

**Amminoacidi**

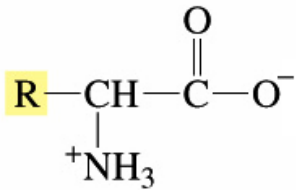
**Peptidi**

**e**

**Proteine**

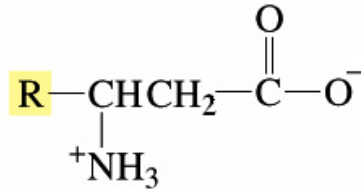
# Amminoacidi

Sono composti che nella struttura presentano sia una funzione carbossilica che una funzione amminica. E' uso comune effettuare una prima classificazione degli amminoacidi sulla base della posizione occupata dalla funzione amminica rispetto al carbossile:



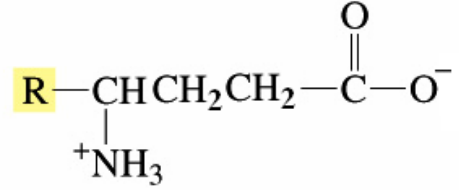
un acido

$\alpha$ -amminocarbossilico



un acido

$\beta$ -amminocarbossilico

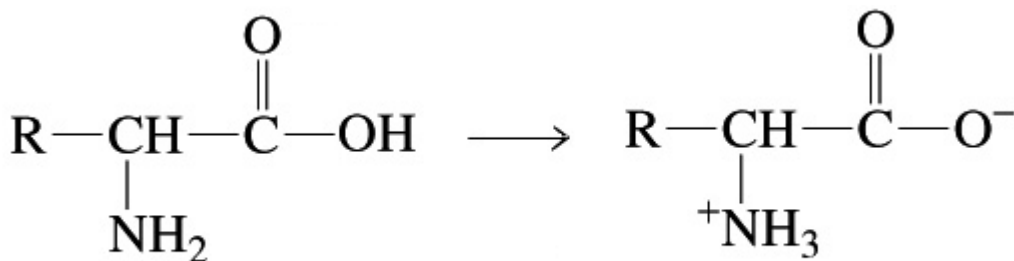


un acido

$\gamma$ -amminocarbossilico

Gli  $\alpha$ -amminoacidi sono particolarmente importanti, perché sono i costituenti delle proteine, la materia di cui sono in larga parte costituiti gli organismi viventi.

Poiché le funzioni carbossilica ed amminica hanno un opposto carattere acido-base, a un pH prossimo a 7 queste daranno luogo ad una struttura zwitterionica, nella quale la funzione carbossilica risulta deprotonata (e quindi carica negativamente), mentre quella amminica protonata (e quindi carica positivamente):

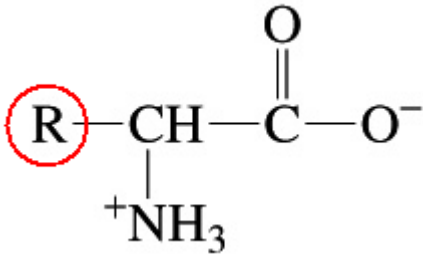


forma zwitterionica

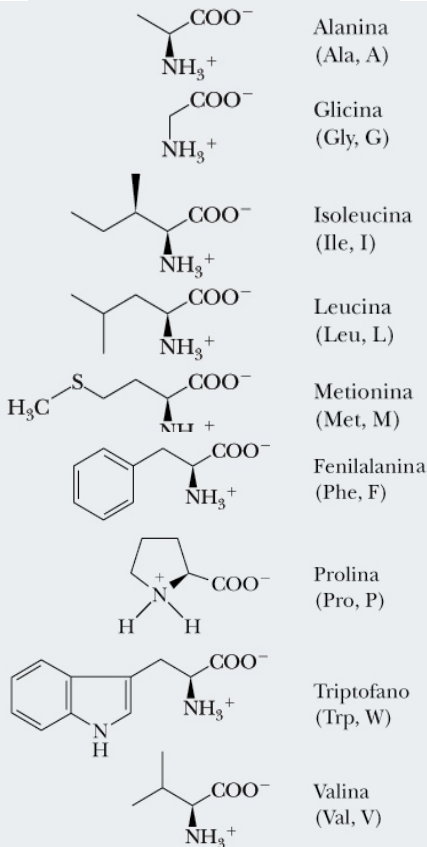
In natura gli  $\alpha$ -amminoacidi riscontrati con grande frequenza sono 20.

Tutti, eccetto uno (la **prolina**, che possiede un **gruppo amminico secondario** inserito in un ciclo a 5 termini) contengono un **gruppo amminico primario**

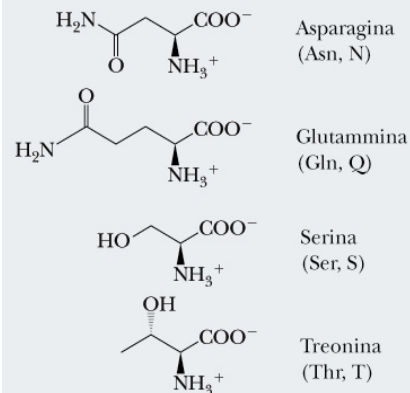
Per i 19  $\alpha$ -amminoacidi diversi dalla prolina le differenze risiedono tutte nel gruppo R legato al carbonio  $\alpha$ :



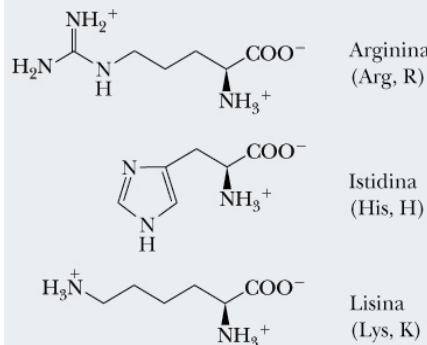
### Catene laterali non polari



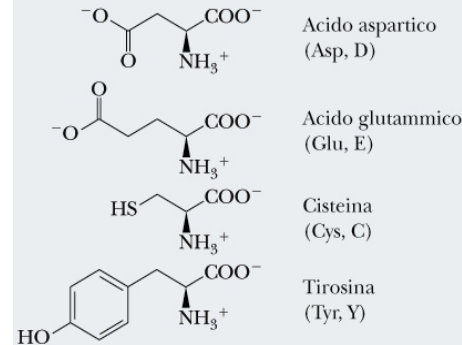
### Catene laterali polari



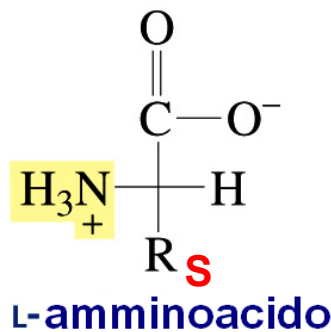
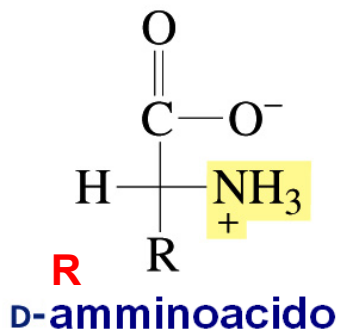
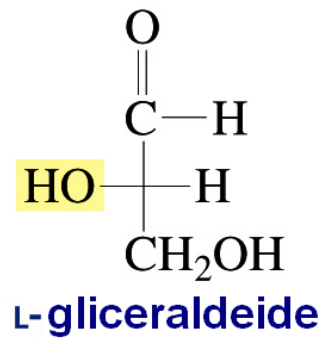
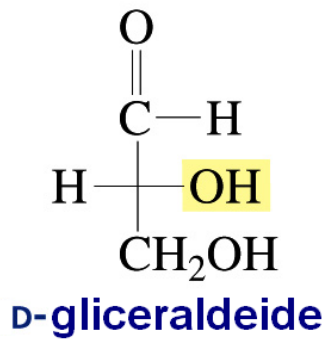
### Catene laterali basiche



### Catene laterali acide



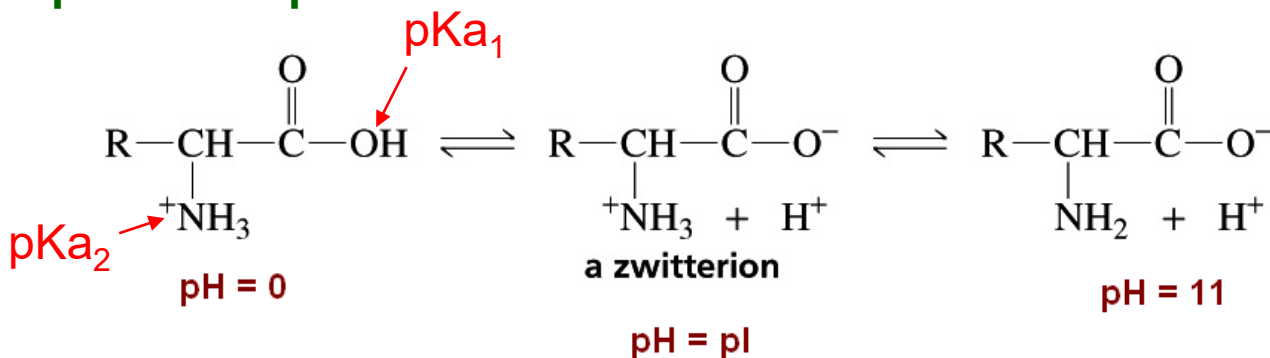
**Tutti gli amminoacidi naturali, eccetto uno (la glicina) sono chirali e il loro carbonio asimmetrico (il carbonio  $\alpha$ ) ha configurazione assoluta S, fatta eccezione della cistena. A questa corrisponde anche la configurazione L relativa alla gliceraldeide**



**Nello scrivere le proiezioni di Fischer di amminoacidi disporre:**

- 1.** la funzione carbossilato nell'estremo superiore;
- 2.** il gruppo variabile R nell'estremo inferiore;
- 3.** il gruppo amminico e l'idrogeno sui legami orizzontali

Lo stato di carica nel quale l'amminoacido si trova in acqua dipende dal pH:



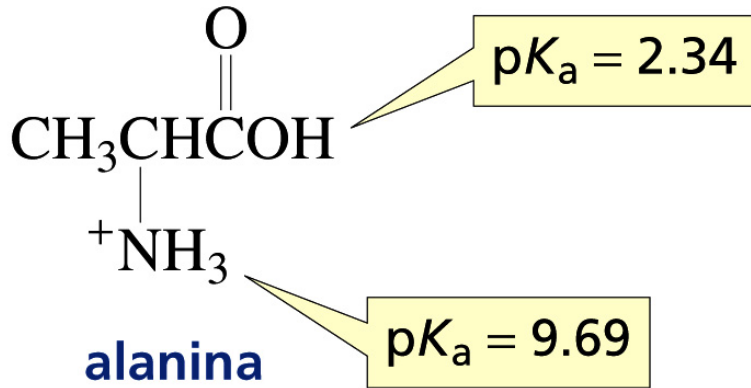
Il pH che determina l'assenza di carica netta su un amminoacido è detto punto isoelettrico (pI) di quell'amminoacido. Questo può essere facilmente calcolato con la seguente equazione:

$$\text{pI} = (\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2) / 2$$

I valori dei pK<sub>a</sub> per i gruppi ionizzabili degli amminoacidi

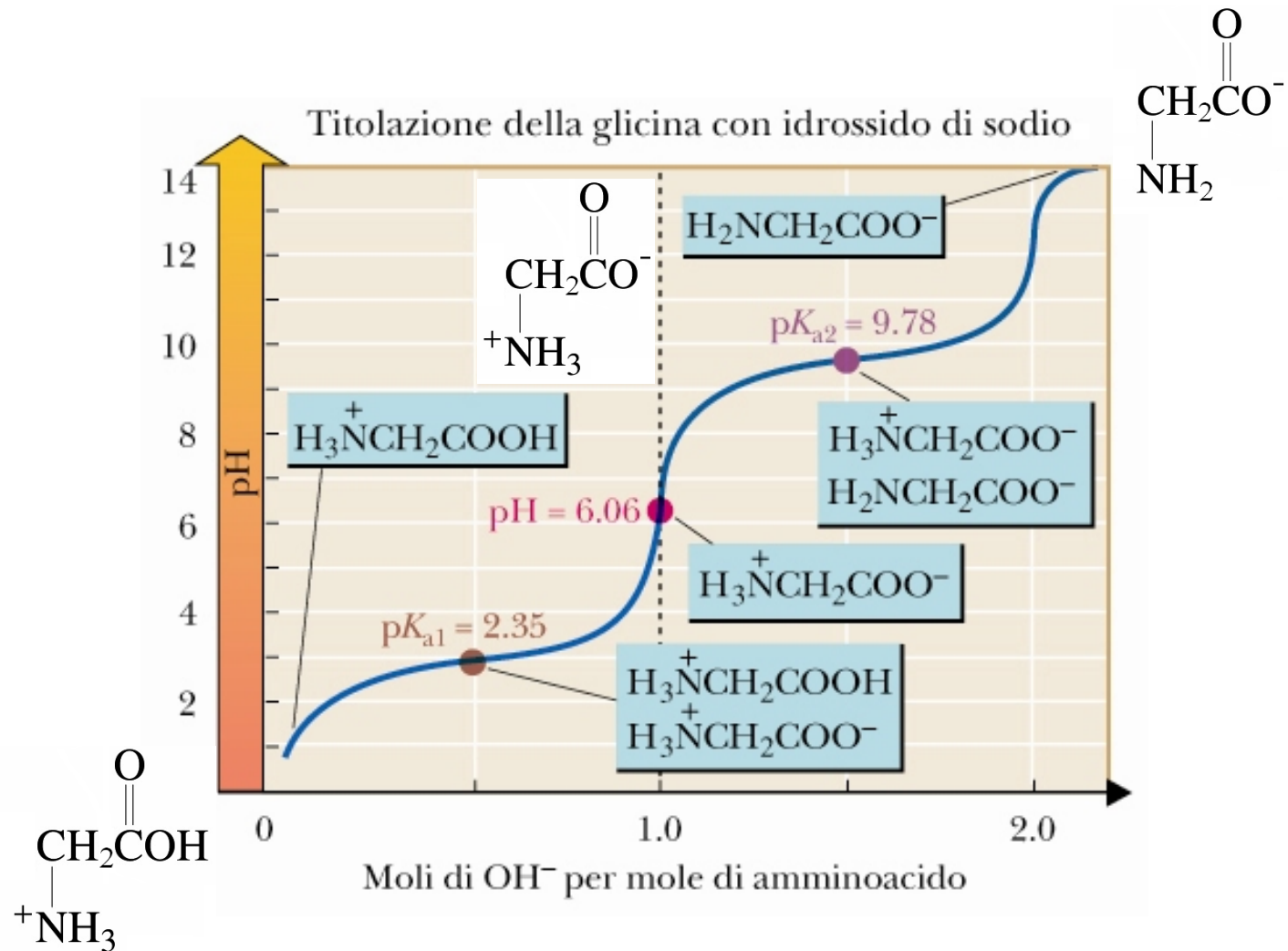
Amminoacido	pK <sub>a</sub> di α-COOH	pK <sub>a</sub> di α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>	pK <sub>a</sub> della catena laterale	Punto isoelettrico (pI)
Acido aspartico	2.10	9.82	3.86	2.98
Acido glutammico	2.10	9.47	4.07	3.08
Alanina	2.35	9.87	-	6.11
Arginina	2.01	9.04	12.48	10.76
Asparagina	2.02	8.80	-	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
Glutammina	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

## esempio



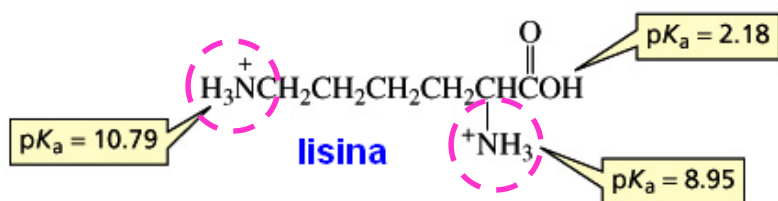
$$\text{pI} = \frac{2.34 + 9.69}{2} = \frac{12.03}{2} = 6.02$$

## Titolazione acido-base

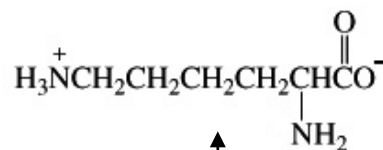


Il **pI** di un amminoacido che ha gruppi ionizzabili sulla catena laterale è ottenuto come valore medio dei **pKa** dei due gruppi che, nella rispettiva **forma protonata**, sono entrambi o **neutri** o **carichi positivamente**. Fa eccezione a questa regola il caso dell'amminoacido tirosina, per il quale il **pI** è calcolato come media dei **pKa** dei gruppi **-COOH** e **-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>**

**esempio** ----- Gruppi da scegliere per la media dei **pKa**



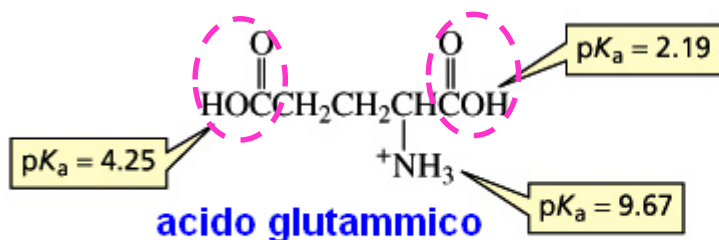
$$\text{pI} = \frac{8.95 + 10.79}{2} = \frac{19.74}{2} = 9.87$$



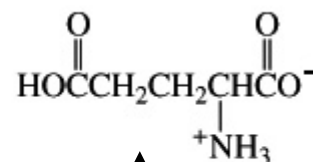
al **pI**

**pH = 9.87**

**esempio**



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

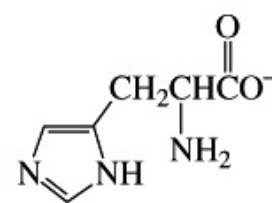
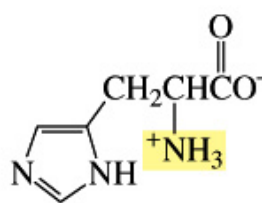
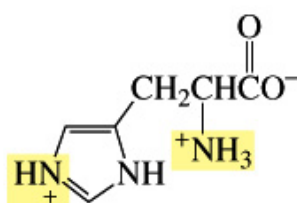
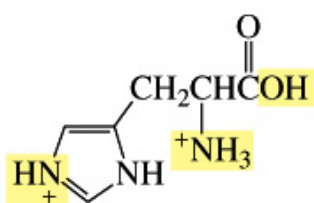


al **pI**

**pH = 3.22**

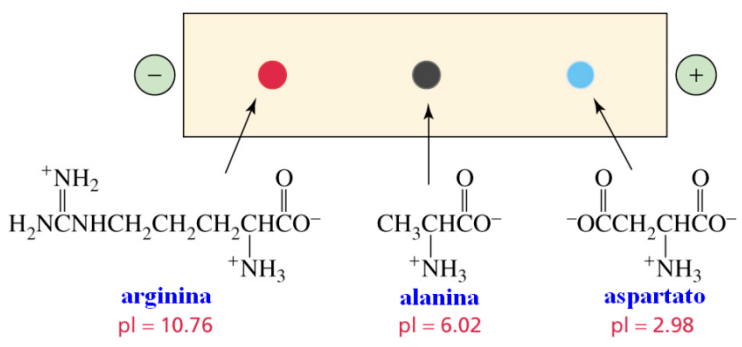
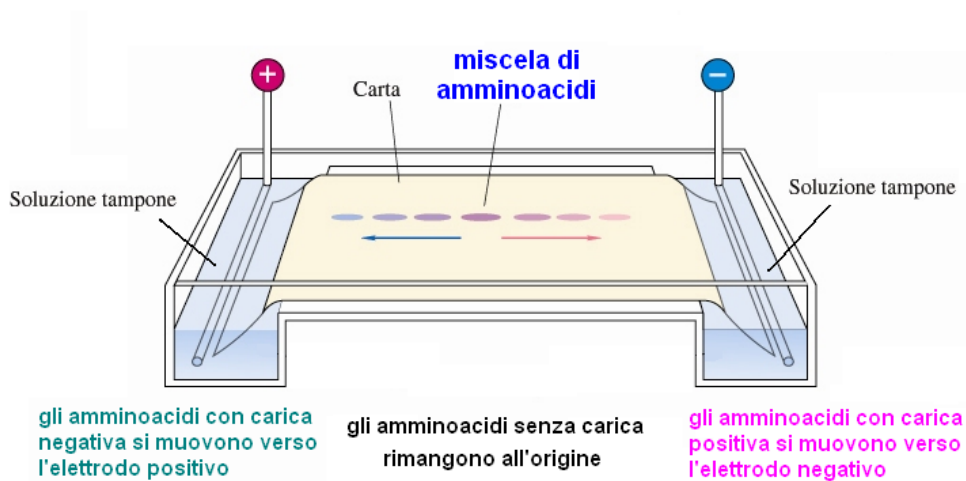
**esempio**

**istidina**

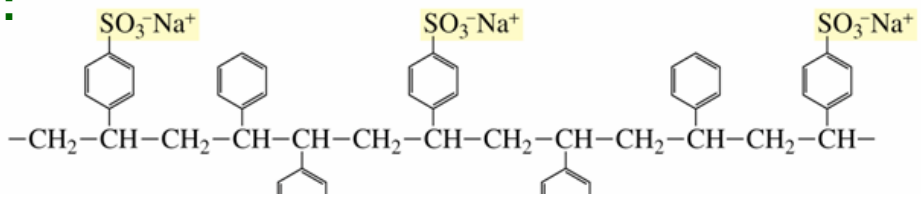


Il diverso stato di carica assunto dai vari amminoacidi ad un fissato pH può essere sfruttato per separarli, facendoli “migrare” sotto l’effetto di un campo elettrico. La tecnica basata su questo principio è nota col termine di **elettroforesi**

apparato per elettroforesi



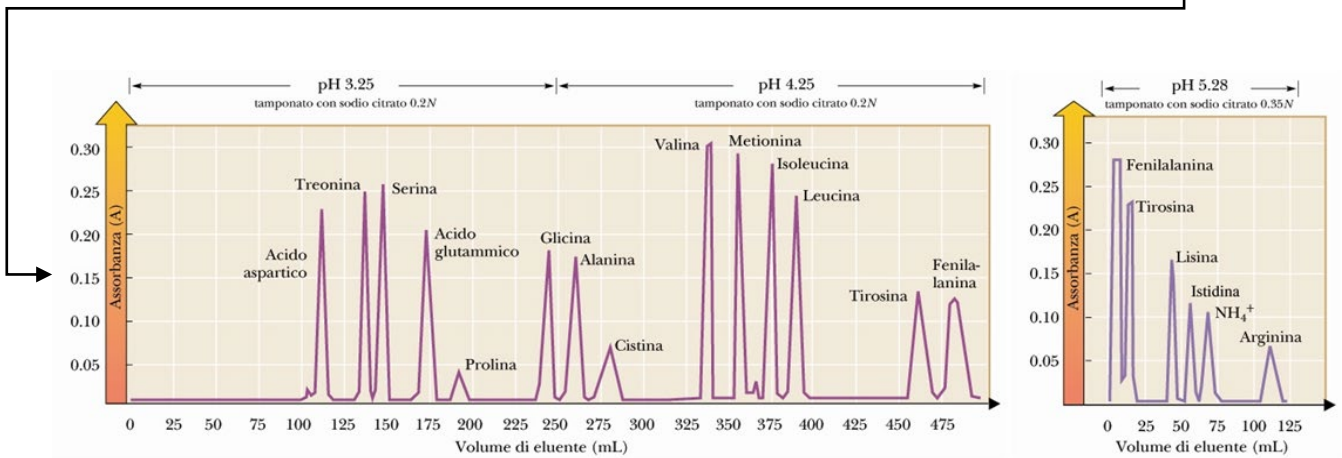
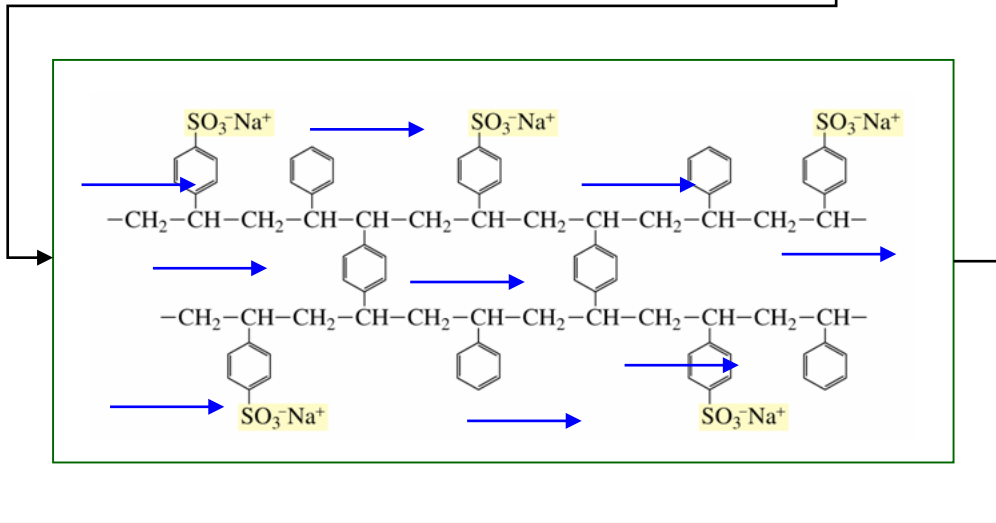
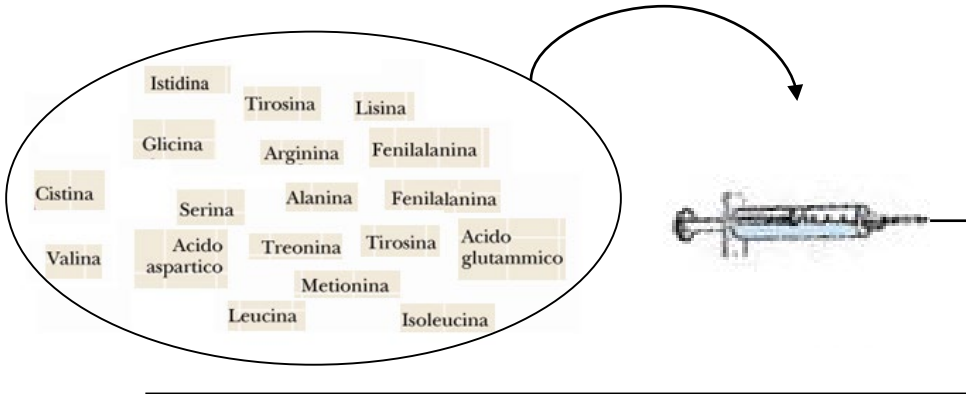
In alternativa la separazione può essere ottenuta con **tecniche cromatografiche** che sfruttano l’uso di fasi stazionarie a scambio ionico (anioniche, scabiatrici di cationi):



A pH molto basso (3,25) gli a.a. contenenti residui acidi sono poco trattenuti, quelli con residui privi di siti protonabili sono mediamente trattenuti, mentre quelli con residui basici sono fortemente trattenuti. L’ordine di eluizione può essere modulato aggiustando opportunamente il pH dell’eluente

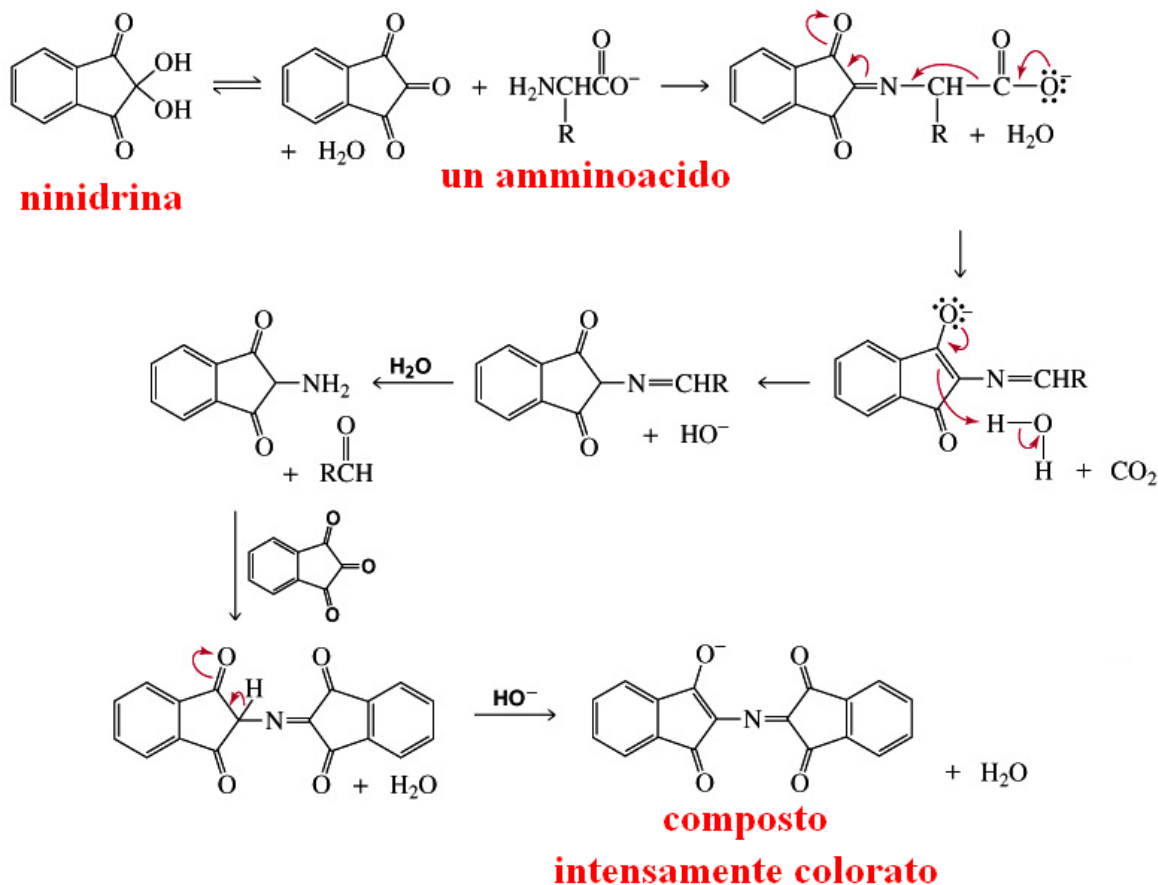
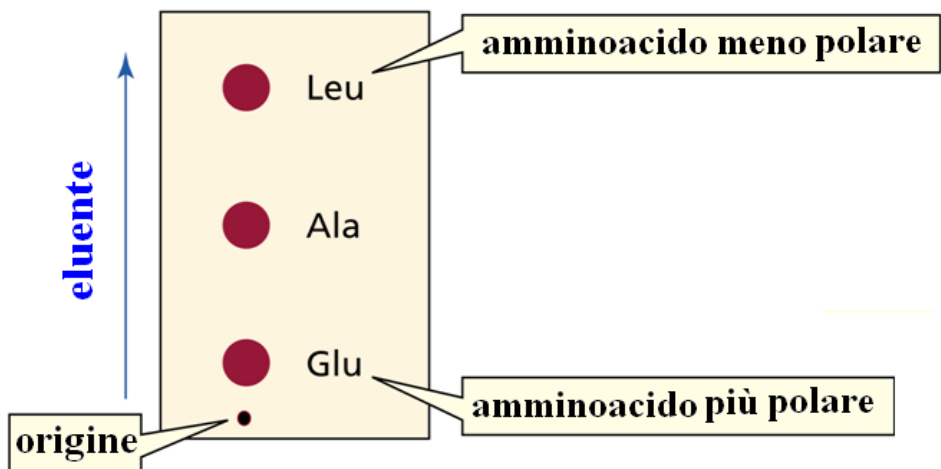


# Cromatografia su resine a scambio ionico



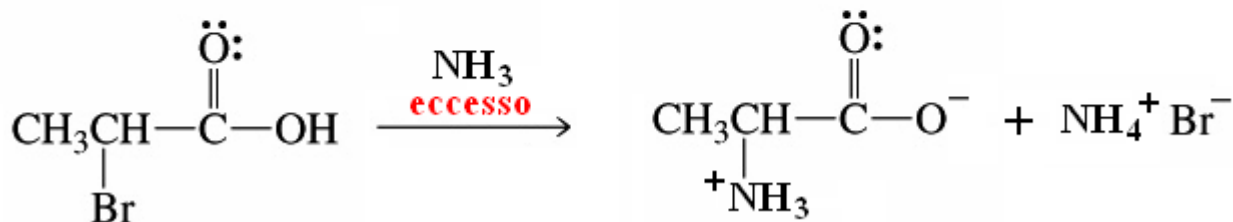
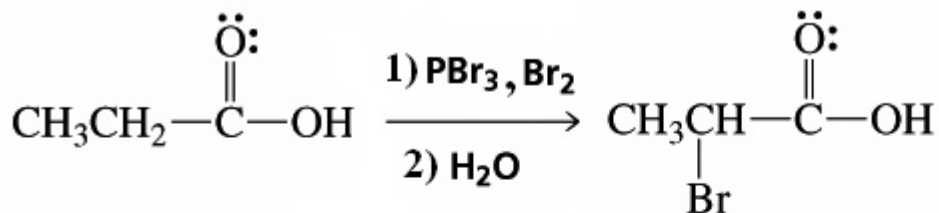
# Cromatografia su strato sottile

Gli amminoacidi non hanno colorazione. Per renderli visibili dopo la loro separazione su lastrina si utilizza la **ninidrina**, un reattivo che, reagendo con essi, forma un composto intensamente colorato:

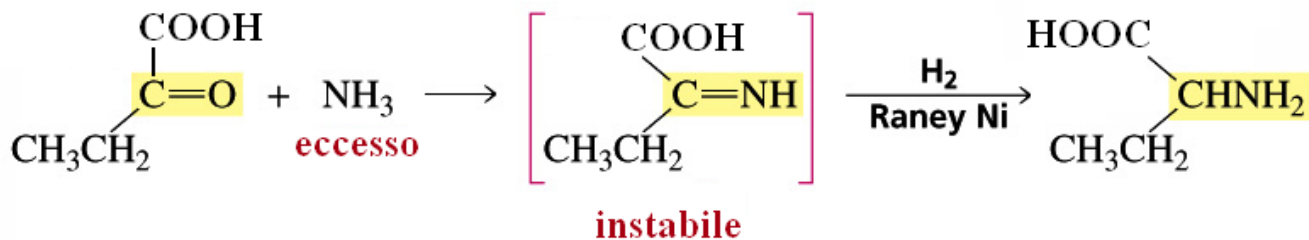


# Sintesi di amminoacidi

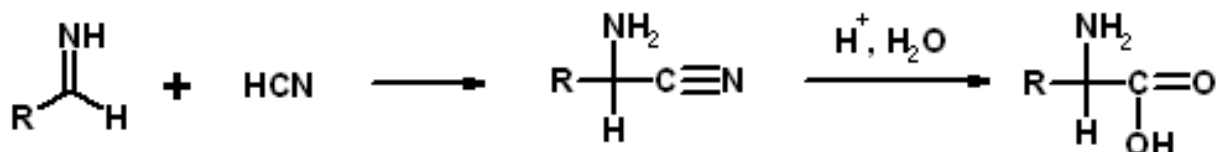
## Applicazione della reazione di Hell-Volhard-Zelinski



## Amminazione riduttiva di $\alpha$ -chetoacidi



## Sintesi di Strecker

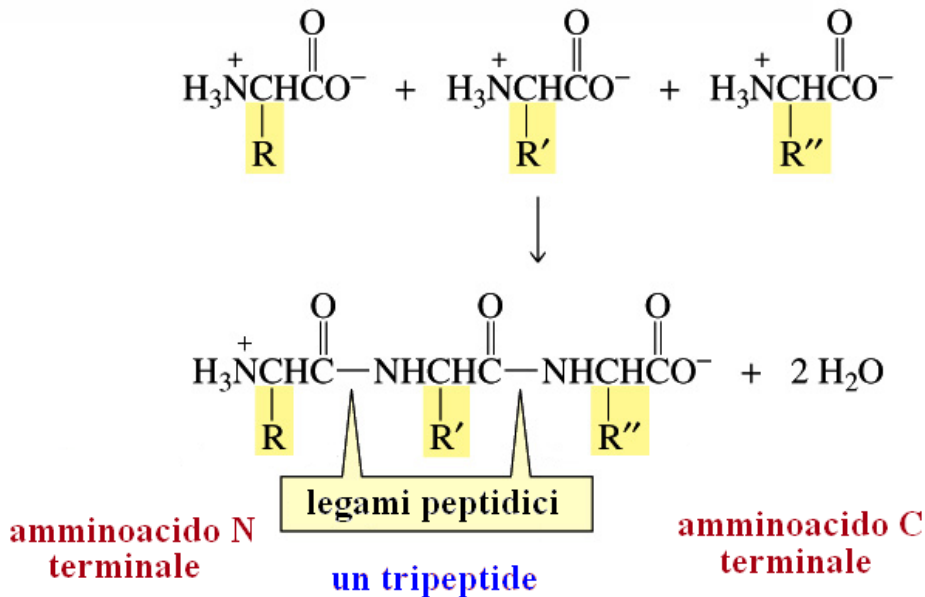


# Peptidi e proteine

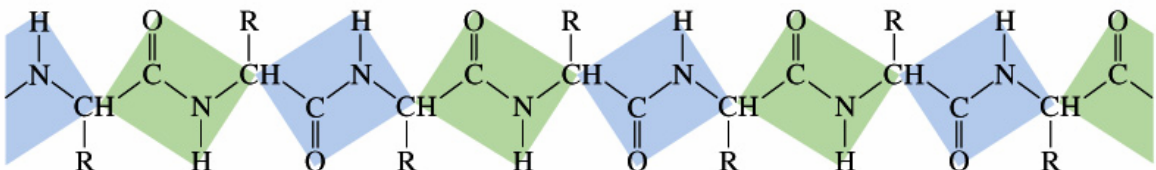
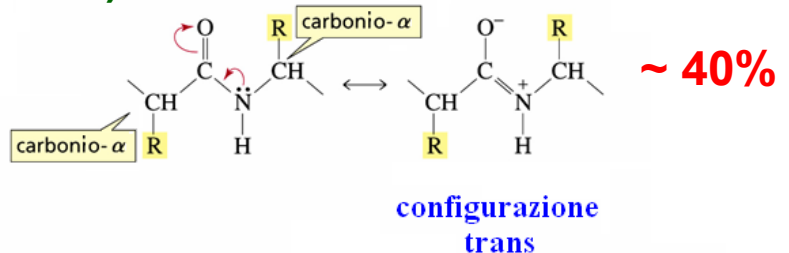
Un **peptide** è un composto risultante dalla condensazione (formazione di **legami ammidici** chiamati **peptidici**) di un numero relativamente modesto di molecole di amminoacido:

- 2 molecole – **dipeptide**
- da 3 a 10 molecole – **oligopeptide**
- più di 10 molecole - **polipeptidi**

Prende il nome di **proteina** un polipeptide formato da oltre 40 molecole (fino a ~ 40000 molecole).

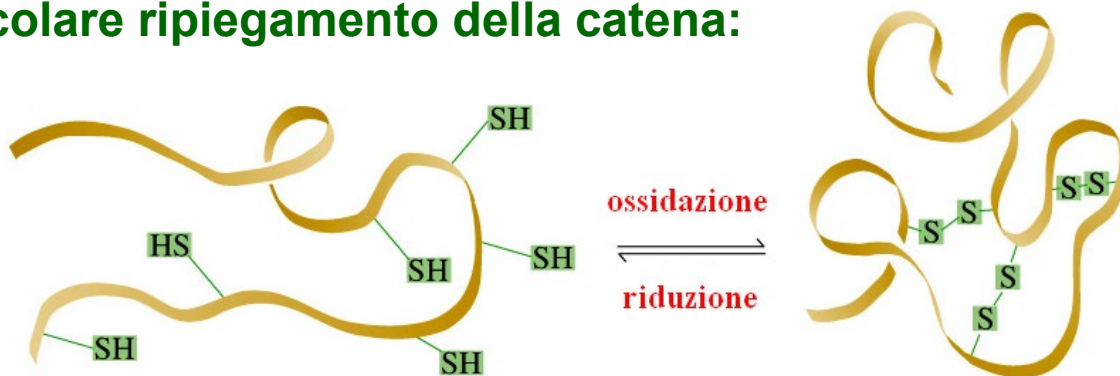


Caratteristiche dei legami peptidici: l'atomo di azoto ha spiccato carattere  $sp^2$  (~ 40%)



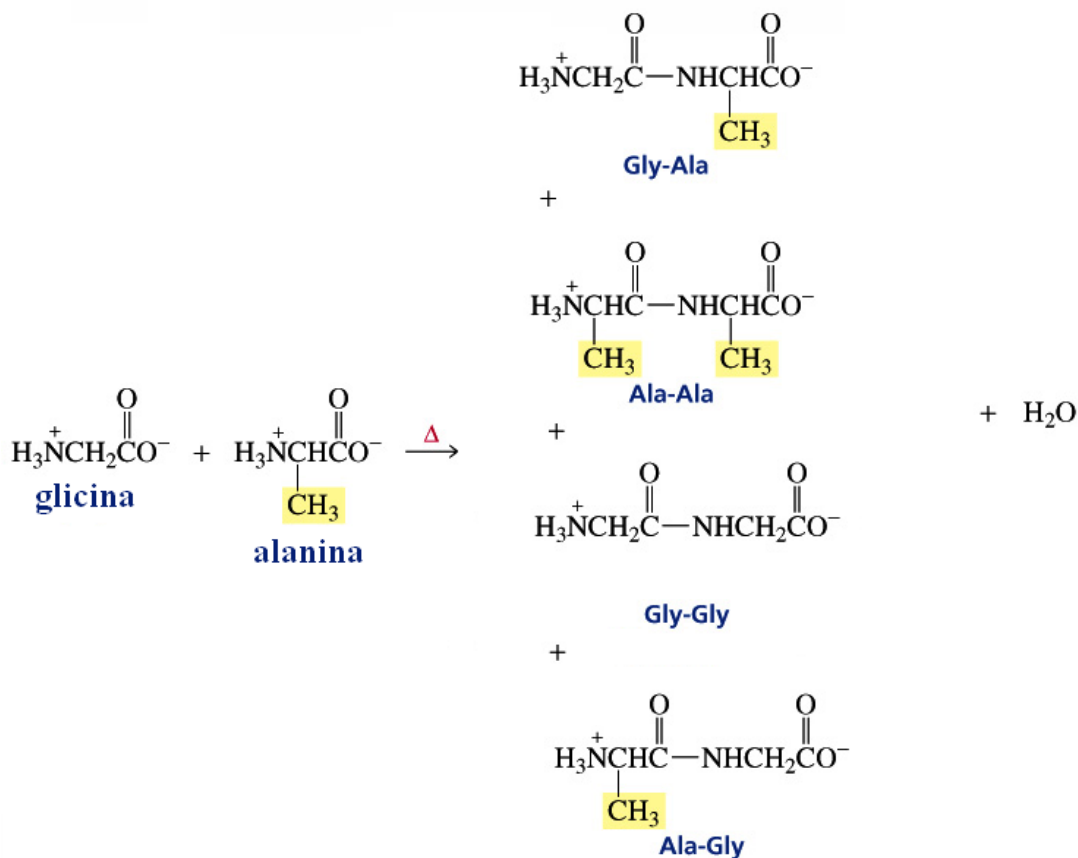


Due residui di cisteina presenti in una proteina (o in polipeptide sufficientemente esteso) possono essere ossidati e formare **un ponte disolfuro** che pertanto **legnerà due amminoacidi non adiacenti nella molecola**, favorendo un particolare ripiegamento della catena:

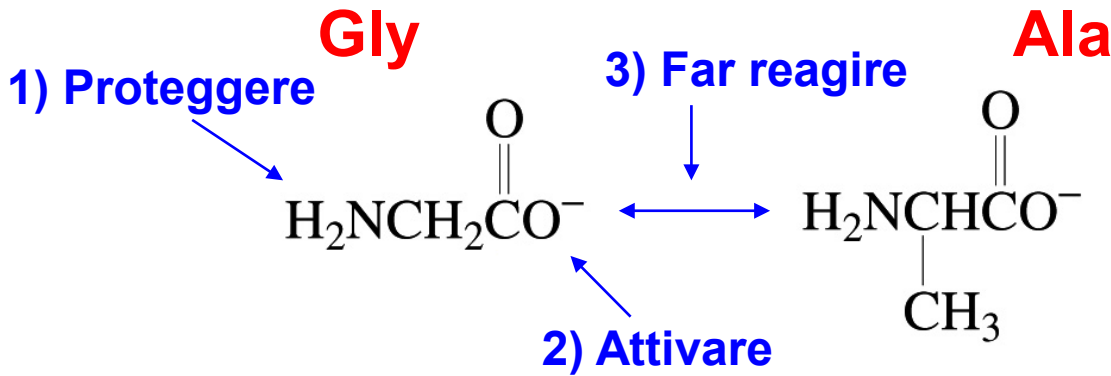


## Sintesi di peptidi

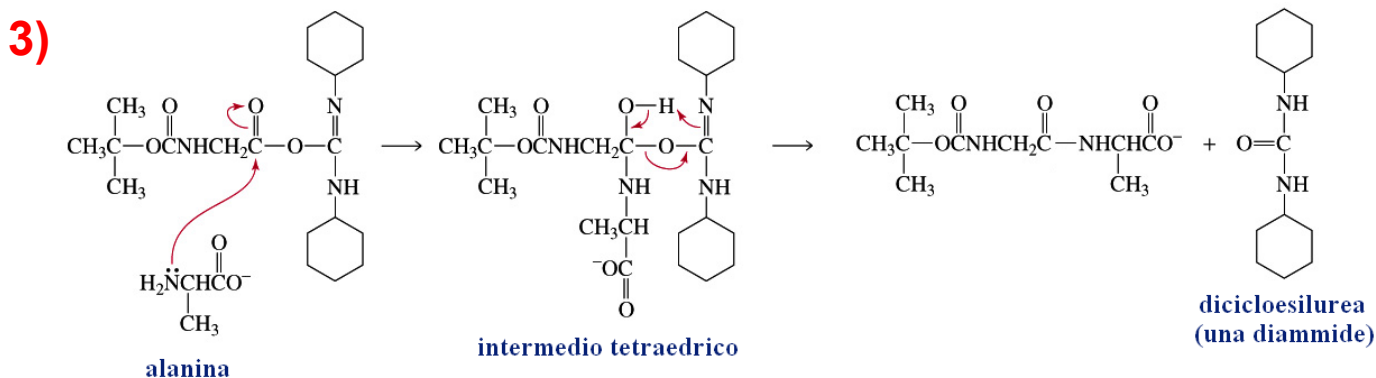
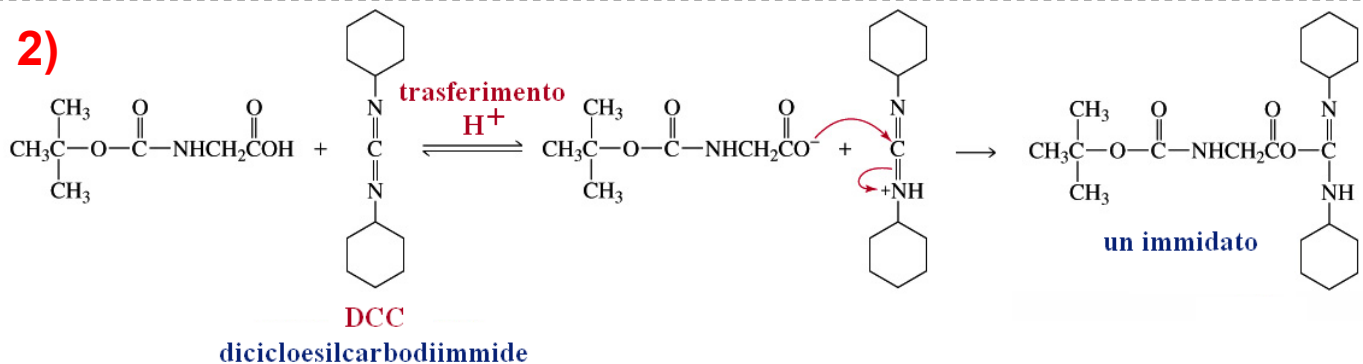
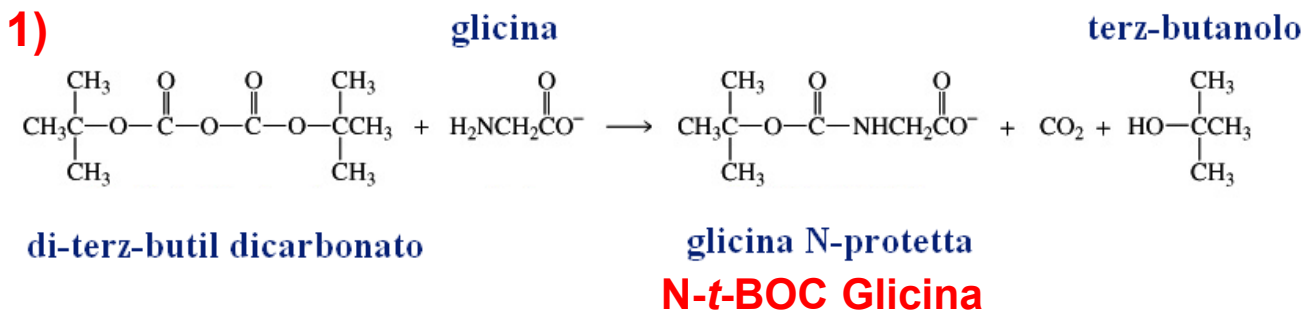
Per condensazione di 2 amminoacidi diversi si ottengono 4 diversi dipeptidi. Qual è l'approccio da usare per sintetizzare solo quello a cui si è interessati?



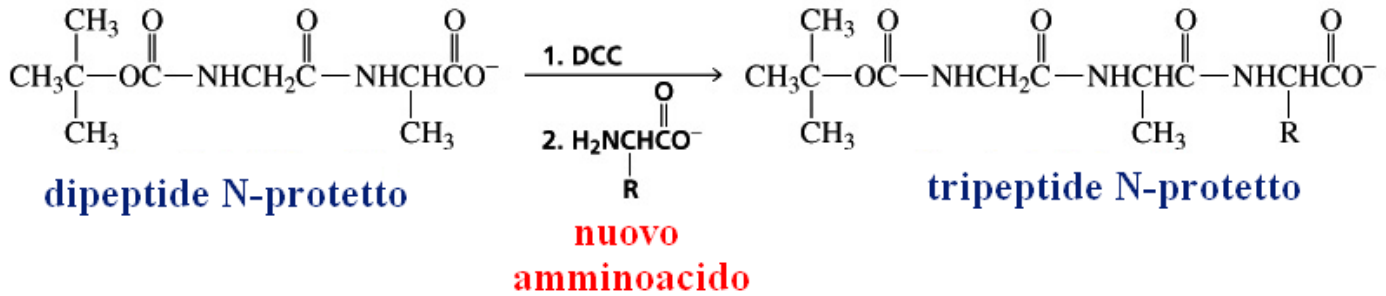
# Volendo preparare la Gly-Ala bisognerà:



- 1) Proteggere il gruppo amminico della glicina
- 2) Attivare il gruppo carbossilico della glicina
- 3) Far reagire la glicina che ha il gruppo amminico protetto e la funzione carbossilica attivata con l'alanina (la sua funzione amminica)



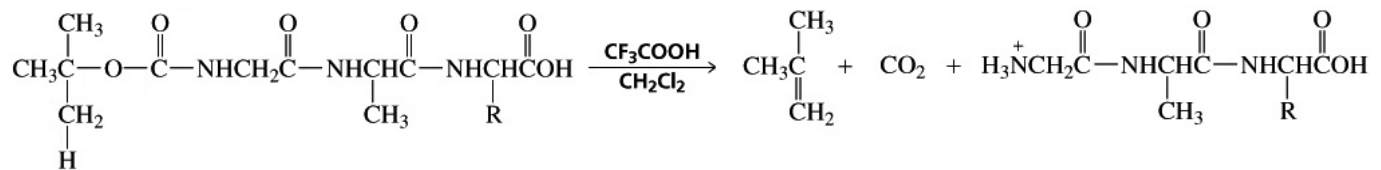
**Volendo, è possibile ripetere i passi 2 e 3, aggiungendo all'amminoacido C-terminale invece che l'alanina un terzo diverso amminoacido:**



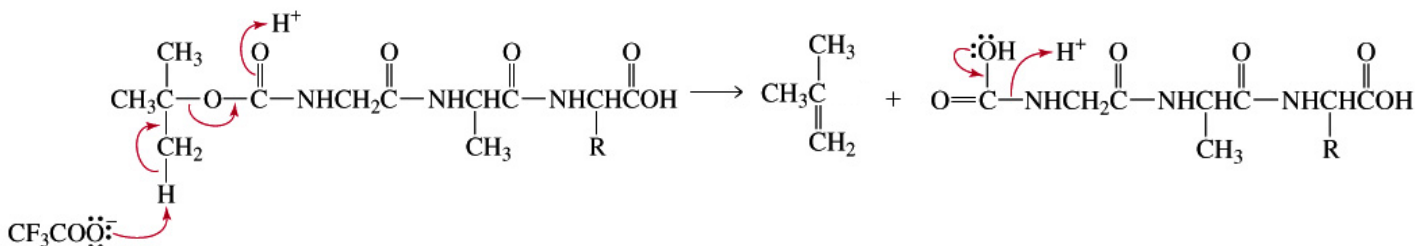
**In tal modo si otterrà un tripeptide con la sequenza desiderata.**

**Continuando con la stessa procedura  $n$  altre volte si otterrà un polipeptide costituito da  $n+1$  a.a., sempre con la sequenza desiderata.**

**Al termine di tutta la procedura il gruppo protettore  $t$ -BOC andrà rimosso acidificando la soluzione:**



**meccanismo**





# Struttura di una proteina

1. Struttura primaria
2. Struttura secondaria
3. Struttura terziaria
4. Struttura quaternaria

## Struttura primaria

È rappresentata dal numero, tipo e sequenza di amminoacidi che costituiscono la proteina:



**insulina**

# Struttura secondaria

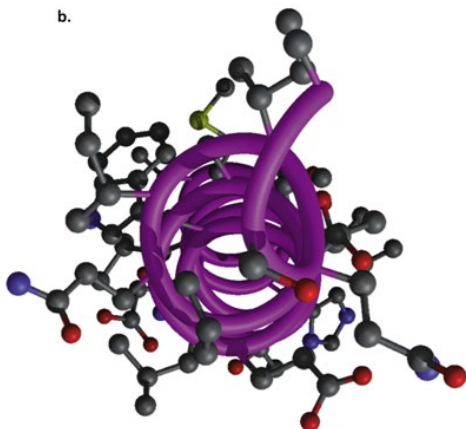
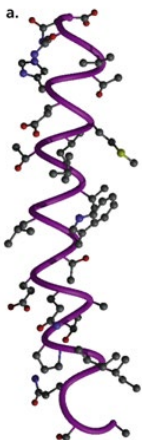
Descrive il tipo di conformazione che caratterizza segmenti di scheletro della struttura proteica

3 fattori giocano il ruolo principale nel determinare la conformazione assunta da più o meno ampie porzioni di struttura proteica:

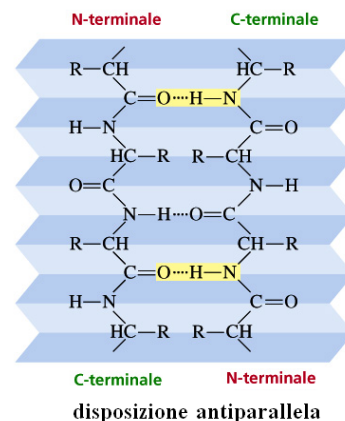
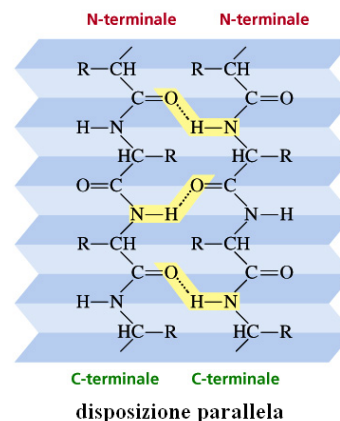
1. La planarità che caratterizza la porzione di spazio in cui giace ogni legame peptidico;
2. La necessità di massimizzare il numero di gruppi peptidici coinvolti nella formazione di legami ad idrogeno;
3. La necessità di mantenere ben separati i gruppi R di amminoacidi adiacenti.

Le geometrie più comuni incontrate come porzioni regolari all'interno della struttura complessiva sono:

## L' $\alpha$ -elica.



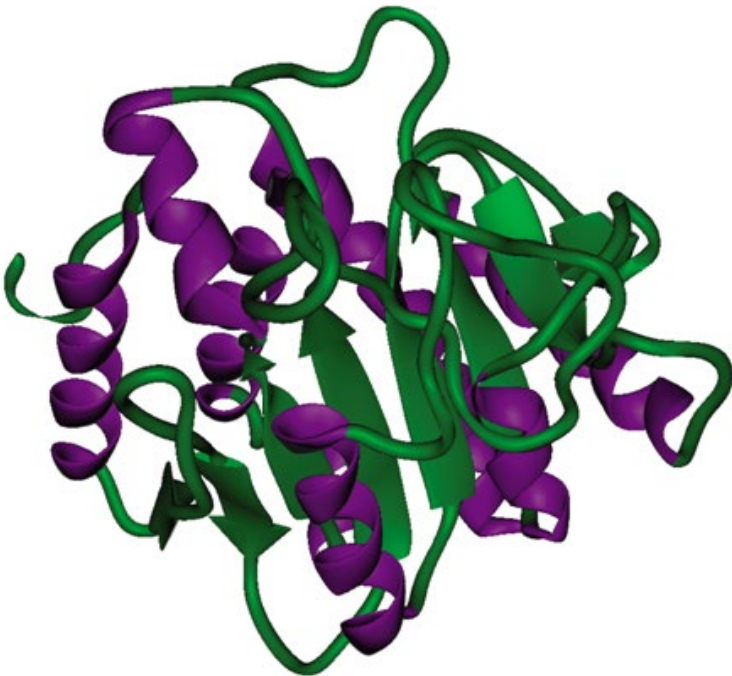
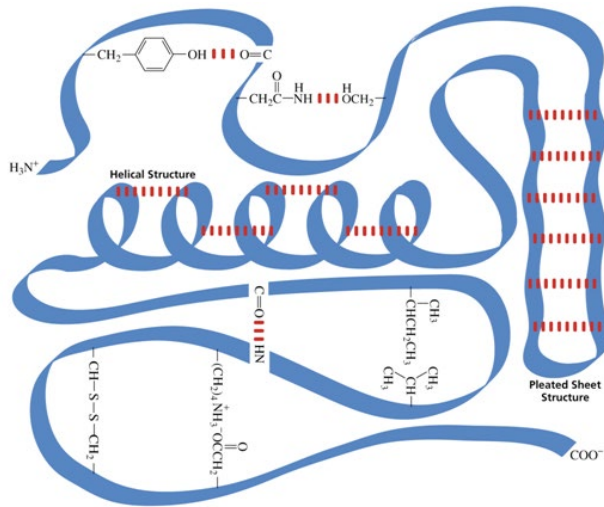
## Struttura $\beta$ a foglietto ripiegato



Si interrompe in corrispondenza di residui di prolina

# Struttura terziaria

È rappresentata dalla disposizione spaziale complessiva di tutti gli atomi della proteina. A definirla concorrono tutte le interazioni non leganti (legame ad idrogeno, van der Waals, interazioni elettrostatiche, interazioni solvofobiche) ed eventualmente quelle covalenti dovute alla formazione di ponti disolfuro, formate tra varie porzioni della catena proteica.

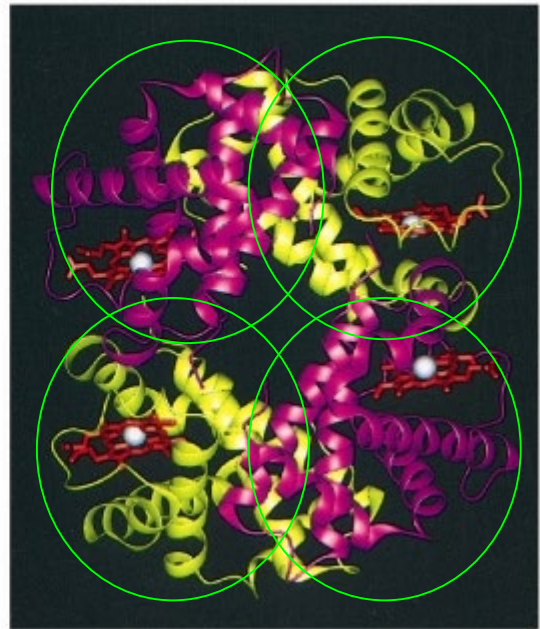


Le proteine globulari sono idrosolubili, ed hanno strutture fortemente ripiegate. In cui sono identificabili  $\alpha$ -eliche, foglietti  $\beta$  e tratti più o meno estesi di catena proteica che connettono queste porzioni regolari. La zona esterna, che entra a diretto contatto con l'acqua, espone i residui degli amminoacidi polari, acidi e basici.

# Struttura quaternaria

Riguarda le **proteine formate da più subunità** (cioè più catene indipendenti come struttura primaria, secondaria e terziaria, ma vincolate le une alle altre per effetto di legami non covalenti). **Definisce la relazione spaziale** esistente **tra le diverse subunità**.

## Emoglobina: 4 subunità



Le catene  $\alpha$  sono porpora, le catene  $\beta$  sono gialle, i leganti dell'eme sono rossi e gli atomi di Fe sono sfere bianche.

### Struttura quaternaria di alcune proteine

Proteina	Numero di subunità
Alcooldeidrogenasi	2
Aldolasi	4
Emoglobina	4
Latticodeidrogenasi	4
Insulina	6
Glutamminasintetasi	12
Disco della proteina del mosaico del tabacco	17