

AMINOKISELINE

- Podsetnik iz organske i analitičke hemije
- Standardne (proteinske) aminokiseline:
 - struktura, nomenklatura, klasifikacija
 - konfiguracija
- Zašto 20 proteinskih aminokiselina?
- Zašto L-aminokiseline?
- Osobine bočnih ostataka:
 - *polarnost *veličina *disocijacija *reaktivnost
- Identifikacija i određivanje aminokiselina
 - Aminoanaliza

“Ispitno” pitanje

2. Aminokiseline: nazivi, skraćenice, stereochemija; polarnost; klasifikacija; osnovne reakcije bočnih ostataka; elektrolitičke osobine; aminokiseline kao puferi; analiza (planarna hromatografija; jonoizmenjivačka hromatografija)

Literatura/priprema: PSF: pogl. 2:

Pr.:Aminokiseline, **zapažanja sa vežbi**

Podsetnik iz (organske) hemije?:

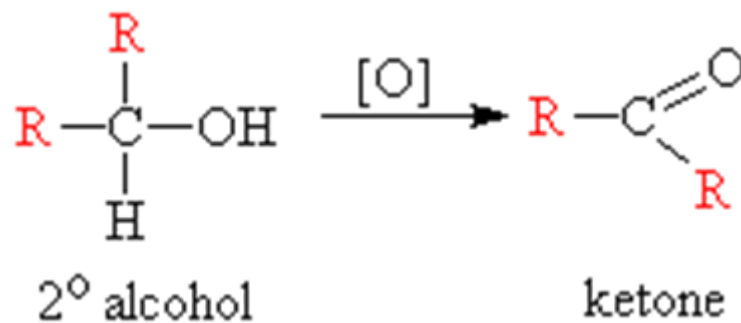
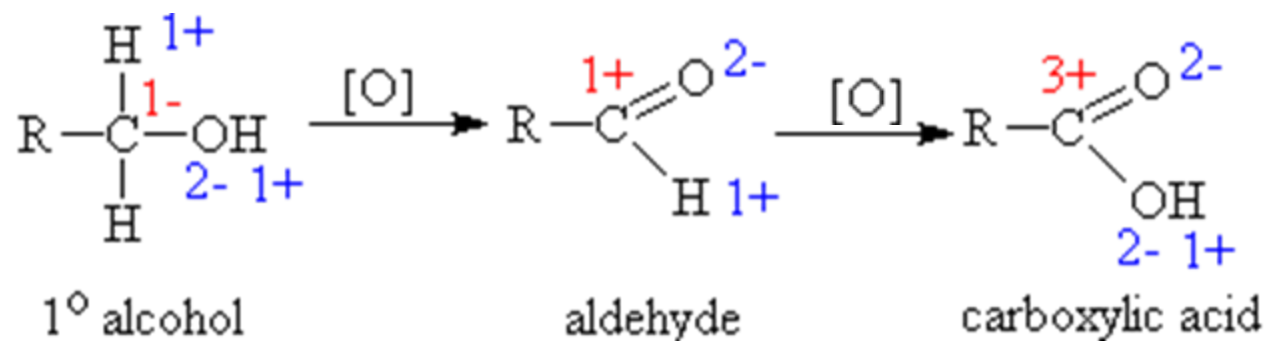
- karbonske kiseline
- amini
- (tio)alkoholi, (tio)etri, benzol, fenol, ...

Podsetnik iz opšte/analitičke hemije:

(videti Dodatak o puferima u Praktikumu):

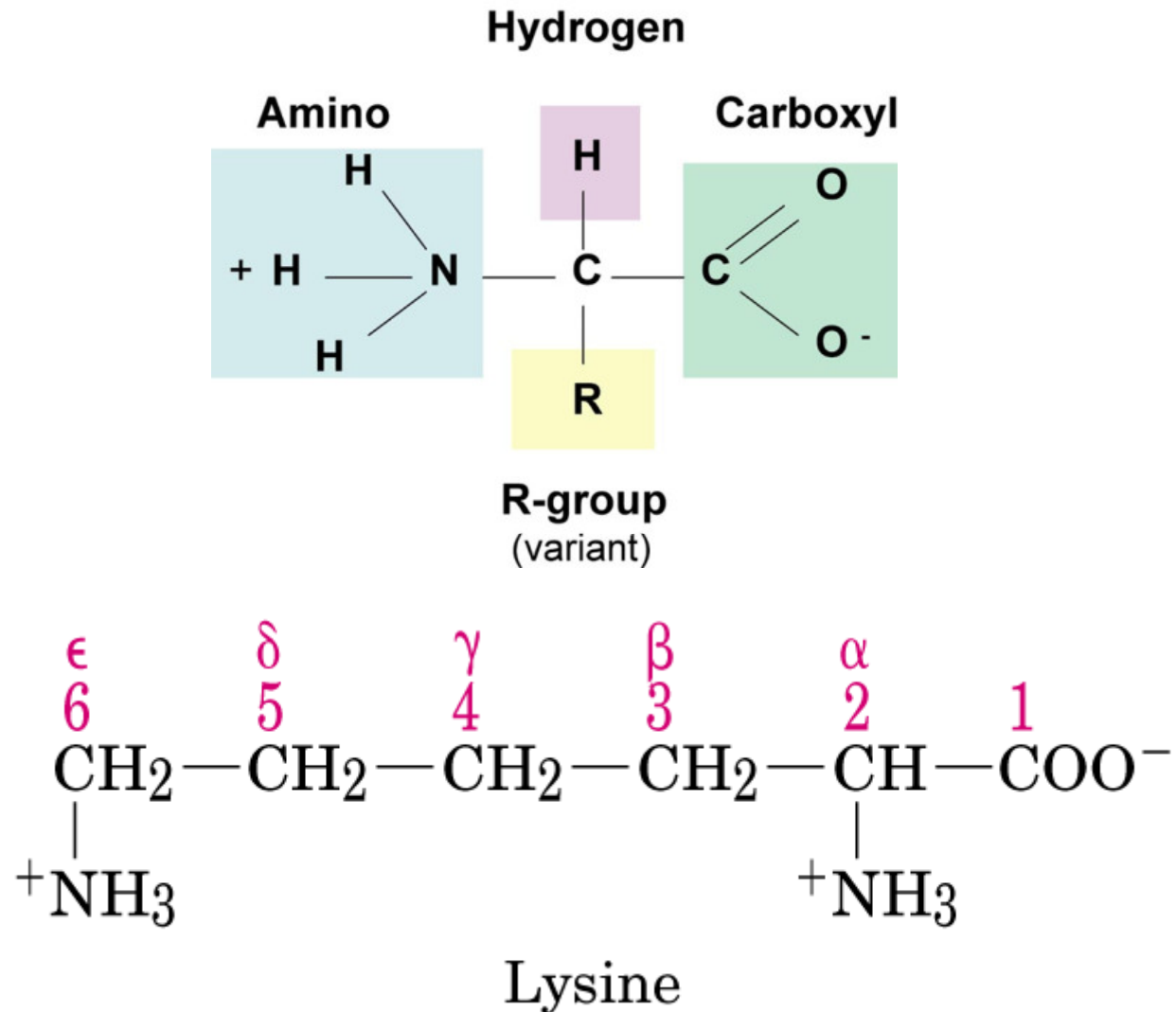
- slabe kiseline/baze
- pH?, K_a i pK_a
- titracije slabih kiselina

Name of Class	Functional Group	General Formula	Name of Class	Functional Group	General Formula
Alkane	None	$R-H$			
Alkene	$\begin{array}{c} \quad \\ -C=C- \end{array}$	$\begin{array}{c} R' \quad R'' \\ \quad \\ R-C=C-R''' \end{array}$	Carboxylic acid	$\begin{array}{c} O \\ \\ -C-O-H \end{array}$	$R-C(=O)-O-H$
Alkyne	$-C\equiv C-$	$R-C\equiv C-R'$	Ester	$\begin{array}{c} O \\ \\ -C-O- \begin{array}{c} \\ -C- \end{array} \end{array}$	$R-C(=O)-O-R'$
Alcohol	$\begin{array}{c} \\ -C-O-H \\ \end{array}$	$R-O-H$	Amide	$\begin{array}{c} O \\ \\ -C-N- \\ \end{array}$	$R-C(=O)-N(=H)-H$
Ether	$\begin{array}{c} \quad \\ -C-O-C- \\ \quad \end{array}$	$R-O-R'$			$R-C(=O)-N(=H)-R'$
Aldehyde	$\begin{array}{c} O \\ \\ -C-H \end{array}$	$R-C(=O)-H$			$R-C(=O)-N(R'')(R')$
Ketone	$\begin{array}{c} O \\ \\ -C- \end{array}$	$R-C(=O)-R'$			
Amine	$\begin{array}{c} \\ -C-N- \\ \end{array}$	$\begin{array}{c} H \\ \\ R-N-H \end{array}$			
		$\begin{array}{c} H \\ \\ R-N-R' \end{array}$			
		$\begin{array}{c} R' \\ \\ R-N-R'' \end{array}$			



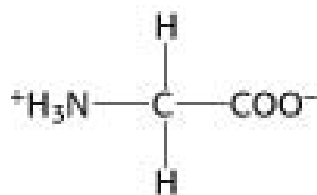
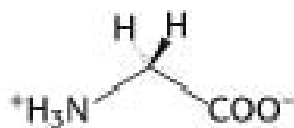
Odredite
oksidaciona
stanja!

Standardne (proteinske) α -aminokiseline: struktura



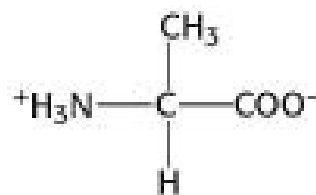
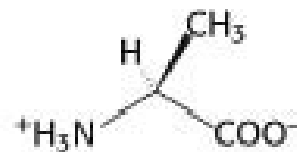
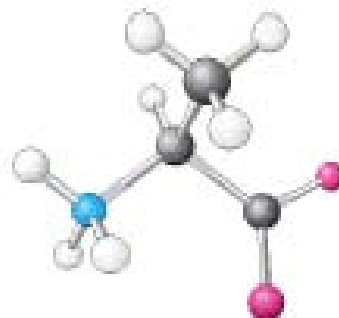
Prikazivanje α -aminokiselina

Glycine
(Gly, G)



Glycine
(Gly, G)

Alanine
(Ala, A)



Alanine
(Ala, A)

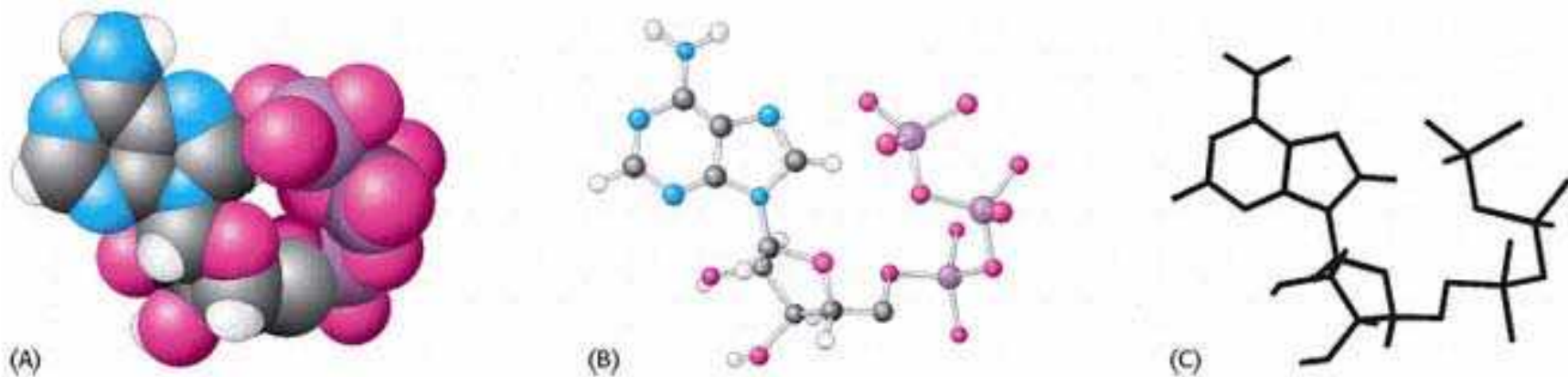


Figure 1.16. Molecular Representations. Comparison of (A) space-filling, (B) ball-and-stick, and (C) skeletal model of ATP.

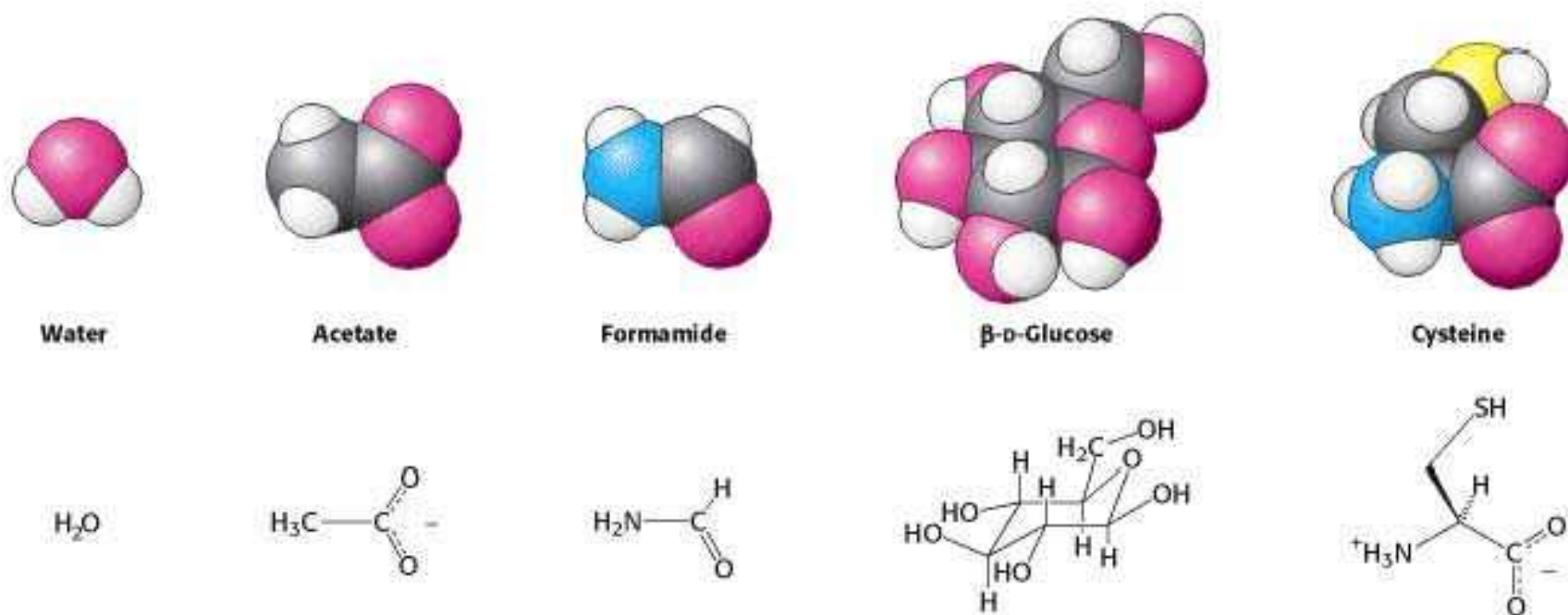


Figure 1.17. Space-Filling Models. Structural formulas and space-filling representations of selected molecules are shown.

Funkcije α -aminokiselina

A. Amino acids: functions

Components of:

Peptides
Proteins
Phospholipids



Neurotransmitters:

Glutamate
Aspartate
Glycine



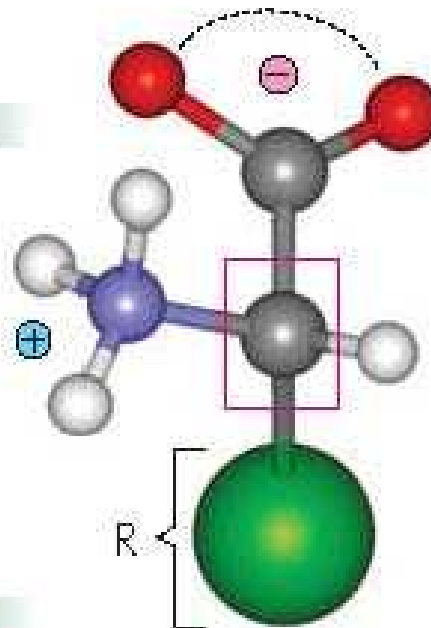
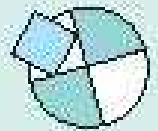
Precursors of:

Keto acids
Biogenic amines
Glucose
Nucleotides
Heme, creatine



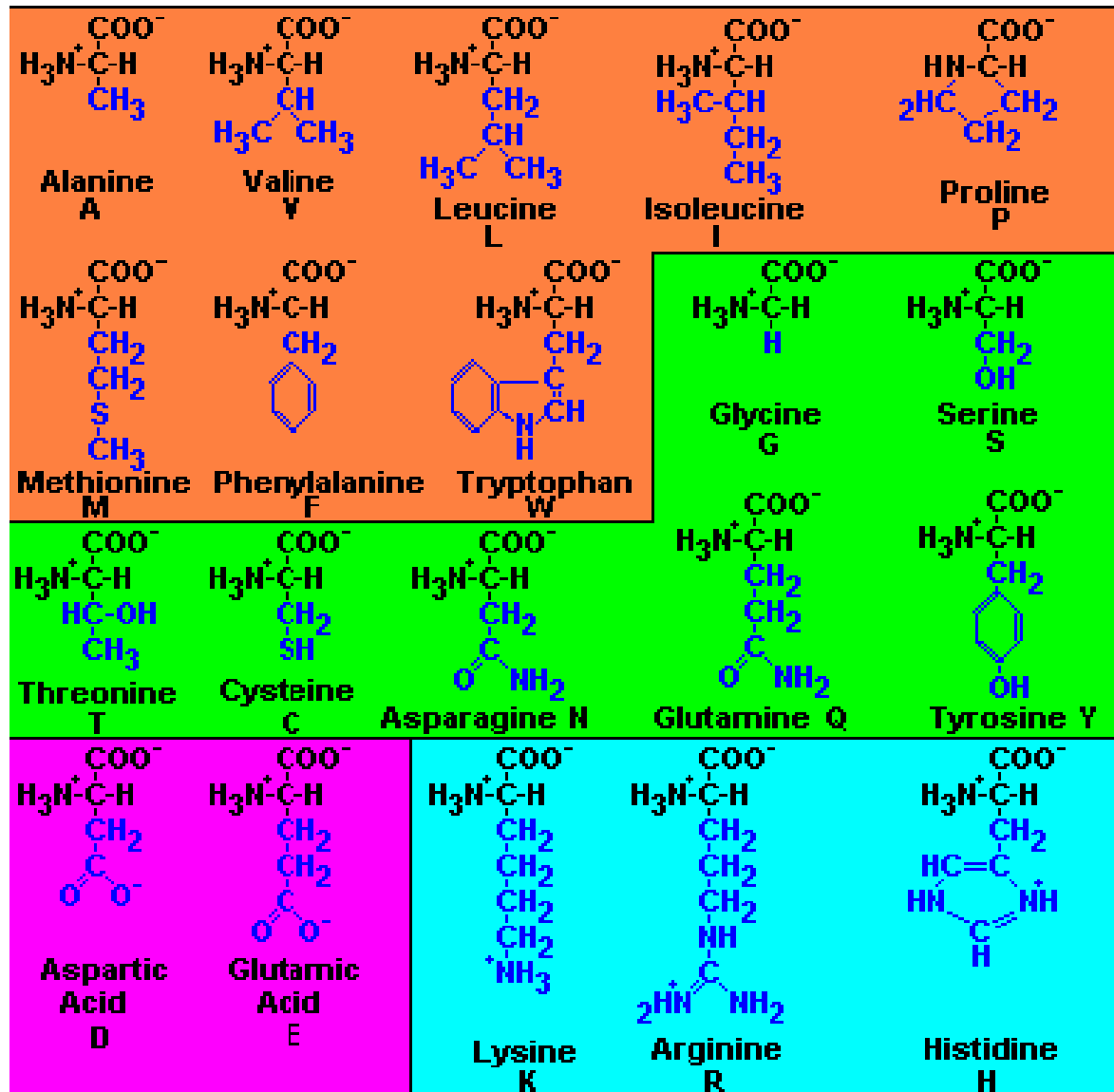
Transport molecule for:

NH₂ groups



L-Amino acid

20 proteinskih aminokiseline



Nepolarne

Polarne
nenaelektrisane

Polarne
naelektrisane:

kisele
bazne

Skraćenice za standardne aminokiseline

Tabela 2.2: Skraćenice za 20 standardnih aminokiselina. Simboli Glx i Asx označavaju Gln ili Glu odn. Asn ili Asp. Ovi simboli potiču iz laboratorijske prakse, jer pri određivanju aminokiselinskog sastava i sekvence često nije moguće sa sigurnošću utvrditi da li se radi o amidima (Asn, Gln) ili o odgovarajućim kiselinama (Asp, Glu).

Aminokiselina ili ostatak	Troslovni simbol	Jednoslovni simbol	Mnemonik za jednoslovni simbol
Alanin	Ala	A	A lanin
Glutamat	Glu	E	<i>od engl. "gluE" tamic acid</i>
Glutamin	Gln	Q	<i>od engl. "Q-tamine"</i>
Aspartat	Asp	D	<i>od engl. "asparD"ic acid</i>
Asparagin	Asn	N	asparagi N
Leucin	Leu	L	L eucin
Glicin	Gly	G	G licin
Lizin	Lys	K	K je u azbuci ispred L
Serin	Ser	S	S erin
Valin	Val	V	V alin
Arginin	Arg	R	a R ginin
Treonin	Thr	T	T reonin
Prolin	Pro	P	P rolin
Izoleucin	Ile	I	I zoleucin
Metionin	Met	M	M etioni
Fenilalanin	Phe	F	F enilalanin
Tirozin	Tyr	Y	<i>engl. tY</i> rosine
Cistein	Cys	C	C istein
Triptofan	Trp	W	<i>engl. "tW"o rings</i>
Histidin	His	H	H istidin

Proteinske aminokiseline se klasifikuju po:

- polarnosti (uobičajen način u biohemiji)
- funkcionalnim grupama u bočnim ostacima
- biosintezi (esencijalne, ne-esencijalne)

OSOBYNE BOČNĚH OSTATAKA

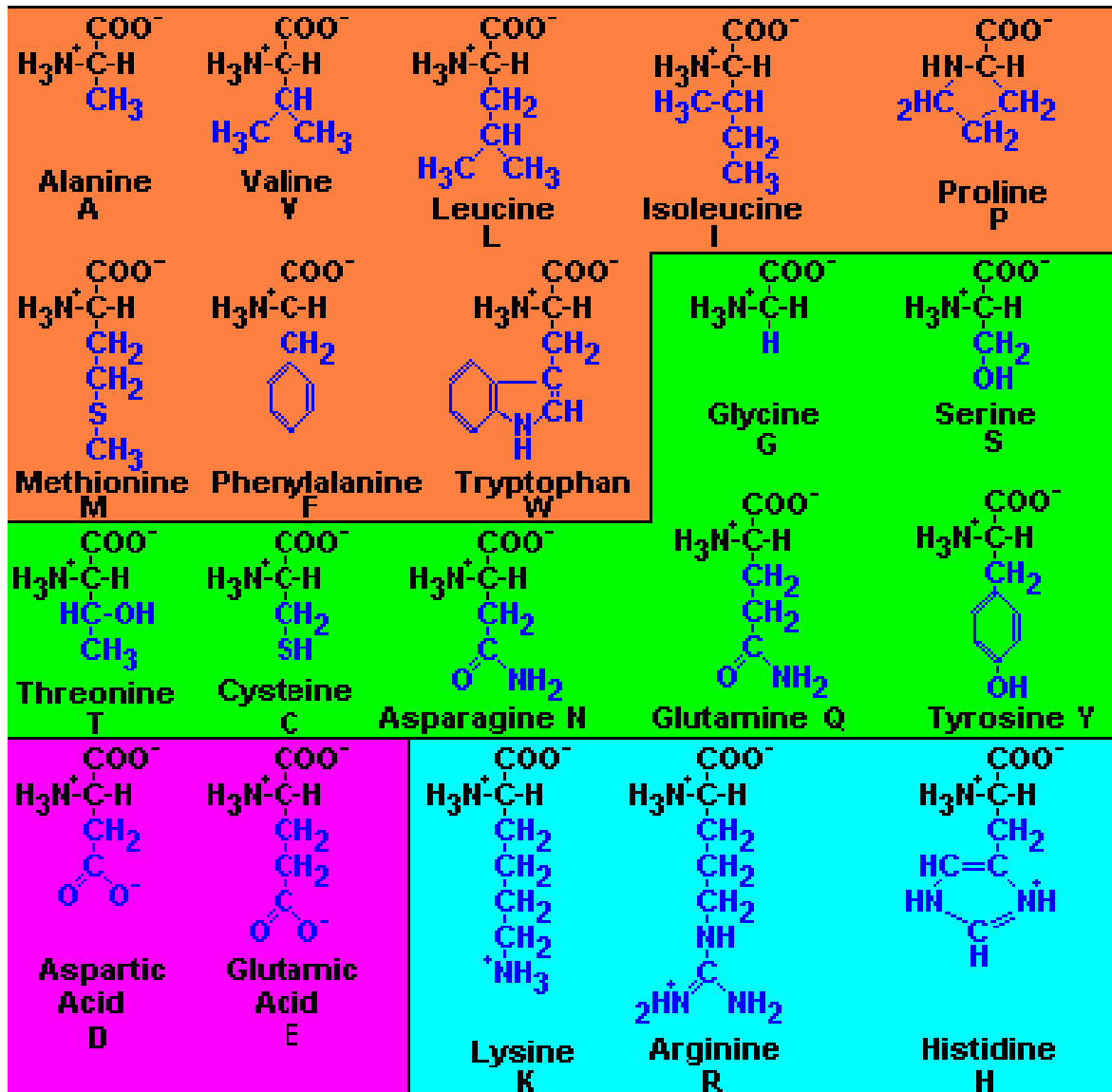
- * POLARNOST

- * VELIČINA

- * DISOCIJACIJA

- * REAKTIVNOST

20 standardnih proteinskih aminokiseline



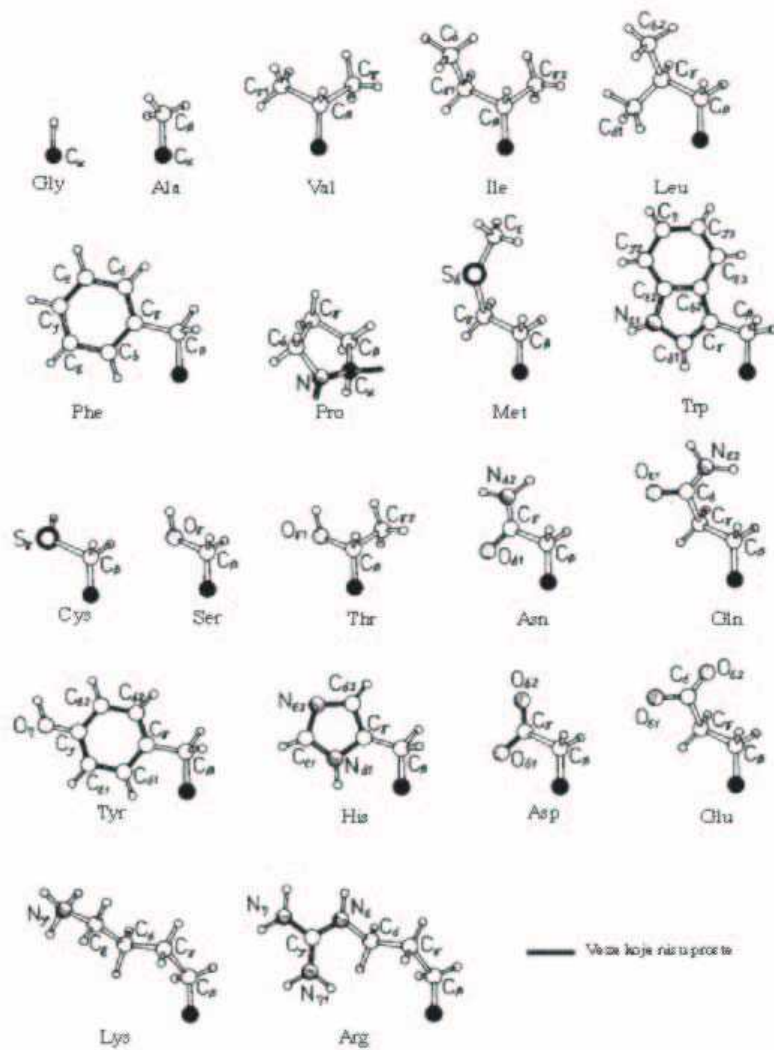
Nepolarne

Polarne
nenaelektrisane

Polarne
naelektrisane:

kisele
bazne

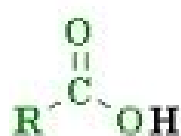
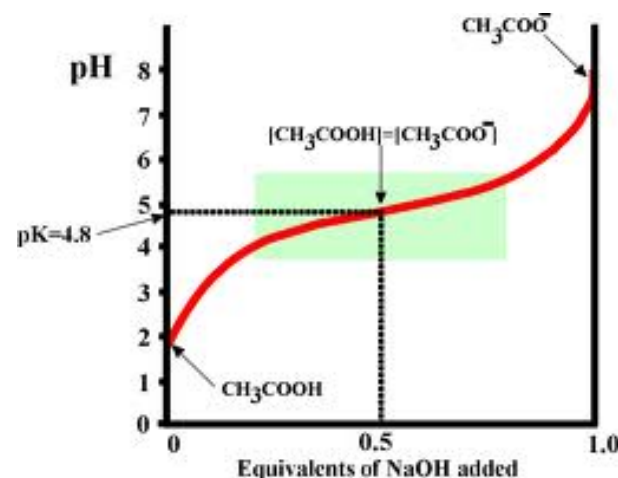
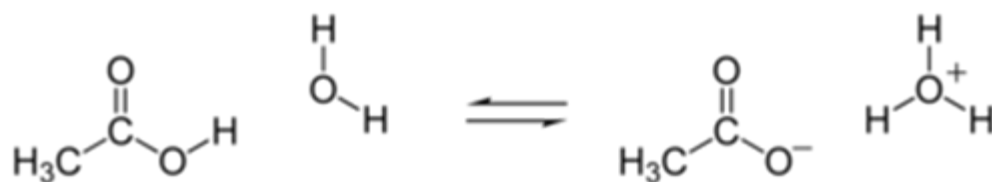
VELIČINA



Slika 2.2: Strukture bočnih (R) ostataka standardnih aminokiselina; bočni ostaci su grupisani po sličnosti.

Aminokiseline su slabe poliprotične kiseline

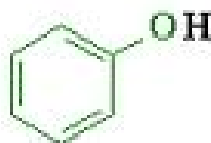
$pK_a = 4,8!$



carboxylic acids

$pK_a \approx 5$

>



phenols

$pK_a \approx 10$

>



alcohols

$pK_a \approx 16$

>



amines

$pK_a \approx 35$

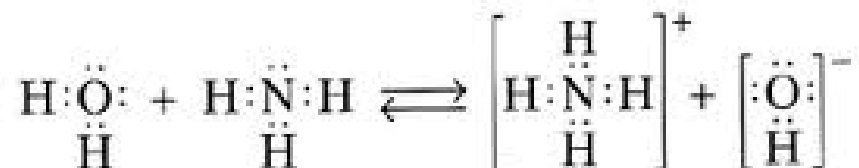
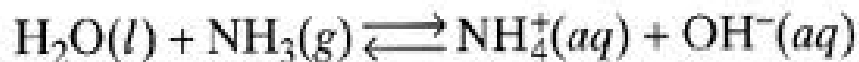
>



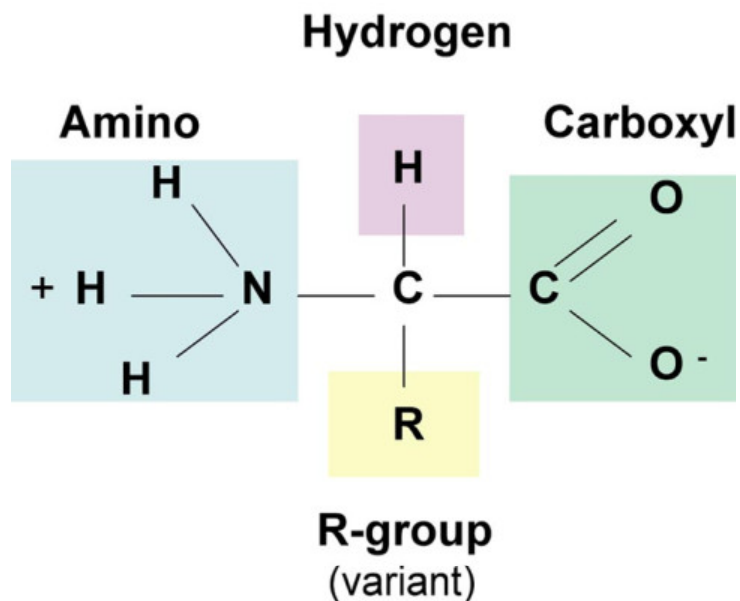
alkanes

$pK_a \approx 60+$

Aminokiseline su slabe poliprotične kiseline



pKa = 9,2!



Aminokiseline su slabe poliprotične kiseline

Tabela 2.5: Disocijacija jonizujućih grupa u aminokiselinama.

Grupa	Kiselina $\rightleftharpoons$ Baza + H^+
Terminalna karboksilna	$-COOH \rightleftharpoons COO^- + H^+$
Asparaginska i Glutaminska kiselina	$-COOH \rightleftharpoons COO^- + H^+$
Histidin	$ \begin{array}{c} -CH_2- \\ \\ \text{HN}^+ \quad \text{NH} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{N} \quad \text{NH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} -CH_2- \\ \\ \text{N} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{C} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{N} \quad \text{NH} \end{array} + H^+ $
Terminalna amino	$-NH_3^+ \rightleftharpoons -NH_2 + H^+$
Cistein	$-SH \rightleftharpoons -S^- + H^+$
Tirozin	$ \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{OH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{C}_6\text{H}_4 \\ \\ \text{O}^- \end{array} + H^+ $
Lizin	$-NH_3^+ \rightleftharpoons -NH_2 + H^+$
Arginin	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{N} - \text{C} = \text{NH}_2^+ \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{N} - \text{C} = \text{NH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array} + H^+ $

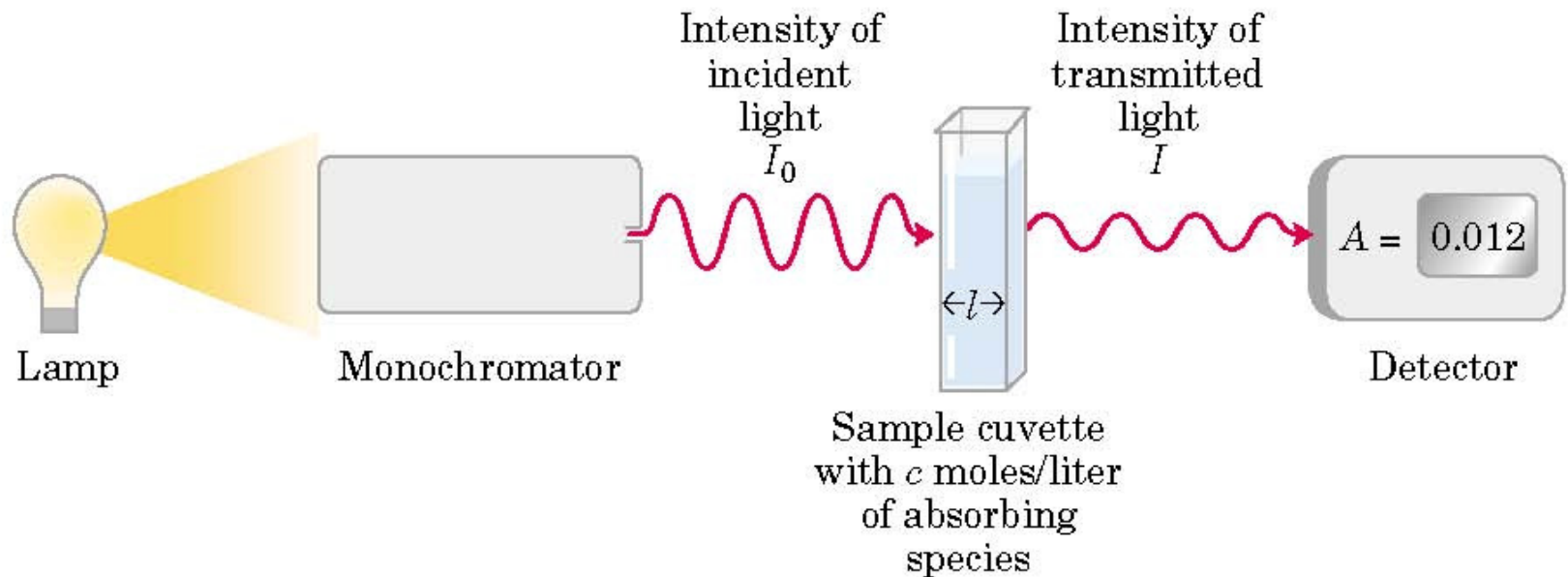
Reaktivnost bočnih ostataka

- Funkcionalne grupe određuju hemijska svojstva bočnih aminokiselinskih ostataka!
- Konsultovati organsku hemiju!
- Značaj:
 - post-translacione modifikacije proteina
 - mehanizmi enzimske katalize
 - eksperimentalni rad sa proteinima

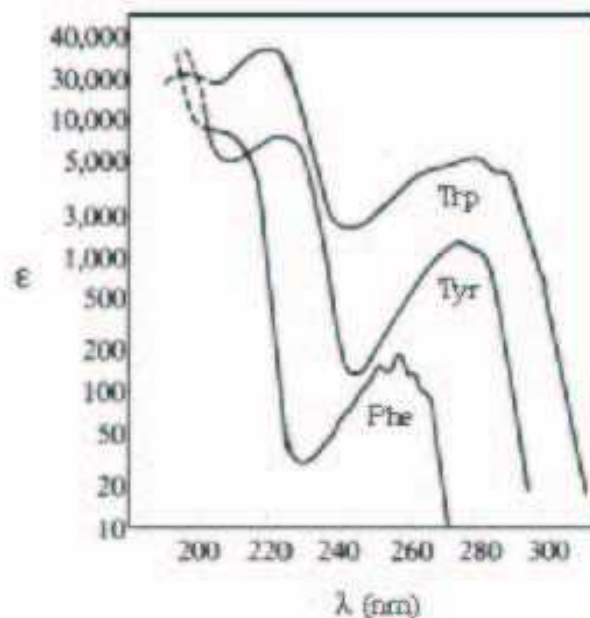
Identifikacija i određivanje aminokiselina

- ◊ UV spektri aromatičnih aminokiselina
- ◊ Reakcija sa ninhidrinom
- ◊ Planarna hromatografija
- ◊ Aminoanaliza

Princip rada spektrofotometra



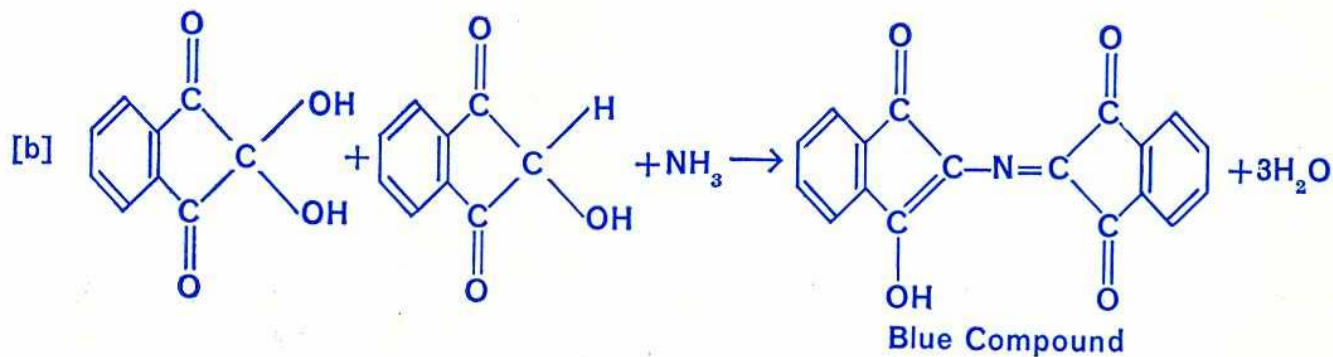
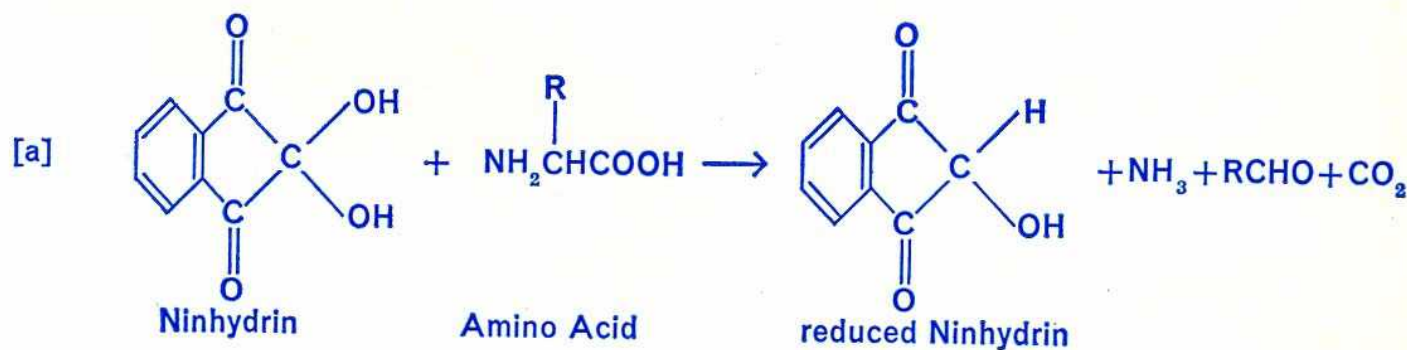
UV spektri Trp, Tyr i Phe



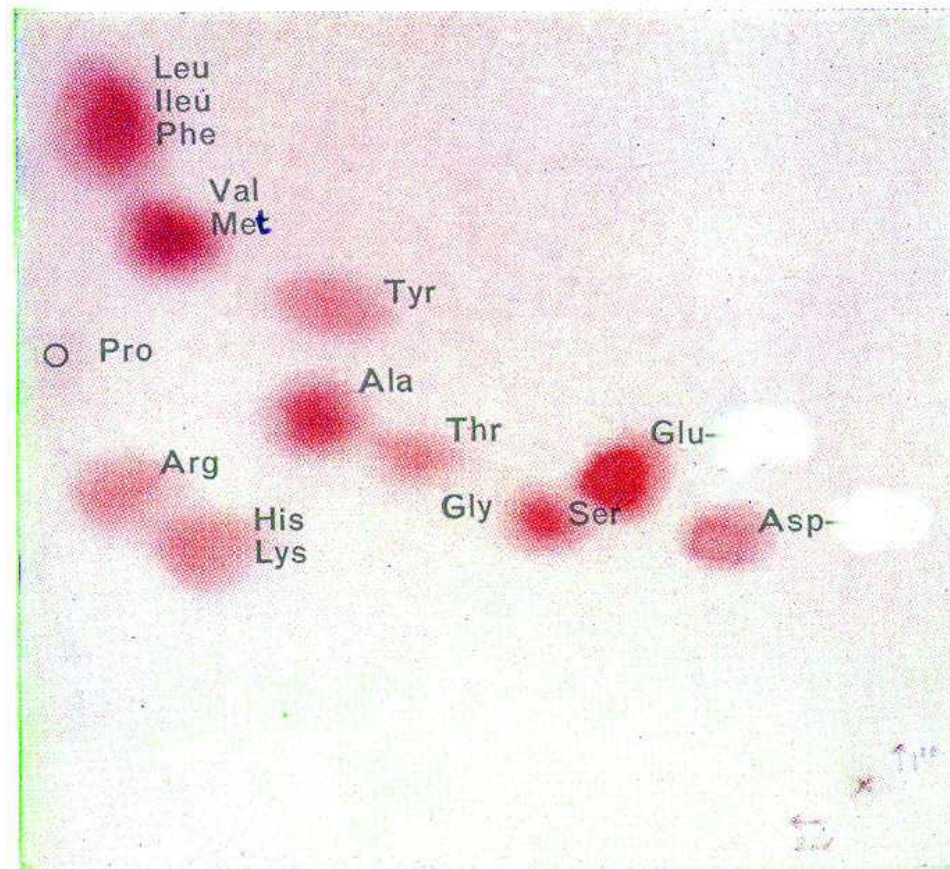
Slika 2.12: UV spektri Trp, Tyr i Phe u rastvoru neutralnog pH. Na ordinati, na kojoj je prikazana apsorptivnost (ϵ), data je logaritamska skala da bi spektri sve tri aminokiseline mogli zajedno da se prikažu. [Prema: D.B. Wetlaufer, *Adv. Protein Chem.*, 17, 303 (1962).]

Reakcija aminokiselina sa ninhidrinom

....jedna od najspecifičnijih reakcija koje postoje...

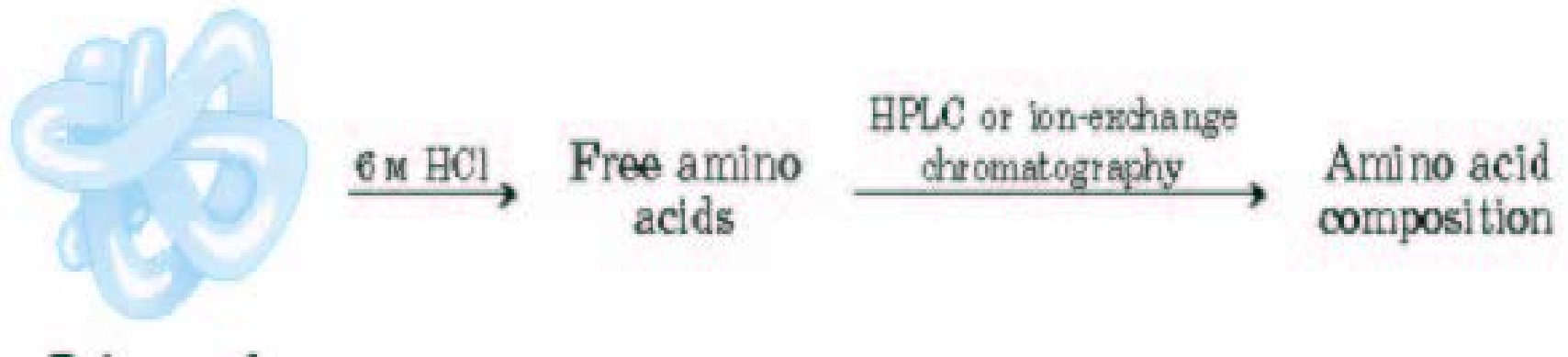


Planarna hromatografija aminokiselina

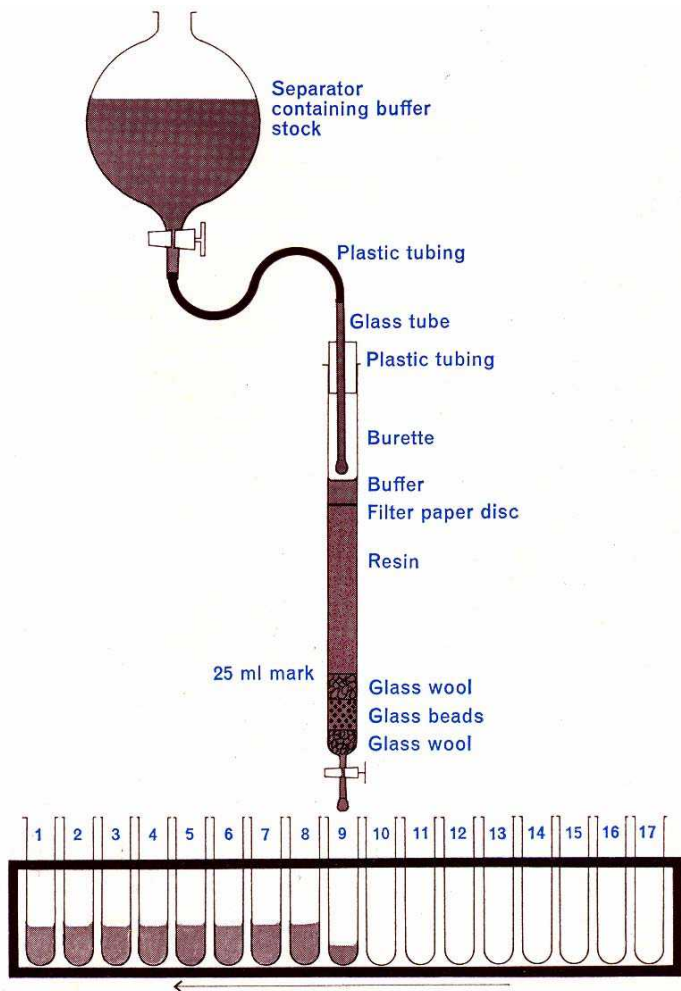


Aminoanaliza

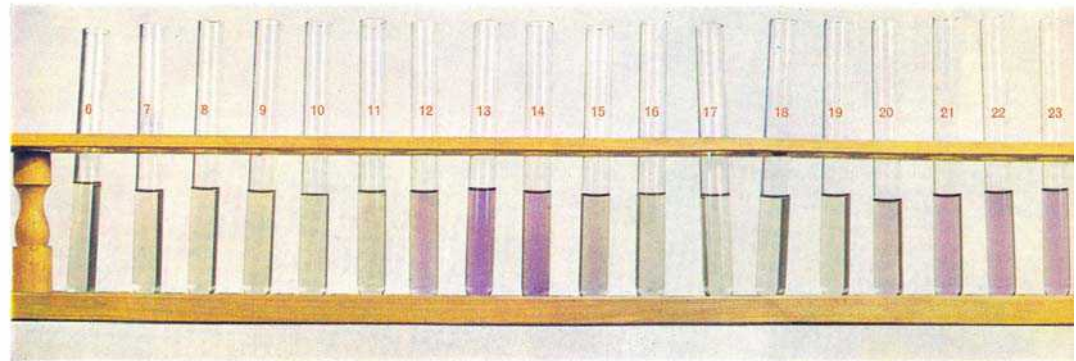
- ♦ Uzorak za analizu: slobodne aminokiseline ili hidrolizat proteina
- ♦ Hromatografsko razdvajanje aminokiselina
- ♦ Reakcija eluata sa ninhidrinom



Hromatografija aminokiselina na katjonskom jonoizmenjivaču

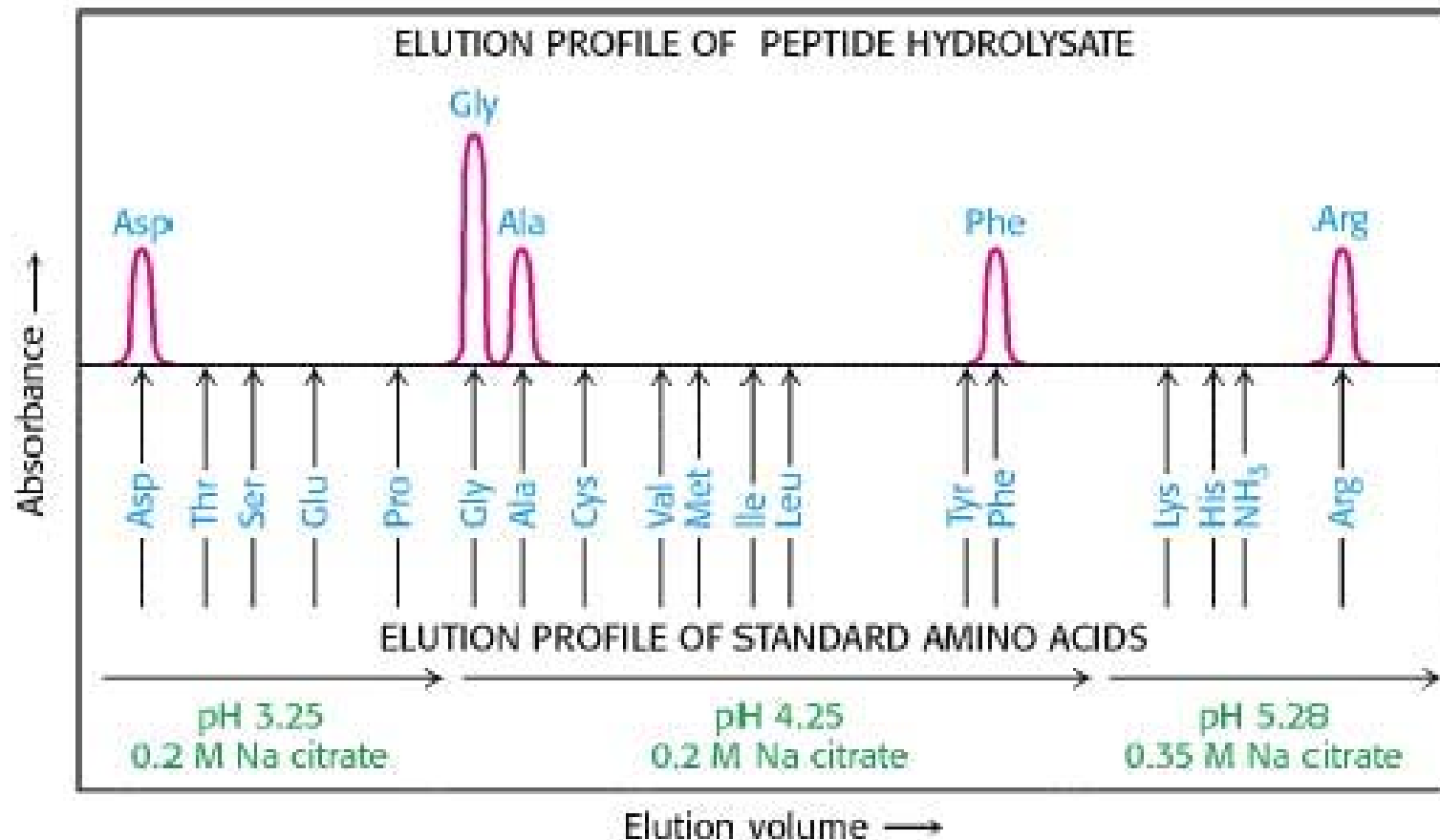


Postupak je u medjuvremenu automatizovan!!!



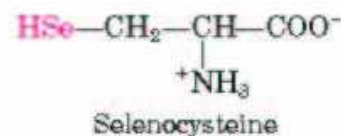
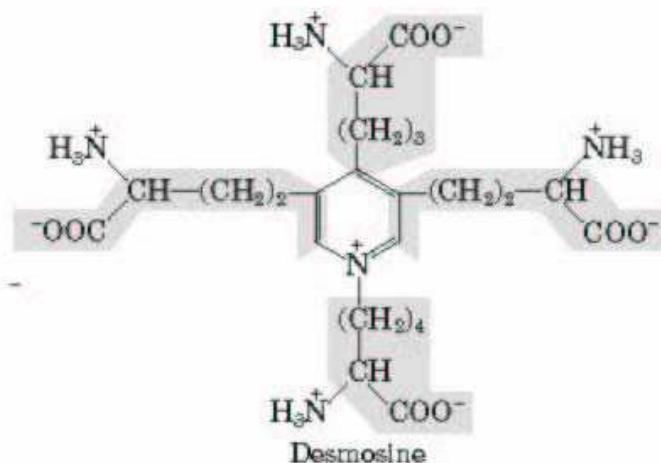
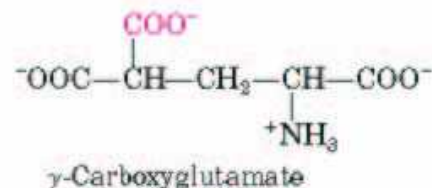
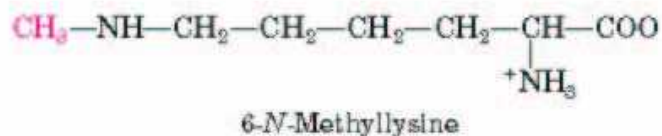
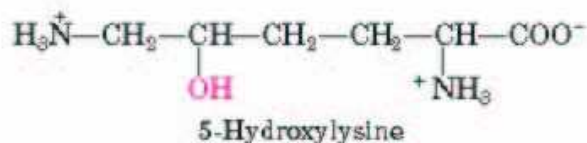
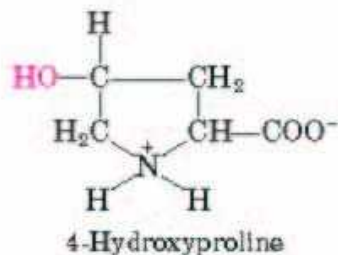
Aminoanaliza

(aminoanalizator, katjonski Dowex/50 jonoizmenjivač)

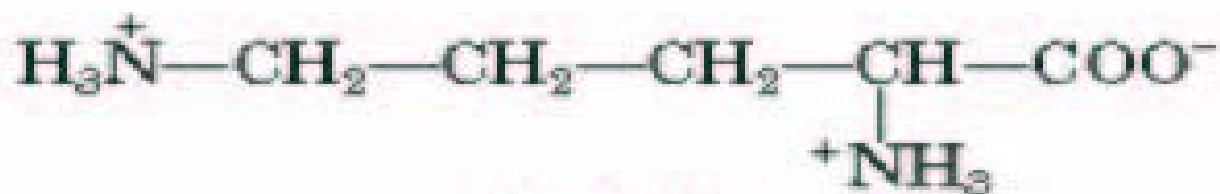


Ne-standardne proteinske aminokiseline:

nastaju enzimatskim, post-translacionim modifikacijama



Slobodne aminokiseline (nisu vezane u proteinima):
do sada ih je nađeno više od 700!

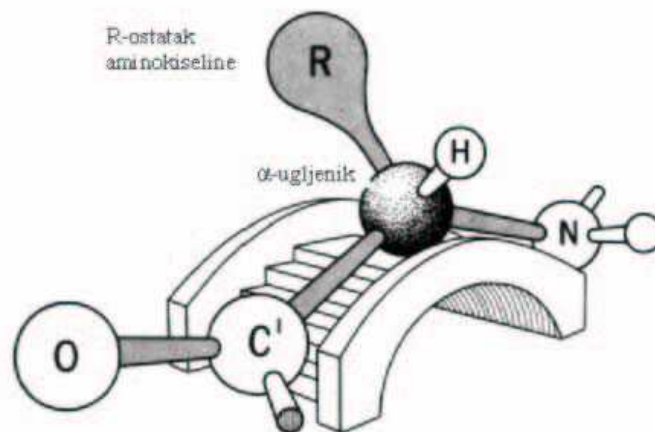
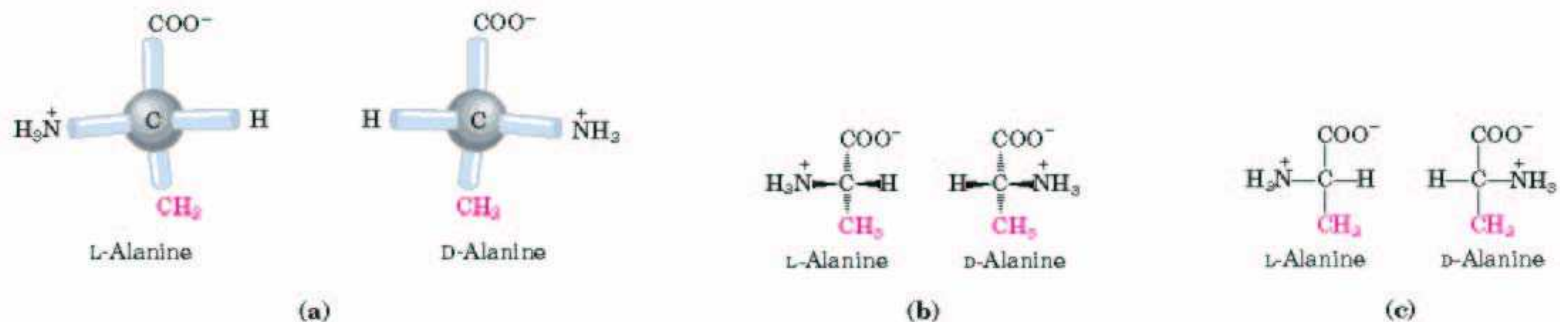


Ornithine



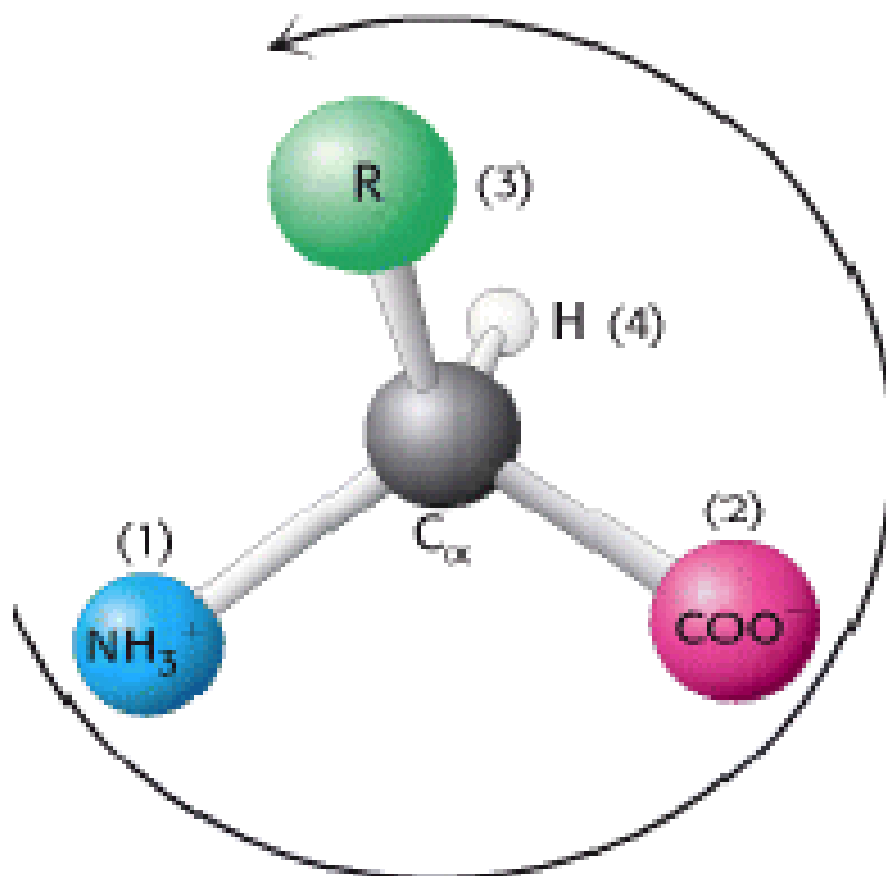
Citrulline

Konfiguracija α -aminokiselina



Slika 2.6: Mnemonik za prepoznavanje L-aminokiselina: Ako namestimo aminokiselinu tako da se čita "ON" (na engleskom $\approx$ napred) R ostatak će biti sa leve strane mosta.

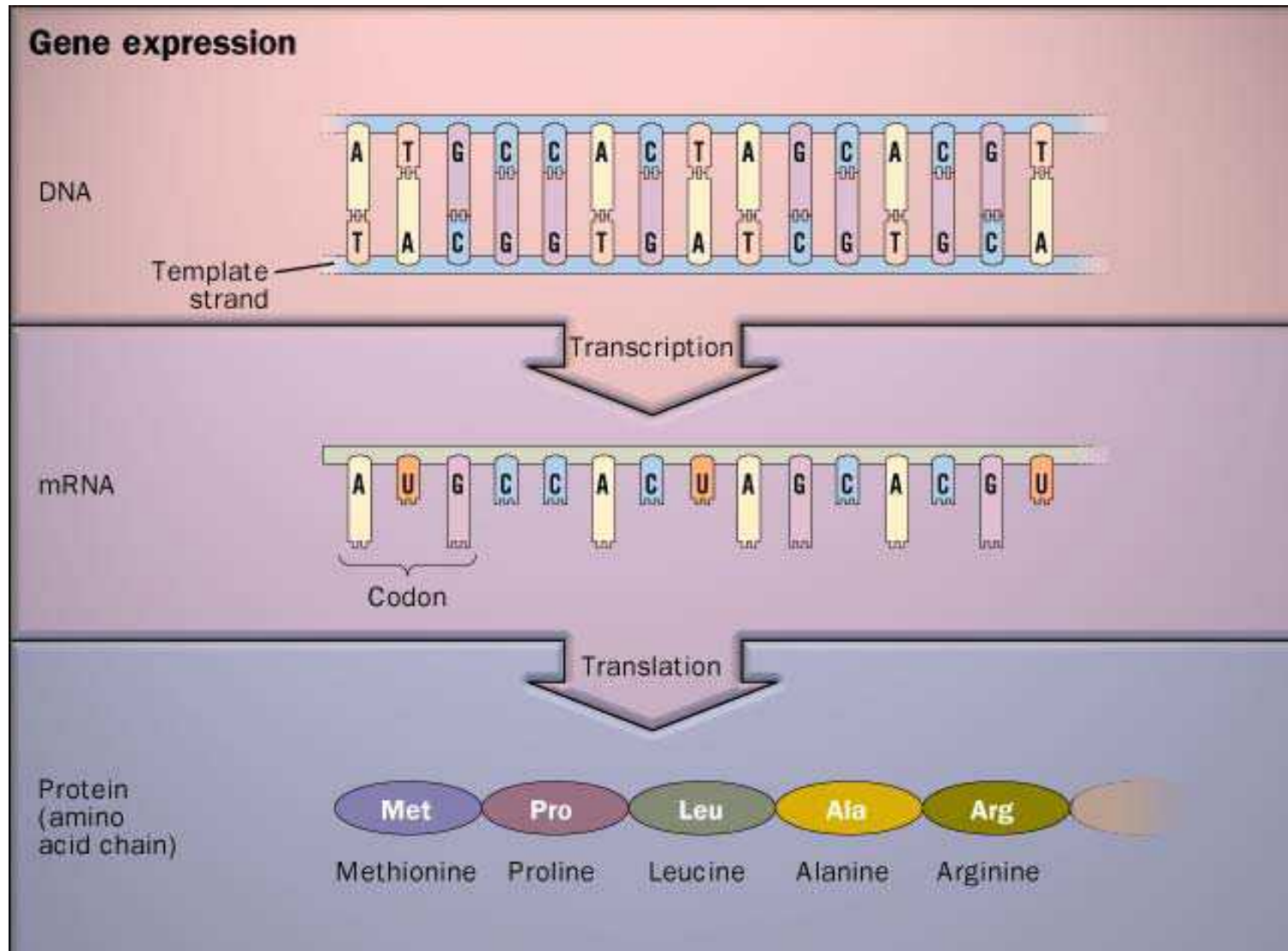
Hiralnost α -aminokiselina



Zašto svi proteini sadrže istih 20
aminokiselina?

Ekspresija gena; biosinteza proteina!!!

Ekspresija gena



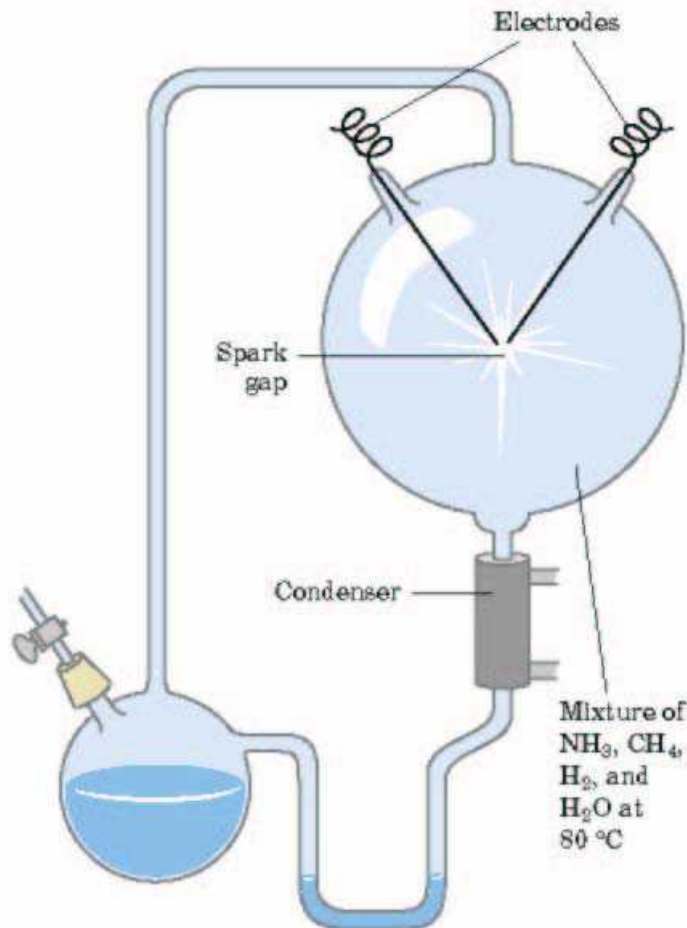
Genetski kod je univerzalan

Tabela 2.8: Genetski kod aminokiseline: kodoni predstavljaju sekvence nukleotida u i-RNK. Prvi nukleotid u tripletu naveden je sa leve strane, drugi gore, a treći sa desne strane tablice.

	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	End	End	A
	Leu	Ser	End	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Zašto baš ovih 20 aminokiselina?

Eksperimenti simulirane prebiotičke sinteze!



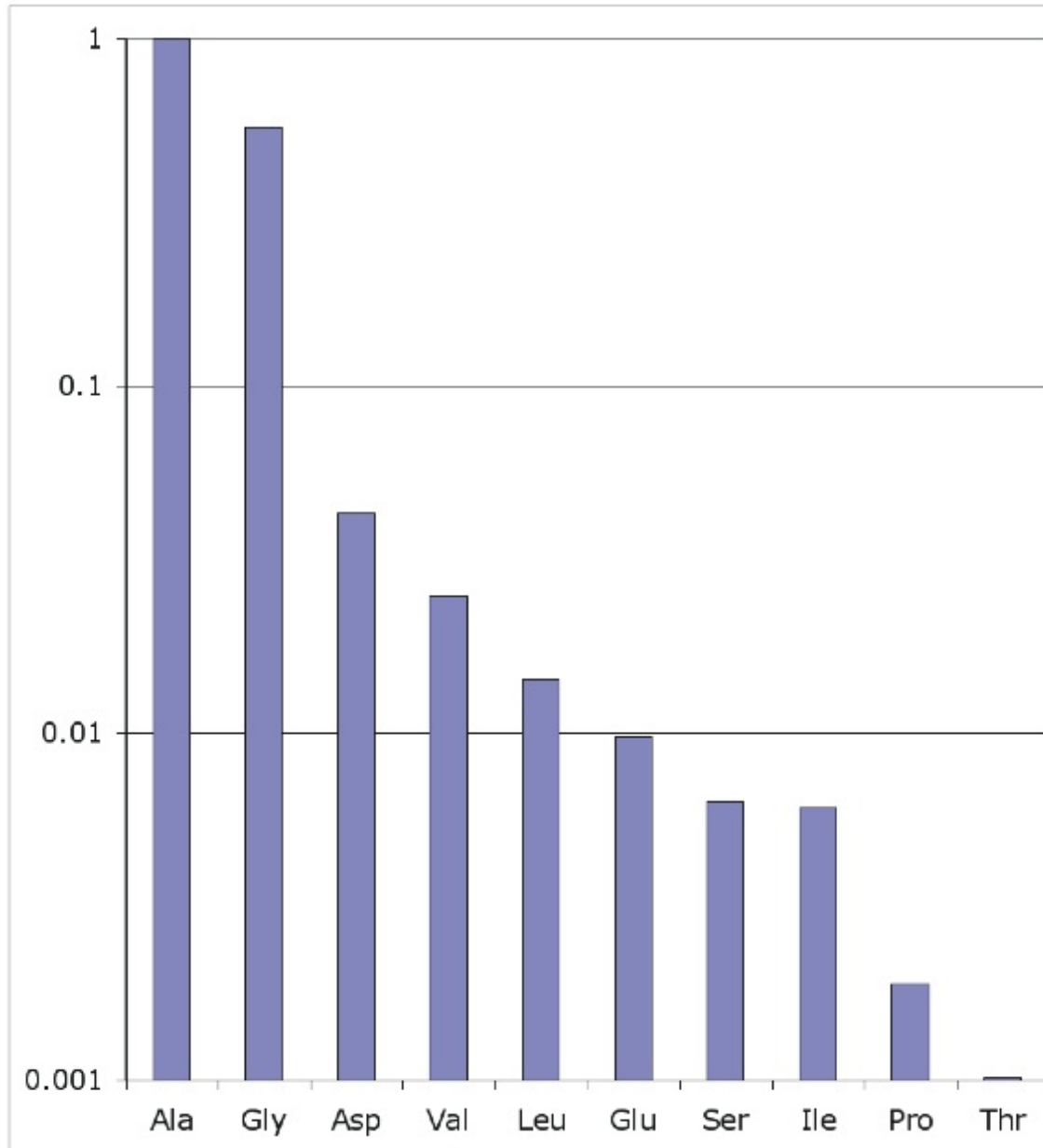
Amino acids

Glycine
Alanine
 α -Aminobutyric acid
Valine
Leucine
Isoleucine
Proline
Aspartic acid
Glutamic acid
Serine
Threonine

Nucleic acid bases

Adenine
Guanine
Xanthine
Hypoxanthine
Cytosine
Uracil

Miller - prebiotic synthesis experiment



Zašto L-aminokiseline?

- Ukoliko bočni ostaci ne bi bili iste konfiguracije polipeptidni niz ne bi mogao efikasno da se uvije u nativnu globulu!
- Da li bi mogle da postoje ćelije u kojima su neki proteini sastavljeni od L, a neki od D aminokiselina?
- Zašto L-, a ne D- aminokiseline?