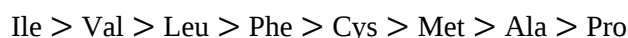


فصل ۸. شاخص آبگریزی، یونیزاسیون و pH ایزوالکتریک اسیدهای آمینه

وجه تمایز اسیدهای آمینه در زنجیره جانبی آنها است. براساس ماهیت زنجیر جانبی، اسیدهای آمینه به دو گروه قطبی (آبدوست) و غیر قطبی (آبگریز) طبقه بندی می شوند. ماهیت زنجیر جانبی را با شاخص آبگریزی (Hydropathy index) نمایش می دهند که اشاره به تغییر انرژی آزاد (ΔG) حاصل از انتقال یک اسید آمینه از یک محیط آبگریز به یک محیط آبی دارد. مهم ترین ویژگی اسیدهای آمینه استاندارد از جمله شاخص آبگریزی اشان در جدول ۱-۸ خلاصه شده است.

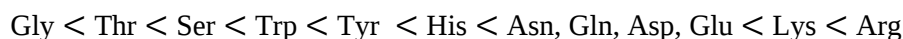
نکات:

(۱) اسیدهای آمینه آبگریز، ΔG مثبت دارند. براین اساس ترتیب اسیدهای آمینه آبگریز بصورت زیر خواهد بود:



(۲) سیستئین با وجود شاخص آبگریزی که دارد به سبب توانایی گروه سولفیدریل اش در تشکیل پیوند هیدروژنی، عموماً به عنوان یک اسید آمینه قطبی در نظر گرفته می شود.

(۳) اسیدهای آمینه آبدوست، ΔG منفی دارند. براین اساس ترتیب اسیدهای آمینه آبدوست بصورت زیر خواهد بود:



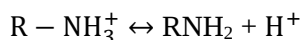
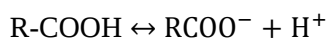
(۴) لوسین، آلانین و گلیسین به ترتیب فراوانترین و تریپتوفان، سیستئین، هیستیدین و متیونین به ترتیب کمترین حضور در پروتئین ها را دارند.

جدول ۱-۸. ویژگی و قرار دادهای مربوط به اسیدهای آمینه معمول

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r^*	pK_a values			pI	Hydropathy index [†]	Occurrence in proteins (%) [‡]
			pK_1 (—COOH)	pK_2 (—NH ₃ ⁺)	pK_R (R group)			
Nonpolar, aliphatic R groups								
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
Aromatic R groups								
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
Polar, uncharged R groups								
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
Positively charged R groups								
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
Negatively charged R groups								
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

یونیزاسیون اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه حداقل دو گروه قابل یونیزاسیون (α -آمینو و α -کربوکسیل) را دارا می باشند. هر کدام از دو گروه α -آمینو و α -کربوکسیل می توانند به دو شکل باردار و بدون بار وجود داشته باشند.



$R-COOH$ و $R-NH_3^+$ اشکال پروتونه یا اسیدی و $RCOO^-$ و RNH_2 بازهای مزدوج (گیرنده پروتونی) اسیدهای مربوطه می باشند. با وجود اینکه $R-COOH$ و $R-NH_3^+$ هر دو اسید ضعیفند اما قدرت اسیدی $R-COOH$ به مراتب بیش تر از $R-NH_3^+$ و pK آن بسیار کمتر است. میزان pK_1 مربوط به گروه α -

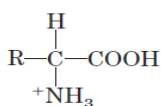
کربوکسیل و pK_2 برای گروه α - آمینو بوده و برای تمامی اسیدهای آمینه مونوکربوکسیلیک مونوآمینه تقریباً برابر و حدود $2/3$ و $9/6$ می باشد.

میزان یونیزاسیون گروه های α - کربوکسیل و α - آمینو بستگی به pH محیط دارد (تصویر ۱- ۸).

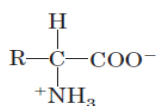
(۱) اگر $pH > pK_1$ باشد، هر دو گروه کربوکسیل و آمین پروتونه خواهند بود.

(۲) اگر $pK_1 < pH < pK_2$ باشد، گروه کربوکسیل دپروتونه و گروه آمین پروتونه خواهند بود.

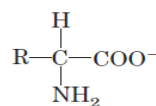
(۳) اگر $pH < pK_2$ باشد، هر دو گروه کربوکسیل و آمین دپروتونه خواهند بود.



$$pK_1 > pH$$



$$pK_1 < pH < pK_2$$



$$pK_2 < pH$$

تصویر ۱- ۸. وضعیت گروه های α - کربوکسیل و α - آمینو در pH های مختلف

شکل غالب یک اسید آمینه مونوکربوکسیلیک مونوآمینه در pH پلاسمایی و مایع بین سلولی

(به ترتیب $7/4$ و $7/1$) به چه صورتی است؟

pH پلاسمایی و مایع بین سلولی در محدوده بین pK_1 و pK_2 قرار می گیرد، لذا عامل کربوکسیل این اسیدهای آمینه دپروتونه و گروه آمینو آنها پروتونه خواهد بود.

pH ایزوالکتریک

میزانی از pH که در آن بار خالص اسید آمینه صفر می باشد را pH ایزوالکتریک (pI) می گویند. تعیین مقدار عددی pI به قرار زیر است:

الف) در مورد اسیدهای آمینه ای که زنجیر جانبی آن ها فاقد بار الکتریکی است.

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

ب) اسیدهای آمینه آنیونی (آسپارات و گلوتمات)

$$pI = \frac{pK_1 + pK_R}{2}$$

ج) اسیدهای آمینه کاتیونی (آرژنین، لیزین و هیستیدین)

$$pI = \frac{pK_2 + pK_R}{2}$$

نکته: شکلی از بیومولکول که بار خالص آن معادل صفر است، زویتریون (یون دو قطبی) نامیده می شود.

pK گروه های α -COOH، γ -COOH و NH_3^+ در اسید گلوتامیک به ترتیب برابر ۲/۲، ۴/۳ و ۹/۷ می باشد. در مورد بار الکتریکی خالص آن در pH های مختلف همه گزینه ها درست است، به جز:

- الف) در $\text{pH} < 2/2$ +۱
 ب) در $2/2 < \text{pH} < 4/3$ +۲
 ج) $4/3 < \text{pH} < 9/7$ -۱
 د) در $\text{pH} > 9/7$ -۲

پاسخ: گزینه ب. در ادامه هر کدام از گزینه ها را مورد بررسی قرار خواهیم داد.

وضعیت pH	وضعیت گروه ها			بر آیند بار
$\text{pH} < 2/2$	α -COOH	γ -COOH	NH_3^+	+۱
$2/2 < \text{pH} < 4/3$	α -COO ⁻	γ -COOH	NH_3^+	۰
$4/3 < \text{pH} < 9/7$	α -COO ⁻	γ -COO ⁻	NH_3^+	-۱
$\text{pH} > 9/7$	α -COO ⁻	γ -COO ⁻	NH_2	-۲

الف) $\text{pH} < 2/2$ ، محیطی اسیدی برای تمام گروه های ذکر شده در صورت سوال است، لذا هیچ کدام از آنها تمایلی جهت دپروتونه شدن و اسیدی کردن بیش تر محیط ندارند.

ب) $2/2 < \text{pH} < 4/3$ برای α -COOH محیطی بازی و برای دو گروه دیگر اسیدی است، از این رو فقط α -COOH دپروتونه می شود.

ج) $4/3 < \text{pH} < 9/7$ برای α -COOH و γ -COOH محیطی بازی و برای NH_3^+ محیطی اسیدی است. در این وضعیت دو گروه COOH دپروتونه می شوند.

د) $\text{pH} > 9/7$ برای هر سه گروه محیطی بازی است. لذا هر سه گروه به شکل دپروتونه خواهند بود.

سوالات

۱* - pH ایزوالکتریک اسید آمینه ای با $pK_1 = 2/3$, $pK_2 = 8/9$ و $pK_3 = 10/5$ را بدست آورید.

الف) ۹/۷ (ب) ۵/۶ (ج) ۶/۴ (د) ۱۰/۷

۲ - pI یعنی چه؟

الف) نقطه ایزوالکتریک یک اسید آمینه یا پروتئین

ب) pH که در آن میزان یونیزاسیون عوامل اسیدی و آمینی برابر است.

ج) pH که در آن پروتئین ها رسوب می کنند.

د) هر سه مورد صحیح است.

۳* - اسید آمینه آلانین در محلولی که pH آن برابر با pK_{NH_2} می باشد قرار گرفته است. فرم

مولکولی آن در این محلول کدام یک از موارد زیر است؟

الف) $CHCH_3COO^-NH_3^+$, NH_2CHCH_3COOH

ب) $CHCH_3COO^-NH_3^+$, $NH_2CHCH_3COO^-$

ج) $CHCH_3COOHNH_3^+$, $NH_2CHCH_3COO^-$

د) $CHCH_3COOHNH_3^+$, $CHCH_3COO^-NH_3^+$

۴* - مخلوطی از اسیدهای آمینه آلانین، اسید گلوتامیک و لیزین را در بافر با $pH = 6$ حل می

نماییم، ترتیب حرکت آن ها به طرف آند به چه صورتی است؟

الف) گلوتامات - آلانین - لیزین (ب) لیزین - آلانین - گلوتامات

ج) آلانین - گلوتامات - لیزین (د) گلوتامات - لیزین - آلانین

۵ - با توجه به pK گروه های فعال لیزین $pK_{COO^-} = 2/2$, $pK_{NH_3^+} = 9/2$ و $pK_{R \text{ group}} = 10/8$

نقطه ایزوالکتریک آن چقدر است؟

الف) ۵/۷ (ب) ۷/۶ (ج) ۱۰ (د) ۱۱/۵

۶ - کدامیک از اسیدهای آمینه زیر pH ایزوالکتریک بالاتری دارند؟

الف) Arg (ب) Glu (ج) Ser (د) Cys

۷ - در صورتی که pK تقریبی عوامل آلفا کربوکسیل، آلفا آمین و حلقه ایمیدازول در مولکول

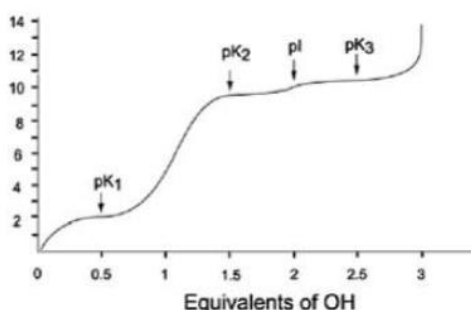
هیستیدین به ترتیب ۲، ۱۰ و ۱۲ باشد وضعیت باری مولکول در pH برابر ۶ کدام است؟

الف) دو بار مثبت (ب) یک بار مثبت (ج) خنثی (د) یک بار منفی

۸ - اندیس آب گریزی (هیدروفوبیسیتیه) کدام اسید آمینه، بیشتر است؟

الف) آسپارژین (ب) پرولین (ج) گلیسین (د) ایزولوسین

۹- منحنی زیر می تواند مربوط به تیتراسیون کدام اسیدهای آمینه باشد؟



الف) اسیدهای آمینه آبگریز با زنجیره جانبی حلقوی مثل فنیل آلانین

ب) اسیدهای آمینه با بار مثبت مثل آرژنین یا لیزین

ج) اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی قطبی بدون بار مثل سرین یا ترئونین

د) اسیدهای آمینه با بار منفی مثل آسپارتیک اسید یا گلوتامیک اسید

*۱۰- در محاسبه بار آمینواسیدها، اگر pH محیط از pK_a گروه قابل یونیزه کوچکتر باشد، کدام

جمله زیر صحیح است؟

الف) محلول نسبت به گروه قابل یونیزه قلیایی تر بوده و گروه مورد نظر پروتونه می شود.

ب) محلول نسبت به گروه قابل یونیزه قلیایی تر بوده و گروه مورد نظر دپروتونه می شود.

ج) محلول نسبت به گروه قابل یونیزه اسیدی تر بوده و گروه مورد نظر پروتونه می شود.

د) محلول نسبت به گروه قابل یونیزه اسیدی تر بوده و گروه مورد نظر دپروتونه می شود.

۱۱- در اسید آمینه His اگر pK گروه کربوکسیل، زنجیره جانبی و گروه آمین آن به ترتیب،

۱/۸۲، ۶ و ۹/۱۷ باشد. pI این اسید آمینه برابر است با:

الف) ۵/۶۶ (ب) ۳/۹۱ (ج) ۷/۵۹ (د) ۵/۵

۱۲- اگر در اسید آمینه Lys، pK گروه کربوکسیل آن ۲/۱۸ و pK گروه آمین زنجیره جانبی آن

۱۰/۵۳ و pK گروه آمین انتهایی آن ۸/۹۵ باشد، pI آن کدام است؟

الف) ۶/۳۵ (ب) ۵/۵۶ (ج) ۹/۲۴ (د) ۱۰/۵۳

۱۳- تأثیر شارژ منفی و محیط غیرقطبی بر روی pK_a گروه کربوکسیل زنجیره جانبی یک اسید

آمینه به ترتیب چگونه است؟

الف) شارژ منفی و محیط غیرقطبی هر دو باعث پایین بردن میزان pK_a گروه کربوکسیل اسید آمینه می شوند.

ب) شارژ منفی میزان pK_a گروه کربوکسیل را پایین برده درحالی که محیط غیرقطبی pK_a گروه کربوکسیل را بالا می برد.

ج) شارژ منفی میزان pK_a گروه کربوکسیل را بالا برده درحالی که محیط غیرقطبی pK_a گروه کربوکسیل را پایین می‌آورد.

د) شارژ منفی و محیط غیرقطبی هر دو باعث بالا بردن میزان pK_a گروه کربوکسیل اسیدآمینه می‌شوند.

۱۴- کدام اسید آمینه در حلال های غیر قطبی بیشتر حل می شود؟

الف) A

ب) P

ج) W

د) K