
第1章 蛋白质的构件-氨基酸

本章主要内容

- 一、蛋白质的化学组成和分类
- 二、蛋白质的水解
- 三、氨基酸的结构
- 四、氨基酸的分类
- 五、氨基酸的理化性质
 1. 氨基酸的物理性质
 2. 氨基酸的酸碱性质
 3. 氨基酸的化学反应

一、蛋白质的化学组成和分类

■ 蛋白质的概念

蛋白质(**Protein**)是由许多不同的氨基酸，按照一定的顺序，通过肽键连接而成的一条或多条肽链构成的生物大分子。

蛋白质的生物学意义

- 1、蛋白质是一切生物体的细胞和组织的主要组成成分，是生物体形态结构的物质基础

蛋白质占干重

人体 45%

细菌 50%~80%

真菌 14%~52%

酵母菌 14%~50%

白地菌 50 %

人体中（中年人）

水55%

蛋白质19%

脂肪19%

糖类<1%

无机盐7%

- 2、多种生理功能的执行者
-

蛋白质作为生物体的重要组成成分主要体现在：

- 分布广：所有器官、组织都含有蛋白质；细胞各个部分都含有蛋白质
 - 含量高：蛋白质是细胞内最丰富的有机分子，占人体干重的**45%**，某些组织含量更高，例如脾、肺和横纹肌等高达**80%**
-

-
- 如此多样的功能！
 - 它到底是什么结构？是什么组成的？
-

蛋白质的化学组成

- 元素组成

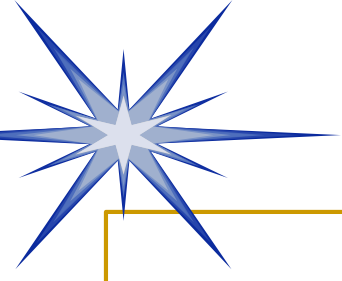
蛋白质是一类含氮有机化合物，除含有碳、氢、氧外，还有氮和少量的硫。某些蛋白质还含有其他一些元素，主要是磷、铁、碘、锌和铜等。这些元素在蛋白质中的组成百分比约为：

- 基本元素：

C	H	O	N	S
50~55%	6~8%	20~23%	<u>15~18%</u>	0~4%

- 其他元素（某些蛋白质）：

P Fe Cu Zn Mo I Se

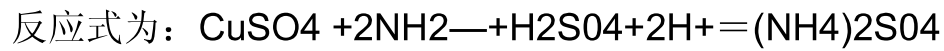


蛋白质含氮的特点

- 蛋白质中的氮占生物组织中所有含氮物质的绝大部分。因此，可以将生物组织的含氮量近似地看作蛋白质的含氮量。
- 大多数蛋白质含氮量较恒定，平均**16 %**，所以，可以根据生物样品中的含氮量来计算蛋白质的大概含量，即**1g**氮相当于**6.25g**蛋白质。故 **6.25**称为**蛋白质系数**，这是凯氏定氮法测蛋白质含量的理论依据。
- 蛋白质含量 = 氮的量 × **6.25**

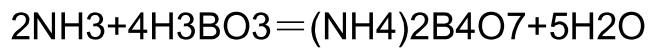
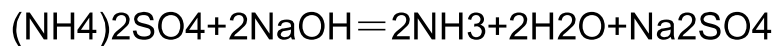
凯氏定氮法原理

- 1. 有机物中的胺根在强热和CuSO₄，浓H₂SO₄作用下，硝化生成(NH₄)₂SO₄



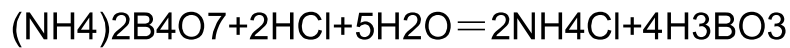
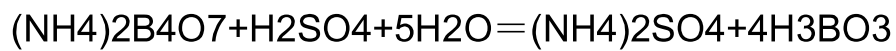
- 2. 在凯氏定氮器中与碱作用，通过蒸馏释放出NH₃，收集于H₃BO₃溶液中

反应式为：



- 3. 用已知浓度的H₂SO₄（或HCl）标准溶液滴定，根据HCl消耗的量计算出氮的含量，然后乘以相应的换算因子，既得蛋白质的含量

反应式为：



凯氏定氮法 (测定氮的经典方法)

优点：对原料无选择性，仪器简单，
方法也简单；

缺点：易将无机氮(如核酸中的氮)
都归入蛋白质中,不精确。

除了上法外，还有

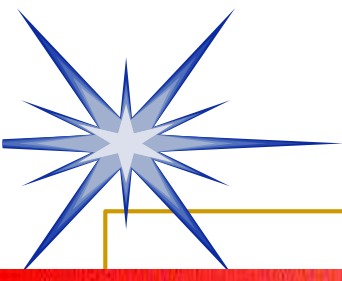
紫外比色法

双缩脲法

Folin—酚

考马斯亮兰G—250比色法

(条件：蛋白质必须是可溶的)



蛋白质的分类

蛋白质

简单蛋白质

- 清蛋白
- 球蛋白
- 谷蛋白
- 组蛋白
- 谷醇溶蛋白

缀合蛋白质

氨基酸部分

非氨基酸部分 (辅基)

- 糖
- 金属
- 脂
- 核酸

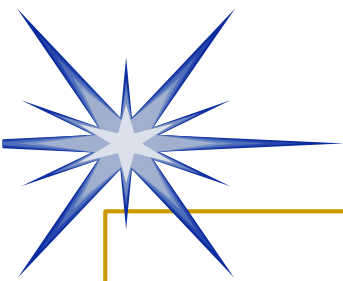
依据蛋白质的外形分类

按照蛋白质的外形可分为球状蛋白质和纤维状蛋白质。

- 1.球状蛋白质：（globular protein）**外形接近球形或椭圆形，溶解性较好，能形成结晶，大多数蛋白质属于这一类。
 - 2.纤维状蛋白质(fibrous protein)**分子类似纤维或细棒。它又可分为可溶性纤维状蛋白质和不溶性纤维状蛋白质。
-

二、蛋白质的水解

水解类型	条件	产物	优点	缺点
酸水解	6M HCl 4M H₂SO₄ (回流煮沸20小时)	L-氨基酸	不引起消旋作用	Trp 完全被破坏 羟基氨基酸部分分解 Asn Gln 的酰氨基被水解
碱水解	5 M NaOH	L-氨基酸 和 D-氨基酸	Trp 完全稳定	引起消旋作用 大多数氨基酸被破坏
酶水解		L-氨基酸	不产生消旋、不破坏氨基酸	水解不彻底



蛋白质的构件分子——氨基酸(amino acid, AA)

目前，从各种生物体中发现近**300**种，但参与组成蛋白质的氨基酸只有**20**种。

早期的研究证明蛋白质能被酸、碱和蛋白酶水解，最终产物为多种氨基酸的混合物。

蛋白质氨基酸

■ 名称 (三句半口诀)

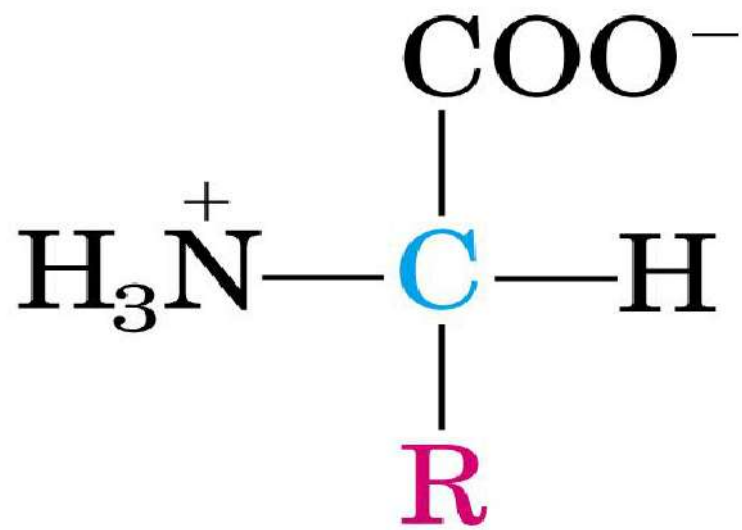
- 甘丙缬亮异
- 苏丝半蛋天
- 谷精赖苯酪
- 组色脯

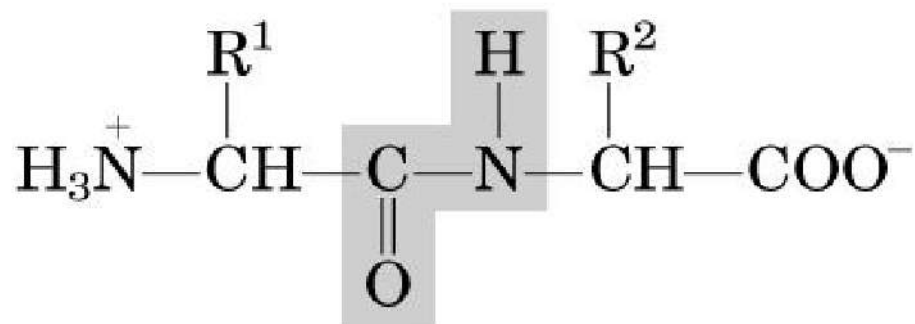
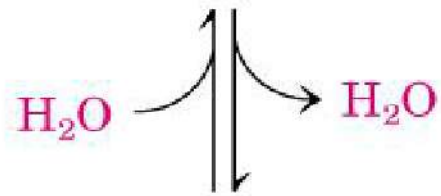
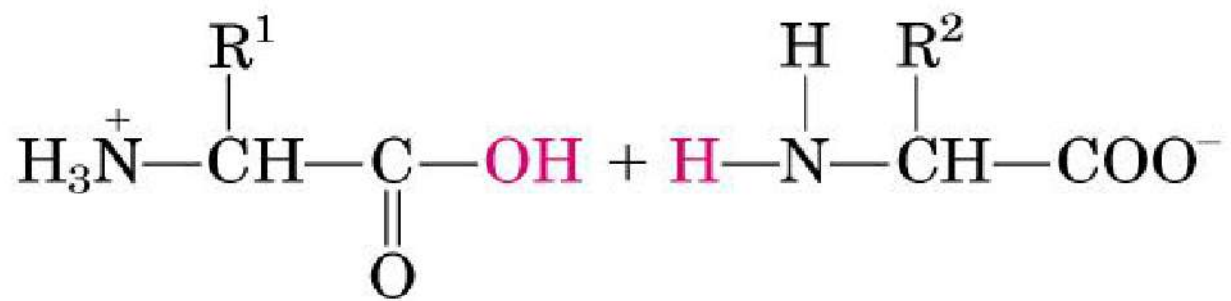
- AA的名称常使用**三字母的简写符号**表达，也使用**单字母的简写符号**表示——主要用于表达长多肽链的AA顺序

三、氨基酸的结构

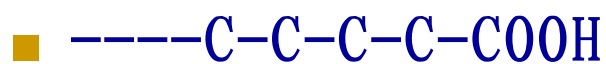
- 地球上天然形成的**AA300**种以上。
 - 构成蛋白质的**AA**只有**20**余种，且都是 α -氨基酸。
-

什么是氨基酸？

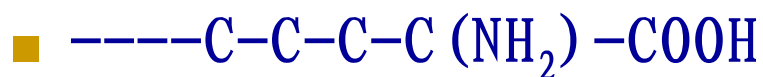




什么是 α -氨基酸?



γ β α



α -氨基酸

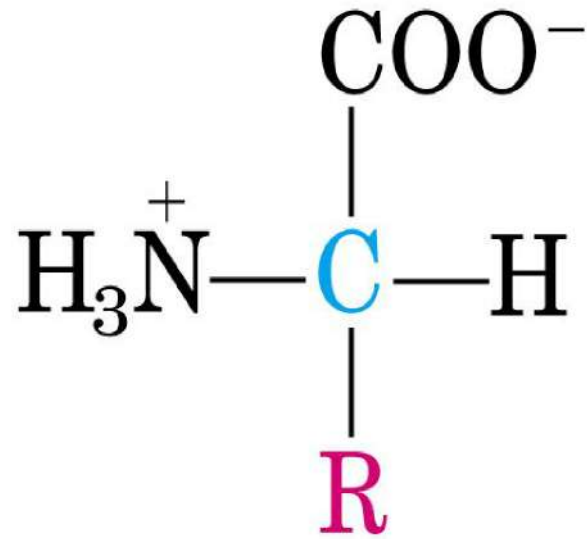


β -氨基酸



γ -氨基酸

■ 大多数AA在中性pH时呈兼性离子状态:

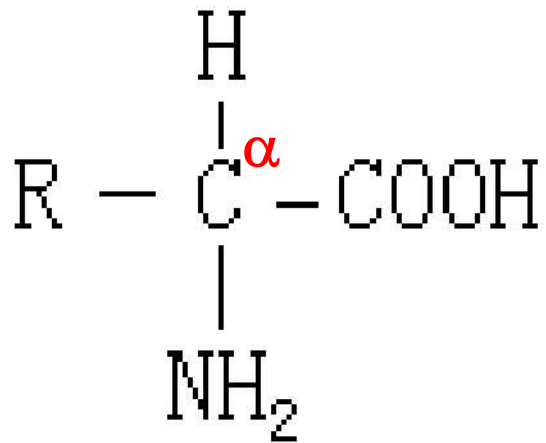


■ 除甘氨酸外，19种AA都具有旋光性。

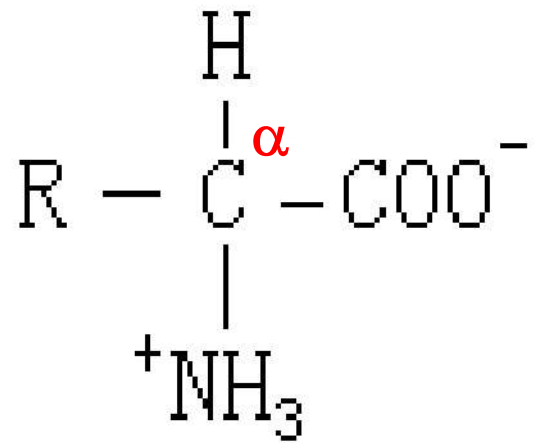
■ 除胱氨酸和酪氨酸外，其余AA都能溶于水。



α -氨基酸的通式



非解离形式



两性离子形式



构型和构象区别

- 构型和构象；构型（**configuration**）是指在大分子化合物的主体异构体中，取代原子或基团在空间的取向。构型的改变需要涉及共价键的断裂和生成。不对称碳原子是指与四个不同基团相连的碳原子，含有一个不对称碳原子的化合物有两种不同的构型、含 n 个不对称碳原子，就有 2^n 个立体异构体。
 - 构象（**conformation**）是指当单键旋转时，分子中的原子或基团形成不同的空间排列，不同的空间排列称为不同的构象，构象的改变不涉及共价键的断裂和生成。
-



除甘氨酸外,其它所有氨基酸分子中的 α -碳原子都为不对称碳原子,所以

- A. 除甘氨酸外,氨基酸均含有一个手性 α -碳原子,因此都具有旋光性和立体异构。
- B. 每一种氨基酸都具有D-型和L-型两种立体异构体,天然氨基酸除脯氨酸和甘氨酸外,其余均属于L- α -氨基酸。
- C. 各氨基酸的区别在于侧链R基团(Radical)不同。
- D. α -氨基酸是白色晶体,熔点高(200)以上,除胱氨酸和酪氨酸外,一般都溶于水。脯氨酸和羟脯氨酸还溶于乙醇和乙醚



四、氨基酸的分类

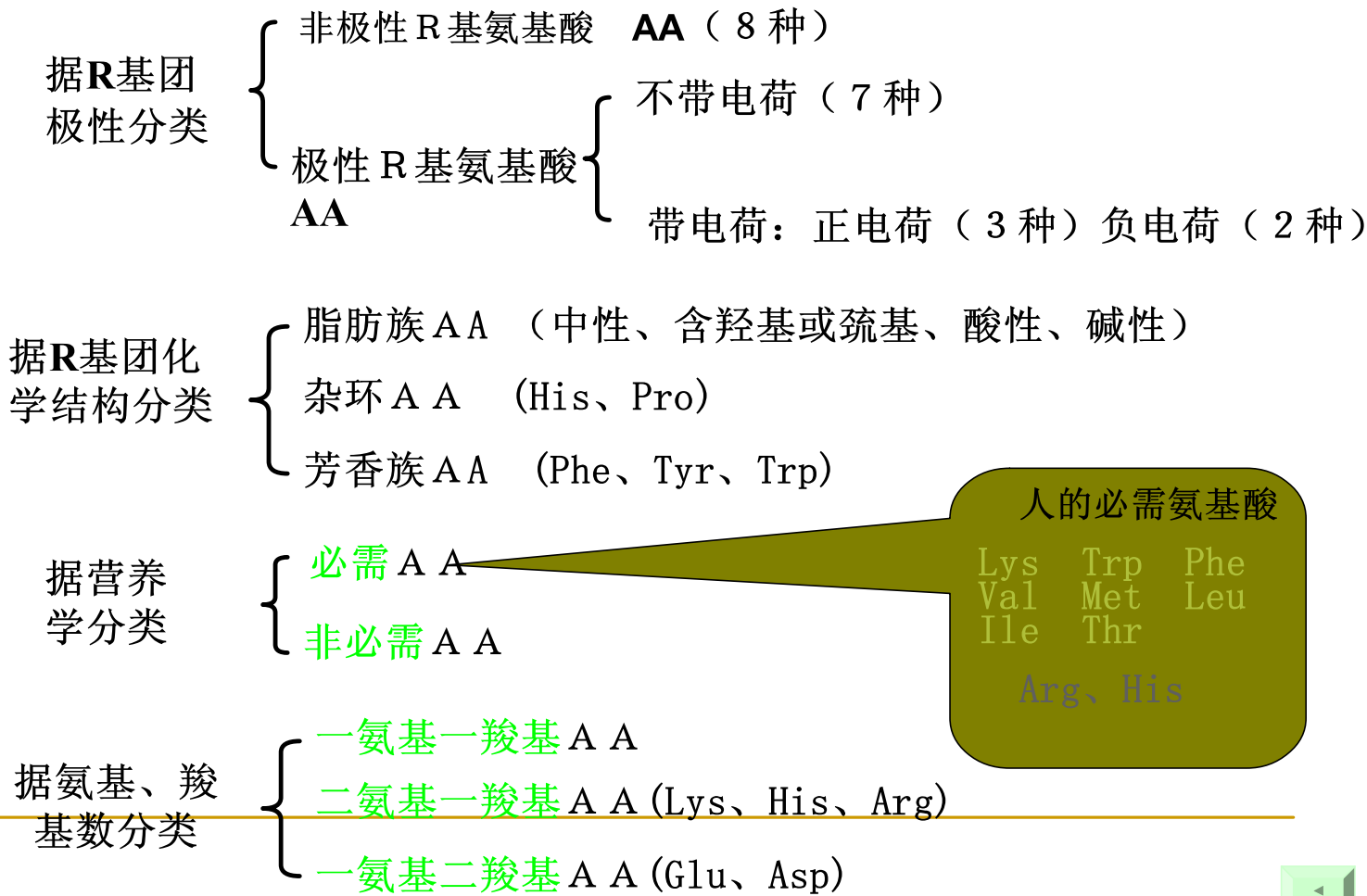
1.自然界中游离存在的AA有300多种，生物体中发现的AA已有180多种，但构成蛋白质的AA只有20种

□ **蛋白质氨基酸**：蛋白质中常见的20种氨基酸

□ **稀有的蛋白质氨基酸**：蛋白质组成中，除上述20种常见氨基酸外，从少数蛋白质中还分离出一些稀有氨基酸，它们都是相应常见氨基酸的衍生物。如4-羟脯氨酸、5-羟赖氨酸等。

□ **非蛋白质氨基酸**：生物体内早游离或结合态的氨基


2. 基本氨基酸的分类




2.1 按R基的结构不同进行分类

芳香族AA: 苯丙氨酸、酪氨酸 

(含有苯环)


杂环族AA: 杂环氨基酸: 组氨酸、色氨酸 

{ 杂环亚氨基酸: 脯氨酸 

脂肪族AA: 含羟基氨基酸: 丝氨酸、苏氨酸 

{ 含硫氨基酸: 半胱氨酸、蛋氨酸 (甲硫氨酸) 

{ 含酰胺基氨基酸: 天冬酰胺、谷氨酰胺 

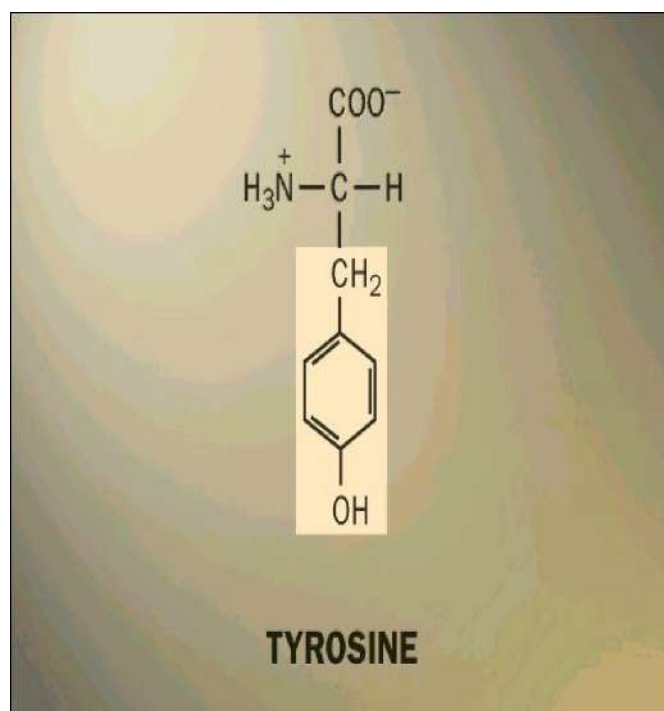
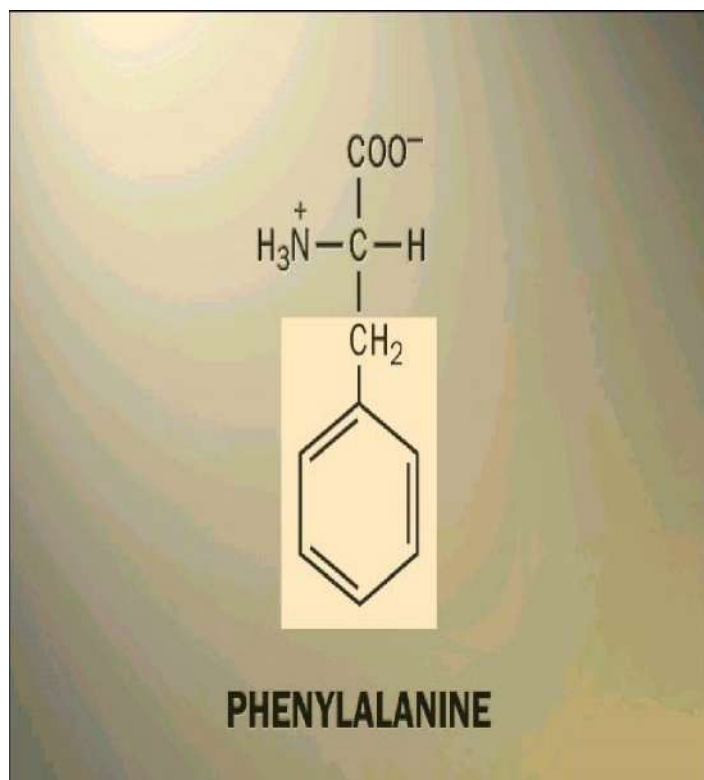
{ 含一氨基二羧基的酸性氨基酸: 天冬氨酸、谷氨酸 

{ 含二氨基一羧基的碱性氨基酸: 赖氨酸、精氨酸 

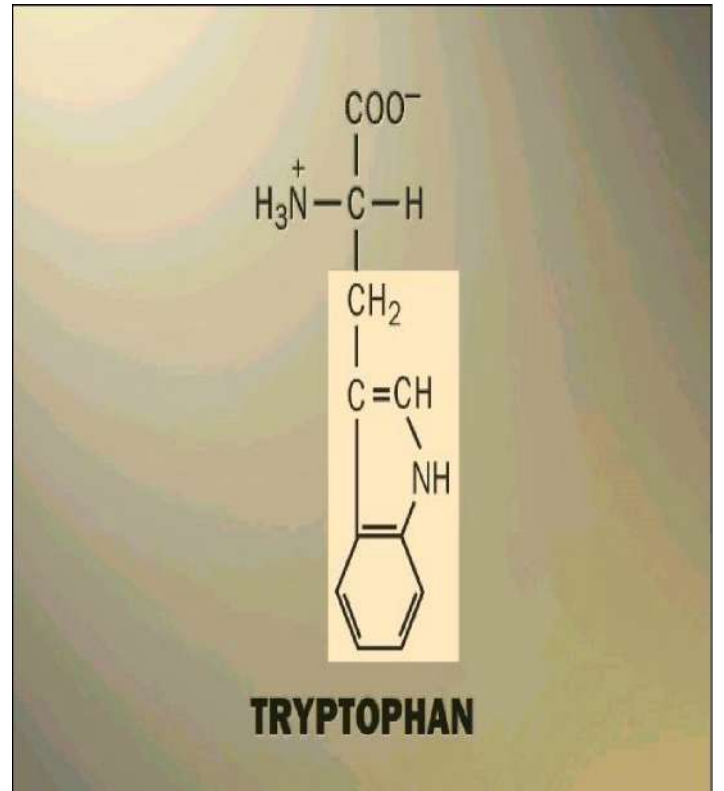
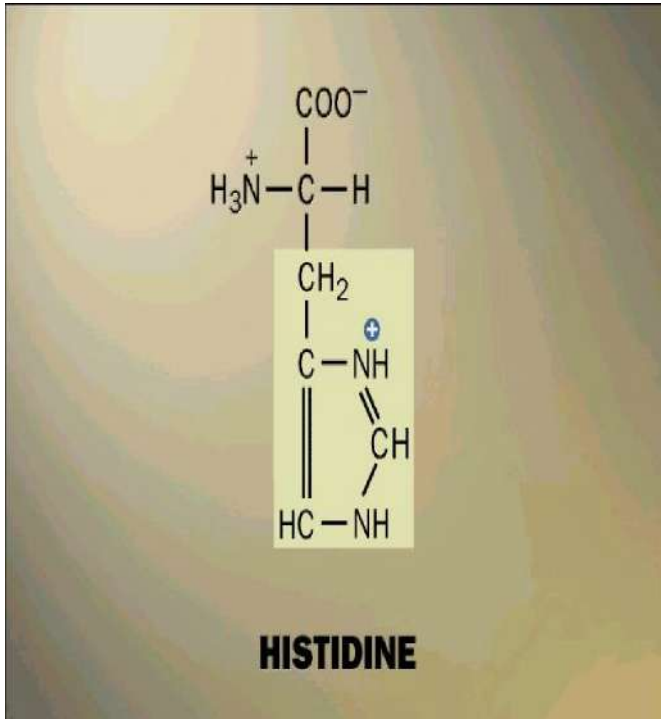
{ 含一氨基一羧基的中性氨基酸: 甘氨酸、丙氨酸、 

缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸

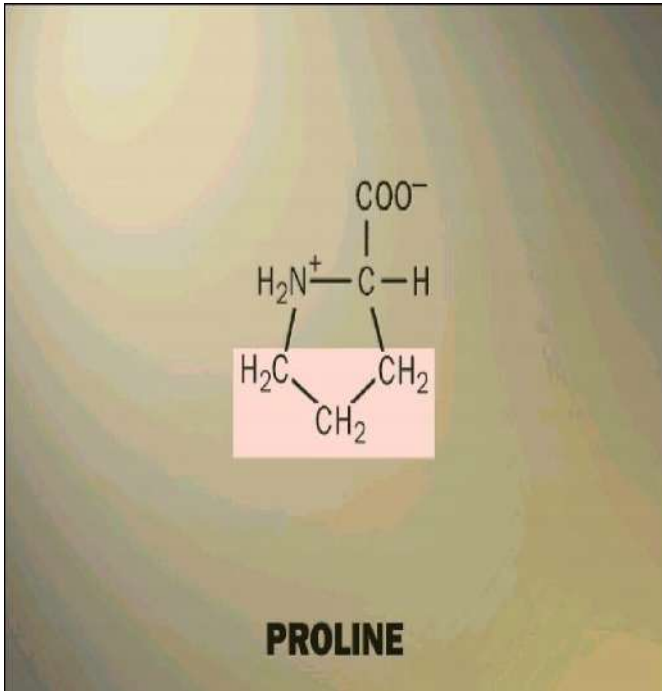
苯丙氨酸、酪氨酸结构式 (Phe、Tyr)



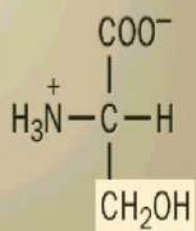
组氨酸、色氨酸的结构式 (His、Trp)



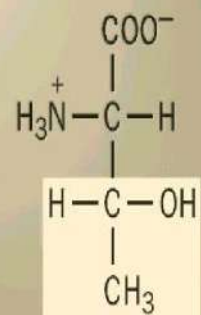
脯氨酸的结构式 (Pro)



丝氨酸、苏氨酸的结构式 (Ser、Thr)



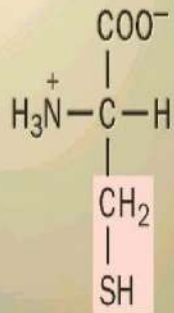
SERINE



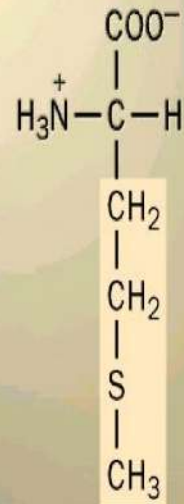
THREONINE



半胱氨酸、蛋氨酸（甲硫氨酸）结构式 (Cys、Met)



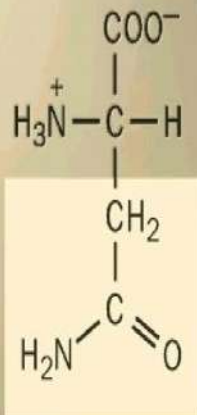
CYSTEINE



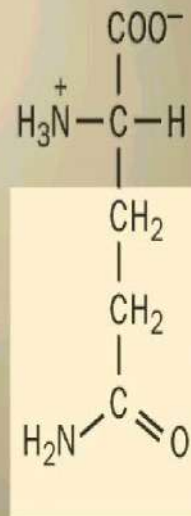
METHIONINE



天冬酰胺、谷氨酰胺的结构式 (Asn、Gln)



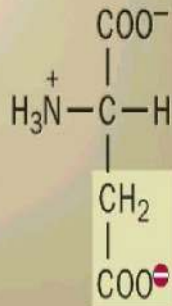
ASPARAGINE



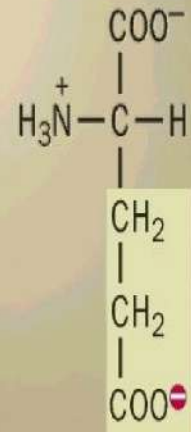
GLUTAMINE



天冬氨酸、谷氨酸的结构式 (Asp、Glu)

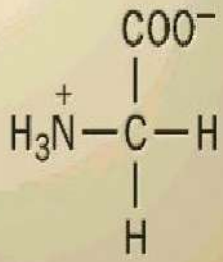


ASPARTIC ACID

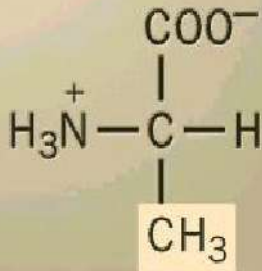


GLUTAMIC ACID

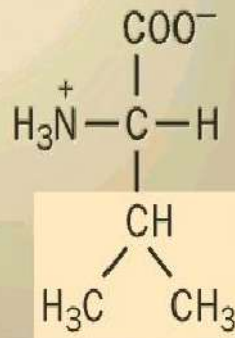
甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸
(Gly, Ala, Val, Leu, Ile)



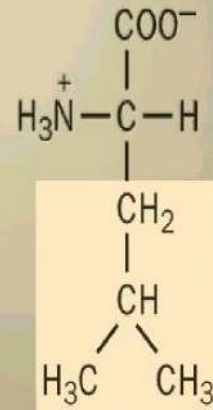
GLYCINE



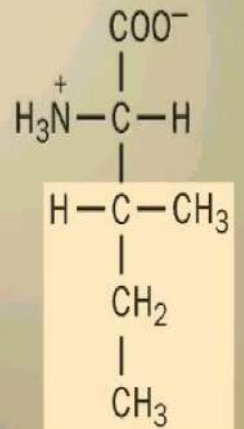
ALANINE



VALINE



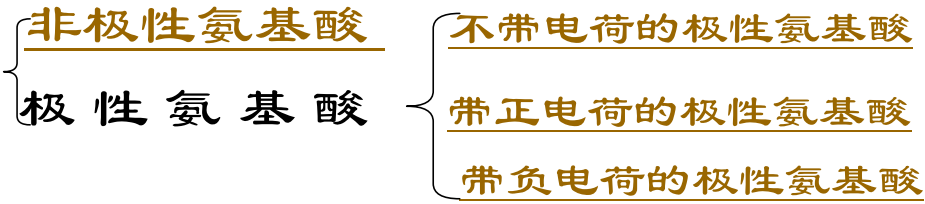
LEUCINE



ISOLEUCINE



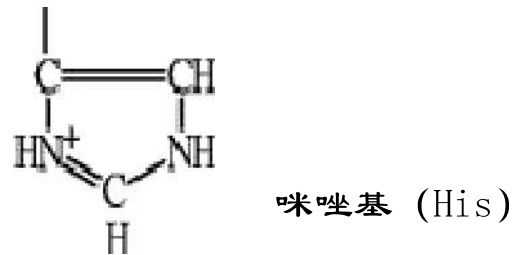
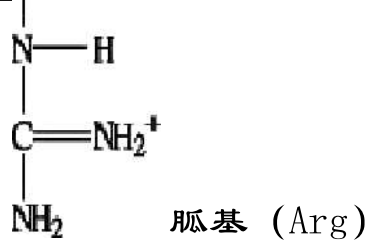
2.2 按R基的极性不同分类



■ 极性氨基酸与非极性氨基酸的主要区别：

□ **结构区别：** R基团上带极性基团，为极性氨基酸

如 $-\text{OH}$; $-\text{NH}_2$; $-\text{COOH}$; $-\text{CONH}_2$; $-\text{SH}$;



□ **性质区别：** 极性基团可以与水形成氢键，故极性氨基酸易溶于水，非极性氨基酸疏水性大，溶解度小

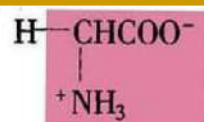
结构式

中文名

英文名

三字
符号一字
符号等电点
(pI)

(1) 非极性疏水性氨基酸



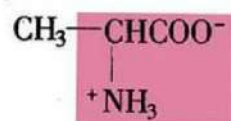
甘氨酸

glycine

Gly

G

5.97



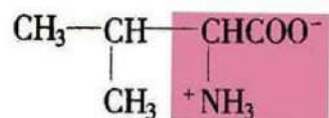
丙氨酸

alanine

Ala

A

6.00



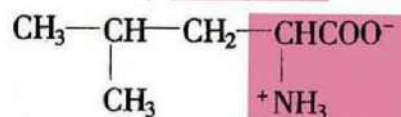
缬氨酸

valine

Val

V

5.96



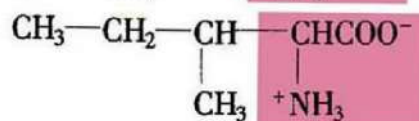
亮氨酸

leucine

Leu

L

5.98



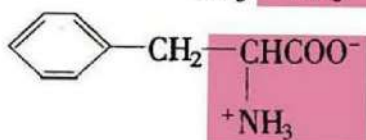
异亮氨酸

isoleucine

Ile

I

6.02



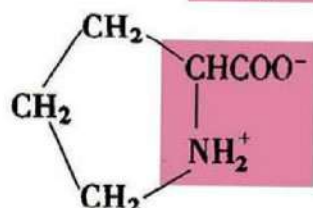
苯丙氨酸

phenylalanine

Phe

F

5.48



脯氨酸

proline

Pro

P

6.30

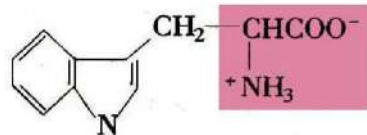


目录

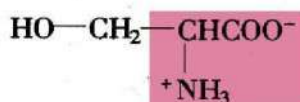
非极性疏水性氨基酸特点

- *R*基均为中性烷基、苯甲基等非极性基团，*R*基对分子酸碱性影响很小，它们几乎有相同的等电点 (6.0 ± 0.03)。
 - *Gly*是唯一不含手性碳原子的氨基酸，因此不具旋光性
 - 从*Gly*至*Ile*，*R*基团疏水性增加
 - *Pro*的 α -亚氨基是环的一部分，因此具有特殊的刚性结构。一般出现在两段 α -螺旋之间的转角处，*Pro*残基所在的位置必然发生骨架方向的变化
-

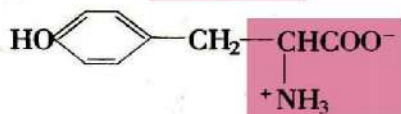
(2). 极性中性氨基酸



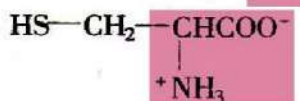
色氨酸 tryptophan Try W 5.89



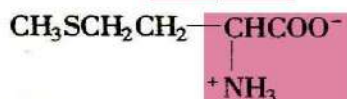
丝氨酸 serine Ser S 5.68



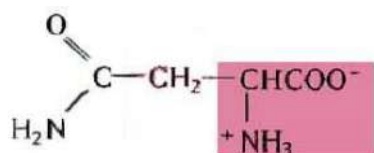
酪氨酸 tyrosine Try Y 5.66



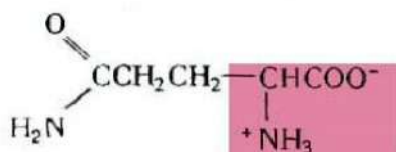
半胱氨酸 cysteine Cys C 5.07



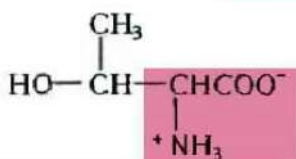
蛋氨酸 methionine Met M 5.74



天冬酰胺 asparagine Asn N 5.41



谷氨酰胺 glutamine Gln Q 5.65

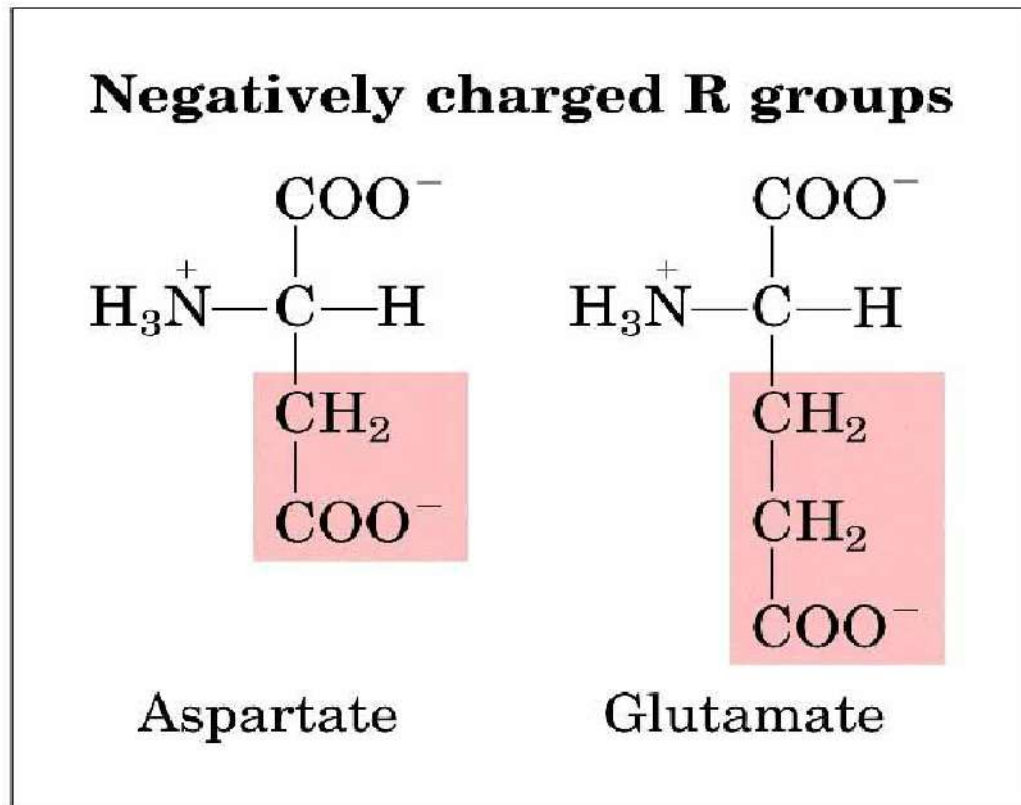


苏氨酸 threonine Thr T 5.60

极性中性氨基酸特点

- *R*为羟基 (*Ser*, *Thr*, *Tyr*)、巯基 (*Cys*, *Met*)、酰胺基 (*Trp*, *Asn*, *Gln*) 等极性基团, 有亲水性, 在中性溶液中不电离
 - *Ser*的-CH₂OH基 (pKa=15) 在生理条件下不解离, 但在大多数酶的活性中心都发现有*Ser*残基存在。
 - *Ser*和*Thr*的-OH往往与糖链相连, 形成糖蛋白。
 - *Cys*的*R*中含巯基 (-SH), 具有两个重要性质:
 - (1) 在较高pH值条件, 巯基离解。
 - (2) 两个*Cys*的巯基氧化生成二硫键, 生成胱氨酸。
*Cys*与结石
 - *Met*在生物合成中是一种重要的甲基供体。
-

(3)、带负电荷的极性 R 基氨基酸（酸性氨基酸）

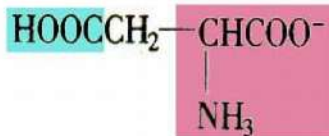


- Asp侧链羧基 pKa为3.86,
- Glu侧链羧基 pKa为4.25
- 它们是唯一在生理条件下带有负电荷的两个氨基酸

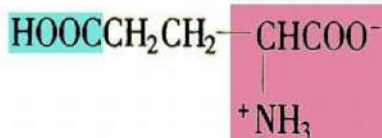
天冬氨酸
(Asp, D)

谷氨酸
(Glu, E)

3. 酸性氨基酸

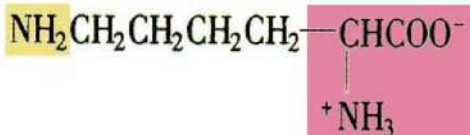


天冬氨酸 aspartic acid Asp D 2.97

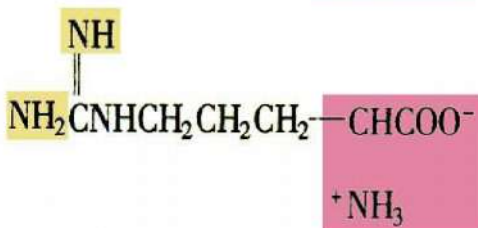


谷氨酸 glutamic acid Glu E 3.22

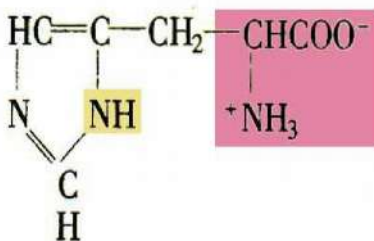
4. 碱性氨基酸



赖氨酸 lysine Lys K 9.74



精氨酸 arginine Arg R 10.76

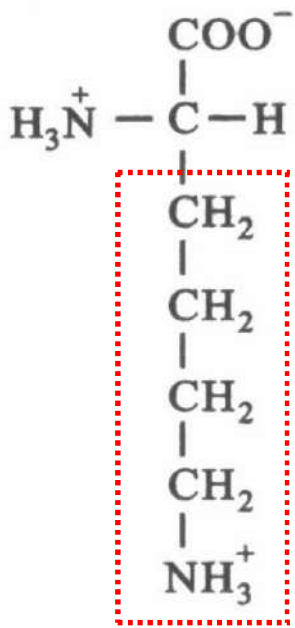


组氨酸 histidine His H 7.59

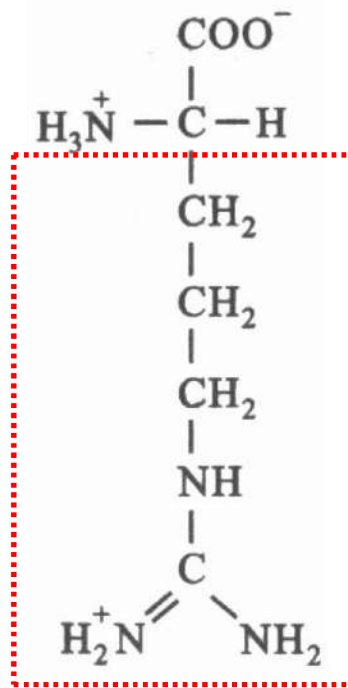


目录

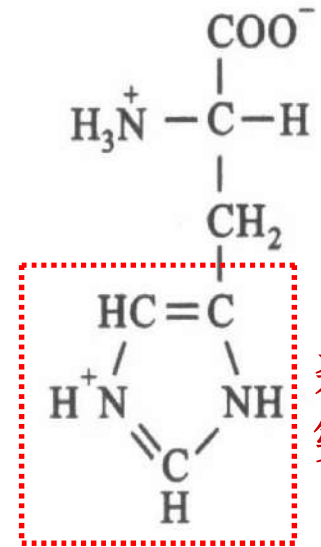
(4) 带正电荷的极性氨基酸（碱性氨基酸）



赖氨酸
(Lys,K)



精氨酸
(Arg,R)



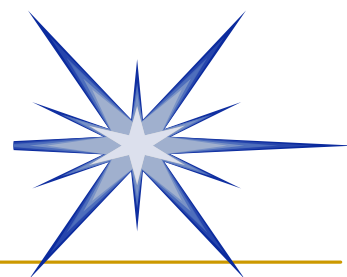
组氨酸
(His,H)

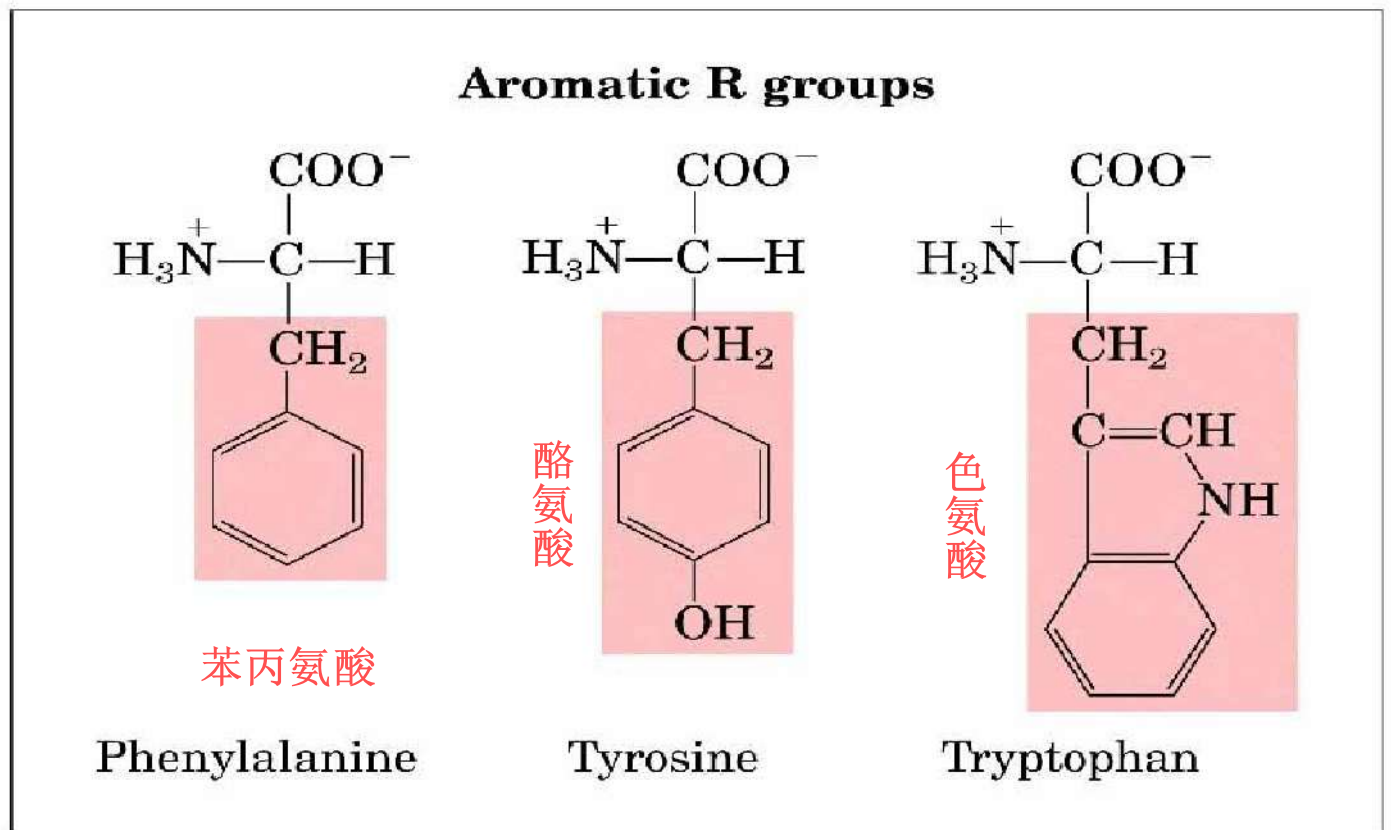
杂环
氨基酸



碱性氨基酸特点

- **Lys**侧链氨基的pKa为**10.53**，生理条件下，**Lys**侧链带有一个正电荷（ $-\text{NH}_3^+$ ），侧链的氨基反应活性增大。
- **Arg**是碱性最强的氨基酸，侧链上的胍基是已知碱性最强的有机碱，pKa值为**12.48**，生理条件下完全质子化。
- **His**是pKa值最接近生理pH值的一种（游离氨基酸中为**6.00**，在多肽链中为**7.35**），是在生理pH条件下唯一具有缓冲能力的氨基酸。
- **His**在酶的酸碱催化机制中起重要作用





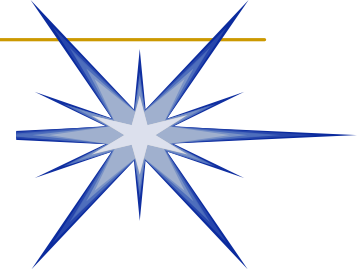
- 在280nm处，Trp吸收最强，Tyr次之，Phe最弱

根据**R**基团的结构或性质特点，巧记**20**种氨基酸的**口诀**：

- 甘、丙、缬、亮、异、脂链，（脂肪链**R**基团的**5**种）
 - 丝、苏、半、蛋、羟硫添。（含**-OH**，**-S**者共**4**种）
 - 天、谷、精、赖、组、酸碱；（酸性碱性者**5**种）
 - 脯、酪、苯、色、杂芳环（芳香环和杂环**R**集团者**4**种）
 - 天冬酰胺、谷酰胺，（两种酰胺）
 - 都有密码属“常见”。（常见氨基酸都有特异的遗传密码）
-

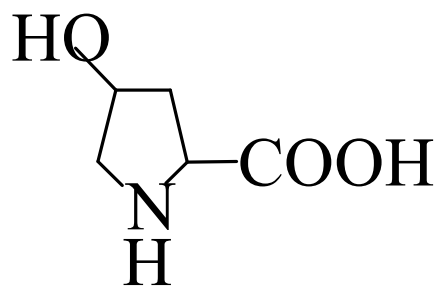
3. 人体所需的八种必需氨基酸

赖氨酸(Lys) 缬氨酸(Val) 蛋氨酸(Met)
色氨酸(Try) 亮氨酸(Leu) 异亮氨酸(Ile)
苏氨酸(Thr) 苯丙氨酸(Phe)
婴儿时期所需：精氨酸(Arg)、组氨酸(His)
早产儿所需：色氨酸(Try)、半胱氨酸(Cys)

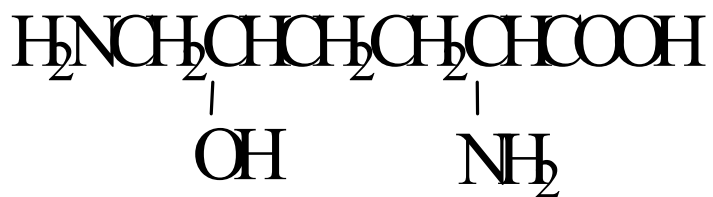


4. 几种重要的不常见氨基酸

在少数蛋白质中分离出一些不常见的氨基酸，通常称为不常见蛋白质氨基酸。这些氨基酸都是由相应的基本氨基酸衍生而来的。其中重要的有4-羟基脯氨酸、5-羟基赖氨酸、N-甲基赖氨酸、和3,5-二碘酪氨酸等。这些不常见蛋白质氨基酸的结构如下



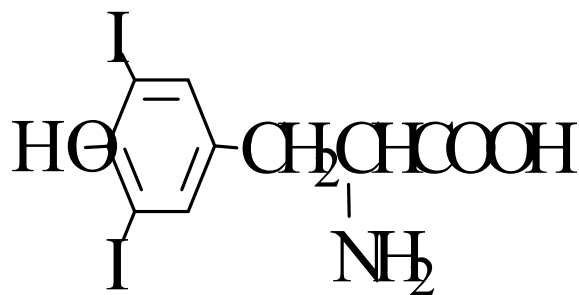
4-羟基脯氨酸



5-羟基赖氨酸



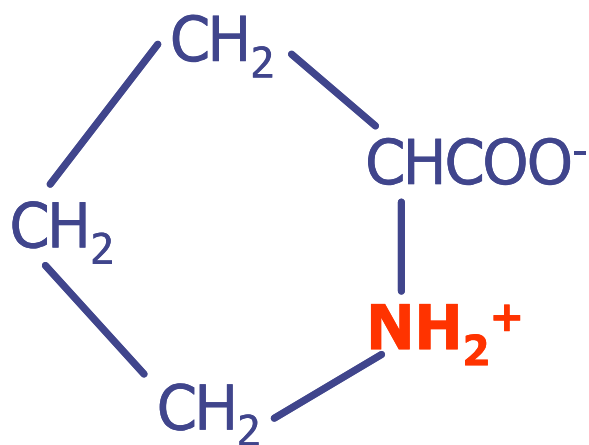
6-N-甲基赖氨酸



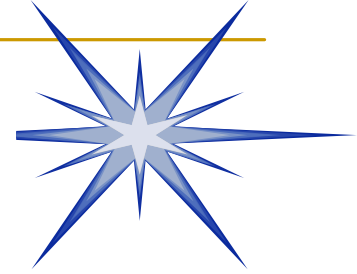
3,5-二碘酪氨酸

几种特殊氨基酸

- 脯氨酸
(亚氨基酸)



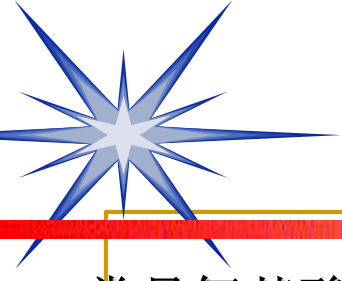
小结



- 蛋白质基本结构单位：L- α -氨基酸
- α -氨基酸：脯氨酸（亚氨基酸）除外
- L-氨基酸：甘氨酸（无不对称C）除外
- 氨基酸结构通式：RCH(NH₂)COOH
- 常见20种氨基酸种类：20种

五、氨基酸的理化性质

1. 氨基酸的一般物理
 2. 氨基酸的光谱特性
 3. 氨基酸的酸碱性质
 4. 氨基酸的化学反应
-



1. 氨基酸的一般物理性质

常见氨基酸均为无色结晶，每种都有特殊结晶形状，可据此鉴别各种氨基酸

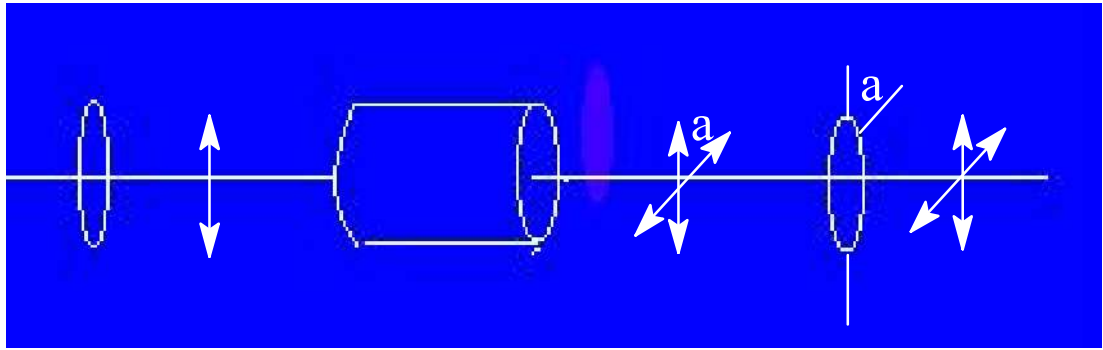
- (1) 溶解性：各种氨基酸在水中的溶解度差别很大，并能溶解于稀酸或稀碱中，但不能溶解于有机溶剂。通常酒精能把氨基酸从其溶液中沉淀析出。
- (2) 熔点：氨基酸的熔点极高，一般在**200℃**以上。
- (3) 味感：其味随不同氨基酸有所不同，有的无味、有的为甜、有的味苦，谷氨酸的单钠盐有鲜味，是味精的主要成分。

- Gly;Ala;Thr;Ser具甜味
- Asp;Asn;Glu为酸味
- Val;Leu;Met;Phe为苦味
- Asp及Glu的单钠盐为鲜味
- 味精为Glu的 α -羧基生成的钠盐, 如果两个羧基均被NaOH中和生成的谷氨酸二钠盐便失去了鲜味



2. 氨基酸的光谱特性

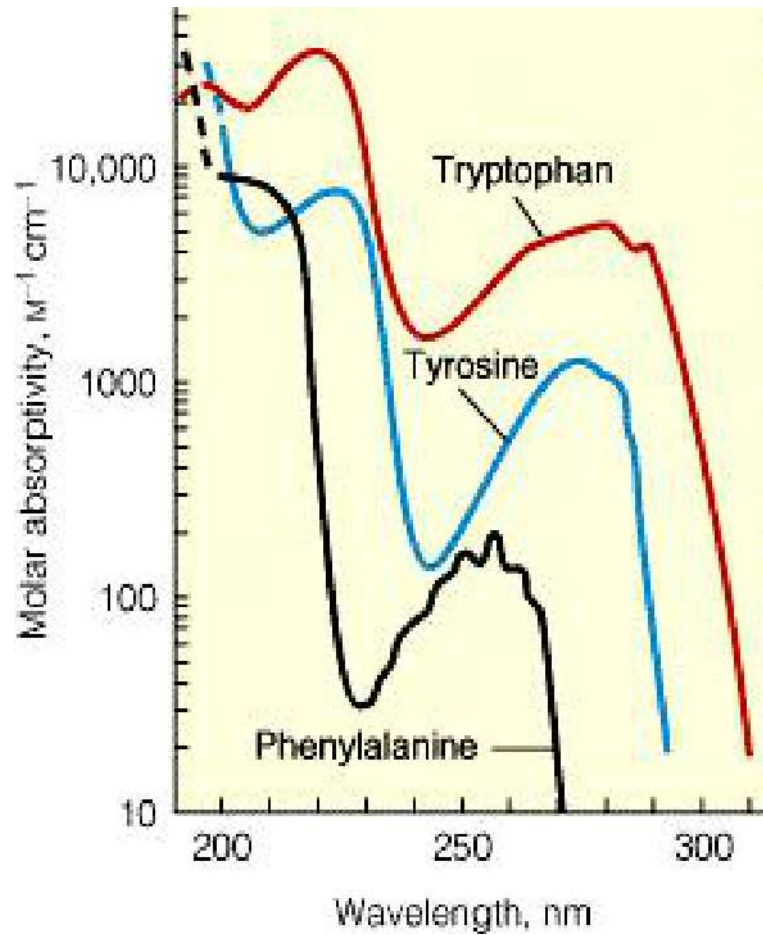
(1) . 旋光性：除甘氨酸外，氨基酸都具有旋光性，能使偏振光平面向左或向右旋转，左旋者通常用 (-) 表示，右旋者用 (+) 表示。

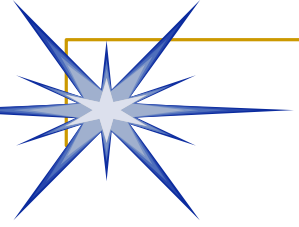


-
2. 光吸收：构成蛋白质的**20种氨基酸**在可见光区都没有光吸收，但在远紫外区(**<220nm**)均有光吸收。在近紫外区(**220-300nm**)只有酪氨酸、苯丙氨酸和色氨酸有吸收光的能力。

三种氨基酸之所以有紫外吸收性质：Trp、Tyr和Phe含共轭双键苯环，在 280nm处有最大吸收峰。蛋白质由于含有这些氨基酸也有紫外吸收能力，利用此特点可用分光光度法测定蛋白质的含量也可粗略估计核酸中蛋白质污染程度($A_{260}/A_{280} < 1.7$)

- 酪氨酸的 λ_{\max} = 275nm,
 $\epsilon_{275} = 1.4 \times 10^3$;
- 苯丙氨酸的 λ_{\max} = 257nm,
 $\epsilon_{257} = 2.0 \times 10^2$;
- 色氨酸的 λ_{\max} = 280nm,
 $\epsilon_{280} = 5.6 \times 10^3$;



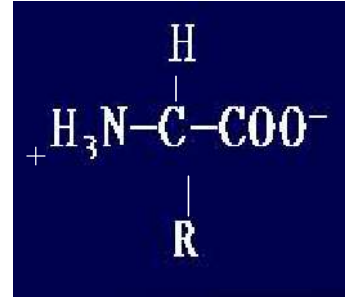


3. 氨基酸的酸碱性质

氨基酸在水溶液和晶体中是以何种方式存在？ 中性或是离子形式？

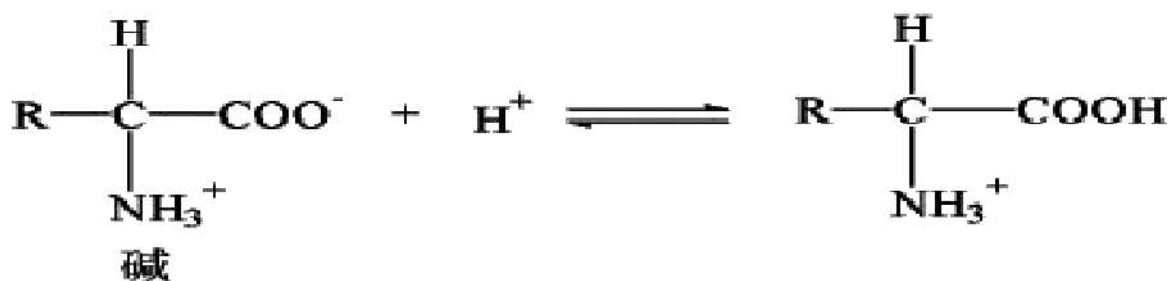
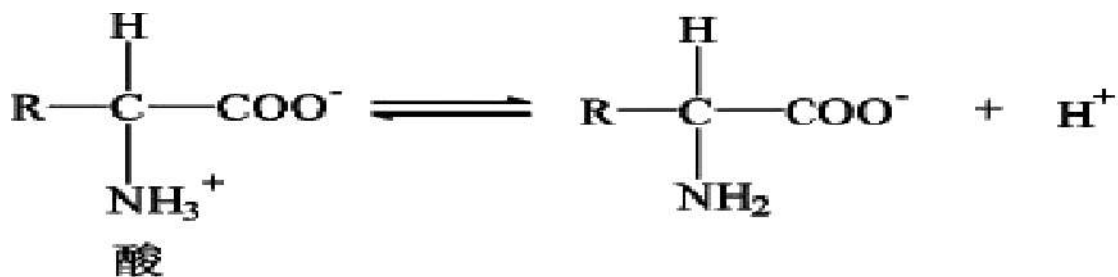
3.1 氨基酸 (AA) 的两性解离

- 两性解离 (兼性离子) 的存在形式依据：
 - 过去认为AA不解离，在晶体和水溶液时以中性分子形式存在，但如下矛盾难以解释
 - AA晶体熔点很高 200摄氏度以上
 - AA能使水的介电常数增高，而乙醇、丙酮等却使水的介电常数降低
 - 解释：
 - AA在晶体或水中以兼性离子的形式存在
 - 作用力：强大异性电荷之间的静电吸引
 - 晶格之间为静电引力(离子晶体)>范德华力(分子晶体)，晶体熔点高
 - 两性离子形式的AA是强极性分子，增大了水的介电常数

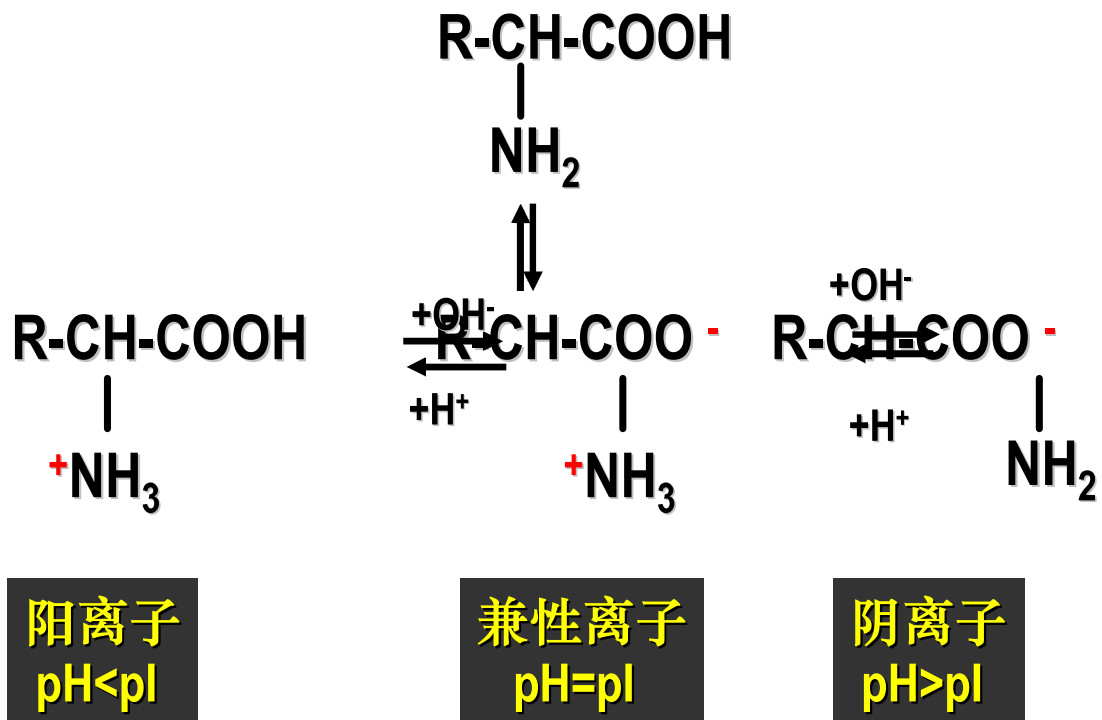


3.2 氨基酸的两性解离式

- AA在水中既起酸（质子供体）的作用，又起碱（质子受体）的作用



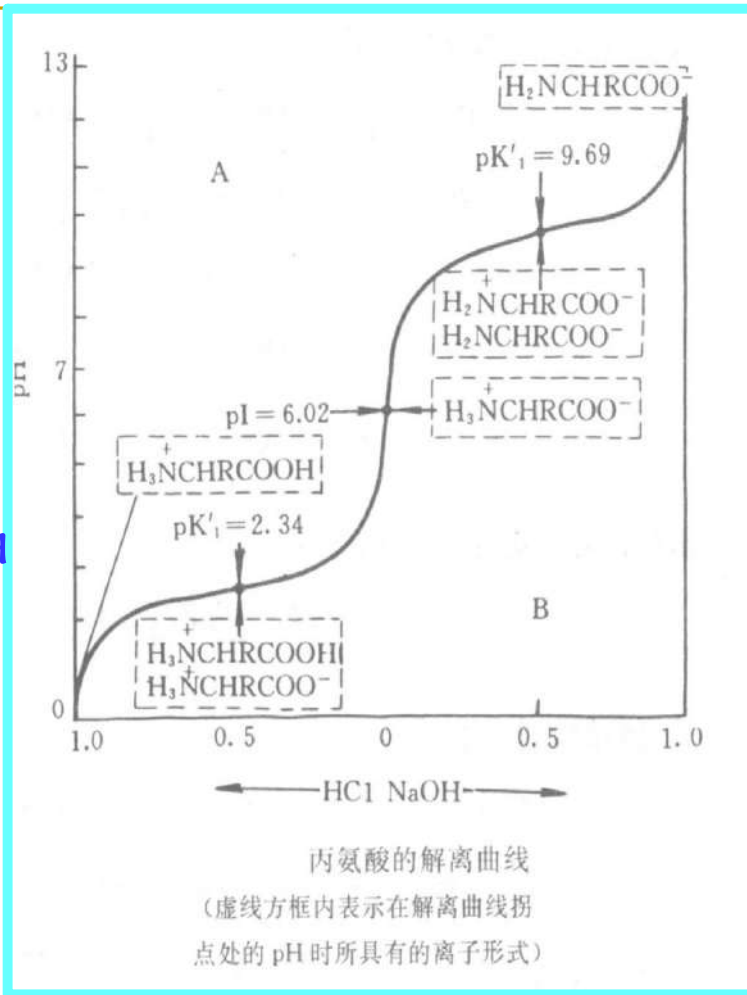
所以，AA是两性电解质



- 在不同的pH条件下，两性离子的状态也随之发生变化
 通过改变溶液的pH可使氨基酸分子的解离状态发生改变。

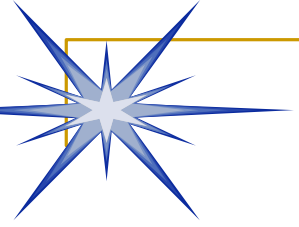
-
- 因此在AA溶于水时，其正负离子的解离度与溶液的pH值有关
 - 当溶液pH增大（向溶液中加碱）时，AA释放出质子（ H^+ ）与 OH^- 结合成 H_2O ，本身带负电荷，在电场中向阳极移动；
 - 当溶液pH减小（向溶液中加酸）时，AA接受 H^+ 而带正电荷，在电场中向阴极移动
-

pK_1 是 AA 的 $-COO^-$ 被滴定一半时的 pH (COO⁻ 结合 H⁺)



pK_2 是 AA 的 $-NH_3^+$ 被滴定一半时的 pH (NH_3^+ 释放 H⁺)

氨基酸的解离曲线



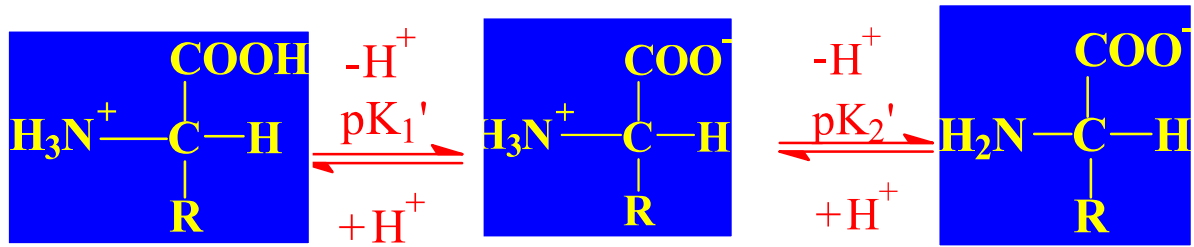
3.3 氨基酸的酸碱性质小结

- (1)、氨基酸在结晶形态或在水溶液中，并不是以游离的羧基或氨基形式存在，而是离解成两性离子。在两性离子中，氨基是以质子化($-\text{NH}_3^+$)形式存在，羧基是以离解状态($-\text{COO}^-$)存在。
- (2)、两性离子：在同一个氨基酸分子上带有能放出质子的($-\text{NH}_3^+$)正离子和接受质子($-\text{COO}^-$)负离子，因此，氨基酸是两性电解质。
- (3)、在不同的pH条件下，两性离子的状态也随之发生变化



3.4 氨基酸的等电点

当氨基酸溶液在某一定pH值时，使某特定氨基酸分子上的 -NH_3^+ 和 -COO^- 解离度完全相同，氨基酸所带净电荷为零，成为两性离子，在电场中既不向阳极也不向阴极移动，此时溶液的pH值即为该氨基酸的等电点，用pI表示



等电点 (pI) 时溶解度最小——利用此性质可分离制备某些氨基酸

● 等电点公式推导 (AA全部质子化时的解离情况)

● 以Ala为例推导(中性AA)



K_1 、 K_2 为解离常数，则有：

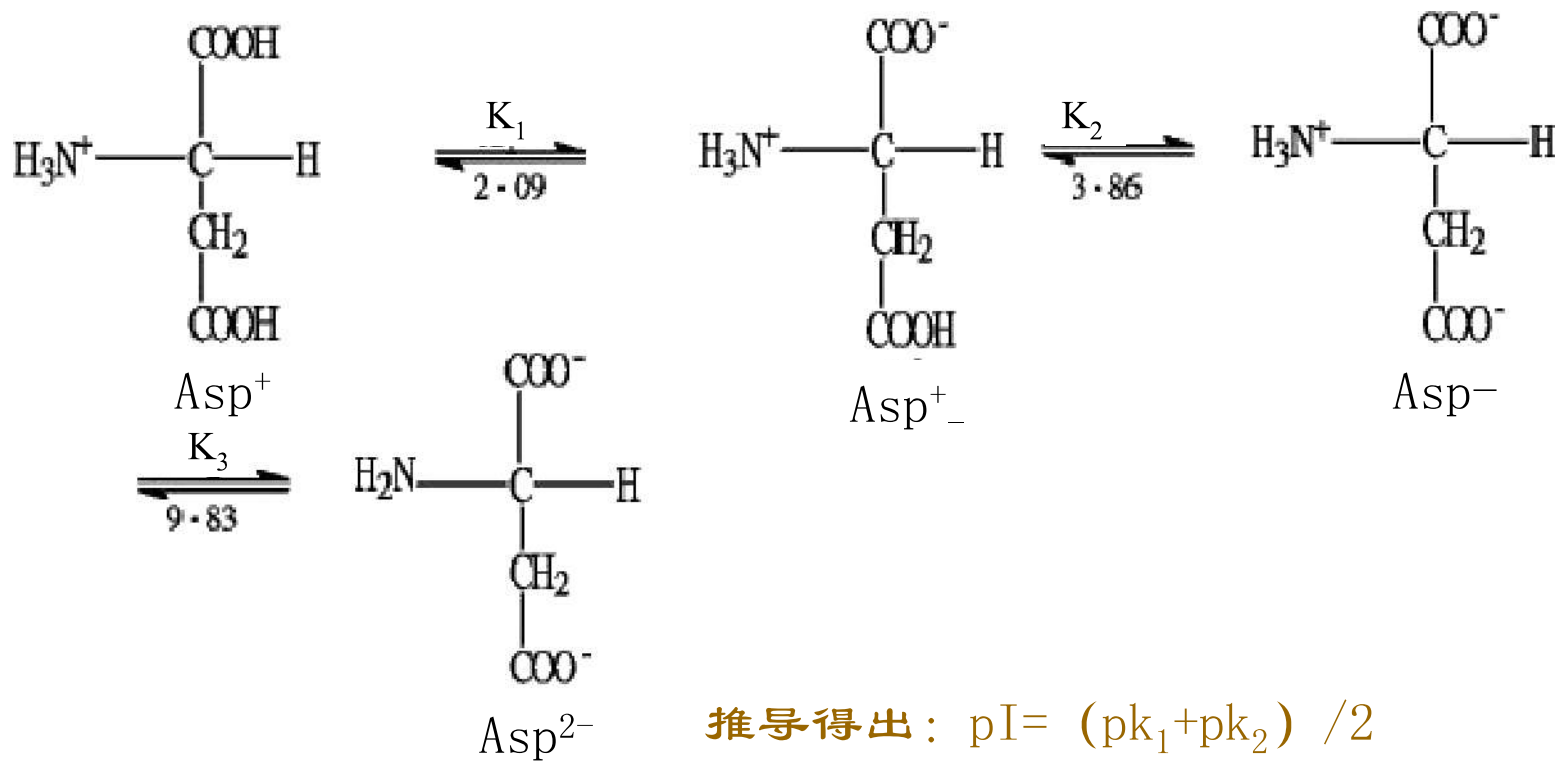
$$K_1 = \frac{[\text{Ala}^{\pm}] [\text{H}^+]}{[\text{Ala}^+]}$$

$$K_2 = \frac{[\text{Ala}^-] [\text{H}^+]}{[\text{Ala}^{\pm}]}$$

推导得出： $\text{pI} = (\text{pk}_1 + \text{pk}_2) / 2$

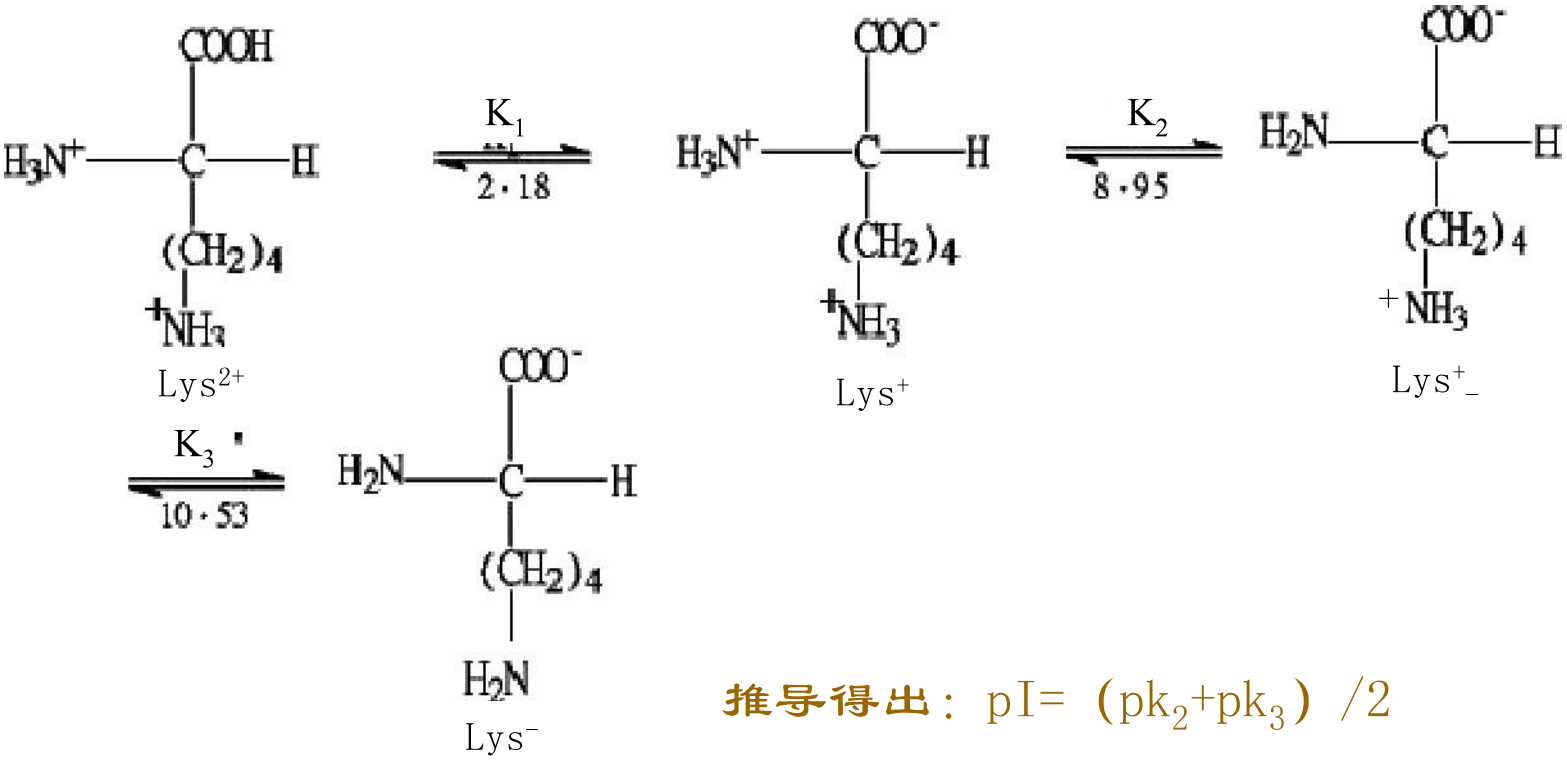
以Asp为例推导(酸性AA)

Asp的解离情况如下：



推导得出：pI = (pk₁ + pk₂) / 2

■ 以Lys为例推导(碱性AA)



推导得出: $pI = (pk_2 + pk_3) / 2$

- 侧链不含离解基团的中性氨基酸，其等电点是它的 **pK'1** 和 **pK'2** 的算术平均值。同样，对于侧链含有可解离基团的氨基酸，其 **pI** 值也决定于两性离子两边的 **pK'** 值的算术平均值。

- 中性氨基酸: $pI = (pK_1 + pK_2) / 2$
- 酸性氨基酸: $pI = (pK_1 + pK_{R-COO^-}) / 2$
- 碱性氨基酸: $pI = (pK_2 + pK_{R-NH_2}) / 2$

pH > pI 氨基酸带净负电荷;

pH < pI 氨基酸带净正电荷;

pH = pI 氨基酸所带净电荷为零;

结论

- 1. 等电点pI值相当于该AA的两性解离状态两侧基团pK值之和的一半
 - 2. 羧基的解离度大于氨基，故有：
 - 含有一个羧基一个氨基的AA的pI值在6.0左右，微酸；
 - 含有两个羧基一个氨基的AA的pI值较小，偏酸；（酸性AA）
 - 含有一个羧基两个氨基的AA的pI值较大，偏碱；（碱性AA）
-

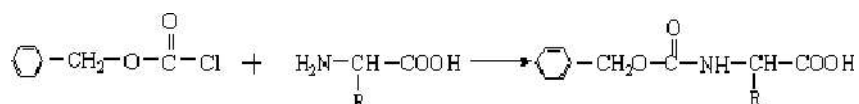
4.3 氨基酸的化学性质

氨基酸的化学反应主要靠它的 α -羧基、 α -氨基和侧链上的官能团参加的反应，所有氨基酸的 α -羧基和 α -氨基的化学反应相似，但有不同侧链官能团的化学反应不同。

(一) α -羧基参加的反应：成酯、成酰氯和成酰胺

(二) α -氨基参加的反应：

1、被酰氯或酸酐酰化：在蛋白质人工合成中保护氨基。

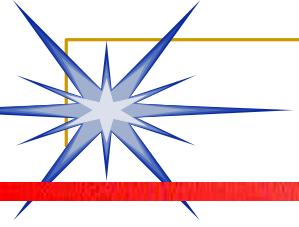


2、与醛反应形成西佛碱：西佛碱是某些酶促反应的中间产物

3、氨基的烃基化

(三) α -氨基和 α -羧基参加的反应：茚三酮反应

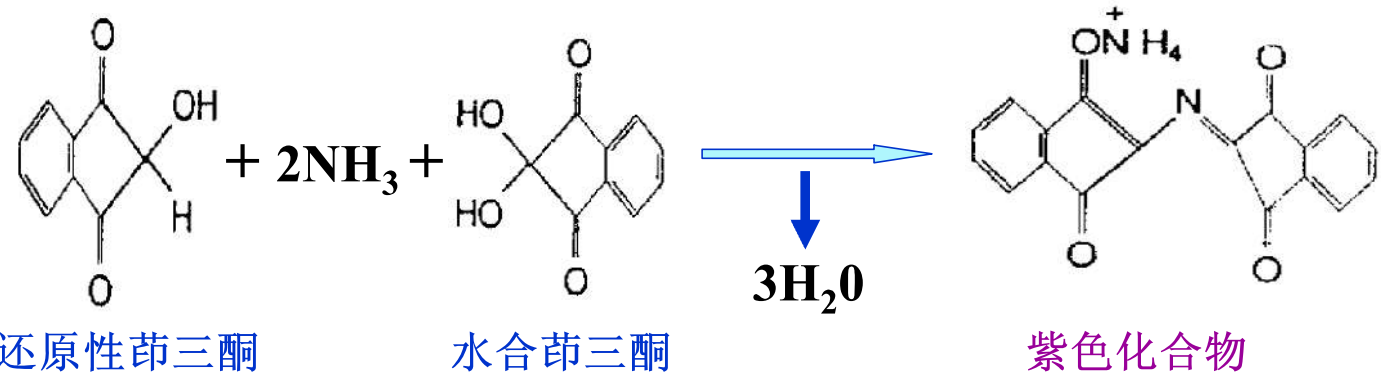
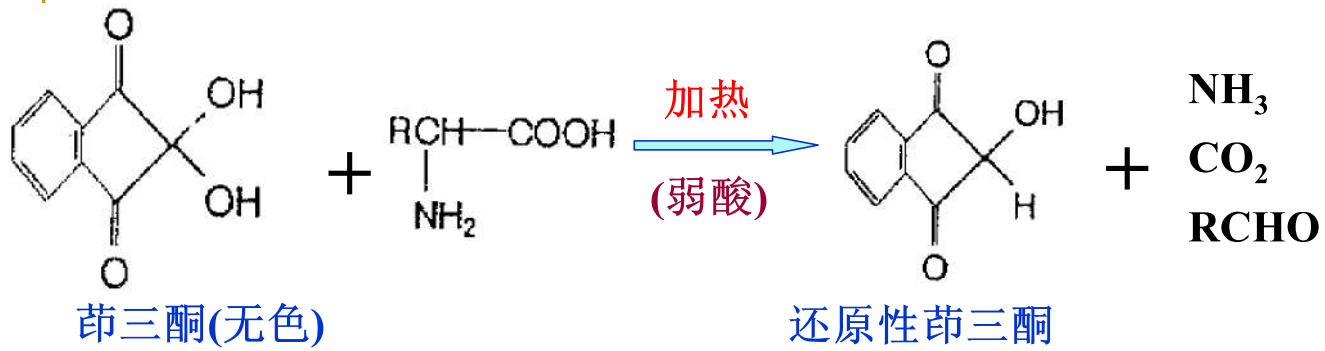
(四) 侧链基团的特异反应



氨基酸的主要化学性质

- (1) 茚三酮反应
 - (2) 甲醛反应
 - (3) 与2,4-二硝基氟苯 (DNFB) 反应 (Sanger 反应)
 - (4) 与异硫氰酸苯酯 (PITC) 的反应 (Edman 反应)
 - (5) 与5,5'-双巯基-双(2-硝基苯甲酸)反应
-

(1)、氨基酸与茛三酮反应 (颜色反应)



- 氨基酸与水合茛三酮共热，发生氧化脱氨反应，生成 **NH_3** 与醛。水合茛三酮变为还原型茛三酮。
- 加热过程中酮酸裂解，放出 **CO_2** ，自身变为少一个碳的醛。水合茛三酮变为还原型茛三酮。
- **NH_3** 与水合茛三酮及还原型茛三酮脱水缩合，生成蓝紫色化合物。



(1) 茚三酮反应

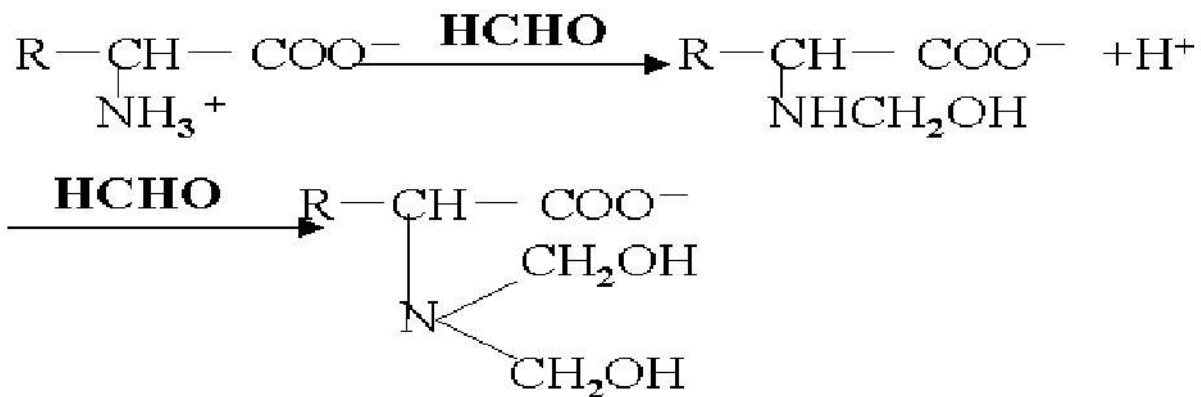
■ 反应特点

- A. 该反应由 NH_2 与 COOH 共同参与
- B. 茚三酮是强氧化剂
- C. 该反应非常灵敏，可在570nm测定吸光值（蓝色产物在570nm处有最大光吸收值）
- D. 测定范围：0.5~50 $\mu\text{g}/\text{ml}$
- E. 脯氨酸与茚三酮直接生成黄色物质（不释放 NH_3 ），在440nm有最大光吸收值。

应用：

- A. 在AA纸层析中用茚三酮作呈色剂
 - B. 氨基酸自动分析仪
 - C. 可根据此反应的灵敏度分析出肽链长短（越长则反应越不灵敏）
-

(2)与甲醛反应



■ 反应特点

A.为 α - NH_2 的反应

B.在常温，中性条件，甲醛与 α - NH_2 很快反应，生成羟甲基衍生物，释放氢离子。

■ 应用：氨基酸定量分析—甲醛滴定法（间接滴定）

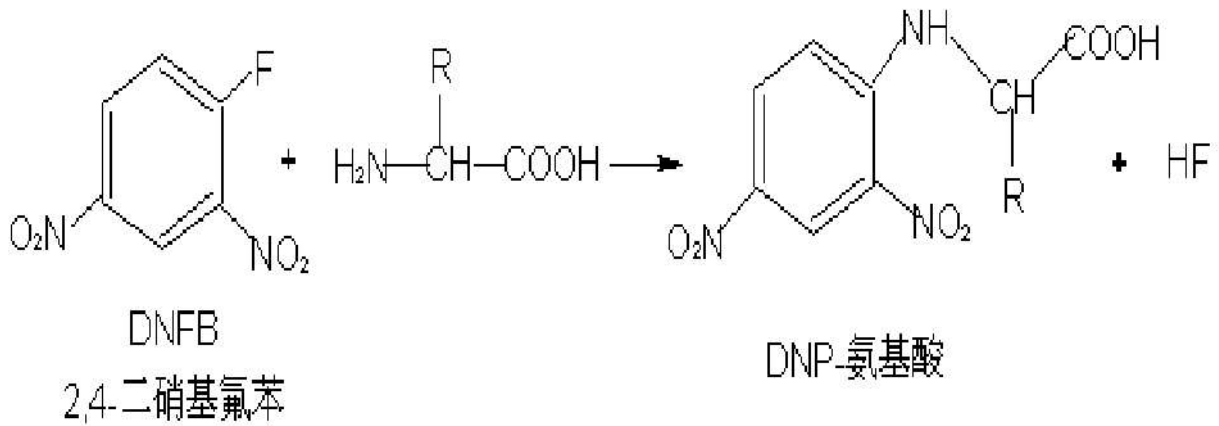
A.直接滴定，终点pH过高（12），没有适当指示剂。

B.与甲醛反应，滴定终点在9左右，可用酚酞作指示剂。

C.释放一个氢离子，相当于一个氨基（摩尔比1：1）

D.简单快速，一般用于测定蛋白质的水解速度。

(3) 与2,4-二硝基氟苯 (DNFB) 反应 (Sanger 反应)



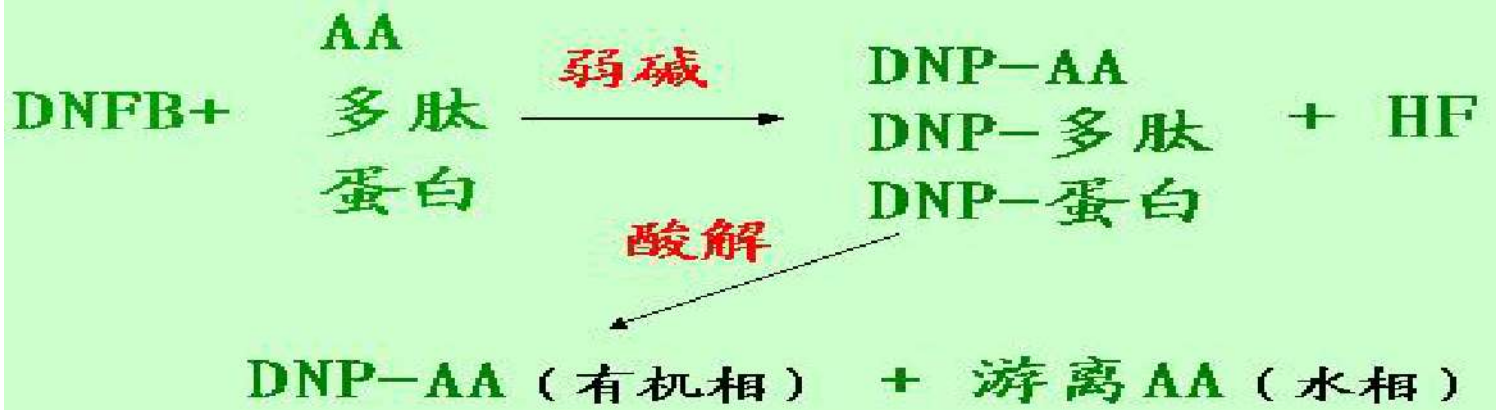
■ 反应特点

A. 为 α - NH_2 的反应

B. 氨基酸 α - NH_2 的一个 **H** 原子可被烃基取代(卤代烃)

C. 在弱碱性条件下，与 **DNFB** 发生芳环取代，生成黄色的二硝基苯氨基酸

■ 意义:



用途: 可以用来鉴定多肽或蛋白质NH₂末端氨基酸. 亦称Sanger反应

DNP-AA呈黄色, 多肽和蛋白质N'末端的AA也可以与之形成DNP-多肽或DNP-Pr, 之后使该多肽或蛋白质水解, 酰胺键断裂, 而DNP-AA键不断裂, 可以用**乙醚**将其抽提出来 (DNP-AA与其它AA在有机溶剂中溶解度不同), 进行纸层析, 根据在纸上黄色斑点的位置可鉴定N'末端的AA的种类



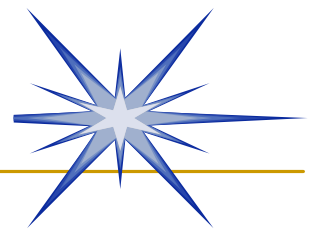
★首先由**Sanger**应用，确定了胰岛素的一级结构

A.肽分子与**DNFB**反应，得**DNP-肽**

B.水解**DNP-肽**，得**DNP-N端氨基酸**及其他游离氨基酸

C.分离**DNP-氨基酸**

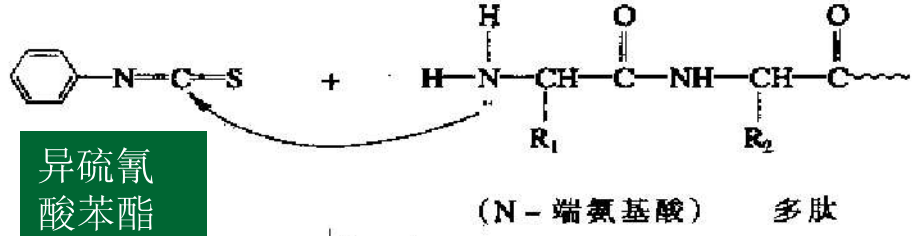
D.层析法定性**DNP-氨基酸**，得出**N端氨基酸**的种类、数目



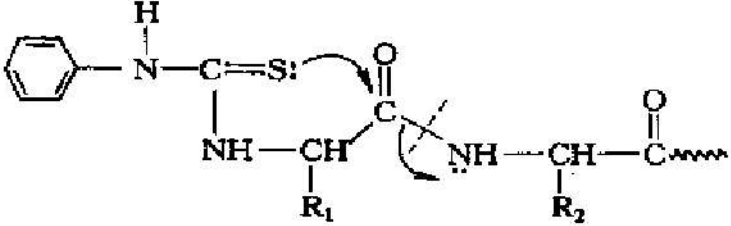
(4) 与异硫氰酸苯酯（PITC）的反应

- 由Edman于1950年首先提出
- 为 α - NH₂ 的反应
- 用于N末端分析，又称Edman降解法

Edman（异硫氰酸苯酯法）氨基酸顺序分析法实际上也是一种**N**-端分析法。此法的特点是能够不断重复循环，将肽链**N**-端氨基酸残基逐一进行标记和解离。



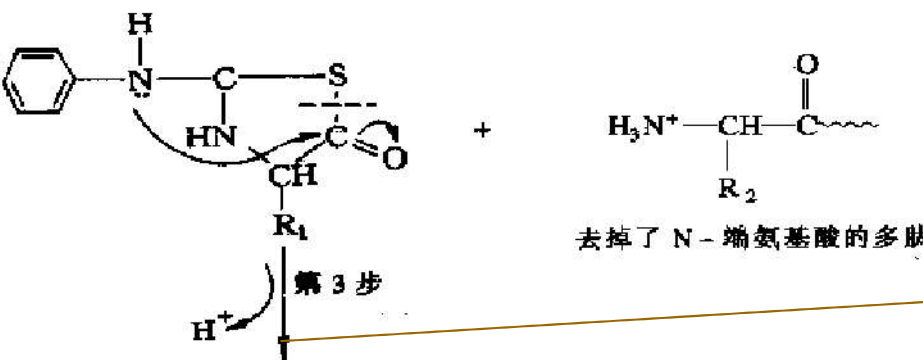
第1步



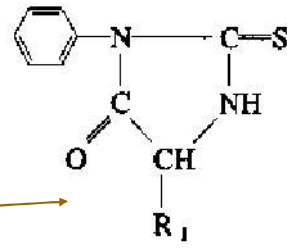
PTC-多肽

第2步

苯氨基硫甲酰多肽



第3步

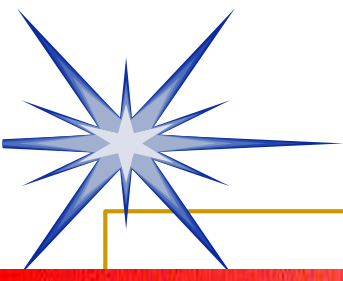


PTH-氨基酸

PTC = phenylisothiocyanate(异硫氰酸苯酯)

PTH = phenylthiohydantoin(苯乙内酰硫脲)

- 肽链 (N端氨基酸) 与PITC偶联, 生成PTC-肽
- 环化断裂: 最靠近PTC基的肽键断裂, 生成PTC-氨基酸和少一残基的肽链, 同时PTC-氨基酸环化生成PTH-氨基酸
- 分离PTH-氨基酸
- 层析法鉴定



(5) 与5,5'-双巯基-双(2-硝基苯甲酸)反应

- SH的反应
 - 测定细胞游离-SH的含量
-

【掌握】

蛋白质的化学组成和分类； α -氨基酸的一般结构；氨基酸的酸碱性质；氨基酸的化学反应；氨基酸的旋光性和光谱性质。

。

【熟悉】

氨基酸的分类。

【了解】

氨基酸的水解；氨基酸混合物的分离。
