CDL CHIMICA

Corso di Biochimica (6 CFU) 48 ore

Prof.ssa Alessandra Olianas

Lezioni : Martedi- Venerdi 9-11

Aula 4 Blocco H - D1

Prof.ssa Alessandra Olianas

Dip. Scienze della Vita e dell'Ambiente
Sezione Biomedica (laboratorio di Biochimica)
Tel. 0706754507 (studio)

Ricevimento studenti: si riceve per appuntamento

olianas@unica.it

CONTENUTI del corso di Biochimica

Aminoacidi: classificazione e nomenclatura degli alfa-aminoacidi standard; proprietà acido-base e curve di titolazione; il legame peptidico; conformazioni di un polipeptide; ionizzazione di un polipeptide; i livelli di struttura delle proteine; elementi di struttura secondaria; le proteine fibrose: alfa-cheratina, collageno, fibroina; proteine globulari; glicoproteine; denaturazione delle proteine.

Mioglobina ed Emoglobina: trasporto dell'ossigeno; il legame cooperativo dell'emoglobina; Il modello di Hill ed il modello di Adair; effetto Bohr; modulazione emoglobina da CO_2, H^+ e 2,3-BPG; basi molecolari dell'anemia falciforme.

Meccanismi della catalisi enzimatica; vitamine, cofattori, coenzimi; regolazione attività enzimatica e modulazione allosterica; Cenni sull’inibizione enzimatica: competitiva, incompetitiva e mista.

Carboidrati: classificazione e nomenclatura dei monosaccaridi; formazione di emiacetali ed emichetali ciclici, anomeri ed epimeri; formazione di acetali e chetali; il legame glicosidico; disaccaridi; polisaccaridi: cellulosa, amilosio, amilopectina, glicogeno.

Lipidi: nomenclatura e classificazione di acidi grassi e lipidi; triacilgliceroli, glicerofosfolipidi, glicolipidi, sfingolipidi e cere; steroli; proprietà fisiche e stati di aggregazione; le membrane biologiche.

Metabolismo: inquadramento generale; ATP e trasferimento del fosforile; i principali coenzimi redox;

Glicolisi; Fermentazione omolattica e alcolica, Decarbossilazione ossidativa del piruvato; Ciclo dell’acido citrico; Catena respiratoria; Fosforilazione Ossidativa;

Digestione e assorbimento lipidi; Beta-ossidazione acidi grassi;

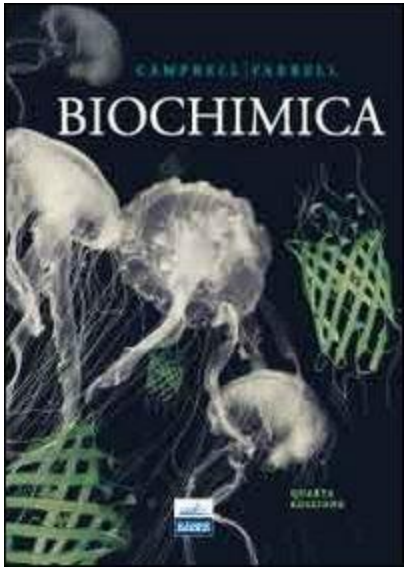
Transaminazione aminoacidi; Deamminazione ossidativa; Ciclo dell’Urea.

Nelson, Cox.
I Principi di Biochimica di Lehninger. Zanichelli

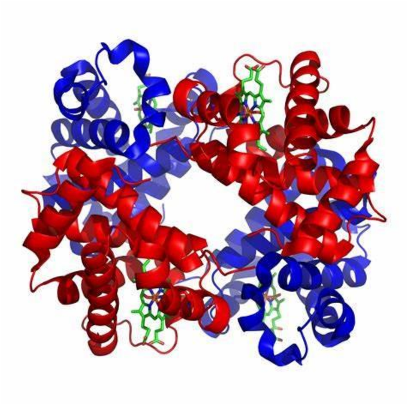
Berg, Tymoczco, Stryer.
Biochimica.
Zanichelli

Voet, Voet. Pratt.
Fondamenti di Biochimica.
Zanichelli

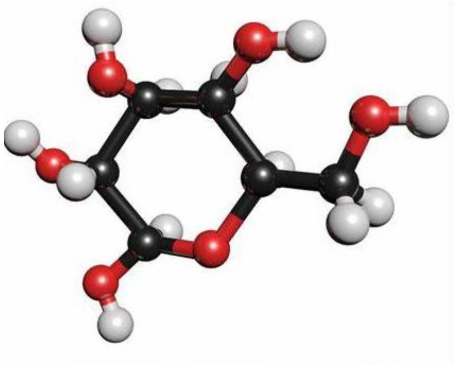
Campbell, Farrel
Biochimica.
EdiSES



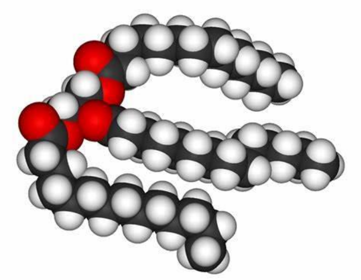
Macromolecole biologiche nella cellula



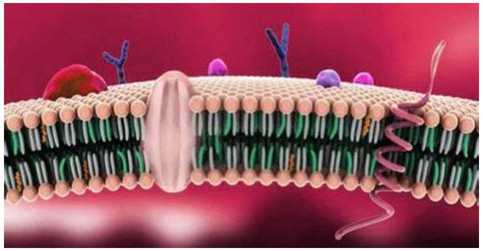
Proteine

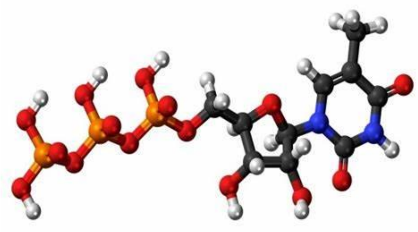


Carboidrati



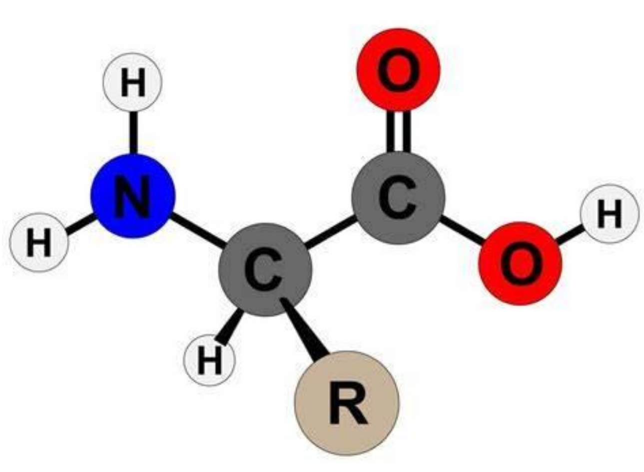
Lipidi

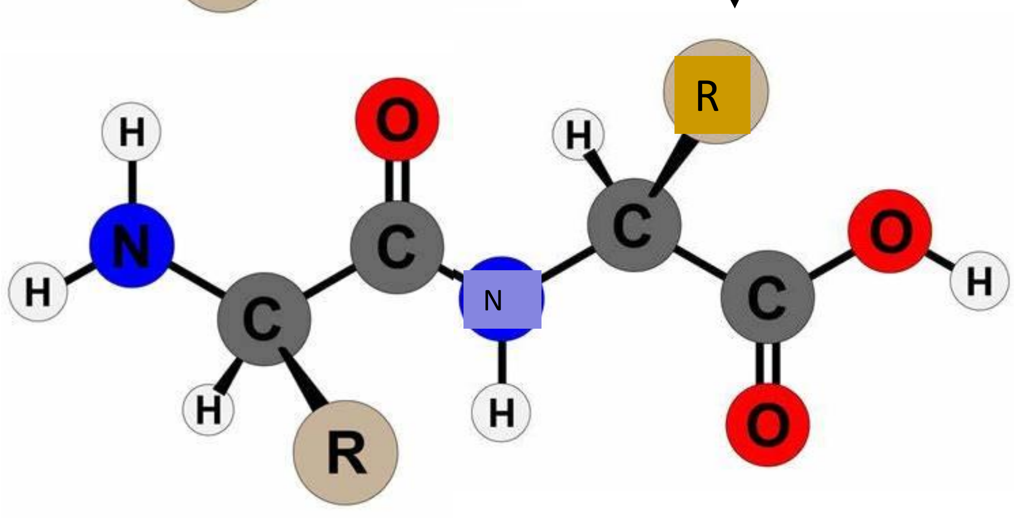


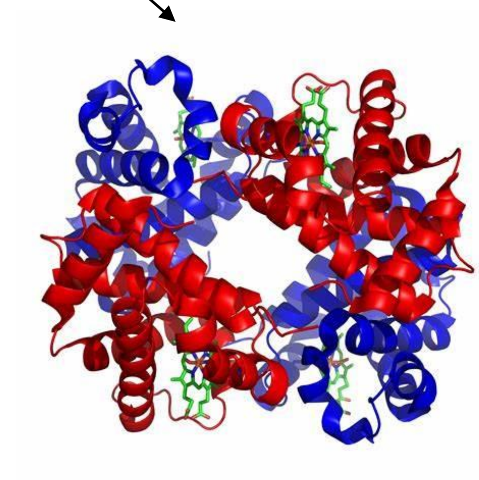


Nucleotidi

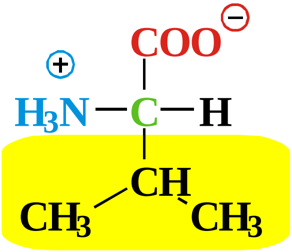
Amminoacidi-Peptidi-Proteine



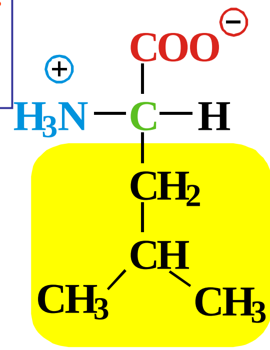




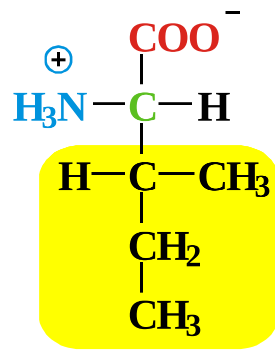
Amminoacidi essenziali non sintetizzabili da altri precursori



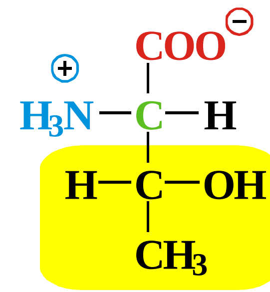
Valina
(Val ; V)



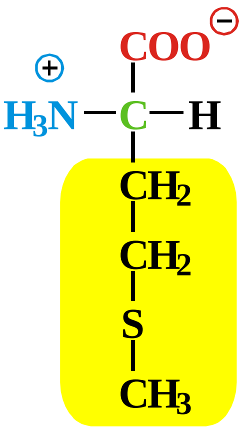
Leucina
(Leu ; L)



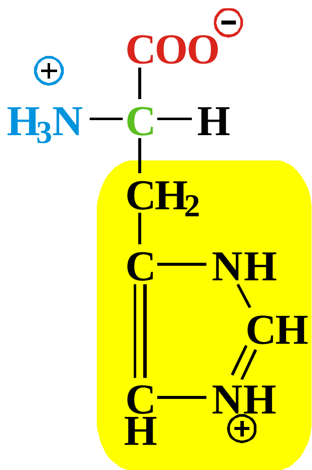
Isoleucina
(Ile ; I)



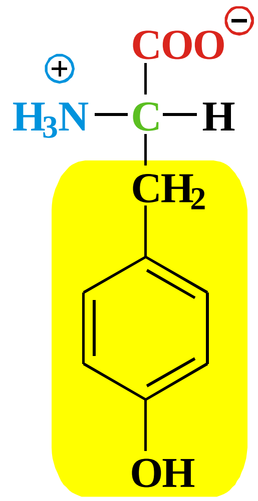
Treonina
(Thr ; T)



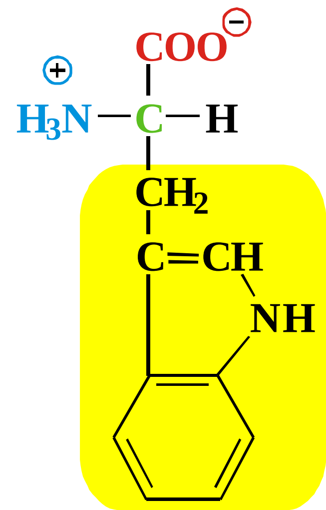
Metionina
(Met ; M)



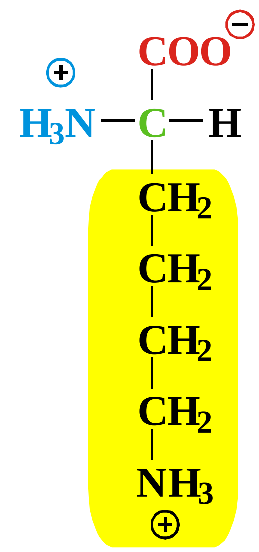
Istidina
(His ; H)



Tirosina
(Tyr ; T)

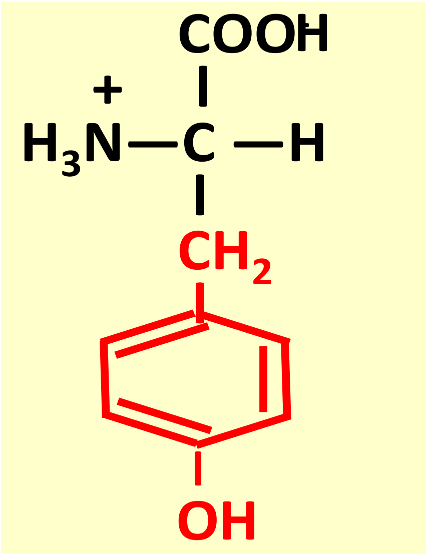


Triptofano
(Trp ; W)



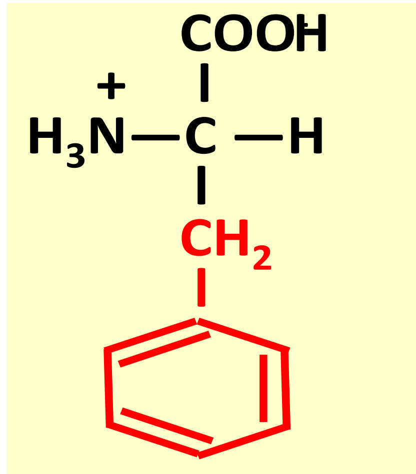
Lisina
(Lys ; K)

3) TIROSINA, FENILALANINA E TRIPTOFANO SONO AMMINOACIDI AROMATICI



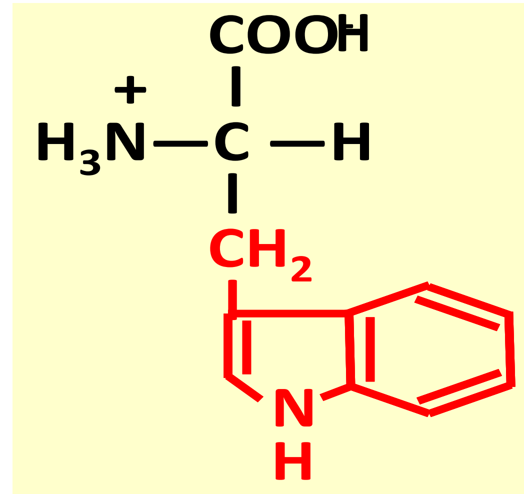
TIROSINA **Tyr (Y)**

Gruppo FENOLICO



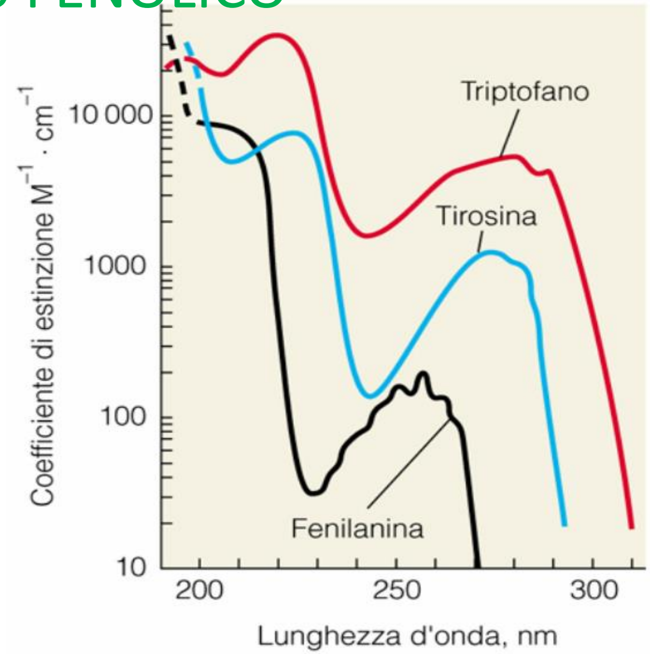
FENILALANINA **Phe (F)**

Gruppo FENILICO



TRIPTOFANO **Trp (W)**

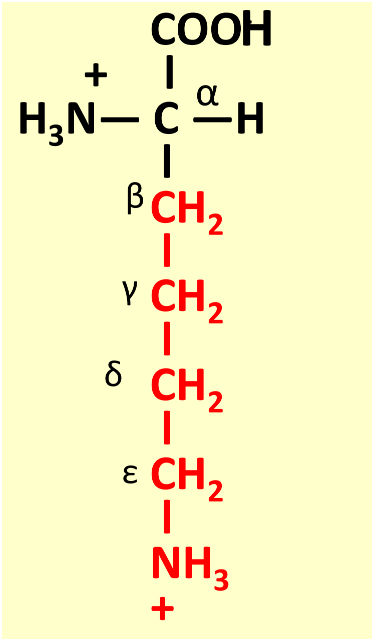
Gruppo INDOLICO



Contengono elettroni π delocalizzati a causa dei doppi legami coniugati

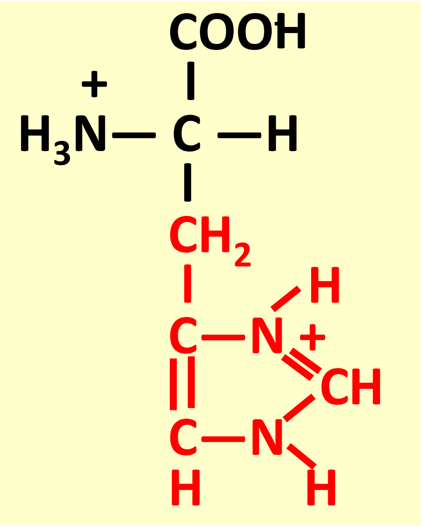
Hanno un massimo di assorbimento a 280 nm nell'UV, che è utile per rilevare la presenza di proteine in soluzione e per determinare la loro concentrazione.

4) AMMINOACIDI CON CATENA LATERALE IONIZZABILE POSITIVAMENTE



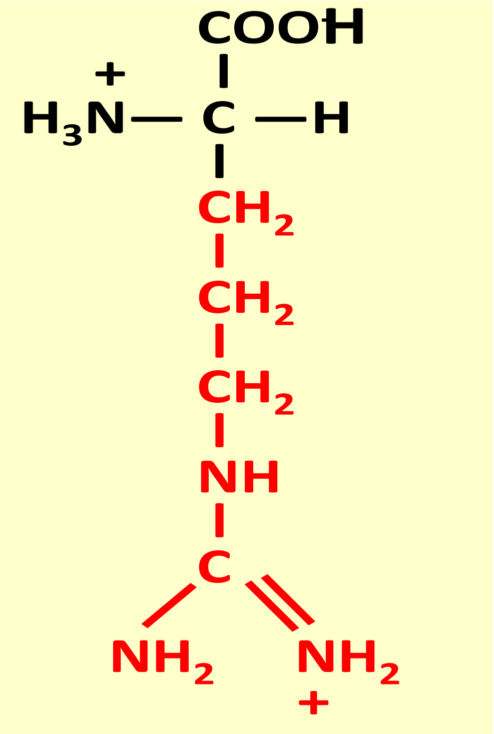
LISINA **Lys (L)**

ε ammino gruppo



ISTIDINA **His (H)**

anello imidazolico



ARGININA **Arg (R)**

gruppo guanidinico

table 5–1

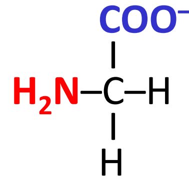
Properties and Conventions Associated with the Standard Amino Acids

Amino acid	Abbreviated names		M_r	pK_a values: pK_1 (—COOH)	pK_2 ($—NH_3^+$)	pK_R (R group)	pI	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%)†
Nonpolar, aliphatic R groups									
Glycine	Gly	G	75	2.34	9.60		5.97	−0.4	7.2
Alanine	Ala	A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Valine	Val	V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu	L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile	I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met	M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
Aromatic R groups									
Phenylalanine	Phe	F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr	Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	−1.3	3.2
Tryptophan	Trp	W	204	2.38	9.39		5.89	−0.9	1.4
Polar, uncharged R groups									
Serine	Ser	S	105	2.21	9.15		5.68	−0.8	6.8
Proline	Pro	P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
Threonine	Thr	T	119	2.11	9.62		5.87	−0.7	5.9
Cysteine	Cys	C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn	N	132	2.02	8.80		5.41	−3.5	4.3
Glutamine	Gln	Q	146	2.17	9.13		5.65	−3.5	4.2
Positively charged R groups									
Lysine	Lys	K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	−3.9	5.9
Histidine	His	H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	−3.2	2.3
Arginine	Arg	R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	−4.5	5.1
Negatively charged R groups									
Aspartate	Asp	D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	−3.5	5.3
Glutamate	Glu	E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	−3.5	6.3

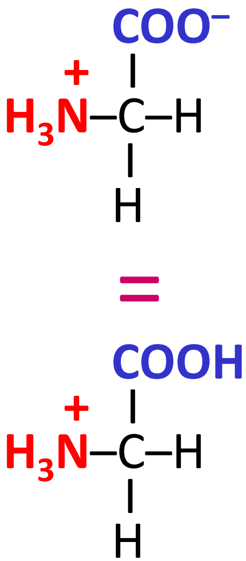
*A scale combining hydrophobicity and hydrophilicity of R groups; it can be used to measure the tendency of an amino acid to seek an aqueous environment (− values) or a hydrophobic environment (+ values). See Chapter 12. From Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) *J. Mol. Biol.* **157,** 105 – 132.

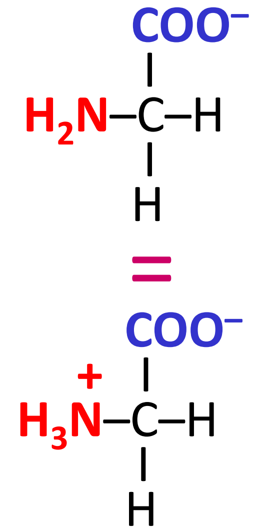
†Average occurrence in over 1150 proteins. From Doolittle, R.F. (1989) Redundancies in protein sequences. In *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation* (Fasman, G.D., ed) Plenum Press, NY, pp. 599–623.

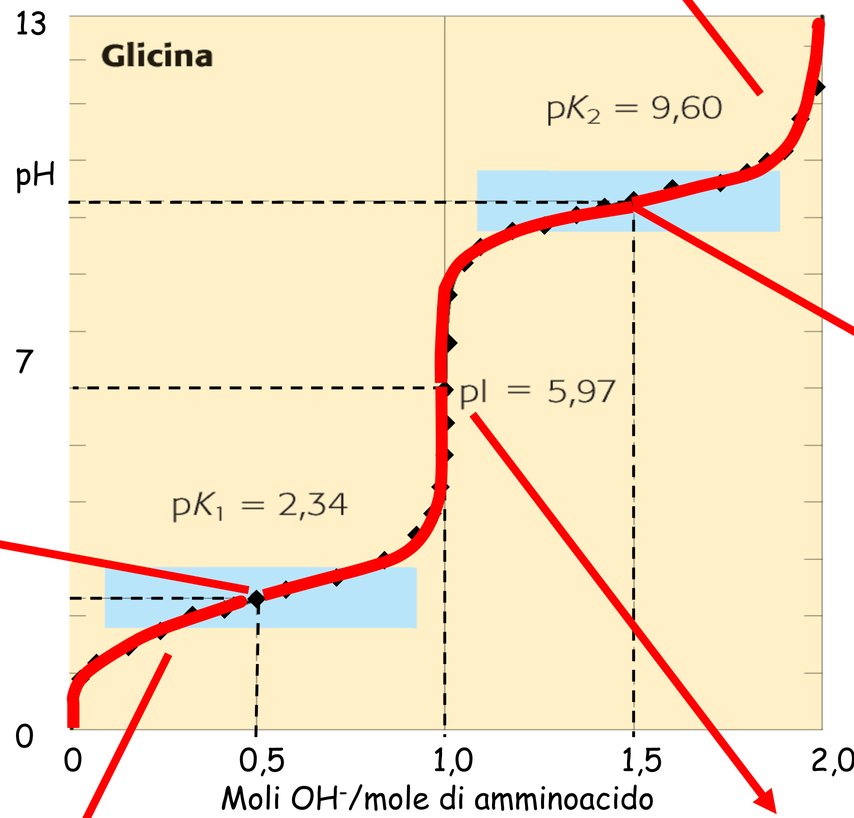
Glicina



A pH superiori al pka_2 prevale la forma AA^{-1}



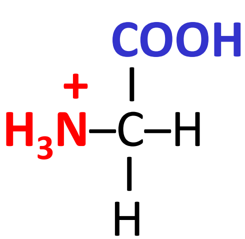




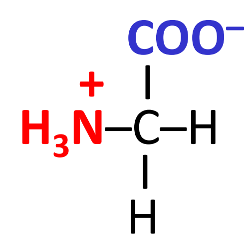
pH = pka_1 abbiamo uguale concentrazione delle forme ioniche AA^{+1} e AA^0

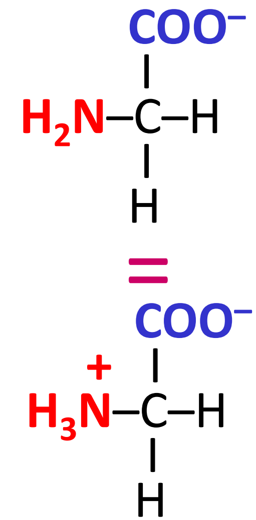
pH = pka_2 → abbiamo uguale concentrazione delle forme ioniche AA^0 e AA^{-1}

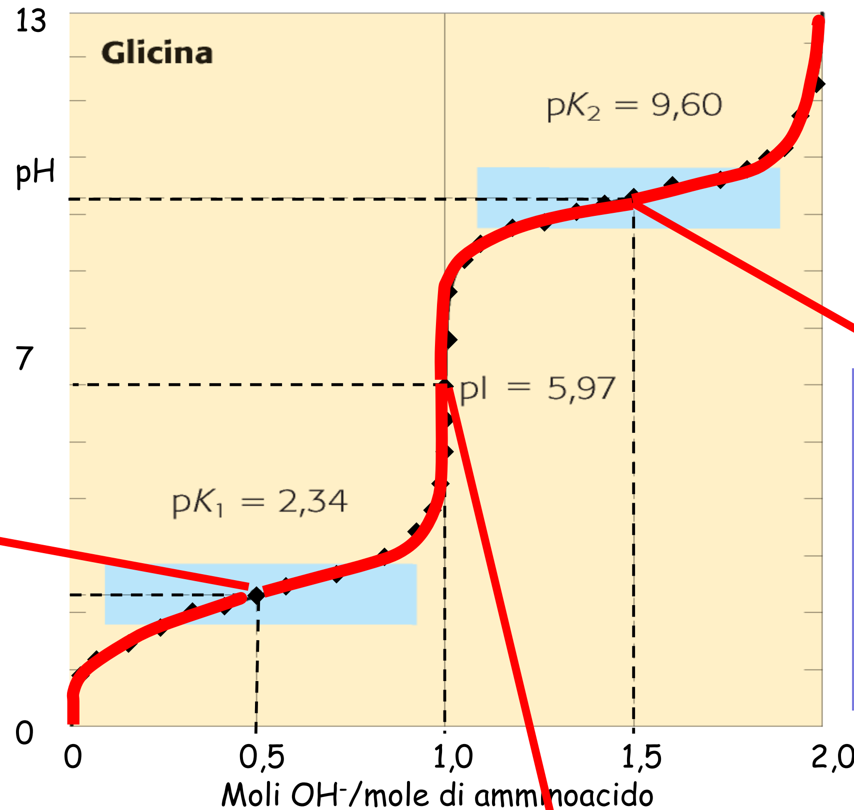
A pH inferiori al pka_1 prevale la forma AA^{+1}



A valori di pH compresi fra il pKa1 e il pKa2 prevale la forma ionica AA^0 e raggiunge la massima concentrazione a pH uguale al p. Isoelettrico



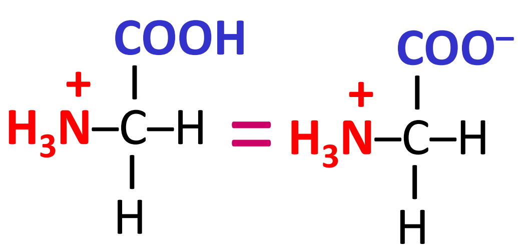


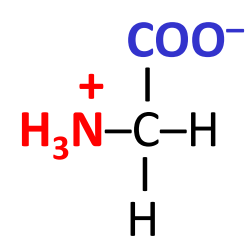


1° punto di semiequivalenza.
Ordinata: pH = pka_1
Ascissa: 0.5 moli di titolante/mole di AA

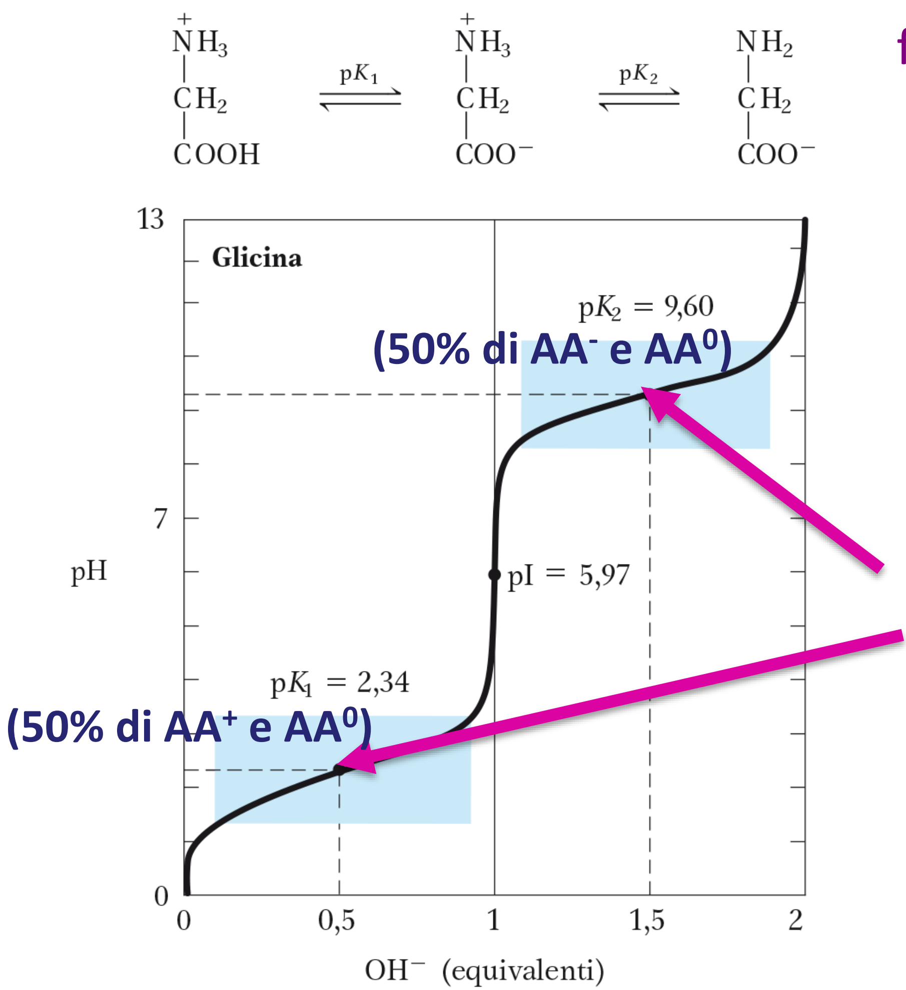
2° punto di semiequivalenza.
Ordinata: pH = pka_2
Ascissa: 1.5 moli di titolante/mole di AA.

1° punto di equivalenza.
Ordinata: pH uguale al pI
Ascissa: 1 mole di titolante/mole di AA





GLI AMMINOACIDI FUNZIONANO DA TAMPONI
ESISTONO ALMENO DUE REGIONI NELLA SCALA DEL pH IN CUI L'AMMINOACIDO è UN BUON TAMPONE



Es.: Glicina: due gruppi dissociabili che funzionano da acidi deboli in due diverse zone della scala del pH

α-COOH (pKa1 2.34)

α-NH_3^+ (pKa2 9.60).

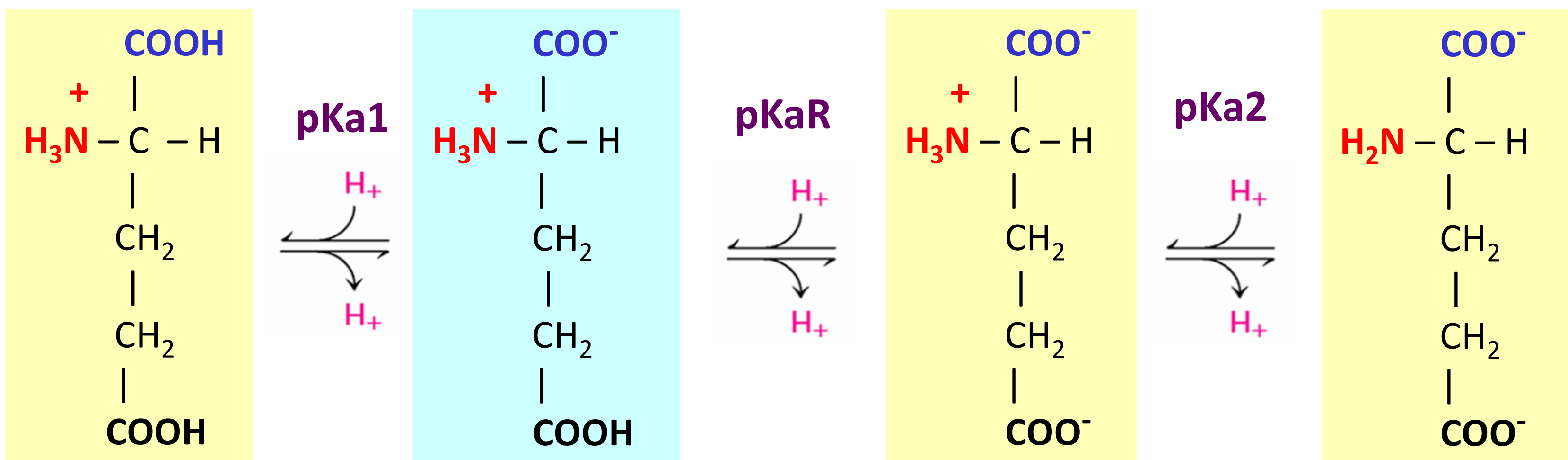
In corrispondenza del pKa si ha la massima capacità tamponante

AMMINOACIDO TRIPROTICO (3 gruppi ionizzabili): in soluzione saranno presenti 4 forme ioniche dell'AA in equilibrio tra loro.

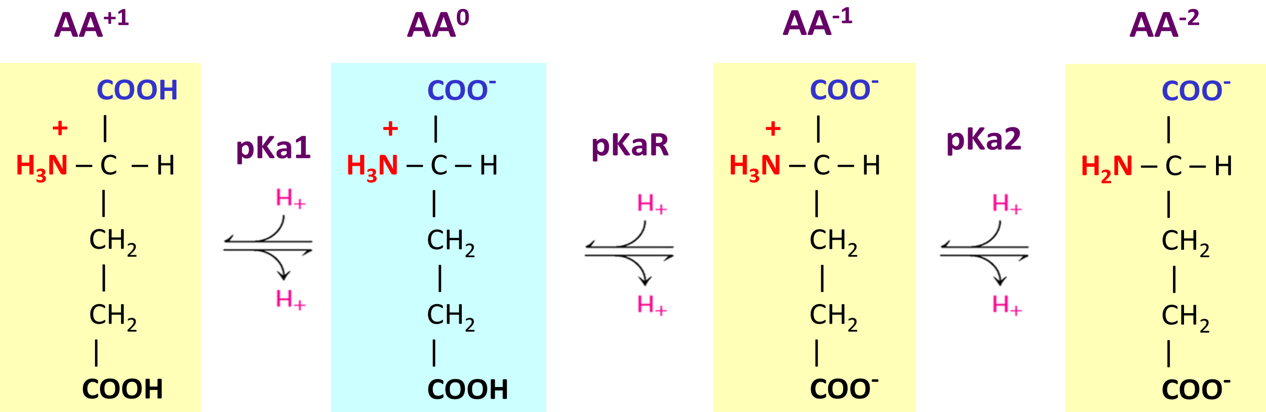
Sono 3 i pKa da considerare (α-carbossilico, α-amminico, catena laterale) **.**

Es.: Acido glutammico (Glu, E)

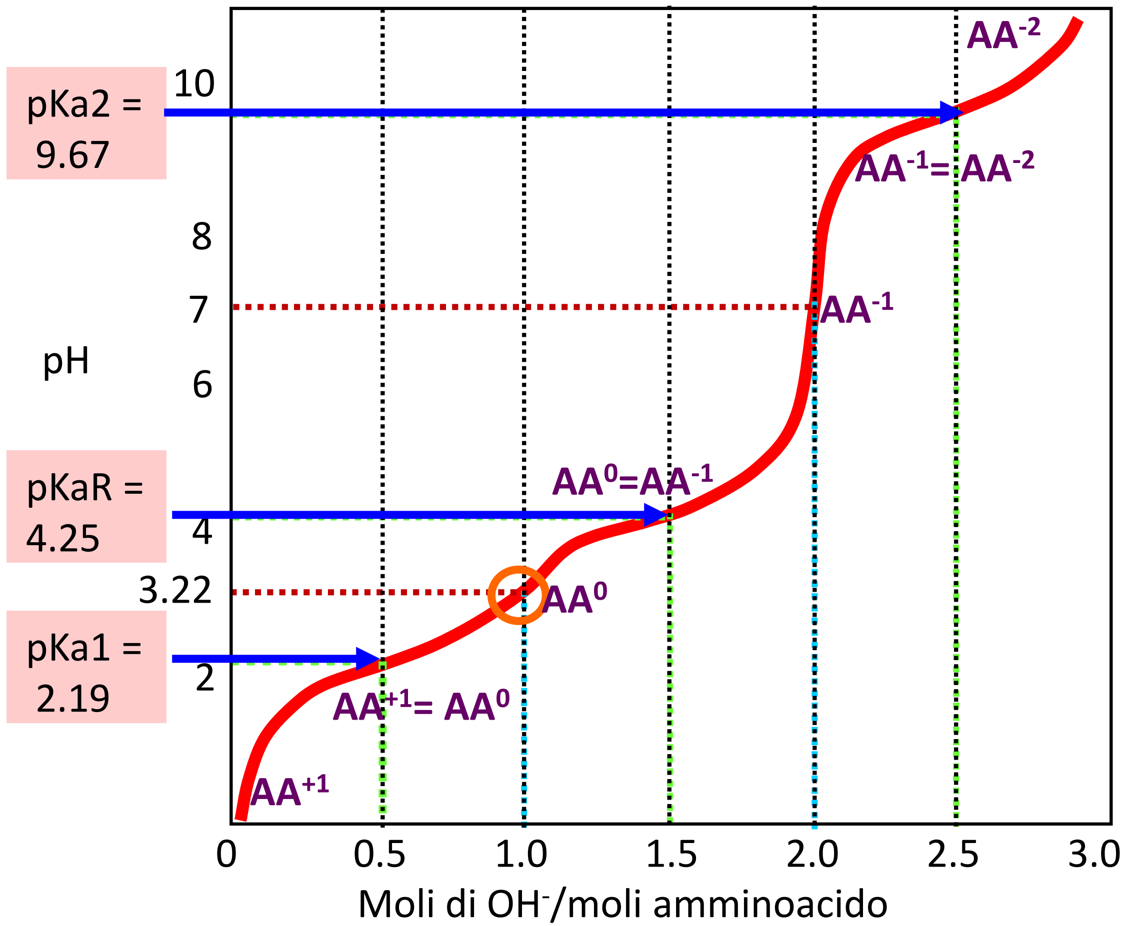
AA^{+1} **AA^{0}** **AA^{-1}** **AA^{-2}**



CATIONE	ZWITTERIONE	ANIONE -1	ANIONE -2
- αCOOH	- αCOO^-	- αCOO^-	-αCOO^-
- αNH_3^+	- αNH_3^+	- αNH_3^+	- αNH_2
(R) - COOH	(R) - COOH	(R) - COO^-	-(R) - COO^-



A quali valori di pH avrò la massima concentrazione di AA^{+1}, AA^{0}, AA^{-1}, AA^{-2}?

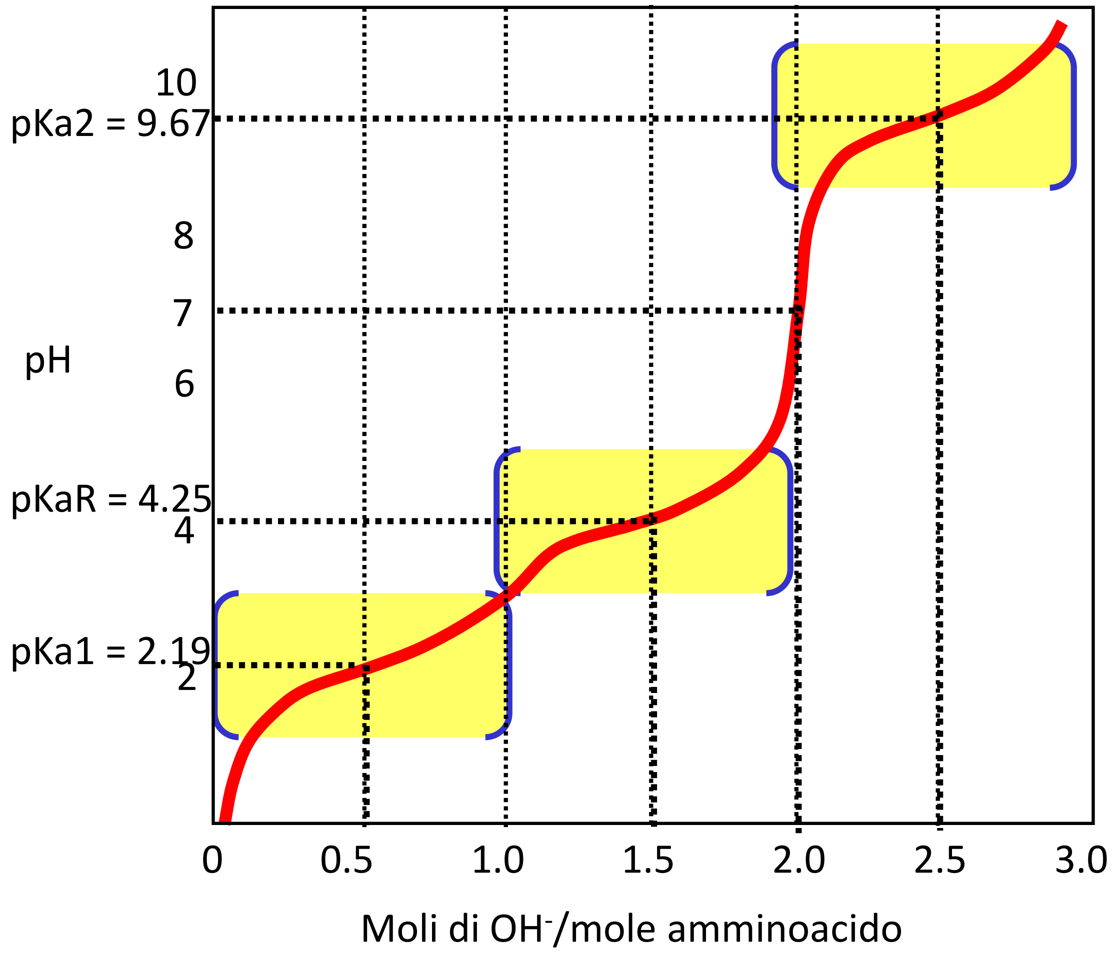


Quante moli di OH^- devo aggiungere per avere l'ac. glutammico al suo p. isoelettrico? **1**

Come calcolo il punto isoelettrico di un amminoacido acido?

$$pI = \frac{pKa1 + pKaR}{2}$$

pI = (2.19 + 4.25)/2 =3.22



QUALI SONO E QUANTE SONO LE REGIONI TAMPONANTI?

Individuare gli intervalli di pH

Le regioni tamponanti sono 3:

pKa1 ± 1 (1.19-3.19);

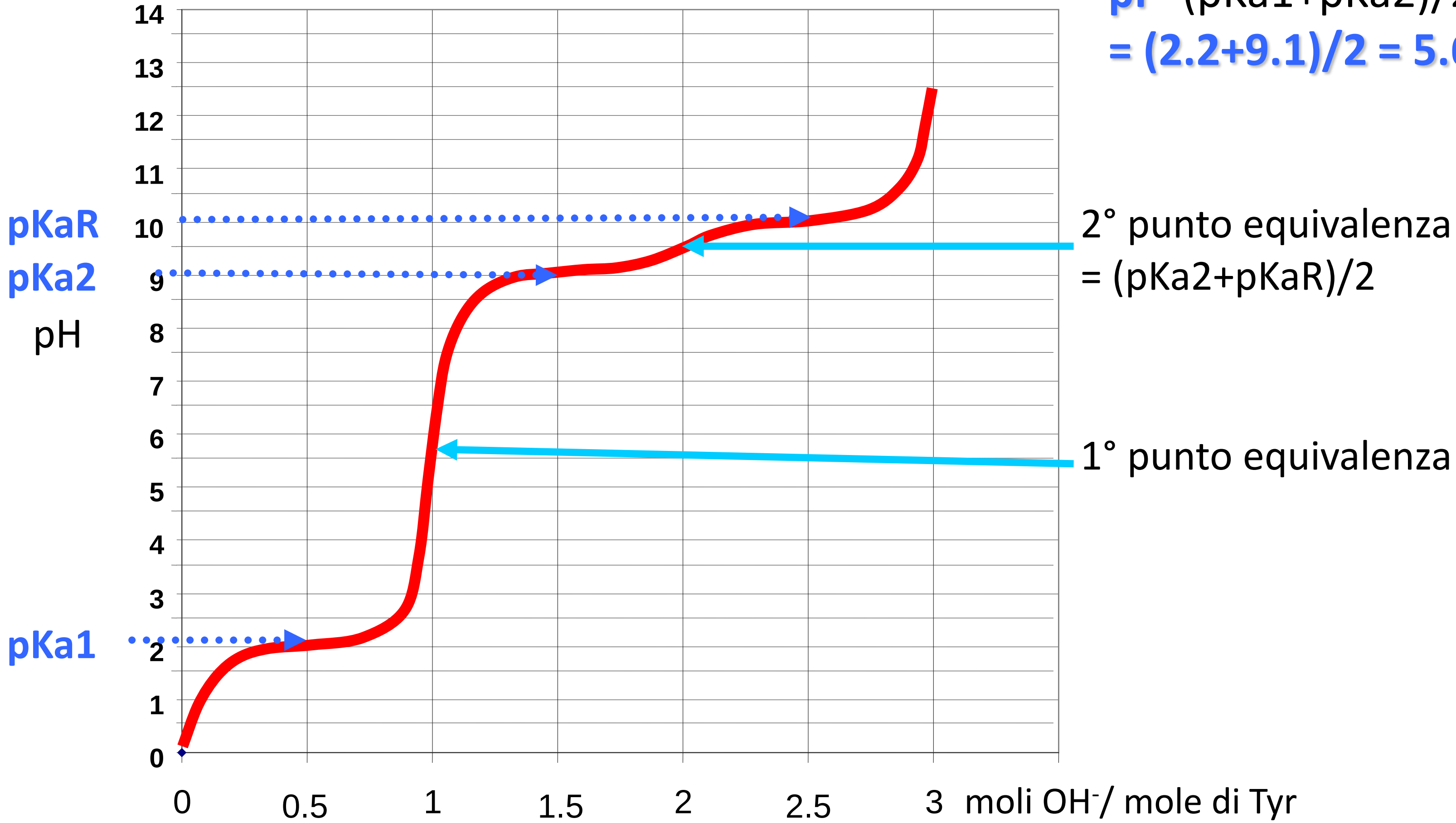
pKaR ± 1 (3.25-5.25);

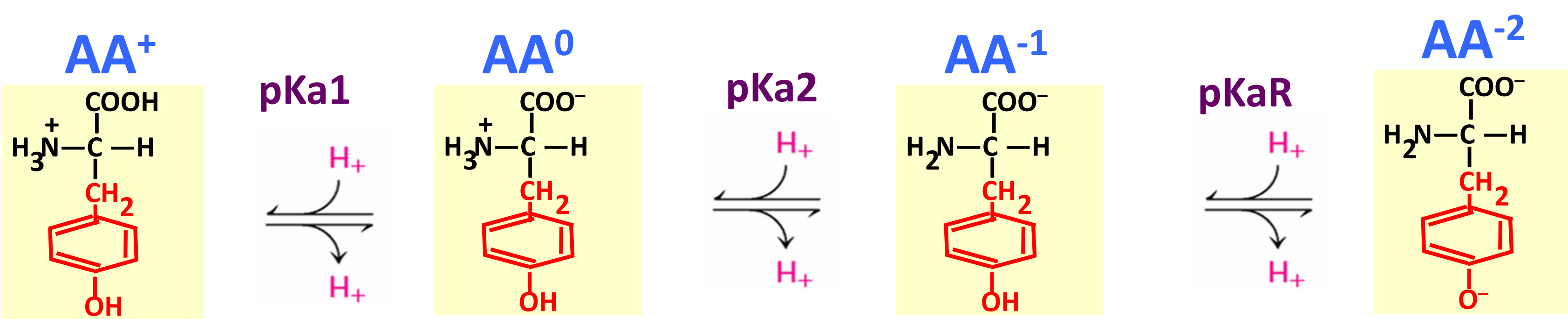
pKa2 ± 1 (8.67-10.67).

Tirosina:

pka1 = 2.2; pKa2 = 9.1; pKaR = 10.1

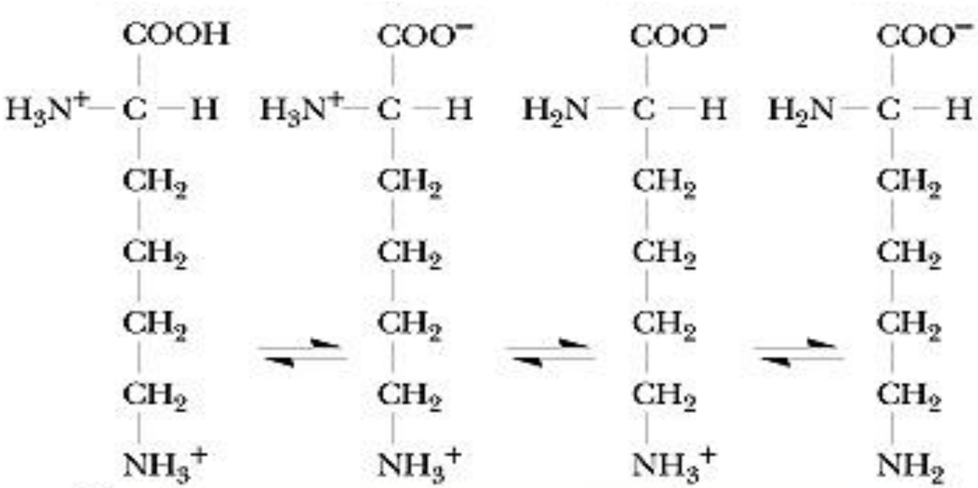
pI = (pKa1+pKa2)/2
= (2.2+9.1)/2 = 5.65

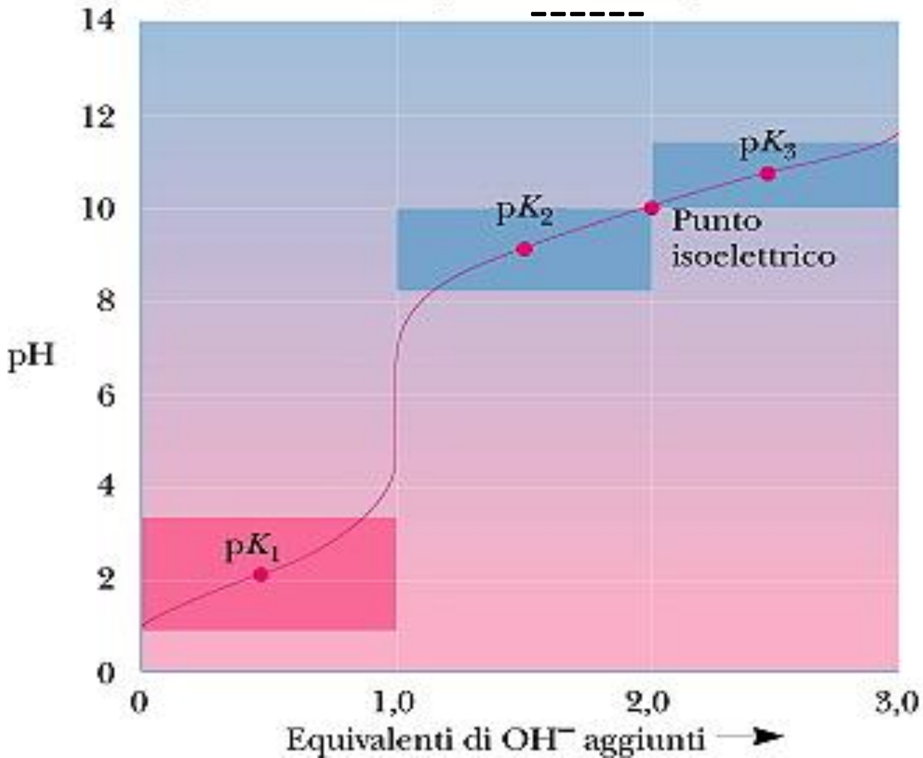




LISINA

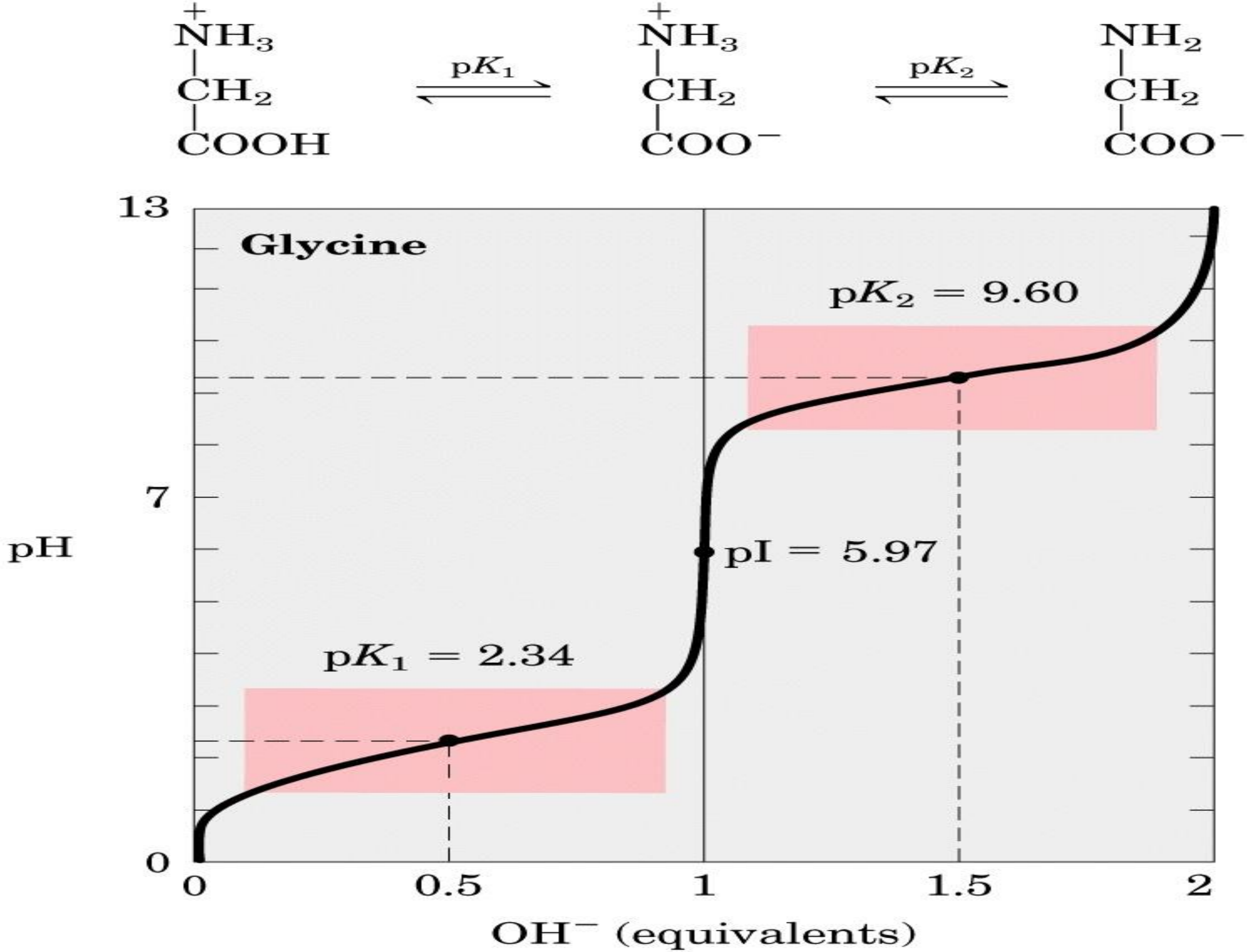
+2 +1 0 -1





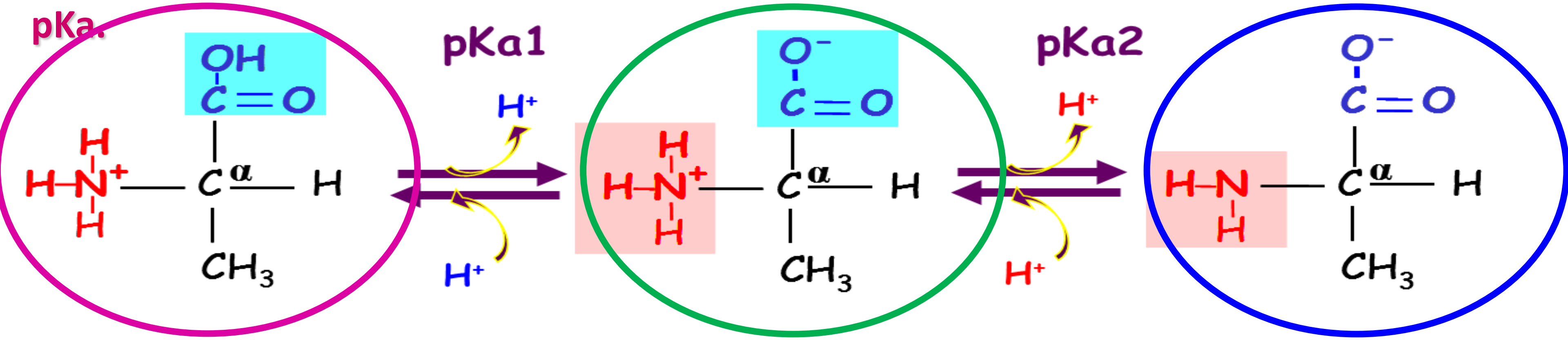
pK1 (gruppo carbossilico α) = 2.2
pK2 (gruppo amminico α) = 9.1
pK_R (catena laterale) = 10.5

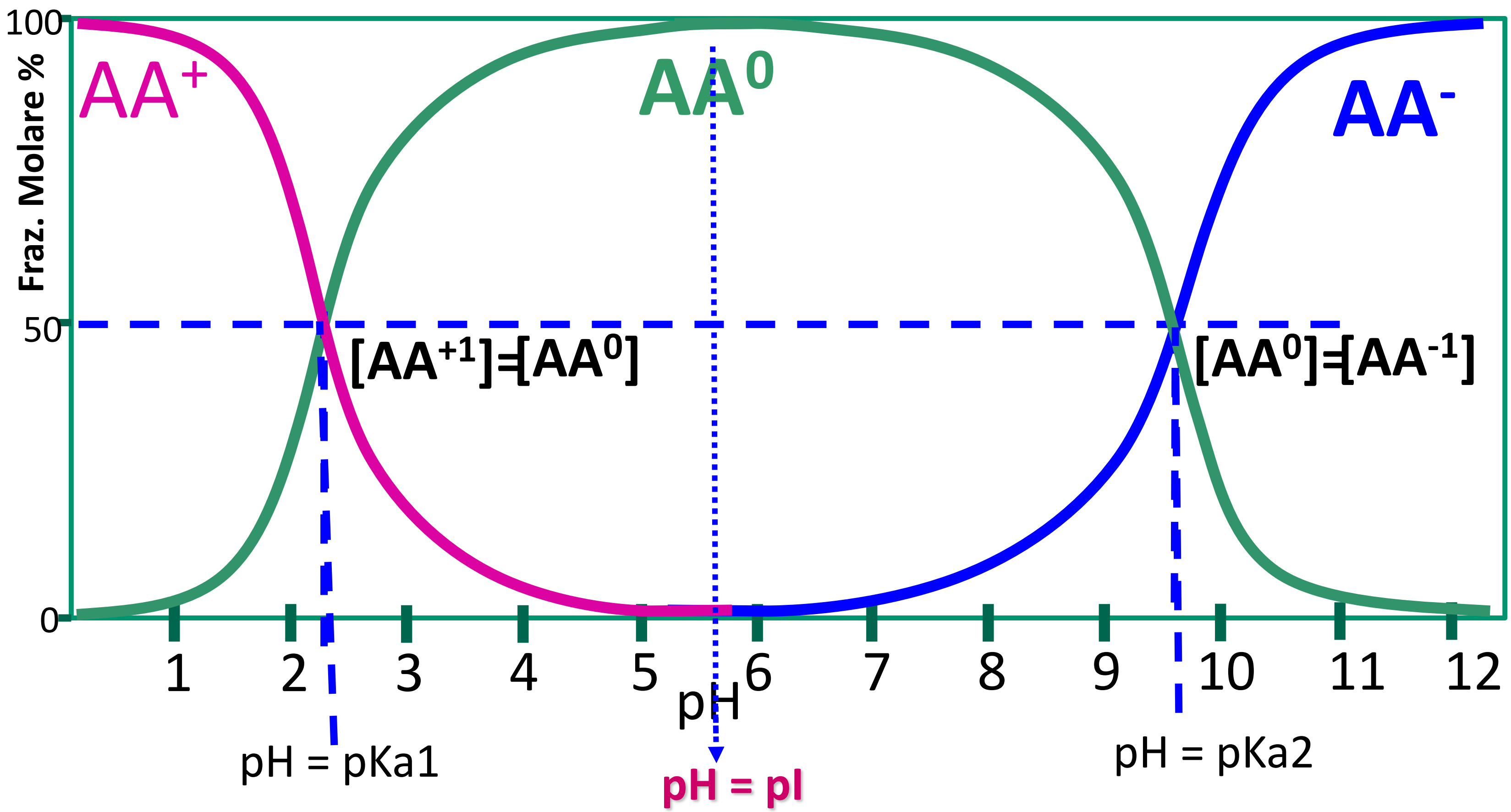
$$pI = \frac{9.1+10.5}{2} = 9.8$$



$\overset{+}{N}H_3$–CH_2–COOH
pK_1
$\overset{+}{N}H_3$–CH_2–COO^-
pK_2
NH_2–CH_2–COO^-
13
Glycine
pK_2 = 9.60
7
pH
pI = 5.97
pK_1 = 2.34
0
0
0.5
1
1.5
2
OH^- (equivalents)

La distribuzione delle forme ioniche di un AA dipende dal pH della soluzione e dai suoi pKa.





Alanina

Capacità tamponante ---→pH = pKa ± 1

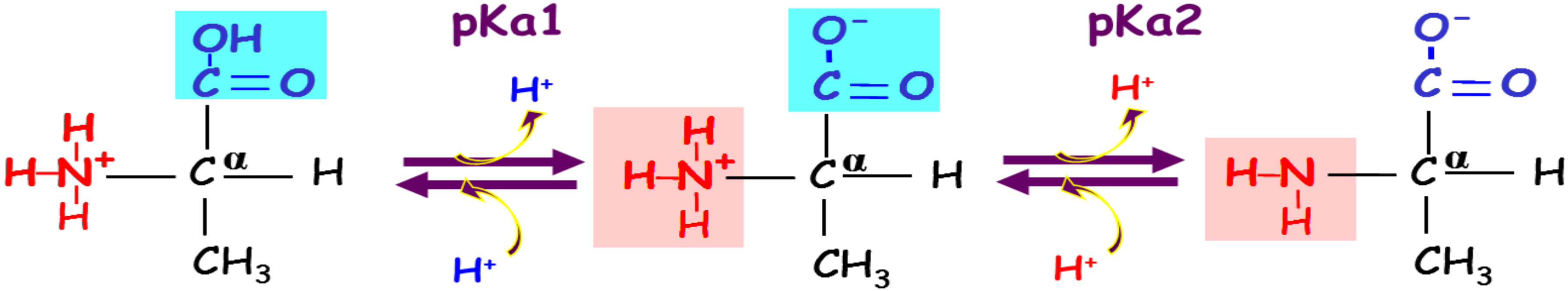
pKa1 = 2.34 pKa2= 9.69 pI = 6.01

Tra pH 1.34 e pH 3.34 --→ funziona come tampone

Tra pH 8.69 e pH 10.69 -----funziona come tampone

Quali sono le specie presenti e quale sarà il rapporto di concentrazione delle specie presenti a pH 1.34 ?

AA^{+} **AA^{0}** **AA^{-}**



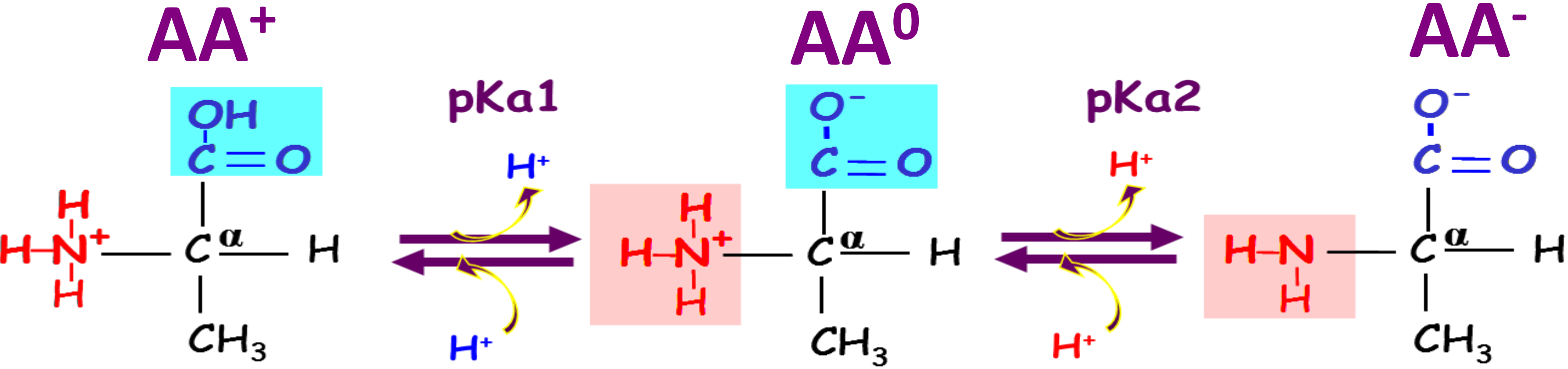
$$pH = pKa1 + \log \frac{[AA^0]}{[AA^{+1}]}$$ ➔ **$1.34 = 2.34 + Log\, [AA^0]/[AA^+]$**

$Log\, [AA^0]/[AA^+] = = 1.34 - 2.34 = -1$ ➔ $Log\, [AA^0]/[AA^+] = \mathbf{-1}$

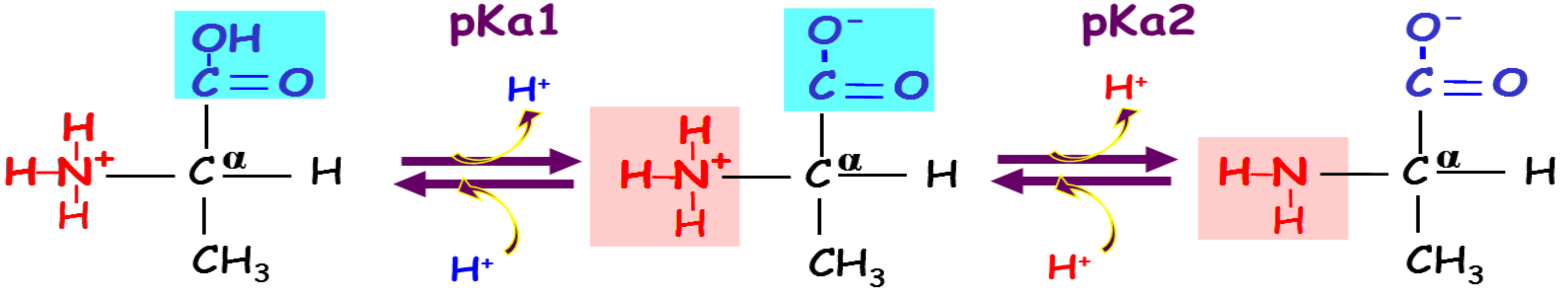
$[AA^0]/[AA^+] = 10^{-1} = \mathbf{1/10}$

A pH 1.34 avremo il 90% di AA^+ e il 10% di AA^0

(il 10% della alanina presenta il gruppo α-COOH in forma deprotonata α-COO^-)



Quali sono le specie presenti e quale sarà il rapporto di concentrazione delle specie presenti a pH 3.34 ?



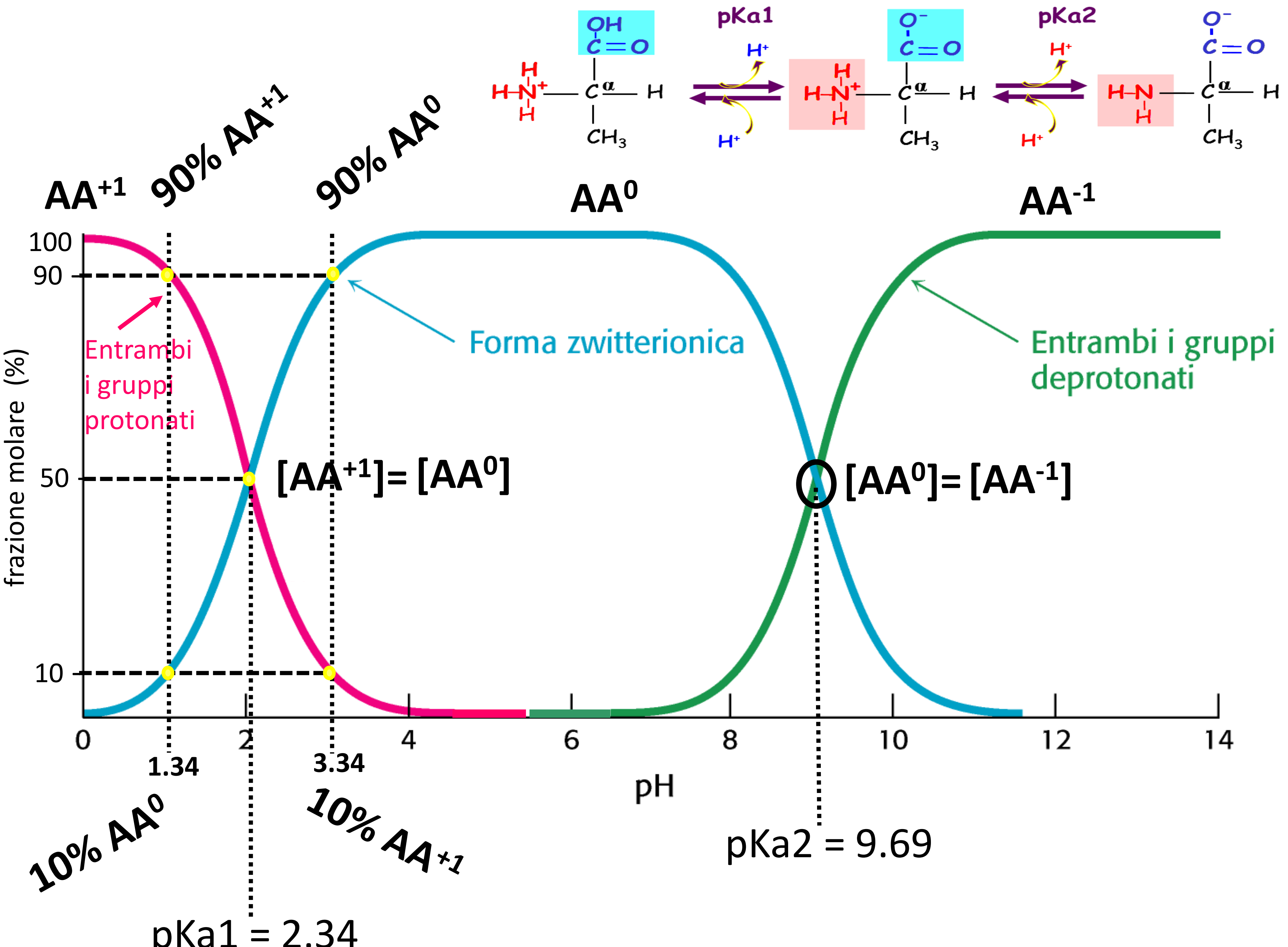
$$pH = pKa1 + \log \frac{[AA^0]}{[AA^{+1}]}$$

3.34 = 2.34 + Log $[AA^0]/[AA^+]$

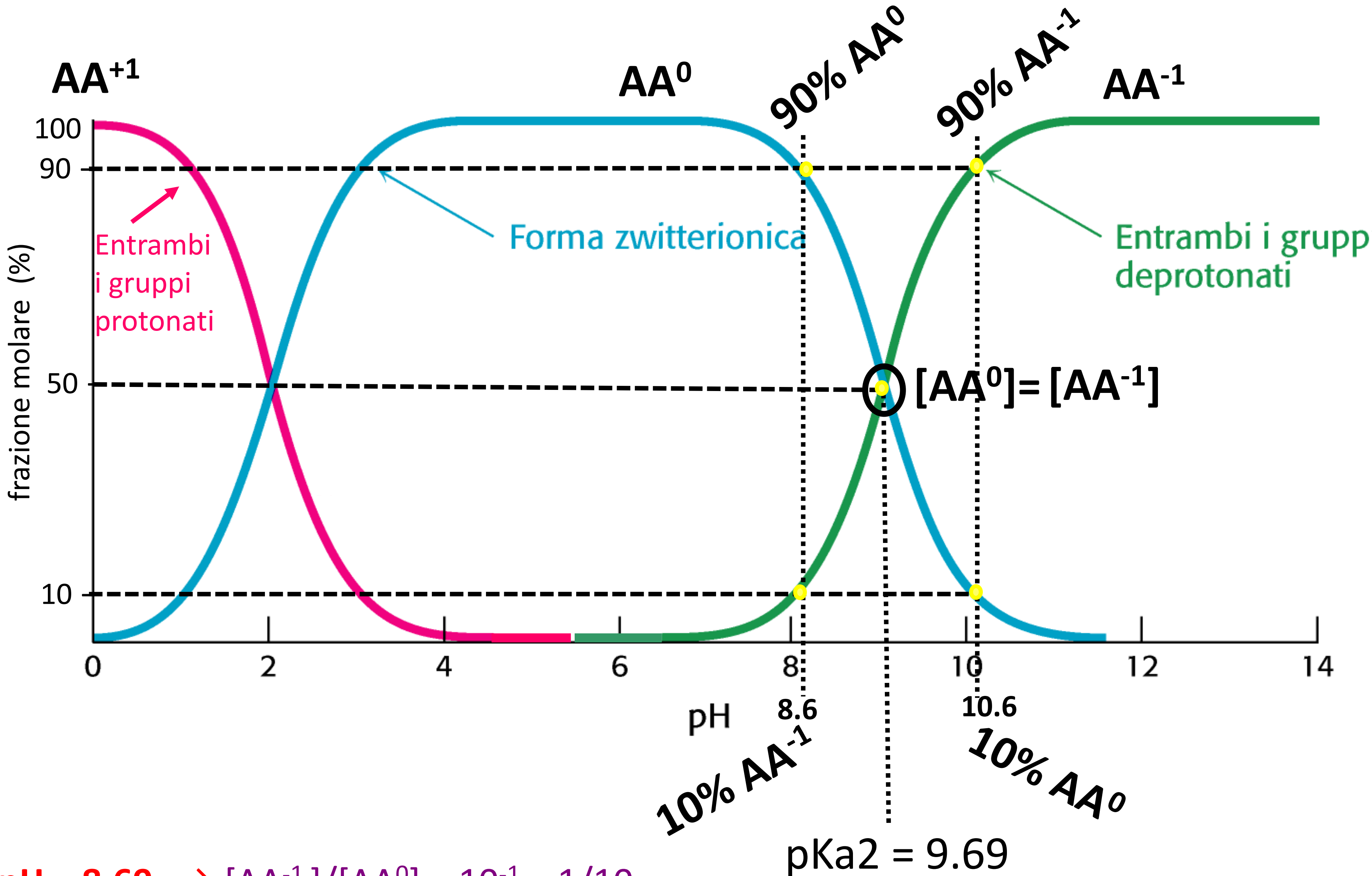
Log $[AA^0]/[AA^+] = 3.34 - 2.34 = 1$ → $[AA^0]/[AA^+] = 10^1 = 10/1$

A pH 3.34 avremo il 10% di AA^+ e il 90% AA^0

(il 90% della alanina presenta il gruppo α-COOH in forma deprotonata α-COO^-)


pKa1
pKa2
AA+1
90% AA+1
90% AA0
AA0
AA-1
100
90
50
10
frazione molare (%)
Entrambi i gruppi protonati
Forma zwitterionica
Entrambi i gruppi deprotonati
[AA+1]= [AA0]
[AA0]= [AA-1]
0
2
4
6
8
10
12
14
1.34
3.34
pH
10% AA0
10% AA+1
pKa2 = 9.69
pKa1 = 2.34

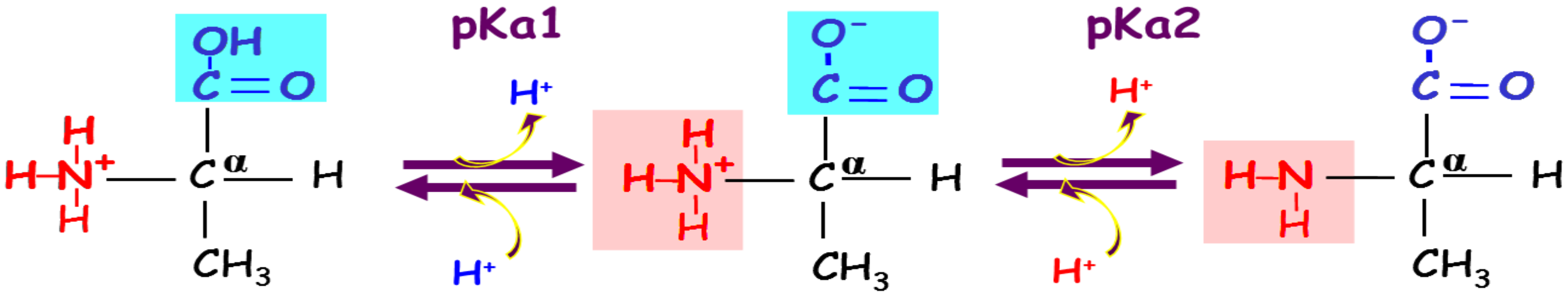
pKa2 9.69 L'alanina funziona da tampone tra pH 8.69 e pH 10.69



pH = 8.69 → $[AA^{-1}]/[AA^{0}] = 10^{-1} = 1/10$

pH = 10.69 → $[AA^{-1}]/[AA^{0}] = 10^{1} = 10/1$

A che pH si trova la soluzione di Alanina se il rapporto fra le sue forme ioniche AA^{0} e AA^{+1} è 100:1?



AA^{+1} AA^{0} AA-1

$[AA^0]/[AA^{+1}] = 100/1$

Devo considerare la dissociazione dell'α-COOH (pKa1 2.34)

se → $[AA^0]/[AA^+] = 100/1 = 10^2$

→ Log $[AA^0]/[AA^+] = 2$

→ pH = 2.34 + 2 = 4.34

A pH 4.34 (2 unità sopra il valore del pKa1)

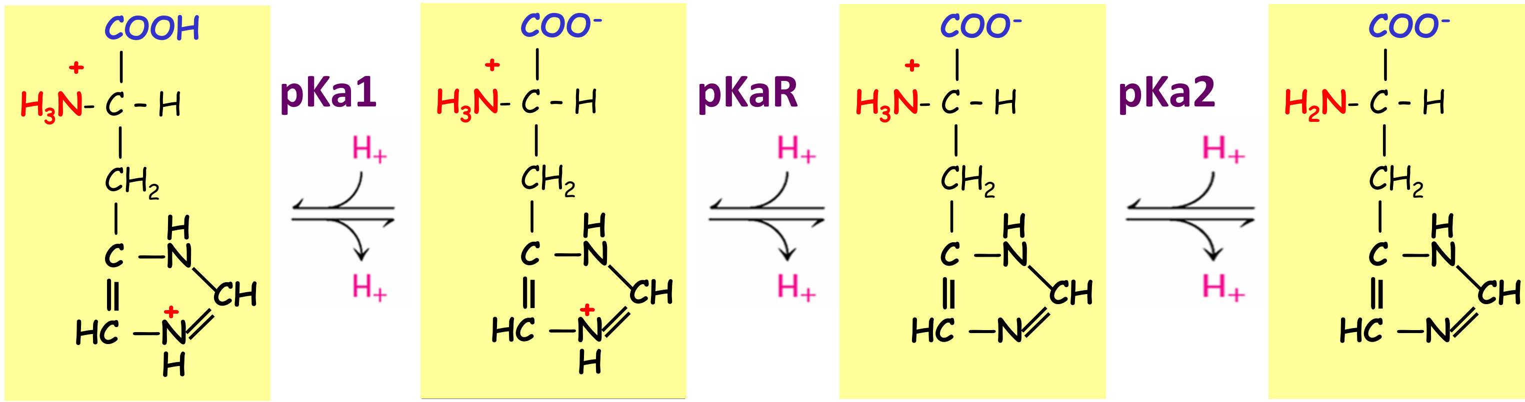
(il 99% della alanina è deprotonata α-COO^-)

(~99% AA^0 e ~1% AA^{+1})

Amino acid	Abbreviated names		M_r	pK_a values pK_1 (—COOH)	pK_2 (—NH_3^+)	pK_R (R group)	pI
Nonpolar, aliphatic R groups							
Glycine	Gly	G	75	2.34	9.60		5.97
Alanine	Ala	A	89	2.34	9.69		6.01
Valine	Val	V	117	2.32	9.62		5.97
Leucine	Leu	L	131	2.36	9.60		5.98
Isoleucine	Ile	I	131	2.36	9.68		6.02
Methionine	Met	M	149	2.28	9.21		5.74
Aromatic R groups							
Phenylalanine	Phe	F	165	1.83	9.13		5.48
Tyrosine	Tyr	Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66
Tryptophan	Trp	W	204	2.38	9.39		5.89
Polar, uncharged R groups							
Serine	Ser	S	105	2.21	9.15		5.68
Proline	Pro	P	115	1.99	10.96		6.48
Threonine	Thr	T	119	2.11	9.62		5.87
Cysteine	Cys	C	121	1.96	10.28	8.18	5.07
Asparagine	Asn	N	132	2.02	8.80		5.41
Glutamine	Gln	Q	146	2.17	9.13		5.65
Positively charged R groups							
Lysine	Lys	K	146	2.18	8.95	10.53	9.74
Histidine	His	H	155	1.82	9.17	6.00	7.59
Arginine	Arg	R	174	2.17	9.04	12.48	10.76
Negatively charged R groups							
Aspartate	Asp	D	133	1.88	9.60	3.65	2.77
Glutamate	Glu	E	147	2.19	9.67	4.25	3.22

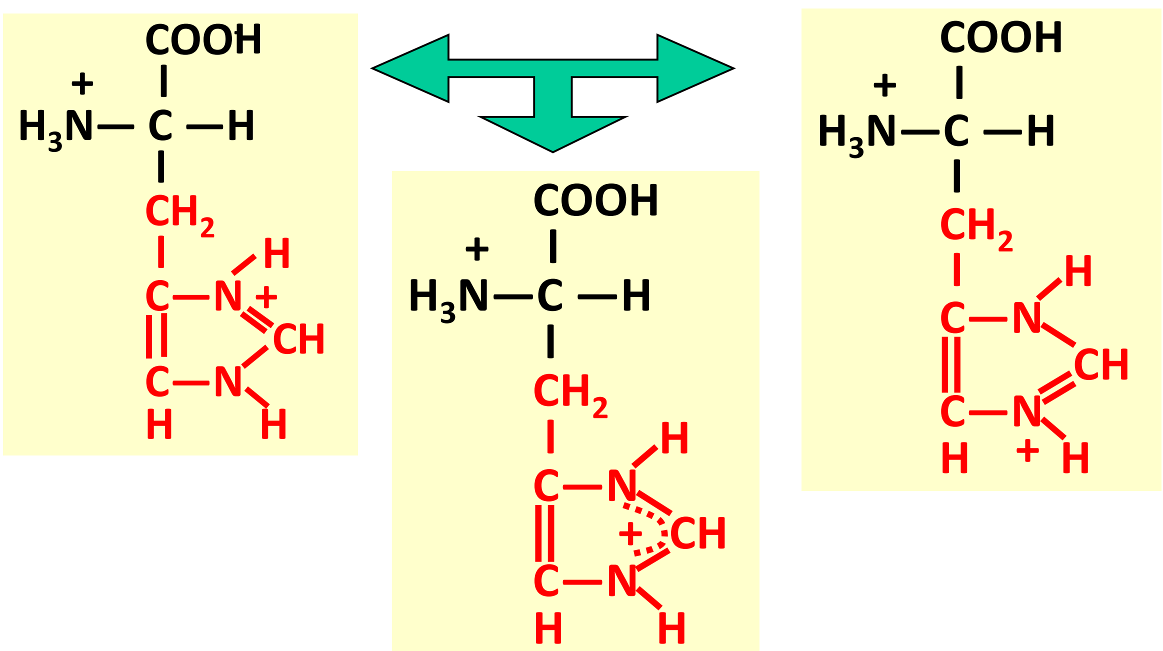
ISTIDINA

$pKa_1 = 1.82$ $pKa_2 = 9.17$ $pK_R = 6.0$

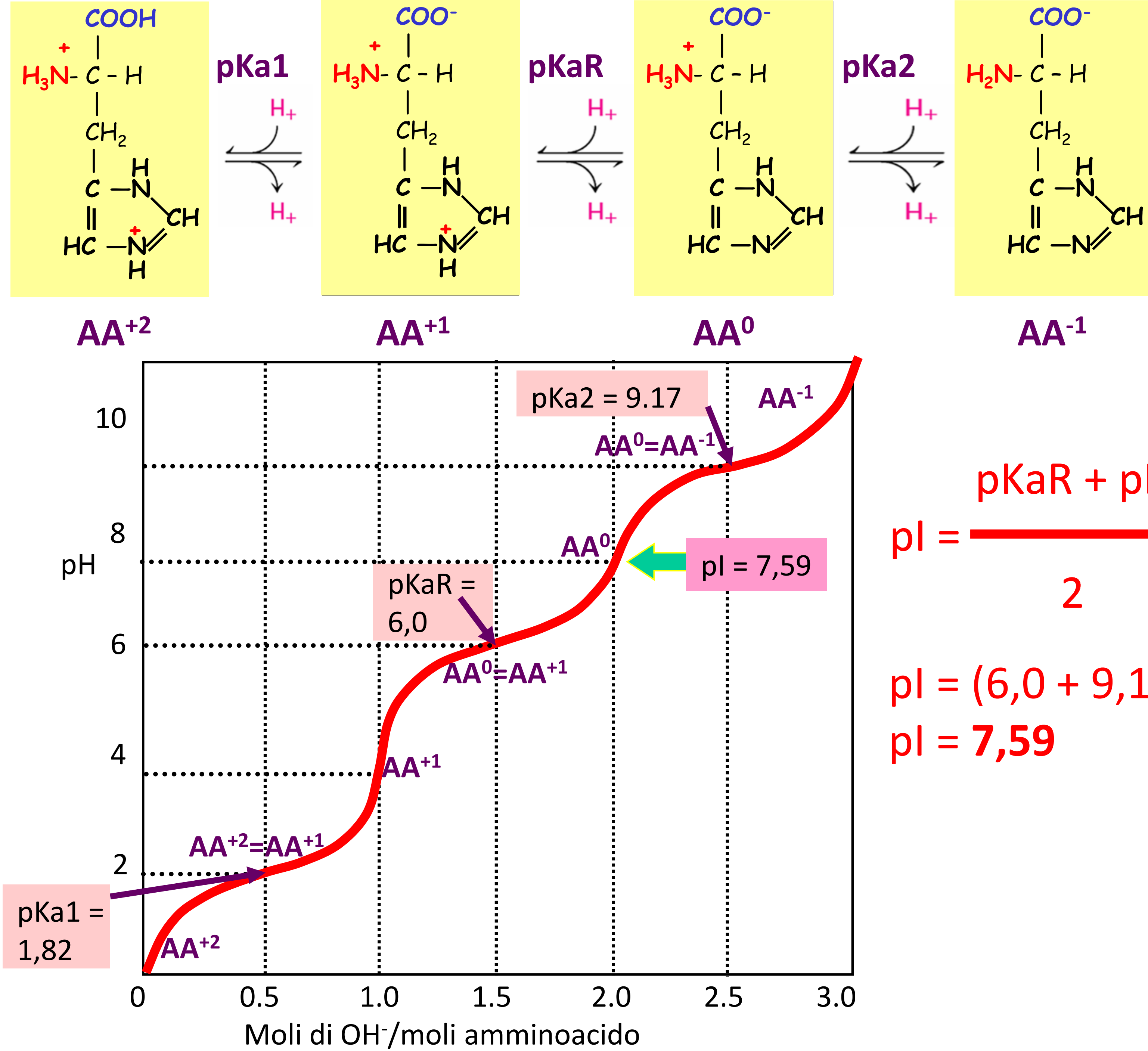


AA^{+2} AA^{+1} AA^{0} AA^{-1}

Il gruppo imidazolico è un ibrido di risonanza



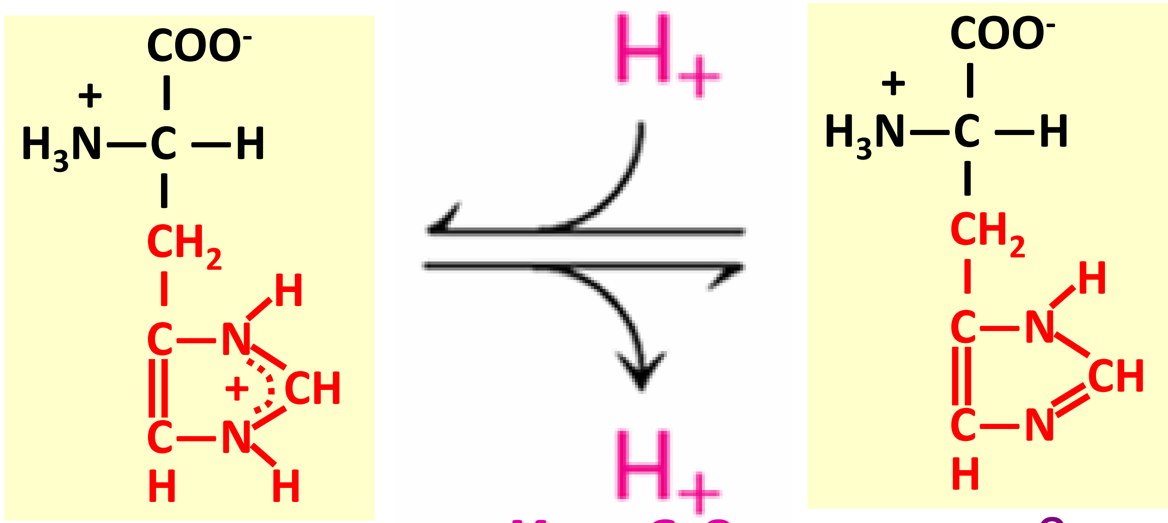
La carica + è delocalizzata fra i due atomi di azoto



$$pI = \frac{pKaR + pKa2}{2}$$

$pI = (6{,}0 + 9{,}17)/\ 2$

$pI =$ **7,59**



AA^{+1} $pK_R = 6{,}0$ AA^0

A pH 7,0 ---→ $pK_R + 1$

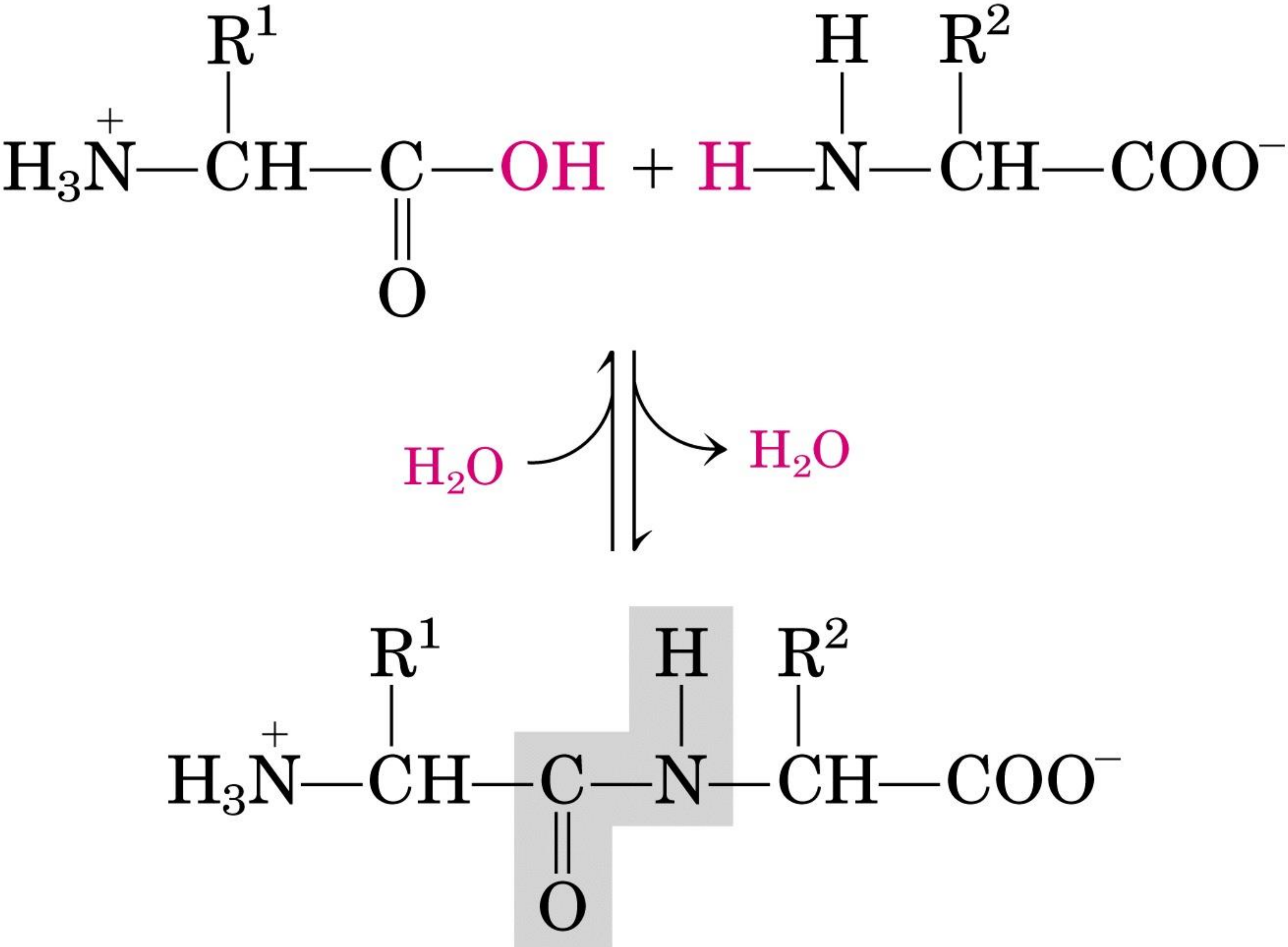
→ In soluzione avremo:
- 10 % della forma AA^{+1} (imidazolo protonato)
- 90% di quella AA^0 (imidazolo deprotonato),

→ A pH vicini a quello fisiologico sono entrambi presenti in concentrazioni significative e l’istidina può fungere da tampone.

È un ottimo tampone nell’ambiente cellulare

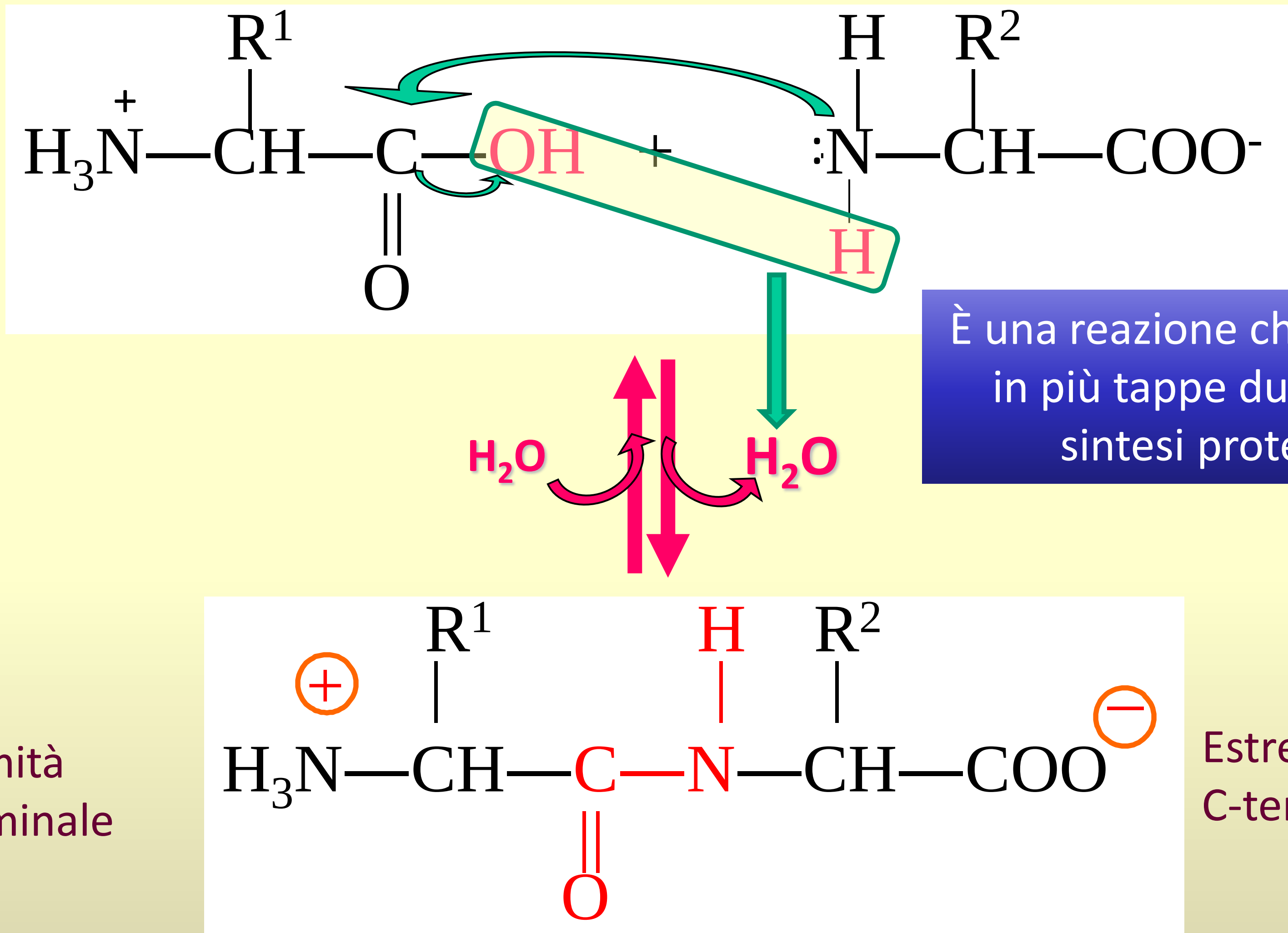
La catena R di un residuo di His che fa parte di una proteina può essere sia protonata che deprotonata.

LEGAME PEPTIDICO



IL LEGAME PEPTIDICO
(è un legame carboammidico)

Condensazione fra il gruppo α-Carbossilico di un amminoacido e il α-Amminico di un altro amminoacido



È una reazione che avviene in più tappe durante la sintesi proteica.

Estremità N-terminale

Estremità C-terminale

I gruppi α-amminico e α-carbossilico coinvolti nel legame peptidico non sono carichi

La sequenza di amminoacidi lungo una catena polipeptidica si definisce: STRUTTURA PRIMARIA

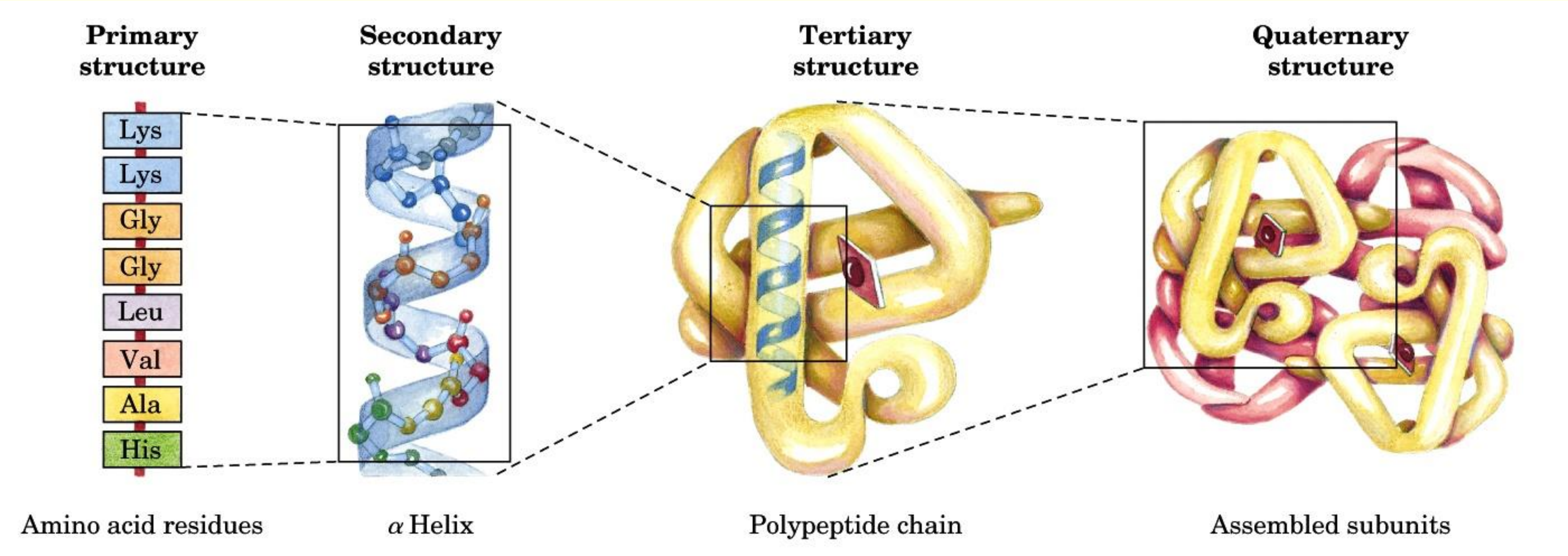
- **PEPTIDE (peso molecolare < 10000 Da, ca 100 amminoacidi):**

Costituito da una catena di residui amminoacidici legati tra loro da legami peptidici.

- **PROTEINA (peso molecolare > 10000 Da, più di 100 amminoacidi):**
  - CATENA POLIPEPTIDICA

A seconda della composizione amminoacidica, peptidi e proteine presentano differenti proprietà chimico-fisiche

- possono essere più idrofobe o più idrofile
- possono avere un diverso punto isoelettrico
- possono avere una diversa struttura tridimensionale.


Primary structure
Secondary structure
Tertiary structure
Quaternary structure
Lys
Lys
Gly
Gly
Leu
Val
Ala
His
Amino acid residues
α Helix
Polypeptide chain
Assembled subunits