Capitolo 3 (testo Lehninger)

Amminoacidi, peptidi e proteine

Le proteine sono coinvolte in qualsiasi processo biologico!

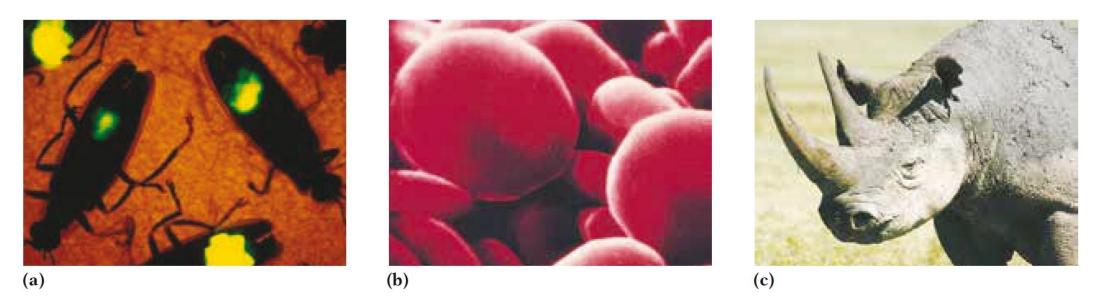


Figura 3.1 Alcune funzioni delle proteine. (a) La luce prodotta dalle lucciole è il risultato di una reazione che coinvolge la proteina luciferina e l'ATP, catalizzata dall'enzima luciferasi (vedi il Box 13.1). (b) Gli eritrociti contengono una grande quantità di emoglobina, una proteina che trasporta ossigeno. (c) La proteina cheratina, sintetizzata da tutti i vertebrati, è il principale componente strutturale di capelli, squame, corna, lana, unghie e piume. Il rinoceronte nero è ormai vicino

all'estinzione perché in alcune parti del mondo è diffusa la credenza che la polvere ottenuta dal suo corno abbia proprietà afrodisiache. In realtà le proprietà chimiche del corno polverizzato di rinoceronte non sono diverse da quelle delle corna bovine polverizzate o delle unghie dell'uomo. [Fonti: (a) Jeff J. Daly/Alamy. (b) Bill Longcore/Science Source. (c) Mary Cooke/Animals Animals.]

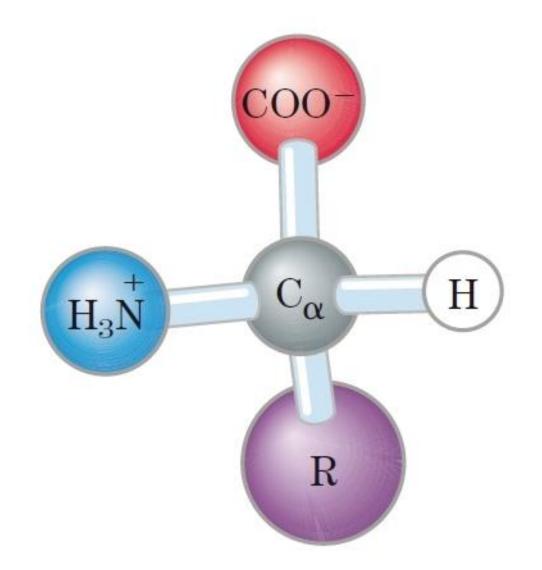


Figura 3.2 Struttura generale di un amminoacido. Questa struttura è comune a tutti gli α-amminoacidi, tranne uno (la prolina, un amminoacido ciclico, è l'eccezione.) Il gruppo R (o catena laterale, in color viola) è legato al carbonio α (in grigio) ed è diverso in ogni amminoacido.

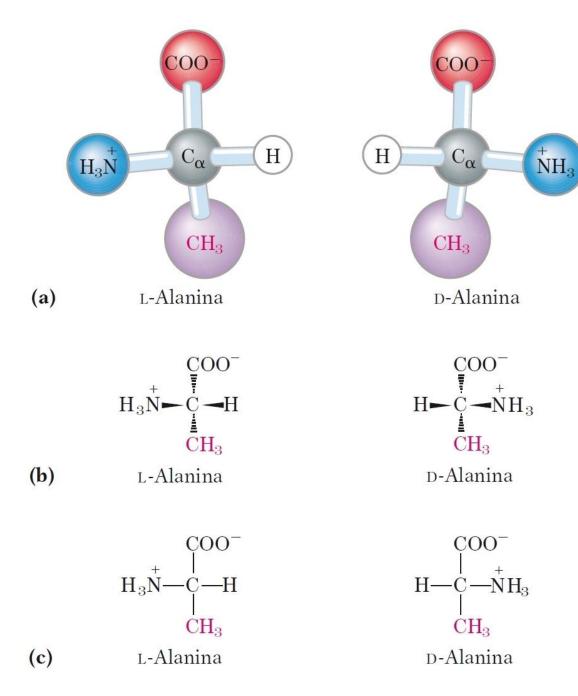
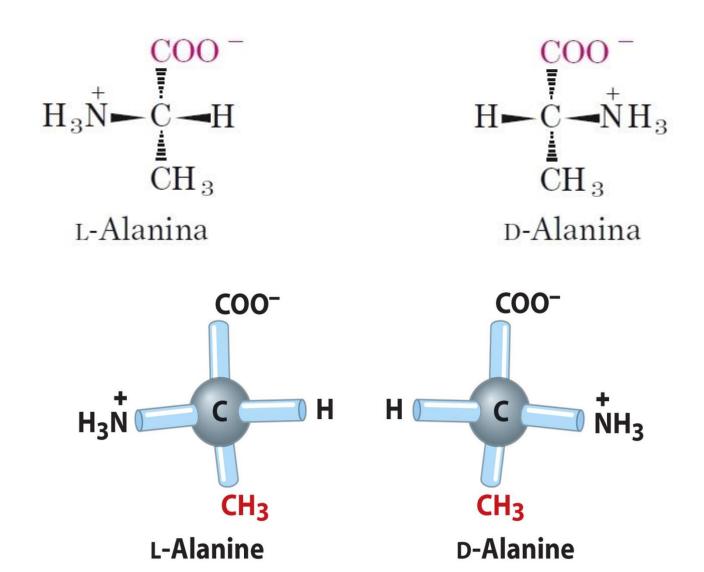
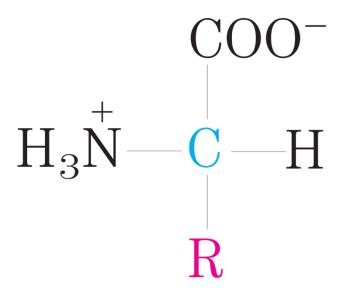


Figura 3.3 Stereoisomeria degli α-amminoacidi. (a) I due stereoisomeri dell'alanina, μ- e p-alanina, sono immagini speculari non sovrapponibili l'una rispetto all'altra (enantiomeri). (b, c) Le due diverse convenzioni che descrivono la configurazione nello spazio degli stereoisomeri. Nelle formule in prospettiva (b) i legami cuneiformi solidi si proiettano sopra il piano del foglio, mentre i legami indicati da un cuneo tratteggiato puntano sotto il piano del foglio. Nelle formule di proiezione (c) si assume che i legami orizzontali si proiettino sopra il piano, quelli verticali sotto il piano del foglio. Le formule di proiezione vengono spesso usate senza riferirsi a specifiche configurazioni stereochimiche.



Gli amminoacidi naturali che costituiscono Proteine e peptidi sono tutti : L-amminoacidi

AMMINOACIDI (AA) CELLULARI



Struttura generale di un α -amminoacido

R = catena laterale

Gli amminoacidi presenti nella cellula possono essere il prodotto di idrolisi delle proteine (αAA proteici o standard; αAA rari o non standard) o metaboliti liberi (AA non proteici).

Famiglie di amminoacidi

Gli amminoacidi che costituiscono le proteine sono 20 e sono codificati a livello del genoma.

Sulla base della natura della catena laterale sono raggruppati in 5 famiglie:

ALIFATICA NON POLARE
POLARE NON CARICA
AROMATICA
CARICA POSITIVAMENTE (BASICA)
CARICA NEGATIVAMENTE (ACIDA)

CARICHI
CARICA NON POLARE
NEUTRI (POLARI E NON)
CARICHI

Amminoacidi "acidi"

Amminoacidi "basici"

contengono nella catena laterale un altro gruppo -CO₂H

contengono nella catena laterale un altro gruppo -NH₂

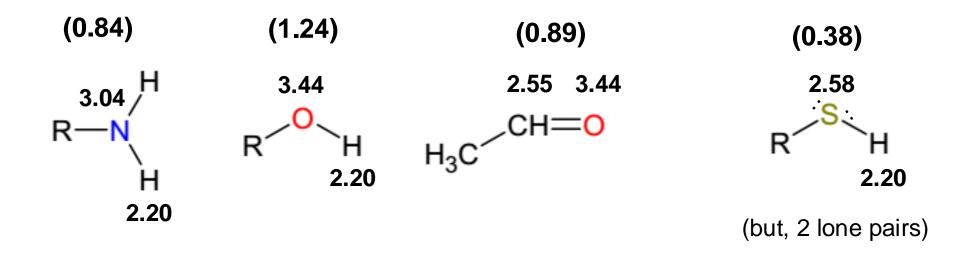
polari

contengono nella catena laterale un eteroatomo

Amminoacidi "neutri"

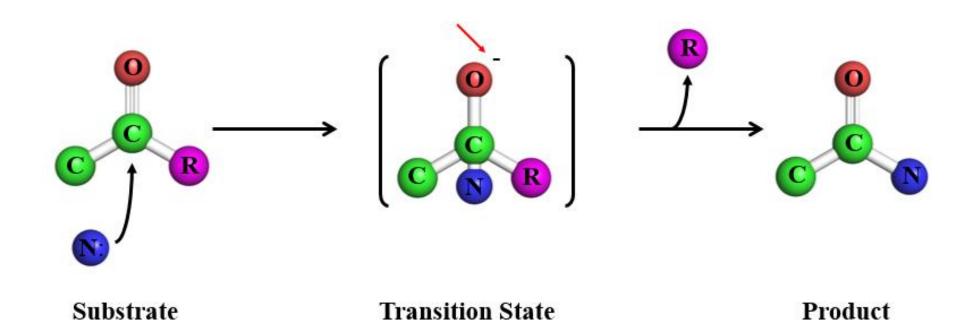
la catena laterale è idrocarburica

- Gli amminoacidi sono raggruppati in base alla polarità della catena laterale (side-chain polarity):
 - > Catene laterali polari:
 - > A causa della differenza in elettronegatività (O,N)
 - > A causa delle differenze nella distibuzione della densità elettronica (S)



Guida la reattività chimica degli amminoacidi:

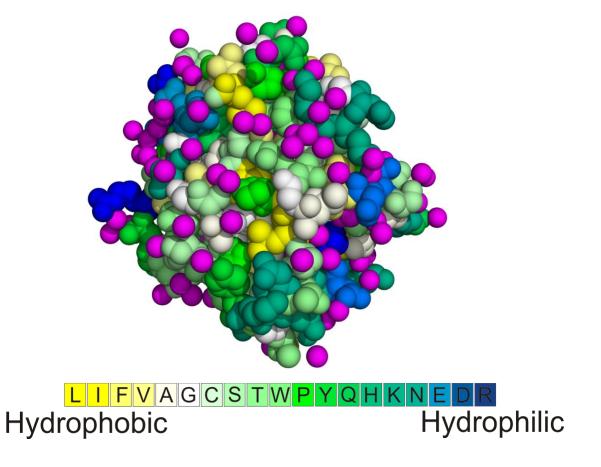
L'Attacco nucleofilo; la Catalisi acido-base, etc...

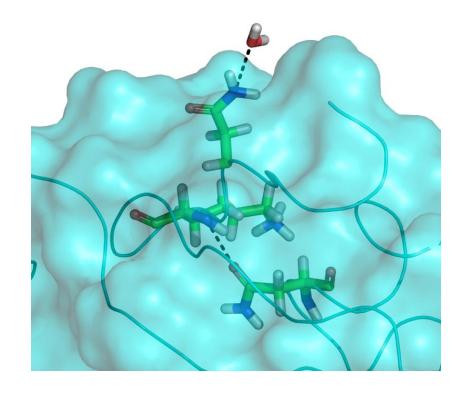


Perchè la polarità è così importante?

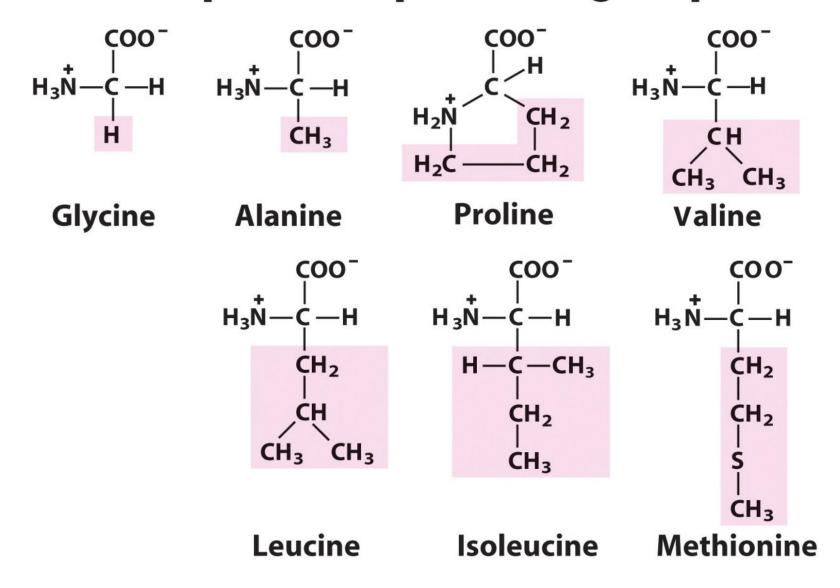
Definisce il tipo di interazioni non covalenti che si possono instaurare :

➤ Guida i processi di **protein folding** (=ripiegamento delle proteine nella loro struttura 3D) e determina complessivamente le proprietà di una proteina e dei suoi siti attivi e di legame





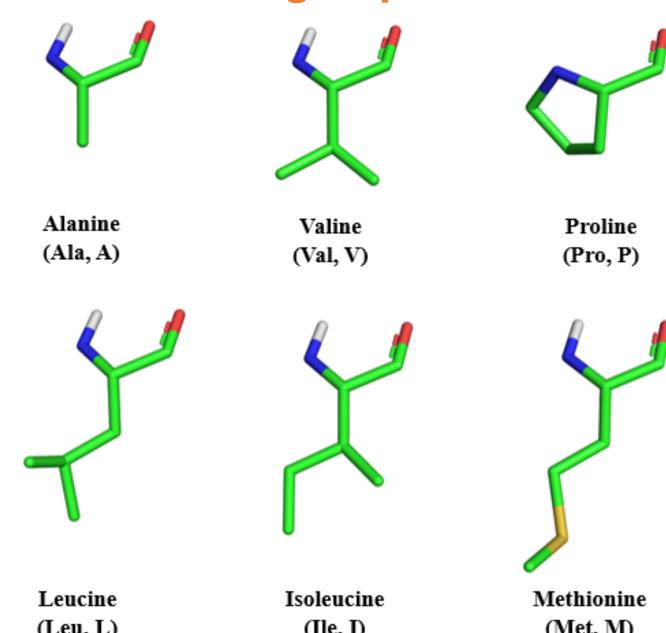
Nonpolar, aliphatic R groups



Contengono gruppi e legami tipo C-H, C-C, e C-S-C

Amino acids side-chain groups

Non polari, alifatici

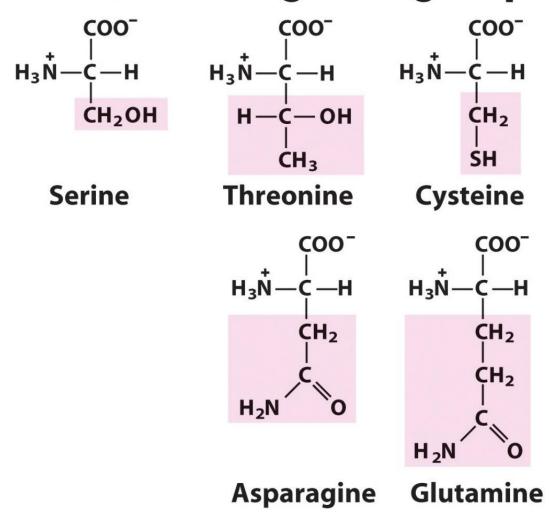


(Leu, L)

(Ile, I)

(Met, M)

Polar, uncharged R groups



> Serina/Treonina

1. Fosforilazione, glicosilazione

Fosforilazione

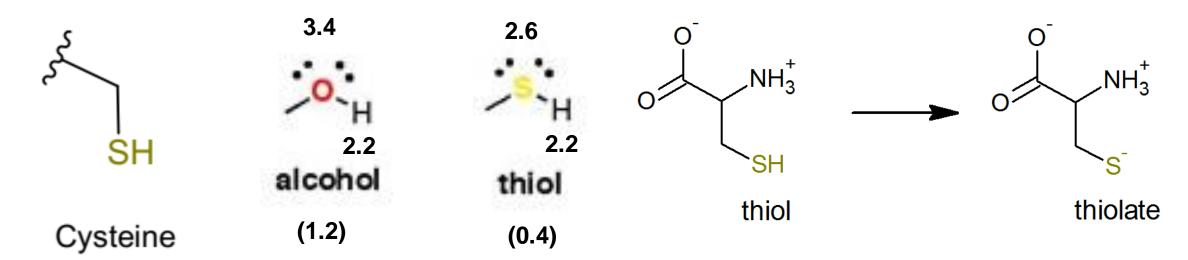
glicosilazione

- ➤ Serina/Treonina:
 - 2. Deprotonazione → catalisi nucleofila

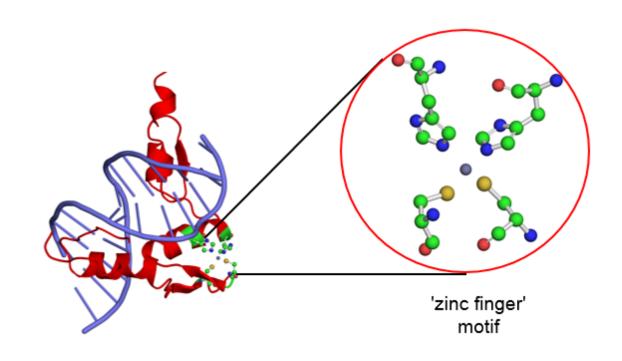
 $(serina/treonina-esterasi/proteasi) \\ O \\ NH_3^+ \\ OH \\ hydroxyl \\ hydroxylate$

> Cisteina:

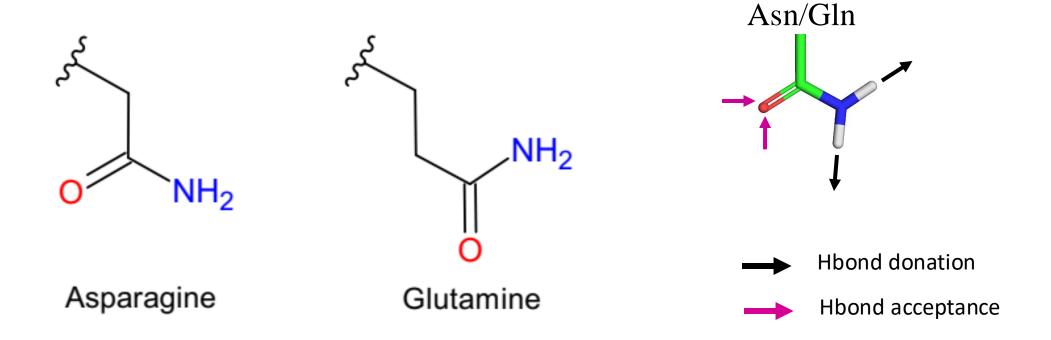
- S è più ingombrante di O/N → ha elettroni polarizzabili e debole elettronegatività
- può ossidarsi → ponti disolfuro, catalisi ossidoriduttiva
- limitata pKa (8.6) \rightarrow deprotonazione* \rightarrow può dar luogo a catalisi nucleofila



- > Cisteina:
 - S può ossidarsi e ridursi
 - Può dar luogo a coordinazione di metalli e cluster metallici/misti



- ➤ Asparagina/glutamina:
 - Possono formare ponti idrogeno → **Hbond networks**

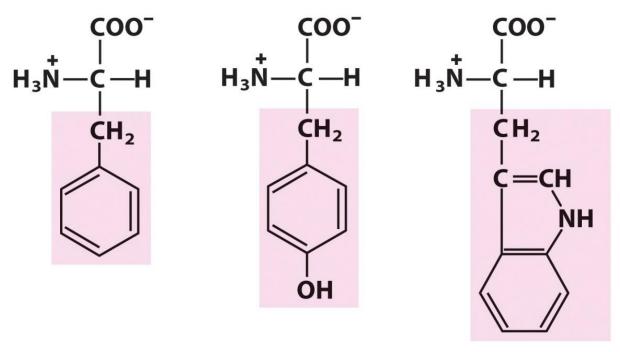


- > Asparagina:
 - **Glycosilazione** *N*-linked

Asparagine

N-acetylgalactosamine

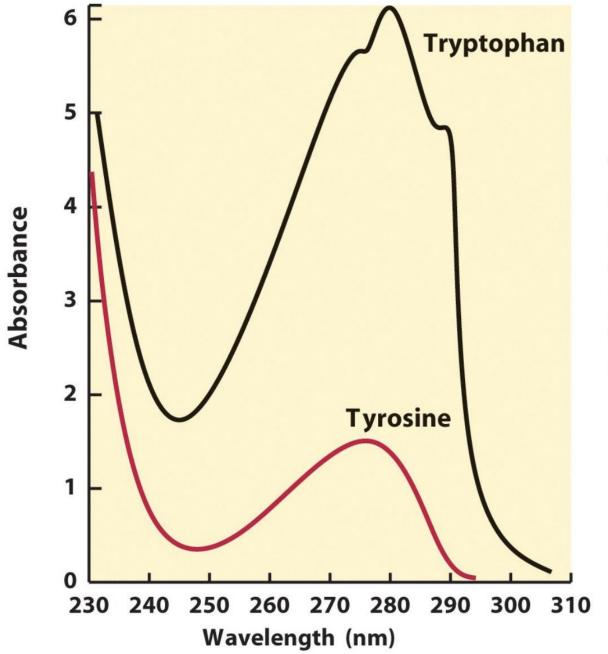
Aromatic R groups



Phenylalanine Tyrosine

Tryptophan

Phe, Trp non polari Tyr polare non carica



Triptofano, Tirosina e in minor quantità Fenilalanina assorbono la luce UV. Questo è il motivo per cui le proteine possiedono un caratteristico picco di assorbimento a 280 nm.

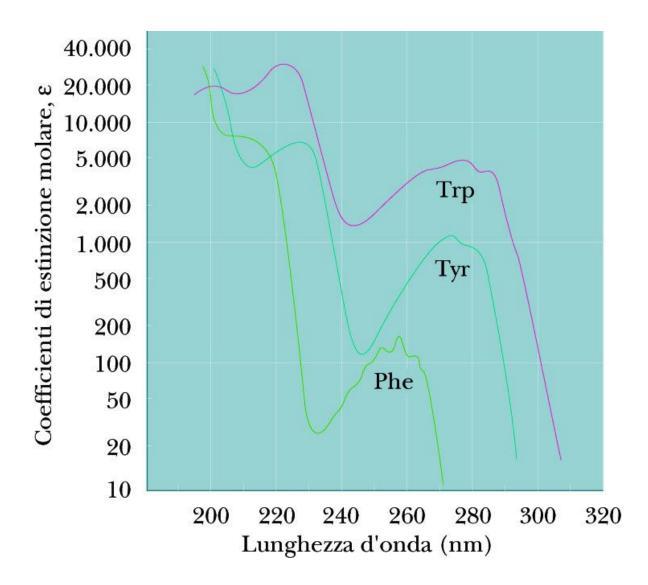
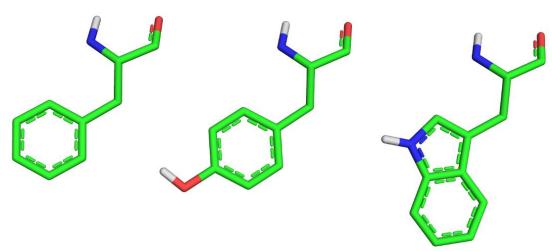


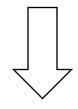
Figura 4.19 Gli spettri di assorbimento ultravioletto degli amminoacidi aromatici a pH 6 (*Da Wetlaufer D. B.,* 1962. Ultraviolet spectra of proteins and amino acids. Advances in Protein Chemistry **17:** 303–390.)

Amino acids side-chain groups

Residui Aromatici:

- Struttura planare
- Proprietà elettroniche peculiari della densità elettronica delocalizzata sull'anello



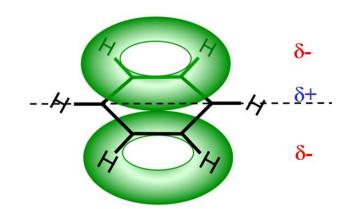


Phenylalanine (Phe, F)

Tyrosine (Tyr, Y)

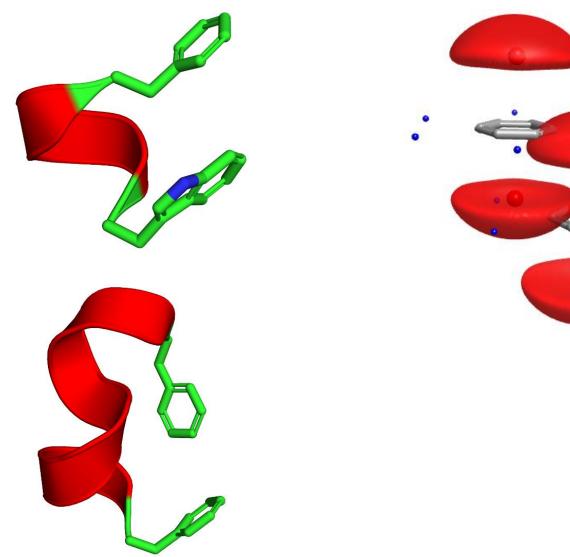
Tryptophan (Trp, W)

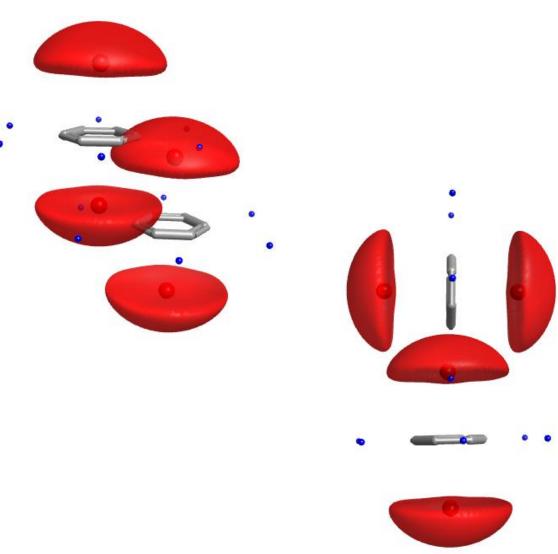
Interazioni specifiche con altri residui aromatici e con ligandi



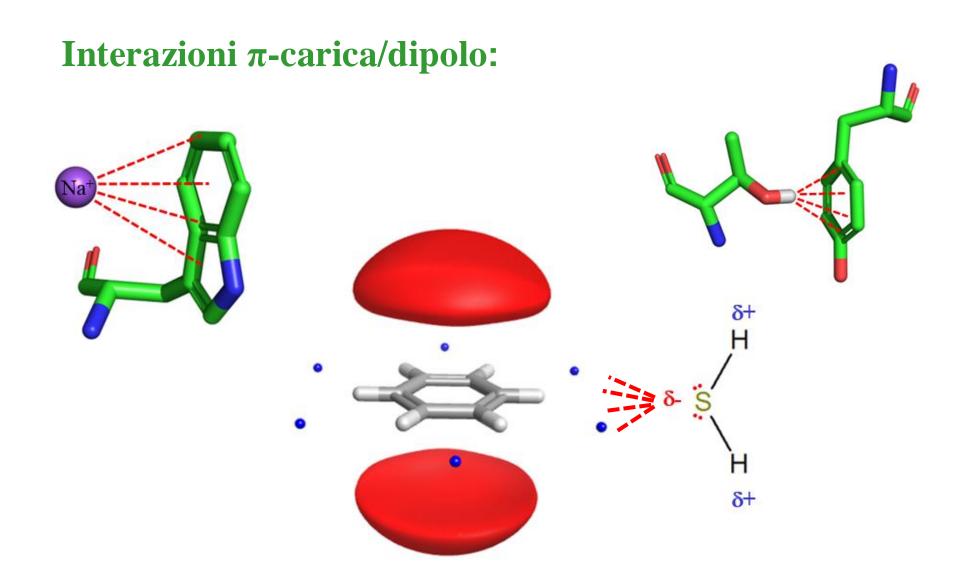
Interazioni Aromatiche

π - π interazioni:

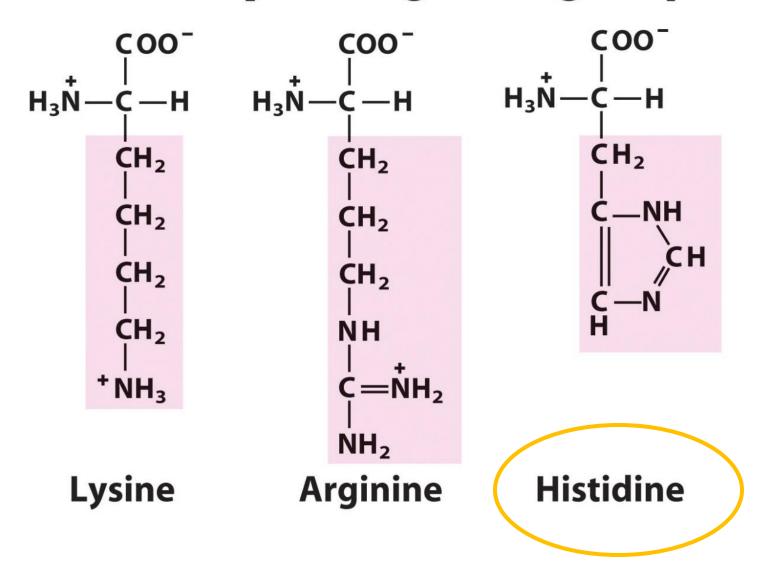




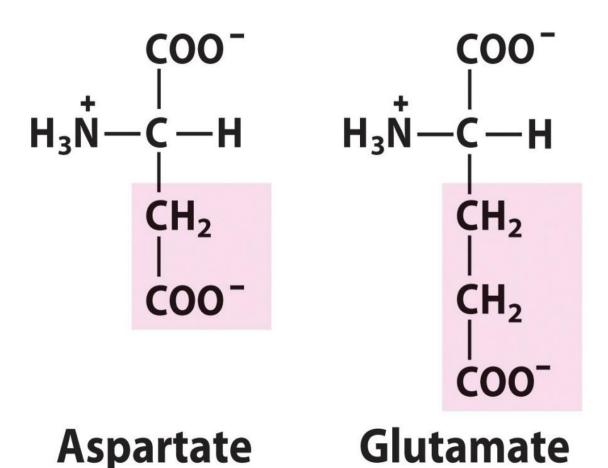
Interazioni Aromatiche

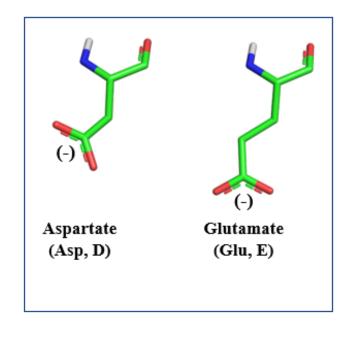


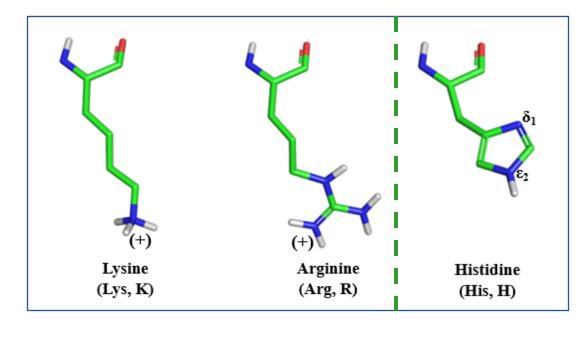
Positively charged R groups



Negatively charged R groups







(3.9) (4.3)

(10.4) (12.3) (6.5)

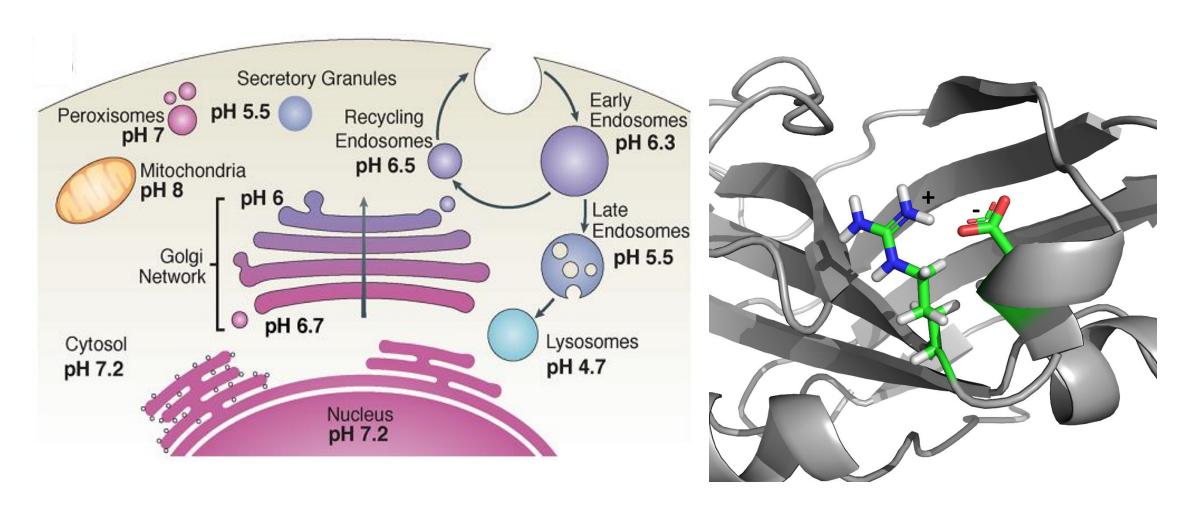
 $COOH \leftrightarrow COO_{-} + H_{+}$

$$NH_3^+ \leftrightarrow NH_2 + H^+$$

TABLE 2.3 pKa values of amino acid side chains.

Residue	Deprotonation Process*a	pKa _{int} *b	pKa _{prot} *c
Serine	$R-OH \longleftrightarrow R-O^- + H^+$	~13	
Threonine	$R-OH \longleftrightarrow R-O^- + H^+$	~13	
Arginine	$R_1 = NH_2^+ \longleftrightarrow R_1 = NH + H^+$	12.3*d	
Lysine	$R-NH_3^+ \longleftrightarrow R-NH_2 + H^+$	10.4	10.5 ± 1.1
Tyrosine	$R-OH \longleftrightarrow R-O^- + H^+$	9.8	10.3 ± 1.2
Cysteine	$R-SH \longleftrightarrow R-S^- + H^+$	8.6	6.8 ± 2.7
Histidine	$R_1 = NH^+ - R_2 \longleftrightarrow R_1 = N - R_2 + H^+$	6.5	6.6 ± 1.0
Glutamate	$R-COOH \longleftrightarrow R-COO^- + H^+$	4.3	4.2 ± 0.9
Aspartate	$R-COOH \longleftrightarrow R-COO^- + H^+$	3.9	3.5 ± 1.2

• Protonazione / stati di protonazione condizionati dai valori di pH nelle cellule

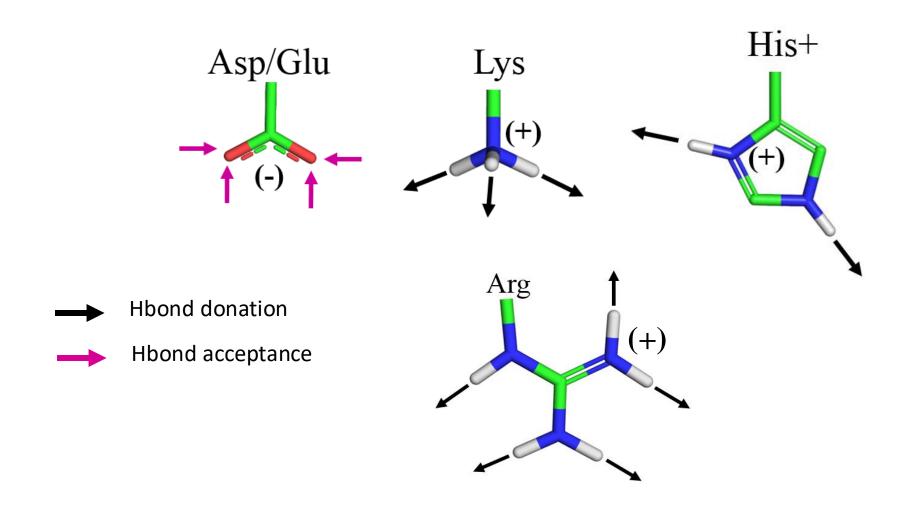


1. Interazioni favorevoli:

$$H_{N}$$
 H_{N}
 H_{N

$$H_{N}$$
 H_{N}
 H_{N

1. Interazioni favorevoli:

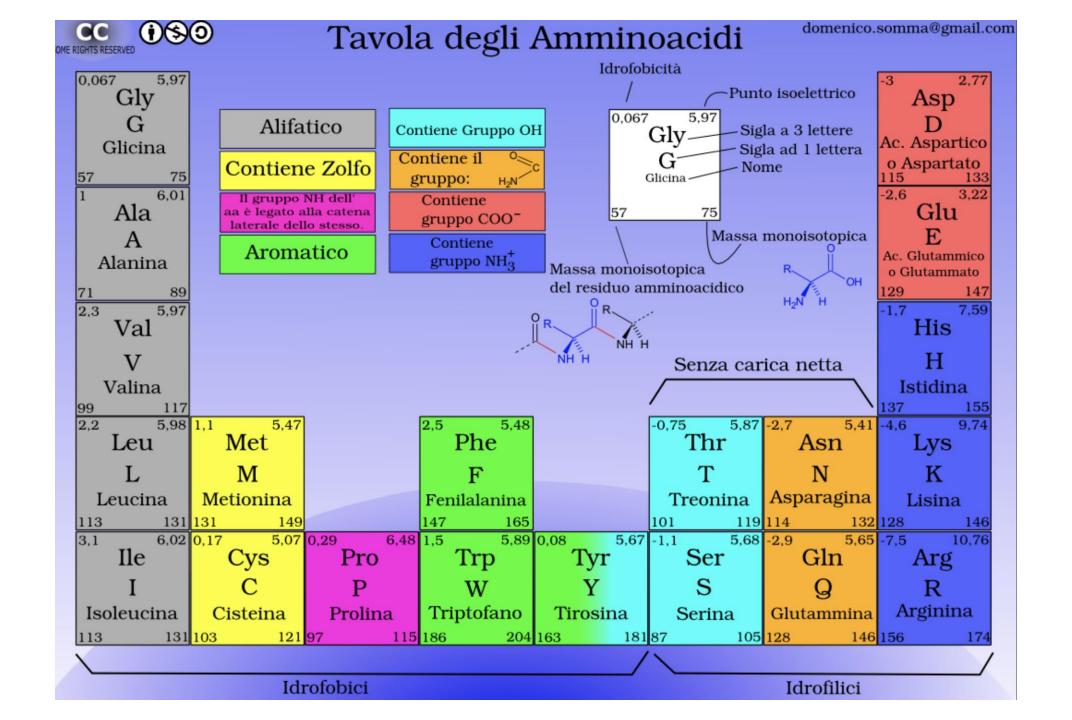


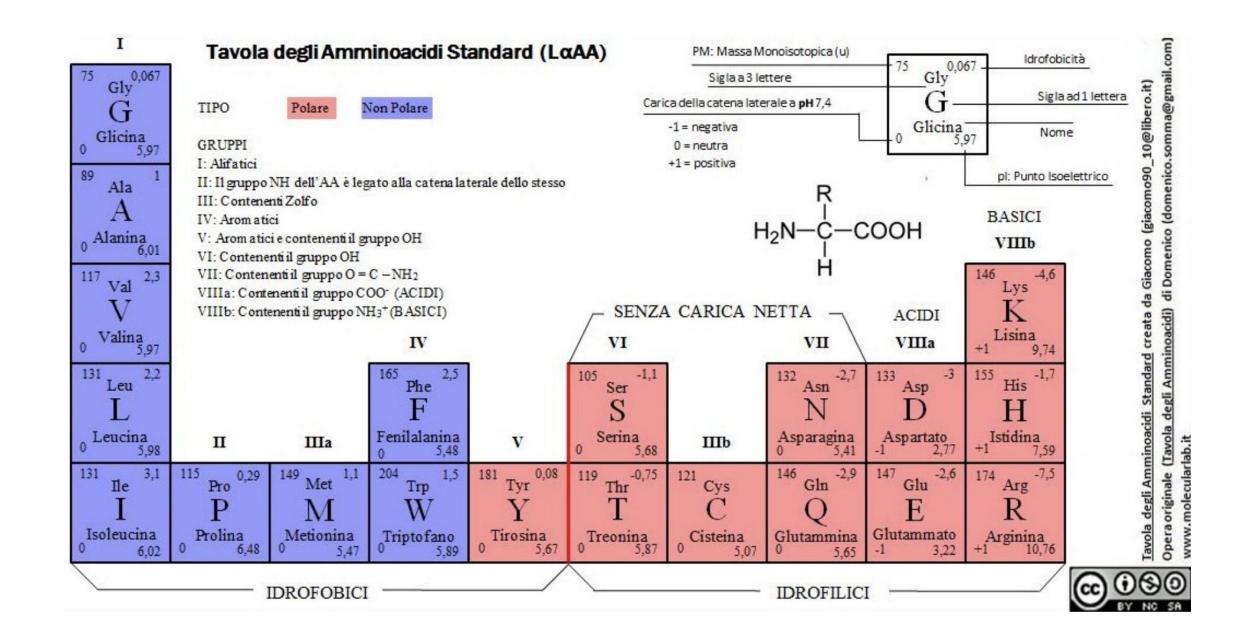
NON POLARI		
Glicina	Gly	G
Alanina	Ala	Α
Valina	Val	V
Leucina	Lau	L
Isoleucina	Ile	I
Metionina	Met	М

POLARI, NON CARICHI		
Serina	Ser	s
Prolina	Pro	P
Treonina	Thr	т
Cisteina	Cys	C
Asparagina	Asn	N
Glutammina	Gln	Q

AROMATICI		
Fenilalanina	Phe	F
Tirosina	Tyr	Y
Triptofano	Trp	W
CARICHI POSITIVAMENTE		
Lisina	Lys	K
Istidina	His	H
Arginina	Arg	R
CARICHI NEGATIVAMENTE		
Acido aspartico	Asp	D
Acido glutammico	Glu	E

Aminoacidi. Tabella degli aminoacidi raggruppati in base alle caratteristiche chimiche del gruppo R. E' indicato il nome per esteso ed i codici internazionali a tre lettere ed a singola lettera.

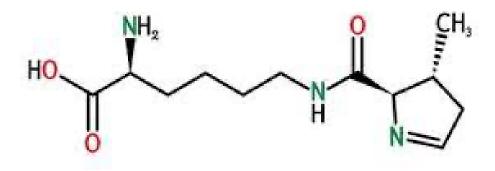




Sono stati identificati oltre 300 residui non canonici che non sono distribuiti universalmente, sono di solito presenti in bassa abbondanza e in genere sono modifiche post-traduzionali di uno degli amminoacidi canonici (richiedono processi di catalisi enzimatica per avvenire....).

La selenocisteina e la pirrolisina fanno eccezione, in quanto questi due residui non canonici vengono introdotti nelle proteine durante la traduzione sfruttando quelli che sono tipicamente i codoni di stop. Quindi sono codificati geneticamente.....

Selenocysteine



Pirrolysine

SELENOCISTEINA:

- ✓ Deriva dalla Serina, per via catalitica
- ✓ E' presente in singola copia negli enzimi
- ✓ Ha ruolo di antiossidante
- ✓ E' più stabile della Cisteina

PIRROLISINA:

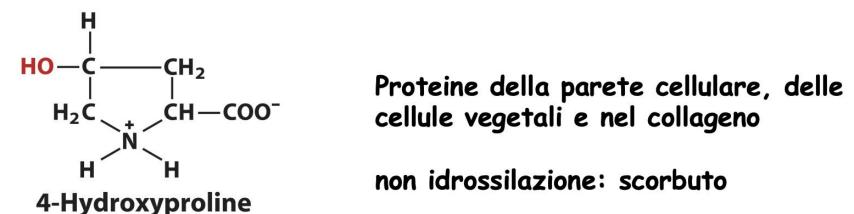
- √ scoperto circa 20 anni fa (in metanogeni)
- ✓ Struttura della Lys eccetto modificazione della catena laterale via legame con un gruppo diidropirrolo
- ✓ Ruolo chiave nel sito attivo in alcune metiltransferasi batteriche (trasferimento di metile)

(a)

Current Opinion in Chemical Biology

Amminoacidi non standard

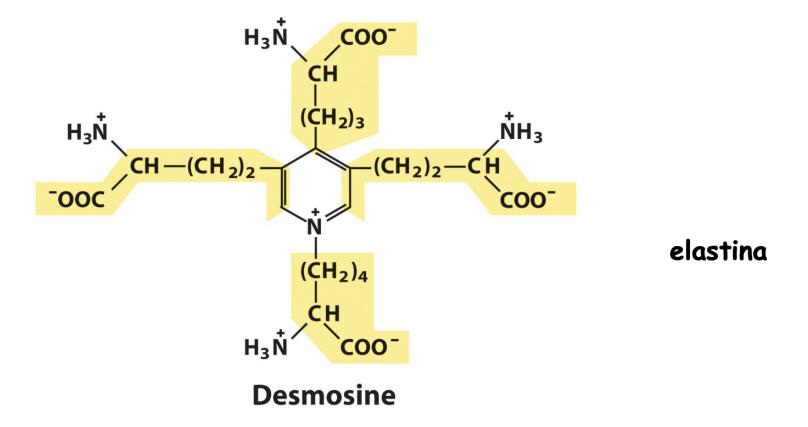
derivano dai 20 standard mediante modificazione chimica posttraduzionale



non idrossilazione: scorbuto

5-Hydroxylysine

$$CH_3-NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH-COO^-$$
 miosina $^+NH_3$



Deriva dall'unione di quattro residui di lisina ad un anello aromatico

AMMINOACIDI NON PROTEICI

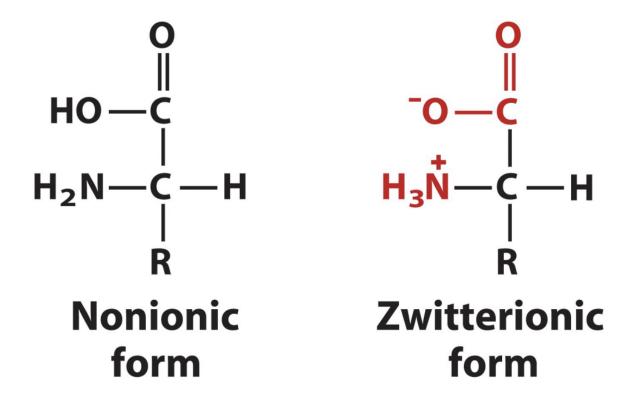
intermedi del ciclo dell'urea

Componente dell'acido pantotenico

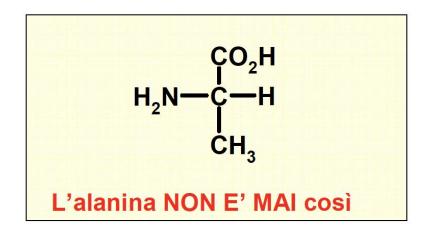
 β -alanine

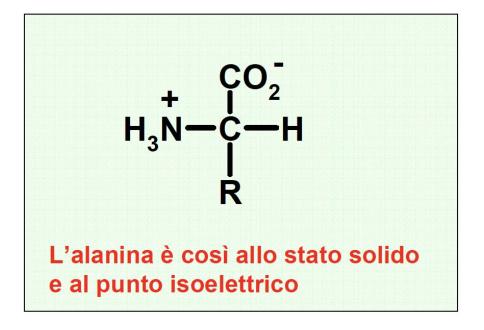
Tutti gli amminoacidi contengono almeno due gruppi ionizzabili, il gruppo carbossilico ed il gruppo amminico (α -imminico per la prolina). Questi gruppi sono acidi e basi deboli, quindi non completamente ionizzati.

Per il fatto di possedere sia un gruppo acido che un gruppo basico gli amminoacidi sono definiti molecole ANFOTERE.



Gli α -aminoacidi naturali sono composti solidi cristallini, alto-fondenti, solubili in acqua





11

Si definisce *PUNTO ISOELETTRICO* quel valore di pH al quale l'amminoacido esiste in prevalenza come ione dipolare (complessivamente neutro). Al punto isoelettrico la concentrazione della forma cationica e di quella anionica sono uguali (e molto basse).

Per un amminoacido "neutro" il punto isoelettrico (che dipende soprattutti dai valori del pK_a di NH_3^+ e del pK_b di $-CO_2^-$) è attorno a 5.5-6.0.

$$H_{2}N - C - H \longrightarrow H_{3}N - C - H \longrightarrow H_{3}N - C - H$$

$$Prevalente a$$

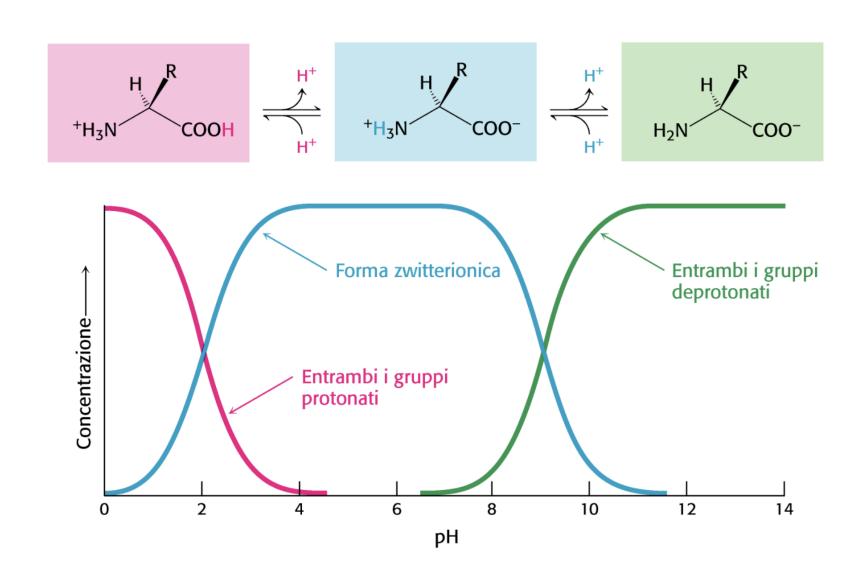
$$pH > pI$$

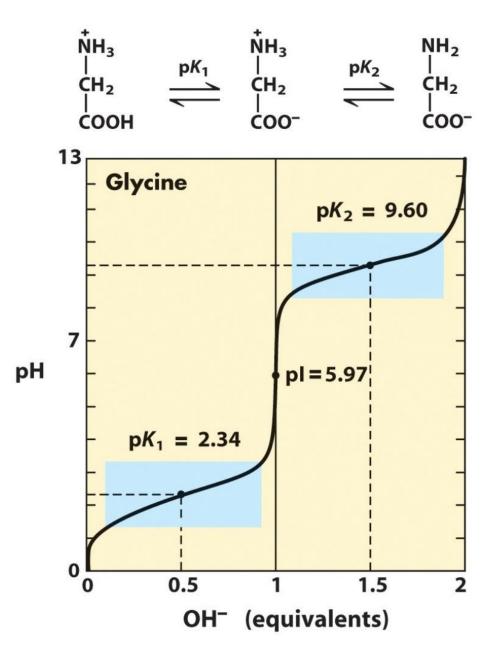
$$PH = pI$$

$$PH = pI$$

$$P = CO_{2}$$

STATO DI IONIZZAZIONE DI UN AA IN FUNZIONE DEL pH





Curva di titolazione della glicina

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

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M _r	рК ₁ (—СООН)	рК ₂ (—NН ₃ +)	pK _R (R group)	pl	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%) [†]
Nonpolar, aliphatic								
R groups								
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	lle 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
Aromatic R groups								
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, . & Doolittle, R.F. (1982) A simple r ethod for displaying the hydropathic 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

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

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M _r	рК ₁ (—СООН)	рК ₂ (—NН ₃ +)	pK _R (R group)	pl	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%) [†]
Polar, uncharged								
R groups								
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
Positively charged								
R groups								
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
Negatively charged								
R groups								
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
	00-001-0000			9800 04	27 00 00			D 200 And 05

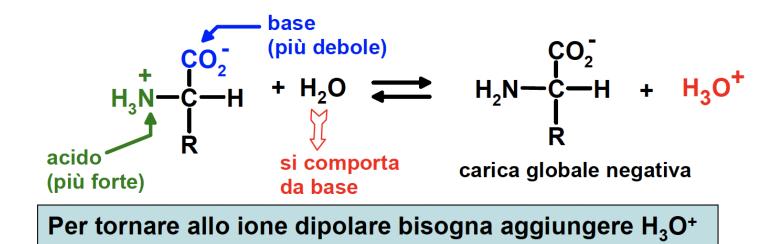
^{*}A scale combining hydrophobicity and hydrophilicity of R groups; it can be used to measure the tendency of an amino acid to seek an aqueous environment (— values) or a hydrophobic environment (+ values). See Chapter 11. From Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) A simple method for displaying the hydropathic 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.

IN SOLUZIONE ACQUOSA LA STRUTTURA PREVALENTE DIPENDE DAL pH

A pH 6 l'alanina ha una carica globale nulla.

A pH 7 in una soluzione di Alanina inizia a formarsi la forma anionica (= carica negativa inizia a prevalere)

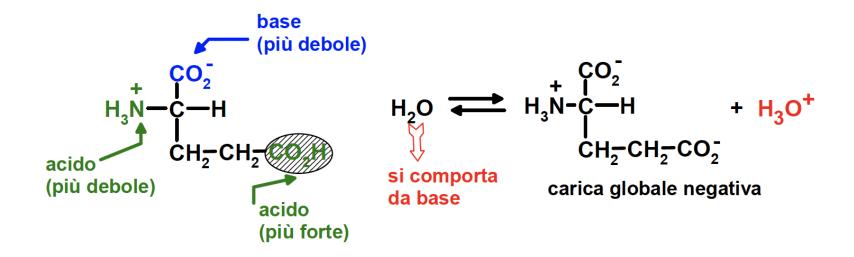


Come risultato della differenza di forza tra il centro acido ed il centro basico, IN **UNA SOLUZIONE ACQUOSA DI ALANINA** (amminoacido neutro non polare), l'amminoacido si deprotona (=globalmente anionico).



Ogni amminoacido ha un punto isoelettrico diverso

Una soluzione acquosa di un amminoacido "acido" è decisamente acida:



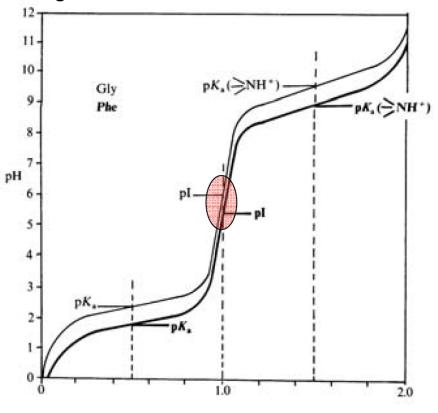
Per portare un amminoacido "acido" al punto isoelettrico E' NECESSARIA UNA $CONCENTRAZIONE DI <math>H_3O^+$ MAGGIORE che per un amminoacido "neutro".

Una soluzione acquosa di un amminoacido "basico" è decisamente basica

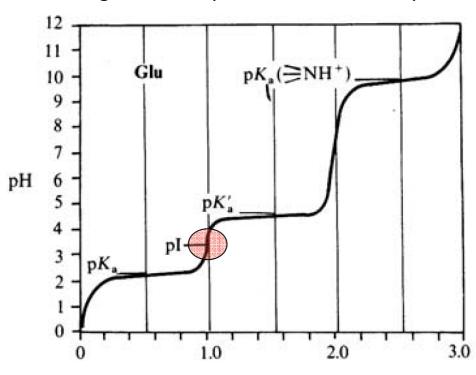
Per neutralizzare un amminoacido "basico" e portarlo al punto isoelettrico *BISOGNA AGGIUNGERE IONI OH*⁻.

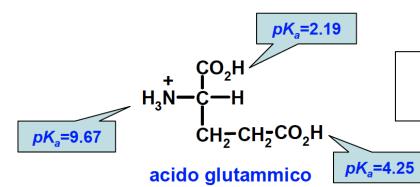
Il punto isoelettrico di amminoacidi "basici" è nell'intervallo 9-10 di pH.

Confronto fra le curve di titolazione di glicina e fenilalanina

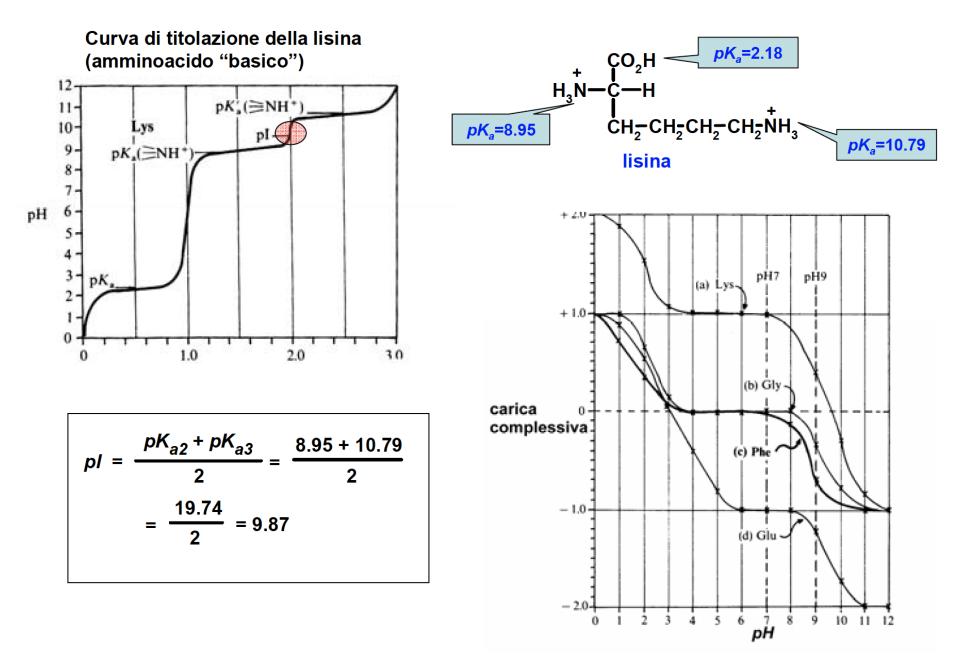


Curva di titolazione dell'acido glutammico (amminoacido "acido")





$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2} = \frac{2.19 + 4.25}{2} = \frac{6.44}{2} = 3.22$$



E' significativo confrontare la carica complessiva dei quattro amminoacidi a pH diversi

Amminoacidi essenziali: non possono essere sintetizzati in vivo e devono quindi essere assunti con gli alimenti (proteine)

Sono essenziali per l'uomo: Valina

Isoleucina

Leucina

Metionina

Fenilalanina

Triptofano

Treonina

Lisina

Ogni amminoacido è un reagente limitante: quando uno di essi viene a mancare la sintesi di qualsiasi proteina viene interrotta anche se sono presenti quantità abbondanti di tutti gli altri aminoacidi

Alimenti ricchi di AA essenziali:

Proteine di origine animale (carne, pesce, uova latte, formaggi)

Alimenti poveri di (o carenti di uno o più) AA essenziali:

Proteine di origine vegetale

Es: le proteine di farina di mais sono povere di lisina e triptofano

le proteine di farina di riso sono povere di lisina e treonina

le proteine di farina di grano sono povere di lisina

le proteine di farina di soia sono povere di metionina

Apporto giornaliero ottimale di proteine per un adulto: circa 1g di proteine/Kg di peso corporeo