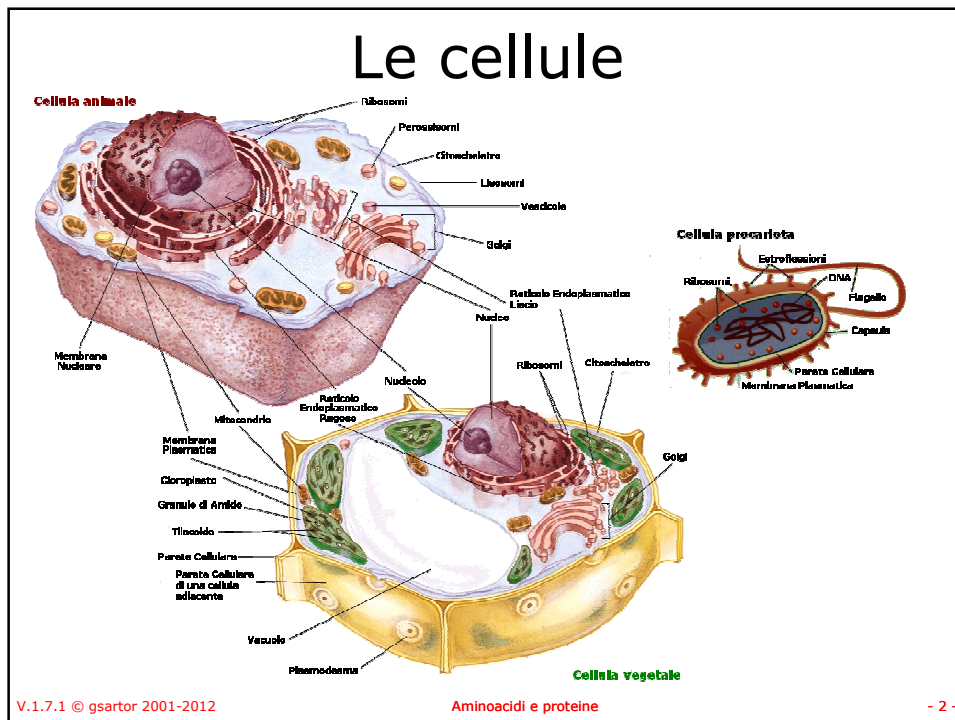


Prof. Giorgio Sartor

Aminoacidi e proteine

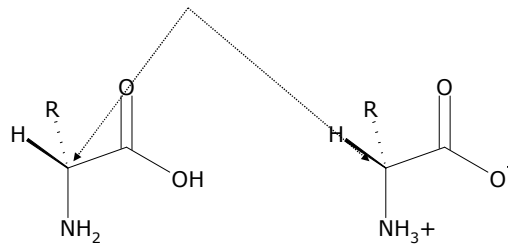
Copyright © 2001-2012 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

Versione 1.7.1 - mar 2012



Aminoacidi

- Gli α -aminoacidi (AA) sono molecole che presentano almeno due gruppi funzionali,
 - il gruppo $-\text{COOH}$ e
 - il gruppo $-\text{NH}_2$
- Legati al carbonio α

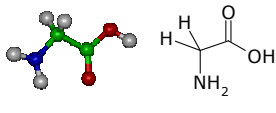


Aminoacidi

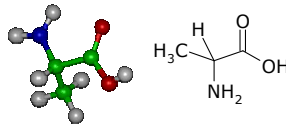
- Gli AA differiscono tra loro per il gruppo R
- I mammiferi utilizzano 20 AA diversi il cui gruppo R ha diverse proprietà polari e/o acido-base:
 - R alifatico (sei)
 - R aromatico (tre)
 - R idrossilato (due)
 - R contenente zolfo (due)
 - R acido e derivati (quattro)
 - R basico (tre)
 - R apolare (otto)
 - R neutro polare (cinque)
 - R ionizzabile (sette)

Aminoacidi alifatici

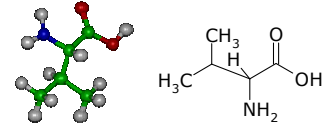
- Gli AA alifatici sono sei:



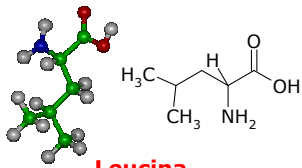
Glicina
Gly G



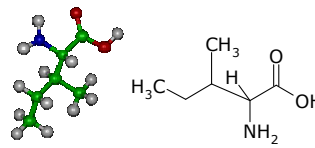
Alanina
Ala A



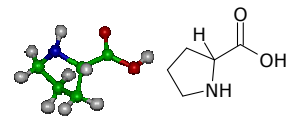
Valina
Val V



Leucina
Leu L



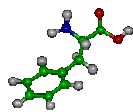
Isoleucina
Ile I



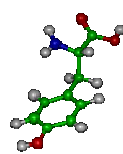
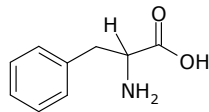
Prolina
Pro P

Aminoacidi aromatici

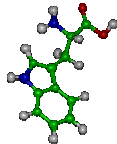
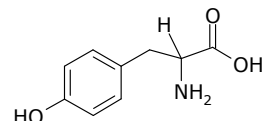
- Gli AA aromatici sono tre:



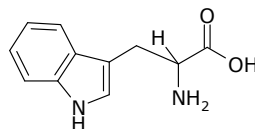
Fenilalanina
Phe F



Tirosina
Tyr Y

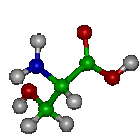


Triptofano
Trp W

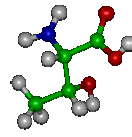
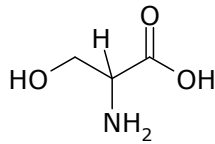


Aminoacidi idrossilati

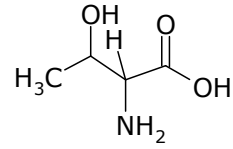
- Gli AA idrossilati sono due:



Serina
Ser S

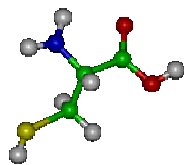


Treonina
Thr T

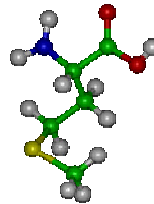
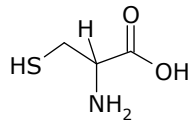


Aminoacidi contenenti zolfo

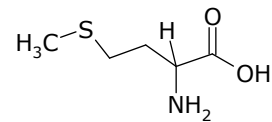
- Gli AA contenenti zolfo sono due:



Cisteina
Cys C

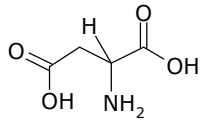
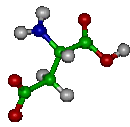


Metionina
Met M

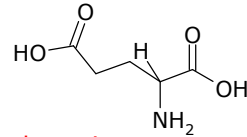
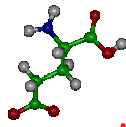


Aminoacidi acidi (e derivati)

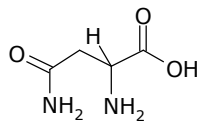
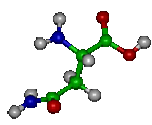
- Gli AA acidi sono due (e due le amidi):



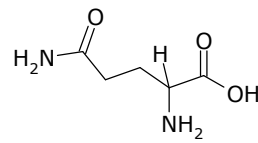
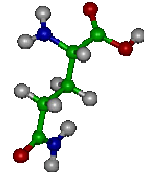
Acido aspartico
Asp D



Acido glutamico
Glu E



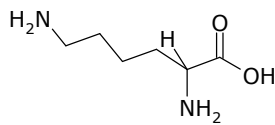
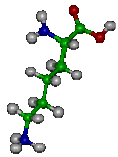
Asparagina
Asn N



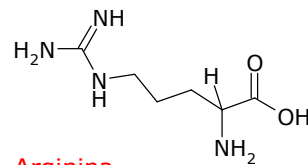
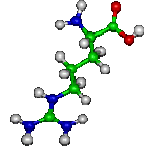
Glutamina
Gln Q

Aminoacidi basici

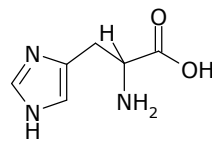
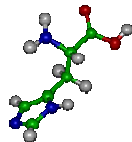
- Gli AA basici sono tre:



Lisina
Lys K



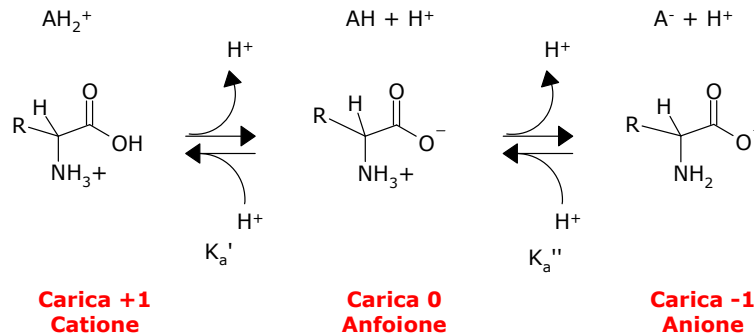
Arginina
Arg R



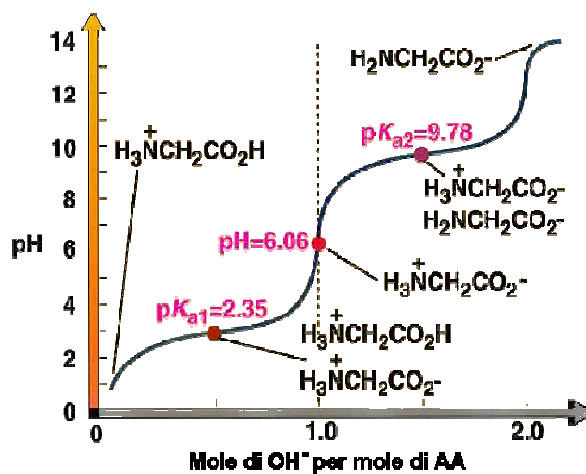
Istidina
His H

Proprietà acido-base degli AA

- La presenza dei due gruppi funzionali $-\text{COOH}$ e $-\text{NH}_3^+$ rende gli AA simili, nel loro comportamento acido-base, ad acidi biprotici AH_2^+ .



Proprietà acido-base degli AA



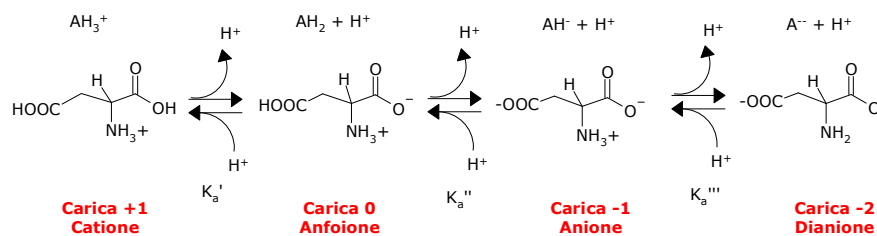
Proprietà acido-base degli AA

- Si definisce pI (punto isoelettrico) il valore di pH al quale l'AA ha carica netta 0, nel caso di un AA con catena laterale neutra è dato da:

$$pI = \frac{1}{2} (pK_a' (\alpha\text{-COOH}) + pK_a'' (\alpha\text{-NH}_3^+))$$

Proprietà acido-base degli AA acidi

- In presenza un gruppo acido oltre ai due gruppi funzionali -COOH e -NH_3^+ gli AA si comportano come acidi triprotici AH_3^+ .



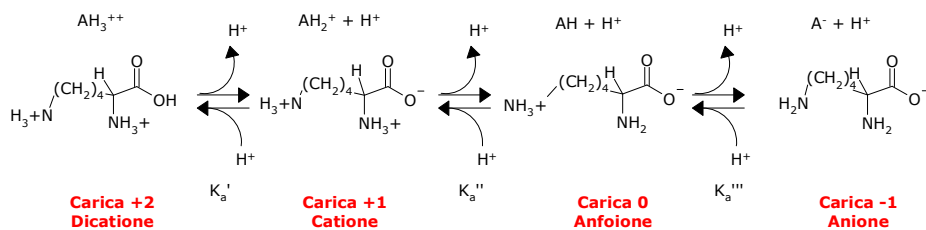
Proprietà acido-base degli AA acidi

- Il pI di un AA acido è dato dalla media dei due valori minori di pK_a :

$$pI = \frac{1}{2} (pK_a' (\alpha\text{-COOH}) + pK_a'' (\text{R-COOH}))$$

Proprietà acido-base degli AA basici

- In presenza un gruppo basico oltre ai due gruppi funzionali -COOH e -NH_3^+ gli AA si comportano come acidi triprotici AH_3^{++} .



Proprietà acido-base degli AA basici

- Mentre il pI di un AA basico è dato dalla media dei due valori maggiori di pK_a :

$$pI = \frac{1}{2} (pK_a''_{(\alpha-NH_3^+)} + pK_a'''_{(\epsilon-NH_3^+)})$$

Proprietà acido-base degli AA apolari

AA	pK_a'	pK_a''	pI
Gly	2.3	9.6	6.0
Ala	2.3	9.7	6.0
Val	2.3	9.6	6.0
Leu	2.4	9.6	6.0
Ile	2.4	9.7	6.1
Pro	2.0	10.6	6.3
Phe	1.8	9.1	5.5
Met	2.3	9.2	5.8
Ser	2.2	9.2	5.7
Thr	2.6	10.4	6.5
Trp	2.4	9.4	5.9

Proprietà acido-base degli AA polari

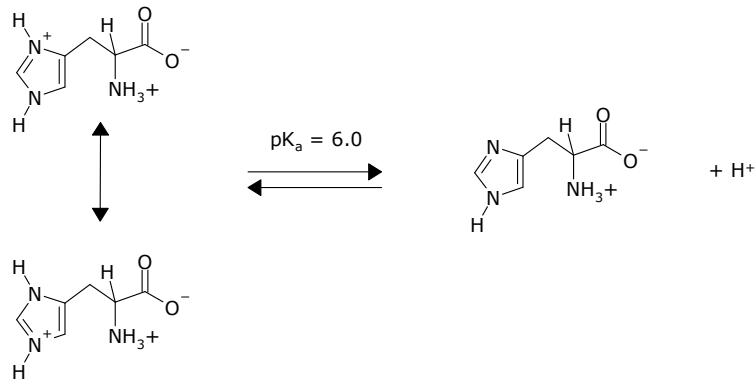
AA	pK_a'	pK_a''	pK_aR	pI
Cys	1.7	10.8	8.3	5.0
Tyr	2.2	9.1	10.1	5.7
Asp	2.1	9.8	3.9	3.0
Asn	2.0	8.8	-	5.4
Glu	2.2	9.7	4.3	3.2
Gln	2.0	9.1	-	5.7
His	1.8	9.2	6.0	7.6
Lys	2.2	9.0	10.5	9.8
Arg	2.2	9.0	12.5	10.8

Proprietà acido-base degli AA polari

AA	pK_a'	pK_a''	pK_aR	pI
Cys	1.7	10.8	8.3	5.0
Tyr	2.2	9.1	10.1	5.7
Asp	2.1	9.8	3.9	3.0
Asn	2.0	8.8	-	5.4
Glu	2.2	9.7	4.3	3.2
Gln	2.0	9.1	-	5.7
His	1.8	9.2	6.0	7.6
Lys	2.2	9.0	10.5	9.8
Arg	2.2	9.0	12.5	10.8

Istidina His H

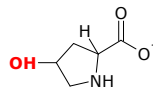
- His presenta un valore di pI vicino al pH fisiologico a causa della stabilizzazione per risonanza del catione imidazolico.



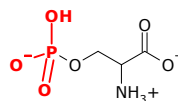
Aminoacidi modificati

- Modificazioni post-traduzionali

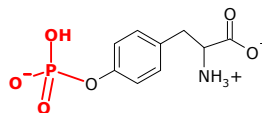
- 4-idrossiprolina



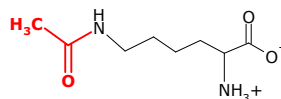
- O-fosfoserina



- O-fosfotirosina

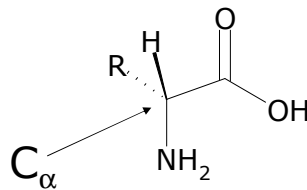


- N-Acetilistina



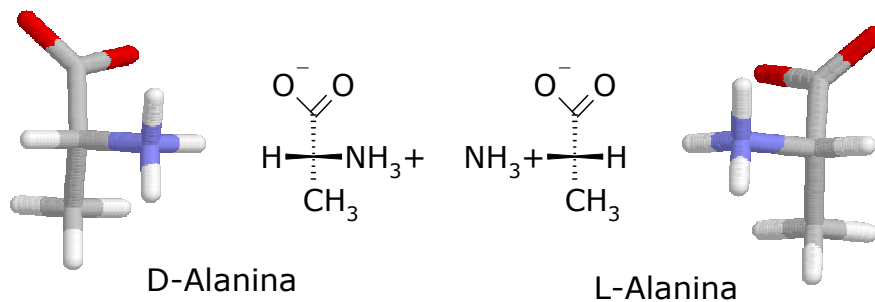
Isomeria ottica

- Tutti gli AA (esclusa la glicina) possiedono almeno un atomo di carbonio asimmetrico, il C_{α} .



Isomeria ottica

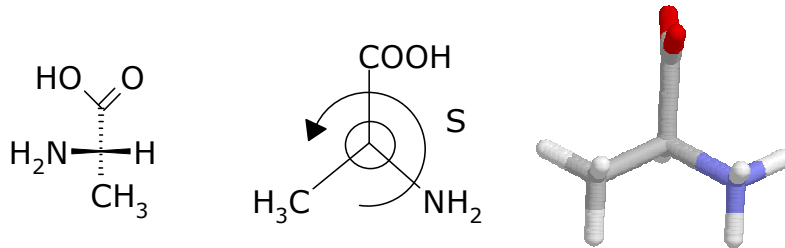
- Quindi possono esistere due isomeri D ed L



- In natura gli AA sono in forma L.

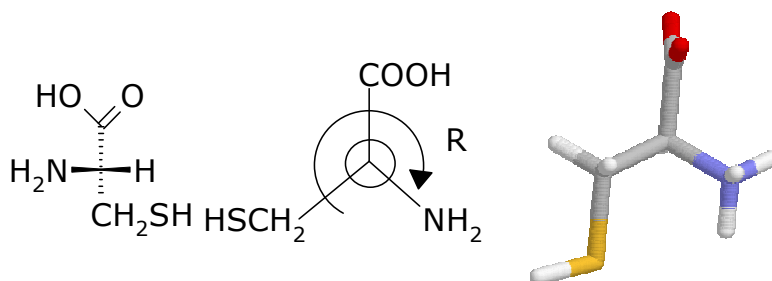
Isomeria ottica

- Per quanto riguarda la configurazione assoluta degli L-AA 18 sono S e uno (la cisteina) R.

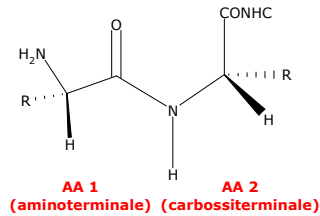
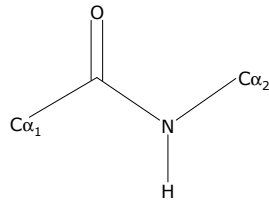


Isomeria ottica

- Per quanto riguarda la configurazione assoluta degli L-AA 18 sono S e uno (la cisteina) R.

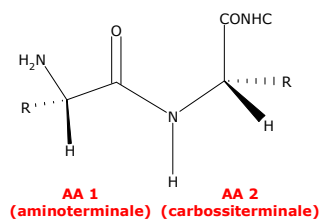
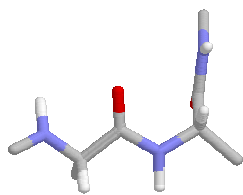


Il legame peptidico



- Gli AA si legano tra loro con un legame tra il gruppo carbossilico di un AA e il gruppo aminico dell'AA successivo.

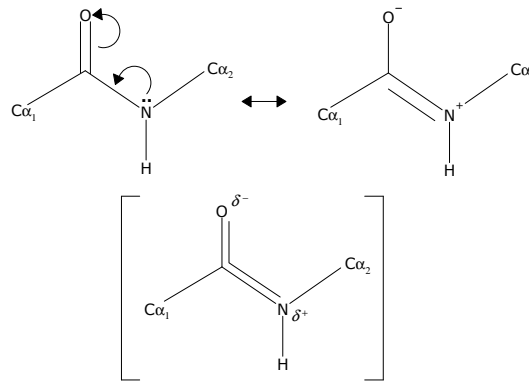
Il legame peptidico



- Gli AA si legano tra loro con un legame tra il gruppo carbossilico di un AA e il gruppo aminico dell'AA successivo.

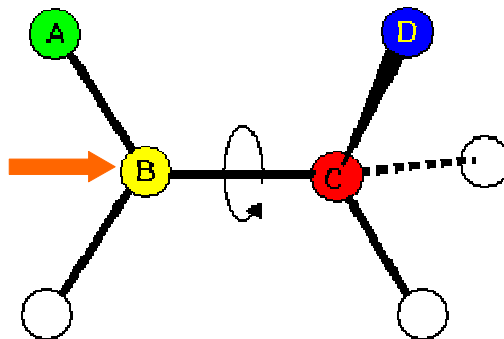
Il legame peptidico

- Il legame peptidico ha caratteristiche elettroniche che ne regolano la geometria.

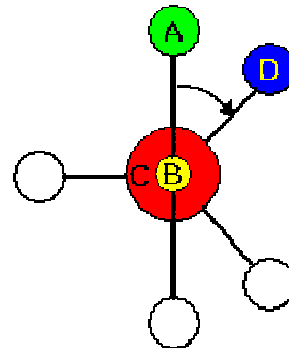


Angoli diedri

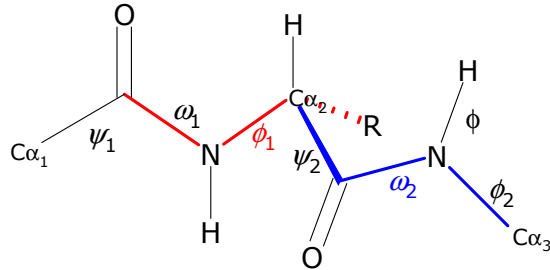
Angolo diedro A-B-C-D



(+) orario
(-) antiorario

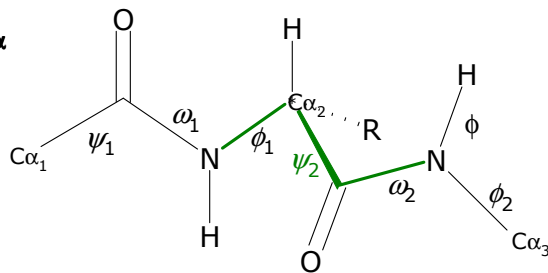


Angoli diedri



- ϕ (*phi*) C'-N-C α -C'
- ψ (*psi*) N-C α -C'-N
- ω (*omega*) C α -C'-N-C α

C' corrisponde al C=O



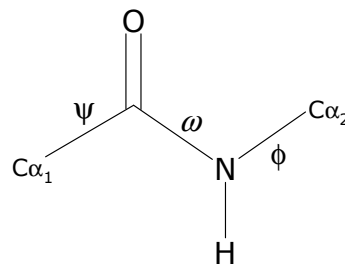
Il legame peptidico

- A causa della distribuzione degli elettroni il legame peptidico ha specifiche proprietà **geometriche**:

- I legami hanno lunghezze:

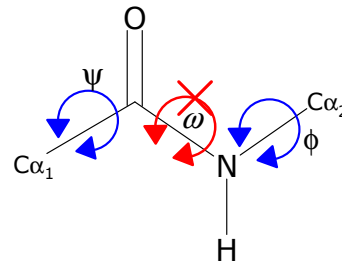
- C α -C 1.52Å
- C=O 1.23Å
- C-N 1.33Å
- N-C α 1.45Å

- Il legame ω generalmente *trans* (180°)

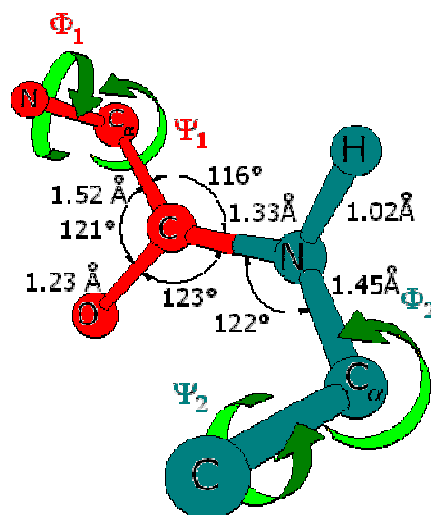


Il legame peptidico

- A causa della distribuzione degli elettroni il legame peptidico ha specifiche proprietà **geometriche**:
 - Non vi è libera rotazione intorno al legame C-N
 - Vi è libera rotazione solo intorno ai legami ϕ e ψ .

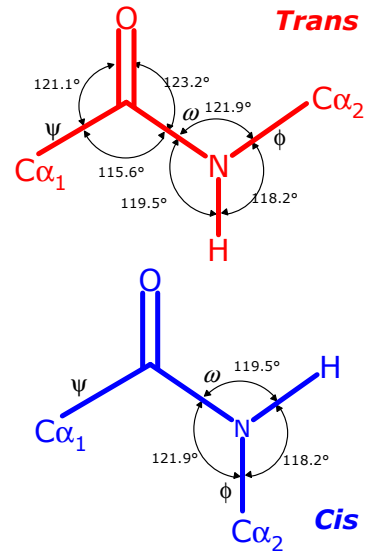


Il legame peptidico



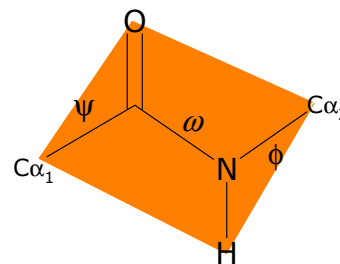
Il legame peptidico

- L'angolo ω tende ad essere planare **Trans (180°)** o **Cis (0°)** a causa della delocalizzazione degli elettroni π .
- **Trans** è molto più favorito di **Cis**:
 - Solo 116 su 32539 angoli ω in 154 strutture (0.36%) sono **Cis** (Stewart et al. 1990).
 - Alcune coppie di AA sono però più spesso **Cis**: Tyr-Pro (25%), Ser-Pro (11%), X-Pro (6.5%)
- Questo permette la flessibilità dello scheletro della proteina attraverso gli angoli ϕ e ψ con la limitazione dell'ingombro sterico.



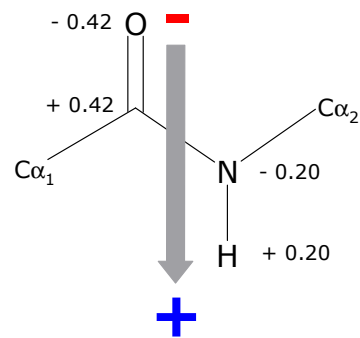
Il legame peptidico

- A causa della distribuzione degli elettroni il legame peptidico ha specifiche proprietà **geometriche**:
 - È planare.

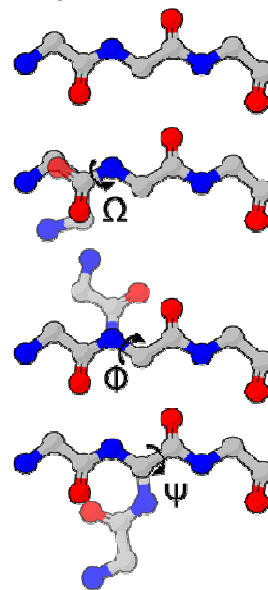
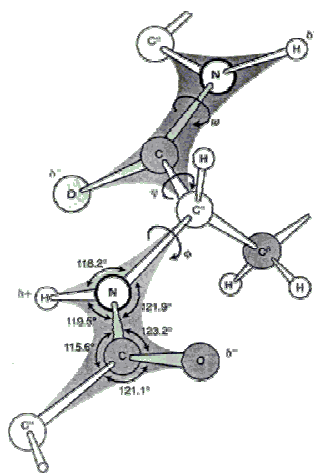


Il legame peptidico

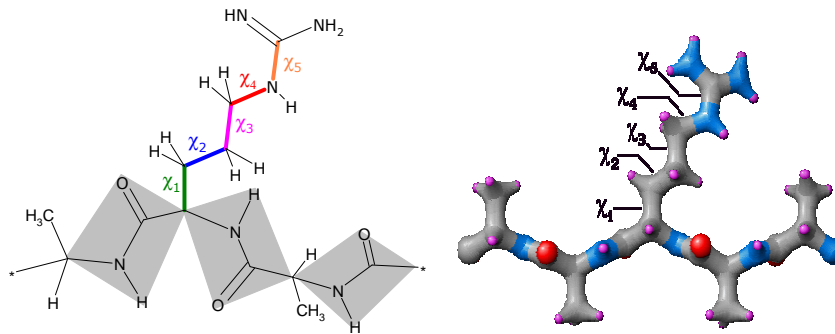
- A causa della distribuzione degli elettroni il legame peptidico ha specifiche proprietà **elettriche**:
 - È dipolare.



Angoli ϕ ω ψ

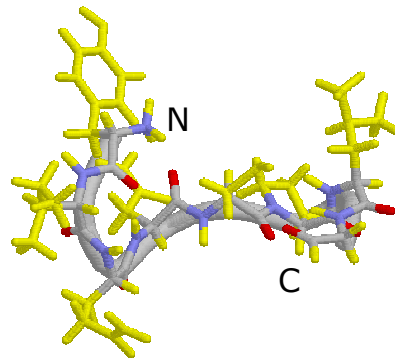


Angolo χ



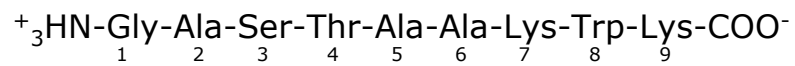
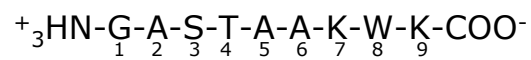
Peptidi e proteine

- I peptidi e le proteine sono polimeri di AA legati tra loro da un legame peptidico.
- Fino a 20 AA il polimero è un peptide.



Struttura primaria

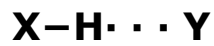
- Si definisce la struttura primaria di un peptide o di una proteina la sequenza a partire dall'AA aminoterminale (il primo) all'AA carbossiterminale (l'ultimo).



Protein folding

Ripiegamento

Legame idrogeno



X donatore; Y accettore

Distanze:

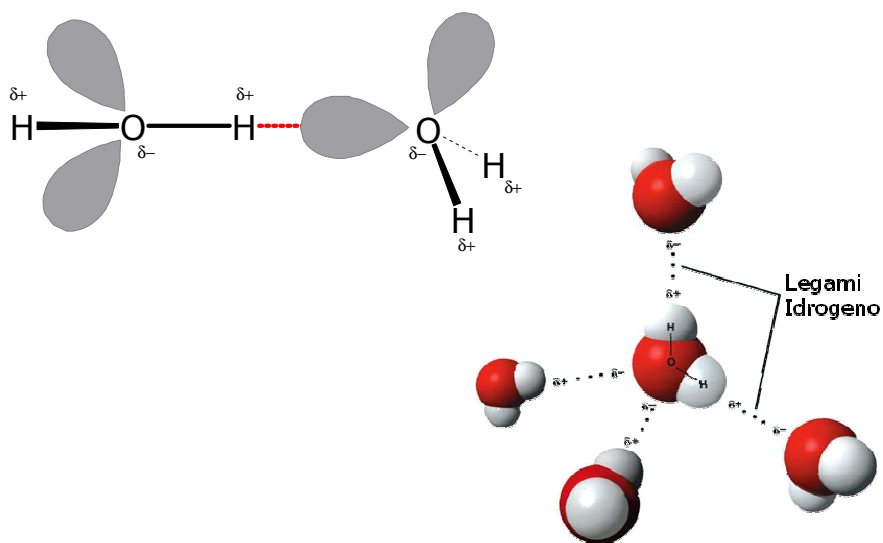
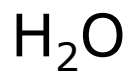
X-H	1.1Å (110 pm)
H ··· Y	1.6-2.0Å (160-200 pm)
in H ₂ O	1.97Å (197 pm)

Angolo:

da 46° (H₂O-HF) a 180° (HCN-HF)

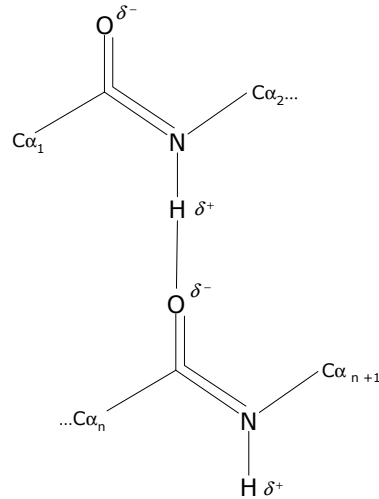
Energia:

da 1-2 kJ · mol⁻¹ a 161.5 kJ · mol⁻¹ (in HF₂⁻);
21 kJ · mol⁻¹ (in H₂O)



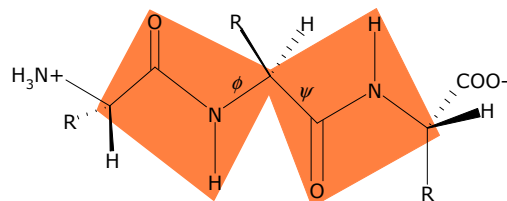
Struttura secondaria

- La struttura II delle proteine dipende dalla formazione di legami idrogeno tra atomi di ossigeno di un legame peptidico e atomi di azoto di un altro legame peptidico.
- La formazione dei legami H tra atomi avviene a causa:
 - della possibilità di rotazione intorno ai legami che coinvolgono il $C\alpha$
 - della distribuzione delle cariche nel legame peptidico che rende l'atomo di ossigeno carbonilico con carica parziale negativa e l'atomo di idrogeno con parziale carica positiva, ciò rende la condivisione di un atomo di idrogeno tra l'ossigeno e l'azoto.

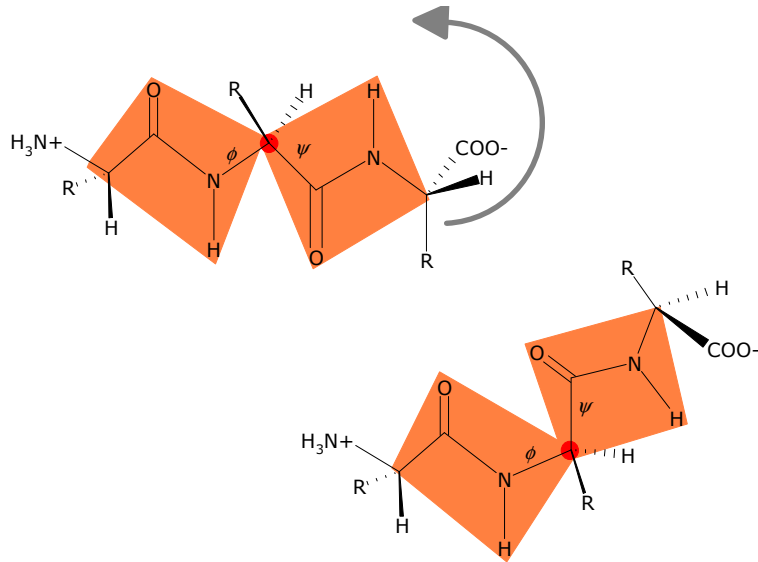


Struttura secondaria

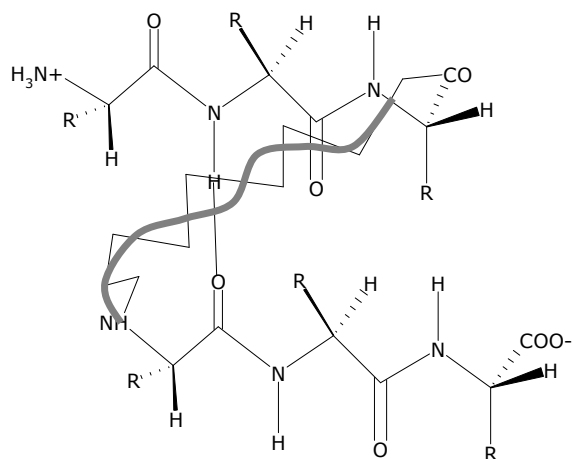
- La formazione dei legami H tra atomi avviene a causa della possibilità di rotazione intorno al legame tra il $C\alpha$ e l'atomo di azoto che lo precede (**angolo ϕ**) ed intorno ai legami tra il $C\alpha$ e l'atomo di carbonio (carbonilico) che lo segue (**angolo ψ**).



Struttura secondaria



Struttura secondaria

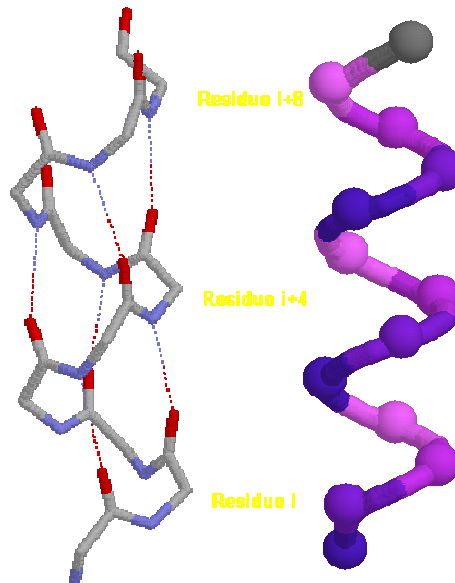
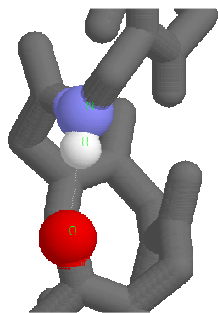


Struttura secondaria

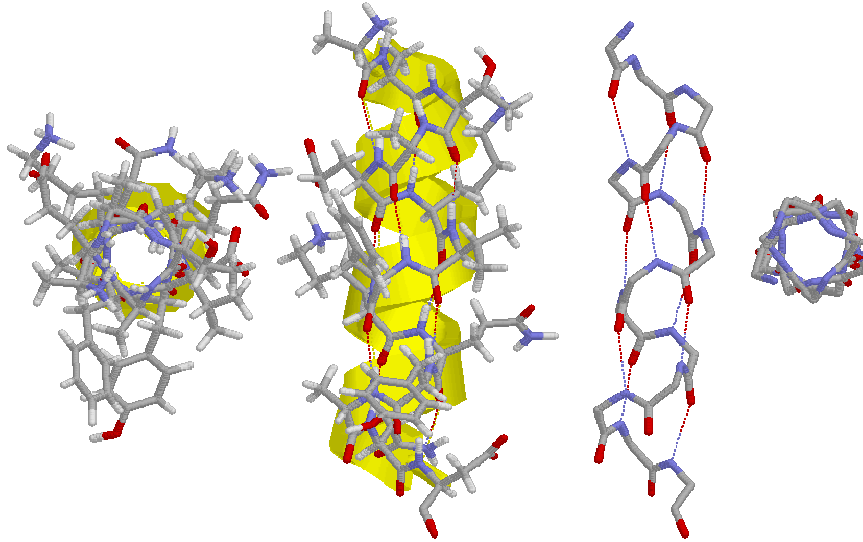
- Poiché non tutte gli angoli di rotazione sono possibili a causa degli ingombri sterici, esistono dei minimi di energia conformazionale che corrispondono a particolari coppie di angoli ϕ e ψ ed alla formazione di legami H con, in alcuni casi, precise periodicità:
- Esistono diverse strutture II:
 - Eliche
 - Strutture β
 - Ripiegamenti (Turns)

α -elica

- Angolo ϕ negativo
- Angolo ψ negativo
- Numero di residui per giro = 3.6
- Passo dell'elica = 5.4 Å
- 1.5 Å per residuo

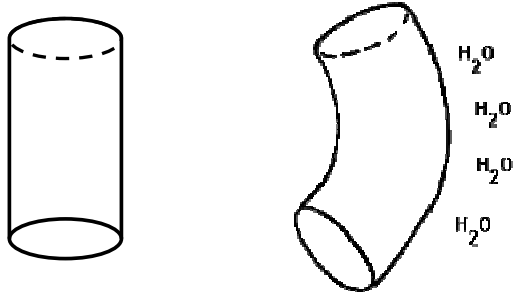


α -elica



Distorsioni α -elica

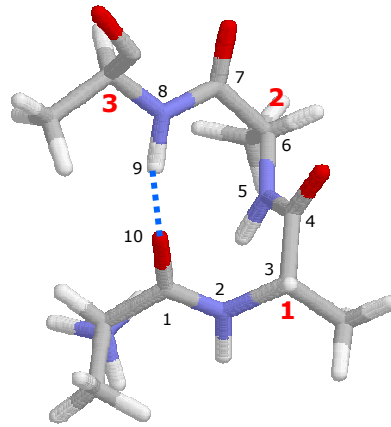
- Contatti con altre strutture secondarie;
- Distribuzione del solvente asimmetrica;



- Presenza nella sequenza di Pro

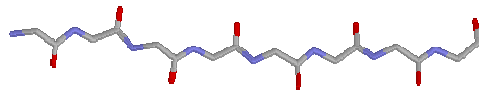
Elica 3_{10}

- Tre aminoacidi per giro.
- Il legame H forma un ciclo di dieci atomi.

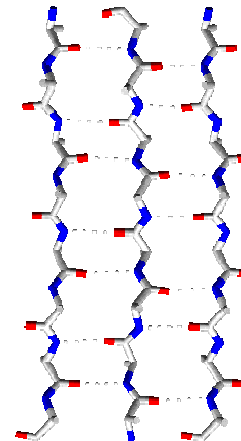


β -sheet e β -strand

- L'angolo ϕ è negativo e ψ è positivo.

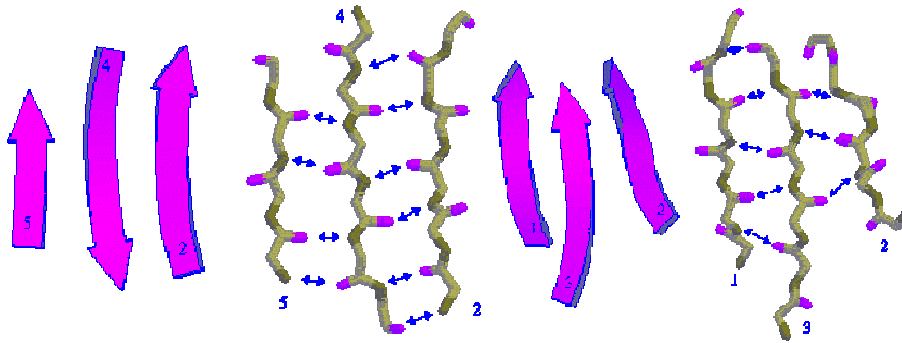


- Le strutture β sono caratterizzate dalla formazione di legami idrogeno tra catene adiacenti e non necessariamente orientate nello stesso verso.



Diversi tipi di β -sheet

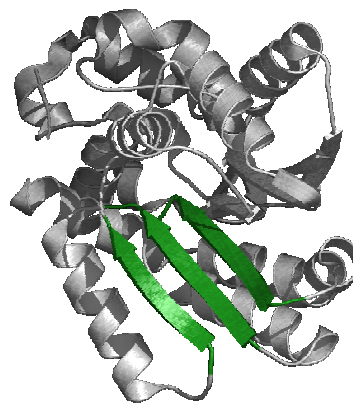
- I legami H che si formano dipendono dall'orientazione relativa delle catene



Urato ossidasi

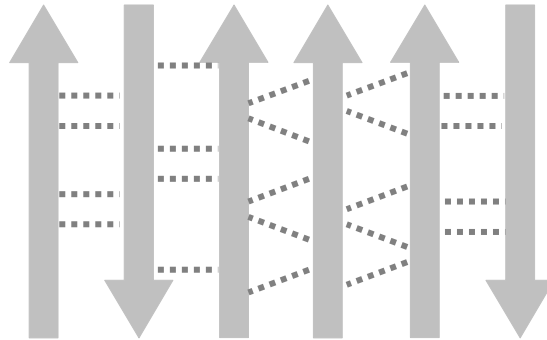


Catecolo
O-Metiltransferasi

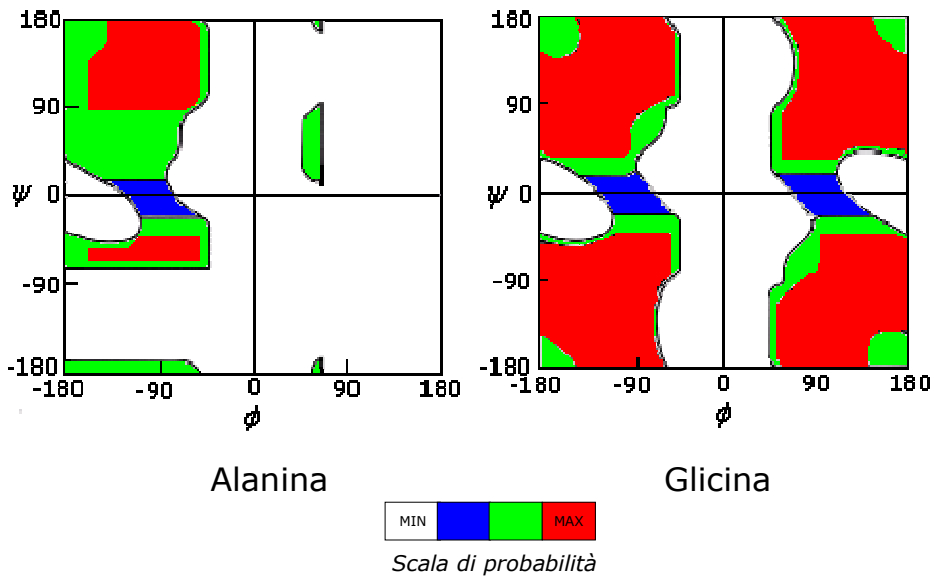


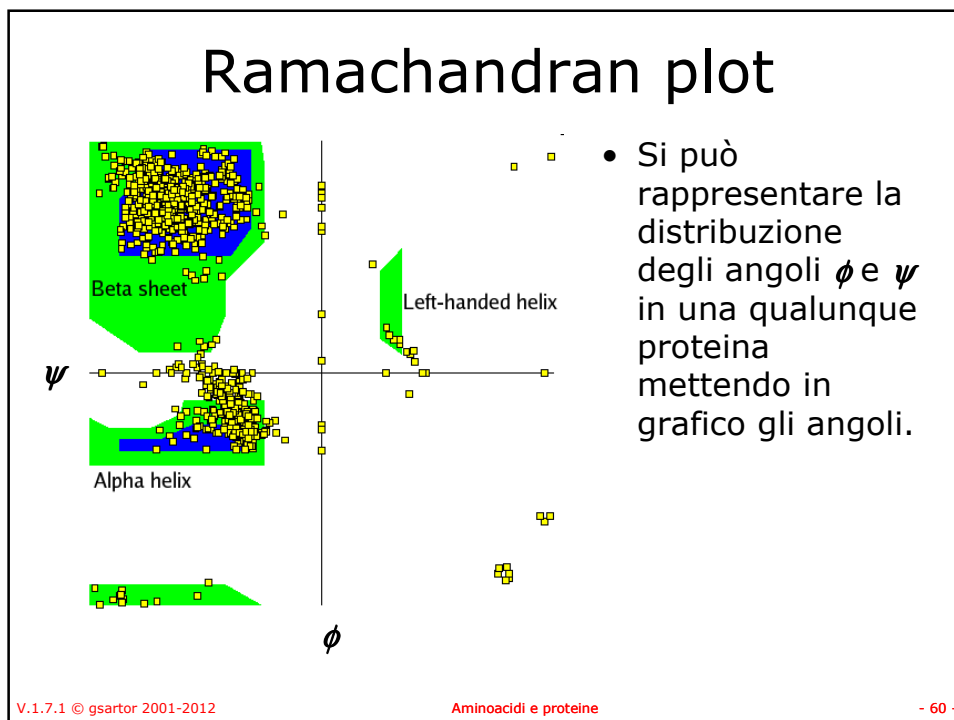
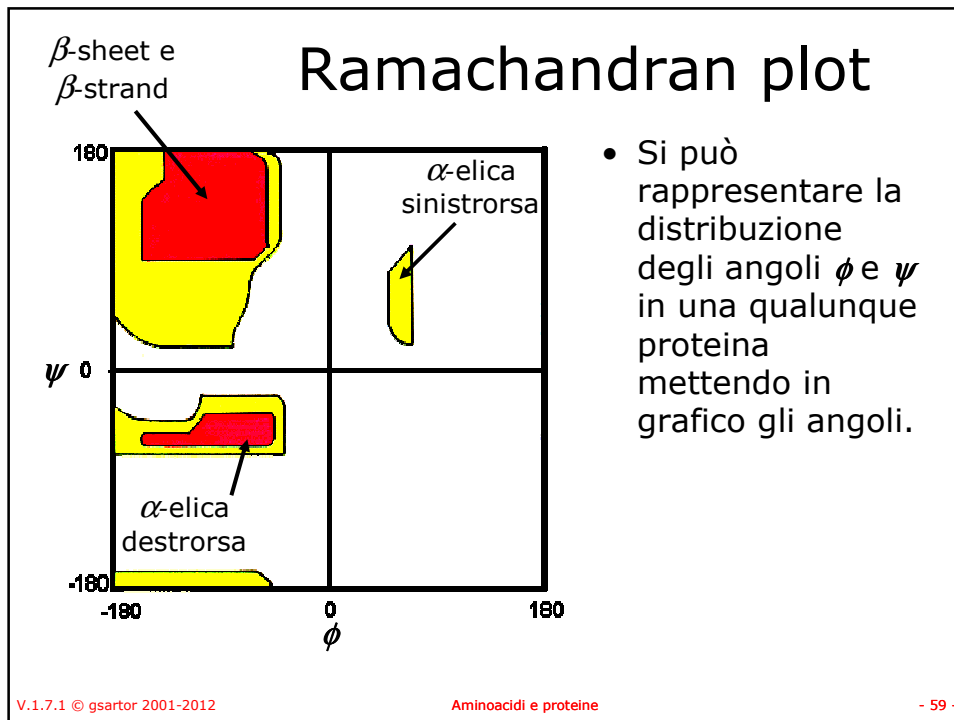
Diversi tipi di β -sheet

- I legami H che si formano dipendono dall'orientazione relativa delle catene



Ramachandran plot

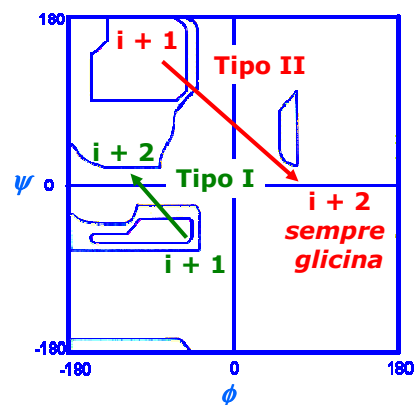
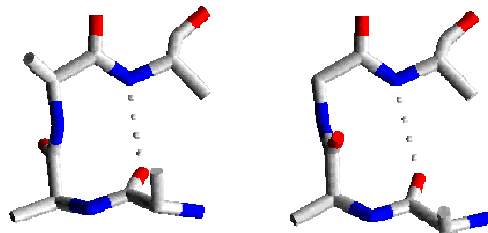




Turns

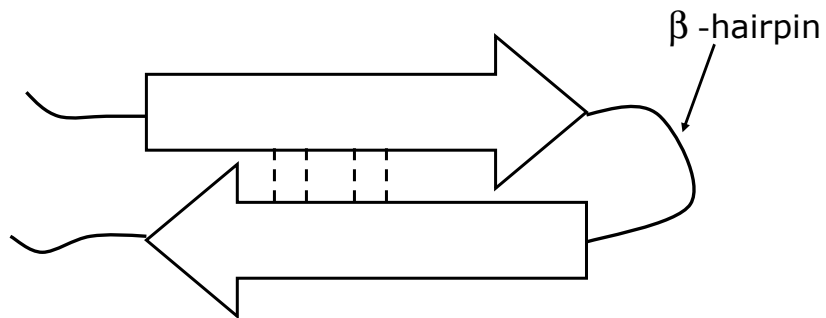
- I turns sono strutture composte di pochi AA,
- In genere fungono da collegamento tra eliche o strands.
 - Reverse Turns
 - β -hairpin Turns

Reverse Turns

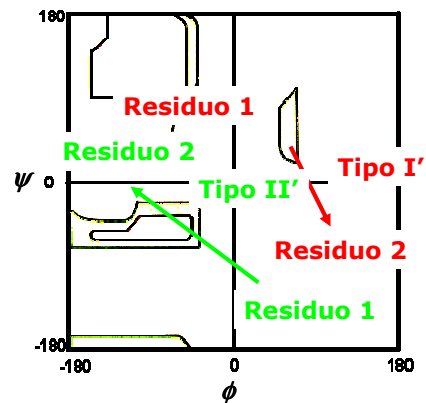
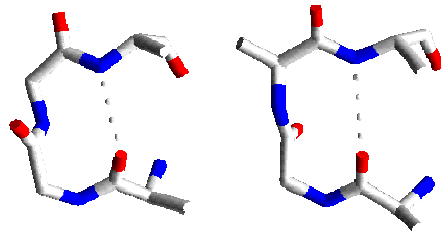


β -hairpin Turns

- Un tipo di turn che interviene tra due β -strand antiparallele.



β -hairpin Turns



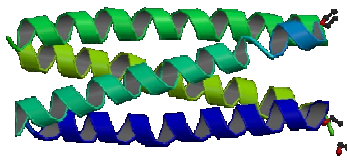
Struttura terziaria

Superstruttura secondaria

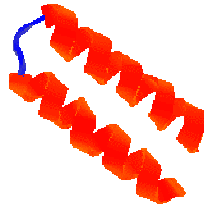
Motivi (Motifs)

- Si dicono motivi (motifs) semplici combinazioni di elementi di struttura secondaria arrangiati geometricamente;
- Spesso, ma non sempre, ai motivi sono associate particolari funzioni o attività

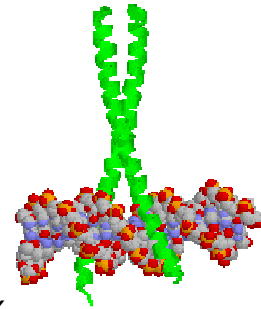
Alcuni motivi



Four helix bundle

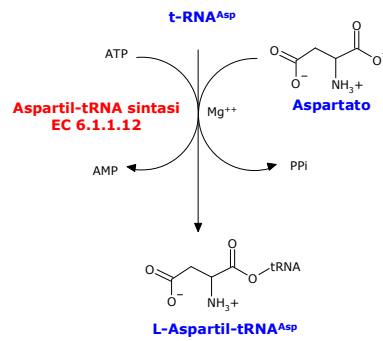
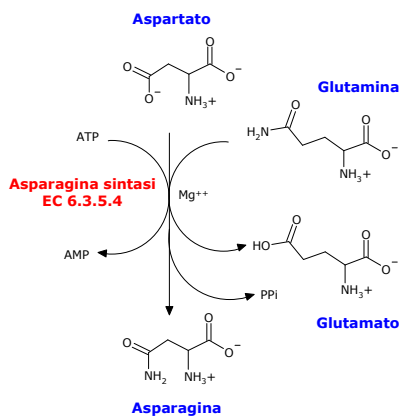


Helix-loop-helix

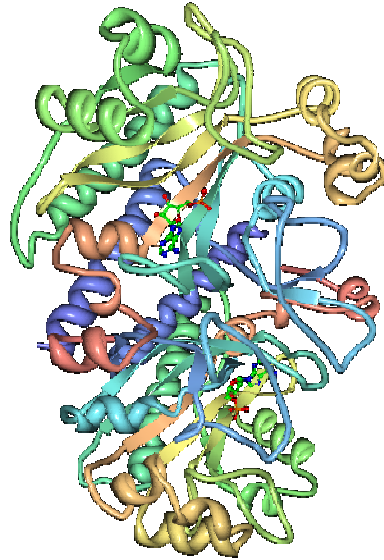


Coiled coil

Funzionalità

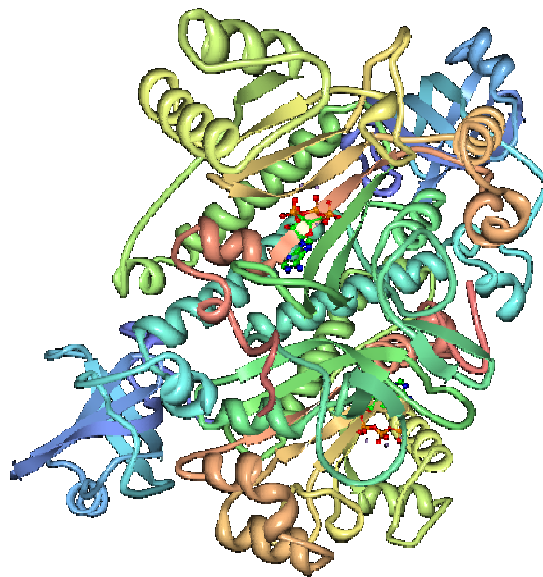


Asparagina sintasi EC 6.3.5.4



12AS

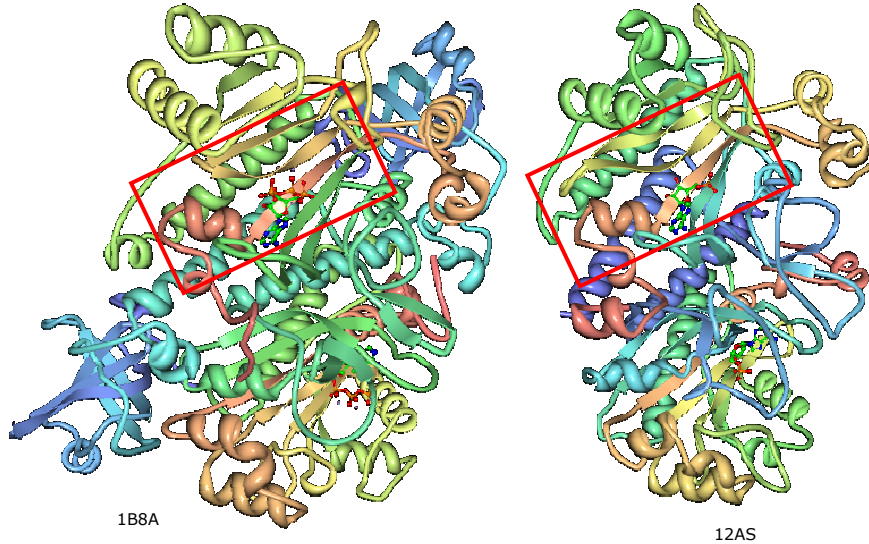
Aspartil-tRNA sintasi EC 6.1.1.12



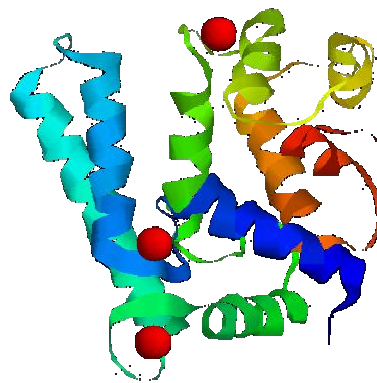
ATP binding

1B8A

Similitudine strutturale



Calcium binding motif

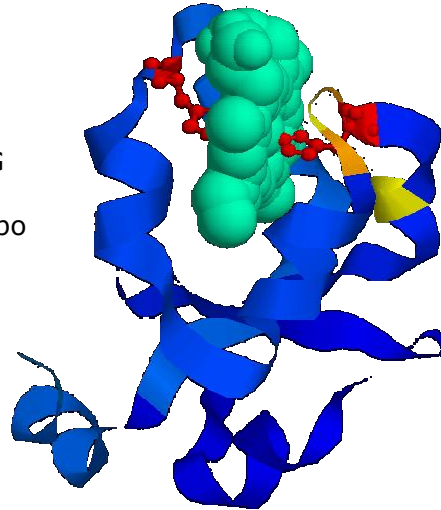


D-x-[DNS]-{ILVFW}-[DENSTG]-[DNQGHRK]-{GP}
-[LIVMC]-[DENQSTAGC]-x(2)-[DE]-[LIVMFW]

Heme-binding motif

[FY]-[LIVMK]-x(2)-**H**-P-[GA]-G

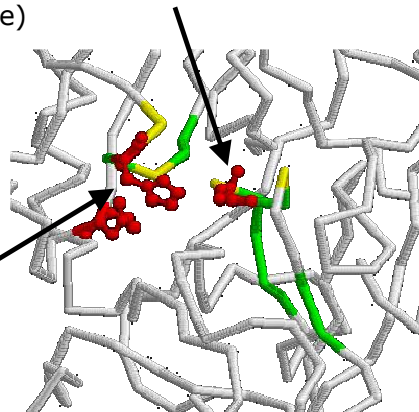
[H è il ligando assiale del gruppo eme]



Trypsin active site signatures

[DNSTAGC]-[GSTAPIMVQH]-x(2)-G-[DE]-**S**-G-
[GS]-[SAPHV]-[LIVMFYWH]- [LIVMFYSTANQH]
(serine signature)

[LIVM]-[ST]-A-[STAG]-**H**-C
(histidine signature)

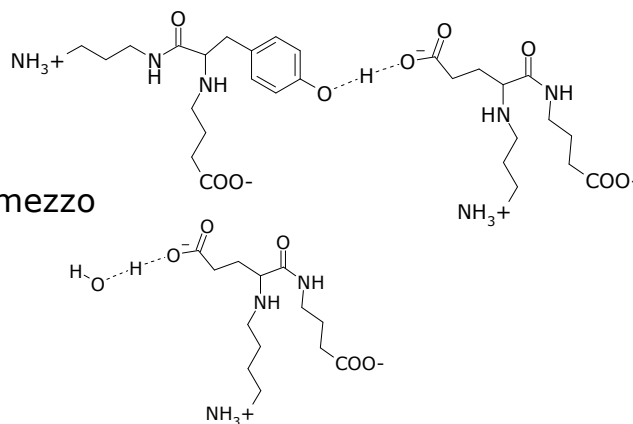


Struttura terziaria

- Ripiegamento (Folding) che porta alla formazione di strutture tridimensionali.
- I legami che sono coinvolti nella stabilizzazione della struttura III sono legami tra catene laterali
 - Legami H
 - Van del Vaals
 - Idrofobici
 - Coppia ionica
 - -S-S-
 - ...

Legami H

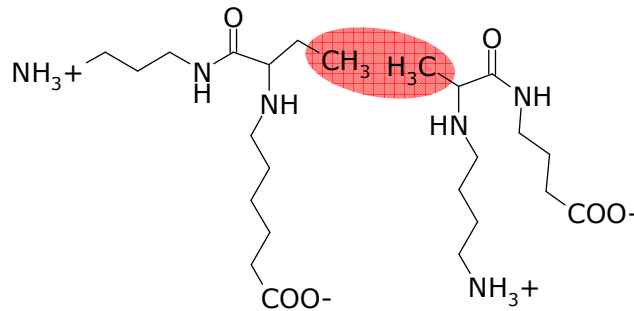
- È un legame H tra le catene laterali di due aminoacidi vicini...



- ... o con il mezzo

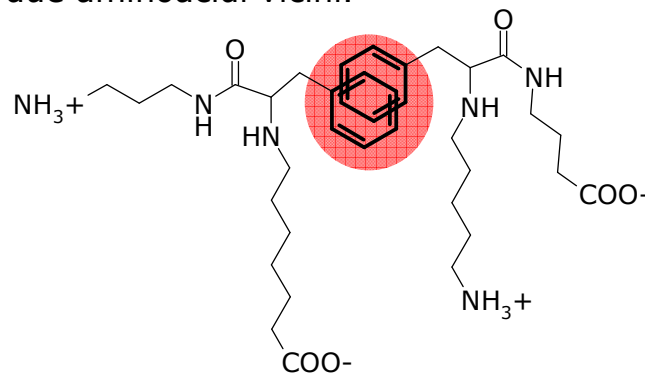
Van der Waals

- È un legame elettrostatico tra le catene laterali di due aminoacidi vicini.



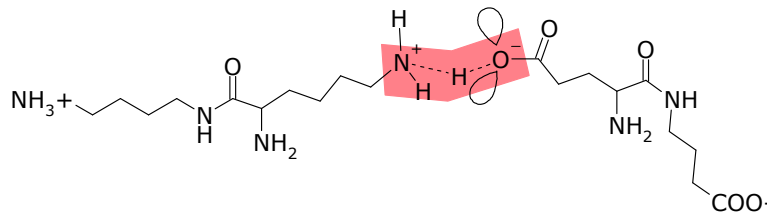
Interazione idrofobica

- È un legame elettrostatico tra le catene laterali di due aminoacidi vicini.



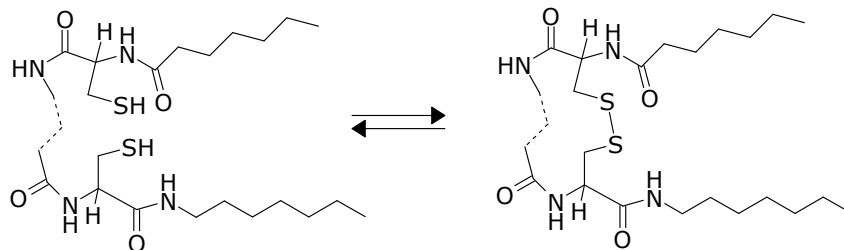
Coppia ionica

- È un legame elettrostatico tra le catene laterali di due aminoacidi carichi vicini.

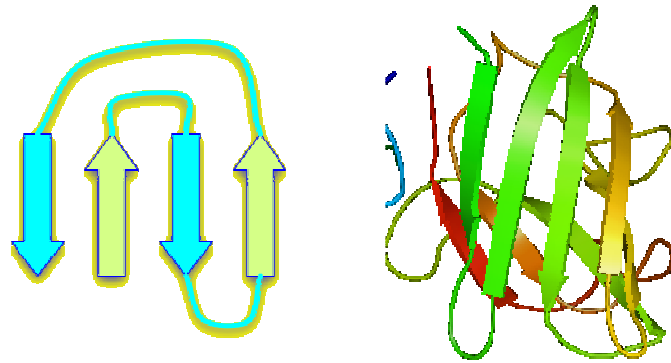


Ponti disolfuro

- È un legame tra due cisteine (anche non adiacenti) che prevede l'ossidazione del gruppo SH.

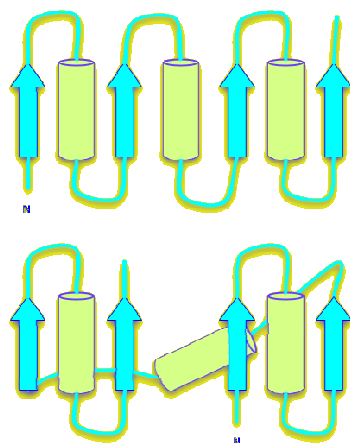


Topologia



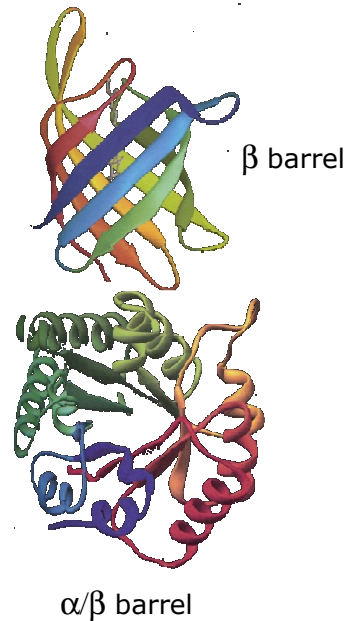
Topologia a chiave greca nella superossido dismutasi (SOD)

Stessi elementi diversa topologia



Domini

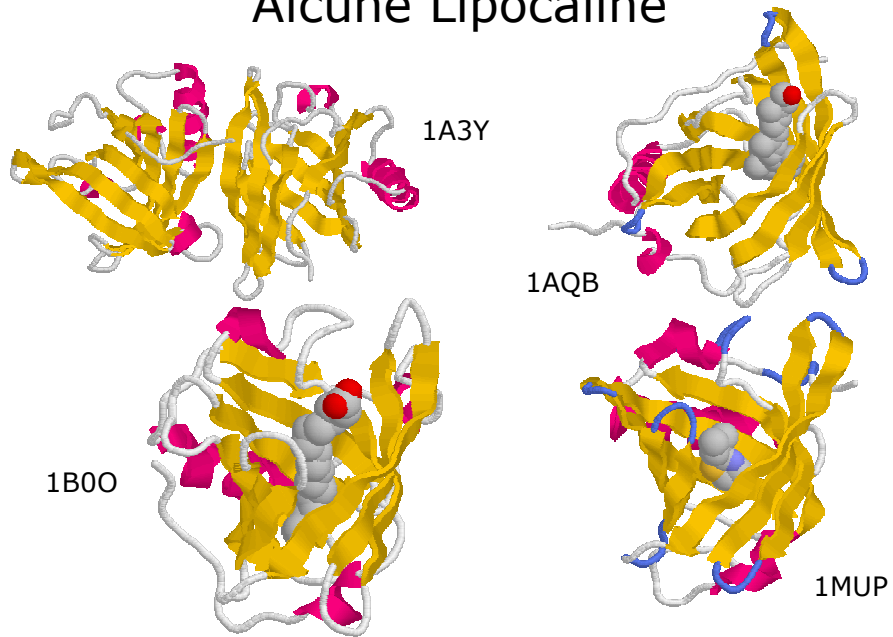
- Unità fondamentale del folding
- È la combinazione di diversi elementi di struttura secondaria e/o motivi, non necessariamente contigui, che sono impaccati in una struttura globulare.
- Un dominio può ripiegarsi indipendentemente in una struttura tridimensionale stabile con una specifica funzionalità.



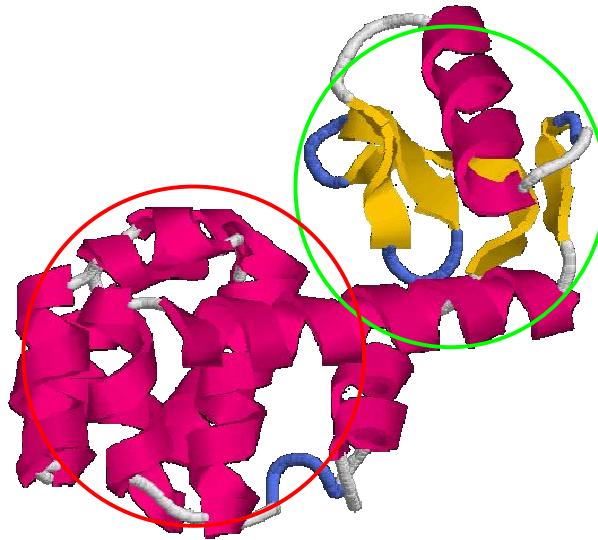
β barrel

- LIPOCALINE
 - Odorant Binding Protein From Nasal Mucosa Of Pig 1A3Y
 - Retinol-Binding Protein (Rbp) From Pig Plasma 1AQB
 - Bovine β -Lactoglobulin 1B0O
 - Pheromone binding to rodent urinary protein 1MUP

Alcune Lipocaline

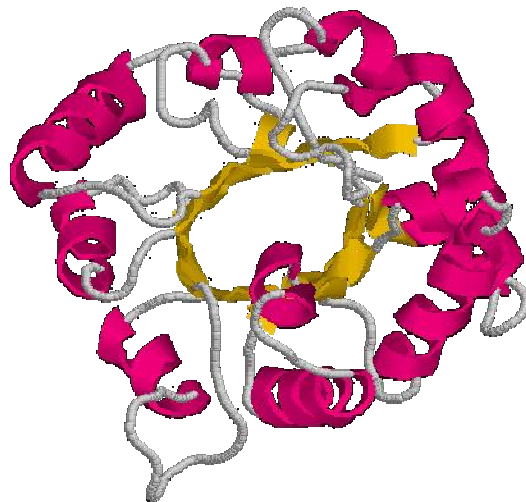


Una proteina con domini multipli



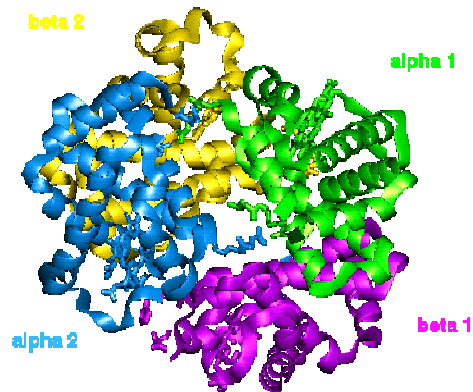
Cores delle proteine

- Il "core" di una proteina è il motivo comune, strutturalmente conservato che distingue una classe di proteine.
- Il "core" è definito come una regione strutturale comune ad un gruppo di sequenze.
- Proteine con simili funzioni hanno simili "cores".
- Le regioni periferiche (fuori dal "core") possono avere struttura anche molto diversa.



Struttura quaternaria

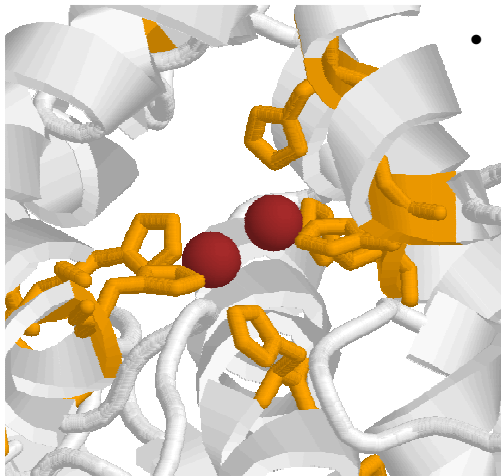
- Proteine formate da più catene polipeptidiche
- Stechiometria definita
- Legami ionici ed idrofobici
- Gli oligomeri sono più stabili delle subunità dissociate
- Siti attivi si possono formare tra le catene
- Il legame di ligandi può cambiare la struttura.



Gruppi prostetici

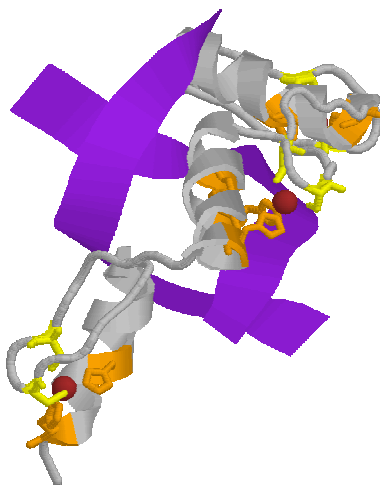
- Metalli
 - Legati direttamente (Fe^{++} , Fe^{+++} , Zn^{++} , Ca^{++} , Co^{++} , Cu^{++} , Mg^{++} , Mn^{++} ...)
 - Attraverso un gruppo eme (Fe^{++} , Fe^{+++} , Mg^{++} ...)
 - Come complessi con lo zolfo (Fe^{++} , Fe^{+++})
- Biotina
- Acido lipoico
- Retinale
- Piridossale
- ...

Legati direttamente



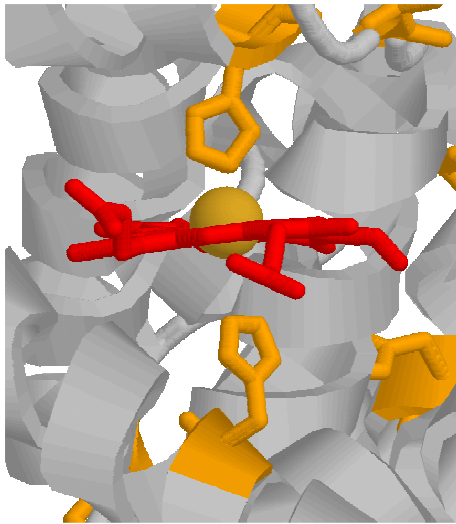
- Cu⁺⁺ nell'emocianina

Legati direttamente



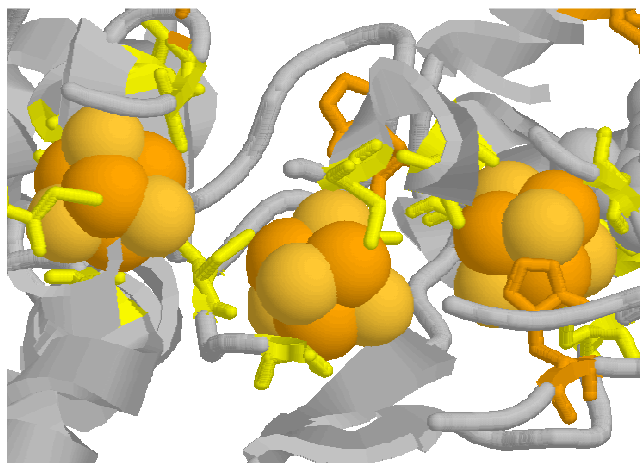
- Zn⁺⁺ nel zinc finger binding domain

Legati attraverso un gruppo eme



- Fe⁺⁺ nell'emoglobina

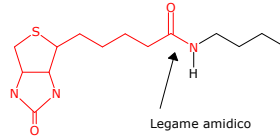
Come complessi FeS



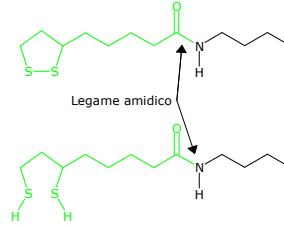
- Clusters Fe⁺⁺-S nella citocromo ossidasi

Gruppi prostetici

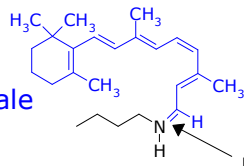
- **Biotina**



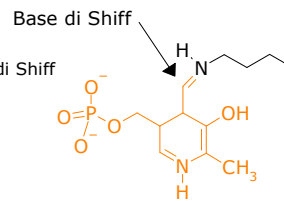
- L'**acido lipoico** (può essere ossidato o ridotto)



- **Retinale**

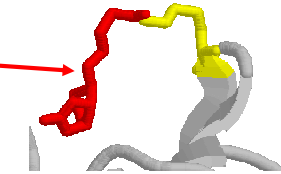


- **Piridossale**

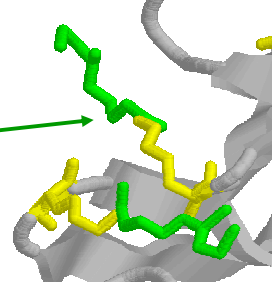


Gruppi prostetici

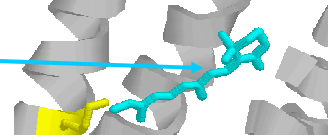
- **Biotina**



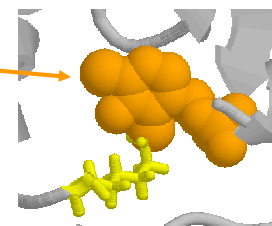
- L'**acido lipoico** (può essere ossidato o ridotto)



- **Retinale**



- **Piridossale**



Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
 - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] – Zanichelli
 - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
 - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
 - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] - Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
 - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Rensselaer Polytechnic Institute:
<http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>
- Il materiale è stato inoltre rivisto e corretto dalla **Prof. Giancarla Orlandini** dell'Università di Parma alla quale va il mio sentito ringraziamento.

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:

<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>, oppure da <http://www.qsartor.org/>

Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna a Ravenna

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it