

Aula de bioquímica

Tema

Aminoácidos

Prof. Adriane M. F. Milagres

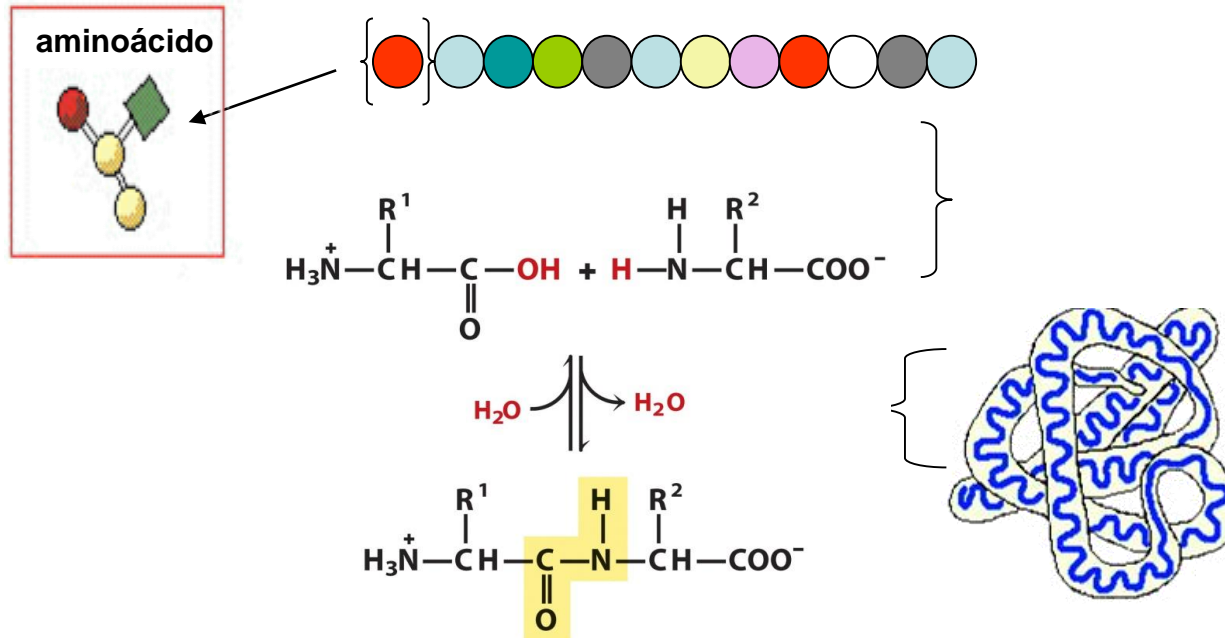
Departamento de Biotecnologia - Escola de Engenharia de Lorena

Universidade de São Paulo – USP

adriane@debiq.eel.usp.br

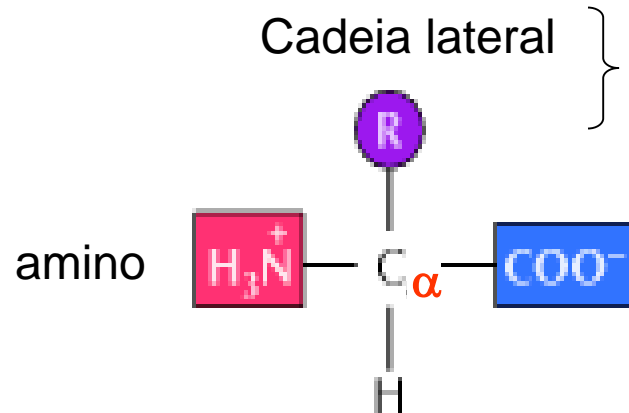
Aminoácidos

- subunidades monoméricas que compõe a estrutura de milhares de **proteínas** diferentes



- fornecem substâncias precursoras para os componentes endógenos:
 - síntese de **melanina** a partir da tirosina,
 - síntese de **serotonina** a partir do triptofano,
 - síntese de **carnitina** a partir de lisina e metionina

Aminoácidos



R – a cadeia lateral R diferencia os aminoácidos entre si

Aminoácidos comuns são determinados geneticamente: C código genético

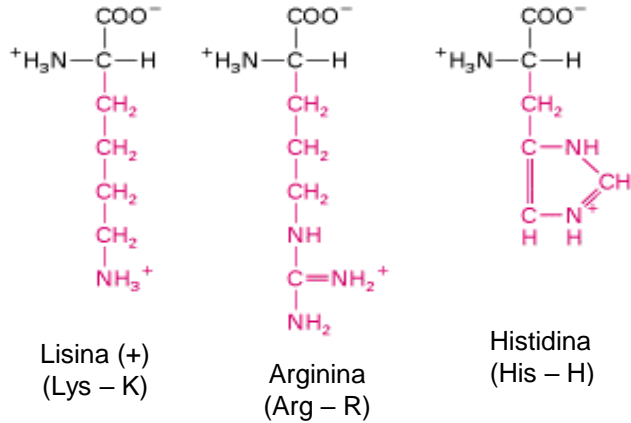
Val, Leu, Ile, Phe, Trp, Met, Tre, Lys

		U		C		A		G	
	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	
	UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	
	UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	
	UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	
	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	
	CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	
	CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	
A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	
	AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	
	AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly	
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly	
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly	
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly	

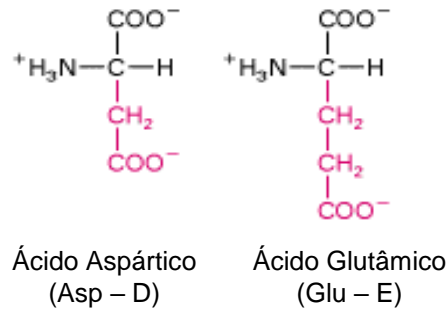
**Por que as cadeias laterais
dos aminoácidos são tão
importantes?**

Classificação de acordo com as cadeias laterais

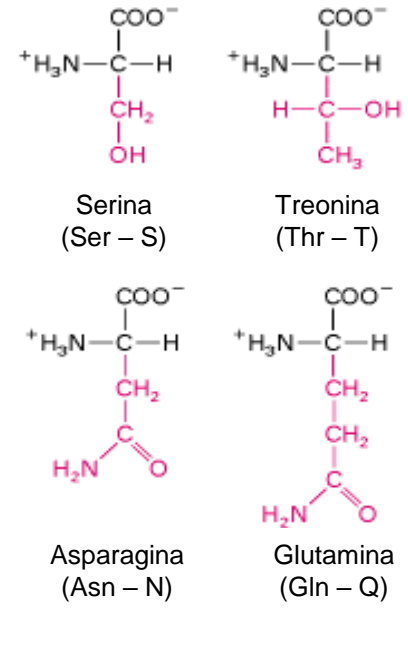
Aminoácidos básicos



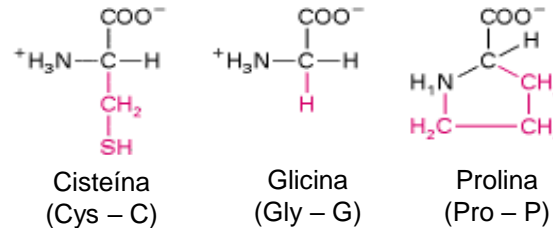
Aminoácidos ácidos



Aminoácidos polares neutros

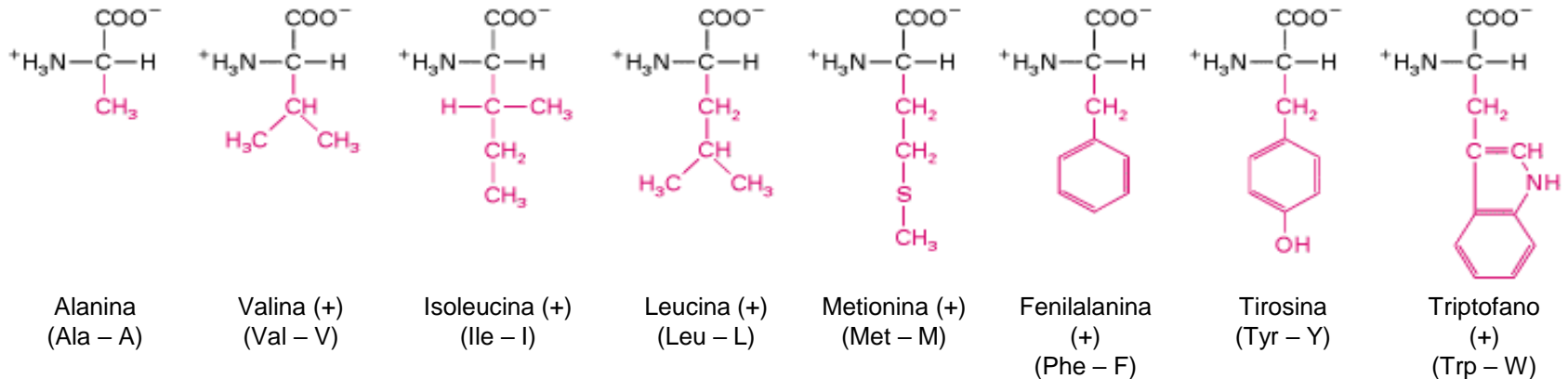


Aminoácidos "especiais"



Os 20 aminoácidos proteicos

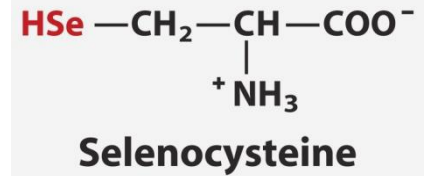
Aminoácidos hidrofóbicos - apolares



Aminoácidos incomuns

Além dos 20, existem mais 2 aminoácidos protéicos que são determinados geneticamente:

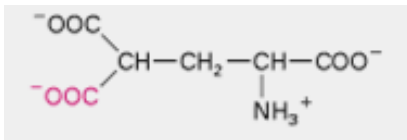
- pirrol-lisina (somente em *Archaea*)
- selenocisteína (presente em animais, algumas bactérias; mas ausente em plantas e *Archaea*)



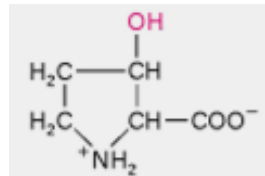
Esses aminoácidos são produzidos enzimaticamente, por modificação pós-tradução de um dos 20 aminoácidos clássicos. Exemplos:

Em muitas proteínas:

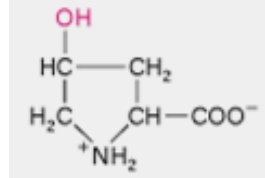
- aminoácidos glicosilados (Ser, Thr, Asn, Gln)
- aminoácidos fosforilados (Ser, Tyr)



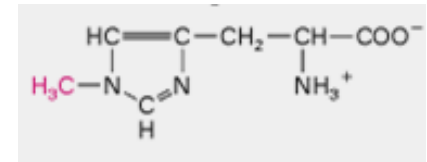
- Ac. γ -carboxi-glutâmico (protrombina e fatores da coagulação)



-3-hidroxi-prolina



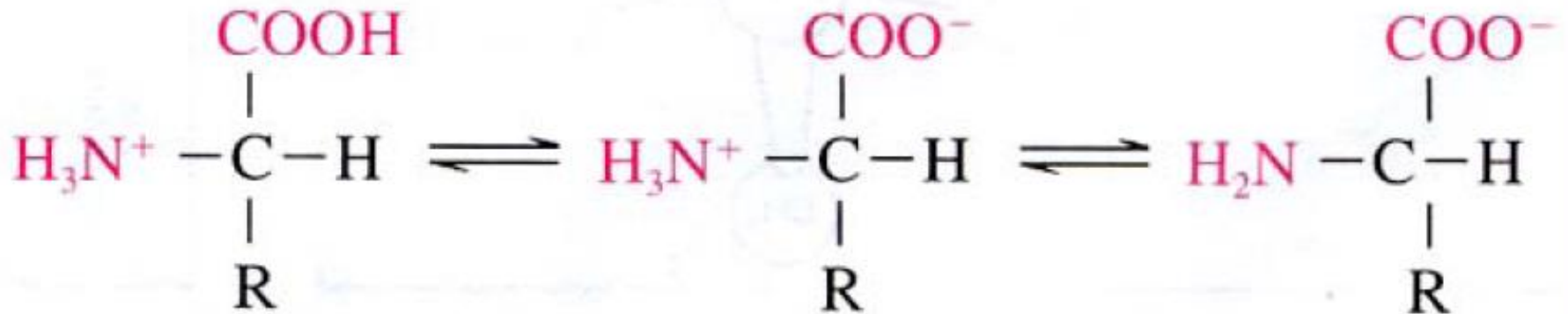
- 4 hidroxi-prolina (colágeno)



- 3-metil-histidina (actina)

Propriedades Ácido-Base

A carga elétrica de um aminoácido varia com o pH



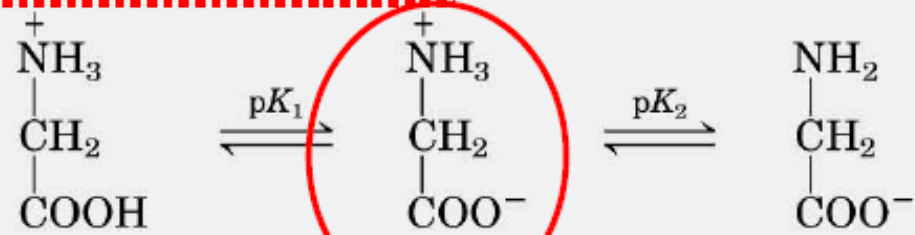
Meio ácido

Neutro

Alcalino

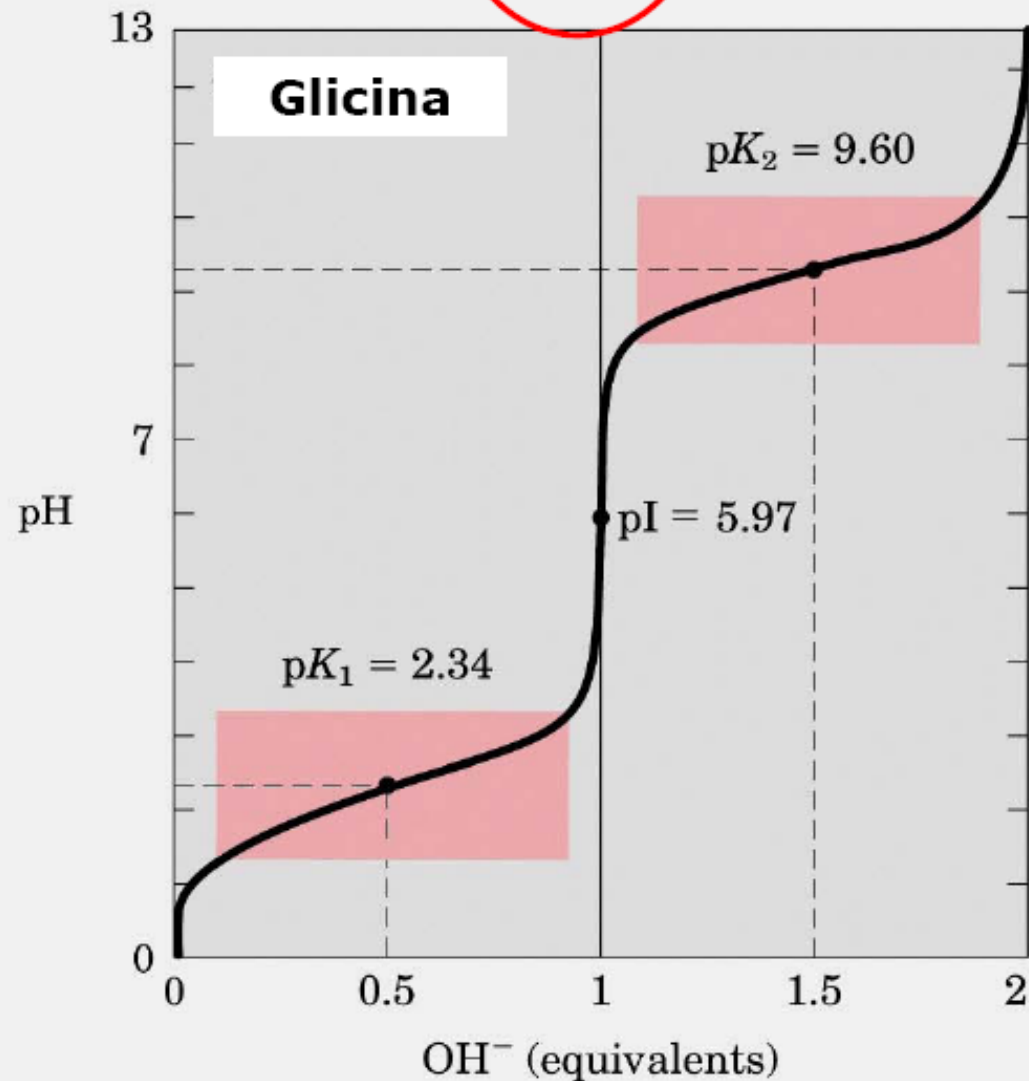
O que acontece quando titulamos um aminoácido?

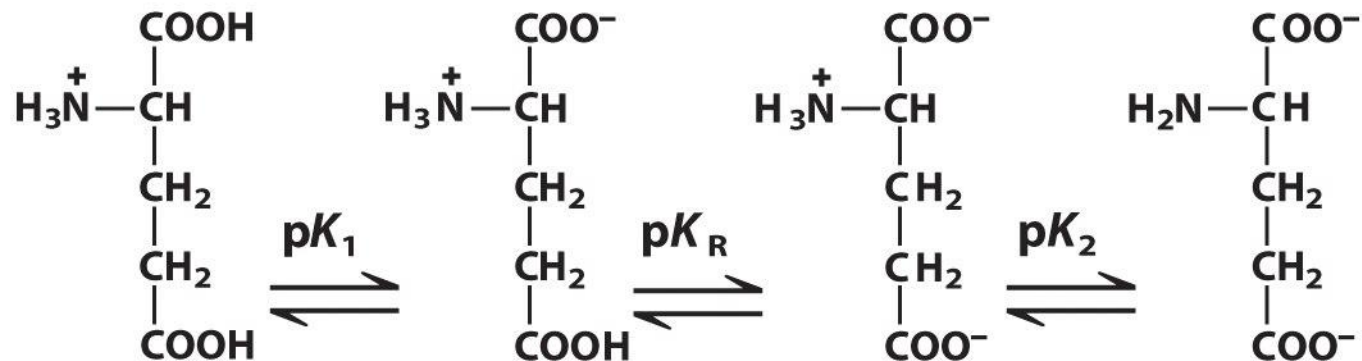
O íon dipolar pode atuar como um ácido (doador de prótons) ou base (aceptor de prótons)



No pI (ponto isoelétrico) o aminoácido está em sua forma eletricamente neutra (carga líquida = 0)

$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$$

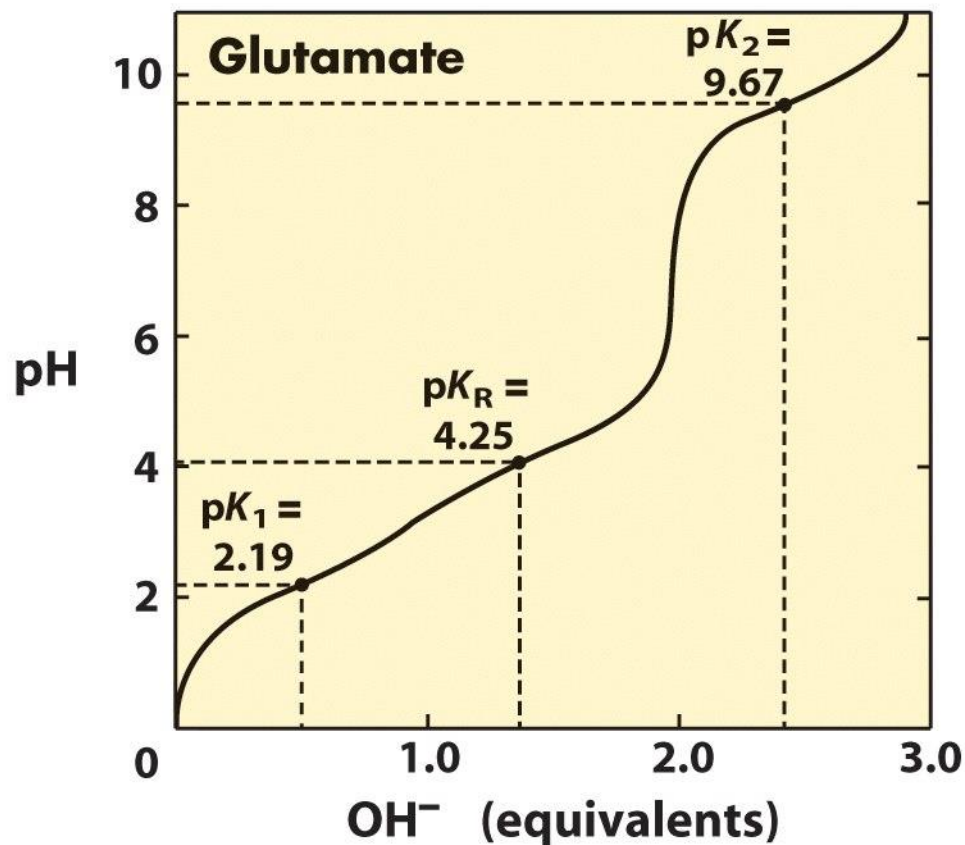


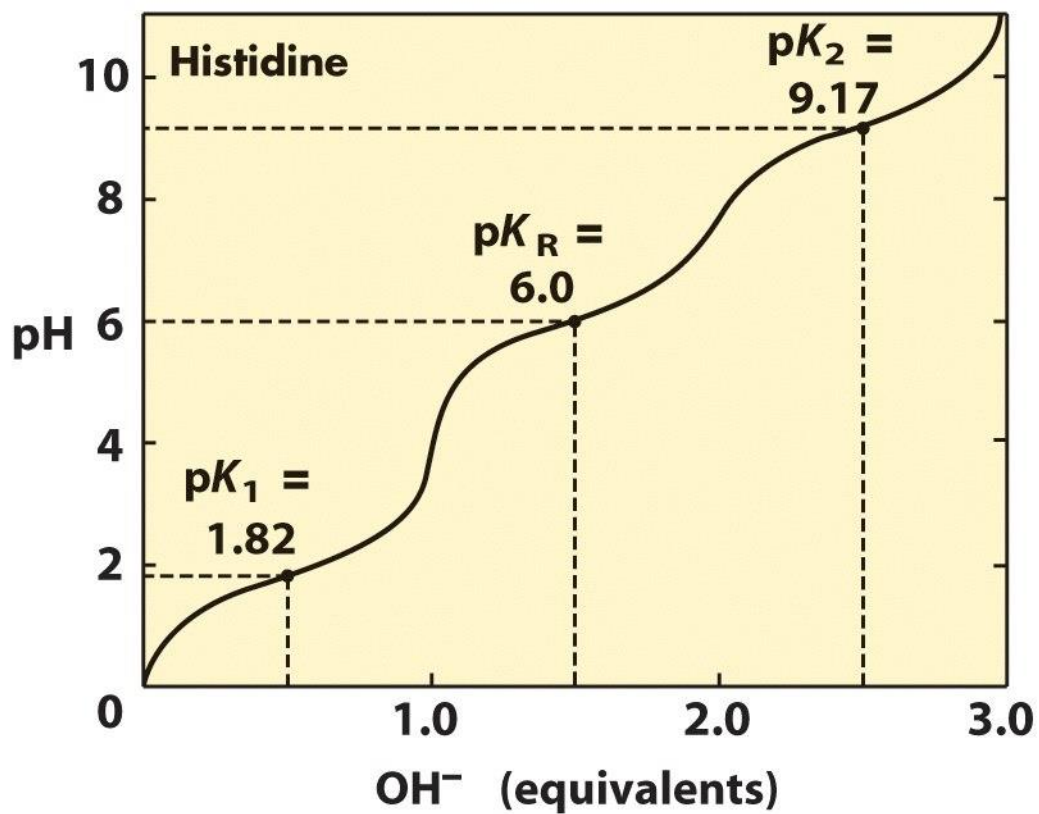
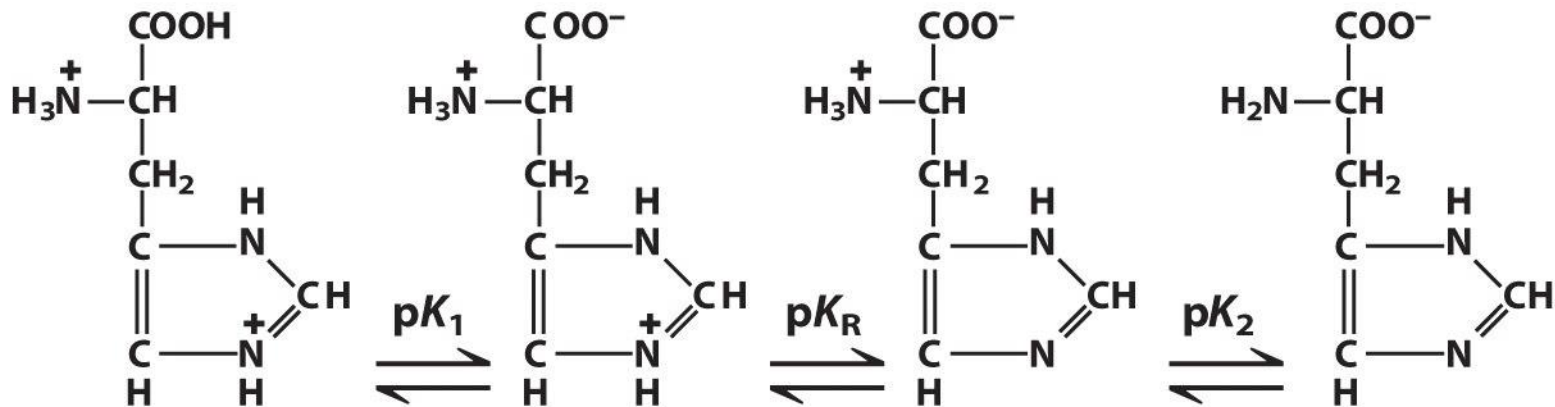


$$\text{pI} = \frac{\text{p}K_1 + \text{p}K_R}{2}$$

Para calcular o pI escolhem-se os pKa de grupos de mesma carga

PI do glutamato = 3,22





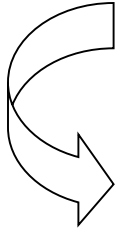
pKa dos aminoácidos

Aminoácido	pK ₁ (α-COO ⁻)	pK ₂ (α-NH ₃ ⁺)	pK _R (grupo R)	pK _R (radical de proteínas)
Glicina	2,35	9,78		
Alanina	2,35	9,87		
Valina	2,29	9,74		
Leucina	2,33	9,74		
Isoleucina	2,32	9,76		
Metionina	2,13	9,28		
Prolina	1,95	10,64		
Fenilalanina	2,20	9,31		
Triptofano	2,46	9,41		
Serina	2,19	9,21		
Treonina	2,09	9,10		
Asparagina	2,14	8,72		
Glutamina	2,17	9,13		
Tirosina	2,20	9,21	10,46	9,5-10,5
Cisteína	1,92	10,70	8,37	8,0-9,0
Lisina	2,16	9,06	10,54	9,5-10,5
Arginina	1,82	8,99	12,48	11,5-12,5
Histidina	1,80	9,33	6,04	6,0-7,4
Aspartato	1,99	9,90	3,90	4,0-5,5
Glutamato	2,10	9,47	4,07	4,0-5,5
Radical				
Carboxila terminal				3,5-4,0
Amino terminal				7,6-9,0

Os aminoácidos livres não constituem tampões fisiológicos importantes. Porém o pKa de suas cadeias laterais pode ser alterado no contexto da proteína

Aminoácidos, peptídeos e proteínas são bons **tampões**

Um **tampão** é definido como um composto ou conjunto de compostos que impedem variações da concentração de $[H^+]$, ou seja do pH, do meio.



Para ter essa propriedade, os compostos devem ter **grupos ionizáveis** capazes de doar e de receber prótons H^+

A faixa de pH em que um composto apresenta poder tamponante depende do pK de seus grupos ionizáveis.

Classificação e características

TABLE 3-1 Properties and Conventions Associated with the Common Amino Acids Found in Proteins

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r	pK_a values			pI	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%) [†]
			pK_1 (—COOH)	pK_2 (—NH ₃ ⁺)	pK_R (R group)			
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
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
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

*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 11. From Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* **157**, 105-132.

[†]Average occurrence in more than 1,150 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.), pp. 599-623, Plenum Press, New York.

TABLE 3-1 Properties and Conventions Associated with the Common Amino Acids Found in Proteins

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r	pK_a values			pI	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%) [†]
			pK_1 (—COOH)	pK_2 (—NH ₃ ⁺)	pK_R (R group)			
Polar, uncharged								
R groups								
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	-0.8	6.8
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 11. From Kyte, J. & Doolittle, R.F. (1982) A simple method for displaying the hydropathic character of a protein. *J. Mol. Biol.* **157**, 105-132.

[†]Average occurrence in more than 1,150 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.), pp. 599-623, Plenum Press, New York.

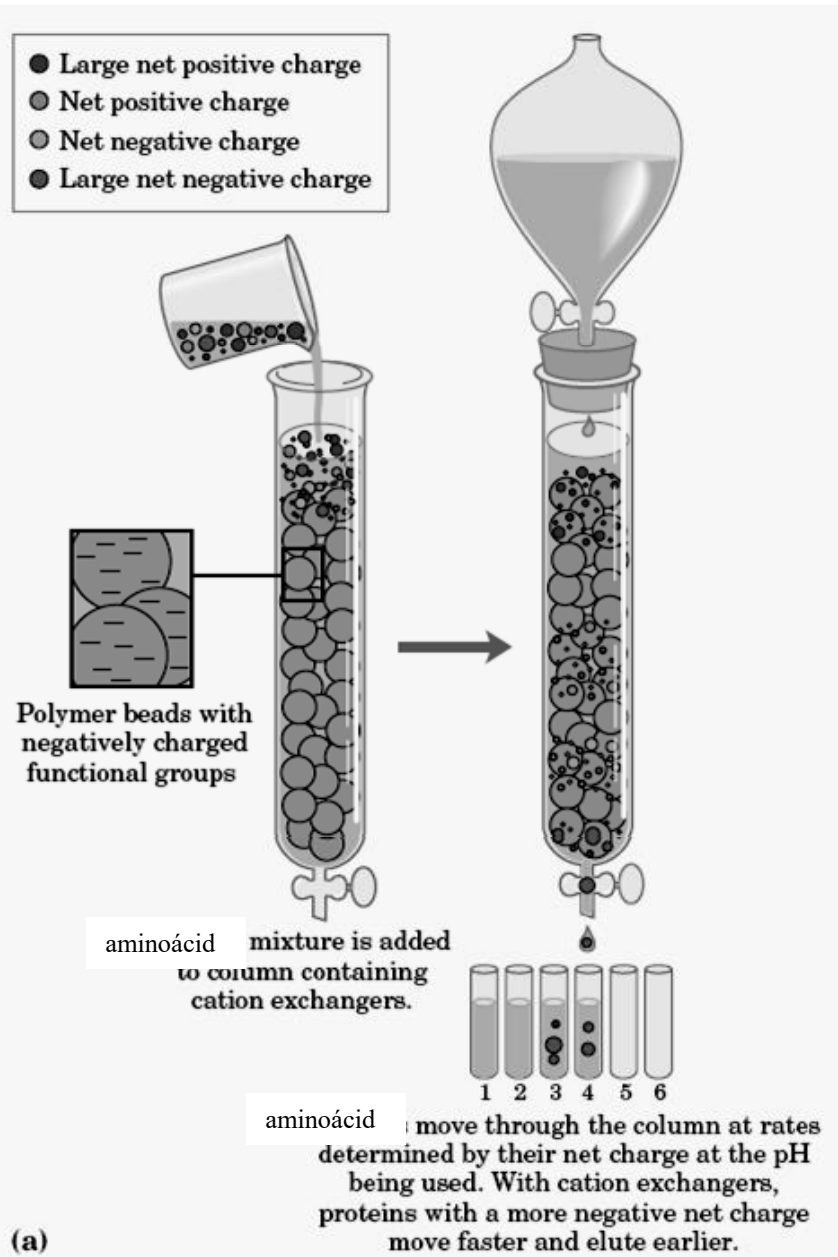
Exercício:

Usando os valores de pK tabelados e as fórmulas dos aminoácidos apresentados alguns slides atrás, calcule o ponto isoelétrico e desenhe as formas ionizadas em pH 1, 7 e 12 de um aminoácido:

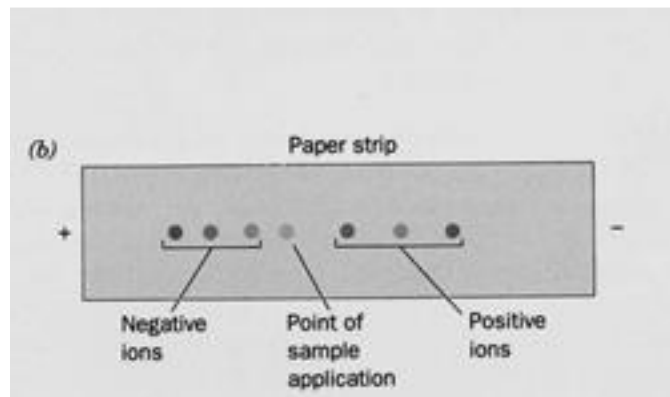
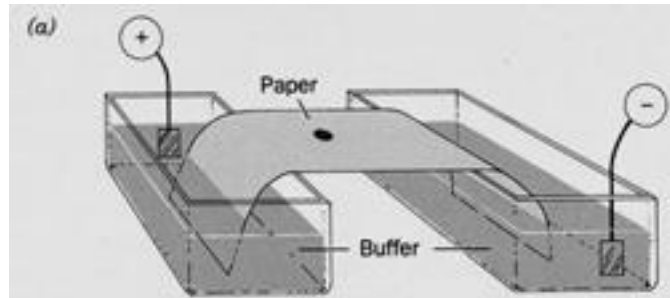
- a) Hidrofóbico
- b) Hidrofílico neutro
- c) Ácido
- d) Básico
- e) da prolina (grupo especial)

Métodos de separação dos aminoácidos

Cromatografia de Troca Iônica



Eletofórese em Papel



Exercícios:

1) Qual a ordem de eluição dos seguintes aminoácidos quando aplicados numa coluna cationica em pH 3,2: alanina (pI 6,02), arginina (pI= 10,76), ácido glutâmico (pI=3,22) serina (pI=5,68) e triptofano (pI=5,88)?

2) Quais são as mobilidades eletroforéticas relativas em pH 5,68 dos cinco aminoácidos dados no problema 1?

Cromatografia em Papel ou camada fina

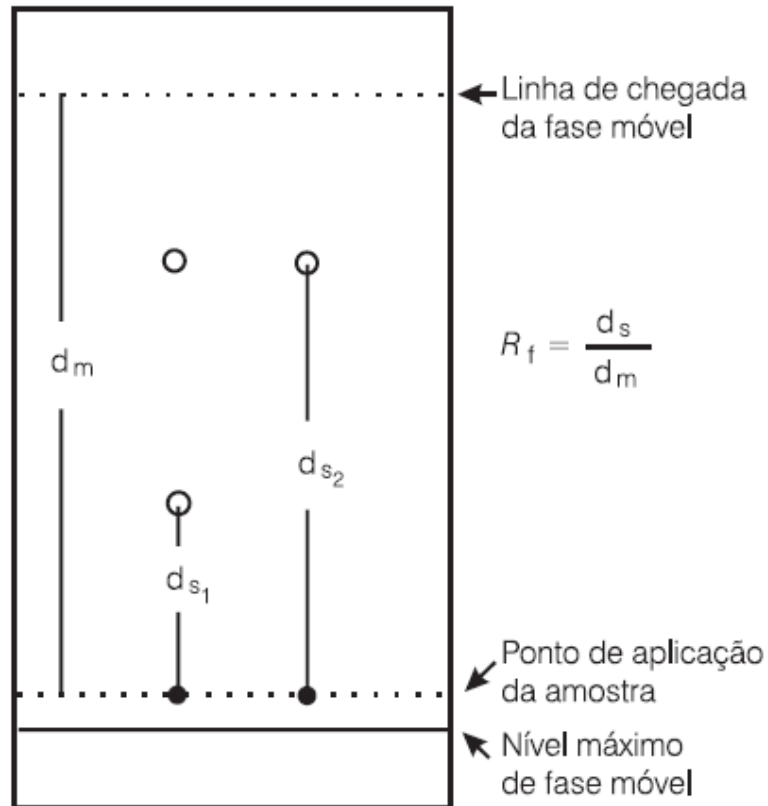
A amostra é aplicada em pontos determinados de uma tira de papel (ou sílica), que é suspensa em um recipiente hermeticamente fechado que contém o solvente cromatográfico.

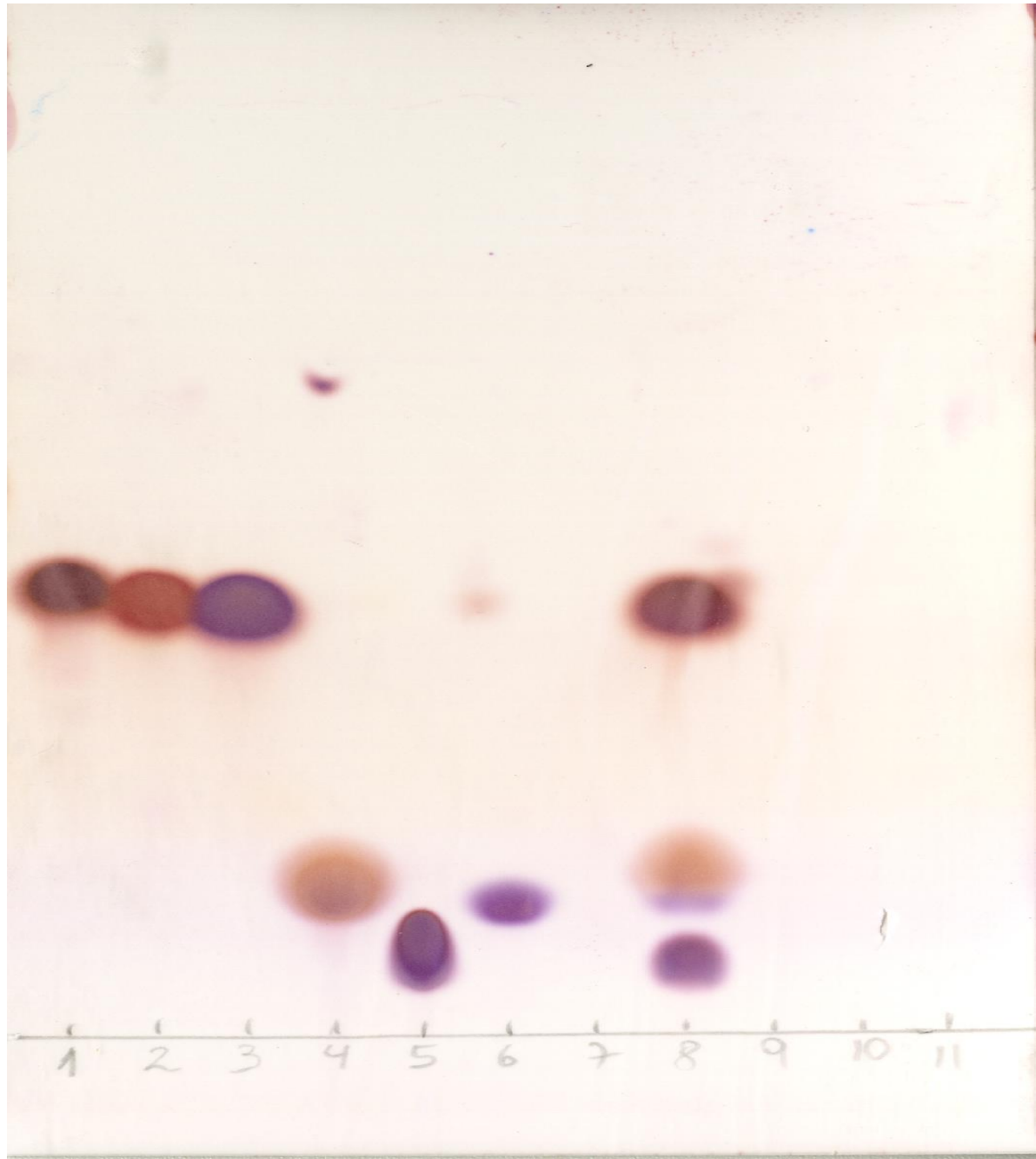
O solvente é geralmente uma mistura de água, álcoois e ácidos ou bases; seus componentes mais polares associam-se ao papel (celulose) e formam a fase estacionária, enquanto os componentes menos polares formam a fase móvel (na cromatografia de fase reversa, o papel é mergulhado inicialmente numa solução de silicone e as polaridades das fases móvel e estacionária são invertidas). O solvente pode migrar para cima ou para baixo no papel.

Este tipo de cromatografia separa os aminoácidos em função das suas solubilidades no solvente, o que depende da estrutura do grupo R.

Os aminoácidos com cadeias laterais não-polares volumosas migram mais rápido do que os aminoácidos com cadeias laterais não-polares mais curtas ou com cadeias laterais polares.

fator de retenção (R_f), o qual é a razão entre a distância percorrida pela substância em questão e a distância percorrida pela fase móvel.



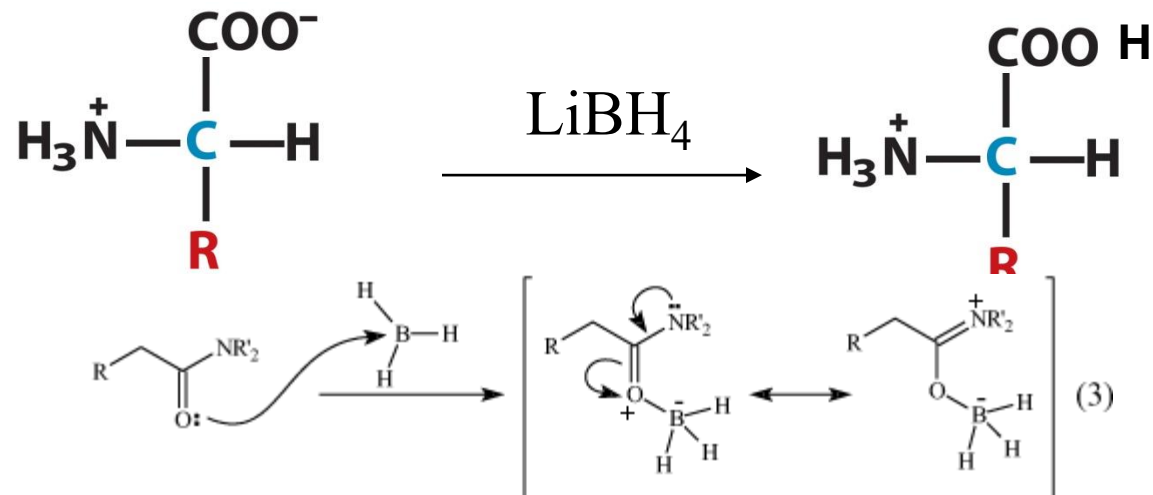


Reações químicas dos aminoácidos

1) Reações dos grupamentos carboxílicos

a) Esterificação com etanol

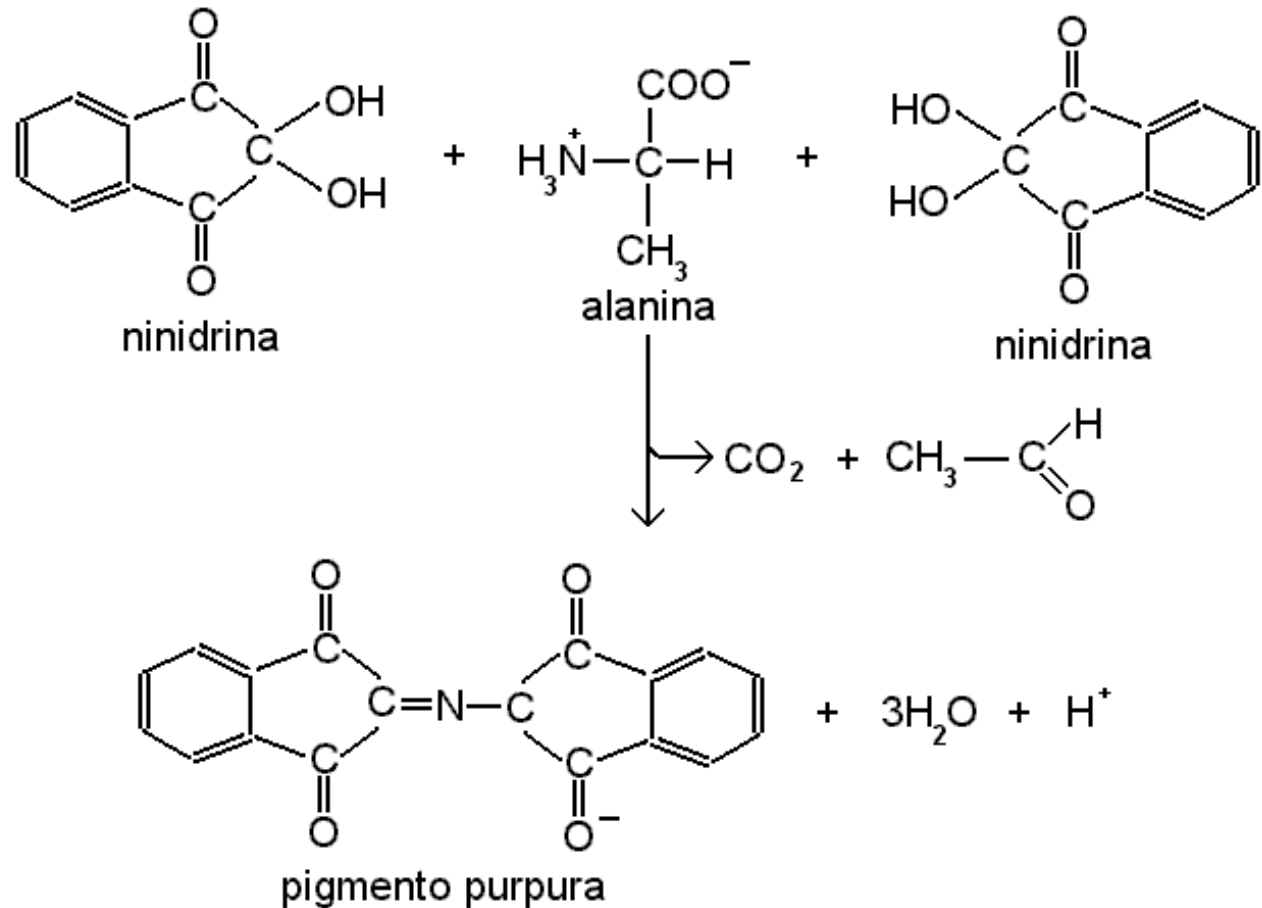
b) Redução (boroidreto de lítio)

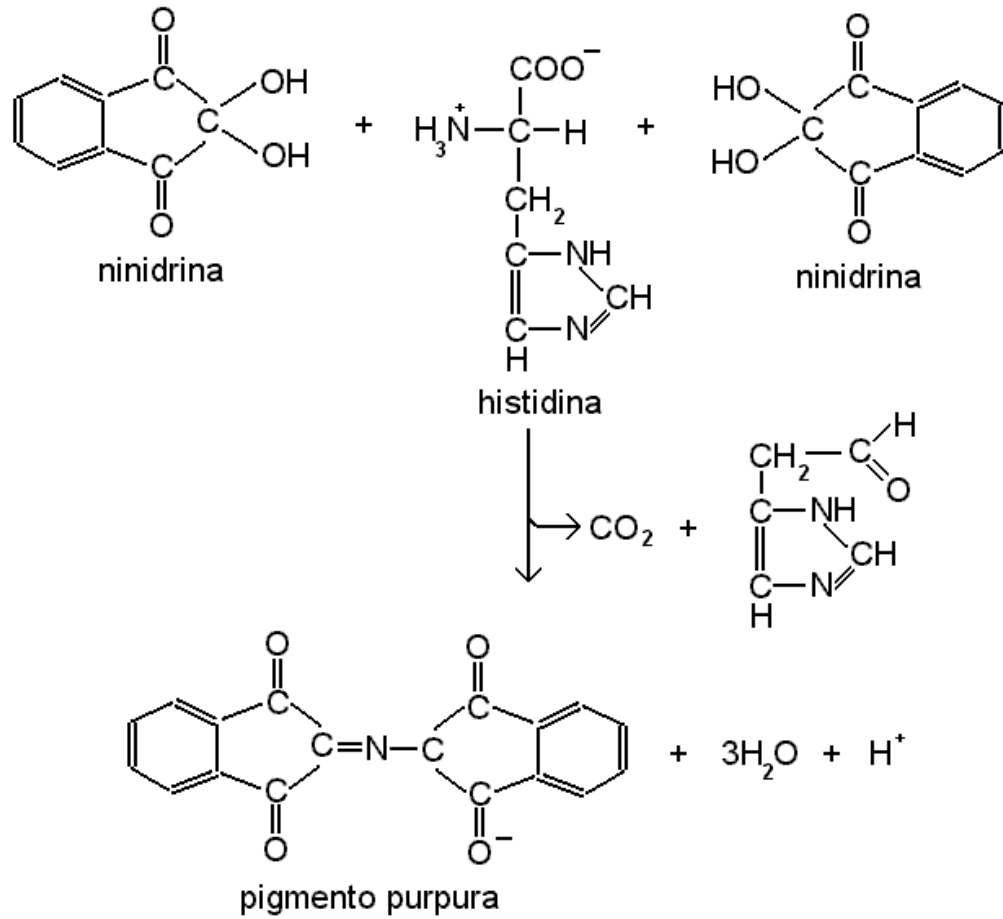


2) Reação do aminogruppo

Ninhidrina

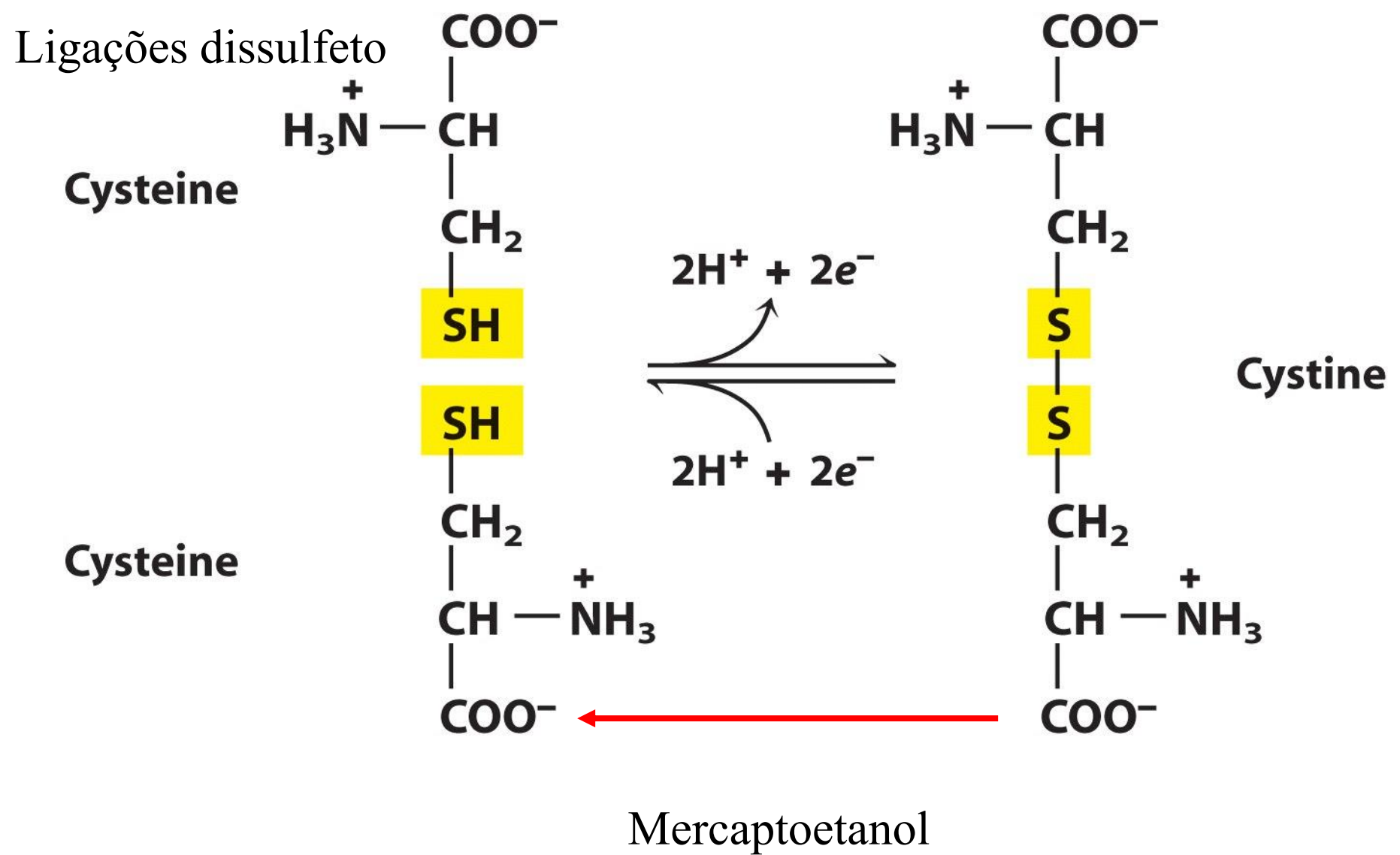
O aminoácido é degradado ao aldeído mais próximo e CO_2 . O reagente se combina com a amônia liberada e produz a coloração azul.



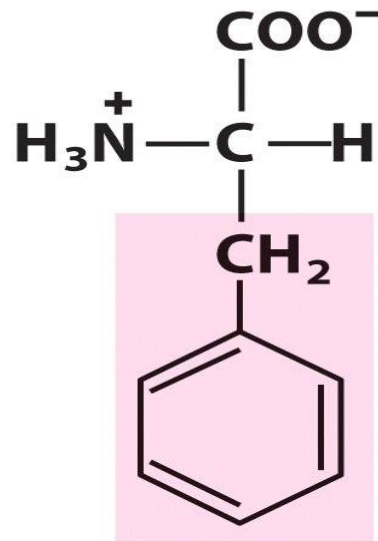


Reações do grupo R

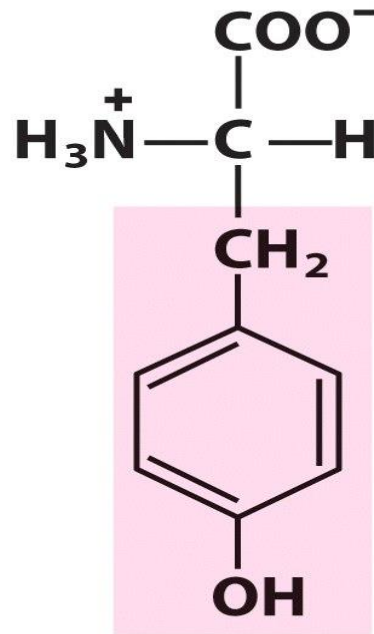
Cisteína - Reação com Hg^{+2} e Ag^{+} - Formam mercaptídeos



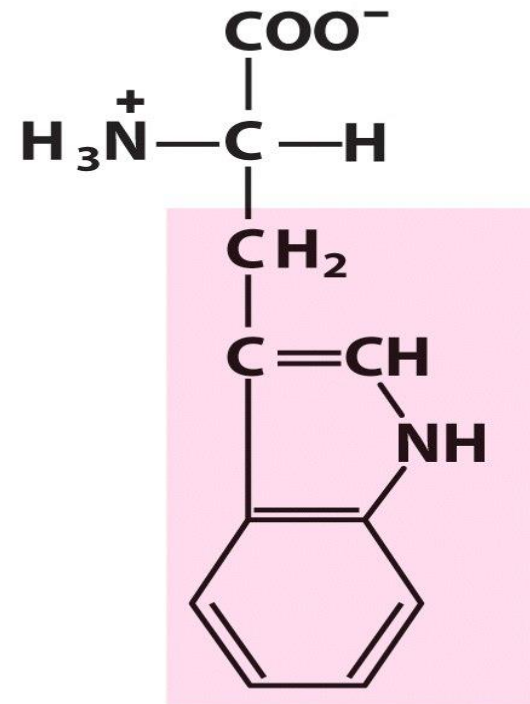
Aromatic R groups



Phenylalanine

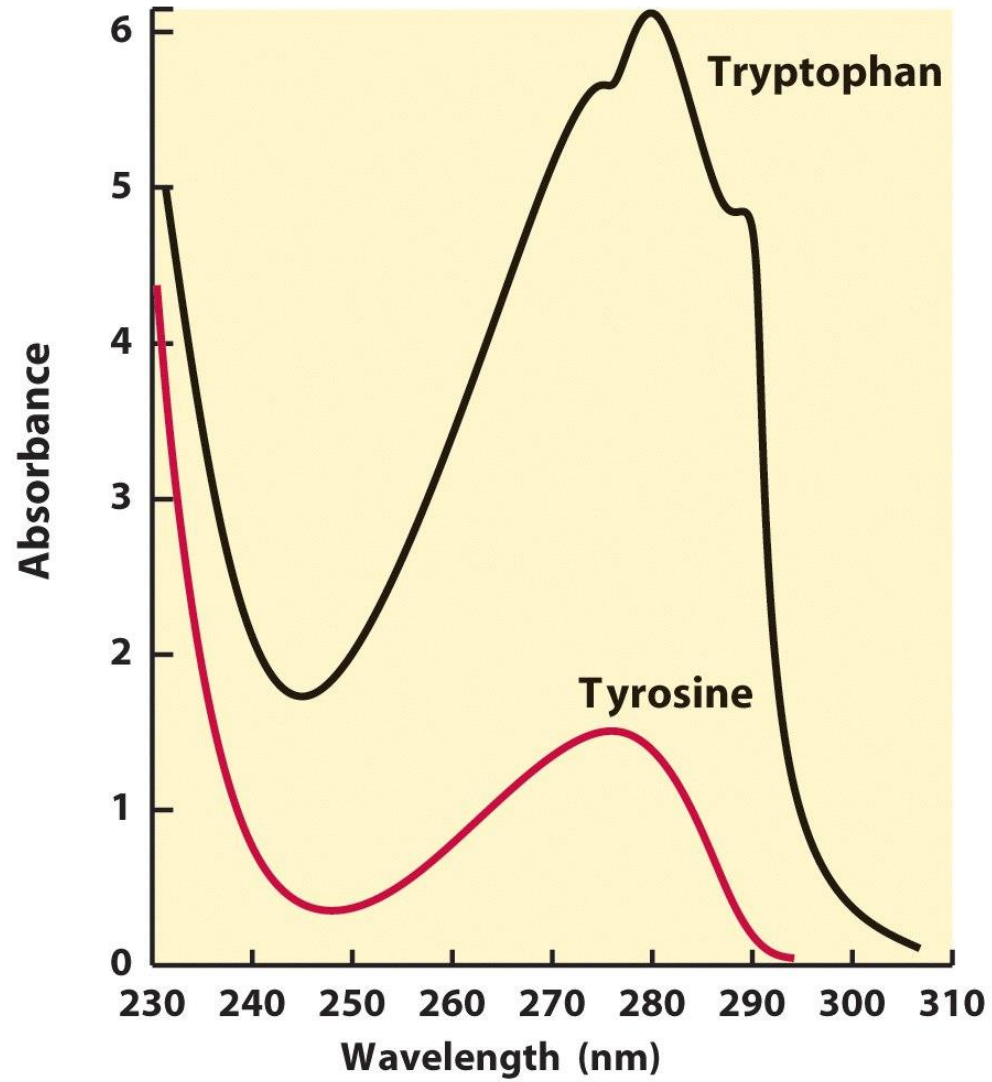


Tyrosine

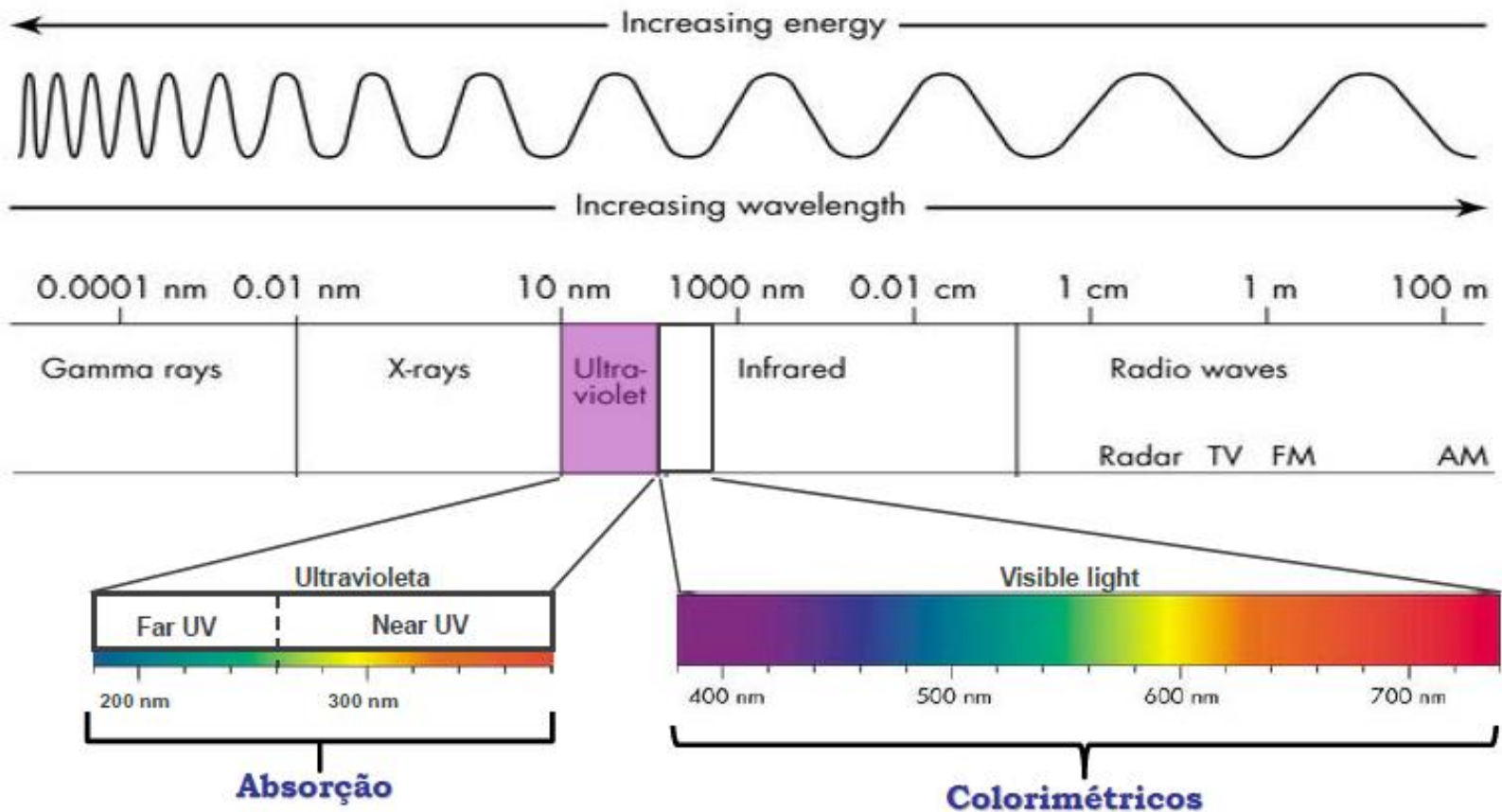


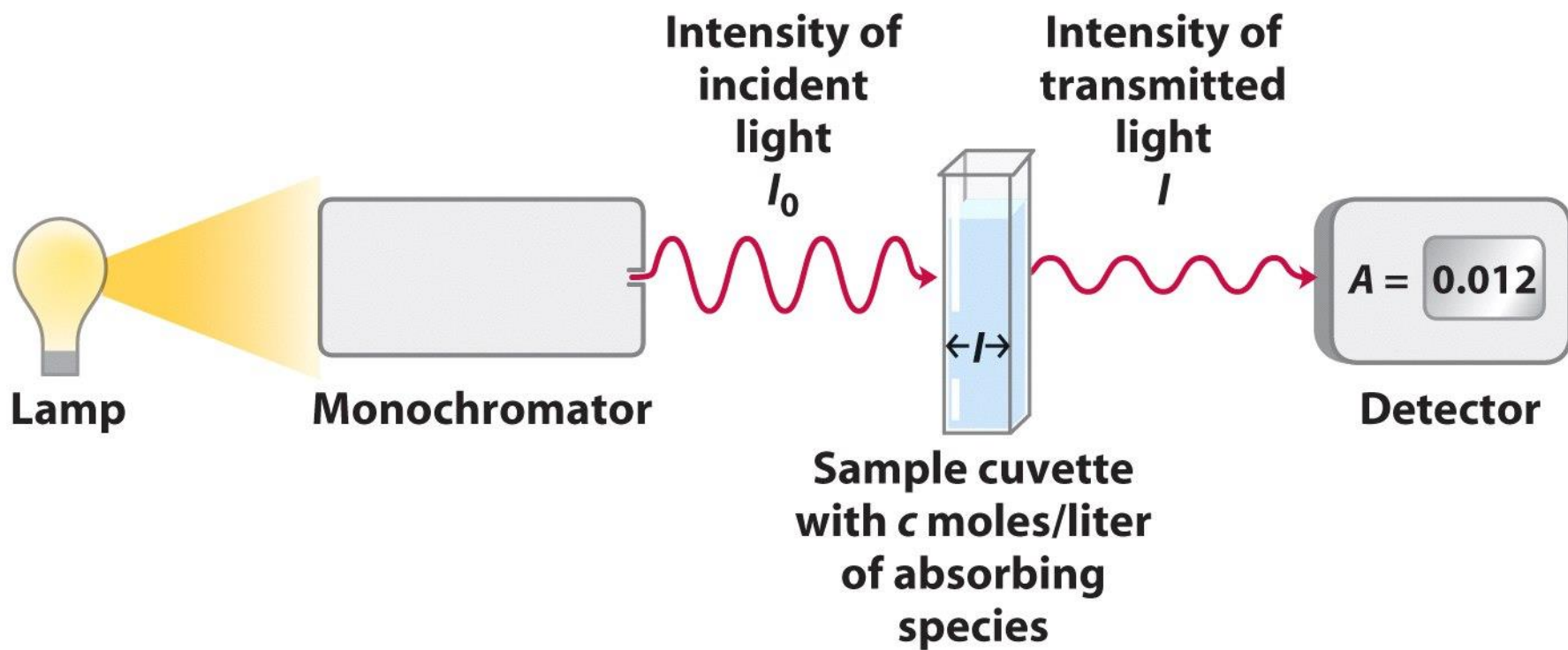
Tryptophan

A fenilcetonúria é uma doença que ocorre em indivíduos com carência de fenilalanina hidroxilase, enzima responsável pela transformação deste aminoácido em tirosina

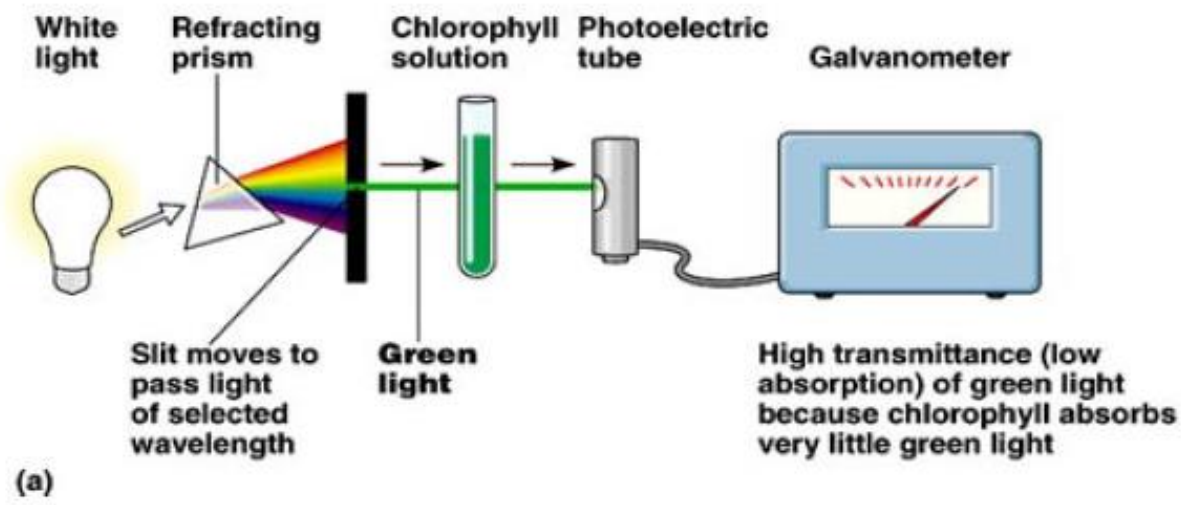


Espectro Eletro-Magnético

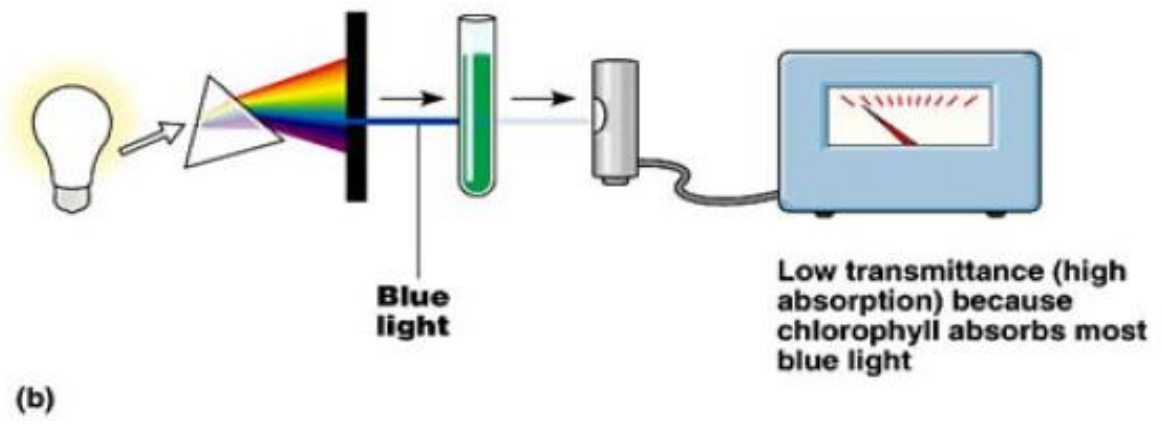




Mensuração da Absorção



$$T = \frac{I}{I_0}$$



$$Abs = \log \frac{I_0}{I}$$

Lei de Beer-Lambert

$$Abs = \varepsilon \cdot l \cdot c$$

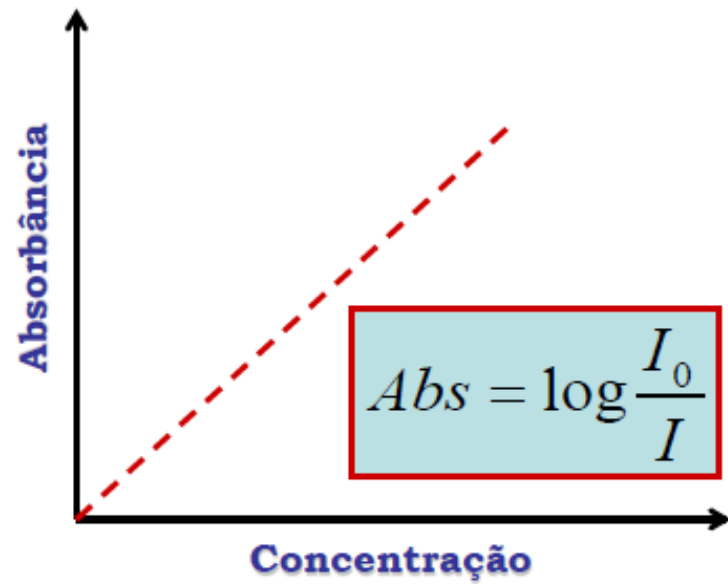
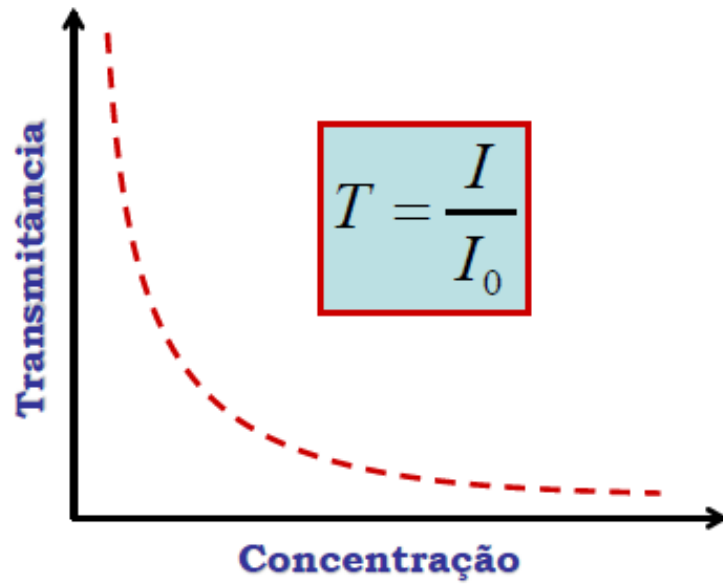
Abs = $\log I_0/I$ = Absorbância (UA)

ε = Coeficiente de absorvidade molar ($\text{mol/L}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)

C = Concentração Molar (mol/L)

l = Passo óptico (cm)

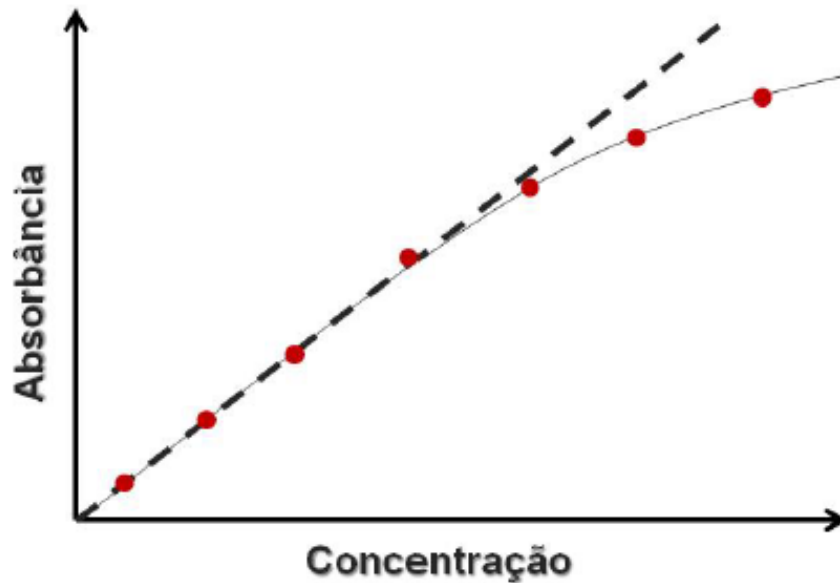
Transmitância versus Absorbância



Desvio da Lei de Beer-Lambert

→ Altas concentrações do soluto provoca o “bloqueio” da passagem de Luz

→ Existe uma faixa ótima para as medidas de Absorbância



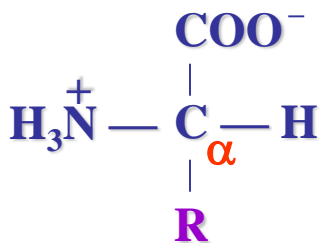
$T = I/I_0$	$Abs = \log I_0/I$
95	0,022
90	0,046
50	0,301
10	1,000
5	1,301
2	1,700
1	2,000

Medidas > 90% T e < 10%

Erros altos

Ideal → 90% < T > 10%

Estereoquímica dos aminoácidos



Aminoácidos proteicos são **L**- α - aminoácidos

O Carbono α é assimétrico, ou seja, tem 4 ligantes diferentes

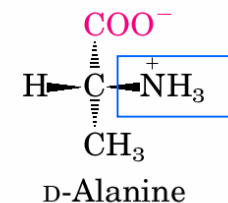
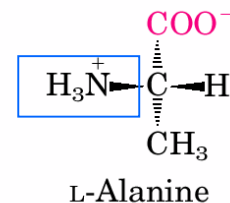
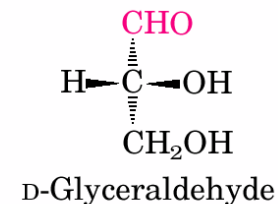
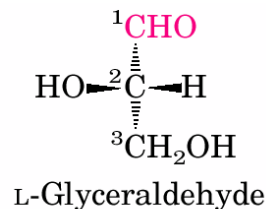
Essa propriedade define o $\text{C}\alpha$ como um centro quiral e confere propriedades ópticas às moléculas.



Existem 2 isômeros ópticos do $\text{C}\alpha$
formas L e D – configurações absolutas



- são enantiômeros (imagens especulares) um do outro
- não são interconvertíveis sem quebra de laços covalentes



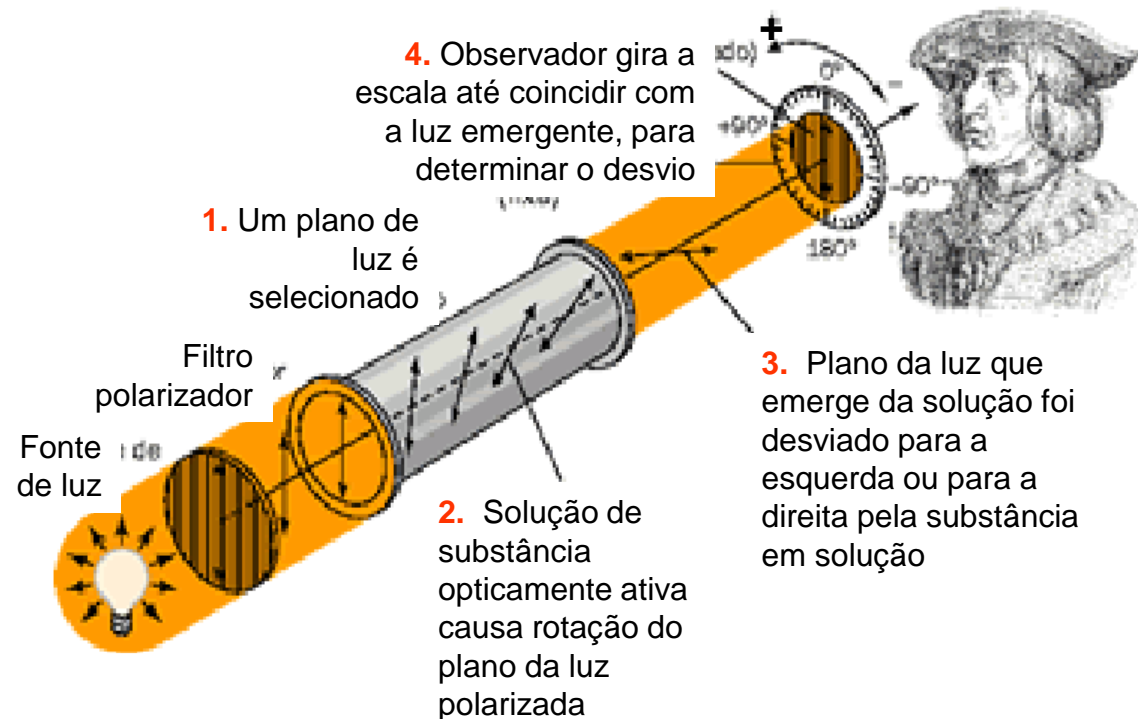
L- e D-isômeros de gliceraldeído (um açúcar) e do aminoácido alanina

Rotação específica em solução aquosa de alguns aminoácidos

aminoácido	Rotação específica
L-Ala	+1,8
L-Arg	+12,5
L-Leu	-11,0
L-Ile	+12,4
L-Phe	-34,5
L-Glu	+12,0
L-His	-38,5
L-Asp	+5,0
L-Met	-10,0
L-Lis	+13,5
L-Ser	-7,5
L-Pro	-86,2
L-Tre	-28,5
L-Trp	-33,7
L-Val	+5,6

Levógiro: indicado por (-)
giro da luz para esquerda

Dextrógiro: indicado por (+)
giro da luz para direita



D-aminoácidos

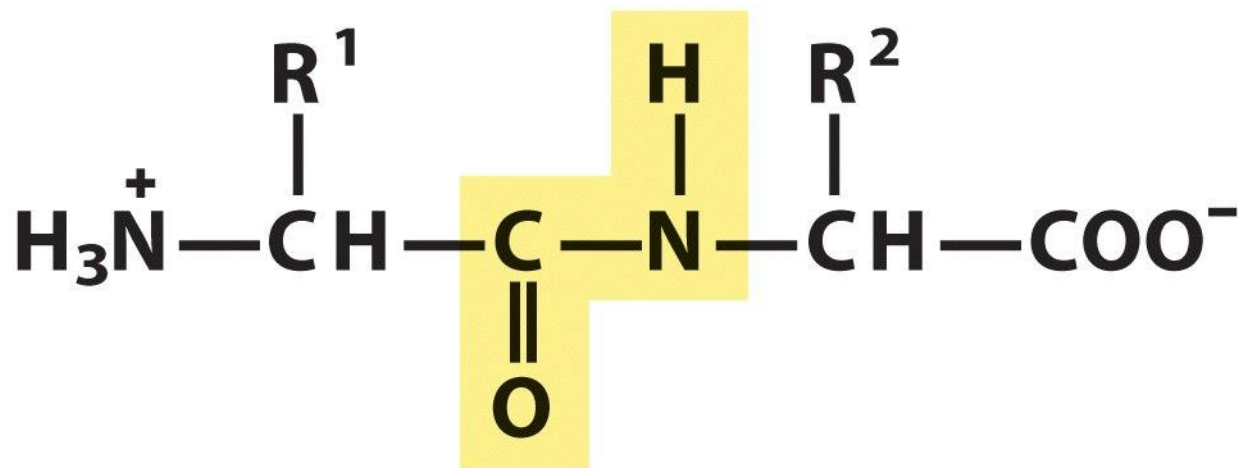
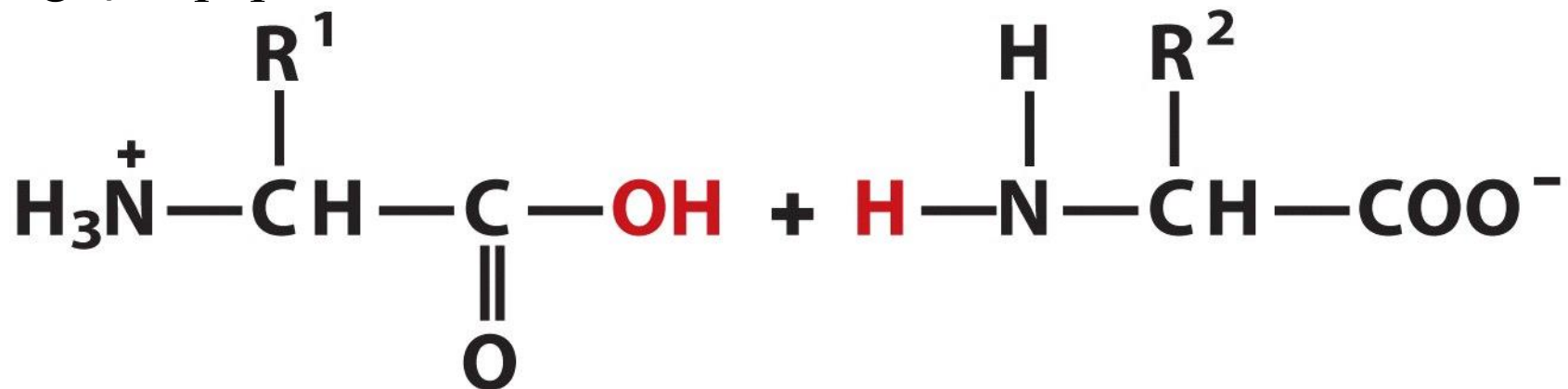
Paredes de células de bactérias (peptideoglicano)

D-serina - bicho-da-seda (entre 5 e 59%)

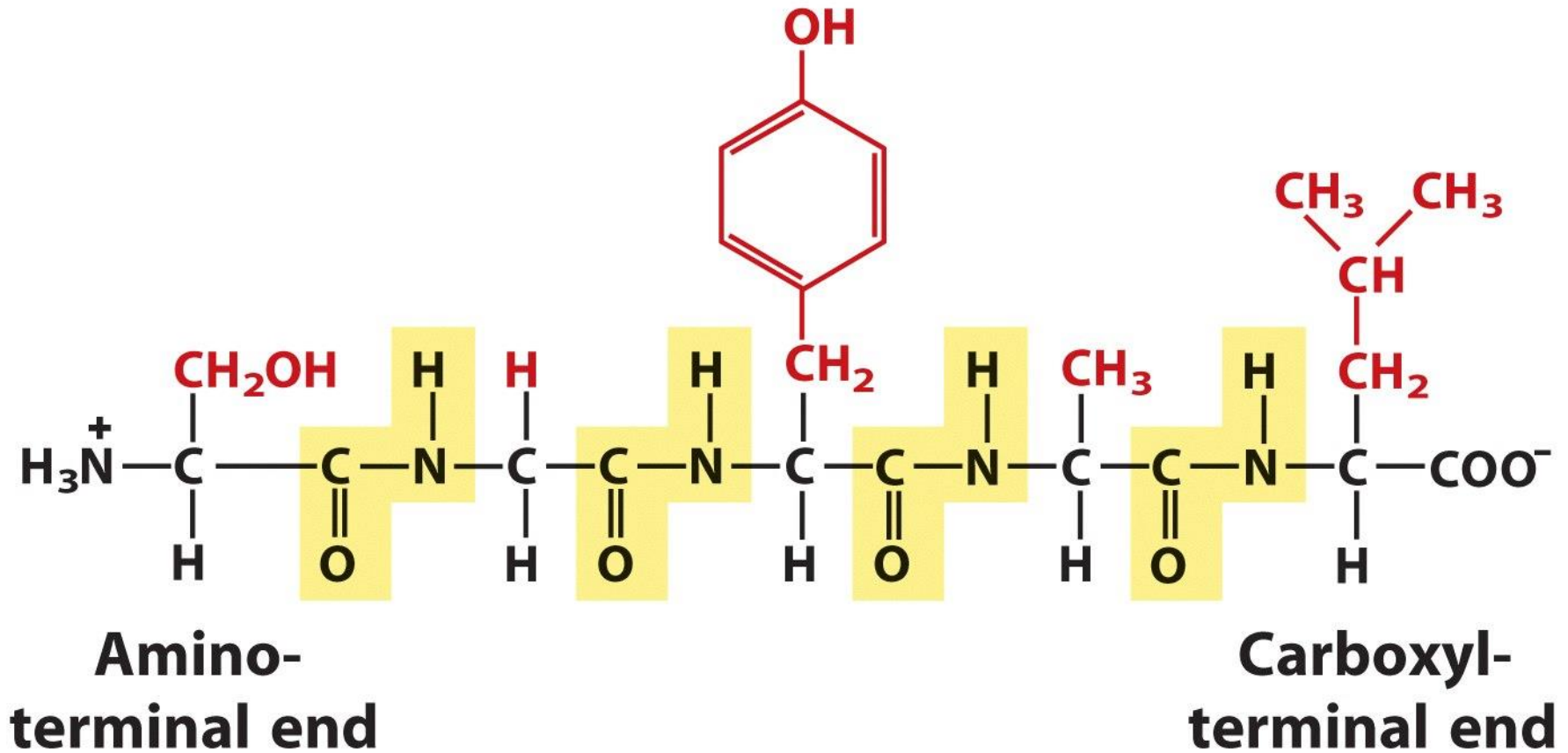
D-alanina e a D-serina - saliva, urina, plasma sanguíneo, soro sanguíneo, leite e líquido céfalo-raquidiano)

D-aminoácidos componentes de muitos peptídeos antibióticos produzidos por bactérias (valinomicina, gramicidina A, actinomicina D)

Ligação peptídica



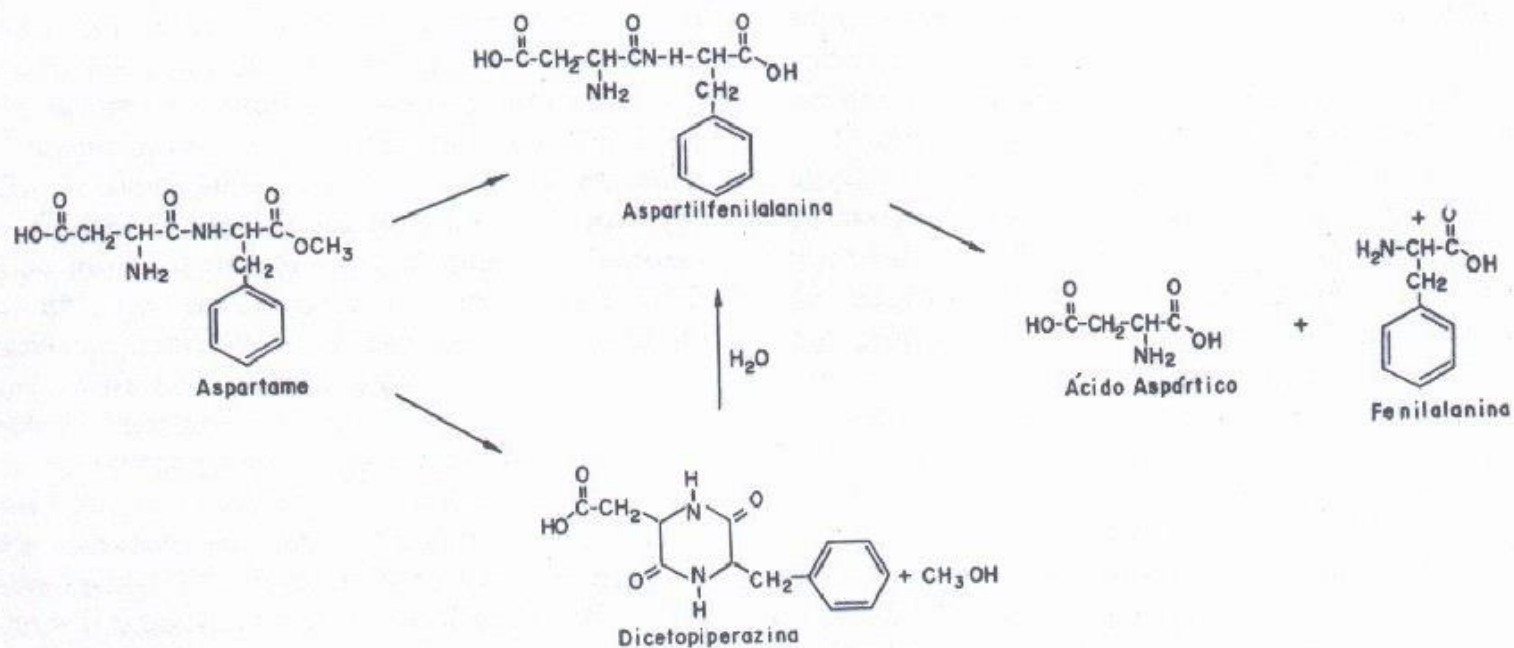
Oligopéptidos



Serilgliciltirosilalanilleucina

Aspartame

O aspartame é um sólido branco que foi descoberto acidentalmente em 1965. O químico Schlatter tentava desenvolver um sedativo para úlceras e depois de um dia de trabalho resolveu lambear os dedos sujos e sentiu que eles estavam doces. A molécula de aspartame é um **dipeptídeo**, ou seja, é a combinação de dois aminoácidos, o ácido aspártico e a fenilalanina, esta modificada por um grupo metila.



O ácido aspártico é quase insípido, a fenilalanina é amarga, e o dipeptídeo formado pelo dois é doce! Seu sabor é duzentas vezes mais doce do que o da sacarose e não tem o desagradável sabor residual da sacarina.

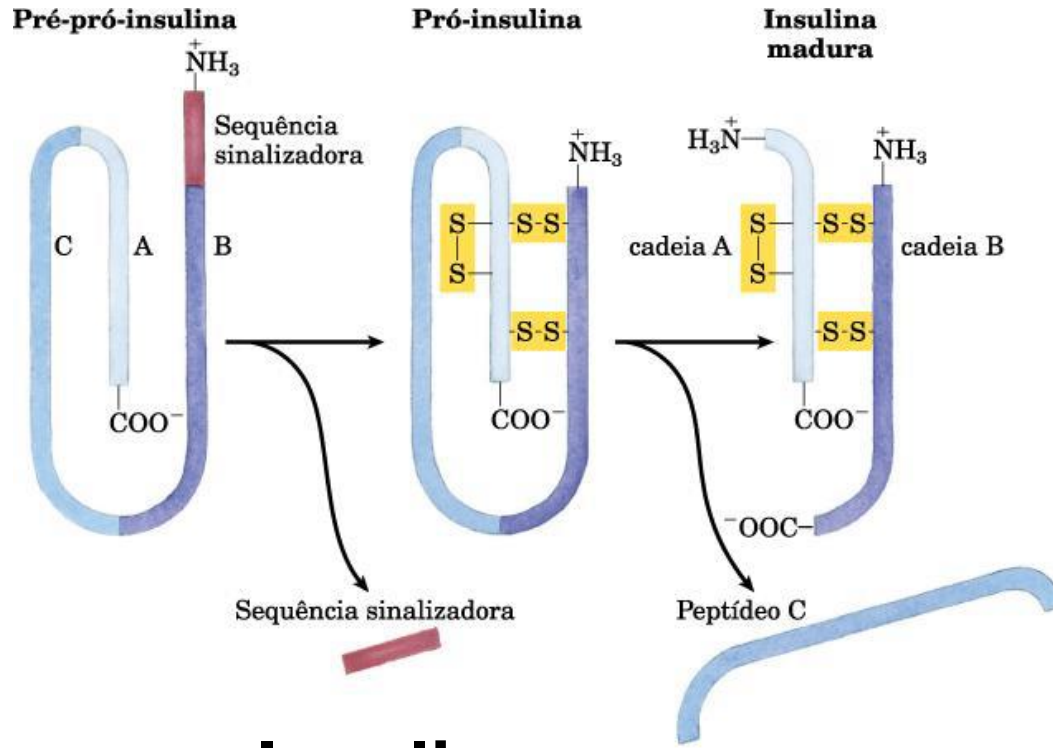
Como é muito mais doce que a sacarose e é adicionado aos alimentos em pequenas quantidades, não engorda.

Propriedades ácido-básicas dos peptídeos

Valores de pK de alguns aminoácidos e peptídeos

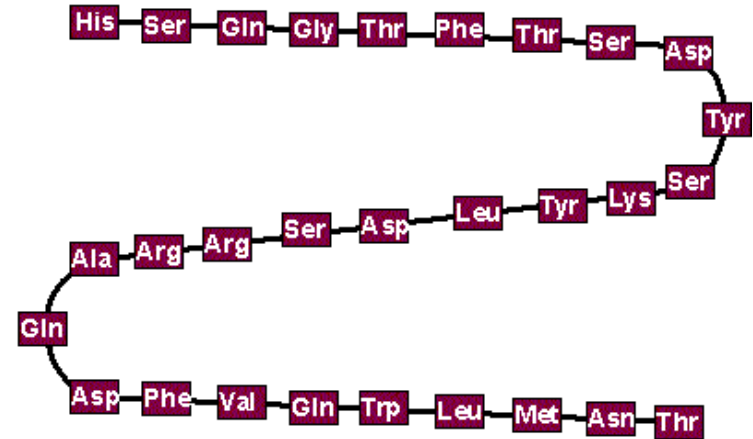
Aminoácido	pK_1	pK_2	pK_R	PI
Gly	2,34	9,6	-	5,97
Gly-Gly	3,06	8,13	-	5,59
Gly-Gly-Gly	3,26	7,91	-	5,58

Peptídeos com atividade biológica



Insulina

1. Preproinsulina (Líder, cadeia **B**, cadeia **C**, cadeia **A**);
a proinsulina consiste em BCA, sem L
2. Dobra espontânea
3. As cadeias A e B ligadas por enxofre
4. As cadeias L and C são cortadas
5. Molécula de insulina final – 51 aa, 5,8 kDa



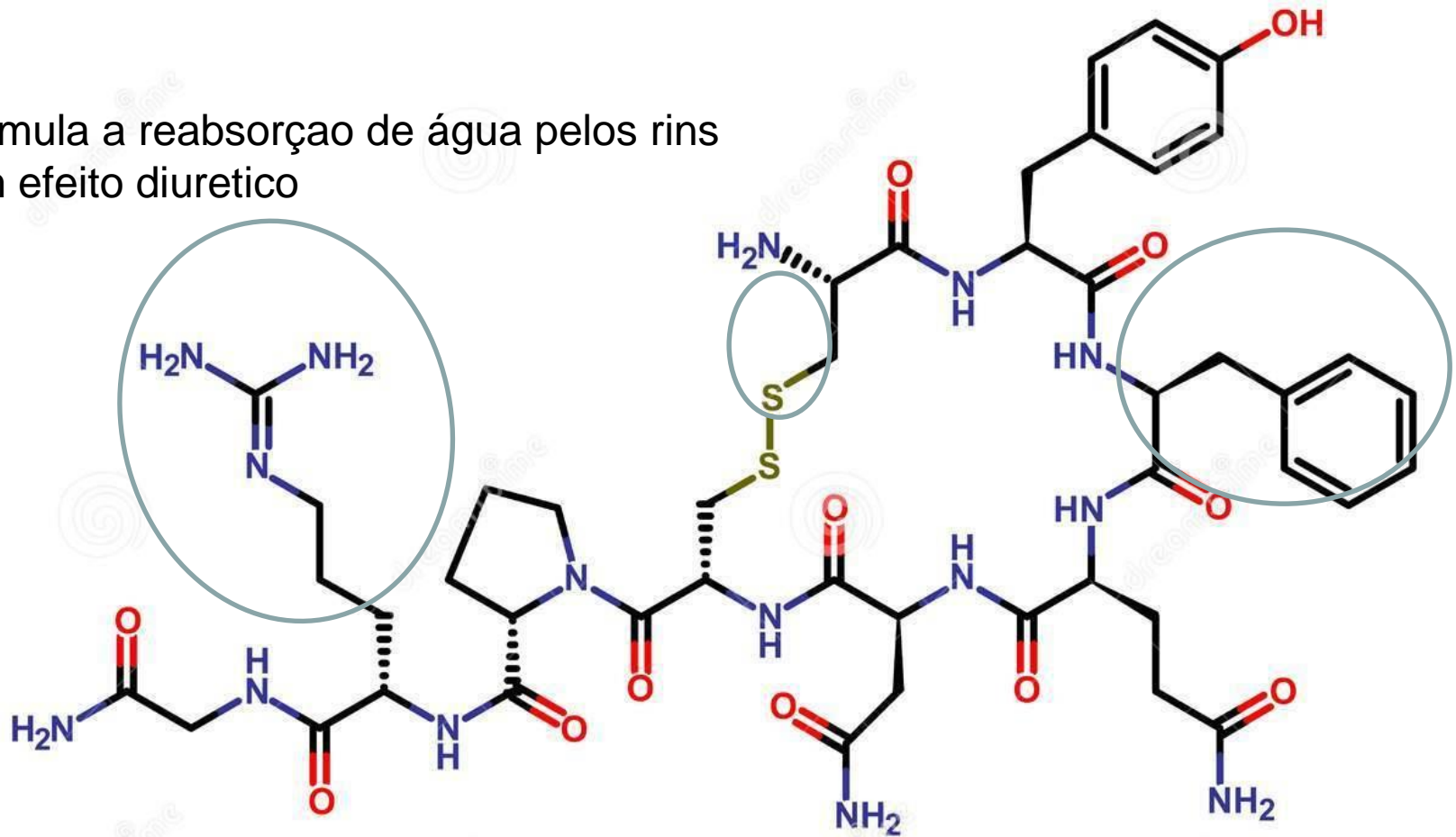
Glucagon

Uma única cadeia polipeptídica simples, 29 aminoácidos, PM=3,5 kDa

é [hormônio](#) produzido no [pâncreas](#) e nas células do trato gastrointestinal.

Vasopressina

Estimula a reabsorção de água pelos rins
Tem efeito diuretico



Download from
Dreamstime.com

This watermarked comp image is for previewing purposes only.

(cys - tyr - **Phe** - gln - asn - cys - pro - **Arg** - gly -
NH₂)

ID 39820126

Peribucka/Dreamstime.com

Importância e diversidade funcional das proteínas

- Macromoléculas mais abundantes das células vivas (70% m.s)
- Expressão gênica – informação do DNA é expressa através das proteínas
- Palavra grega que significa “primeira” ou a “ mais importante”
- Grande variedade de funções biológicas

Estrutural	Queratina Colágeno (tec. conjuntivo fibroso) Fibroína Elastina (tec. conjuntivo elástico)
Reguladora	Insulina Hormônio de crescimento Represores
Defesa	Anticorpos Fibrinogênio , Trombina Toxina botulínica Veneno de serpentes, apitoxina Ricina (mamona)
Transporte	Hemoglobina Albumina do soro Mioglobina β_1 -lipoproteína
Contrátil (movimento)	Actina Miosina Tubulina Dineína
Reserva (nutritivas)	Gliadina (trigo) Ovoalbumina (ovo) Caseína (leite) Ferritina
enzimática (catálise)	Ribonuclease, Tripsina

Composição em AA de três proteínas			
AA	Nº de AA por molécula de proteína		
	Quimotripsinogênio (bovino)	Lisozima (clara de ovo)	Citocromo c (humano)
Glicina	23	12	13
Alanina	22	12	6
→ Valina	23	6	3
→ Leucina	19	8	6
→ Isoleucina	10	6	8
→ Metionina	2	2	3
Prolina	9	2	4
→ Fenilalanina	6	3	3
→ Triptofano	8	6	1
Serina	28	10	2
→ Treonina	23	7	7
Asparagina	15	13	5
Glutamina	10	3	2
Tirosina	4	3	5
Cisteína	10	8	2
→ Lisina	14	6	18
Arginina	4	11	2
Histidina	2	1	3
Aspartato	8	8	3
Glutamato	5	2	8

Composição de algumas proteínas

Proteínas	Números de aminoácidos	Número de cadeias polipeptídicas
Insulina (bovina)	51	2
Lisozima (clara do ovo)	129	1
Mioglobina (equina)	153	1
Hemoglobina (humana)	574	4
Aspartato transcarbamoilase (<i>E. coli</i>)	2700	12
RNA polimerase (<i>E. coli</i>)	4100	5
Apolipoproteína B (Humana)	4536	1

Classificação

a) Quanto à forma

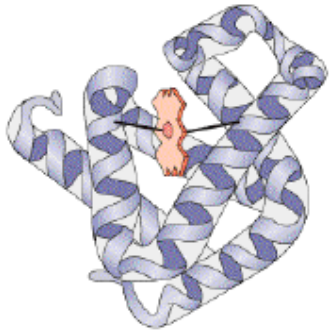
- Globulares
- Fibrosas

b) Quanto ao nº de cadeias polipeptídicas

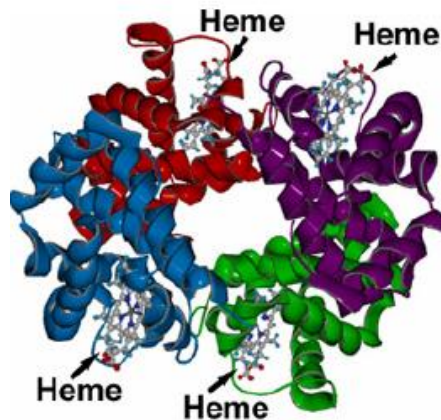
- Monoméricas
- Oligoméricas
- Multiméricas

c) Quanto à composição química

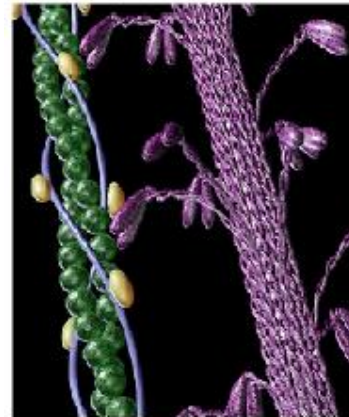
- Simples
- Conjugadas



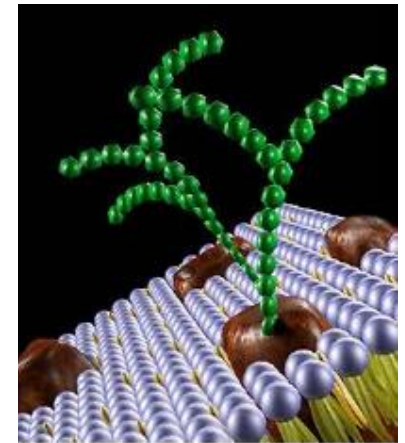
Myoglobina



Hemoglobina



Actina

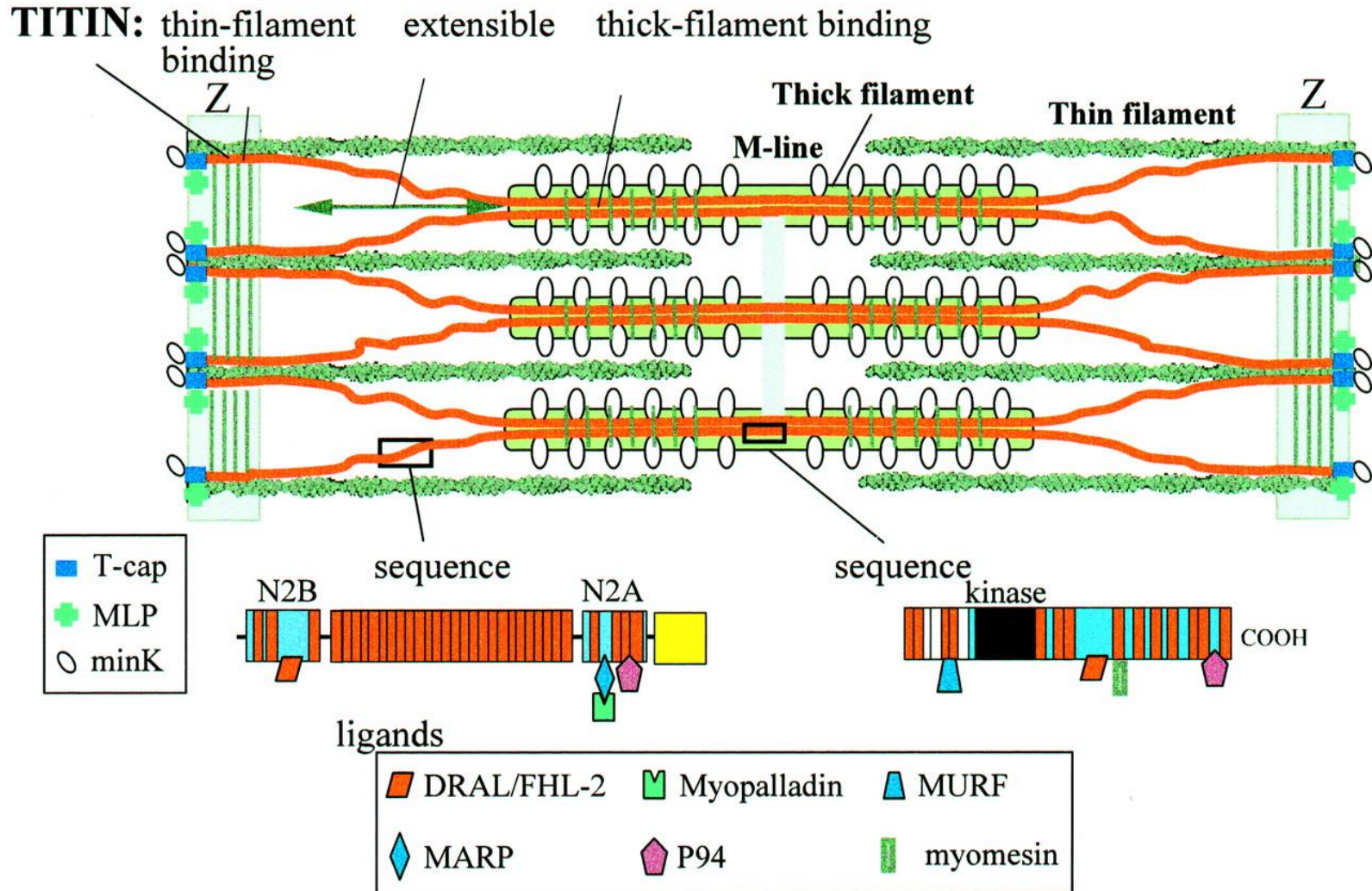


Glicoproteína

TABLE 3-2 Molecular Data on Some Proteins

	<i>Molecular weight</i>	<i>Number of residues</i>	<i>Number of polypeptide chains</i>
Cytochrome c (human)	13,000	104	1
Ribonuclease A (bovine pancreas)	13,700	124	1
Lysozyme (chicken egg white)	13,930	129	1
Myoglobin (equine heart)	16,890	153	1
Chymotrypsin (bovine pancreas)	21,600	241	3
Chymotrypsinogen (bovine)	22,000	245	1
Hemoglobin (human)	64,500	574	4
Serum albumin (human)	68,500	609	1
Hexokinase (yeast)	102,000	972	2
RNA polymerase (<i>E. coli</i>)	450,000	4,158	5
Apolipoprotein B (human)	513,000	4,536	1
Glutamine synthetase (<i>E. coli</i>)	619,000	5,628	12
Titin (human)	2,993,000	26,926	1

Conectina



Proteínas



Simple = só aminoácidos

Conjugadas = aminoácidos +
grupo prostético

TABLE 3-4 Conjugated Proteins

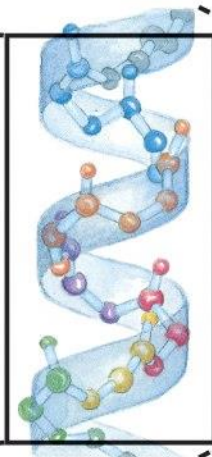
<i>Class</i>	<i>Prosthetic group</i>	<i>Example</i>
Lipoproteins	Lipids	β_1 -Lipoprotein of blood
Glycoproteins	Carbohydrates	Immunoglobulin G
Phosphoproteins	Phosphate groups	Casein of milk
Hemoproteins	Heme (iron porphyrin)	Hemoglobin
Flavoproteins	Flavin nucleotides	Succinate dehydrogenase
Metalloproteins	Iron	Ferritin
	Zinc	Alcohol dehydrogenase
	Calcium	Calmodulin
	Molybdenum	Dinitrogenase
	Copper	Plastocyanin

Primary structure



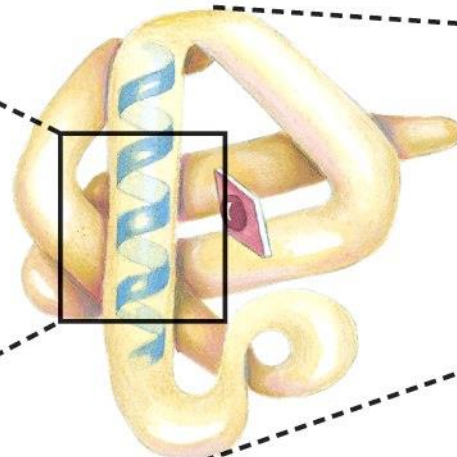
Amino acid residues

Secondary structure



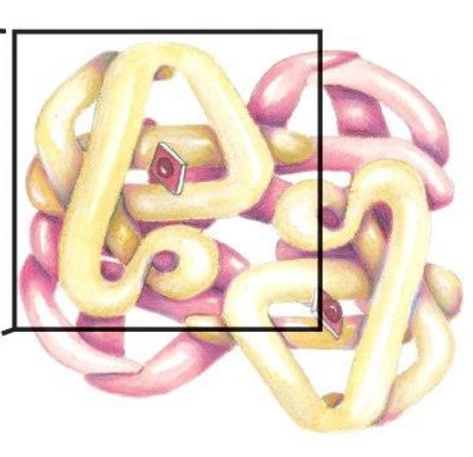
α Helix

Tertiary structure



Polypeptide chain

Quaternary structure



Assembled subunits