

Aminokiseline, peptidi, te primarna struktura proteina

Boris Mildner

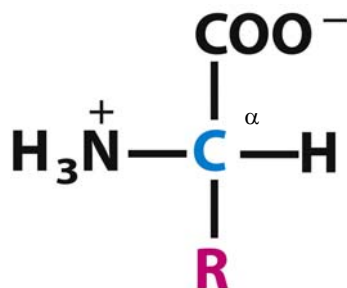
1

Proteine izgrađuju dvadeset različitih aminokiselina

- Svaka aminokiselina sadrži ugljikov atom na kojeg je vezana amino skupina, karboksilna skupina, određena bočna skupina (R) i vodikov atom.

2

Opća struktura aminokiselina



Ovo je zajednička opća struktura svih aminokiselina, osim za prolin koji je ciklička aminokiselina. Bočni ogranak (R-) kovalentno je vezan za α-C atom. Za svaku pojedinu aminokiselinu, R- je različit.

Postoje dvije konvencije kako numerirati ugljikove atome u aminokiselinama:

- U bočnom ogranku naredni ugljikovi atomi se označavaju grčkim slovima β, γ, δ, ε itd.

Za većinu organskih spojeva ugljikovi atomi se broje s jednog kraja, a najveća prednost, (C-1) daje se ugljiku koji ima supstituent s najvećim atomskim brojem. Prema ovoj konvenciji, karboksilna skupina bi bila C-1, a α-C bi bio C-2. U nekim slučajevima kada je R heterociklička skupina (npr. imidazolni prsten histidina), primjenjuje se ovaj sustav brojanja.

Za aminokiseline s razgranatim alifatskim lancima ekvivalentnim ugljikovim atomima daju se brojevi nakon grčkih slova. Npr. leucin ima δ1 i δ2 ugljike.

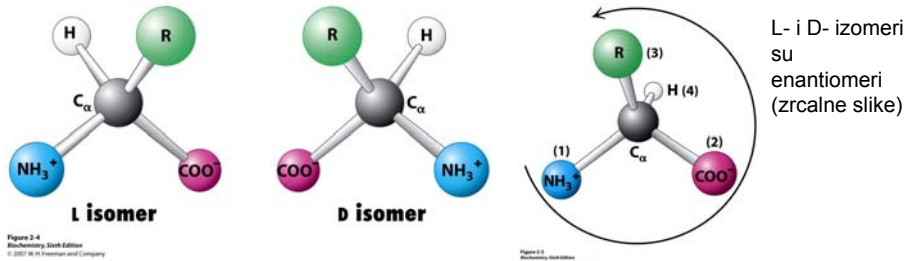
3

Aminokiseline postoje kao enantiomeri (zrcalne slike)

- U aminokiselinama, ugljikov atom u središtu tetraedra je kiralan (osim kod glicina).
- U prirodnim proteinima većinom postoje samo L-aminokiseline i većina prirodnih proteina je izgrađena od 20 L-aminokiselina.

4

Aminokiseline su kiralne molekule



Nema posebnog objašnjenja zašto su u proteinima zastupljene samo L-aminokiseline. Moguće objašnjenje je da kada je Priroda napravila odabir, i odabrala L-aminokiseline rano u evoluciji, svi su ostali procesi slijedili ovaj izbor.

U proteinima susrećemo uglavnom 20 različitih aminokiselina.

5

Sve aminokiseline imaju barem dvije nabijene skupine

- Slobodne aminokiseline u otopini kod neutralnog pH su dipolarne molekule (zwitter ioni). Stupanj ionizacije aminokiseline mijenja se obzirom na pH otopine.

6

U otopinama, pri neutralnom pH aminokiseline su uglavnom **dipolarni ioni**, tzv. **zwitter ioni**.

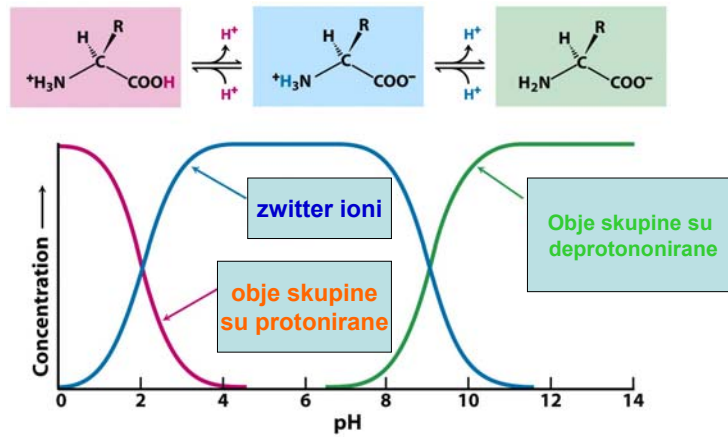


Figure 2-6
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Ionizacijsko stanje aminokiseline je funkcija pH.

7

Aminokiseline razlikujemo po njihovim bočnim (R) skupinama

- Bočni (R) lanci 20 aminokiselina razlikuju se u veličini, obliku i funkciji.
- Aminokiseline se mogu podijeliti na osnovi kemijskih svojstava njihovih bočnih skupina:
 - **Aminokiseline s hidrofobnim bočnim skupinama** (alifatske aminokiseline: glicin, alanin, valin, leucin, izoleucin, metionin, prolin, kao i aromatske aminokiseline: fenilalanin i triptofan);
 - **Polarne aminokiseline kojima bočni ogranak nije nabijen** (serin, treonin, tirozin, asparagin i glutamin)
 - **Pozitivno nabijene aminokiseline** (lizin, arginin i histidin)
 - **Negativno nabijene aminokiseline** (asparaginska kiselina i glutaminska kiselina)

8

Aminokiseline s nepolarnim alifatskim bočnim ograncima (R-skupinama)

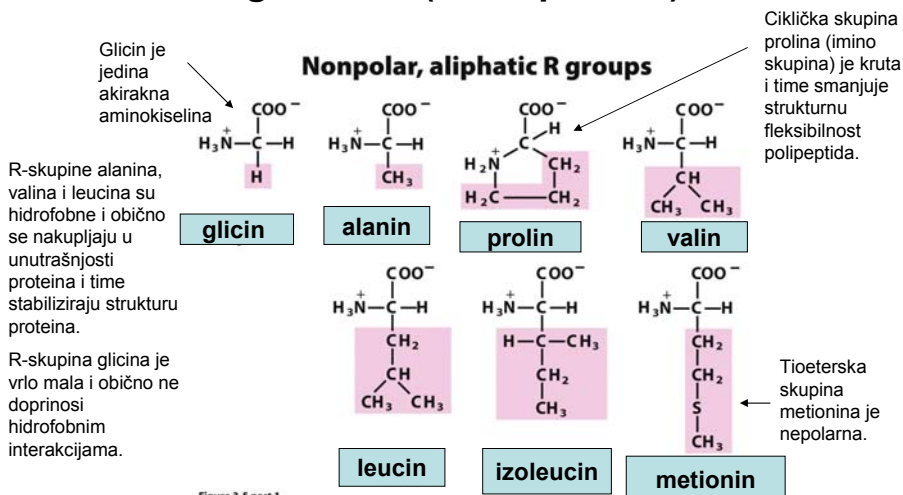


Figure 3-5 part 1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

9

Aminokiseline s aromatskim bočnim organcima (R-skupinama)

Aromatske skupine ovih aminokiselina su relativno nepolarne (hidrofobne) i sve one mogu sudjelovati u hidrofobnim interakcijama.

Hidroksilna skupina tirozina može stvarati vodikove veze.

Aromatic R groups

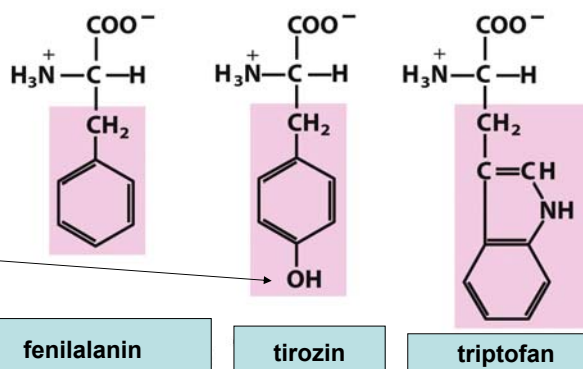


Figure 3-5 part 2
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

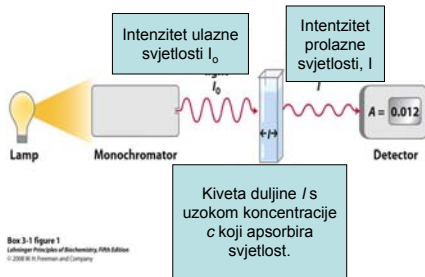
Tirozin i triptofan su značajno polarniji od fenilalanina.

Triptofan, tirozin i u manjoj mjeri fenilalanin apsorbiraju UV svjetlost. To rezultira u karakterističnoj jakoj apsorpciji svjetlosti pri 280 nm.

10

Aromatske aminokiseline apsorbiraju ultraljubičasto svjetlo. Izmjerena apsorbancija triptofana gotovo je 4 puta jača od apsorbancije tirozina. Apsorbancija svjetlosti fenilalanina gotovo ne doprinosi spektroskopskim svojstvima proteina. Apsorbancija je maksimalna pri 280 nm.

Apsorbancija (A) = $\log(I_0 / I) = \epsilon cl$ pri čemu I_0 = intenzitet ulazne svjetlosti; I = intenzitet prolazne (transmitirane) svjetlosti; ϵ = množinski (molarni) ekstinkcijski koeficijent; c = množinska koncentracija; l = duljina kivete



Box 3-1 Figure 1
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

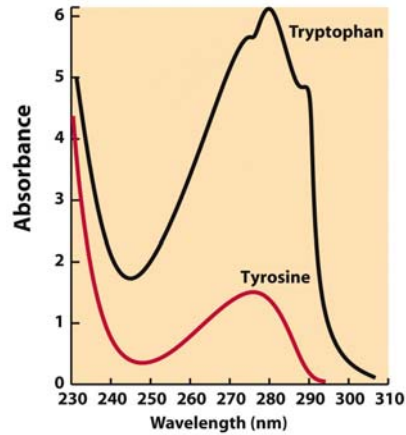


Figure 3-6
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

11

Aminokiseline kojima su bočni ogranci polarne nenabijene skupine

Ove aminokiseline su topljivije u vodi nego nepolarne aminokiseline jer funkcionalne skupine u bočnim ograncima ovih aminokiselina mogu stvarati vodikove veze s vodom.

Polarnost ovih bočnih ograna potječe od hidroksilnih skupina serina i treonina, od sulfhidrilne skupine cisteina, odnosno od amidnih skupina asparagina i glutamina.

HS-skupina cisteina je slaba kiselina i može stvarati vodikove veze s kisikovim i dušikovim atomima.

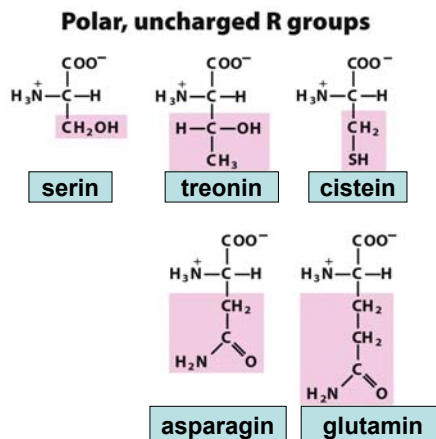


Figure 3-5 part 3
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Asparagin i glutamin su amidi aspartata odnosno glutamata te se djelovanjem kiselina ili baza lagano hidroliziraju.

Cistein se lagano oksidira i pri tome mogu nastati kovalentno povezani dimeri ove aminokiseline, tj. nastaje cistin u kojoj su dvije molekule cisteina povezane disulfidnim vezama (mostovima). Ostaci koji su povezani disulfidnim vezama jako su hidrofobni (nepolarni).

12

Disulfidne veze između dvije molekule cisteina nastaju oksidacijom sulfhidrilnih skupina. Disulfidne veze između cisteinskih ostataka stabiliziraju strukture mnogih proteina.

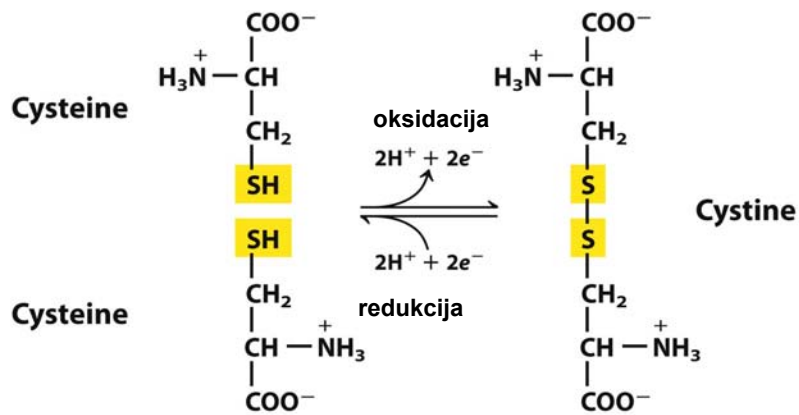


Figure 3-7
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

13

Aminokiseline čiji su bočni ogranci pozitivno nabijeni

Aminokiseline s pozitivno ili negativno nabijenim bočnim ograncima su najhidrofilnije.

Aminokiseline koje su pri pH = 7,0 pozitivnog naboja: lizin koji ima amino skupinu na ε kraju bočnog ogranka, arginin koji na kraju bočnog ogranka ima gvanidinsku skupinu, te histidin koji u bočnom ogranku ima imidazolnu skupinu.

Positively charged R groups

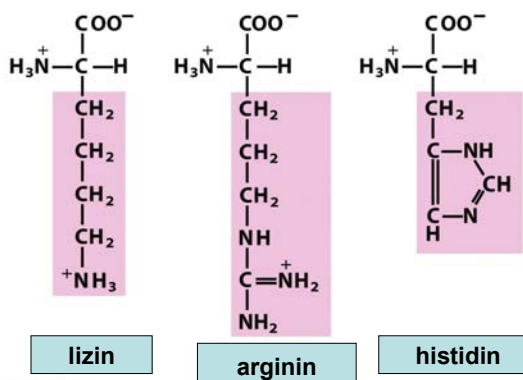


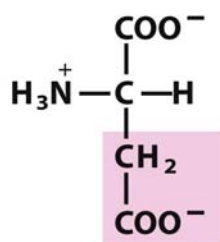
Figure 3-5 part 4
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

pK_a imidazolne skupine histidina pK_a = 6,0. Zbog toga pri pH = 7,0 imidazolni prsten histidina može biti i pozitivno nabijen (protonirani oblik) i neutralan.

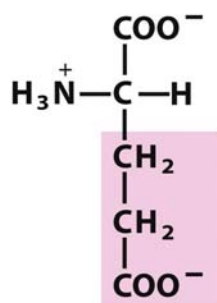
14

Aminokiseline čiji su bočni ogranci negativno nabijeni

Negatively charged R groups



asparaginska kiselina
(aspartat)



glutaminska kiselina
(glutamat)

Figure 3-5 part 5
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

15

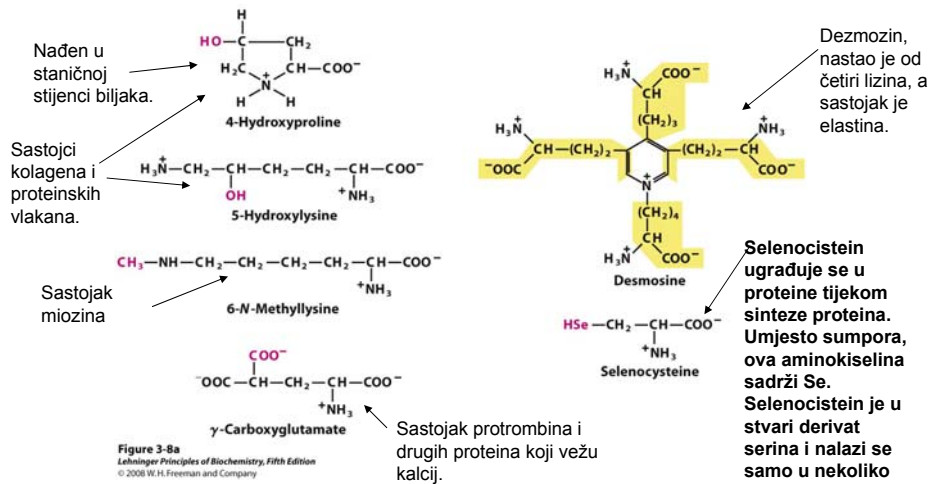
Kratice za uobičajene aminokiseline

TABLE 2.2 Abbreviations for amino acids

Amino acid	Three-letter abbreviation	One-letter abbreviation	Amino acid	Three-letter abbreviation	One-letter abbreviation
Alanine	Ala	A	Methionine	Met	M
Arginine	Arg	R	Phenylalanine	Phe	F
Asparagine	Asn	N	Proline	Pro	P
Aspartic acid	Asp	D	Serine	Ser	S
Cysteine	Cys	C	Threonine	Thr	T
Glutamine	Gln	Q	Tryptophan	Trp	W
Glutamic acid	Glu	E	Tyrosine	Tyr	Y
Glycine	Gly	G	Valine	Val	V
Histidine	His	H	Asparagine or aspartic acid	Asx	B
Isoleucine	Ile	I	Glutamine or glutamic acid	Glx	Z
Leucine	Leu	L			
Lysine	Lys	K			

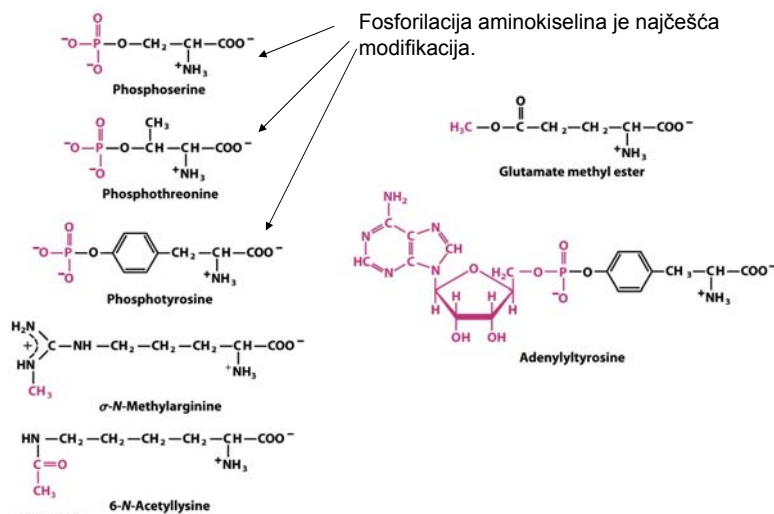
Table 2-2
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Neuobičajene aminokiseline pronađene u proteinima. Dodatne skupine, označene crvenim slovima, modificirane su kemijskim reakcijama.



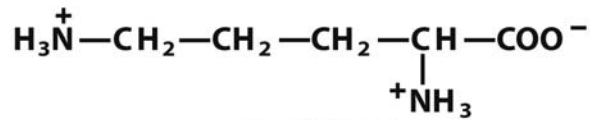
17

Reverzibilne modifikacije aminokiselina koje su uključene u regulaciju aktivnosti proteina.

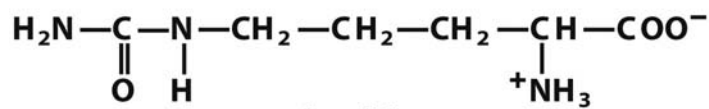


18

Oko 300 dodatnih aminokiselina je pronađeno u stanici (ali ne kao sastavnice proteina). Sve one imaju različite funkcije, a ornitin i citrulin su ključni metaboliti u biosintezi arginina kao i u ciklusu ureje.



Ornithine



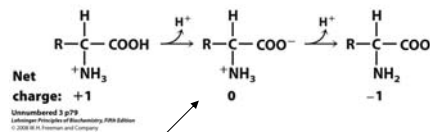
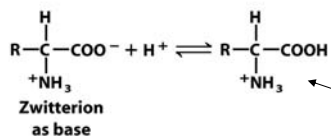
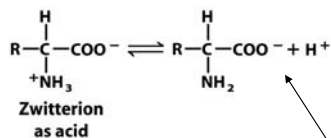
Citrulline

Figure 3-8c
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

19

Neionski i zwitterionski oblici aminokiselina.

Neionski oblici (nenabijene aminokiselina) ne postoje u značajnim količinama u vodenim otopinama.



Jednostavna monoamino, monokarboksilna α -aminokiselina, npr. alanin, je diprotična kiselina (kiselina s dva protona) kada je potpuno protonirana. U tom slučaju ona ima -COOH i -NH₃⁺ skupine koje mogu donirati protone.

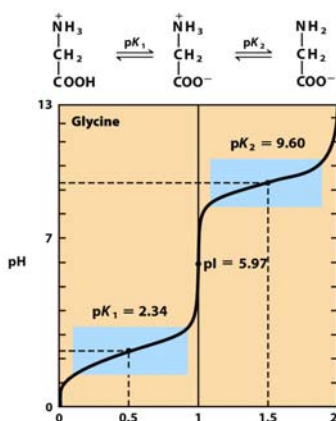
Zwitter ion može biti ili donor ili akceptor protona.

20

Aminokiseline imaju karakteristične titracijske krivulje.

Prikazana je titracijska krivulja 0,1 mol dm⁻³ glicina pri 25 °C.

$$pI = \frac{1}{2} (pK_1 + pK_2)$$

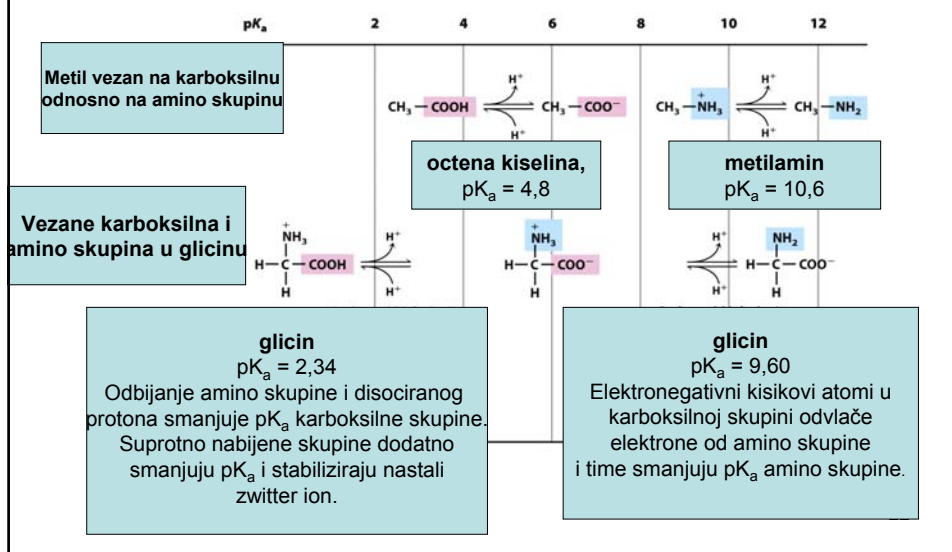


Izoelektrična točka, pI aminokiseline, ili izoelektrični pH, je pH vrijednost pri kojoj je neto naboj aminokiseline nula.

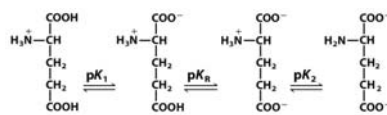
Točka ekvivalencije je kada je dodan 1 ekvivalent OH⁻.

21

Utjecaj kemijske prirode supstituenta na pK_a



Iz titracijske krivulje aminokiseline može se predvidjeti električni naboj aminokiseline.



neto naboj: +1 0 -1 -2

pI glutaminske
kiseline
 $\frac{1}{2}(\text{p}K_1 + \text{p}K_R) = 3,22$

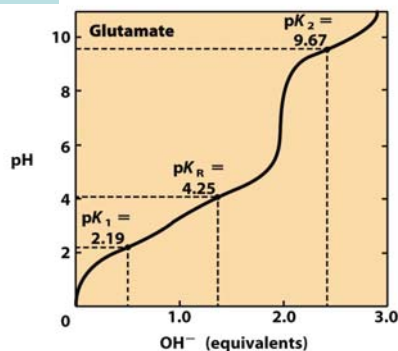
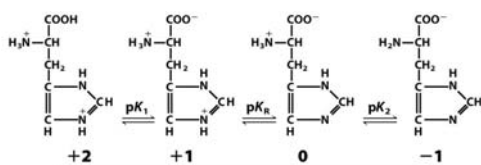


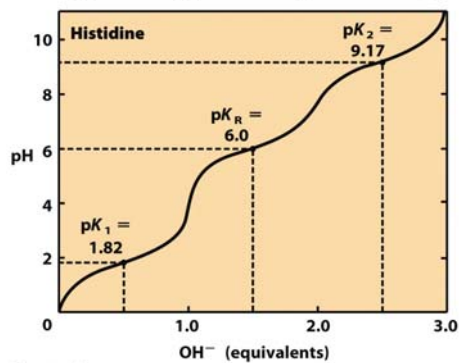
Figure 3-12a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

23

Iz titracijske krivulje aminokiseline može se predvidjeti električni naboj aminokiseline.



+2 +1 0 -1



pI histidina
 $\frac{1}{2}(\text{p}K_R + \text{p}K_2) = 7,59$

Figure 3-12b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

24

Bočni lanci koji se mogu ionizirati povećavaju reaktivnost aminokiselina i omogućavaju stvaranje dodatnih veza

- Sedam aminokiselina: tirozin, cistein, arginin, lizin, histidin, asparaginska kiselina i glutaminska kiselina imaju bočne lance koji se mogu lagano ionizirati.
- Ovih sedam aminokiselina, kada su ionizirane, mogu stvarati ionske veze, a mogu i donirati ili prihvaćati (akceptirati) protone kako bi se omogućile kemijske reakcije.
- Sposobnost da doniraju ili akceptiraju protone naziva se **kiselo-baznom katalizom** i to je važna kemijska reakcija koja se odvija u mnogim enzimima.

25

Tipične pK_a vrijednosti ioniziranih skupina u proteinima

Group	Acid	⇌	Base	Typical pK _a *
Terminal α-carboxyl group		⇌		3.1
Aspartic acid Glutamic acid		⇌		4.1
Histidine		⇌		6.0
Terminal α-amino group		⇌		8.0
Cysteine		⇌		8.3
Tyrosine		⇌		10.9
Lysine		⇌		10.8
Arginine		⇌		12.5

pK_a vrijednosti ovise o temperaturi, ionskoj jakosti kao i o mikro-okruženju ionizirane skupine.

26

Esencijalne aminokiseline moramo dobivati hranom

- Većina mikroorganizama može sintetizirati svih 20 aminokiselina iz jednostavnih preteča (prekursora).
- Ljudi mogu sintetizirati 11 aminokiselina a 9 se aminokiselina mora dobivati hranom.
- Devet aminokiselina koje ne možemo sintetizirati nazivamo **esencijalnim aminokiselinama** budući da su neophodne za normalan rast i razvoj organizma.

27

Esencijalne aminokiseline moramo dobivati hranom (ne možemo ih sami sintetizirati)

Aminokiseline koje nisu esencijalne (neesencijalne)	Esencijalne aminokiseline
alanin	fenilalanin
arginin	histidin
asparagin	izoleucin
aspartat	leucin
cistein	lizin
glicin	metionin
glutamat	treonin
glutamin	triptofan
prolin	valin
serin	
tirozin	

28

Peptidi, proteini te njihove primarne strukture

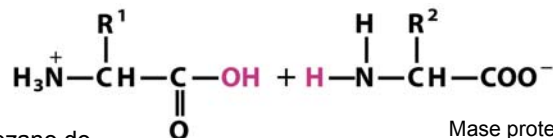
29

Primarna struktura: aminokiseline se povezuju **peptidnim vezama** kako bi izgradile polipeptidne lance

- Aminokiseline u polipeptidnom lancu povezane su amidnim vezama između karboksilne skupine jedne aminokiseline i amino skupine naredne aminokiseline.
- Svojstva peptidnih veza:
 - Otporna je na hidrolizu, te su proteini kinetički vrlo stabilne molekule.
 - Svaka peptidna veza ima donora (NH skupina) i akceptora za vodikove ione (CO skupina), te može stvarati vodikove veze.
 - Peptidna veza je dipol i svi atomi uključeni u ovu vezu leže u jednoj ravnini

30

Peptidi su lanci aminokiselina koje su međusobno povezane kovalentnim tzv. peptidnim vezama.



Oligopeptid = povezano do 20 aminokiselina.

Polipeptid = do

$M_r = 10\ 000$ Da

Protein = $M_r > 10\ 000$ Da

Mase proteina izražavamo u Daltonima (Da). Jedinica

1 Da = 1/12 mase ^{12}C .

Protein $M_r = 50\ 000$

ima masu (m)

$m = 50\ 000$ Da = 50 kDa

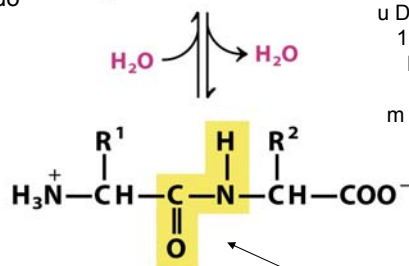
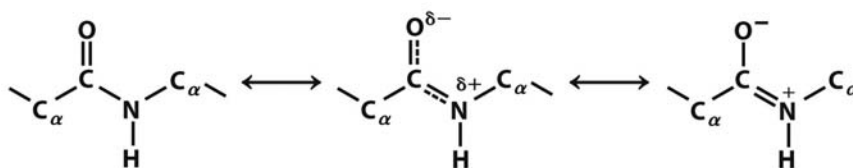


Figure 3-13
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Reakcijom kondenzacije, pri čemu dolazi do otpuštanja vode, dvije se aminokiseline povezuju **peptidnom vezom**.

31

Peptidna veza je dipol



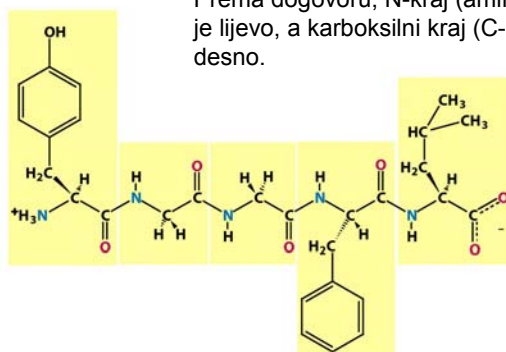
Karbonilni kisikov atom je djelomično negativno nabijen a amidni dušikov atom je djelomično pozitivno nabijen pa nastaje dipol u peptidnoj vezi. (zbog toga je moguće stvaranje vodikovih veza, a ujedno osigurava da su šest atoma $\text{C}_\alpha, \text{C}, \text{O}, \text{N}, \text{H}$ i C_α u jednoj ravnini)

32

Slijed aminokiselina je usmjeren – postoji amino (N) kraj i karboksilni (C-) kraj peptida

Slijed (sekvenca) aminokiselina u proteinu naziva se **primarnom strukturom** proteina.

Prema dogovoru, N-kraj (amino-kraj) peptida je lijevo, a karboksilni kraj (C-kraj) peptida je desno.



Tyr Gly Gly Phe Leu

Amino-terminal residue → Carboxyl-terminal residue

Nomenklatura:
Tirozil-glicil-glicil-fenilalanil-leucin

33

Komponente polipeptidnog lanca

Prosječna molekularna masa 20 slobodnih aminokiselina je 128, no u peptidu prosječna molekularna masa aminokiselina je 110 (gubitak vode).

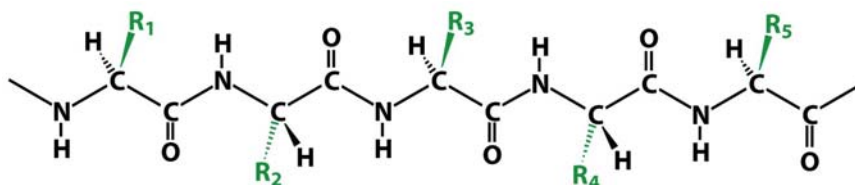
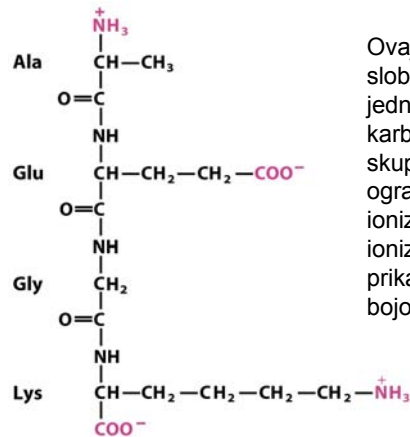


Figure 2-20
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Polipeptidni lanac sastoji se od konstantne okosnice, prikazana crnom bojom, i različitih bočnih ogranaka, prikazani zelenom bojom.

34

Peptidi se razlikuju prema količini naboja (ionizaciji).

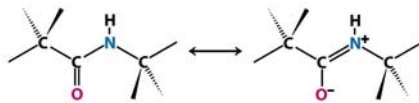


Ovaj tetrapeptid ima jednu slobodnu α -amino skupinu, jednu slobodnu α -karboksilnu skupinu i dvije skupine na bočnim ograncima koje se mogu ionizirati. Skupine koje su ionizirane pri pH = 7,0 prikazane su crvenom bojom.

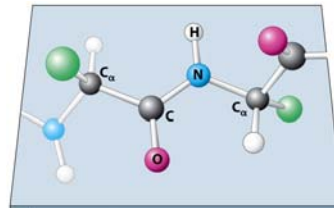
Tetrapeptid: alanilglutamilglicilizin (Ala-Glu-Gly-Lys ili ADGK)

35

Peptidna veza je kruta i planarna



Rezonancijske strukture peptidne veze



Peptidna veza je planarna. U paru povezanih aminokiselina 6 atoma ($C\alpha$, C, O, N, H i $C\alpha$) leže u ravnini. Bočni ogranci prikazani su zelenom bojom.



Linus Pauling, 1901-1994



Robert Corey, 1897-1971

36

Duljine veza u peptidu

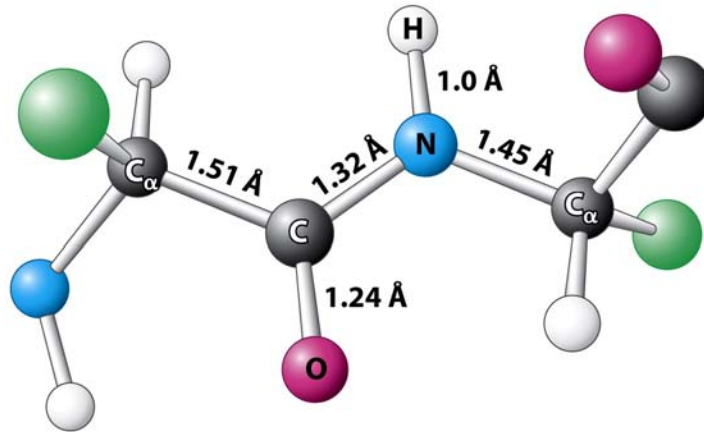


Figure 2-24
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Bočne skupine peptida prikazane su u trans-konformaciji.

37

Cis - trans konformacije peptidnih veza u proteinima

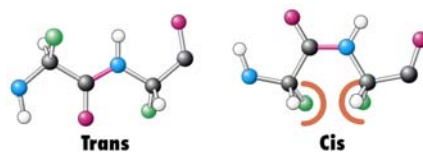


Figure 2-25
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Trans-konformacija bočnih ogranaka svih aminokiselina (osim prolina) prevladava jer u cis-konformaciji dolazi do steričkih smetnji bočnih ogranaka.

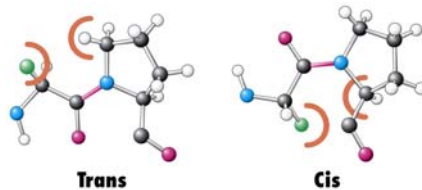


Figure 2-26
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

Cis i trans konformacije prolina. Energije ovih konformera su gotovo jednake jer i u jednom i u drugom položaju dolazi do steričkih smetnji.

38

Rotacije oko veza u polipeptidu

Mogućnost (sloboda) rotacije oko ovih veza omogućava proteinima da se nabiru na različite načine.

Φ (Φ) je kut rotacije između $C\alpha$ i dušika, a ψ (ψ) je kut rotacije između $C\alpha$ i karbonilnog ugljika.

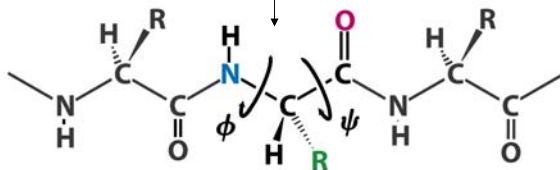
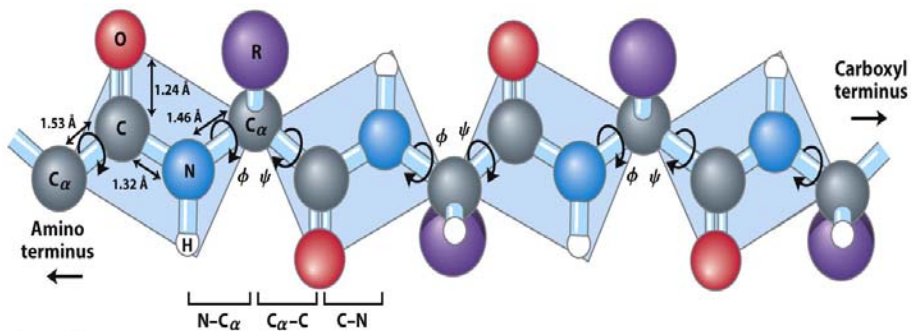


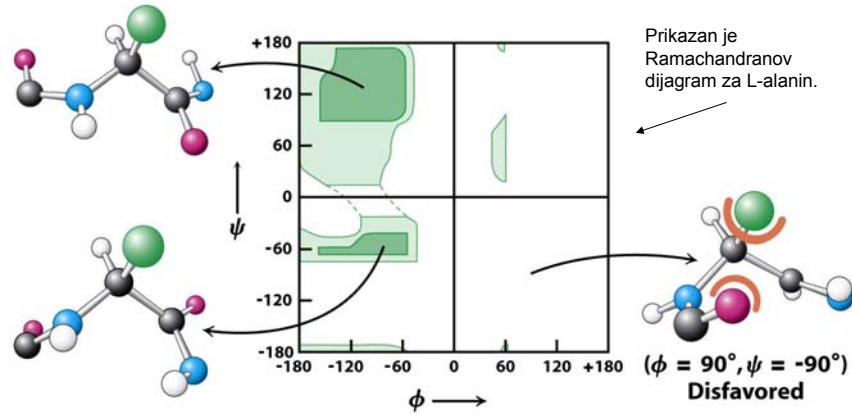
Figure 2-27a
Biochemistry, Sixth Edition
© 2002 W. H. Freeman and Company

39



Tri veze odvajaju susjedne $C\alpha$ atome. $C\alpha - C$ i $N - C\alpha$ mogu rotirati kako je to opisano dihedralnim kutovima Φ i ψ . Peptidna veza $CO = NH$ ne može rotirati. Rotacija jednostrukih veza u peptidnoj okosnici ovisi o veličini i/li naboju R-skupine.

G. Ramachandran je prvi prepoznao da nisu moguće mnoge kombinacije dihedralnih kuteva Φ i ψ , pojedine aminokiseline u konformaciji peptida. Konformacije aminokiselina koje su moguće imaju slabe ili nikakve steričke smetnje a to je moguće izračunati iz van der Waalsovih radijusa i dihedralnih kuteve.



Ramachandranov dijagram prikazuje vrijednosti Φ i ψ svake pojedinačne aminokiseline u peptidu. Zbog steričke kolizije između atoma neke vrijednosti Φ i ψ nisu dozvoljene. Područja gdje su kombinacije Φ i ψ najpovoljnije prikazane su tamno zeleno a nepovoljnije kombinacije svjetlo zeleno. Struktura prikazana s desne strane dijagrama nije moguća zbog steričkih smetnji između bočne skupine i kisika karbonilne skupine