

Biochimie 1

Les 3

25 september: aminozuurtoets

Indeling staat op Blackboard in het mapje 'informatie over de aminozuurtoets'.

Sta je niet in de lijst? Neem dan zo snel mogelijk contact met mij op
(j.de.keyzer@pl.hanze.nl)

Aminozuren zijn zwitterionen

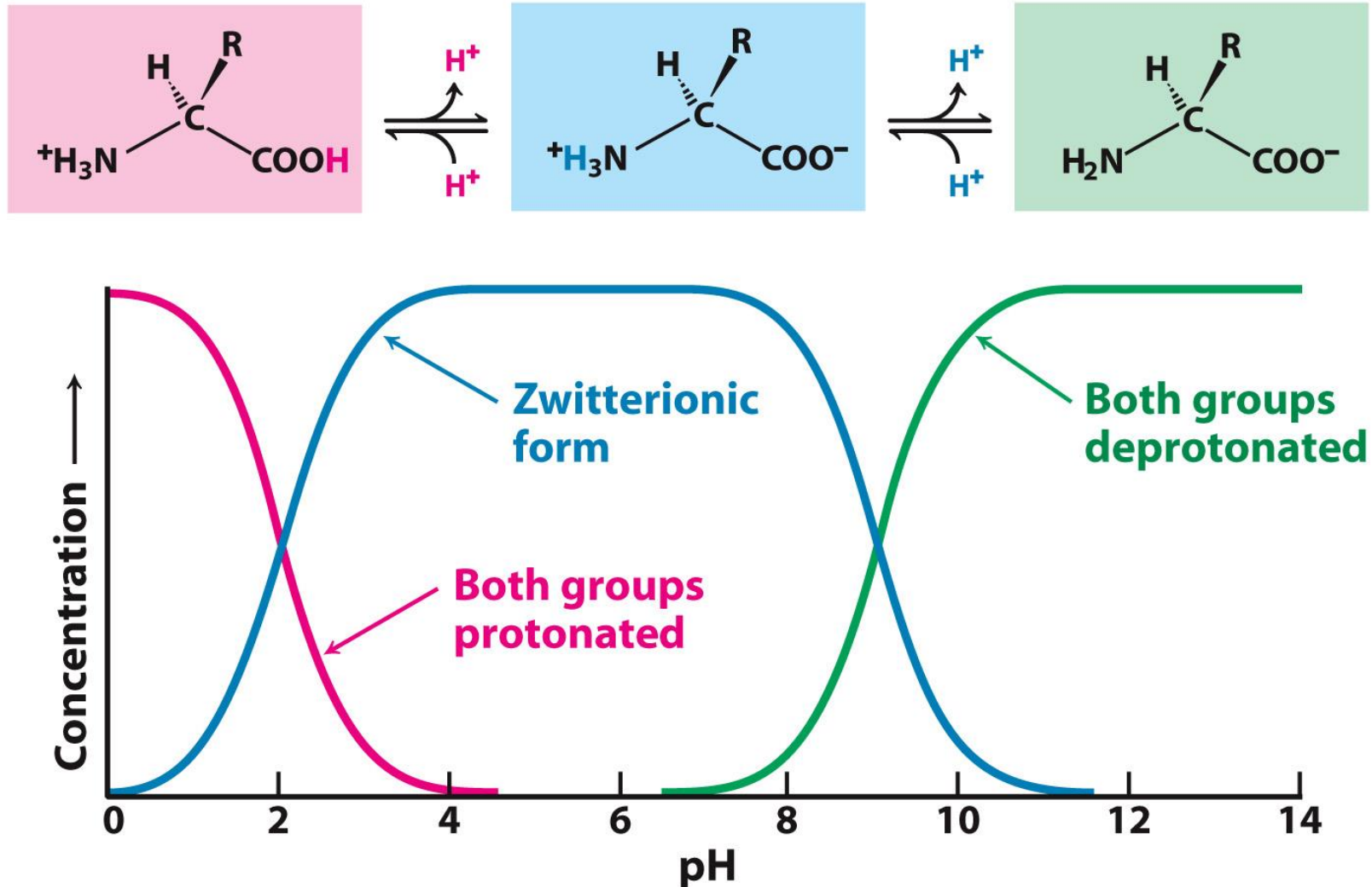


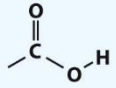
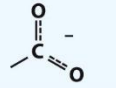
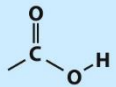
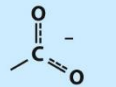
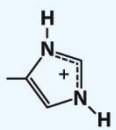
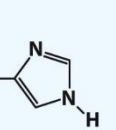
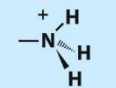
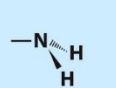
Figure 3.2
Biochemistry: A Short Course, Third Edition
© 2015 Macmillan Education

Lading van de zijketen is Ph afhankelijk

- 7 van de 20 aminozuren zijn ioniseerbaar: ze kunnen protonen opnemen of afstaan en hun lading is afhankelijk van de pH
- Belangrijk in structuurvorming van eiwitten (ionbruggen) en bij enzymreacties
- Zuur-base katalyse

Zuur-base aminosuren

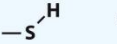

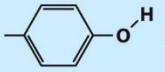
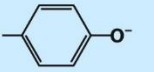
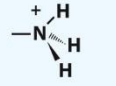
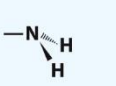
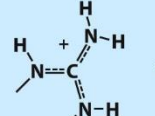
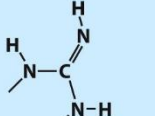
Table 3.1 Typical pK_a values of ionizable groups in proteins

Group	Acid	Base	Typical pK_a
Terminal α -carboxyl group			3.1
Aspartic acid Glutamic acid			4.1
Histidine			6.0
Terminal α -amino group			8.0

Note: Values of pK_a depend on temperature, ionic strength, and the microenvironment of the ionizable group.

Table 3.1 part 1
Biochemistry: A Short Course, Third Edition
© 2015 Macmillan Education

Table 3.1 Typical pK_a values of ionizable groups in proteins

Group	Acid	Base	Typical pK_a
Cysteine			8.3
Tyrosine			10.9
Lysine			10.8
Arginine			12.5

Note: Values of pK_a depend on temperature, ionic strength, and the microenvironment of the ionizable group.

Table 3.1 part 2
Biochemistry: A Short Course, Third Edition
© 2015 Macmillan Education

Henderson-Hasselbalch vergelijking

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log \frac{[\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

$\text{p}K_a$ is de pH waarbij de helft van het zuur gedissocieerd is

$$\text{pH} > \text{p}K_a \quad \rightarrow \quad [\text{A}^-] > [\text{HA}]$$

$$\text{pH} < \text{p}K_a \quad \rightarrow \quad [\text{A}^-] < [\text{HA}]$$

pK_a Values of Common Amino Acids

Acid	α -COOH	α -NH ₃ ⁺	RH or RH ⁺
Gly	2.34	9.60	
Ala	2.34	9.69	
Val	2.32	9.62	
Leu	2.36	9.68	
Ile	2.36	9.68	
Ser	2.21	9.15	
Thr	2.63	10.43	
Met	2.28	9.21	
Phe	1.83	9.13	
Trp	2.38	9.39	
Asn	2.02	8.80	
Gln	2.17	9.13	
Pro	1.99	10.6	
Asp	2.09	9.82	3.86*
Glu	2.19	9.67	4.25*
His	1.82	9.17	6.0*
Cys	1.71	10.78	8.33*
Tyr	2.20	9.11	10.07
Lys	2.18	8.95	10.53
Arg	2.17	9.04	12.48

pK_a van COOH ~ 2
pK_a van NH₃⁺ ~ 9

Oefening

Teken:

a) valine bij pH = 4

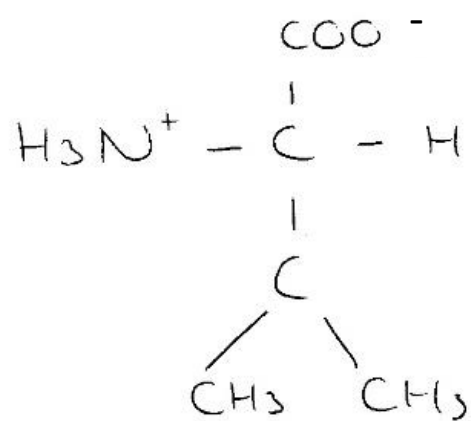
b) leucine bij pH = 7

c) glycine bij pH = 10

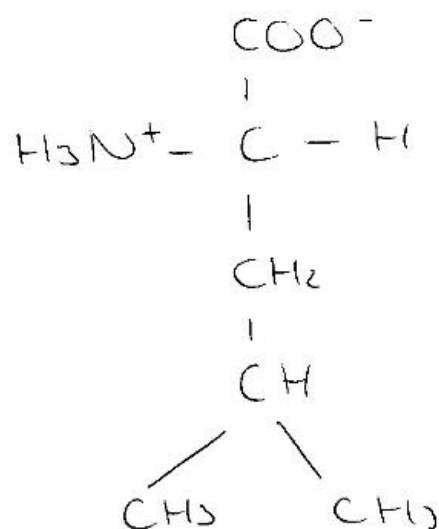
pK _a Values of Common Amino Acids			
Acid	α -COOH	α -NH ₃ ⁺	RH or RH ⁺
Gly	2.34	9.60	
Ala	2.34	9.69	
Val	2.32	9.62	
Leu	2.36	9.68	
Ile	2.36	9.68	
Ser	2.21	9.15	
Thr	2.63	10.43	
Met	2.28	9.21	
Phe	1.83	9.13	
Trp	2.38	9.39	
Asn	2.02	8.80	
Gln	2.17	9.13	
Pro	1.99	10.6	
Asp	2.09	9.82	3.86*
Glu	2.19	9.67	4.25*
His	1.82	9.17	6.0*
Cys	1.71	10.78	8.33*
Tyr	2.20	9.11	10.07
Lys	2.18	8.95	10.53
Arg	2.17	9.04	12.48

* For these amino acids, the R-group ionization occurs before the α -NH₃⁺ ionization

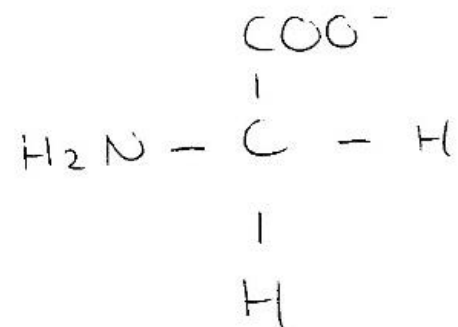
Valine pH 4



Leucine pH 7



Glycine pH 10



$\text{p}K_a$ van $\text{COOH} \sim 2$

$\text{p}K_a$ van $\text{NH}_3^+ \sim 9$

$\text{pH} > \text{p}K_a \rightarrow [\text{A}^-] > [\text{HA}]$

$\text{pH} < \text{p}K_a \rightarrow [\text{A}^-] < [\text{HA}]$

Oefening

TABLE 3.2

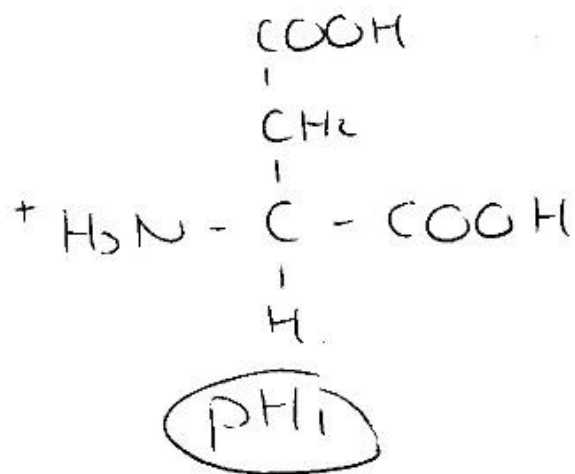
pK _a Values of Common Amino Acids			
Acid	α -COOH	α -NH ₃ ⁺	RH or RH ⁺
Gly	2.34	9.60	
Ala	2.34	9.69	
Val	2.32	9.62	
Leu	2.36	9.68	
Ile	2.36	9.68	
Ser	2.21	9.15	
Thr	2.63	10.43	
Met	2.28	9.21	
Phe	1.83	9.13	
Trp	2.38	9.39	
Asn	2.02	8.80	
Gln	2.17	9.13	
Pro	1.99	10.6	
Asp	2.09	9.82	3.86*
Glu	2.19	9.67	4.25*
His	1.82	9.17	6.0*
Cys	1.71	10.78	8.33*
Tyr	2.20	9.11	10.07
Lys	2.18	8.95	10.53
Arg	2.17	9.04	12.48

Teken:

- a) aspartaat bij pH = 1
- b) lysine bij pH = 1

* For these amino acids, the R-group ionization occurs before the α -NH₃⁺ ionization

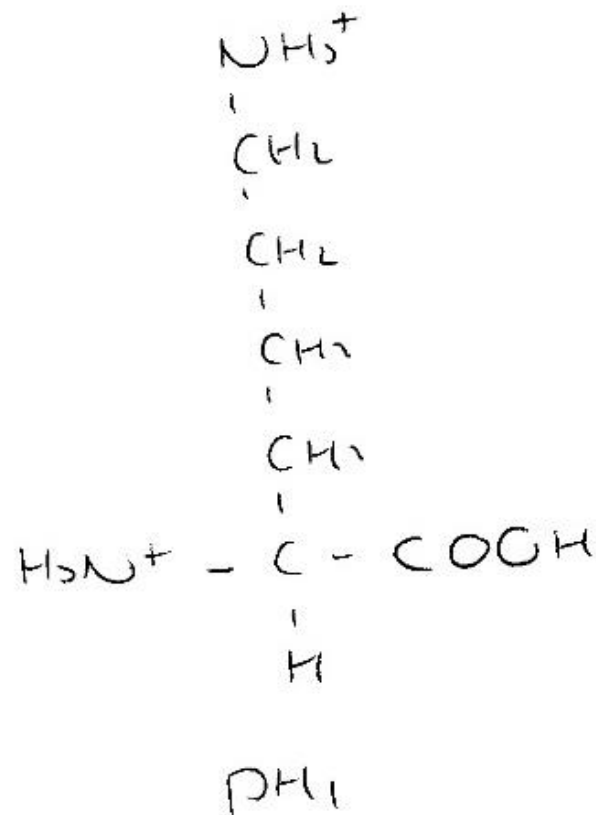
Asp 10 $pK_a R = 3,9$



pK_a van $\text{COOH} \sim 2$

pK_a van $\text{NH}_3^+ \sim 9$

Lys 6 $pK_a R = 10,5$



$\text{pH} > pK_a \rightarrow [\text{A}^-] > [\text{HA}]$

$\text{pH} < pK_a \rightarrow [\text{A}^-] < [\text{HA}]$

Isoelectrisch punt (pI)

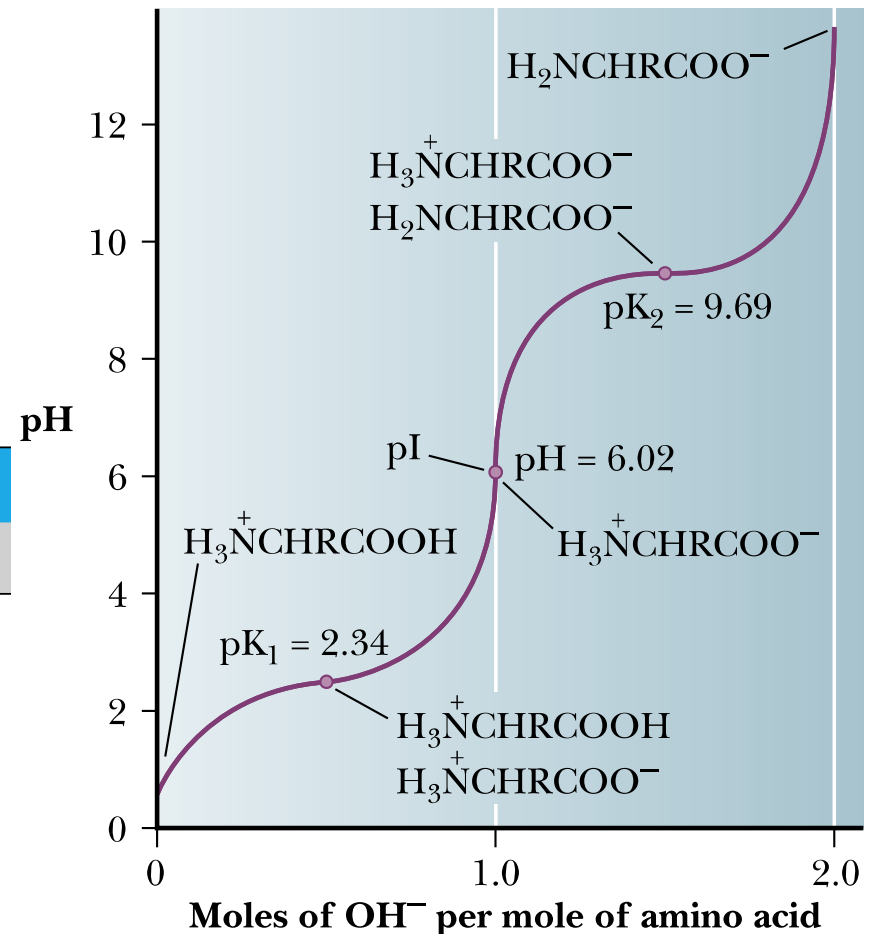
De pH waarbij een molecuul geen netto lading heeft.

$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$$

Voorbeeld: glycine

pK _a Values of Common Amino Acids		
Acid	α-COOH	α-NH ₃ ⁺
Gly	2.34	9.60

$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2} = 5.97$$

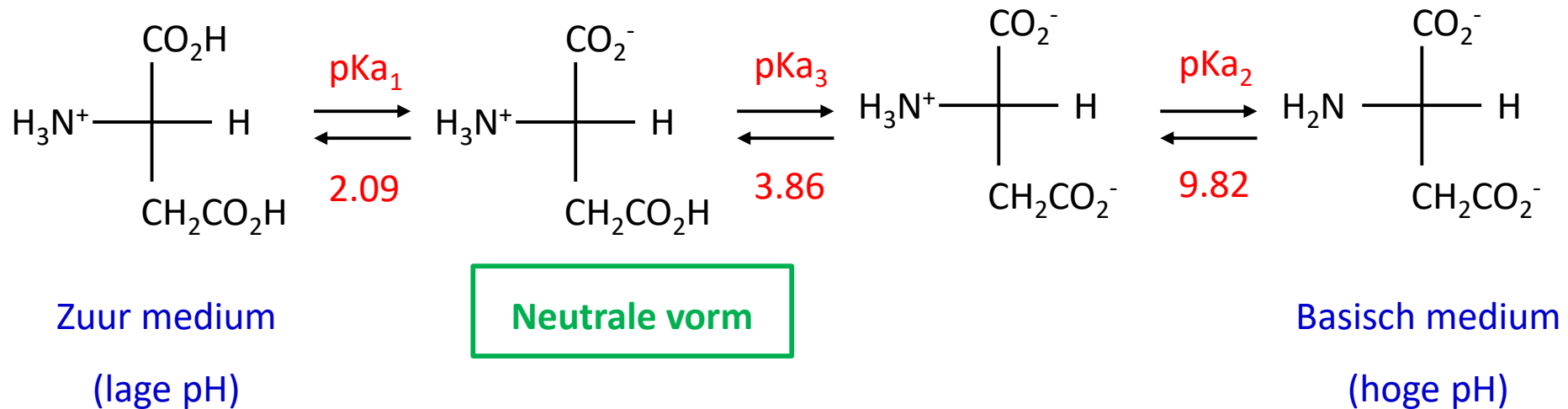


Isoelectrisch punt (pI)

Sommige aminozuren hebben drie pKa's. Hoe bereken je dan de pI?

Voorbeeld: aspartaat

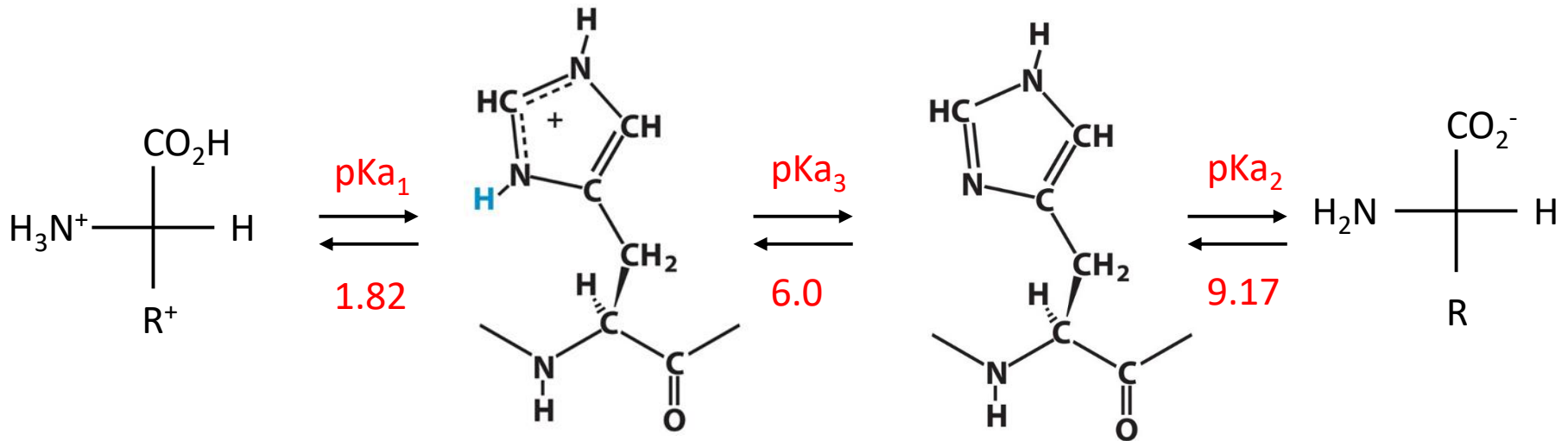
pK _a Values of Common Amino Acids			
Acid	α-COOH	α-NH ₃ ⁺	RH or RH ⁺
Asp	2.09	9.82	3.86*



Histidine

pK_a Values of Common Amino Acids

Acid	α -COOH	α -NH ₃ ⁺	RH or RH ⁺
His	1.82	9.17	6.0*



Zuur medium
(lage pH)

Neutrale vorm

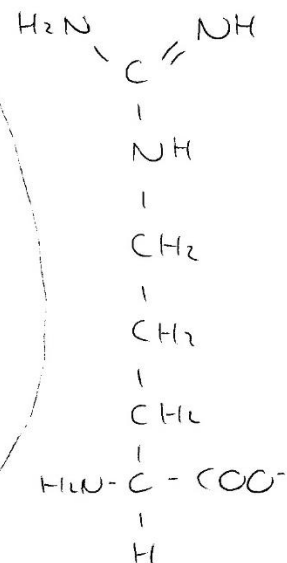
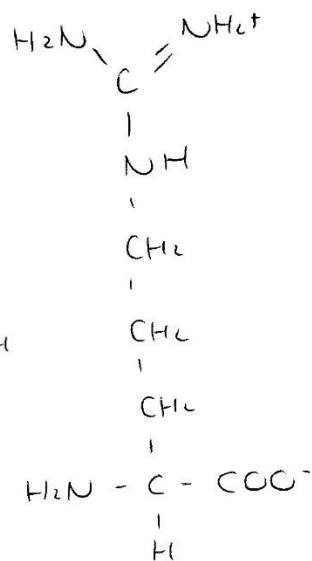
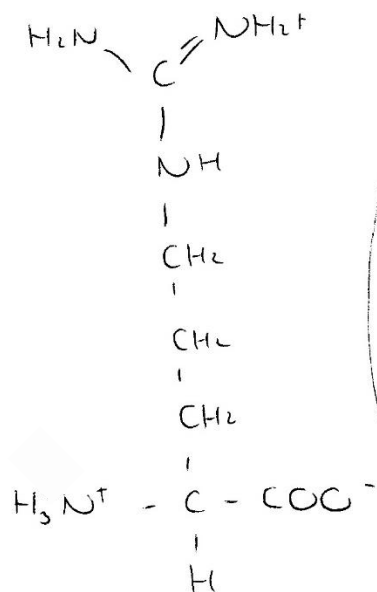
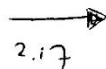
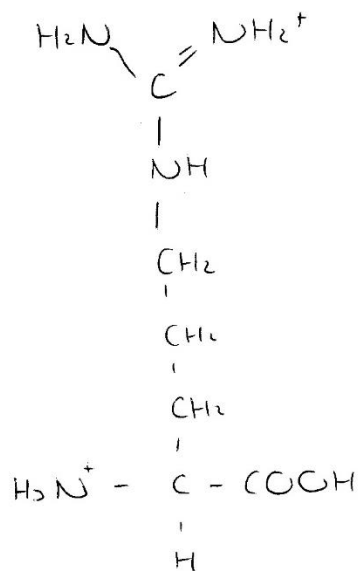
Basisch medium
(hoge pH)

$$\text{pI} = \frac{\text{pK}_{a2} + \text{pK}_{a3}}{2} = 7.59$$

Oefening

Bereken de pI van arginine (pKa zijketen = 12,5)

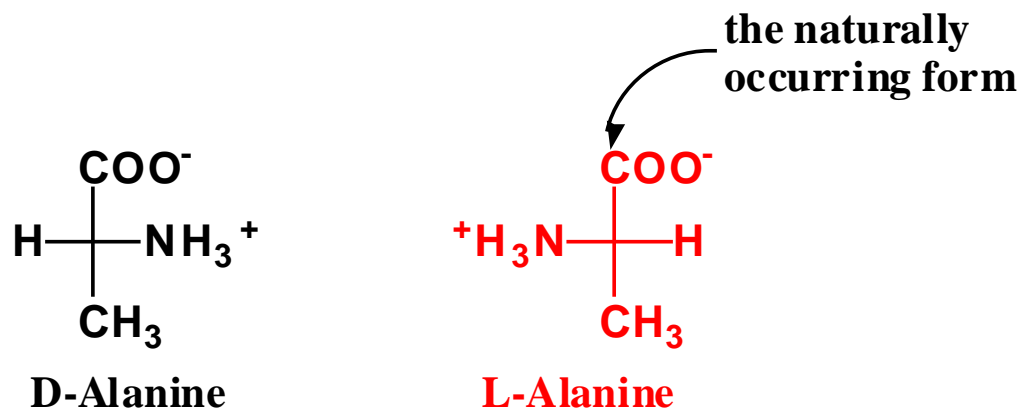
pK _a Values of Common Amino Acids			
Acid	α -COOH	α -NH ₃ ⁺	RH or RH ⁺
Gly	2.34	9.60	
Ala	2.34	9.69	
Val	2.32	9.62	
Leu	2.36	9.68	
Ile	2.36	9.68	
Ser	2.21	9.15	
Thr	2.63	10.43	
Met	2.28	9.21	
Phe	1.83	9.13	
Trp	2.38	9.39	
Asn	2.02	8.80	
Gln	2.17	9.13	
Pro	1.99	10.6	
Asp	2.09	9.82	3.86*
Glu	2.19	9.67	4.25*
His	1.82	9.17	6.0*
Cys	1.71	10.78	8.33*
Tyr	2.20	9.11	10.07
Lys	2.18	8.95	10.53
Arg	2.17	9.04	12.48



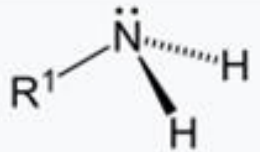
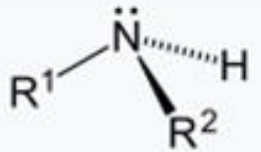
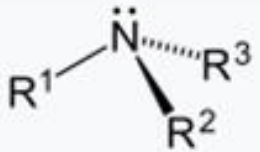
$$\text{PI} = \frac{9.04 + 12.40}{2} = 10.76$$

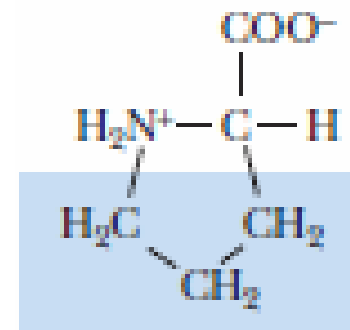
Structurele kenmerken van aminozuren

1. De in de natuur meest voorkomende vorm is de L-vorm



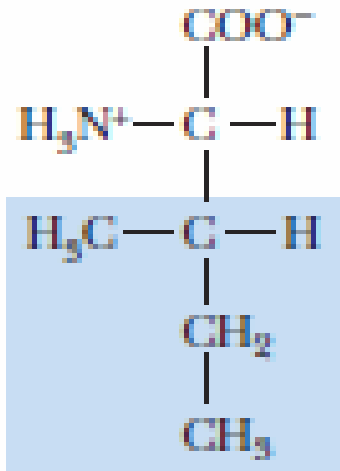
2. Met uitzondering van proline is de α -amino groep van een aminozuur primair. Bij proline is deze groep secundair.

Primary (1°) amine	Secondary (2°) amine	Tertiary (3°) amine
		

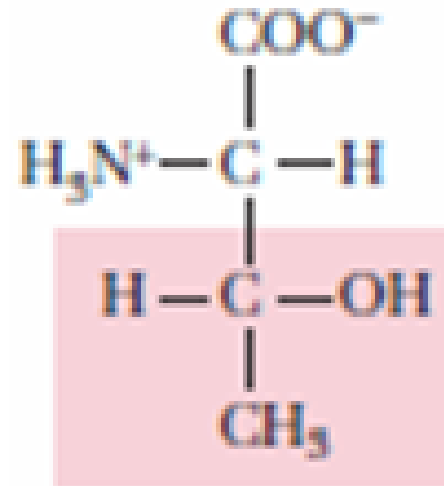


Structurele kenmerken van aminozuren

3. Met uitzondering van glycine, is de α -carbon van elke aminozuur een chiraal koolstofatoom
4. Isoleucine en threonine bevatten een tweede chiraal centrum



Ile



Thr

Structurele kenmerken van aminozuren

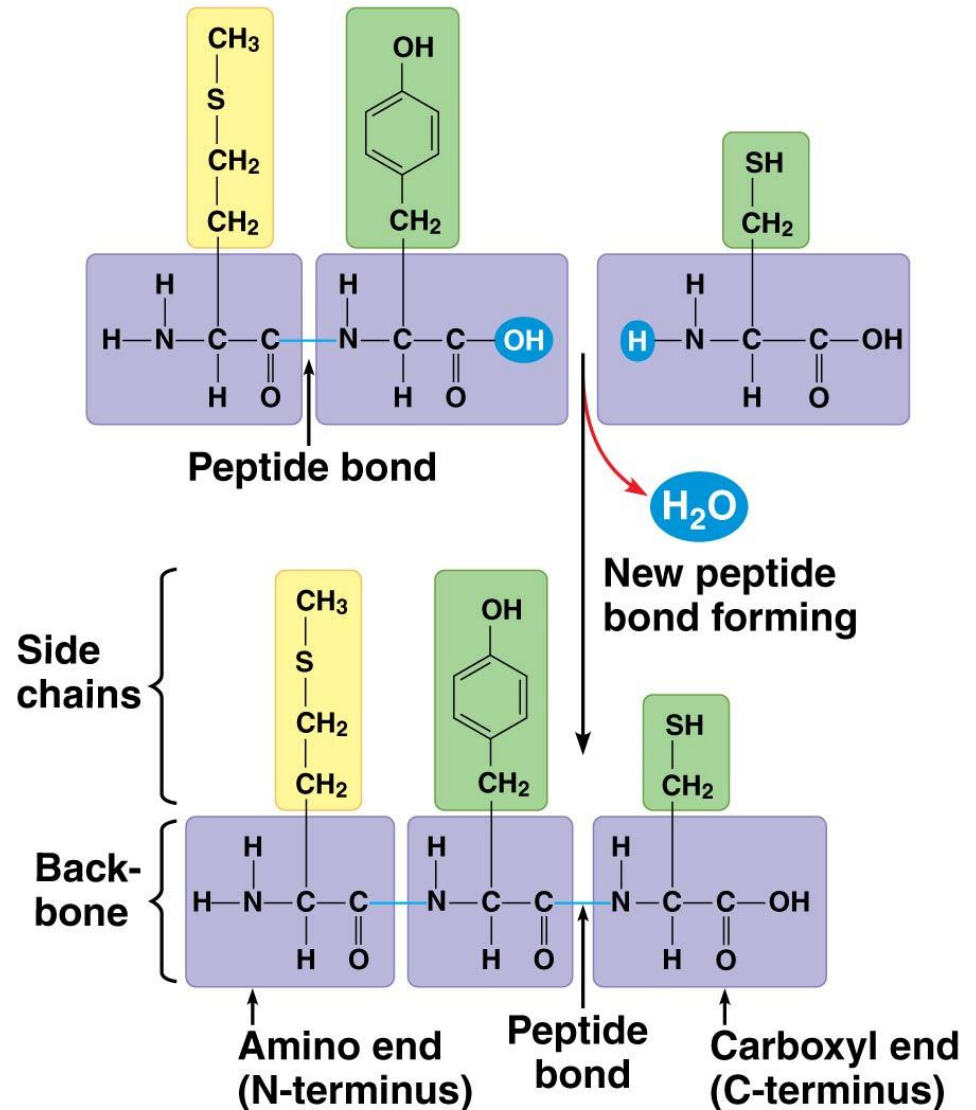
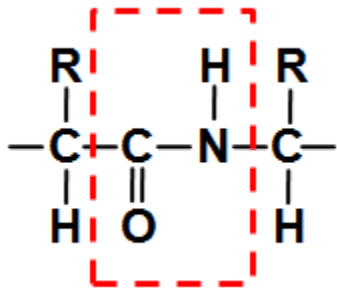
5. De sulfhydryl groep (pK_a 8.3) van cysteine, the imidazole groep (pK_a 6.0) van histidine and de phenolic hydroxyl (pK_a 10.1) van tyrosine zijn deels geïoniseerd bij pH 7.0, maar de geïoniseerde vorm is niet de meest voorkomende vorm bij deze pH (Henderson-Hasselbalch!)

6. Gemodificeerde aminozuren:

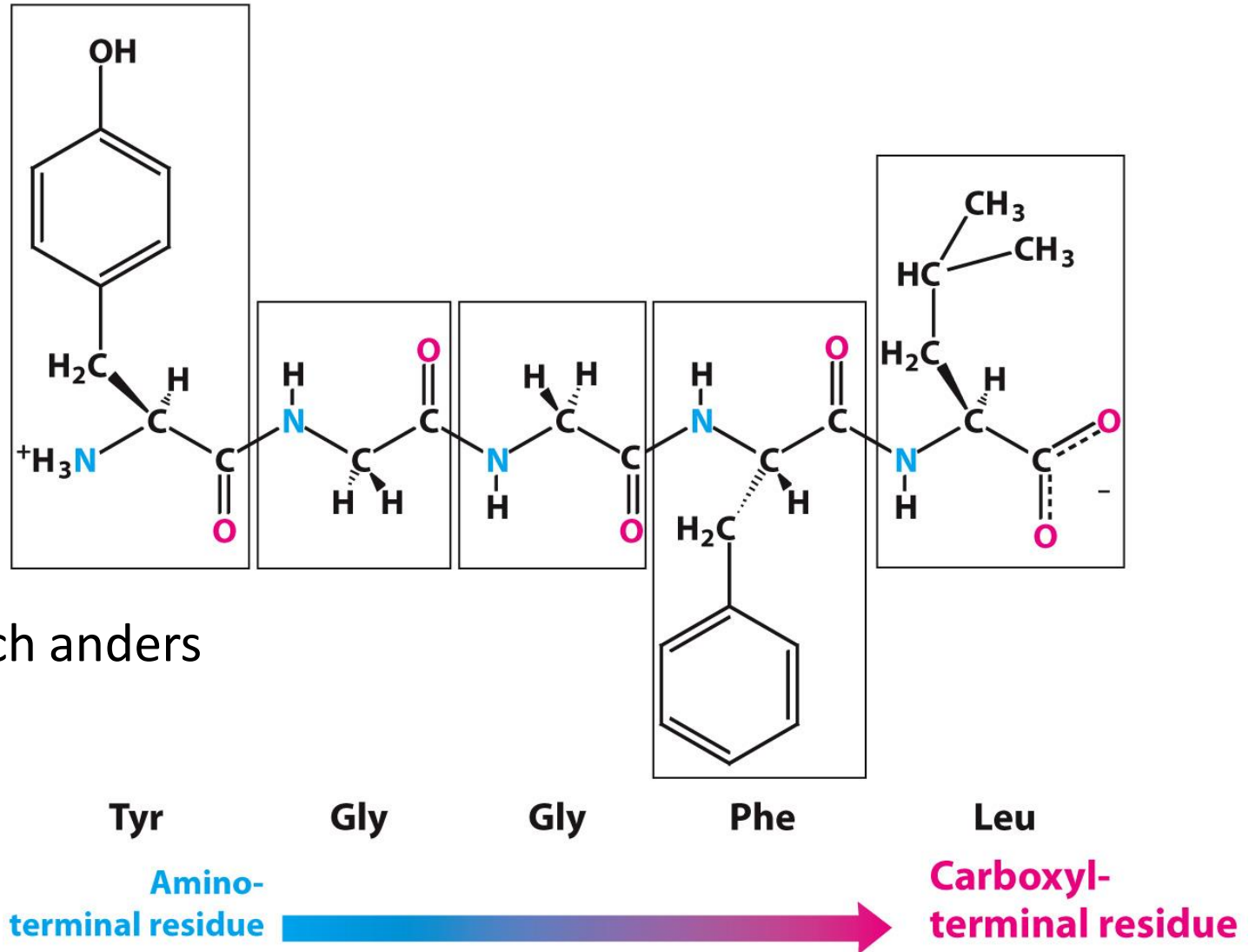
- hydroxyproline en hydroxylysine (collageen)
- thyroxine (hormoon)

Peptidebinding

→ Binding van de **C** van de carboxyl groep van het 1^{ste} aminozuur met de **N** van de amino groep van het 2^{de} aminozuur



Peptiden hebben richting

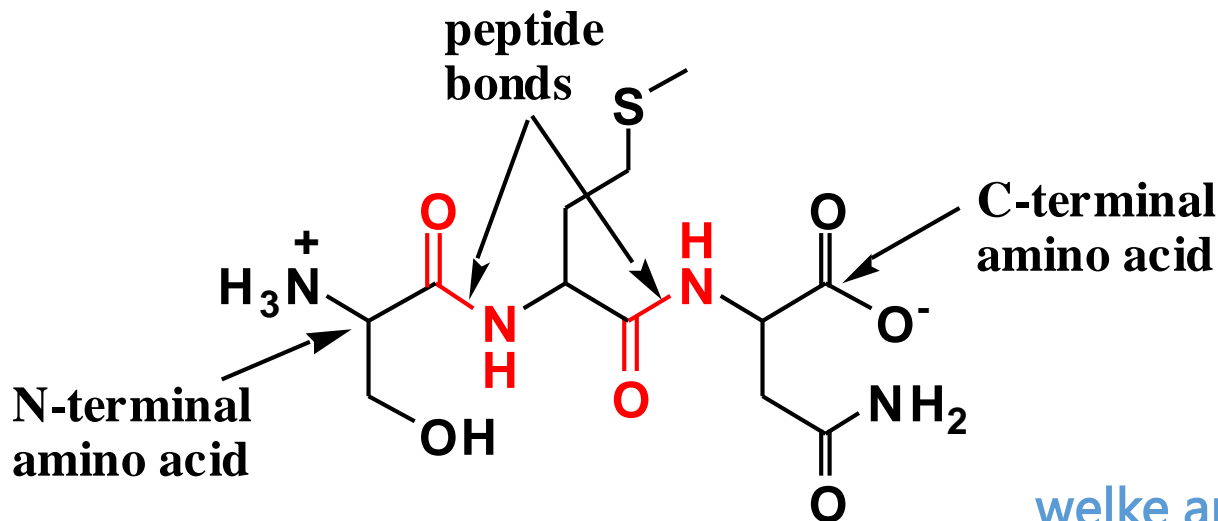


YGGFL is chemisch anders
dan LFGGY!

Notatie

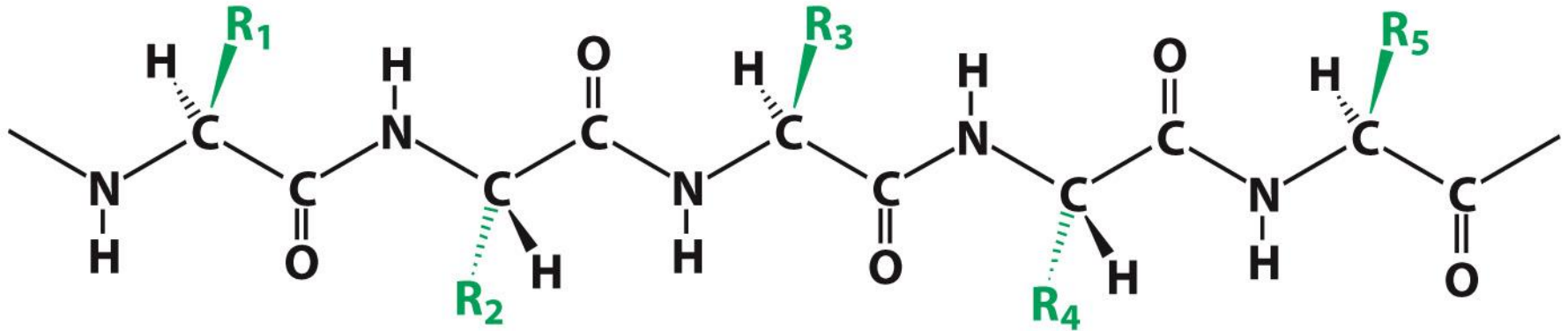
Peptiden worden altijd vanaf de linkerkant getekend, beginnend met de vrije -NH_3^+ groep en eindigend met de vrije -COO^- groep

Het zich herhalende patroon (started bij de de N-terminale methionine) is: $\text{N} \rightarrow \alpha\text{-carbon} \rightarrow \text{carbonyl carbon}$ etc.



welke aminozuren zijn dit?

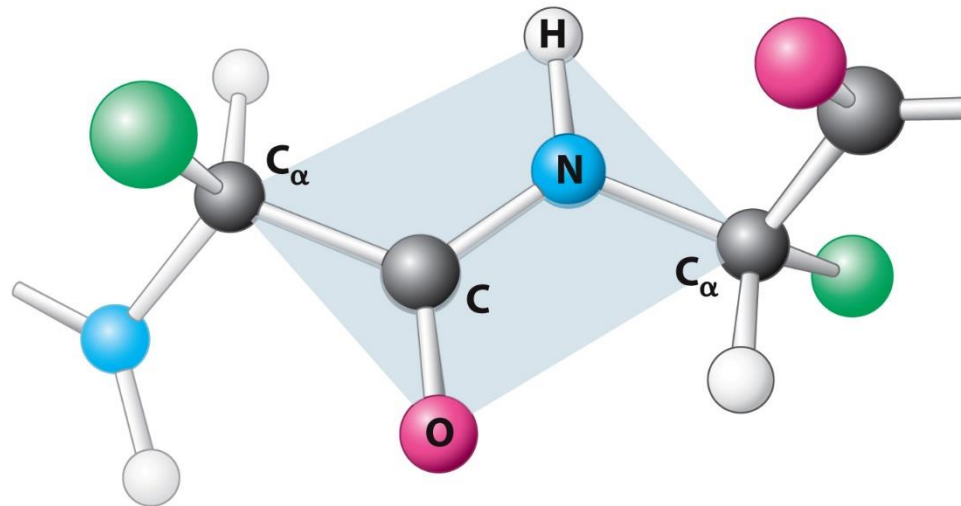
Polypeptidketen



Repeterende gedeelte → backbone (main chain)

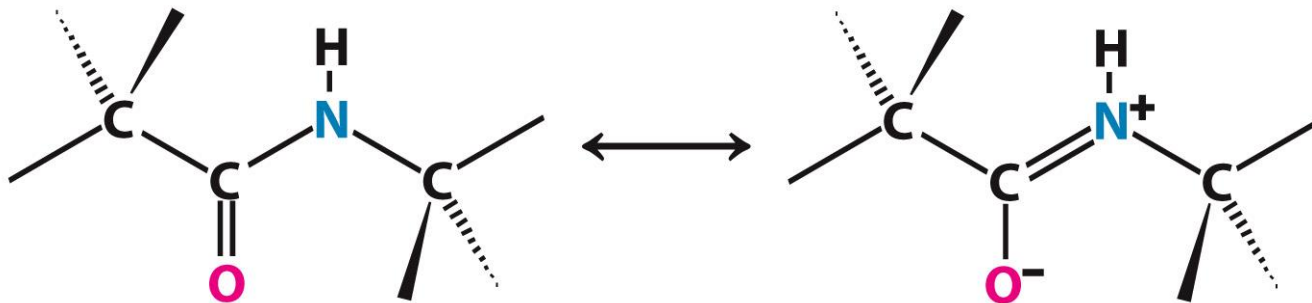
The peptide bond is essentially planar

Elke binding geeft een “plat” vlak



The peptide bond has a double bond character

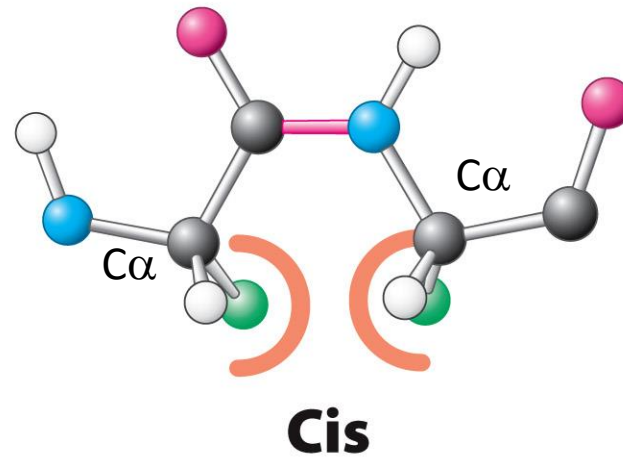
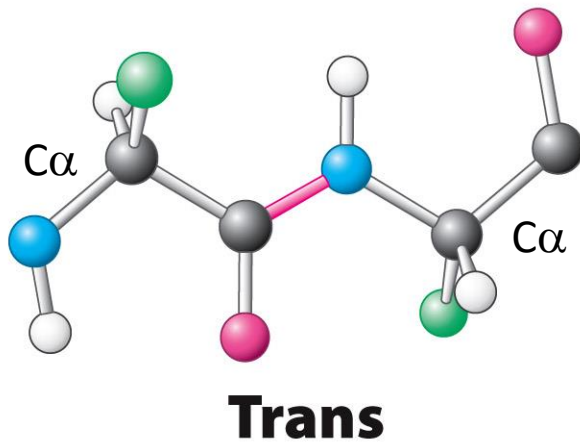
- Binding is vlak, mede door “dubbele” binding
- Elektronen resoneren van C=O naar C=N
- Hierdoor draait C-N binding niet



Peptide-bond resonance structures

Cis- en transpeptiden

- De meeste peptidebindingen zijn trans:
de 2 $C\alpha$ atomen aan weerszijden van de peptidebinding



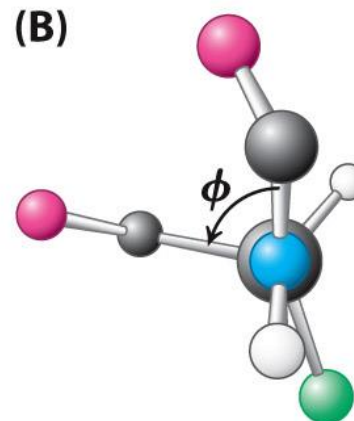
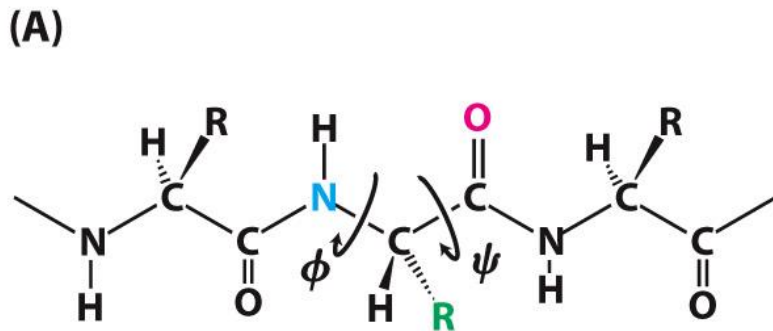
steric clash



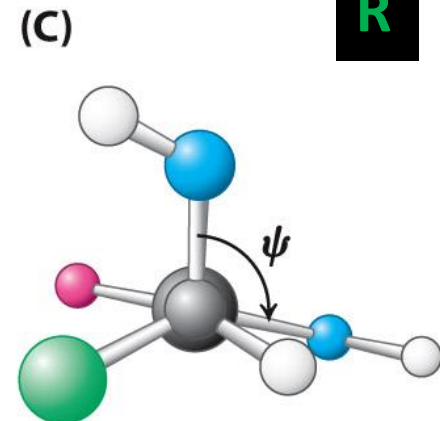
Torsie hoeken *phi* en *psi*

De twee andere bindingen in backbone kunnen wel vrij draaien.

- N-C α = **phi** ϕ
- CO-C α = **psi** ψ
- Dihedrale hoeken



$\phi = -80^\circ$
View down
the N-C α bond

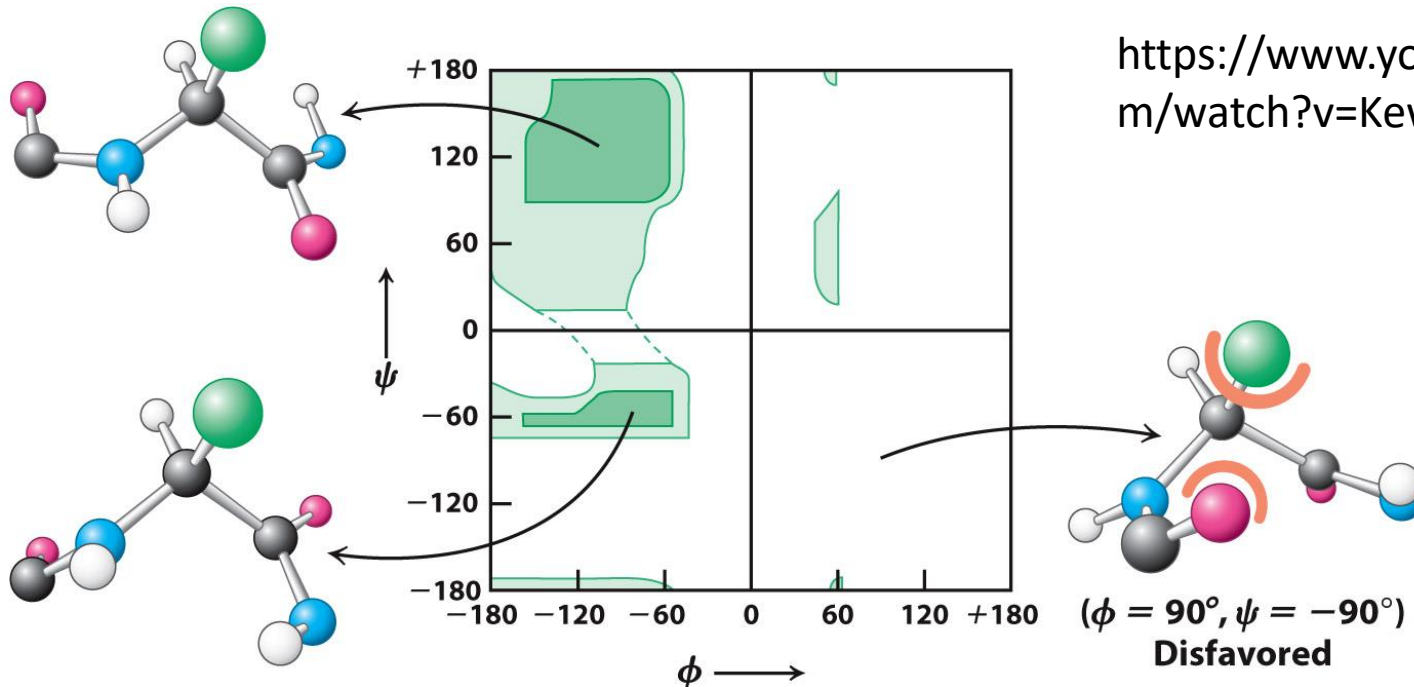


$\psi = -85^\circ$
View down
the CO-C α bond



Combinaties van dihedrale hoeken zijn beperkt

- Niet alle combinaties van phi en psi zijn mogelijk
- **Ramachandran plot**
- Combinaties buiten de groene vlekken komen niet (of zelden) voor in eiwitten en kunnen duiden op sterische hindering



Uitleg Ramachandran plot

Op basis van de plaatjes in het boek is het misschien lastig om je voor te stellen wat er precies met dihedrale hoeken bedoeld wordt.

Deze video legt op een rustige en duidelijke manier uit wat phi en psi hoeken zijn en hoe je een Ramachandran plot moet interpreteren.

<https://www.youtube.com/watch?v=Q1ftYq13XKk>

Nog een video: <https://www.youtube.com/watch?v=Kewhg5spUjs>