

第二十章

氨基酸、多肽、蛋白质、酶和核酸

本章提纲

第一节 氨基酸的结构、名称及物理性质

第二节 氨基酸的性质

第三节 氨基酸的合成

第四节 多肽的定义、命名和结构

第五节 多肽的合成

第六节 多肽结构的测定

第七节 蛋白质的结构和特性

第八节 酶

第九节 核酸

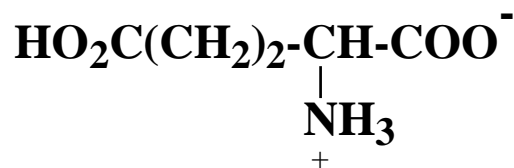
第一节 氨基酸的结构、名称和物性

蛋白质、碳水化合物、脂肪(甘油醇的脂肪酸酯)是人所需营养中的三种要素。

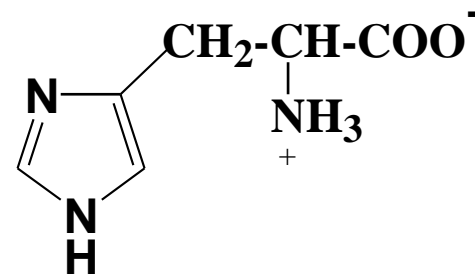
一 定义

羧酸分子中烃基上的一个或几个氢原子被氨基取代的化合物叫氨基酸。

分子中含有氨基和羧基两种官能团。



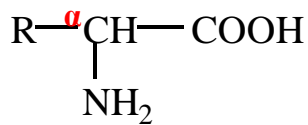
谷氨酸



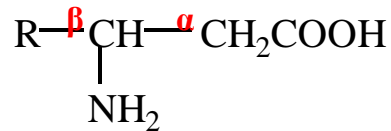
组氨酸

二 分类

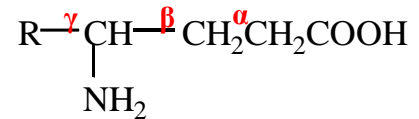
•按氨基与羧基相对位置分： α -氨基酸， β -氨基酸， γ -氨基酸...



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。

•按氨基与羧基的数目来分：中性、酸性、碱性

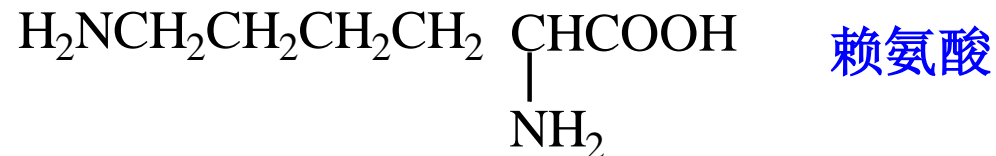
1. 中性氨基酸：

分子中—NH₂和—COOH的数目相等。如：



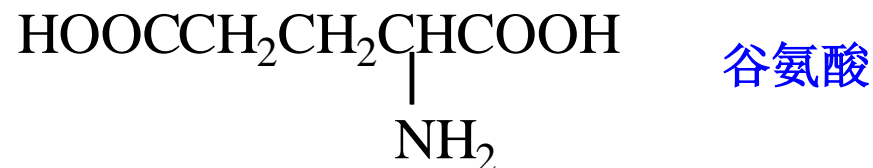
2. 碱性氨基酸：

分子中—NH₂数目 > —COOH数目。如：



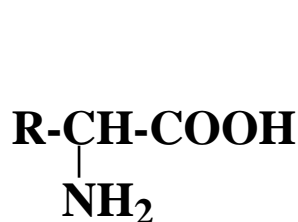
3. 酸性氨基酸：

分子中—COOH数目 > —NH₂数目。如：

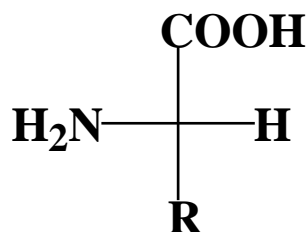


三 氨基酸的构型和存在形式

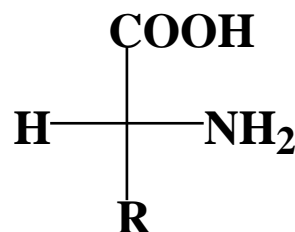
构型（用D、L表示）



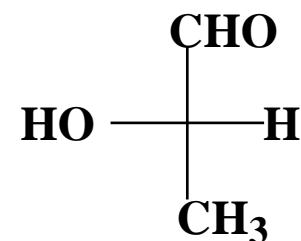
α -氨基酸



L型 α -氨基酸



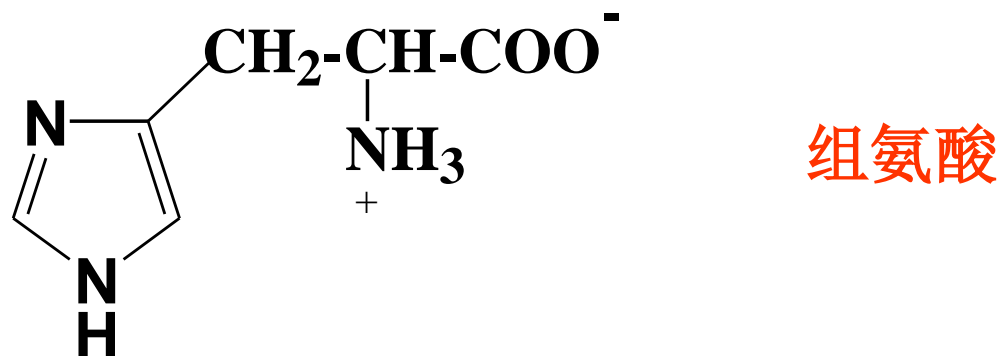
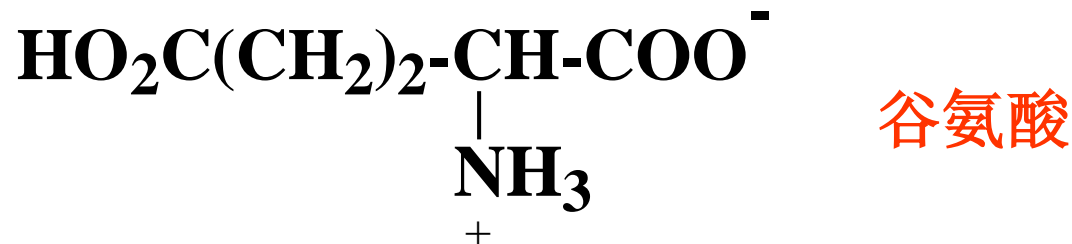
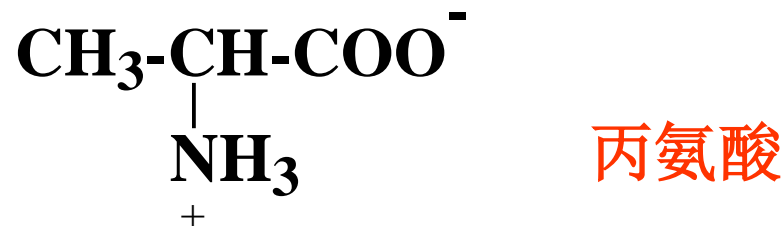
D型 α -氨基酸



L-甘油醛

除甘氨酸，天然 α -氨基酸都是有旋光的，而且都是L型的。

存在形式：氨基酸都以**偶极离子**形式存在。



四 名称和物理性质

名 称

氨基酸的 α -碳（除甘氨酸外）都是手性碳原子。

其构型的表示方法与糖一样，用D或L表示。

每个氨基酸都有俗名，并都用一个缩写符号表示。

物 理 性 质

大部分氨基酸在水中有一定的溶解度；

酸性氨基酸在水中的溶解度较差；

氨基酸在200度以下是稳定的；

每一个光学纯氨基酸都有旋光值。

五 八个必需氨基酸

蛋白质 $\xrightarrow{\text{酶水解}}$ α -氨基酸 (约20多种, P588 表20.1)

这20多种 α -氨基酸中, 其中有**八种是人体必需的氨基酸** (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



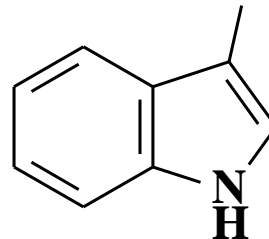
苯丙氨酸



蛋氨酸



赖氨酸

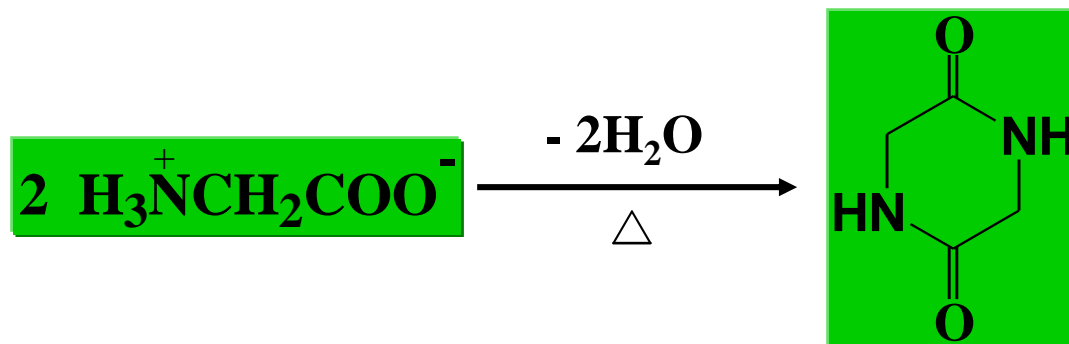


色氨酸

第二节 氨基酸的性质

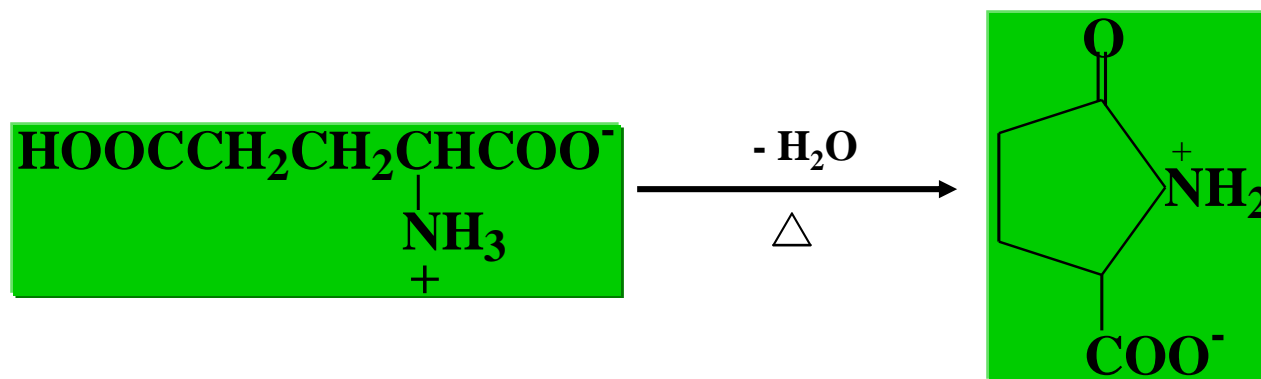
- 一 等电点
- 二 与茚三酮反应
- 三 氨基酸金属盐络合物的形成

总述：具有胺和羧酸的共性。例如形成酰胺



2分子甘氨酸

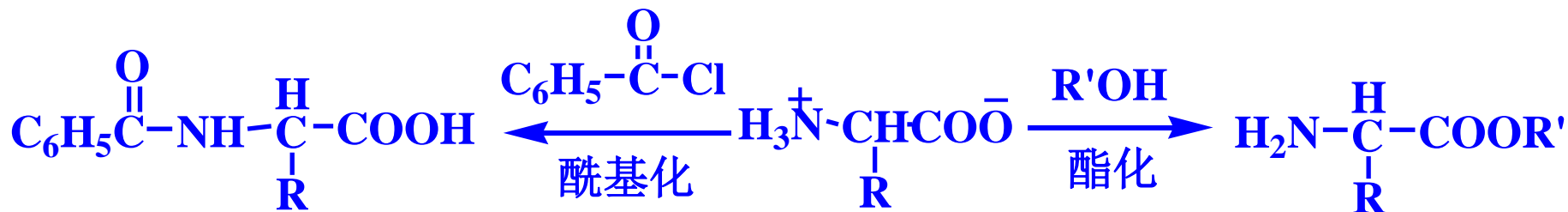
2,5-二嗪哌酮



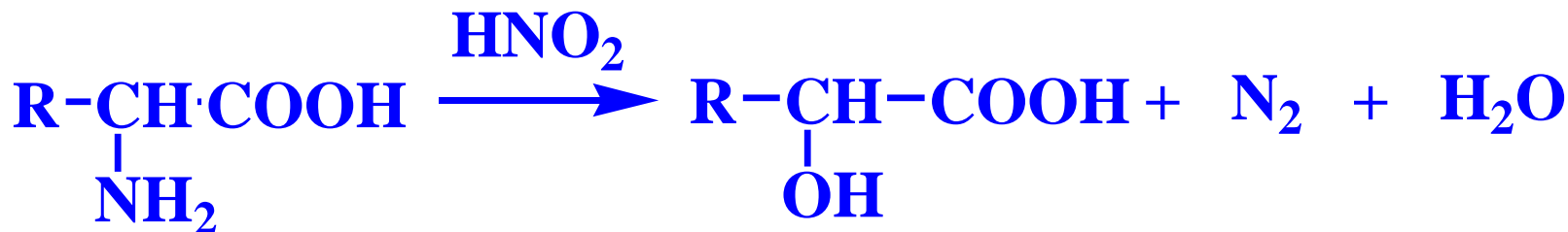
谷氨酸

焦谷氨酸

可以分别起氨基和酸基的反应：

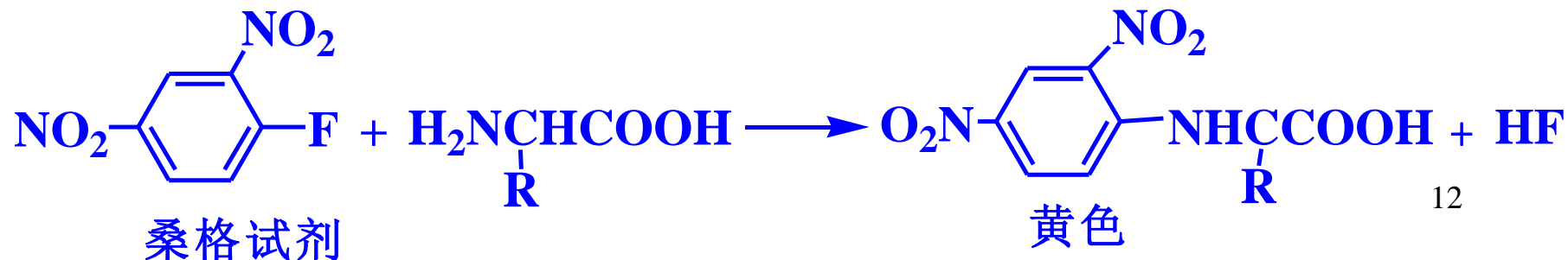


与亚硝酸的反应



定量分析伯氨基

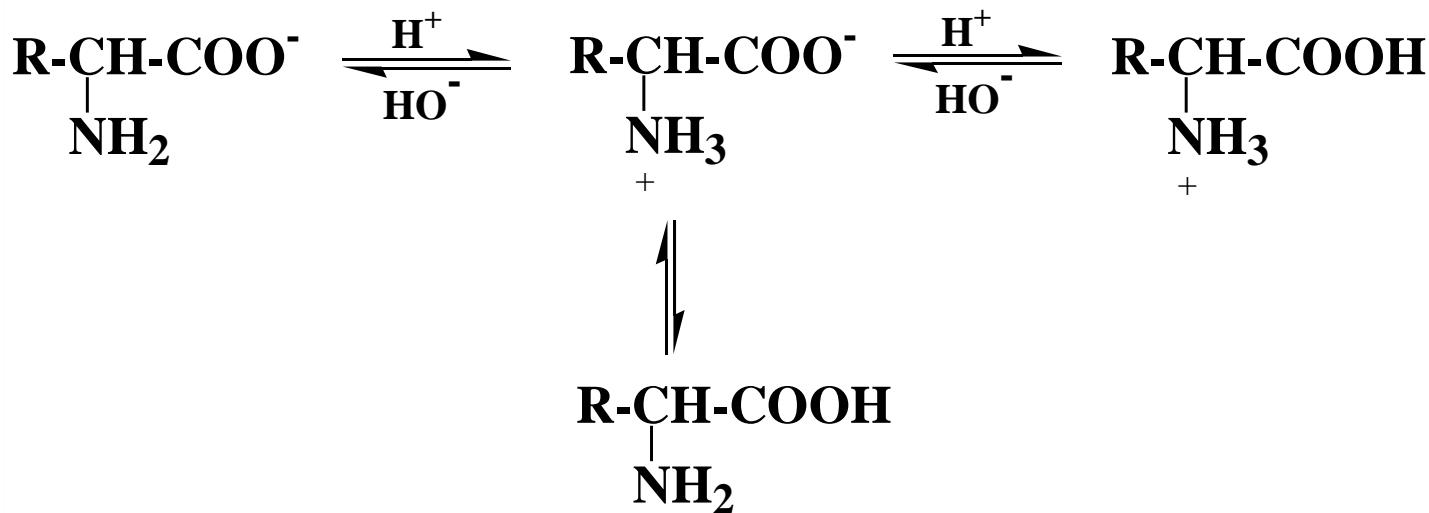
与Sanger's试剂的反应



氨基酸的特殊性质

一 等电点

一个氨基酸在某pH值下，正、负离子浓度相等，此时向阳极移动和向阴极移动的离子彼此抵消(即无净迁移)，或者电场中不显示离子迁移，此时的pH值称为该**氨基酸的等电点**。



等电点时，以两性离子形式存在的氨基酸浓度最大（在水溶液中），而此时氨基酸的溶解度最小，可以结晶析出。

不同的氨基酸有不同的等电点，可以通过测定氨基酸的等电点来鉴别氨基酸。

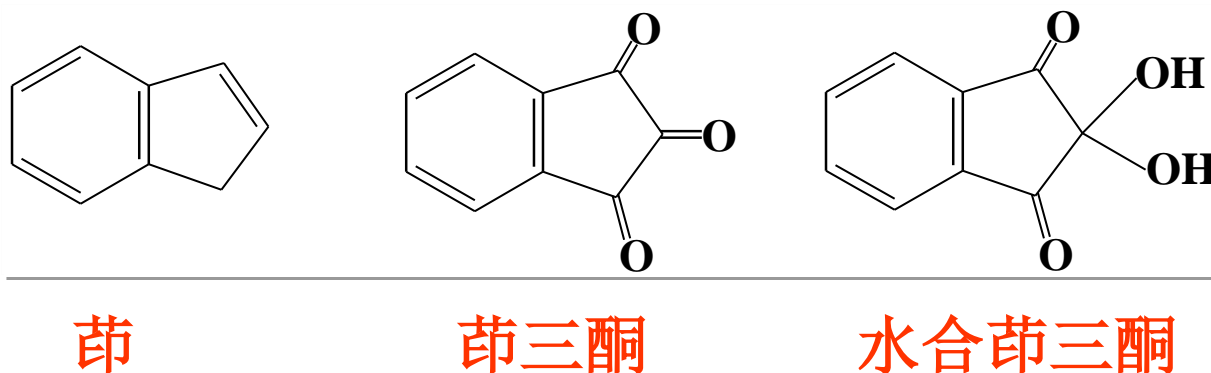


中性氨基酸的等电点： $\text{pH}=6.2\sim 6.8$

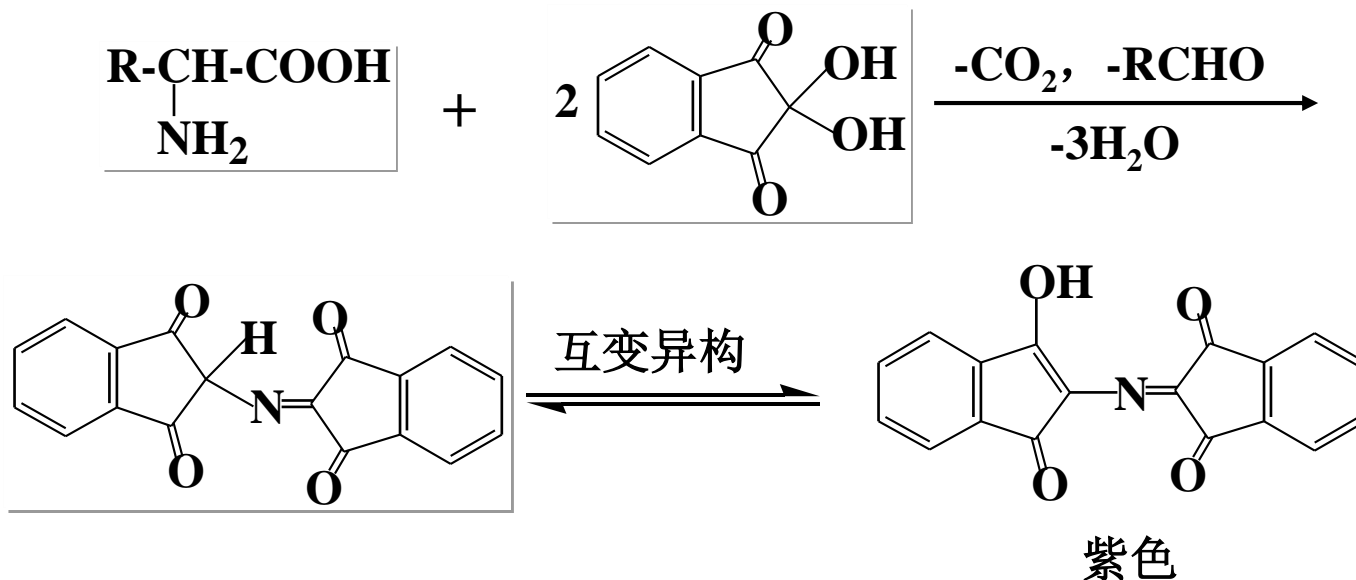
酸性氨基酸的等电点： $\text{pH}=2.8\sim 3.2$

碱性氨基酸的等电点： $\text{pH}=7.6\sim 10.8$

二 与茛三酮的反应

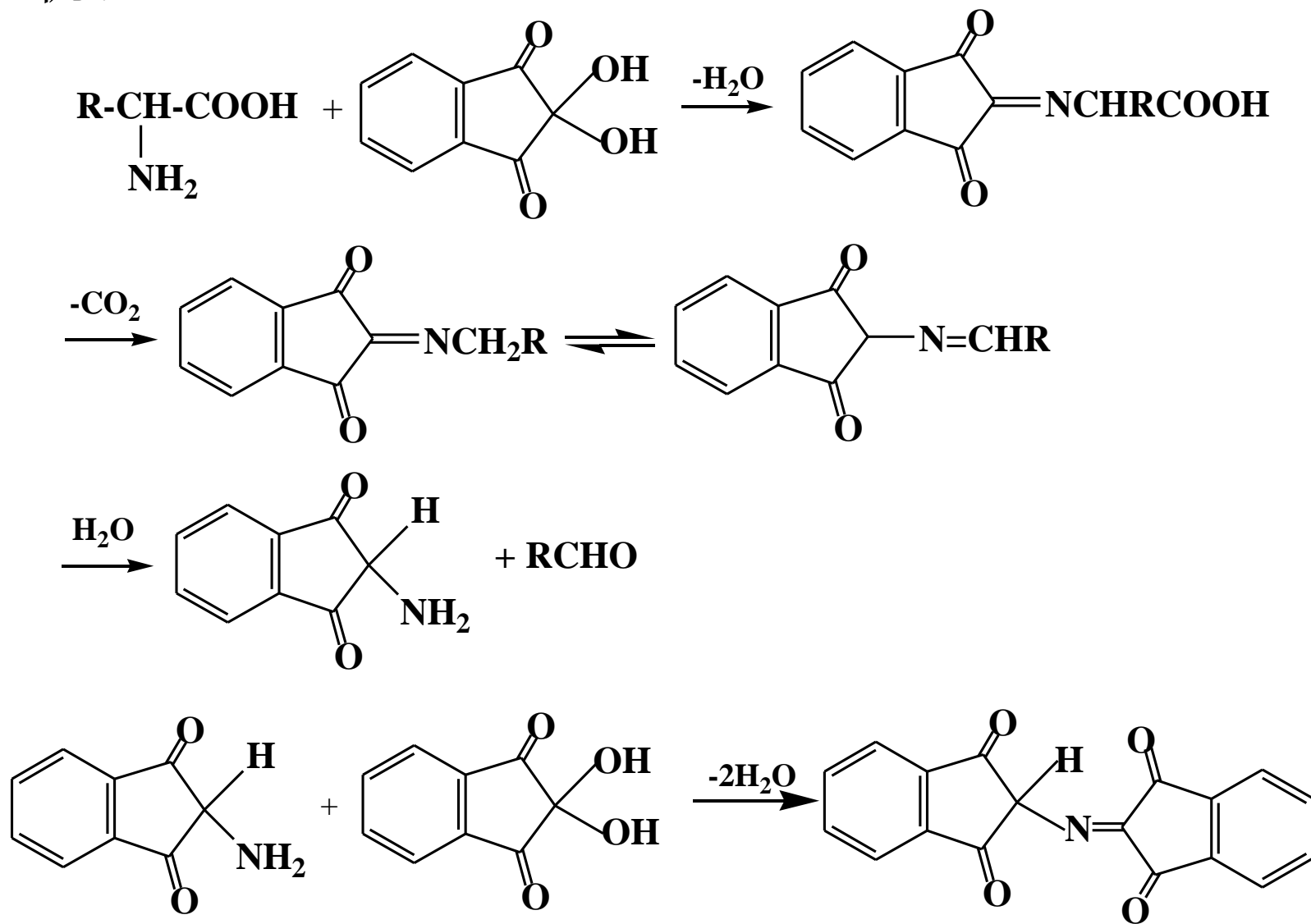


凡是有游离氨基的氨基酸都可以和茛三酮发生呈紫色的反应。

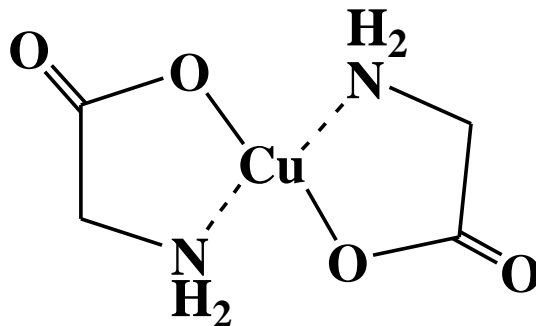


用于 α -氨基酸的比色测定和纸层析显色¹⁵

机理:



三 氨基酸金属盐络合物的形成



金属上有空轨道，N上有未共用电子对！

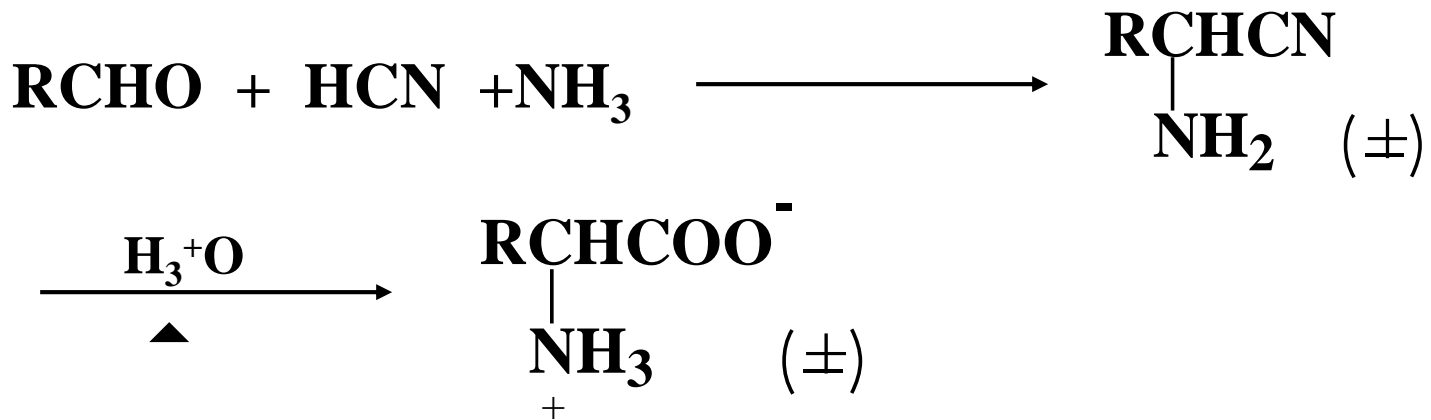
氨基酸金属盐络合物具有很好的结晶形状, 该反应可用来沉淀和鉴别某些氨基酸。

第三节 氨基酸的合成

- 一 斯瑞克合成法--醛的氨氰化法
- 二 赫尔--乌尔哈--泽林斯基 α -溴化法
- 三 盖布瑞尔法
- 四 DL-氨基酸的拆分

氨基酸的来源： (1) 天然产物酸性水解
 (2) 微生物发酵法
 (3) 化学合成法

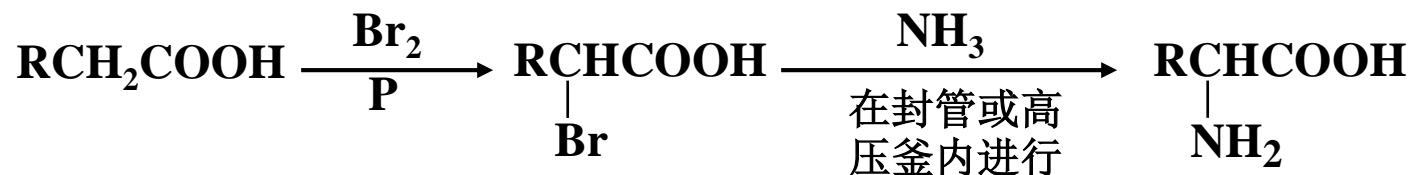
一 斯瑞克合成法--醛的氨氰化法



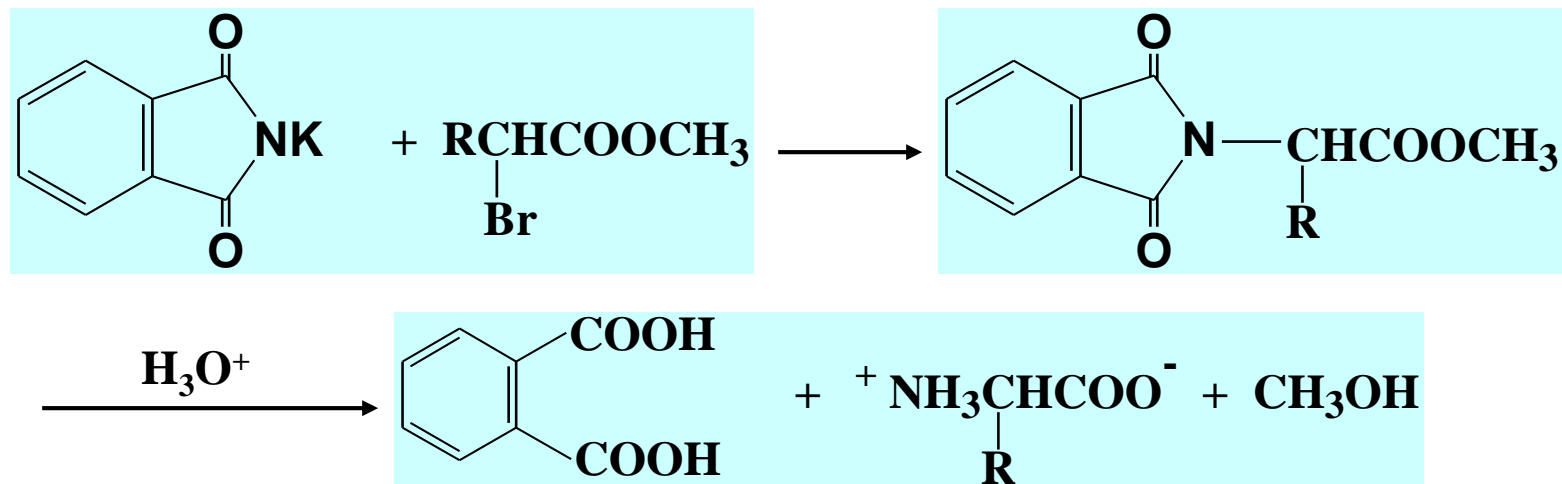
改进方法： 用 NH_4CN or $\text{NH}_4\text{Cl} + \text{KCN}$ 代替 $\text{HCN} + \text{NH}_3$

应用： 合成比原料醛多一个碳的氨基酸

二 赫尔--乌尔哈--泽林斯基 α -溴化法

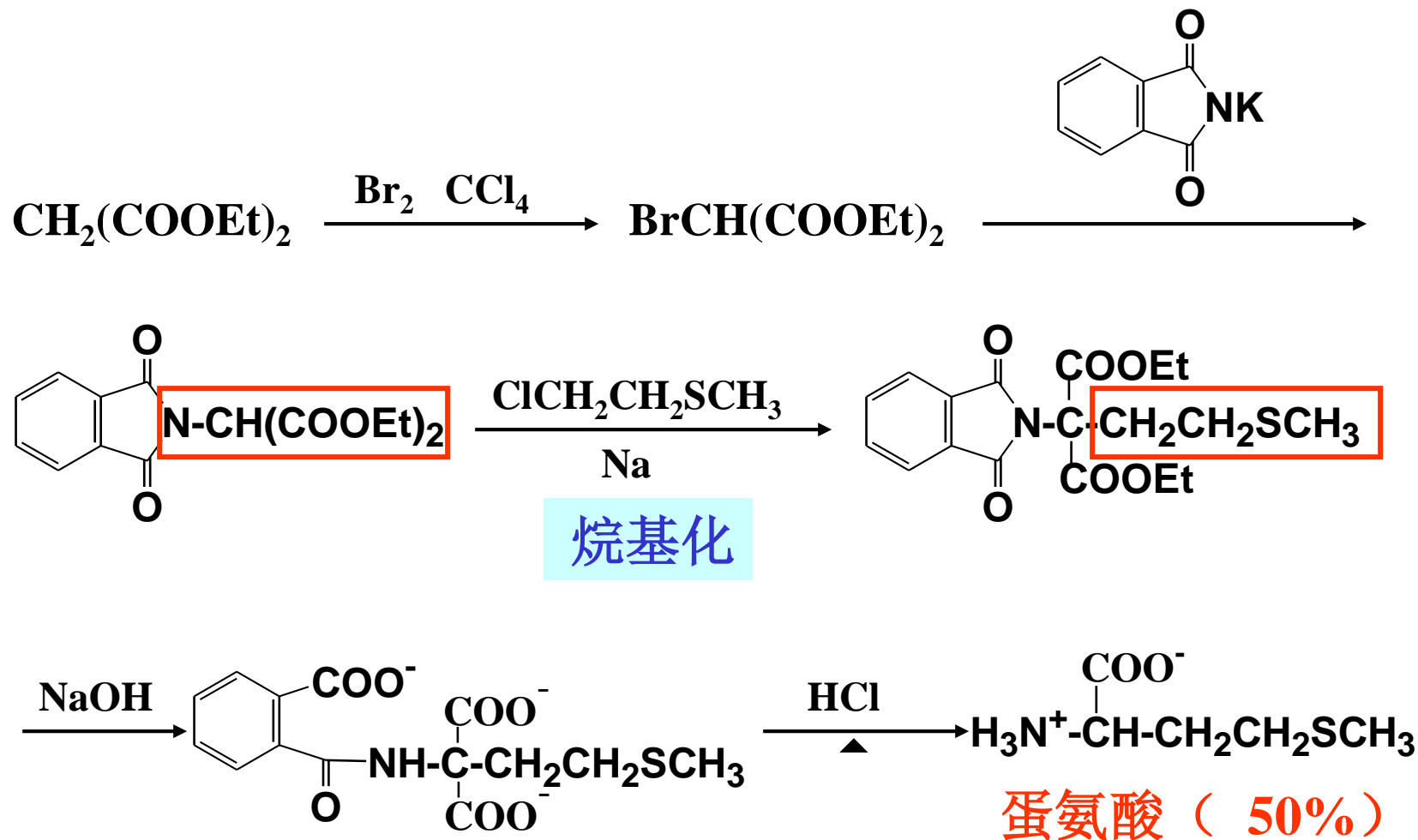


三 盖布瑞尔法

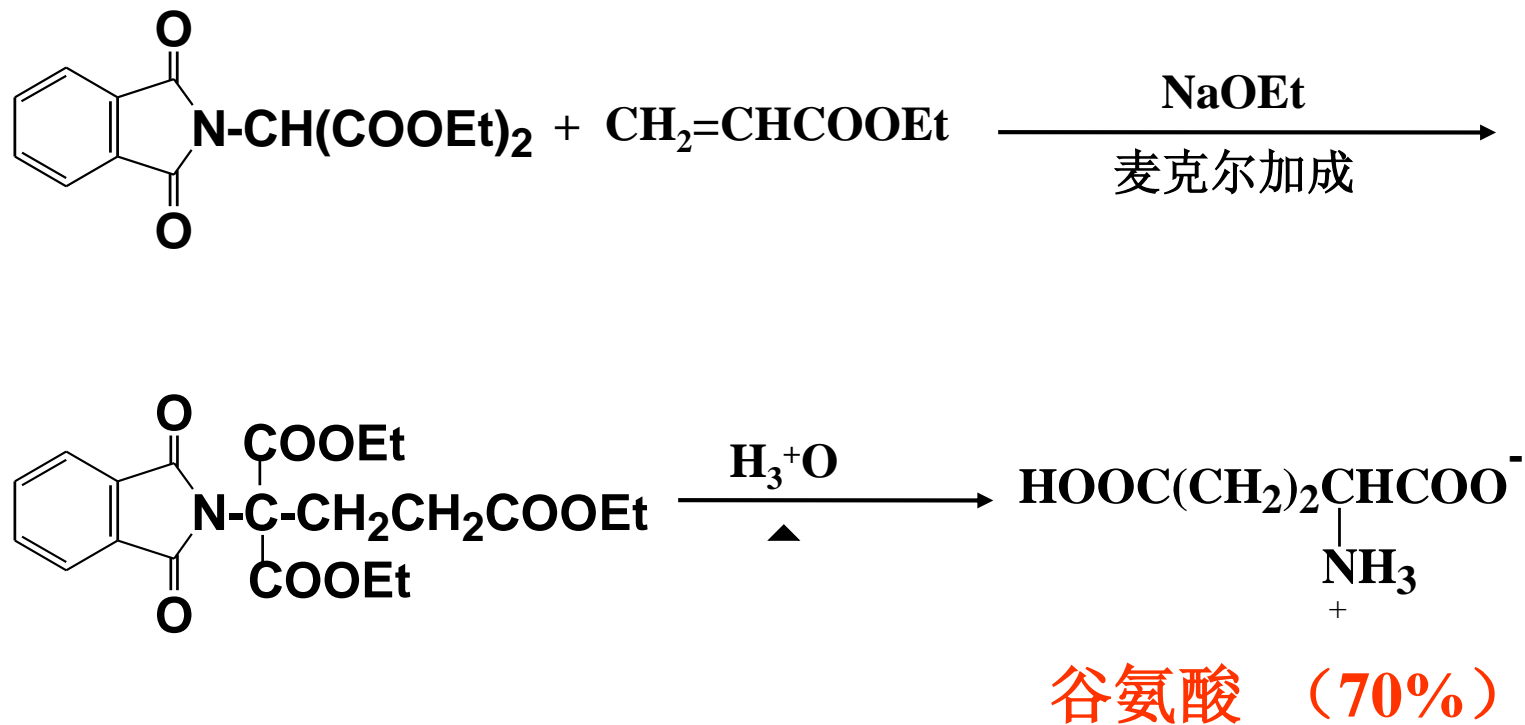


应用盖布瑞尔法可以制备很纯的氨基酸。

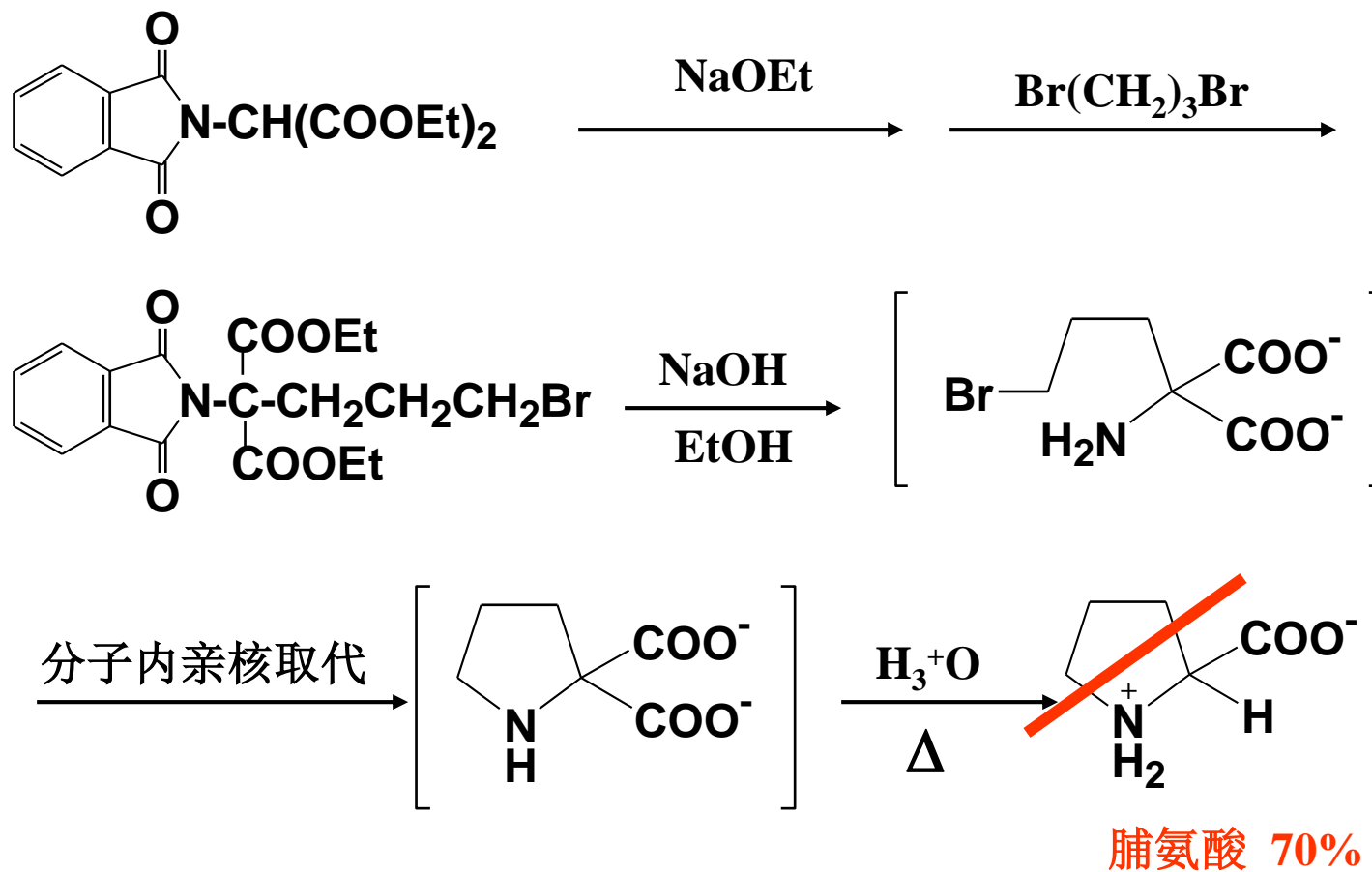
通过溴代丙二酸酯法



谷氨酸的合成



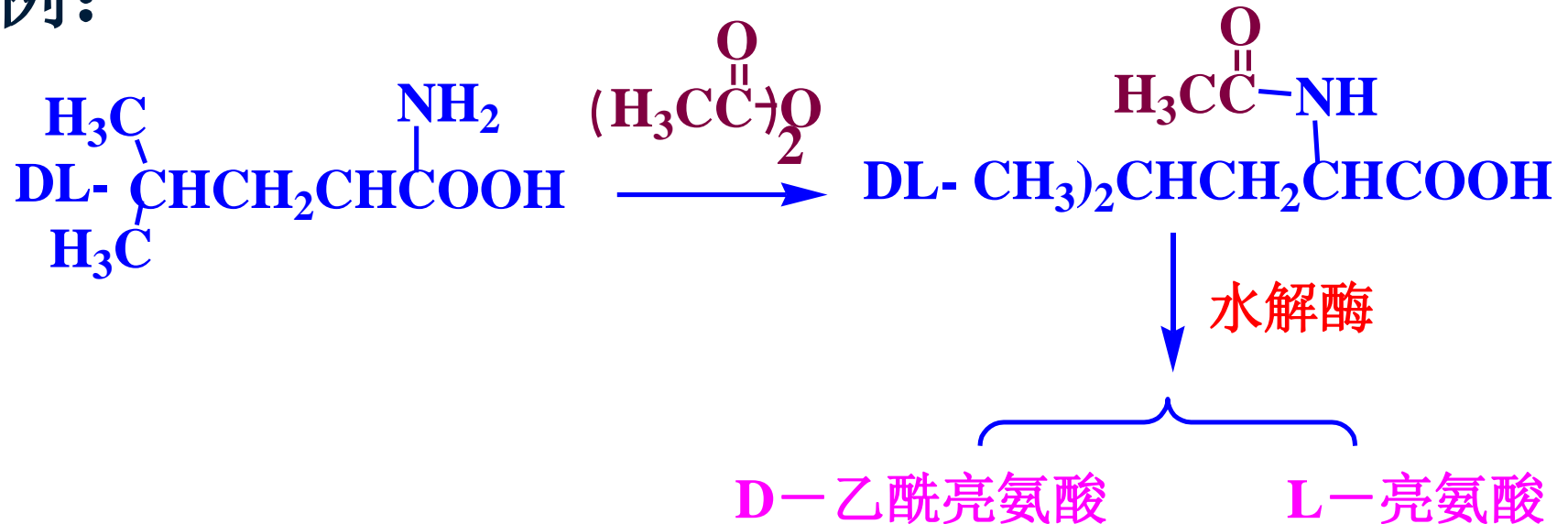
脯氨酸的合成



四、DL-氨基酸的拆分：

合成外消旋氨基酸，用酶拆分是重要的方法之一

例：



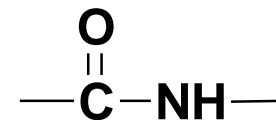
脱酰酶，它只能脱去L-乙酰氨基酸的乙酰基，结果L-氨基酸便容易与D-氨基酸分开。

第四节 多肽的定义、命名和结构

一 定义

一个氨基酸的羧基与另一个氨基酸的氨基通过失水反应，形成一个**酰氨键**，新生成的化合物称为**肽**，肽分子中的酰氨键叫**肽键**。二分子氨基酸失水形成的肽叫**二肽**，多个分子氨基酸失水形成的肽叫**多肽**。

氨基酸A的羧基与B的氨基缩合成酰胺:



2个氨基酸形成肽——二肽

3个氨基酸形成肽——三肽

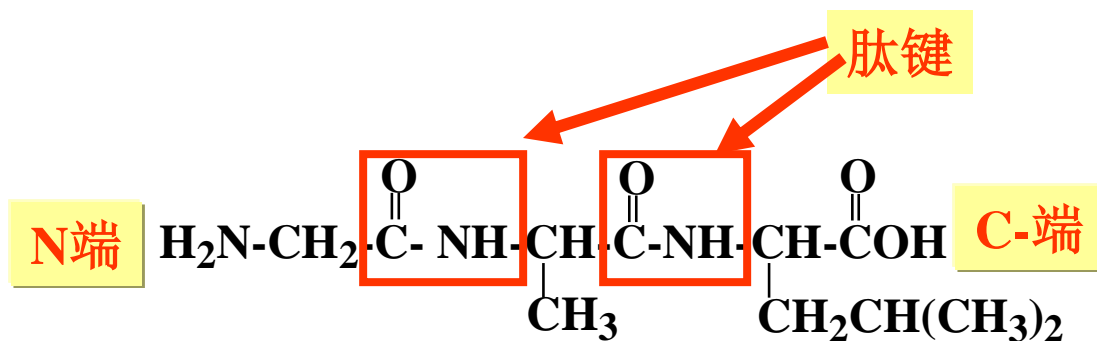
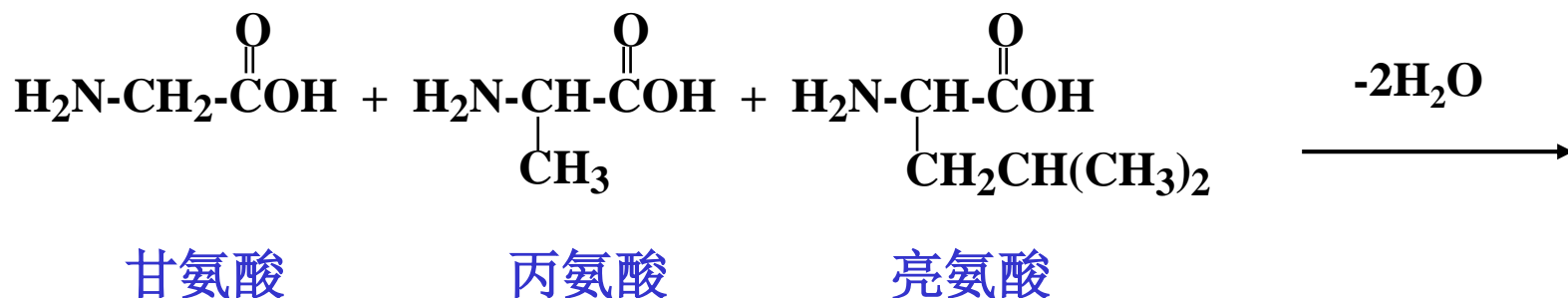
.....

分子量 < 10000---多肽

>10000---蛋白质

肽键

二 命名



产物三肽的名称为：甘氨酸-丙氨酸-亮氨酸

(甘-丙-亮) (Gly-Ala-Leu)

(N-端写在左侧, C-端写在右侧)

第五节 多肽的合成

一 氨基的保护

二 羧基的保护

三 侧链的保护

四 接肽方法

1 混合酸酐法

2 活泼酯法

3 碳二亚胺法

4 环酸酐法

5 固相接肽

要求:

- 氨基酸按一定次序连接
- 达到一定分子量
- 不外消旋化

氨基酸A和B: A-A, B-B, A-B, B-A

要得到A-B: 保护A的NH₂和B的COOH

多肽合成必须解决下面四个问题：

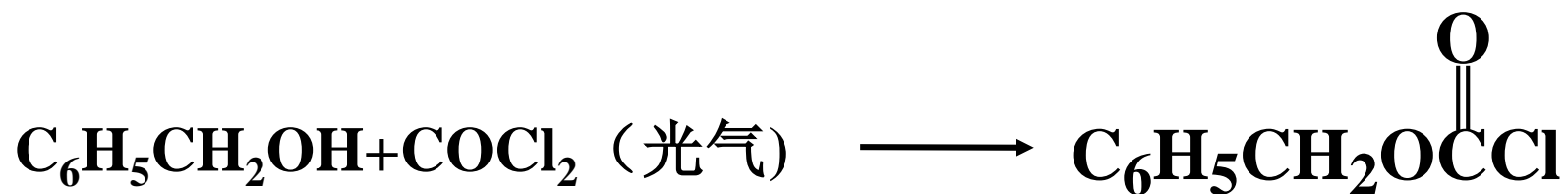
1. 氨基保护 2. 羧基保护 3. 侧链保护 4. 接肽方法

保护基必须具备的条件：

- (1) 易在预定的部位引入
- (2) 在某特定的条件下，保护基很易除去
- (3) 引入和除去保护基时，分子其它部位不受影响，特别是已接好的肽键。

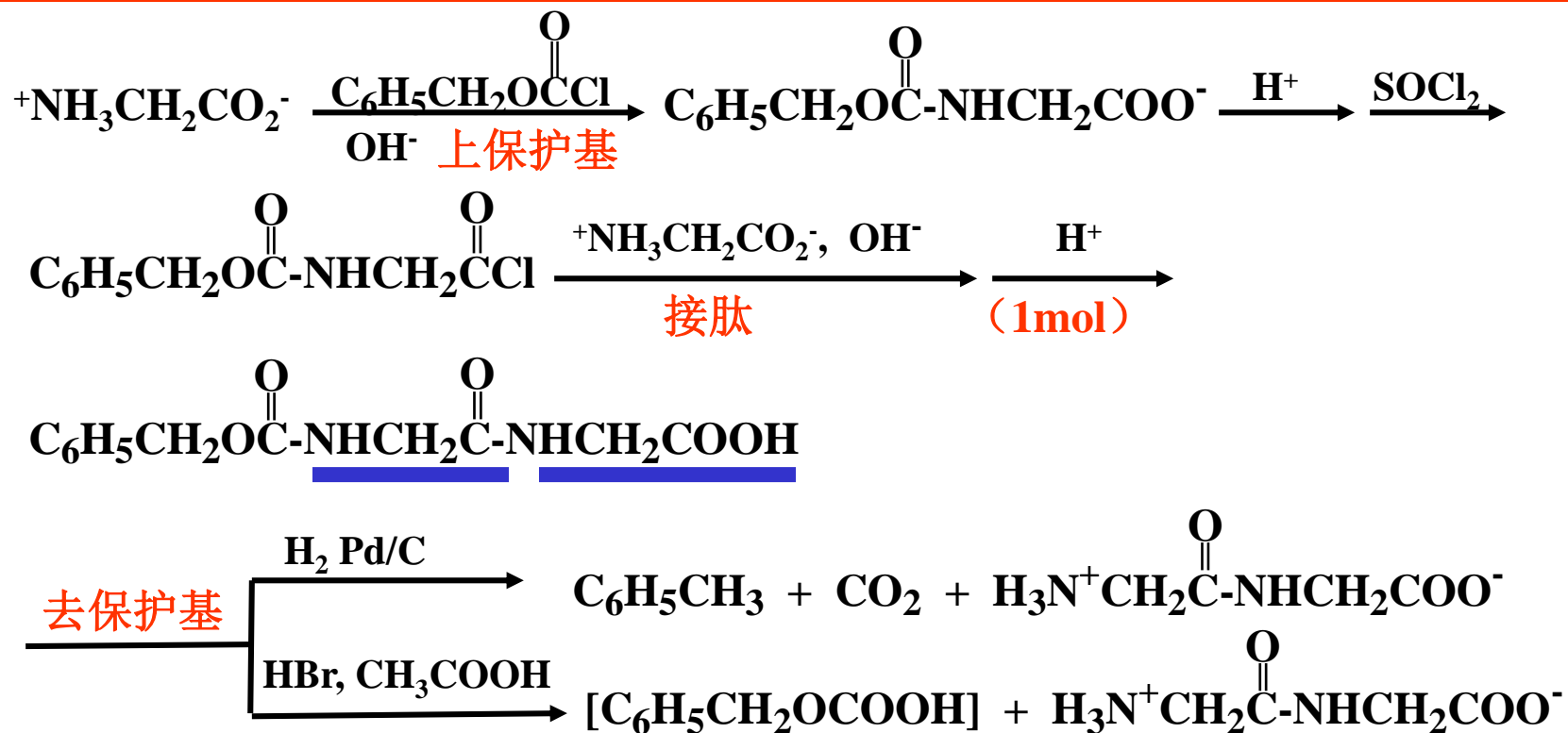
一 氨基的保护

1. 用氯代甲酸苯甲酯（或称苯甲氧基甲酰氯）保护

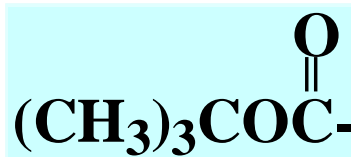
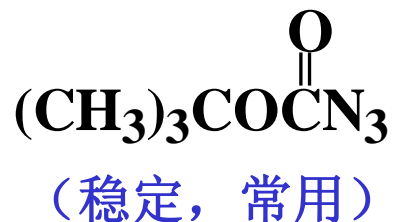


Benzoxycarbonyl (Cbz, 简写Z)

反应过程:

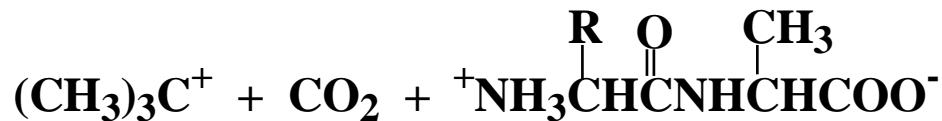
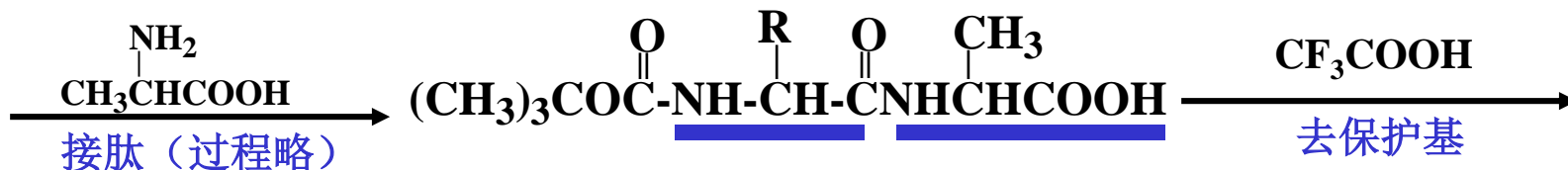
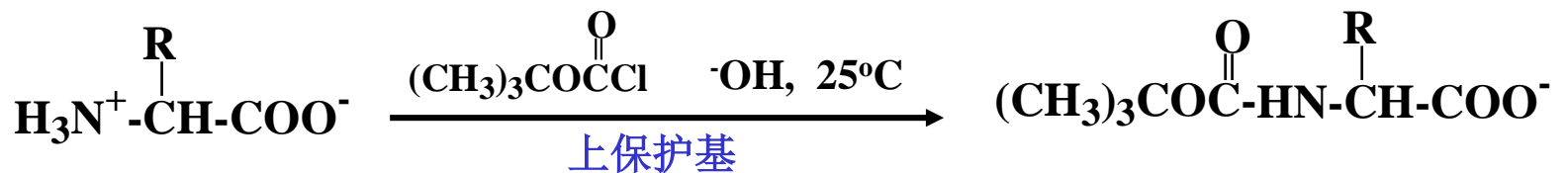


2 用氯代甲酸叔丁酯保护



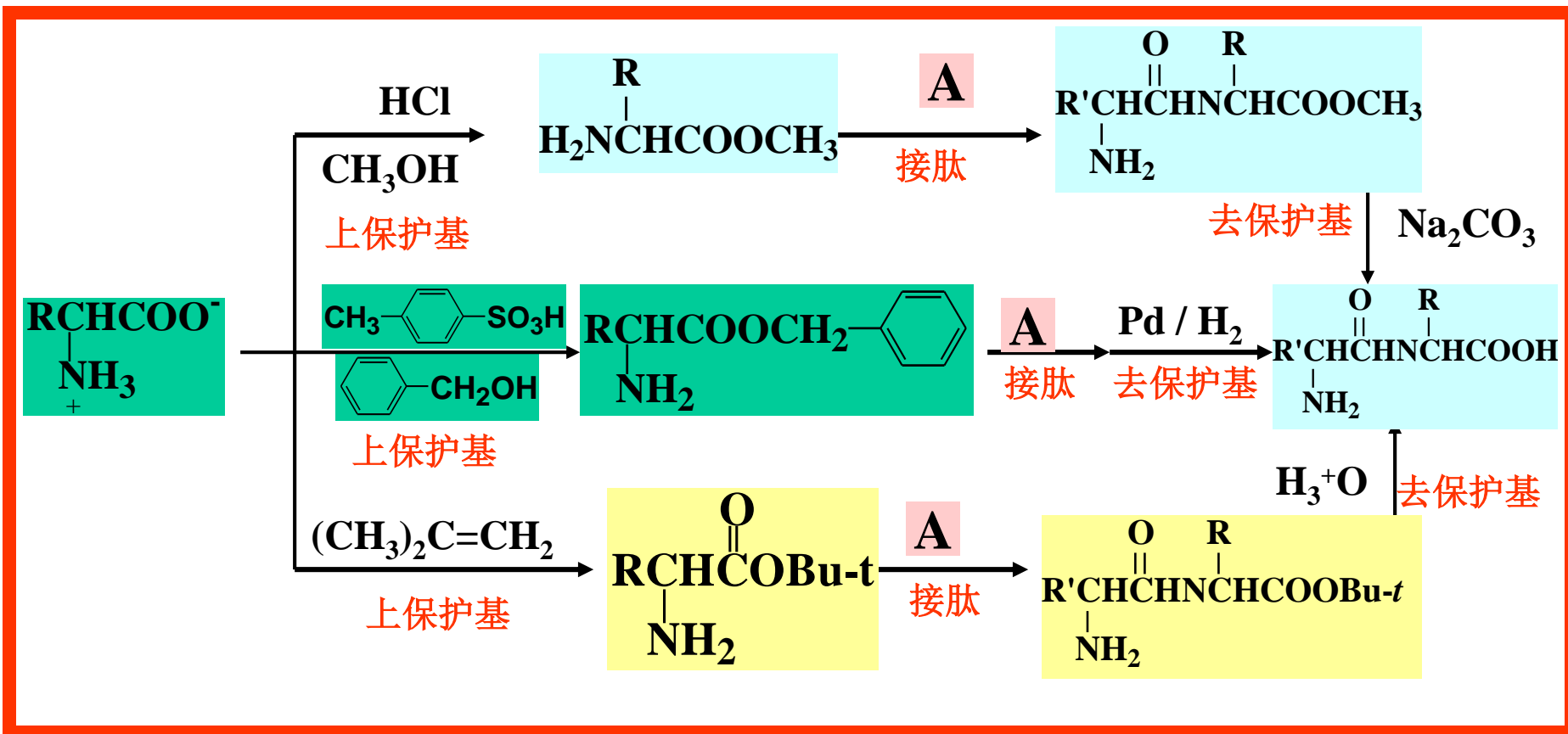
t-Butoxycarbonyl

简写Boc



- *1. 催化氢化和稀碱都不能除去**Boc**，通常用温和酸性水解法除去。
- *2. 若氨基酸中有多个氨基，在接肽前均需保护。
- *3. 用**Z**保护还是用**Boc**保护，视实际情况而定。

二 羧基的保护



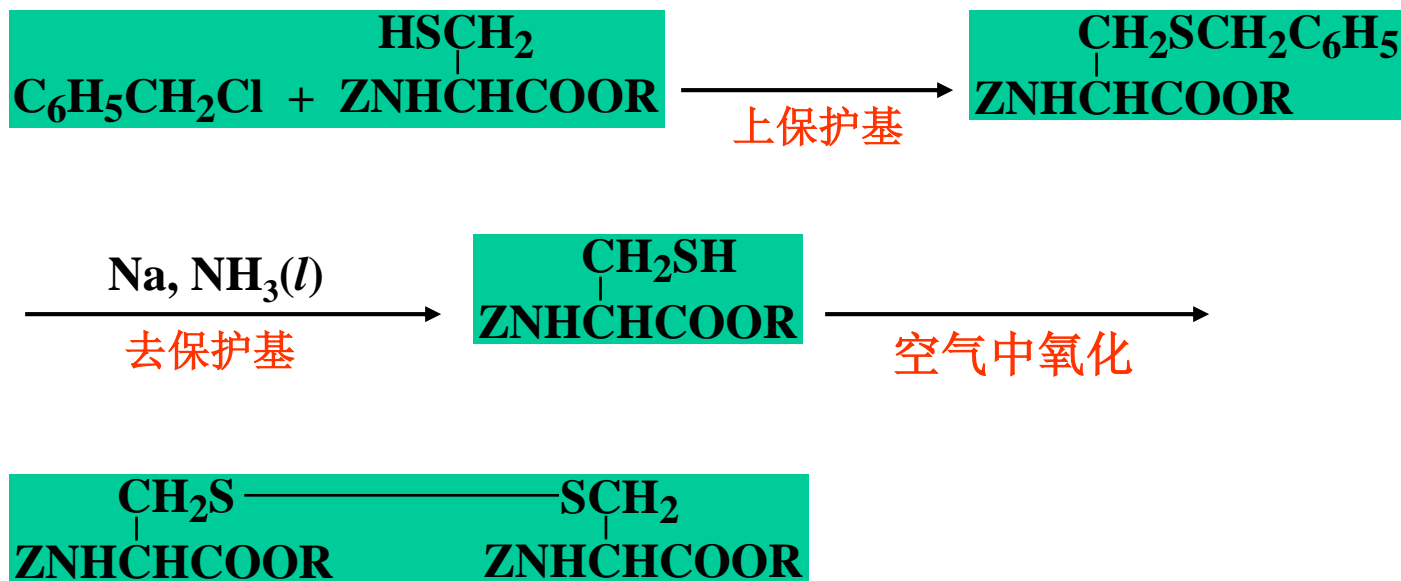
使用的酸为: CF_3COOH HBr / HOAc

A代表: $\text{R}'\text{CHCOOH}$
 NH_2

三 侧链的保护

当氨基酸的侧链带有某些官能团时，在合成多肽时，有时也需要加以保护，保护的方法，要视具体情况而定。

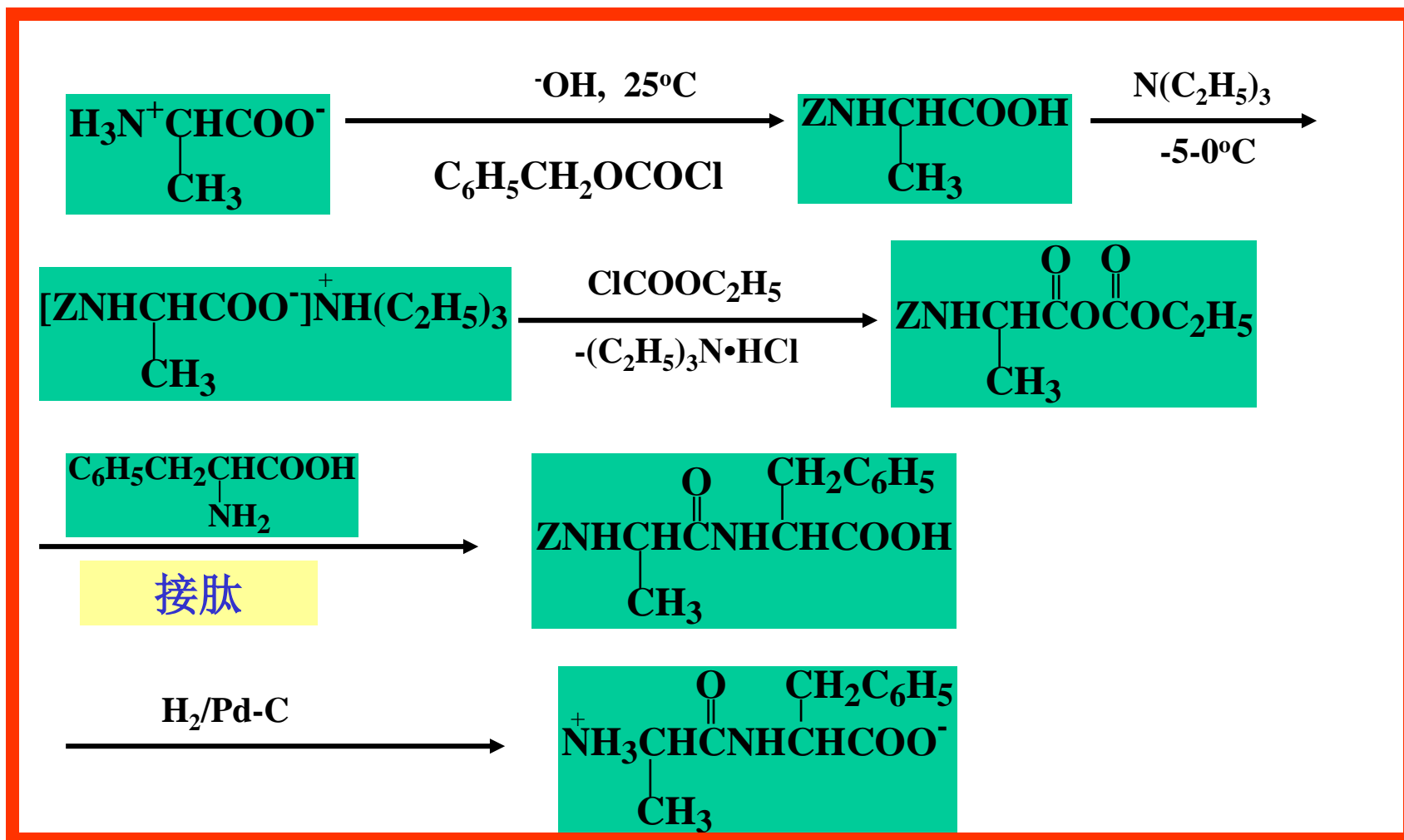
例如：



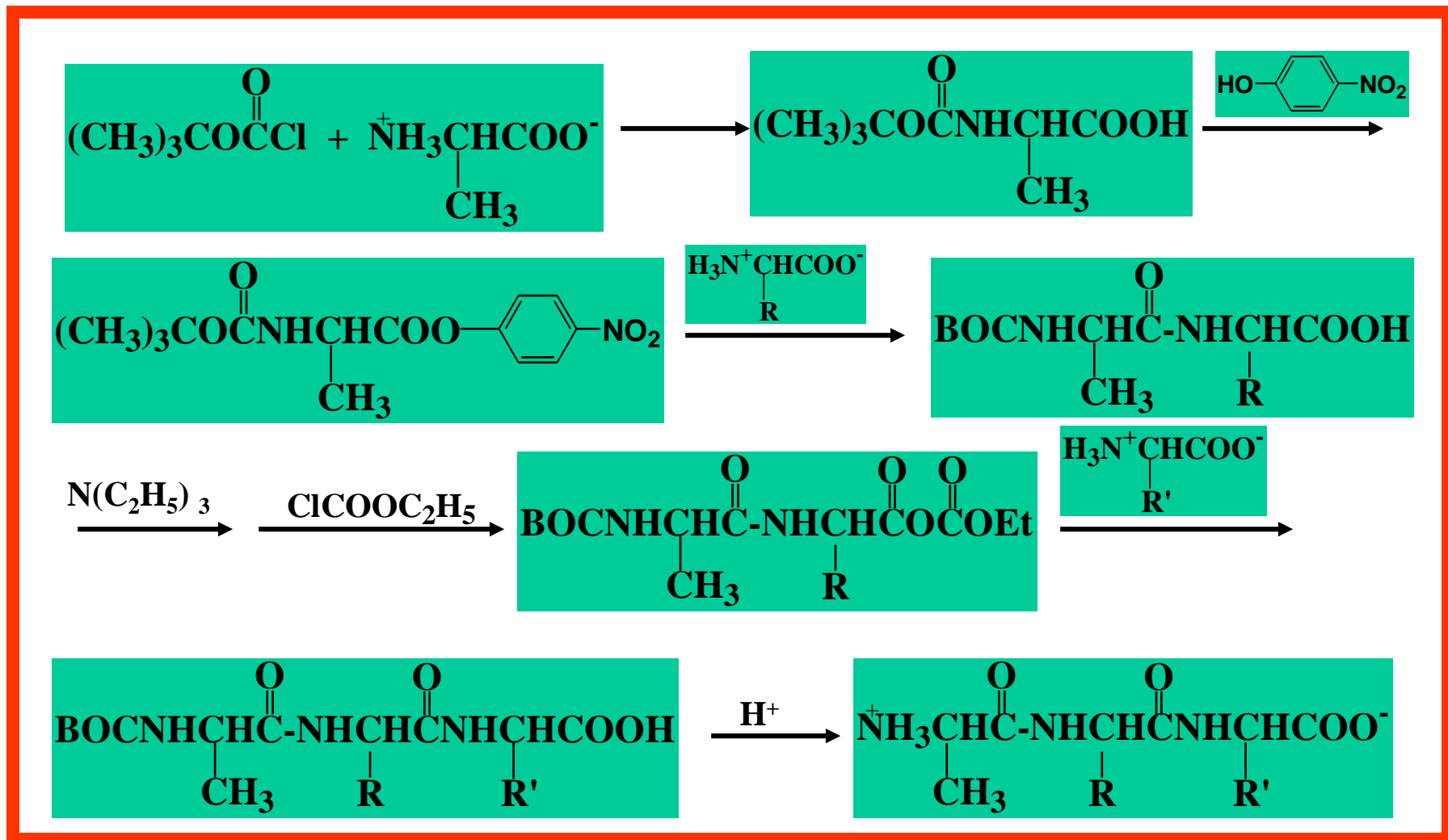
巯基经常用苯甲基保护，保护基可以在钠、液氨作用下除去。

四 接肽的方法

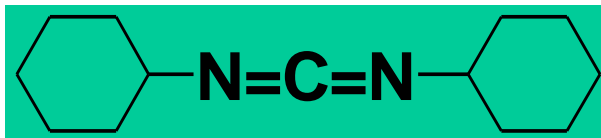
1 混合酸酐法（活化羧基）



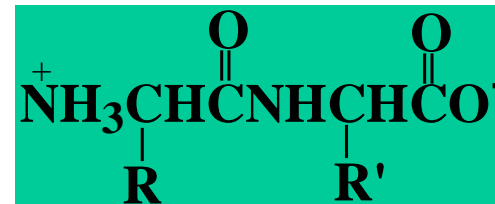
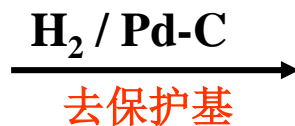
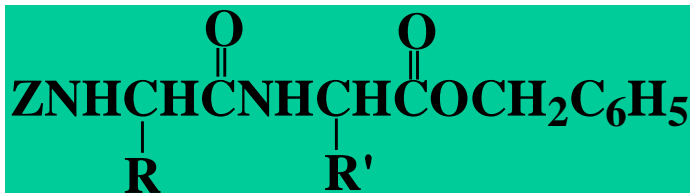
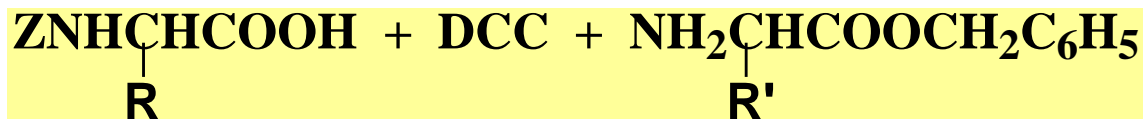
2 活泼酯法



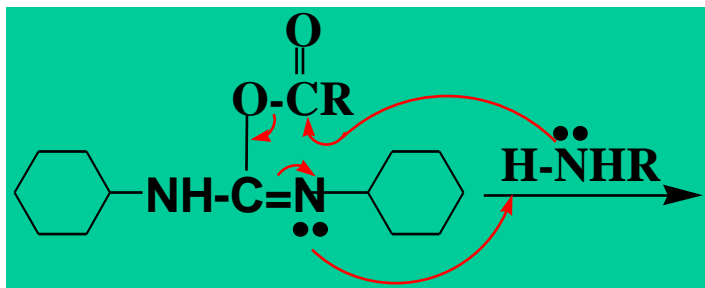
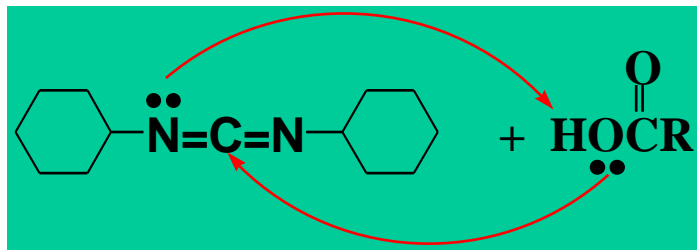
3. 碳二亚胺法接肽



dicyclohexylcarbodiimide (DCC)

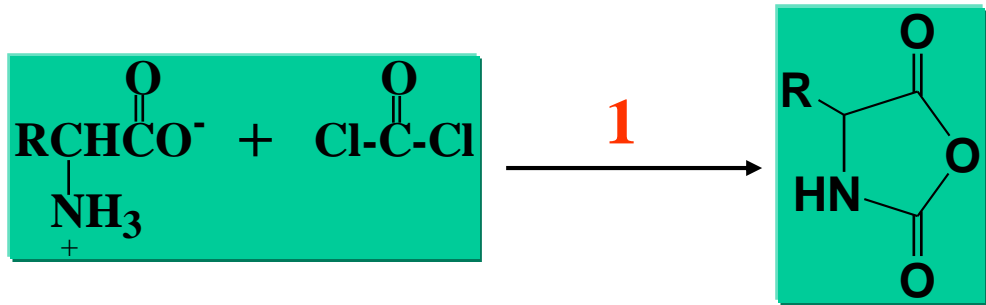


脱水机制

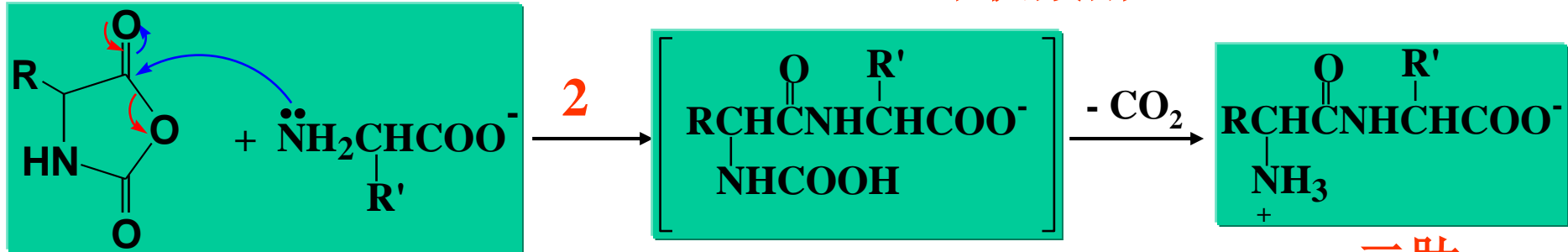


二环己基脲

4. 环酸酐法接肽



环状酸酐



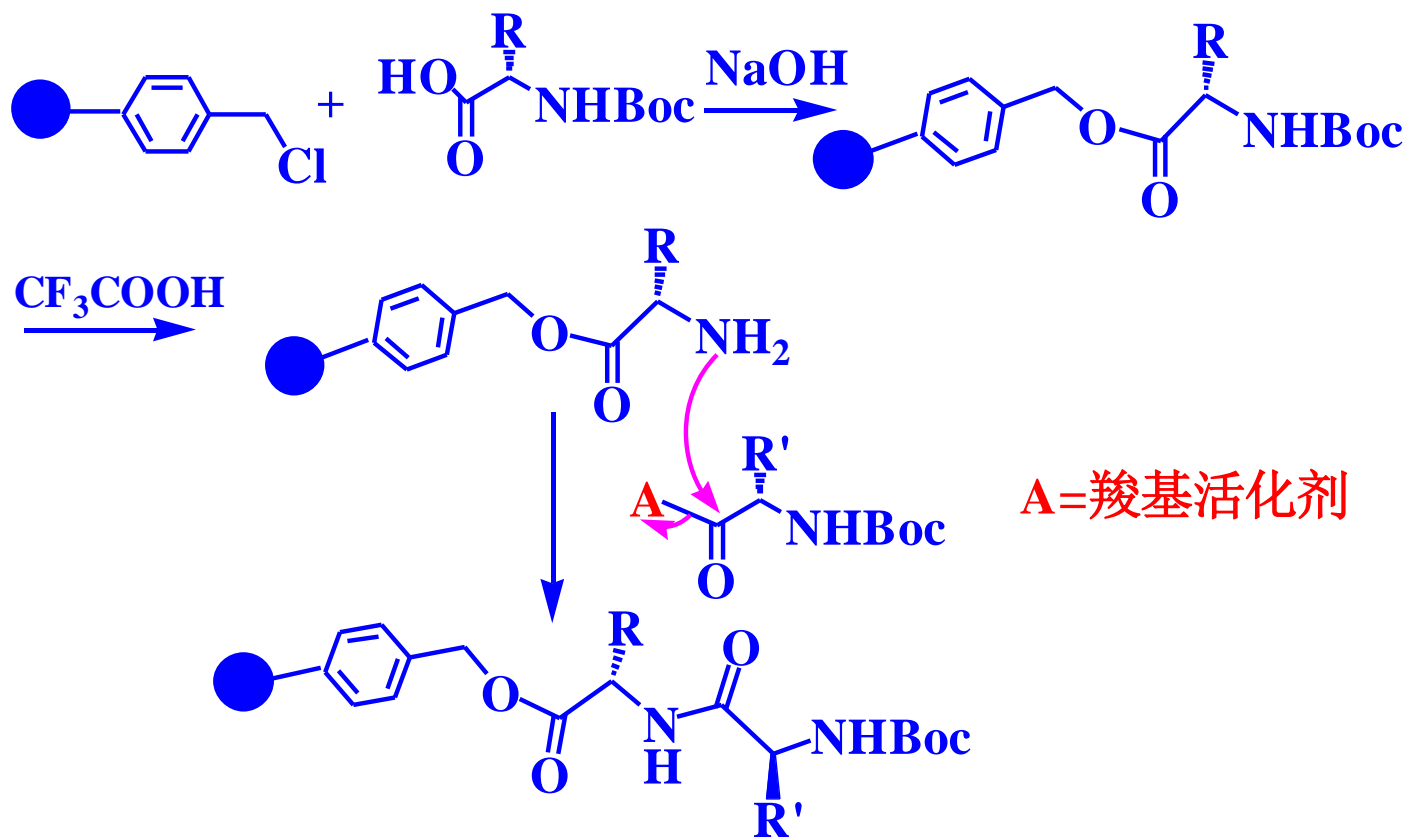
二肽

1. 保护氨基和活化羧基同时完成
2. 氨基甲酸不稳定

5. 固相接肽

在不溶的高分子树脂的表面上进行接肽反应称为固相接肽。

Merrifield发明：解决了蛋白质和多肽的一些合成问题。
1984年获得Nobel化学奖。



第六节 多肽结构的测定

测定肽或蛋白质的一级结构需要进行下面几项工作：

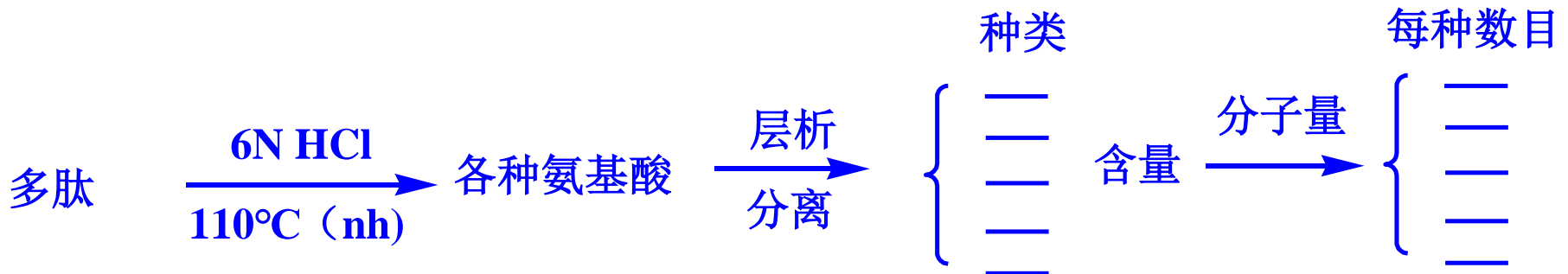
- 一 测定分子中是否存在二硫键
- 二 检测氨基酸的组成及其相对比例
- 三 测定肽或蛋白质中各氨基酸的排列顺序

一 测定分子中是否存在二硫键

多肽或蛋白质分子中有二硫键，需要切断。
其方法是用过酸氧化，二硫键氧化为 $-\text{SO}_3\text{H}$ 。

二 检测氨基酸的组成及其相对比例

该工作由氨基酸自动分析仪完成



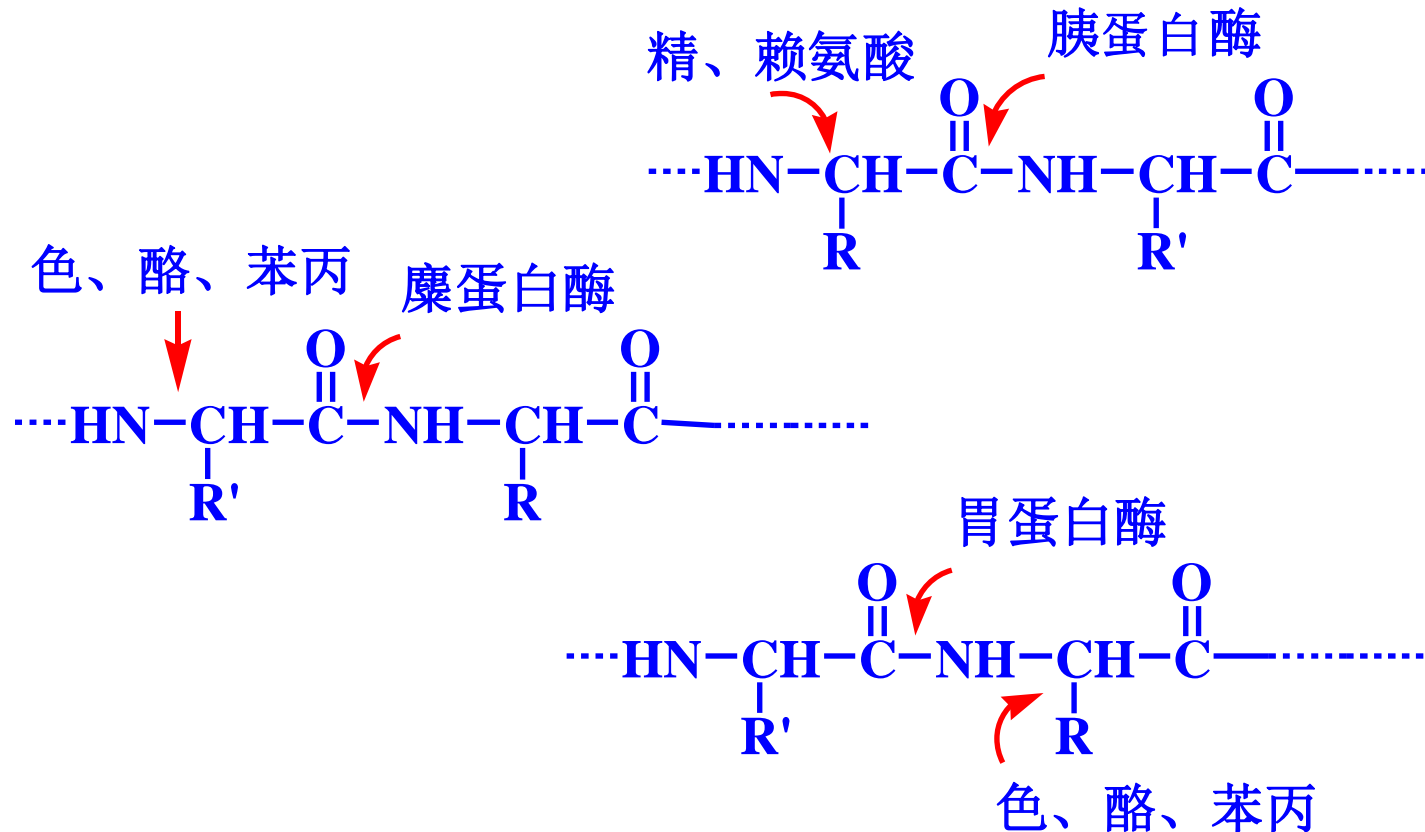
由 R_f 值鉴别氨基酸种类，比色法测定其相对含量。

三 测定肽或蛋白质中各氨基酸的排列顺序

部分水解 → 小碎片 → 端基分析 → 全序并合

(1) 部分水解法:

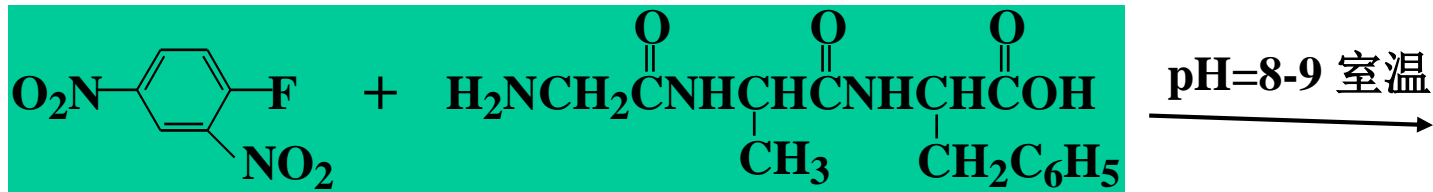
各种蛋白水解酶能水解特定的肽键: 多肽 → 小肽, 然后分析.



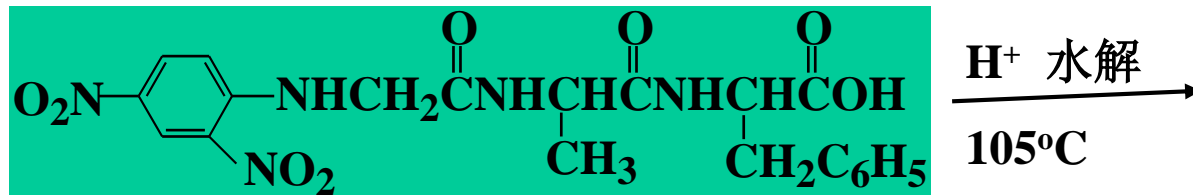
2. N-端氨基酸单元的分析

在N-端引入具有特定基团的标记化合物，这种标记基团有颜色、荧光、紫外吸收等性质，然后分离鉴定具有这种基团的氨基酸衍生物。

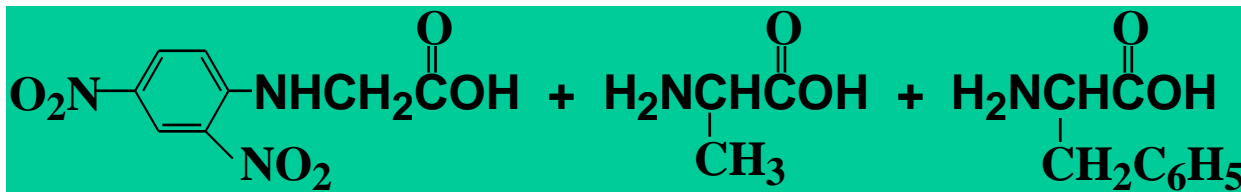
A 二硝基氟苯法（桑格尔法）



DNFB + **Gly-Ala-Phe**



DNFB-Gly-Ala-Phe



DNFB-Gly

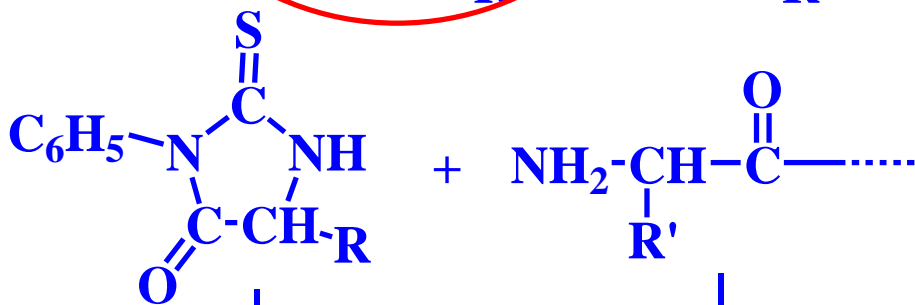
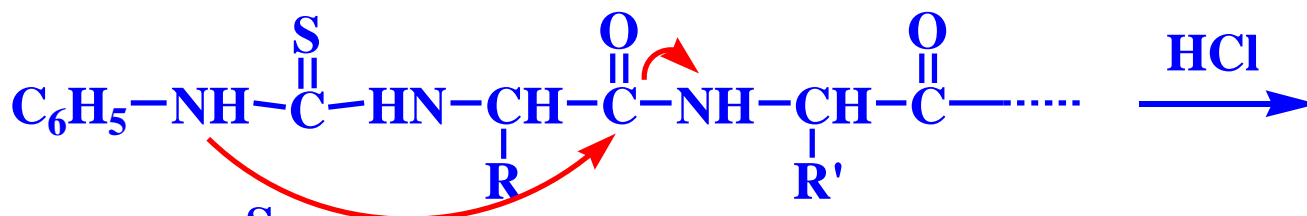
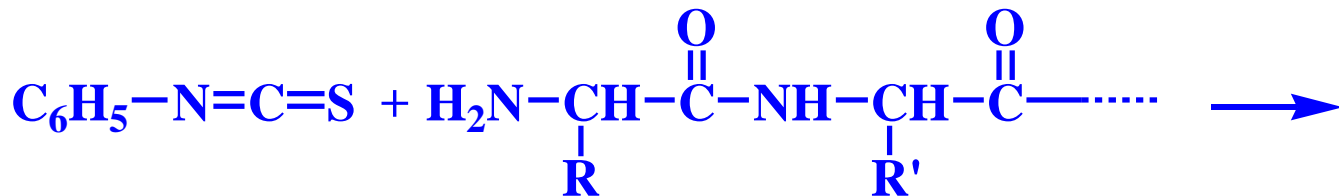
Ala

Phe

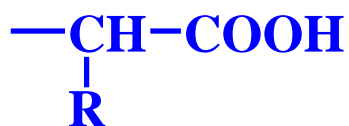
缺点：只能测 N
端一个氨基酸

(2) Edman 水解:

异硫氰酸苯酯 ($\text{C}_6\text{H}_5-\text{N}=\text{C}=\text{S}$)



层析分离, 与标准
样品对照, 确定



继续降解.....自动化分析
(多肽不太长时可靠)
只能测几十个氨基酸的顺序

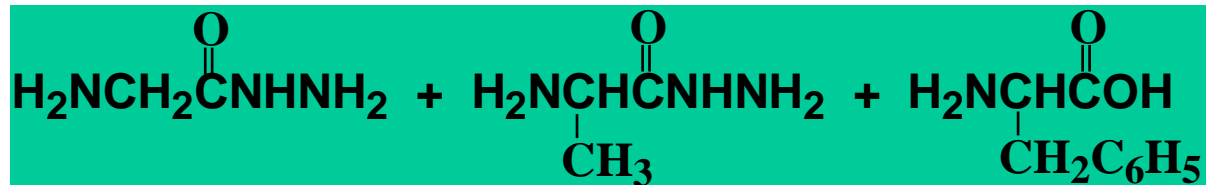
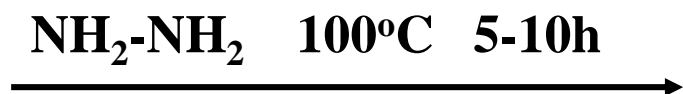
2. C-末端测定

(1) 肼解法:

当蛋白质（或多肽）与无水肼在100°C反应5-10h后，除C端氨基酸外，所有氨基酸都转变成相应氨基酸的酰肼，C端氨基酸则以游离氨基酸放出。



Gly-Ala-Phe

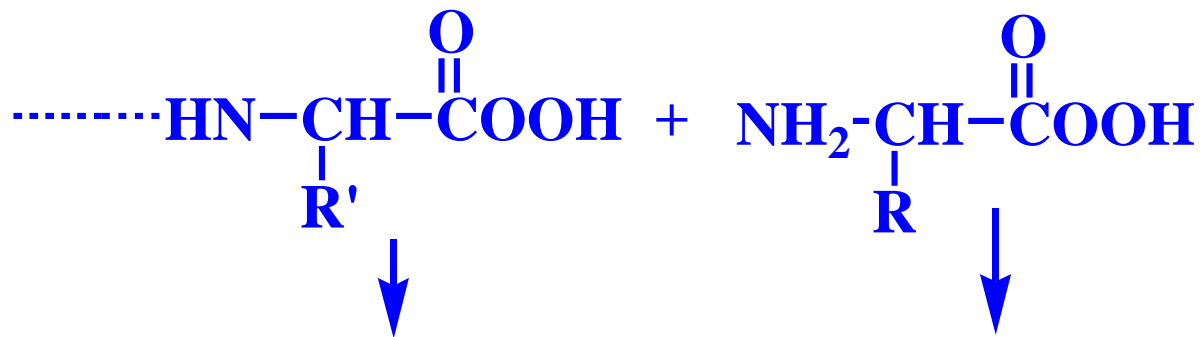
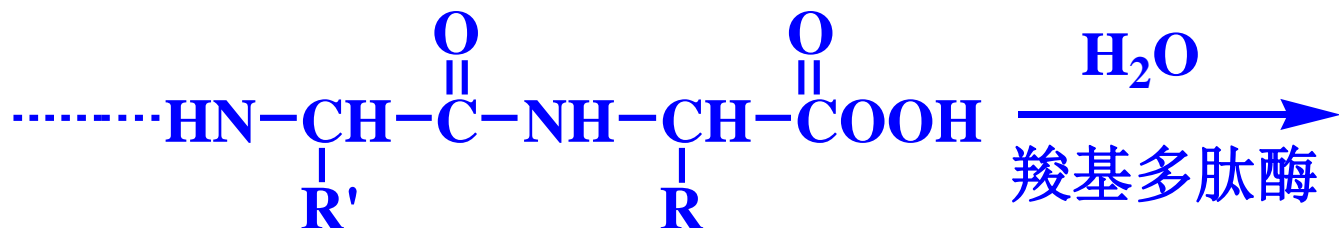


GlyNHNH₂

AlaNHNH₂

Phe

(2) 羧基多肽酶法:



多次重复，连续检测
断下来的氨基酸
(5-6个可靠)

只有靠近游离羧基一端
的肽键被水解

第七节 蛋白质的结构和特性

相对分子质量超过1万的多肽称为蛋白质。

蛋白质有两个重要的性质：盐析、变性

蛋白质有四级结构

肽链中各种氨基酸相互联接的顺序是蛋白质的初级结构，也叫一级结构。

多肽链主链骨架中的若干肽段，通过氢键，形成有规则的构象，这称为二级结构。

α -螺旋

β -折叠

在二级结构的基础上，多肽链间通过氨基酸残基侧链的相互作用而进行盘旋和折叠，因而产生的特定的三维空间结构，这称为三级结构，也称为蛋白质的亚基。

各个亚基在低聚蛋白中的空间排布及相互作用，称为蛋白质的四级结构。

蛋白质的生理活性是由二级、三级、四级结构来决定的。

蛋白质的性质：

1、等电点：（分子中仍存在游离 NH_2 、 COOH 、 OH 、 SH 及其他酸性或碱性的基团）

胶体性质：分子颗粒直径在 $0.1-0.001\mu\text{m}$ (胶粒幅度内)
表面带电，同电排斥，隔开不粘合。

胶体不稳定，加入电解质以后，蛋白易沉淀，称为盐析。

2、蛋白质的变性：

{ 一、二级结构、氢键的破坏——不可逆变性
三级结构 $-\text{S}-\text{S}-$ 的破坏——可逆变性

第八节 酶

酶： 酶是一类在生物体内有催化活性的蛋白质。

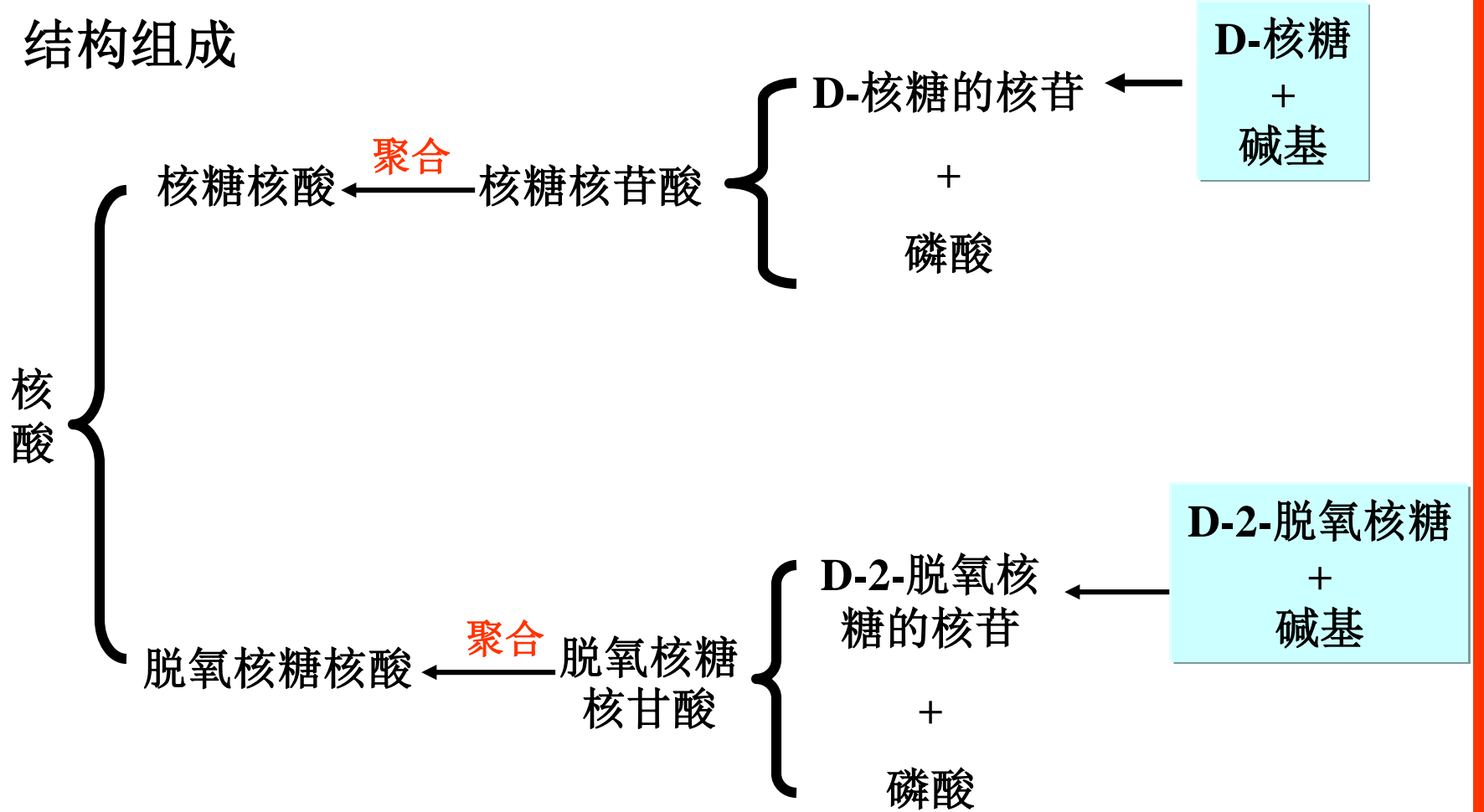
辅酶： 与酶蛋白松散地结合的辅助因子称为辅酶。

辅基： 与酶蛋白紧密地结合的辅助因子称为辅基。

全酶： 酶蛋白与辅助因子结合后形成的复合物称为全酶。

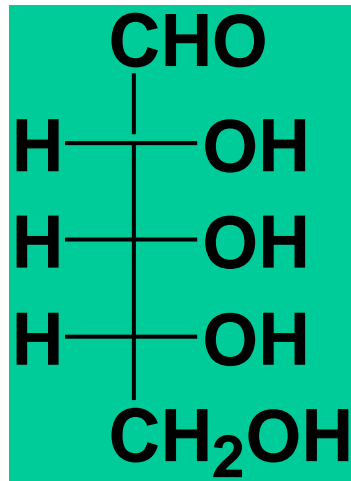
第九节 核酸

结构组成

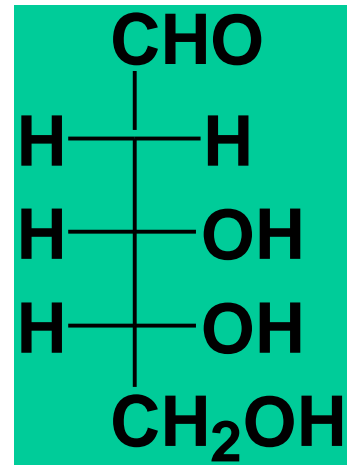


核酸的基本单位

一 糖

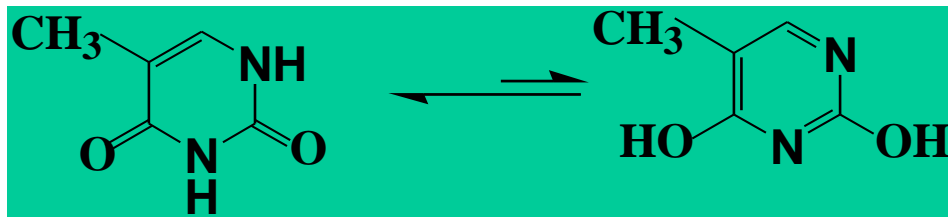


D-核糖

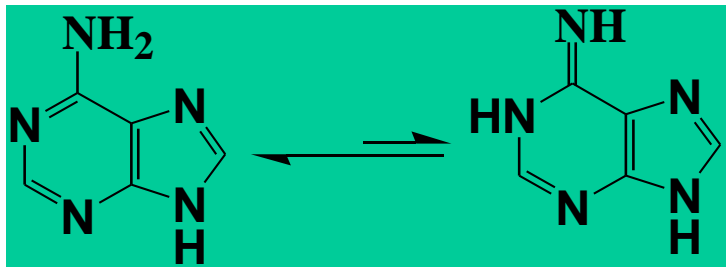


D-2-脱氧核糖

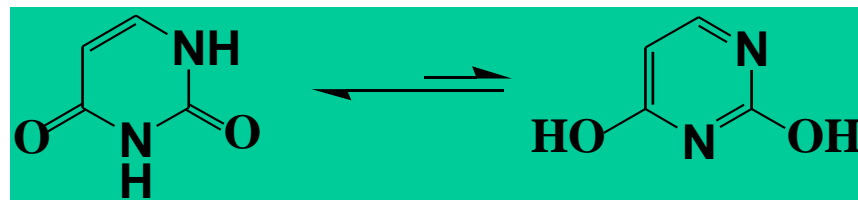
二 碱基



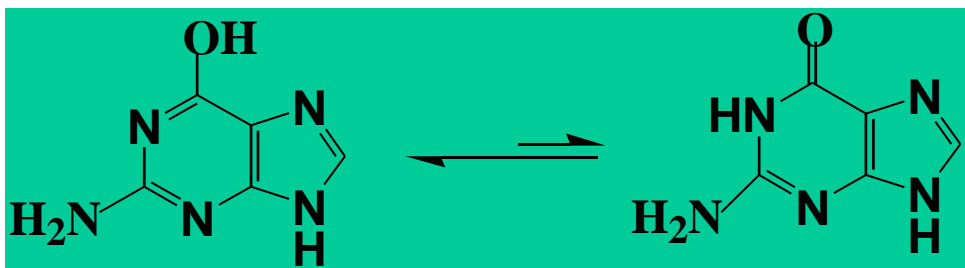
T (胸腺嘧啶)



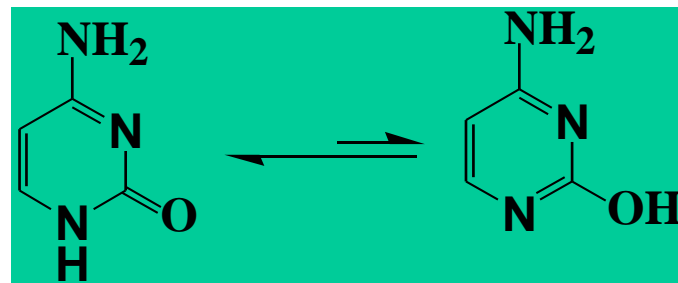
A (腺嘌呤)



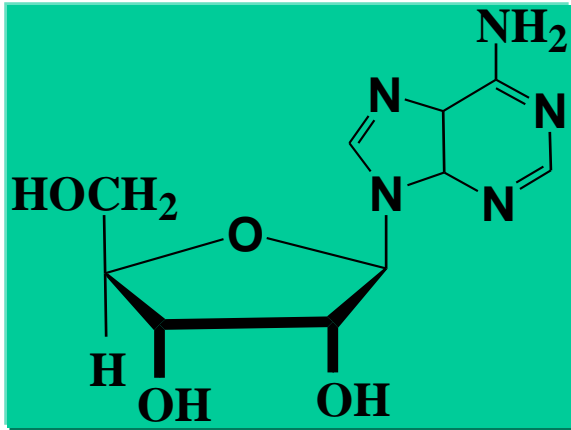
U (尿嘧啶)



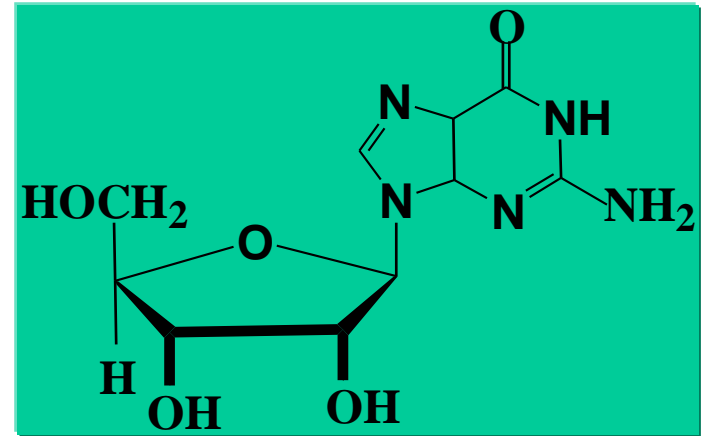
G (鸟嘌呤)



C (胞嘧啶)

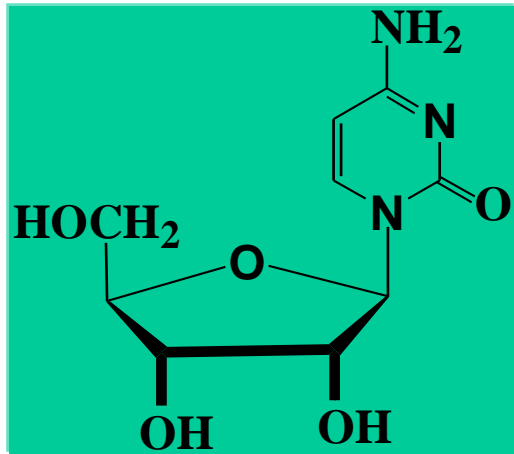


腺苷 (A)

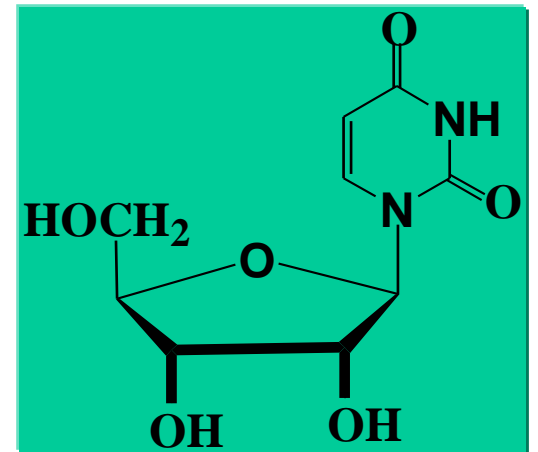


鸟苷 (G)

RNA
的
组
成



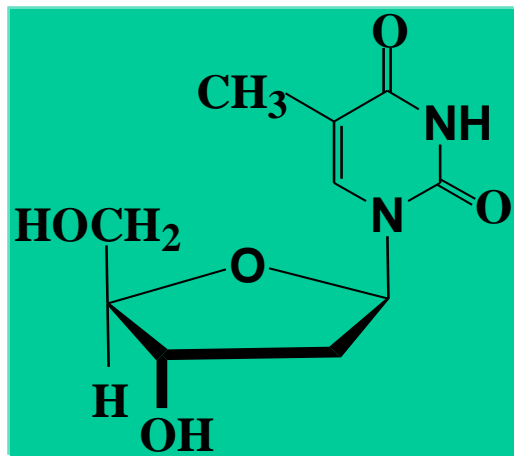
胞苷 (C)



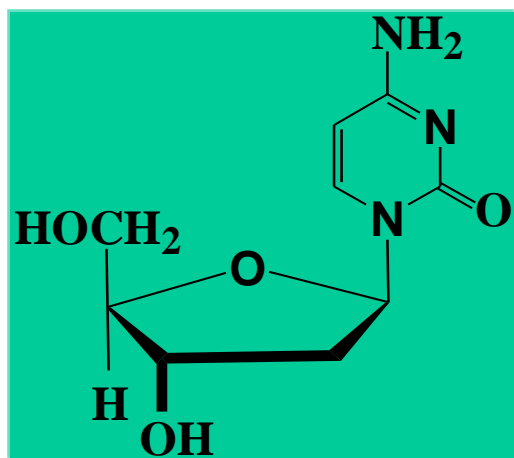
尿苷 (U)

RNA的作用

将遗传密码翻译变成特异的蛋白质，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。

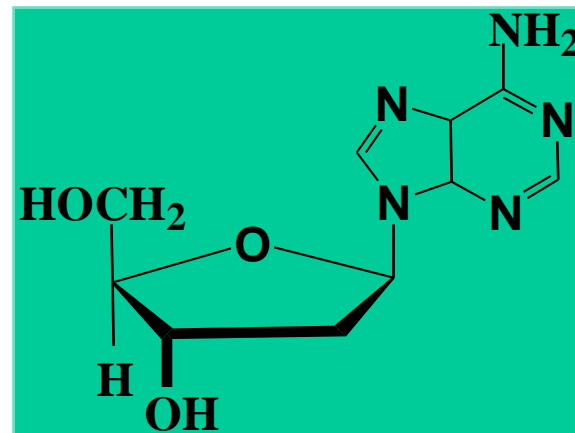


2-脱氧胸腺苷dT

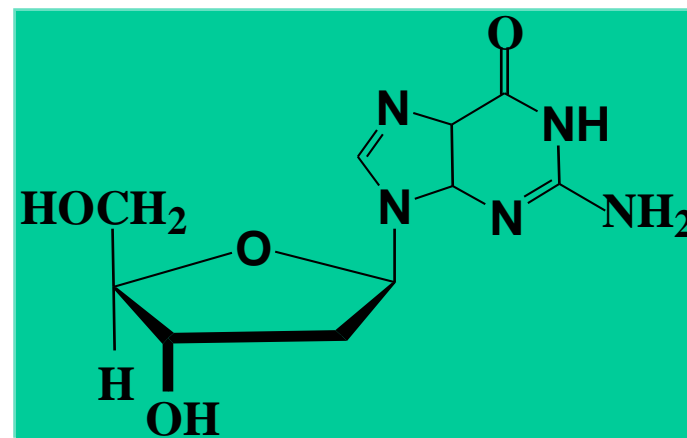


2-脱氧胞苷dC

DNA
的
组
成



2-脱氧腺苷dA

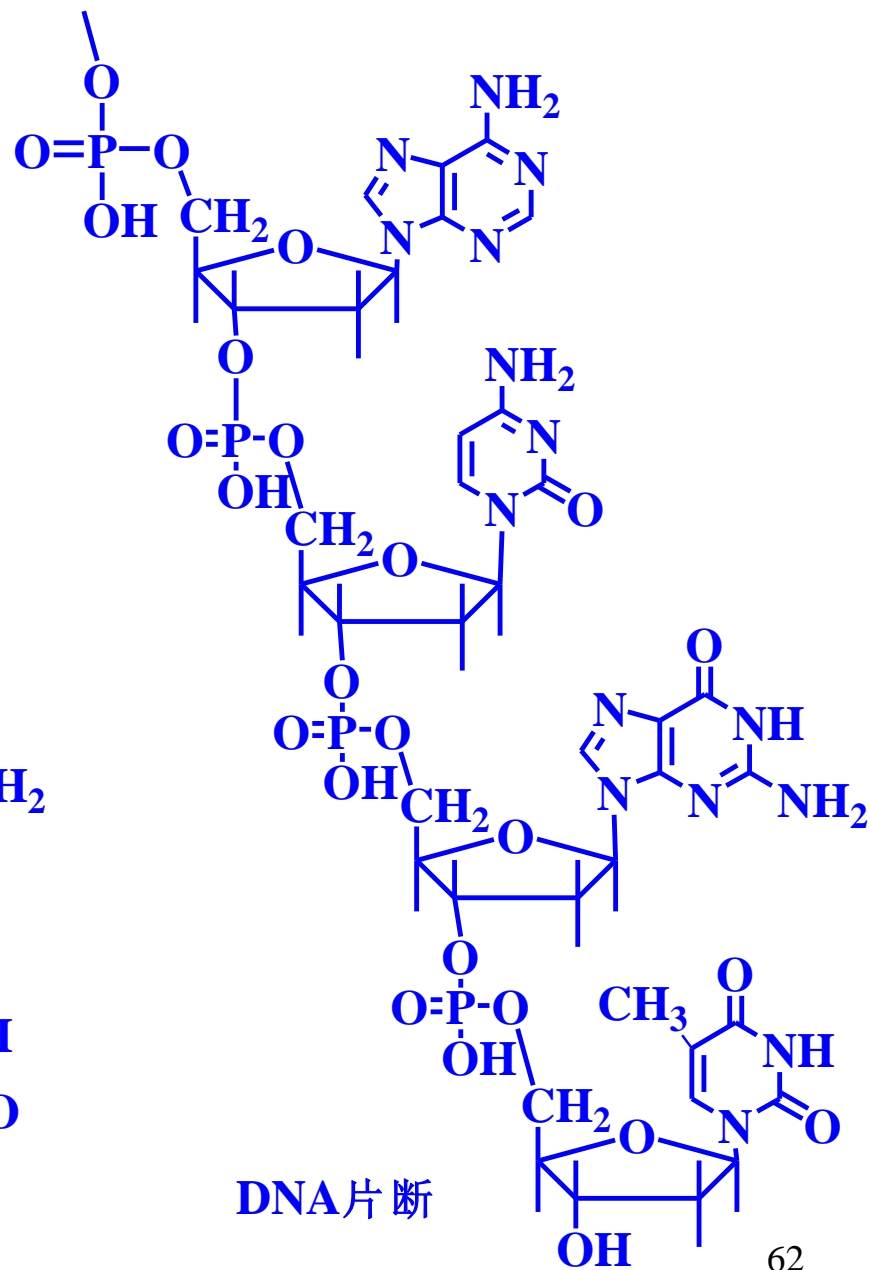
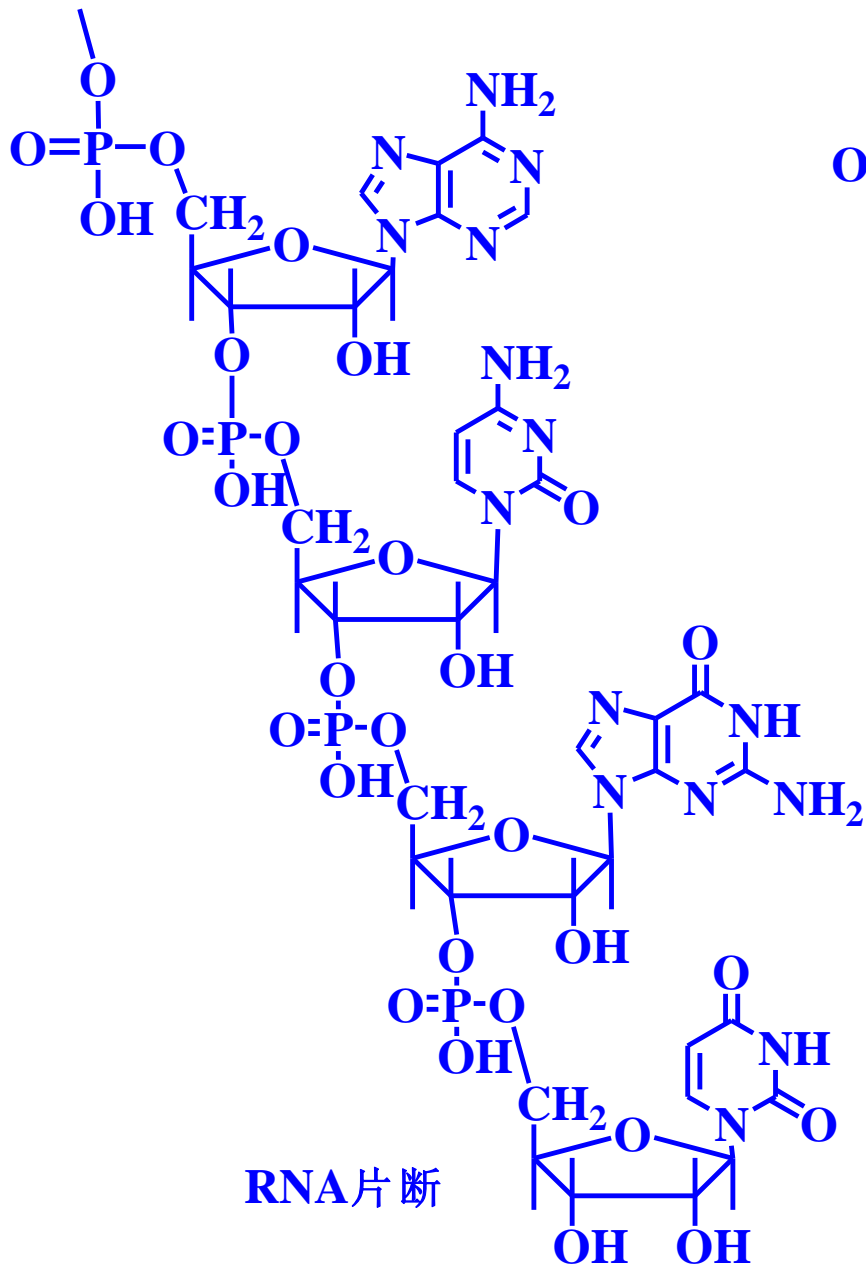


2-脱氧鸟苷dG

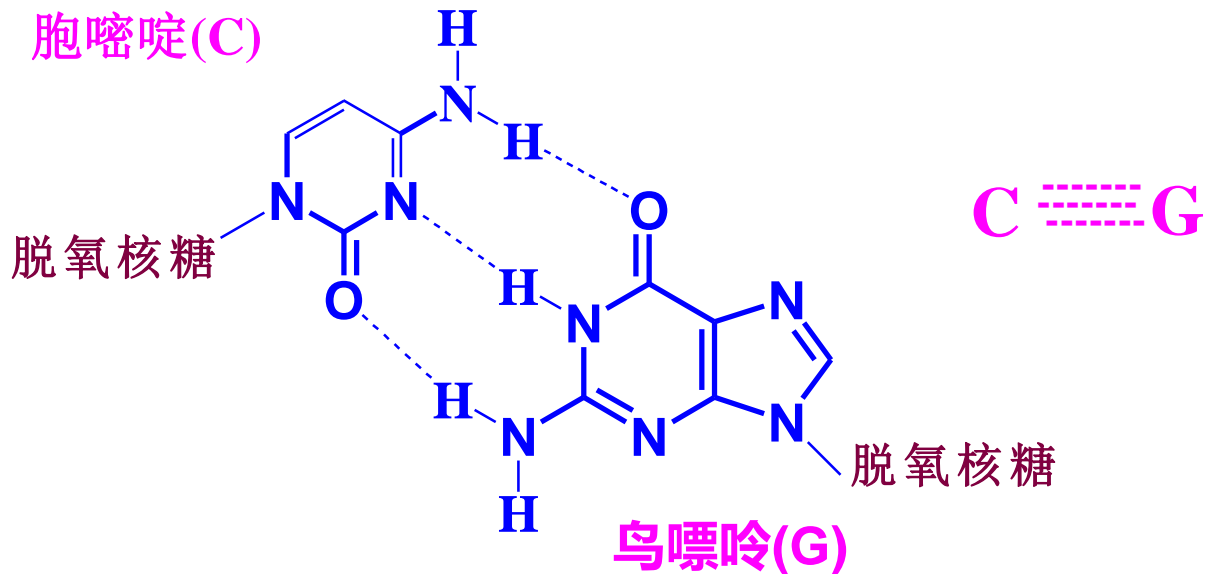
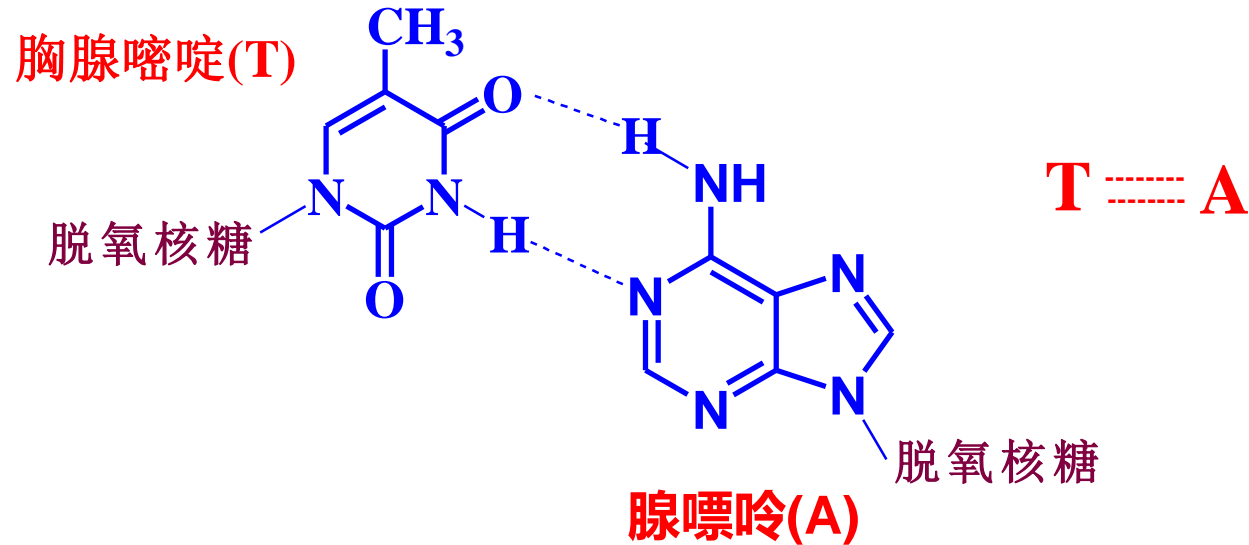
DNA的作用

携带全部遗传密码。DNA所携带的全部遗传信息都记载在DNA所包含的全部核苷酸的排列顺序中。

DNA虽然只有四种类型的核苷酸，但它的相对分子质量极大，这四种核苷酸在DNA分子中的排列方式近乎无穷，一个含1000个核苷酸的DNA分子，有 4^{1000} 种排列方式，这是一个天文数字，这就是生物界多样性的原因。



双螺旋结构中的碱基配对



关于DNA和RNA在生物的生长、繁殖、遗传、变异中的功能和具体作用，是生物学的研究范畴。