

生物化学 A1 笔记

by 下划线 line

2025.01.04

Contents

1 氨基酸	4
1.1 氨基酸的结构与性质	4
1.2 氨基酸的分类:	4
1.3 氨基酸的翻译后修饰(Post-translational modifications)	6
2 蛋白质结构	6
2.1 肽	6
2.2 蛋白质的分子结构	7
2.2.1 蛋白质的一级结构	7
2.2.2 维持蛋白质高级结构的作用力	7
2.2.3 蛋白质的二级结构	8
2.2.4 蛋白质的三级结构	8
2.2.5 蛋白质的四级结构	9
2.3 蛋白质的结构解析	9
3 蛋白质的折叠, 变性和降解	10
3.1 蛋白质折叠与分子伴侣	10
3.1.1 蛋白质折叠	10
3.1.2 分子伴侣	10
3.2 蛋白质变性(Denaturation)与复性(Renaturation)	11
3.3 蛋白质降解(Degradation)	12
4 蛋白质功能	13
4.1 基本概念和要点	13
4.2 肌红蛋白与血红蛋白: 配体与蛋白的可逆结合	13
4.3 免疫系统和免疫球蛋白: 配体和蛋白之间的互补相互作用	17
4.3.1 免疫应答(immune response):	17
4.3.2 抗原(Antigens)和抗体(Antibodies)	17
4.4 肌动蛋白, 肌球蛋白与分子马达: 化学能调节的蛋白相互作用	18
5 蛋白质的纯化与检测鉴定	18
5.1 蛋白质的纯化	18
5.2 蛋白质的检测	19
6 酶(Enzyme)	20
6.1 酶的作用特征及催化机理	20
6.1.1 作用特征及基本概念	20
6.1.2 催化机理	20
6.2 酶促反应动力学和酶的抑制作用	22
6.2.1 酶促反应动力学	22
6.2.2 酶促反应动力学和酶的抑制作用	24
6.3 酶的分类及酶功能的多样性	25
6.4 核酶	26

7 维生素	27
8 激素	33
8.1 激素介绍	33
8.2 一些重要激素	34
9 核酸	36
9.1 核苷酸和核酸	36
9.1.1 核酸的性质	36
9.2 核酸的结构	38
9.3 基于 DNA 的信息技术	40
9.3.1 DNA 的变性与复性	40
9.3.2 聚合酶链式反应 PCR:	40
9.3.3 souther 印记杂交	40

1 氨基酸

1.1 氨基酸的结构与性质

1. 蛋白质的重要性

1. 生物体的重要组成部分：分布广，含量高

2. 重要的生物学功能：

- 作为生物催化剂（酶）
- 代谢调节作用（调控因子）
- 免疫保护作用（免疫分子）
- 物质的转运以及存储（转运蛋白）
- 运动与支持作用（骨架蛋白）
- 参与细胞间信息传递（信号蛋白）
- 氧化供能

2. 蛋白质组成元素：主要有 C、H、O、N 以及 S。部分蛋白质可能含有少量 P，或者金属 Fe、Cu、Zn、Mn、Mo。个别蛋白质含有碘 I。

3. 组成特点：N 含量大概为 16%。故可以通过凯氏定氮法大概确定蛋白质的质量。可粗略认为蛋白质的平均分子量为 120DA。

凯氏定氮法：

$$100 \text{ 克样品中蛋白质的质量(a\%)} = \text{每 100 克样品中含氮质量} \times 6.25$$

4. 组成人体的蛋白质有 20 种，且均为 L- α -氨基酸（甘氨酸除外）。

5. 蛋白质的三维结构主要由构型(Configuration)与构象(Conformation)来描述。

1.2 氨基酸的分类：

(一) 侧链含烃链的氨基酸属于非极性脂肪族氨基酸 (Nonpolar, aliphatic R groups)

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
	甘氨酸	glycine	Gly	G	5.97
	丙氨酸	alanine	Ala	A	6.00
	缬氨酸	valine	Val	V	5.96
	亮氨酸	leucine	Leu	L	5.98
	异亮氨酸	isoleucine	Ile	I	6.02
	脯氨酸	proline	Pro	P	6.30
	甲硫氨酸	methionine	Met	M	5.74

(二) 侧链有极性但不带电荷的氨基酸是极性中性氨基酸 (Polar, uncharged R groups)

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
	丝氨酸	serine	Ser	S	5.68
	半胱氨酸	cysteine	Cys	C	5.07
	天冬酰胺	asparagine	Asn	N	5.41
	谷氨酰胺	glutamine	Gln	Q	5.65
	苏氨酸	threonine	Thr	T	5.60

(三) 侧链含芳香基团的氨基酸是芳香族氨基酸 (Aromatic R groups)

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
	苯丙氨酸	phenylalanine	Phe	F	5.48
	色氨酸	tryptophan	Trp	W	5.89
	酪氨酸	tyrosine	Tyr	Y	5.66

(四) 侧链含负性解离基团的氨基酸是酸性氨基酸 (Negatively charged R groups)

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
	天冬氨酸	aspartic acid	Asp	D	2.97
	谷氨酸	glutamic acid	Glu	E	3.22
	glutamate				

(五) 侧链含正性解离基团的氨基酸属于碱性氨基酸 (Positively charged R groups)

结构式	中文名	英文名	三字符号	一字符号	等电点 (pI)
	精氨酸	arginine	Arg	R	10.76
	组氨酸	histidine	His	H	7.59
	赖氨酸	lysine	Lys	K	9.74

- 必需氨基酸: 动物不能在体内自行合成, 只能由食物中摄取, 或者体内虽然能够合成, 但是合成量仍不及所需, 要额外补充的氨基酸。

- 苯丙氨酸(Phenylalanine) (Phe)
- 缬氨酸(Valine)(Val)
- 苏氨酸(Threonine)(Thr)
- 色氨酸(Tryptophan)(Trp)
- 异亮氨酸(Isoleucine)(Ile)
- 亮氨酸(Leucine)(Leu)
- 甲硫氨酸(Methionine)(Met)
- 赖氨酸(Lysine)(Lys)
- 组氨酸(Histidine)(His)

- 等电点(pI): 氨基酸在某一 pH 的溶液中, 氨基酸解离成阳离子和阴离子的趋势及程度相等, 成为兼性离子, 呈电中性。此时溶液的 pH 值称为该氨基酸的等电点。
- 含有共轭双键的氨基酸具有紫外吸收性质。色氨酸, 酪氨酸的最大吸收峰都在 280nm 附近。大多数蛋白质都含有这两种氨基酸残基, 故一定程度上可以通过测定蛋白质溶液 280nm 处的光吸收值初步判断溶液中蛋白质含量。

1.3 氨基酸的翻译后修饰(Post-translational modifications)

- 磷酸化(Phosphorylation):
 - 主要发生在 S/T/Y(丝氨酸 serine/苏氨酸 Threonine/酪氨酸 Tyrosine) 的侧链羟基上。
 - P-Tyr (磷酸化酪氨酸) 通常被用作蛋白质相互结合的“把手”，而 P-Ser/Thr (磷酸化丝氨酸/苏氨酸) 通常会引起构象变化，大概是因为引入了负电荷，因此可以通过突变为 D/E (天冬氨酸/谷氨酸) 来模拟这种情况。
- 糖基化(Glycosylation)
- 谷胱甘肽化(Glutathionylation)
- 氨基化(Amidation)
- 甲基化(Methylation)
- 乙酰化(Acetylation) Lys
- 二甲基化(Dimethylation) Lys and Arg
- 硝基化(Nitrosylation)
- 氧化(Oxidation)
- 泛素化(Ubiquitination)

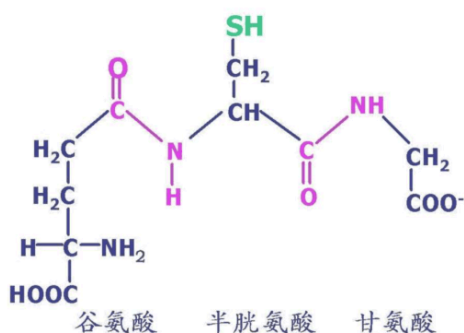
2 蛋白质结构

2.1 肽

1. 肽键(peptide bond)是由一个氨基酸的 α -羧基和另一个氨基酸的 α -氨基脱水缩合(condensation)而形成的化学键。肽就是氨基酸脱水缩合成的氨基酸链。
2. 肽链分子中的氨基酸(aa)因为脱水缩合而基团不全，被称为氨基酸残基(residue)。肽键水解所需的能量较高，故一般来说肽键很稳定。
3. 肽链有两端：N 末端为含有游离 α -氨基的一段；C 末端是含有 α -羧基的一段。

+体内存在多种重要的生物活性肽：

- 谷胱氨肽(glutathione, GSH)



■ GSH与GSSG间的转换



- 多肽类激素及神经肽
 - 阿斯巴甜
4. 蛋白质是由许多氨基酸残基组成、折叠成特定的空间结构、并具有特定生物学功能的多肽。蛋白质和多肽经常会混用；通常情况下，分子量小于 10 kD 的叫多肽。

2.2 蛋白质的分子结构

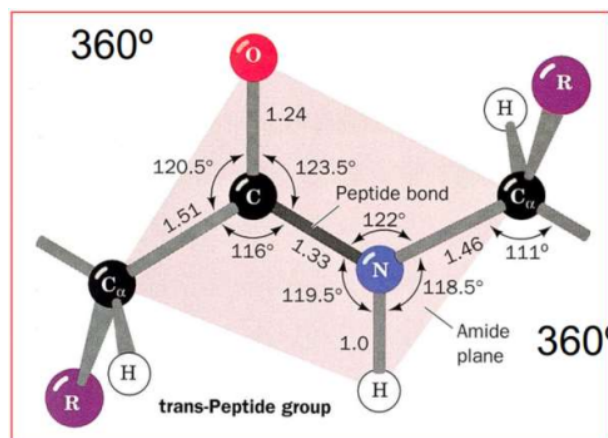
蛋白质的分子结构包括：一级结构；二级结构；三级结构；四级结构。其中二、三、四级为高级结构。

2.2.1 蛋白质的一级结构

1. 定义：蛋白质的一级结构指在蛋白质分子从 N-端到 C-端的氨基酸排列顺序。
2. 主要的化学键：肽键，有些蛋白质还包括二硫键。
3. 一级结构是蛋白质空间构象和特异性功能结构的基础，但不是决定蛋白质空间构象的唯一因素。

2.2.2 维持蛋白质高级结构的作用力

1. 共价键
2. 非共价相互作用（作用强度为共价键的 1/10-1/100）
 - 氢键：由氢供体与受体组成。氢键供体往往是高度电负性的原子，氢键具有共价键和非共价键的特征。
 - 疏水相互作用：驱动蛋白质进行正确折叠的主要作用力。
 - 范德华力：很弱，但是在高分子之间不能忽视。
 - 盐桥或盐键：表示蛋白质中带正电荷的氨基酸（精氨酸或赖氨酸）和带负电荷的氨基酸（天冬酰胺酸或谷氨酸）之间相对较弱的离子键。
3. 肽平面：双共价性本质上肽键是刚性的（刚性）。



这里提到的“ Φ ”“ Ψ ”“ ω ”分别是特定的二面角。“Phi Φ ”是绕 N-C α 键 (C'-N-C α -C') 的旋转角度; “Psi Ψ ”是绕 C α -C' 键 (N-C α -C'-N) 的旋转角度。C α 所在的主链平面与是上一个肽平面或下一个肽平面的夹角。

2.2.3 蛋白质的二级结构

依靠不同氨基酸之间的 C=O 和 N-H 基团间的氢键形成的稳定结构。

α helix, the β conformation, and β turns

1. **α helix:** 是蛋白质中最常见最典型和含量最丰富的二级结构。对于 L-氨基酸, α 螺旋一般是右手螺旋。 α 螺旋在 DNA 结合基序中具有特殊意义, 包括螺旋-转角-螺旋基序、亮氨酸拉链基序和锌指基序。
2. **β conformation:** 多肽链的主链延伸成锯齿形结构。平行, 反平行。
3. **β turns:** 连接反平行 β 折叠片两个相邻片段末端的结构。在除脯氨酸之外的氨基酸残基之间的肽键中, 超过 99.95% 处于反式构型。然而, 对于涉及脯氨酸亚氨基氮的肽键, 大约 6% 处于顺式构型; 其中许多出现在 β turn 位置。
4. **γ turns:** 第一个羧基的氧和第三个氨基的氢之间形成的氢键。
5. **β hairpin:** 两条反平行的链由一个两到五个残基所形成的短 loop 连接。
6. **Random coils:** 未形成二级结构的松散肽段。

(Loops(环): 连接二级结构之间的无规则卷曲)

影响蛋白质构象变化的因素:

1. 化学因素: 酸、碱; 有机溶剂 (如乙醇、乙醚、丙酮等); 重金属盐类; 脲、胍; 表面活性剂等。
2. 物理因素: 温度 (热、冷)、紫外线照射、高压等。

2.2.4 蛋白质的三级结构

整条肽链中全部氨基酸残基的相对空间位置。即肽链中所有原子在三维空间的排布位置。

1. 纤维状蛋白质(fibrous protein)

- 纤维状蛋白广泛分布于脊椎和无脊椎动物体内, 主要起**支持保护和结构**功能。纤维蛋白是动物体的基本支架和外保护成分, 占脊椎动物体内总量的一半或一半以上。这类蛋白质的外形呈现纤维状或细棒状。纤维状蛋白可分为不溶性(硬蛋白)和可溶性两类。下面主要介绍不溶性蛋白:
- 角蛋白(keratin): 毛发中主要蛋白质。 α -Keratin 头发指甲皮肤; β -Keratin 羽毛鳞片。
- 胶原蛋白(collagen): 属结构蛋白, 骨基质, 肌腱, 皮肤中含量高。

- 弹性蛋白(elastin): 结缔组织中的一种蛋白质, 有弹性。韧带、动脉血管中含量高。
- 丝心蛋白(fibroin): 抗张强度高, 质地柔软, 不能拉伸。蚕丝, 蜘蛛丝。

2. 球蛋白(Globular protein)

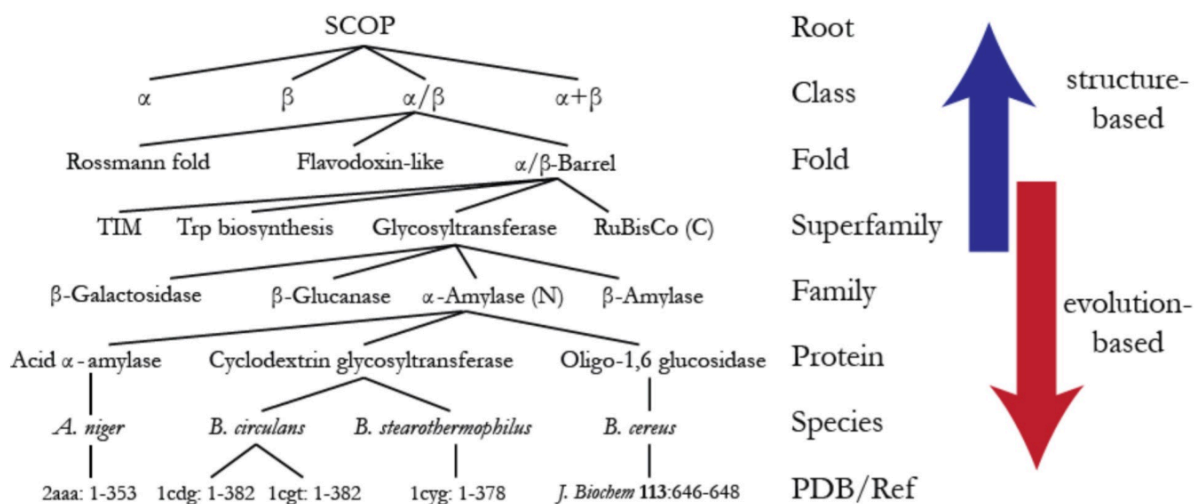
球蛋白通常包含多种二级结构, 种类数也比纤维状蛋白质多得多。其可以为酶, 转运蛋白, 调节蛋白, 分子马达等。

典型的球蛋白有人血清白蛋白, 肌红蛋白。

3. 固有无序蛋白(intrinsically disordered proteins)

- 人类的蛋白质有 1/3 是无稳定结构、或者说大部分片段都是无稳定结构的。
- 一般来说, 这些固有无序蛋白缺少疏水核心, 而具有大量的带电残基, 以及 Pro。可以协助其他蛋白质工作。
- 可以与多个不同蛋白产生相互作用, 并随之产生(不同的)稳定结构。

4. 蛋白质的分类(SCOP)



2.2.5 蛋白质的四级结构

含有二条以上多肽链的蛋白质具有四级结构。蛋白质分子中各亚(subunit)的空间排布及亚基接触部位的布局和相互作用, 称为蛋白质的四级结构。亚基之间的结合主要是氢键和离子键。并不是所有的蛋白质都具有四级结构。

2.3 蛋白质的结构解析

1. 初级结构解析: 蛋白质测序/DNA 测序; 质谱。
2. 高级结构解析: X-ray crystallography; NMR; cryo-EM

3 蛋白质的折叠，变性和降解

在给定条件下，持续维持所需的活性细胞蛋白质组称为**蛋白质稳态**。

蛋白质合成（翻译）、折叠、重折叠、降解等各个通路的协调维持了细胞内的蛋白质稳态。

3.1 蛋白质折叠与分子伴侣

3.1.1 蛋白质折叠

1. **蛋白质折叠 (Protein folding)** 是蛋白质获得其功能性结构和构象的物理过程。通过这一物理过程，蛋白质从无规则卷曲折叠成特定的功能性三维结构。在从 mRNA 序列翻译成线性的氨基酸链时，蛋白质都是以未折叠多肽或无规则卷曲的形式存在。
2. 蛋白质折叠并非一个随机、试错的过程 (Levinthal's paradox)。
3. 蛋白质的折叠路径是有层级的：局部区域的二级结构先形成，折叠好的二级结构靠近形成 motif；不同序列的蛋白质折叠速率不同；
4. 折叠和翻译是同时进行的 (co-translationally)。对一些较大的蛋白，可能翻译还未完成，N 端就已经折叠完成了。
5. **疏水相互作用** 对于蛋白质的折叠至关重要。
6. 目前的蛋白质折叠有两种模型：
 - 扩散碰撞模型 (diffusion collision model): 细胞核形成时，蛋白质也同时形成二级结构，接着这些二级结构再碰撞并紧紧包住。
 - 成核缩合模型 (nucleation-condensation model): 二级结构和三级结构同时形成。
7. 两种催化异构化的酶：
 - 脯氨酸异构体：肽脯氨酰顺反异构酶 (PPI)
 - 二硫键：蛋白质二硫键异构酶 (PDI)

3.1.2 分子伴侣

1. **分子伴侣 (chaperone, molecular chaperone)** 又译伴侣蛋白、伴侣蛋白、分子伴侣蛋白，是一类协助细胞内分子组装和协助蛋白质折叠的蛋白质。
2. **分子伴侣与伴侣素 (chaperonin)** 不同，后者只是分子伴侣中的一种，前者还包括热休克蛋白 Hsp60 和 Hsp10 两个家族。
3. 许多蛋白质不能自主折叠，分子伴侣与这些部分折叠或错误折叠的多肽链相互作用，促进正确的折叠路线，或者提供可以发生折叠的微环境。
4. 分子伴侣中很大一部分是热休克蛋白（反过来也未必成立，就是说，并非所有热休克蛋白都是分子伴侣）。这些蛋白在所谓的压力源的刺激下，如高温，葡萄糖供应不足，身体受到感染和癌症被激活。

5. 分子伴侣可以粗略分为两类：

- **Hsp70 (真核)和 DNAK/DNAJ (原核)**

- Hsp70 (热休克蛋白, 相对分子质量 70kD) 结合在肽链未折叠区域的疏水氨基酸上。
- 保护先定位再折叠的蛋白。
- 打开并防止蛋白聚集。
- Hsp40 结合在 Hsp70-蛋白复合物上。
- 结合-释放这个循环需要消耗 ATP。
- 有时, Hsp70 结合的蛋白也会呈递给伴侣素 (chaperonin)

- **伴侣素 chaperonins(GroEL/GroES)**

- 每个 GroEL 复合物由两个由七聚体环形成的大空腔组成 (每个亚基相对分子质量为 57,000)。
- GroES 也是一个七聚体 (亚基相对分子质量为 10,000), 它可以封闭 GroEL 的其中一个空腔。
- 辅助伴侣蛋白 (Co-chaperones) 是协助伴侣蛋白 (chaperones) 进行蛋白质折叠和其他功能的蛋白质。

3.2 蛋白质变性(Denaturation)与复性(Renaturation)

变性 (Denaturation): 指蛋白质或核酸受到某些理化因素的作用, 其高级结构发生破坏从而丧失生物活性的现象。

复性 (Renaturation): 某些球状蛋白质在受热、极端 pH 值或变性试剂作用下变性, 但如果恢复到天然构象稳定的条件下, 它们将恢复其天然结构和生物活性。

变性是如何在蛋白水平上发生的:

- **四级结构变性:** 蛋白质亚基会解离和/或蛋白质亚基的空间排列被破坏。
- **三级结构变性:** 涉及以下破坏:
 - 氨基酸侧链之间的共价相互作用(例如半胱氨酸基团之间的二硫键)
 - 极性氨基酸之间的非共价偶极-偶极相互作用(以及周围的溶剂)
 - 非极性氨基酸测量之间的范德华(诱导偶极)相互作用
- **二级结构变性:** 蛋白质失去所有规则的重复模式, 例如 α -helix 和 β -turns, 并采用随机卷曲构型。
- **一级结构**不会因变性而被破坏。

一些变性剂:

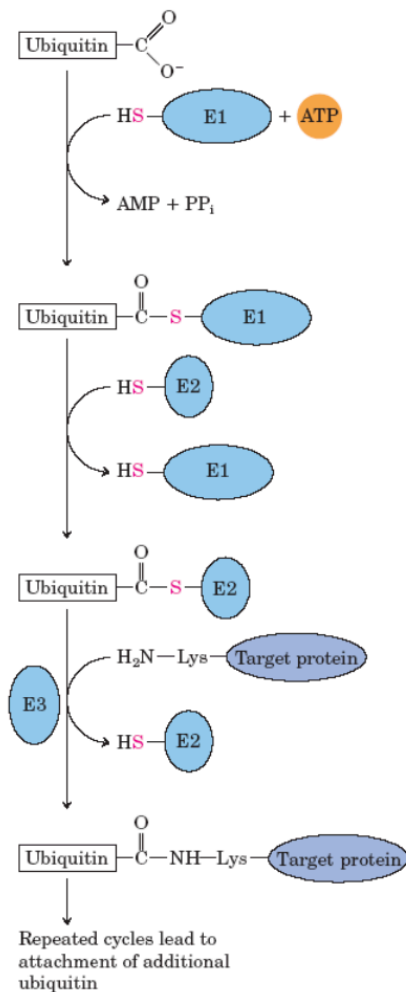
- 酸: 醋酸; 12% 的三氯乙酸水溶液; 磺基水杨酸;
- 溶剂: 甲醇; 乙醇; 丙醇;
- 交联剂: 甲醛; 乙二醇;
- 离液剂: 尿素; GnCl; 高氯酸钾;
- 二硫键还原剂: 二硫苏糖醇; β -巯基乙醇; TCEP(三(2-羧乙基)膦)

3.3 蛋白质降解(Degradation)

所有的细胞都会通过一种特殊的蛋白水解系统降解蛋白质。

有缺陷的蛋白和一些快速周转的蛋白通常由 ATP-依赖系统进行降解。在真核细胞中, 这些蛋白通过与泛素(一种高度保守的热稳定小分子蛋白)的连接进行标记。不依赖泛素的蛋白质水解通过蛋白酶体进行。

泛素化主要是标记细胞质基质蛋白, 被蛋白酶体 proteasome 降解。也可标记质膜蛋白, 被溶酶体 lysosome 降解



泛素化的三步级联反应 (激活、结合和连接):

- 泛素的 C 端 Gly 羧基和泛素激活酶 E1 结合(耗 ATP)形成酰硫键;
- 转移到泛素连接酶 E2 形成酰硫键;
- 在泛素连接酶 E3 的催化下转移到目标蛋白 Lys 残基的氨基上形成酰胺键。
- 上述步骤多次循环可以添加多个泛素标签, 标记降解。

泛素具有由 76 个氨基酸组成的高度保守序列。它通过羧基基团与目标蛋白中赖氨酸残基中的氨基相连。

4 蛋白质功能

4.1 基本概念和要点

1. 配基(ligand): 指被蛋白质可逆结合的分子。配基可以是任意分子, 也可以是另一种蛋白质。
2. 结合位点: 配体结合在蛋白质上的一个位点。该位点应该在大小、形状、电荷和疏水亲水特性上和配体互补。
3. 诱导契合: 蛋白质和配体结合时, 蛋白质通常会发生构象变化, 使得结合位点和配体更加互补, 从而实现更紧密的结合。这种蛋白质和配体之间发生的结构适应现象就叫做“诱导契合”。
4. 蛋白呼吸: 构象的变化可能很微妙, 反映了整个蛋白质中的分子振动和氨基酸残基的微小运动。以这种方式弯曲的蛋白质有时被称为“呼吸”。
5. 在多亚基蛋白中, 一个亚基的构象变化通常会一些其他亚基的构象。(分子内信号转导)。配体与蛋白之间的相互作用可能受到调控。

4.2 肌红蛋白与血红蛋白: 配体与蛋白的可逆结合

1. 血红蛋白: hemoglobin-oxygen transport protein
2. 肌红蛋白: myoglobin-oxygen storage protein
3. 血红素(heme or haem): 是一种含有铁的辅基。其中 Fe 为六配位。其中连接一个卟啉环。两侧分别连接 His (组氨酸) 残基与氧气。
4. 珠蛋白(globin): 属球状蛋白质的一员, 为含有血红素的球状蛋白超家族, 涉及结合和/或运输氧气。珠蛋白都包含“珠蛋白折叠”, 此折叠为一串 8 个 α 螺旋的链段。
 - 人有四种珠蛋白:
 - 肌红蛋白(myoglobin): 单体(一个珠蛋白)。促进肌肉组织中氧气的扩散。
 - 神经珠蛋白(neuroglobin): 单体。神经元中大量表达, 防止大脑受到低氧或局部缺血的危害。
 - 细胞珠蛋白(cytoglobin): 单体。血管壁中大量存在, 调节血管松弛信号分子 NO 的浓度。
 - 血红蛋白(hemoglobin): 四体(四个珠蛋白)。血液中大量存在。
5. 结合位阻效应:
 - 氧气以一定的角度与血红素相结合
 - 一氧化碳与游离血红素结合时, CO 轴与卟啉环垂直。而当与肌红蛋白中的血红素结合时, 垂直结合则会受到远端 His 残基所带来的位阻影响, 使得 CO 与血红素的结合必须有一个轻微的角度。这种效应会减弱 CO 与血红素的结合。

- 而氧气与肌红蛋白中的血红素结合时，会与远端 His E7 形成氢键，进一步的促进了其结合。
 - 氧气释放的决速步：让氧气分子逃离血红素口袋的通道的开启。
 - 血红蛋白的携氧能力在有一氧化碳存在时会降低，因为这两种气体竞争血红蛋白上的相同结合位点，一氧化碳优先结合而取代氧气。
6. 对血红蛋白，较松散的状态被称为松弛态(R)。较紧密的状态被称为紧张态(T)。从 T 状态转变为 R 状态的能量由氧气与分子的结合来提供。当氧气离开时，分子则会自然的变回能量更低的 T 状态。

血红蛋白与氧气的结合是一个协同过程：

- 血红蛋白对氧气的结合亲和力会随着分子的氧饱和度增加而增加。当一个血红蛋白分子结合了第一个氧气分子后，这个分子的结构发生变化，使得后续分子更容易和氧气结合。
- 这种正协同结合是通过血红蛋白蛋白复合物的空间构象变化实现的。当血红蛋白中的一个亚基蛋白被氧合时，会引起整个复合物的构象或结构变化，导致其他亚基对氧气的亲和力增加。
- 因此，血红蛋白的氧结合曲线是 S 形的 (sigmoidal)，而不是与非协同结合相关的正常双曲线。比如，在不同的氧气浓度下，血红蛋白结合氧气的的能力会随着已经结合的氧气的量而变化，呈现出 S 形曲线的特点。
- 协同效应使得血红蛋白对肺部和组织之前氧气浓度的差异更加敏感。这意味这血红蛋白可以在肺部结合氧气，并在组织处释放氧气。

7. **别构蛋白(allosteric protein)**: 一个配体的结合影响这个蛋白的另一位点的配体结合，这的蛋白就叫别构蛋白。这样的配体叫做**调节剂(modulator)**或者**别构效应剂(allosteric effector)**。
- 同促 (homotropic): 一个配体的结合后引起的构象变化，改变后续**相同配体**的亲和力。如果是亲和性提高，就叫正协同效应或正协同性；如果是降低，就叫负协同效应或负协同性。
 - 异促 (heterotropic): 一种配体和酶结合后引起**另一种配体**对酶的亲和性发生了变化。分为正异促效应和负异促效应。
8. 定量描述协同结合：**希尔方程与希尔系数**
- 如果一个蛋白质有 n 个结合位点，那么：

$$P + nL \rightleftharpoons PL_n \rightarrow K_a = \frac{[PL_n]}{[P][L]^n} \rightarrow Y = \frac{[L]^n}{[L]^n + K_d} \quad (4.1)$$

$$\log\left(\frac{Y}{1-Y}\right) = n \log[L] - \log K_d \quad (4.2)$$

- 公式 4.2 就叫做希尔方程，此时 $K_d = [L]_{0.5}^n$ ，对之进行作图，即为 Hill 曲线。方程中的 n 称为**希尔系数**。

- 在适当的情况下，希尔常数的值描述了配体以下列几种方式结合时的协同性：
 - ▶ $n > 1$: 正协同反应
 - ▶ $n < 1$: 负协同反应
 - ▶ $n = 1$: 非协同反应

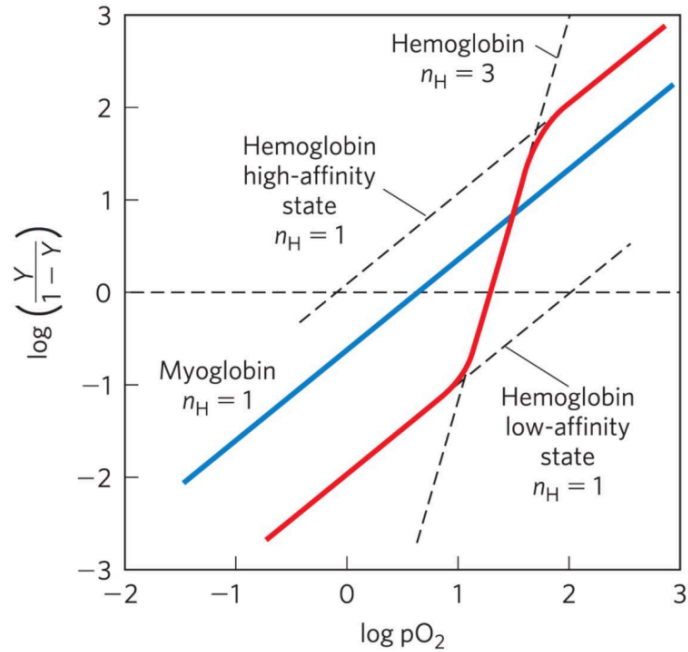
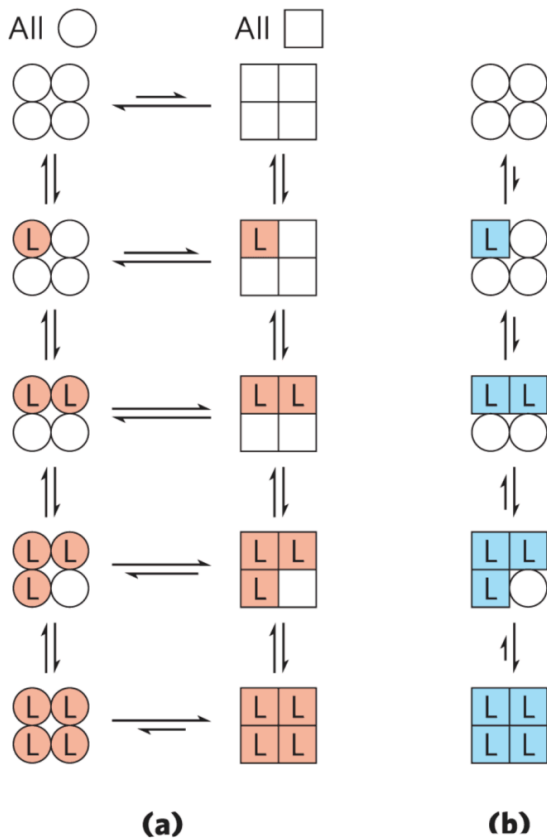
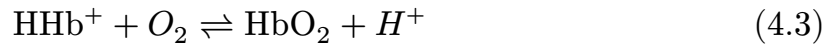


图 4.1. 氧气和肌红蛋白，血红蛋白结合的希尔图



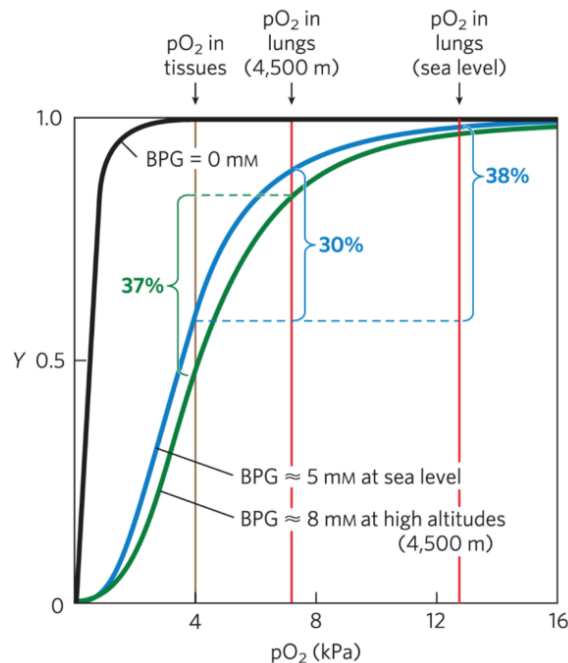
- 协同结合机制两个模型：
- 协同模型 (concerted model) 或 MWC model; 也称“齐变”或“全或无”
 - 序列模型 (sequential model) 或 KNF model, 也称“渐变”

9. 波尔效应(The bohr effect): 血液中毛细血管的 pH 值下降会降低血红蛋白的氧亲和力, 从而使最后残留的氧气更有效地释放。



- 后果: 首先, 在毛细血管中, 氢离子通过促使反应向左进行来促进氧气的释放。然后, 当静脉血再循环到肺部或鳃时, 氧合作用通过使平衡向右移动而起到释放氢离子的作用。这反过来又倾向于通过逆转碳酸氢盐反应从溶解在血液中的碳酸氢盐中释放二氧化碳: 二氧化碳和水生成碳酸氢根离子和氢离子。然后, 游离的二氧化碳可以被呼出。

10. 别构效应物 (调节剂) BPG: 2,3-二磷酸甘油酯



- 在 BPG 完全不存在时, 血红蛋白与氧气结合得非常紧密, 并且结合曲线呈现出双曲线形状。
- 在海平面, 血红蛋白在肺部几乎被氧气完全饱和, 但在组织中只有 60% 饱和, 所以在组织中释放的氧气量接近血液中所能携带的最大氧气量的 40%。
- 在高海拔地区, 氧气输送量下降约四分之一, 降至最大量的 30%。然而, BPG 浓度的增加会降低血红蛋白对氧气的亲和力, 所以又有接近血液所能携带最大量的 40% 的氧气被输送到组织中。
- BPG 结合在 T 状态的血红蛋白上, 位于两个 β 亚基之间。BPG (2,3-二磷酸甘油酸) 在远离氧结合位点的位置结合, 并根据肺中的氧分压 ($p\text{O}_2$) 调节血红蛋白的氧结合亲和力。

4.3 免疫系统和免疫球蛋白：配体和蛋白之间的互补相互作用

4.3.1 免疫应答(immune response):

1. **体液免疫应答**：淋巴细胞中的B淋巴细胞会合成特定的免疫球蛋白分子，这些分子从细胞中分泌出来，与入侵的物质结合。结合后要么使外来物质沉淀，要么将其标记以便被称为巨噬细胞的细胞破坏。
2. **细胞免疫应答**：被称为T淋巴细胞的淋巴细胞，其表面带有类似免疫球蛋白的分子，能够识别并杀死外来或异常的细胞。引起免疫反应的外来物质被称为抗原。与抗原结合的特定免疫球蛋白被称为抗体。如果入侵的颗粒较大，如细胞、病毒或蛋白质，可能会引发许多不同的抗体，每种类型的抗体都特异性地结合在颗粒表面的一个抗原决定簇（或表位）上。
3. 免疫反应主要涉及淋巴细胞以及巨噬细胞。
 - **淋巴细胞**是白细胞的一种，由骨髓中的造血干细胞分化而来。其对外来物质的特异性膜受体识别抗原。其可以大致分为B淋巴细胞和T淋巴细胞两个细胞群。
 - **巨噬细胞**也是由骨髓干细胞分化而来，在骨髓中发育成幼单核细胞，进入血液中分化为单核细胞，然后迁移到组织，分化为组织特异的巨噬细胞。它们的功能是大颗粒和细胞，以及作为抗原呈递细胞。

4.3.2 抗原(Antigens)和抗体(Antibodies)

1. **抗原 (antigen, 缩写 Ag)** 为任何可诱发免疫系统产生抗体 (antibody) 的物质，不只是从病原体那里取得，一般来说体内发现分子够大的有机物就有可能作为一个适合的抗原，这样也就会导致例如过敏等问题。
2. **抗体 (Antibody, 缩写 Ab)** 又称免疫球蛋白 (Immunoglobulin, Ig)，是一种主要由浆细胞分泌，被免疫系统用来鉴别与中和外来物质如细菌、病毒等病原体的大型Y形蛋白质，仅被发现存在于脊椎动物的血浆等细胞外液中，及其B细胞的细胞膜表面。
 - **结构**：抗体的单体是一个Y形的分子，有**4条多肽链**组成。其中包括两条相同的**重链**，以及两条相同的**轻链**，之间由双硫键连接在一起。每一条链均由称为免疫球蛋白结构域的多个结构域所组成。每一个结构域大约包含70至110个氨基酸，并根据大小和功能分门别类。无论是重链还是轻链，抗原结合区段均包括一个**可变区**与一个**恒定区**。
3. 免疫系统的每种识别蛋白，不论是B细胞产生的一个抗体，还是T细胞上的一个受体，都需要特异性的与某一个特定的化学结构结合。故有抗原抗体特异性结合。
4. 抗体抗原反应用于生化分析：
 - **多克隆抗体**：不同B细胞对同一抗原产生的抗体。
 - **单克隆抗体**：一群（通过细胞培养）相同的B细胞产生的抗体。

4.4 肌动蛋白，肌球蛋白与分子马达：化学能调节的蛋白相互作用

肌肉的收缩通过两个蛋白的相互作用产生：肌球蛋白和肌动蛋白。

5 蛋白质的纯化与检测鉴定

5.1 蛋白质的纯化

1. 指破坏细胞的外围使内含物释放出来。细胞破碎后，蛋白质释放到溶液中得到的是粗提物。
2. 细胞破碎方法：
 - 机械法：高速搅拌珠研磨破碎法；高压匀浆；冷冻撞击；超声破碎
 - 非机械法：渗透休克；冻融破碎法；酶融破碎法；化学破碎法（酸，碱，表面活性剂）
3. 层析：根据溶液中待分离的蛋白质的理化性质不同，使待分离的组分在两相中反复分配，并以不同速度流经固定相而达到分离蛋白质的目的。
4. **亲和层析**：基于配体-蛋白相互作用的蛋白质纯化方法。常见的体系是将某种对蛋白具有亲和力的物质固定到层析柱的基质上，利用其与蛋白质上的融合标签或者是蛋白质本身的相互作用进行蛋白纯化，该物质可能是金属离子，核酸，蛋白质等等。
 - 优点：
 - 适合的范围广泛，几乎适用于所有蛋白
 - 基于配体与蛋白的相互作用，能够快速高效的从大量的杂蛋白中分离出目的蛋白
 - 某些蛋白标签如 GST, Sumo 能够起到促进蛋白质正常折叠的效果
 - 操作简单，快速，目前是实验室纯化蛋白的最主要的手段之一
 - 缺点：
 - 有时候亲和标签的存在会影响蛋白质的折叠以及表达状态
 - 可能标签的位置被掩盖，不能起到亲和纯化的作用
5. **离子交换层析**
 - 离子交换层析是根据蛋白质表面带电荷的情况，依据离子或离子化合物与离子交换剂的结合力不同进行蛋白质纯化的一种技术手段,通常通过增加离子浓度进行洗脱,低盐上样,高盐洗脱。
 - 阳离子交换柱(cation exchange column)：固相基质带负电，能够吸附表面带正电的蛋白质。
 - 阴离子交换柱(anion exchange column):固相基质带正电，能够吸附表面带负电的蛋白质：

6. 疏水相互作用层析

- 不同的分子由于疏水性不同，它们与疏水性层析介质之间的疏水性作用力强弱不同，疏水作用层析就是依据这一原理分离纯化蛋白质和多肽等生物大分子的。

7. 反相层析

- 在固定相上涂上一层高碳原子的疏水性强的烷烃类，洗脱液用极性强的溶剂，如甲醇和水的混合物。则被分离样品中的极性强的物质不被吸附，最先洗下来，得到较好的分离效果。这种层析法与普通的吸附层析法相反，故称为反相层析。
- 其原理也是疏水相互作用。

8. 凝胶过滤层析/分子排阻色谱层析/分子筛

5.2 蛋白质的检测

1. 电泳(Electrophoresis): 带电颗粒在电场作用下，向着与其电性相反的电极移动，称为电泳。
2. SDS-PAGE
3. 染色法: 考马斯亮蓝染色; 银染;
4. 蛋白质印迹法
5. 质谱仪

6 酶(Enzyme)

6.1 酶的作用特征及催化机理

6.1.1 作用特征及基本概念

1. 酶(Enzyme), 又称酵素, 是一类大分子生物催化剂。
 - 加速体内进行的生化反应, 在反应的前后自身不发生变化。
 - 活化能: 一定温度下进行 1mol 底物进入活化态所需要的能量。
2. 酶可以改变化学反应的速率, 但不改变平衡进度。
3. 酶的特点:
 - 高效性: 酶能使反应的速率提高数个数量级
 - 高度专一性: 只催化某一种/莫一类化学反应
 - 作用条件温和: 常温, 常压, 接近中性条件下有活性
4. 酶的活性受到调节和控制
 - 浓度水平的调节: 合成与降解;
 - 活性水平的调节: 激活剂, 抑制剂调节; 别构调节; 共价修饰调节; 同工酶

大多数酶为蛋白质(P-enzyme), 少部分为核酸 RNA(R-enzyme)

5. 蛋白酶的分类
 - 简单蛋白——仅由蛋白质组成 (脲酶, 淀粉酶)
 - 全酶——脱辅基酶+辅因子(cofactor)
6. 辅因子
 - 辅酶: 与酶蛋白结合松散的小分子量非蛋白复合有机分子
 - 辅基: 类似与辅酶, 但其与酶蛋白紧密结合
 - 无机离子
7. 基于酶蛋白的特性:
 - 单体酶(monomeric enzyme): 仅有一个亚基
 - 低聚酶(oligomeric enzyme): 两个或两个以上的亚基
 - 高聚酶(multienzyme complex): 两个或两个以上的酶复合而成
 - 几种酶通过非共价键嵌合而成。各种反应依序进行, 有利于反应的连续进行。如脂肪酸合成酶。

6.1.2 催化机理

1. 酶的活性中心: 酶分子中仅少量特异的 AA 残基参与底物结合与催化过程, 这些特异性的 AA 残基比较集中的区域即为酶的活性区域。
 - 体积小
 - 三维实体

- 诱导契合
- 位于酶分子表面的一裂缝内，疏水区域
- S和E的结合是通过次级键、氢键、盐键、范德华力、疏水相互作用
- 柔和性和可运动性

2. 临近与定向效应

- 临近：为了发生生化反应，底物必须与活性位点内的催化部分（催化过程中涉及到的侧链基团）更为接近。
- 定向：底物必须精确的指向催化基团

3. “钥匙和锁”模型

- 为了解释观察到的酶的特异性，1894年，赫尔曼·埃米尔·费歇尔提出，酶和底物靠着互补的几何形状精准地结合在一起。这一理论即通常所说的“钥匙和锁”模型。这一早期的理论解释了酶的专一性，但却没能解释酶的过渡态为何能稳定存在。
 - 每种酶与一种底物结合。
 - 活性位点与底物具有互补结构
 - 底物的整体形状与电荷分布使其能够进入酶的活性位点并与之进行相互作用。

4. 诱导契合模型

- 1958年，丹尼尔·科甚兰提出了一个对钥匙与锁模型进行修正的理论：酶的结构相对灵活，底物与酶（活性位点）作用时，活性位点会不断改变结构。底物不是简单地与一个刚性的活性位点结合。组成活性位点的氨基酸侧链的准确有序排布保证酶能执行催化功能。糖苷酶等酶，当底物分子与活性位点结合时，底物分子亦会发生轻微的形状改变。直到底物与酶发生完全结合，分子形状和电荷排布都最终确定，活性位点都会不断发生结构变化诱导契合可以通过结构校对机制在噪音和竞争物存在的条件下增强分子识别的保真度。

5. 构象改变效应

- 酶构象的改变可能导致酶-底物复合物张力变大。
- 这种张力有助于使酶-底物复合物进入过渡态。
- 在过渡态时，活性位点与底物的结合越紧密，反应速率就越快

6. 酸碱催化机制

- 瞬时向反应物提供质子，或从反应物接受质子，以稳定过渡态，加速反应的一类催化机制。
- 酶活性位点含有能作为质子给体或受体的侧链基团
- 组氨酸 His 在活性位点很常见，因为他在生理 pH 下很容易获得或给出质子。（含有咪唑基团）

7. 共价催化机制

- 酶和底物之间生成短暂的共价键（即中间体）

- ▶ 未催化: $A - B \rightarrow A + B$
- ▶ 催化剂 X: $A - B + X \rightarrow A - X + B \rightarrow A + B + X$:
- ▶ X 一般具有亲核性

8. 金属离子催化

- 已知酶中近三分之一需要一种或多种金属离子才能发挥催化作用
- 在金属离子酶复合物与底物之间的离子相互作用:
 - ▶ 帮助引导底物进行反应
 - ▶ 稳定带电反应过渡态
 - ▶ 通过金属离子的可逆变化介导氧化还原反应

多元催化与协同反应

酶催化反应中，往往是几个催化反应机制配合在一起共同发挥作用。

催化三联体(Catalytic triad)

6.2 酶促反应动力学和酶的抑制作用

6.2.1 酶促反应动力学

1. 酶活力测定方法

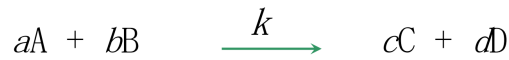
- 测定条件：最适温度，pH，最适缓冲液离子强度，[S]足够大。

2. 酶的活力单位(U)

- 酶活力的大小即酶含量的多少，用酶活力单位表示，即酶单位(U)。酶单位的定义是：在一定条件下，一定时间内将一定量的底物转化为产物所需要的酶量。这样酶的含量就可以用每克酶试剂或与每毫升酶制剂含有多少酶单位来表示(U/g 或 U/ml)。
- 总活力：活力单位数/ml 酶液 × 总体积 (ml)
- 比活力：活力单位数/ml 蛋白
- 纯化倍数：每次比活力/第一次比活力
- 回收率（产率）= 每次比活力/第一次比活力 × 100%

3. 反应级数：

- 反应物分子在碰撞中一步转化为生成物分子的反应称为基元反应(Elementary reaction)。
- 绝大多数化学反应都不是基元反应，而往往是要经过若干个基元反应才能最后转化为产物。这些基元反应代表了反应所经过的途经。
- 基元反应的速度与反应物浓度的乘积成正比，而各反应物浓度项的方次等于反应式中相应物质的系数。基元反应的这个规律称为质量作用定律。



$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A]^a[B]^b$$

- 若一个反应的速度方程式具有以下形式：

$$-\frac{d[A]}{dt} = k[A_1]^{m_1}[A_2]^{m_2} \dots [A_n]^{m_n} \quad (6.1)$$

则上式中各反应物浓度项的次方之和， $m_1 + m_2 + \dots + m_n = m$, m 被定义为反应的级数。

- 若反应速率与浓度无关，则反应为 0 级反应
- 反应级数可以是分数。

4. 米氏方程

米-门二氏动力学（英语：Michaelis-Menten kinetics），又称米氏动力学，以德国生物化学家莱昂诺尔·米夏埃利斯和加拿大医师莫德·门滕的名字命名，是酶动力学中一个极为重要的方程，可以描述多种非变异构酶动力学现象，其表示式为：

$$V_0 = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_m} \quad (6.2)$$

- 方程推导：

假设有如下所示的酶促反应：



有平衡态近似：

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] = 0 \quad (6.4)$$

$$[ES] = \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2} \quad (6.5)$$

定义米氏常数 K_m

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (6.6)$$

则原式简化为：

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_m} \quad (6.7)$$

总的酶的浓度 $[E_0]$ 等于自由酶 $[E]$ 与酶-底物化合物 $[ES]$ 的和, 则有以下关系:

$$[E] = [E_0] - [ES] \quad (6.8)$$

带入 6.7 式并化简, 则有:

$$[ES] = [E_0] \frac{1}{1 + \frac{K_m}{[S]}} \quad (6.9)$$

下式可以描述该酶促反应的速率:

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = k_2[E_0] \frac{[S]}{[S] + K_m} = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_m} \quad (6.10)$$

或:

$$V_0 = V_{\max} \frac{[S]}{[S] + K_m} \quad (6.11)$$

- K_m 是酶的特征常数, 只与反应本身有关。可用来判断酶的专一性和天然底物 (K_m 越小的底物)
- K_m 大小等同于反应速率为最大值一半时的底物浓度。
- 酶促反应的最佳底物浓度为 $0.2-5K_m$ 之间。
- 具有高 K_m 的酶需要更高底物浓度才能达到和低 K_m 的酶同样的反应速率。

6.2.2 酶促反应动力学和酶的抑制作用

1. 基本概念

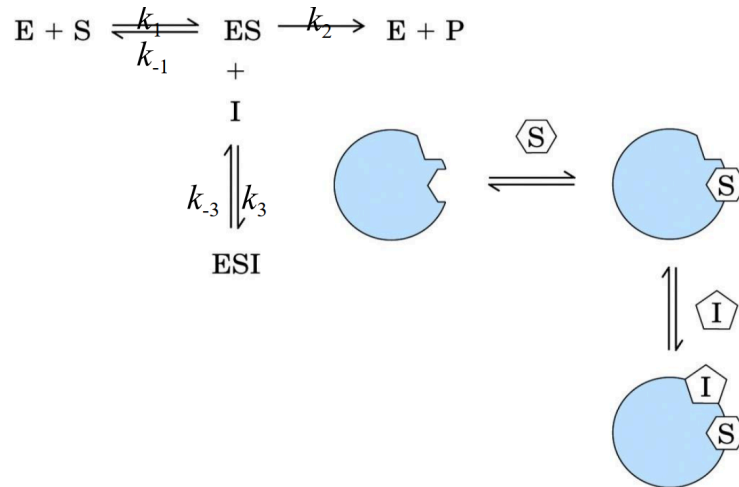
- 灭活(Inactivation): 使酶蛋白变性而引起酶活力丧失的作用
- 抑制(Inhibition): 酶未变性, 酶的必需基团化学性质改变而引起酶活力的降低或丧失的作用
 - 可逆抑制剂: 抑制剂和酶的非共价结合, 总是可以通过去除抑制剂来逆转。
 - 不可逆抑制剂: 分子与酶共价结合, 从而真正使酶失去活性

2. 可逆抑制剂:

- 竞争性抑制剂:
 - 抑制剂与酶的底物非常相似
 - 接受分子到达底物结合位点
 - 阻止酶催化预期反应
 - 可通过增加 $[S]$ 而解除
- 非竞争抑制剂
 - 分子或离子与酶上活性位点以外的位点结合。
 - 这种化合物完全不需要与底物相似
 - 别构现象

• 反竞争抑制剂

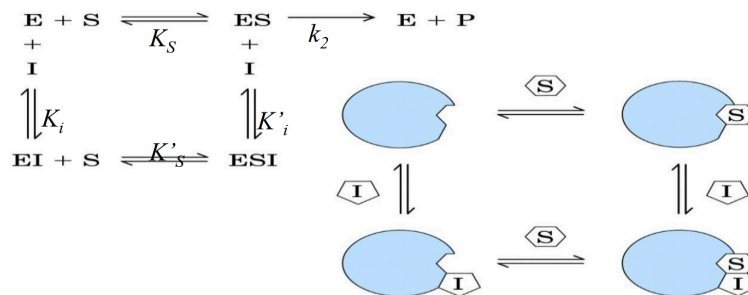
- ▶ 抑制剂不直接与游离酶相结合，而仅与酶-底物复合物结合形成底物-酶-抑制剂复合物，从而影响酶促反应的现象。



(b) Uncompetitive inhibition

• 混合型抑制剂

- ▶ 两种可逆类型的酶抑制（竞争性抑制和非竞争性抑制）的组合。



(d) Mixed inhibition

• 不可逆抑制剂

- ▶ 几乎所有不可逆酶抑制剂都是有毒物质，无论是天然的还是合成的。
- ▶ 与酶上的某个功能基团共价结合或破坏该功能基团，而该功能基团对于酶的活性至关重要，或者形成特别稳定的非共价结合

6.3 酶的分类及酶功能的多样性

1961年，国际生物化学和分子生物学联合会 (IUBMB) 酶委员会 (EC) 设计了一个命名和编号系统。把酶分为六大类，并有亚类和亚亚类，以更准确地定义其功能。2018年8月，IUBMB正式引入第七类转位酶。

- 氧化还原酶(Oxidoreductases)
- 转移酶(Transferases)
- 水解酶(Hydrolases)
- 裂合酶(Lyases)
- 异构酶(Isomerases)

- 连接酶(Ligases)
- 转位酶(Translocase): 是指一些催化离子或分子跨膜转运或在细胞膜内易位反应的酶, 即将离子或分子从膜的一侧转移到另一侧。

6.4 核酶

1. 核酶 (ribozyme), 亦称核糖核酸酵素、RNA 酵素, 是具有催化特定生物化学反应的功能的 RNA 分子, 类似于蛋白质中的酶。
2. 核酶的大部分活性都基于两种基本反应: **酯交换和磷酸二酯键水解(裂解)**。核酶的底物通常是 RNA 分子, 甚至可能是核酶本身的一部分。
3. 已知的核酶:
 - 核糖体 RNA (rRNA)
 - 生物细胞中主要的核糖核酸之一, 是一种具有催化能力的核糖酶, 但其单独存在时不能如其他核糖核酸那样发挥作用, 仅在与多种核糖体蛋白质共同构成**核糖体**(一种无膜细胞器)后才能执行其功能。23S 和 28S rRNA 在转译过程中作为**肽酰转移酶**催化多肽(包括蛋白质)中氨基酸之间**肽键的形成**。rRNA 是单链 RNA, 但通过折叠形成了广泛的双链区域。
 - 核糖核酸酶 P (RNase P)
 - 核糖核酸酶 P 也是一种核酶, 即由一个 RNA 分子发挥催化活性, 它是第一个被发现的蛋白质以外具有催化活性的生物大分子。它的功能是**剪切 tRNA 分子中 RNA 上多余的或前体的多余序列**。
 - RNA 酶 MRP (RNase MRP)

7 维生素

1. 维生素功能

- 作为辅酶（维生素 B 衍生物）
- 作为激素（维生素 A&D）
- 抗氧化剂（维生素 A,C&E）

2. 维生素 A

- 一组不饱和营养有机化合物，是人类的必需营养素之一，当中包括视黄醇、视黄醛、视黄酸及多种维生素原 A 类胡萝卜素（最著名的是 β -胡萝卜素）

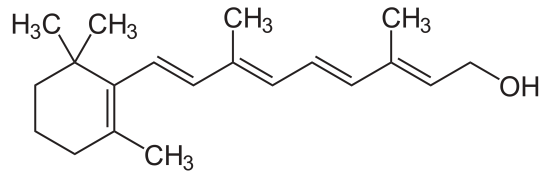
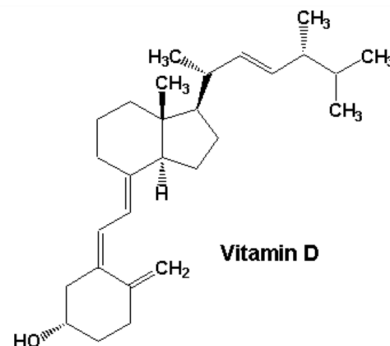


图 7.1. 维生素 A（视黄醇）

- 动物能够把胡萝卜素在体内转化为维生素 A 贮藏于肝脏中，它通常是以醇类的方式存在，称作**视黄醇**，其活性也是最高；但也有一些属于醛类，称作**视黄醛**；另外还有一些属于酸类，称作**视黄酸**。视黄醇与视黄醛主要掌管杆细胞的视觉循环，而视黄酸主要是掌管人体内上皮组织分化有关，因此有些视黄酸衍伸物（俗称的 A 酸）常用于皮肤疾病上的治疗，另外有一种称作视黄酯，其为人体内储存脂溶性维生素 A 的主要型式。

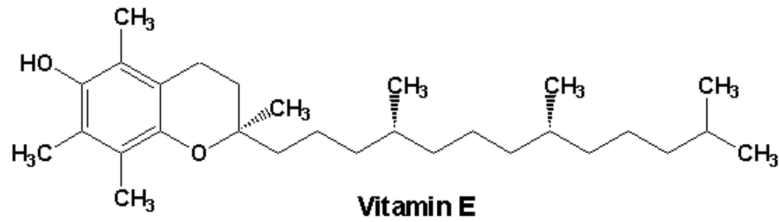
3. 维生素 D

- 是一种亲脂性类固醇衍生物，为一种激素的前体，属于脂溶性维生素，负责促进肠道对钙、镁和磷酸盐的吸收，另外还有其他多种生物效应
- 对人类而言，维生素 D 中最重要的化合物是**维生素 D2（麦角钙化醇）**和**维生素 D3（又称为胆钙化醇）**
- 维生素 D 的主要天然来源是通过日光照射后在皮肤表皮的下层的化学反应生成胆钙化固醇
- 维生素 D 对钙元素在人体内的平衡和代谢中具有重要作用，可用以预防**佝偻病**和“成人骨软化症”，与钙质合用可以预防出现常见于老年人群的骨质疏松症。



4. 维生素 E

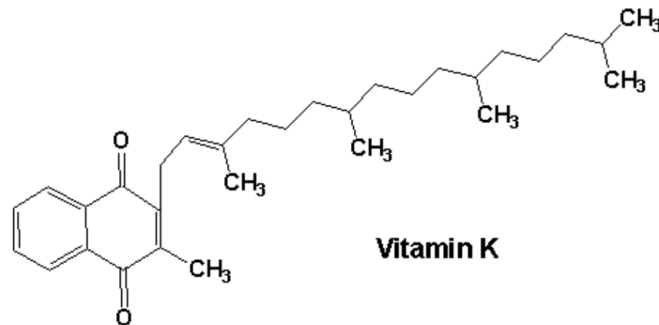
- 是一组八种的脂溶性维生素，包括了四种生育酚及另外四种生育三烯酚。它是最主要的抗氧化剂之一。



- 维生素 E 缺乏症很罕见，这通常是由于消化膳食脂肪的潜在问题而非饮食中缺乏维生素 E 所引起的，而缺乏维生素 E 会引致神经系统疾病。维生素 E 也是一种脂溶性抗氧化剂，可保护细胞膜免受活性氧类的侵害

5. 维生素 K

- 食物中结构类似于脂溶性维生素的一种物质，是萘醌基的衍生物 2-甲萘醌，具疏水性，它是一些特定蛋白质翻译后所必需的，尤其是血液凝固中必备的蛋白质，并作为膳食补充剂销售。



- 人体某些蛋白质需要维生素 K 作为合成后修饰以作血液凝血，或用于控制骨骼中的钙和其他组织
- 促进肝脏合成凝血酶原 (凝血因子 II), 调节另外三种凝血因子 VII, IX, X 的合成

6. 维生素 B₁(硫胺)

- 又称硫胺，硫胺素。它是人体必需的 13 种维生素之一，是一种水溶性维生素，属于维生素 B 族，它最终被指定了通用描述名称维生素 B₁。其磷酸盐衍生物参与许多细胞过程。最好形式是焦磷酸硫胺素 (TPP)，是糖和氨基酸的分解代谢的辅酶。

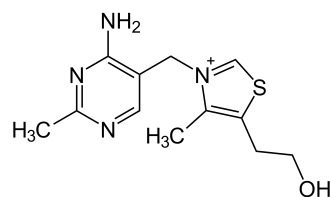


图 7.5. 维生素 B₁(硫胺)

- 硫胺主要扮演食物中的糖与糖类（淀粉）在消化过程中的处理角色，最后产生能量；同时作为肌肉协调及维持神经传导之需。维生素 B1 亦有中度的利尿作用。
- 维生素 B1 缺乏,糖代谢受阻,丙酮酸积累；血、尿、脑组织丙酮酸含量增多，出现多发性神经炎，皮肤麻木，心力衰竭，肌肉萎缩，下肢浮肿等；脚气病

7. 维生素 B₂(核黄素)

- 核黄素又称维生素 B2、维生素 G，分子式，属于水溶性维生素及维生素 B 族。
- 它是合成两种辅酶——黄素单核苷酸(FMN)及黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)的必要成分。能量代谢、呼吸作用、抗体制造、生长发育都需要这两种辅酶。此外，它们还涉及到烟酸、维生素 B₆、叶酸的代谢中。核黄素是治疗角膜变薄的处方药，其口服药也可减少偏头痛发生的次数。

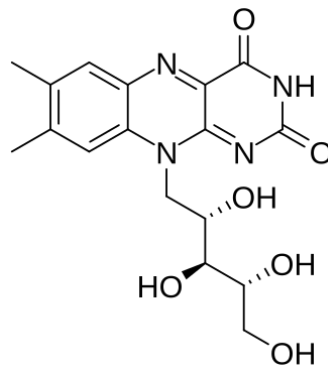


图 7.6. 维生素 B₂(核黄素)

- 核黄素可以合成 FMN 和 FAD 这两种重要的辅酶，能量代谢、呼吸作用、抗体制造、生长发育都需要这两种辅酶。此外，碳水化合物、蛋白质、脂肪的代谢都需要核黄素。把色氨酸转化成烟酸（维生素 B₃）需要 FAD，而把维生素 B₆ 转化成辅酶磷酸吡哆醛则需要 FMN 的参与。核黄素还控制了血液中高半胱氨酸的浓度，缺乏核黄素会导致高半胱氨酸浓度上升，增加患上心血管疾病的风险。

8. 维生素 B₃

- 维生素 B₃ 属于维生素 B 族，包括三个维生素异构体，分别是烟酸、烟酰胺和烟酰胺核糖。

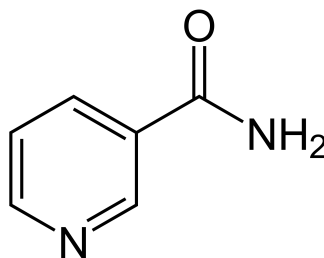


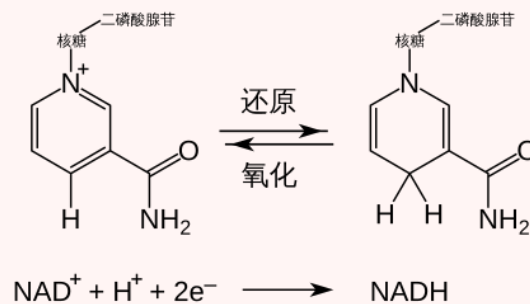
图 7.7. 维生素 B₃

- 这三种维生素异构体在人体内都会转化成烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)。生命需要 NAD，而人体不能在没有维生素 B3 或色氨酸的情况下合成 NAD。

- 烟酰胺是辅因子烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADP+) 的组成部分。

烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NAD) 简称辅酶 I, 是脱氢酶的辅酶, 作为氧化作用中的电子载体, 氧化底物时其分子中的烟酰胺环接受一个氢离子和两个电子。

NAD 由两个核苷酸组成, 所以叫二核苷酸, 一个含有腺嘌呤, 另一种含有烟酰胺, 这两个核苷酸通过焦磷酸盐连接在一起。NAD 以两种形式存在: 氧化形式的 NAD⁺ 和还原形式的 NADH。NADH 最多可携带两个质子 (写为 NADH + H⁺)。NAD 作为一种可以转递质子 (更准确来说是氢离子) 的辅酶, 出现在细胞很多代谢反应中。



9. 维生素 B₅ (泛酸)

- 水溶性维生素。它是人体必需的维生素之一。动物需要泛酸以合成辅酶 A, 而辅酶 A 是动物代谢糖类、蛋白质、脂肪的必要物质。

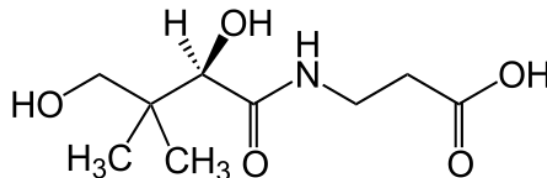


图 7.9. 维生素 B₅ (泛酸)

- 几乎所有食物中都含有泛酸。

辅酶 A 是一种辅酶, 值得注意的是其在合成和氧化脂肪酸的角色, 和在三羧酸循环中氧化丙酮酸。利用辅酶 A 作为底物, 并在 4% 左右的细胞酶中 (或硫酯, 例如乙酰辅酶 A) 作为基材。在人类中, 辅酶 A 生物合成需要半胱氨酸、泛酸 (维生素 B₅) 和三磷酸腺苷 (ATP)。主要参与脂肪酸以及丙酮酸的代谢。

辅酶 A 是泛酸在生物体内主要活性形式, 由 3',5'-ADP 以磷酸酐键连接 4-磷酸泛酰-β-巯基乙胺形成。辅酶 A 所含活泼巯基可与酰基结合形成硫酯, 因此可作为酰基转移酶的辅酶, 在糖、脂质、蛋白质等代谢过程中起到转移酰基的作用。

10. 维生素 B_6 (抗皮炎维生素、吡哆素)

- B族维生素的一种，属必需维生素，由六种可以互相转化的维生素异构体构成，与氨基酸代谢密切关系，是氨基酸脱羧酶与转氨酶等的辅酶。
- 是一组六种化学上相关的化合物(维生素异构体)，它们都含有吡啶环。其中，磷酸吡哆醛(PLP)的生物活性最高，但其它的异构体也可以转化成磷酸吡哆醛。

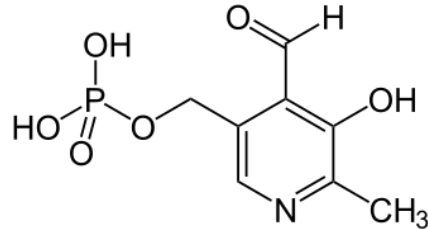


图 7.10. 维生素 B_6 (磷酸吡哆醛)

- PLP 参与多种营养素代谢、神经递质和组胺的合成、血红蛋白的合成和活动以及基因表达。PLP 是许多反应的辅酶(辅因子)，例如脱羧反应、转氨基反应、外消旋化、消除反应和置换反应。

11. 维生素 B_9 (叶酸)

- 叶酸，也称为维生素 B_9 、维生素 M、维生素 B_c 、蝶酰谷氨酸，属于维生素 B 的一种。

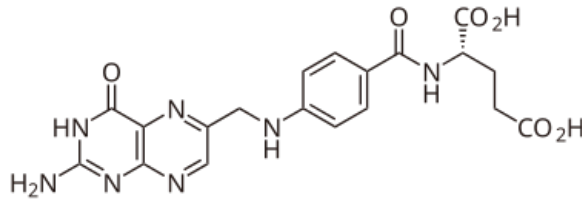
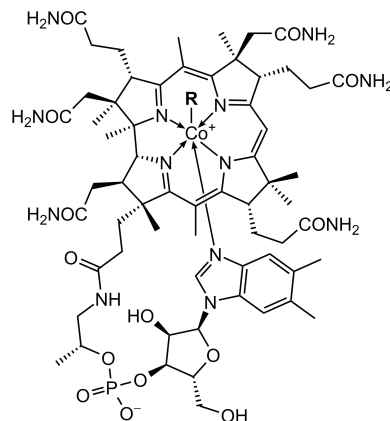


图 7.11. 维生素 B_9 (叶酸)

- 叶酸摄取不足会造成叶酸缺乏症，会导致巨母红细胞性贫血，症状包括疲劳、心悸、呼吸困难、舌头上的疮，以及皮肤或发色的变化

12. 维生素 B_{12}

- 维生素 B_{12} ，为 B 族维生素之一，是一类含钴的复杂有机化合物。



R = 5'-deoxyadenosyl, CH_3 , OH, CN

- 维生素 B12 一词有两种不同含义。一是广义上指一组含钴化合物即钴胺素，氰钴胺，羟钴胺，及维生素 B12 的两种辅酶形式，甲钴胺和 5-脱氧腺苷钴胺素；二是更特定的含义，仅指以上各种形式中的一种即氰钴胺，是 B12 来自食物和营养补充的主要形式。

13. 维生素 C(抗坏血酸)

- 又称抗坏血酸(英语: ascorbic acid), 是一种存在于各种食物的维生素, 也被作为营养补充品销售, 可用于预防及治疗坏血病。维生素 C 是参与组织修复和某些神经递质中的酶促生产。它是几种酶的功能中所必需的, 并且对于免疫系统运作很重要。它还用作抗氧化剂。

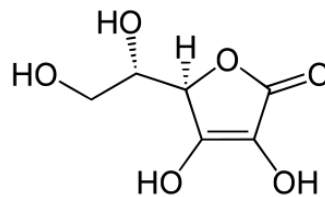


图 7.13. 维生素 C(抗坏血酸)

- 维生素 C 在动物(和人类)的许多酶促反应中有着**辅因子**的作用, 它调解各种生物学功能中的基本要素, 包括**伤口愈合和胶原蛋白的合成**。对人类来说, 维生素 C 缺乏症会导致胶原蛋白合成受损, 导致坏血病更严重的症状。维生素 C 的另一种生物化学的角色是充当**抗氧化剂(还原剂)**, 透过供应电子给各种酶促和非酶促反应。这样会把维生素 C 转化为氧化状态—半脱氢抗坏血酸或脱氢抗坏血酸。这些化合物可透过谷胱甘肽和依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)的酶促机制还原到还原状态。

8 激素

8.1 激素介绍

1. 激素(hormone)音译荷尔蒙,是内分泌腺体或散在的内分泌细胞所产生,经血液循环作用到靶细胞,对机体代谢和生理功能发挥高效调节作用的化学物质。激素可说是一种从一个细胞传递到另一个细胞的化学信使,仅需很小量的激素便可改变细胞的新陈代谢。
 - 由内分泌腺分泌
 - 发挥高效调节作用
 - 在较低浓度下即可发挥作用
2. 通过与靶细胞内或细胞表面的**特定受体**结合起作用
 - 特定细胞类型上特定受体的存在决定了分泌到血液中的激素如何仅影响某些组织。
3. 任何一种激素过多/过少会引起代谢紊乱或致死
4. 信号转导机制:
 - 在特定的组织中生物合成特殊的激素
 - 存储并分泌激素
 - 将激素运输至靶细胞
 - 通过细胞膜的膜蛋白质或者胞内受体对激素进行识别
 - 激素所传递的信号传递与放大:这一步最终会导致细胞的应答,而靶细胞做出反应后,产生激素的细胞可以识别出这种反应,并最终使得激素产物降解
 - 激素的降解
5. 第二类信使物质:第二信使在生物学里是胞内信号分子,负责细胞内的信号转导以触发生理变化,如增殖、细胞分化、迁移、存活和细胞凋亡。因此第二信使是细胞内的信号转导的启动组成部件之一。第二信使分子的例子包括:环腺苷酸(cAMP)、环磷酸鸟苷(cGMP)、肌醇三磷酸(IP3)、甘油二酯(DAG)和钙离子。

cAMP 作为第二信使的实验证据

1. 在靶细胞中,它应该受到影响该细胞的激素的刺激。
2. 靶细胞中其水平的变化应该先于或与激素刺激的最终结果同时发生。
 - 激素水平的变化应该与这种分子物质浓度的变化相匹配。
3. 抑制其分解的物质应该延长激素的作用时间。
4. 激素的生物效应应该通过添加来模仿

8.2 一些重要激素

1. 胰岛素

- 一种蛋白质激素，可以增强糖原的合成。
- 胰岛 β 细胞受内源性或外源性物质如葡萄糖、乳糖、核糖、精氨酸、胰高血糖素等的刺激而分泌。
- 功能：
 - 促进细胞膜上的葡萄糖载体将葡萄糖转运入细胞，从而控制葡萄糖进入肌肉和脂肪组织
 - 通过控制氨基酸的吸收来增强 DNA 复制和蛋白质合成。
 - 通过变构作用调控多种酶的活性。

2. 胰高血糖素

- 胰高血糖素，又称升糖素，由 29 个氨基酸组成直链多肽。它提高血液中葡萄糖和脂肪酸的浓度，被认为是身体的主要分解代谢激素。
- 该激素由胰岛的 α 细胞合成和分泌。最近的研究表明，胰高血糖素也可能在胰腺外产生，肠道是最有可能产生胰外胰高血糖素的部位。
- 胰高血糖素促进分解代谢，生物作用包括：
 - 促进肝的糖原分解和糖异生，使血糖增加
 - 促进脂肪分解、过多氨基酸和加强脂肪酸氧化导致酮体生成增多——称为糖发育不良可转换额外之氨基酸成简单碳水化合物，并将不同形式的食物转换成能量运用。

3. 肾上腺素

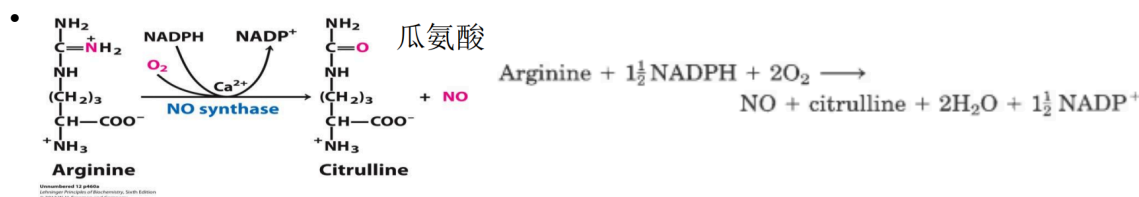
- 是由肾上腺髓质及某些中枢神经系统的神经元分泌的激素或神经递质，属于一种儿茶酚胺的单胺类化合物。
- 促进糖原分解并升高血糖、促进脂肪分解、引起全身血管收缩、胃肠道松弛，以及刺激心脏、引起心率加快、扩张支气管和脑血管。

4. 类固醇激素

- 类固醇激素是由几种内分泌腺组织中的胆固醇合成的。所有类固醇激素都通过核受体起作用，改变特定基因的表达水平。
- 五大类固醇激素：
 - 孕酮
 - 盐皮质激素
 - 糖皮质激素
 - 雄激素
 - 雌激素

5. 一氧化氮(NO)

- 一氧化氮是一种相对稳定的自由基，由分子氧和精氨酸的胍基氮在 NO 合酶催化下反应合成。



- NO 在其释放点附近起作用，进入靶细胞并激活细胞浆酶鸟苷酸环化酶，该酶催化第二信使 cGMP 的形成。
- 作用：
 - 在神经系统中：一氧化氮是一种神经信使分子，参与包括学习、记忆在内的多种生理过程，并且具有调节脑血流的作用。此外，一些神经退行性疾病的发生发展也有一氧化氮参与。
 - 在免疫系统中：氧化氮是免疫系统对付细菌、病毒、肿瘤细胞等病原体的有效武器。一氧化氮与超氧阴离子自由基发生快速反应，生成过氧化亚硝基，过氧化亚硝基具有强氧化性，能够杀死多种病原体而保护机体，但也对正常组织造成损伤。
- 一氧化氮已经成为**最普遍存在的细胞间信号传导分子**：一氧化氮参与生理系统活动的各个方面，而且作用范围不断扩大。更重要的是，人们已经发现它是血小板聚集的抑制因子，参与呼吸控制、神经递质的调节、胰岛素释放的控制、细胞凋亡和免疫应答。
- 硝化甘油可用治疗心脏病，因为在体内可以转变为 NO，NO 是最强劲的血管扩张剂。

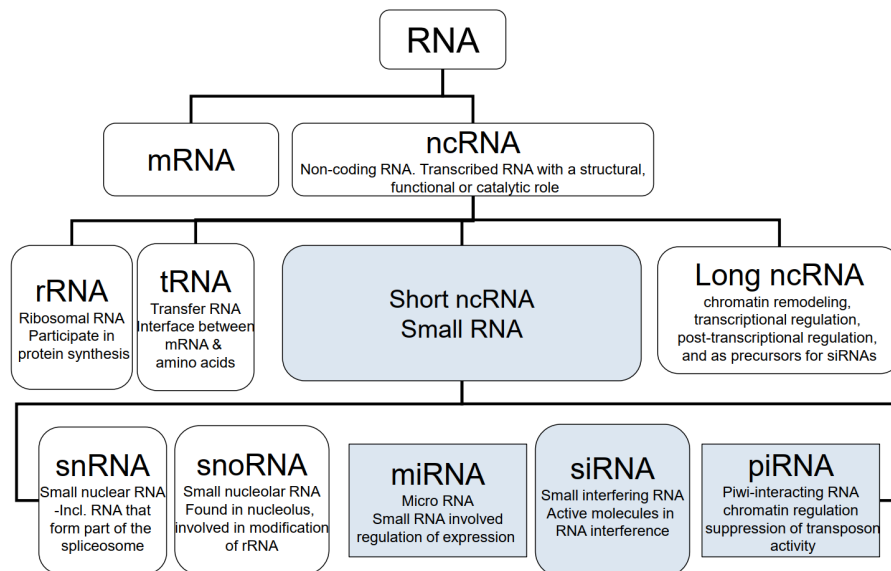
9 核酸

9.1 核苷酸和核酸

9.1.1 核酸的性质

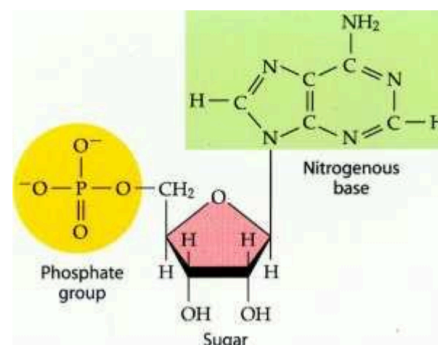
1. 两种核酸 DNA 和 RNA

- DNA(Deoxyribonucleic Acid)
 - 生物信息的存储和传输
 - 基因：DNA 分子的一个片段，包含合成功能性生物产品所需的信息
- RNA(Ribonucleic Acid)
 - mRNA, rRNA, tRNA
 -



2. 核酸构件-核苷酸

- 组成
 - 磷酸基团
 - 五碳糖
 - 碱基



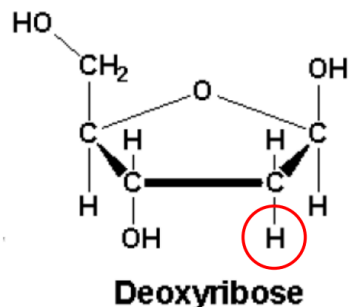
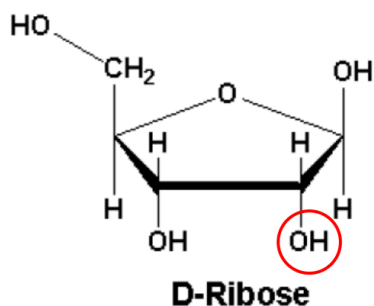
3. 碱基

- 腺嘌呤 A; 鸟嘌呤 G;
- 胞嘧啶 C; 胸腺嘧啶 T (DNA); 尿嘧啶 U(RNA)

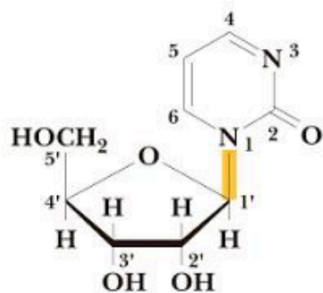
- 核碱基有酮式和烯醇式，可以互相转换。在生理 pH 条件下一般为酮式。

4. 五碳糖

- 脱氧核糖 and 核糖

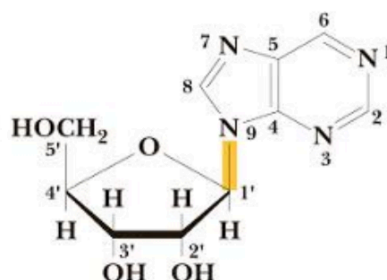


5. 核苷



β -N₁-glycosidic bond in pyrimidine ribonucleosides

嘧啶核苷



β -N₉-glycosidic bond in purine ribonucleosides

嘌呤核苷

- 将碱基与戊糖连接
- 糖苷键: 嘌呤环上第 9 位氮原子与戊糖的第 1 位碳原子相连形成糖苷键, 形成的化合物为嘌呤糖苷。嘧啶环上第 1 位氮原子与戊糖的第 1 位碳原子相连形成糖苷键, 形成的化合物为嘧啶糖苷
- 水溶性

6. 核苷酸

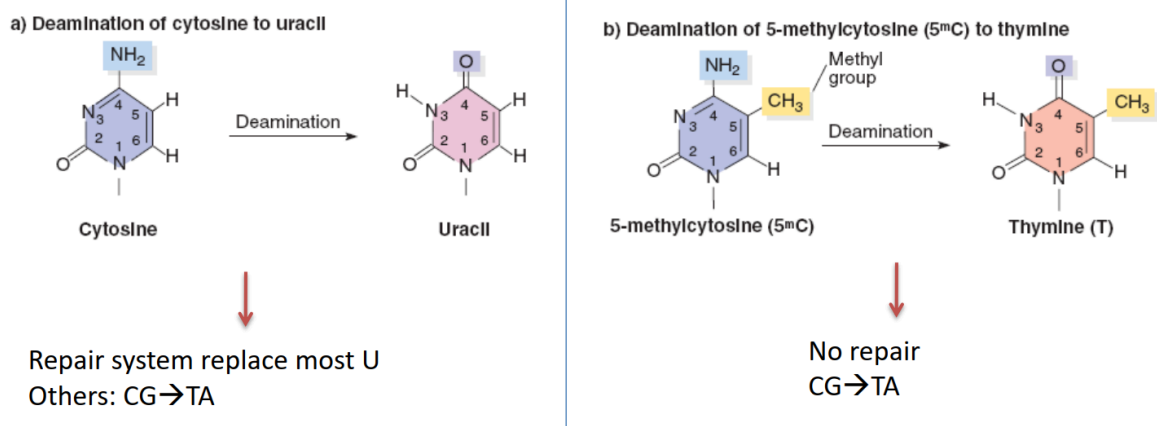
- 在核苷上添加磷酸盐以形成磷酸酯
- 磷酸盐的位置 (2'-、3'-、5'- 核糖核苷; 3'-、5'- 脱氧核糖核苷)
- 一个或多个磷酸基团
- 功能:
 - ▶ ATP: 核心能源载体
 - ▶ GTP: 蛋白质生物合成
 - ▶ CTP: 脂质生物合成

- ▶ UTP: 碳水化合物代谢
- ▶ 环状核苷酸: 二级信使; 代谢调节剂
- ▶ dNTP: 核酸的组成部分

7. DNA 与 RNA

- 结构区别:
 - ▶ DNA 的碱基为 A,T,C,G; 五碳糖为脱氧核糖, 2'处无羟基;
 - ▶ RNA 的碱基为 A,U,C,G; 五碳糖为核糖, 2'处有羟基;
- 与功能的联系:
 - ▶ DNA (脱氧核糖核酸) 用于存储信息。它必须在很长一段时间内保持稳定。RNA (核糖核酸) 上的 2' 羟基使得 RNA 很容易被分解。C (胞嘧啶) 会降解为 U (尿嘧啶), 所以如果 DNA 中有 U, 就没有可能纠正错误了。

8. 自发突变:脱氨(Deamination)



- 基因组中 5^mC 的位置通常表现为突变热点
- 碱基上失去一个氨基

9.2 核酸的结构

1. DNA 的结构层次

- 一级结构: 核苷酸序列
- 二级结构: 链的路径-双螺旋
- 三级结构: 螺旋在空间中的路径-超螺旋

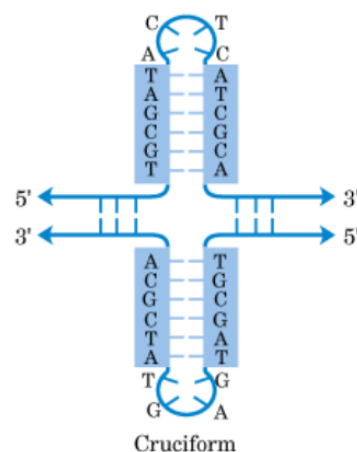
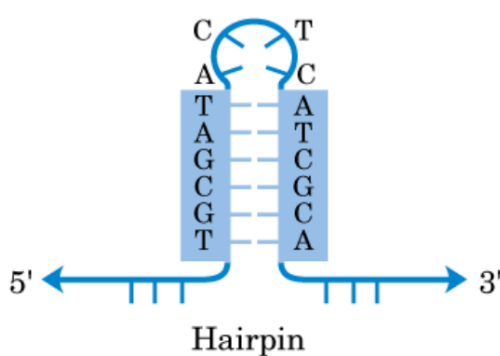
2. 一级结构

- 按 5'-3' 书写
- 简写: 使用单字母缩写:
 - ▶ p 代表磷酸盐 (开头为 5', 结尾为 3')
 - ▶ d 代表脱氧
- 碱基:
 - ▶ 碱基在内, 磷酸基团在外;

- ▶ 碱基是疏水性的
- ▶ 碱基堆叠在一起
- ▶ 碱基之间以氢键相连
- ▶ 碱基互补配对原则
- DNA 结构的作用力：氢键；碱基堆积力（非特异性，稳定双螺旋结构）

3. 二级结构

- B-DNA:
 - ▶ 生理条件下最稳定的结构；
 - ▶ 右手螺旋的共轴反向平行双链，有大沟(12Å)和小沟(6Å)。
 - ▶ 位阻更小，能更多的容纳水
- A-DNA
 - ▶ 脱水形态的 DNA；
 - ▶ 更短更粗；
 - ▶ 双链 RNA 和 DNA:RNA 杂合体呈 A 形；
- RNA 结构:
 - ▶ 在核糖的 2' 位置有一个羟基基团会导致形成 A 型螺旋结构，这种结构具有非常深且窄的大沟以及浅而宽的小沟。
- 一些不寻常的二级结构:
 - ▶ Z-DNA: 左手性 DNA，更加细长，呈之字形的 DNA 键，受某些核苷酸序列青睐，可能存在于局部区域；
 - ▶ 回文序列：一对背靠背的反向重复序列，不是镜像重复。
 - ▶ 发卡：单链 DNA/RNA。
 - ▶ 十字：双链 DNA 的两条链都参与其中



- ▶ H-DNA : 存在于多聚嘧啶或多聚嘌呤片段中，包含一个镜像重复序列。H-DNA 的结构特点是三链结构。
- ▶ Tetraplex DNA: 仅在具有非常高比例鸟苷残基的 DNA 序列中容易发生,G-tetrad。

9.3 基于 DNA 的信息技术

9.3.1 DNA 的变性与复性

1. DNA 的变性：破坏 DNA 双链

- 使 DNA 变性的因素：
 - 高温
 - 低离子强度
 - 增强疏水物质溶解度的物质
 - 破坏氢键稳定性的物质
 - 高 pH 值
- 增色性质：核苷酸由于其环状结构在紫外线范围内吸收光。碱基堆积会减少吸收的光量。拉开链，会增加吸收的光量。
 - 即可以通过测量 A260 来测量变性和复性的程度。
- 熔融温度 T_m ：50% 脱氧核糖核酸融化温度，通常在 82-95 摄氏度范围内。其大小取决于以下几点：
 - 离子强度 (Na^+ 升高, 中和磷酸根, T_m 升高。good for $[\text{Na}^+] = 0.01 \text{ M to } 1.0 \text{ M}$)
 - 碱基构成 (GC 高, T_m 高)
 - 长度 (长 DNA—配对的碱基更多—更稳定)
 - pH 值 (多数 DNA 在 pH 4-11 之间稳定。在 25°C 下, pH > 12 的脱氧核糖核酸变性。酸也会使磷酸二酯键变性和损坏磷酸二酯键。磷酸二酯键耐碱性 pH 值, 因此使用碱性 pH 是变性 DNA 的首选方法)
 - 碱基错误配对
- 应用：基因检查探针；PCR
- DNA 杂交反应：两步：碰撞（限速步骤）；拉链配对

9.3.2 聚合酶链式反应 PCR：

1. 原理：以 DNA 单链为模版，从引物提供的 3'-OH 开始延伸。
2. 变性(95°C)、复性(55°C)、延伸(72°C)，一般 30 个循环。
3. 原料：模版 DNA，一对引物，dNTPs，热稳定 DNA 聚合酶，缓冲液(含 Mg^{2+})。
4. 引物设计原则：12-30 nt、退火温度基本一致、GC 含量比约占一半、减少 3' 端 AT 含量和错配率、避免引物自身配对。
5. PCR 定点诱变

9.3.3 souther 印记杂交