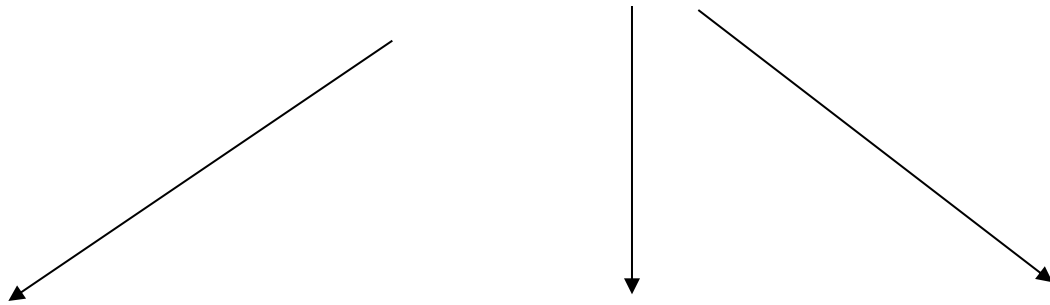


9. Előadás

Peptidek,fehérjék

Előzmények



Peptidkémia

1901 E. Fischer : Gly-Gly

1932 Max Bergman és
Leonidas Zervas :
Benziloxi-karbonil csoport

1963 B. Merrifield :
Szilárd fázisú peptid
szintézis

1988 Á. Furka :
Kombinatorikus peptid
szintézis

Analitikai kémia

1923
Fritz Pregl :
Mikroanalitika

1969 Cs. Horváth:
Analitika/preparatív
HPLC

Elektroforézis

Röntgen (X-ray)
krisztallográfia

NMR

Tömeg
spektrometria

Protein kémia

1945 F. Sanger :
„Sanger reagens”
(N-treminális)

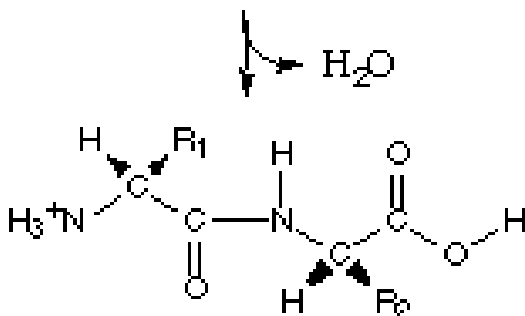
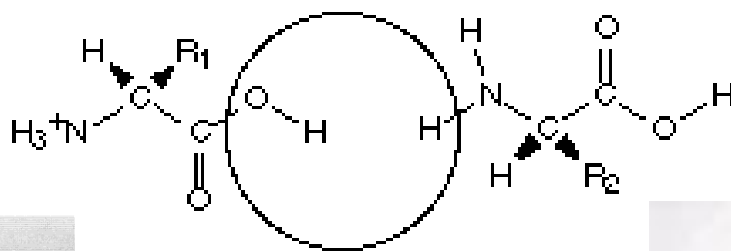
1948
W. Stein és S. Moore :
Aminosav összetétel
(ninhidrin)

1950 P. Edman :
Protein szekvenálás

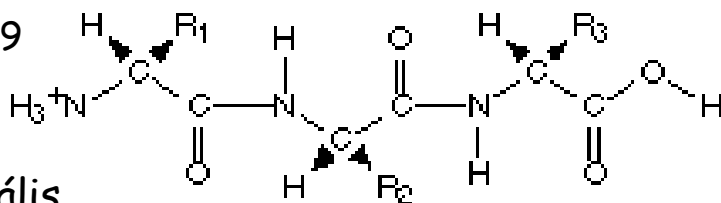
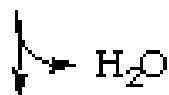
1952 F. Sanger :
Inzulin primer
szerkezete

1962
M. Perutz, A. Kendrew
Miogloblin térszerkezet

A peptid kötés: amid kötés (E. Fischer, 1902)



+ aa3



Emil Fischer

1852-1919

N-terminális



John B. Fenn

Nobel díj, 2002

etc...

C-terminális

Dipeptid: 2 Oligopeptid: 2-15 Polipeptid: >15

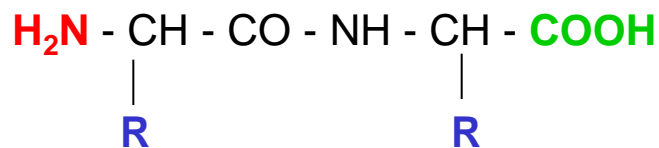
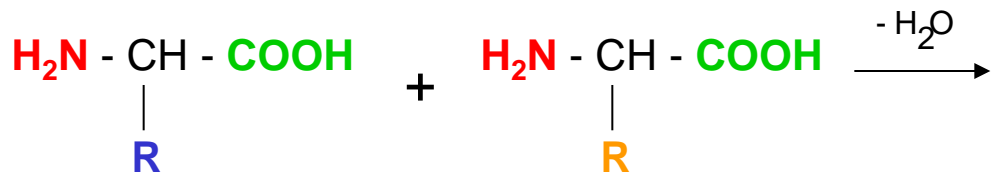
„Az aminosavakat összekapcsoló kötés a fehérjékben:
karbonsav amid kötés.”

E. Fischer, Chem. Z. 26: 939 (1902)

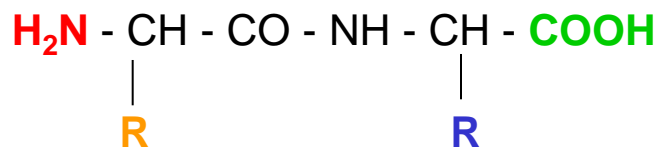
(peptid: a görög πεπτιδια, „emészthető”)

Nobel díj (1902) "in recognition of the extraordinary services he has rendered by his work on **sugar** and **purine** syntheses".

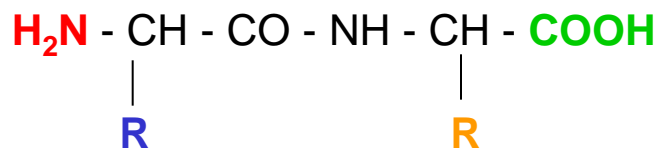
Peptid szintézis: a probléma



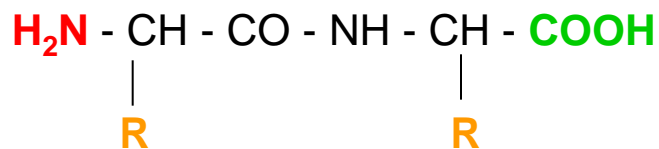
+



+



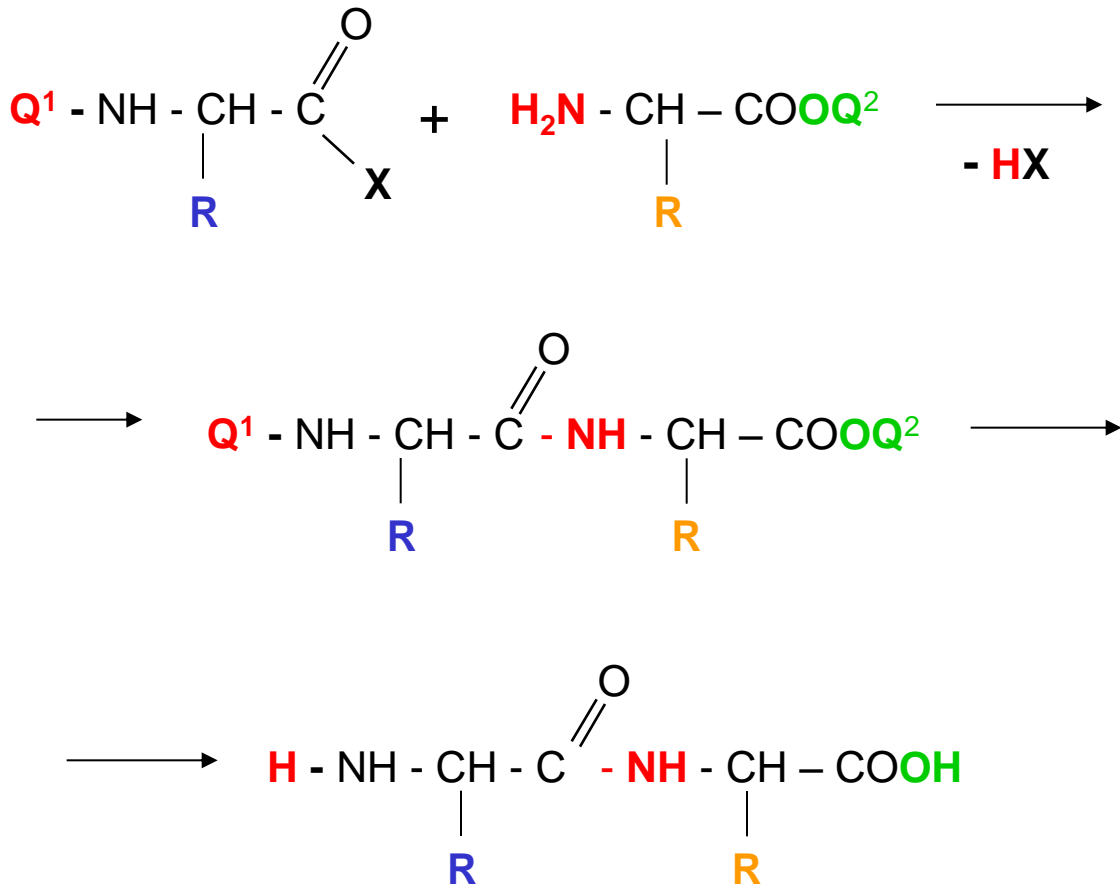
+



Keverék, alacsony konverzió, oldalláncok

Megoldás

A koncepció: védőcsoportok és aktiválás



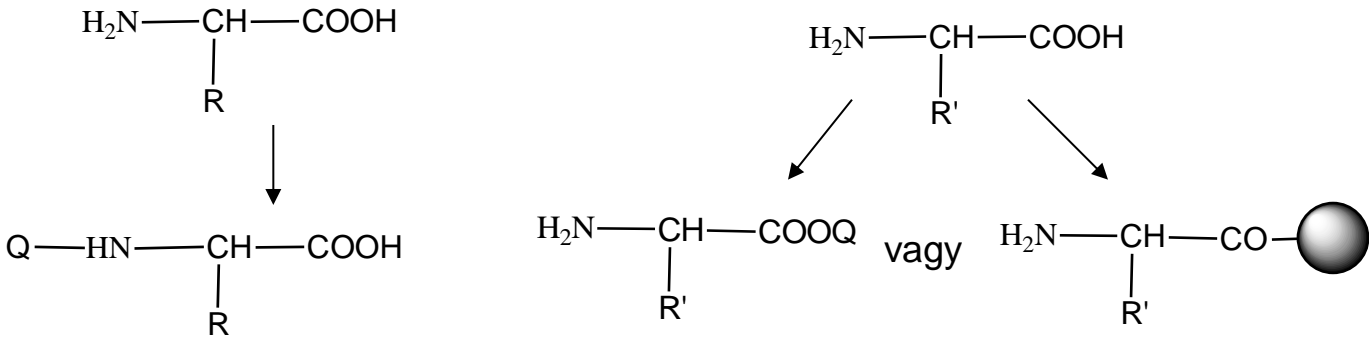
Egyféle termék, magas konverzió

Követelmények

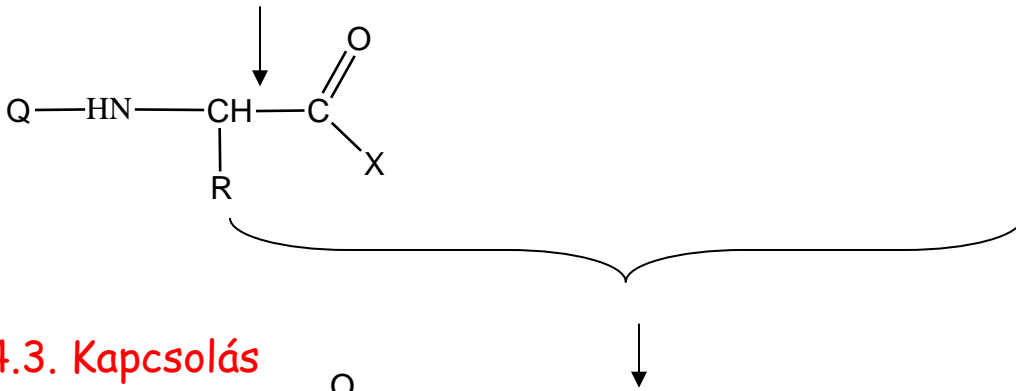
1. Védőcsoportok - egyszerű beépítés, egyszerű eltávolítás
2. Hatékony aktiválás, kapcsolási reakció

Négy lépés

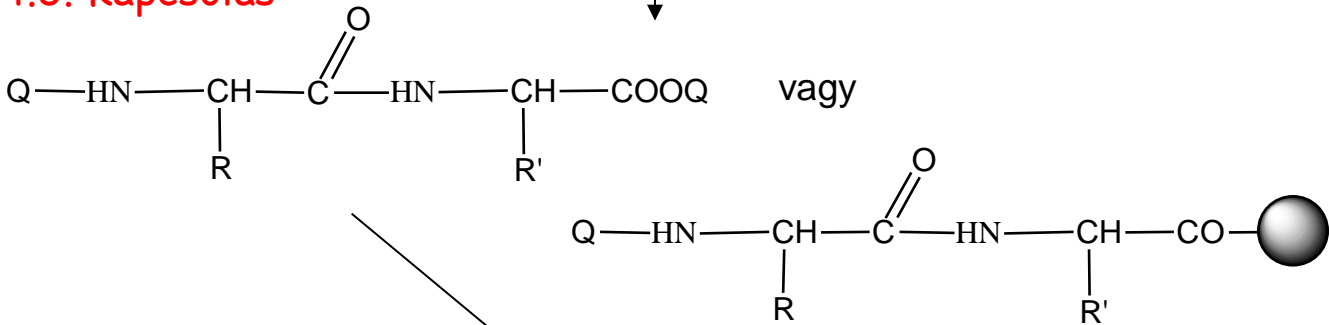
4.1. Védett (N-, C- és oldallánc) aminosavszármazékok



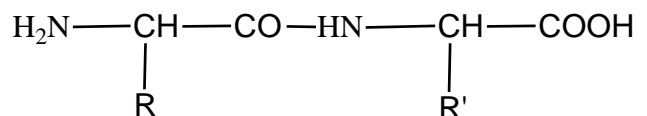
4.2. A C-terminálison „aktivált” aminosavszármazék szintézise



4.3. Kapcsolás



4.4. Védőcsoportok eltávolítása



1. Védőcsoportok

„All modern work in Peptide synthesis employs the following approach: the amino group of one amino acid is first stabilized by the introduction of a protecting group R, the carboxy group is modified so that it is capable of coupling, and finally the R group is removed to produce the finished peptide. The difficulty lies in finding a suitable group R, which can be removed so gently that the peptide is not significantly attacked.”

Bergman, M., Zervas, L.: Berichte Chem. 65, 1192 (1932)

Követelmények

1. Könnyű és hatékony beépülés.
2. A peptidkötés érintetlensége a beépítés/eltávolítás alatt.
3. Több mint egyféle eltávolítási lehetőség.
4. Nincs racemizáció.
5. A melléktermékek egyszerű és könnyű eltávolítása.
6. A reakciók szobahőmérsékleten menjenek végbe.

Csoportosítás

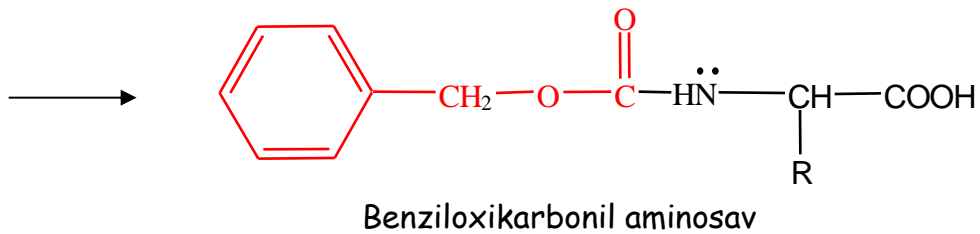
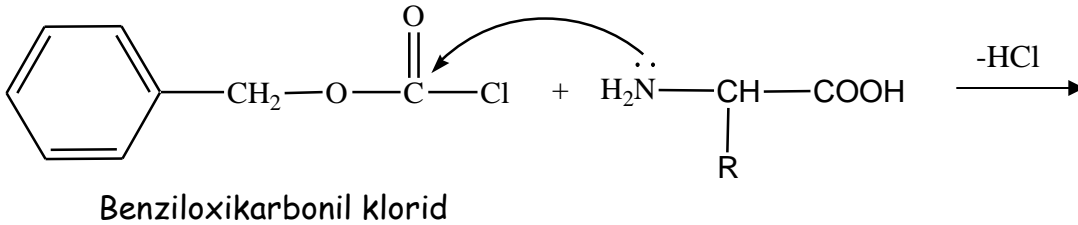
1. N^α - védőcsoport
2. C^α - védőcsoport
3. Oldallánc védőcsoport

N^α-amino csoport védelme

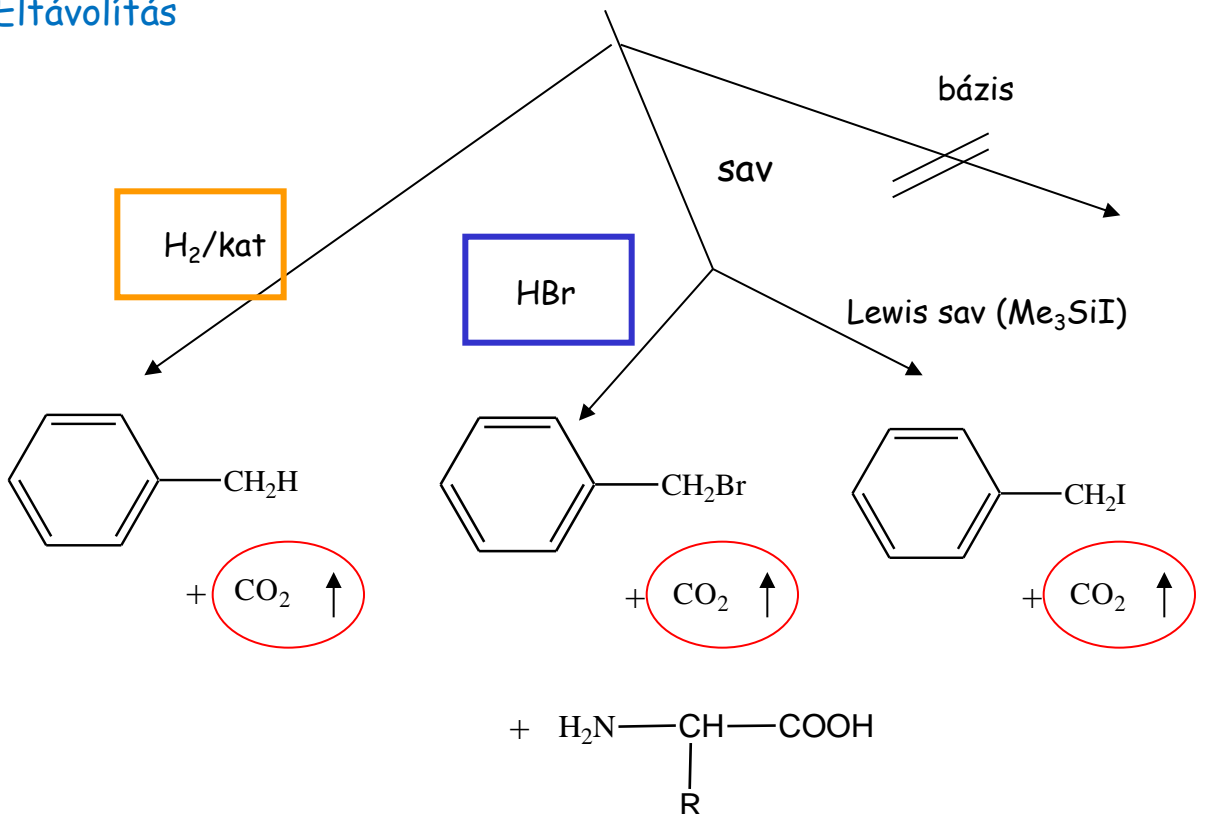
1. Benziloxi-karbonil (Z)

Bergman, M., Zervas, L. : Berichte Chem. 65,1192 (1932)

Beépítés



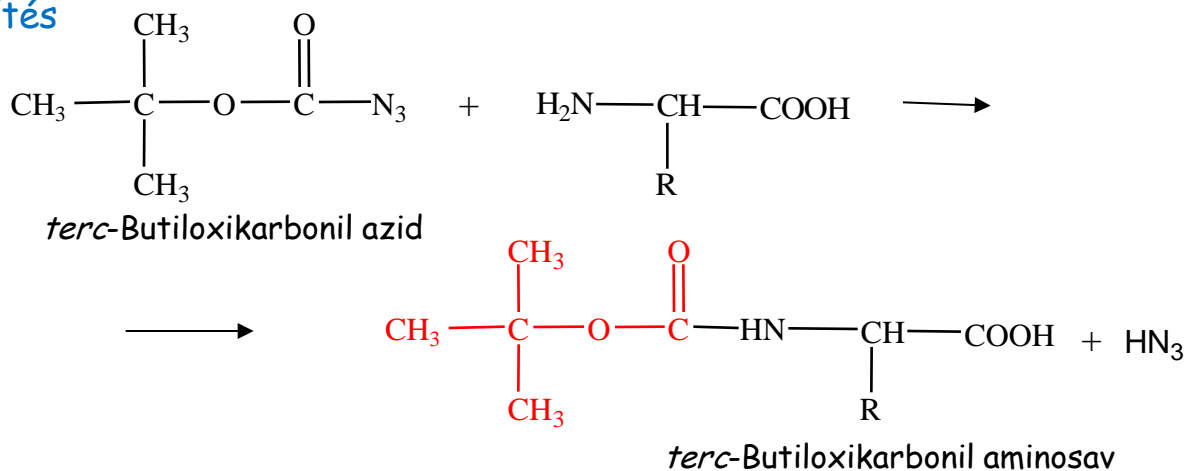
Eltávolítás



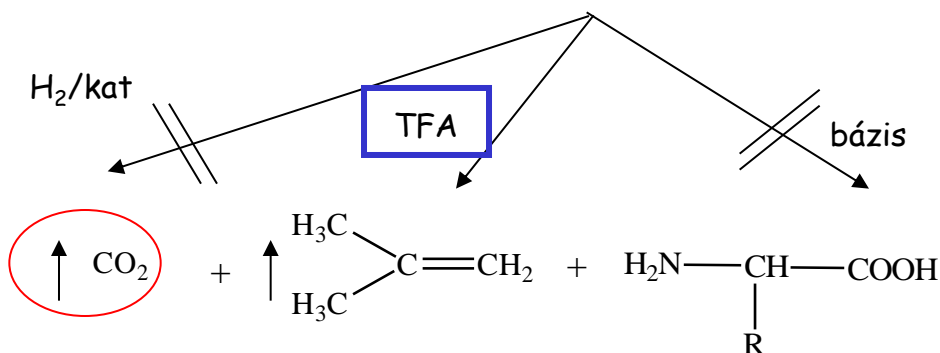
2. *t*-Butiloxi-karbonil (Boc)

Carpino, L.A. et al. JACS (1957)

Beépítés



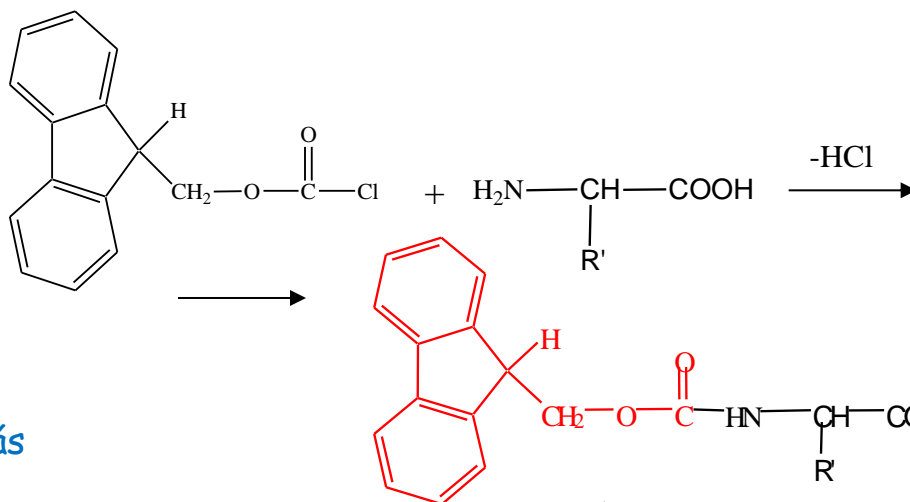
Eltávolítás



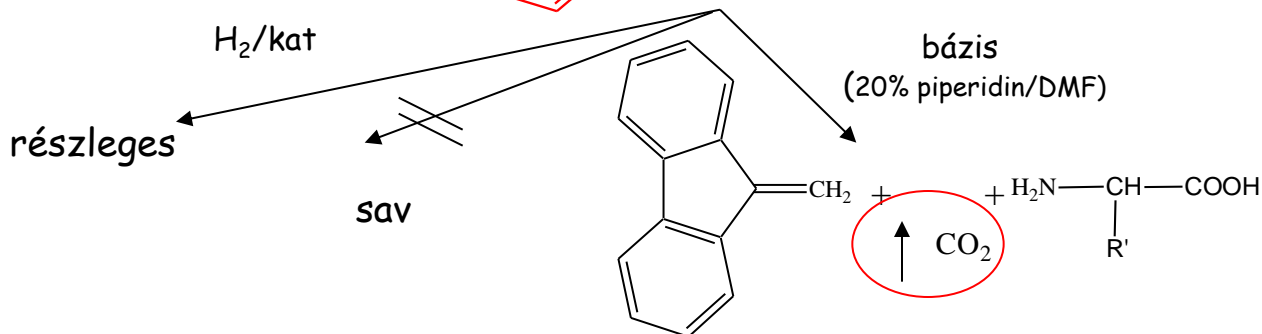
3. 9-Fluorenilmetoxi-karbonil

Carpino, L.A. et al. JACS 92, 5748 (1970)

Beépítés



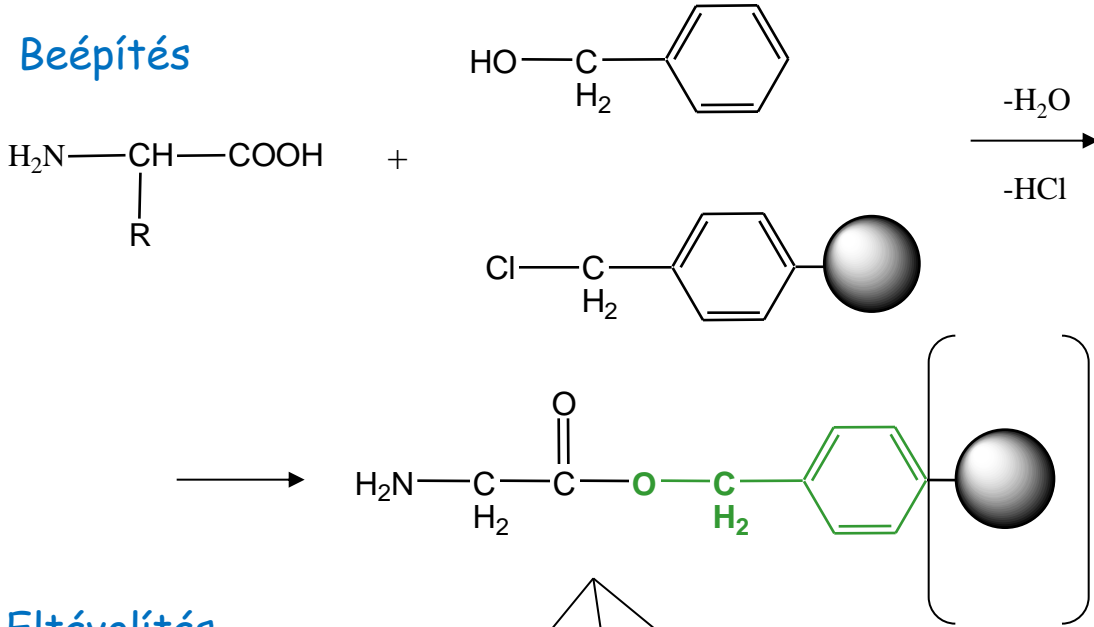
Eltávolítás



Karboxi védelem

Észter kötés kialakítása

Beépítés

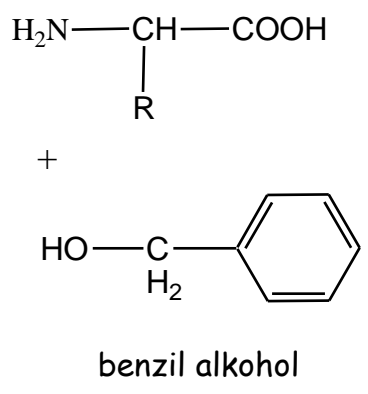
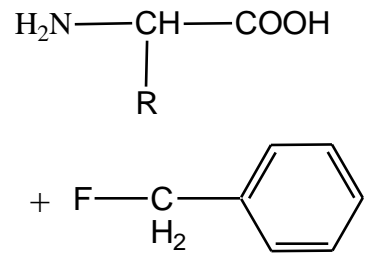
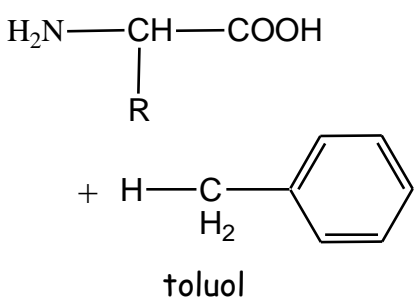


Eltávolítás

H₂/kat.

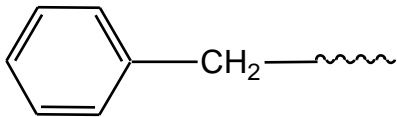
sav (HF)

bázis
(pl. NH₃)

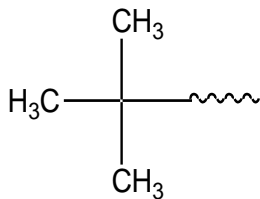


Oldallánc védelem

-OH védőcsoport
(Ser, Thr, Tyr)

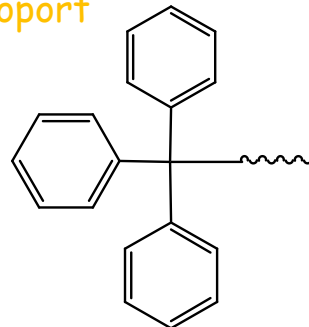


Benzil(éter) (Bzl)



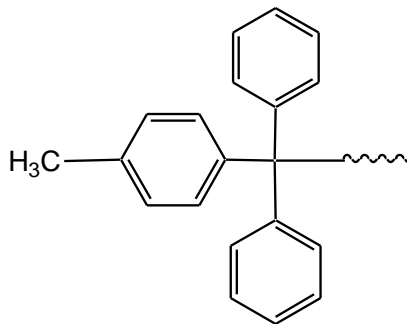
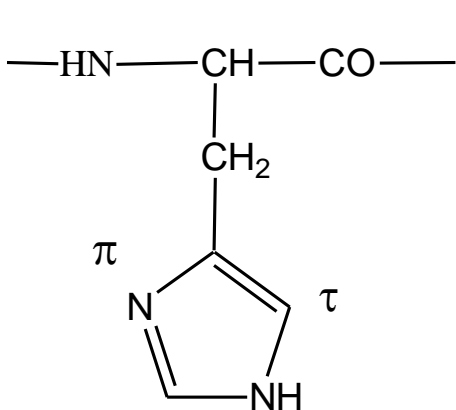
terc-Butil (éter) (t-Bu)

-SH védőcsoport
(Cys)



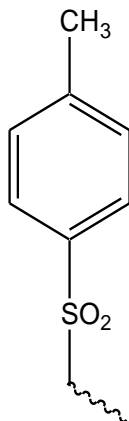
Tritil (Trt)

Imidazol védőcsoport
(His)



4-Metiltritil (Mtt)

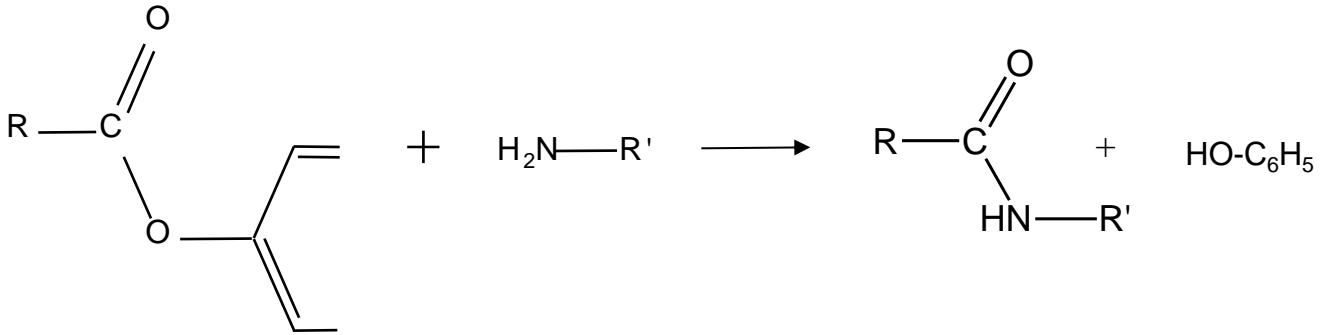
Guanidino védőcsoport
(Arg)



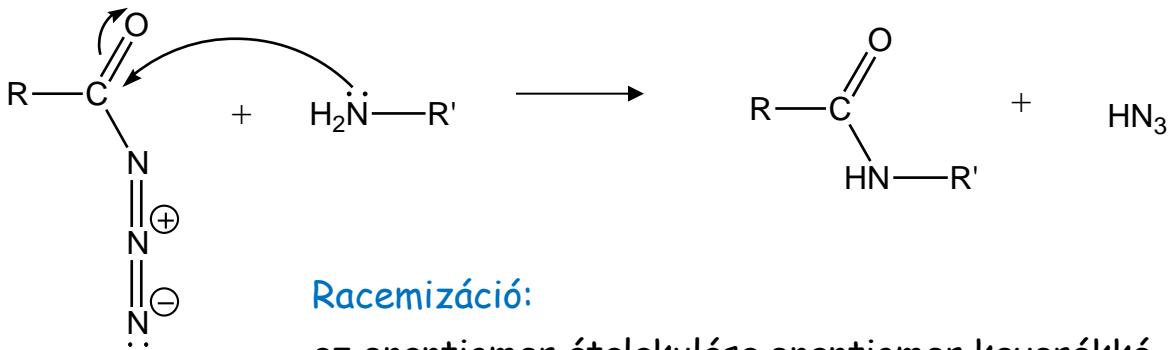
4-Toluolszulfonil (Tos)

3. A peptidkötés kialakítása

Aktív észter (S_N)

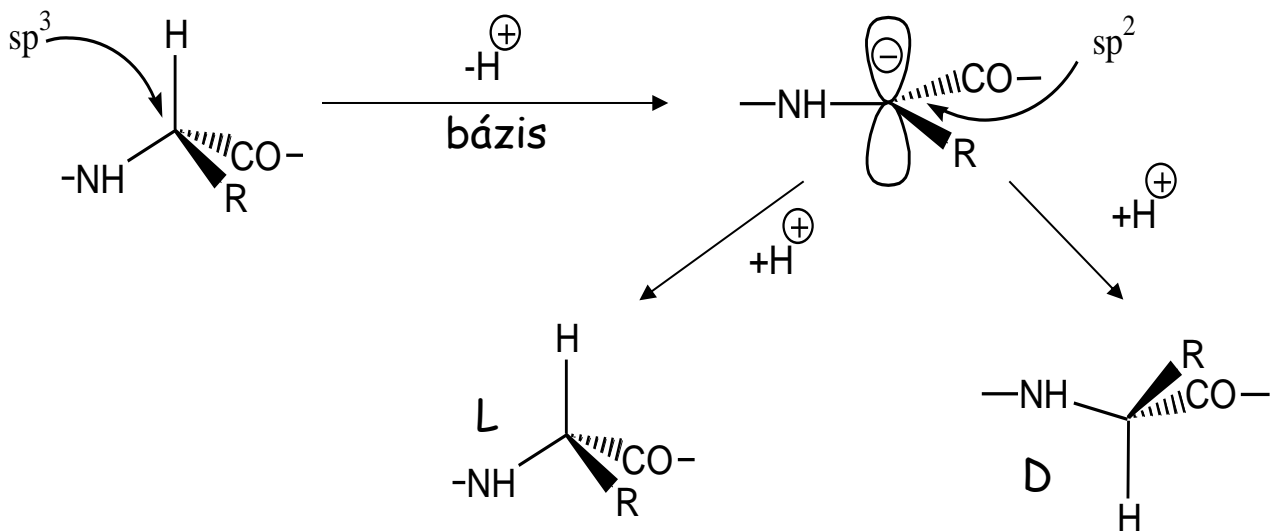


Acil azid (nincs racemizáció)



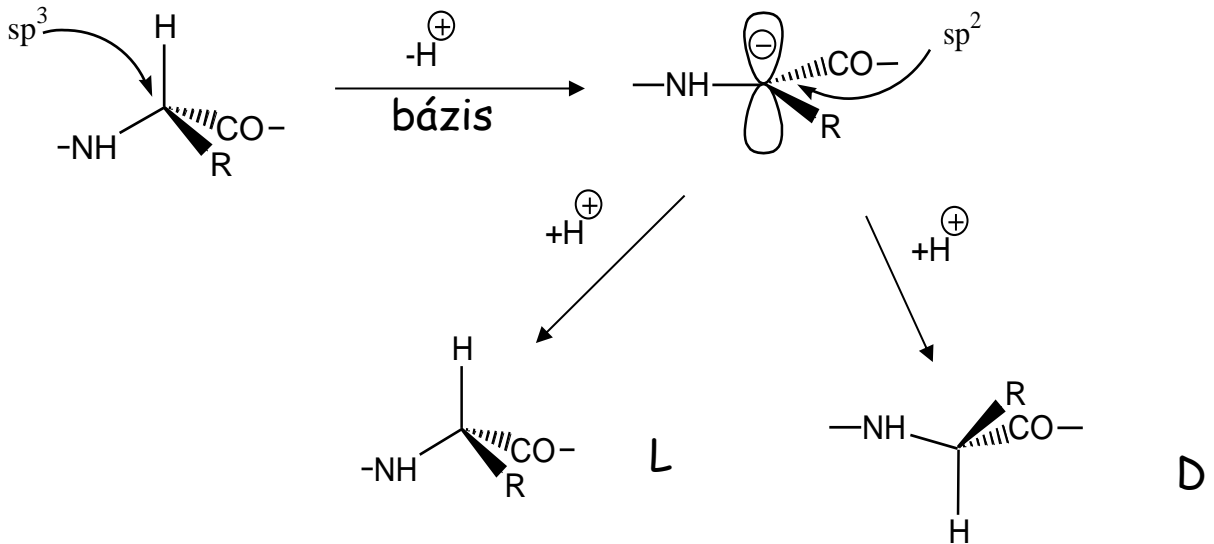
Racemizáció:

az enantiomer átalakulása enantiomer keverékké



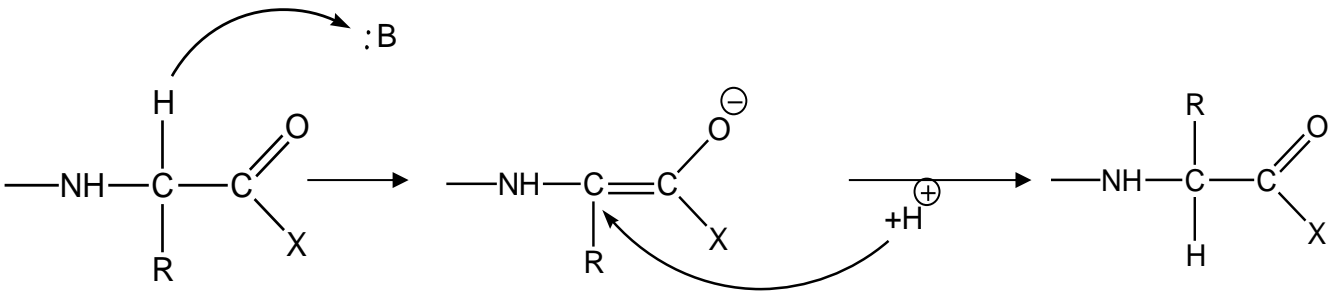
Racemizáció

Az enantiomer átalakulása enantiomer keverékké

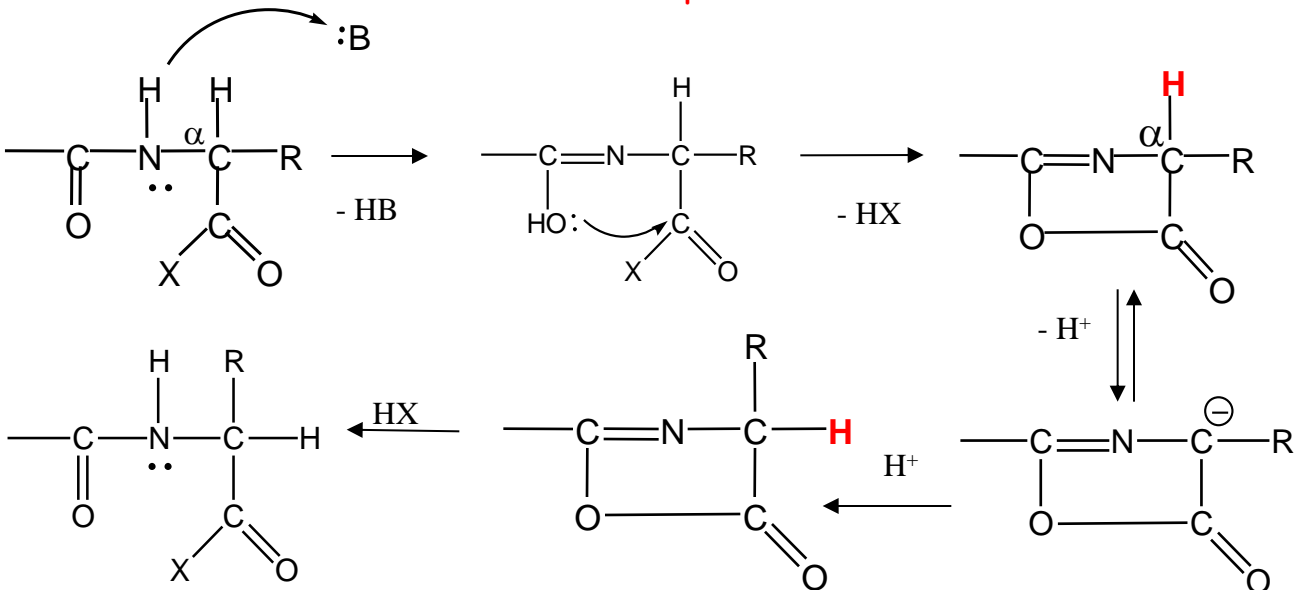


Mechanizmus

a: direkt enolizáció

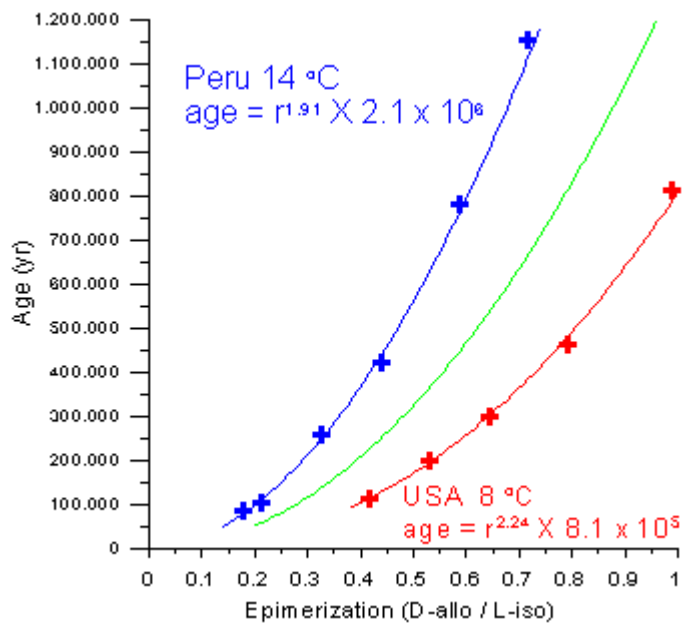
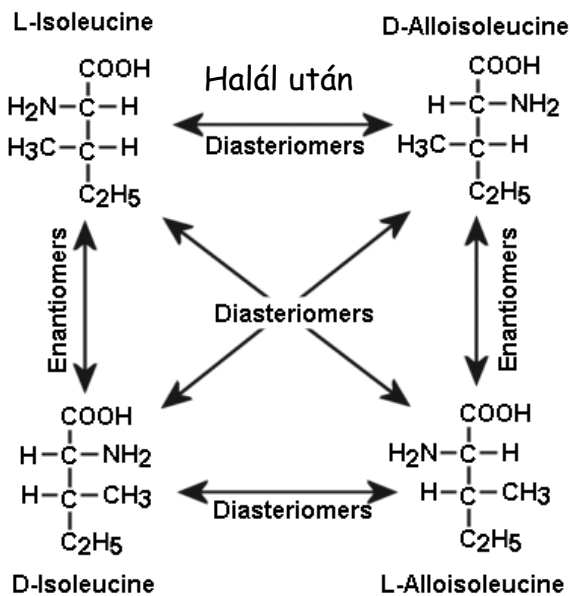
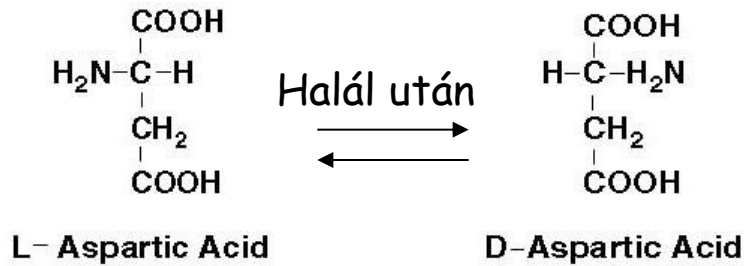


b: oxazonon képződés*



* :B nélkül :N iniciálja a reakciót

A racemizáció és a kormeghatározás



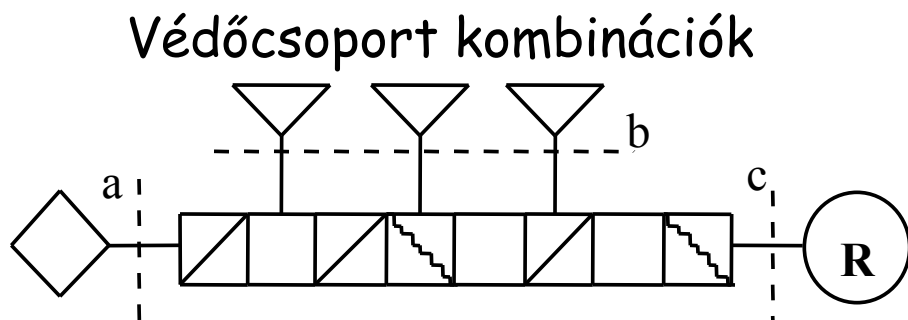
A szilárd fázisú peptid szintézis főbb szempontjai

A. A szilárd felszín

1. Tartalmazzon reaktív csoportokat funkcionalizálásra
2. Peptid-polimer kötés hasítható legyen
3. Stabil legyen a szintézis körülményei között
4. A peptidlánc hozzáférhető legyen az oldószer és a reagensek számára

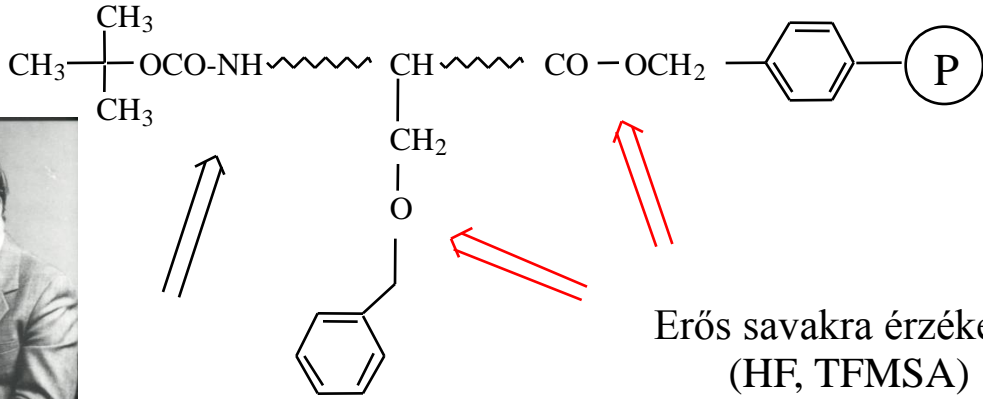
B. Védőcsoport kombinációk

1. Peptid-polimer kötés stabil legyen a szintézis alatt
2. „Átmeneti” védőcsoport az α -amino csoporton
3. „Állandó” védőcsoport az oldalláncokon
4. Hatékony hasítás.



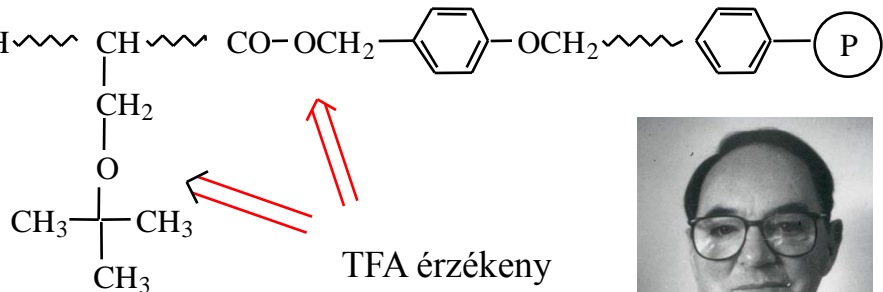
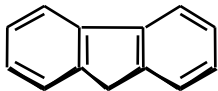
- a. N^α- védőcsoport („átmeneti”)
- b. Oldallánc védőcsoportok („állandó”)
- c. Gyanta-peptid kötés

Boc/benzil stratégia - Merrifield módszer



Erős savakra érzékeny
(HF, TFMSA)

Fmoc/t-butil stratégia - Sheppard módszer

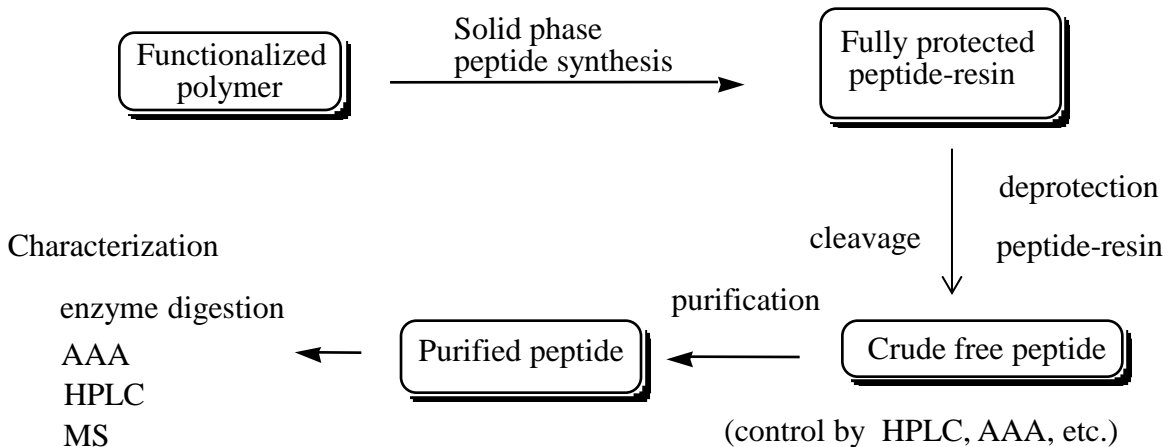


TFA érzékeny

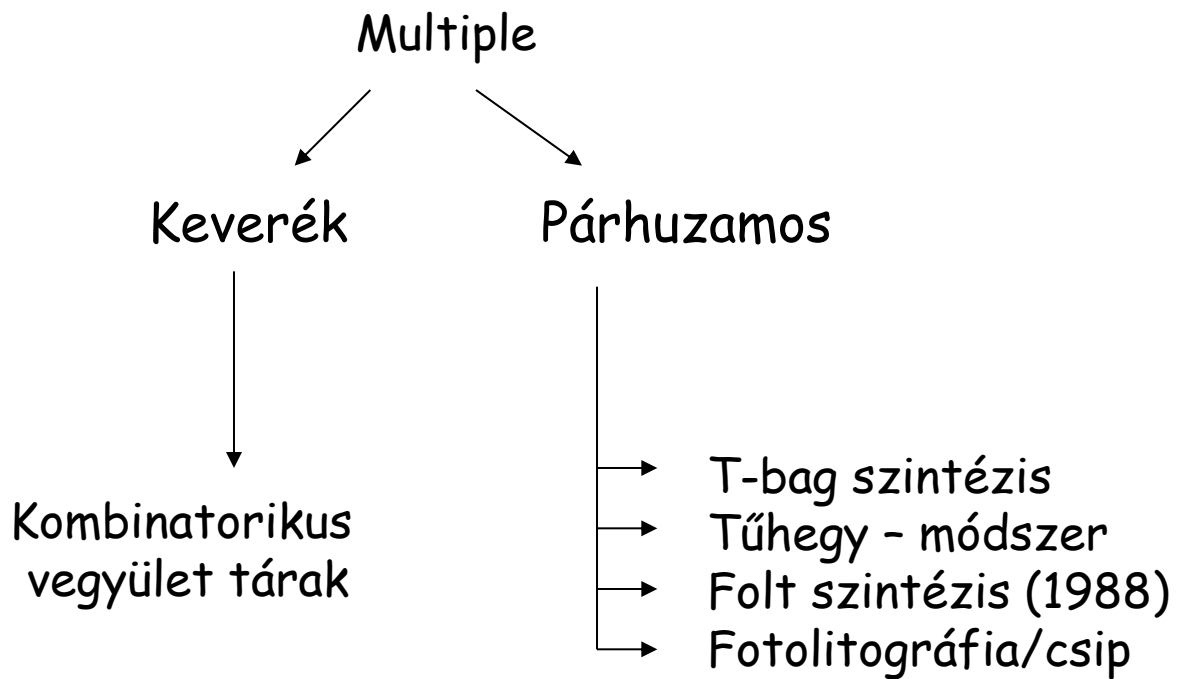
Bázisra érzékeny
(piperidin / DMF)



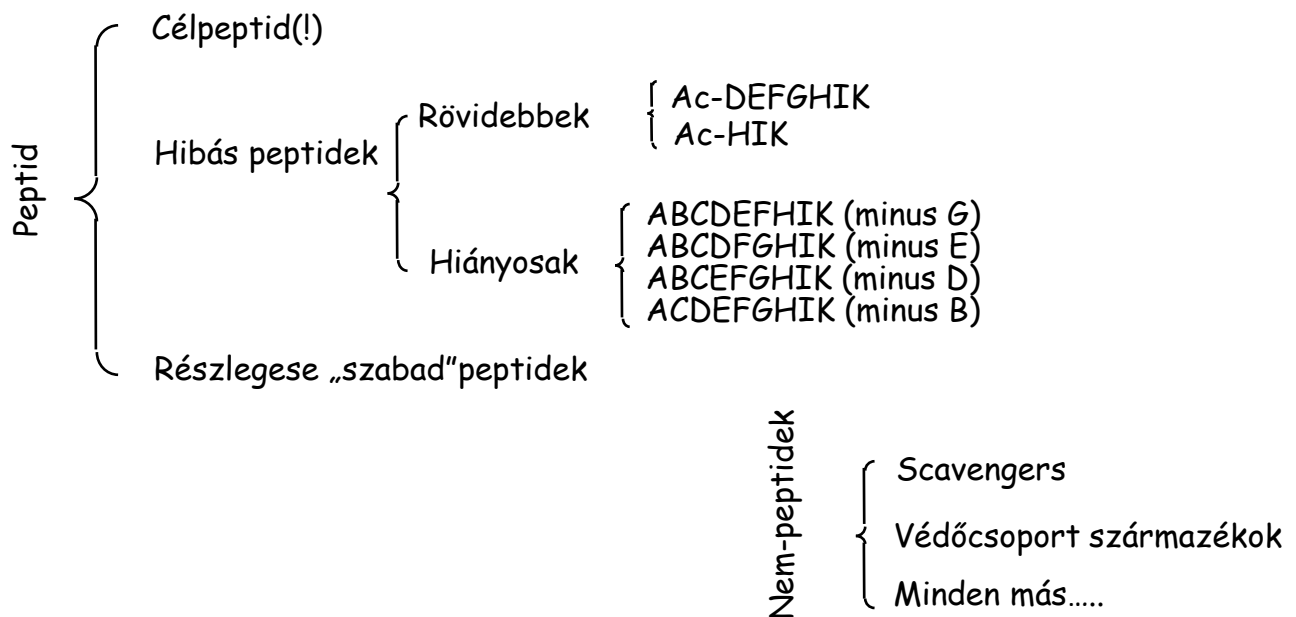
Összegzés



Szintézis „formák”



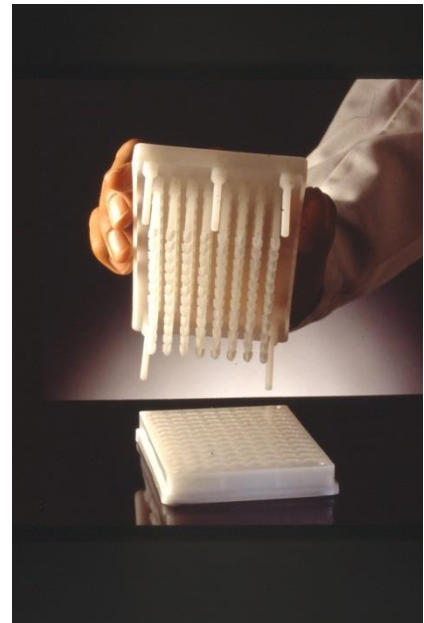
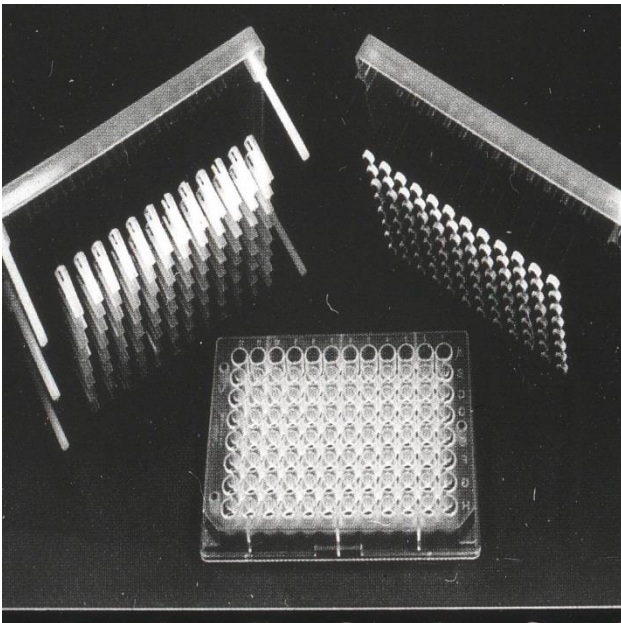
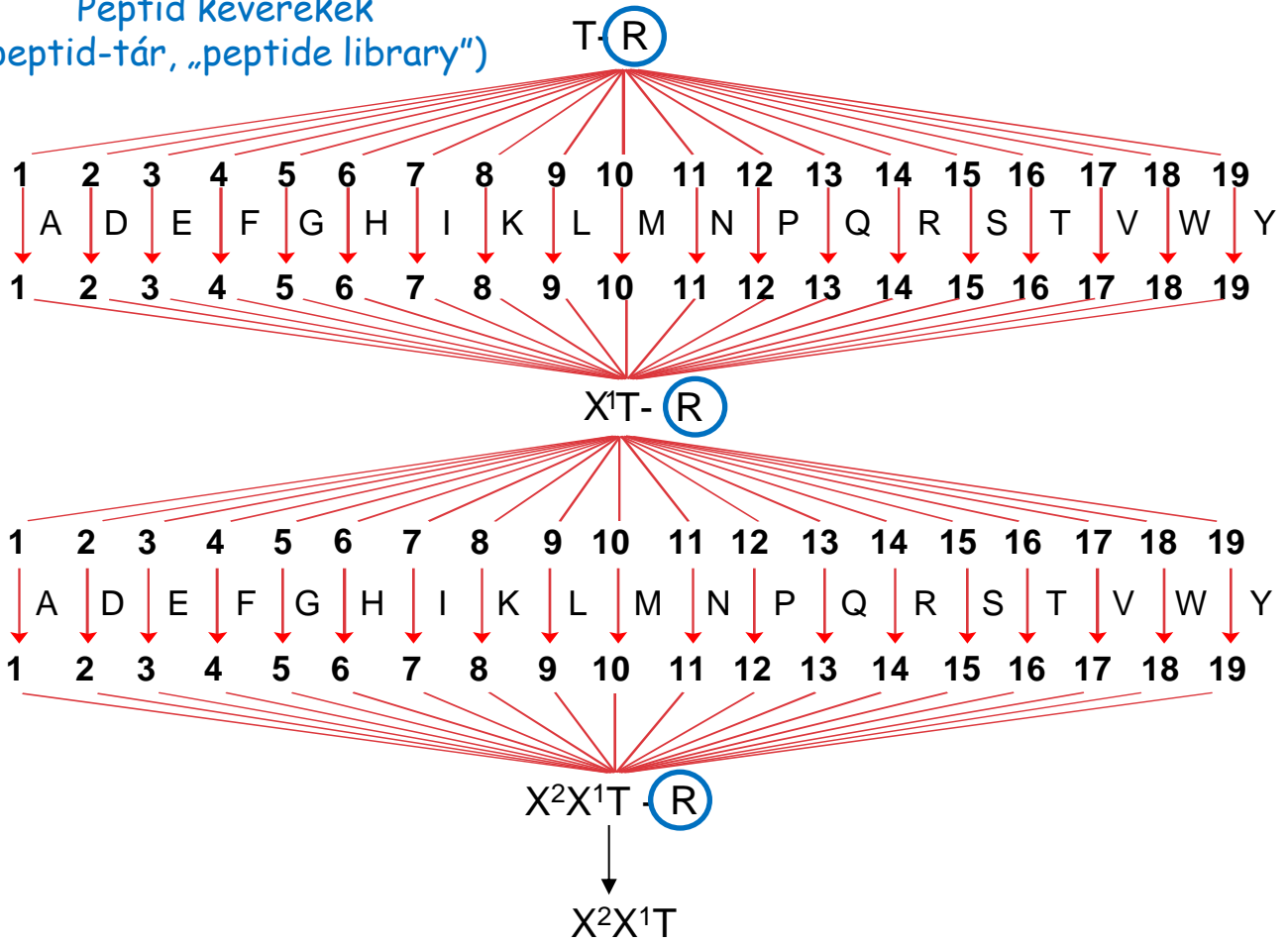
Mit találhatunk a szintézis „nyers” termékében ?



Kombinatorikus szintézis: keverés-osztás elv

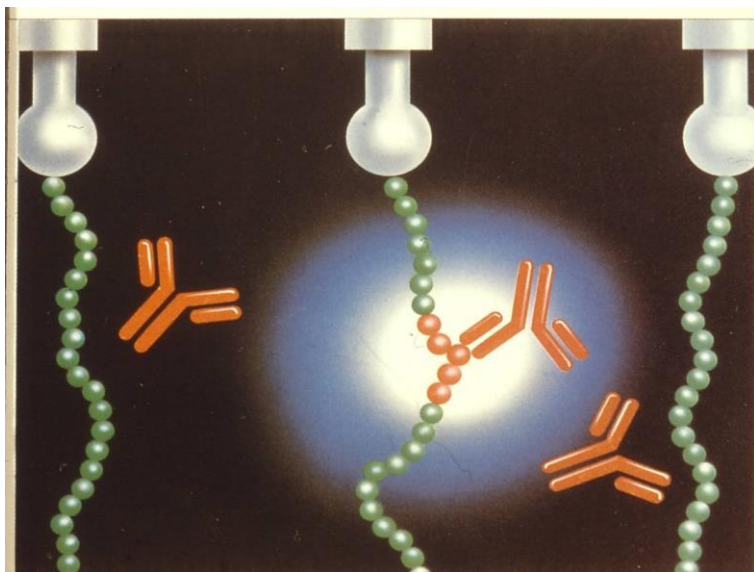
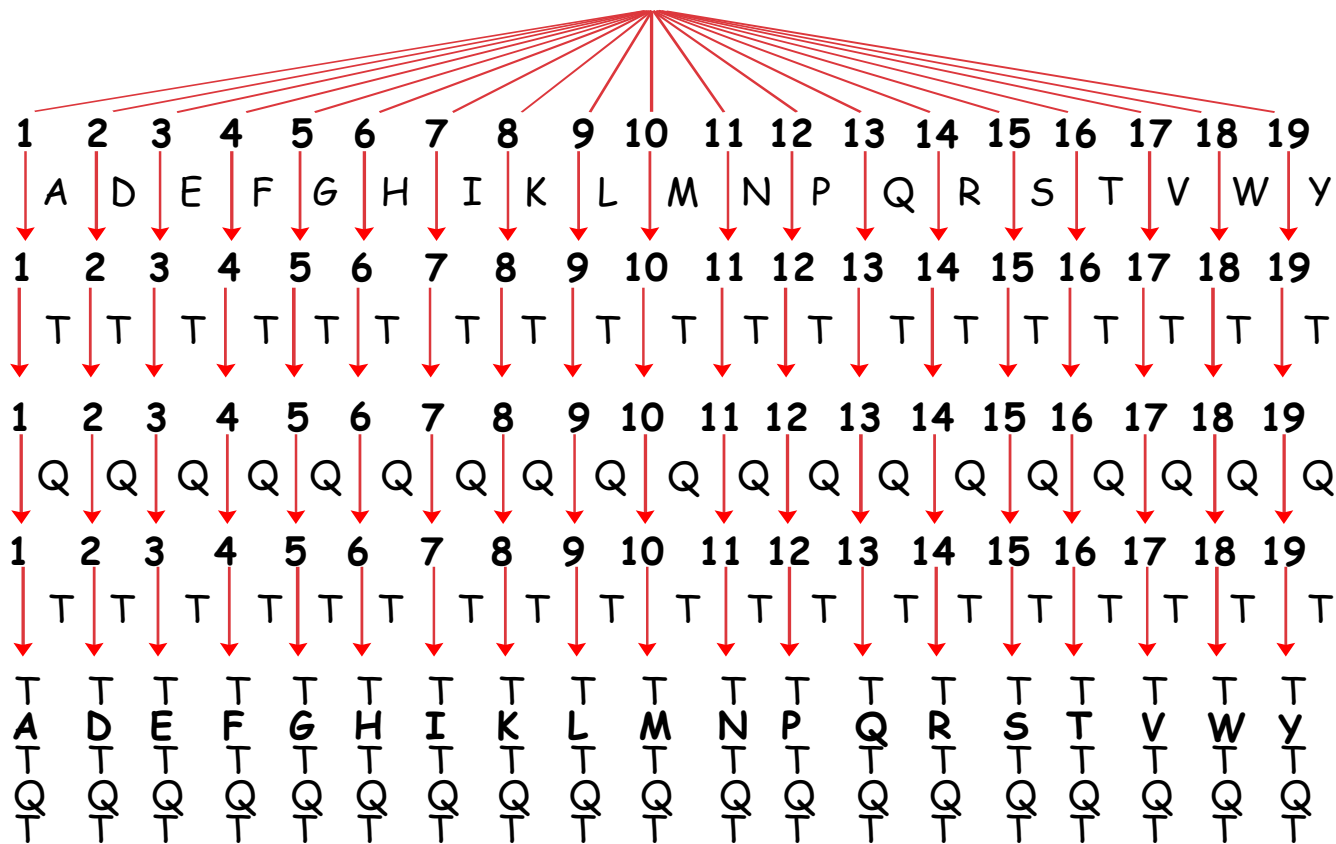
Furka et al. Int. J. Pept. Prot. Res. (1991)

Peptid keverékek
(peptid-tár, „peptide library“)

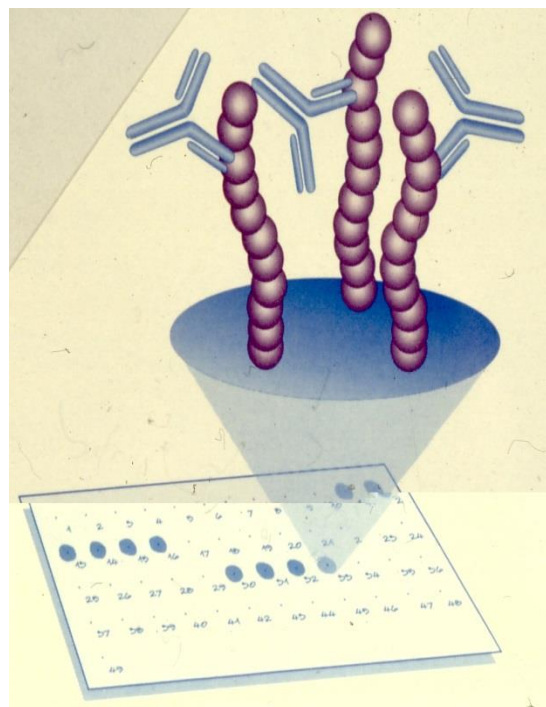


Kombinatorikus szintézis: párhuzamos

T-R



Folt (spot) peptidszintézis



Bevezetett peptid gyógyszerek

Első generáció

Oxytocin (L)
ACTH (1-24) & (1-39) (L,S)
Vasopressin (L,S)
Insulin (E,SS, R)
Glucagon (E,S,R)
Calcitonins (L,S,R)
TRH (L)
Gonadorelin (L,S)
Somatostatin (L,S)
GHRH (1-29) & (1-44) (S)
CRF (Human & Ovine) (S)
Cyclosporin (F)
Thymopentin (L)
Thymosin Alpha-1 (S)
Secretins (Human & Porcine) (E,S)
Parathyroid Hormone (1-34) & (1-84)(S)
Vasoactive Intestinal Polypeptide (S)
Brain Natriuretic Peptide (R)
Cholecystokinin (L)
Tetragastrin (L)
Pentagastrin (L)
Eledoisin (L)

Második generáció

Carbetocin (S)
Terlipressin (L,S)
Felypressin (L,S)
Buserelin (L,S)
Deslorelin (L,S)
Goserelin (L)
Histrelin (L)
Leuprolide (L,S)
Nafarelin (S)
Tryptorelin (L,S)
Lecirelin (S)
Lanreotide (S)
Octreotide (L,S)
Atosiban (L)
Desmopressin (L,S)
Lypressin (L)
Ornipressin
Pitressin (L)
ACE Inhibitors (Enalapril, Lisinopril) (L)
HIV Protease Inhibitors (L)

Új generáció

Abarelix (L),
Cetrorelix (L)
Ganirelix (L)
Eptifibatide
Bivalirudin (L)
Copaxone (L)
Tectide P-289 (S)
Cubicin (F)
Fuzeon (H)
Ziconotide (S)

Pramlintide (S)
Exenatide (S)
Icatibant
Romiplostim
Degarelix
Mifamurtide
Ecallantide
Liraglutide
Tesamorelin
Surfaxin
Peginesatide
Carfilzomib,
Linaclotide

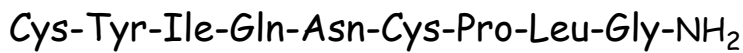
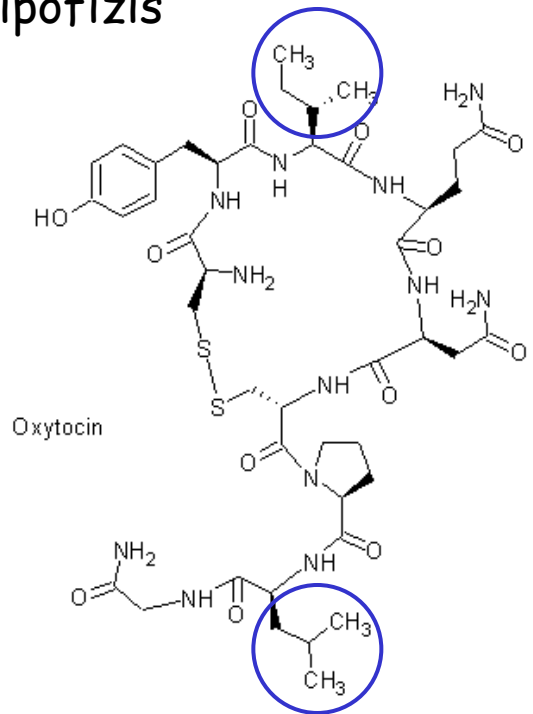
L = oldatban; S = szilárd hordozón; E = extrakció; F = fermentáció; H = hibrid szintézis;
R = recombináns szintézis; SS = semi-szintézis.

Első generáció: az elsők



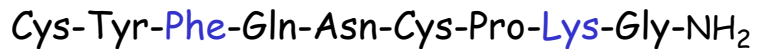
V. du Vigneaud
(Nobel díj 1955)

Hormonok: hipofízis



Oxytocin

Szerkezet: 1953 du Vigneaud
Szintézis: 1954 du Vigneaud



Vasopressin

ACTH

(Adrenocorticotropic hormone,
corticotropin) (1-39, 1-24)

H-Ser¹-Tyr-Ser-Met-Glu-His-Phe-Arg-Trp-Gly-
-Lys-Pro-Val-Gly-Lys-Lys-Arg-Arg-Pro-Val-Lys-
-Val-Tyr-Pro-Asn-Gly-Ala-Glu-Asp-Glu-Leu-Ala-
-Glu-Ala-Phe-Pro-Leu-Glu-Phe³⁹-OH

Szintézis (1971):
Bajusz, Kisfaludy, Medzihradsky

Fehérjék

1. Kötéstípusok a fehérjékben

2. Fehérjék szerkezete

3. Fehérjék szerkezetének meghatározása

3.1 Izolálás, tisztítás - homogén minta előállítása

3.2 Kimutatás, minőségi/mennyiségi meghatározás

3.3 Primer (elsődleges) szerkezet meghatározása

- aminosavösszetétel

- aminosavsorrend

 - N-terminális aminosav

 - C-terminális aminosav

3.4. Térszerkezet (3D) meghatározása

- szekunder (másodlagos)

- terciér (harmadlagos, szupermásodlagos)

- kvaterner (negyedleges)

1. Kötéstípusok a fehérjékben

Kovalens

Amid

- CO - NH -

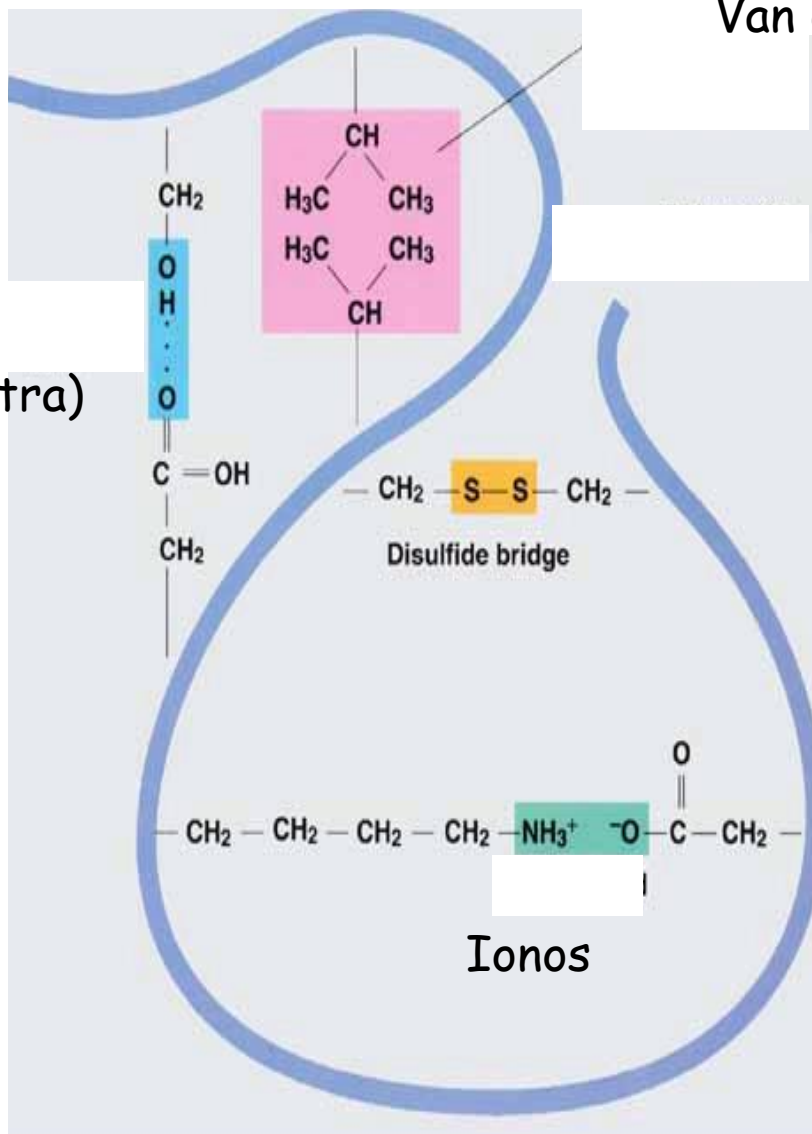
Diszulfid

- S - S -

Nem kovalens

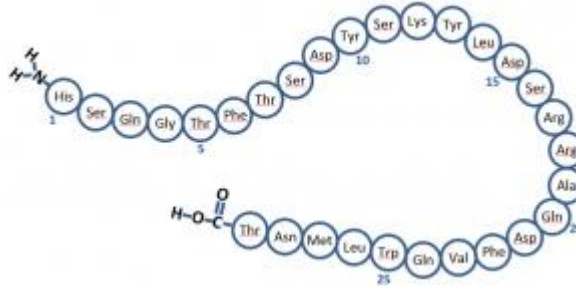
Hidrofób,
Van der Waals

H-híd
(inter és intra)

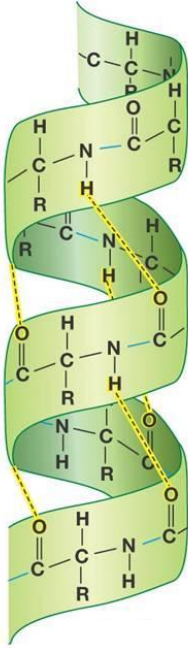


2. Fehérje szerkezet

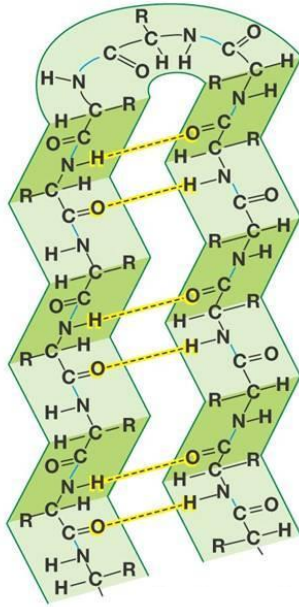
Primer



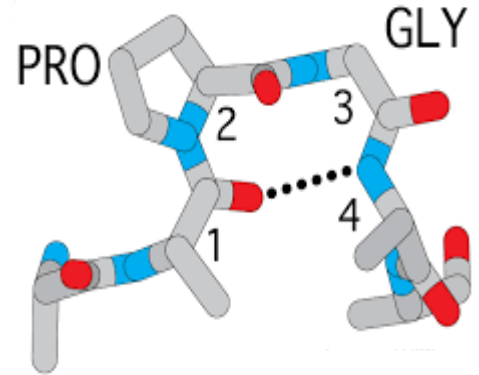
Másodlagos



Alfa-hélix

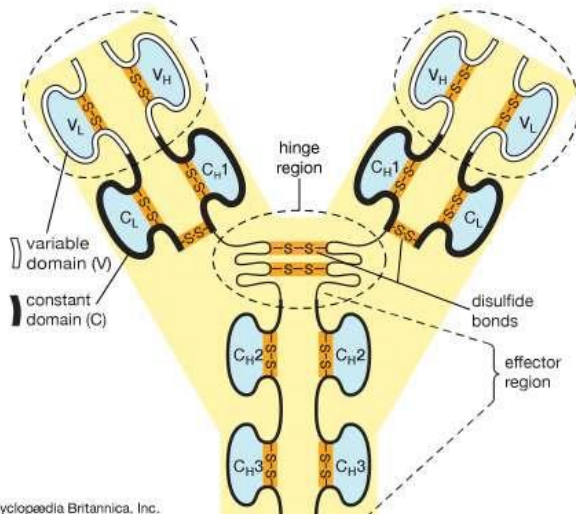


Béta redőzött réteg



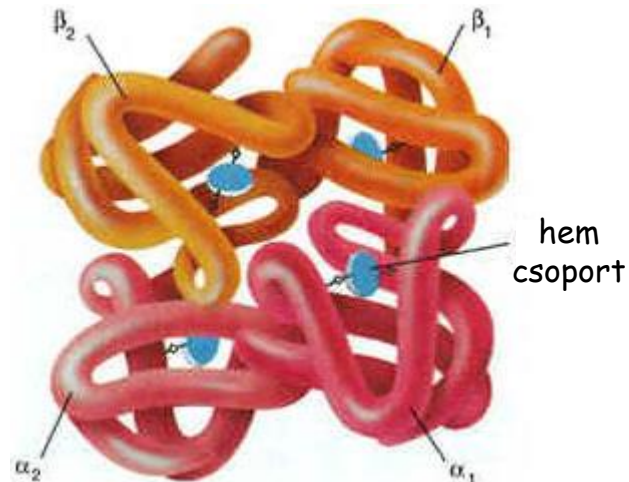
Béta-kanyar

Tercier



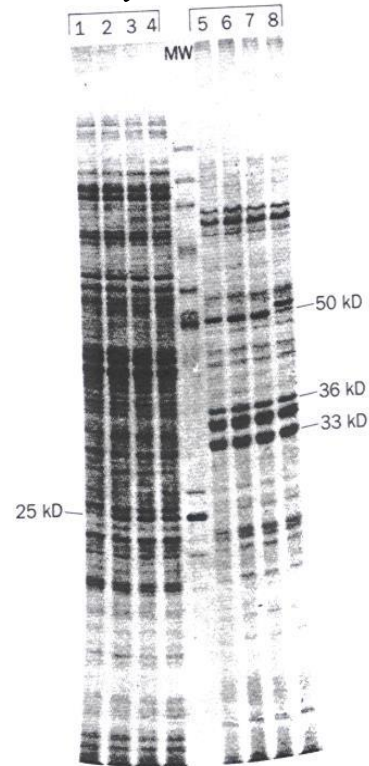
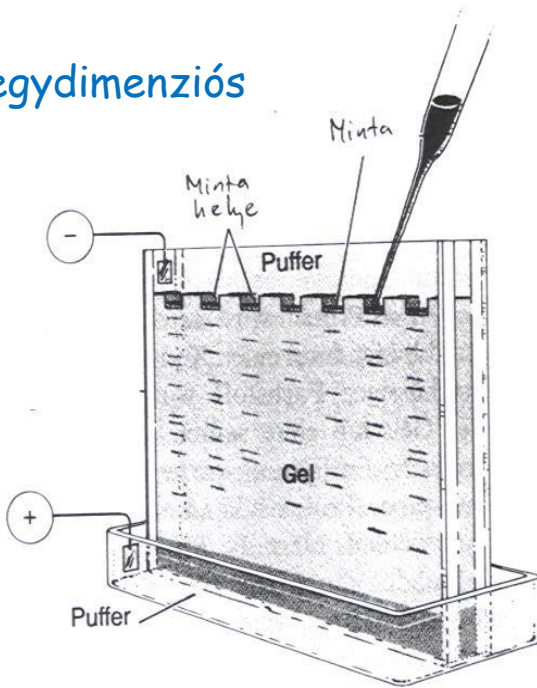
© Encyclopædia Britannica, Inc.

Kvaterner



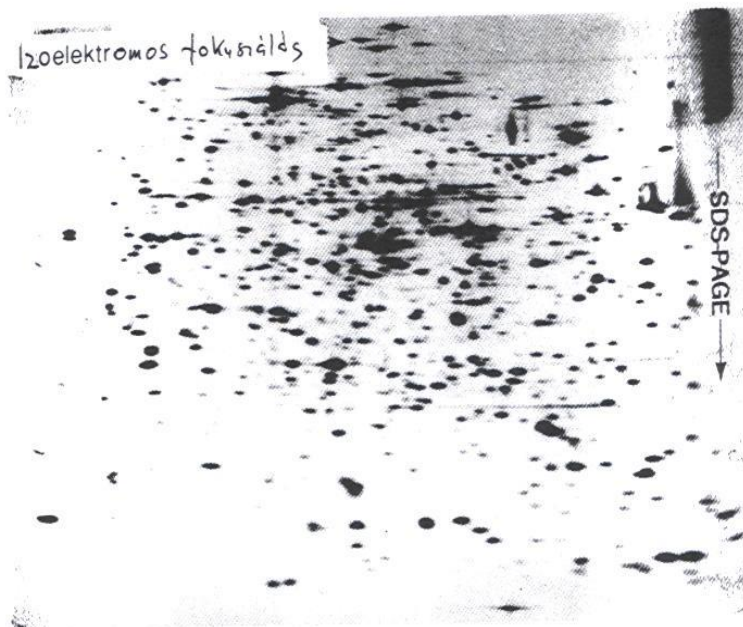
3.1. Fehérje izolálás - gélelektroforézis (egy- és kétdimenziós)

egydimenziós



Salmonella typhimurium
SDS-PAGE, 200 μ g protein, 3,5 x 0,8 cm

kétdimenziós



Autoradigram, 2D, *E. Coli* proteinek, 10 μ g,
 14 C jelzett aminosav a táptalajban, 2,3 x 1,3 cm, exp. 825 h

Gélelektroforézis

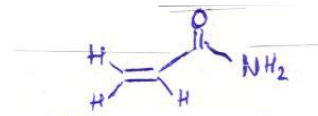


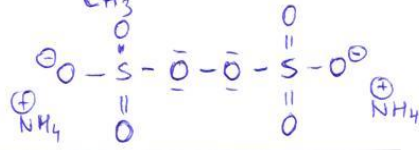
Gél készítés
Mintaelőkészítés



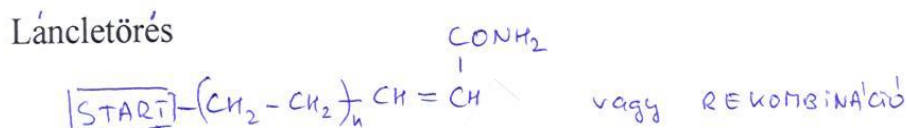
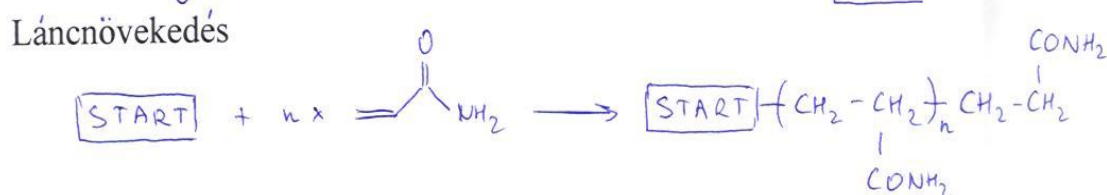
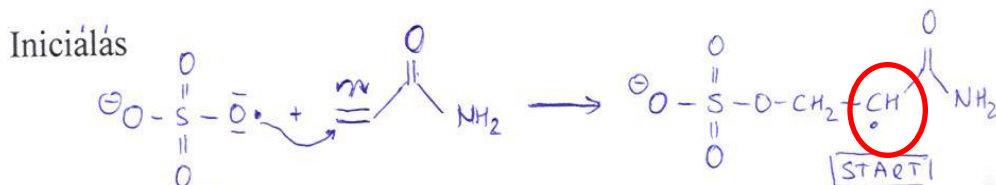
Elválasztás



A komponensek
kimutatása, dokumentálás

Vegyület	Képlet	Feladat
akrilamid		polimerláncok
N,N'-metilén-bis-akrilamid		keresztkötés
N,N,N',N' - tetrametilén-eten-diamin (TEMED)		gyökfogó
ammónium perszulfat		iniciátor

A reakció

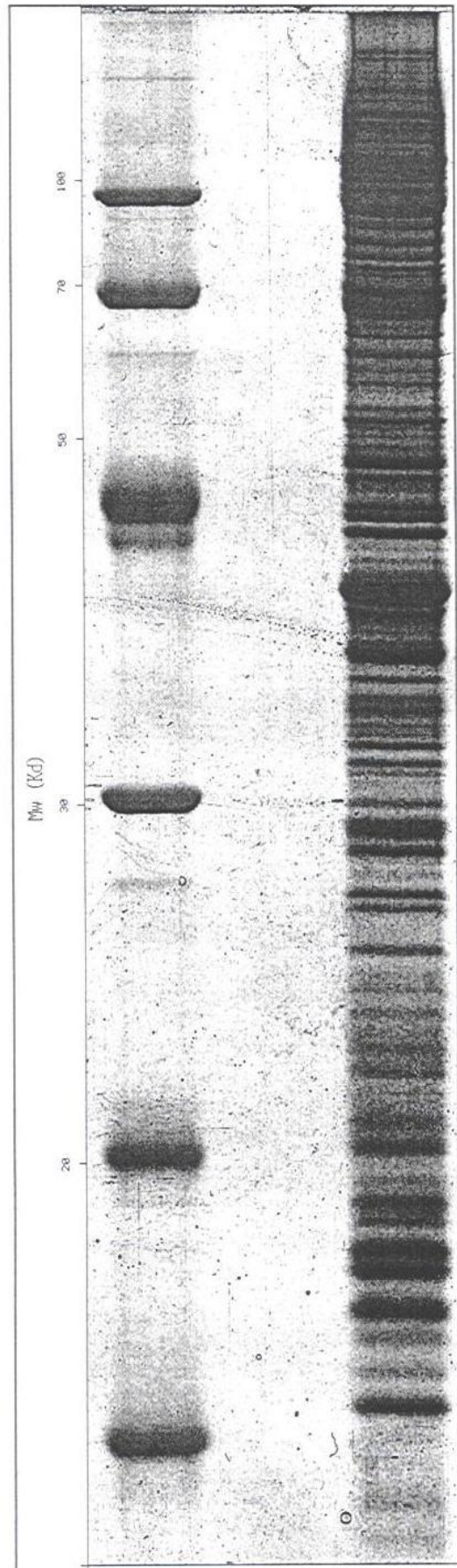


Egydimenziós gélelektroforézis

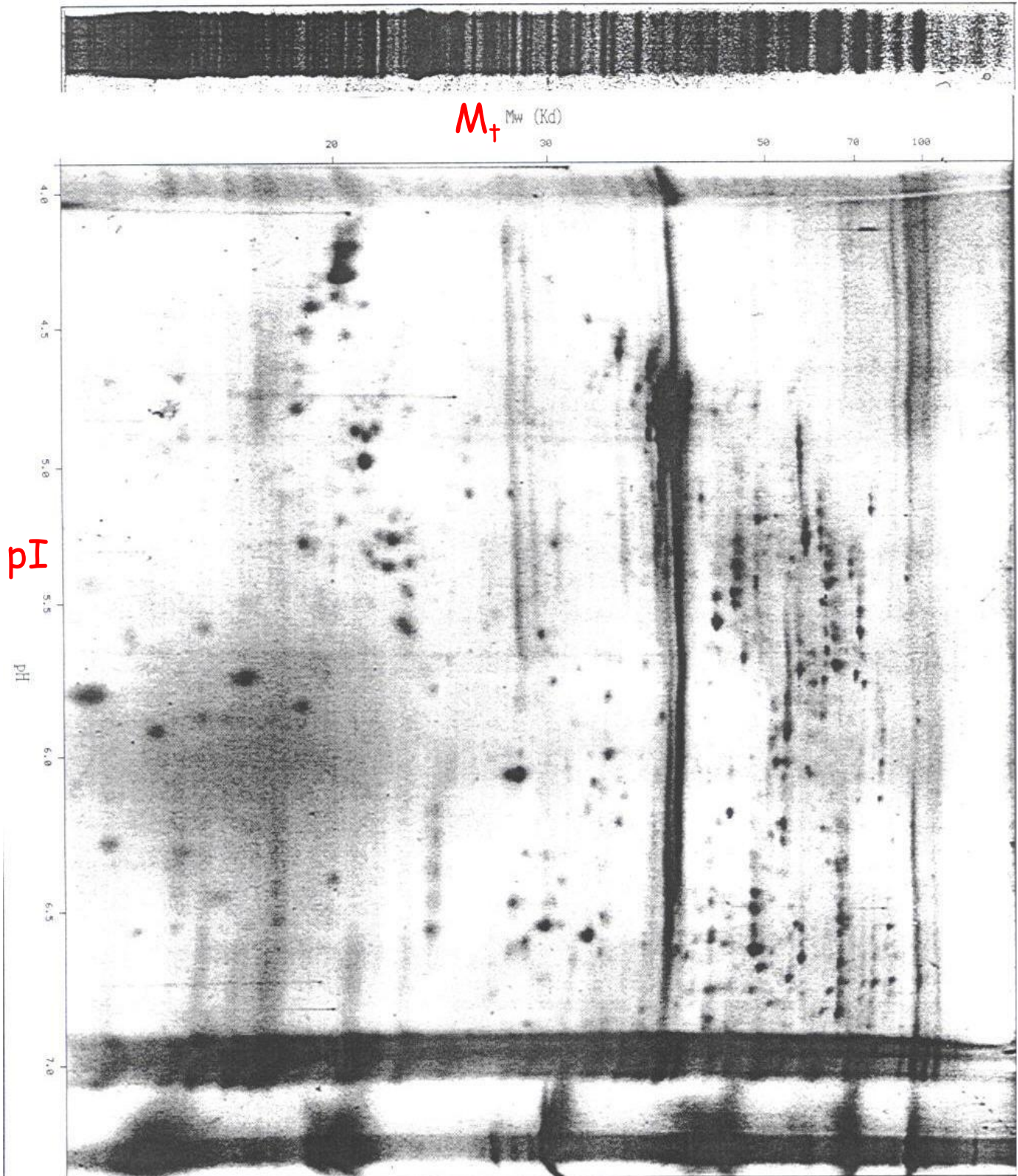
(méret szerint)

HeLa sejtmag
fehérjék

Swiss-Prot



Kétdimenziós gélelektroforézis (HeLa sejtmag fehérjék)



3.2. Fehérjék kimutatása, mennyiségi meghatározása

a) Amino csoport kimutatás

b) Peptidkötés kimutatás

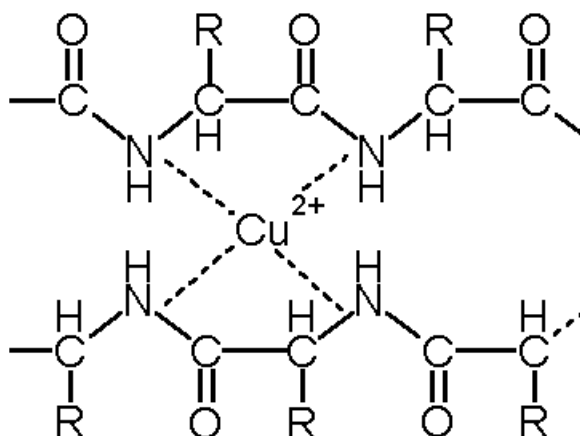
b1) Biuret próba

Reagens: $\text{CuSO}_4/\text{NaOH}$

b2) Lowry-Hartree

Reagens: biuret + Folin-Ciocalteu-reagens
($3 \text{ H}_2\text{O} \times \text{P}_2\text{O}_5 \times 13 \text{ WO}_2 \times 5 \text{ MoO}_3 \times 10 \text{ H}_2\text{O}$)

$\lambda = 540\text{-}550 \text{ nm}$

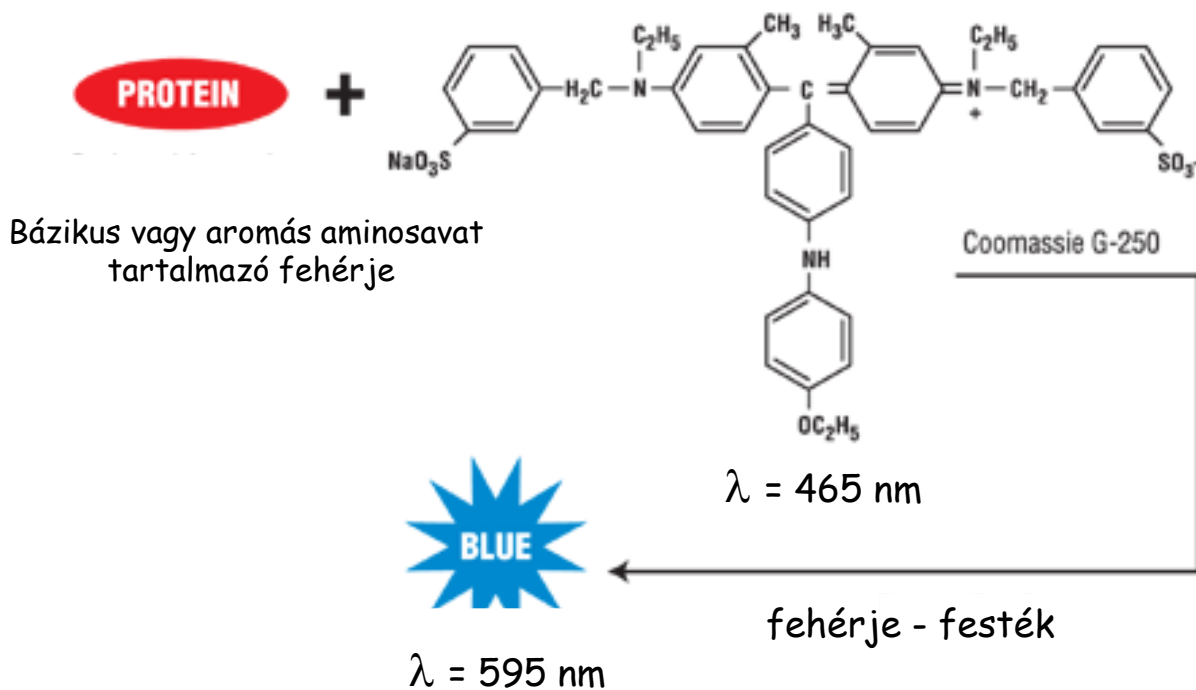


$\lambda = 720\text{-}750 \text{ nm}$

$\text{Cu}^{2+} \rightarrow \text{Cu}^{1+}$

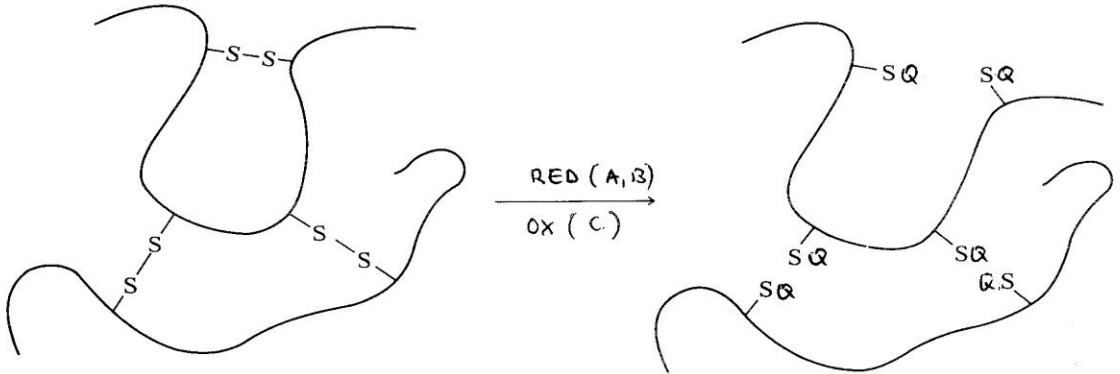
NaOH

c) Oldallánc kimutatás [Bradford reagens (trifenil-metion)]



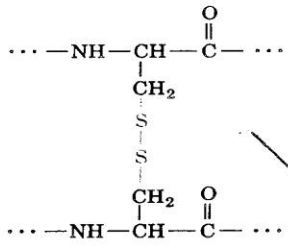
3.3. Primer szerkezet

3.3.1. Diszulfid-híd felbontása



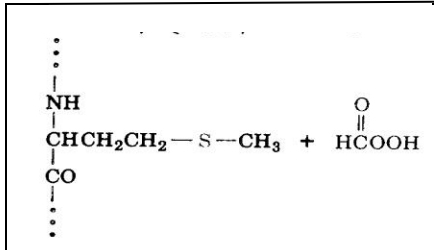
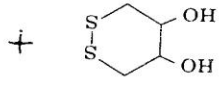
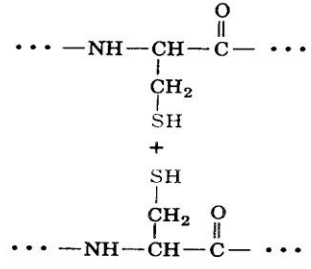
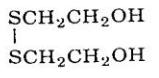
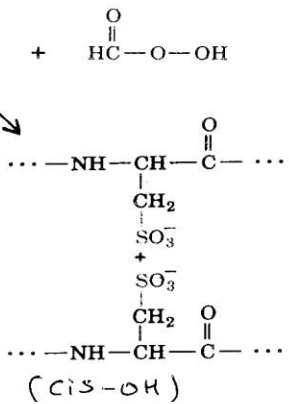
Q = H

Q = O₃⁻

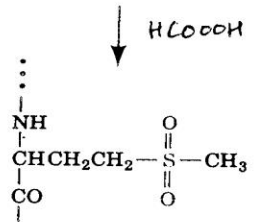


+ 2 HSCH₂CH₂OH
merkaptoetanol

+
CH₂SH
|
CHOH
|
CHOH
|
CH₂SH
ditiotreitól



C módszer = peroxi-ecetsav mellékreakció --- Met oxidáció

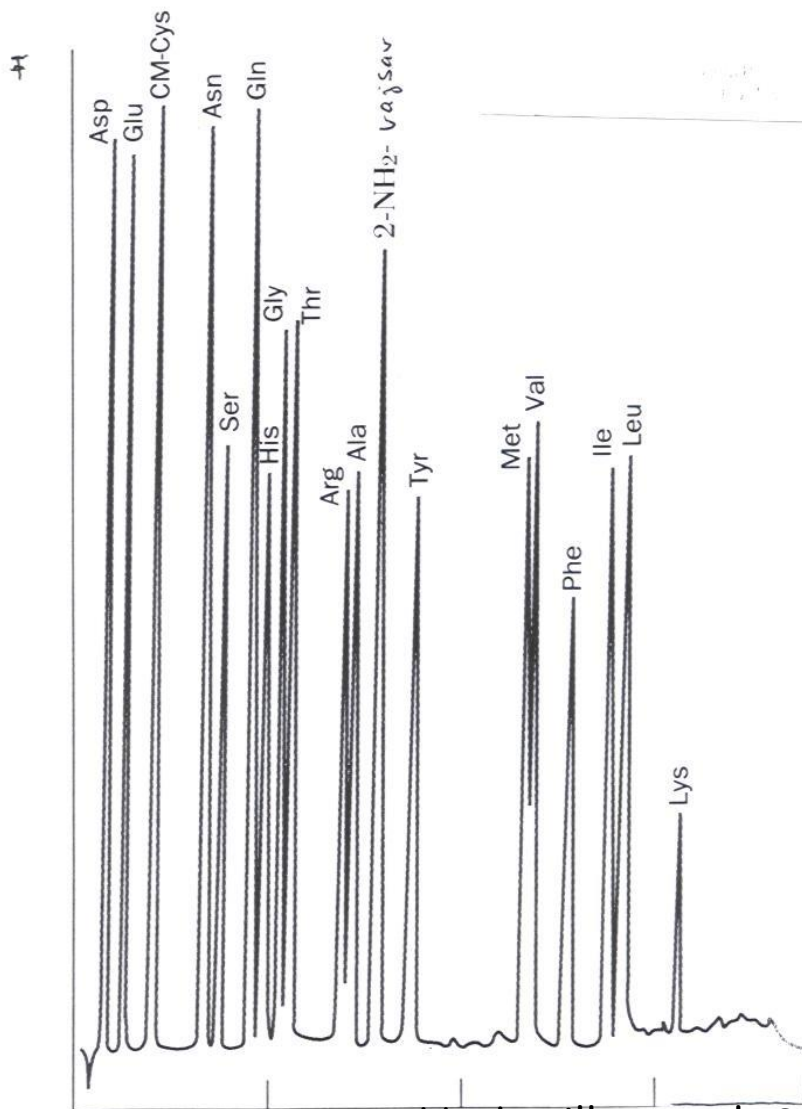
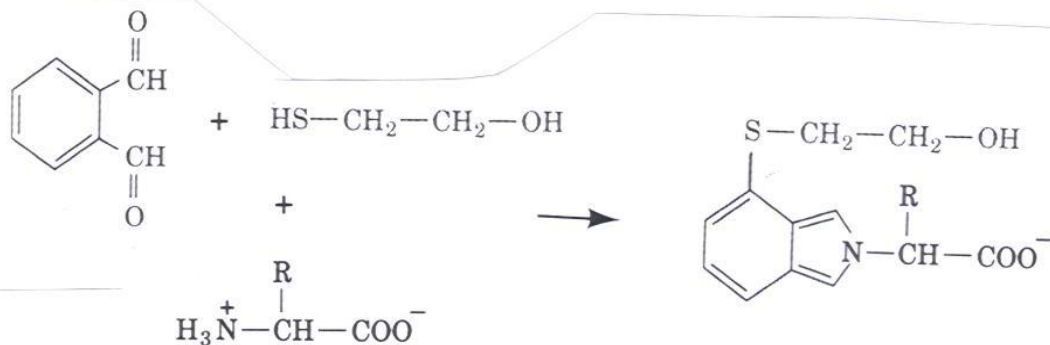


Met - szulfon

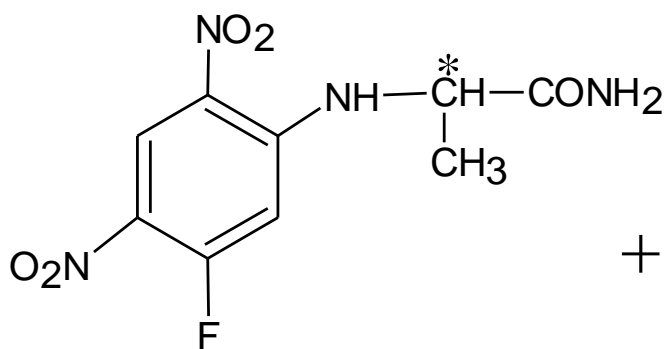
B. Származékképzés és elválasztás

Származékképzés: o-ftálaldehid

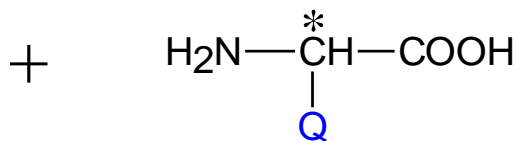
Elválasztás: HPLC, Detektálás: $\lambda_g = 360 \text{ nm}$ $\lambda_e = 455 \text{ nm}$



C. Származékképzés D/L-aminosav meghatározására

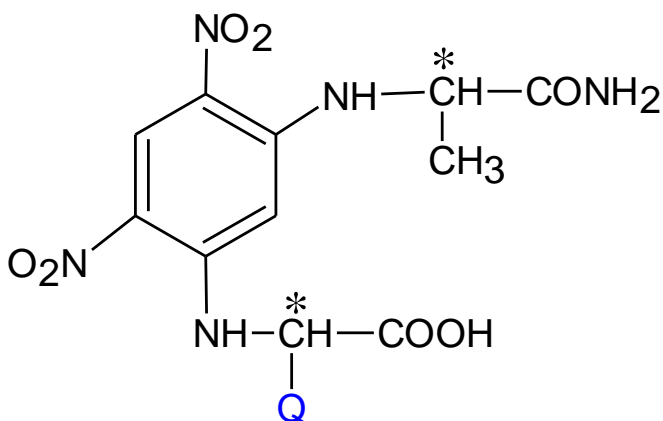


1-fluor-2,4-dinitrofenil-
5-L-Ala-amid
(FDAA)

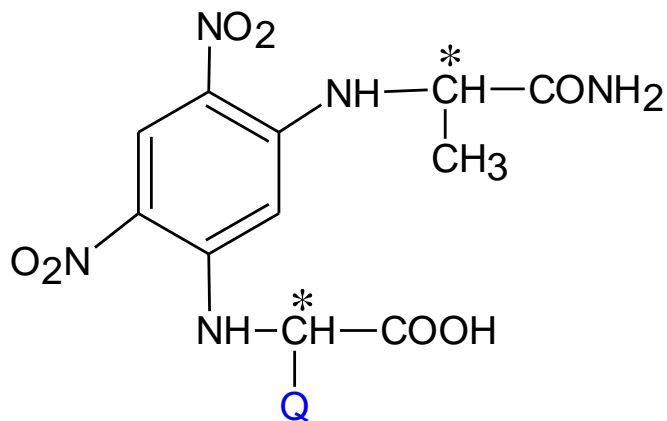


(D,L)

pH 9,0; 10 perc



D,L-származék



L,L-származék

HPLC elválasztás

3.3.3. Aminosav sorrend meghatározása

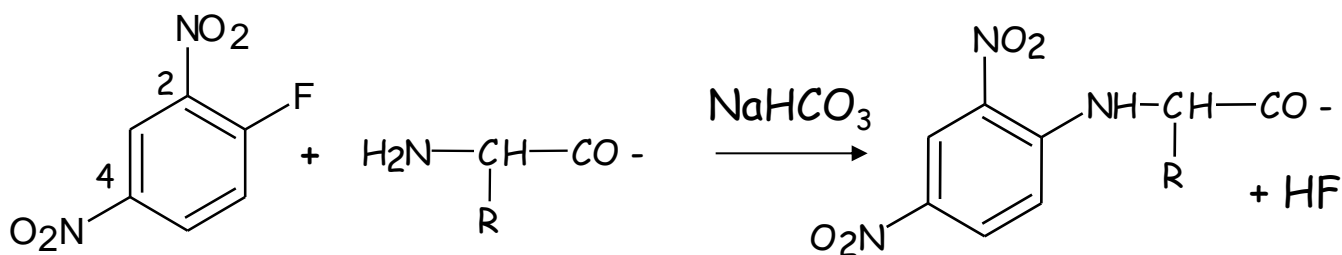
A. N-terminális

A1. Sanger reakció,

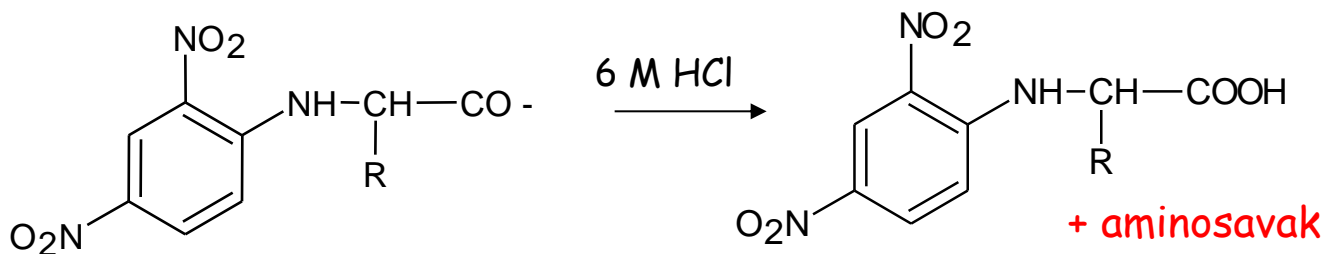
Nobel díj,
1958 (inzulin) és
1980 (oligonukleotid szekvenálás
F. Sanger, P. Berg, W. Gilbert)



F. Sanger (1918-)



1-fluor-2,4-dinitro benzol



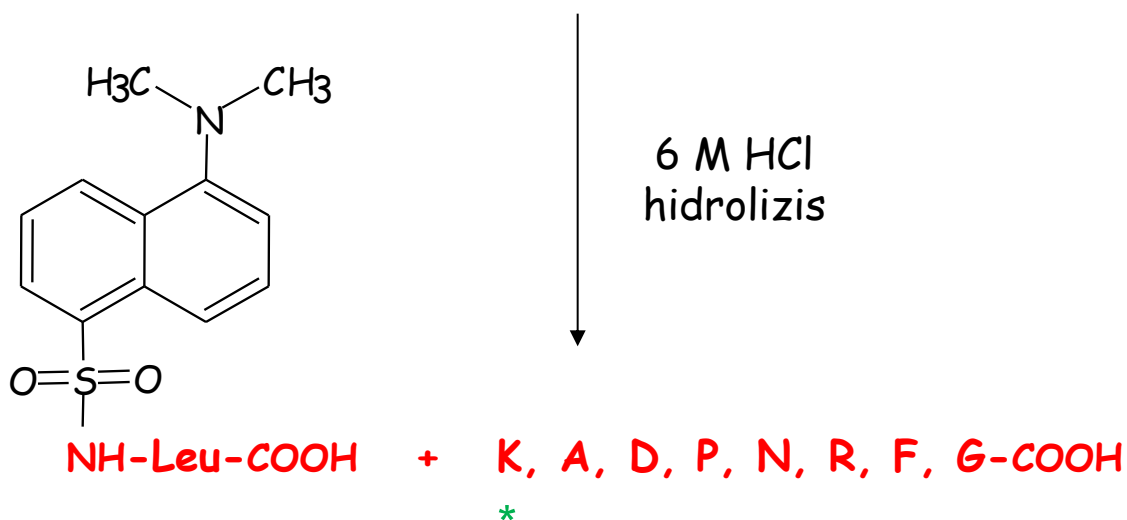
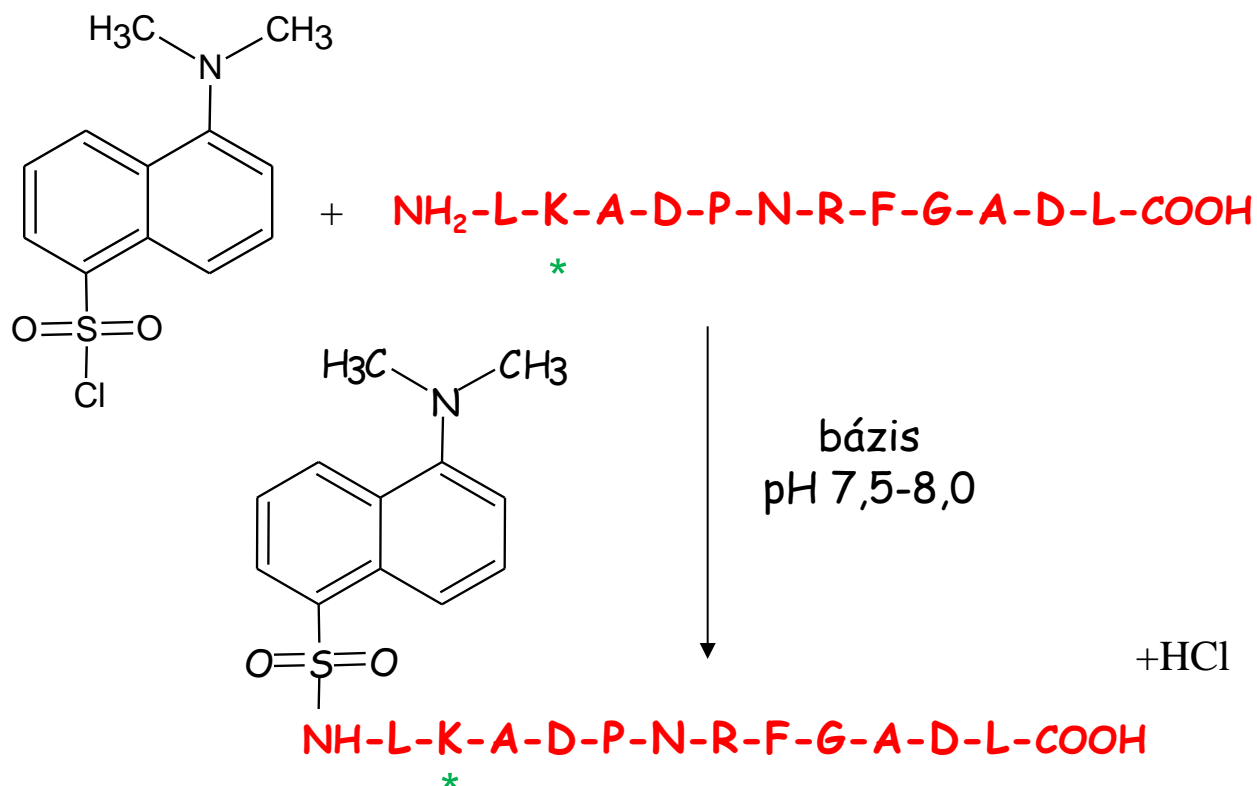
2,4-dinitrofenil fehérje

2,4-dinitrofenil aminosav

$\lambda=254\text{ nm}$

Mellékreakció: Lys ϵ -aminocsoportja

A2. 1-dimetilamino-naftalin-5-szulfonil klorid (Dansyl-klorid, Hartley, 1963)



(Dansyl-aminosav)

$\lambda_g = 360 \text{ nm}$

$\lambda_e = 480 \text{ nm}$

* **Mellékreakció:** Lys ϵ -aminocsoportja

B. C-terminális



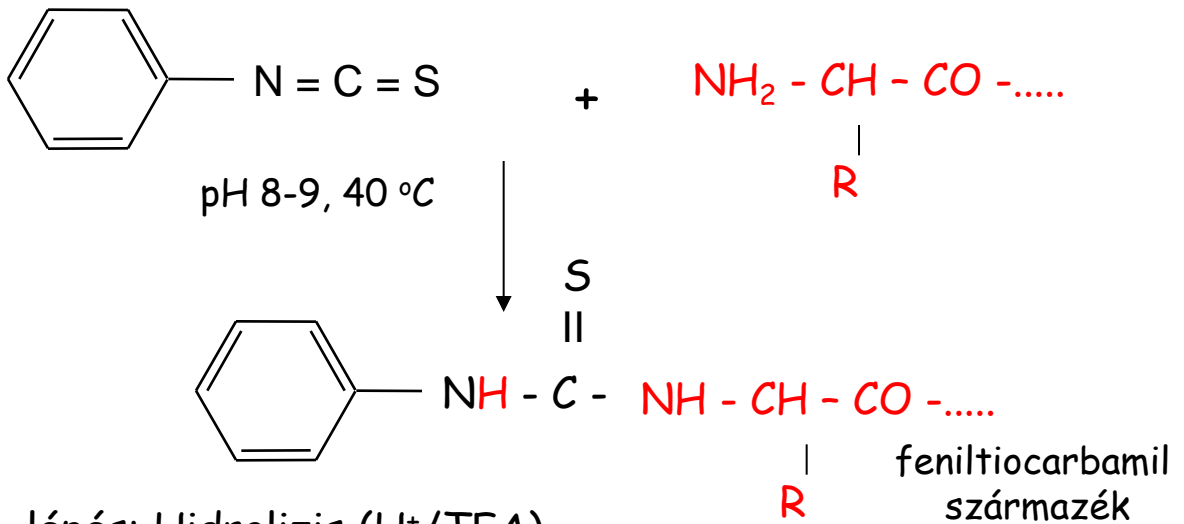
90° C
20 -100 óra



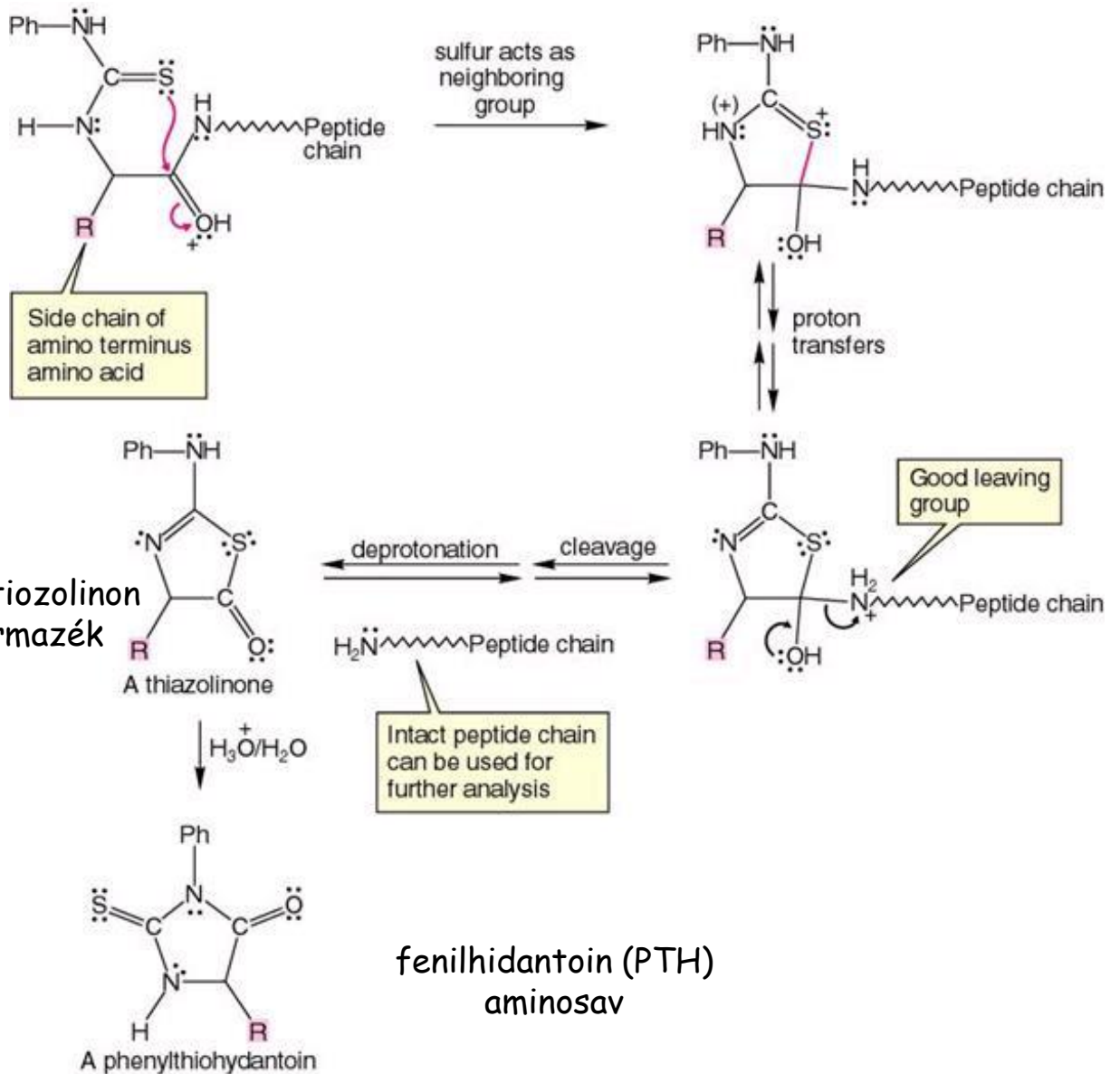
C. Edman lebontás (P. Edman, Lund, 1950)

1. lépés: Reakció fenilizotiocianáttal (addíció)
2. lépés: Hidrolízis
3. lépés: A feniltiohidantoin származék azonosítása

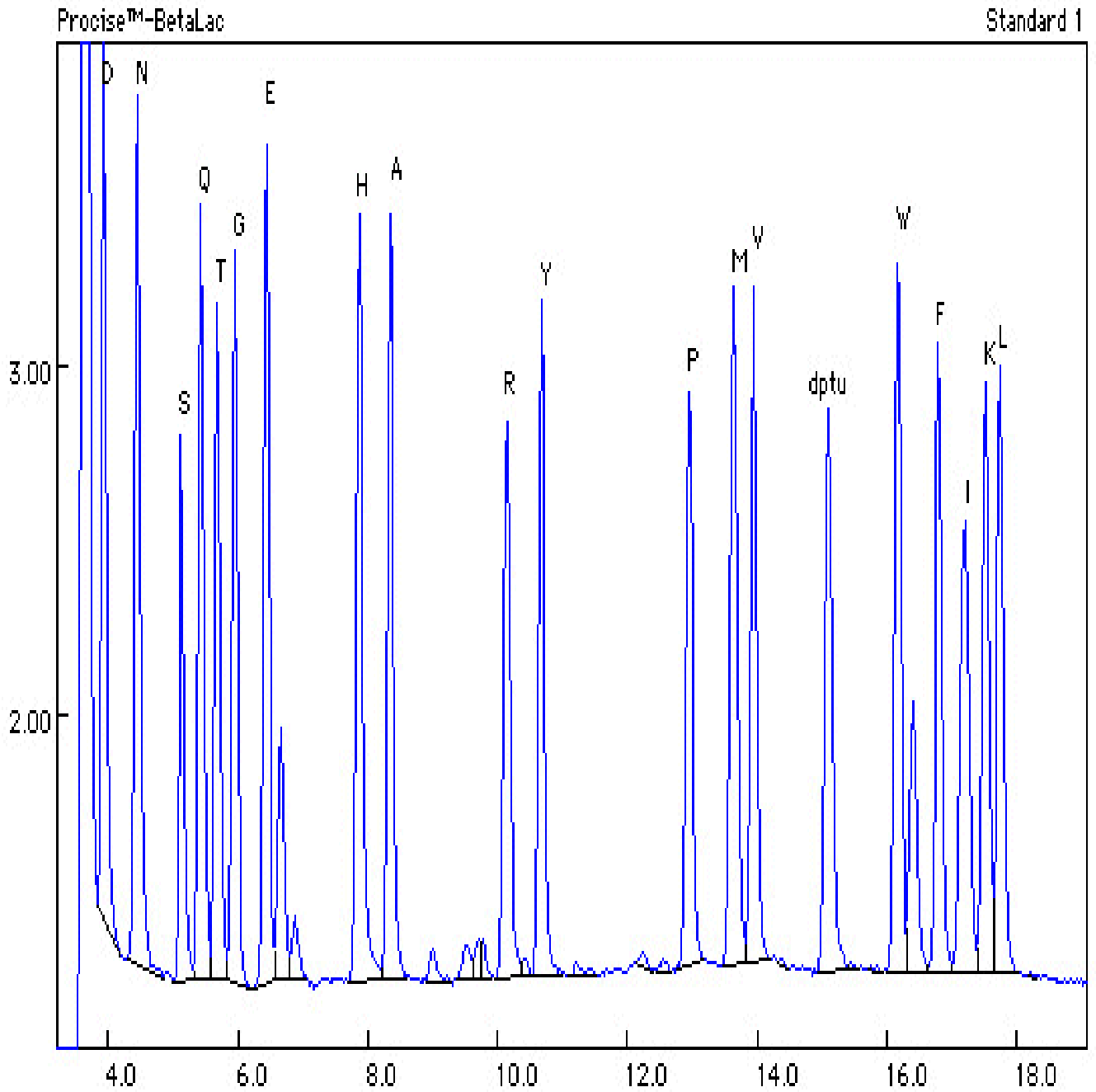
1. lépés: Reakció fenilizotiocianáttal



2. lépés: Hidrolízis (H⁺/TFA)



3. lépés: A feniltiohidantoin származék azonosítása

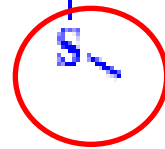
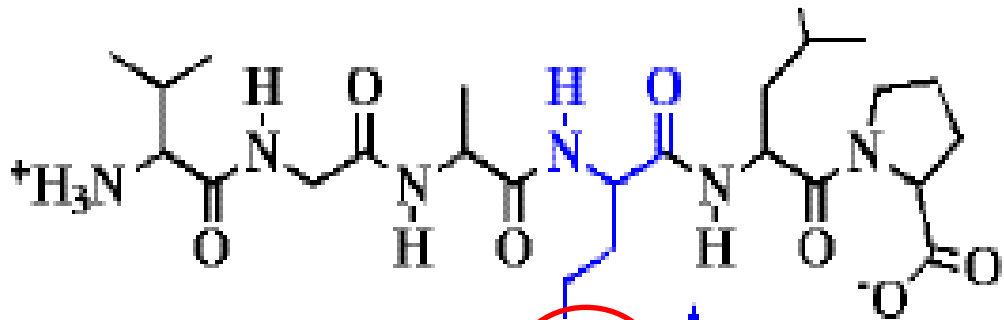


3.3.4. Fehérjék feldarabolása

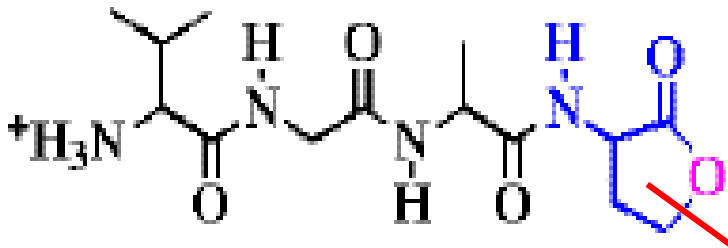
A. Kémiai hasítás

a) Reakció brómczánnal (BrCN), **Met -**

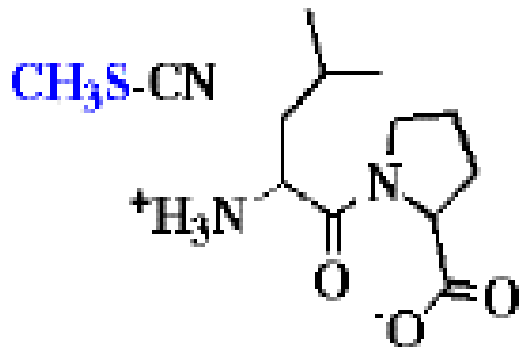
Val-Gly-Ala-**Met**-Leu-Pro



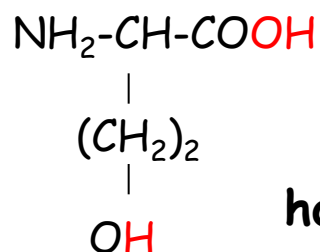
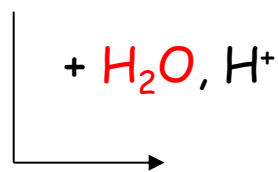
↑
Hasítás helye



Val-Gly-Ala lakton



Leu-Pro



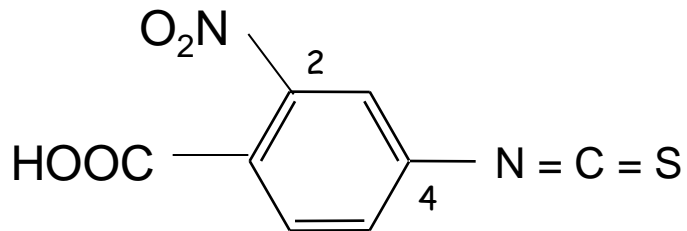
homoszerin

b) Reakció hidroxilaminnal (NH₂ - OH)

Asp - Gly

c) Reakció 2-nitro-4-tiociano - benzooesav

- Cys



B. Enzimatikus hasítás

Terminológia (Schechter, Berger)

-S₄ - S₃ - S₂ - S₁ - S_{1'} - S_{2'} - S_{3'} - S_{4'} - enzim

- P₄ -P₃ - P₂ - P₁ - P_{1'} - P_{2'} - P_{3'} - P_{4'} - szubsztrát



- P₄ -P₃ - P₂ - P₁ - OH + H- P_{1'} - P_{2'} - P_{3'} - P_{4'} -

Szerin proteázok: tripszin (Arg, Lys) P₁, trombin,
kimotripszin (Tyr, Trp, Phe) P₁,
elasztáz, kallikrein..

Cisztein proteáz: papain, actinidin...

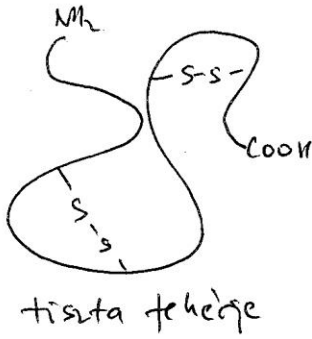
Karboxil proteáz: pepszin, katepszin D (lizoszoma),
LysC (Lys) P₁, GluC (Glu, Asp)...

Aminoproteáz: AspN (Asp)P₁.....

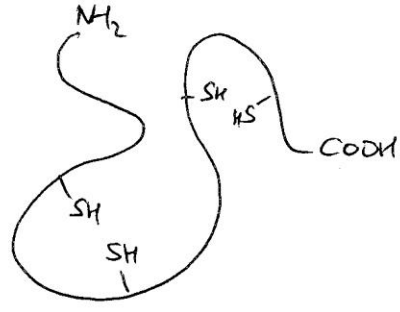
Metalloproteáz: temolizin, karboxipeptidáz A...

Primer szerkezet, aminosavsorrend

- összegzés



Diszulfid-híd
REDUKCIÓ



AMINOSAV-
ÖSSZETÉTEL
MEGHATÁROZÁS
(HIDROLÍZIS)

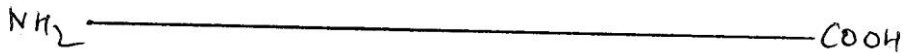
X_n Y_z Q_i...

VÉGCSONT
MEGHATÁROZÁS

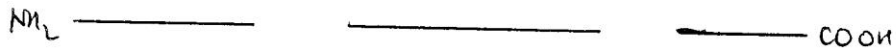
- N-terminális
- C-terminális

AMINOSAVSORREND
MEGHATÁROZÁS

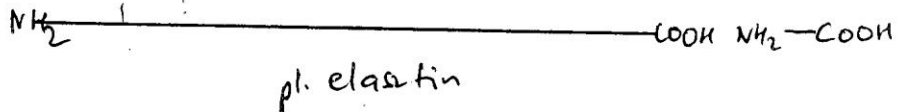
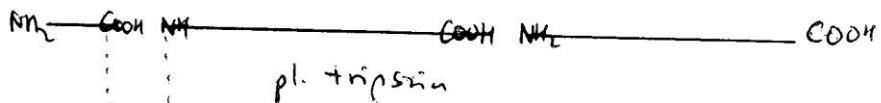
1. EDDAN LEBONTÁS (~60 aminosav)



2. RÉSZLEGES LEBONTÁS (BrCN módszer) MET

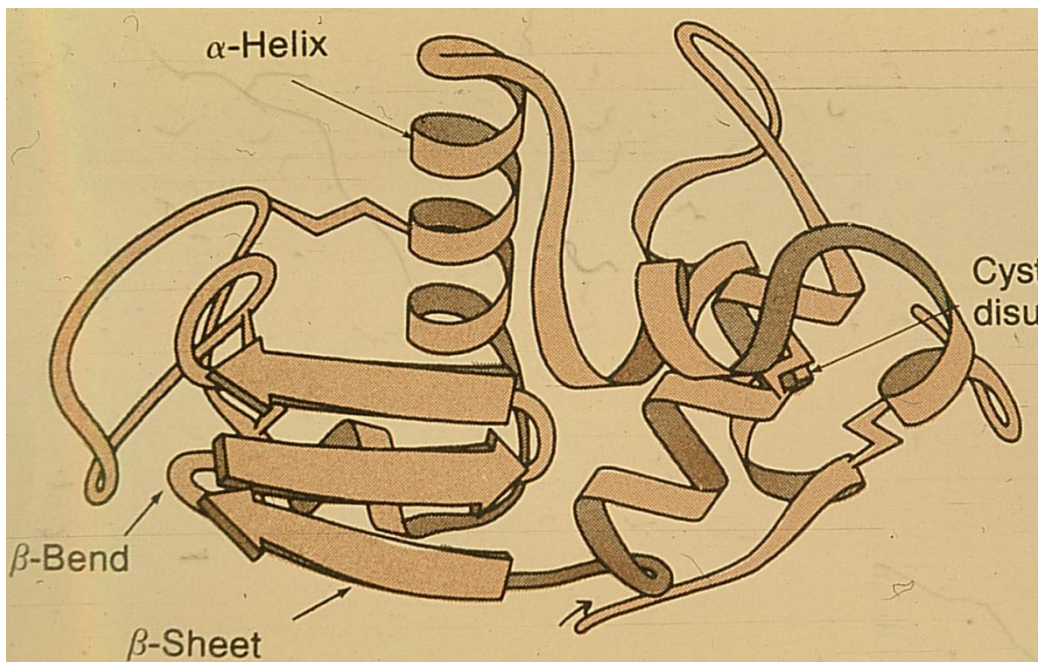
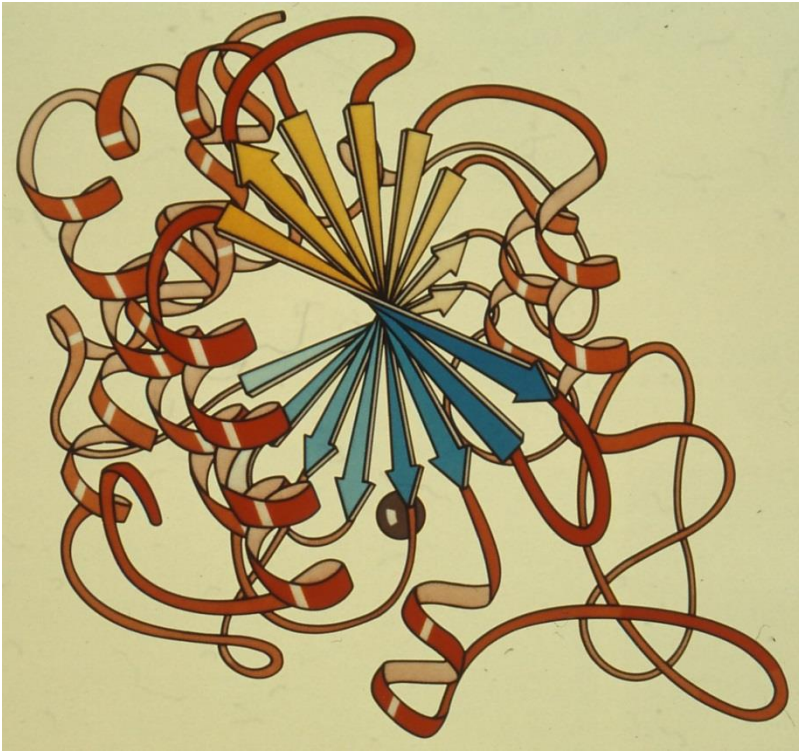


3. RÉSZLEGES LEBONTÁS (enzimikus hidrolízis)

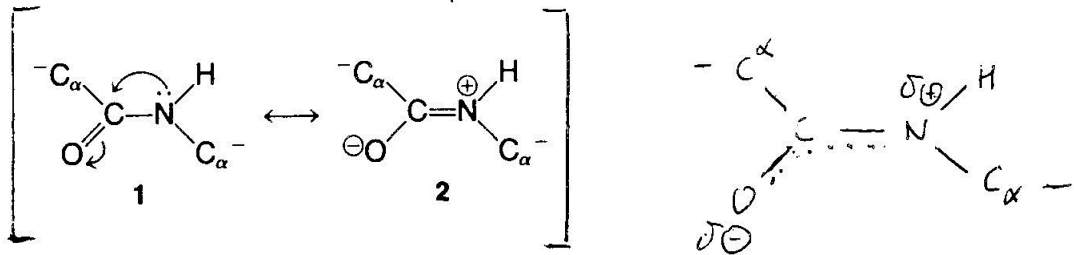


a) elválasztás, b) aminosavsorrend c) átfordított peptidok

3.4. Térszerkezet

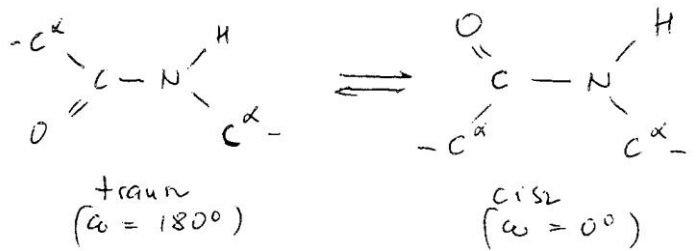
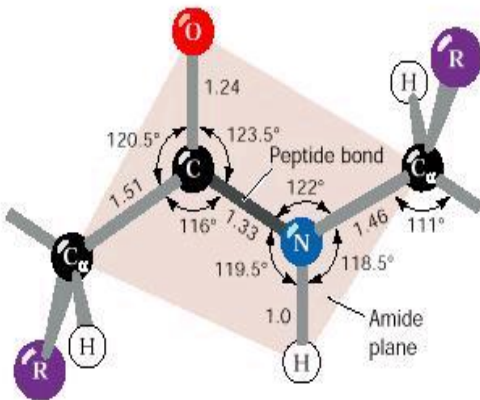
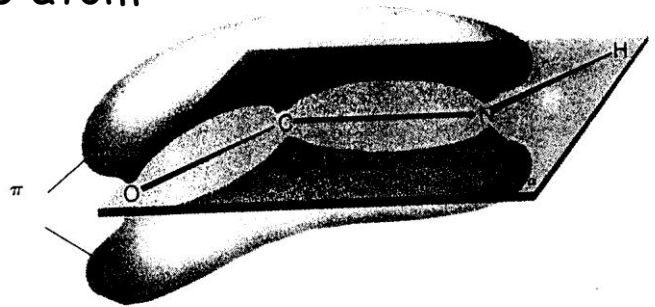


Az amid kötés

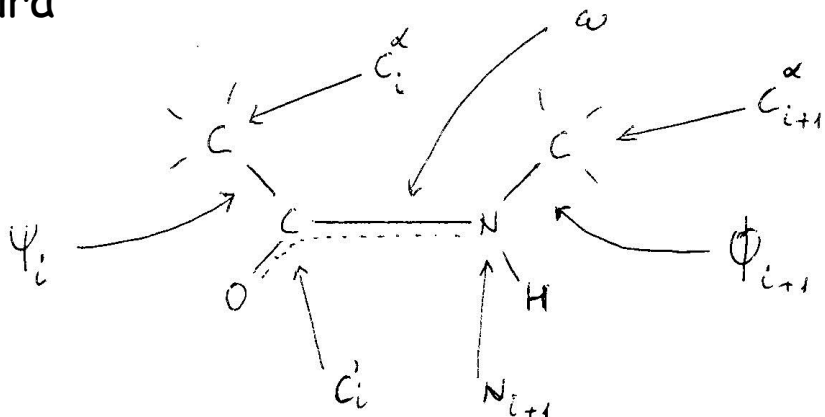


Delokalizáció, 2 elektron, 3 atom

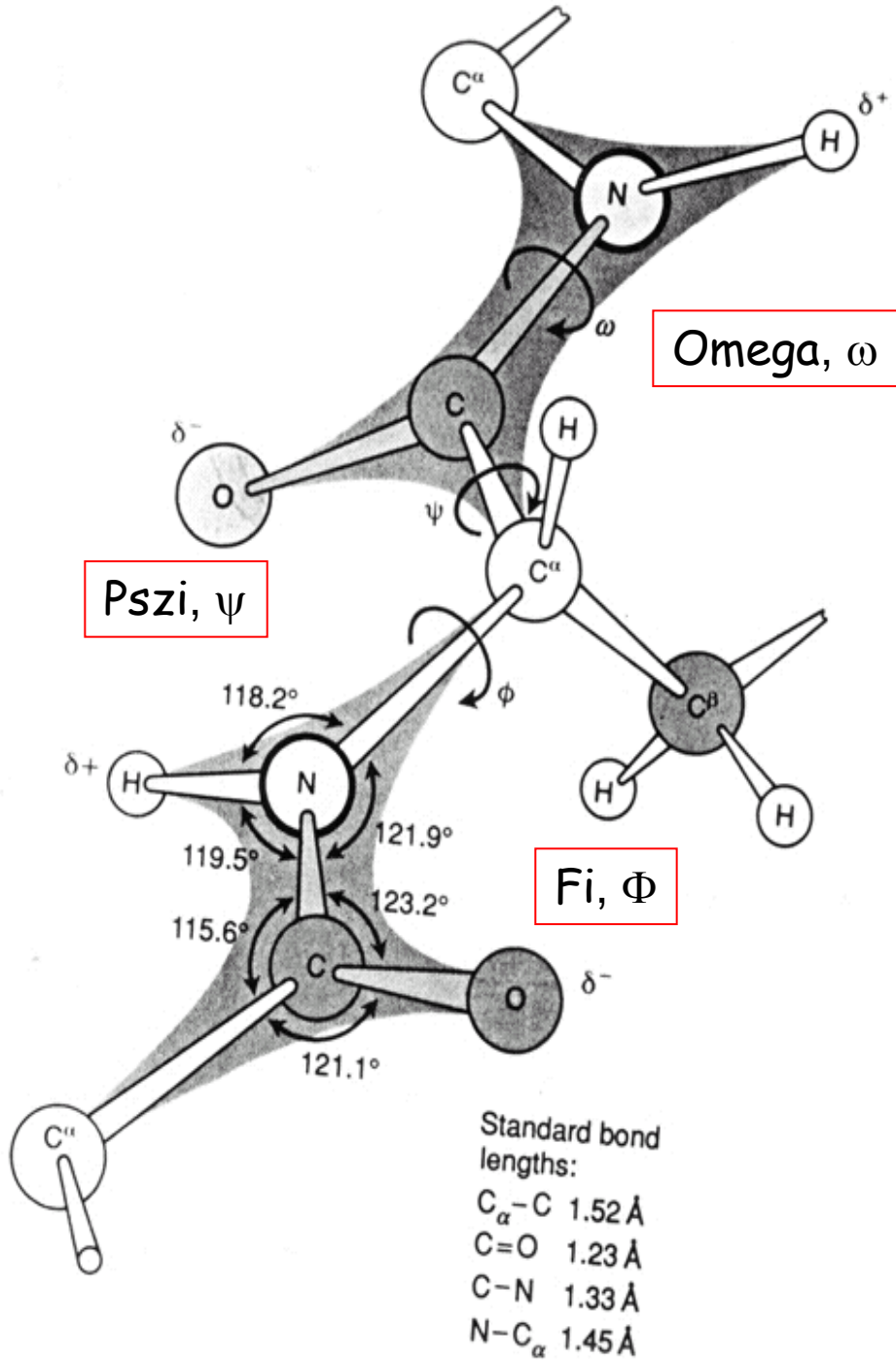
- Gyenge N bázis
- Erős H-híd
- Részleges kettős kötés
- Síkalkat
- Cisz/transz izoméria



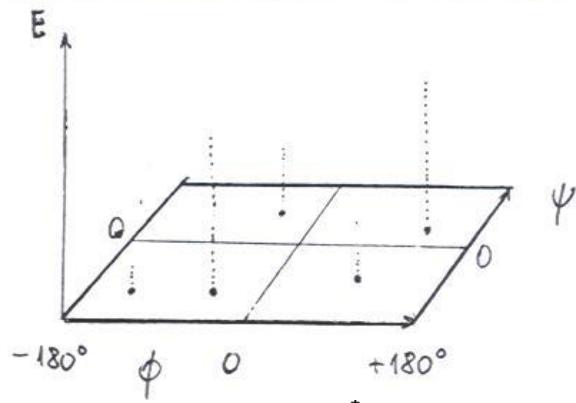
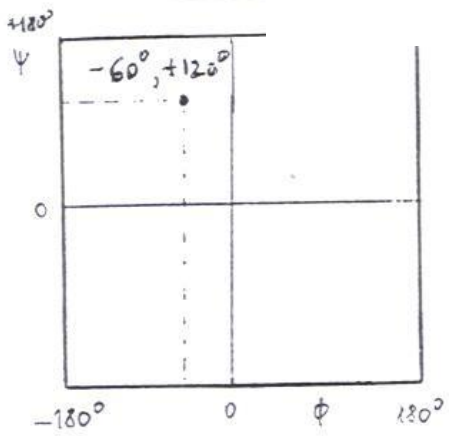
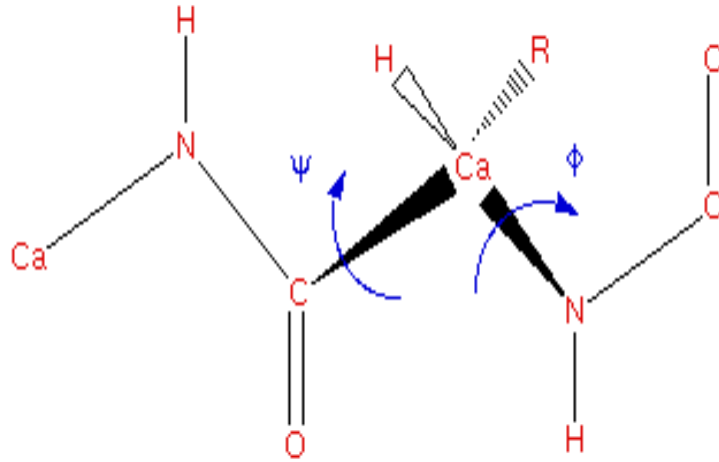
Nomenklatúra



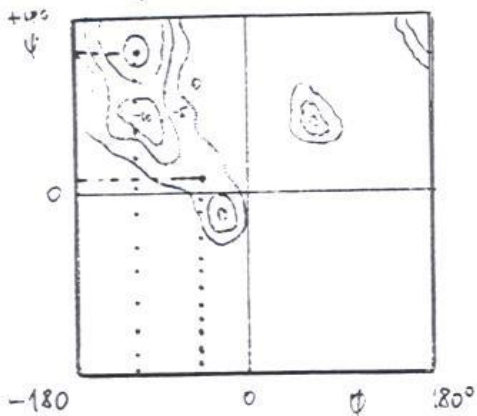
A Ramachandran térkép - bevezetés



A Ramachandran térkép

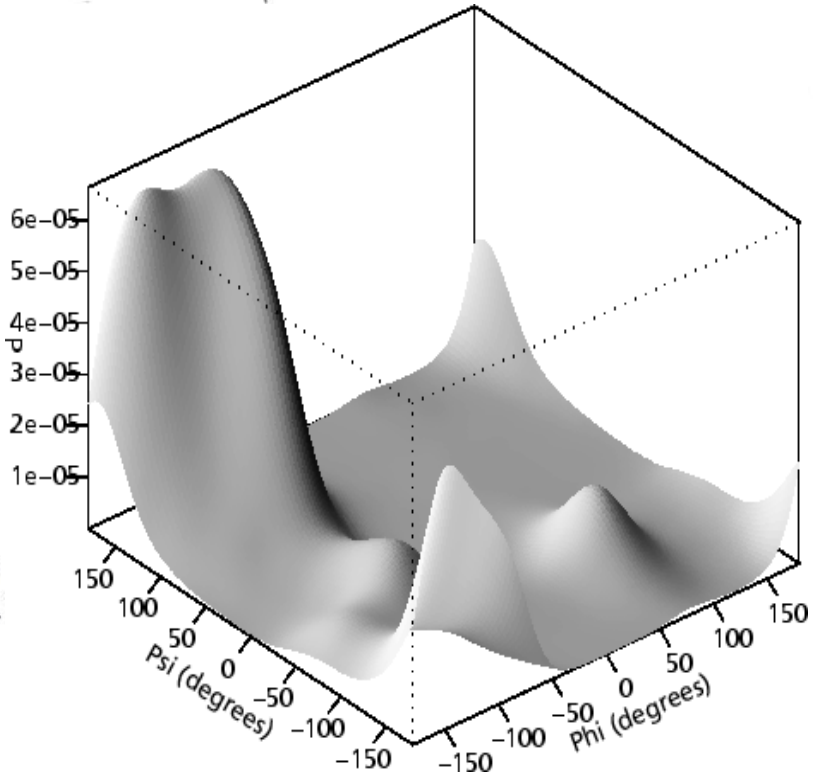


KONFORMÁCIÓS TÉRKÉP
(szintvonalak)

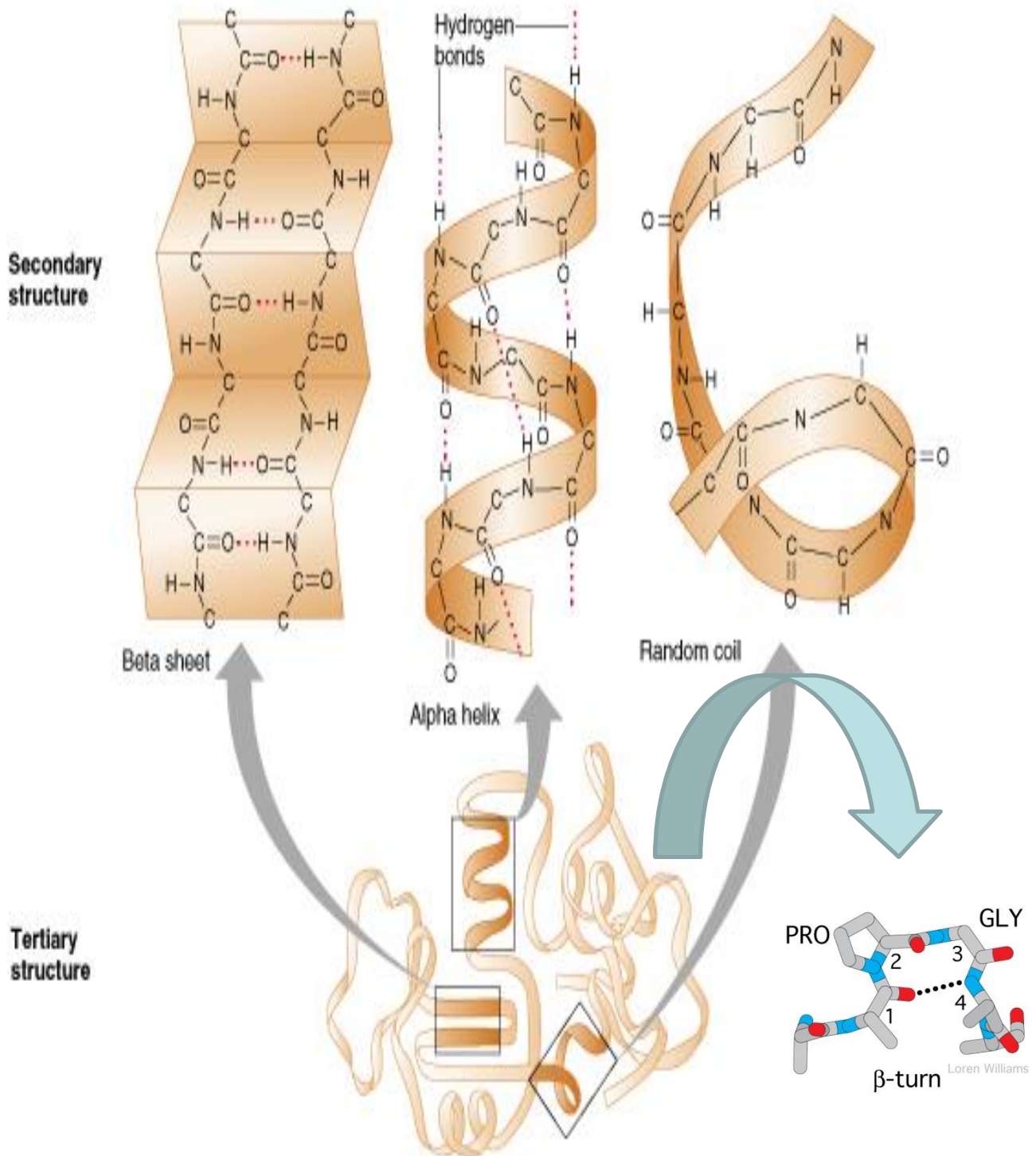


$$\psi = +170^\circ, \phi = 120^\circ \quad E = -10,673/\mu\text{eV}$$

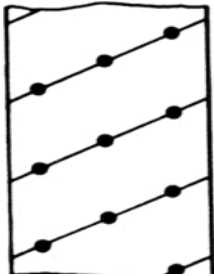
$$\psi = +20^\circ, \phi = -60^\circ \quad E = -2,543/\mu\text{eV}$$



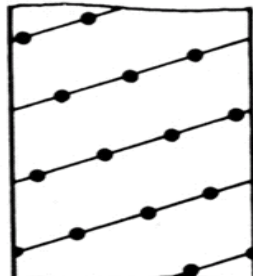
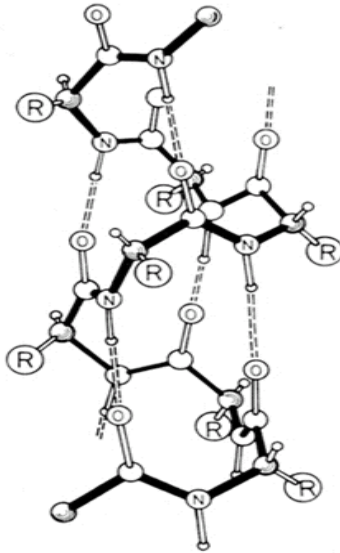
Másodlagos szerkezet típusai



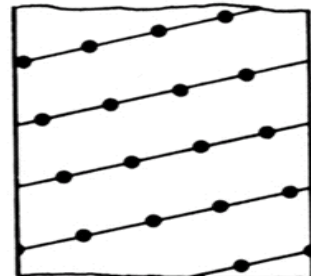
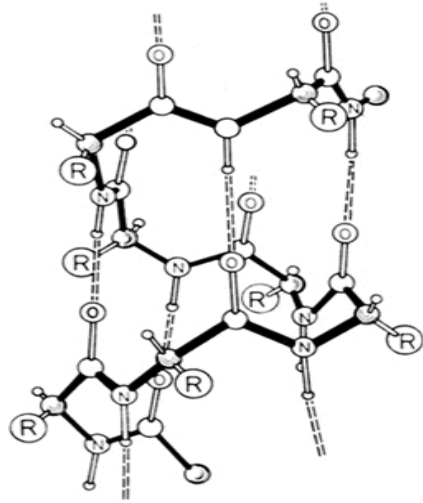
Helikális szerkezet



3_{10} – hélix,

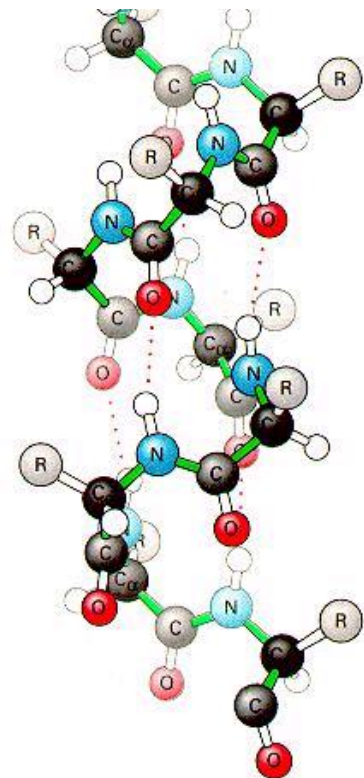
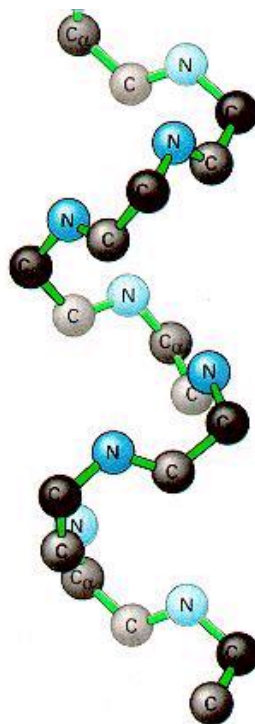
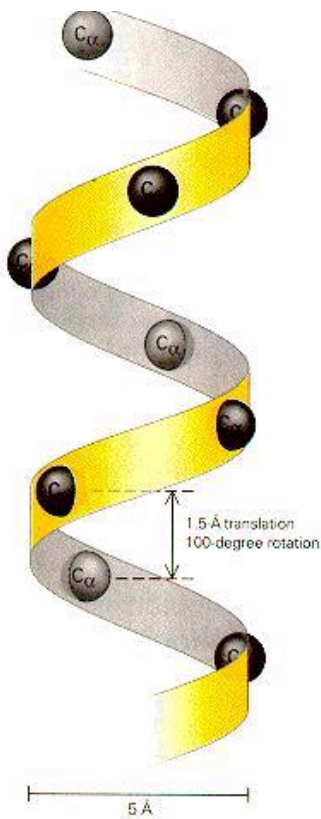


alfa α -hélix,



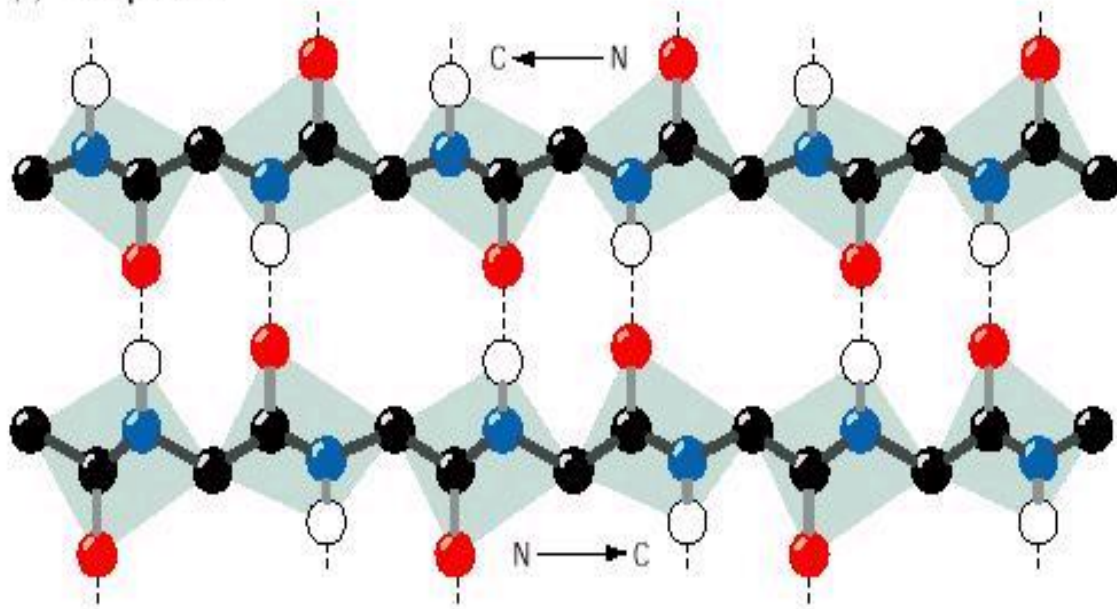
π π -hélix

10 Å

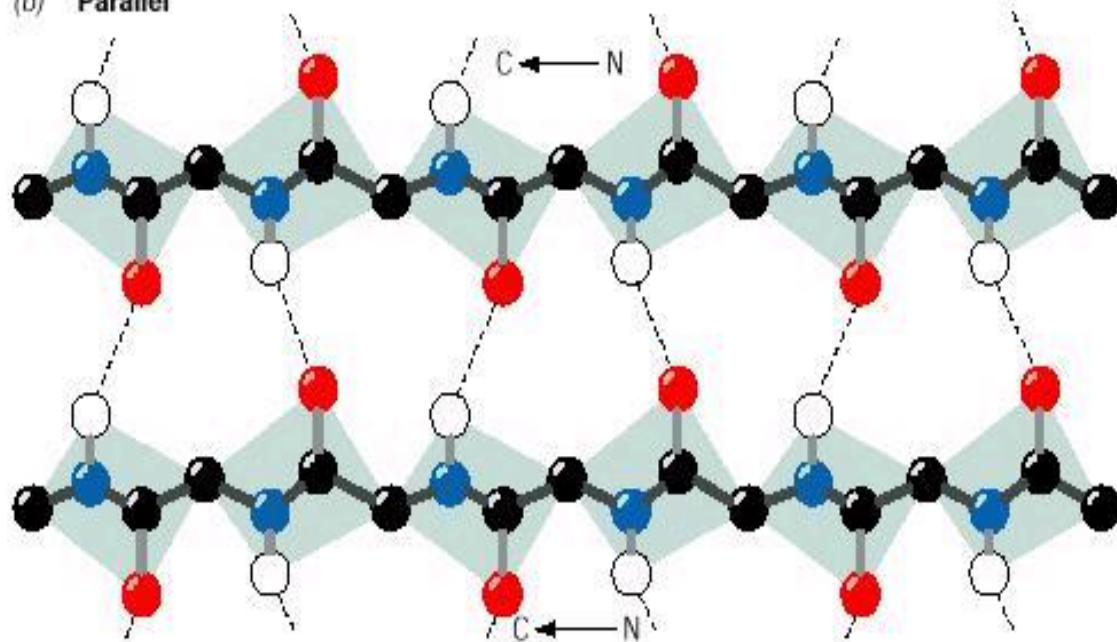


Béta redőzött réteg szerkezete

(a) Antiparallel



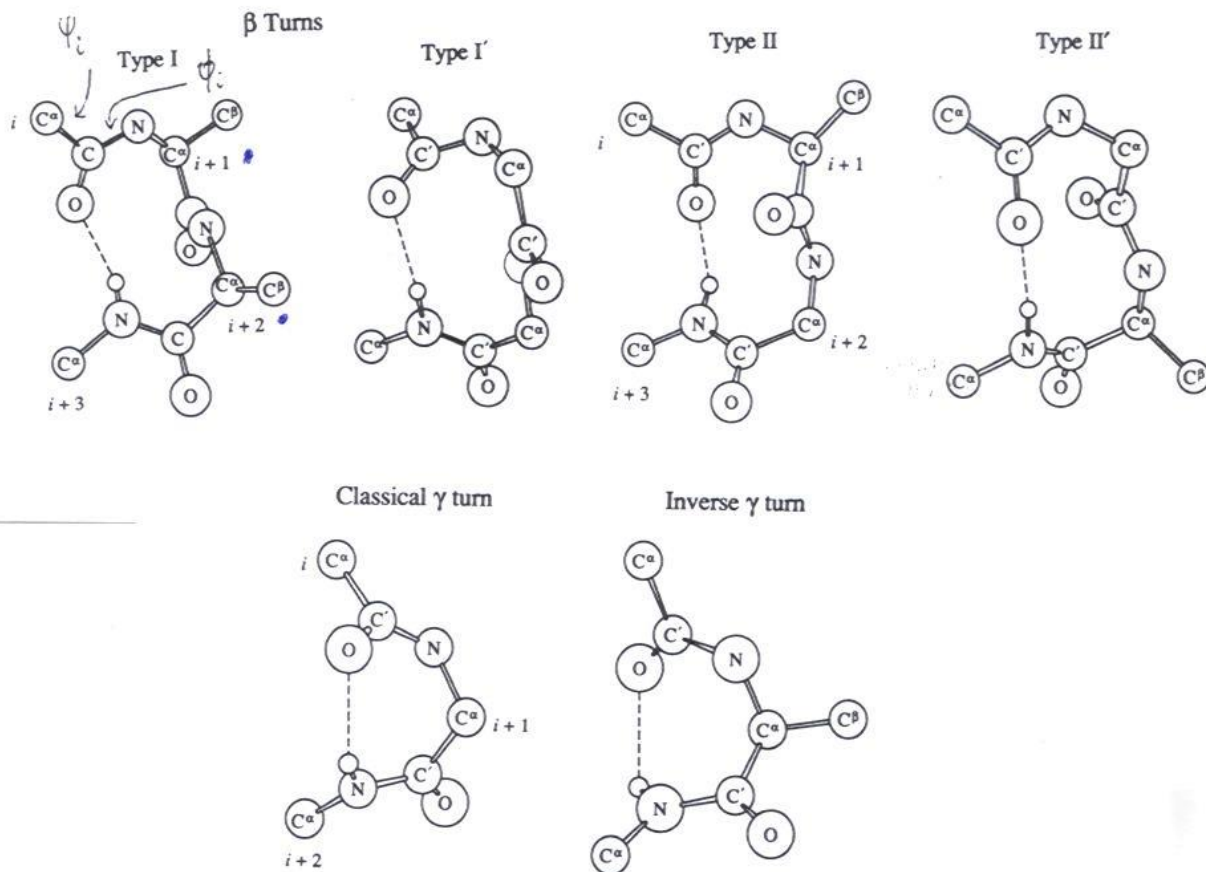
(b) Parallel



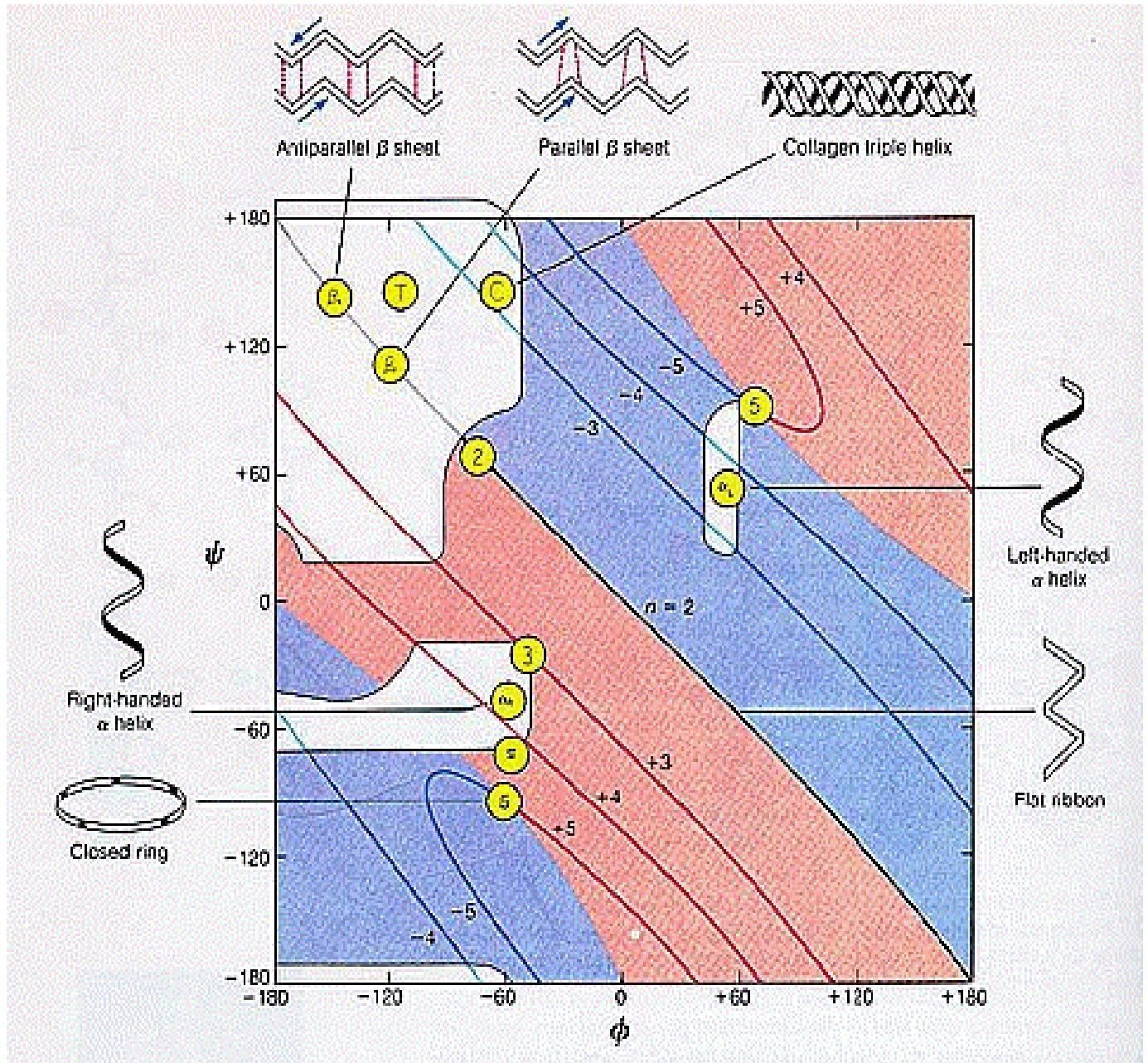
Kanyar szerkezet

Bend type	ϕ_{i+1}	ψ_{i+1}	ϕ_{i+2}	ψ_{i+2}
γ				
classical	70 to 85	-60 to -70		
inverse	-70 to -85	60 to 70		
β				
I	-60	-30	-90	0
I'	60	30	90	0
II	-60	120	80	0
II'	60	-120	-80	0

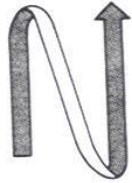
^a The central residue of a γ turn is numbered $i + 2$; the two central residues of a β turn are $i + 2$ and $i + 3$.



A Ramachandran térkép - összefoglalás



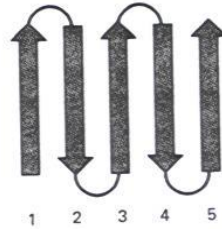
Szupermásodlagos szerkezetek



β - α - β



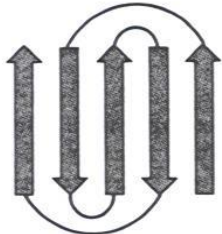
Very rare



1 2 3 4 5



Görög kulcs



5 2 3 4 1



Not observed

Béta kígyó

Csoportosítás

→ Alfa (α)

csak alfa hélix

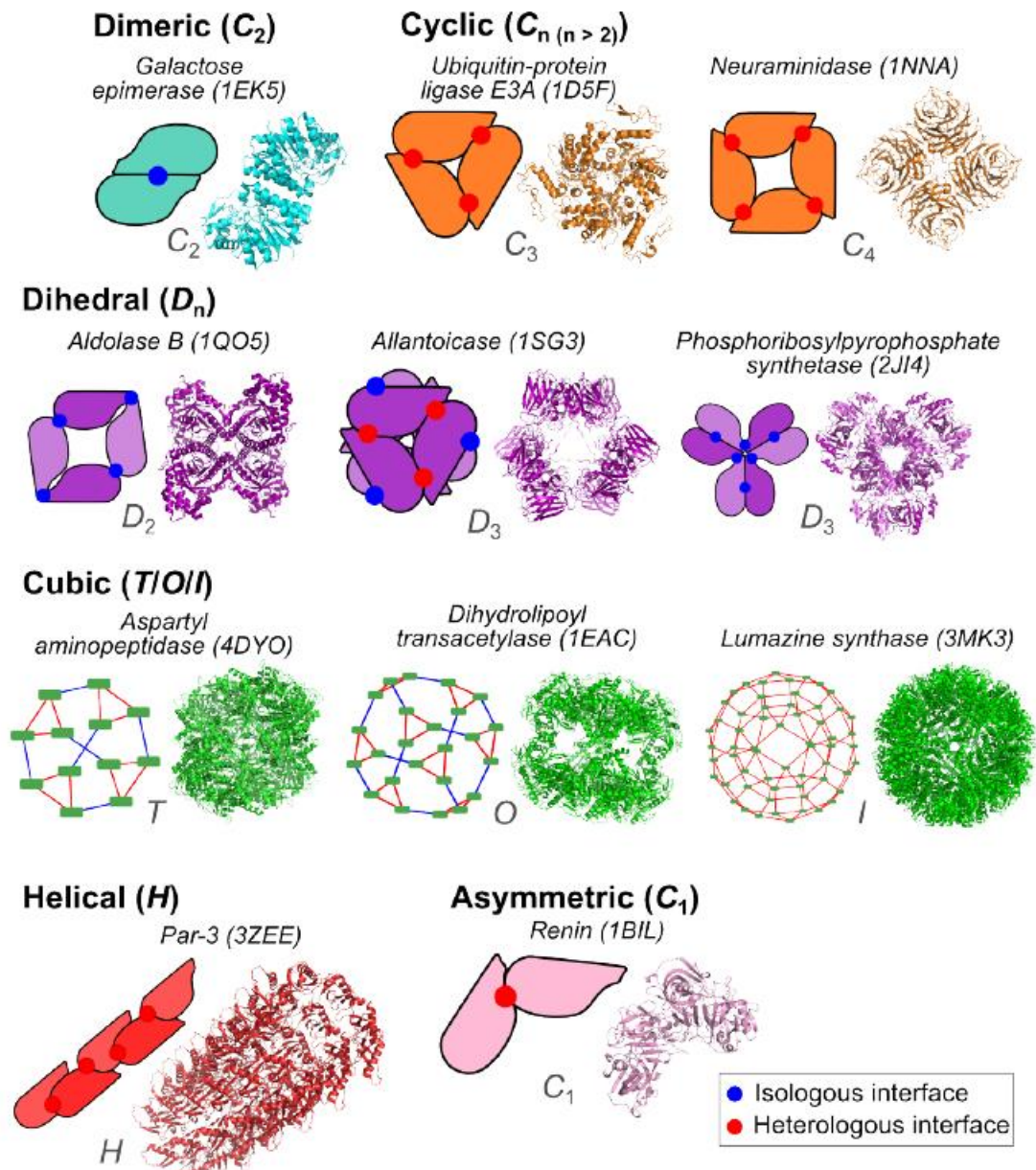
Béta (β)

csak béta réteg

Alfa + béta ($\alpha + \beta$) hélix és réteg egymástól távol

Alfa/béta (α/β) hélix és réteg egymással kölcsönhatásban

Negyedleges szerkezetek (homomerek)

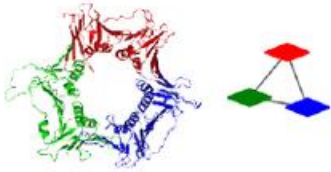


J. A. Marsh, S. A. Teichmann: Structure, Dynamics, Assembly, and Evolution of Protein Complexes. Ann. Rev. Biochemistry 84(1), 2014

Negyedleges szerkezetek (heteromerek)

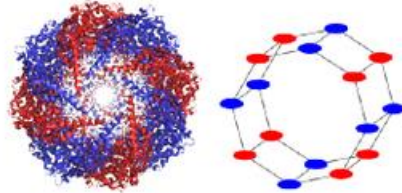
a) Paralogous heteromers

Rad9-Hus1-Rad1 (3GGR)



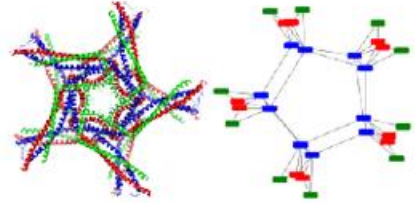
C_1 (pseudo- C_3/D_3)

Thermosome (1A6D)



D_4 (pseudo- D_8)

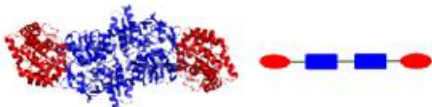
Ska core complex (4AJ5)



D_5 (no higher pseudosymmetry)

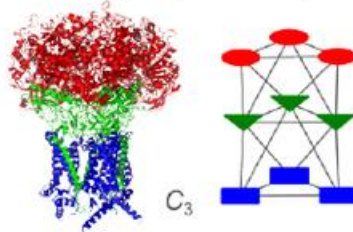
b) Symmetric heteromers

Tryptophan synthase (1WBJ)



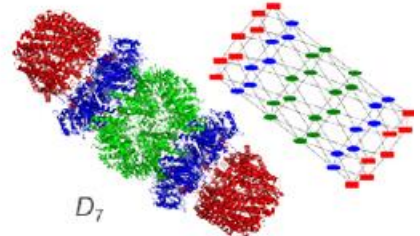
C_2

Formate dehydrogenase-N (1KQG)



C_3

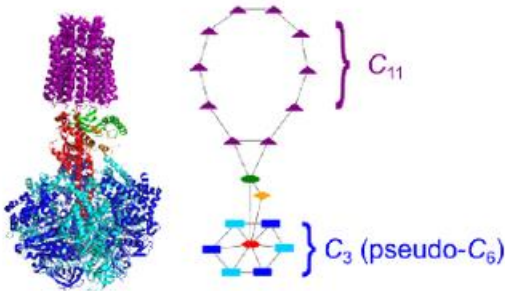
Proteasome-PAN (3IPM)



D_7

c) Mixed-symmetry heteromers

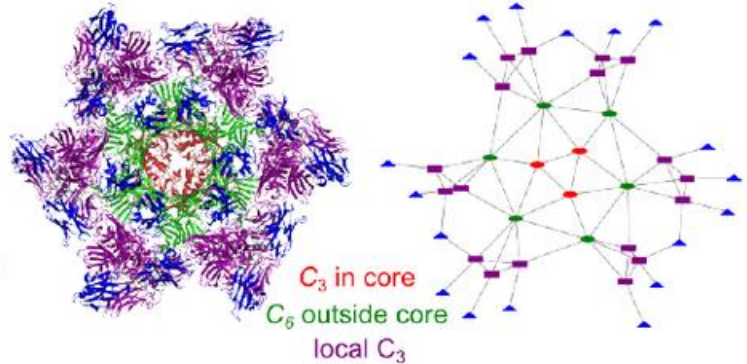
ATP synthase (2XOK)



C_{11}

C_3 (pseudo- C_6)

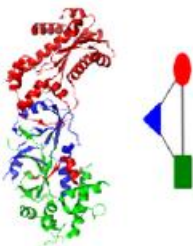
Phage p2 baseplate (2WZP)



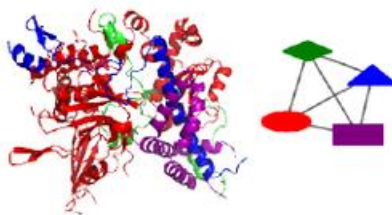
C_3 in core
 C_6 outside core
local C_3

d) Asymmetric heteromers

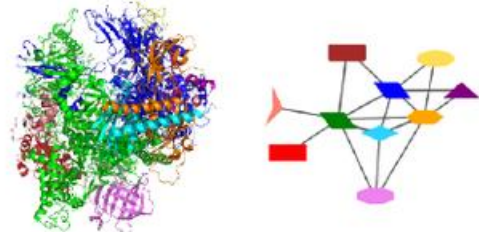
RNase H2 (3P5J)



SAGA DUB module (3MHH)



RNA polymerase II (116H)



Konformerek energiatartalma

Források : kötéshossz (E_d) - változatlan
vegyértékszög (E_o) - változatlan
torziós szög (E_ω) - változik

Nem kötött atomok távolsága (E_w)

Kötő elektronpárok kölcsönhatása (E_h)

Elektrosztatikus kölcsönhatás

$$\Delta E = \Delta E_d + \Delta E_o + \Delta E_\omega + \Delta E_w + \Delta E_h + \Delta E_e$$

Példa:

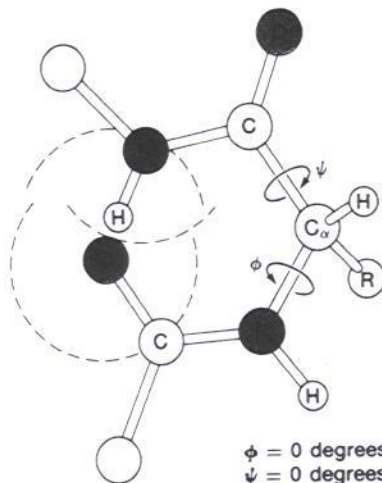
Fehérje 100 aminosavból

a) ha:

10 konformáció/as
lehetséges

akkor:

10^{100} konformer



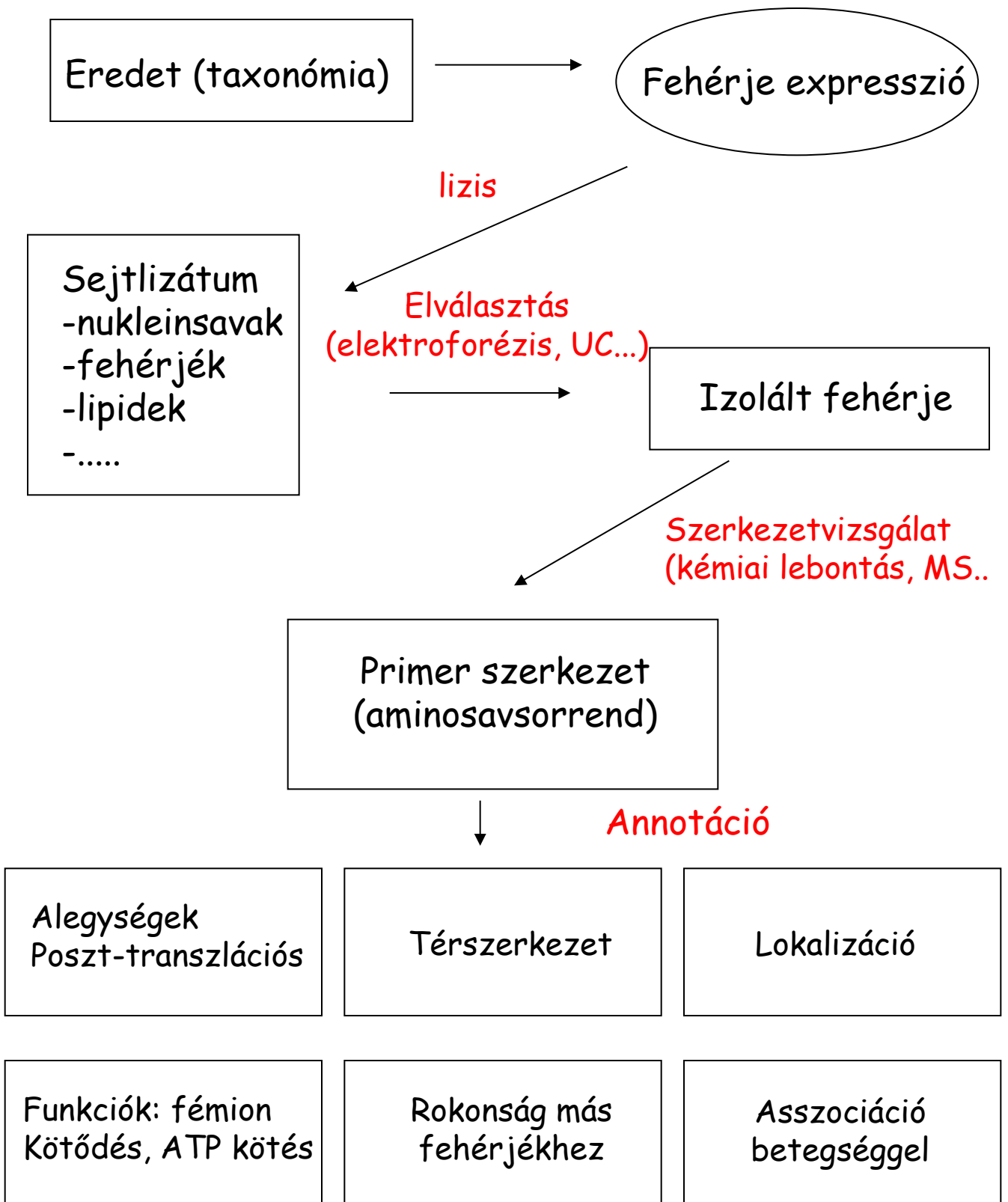
b) ha:

2 konformáció/as
lehetséges

akkor:

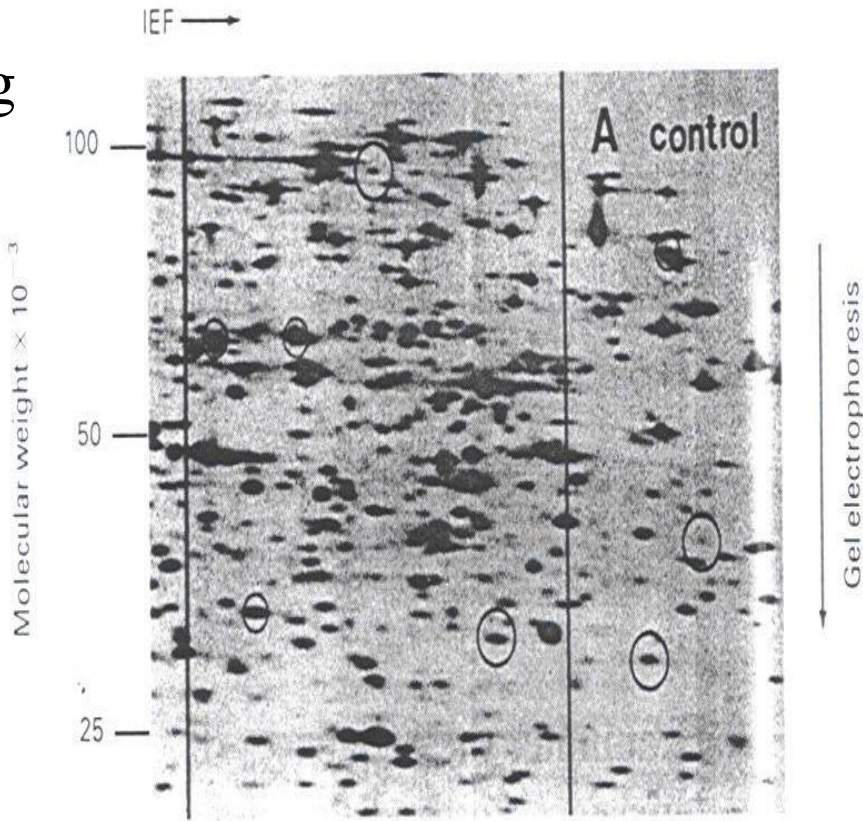
10^{30} konformer

A proteomika alapjai

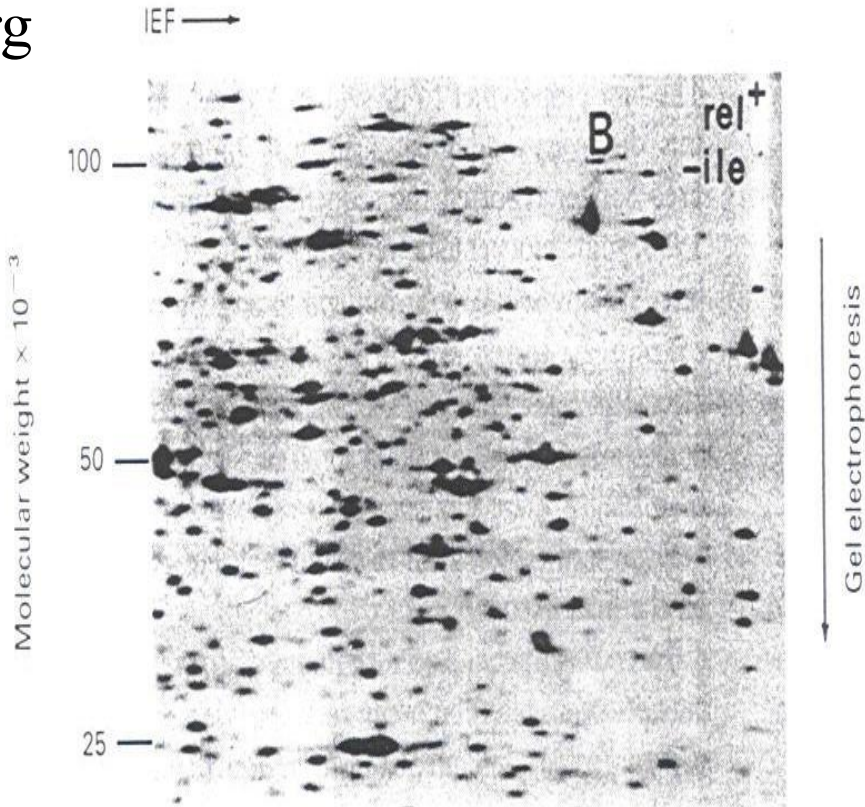


A médium összetételének hatása az E coli fehérje összetételére

Arg



- Arg

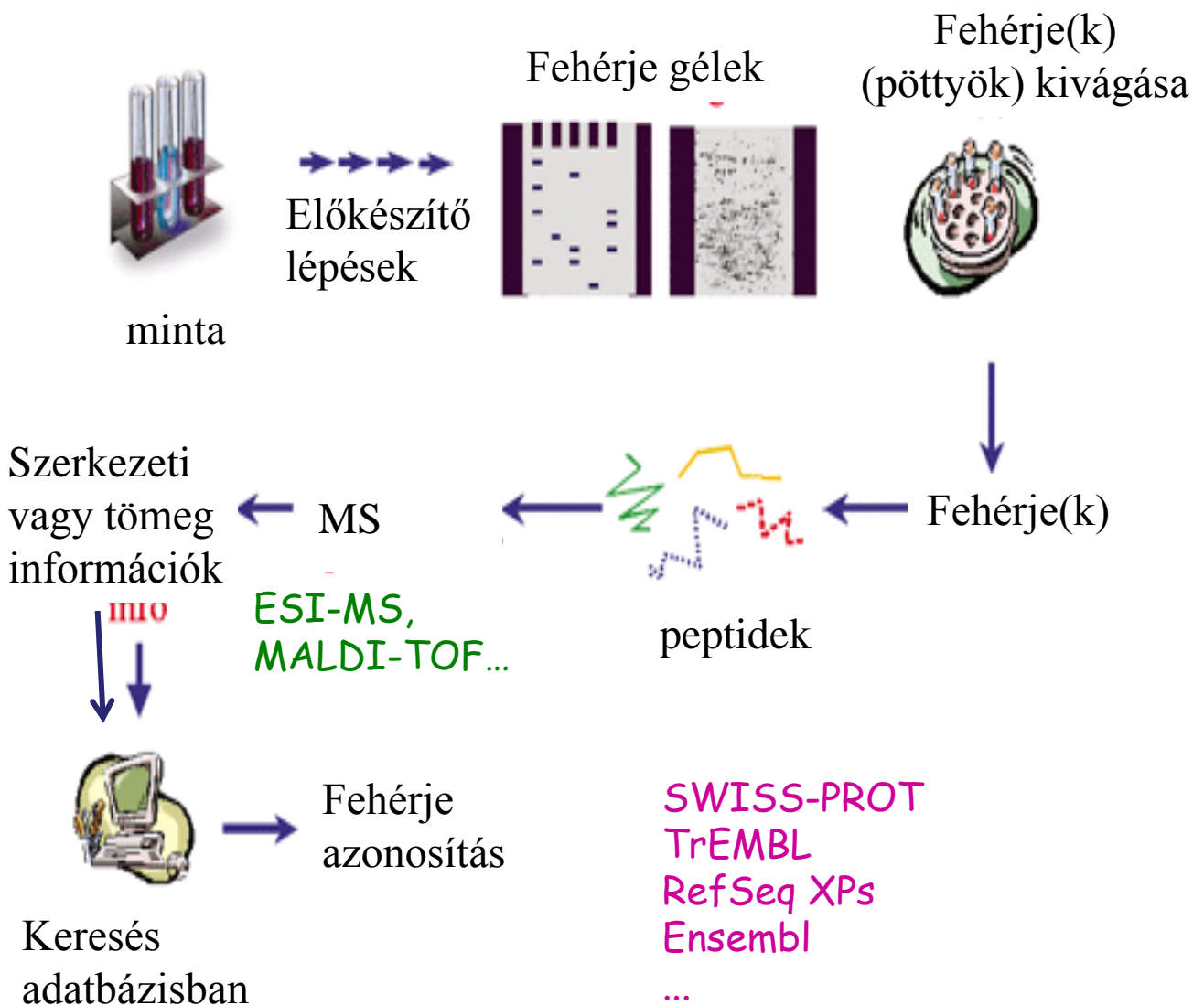


Farrell PHO
(1978)

Proteomikai munkafolyamat

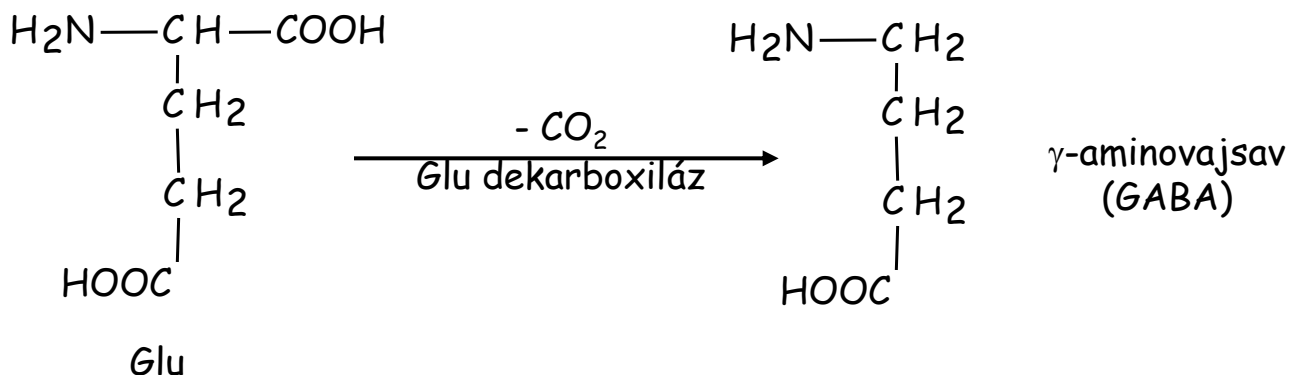
- Minta összegyűjtése
- Organellumok szétválasztása
- Tisztítás ellenanyag segítségével

- 1 és 2D gélelektroforézis
- RP-HPLC
- SCX HPLC (ioncserés)

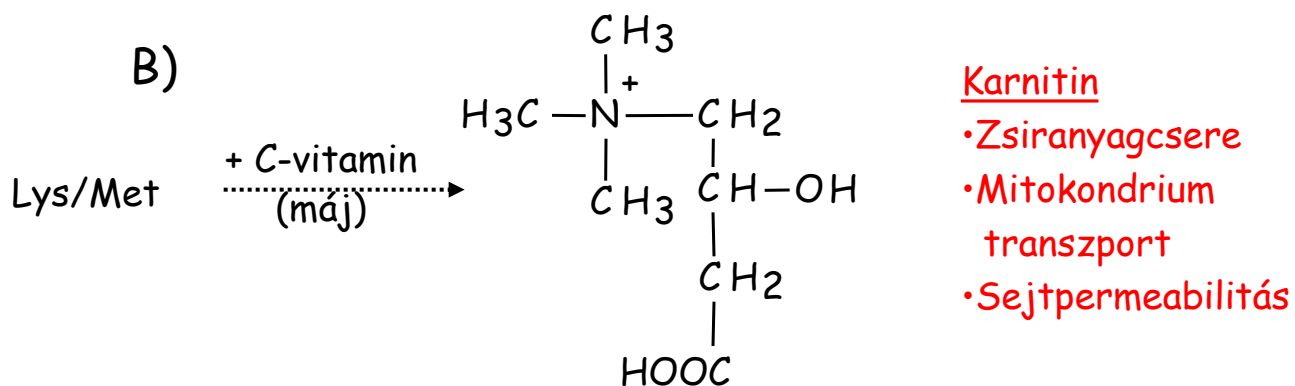


Nem fehérje alkotó természetes aminosavak

A)



B)

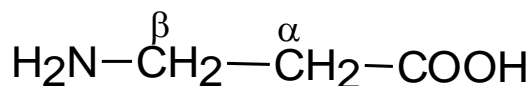


Karnitin

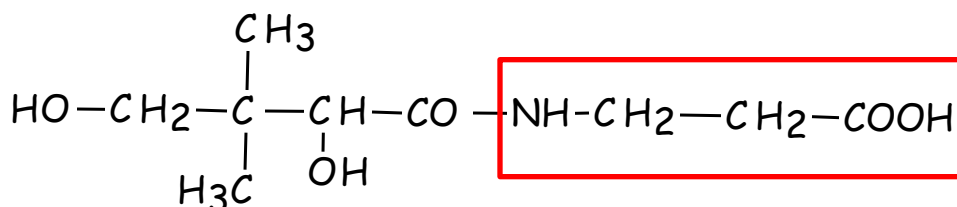
- Zsiranyagcsere
- Mitokondrium transzport
- Sejtpermeabilitás

Állat, ember + Növény -

C)

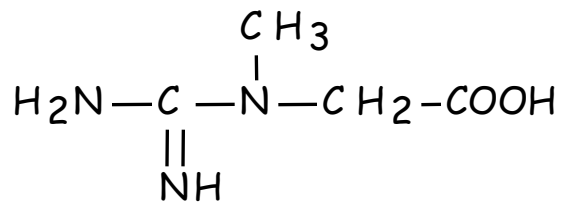
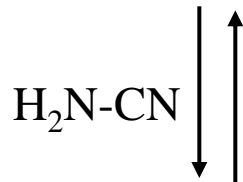
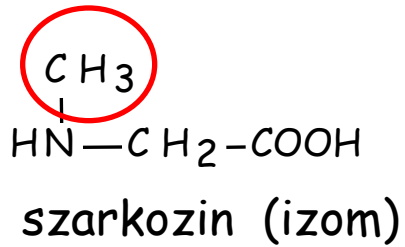


béta-alanin



pantoténsav

F)



kreatin . H₂O
(N-metil-guanidino-ecetsav)

op: 303 °C

• izom

• H₂PO₄-NH - (kreatin-foszfát)