2\text{NADH} + 2\text{GTP} + 6\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{glucose} + 2\text{NAD}^+ + 4\text{ADP} + 2\text{GDP} + 6\text{P}_i$

- 可立氏循环
- 中心代谢
 - stage 1: 生成乙酰辅酶A
 - 通过丙酮酸脱氢酶系(三种酶组成), 丙酮酸被氧化为乙酰辅酶A与CO₂, 发生在真核细胞的线粒体基质中与原核细胞的细胞质中
 - stage 2: 柠檬酸循环
 - stage 3: 生成的NADH与FADH₂参与电子呼吸链, 用于还原O₂并伴随着大量ATP的生成
- 柠檬酸循环有8步

Lecture 8

- 脂肪的消化
 - 脂肪进入胃中 → 胆囊分泌胆酸盐 → 脂肪在小肠中乳化 → 小肠中的脂肪酶水解三酰甘油 → 脂肪酸与其他分解得到的物质被小肠粘膜吸收并重新转化为三酰甘油 → **三酰甘油与胆固醇和载脂蛋白形成乳糜微粒** → 乳糜微粒通过淋巴系统与血液运输到全身中 → 脂蛋白脂肪酶将乳糜微粒水解 → 进入细胞中
 - 乳糜微粒内部由三酰甘油组成, 表面有载脂蛋白。
 - 载脂蛋白是血液中与脂类结合的蛋白, 他负责在细胞间运输三酰甘油、磷脂、胆固醇和胆固醇酯。
- 在脂肪组织中, 三酰甘油以脂肪液滴的形式存在。这些液滴的表被脂滴包被蛋白所覆盖
- 三酰甘油的大部分能量都储存在长链的脂肪酸中, 只有少量储存在甘油中。
- 甘油代谢
 - 甘油在甘油激酶的催化下生成L-甘油-3-磷酸
 - L-甘油-3-磷酸在甘油-3-磷酸脱氢酶的作用下转化为二羟丙酮磷酸
- 从脂肪酸到脂酰辅酶A
 - 脂肪酸的氧化是在线粒体基质中发生
 - 步骤
 - 在**脂酰辅酶A合成酶**的催化下, 脂肪酸与ATP反应生成脂酰腺苷酸与焦磷酸。

- 焦磷酸水解生成两分子磷酸；脂酰腺苷酸在脂酰辅酶A合成酶的催化下形成脂酰辅酶A
- 脂肪酸的氧化
 - β 氧化
 - 脂肪酸从**羧基端**以**乙酰辅酶A**的方式不断失去两碳单元
 - 脂肪酸的 β 碳经过氧化变为羰基
 - 四个基本步骤（饱和脂肪酸）
 - 在脂酰辅酶A脱氢酶的作用下，脂酰辅酶A在 α - β 之间生成双键，得到**反式**- Δ^2 -烯酰辅酶A
 - 在烯酰辅酶A水合酶的作用下，**反式**- Δ^2 -烯酰辅酶A生成L- β -羟脂酰辅酶A
 - 在 β 羟脂酰辅酶A脱氢酶的作用下，L- β -羟脂酰辅酶A被氧化生成 β -酮脂酰辅酶A
 - 在脂酰辅酶A乙酰基转移酶（硫解酶）的作用下， β -酮脂酰辅酶A与辅酶A反应生成一分子脂酰辅酶A与一分子乙酰辅酶A
 - 对于不饱和脂肪酸：由于其中的双键为顺式，与 β 氧化中形成的反式双键不同，因此需要额外的两种酶：异构酶与还原酶
 - **Δ^3, Δ^2 -烯酰辅酶A异构酶**将顺式的 Δ^3 双键变为反式的 Δ^2 双键
 - 如果移位时出现共轭双键，那么 **$2,4$ -二烯酰辅酶A还原酶**可以将双键催化还原为trans- Δ^3 双键，之后再通过 Δ^3, Δ^2 -烯酰辅酶A异构酶将双键变为能被烯酰辅酶A水合酶催化的构型与位置
 - 对于奇数C的脂肪酸，会生成丙酰辅酶A
 - 在**三步酶**催化作用下生成琥珀酰辅酶A，参与到柠檬酸循环
 - 乙酰辅酶A参与柠檬酸循环，该过程在线粒体基质中发生
 - 电子呼吸链
 - ω -氧化
 - 发生在肝脏与肾细胞的内质网中，10个或者12个C的脂肪酸容易发生
 - **当 β -氧化通路不完整时， ω -氧化十分重要**
 - α -氧化
 - 如果在 β 位有侧链则 β 氧化不能发生

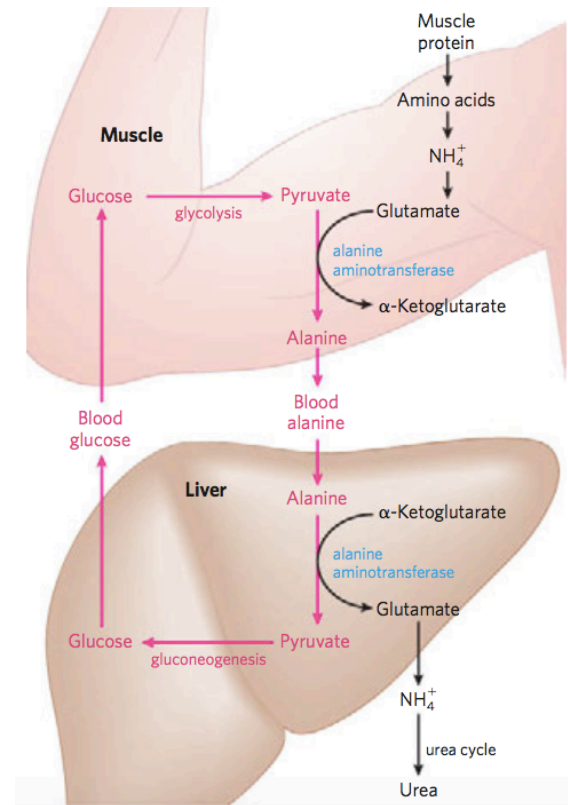
- 步骤
 - α -羟基化
 - 脱羧并在原来的 α 位生成醛基
 - 醛基被糖化
 - 脱去丙酰辅酶A
- 动物细胞中的脂肪酸氧化发生在线粒体基质中，合成发生在细胞质中；植物细胞中发生在叶绿体中
- 脂肪酸的合成前体为三碳的丙二酰辅酶A
- 丙二酰辅酶A的合成
 - 在乙酰辅酶A羧化酶的催化下，乙酰辅酶A与碳酸氢根反应生成丙二酰辅酶A
- 酰基载体蛋白（ACP）
 - 辅基：丝氨酸上的磷酸泛酰巯基乙胺
 - ACP转运丙二酰辅酶A
- 脂酰链的合成
 - 以丙二酰辅酶A为前体，被一系列的脂肪酸合酶催化
 - 经历四个步骤：缩合、还原、脱水、还原
 - 两种脂肪酸合成酶
 - FAS I
 - 由单条多功能多肽链组成
 - 常在脊椎动物，真菌中发现
 - FAS II
 - 由dissociated system 组成，不同的反应由不同的domain催化完成
- 三酰甘油的合成
 - 由甘油-3-磷酸与脂酰辅酶A合成
 - 甘油-3-磷酸可以来源于：甘油的磷酸化或者甘油醛-3-磷酸的还原
 - 甘油-3-磷酸与两分子脂酰辅酶A生成二脂酰甘油-3-磷酸/磷脂酸
 - 之后在磷脂酸磷酸酶的作用下，二脂酰甘油-3-磷酸脱去磷酸基团生成1,2-二脂酰甘油

- 之后再与第三分子脂肪酸酯化形成三酰甘油

Lecture 9 氨基酸代谢

- 氨基酸的主要两种来源：日常饮食与体内蛋白质周转中产生
- 食肉动物中几乎90%的能量几乎都来源于氨基酸的氧化分解
- 在蛋白质周转过程中，如果摄入量大于合成新的蛋白质所需要的氨基酸的量，多于部分的氨基酸会用于氧化分解
- 饮食得到的氨基酸
 - 饮食中的蛋白质在胃肠道中分解。
 - 胃蛋白酶从氨基端水解芳香的蛋白残基（苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸）。胰蛋白酶与糜蛋白酶进一步水解肽链。羧肽酶A和B从羧基端移除氨基酸残基，氨肽酶从氨基端移除氨基酸残基。
 - 最后通过小肠上皮细胞吸收。
- 蛋白质周转
 - 废物蛋白降解
 - 调控的信号蛋白的快速分解
 - 酶在信号通路中的降解
 - 目标蛋白通过UPS（泛素-蛋白酶体系统）标识
 - 该过程是高度有序的
- 氨基酸的分解代谢
 - 大部分的氨基酸都在肝脏中被分解
 - 氨基部分的处理
 - 在转氨酶的作用下，肝脏中的氨基酸上的氨基被转移到 α -酮戊二酸上，生成 α -酮酸与L-谷氨酸
 - 转氨酶的辅基：PLP（磷酸吡哆醛），在转氨酶中作为接受氨基的临时部分。磷酸吡哆醛接受一个氨基变为磷酸吡哆胺。（转氨酶作用的是 α -C上的氨基）
 - 在肝脏细胞中，L-谷氨酸从细胞质转移到线粒体中，在谷氨酸脱氢酶的作用下发生氧化脱氢作用，生成 α -酮戊二酸。
 - 氨基转移与脱氢作用的总和叫做联合脱氨基作用。

- 体内自由的氨基与谷氨酸在**谷氨酰胺合成酶**的催化下生成**谷氨酰胺**
 - 在肌肉组织产生的氨以谷氨酰胺与丙氨酸的形式回到肝脏中被代谢
 - 在非肝脏细胞中，谷氨酸首先与ATP反应生成γ-谷氨酰磷酸，之后再与游离的氨形成谷氨酰胺
 - 在肝脏细胞中，谷氨酰胺在谷氨酰胺酶的作用下脱去非α-C上的氨基
- 葡萄糖-丙氨酸循环
 - 在肌肉细胞中，谷氨酸能被转化为谷氨酰胺之后再通过血液运输到肝脏被α-酮戊二酸捕获，或者谷氨酸与丙酮酸在**丙氨酸转氨酶**的催化下反应生成丙氨酸
- 排氨的方式
 - 排氨动物直接以铵根离子的形式将N排出体外
 - 排尿素
 - 排尿酸
- 尿素循环
 - 开始于肝脏细胞的线粒体基质中，之后发生在细胞质中
- 氨基酸代谢的20条通路最终产生的只有六种主要产物，最终都能进入柠檬酸循环中
- 氨基酸的合成
 - 所有的氨基酸都来源于糖酵解、三羧酸循环或者五碳糖磷酸化的中间产物
 - 有10种氨基酸是机体代谢的普通产物，其他的如芳香的氨基酸则更为复杂
- 机体合成20中氨基酸的能力不相同，**大部分的植物与细菌能合成20种氨基酸，哺乳动物只能合成大约其中的一半。其中能自己合成的为非必须氨基酸，而只能通过饮食摄取的为必需氨基酸。**
- 可以通过氨基酸的合成前体，将氨基酸的生物合成通路归为六大类。
- 氨基酸合成中的别构调控
 - 通过反馈抑制：第一个反应受到最后的产物的调控
 - 第一个反应通常是别构酶催化完成的



- 当有多种产物对同一种别构酶起到反馈抑制时，他们之间为协同抑制
- 不同氨基酸之间的合成通路之间也存在相互的影响
 - 同工酶：受到不同物质的调控但是催化相同反应——酶的多重性
 - 保证代谢通路的基本流通
 - 连续反馈抑制

Lecture 10

- 基因：能编码蛋白质与RNA的DNA片段
- DNA上除了基因还有具有调控功能的片段
- 质粒(plasmid)：小型环状的DNA。
 - 不是所有的生物都含有质粒，质粒上通常编码抗性DNA
- DNA的半保留复制：DNA双链中的每一条链都能作为子代DNA合成的模板，每个新生成的DNA链中有一条来自母链
- 复制起点、复制叉
- DNA的复制以从5' → 3'端进行的
 - 其中的5'，3'指代的是新链的方向
 - 模板链是从3'-5'被阅读
 - 前导链与滞后链
 - 前导链：5' → 3'的合成方向与复制叉的移动方向相同
 - 滞后链：5' → 3'的合成方向与复制叉的移动方向相反，合成的片段成为冈崎片段
 - 冈崎片段被DNA连接酶所连接
- DNA聚合酶成功作用的两个要素
 - DNA聚合酶需要模板
 - DNA的模板合成是发现的第一个有模板的生化合成反应
 - DNA聚合酶需要前体
 - DNA聚合酶只能将核苷酸加到引物后面
 - 许多引物是RNA的寡核苷酸

- DNA聚合酶的活性位点有两个部分：insertion site & postinsertion site
- DNA的复制具有高度的保真性，这不仅来源于氢键的作用，还来源于DNA聚合酶的几何结构，不正确的匹配在磷酸二酯键形成前就会被剔除
- 核酸酶：能够降解DNA
 - 核酸内切酶：在核酸的特定位置切割，将核酸切成小的片段
 - 核酸外切酶：从DNA分子的末端开始切除。他们常常是单向的，只从3'端开始切除或者只从5'端开始切除。
- DNA聚合酶的种类
 - DNA聚合酶II参与DNA的修复，DNA聚合酶III是主要参与DNA复制的酶
 - 持续合成能力与合成速度
- DNA复制的阶段
 - 起始
 - DNA的复制起点具有高度的保守性。其中的DNE（DNA Unwinding Element）区域含有丰富的A-T碱基对
 - 在该阶段中，DNA双链被打开并且生成预引发复合体
 - 延伸
 - 由两部分组成：前导链的合成与滞后链的合成
 - DNA在DNA解旋酶的作用下解螺旋并生成拓扑结构，拓扑结构被拓扑异构酶打开。两条单链被SSB稳定。
 - 滞后链最后的步骤为5'→3' 核酸外切酶（DNA聚合酶I）切去RNA引物，并通过DNA聚合酶I引入被切除部分的核苷酸，之后再通过DNA连接酶连接。
 - 终止
 - 遇到多组长20bp约的Ter。当复制叉进入Ter-Tus复合物时，复制叉不能离开。（单向性）
- 三种主要的RNA
 - mRNA：编码一个或者多条肽链的信息
 - tRNA：读取mRNA上的信息并将正确的氨基酸加入到正在合成的肽链上。
 - rRNA；核糖体的组成成分
- 转录

- RNA的合成通过RNA聚合酶完成
- 转录不需要引物
- 只需要部分DNA片段参与——基因
- DNA中只有一条链作为模板链
- 方向是从RNA的5' → 3'
- 模板链非模板链与编码链
 - 模板链：作为RNA合成的模板的DNA链
 - 非模板链：DNA双链中除开模板链的另一条链
 - 编码链 = 非模板链，编码链与RNA在序列上完全相同，除了T与U的不同
- 转录
 - RNA聚合酶与DNA上的启动子结合
 - σ 因子介导RNA聚合酶与DNA上的启动子结合
 - 终止阶段： ρ -dependent 与 ρ -independent
 - ρ -independent：RNA形成发卡结构
 - ρ -dependent： ρ 解旋酶与rut site结合， ρ 解旋酶在mRNA上移动并最终将DNA与RNA分开

Lecture 11

- 氨基酸 + ATP + tRNA 在**氨酰tRNA合成酶**的作用下生成氨酰tRNA
- **密码子：用于编码特定氨基酸的核苷酸的三联体**
 - 目前为止所有已知的密码子都是非重叠的
- 一共有64种密码子，其中61中密码子有对应的氨基酸
- 特殊的第一个密码子建立了阅读框
- 1968年诺贝尔生理学奖与医学奖：基因密码的翻译以及在蛋白质合成中的作用
- 密码子表
 - **起始密码子ATG（对应甲硫氨酸），终止密码子TAA，TAG，TGA（没有对应的氨基酸，除了硒半胱氨酸与吡咯赖氨酸）**
 - 甲硫氨酸与色氨酸只有一种对应的密码子

- 密码子存在兼并性——一种氨基酸可能对应多种密码子
- 反密码子：tRNA上携带的能与mRNA上密码子配对的三个碱基
 - 密码子与反密码子反向配对，从5' → 3'方向读，tRNA反密码子上的第一个碱基与密码子的最后一个碱基配对
 - 当几个不同的密码子决定相同的氨基酸时，他们之间的区别常常是密码子上的最后一个碱基（3'端），也即tRNA上的5'端的碱基。密码子的前两个碱基是其对应氨基酸的主要决定因素。
 - 实际上并不是每一种密码子都和一种tRNA配对，tRNA上的第一个碱基有时候为肌酐，肌酐能与三种（U, C, A）不同的核苷酸配对，尽管其氢键相互作用更弱。
 - 变偶性假说：大部分密码子的第三个碱基与其反密码子上的第一个碱基配位较为松散
- 蛋白质合成的五步骤
 - 活化
 - 氨基酸 + ATP + tRNA 在氨酰tRNA合成酶的作用下生成氨酰tRNA
 - 一种氨酰tRNA合成酶对应一种氨基酸和多种tRNA，对应同样氨基酸的不同tRNA是由同种氨酰tRNA催化的
 - 步骤
 - 首先生成氨酰腺苷酸
 - 氨基酸基团转移到tRNA上
 - 存在两种机理class I class II
 - class I
 - 先与2'羟基酯化，在通过酯交换反应将氨基酸基团转移到3'羟基上
 - class II
 - 直接与3'羟基酯化
 - 起始
 - mRNA、氨酰tRNA与核糖体的小亚基现结合，之后大亚基再结合。
 - 蛋白质的合成从N端开始，之后新的氨基不断与之前的氨基酸残基的羧基端反应。
 - 甲硫氨酸对应两种tRNA，其中一种用于起始密码子ATG，另一种用于中间ATG对应的氨基酸

- 最开始起始密码子ATG对应的其实是**甲酰蛋氨酸**
- **甲酰基转移酶**将**甲酰四氢叶酸**上的甲酰基转移到蛋氨酰tRNA上
- 需要：30s, 50s的亚基, mRNA, 甲酰蛋氨酰tRNA, 启动因子 IF-1, IF-2, IF-3, GTP, Mg^{2+} , GTP
- rRNA上有三个位点能够接受tRNA——A、P、E
 - A, P位与氨酰tRNA结合, E与uncharged tRNA结合
- 延伸
 - 携带氨酰tRNA与核糖体结合, 新的氨基酸与之前合成的肽链形成肽键, 不断往复直到遇到终止密码子
 - 需要起始复合物、氨酰tRNA、三种延伸因子、GTP
 - 步骤
 - 氨酰tRNA与GTP-bound EF-Tu, 该复合物与rRNA上的A位结合, EF-Tu-GTP化合物水解
 - 两个氨基酸之间形成肽键, 第一个氨基酸转移到第二个tRNA上, 该过程被核糖体内的**肽酰转移酶**催化 (23s rRNA催化)
 - 在**移位酶**的作用下, 核糖体向3'端移动导致tRNA移动到了P位, 不携带氨基酸的tRNA进入E位, 之后离开
- 终止
 - 当遇到终止密码子时, 翻译停止, 蛋白质与mRNA从核糖体上脱落
 - 当TAA、TGA、TAG进入A位后, 三种**释放因子**进入A位, 完成tRNA与肽链的水解、释放并使得70S核糖体离解成为30S与50S亚基
- 翻译后修饰
 - 甲酰蛋氨酸上甲酰基的移除
- 核糖体的结构
 - 核糖体由两个不等的大小亚基组成, 他们的沉淀系数为**30S**, **50S**, 整个核糖体的沉淀系数为**70S**
 - 每一个亚基都由一系列的蛋白质与至少一个rRNA组成
 - 2009年的诺贝尔化学奖: 研究了核糖体的结构与功能
 - 主体为RNA, 蛋白质做修饰

- 两个大小亚基的分裂代表着蛋白质合成的开始
- rRNA具有高度的保守性
- tRNA的结构
 - 由73~93个核苷酸组成
 - amino acid arm 在3'端，能够携带特定的氨基酸，与2' 或者 3'的羟基酯化形成
 - 反密码子区域有反密码子，有7个未配对的核苷酸
 - D arm
 - T Φ C arm

Lecture 12

- DNA重组技术：将两种不同来源的DNA片段连接后将其移植于微生物中用于生产人类需要的产物
- DNA克隆的5步
 - 在精准的位置将目标DNA剪切下来
 - 限制性核酸内切酶
 - 只能识别回文结构
 - 黏性末端或者平末端
 - 黏性末端的效率更高
 - 选择能自我复制的载体DNA
 - 将两个DNA片段连接
 - DNA连接酶
 - 生成的DNA叫重组DNA
 - 将重组DNA移植到宿主细胞内
 - 筛选与鉴定
- 一个含有多个限制性核酸内切酶位点的linker叫做多克隆位点
- 载体：一段能够运载外源基因到其他细胞的DNA分子，他们在其他细胞内能复制或表达或者两者都能发生
- 质粒：能独立于宿主染色体单独复制的DNA分子

- 质粒的核心要素
 - 复制起点
 - 多克隆位点
 - 选择性标记
 - 用抗性基因做筛选
- 含有可调控表达的转录与翻译信号的载体被称为表达载体
- 表达载体所需要具有的结构
 - 启动子
 - 终止子
 - 操纵子：通过遏制子调控基因的表达
 - 核糖体结合位点
- 简单模式生物的优点
 - 培养条件简单且繁殖速度快
 - 基因组了解全面且能够操作基因组的工具很多
 - 对异源蛋白的容忍性高
 - 代谢通路了解全面
 - 容易大规模生产