

AMMINOACIDI e PROTEINE

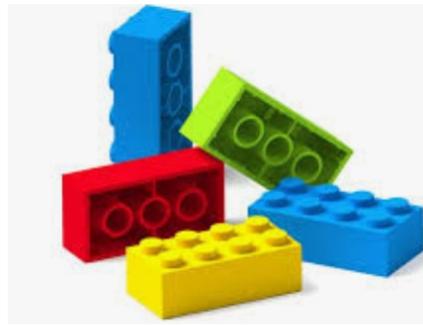
Argomenti trattati:

La chimica degli amminoacidi: nomenclatura, configurazione, proprietà acido-base. Il punto isoelettrico. Cenni su tecnica elettroforetica per la separazione di amminoacidi. Il legame peptidico: introduzione alla sintesi peptidica. Concetto di gruppo protettore.

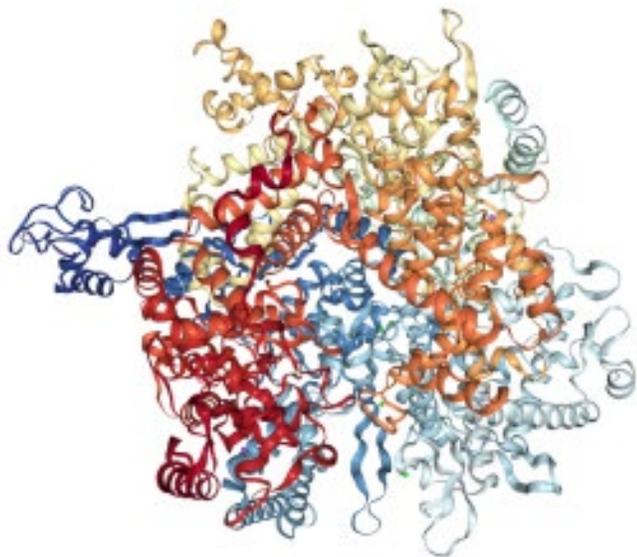
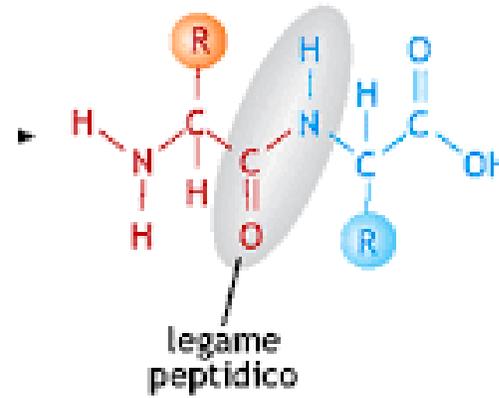
Struttura primaria delle proteine: idrolisi acida di peptidi e proteine e analisi degli amminoacidi. Degradazione di Edman per la determinazione della sequenza.

Bruice: cap.17 (par. 1-5; 8-10)

Le **PROTEINE** sono formate dall'unione di monomeri (amminoacidi) legati tra loro tramite un **legame ammidico**

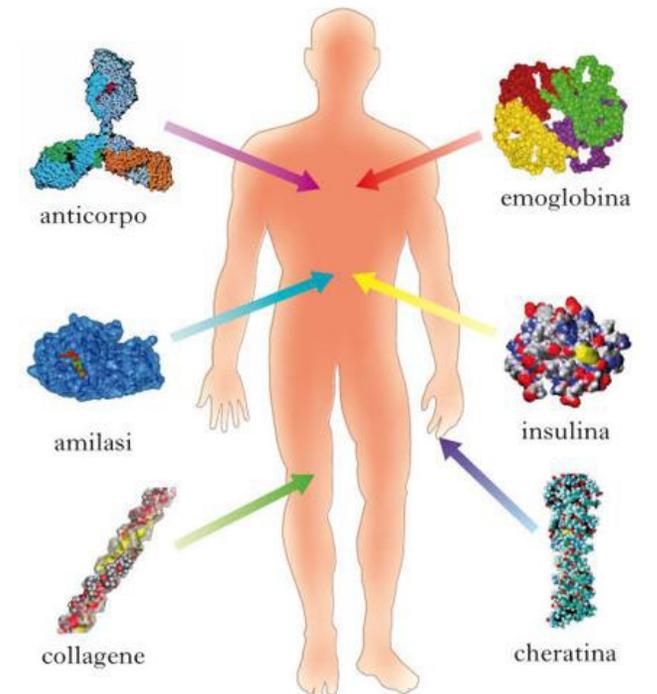


amminoacidi

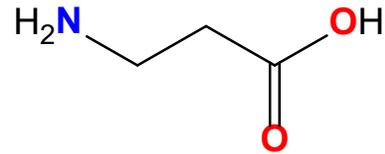


FUNZIONI

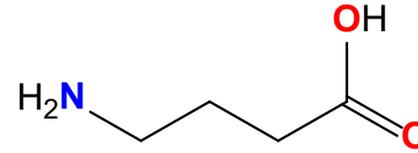
- Strutturali
- Catalitiche
- Motorie
- Di trasporto
- Ormonali
- Protettive
- Regolatori



Amminoacido termine generico che individua una molecola con 2 gruppi funzionali: $-\text{COOH}$ e $-\text{NH}_2$

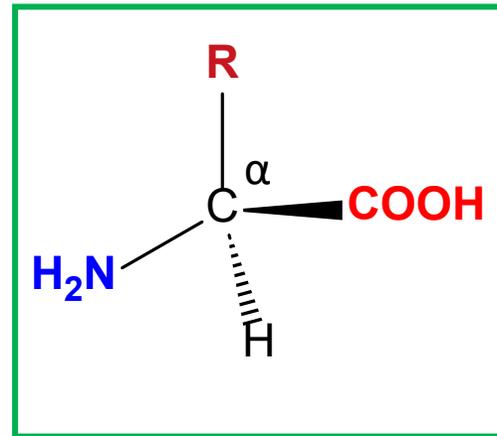


β -amminoacido



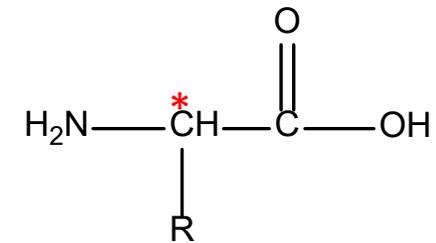
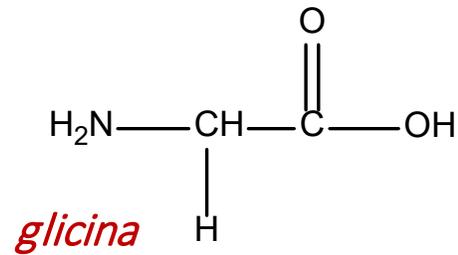
γ -amminoacido

20 AMMINOACIDI PROTEINOGENICI
si differenziano per la **catena laterale** ($-\text{R}$)

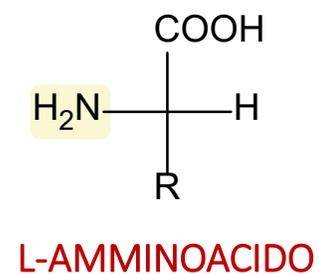
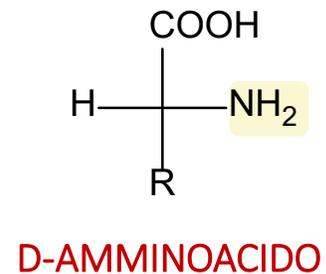
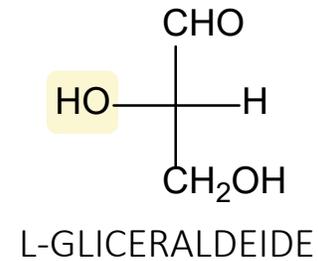
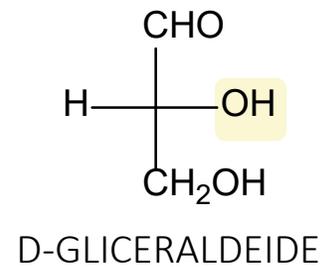


nelle proteine degli eucarioti

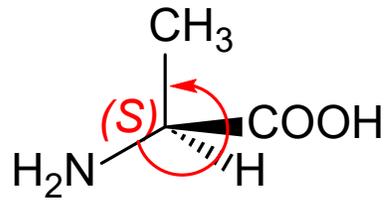
20 AMMINOACIDI PROTEINOGENICI
ad eccezione della GLICINA sono tutti **CHIRALI**



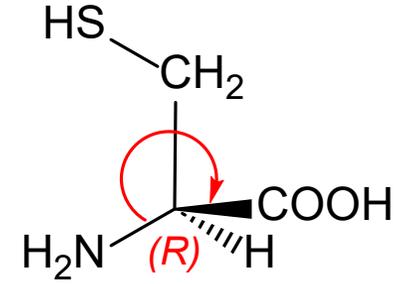
Gli AA proteinogenici appartengono alla **serie sterica L-** in analogia con la gliceraldeide



In base alla nomenclatura R/S la maggior parte degli AA appartengono alla **serie S**

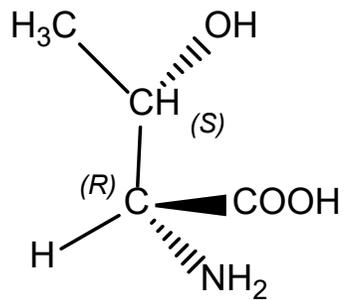


alanina

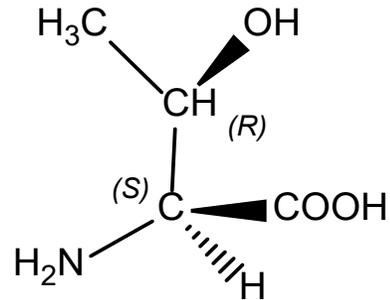


cisteina

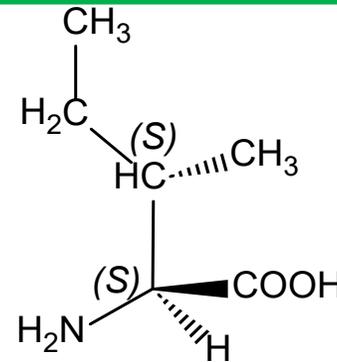
Tra i 20 AA proteici 2 presentano **più di un centro chirale**



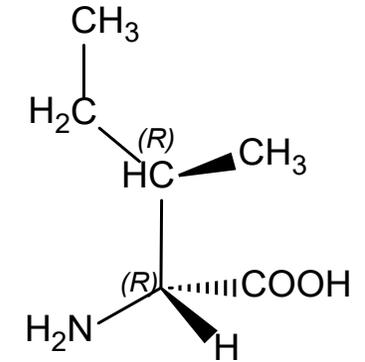
D-treonina
enantiomero



L-treonina



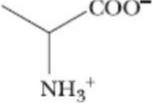
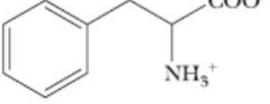
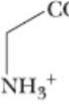
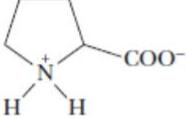
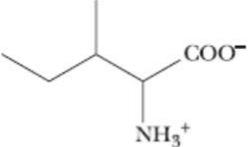
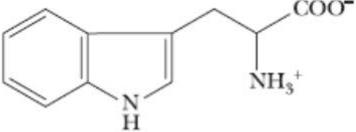
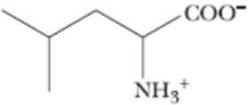
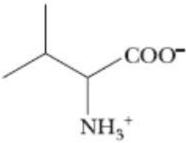
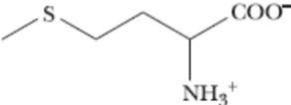
L-isoleucina



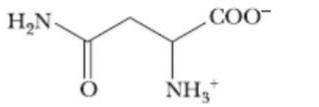
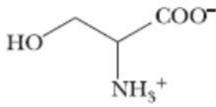
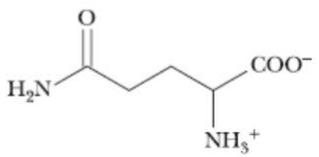
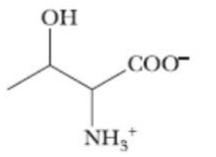
D-isoleucina
enantiomero

AA proteici

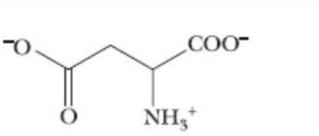
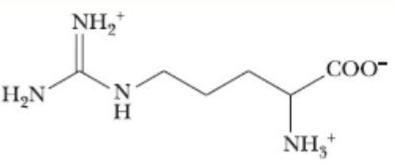
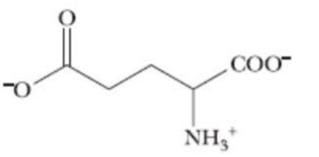
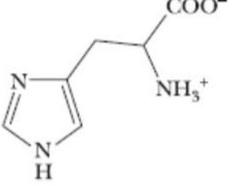
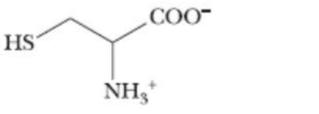
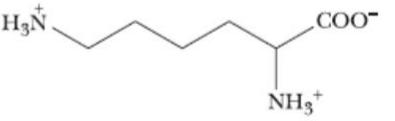
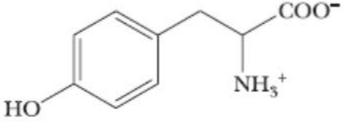
In base ai gruppi funzionali presenti sulle catene laterali gli amminoacidi possono essere raggruppati in diverse categorie

Catene laterali non polari			
Alanina (Ala, A)		Fenilalanina (Phe, F)	
Glicina (Gly, G)		Prolina (Pro, P)	
Isoleucina (Ile, I)		Triptofano (Trp, W)	
Leucina (Leu, L)		Valina (Val, V)	
Metionina (Met, M)			

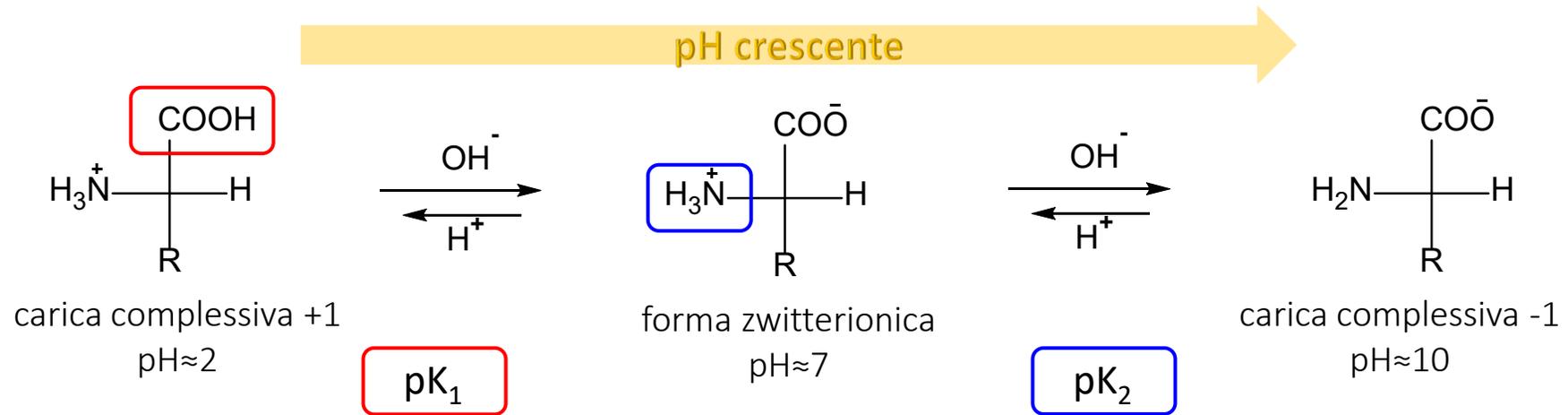
Catene laterali polari

Asparagina (Asn, N)		Serina (Ser, S)	
Glutammina (Gln, Q)		Treonina (Thr, T)	

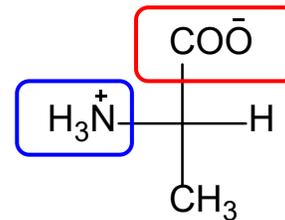
Catene laterali acide

Acido aspartico (Asp, D)		Arginina (Arg, R)	
Acido glutammico (Glu, E)		Istidina (His, H)	
Cisteina (Cys, C)		Lisina (Lys, K)	
Tirosina (Tyr, Y)			

EQUILIBRI ACIDO-BASE NEGLI AMMINOACIDI



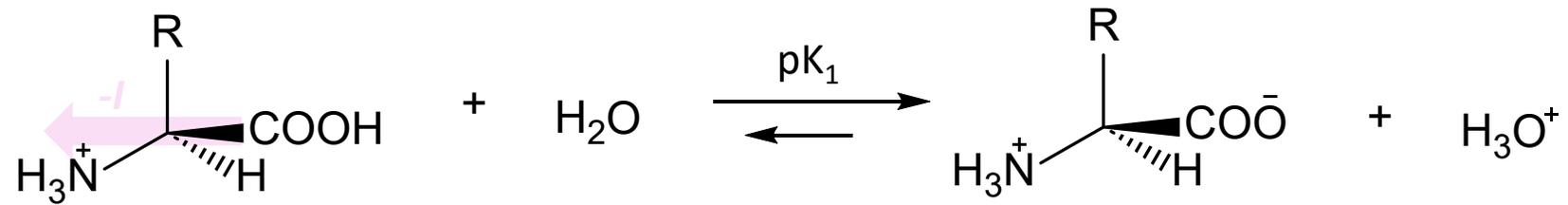
$pK_1 = 2.35$



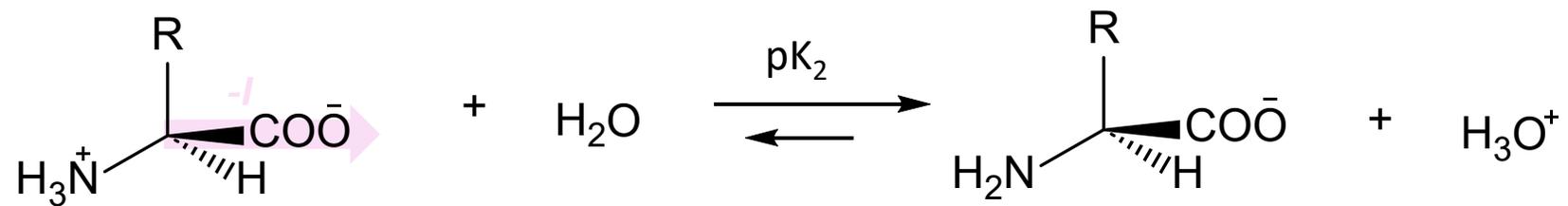
$pK_2 = 9.87$

Perché -COOH di un
amminoacido è più acido
dell'acido acetico?
CH₃-COOH (pK=4.76)

Perché -NH₂ di un
amminoacido è una base meno
forte della metilammina?
CH₃-NH₃⁺ (pK=10.66)

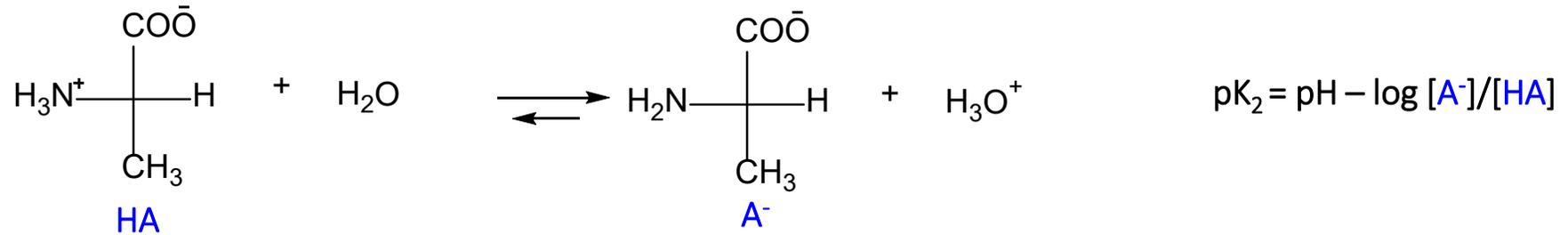
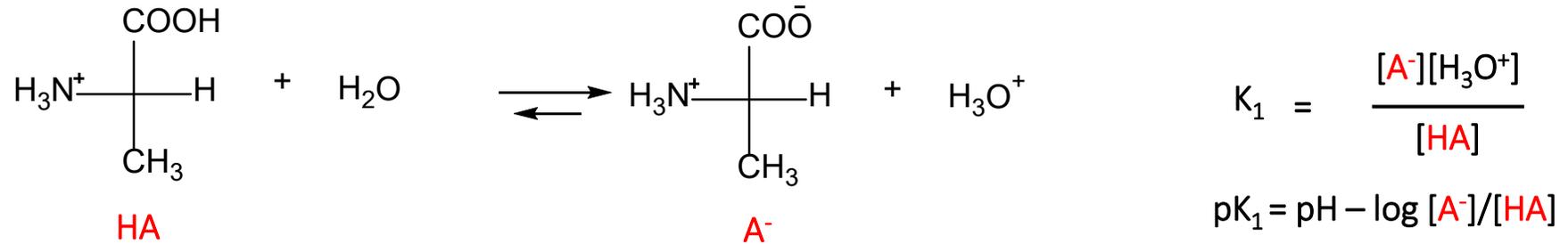
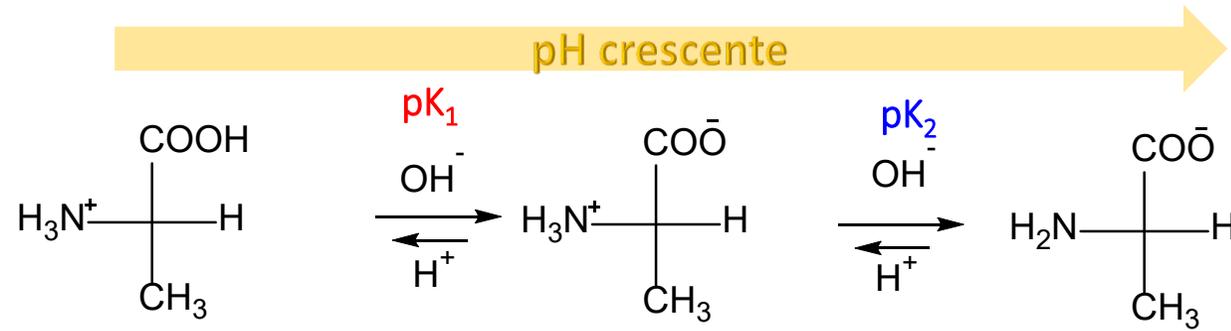


Il gruppo ammonico attrae elettroni e rende il gruppo carbossilico più acido



Il gruppo acilico attrae elettroni e rende il gruppo ammonico un acido più forte: quindi la sua base coniugata è meno basica

Alanina

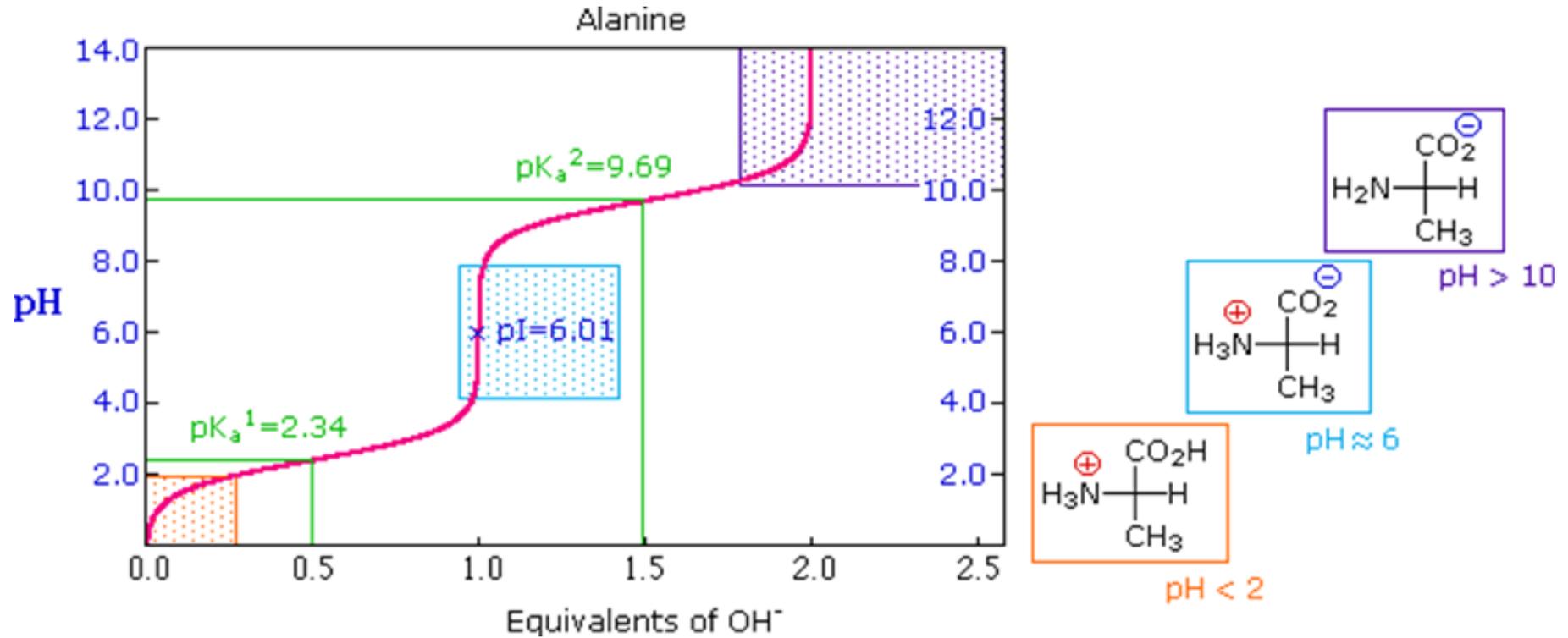


$$[\text{A}^-] = [\text{HA}]$$

$$\text{pK}_1 + \text{pK}_2 = 2 \text{pH} + \log [\text{HA}]/[\text{A}^-]$$

Ad ogni valore di pH posso calcolare la concentrazione delle specie in soluzione

La curva di titolazione fornisce i valori di pKa dei gruppi ionizzabili



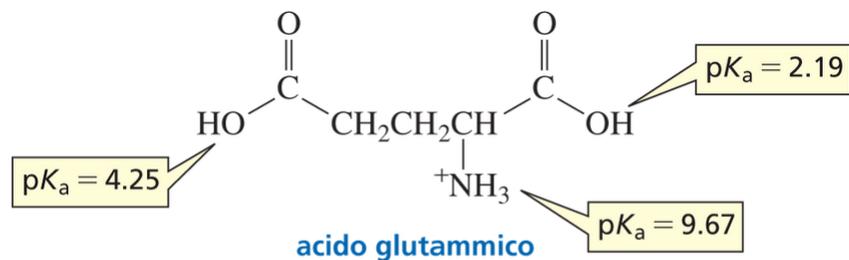
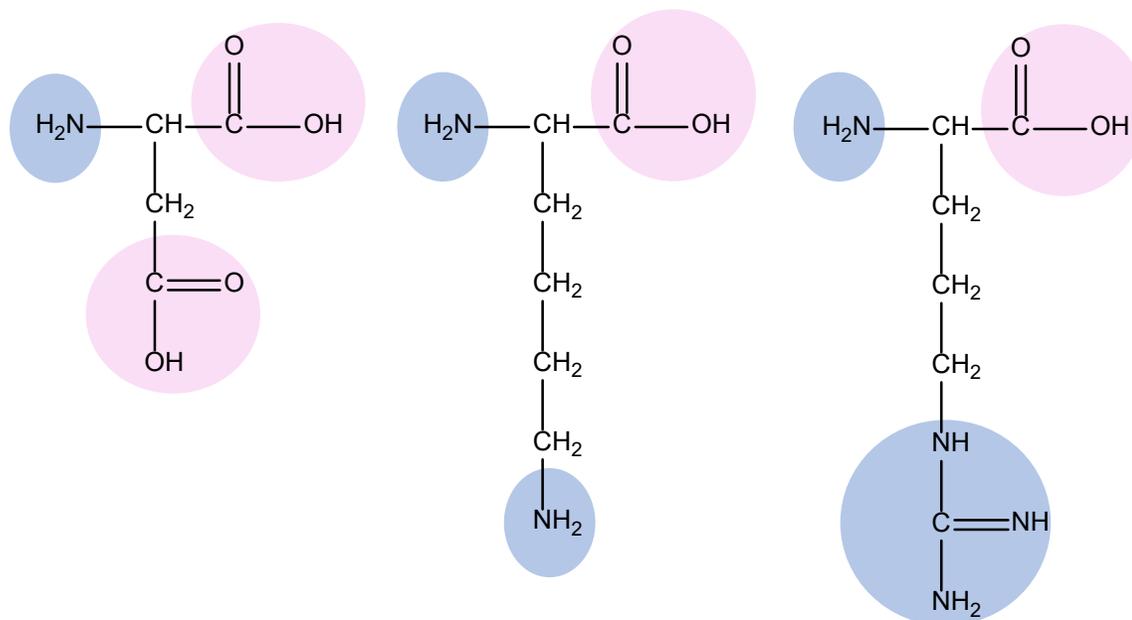
Il punto isoelettrico è il valore di pH a cui la soluzione è elettricamente neutra
 $[A^-] = [HA]$ e la concentrazione di zwitterione è massima

$$pI = \frac{pK_1 + pK_2}{2}$$

Ma alcuni amminoacidi hanno gruppi ionizzabili anche nella catena laterale.

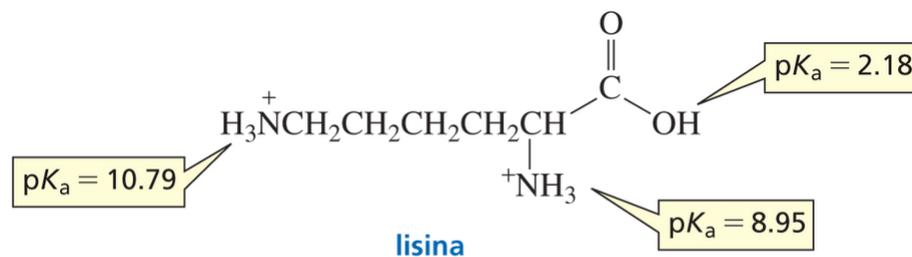
Come si calcola il loro punto isoelettrico?

Bisogna considerare anche la pKa del gruppo in catena laterale per capire in quali equilibri la specie zwitterionica è coinvolta



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

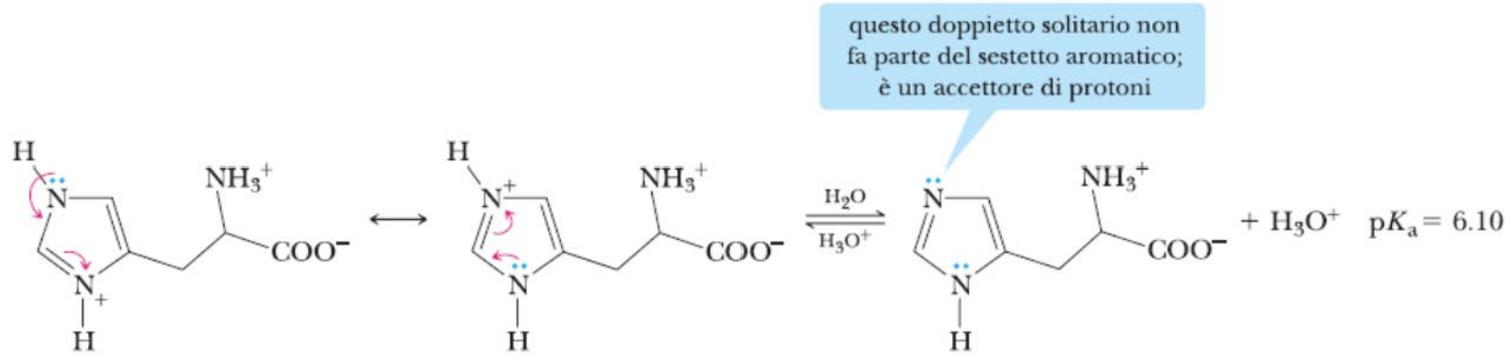
Il pI degli amminoacidi che hanno una catena laterale ionizzabile è la media dei valori di pKa dei gruppi che si ionizzano allo stesso modo



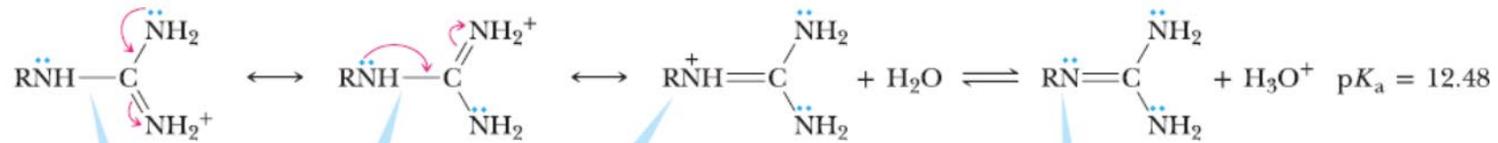
$$pI = \frac{8.95 + 10.79}{2} = \frac{19.74}{2} = 9.87$$

Due esempi.....

ISTIDINA



ARGININA



la forma protonata dello ione guanidinio della catena laterale dell'arginina è un ibrido di tre strutture limite di risonanza

la stabilizzazione per risonanza dello ione guanidinio rende l'azoto guanidinico più basico rispetto a quello di un'ammina alifatica

nessuna stabilizzazione per risonanza

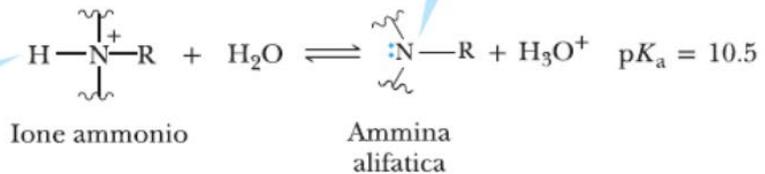
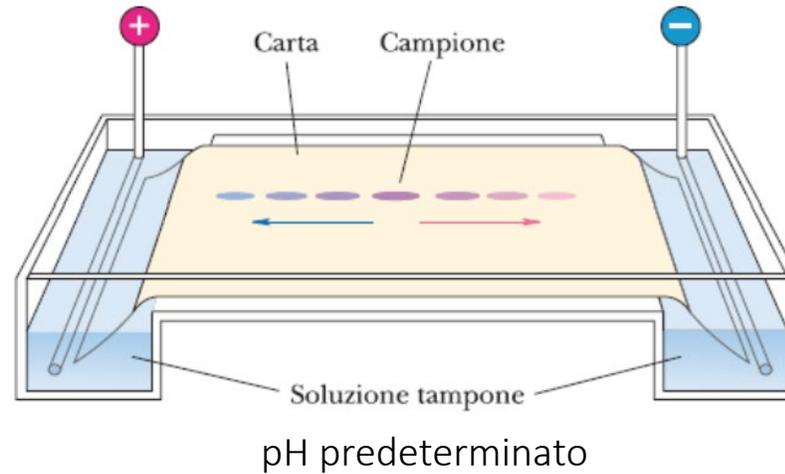


TABELLA 17.2 Valori di pK_a dei gruppi ionizzabili degli amminoacidi

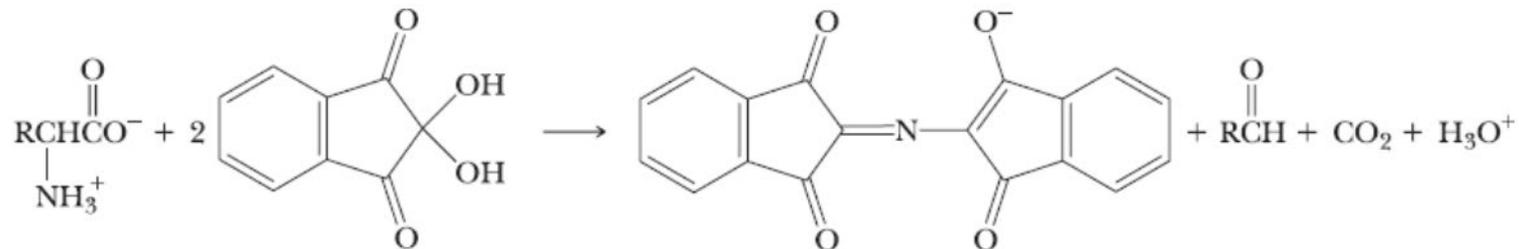
Amminoacido	pK_a α -COOH	pK_a α -NH ₃ ⁺	pK_a della catena laterale	Punto isoelettrico (pI)
Acido aspartico	2.10	9.82	3.86	2.98
Acido glutammico	2.10	9.47	4.07	3.08
Alanina	2.35	9.87	—	6.11
Arginina	2.01	9.04	12.48	10.76
Asparagina	2.02	8.80	—	5.41
Cisteina	2.05	10.25	8.00	5.02
Fenilalanina	2.58	9.24	—	5.91
Glicina	2.35	9.78	—	6.06
Glutamina	2.17	9.13	—	5.65
Isoleucina	2.32	9.76	—	6.04
Istidina	1.77	9.18	6.10	7.64
Leucina	2.33	9.74	—	6.04
Lisina	2.18	8.95	10.53	9.74
Metionina	2.28	9.21	—	5.74
Prolina	2.00	10.60	—	6.30
Serina	2.21	9.15	—	5.68
Tirosina	2.20	9.11	10.07	5.63
Treonina	2.09	9.10	—	5.60
Triptofano	2.38	9.39	—	5.88
Valina	2.29	9.72	—	6.00

L'**elettroforesi** è un processo tramite il quale è possibile isolare composti in base alle loro cariche elettriche
 è usata per separare e identificare miscele di amminoacidi e proteine

supporto solido carta, amido,
 agar, alcune plastiche e
 acetato di cellulosa

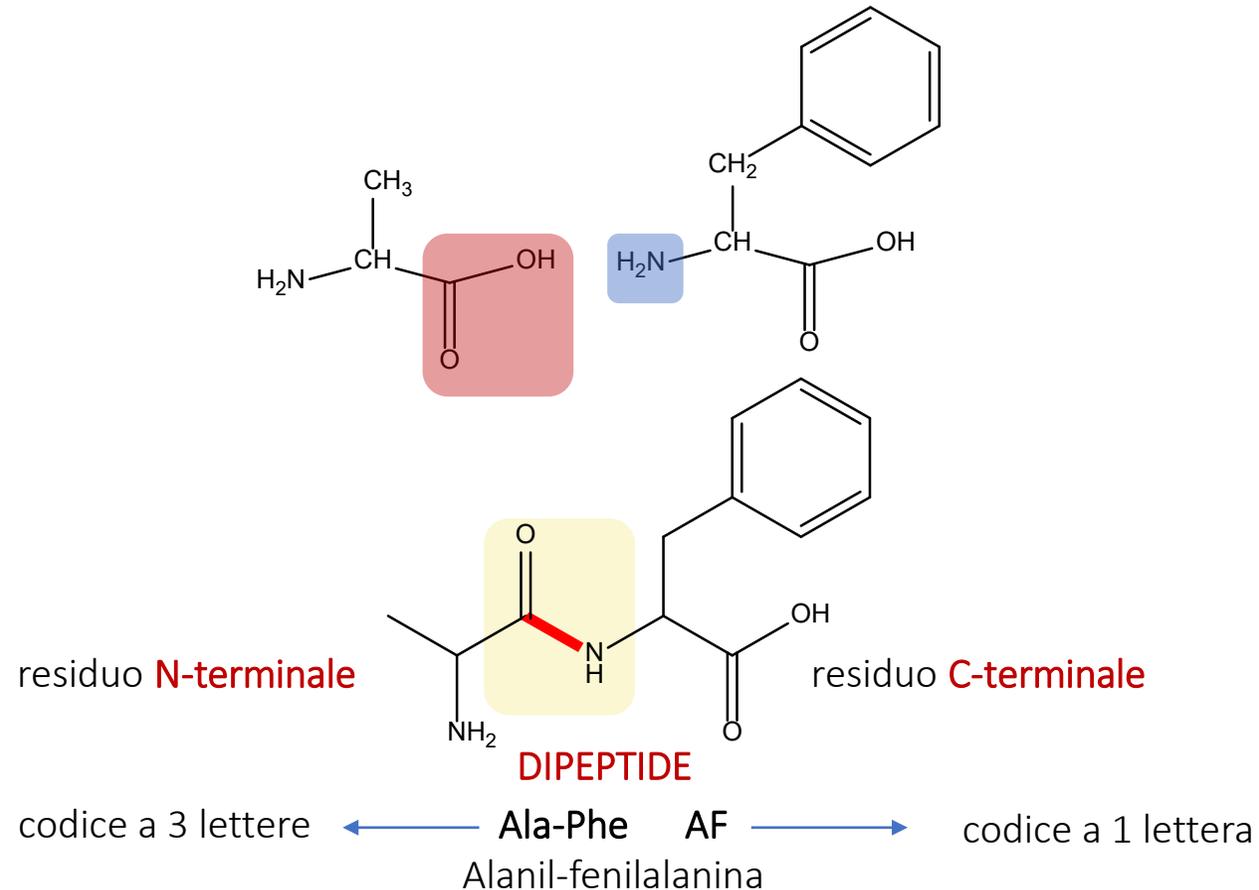


- ✓ Quando è applicato un potenziale elettrico tra gli elettrodi, gli amminoacidi migrano verso l'elettrodo che porta la carica opposta alla propria
- ✓ Tutte le molecole presenti al loro punto isoelettrico rimangono ferme al punto di partenza
- ✓ Quando la separazione è completata, la striscia di carta è asciugata e spruzzata con un colorante che trasforma ciascun amminoacido in un composto colorato, rendendo visibili i composti separati



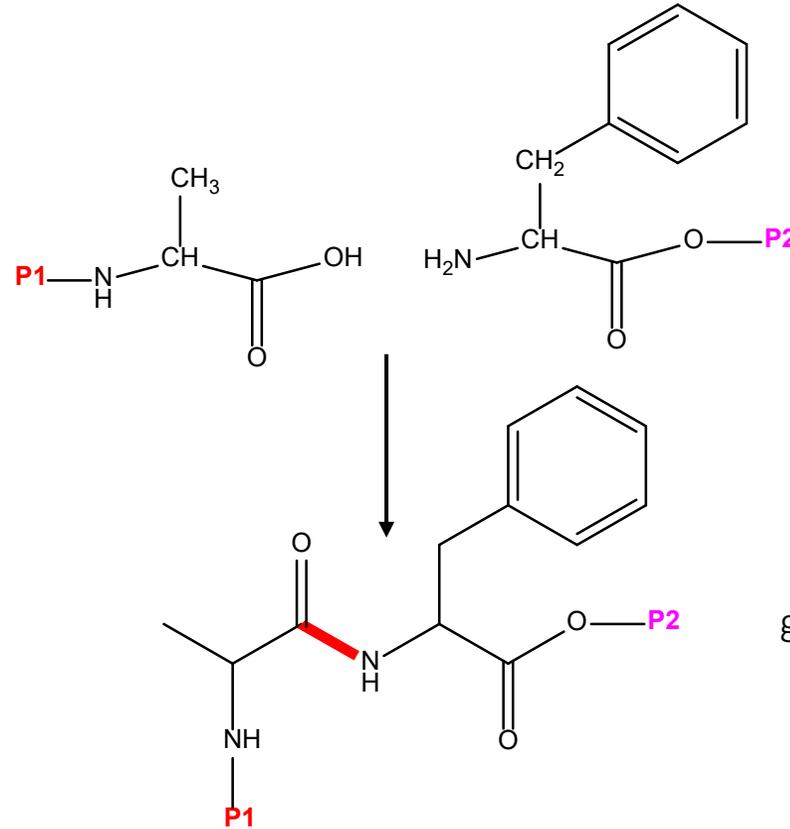
PEPTIDI E PROTEINE

catene di amminoacidi uniti da legami ammidici tra il gruppo α -carbossilico di un amminoacido e quello α -amminico dell'altro



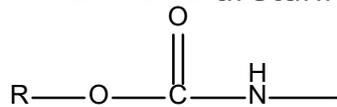
Convenzione: la sequenza di amminoacidi che costituiscono un peptide si scrive a partire dal residuo N-terminale verso il residuo C-terminale

Con molecole polifunzionali per formare in **modo univoco** un legame specifico è necessario “**mascherare**” i gruppi funzionali **competitivi** con GRUPPI PROTETTORI così da disattivare la loro reattività



Nel caso di gruppi funzionali in catena laterale è necessario un altro gruppo protettore **P3**

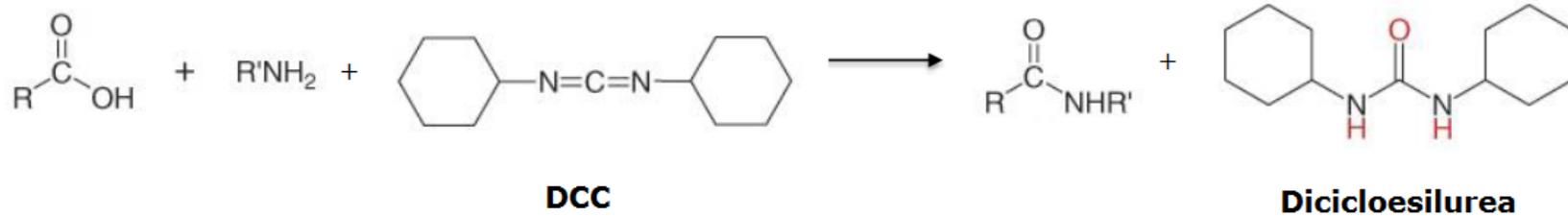
i gruppi protettori delle funzioni -NH_2 (**P1**)
formano **uretani**



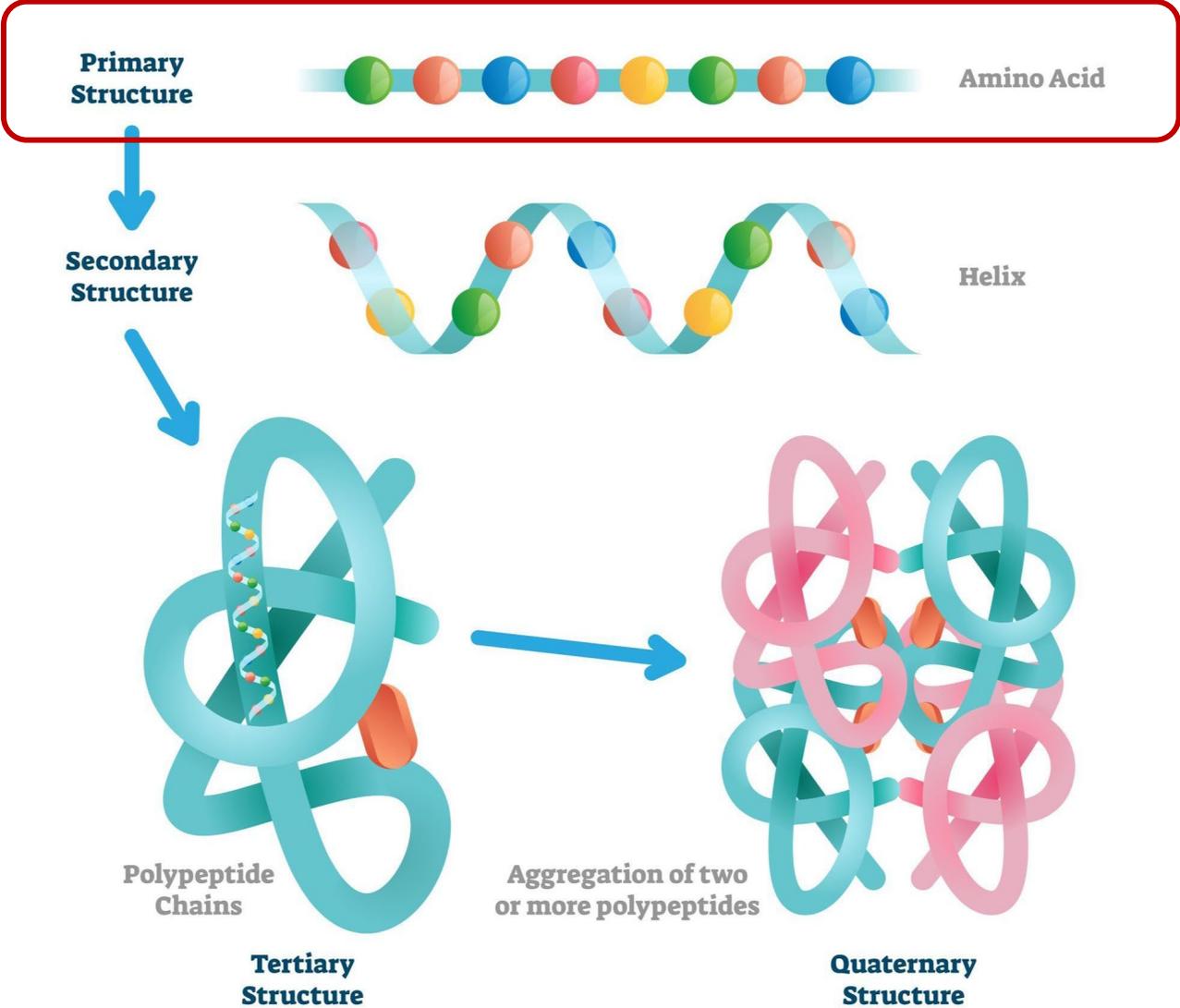
generalmente i gruppi protettori del -COOH (**P2**) formano **esteri**

Una volta formato il legame i gruppi protettori devono essere rimossi senza danneggiare il legame peptidico

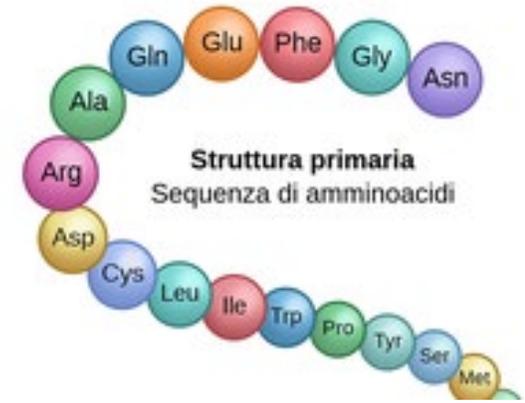
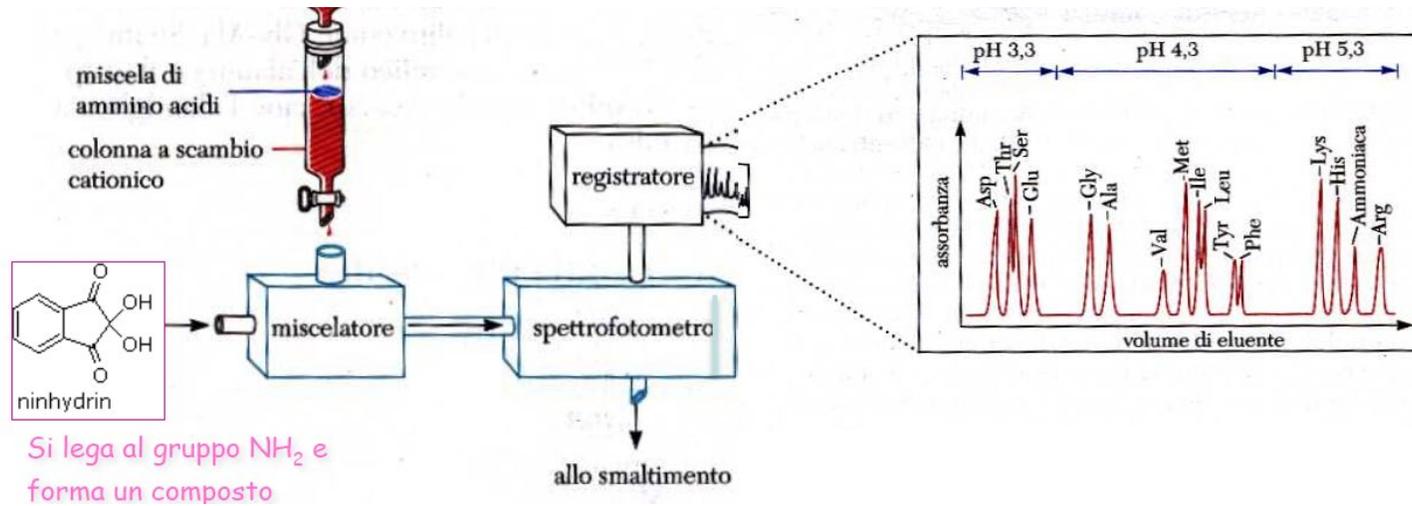
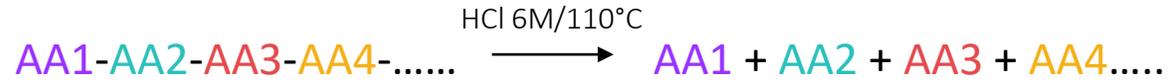
La formazione del legame peptidico non è favorita, occorre convertire –OH del carbossile in un buon gruppo uscente attraverso l'impiego di un agente condensante (esempio DCC...)



STRUTTURA DELLE PROTEINE

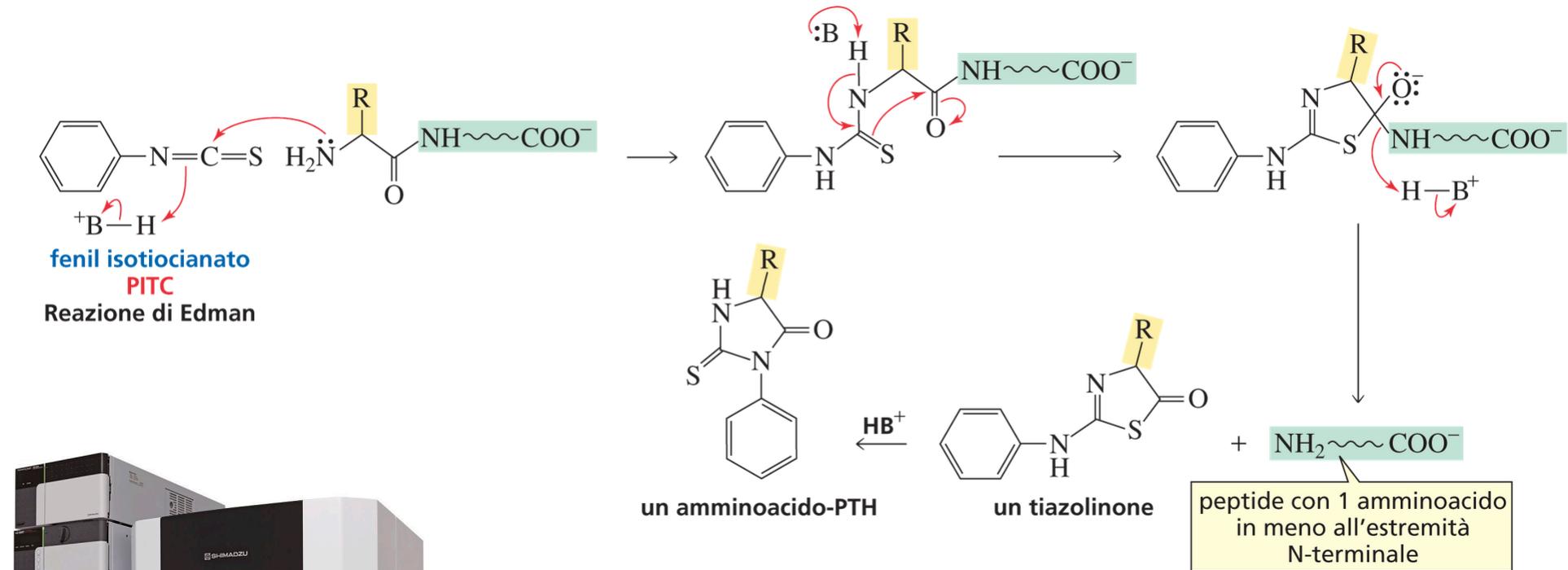


Composizione in amminoacidi



Questa tecnica **degrada il peptide/proteina** portando ad una **miscela di amminoacidi**, non fornisce nessuna informazione sulla sequenza (ordine) con cui erano legati gli amminoacidi nella molecola di partenza

Determinazione della sequenza



Attraverso il confronto con standard dei diversi aminoacidi è possibile identificare l'amminoacido che ad ogni ciclo viene rimosso e convertito in PTH-AA. Questa tecnica permette di sequenziare frammenti di 30-40 AA. Se la proteina è complessa è necessario operare una frammentazione preliminare con metodi chimici o enzimatici.