Lezione 2

Bioinformatica

Mauro Ceccanti[‡] e Alberto Paoluzzi[†]

[†]Dip. Informatica e Automazione – Università “Roma Tre”
[‡]Dip. Medicina Clinica – Università “La Sapienza”

Lezione 2: AMMINOACIDI E POLIPEPTIDI

Aminoacidi e proteine

Sommario

Lezione 2: AMMINOACIDI E POLIPEPTIDI
Aminoacidi e proteine

Amminoacidi e polipeptidi

Benché le eliche siano poco comuni nelle realizzazioni architettoniche, rappresentano un tema strutturale nelle macromolecole biologiche

- Le proteine sono agenti indispensabili per la funzione biologica, e gli amminoacidi sono i mattoni che le costituiscono
- La stupefacente diversità delle migliaia di proteine trovate in natura deriva dalle proprietà intrinseche di solo 20 amminoacidi
- La straordinaria diversità delle attività cellulari è resa possibile solo dalla versatilità delle proteine, ciascuna delle quali è specificamente disegnata per un ruolo biologico.
- Ogni proteina è codificata da una sequenza specifica di basi nucleotidiche del DNA. Ciascun segmento di informazione codificata definisce un gene.
- Le proteine sono gli agenti della funzione biologica; allo stesso tempo esse sono espressioni dell’informazione genetica.

Gli amminoacidi

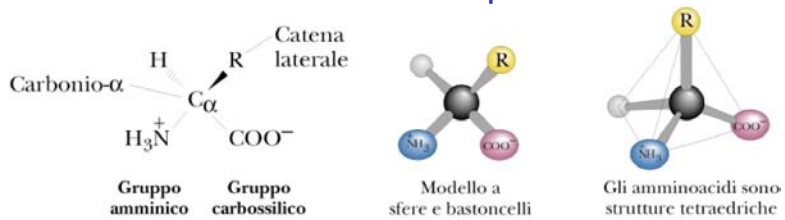
i mattoni delle proteine

Le peculiari proprietà chimiche degli amminoacidi includono:

- capacità di polimerizzare,
- nuove proprietà acido-base,
- variabilità di struttura e di funzionalità chimica nelle catene laterali amminoacidiche,
- chiralità[1]

[1] Ad eccezione della glicina, tutti gli amminoacidi isolati dalle proteine hanno quattro differenti gruppi legati al C_α, detto asimmetrico o chirale (dal greco $\chi\epsilon\acute{\iota}\rho$ che significa "mano"), e le due possibili configurazioni del C_α costituiscono due immagini speculari, non sovrapponibili, dette isomeri o enantiomeri

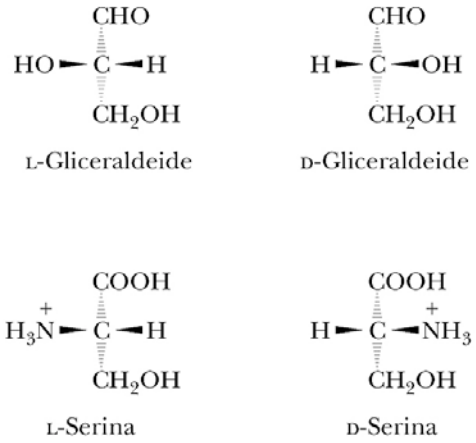
Struttura di un amminoacido tipico



- Centrale nella struttura di un amminoacido isolato è il carbonio alfa (C_α) tetraedrico, legato in modo covalente sia al gruppo amminico (NH_3^+) che al gruppo carbossilico (COO^-)
- Sono legati al C_α un atomo di idrogeno e un residuo laterale variabile (R)
- Il residuo conferisce all'amminoacido la propria identità.
- In una soluzione neutra ($pH = 7$), il gruppo carbossilico assume lo stato COO^- e il gruppo amminico quello NH_3^+. L'amminoacido risultante è, quindi, una molecola neutra (zwitterione).
- Gli amminoacidi sono molecole chirali.
- Il C_α viene detto asimmetrico, avendo legati quattro gruppi differenti.
- Le due possibili configurazioni del C_α costituiscono due immagini speculari dette isomeri o enantiomeri.

Isomeri o enantiomeri

molecole basate su un atomo di carbonio chirale

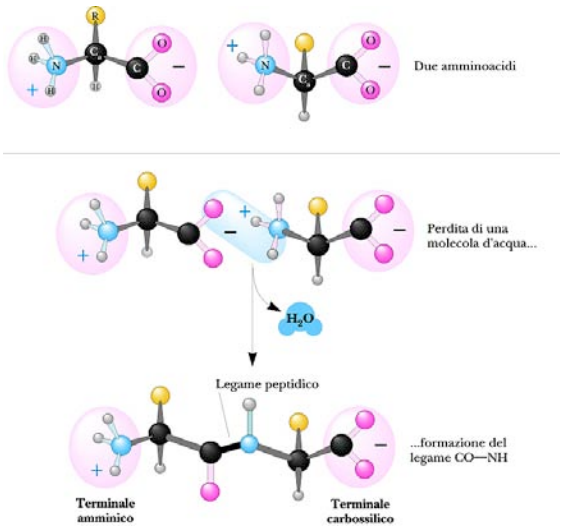


Gli isomeri sono immagini speculari l'uno dell'altro, non sovrapponibili

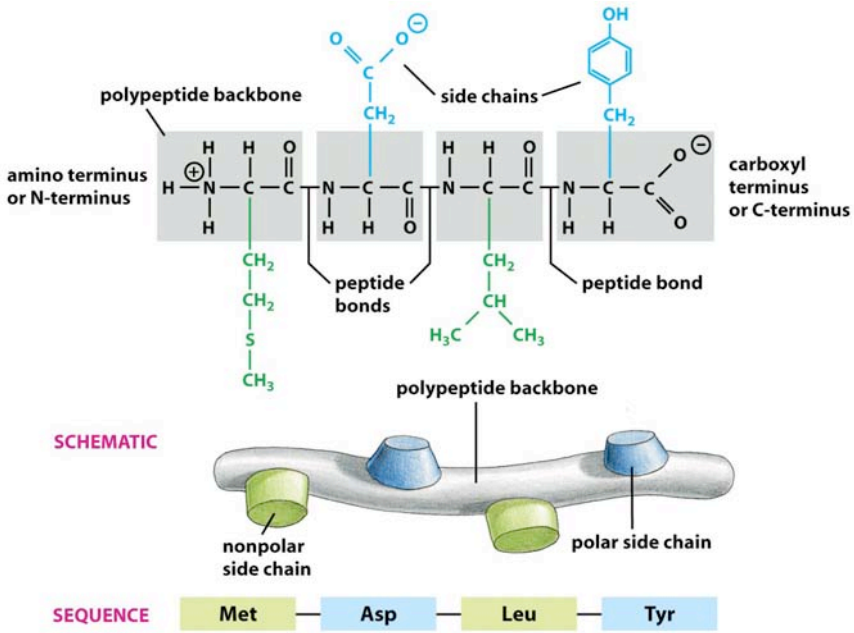
Legami peptidici

Gli amminoacidi possono unirsi attraverso legami peptidici

- La presenza di due gruppi chimici caratteristici (NH_3^+ e COO^-), permette agli amminoacidi di polimerizzare e, quindi, formare peptidi e proteine.
- Il gruppo amminico e il gruppo carbossilico possono reagire in maniera testa-coda, perdendo una molecola d'acqua e formando un legame ammidico covalente.
- Questo, nel caso di peptidi e proteine, viene chiamato legame peptidico.
- Il ripetersi di questa reazione produce polipeptidi e proteine



Polypeptide Structure



Amminoacidi comuni

Tutti gli amminoacidi, esclusa la prolina, hanno liberi sia il gruppo α-amminico che quello α-carbossilico

Gli amminoacidi vengono classificati in base alla loro polarità

- Amminoacidi non polari (idrofobici).
- Amminoacidi neutri (non carichi), polari.
- Amminoacidi acidi (carica negativa a pH7).
- Amminoacidi basici (carica positiva a pH7).

Questa classificazione consente di predire le proprietà delle proteine

Amino acids

Coding and polarity

AMINO ACID			SIDE CHAIN
Aspartic acid	Asp	D	negative
Glutamic acid	Glu	E	negative
Arginine	Arg	R	positive
Lysine	Lys	K	positive
Histidine	His	H	positive
Asparagine	Asn	N	uncharged polar
Glutamine	Gln	Q	uncharged polar
Serine	Ser	S	uncharged polar
Threonine	Thr	T	uncharged polar
Tyrosine	Tyr	Y	uncharged polar

POLAR AMINO ACIDS

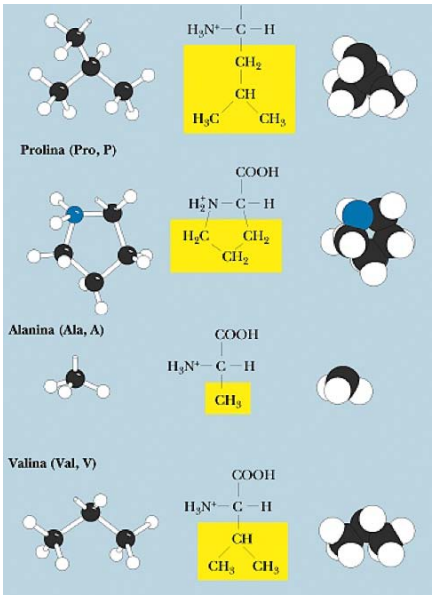
AMINO ACID			SIDE CHAIN
Alanine	Ala	A	nonpolar
Glycine	Gly	G	nonpolar
Valine	Val	V	nonpolar
Leucine	Leu	L	nonpolar
Isoleucine	Ile	I	nonpolar
Proline	Pro	P	nonpolar
Phenylalanine	Phe	F	nonpolar
Methionine	Met	M	nonpolar
Tryptophan	Trp	W	nonpolar
Cysteine	Cys	C	nonpolar

NONPOLAR AMINO ACIDS

Amminoacidi non polari

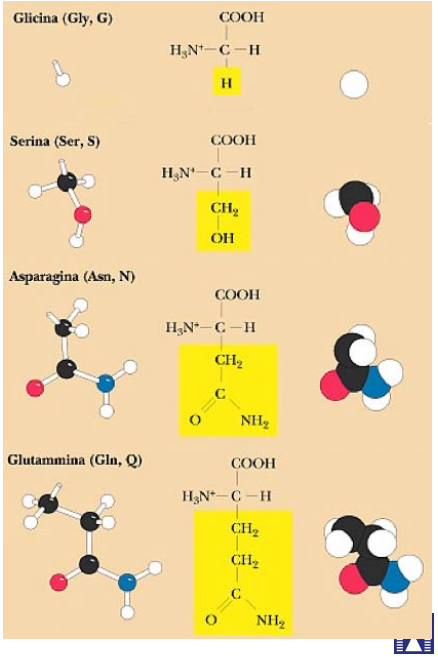
Gli amminoacidi non polari o idrofobici includono

- Quelli con catene R costituite da gruppi alchilici: alanina, valina, leucina, e isoleucina.
- La prolina (con la sua insolita struttura ciclica).
- La metionina (uno dei due amminoacidi contenenti zolfo).
- Due amminoacidi aromatici, la fenilalanina e il triptofano



Amminoacidi polari, non carichi

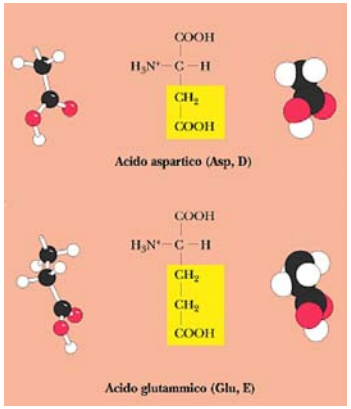
- Tutti gli amminoacidi polari non carichi, esclusa la glicina, contengono gruppi R in grado di formare legami a idrogeno con l'acqua. Perciò sono più solubili in acqua.
- Il gruppo ammidico della asparagina e della glutammina, il gruppo ossidrile della tirosina, della treonina e della serina, e il gruppo sulfidrile della cisteina formano legami idrogeno.
- La glicina, il più semplice degli amminoacidi, possiede come residuo R un atomo di idrogeno, non in grado di formare legami a idrogeno. La sua solubilità è determinata dai gruppi polari amminico e carbossilico.
- La tirosina ha caratteristiche non polari dovute al suo anello aromatico, e potrebbe essere, a ragione, inserita nel gruppo degli amminoacidi non polari. Tuttavia, l'ossidrile fenolico della tirosina a pH elevati è un gruppo polare carico negativamente.



Amminoacidi acidi

due amminoacidi acidi contengono un gruppo carbossilico nel residuo R

- Acido aspartico
- Acido glutammico.
- I gruppi carbossilici della catena laterale sono acidi più deboli del gruppo α-COOH, ma sono sufficientemente acidi da esistere come carbossilati (COO^-) a pH neutro.
- Tali forme vengono denominate in modo appropriato come aspartato e glutammato

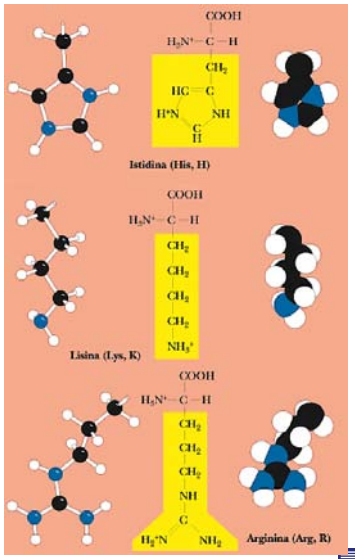


Svolgono diversi ed importanti ruoli nelle proteine: quelle che legano ioni metallici per ragioni strutturali o funzionali, possiedono siti di legame per il metallo contenenti una o più catene laterali di aspartato e glutammato.

Amminoacidi basici

Tre degli amminoacidi comuni, istidina, arginala e lisina, hanno catene laterali con carica positiva netta a pH neutro

- A pH 7, le catene laterali di:
  - arginina e lisina sono completamente protonate,
  - l'istidina, è protonata solamente al 10%.
- Con un pH vicino alla neutralità, la catena laterale dell'istidina è importante come donatore e accettore di protoni in molte reazioni enzimatiche.
- Peptidi contenenti istidina sono importanti tamponi biologici.
- Le catene laterali di arginina e lisina, protonate in condizioni fìsiologiche, partecipano alle interazioni elettrostatiche delle proteine.



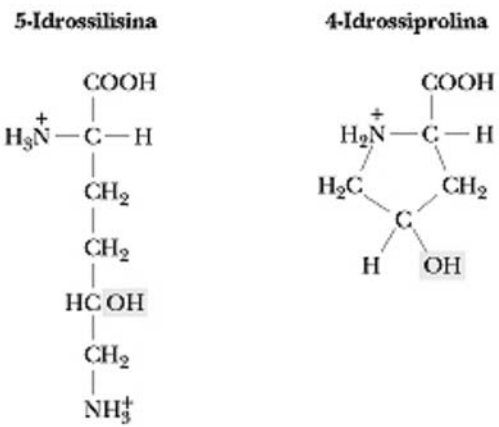
Altri amminoacidi

Esistono altri amminoacidi che ricorrono solo raramente nelle proteine

Tra questi:

- l'idrossilisina e
- l'idrossiprolina

prevalentemente presenti nel collagene e nelle proteine della gelatina

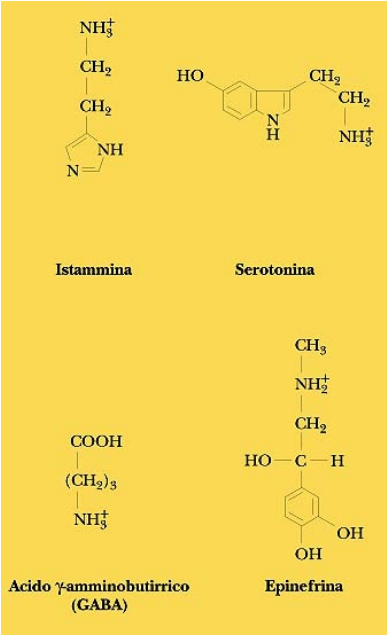


Alcuni amminoacidi e derivati sono neurotrasmettitori e ormoni

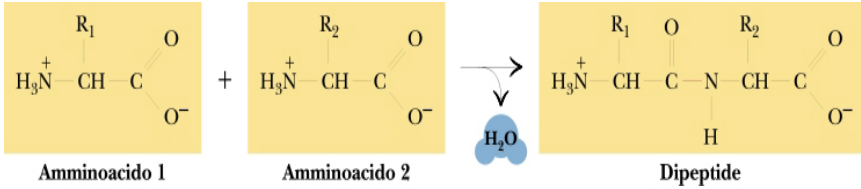
Gli amminoacidi non hanno un'attività biologica particolare. Tuttavia, alcuni amminoacidi (e i loro derivati) sono potenti agenti neuroattivi, che agiscono sia come neurotrasmettitori che come ormoni. Esempi notevoli sono

- il glutammato,
- l'aspartato,
- l'acido y-amminobutirrico (GABA[a]),
- l'istamina[b],
- la serotonina[c], e
- l'epinefrina[d]

[a]è prodotto dalla decarbossilazione dell'acido glutammico
[b]derivato dell'istidina
[c]del triptofano
[d]della tirosìna



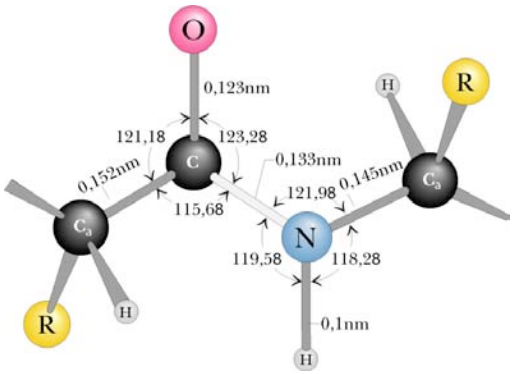
Le proteine sono polimeri lineari di amminoacidi



Dal punto di vista chimico, le proteine sono:

- polimeri non ramificati di amminoacidi,
- legati testa-coda, dal gruppo carbossilico al gruppo amminico,
- attraverso la formazione di un legame peptidico covalente,
- con perdita di una molecola di acqua

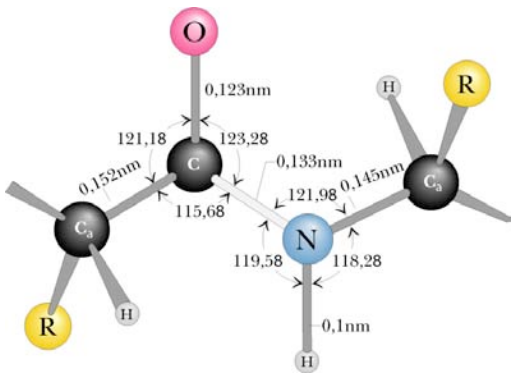
Scheletro peptidico di una proteina



Lo "scheletro" è rappresentato dalla sequenza ripetuta —N—Cα—CO— dove

- N rappresenta l'azoto ammidico,
- Cα è il carbonio-α di un amminoacido nella catena polimerica,
- e il C finale è il carbonio carbonilico dell'amminoacido,
- che a sua volta è legato all'N ammidico dell'amminoacido seguente lungo la sequenza

Scheletro peptidico di una proteina



- L'ossigeno carbonilico e l'idrogeno ammidico sono sempre in trans tra loro.
- Tale conformazione è favorita energeticamente, poiché porta a minore ingombro sterico tra gli atomi non legati di amminoacidi contigui.
- Poiché il carbonio-α è un centro asimmetrico (in tutti gli amminoacidi ad eccezione per la glicina), la catena polipeptidica è asimmetrica.
- Nella figura, le distanze e gli angoli sono distanze medie rilevati all'esame cristallografico. In bianco il legame peptidico tra C e N

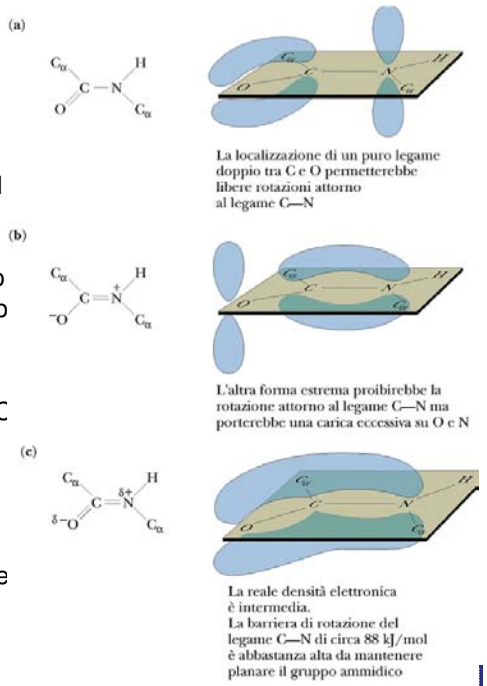
Legame peptidico

Ha un carattere parziale di legame doppio

a) Il legame peptidico è solitamente rappresentato da un legame singolo tra il carbonio carbonilico e l'azoto ammidico. Perciò si possono avere rotazioni intorno ciascun legame covalente dello scheletro peptidico. In tal caso, l'azoto ha una copp di elettroni non appaiati in un orbitale.

b) Tuttavia è possibile un'altra forma di risonanza per il legame peptidico, in cui C N lasciano un coppia non appaiata di e^- sull'ossigeno. Tale struttura, avendo un legame doppio, impedisce le rotazioni attorno al legame peptidico.

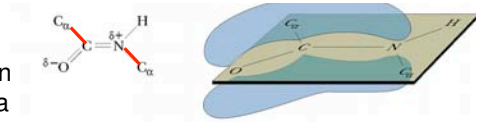
c) Nella realtà, il legame peptidico è interme tra questi estremi; e possiede un carattere parziale di legame doppio

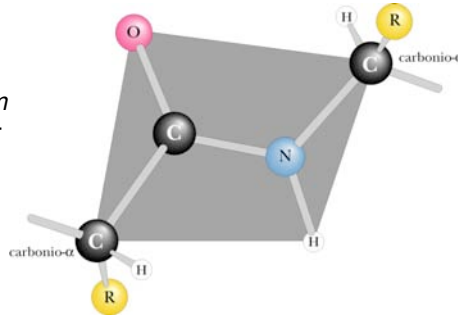


Legame peptidico

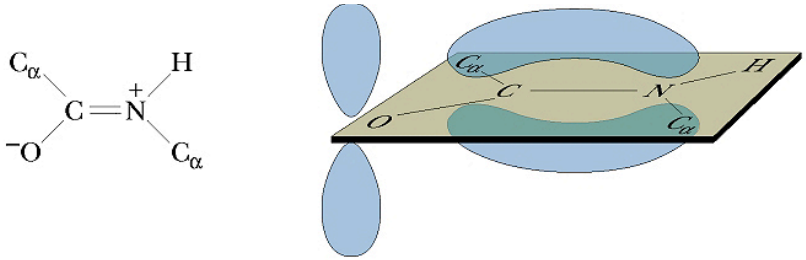
Conseguenze della risonanza

- Limita le libere rotazioni attorno al legame peptidico, e lascia lo scheletro peptidico con due soli gradi di libertà per amminoacido: la rotazione attorno al legame N—Cα e quella attorno al legame Cα—CO.
- I sei atomi che compongono il gruppo del legame peptidico tendono a essere complanari, formando il così detto piano ammidico della catena polipeptidica.
- La lunghezza del legame CO—N di $0,133nm$ è più corta della normale distanza C—N (per esempio, la distanza Cα—N è di $0,145nm$), ma maggiore del tipico legame C—N ($0,125nm$).
- Si stima che il legame peptidico possieda al 40% il carattere di doppio legame.





Lo scheletro polipeptidico è relativamente polare



- La risonanza del legame peptidico produce una relativa polarità della catena polipeptidica
- L'ibrido localizza una carica positiva di 0,28 sull'N ammidico e una equivalente carica negativa di 0,28 sull'ossigeno carbonilico
- Il legame peptidico possiede, dunque, un dipolo permanente
- Tuttavia, lo scheletro peptidico è relativamente non reattivo chimicamente, e i protoni sono catturati o ceduti dai gruppi peptidici solo in condizioni estreme di pH.

Classificazione dei peptidi

Peptide è un polimero di amminoacidi di breve lunghezza

- I peptidi sono classificati in base al numero delle unità amminoacidiche presenti nella catena
- Ciascuna unità è chiamata residuo amminoacidico
- Il residuo è ciò che rimane dopo il rilascio di H2O, quando un amminoacido forma un legame peptidico unendosi alla catena peptidica

dipeptidi	possiedono due residui amminoacidici,
tripeptidi	ne hanno tre,
tetrapeptidi	quattro, etc, etc ...
oligopeptidi	sono le catene peptidiche, costituite da più di 12 amminoacidi e da meno di 20,
polipeptide	quando la catena supera in lunghezza alcune dozzine di amminoaciditermine

Proteine

Sono composte da una o più catene polipeptidiche

- I termini proteine e polipeptidi si usano in modo intercambiabile quando si parla di singole catene polipeptidiche
- Proteine sono le molecole composte da una (proteine monomeriche) o più catene polipeptidiche (proteine polimeriche)
- Le proteine polimeriche possono contenere un solo tipo di polipeptide (omopolimeriche) o più polipeptidi (eteropolimeriche)
- Le proteine polimeriche sono indicate con lettere greche e pedici per caratterizzare la loro composizione polipeptidica

  α_2 è una proteina omomerica con due subunità (dimeri) polipeptidiche identiche;

  $\alpha_2\beta_2$ è una proteina (emoglobina dell'adulto) eteropolimerica, con quattro polipeptidi di due tipi differenti

Analisi e composizione amminoacidica delle proteine

La separazione cromatografica e l'analisi amminoacidica delle proteine sono completamente automatizzate negli analizzatori di amminoacidi

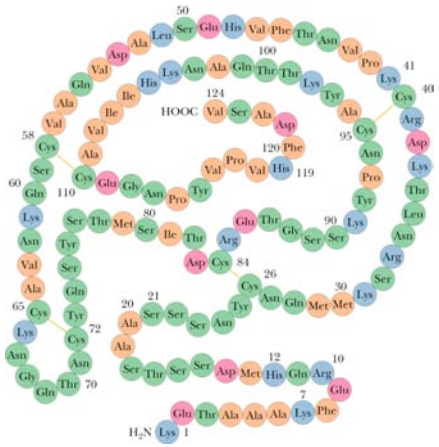
- Ciascuno dei 20 amminoacidi naturali è di solito presente almeno una volta in una catena polipeptidica
- Le proteine non sono composte da un ordine ripetuto di amminoacidi, tranne poche eccezioni:

collageno contiene grandi quantità di glicina e prolina, e la maggior parte della sua struttura è composta da unità ripetute (Gly-x-Pro), dove x rappresenta un amminoacido qualsiasi.

istoni una classe di proteine associate con i gruppi fosfato anionici del DNA eucariotico, sono ricchi di amminoacidi carichi positivamente come l'arginina e la lisina

La sequenza degli amminoacidi nelle proteine

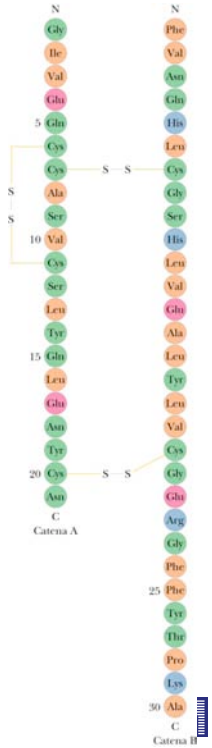
- Ogni proteina ha una particolare sequenza di residui amminoacidici nella sua catena polipeptidica che viene codificata a partire dalla sequenza nucleotidica del DNA
- Ogni proteina, dunque, è una manifestazione dell'informazione genetica
- Per convenzione la sequenza degli amminoacidi si legge dall'estremità N-terminale della catena polipeptidica verso l'estremità C-terminale.



Ribonucleasi A del Pancreas

Struttura primaria di una proteina

- Nel 1953, Frederick Sanger individuò le sequenze amminoacidiche delle due catene polipeptidiche dell'insulina.
- Sanger stabilì che le proteine sono chimicamente ben definite.
- Tutte le proteine: hanno una composizione di amminoacidi fissa, una sequenza di amminoacidi definita, e un peso molecolare costante.
- Oggi, sono note le sequenze amminoacidiche di decine di migliaia di proteine differenti.
- Molte sequenze sono state determinate con l'applicazione dei principi di Sanger, ma la maggior parte viene ricavata dalla conoscenza della sequenza nucleotidica del gene che le codifica.



Ribonucleasi A del Pancreas

Alcune proteine possiedono gruppi chimici diversi dagli amminoacidi

- Le proteine, in base alla loro composizione, possono dividersi in:

  Proteine semplici formate da soli amminoacidi.

  Proteine coniugate contengono gruppi chimici diversi come parte integrante della loro struttura

- Se la parte non proteica è essenziale alla funzione della proteina, prende il nome di gruppo prostetico.

Proteine coniugate

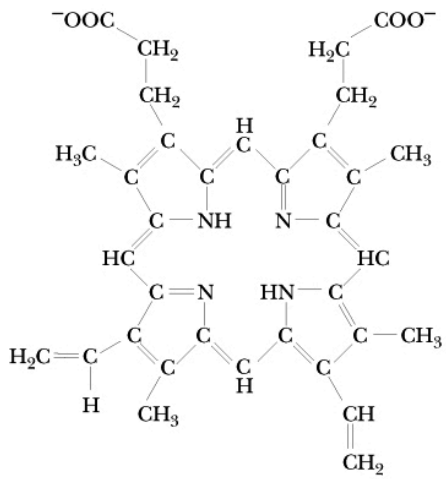
Classe	Gruppo prostetico	% in peso
Glicoproteine contenenti carboidrati		
Fibronectina		
γ-globuline		
Proteoglicano		
Lipoproteine contenenti lipidi		
Lp del plasma	Trigliceridi, fosfolipidi,	75
HDL	colesterolo	67
LDL	Trigliceridi, fosfolipidi,	
Complessi di nucleoproteine		
contenenti ac. Nucleici	RNA	50 – 60
Ribosomi	RNA	5
Virus mosaico del tabacco	DNA	
Adenovirus	RNA	
HIV-1 (AIDS)		
Fosfoproteine contenenti fosfati		
Caseina	Gruppi fosfato	
Glicogeno fosforilasi a	Gruppi fosfato	
Metalloproteine contenenti atomi di		
metallo	Ferro	35
Ferritina	Zinco	
Alcol deidrogenasi	Rame e Ferro	
Citocromo ossidasi	Molibdeno e Ferro	
Nitrogenasi	Manganese	
Emoproteine contenenti eme		
Emoglobina		
Citocromo c		
Catalasi		
Nitrato reduttasi		
Ammonio ossidasi		
Flavoproteine contenenti flavina		
Succinato deidrogenasi	FAD	
NADH deidrogenasi	FMN	
Diidroorotato deidrogenasi	FAD e FMN	
Sulfito reduttasi	FAD e FMN	

Funzioni biologiche delle proteine

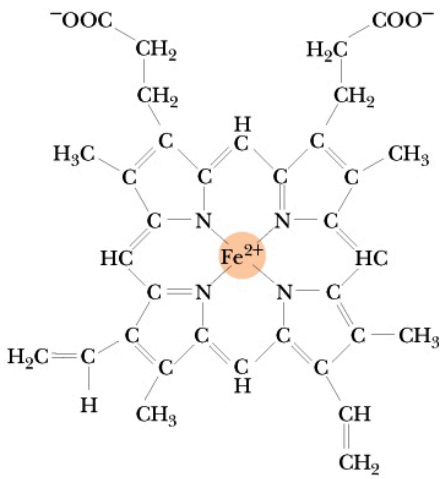
Classe funzionale	Esempi
Enzimi	Ribonucleasi Tripsina Fosfofruttochinasi Alcol deidrogenasi Catalasi
Proteine regolatorie	Insulina Somatotropina Tirotropina
Proteine di trasporto	Emoglobina Albumina Trasportatore del glucosio
Proteine di deposito	Ovoalbumina Caseina Ferritina
Proteine contrattili	Actina Miosina Tubulina
Proteine strutturali	Cheratina Collageno Elastina
Proteine di protezione	Immunoglobuline Trombina Fibrinogeno
Proteine esotiche	Proteine antigelo Proteina colla

Esempio

Gruppo prostetico dell'emoglobina



Protoporfirina IX



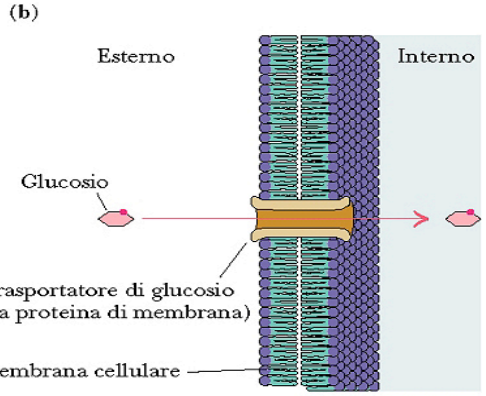
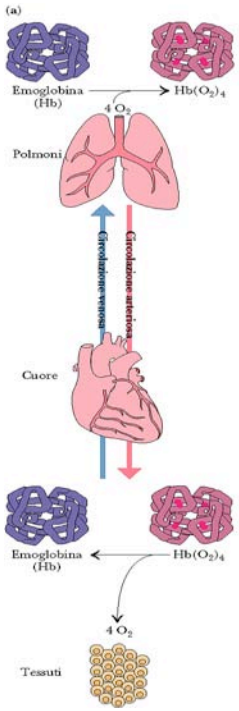
Eme
(Fe-protoporfirina IX)

Le molteplici funzioni biologiche delle proteine

Praticamente ogni passaggio nel metabolismo è catalizzato da un enzima.

- Le proteine sono gli agenti della funzione biologica
- Quasi ogni attività cellulare dipende da una o più proteine particolari
- Così, un modo conveniente per classificare il numero enorme delle proteine è basato sul ruolo biologico che esse ricoprono. nella Tabella precedente la classe degli enzimi è di gran lunga la più grande
- Più di 2000 enzimi differenti sono elencati nella Nomenclatura degli Enzimi, il volume di riferimento per la classificazione degli enzimi
- Gli enzimi sono catalizzatori che:
  accelerano la velocità delle reazioni biologiche.
  Sono molto specifici nella loro funzione e
  agiscono solo in una reazione metabolica particolare

Trasporto biologico

Vi sono due tipi fondamentali di trasporto biologico

- Trasporto in o tra cellule differenti o tessuti;
- Trasporto dentro o fuori dalle cellule