

第十五章 蛋白质和核酸

学习要求

教学内容：

第一节 氨基酸

第二节 多肽

第三节 蛋白质

学习要求:

- 1、掌握氨基酸的结构、构型、性质，了解氨基酸的分类和命名。
- 2、掌握肽的结构和肽键，了解多肽结构的测定和端基分析；
- 3、了解蛋白质的分类，掌握蛋白质的结构和性质；



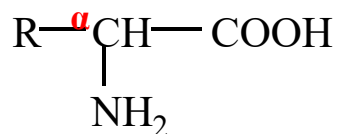
第一节 氨基酸

氨基酸是羧酸分子中碳链上的氢原子被氨基取代后的生成物。分子中含有**氨基和羧基两种官能团**。

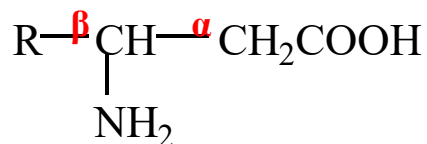
一、氨基酸的分类与命名

1. 分类

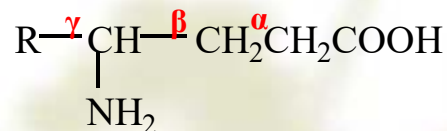
(1)按氨基酸按分子中所含—NH₂和—COOH的相对位置，可将其分为：



α -氨基酸



β -氨基酸

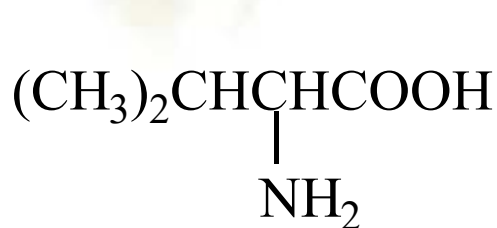


γ -氨基酸

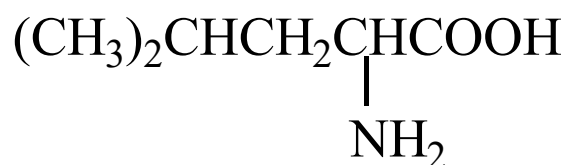
在这些类氨基酸中，与人关系最为密切的是 **α -氨基酸**。它是构成蛋白质的基本单元。

蛋白质 $\xrightarrow[\text{(水解)}]{\text{酶}}$ α -氨基酸(约 20 多种)

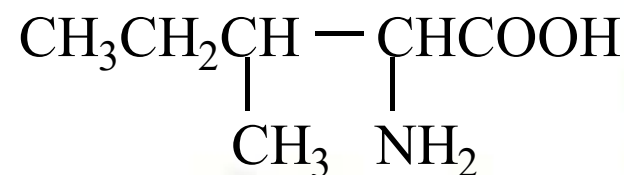
在这20多种 α -氨基酸中，有八种是人体所需要的必需氨基酸（即人体本身不能合成的氨基酸）。它们是：



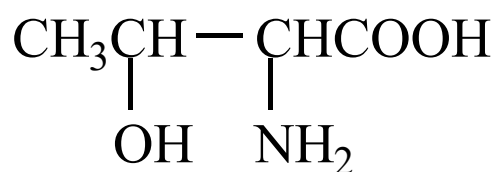
缬氨酸



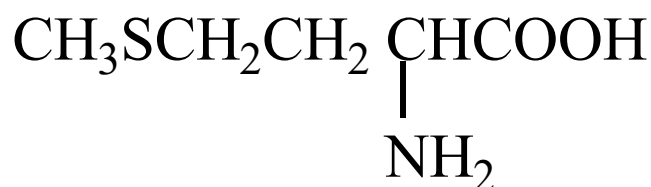
亮氨酸



异亮氨酸



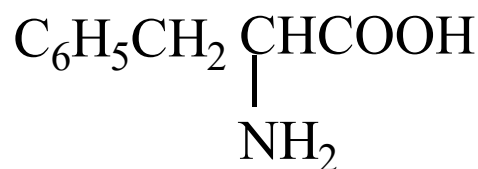
苏氨酸



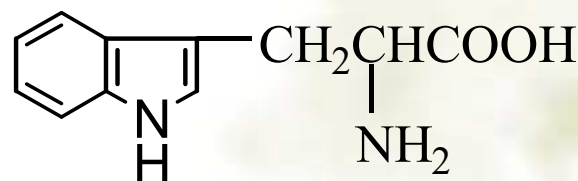
蛋氨酸



赖氨酸



苯基丙氨酸



色氨酸

(2)按氨基和羧基的数目可分为：中性氨基酸、酸性氨基酸和碱性氨基酸。

1. 中性氨基酸：分子中—NH₂和—COOH的数目相等。



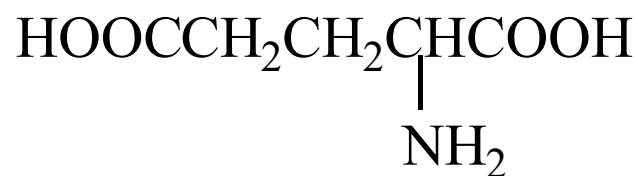
甘氨酸

2. 碱性氨基酸：分子中—NH₂数目 > —COOH数目。



赖氨酸

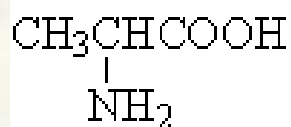
3. 酸性氨基酸：分子中—COOH数目 > —NH₂数目。



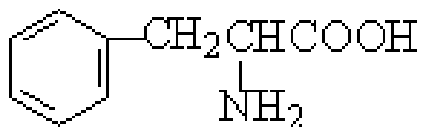
谷氨酸

(3) 按烃基类型可分为:

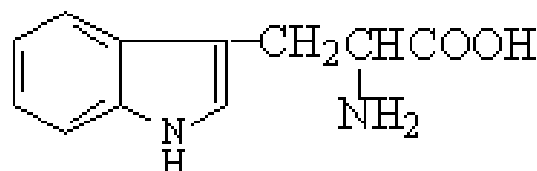
脂肪族氨基酸, 芳香族氨基酸, 含杂环氨基



Ala(丙) 丙氨酸



Phe(苯) 苯丙氨酸



Trp(色) 色氨酸

2. 命名: 根据氨基酸的来源或性质命名。

门冬氨酸最初是由天门冬的幼苗中发现的;

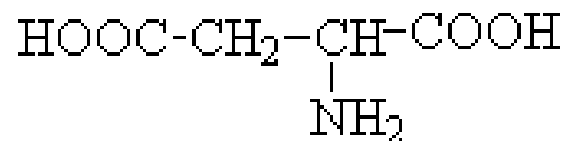
甘氨酸是因为具有甜味而得名。

天然产的氨基酸目前知道的已超过一百种。但在生物体内作为合成蛋白质原料的只有二十种, 这二十种氨基酸象无机符号一样, 都有国际通用的符号来表示。

甘氨酸: Gly (甘)

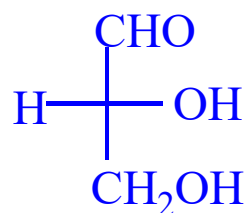


门冬氨酸: Asp (门)

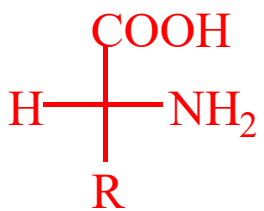


二、氨基酸的构型

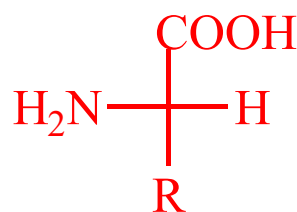
用D/ L体系表示——在费歇尔投影式中氨基位于横键右边的为D型，位于左边的为L型。



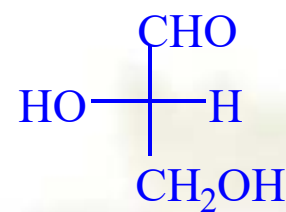
D - 甘油醛



D - α - 氨基酸



L - α - 氨基酸

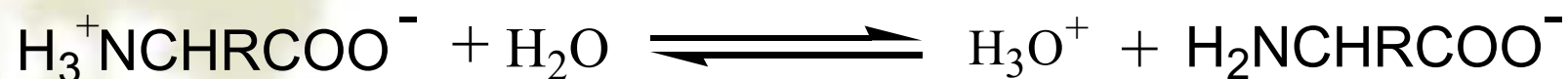


L - 甘油醛

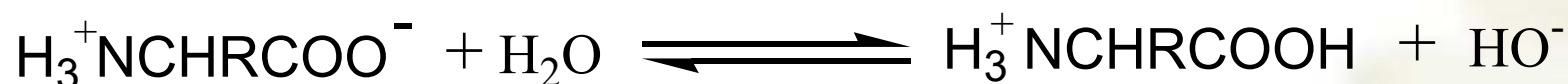
除甘氨酸外，所有的氨基酸分子的 α -碳原子都具手性碳原子。因而都具有旋光性。而且发现主要是L型的（也有D型的，但很少）。

三、氨基酸的性质

1. 两性（酸碱性）



$$K_a = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+][\text{H}_2\text{NCHRCOO}^-]}{[\text{H}_3^+\text{NCHRCOO}^-]}$$

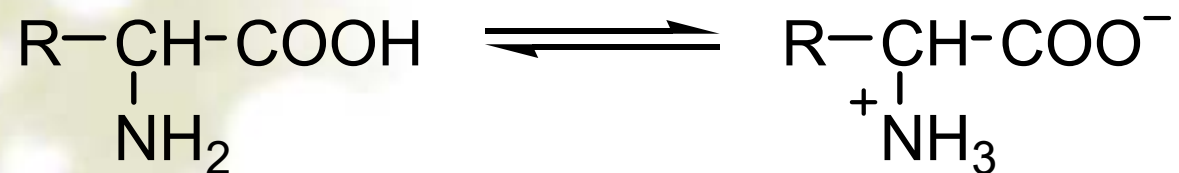


$$K_b = \frac{[\text{H}_3^+\text{NCHRCOOH}][\text{HO}^-]}{[\text{H}_3^+\text{NCHRCOO}^-]}$$

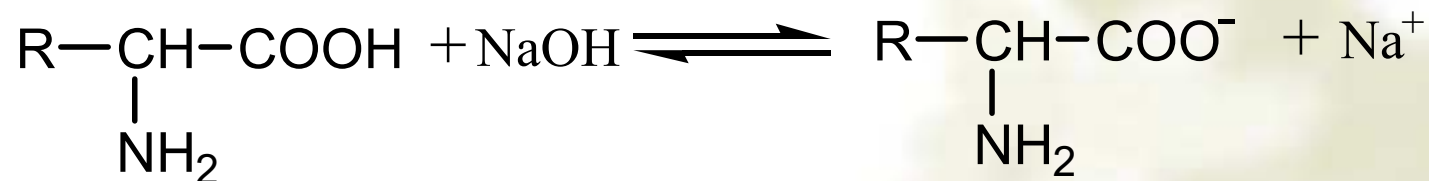
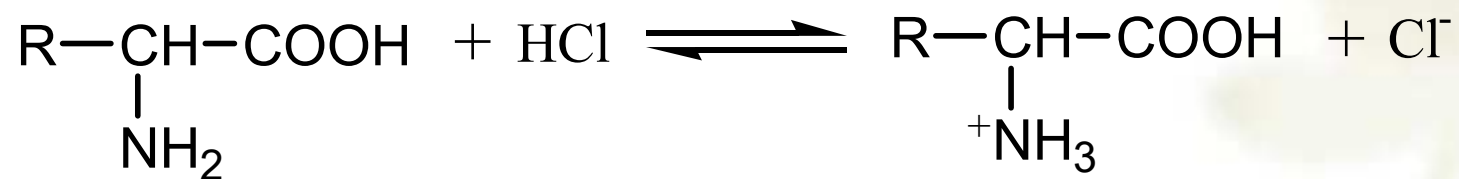
测得甘氨酸的 $K_a=1.6 \times 10^{-10}$ ，甘氨酸的 $K_b=2.5 \times 10^{-12}$ 。

而大多数羧酸 K_a 约为 10^{-5} ，大多数脂肪胺的 K_b 约为 10^{-4} 。

1) 形成内盐

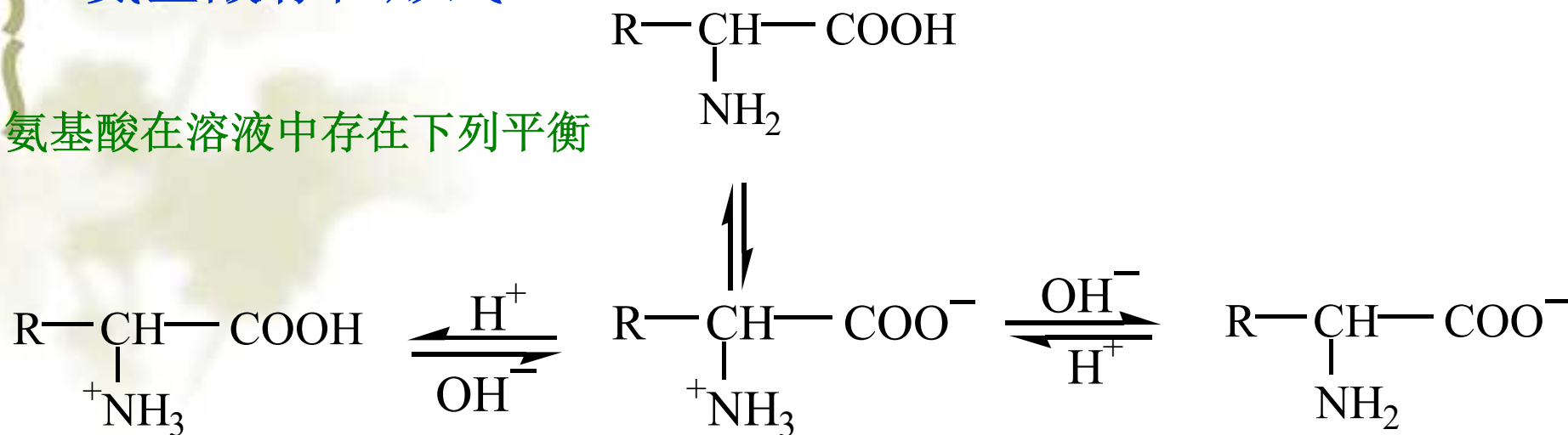


2) 成盐



3) 氨基酸存在形式

氨基酸在溶液中存在下列平衡



氨基酸在强酸性溶液中以正离子存在。

偶极离子
两性离子存在。

在强碱性溶液中以负离子存在。

在电场中移向阴极

在电场中移向阳极

溶液pH<等电点

等电点(pI)

溶液pH>等电点

4) 等电点

若调节溶液的pH值，使 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{COOH}$ 的离子化程度相等（即氨基酸分子所带电荷呈中性——处于等电状态）时溶液的pH值称为氨基酸的等电点。常以pI表示。

注意：

1° 等电点为电中性而不是中性（即 $\text{pH}=7$ ），在溶液中加入电极时其电荷迁移为零。

中性氨基酸 $\text{pI} = 4.8-6.3$

酸性氨基酸 $\text{pI} = 2.7-3.2$

碱性氨基酸 $\text{pI} = 7.6-10.8$

2° 等电点时，偶极离子在水中的溶解度最小，易结晶析出。可用调节氨基酸等电点的方法分离氨基酸的混合物。

又例： 分离、鉴定谷氨酸和赖氨酸

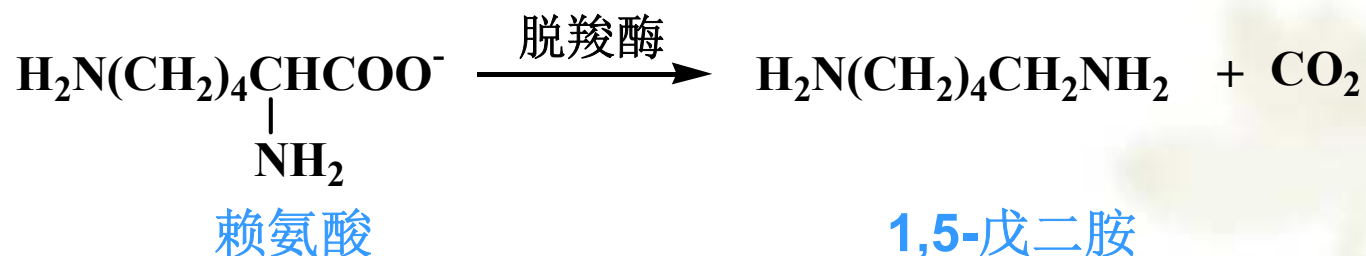
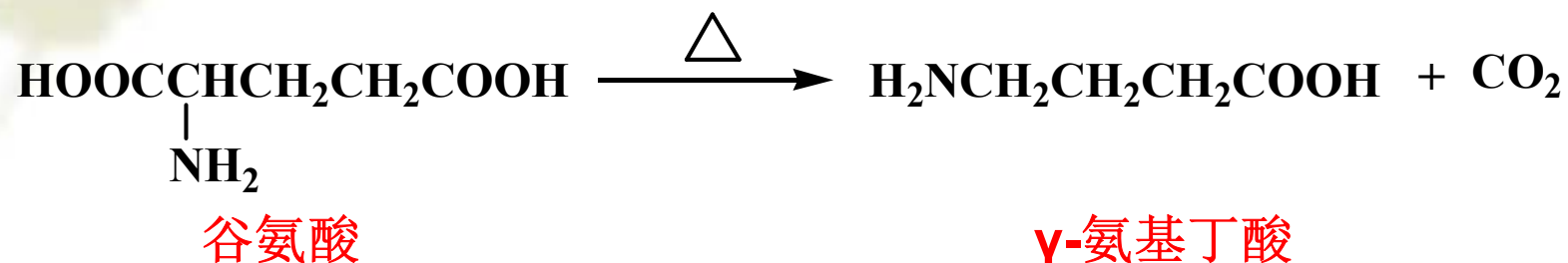
赖氨酸 ($pI = 9.74$) $pH=5.97$ 的缓冲溶液 $\xrightarrow{\hspace{1cm}}$ 赖氨酸 (+) 电场下 $\xrightarrow{\hspace{1cm}}$ 向负极移动
谷氨酸 ($pI = 3.22$) $\xrightarrow{\hspace{1cm}}$ 谷氨酸 (-) $\xrightarrow{\hspace{1cm}}$ 向正极移动

二、氨基酸的反应

1、脱羧反应

与羧基酸相似， α -氨基酸在受热或细菌或生物体内脱羧酶作用下，可发生脱羧反应生成相应胺。

例：

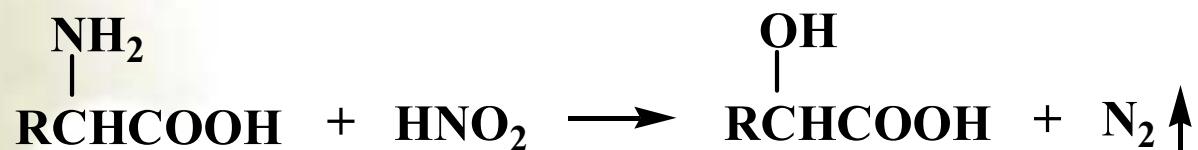


2、脱氨反应

生物体内氨基酸分解代谢的最主要反应——脱氨基反应。方式有氧化脱氨基、转氨基、联合脱氨基以及非氧化脱氨基等。



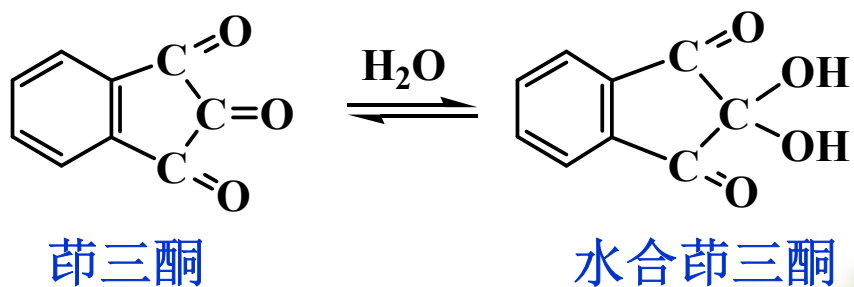
3、与HNO₂反应



van Slyke氨基氮测定法

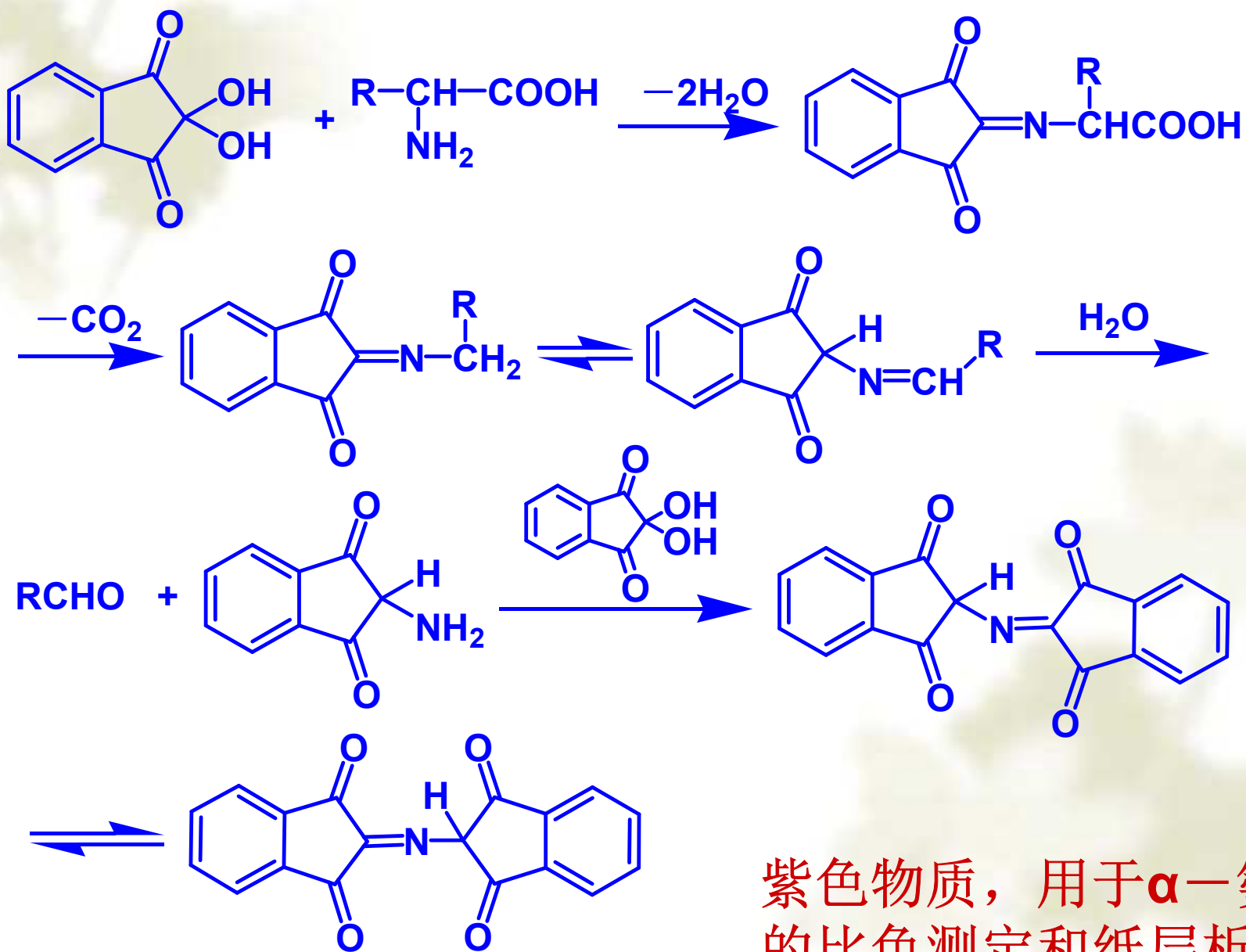
4、与茛三酮反应

α -氨基酸与茛三酮作用，生成显蓝色或紫红色的有色物质。



是鉴别 α -氨基酸的灵敏的方法——既可定性，又可定量。

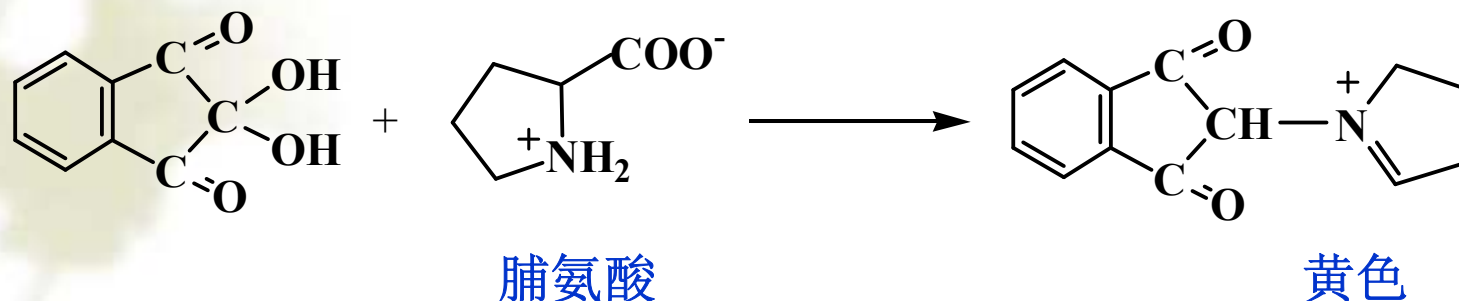
与水合茚三酮的反应:



紫色物质，用于 α -氨基酸的比色测定和纸层析显色

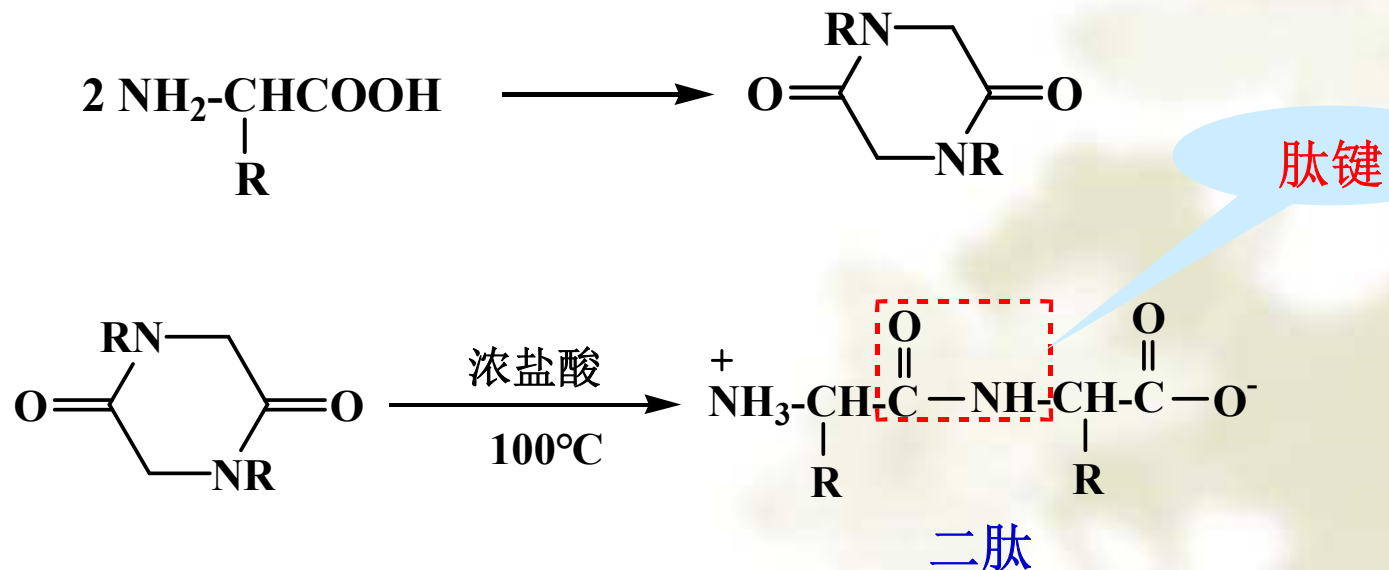
若为亚氨基，与茚三酮作用，则呈黄色。

例：

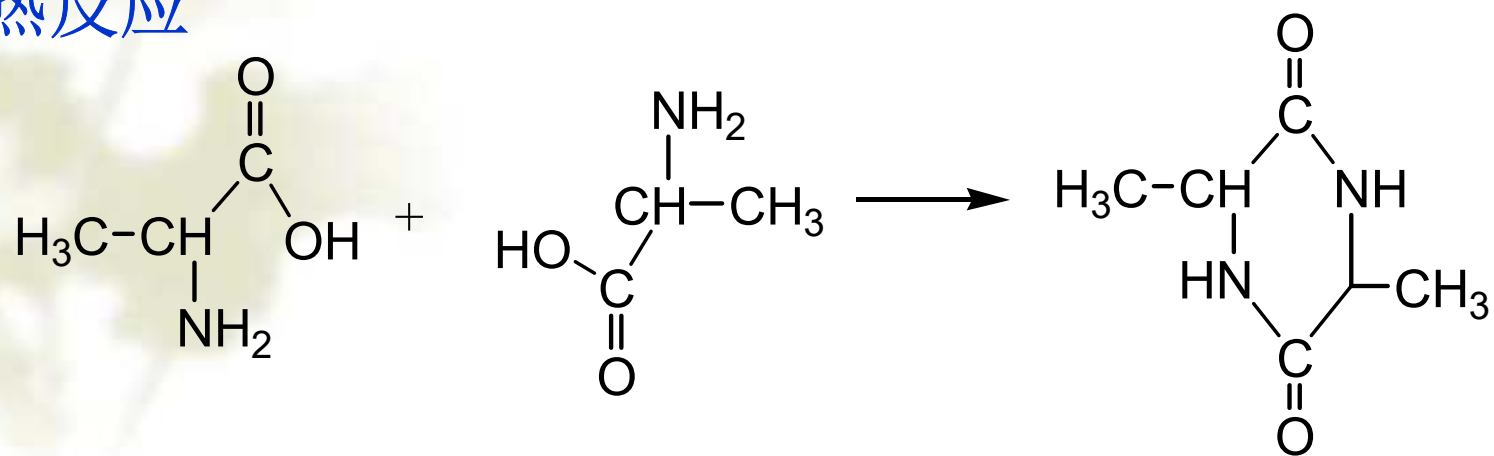


5、形成肽键的反应

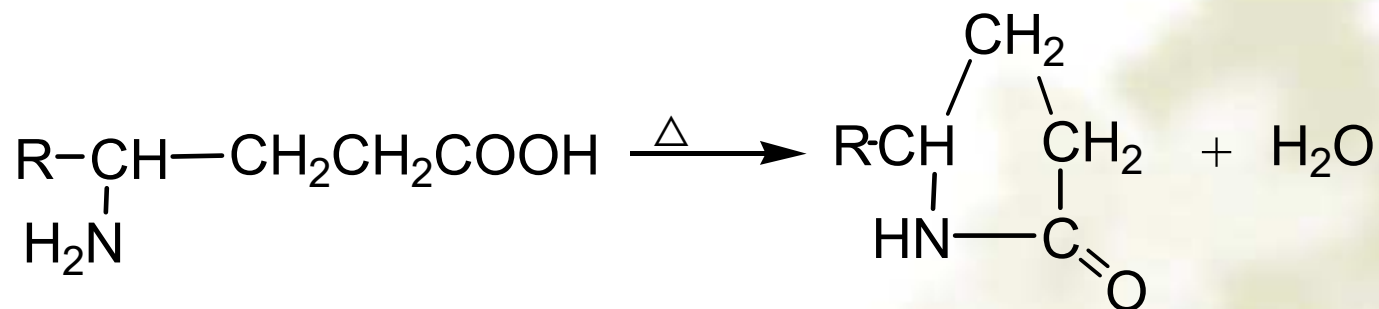
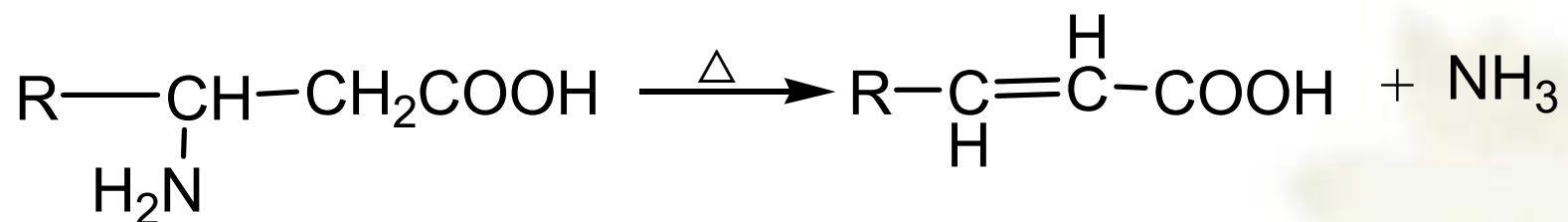
两分子 α -氨基酸受热，氨基和羧基间脱水，形成环状酰胺；在浓盐酸作用下，开环生成二肽。



受热反应



3,6-二甲基-2,5-哌嗪二酮



γ-氨基酸

γ-内酰胺

3、氨基酸的物理性质

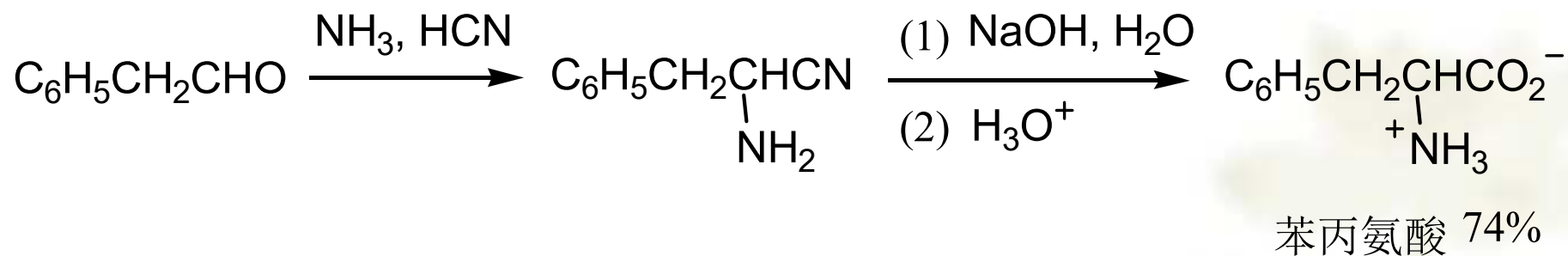
1) . α —氨基酸都是无色结晶。

2) . α —氨基酸溶于水，在等电点时溶解度最小。
由于它具两性离子的结构，一般难溶于非极性有机溶剂。

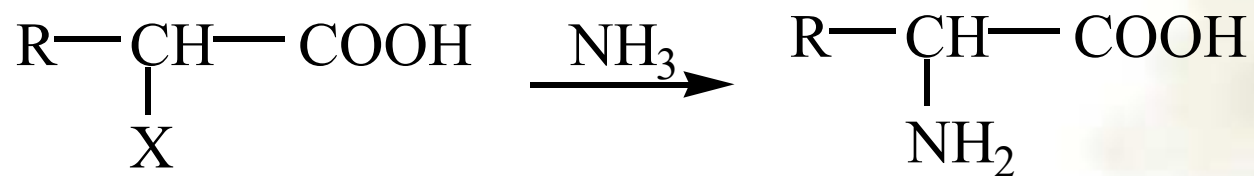
四、氨基酸的制备方法

1. 由醛制备

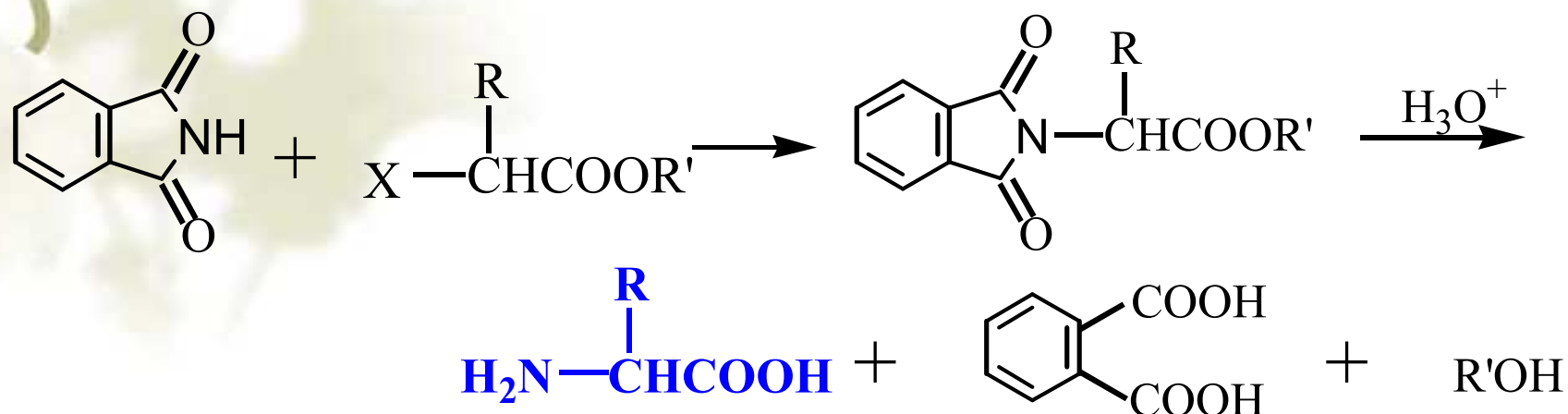
醛在氨存在下加氢氰酸生成 α -氨基腈，后者水解生成 α -氨基酸。



2. α - 卤代酸的氨化

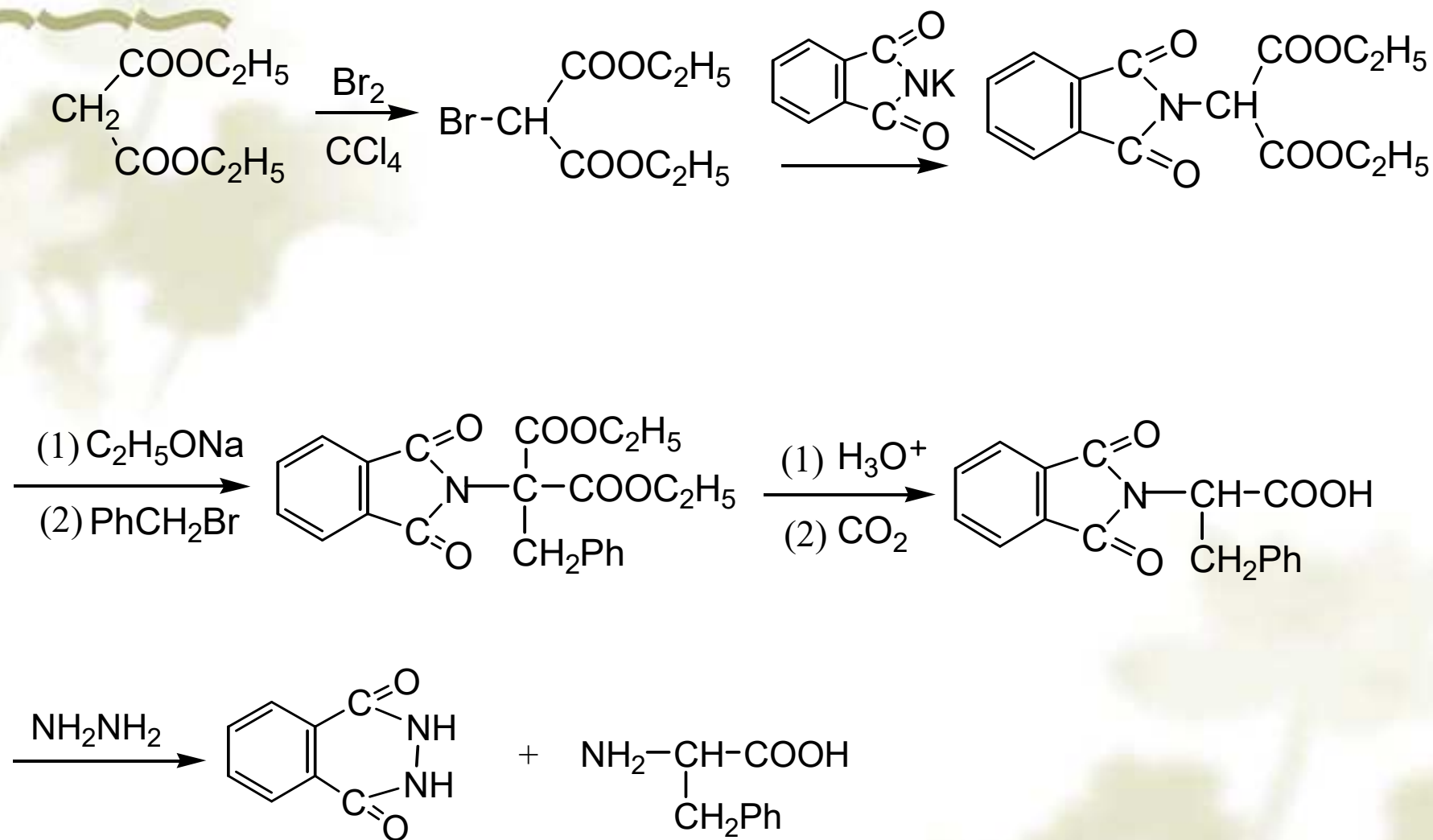


3、Gabrial合成法（盖布瑞尔法）：



4、由丙二酸酯法合成

此法应用的方式多种多样，其基本合成路线是：



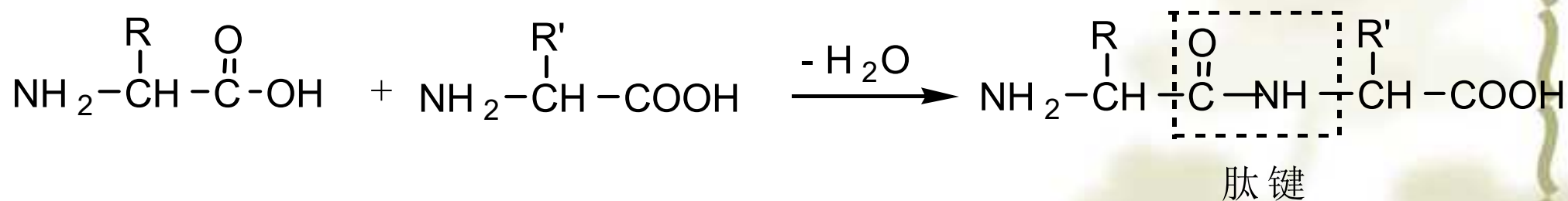
合成法合成的氨基酸是外消旋体，拆分后才能得到D-和L-氨基酸。



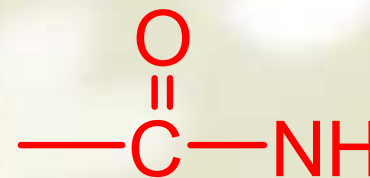
第二节 多 肽

一、 肽和肽键

一分子氨基酸中的羧基与另一分子氨基酸分子的氨基脱水而形成的酰胺叫做肽，其形成的酰胺键称为肽键。



由2分子氨基酸缩合而成的肽称为二肽；



肽键

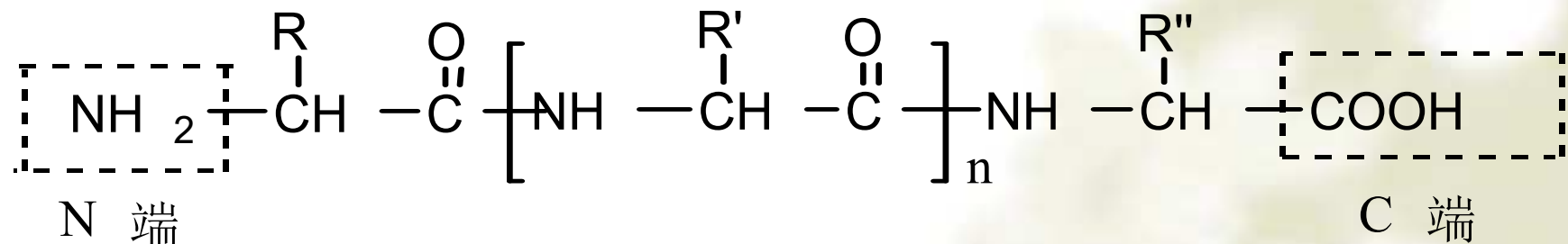
由3个氨基酸缩合而成的肽称为三肽；

由n个氨基酸缩合而成的肽称为n肽；

由多个氨基酸缩合而成的肽称为多肽。

一般把含100个以上氨基酸的多肽（有时是含50个以上）称为蛋白质。

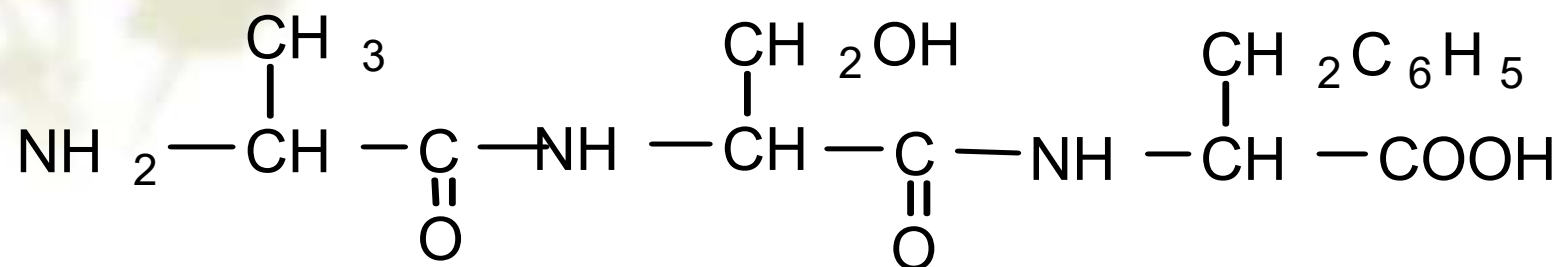
无论肽链有多长，在链的两端，一端有游离的氨基（ $-\text{NH}_2$ ），称为N端；链的另一端有游离的羧基（ $-\text{COOH}$ ），称为C端。



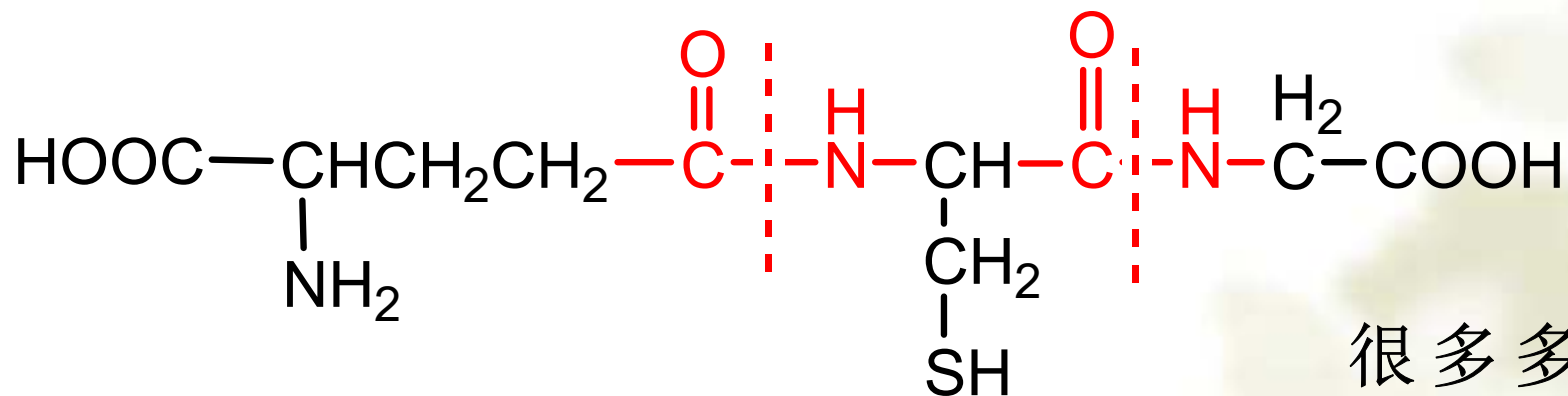
C—端：保留游离的羧基；**N—端：**保留游离的氨基。

二、肽的命名

根据组成肽的氨基酸的顺序称为**某氨酰某氨酰...某氨酸**（简写为某、某、某）。



丙氨酰丝氨酰苯丙氨酸（丙-丝-苯丙）



谷氨酰-半胱氨酰-甘氨酸
简写为谷-半胱-甘（Glu - Cys - Gly）

很多多肽都采用俗名，如催产素、胰岛素等。

三、多肽结构的测定和端基分析

由氨基酸组成的多肽数目惊人，情况十分复杂。假定100个氨基酸聚合成线形分子，可能具有 20^{100} 中多肽。

例如：由甘氨酸、缬氨酸、亮氨酸三种氨基酸就可组成六种三肽。

甘-缬-亮； 甘-亮-缬； 缬-亮-甘；

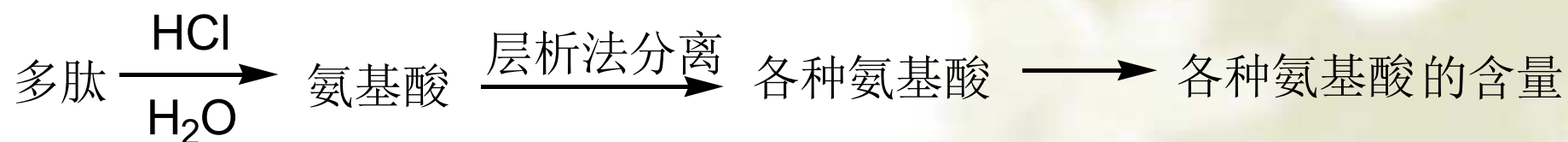
缬-甘-亮； 亮-甘-缬； 亮-缬-甘。

1、多肽结构的测定主要是作如下工作：

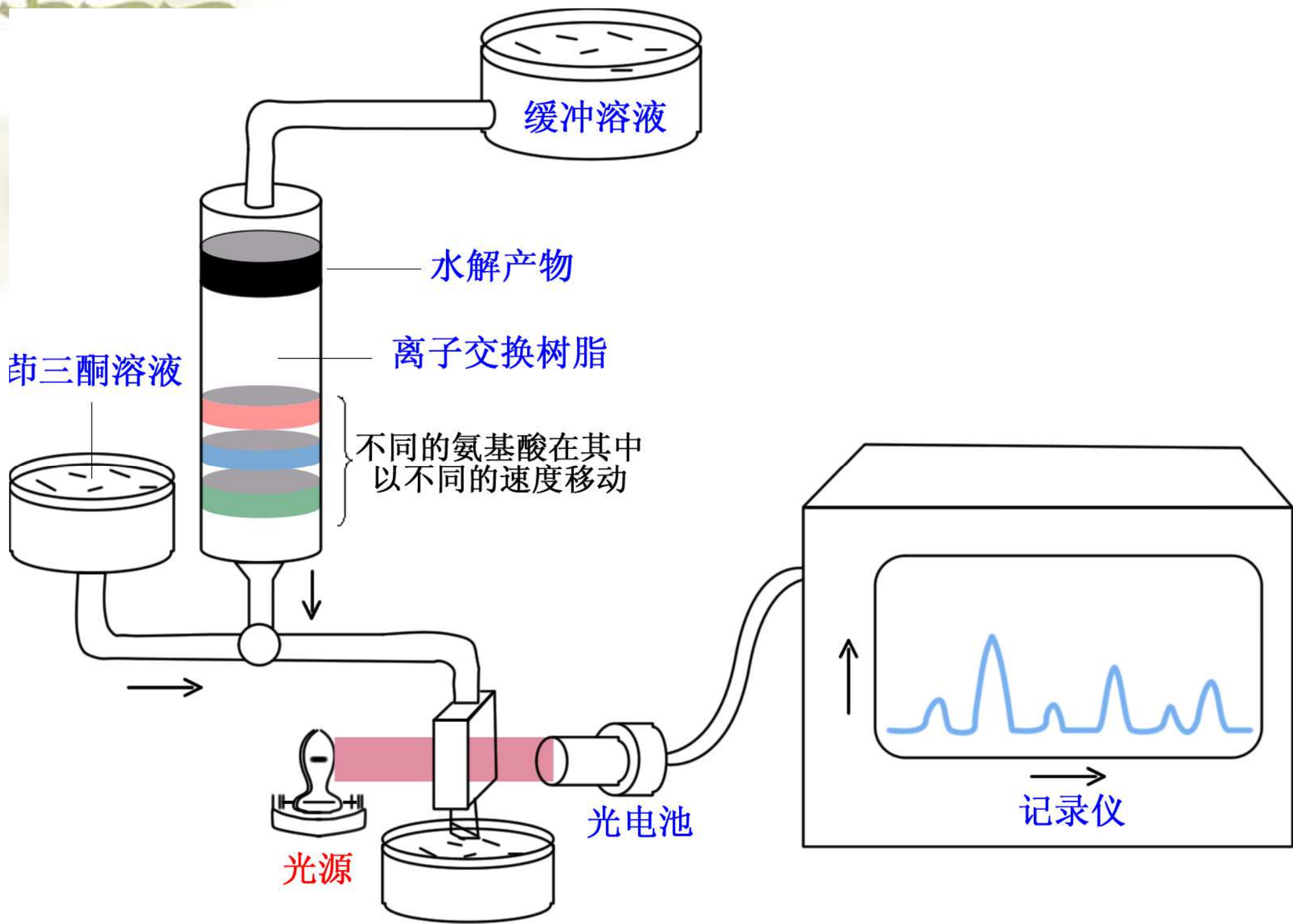
- ① 了解某一多肽是由哪些氨基酸组成的。
- ② 各种氨基酸的相对比例。
- ③ 确定各氨基酸的排列顺序。

2、多肽结构测定工作步骤如下：

- 1) . 测定分子量（相对分子质量）
- 2) . 氨基酸的定量分析



将水解后的氨基酸混和液用氨基酸分析仪进行分离和测定。



3. 测定N端和C端

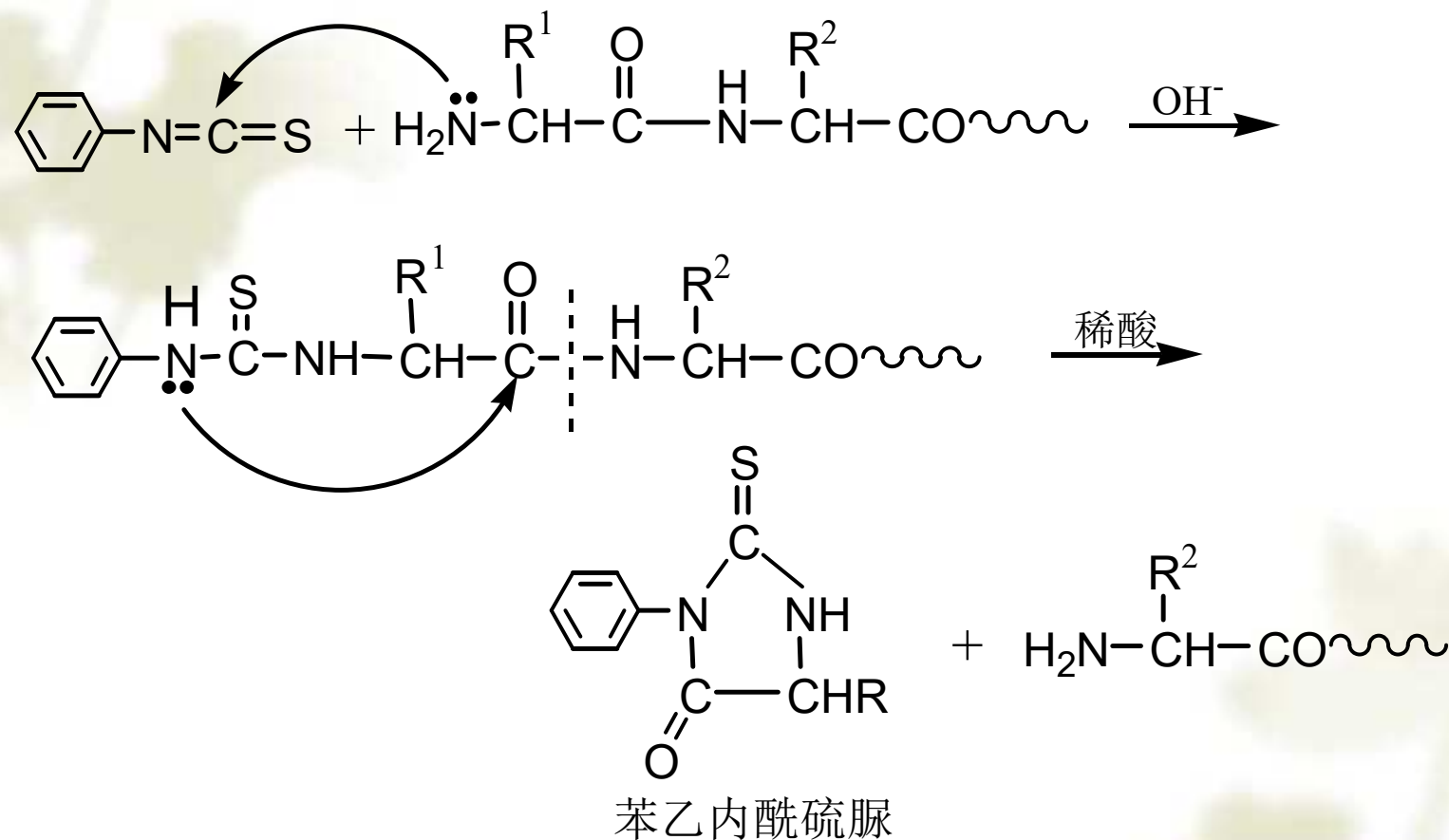
1) 测定N端（有两种方法）

① 2, 4—二硝基氟苯法(DNFB—Dinitrofluorobenzene法)



此法的缺点是所有的肽键都被水解掉了，只能测N端的一个氨基酸。

② 异硫氰酸酯法——艾德曼 (Edman) 降解法



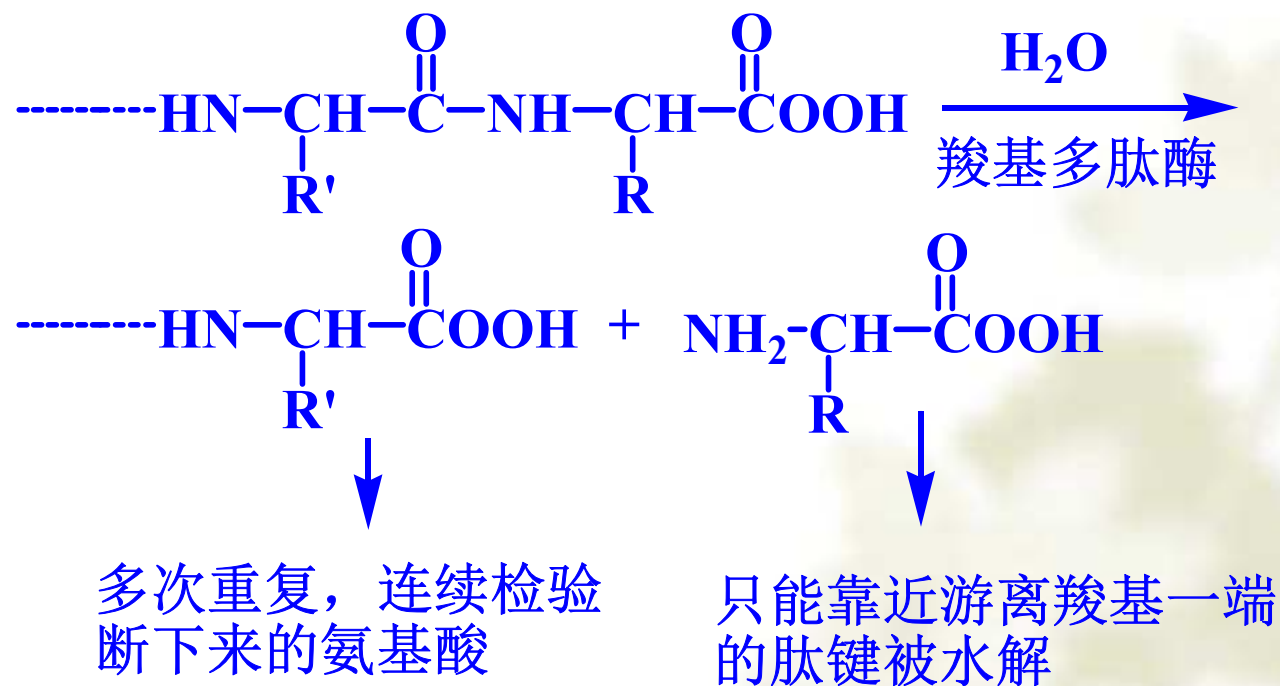
测定咪唑衍生物的R，即可知是哪种氨基酸。

异硫氰酸苯酯法的特点是，除多肽N端的氨基酸外，其余多肽链会保留下来。这样就可以继续不断的测定其N端。

2) 测定C端

羧肽酶水解法

在羧肽酶催化下，多肽链中只有C端的氨基酸能逐个断裂下来。



4. 肽链选择性地裂解并鉴定

上述测定多肽结构顺序的方法，对于分子量大的多肽是不适用的。对于大分子量多肽顺序的测定，是将其多肽用不同的蛋白酶进行部分水解，使之生成二肽、三肽等碎片，再用端基分析法分析个碎片的结构，最后将各碎片在排列顺序上比较并合并，即可推出多肽中氨基酸的顺序。

部分水解法常用的蛋白酶有：

胰蛋白酶——只水解羰基属于赖氨酸、精氨酸的肽键。

糜蛋白酶——水解羰基属于苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸的肽键。

溴化氰——只能断裂羰基属于蛋氨酸的肽键。

例：某八肽

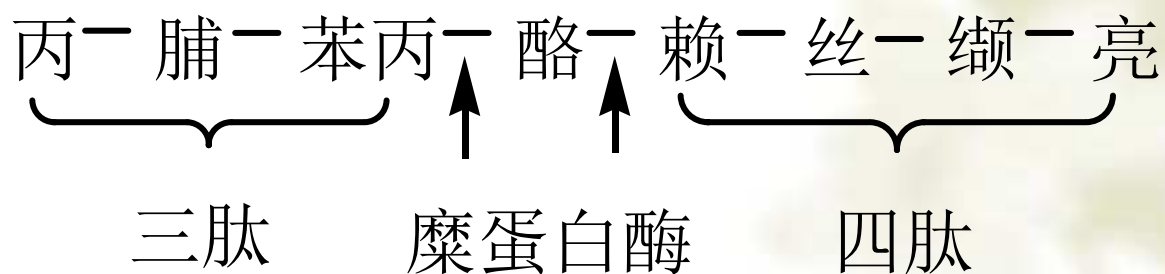
完全水解后，经分析氨基酸的组成为：丙、亮、赖、苯丙、脯、丝、酪、缬。

端基分析：N-端 丙.....亮 C-端。

糜蛋白酶催化水解：分离得到酪氨酸，一种三肽和一种四肽。

用Edman降解分别测定三肽、四肽的顺序，结果为：丙-脯-苯丙；赖-丝-缬-亮。

由上述信息得知，八肽的顺序为：



F. Sanger及其他工作者花了约10年时间于1953年（35岁）首先测定出牛胰岛素的氨基酸顺序，由此Sanger获得了1958年（41岁）的诺贝尔化学奖。此后，有几百种多肽和蛋白质的氨基酸顺序被测定出来，其中包括含333个氨基酸单位的甘油醛-3-磷酸酯脱氢酶。



以后F. Sanger又测定了DNA核苷酸顺序，因而他第二次（1980年62岁）获得了诺贝尔奖（同美国人伯格、 吉尔伯特共享）。两次获得诺贝尔奖的化学家是很少见的，F. Sanger是一个伟大的化学家。

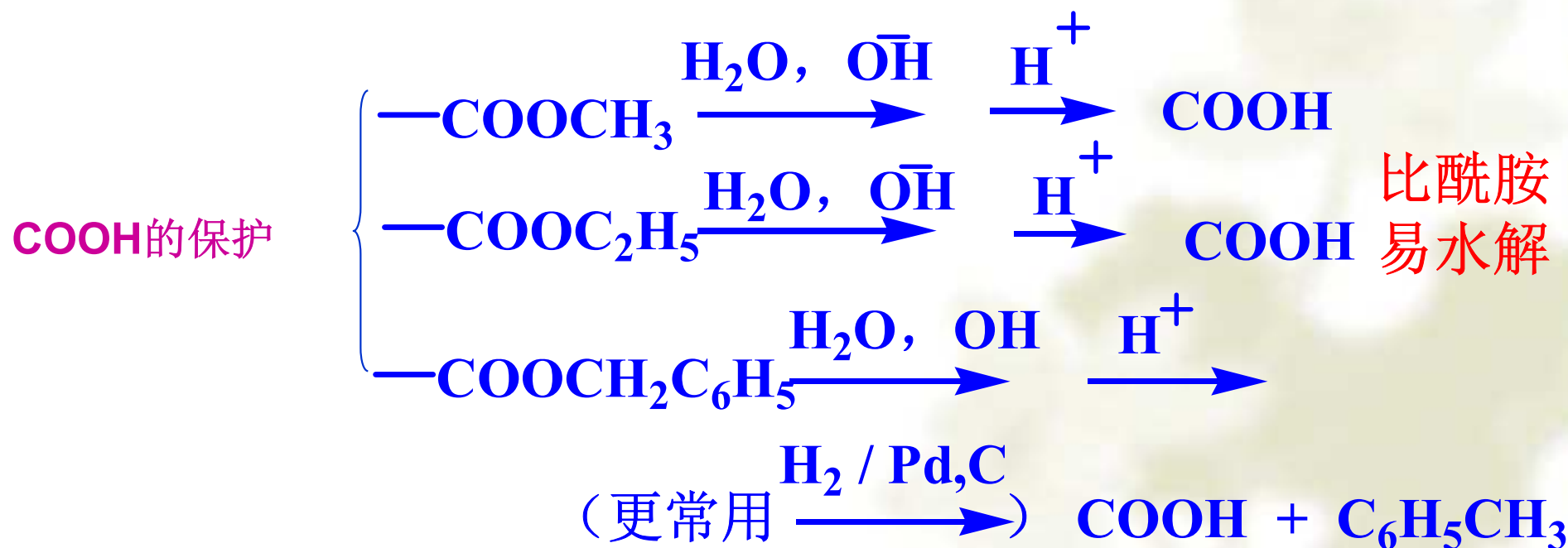
四. 多肽的合成:

要求:

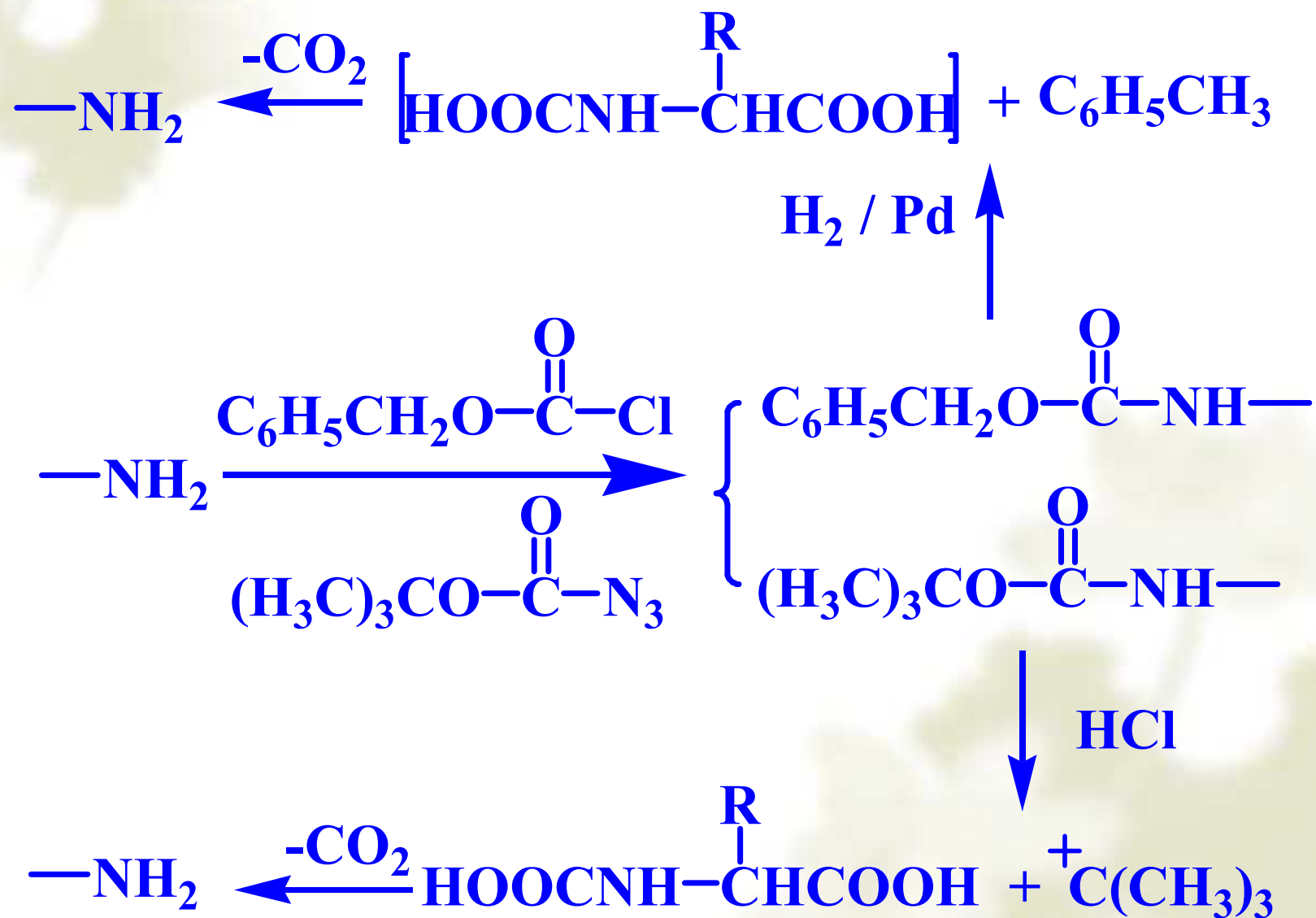
氨基酸按一定的次序连接起来
达到一定分子量
不外消旋化

氨基酸 A 和 B \longrightarrow A-A, B-B, A-B 和 B-A

要得到 A-B: \longrightarrow 保护 A 的NH₂和 B 的COOH



NH₂的保护:



16.3 蛋白质

蛋白质与多肽之间没有明显界限，严格区分是比较困难的。

蛋白质	{	分子量: > 1万。
		渗透性:
		沉淀性: 可被三氯乙酸及硫酸铵所沉淀。

蛋白质种类繁多，结构十分复杂。人体中所含的蛋白质估计有几十万种——具有多种多样的生物功能。

15.3.1 蛋白质的分类

一、按分子形状分类

{	纤维状蛋白质	{	可溶性: 肌球蛋白、血纤维蛋白、...
			不溶性: 胶原、弹性蛋白、角蛋白、...
{	球状蛋白质:	血红蛋白、酶、...	

二、按化学组成分类

- 单纯蛋白质：水解的最终产物是 α -氨基酸。
- 结合蛋白质：含非蛋白质部分——辅基(核酸、磷酸、 ...)。

蛋白质类别	举例	辅基
核蛋白(nucleoprotein)	病毒核蛋白、染色体蛋白	核酸
脂蛋白(lipoprotein)	乳糜微粒、高密度脂蛋白	各种脂类
色蛋白(chromoprotein)	血红蛋白、黄素蛋白	色素
磷蛋白(phosphoprotein)	酪蛋白、卵黄磷蛋白	磷酸
糖蛋白(glycoprotein)	免疫球蛋白、糖蛋白	糖类
金属蛋白(metalloprotein)	铁蛋白	金属离子

三、按生理功能分类

- 酶
- 激素
- 运输蛋白质
- 收缩蛋白质
- ...

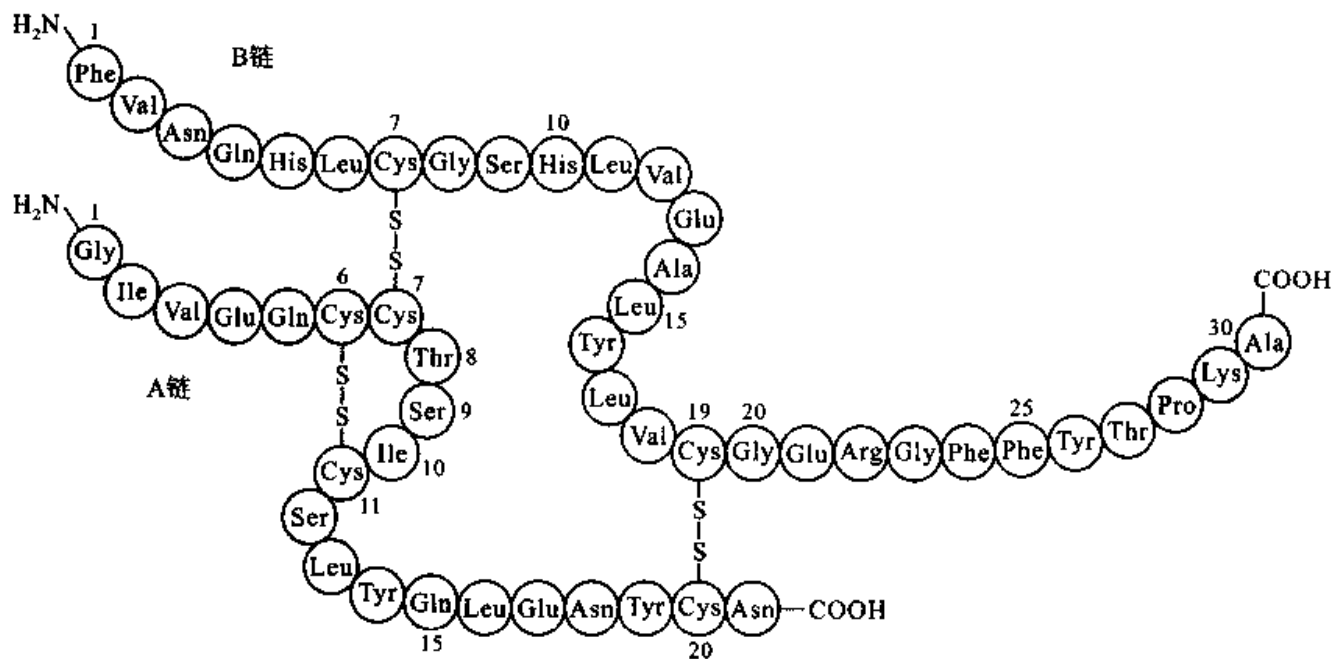
15.3.2 蛋白质的结构

“结构决定性质”早已成为化学工作者的共识。生物学发展到今天，“结构决定功能”的观点也逐渐为人们所接受。

蛋白质在天然状态下具有独特而稳定的空间结构。这种空间结构与它的生理活性密切相关。为表示其不同层次的结构，将蛋白质的结构分为一级结构、二级结构、三级结构和四级结构。

一、蛋白质的一级结构

为多肽链中氨基酸残基的排列顺序。



猪胰岛素分子的一级结构

由基因上的遗传密码的排列顺序决定的。

二、维持蛋白质分子构象的化学键及作用力

蛋白质分子构象的形成和稳定主要靠侧链R上基团的化学键及作用力维持。

1、氢键

2、盐键

阴、阳离子之间的静电引力。

3、疏水作用

氨基酸残基上的非极性基团为避开水相而聚集在一起的聚集力。

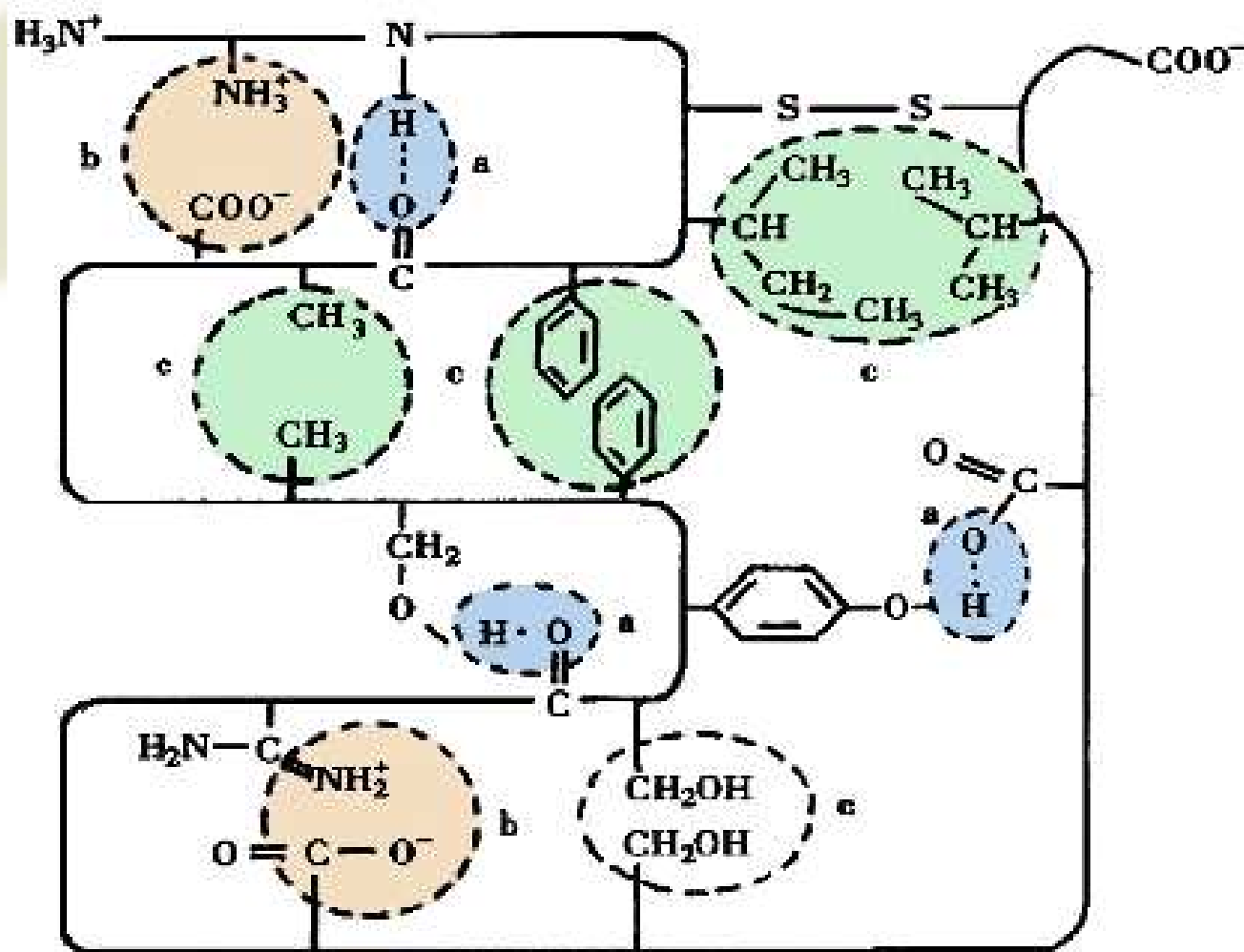
4、van der Waals力

{ 取向力:
诱导力:
色散力:

5、二硫键

由两个半胱氨酸残基的两个巯基之间脱氢而成。



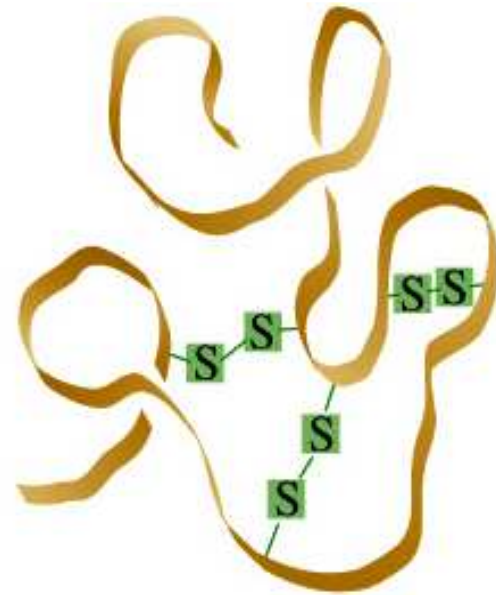


a 氢键, b 离子键, c 疏水键, d 二硫键

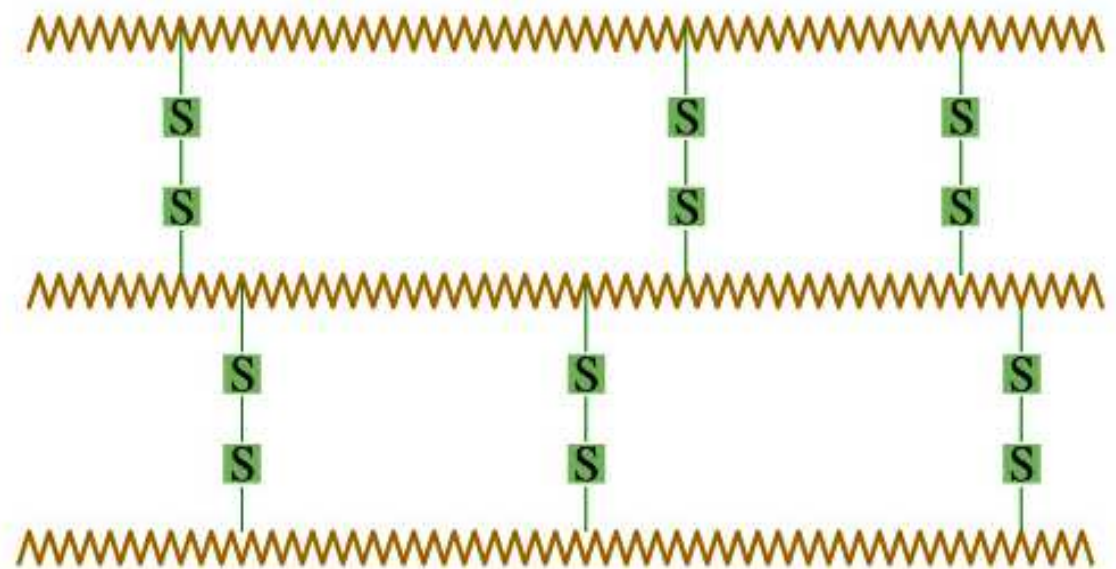
维持蛋白质分子构象各种化学键的示意图

Hair:
Straight
or curly?

烫发的过程是一个旧二
硫键还原打开而后再氧
化形成新的二硫键过程



curly hair



straight hair

三、蛋白质的二级结构(高级结构)

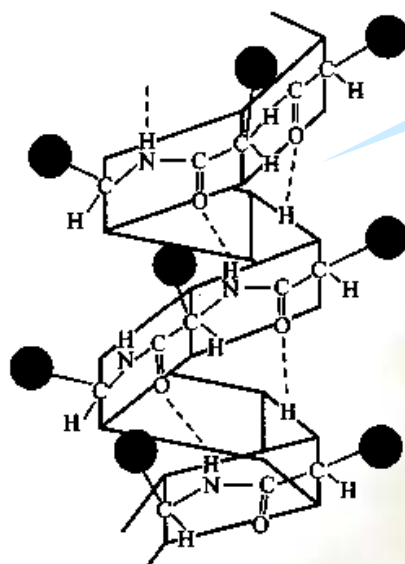
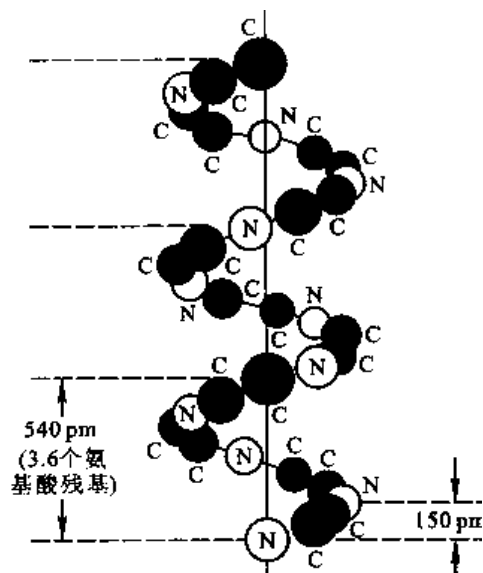
指多肽链主链在一级结构的基础上进一步的盘旋或折叠的方式——局部空间排列。

二级结构的主要形式

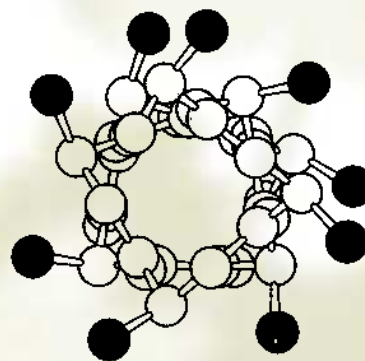
α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、 γ -转角、无规卷曲

1、 α -螺旋

各肽键平面通过 α -碳原子的旋转，围绕中心轴形成的一种紧密螺旋盘曲构象。它是最常见、含量最丰富的二级结构。



氢键



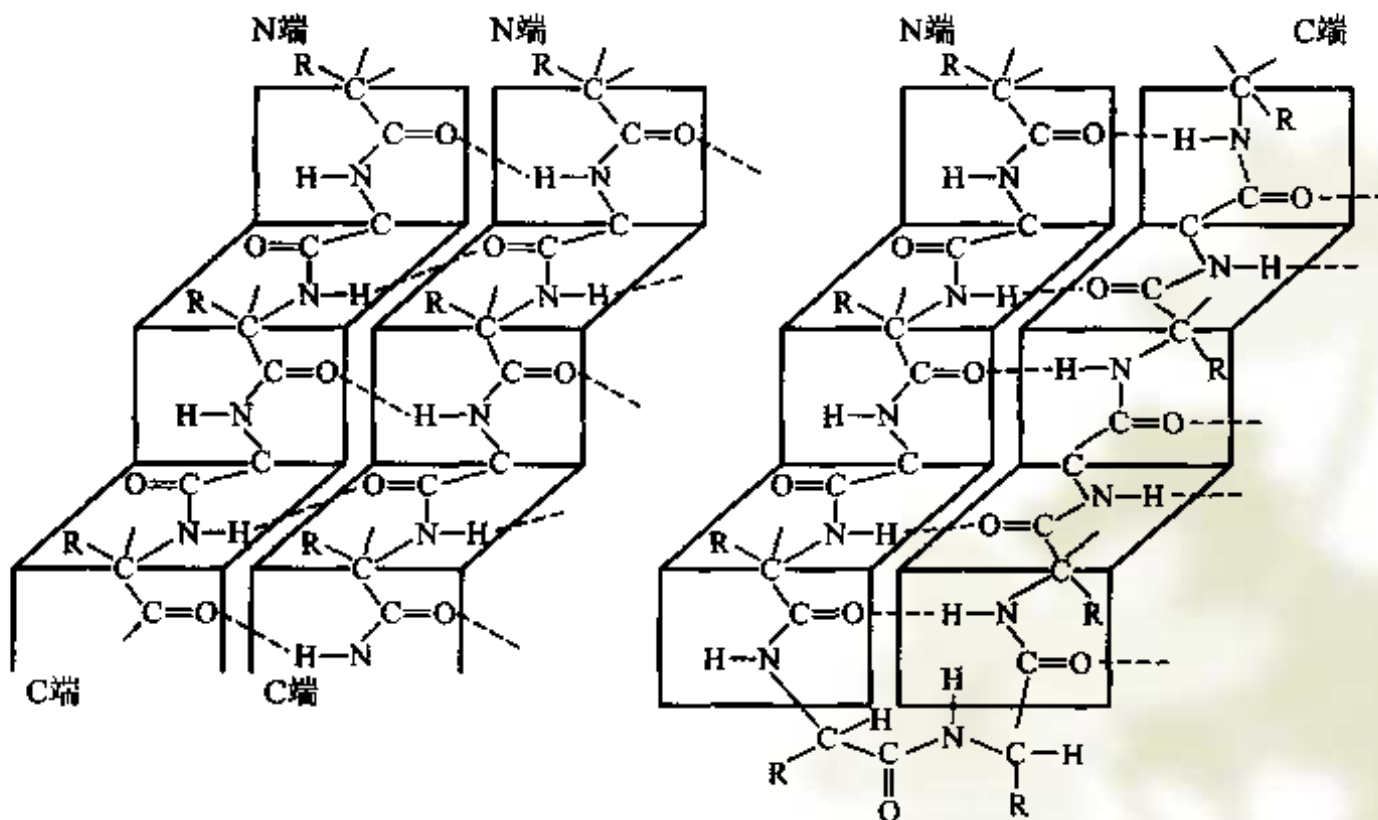
蛋白质的右手 α -螺旋结构

在纤维状蛋白的多肽链几乎都为 α -螺旋结构。

2、 β -折叠层

也称 β -折叠或 β -折叠片。是主链骨架充分伸展的结构。

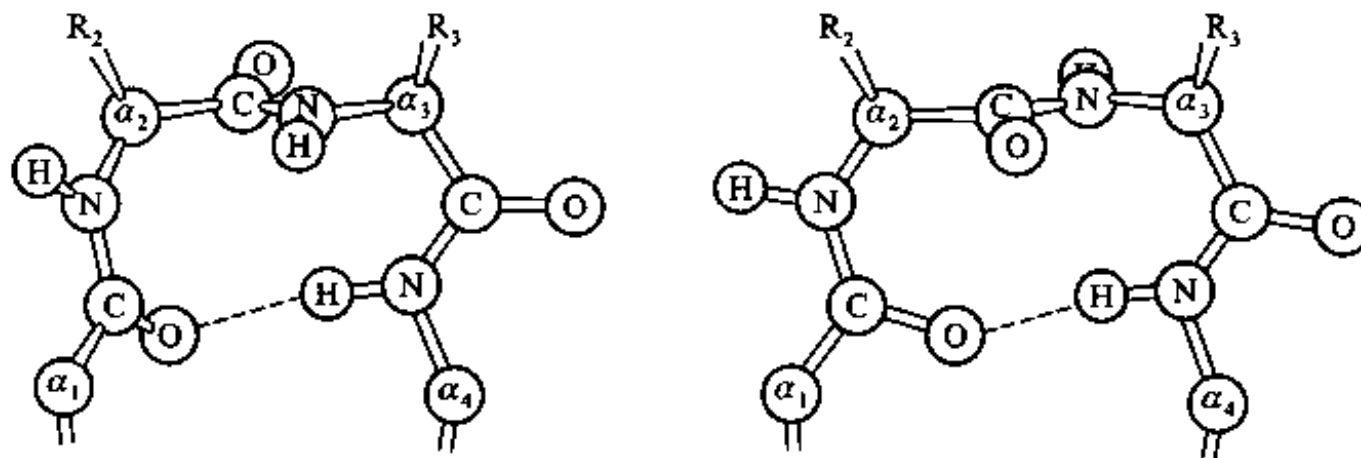
两条或多条或一条肽链内的多肽链侧向聚集在一起，相邻肽链上的-NH 和 C=O 之间形成有规律的氢键。 β -折叠分为两种类型：顺向平行，即N \rightarrow C、N \rightarrow C；逆向平行，即N \rightarrow C、C \rightarrow N。



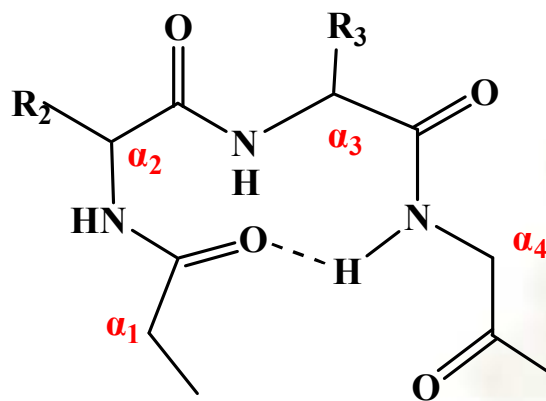
蛋白质的 β -折叠层结构

3、 β -转角

也称回折，或 β -弯曲。它由4个氨基酸残基构成。由第一个氨基酸残基的 $>\text{C}=\text{O}$ 与第四个氨基酸残基的 $>\text{N}-\text{H}$ 之间形成氢键以维持构象。



β -转角的结构



γ -转角：由三个氨基酸残基构成的转角。

4、无规卷曲

没有确定规律性。

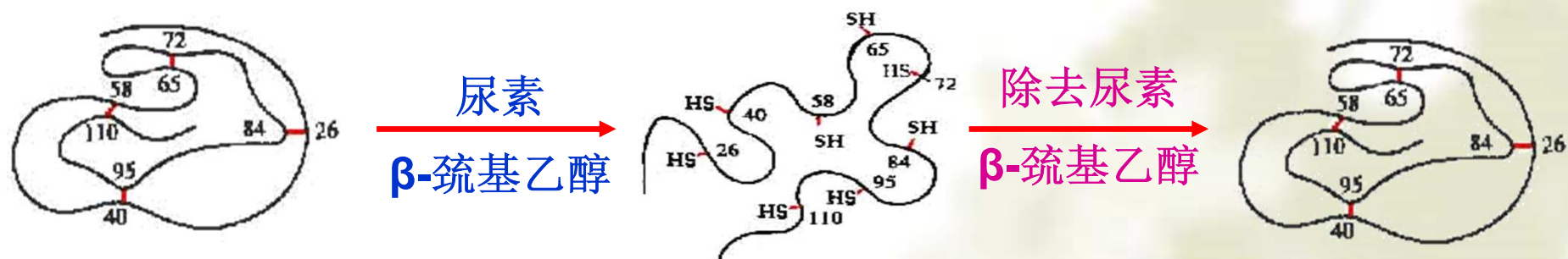
一般二级结构构象分布

α -螺旋：	34%
β -折叠层：	17%
β -转角：	33%

不同氨基酸具有形成某种构象的倾向。如，谷氨酸易形成 α -螺旋； 缬氨酸易形成 β -折叠层； 脯氨酸等常出现在 β -转角处。

蛋白质的二级结构是由氨基酸的顺序决定的。

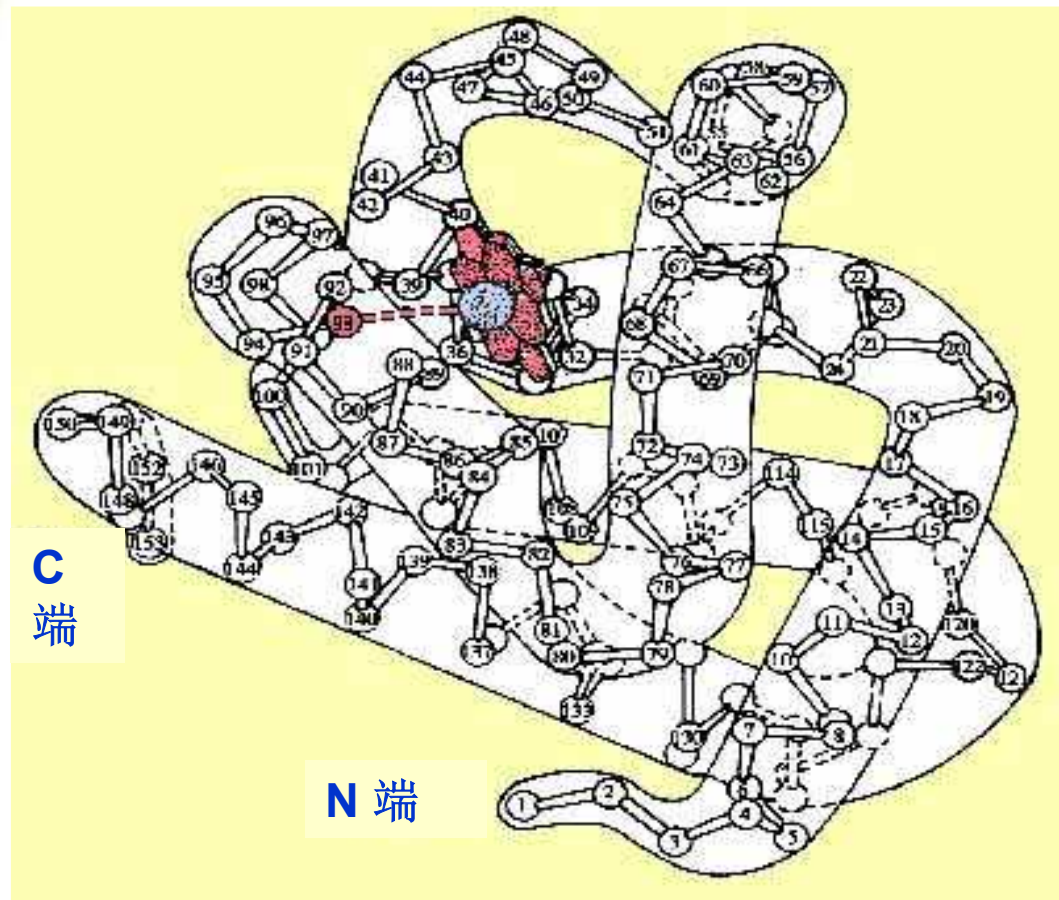
1961年Anfinsen的经典实验获1972年Nobel化学奖。



牛胰核糖核酸酶一级结构与空间结构的关系

四、蛋白质的三级结构

是指蛋白质分子(主要指球状蛋白)分子在二级结构基础上进一步盘旋折叠而构成的一种特定的、更复杂的空间结构。即，整条肽链中全部氨基酸残基的相对空间位置。



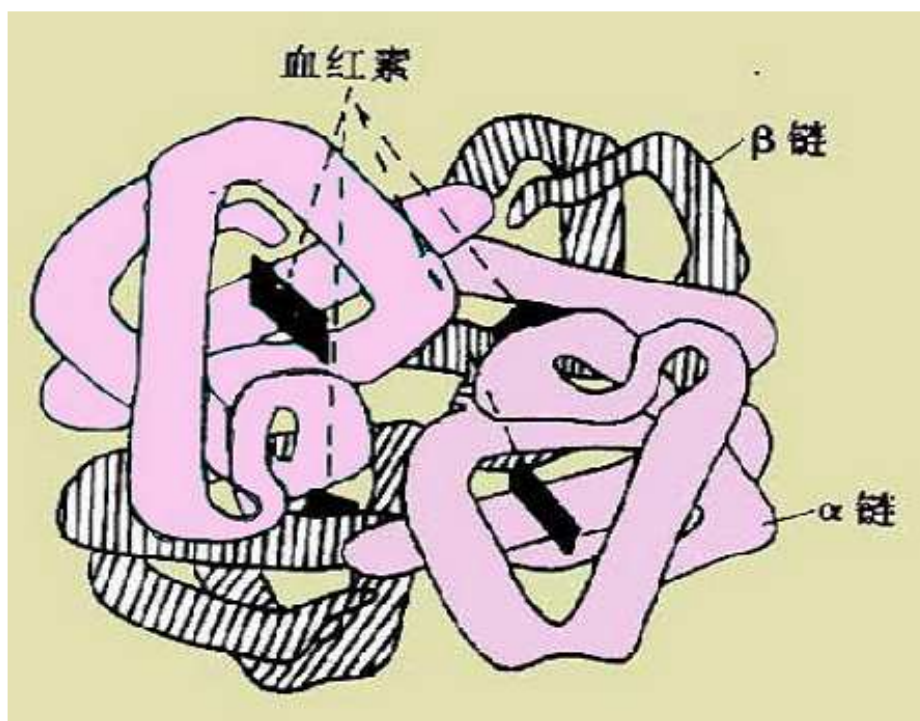
由153个氨基酸残基和一个血红素辅基构成。

肌红蛋白 (Mb)的三级结构

五、蛋白质的四级结构

有些蛋白质分子含有二条或多条多肽链，每一条多肽链都有完整的三级结构，称为蛋白质的**亚基 (subunit)**。

蛋白质分子中各亚基的空间排布及亚基接触部位的布局 and 相互作用，称为**蛋白质的四级结构**。



由四个亚基组成：两个 α 链、两个 β 链。空腔中容纳四个血红素辅基。

血红蛋白的四级结构

亚基之间的结合力主要是疏水作用，其次是氢键和离子键。



蛋白质的结构极其复杂，具有明显的结构层次。

一级结构（多肽链上的氨基酸排列顺序）

二级结构（多肽链主链骨架的局部空间结构）

三级结构（整个多肽链上所有原子的空间排布）

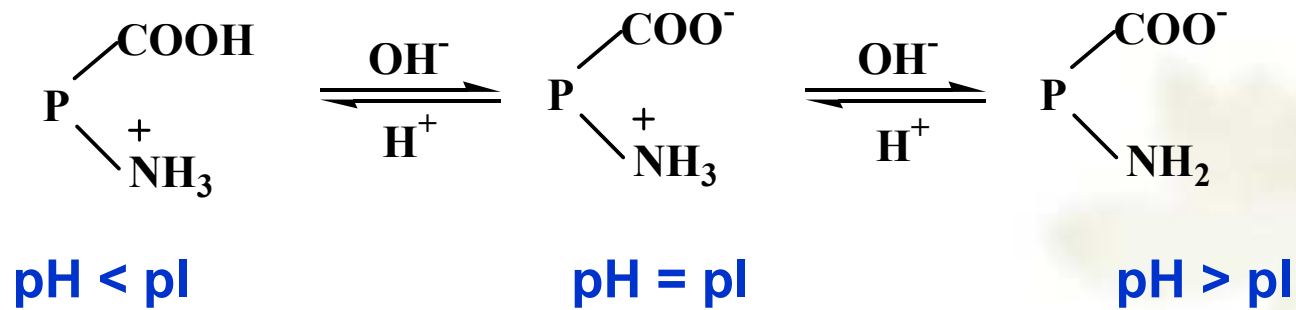
四级结构（由球状亚基或分子缔和而成的集合体）

15.3.3 蛋白质的理化性质

蛋白质的分子组成和结构决定了蛋白质的性质。

一、蛋白质的两性和等电点

蛋白质分子除两端的氨基和羧基可解离外，氨基酸残基侧链中某些基团，在一定的溶液pH条件下都可解离成带负电荷或正电荷的基团。



当蛋白质溶液处于某一pH时，蛋白质解离成正、负离子的趋势相等，即净电荷为零，此时溶液的pH为蛋白质的等电点。

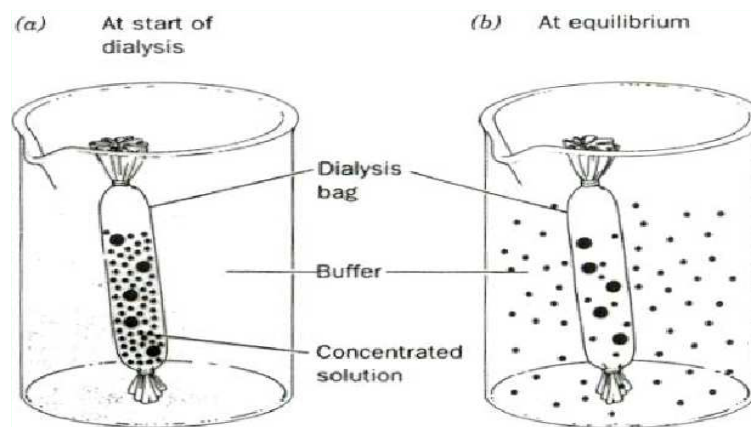
不同的蛋白质都有特定的等电点。

在等电状态时，蛋白质颗粒易聚积而沉淀析出，此时蛋白质的溶解度、粘度、渗透压、膨胀性等都最小。

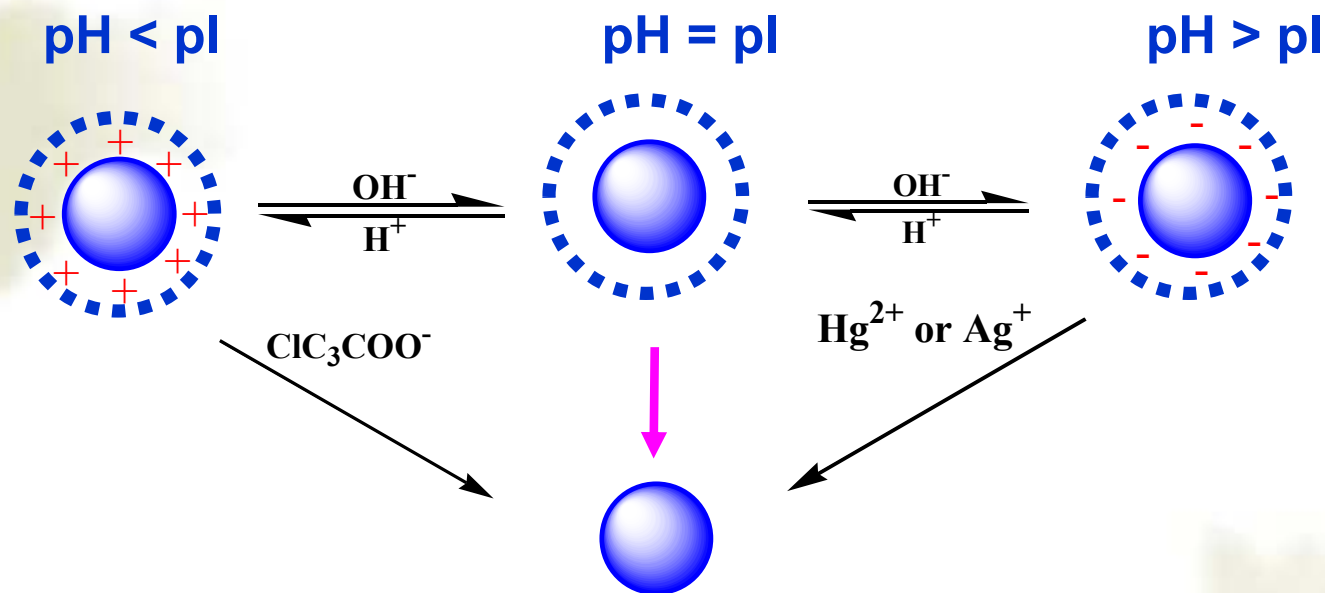
二、蛋白质的胶体性质

蛋白质属于生物大分子之一，分子量可自**1万**至**100万**之巨，其分子的直径可达**1~100nm**，为胶粒范围之内。

- 布朗运动
- 电泳现象
- 不能透过半透膜
- ...



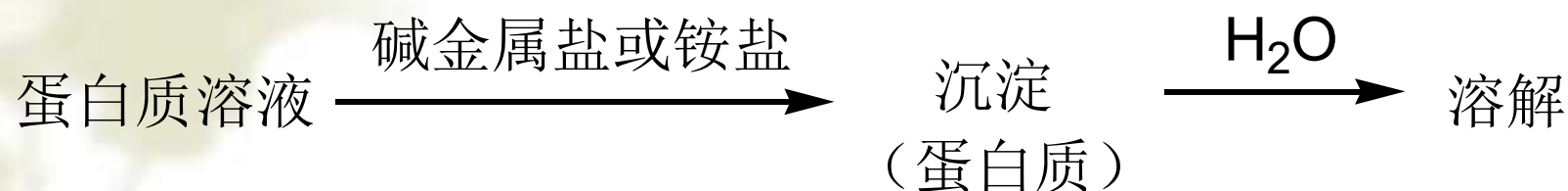
三、蛋白质的沉淀



蛋白质胶体的结构和沉淀示意图

沉淀方法 {
盐析
有机溶剂沉淀
重金属沉淀
某些酸类沉淀
} 破坏水化层

① 盐析法 ———— 可逆沉淀



② 重金属法 ———— 不可逆沉淀

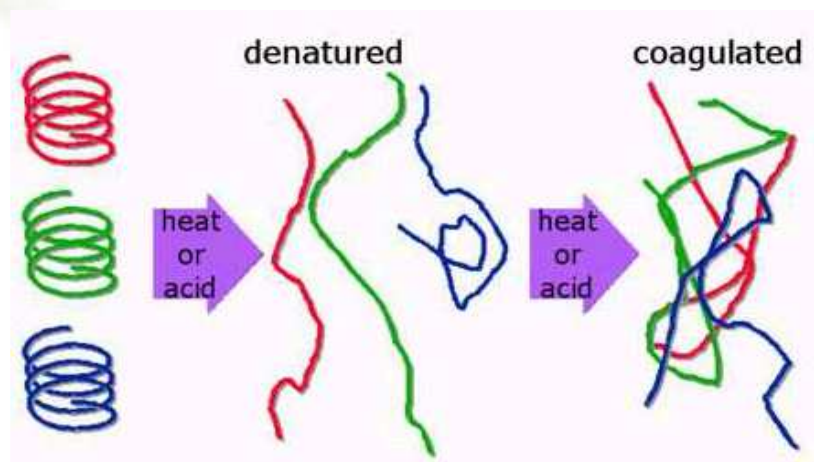
蛋白质与重金属盐作用，则发生不可逆沉淀。

③ 脱水剂

在蛋白质溶液中加入有机溶剂（如丙酮、乙醇等）则发生不可逆沉淀。

四、蛋白质的变性

因物理因素或化学因素的作用，使蛋白质的性质改变，生物活性丧失的现象——蛋白质变性。



破坏了副键（改变了空间结构）。

蛋白质变性示意图

变性的可能结果 { 物理性质改变
化学性质改变
生物活性改变（失活）

变性的分类 { 可逆变性
不可逆变性

此性质应用于消毒和蛋白质的活性保持。

变性条件：

物理因素： 干燥、加热、高压、振荡或搅拌、紫外线、X射线、超声等等。

化学因素： 强酸、强碱、尿素、重金属盐、生物碱试剂（三氯乙酸、乙醇等等）。

变性后的特点：

- ① 丧失生物活性
- ② 溶解度降低
- ③ 易被水解（对水解酶的抵抗力减弱）。

5、显色反应

① 与水合茚三酮反应：呈现蓝紫色（和氨基酸一样）。

② 缩二脲反应：蛋白质和缩二脲在NaOH溶液中加入 CuSO_4 稀溶液时会呈现红紫色。

③ 黄蛋白反应：蛋白质中含有苯环的氨基酸，遇浓硝酸发生硝化反应而生成黄色硝基化合物的反应称为蛋白黄反应。

④ 米勒反应：蛋白质中酪氨酸的酚羟基遇到硝酸汞的硝酸溶液后变红色。

