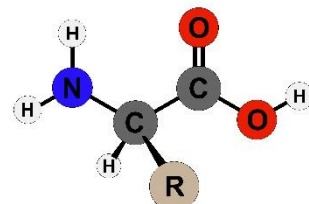


Lezione 23

Amminoacidi e Proteine

Gli amminoacidi sono composti organici caratterizzati dalla presenza di un gruppo amminico ed un gruppo carbossilico.

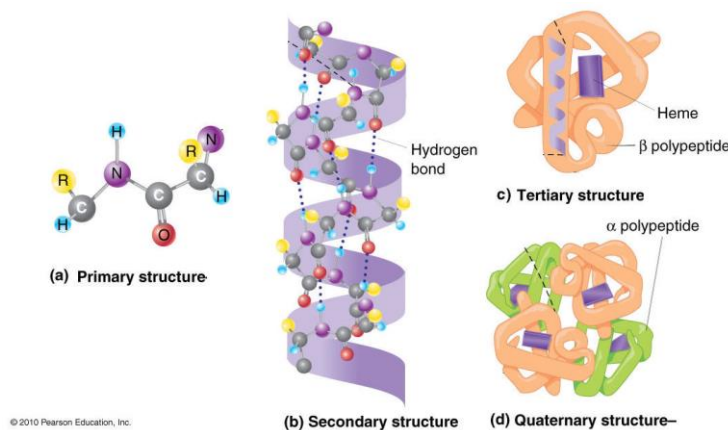
Gli amminoacidi che più ci interessano sono quelli che costituiscono le proteine in natura ed hanno caratteristiche particolari. In questi composti il gruppo carbossilico lega il gruppo amminico sull'atomo di carbonio in α , sono quindi α -amminoacidi.



Altra caratteristica degli amminoacidi proteogenici, sul C α è presente anche un gruppo R, tranne nella *glicina* che lega un atomo di H. Per tutti gli altri amminoacidi la stereochimica è L secondo Fischer. Secondo CIP gli amminoacidi proteogenici sono tutti S, tranne la *cisteina* che è R.

Nella formazione dei peptidi il gruppo carbossilico di un amminoacido legherà il gruppo amminico di un altro amminoacido, formando un legame ammidico, nello specifico chiamato anche legame peptidico.

La sequenza di amminoacidi è detta *struttura primaria* della proteina. Questa può poi organizzarsi in *strutture secondarie*, tra cui α -elica e β -foglietto. Queste strutture secondarie si organizzano ulteriormente dando luogo ad una *struttura terziaria*. Più proteine possono organizzarsi tra loro formando una *struttura quaternaria*.



Gli amminoacidi proteogenici sono 20. Questi si classificano secondo la tabella seguente.

La *glicina* è l'amminoacido più semplice, lega un H come gruppo R sul C α . La glicina non è chirale.

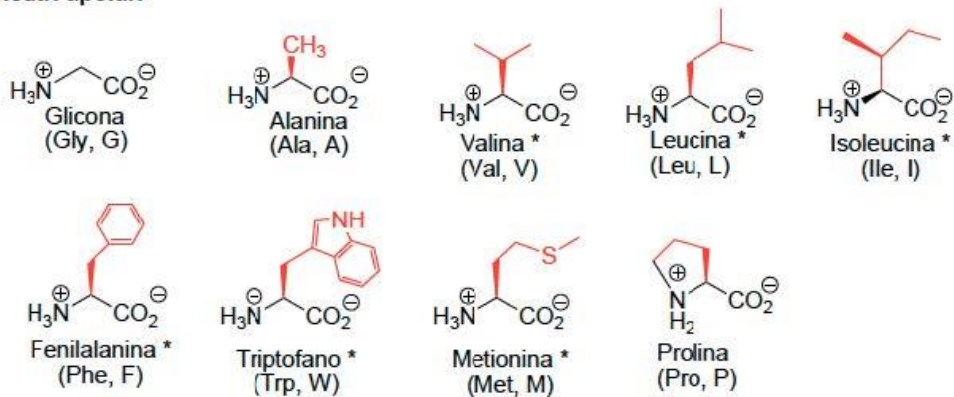
La *prolina* è un amminoacido particolare in cui anche l'N lega il gruppo R in α al carbonile, dando una particolare rigidità conformazionale a questo amminoacido.

La *arginina* lega un gruppo R particolarmente basico.

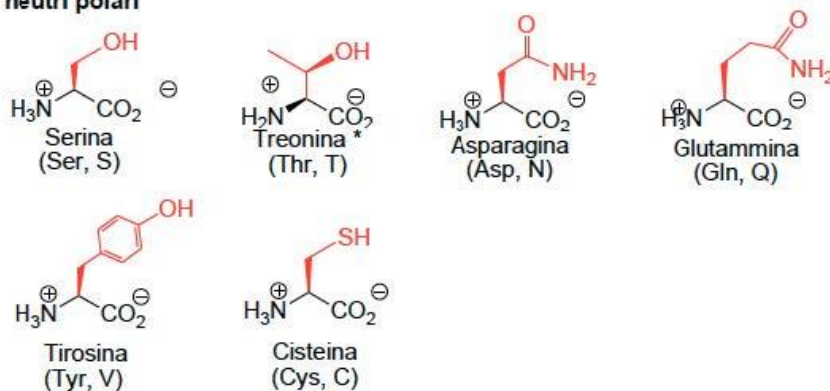
La *Istidina* ha un anello imidazolico al gruppo R, che la rende basica.

In funzione del pH della soluzione, gli amminoacidi possono essere protonati o deprotonati.

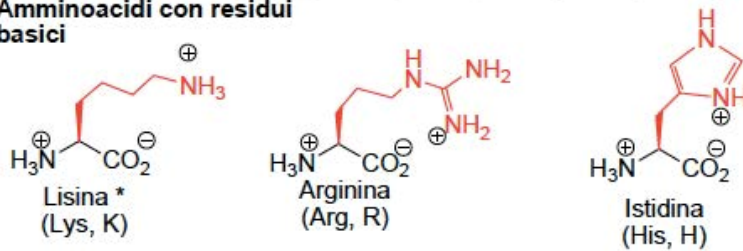
**Amminoacidi con residui
neutri apolari**



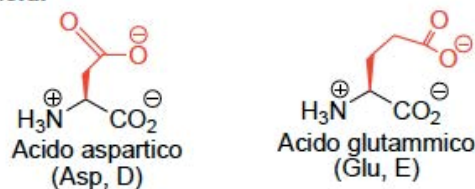
**Amminoacidi con residui
neutri polari**



**Amminoacidi con residui
basici**



**Amminoacidi con residui
acidi**



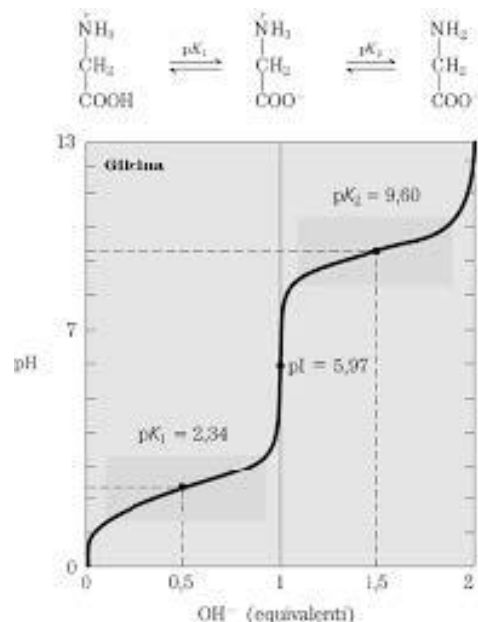
* amminoacidi essenziali

La glicina ad esempio, a pH acido è completamente protonata, sia sul gruppo carbossilico che sul gruppo amminico. Se si fa una curva di titolazione si vedrà una pK_1 (costante di dissociazione acida del primo gruppo acido, che è il gruppo carbossilico COOH). Indica a che pH la metà delle molecole di amminoacido è deprotonata sul gruppo considerato) di circa 2,34. Si avrà poi un punto isoeletttrico (equilibrio tra carica positiva e carica negativa sulla molecola) a circa 5,97. Continuando ad aggiungere base si avrà anche la dissociazione del secondo gruppo acido, che è il gruppo amminico NH_3^+ , a pH di 9,6.

Durante questo progressivo aumento di pH la glicina passa dall'aver una carica positiva, ad una carica neutra al punto isoeletttrico ed infine una carica negativa completata la dissociazione del secondo gruppo acido.

Il punto isoeletttrico varia tra gli amminoacidi, così come la costante di dissociazione. In un campo elettrico, al punto isoeletttrico l'amminoacido non migra quando viene fatta una elettroforesi. Gli amminoacidi possono quindi essere separati per mezzo dell'elettroforesi.

Per gli amminoacidi più basici il punto isoeletttrico si avrà ad un pH più basico. Al contrario, per gli amminoacidi acidi il punto isoeletttrico sarà ad un pH più acido.



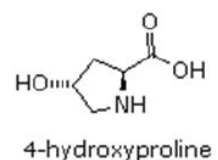
Amino Acid	Abbreviation 3- Letters	1- Letter	pK_1 -COOH	pK_2 -NH ₃ ⁺	pK_a R group	pI
Alanine	Ala	A	2.34	9.69	-	6.00
Arginine	Arg	R	2.17	9.04	12.48	10.76
Asparagine	Asn	N	2.02	8.80	-	5.41
Aspartic Acid	Asp	D	1.88	9.60	3.65	2.77
Cysteine	Cys	C	1.96	10.128	8.18	5.07
Glutamic Acid	Glu	E	2.19	9.67	4.25	3.22
Glutamine	Gln	Q	2.17	9.13	-	5.65
Glycine	Gly	G	2.34	9.60	-	5.97
Histidine	His	H	1.82	9.17	6.00	7.59
Isoleucine	Ile	I	2.36	9.60	-	6.02
Leucine	Leu	L	2.36	9.60	-	5.98
Lysine	Lys	K	2.18	8.95	10.53	9.74
Methionine	Met	M	2.28	9.21	-	5.74
Phenylalanine	Phe	F	1.83	9.13	-	5.48
Proline	Pro	P	1.99	10.60	-	6.30
Serine	Ser	S	2.21	9.15	-	5.58
Threonine	Thr	T	2.09	9.10	-	5.60
Tryptophan	Trp	W	2.83	9.39	-	5.89
Tyrosine	Tyr	Y	2.20	9.11	10.07	5.66
Valine	Val	V	2.32	9.62	-	5.96

From Lehninger Principle of Biochemistry.

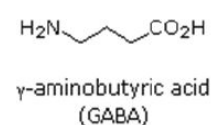
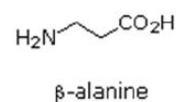
Amminoacidi non proteinogenici

Esistono anche amminoacidi diversi dai 20 che compongono comunemente le proteine.

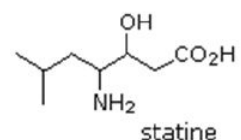
Tra questi troviamo la *idrossiprolina*, che comunque partecipa pure alla composizione delle proteine ma si forma attraverso una ossidazione susseguente della prolina, quando quest'ultima è già parte della catena polipeptidica.



Alcuni di questi non sono α -amminoacidi. Troviamo ad esempio dei β -amminoacidi come la β -alanina, e γ -amminoacidi come il l'acido γ -aminobutirrico (GABA), che è un importante neurotrasmettitore inibitorio.



Anche le *statine* sono amminoacidi non α .



Legame peptidico

La caratteristica principale degli amminoacidi è quella di legarsi tra loro mediante legame peptidico per formare le catene polipeptidiche.

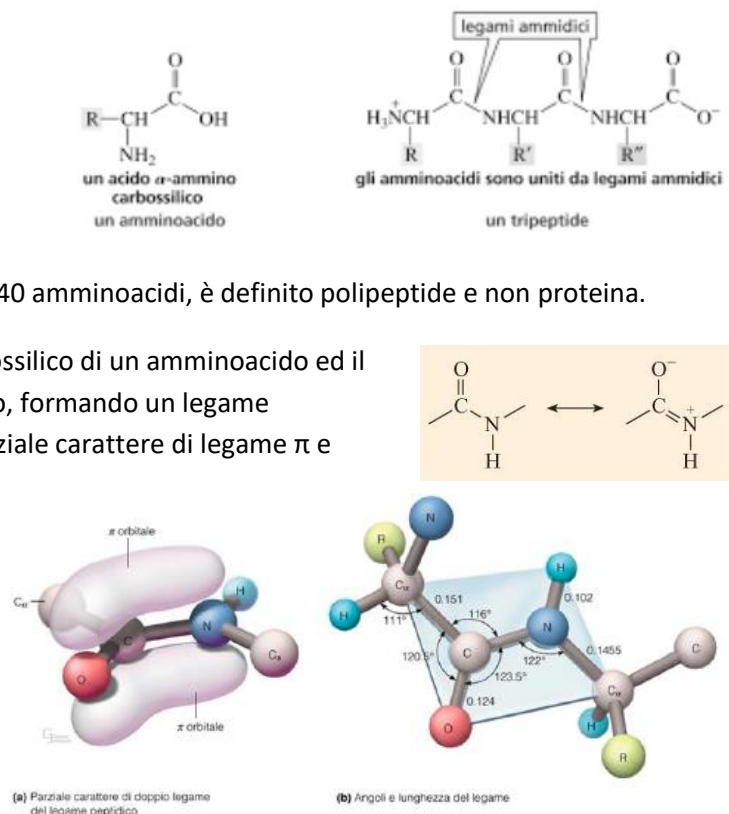
In genere il peptide è un composto, anche naturale, in cui la catena amminoacidica sia al massimo composta da 40 amminoacidi (più o meno).

Sono definite proteine quelle catene polipeptidiche naturali. Una lunga catena di amminoacidi non naturale, anche più lunga di 40 amminoacidi, è definito polipeptide e non proteina.

Il legame peptidico si forma tra il gruppo carbossilico di un amminoacido ed il gruppo amminico dell'amminoacido successivo, formando un legame ammidico. Questo legame peptidico ha un parziale carattere di legame π e

quindi una impossibilità di rotazione.

Dato che la rotazione attraverso il legame peptidico è impossibile, gli atomi si troveranno su di un piano. Questo da rigidità conformazionale alle catene amminoacidi.

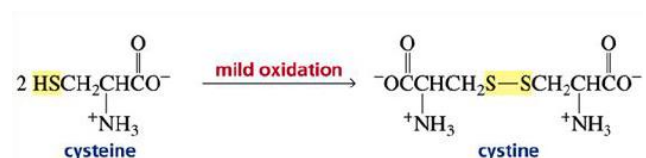


Le strutture secondarie che si ritrovano più di frequente nelle proteine sono β -foglietto ed α -elica

I foglietti beta possono essere disposti in maniera parallela (testa-testa) o antiparallela (testa-coda), a seconda che nel foglietto- β ogni segmento inizi con la stessa estremità del residuo amminoacidico (ad esempio il gruppo amminico) o con estremità alternate (ad esempio una estremità di partenza amminica, la successiva carbossilica). Questa conformazione non è favorita quando gli amminoacidi della catena hanno gruppi R molto ingombranti (??).

L'altra conformazione è quella ad α -elica. Questa struttura secondaria è organizzata in modo tale che si formino dei legami idrogeno tra una spira e la successiva, mediante legami ad idrogeno tra i gruppi amminico e carbossilico. Nell' α -elica i gruppi R sono rivolti verso l'esterno.

Le strutture secondarie a loro volta si ripiegano dando luogo a strutture terziarie, che sono stabilizzate, tra i vari fattori, da interazioni idrofobiche e da **ponti disolfuro**.



I ponti disolfuro si realizzano tra residui di *cisteina* che possono anche trovarsi distanti nella catena amminoacidica, ma sono spazialmente vicine nella struttura terziaria. La reazione di formazione di ponte disolfuro è una ossidazione che da due gruppi tiolici SH darà luogo ad un legame S-S.

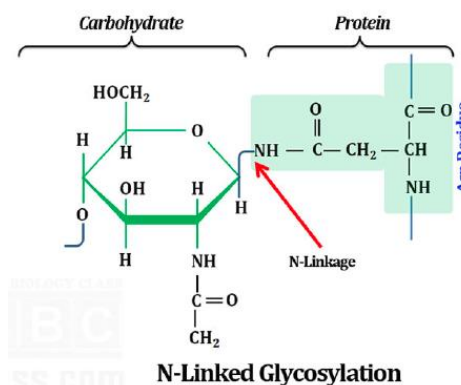
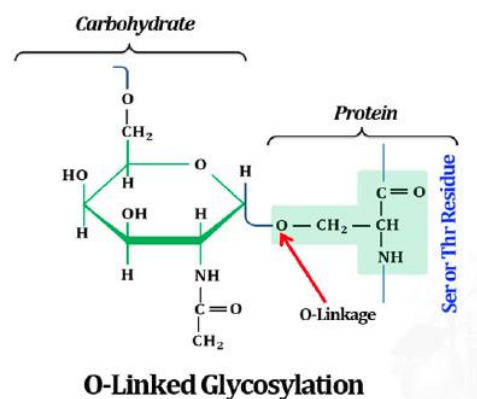
La struttura terziaria è stabilizzata da interazioni idrofobiche e di van der Waals, interazioni ioniche (ponti salini) e legami ad idrogeno.

Quando una proteina dovesse riconoscere un determinato ligando sarà necessario che la molecola ligando sfrutti le interazioni deboli con la proteina. Il ligando usa le proprietà chimiche dei residui amminoacidi della proteina per legarsi alla proteina e dar luogo a cambiamenti conformazionali nella struttura terziaria della proteina stessa.

Glicosilazione delle proteine

Le proteine possono legare catene di zuccheri. Questo avviene mediante la formazione di un legame glicosidico, ad esempio la serina o la treonina possono realizzare un legame glicosidico detto **O-linked glycosylation**.

L'asparagina può realizzare un legame con una catena di zuccheri (spesso N acetil glucosammina) mediante un legame detto **N-linked glycosylation**.



Tirosina

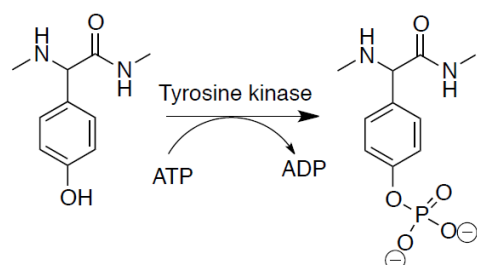
La tirosina (l'immagine è sbagliata, l'anello è aromatico) può essere fosforilata ad opera di ATP da parte dell'enzima *tirosin chinasi*. L'introduzione del gruppo fosfato modifica la conformazione della proteina, e questo dà di solito un segnale biologico intracellulare, coinvolto anche nella proliferazione cellulare. Gli inibitori delle tirosin chinasi sono utilizzati in ambito oncologico per inibire la proliferazione tumorale.

Enzimi e biocatalisi

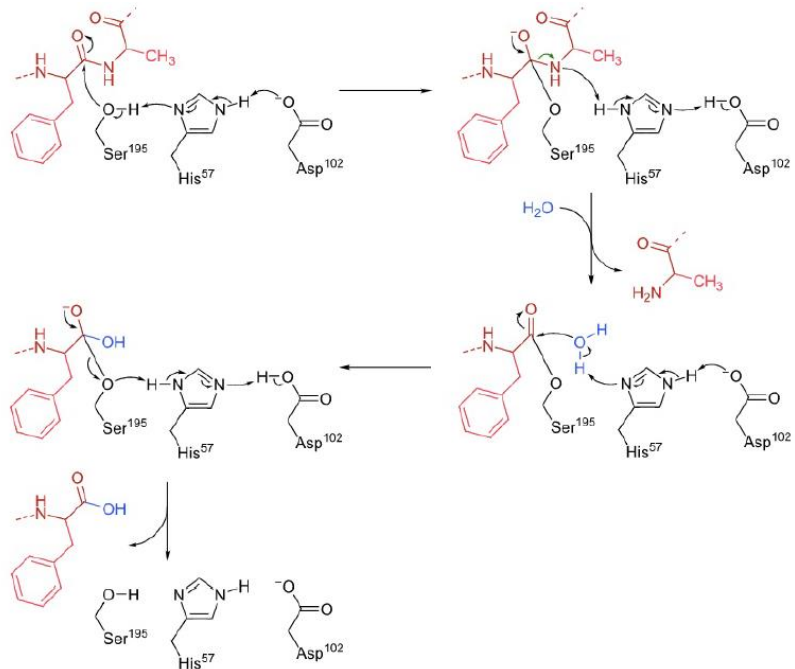
Gli enzimi sono proteine che riescono a catalizzare reazioni chimiche nel loro sito attivo.

Un importante sito attivo è caratterizzato dalla **triade catalitica**, che permette l'idrolisi di proteine o esteri, a seconda dell'enzima, formata da *aspartato*, *istidina* e *serina*.

Il legame ammidico delle proteine è particolarmente stabile e perché sia idrolizzato è necessario che un nucleofilo (ad esempio la serina 195 della chemotripsina) attacchi, col suo gruppo OH in forma deprotonata O⁻, attacchi il carbonile del legame ammidico, generando un intermedio tetraedrico.



Per far questo l'H⁺ dell'OH della serina deve essere strappato, e questo avviene grazie alla istidina 57 che si trova spazialmente accanto alla serina del sito attivo. Uno degli N dell'anello imidazolico dell'istidina può strappare un H⁺ della serina, rompendo il doppio legame con il C legato all'N dell'anello imidazolico. La delocalizzazione degli elettroni sull'anello imidazolico permette al secondo N di rilasciare l'H⁺ che lega all'aspartato 102 che gli si trova adiacente.



L'intermedio tetraedrico acquisisce l'H⁺ appena legato dall'istidina, con la catena degli elettroni che va al contrario e l'altro N dell'istidina che strappa l'H⁺ all'aspartato.

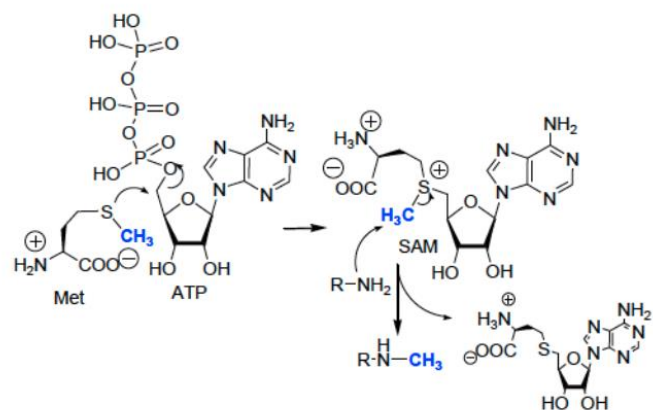
L'intermedio tetraedrico può così rilasciare un gruppo uscente, rompendo il legame ammidico con il residuo amminoacidico seguente ed interrompendo la catena.

L'H₂O che entra nel sito catalitico viene attivata dall'istidina, con distacco di un H⁺, che permette all'altro N dell'istidina di riprotonare l'aspartato. L'H₂O attivata come OH⁻ agisce da nucleofilo nei confronti dell'intermedio tetraedrico della serina, rompendo il legame π del gruppo carbonilico e legando al C un OH.

Si forma un secondo intermedio tetraedrico e a questo punto la serina fa da gruppo uscente, strappando un H⁺ dall'istidina, che acquisisce un H⁺ sull'altro N dall'acido aspartico. Si ha quindi il rilascio del residuo amminoacidico (o catena peptidica) e ripristino della situazione di partenza della triade catalitica.

Metionina

La metionina ha un S nucleofilo che può attaccare il C dell'ATP che lega il trifosfato. Il trifosfato funge da gruppo uscente e si forma la S-adenosil-Metionina, che può agire da agente metilante.



La S-adenosil metionina è un agente metilante