

Le sostanze proteiche



LE SOSTANZE PROTEICHE

- Le **proteine** rappresentano gli **elementi strutturali e funzionali** più importanti nei sistemi viventi.
- Qualsiasi processo vitale dipende da questa classe di molecole, per esempio:
 - la **catalisi** delle reazioni metaboliche (enzimi);
 - le **difese immunitarie** (immunoglobuline);
 - il **trasporto di ossigeno** (emoglobina);
 - il **trasporto di nutrienti** (albumina);
 - il **movimento** (actina, miosina).

Le sostanze proteiche o proteidi rappresentano, insieme con i glucidi ed i lipidi, la terza grande classe di macronutritivi. La loro natura colloidale polimerica, la loro grande molteplicità, il fatto che costituiscano la struttura portante degli enzimi e la base delle sostanze adibite alla replicazione dei caratteri genici, nonché di quelle che operano il trasporto di sostanze vitali (come l'ossigeno negli animali), rende questa categoria di macronutritivi sinonimo di "vita".

Dal punto di vista strutturale le sostanze proteiche formano gli edifici molecolari più elaborati che esistano negli organismi viventi; praticamente la loro complessità e le loro possibilità metaboliche sono senza limiti.

Le sostanze proteiche sono composti quaternari, contenendo, oltre all'idrogeno, all'ossigeno ed al carbonio, anche l'**azoto** e quasi sempre lo **zolfo**. La composizione elementare media è: **50- 55% di C**, **6-7% di H**, **20-23% di O** e **12-19% di N**. Il tenore in **zolfo** (**S**) risulta molto variabile dipendendo dalla presenza o meno di costituenti solforati. Esse possono essere classificate nel modo seguente:



- Le proteine sono *macromolecole* costituite dall'unione di un grande numero di unità elementari: gli *amminoacidi (AA)*
- Sebbene in natura esistano più di 300 amminoacidi, *soltanto 20* sono incorporati nelle proteine dei mammiferi poiché *sono* gli unici *codificati dal DNA*
- La caratteristica strutturale comune a tutte le *proteine* è di essere dei *polimeri lineari di amminoacidi*
- *Ciascuna* proteina ha però una *propria struttura tridimensionale* che la rende capace di svolgere specifiche funzioni biologiche

Le pietre fondamentali sono quindi costituite dagli amminoacidi. Questi condensati tra loro per formare oligomeri a:

- $PM \leq 10^4$ originano i peptidi,
- PM (peso molecolare) $> 10^4$ g/mole per raggiunge anche 10^6 g/mole, si hanno i protidi.

A loro volta i protidi si suddividono in oloprotidi o proteine semplici quando sono costituite solo da amminoacidi ed eteroprotidi o proteine coniugate quando, oltre agli amminoacidi, compare nel polimero un composto non proteico (gruppo prostetico).

Gli amminoacidi

Definizione e classificazione - Gli amminoacidi sono molecole caratterizzate dal possedere contemporaneamente all'interno della stessa struttura gruppi carbossilici acidi e gruppi amminici basici. Gli amminoacidi facenti parte delle proteine naturali sono tutti α -amminoacidi, perché il gruppo amminico e quello carbossilico sono legati allo stesso atomo di carbonio e quindi si trovano in posizione α l'uno rispetto all'altro.

Ogni amminoacido possiede un carbonio "centrale", chiamato carbonio α , al quale sono legati quattro differenti gruppi:

- un gruppo carbossilico acido ($-\text{COOH}$)
- un atomo di idrogeno ($-\text{H}$)
- un gruppo amminico basico ($-\text{NH}_2$)
- una catena laterale, diversa per ciascun amminoacido ($-\text{R}$)

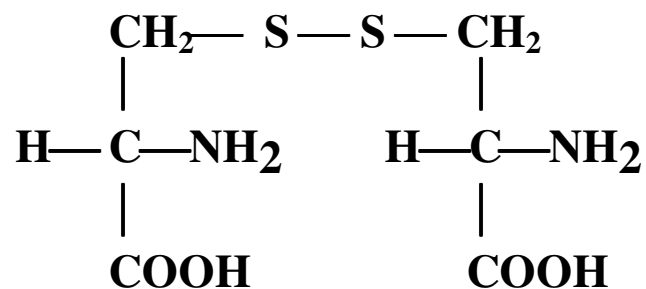
Il radicale R distingue i diversi amminoacidi conferendogli specifiche caratteristiche chimico-fisiche.

Questi venti amminoacidi possono essere suddivisi nelle seguenti quattro sottoclassi principali:

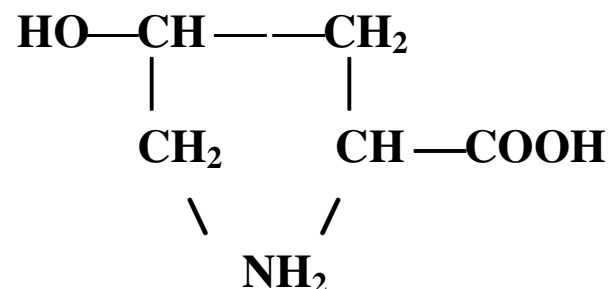
In tabella vengono riportate le sigle internazionalmente utilizzate per contraddistinguere i venti aminoacidi naturali.

	Abbreviazione	Simbolo
<i>Aminoacidi neutri</i>		
Glicina	Gly	G
Alanina	Ala	A
Serina	Ser	S
Cisteina	Cys	C
Treonina	Thr	T
Valina	Val	V
Metionina	Met	M
Leucina	Leu	L
Isoleucina	Ile	I
Fenilalanina	Phe	F
Tirosina	Tyr	Y
Triptofano	Trp	W
<i>Aminoacidi acidi</i>		
Acido aspartico	Asp	D
Asparagina	Asn	N
Acido glutammico	Glu	E
Glutamina	Gln	Q
<i>Aminoacidi basici</i>		
Arginina	Arg	R
Lisina	Lys	K
Istidina	His	H
Prolina	Pro	P

Oltre a questi sono stati ritrovati in alcune proteine naturali degli aminoacidi particolari definiti rari, che si formano per modificazione chimica di un aminoacido naturale. Tra questi rivestono particolare importanza la cistina (Cys₂) e la idrossiprolina (Hyp):



cistina



4-idrossiprolina

amminoacidi alifatici, nei quali R è una catena idrocarburica: *glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenil-alanina;*

amminoacidi alifatici, nei quali R è una catena idrocarburica: *glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenil-alanina*;

poiché le loro catene laterali sono costituite da catene idrocarburiche sature: sono idrofobici.

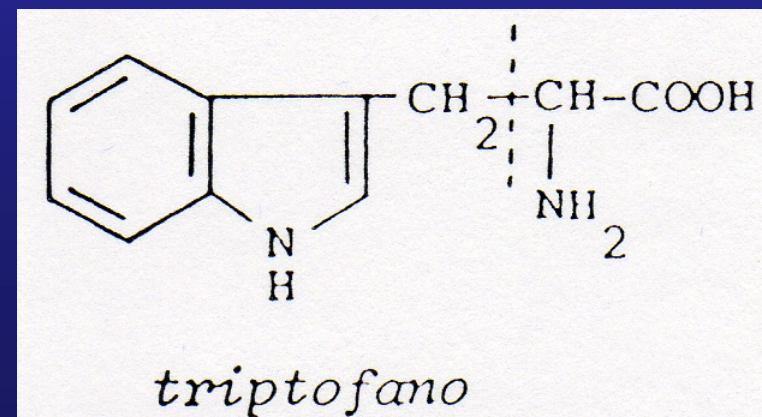
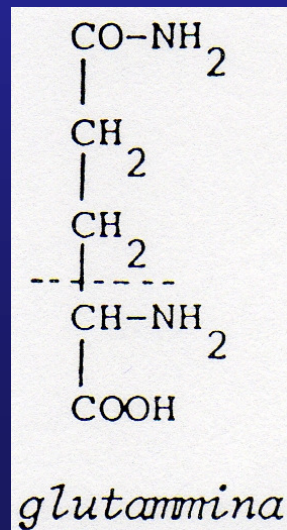
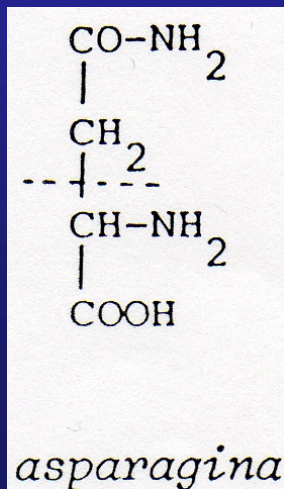
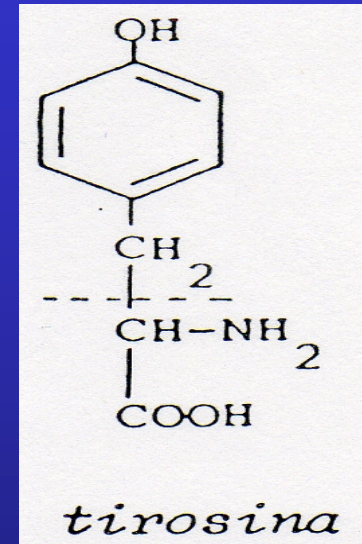
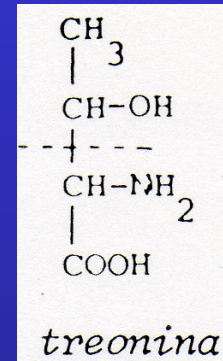
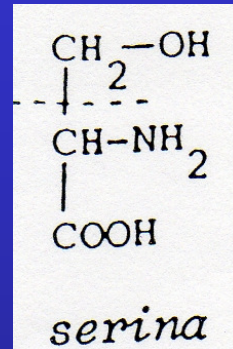
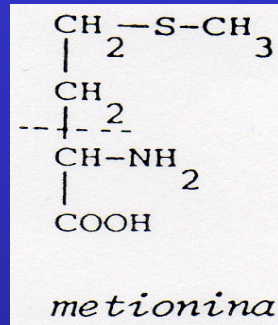
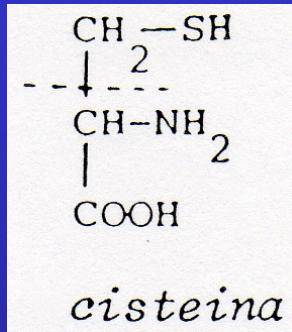
la *prolina* ha una caratteristica struttura ad anello, formato dalla catena laterale e dal suo gruppo amminico, e differisce dagli altri amminoacidi perché contiene un **gruppo imminico** ($R-NH-R'$). La prolina presenta una moderata polarità.

amminoacidi alifatici, nei quali R è una catena idrocarburica: *glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenil-alanina*;

amminoacidi polari, dove R è un gruppo polare non ionizzato: *cisteina e metionina (-SH); serina, treonina e tirosina (-OH); asparagina e glutammina (-CONH₂); triptofano (eterociclico)*;

amminoacidi polari

dove R è un gruppo polare non ionizzato



Amminoacidi con gruppi -R polari, non carichi

- Sono amminoacidi **polari** ma in *condizioni fisiologiche* sono *privi di carica elettrica*.
- I loro **gruppi -R** sono più idrofilici di quelli degli AA non polari: contengono infatti **gruppi funzionali** in grado di formare **legami idrogeno** con l'acqua.
- La polarità di *serina e treonina* è dovuta al gruppo ossidrilico (-OH), quella della *cisteina e metionina* al gruppo sulfidrilico (-SH), quella di *asparagina e glutammina* ai gruppi ammidici (-CONH₂), dove sia la porzione carbonilica che quella amminica possono entrare in gioco.

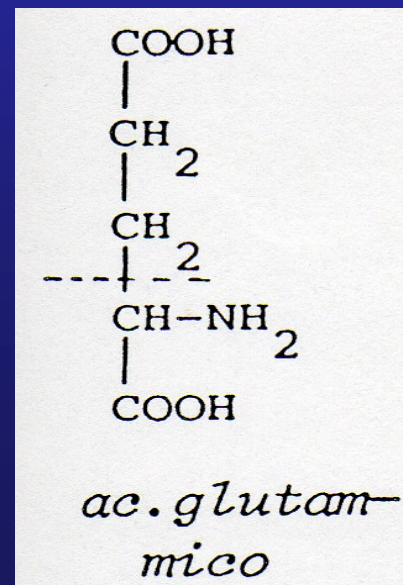
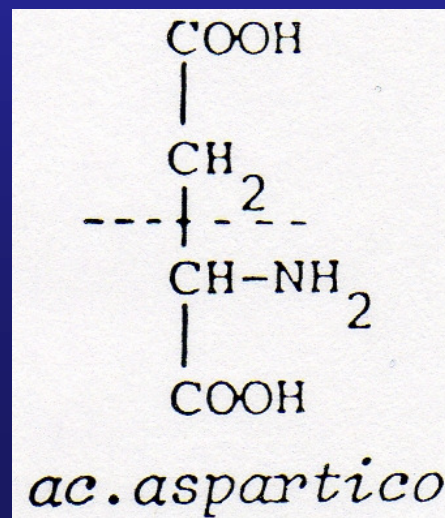
amminoacidi alifatici, nei quali R è una catena idrocarburica: *glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenil-alanina*;

amminoacidi polari, dove R è un gruppo polare non ionizzato: *cisteina e metionina (-SH); serina, treonina e tirosina (-OH); asparagina e glutammina (-CONH₂); triptofano (eterociclico)*;

amminoacidi acidi, dove su R è presente un altro gruppo carbossilico (COOH): *acido aspartico e glutammico*;

Amminoacidi con gruppi -R carichi negativamente (acidi)

- Ac. Aspartico e ac. Glutammico
- Sono **donatori di protoni**
- Le loro catene laterali, contenenti gruppi carbossilici, **a pH fisiologico** sono ionizzate ed hanno **carica negativa**



amminoacidi alifatici, nei quali R è una catena idrocarburica: *glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenil-alanina*;

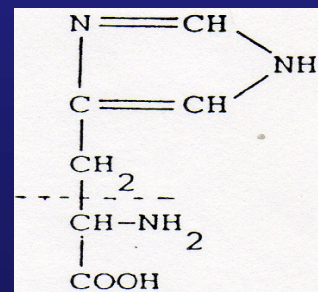
amminoacidi polari, dove R è un gruppo polare non ionizzato: *cisteina e metionina (-SH); serina, treonina e tirosina (-OH); asparagina e glutammina (-CONH₂); triptofano (eterociclico)*;

amminoacidi acidi, dove su R è presente un altro gruppo carbossilico (COOH): *acido aspartico e glutammico*;

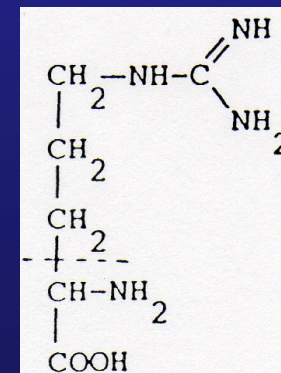
amminoacidi basici, dove su R è presente un altro gruppo amminico (-NH₂): *lisina, arginina e istidina*.

Amminoacidi con gruppi -R carichi positivamente (basici)

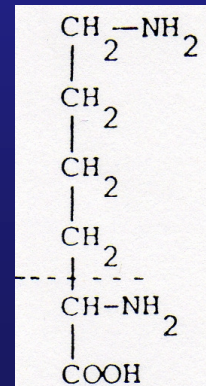
- Lisina, arginina, istidina
- Sono **accettori di protoni**
- Le loro catene laterali, contenenti gruppi amminici, a **pH fisiologico** sono ionizzate ed hanno **carica positiva**
- **L'istidina** è **debolmente basica** ($pK_a = 6,0$) ed a **pH fisiologico** l'amminoacido libero è *in gran parte non ionizzato*; quando si trova incorporata in una proteina può recare una carica positiva o essere neutra (proprietà molto importante!)



istidina



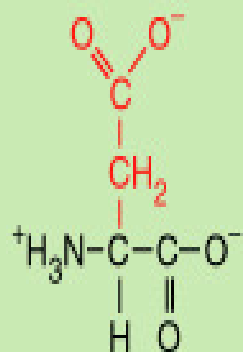
arginina



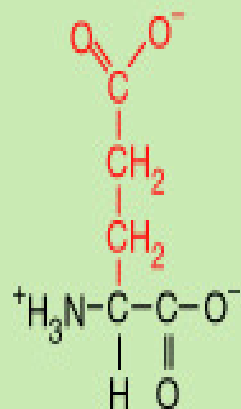
lisina

Struttura degli amminoacidi con gruppo R carico (+/-)

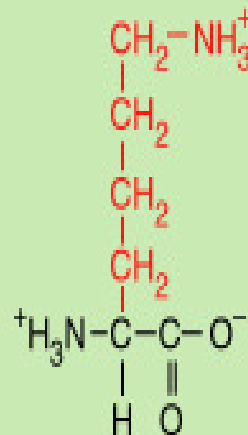
Polar charged



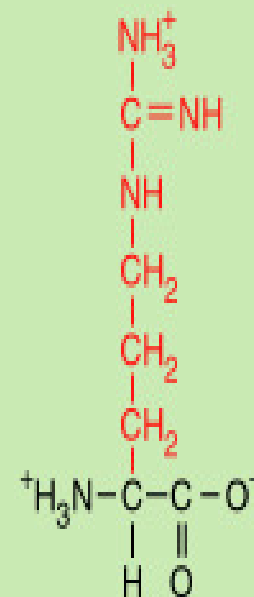
Aspartic acid
(Asp or D)



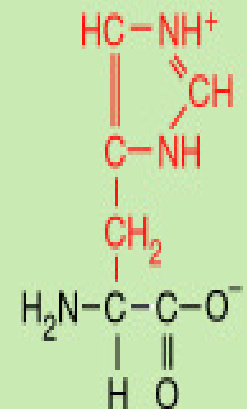
Glutamic acid
(Glu or E)



Lysine
(Lys or K)



Arginine
(Arg or R)



Histidine
(His or H)

Properties of side chains (R groups):

Hydrophilic side chains act as acids or bases which tend to be fully charged (+ or -) under physiologic conditions. Side chains form ionic bonds and are often involved in chemical reactions.

Amminoacidi con gruppi -R aromatici

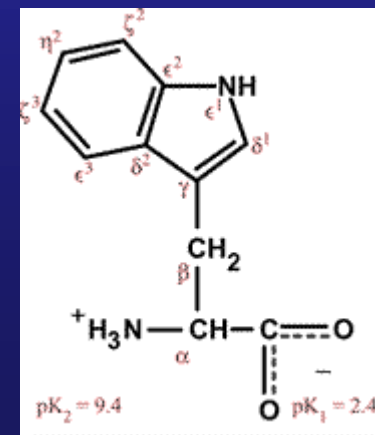
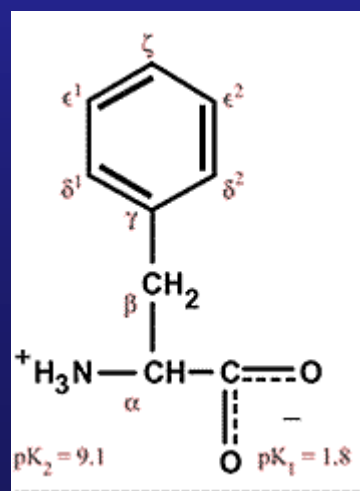
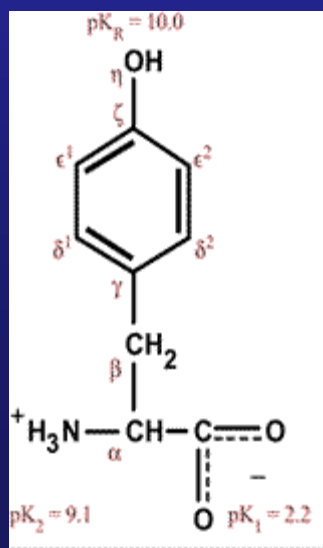
- Fenilalanina, tirosina, triptofano
- Le loro catene laterali sono aromatiche
- Sono relativamente non polari (idrofobici)
- Possono partecipare tutti ad interazioni idrofobiche
- I gruppi -OH della tirosina ed NH del triptofano possono formare legami a idrogeno

Amminoacidi aromatici

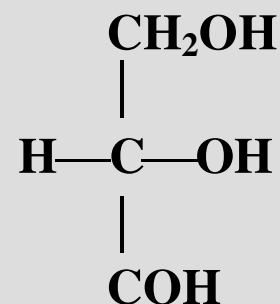
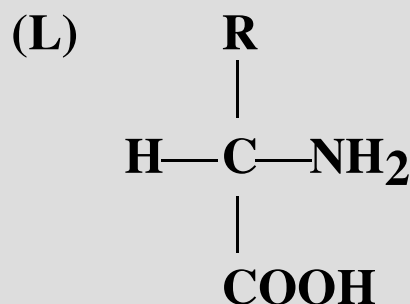
ionizzabile

Non polare

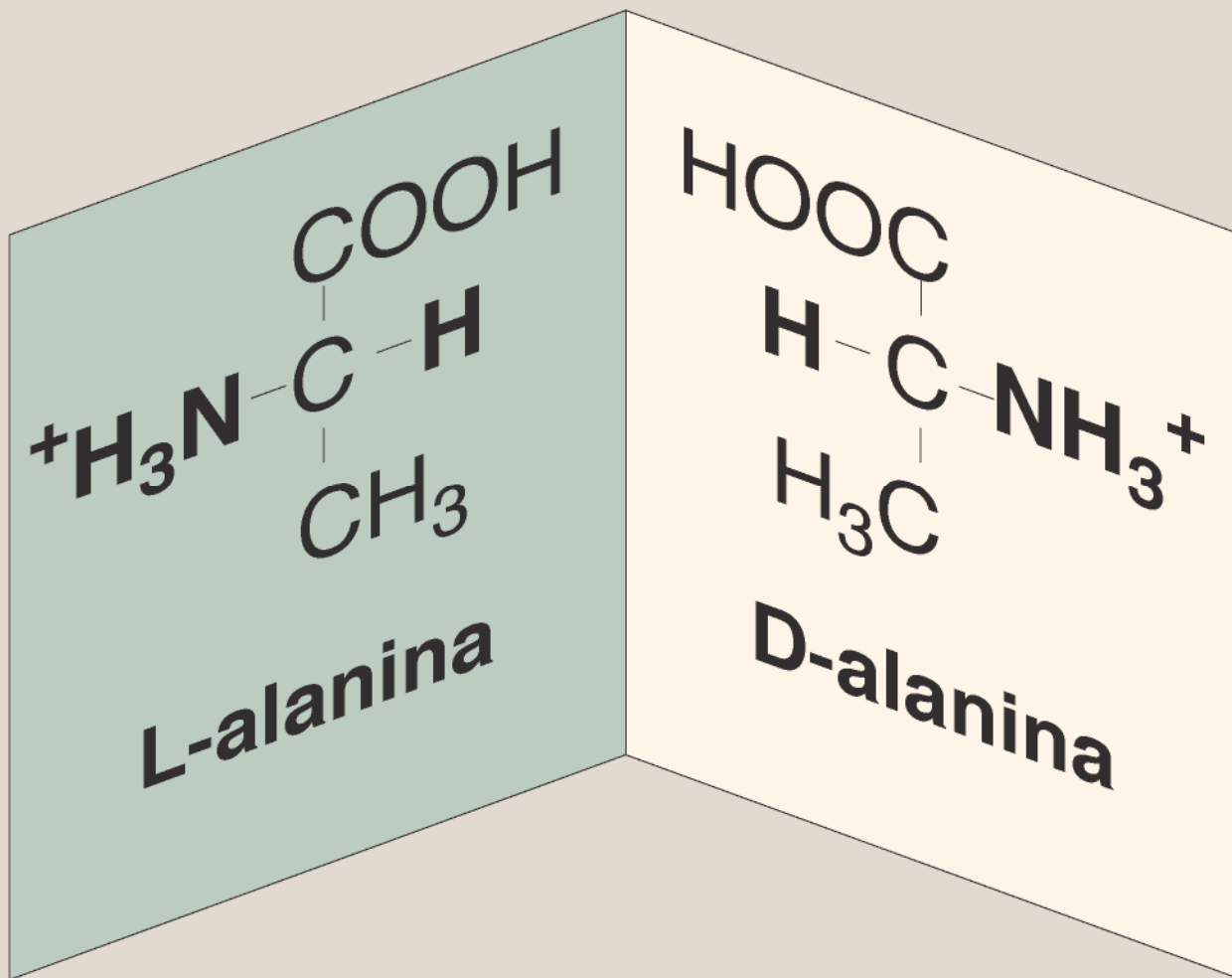
Non polare



- Tutti gli amminoacidi (tranne la glicina, $R=H$) hanno l'atomo di carbonio α legato a quattro gruppi diversi: il **carbonio α (asimmetrico)** è quindi un centro chirale o otticamente attivo
- Gli amminoacidi che hanno un centro asimmetrico nel carbonio α possono esistere in **due forme speculari (D ed L)** dette stereoisomeri, isomeri ottici o enantiomeri
- **Le proteine** contengono **solo L- amminoacidi** (pur essendo in parte destrorigiri (+) ed in parte levogiri(-)), e presentano il gruppo amminico a destra se quello carbossilico viene riportato in basso (analogamente alla L-gliceraldeide):



L(S)(-)-gliceraldeide



Inoltre le caratteristiche **chimiche** (PM; % N) e **chimico-fisiche** (solubilità in H_2O ; punto di fusione; $[\alpha]_D^{25}$) dei diversi aminoacidi dipendono dalla natura del gruppo R.

	Solubilità in acqua %	Punto di fusione °C	$[\alpha]_D^{25^\circ\text{C}}$	Peso molecolare	Azoto %
Glicina	25	240	—	75,07	18,64
Alanina	16,6	297 c.d.	+ 1,8	89,09	15,71
Serina	5	240 c.d.	— 7,5	105,09	13,32
Cisteina	solubilissima	—	+ 13 (acido acetico)	121,15	11,55
Cistina	quasi insolubile	~ 260 c.d.	— 232 (HCl 5 N)	240,29	11,65
Treonina	20,5	255 c.d.	— 28,5	119,10	11,75
Valina	8,8	315	+ 5,4	117,15	11,95
Metionina	3,4	~ 280 c.d.	— 10,1	149,21	9,38
Leucina	2,2	293 c.d.	— 10,7	131,17	10,67
Isoleucina	4,1	284	+ 12,4	131,17	10,67
Fenilalanina	3	283 c.d.	— 35,0	165,19	8,47
Tirosina	poco solubile	314-318	— 10 (HCl 5 N)	181,12	7,73
Triptofano	1,1	290	— 33,5	190,18	14,72
Acido aspartico	0,5	270-271	+ 5,0	133,10	10,52
Asparagina	2,5	226 c.d.	+ 34,3 (HCl 3,4 N)	132,12	21,18
Acido glutammico	0,9	248 c.d.	+ 12,0	147,13	9,51
Glutammina	4,2	185 c.d.	+ 6,1	146,16	19,15
Arginina	15	207 c.d.	+ 12,5	174,21	32,14
Lisina	molto solubile	224 c.d.	+ 13,5	146,10	19,16
Istidina	4,2	288 c.d.	— 38,7	155,14	27,07
Prolina	molto solubile	220 c.d.	— 86,0	115,13	12,16
Ossiprolina	assai solubile	270 c.d.	— 77 (acido acetico)	131,18	10,67

c.d. = con decomposizione

Le piante possono sintetizzare tutti gli amminoacidi naturali a differenza degli animali e dell'uomo. In particolare questi non e' in grado di sintetizzare la:

Fabbisogno umano giornaliero (g)

- valina	0.8	}	Amminoacidi essenziali
- leucina	1.1		
- isoleucina	0.7		
- treonina	0.5		
- metionina	1.1		
- lisina	0.8		
- triptofano	0.2		

mentre sintetizza in quantità insufficiente per la crescita:

- **fenilalanina;**
- **tirosina.**

Il valore nutrizionale della frazione proteica presente in un alimento viene valutato sulla base della sua composizione amminoacidica con particolare riferimento al contenuto in amminoacidi essenziali.

La composizione ottenuta viene paragonata a quella ottimale (modello FAO/WHO) e l'eventuale carenza in un componente essenziale ne pregiudica il valore nutrizionale. In questo caso la proteina non presenta una composizione amminoacidica bilanciata ed è possibile così individuare anche quale dei componenti risulti limitante. Si può così determinare l'indice chimico valutato come rapporto percentuale tra il reale contenuto nell'amminoacido limitante (A.L.r) e l'ammontare previsto dal modello teorico (A.L.t):

$$\text{Indice Chimico} = \text{A.L.r} / \text{A.L.t} \cdot 100$$

Nella tabella successiva vengono riportate le composizioni amminoacidiche delle proteine dei semi di alcune oleaginose e proteoleaginose, unitamente alla composizione prevista per gli amminoacidi essenziali dal modello FAO-WHO e all'indice chimico ricavabile dal confronto tra questi valori.

Tab. - Composizione amminoacidica delle proteine dei semi di soia, girasole, arachide e colza (g x 16 g N) (Bodwell et al., 1985).

Aminoacid pattern of seed-protein from soybean, sunflower, peanut and rapeseed (g/16 g N) (Bodweel et al., 1985).

Amminoacido	Soia	Girasole	Arachide	Colza	FAO-WHO
Isoleucina	4,5	4,3	3,4	4,2	4,0
Leucina	7,8	6,4	6,4	7,3	7,0
Lisina	6,4	<u>3,6</u>	<u>3,5</u>	5,8	5,5
Metionina + cistina	<u>2,6</u>	3,4	2,5	4,9	3,5
Tirosina + fenilalanina	8,0	6,4	8,9	7,2	6,0
Treonina	3,9	3,7	2,6	4,5	4,0
Triptofano	1,3	1,4	1,0	1,4	1,0
Valina	4,8	5,1	4,2	<u>5,2</u>	5,0
Alanina	4,3	4,2	3,9	4,6	
Arginina	7,2	8,0	11,2	6,6	
Aspartico acido	11,7	9,3	11,4	7,1	
Glutammico acido	18,7	21,8	18,3	17,9	
Glicina	4,2	5,4	5,6	5,3	
Istidina	2,5	2,3	2,4	2,7	
Prolina	5,5	4,5	4,4	6,1	
Serina	5,1	4,3	4,8	4,7	
Indice chimico	74,3	65,5	63,6	104,0	

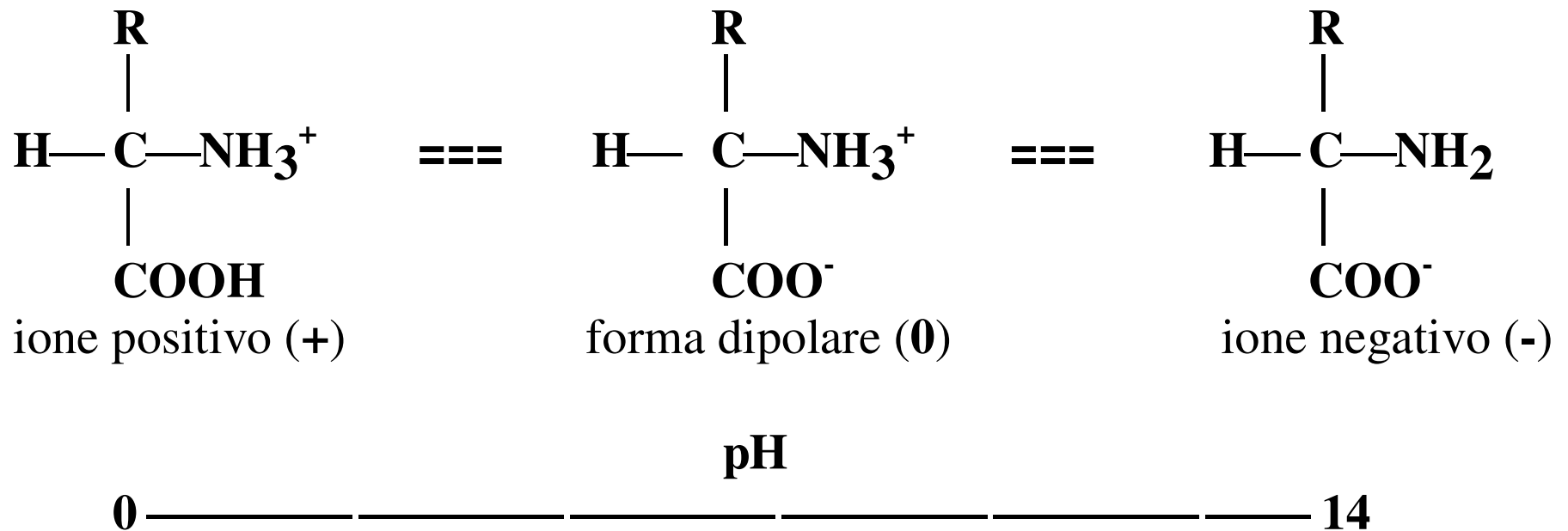
Note: 1. L'amminoacido limitatamente è in corsivo

2. Indice chimico = (a.a. limitatamente/a.a. FAO-WHO) x 100

Anche gli aminoacidi possono essere utilizzati a livello cellulare per **produrre energia** (ATP) e, in funzione del prodotto generato nel corso della loro metabolizzazione, vengono classificati in:

- **Glucogenici:** tutti gli AA dal cui catabolismo otteniamo acido piruvico o un intermedio del ciclo di Krebs e che quindi possono essere utilizzati per riformare glucosio (Asp, Glu, Asn, Gln, His, Pro, Arg, Gly, Ala, Ser, Cys, Met, Val).
- **Chetogenici:** gli AA dal cui catabolismo otteniamo acetilCoA o acetoacetilCoA, che quindi non possono essere utilizzati per riformare glucosio (leucina e lisina).
- **Sia chetogenici che glucogenici:** dal loro catabolismo otteniamo acido piruvico o un intermedio del ciclo di Krebs, oltre che acetil CoA o acetoacetilCoA (Phe, Tyr, Trp, Ile, Thr).

Comportamento anfotero degli aminoacidi - Poiché gli aminoacidi possiedono due gruppi ionizzabili il gruppo amminico (NH_2) e il gruppo carbossilico (COOH), risultano in grado di originare due forme ioniche una positiva (NH_3^+) ed una negativa (COO^-) per cui sono degli anfotiti. Infatti possono comportarsi sia da acidi che da basi in funzione del pH del mezzo.

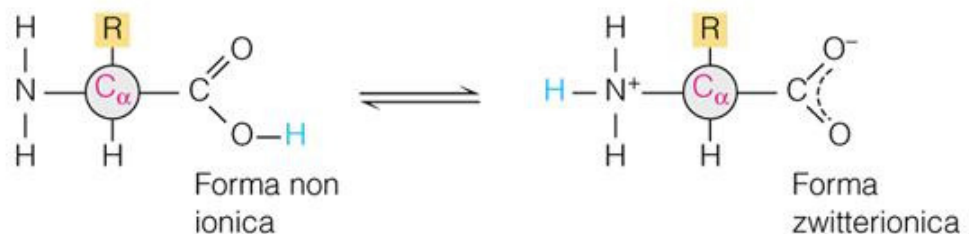
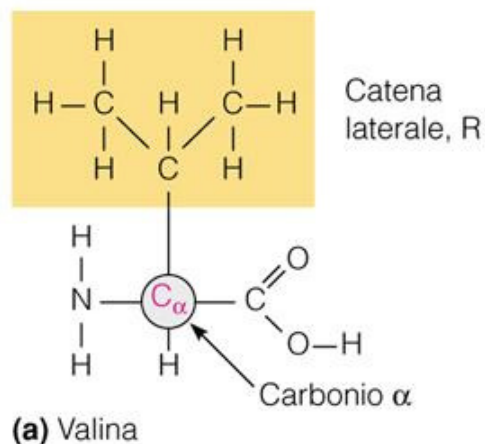


In funzione del pH del mezzo gli aminoacidi possono quindi assumere anche la forma dipolare (zwitterionica) che ne promuove la cristallizzazione.

Quando uno dei 20 aminoacidi naturali viene sciolto in H_2O tende ad assumere la forma dipolare (**zwitterione**). Le sostanze che hanno questa doppia natura si definiscono **anfòtere** o **anfoliti**.

Infatti a **pH fisiologico** (valore attorno a 7,4) tutti gli aminoacidi presentano:

- il **gruppo carbossilico** dissociato per cui si forma lo ione negativo carbossilato (**$-COO^-$**);
- il **gruppo amminico** protonato (**$-NH_3^+$**)

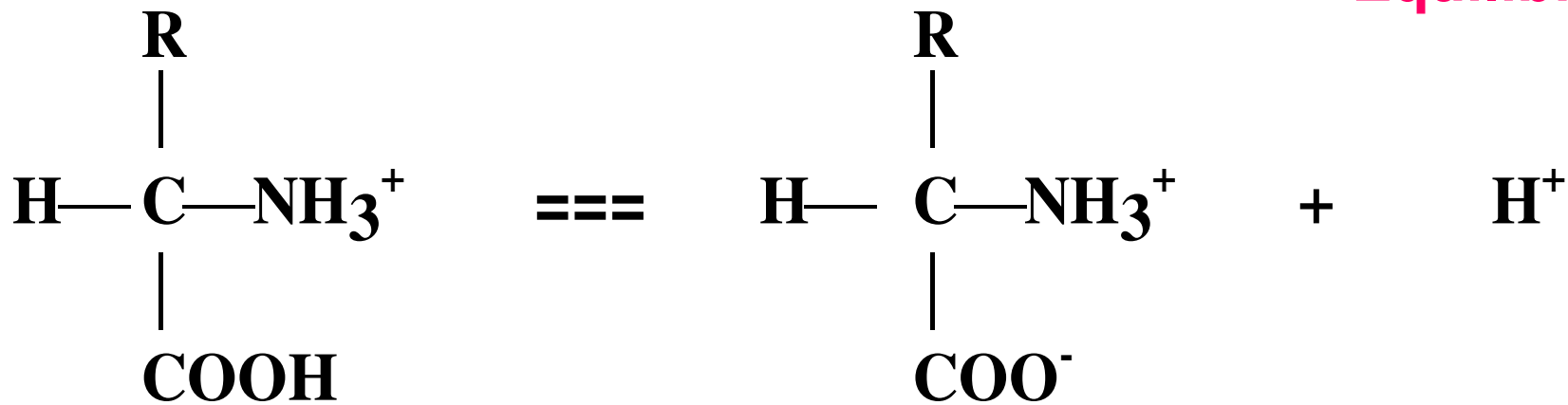


(b) Aminoacido generalizzato, che forma uno zwitterione a pH neutro

Un aminoacido può quindi comportarsi sia da acido che da base debole, per cui si avrà:

- in ambiente fortemente acido si avrà la protonazione del gruppo amminico che origina uno ione positivo (forma cationica), mentre al crescere del pH si assisterà alla dissociazione del gruppo carbossilico acido che porta alla formazione della forma zwitterionica:

Equilibrio 1



Per cui la relativa costante di equilibrio (K_1) sarà data da:

$$K_1 = \frac{[H^+] \cdot [A^-]}{[HA]} \quad \text{da cui: } [H^+] = K_1 \cdot \frac{[HA]}{[A^-]}$$

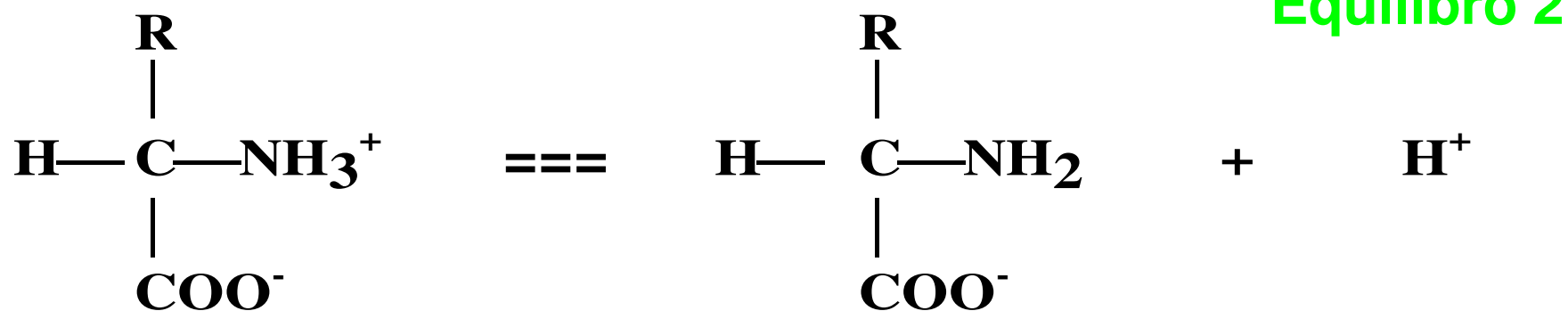
e quindi:

$$-\text{Log } [H^+] = -\text{Log } K_1 - \text{Log } \frac{[HA]}{[A^-]} = -\text{Log } K_1 + \text{Log } \frac{[A^-]}{[HA]}$$

$$\text{pH} = \text{pK}_1 + \text{Log } \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Esisterà quindi un valore di pH per cui la concentrazione relativa alla forma dissociata ($[A^-]$) tenderà ad uguagliare quella della forma associata ($[HA]$), punto di semineutralizzazione, dove il pH assumerà il valore del pK_1 dell'aminoacido considerato

- mentre operando in ambiente basico il gruppo carbossilico risulterà completamente dissociato e il gruppo amminico protonato tenderà a perdere il protone in accordo all'equilibrio seguente:



Esisterà quindi un valore di pH ($\text{pH}=\text{pK}_2$) dove le concentrazioni relative alle due forme coinvolte nell'equilibrio 2 coincidono.

I due equilibri analizzati e relativi alla dissociazione della funzione acida e alla protonazione del gruppo amminico coinvolgono entrambi la forma dipolare.

Esisterà quindi un valore di pH ($\text{pH}=\text{pK}_2$) dove le concentrazioni relative alle due forme coinvolte nell'equilibrio 2, coincidono.

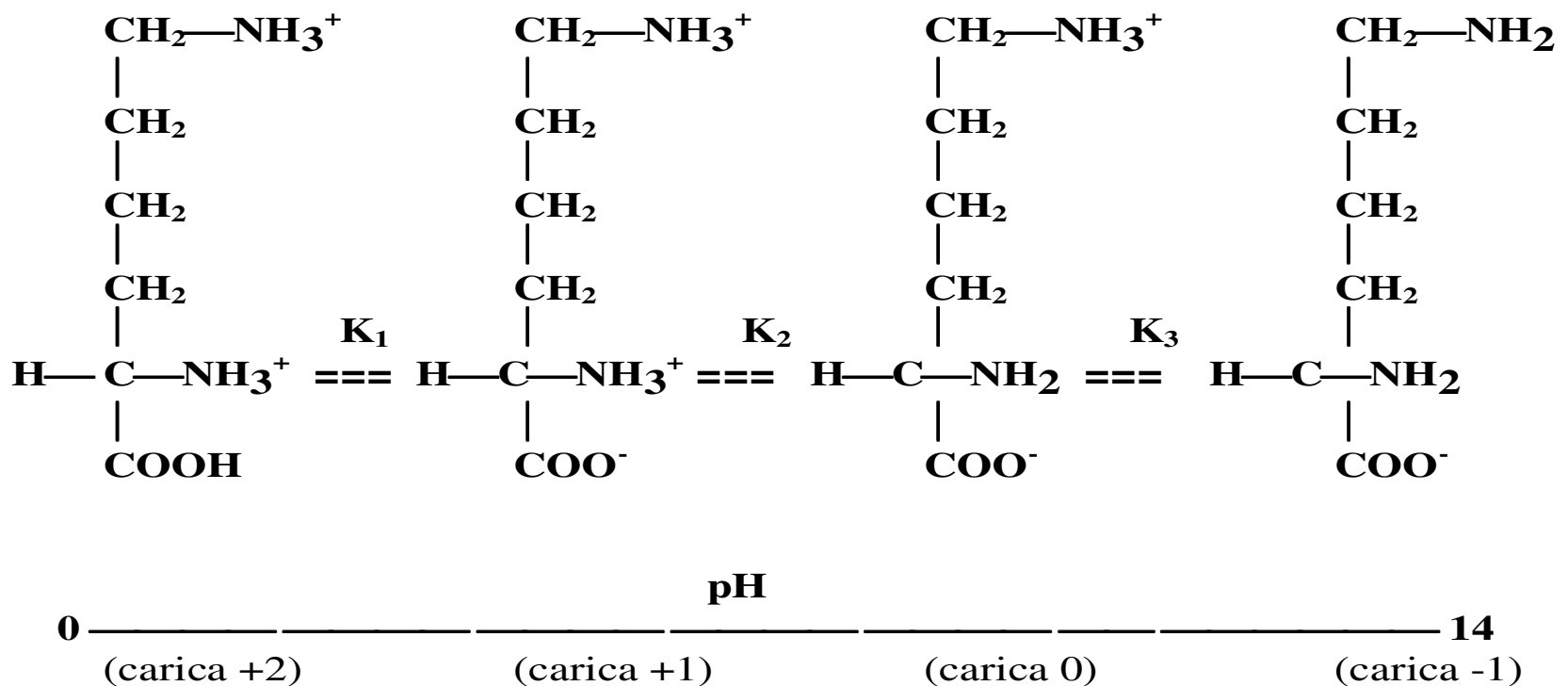
Poiché i due equilibri analizzati e relativi alla dissociazione della funzione acida e alla protonazione del gruppo amminico, coinvolgono entrambi la forma dipolare, esisterà un valore di pH intermedio a quelli dei due pK relativi ai due equilibri considerati, dove le molecole dell'aminoacido verranno ad assumere la struttura dipolare switterionica.

Questo valore di pH rappresenta il punto isoelettrico (pI) relativo all'aminoacido analizzato che può essere determinato come media aritmetica dei valori dei pK connessi ai due equilibri considerati:

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

Se l'aminoacido considerato contiene più gruppi carbossilici o amminici si avranno più di due equilibri in funzione del pH ed anche il valore del pH corrispondente al punto isoelettrico (pI) varierà di conseguenza.

Ad esempio nel caso della lisina si avrà:



In questo caso il valore di pH che massimizza la formazione della forma dipolare neutra si colloca nell'intervallo degli equilibri 2 e 3, per cui:

$$\text{pH} = \text{pI} = (\text{pK}_2 + \text{pK}_3)/2$$

Al variare del gruppo R varieranno anche i valori delle costanti di equilibrio e quindi anche quelli dei pH corrispondenti ai punti isoelettrici dei diversi aminoacidi (vedi tabella allegata).

Al punto isoelettrico o isoionico, l'aminoacido non potendo più essere solvatato dal solvente polare (H_2O) diventa insolubile e si separa in forma solida (precipitazione).

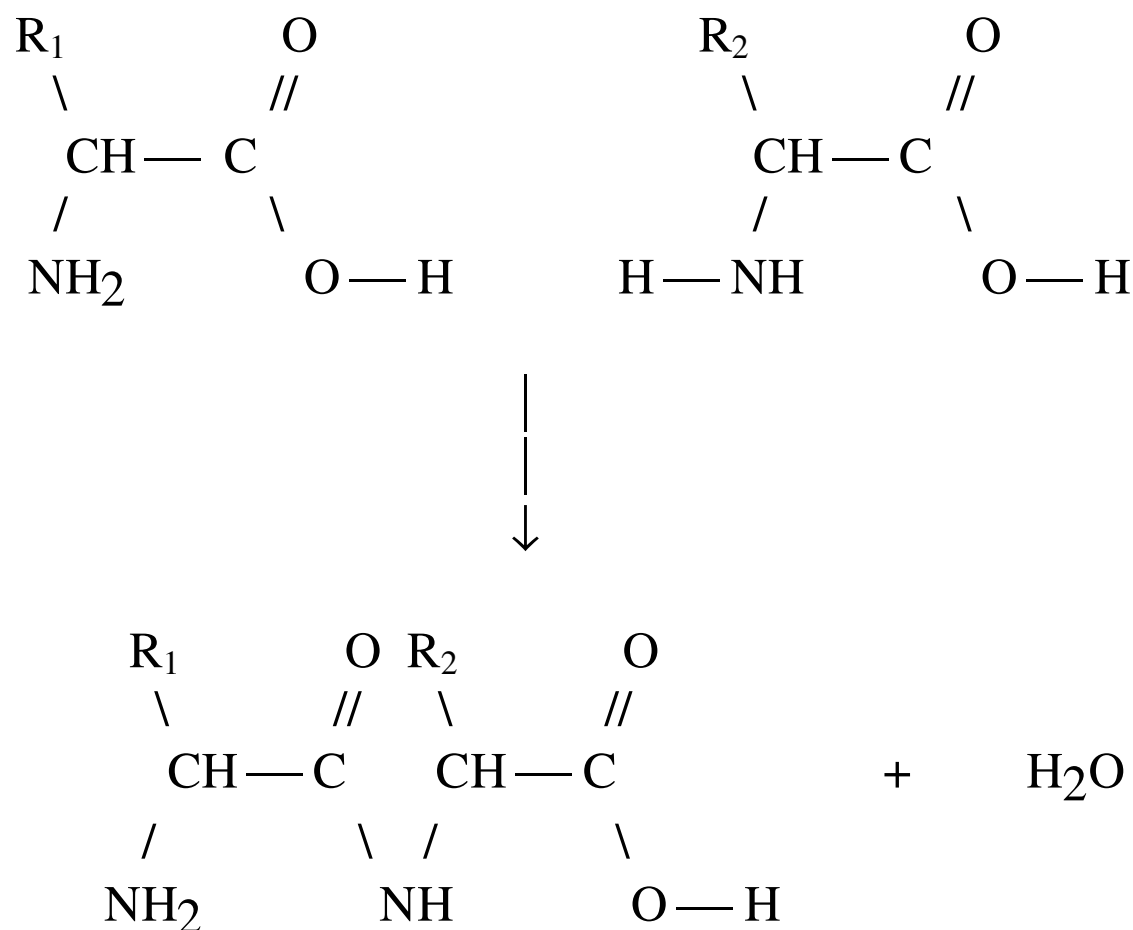
Inoltre a tale valore di pH si annulla la sua mobilità elettroforetica (elettroforesi tecnica di separazione che prevede l'utilizzo di un campo elettrico e quindi particolarmente adatto per la separazione di composti carichi).

Tabella
Valori del pK e del pI degli amminoacidi essenziali

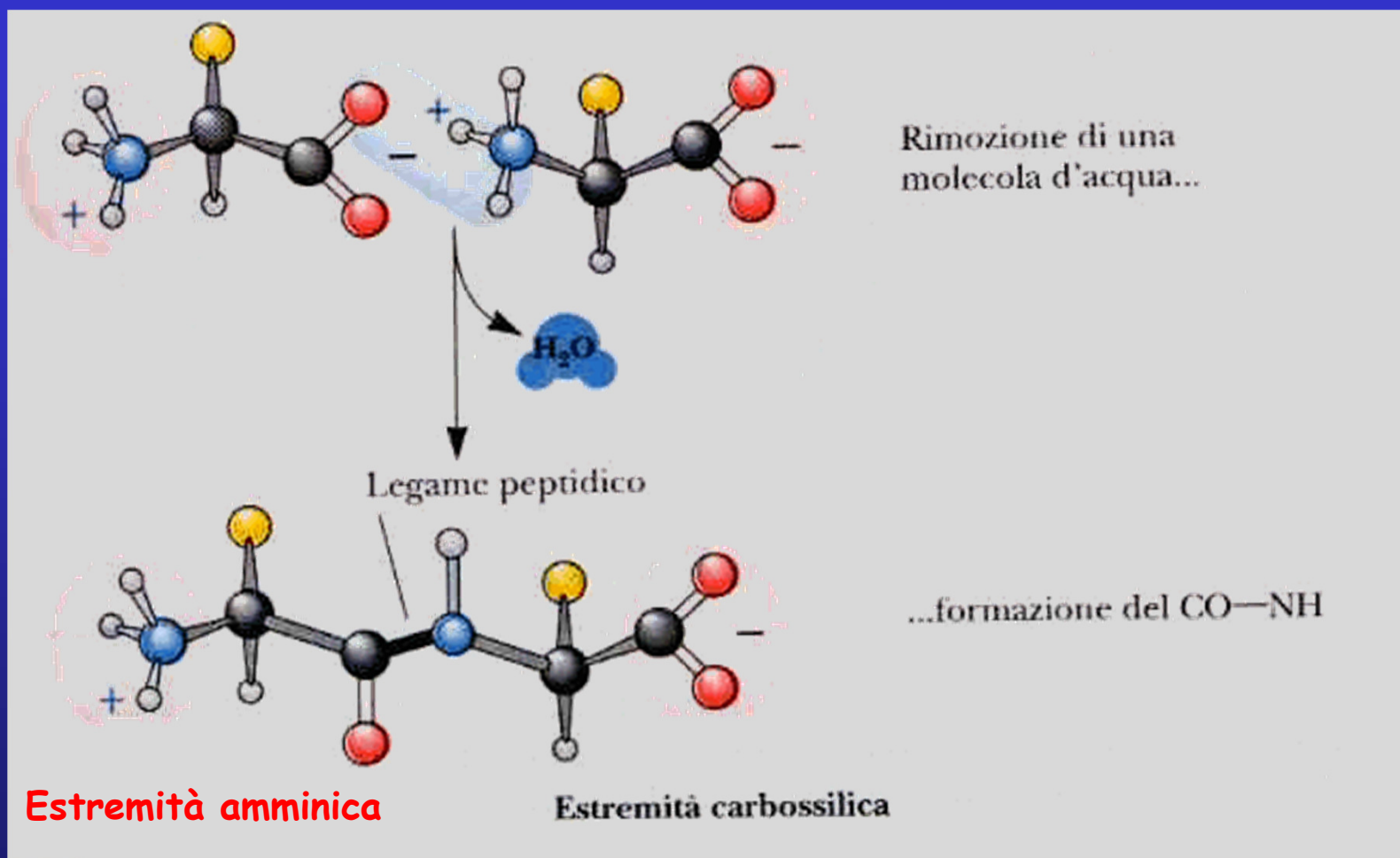
Amminoacido	pK ₁ (COOH in 1)	pK ₂	pK ₃	pI
Glicina	2,34	9,60 (NH ₃ ⁺)	—	5,97
Alanina	2,34	9,69 (NH ₃ ⁺)	—	6,00
Serina	2,21	9,15 (NH ₃ ⁺)	—	5,68
Cisteina	1,96	8,18 (NH ₃ ⁺)	10,78 (rad. R)	5,02
Cistina	$\left\{ \begin{array}{l} 1,65 \\ 2,26 \end{array} \right.$	$\left\{ \begin{array}{l} 7,86 \\ 9,85 \end{array} \right.$ (NH ₃ ⁺)	—	5,05
Treonina	2,71	9,62 (NH ₃ ⁺)	—	6,16
Valina	2,32	9,62 (NH ₃ ⁺)	—	5,96
Metionina	2,28	9,21 (NH ₃ ⁺)	—	5,74
Leucina	2,36	9,60 (NH ₃ ⁺)	—	5,98
Isoleucina	2,36	9,68 (NH ₃ ⁺)	—	6,02
Fenilalanina	1,83	9,13 (NH ₃ ⁺)	—	5,48
Tirosina	2,20	9,11 (NH ₃ ⁺)	10,07 (rad. R)	5,66
Triptofano	2,38	9,39 (NH ₃ ⁺)	—	5,89
Acido aspartico	1,88	3,65 (COOH in ω)	9,60 (NH ₃ ⁺)	2,77
Asparagina	2,02	8,80 (NH ₃ ⁺)	—	5,41
Acido glutammico	2,19	4,25 (COOH in ω)	9,67 (NH ₃ ⁺)	3,22
Glutammina	2,17	9,13 (NH ₃ ⁺)	—	5,65
Arginina	2,17	9,04 (NH ₂ in α)	12,48 (guanidina)	10,76
Lisina	2,18	8,95 (NH ₂ in α)	10,53 (NH ₃ ⁺ in ε)	9,74
Istidina	1,82	6,00 (imidazolo)	9,17 (NH ₃ ⁺ in α)	7,59
Prolina	1,99	10,60 (NH ₃ ⁺)	—	6,30
Ossiprolina	1,92	9,73 (NH ₃ ⁺)	—	5,83

I peptidi

I peptidi derivano dalla condensazione di un numero limitato di aminoacidi naturali uniti tra loro attraverso un legame tra il gruppo carbossilico di un aminoacido ed il gruppo amminico dell'aminoacido successivo (legame peptidico).



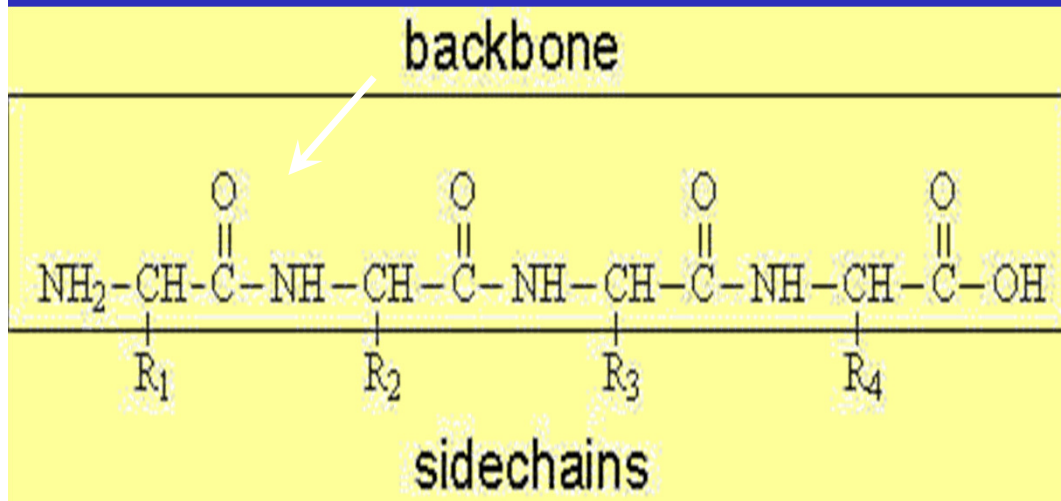
Gli aminoacidi possono unirsi tra loro con legami peptidici



Il ripetersi di questa reazione dà luogo a (poli)-
peptidi (PM < 10⁴ g/mole) e **proteine** (PM > 10⁴ g/mole).

peptidi, polipeptidi e proteine

gli aminoacidi sono uniti tra loro da legami peptidici



energia di legame
100 Kcal/mole

- non vengono rotti con l'ebollizione, ma solo con l'azione prolungata di acidi o basi concentrate

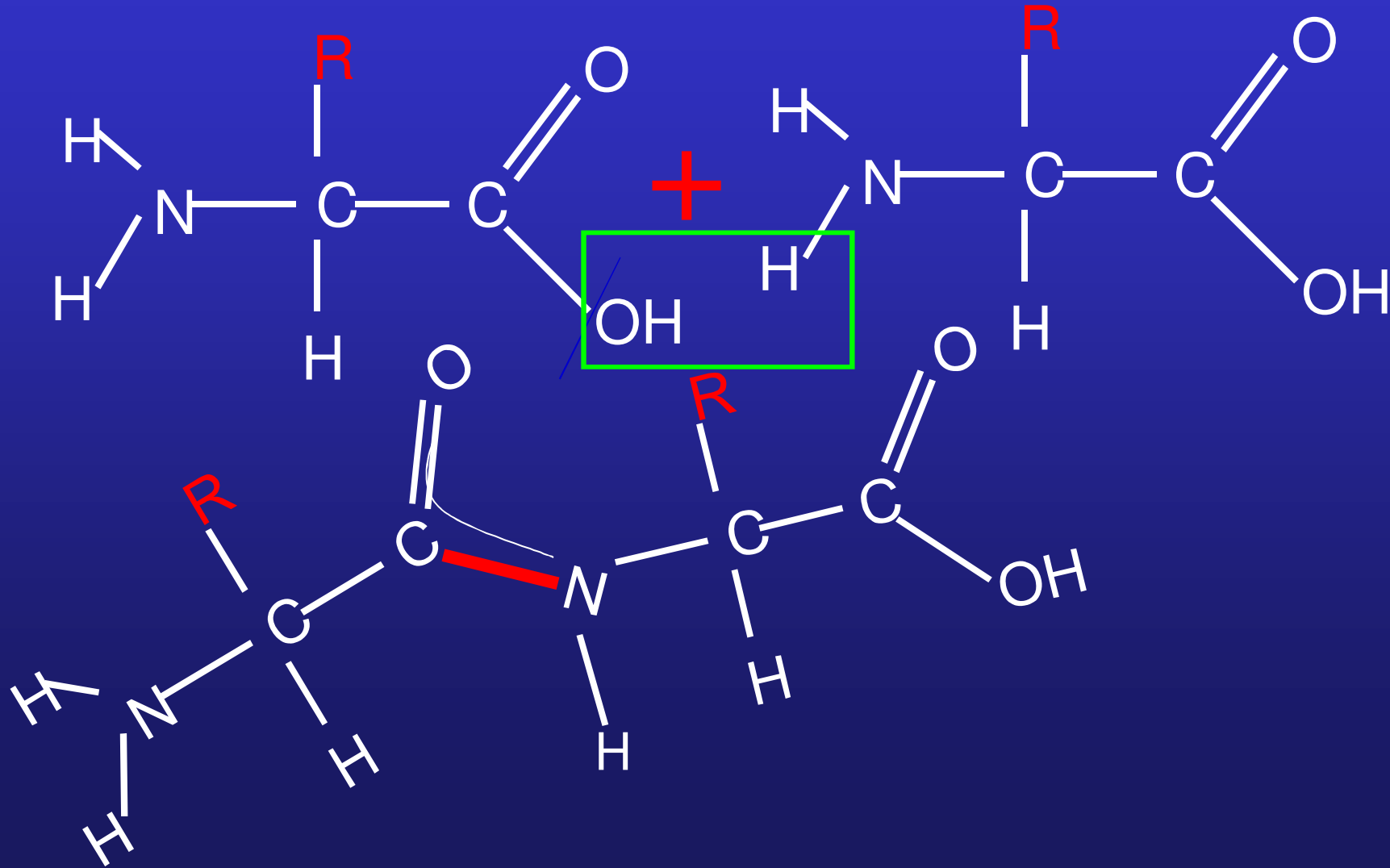
- gli enzimi proteolitici sono in grado di rompere questi legami

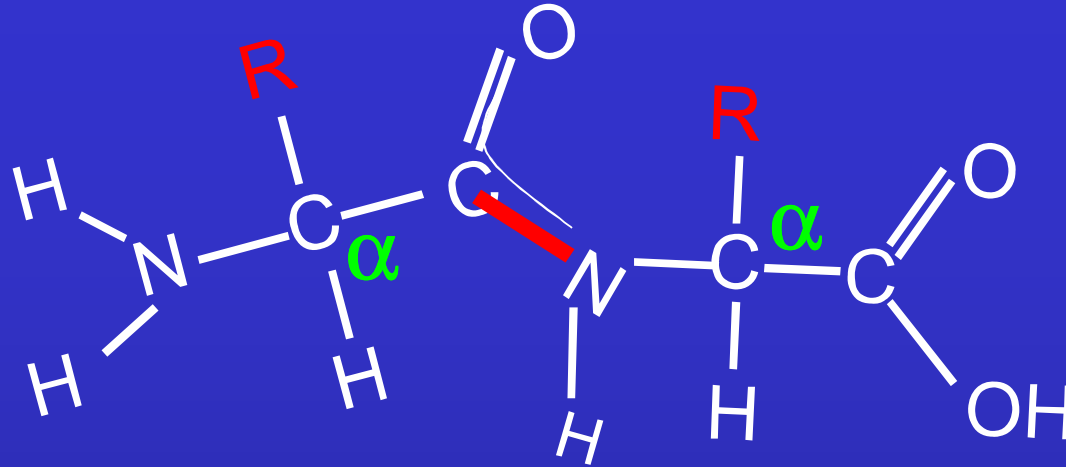
- esistono sequenze lunghe da pochi aminoacidi a migliaia di aminoacidi con peso molecolare da 5 a 1000 KDalton (1 Dalton = 1/12 massa ¹²C; 1,660 538 921×10⁻²⁷ kg)

	# aminoacidi
peptide (oligopeptide)	<20
polipeptide	<60
proteina	>60

Proprietà del legame peptidico:

Planare, ha una forza intermedia tra il legame semplice ed il legame doppio.



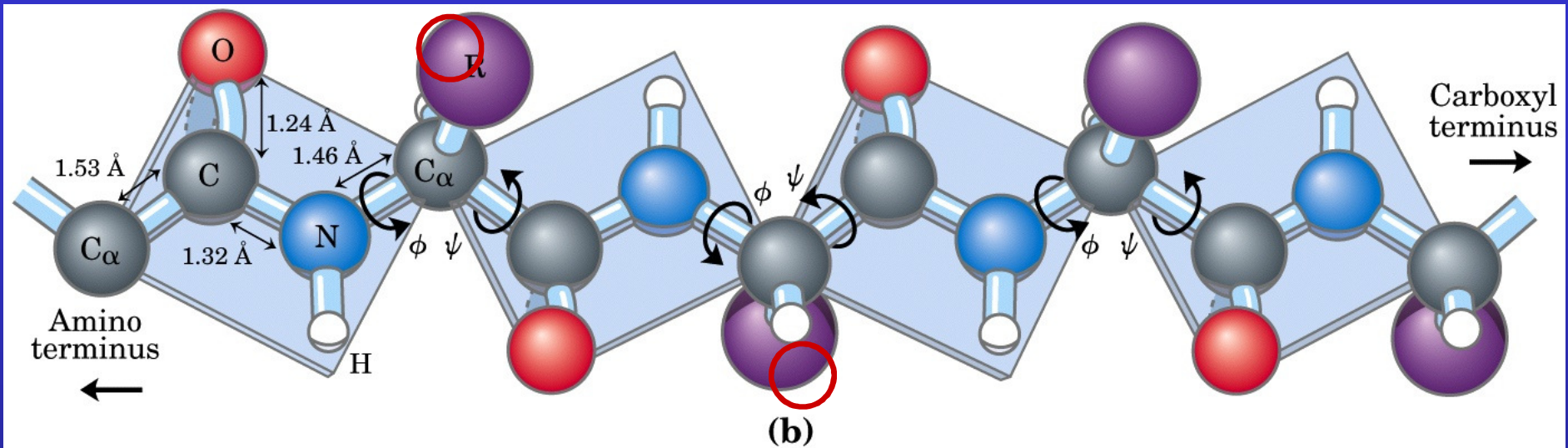


Gli atomi dei due $C\alpha$ degli aminoacidi coinvolti sono separati da tre legami covalenti: $C\alpha - C - N - C\alpha$

PROPRIETA' DEL LEGAME PEPTIDICO

- I 6 atomi del gruppo peptidico giacciono sullo stesso piano → l'ossigeno legato al carbonio del gruppo carbonilico e l'atomo di idrogeno legato all'azoto amminico, si trovano in *trans*.
- L'ossigeno carbonilico ha una parziale carica negativa e l'azoto amminico ha una parziale carica positiva → ciò genera l'esistenza di un parziale dipolo elettrico.
- I legami ammidici C-N hanno un parziale carattere di doppio legame per effetto della risonanza → non possono ruotare liberamente.
- La rotazione è permessa solo attorno ai legami $N-C\alpha$ e $C\alpha-C$.

Il legame peptidico è rigido e planare



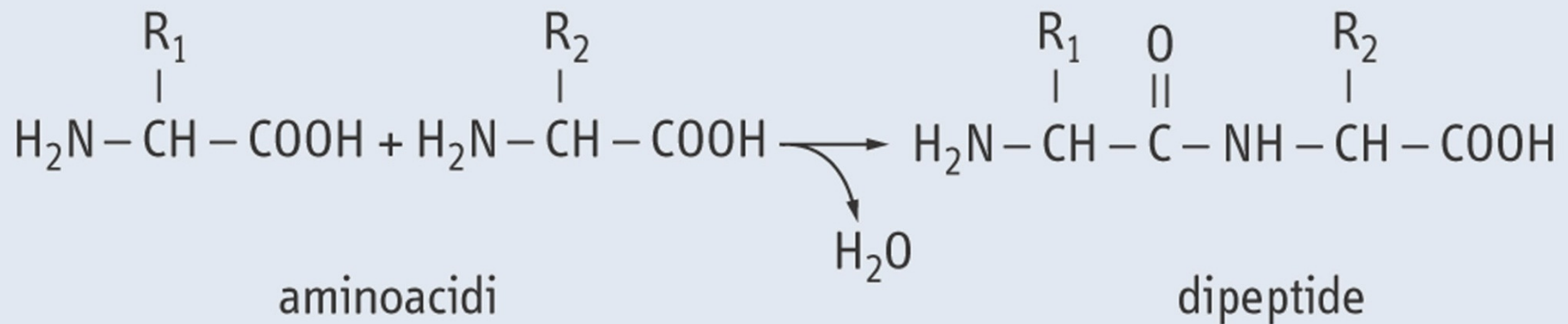
Φ e ψ sono di 180° quando il polipeptide è nella conformazione complanare estesa e tutti i gruppi peptidici sono sullo stesso piano.

Φ e ψ possono assumere tutti i valori compresi tra -180° e $+180^\circ$, ma molti valori risultano proibiti per interferenze steriche tra gli atomi dello scheletro del polipeptide e quelli delle catene laterali.

Riassumendo - le caratteristiche del legame peptidico

- Ha il carattere di un “*doppio legame parziale*” (è più corto di un legame singolo).
- E' **rigido** e **planare** (non è possibile la rotazione attorno al legame tra il carbonio carbonilico e l'azoto del legame peptidico).
- In genere è un **legame** di tipo **trans**, a causa di interferenze steriche tra i gruppi -R (i legami tra un $C\alpha$ e un gruppo α -amminico o α -carbossilico possono ruotare!)
- I gruppi **-C=O** ed **-NH** del legame peptidico non hanno una carica elettrica (a differenza del gruppo α -amminico all'estremità N-terminale ed α -carbossilico al C-terminale) ma sono polari e partecipano alla formazione di legami a idrogeno.

Struttura di un dipeptide



Per indicare la composizione di un peptide si indicano i singoli aminoacidi impegnati. Per cui un peptide formato da **alanina** e **glicina** viene classificato come **alanil-glicina** o più velocemente attraverso le loro sigle **Ala-Gly** per cui il *primo per convenzione ha il gruppo amminico libero mentre l'ultimo evidenzia il gruppo carbossilico non impegnato in un legame peptidico.*

Denominazione dei peptidi

- L'unione di più aminoacidi mediante legami peptidici produce una catena denominata **polipeptide**.
- Per convenzione, l'estremità amminica libera della catena peptidica (estremità N) si scrive a sinistra mentre quella carbossilica libera (estremità C) si scrive a destra.
- Le sequenze di aminoacidi si leggono sempre dall'estremità N all'estremità C del peptide.

Se un peptide è stato originato dalla policondensazione di un solo aminoacido viene definito omopeptide se invece diversi aminoacidi sono coinvolti nella sua struttura si ha un eteropeptide inoltre si possono avere peptidi lineari o ramificati.

La miscela di più peptidi vengono definite **peptoni o albumose**.

proprietà fisiche e chimiche - I peptidi manifestano alcune proprietà comuni alle proteine mentre per altre tendono a differenziarsi da queste.

- possiedono un punto isoelettrico e possono essere frazionati per elettroforesi
- il loro comportamento come anfotiti è simile a quello degli aminoacidi semplici; tuttavia è evidente che le forze elettrostatiche con questi connesse risultano inferiori in quanto hanno un solo gruppo -NH_3^+ all'inizio della catena ed uno -COO^- alla fine di questa, essendo queste due specie ioniche separate da un numero variabile di legami peptidici. Si ottengono quindi valori di pK_1 e di pK_2 rispettivamente più elevati e più ridotti di quelli riscontrabili negli aminoacidi semplici.
- Contrariamente alle proteine non coagulano con il calore e non vengono precipitati per salatura.

Vengono definiti **peptidi naturali** quelli che si ritrovano all'interno di cellule o tessuti o nei prodotti di escrezione delle piante o degli animali. Queste molecole sono di altissimo interesse biochimico, in quanto spesso composti a spiccata attività biologica:

- **antibiotici;**
- **tossine;**
- **ormoni;**
- **fattori di crescita.**

I protidi/proteine

Le proteine

- Fondamentali in ogni organismo, svolgono molteplici ruoli:
- Componenti strutturali (collagene, tessuto connettivo, citoscheletro, pelle)
- Trasportatori (emoglobina, albumina)
- Trasmittitori di messaggi (ormoni peptidici)
- Catalizzatori di reazioni chimiche (enzimi)
- Difesa contro i patogeni (immunoglobuline)
- Controllo e regolazione dell'espressione genica (istoni)
- Deposito di materiale (ferritina)
- Proteine dei sistemi contrattili (miosina)

Es. Albumina: aumenta solubilità degli acidi grassi nel sangue

Istoni: proteine nucleiche, formano la cromatina insieme al DNA

- Se il peso molecolare (PM) della catena polipeptidica supera 10000, si parla propriamente di protidi (proteine).
- Il loro isolamento e la successiva purificazione costituiscono le operazioni fondamentali preliminari alla loro caratterizzazione.
- Queste operazioni devono di norma essere condotte a temperature molto basse (di poco superiori al punto di congelamento del solvente) mantenendo un valore di pH prossimo a quello della proteina nativa.
- Le tecniche adottabili sono molte e diversificate e possono talvolta comportare la denaturazione della proteina:

a) **precipitazione:**

a₁) con metalli pesanti Cu, Hg, Pb;

a₂) con anioni pesanti; [denaturazione];

b) **separazione per:**

b₁) dispersione;

b₂) salatura;

b₃) elettroforesi;

b₄) cromatografia:

b_{4,1}) di assorbimento;

b_{4,2}) a scambio ionico;

b_{4,3}) di affinità.

Essendo composte da aminoacidi le proteine manifestano un comportamento di tipo anfotero, per la contemporanea presenza di gruppi carbossilici ed amminici liberi nei radicali e nelle porzioni terminali delle catene.

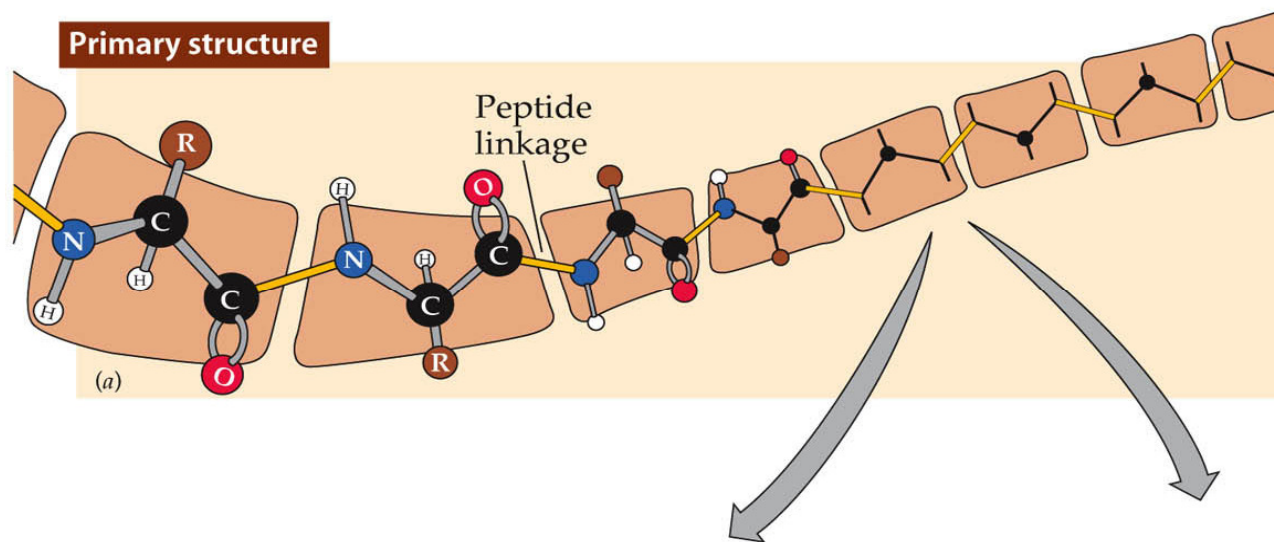
Le proteine nelle quali il rapporto:

$(\Sigma_{\text{lys}} + \Sigma_{\text{arg}} + \Sigma_{\text{ist}}) / (\Sigma_{\text{asp}} + \Sigma_{\text{glu}}) > 1$ sono *basiche*.

Quando tale rapporto:

$(\Sigma_{\text{lys}} + \Sigma_{\text{arg}} + \Sigma_{\text{ist}}) / (\Sigma_{\text{asp}} + \Sigma_{\text{glu}}) < 1$ sono *acide*.

Anche per le proteine è individuabile un pH che corrisponde al punto isoelettrico (**pI**) al quale la proteina non manifesta movimento elettroforetico, per cui non migra né verso l'anodo (+) né verso il catodo (-), e quindi la carica netta del composto è nulla.



La struttura delle proteine

- I 20 *aminoacidi* che si trovano comunemente nelle proteine sono uniti l'uno all'altro da *legami peptidici*.
- La *sequenza lineare degli aminoacidi* legati contiene l'informazione necessaria a generare una *proteina* con una *forma tridimensionale esclusiva*.
- La struttura di una proteina è complessa: organizzazione in *4 livelli gerarchici* (struttura primaria, secondaria, terziaria e talvolta quaternaria).

Proteina → molecole composte da
una o più catene polipeptidiche

Proteine
monomeriche

Proteine
multimeriche

omomultimeriche
(stesso tipo di
polipeptide)

eteromultimeriche
(diversi tipi di
polipeptidi)



Le proprietà di un polipeptide (proteina), dipendono essenzialmente dalla sua struttura e quindi dal tipo e dalla disposizione spaziale assunta dai monomeri (aminoacidi) che lo costituiscono.

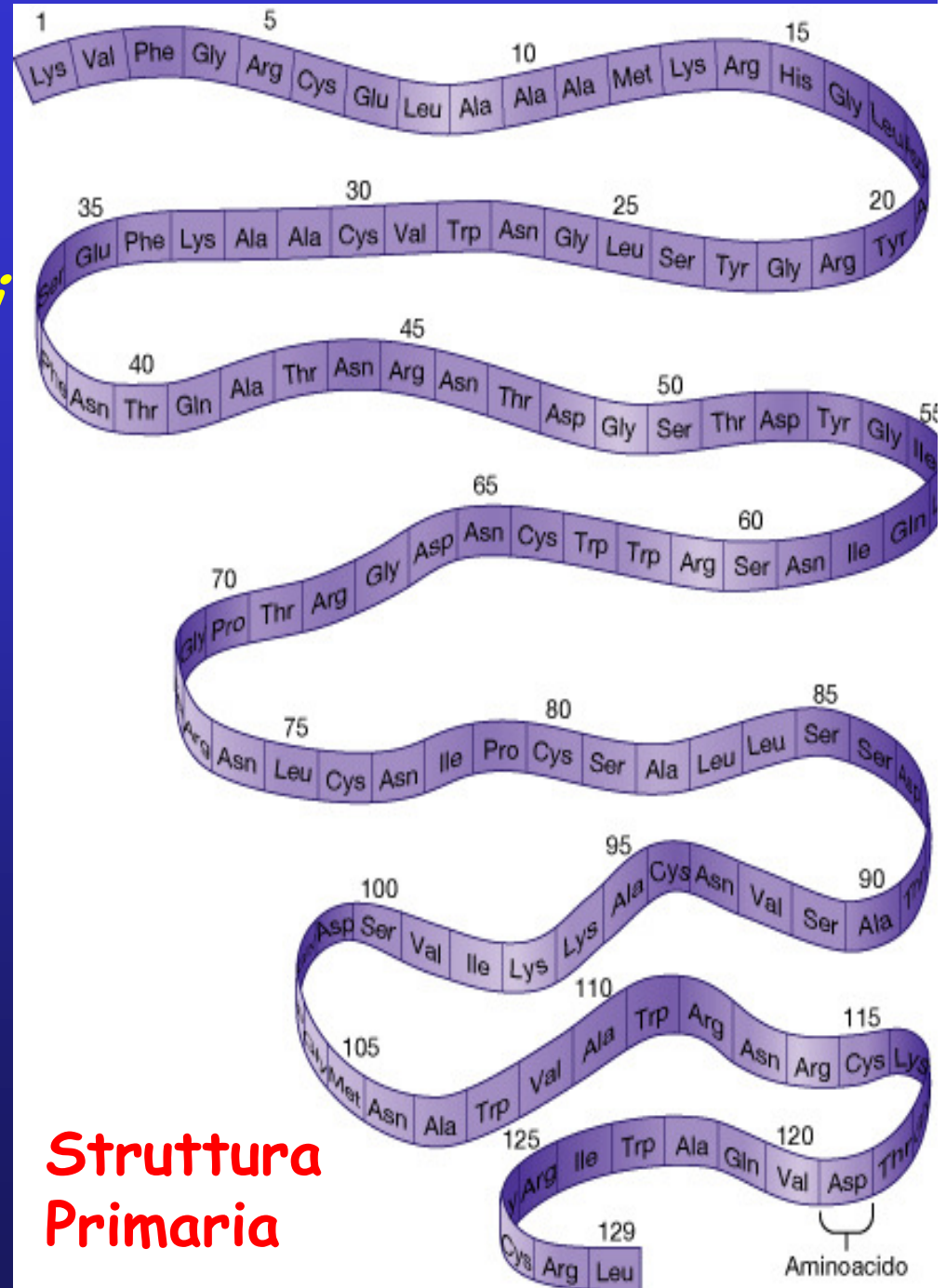
Per caratterizzare una proteina risulta pertanto indispensabile conoscere il numero e la sequenza degli aminoacidi che la costituiscono (struttura primaria).

La determinazione della struttura primaria di una proteina può essere effettuata previa frammentazione progressiva delle catene polipeptidiche che la costituiscono, utilizzando delle proteasi in grado di aggredire l'unità proteica a partire dagli aminoacidi terminali (carbossipeptidasi) ed identificando quindi gli aminoacidi così liberati.

•I singoli aminoacidi che costituiscono una catena poli-peptidica sono chiamati **residui aminoacidici**.

•In genere le proteine sono composte da 50-2000 residui aminoacidi.

•La **struttura primaria** di una proteina è definita dalla **sequenza lineare** dei **residui aminoacidici**.



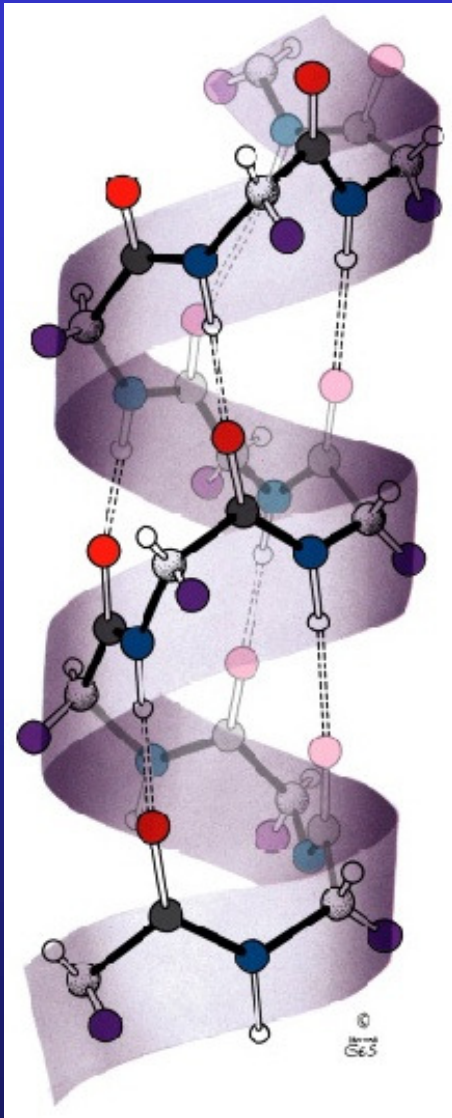
Struttura secondaria

- Si riferisce alla *conformazione locale della catena polipeptidica*.
- E' determinata da interazioni di tipo *legame a idrogeno* fra l'ossigeno di un gruppo carbonilico del legame peptidico e l'idrogeno del gruppo ammidico di un altro legame peptidico.
- Esistono due tipi di strutture secondarie:
l' *α -elica* ed il *foglietto β* .

strutture dovute ad interazioni "locali" di tipo ponte-H:

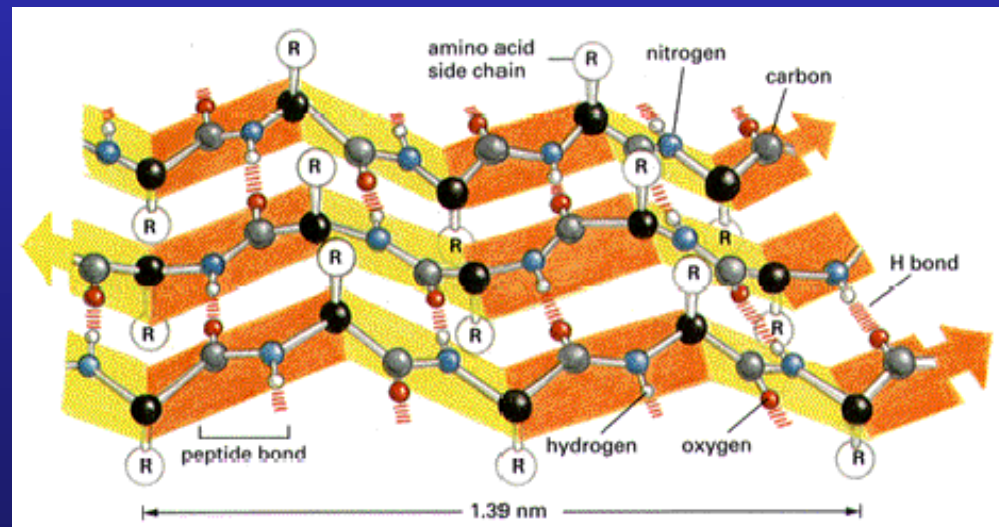
α -elica

- ponte-H ogni 3,6 aminoacidi
- Il legame H si instaura tra l'H dell'azoto ammidico e l'O del gruppo carbonilico
- residui esterni alla spirale



β -foglietto

- legami idrogeno fra aminoacidi di catene diverse
- foglietto piegato



Struttura secondaria (α -elica)

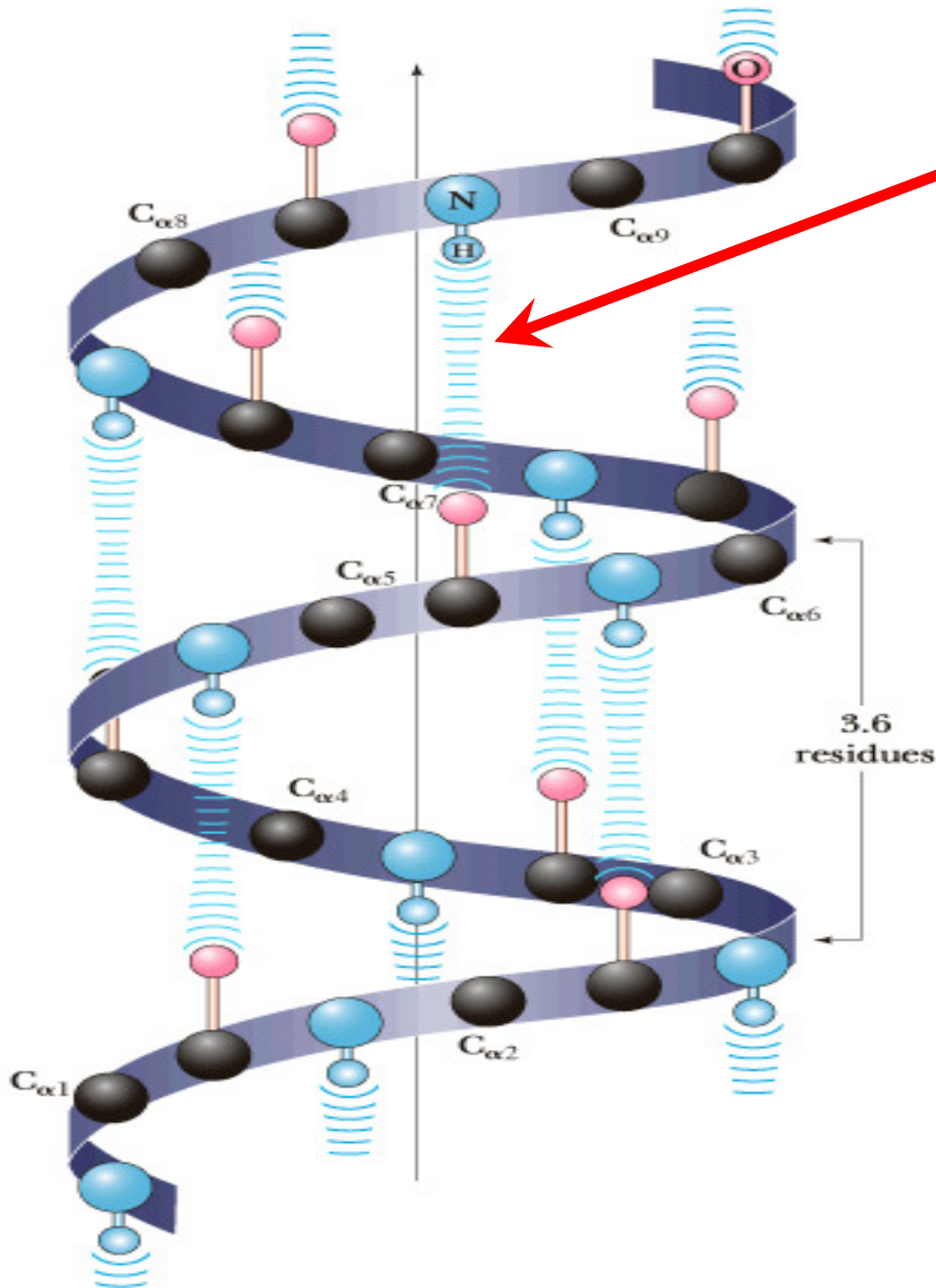
- E' una struttura in cui la *catena polipeptidica* è avvolta a spirale .
- Le catene laterali degli amminoacidi (-R) si protendono verso l'esterno rispetto all'asse della spirale.
- L' α -elica è stabilizzata da *legami idrogeno intracatena* che si formano tra l'ossigeno carbonilico di un legame peptidico e l'idrogeno ammidico di un legame peptidico situato a *4 residui di distanza* sulla catena.
- La *prolina interrompe l' α -elica!!!*
- Gli amminoacidi con catene laterali (-R) voluminose o cariche possono interferire con la formazione dell' α -elica.

Legame H

α -elica

• Il legame H si instaura tra l'H dell'azoto amidico e l'O del gruppo carbonilico

• ponte-H ogni 3,6 aminoacidi

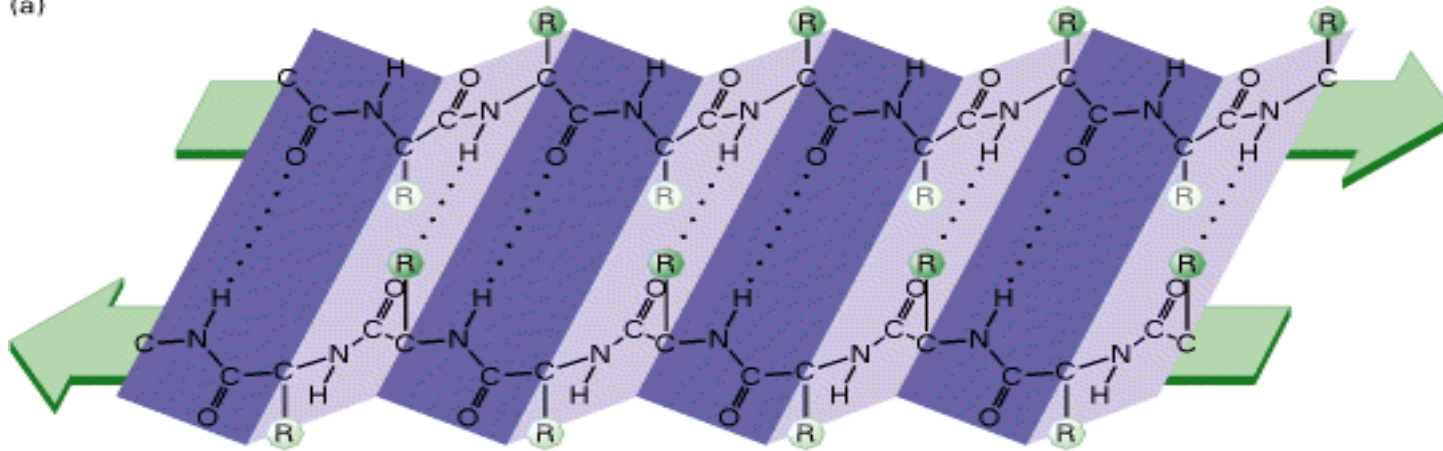


Struttura secondaria - (*foglietto β*)

- E' una struttura ripiegata, formata da 2 o più catene polipeptidiche (*filamenti*) quasi completamente distese.
- I *legami a idrogeno* sono *intercatena* e perpendicolari allo scheletro del peptide.
- Tutti i componenti di un legame peptidico partecipano alla formazione di legami a idrogeno.
- Tali legami si realizzano tra l'ossigeno di un gruppo carbonilico di un legame peptidico e l'idrogeno del gruppo ammidico di un altro legame peptidico appartenente ad un filamento diverso.

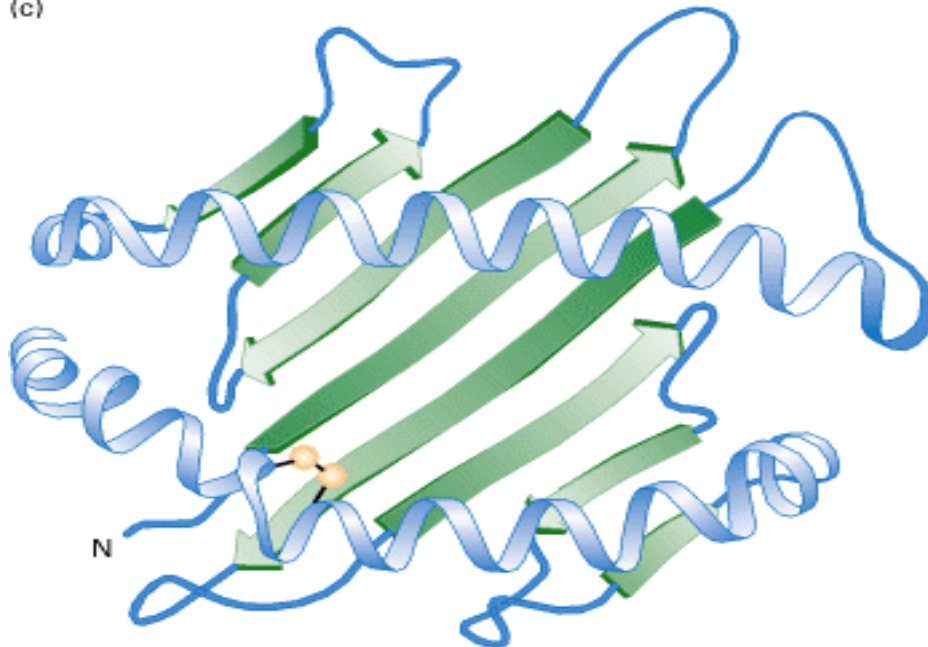
Struttura secondaria: foglietto β

(a)

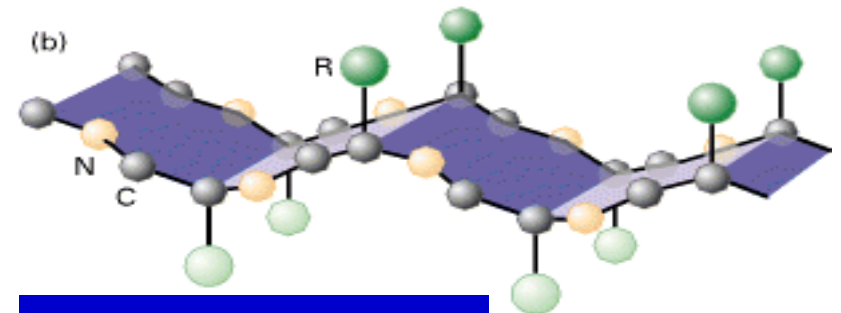


Visto di fronte

(c)

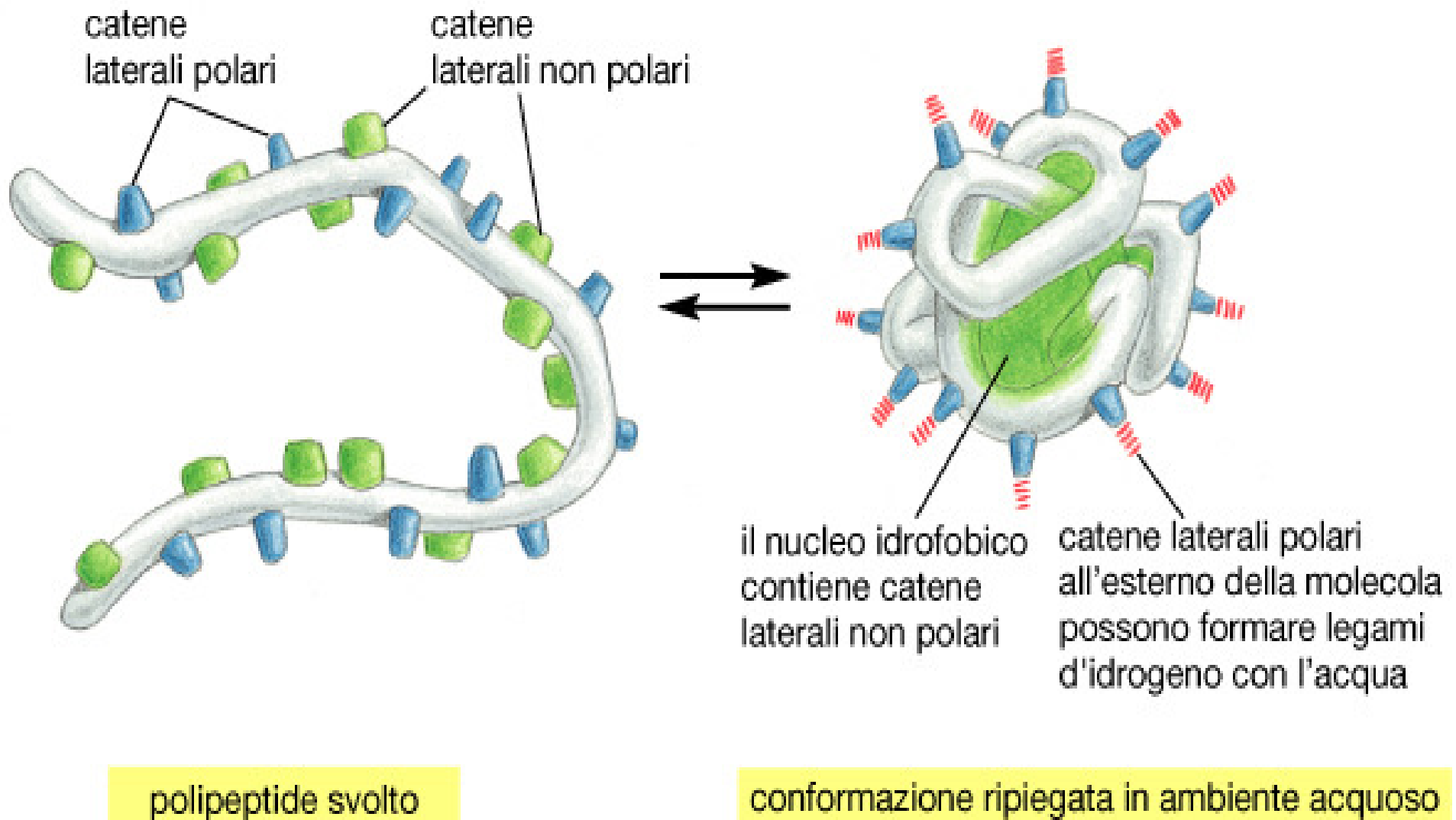


(b)



Visto di lato

Una proteina tende a ripiegarsi in una configurazione compatta



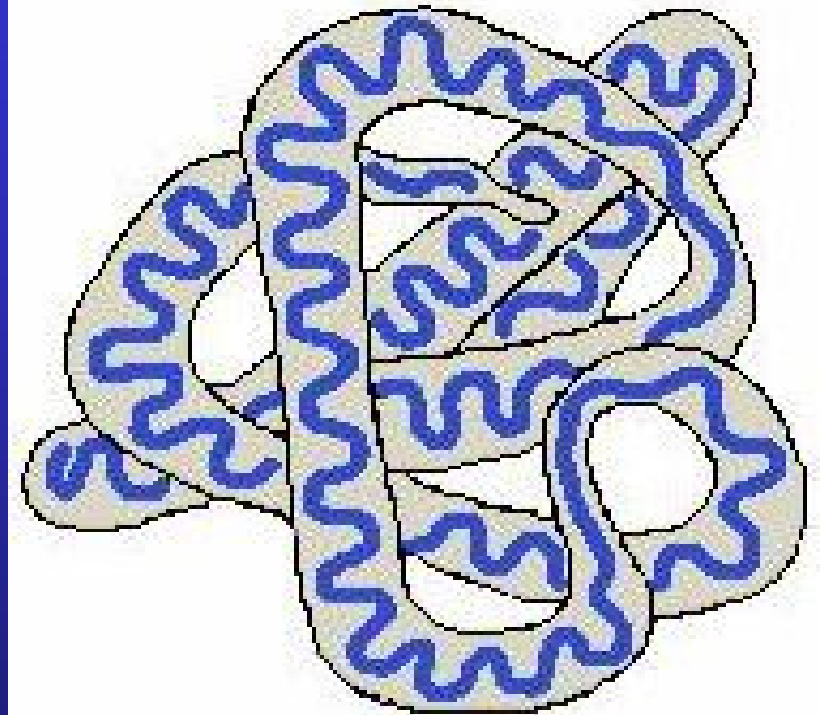
Struttura terziaria: struttura tridimensionale dell'intero polipeptide che deriva dall'interazione fra le catene laterali di a.a. anche distanti nella sequenza primaria

Struttura terziaria

- La struttura terziaria rappresenta la conformazione tridimensionale assunta da una proteina.
- La struttura primaria di una catena polipeptidica determina la sua struttura terziaria.
- Quando una proteina si avvolge su se stessa, gli amminoacidi che si trovano in regioni lontane della sequenza polipeptidica possono ugualmente interagire tra loro.

Struttura terziaria

- La struttura terziaria determina la conformazione tridimensionale assunta da una proteina.



Fattore indispensabile per la sua attività biologica.

Struttura terziaria

- È stabilizzata da legami non covalenti come ponti idrogeno, interazioni idrofobiche tra aminoacidi non polari e legami ionici.
- Ma anche da legami covalenti, sotto forma di ponti disolfuro fra due cisteine.
- Le interazioni che si instaurano a livello tridimensionale coinvolgono aminoacidi non necessariamente vicini nella struttura primaria.



Struttura terziaria

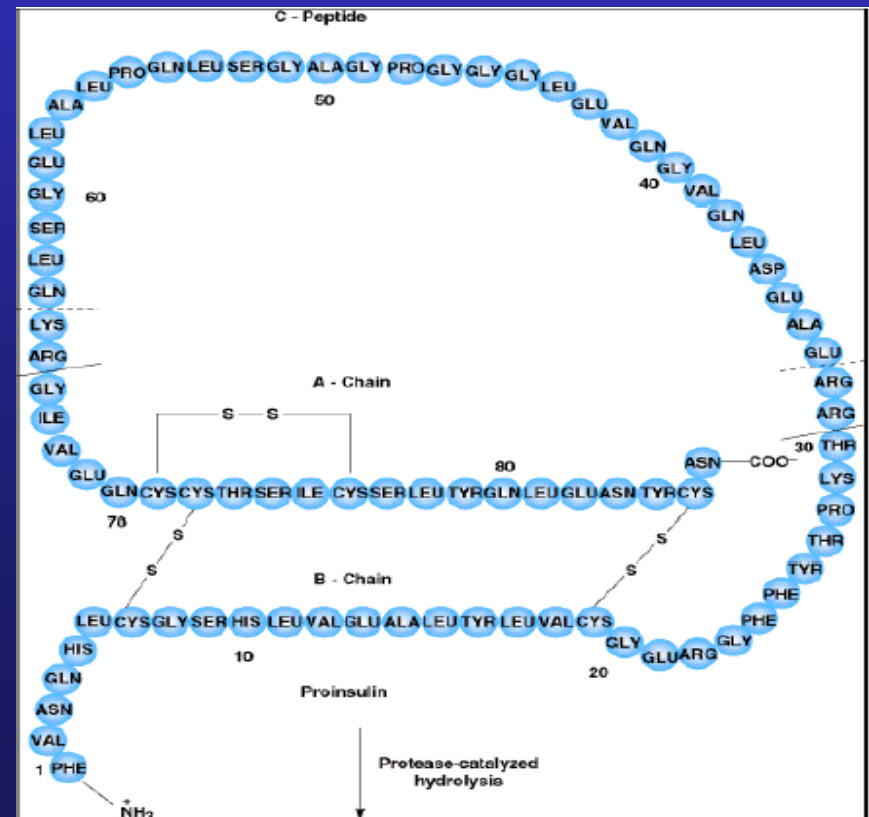
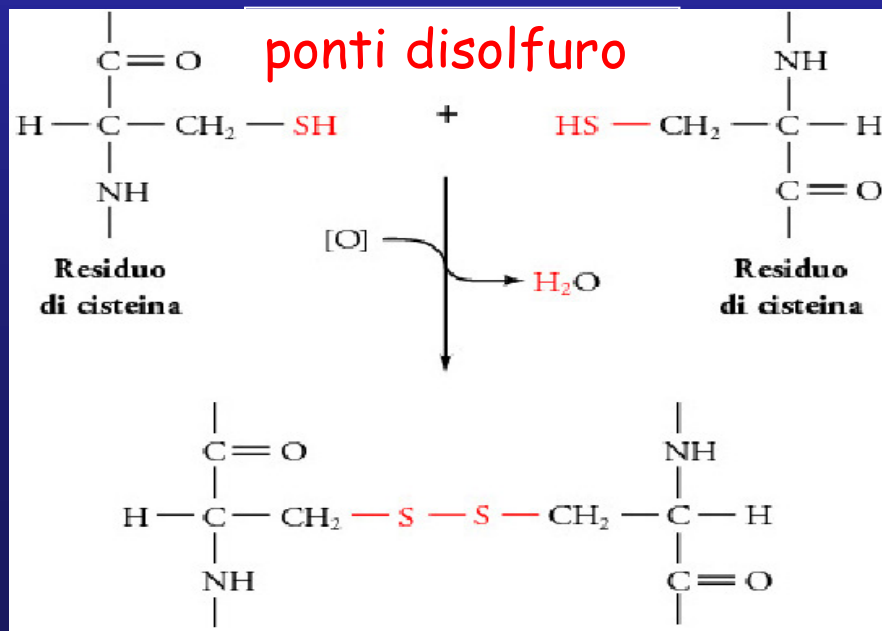
Determina la struttura 3D

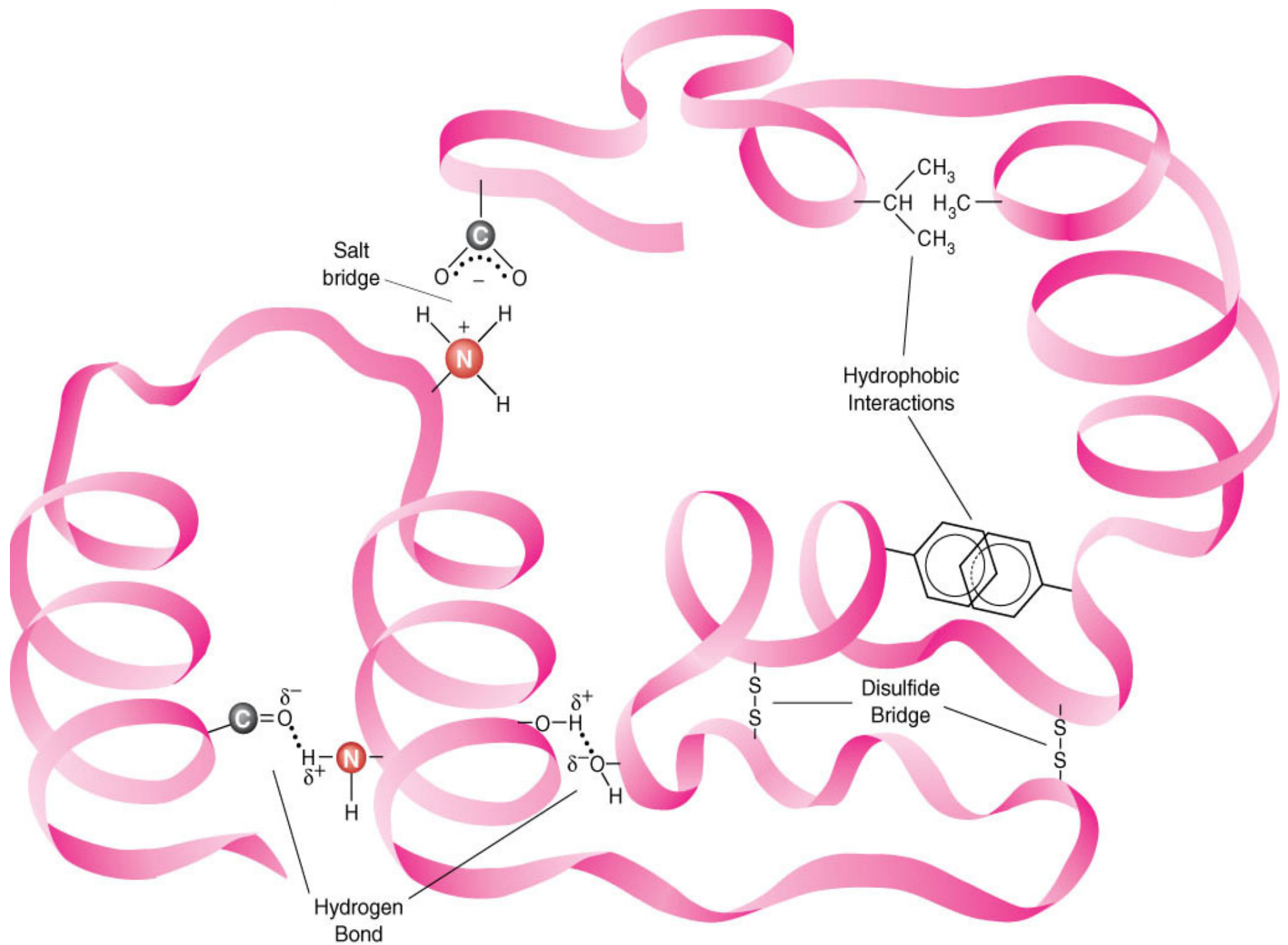
Stabilizzata da

- ponti S-S
- interazioni idrofobiche
- interazioni elettrostatiche (legami ionici)
- legami di Wan der Waals

Suscettibile di denaturazione

- R apolari verso l'interno (eccetto in proteine integrali di membrana)
- R polari verso l'esterno (solvatati da H_2O)





La struttura terziaria viene ad essere stabilizzata da quattro tipi di possibili interazioni

- Interazioni idrofobiche: gli amminoacidi con catene laterali non polari tendono a localizzarsi all'interno della molecola dove si associano con altri residui idrofobici
- Interazioni ioniche: i gruppi con carica negativa ($-\text{COO}^-$) possono interagire con gruppi carichi positivamente ($-\text{NH}_3^+$)
- Legami a idrogeno
- Legami disolfuro

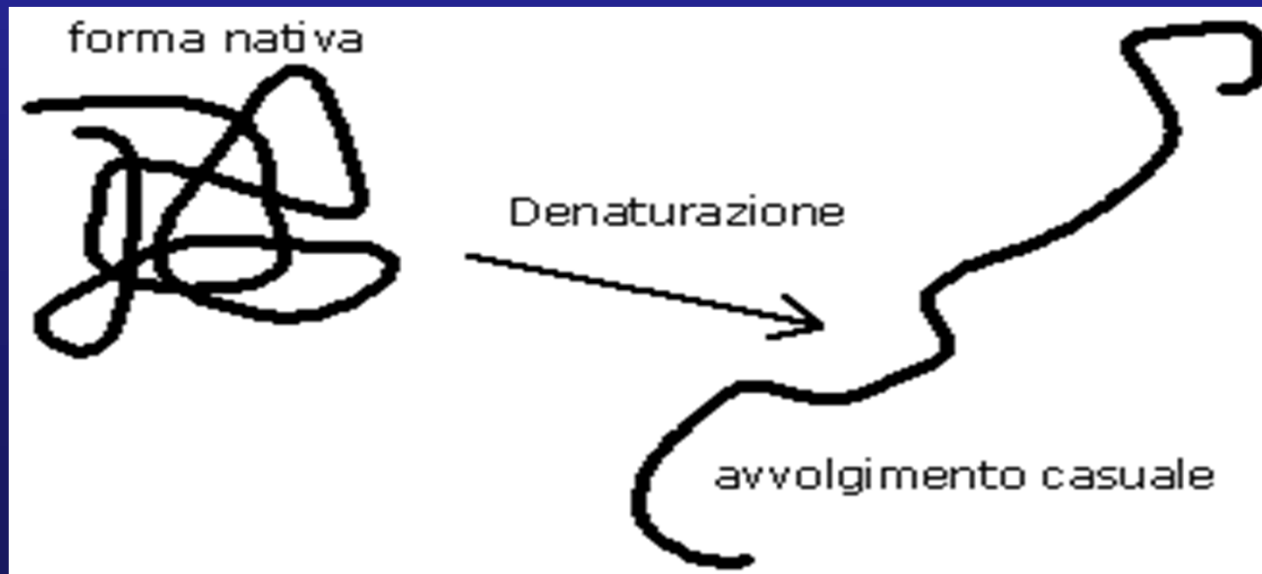
Legame disolfuro

- E' un legame covalente che deriva dalla ossidazione del gruppo solfidrico (-SH) di *due* residui di *cisteina* con formazione di *cistina*.
- Le due cisteine possono essere molto lontane nella stessa catena polipeptidica o appartenere a due diverse catene.
- Essendo legami covalenti, i legami disolfuro concorrono a stabilizzare la struttura delle proteine impedendone la denaturazione.

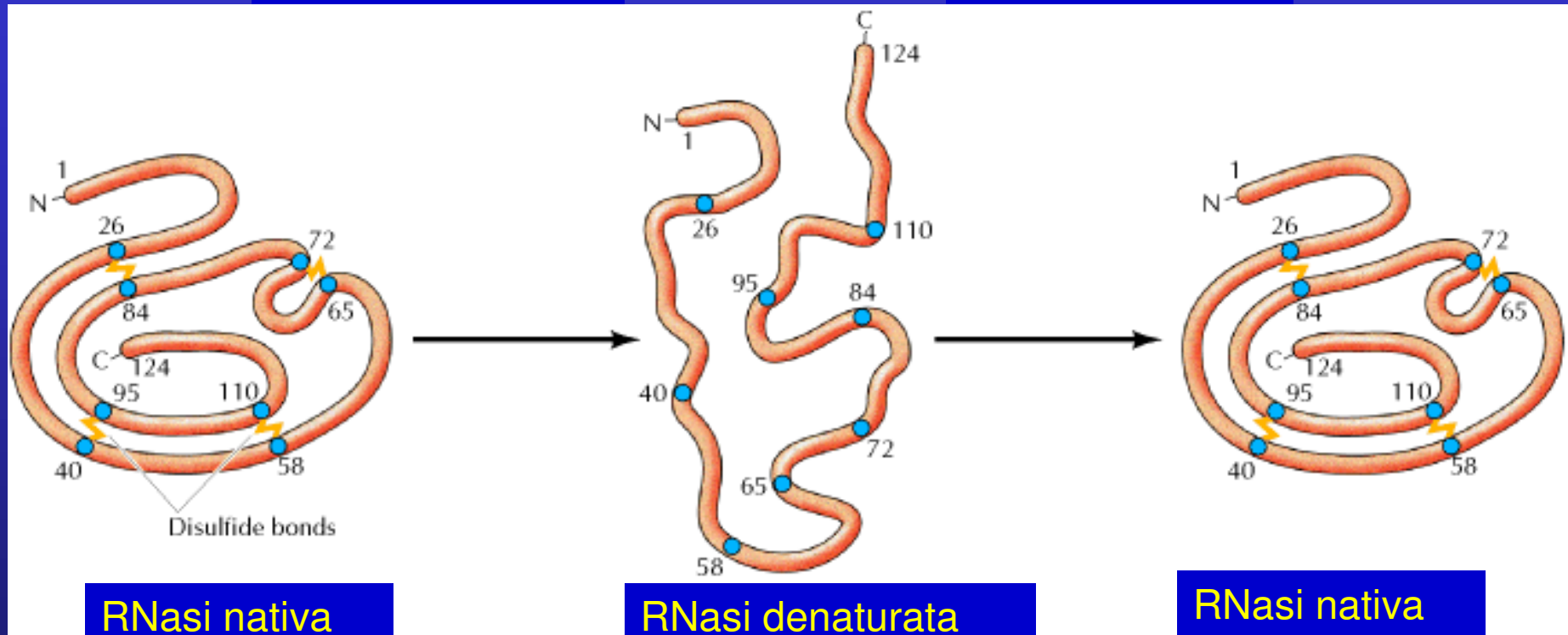
Struttura terziaria

- Quando le interazioni vengono meno, in presenza di elevate temperature, di pH non ottimale o di detergenti, la struttura tridimensionale viene persa, così la proteina va incontro a **denaturazione**, perdendo la sua attività biologica.

La denaturazione raramente può rivelarsi un processo reversibile, e, allontanando l'agente denaturante, la proteina può riprendere spontaneamente la sua conformazione tridimensionale (che è dettata dalla struttura primaria).

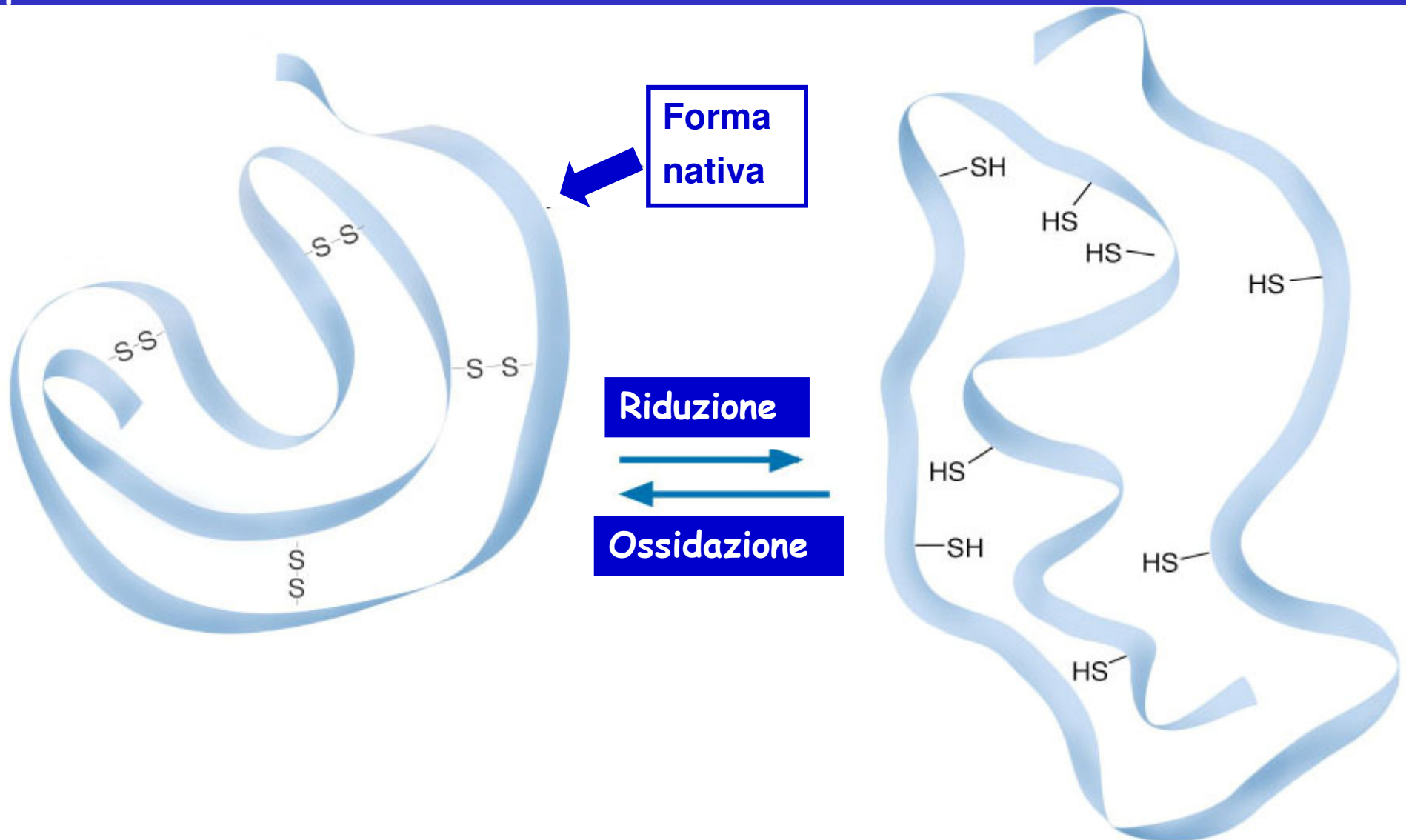


Denaturazione e rinaturazione di una proteina



La sequenza amminoacidica contiene tutta l'informazione necessaria a specificare la forma tridimensionale di una proteina

L'equilibrio tra le diverse unità di cisteina e le cistine da queste derivate, corrispondono alla forma nativa e denaturata della ribonucleasi. In particolare, mentre la forma nativa di questa proteina è connessa all'ossidazione della cisteina (-SH) a cistina (-S-S-), la rottura (riduzione) del legame a disolfuro porta alla sua forma denaturata.

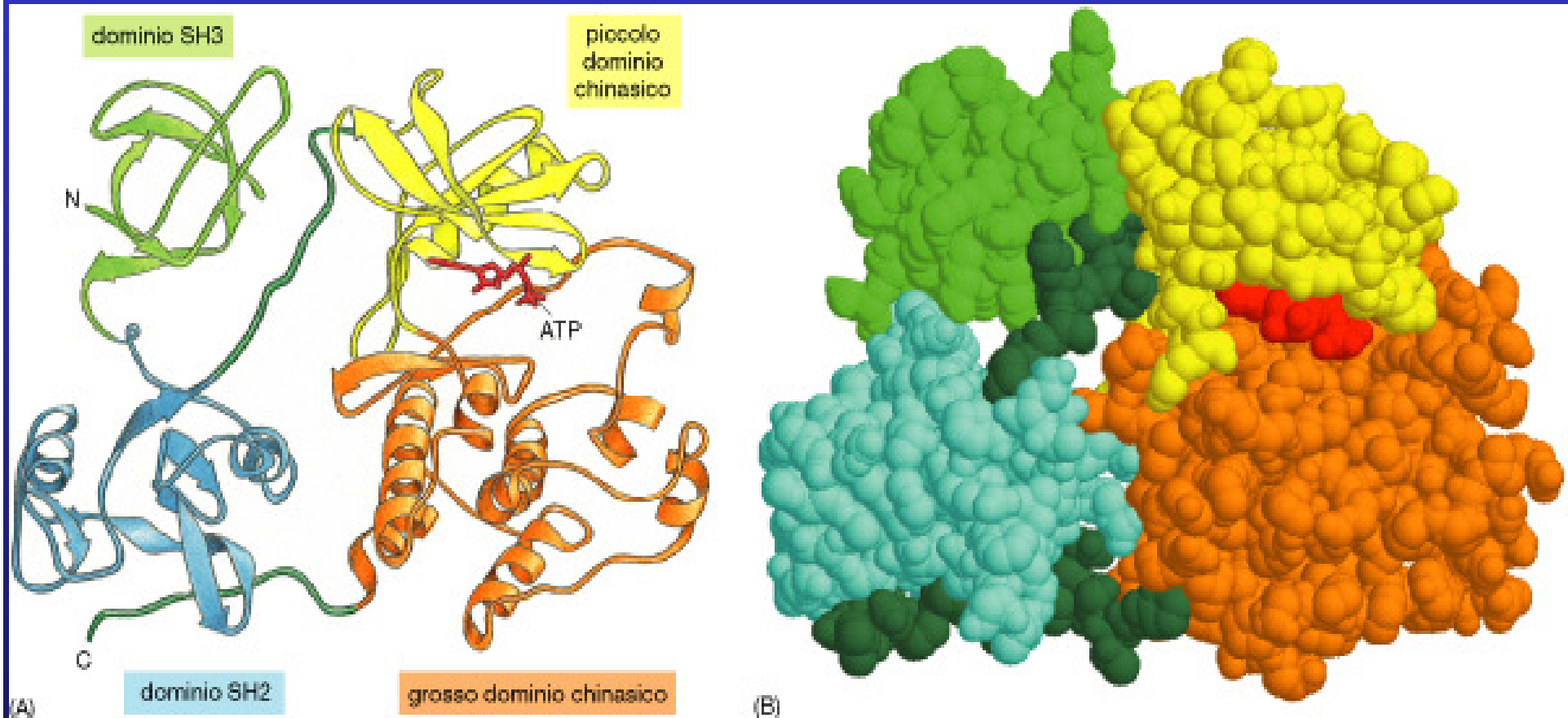


Struttura terziaria (*i domini*)

- Le catene polipeptidiche formate da più di 200 amminoacidi in genere comprendono 2 o più *domini*, piccole unità compatte.
- I *domini* sono le unità strutturali e funzionali di una proteina.
- Ciascun *dominio* è una regione globulare, compatta, che si forma per la combinazione di più elementi strutturali secondari (α -eliche, β -foglietti, sequenze non ripetitive).
- Strutturalmente, ciascun *dominio* è indipendente da altri *domini* della stessa catena polipeptidica.
- La **struttura terziaria** riguarda sia il ripiegamento di ciascun *dominio* sia la disposizione reciproca finale dei *domini* di un polipeptide.

Struttura terziaria di una proteina chinasi

dominio proteico: parte di una catena polipeptidica che si può ripiegare indipendentemente in una struttura compatta stabile



2 **domini** con funzioni regolatorie

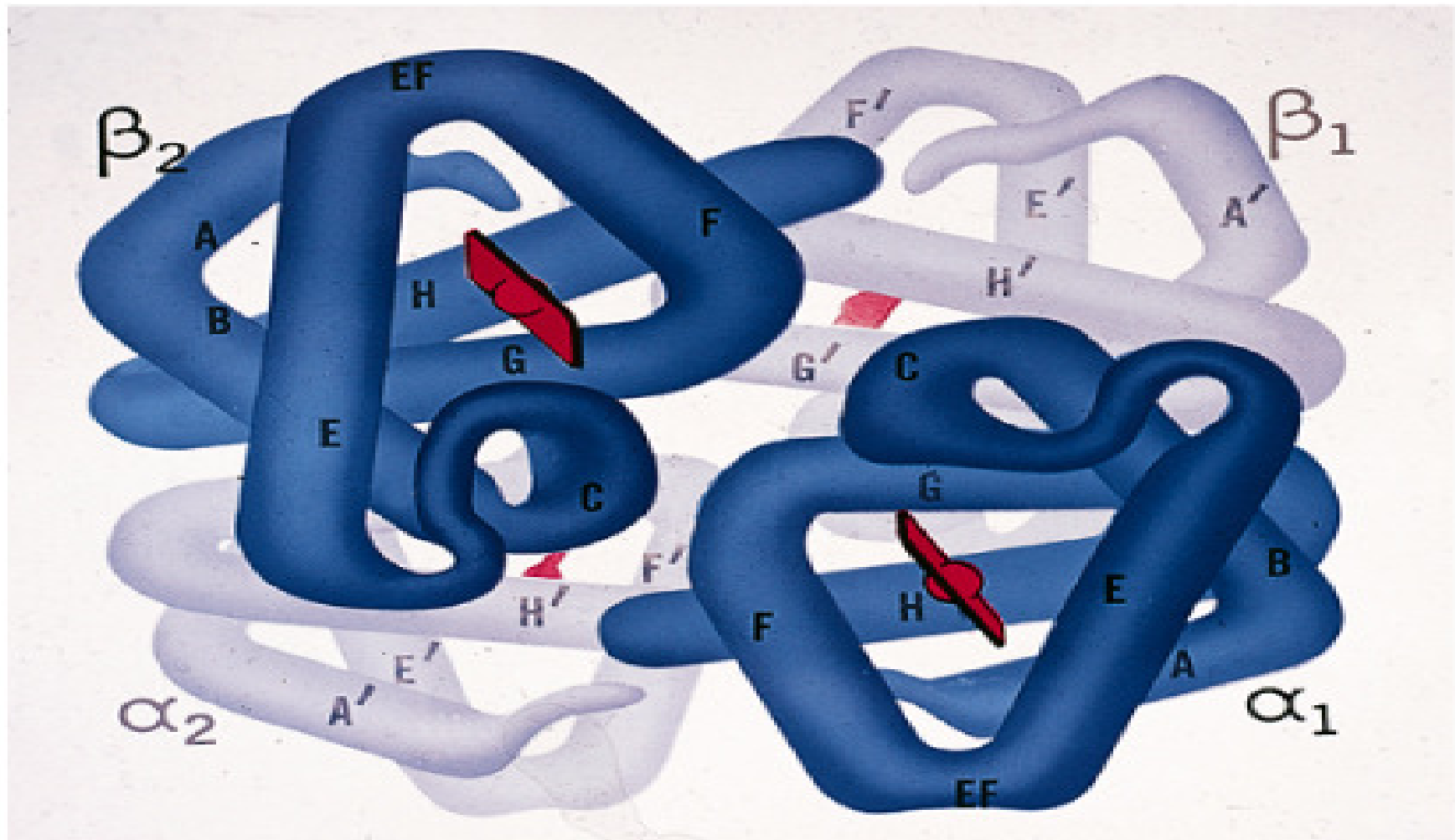
2 **domini** con funzioni catalitiche

Struttura quaternaria

- Alcune proteine sono costituite da più catene polipeptidiche, ciascuna con la propria struttura **primaria**, **secondaria** e **terziaria**, che si associano tra loro (protomeri o subunità), originando un polimero aggregato di dimensioni maggiori.
- La disposizione e le modalità con cui le singole sub-unità interagiscono rappresentano la cosiddetta struttura **quaternaria** di una proteina.

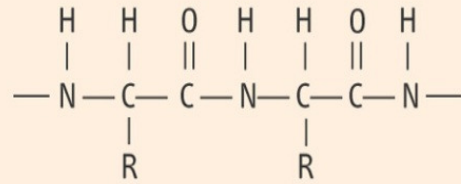
- Le catene amminoacidiche costituenti la struttura quaternaria sono tenute insieme attraverso interazioni labili da forze di natura elettrostatica, connesse con la presenza di cariche superficiali deschermate.
- Pertanto in un ambiente esterno sfavorevole (valori estremi di pH, elevate concentrazioni saline), la struttura quaternaria di una proteina si disgrega nei singoli protomeri, che tuttavia sono in grado di auto-assemblarsi qualora vengano ripristinate le condizioni iniziali.

Molte proteine inglobano un gruppo non proteico che viene utilizzato per compiere una funzione specifica e viene detto PROSTETICO



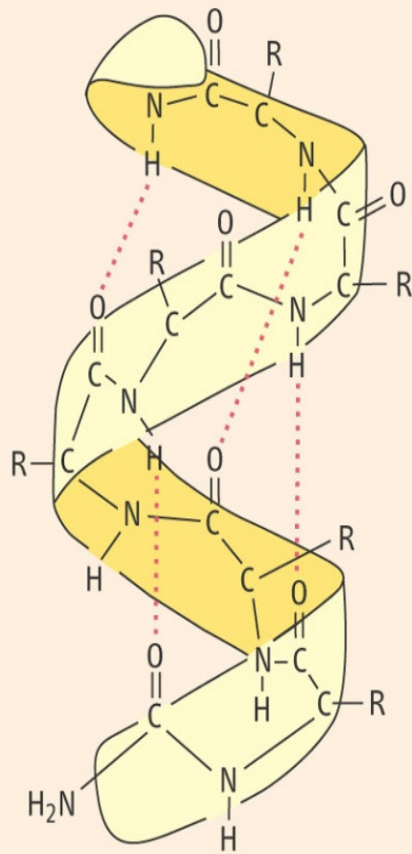
(b)

A



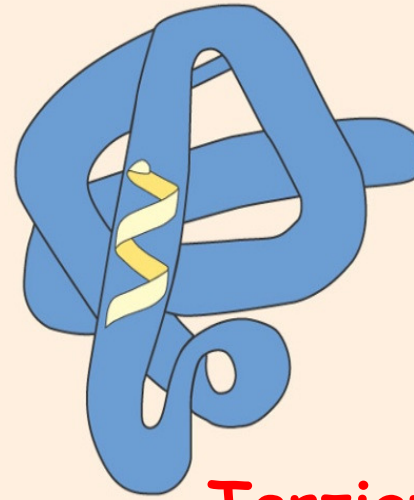
Primaria

B



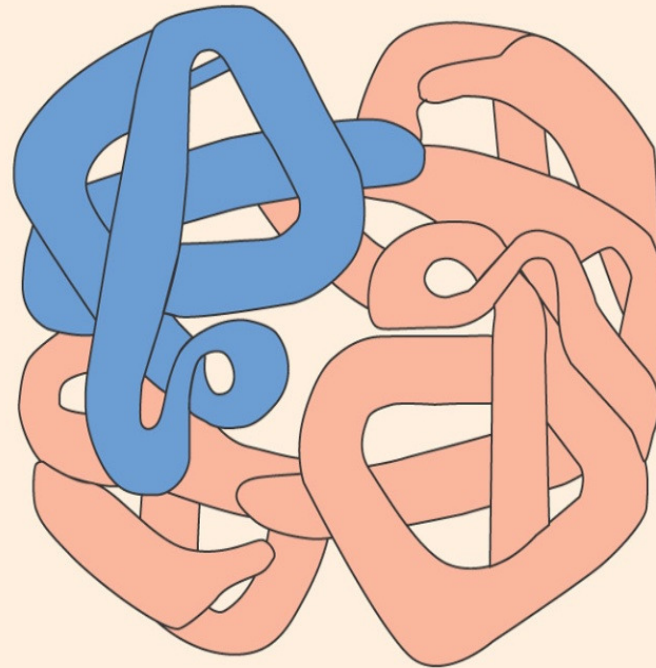
Secondaria

C



Terziaria

D



Quaternaria