

第二章 氨基酸与蛋白质习题与答案

1、哪些氨基酸可以在① pH4、② pH6 和③ pH7 具有有效的缓冲能力？

答：每种氨基酸在它们相应的 pK 值附近都有一个缓冲区。天冬氨酸的 R 基的 pK 值为 3.65，谷氨酸的 R 基的 pK 值为 4.25，故天冬氨酸、谷氨酸在 pH4 具有有效的缓冲能力；组氨酸的咪唑基的 pK 值为 6.0，是唯一在生理 pH 范围内具有重要缓冲能力的基团。故组氨酸在 pH6 具有有效的缓冲能力，没有氨基酸在 pH7 具有有效的缓冲能力。

2、一滴含有甘氨酸、丙氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸和组氨酸的溶液，点在滤纸条的中央，并干燥。用 pH6.0 的缓冲液浸湿，放入电场中，两端通以电流。①哪些氨基酸移向正极？②哪些氨基酸移向负极？③哪些氨基酸停留在原处或接近原处？

答：根据 $pI - pH$ (Q 值的量度) 来计算这些氨基酸各自所带的净电荷，净电荷为正值的移向负极，净电荷为负值的移向正极，净电荷等于零或接近零的停留在原处或接近原处。

甘氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 5.97 - 6.0 = -0.03$

丙氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 6.01 - 6.0 = +0.01$

谷氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 3.22 - 6.0 = -2.78$

赖氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 9.74 - 6.0 = +3.74$

精氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 10.76 - 6.0 = +4.76$

组氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 7.59 - 6.0 = +1.59$

故谷氨酸移向正极；赖氨酸、精氨酸和组氨酸移向负极；甘氨酸和丙氨酸停留在原处或接近原处。

3、用强酸型阳离子交换树脂分离下述每对氨基酸，当用 pH7.0 的缓冲液洗脱时，下述每对中先从柱上洗脱下来的是哪种氨基酸？①天冬氨酸和赖氨酸，②精氨酸和甲硫氨酸，③谷氨酸和缬氨酸，④甘氨酸和亮氨酸，⑤丝氨酸和丙氨酸。

答：影响氨基酸从柱上洗脱下来的主要因素：强酸型阳离子交换树脂中树脂磺酸基同氨基酸中带正电荷的基团具有静电结合力，氨基酸的正净电荷量越多，静电结合力越强，在树脂上停留的时间越长，正净电荷量越少，静电结合力越弱，在树脂上停留的时间就越短；氨基酸的净电荷为负时，则树脂磺酸基对氨基酸有排斥力，负净电荷量越多，排斥力越大在树脂上停留的时间越短。

氨基酸侧链与树脂非极性骨架之间的相互作用也是影响分离的因素，侧链非极性大的氨基酸与树脂骨架的疏水作用力越强，停留的时间越长。

第①对中，天冬氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 2.77 - 7.0 = -4.23$

赖氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 9.74 - 7.0 = +2.74$

故天冬氨酸先从柱上洗脱下来。

第②对中，精氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 10.76 - 7.0 = +3.76$

甲硫氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 5.74 - 7.0 = -1.26$

故甲硫氨酸先从柱上洗脱下来。

第③对中，谷氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 3.22 - 7.0 = -3.78$

缬氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 5.97 - 7.0 = -1.03$

故谷氨酸先从柱上洗脱下来。

第④对中，甘氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 5.97 - 7.0 = -1.03$

亮氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 5.98 - 7.0 = -1.02$

甘氨酸和亮氨酸所带电荷近似相等，但亮氨酸 R 基疏水性趋势为 3.88，而甘氨酸为 -0.44 表现为亲水性，亮氨酸与树脂骨架的疏水作用力强，停留的时间长。

故甘氨酸先从柱上洗脱下来。

第⑤对中，丝氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 5.68 - 7.0 = -1.32$

丙氨酸所带净电荷 $Q = pI - pH = 6.01 - 7.0 = -0.99$

故丝氨酸先从柱上洗脱下来。

4、在大多数氨基酸中， α -COOH 的 pK'_a 值都接近 2.0， α -NH₃⁺ 的 pK'_a 值都接近 9.0。而在肽中， α -COOH 的 pK'_a 值为 3.8，而 α -NH₃⁺ 的 pK'_a 比值为 7.8。你能解释原因吗？

答：在游离的氨基酸中，邻近的电荷影响每个基团的 pK'_a 值。带正电荷的 -NH₃⁺ 的存在，使带负电荷的 -COO⁻ 稳定，使羧基成为一种更强的酸；相反地，带负电荷的羧酸使 -NH₃⁺ 稳定，使它成为一种更弱的酸，因而使它的 pK'_a 升高。当肽形成时，游离的 α -氨基和 α -羧基分开的距离增大，相互影响降低，从而使它们的 pK'_a 值发生变化。