

揭阳职业技术学院
生物工程系

授 课 教 案

2025 -- 2026 学年度第一学期

课程名称 _____ 生物化学 _____

班 级 _____ 药学 251 _____

教 研 室 _____ 药学教研室 _____

授课教师 _____ 韩文朋 _____

课程信息表

课程属性		专业必修课程		有无大纲	有	
授课总学时		54+18	学分	4	周学时	3
选 用 教 材	教材名称	生物化学				
	出版社	人民卫生出版社				
	编（著）者	李清秀				
	版次	3				
课程所需参考资料		<p>[1] 王镜岩主编，生物化学（第三版），北京：高等教育出版社</p> <p>[2] 陈芬、赵丽平编著，生物化学与技术（第二版），武汉：华中科技大学出版社</p> <p>[3] 吴显荣编著，基础生物化学（第二版）北京：中国农业出版社</p> <p>[4] 唐咏编著，基础生物化学，长春：吉林科学技术出版社</p> <p>[5] 阎隆飞编著，分子生物学（第二版）北京：中国农业大学出版社</p> <p>[6] 周顺伍编著，动物生物化学，北京，中国农业大学出版社</p>				
班级		药学 251	总人数	41		
考核方式		考试				
主要教学方法及手段		多媒体讲授、师生互动、案例分析、视频观摩				
备注						

第一章 绪论

章节	第一章 绪论	教学时数	3 学时
<p>教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>知识目标：</p> <ol style="list-style-type: none">1.生物化学的定义（掌握）。2.生物化学的研究内容（了解）。3.生物化学的发展过程（了解）。4.生物化学与其它学科的关系（了解）。5.生物化学的课程特点与学习方法（了解）。 <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none">1.具备生物化学基础理论、基本知识、基本技能。2. 具备从事药物生化研究方面工作的知识和能力。3. 具备从事药物制剂制备方面工作的知识和能力 <p>素质目标：</p> <p>培养学生从微观到宏观、从正常到异常的学习思辨能力，认识生命现象的本质及其基本规律，主动了解药学发展的新动向，鼓励和培养其自主学习能力，牢固树立终身学习的信念；培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习和临床实践奠定坚实的基础。</p> <p>思政元素：</p> <p>在生物化学发展史上，我国的科学家做出不可磨灭的贡献。20 世纪 30 年代我国生物化学家吴宪提出蛋白质变性的学说。1965 年 9 月，中国科学院生物化学所、有机化学所和北京大学化学系合作，在世界上首次人工合成了结晶牛胰岛素。1981 年 11 月，我国科学家在世界上首次人工合成了 76 个核苷酸的酵母丙氨酰 tRNA，这在科学上特别是在生命起源研究上具有重大意义。屠呦呦发现的青蒿素为人类治疗疟疾做出了巨大贡献。</p>			
<p>教学重点及难点：</p> <p>重 点：生物化学的研究内容：静态生物化学和动态生物化学。</p> <p>难 点：激发学生对生物化学课程的兴趣。</p>			

<p>教学方法及手段：多媒体讲授；视频观摩；</p>	<p>思政内容设计</p>
<p>教学过程：</p> <p>一、课程导入</p> <p>通过一首金斯瑞杯生物化学竞赛歌曲《明天更酶好》，并通过介绍金斯瑞杯生物化学歌曲竞赛要求，激发学生的学习兴趣。通过日常生活现象的观察，引导学生，哪些是生物化学范畴，开启本课程。</p> <p>二、学情分析</p> <p>结合前面所学过的化学相关知识，从单纯的物质，到反应，了解学生的基础情况。</p> <p>三、新课内容</p> <p>第一节 生物化学的概念和任务</p> <p>1、生物化学的概念</p> <p>生物学与化学交叉而产生的一门边缘学科，是运用化学、物理、免疫及生物学的理论和方法研究组成生物体的基本物质的化学组成、理化性质、结构与功能的关系以及这些物质在体内的变化规律及其与生理功能之间的关系，是在分子水平上阐明生命现象的本质一门学科，是一门研究生命的科学的科学，又称为生命的化学。</p> <p>2、生物化学研究内容</p> <p>(1) 生物体的化学组成、分子结构、理化性质、结构与功能的关系</p> <p>从生物学的角度讲，细胞是生物体基本结构与功能单位。</p> <p>细胞膜：选择透过性膜，小分子可通过，大分子不能。</p> <p>细胞核：遗传物质储存和复制的场所。</p> <p>细胞质：生命代谢活动的主要场所。由基质、各种细胞器(核糖体、线粒体、质体、高尔基体等)构成。</p> <p>从化学的角度讲，生物体内的物质分为有机物和无机物两大类。</p> <p>无机物有水和无机盐，在生物体和细胞的成分中，水是含量最高的化合物，一般细胞或机体内水的含量在 50%以上，甚至可达 99%。新生儿中体内水的含量约占 80%、而老年人则可能下降至 55%，人体的含</p>	<p>1、激发学生对生物化学的学习热情。</p>

水量随年龄增长而减少。因此如果没有水，生命活动将无法进行。

重要的有机物主要是蛋白质（包括酶）、核酸、糖类、脂类等。他们是生物体内特有的大分子，叫生物大分子。这些物质种类繁多，结构复杂，但其结构有一定的规律性，都是由许多小分子按一定的顺序和方式连接而成的多聚体，分子量由几千到上百万不等。构成聚合物的小分子叫单体，如：

蛋白质--氨基酸(肽键)

核酸--核苷酸(磷酸二酯键)

多糖--单糖(糖苷键)

它们是组成生命体的基本物质，要研究生命，首先要对这类分子的化学组成、结构、性质进行分析。这是认识生物体的物质基础。

(2) 物质代谢及其调控

物质代谢又叫新陈代谢，是生命体的基本特征之一。生命体的基本物质不断地进行复杂多样而又有规律的化学变化，并与周围环境不断地进行物质交换和能量交换。新陈代谢一旦停止，生命就结束。

生命体具有精密、完善的代谢调控机制，使新陈代谢能有序地进行，使各组织器官的功能得以正常发挥。一旦调控机制受到破坏，人体就会表现出疾病。所以物质代谢及其调控是生物化学的中心内容。

(3) 遗传信息的储存、传递和表达

DNA 复制，即遗传信息的传递;DNA 转录成 RNA，再指导蛋白质的生物合成，完成遗传信息的表达。这是现代生化的研究内容。

第二节 生物化学的发展简史

(一) 古代生物化学的发展

生物化学是一门较年轻的学科，在欧洲约在 160 年前开始，逐渐发展，一直到 1903 年才引进“生物化学”这个名词而成为一门独立的学科。但发展历史却很悠久，在我国，其发展可追溯到远古。我国古代劳动人民在饮食、医、药等方面都有不少创造和发明。

1、饮食方面

公元前 21 世纪(4000 年前)，我国人民已能造酒，作酒必用曲，故称

2、培养学生的民族自豪感和自信心，提升文化自信，正确认识

曲为酒母，又叫做媒，与酶通，是促进谷物中的淀粉转化为酒的媒介物，现在将促进生物体内化学反应的媒介物(即生物化剂)统称为酶;公元前12世纪以前，已能制饴(麦芽糖)，是大麦芽中的淀粉酶水解谷物中淀粉的产物。在这同时，还能将酒发酵成醋。可见我国在上古时期，已使用生物体内一类很重要的有生物学活性的物质——酶，这也是酶学的萌芽。

2、医药方面

我国古代医学对某些营养缺乏病的治疗，也有所认识，如地方性甲状腺肿古称“瘰病”，主要是饮食中缺碘所致，公元4世纪，用含碘丰富的海带、海藻、紫菜等海产品防治。而在欧洲直到公元1170年才有用海藻及海绵的灰分治疗此病者。脚气病是缺乏维生素B1的病，孙思邈(公元581~682年)认为是一种食米区的疾病，可用含有维生素B1的中药等治疗。夜盲症古称“雀目”，是一种缺乏维生素A的病。孙思邈首先用含维生素A较丰富的猪肝治疗。

中国古代在生物化学的发展上，是有一定贡献的。但是由于历代封建王朝的尊经崇儒，斥科学为异端，所以近代生物化学的发展，欧洲就处于领先地位。

(二) 近代生化的发展

近代生物化学的发展，大体可分为三个阶段。

1、静态生物化学时期：二十世纪二十年代前

始于18世纪初，主要研究生物体的化学组成，对生物体各种组成成分进行分离、纯化、结构测定、合成及理化性质的研究。

2、动态生物化学时期：二十世纪前半叶

着重于生物体内物质代谢途径及其动态平衡研究，突出成就是确定了糖酵解、三羧酸循环以及脂肪分解等重要的分解代谢途径。发现了必需氨基酸、必需脂肪酸、多种维生素及一些不可或缺的微量元素等。在分泌方面，发现了各种激素。

3、分子生物时期：二十世纪五十年代后

着重于探索遗传信息的储存、传递和表达，并逐渐形成完整的理论和应用体系。

生物化学的发展，激发学生对生物化学的学习兴趣和热情。

3、启迪学生学习生物化学的方法，分类、总结、归纳。

(三)、生物化学发展中的重大事件

匈牙利科学家阿尔伯特·森特·哲尔吉因发现维生素 C 而获得 1937 年的诺贝尔医学奖。阿尔伯特·森特·哲尔吉是 20 世纪最著名的科学家之一，出生于匈牙利的布达佩斯，他称自己当时是“一个不怎么灵的孩子”，一个差生，十多岁时，突然对科学着了迷，以荣誉学生从高中毕业，1911 年进入布达佩斯医学院。哲尔吉在 1917 年完成医学教育后的 7 年时间里，先后在德国、荷兰等国从事生物化学研究，在此期间，他对为什么水果暴露在空气中会变成褐色发生了兴趣，经进一步研究，他分离出了当时还不为所知的一种能够阻止水果变色的物质，并取名为 hexuronic acid,后来确定了这种物质就是今天我们所知道的维生素 C 并获得 1937 年的诺贝尔医学奖。

英国生物化学家克雷布斯发现三羧酸循环，获 1953 年诺贝尔生理学奖；

1953 年沃森-克里克确定 DNA 双螺旋结构，获 1962 年诺贝尔生理、医学奖；

1955 年，英国生物化学家桑格确定牛胰岛素结构，获 1958 年诺贝尔化学奖；

1980 年，桑格和吉尔伯特设计出测定 DNA 序列的方法，获 1980 年诺贝尔化学奖；

1977 年，Stanley Prusiner，发现一新型的致病因子-感染性蛋白颗粒“prion” (疯牛病)，获 1980 年诺贝尔生理、医学奖。诺贝尔奖金(90 多万美元，最高荣誉)

我国的生物化学与世界先进水平较接近，1965 年合成结晶牛胰岛素，1981 年合成酵母丙氨酸转运核糖核酸，猪胰岛素 x 射线晶体的分析研究，表明我国生物大分子的 x 射线晶体结构研究跨入了世界先进行列。

第三节 生物化学与药学

生物化学是药学各学科的“共同语言”。药理学在很大程度上是以生物化学为基础的，由于大多数药物都通过酶催化反应进行代谢，因此要了解药物在体内如何进入细胞，在细胞内如何代谢转化，并在分子水平

上探讨药物作用机制，必须以生物化学知识为基础;药物化学研究药物的化学性质、合成及结构与药效的关系，应用生物化学的知识可为新药设计提供依据，以减少新药寻找过程的盲目性，提高寻找新药的效率;药剂学研究药物制剂与药物在体内的吸收、分布、代谢转化和排泄过程的关系，阐明药物剂型因素与疗效之间的关系，因此生化代谢与调控理论是药剂学的重要基础。

生物化学对预防医学也很重要。如何供给人体以适当的营养，从而增进人体的健康，是生物化学的一个重要问题。适当的营养可预防、治疗疾病。维生素是治疗维生素缺乏症和不足症的最有效药物:补充蛋白质可加速外科创伤的愈合。

生物化学在制药工业生产实践中也起着重要作用。生化药物是运用生物化学理论和技术，把生物体内重要的基本物质用于治疗疾病的一大类药物，在临床应用的已有 200 多种，包括氨基酸、蛋白质、核酸、酶、维生素和激素等。例如:从动物脑组织提取物中制取脑磷脂、卵磷脂;从胃粘膜及分泌的消化液制备胃蛋白酶、胶原蛋白酶等;以人血为原料可生产人血白蛋白、免疫球蛋白等。生化药物因具有药理活性高、毒副作用小、营养价值高等特点而成为制药工业的新门类。特别是 80 年代以来，应用 DNA 重组技术生产人胰岛素、乙肝疫苗、狂犬病疫苗、口蹄疫疫苗和爱滋病疫苗，使生化药物成为新的增长点。

(四) 观看视频

- 1、人类基因组计划
- 2、基因工程
- 3、最新研究：人工体外用 CO₂ 合成淀粉。

第四节 学习方法

授课方式:

- 1、较简单的内容：自学+上课抽查
- 2、重点：上课讲
- 3、重点中的难点：反复讲
- 4、案例分析，并进行讨论。

4、激发学生的探索精神，理论与专业相结合的创新精神。

<p>生物化学是一门比较难学的课程，在学习过程中要注意以下几方面：</p> <p>注意：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.需要有机化学的基础； 2.做作业勤抄结构式，代谢方程式，及代谢途径； 3.适当做一些习题加以巩固学过的知识； 4.重视实验课、练习题等过程，巩固课堂知识； 	
<p>作业：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、名词解释：生物化学， 2、生物化学的研究内容和研究方法。 	

第二章 蛋白质化学

章节	第二章 蛋白质化学	教学时数	6 学时
<p>教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>知识目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.20 种氨基酸的名称及简称符号及其分类方法（掌握）。 2.氨基酸吸收光谱，等电点，氨基酸参与的反应（了解）。 3.蛋白质一，二，三，四级结构有关概念（了解）。 4.蛋白质结构与功能的关系（掌握）。 5.蛋白质的酸碱性质，吸收光谱，胶体性质和沉淀反应，变性（掌握）。 6.氨基酸和蛋白质分离纯化原理及方法（了解）。 <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.具备蛋白质、氨基酸的基础结构理论、基本知识、基本技能。 2. 具备从事蛋白质或氨基酸类药物检测、制备和研究方面工作的知识和能力。 <p>素质目标：</p> <p>培养学生科学、正确的认识生命现象的本质及其基本规律，认识蛋白质类药物的结构和药学发展的方向。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。</p>			

<p>思政元素：</p> <p>讲蛋白质的元素组成时，引入“三聚氰胺”事件；在讲解胰岛素一级结构的测定以及RNase 的变性复性实验时，展示相关科学家的事迹，探索科学的过程，追求真理的历程。</p>	
<p>教学重点及难点：</p> <p>重 点：</p> <p>1.蛋白质组成的基本单位 L-α-氨基酸的特点、分类，空间结构。</p> <p>2.一、二、三、四级结构的概念及特点，维系一、二、三、四级结构的次级键。</p> <p>3.蛋白质的主要化学性质。</p> <p>难 点：</p> <p>1.蛋白质构象与构型的区别。</p> <p>2.二、三、四级结构的种类、特点肽键平面特点。</p>	
<p>教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩</p>	<p>思政内容设计</p>
<p>教学过程：</p> <p>一、课前导入</p> <p>通过日常案例，一是运动员食用蛋白粉，二是鸡蛋内部物质，蛋黄和蛋白，三是面筋，引导学生认识蛋白质；同时扩大范围，对比头发、肌肉、血液等物质，引出课程的主要内容。引用“三聚氰胺”事件，引出蛋白质含量鉴定内容。</p> <p>二、学情分析</p> <p>结合图片，回顾有机化学相关知识，主要是取代羧酸，重新归纳总结取代羧酸的结构特点及化学性质，并引导学生利用所学知识，探索蛋白质的组成单元氨基酸可能的性质，以此来判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。</p> <p>三、新课内容</p> <p>第一节 蛋白质的功能和组成</p> <p>1、蛋白质的普遍存在性和生理功能</p> <p>蛋白质是生物体的重要组成成分，是生命的表现形式，存在于一切</p>	<p>1、激发学生 对未知世界 的探索精神。</p>

生物体内。其生物学功能有：（1）构造有机体；（2）修补机体组织和器官；（3）维持肌体正常的新陈代谢和各类物质在体内的输送；（4）维持机体内的渗透压的平衡/酸碱平衡及体液平衡；（5）免疫细胞和免疫蛋白，抵抗异物侵袭；（6）构成人体必需的催化和调节功能的各种酶；（7）激素的主要原料，具有调节体内各器官的生理活性；（8）提供热能。

2、蛋白质的分类

按分子形状或空间构象，可分为球状蛋白质和纤维状蛋白质。

按组成成分，可分为单纯蛋白质和结合蛋白质。

按功能分，可分为活性蛋白质（如酶、激素蛋白质、运输蛋白质、调节蛋白质、受体蛋白质、膜蛋白质等）和非活性蛋白质（如胶原、角蛋白等）。

3、蛋白质的化学组成

（1）元素组成：主要含 C、H、O、N 及少量 S。平均含氮量为 16%，即 1g 氮相当于 6.25g 蛋白质，是凯氏定氮法的理论基础。

（2）氨基酸组成：蛋白质水解后，可得到 20 种氨基酸。氨基酸是既含酸性的羧基又含碱性的氨基的两性化合物。除甘氨酸外，都具有旋光性，具 D-和 L-构型。

（3）氨基酸的分类和必需氨基酸

氨基酸按 R 基团的极性不同，可分为极性氨基酸（Ser、Thr、Asn、Gln、Tyr、Cys、Asp、Glu、His、Lys、Arg）和非极性氨基酸（Gly、Ala、Val、Leu、Ile、Phe、Met、Pro、Trp）。

必需氨基酸：批人体不能合成但又必不可少必需从食物中摄取的氨基酸（包括：Ile、Met、Val、Leu、Trp、Phe、Thr、Lys，一家写两本书来）。半必需氨基酸（Arg、His）。

4、氨基酸的理化性质

（1）物理性质：为无色晶体，熔点极高，达到熔点时往往放出 CO₂；能溶于强酸强碱，也可溶于水；Tyr、Trp、Phe 由于含苯环的共轭双键结构，具近紫外区有光吸收能力；除 Gly 外，都是 L-氨基酸，都有旋

2、通过“三聚氰胺”事件，帮助学生理解蛋白质测定原理，教导学生遵守社会主义道德和法治。

光性。

(2) 两性解离和等电点：氨基酸分子中含氨基和羧基，属两性化合物，固态时可形成分子内盐，熔点高、易溶于水。

水溶液中，氨基酸的电离情况取决于氨基酸溶液的 PH 值。当氨基酸在某一特定 PH 值，氨基酸所带正、负电荷相等，静电荷为零，在电场中不发生定向移动，此时溶液的 PH 值称为氨基酸的等电点，用 PI 表示。在等电点时氨基酸溶解度最小，容易沉淀析出。

(3) 化学性质：与茚三酮的显色反应：在弱酸性条件下，氨基酸可与茚三酮反应生成蓝紫色化合物。Pro 反应生成黄色物质。

第二节 蛋白质的结构

1、肽和肽键

氨基酸与氨基酸之间脱水缩合而成的化合物称为肽，生成的酰胺键又称为肽键。肽键中，碳氮单键具部分双键的性质，不能旋转且是反式构型，形成一个肽酰平面，包括 $C_{\alpha 1}$ 、C、O、N、H、 $C_{\alpha 2}$ 六个原子。

常见的活性肽：

谷胱甘肽：Glu、Cys、Gly 组成的三肽，简称 GSH。参与生物体内的氧化还原反应。

脑啡肽：五肽。具镇痛作用，不会使人上瘾。

2、蛋白质的一级结构

指蛋白质多肽链中氨基酸的种类、数量、排列顺序及连接方式，是蛋白质生物功能的基础。维持一级结构稳定的化学键包括肽键和二硫键。

3、蛋白质的空间结构

又称蛋白质的空间构象，高级结构，指蛋白质分子中所有原子在三维空间的排列分布和肽链的走向。

A：二级结构：指蛋白质主链本身的折叠和盘绕方式。包括 α -螺旋、 β -折叠、 β -转角、无规则转曲四种结构单元。氢键维持蛋白质二级结构的稳定。

B: 三级结构: 指一条多肽链在二级结构或者超二级结构甚至结构域的基础上, 进一步盘绕, 折叠, 依靠次级键的维系固定所形成的特定空间结构。特点: 含多种二级结构单元; 有明显的折叠层次; 为紧密的球状或椭球状实体; 分子表面有一空穴 (活性部位); 疏水侧链埋藏在分子内部, 亲水侧链暴露在分子表面。三级结构主要是靠氨基酸侧链之间的疏水相互作用, 氢键, 范德华力和静电作用维持的。

C: 四级结构: 是指由两条或两条以上具有三级结构的多肽链通过非共价键聚合而成的特定构象。其中, 每条多肽链形成的独立三级结构单元称为亚基或亚单位。亚基单独存在时, 无活性中活性很小, 只有通过亚基间的相互聚合成四级结构才具有完整的生物活性。

4、蛋白质的结构与功能的关系

(1) 一级结构与功能的关系

关系: 一级结构是基础, 关键部位氨基酸残基改变或整条多肽链缺失导致生理功能改变。

举例: 分子病。

(2) 空间结构和功能的关系

蛋白质分子具有特定的空间构象, 若空间结构破坏, 则生物功能丧失; 变构现象: 举例: 血红蛋白 (变构剂、调节亚基、催化亚基、氧离曲线)

第三节 蛋白质的性质和应用

一、蛋白质的理化性质

1、胶体性质: 分子直径大, 不能透过半透膜; 临床应用及实验室应用。

2、两性电离和等电点: 定义、分子结构特征, 临床应用及实验室应用

3、紫外吸收: 紫外吸收的分子基础: 色氨酸、酪氨酸, 紫外吸收的波长: 280nm; 紫外吸收的应用: 蛋白质定量分析。

4、蛋白质的变性和复性: 变性: 理化因素 (加热、强酸碱、有机溶剂等), 一级结构保持, 空间结构破坏, 活性丧失。复性: 变性程度

3、培养学生实践技能, 培养利用理论与实践相结合的方式, 认识事物的能力。

轻，恢复空间结构，恢复活性。

5、蛋白质的沉淀与凝固

破坏蛋白质的水化膜和表面电荷，可以使蛋白质发生沉淀。常用的沉淀试剂有中性盐、有机溶剂、某些生物碱试剂、大分子酸类和重金属盐。

凝固是批蛋白质变成较坚固的凝块的过程。

二、蛋白质的检测

(一)、显色反应

A: 双缩脲反应：蛋白质发生双缩脲反应，生成红紫色配合物。

B: 米伦反应：酪氨酸可与米伦试剂反应产生白色沉淀，加热后变成红色。

C: 乙醛酸反应：色氨酸反应后出现紫色环。

(二)、蛋白质及氨基酸的分析测定

1. 蛋白质含量测定：

凯氏定氮法：蛋白质的氮经消化转变为无机氮，再通过与碱蒸馏释放出氨，以盐酸滴定氨。

双缩脲法（540nm）：灵敏度较差，所需样品量大

考马斯亮蓝结合法（595nm）

福林-酚试剂法（660nm）：灵敏

紫外吸收法（280nm）

2. 电泳技术——凝胶电泳常用于纯度鉴定及相对分子质量测定

实验室常用聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）。

纯度鉴定：样品中加入去污剂十二烷基磺酸钠（SDS），在碱性和酸性系统分别进行盘状电泳。

相对分子质量的测定：应用已知分子质量的蛋白作为标准， $\lg M_r$ 与相对迁移率 m 呈线性关系。

3. 氨基酸的显色测定——色谱、电泳检测的手段，常用茚三酮显色。

三 蛋白质及氨基酸的分离纯化与测定

(一)、分离纯化的一般原则及基本步骤

1. 一般原则——根据性质设计分离纯化方法

①所用原料来源方便，成本低；目的蛋白质含量、相对活性高；可溶性和稳定性好；基因分子背景如何等要明确；

②破碎细胞条件要温和；尽量去除杂质、脂类、核酸及毒素；

③大部分操作在溶液中进行；

④建立灵敏、特异、精确的检测方法。

2. 基本步骤——分离纯化的战略

①取材：含量丰富，便于提取；

②组织细胞破碎：

机械法：组织分散器、匀浆器等；

物理法：超声波、渗透压、压榨等；

化学法：酸、碱等；

酶法：溶菌酶、纤维素酶等。

③提取：选择适当溶剂；

水溶性蛋白：应用中性缓冲溶液抽提；

酸性蛋白：稀碱性溶液抽提；

脂溶性蛋白：有机溶剂抽提。

④分离纯化**；

⑤结晶；

⑥鉴定、分析。

(二)、分离纯化的基本方法

1. 盐析与等电点沉淀——根据溶解度分离

(1) 盐析：

高浓度中性盐溶液，水化层被破坏和表面电荷被中和，发生沉淀，常用硫酸铵。

(2) 等电点沉淀：

净电荷为零，分子间静电排斥力最小，容易聚集沉淀，此时溶解度最小。沉淀的蛋白质保持天然构象，能再溶解。

2. 离子交换色谱——根据电荷性质不同

一定 pH 下蛋白质所带电荷不同进行分离；利用离子交换剂，靠相反电荷间的静电吸引，根据带电荷多少进行分离，结合力小的先被洗脱。

常用离子交换剂：CM-纤维素（弱酸性）：阳离子交换剂；DEAE-纤维素（弱碱性）：阴离子交换剂。

3. 凝胶过滤——根据相对分子质量不同

介质：交联葡萄糖（葡聚糖）、琼脂糖或聚丙烯酰胺形成的凝胶颗粒。凝胶颗粒具有多孔的网状结构。这些网孔只允许较小的分子进入颗粒内，而大于网孔的分子则被排阻。当用洗脱液洗脱时，被排阻的相对分子质量大的分子先被洗脱下来，相对分子质量小的分子后下来。

例题 1：指出下列蛋白质通过凝胶过滤层析柱时的洗脱顺序，蛋白质分布范围从 5000 到 600000。

肌红蛋白：16900；

过氧化氢酶：247500；

细胞色素 C：13370；

肌球蛋白：524800；

胰凝乳蛋白酶原：23240；

血清清蛋白：68500。

4. 亲和色谱——根据特异性亲和力不同分离

根据不同蛋白质对特定配体的特异性而非共价结合的能力不同进行分离的。

基本步骤：选择配体；配体与载体（琼脂糖类）共价连接；装柱后蛋白质被特异性吸附，其它物质流出；洗脱。

（三）、氨基酸的分离

1. 滤纸色谱——根据溶解度不同进行的分配色谱

当一种溶质在两种一定的不互溶或几乎不互溶的溶剂中分配时，在一定温度下达到平衡后，在两相中的浓度比值与在这两种溶剂中的溶解度比值相等，称为分配定律。

分配系数=溶质在溶剂 A 中浓度/溶质在溶剂 B 中浓度

以滤纸为支持物，滤纸纤维吸附水为固定相，有机溶剂为移动相，分离氨基酸。

R_f =原点 to 色谱点中心的距离/原点 to 溶剂前沿的距离

R_f 越大，说明该物质前进越快，在有机相中的溶解度越大。

2. 离子交换色谱——根据电荷性质不同

一定 pH 下氨基酸所带电荷不同进行分离；利用离子交换剂(SO_3H^+ 或 $-\text{N}(\text{CH}_3)_3+\text{OH}^-$)，靠相反电荷间的静电吸引，根据带电荷多少进行分离。脱液中氨基酸的浓度由茚三酮反应的颜色深浅来检测。

例题 2:

将含有天冬氨酸、甘氨酸、苏氨酸、亮氨酸和赖氨酸的柠檬酸缓冲液 ($\text{pH}=3$)，加到预先同样缓冲液平衡过的强阳离子交换树脂中，随后用此缓冲液洗脱此柱，并分别收集洗出液，这 5 种氨基酸将按什么次序洗脱下来？

3. 薄层色谱——根据吸附性质不同

将固体吸附剂(纤维素粉末、硅胶粉等)涂布在玻璃板等支持物上，根据吸附剂对样品中各组分的吸附力不同来进行。

4. 纸电泳与薄膜电泳——电场下分离

外电场作用下，带电颗粒将向着与其电性相反的电极移动。

$$u=QE/6\pi r \eta$$

例题 3:

下列氨基酸的混合物在 $\text{pH}3.9$ 时进行纸电泳，指出哪一些氨基酸朝正极移动，哪一些朝负极移动。

Ala, Ser, Glu, Leu, Arg, Asp, His

(1) 纸电泳

常用双向法进行，第一向为电泳，第二向为色谱。

(2) 醋酸纤维素薄膜电泳

分离氨基酸速度快，可分别洗脱进行检测。大多采用水平式电泳槽。

<p>(3) 薄层电泳——用于氨基酸制备</p> <p>常用支持介质：硅胶、硅藻土、氧化铝、葡聚糖凝胶等。</p> <p>四、随堂练习</p> <p>设置 3-5 个习题，随堂练习，巩固本章知识。</p>	
<p>作业：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.蛋白质的二级结构有哪些？ 2.等电点的概念。 3.蛋白质变性与变构的比较。 4.多肽和蛋白质的区别。 	

第三章 酶与维生素

章节	第三章 酶与维生素	教学时数	7 学时
<p>教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>知识目标</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.酶的化学本质与分类（掌握）。 2.酶的催化作用机理及有关学说（了解）。 3.维生素与辅酶（掌握） 4.酶促反应动力学（掌握）。 5.了解酶在食品工业、化工轻工、医药工业中应用（了解）。 <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.具备酶的基础结构理论、基本知识、基本技能。 2. 具备从事酶类（含维生素）药物及酶参与的药物制备、检测和研究方面工作的知识和能力。 <p>素质目标：</p> <p>培养学生正确的认识生命现象的本质及其基本规律，认识酶及维生素在药学领域的重要作用，能够理解其对生命体健康影响的药理作用。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将酶、维生素与药学其他课程相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的</p>			

基础。

思政元素：

在阐明酶的化学本质过程中，美国科学家 Sumner 因发现脲酶而功不可没。Sumner 17 岁时误失左臂，19 岁时进入哈佛医学院学习化学，但医学院的教授认为独臂人很难在化学领域做出成绩，劝他改学法律。Sumner 坚持己见，27 岁时获得博士学位并在 35 岁时成功分离出脲酶，为现代酶学的发展奠定了基础。

早在唐代，我国古代医学家孙思邈就观察到维生素缺乏病的存在，并提出用猪肝治雀目(即维生素 A 缺乏引起的夜盲症)。一种维生素可以决定一场战争的胜负，1747 年，英国医生林德在海军服役期间，船员得了坏血病。他认为坏血病可能与饮食有关。于是，他在船上进行实验，他将 12 名坏血病患者分为 6 组，除同样基本饮食外，每组添加不同的食品，发现添加柠檬、柑橘类组的疗效最明显，其次是苹果汁组。这是最早的对照试验。于是 1795 年英国海军部命令，所有船舰每天都必须供应一个柠檬给士兵，这样英国士兵就不用每 30 天回调船员上岸修养了，海军的战斗力的倍增，舰队的远航旅程也不再受到坏血病的限制，英国海军决定性地击败了西班牙的无敌舰队。

教学重点及难点：

重 点: 1. 维生素的分类；2. 酶促反应特点；3. 影响酶促速度的因素。

难 点: 1. 抑制剂对酶促反应速度的影响；2. 酶活性的调节。

教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩

思政内容设计

教学过程：

一、课前导入

通过日常案例，比如我们在吃馒头时，为何会有甜味，引导学生思考其原因；同时以体检报告为例，如何正确认识体检报告中的谷丙转氨酶、谷草转氨酶等，以及所反映的机体健康如何，以此引出课程的主要内容。

二、学情分析

回顾无机化学、有机化学反应中所使用的催化剂，归纳总结催化剂的特点，根据学生的总结情况，来判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。

1、培养学生独立思考的能力。

三、新课内容

第一节 概述

(一)、酶的概念：酶是生物细胞产生的、具有催化能力的生物催化剂。

1. 酶是生物催化剂

酶和生命活动密切相关：

①几乎所有生命活动或过程都有酶参加，包括代谢、生理机制、信号转化与传递等过程；

②酶的组成和分布是生物进化与组织功能分化的基础；

③生物具有从酶的合成到酶的结构和活性水平的调节机制。

以举例的方式对酶与生命活动的关系进行说明，如糖代谢、乙酰胆碱酯酶的作用、白化病的形成原因、肝脏中进行的代谢过程、能量代谢酶类的分布等。

2. 酶的化学本质——大多数酶是蛋白质

1926年 J.B.Sumner 首次从刀豆制备出脲酶结晶，证明其为蛋白质，并提出酶的本质就是蛋白质的观点。酶具有蛋白质的特性：相对分子质量大；由氨基酸组成；两性性质；可变性失活与水解。

1982年 T.Cech 发现了第1个有催化活性的天然 RNA——ribozyme (核酶)，以后 Altman 和 Pace 等又陆续发现了真正的 RNA 催化剂。核酶的发现表明酶不一定是蛋白质。

(二)、酶的催化特性：

酶具有一般催化剂的特征：1) 只能进行热力学上允许进行的反应；2) 可以缩短化学反应到达平衡的时间，而不改变反应的平衡点；3) 通过降低活化能加快化学反应速度。

酶的催化特性：

1. 高效性：催化效率比化学催化剂高 $10^6 \sim 10^{13}$ 倍。

2. 专一性：酶对底物具有严格的选择性。

例子：过氧化氢分解反应，分别由铁粉和过氧化氢酶催化，对比二

者的反应速度，说明酶催化作用的高效性。

反应专一性：只能选择性地催化一种或一类相同类型的化学反应，如蛋白水解酶；

底物专一性：只能作用某一种或某一类结构、性质相似的物质。

结构专一性：包括绝对专一性和相对专一性

手性专一性：L-氨基酸，D-葡萄糖

几何专一性：催化某种几何异构体

对每种反应专一性的特征举出对应的实例加以讲解说明，包括脂酶、 α -葡萄糖糖苷酶、苹果酸酶、脲酶等。

3.反应条件温和：pH=5~8，20~40℃。

(三)、酶的组成及分类

1. 酶的组成——根据组成为单纯酶和结合酶

单纯酶：只有蛋白质成分。 结合酶：蛋白质+非蛋白成分=全酶，蛋白质部分称为酶蛋白。

非蛋白成分称为辅酶（与酶蛋白结合疏松）或辅基（与酶蛋白结合紧密），可通过透析鉴别两者。

酶的催化专一性主要决定于酶蛋白部分，辅因子通常是作为电子、原子、某些化学基团的载体及搭桥作用，决定酶促反应的类型。

酶的辅因子包括：

- (1) 无机金属元素：如铜、铁、锌、锰等；
- (2) 小分子的有机物：如维生素、铁卟啉等。

辅因子的功能：

- (1) 传递电子：如铁卟啉；
- (2) 传递氢（递氢体）：如 FMN/FAD、NAD/NADP；
- (3) 传递酰基体：如 CoA、TPP、硫辛酸；
- (4) 传递一碳基团：如四氢叶酸；
- (5) 传递磷酸基：如 ATP，GTP；
- (6) 其它作用： 转氨基；传递 CO₂。

2.酶的命名

1) 习惯名: 规律性不强, 抢先原则, 比较乱, 会出现一酶多名或一名多酶, 优点是简单明了;

2) 系统命名: 酶与名一一对应, 要求标名所有底物的名称以及反应的性质, 例如乳

酸脱氢酶是习惯名, 其系统名为: 乳酸: NAD⁺氧化还原酶, 优点是明确, 缺点是繁琐。

3. 酶的分类——按反应性质分为 6 大类

(1) 氧化还原酶类: 催化氧化还原反应的酶, 以催化脱氢为主加氧为次 (包括其逆反应: 就是加氢脱氧)。

用方程式表示就是: $A \cdot 2H + B \leftrightarrow A + B \cdot 2H$

这类酶通常都需要辅酶帮忙, 辅酶有下列几种: NAD (尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸)、NADP (尼克酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸)、FAD (黄素腺嘌呤二核苷酸)、FMN (黄素腺嘌呤单核苷酸), 这些都是维生素的衍生物。 (2) 转移酶类: 催化基团转移反应的。

用方程式表示为: $AX + B \leftrightarrow A + BX$ (3) 水解酶类: 催化水解反应。

用方程式表示为: $AB + HOH \rightarrow AOH + BH$

(4) 裂合酶类: 从底物中移去一个基团并形成双键的反应,

用方程式可表示为: $A-B \leftrightarrow A + B$

(5) 异构酶: 催化同分异构反应。用方程式表示为: $A \leftrightarrow B$

(6) 合成酶: 催化 2 种物质合成一种物质, 又必须由 ATP 水解提供能量的反应,

方程式可表示为: $A + B + ATP \rightarrow A-B + ADP + Pi$

4. 酶的系统编号: 为了对酶进行有效的分类和查询, 国际酶学委员会对每一种酶都编有一个号, 其形式是: EC □ · □ · □ · □, 其中 EC = Enzyme Commission, 第一个 □ 为 6 大类之一, 第二个 □ 为该大类中的亚类, 依此类推。如 EC 1.1.1.27 (乳酸脱氢酶)。

第二节 酶的结构与功能的关系

(一)、酶的一级结构与催化功能的关系

1.必需基团——酶分子中只有少数几个氨基酸侧链基团与活性直接相关

必需基团：若经化学修饰使其改变，则酶活性丧失。包括结合基团和催化基团。主要包括：

亲核性基团：Ser 的羟基，Cys 的巯基和 His 的咪唑基。

酸碱基团：Asp 和 Glu 的羧基，Lys 的氨基，Tyr 的酚羟基，His 的咪唑基和 Cys 的巯基等。

2.酶原激活

没有活性的酶的前体称为酶原。酶原转变成有活性的酶的过程称为酶原的激活。实质上是酶活性部位形成和暴露的过程。

酶原的激活过程是通过去掉分子中的部分肽段，引起酶分子空间结构的变化，从而形成或暴露出活性中心，转变为具有活性的酶。

表 酶原激活

激活作用	激活剂	激活作用	激活剂
胃蛋白酶原→胃蛋白 酶+42 肽	H ⁺ 、胃蛋白酶	羧肽酶原 A →羧肽酶 A ⁺ 几个碎片	胰蛋白酶
胰蛋白酶原→胰蛋白 酶+六肽	肠激酶、胰蛋白酶	凝血酶原→凝血酶+多肽	凝血酶原、激活剂、K ⁺
胰凝乳蛋白酶原→胰 凝乳蛋白酶+2 个二肽	胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶	弹性蛋白酶原→弹性蛋白 酶+几个碎片	胰蛋白酶

3.共价修饰——改变一定基团可使酶活性改变

常用修饰剂：

氨基：顺丁烯二酸酐、乙酸酐、二硝基氟苯等；His 咪唑基：溴丙酮等；

Arg 胍基：丙二醛、环己二酮等；Cys 巯基：碘乙酸等；

Ser 羟基：二异丙基氟磷酸。

(二)、酶的活性与其高级结构的关系

1.活性中心：酶分子上必需基团比较集中并构成一定空间构象、与酶的活性直接相关的结构区域。包括结合部位和催化部位。

结合部位(Binding site)：酶分子中与底物结合的部位或区域。

催化部位(Catalytic site)：酶分子中促使底物发生化学变化的部位。

讲解：以直观的图示形式说明结合部位和催化部位。

注意：必需基团不仅仅处于活性中心，在活性中心之外也有必需基团。

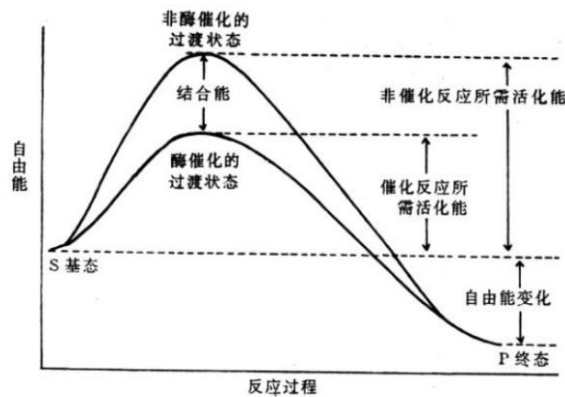
2.同工酶(isoenzyme)

能催化相同的化学反应，但在蛋白质分子的结构、理化性质和免疫性能等方面都存在明显差异的一组酶。存在器官特异性或细胞部位特异性，例如乳酸脱氢酶。

第三节 酶催化反应的机制

(一)、酶促反应的本质

促使化学反应进行的途径：



1.用加热或光照给反应体系提供能量。

2.使用催化剂降低反应活化能。

酶和一般催化剂的作用就是降低化学反应所需的活化能，从而使活化分子数增多，反应速度加快，不能改变反应平衡点。

中间产物学说：解释酶为什么能降低活化能，加速化学反应。

酶先与底物形成过渡态的中间产物，进而分解成为产物和酶，从而降低了反应的活化能。用方程式表示为： $E+S \rightleftharpoons [ES] \rightarrow E+P$ 。

底物具有一定的活化能，当底物和酶结合成过渡态的中间物时，要释放一部分结合能，这部分能量得释放，使得过渡态的中间物处于比 E+S 更低的能级，因此使整个反应的活化能降低，使反应大大加速。

(二)、酶反应机制

1.酶作用专一性的机制：两种学说

(1) 锁钥学说：解释酶专一性的理论，有缺陷。

酶的活性中心的构象与底物的结构（外形）正好互补，就像锁和钥

2、培养学生科学的世界观,通过认识事物本质,解释生命现象。

匙一样是刚性匹配的，这里把酶的活性中心比作钥匙，底物比作锁。

(2) 诱导契合理论：为了修正锁钥学说的不足而提出的一种理论。认为酶的活性中心与底物的结构不是刚性互补而是柔性互补，就好像手与手套的关系一样。酶活性中心的结构有一定的灵活性，当底物与酶分子结合时，酶蛋白的构象发生了有利于与底物结合的变化，使反应所需的催化基团和结合基团正确地排列和定向，转入有效的作用位置，这样才能使酶与底物完全吻合，结合成中间产物。

2. 酶作用高效性的机制——共价催化与酸碱催化

(1) 酸碱催化：酶参与的酸-碱催化反应都是广义酸-碱催化方式。

广义酸碱催化指通过质子酸提供部分质子，或是通过质子碱接受部分质子的作用，降低反应活化能。酶活性部位上的某些基团可以作为良好的质子供体或受体对底物进行酸碱催化。

影响酸碱催化反应速度的因素：

酸碱的强度：咪唑基的解离常数为 6.0，在中性条件下可作为质子供体或质子受体。

功能基团供出质子或接受质子的速度：咪唑基。

(2) 共价催化：

催化剂通过与底物形成反应活性很高的共价过渡产物，使反应活化能降低，从而提高反应速度的过程，称为共价催化。

酶中参与共价催化的基团主要包括 His 的咪唑基，Cys 的巯基，Asp 的羧基，Ser 的羟基等。

第四节 酶促反应动力学

(一)、酶促反应的基本动力学

1. 底物浓度对酶促反应速率的影响

在酶浓度、pH、温度等条件不变的情况下研究底物浓度和反应速度的关系。这里仅研究最简单的酶促反应，即单底物单产物的反应： $S \leftrightarrow P$ 。

在底物浓度低时，反应速度随底物浓度的增加而急剧加快，反应速率与底物浓度成正比，表现为一级反应；当底物浓度较高时，反应速度

不再与底物浓度成正比，表现为混合级反应；当底物浓度达到某一定值后，再增加底物浓度，反应速度不再增加，表现为零级反应。

2. 米氏方程

为了解释上述现象，并说明酶促反应速率与底物浓度间量得关系。1913年，德国化学家 Michaelis 和 Menten 根据中间产物学说对酶促反应的动力学进行研究，推导出了表示整个反应中底物浓度和反应速率关系的著名公式——米氏方程。

$$V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

米氏常数 K_m 的意义：

由米氏方程可知，当反应速度等于最大反应速度一半时，即 $v = 1/2 V_{\max}$, $K_m = [S]$ ；表明米氏常数是反应速度为最大值的一半时的底物浓度。因此，米氏常数的单位为 mol/L。

K_m 值是酶的一个重要的特征物理常数。

3、 K_m 值的应用：

(1) 可表示酶与底物之间的亲和程度：

K_m 值大表示亲和程度小，酶的催化活性低； K_m 值小表示亲和程度大，酶的催化活性高。

(2) 可以用来判断酶的最适底物，某些酶可以催化几种不同的生化反应，叫多功能酶，其中 K_m 值最小的那个反应的底物就是酶的最适底物。此处举例说明同种酶在催化不同底物时，其 K_m 值有所不同。

(3) 可以通过 K_m 值鉴别酶的种类： K_m 是一种酶的特征常数，只与酶的种类有关而与酶的浓度无关，与底物的浓度也无关，但是它会随着反应条件（T、pH）的改变而改变。

(4) 了解酶的底物在体内具有的浓度水平：一般来说，作为酶的天然底物，它在体内的浓度水平应接近它的 K_m 值；

(5) 判断抑制类型：见抑制剂对酶促反应速率的影响。

(二)、酶浓度对酶反应速率的影响

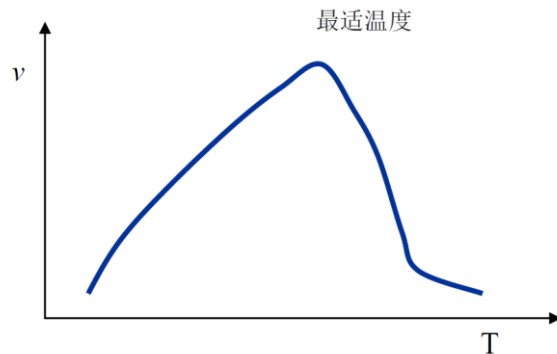
保持其它因素不变，当底物浓度大大超过酶浓度时，则[E]与反应速

率成正比。

(三)、温度对酶反应速率的影响：温度与酶反应速率的曲线呈现钟形，酶有其对应的最适温度。

温度对酶反应存在两种不同影响：

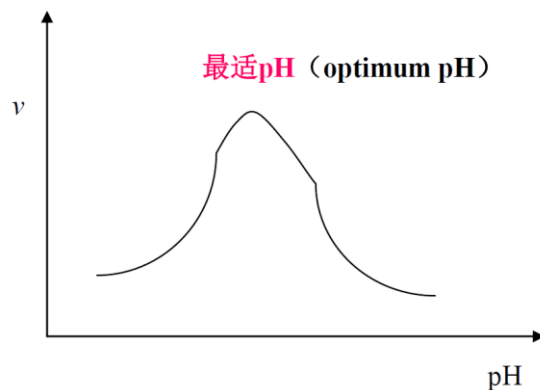
- (1) 温度升高，反应速度加快；
- (2) 温度升高，热变性速度加快。



(四)、pH 对酶反应速率的影响：酶存在最适 pH，同时要注意 pH 对酶稳定性的影响。

pH 对酶作用的影响机制：

- (1) 环境过酸、过碱使酶变性失活；
- (2) 影响酶活性基团的解离；
- (3) 影响底物的解离。



(五)、激活剂对酶反应速率的影响

主要的酶激活剂：

(1) 无机离子： K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Cl^- 、 Br^- 等可作为酶的辅助因子的成分，或作为酶的激活剂。

(2) 小分子有机物：如半胱氨酸、还原型谷胱甘肽、巯基乙醇等还

原剂（酶分子中-S-S-还原为-SH）以及金属螯合剂，如 EDTA(除去重金属，解除其对酶的抑制)。

(六)、抑制剂对酶反应速率的影响：

1.抑制作用的概念：指酶的必需基团或活性部位中的基团的化学性质改变而降低酶活力甚至使酶活力丧失的物质 (I)。

抑制剂是使酶活性降低或丧失的物质，用 I 表示，根据它与酶的结合情况分为两种，结合紧密（一般为共价连接）的不可逆性抑制剂以及结合松弛（一般为非共价连接）的可逆性抑制剂，后者可以通过透析来除去。

抑制剂对酶有一定的选择性，一般酶并未变性，仍可恢复活性。抑制剂对酶的作用不同于失活作用和去激活作用。

2.抑制作用的类型：

(1) 不可逆性抑制剂：抑制剂与酶的结合（共价键）是不可逆的，不能用透析、超过滤等方法去除。

例如二异丙基氟磷酸 (DIFP)：其中的 F 能够与酶的 Ser 的-OH 特异性结合（脱 HF），形成 DIP-酶，从而抑制了酶的活性；对氯汞苯甲酸能够特异性的结合酶中 Cys 的 SH 基（脱 HCl）。

(2) 可逆性的抑制剂：抑制剂与酶蛋白以非共价方式结合，引起酶活性暂时性丧失。抑制剂可以通过透析等方法被除去。

根据抑制剂与酶结合的情况，又可以分为三类：

I. 竞争性抑制剂：与底物竞争性的结合酶的活性中心，它的结构与底物的结构相似，这种抑制可以通过提高底物的浓度来消除。抑制的结果使 K_m 增大， V_{max} 不变。最典型的竞争性抑制是丙二酸对琥珀酸脱氢酶的抑制作用。

II. 非竞争性抑制剂：抑制剂与酶活性中心以外的地方结合，形成 ESI 三元复合物，从而降低了酶活性中心对底物的催化。抑制的结果使 K_m 不变， V_{max} 减小。

III. 反竞争性抑制剂：I 不能和 E 结合，只能和 ES 结合，形成 ESI 三元复合物，从而降低了酶活性中心对底物的催化。抑制的结果使 K_m

和 V_m 均减少。

三种抑制剂对比：

	K_m	V_{max}
竞争性的抑制剂	↑	不变
非竞争性抑制剂	不变	↓
反竞争性抑制剂	↓	↓

第五节 酶的制备

(一)、酶的制备及纯化

包括三个环节：抽提、纯化和制剂制备。

1. 基本原则：

(1) 注意防止酶变性而失去活性；

防止强酸、强碱、高温和剧烈搅拌等；

(2) 凡是用于蛋白质分离纯化的一切方法都同样适用于酶，允许在不破坏目的酶的限度内，适用各种手段；

(3) 整个过程的每一步均需要检测酶活性。

2. 酶提取纯化的步骤和方法

(1) 选材：微生物：微生物发酵物；

动物：脏器、血液、尿液等

植物：木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶等

(2) 细胞破碎和抽提：加入提取液提取。

胞内酶先要进行细胞破碎，包括机械研磨、超声波破碎、反复冻融或自溶等；

(3) 分离：先进行净化处理（过滤，絮凝，离心脱色）和浓缩，再采用沉淀法分离（盐析法，有机溶剂沉淀法，超离心等）。

(4) 纯化：可采用离子交换层析，凝胶过滤，液相色谱，亲和色谱和超滤等方法。

酶的制剂形式：

(1) 固体：干燥，可采用冰冻升华、喷雾干燥、真空干燥方法。

(2) 液体：目前常用。

酶的保存：低温下短期保存。

(二)、酶活性的测定

酶活力是指酶催化某一化学反应的能力。酶活力单位(U)是根据某种酶在最适条件下,单位时间内酶作用底物的减少量或产物的生成量来决定。

国际标准活力单位(IU):在标准条件(25℃、最适pH、底物过量)下,1min转化 $1\mu\text{mol}$ 底物的酶量定义为一个酶活力单位:

$$1\text{IU}=1\mu\text{mol}/\text{min} \text{ (1961年)}$$

在最适条件下,1s内使 1mol 底物转化为产物所需的酶量定为 1kat 单位,即

$$1\text{kat}=1\text{mol}/\text{s} \text{ (1972年)} \quad 1\text{kat} = 6 \times 10^7 \text{IU}$$

酶的纯度指标:

比活力 = 活力单位数 / 毫克蛋白(氮)

比活力越高,表明酶越纯。还可以用纯化倍数和回收率表示酶的分离纯化效果。

酶的习惯活力单位:

不同酶有各自酶活力单位的规定,如:

① α -淀粉酶活力单位:每小时分解 1g 可溶性淀粉的酶量为一个酶单位(QB546-80)。

也有规定每小时分解 $1\text{mL}2\%$ 可溶性淀粉溶液为无色糊精的酶量为一个酶单位,后者比前一个单位小。

②糖化酶活力单位:在规定条件下,每小时转化可溶性淀粉产生 1mg 还原糖(以葡萄糖计)所需的酶量为一个酶单位。

③蛋白酶:规定条件下,每分钟分解底物酪蛋白产生 $1\mu\text{g}$ 酪氨酸所需的酶量。

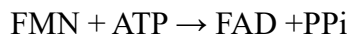
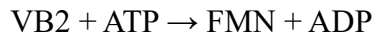
④DNA限制性内切酶:推荐反应条件下,一小时内可完全消化 $1\mu\text{g}$ 纯化的DNA所需的酶量。

第七节 酶的应用

工业上酶应用的优点:

<p>1. 酶的催化效率高，专一性强，不发生副作用。</p> <p>2. 酶作用条件温和。</p> <p>3. 酶及其反应产物大多无毒性。</p> <p>酶的应用方面：</p> <p>1. 酶在食品工业中的应用：例如淀粉加工，涉及酶类包括 α-淀粉酶、β-淀粉酶、糖化酶、葡萄糖异构酶和脱支酶等。</p> <p>2. 化工和轻工方面：如氨基酸生产；</p> <p>3. 医药工业中：如药用酶、诊断用酶；</p> <p>4. 环境化学中：如含酚废水的处理、含有残留有机氯农药土壤的处理等。</p> <p>酶的固定化：通过物理或化学的方法将酶束缚在某种载体上，使酶只能在一定的空间内进行催化活动。</p> <p>作用特点：稳定性提高，易分离，可反复使用，提高操作的机械强度。</p> <p>方法：吸附法、共价法、交联法、包埋法。</p> <p>第八节 维生素</p> <p>维生素定义：生命活动不可缺少的一类有机物，在代谢中起调节作用，缺乏时会导致疾病。特点：植物以及少数微生物能够自我合成，动物以及大多数微生物不能自我合成，故植物是维生素的来源。相对于蛋白质而言为小分子化合物；具有调节作用，可以充当辅酶。</p> <p>分类：</p> <p>水溶性：是大多数，如 VC、VB 族等</p> <p>脂溶性：少数，如 VA、VD、VE、VK</p> <p>1、维生素 B1</p> <p>维生素 B1 由一个含 S 的噻唑环和一个含 NH₂ 的嘧啶环组成，又称硫胺素（Thiamine）。焦磷酸硫胺素是 α-酮酸脱羧酶和转酮醇酶等的辅酶。</p> <p>2、维生素 B2 和黄素辅酶</p> <p>维生素 B2 又称核黄素（riboflavin），是核糖醇与 6，7—二甲基异咯</p>	<p>3、通过了解维生素在我国中医中药中的发展，增强学生的国家与民族自豪感，增强文化自信。同时，培养学生严谨的科学态度和专业认同感。</p>
---	--

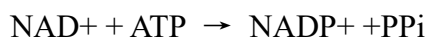
嗪的缩合物，自然界多与蛋白质结合成黄素蛋白。



维生素 B2 的生理功能是作为递氢辅酶，参与生物氧化作用。

3、维生素 PP 和辅酶 I、辅酶 II

维生素 PP 又称抗癞皮病维生素或维生素 B5，包括尼克酸（烟酸）和尼克酰胺。



功能：以 NAD^+ 或 NADP^+ 形式作为脱氢酶的辅酶而起到递氢体的作用。

4、泛酸与辅酶 A

辅酶 A 是生物体内代谢反应中乙酰化酶的辅酶，它是含泛酸的复合核苷酸。它的重要生理功能是传递酰基，是形成代谢中间产物的重要辅酶。

5、维生素 B6 和磷酸吡哆醛

VB6 又称吡哆素，包括吡哆醇、吡哆醛、吡哆胺。维生素 B6 在体内经磷酸化作用转化为相应的磷酸酯，参加代谢的主要的是磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺。作为辅酶参加多种代谢反应，包括脱羧、转氨等。

6、生物素

生物素（维生素 B7）为含硫维生素。

功能：多种羧化酶的辅酶，与细胞内 CO_2 的固定有关。

7、叶酸和叶酸辅酶

维生素 B11 又称叶酸，作为辅酶的是叶酸加氢的还原产物四氢叶酸。主要作用是作为一碳基团，如 $-\text{CH}_3$ 、 $-\text{CH}_2-$ 、 $-\text{CHO}$ 等的载体，参与多种生物合成过程。

8、维生素 B12 与辅酶 B12

维生素 B12 又称为钴胺素。维生素 B12 分子中与 Co^{+} 相连的 CN 基被 5'-脱氧腺苷所取代，形成辅酶 B12。

<p>辅酶 B12 的主要功能是作为变位酶的辅酶,催化底物分子内基团(主要为甲基)的变位反应。</p> <p>9、其他两种辅酶</p> <p>(1) 硫辛酸</p> <p>硫辛酸是少数不属于维生素的辅酶。硫辛酸是 6,8-二硫辛酸,有两种形式:即硫辛酸(氧化型)和二氢硫辛酸(还原型)。主要作用是传递氢和转移乙酰基。糖代谢中作为 α-酮酸氧化脱羧酶的辅酶。</p> <p>(2) 辅酶 Q (CoQ)</p> <p>辅酶 Q 又称为泛醌,广泛存在与动物和细菌的线粒体中。辅酶 Q 的活性部分是它的醌环结构,主要功能是作为线粒体呼吸链氧化-还原酶的辅酶,在酶与底物分子之间传递电子。</p> <p>四、随堂练习</p> <p>设置 3-5 个习题,随堂练习,巩固本章知识。</p>	
<p>作业:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.列举脂溶性维生素和水溶性维生素,并说明相应特点。 2.什么是酶的活性中心?为什么加热、强碱、强酸等因素可使酶失活? 3.何谓米氏常数?米氏常数的意义是什么? 4.酶在可逆性抑制剂作用下 V_m、K_m 分别有什么变化? 	

第四章 生物氧化

章节	第四章 生物氧化	教学时数	6 学时
<p>教学目的及要求(包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等):</p> <p>知识目标:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.生物氧化的概念及特点(了解)。 2.线粒体二条呼吸链组成,传递体顺序确定原则,形成部位(掌握)。 3.氧化磷酸化相关概念(掌握)。 4.抑制剂(作用)及解偶联剂(作用)(了解)。 <p>能力目标:</p>			

1. 具备生物化学能量代谢的基础结构理论、基本知识、基本技能。
2. 具备利用能量代谢途径，从事药物制备和研究方面工作的知识和能力。

素质目标：

培养学生正确认识生命现象的本质及其基本规律，认识临床医学相关病症，并能够利用本章知识，开展药理、药剂学的学习和理解；培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。

思政元素：

通过氰化物中毒、北方取暖煤气中毒等日常生活中案例，揭示生物氧化的过程，以及对生命的重要作用。帮助学生树立药学专业职业道德，提升专业素养，并启迪学生科学、正确认识相关疾病，科学用药。

教学重点及难点：

重 点：电子传递链的组成及排列顺序；生物氧化能量的产生和储存

难 点：ATP 的生成；能量的传递。

教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩

思政内容设计

教学过程：

一、课前导入

通过日常现象，比如生物体，尤其是动物为什么会有体温，我们活动都需要能量，能量是什么，来自哪儿？以及为什么人们煤气中毒后，会出现持续高热？引导学生思考，以此引出课程的主要内容。

二、学情分析

回顾无机化学、有机化学反应中的燃烧反应，利用已有知识，尝试解释日常现象，根据学生的知识掌握和解释程度，来判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。

三、新课内容

第一节 概述

(一)、生物氧化的概念：

生物氧化 (biological oxidation) 是生物细胞将糖、脂和蛋白质等有机物进行氧化分解，最终生成 CO₂ 和 H₂O 并释放能量的过程，也称为细胞

1、培养学生勇于提出问题、分析问题、解决问题的能力。

呼吸 (cellular respiration)。

主要讨论的问题：水的生成；二氧化碳的生成；能量的转换和储存。

代谢物在体内的氧化可以分为 3 个阶段：

1. 糖、脂肪和蛋白质分解 → 乙酰辅酶 A 中的乙酰基；
2. 乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环脱氢脱羧，生成 CO₂ 并使 NAD 和 FAD 还原成 NADH、FADH₂；
3. NADH 和 FADH₂ 中的氢 → 呼吸链 → + 氧生成水，氧化过程中释放出来的能量用于 ATP 合成。

狭义地说只有第 3 个阶段才是生物氧化，这是体内能量生成的主要阶段，即代谢物脱下的氢是如何交给氧生成水，细胞如何将氧化过程中释放的能量转变成 ATP 分子中的高能键。

(二)、生物氧化的特点和方式：

1. 生物氧化的特点

- ① 生物氧化中底物是在酶的催化下逐步氧化分解的，氧化过程产生的能量也是逐步释放的。
- ② 生物氧化产生的能量部分可转变成生命活动能够利用的形式，即合成 ATP，不是全以热的形式释放。
- ③ 生物氧化是在常温、常压、近中性 pH 环境中进行。

在真核细胞内，生物氧化主要是在线粒体中进行，原核细胞内生物氧化是在细胞膜上进行。

2. 生物氧化中 CO₂ 和 H₂O 的生成

① CO₂ 的生成

代谢底物在酶的作用下经一系列脱氢、加水等反应，转变为含羧基的化合物，经脱羧反应生成 CO₂，包括直接脱羧、氧化脱羧即脱羧同时发生氧化（脱氢）作用。

② 脱氢——生物氧化的主要方式

脱氢氧化反应：脱氢，如烷基脱氢生成烯

醇脱氢生成醛

氧直接参加的氧化反应：

加氧酶：氧分子直接加到有机分子中

氧化酶：以氧分子为电子受体，产物为水

失电子： $Fe^{2+} \leftrightarrow Fe^{3+} + e$

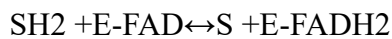
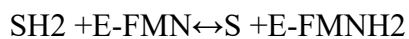
③水的生成机制：氢经呼吸链的传递与氧结合生成水

（三）、参与生物氧化的酶类

1. 脱氢酶——催化呼吸底物的氧化

根据所含辅因子的不同，分为两类：

第一类，以 FMN 或 FAD 为辅基；



根据最终受氢体的不同，分为两类：

①需氧黄酶：以氧为直接受氢体；

②不需氧黄酶：经过中间传递体传递给氧生成水

第二类，以 NAD 或 NADP 为辅酶；

属不需氧脱氢酶，经中间传递体将氢传递给氧生成水

2. 氧化酶——氧的还原：以氧为直接受电子体的氧化还原酶。一般含金属 Cu^{2+} 和 Fe^{3+} 的蛋白质，如细胞色素氧化酶等。

3. 传递体——能量转换的重要环节

传递体：起传递氢或传递电子作用的物质。包括递氢体和递电子体。

第二节 线粒体氧化体系

（一）、线粒体的膜相结构

线粒体是生物氧化和能量转换的主要场所。线粒体内膜是能量转换的重要部位，电子传递链和氧化磷酸化有关的组分都存在于此，是线粒体功能的主要担负者。原核细胞没有线粒体结构，它的部分质膜起着这种作用。

（二）、呼吸链（电子传递链）的组成

呼吸链：由供氢体、传递体、受氢体（ O_2 ）以及相应的酶系统组成的生物氧化还原链。

1. 组成——具辅基的结合蛋白类

(1) 以 NAD 或 NADP 为辅酶的脱氢酶：催化代谢物脱氢，氢由辅酶 NAD⁺或 NADP⁺接受；

(2) 黄素酶：以 FMN 或 FAD 为辅基的不需氧脱氢酶。催化代谢物脱氢，氢由 FMN 或 FAD 接受；

(3) 铁硫蛋白：金属蛋白质，起传递电子作用。

(4) 辅酶 Q：递氢体。

(5) 细胞色素 (Cyt)：一类含有铁卟啉辅基的色蛋白，属于递电子体。铁卟啉辅基所含 Fe²⁺有 Fe²⁺↔Fe³⁺+e 的互变，因此起到传递电子的作用。线粒体内膜中有细胞色素 B、C1、C、AA3。

2. NADH 氧化呼吸链：

脱氢酶催化下底物 SH₂ 脱下的氢交给 NAD⁺生成 NADH；在 NADH 脱氢酶作用下，NADH 将两个氢原子传递给 FMN 生成 FMNH₂；再将氢传递至 CoQ 生成 CoQH₂，此时 2 个氢原子解离成 2H⁺+2e，2H⁺游离于介质中；2e 经 Cyt B、C1、C、AA3 传递，最后将 2e 传递给 1/2O₂，生成 O₂⁻，O₂⁻与介质中游离的 2H⁺结合生成水。

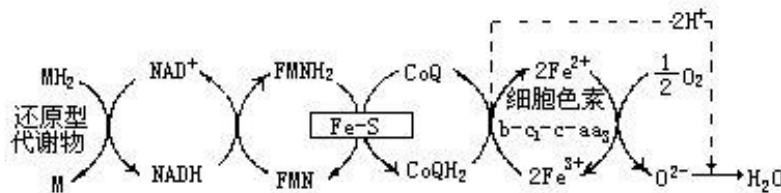


图1 NADH呼吸链

3. 琥珀酸氧化呼吸链：琥珀酸脱氢生成的 FADH₂，将氢传递给 CoQ，生成 CoQH₂，此后的传递同上。

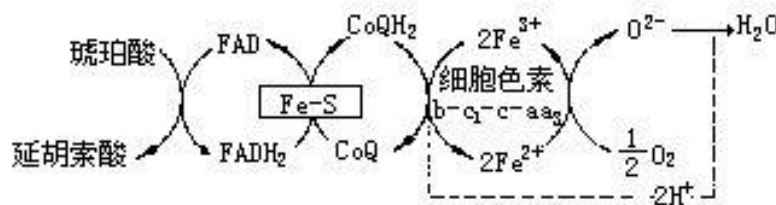


图2 FADH₂呼吸链

第三节 生物氧化中 ATP 的生成

(一)、高能化合物的概念、种类、ATP 的生物学功能

链传递到分子氧形成水，同时偶联 ADP 磷酸化生成 ATP。

氧化磷酸化与电子传递的偶联：磷酸化的效率可通过测定 P/O 值来判断。

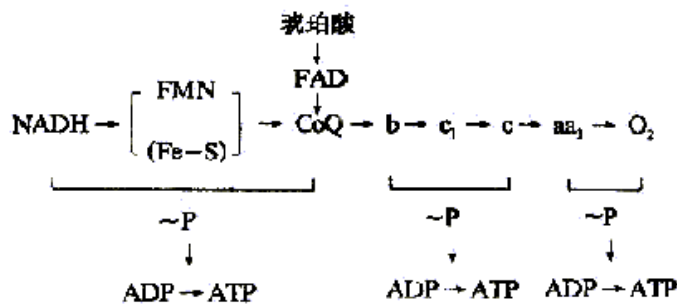
P/O 是

指每消耗 1mol 氧原子时，有多少摩尔无机磷转化为有机磷。

NADH 经呼吸链完全氧化测得的 P/O 值为 3；FADH₂ 完全氧化时测得的 P/O 比值为 2。

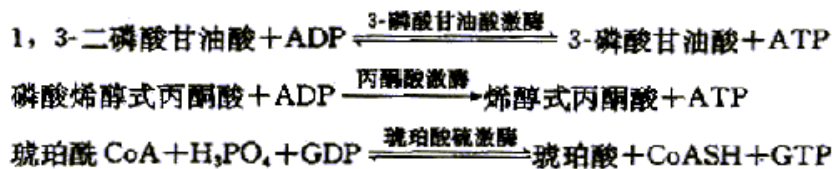
1mol ATP 水解生成 ADP 与 Pi 所释放的能量为 30.5 kJ·mol⁻¹，凡氧化过程中释放的能量大于 30.5 kJ·mol⁻¹，均有可能生成 1mol ATP，即可能存在一个偶联部位。根据 $\Delta G^{\circ} = -nF\Delta E^{\circ}$ ，当 n=2 时， $\Delta E^{\circ} = 0.1583V$ 时可释放 30.5 kJ·mol⁻¹ 能量。所以反应底物与生成物的标准氧化还原电位的变化大于 0.1583V 的部位均可能存在着一个偶联部位。

呼吸链中电子传递和磷酸化的偶联部位：



2. 底物水平磷酸化(substrate level phosphorylation)

底物分子中的能量直接以高能键形式转移给 ADP 生成 ATP，这个过程称为底物水平磷酸化。



(三)、线粒体外的氧化磷酸化

生物氧化和氧化磷酸化主要在线粒体内进行，在胞液内生成的 NADH 不能自由地透过线粒体内膜。必须借助某些能自由通过线粒体内膜的物质才能被转入线粒体，这就是所谓穿梭机制。

线粒体穿梭系统：胞浆中 NADH 由膜外到膜内的转移。已知动物细

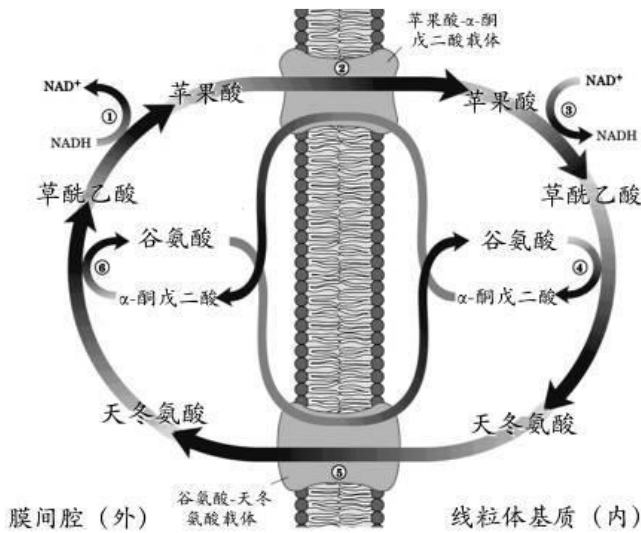
胞内有两个穿梭系统。

①磷酸甘油穿梭系统(glycerol-3-phosphate shuttle)

胞质中的 α -磷酸甘油脱氢酶先将 NADH 中的 H 转移至磷酸二羟丙酮形成 α -磷酸甘油； α -磷酸甘油扩散至线粒体外膜与内膜之间，然后在内膜结合的 α -磷酸甘油脱氢酶的作用下，将 H 转移到内膜中的 FAD 上；FADH₂ 经呼吸链进行氧化，同时产生的磷酸二羟基丙酮又返回胞液中参与下一轮穿梭。

②苹果酸穿梭系统(malate-aspartate shuttle)

穿梭系统需要两种谷草转氨酶、两种苹果酸脱氢酶和一系列专一的透性酶共同作用。NADH 在胞液苹果酸脱氢酶催化下将草酰乙酸还原成苹果酸；苹果酸穿过内膜，经基质苹果酸脱氢酶氧化，生成草酰乙酸和 NADH，NADH 随即进入呼吸链进行氧化磷酸化；草酰乙酸在基质谷草转氨酶催化下形成天冬氨酸，同时将谷氨酸变为 α -酮戊二酸，天冬氨酸和 α -酮戊二酸通过内膜进入胞液，再由胞液谷草转氨酶催化变成草酰乙酸参与下一轮穿梭运输。



(四)、电子传递抑制剂和解偶联剂

1. 电子传递抑制剂能够在呼吸链某一特定部位阻断电子传递。

<div style="text-align: center;"> </div> <p>2. 氧化磷酸化的解偶联</p> <p>解偶联剂(质子载体): 不抑制呼吸链的电子传递, 但能阻止 ATP 的形成, 使氧化产生的能量变为热能。主要的解偶联剂有 2,4-二硝基苯酚。</p> <p>DNP 解偶联原理: 破坏跨膜 H⁺梯度。</p> <p>正常生理条件下 DNP 是解离形式, 不能透过线粒体内膜, 在酸性环境下 DNP 接受质子成为脂溶性物质, 透过内膜, 同时将质子 H⁺带入内膜, 破坏了跨膜 H⁺梯度而引起解偶联现象。</p> <p>氧化磷酸化的解偶联效应也被生物所利用。例如冬眠动物和适应寒冷的哺乳动物中, 它是一种能够产生热以维持体温的方法。</p> <p>四、随堂练习</p> <p>设置 3-5 个习题, 随堂练习, 巩固本章知识。</p>	<p>2、树立药学专业职业道德, 提升职业素养, 培养安全意识、生态意识。</p>
<p>作业:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.名词解释: 生物氧化, 氧化磷酸化, 底物水平磷酸化。 2.写出两条电子传递链的简单组成及排列顺序, 说明磷酸化的偶联部位。 	

第五章 糖代谢

章节	第五章 糖代谢	教学时数	10 学时
<p>教学目的及要求 (包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等):</p> <p>知识目标:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.糖分解代谢的三种途径 (反应式, 关键酶, 特别注意脱羧, 脱氢, 底物水平磷酸化部位), 细胞定位, 生物学意义 (掌握)。 			

- 2.糖原的合成与分解（了解）。
- 3.磷酸戊糖途径（了解）
- 4.糖异生作用（掌握）。
- 5.从糖代谢异常角度解释某些疾病（了解）。

能力目标：

- 1.具备糖代谢的基础理论、基本知识、基本技能。
- 2. 具备从事糖代谢疾病药物的检测、制备和研究方面工作的知识和能力。

素质目标：

培养学生正确的科学观，能够利用本章知识，认识生命现象的本质及其基本规律，认识药物的核心成分及药学发展的方向，并能够理解药物的作用机理。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。

思政元素：

在介绍糖酵解所经历的反应时，提到 2017 年厦门大学林圣彩等发现糖酵解过程中的醛缩酶可作为胞内葡萄糖水平高低的感受器，是一个多功能酶。通过这个案例，启发学生，那些看起来似乎已经研究清楚的内容，照样也能带来新的发现和惊喜。同时，也启发学生，通过学习掌握基础知识，以此来实现学科之间的相互联系，获得更多的成绩。

教学重点及难点：

重 点：糖酵解过程、糖有氧氧化、糖原合成及分解、糖异生反应过程。

难 点：糖代谢各途径的具体反应过程及其调节。

教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩

思政内容设计

教学过程：

一、课前导入

通过运动员的饮食、减肥人员的饮食结构，以及低血糖人员的应急求助，引导学生思考，为什么糖类物质会为我们提供能量？同时结合日常饮食不含糖，但为什么血液中仍能检测出葡萄糖。利用这些日常现象，引导学生思考，以此引出课程的主要内容。

二、学情分析

1、通过日常案例，启迪学生要多看、多想、多思、多总结，培养学生自我学习能力。

回顾前面所讲授的有机化学，有关醛基、羟基的结构和功能，并引导学生对糖类物质的认识，根据学生的知识掌握程度和对日常现象的认识程度，来判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。

三、新课内容

新陈代谢：生物与周围环境进行物质和能量交换的过程。

包括：同化作用(assimilation)、异化作用(dissimilation)

生物体通过同化作用(合成代谢)不断地从环境中摄取物质，经一系列生化反应转变为自己的组分；

通过异化作用(分解代谢)将原有的组分经一系列生化反应，分解为简单成分重新利用或排出体外。

第一节 糖类概述

一、糖类的定义及性质

(一)、糖类的定义与元素组成

1. 定义：糖类是多羟基醛或多羟基酮及其缩聚物和某些衍生物的总称。

讲解：糖类结构特征包括多羟基、醛或酮的结构，举例葡萄糖和果糖的结构缩聚物指寡糖、多糖等，衍生物包括糖酸、糖醇等。

2. 元素组成：C、H、O

讲解：碳水化合物的由来，是否准确？

(二)、糖的分类与命名

1. 分类

单糖：不能水解的最简单糖类，多羟基醛或酮（醛糖或酮糖）

讲解：如葡萄糖

聚糖：分为寡糖和多糖。

寡糖：有2~10个分子单糖缩合而成，如蔗糖、麦芽糖、棉籽糖等

多糖：多分子单糖或其衍生物所组成，如淀粉、糖原

复合糖：糖和非糖物质共价结合而成，如糖蛋白、糖脂

糖的衍生物：糖醇、糖酸、糖胺、糖苷

2. 命名

单糖：通俗名称，葡萄糖

2、通过我国对糖的发现及应用历史，树立学生对中华文化的认同感，增强学生文化自信。

按碳原子数，如丙糖、己糖等；

据羰基位置，分为醛糖和酮糖

寡糖：按所含碳原子数，二糖、三糖等

习惯名称，麦芽糖，蔗糖

二、单糖的结构和性质

(一)、单糖的旋光性与开链结构

1. 单糖的旋光性

当普通光通过一个偏振的透镜或尼科尔棱镜时，一部分光就被挡住了，只有振动方向与棱镜晶轴平行的光才能通过。这种只在一个平面上振动的光称为平面偏振光。

旋光性：使平面偏振光的偏振面发生旋转的性质。

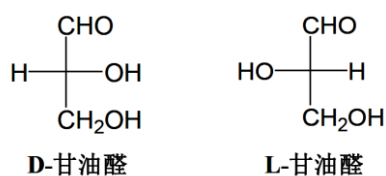
具有旋光性的分子：手性结构分子。

手性碳原子：四个价键与四个不同的原子或原子团相连接。

单糖具有旋光性，物质的旋光性以比旋光度或旋光率表示。比旋光度是一个物理常数，可以此对糖进行定性定量测定。

2. 开链结构——具有游离羰基的结构形式

以甘油醛为例



单糖有 D-及 L-两种对映异构体。注意构型和旋光性的区别。

含 3 个碳原子以上的糖，规定构型时以距离醛基或酮基最远的不对称碳原子为准，羟基在右的为 D-型，羟基在左为 L-型。单糖分子如果有 n 个手性碳原子，则应该有 2^n 个异构体。如六碳糖，有 4 个手性碳原子，共有 $2^4=16$ 个异构体。

(二)、单糖的环状结构

1. 环状结构——单糖的半缩醛形式

开链形式无法解释变旋现象、醛基不发生加成反应、只能与一分子醇反应等。

费歇尔提出单糖的环状结构，醛基和其他碳原子上的羟基发生成环反应，称为半缩醛反应 (seiacetol reaction)。实验证明具有两类反应：醛基与 C5 位羟基、醛基与 C4 位羟基反应。

为了完善环状结构，人们提出了另一种书写法，即哈渥斯式 (Haworth)。

将 Fischer 式书写成 Haworth 式遵循的两条原则：

(1) 将直链碳链右边的羟基写在环的下面，左边的羟基写在环的上面；

(2) 当糖的环形成后还有多余的碳原子时，如果直链环是向右的，则未成环碳原子按规定写在环之上，反之写在环之下，酮糖的第一位碳例外。粗线代表靠近读者一边。

2. 构象——单糖的立体结构

葡萄糖的可能构象有椅式和船式，主要是 A 椅式。

(三)、单糖的重要衍生物

1. 取代单糖——氨基糖决定血型和细菌细胞壁的功能

氨基糖，如氨基葡萄糖和氨基半乳糖，C2 位的羟基被氨基取代。氨基常被乙酰化，如乙酰胞壁酸。

2. 糖醇和糖酸：

糖醇较稳定，易溶于水，有甜味，可作为甜味剂。常见的有甘露醇、山梨醇等；

糖酸：由单糖的氧化而得。葡萄糖醛酸、半乳糖醛酸、葡萄糖酸、葡萄糖二酸等。

3. 糖苷：

单糖的半缩醛上羟基与其他含羟基的化合物（醇、酚等）失水缩合而成缩醛式衍生物。糖苷较稳定，大多数易溶于水、乙醇、丙酮等。

(四)、单糖的性质

1. 还原性——作为还原剂

单糖的醛基或酮基使其具有还原性。费林定糖法即是应用此性质进行定量定性测定。费林试剂—— $\text{CuSO}_4 + \text{NaOH} + \text{酒石酸钾钠}$ 。试剂形

成的配合物与单糖作用时， Cu^{2+} 还原成 Cu^+ 以 Cu_2O 形式沉淀，单糖自身氧化成糖酸。

2. 酸反应——糠醛是戊糖与酸反应的产物

戊糖和己糖在非氧化性强酸作用下发生脱水环化，分别生成呋喃甲醛（糠醛）和羟甲基呋喃甲醛。不同单糖脱水生成的呋喃甲醛类化合物，可与酚试剂形成有色物质，借此进行糖的定性定量测定。

表 糖的呈色反应

反应名称	酚试剂	适用糖类	反应颜色
莫里希反应	α -萘酚	所有糖类	紫红色
塞里万诺夫反应	间苯二酚	酮糖	鲜红色
托伦反应	间苯三酚	戊糖	朱红色(己糖黄色)
拜尔反应	甲基间苯二酚	戊糖	蓝绿色(己糖樱红色)

3. 碱反应——单糖与氨反应

在稀碱溶液中发生异构化，如葡萄糖在稀碱溶液中通过异构化产生一部分果糖和甘露糖。葡萄糖和甘露糖互为差向异构体。

单糖与弱碱溶液（氨水）缩合并通过一系列反应产生棕褐色聚合物，即美拉德反应。

4. 成酯反应

生化上较重要的糖酯是磷酸酯

5. 成脎反应：可用来鉴别还原糖，生成的脎晶形和熔点不同。

三、寡糖的定义及性质

(一)、寡糖的结构

1. 概念——寡糖是单糖的缩醛衍生物。

少数单糖（2~10个）通过糖苷键连接起来的缩醛衍生物。

2. 常见寡糖——二糖和三糖

糖苷键的构型由提供半缩醛羟基的单糖的构型决定。

糖苷键表示方法：指出键连接两个碳原子的位置，由糖基的碳位用箭头指向配基的碳位，如 $1 \rightarrow 4$ 。

自然界中重要的二糖有麦芽糖、蔗糖、乳糖、纤维二糖等。

表 2 三种二糖的性质比较

种类	存在	组成	物理性质	化学性质
蔗糖	甘蔗甜	一分子葡	白色结晶，味甜。易溶	无还原性，不能形成糖脎

	菜	葡萄糖和一分子果糖	溶于水，有旋光作用，无变旋作用（无 α , β 型）	被酵母发酵，水解后形成一分子葡萄糖与一分子果糖。加热至 200°C 以上变成棕黑色焦糖	
麦芽糖	五谷麦芽	二分子葡萄糖	白色结晶，甜度仅次于蔗糖。有旋光作用，易溶于水，有变旋作用（有 α , β 型）	有还原性，可形成糖脎，可被酵母发酵，水解后生成二分子葡萄糖	可被
乳糖	乳类	一分子葡萄糖和一分子半乳糖	白色结晶，微甜，不易溶于水。有旋光作用及变旋作用（有 α , β 型）	有还原性，可形成糖脎，可被酵母发酵，水解后产生葡萄糖和半乳糖	不被葡萄糖

三糖：常见的有棉籽糖、龙胆三糖、松三糖等。棉籽糖：存在于棉籽、桉树和甜菜中，可引起胀气。

(二)、寡糖的性质

1. 旋光性和变旋性：

寡糖都有旋光性，由于存在不对称碳原子。

个别没有变旋性，如蔗糖分子中不存在半缩醛羟基。

2. 还原性：多数具有还原性。

分子中仍存在半缩醛羟基的糖为还原糖。麦芽糖和乳糖有还原性；蔗糖不具有还原性。

四、多糖的结构和性质

多糖是由多个单糖基以糖苷键相连而形成的高聚物。多糖没有还原性和变旋现象，无甜味，多不溶于水。多糖的结构包括单糖的组成、糖苷键的类型、单糖的排列顺序 3 个基本结构因素。

(一)、同聚多糖

1. 淀粉

天然淀粉由直链淀粉与支链淀粉组成。

直链淀粉：溶于水，一般占 10~20%，以 $\alpha(1, 4)$ 糖苷键连接，每个分子是一条线性无分支的链。

支链淀粉：不溶于水，以 $\alpha(1, 4)$ 糖苷键连接，11~12 个葡萄糖残基后产生一个分支，分支点为 $\alpha(1, 6)$ 糖苷键，支链平均长度为 24~32 个葡萄糖残基。

一个直链淀粉分子具有一个还原端，一个非还原端。

3、通过我国最新研究成果——从二氧化碳开始体外合成淀粉，激励学生大胆创新思维和民族自

一个支链淀粉分子具有一个还原端和 $n+1$ 个非还原端 (n 为分支数)。

讲解：给出淀粉分子的化学结构，并讲解其中单糖、糖苷键的类型等。

可利用淀粉与碘的颜色反应区分直链和支链淀粉。直链淀粉遇碘呈蓝色，支链

淀粉遇碘呈红色。淀粉与碘的呈色反应与淀粉糖苷链的长度有关：链长小于 6 个葡萄糖基，不能呈色；聚合度为 20 左右时，呈红色；聚合度为 20~60，呈紫红色，大于 60 则呈蓝色。

淀粉无还原性，具右旋光性。天然淀粉一般不溶于水，且相对密度较大。

应用形式：淀粉糖；改性淀粉，如预糊化淀粉、酸变性淀粉等。

2. 糖原

又称动物淀粉，主要分布在动物的肝脏和骨骼肌。

与支链淀粉相似，但分支更多，支链一般由 10~14 个葡萄糖单位组成，主链上每隔 3~5 个葡萄糖基就有一个分支，整个分子呈球形。

无还原性，与碘反应呈红色，具右旋性，能溶于水和三氯乙酸，但不溶于乙醇及其他有机溶剂。

第二节 糖类代谢概述

糖代谢包括分解代谢和合成代谢。

(一)、多糖和寡糖的降解

多糖和寡聚糖只有分解成小分子后才能被吸收利用，生产中常称为糖化。

1. 胞外降解——糖苷酶的水解方式

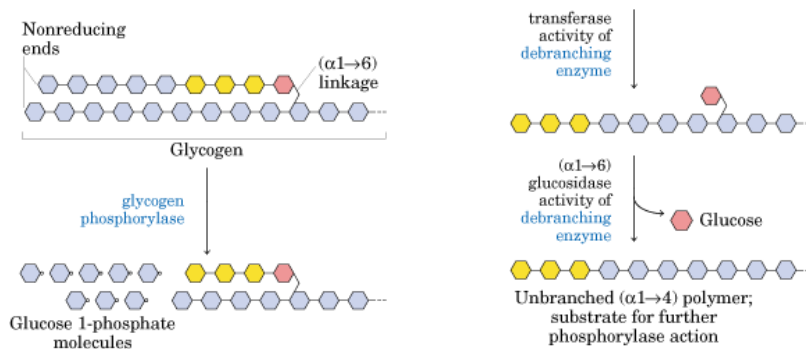
酶催化多糖加水分解，包括 α -淀粉酶、 β -淀粉酶、 γ -淀粉酶及 R 酶、纤维素酶等。水解淀粉的淀粉酶有 α 与 β 淀粉酶，二者只能水解淀粉中的 α -1,4 糖苷键。 α -淀粉酶可以水解淀粉(或糖原)中任何部位的 α -1,4 糖苷键，内切酶。 β -淀粉酶只能从非还原端开始水解，水解产物为麦芽糖。 γ -淀粉酶：外切酶，水解产物为葡萄糖。R 酶：水解淀粉中的 α -1,6 糖苷

豪感和自信心。

键。纤维素酶：水解 β -1,4 糖苷键，产物为纤维二糖和葡萄糖。

2. 胞内降解——糖原的磷酸解

细胞内糖原降解需要脱支酶和糖原磷酸化酶的催化。脱支酶：水解糖原的 α -1,6 糖苷键，切下分支。磷酸化酶能催化糖原的磷酸解，从非还原末端一次切下葡萄糖残基，生成 1-磷酸葡萄糖。



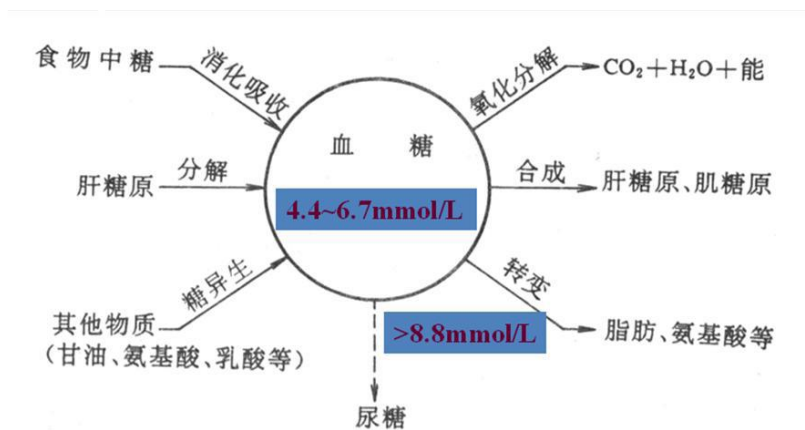
(二)、糖的吸收与转运

1. 糖的吸收——单糖同钠离子的同向协同运输

葡萄糖和 Na^+ 都是由细胞外向细胞内转运。葡萄糖跨膜运输所需能量来自细胞膜两侧 Na^+ 浓度梯度。

2. 糖的转运——血糖的来源和去路

血糖：主要是葡萄糖，正常浓度 $4.4\sim 6.7\text{mmol/L}$ 。过高时，血液中的葡萄糖被合成为肝糖原或肌糖原而存储；降低时，肝糖原分解补充血糖。



(三)、糖的分解代谢类型

无氧分解：体内称为糖酵解，起始物是葡萄糖或糖原，终产物是乳酸。产生的氢以代谢中间产物丙酮酸为氢受体。人和高等动物肌肉及酵母菌可进行无氧呼吸。

需氧分解：糖在有氧存在下彻底分解成 CO_2 和 H_2O ，同时释放出能量的过程。丙酮酸的氧化脱羧和三羧酸循环，产生的氢以分子氧为氢受体。

第三节、糖的分解代谢

(一)、糖酵解途径

1、概念和发生部位

葡萄糖经过酶催化作用降解成丙酮酸，并伴随生成 ATP 的过程。EMP 途径的生化历程：在细胞浆中进行。

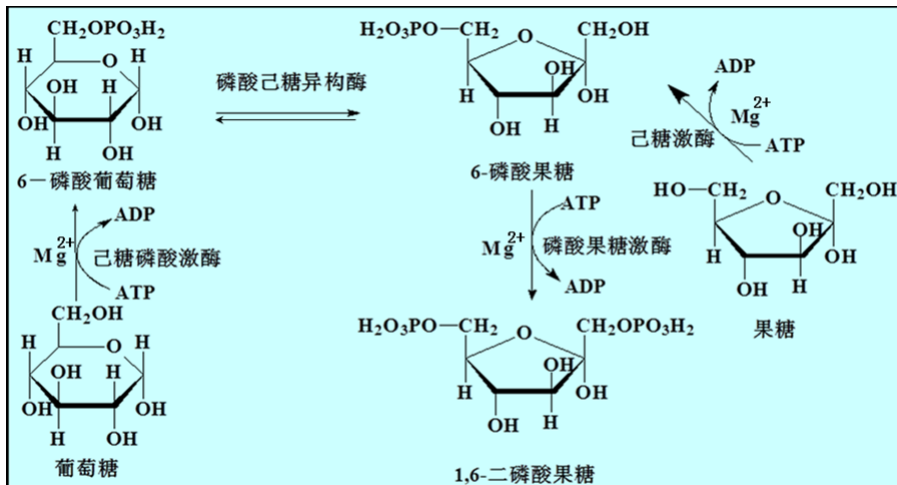
2、反应过程：第一阶段：葡萄糖的磷酸化；第二阶段：磷酸丙糖的生成；第三阶段：丙酮酸的生成；

(1) 第一阶段：耗能

①→③葡萄糖→6-磷酸葡萄糖→6-磷酸果糖→1,6-二磷酸果糖

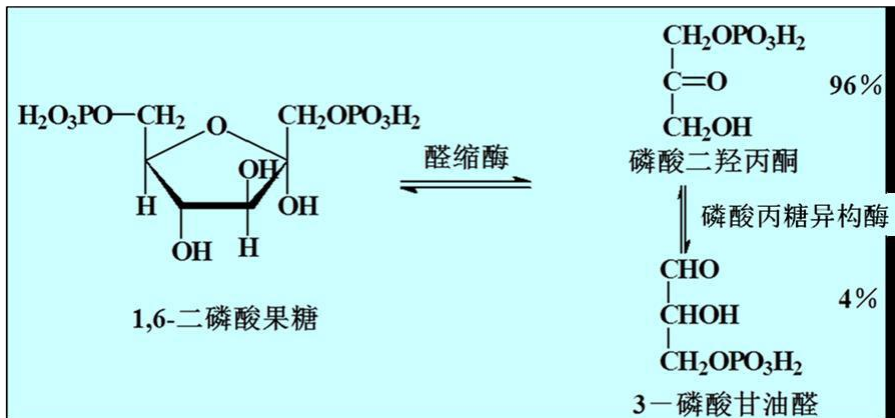
①：第一个限速步骤

③：第二个限速步骤



④ 1,6-二磷酸果糖→3-磷酸甘油醛

4、通过糖酵解过程的发现，培养学生系统思维和创新思维。

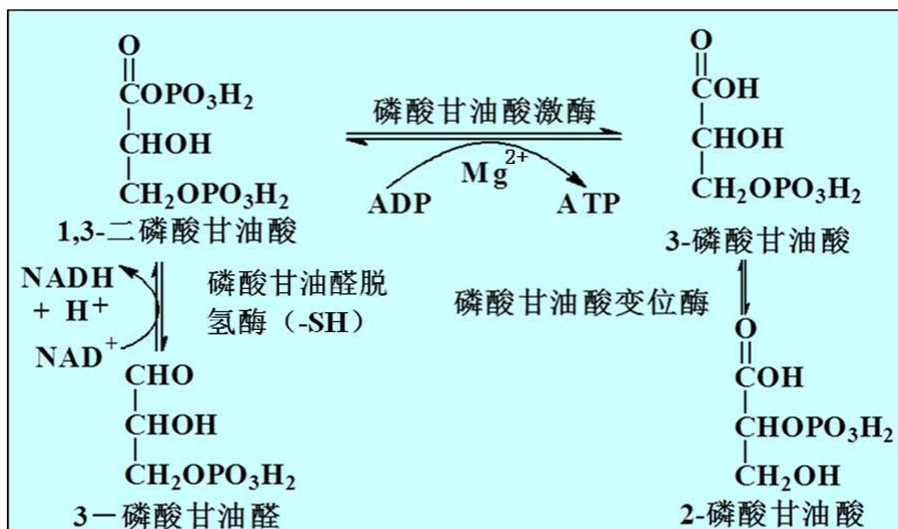


(2) 第二阶段：产能，磷酸丙糖的生成

⑤→⑦3-磷酸甘油醛→1, 3-二磷酸甘油酸→3-磷酸甘油酸→2-磷酸甘油酸

⑤：第一次脱氢

⑥：第一次底物水平磷酸化

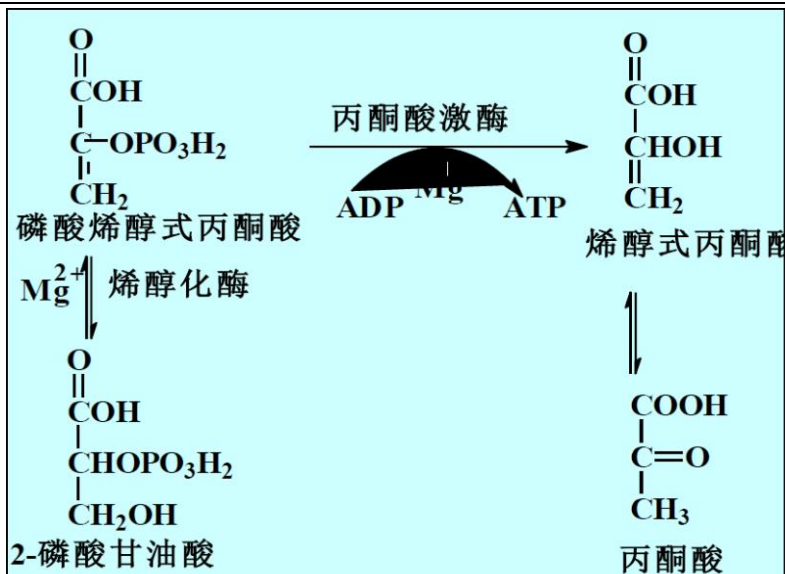


(3) 第三阶段：丙酮酸的生成，产能

⑧→⑩2-磷酸甘油酸→磷酸烯醇式丙酮酸→烯醇式丙酮酸→丙酮酸

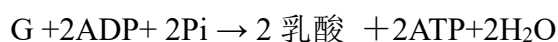
⑨：第二次底物水平磷酸化

第三个限速步骤

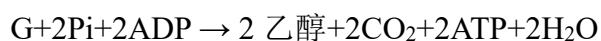


3. 丙酮酸的去向

(1) 乳酸发酵(lactic fermentation): 动物、乳酸菌 (乳杆菌、乳链球菌)



(2) 酒精发酵 (酵母发酵) alcoholic fermentation



(3) 丙酮酸转变成乙酰 CoA

有氧存在的条件下, 丙酮酸氧化脱羧产生乙酰 CoA, 再进入三羧酸循环, 被彻底氧化成 CO_2 和 H_2O , 并释放出能量。

(二)、糖的有氧氧化

1. 丙酮酸氧化脱羧——乙酰 CoA 的生成

基本反应:

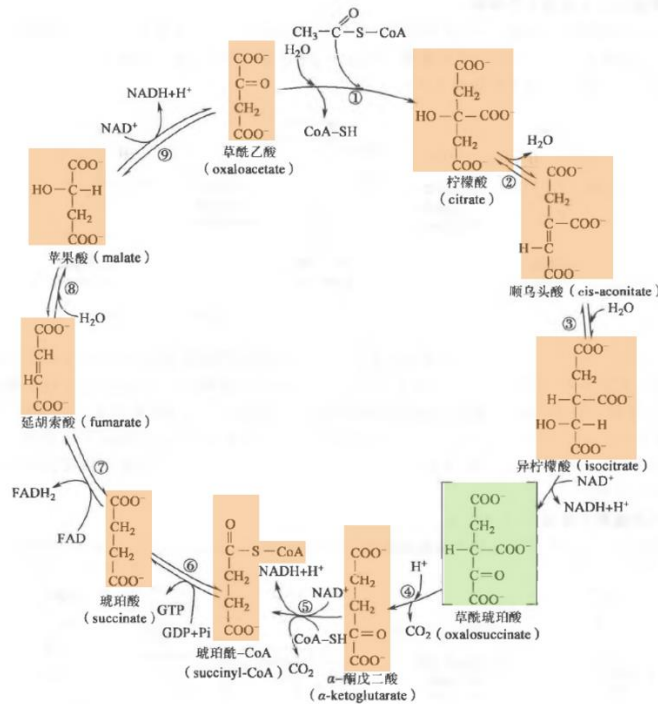
糖酵解生成的丙酮酸可穿过线粒体膜进入线粒体基质。在丙酮酸氧化脱羧酶系的催化下, 生成乙酰辅酶 A。



2. 乙酰 CoA 的彻底氧化分解——Tricarboxylic acid cycle, TCA

TCA 循环在细胞的线粒体基质中进行。第一个产物是柠檬酸, 又称柠檬酸循环

化学反应历程: 包括 10 步反应。



(1) 在柠檬酸合成酶催化下，将乙酰 CoA 的乙酰基上的甲基与草酰乙酸连接，形成柠檬酸，是第一个限速步骤。

(2) 柠檬酸在顺乌头酸酶催化下转变为顺乌头酸，继而又转变为异柠檬酸。

(3) 异柠檬酸在 NAD^+ 或 NADP^+ 存在下，经异柠檬酸脱氢酶催化脱氢，形成草酰琥珀酸；草酰琥珀酸脱去羧基，在异柠檬酸脱氢酶（需 Mg^{2+} ）催化下，形成 α -酮戊二酸。第二个限速步骤。

(4) α -酮戊二酸在有 TPP、硫辛酸、 CoA-SH 、 FAD 、 NAD^+ 和 Mg^{2+} 存在下，经 α -酮戊二酸脱羧酶系催化氧化脱羧形成琥珀酰辅酶 A，第三个限速步骤。

(5) 琥珀酰辅酶 A 经琥珀酰辅酶 A 合成酶催化，生成琥珀酸和 GTP 。

(6) 琥珀酸在有 FAD 存在下，经琥珀酸脱氢酶催化形成延胡索酸。

(7) 延胡索酸在延胡索酸酶催化下形成苹果酸。

(8) 苹果酸在有 NAD^+ 存在下，经苹果酸脱氢酶催化脱氢，再生成草酰乙酸。

三羧酸循环经四次脱氢，这些脱氢酶分别以 NAD^+ 、 FAD 为氢受体；它们接受的氢经呼吸链最终氧化生成水和 ATP 。两个系统互相配合完成

生物氧化作用。

葡萄糖分解代谢过程中能量的产生：

葡萄糖在分解代谢过程中产生的能量有两种形式：直接产生 ATP；生成 NADH 或 FADH₂，后者在线粒体呼吸链氧化并产生 ATP。

糖酵解：1 分子葡萄糖 2 分子丙酮酸，共消耗了 2 个 ATP，产生了 4 个 ATP，实际上净生成了 2 个 ATP，产生 2 个 NADH。

有氧分解（丙酮酸生成乙酰 CoA 及三羧酸循环）产生的 ATP、NADH 和 FADH₂，丙酮酸氧化脱羧：丙酮酸→乙酰 CoA，生成 1 个 NADH；

三羧酸循环：乙酰 CoA →CO₂ 和 H₂O，产生一个 GTP（即 ATP）、3 个 NADH 和 1 个 FADH₂。

反应过程	生成ATP数	
葡萄糖 → G-6-P	-1	
G-6-P → F-1, 6-2P	-1	
3-磷酸甘油醛+ NAD ⁺ + Pi →1,3-二磷酸甘油酸+ NADH+ H ⁺	2×2.5*	每分子葡萄糖生成2分子作用物，故×2
1,3-二磷酸甘油酸+ADP → 3-磷酸甘油酸+ATP	2×1	
磷酸烯醇式丙酮酸+ADP → 烯醇式丙酮酸+ATP	2×1	
丙酮酸+NAD ⁺ → 乙酰CoA+ NADH+ H ⁺ + CO ₂	2×2.5	
异柠檬酸+NAD ⁺ → α-酮戊二酸+NADH+ H ⁺ + CO ₂	2×2.5	
α-酮戊二酸+NAD ⁺ →琥珀酰CoA+ NADH+ H ⁺ + CO ₂	2×2.5	
琥珀酰CoA+ADP+Pi → 琥珀酸+ATP	2×1	
琥珀酸+FAD →延胡索酸+FADH ₂	2×1.5	
苹果酸+NAD ⁺ → 草酰乙酸+NADH+ H ⁺	2×2.5	
总计	30或32	

*线粒体外，糖酵解产生的 NADH，进入线粒体，需要经过穿梭系统，以磷酸甘油穿梭系统进入线粒体内，NADH 转变为 FADH₂，进入氧化呼吸链，生成 1.5ATP；以苹果酸-天冬氨酸穿梭系统进入线粒体内，NADH 仍为 NADH，进入氧化呼吸链，生成 2.5ATP。

3. 三羧酸循环的生物学意义

- (1) 为机体提供能量的主要途径；
- (2) 是糖类、蛋白质、脂肪三大物质转化的枢纽；

(3) 草酰乙酸在 TCA 循环中的作用：草酰乙酸必须保持一定的浓度，影响 TCA 循环的速度。

(4) 获得微生物发酵产品的途径：柠檬酸、谷氨酸

4. 草酰乙酸回补途径

(1) 丙酮酸在丙酮酸羧化酶催化下形成草酰乙酸，需要生物素为辅酶。

(2) 丙酮酸在苹果酸酶作用下转化成 L-苹果酸，后者经苹果酸脱氢酶催化生成草酰乙酸。

(3) 磷酸烯醇式丙酮酸在磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶的催化下形成草酰乙酸。在动物心脏和肌肉组织中存在这个反应。

第四节、糖的合成与分解

两个途径：以葡萄糖为合成基本原料，称为糖原生成作用；由非糖物质如乳酸、甘油、丙酮酸以及某些氨基酸为原料合成葡萄糖，再转变成糖原，称为糖异生作用。

(一)、糖原生成作用

糖原是由许多葡萄糖分子缩合而成的多糖，是动物细胞贮存糖的形式。

(1) 葡萄糖先磷酸化生成 G-6-P；受己糖激酶的催化，由 ATP 提供磷酸和能量。

(2) G-6-P 进一步转化成 G-1-P，变位酶催化；

(3) 在 UTP 存在下，G-1-P 经 UDPG 焦磷酸化酶催化，生成 UDPG；

(4) 以糖原为“引物”，由 UDPG 糖原转葡萄糖基酶、分支酶催化，最终生成糖原。

(二)、糖异生作用

糖异生是指从非糖物质合成葡萄糖的过程。非糖物质包括乳酸、生糖氨基酸、甘油等均可以在哺乳动物的肝脏中转变为葡萄糖或糖原。

基本上是糖酵解途径的逆过程，但具体过程并不是完全相同，因为在酵解过程中有三步是不可逆的反应，而在糖异生中要通过其它的旁路途径来绕过这三步不可逆反应，完成糖的异生过程。

糖异生的生理意义：

糖异生作用是一个生物合成葡萄糖的途径；红细胞和脑需要糖异生来补

<p>充糖的不足；在饥饿或剧烈运动造成糖原下降后，糖异生能使酵解产生的乳酸、脂肪分解产生的甘油以及生糖氨基酸等中间产物重新生成糖。维持血糖浓度，满足组织对糖的需要。消除骨骼肌中乳酸的积累。</p> <p>1. 丙酮酸羧化生成磷酸烯醇式丙酮酸</p> <p>丙酮酸 + ATP + CO₂ → 草酰乙酸 + ADP</p> <p>草酰乙酸 + GTP → 磷酸烯醇式丙酮酸 + GDP + CO₂</p> <p>丙酮酸羧化酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶催化</p> <p>2. 1,6-二磷酸果糖转化成 6-磷酸果糖：由二磷酸果糖磷酸酶催化。</p> <p>3. 6-磷酸葡萄糖转化为葡萄糖：由葡萄糖-6-P 磷酸酶催化。</p> <p>该酶在肝脏和肾细胞中存在，在肌肉或脑组织中没有此酶存在，因此糖异生作用只能在肝脏和肾中进行。</p> <p>第五节 血糖</p> <p>1、血糖的来源：食物；肝糖原分解；糖异生</p> <p>2、血糖的去路：氧化分解，提供能量；合成糖原；转变成其它物质，如脂肪；随尿排出</p> <p>3、血糖的调节</p> <p>肝的调节；激素的调节</p> <p>四、随堂练习</p> <p>设置 3-5 个习题，随堂练习，巩固本章知识。</p>	<p>4、通过系统学习糖代谢，树立科学饮食、健康生活习惯。</p>
<p>作业：</p> <p>1.简述糖的无氧酵解和有氧氧化反应过程中产生的 ATP 的产生步骤。</p> <p>2.计算 1 分子的丙酮酸和 1 分子的乳酸彻底氧化各能产生多少个分子的 ATP。</p> <p>3.简述糖异生反应过程及生理意义。</p>	

第六章 脂类代谢

章节	第六章 脂类代谢	教学时数	6 学时
----	----------	------	------

教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：

知识目标：

- 1.脂类的组成、结构和功能（了解）
- 2.β-氧化反应过程及能量计算（掌握）。
- 3.酮体生成过程和危害（了解）。
- 4.脂肪酸从头合成（掌握）。
- 5.脂肪酸碳链延长途径和脂肪的合成反应（了解）。
- 6.甘油磷脂以及胆固醇生物合成（了解）。

能力目标：

- 1.具备脂类代谢的基础理论、基本知识、基本技能。
2. 具备从事脂类药物或脂溶性药物检测、制备和研究方面工作的知识和能力。

素质目标：

培养学生科学、正确的认识生命现象的本质及其基本规律，认识药物的核心成分及药物的作用机理。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。

思政元素：

通过脂肪酸的β氧化发现的故事，还原科学家的发现过程，包括科学家的困惑、实验方案及实验结果，引导学生对实验结果进行深入、合理的分析以得出科学正确的实验结论。强调试验设计的严谨性及结果分析的科学性。

教学重点及难点：

重 点：脂肪酸的β-氧化；酮体的生成及利用；胆固醇代谢；血浆脂蛋白的分类、组成及结构；载脂蛋白的作用。

难 点：血浆脂蛋白代谢过程。

教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩

思政内容设计

教学过程：

一、课前导入

通过对比南北方饮食差异或冬夏季饮食差异，引导学生观察并思考，

1、通过日常案例，引导学生提出问题

为何北方或冬季饮食中，油脂的含量相比南方或夏季的要多？并结合体检报告，思考为什么喜食甜食的人，通常会伴随较高的甘油三酯。利用这些日常现象，引导学生思考，以此引出课程的主要内容。

二、学情分析

回顾有机化学有关脂肪醇，脂肪酸等的性质，并结合羧酸酯化、皂化反应，来获悉学生知识的掌握程度，判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。

三、新课内容

第一节 脂类概述及分类

1、脂类化合物的概念：是一类不溶于水而溶于非极性溶剂的化合物的总称，包括脂肪和类脂。主要由碳、氢、氧元素组成，有些还含有氮、磷硫等。是机体重要的能源物质，也是构成各生物膜的重要成分。

2、脂类的生理功能

(1)提供能量：脂肪产热较高，正常人体每日所需热量大约有 25%-30% 由摄入的脂肪产生。

(2)储存能量：人体的脂肪细胞可以储存大量脂肪。

(3)防寒及保护身体器官：脂肪可保持人体体温。使人体器官免受外界环境损伤。

(4)增进饱腹感及摄入食物的口感。脂肪在胃内停留时间较长，脂肪可以增加食物的香味，使人感到可口。脂肪还能刺激消化液的分泌。

(5)脂肪是脂溶性维生素 A、D、E、K 的载体，如果缺少脂肪，将影响维生素的吸收和利用。

(6)脂肪酸的功用：亚油酸缺乏，将使生长停滞、体重减轻、皮肤成鳞状并使肾脏受损。婴儿可能患湿疹。因此机体不可缺少亚油酸这种必需脂肪酸。

3、脂肪的理化性质

(1) 物理性质：无色、无臭、无味的稠性液体或蜡状固体。密度一般为 0.91-0.94g/ml。不溶于水，易溶于乙醚、氯仿、苯和石油醚等非极性溶剂。

(2) 化学性质：水解和皂化反应。酸败和酸值。氢化和卤化。

4、脂肪的结构和组成

题、分析问题、解决问题，培养学生认识世界的方法。

脂肪是由甘油和三分子脂肪酸缩合而成。脂肪酸可以相同，也可以不同。通常 R1 和 R3 为饱和的烃基，R2 为不饱和的烃基。

5、脂肪酸的结构特点和共性

天然脂肪酸的共性：A. 脂肪酸链长多为 14-20 个碳原子，且都是偶数，以 16 或 18 最常见。B. 饱和脂肪酸中以软脂酸、硬脂酸最为常见；不饱和脂肪酸中以油酸最为常见。C. 不饱和脂肪酸的熔点低于饱和脂肪酸；多存在于高等植物和低温生活的动物中。D. 高等动、植物的不饱和脂肪酸的双键位置一般在 9-10 碳原子之间，且在两个双键之间常隔一个亚甲基（—CH₂—），如亚油酸。E. 高等动、植物的不饱和脂肪酸，都属于顺式，极少数为反式（如反-11-十八碳烯酸）F. 细菌所含的脂肪酸种类比高等动、植物少得多，在 12-18 个碳原子之间，且多为饱和脂肪酸。

必需脂肪酸：把维持哺乳动物正常生长所需的，而机体又不能合成脂肪酸称为必需脂肪酸，主要为亚油酸和亚麻酸，这两种脂肪酸在植物中含量非常丰富。哺乳动物体内花生四烯酸可由亚油酸合成，而它是合成前列腺素的必需前体物质，植物中不含花生四烯酸。

6、磷脂

（1）组成：磷脂酸：是各类甘油磷脂的母体化合物，它是甘油 C3 的羟基（-OH）磷酸化；另外两个羟基（-OH）为脂肪酸所酯化而成的。

甘油磷脂：磷脂酸的磷酸再与氨基醇，如胆碱、乙醇胺、丝氨酸、肌醇缩合而成的化合物。天然存在甘油磷脂都属 L-构型。甘油磷脂有极性的头部（含磷酸部分）和非极性尾部（脂肪酸部分），这种结构特点使甘油磷脂溶于水时，除极少数形成真溶液外，绝大部分可自发形成微团。

（2）重要的甘油磷脂类化合物

磷脂酰胆碱（卵磷脂）、磷脂酰乙醇胺（脑磷脂）、磷脂酰丝氨酸、磷脂酰肌醇、二磷脂酰甘油（心磷脂）。

（3）生理功能：A. 维持正常生物膜的结构和功能，类脂（主要为磷脂）约占膜重量的一半。

B. 胆固醇可以在体内转变成多种类固醇激素、维生素 D₃ 及胆汁酸等。

7. 萜类化合物

(1) 萜类：不含脂肪酸，为异戊二烯的衍生物。萜类有的是线状，有的是环状。相连的异戊二烯有的是头尾相连，也有的是尾尾相连。多数直链萜类的双键为反式。

(2) 萜的分类：主要根据异戊二烯的数目来分类。

(3) 几种萜类化合物：维生素 A、E、K、胡萝卜素、叶绿醇、天然橡胶等都属于萜类；植物中多数萜类都具有特殊臭味，而是各类植物特有油类的主要成分。例如柠檬苦素、薄荷醇、樟脑依次是柠檬油、薄荷油、樟脑油的主要成分。

8. 甾类（类固醇类）化合物

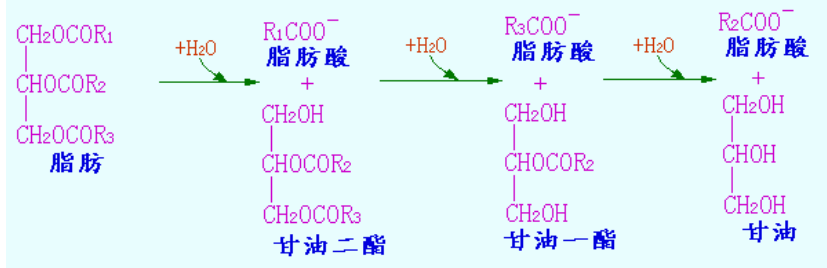
甾类（类固醇类）：也为异戊二烯的衍生物，基本结构为环戊烷多氢菲。

固醇类（甾醇类）：为甾类化合物，其特点为甾核的第 3 位上有一个羟基（-OH），在第 17 位上有一个分支的碳氢链。客观存在又可分为固醇和固醇衍生物两大类。

(1) 固醇类：胆固醇 (2) 固醇衍生物： A. 胆汁酸：肝脏合成，可从胆汁中分离得到。人的胆汁中有三种不同的胆汁酸。大多数脊椎动物的胆汁中，胆酸与甘氨酸牛磺氨酸结合成甘氨胆酸或牛磺胆酸，这是胆汁苦的主要原因。胆酸可与脂肪或其它脂类（如胆固醇、胡萝卜素）形成盐类，因此它是很好的乳化剂，降低不和油脂的表面张力，使肠腔内油脂乳化成微粒，以增加油脂与消化液中的脂肪酶的接触面积，便于油脂消化吸收。 B. 维生素 D₂、D₃。 C. 各种甾醇类激素：性激素、肾上腺皮质激素等。 D. 强心苷：有使心搏减慢，强度增加的作用。主要从玄参科及百合科的植物中提取，最常见强心苷是洋地黄毒素，它存在于洋地黄植物的叶子中；蟾蜍分泌蟾毒素也有类似的药用效果。

9. 蜡：是不溶于水的固体，是高级脂肪酸（蜡酸）和长链、脂肪族一羟基醇（蜡醇）或固醇所形成的酯。

第二节、脂肪的降解



1. 脂肪的消化

乳化：脂质与胆汁酸盐作用乳化。脂肪的消化主要在肠中进行，胰液和胆汁经胰管和胆管分泌到十二指肠。胰液中含有胰脂肪酶，能水解部分脂肪成为甘油及游离脂肪酸，但大部分脂肪仅局部水解成甘油一酯。

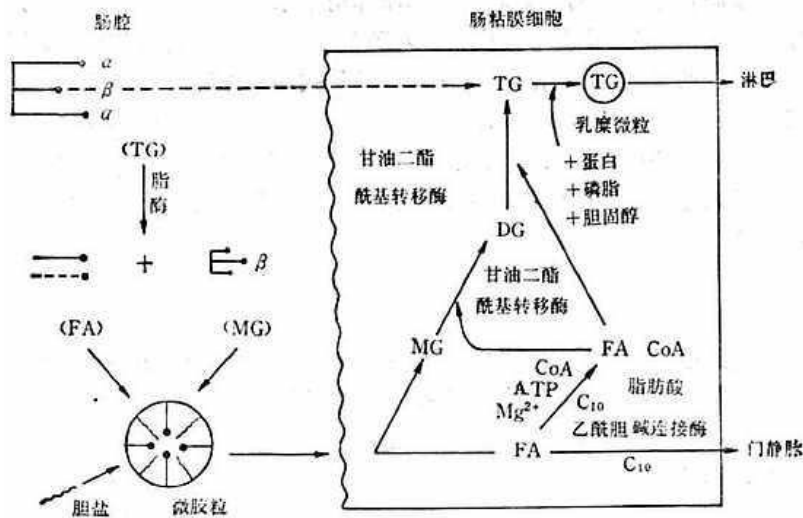
2. 水解脂肪的酶：

酯酶：水解脂肪酸和一元醇组成的酯；

脂酶：非专一性水解酶，易于水解甘油酯的1位和3位的酯键，产物为甘油一酯和脂肪酸。

磷脂酶：水解磷脂，产生甘油、脂肪酸、磷酸、胆碱和胆胺等。

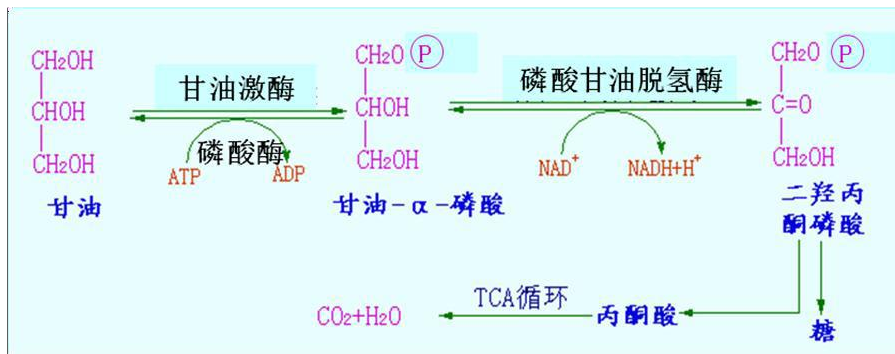
3. 吸收形态：甘油、脂肪酸、甘油一酯、甘油二酯、脂肪微粒等。



第三节、脂肪的分解代谢

(一)、甘油代谢

甘油的分解（肝脏）

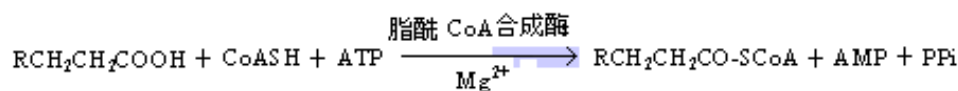


甘油的合成：为分解代谢的逆行。

(二)、脂肪酸的分解代谢

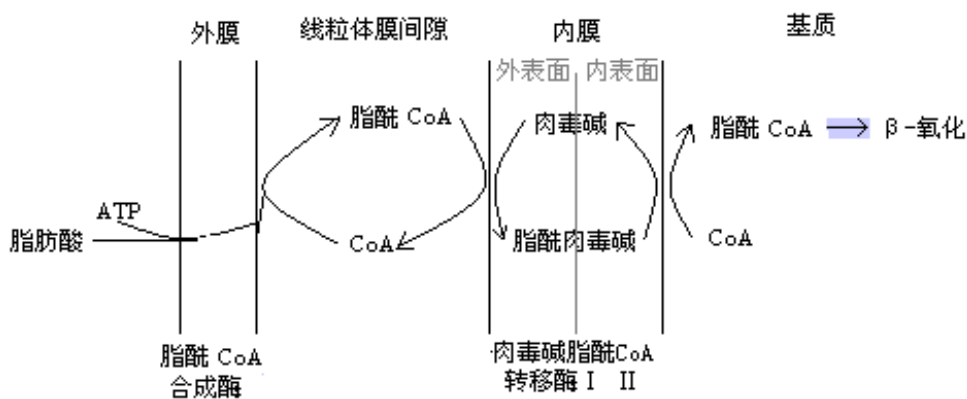
1. β-氧化——主要途径

(1) 脂肪酸的活化——脂酰 CoA 的生成：长链脂肪酸氧化前必须进行活化，活化在线粒体外进行。脂酰 CoA 合成酶在 ATP、CoA~SH、Mg²⁺存在条件下，催化脂肪酸活化，生成脂酰 CoA。



(2) 穿膜（脂酰 CoA 进入线粒体）

脂肪酸活化在细胞液中进行，而催化脂肪酸氧化的酶系是在线粒体基质内，因此活化的脂酰 CoA 必须进入线粒体内才能代谢。



(3) 脂肪酸的 β 氧化

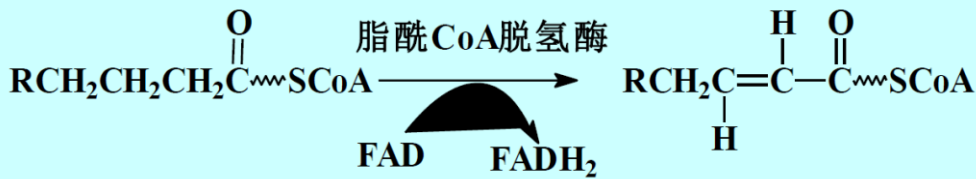
长链脂酰 CoA 的 β-氧化是在线粒体脂肪酸氧化酶系作用下进行的，每次氧化断去二碳单位的乙酰 CoA，再经 TCA 循环完全氧化成二氧化碳和水，并释放大能量。

偶数碳原子的脂肪酸 β 氧化最终全部生成乙酰 CoA。

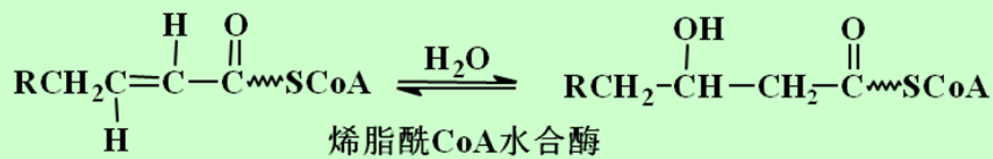
脂酰 CoA 的 β-氧化反应过程如下：

2、通过 β 氧化过程的重现，培养学生分析问题的能力，尊重科学事实的学风和信念。

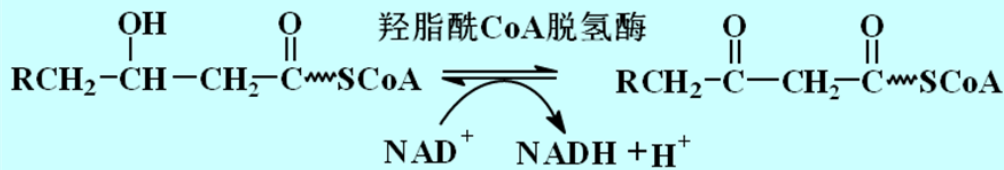
(1) 氧化：脂酰 CoA 经脂酰 CoA 脱氢酶催化，在其 α 和 β 碳原子上脱氢，生成 Δ^2 反烯脂酰 CoA，该脱氢反应的辅基为 FAD。



(2) 水化： Δ^2 反烯脂酰 CoA 在烯脂酰 CoA 水合酶催化下，在双键上加水生成 L- β -羟脂酰 CoA。



(3) 再氧化：L- β -羟脂酰 CoA 在 L- β -羟脂酰 CoA 脱氢酶催化下，脱去 β 碳原子与羟基上的氢原子生成 β -酮脂酰 CoA，该反应的辅酶为 NAD⁺。



(4) 硫解：在 β -酮脂酰 CoA 硫解酶催化下， β -酮脂酰 CoA 与 CoA 作用，硫解产生 1 分子乙酰 CoA 和比原来少两个碳原子的脂酰 CoA。



总结：

脂肪酸 β 氧化最终的产物为乙酰 CoA、NADH 和 FADH₂。

如碳原子数为 n 的脂肪酸进行 β -氧化，需要 (n/2-1) 次循环完全分解为 n/2 个乙酰 CoA，产生 (n/2-1) 个 NADH 和 (n/2-1) 个 FADH₂；生成的乙酰 CoA 通过 TCA 循环彻底氧化成二氧化碳和水并释放能量，而 NADH 和 FADH₂ 则通过呼吸链传递电子生成 ATP。生成的 ATP 数量为：(n/2-1) × (2+3) + n/2 × 12 - 2

以软脂酸（16C）为例计算其完全氧化所生成的 ATP 分子数：

$$\left(\frac{16}{2}-1\right)\times(2+3)+\frac{16}{2}\times 12-2=129$$

2. 其它脂肪酸的氧化分解方式

奇数碳原子饱和脂肪酸的氧化，除了生成乙酰 CoA 外，还生成一分子的丙酰 CoA。

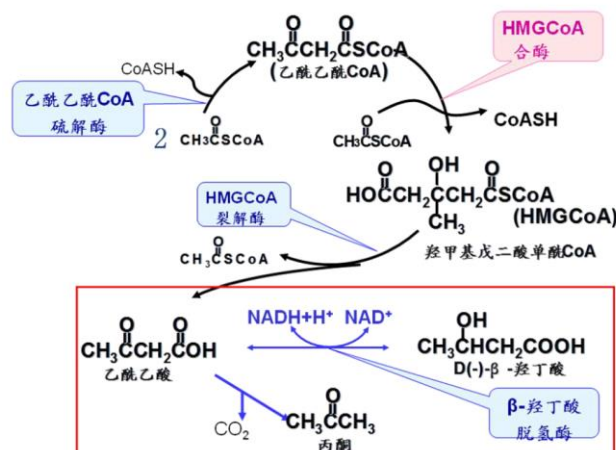
不饱和脂肪酸的氧化途径同饱和脂肪酸的氧化途径基本相同。差异在于含一个双键的不饱和脂肪酸还需要顺-反烯脂酰 CoA 异构酶将不饱和脂肪酸分解产物中的顺式结构中间产物变为反式结构。

含一个以上双键的脂肪酸除需要顺-反异构酶外，还需要 β-羟脂酰-CoA 立体异构酶将中间产物中的 D-β-羟脂酰 CoA 转变成 L-β-羟脂酰 CoA，才可按照 β-氧化途径进行氧化。

3. 酮体的生成和利用

酮体是乙酰乙酸、β-羟丁酸及丙酮三种物质的统称。部位：肝脏；原料：乙酰 CoA；区域：线粒体。酮体生成后迅速透过肝线粒体膜和细胞膜进入血液，转运至肝外组织利用。

(1) 酮体的生成



(2) 酮体代谢的生理意义

酮体是脂肪酸在肝脏代谢的正常中间产物。酮体也是机体在饥饿状态下肝为脑等组织提供的能源物质。在饥饿、糖尿病、高脂低糖膳食时，酮体生成增加，超过肝外组织利用酮体的能力时，导致血中酮体含量异常升高，

3.通过脂肪

称为酮血症。此时尿中也可出现大量酮体，称为酮尿症。

第四节、脂肪的合成代谢

1. 脂肪酸的生物合成

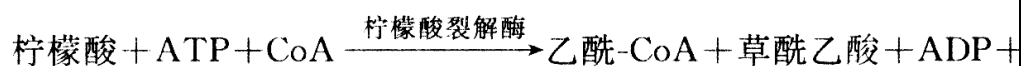
脂肪酸合成的碳源主要来自糖酵解产生的乙酰 CoA。脂肪酸的生物合成是在细胞液中进行，需要 CO₂ 和柠檬酸参加；而氧化降解是在线粒体中进行的。

分为两条途径：细胞液酶系合成饱和脂肪酸途径（丙二酸单酰 CoA 途径）；饱和脂肪酸碳链延长途径。

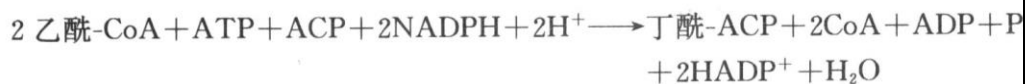
(1) 丙二酸单酰 CoA 途径

乙酰 CoA 的跨膜转移：在线粒体内，丙酮酸被氧化脱羧生成乙酰 CoA。

乙酰 CoA 在线粒体内可与草酰乙酸结合成柠檬酸，柠檬酸可以透过线粒体膜进入细胞液：



由乙酰-CoA 起，经缩合、还原、脱水、再还原几个反应步骤，便生成含 4 个碳原子的丁酰基。总反应是：



上述反应使碳链延长 2 个碳原子。如此重复下去，反应每循环一次，碳链便延长 2 个原子，直至生成含 16 个碳的软脂酸为止。

(2) 脂肪酸碳链延长途径（在线粒体和微粒体中进行）

生物体内有两种不同的酶系可以催化碳链的延长，一是线粒体中的延长酶系，另一个是粗糙内质网中的延长酶系。

①线粒体脂肪酸延长酶系

以乙酰 CoA 为 C₂ 供体，不需要酰基载体，由软脂酰 CoA 与乙酰 CoA 直接缩合，为 β-氧化的逆过程。

②内质网脂肪酸延长酶系

用丙二酸单酰 CoA 作为 C₂ 的供体，NADPH 作为 H 的供体，软脂酸经缩合、还原、脱水、再还原等反应，每一轮增加 2 个碳原子，反复进行使碳链逐步延长。

酸的合成，帮助学生树立科学、健康饮食习惯。

第七章 氨基酸代谢

章节	第七章 氨基酸代谢	教学时数	4 学时
<p>教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>知识目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.蛋白质的需求与利用（了解）。 2.氨基酸脱羧后形成的产物的生理作用（掌握）。 3.氨基酸脱氨后酮酸和氨的去向（掌握）。 4.氨的来源与转运、氨的毒性和机体解毒氨的意义（了解）。 5.营养物质代谢的相互关系（掌握）。 <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.具备蛋白质代谢的基础理论、基本知识、基本技能。 2. 具备从事蛋白质、酶类药物检测、制备和研究方面工作的知识和能力。 <p>素质目标：</p> <p>培养学生科学、正确的、认识生命现象的本质及其基本规律，树立药学专业的职业道德；能利用本章知识，认识药物的核心成分及药理作用。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。</p> <p>思政元素：</p> <p>讲依赖泛素的蛋白质降解途径时，介绍因发现"泛素调节的蛋白质降解"这一蛋白质"死亡"重要机理而获诺贝尔奖的三位科学家，介绍这三位杰出科学家关于泛素调节的蛋白质降解的工作历程及所取得的研究成果和意义。</p>			
<p>教学重点及难点：</p> <p>重 点：氨基酸的脱氨基作用；α-酮酸的代谢；氨的代谢；一碳单位的代谢。</p> <p>难 点：氨基酸如何转变成糖及脂类；氨基酸如何彻底氧化。</p>			
<p>教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩</p>			<p>思政内容设计</p>
<p>教学过程：</p> <p>一、课前导入</p> <p>对营养保健品市场进行调查，发现有一类是蛋白质或氨基酸类的营</p>			<p>1、激发学生 对课程的热爱和探索未</p>

养保健品，并且，减肥和健身，多推荐食用蛋白粉。通过对这一现象的观察，引导学生去思考，以此引出课程的主要内容。

二、学情分析

回顾前面所讲授的蛋白质物质的结构、性质和功能，以及糖类、脂类代谢过程，了解学生对基础知识的掌握程度，判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。

三、新课内容

第一节 蛋白质的消化和吸收

蛋白质本身不能被生物体直接吸收，必须经过消化降解成氨基酸后才能被生物体吸收利用。消化从胃开始，胃蛋白酶将其水解成相对分子质量较小的多肽；然后进入肠道被胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、弹性蛋白酶(内肽酶)、羧肽酶(外肽酶)和二肽酶(小肠黏膜细胞的刷状缘及胞液)等水解为氨基酸。

蛋白水解酶作用的专一性

酶	专一性	
肽链内切酶：		
胃蛋白酶	$R_4 = \text{Trp, Phe}$	$R_3 = \text{任何氨基酸残基}$
胰蛋白酶	$R_3 = \text{Arg, Lys}$	$R_4 = \text{任何氨基酸残基}$
胰凝乳蛋白酶	$R_3 = \text{Phe, Tyr, Trp}$	$R_4 = \text{任何氨基酸残基}$
弹性蛋白酶	$R_3 = \text{脂肪族氨基酸残基}$	$R_4 = \text{任何氨基酸残基}$
肽链外切酶：		
氨基肽酶	$R_1 = \text{任何氨基酸残基}$	$R_2 = \text{除 Pro 外任何氨基酸残基}$
羧基肽酶 A	$R_5 = \text{任何氨基酸残基}$	$R_6 = \text{除 Arg, Lys, Pro 外任何氨基酸残基}$
羧基肽酶 B	$R_5 = \text{任何氨基酸残基}$	$R_6 = \text{Arg, Lys}$

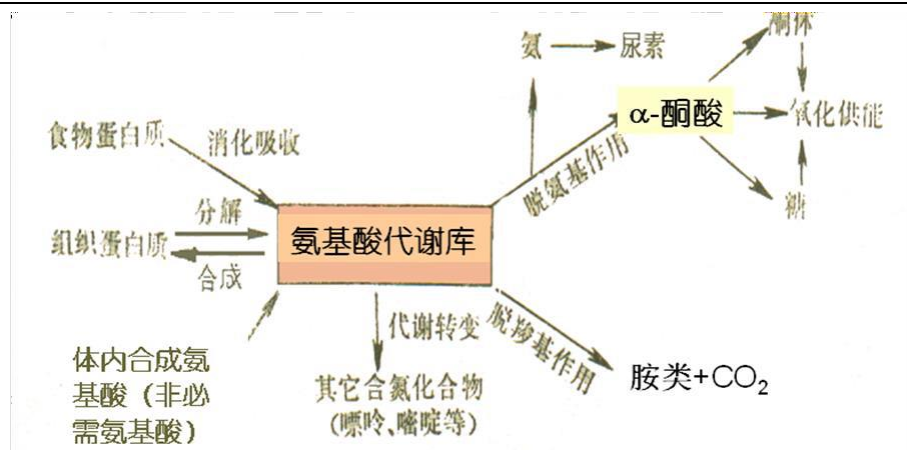
氨基酸的营养学意义：

8种必需氨基酸：Lys, Trp, Val, Leu, Ile, Thr, Met, Phe；对于发育的儿童还有 His、Arg。蛋白质的营养价值：取决于必需氨基酸的种类、含量及其比例是否与人体的需要接近。动物性蛋白>植物性蛋白质。

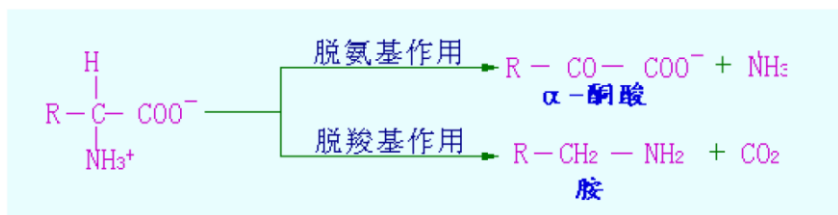
第二节、氨基酸的降解

知的兴趣和热情。

2、树立科学、健康饮食习惯。



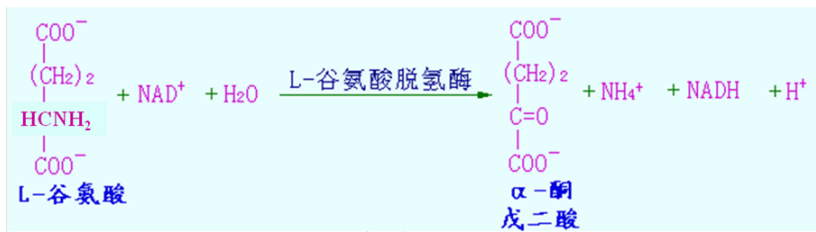
(一)、氨基酸分解代谢的共同途径



1. 脱氨基作用

(1) 氧化脱氨基作用

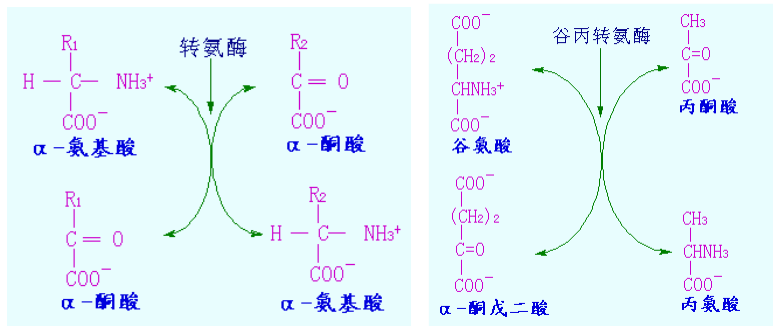
①氨基酸脱氢酶 (不需氧)



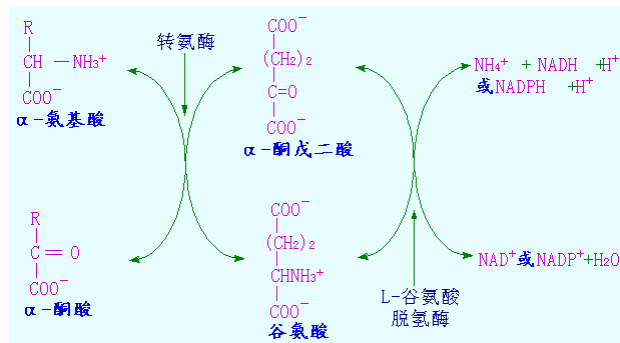
②氨基酸氧化酶 (需氧)

氨基酸在氧化酶作用下，脱氢形成亚氨基酸，后者再通过加水水解生成 α-酮酸和氨。生物体内分布较少，而且活性低。

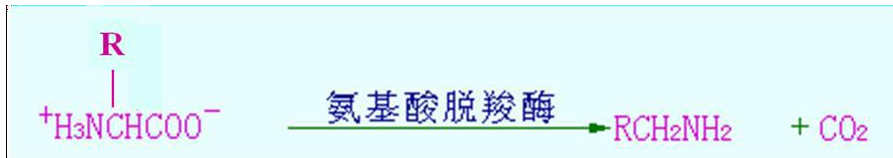
(2) 转氨基作用：为氨基酸生物合成的重要途径；辅酶：磷酸吡哆醛；血液谷丙转氨酶的活性是肝炎病人诊断的重要指标。



(3) 联合脱氨基作用：转氨和氧化脱氨联合作用



2. 脱羧基作用



组胺：降低血压、扩张血管、引起支气管痉挛等作用；

γ -氨基丁酸：对中枢神经系统有抑制作用；

5-羟色胺：促进微血管收缩，增高血压等；

产生的胺类一般都有毒性，可被胺氧化酶氧化分解生成醛和氨，进而参与代谢。

3. 氨基酸降解产物的进一步代谢

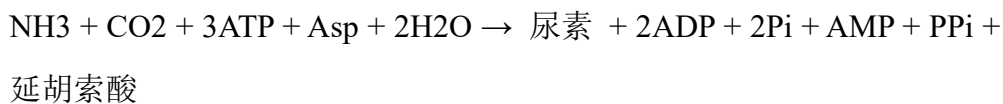
1).NH₃：转变成无毒物质后通过血液输送至肝

A. 丙氨酸-葡萄糖循环（肌肉细胞）

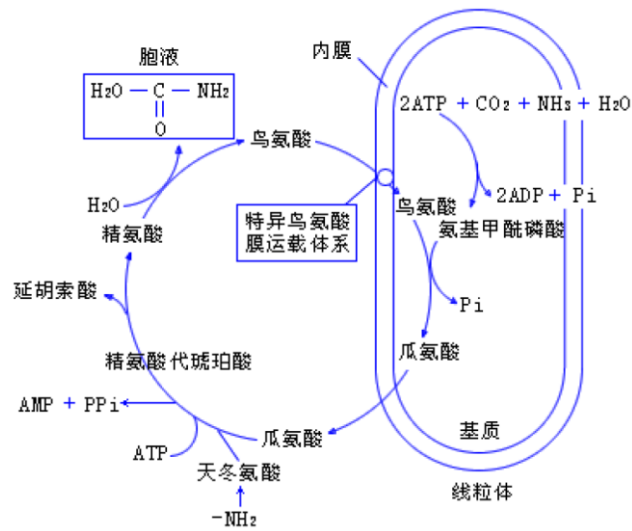
B. 成酰胺（脑、肌肉等组织）：既是生物体贮藏和运输氨的主要方式，也是解除氨毒的一条主要途径。

C. 生成尿素排泄（鸟氨酸循环）

总反应：



尿素易溶于水，毒性较小，在动物肝脏中形成后，即随尿排出体外。



3. 氨基酸降解产物的进一步代谢

2) CO_2 : 释放或再羧化

3) α -酮酸 $\text{R}-\text{CO}-\text{COOH}$:

①合成氨基酸（非必需氨基酸）；②合成糖或脂类：生糖或生酮；③氧化供能，进入 TCA。

氨基酸的具体代谢途径：

氨基酸 \rightarrow 丙酮酸：

丙氨酸、丝氨酸、甘氨酸、半胱氨酸、色氨酸、苏氨酸

氨基酸 \rightarrow 草酰乙酸：

天冬氨酸和天冬酰胺，天冬氨酸转氨基作用（谷草转氨酶）生成草酰乙酸；

氨基酸 \rightarrow α -酮戊二酸

谷氨酸、谷氨酰胺、脯氨酸、精氨酸、组氨酸。

氨基酸 \rightarrow 琥珀酰 CoA

缬氨酸、甲硫氨酸、异亮氨酸、苏氨酸

氨基酸 \rightarrow 延胡索酸

苯丙氨酸和酪氨酸

氨基酸 \rightarrow 乙酰乙酰 CoA

酪氨酸、亮氨酸、赖氨酸、色氨酸和苯丙氨酸

氨基酸 \rightarrow 乙酰 CoA

亮氨酸、色氨酸、异亮氨酸

转变为糖及脂肪：生糖氨基酸和生酮氨基酸：

生糖氨基酸

Ala, Arg, Asp, Cys,

Glu, Gly, His, Pro, Val,

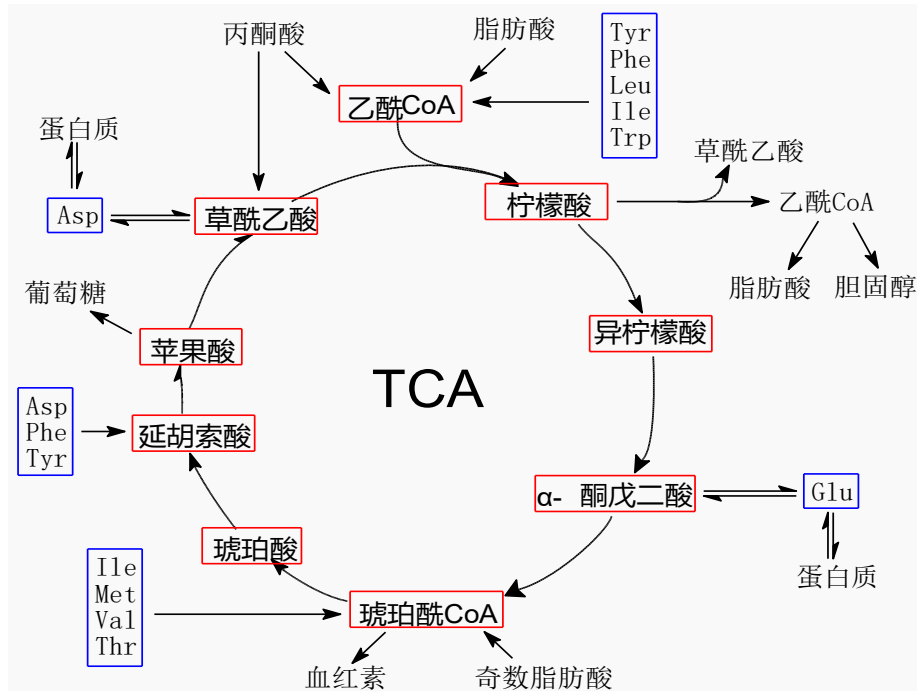
Met, Ser, Gln, Asn, Thr

生酮氨基酸

Leu, Lys

生糖兼生酮

Phe, Tyr, Ile, Trp



四、随堂练习

设置 3-5 个习题，随堂练习，巩固本章知识。

作业：

1. 谷氨酸彻底氧化分解的途径。
2. 天冬氨酸转变成葡萄糖的途径。
3. 天冬氨酸彻底氧化分解可生成多少 ATP?

第八章 核酸化学

章节	第八章 核酸化学	教学时数	4 学时
教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：			
知识目标：			

- 1.核酸的化学组成（掌握）。
- 2.核酸一级结构及 DNA 双螺旋结构特点（掌握）。
- 3.DNA 二级结构的多态性及三级结构（了解）。
- 4.RNA 结构特点（了解）。
- 5.核酸一般性质（了解）。
- 6.核酸紫外吸收、变性复性等性质（掌握）。

能力目标：

- 1.具备核酸基础结构理论、基本知识、基本技能。
2. 具备从事药物检测、制备和研究方面工作的知识和能力。

素质目标：

培养学生科学、正确的世界观和价值观，能够利用本章知识，认识生命现象传递的基础，树立药学专业的道德。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。

思政元素：

噬菌体感染细菌实验，证明 DNA 是遗传物质。通过这个实验，使学生熟悉实验设计的思路，启发学生的思维创新，培养学生解决问题的能力。

教学重点及难点：

重 点：1.核酸的种类和化学组成；2.DNA 与 RNA 的结构功能区别；3.DNA 复性与分子杂交。

难 点：DNA 双螺旋的模型、超螺旋结构、理化性质、 T_m 、变性

教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩

思政内容设计

教学过程：

一、课前导入

通过日常案例，生物的繁衍、病毒的传播等，引导学生思考，是什么物质，保证了生物繁衍过程中，上下代次之间的相似性，以此引出课程的主要内容。

二、学情分析

回顾有机化学相关知识，主要是杂环化合物，并帮助学生归纳总结

1、通过肺炎双球菌和噬菌体感染细菌实验，培养学生独立思考的能力，和认识问题、分

杂环化合物的结构和化学性质，重点是嘌呤和嘧啶。同时回顾糖类物质中的五碳糖结构，探索学生有机化学相关知识和糖类相关知识的掌握程度，来判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。

析问题、解决问题的能力。

三、新课内容

(一)、核酸的化学组成、一级结构及功能

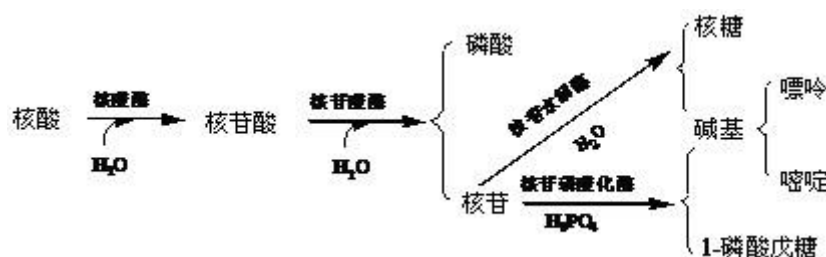
核酸是生物体的基本组成物质，它在生物的个体发育、生长繁殖、遗传变异等生命活动中起着极为重要的作用。

1、核酸的元素组成

所含基本元素为 C、H、O、N、P 等。P 的含量比较稳定，一般为 9%~10%，是定磷法测定核酸含量的基础。

2、核酸的分子组成

(1) 核酸的水解与类别



(2) 核酸的化学组成

① 碱基

核酸分子中的碱基分为嘌呤和嘧啶两大类，均为含氮杂环化合物。嘌呤包括腺嘌呤 (A) 和鸟嘌呤 (G)，嘧啶包括胞嘧啶 (C)、胸腺嘧啶 (T) 和尿嘧啶 (U)。

此外，核酸分子中还含有一些少量的稀有碱基，如 5-甲基胞嘧啶，7-甲基鸟嘌呤等。

② 戊糖

核酸因戊糖不同而分为 DNA 和 RNA 两大类，DNA 中含 β-D-2-脱氧戊糖，RNA 分子中含 β-D-戊糖。

名称	DNA	RNA
嘌呤碱	腺嘌呤	腺嘌呤

	鸟嘌呤	鸟嘌呤
嘧啶碱	胞嘧啶	胞嘧啶
	胸腺嘧啶	尿嘧啶
戊糖	D-2-脱氧核糖	D-核糖
酸	磷酸	磷酸

③核苷

是由戊糖与碱基缩合而成的糖苷类物质，其连接键为 N-糖苷键。

④核苷酸

核苷与磷酸缩合生成的磷酸单酯称为核苷酸。

3、核酸的一级结构

指核酸分子中核苷酸的种类、数量及排列顺序。

①核苷酸的连接方式

核苷酸之间的连接是磷酸二酯键。其方向为 5'-3' 规定为正方向。

②核酸一级结构的表示方法

结构式，线条式，字母式。

4、核酸的生物学作用

A、核苷酸是合成核酸的单体。

B、ATP 是能量代谢转化的中心。

C、有些核苷酸衍生物是活化的中间代谢物，参与体内物质合成。

D、腺苷酸是体内几种辅酶（FAD、CoA、NAD⁺、NADP⁺）的组成成分。

E、环化的核苷酸具有信号调节作用。

（二）、核酸的空间结构及功能

1、DNA 的空间结构与功能

DNA 双螺旋结构的要点：

1) DNA 分子是两条反向平行的互补双链结构脱氧核糖和磷酸在外，碱基在内，垂直于螺旋轴。两链的碱基以氢键结合。互补配对方式：G=C，A=T。

2) DNA 双链是右手螺旋结构螺旋每周含 10 对碱基，螺距 3.4nm，

相邻碱基平面距离 0.34nm，直径 2nm。

3) 螺旋的表面有大沟及小沟，是蛋白质 DNA 相互作用的基础。

4) 疏水相互作用和氢键维系 DNA 双螺旋结构的稳定横向靠氢键，纵向靠碱基间的疏水堆积力维持。

DNA 的功能：DNA 是以基因的形式荷载遗传信息，并作为基因复制和转录的模板。它是生命遗传的物质基础，也是个体生命活动的信息基础。

2、RNA 的空间结构与功能

(1) RNA 的类型：

rRNA：核糖体 RNA，占细胞总 RNA 的 80%，是核糖体的组成成分。

tRNA：转运 RNA，占细胞总 RNA 的 10%-15%，链长在 70-93 个核苷酸之间，平均沉降系数为 4s。在蛋白质的生物合成中，tRNA 携带氨基酸到核糖体。

mRNA：信使 RNA，占细胞总 RNA 的 5%，作为蛋白质生物合成的模板。

(2) RNA 的结构：RNA 是一条单链，分子内部互补区可形成双螺旋结构，不能配对区域形成突环。

(3) tRNA 的结构：(三叶草形二级结构)

分子呈三叶草形，具四环四臂结构。分别是氨基酸臂，二氢尿嘧啶臂，反密码子臂，TΨC 臂；二氢尿嘧啶环，反密码子环，可变环，TΨC 环。

3、核酸的性质及应用

(1) 一般理化性质

DNA 为白色纤维状固体，具有很高的黏度，RNA 为白色粉末状固体。两类核酸都是极性化合物，微溶于水而不溶于有机溶剂，因此常用乙醇从溶液中沉淀核酸。

显色反应：RNA 分子中的核糖与苔黑酚反应产生绿色化合物；DNA 分子中的脱氧核糖与二苯胺反应产生蓝紫色化合物。

2、通过 DNA 的提取、测序，到人类基因组计划，再到当前我国

<p>酸碱性质：都是两性电解质，都有一定的等电点。</p> <p>旋光性：核酸分子高度不对称，因此具有旋光性，旋光方向为右旋。</p> <p>(2) 紫外吸收性质</p> <p>核酸分子中的嘌呤和嘧啶碱基都具有共轭双键结构，在 260-290nm 紫外光区有强烈吸收峰。</p> <p>(3) 纯度测定</p> <p>纯度可以通过测定 OD260/OD280 的值来确定。纯 DNA：OD260/OD280=1.8；纯 RNA：OD260/OD280=2.0。</p> <p>(4)核酸的变性与复性</p> <p>变性：在物理和化学因素的作用下，维系核酸二级结构的氢键和碱基堆积力受到破坏，DNA 由双链解旋为单链的过程。热变性一半时的温度称为熔点或变性温度，以 T_m 来表示。DNA 的 G+C 含量影响 T_m 值。由于 G=C 比 A=T 碱基对更稳定，因此富含 G=C 的 DNA 比富含 A=T 的 DNA 具有更高的熔解温度。根据经验公式 $(G+C) \% = (T_m - 69.3) \times 2.44$，可以由 DNA 的 T_m 值计算 G+C 含量，或由 G+C 含量计算 T_m 值。</p> <p>复性：在适宜的温度下，分散开的两条 DNA 链可以完全重新结合成和原来一样的双股螺旋。这个 DNA 螺旋的重组过程称为“复性”。又称为“退火”。</p> <p>4、核酸的分离、提取和鉴定</p> <p>一般原则：先破碎细胞，提取核蛋白，用蛋白质变性剂或酶处理除去蛋白质，最后用乙醇沉淀核酸。</p> <p>四、随堂练习</p> <p>设置 3-5 个习题，随堂练习，巩固本章知识。</p>	<p>在生物学领域的飞速发展，培养学生的民族自豪感和自信心，树立学生科技强国的爱国精神。</p>
<p>作业：</p> <p>1、列表说明 DNA 和 RNA 的化学组成并指出两者组成上的差异。</p> <p>2、简述核酸结构稳定的因素。</p> <p>3、简述 DNA 双螺旋结构模型的特点。</p>	

4、简述 RNA 的主要类型与其功能。	
5.名词解释：增色效应、核酸的熔解度（ T_m 值）、5'端和 3'端	

第十章 核酸的生物合成

章节	第十章 核酸的生物合成	教学时数	4 学时
<p>教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>知识目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.DNA 复制、RNA 转录的基本过程（掌握）。 2.基因工程的基本原理（熟悉）。 3.核酸的生物合成在医药学上的应用（了解）。 4、RNA 的转录、复制（了解） <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 具备遗传物质传递的基础结构理论、基本知识，并掌握基本技能。 2. 具备从事药物检测、基因分析和研究方面工作的知识和能力。 <p>素质目标：</p> <p>培养学生科学、正确的世界观和价值观，能够利用本章知识，认识生命遗传信息传递的基础。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。</p> <p>思政元素：</p> <p>中心法则的发现和完善。在 RNA 病毒、逆转录酶的发现后，对中心法则进一步完善，揭示 RNA 也可自我复制，也可以反转录成 DNA。以这一案例，启发同学严谨的科学思维和创新的精神。</p>			
<p>教学重点及难点：</p> <p>重 点：1.DNA 复制、RNA 转录的基本过程。</p> <p>难 点：基因工程的基本原理</p>			
教学方法及手段：多媒体讲授，视频观摩			思政内容设计
<p>教学过程：</p> <p>一、课前导入</p>			1、通过日常生活常见遗

通过日常生活常见现象，比如小时候的细胞和长大后的细胞，都含有相同的遗传信息，这些现象，保证了细胞的更新迭代，也提出，为什么细胞的遗传物质会更新，又是如何进行更新，来保证遗传信息不会丢失，以此引出课程的主要内容。

二、学情分析

回顾核酸化学相关知识，并帮助学生归纳总结 DNA 双螺旋的结构的意义，同时引伸，我们的遗传信息，主要存在于哪一条链上，又如何传递。根据学生对原有知识的掌握程度，来设计本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。

三、新课内容

第一节 DNA 的生物合成

一、DNA 的复制

(一) DNA 复制的特征

1、DNA 复制的半保留性

在 DNA 的复制时，亲代 DNA 的双螺旋先行解旋和分开，然后以每条单链为模板，按照碱基互补配对原则，各形成一条互补链。这样，亲代的 DNA 分子可以精确地复制成 2 个子代 DNA 分子，而且每个子代 DNA 分子中，均有一条链是来自亲代 DNA 分子，这种复制方式，称为半保留复制。

2、DNA 的复制，具有特定的起始点

DNA 的复制，从 DNA 分子上特定的部位开始，这个部位叫做复制起始点。通常这个位置具有特定的保守序列，且 A、T 含量较多。

3、DNA 复制的半不连续性

其中一条链，DNA 分子的两条链是反向平行的，生物体内 DNA 聚合酶只能催化 DNA 按照 5' → 3' 方向延伸合成。

一条新链是连续合成的，而另一条新链的合成是不连续的。连续合成的新链称为前导链(也称领头链)，不连续合成的新链称为后随链(也称随从链)。

前导链合成的延伸方向与复制叉推进方向一致，而另一条 5' →

传案例，如白化病，培养学生独立思考的能力，和认识问题、分析问题、解决问题的能力。

3' 走向的 DNA 母链, 只能在局部形成回折后作为模板指导合成一小段 DNA, 称为冈崎片段, 随着复制叉的不断前进, 5' → 3' 走向的 DNA 母链上结合有若干冈崎片段, 这些冈崎片段最后连接成为完整的后随链。

(二) DNA 复制体系的构成

1. DNA 复制的原料

DNA 复制时需要四种脱氧核苷三磷酸 (dNTP): dATP、dGTP、dCTP、dTTP。DNA 复制是一个耗能过程, DNA 的复制过程还需 ATP 和 GTP 提供能量。

2. DNA 复制的模板

DNA 的两条链解成单链后都可作为合成 DNA 分子的模板。

3. DNA 的复制需要引物

多数 DNA 合成的引物是一小段 RNA 片段。

4. DNA 的复制涉及许多酶和蛋白质因子

DNA 复制是由若干种酶和蛋白质因子参与的复杂连续的酶促反应, 需要 DNA 解链酶、DNA 拓扑异构酶、DNA 单链结合蛋白、引物酶、DNA 聚合酶、DNA 连接酶参与。

(三) DNA 复制过程

1. 起始

在解旋酶、拓扑异构酶、单链结合蛋白、引物酶及其他的蛋白质因子共同作用下, 完成复制起始点的识别、在复制起始部位打开双螺旋、形成单链模板、合成 RNA 引物, 为 DNA 聚合酶的聚合延伸作用准备了必备的条件。

多数 DNA 从复制起始点开始双向复制, 形成两个复制叉, 真核生物的 DNA 比较长, 往往是多个起始点的双向复制, 大肠埃希菌 DNA 只有一个起始点。

2. 延伸

DNA 链的延伸是在引发体、DNA 单链结合蛋白以及 DNA 聚合酶的协同作用下完成的。

2、通过 DNA 复制过程, 培养学生团队合作意识和大局、整体意识。

3. 终止

对于原核生物大肠埃希菌而言，DNA 是环状的，DNA 复制的终止发生在两个复制叉的结合点。

（四）DNA 的损伤与修复

1、光复活修复

2、切除修复

3、重组修复

4、SOS 修复

二、DNA 的逆转录合成

1、概念

一些 RNA 病毒在宿主细胞内以 RNA 为模板合成 DNA 分子，这种 DNA 的合成方式称为逆转录（反转录）。

2、逆转录酶

逆转录酶以 dNTP 为底物，以 RNA 为模板，按 5' → 3' 方向，合成一条与 RNA 模板互补的 DNA 单链

第二节 RNA 的生物合成

一、RNA 的转录

（一）转录体系

1. 原料：合成的原料为 4 种三磷酸核苷（NTP），即 ATP、GTP、CTP、UTP。

2. 模板：转录是以非 DNA 全长的、DNA 的某一区段作为模板。

3. RNA 聚合酶：大肠埃希菌的 RNA 聚合酶由 5 种亚基（ α 2 β β' σ ）组成，在 RNA 合成起始之后， σ 亚基便从全酶中离开。

（二）转录过程

1. 起始：转录的起始从 RNA 聚合酶识别启动子并与之结合开始。

2. 延伸：RNA 链的聚合延伸由 RNA 聚合酶的核心酶催化。

3. 终止：在 DNA 分子上引起转录终止的特殊碱基序列称为终止子，弱终止子需要有 ρ 因子帮助才能引起转录的终止，强终止子通过形成发卡结构来阻止 RNA 聚合酶向前移动使转录终止。

(三) 转录后的加工修饰

1. mRNA 前体的加工
2. rRNA 前体的加工
3. tRNA 前体的加工

二、RNA 的复制

1、概念

以 RNA 为模板合成 RNA 的过程 (RNA 病毒)

2、RNA 复制酶

依赖 RNA 的 RNA 聚合酶 2. rRNA 前体的加工

第三节 基因工程

一、基因工程

(一) 基因工程技术的特点

1. 基因工程技术能像工程一样，可按人们的意愿来事先设计和控制
2. 基因工程技术是人工的、离体的、分子水平上所进行的遗传重组
3. 基因工程技术能在动植物和微生物间进行任意的、定向的超远缘杂交

(二) 基因工程技术的步骤

1. 外源目的基因的取得
2. 基因运载体的分离提纯
3. 重组 DNA 分子的形成
4. 重组 DNA 引入受体细胞
5. 重组菌的筛选、鉴定和分析
6. 工程菌的获得和基因产物的分离

二、聚合酶链式反应

(一) 概念

聚合酶链式反应，是体外酶促合成特异 DNA 片段的一种方法

(二) 基本原理

<p>1. DNA 的半保留复制是生物进化和传代的重要途径</p> <p>2. DNA 在高温时也可以发生变性解链，当温度降低后又可以复性成为双链</p> <p>（三）PCR 反应体系</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 模板：待扩增的 DNA 2. DNA 聚合酶：主要使用 Taq 酶 3. 引物：人工设计、合成的寡核苷酸链 4. 原料：4 种 dNTP 5. 反应缓冲液 <p>（四）工作步骤</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. DNA 变性（90°C-96°C）：双链 DNA 模板在热作用下，氢键断裂，形成单链 DNA 2. 退火（25°C-65°C）：系统温度降低，引物与 DNA 模板结合，形成局部双链 3. 延伸（70°C-75°C）：在 Taq 酶（在 72°C 左右最佳的活性）的作用下，以 dNTP 为原料，从引物的 5' 端→3' 端延伸，合成与模板互补的 DNA 链。 <p>（五）反应特点</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 特异性强 2. 灵敏度高 3. 简便快速 4. 对标本的纯度要求低 <p>三、基因重组技术与医药学的关系</p> <p>（一）基因工程药物</p> <p>（二）基因治疗</p> <p>（三）基因芯片</p> <p>四、课堂讨论</p> <p>转基因、基因编辑属于不属于基因工程？如何看待转基因、基因编辑</p>	<p>3、通过我国参与到人类基因组计划，再到当前我国在生物学领域的飞速发展，培养学生的民族自豪感和自信心，树立学生科技强国的爱国精神。</p>
--	---

<p>对人类的贡献?</p> <p>五、随堂练习</p> <p>设置 3-5 个习题，随堂练习，巩固本章知识。</p>	
<p>作业：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、简述 DNA 复制的特点 2、简述 DNA 复制过程。 3、简述 RNA 转录过程。 4、简述基因工程技术步骤。 <p>5.名词解释：半保留复制、冈崎片段、逆转录</p>	

第十一章 蛋白质的生物合成

章节	第十一章 蛋白质的生物合成	教学时数	4 学时
<p>教学目的及要求（包括本课题要完成的教学任务、专业知识、专业技能、素质能力培养等）：</p> <p>知识目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、三种 RNA 在蛋白质生物合成中的作用（掌握） 2、遗传密码的概念特点（熟悉） 3、蛋白质生物合成的体系（熟悉） 4、核蛋白体循环过程（熟悉） 5、蛋白质合成后的加工修饰及靶向运输（了解） 6、影响蛋白质生物合成的药物（了解） <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1.具备蛋白质生物合成的基础结构理论、基本知识，了解蛋白质体外合成的基本技能。 2. 具备从事蛋白质类药物检测、制备和研究方面工作的知识和能力。 <p>素质目标：</p> <p>培养学生科学、正确的世界观和价值观，能够利用本章知识，认识生命现象从基因到蛋白质传递的基础，树立药学专业的道德。培养学生严谨的科研思维和创新精神；培养学生将生物化学与药学相结合，为后续课程的学习实践奠定坚实的基础。</p> <p>思政元素：</p>			

<p>通过我国人工合成牛胰岛素，启发学生严谨的科学思维和创新精神，培养学生团队合作意识，同时树立学生民族自豪感和自信心。</p>	
<p>教学重点及难点：</p> <p>重 点：三种 RNA 在蛋白质合成中的作用。</p> <p>难 点：核蛋白体循环</p>	
<p>教学方法及手段：</p> <p>多媒体讲授，视频观摩</p>	<p>思政内容设计</p>
<p>教学过程：</p> <p>一、课前导入</p> <p> 通过调查乙肝疫苗的注射情况，来说明乙肝疫苗的制备过程。20 世纪末发生了一场基因工程革命，这场革命催生出第一个基因工程疫苗，这个疫苗主要针对乙肝。那个时候，科学家 Hilleman 和他的同事从自然感染者的血清中纯化了乙型肝炎表面抗原颗粒，并且灭活了残留着的活病毒。当时那时的疫苗并不成熟，也不能很好地投入使用。第一个疫苗问世以后，基因工程疫苗领域吸引来了众多研究者，许多病毒和细菌作为疫苗抗原的载体也积极投入研究。第一个获得许可的载体是 17D 黄热病减毒株，它通过将 YFV 17D 疫苗株的前膜蛋白（prM）和包膜蛋白（E）编码基因替换为异源黄病毒的基因，对日本脑炎病毒发挥免疫作用。再后来，基因工程疫苗的研究蓬勃发展，出现了 CRISPR-Cas 系统等新的研究成果，RNA 引导的 Cas 酶在 2018 年已被用作操纵培养细胞、动物和植物基因组的工具，加快了基础研究的步伐。通过以上案例，引导学生思考，为什么可以体外合成乙肝疫苗，合成蛋白质，以此引出课程的主要内容。</p> <p>二、学情分析</p> <p> 回顾核酸的生物合成有关知识，引导学生回忆遗传信息从 DNA 传递到 RNA 的过程，并通过回顾蛋白质化学相关知识，启发学生思考遗传信息如何通过核酸转移到蛋白质并表现出来，来判断本章节内容讲授过程中的侧重点及讲解深度。</p> <p>三、新课内容</p>	<p>1、树立学生健康理念，培养学生健康、安全饮食习惯。</p>

第一节 蛋白质生物合成的体系

一、mRNA 与遗传密码

遗传密码实际上是指 mRNA 中的核苷酸排列顺序与蛋白质中的氨基酸排列顺序的关系。

一个三联体密码（密码子）决定着一个氨基酸。mRNA 中共有 64 种密码子，只有 61 个密码子编码 20 种氨基酸。AUG 既是 Met 的密码，也是“起始”密码。UAA、UAG、UGA 是终止密码。

遗传密码子的特点：

1) 通用性：绝大多数密码子对各种生物都适用，某些线粒体中遗传密码有例外。

2) 简并性(degeneracy)：几种密码子对应于同一种氨基酸。这些密码子为同义密码子。

3) 无标点、不重叠：每个三联体中的三个核苷酸只编码一个氨基酸，核苷酸不重叠使用。

4) 无间隔性 密码子是连续的，阅读时从起始密码开始到终止密码为止。

5) 方向性 密码子的阅读方向是从 mRNA 的 5' →3'。

6) 起始密码的兼职性

二、tRNA 与氨基酸的活化与转运

tRNA 的主要作用是转运氨基酸用于合成蛋白质。tRNA 分子上与蛋白质合成有关的位点：3'端-CCA 上的氨基酸接受位点；识别氨酰-tRNA 合成酶的位点；核糖体识别位点，使延长中的肽链附着于核糖体上；反密码子位点。

三、rRNA 与核蛋白体

1、核糖体是蛋白质合成的部位

2、核糖体的组成和结构：总体结构相似

原核细胞的核糖体：rRNA80%，蛋白质 20%（大肠杆菌）；沉降系数 70S，包括 30S 和 50S 亚基；

真核细胞的核糖体：rRNA60%，蛋白质 40%（肝细胞）；沉降系数

80S，包括 40S 和 60S 亚基；

3、核糖体的功能

核糖体 30S 亚基上有 mRNA 和起始 tRNA 复合物与 30S 亚基结合的位点。核糖体 50S 亚基上有两个 tRNA 结合位点：肽酰基-tRNA 结合位（P 位）和氨酰基-tRNA 接受位（A 位）。

四、酶类及蛋白质因子

（一）相关的酶

1. 氨酰 tRNA 合成酶 2. 转肽酶

（二）蛋白因子：IF、EF、RF

（三）供能物质：ATP、GTP

（四）无机离子： Mg^{2+} 、 K^{+}

第二节 蛋白质生物合成的过程

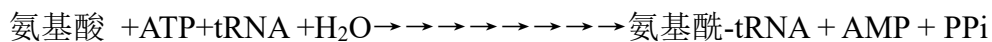
以 mRNA 为模板，氨基酸经活化获得的氨酰 tRNA 为原料，GTP、ATP 供能，在核糖体中完成。

一、氨基酸的活化

tRNA 在氨酰-tRNA 合成酶的帮助下，识别相应氨基酸，通过 tRNA 氨基酸臂的 3' -OH 与氨基酸的羧基形成活化酯——氨酰-tRNA。两步反应过程：第一步是氨基酸与 ATP 作用，形成氨酰腺嘌呤核苷酸；第二步是氨酰基转移到 tRNA 的 3'-OH 端上，形成氨酰-tRNA。

氨基酸活化的总反应式是：

氨酰-tRNA 合成酶



每一种氨基酸至少有一种对应的氨酰-tRNA 合成酶。它既催化氨基酸与 ATP 的作用，也催化氨酰基转移到 tRNA。氨酰-tRNA 合成酶具有高度的专一性。tRNA 分子能接受相应的氨基酸，决定于它特有的碱基顺序，而这种碱基顺序能够被氨酰-tRNA 合成酶所识别。

二、核糖体上合成肽链

氨基酰-tRNA 通过反密码臂上的三联体反密码子识别 mRNA 上相应的遗传密码，并将所携带的氨基酸按 mRNA 遗传密码的顺序安置在特定的位置，最后在核糖体中合成肽链。

三、肽链的合成过程（以原核细胞为例）：

起始；延伸；终止与释放。

1、肽链合成的起始：

起始密码的识别，辨认出 mRNA 链上的起始点（AUG），核糖体小亚基(30S)和 mRNA 的 SD 序列结合；N-甲酰甲硫氨酸-tRNA 的活化并形成起始复合物。

2、肽链的延长：

进位（氨酰 tRNA 进入 A 位点），参与因子包括延长因子 EF-Tu（Tu）、EF-Ts（Ts）、GTP、氨酰 tRNA 肽链的形成：肽酰基从 P 位点转移到 A 位点，形成新的肽链。

移位（translocase）：在移位因子 EF-G（移位酶）的作用下，核糖体沿 mRNA（5' -3'）作相对移动，使原来在 A 位点的肽酰-tRNA 回到 P 位点。

3、肽链合成的终止与释放：

识别 mRNA 的终止密码子，水解所合成肽链与 tRNA 间的酯键，释放肽链。RF-1 识别 UAA、UAG；RF-2 识别 UAA、UGA；RF-3 能促进结合；RF 帮助 P 位点的 tRNA 残基脱落，而后核糖体脱落。

4、多聚核糖体

一条 mRNA 链上结合着多个核糖体。多核糖体可以在一条 mRNA 链上同时合成多条相同的多肽链。

四、翻译后的加工修饰及靶向运输

一、翻译后的加工修饰

1.新生肽链的折叠

2.去除 N-甲酰基或 N-蛋氨酸

3.个别氨基酸的修饰

4.多肽链的水解修饰

5.亚基的聚合

6.辅基连接

二、翻译后的靶向运输

(一) 去向

1. 保留在胞浆
2. 进入细胞核、线粒体等细胞器
3. 分泌至体液，再输送到靶器官和靶细胞

第三节 影响蛋白质生物合成的药物

一、抗生素

抗生素是微生物在代谢过程中产生的，在低浓度下就能抑制它种微生物生长甚至杀死它种微生物的化学物质。

抗生素抑制蛋白质生物合成的原理

抗生素	作用点	作用原理	应用
四环素族（金霉素、新霉素、土霉素）	原核核蛋白体小亚基	抑制氨基酰-tRNA与小亚基结合	抗菌药
链霉素、卡那霉素、新霉素、氯霉素、林可霉素	原核核蛋白体小亚基	改变构象引起读码错误、抑制起始	抗菌药
红霉素	原核核蛋白体大亚基	抑制转肽酶、妨碍转位	抗菌药
梭链孢酸	原核核蛋白体大亚基	与EFG-GTP结合，抑制肽链延长	抗菌药
放线菌酮	原核核蛋白体大亚基	抑制转肽酶、阻断延长	抗菌药
嘌呤霉素	真核核蛋白体大亚基	氨基酰-tRNA类似物，进位后引起未成熟肽链脱落	医学研究
	真核、原核核蛋白体		抗肿瘤药

二、干扰素

干扰素是真核细胞被病毒感染后分泌的一类具有抗病毒作用的蛋白质。

干扰素的作用机理：

- 1、干扰素诱导 eIF₂ 磷酸化而失活
- 2、干扰素诱导病毒 RNA 降解

三、毒素

白喉毒素

蓖麻毒素

四、随堂练习

2、培养药学专业职业道德和职业素养，树立大健康理念，培养健康、科学用药指导以及为人民服务的的精神。

设置 3-5 个习题，随堂练习，巩固本章知识。	
作业： 1、简述遗传密码子的特点。 2、简述蛋白质的合成过程。 3、名词解释：密码子	

实训一 生化实验室常用仪器的使用

编制部门：生物工程系

编制人：韩文朋

编制日期： 年 月 日

项目编号	1	项目名称	生化实验室常用仪器的使用	实训班级	学时	3						
课程名称	生物化学实训			教材	生物化学实验							
教学目标及要求	<p>知识目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握实训室操作规程和安全要点； 2、掌握生化实验室常用实验仪器的操作。 <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、能够明确实验室仪器设备的使用方法及注意事项； 2、能够正确使用分光光度计相关理论与操作； 3、能够沉着冷静的处理实验室中遇到事故。 <p>素质目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、树立科学、正确的实验室安全意识； 2、养成科学、严谨的态度，并建立良好的信息素养和学习能力； 3、树立正确的职业道德和团队协作精神。 											
教学重点	<ol style="list-style-type: none"> 1、学习实训室操作规程和安全知识； 2、学习分光光度技术原理及分光光度计的使用； 3、电子分析天平的使用； 4、移液枪及移液管的使用； 											
教学难点	分光光度计的技术原理和使用，以及绘制密度曲线											
教学方法及手段	老师讲解示范，学生操作											
仪器材料	<p>一、仪器</p> <table> <tr> <td>比色皿（石英）</td> <td>4个*2组=8个</td> </tr> <tr> <td>擦镜纸</td> <td>1本*2组=2本</td> </tr> <tr> <td>烧杯（100ml）</td> <td>2个*4组=8个</td> </tr> </table>						比色皿（石英）	4个*2组=8个	擦镜纸	1本*2组=2本	烧杯（100ml）	2个*4组=8个
比色皿（石英）	4个*2组=8个											
擦镜纸	1本*2组=2本											
烧杯（100ml）	2个*4组=8个											

	移液枪 1ml (配枪头) 4 套 分光光度计 2 台 电子天平 2 台 离心机 1 台 试管 4 个 试管刷 4 个 容量瓶 (100ml) 20 个 蒸馏水或去离子水 1L 吸耳球 10 个 二、试剂 KMnO_4 稀溶液 (0.01mol/L) (0.8g+500ml 水) 500ml KMnO_4 稀溶液 (未知浓度) 250ml	
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入 (**分钟)</p> <p> 强调实验室安全常识, 了解学生对实验室安全知识的了解情况; 对实验室常用仪器的介绍, 了解学生的知识及技能水平。</p> <p>2、新课内容 (**分钟)</p> <p> (1) 学习实训室操作规程和安全知识;</p> <p> (2) 移液枪及移液管的使用</p> <p> (3) 学习分光光度技术原理及分光光度计的使用;</p> <p> (4) 电子分析天平的使用;</p> <p>3、实验操作</p> <p> (1) KMnO_4 稀溶液梯度</p> <p> 用移液器移取上述高锰酸钾溶液 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0mL, 分别放入五个 100mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 充分摇匀, 各溶液 KMnO_4 浓度分别为 0.0001 mol·L⁻¹、0.0002 mol·L⁻¹、0.0003 mol·L⁻¹……。</p> <p> (2) KMnO_4 稀溶液吸光度测定</p> <p> 将配制好的各浓度的 KMnO_4 溶液, 和未知浓度稀溶液, 用</p>	要求

1cm 比色皿，以蒸馏水为参比溶液，在 555nm 波长处，测定其吸光度 A。

(3) KMnO₄ 稀溶液浓度标准曲线的制作

在坐标纸上，以浓度 c 为横坐标，吸光度 A 为纵坐标，绘制 A 和 c 关系的吸收曲线。并计算 R²

(4)、计算未知样品浓度

利用所得标准曲线回归方程，将未知样品吸光度代入公式中 y，求得 x，即为未知样品浓度。

4、小结 (**分钟)

5、布置复习思考题 (**分钟)

标准曲线制定的准确度，与哪些因素有关？如何可以提高标准曲线的准确度。

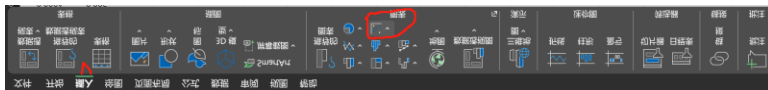
附：使用 excel，绘制标准曲线

电脑上，excel 中操作，操作方法：

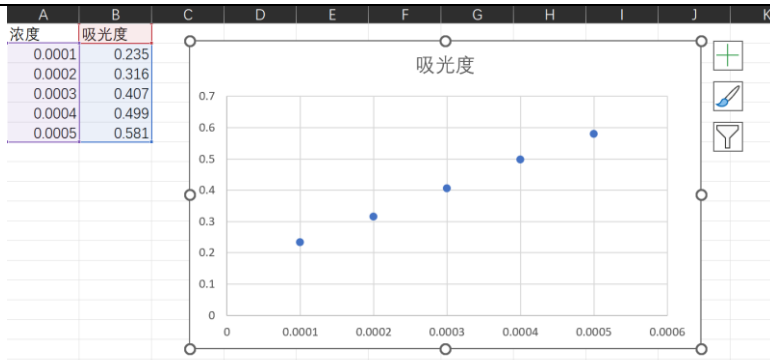
(1) 打开 excel，在其中录入数据如下：

A	B
浓度	吸光度
0.0001	0.235
0.0002	0.316
0.0003	0.407
0.0004	0.499
0.0005	0.581

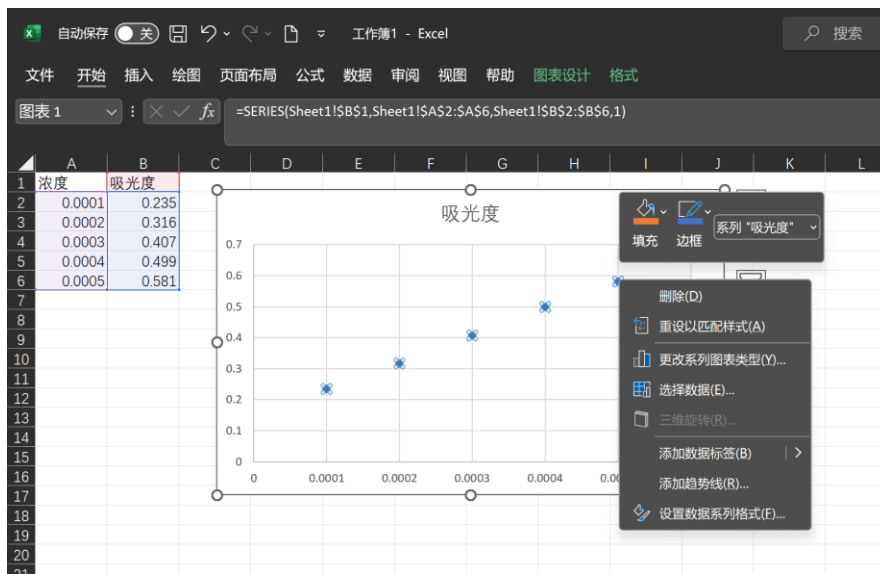
(2) 选中所有数据及标题，点击“插入”→“图表”→“插入散点图”



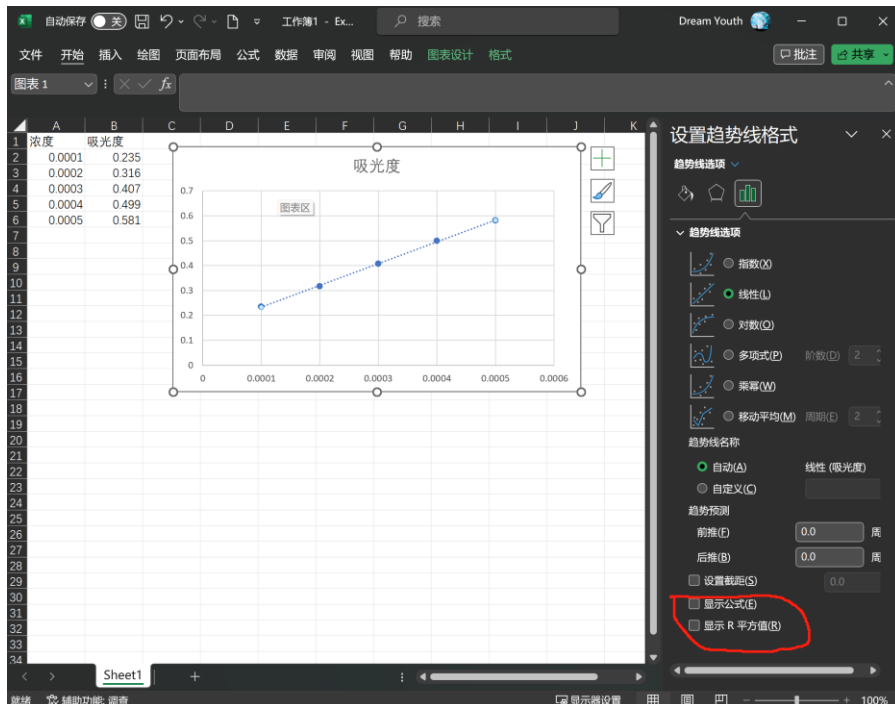
(3) 出现下图



(4) 右键，点击图中任一点，出现下图



(5) 选择“添加趋势线”，右侧出现下图



(6) 将“显示公式”和“显示 R 平方值”选中，则出现下图

(7) 察看所示公式, 如果 $R^2 > 0.99$, 说明该曲线制作比较好, 也说明所稀释浓度梯度比较准确。

(8) 将未知样品吸光度代入公式中 y , 求得 x , 即未知样品浓度。

课外作业	完成实验报告
课后体会	在今天的实验中, 对学生强调与示范实验操作的规范性很重要, 这将有益于今后的一系列实验与实习中规范性的形成。

实训二 用考马斯亮蓝染色法测定蛋白质的浓度

编制部门: 生物工程系 编制人: 韩文朋 编制日期: 年 月 日

项目编号	2	项目名称	用考马斯亮蓝染色法测定蛋白质的浓度	实训班级		学时	3
课程名称	生物化学实训			教材	生物化学实验		
教学目标及要求	<p>知识目标:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握不同方法测定蛋白质浓度的原理。 2、学习用考马斯亮蓝染色法测定蛋白质的浓度。 <p>能力目标:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、能够熟练利用考马斯亮蓝染色法测定蛋白质的尝试; 2、能够熟练利用 excel 进行分析、处理。 						

	6、试管 (15*180mm)	28 个								
教学过程设计										
操作 原理 与 步骤	<p>1、学情分析和新课导入 (**分钟)</p> <p>回顾蛋白质和氨基酸结构、性质, 主要是蛋白质和氨基酸的检测方法, 包括 C 端检测和 N 端检测方法, 使学生加强理解和记忆。</p> <p>2、新课内容 (**分钟)</p> <p>讲述考马斯亮蓝测定蛋白质的浓度的测定原理。</p> <p>考马斯亮蓝 G-250 是一种分子中有磺酸基的蓝色染料, 它在 465nm 波长处有最大吸收值。该染料在酸性溶液中为棕红色, 当它与蛋白质通过范德华力结合, 形成蛋白质-考马斯亮蓝复合物而变为蓝色时, 最大吸收峰由 465nm 变成 595nm, 且该复合物在 595nm 波长处的吸收远高于考马斯亮蓝在 465nm 波长处的吸收。</p> <p>在蛋白质浓度为 0.01~0.1mg/mL 范围内, 蛋白质和此染料结合符合朗伯-比尔定律, 通过测定 595nm 波长处吸收的增加量可知与其结合的蛋白质的量。考马斯亮蓝 G-250 主要是与蛋白质中的碱性氨基酸 (尤其是精氨酸) 和芳香族氨基酸残基相结合。</p> <p>蛋白质和考马斯亮蓝 G-250 结合, 在 2min 左右的时间内达到平衡, 反应十分迅速, 其结合物在室温下 1h 内稳定。蛋白质-染料复合物具有很高的消光系数, 使得在测定蛋白质尝试时灵敏度很高, 可测 μg 级蛋白质含量, 最低测试蛋白质质量在 $1\mu\text{g}$ 左右。</p> <p>3、实验步骤</p> <p>(1)、标准曲线的制作</p> <p>取 7 只试管, 按 0-6 顺序进行标记, 并按下表, 在对应编号的试管中, 分别加入对应体积的 0.1mg/mL 的标准蛋白溶液 (6 号试管放 0.5mL 的待测溶液)、0.15mol/L 的 NaCl 溶液, 考马斯亮蓝试剂葡萄糖标准溶液, 摇匀。</p>	要 求								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 15%;">试管号</td> <td style="width: 10%;">0</td> <td style="width: 10%;">1</td> <td style="width: 10%;">2</td> <td style="width: 10%;">3</td> <td style="width: 10%;">4</td> <td style="width: 10%;">5</td> <td style="width: 10%;">6 (待测溶</td> </tr> </table>		试管号	0	1	2	3	4	5	6 (待测溶	
试管号	0	1	2	3	4	5	6 (待测溶			

								液)
0.1mg/mL 标准蛋白 溶液体积/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	0.5mL	待 测溶液(不 放标准蛋 白溶液)
0.15mol/L 的 NaCl 溶液体积/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0	0.5	
考马斯亮蓝试剂体 积/mL	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	
<p>(2)、测定</p> <p>1 小时之内，以 0 号试管为空白对照，在 595nm 波长处进行测定。</p> <p>4、小结 (**分钟)</p> <p>5、布置复习思考题 (**分钟)</p>								
课外作业	完成实验报告							
课后体会	<p>本次实验，由于蛋白质与考马斯亮蓝结合后，随着时间的延长，颜色越来越深，误差越来越大，因此，需要在 2~60min 之内完成测定。</p> <p>建议：实验过程中，先不添加考马斯亮蓝试剂，待轮到自己使用分光光度计时，再加考马斯亮蓝试剂。</p>							

实训三 酶的性质

编制部门：生物工程系 编制人：韩文朋 编制日期： 年 月 日

项目编号	3	项目 名称	酶的性质	实训 班级		学时	3
课程名称	生物化学实训			教材	生物化学实验		
教学目标及要求	<p>知识目标：</p> <p>1、加深对酶特性的认识</p>						

	<p>2、了解温度、激活剂、抑制剂对酶活力的影响。</p> <p>能力目标：</p> <p>1、能够根据酶活的影响因素，自行设计试验，并开展验证；</p> <p>2、能够根据结果正确分析影响酶活的因素。</p> <p>素质目标：</p> <p>1、养成科学、严谨、实事求是的态度；</p> <p>2、树立正确的价值观和团队协作精神。</p>
教学重点	<p>1、加深对酶特性的认识</p> <p>2、了解温度、激活剂、抑制剂对酶活力的影响。</p>
教学难点	温度、激活剂、抑制剂对酶活力的影响
教学方法及手段	老师讲解示范，学生操作
仪器材料	<p>(一) 试剂：</p> <p>1、0.3%氯化钠溶液 500mL (配制：称取 1.5g 氯化钠，溶解定容至 500mL)</p> <p>2、碘化钾—碘溶液 (可使用第二次实训 DNS 测定还原糖实验所剩余碘液)</p> <p>3、0.3%NaCl 溶液作为溶剂的 0.5%淀粉溶液 100mL (配制：称取 0.5g 淀粉，用 0.3%氯化钠溶液溶解定容至 100mL，实验前 3h 配制)</p> <p>4、0.1%淀粉溶液 100mL (配制：称取 0.1g 淀粉，溶解定容至 100mL，实验前 3h 配制)</p> <p>5、1%氯化钠溶液 100mL (配制：称取 1g 氯化钠，溶解定容至 100mL)</p> <p>6、1%硫酸铜溶液 100mL (配制：称取 1g 硫酸铜，溶解定容至 100mL)</p> <p>7、1%硫酸钠溶液 100mL (配制：称取 1g 硫酸钠，溶解定容至 100mL)</p>

	<p>8、冰块</p> <p>(二) 仪器:</p> <p>1、电热套 4 个</p> <p>2、水浴锅 2 台</p> <p>3、白瓷板 4 个</p> <p>4、漏斗 (含滤纸) 4 个</p> <p>5、试管 (15*180mm) 32 个</p> <p>6、试管夹 4 个</p> <p>7、试管架 4 个</p> <p>8、移液枪 (1000 μ L) (配吸头) 4 套</p> <p>9、量筒 (10ml) 4 个</p> <p>10、烧杯 (500ml) 4 个</p> <p>11、烧杯 (100ml) 8 个 (每组 2 个)</p>
教学过程设计	
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入 (**分钟)</p> <p>回顾酶的性质, 酶的专一性假说 (锁钥假说和诱导契合假说) 以及影响酶活的因素, 使学生加强理解和记忆。</p> <p>2、新课内容 (**分钟)</p> <p>讲述不同因素对酶活的影响。</p> <p>唾液淀粉酶对淀粉的水解过程是“淀粉-糊精-麦芽糖”, 淀粉和糊精遇碘溶液可产生蓝色和紫红色, 而麦芽糖遇碘不变色。因此, 根据不同颜色, 就可了解淀粉酶水解的程度。由于在不同温度下, 酶的活性高低不同, 所以, 在同一时间内淀粉被水解的程度也不一样。因此, 通过与碘产生不同的颜色, 可以了解温度对酶促反应的影响。</p> <p>酶的活性受到激活剂或抑制剂的影响, 对于唾液淀粉酶而言, 氯离子为其激活剂, 铜离子为其抑制剂。</p> <p>3、实验步骤</p> <p>1)、唾液淀粉酶的制备</p>
要求	

- (1) 用蒸馏水漱口，清洗口腔。
- (2) 含一口蒸馏水，约 5mL，1min。
- (3) 将蒸馏水吐入烧杯中，漏斗过滤。
- (4) 将过滤所得水，用蒸馏水稀释 200 倍左右，备用。

2)、温度对酶活的影响

- (1) 取 4 只试管，分别标注 1-4。
- (2) 在每个试管中按照以下表格添加相关试剂。

试管号	1	2	3	4
0.3%NaCl 的 0.5%淀粉溶液体积 /mL	1.5	1.5	1.5	1.5
稀释唾液体积/mL	1.0	1.0	---	---
煮沸稀释唾液体积/mL	---	---	1.0	---
蒸馏水/mL	---	---	---	1.0
反应温度/°C	37.5	0	37.5	37.5

(3) 混匀后，分别放置在对温度水浴锅中水浴。0 度采用大烧杯，放置一些碎冰，再加入少量水。

(4) 每隔 3min，取出 1 滴溶液，在白瓷板中，用碘化钾-碘液检查水解程度。

(5) 分别对比 1 和 2（不同反应温度）、1 和 3（不同酶温度）、1 和 4（有无酶的作用）反应速度，并记录各试管中碘液检测呈棕黄色时的时间。

3、激剂和抑制剂对酶活的影响

- (1) 取 4 只试管，分别标注 1-4。
- (2) 在每个试管中，按照以下表格添加相关试剂。

试管号	1	2	3	4
0.1%淀粉溶液/mL	2.0	2.0	2.0	2.0
1%NaCl 溶液/mL	1.0	---	---	---
1%硫酸铜溶液/mL	---	1.0	---	---
1%硫酸钠溶液/mL	---	---	1.0	---

	蒸馏水/mL	---	---	---	1.0
	1:30 唾液	1.0	1.0	1.0	1.0
<p>(3) 混匀后，同时置于 37.5℃ 水浴中保温，15min。</p> <p>(4) 向每个试管中添加 1-2 滴碘化钾-碘溶液，摇匀，观察各试管内容物所呈现的颜色，并记录。</p> <p>4、小结 (**分钟)</p> <p>5、布置复习思考题 (**分钟)</p> <p>为保证实验结果的清晰、准确，在实验过程中，应重点注意哪些环节？</p>					
课外作业	完成实验报告				
课后体会	<p>本次实验，注意所使用的水，一是稀释唾液的水，不能使用矿泉水；二是洗涤的试管，要用纯净水冲洗干净。</p>				

实训四 DNS 法测定玉米粉中的还原糖和总糖的含量

编制部门：生物工程系 编制人：韩文朋 编制日期： 年 月 日

项目编号	4	项目名称	DNS 法测定玉米粉中的还原糖和总糖的含量	实训班级		学时	3
课程名称	生物化学实训			教材	生物化学实验		
教学目标及要求	<p>知识目标：</p> <p>1、掌握比色皿测定还原糖的原理</p> <p>2、学习用分光光度计测定还原糖的方法</p> <p>能力目标：</p> <p>1、能够利用 DNS 法测定玉米粉的还原糖和总糖。</p> <p>2、能够熟悉使用分光光度计，并进行数据处理。</p> <p>素质目标：</p> <p>1、养成科学、严谨、实事求是的态度；</p> <p>2、树立正确的职业道德和团队协作精神。</p>						
教学重点	1、掌握比色皿测定还原糖的原理						

	2、学习用分光光度计测定还原糖的方法
教学难点	还原糖和总糖的制备、分光光度计的技术原理和使用，以及绘制密度曲线
教学方法及手段	老师讲解示范，学生操作
仪器材料	<p>(一) 试剂:</p> <p>1、 3,5-二硝基水杨酸 (DNS) 试剂 500mL 配制: 称取 3.25g DNS, 溶于少量热蒸馏水中, 溶解后移入 500mL 容量瓶中, 加入 2mol/L NaOH 溶液 162.5mL, 再加入 22.5g 丙三醇, 摇匀, 冷却后定容至 500mL。</p> <p>2、葡萄糖标准溶液 250mL 配制: 准确称取无水葡萄糖 250mg, 加少量蒸馏水溶解后, 以蒸馏水定容至 250mL, 即含葡萄糖为 1.0mg/mL。</p> <p>3、HCl (6mol/L) 250mL 配制: 取 125 mL 浓盐酸, 用蒸馏水稀释到 250mL。</p> <p>4、NaOH (6mol/L) 250mL 配制: 6 mol/L NaOH 溶液: 称取 60g NaOH, 溶于 250mL 蒸馏水中。</p> <p>5、碘化钾-碘溶液 100mL (装滴瓶) 配制: 称取 5g 碘、10g 碘化钾, 溶于 100mL 蒸馏水中。</p> <p>6、0.1% 酚酞指示剂 100mL (装滴瓶)</p> <p>(二) 仪器:</p> <p>1、分光光度计 2 台</p> <p>2、水浴锅 2 台</p> <p>3、电炉 4 个</p> <p>4、白瓷板 4 个</p> <p>5、移液枪 (1000μL) (配吸头) 4 套</p> <p>6、试管 (15*18mm) 28 个</p> <p>7、试管架 4 个</p>

	8、烧杯（100ml）	12 个
	9、容量瓶（50mL）	4 个
	10、容量瓶（100mL）	8 个
	11、滤纸+漏斗+架	4 套
	12、锥形瓶（150mL）	4 个
	13、烧杯（500mL）	4 个
	14、胶头滴管	4 个
	15、试管夹	12 个
	16、比色皿	8 个
	17、玉米粉	1 袋
	18、玻璃棒	4 根
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（**分钟）</p> <p>回顾糖类结构、性质，主要是淀粉的结构组成，以及糖粉物质的检测方法，使学生加强理解和记忆。</p> <p>2、新课内容（**分钟）</p> <p>讲述 DNS 法测定玉米粉中的还原糖和总糖的含量实验方法的原理。</p> <p>还原糖的测定是糖定量测定的基本方法。</p> <p>还原糖是指含有自由醛基或酮基的糖类。单糖都是还原糖，双糖和多糖不一定是还原糖，例如乳糖和麦芽糖是还原糖，蔗糖和淀粉是非还原糖。利用各种糖的溶解度不同，可将植物样品中的单糖、双糖和多糖分别提取出来。对非还原性的双糖和多糖，可用酸水解法使其降解成还原性单糖进行测定，再分别求出样品中还原糖和总糖的含量(常以葡萄糖含量计)。</p> <p>还原糖在碱性条件下加热可被氧化成糖酸及其它产物，而氧化剂 3,5-二硝基水杨酸（黄色）则被还原为棕红色的 3-氨基-5-硝基水杨酸（图 1）</p>	要求



图1 3,5-二硝基水杨酸与还原糖的反应

在一定范围内，还原糖的量与棕红色物质颜色的深浅成正比关系，利用分光光度计在 540nm 波长下测定吸光度值，查对标准曲线并计算，便可求出样品中还原糖和总糖的含量。

3、实验步骤

1)、葡萄糖标准曲线的制作

(1) 取 7 只试管，按 0-6 顺序进行标记，并按下表，在对应编号的试管中，加入对应体积的 1.0mg/mL 的葡萄糖标准溶液、蒸馏水、DNS 试剂。

试管号	0	1	2	3	4	5	6(空白对照)
葡萄糖标准溶液 体积/mL	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	
蒸馏水体积/mL	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2	0	1.0
DNS 试剂体积 /mL	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
葡萄糖含量/mg	0.0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	0.0
A _{540nm}							

(2) 加好后，放入沸水中加热 2min，进行显色。之后从沸水中取出，迅速用流动水冷却。

(3) 在每个试管中各加 7mL 蒸馏水，摇匀。

(4) 用分光光度计，在 540nm 波长处，测定各试管溶液的吸光度。以 6 号试管溶液，作为空白对照，进行零位校准，分别测定 0-5 号试管所对应的吸光度值。

(5) 利用实训一的方法，制作标准曲线，以葡萄糖含量 (mg) 为横坐标，吸光度为纵坐标，获得标准曲线方程： $y=ax+b$ ，和 R^2 值。(课下计算)

2)、提取样品中的还原糖

(1) 用电子天平, 准确称取 0.5g 玉米粉。

(2) 将玉米粉置于 100mL 烧杯中, 先以少量蒸馏水(约 2mL) 调成糊状, 然后加入 40mL 蒸馏水, 混匀。

(3) 将烧杯置于 50℃ 恒温水浴中保温 20min, 并不时的搅拌, 使还原糖浸出。

(4) 对烧杯中液体进行过滤, 将滤液全部收集在 50mL 的容量瓶中, 并用蒸馏水定容。待用。

3)、总糖的提取

(1) 用电子天平, 准确称取 0.5g 玉米粉。

(2) 将玉米粉放入锥形瓶中, 加入 10mL 6mol/L 的 HCl 溶液, 15mL 蒸馏水, 轻摇混匀。

(3) 在电炉中放入一个大烧杯, 里面加水煮沸。将锥形瓶放入大烧杯中, 沸水浴加热 30min。

(4) 用玻璃棒蘸取溶液 1-2 滴, 置于白瓷板上, 加 1 滴碘化钾-碘溶液, 检查是否反应完全。若水解不完全, 混合液呈现蓝色, 需延长加热时间。直至溶液不呈现蓝色。

(5) 水解完全后, 冷却至室温, 加入 1 滴酚酞指示剂, 以 6mol/L 的 NaOH 溶液中和, 直到溶液呈现微红色。

(6) 定容至 100mL 后, 过滤, 取滤液 10mL, 至新的 100mL 容量瓶, 并定容。此即为稀释 1000 倍的总糖水解液, 用于总糖测定。

4)、待测样品含糖量

(1) 取 2 只试管, 分别加入 0.5mL 还原糖和总糖提取液, 0.5mL 蒸馏水, 2.0mL DNS 试剂。

(2) 加好后, 放入沸水中加热 2min, 进行显色。之后从沸水中取出, 迅速用流动水冷却。

(3) 在每个试管中各加 7mL 蒸馏水, 摇匀。

(4) 用分光光度计, 在 540nm 波长处, 测定各试管溶液的

<p>吸光度。以 6 号试管溶液，作为空白对照，进行零位校准，分别测定两个待测样品（还原糖和总糖）试管所对应的吸光度值。</p> <p>(5) 结合标准曲线所获得的方程，计算获得 0.5ml 还原糖和总糖，各含还原糖和总糖的质量 (mg)，即获得还原糖和总糖的浓度 (mg/mL)。</p> <p>(6) 根据质量分数$=\frac{c \times V}{m \times 1000} \times 100\%$ 公式，计算还原糖和总糖的含量。</p> <p>其中，$V_{\text{还原糖}}=50\text{mL}$，$V_{\text{总糖}}=1000\text{mL}$，$m=0.5\text{g}$</p> <p>4、小结 (**分钟)</p> <p>5、布置复习思考题 (**分钟)</p>	
课外作业	完成实验报告
课后体会	在今天的实验中，对学生强调与示范实验操作的规范性很重要，这将有益于今后的一系列实验与实习中规范性的形成。

实训五 酵母 RNA 的提取与鉴定

编制部门：生物工程系 编制人：韩文朋 编制日期： 年 月 日

项目编号	5	项目名称	酵母 RNA 的提取与鉴定	实训班级		学时	3
课程名称	生物化学实训			教材	生物化学实验		
教学目标及要求	<p>知识目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握稀碱法分离酵母 RNA 的原理与操作过程。 2、掌握 RNA 的鉴定方法。 3、学习离心机的使用技术。 <p>能力目标：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、能够利用稀碱法进行 RNA 的提取。 2、能够利用显色法正确鉴定核糖。 3、能够熟练使用离心机。 <p>素质目标：</p>						

	<p>1、养成科学、严谨、实事求是的态度；</p> <p>2、树立正确的价值观和团队协作精神。</p>
教学重点	<p>1、掌握稀碱法分离酵母 RNA 的原理与操作过程。</p> <p>2、掌握 RNA 的鉴定方法。</p>
教学难点	稀碱法分离酵母 RNA 的操作过程。
教学方法及手段	老师讲解示范，学生操作
仪器材料	<p>(一) 试剂：</p> <p>1、0.04 mol/L NaOH 溶液 500mL</p> <p>2、酸性乙醇溶液 250mL</p> <p>配制：将 2.5mL 浓盐酸加入到 250mL 乙醇中。</p> <p>3、95%乙醇 500mL</p> <p>配制：取无水乙醇 475mL，加蒸馏水稀释至 500mL</p> <p>4、3mol/L 硫酸 250mL</p> <p>配制：量取 40.7mL 浓硫酸，慢慢加入到 150mL 水中，加入过程不停搅拌，静置至室温后，加水定容至 250mL。全程戴手套，注意安全。</p> <p>5、三氯化铁浓盐酸溶液 100mL</p> <p>配制：①称取 5g 六水合三氯化铁固体于烧杯中，加水搅拌均匀定容至 50mL，即得 10%三氯化铁溶液。②将 2mL10%三氯化铁溶液加入 100mL 浓盐酸中。</p> <p>6、苔黑酚乙醇溶液 10mL</p> <p>配制：0.6g 苔黑酚溶于 10mL95%乙醇中，可在冰箱中保存 1 个月。</p> <p>(二) 仪器：</p> <p>1、电热套 4 个</p> <p>2、离心机 1 台</p> <p>3、电子天平 2 台</p> <p>4、50mL 离心管（含盖子） 8 套</p>

	5、试管（15*18mm）	4 个
	6、试管夹	4 个
	7、试管架	4 个
	8、移液枪（1000 μ L）（配吸头）	4 套
	9、量筒（10ml）	4 个
	10、烧杯（500ml）	4 个
	11、烧杯（100ml）	4 个
教学过程设计		
操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入（**分钟）</p> <p>回顾核酸的结构、组成和性质，主要是 RNA 的组成和检测方法，包括检测核糖或检测特殊碱基，使学生加强理解和记忆。</p> <p>2、新课内容（**分钟）</p> <p>讲述 RNA 的提取和鉴定方法原理。</p> <p>由于 RNA 的来源和种类很多，因而提取制备方法也各异，一般有苯酚法、去污剂法和盐酸胍法。其中苯酚法又是实验室最常用的。组织匀浆用苯酚处理并离心后，RNA 即溶于上层被酚饱和的水相中，DNA 和蛋白质则留在酚层中，向水层加入乙醇后，RNA 即以白色絮状沉淀析出，此法能较好地除去 DNA 和蛋白质。上述方法提取的 RNA 具有生物活性。工业上常用稀碱法和浓盐法提取 RNA，用这 2 种方法所提取的核酸均为变性的 RNA，主要用作制备核苷酸的原料，其工艺比较简单。</p> <p>浓盐法是用 10%左右氯化钠溶液，90℃提取 3—4h，迅速冷却，提取液经离心后，上清液用乙醇沉淀 RNA。</p> <p>稀碱法使用稀碱（本实验用 0.2%NaOH 溶液）使酵母细胞裂解，然后用酸中和，除去蛋白质和菌体后的上清液用乙醇沉淀 RNA（本实验）或调 pH2.5 利用等电点沉淀。提取的 RNA 有不同程度的降解。</p> <p>酵母含 RNA 达 2.67—10.0%，而 DNA 含量仅为 0.03—0.516%，为此，提取 RNA 多以酵母为原料。</p>	要求

3、实验步骤

1)、RNA 提取

- (1) 用电子天平称取干酵母粉 2g。
- (2) 将酵母粉置于 50mL 离心管 1 中，并加入 20mL 的 0.04mol/L 氢氧化钠溶液。
- (3) 将离心管（开盖）置于沸水浴中加热 30min，边加热边摇晃。
- (4) 冷却，配平，盖好盖子，3000r/min 离心 15min。
- (5) 在此期间，准备另一 50mL 离心管 2，在离心管 2 中加入 5mL 酸性乙醇，备用。
- (6) 将离心管 1 中的上清液缓慢倒入离心管 2 中，边倒边摇。
- (7) 倒完后，摇匀，静置 2min，待 RNA 沉淀完全。
- (8) 配平、盖好盖子，3000r/min 离心 3min。
- (9) 将上清液小心去除，保留底部沉淀。
- (10) 向离心管 2 中，加入 10mL 95%乙醇进行洗涤，后将乙醇弃除。洗涤 2 次。
- (11) 保留底部沉淀，打开离心管盖子，在空气中静置 2min，进行干燥。备用。

2)、RNA 水解

- (1) 向离心管 2 中加入 10mL 的 3mol/L 硫酸。
- (2) 开打盖子，将出离心管在沸水浴中加热 10min，制成水解液，备用。

3)、RNA 鉴定（鉴定戊糖）

- (1) 取一支试管，分别加入 1mL 的 RNA 水解液，2mL 三氯化铁浓盐酸溶液和 0.2mL 苔黑酚乙醇溶液，轻轻摇晃，混匀。
- (2) 在沸水浴中加热 10min，观察颜色变化。颜色变绿，即所鉴定的戊糖为核糖。

4、小结（**分钟）

	5、布置复习思考题 (**分钟)	
课外作业	完成实验报告	
课后体会	<p>本次实验，需要细心认真，一方面，使用 3mol/L 硫酸，操作过程中，时刻保持手套的完整性，以及自身安全；另一方面，本次实验，使用浓盐酸，操作过程中，需戴口罩；第三，本次实验，使用离心离，在每次离心时，均需对四组离心管进行配平，以保障仪器正常运行。</p>	

实训六 鹧鸪微卫星 PCR 反应与检测

编制部门：生物工程系 编制人：韩文朋 编制日期： 年 月 日

项目编号	3	项目名称	鹧鸪微卫星 PCR 反应与检测	实训班级		学时	3
课程名称	生物化学实训			教材	生物化学实验		
教学目标及要求	<p>知识目标：</p> <p>1、掌握 PCR 反应的原理和方法。</p> <p>2、熟悉 PCR 仪、凝胶成像仪的使用方法。</p> <p>能力目标：</p> <p>1、能够正确利用 PCR 技术，开展分子检测；</p> <p>2、能够利用所学知识，对检测结果进行判断。</p> <p>素质目标：</p> <p>1、养成科学、严谨、实事求是的态度；</p> <p>2、树立正确的价值观和团队协作精神。</p>						
教学重点	掌握 PCR 反应原理和方法。						
教学难点	PCR 反应原理及结果分析。						
教学方法及手段	老师讲解示范，学生操作						
仪器材料	(一) 试剂：						

1、2 X PCR mix	1.5ml
2、微卫星引物 6 对	
正向引物	100 μ L
反向引物	100 μ L
3、超纯水	1.5mL
4、sybr green 染料	100 μ L
5、琼脂糖	250g
6、1X TAE 电泳液	1L
(二) 仪器、耗材:	
1、移液器 100 μ L	4 把
2、移液器 20 μ L	4 把
3、移液器 10 μ L	4 把
4、PCR 管	6 个
5、PCR 仪	1 台
6、凝胶成像仪	1 台
7、电泳仪 (含电泳槽)	1 套
8、微波炉	1 台

教学过程设计

操作原理与步骤	<p>1、学情分析和新课导入 (**分钟)</p> <p> 回顾 DNA 复制过程, 以及 PCR 反应的原理, 使学生加强理解和记忆。</p> <p>2、新课内容 (**分钟)</p> <p> 讲述 PCR 反应的原理及结果判读。</p> <p> PCR 反应, 是是一种分子生物学技术, 用于在体外快速扩增特定的 DNA 片段, 使其数量呈指数级增长。这项技术可以从少量甚至微量的起始 DNA 中, 快速复制出大量的目标 DNA 片段, 广泛应用于科研、临床诊断和法医学等领域。</p> <p>3、实验步骤</p> <p> 1)、反应液配制</p>	要求
---------	--	-----------

(1) 反应液体系为 15 微升

2X PCR mix	7 μ L
超纯水	6 μ L
引物 F	0.5 μ L
引物 R	0.5 μ L
模板 DNA	1 μ L

(2) 按照上述比例，在一 PCR 管中，配制 5 份反应液。

(3) 配制好后，吹打混匀。

(4) 取 4 个 PCR 管，在管盖上分别标注自己所在组号。

(4) 将配制好的反应液，分装到 4 个 PCR 管中，每个管中，分装 15 μ L。

(5) 注意液体要加到 PCR 管底部。

2)、扩增

(1) 打开 PCR 仪，选择扩增程序，开始扩增。

(2) 注意引物的退火温度。

(3) 为节省时间，PCR 扩增循环数设定为 25 个循环。

3)、制胶

(1) 在 PCR 反应结束前 10 分钟，开始配置 0.5%琼脂糖胶。

(2) 配制标准：根据胶模，分成四种，15ml，25ml，40ml，80ml

按照 40ml 进行配制。

1X TAE	45ml
琼脂糖	2g

(3) 微波炉加热，至全部融化，且内部无气泡。

(4) 取出，趁热在里面加入 5 μ L SYBR green 染料，之后，轻轻摇匀。注意，不能产生气泡。

(5) 将对应胶模具放在制胶底托上，并将 25 齿梳子，插上。

(6) 待胶稍等冷却，便可将凝胶倒入模具内。用白枪头，赶走上面的气泡。静置，冷却。

	<p>(7) 注意：制胶过程中，根据 PCR 产物大小（碱基数量多少），调整胶的浓度，一般待测产物大小与胶的浓度在反比。同时胶凝固时间，也胶浓度也呈反比，浓度越高，凝固时间越短。</p> <p>4) 点胶、检测</p> <p>(1) 取出凝胶，放置在电泳槽内，使电泳液液面没过凝胶，电泳液不足的，可以适当添加 1X TAE。</p> <p>(2) 按组，打开每组四个样品。</p> <p>(3) 每个样品（PCR 管）中，吸取 5μL，按顺序，加入凝胶孔中。注意，枪头不能扎入胶中，也不能悬浮于液面，枪头前端需探入凝胶孔中，缓慢将样品打出。</p> <p>(4) 最后一孔，加 DNA Marker。</p> <p>(5) 开始电泳。电泳设置：110V，25min</p> <p>(6) 电泳结束后，将凝胶取出，放入凝胶成像仪中，进行检测，拍照，保存。</p> <p>4、小结（**分钟）</p> <p>5、布置复习思考题（**分钟）</p>	
课外作业	完成实验报告	
课后体会	在今天的实验中，对学生强调与示范实验操作的规范性很重要，这将有益于今后的一系列实验与实习中规范性的形成。	