

# 第三章

# 氨基酸



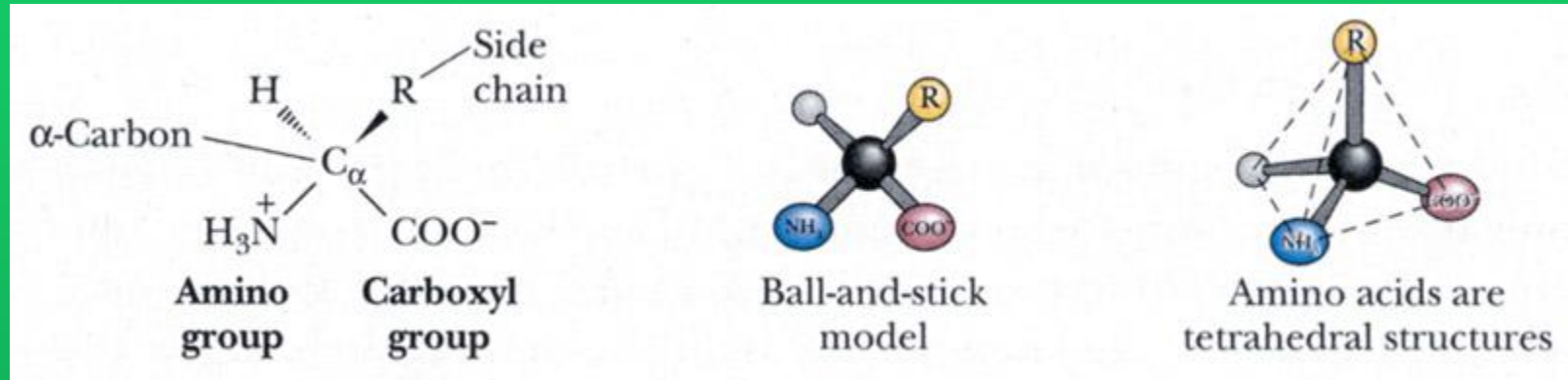
The mirror of Venus (1898)

If the Venus in the mirror come out and lives  
in our world..... 专肽生物www.allpeptide.com

- ◆ 蛋白质是生命的表征,氨基酸是蛋白质的构件分子。
- ◆ 蛋白质在结构和功能上惊人的多样性归根结底是由20种常见氨基酸的内在性质决定的。
- ◆ 这些性质包括: 1) 手性, 2) 侧链结构及其化学功能的多样性, 3) 特有的酸碱性质, 4) 聚合能力。

- 1.1 氨基酸的一般结构
- 1.2 氨基酸的分类
- 1.3 氨基酸的酸碱化学
- 1.4 氨基酸的特征化学反应
- 1.5 氨基酸的光学活性和光谱性质
- 1.6 氨基酸混合物的分离分析

# 1.1 氨基酸的一般结构



- ◆ 特征： $\alpha$ -碳（与羧酸相邻的碳， $C_{\alpha}$ ）上都有一个氨基（ **$\alpha$ -氨基酸**），此外， $C_{\alpha}$  还结合着一个H原子和一个侧链基团(R)
- ◆ 每一种氨基酸的R都是不同的，侧链上的碳依次按字母命名为 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ 和 $\epsilon$ 碳，分别指的是第3，4，5和6位碳

生理条件下（pH=7附近），氨基酸呈兼性离子形式。

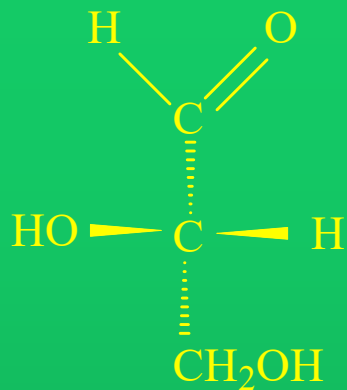


氨基（-NH<sub>2</sub>）质子化为-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>

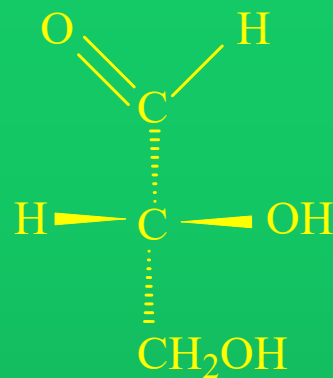
羧基（-COOH）离子化为COO<sup>-</sup>

# 绝大多数氨基酸是L型氨基酸

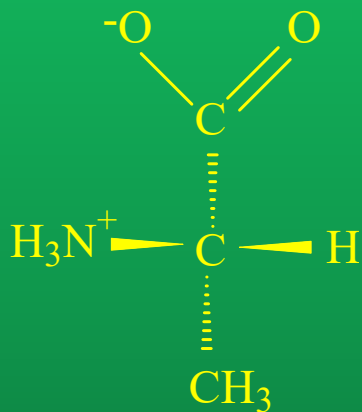
- ◆  $\alpha$ -氨基酸除R为H（甘氨酸）外，其 $\alpha$ -碳原子是一个手性碳原子，具有旋光性，存在着两种不能叠合的镜像立体异构体。
- ◆ 将 $\alpha$ -COO<sup>-</sup>画在顶端，垂直画一个氨基酸，然后与立体化学参考化合物甘油醛相比较， $\alpha$ -氨基位于 $\alpha$ -碳左边的为L-异构体，位于右边的为D-异构体。
- ◆ 绝大多数氨基酸是L-型氨基酸，近年来，D-型氨基酸在哺乳动物生命活动中的意义引起了越来越多的关注。



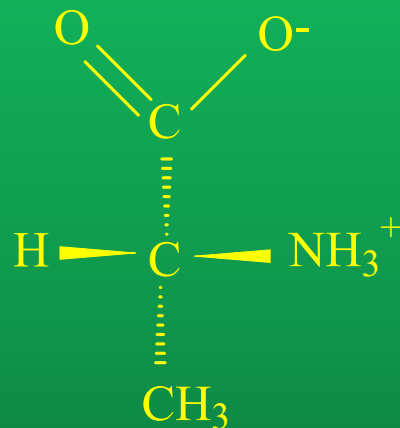
L-甘油醛



D-甘油醛



L-丙氨酸



D-丙氨酸

# 1.2 氨基酸的分类

## ◆ 1.2.1、氨基酸的表示方法：

中文名，如甘氨酸、半胱氨酸等。

三字母简写：如Gly、Cys等。

单字母简写：如G、C等。



# 记忆技巧（按字母顺序记忆）

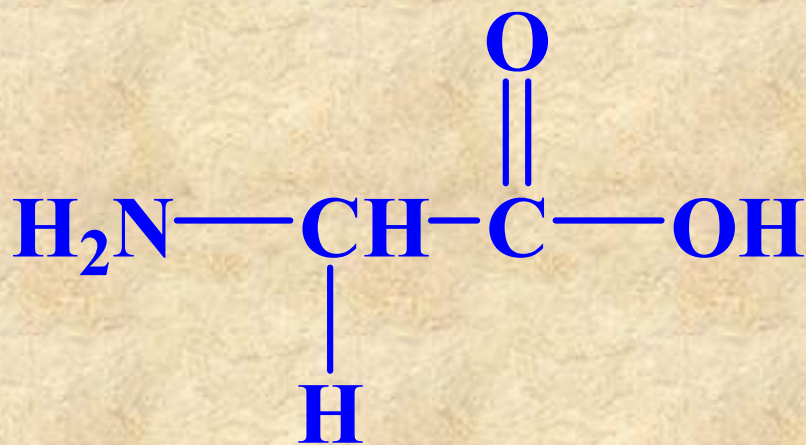
◆ Ala	Arg	Asp	Asn	
丙	精	天	天酰	
Cys	Glu	Gln	Gly	
半	谷	谷酰	甘	
His	Ile	Leu	Lys	
组	异亮	亮	赖	
Met	Phe	Pro		
甲硫	苯丙	脯		
Ser	Thr	Trp	Tyr	Val
丝	苏	色	酪	缬

## 1.2.2、 20种氨基酸可按其侧链分类

- ◆ 氨基酸的侧链可以按照它们的化学结构分为三类，即：脂肪族氨基酸；芳香族氨基酸；杂环氨基酸。

# 一、脂肪族氨基酸（中性）

甘氨酸 **Glycine**



**G**

（ $\alpha$ -氨基乙酸）

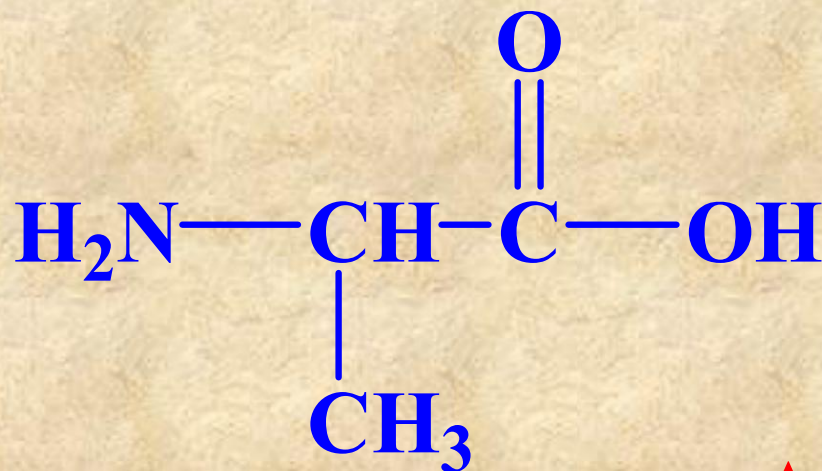
# 一、脂肪族氨基酸（中性）

甘氨酸

Glycine

丙氨酸

**Alanine**



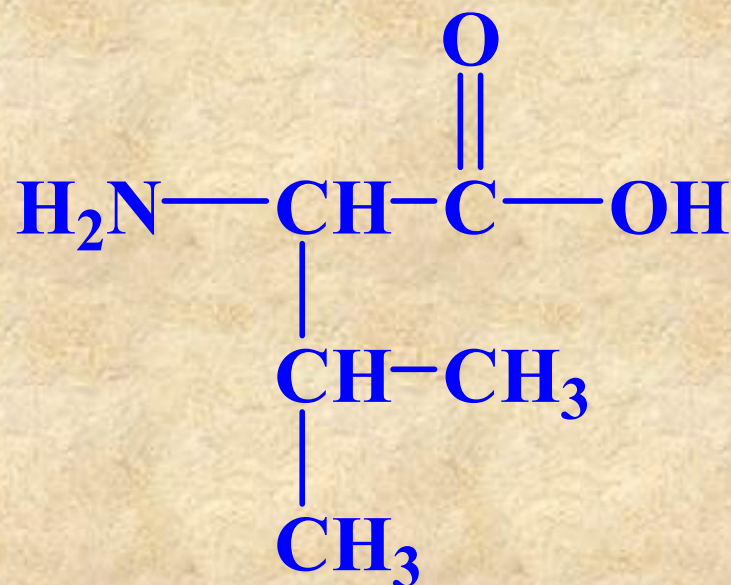
(α-氨基丙酸)

# 一、脂肪族氨基酸（中性）

甘氨酸      Glycine

丙氨酸      Alanine

缬氨酸      **Valine**



**V**

（ α - 氨基 - β - 甲基丁酸 ）

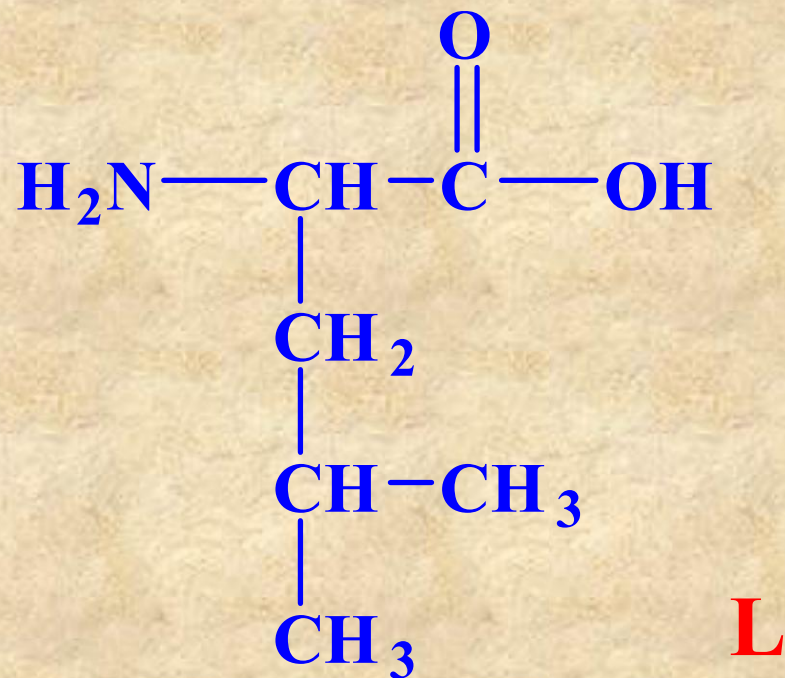
# 一、脂肪族氨基酸（中性）

甘氨酸      Glycine

丙氨酸      Alanine

缬氨酸      Valine

亮氨酸      **Leucine**



（ α - 氨基 - γ - 甲基戊酸 ）

# 一、脂肪族氨基酸（中性）

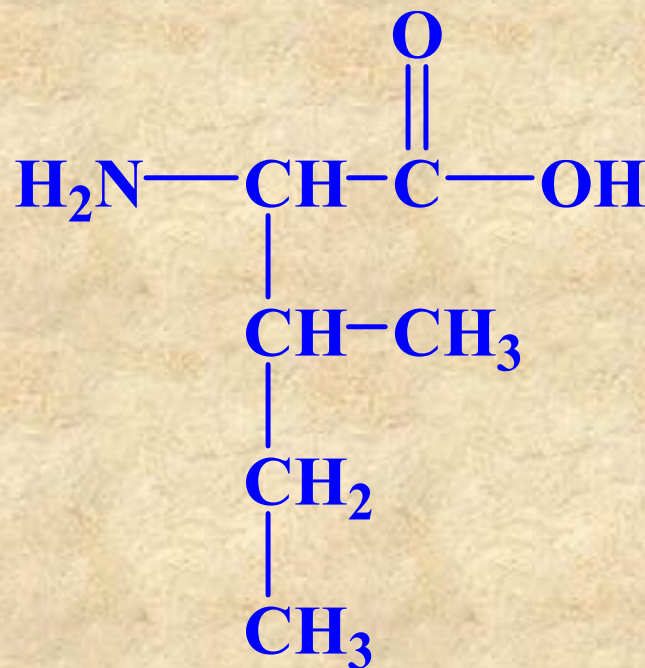
甘氨酸 Glycine

丙氨酸 Alanine

缬氨酸 Valine

亮氨酸 Leucine

异亮氨酸 **I**leucine



( α - 氨基 - β - 甲基戊酸 )



## 注意：

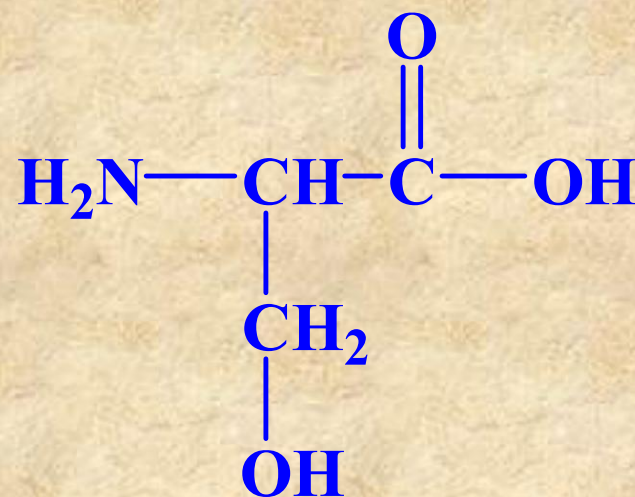
- ◆ 甘氨酸是唯一不含手性碳原子的氨基酸，因此不具旋光性。
- ◆ 异亮氨酸分子中的 $\alpha$ 碳和 $\beta$ 碳都是不对称碳原子，所以异亮氨酸具有四种可能的异构体：L-异亮氨酸、D-异亮氨酸、L-别构异亮氨酸和D-别构异亮氨酸。通常出现在蛋白质中的为L-异亮氨酸。
- ◆ 丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸的侧链具有高度疏水性，在维持蛋白质的三维结构中起重要作用。



# 一、脂肪族氨基酸（含羟基或硫）

丝氨酸

**Serine**



（ α - 氨基 - β - 羟基丙酸 ）

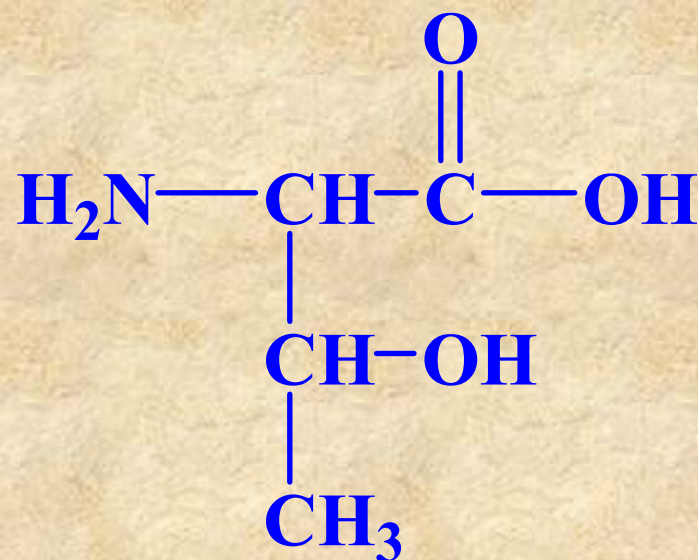
# 一、脂肪族氨基酸（含羟基或硫）

丝氨酸

Serine

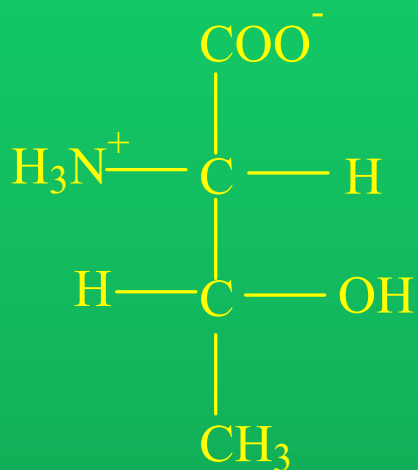
苏氨酸

**Threonine**

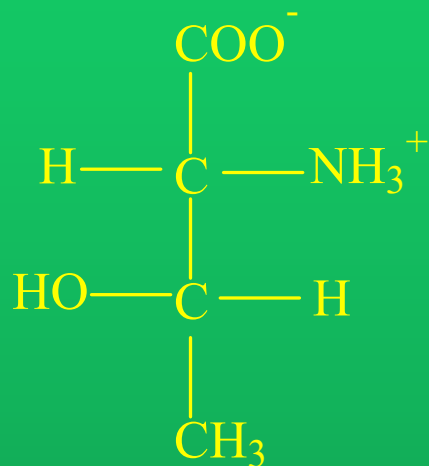


**T**

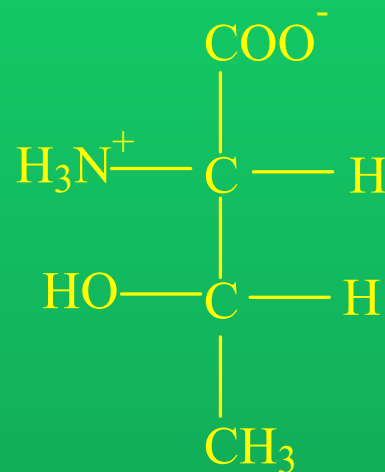
（ α - 氨基 - β - 羟基丁酸 ）



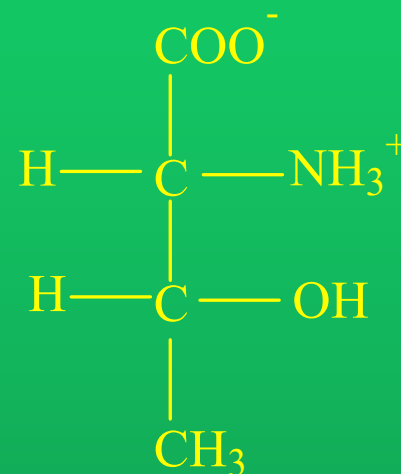
**L-Threonine**



**D-Threonine**



**L-*allo*-  
Threonine**



**D-*allo*-  
Threonine**

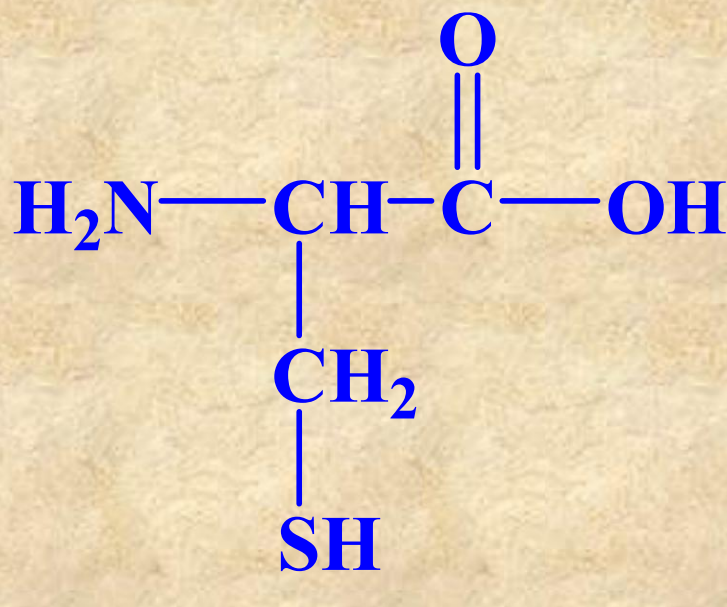
## 苏氨酸的光学异构体

# 一、脂肪族氨基酸（含羟基或硫）

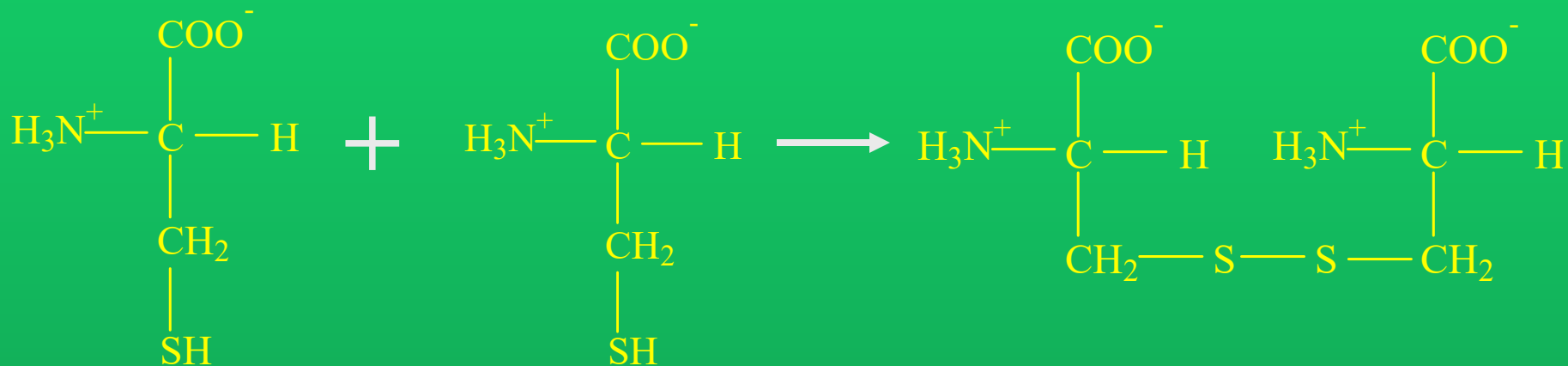
丝氨酸 Serine

苏氨酸 Threonine

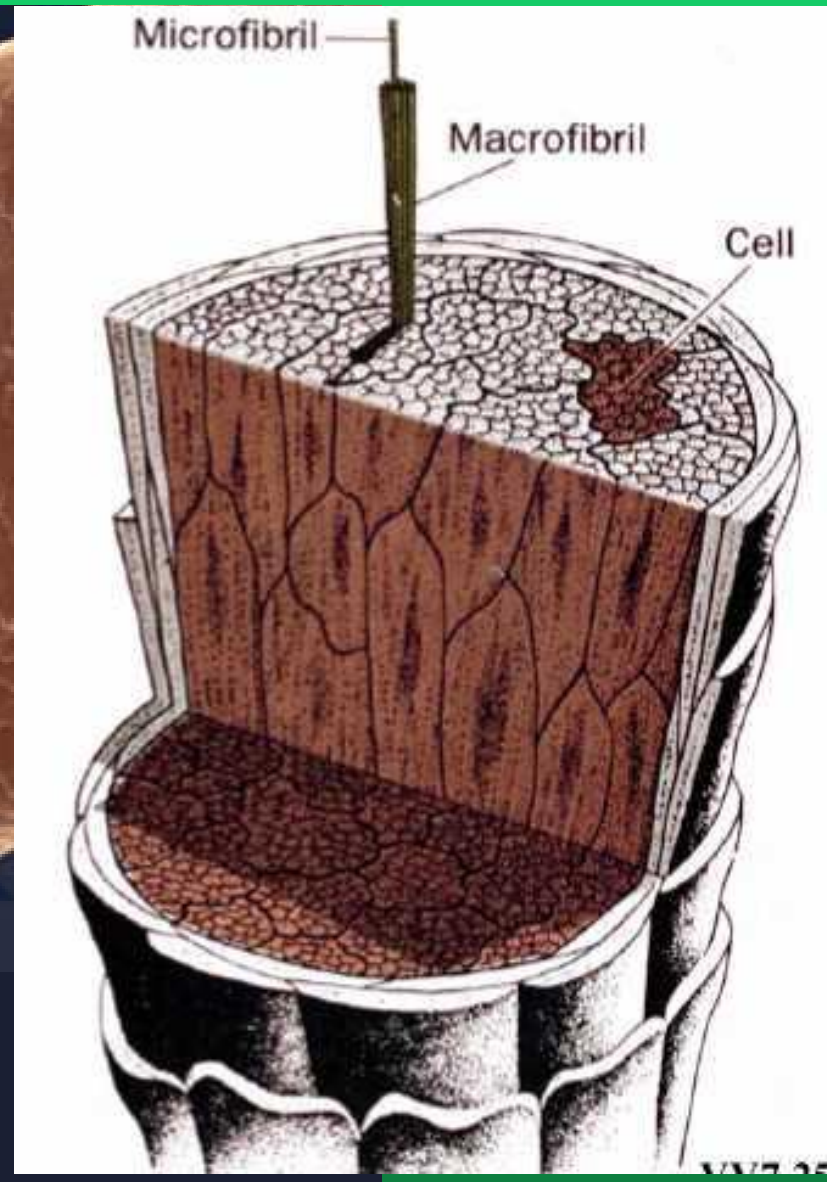
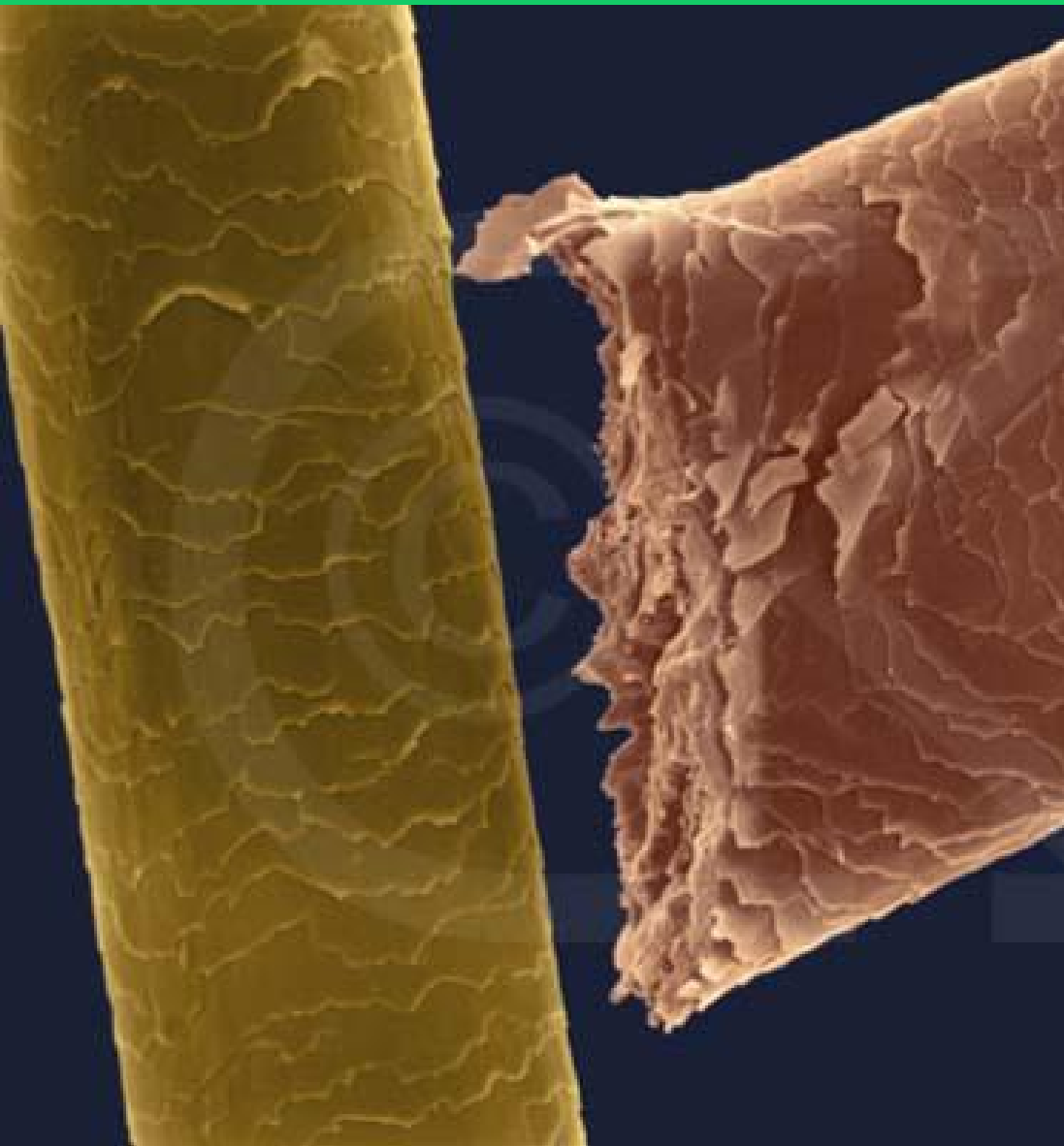
半胱氨酸 Cysteine



（ α - 氨基 - β - 巯基丙酸 ）

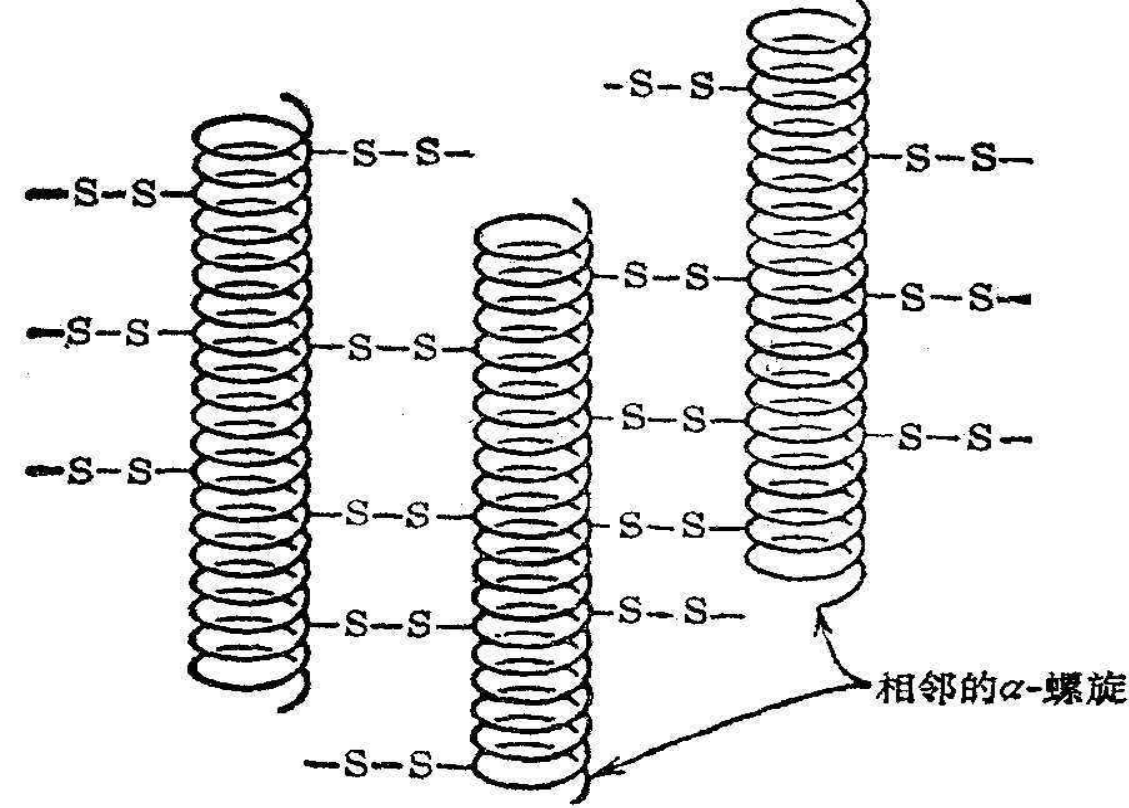


两个半胱氨酸氧化可生成胱氨酸



人头发的电子显微镜照片与模型 肽生物www.allpeptide.com

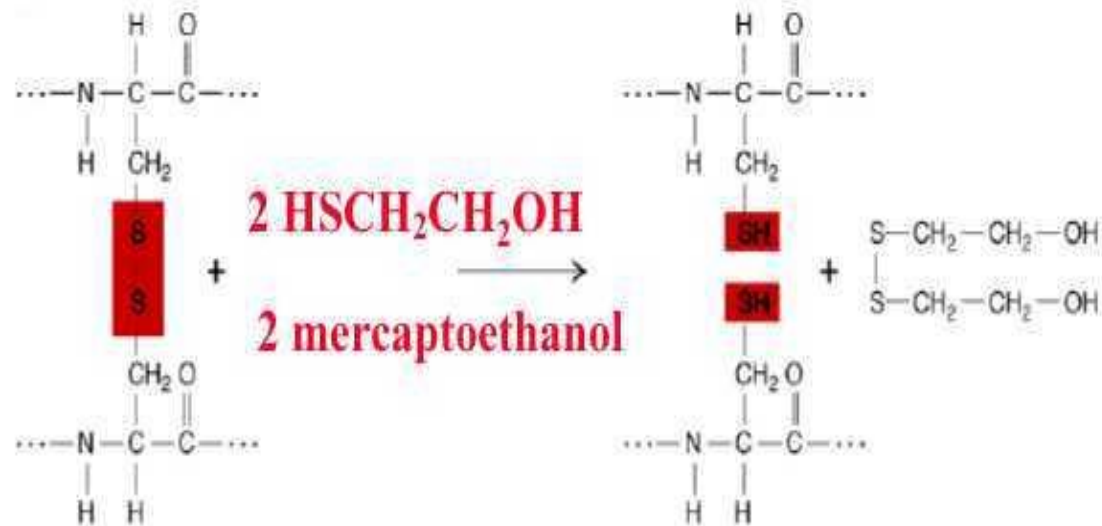




烫发过程:

1、加还原剂（巯基乙醇）打开二硫键。

2、加氧化剂（双氧水）重新生成错位二硫键。



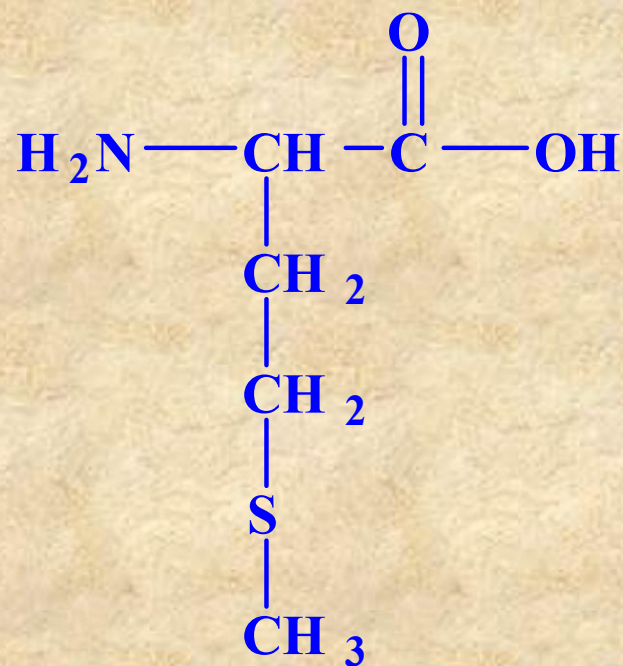
# 一、脂肪族氨基酸（含羟基或硫）

丝氨酸 Serine

苏氨酸 Threonine

半胱氨酸 Cysteine

甲硫氨酸 **Methionine**



（ α - 氨基 - γ - 甲硫基丁酸 ）

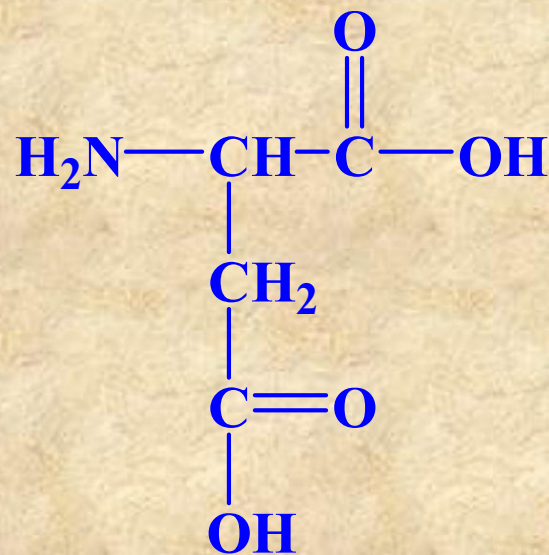


## 注意:

- ◆ 丝氨酸和苏氨酸侧链含有  $\beta$ -羟基，具有伯醇和仲醇的离子化特性。
- ◆ 丝氨酸的羟甲基可以参与很多酶的活性部位反应。
- ◆ 苏氨酸具有两个手性碳原子，通常出现在蛋白质中的是L-苏氨酸。
- ◆ 半胱氨酸在蛋白质中经常以其氧化型的胱氨酸存在。胱氨酸是由两个半胱氨酸通过它们侧链上的-SH氧化成共价的二硫桥连接形成的。

# 一、脂肪族氨基酸（酸性aa、酰胺）

天冬氨酸 **Aspartate**



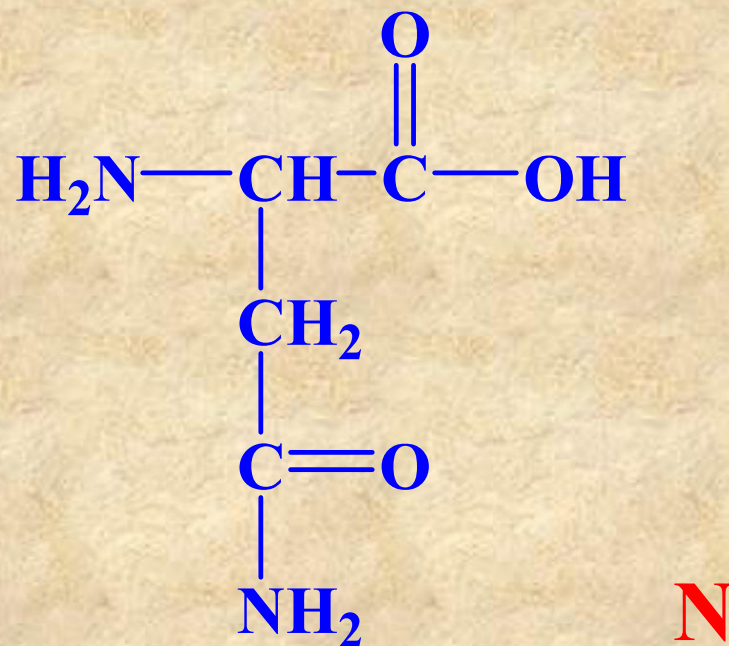
**D**

$\alpha$ -氨基丁二酸

# 一、脂肪族氨基酸（酸性aa、酰胺）

天冬氨酸 Aspartate

天冬酰胺 **Asparagine**

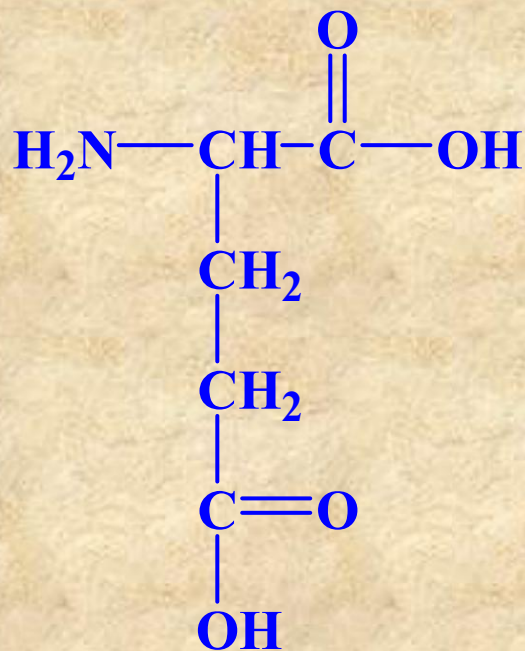


# 一、脂肪族氨基酸（酸性aa、酰胺）

天冬氨酸 Aspartate

天冬酰胺 Asparagine

谷氨酸 **Glutamate**



$\alpha$ -氨基戊二酸

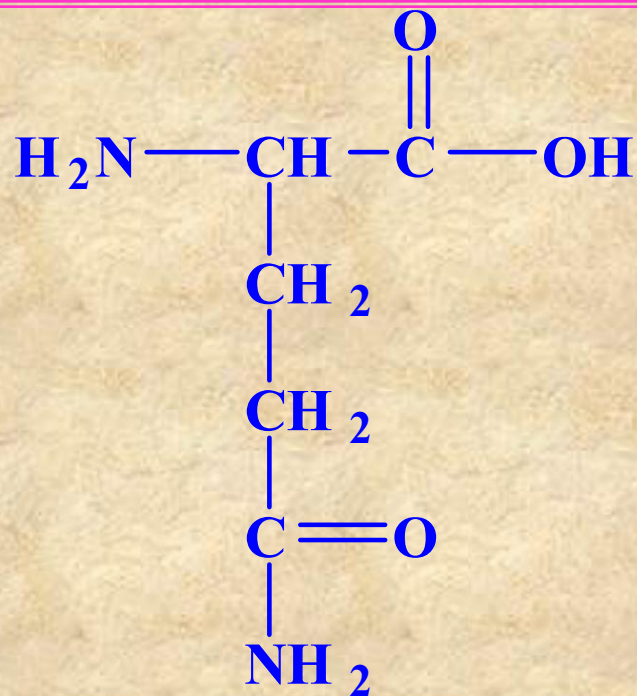
# 一、脂肪族氨基酸（酸性aa、酰胺）

天冬氨酸 Aspartate

天冬酰胺 Asparagine

谷氨酸 Glutamate

谷氨酰胺 **Glutamine**



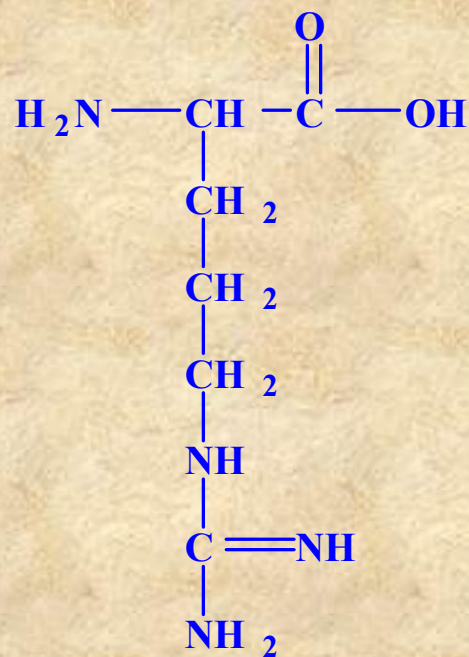
## 注意：

- ◆ 天冬氨酸和谷氨酸是二羧基氨基酸，除了含有 $\alpha$ -羧基外，天冬氨酸含 $\beta$ -羧基，谷氨酸含 $\gamma$ -羧基。生理条件下，二者呈酸性。
- ◆ 天冬酰胺和谷氨酰胺分别是天冬氨酸和谷氨酸的酰胺化产物。尽管这两个氨基酸的侧链不带电荷，但其极性很强。另外，这两种氨基酸的酰胺键可以与其它极性氨基酸的侧链上的原子形成氢键。



# 一、脂肪族氨基酸（碱性aa）

精氨酸 **Arginine**



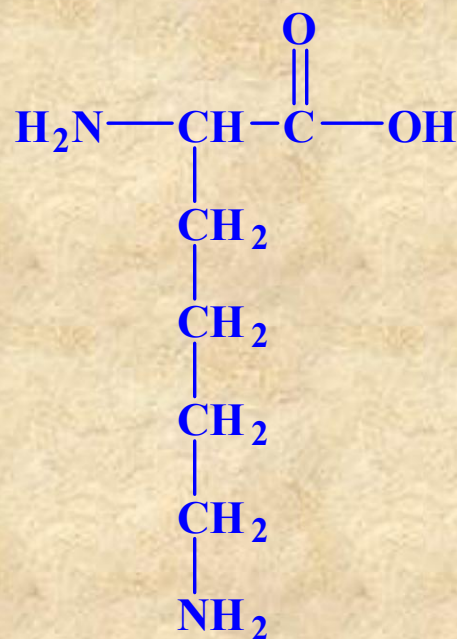
**R**

α-氨基-δ-胍基戊酸

# 一、脂肪族氨基酸（碱性aa）

精氨酸 Arginine

赖氨酸 **Lysine**



**K**

$\alpha, \epsilon$ -二氨基己酸



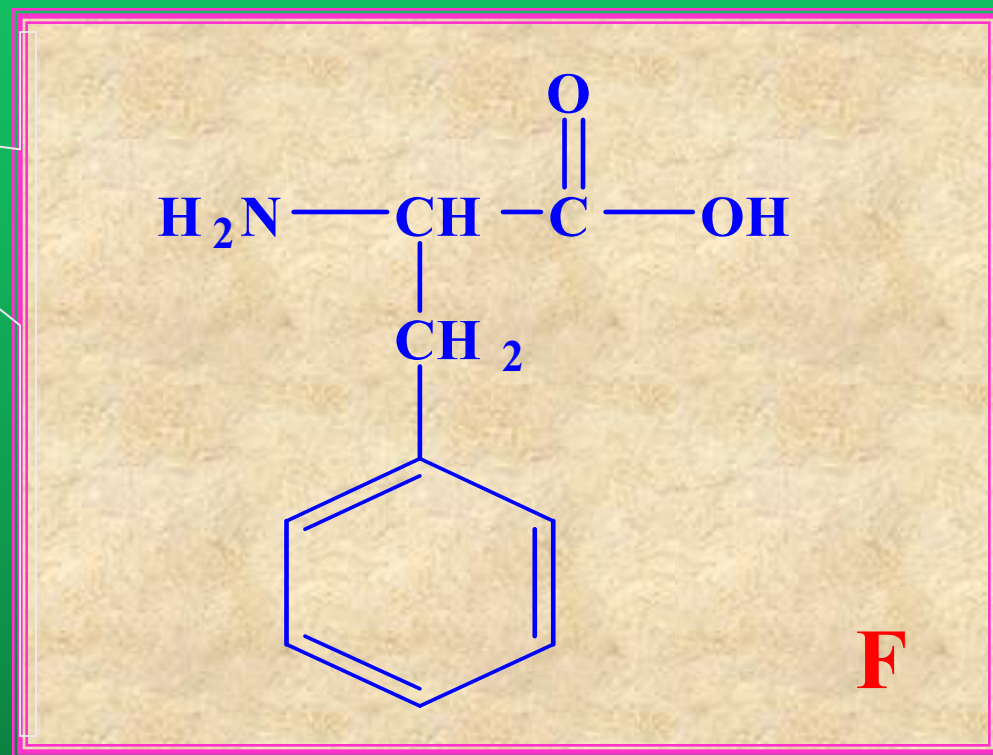
## 注意:

- ◆ 精氨酸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。
- ◆ 赖氨酸的侧链上含有一个氨基，侧链氨基的pKa为10.53。生理条件下，Lys侧链带有一个正电荷（ $-\text{NH}_3^+$ ），同时它的侧链是4个C的直链，柔性较大，使侧链的氨基反应活性增大。

## 二、芳香族氨基酸

苯丙氨酸

**Phenylalanine**



( α - 氨基 - β - 苯基丙酸 )

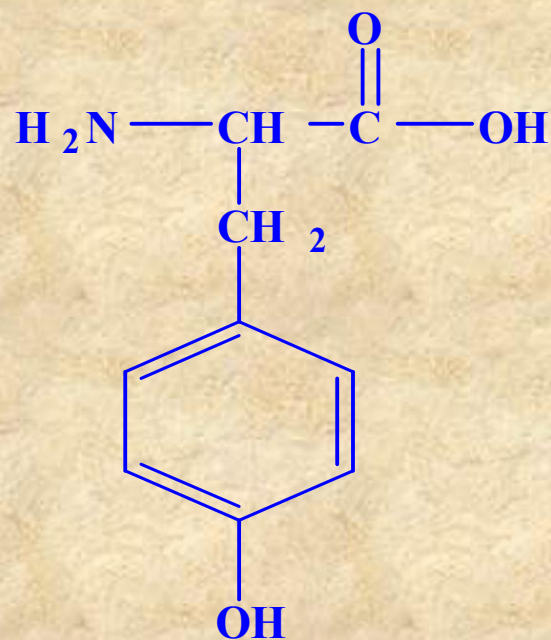
## 二、芳香族氨基酸

苯丙氨酸

Phenylalanine

酪氨酸

**Tyrosine**



( α - 氨基 - β - 对羟基苯基丙酸 )

## 二、芳香族氨基酸

苯丙氨酸

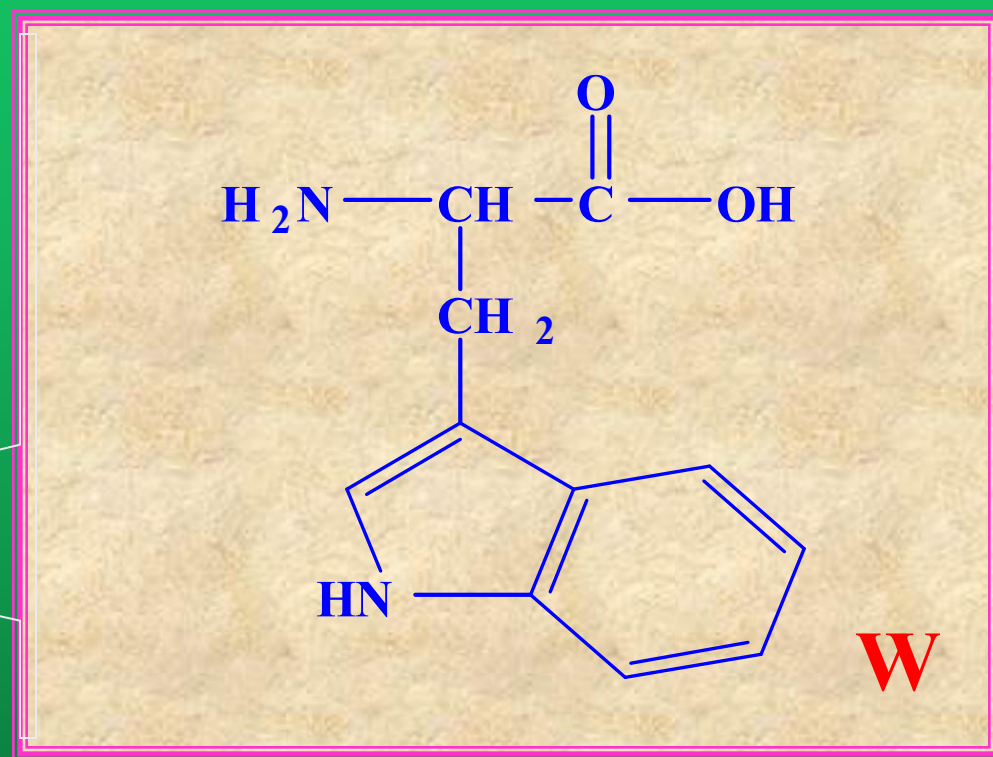
Phenylalanine

酪氨酸

Tyrosine

色氨酸

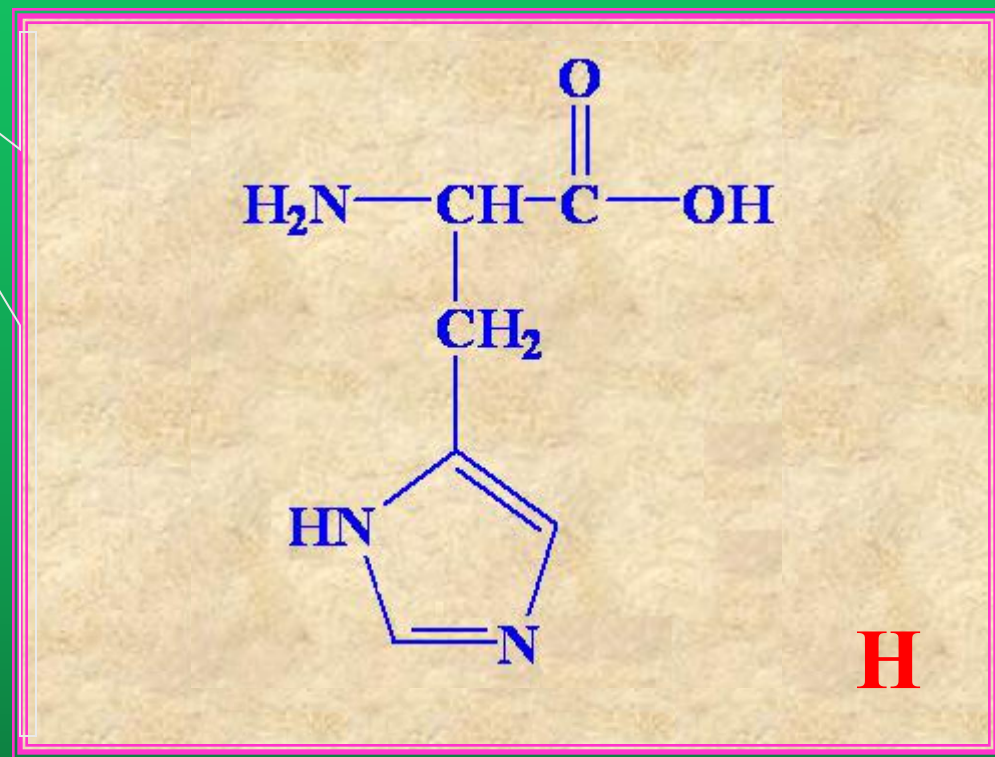
**T**ryptophan



( α - 氨基 - β - 吲哚基丙酸 )

### 三、杂环族氨基酸

组氨酸 **H**istidine

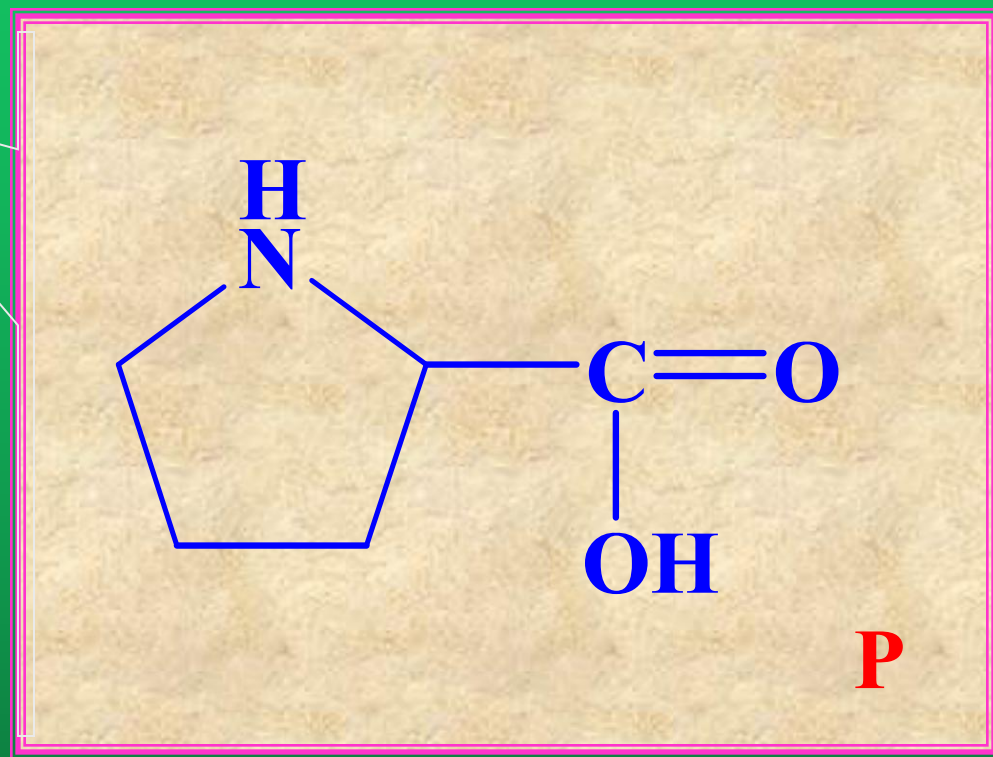


$\alpha$ -氨基- $\beta$ -咪唑基丙酸  
专肽生物 [www.allpeptide.com](http://www.allpeptide.com)

### 三、杂环族氨基酸

组氨酸 Histidine

脯氨酸 **Proline**



$\beta$ -吡咯烷基- $\alpha$ -羧酸



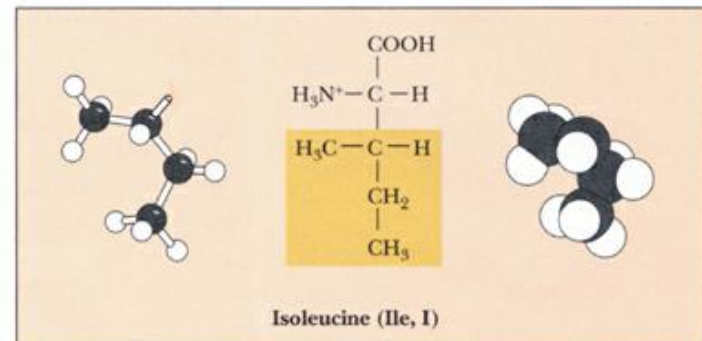
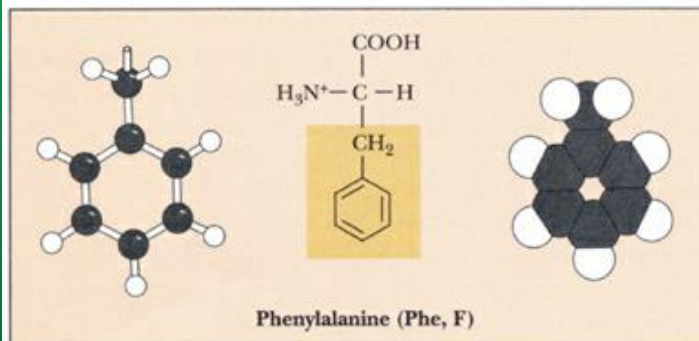
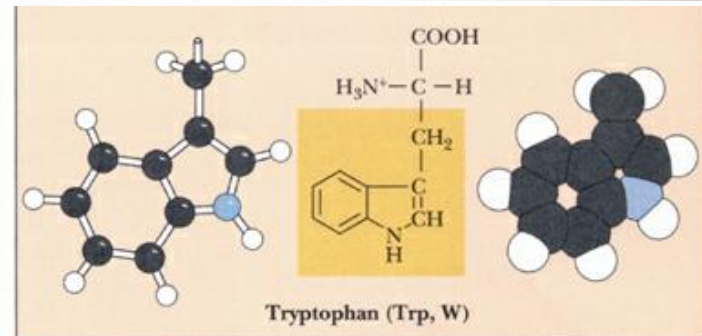
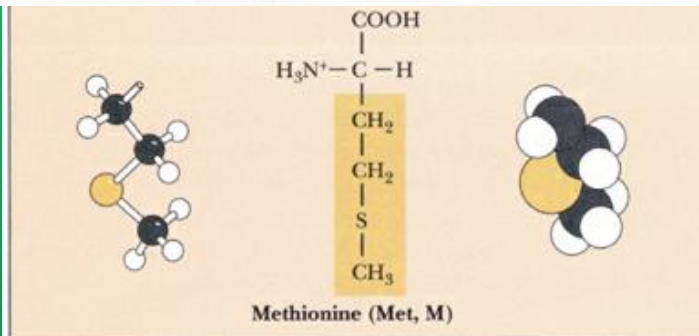
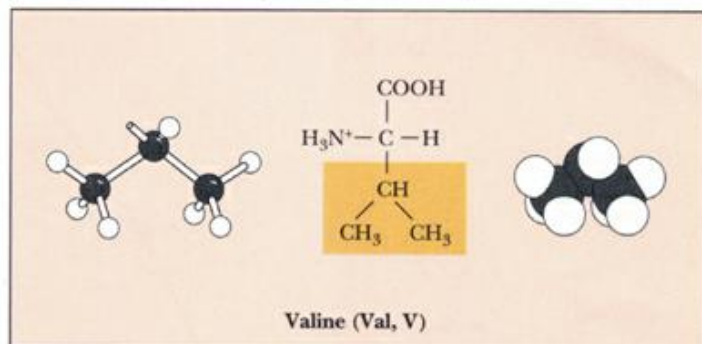
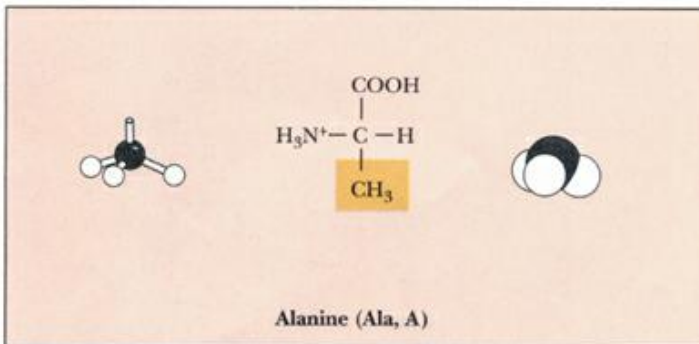
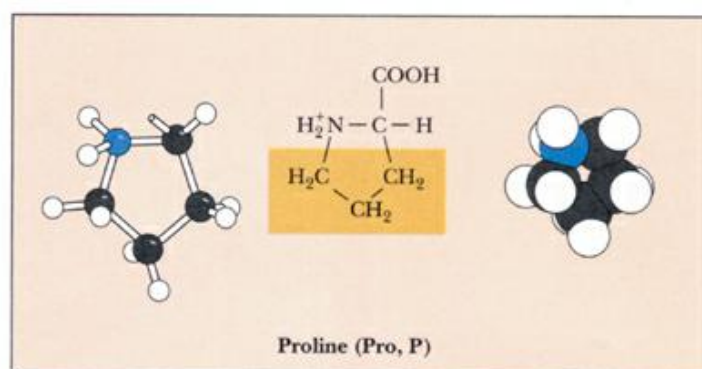
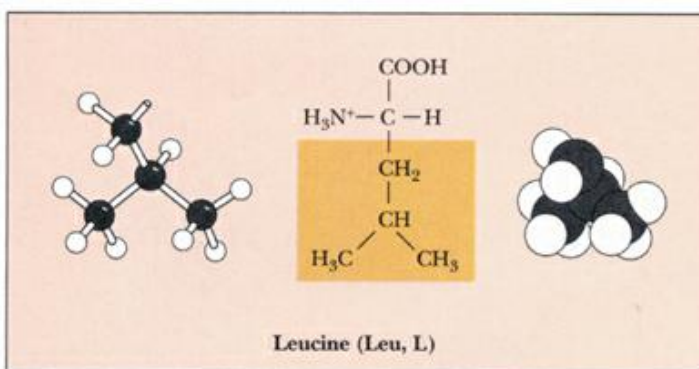
## 注意:

- ◆ 组氨酸含咪唑环，咪唑环的pKa在游离氨基酸中和在多肽链中不同，前者pKa为6.00，后者为7.35，它是20种氨基酸中侧链pKa值最接近生理pH值的一种，在接近中性pH时，可离解平衡。它是在生理pH条件下唯一具有缓冲能力的氨基酸。
- ◆ 脯氨酸是唯一的一种环状结构的氨基酸，它的 $\alpha$ -亚氨基是环的一部分，因此具有特殊的刚性结构。它在蛋白质空间结构中具有极重要的作用，一般出现在两段 $\alpha$ -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。

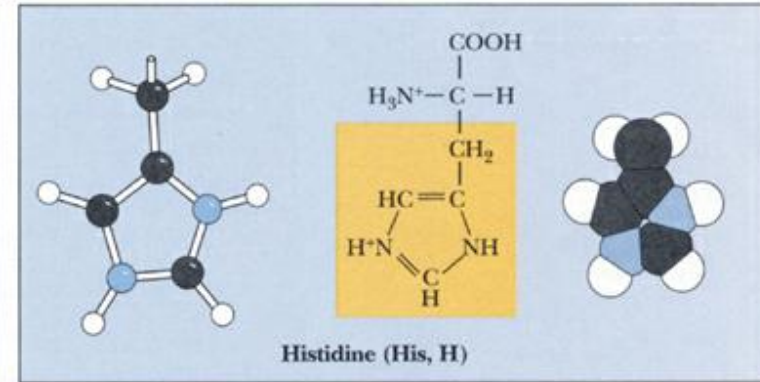
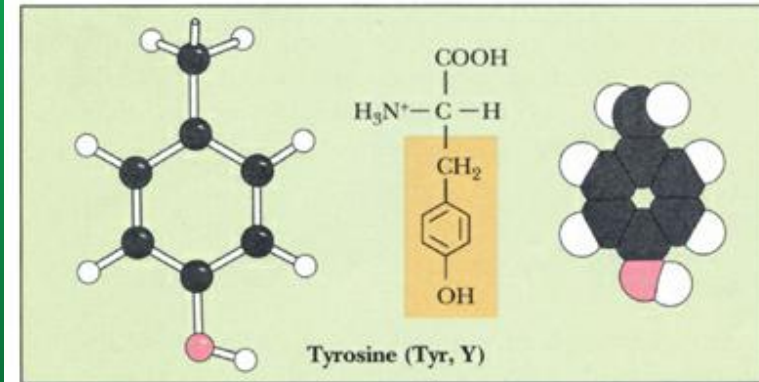
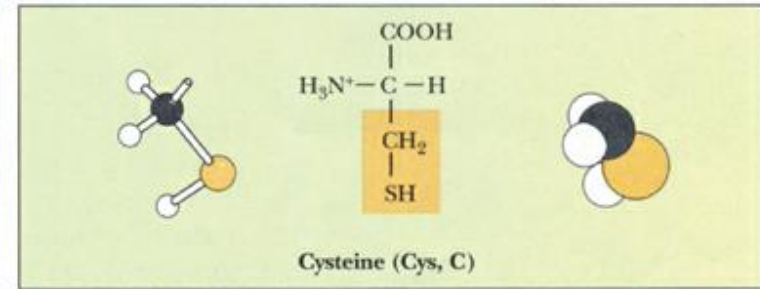
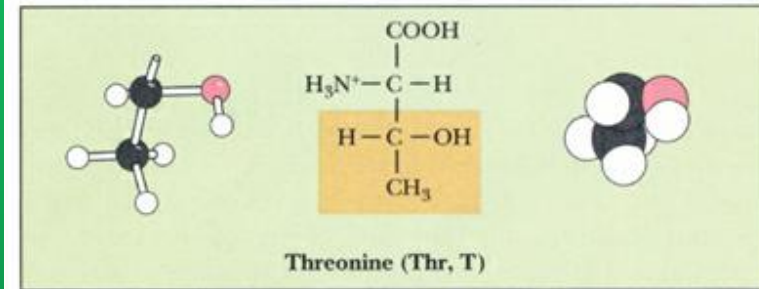
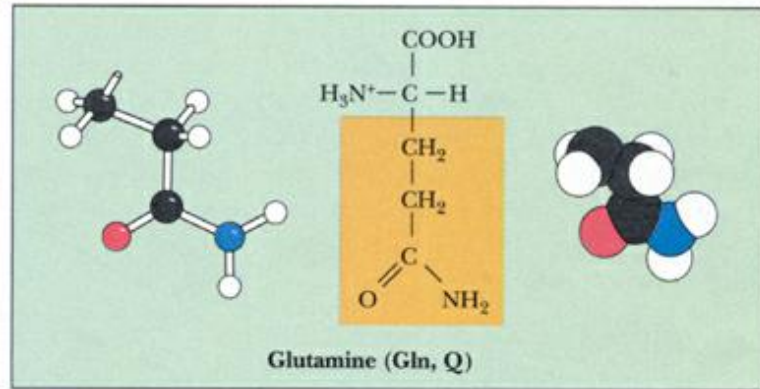
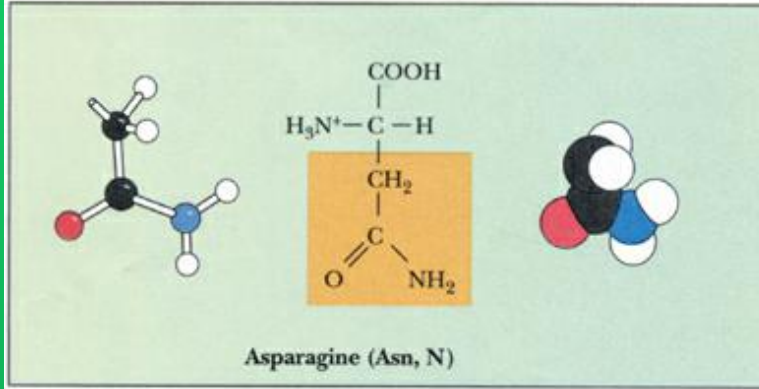
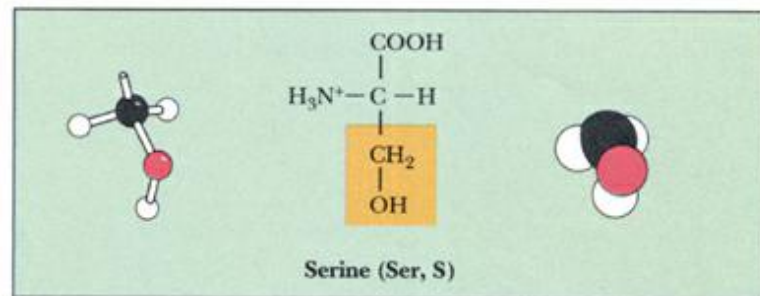
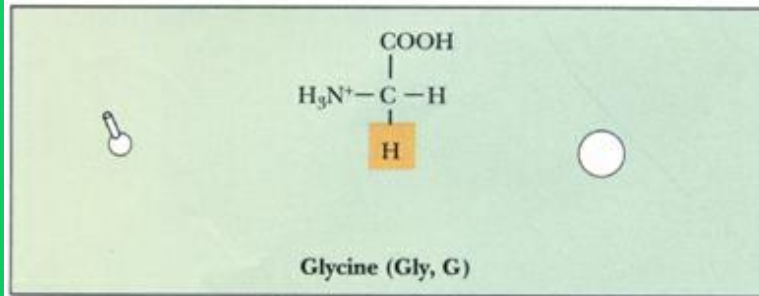
- ◆ 根据氨基酸侧链的极性可以分为非极性氨基酸和极性氨基酸。极性氨基酸又可分为不带电荷的极性氨基酸、酸性氨基酸和碱性氨基酸。



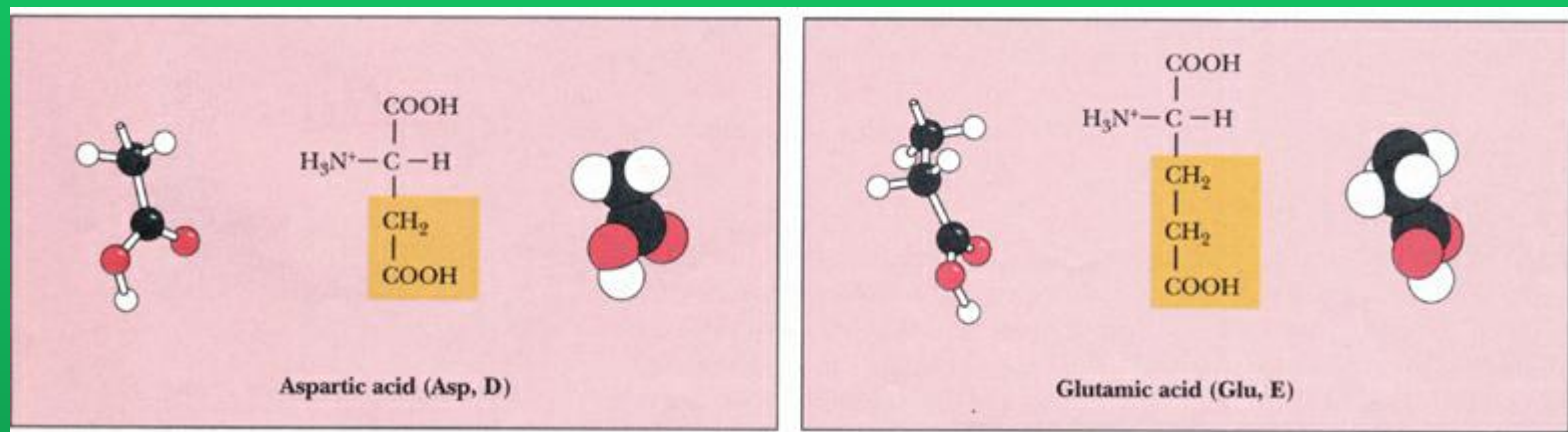
# 非极性氨基酸 (八种)



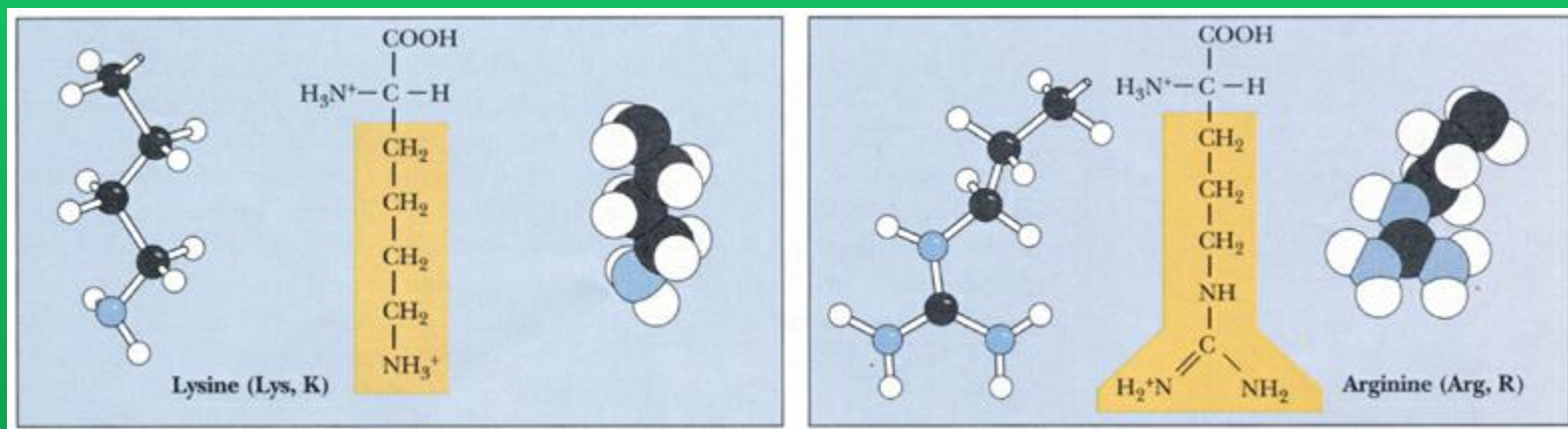
# 不带电的极性氨基酸 (八种)



# 带负电荷的氨基酸（2种）



## 带正电荷的氨基酸（2种）





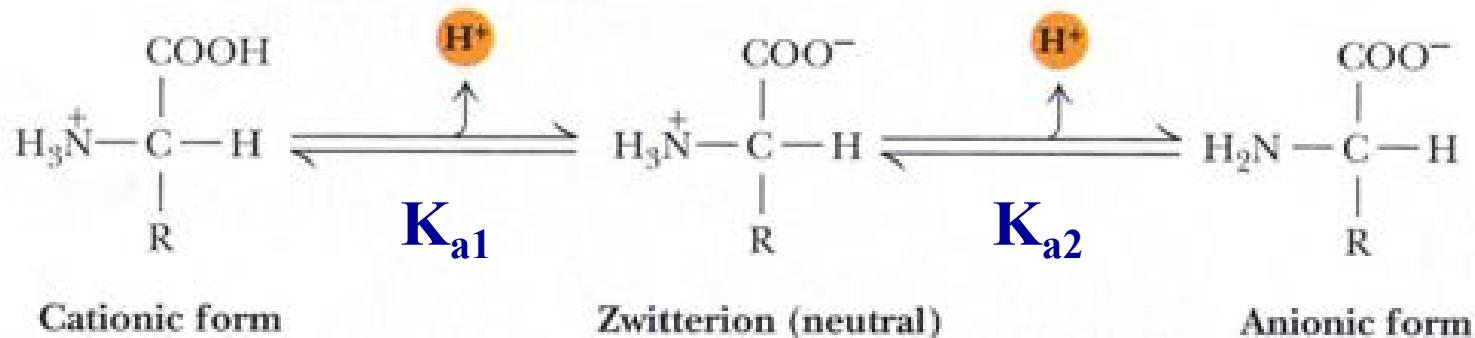
## 1.2.3 不常见蛋白质氨基酸和非蛋白质氨基酸

有些蛋白质中还含有少数特殊的氨基酸，称为**蛋白质的稀有氨基酸**。这些氨基酸都是正常氨基酸的衍生物，如弹性蛋白和胶原蛋白中的4-羟基脯氨酸和5-羟基赖氨酸；肌球蛋白和组蛋白中含有6-N-甲基赖氨酸；凝血酶原中存在 $\gamma$ -羧基谷氨酸；酪蛋白中存在磷酸丝氨酸；哺乳动物的肌肉中存在N-甲基甘氨酸等。**蛋白质中的稀有氨基酸在遗传上是特殊的，因为它们没有三联体密码，所有已知的稀有氨基酸都是在蛋白质合成后，在常见的氨基酸的基础上经过化学修饰而形成的。**

在各种组织和细胞中发现约150种其它氨基酸，它们不存在于蛋白质中，而是以游离或结合状态存在于生物体内，所以称为**非蛋白质氨基酸**。这些氨基酸大多数是蛋白质中存在的L-型 $\alpha$ -氨基酸的衍生物，如鸟氨酸（ornithine）、瓜氨酸（citrulline）、高丝氨酸（homoserine）、高半胱氨酸等，但也有一些是 $\beta$ -、 $\gamma$ -或 $\delta$ -氨基酸，如 $\beta$ -丙氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸。另外，还有些是D型氨基酸。这些氨基酸虽然不参与蛋白质组成，但在生物体中往往具有一定的生理功能，如鸟氨酸和瓜氨酸是合成精氨酸的前体， $\beta$ -丙氨酸是维生素泛酸的组成成分， $\gamma$ -氨基丁酸是神经传导的化学物质。植物中含有很多非蛋白质氨基酸，其中有些具有特殊的生物功能，但大多数非蛋白质氨基酸的功能还不清楚。

# 1.3、氨基酸的酸碱化学

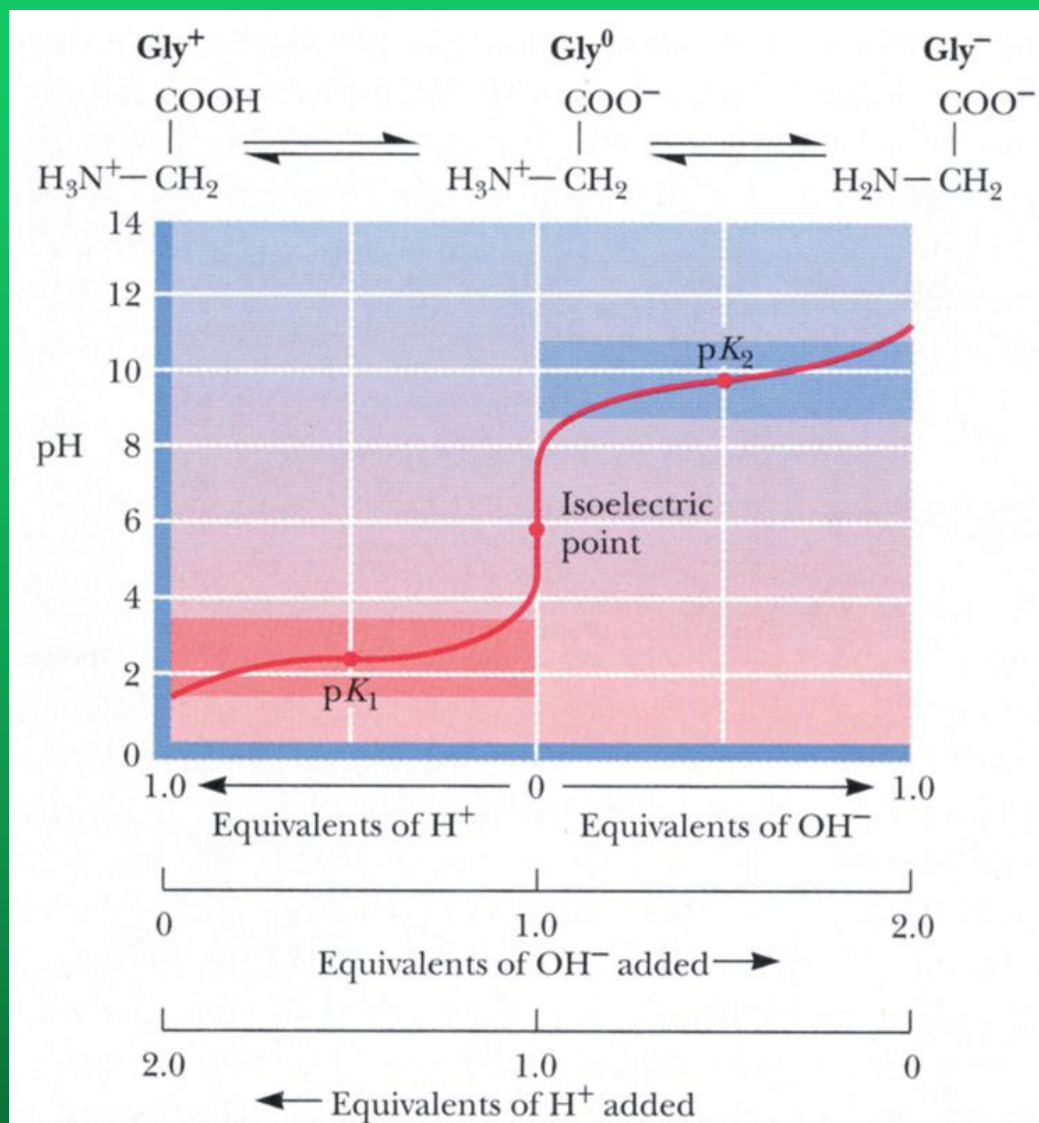
- ◆ 氨基酸是个两性电解质，既可进行酸解离也可进行碱解离，用解离方程式表示就是：





- ◆ 氨基酸的离子状态完全取决于溶液的pH值。
- ◆ 如果调节溶液的pH值使得其中的氨基酸呈电中性，那么，我们就把这个pH值称为氨基酸的等电点（isoelectric point,  $pI$ ）。 $pI$ 是氨基酸的重要常数之一，它的意义在于，物质在 $pI$ 处的溶解度最小，这是分离纯化蛋白质或氨基酸的重要依据。

# 甘氨酸的解离与等电点——滴定曲线



当甘氨酸在酸性溶液中，它是以带净的正电荷的形式存在的，可以看作是一个二元弱酸，具有两个可解离的H<sup>+</sup>，即-COOH和-NH<sup>3+</sup>上的H<sup>+</sup>。根据上述甘氨酸的解离方程可得到：

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

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

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

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

$K_1$ 、 $K_2$ 为解离常数，当达到等电点时， $[\text{Gly}^+] = [\text{Gly}^-]$ ，即：

$$\frac{[\text{Gly}^+]K_2}{[\text{H}^+]} = \frac{[\text{H}^+][\text{Gly}^+]}{K_1}$$

则： $K_1K_2 = [\text{H}^+]^2$

方程两边取负对数：

$$\text{pH} = 1/2 * (\text{PK}_1 + \text{PK}_2)$$

# 例题：

- ◆ Gly的-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>有1/3解离时，溶液的pH值？

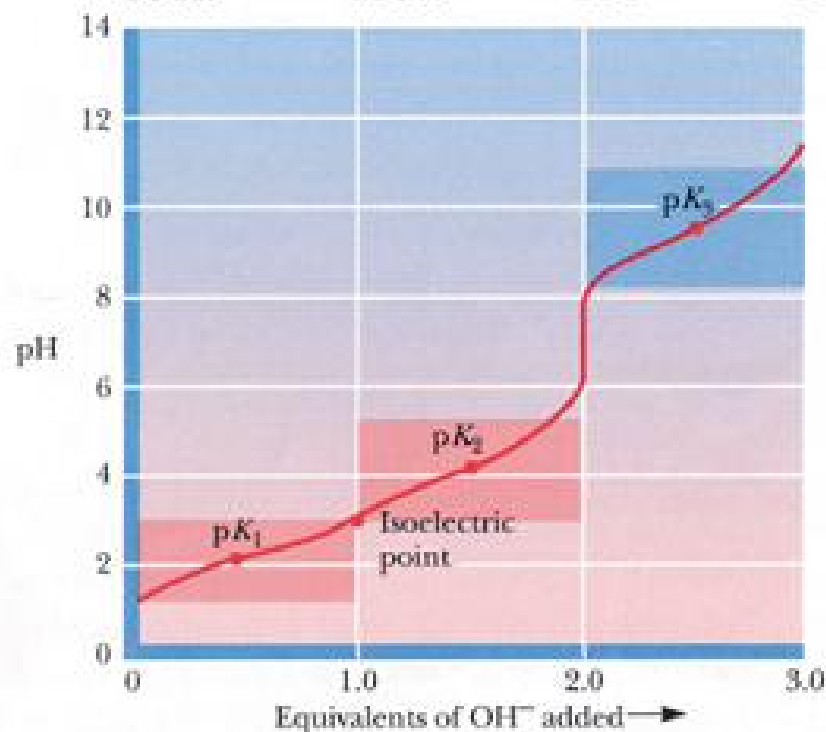
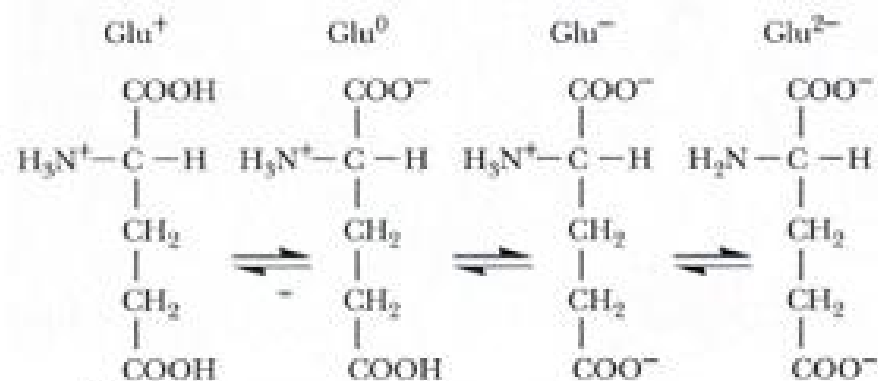
$$\text{pH} = \text{pK}_2 + \lg ([\text{Gly}^-] / [\text{Gly}^0])$$

$$\text{pH} = 9.6 + \lg (1/2)$$

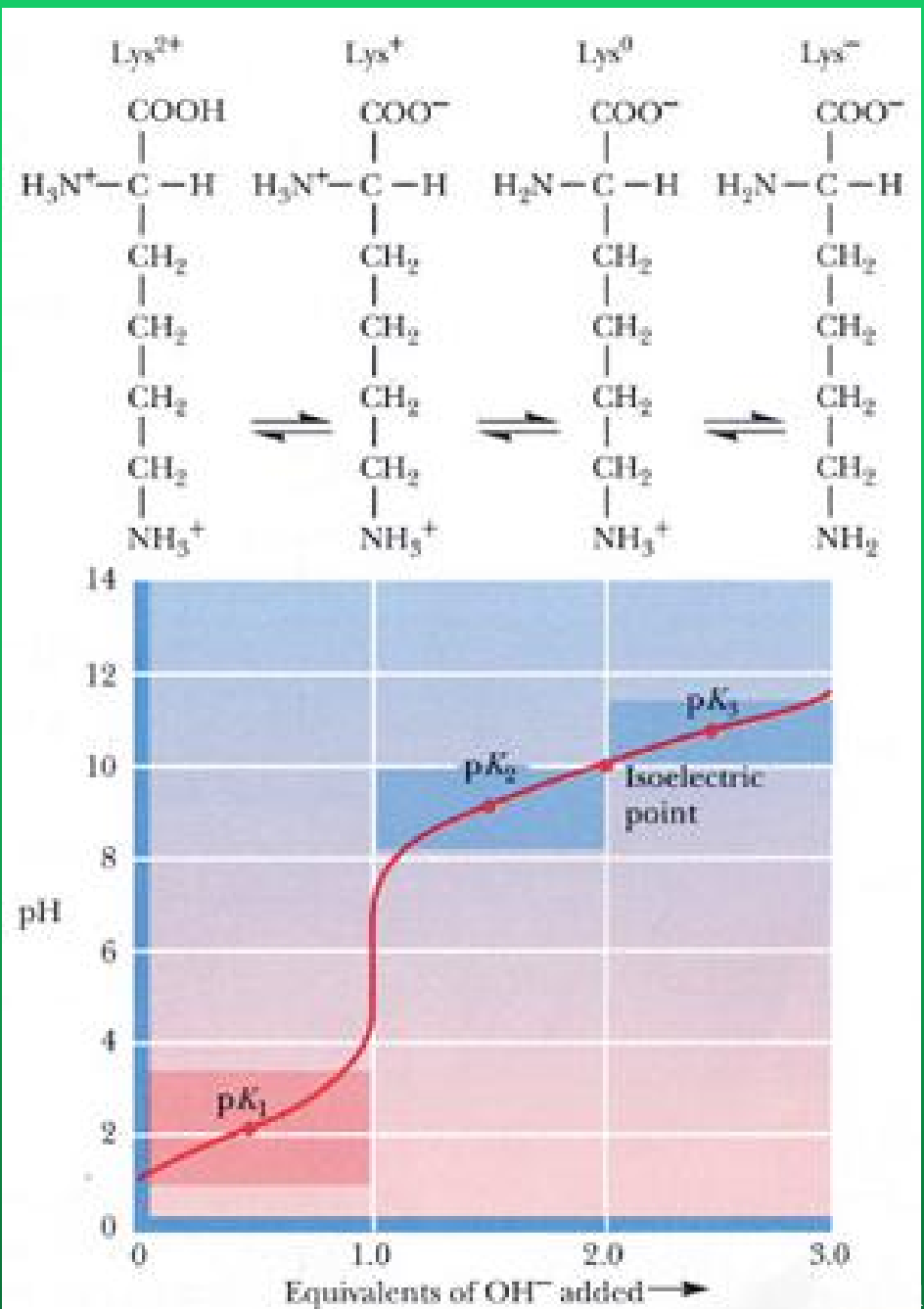
$$\text{pH} = 9.3$$

# 带有可解离侧链的氨基酸：

## ◆ Glu的滴定曲线：

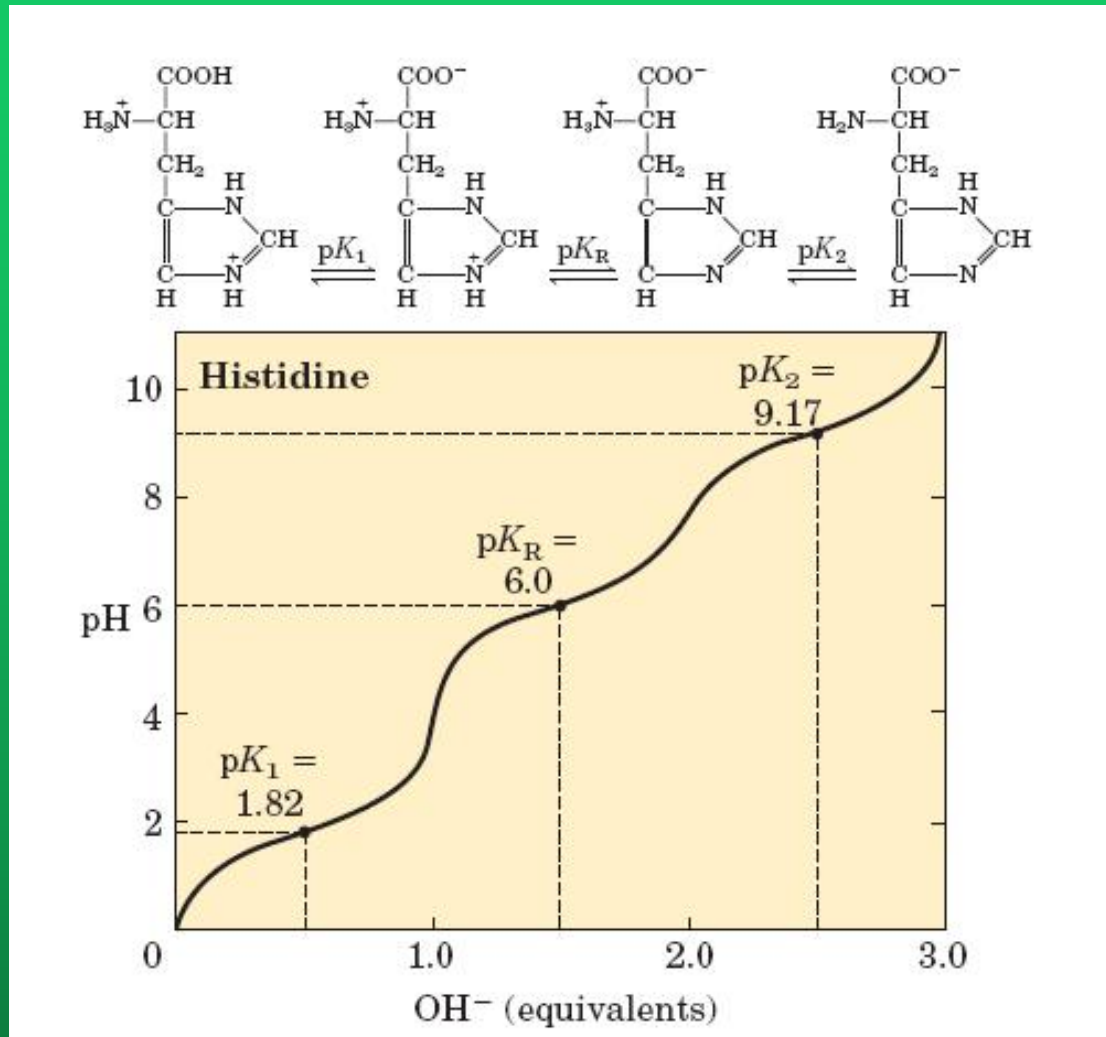


# ◆ Lys的滴定曲线





# 为什么组氨酸在生理pH值下有明显缓冲作用？



**TABLE 3-1** Properties and Conventions Associated with the Common Amino Acids Found in Proteins

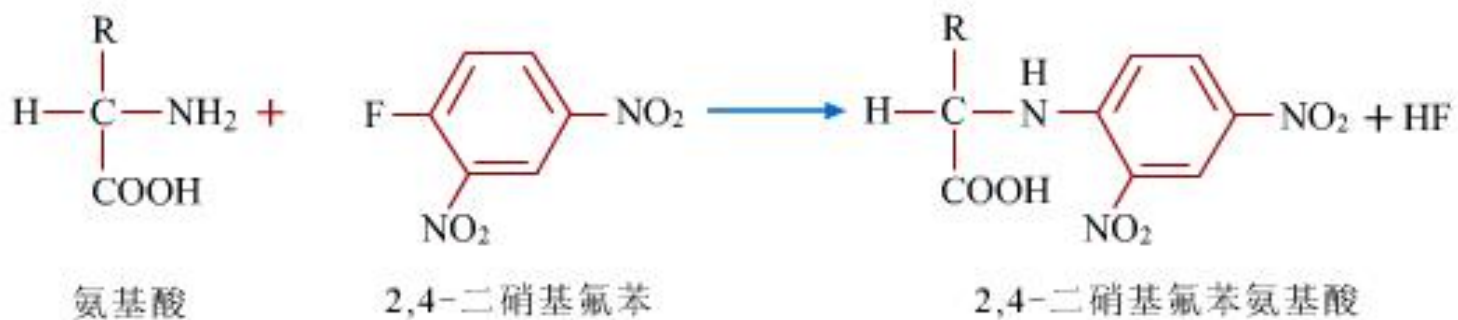
Amino acid	Abbreviation/ symbol	$M_r$	$pK_a$ values			$pI$	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%) <sup>†</sup>
			$pK_1$ (—COOH)	$pK_2$ (—NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_R$ (R group)			
<b>Nonpolar, aliphatic</b>								
<b>R groups</b>								
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	-0.4	7.2
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
<b>Aromatic R groups</b>								
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	-1.3	3.2
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89	-0.9	1.4
<b>Polar, uncharged</b>								
<b>R groups</b>								
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	-0.8	6.8
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87	-0.7	5.9
Cysteine	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41	-3.5	4.3
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65	-3.5	4.2
<b>Positively charged</b>								
<b>R groups</b>								
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	-3.9	5.9
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	-3.2	2.3
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	-4.5	5.1
<b>Negatively charged</b>								
<b>R groups</b>								
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	-3.5	5.3
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	-3.5	6.3

\*A scale combining hydrophobicity and hydrophilicity of R groups; it can be used to measure the tendency of an amino acid to seek an aqueous environment (- values) or a hydrophobic environment (+ values). See Chapter 11. From Kyte, J & Doolittle, R.F. (1982) A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* 157, 105-132.

<sup>†</sup>Average occurrence in more than 1,150 proteins. From Doolittle, R.F. (1989) Redundancies in protein sequences. In *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation* (Fasman, G.D., ed.), pp. 599-623, Plenum Press, New York.

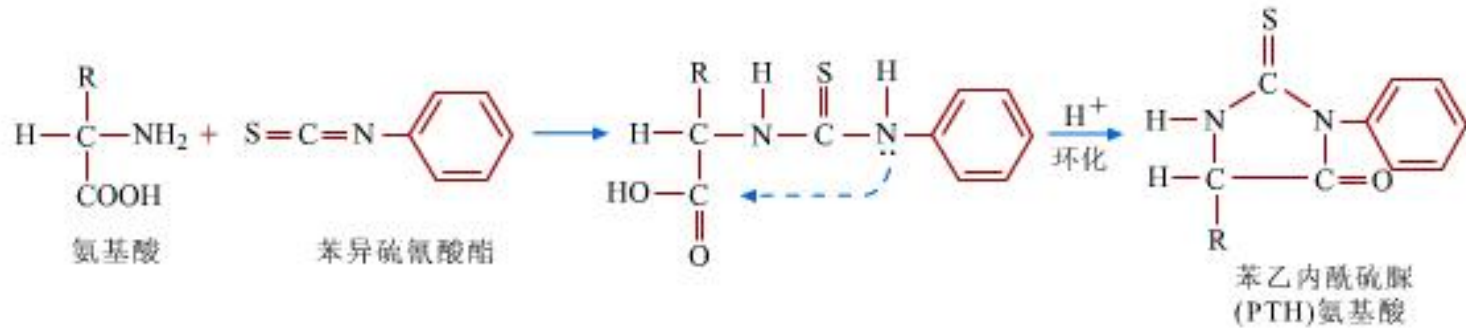
# 1.4 氨基酸的特征化学反应

- ◆ 1、2,4-二硝基氟苯（DNFB）与氨基酸氨基的反应（Sanger法鉴定多肽、蛋白质的N末端氨基酸）



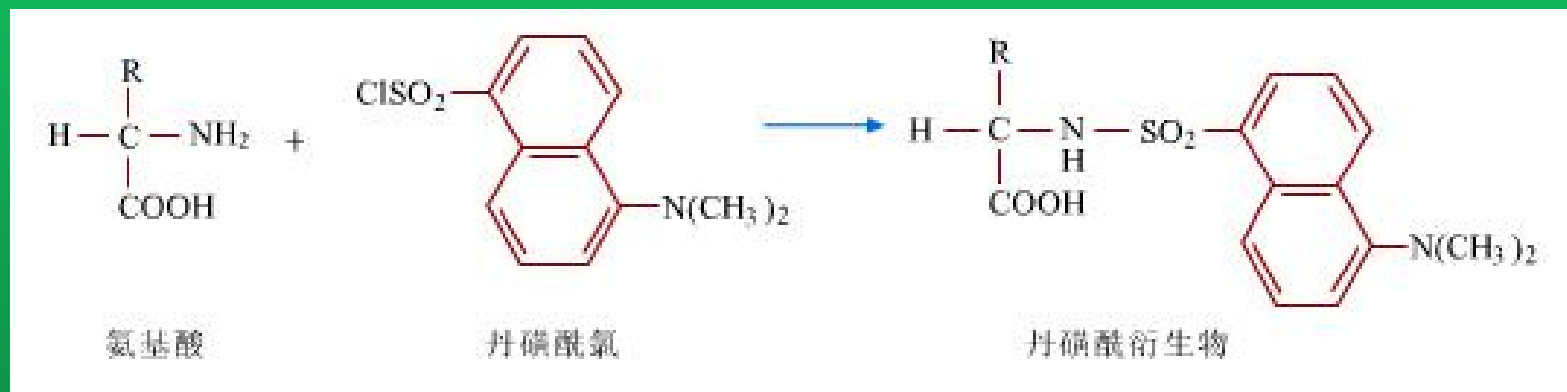
氨基酸与2,4-二硝基氟苯反应

◆ 2、苯异硫氰酸酯（PITC）与氨基的反应。  
（Edman试剂，测定氨基酸序列）

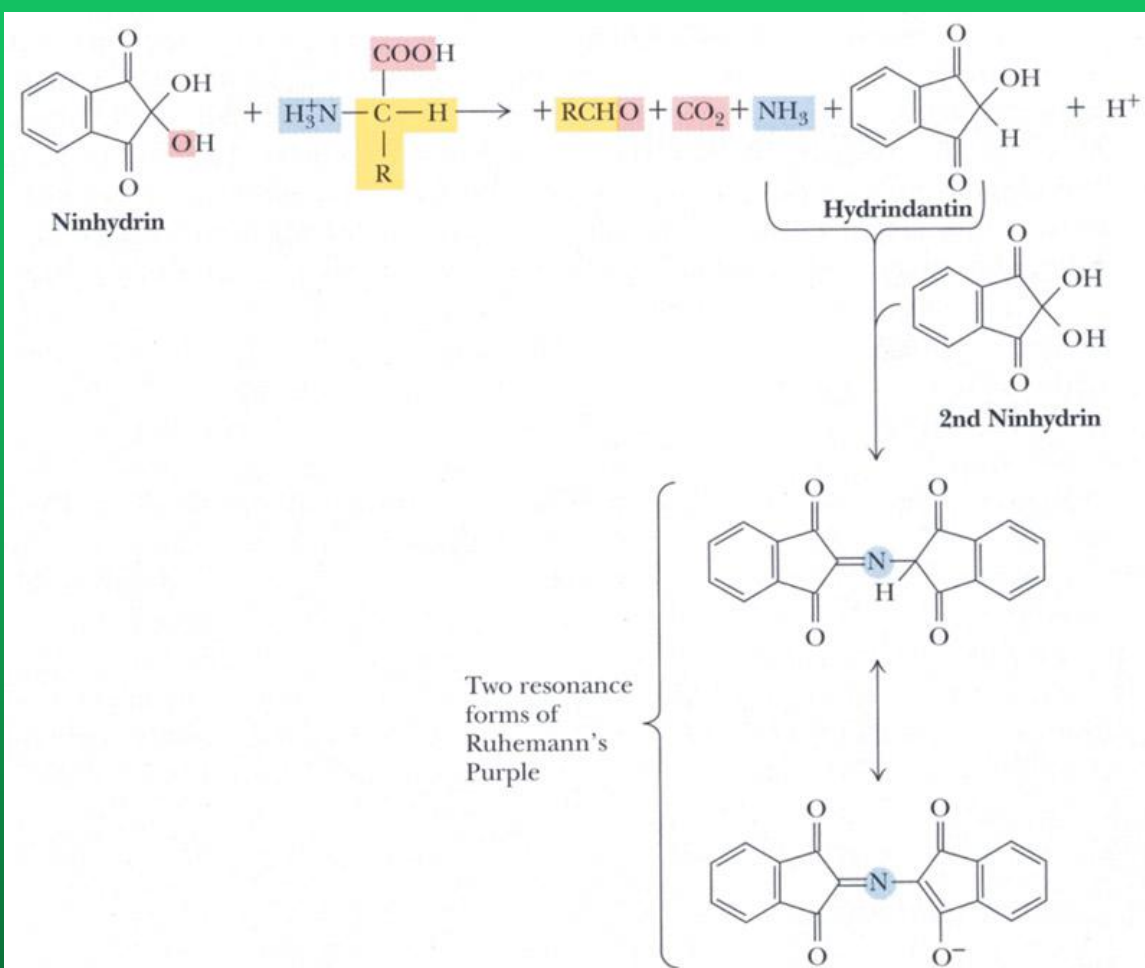


氨基酸与苯异硫氰酸酯反应

- ◆ 3、丹磺酰氯与氨基酸的反应（生成荧光性强和稳定的磺胺衍生物，常用于蛋白质和氨基酸的微量分析）



◆ 4、茚三酮与氨基酸的反应（纸层析分离鉴定氨基酸，紫色产物）



# 1.5 氨基酸的光谱性质

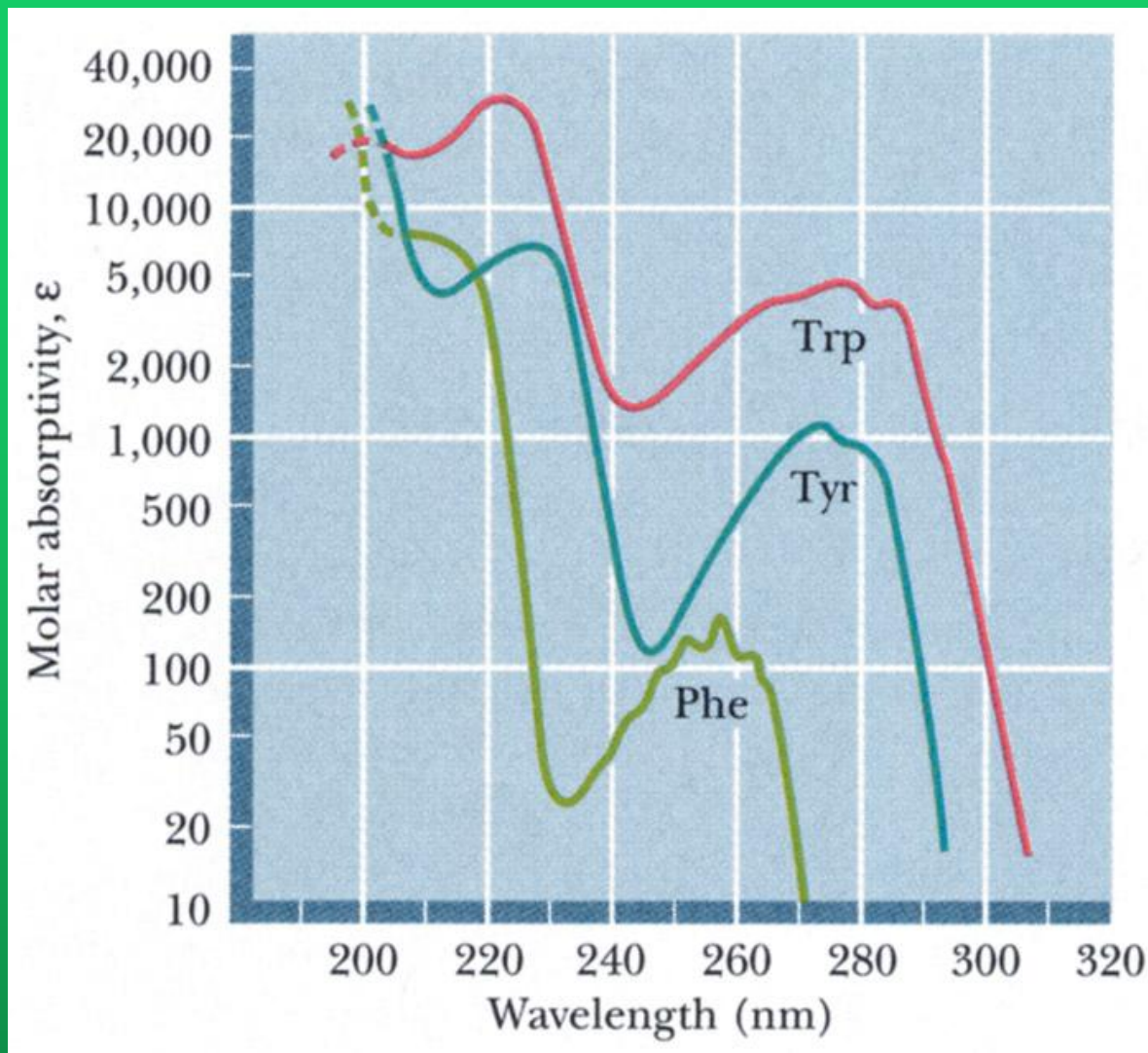
## 旋光性

- ◆ Gly无旋光， 17个AA含一个不对称碳原子，两个含（ Thr和Ile）两个不对称碳原子 ， 有四种光学异构体。
- ◆ 胱氨酸分子内部对称有内消旋体， 有三种异构体。
- ◆ 比旋光为氨基酸物理常数之一， 但随pH值变化常见氨基酸比旋光度可用来鉴别氨基酸



## 紫外吸收

- ◆ 三种芳香族氨基酸都有紫外吸收。在中性pH值下，色氨酸和酪氨酸的紫外吸收峰在280nm，而苯丙氨酸的在260nm处。大多数蛋白质都含有色氨酸和酪氨酸或其中的一种，所以溶液中280nm吸收的测量常用来估算蛋白质的浓度。



## 芳香族氨基酸的紫外吸收

# 1.6、氨基酸混合物的分离分析

- ◆ 一蛋白质和多肽的肽键与一般的酰胺键一样可以被酸碱或蛋白酶催化水解，酸或碱能够将多肽完全水解，酶水解一般是部分水解。

## A、酸水解

- ◆常用6 mol/L的盐酸或4 mol/L的硫酸在105-110℃条件下进行水解，反应时间约20小时。
- ◆此法的优点是不容易引起水解产物的消旋化。缺点是色氨酸被沸酸完全破坏；
- ◆含有羟基的氨基酸如丝氨酸或苏氨酸有一小部分被分解；天冬酰胺和谷氨酰胺侧链的酰胺基被水解成了羧基。

## B、碱水解

- ◆ 一般用5 mol/L氢氧化钠煮沸10-20小时。
- ◆ 由于水解过程中许多氨基酸都受到不同程度的破坏，产率不高。
- ◆ 部分的水解产物（主要指含-OH和-SH的氨基酸，如，Ser、Thr、Tyr、Cys等）发生消旋化。
- ◆ 该法的优点是色氨酸在水解中不受破坏。

# C、酶水解

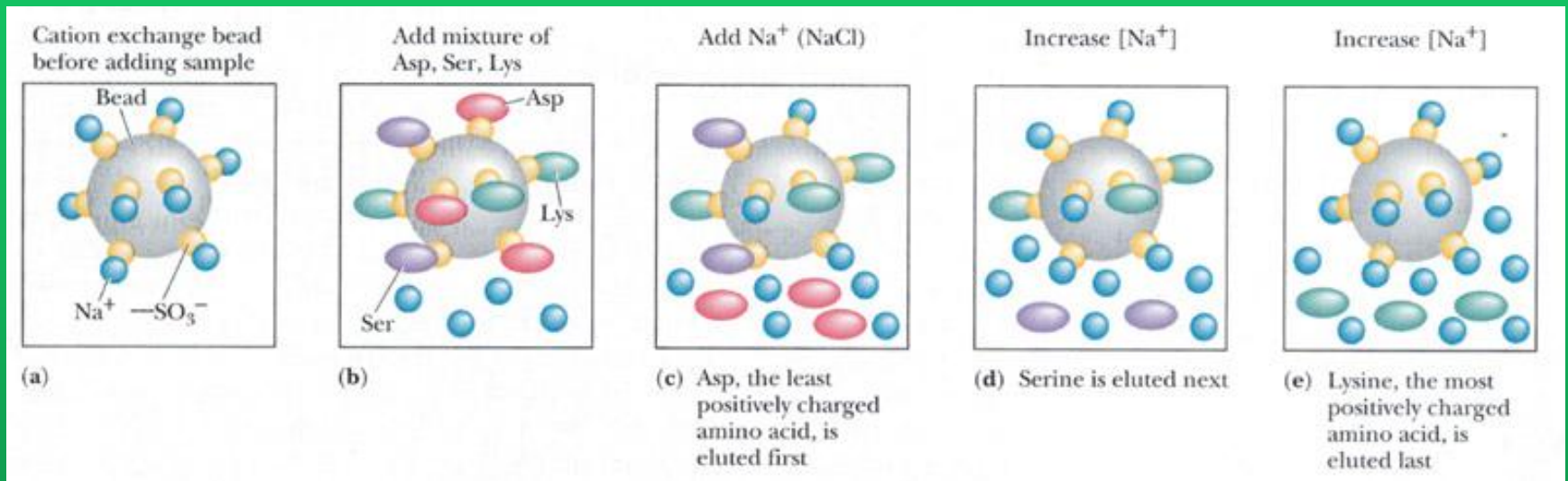
- ◆ 目前用于蛋白质肽链断裂的蛋白水解酶或称蛋白酶（proteinase）已有十多种。
- ◆ 应用酶水解多肽不会破坏氨基酸，也不会发生消旋化。水解的产物为较小的肽段。
- ◆ 最常见的蛋白水解酶有以下几种：胰蛋白酶、糜蛋白酶、胃蛋白酶、木瓜蛋白酶等。

# 氨基酸的分配层析

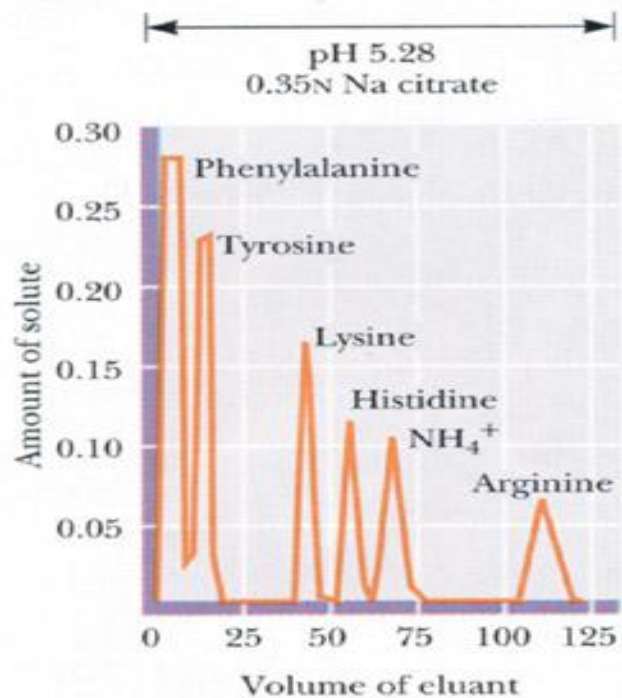
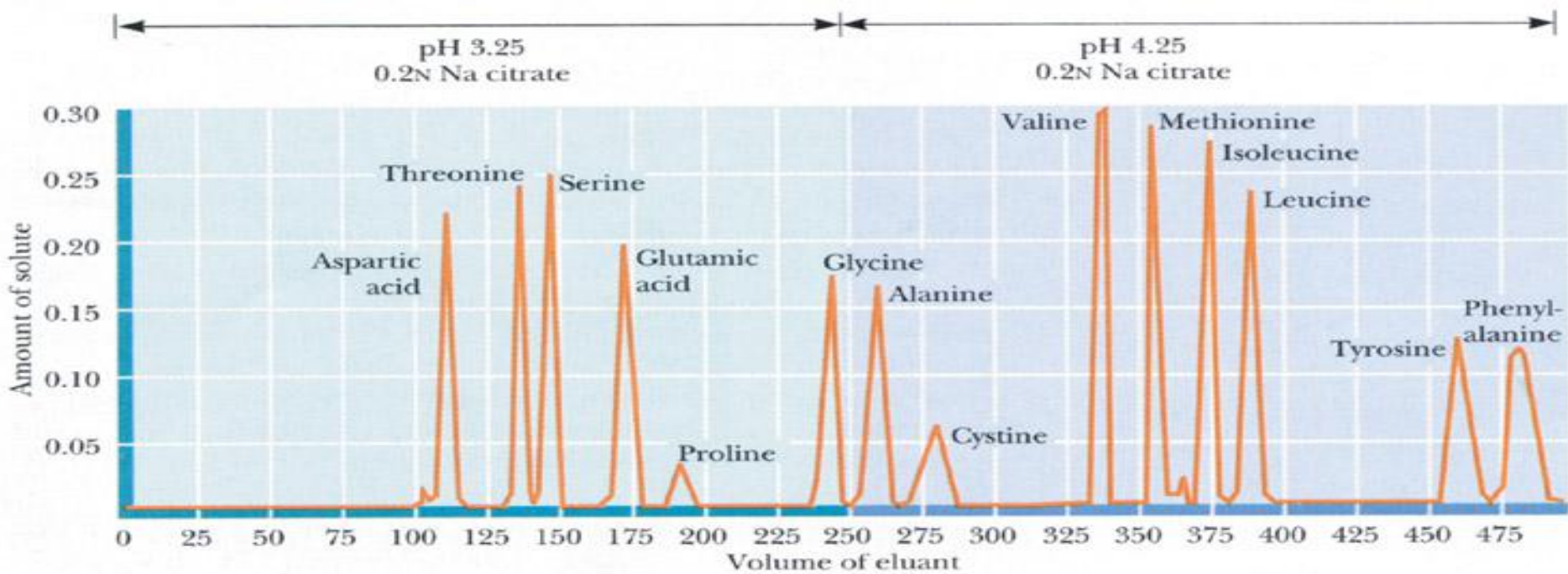
- ◆ 纸层析
- ◆ 薄层层析
- ◆ 离子交换层析
- ◆ 高效液相层析



# 利用酸碱性质的不同可以将氨基酸分离与纯化



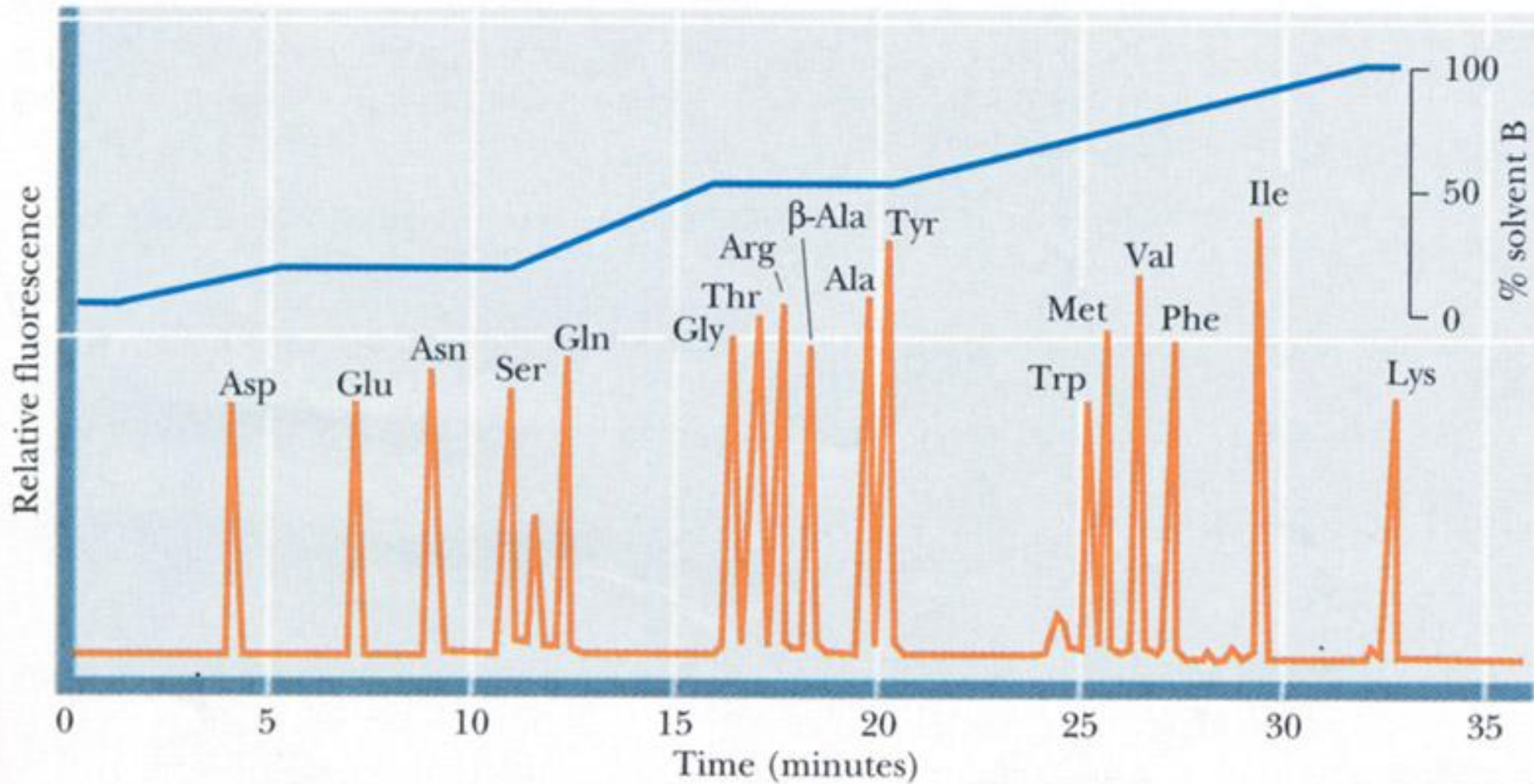
离子交换色谱法纯化氨基酸混合物



## A、氨基酸样品的离子交换色谱研究

## ◆ Note:

It is clear that the separations attained in Fig. 1 cannot be ascribed solely to differences in the ionic natures of the amino acids. The rate of travel on a column of a sulfonated polystyrene resin is a function both of the charge possessed by an amino acid and the nature of its side chain; it is a result of the affinity of the resin for both the ionic and the non-ionic portions of the molecule. Accordingly, columns of Dowex-50 exhibit a re-



## B、高效液相色谱法测样品中氨基酸含量