

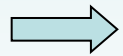
Tutte le cellule viventi sono composte da macromolecole simili, costituite dalle stesse piccole molecole di base.

La grande diversità è data dalle diverse combinazioni di 4 principali elementi

- C carbonio
- H idrogeno
- O ossigeno
- N azoto

***Sono i + piccoli elementi della tavola periodica
in grado di formare legami covalenti stabili
mediante la compartecipazione di un paio di e⁻***

La biochimica è anche definita la chimica del C:



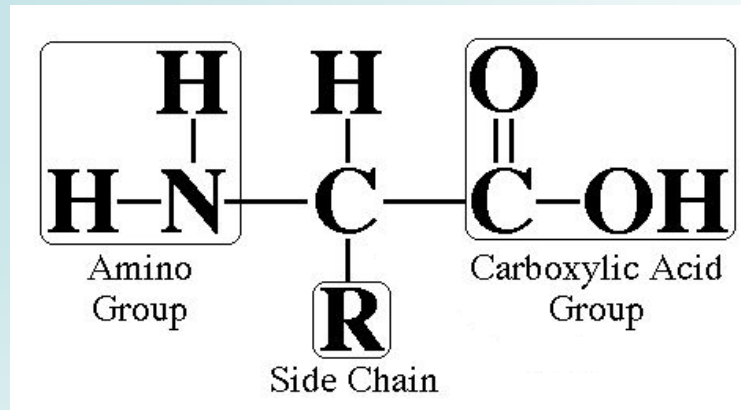
il C è l'elemento di base di tutte le molecole biologiche

- Richiede 4 e⁻ per arrivare a una configurazione elettronica stabile
- Reagisce con atomi elettronegativi come O, N, S e con l'H elettropositivo
- Forma legami singoli, doppi, e tripli con altri C, catene lineari o ramificate, anelli, combinazioni di + strutture

Le biomolecole sono ordinate in una GERARCHIA CRESCENTE
nella complessità molecolare



Aminoacidi o Amminoacidi



Gli **amminoacidi** sono le molecole di base delle proteine

20 a.a. standard, noti come α - aminoacidi:

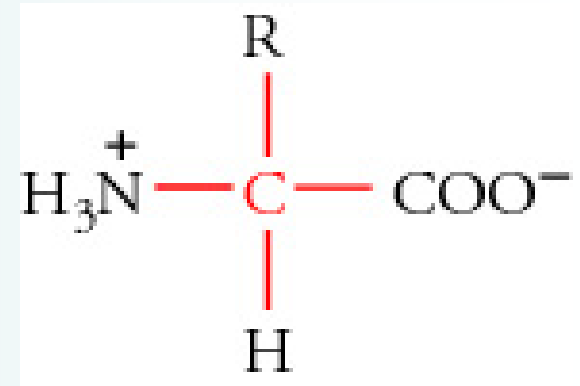
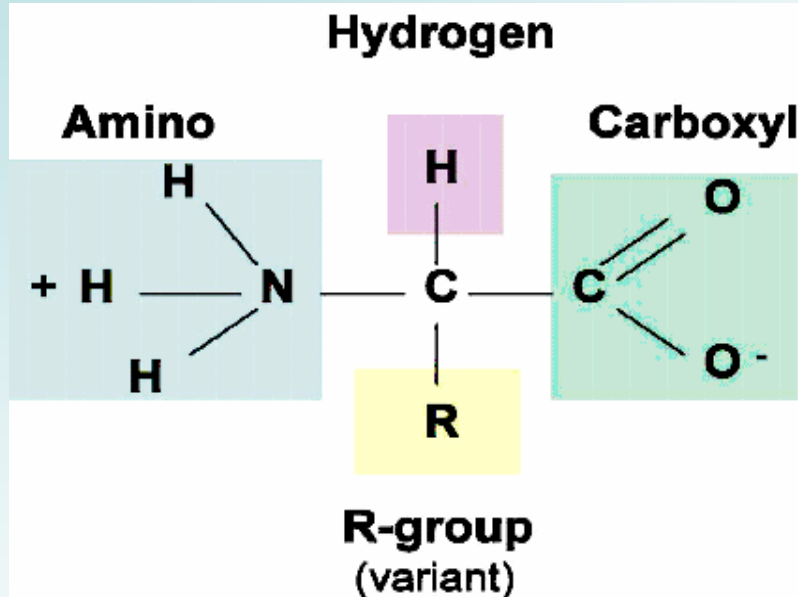
Gr. $-NH_2$ funzione amminica basica

Gr. $-COOH$ funzione carbossilica acida

presenti sullo stesso **C(α)**

Differiscono per la struttura della catena laterale (gruppo R)

Gli a.a. cristallizzano in forma di **ioni dipolari o zwitterioni**
e in soluzione acquosa possono comportarsi da acidi o basi (**anfoteri**)
I gr. -COOH e NH_2 si ionizzano completamente

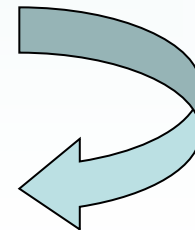


I valori di pK dei gr. Acidi Carbossilici = 2.2

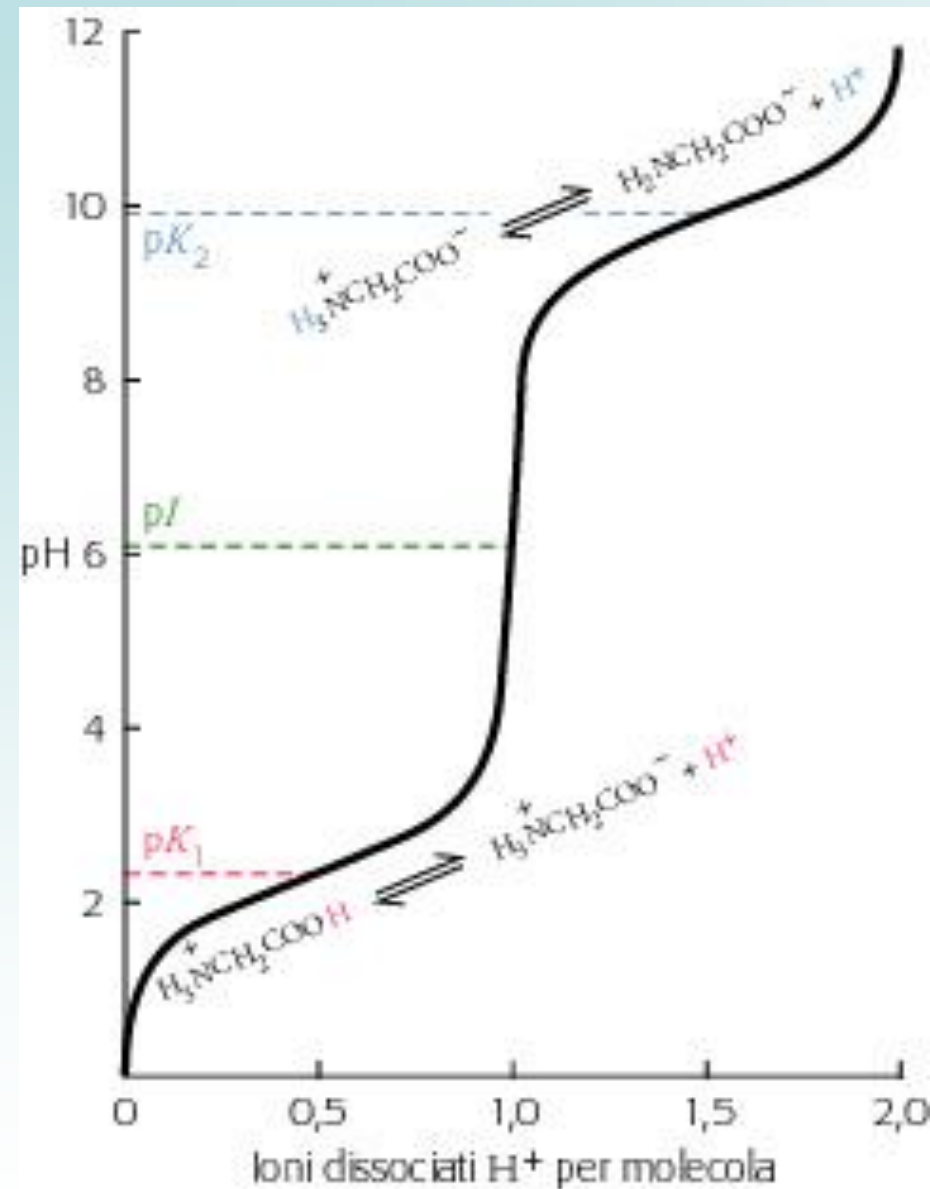
I valori di pK dei gr. Amminici (basi) = 9.4

A pH fisiologico ~ 7,4

- NH_2 sono protonati NH_3^+
- COOH sono dissociati -COO^- (base coniugata)



Curva di titolazione della Glicina



L'equazione di Henderson-Hasselbach descrive la titolazione in ogni suo tratto:

$$\text{pH} = \text{pK}_a + \text{Log} \frac{\text{A}^-}{\text{HA}}$$

A pH bassi : entrambi i gruppi sono protonati.

Durante la titolazione:

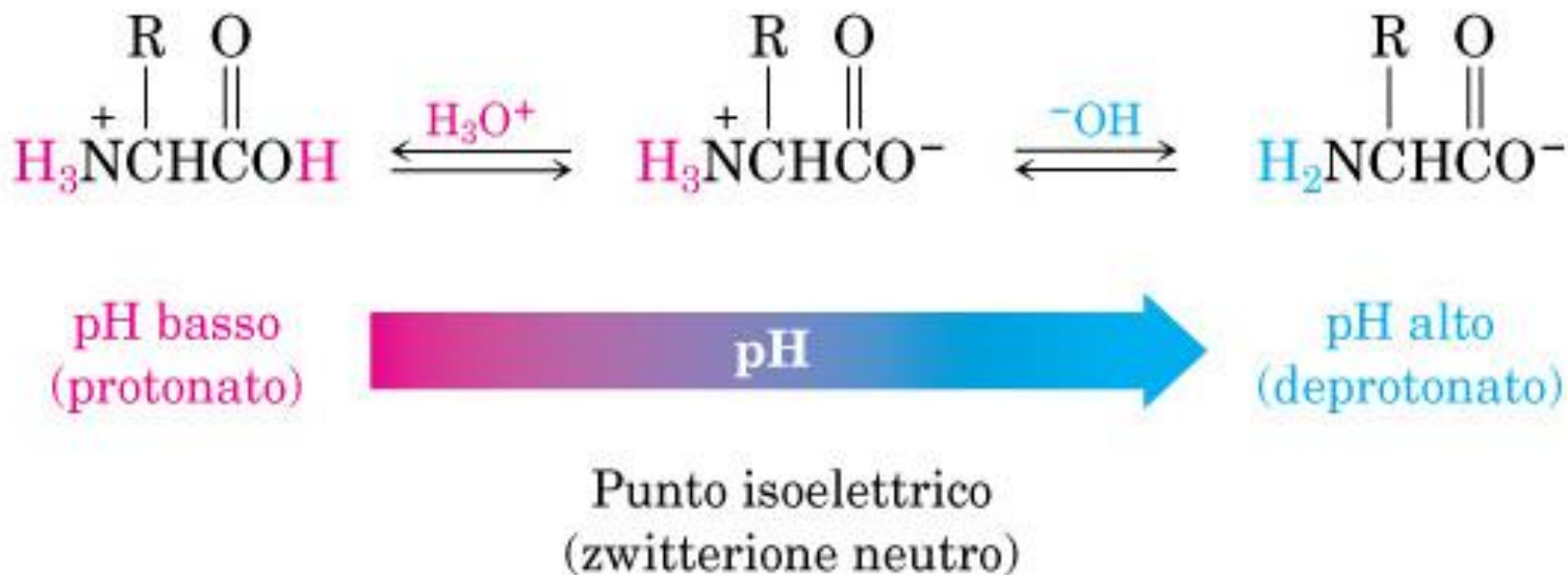
Perdita di 2 H⁺ in 2 tappe distinte:

Il pK di ogni tappa è il pH del punto centrale dei corrispondenti flessi

pI = punto isoelettrico :

- pH a cui la molecola non ha carica elettrica netta e *non ha mobilità in un campo elettrico*

Al pI la soluzione non ha potere tamponante



- Il punto isoelettrico è rappresentato dal valore di pH al quale la molecola di aminoacido è presente come zwitterione.
- Il valore del punto isoelettrico è caratteristico di ogni amminoacido, nella maggior parte dei casi il suo valore è vicino alla neutralità,

Essendo il pH dei liquidi fisiologici ~ 7

—————> è giusto scrivere le formule degli aminoacidi come zwitterioni

A $\text{pH} > \text{pI}$ $\longrightarrow$ carica netta - $\longrightarrow$ l'a.a. si muoverà verso anodo (+)
A $\text{pH} < \text{pI}$ $\longrightarrow$ carica netta + $\longrightarrow$ l'a.a. si muoverà verso il catodo (-)

***Per ogni a.a. + il pH è lontano dal pI
maggiore è la sua carica elettrica e la sua mobilità in un campo elettrico***

$$\text{pI} = \frac{1}{2} (\text{pK}_1 + \text{pK}_2) \quad K_1 \text{ e } K_2 \text{ sono le 2 costanti di dissociazione}$$

Il gr. $\alpha\text{-COOH}$ dell'a.a. è molto + forte rispetto a un ac. carbossilico:

CH_3COOH $\text{pK} = 4,76$

Alanina $\text{pK} = 2,34$

La presenza di NH_3^+ aumenta la forza acida

NH_3^+ ha:

- carica +
- Elettronattrattore



Favorisce la dissociazione di COOH e
la perdita del protone H^+

Gli a.a. con gr. R ionizzabile: Curve di titolazione con 3 tappe di ionizzazione e 3 pK

Il sistema + utile per classificare i 20 a.a. standard sfrutta la diversa polarità delle catene laterali

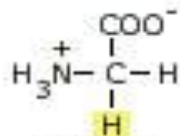
3 classi:

1. GRUPPI **R NON POLARI** (10 – 9)
2. GRUPPI **R POLARI MA NON CARICHI** (5-6)
3. GRUPPI **R CARICHI** (5)
 - positivamente** (basici) (3)
 - negativamente** (acidi) (2)

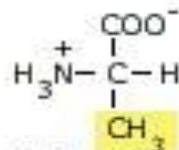
La collocazione nei gruppi è a volte arbitraria

L'inserimento di un a.a. non riflette sempre le sue proprietà di a.a. isolato, ma il suo comportamento quando fa parte di un polipeptide

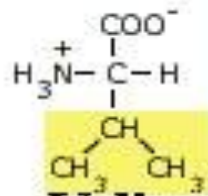
Aminoacidi con R non polare



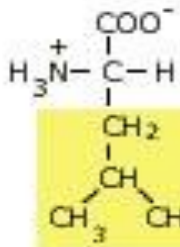
Glicina



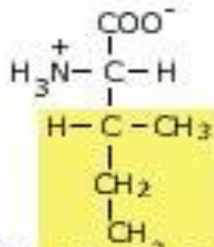
Alanina



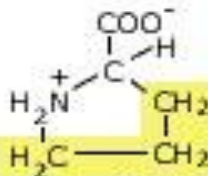
Valina



Leucina

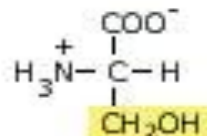


Isoleucina

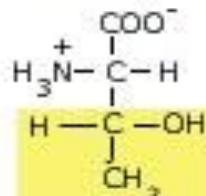


Prolina

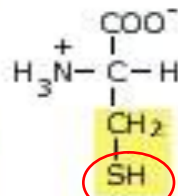
Aminoacidi con R polare



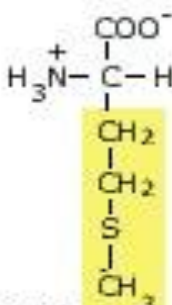
Serina



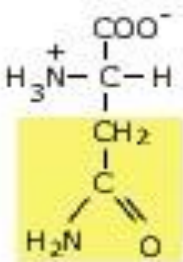
Treonina



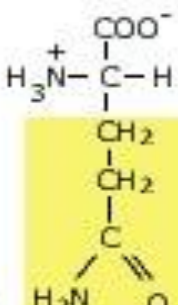
Cisteina



Metionina

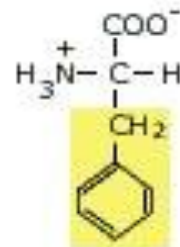


Asparagina

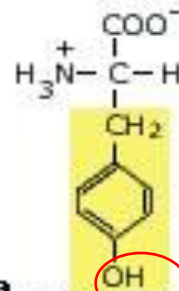


Glutammina

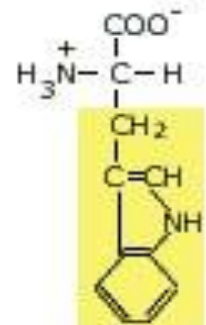
Aminoacidi con gruppi aromatici



Fenilalanina

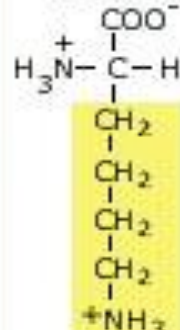


Tirosina

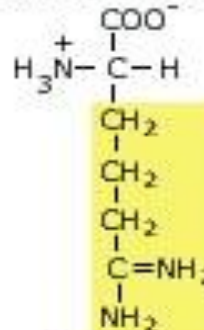


Triptofano

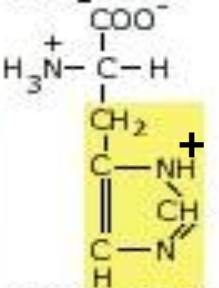
Aminoacidi con R carico posit.



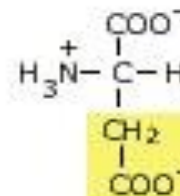
Lisina



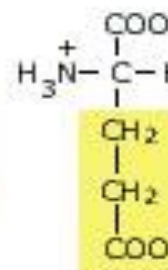
Arginina



Istidina

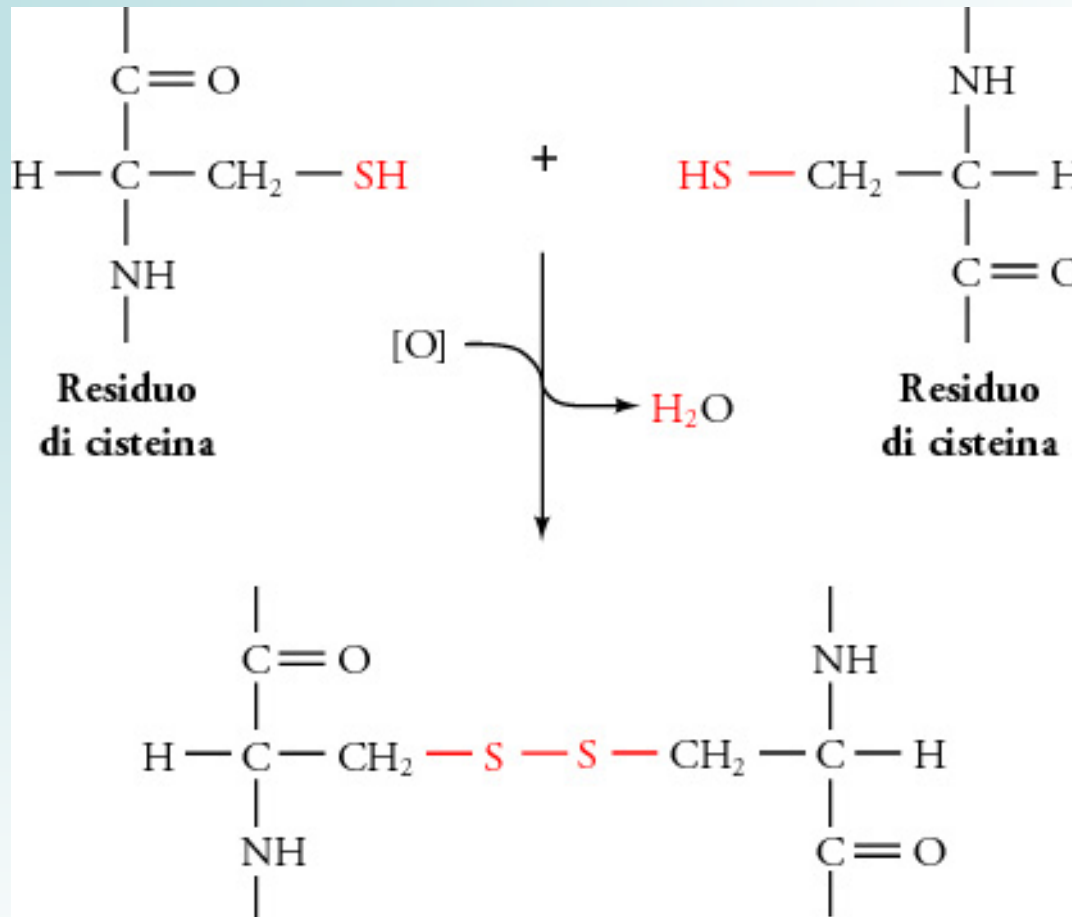


Ac. aspartico



Ac. glutammico

R carico
Negativ.



CISTINA

La cisteina ha una catena ionizzabile.

A pH elevati Il gruppo tiolico forma un ponte disolfuro

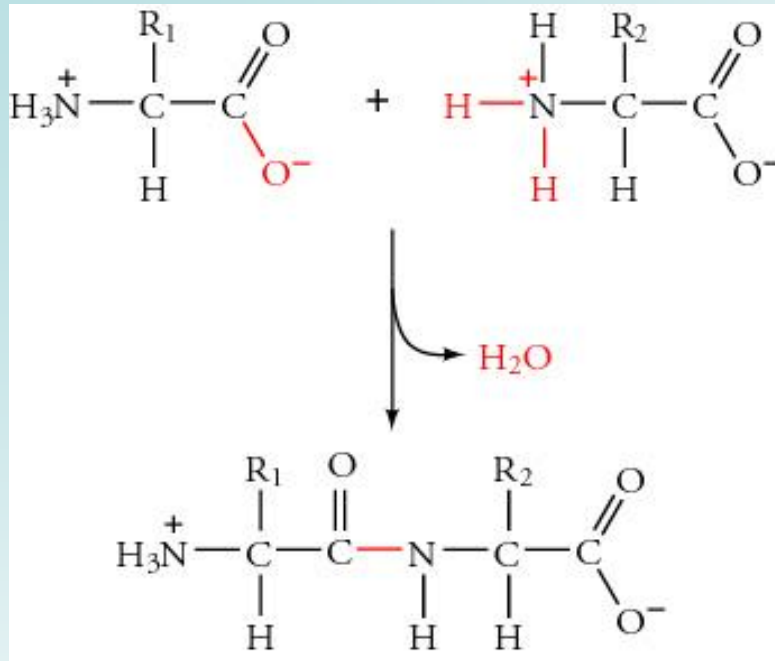
Il diagramma classifica gli aminoacidi in base alle loro proprietà chimiche e fisiche. Gli aminoacidi sono disposti in una tabella colorata che li categorizza in idrofobici, idrofili, aromatici, contenitori di zolfo, ecc. Sono incluse anche le sigle a tre e una lettera, i nomi completi, le masse molecolari e i punti isoelettrici.

Classificazione degli aminoacidi:

- Idrofobici:** Gly (Glicina), Ala (Alanina), Val (Valina), Leu (Leucina), Ile (Isoleucina), Met (Metionina), Phe (Fenilalanina), Trp (Tryptofano), Tyr (Tirosina).
- Idrofili:** Asp (Aspartato), Glu (Glutammato), His (Istidina), Lys (Lisina), Arg (Arginina), Ser (Serina), Gln (Glutamina), Asn (Asparagina), Thr (Treonina).
- Aromatici:** Phe, Trp, Tyr.
- Contiene Zolfo:** Met, Cys.
- Contiene Gruppo OH:** Thr, Ser, Gln, Asn.
- Contiene il gruppo:** NC(=O) (Gruppo ammidico).
- Contiene gruppo COO⁻:** Tutti gli aminoacidi.
- Contiene gruppo NH₃⁺:** Tutti gli aminoacidi.

Proprietà chimiche e fisiche:

- Idrolibicità:** Indica la tendenza degli aminoacidi a formare legami idrogeno.
- Punto isoelettrico:** Il pH al quale l'aminoacido è neutro.
- Sigla a 3 lettere:** Sigla completa dell'aminoacido.
- Sigla ad 1 lettera:** Sigla abbreviata dell'aminoacido.
- Nome:** Nome completo dell'aminoacido.
- Massa monoisotopica:** Massa molecolare dell'aminoacido.



La **POLIMERIZZAZIONE** degli a.a. è una reazione di

CONDENSAZIONE= eliminazione di 1 molecola di H_2O

Si forma il legame PEPTIDICO, un legame amidico:

⇒ Dipeptidi, Tripeptidi, Oligopeptidi, Polipeptidi

✓ I residui alle estremità restano liberi:

Residuo amminoterminale **N-terminale**

Residuo carbossiterminale **C-terminale**

✓ Le strutture dei polipeptidi dipendono:

- Tendenza delle catene polari ioniche ad essere solvate dall' H_2O
- Tendenza delle catene non polari ad associarsi fra loro e non con H_2O (Effetto idrofobico)

Gli a.a. all'interno di una catena polipeptidica hanno

- i gr. COOH e NH₂ impegnati in legami
- nella struttura tridimensionale di una proteina ripiegata i gr. N- e C-terminali possono avvicinarsi → interazione elettrostatica
→ variazione dei valori di pK anche di diverse unità di pH rispetto ad a.a. liberi

STEREOCHIMICA

Tutti gli a.a. sono otticamente attivi:

possono ruotare il piano della luce polarizzata

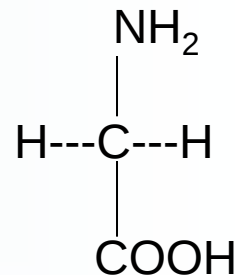
Le molecole otticamente attive sono

- **Asimmetriche** = non sovrapponibili alla loro immagine speculare
- Hanno C tetraedrico con 4 sostituenti diversi

Il C asimmetrico è il Centro Chirale

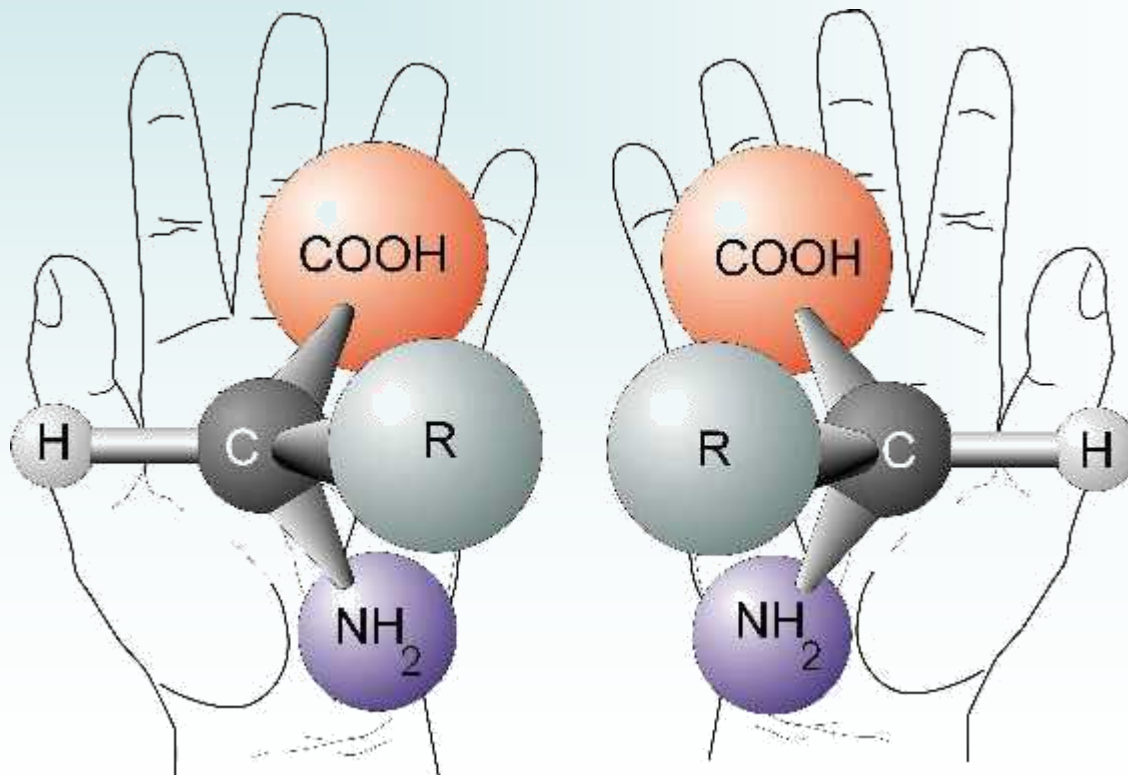
(Cheiros = mano)

Eccetto la glicina

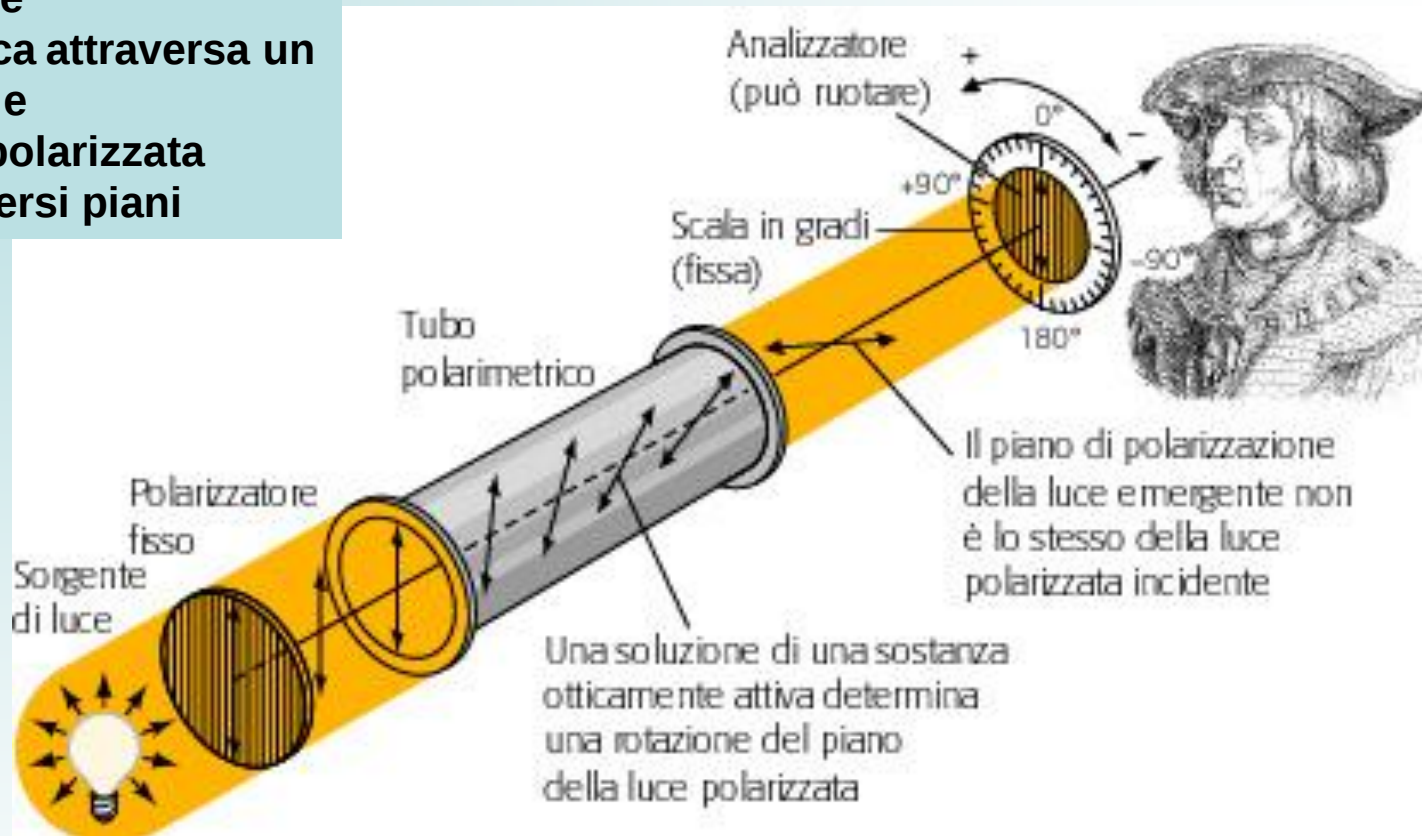


Il termine chiralità deriva dalla parola greca *cheiròs* che significa "mano"

Si definisce chirale un oggetto, o una molecola, esistente in 2 forme che siano immagini speculari non sovrapponibili



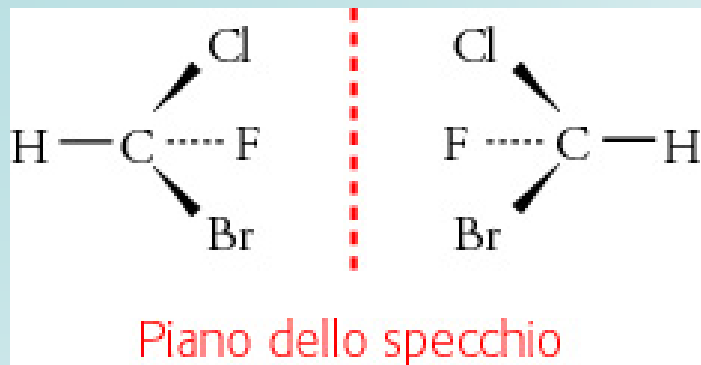
Il fascio di luce monocromatica attraversa un polarizzatore e la luce viene polarizzata lungo due diversi piani



I piani di polarizzazione non formano più lo stesso angolo con la sezione principale dell'analizzatore: l'immagine formata avrà una metà meno luminosa dell'altra.

Per determinare il **potere rotatorio della soluzione**, si ruota l'analizzatore fino ad ottenere nuovamente la situazione in cui le due metà dell'immagine hanno la stessa luminosità:

l'angolo del quale si è dovuto ruotare l'analizzatore è la rotazione della polarizzazione dovuta all'attività ottica del campione.



Le immagini speculari non sovrapponibili

Sono dette **ENANTIOMERI** :

- ruotano il piano della luce polarizzata della stessa entità ma in direzioni opposte (+ o -)
- **non sono distinguibili per proprietà fisiche o chimiche diverse**

ma solo per la loro **Asimmetria:**

- Rotazione del piano della luce polarizzata
- Reattività con reagenti contenenti centri chirali

Non esiste relazione fra la struttura di una molecola e l'angolo e la direzione di rotazione della luce polarizzata

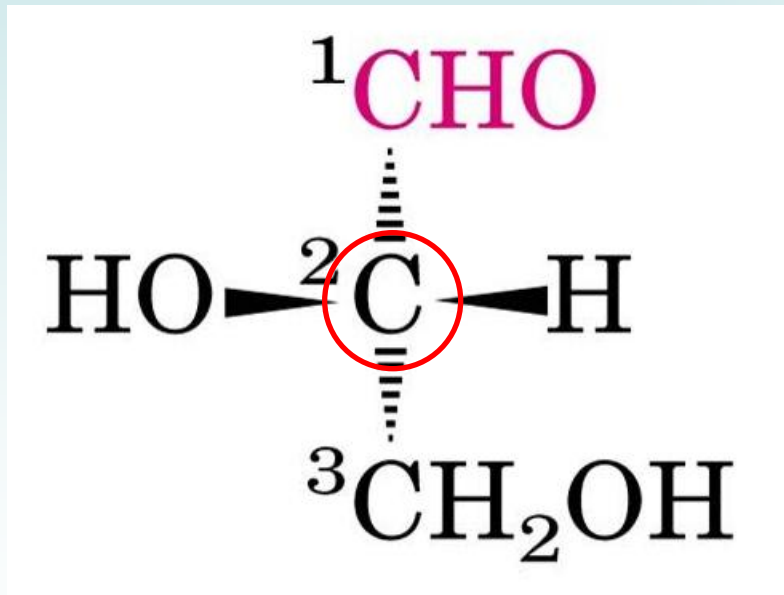


Non è possibile predire la configurazione assoluta dei gruppi di un centro chirale partendo da misure di attività ottica e viceversa

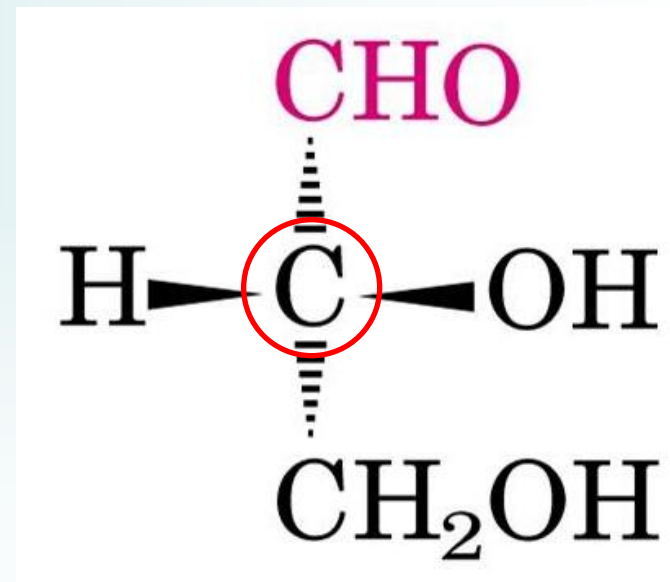
La stereochimica degli a.a. viene espressa in termini di *configurazione assoluta* dei 4 sostituenti diversi

Intorno al C asimmetrico:

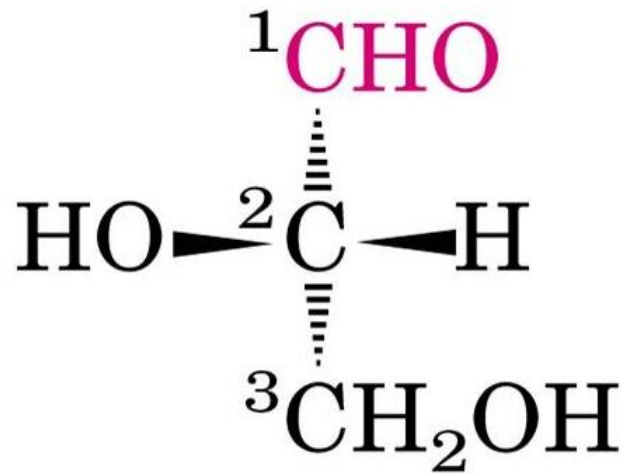
Gli stereoisomeri di tutti gli a.a. vengono correlati strutturalmente ai 2 stereoisomeri della **gliceraldeide**



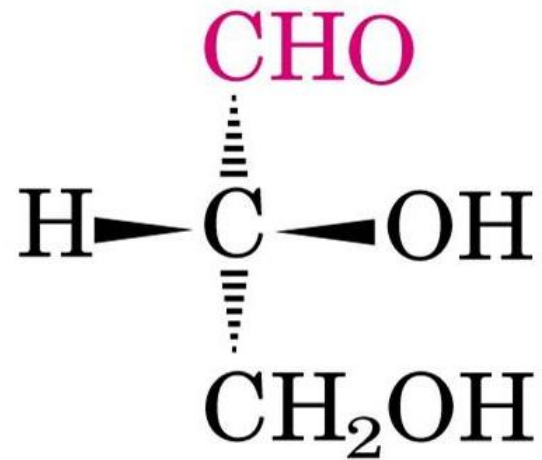
L-Gliceraldeide



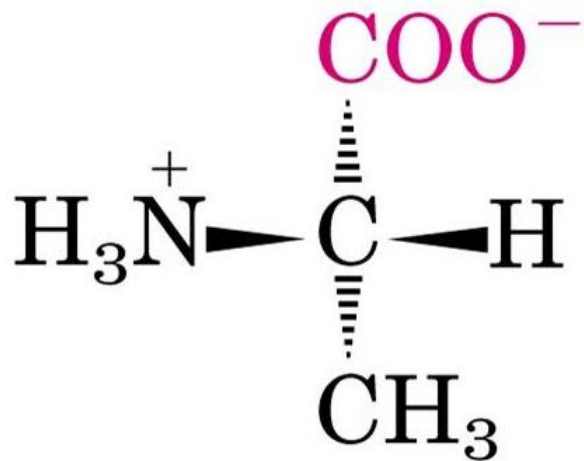
D-Gliceraldeide



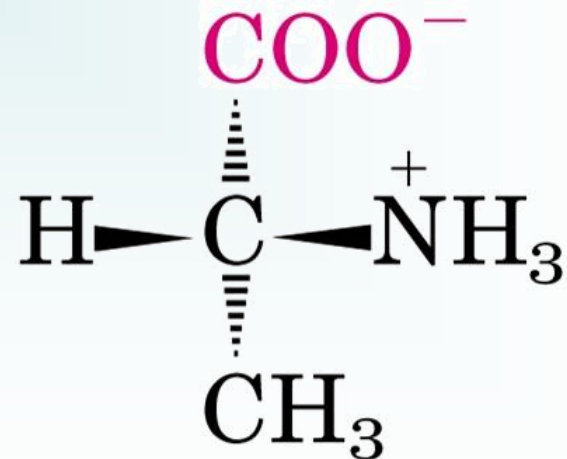
L-Glicerinaldeide



D-Glicerinaldeide



L-Alanina



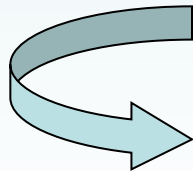
D-Alanina

**Tutti gli a.a. presenti nelle proteine
sono della serie stereochimica L**

Tuttavia alcuni sono *levogiri* = rotazione - campo luce polarizzata

Altri sono *destrogiri* = rotazione + campo della luce polarizzata

Ogni centro di asimmetria ha 2 configurazioni possibili



1 molecola con **n** centri chirali

2^n configurazioni possibili

Gli enantiomeri sono identici per la maggior parte delle loro proprietà chimiche e fisiche, ma spesso hanno **proprietà biologiche molto diverse**

ASPARTAME:

un amminoacido modificato, 200 volte più dolce dello zucchero.
Il suo enantiomero è amaro

MORFINA:

una delle sue forme è usata come analgesico e come droga, il suo enantiomero è molto meno efficace

LIMONENE:

una forma di limonene profuma d'arancio, il suo enantiomero di acquaragia

In laboratorio la *sintesi di una molecola chirale* porta a una

Miscela racemica = miscela equimolecolare di stereoisomeri L e D

Tutti gli a.a. naturali hanno configurazione L

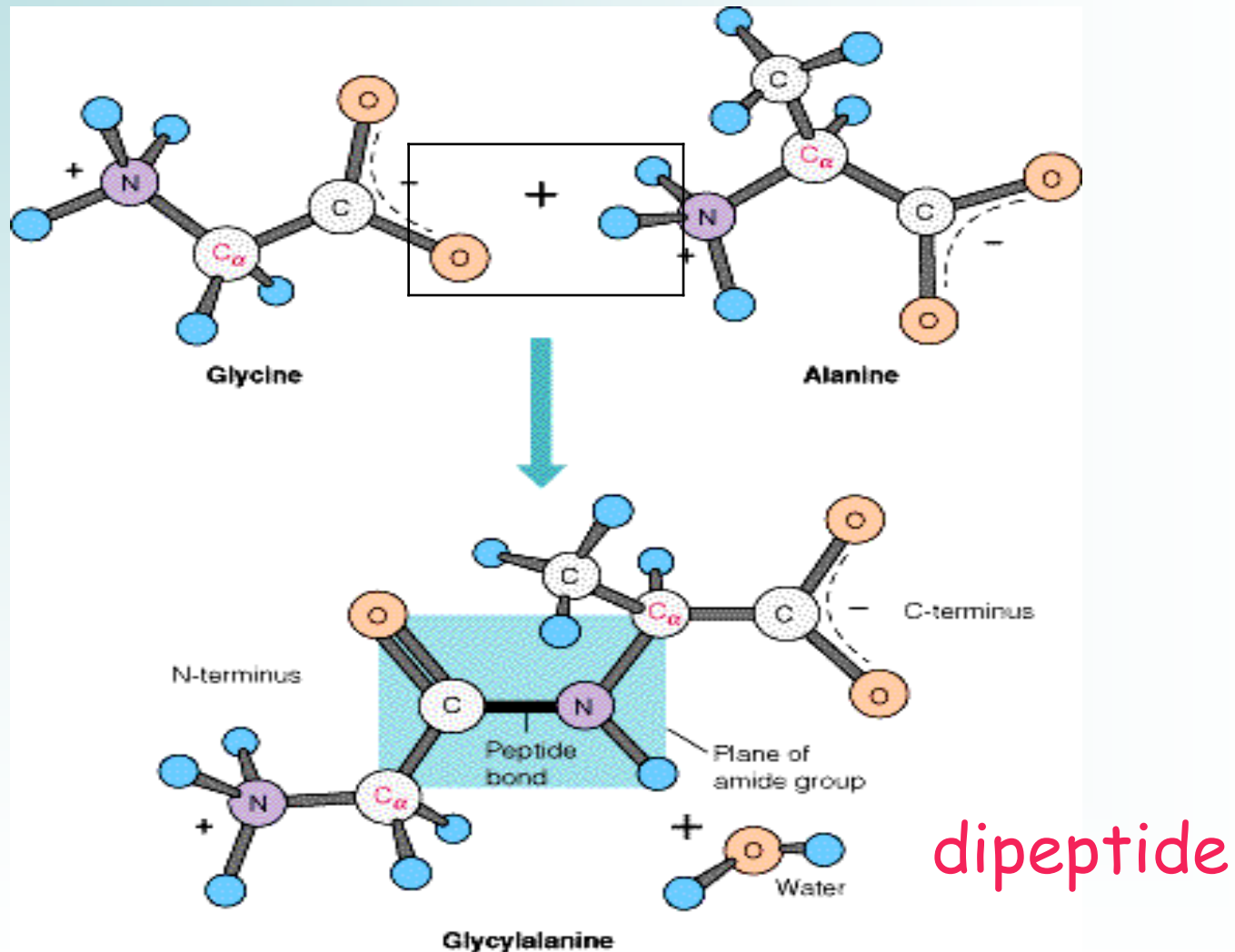
I processi biosintetici producono stereoisomeri puri

Gli Enzimi hanno siti specifici per l'attacco di 1 sola
forma enantiomera (L)

Gli L- amminoacidi non possono essere sostituiti dai
loro stereoisomeri

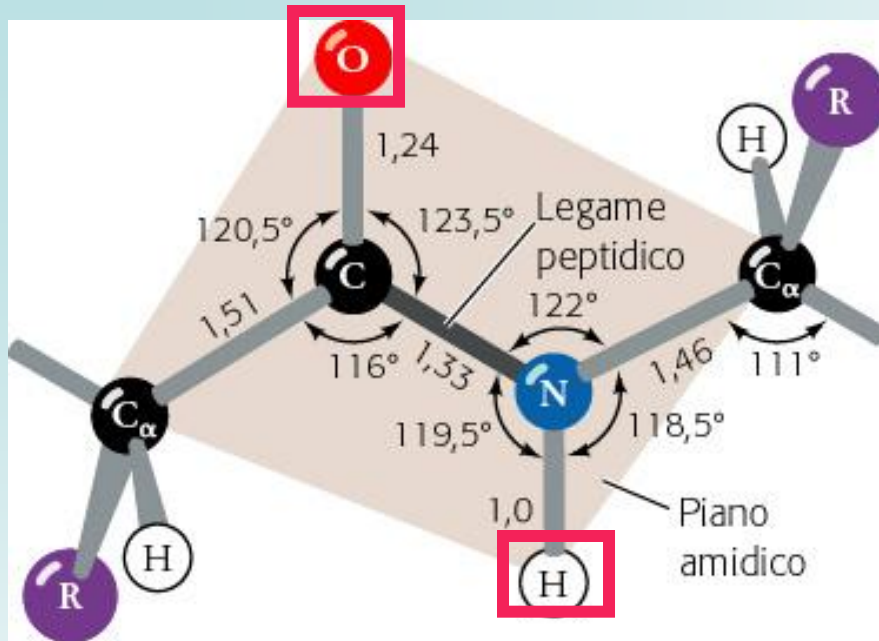
Gli amminoacidi si uniscono a formare una catena tramite il

LEGAME PEPTIDICO o ammidico



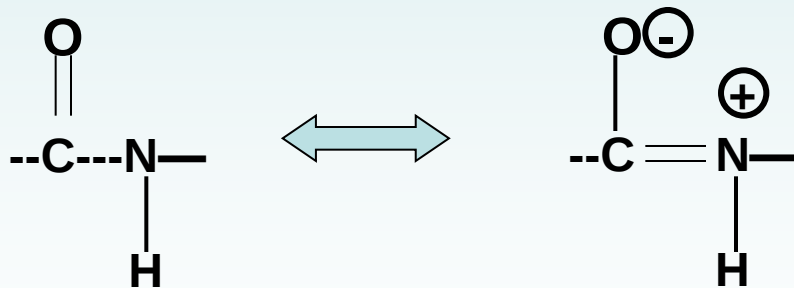
DISPOSIZIONE PLANARE RIGIDA DEL LEGAME PEPTIDICO:

I 4 atomi del gruppo peptidico sono sullo stesso piano



***L'O del gr. C-O e l'H del g. N-H
sono in posizione *trans****
uno rispetto all'altro è il risultato della

Stabilizzazione di risonanza

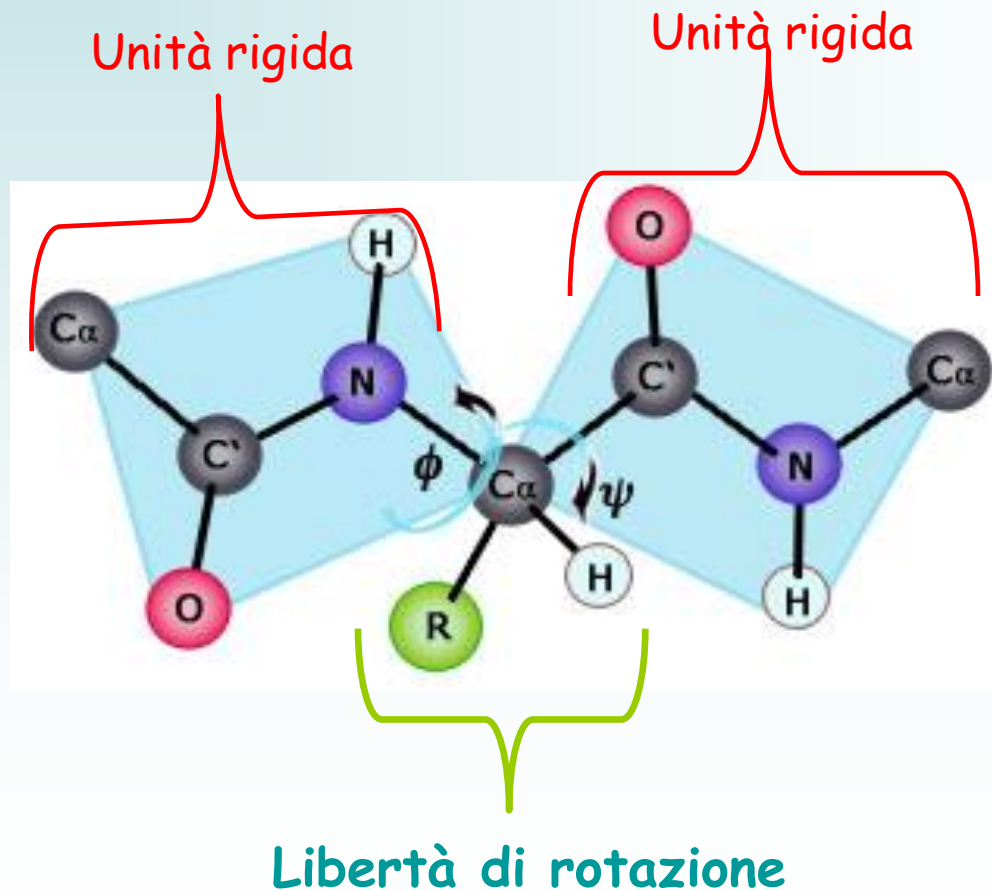


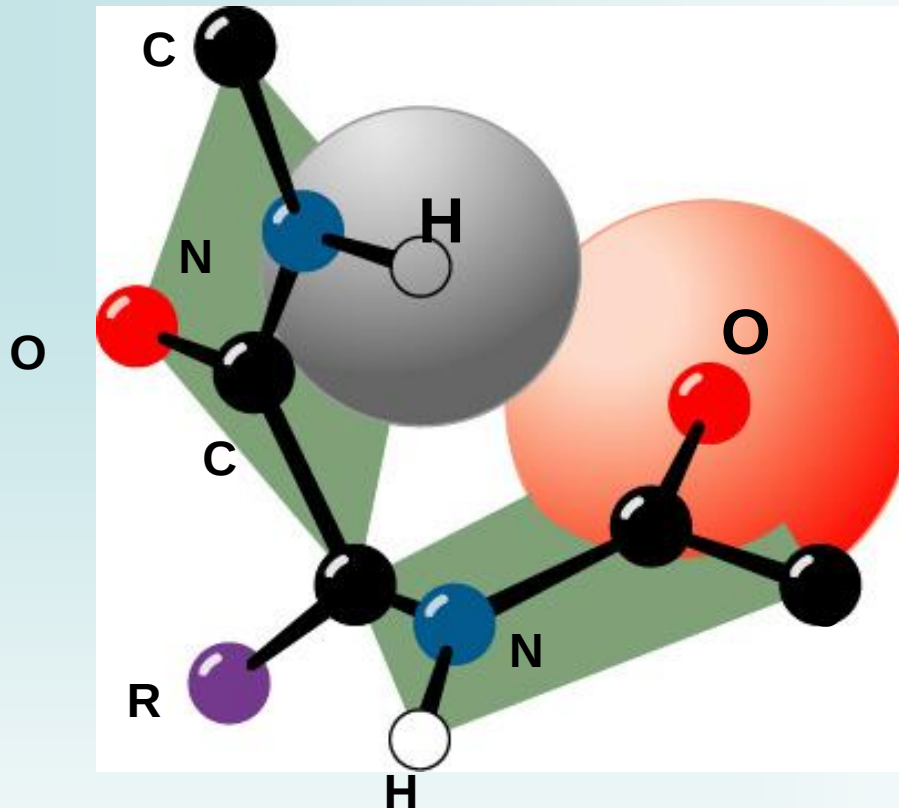
*Il legame C-N del legame peptidico è
+ corto di un semplice legame C-N,
ha caratteristiche di = legame*

***I legami peptidici impongono delle limitazioni al numero di conformazioni possibili
che una catena polipeptidica può assumere
in quanto anche i legami C-C non sono liberi di ruotare***

Due possibili rotazioni intorno ai vertici costituiti dai $C\alpha$:

- intorno al legame $C\alpha-C'$ (angolo di rotazione ψ),
- intorno al legame $N-C\alpha$ (angolo di rotazione ϕ).





Interferenze Steriche Fra Gruppi Peptidici Adiacenti

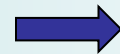
La rotazione intorno ai legami $\text{C}_\alpha \text{---N}$ e $\text{C}_\alpha \text{---C}$ può portare:

- collisione fra l'H amidico di un residuo e l'O carbonilico del residuo successivo
- i sostituenti del C_α adiacente sono + vicini delle loro distanze di van der Waals
- Nei polipeptidi + lunghi collisioni tra residui anche lontani tra loro nella sequenza

Proteine

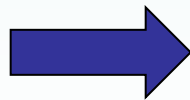
Struttura <-> funzione

- Affinché una proteina possa svolgere la propria funzione biologica, la catena polipeptidica deve ripiegarsi in modo da assumere una struttura tridimensionale stabile.



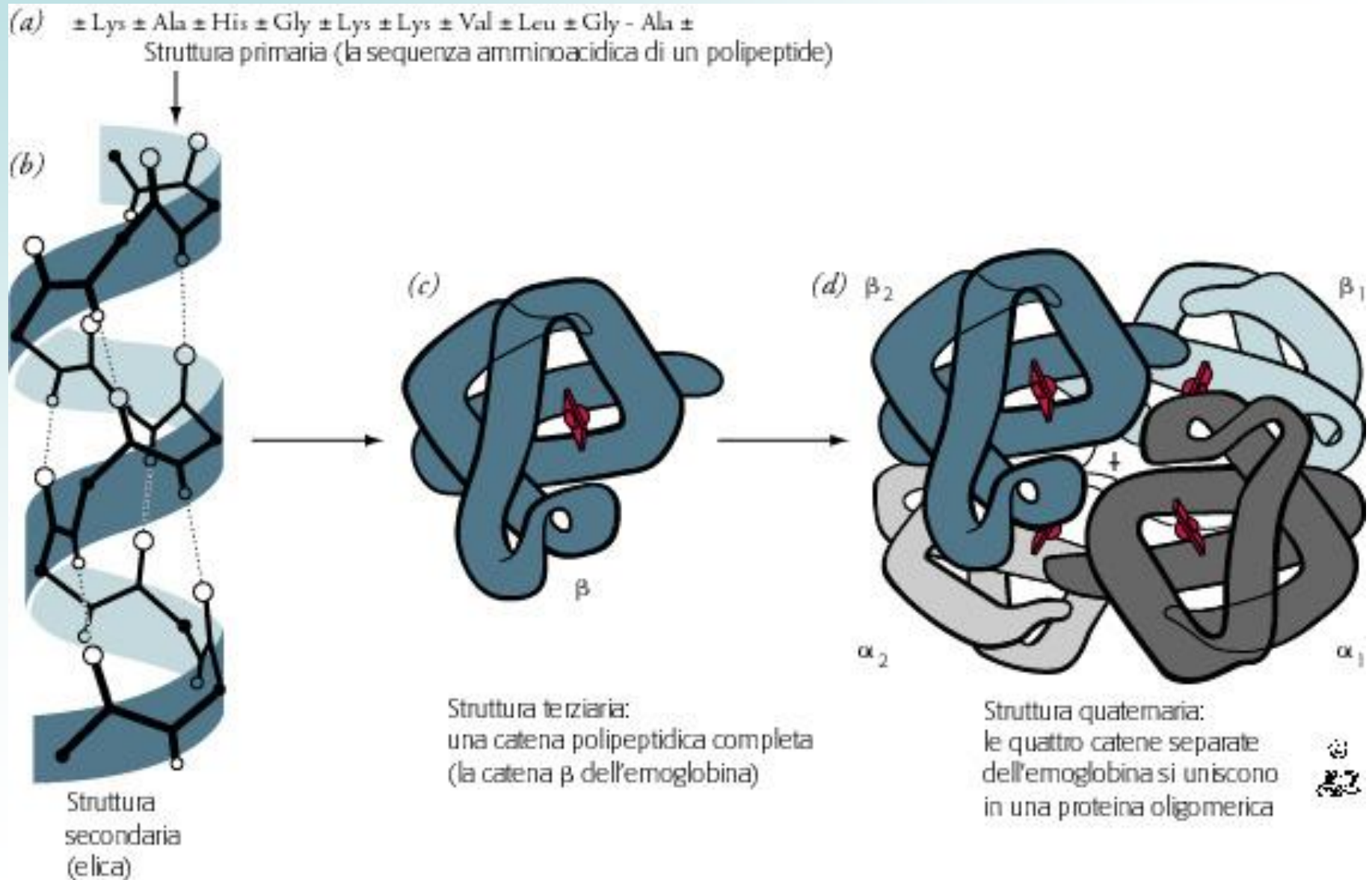
Struttura nativa

- *Nella struttura 3D di una proteina è possibile riconoscere più livelli di organizzazione, in base a un criterio di complessità*



quattro distinti livelli strutturali.

*Nella descrizione della **conformazione** di una proteina si procede per unità caratterizzate da una complessità organizzativa crescente*



❖ **Struttura I^{aria}** è la semplice sequenza degli a.a.

❖ **Struttura II^{aria}** : *eliche, foglietti, ripiegamenti*

è riferita alla disposizione spaziale degli atomi dello scheletro del polipeptide senza considerare la localizzazione delle catene laterali

❖ **Struttura III^{aria}** : *proteine Fibrose e Globulari*

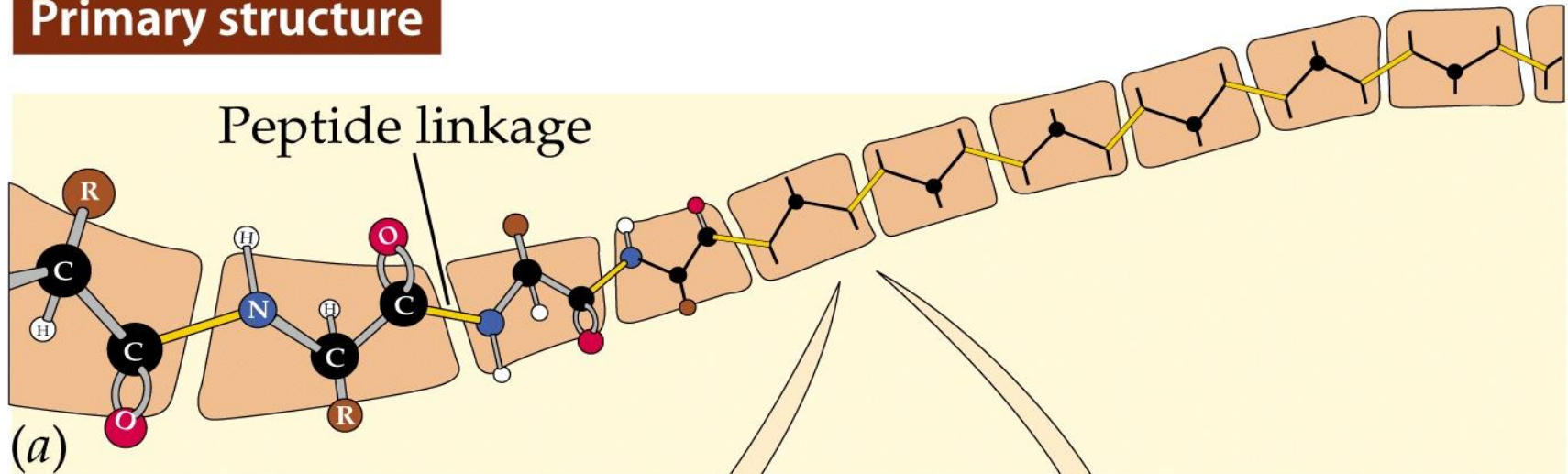
è la *struttura tridimensionale* di un intero polipeptide:

ripiegamento degli elementi della struttura I^{aria} e

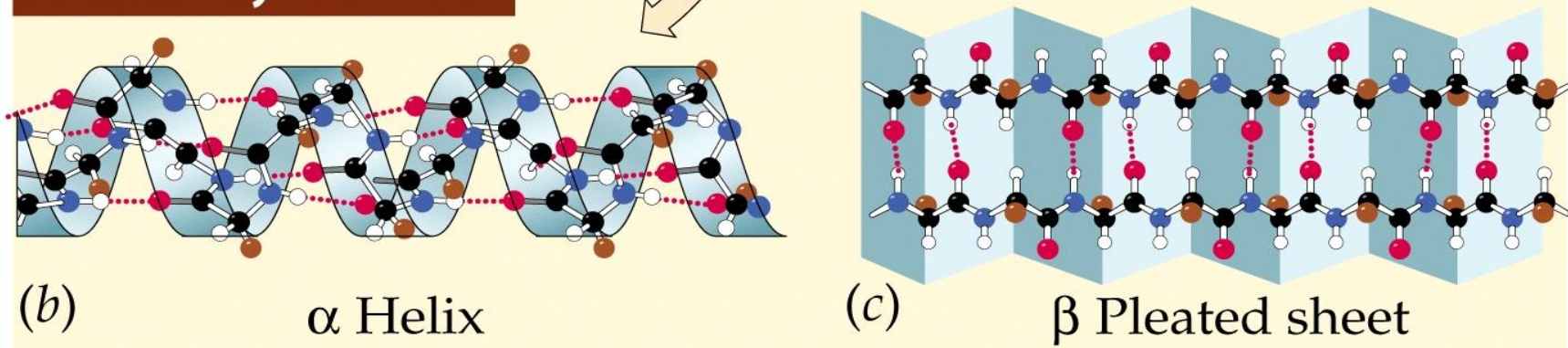
le catene laterali della II^{aria}

❖ **Struttura IV^{aria}** è la disposizione spaziale delle *subunità* di una proteina

Primary structure



Secondary structure

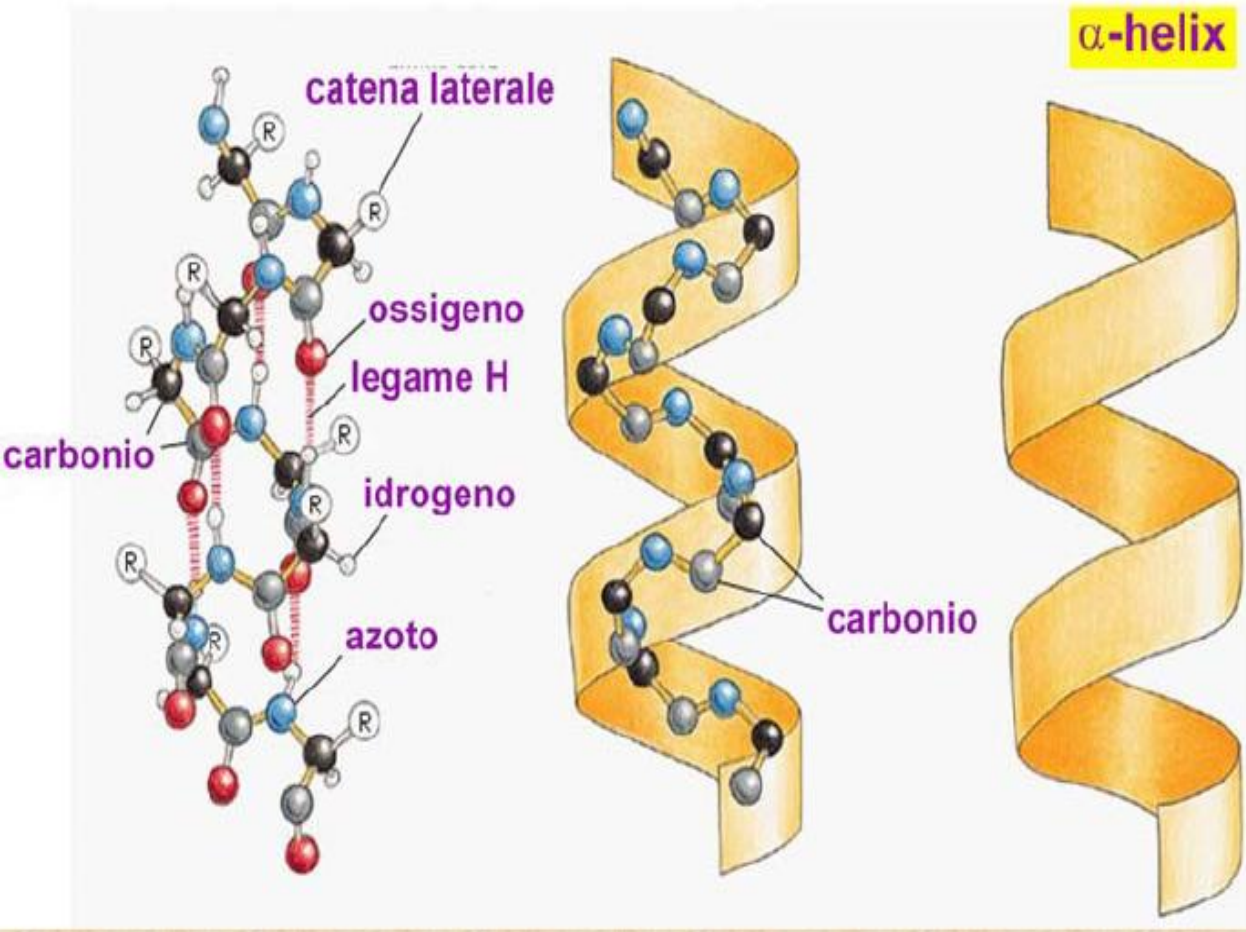


© 2001 Sinauer Associates, Inc.

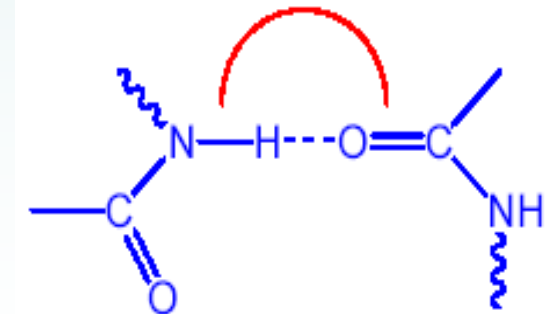
La **struttura secondaria** consiste nella conformazione spaziale delle catene carboniose.

Struttura secondaria: l' α elica

Una singola catena polipeptidica si avvolge su se stessa:
formazione di un cilindro rigido



Ciascun legame
peptidico si
salda ad altri
lungo la catena mediante
legami a idrogeno



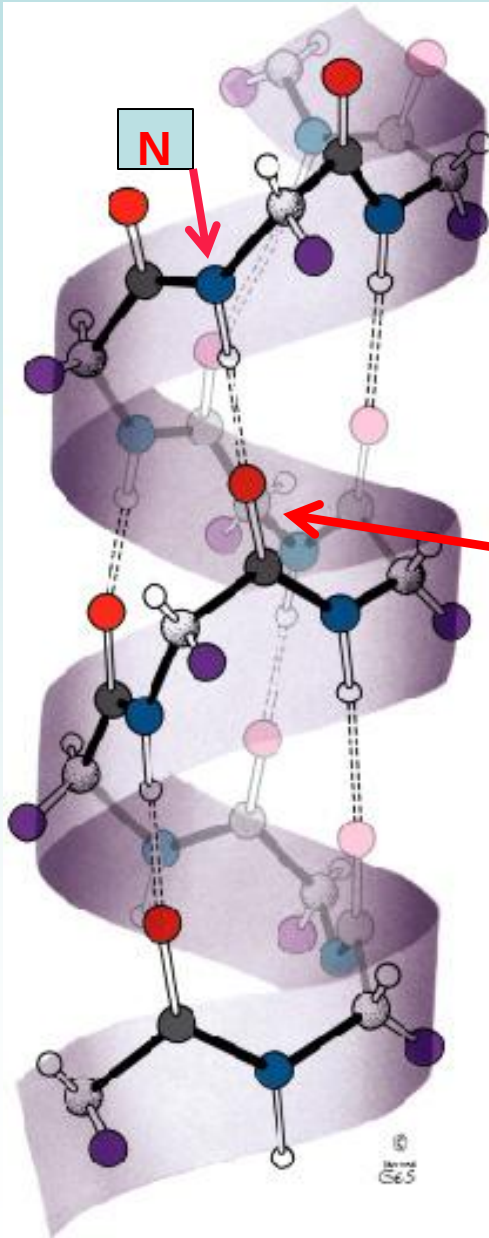
la struttura ELICOIDALE è la struttura + semplice

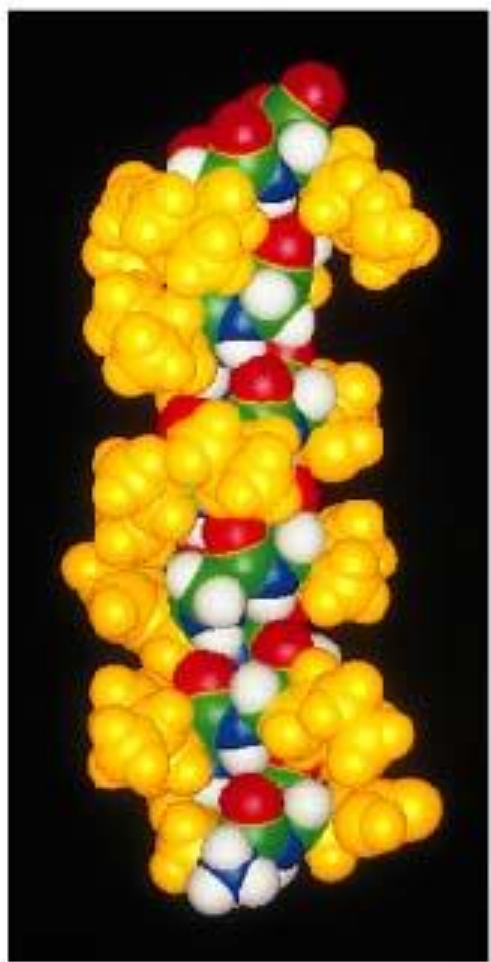
Solo un tipo di elica può assumere una conformazione compatibile

- È un' **α -elica destrorsa**.
- L' **α -elica** ha 3,6 residui di a.a. per giro e
- un passo di 5,4 Å (distanza tra un giro e l'altro)
- il legame **C=O** di un certo residuo è in corrispondenza del legame **N-H** di 4 residui + avanti

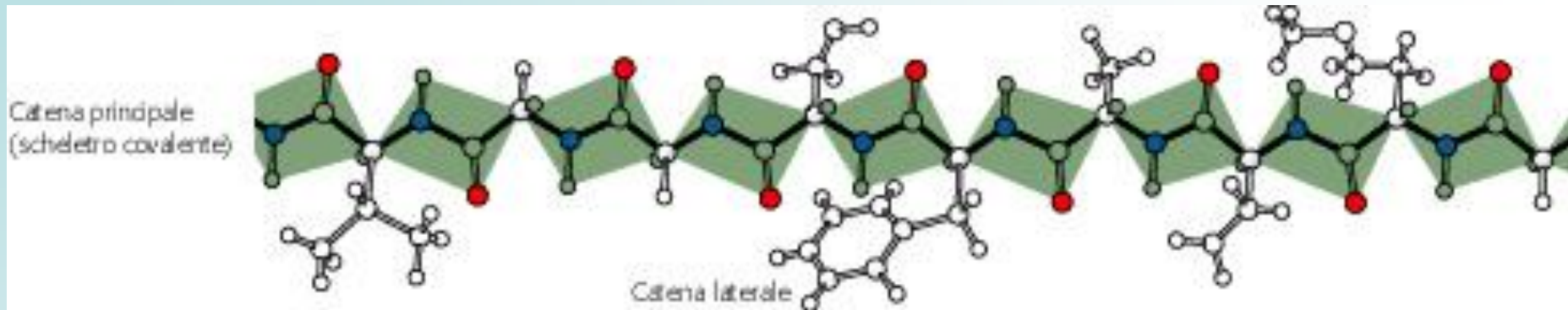
formazione di *legami idrogeno* molto forti

→ gli atomi coinvolti si trovano alla distanza ottimale 2,8 Å





- Le catene laterali degli a.a. si proiettano verso l'esterno e verso il basso rispetto all'elica per evitare interferenze steriche con lo scheletro del polipeptide o con altre catene laterali.
- *Il nucleo dell'elica è molto compatto*



Un polipeptide può anche assumere la struttura β a **Foglietto β**

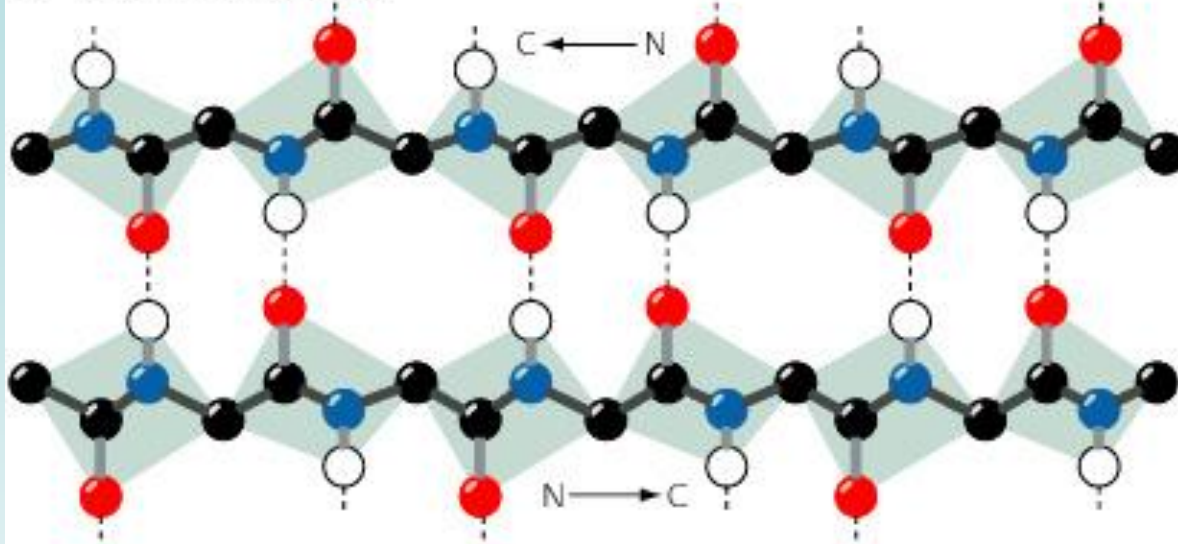
Nel foglietto β i legami idrogeno si formano fra catene affiancate e non all'interno della stessa catena come per l' α -elica.

2 tipi di foglietti:

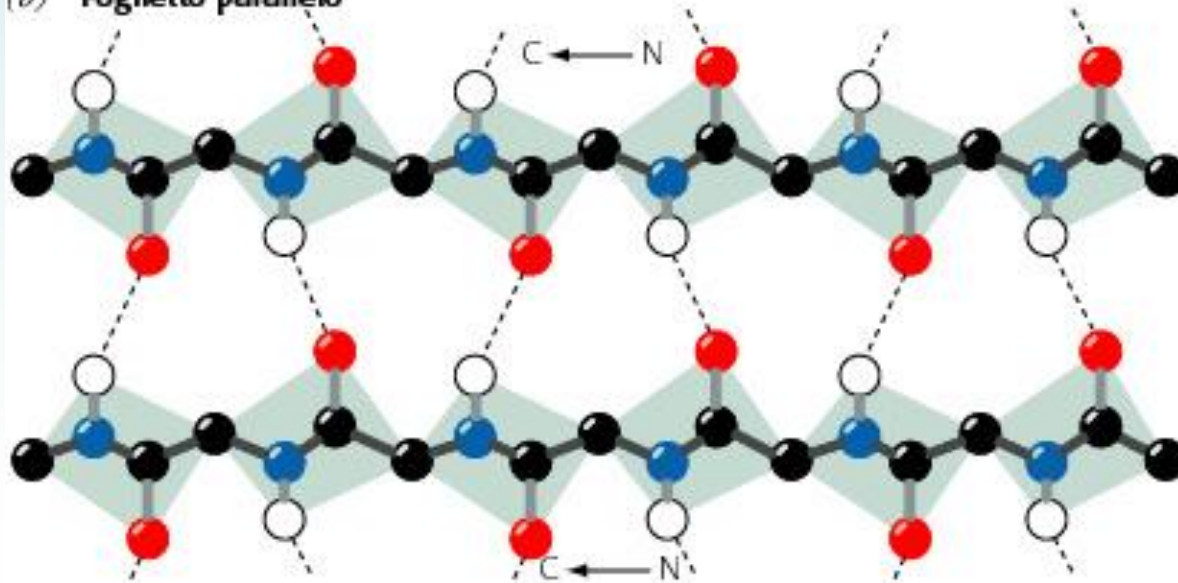
1. **β -antiparallelo** in cui le catene vicine corrono in direzioni opposte
2. **β -parallelo** le catene unite da legami H corrono nella stessa direzione

Spesso i foglietti β hanno catene sia parallele che antiparallele

(a) Foglietto antiparallelo



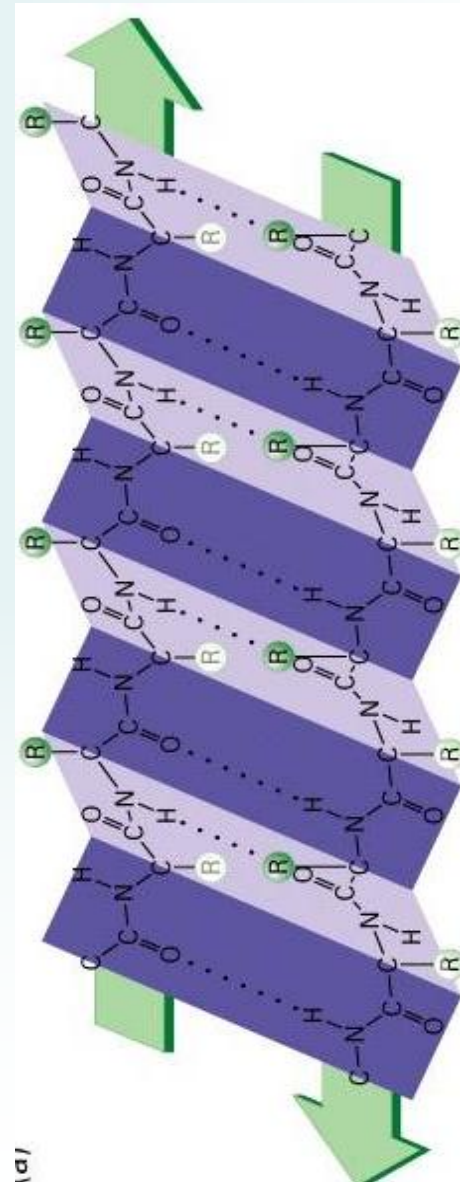
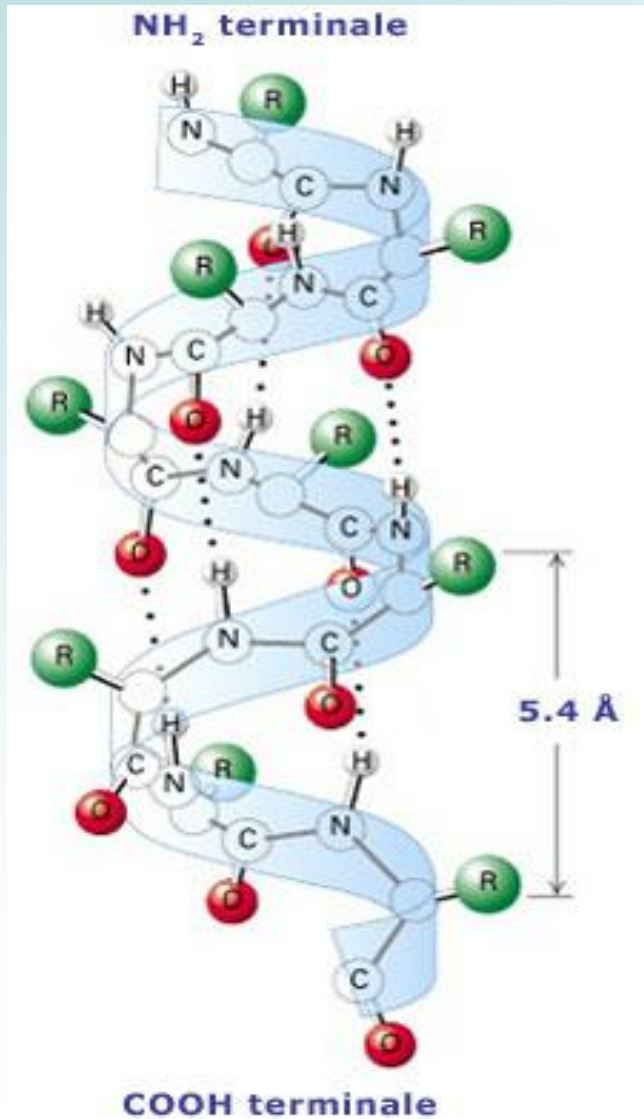
(b) Foglietto parallelo

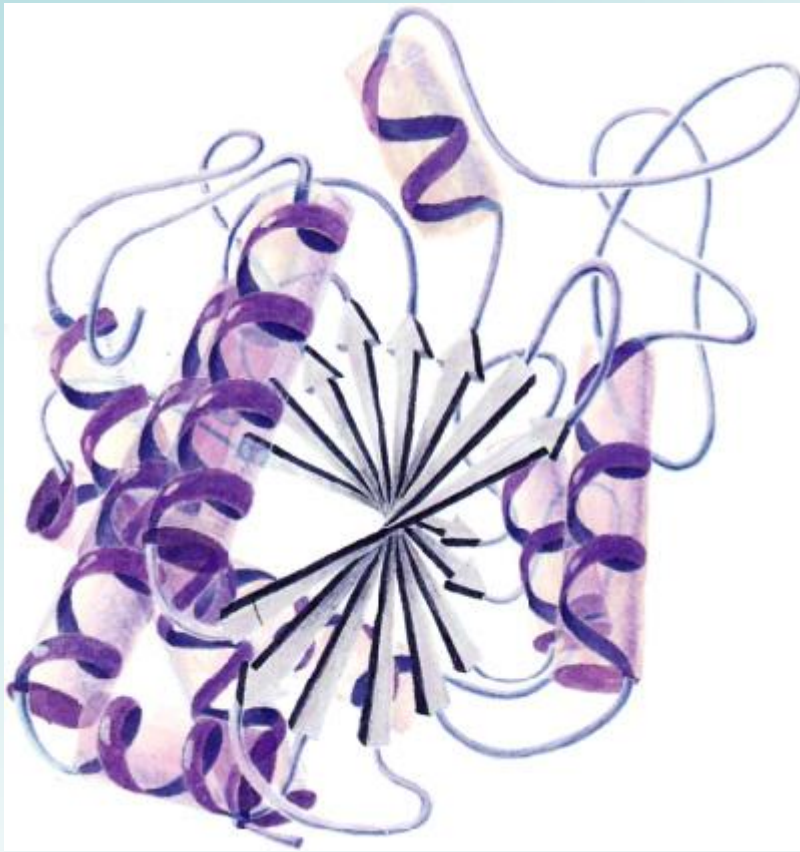


È meno stabile dell' antiparallelo perché i legami sono distorti



Confronto tra l' α elica e i foglietti β





Rappresentazione schematica:

- *Avvolgimento a nastro* per indicare le α -eliche
 - *Frecce* che puntano verso il C terminale per indicare Le catene del foglietto: è un foglietto a 8 catene.
- Le catene laterali non sono mostrate



**Via di
ripiegamento
di una
proteina**



Le proteine a seconda della **struttura III^{aria}** vengono classificate in
Fibrose o Globulari

FIBROSE le conformazioni + semplici:

Catene polipeptidiche avvolte o
disposte lungo 1 sola dimensione,
spesso in fasci paralleli

- Hanno ruolo protettivo o strutturale

Fibroina della seta

Cheratina: lana, capelli,
corni, unghie, penne

Collagene: tessuto connettivo

GLOBULARI

Le catene polipeptidiche sono ripiegate in strutture compatte con poco o
nessuno spazio interno per molecole di H₂O

Le catene laterali sono distribuite nello spazio in base alla *polarità*:

- I residui polari verso l'esterno
- Le catene non polari verso l'interno, con conformazioni a bassi livelli energetici senza un gran numero di interazioni intramolecolari

La + parte delle proteine sono globulari e contengono strutture II^{arie} regolari.

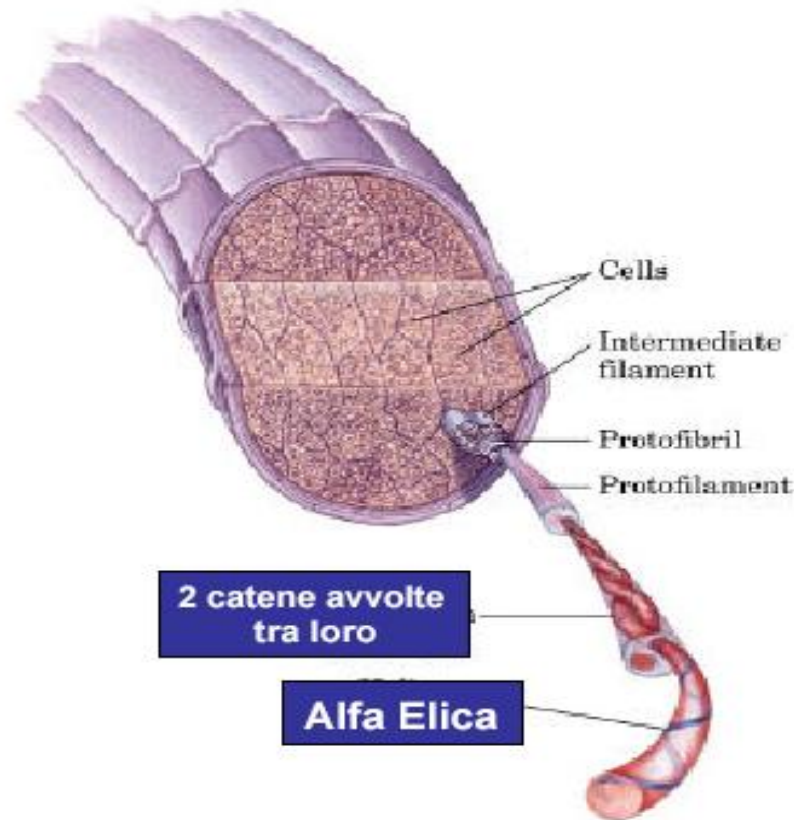
Le proteine fibrose **CHERATINE**

Hanno molte **zone ad alfa elica** (alfa cheratine)

—————> strutture **adatte a resistere alla tensione** :

lana, peli, capelli, corna, zoccoli, gusci (tartarughe).

ALFA ELICA



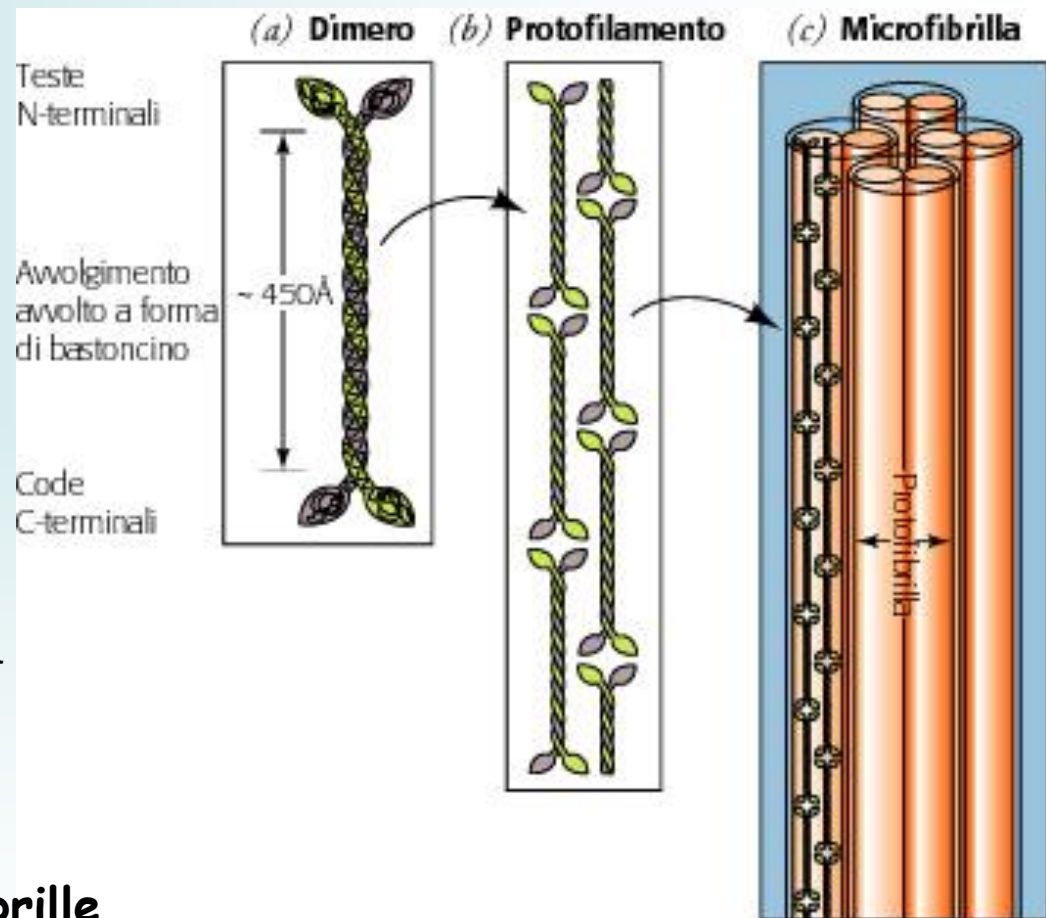
Sezione trasversale di un CAPELLO

2 molecole di **cheratina**, ognuna in forma di elica si avvolgono fra loro
La distanza è 5,1 Å e non la distanza tipica di un' α -elica (5,4 Å)

→ **Schiacciamento**
In seguito al superavvolgimento.

Elevato grado di organizzazione nella struttura:

- 2 polipeptidi di cheratina formano un **dimero** avvolto
- 2 file sfalsate di dimeri avvolti e associati in posizione testa-coda



→ **Protofilamento**

- 2 protofilamenti

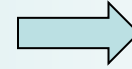
→ **Protofibrille**

- 4 protofibrille

→ **Microfibrilla**



Il collagene è la proteina + abbondante
nei vertebrati componente dei
tessuti connettivi



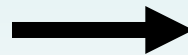
**Ossa, denti,
Cartilagine, tendini
matrice fibrosa della pelle
e dei vasi sanguigni**

È una tripla elica

Fibre resistenti agli stress meccanici e insolubili

La resistenza alla tensione è dovuta all'avvolgimento in direzione opposta delle 3 catene polipeptidiche.

- Le molecole di collagene nelle fibre hanno disposizioni sfalsate
- Legami covalenti trasversali fra le catene laterali



insolubilità

Composizione in a.a.:

30% residui di glicina
15- 30% prolina e idrossiprolina

L'**idrossiprolina** è un a.a.a non essenziale sintetizzato e dalla prolina mediante un'idrossilasi e in presenza di vitamina C (ac. Ascorbico).

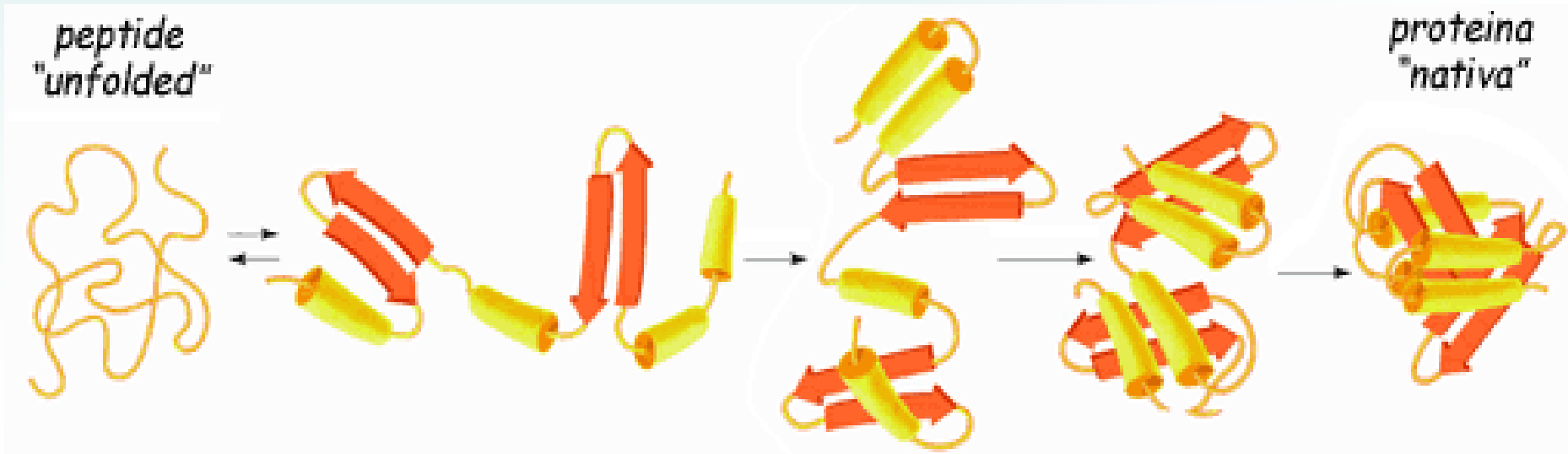
Lo scorbuto è dovuto alla carenza di ac ascorbico e provoca una sintesi alterata delle fibre di collagene.

Il ripiegamento delle proteine

Per poter svolgere la propria funzione biologica una proteina deve raggiungere una struttura 3D **stabile** e **funzionale**.

Il processo che dalla biosintesi del peptide, porta alla proteina **biologicamente attiva**, prende il nome di "**fold**ing" ed è un processo progressivo:

- Le strutture secondarie si formano rapidamente
- Le regioni flessibili si ripiegano per interazioni con il solvente:
- Residui polari all'esterno e residui apolari all'interno della proteina



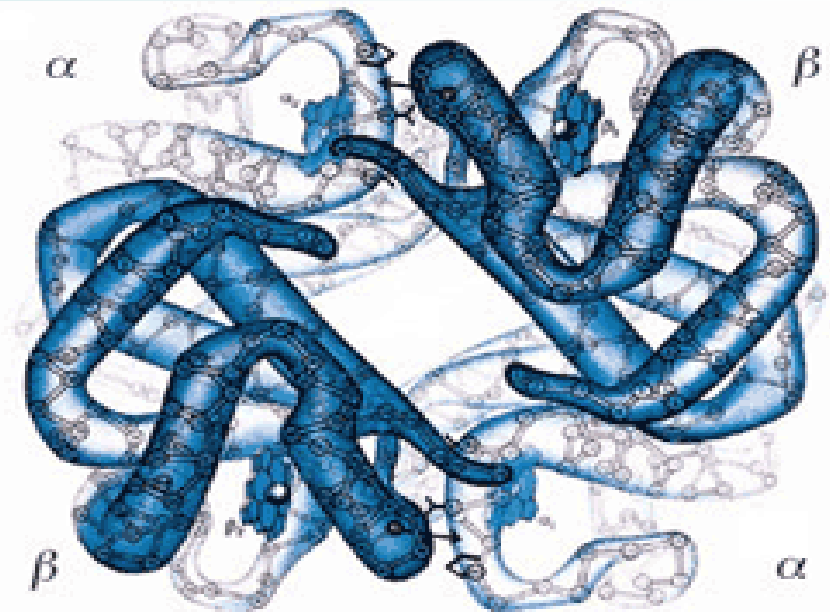
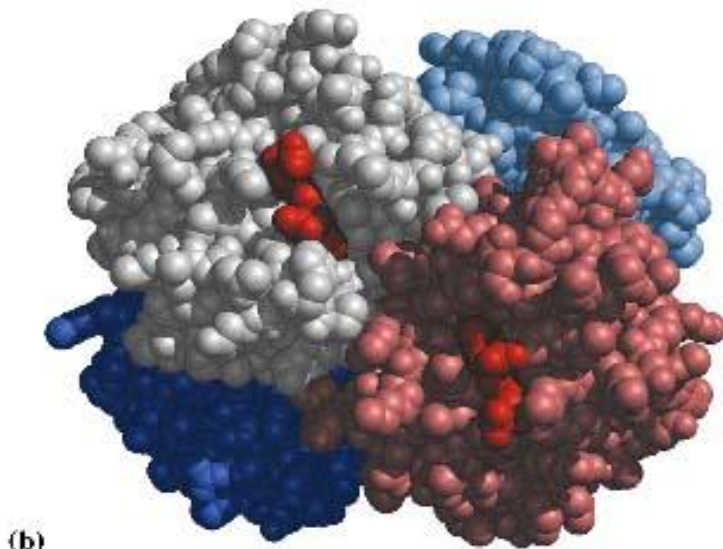
La struttura quaternaria

La struttura quaternaria è l'organizzazione di polipeptidi in **un'unica unità funzionale** che consiste di più di una subunità polipeptidica.

2 subunità $\longrightarrow$ Proteina dimerica

3 subunità $\longrightarrow$ Proteina trimerica

Subunità numerose $\longrightarrow$ Proteina multimerica



Proteina coniugata: emoglobina