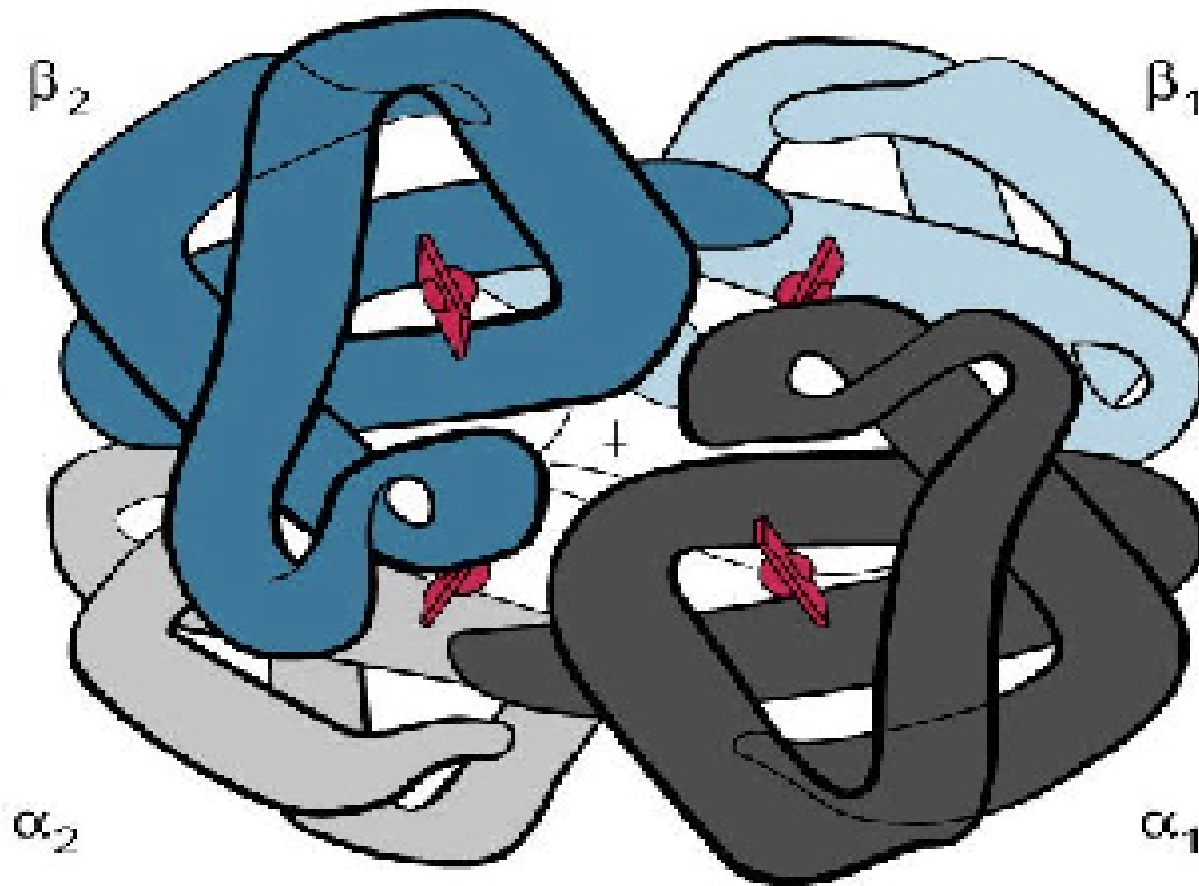


HÓA HỌC ACID AMIN-PROTEIN





MỤC TIÊU BÀI HỌC

- Viết công thức của 20 **acid amin** thường gặp trong phân tử protein
- Trình bày được các tính chất của acid amin: tính tích điện, tính chất vật lý và hoá học
- Nêu được tên một số **peptid** có chức năng sinh học
- Trình bày được các liên kết và các bậc cấu trúc của **protein**
- Trình bày được các tính chất của protein: khuếch tán, tích điện, hoà tan và kết tủa, biến tính.




PROTEIN LÀ GÌ?

- **Protein** là đại phân tử polymer do các phân tử *acid amin* (monomer) nối với nhau bằng *liên kết peptid*. Trình tự của các acid amin do gen quyết định.
- Protein có nhiều chức năng thể hiện trong các vai trò: cấu trúc, xúc tác, vận chuyển, vận động, dinh dưỡng và dự trữ, bảo vệ, điều hòa hoạt động của cơ thể.



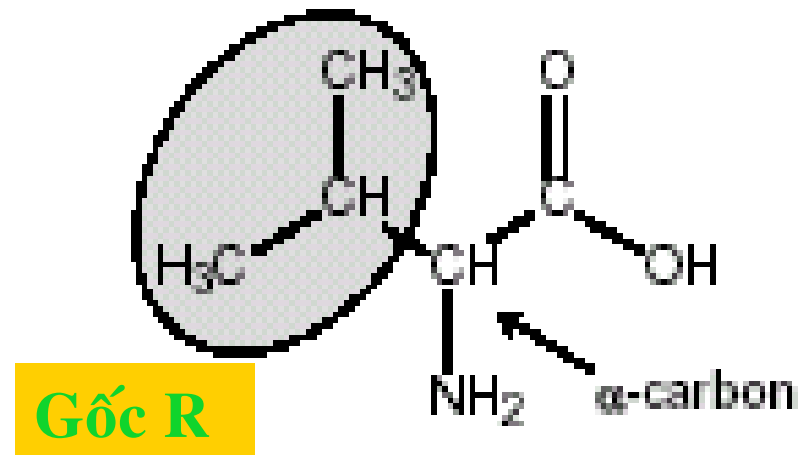
PROTID

- Acid amin (α -amino acid)
 - Peptid
 - Protein
- 
- PROTID

ACID AMIN – Cấu trúc

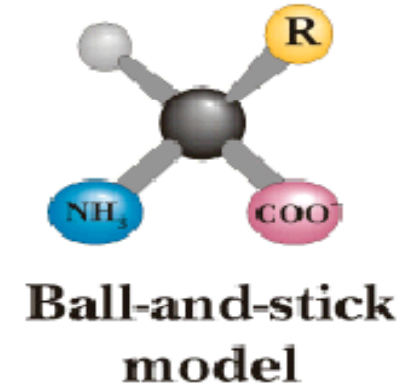
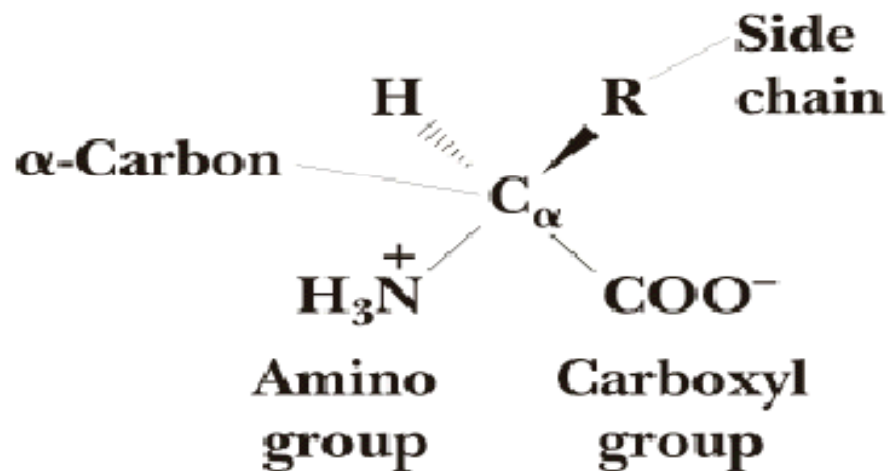
■ Acid amin

- * một nhóm amin ($-\text{NH}_2$)
 - * một nhóm carboxyl ($-\text{COOH}$)
- cùng gắn vào carbon α
- * một chuỗi bên ($-\text{R}$).

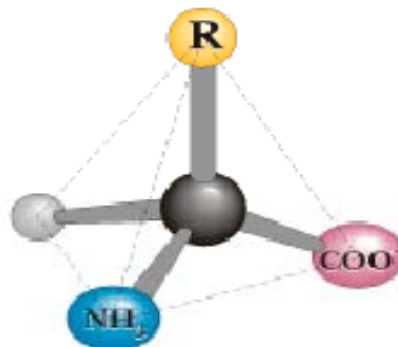


Valine

ACID AMIN – Cấu trúc



α -Amino acid





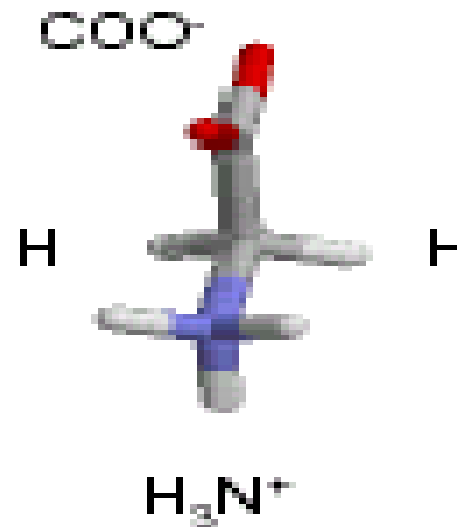
ACID AMIN – Cấu trúc

- Trong thiên nhiên có khoảng 300 AA
- Trong protein/sinh vật có 20 AA
(đó là các **α -amino acid**)
- Một số AA không phải là **α -amino acid**:
 β -alanin, γ -aminobutyric acid

ACID AMIN – Đồng phân

- Trừ glycin, tất cả AA khác đều có carbon bất đối (Carbon α nằm ở vị trí trung tâm bất đối)

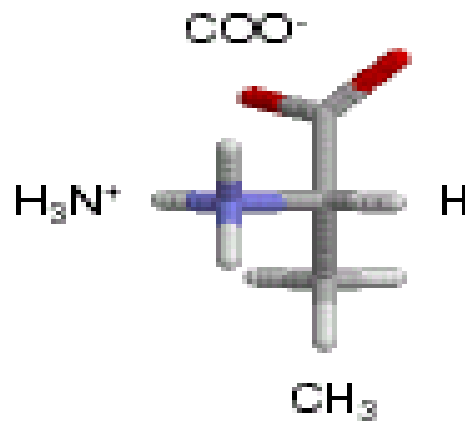
achiral



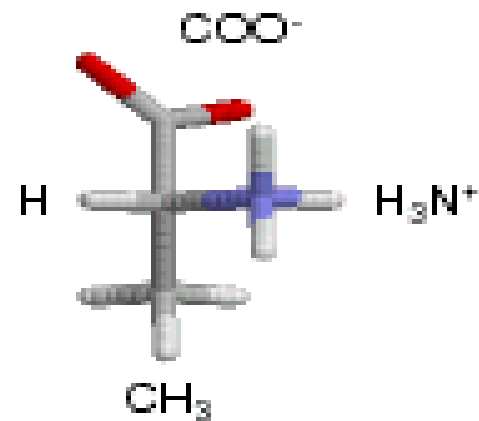
Glycine

ACID AMIN – Đồng phân

chiral



L-Alanine



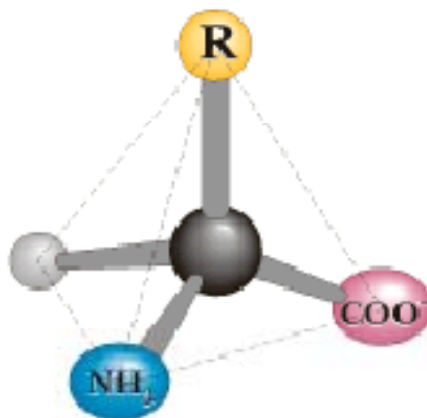
D-Alanine

Trong protein chỉ chứa L- α -amino acid

ACID AMIN – Phân loại

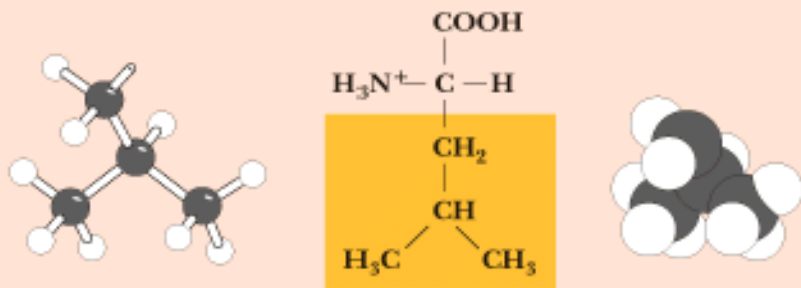
Dựa vào chuỗi bên (-R)

- Không phân cực
- Phân cực và không tích điện
- Phân cực và tích điện

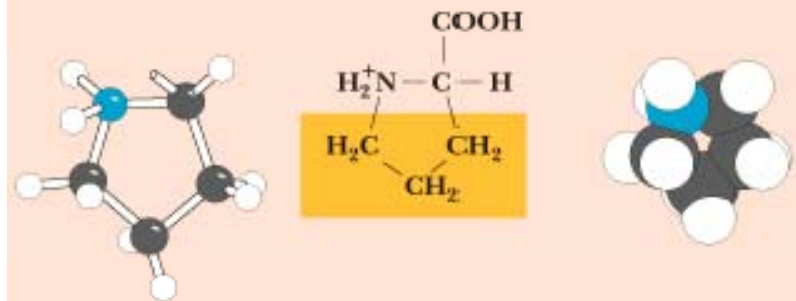


ACID AMIN – Phân loại

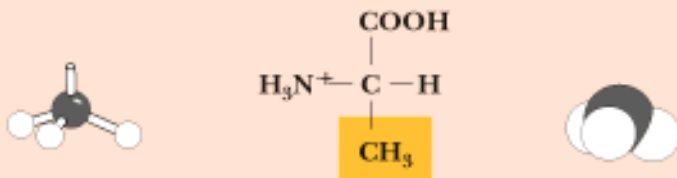
AA không phân cực – hydrophobic – water fearing



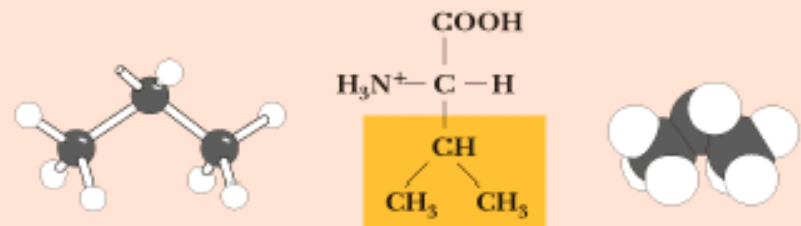
Leucine (Leu, L)



Proline (Pro, P)



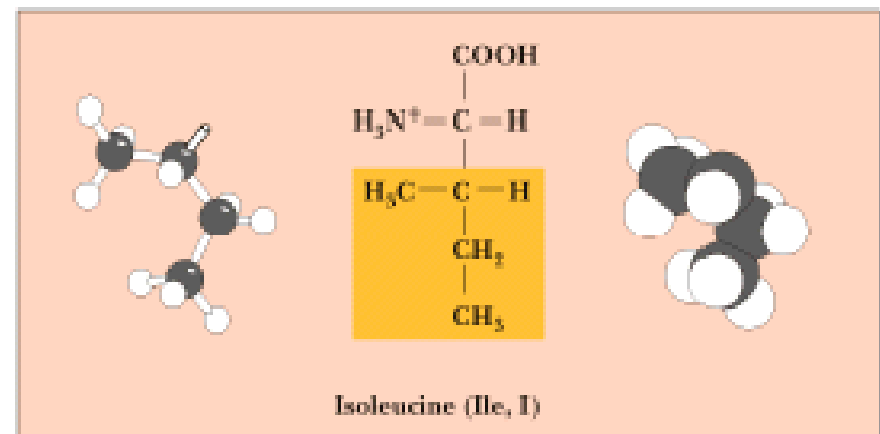
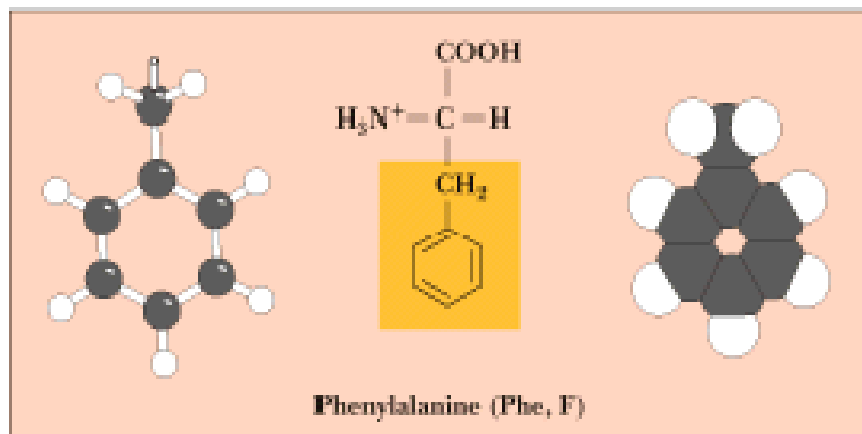
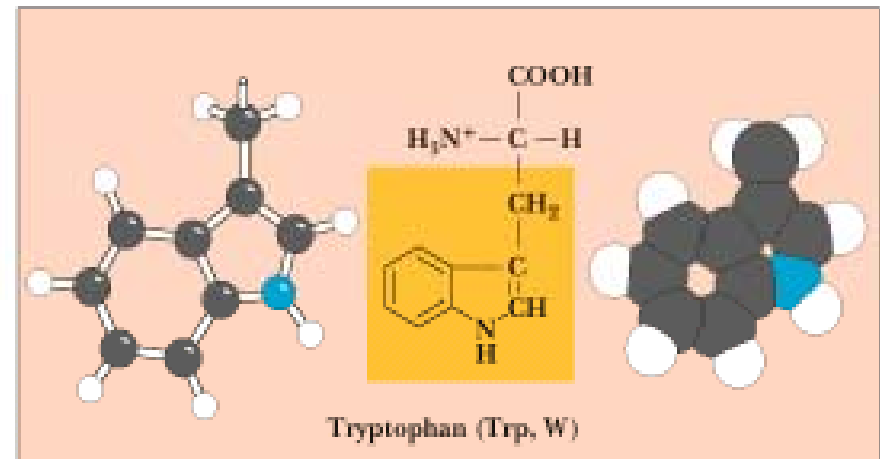
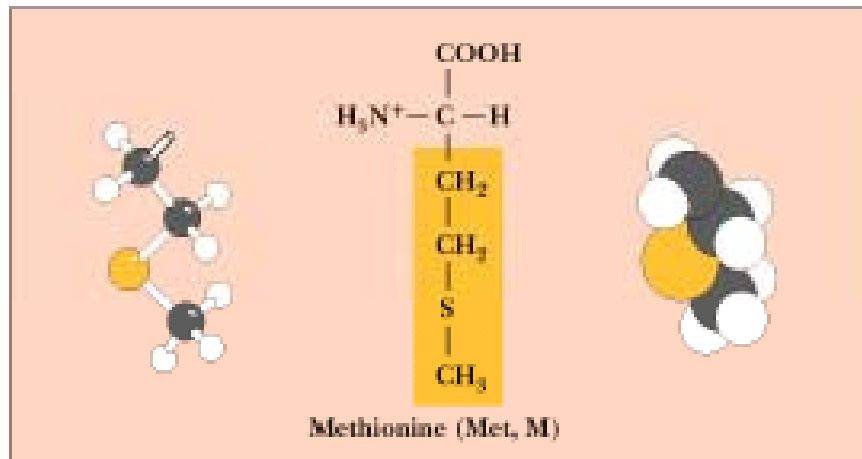
Alanine (Ala, A)



Valine (Val, V)

ACID AMIN – Phân loại

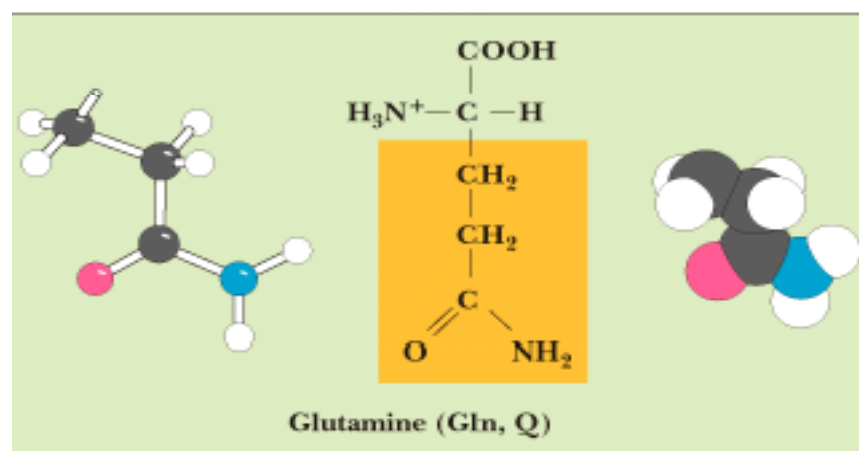
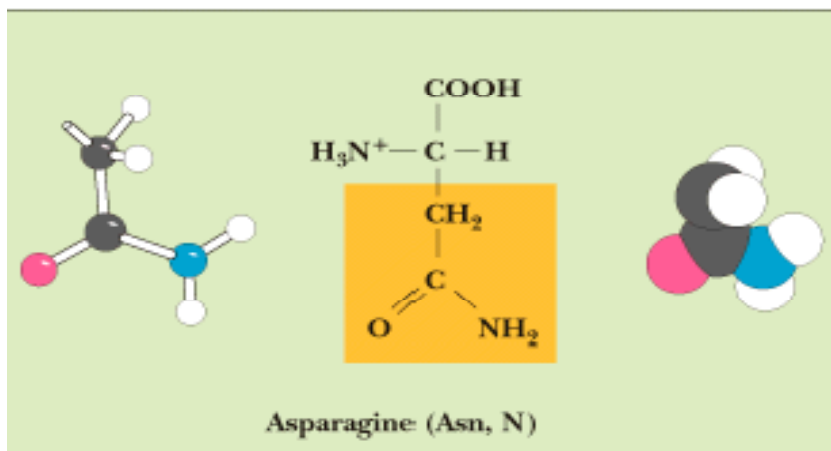
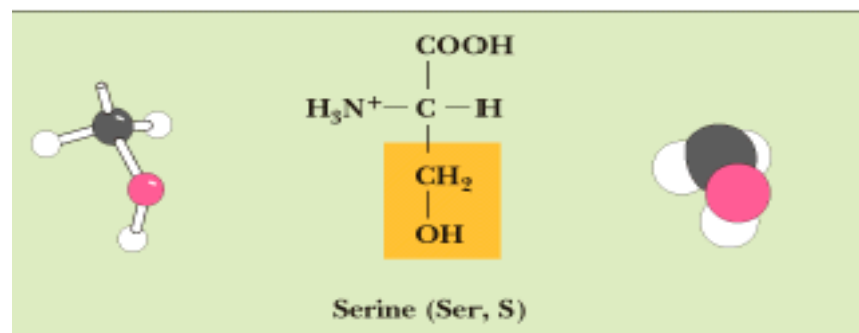
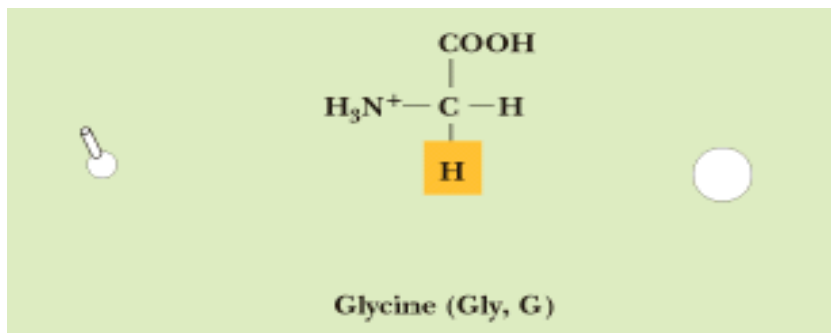
AA không phân cực – hydrophobic – water fearing



ACID AMIN – Phân loại

AA phân cực – không tích điện

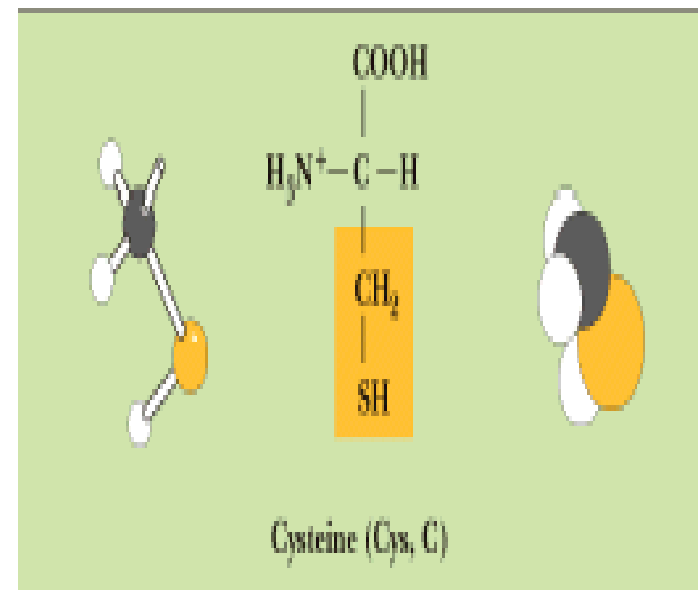
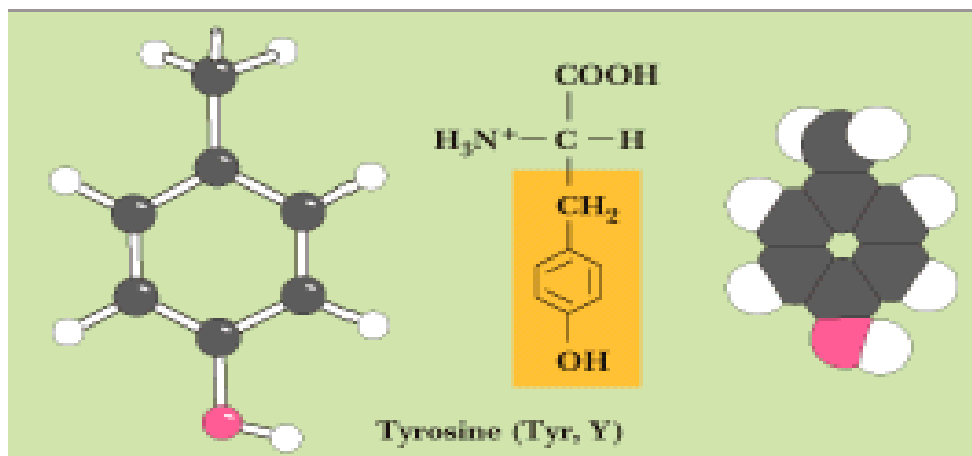
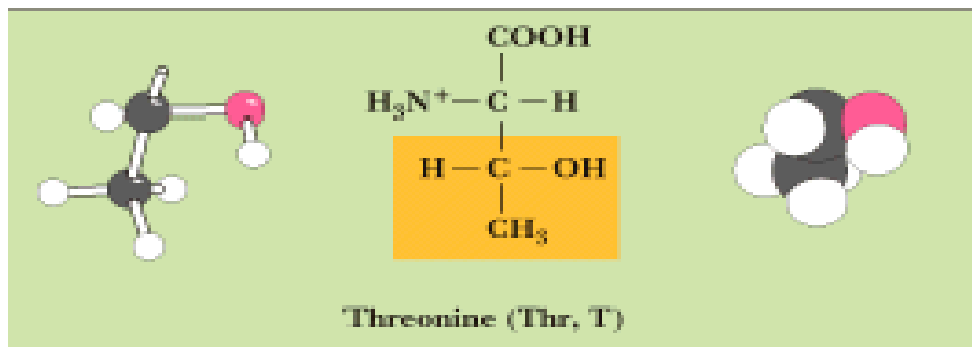
(chuỗi bên chứa các nhóm phân cực khó ion hóa)



ACID AMIN – Phân loại

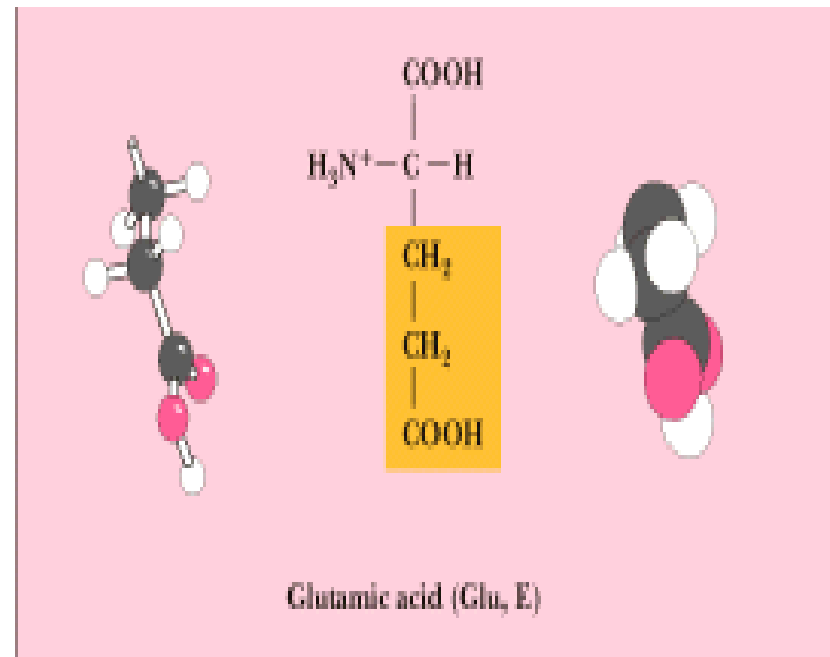
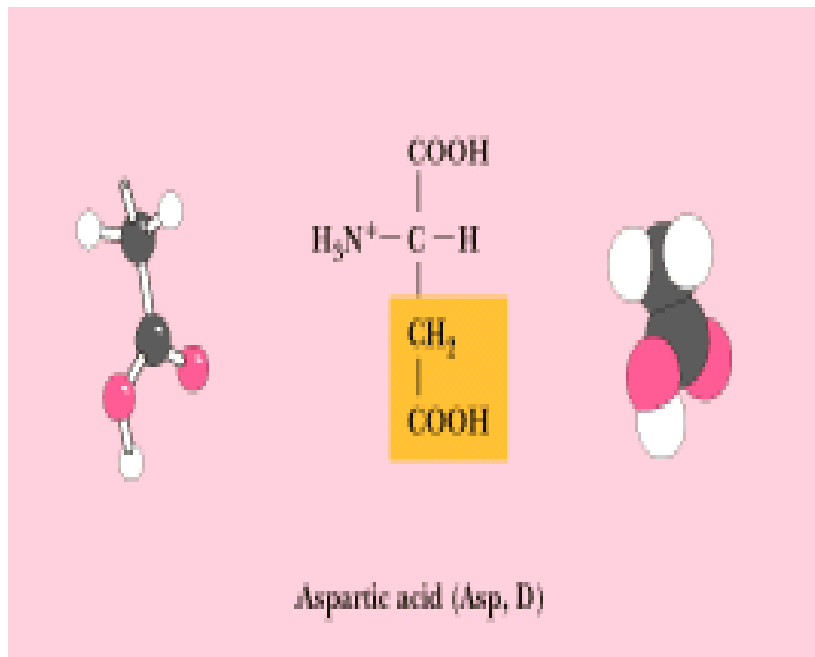
AA phân cực – không tích điện

(chuỗi bên chứa các nhóm phân cực khó ion hóa)



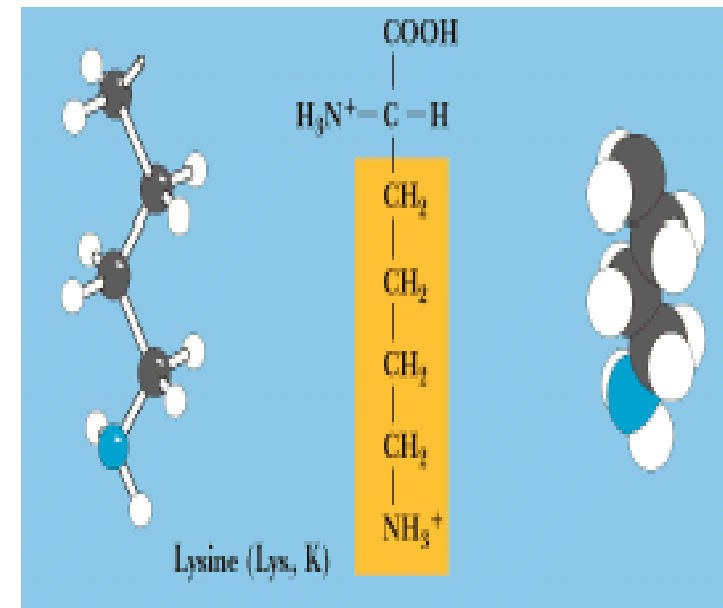
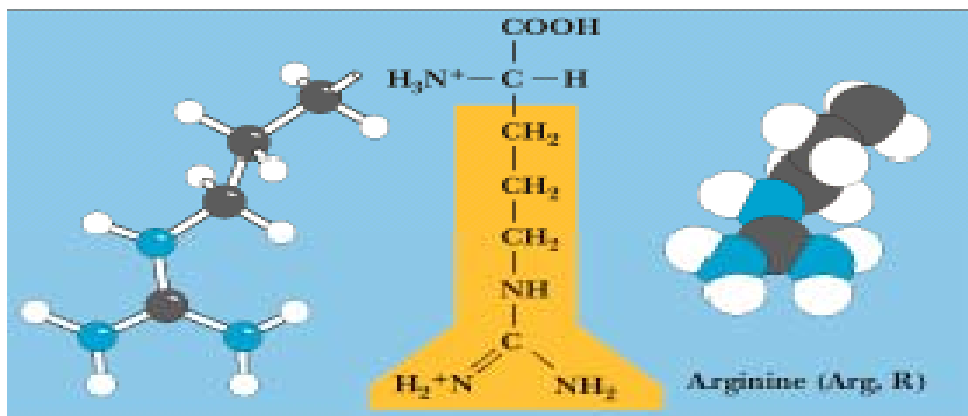
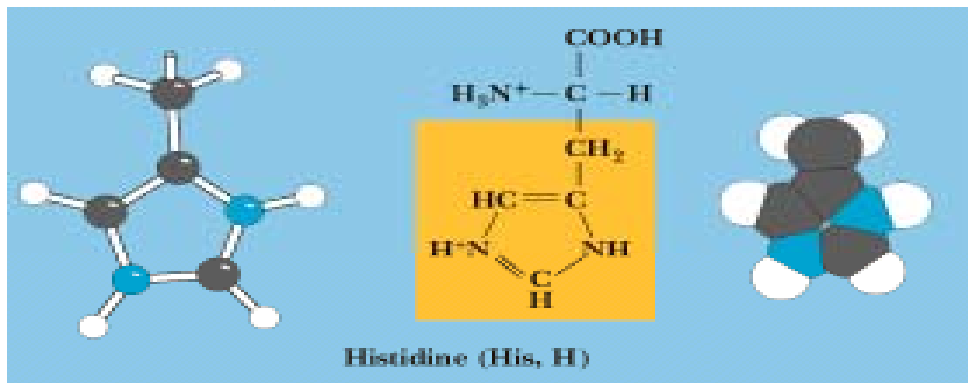
ACID AMIN – Phân loại

AA phân cực và tích điện âm ở pH cơ thể
(chuỗi bên chứa nhóm carboxyl)



ACID AMIN – Phân loại

AA phân cực, tích điện dương ở pH cơ thể
(chuỗi bên chứa nhóm amin)





ACID AMIN – Phân loại

Một số AA đặc biệt

- Hydroxylysine, hydroxyproline - collagen
- γ -Carboxyglutamate - prothrombin
- 3-Monoiodotyrosine, 3,5-diiodotyrosine, T_3 , T_4 -
hormon giáp trạng và các tiền chất
- Citrullin, ornithin - sinh tổng hợp ure



ACID AMIN – Phân loại

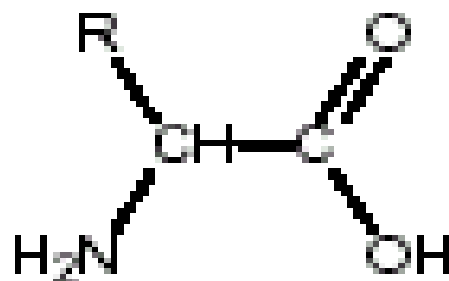
Vai trò của các AA trong chuỗi polypeptid

- AA kỵ nước không tương tác trong môi trường nước, chiếm phần lớn bề mặt phía trong phân tử protein. Loại này không bị ion hóa, không tạo LK hydro.
- AA ưa nước tương tác với môi trường nước, tạo LK hydro với nước và chiếm tỉ lệ lớn ở trên bề mặt ngoài của protein, hay có mặt ở các trung tâm hoạt động của enzym.

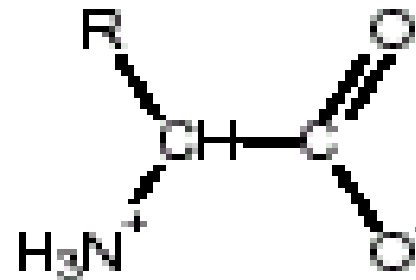


ACID AMIN – Điện tích

Ở pH trung tính, AA ở dạng lưỡng cực

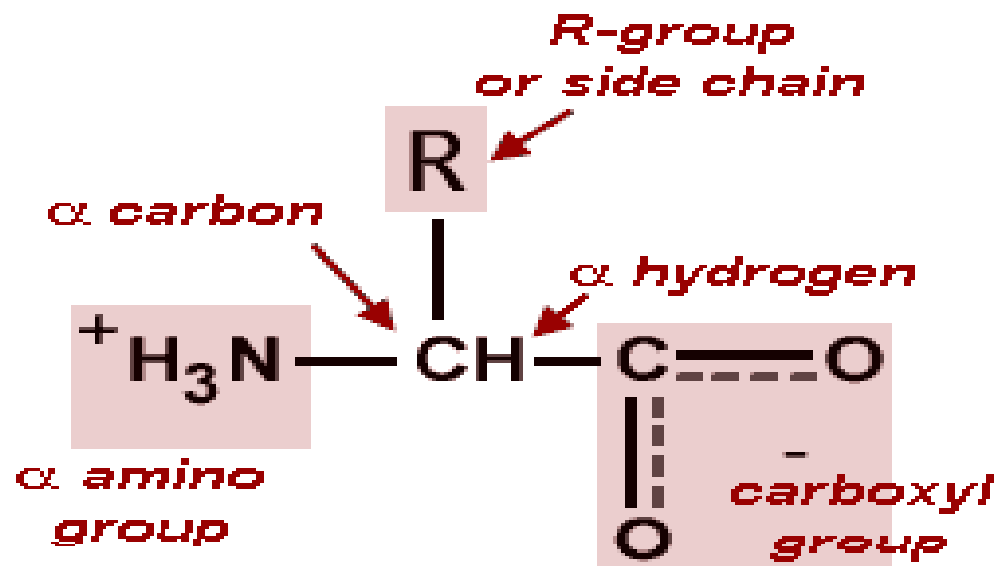


non-ionic



zwitterion

ACID AMIN – Tính chất



Dipolar (zwitterion)



ACID AMIN – Điện tích

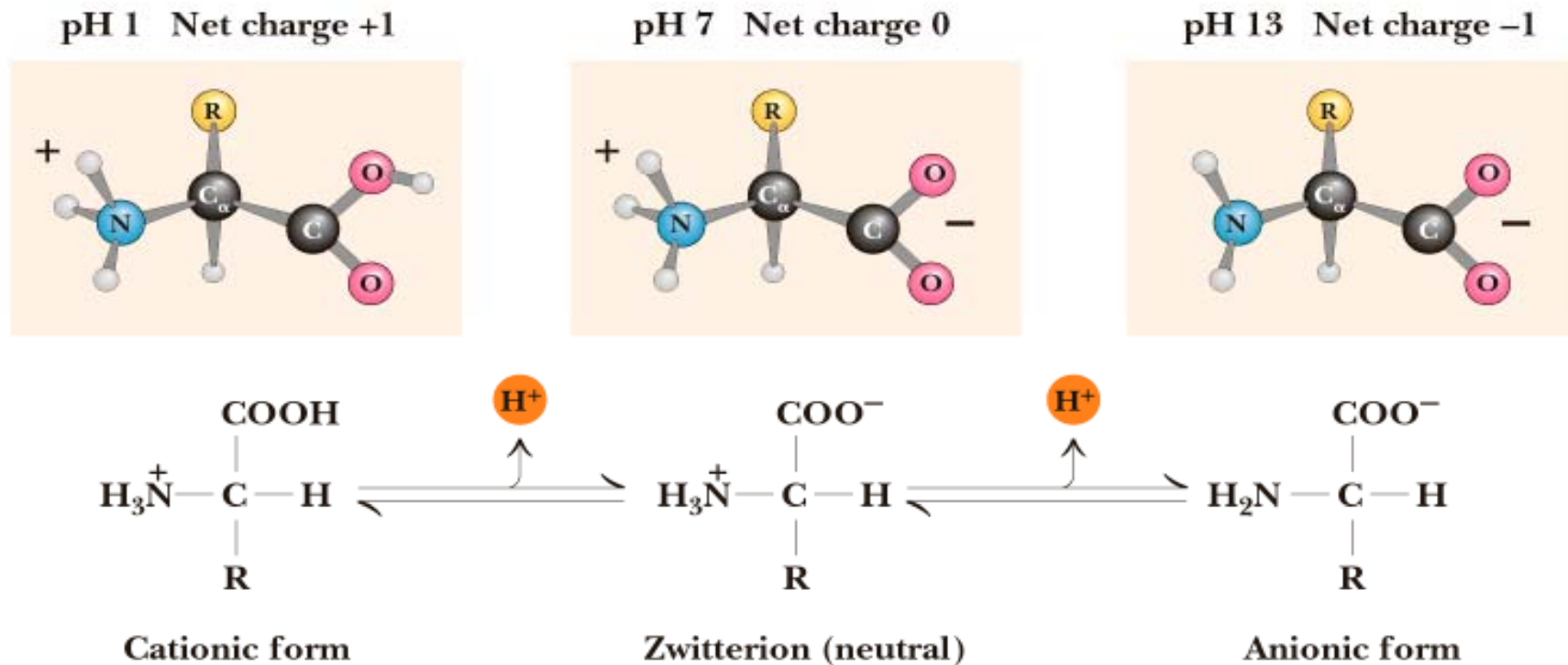


Theo quan niệm Bronsted thì AA chứa ít nhất 2 nhóm acid phân ly yếu

\Leftrightarrow AA là acid yếu có thể phân ly nhiều lần

ACID AMIN – Điện tích

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 4.6





ACID AMIN – Tính chất

- Dạng ion hóa của AA thay đổi tùy theo pH môi trường → thay đổi [C] của các dạng ion
- Tại pH môi trường:

- $A^{+/-} = \text{MAX}$
- $A^- = A^+ = \text{MIN}$
- $\Sigma \text{ ĐIỆN TÍCH} = 0$

} pH_i (isoelectric)
(pH đẳng điện)

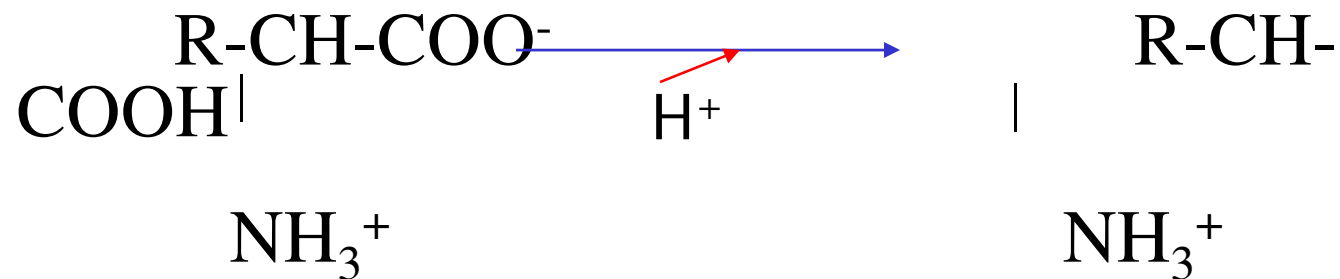
AA không di chuyển trong điện trường



ACID AMIN – Tính chất

Tại pH môi trường < pHi

AA hoạt động như base



- Tồn tại cả 3 dạng ion $\text{A}^{+/-}$, A^- , A^+
- Cation A^+ chiếm tỉ lệ nhiều nhất

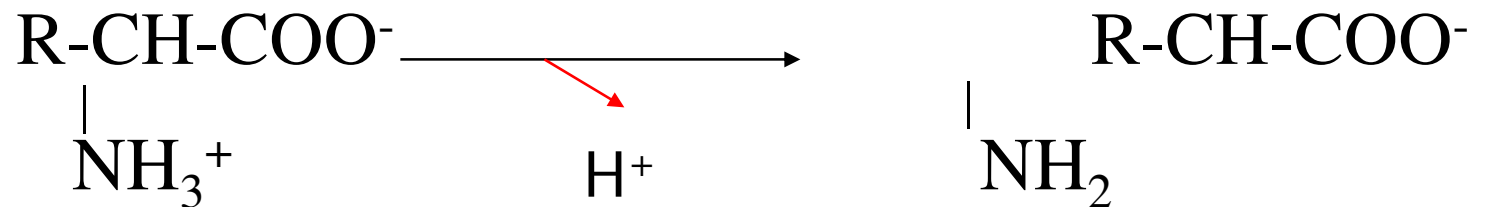
Trong điện trường, AA chuyển về cực (-)



ACID AMIN – Tính chất

Tại pH môi trường > pHi

AA hoạt động như acid



- Tồn tại cả 3 dạng ion $\text{A}^{+/-}$, A^- , A^+
- Anion A^- chiếm tỉ lệ nhiều nhất

Trong điện trường, AA chuyển về cực (+)



Tính chất vật lý

- Dễ tan trong dung môi phân cực
- Vị ngọt kiểu đường (natri glutamat: vị ngọt kiểu đậm)

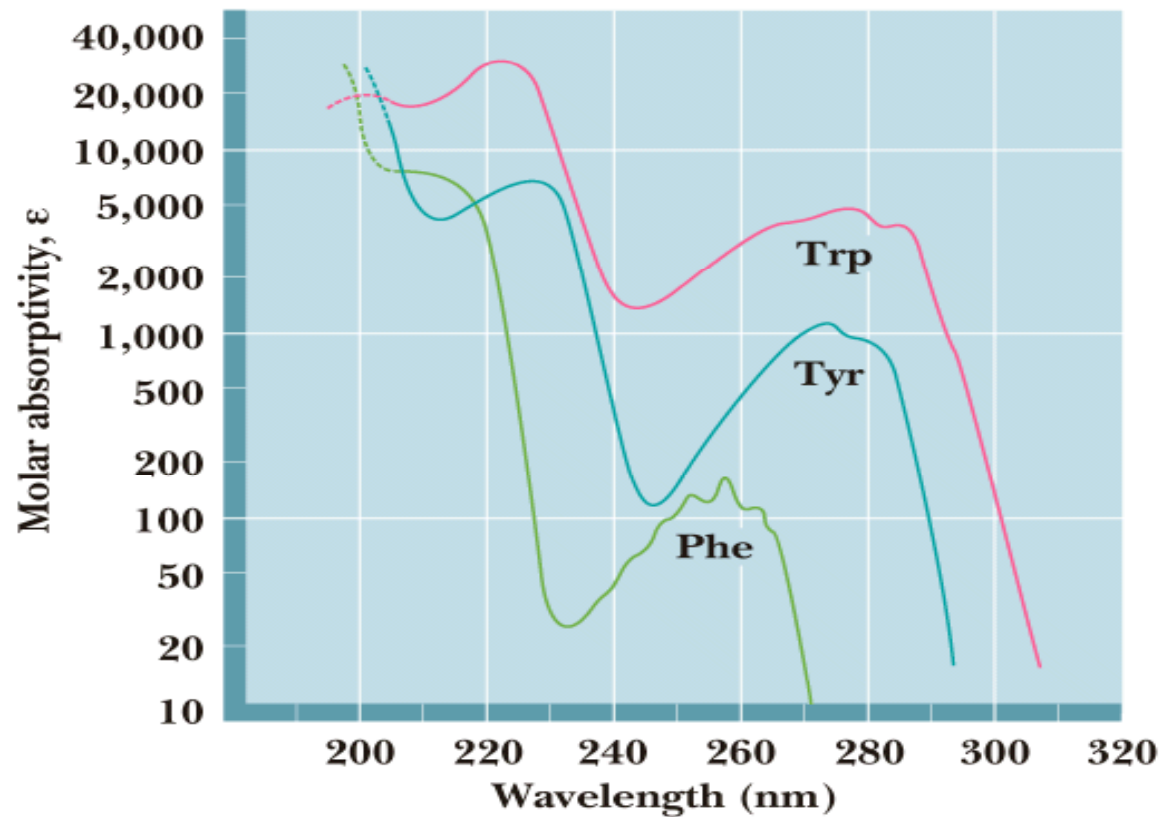


Tính chất vật lý

- Các acid amin không hấp thụ ánh sáng nhìn thấy được (không màu), và (trừ acid amin thơm Phe, Tyr, His và Trp) hấp thụ ánh sáng ở vùng tia hồng ngoại
- Chỉ Phe, Tyr, His và Trp hấp thụ ở vùng UV
- Đo nồng độ AA tốt nhất ở 280 nm

Tính chất vật lý

➤ Phổ hấp thụ của vài acid amin





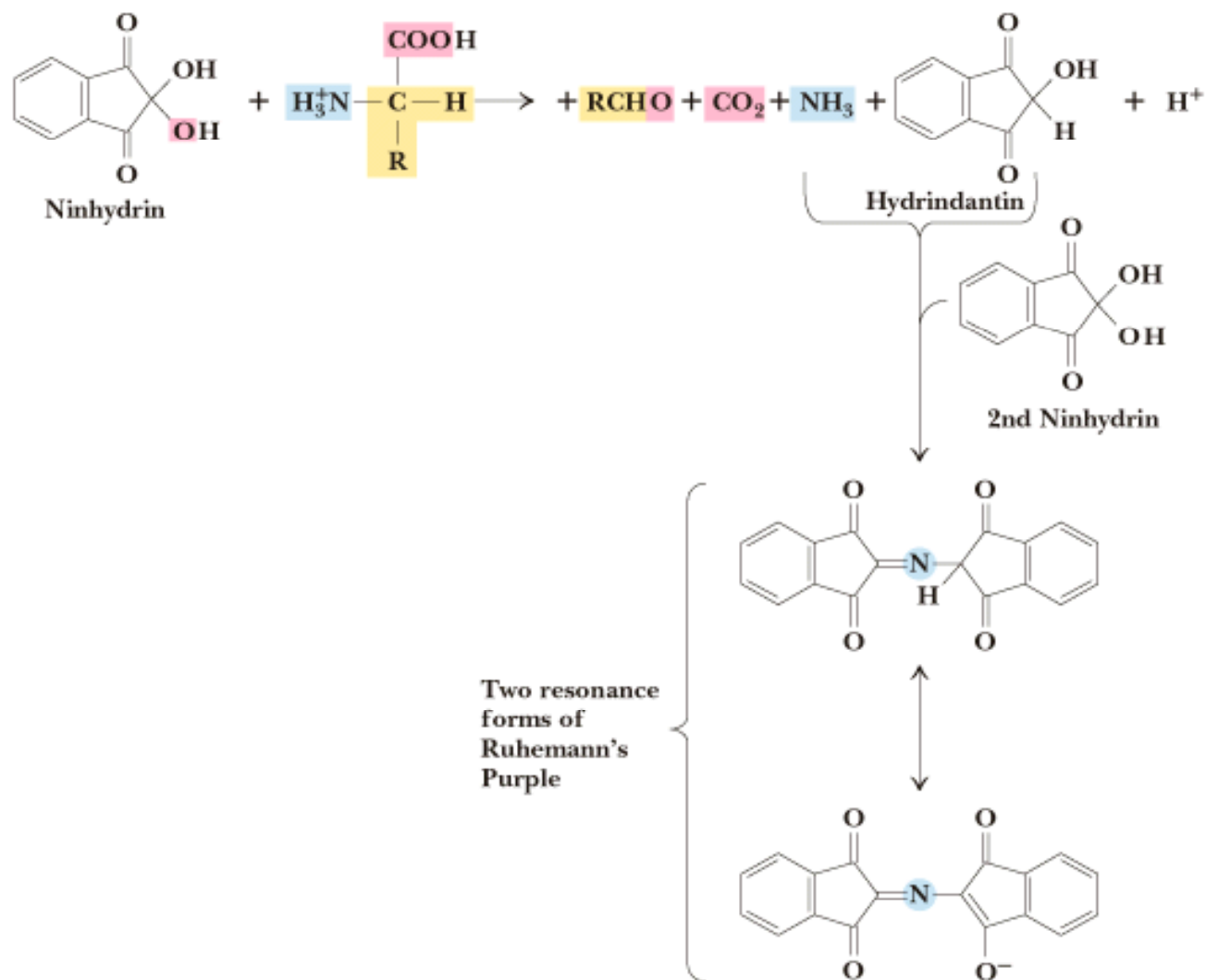
Tính chất hoá học

PHẢN ỨNG DO NHÓM α -NH₂ VÀ α -COOH

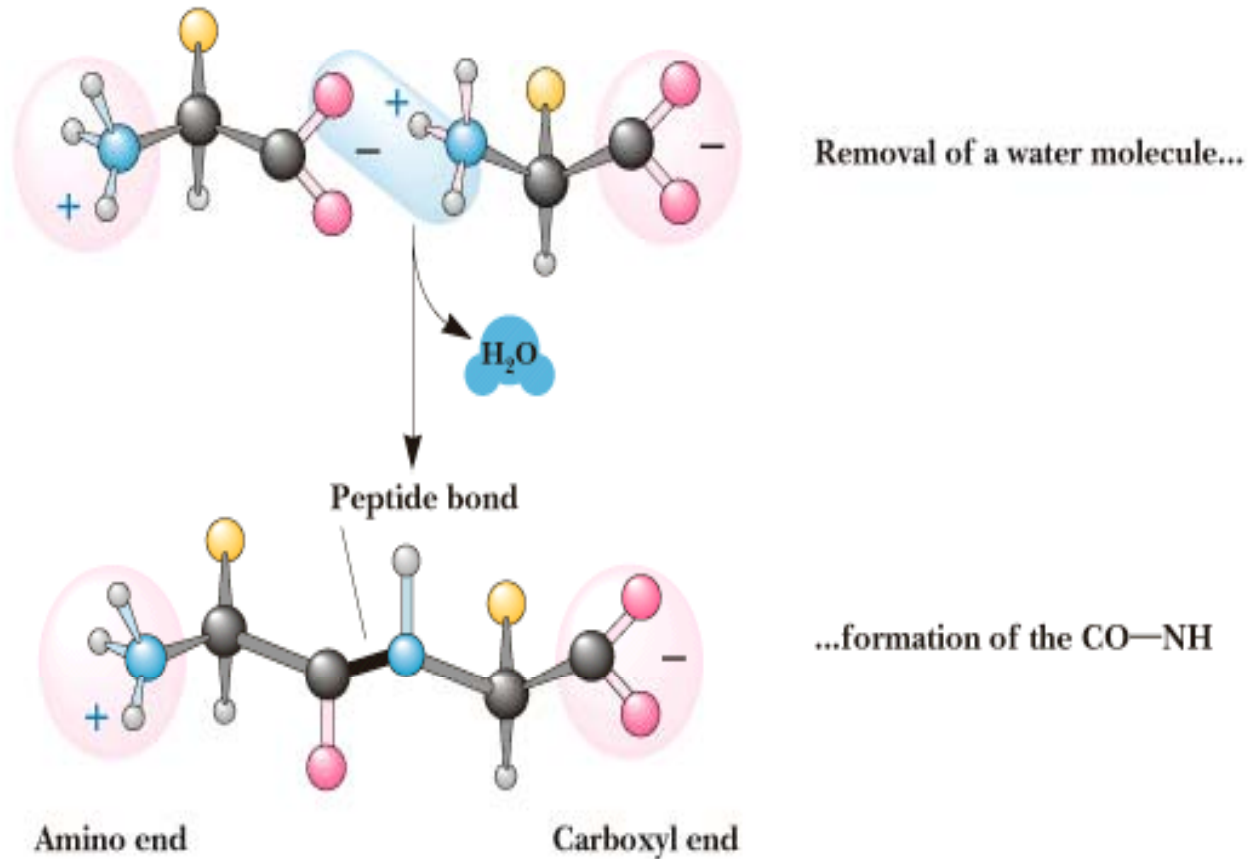
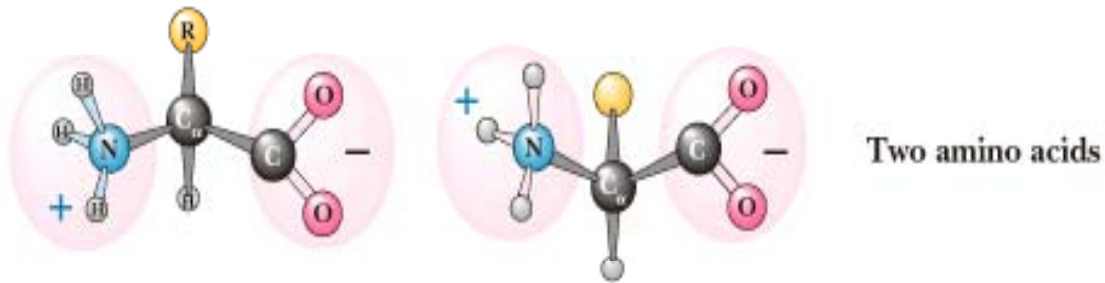
PHẢN ỨNG CỦA GỐC R

1. Phản ứng NINHYDRIN

Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 4.10



2. PHẢN ỨNG TẠO LIÊN KẾT PEPTID



D

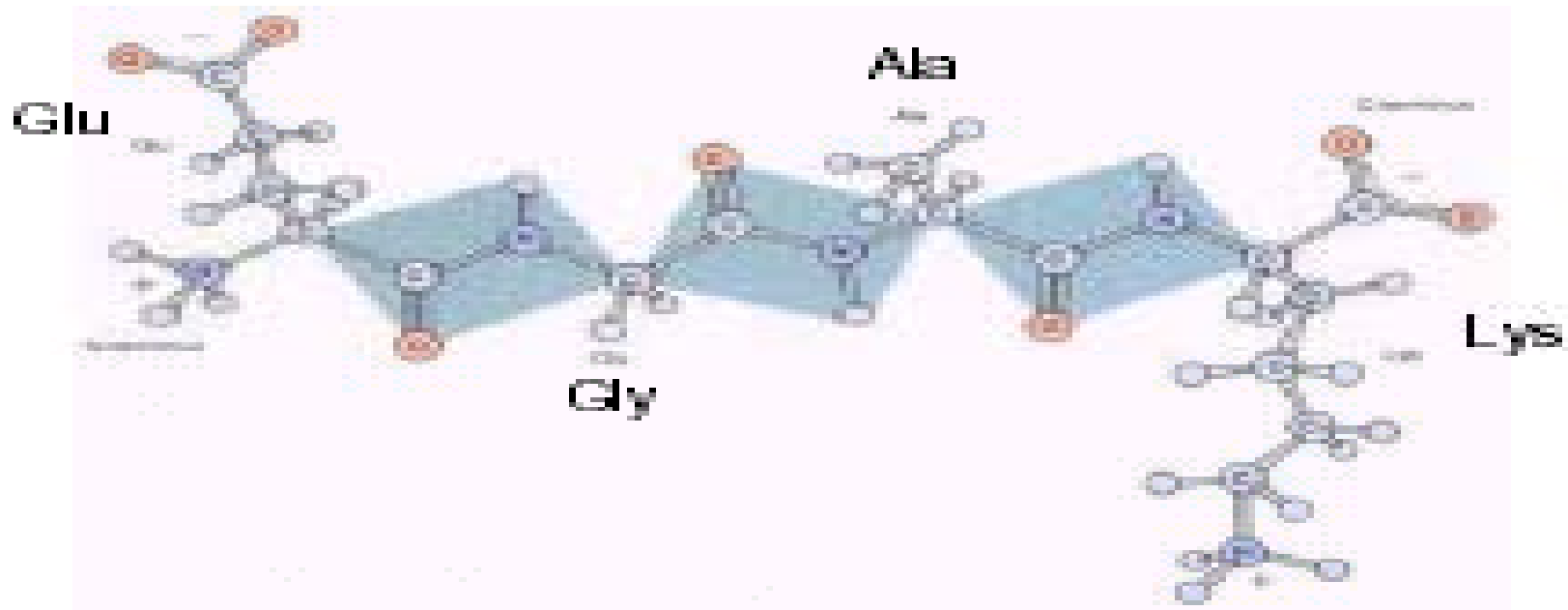


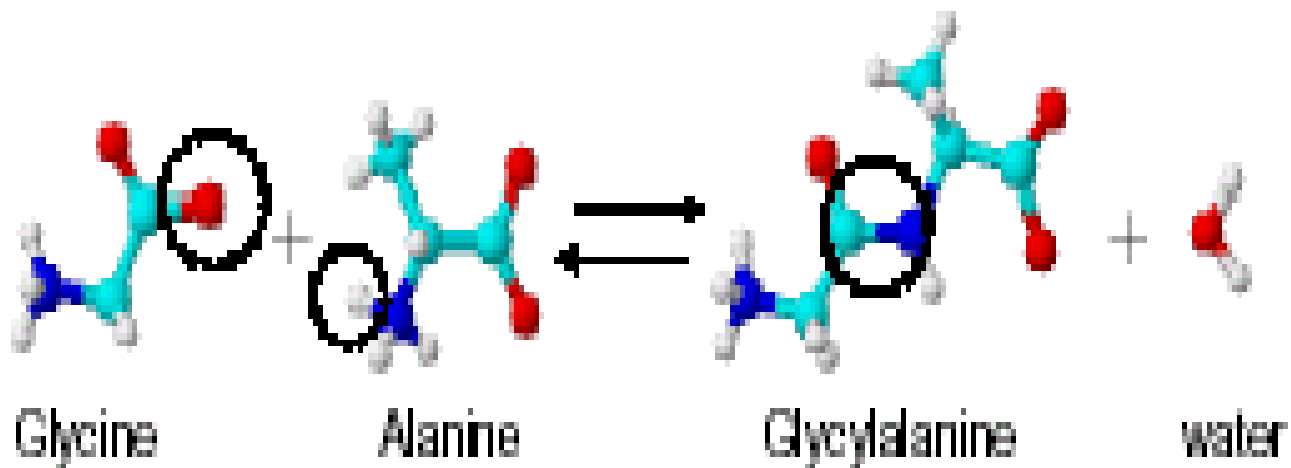
Figure 5.9, p. 136: Biochemistry; Mathews, Van Holde, Ahern

Tên: Acid glutamic - Glycin - Alanin - Lysin

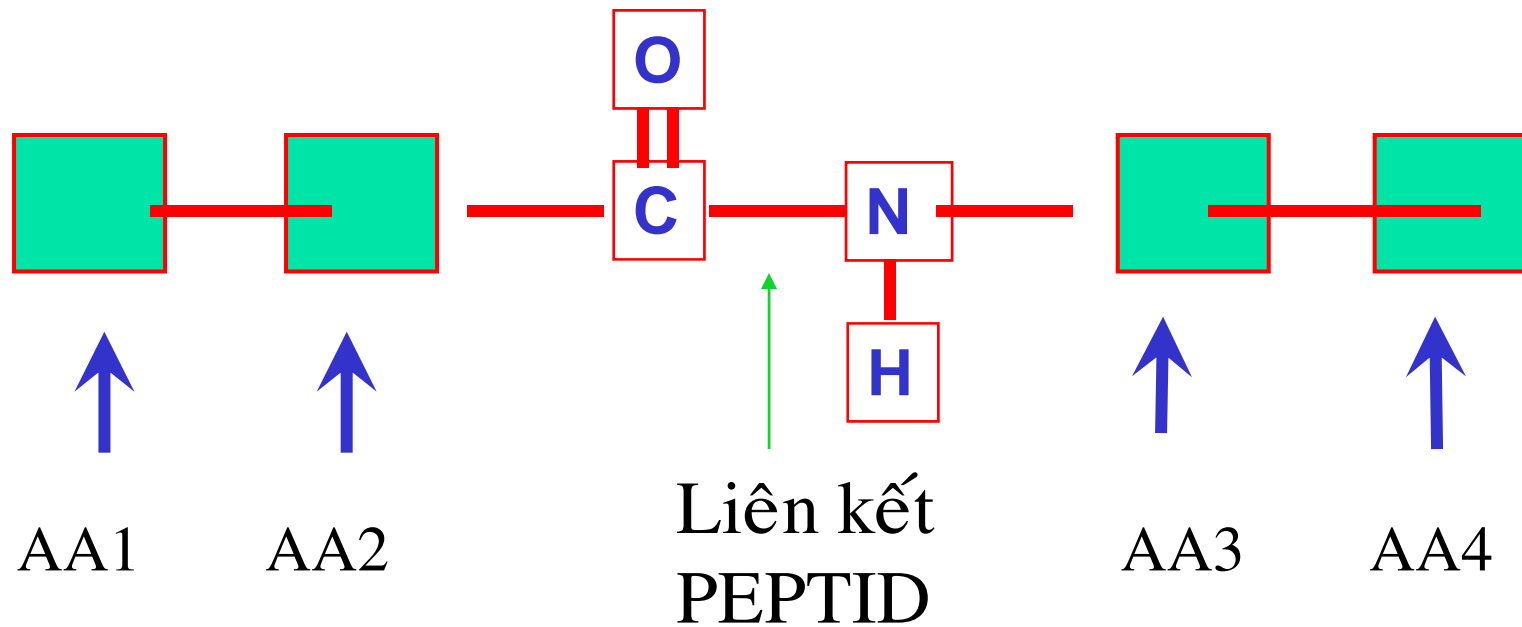
Kí hiệu ba chữ: Glu-Gly-Ala-Lys

Kí hiệu một chữ: EGAK

PEPTID - Cấu tạo



PEPTID



(Bản chất là LK amid)



PEPTID

- Với n AA, có $n-1$ liên kết peptid
- Có 2 đầu: N tận và C tận
 - ❖ N tận ở phía bên trái - đầu chuỗi
 - ❖ C tận ở phía bên phải - cuối chuỗi
- Tên gọi theo tên riêng
 - ❖ Glutathion, glucagon, insulin, ACTH



PEPTID- tính chất

➤ Phân tử peptid có:

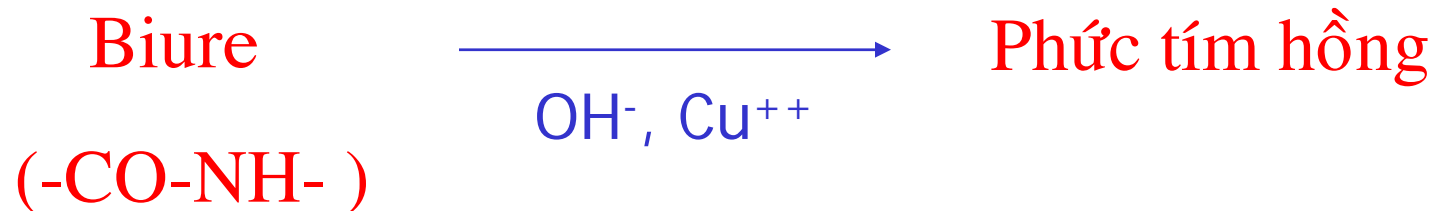
- ❖ Nhóm α -amin tự do ở đầu N tận
- ❖ Nhóm α -carboxyl tự do ở đầu C tận
- ❖ Bộ khung: mạch liên kết peptid
- ❖ Chuỗi bên: các gốc R của các AA

➤ Có tính chất lưỡng tính giống AA

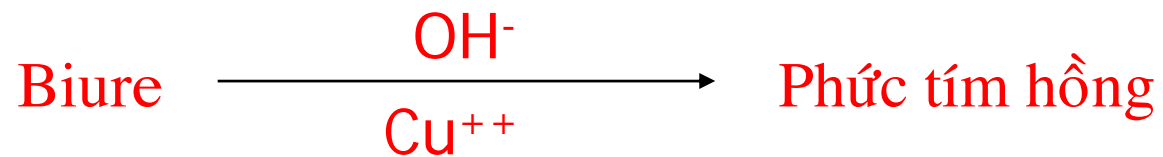
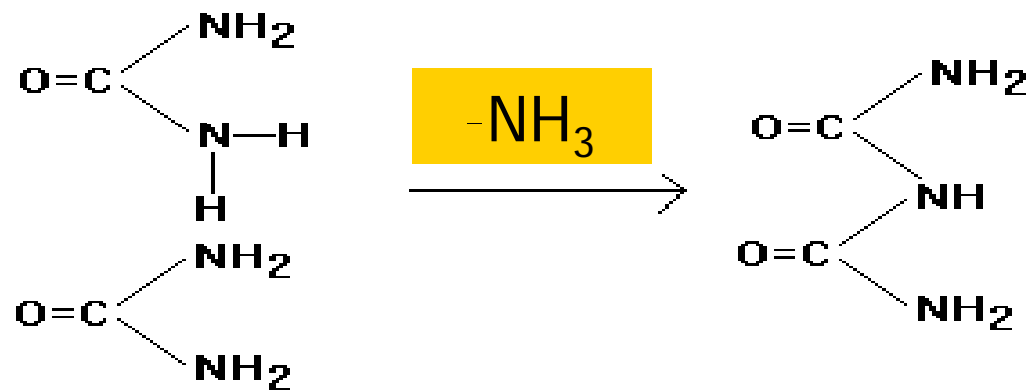


PEPTID- tính chất

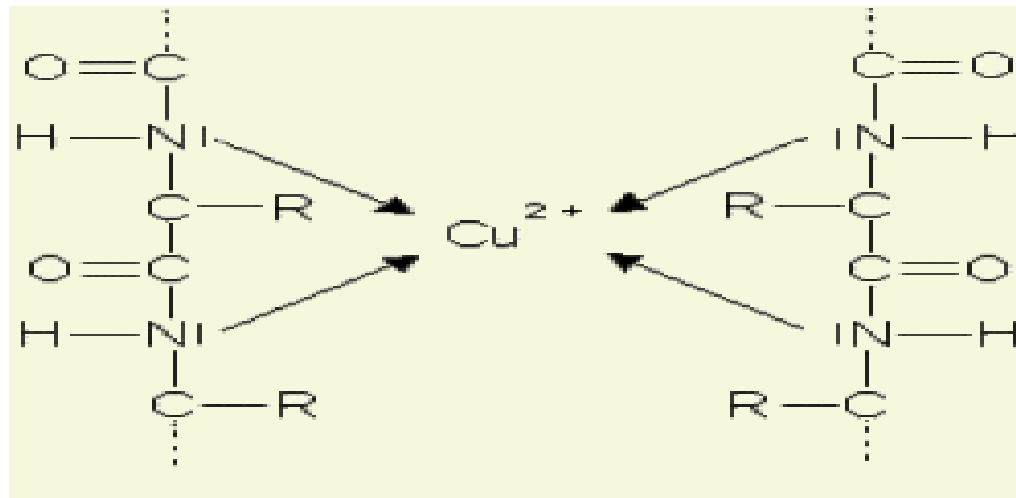
- Mỗi phân tử peptid có một pH_i tương ứng
 - ❖ pH môi trường $> pH_i$: **Peptid tích điện (-)**
 - ❖ pH môi trường $< pH_i$: **Peptid tích điện (+)**
- Phản ứng nhận biết liên kết peptid (Biuret)



PEPTID- tính chất



PEPTID- tính chất



- Tương tự với protein
- Peptid có từ 3 AA (2 liên kết *peptid*) thì phản ứng biuret (+)



PEPTID có hoạt tính sinh học

➤ **Neuropeptid:** Có mặt ở não bộ, ảnh hưởng lên hoạt động của TKTW, chủ yếu do tuyến yên và vùng dưới đồi.

Enkephalin (5AA), endorphin (15AA); oxytocin

➤ **Hormon peptid:**

Insulin (51AA); glucagon (29AA); gastrin (16AA)

➤ **Peptid kháng sinh:** do vi khuẩn, nấm tạo ra; chứa cả L và D AA; chứa một số AA không có trong protein



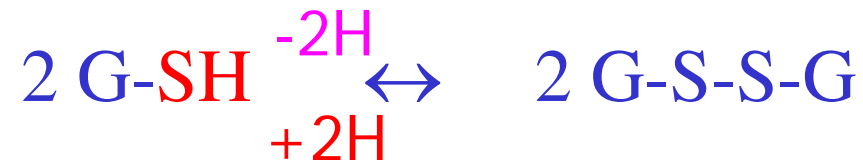
PEPTID có hoạt tính sinh học

Gramicidin S: Val-Orn-Leu-D.Phe-Pro
 | |
 Pro-D.Phe-Leu-Orn-Val

tác dụng trên vi khuẩn Gram (+), làm hư màng phospholipid của vi khuẩn.

➤ Peptid tham gia hệ thống oxy hoá-khử

Glutathion: γ glutamyl-cystein-glycin





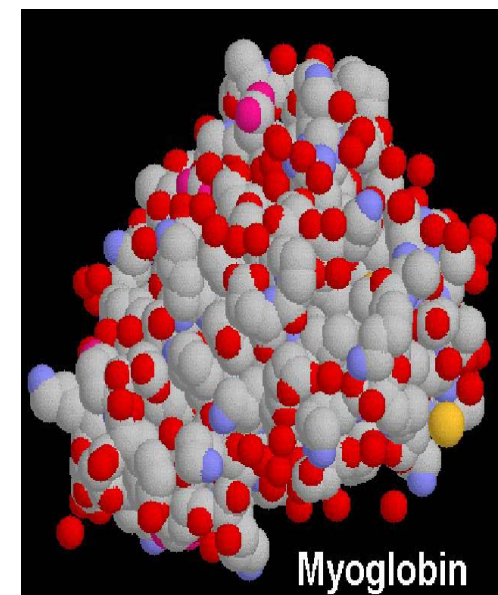
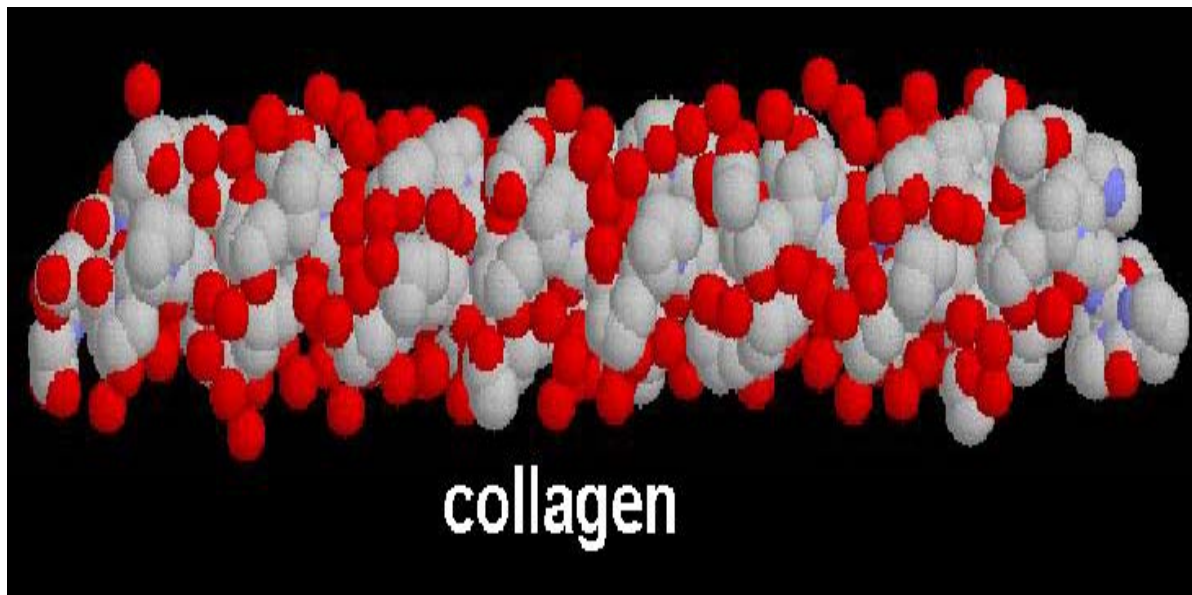
PROTEIN: Phân loại

Nhiều hệ thống phân loại do sự phức tạp về

Cấu trúc - Tính chất lý hóa – Chức năng sinh học

- Dựa vào tính hòa tan: Alb (H_2O); globulin (muối loãng)
- Dựa vào hình dạng: Protein sợi (collagen, elastin);
Protein cầu (enzym, alb, myoglobin)
- Dựa vào chức năng: Cấu trúc, vận chuyển, xúc tác
- Dựa vào tính chất vật lý: phân biệt các protein gần nhau
LP (chylomicron, VLDL, LDL, HDL)

PROTEIN: Phân loại





PROTEIN: Phân loại

Protein huyết thanh: Albumin, globulin ($\alpha_1, \alpha_2, \beta, \gamma$)

➤ Dựa vào tính chất hóa học :

✓ Protein thuần: chỉ chứa các AA

❖ Albumin: pHi 4,6-4,7 – MW 35.000-70.000

❖ Globulin: pHi 5,2-6,8 – MW 90.000-150.000

❖ Histon: pHi 9-11, chứa nhiều AA base

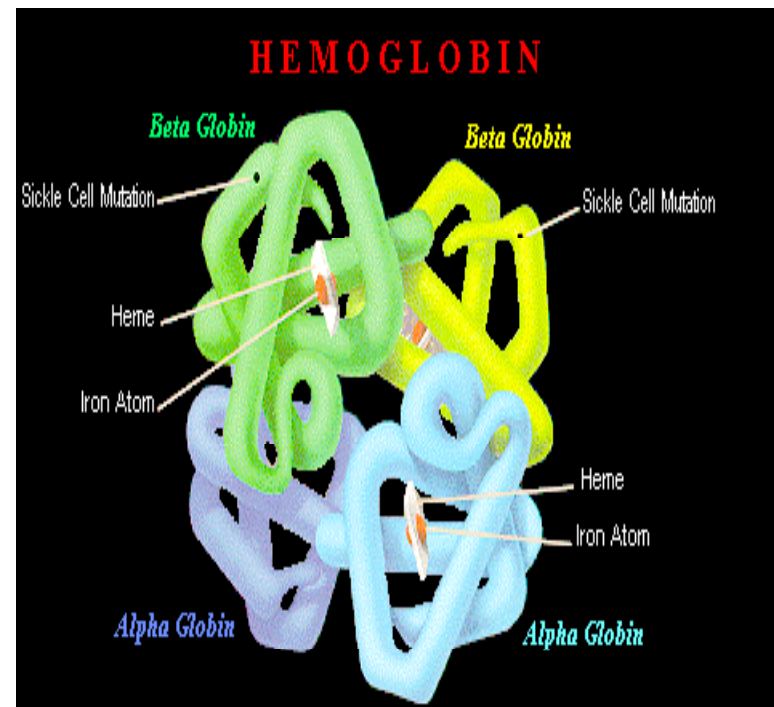
❖ Keratin: MW >2triệu – Chứa nhiều cystin

❖ Collagen: thủy phân tạo gelatin; MW 350.000

PROTEIN: Phân loại

✓ Protein tạp (protein thuần + nhóm ngoại)

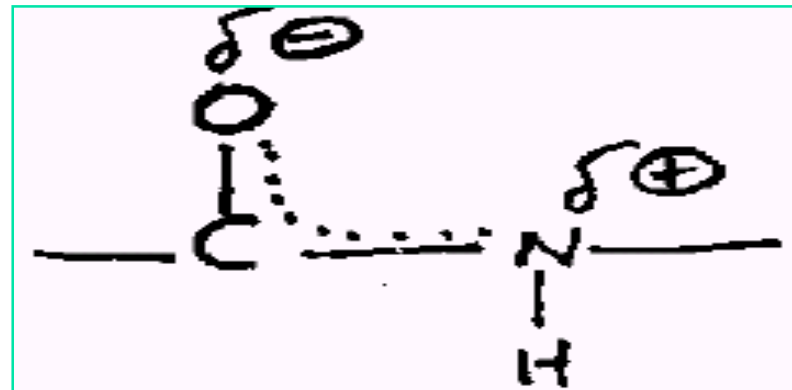
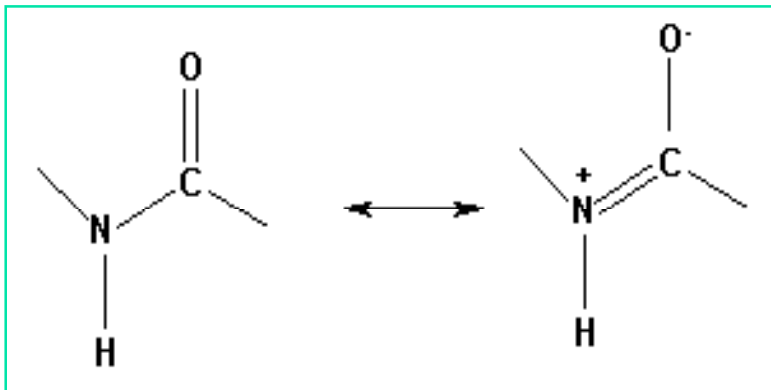
- ❖ Nucleoprotein
- ❖ Cromoprotein
- ❖ Lipoprotein
- ❖ Glycoprotein



PROTEIN-Liên kết

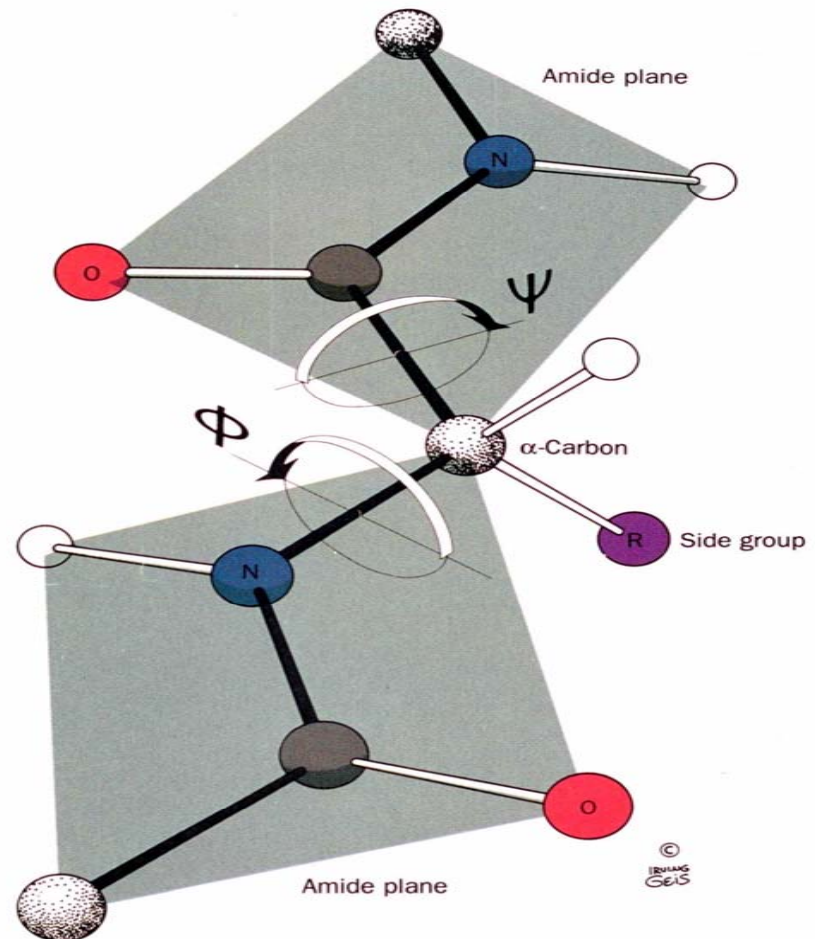
Liên kết peptid

- Bản chất là LK amid (LK peptid hơi ngắn hơn LK đơn khác).
- Tính chất LK đôi một phần, hạn chế quay quanh LK peptid, nên 4 nguyên tử -CO-NH- nằm trên cùng một mặt phẳng

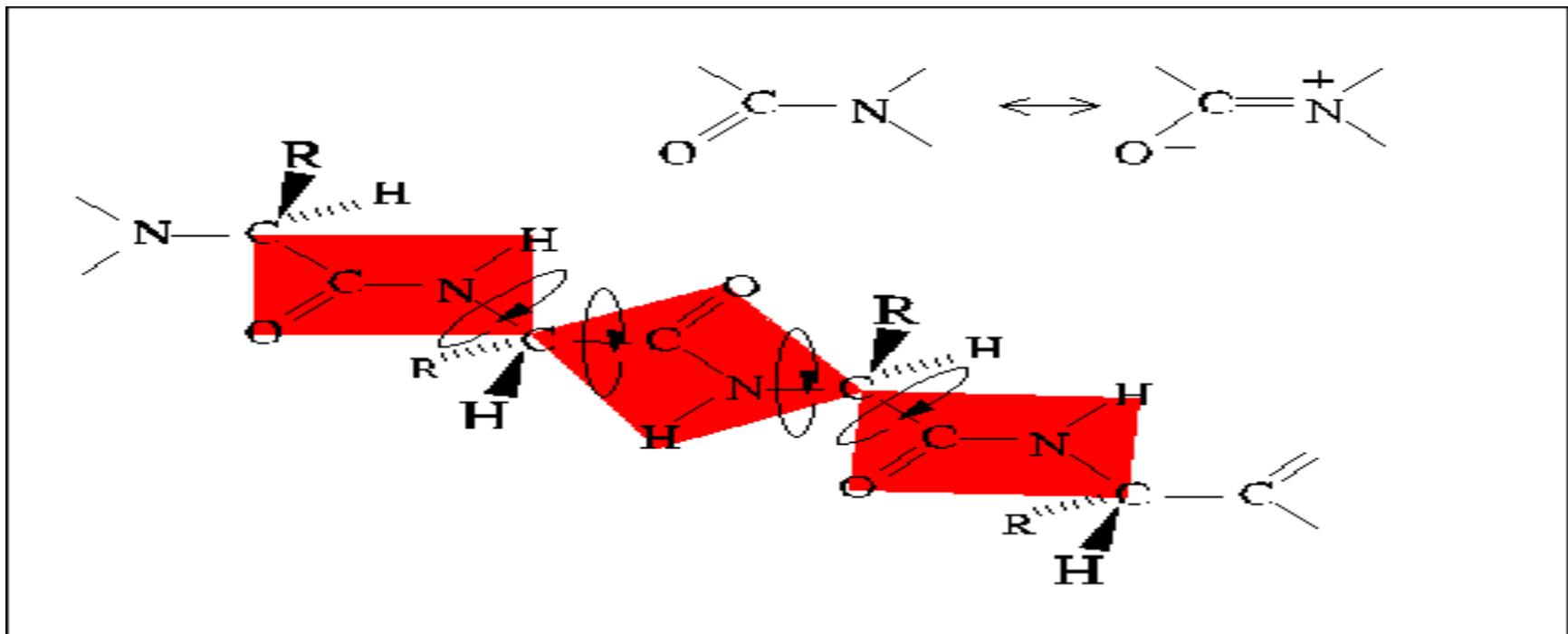


PROTEIN-Liên kết peptid

- LK peptid không quay
- Liên kết Φ (-N-C α) (Phi) và Ψ (-CO-C α -) (Psi) quay tự do

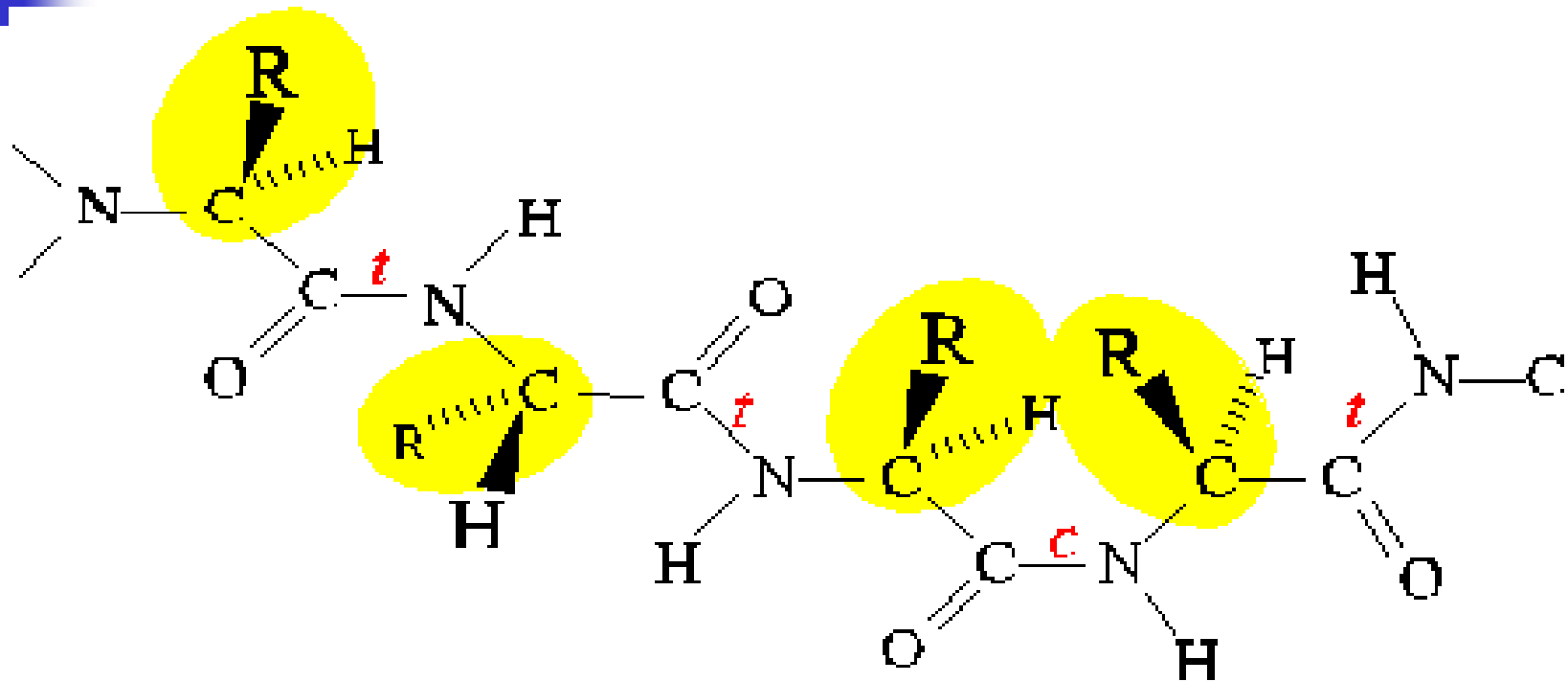


PROTEIN-Liên kết peptid



➤ Chuỗi polypeptid được coi là có nhiều mặt phẳng, có 2 góc quay giữa mỗi mặt phẳng

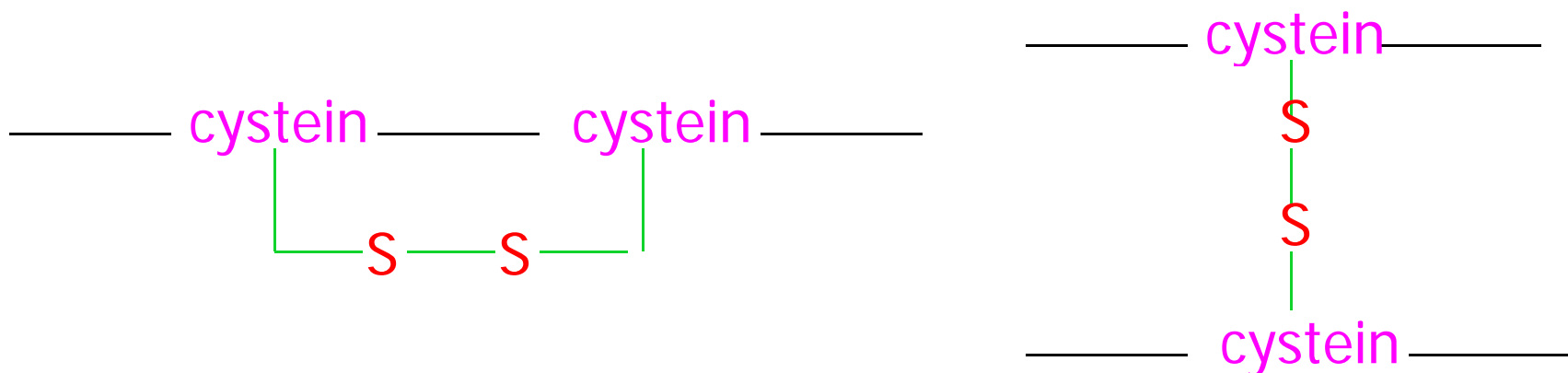
PROTEIN-Liên kết peptid



Vì ảnh hưởng không gian, Phi và Psi quay hạn chế \Leftrightarrow tạo cấu hình Trans > Cis \Leftrightarrow tạo cấu trúc không gian protein

PROTEIN-Liên kết disulfid

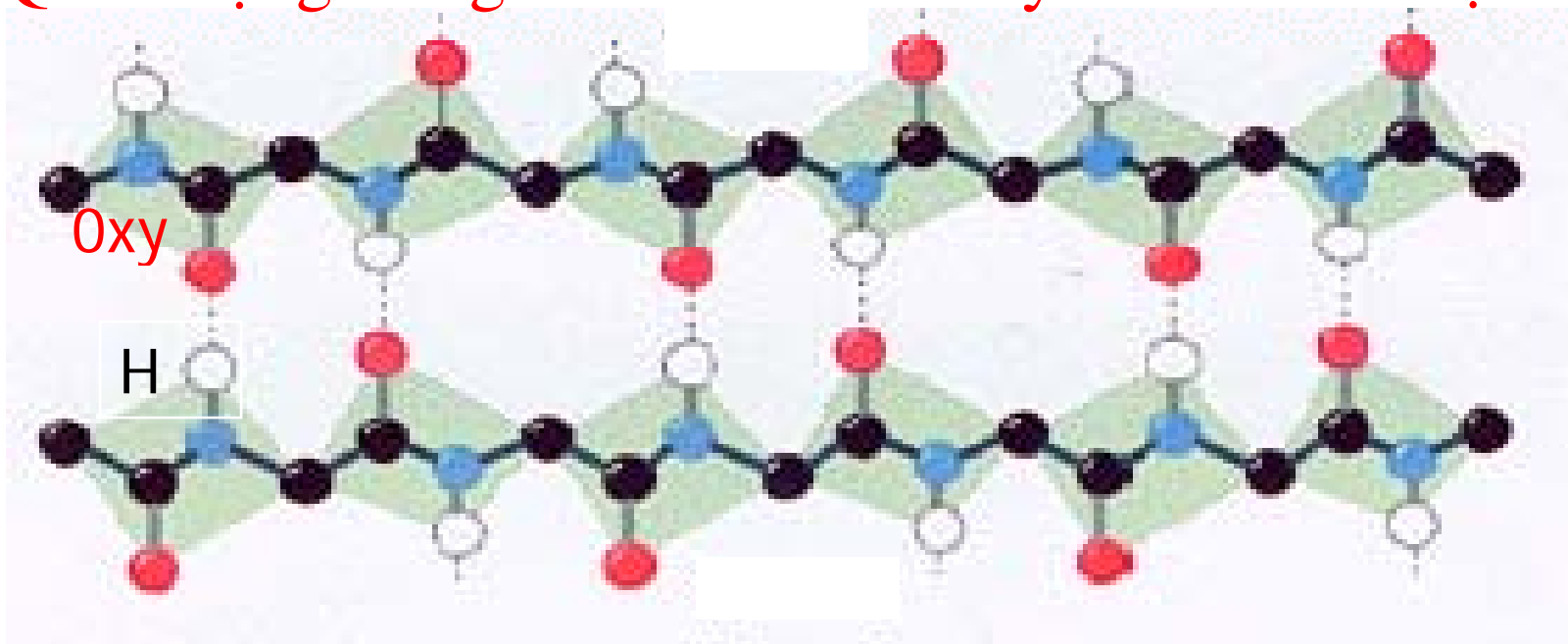
- LK đồng hóa trị giữa 2 cystein trên 1 chuỗi hay 2 chuỗi khác nhau.
- Đóng vai trò quan trọng trong duy trì cấu trúc bậc III
- Khi muốn phân tích protein phải phá vỡ LK này

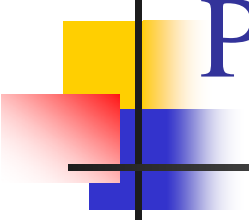


PROTEIN-Liên kết Hydro

➤ Là lực hút tĩnh điện giữa H thừa điện tích (+) và O (hay N, Cl) thừa điện tích (-) trên cùng chuỗi hay các chuỗi khác nhau. Trong protein, số lượng LK hydro lớn.

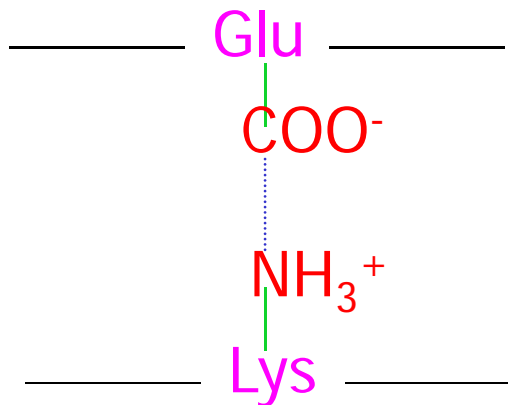
Quan trọng trong hình thành và duy trì cấu trúc bậc II





PROTEIN-Liên kết ion

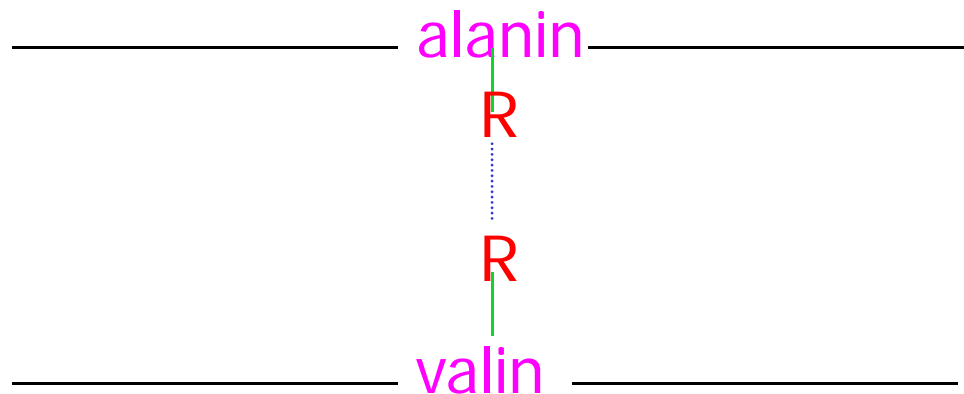
- Là lực hút tĩnh điện giữa nhóm --COO^- (Glu, Asp) với --NH_3^+ (Lys, Arg), còn gọi là LK muối



PROTEIN-

Tương tác kỵ nước giữa các R

- Tương tác giữa các gốc không phân cực bên trong protein (liên kết *Van der Waals*): yếu, không là liên kết thực sự; quan trọng trong duy trì cấu trúc protein.





PROTEIN-Lực Van de Waals

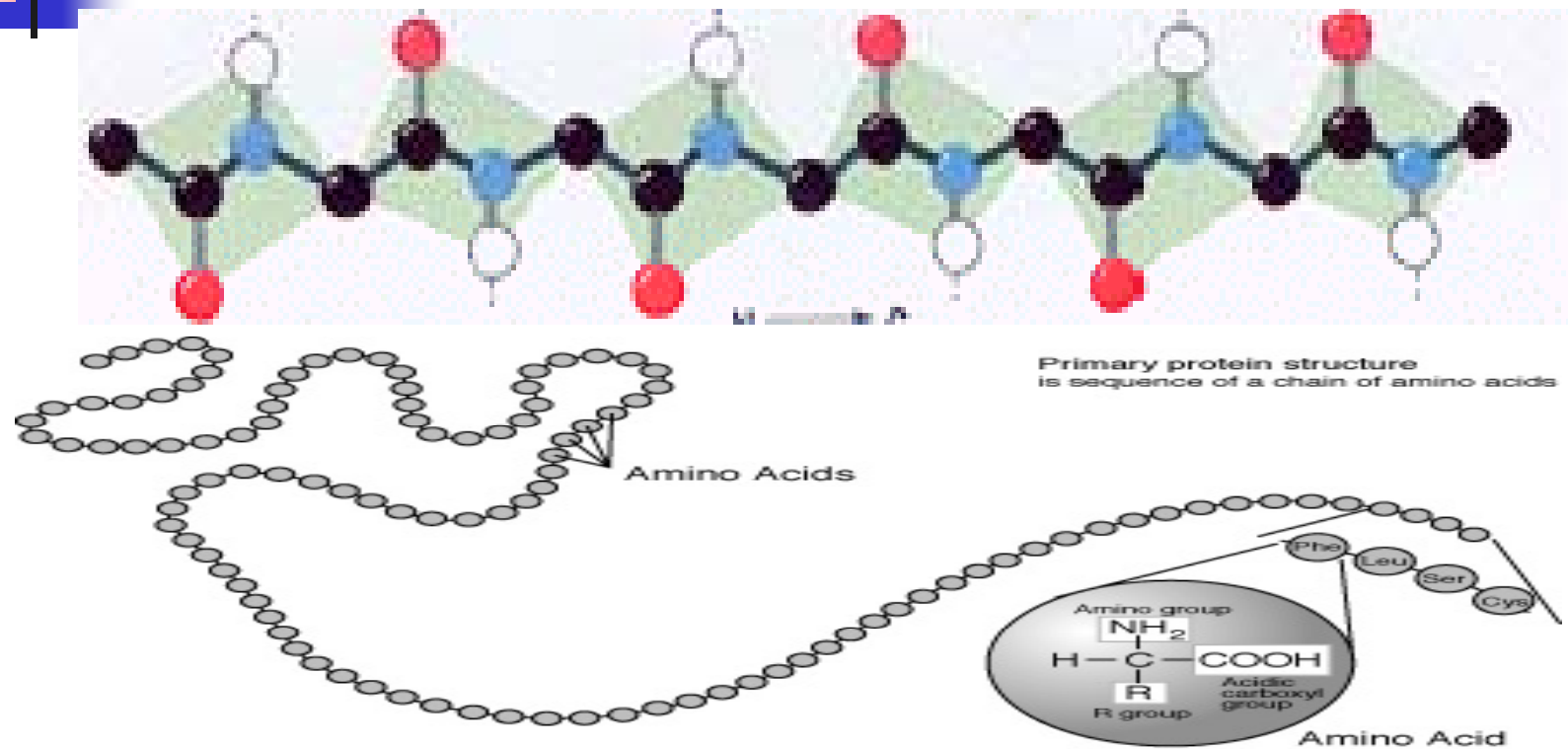
- Là lực tương tác giữa các nguyên tử, phân tử
 - ❖ khoảng cách ngắn
 - ❖ cực kỳ yếu



PROTEIN-cấu trúc

- Vào những năm 1950, Linus Pauling đặt tên cho những cấu trúc ông tìm ra nhờ nhiễu xạ tia X là xoắn alpha, lá gấp beta.
- Nay thêm một số cấu trúc khác như uốn beta, cấu trúc collagen.

PROTEIN-cấu trúc bậc 1



- Biểu thị trình tự các AA trong chuỗi polypeptid
- Vị trí của các **cystein** \Rightarrow khả năng tạo LK **disulfid**

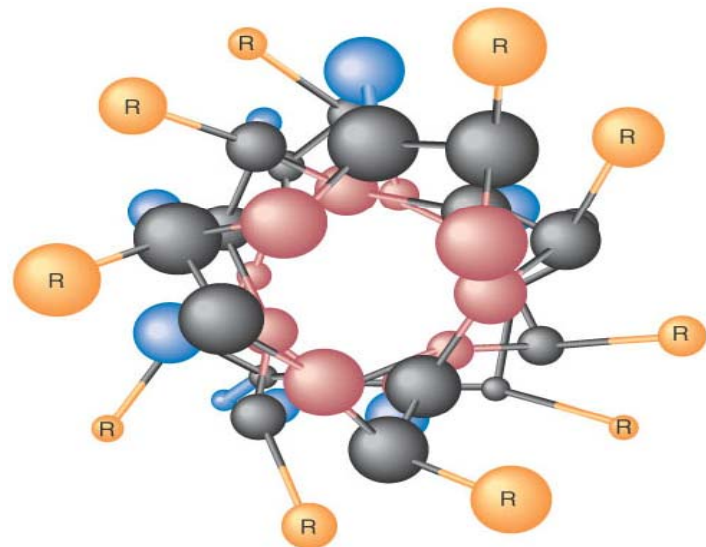


PROTEIN-cấu trúc bậc 2

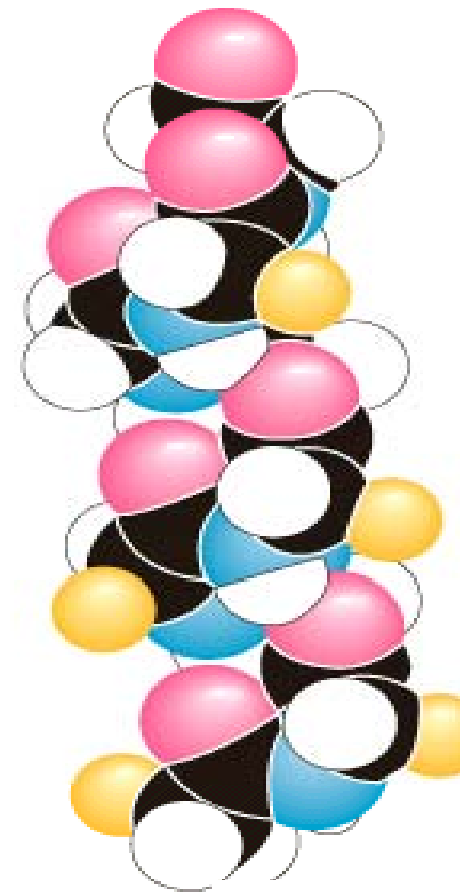
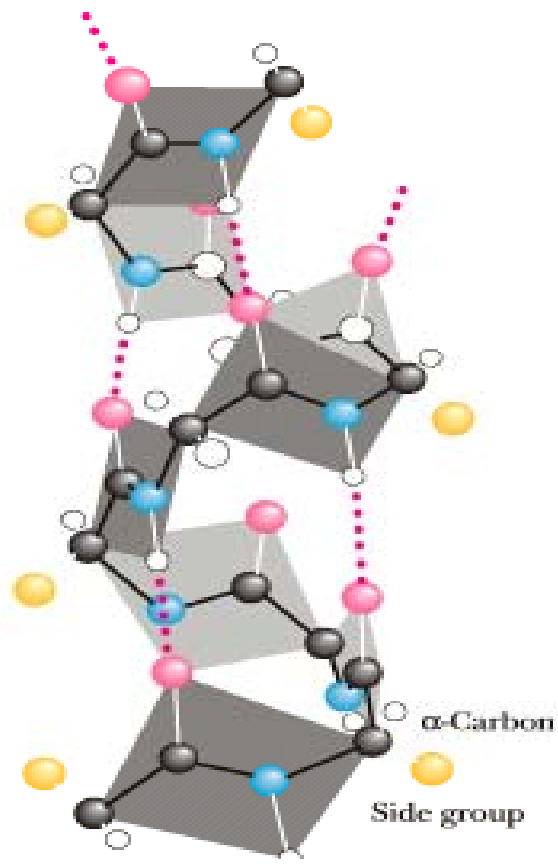
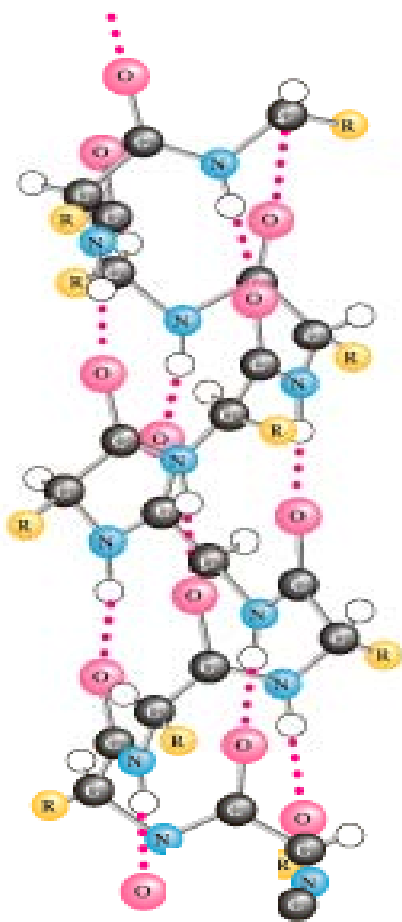
- Biểu thị sự tương quan của các AA gần nhau trong chuỗi polypeptid
- Liên kết hydro đóng vai trò quan trọng
- Ba dạng cấu trúc bậc 2 thường hay gặp
 - ❖ Xoắn α (Alpha helix)
 - ❖ Lá gấp β (Beta-Pleated Sheet)
 - ❖ Cấu trúc uốn β (β turns)

PROTEIN- xoắn α

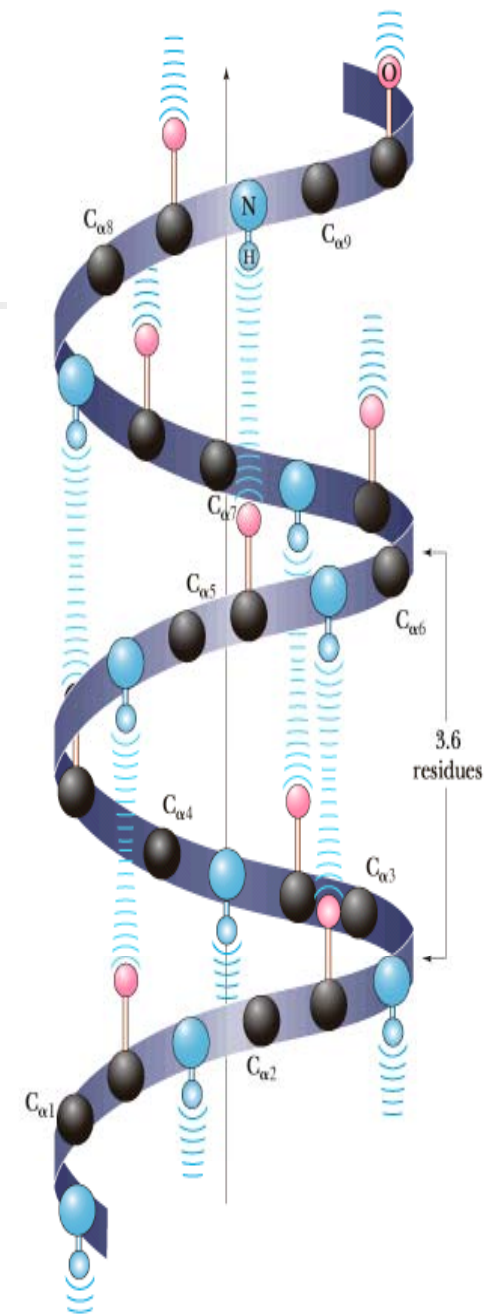
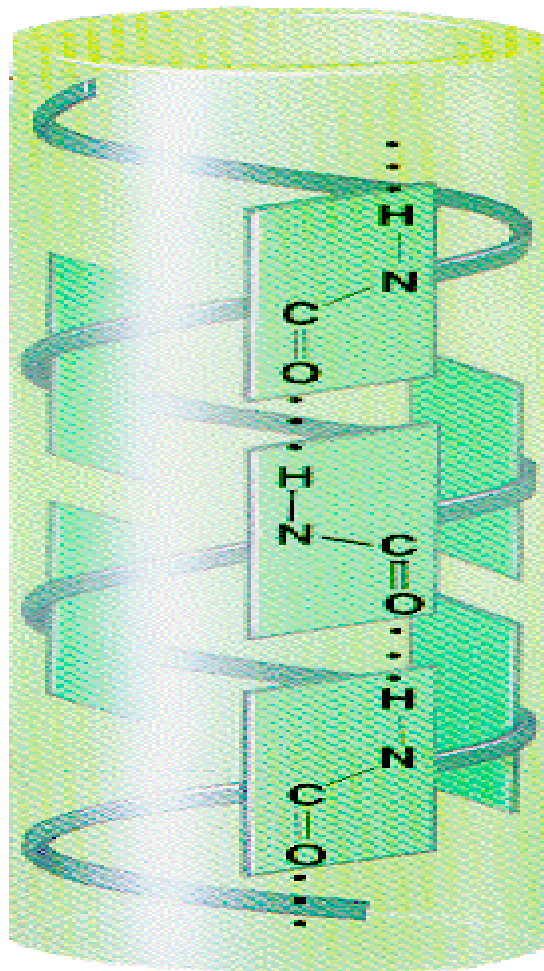
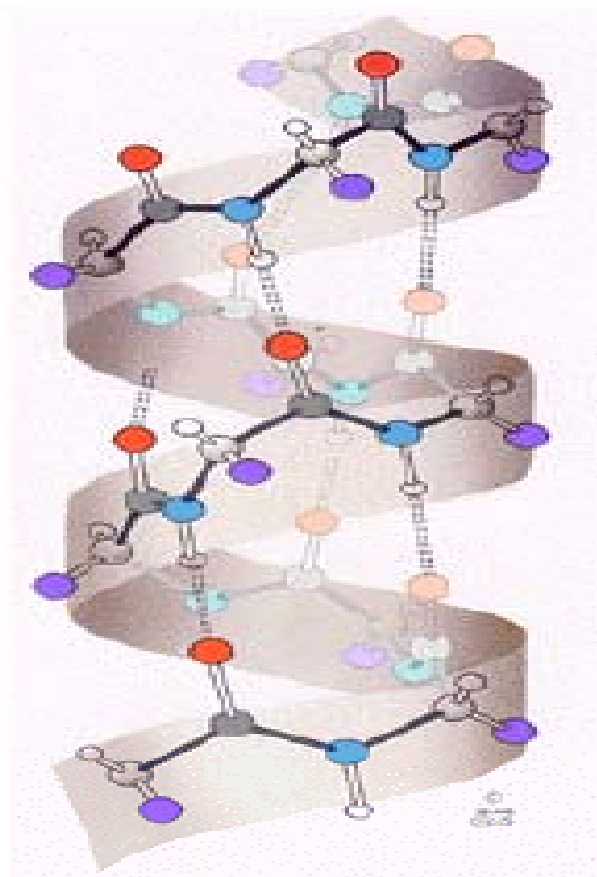
- Cấu trúc hình roi, sợi polypeptid xoắn quanh trục phân tử tạo phần lõi, gốc R của AA nhô ra ngoài
- Bền vững nhờ LK hydro, mỗi vòng xoắn có 3,6 AA
- Protein nhiều xoắn α
(Hb, Mb)
- Protein ít xoắn α
(Chymotrypsin)



PROTEIN-xoắn α



PROTEIN- xoắn α

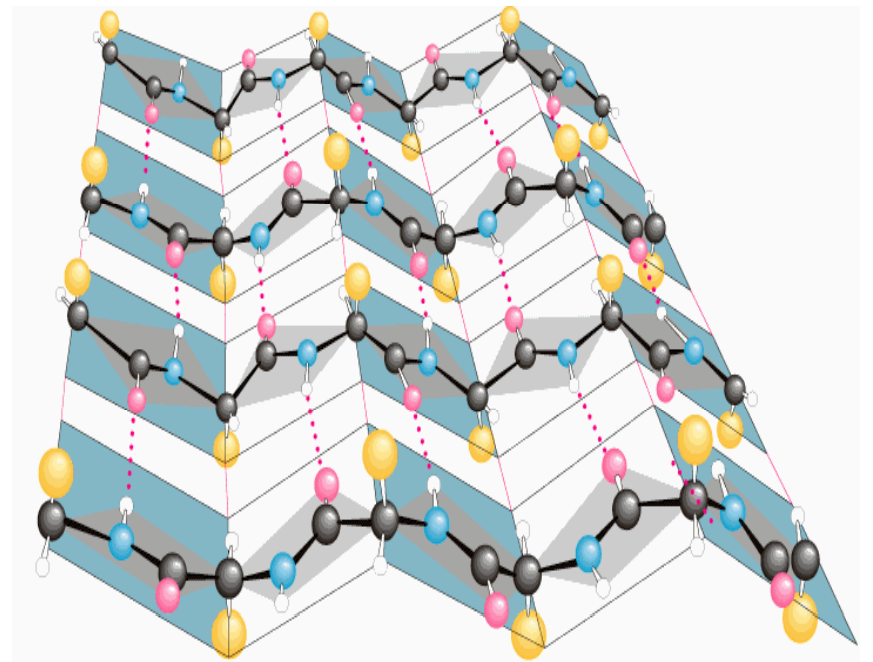
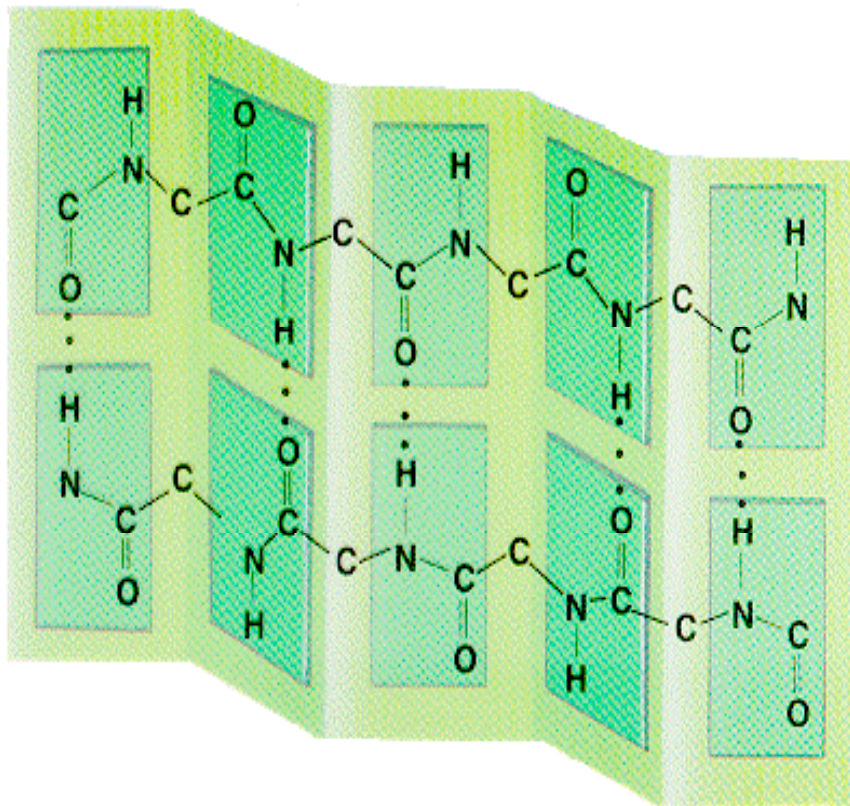


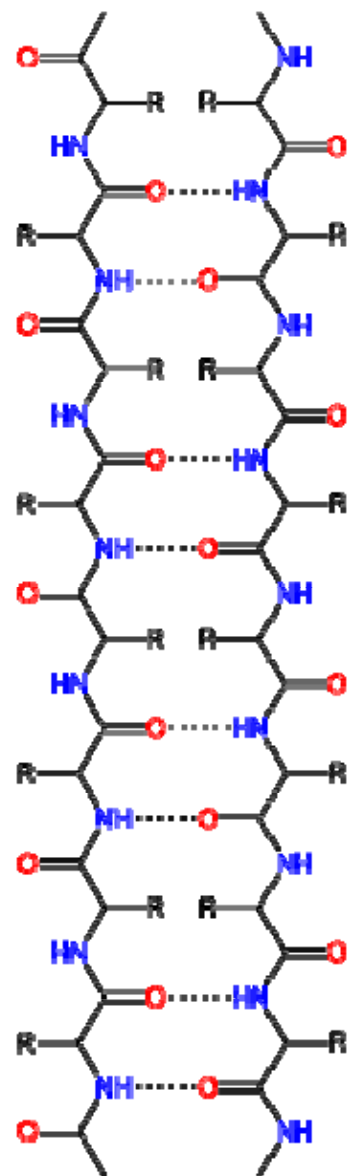


PROTEIN- Lá gấp β

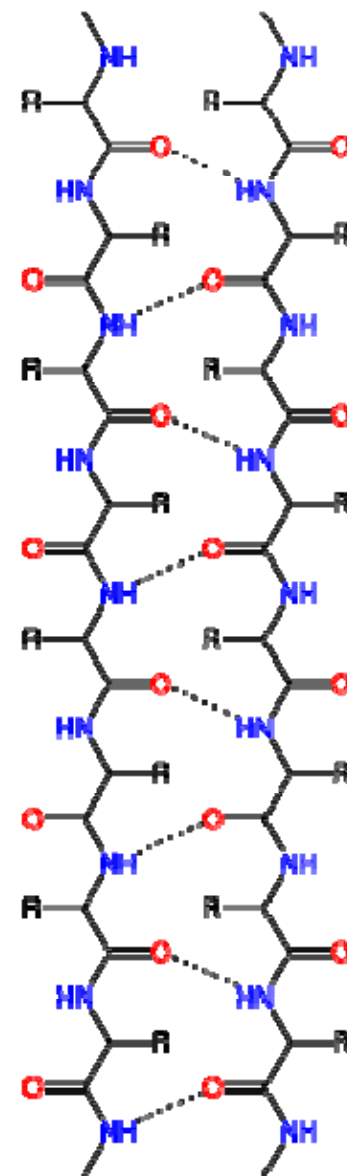
- Chuỗi polypeptid trải ra có hình zigzag
- Chuỗi polypeptid kế bên cùng chiều: **song song**
- Chuỗi polypeptid kế bên khác chiều: **đối song**
- Cơ cấu bền là do liên kết hydro giữa các chuỗi peptid bậc I xa nhau

PROTEIN- Lá gấp β





Đôi song

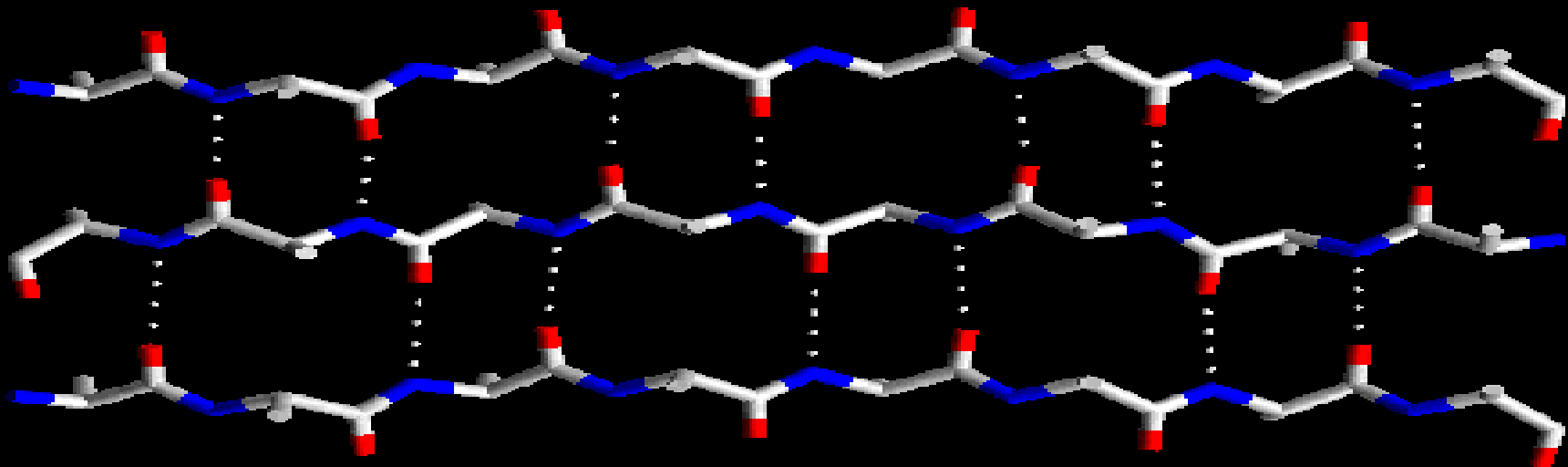


Song song

PROTEIN- Lá gấp β

Antiparallel Beta-Sheet

(White dots indicate hydrogen bonds)



Can you identify the amino- and carboxy- termini of the strands?

PROTEIN- Lá gấp β

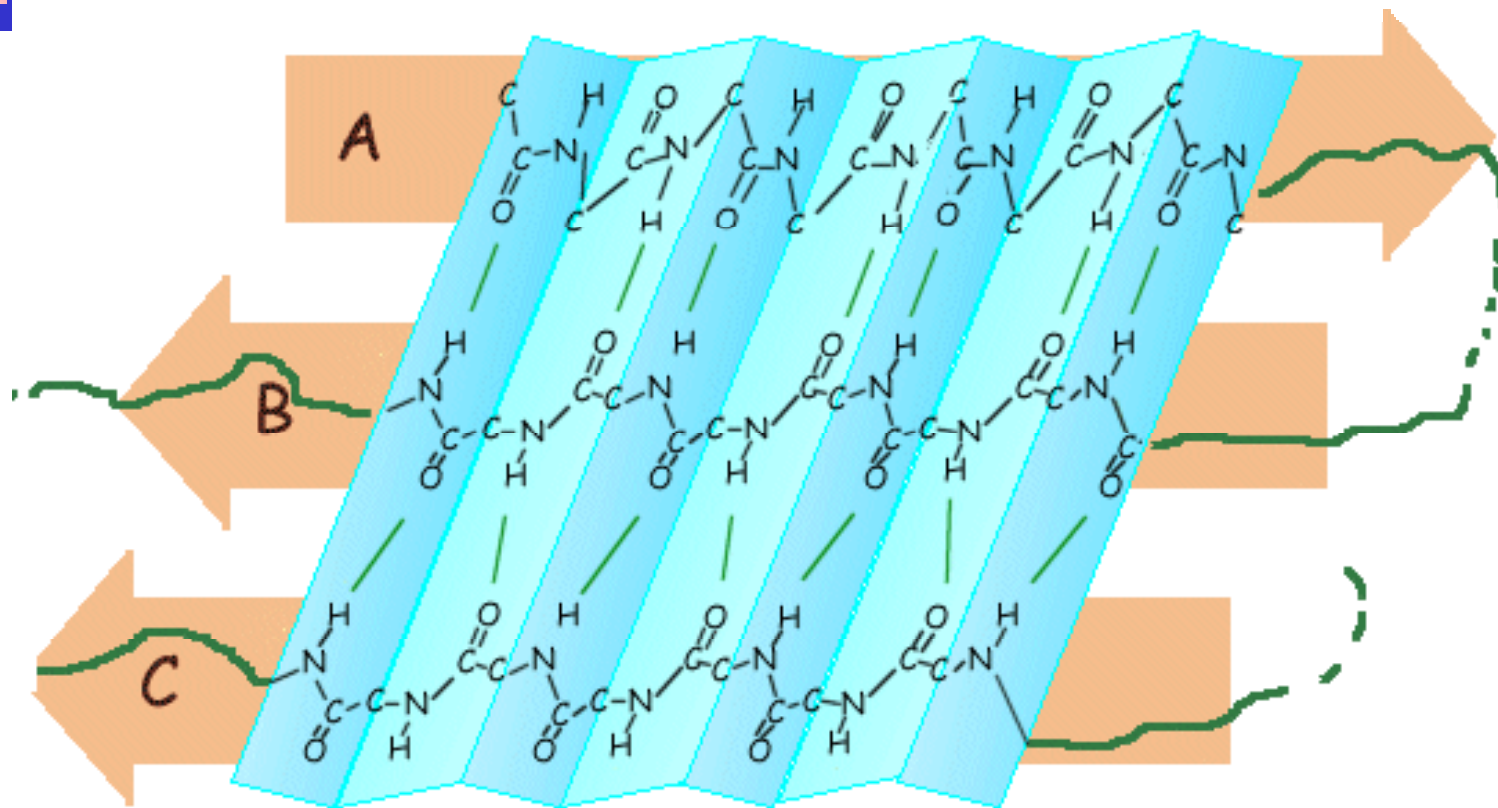
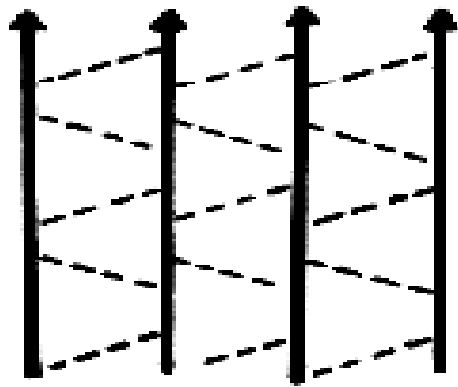
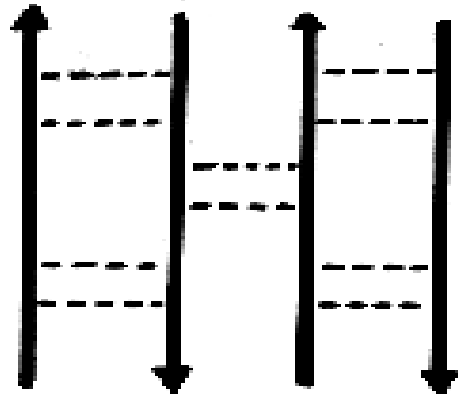


Diagram 1: Beta pleated sheet. The lateral groups (R) are not shown.

A và B: đối song; B và C: song song

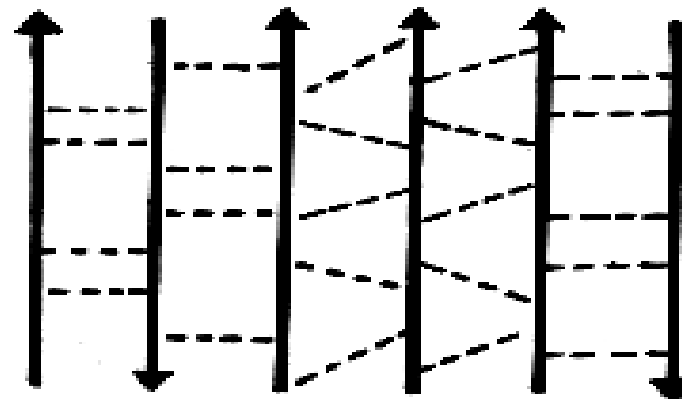
PROTEIN- Lá gấp β

Antiparallel beta-sheet



Parallel beta-sheet

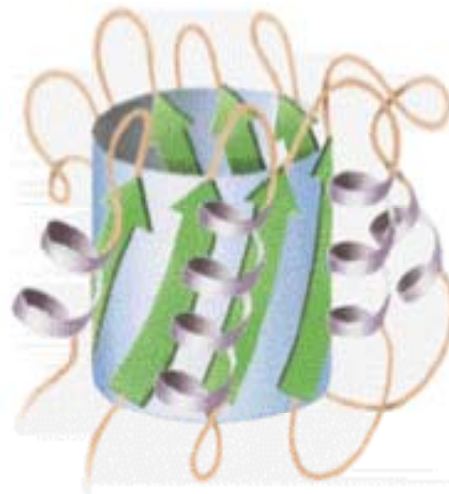
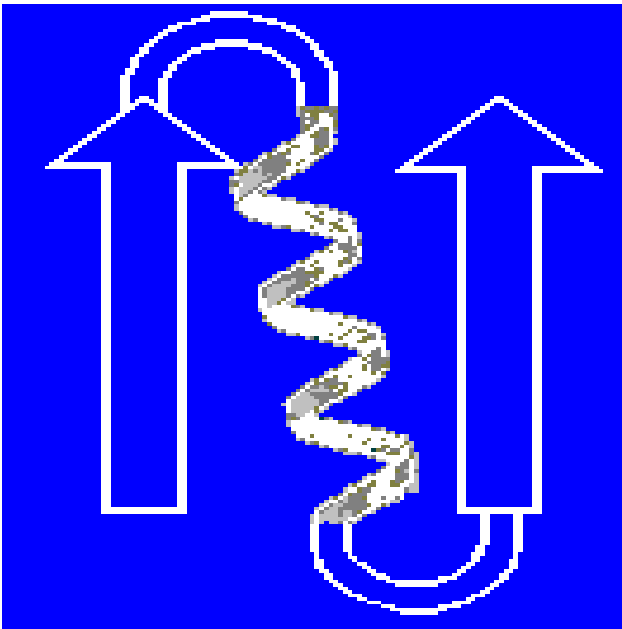
The different types of beta-sheet. Dashed lines indicate main chain hydrogen bonds.



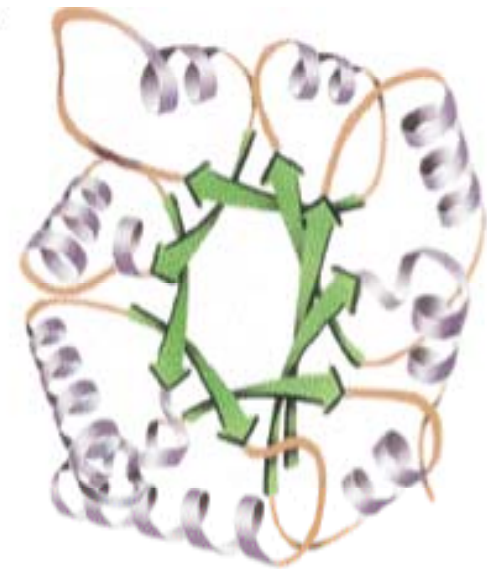
Mixed beta-sheet

PROTEIN-Cấu trúc bậc 2 khác

- Cấu trúc uốn β : cho phép xoắn α và lá gấp β sắp xếp $\beta\alpha\beta$ side-by-side (prolin và glycin)



Triose phosphate isomerase (side)

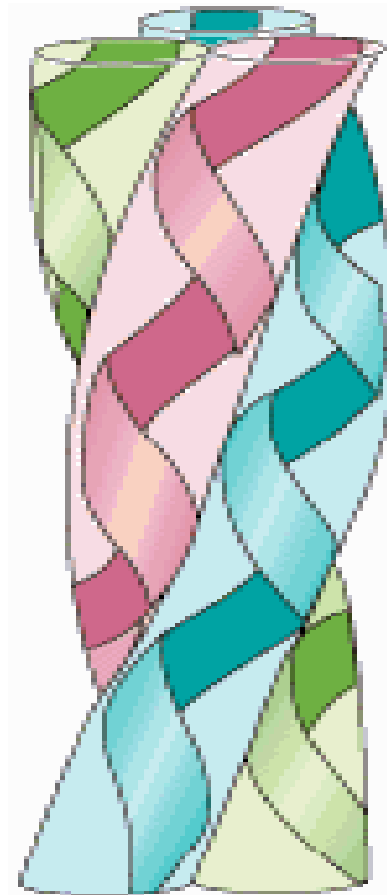


Triose phosphate isomerase (top)

PROTEIN-Cấu trúc bậc 2 khác

➤ Xoắn collagen

chứa nhiều glycin, prolin
và hydroxyprolin tạo dạng
ba sợi gắn với nhau nhờ
LK hydro.



**Collagen, a
fibrous protein**



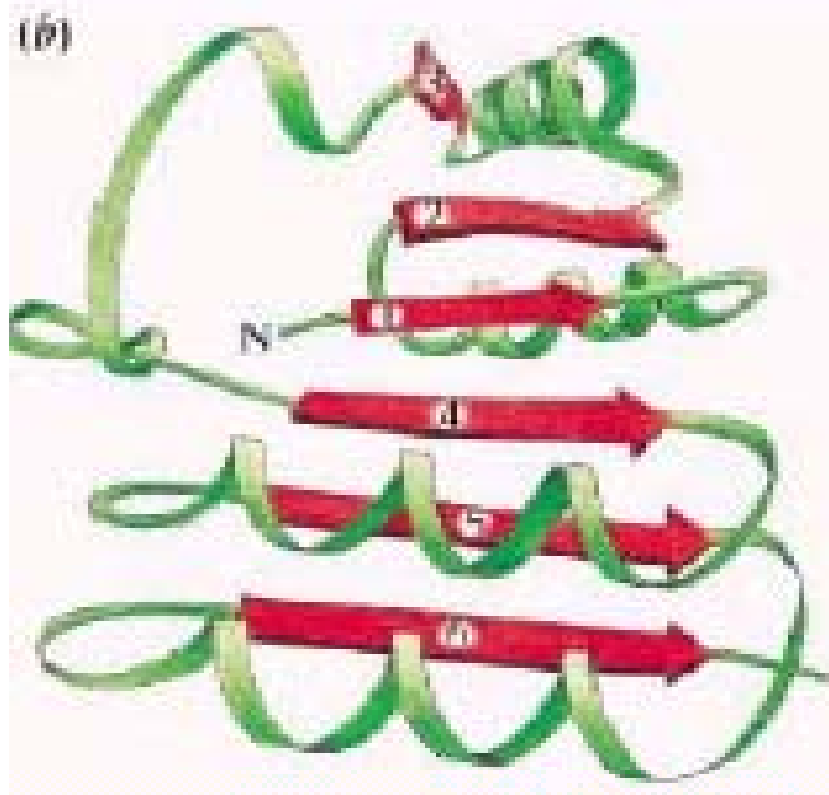
PROTEIN-cấu trúc bậc 3

Cấu trúc không gian 3 chiều trong 1 chuỗi PP.

Có đặc điểm:

- ❖ Có các cấu trúc bậc 2 giống hay khác nhau
- ❖ Cuộn lại tạo thành khối đặc chắc
- ❖ LK disulfid đóng vai trò quan trọng trong duy trì cấu trúc này

PROTEIN-cấu trúc bậc 3

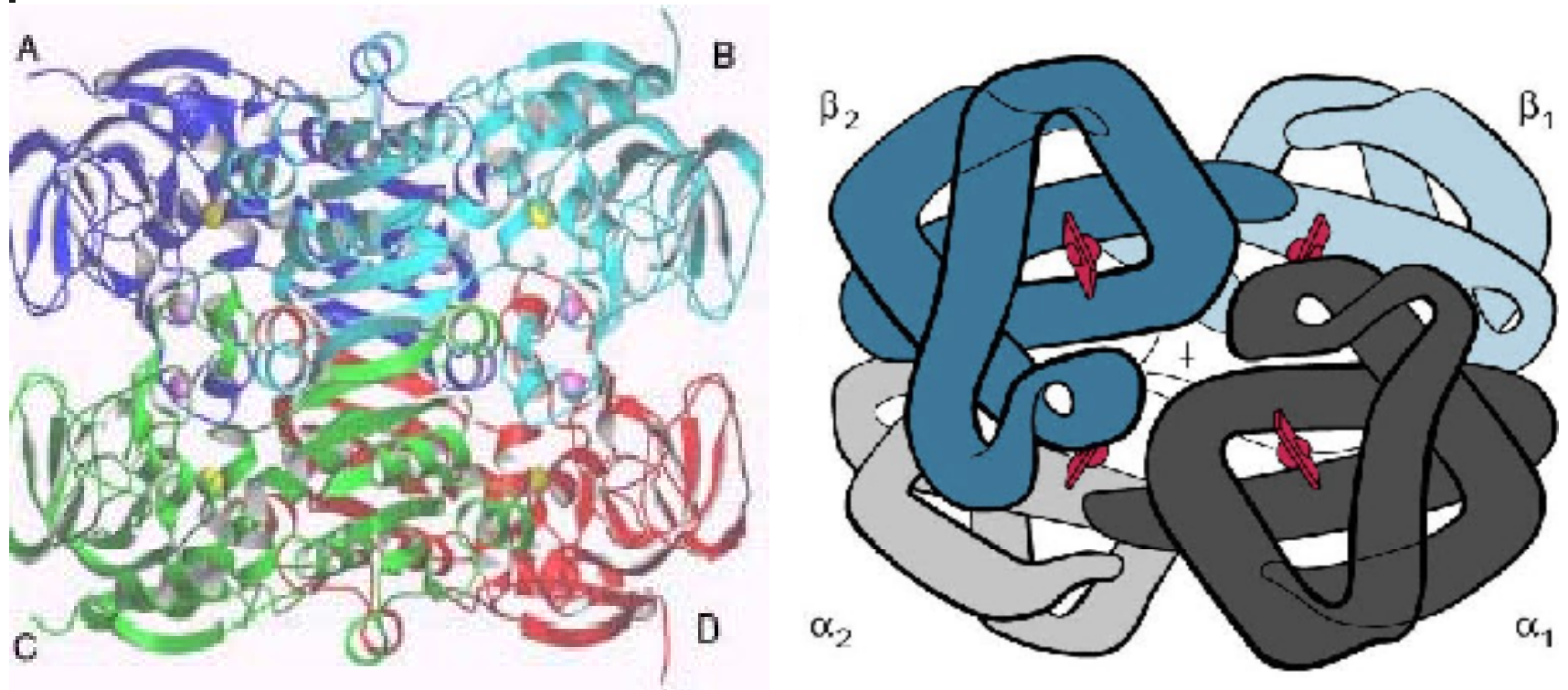




PROTEIN-cấu trúc bậc 4

- Có từ 2 chuỗi polypeptid bậc 3 trở lên, tạo thành protein **oligomer**. Từng chuỗi PP được gọi là *protomer, monomer, dưới (bán, tiểu) đơn vị*.
- Các chuỗi PP liên kết với nhau qua các lực không đồng hóa trị: liên kết H và liên kết tĩnh điện.
- MW của hầu hết các protein bậc 4 > 50.000 Da.

PROTEIN-cấu trúc bậc 4



Hemoglobin (Hb) gồm 4 tiểu đơn vị:
2 chuỗi α , 2 chuỗi β



PROTEIN

➤ Chỉ thay đổi 1 AA trong phân tử protein dẫn tới thay đổi hoạt tính hay chức năng của protein đó.

➤ Thí dụ: Thiếu máu hồng cầu liềm (**Sickle cell anemia**)

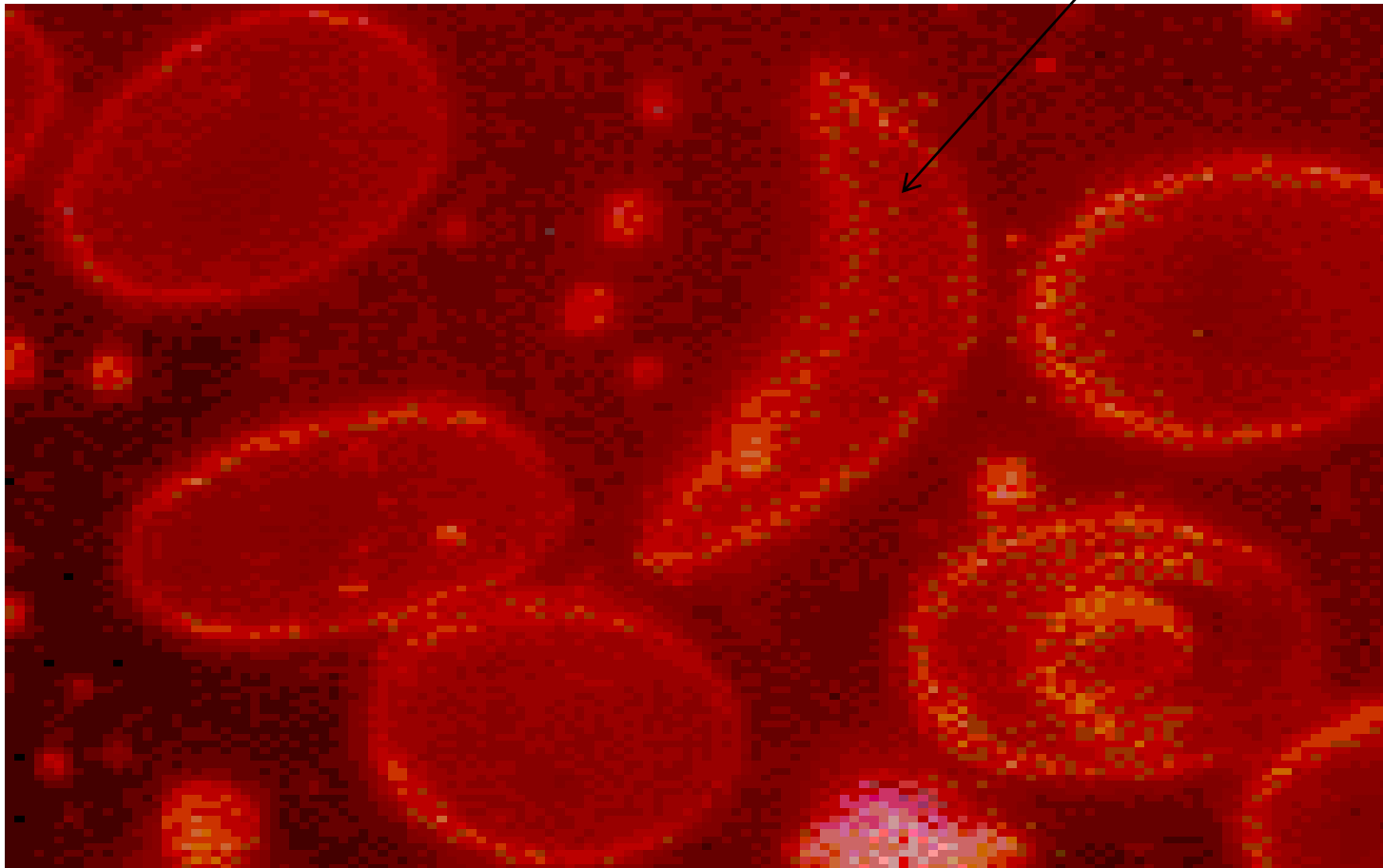
HbA: X-X-X-X-X-Glu (chuỗi β)

HbS: X-X-X-X-X-Val (chuỗi β)

làm thay đổi hình dạng của hồng cầu từ hình đĩa thành hình liềm, giảm tính đàn hồi và tăng khả năng vỡ hồng cầu

PROTEIN

HC hình liên

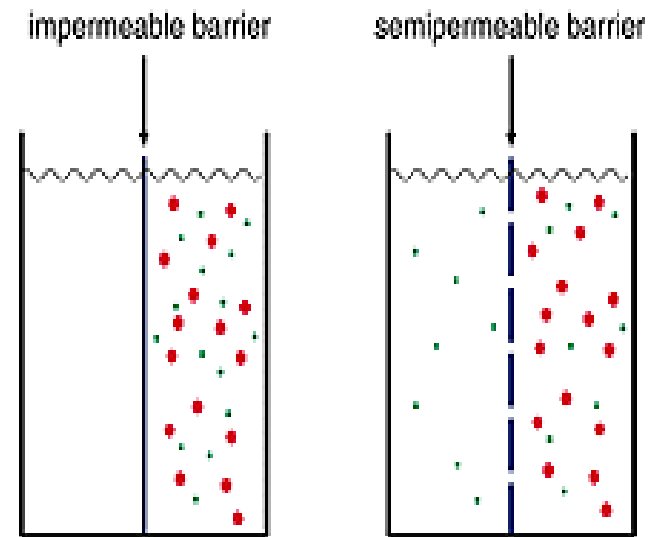


PROTEIN-Tính chất

Lý tính

- Protein/nước tạo dd keo ($1 < d < 100\text{nm}$)
- Khuếch tán trong dd chậm
- Không qua được màng bán thấm

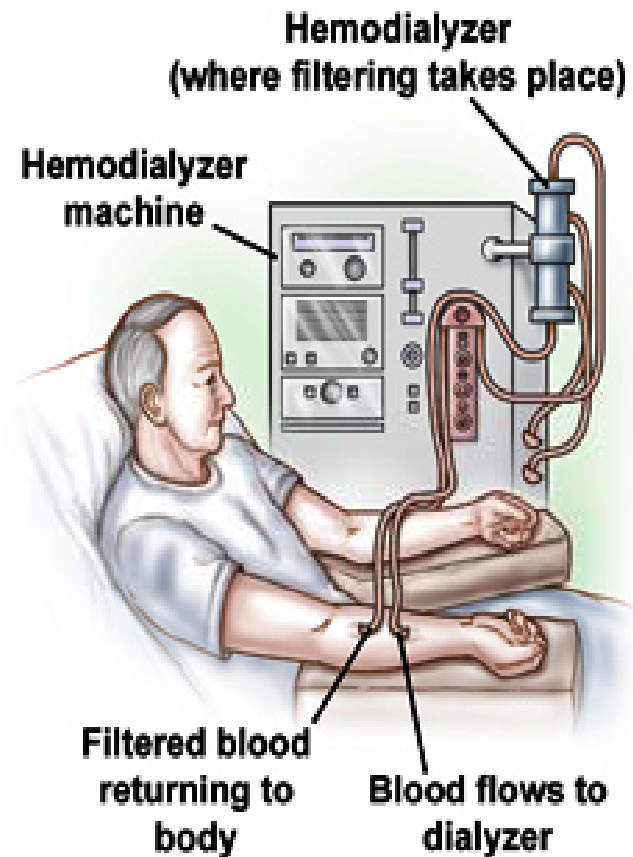
⇔Thẩm tích loại muối



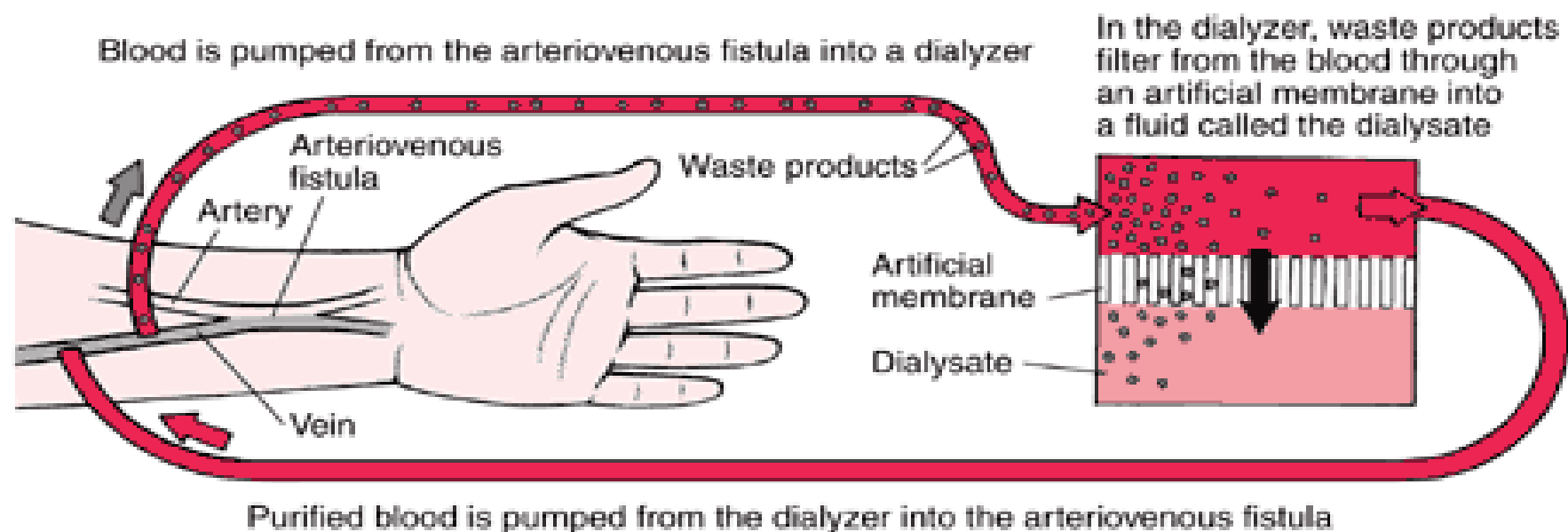
PROTEIN-Tính chất

Áp dụng:

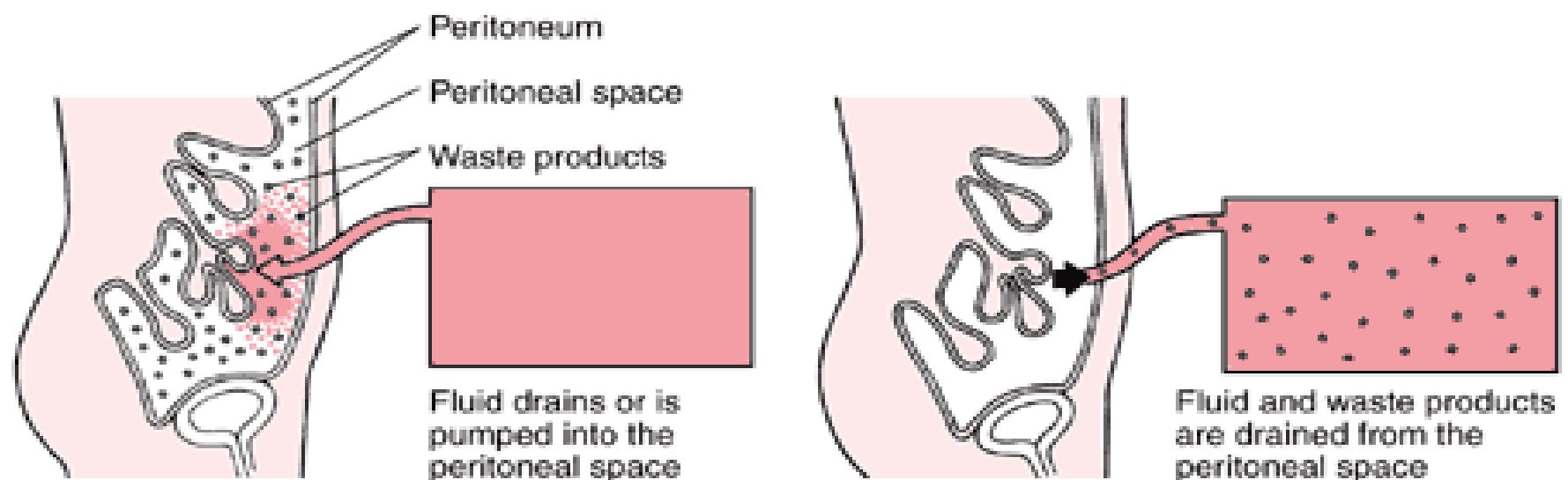
- ❖ Chạy thận nhân tạo
- ❖ Thẩm phân phúc mạc



Copyright SVS 2004



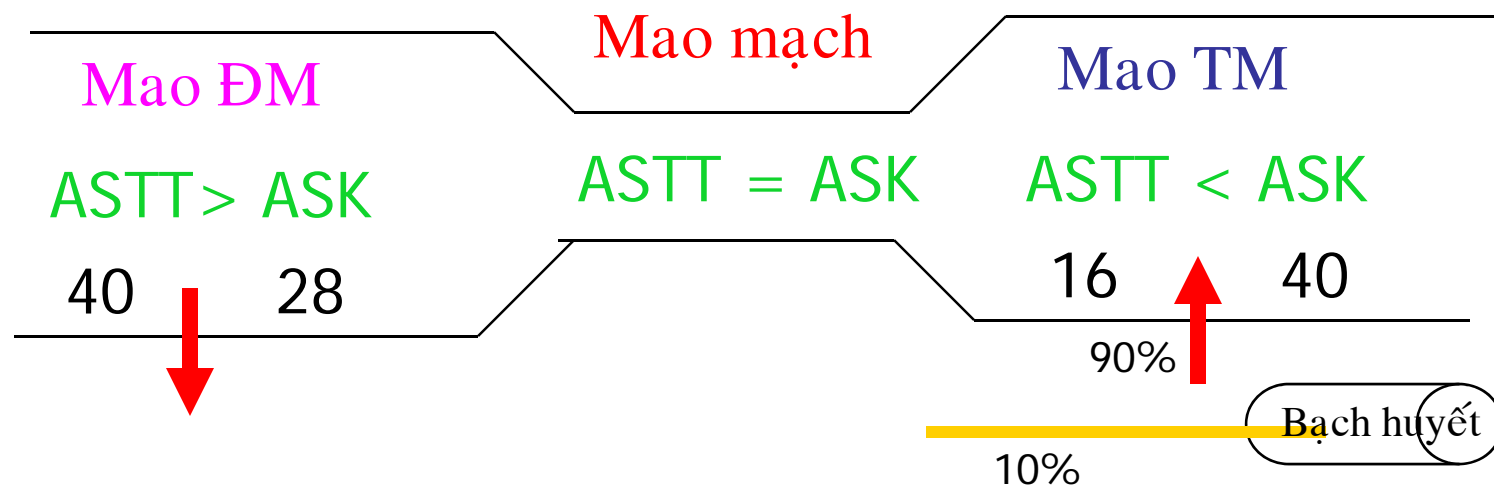
Hemodialysis



Peritoneal Dialysis

PROTEIN-Tính chất

- Protein/nước tạo áp suất (p) thẩm thấu gọi **p keo**
- P keo < 30-40 mmHg nhưng quan trọng trong vận chuyển nước, chất dinh dưỡng và sản phẩm chuyển hóa qua thành mạch



PROTEIN-Tính chất

➤ Tính chất acid-base

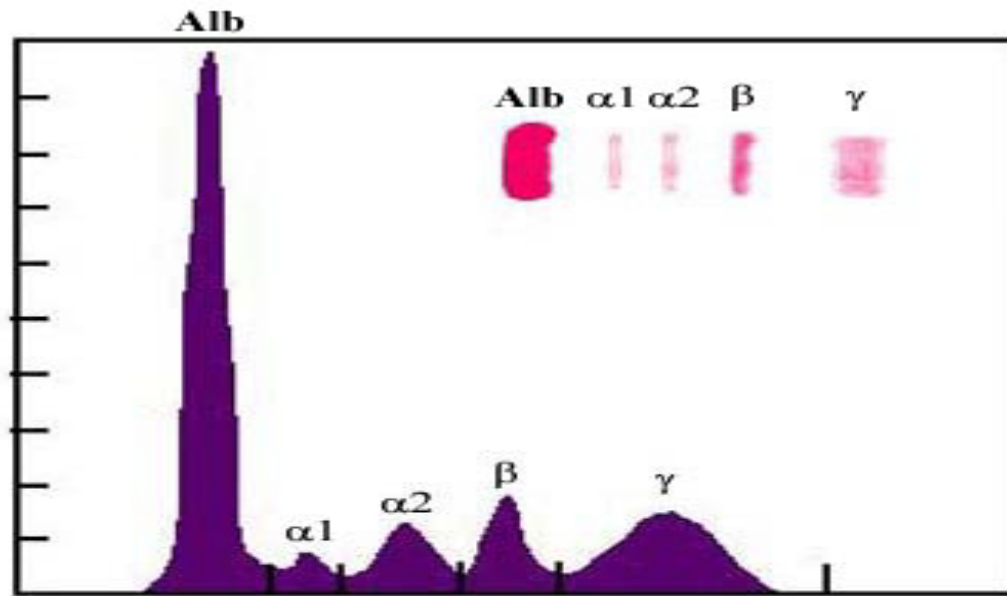
Giống AA và peptid, protein/ddịch tồn tại cả 3 dạng ion $P^{+/-}$, P^{+} , P^{-} . Tùy pH môi trường so với pH_i của protein mà protein tích điện (+) hay (-)

➤ Ứng dụng điện di protein (electrophoresis)

NT: dựa { tính chất tích điện ở pH mt \neq pH_i
di chuyển trong điện trường { Điện tích
Trọng lượng
Kích thước

PROTEIN-Tính chất

➤ Điện di đồ



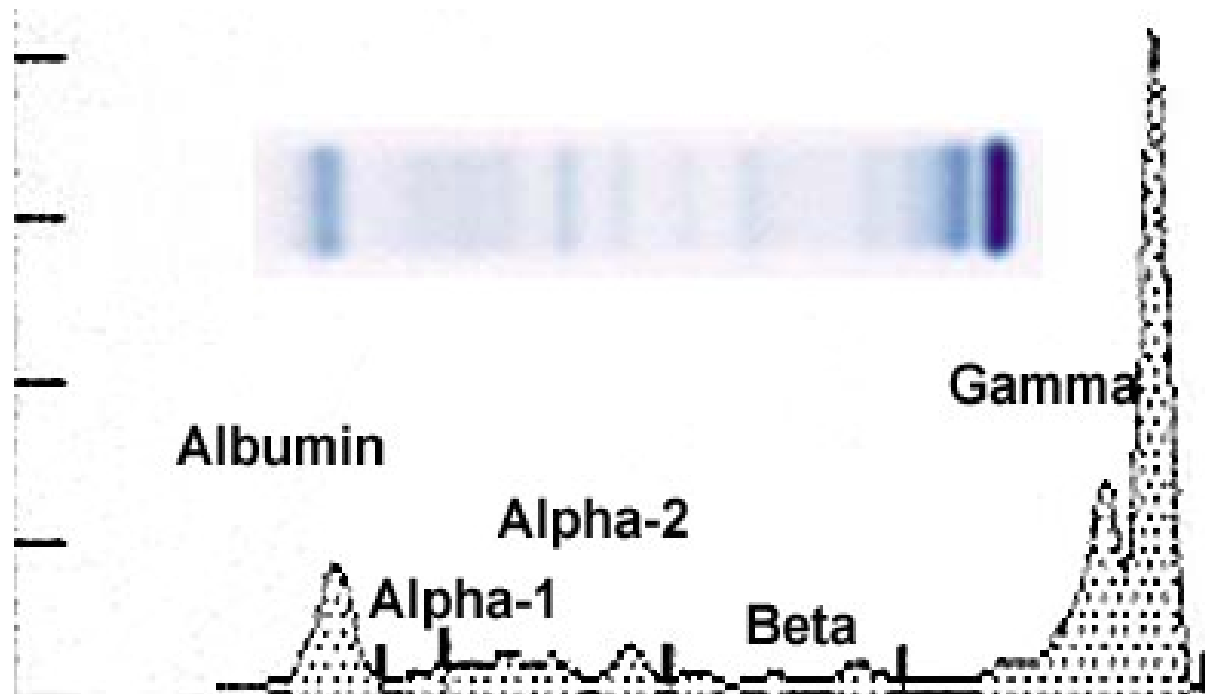
Protein
huyết thanh
(serum)

Alb: pHi 4,6 – 5,2

Globulin: pHi 5,2- 6,8

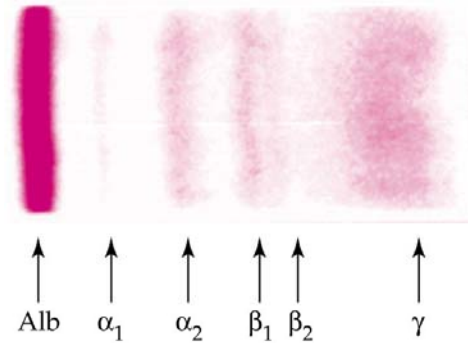
PROTEIN-Tính chất

➤ Điện di đồ

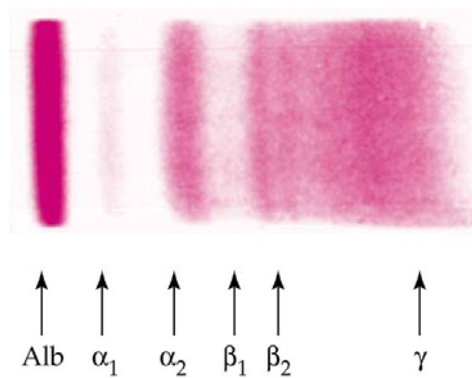
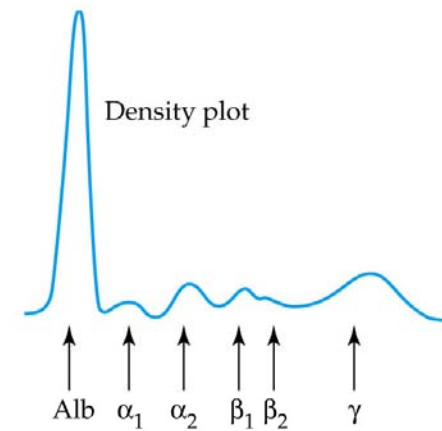


PROTEIN-Tính chất

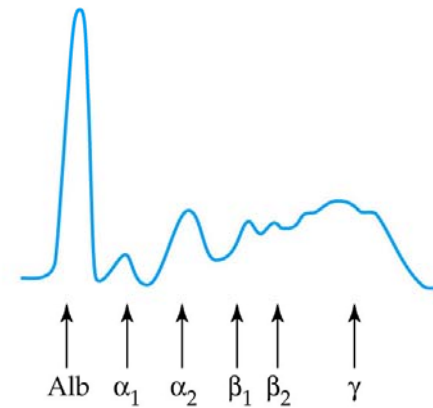
➤ Điện di đồ



(a)



(b)



PROTEIN-Tính chất

➤ Hoà tan và kết tủa

Dd keo bền vững nhờ { Lớp áo nước (hydrat hóa)
Sự tích điện cùng dấu

Các yếu tố ảnh hưởng độ hòa tan

❖ pH { pH = pH_i : độ tan thấp nhất
pH \neq pH_i : độ tan gia tăng

❖ Nồng độ muối : muối trung tính

Nồng độ muối thấp: tăng độ tan (salting in)

Nồng độ muối cao: giảm độ tan, có thể gây
tủa protein (salting out)



PROTEIN-Tính chất

Ứng dụng

Phương pháp diêm tích: loại muối khỏi dd protein

Tủa globulin: muối amoni sulfat bán bão hòa

Tủa albumin: muối amoni sulfat bão hòa

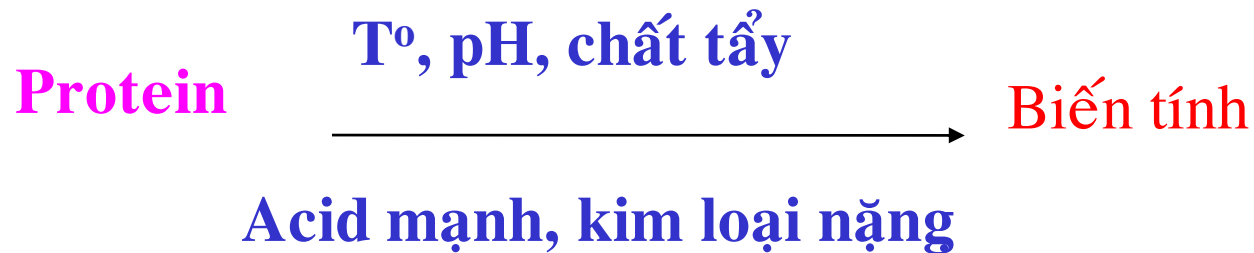
❖ Dung môi: Alcol, ceton, amoni sulfat giảm độ tan

❖ Nhiệt độ: 0°C đến 40°C : độ tan tăng

$>40^{\circ}\text{C}$: độ tan giảm, mất tính bền vững

PROTEIN-Tính chất

➤ Sự biến tính của protein



❖ Cấu trúc bị đảo lộn

Chỉ còn liên kết peptid

Gốc kỵ nước (R) quay ra ngoài

❖ Tính chất ban đầu bị mất

Độ tan giảm, mất tính sinh kháng nguyên

Mất hoạt tính sinh học, dễ tiêu hóa

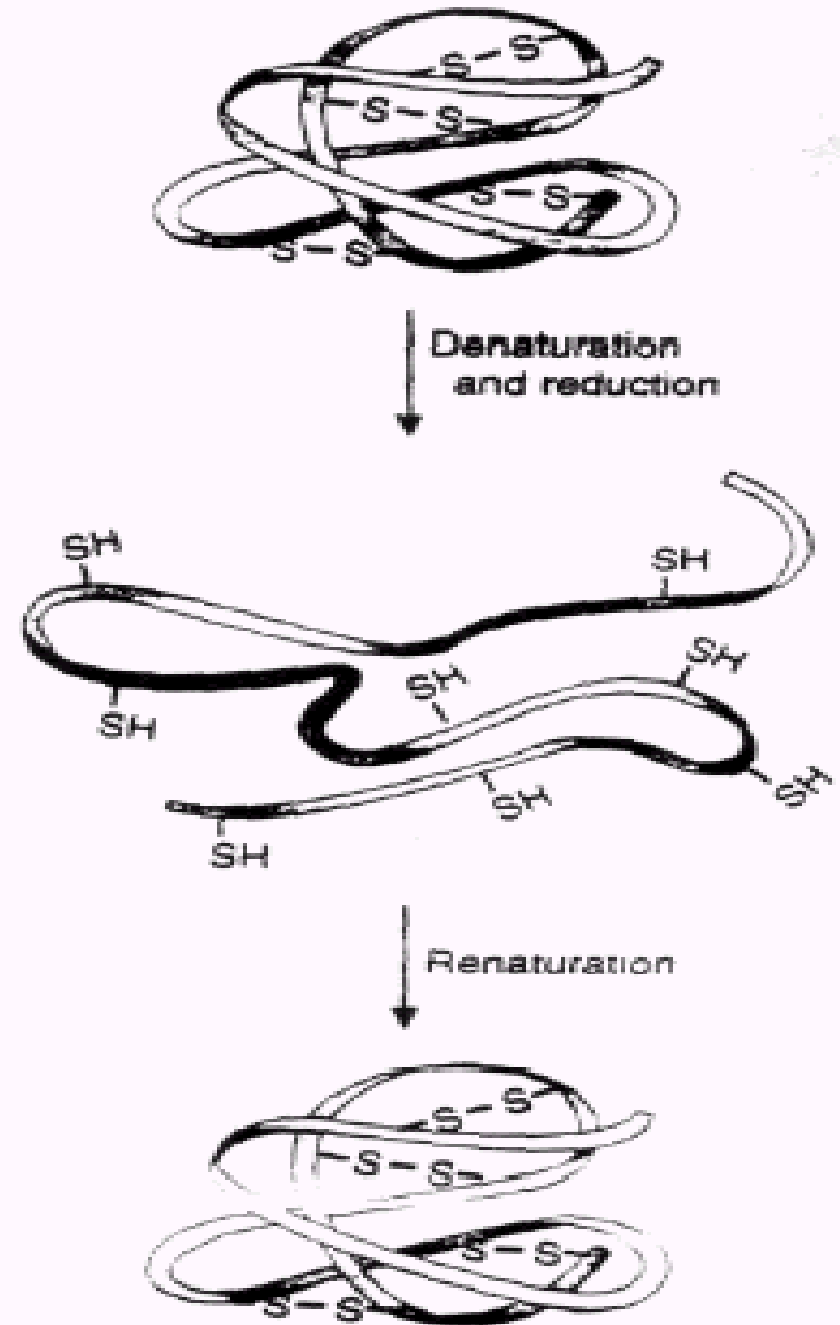
PROTEIN

-Tính chất

❖ Sự biến tính thuận nghịch

Trong một số điều kiện nhất định, protein bị biến tính có thể trở lại dạng ban đầu với cấu trúc, tính chất và chức năng nguyên thủy

Thí dụ: ribonuclease





PROTEIN-Tính chất

❖ Sự biến tính không thuận nghịch

không trở lại trạng thái ban đầu

Thí dụ: Lòng trắng trứng luộc

❖ Ứng dụng

Chiết xuất, tinh chế protein (enzym) để phòng sự biến tính (thao tác t° lạnh, đảm bảo pH)