

Lernaufgabe zu einem Thema aus der Peptidchemie

„Wie groß ist die theoretisch mögliche Zahl der Peptide bei vorgegebener Zahl verschiedener Aminosäuren?“

G. G. G. Manzardo

1 Einleitung

Nach *Grell und Grell* [1] sollen Lernaufgaben Lernende dazu anregen, diejenigen Verhaltensweisen auszuführen und zu üben, die durch das Lernziel angestrebt werden. Lernaufgaben sollen Lernenden die Möglichkeit geben, selbstständig Lernaktivitäten auszuführen und müssen den Fähigkeiten und Kenntnissen der Lernenden angepasst sein. Die Lernenden sollen bei der Bearbeitung einer Lernaufgabe möglichst erfolgreich sein und positive Erfahrungen machen können. Lernaufgaben brauchen also einen angemessenen Informationshintergrund und müssen in einem Sinnhorizont eingebettet sein. Von den gleichen Autoren wird auch eine ausführliche Aufstellung der Elemente gegeben, die eine Lernaufgabe beinhalten kann.

2 Vorausgesetzte Kenntnisse für die Lösung der Lernaufgabe

- Funktionelle Gruppen: Carbonsäure, Amin, Carbonsäureamid
- Kondensationsreaktion Carbonsäure + Amin \rightarrow Carbonsäureamid + H₂O
- allgemeine (Konstitutions-)Formel einer α -Aminosäure („Aminosäure“): H₂N-CH(R)-COOH
- α -Aminosäuren als Bausteine von Proteinen
- Konstitutionsisomerie
- Polymer
- linear (= unverzweigt)

3 Erwartete Problemlösungsprozesse

- bei den Kombinationsmöglichkeiten Peptide aus gleichen Aminosäurebausteinen mitberücksichtigen
- erkennen, dass die alternative Verknüpfung zweier gleicher Aminosäuren zu zwei *konstitutionsgleichen* Dipeptiden führt, die alternative Verknüpfung zweier verschiedener Aminosäuren aber zu zwei *konstitutionsisomeren* Dipeptiden führt
- die Berücksichtigung der Anordnung der Aminosäurebausteine vom Dipeptid auf den Tripeptid-Fall übertragen
- merken, dass die Frage nach der theoretisch möglichen Zahl der Peptide bei vorgegebener Zahl verschiedener Aminosäuren ein Problem aus der Kombinatorik darstellt

4 Lernaufgabe

(wie sie den Lernenden ausgehändigt wird)

Thema: Es handelt sich um ein Thema aus der Peptidchemie. Peptide entstehen (formal) durch Kondensation von Aminosäuren. Ein Tripeptid zum Beispiel besteht aus drei Aminosäurebausteinen und gehört damit nach den Nomenklaturrichtlinien zu den Oligopeptiden (weniger als 10 bis 15 Aminosäurebausteine). Oligopeptide sind in der Natur weit verbreitet und besitzen häufig spezifische biologische Wirkungen (Beispiele: Hormone, Antibiotika, Toxine, Geschmacksstoffe).

Lernziele: Die Lernenden können

- bei vorgegebener Zahl verschiedener Aminosäuren, die Konstitutionsformeln aller theoretisch möglichen Peptide aufzeichnen
- die Formelkurzschreibweise eines Peptids in die entsprechende Konstitutionsformel übersetzen
- den Peptiden/Proteinen innewohnenden Variationsreichtum an einem Beispiel aufzeigen

Diese Lernaufgabe zeigt Folgendes: Mit der Zahl der für den Aufbau eines Peptids zur Verfügung stehenden verschiedenen Aminosäuren nimmt die theoretisch mögliche Zahl der Peptide rasch zu.

Das Gelernte illustriert den „unendlich“ großen Variationsreichtum, der bei Proteinen möglich ist: Für den Aufbau von Proteinen (natürliche, lineare Polymere aus mehr als 50 Aminosäurebausteinen) stehen der Natur 20 so genannte proteino gene Aminosäuren zur Verfügung. Auch wenn die Zahl von 20 Aminosäuren auf den ersten Blick gering erscheinen mag, die theoretisch mögliche Zahl von Proteinen nimmt im wahrsten Sinne des Wortes astronomische Werte an!

Ausführungsbestimmungen: Die Bearbeitung der Aufgabe erfolgt in Vierergruppen. Es stehen dazu 30 Min. zur Verfügung. Die Lösungsvorschläge sollen auf das ausgehändigte Flipchartblatt übertragen werden (Flipchartstifte stehen zur Verfügung).

Bewertung: Jede Gruppe stellt ihre Arbeit vor. Die Gruppenmitglieder sollen dabei die Überlegungen rekapitulieren, die zu den auf dem Flipchartblatt dargestellten Peptiden geführt haben (höchstens 5 Min. pro Gruppe) und eventuelle Fragen aus der Klasse beantworten. Die Aufgabe ist gut bearbeitet, wenn alle Dipeptide sowie mehr als die Hälfte der Tripeptide angegeben wurden. Der erarbeitete Stoff gehört zum Prüfungsstoff einer der nächsten Prüfungen.

Typische Prüfungsfrage: Zeichnen Sie die Konstitutionsformel des Tripeptids Ala-Ser-Val (Alanin: R = CH₃; Serin: R = CH₂OH; Valin: R = CH(CH₃)₂). Geben Sie zudem mit der Formelkurzschreibweise alle Konstitutionsisomere von Ala-Ser-Val an.

Aktivitäten:

- Es stehen Ihnen die Aminosäuren Alanin ($R = CH_3$) und Serin ($R = CH_2OH$) zur Verfügung. Finden Sie heraus, wieviele Dipeptide (Peptide bestehend aus zwei Aminosäurebausteinen) damit aufgebaut werden können. Peptide entstehen formal durch Kondensation der α - NH_2 -Gruppe einer Aminosäure mit der $COOH$ -Gruppe einer zweiten Aminosäure.
Zeichnen Sie die Konstitutionsformeln der Dipeptide. Befolgen Sie dabei die Vereinbarung, dass die Aminosäure mit freier NH_2 -Gruppe immer links steht. Bezeichnen Sie die Dipeptide auch mit der Formelkurzschreibweise (Aminosäurebausteine in der Drei-Buchstaben-Schreibweise, Alanin = Ala, Serin = Ser, durch Bindestriche miteinander verbunden; vgl. „Typische Prüfungsfrage“ weiter oben).
- Finden Sie mit den gleichen beiden Aminosäuren heraus, wieviele Tripeptide (Peptide aus drei Aminosäurebausteinen) damit aufgebaut werden können. Verwenden Sie dazu keine Konstitutionsformeln sondern Formelkurzschreibweisen.
- Zwischen der Zahl verschiedener Aminosäuren und der theoretisch möglichen Zahl Z der Peptide besteht ein einfacher mathematischer Zusammenhang der Form $Z = a^b$. Wie lautet die Formel? Überprüfen Sie die Formel für das Beispiel drei Aminosäuren/Dipeptid.

5 Anmerkungen für die Lehrperson

Zu den vorausgesetzten Kenntnissen für die Lösung der Lernaufgabe

Die Lernaufgabe bietet die Gelegenheit, eine auch für die Biochemie und Biologie sehr wichtige Reaktion zu rekapitulieren, nämlich die Kondensationsreaktion: Bei einer Kondensationsreaktion verknüpfen sich zwei Moleküle unter Abspaltung eines einfacheren Moleküls wie z. B. Wasser zu einem grösseren Molekül. Bevor die Lernaufgabe in Angriff genommen wird, sollten an der Wandtafel die zur Lösung der Aufgabe relevante Reaktion ($R-COOH + H_2N-R' \rightarrow R-CONH_2-R' + H_2O$) und die allgemeine Formel einer α -Aminosäure kurz repetiert bzw. besprochen werden. Zuvor kann auch auf die bereits bekannte Kondensationsreaktion der Carbonsäureesterbildung aus einer Carbonsäure und einem Alkohol hingewiesen und auch diese Reaktion zusammen mit der Carbonsäureamidbildung an die Wandtafel geschrieben werden.

Zum Namen und zur Einteilung der Peptide

Der Name Peptide ist auf *Emil Fischer* (1852–1919) zurückzuführen, der aus den ersten vier Buchstaben der Bezeichnung *Peptone* (Spaltprodukte des Pepsinabbaus von Proteinen; griech. *peptos* = verdaut) und den drei Endbuchstaben des Kohlenhydratbegriffs *Polysaccharide*, die ebenfalls aus monomeren Bausteinen aufgebaut sind, den Namen für diese Verbindungsklasse prägte. Neben unverzweigten Peptiden kommen auch verzweigte sowie cyclische und cyclisch verzweigte Vertreter vor. Die Unterteilung zwischen Polypeptiden (Zahl der Aminosäurebausteine < 100) und Proteinen ist aus chemischer Sicht nicht gerechtfertigt; sie basiert auf einem antiquiertem, laborpraktischen Kriterium (Dialysierbarkeit durch natürliche Membranen). Oft wird die Grenze zwischen Peptiden und Proteinen (z. B. IUPAC) bei 50 Aminosäurebausteinen gezogen.

Zur Herstellung von Peptiden

Peptide entstehen nur *formal* durch Kondensation der α -Aminogruppe einer Aminosäure und der Carbonsäuregruppe einer zweiten Aminosäure. Bringt man nämlich eine Carbonsäure mit einem Amin zusammen, so bildet sich nicht ein Amid, sondern ein Salz. Bei der Synthese eines Dipeptids a-b würde zudem noch folgendes Problem auftreten: Neben a-b würden auch die Dipeptide b-a, a-a und b-b gebildet und außerdem höhere Oligomere (Trimere, Tetramere, usw.), weil die Dipeptide weiterhin eine freie Amino- und eine freie Carbonsäuregruppe besäßen. Aus diesen Gründen müssen für die Synthese eines Peptids spezielle Methoden bzw. Strategien angewendet werden.

Im Jahre 1955 wurde dem amerikanischen Biochemiker *Vincent du Vigneaud* der Chemie-Nobelpreis „für seine Arbeiten über biochemisch bedeutsame Schwefelverbindungen, insbesondere für die erste Synthese eines Polypeptidhormons“ verliehen: Bei diesem Peptid handelt es sich um das Nonapeptid Oxytocin, ein cyclisch verzweigtes Oligopeptid (Disulfid). In der Laudatio wurde ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die Aminosäuren in einer bestimmten Reihenfolge zusammengefügt sein müssen, damit das Syntheseprodukt die gleiche physiologische Aktivität zeige wie das Naturprodukt. In der Tat: Jede Veränderung der Reihenfolge führt zu einem konstitutionsisomeren Peptid mit verschiedenen physikalisch-chemischen bzw. biologischen Eigenschaften. Von Oxytocin, das aus acht verschiedenen Aminosäuren aufgebaut ist (es enthält zwei Cysteinbausteine) sind notabene $9!/2! = 181\,440$ Konstitutionsisomere möglich! (Zur Berechnungsformel vgl. weiter unten.) Nebenbei sei bemerkt, dass mit der heutigen automatisierten Methode mit dem Peptidsynthesizer der Zeitaufwand für die Synthese von Oxytocin für einen Laboranten oder eine Laborantin zwei Tage beträgt, während im Labor von *Vincent du Vigneaud* dafür etwa sechs Mann-/Fraujahre erforderlich waren [2].

Zur Berechnung der theoretisch möglichen Zahl der Peptide

Die Formel zur Berechnung der theoretisch möglichen Zahl Z der Dipeptide lautet $Z = n^2$ ($n =$ Zahl verschiedener Aminosäuren) und für Tripeptide ist $Z = n^3$. Mit folgender Überlegung kann Z für ein Dipeptid z. B. im Falle von drei verschiedenen Aminosäuren ($n = 3$) erhalten werden: Jede der drei Aminosäuren kann im Molekül irgend eine der beiden Positionen besetzen. Es gibt drei Möglichkeiten für die erste Position und wiederum drei Möglichkeiten für die zweite Position, gesamthaft also $3 \cdot 3 = 9$ Möglichkeiten: a-a, b-b, c-c, a-b, b-a, a-c, c-a, b-c und c-b. In der Sprache der Kombinatorik heißt das Problem „Variationen mit Wiederholung“ und es gilt [3]: Die Anzahl der Variationen von n Elementen zur k -ten Klasse, bei denen sich die einzelnen Elemente bis zu k -mal wiederholen, ist n^k . Beispiel: Die Anzahl der Variationen von drei Aminosäuren ($n = 3$) in einem Dipeptid ($k = 2$), bei denen sich die einzelnen Aminosäuren bis zu zweimal wiederholen, ist $3^2 = 9$.

Zur Berechnung der Zahl der Peptide, wenn jede Aminosäure nur einmal vorkommen darf

Darf im Dipeptid jede Aminosäure nur einmal vorkommen, reduziert sich die Zahl im obigen Fall um die drei Vertreter a-a, b-b und c-c, was gesamthaft $9 - 3 = 6$ Möglichkeiten ergibt. Es gilt für Variationen, bei denen alle Elemente voneinander verschieden sind [3]: Die Anzahl der Variationen von n Elementen zur k -ten Klasse ist $n!/(n-k)!$.

Beispiel: Die Anzahl der Variationen von drei Aminosäuren ($n = 3$) in einem Dipeptid ($k = 2$) ist $3!/(3-2)! = 6$.

Zur Berechnung der Zahl der Konstitutionsisomeren eines Peptids

Ist ein Peptid vorgegeben und geht es darum, die Anzahl der Konstitutionsisomeren zu berechnen, entspricht dies der Anzahl der Permutationen ohne oder mit Wiederholung. Es gilt für den Fall ohne Wiederholung [3]: Die Anzahl der Permutationen aus n voneinander verschiedenen Elementen ist $n!$. Die Formel $n!/(n-k)!$ (vgl. weiter oben) vereinfacht sich wegen $n = k$ zu $n!/0! = n!$ ($0!$ wird 1 gesetzt). Beispiel: Die Anzahl der Permutationen von drei verschiedenen Aminosäuren ($n = 3$) ist $3! = 6$ (a-b-c, a-c-b, b-a-c, b-c-a, c-a-b, c-b-a). Für den Fall mit Wiederholung gilt [3]: Die Anzahl der Permutationen von k Elementen, von denen das i -te Element n_i -mal ($i = 1, 2, \dots, k$) auftritt, ist $n!/(n_1! \cdot n_2! \cdot \dots \cdot n_k!)$. Beispiel: Für drei Aminosäuren ($k = 3$), von denen die Aminosäure a einmal ($n_1 = 1$) und die Aminosäure b zweimal ($n_2 = 2$) auftritt ($n = n_1 + n_2 = 1 + 2 = 3$), ist die Anzahl Permutationen $3!/2! \cdot 1! = 6/2 = 3$ (a-b-b, b-a-b, b-b-a).

Zur Chiralität von proteinogenen Aminosäuren

Mit Ausnahme von Glycin ($R = H$) sind alle Aminosäuren chiral. Bei Aminosäuren mit einem einzigen Chiralitätszentrum sind jeweils zwei Stereoisomere (ein Enantiomerenpaar), bei Threonin und Isoleucin mit zwei Chiralitätszentren im Molekül jeweils vier Stereoisomere (zwei Enantiomerenpaare) möglich. Da in der Natur bei allen chiralen Aminosäuren jeweils immer nur ein und dasselbe Stereoisomere auftritt, sind die Formeln zur Berechnung der Kombinationsmöglichkeiten nicht nur auf der Ebene der Konstitution sondern auch für die Naturstoffe gültig.

Zur theoretisch möglichen Zahl von Proteinen

Die Zahl der proteinogenen Aminosäuren wird meist mit 20 angegeben; darin eingeschlossen ist Prolin (genau genommen eine Iminosäure), jedoch nicht die seltene Aminosäure Selenocystein. Mit 20 Aminosäuren sind theoretisch $20^2 = 400$ Dipeptide möglich. Im Tripeptid-Fall erhöht sich die Zahl bereits auf $20^3 = 8000$. Für ein lineares Dodecapeptid (12 Aminosäurebausteine) gibt es $20^{12} = 4,096 \cdot 10^{15}$ Möglichkeiten; wenn jede Aminosäure jeweils nur einmal vorkommen darf, sind es immer noch $20!/((20-12)!) = 20!/8! = 6,03 \cdot 10^{13}$ Dodecapeptide. Wagt man den Sprung zu Proteinen (die aus mehreren 1000 Aminosäuren aufgebaut sein können), so lassen sich ausgehend von 20 Aminosäuren bei einer Kettenlänge von 100 Bausteinen, was einem sehr kleinen Protein entspricht, die unvorstellbar riesige Zahl von $20^{100} = 1,27 \cdot 10^{130}$ Proteinen berechnen! (Relativ dazu ist die Zahl der Atome, aus denen unsere Erde besteht, winzig: Aus der Masse der Erde ($6 \cdot 10^{27}$ g) und unter der Annahme, dass die Erde nur aus dem leichtesten (!) Element Wasserstoff ($1,66 \cdot 10^{-24}$ g/Atom) besteht, lässt sich die Zahl von $3,6 \cdot 10^{51}$ Atomen ermitteln.) Der astronomischen Zahl von theoretisch möglichen Proteinen steht die winzigste kleine Zahl der Proteine des Lebens gegenüber. Diese Proteine reichen der Natur zur Erzeugung einer enormen biologischen Komplexität aus: Proteine übernehmen im menschlichen Körper die verschiedensten Aufgaben (Beispiele: Enzyme, Immunglobuline, Muskelproteine, Collagen).

Dies ist vielleicht nicht mehr so erstaunlich, wenn man bedenkt, dass einerseits Aminosäuren mit einer breiten Palette physikalisch-chemischer Eigenschaften zur Verfügung stehen und andererseits damit nahezu unbegrenzte Kombinationsmöglichkeiten bestehen. Eine Angabe über die Zahl menschlicher Proteine lässt sich, nebenbei bemerkt, nicht so einfach machen. Schon Abschätzungen für die Zahl menschlicher Gene variieren stark: So wurden in letzter Zeit Größenordnungen von $< 30\,000$, mindestens $85\,000$ bzw. $50\,000 - 100\,000$ publiziert [4]. Aufgrund post-translationaler Modifikationen ist die Abschätzung der Gesamtzahl menschlicher Proteine noch viel schwieriger.

Zum Geschmack von Oligopeptiden

Gewisse Oligopeptide schmecken bitter (vgl. [5], S. 34-36). Dies gilt z. B. für folgende Di- und Tetrapeptide: L-Leu-L-Leu, L-Ala-L-Leu, L-Leu-L-Ala, L-Phe-L-Gly-L-Phe-L-Gly und L-Phe-L-Gly-L-Gly-L-Phe. Bei Lebensmitteln kann sich dies überall da störend bemerkbar machen, wo proteolytische Vorgänge ablaufen. So ist Bittergeschmack bei Käse, wo zugesetzte Mikroorganismen eine mehr oder weniger weitgehende Proteolyse bedingen, als Folge von Fehlräufungen bekannt (vgl. [5], S. 73 u. 532).

Das bekannteste Dipeptid mit süßem Geschmack ist der Dipeptid-methylester L-Asp-L-Phe-OMe (Aspartam, Zusatzstoff E 951). Der süße Geschmack dieses Dipeptides wurde in den Laboratorien der G. D. SEARLE Company in Chicago vom Chemiker *James Schlatter* 1965 zufällig entdeckt. Aspartam wird weltweit als nicht kalorigenes Süßungsmittel eingesetzt. Es verfügt über eine ca. 200fach stärkere Süßkraft im Vergleich zu Zucker (vgl. [5], S. 35 u. 434). Das bedeutet, dass nur 1/200 der entsprechenden Zuckermenge für die gleiche Süßkraft benötigt wird. Aufgrund dieser minimalen Menge (wenige 100 mg/kg) ist auch der zugefügte Kaloriengehalt vernachlässigbar gering.

Zu den Prüfungsfragen (Beispiele)

Bei der Hydrolyse von einem Mol eines Tripeptides entstehen 1 Mol Alanin ($R = CH_3$) und 2 Mol Glycin ($R = H$). Welche Tripeptide (Konstitutionsformeln und Formelkurzschreibweisen angeben) passen zu diesem experimentellen Befund? *Lösung:* Gesucht sind die konstitutionsisomeren Tripeptide bestehend aus einem Alanin-Baustein und zwei Glycin-Bausteinen. Davon gibt es drei, nämlich Ala-Gly-Gly, Gly-Gly-Ala, Gly-Ala-Gly.

Einige Tetrapeptide bestehend aus gleichen Anteilen der Aminosäuren L-Phenylalanin ($R = CH_2-C_6H_5$) und Glycin ($R = H$) schmecken bitter. Dies gilt z. B. für das Tetrapeptid L-Phe-Gly-L-Phe-Gly. Wie viele weitere Tetrapeptide (Formelkurzschreibweisen) mit dieser Zusammensetzung sind möglich? *Lösung:* Fünf weitere, nämlich L-Phe-L-Phe-Gly-Gly, Gly-Gly-L-Phe-L-Phe, Gly-L-Phe-Gly-L-Phe, Gly-L-Phe-L-Phe-Gly, L-Phe-Gly-Gly-L-Phe. (Die Gesamtzahl der Tetrapeptide erhält man mit: $4!/2! \cdot 2! = 24/4 = 6$ ($k = 2, n_1 = 2, n_2 = 2, n = n_1 + n_2 = 2 + 2 = 4$)).

Zu den Ausführungsbestimmungen und zur Bewertung

Selbstverständlich sind dies Vorschläge des Verfassers, die beliebig angepasst bzw. abgeändert werden können.

Literatur

- [1] J. Grell, M. Grell, „Unterrichtsrezepte“, Beltz, Weinheim, Basel 1999, S. 232-273.
- [2] Prof. B. Gutte (Universität Zürich), persönliche Mitteilung
- [3] W. Schäfer, K. Georgi, G. Trippler, „Mathematik-Vorkurs“, Teubner Verlag, Stuttgart, Leipzig, Wiesbaden, 2002.
- [4] z. B. Google-Suche mit den Stichworten „number human genes“
- [5] H.-D. Belitz, W. Grosch, P. Schieberle, „Lehrbuch der Lebensmittelchemie“, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2001.

Anschrift des Verfassers:

Dr. Giuseppe G. Manzardo, Ruhtalstrasse 12, CH-8400 Winterthur (Schweiz)