



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

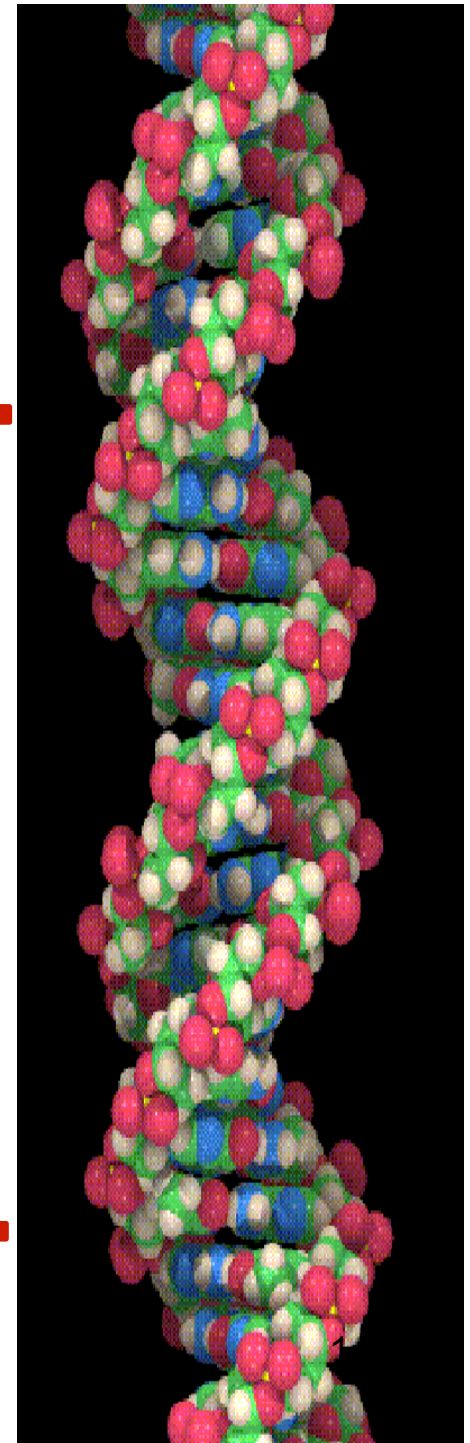
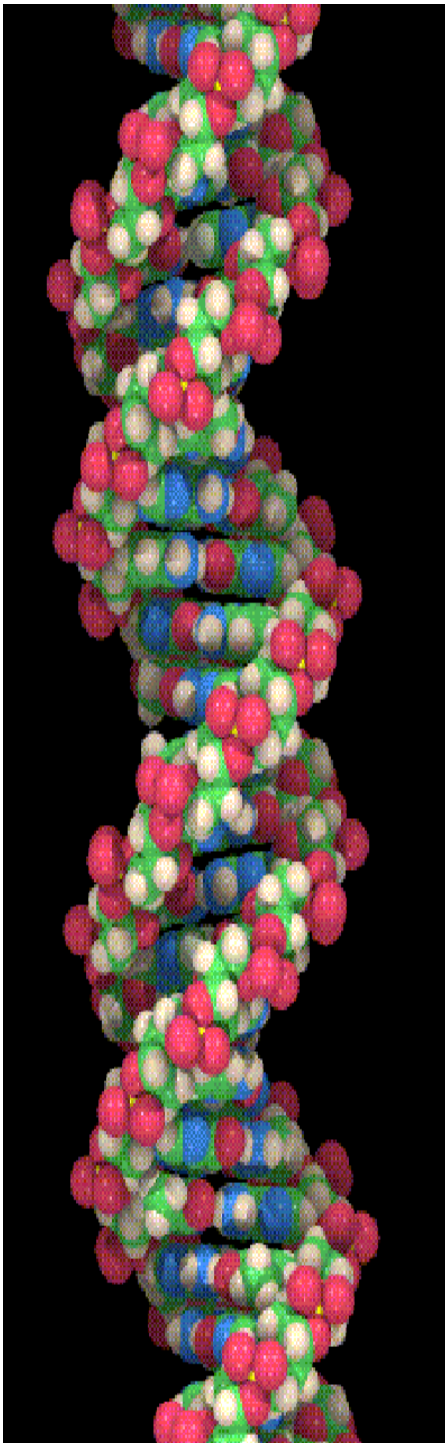
Lezione 2: Gli Amminoacidi

Bioinformatica

Mauro Ceccanti* e Alberto Paoluzzi

Dip. Informatica e Automazione
Università "Roma Tre"

*Dip. Medicina Clinica –
"Sapienza", Università di Roma



AMMINOACIDI E POLIPEPTIDI

Benché le eliche siano poco comuni nelle realizzazioni architettoniche, esse rappresentano un tema strutturale nelle macromolecole biologiche.

- Le proteine sono agenti indispensabili per la funzione biologica, e gli **amminoacidi** sono i mattoni che le costituiscono: la stupefacente diversità delle migliaia di proteine trovate in natura deriva dalle proprietà intrinseche di solo **20 amminoacidi**.
- La straordinaria diversità delle attività cellulari è resa possibile solo dalla **versatilità delle proteine, ciascuna delle quali è specificamente disegnata per un ruolo biologico**.
- **Ogni proteina è codificata da una sequenza specifica di basi nucleotidiche del DNA**. Ciascun segmento di informazione codificata definisce un gene.
- **Le proteine sono gli agenti della funzione biologica; allo stesso tempo esse sono espressioni dell'informazione genetica.**

GLI AMMINOACIDI: I MATTONI DELLE PROTEINE

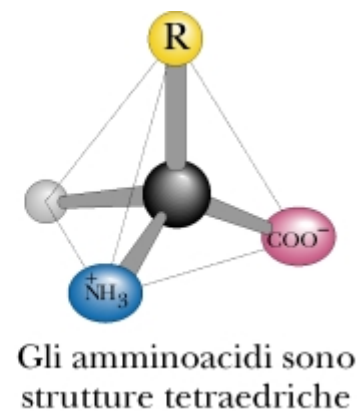
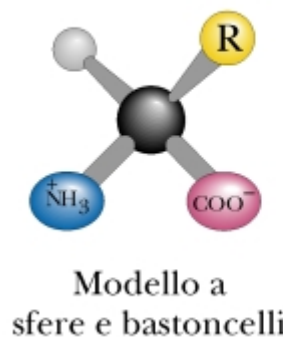
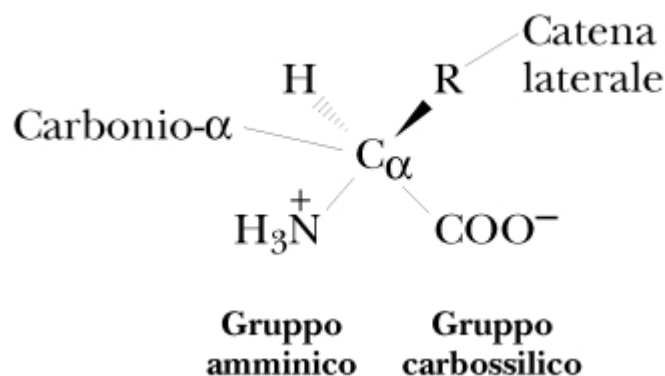
Le peculiari proprietà chimiche degli amminoacidi includono

- la capacità di polimerizzare,
- nuove proprietà acido-base,
- variabilità di struttura e di funzionalità chimica nelle catene laterali amminoacidiche,
- chiralità.

STRUTTURA DI UN AMMINOACIDO TIPICO

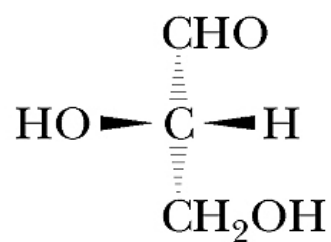
Centrale nella struttura di un amminoacido isolato è il carbonio alfa (α) ($C\alpha$) tetraedrico, **legato in modo covalente sia al gruppo amminico (NH_3^+) che al gruppo carbossilico (COO^-)**. Sono inoltre legati al $C\alpha$ un atomo di idrogeno e una catena laterale variabile (R).

- La **catena laterale conferisce** all' amminoacido la propria **identità**.
- In una soluzione neutra (pH 7), il gruppo carbossilico assume lo stato COO^- e il gruppo amminico quello NH_3^+ . L'amminoacido risultante è, quindi, una molecola neutra (**zwitterione**).
- Gli amminoacidi sono inoltre molecole *chirali*.
- Il $C\alpha$ viene detto *asimmetrico*, avendo legati quattro gruppi differenti.
- Le due possibili configurazioni del $C\alpha$ costituiscono due immagini speculari, non identiche, dette isomeri o *enantiomeri*.

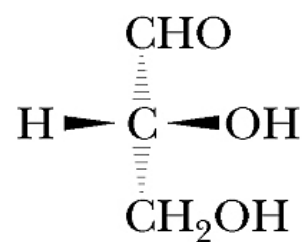


ISOMERI O ENANTIOMERI

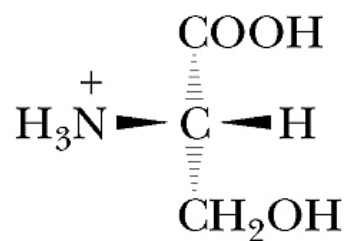
Molecole enantiomeriche basate su un atomo di carbonio chirale. Gli enantiomeri sono immagini speculari l'uno dell'altro, non sovrapponibili.



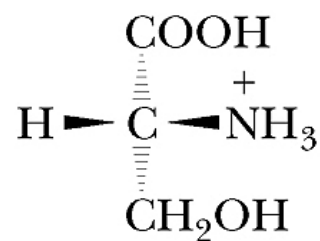
L-Gliceraldeide



D-Gliceraldeide



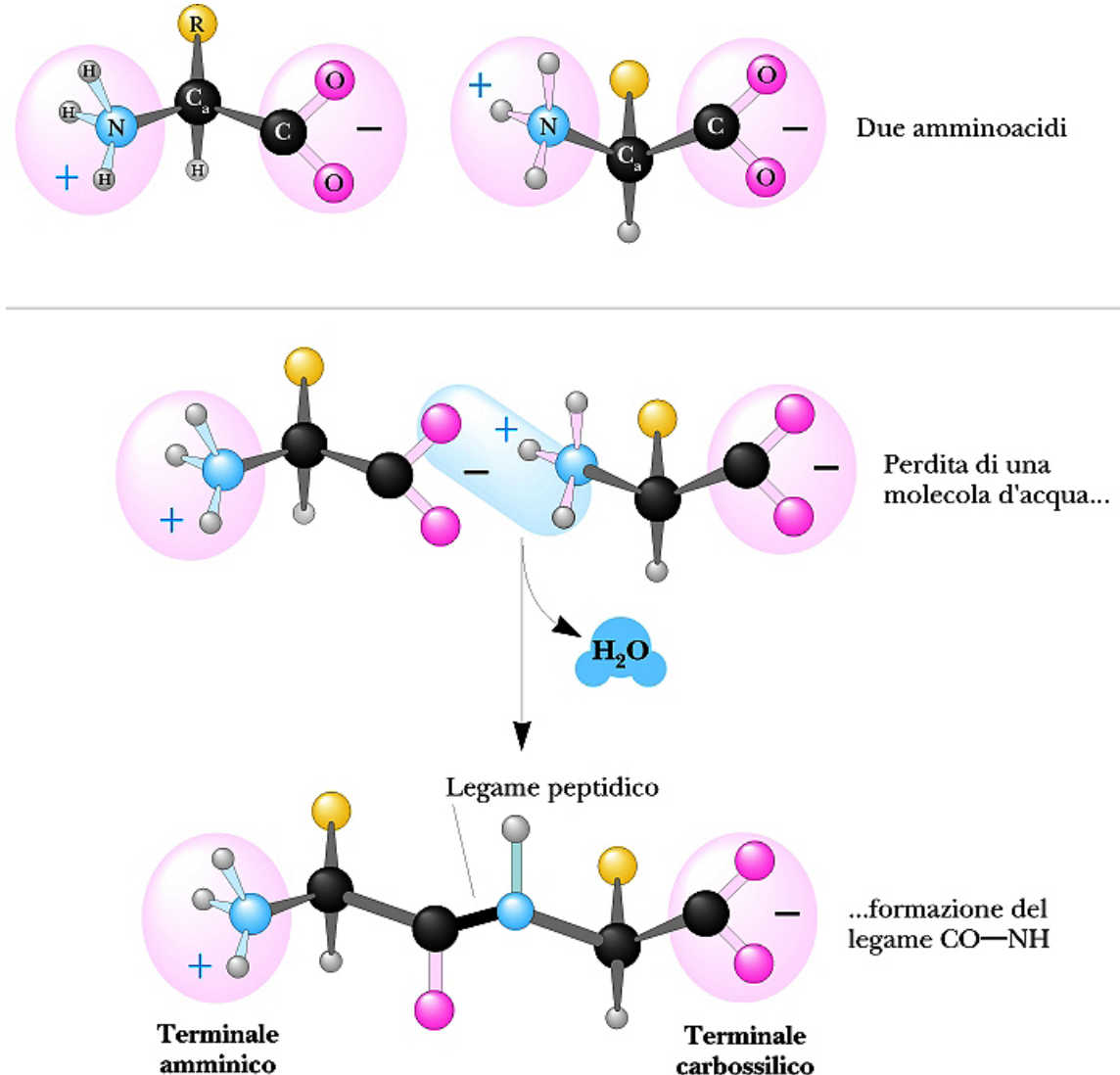
L-Serina

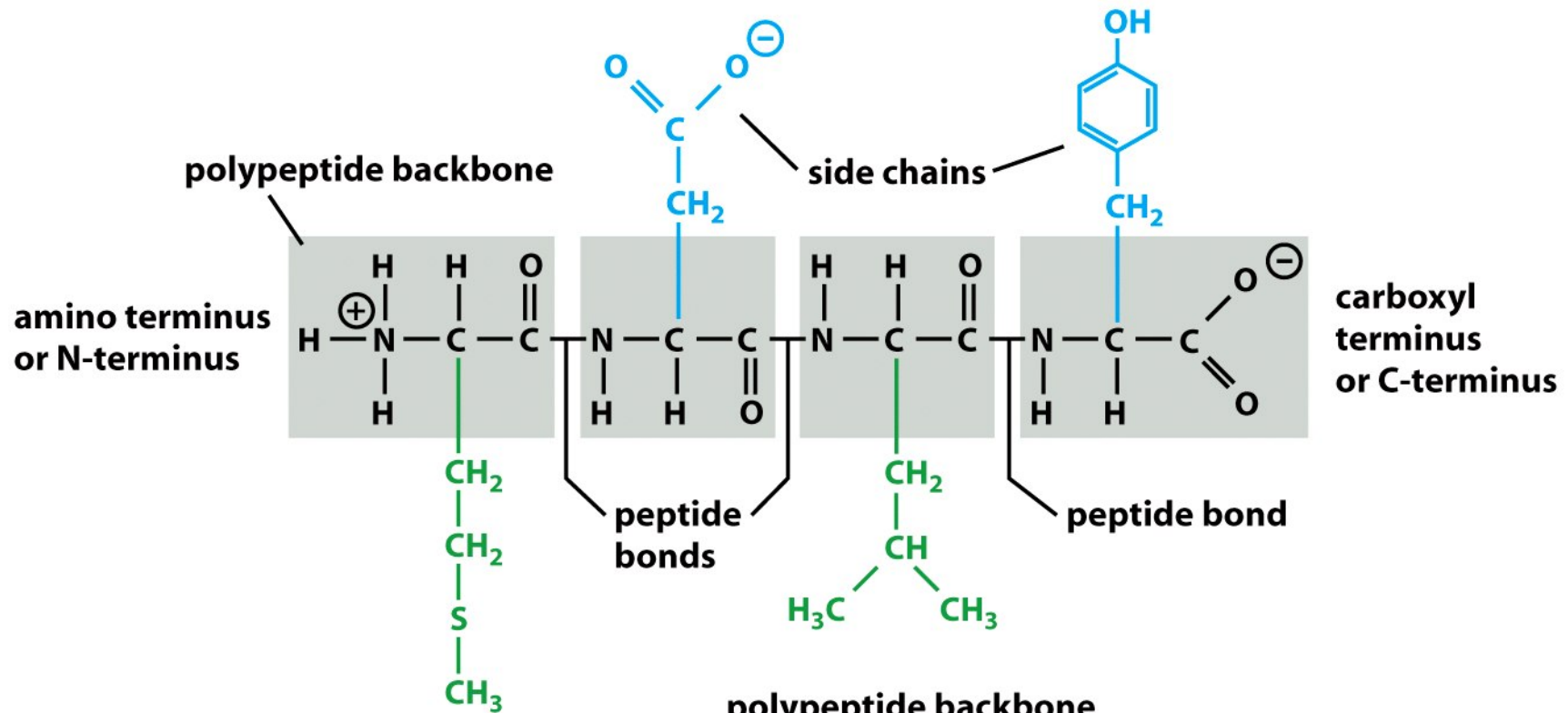


D-Serina

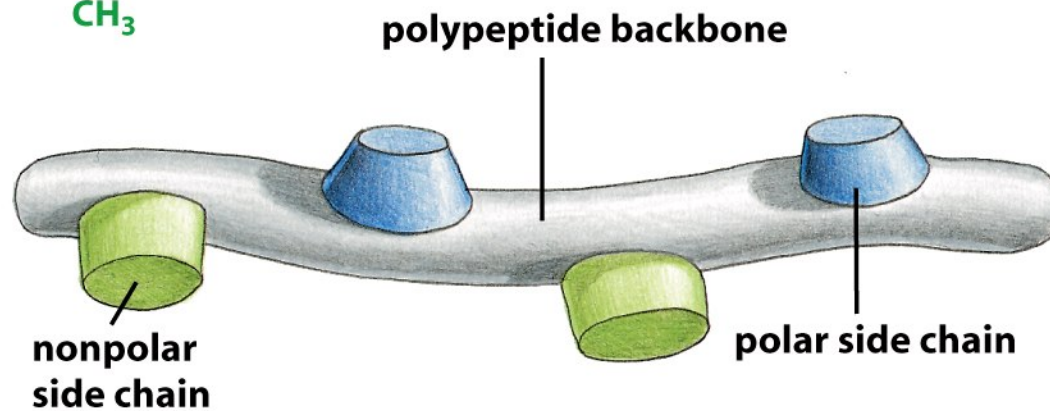
GLI AMMINOACIDI POSSONO UNIRSI ATTRAVERSO LEGAMI PEPTIDICI

La presenza di due gruppi chimici caratteristici ($-\text{NH}_3^+$ e $-\text{COO}^-$), permette agli amminoacidi di polimerizzare e, quindi, formare peptidi e proteine. Il gruppo amminico e il gruppo carbossilico possono reagire in maniera testa-coda, perdendo una molecola d'acqua e formando un legame ammidico **covalente**, il quale, nel caso di peptidi e proteine, viene chiamato legame **peptidico**. Il ripetersi di questa reazione produce **polipeptidi e proteine**.





SCHEMATIC



SEQUENCE



GLI AMMINOACIDI COMUNI

Tutti gli amminoacidi, esclusa la prolina, hanno liberi sia il gruppo α -amminico che quello α -carbossilico. Gli amminoacidi vengono classificati in base alla loro polarità-

- Amminoacidi non polari (idrofobici).
- Amminoacidi neutri (non carichi), polari.
- Amminoacidi acidi (carica negativa a pH7).
- Amminoacidi basici (carica positiva a pH7).

Questa classificazione consente di predire le proprietà delle proteine.

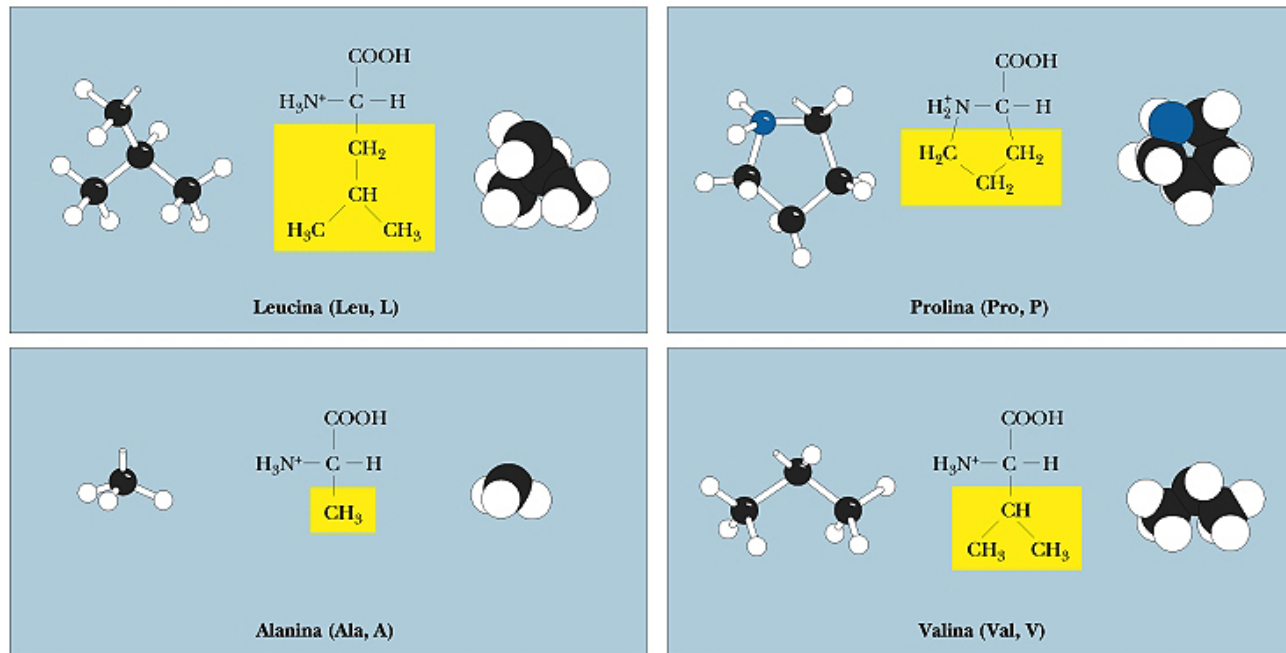
AMINO ACID		SIDE CHAIN	
Aspartic acid	Asp	D	negative
Glutamic acid	Glu	E	negative
Arginine	Arg	R	positive
Lysine	Lys	K	positive
Histidine	His	H	positive
Asparagine	Asn	N	uncharged polar
Glutamine	Gln	Q	uncharged polar
Serine	Ser	S	uncharged polar
Threonine	Thr	T	uncharged polar
Tyrosine	Tyr	Y	uncharged polar

———— POLAR AMINO ACIDS ————

AMINO ACID		SIDE CHAIN	
Alanine	Ala	A	nonpolar
Glycine	Gly	G	nonpolar
Valine	Val	V	nonpolar
Leucine	Leu	L	nonpolar
Isoleucine	Ile	I	nonpolar
Proline	Pro	P	nonpolar
Phenylalanine	Phe	F	nonpolar
Methionine	Met	M	nonpolar
Tryptophan	Trp	W	nonpolar
Cysteine	Cys	C	nonpolar

———— NONPOLAR AMINO ACIDS ————

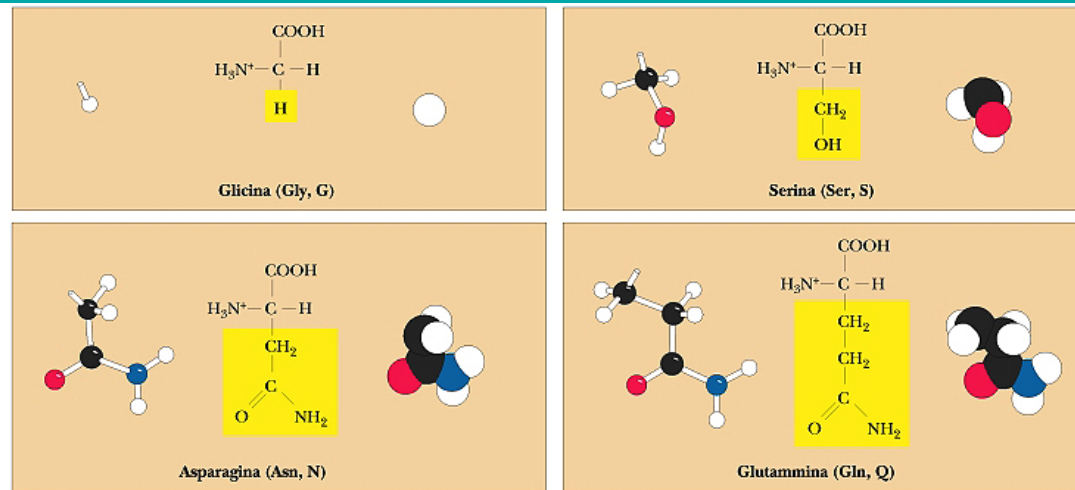
AMMINOACIDI NON POLARI



Gli amminoacidi **non polari o idrofobici** includono:

- Quelli con catene R costituite da gruppi alchilici: alanina, valina, leucina, e isoleucina.
- La prolina (con la sua insolita struttura ciclica).
- La metionina (uno dei due amminoacidi contenenti zolfo).
- Due amminoacidi aromatici, la fenilalanina e il triptofano.

AMMINOACIDI POLARI, NON CARICHI



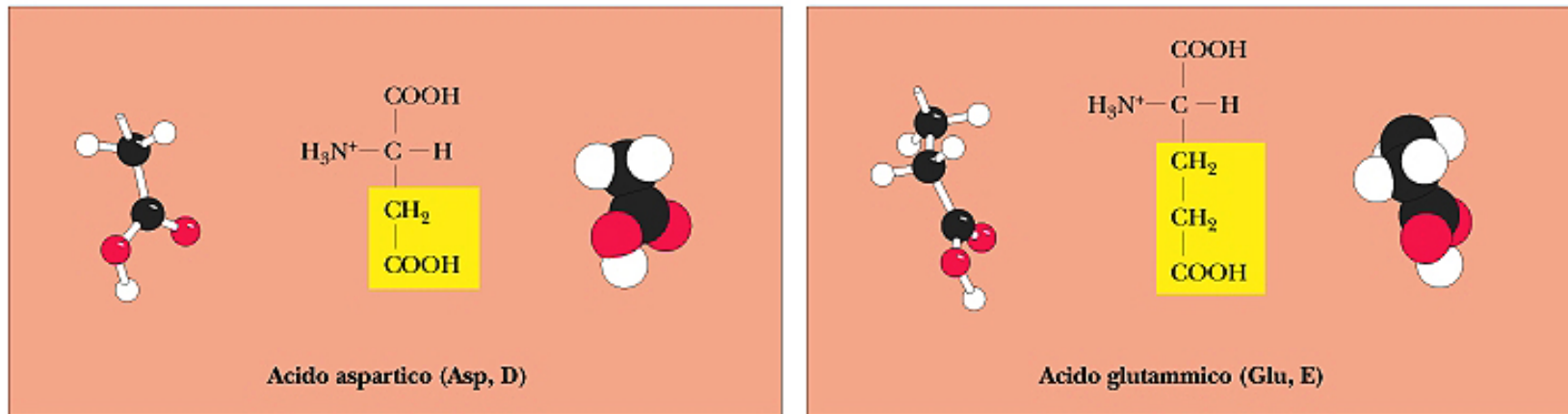
Tutti gli amminoacidi polari non carichi, esclusa la glicina, contengono gruppi R in grado di formare legami a idrogeno con l'acqua. Perciò, sono solitamente **più solubili in acqua**.

Il gruppo ammidico della asparagina e della glutammina, il gruppo ossidrile della tirosina, della treonina e della serina, e il gruppo sulfidrilico della cisteina formano tutti legami a idrogeno.

La glicina, il più semplice degli amminoacidi, possiede come gruppo R un atomo di idrogeno, non in grado di formare legami a idrogeno. La sua solubilità è determinata dai gruppi polari amminico e carbossilico.

La tirosina ha caratteristiche non polari dovute al suo anello aromatico, e potrebbe essere, a ragione, inserita nel gruppo degli amminoacidi non polari. Tuttavia, l'ossidrile fenolico della tirosina a pH elevati è un gruppo polare carico negativamente.

AMMINOACIDI ACIDI



Ci sono due amminoacidi acidi le cui catene R contengono un gruppo carbossilico:

- Acido aspartico
- Acido glutammico.
- I gruppi carbossilici della catena laterale sono acidi più deboli del gruppo α -COOH, ma sono sufficientemente acidi da esistere come carbossilati ($-\text{COO}^-$) a pH neutro.
- Tali forme vengono denominate in modo appropriato come aspartato e glutammato.

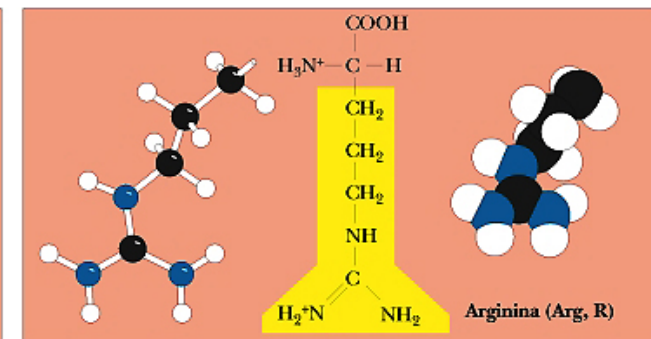
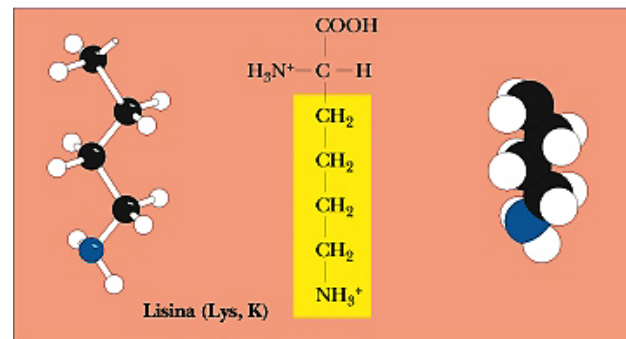
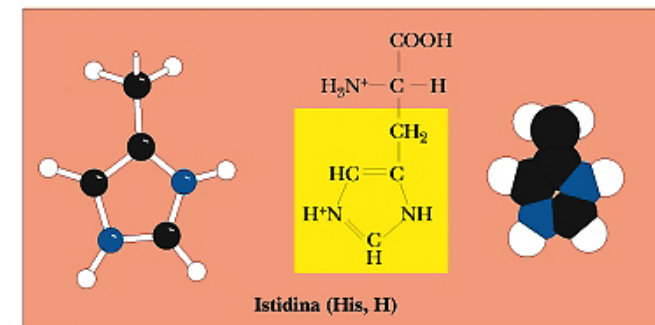
Svolgono diversi ed importanti **ruoli nelle proteine**: quelle che legano **ioni metallici** per ragioni strutturali o funzionali, possiedono siti di legame per il metallo contenenti una o più catene laterali di aspartato e glutammato. ¹²

AMMINOACIDI BASICI

Tre degli amminoacidi comuni, istidina, arginina e lisina, hanno catene laterali con carica positiva netta a pH neutro. A pH 7, le catene laterali di:

- arginina e lisina sono completamente protonate,
- l'istidina, è protonata solamente al **10%**.

Con un pH vicino alla neutralità, la catena laterale dell'**istidina** è importante come **donatore e accettore** di protoni in molte reazioni enzimatiche. Peptidi contenenti istidina sono importanti **tamponi biologici**. Le catene laterali di arginina e lisina, protonate in condizioni fisiologiche, partecipano alle **interazioni elettrostatiche** delle proteine.



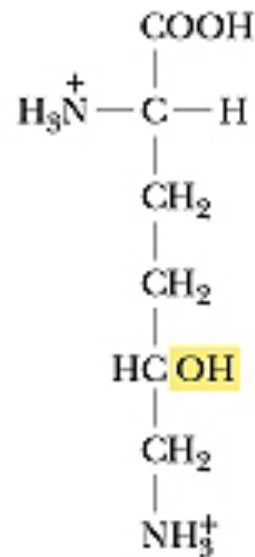
ALTRI AMMINOACIDI

Esistono altri amminoacidi che ricorrono solo raramente nelle proteine. Tra questi:

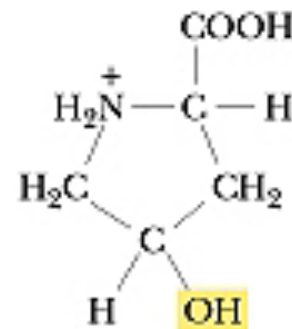
- l'idrossilisina e
- l'idrossiprolina,

prevalentemente presenti nel collagene e nelle proteine della gelatina

(a) 5-Idrossilisina



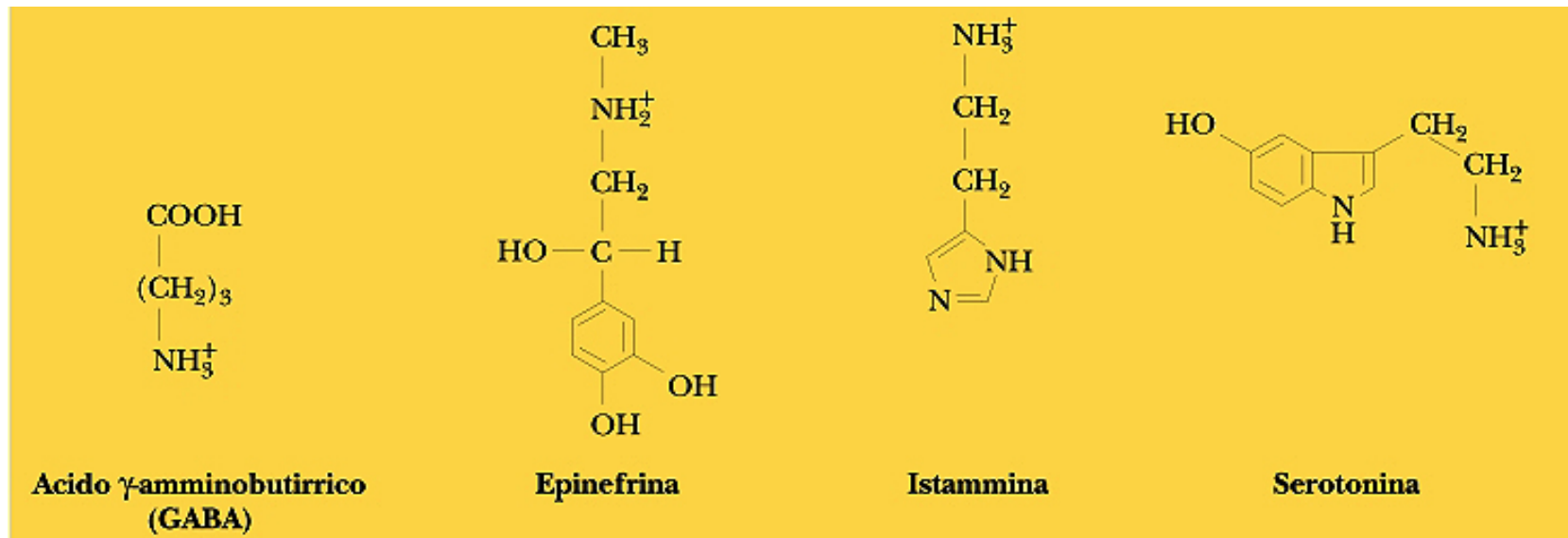
4-Idrossiprolina



ALCUNI AMMINOACIDI E DERIVATI SONO NEUROTRASMETTITORI E ORMONI

Gli amminoacidi non hanno un'attività biologica particolare. Tuttavia, alcuni amminoacidi (e i loro derivati) sono potenti agenti neuroattivi, che agiscono sia come neurotrasmettitori che come ormoni. Esempi notevoli sono:

- il glutammato,
- l'aspartato,
- l'acido γ -amminobutirrico (**GABA***),
- l'istamina**,
- la serotonina**, e
- epinefrina**.

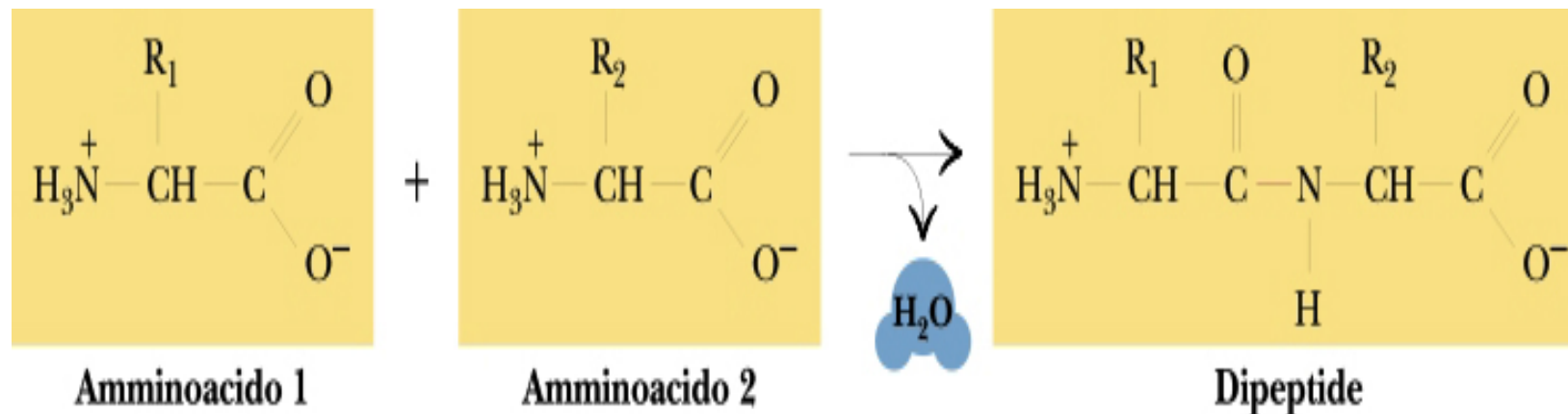


*è prodotto dalla decarbossilazione dell'acido glutammico

**derivati dell'istidina, del triptofano, e della tirosina, rispettivamente.

LE PROTEINE SONO POLIMERI LINEARI DI AMMINOACIDI

Dal punto di vista chimico, le proteine sono polimeri non ramificati di amminoacidi, legati testa-coda, dal gruppo carbossilico al gruppo amminico, attraverso la formazione di un **legame peptidico** covalente, con perdita di una molecola di acqua.

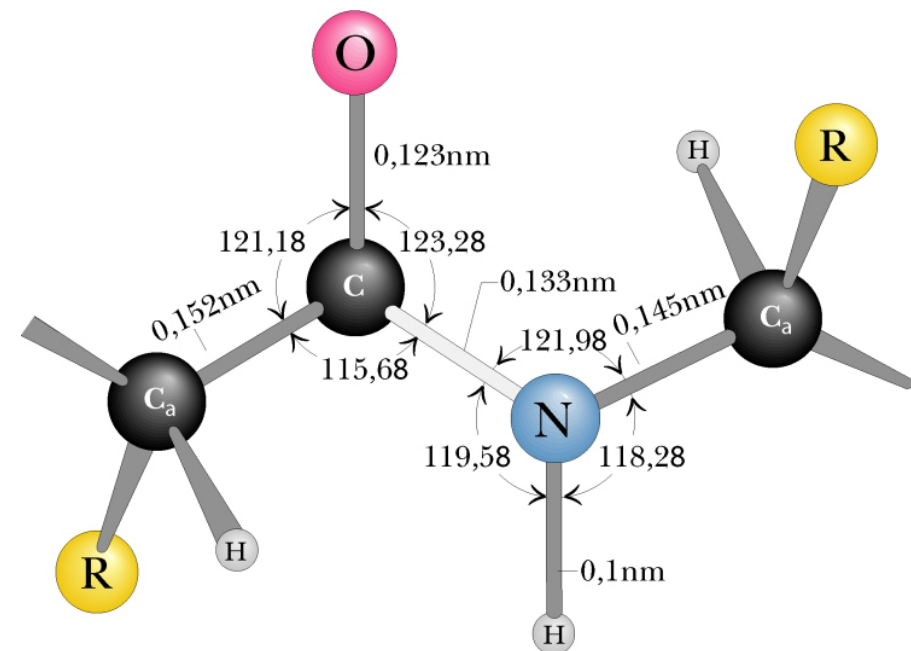


LO "SCHELETRO" PEPTIDICO DI UNA PROTEINA

Lo "scheletro" è rappresentato dalla sequenza ripetuta $-N-C\alpha-CO-$ dove N rappresenta l'azoto ammidico, $C\alpha$ è il carbonio- α di un amminoacido nella catena polimerica, e il C finale è il carbonio carbonilico dell'amminoacido, che a sua volta è legato all'N ammidico dell'amminoacido seguente lungo la linea.

L'ossigeno carbonilico e l'idrogeno ammidico sono sempre in *trans* tra loro. Tale conformazione è favorita energeticamente, poiché **porta a minore ingombro sterico** tra gli atomi non legati di amminoacidi contigui. Dal momento che il carbonio- α di un amminoacido è un centro asimmetrico (in tutti gli amminoacidi ad eccezione per la glicina), la catena polipeptidica è asimmetrica.

Nella fig., le distanze e gli angoli sono distanze medie rilevate all'esame cristallografico. In bianco il legame peptidico tra C e N

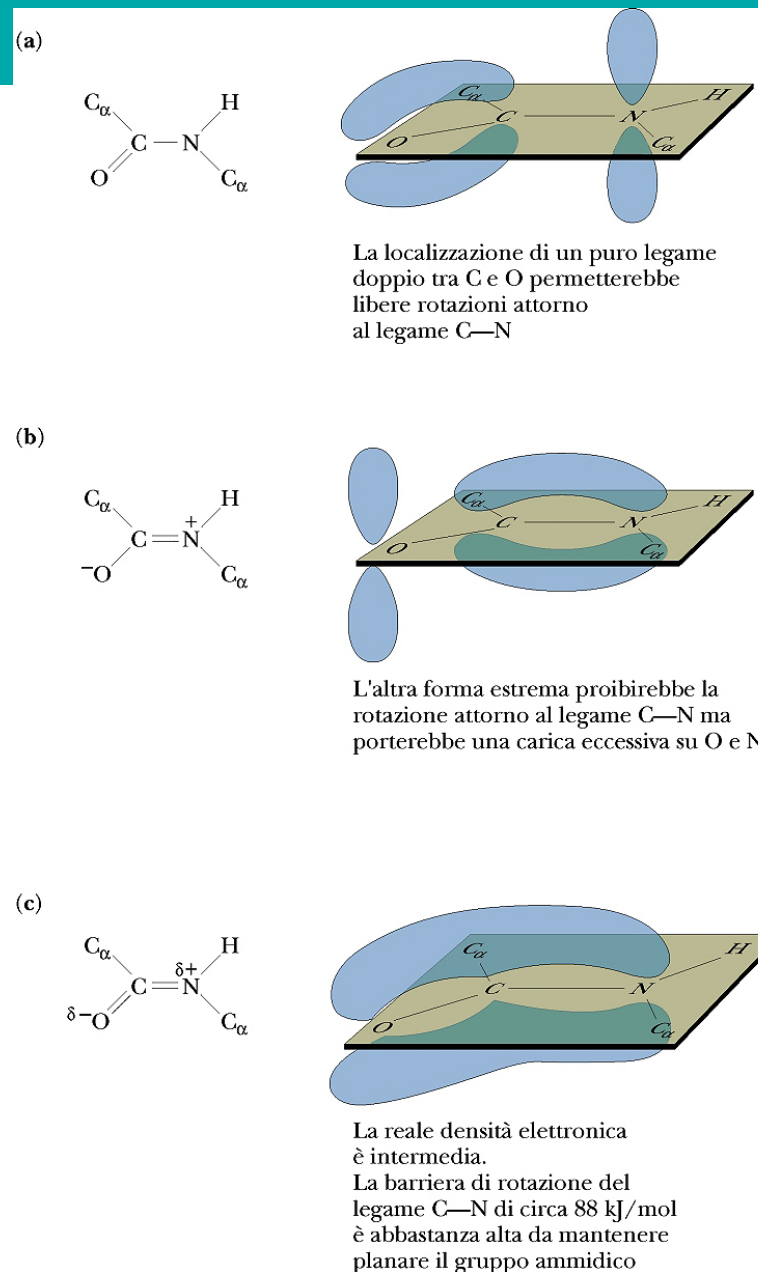


LEGAME PEPTIDICO HA UN CARATTERE PARZIALE DI LEGAME DOPPIO

a) Il **legame peptidico** è solitamente rappresentato da un **legame singolo** tra il carbonio carbonilico e l'azoto ammidico. Perciò **si possono avere rotazioni** intorno a ciascun legame covalente dello scheletro peptidico*. In questo caso, l'azoto ha un coppia di elettroni non appaiati in un orbitale.

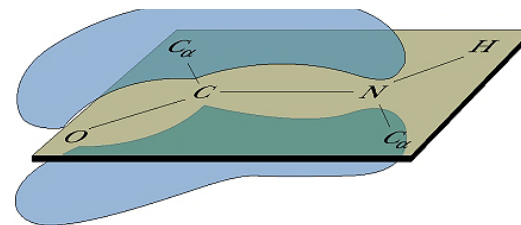
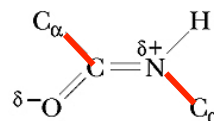
b) *Tuttavia* è possibile **un'altra forma di risonanza** per il legame peptidico, in cui gli atomi C e N lasciano un coppia non appaiata di e^- sull'ossigeno. Tale **struttura**, avendo un legame doppio, **impedisce le rotazioni** attorno al legame peptidico.

c) **Nella realtà**, il **legame peptidico** è **intermedio** tra questi estremi; e possiede un carattere parziale di legame doppio

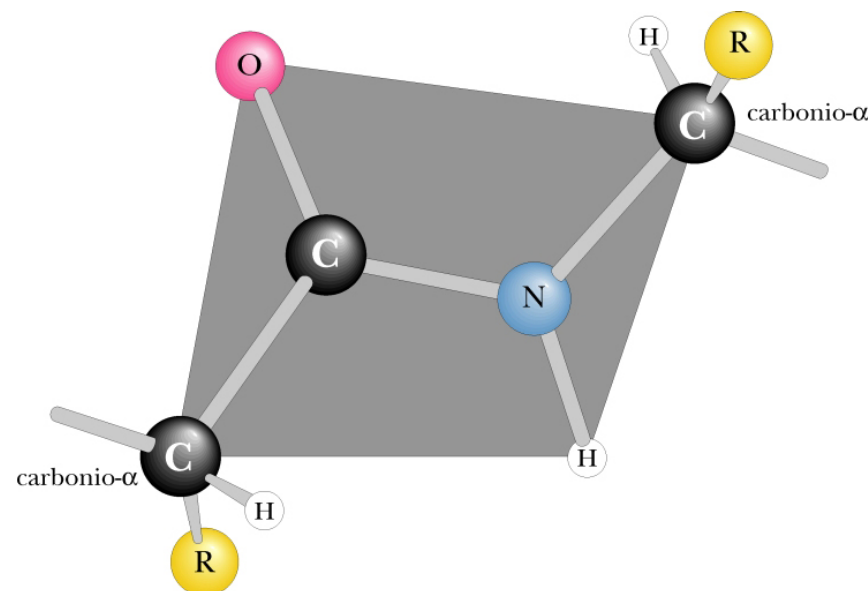


CONSEGUENZE DELLA RISONANZA DEL LEGAME PEPTIDICO

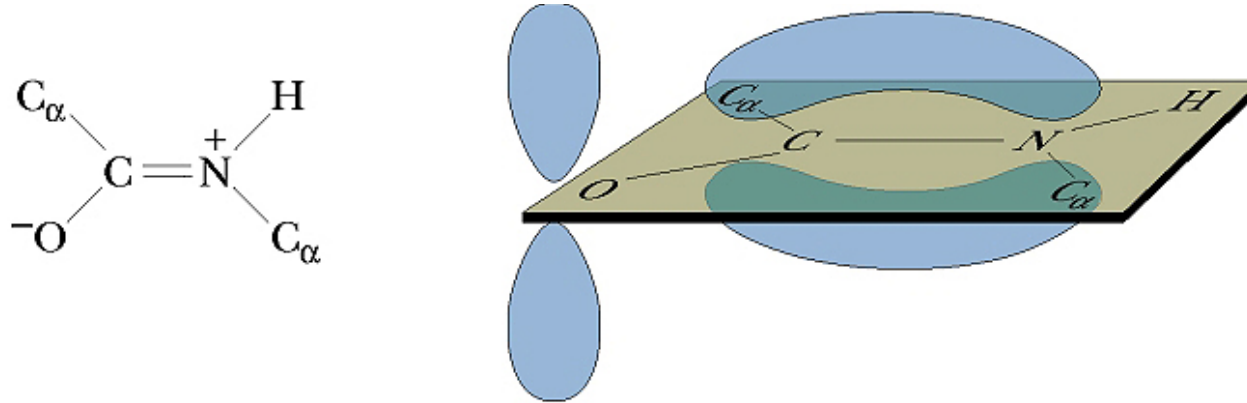
- **Limita le libere rotazioni** attorno al legame peptidico, e lascia lo scheletro peptidico con due soli gradi di libertà per amminoacido: la rotazione attorno al legame N—C α e quella attorno al legame C α —CO.
- I sei atomi che compongono il gruppo del legame peptidico tendono a essere complanari, formando il così detto **piano ammidico** della catena polipeptidica.
- La lunghezza del legame CO—N di 0,133 nm, è più corta della normale distanza C—N (per esempio, la distanza C α —N è di 0,145 nm), ma maggiore del tipico legame C—N (0,125 nm). **Si stima che il legame peptidico possieda al 40% il carattere di doppio legame.**



La reale densità elettronica è intermedia.
La barriera di rotazione del legame C—N di circa 88 kJ/mol è abbastanza alta da mantenere planare il gruppo ammidico



LO SCHELETRO POLIPEPTIDICO È RELATIVAMENTE POLARE



La risonanza del legame peptidico produce una relativa polarità della catena polipeptidica. L'ibrido localizza una carica positiva di 0,28 sull'N ammidico e una equivalente carica negativa di 0,28 sull'ossigeno carbonilico. Il legame peptidico possiede, dunque, un dipolo permanente. Tuttavia, lo scheletro peptidico è relativamente non reattivo chimicamente, e i protoni sono catturati o ceduti dai gruppi peptidici solo in condizioni estreme di pH.

LA CLASSIFICAZIONE DEI PEPTIDI

Peptide è un polimero di amminoacidi di breve lunghezza.

I peptidi sono classificati in base al numero delle unità amminoacidiche presenti nella catena. Ciascuna unità è chiamata **residuo amminoacidico**. Il *residuo* è ciò che rimane dopo il rilascio di H_2O , quando un amminoacido forma un legame peptidico unendosi alla catena peptidica.

- I **dipeptidi** possiedono due residui amminoacidici,
- i tripeptidi ne hanno tre,
- i tetrapeptidi quattro,
- le catene peptidiche ,costituite da più di 12 amminoacidi e da meno di 20, sono chiamati **oligopeptidi**,
- quando la catena supera in lunghezza alcune dozzine di amminoacidi viene usato il termine **polipeptide**.

PROTEINE SONO COMPOSTE DA UNA O PIÙ CATENE POLIPEPTIDICHE

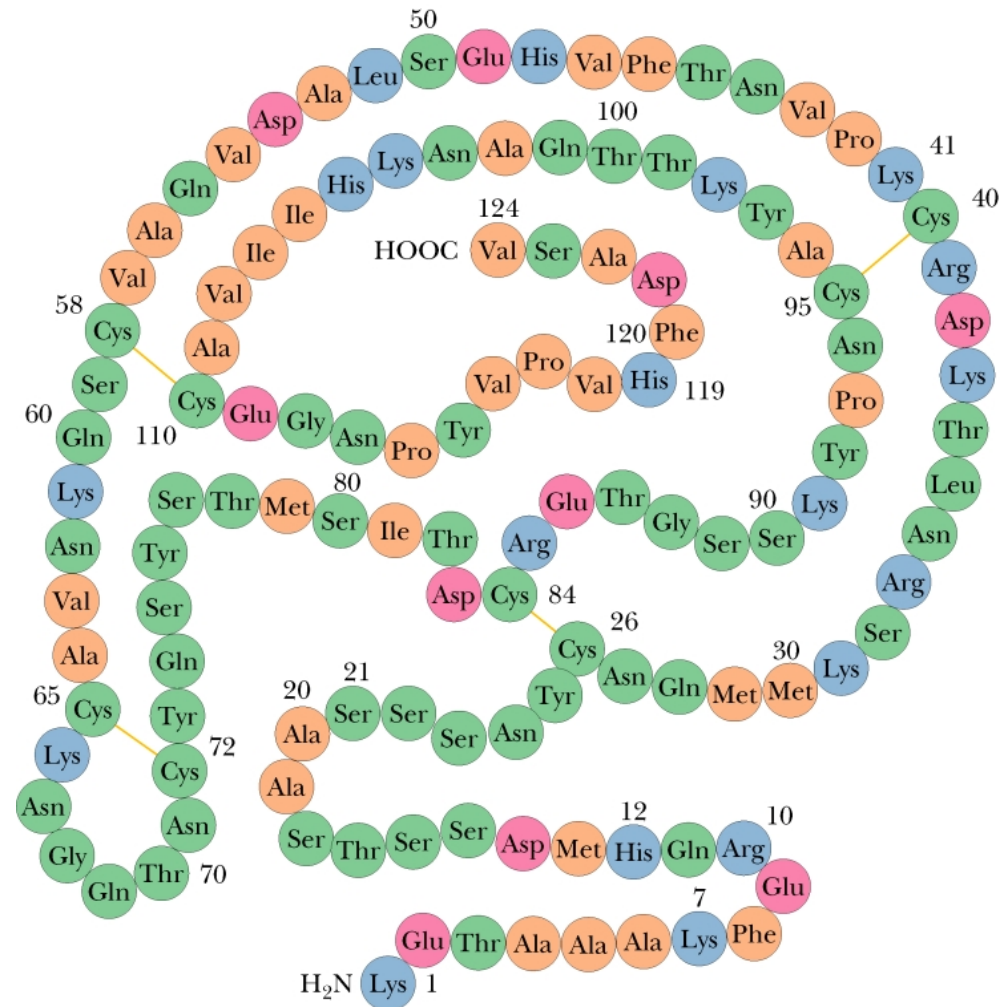
- I termini **proteine** e **polipeptidi** si usano in modo intercambiabile quando si parla di **singole catene polipeptidiche**.
- **Proteine**: sono le molecole composte da una (proteine **monomeriche**) o più catene polipeptidiche (proteine **polimeriche**).
 - Le proteine **polimeriche** possono contenere un solo tipo di polipeptide (**omopolimeriche**) o più polipeptidi (**eteropolimeriche**).
 - Le **proteine polimeriche** sono indicate con **lettere greche e pedici** per caratterizzare la loro composizione polipeptidica:
 - α_2 , è una proteina omopolimerica con due subunità (dimeri) polipeptidiche identiche;
 - $A_2\beta_2$, è una proteina (emoglobina dell'adulto) eteropolimerica, con quattro polipeptidi di due tipi differenti.

ANALISI E COMPOSIZIONE AMMINOACIDICA DELLE PROTEINE

- La separazione cromatografica e l'analisi amminoacidica delle proteine sono completamente automatizzate negli **analizzatori di amminoacidi**.
- Ciascuno dei 20 amminoacidi naturali, è di solito presente almeno una volta in una catena polipeptidica.
- Le proteine non sono composte da un ordine ripetuto di amminoacidi, tranne poche eccezioni:
 - Il collagene contiene grandi quantità di glicina e prolina, e la maggior parte della sua struttura è composta da unità ripetute (Gly-x-Pro), dove x rappresenta un amminoacido qualsiasi.
 - Gli istoni, una classe di proteine associate con i gruppi fosfato anionici del DNA eucariotico, sono ricchi di amminoacidi carichi positivamente come l'arginina e la lisina.

LA SEQUENZA DEGLI AMMINOACIDI NELLE PROTEINE

Ogni proteina ha una particolare sequenza di residui amminoacidici nella sua catena polipeptidica che viene codificata dalla sequenza nucleotidica del DNA. Questa, dunque, è una manifestazione dell'informazione genetica. Per convenzione la sequenza degli amminoacidi si legge dall'estremità N-terminale della catena polipeptidica verso l'estremità C-terminale.

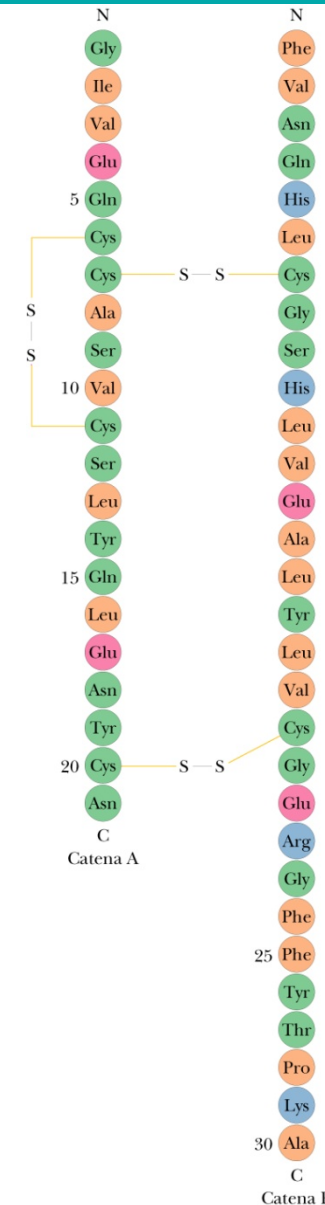


LA STRUTTURA PRIMARIA DI UNA PROTEINA

■ Nel 1953, Frederick Sanger individuò le sequenze amminoacidiche delle due catene polipeptidiche dell'insulina. Sanger stabilì che le proteine sono chimicamente ben definite. Tutte le proteine:

- hanno una composizione di amminoacidi fissa,
- una sequenza di amminoacidi definita, e
- un peso molecolare costante.

Oggi, sono note le sequenze amminoacidiche di centinaia di migliaia di proteine differenti. Molte sequenze sono state determinate con l'applicazione dei principi di Sanger, ma la maggior parte viene ricavata dalla conoscenza della sequenza nucleotidica del gene che le codifica.



ALCUNE PROTEINE POSSIEDONO GRUPPI CHIMICI DIVERSI DAGLI AMMINOACIDI



Le proteine, in base alla loro composizione, possono dividersi in:

- Proteine semplici, formate da soli amminoacidi.
- Proteine coniugate, contengono gruppi chimici diversi come parte integrante della loro struttura.



Se la parte non proteica è essenziale alla funzione della proteina, prende il nome di **gruppo prostetico**.

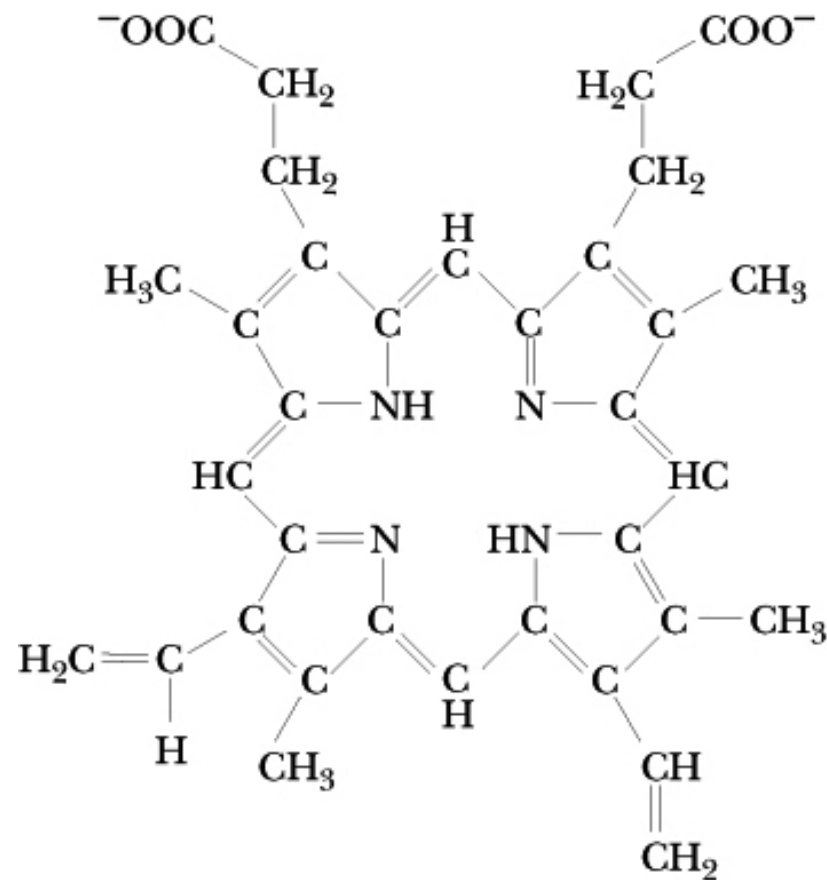
PROTEINE CONIUGATE

Classe	Gruppo prostetico	% in peso
<i>Glicoproteine contenenti carboidrati</i>		
Fibronectina		
γ-globuline		
Proteoglicano		
<i>Lipoproteine contenenti lipidi</i>		
Lp del plasma	Trigliceridi, fosfolipidi, colesterolo	75
HDL	Trigliceridi, fosfolipidi, colesterolo	67
LDL		
<i>Complessi di nucleoproteine contenenti ac. Nucleici</i>		
Ribosomi	RNA	50 – 60
Virus mosaico del tabacco	RNA	5
Adenovirus	DNA	
HIV-1 (AIDS)	RNA	
<i>Fosfoproteine contenenti fosfati</i>		
Caseina	Gruppi fosfato	
Glicogeno fosforilasi a	Gruppi fosfato	
<i>Metalloproteine contenenti atomi di metallo</i>		
Ferritina	Ferro	35
Alcol deidrogenasi	Zinco	
Citocromo ossidasi	Rame e Ferro	
Nitrogenasi	Molibdeno e Ferro	
Piruvato Carbossilasi	Manganese	
<i>Emoproteine contenenti eme</i>		
Emoglobina		
Citocromo c		
Catalasi		
Nitrato reduttasi		
Ammonio ossidasi		
<i>Flavoproteine contenenti flavina</i>		
Succinato deidrogenasi	FAD	
NADH deidrogenasi	FMN	
Diidroorotato deidrogenasi	FAD e FMN	
Sulfito reduttasi	FAD e FMN	

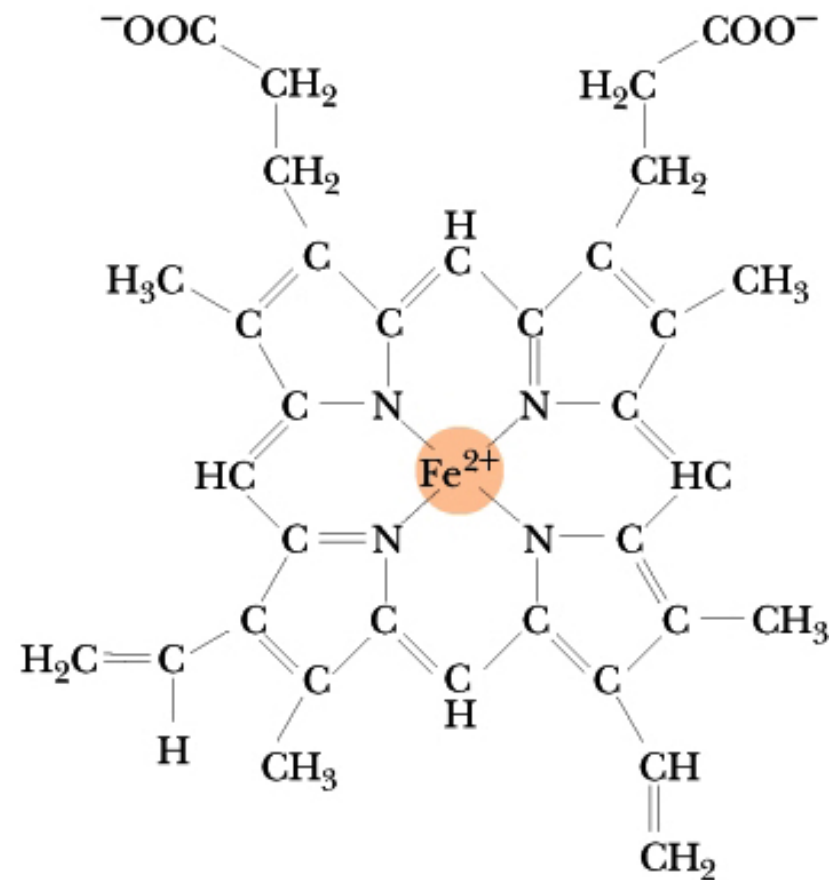
FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE

Classe funzionale	Esempi
Enzimi	Ribonucleasi Tripsina Fosfofruttochinasi Alcol deidrogenasi Catalasi
Proteine regolatorie	Insulina Somatotropina Tirotropina
Proteine di trasporto	Emoglobina Albumina Trasportatore del glucosio
Proteine di deposito	Ovoalbumina Caseina Ferritina
Proteine contrattili	Actina Miosina Tubulina
Proteine strutturali	Cheratina Collageno Elastina
Proteine di protezione	Immunoglobuline Trombina Fibrinogeno
Proteine esotiche	Proteine antigelo Proteina colla

GRUPPO PROSTETICO DELL' EMOGLOBINA



Protoporfirina IX



Heme
(Fe-protoporfirina IX)

LE MOLTEPLICI FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE

■ Le *proteine* sono gli agenti della funzione biologica. Quasi ogni attività cellulare dipende da una o più proteine particolari. Così, un modo conveniente per classificare il numero enorme delle proteine è basato sul ruolo biologico che esse ricoprono.

La classe degli **enzimi** è di gran lunga la più grande. Più di 2000 enzimi differenti sono elencati nella *Nomenclatura degli Enzimi*, il volume di riferimento per la classificazione degli enzimi. Gli **enzimi** sono catalizzatori che:

- accelerano la velocità delle reazioni biologiche.
- Sono molto specifici nella loro funzione e
- agiscono solo in una reazione metabolica particolare.

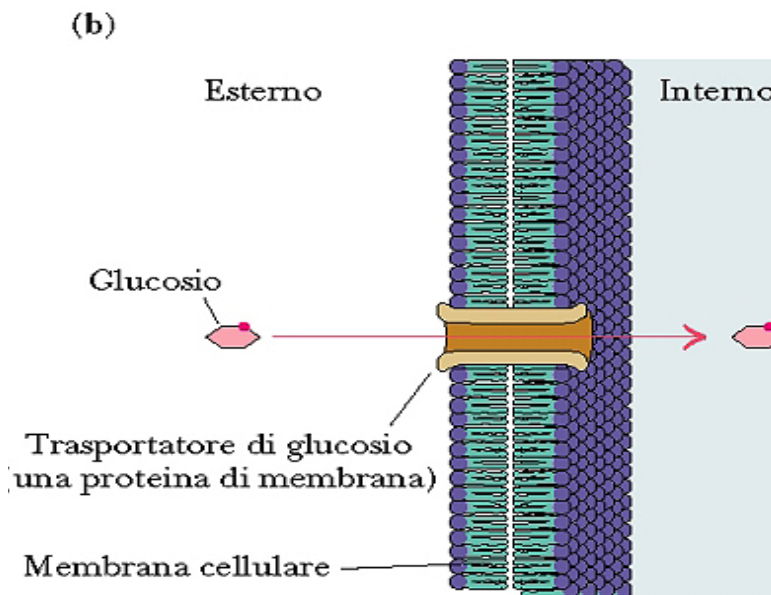
Praticamente ogni passaggio nel metabolismo è catalizzato da un enzima.

TRASPORTO BIOLOGICO

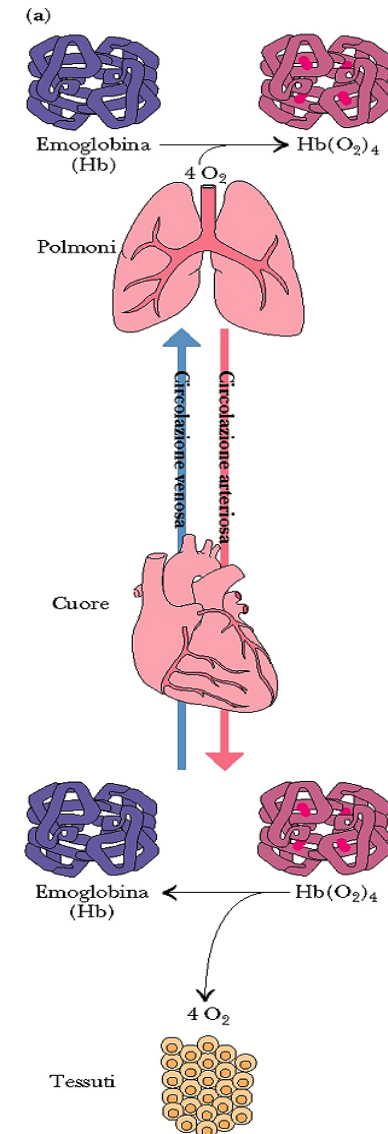


Vi sono due tipi fondamentali di trasporto biologico

- Trasporto in o tra cellule differenti o tessuti;
- Trasporto dentro o fuori dalle cellule.



Trasporto Glucosio



Trasporto ossigeno