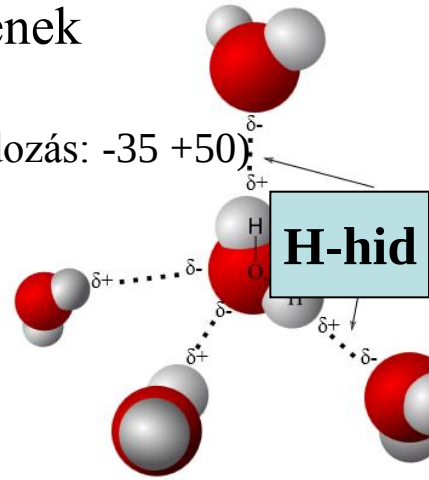
Preambulum: az élet hajnala és a víz

Szilárd kéreg és **Ősatmoszféra**

(>4,5 milliárd éve): forróság, CO_2, vízgőz

folyadék fázisú víz megjelenésének számos előfeltétele van:

- optimális Nap - Föld távolság (hőingadozás: -35 +50)
- Föld szögsebessége
- Hold (árapály)
-



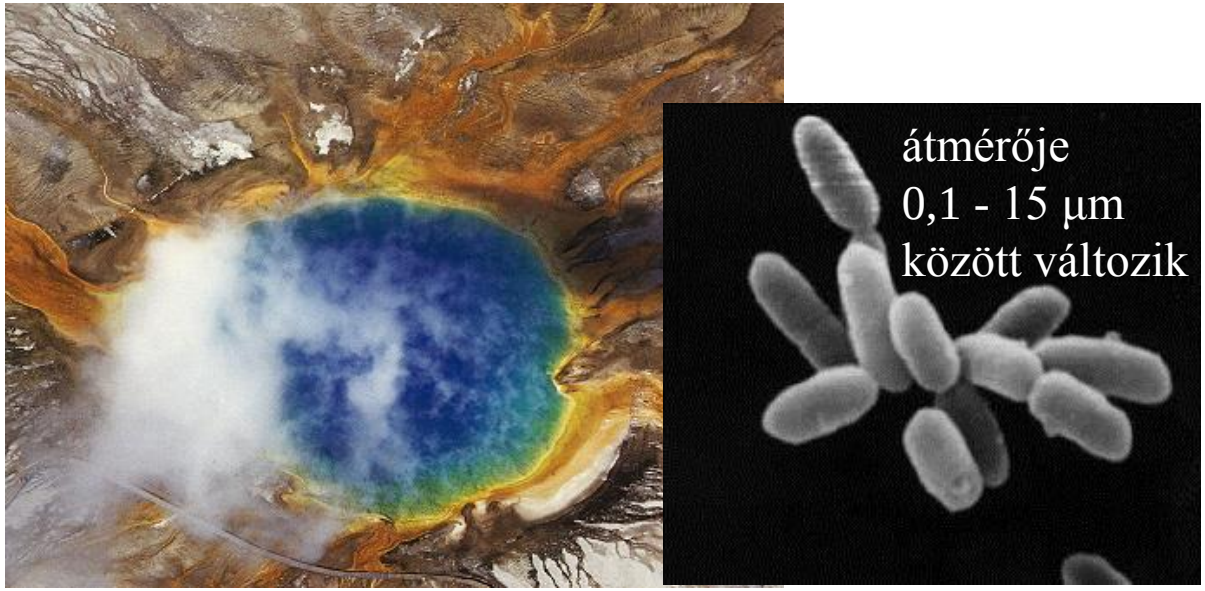
- Vizek áramlása ás körforgása: **grädiens**
  (vízpára, eső, patak, folyó, tó, óceán,..)

- földön a víz 90% sós (óceánok), de a desztilláció miatt van édesvíz is.

- szelek miatt az édesvíz kvázi homogénen oszlik el.

- kellően magas forrás- és fagyáspontja van,
- igen jó oldószer (sok mindent tud szállítani),
- felületi feszültség (a gravitációval ellentétesen, felfelé is tud folyni a víz pl. növényekben),
- a jég sűrűsége kisebb mint a vízé (a víz felülről fagy be)

Az első önreprodukcióra, önfenntartásra és önszabályozásra képes anyagi rendszerek kialakulása mintegy 4 milliárd évvel ezelőttre tehető.



archeák *(Archaea* vagy *Archaebacteria)*, (görög αρχαία, „ősi eredetűek”) vagy **ősbaktériumok** sejtmag nélküli, azaz prokarióta szervezetek. Akár több milliárd évesek?

archeák extremofilek: extrém helyeken is megélnek és szaporodnak:
- magas hőmérséklet (>100 °C), gejzírekben,
- nagy nyomás (óceán fenekén található hőforrásokban)
- rendkívül hideg
- nagyon sós, savas vagy lúgos vizekben is megtalálhatóak

Felépítésük:
- cirkuláris kromoszóma, 0,5 E+6<…<5 E+6 bázis
- a legkisebb egyed (*Nanoarchaeum equitans*) is >500 fehérjét kódolnak

Komplexitás-
információtartalom

egy példa

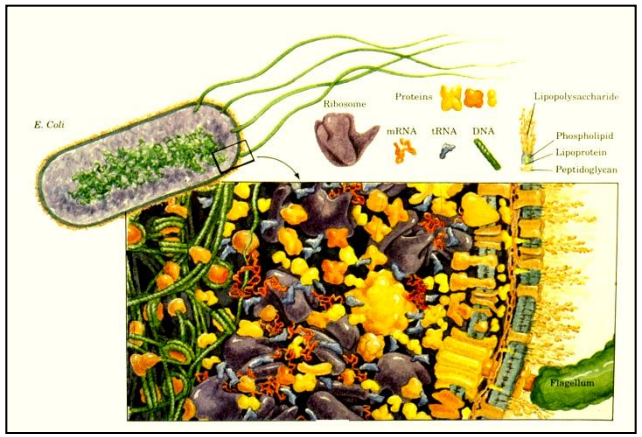
Szövet, organizmus

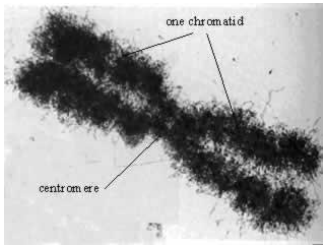
Sejt

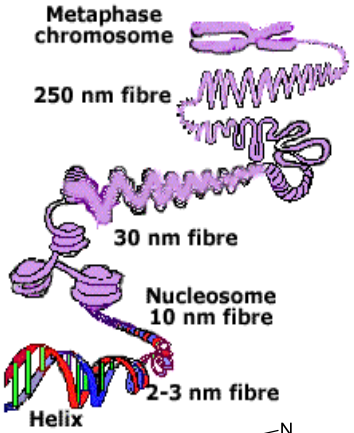
Szupramolekuláris komplexek és nanorendszerek

Biomolekulák

biológia

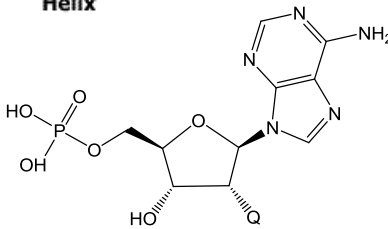






Biológiai kémia;
a természetes vegyületek kémiája

kémia
70 606 400
2013.02.11 /13.45

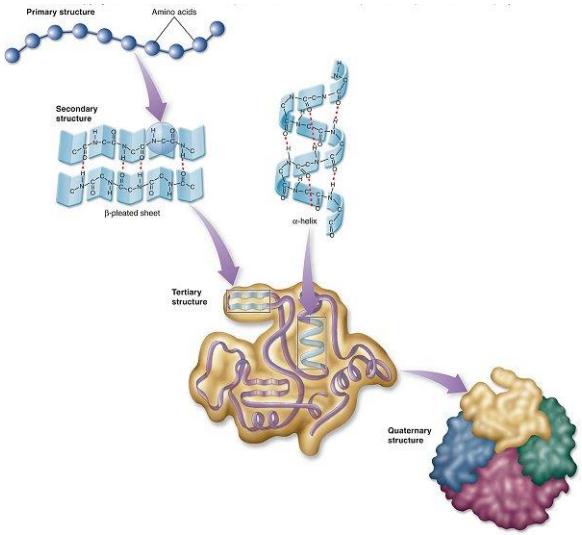


Q=OH adenozin-5'-monofoszfát
Q=H dezoxiadenozin-5'-monofoszfát

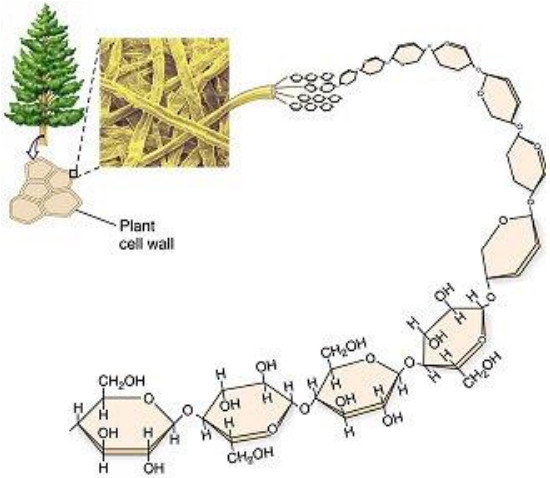
sokaság-sokszínűség
(kDa)

A biopolimerek három legfontosabb képviselője:

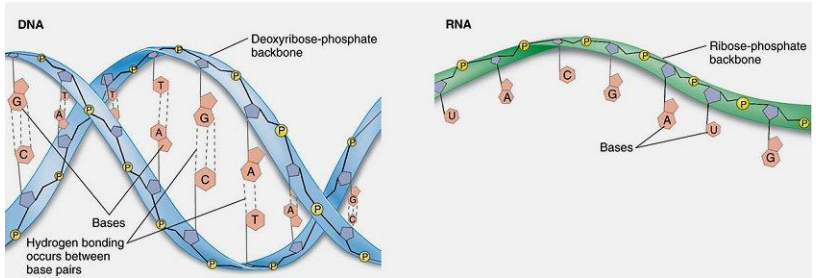
-a peptidek és fehérjék



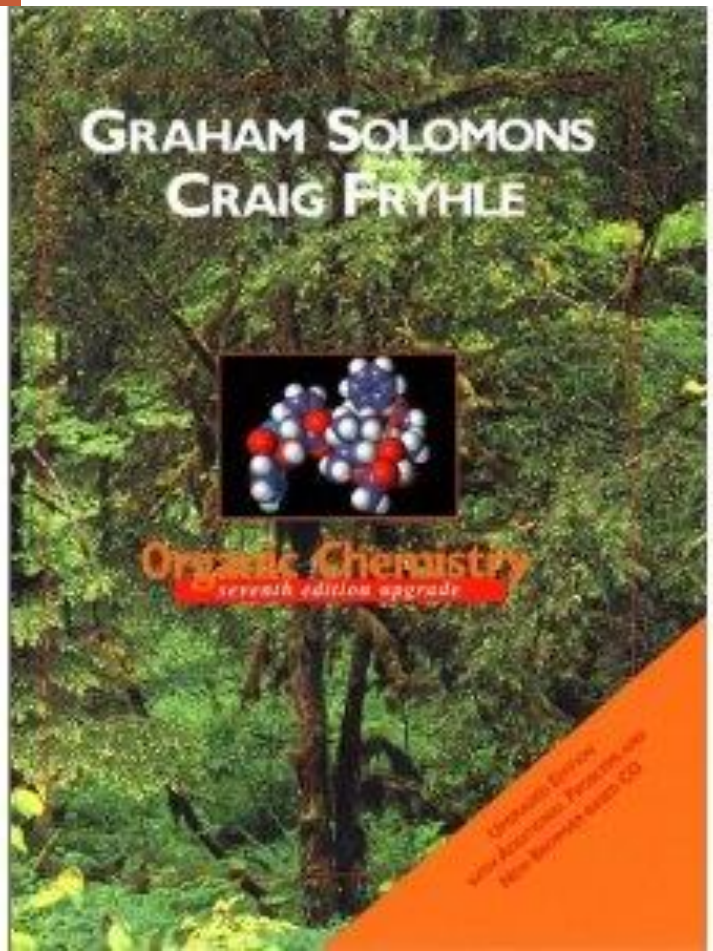
- az oligo- és poliszacharidok



- a nukleinsavak



Kajtár Márton
Változatok négy elemre
Szerves kémia
Fakszimile kiadás
ELTE EÖTVÖS KIADÓ


GRAHAM SOLOMONS
CRAIG FRYHLE
Organic Chemistry
seventh edition upgrade

Aminosavak: tartalomjegyzék

1) Kisszótár
2) Híres személyiségek
3) Bevezetés
- Az amidkötés kötésrendje és polaritása
- Az amidkötés geometriai izomériája
- Az aminosavak konfigurációja
- Az aminosavak osztályozása

4) Fehérjealkotó aminosavak
5) Az aminosavak ikerionos szerkezete
- Aminosavak protonáltsági állapotai
- Sav és konjugált bázisának egyensúlya
- Az elektroforézis
- A peptidek és fehérjék töltésviszonyai

6) Az aminosavak kémiai szintézise
- a módosított Gabriel-szintézis
- Strecker-szintézis
- DL-aminosavak rezolválása
- aszimmetrikus szintézis

1) **Kisszótár:** aminosav-, peptid- és fehérjekémia

Az **aminosavak** (*amino-karbonsavak*) olyan szerves vegyületek, amelyek molekulájában aminocsoport ($-NH_2$) és karboxilcsoport (-COOH) egyaránt előfordul. Az α-aminosavak kiemelkedő jelentőségűek az élővilág számára, mivel a peptidek és fehérjemolekulák építőkövei. Az α-aminosavak közös szerkezeti jellemvonása, hogy molekuláikban egy aminocsoport és egy karboxilcsoport kapcsolódik ugyanahhoz a leggyakrabban királis szénatomhoz.

aminosavsorrend, *szekvencia, elsôdleges szerkezet, primer struktúra:* az →*aminosav*ak kapcsolódási sor-rendje, amely elsôdlegesen meghatározza a fehérjék szerkezetét. Minden egyes peptidnek és fehérjének pontosan meghatározott, egyedi ~je van (F. Hofmeister, 1902; E. *Fischer,* 1906). Az elsô fehérje, amelynek ~jét meghatározták, az 51 aminosavból álló inzulin volt (F. *Sanger,* 1953-55). A fehérjék ~je genetikailag kódolt, azaz az élô sejt egy adott DNS szakasza (→*genetikai kód*) egy adott ~û fehérje bioszintézisét írja elô. A fehérjék ~je meghatározható közvetlenül a fehérjelánc kémiai vizsgálatával (→*Edman-lebontás*, →*szekvenciaanalízis*) vagy közvetve, a fehérjét kódoló DNS-szakasz →*nukleotidsorrend*jének átírásából (→*restrikciós enzim*, →*DNS-szekvenálás*); mindkét módszerhez megfelelô készülékek ún. automata szekvenátorok állnak rendelkezésre.

enantiomer vegyületpár: <gör. enantiosz ‘ellentétes’, merosz ‘rész’>: az olyan sztereoizomer vegyületpárok gyűjtôneve, melyek molekuláinak térbeli szerkezete az egymással fedésbe nem hozható tükörképek viszonyában áll. Az enantiomerek fizikai és kémiai tulajdonságai azonosak, kivéve az optikai forgatóképesség irányát (de az abszolút értékek itt is azonosak), továbbá a királis reagensekkel szemben tanúsított viselkedést. Akirális vegyületekből az ~ok tagjai 1:1 arányban keletkeznek és →*rezolválással* választhatók szét. Az egyik enantiomer túlsúlyban csak különleges körülmények között képzôdik (enantioszelektív reakció, aszimmetriás szintézis).

enzimek: a szervezetben lejátszódó folyamatok reakciósebességét növelő molekulák; biokatalizátorok. Mint minden katalizátor, az enzimek is csak olyan folyamatok lejátszódását segítik elő, amelyek egyébként is végbemennének, de a reakció lényegesen lassabban játszódna le. Az enzimek a reakció aktiválási energiát csökkentik, így az enzimeket biokatalizátoroknak tekinthetjük.

fehérje, *protein* <gör. prótosz ‘elsô, legfôbb’>: alfa-aminosavakból savamidkötéssel (peptidkötéssel) felépülô óriás molekulák (biopolimerek) gyûjtôneve, melyek a sejtplazma szervesanyag-állományának zömét alkotják. Egy ~molekula egy v. több →*polipeptidlánc*ból áll (→*peptid*), a láncokat amidkötéssel (→*peptidkötés*) egymáshoz kapcsolódó →*aminosav*ak építik fel (E. Fischer, F. Hofmeister, 1902). A húszféle fehérjealkotó alfa-aminosav tetszôleges számban, minden lehetséges kombinációban kapcsolódhat, ez biztosítja a ~k végtelen változatosságát. Egyetlen baktériumsejt többezer, az emberi szervezet több tízezer különféle fehérjét tartalmaz. A ~k jelenlétét növényekben már régen igazolták (C.W. Scheele, 1783, A.F. Fourcroy, 1789).

fehérjék szerkezet: Egyetlen polipeptidlánc téralkatát zömmel az alfa-hélix, a béta-szerkezet, a kanyarok, stb. és a rendezetlen, ún. random konformációjú szakaszok kombinációja alakítja ki, ezt nevezzük *harmadlagos szerkezet*nek, melyet másodlagos kötôerôk és diszulfidhidak stabilizálnak. Két v. több polipeptidlánc teljes térszerkezetét a *negyedleges szerkezet* fejezi ki. A harmadlagos és negyedleges szerkezet együttes kísérleti meghatározása *röntgendiffrakció*s és NMR-es módszerrel történik; így elôször a →*mioglobin* térszerkezetét állapították meg (J. C. Kendrew és M. F. Perutz, 1961).

glicin, *glikokoll* <gör. glüküsz ‘édes’ és kolla ‘enyv’ szavakból>, *Gly, G,* H2NCH2COOH: az ecetsav α-aminoszármazéka, a húszféle fehérjealkotó → *aminosav* között a legegyszerûbb és az egyetlen akirális. Színtelen, édes ízû, kristályos anyag, 233 °C-on bomlik. Vízben jól, alkoholban, éterben nem oldódik. Szinte minden fehérjében megtalálható, legnagyobb mennyiségben a selyemfibroin és a zselatin tartalmazza. Az enyv savas hidrolizátumából különítette el elôször H. Braconnot (1820). A ~ volt az elsô mesterségesen elôállított aminosav, a bróm-ecetsav és ammónia reakciójával nyerte W.H. Perkin (1858). A formaldehid (CH2O), hidrogén-cianid (HCN) és ammónia (NH3) reakciójával elôállított amino-acetonitril (H2NCH2CN) hidrolízise útján gyártják. Az élô szervezetben a *glikolsav-ciklus* tagjaként játszik fontos szerepet. Bár nem esszenciális aminosav, emberi és állati táplálékok kiegészítôje lehet, a nitrogénszükségletet fedezi. Az intravénás infúziós folyadékok egyik fô komponense.

ikerion, zwitterion: pozitív és negatív töltést egyaránt hordozó molekulák gyűjtőneve. A savas és bázisos csoportot egyaránt tartalmazó molekulák vizes oldatára jellemzô az a pH érték, amelyen az ~os szerkezet fellépése folytán az ellentétes töltések száma megegyezik, azaz a molekula kifelé semleges (→*izoelektromos pont*) **(pI):**. Vizes oldatban az ilyen anyagok →*amfoter elektrolit*ként viselkednek. Az →*aminosav*ak ~os természetét P. Pfeiffer (1922) ismerte fel. Jellegzetes ~ok a →*betain*ok, az aminoszulfonsavak (→*taurin*, →*szulfanilsav*), az aminofoszfátok (→*szfingomielin*) és az →*amin-oxid*ok (→*piridin-N-oxid*).

inzulin <lat. insula `sziget`>: a hasnyálmirigy Langerhans-szigeteinek A-sejtjeiben képzôdô, a vércukorszintet csökkentô, hormonhatású polipeptid. Az emberi ~t hasnyálmirigybôl F. G. Banting és C.H. Best (1922) különítette el elôször. Emlôsökben az ~molekula két polipeptidláncból áll: az A-lánc 21, a B-lánc pedig 30 aminosavat tartalmaz, melyek kapcsolódási sorrendje fajonként néhány aminosavrészben tér el egymástól. A két láncot két pár diszulfidhíd kapcsolja össze, a harmadik diszulfidhíd az A-láncon belül található. Az A-lánc szekvenciája: Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr-Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn; a B-láncé: Phe-Val-Asn-Gln-His-Leu-Cys-Gly-Ser-His-Leu-Val-Glu-Ala-Leu-Tyr-Leu-Val-Cys-Gly-Glu-Arg-Gly-Phe-Phe-Tyr-Thr-Pro-Lys-Ala. Az ~ volt az elsô fehérje, amelynek aminosavsorrendjét meghatározták (F. Sanger, 1953–55), ill. mesterséges elôállítását több munkacsoport egyidôben megvalósította (1963). Az élô szervezetben elôször a 89 aminosavrészbôl álló preproinzulin képzôdik, amelybôl az ~ proinzulinon át több lépésben keletkezik. Az ~ a vérbôl kikerülve (elsôsorban a májban) gyorsan lebomlik. Az ~ antagonistája a glukagon. Az ~t cukorbetegség kezelésére használják. A normális vérben literenként kb. 1 µg ~ található.

kinetikus rezolválás: mikor egy reakció sebessége az egyik enantiomer esetében lényegesen eltérő a másik enantiomerétől, és ezért az egyik sztereoizomer túlsúlyát kapjuk

oxitocin <gör. Ókütokosz: ‘gyorsan és könnyen szülô’> az agyalapi mirigy hátsó lebenyébôl (neurohipofízis) 1952-ben elkülönített peptidhormon. Molekulatömege 1007, aminosavsorrendje Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH2, a két ciszteinrészt diszulfidhíd kapcsolja össze. Szerkezetének meghatározása és mesterséges elôállítása V. du Vigneaud (1953–54) nevéhez fûzôdik. A simaizmok összehúzódását váltja ki, ezáltal pl. a szülés megindulását és a tejelválasztást szabályozza. Az ~ és a rokon szerkezetû vazopresszin élettani szerepében számos hasonlóság van.

peptid <gör. peptikosz ‘emészthetô′ szóból>**: két v. több aminosavrészbôl →***peptidkötés***sel felépülô vegyületek gyûjtôneve. A kapcsolódó aminosavrészek száma szerint: a néhány (2–10) aminosavrészbôl levezethetô ~eket (di~, tri~, tetra~) →*oligopeptid*nek, a 10-nél több aminosavrészt tartalmazó peptideket →*polipeptid*nek nevezik. A ~ek acilaminosavaknak tekinthetôk. Elnevezésükkor a peptidkötésben karboxilcsoportjával résztvevô mindegyik aminosavrész -il végzôdést kap, egyedül a szabad karboxilcsoporttal rendelkezô láncvégi aminosav tartja meg triviális nevét, pl. alanil-szeril-cisztein: $H_2NCH(CH_3)CO–NHCH(CH_2OH)CO–NHCH(CH_2SH)COOH$. Ugyanez a szerkezet az →*aminosav*ak hárombetûs kódjával rövidítve: H-Ala-Ser-Cys-OH. A szabad alfa-aminocsoporttal rendelkezô láncvég az N-terminális; a szabad alfa-karboxilcsoportot tartalmazó láncvég pedig a C-terminális aminosav. A gyûrûs szerkezetû *ciklopeptidek* esetében a CO→NH acilezési kapcsolatok irányát nyilak jelzik. A ~ekben az aminosavak kapcsolódási sorrendjét (szekvenciáját), amely meghatározza konstitúciójukat, elsôdleges (primer) szerkezetnek nevezik (→*aminosavsorrend*). Az összetett ~ekben a aminosavrészek ~kötésben nem szereplô funkciós csoportjaik (pl. NH_2, COOH, OH) révén más vegyületekhez (pl. szacharidok, lipidek, foszfátok) kapcsolódhatnak, ezeket nevezik gliko-, lipo-, ill. foszfo~eknek. A ~ek az aminosavaknál nagyobb, de a fehérjéknél kisebb méretûek, általános tulajdonságaik is köztesek. Szilárd anyagok, olvadás- ill. bomláspontjuk magas. Ionizáló csoportjaik révén vízben oldódnak, de az oldékonyságot a hidrofób oldalláncok jelentôsen mérsékelhetik. Szabad amino- ill. karboxilcsoportjaik révén az aminosavakra, fehérjékre jellemzô kémiai reakciókat is adják (pl. →*ninhidrin-próba*, →*Edman-lebontás*). Aminosav-összetételük és primer szerkezetük meghatározása megegyezik a fehérjékre alkalmazott módszerekkel (→*aminosavanalízis,* →*szekvenciaanalízis*). A fehérjéknél jóval hajlékonyabb térszerkezetük (konformációjuk) kialakításában szintén az →*alfa-helix*, béta-szerkezet, kanyarszerkezet játszanak szerepet. Ilyen irányú vizsgálatukra fizikai módszerek (spektroszkópia, röntgendiffrakció) alkalmasak. A ~ek az élô szervezetben rendkívül elterjedtek, bár koncentrációjuk kicsi. Egyes ~eknek erôs biológiai hatása van (→*peptidantibiotikum*,→*peptidhormon*) A ~ek tisztítása, dúsítása, egymástól való elkülönítése speciálisan hatékony és szelektív (1944–54 között kidolgozott) módszerekkel történik (extrakció, ultraszûrés, kromatográfia, elektroforézis). Az 1970-es évektôl igen kis (ng, pg) mennyiségük kimutatása is lehetôvé vált radioimmunológiai módszerekkel. Egyes bioaktív ~ek fehérjékbôl jönnek létre fehérjebontó enzimek hatására (erre utal a ~ név). Más esetekben a rövidebb láncú ~ek nem fehérjealkotó aminosavrészeket is tartalmaznak (pl. β-alanin, γ-aminovajsav, d-aminosavak), továbbá gyûrûs, ill. elágazó szerkezetûek lehetnek, ami meggátolja gyors lebomlásukat a szervezetben.

rezolválás <lat. resolvere, ′feloldani′>: (kém) a →*racemát*ok, azaz az enantiomerek elegyének szétválasztása optikailag aktív komponensekre. A kémiai ~ során a sav v. bázis jellegû vegyület racemátját valamely optikailag aktív bázissal (pl. kinin, cinkonin, brucin, sztrichnin) ill. savval (pl. borkôsav, kámforszulfonsav, brómkámforszulfonsav) diasztereomer sópárrá egyesítik, ezeket eltérô fizikai tulajdonságaik (pl. oldékonyságuk) alapján szétválasztják, majd az egyes enantiomereket sóikból regenerálják. Ezt a módszert L.Pasteur (1848) a szôlôsav elválasztásra dolgozta ki. A ~ újabb (1942) módszere a királis oszlopon kivitelezett folyadékkromatográfia, valamint a karbamiddal történô diasztereomer →*zárványvegyület*-képzés (W. Schlenk, 1952). Optikailag aktív enantiomerhez vezethet a biológiai elválasztás is, amely szerint a racemát-oldatban az egyik enantiomert megfelelô mikroorganizmus kiválasztásával elemésztik (L. Pasteur, 1856).

sav: olyan vegyület (H-A) amely vizes oldatban S.A. Arrhenius (1887) klasszikus megfogalmazása szerint hidrogénkationokra (H^+) és savmaradék-anionokra (A^-) disszociál: H–A ⇔: H+ + A– (savi →*disszociáció*). A ~ak vizes oldatában a pozitív hidrogénionok koncentrációja meghaladja a negatív hidroxidionokét (OH–), az ilyen oldatok savas kémhatásúak A ~ak jellemzô tulajdonsága, hogy →*bázis*okkal sókat alkotnak, pl. a sósav (HCl) és a nátrium-hidroxid (NaOH) reakciója során konyhasó (NaCl) és víz (H_2O) keletkezik: HCl + NaOH = NaCl + H_2O. A savak erôsségét (→*aciditás*) a vízzel való HA +H_2O ⇔ H_3O^+ + A^- megfordítható reakció egyensúlyi állandója (K_a) v. ennek negatív logaritmusa (pK_a, →*pK-érték*) jellemzi. A K_a savi →*disszociációállandó* értékét az egyensúlyi reakció résztvevôinek koncentrációadataiból lehet kiszámítani: Ka = [H_3O^+] [A^-] / [HA]. Az erôs savak (pl. kénsav, sósav, salétromsav; pK_a = –10, –7, ill. –1.4) normál vizes oldatában a disszociáció kb. 20–100%-os, a mérsékelten erôs savaké (pl. foszforsav, hidrogén-fluorid; pK_a = 1,96, ill. 3,17) 1–20%-os, a gyenge savaké (pl. karbonsavak; ecetsav pKa = 4,76) 1% alatti. A két- és többázisú ~ak több (aszparaginsav, glutaminsav) lépésben disszociálnak egyre gyengébb savként viselkedve (pl. kénsav: pK_{a1} = –10, pK_{a2} = 1,7). Ismertek még a rendkívül erôs →*szupersav*ak is (pK_a értékük –20 körüli). A karbonsavaknál jóval gyengébbek a fenolok és az alkoholok (O–H savak), az amidok és aminok (N–H savak) és egyes, ún. lazított H-atomot tartalamazó oxovegyületek, észterek, szénhidrogének (C–H savak). A ~ általánosabb fogalmát a →*sav-bázis elméletek* adják meg.

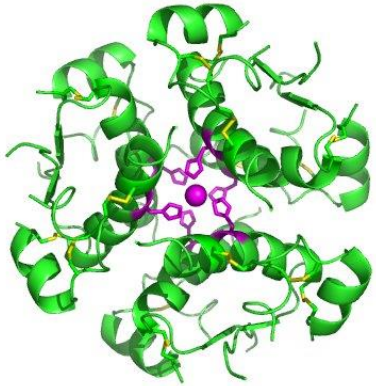
Savasság (pKa):: az →*aciditás* (savasság, H+-ion leadási készség) mértéke, amelyet a savi disszociációs exponens, az ún. →*pKa-érték* jellemez.

vazopresszin, <lat. vas 'edény', pressus 'nyomás' szavakból> →*antidiuretikus hormon, ADH:* a rokon szerkezetû →*oxitocin*hoz hasonlóan, az agyalapi mirigy hátsó lebenyébôl (neurohipofízis) elkülönített peptidhormon. Változatai: a szarvasmarhából izolált 8-arginin-~ (aminosavsorrendje Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH_2, (MW: 1084) és a sertésbôl izolált 8-lizin-~ (aminosavsorrendje Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Lys-Gly-NH_2, MW: 1056); mindkét ~ben a két ciszteinrészt diszulfidhid kapcsolja össze. Szerkezetének meghatározása és mesterséges elôállítása V. Du Vigneaud (1953–54) nevéhez fûzôdik. Elsôdlegesen a vese tubulusaiban fejt ki vizelettermelést csökkentô hatást (→*antidiuretikum*), emellett jelentôsen növeli a vérnyomást is. A legerôsebb élettani aktivitással rendelkezô anyagok egyike, emberben már 2 nanogram ~ képes jelentôsen csökkenteni a vizelettermelést. A ~ szerepet játszik még a tanulási és memóriatevékenységben, az agy kialakulásában, a termoregulációban, valamint a gyógyszer- és alkoholfüggôség kialakulásában.

2) Híres személyiségek:

Frederick Grant Banting **John James Richard Macleod**

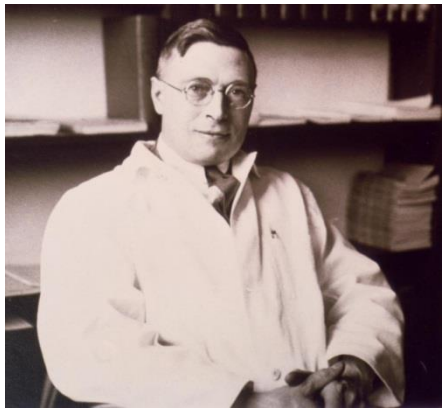
1923 Nobel-díj az inzulin felfedezéséért



A monomer formában aktív inzulint szervezetünk hexamerként tárolja: 6 His imidazol gyűrűje koordinálódik a Zn-ion köré, három-fogású szimmetr.

memo: Banting sértőnek és igazságtalannak találta, hogy asszisztensét Charles Best-et mellőzték, s ezért a díjat és az elismerést megosztotta vele. Ennek hatására Macleod is megosztotta az elismerést James Collip-pal. Az inzulinra vonatkozó szabadalmukat pedig - 1 dollár ellenében - átadták a Torontói Egyetemnek.

Charles Best

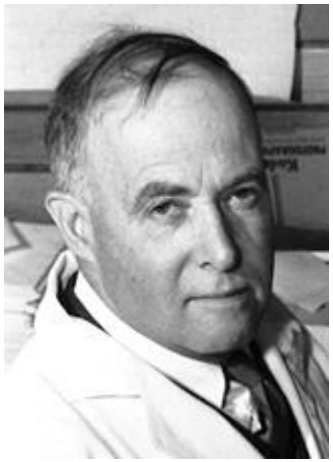


James Collip

- Az aminosavak peptidek és fehérjék koronázott és koronázatlan királyai:

Otto Heinrich Warburg

1931 Nobel-díj:
for his discovery of the nature and mode of action of the **respiratory enzyme**



James Batcheller Sumner

1946 Nobel-díj:
az enzimek kristályosíthatóak

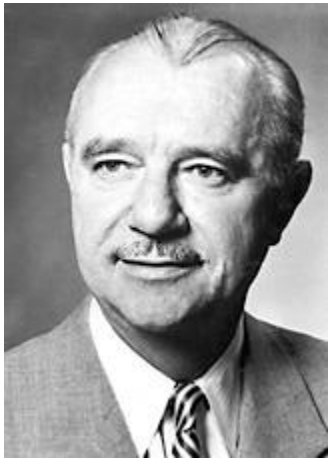
John Howard Northrop **Wendell Meredith Stanley**

1946 Nobel-díj
Enzim és vírusfehérjék izolálása és tisztítása

Linus Pauling

1954 Nobel-díj
fehérje szerkezet alapjainak lerakásáért

- Az aminosavak peptidek és fehérjék koronázott és koronázatlan királyai:



Vincent du Vigneaud

1955 Nobel-díj
Biológiailag aktív kénvegyületek és polipeptid hormonok **szintéziséért**

Axel Hugo Theodor Theorell
1955 Nobel-díj for his discoveries concerning the nature and mode of action of **oxidation enzymes**

Frederick Sanger

1958 Nobel-díj
Az inzulin szekvenálása

Sir John Cowdery Kendrew

Ferdinand Max Perutz

1962 Nobel-díj
Oxigén-transzport fehérjék szerkezet-meghatározása

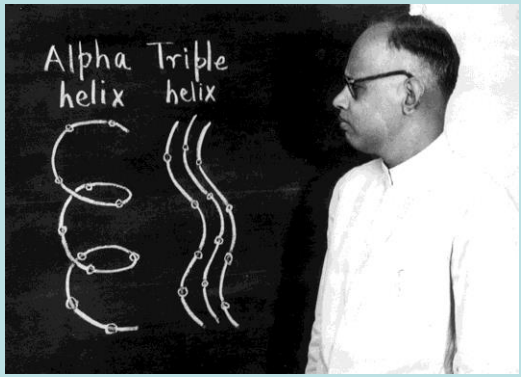
- Az aminosavak peptidek és fehérjék koronázott és koronázatlan királyai:

Robert W. Holley **Har Gobind Khorana** **Marshall W. Nirenberg**

1968 Nobel-díj for their interpretation of the **genetic code** and its function in protein synthesis

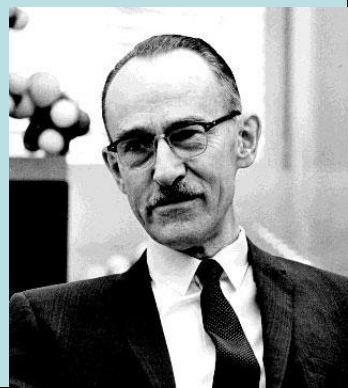
Christian B. Anfinsen

1972 Nobel-díj
Ribonukleáz feltekeredése



Gopalasamudram Narayana Iyer **Ramachandran** (1922 – 2001)

Robert Brainard Corey
(1897 –1971)
Az α-hélix és a β-redő felfedezője



- Az aminosavak peptidek és fehérjék koronázott és koronázatlan királyai:

Gerald M. Edelman

Rodney R. Porter

1972 Nobel-díj for their discoveries concerning the chemical structure of **antibodies**

Roger Guillemin

Andrew V. Schally

Rosalyn Yalow

1977 Nobel-díj agyi peptid hormonok

Bruce R. Merrifield

1984 Nobel-díj
A szilárdfázisú peptidszintézis felfedezése

Stanley Cohen

Rita Levi-Montalcini

1986 Nobel-díj: for their discoveries of growth factors

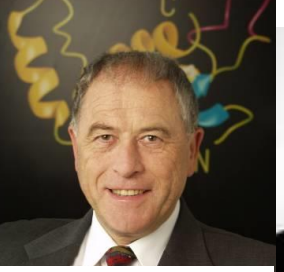
- Az aminosavak peptidek és fehérjék koronázott és koronázatlan királyai:

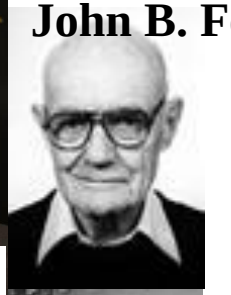
Alfred G. Gilman **Martin Rodbell**

1994 Nobel-díj for their discovery of **G-proteins** and the role of these proteins in signal transduction in cells

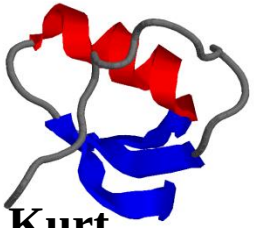
Stanley B. Prusiner
1997 Nobel-díj for his discovery of **Prions** - a new biological principle of infection

Günter Blobel
1999 Nobel-díj
for the discovery that proteins have intrinsic **signals** that govern their transport and localization in the cell





John B. Fenn



Kurt Wüthrich

Koichi Tanaka

Nobel-díj **2002**
makromolekulák szerkezet-vizsgálati módszerek: NMR, MS

Peter Agre

Roderick MacKinnon

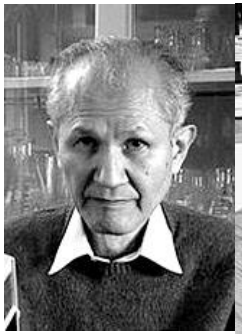
Nobel-díj **2003**
membrán csatornák mélyebb megértése

Aaron Ciechanover

Avram Hershko

Irwin Rose

Nobel-díj **2004**
Az **ubiquitin** megjelöli azokat a fehérjéket, amelyeket a proteoszóma meg fog emészteni.

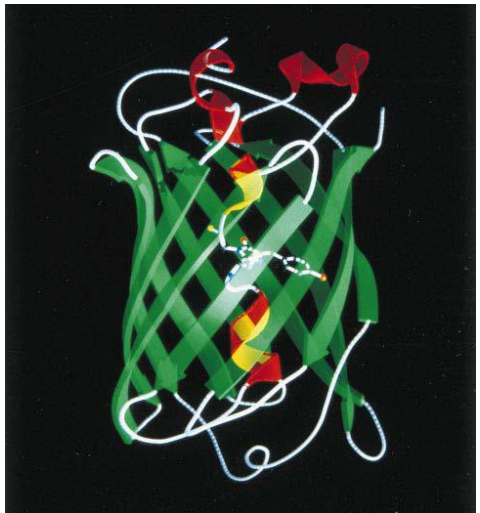


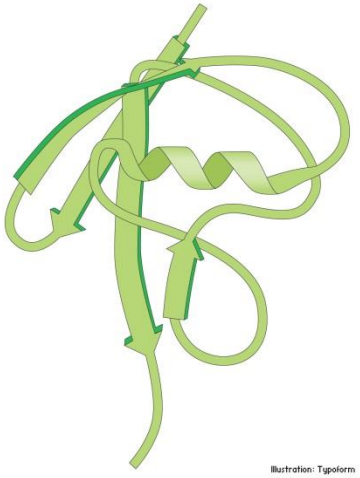
Osamu Shimomura

Martin Chalfie

Roger Y. Tsien

Nobel-díj **2008** GFP-fehérjék



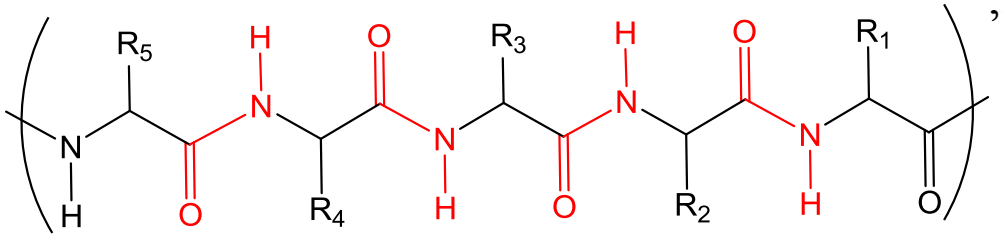


3) Bevezetés: a fehérjék sokrétű biopolimerek

- katalizáló és szabályozó funkció (enzimek és hormonok)
- jelző és jelátviteli funkció
- szerkezeti funkciók (aktin, tubulin, kollagén, elasztin, keratin, stb.)
- szállító fehérjék (pl. hemoglobin [oxigén], kazein [Ca^{2+}], ioncsatornák, stb.)
- motorfehérjék (miozin, kinezin, dinein, stb.)
- …

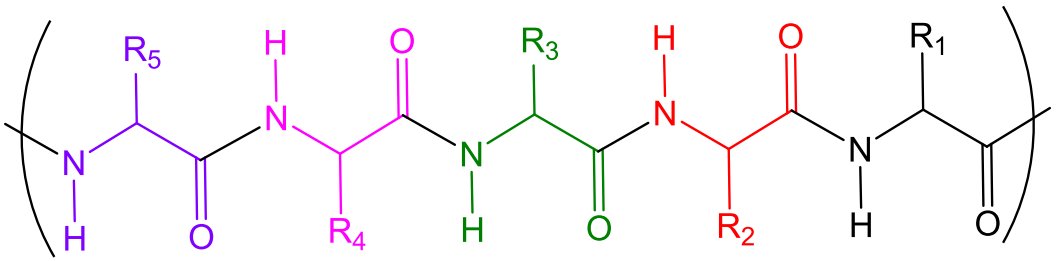
Minden sokrétűségük ellenére a fehérjék kémiailag igen konzervatív molekulák;

„csupán" lineáris polimerek!

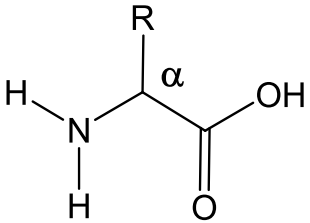


elágazásmentes poliamidok

egy fehérjeszakasz sematikus rajza



tipikus
építőelem



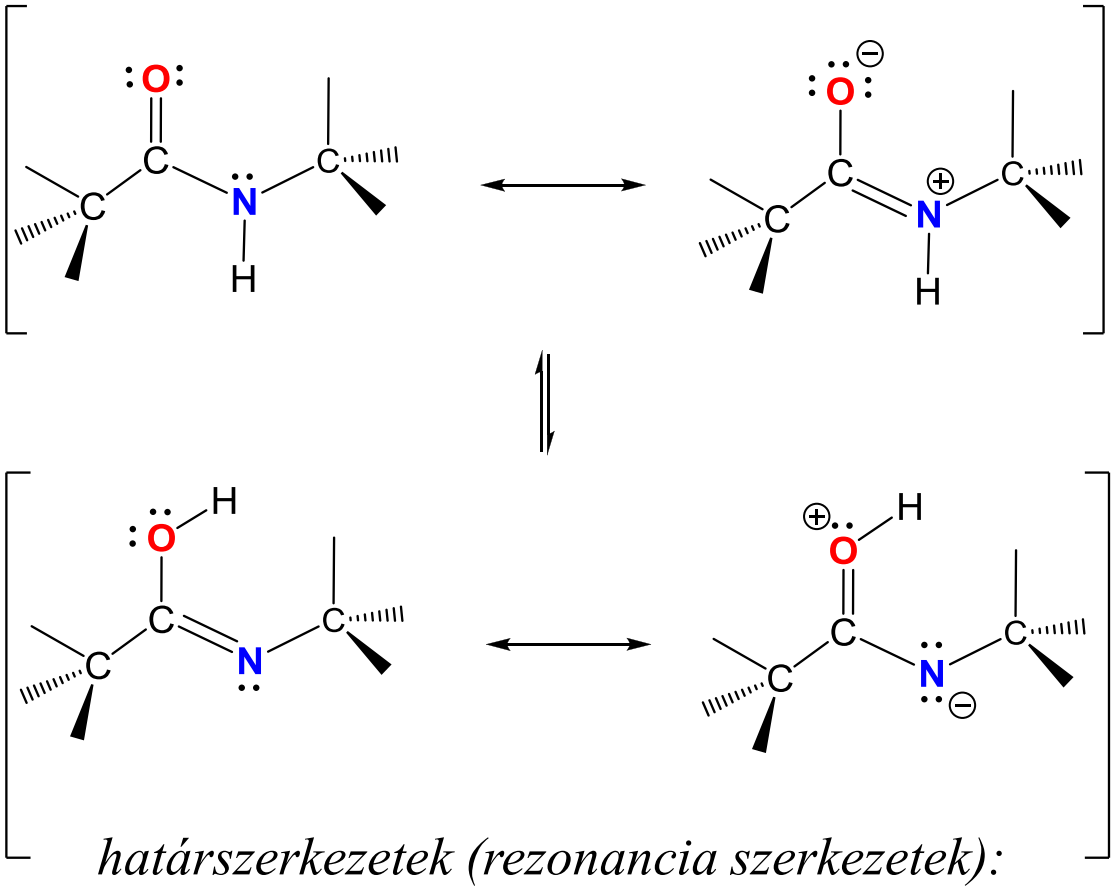
α-aminosav

3.1) Az amidkötés kötésrendje és polaritása:

kérdés: az amidcsoport hány atomja van egy síkban szobahőmérsékleten?

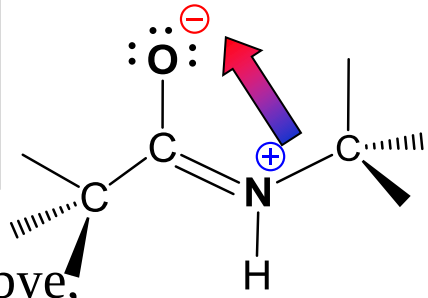
határszerkezetek (rezonancia szerkezetek):

tautomerek



tautomerek

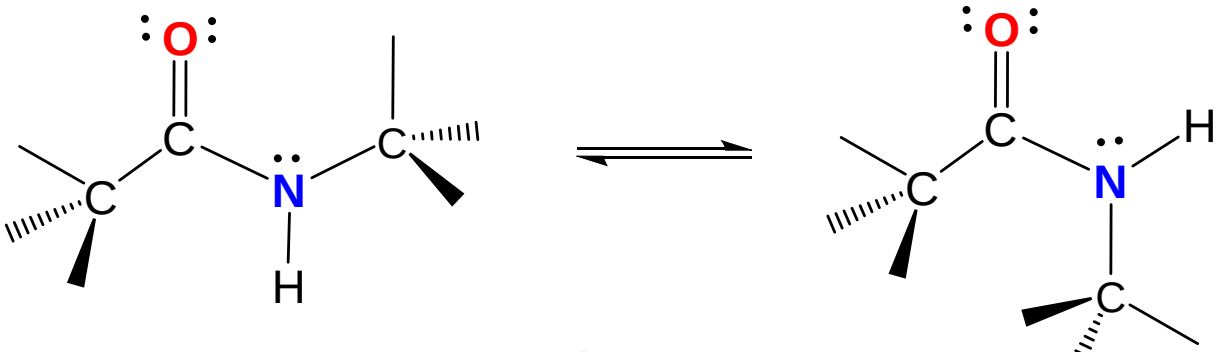
határszerkezetek (rezonancia szerkezetek):



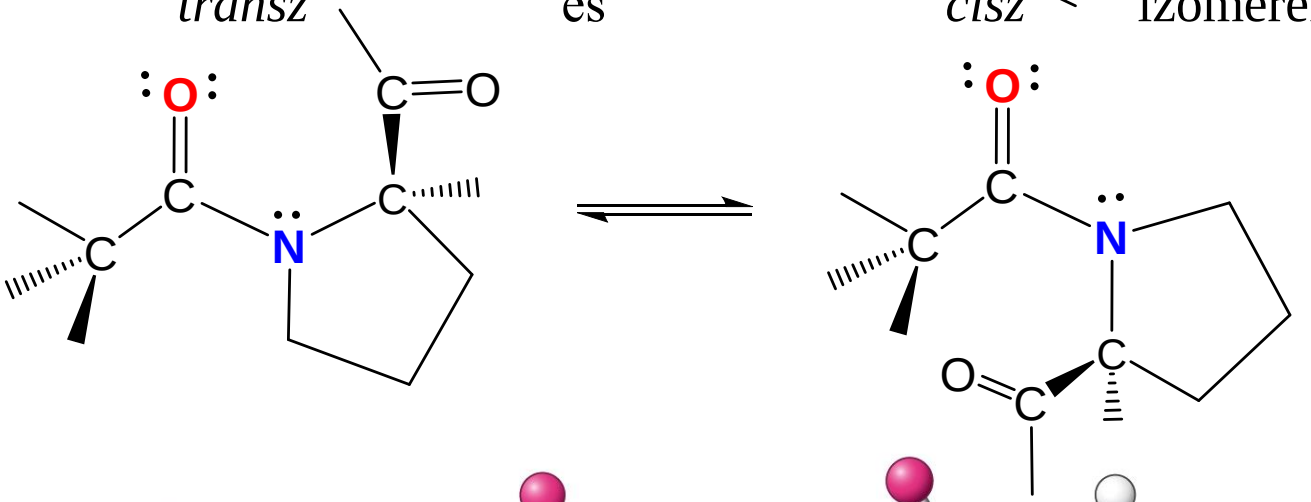
Az amidkötésnek jelentős: - polaritása van; jelentős **dipól** ~3.5 Debye,
- **kettőskötés** jellege van a C-N kötés mentén.

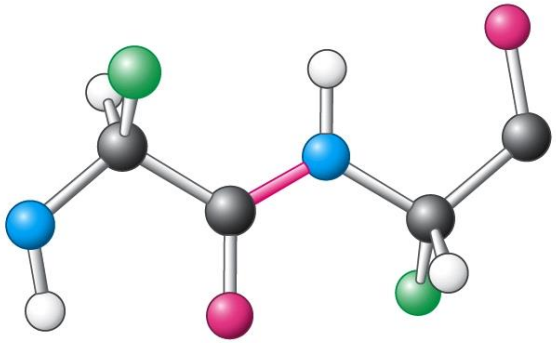
3.2) Az amidkötés geometriai izomériája:

kérdés: az amidcsoport esetében a *cisz* vagy a *transz* a stabilabb forma?

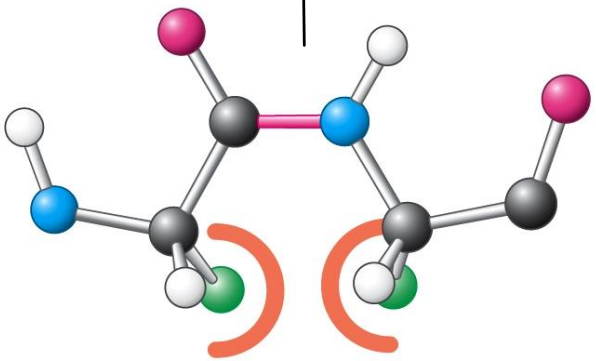


transz és *cisz* izomerek





Trans

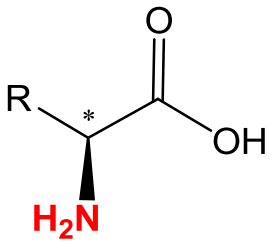


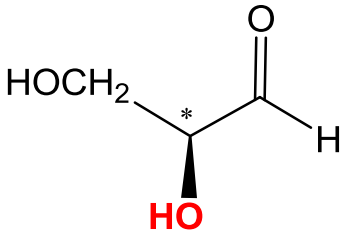
Cis

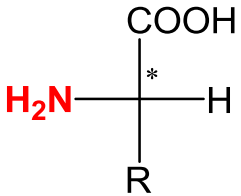
3.3) Az aminosavak konfigurációja:

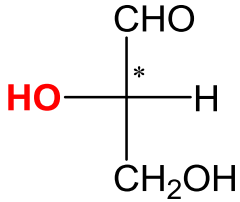
A fehérjealkotó (*proteinogenic*) 20 as. között a Gly kivételével mind a 19 optikailag aktív vegyület: van tükörképi párja (enantiomerje).

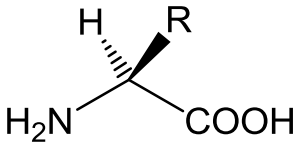
A fehérjeépítő α-aminosavak az **L-glicerinaldehid**del azonos térszerkezetűek; ezért tartoznak az **L-sorozatba**.



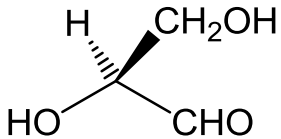




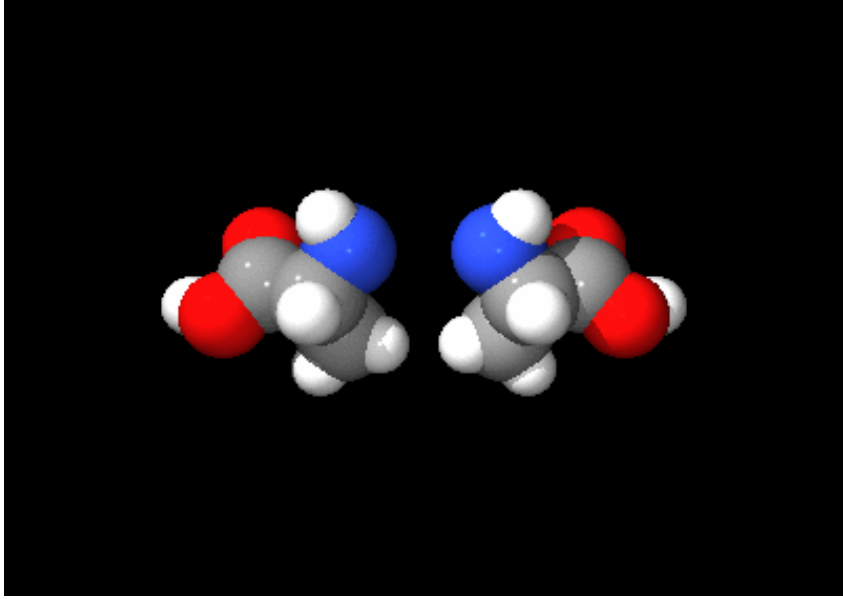




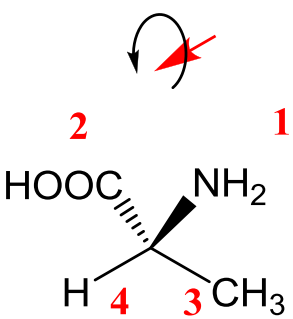
az L-aminosavak többnyire (*S*)-konfigurációjuak



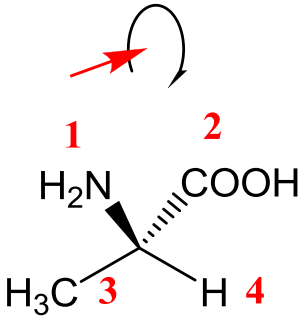
L-glicerinaldehid (*S*)



Az alanin két enantiomerje



D-alanin (*R*)

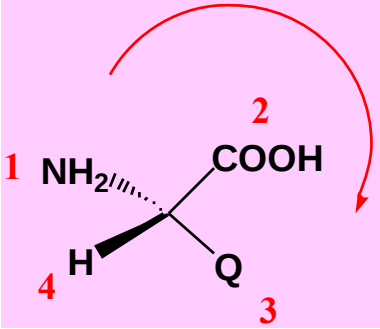


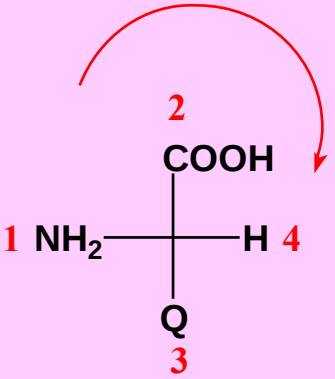
L-alanin (*S*)

kérdés: Mennyire konzervatív a fehérjealkotó aminosavak konfigurációja?

L-aminosav

"S"





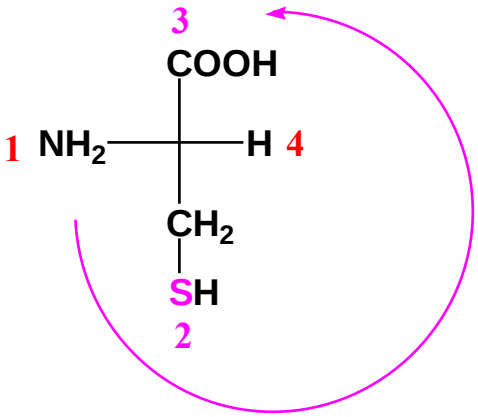
válasz: a glicin kivételével mind királis, s a Cys kivételével aminek *R*-, mind aminosav *S*-abszolút konfigurációjú!

kivételek:

$H_2N–CH_2–COOH$

glicin

akirális



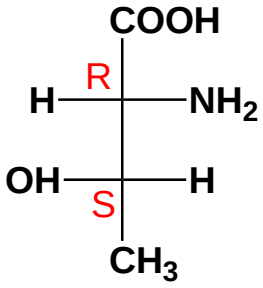
L-cisztein

"R"

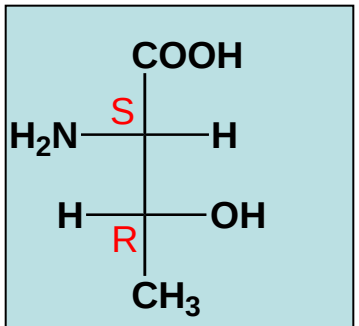
memo: tehát 19 homokirális

- **Két kiralitáscentrummal** rendelkező fehérjealkotó aminosavak**:**

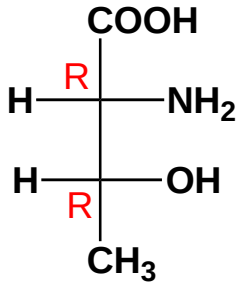
Thr



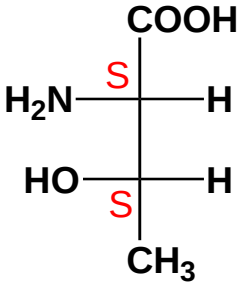
D-treonin
(2*R*,3*S*)
alig



L-treonin
(2*S*,3*R*)
leginkább



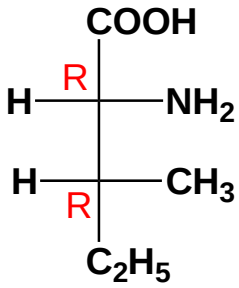
***allo*-D-treonin**
(2*R*,3*R*)
alig



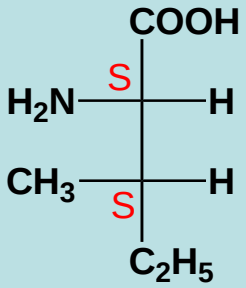
***allo*-L-treonin**
(2*S*,3*S*)
ritkán

(2*X*,3*Y*)-2-amino-3-hidroxibutánsav

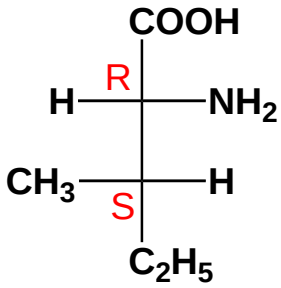
Ile



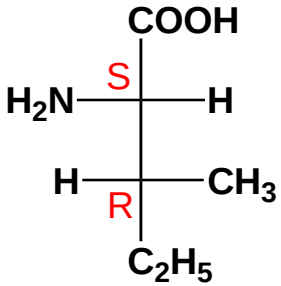
D-izoleucin
(2*R*,3*R*)



L-izoleucin
(2*S*,3*S*)



***allo*-D-izoleucin**
(2*R*,3*S*)



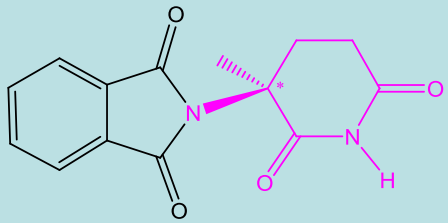
***allo*-L-izoleucin**
(2*S*,3*R*)

(2*X*,3*Y*)-2-amino-3-metilpentánsav

- A konfiguráció jelentősége:

L-aminosavak

- L-Phe (**phenylketonuria**, PKU) genetikailag öröklődő anyagcserezavar (**fenilalanin-hidroxiláz enzim hiánya**→ nem lesz az oldallánc hidroxilálva → nem képződik L-para-Tyr → **a** Phe tehát nem bontódik le → **mindez** idegrendszeri károsodást eredményez)
- L-Glu (Monosodium glutamate**,** MSG [E621]) ízfokozó, (1-2 milló tonna/év)
- N^{α}-ftalil-amino-glutárimid (Contergan, thalidomide)



ftalimido rész glutárimid rész

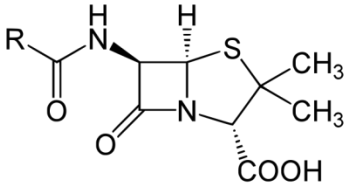
thalidomid (contergan)
egyik enantiomer teratogén
kísérleteznek ma is vele, mint AIDS, agydaganat stb. elleni szer

Racém aminosavak:

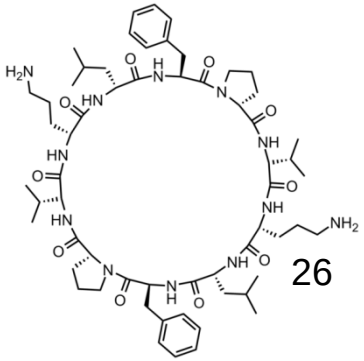
- szintézis
- rezolválás
- kormeghatározás *(sztereo szelektivitás szignifikánsan csökken az idővel, múmia)*

D-aminosavak a természetben:

- D-Glu (baktériumsejtfal, pl. lépfene)
- D-Ser (földigiliszta)
- D-Pro (anyarozs)
- D-Phe (antibiotikumok, pl. gramicidin)
- D-Cys (antibiotikumok, pl. penicillin)



(*S*) vagy D-Cys



3.4) Az aminosavak osztályozása

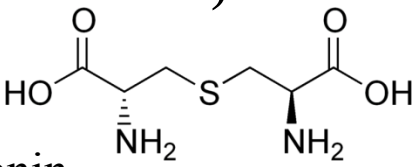
- szerkezet

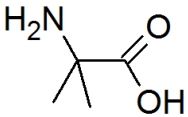
- α-aminosav (β–, γ–, δ–) konstitúció
- L –aminosav (D) konfiguráció

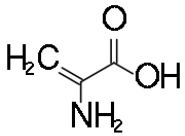
memo: a fehérjealkotó (*proteinogenic*) építőelem mindig az α-L-aminosav

- előfordulása

- természetes (*natural*) α-L-aminosav >200
- fehérjealkotó (*proteinogenic*) α-L-aminosav
  összesen 22, ebből 20 az amelyik genetikailag kódolt, (spec. a Hyp és cisztin), **memo:** szelenocisztein)
- nélkülözhetetlen (*essential*) aminosav
  olyanok, amelyeket nem tud az organizmus *de novo* előállítani (humán pl. Ile, Arg, Lys, Met,..)
  Betegség: Kwashior-kór
- nem-szokványos (*uncommon, non-standard*) aminosavak:
  - fehérjékben (pl. Hyp)
  - fehérjéken kívül (pl. lantionin,
    2-amino-izubutánsav, dehidroalanin)



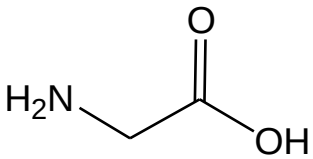




4) Fehérjealkotó aminosavak

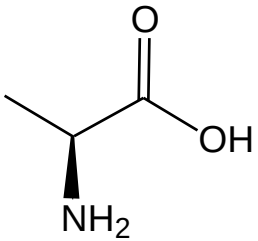
esszenciális aminosavak

Semleges oldallánccal rendelkező apoláris, alifás aminosavak:



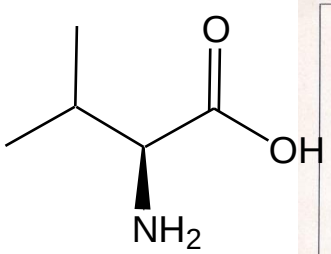
glicin
Gly
G

etimológia: *glikokoll* <gör. glüküsz '**édes**' és kolla '**enyv**' szavakból>
szerkezeti jellemző(k): az ecetsav α-aminoszármazéka,
forrás: fehérjében csak kis mennyiségben (kivéve a **kollagén** (P:O:G = 1:1:1), a **selyemfibroin** (G:A:S = 3:2:1) és a zselatin)
előállítás: először (*H. Braconnot* 1820): enyv savas hidrolízise
Az első mesterségesen szint. aminosav (*W.H. Perkin* 1858): bróm-ecetsav + ammónia
gyártás ma: formaldehid (CH_2O) + hidrogén-cianid (HCN) + ammónia (NH_3) -> amino-acetonitril (H_2NCH_2CN), amit hidrolízálunk

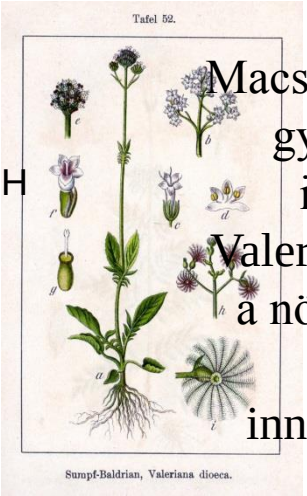


alanin
Ala
A

Színtelen, kristályos, vízben oldódó vegyület, amelyet *Emil Fischer* (német, Nobel-díj 1901) különítette el a selyemfibroin hidrolizisét követően.

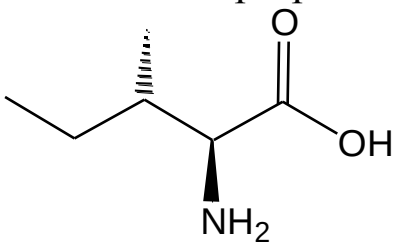


valin
Val
V

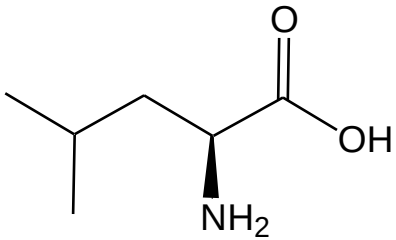


Macskagyökér gyökeréből izolálható Valeriana amit a növényből) izoláltak, innen a neve

Ala — 2-aminopropánsav



izoleucin
Ile
I

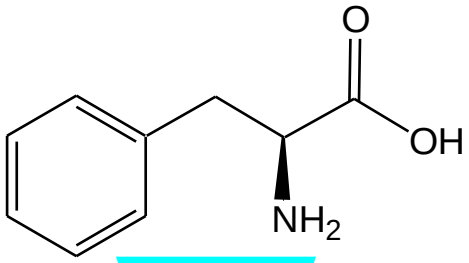


leucin
Leu
L

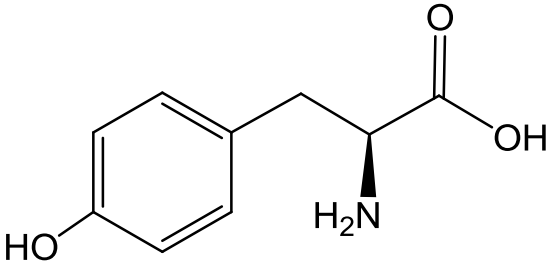
Fehérjealkotó aminosavak:

esszenciális aminosavak

Semleges oldallánccal rendelkező apoláris, aromás aminosavak:

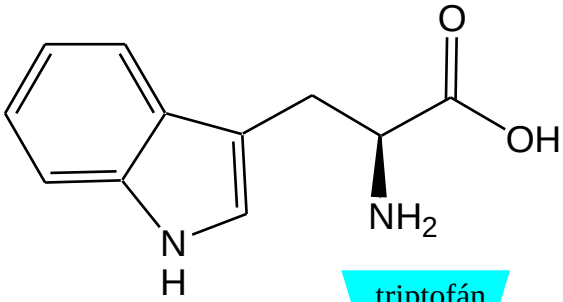


fenilalanin
Phe
F



tirozin
Tyr
Y

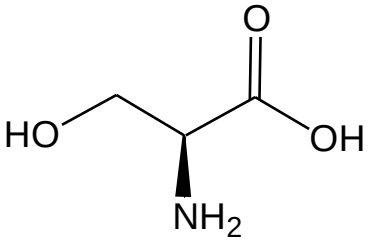
L-Phe keserű, míg a D-Phe édes ízű.



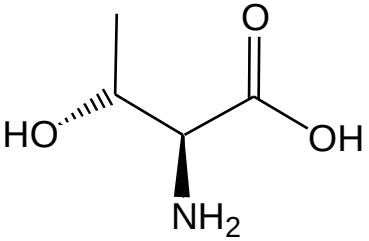
triptofán
Trp
W

Semleges oldallánccal rendelkező aminosavak:

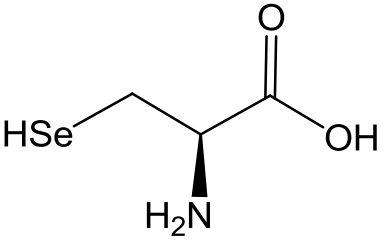
esszenciális aminosavak



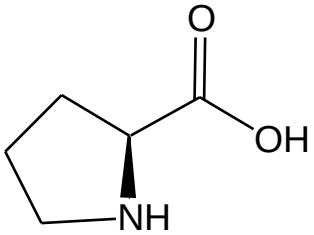
szerin
Ser
S



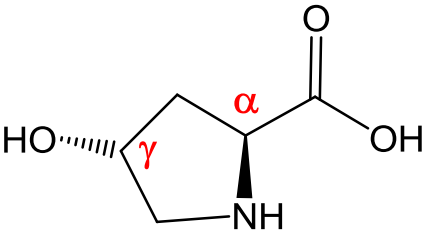
treonin
Thr
T



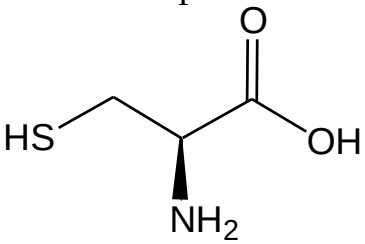
szelenocisztein
Sec



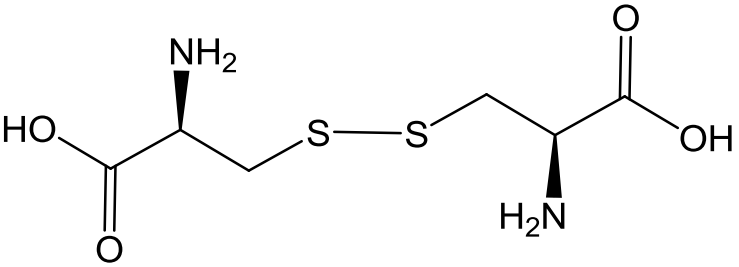
prolin
Pro
P



hidroxiprolin
Hyp
O

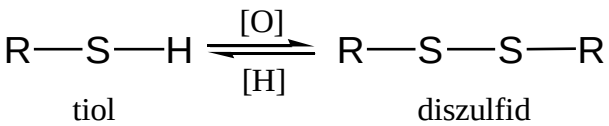


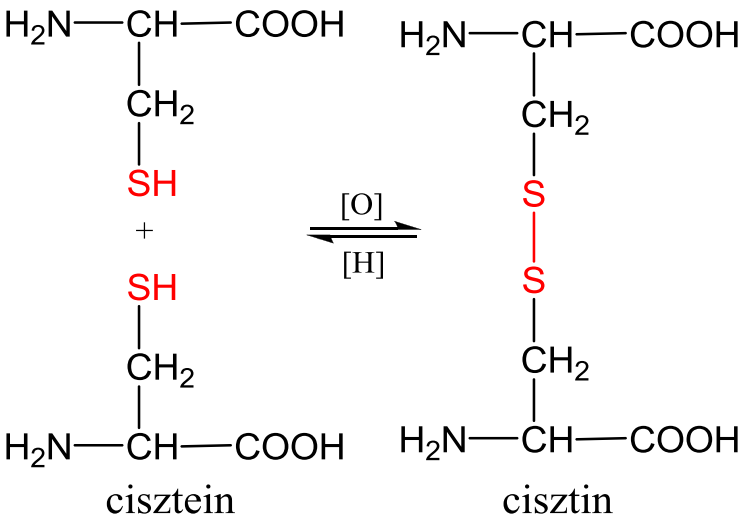
cisztein
Cys
C

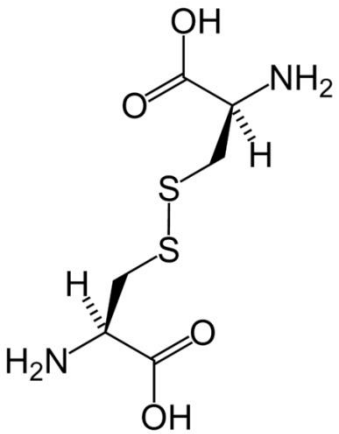


cisztin
Cys-Cys

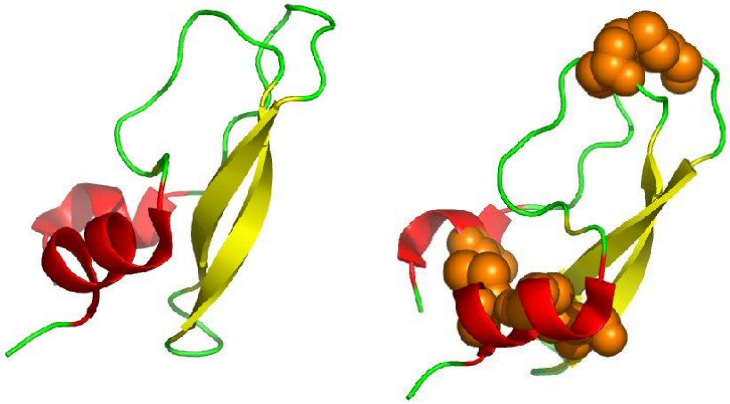
Diszulfidkötés:





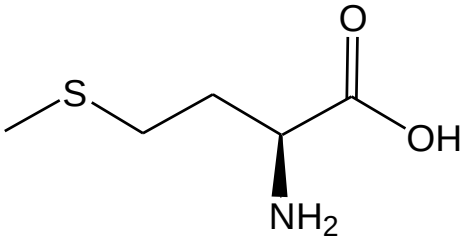


BPTI

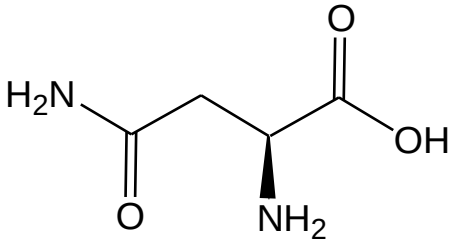


Semleges oldallánccal rendelkező aminosavak:

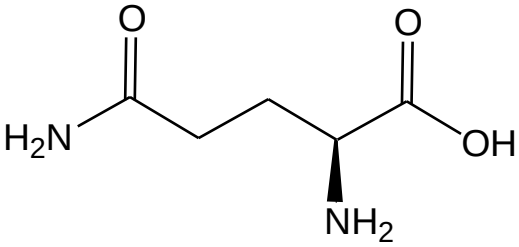
esszenciális aminosavak



metionin
Met
M



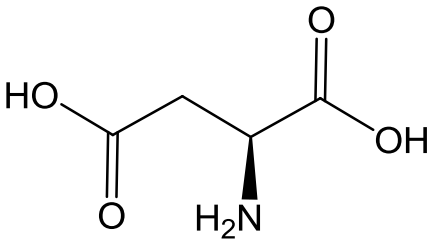
aszparagin
Asn
N



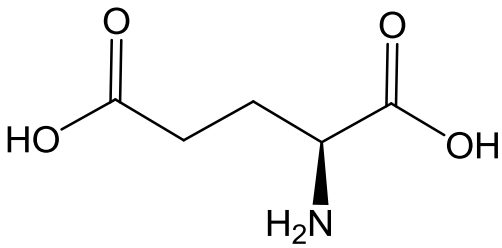
glutamin
Gln
Q

esszenciális aminosavak

Savas oldallánccal rendelkező aminosavak:

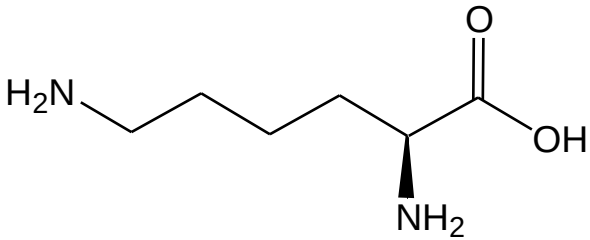


aszparaginsav
Asp
D

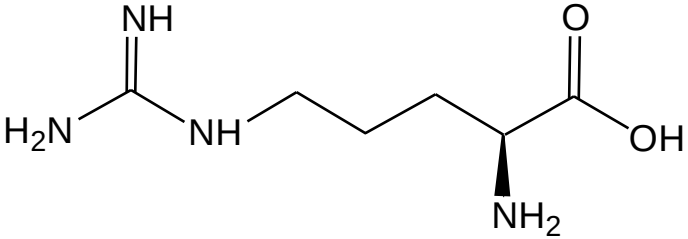


glutaminsav
Glu
E

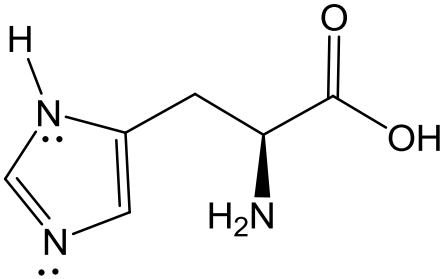
Bázikus oldallánccal rendelkező aminosavak:



lizin
Lys
K



arginin
Arg
R



histidin
His
H

Szisztematikus nevezéktan: IUPAC-IUB (*Recommendations* 1983)

Ala — 2-aminopropánsav
Arg — 2-amino-5-guanidinopentánsav
Asn — 2-amino-3-karbamoilpropánsav
Glu — 2-aminopentándisav
His — 2-amino-3(1*H*-imidazol-4-il)propánsav
Lys — 2,5-diaminohexánsav
Met — 2-amino-4-(metilszulfanil)butánsav
Trp — 2-amino-3(1*H*-indol-3-il)propánsav
Tyr — 2-amino-3-(4-hidroxifenil)propánsav
Val — 2-amino-3-metilbutánsav

Kémiai tulajdonságok és következményei:

savas és bázisos jelleg (*acidity, basicity*)
polaritás (*polarity*)
aromacitás (*aromaticity*)
térkitöltés (*bulkiness*)
konformációs flexibilitás (*conformational flexibility*)
keresztkötés-hajlam (*ability to Xlink*)
H-kötés – akceptor/donor (*ability to H-bond*)
kémiai reaktivitás (*chemical reactivity*)

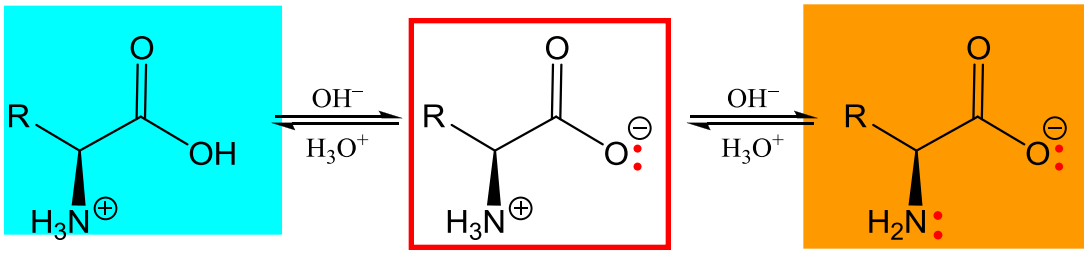
5) Az aminosavak ikerionos szerkezete (avagy önmaga sója):

Kajtár 823

Egy aminosavnak van mind bázikus (*-NH_2*), mind savas (*-COOH*) csoportja, tehát **amfoter**.

- **gázfázisban** neutrális,
- szilárd **vízmentes közegben** dipoláris (iker- vagy *zwitter*-ionos),
- **vizes oldatban** a pH függvényében az egyensúlyi formák a jellemzőek:

a **kationos**, az **ikerionos** vagy az **anionos** formák.

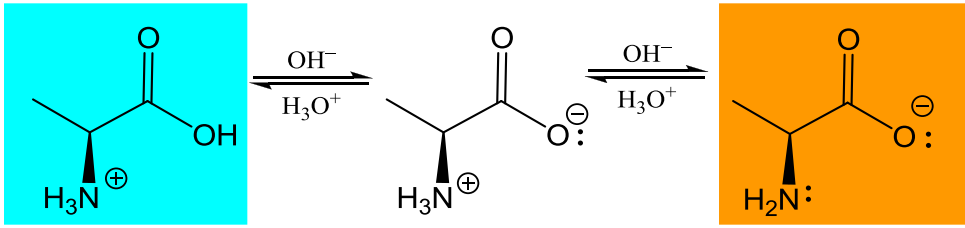


a savas oldatra (pH~0) jellemzõ **kation** — ikerion — a lúgos oldatra (pH~14) jellemzõ **anion**

- ha erősen savanyú a közeg → főleg kation,
- ha erősen bázikus a közeg → főleg anion formában van jelen.

A két pH állapot között van az **izoelektromos pont**, **IEP** vagy **p*I***, mikor

1) az ikerionos forma konc. a maximális, és
2) a kationos és anionos formák egyensúlyban vannak egymással.



alanin **kationja** (pK_{a1}=2,3) — alanin **ikerionja** — alanin **anionja** (pK_{a2}=9,7)

1) Az IEP-ban a molekula össztöltése zéró!

2) A **p*I*** minden aminosavra más és más, a konstitúció függvénye, ami kihasználható a jellemzésükre is.

$$\mathbf{p}\boldsymbol{I} = \tfrac{1}{2}\,(pK_{a1}+pK_{a2})$$

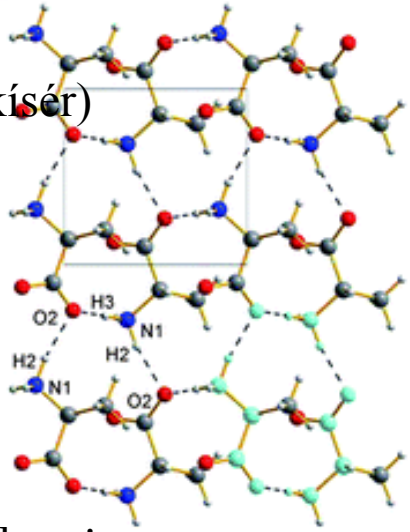
így az alanin izoelektromos pontja

$$\tfrac{1}{2}\,(2{,}3 + 9{,}7) = \mathbf{6{,}0}$$

Tények, amelyek alátámasztják az aminosavak **dipoláris jellegét**:

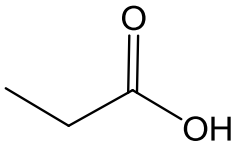
1) igen **magas (op.**> 200°C) olvadáspont (amit pl. CO_2 vesztés kísér)

Ala→ 297 °C, Ala.HCl → 204 °C
Glu→ 248 °C, Glu.HCl → 214 °C
Gly→ 233 °C, Gly.HCl → 182 °C
Lys→ 224 °C, Lys.HCl → 163 °C

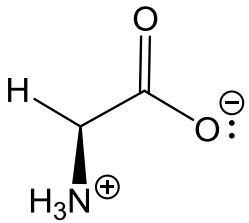


2) **Vízben jobban** oldódnak (hidratáció),
mint Et_2O, CH_2Cl_2 és más szerves oldószerekben (szolvatáció)

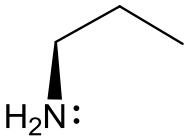
3) Akár egy nagyságrenddel **nagyobb** a **dipólus momentum**uk, mint az egyszerű karbonsavaké vagy az alifás aminoké:



propionsav
μ=1.7D
folyadék



glicin ikerion
μ=**14.0**D
kristály

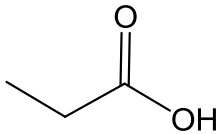


propilamin
μ=1.4D
folyadék

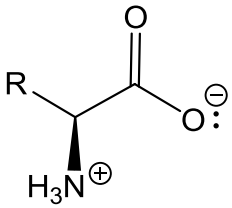
(D=Debye)

4) az ikerionos forma **kevésbé savanyú,** mint egy alifás karbonsav és **kevésbé bázikus,** mint egy alkilamin:

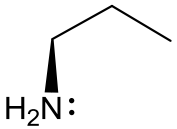
memo: az ikerion
nem O-, hanem N-sav
és nem N-, hanem O-bázis!



propionsav
pK_a=4.89



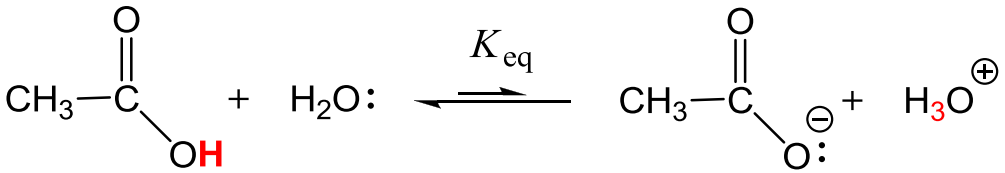
ikerion
pK_a=10
pK_b=12



propilamin
pK_b=4

összefoglalás: savak és bázisok erőssége**:** K_a és pK_a

A HCl vagy H_2SO_4–tól eltérően a szerves karbonsavak gyenge savak



t= 25°C **csak** ~1% az AcO^-

az egyensúlyi reakció jellemzése: $\mathbf{K_a}$ egyensúlyi együttható

$$K_{eq} = \frac{[CH_3—COO^{\ominus}]\,[H_3O^{\oplus}]}{[CH_3—COOH]\,[H_2O]} \Rightarrow K_a = K_{eq}[H_2O] = \frac{[CH_3—COO^{\ominus}]\,[H_3O^{\oplus}]}{[CH_3—COOH]}$$

Mivel a víz koncentrációja közel állandó (55,5M),
ezért célszerű bevezetni $\boldsymbol{K_a}$-t a savi egyensúlyi együtthatót.
Pl: hangyasavra; $K_a^{HCOOH} = 1{,}77.10^{-4}$, ecetsavra; $K_a^{AcOH} = 1{,}76.10^{-5}$

(***memo:*** *ha K_a értéke nagy, akkor erős,*
ha kicsi, akkor gyenge a sav)

Praktikusabb a $pK_a = -\lg K_a = -\log_{10}(K_a)$ értéket megadni
Néhány pK_a érték: –1,4 (HNO_3), 0,18(TFA), 3,7(H_2CO_3),
4,75(AcOH), 9,9(fenol), 38(NH_3) és 50(etán)

pK_a analóg a pH definíciójával

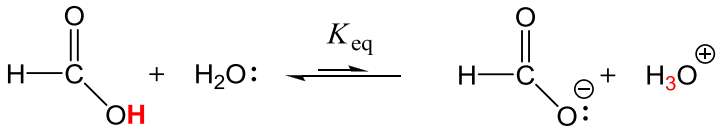
növekvő savi erősség

	$CH_3—CH_2—OH$		$CH_3—COOH$		$CF_3—COOH$		HCl
$\mathbf{pK_a}$=	**16**	<	**4,75**	<	**0,2**	<	**-7**

memo: +5 esetén csak minden százezredik molekula **deprotonált**
-7 esetén csak minden tízmilliomodik molekula **protonált**.

Emlékeztető kérdések:

kérdés: mekkora a hidroxóniumion és mekkora a $HCOO^-$ koncentráció a hangyasav 0,1M-os vizes oldatában (K_a = 1,77.10^{-4})?
A hangyasav hány százaléka ionizált ekkor?



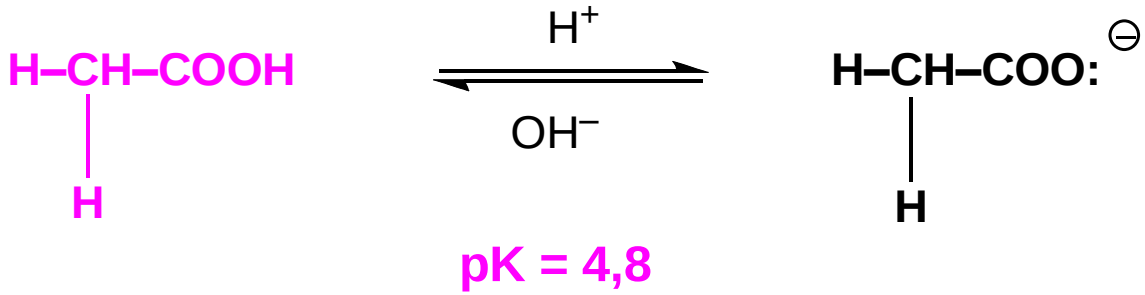
kérdés: mekkora a víz K_a-ja, ha abban 25°C-on az $[OH^-]=10^{-7}$?

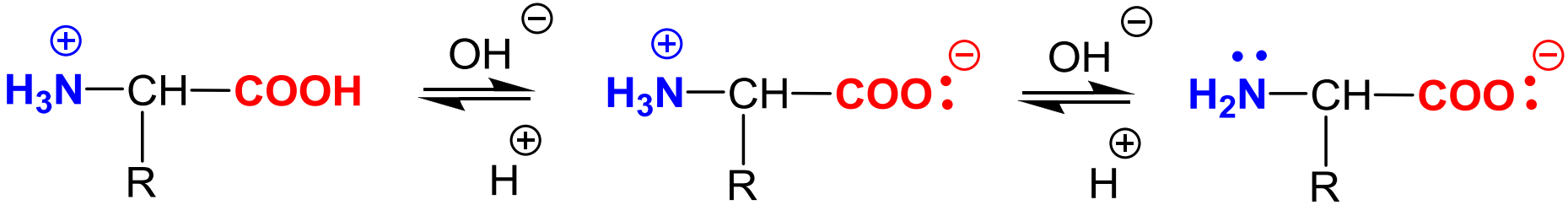
kérdés: az egyik sav $\boldsymbol{K_a}$ értéke 10^{-7} a másiké pedig +5.
Melyik az erősebb sav?

http://www.youtube.com/watch?v=hXLiubyd58Y **http://www.youtube.com/watch?v=VcGOL6Uthmw**

5.1) Aminosavak protonáltsági állapotai

memo: az ecetsav disszociációja:

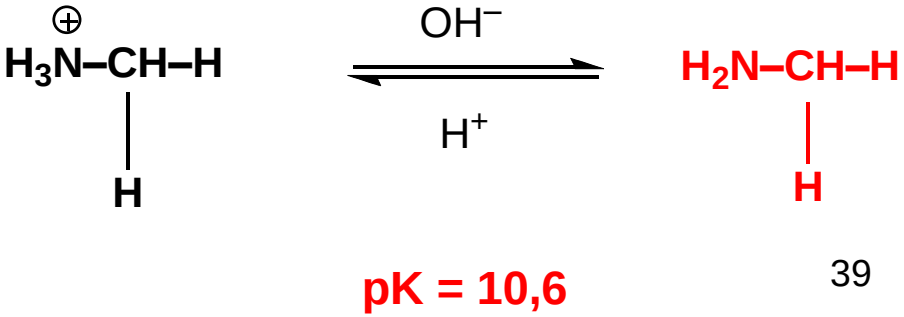




$pK_{a1} = 2,4$ $pK_{a1} = 9,6$

pK_{a1}= első savi disszociációs állandó
pK_{a2}= második savi disszociációs állandó

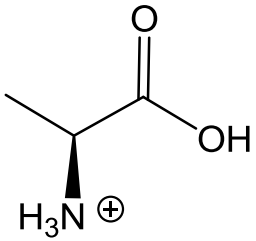
memo: a metilamin disszociációja:



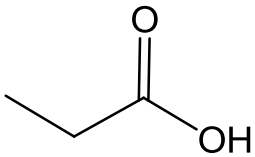
Aminosav		pK_{a1} α-COOH	pK_{a2} α-NH_3^+	pK_{a3} R-csoport	pI
semlegesek					
G	Gly	2,3	9,6		6,0
A	Ala	2,3	9,7		6,0
V	Val	2,3	9,6		6,0
L	Leu	2,4	9,6		6,0
I	Ile	2,4	9,7		6,1
F	Phe	1,8	9,1		5,5
Y	Tyr	**2,2**	9,1	**10,1**	5,7
W	Trp	2,4	9,4		5,9
S	Ser	2,2	9,2		5,7
T	Thr	2,6	10,4		6,5
P	Pro	2,0	10,6		6,3
O	Hyp	1,9	9,7		5,8
C	Cys	**1,7**	10,8	**8,3**	5,0
Cys-Cys		1,6; 2,3	7,9; 9,9		5,1
M	Met	2,3	9,2		5,8
N	Asn	2,0	8,8		5,4
Q	Gln	2,2	9,1		5,7

Aminosav		pK_{a1} α-COOH	pK_{a2} α-NH_3^+	pK_{a3} R-csoport	pI
savasak					
D	Asp	**2,1**	9,8	**3,9**	3,0
E	Glu	**2,2**	9,7	**4,3**	3,2
bázikusak				protonált R-csoport	
K	Lys	2,2	**9,0**	**10,5**	9,8
R	Arg	2,2	**9,0**	**12,5**	10,8
H	His	1,8	**9,2**	**6,0**	7,6

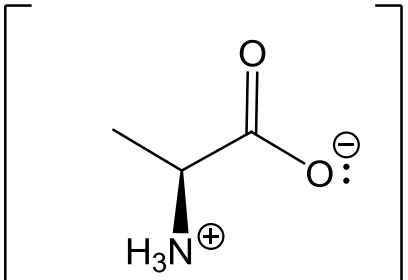
memo: egy α-aminosav (de nem az ikerion) a konjugáció miatt erősebb sav, mint a megfelelő alifás karbonsav:



alanin kation
(pK_{a1}=2,3)



propionsav (propánsav)
(pK_a=4,89)



alanin ikerion
pK_{a2}=9.7

5.2) Sav és konjugált bázisának egyensúlya:

$$HA \underset{}{\overset{K_a}{\rightleftharpoons}} A^{\ominus} + H^{\oplus}$$

Henderson-Hasselbalch-egyenlet:

$$pK_a = pH + \lg([HA]/[A^-])$$

A H&H egyenlet levezetése:

$$K_a = \frac{[H^+]\,[A^-]}{[HA]} \longrightarrow [H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

$$-\log[H^+] = -\log K_a - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

$$pK_a = pH + \log\frac{[HA]}{[A^-]} \longleftarrow pH = pK_a - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

állítás: tehát a savi disszociációs állandó értéke, a **pK_a**, az a **pH érték**, ahol a sav félig semlegesített, avagy az anion és a protonált forma **koncentrációja azonos**: $[HA]=[A^-]$.

indoklás (*bizonyítás*):

mivel $pK_a = pH$

ezért $0 = \log([HA]/[A^-])$,

azaz **$1= [HA]/[A^-]$** s ez pont az amit állítottunk!

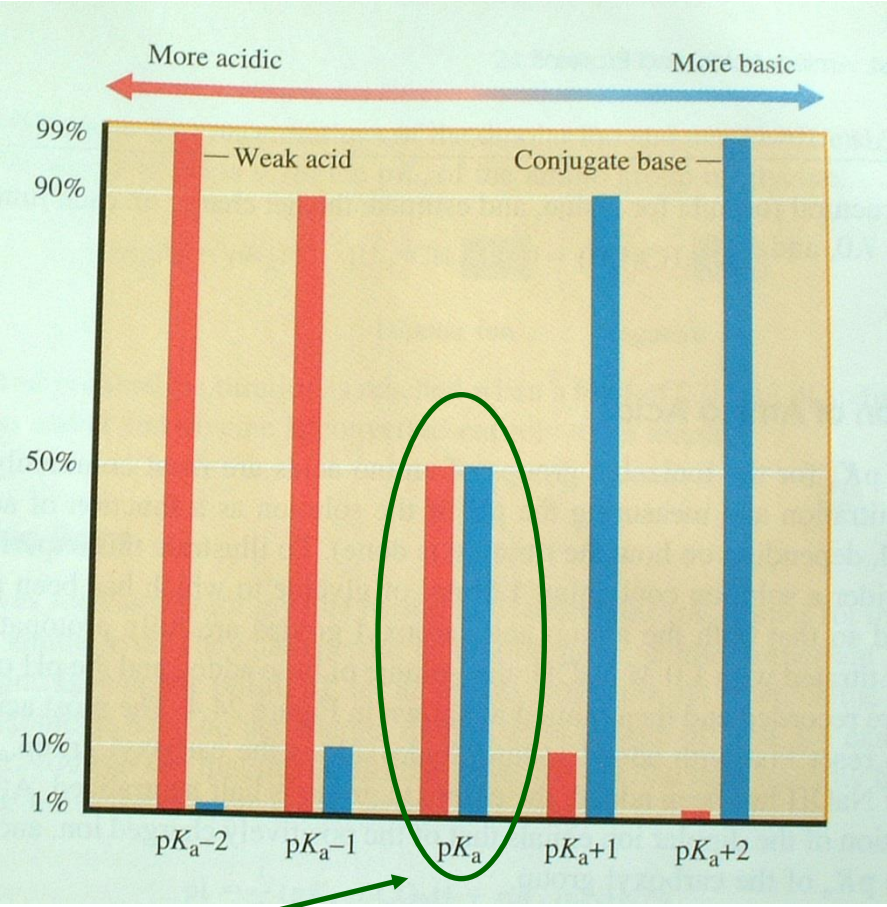
http://www.youtube.com/watch?v=hXLiubyd58Y

kérdés: mire jó a Henderson-Hasselbalch egyenlet?
válasz: ha tudjuk egy ionizálható csoport **pK_a** értékét, akkor a H&H- egyenlet segítségével meg tudjuk határozni annak töltését, pontosabban a **[HA]/[A⁻]** értéket a **pH függvényében**

$pK_a = pH + lg([HA]/[A^-])$
$pK_a = (pK_a-2)+ lg([HA]/[A^-])$
$2 = lg([HA]/[A^-])$
$100 = [HA]/[A^-]$

gyakorlat: Állítsuk be pH-t a pK_a „alá” 2 egységgel: **pH=pK_a–2,**
ekkor a H&H szerint $+2 = lg[HA]/[A^-]$ **azaz** $100[A^-]=[HA]$, vagyis a funkciós csoport **~99%-ban protonált**, s így annak kémiai jellege függvényében töltése vagy 0, vagy +1.

Ha a **pH=pK_a+2,** akkor a H&H szerint $-2 = lg[HA]/[A^-]$ **azaz** $0{,}01[A^-]=[HA]$, vagyis a funkciós csoport **~99%-ban deprotonált**, s így a kémiai jellegének függvényében töltése vagy -1, vagy 0.



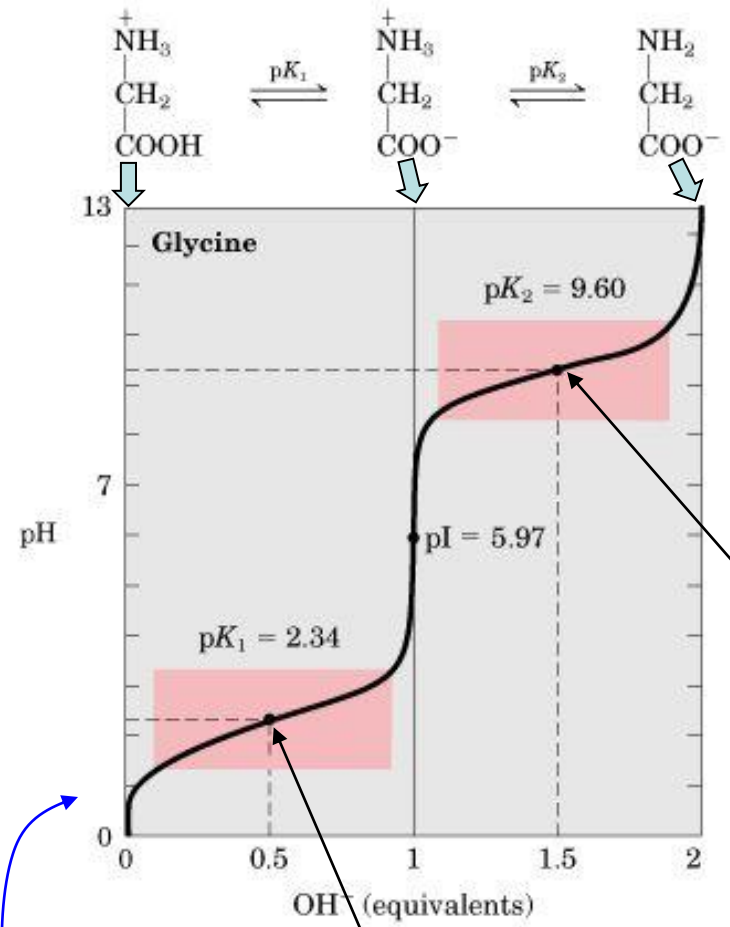
Ha a **pH=pK_a**, akkor a H&H szerint $0 = lg[HA]/[A^-]$ **azaz** $[A^-]= [HA]$, vagyis a funkcióscsoport **50%-ban de**protonált

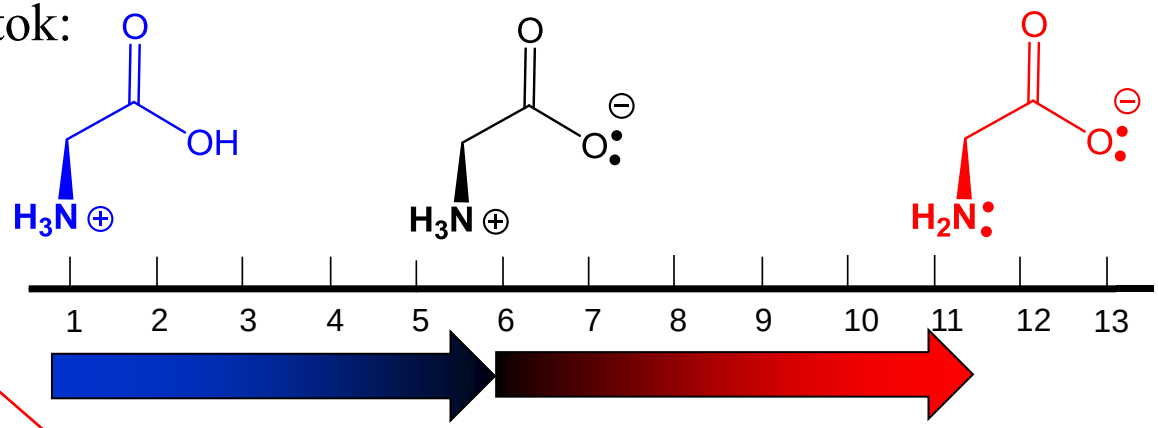
Ez a **„±2” szabály** (K_a=±2), a protonáltsági fokra ad jó kvalitatív becslést.

A glicin titrálása,

avagy a pH kontrolált töltésállapotok:

pI= (2,34 + 9,6)/2 = **5,97**





pH>11,5 akkor lényegében már **csak anion** van jelen az oldatban.

pH=9,6 akkor az ikerionos forma 50%-a már az anionos formává alakult át.

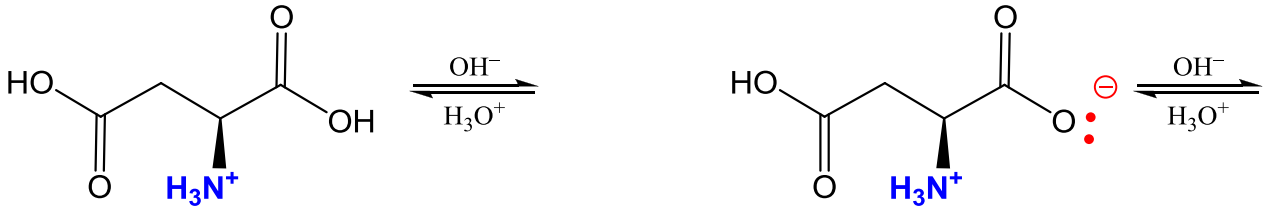
pH=5,97 akkor az összes kationos forma átalakult, s **csak** az **ikerionos forma** van jelen.

pH=2,3 akkor a kationos forma 50%-a már ikerion formává alakult át.

pH<1 akkor lényegében **csak kation** van jelen az oldatban.

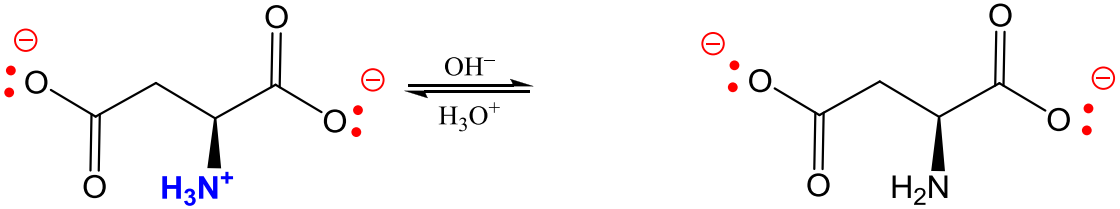
memo: $pK_a = pH + \lg([HA]/[A^-])$

Savas oldallánccal rendelkező aminosavak



aszparaginsav kationja
(pK_{a1}=2,1)

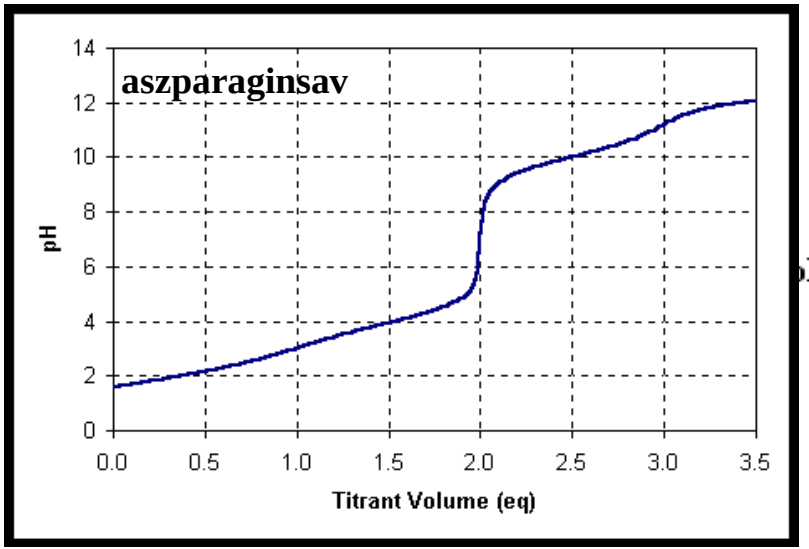
aszparaginsav ikerionja
(pK_{a2}=3,9)

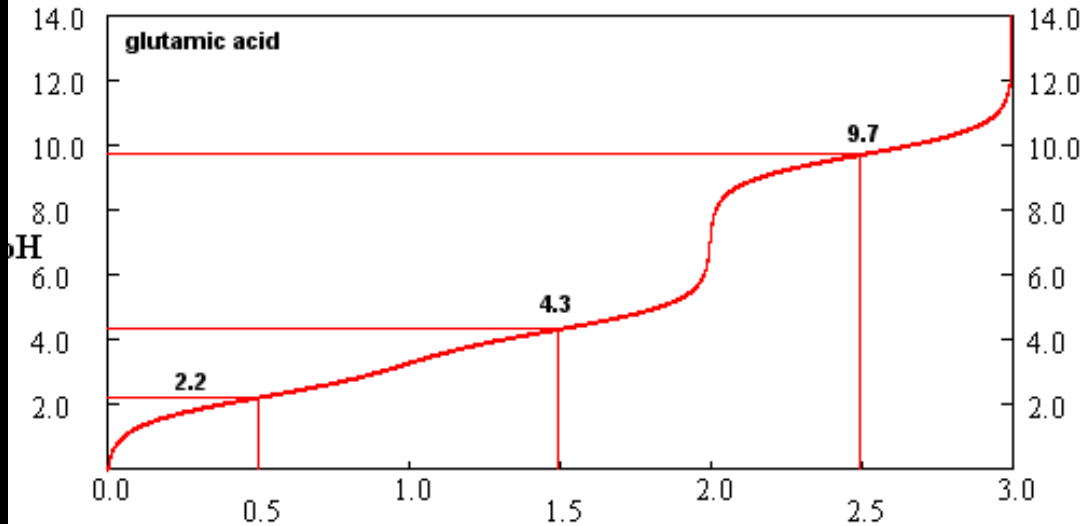


aszparaginsav anionja
(pK_{a3}=9,8)

aszparaginsav dianionja

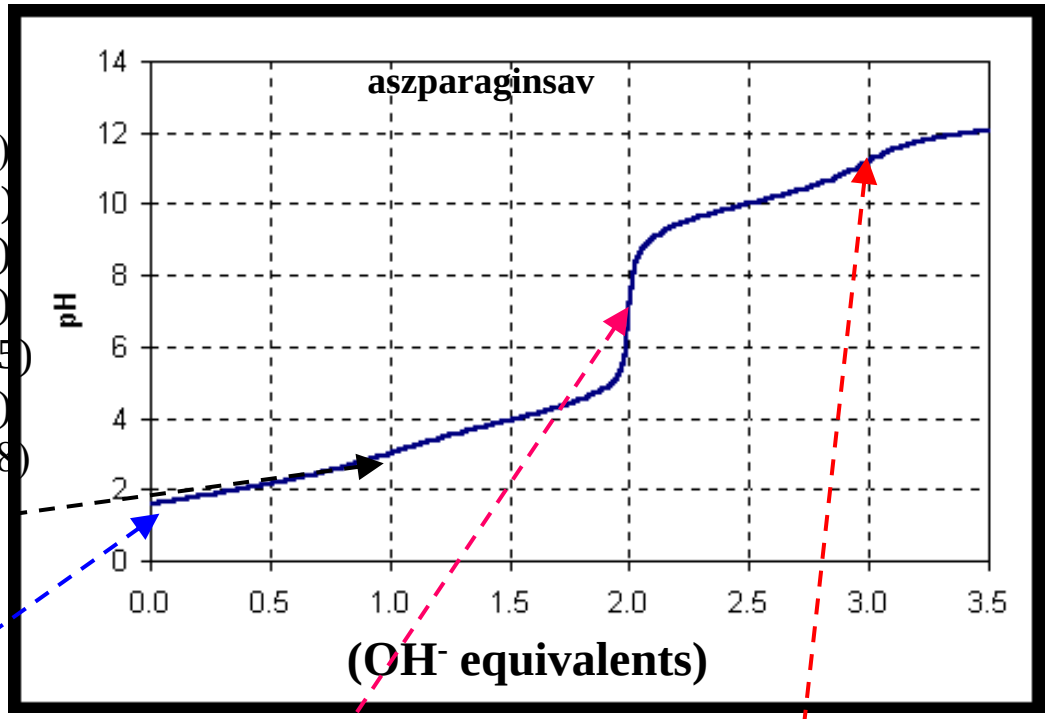
pI = ½ (pK_{a1}+pK_{a2}) így az aszparaginsav izoelektromos pontja ½ (2,1+3,9) = 3,0



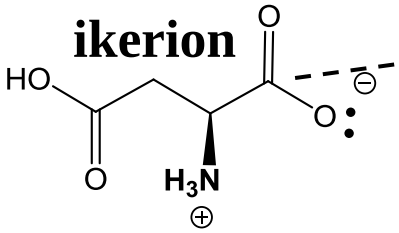


Az aszparaginsav titrálási görbéje:

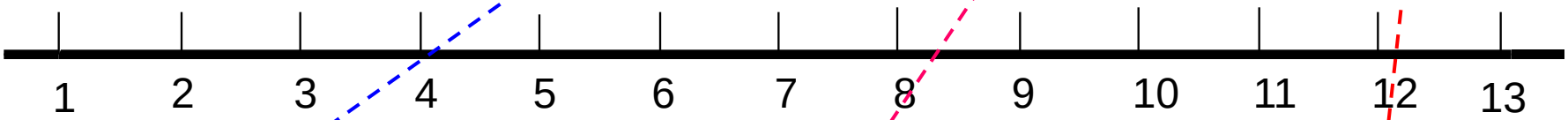
0 equ. OH^- → csak kationos forma (pH≤0,1)
0,5 equ. OH^- → 50% kat. és 50% iker. (pH=2,1)
1 equ. OH^- → csak ikerionos forma. (pH=3,0)
1,5 equ. OH^- → 50% iker. és 50% an. (pH=3,9)
2 equ. OH^- → csak anionos forma . (pH=6,85)
2,5 equ. OH^- → 50% an. és 50% dian. (pH=9,8)
3 equ. OH^- → csak dianionos forma (pH≥11,8)

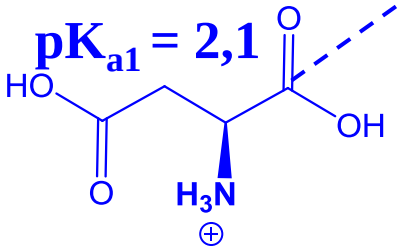


ikerion

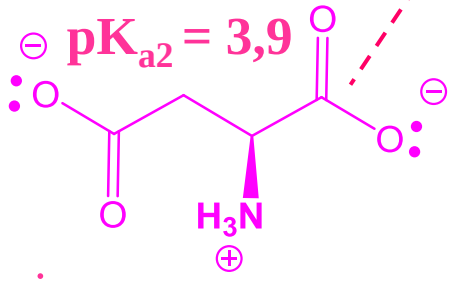


pI= (2,1 + 3,9)/2 = **3,0**

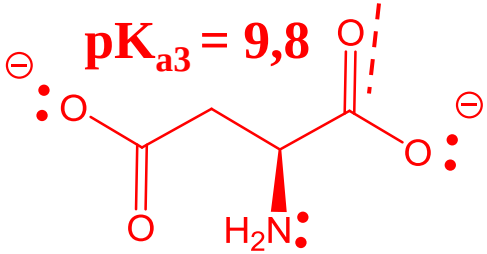




kation



anion

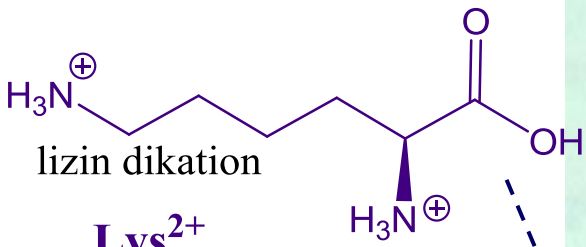


dianion

3,00 =
(2,1 + 3,9)/2

6,85 =
(3,9 + 9,8)/2

A lizin titrálási görbéje:

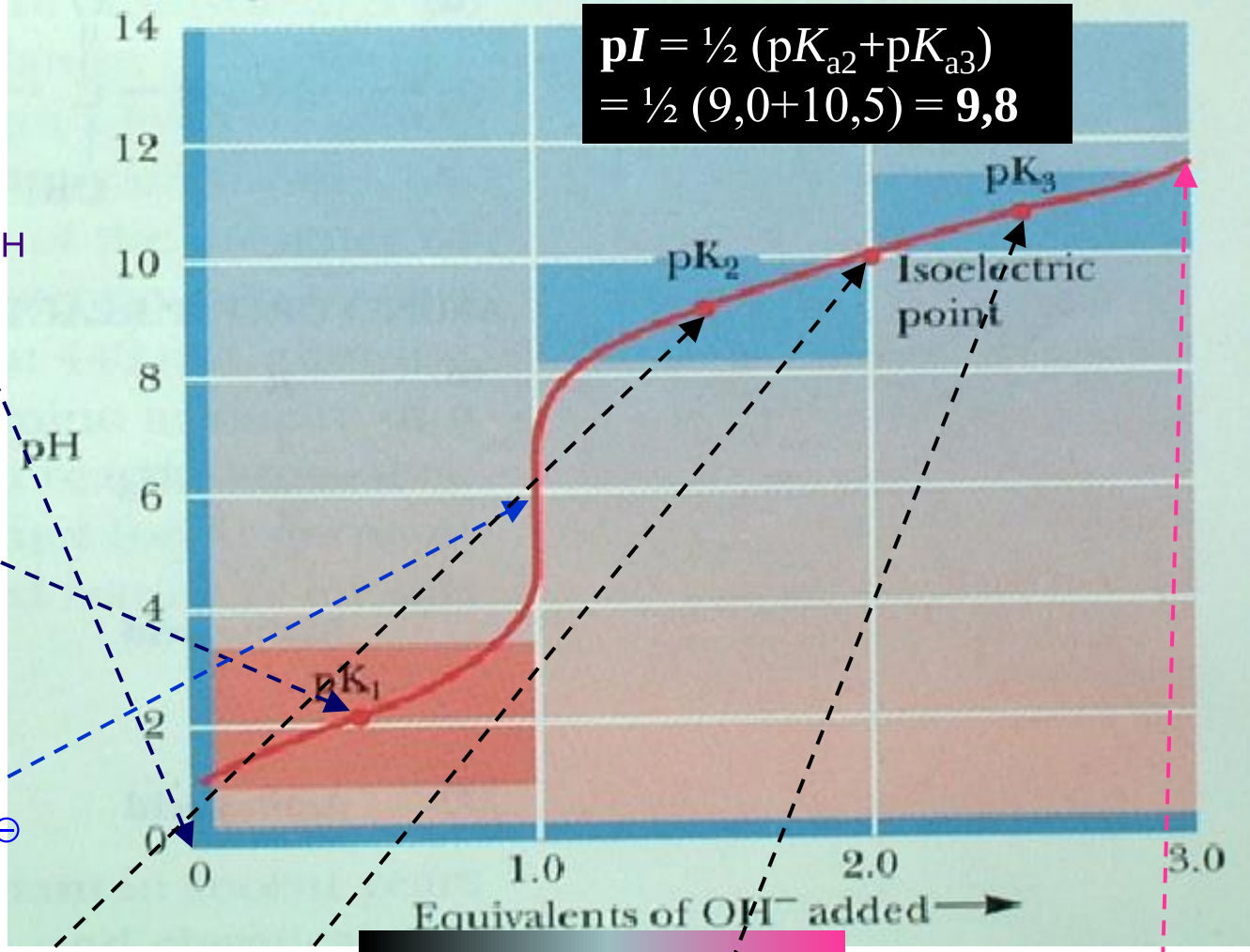


lizin dikation

Lys^{2+}

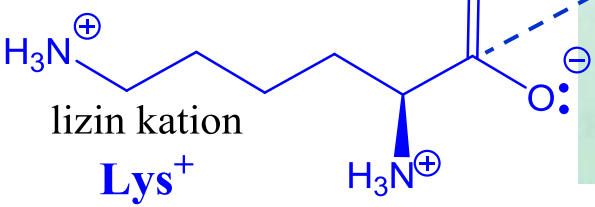
ha pH<0,2

$$pI = \tfrac{1}{2}(pK_{a2}+pK_{a3}) = \tfrac{1}{2}(9{,}0+10{,}5) = \mathbf{9{,}8}$$



mivel pK_{a1} = 2,2 ezért
ha **pH=2,2** akkor
50%Lys2+ és 50% Lys+

pH = (2,2+9,0)/2 = **5,6**

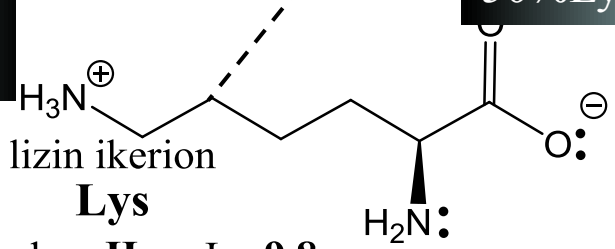


lizin kation

Lys^{+}

mivel pK_{a3} = 10,5 ezért
ha **pH=10,5** akkor
50%Lys és 50% Lys-

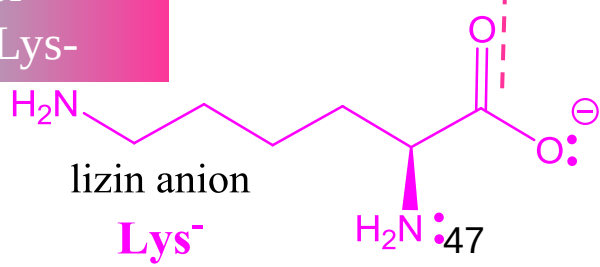
mivel pK_{a2} = 9,0 ezért
ha **pH=9,75** akkor
50%Lys+ és 50% Lys



lizin ikerion

Lys

ha **pH** = pI = **9,8**



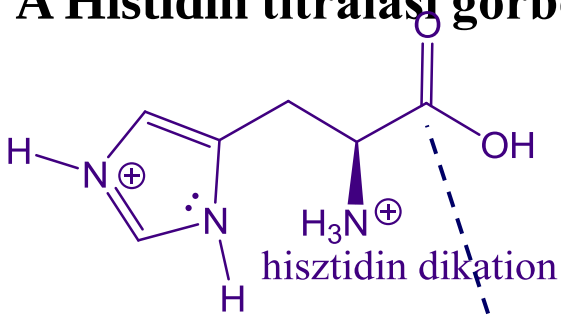
lizin anion

Lys^{-}

ha pH>12,5

A Histidin titrálási görbéje:

$pI = ½ (pK_{a2}+pK_{a3})$
$= ½ (6,0+9,17) = \mathbf{7,59}$

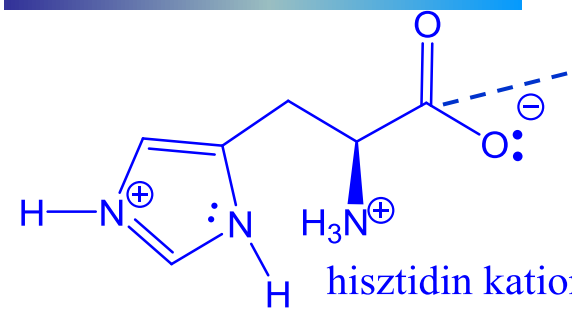


hisztidin dikation

Hys^{2+}

ha pH<0

mivel pK_{a1} = 1,82 ezért
ha **pH=1,82** akkor
50%His2+ és 50% His+

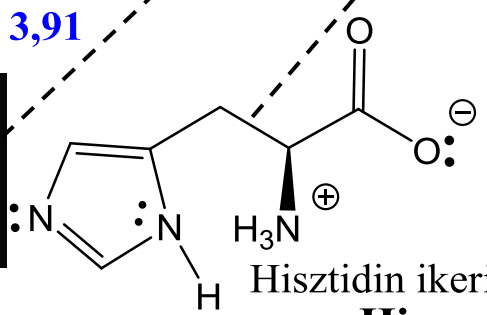


hisztidin kation

His^{+}

pH = (1,82+6,0)/2 = **3,91**

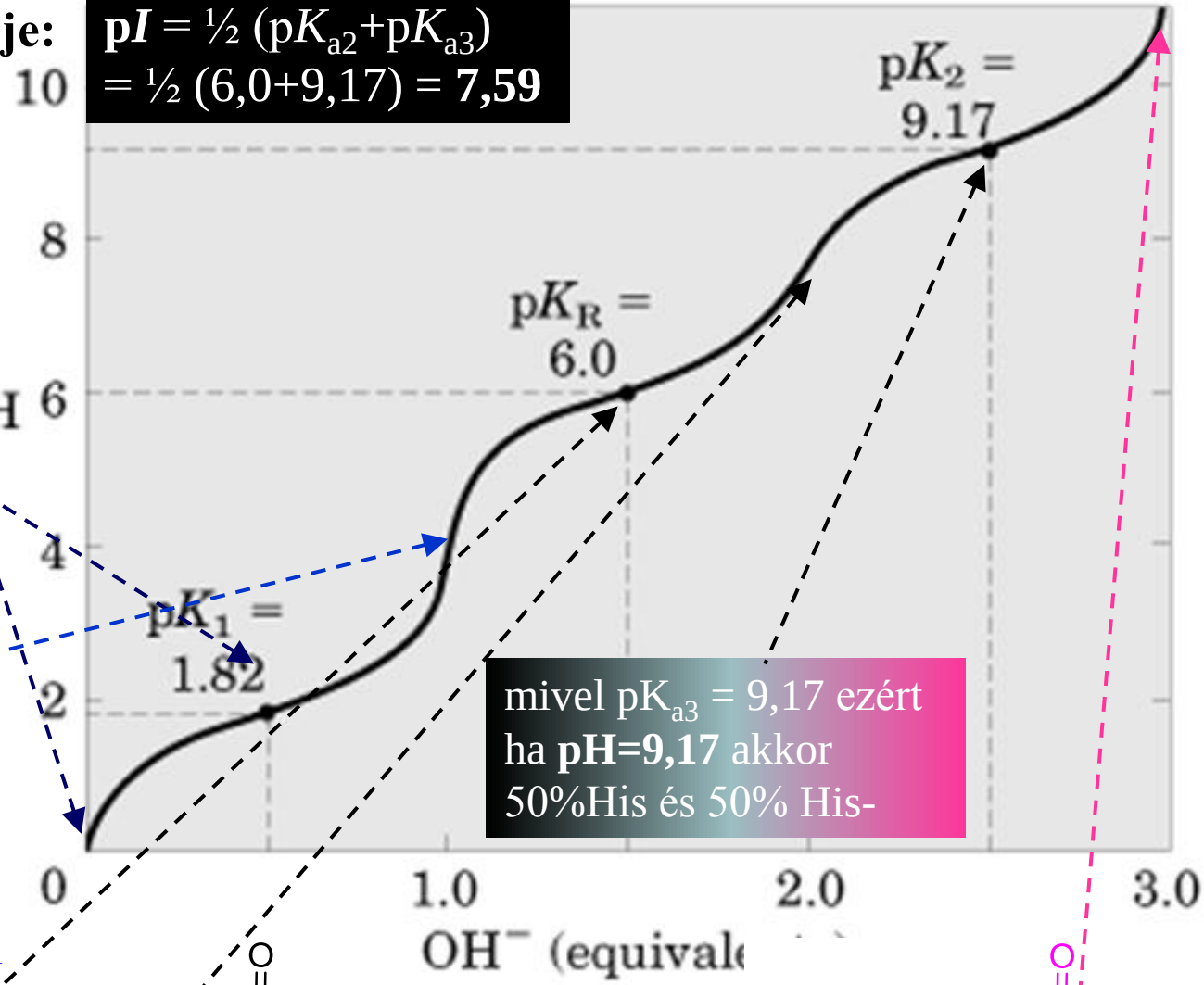
mivel pK_{a2} = 6,0 ezért
ha **pH=6,00** akkor
50%His+ és 50% His



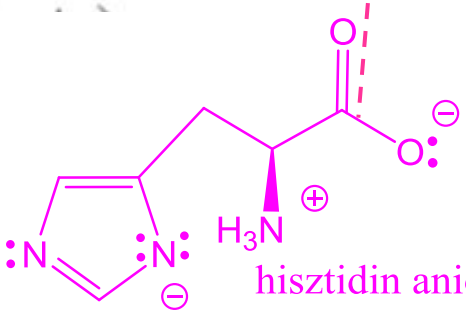
Hisztidin ikerion

His

ha **pH** = pI =7,59



mivel pK_{a3} = 9,17 ezért
ha **pH=9,17** akkor
50%His és 50% His-

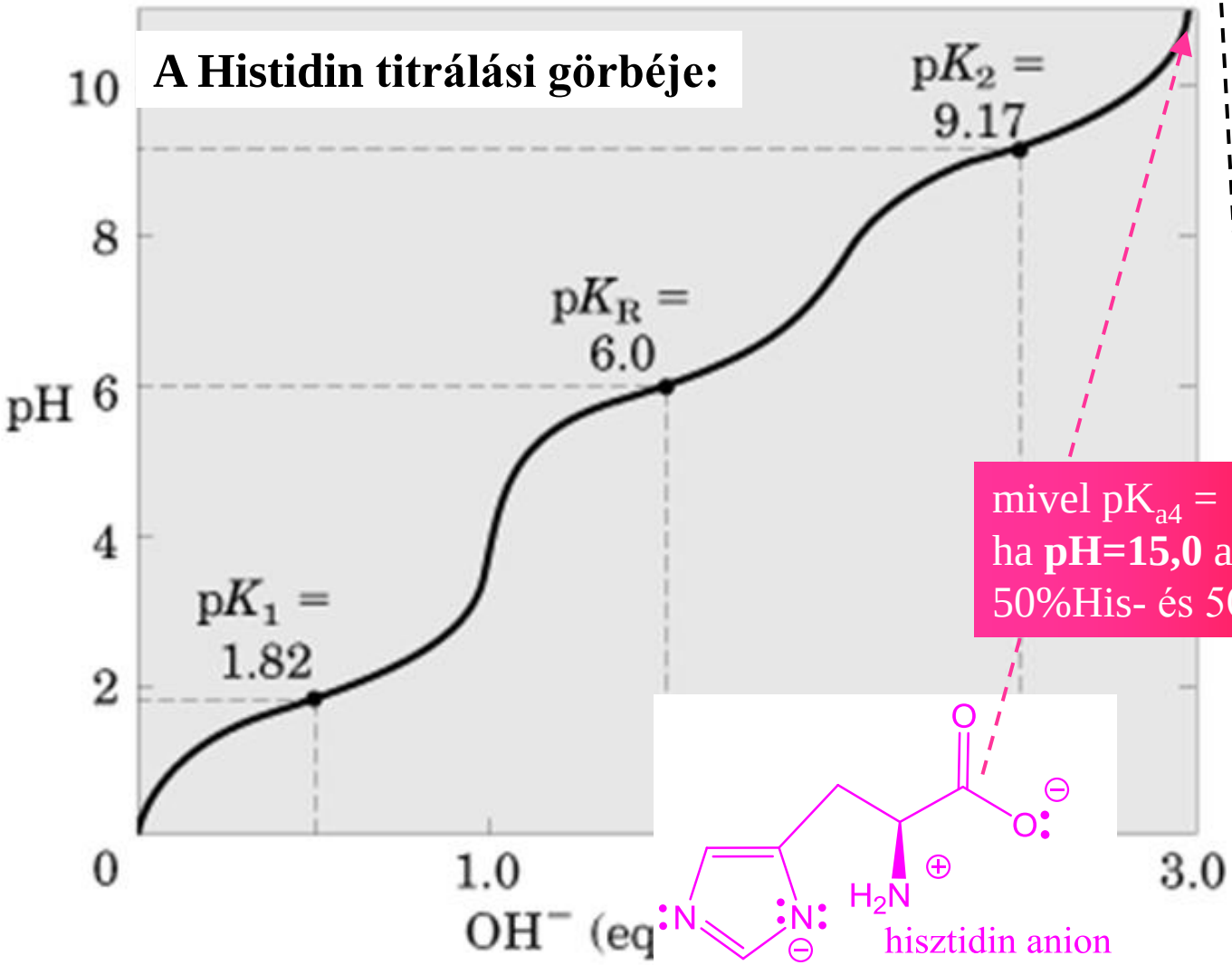


hisztidin anion

His^{-}

pH = (9,17+15,0)/2 = **12,09**

A Histidin titrálási görbéje:

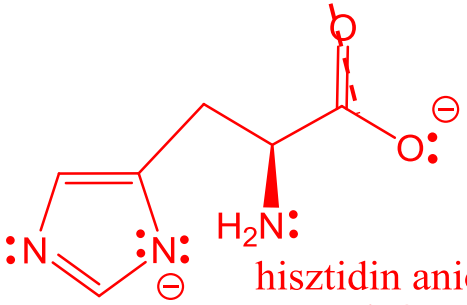


mivel pK_{a4} = 15,0 ezért ha **pH=15,0** akkor 50%His- és 50% His2-

hisztidin anion

His⁻

pH = (9,17+15,0)/2 = **12,09**



hisztidin anion

His2-

pH> 15

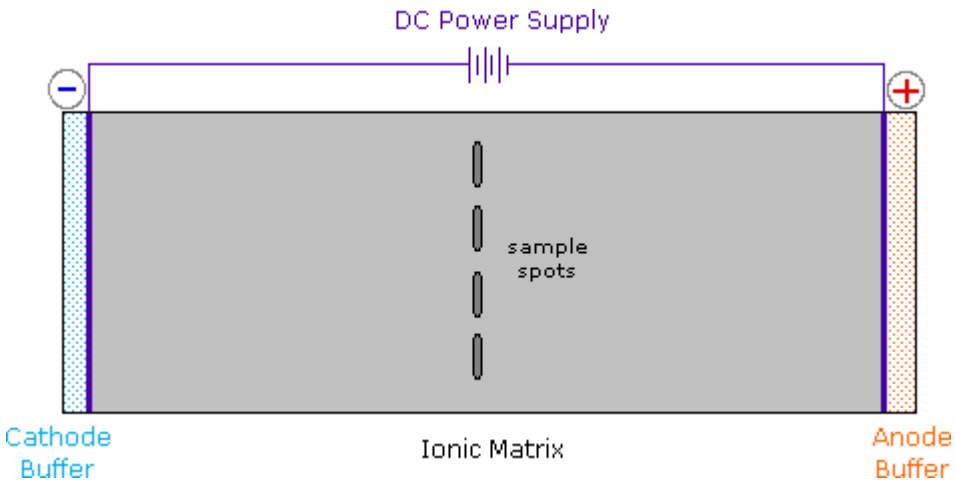
5.3) Az elektroforézis:

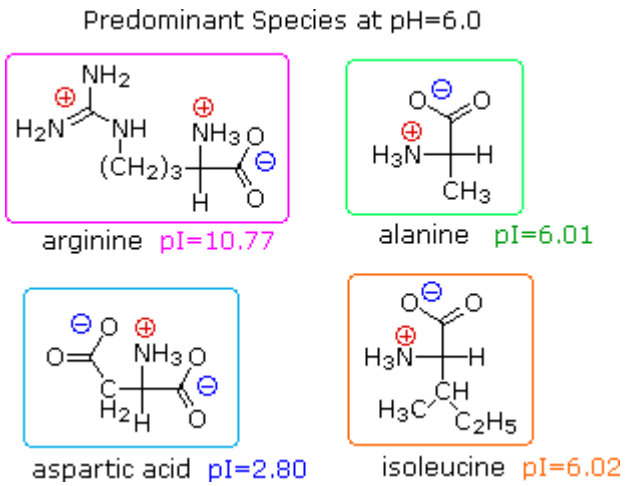
The distribution of charged species in a sample can be shown experimentally by observing the movement of solute molecules in an electric field, using the technique of **electrophoresis.**

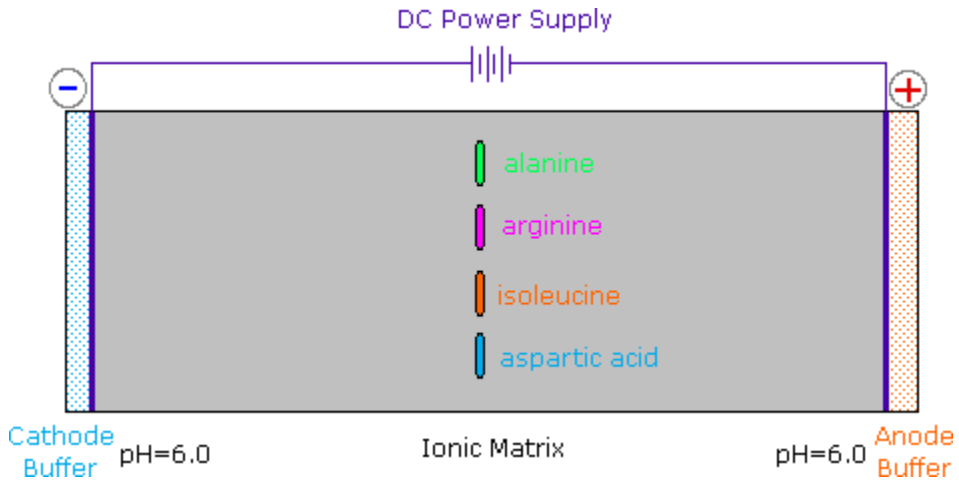
Kísérleti körülmények:
For such experiments an ionic **buffer solution** is incorporated in a **solid matrix layer**, composed of paper or a crosslinked gelatin-like substance.

A kísérlet kivitelezésének módja:
A small amount of the amino acid, peptide or protein sample is **placed near the center** of the matrix strip and an **electric potential is applied** at the ends of the strip. The solid structure of the matrix retards the diffusion of the solute molecules, which will remain where they are inserted, unless acted upon by the electrostatic potential.

Példa:
In the example shown here, **four different amino acids** are examined simultaneously in a **pH= 6.00** buffered medium.







Note that the colors in the display are only a convenient reference, since these amino acids are colorless.

Megfigyelés:

1) At pH 6.00 **Ala** (alanine) and **Ile** (isoleucine) exist on average as **neutral** zwitterionic molecules and are not influenced by the electric field.
2) **Arg** (arginine) is a basic amino acid. Both base functions exist as "onium" conjugate acids in the pH 6.00 matrix. The solute molecules of arginine therefore carry an excess **positive charge**, and they move toward the cathode.
3) The two carboxyl functions in **Asp** (aspartic acid) are both ionized at pH 6.00, and the **negatively charged** solute molecules move toward the anode in the electric field.

Megfigyelés és következtetések:

It should be clear that the result of this experiment is critically **dependent on the pH** of the matrix buffer.

1) If we were to repeat the electrophoresis of these compounds at a **pH of 3.00**, the aspartic acid would remain at its point of origin, and the other amino acids would move toward the cathode.
2) Ignoring differences in molecular size and shape, the **arginine would move twice as fast** as the alanine and isoleucine because its solute molecules on average would carry a double positive charge.

***Offord*-féle szabály:**

$$\mu_A = k \frac{z_A}{M_A^{2/3}}$$

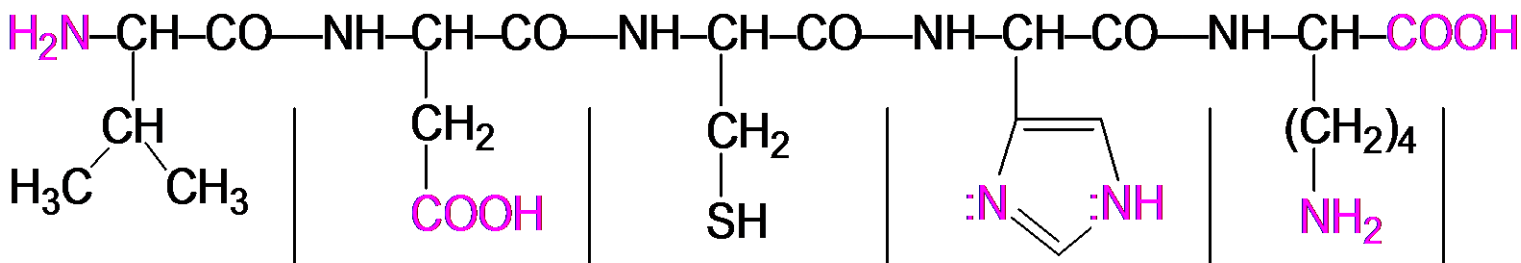
μ = mozgékonyság
z = töltés
M = molekulatömeg
k = koefficiens

***Offord*-féle szabály gyakorlati alkalmazása:**

$$\mu_{rel} = \frac{\mu_A}{\mu_B} = \frac{z_A}{z_B}\left(\frac{M_B}{M_A}\right)^{2/3}$$

5.4) A peptidek és fehérjék töltésviszonyai:

		pK_{a3}	pK_{a3}	pK_{a3}	pK_{a3}		
		3.86	8.33	6.0	10.53		
	9.62					2.18	



pH 3	+1	0	0	+1	+1	–1	+2
pH 7	+1	–1	0	0	+1	–1	0

- The **solubility** of a peptides and proteins depend on the net charge on the surface of a protein. The net charge depends on the pH of the solvent and the number and identities of the amino acids that make up the protein.

- The isoelectric point of a protein occurs at a specific pH when the positive and negative charges balance each other out and the net charge is zero. **At this isoelectric point a protein is least soluble**. For most proteins this occurs in the pH range of 5.5 to 8. A protein gets **more soluble** if there is a **net charge** at the protein surface, since it prefers to interact with water, rather than with other protein molecules. Without a charge at the surface proteins are likely precipitate and aggregate.

- There are many ways to transform protein **aggregate into** the proper **solubilized state**. Depending on the state of the aggregated protein material and the sought after utility of the solubilized protein material the solubilization conditions will likely require screening different **solubilization reagents (additives**) and **solubilization techniques.** Appropriate analytical tools are required to assess the progress of such an optimization trial.

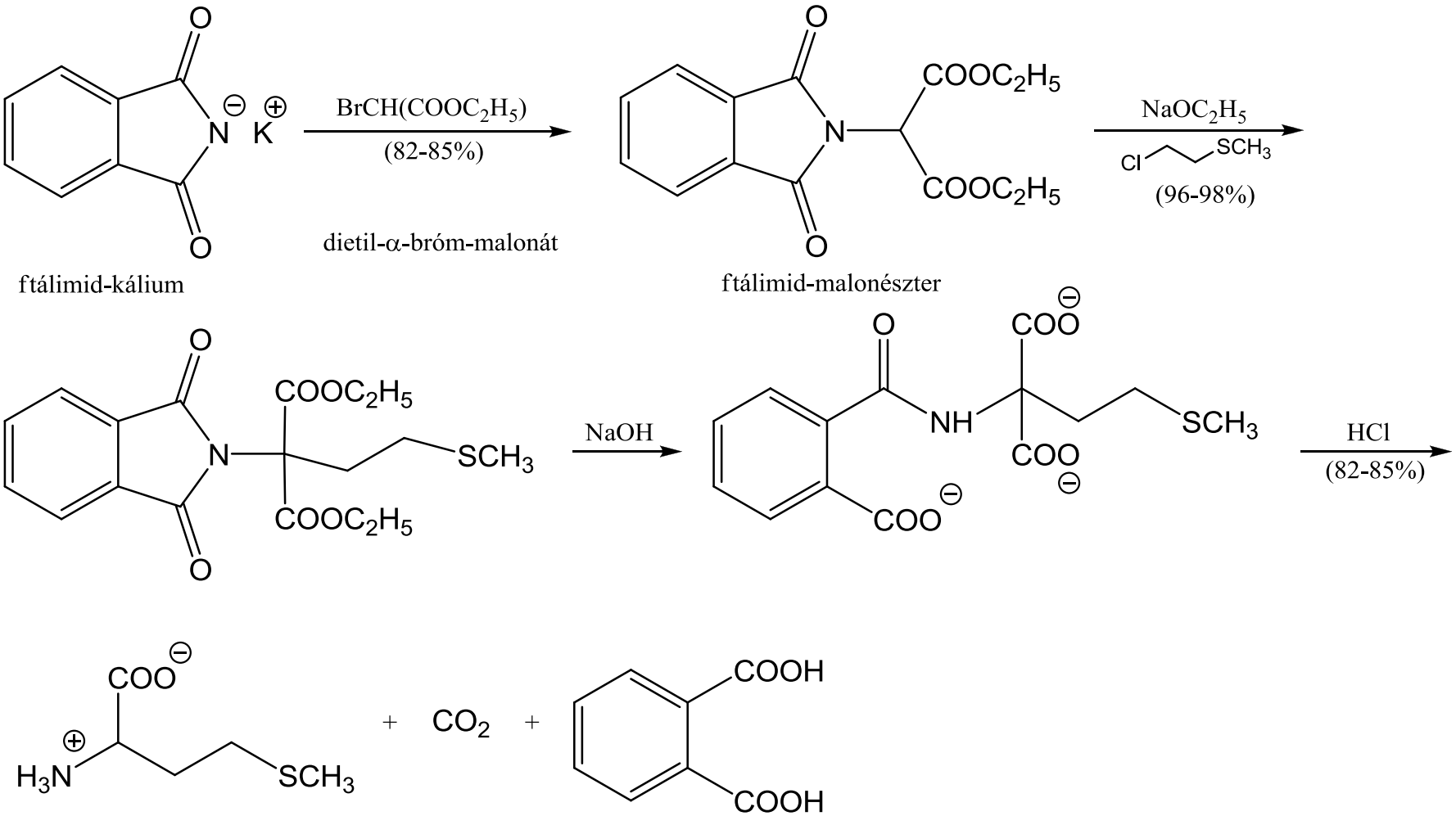
- Alternatively there are protein **solubility optimization kits** available now to help determine optimal conditions for different proteins.

- A helpful online tool to predict Protein Solubility starting from amino acid sequence has been developed by the Univ. Oklahoma, School of Chemical Engineering and Materials Science.:

- **Prediction of Protein Solubility** Recombinant Protein Solubility prediction from . It's very simple to use.
- http://www.biotech.ou.edu/

6) Az aminosavak kémiai szintézise: α-aminosavak előállítása (pl.: Met)

6.1) a módosított Gabriel-szintézis



memo: aminok előállítása

$$R\text{-}X + 2NH_3 \longrightarrow R\text{-}NH_2 + NH_4X \text{ ahol } X=F, Cl, Br$$

alkil-halogenid alkil-amin

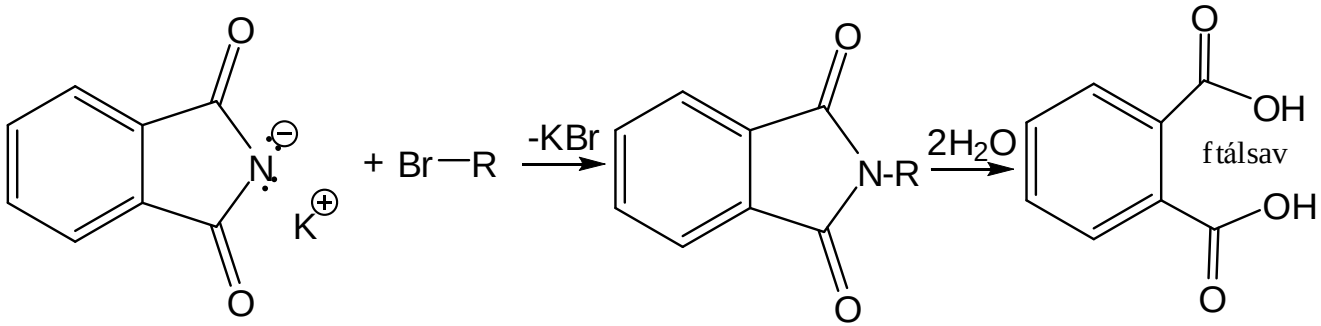
Bruckner I/1 407. o.

gond: keveréket kapunk ($R\text{-}NH_2$, R_2NH, R_3N és R_4NX)

„túlalkileződés” primer szek. terc. kvat.

---

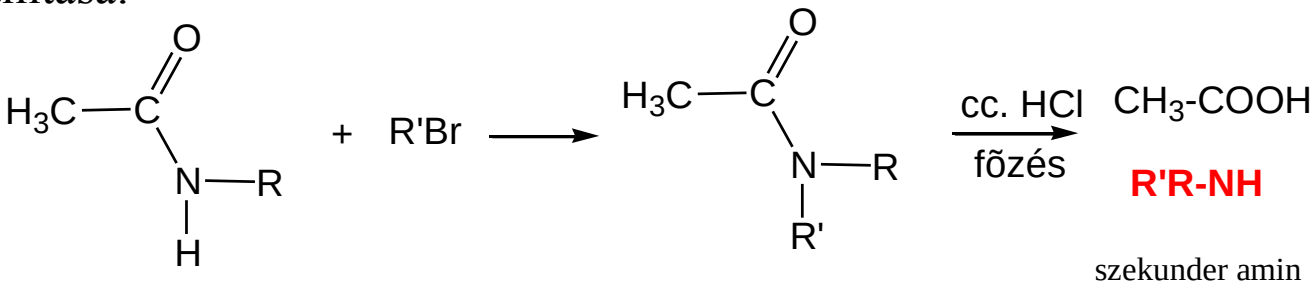
1. **Primer** aminok előállítása:
(*Gabriel*-féle szint. 1887)



ftálimid-kálium N-alkilftálimid ftálsav

+ R-NH2

2. **Szekunder** aminok előállítása:

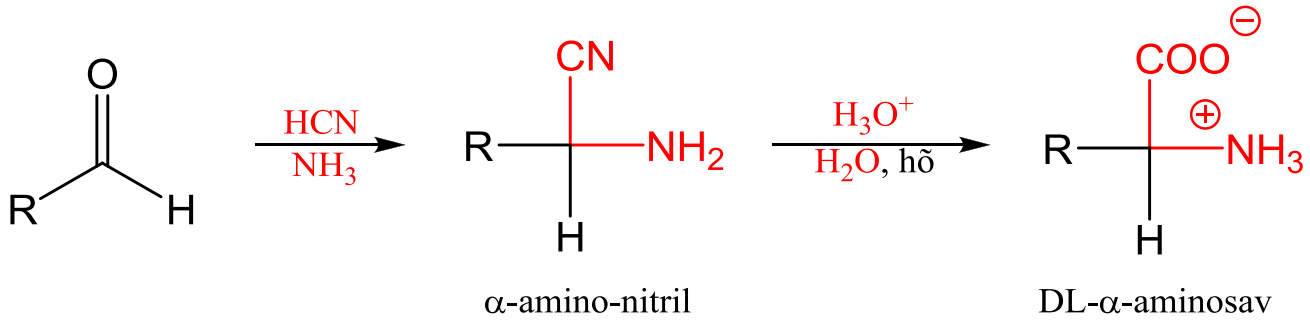


primer savamid szekunder savamid szekunder amin

3. **Tercier** aminok előállítása:

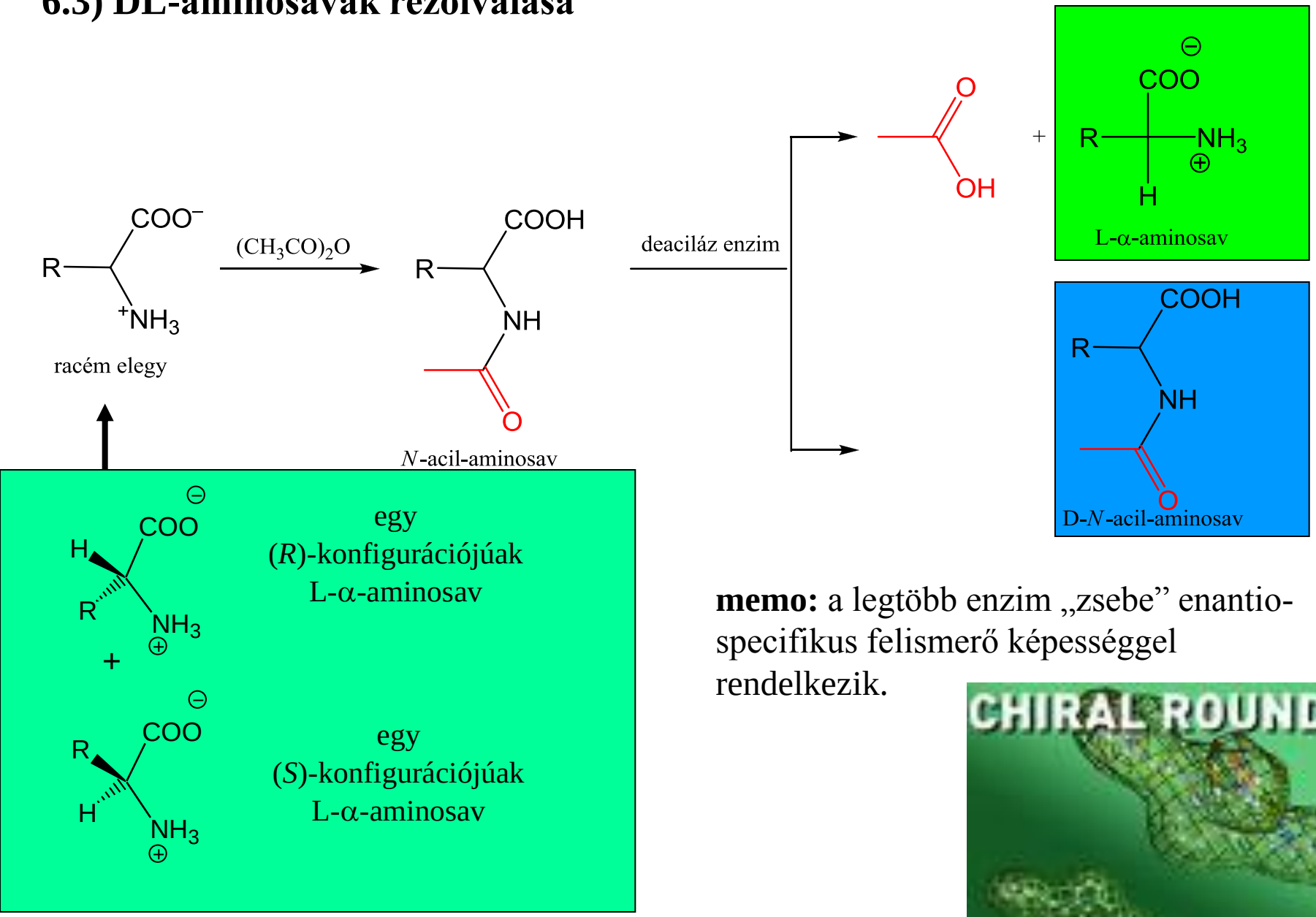
szekunder aminok reakciója alkil-halogenidekkel.

6.2) Strecker-szintézis



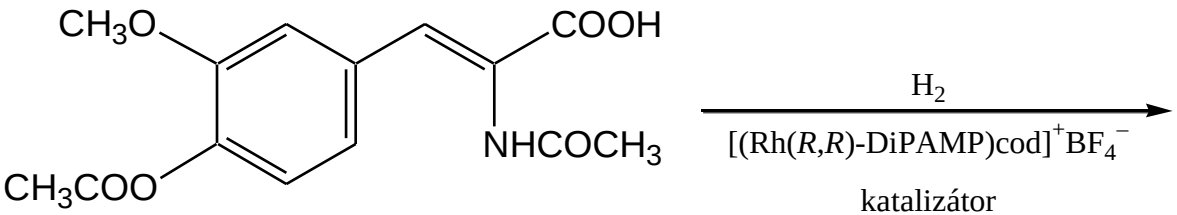
A Strecker-szintézis mechanizmusa:

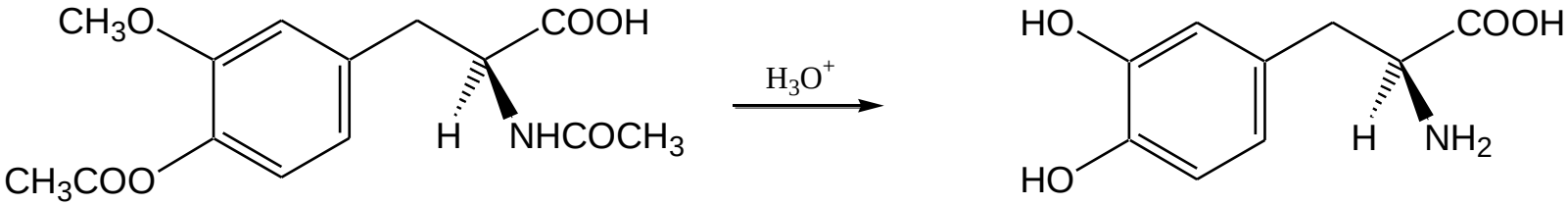
6.3) DL-aminosavak rezolválása



memo: a legtöbb enzim „zsebe” enantio-specifikus felismerő képességgel rendelkezik.

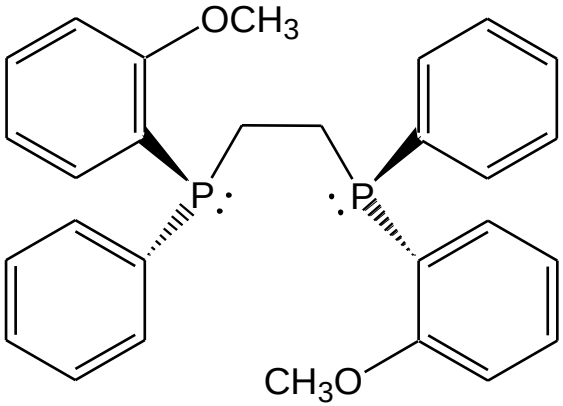
6.4) aszimmetrikus szintézis:



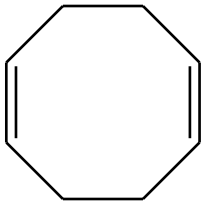


100% kitermelás
95% enantioszelektivitás

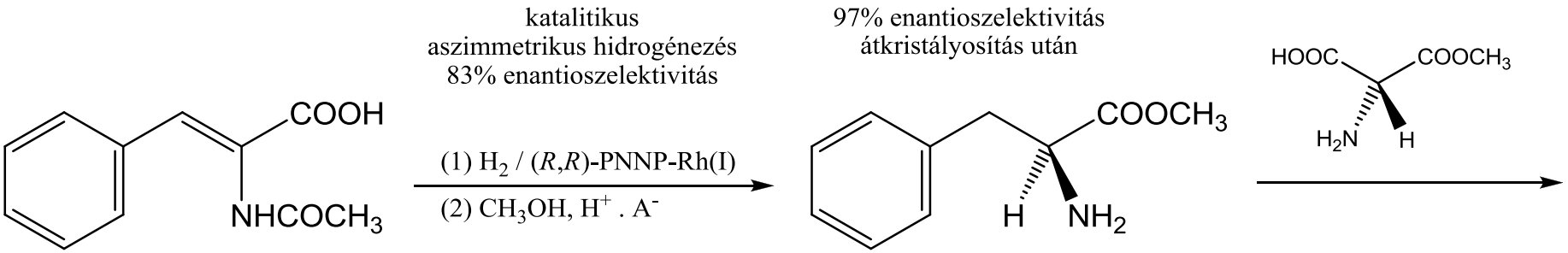
L-DOPA
(*S*)-3,4-dihidroxifenilalanin



(*R*,*R*)-DiPAMP
(*R*,*R*)-1,2-bisz[(2-metoxi-fenil)-fenil-foszfino]etán
ródium királis liganduma

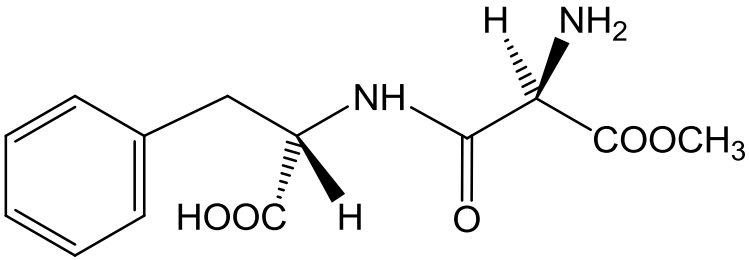


cod
1,5-ciklooktadién

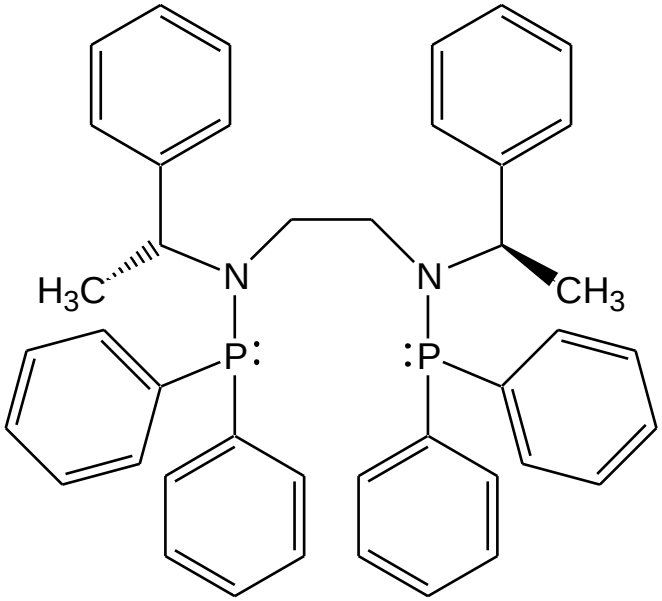


S-fenilalanin-metilészter

L-aszparaginsav



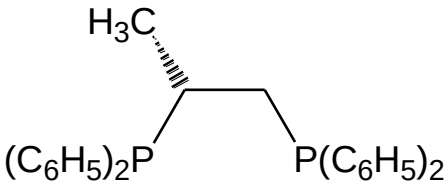
aszpartám



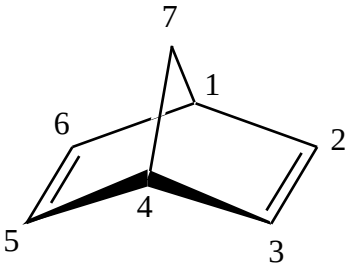
(*R*,*R*)-PNNP
N,*N'*-bisz(difenil-foszfino)-bisz[(*R*)-1-fenil-etil]etiléndiamin
ródium királis liganduma

$$[Rh(nbd)_2]ClO_4 \xrightarrow{(R)\text{-profosz}} [Rh((R)\text{-profosz})(nbd)]ClO_4 + nbd$$

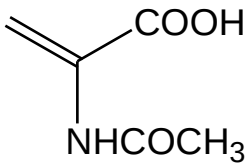
királis ródium-komplex



(*R*)-profosz
(*R*)-1,2-bisz(difenil-foszfino)-propán

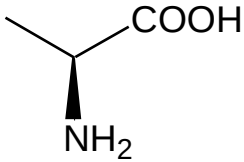


nbd
2,5-norbornadién



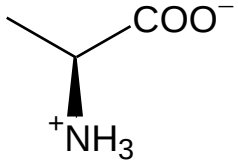
2-acetilamino-propénsav

$$\xrightarrow[\text{[Rh((R)-profosz)(H)}_2\text{(C}_2\text{H}_5\text{OH)}_2\text{]}^+]{H_2}$$

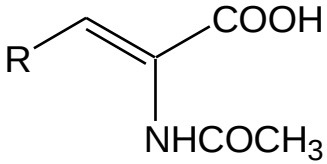


N-acetil-L-alanin
90% enanetioszelektivitás

$$\xrightarrow[\text{(2) H}_3\text{O}^+]{\text{(1) OH}^-\text{, H}_2\text{O, hõ}}$$

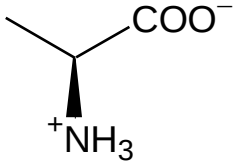


L-alanin



(Z)-3-szubsztituált
2-acetilamino-propénsav

$$\xrightarrow[\text{(2) OH}^-\text{, H}_2\text{O, hõ}\quad\text{(3) H}_3\text{O}^+]{\text{(1) H}_2\text{ / [Rh((R)-profosz)(H)}_2\text{(oldószer)}_2\text{]}^+}$$



L-aminosav
87-93% enanetioszelektivitás