

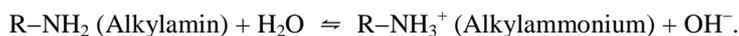
4.3. Proteine

4.3.1. Aminosäuren

1,6-Diaminohexan auf Geruch, Wasserlöslichkeit und Basizität untersuchen

Amine

Amine enthalten die **Aminogruppe** $-NH_2$ und werden durch die Endung **-amin** oder die Vorsilbe **Amino** gekennzeichnet. Infolge der polaren **N-H-Bindung** sind die kurzkettigen Amine **wasserlöslich** und haben **Siedepunkte**, die zwischen denen vergleichbarer Kohlenwasserstoff und Alkohole liegen. Durch den **+I-Effekt** des Restes sind aliphatische Amine noch **basischer** als Ammoniak:



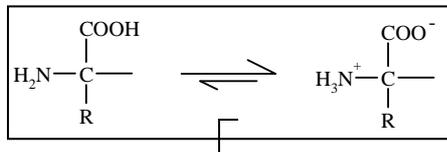
Fast alle Amine sind sehr **giftig** und werden insbesondere auch über die **Haut** aufgenommen!

Übungen: Aufgaben zu Proteinen Aufgabe 1

Glycin vorstellen, Wasserlöslichkeit, pH-Wert mit pH-Elektrode messen

Struktur und physikalische Eigenschaften der Aminosäuren

Eiweißstoffe in Lebewesen sind fast ausschließlich aus 20 verschiedenen **2-L-Aminocarbonsäuren** aufgebaut. Darunter sind 8 **essentielle** Aminosäuren, die der Mensch zum Leben benötigt, aber nicht selber herstellen kann. Infolge der intramolekularen **Neutralisation** der basischen Aminogruppe und der sauren Carboxylgruppe liegen die Aminosäuren im festen und flüssigen Zustand zu 99,9% in Form von **Zwitterionen** vor. Demnach müsste man eigentlich von Ammoniumcarboxylaten sprechen, aber in der Praxis hat sich die Bezeichnung Aminosäure erhalten:



Durch diese salzartige Struktur lassen sich die hohen **Schmelzpunkte** und die gute **Wasserlöslichkeit** der meisten Aminosäuren erklären.

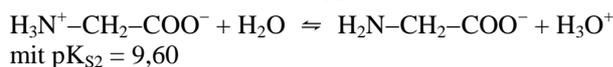
Wiederholung Neutralisationskurve von Kohlensäure

Säure-Base-Reaktionen der Aminosäuren

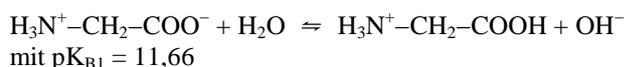
Löst man eine feste Aminosäure in Wasser, so verschiebt sich der pH-Wert leicht ins saure bzw. basische, je nachdem, ob die saure Wirkung der NH_3^+ -Gruppe oder die basische Wirkung der COO^- -Gruppe überwiegt.

Beispiel Glycin

saure Wirkung der NH_3^+ -Gruppe:



basische Wirkung der COO^- -Gruppe:



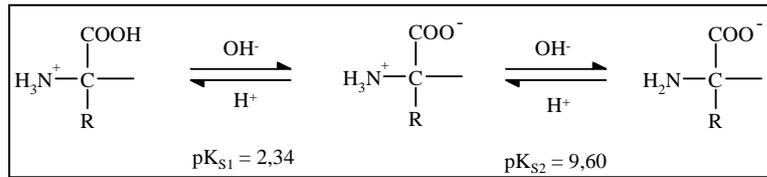
Da die saure Wirkung leicht überwiegt, ergibt sich ein schwach saurer $pH \approx 6$.

Übungen: Aufgaben zu Proteinen Aufgaben 2 und 3

Gruppe I: Aminosäuren mit unpolarem Rest R			
Glycin(Gly) pH(I)=5,97	Alanin(Ala) pH(I)=6,02	Valin(Val)* pH(I)=5,97	
Leucin(Leu)* pH(I)=5,98	Isoleucin(Ile)* pH(I)=6,02	Prolin(Pro) pH(I)=6,3	Phenylalanin(Phe)* pH(I)=5,48
Gruppe II: Aminosäuren mit polarem Rest R			
Cystein(Cys) pH(I)=5,02	Methionin(Met)* pH(I)=5,06	Serin(Ser) pH(I)=5,68	Threonin(Thr)* pH(I)=5,60
Tyrosin(Tyr) pH(I)=5,67	Asparagin(Asn) pH(I)=2,8	Glutamin(Gln) pH(I)=3,2	Tryptophan(Try)* pH(I)=5,88
Gruppe III: saure Aminosäuren			
Asparaginsäure(Asp) pH(I)=5,41		Glutaminsäure(Glu) pH(I)=5,7	
Gruppe IV: basische Aminosäuren			
Lysin(Lys)* pH(I)=9,74	Arginin(Arg) pH(I)=10,76	Histidin(His) pH(I)=7,59	

*: essentielle Aminosäuren.

Die genaue Berechnung des resultierenden pH-Wertes ergibt sich aus der Betrachtung der vollständigen **Neutralisationkurve** des Glycins.

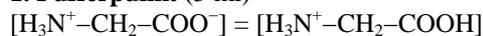


Man erhält sie z. B., indem man 10 mmol Glycin durch Lösen in 100 ml einer 0,1 molaren Salzsäure zunächst vollständig protoniert und dann durch tropfenweise Zugabe von 30 ml 0,1 molarer Natronlauge schrittweise wieder deprotoniert. Die zuerst deprotonierte Carboxylgruppe $-\text{COOH}$ hat den $\text{pK}_{\text{S}1} = 14 - \text{pK}_{\text{B}1} = 2,34$ und die anschließend deprotonierte Ammoniumgruppe $-\text{NH}_3^+$ den $\text{pK}_{\text{S}2} = 9,60$.

Anfangspunkt (0 ml): $\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{COOH}$

$$\text{pH} = \frac{1}{2} (\text{pK}_{\text{S}1} - \log c_0) = 1,68$$

1. Pufferpunkt (5 ml)

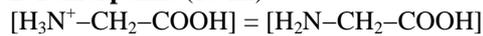


$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{S}1} = 2,34$$

1. Äquivalenzpunkt (10 ml): $\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$

$$\text{pH} = \frac{1}{2} (\text{pK}_{\text{S}1} + \text{pK}_{\text{S}2}) = 5,98$$

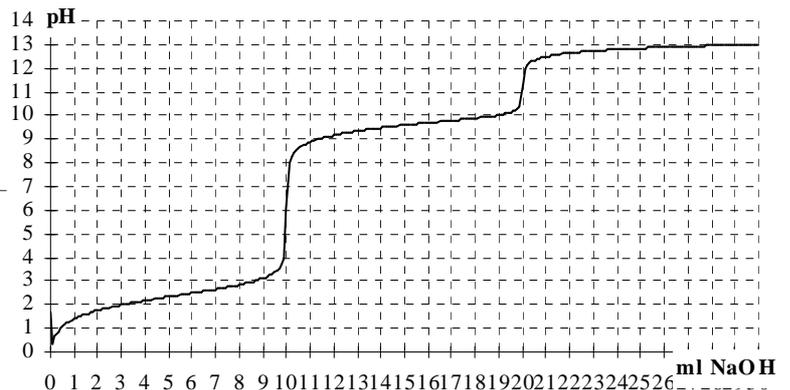
2. Pufferpunkt (15 ml)



$$\text{pH} = \text{pK}_{\text{S}2} = 9,60$$

Endpunkt (20 ml): $\text{H}_2\text{N} - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$

$$\text{pOH} = \frac{1}{2} (\text{pK}_{\text{B}2} - \log c_0) = 2,7 \Rightarrow \text{pH} = 14 - \text{pOH} = 11,3$$



Der 1. Äquivalenzpunkt heißt auch **isoelektronischer Punkt (IEP)**, da bei diesem pH praktisch alle Teilchen in **Zwitterionenform** vorliegen. Der IEP stellt sich auch ein, wenn die feste Aminosäure in Wasser gelöst wird. Da die Zwitterionen nach außen hin neutral sind, ist die **Löslichkeit** am IEP am geringsten. Da es sich um eine **zweiprotonige** Säure handelt, existieren außerdem zwei **Pufferpunkte** bei $\text{pK}_{\text{S}1} = 2,34$ und $\text{pK}_{\text{S}2} = 9,6$ die jedoch beim Blut-pH von 7,35 keine Rolle spielen.

Viele Aminosäuren besitzen Reste mit weiteren sauren oder basischen Gruppen, so dass man **drei Pufferpunkte** erhält:

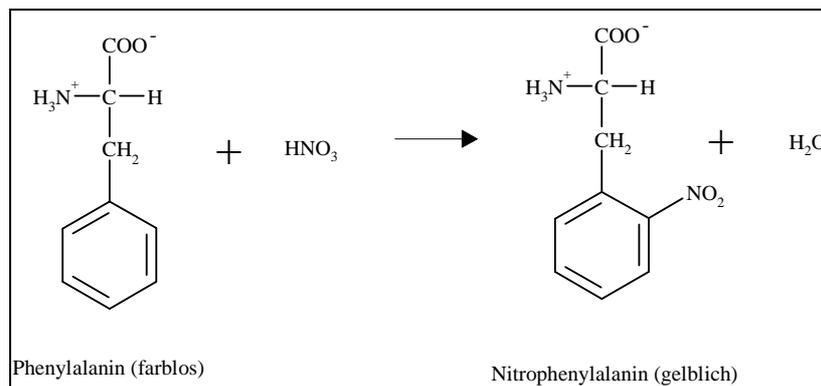
Name	$\text{pK}_{\text{S}1}$ ($\alpha\text{-COOH}$)	$\text{pK}_{\text{S}2}$ ($\alpha\text{-NH}_3^+$)	$\text{pK}_{\text{S}3}$ (Rest)	IEP
Alanin	2,34	9,69		6,0
Arginin	2,18	9,09	12,4	10,8
Asparagin	2,02	8,80		5,4
Asparaginsäure	1,88	9,60	3,65	2,8
Cystein	1,71	10,66	8,35	5,1
Glutamin	2,17	9,13		5,7
Glutaminsäure	2,19	9,67	4,25	3,2
Glycin	2,34	9,60		6,0
Histidin	1,80	9,07	5,99	7,5
Hydroxyprolin	1,82	9,65		5,7
Isoleucin	2,26	9,62		5,9
Leucin	2,36	9,60		6,0
Lysin	2,20	8,90	10,28	9,6
Methionin	2,28	9,21		5,7
Prolin	1,99	10,60		6,3
Serin	2,21	9,15		5,7
Threonin	2,15	9,12		5,6
Tryptophan	2,38	9,39		5,9
Tyrosin	2,20	9,11	10,07	5,7
Valin	2,32	9,62		6,0

Dabei bildet Ninhydrin (Trioxohydrinden) zunächst mit der Amino-Gruppe eine **Schiffsche Base**, die anschließend **decarboxyliert**. Dann wird die Doppelbindung **umgelagert** und **hydrolytisch gespalten**, aus dem C-Gerüst der Aminosäure ist damit der nächstniedere Aldehyd entstanden. Das Amin reagiert mit einem zweiten Molekül Ninhydrin zum blauen Indigo-Farbstoff.

Xanthoprotein-Reaktion

Gelatine oder Milch mit konz. Salpetersäure versetzen

Mit konz. Salpetersäure färben sich Proteine gelblich. Die Färbung kommt durch der **Nitrierung der aromatischen Reste** von Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan zustande und zeigt eigentlich nicht die Peptidbindung, sondern Aromaten an:



Übungen: Aufgaben zu Proteinen Aufgabe 14

4.3.4. Trennverfahren

DC von AS-Gemischen

Chromatographie: Das Protein wird zunächst **hydrolysiert**. Die Aminosäuren werden mit Hilfe von **Vergleichssubstanzen** identifiziert. Bei der DC müssen die farblosen Aminosäuren mit **Ninhydrin** angefärbt werden. Für die GC werden die nicht unzersetzt verdampfbaren Aminosäuren zunächst mit Methanol **verestert** (vgl. GC von Fetten!)

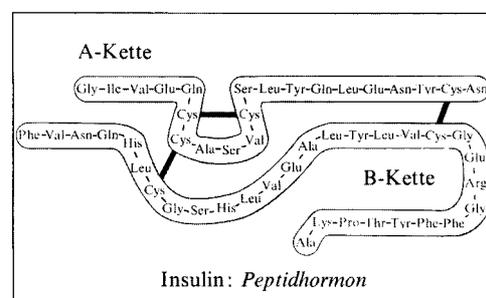
Elektrophorese: Trennung von Eiweißen und Aminosäuren im elektrischen Feld. Negativ geladene Moleküle wandern zum Pluspol, positiv geladenen Moleküle zum Minuspol. Da die Ladung der Aminosäuren und Proteine stark vom pH-Wert abhängt, ist die Wahl eines geeigneten **Puffers** von großer Bedeutung. **Beispiel:** Trennung von **Asp**, **Lys** und **Ala** bei pH 6 =IEP von Ala.

Übungen: Aufgaben zu Proteinen Aufgabe 15

4.3.5. Proteinstrukturen

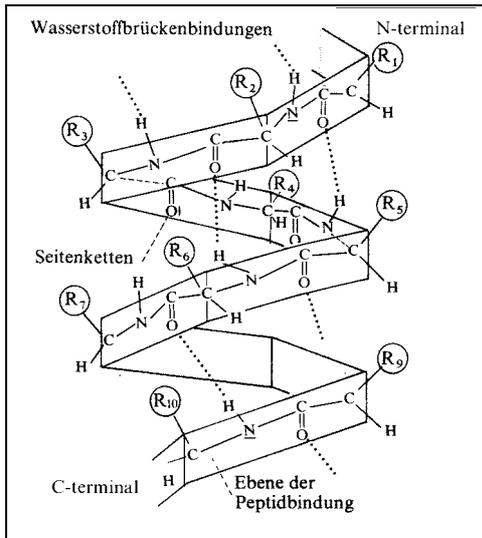
Primärstruktur

Die teilweise sehr komplexen räumlichen **Strukturen** und **Funktionen** der Proteine werden allein durch die Reihenfolge (**Sequenz, Primärstruktur**) der verschiedenen Aminosäuren bzw. **Größe, Polarität** und **funktioneller Gruppe** ihrer Reste bestimmt. Die Primärstruktur jedes einzelnen Proteinmoleküls ist als **Gen** auf der DNA im Zellkern gespeichert und kann dort jederzeit wieder abgelesen werden.

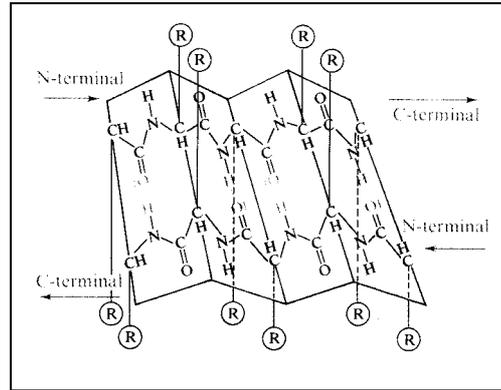


Sekundärstruktur

Durch H-Brücken zwischen den N-H- und C=O-Gruppen bilden die Ketten regelmäßige räumliche Anordnungen (**Sekundärstruktur**):



α -Helix: rechtsgängige Schraube mit ca. 3,6 Aminosäuren pro Umdrehung, häufig bei **größeren Resten**, die dann nach außen gerichtet sind



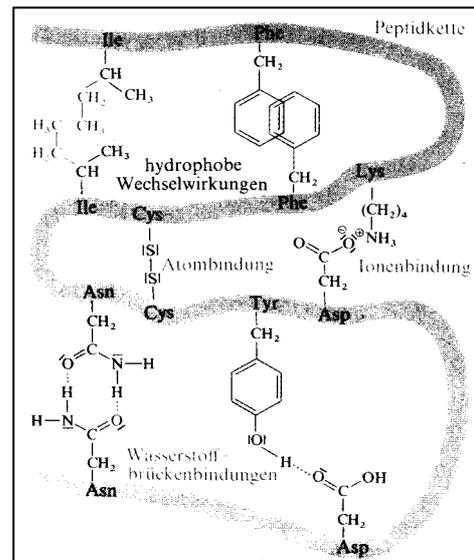
β -Faltblatt: antiparallel vernetzte Ketten in Zick-Zack Konformation, häufig bei **kleineren Resten**, die abwechselnd oberhalb und unterhalb der Ebene angeordnet sind.

Tertiärstruktur

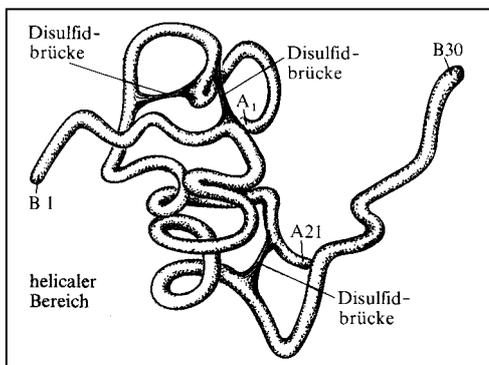
Vor allem bei der α -Helix können die nach außen stehenden Reste entfernt liegender Aminosäuren Bindungen bilden, die die räumliche Anordnung der Schraube (**Tertiärstruktur**) und damit die Funktion des Proteins als Enzym, Transport- oder Strukturmolekül festlegt. Die folgenden Bindungen können auftreten:

1. **Disulfidbrücken** (Elektronenpaarbindungen) werden bei **Oxidation** zweier **Cysteinreste** z.B. durch Sauerstoff gebildet:

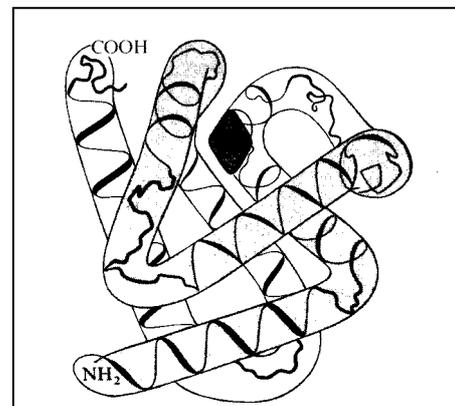
$$\text{Cys-S-H} + \text{H-S-Cys} + \frac{1}{2} \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{Cys-S-S-Cys} + \text{H}_2\text{O}$$
2. **Ionenbindungen** treten zwischen **COO⁻-Gruppen** der Asparagin- oder Glutaminsäure und den **NH₃⁺-Gruppen** von Lysin, Arginin oder Histidin auf.
3. **H-Brücken** zwischen **polaren Resten**.
4. **Van-der-Waals-Bindungen** zwischen **unpolaren Resten**.



Beispiele:



Tertiärstruktur des **Insulins**

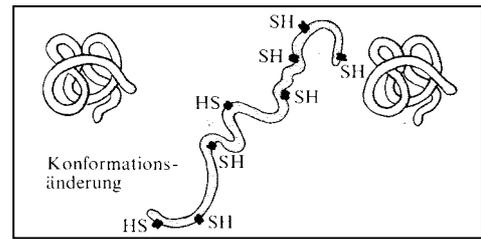


Tertiärstruktur des **Myoglobins**
(O₂-Speicherung im Muskel)

Katalase aus Bananen, Kartoffeln oder Blut mit H_2O_2 unter Zugaben von $CuSO_4$, Säure, Lauge, Ethanol sowie Erhitzen

Denaturierung

Die Tertiärstruktur wird bei der Synthese der Proteine im endoplasmatischen Retikulum durch **Faltung** der noch kurzen Ketten gebildet. Viele Giftstoffe wie z.B. Schwermetalle Säuren und Laugen sowie organische Lösungsmittel zerstören die Bindungen zwischen den Ketten, so dass sich die Kette entfaltet (**Denaturierung**) und die Funktion des Proteins verloren geht. Da sich die langen Ketten des fertigen Proteins in der Regel nicht mehr zurückfalten können, sind Denaturierungen meistens **irreversibel**. Die folgenden Bedingungen führen zur Denaturierung:



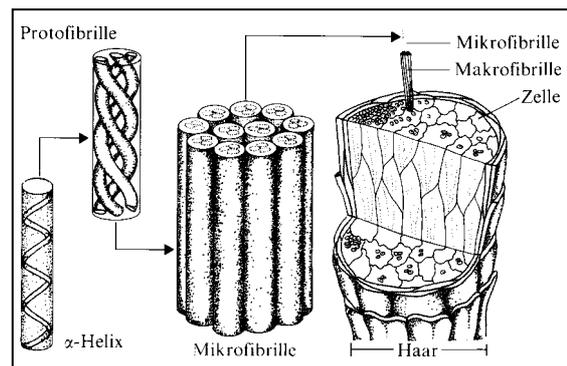
1. **Erhitzen** schwächt alle zwischenmolekularen Kräfte
2. **Säuren und Basen** ändern die Ladungsverhältnisse der COO^- - und NH_3^+ -Gruppen, wodurch **Ionenbindungen** und **H-Brücken** gelöst werden.
3. **Schwermetallionen** wie z.B. Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} aber auch Cu^{2+} bilden sehr stabile Ionenbindungen mit Schwefelionen und verschieben das Redoxgleichgewicht für die Bildung und Zersetzung der Disulfidbrücken: $Cys-S-S-Cys + Cd^{2+} + 2 H_2O \rightleftharpoons (Cys-S^-)_2Cd^{2+} + 2 OH^-$
4. **Organische Lösungsmittel** lösen **Van-der-Waals-Bindungen**
5. **Schwache Reduktionsmittel** wie z.B. **Wasserstoffperoxid** (Wird üblicherweise als Oxidationsmittel eingesetzt, kann aber auch als Reduktionsmittel wirken) lösen **Disulfidbrücken**:

Quartärstruktur

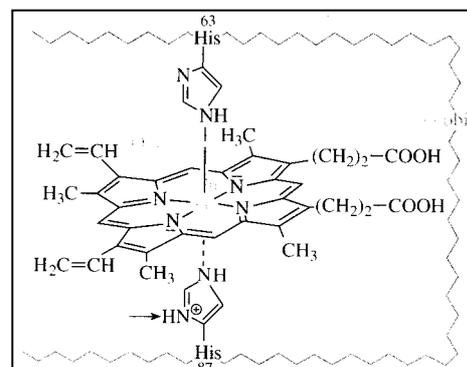
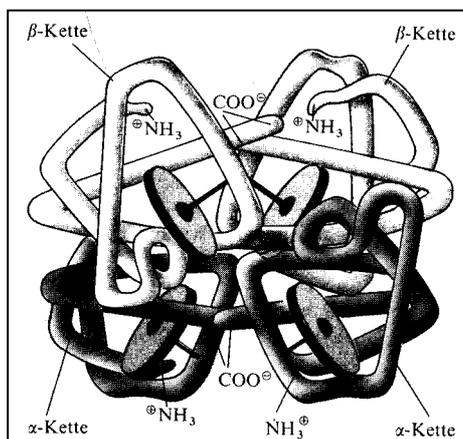
Viele Funktionseinheiten des menschlichen Körpers entstehen durch Zusammenlagerung mehrerer Proteinketten zu einer **Quartärstruktur**. Die Quartärstruktur wird durch die gleichen Bindungen zusammengehalten wie die Tertiärstruktur.

Beispiele

1. Im **Skleroprotein** des **Haars** und der **Wolle**, dem α -Keratin, sind drei durch Disulfidbrücken verkettete rechtsgängige α -Helices umeinander gewunden und bilden eine linksgängige **Protofibrille**. Elf Protofibrillen ergeben eine **Mikrofibrille** und hunderte von Mikrofibrillen bilden jeweils Faserbündel oder **Makrofibrillen**, die in den Zellen parallel zur Faserachse liegen. Bei der Herstellung von **Dauerwellen** werden die Disulfidbindungen zerstört, und nachdem das Haar in die gewünschte Form gebracht wurde, wieder zurückgebildet.



2. **Hämoglobin** besteht aus zwei α -Ketten mit je 141 Aminosäureresten und zwei β -Ketten mit je 146 Aminosäureresten, deren Tertiärstruktur der des **Myoglobins** ähnelt. Jede Kette trägt eine **Hämgruppe**, die für die rote Farbe der Blutkörperchen verantwortlich ist und die über ein Stickstoffatom eines **Histidinrestes** mit dem **Fe^{2+} -Zentralion** der Hämgruppe verbunden ist. An die sechste Koordinationsstelle des Fe^{2+} -Ions der Hämgruppe wird ein Sauerstoffmolekül gebunden. Das erste Sauerstoffmolekül wird nur langsam, das zweite und dritte schneller angelagert. Das vierte wird mehrere hundertmal schneller aufgenommen als das erste. Dieser kooperative Effekt wird durch Konformationsänderungen der Quartärstruktur erklärt.



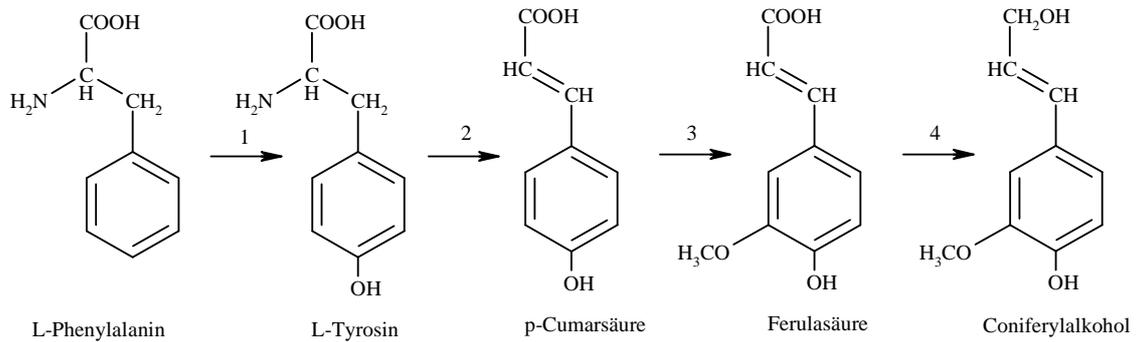
Beispiele für Proteine im menschlichen Körper

Name	Ort	Funktion
Glucagon und Insulin	A- und B-Zellen auf den Langerhansschen Inseln der Bauchspeicheldrüse	Hormone, die die Aufnahme von Glucose aus dem Blut in die Körperzellen steuern
Ptyalin Pepsin Trypsin und Chymotrypsin Carboxypeptidase	Mund Magen Zwölffingerdarm (Duodenum) Dünndarm (Jejunum und Ileum)	Enzyme zur Hydrolyse von Proteinen
Lipasen	Magen und Zwölffingerdarm	Enzyme zur Hydrolyse von Fetten
α -Amylase	Mund und Zwölffingerdarm	Enzym zur Hydrolyse von Stärke
Casein	Milch	Emulgator für Fette und $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Hämoglobin	Blut	Transport von O_2 und CO_2
Chylomikronen	Blut	Transport von Fetten
Transferrin	Blut	Transport von Eisen
Myoglobin	Muskeln	Speicherung von O_2
Ferritin	Leber, Knochenmark, Milz	Speicherung von Eisen
Actin und Myosin	Kontraktile Proteine	Muskelkontraktion
Fibrinogen, Thrombin	Blut	Blutgerinnung
Antikörper	Blut	Immunsystem
α -Keratin, β -Keratin Kollagen	Haut, Nägel, Haare Seide Bindegewebe	Strukturproteine

Übungen: Aufgaben zu Proteinen Aufgaben 16 - 18

4.3.6. Lignin

Lignin, der Gerüststoff des Holzes, wird aus der Aminosäure Phenylalanin synthetisiert. Dabei entsteht zunächst in 4 Schritten der Coniferylalkohol:



- Kennzeichne jeden der vier Schritte mit Hilfe von Oxidationszahlen als Oxidation oder Reduktion.
- Ergänze bei jedem Schritte die fehlenden Edukte oder Produkte (Wasser, Sauerstoff oder Methanol)
- Der Coniferylalkohol lässt sich an drei Stellen über C-C-Bindungen und Etherbrücken mit anderen Coniferylalkohol-Molekülen vernetzen. (siehe rechts) Markiere diese drei Stellen und nenne den Typ der dabei stattfindenden Reaktionen

