

NBCM010

# Bioorganická chemie

## Aminokyseliny a jejich vlastnosti

Kateřina Hofbauerová

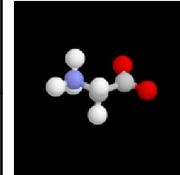
s použitím materiálů z:  
D.L.Nelson, M.M.Cox: Lehninger Principles of Biochemistry. 2008 W.H. Freeman & Co.

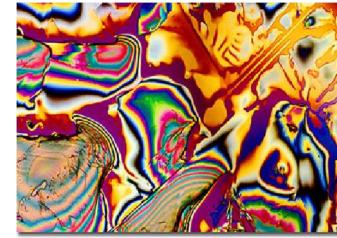


### Detailní plán přednášky:

**Aminokyseliny**

- Stereochemie
- Klasifikace
- Deriváty
- Vlastnosti
- Tvorba peptidů



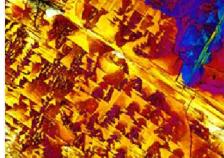


Arg - [www.microscopy.fsu.edu](http://www.microscopy.fsu.edu)

### Aminokyseliny - proteiny

- 1806 – objev první aminokyseliny (v proteinu) - asparagin
- 1938 – objev poslední z 20 základních aminokyselin - threonin
- triviální názvosloví – asto podle zdroje z něhož byly izolovány:
  - ✓ asparagin – asparagus (ch. est)
  - ✓ glutamát – gluten (lepek)
  - ✓ tyrosin – ecky „tyros“ (sýr)
  - ✓ glicin – ecky „glykos“ (sladký)





Ala - [www.microscopy.fsu.edu](http://www.microscopy.fsu.edu)

### Proteiny

- polymerní molekuly složené z aminokyselin
- velké makromolekuly
- životně důležité role ve všech živých organismech



Luciferin



Hemoglobin



Keratin

**Nejd ležit jší  
aminokyseliny z  
biologického pohledu  
jsou **-L-aminokyseliny****

**Obsahují chirální  
(asymetrický) uhlík v  
poloze , s výjimkou  
glycinu.**

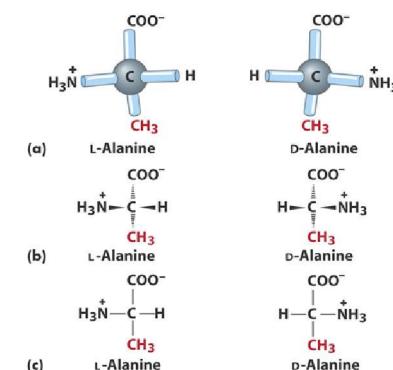
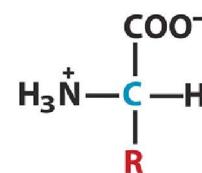
**Nejb žn jší -aminokyseliny  
mají L-konfiguraci.**

**V lidských proteinech je  
zastoupeno pouze 20 základních  
(kódovaných) **-aminokyselin**,  
všechny mají L-konfiguraci.**

**D-aminokyseliny se v přírodě  
vyskytují jen velmi zřídka, nap. v  
bakteriálních peptidech i  
proteinech.**

## Aminokyseliny

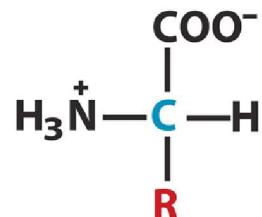
- definice
- biologicky dležité AA
- optická aktivita

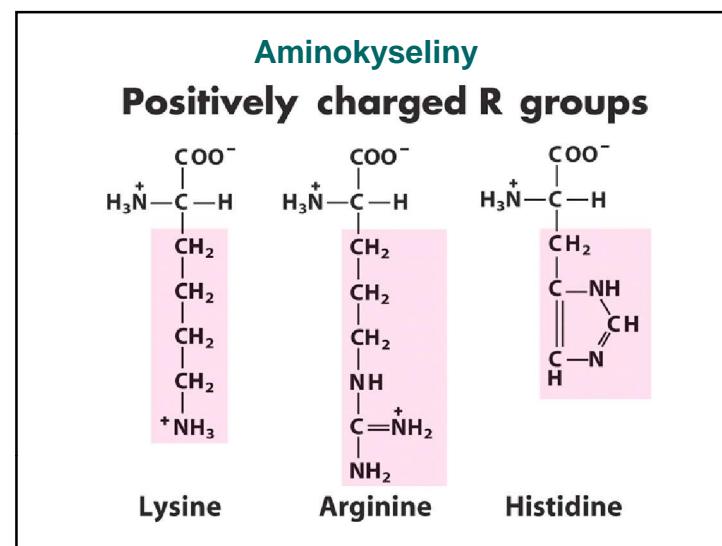
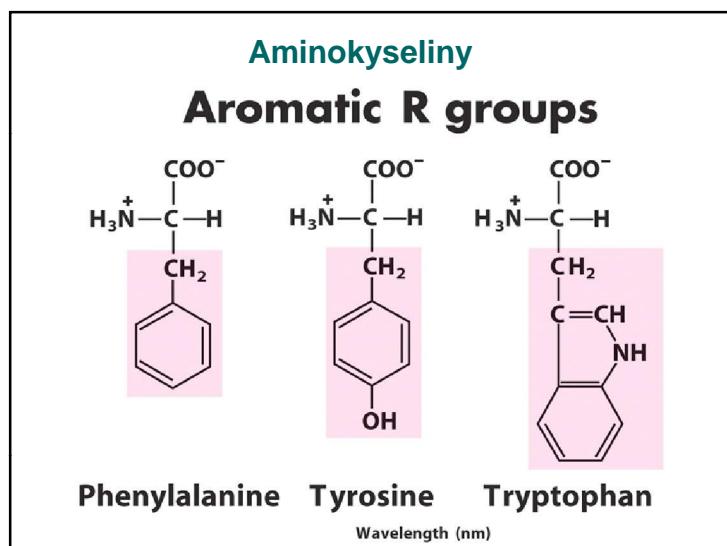
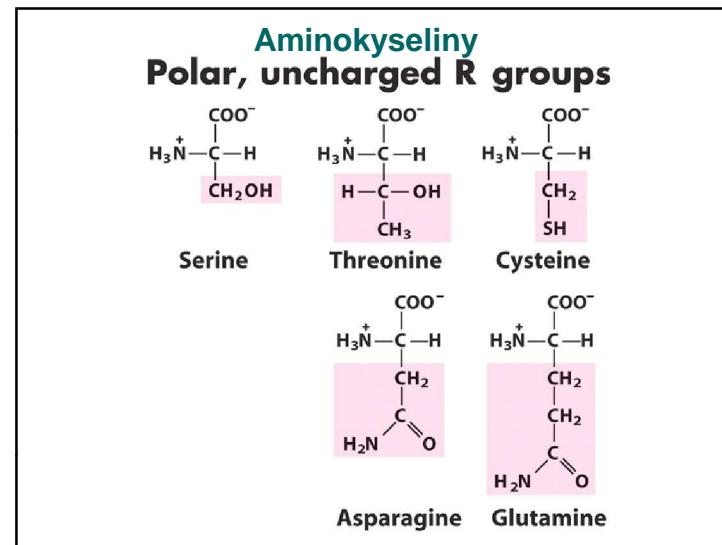
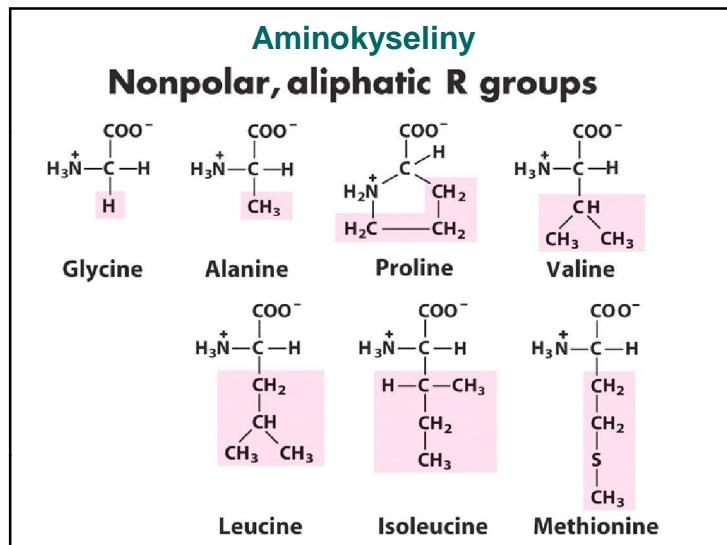


## Aminokyseliny

len ní podle postranního et zce

- nepolární – alifatické
- aromatické
- polární – nenabité
- kladn nabité
- záporn nabité





### Aminokyseliny

### Negatively charged R groups

**Aspartate**

**Glutamate**

Název esky	Název anglicky	Zkratka
glycin	glycine	Gly (G)
alanin	alanine	Ala (A)
valin	valine	Val (V)
leucin	leucine	Leu (L)
isoleucin	isoleucine	Ile (I)
serin	serine	Ser (S)
threonin	threonine	Thr (T)
cystein	cysteine	Cys (C)
methionin	methionine	Met (M)
<b>kyselina asparagová</b>	<b>aspartic acid</b>	<b>Asp (D)</b>
asparagin	asparagine	Asn (N)
<b>kyselina glutamová</b>	<b>glutamic acid</b>	<b>Glu (E)</b>
glutamin	glutamine	Gln (Q)
arginin	arginine	Arg (R)
lysin	lysine	Lys (K)
histidin	histidine	His (H)
fenylalanin	phenylalanine	Phe (F)
tyrosin	tyrosine	Tyr (Y)
tryptofan	tryptophan	Trp (W)
prolin	proline	Pro (P)

### Nepolární alifatické aminokyseliny

**Glycine**

**Alanine**

**Valine**

**Leucine**

**Isoleucine**

**G (Gly)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{H})-\text{COO}^-$$

$\text{pK}_2 = 9.7$

$\text{pK}_1 = 2.3$

**A (Ala)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

$\text{pK}_2 = 9.6$

$\text{pK}_1 = 2.3$

**V (Val)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

$\text{pK}_2 = 9.7$

$\text{pK}_1 = 2.3$

**L (Leu)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

$\text{pK}_2 = 9.7$

$\text{pK}_1 = 2.3$

**I (Ile)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

$\text{pK}_2 = 9.7$

$\text{pK}_1 = 2.3$

**Glycin** je nejmenší a nejjednodušší aminokyselina.  
**Alanin** jakožto -aminokyselina je analogem -ketokarboxylové kyseliny – **pyruvátu** – meziproduktu v metabolismu cukrů. Pyruvát může vzniknout z alaninu **transaminací**.

### Nepolární alifatické aminokyseliny

**Valine**

**Leucine**

**Isoleucine**

**V (Val)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

**Valin**

- essenciální hydrofobní aminokyselina
- uhlovodíkový rozměr postranního řetězce
- má prakticky stejný tvar a objem jako Thr

**L (Leu)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

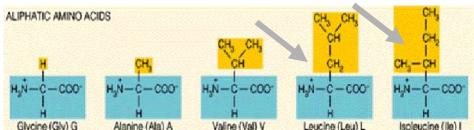
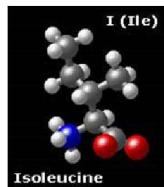
**I (Ile)**

$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

**T (Thr)**

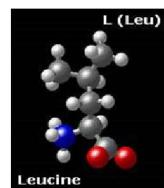
$$\text{H}_3\text{N}^+-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_3)-\text{COO}^-$$

### Nepolární alifatické aminokyseliny



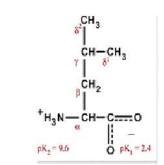
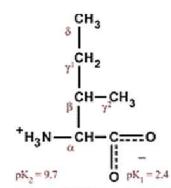
Leucin

- esenciální hydrofobní aminokyselina
- uhlovodíkový rozvětvený postranní řetězec

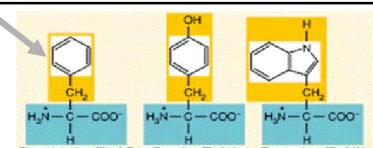
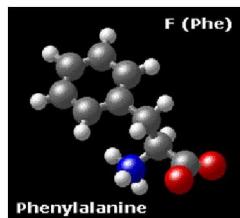


Isoleucin

- esenciální hydrofobní aminokyselina
- uhlovodíkový rozvětvený postranní řetězec

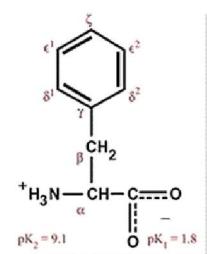


### Aromatické aminokyseliny

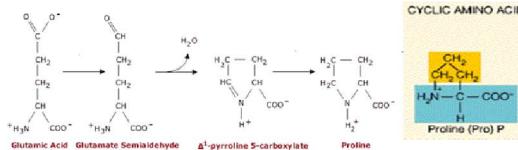


Fenylalanin

- esenciální, velmi hydrofobní aminokyselina
- derivát alaninu
- téma vždy skrytý uvnitř proteinu
- elektrony fenylového kruhu – „stacking“ s jinými aromatickými molekulami je spíše vek ke stabilitě proteinu



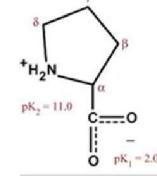
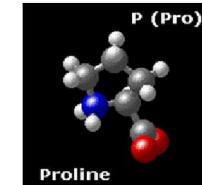
### Nepolární aminokyselina



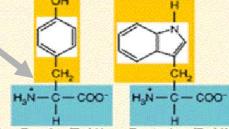
Prolin

- aminokyselina cyklická (sekundární aminoskupina)

– v peptidu nemá na C volný H, nemůže stabilizovat  $\alpha$ -helix ani  $\beta$ -skládaný řetězec

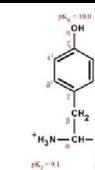


### Aromatické aminokyseliny



Tyrosin

- esenciální aromatická aminokyselina
- derivát fenylalaninu
- rozpustnější ve vodě než fenylalanin
- R(OH) kyselejší než u serinu i threoninu
- povrchové tyrosiny mají až několik  $pK_a$  než ty zanořené v struktuře proteinu
- ionizací vzniká fenolátový anion, který byl v hydrofobním prostředí uvnitř proteinu silně nestabilní
- absorbuje UV a má charakteristický spektrum proteinu
- extinkční koeficient @280nm ~ 1/5 Trp



### Aromatické aminokyseliny

**W (Trp)**

Phenylalanine (Phe) F   Tyrosine (Tyr) Y   Tryptophan (Trp) W

**Tryptofan**  
– esenciální a nejtvrdší aminokyselina  
– derivát alaninu – indolový substituent na C  
– indolová funkční skupina silně absorbuje v UV oblasti  
– indolový N – donor H – v proteinu až do kontaktu s rozpouštěllem (vodou)

**Tryptophan**

**Chemical Structure of Tryptophan:**

$$\text{Indole ring system} \quad \text{NH}_3^+ - \text{CH}(\text{CH}_2) - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{COO}^-$$

$\text{pK}_a = 9.4 \quad \text{pK}_1 = 2.4 \quad \text{pK}_2 = 9.2 \quad \text{pK}_3 = 1.8$

### Basické aminokyseliny

**H (His)**

**Basické aminokyseliny**

**Histidin**  
– esenciální aminokyselina  
– kladně nabité imidazolová funkční skupina  
– deprotonovaný imidazol – nukleofil, base  
– protonovaný imidazol – kyselina  
– stabilizuje strukturu protein  
– působnost imidazolu – až do participace v enzymem katalyzovaných reakcích

**Basic Amino Acids:**

- Histidine (His) H
- Lysine (Lys) K
- Arginine (Arg) R

**Chemical Structure of Histidine:**

$$\text{Imidazole ring} \quad \text{NH}_3^+ - \text{CH}(\text{CH}_2) - \text{CH}(\text{NH}_3^+) - \text{COO}^-$$

$\text{pK}_a = 6.0 \quad \text{pK}_1 = 9.2 \quad \text{pK}_2 = 1.8$

### Basické aminokyseliny

**K (Lys)**

**Lysin**  
– esenciální aminokyselina s kladně nabitém R  
– R – α-aminoskupina (primární amín)  
– derivát alaninu (propylamin na C)  
– α-aminoskupina má signifikantně vyšší pKa (~10.5 v polypeptidech) než β-aminoskupina  
– α-aminoskupina je velmi reaktivní až do aktivního místa enzymu  
– vyšší pKa – lysylová postranní skupina je efektivně méně nukleofilní  
– v aktivním místě může být pKa sníženo zvýšení reaktivnosti  
– R nemá příliš hydrofobní charakter díky náboji

**Lysine**

**Chemical Structure of Lysine:**

$$\text{Propylamino group} \quad \text{NH}_3^+ - \text{CH}(\text{CH}_2)_3 - \text{CH}(\text{NH}_3^+) - \text{COO}^-$$

$\text{pK}_a = 10.5 \quad \text{pK}_1 = 9.0 \quad \text{pK}_2 = 2.2 \quad \text{pK}_3 = 10.5$

### Basické aminokyseliny

**R (Arg)**

**Arginin**  
– esenciální AA  
– kladně nabité guanidinová skupina  
– snadno váže Pi  
– až do vazby fosforylovaného substrátu  
– nábojová rovnováha protein  
– dležitá role v metabolismu dusíku  
– ? jedna z AA méně zastoupených v proteinech x 6 kodon ?

**Basic Amino Acids:**

- Histidine (His) H
- Lysine (Lys) K
- Arginine (Arg) R

**Chemical Structure of Arginine:**

$$\text{Guanidino group} \quad \text{NH}_3^+ - \text{C}(=\text{NH}_2)(\text{CH}_2)_3 - \text{CH}(\text{NH}_3^+) - \text{COO}^-$$

$\text{pK}_a = 12.8 \quad \text{pK}_1 = 12.0 \quad \text{pK}_2 = 9.0 \quad \text{pK}_3 = 2.2$

### Kyselé aminokyseliny

**Kyselina asparagová**

- derivát alaninu
- astro v aktivním místě enzym
- nábojová rovnováha, rozpustnost
- $pK_a$  -karboxylové skupiny (na C) v polypeptidu ~ 4.0
- oxaloacetát - keto homolog (podobný pyruvát-alanin)
- transaminační reakce

**Oxaloacetát - meziprodukt v Krebsovém cyklu**

Aspartic acid (Asp) D      Glutamic acid (Glu) E

Glutamic acid      Oxaloacetate

### Kyselé aminokyseliny

**E (Glu)**

**Kyselina glutamová**

- karboxyl
- jeden methylen navíc oproti Asp
- $pK_a$  -karboxylové skupiny v polypeptidu ~ 4.3
- Glu (transaminace) na  $\alpha$ -ketoglutarát (meziprodukt Krebsova cyklu)
- Glu v Krebsovém cyklu na Gln (enzymaticky - Gln synthetasa)
- -karboxyglutamát - nestandardní AA - proteiny - vazba  $\text{Ca}^{2+}$

$\alpha$ -ketoglutarate

### Polární nenabité aminokyseliny

**Glutamin**

- amid kyseliny glutamové
- spontánní cyclizační a deamidační reakce
- struktura (pyrrolidin karboxylová kyselina) - imunoglobulin
- 6 etánní cyklická struktura
- astro na N-konci

**Asparagine (Asn) N**

**Glutamine (Gln) Q**

**Asparagine**      **Glutamine**

### Polární nenabité aminokyseliny

**Threonin**

- esenciální hydrofilní AA
- a uhlíky jsou chirální

**Serin**

- hydrofilní hydroxy-AA (jedna ze 2 resp. 3)

**S (Ser)**

**T (Thr)**

### Aminokyseliny

**Methionin**

- hydrofobní esenciální AA
- thioether
- obvykle uvnitř protein
- není půlší nukleofilní (na rozdíl od Cys), ale může reagovat s některými elektrofilními centry
- náchylný k oxidaci (podobně jako Cys) methionin sulfon

**Cystein**

- polární aminokyselina
- thiol – kyselejší než Ser
- reaktivnější nukleofil
- stabilizace konformace proteinu – disulfidická vazba

Chemical structures of Cysteine (Cys) and Methionine (Met) with their pK<sub>a</sub> values.

Amino Acid	pK <sub>a1</sub>	pK <sub>a2</sub>	pK <sub>a3</sub>
Cysteine (Cys)	8.2	10.3	2.0
Methionine (Met)	9.2	2.3	-

### Cystein

– thiol – kyselejší než Ser

**Cysteine**

Chemical reaction showing the reversible oxidation of Cysteine to Cystine:

$$\text{Cysteine} \rightleftharpoons \text{Cystine}$$

Stabilization of protein conformation – disulfide bond formation:

$$-\text{SH} + -\text{SH} \rightarrow -\text{S}-\text{S}-$$

Reduction:

$$-\text{S}-\text{S}- \rightarrow -\text{SH} + -\text{SH}$$

### Oxida ní inidla používaná na prerušení disulfidové vazby v proteinech

**-Mercaptoethanol**  
2-Hydroxyethylmercaptan, 2-Mercaptoethanol, BME, Thioethylene glycol

**DTT**  
1,4-dithiothreitol, *threo*-1,4-Dimercapto-2,3-butanediol, DL-Dithiothreitol

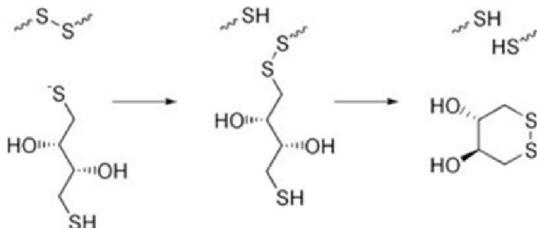
**TCEP**  
Tris(2-carboxyethyl)phosphine hydrochloride

### Reakce 2-merkaptoethanolu a disulfidové vazby

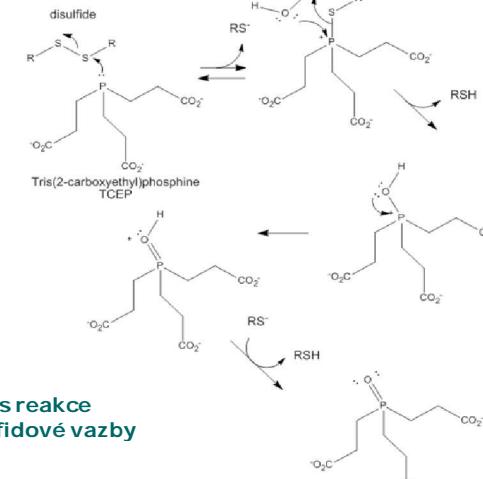
**Cystine residue**

**Cysteine residues**

Figure 3-19a Principles of Biochemistry, 4/e  
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.



Mechanismus reakce DTT a disulfidové vazby



Mechanismus reakce  
TCEP a disulfidové vazby

### Esenciální aminokyseliny

- nutno je ijmít v potrav
- druhová specifitost
- nedostatek esenciálních AA degradace proteinů (i celého lesné schránky), t. j. nemá prakticky žádné zásoby AA (na rozdíl od tuků i sacharidů)

#### 10 aminokyselin, které si lidské tělo umí samo syntetizovat:

1. Ala
2. Asn
3. Asp
4. Cys
5. Glu
6. Gln
7. Gly
8. Pro
9. Ser
10. Tyr (je syntetizován z Phe, nedostatek Phe → Tyr se stává v podstatě esenciálním)

### Esenciální aminokyseliny

- nutno je ijmít v potrav
- druhová specifitost
- rostliny si vyrábějí všechny AA samy

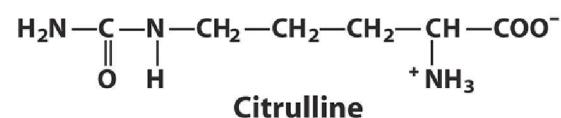
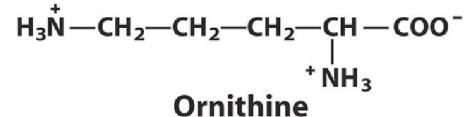
#### 10 esenciálních aminokyselin:

1. Arg (u dospělých jedinců ne)
2. His
3. Ile
4. Leu
5. Lys
6. Met
7. Phe
8. Thr
9. Trp
10. Val

**AA, které se nevyskytují v proteinech:**

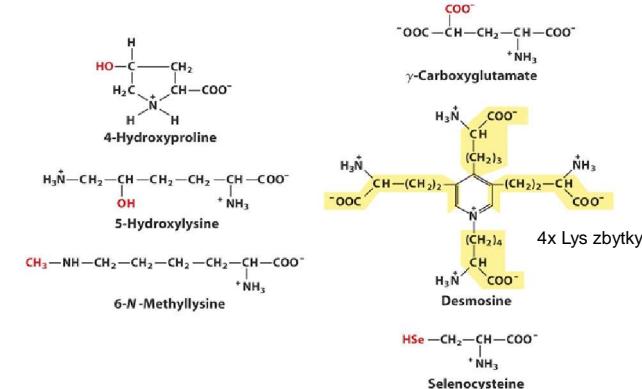
**ornithin a citrullin**

- metabolity biosyntézy argininu
- dležité meziprodukty možně ovinového cyklu t.j. likvidace toxickeho amoniaku u savců.

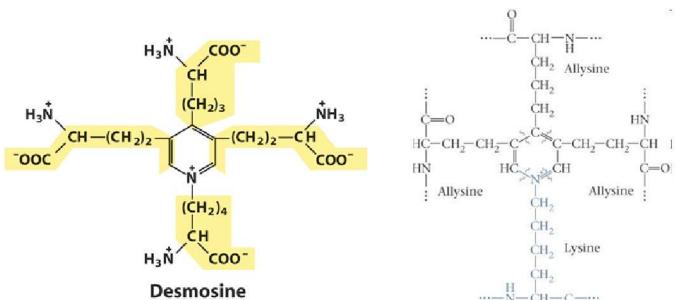


**Modifikované AA:**

Nižší které AA navázané v proteinech mohou být v následně chemicky modifikovány:

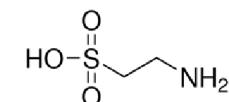


**Elastin – protein obsažený v pojivových tkáních obsahuje desmosin**



- Zesílení ování (cross-linking) molekul lysinu a allysingu dává vzniknout molekulám desmosinu
- Allysine vzniká reakcí enzymu lysyloidasy a lysinu

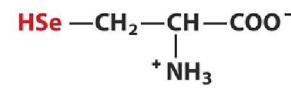
V lidském organizmu je nejvíce zastoupen taurin (kyselina 2-aminoethansulfonová) – derivát cysteinu:



Jedná se o sulfonát (sulfonovou kyselinu), který se vyskytuje volně ve žluči a hraje dležitou roli při trávení a absorpci tuků. S cholevými kyselinami vytváří žlučové soli. Poprvé byl izolován v roce 1827 z bylinky řepnice.

**Další neobvyklé AA a jejich výskyt:**

Name	Formula	Biochemical Source, Function
$\beta$ -Alanine	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$	Found in the vitamin pantothenic acid and in some important natural peptides
D-Alanine	$\text{H}_3\text{C} - \text{NH}_2 - \text{CH}(\text{COO}^-) - \text{CH}_3$	In polypeptides in some bacterial cell walls
$\gamma$ -Aminobutyric acid	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$	Brain, other animal tissues; functions as neurotransmitter
D-Glutamic acid	$\text{H}_3\text{C} - \text{NH}_2 - \text{CH}(\text{COO}^-) - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$	In polypeptides in some bacterial cell walls
L-Homoserine	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}(\text{COO}^-) - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{OH}$	Many tissues; an intermediate in amino acid metabolism
L-Ornithine	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}(\text{COO}^-) - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2\text{NH}_2$	Many tissues; an intermediate in arginine synthesis
Sarcosine	$\text{CH}_3\text{N}^+ - \text{CH}_2 - \text{COO}^-$	Many tissues; intermediate in amino acid synthesis
L-Thyroxine	$\text{H}_3\text{N}^+ - \text{CH}(\text{COO}^-) - \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_3\text{I}_3 - \text{O} - \text{C}_6\text{H}_3\text{I}_3 - \text{OH}$	Thyroid gland; is thyroid hormone (I = iodine)

**Selenocystein (U /Sec)**

➤ není kódovaný pímo

➤ „21. aminokyselina“

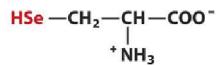
➤ kódovaný STOP kodónem UGA

+ tzv. SECIS (SElenoCysteine Insertion Sequence)

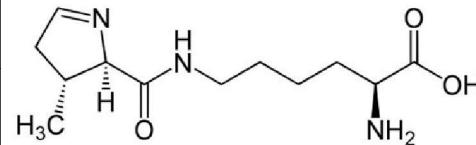
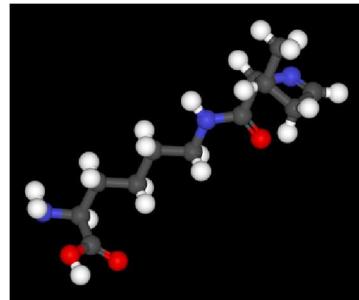
Eubakteria – SECIS v mRNA bezprost edn za UGA

➤ Archaea, živo ichové, bakterie – SECIS ve 3' UTR (untranslated region)

➤ Rostliny a houby selenoproteiny nevytvá eji. Dokážou selen zapracovávat do mnoha rzných nízkomolekulárních látek, které pro živo ichy, mají obdobnou hodnotu jako vitaminy – díky nim mžeme využívat stopová množství selenu rozptýlená v p d a jejím podloží.

**Selenocystein (U /Sec)****Významné selenoproteiny****Selenocysteine**

- Glutation-peroxidázy (GPx):** Rodina enzym , která chrání organismus p ed poškozením organickými peroxidy, peroxidem vodíku a hydroxylovými radikály, a už z prost edi anebo z produkce vlastního metabolizmu.
- Jodtyronin dejodázy (DI):** Hlavním produktem štítné žlázy je hormonáln slab aktivní tyroxin (3,5,3',5'-tetrajodtyronin)
- Tioredoxin reduktáz (TR):** Katalyzuj NADPH-dependentní redukci tioredoxinu a ady dalších substrát . Jsou významné pro proliferaci bun k a udržování reduk n -oxida ní rovnováhy tiol .
- Selenoprotein P (SelP):** Protein dosud nejasné funkce, patrn rovn ž antioxidant. Obsahuje nejvíce selenocystein – n které formy až 12. Rekord drží dáně pruhovaná (*Danio rerio*), akvarist m známá také pod jménem zeb i ka, v jejímž SelP je dokonce 17 selenocystein .
- Selenoprotein W (SelW):** Nejmenší selenoprotein, vyskytující se nejvíce ve svalech, ale by nalezen i v jiných tkáních. Zatím neznáme jeho funkci.
- Selenofosfát syntáza (SPS2):** Katalyzuje syntézu monoselenofosfátu ze selenidu a ATP za uvoln ní AMP a fosfore nanu.

**Pyrrrolisin (O /Pyl)**

➤ „22. aminokyselina“

➤ kódovaný STOP kodónem UAG

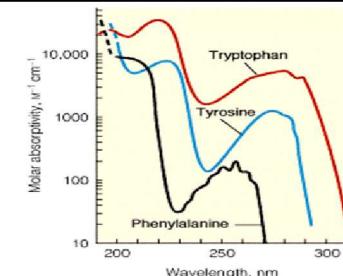
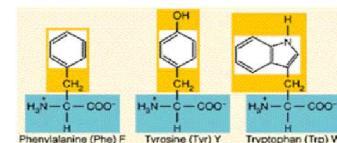
➤ výskyt archaeabakterie

*Methanosaerincaceae* a bakterii *Desulfotobacterium haefniense*, kóduje navíc i systém, kterým se do bílkovin zabudovává selenocystein, a tak tato bakterie p edstavuje zatím jediný známý organismus, který používá p i translaci všech 22 aminokyselin.

## Fyzikální a chemické vlastnosti aminokyselin

- optické vlastnosti:
  - ✓ optická aktivita
  - ✓ absorpcie – fluorescence
- amfionty – titrační kivky, pK, IEF ...
- peptidová vazba

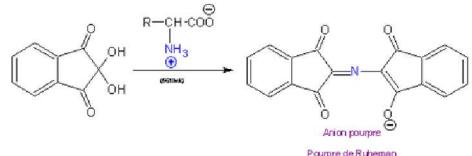
## UV absorbce a fluorescence



- všechny AA absorbují UV záření mezi 190-220 nm
- aromatické AA – absorbují mezi 265-285 nm
- určování koncentrace protein

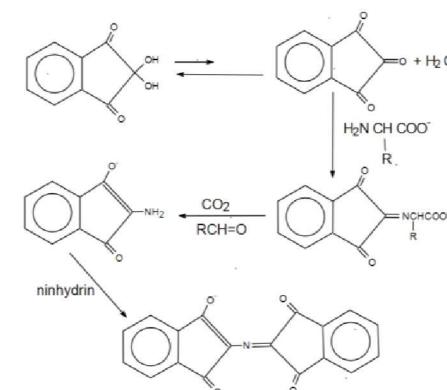
## Chemické vlastnosti

- chemicky reaktivní zejména na aminoskupin a postranním ketogenním zdrojem
- karboxylová skupina je relativně nereaktivní, pokud není aktivována
- ninhydrinová reakce – kvalitativní a kvantitativní detekce AA



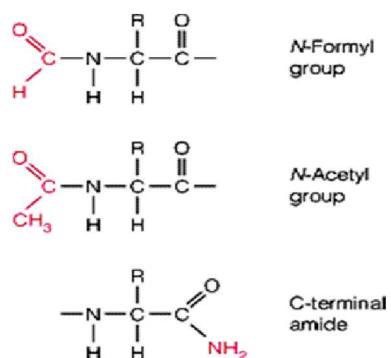
## Stanovení aminokyselin reakcí s ninhydrinem

Kvalitativním důkazem aminokyselin je modrofialové až hnědě zbarvení roztoku po reakci; prolín a hydroxyprolin poskytují žluté zbarvení.



### Skupiny blokující v proteinech N- i C-konec

**Blokace N-konce pomocí formylu i acetyluje daleko b ĥn jši, než modifikace C-konce na amid**



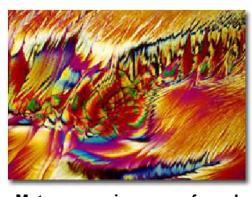
### Acido-bazické vlastnosti

AA mohou být donorem i akceptorem proton

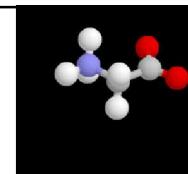
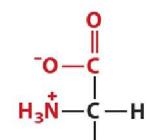
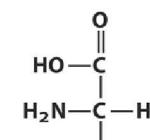
tzn. podle okolností se mohou chovat jako kyseliny nebo zásady

**amfolyty  
(amfoterní ionty – amfionty)**

**Aminokyseliny se v roztoku vyskytují ve form amfiont (zwitterionic form).**



#### Amfionty



- AA: v neutrálním roztoku jejich karboxylová skupina ztrácí proton a vzniká zní záporn nabité skupina  $-\text{COO}^-$ , aminoskupina zde proton p ijmá a vzniká kladn nabité skupina  $-\text{NH}_3^+$ .

- Volný náboj aminokyseliny, obsahující jednu karboxylovou a jednu aminovou skupinu, je tedy v neutrálním roztoku nulový. Pro každý amfion existuje ur itá hodnota pH, p i níz má nulový volný náboj: **izoelektrický bod**

- Izoelektrický bod** je taková hodnota pH roztoku, v n mž se amfion nepohybuje v elektrickém poli; to znamená, že jeho volný náboj je zde nulový.

### Acido-basické vlastnosti

**Rovnovážné konstanty:**

$$K_1 = \frac{[H^+][A^-]}{[A^+]}$$

$$K_2 = \frac{[H^+][A^-]}{[A^+]}$$

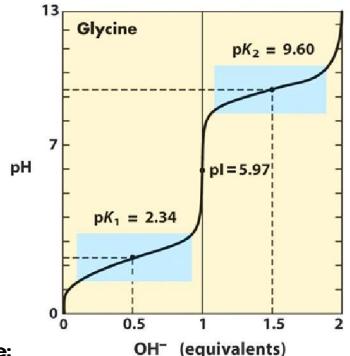
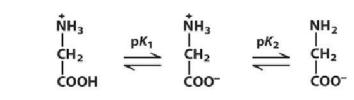
celkový náboj amfiontu: 2  
sou et všech náboj  
volný náboj amfiontu: 0  
algebraický sou et náboj

**Isoelektrický bod:**

$$pI = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2)$$

Henderson-Hasselbalchova rovnice:

$$pH = pK_a + \log \left( \frac{\text{Akceptor}_{H^+}}{\text{Donor}_{H^+}} \right)$$



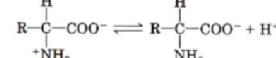
### Acido-basické vlastnosti

AA se chovají jako:

➤ slabá kyselina v

zásaditém prostředí

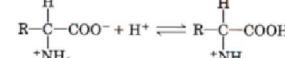
$$pK_2 \sim 9.98$$



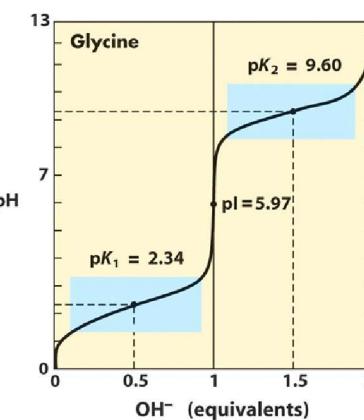
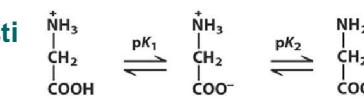
➤ slabá zásada v

kyselém prostředí

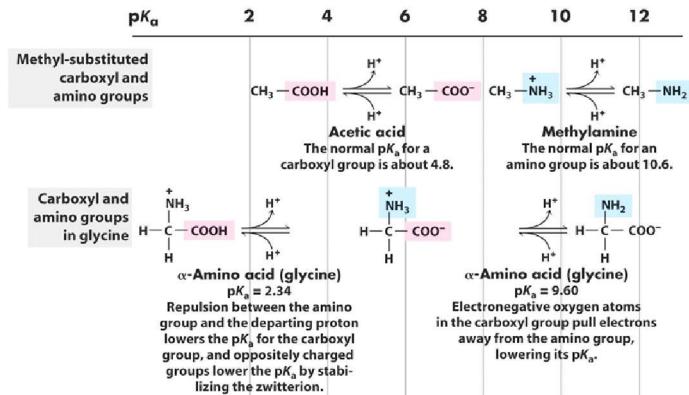
$$pK_1 \sim 2.2$$



➤ tvorba solí



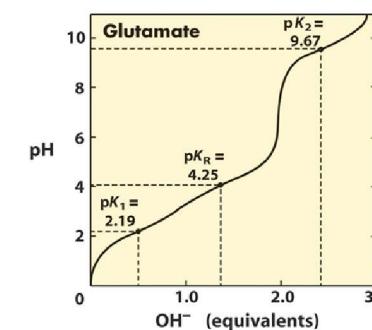
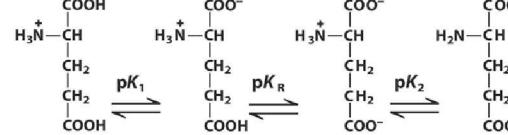
### Acido-basické vlastnosti

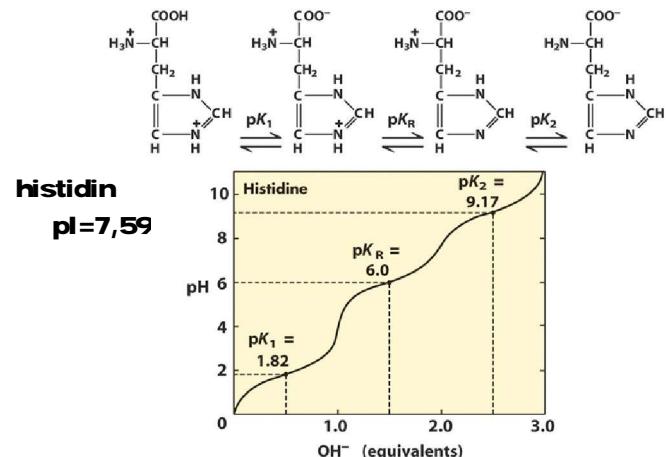


### Acido-basické vlastnosti

glutamat

$$pI = 3.22$$



**Acido-basické vlastnosti****Aminokyseliny****TABLE 3-1** Properties and Conventions Associated with the Common Amino Acids Found in Proteins  
 $pK_a$  values

Amino acid	Abbreviation/ symbol	$M_r$	$pK_1$ (-COOH)	$pK_2$ (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_R$ (R group)	$pI$	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%)†
<b>Nonpolar, aliphatic R groups</b>								
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	-0.4	7.2
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
<b>Aromatic R groups</b>								
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	-1.3	3.2
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89	-0.9	1.4

\*A scale combining hydrophobicity and hydrophilicity of R groups; it can be used to measure the tendency of an amino acid to seek an aqueous environment (- values) or a hydrophobic environment (+ values). See Chapter 11. From Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *J. Mol. Biol.* **157**, 105-132.

†Average occurrence in more than 1,150 proteins. From Doolittle, R.F. (1989) Redundancies in protein sequences. In *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation* (Fasman, G.D., ed.), pp. 599-623, Plenum Press, New York.

**Aminokyseliny****TABLE 3-1** Properties and Conventions Associated with the Common Amino Acids Found in Proteins  
 $pK_a$  values

Amino acid	Abbreviation/ symbol	$M_r$	$pK_1$ (-COOH)	$pK_2$ (-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	$pK_R$ (R group)	$pI$	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%)†
<b>Polar, uncharged R groups</b>								
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	-0.8	6.8
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87	-0.7	5.9
Cysteine	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41	-3.5	4.3
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65	-3.5	4.2
<b>Positively charged R groups</b>								
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	-3.9	5.9
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	-3.2	2.3
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	-4.5	5.1
<b>Negatively charged R groups</b>								
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	-3.5	5.3
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	-3.5	6.3

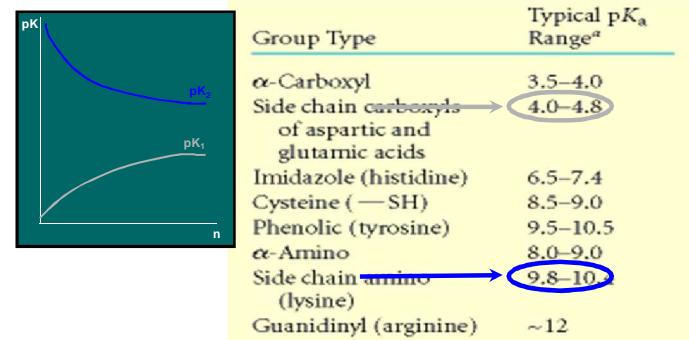
\*A scale combining hydrophobicity and hydrophilicity of R groups; it can be used to measure the tendency of an amino acid to seek an aqueous environment (- values) or a hydrophobic environment (+ values). See Chapter 11. From Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) A simple method for displaying the hydrophobic character of a protein. *J. Mol. Biol.* **157**, 105-132.

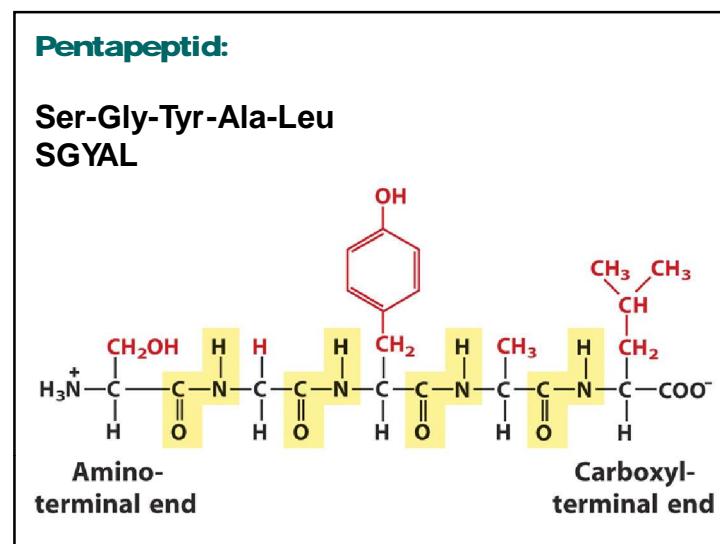
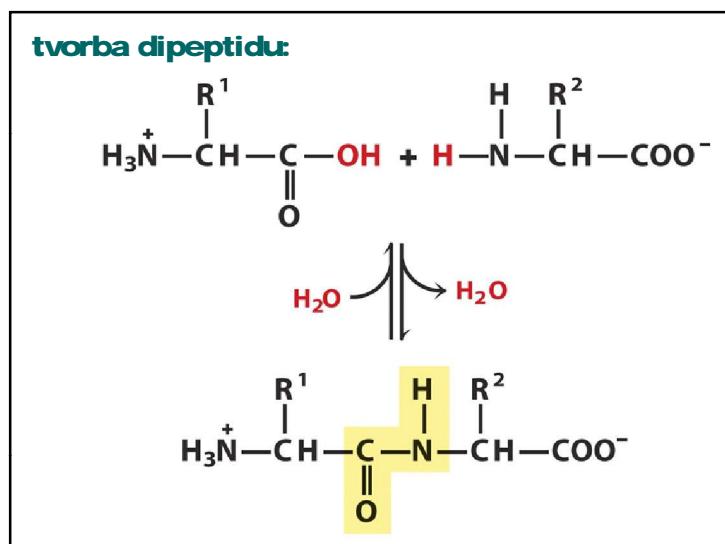
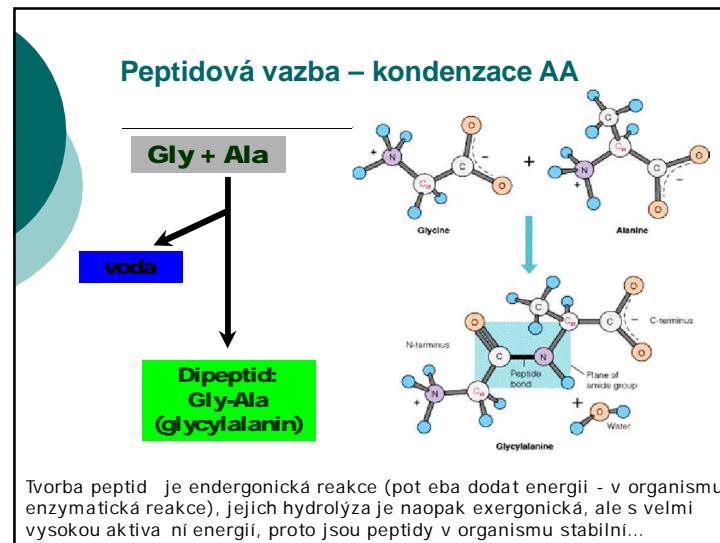
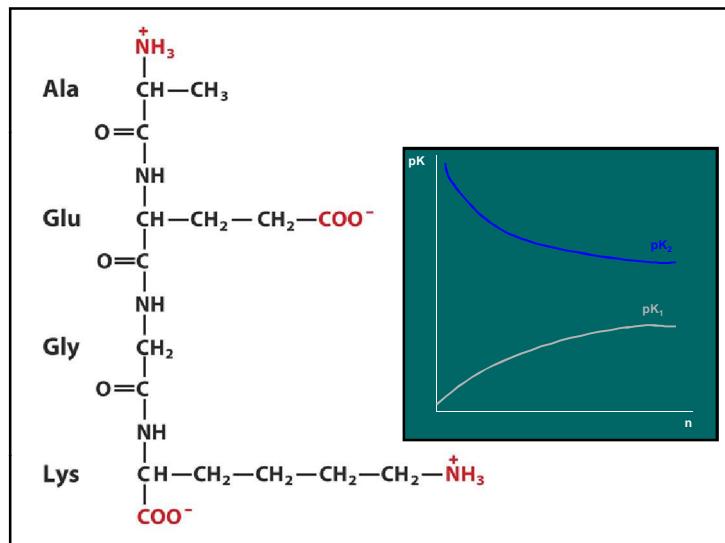
†Average occurrence in more than 1,150 proteins. From Doolittle, R.F. (1989) Redundancies in protein sequences. In *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation* (Fasman, G.D., ed.), pp. 599-623, Plenum Press, New York.

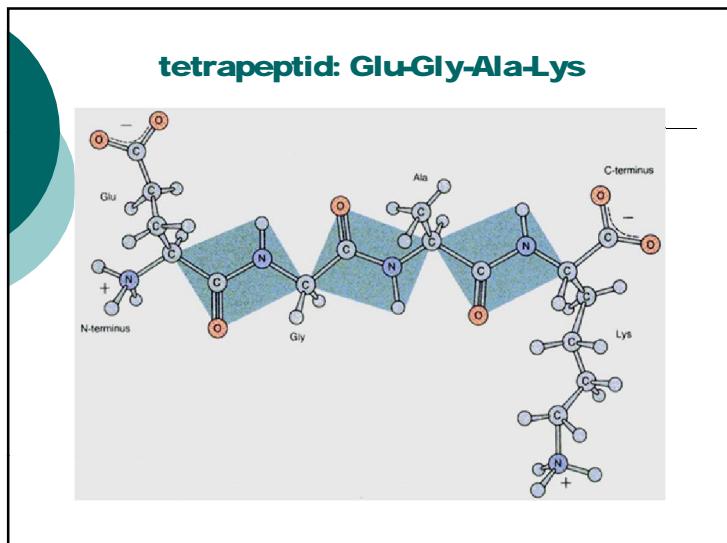
**jménější  $pK_a$ , tím silnější kyselina.**

**Typické hodnoty  $pK_a$  v proteinech:**

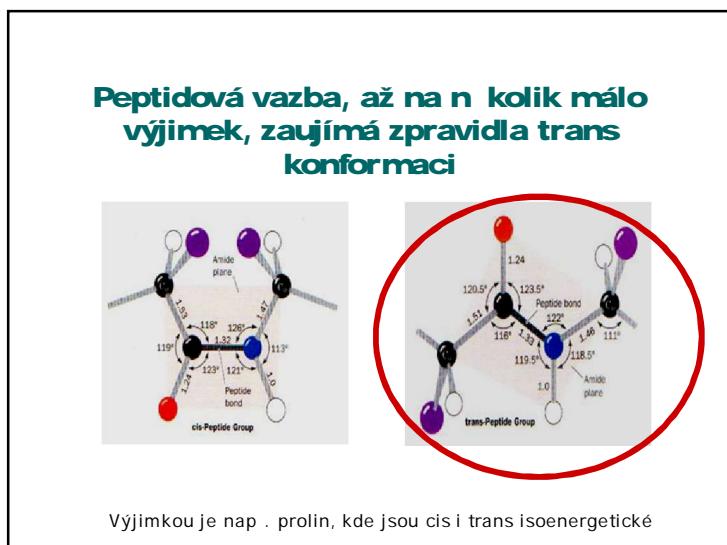
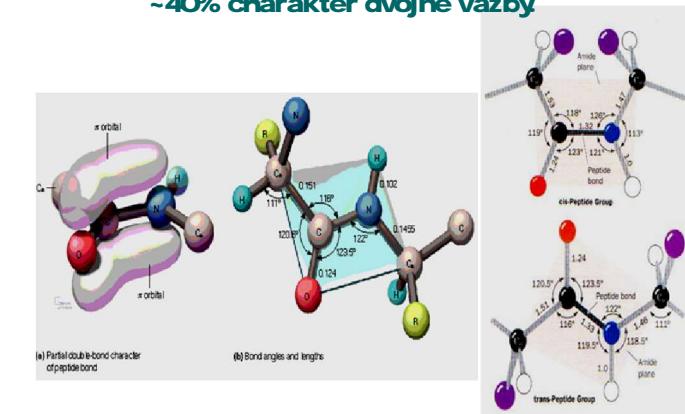
**! vliv peptidového et zce na  $pK_a$  !**



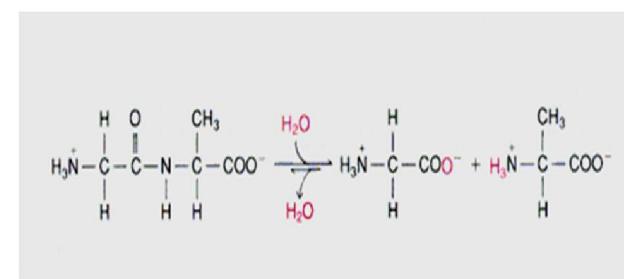


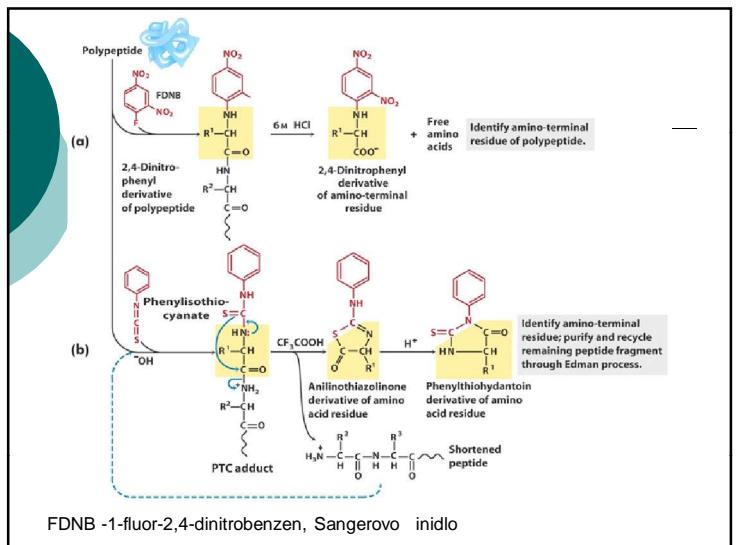


Peptidová vazba má rigidní, planární strukturu, což je dílčekem jejího resonančního charakteru, v podstatě má ze ~40% charakter dvojné vazby



**Hydrolyza peptidové vazby:**  
v 6M HCl za vysoké teploty  
nebo pomocí basí i enzymaticky  
(peptidasy)





## Syntéza peptid na pevné fázi



- polymerní nosič (resins) 20-50 μm v průměru
- ochranné skupiny:
  - ✓ t-Boc (tert-butyloxycarbonyl)
  - ✓ Fmoc (9-fluorenylmethoxycarbonyl)
- labilní ochrana peptidové skupiny (odstraní se před navázáním další AA)
- stabilní ochrana reaktivních skupin (odstraní se až po dokončení syntézy)
- na konci se peptid odstříví z nosiče

