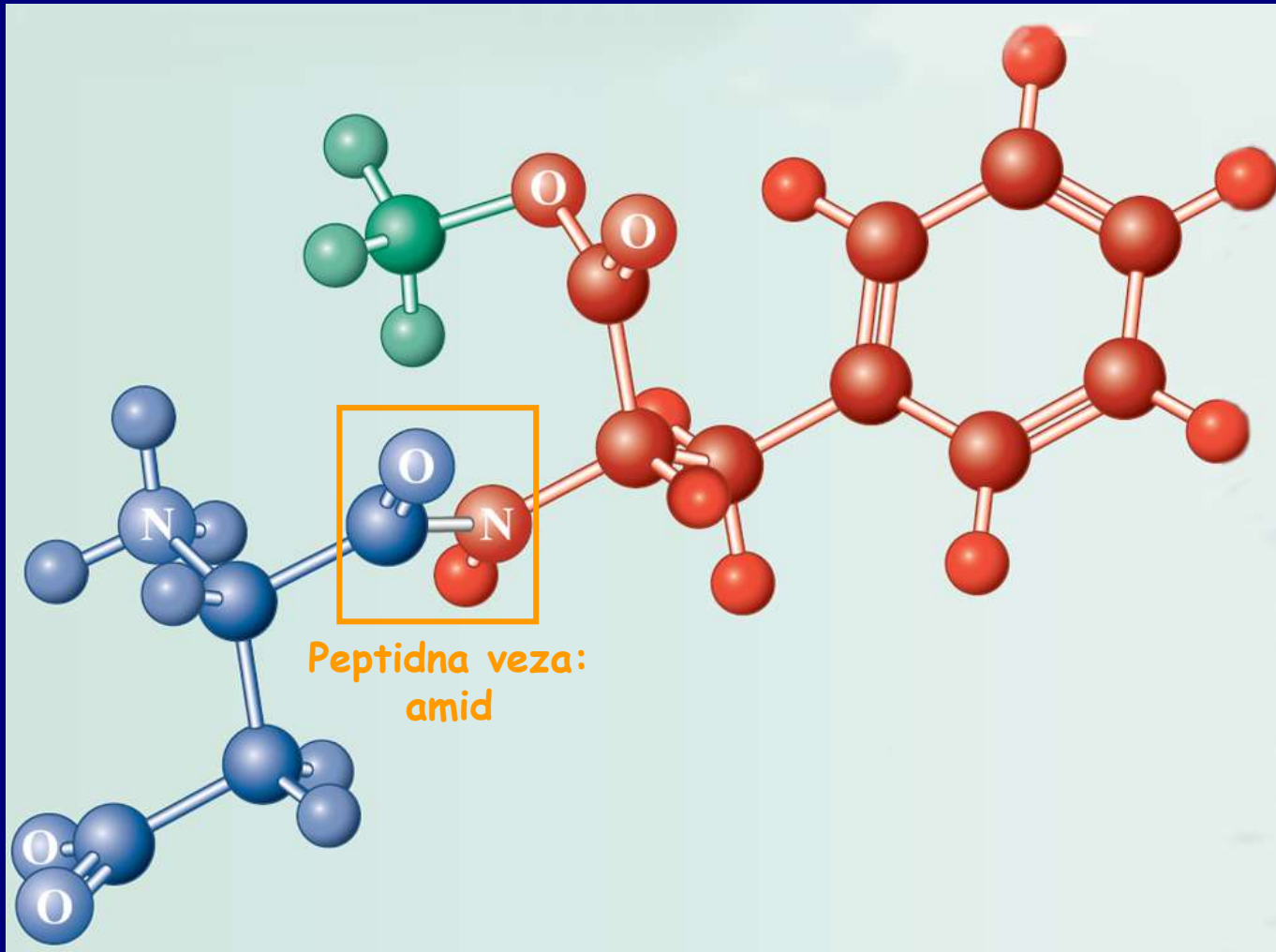


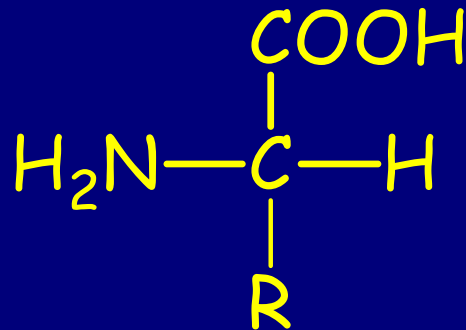
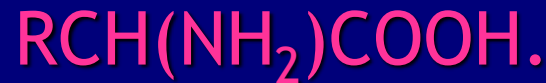
Poglavlje 26: Amino-kiseline, peptidi, proteini i nukleinske kiseline



Aspartam, dipeptid

Aminokiseline

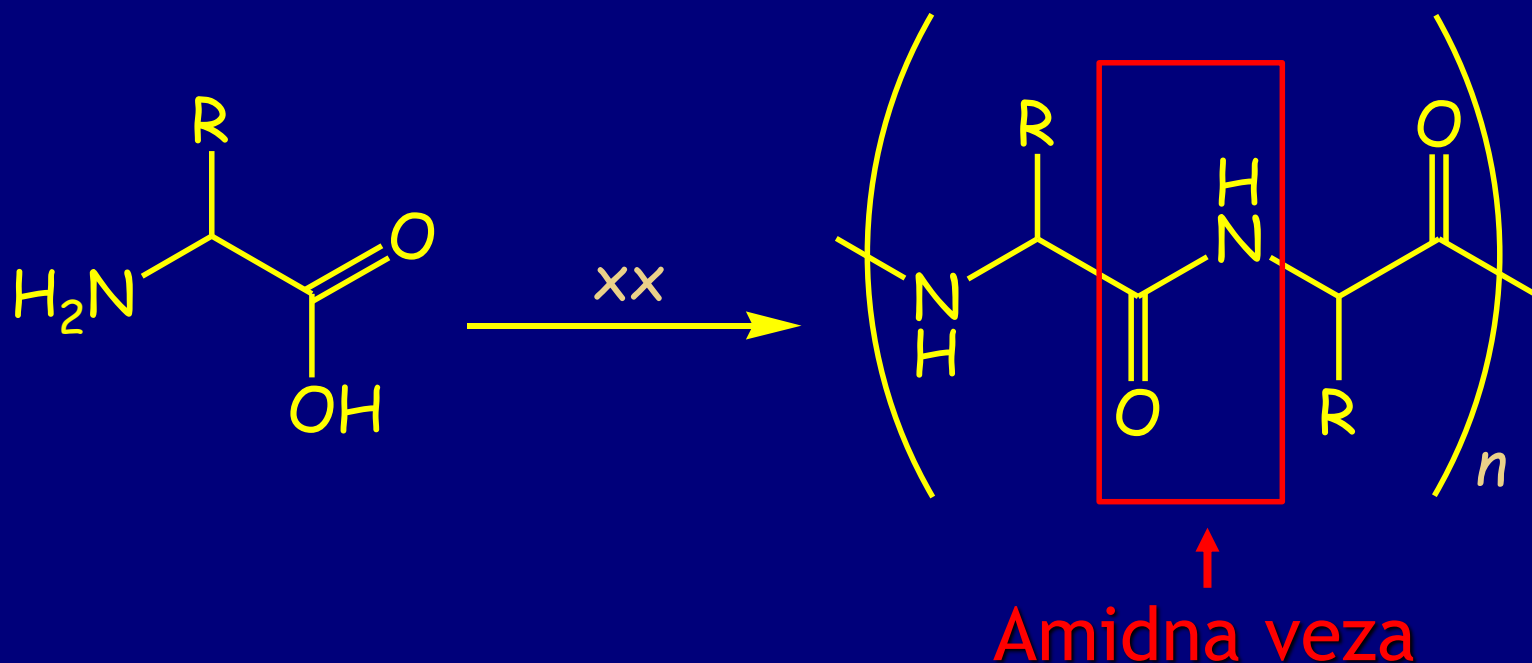
U prirodi su najrasprostranjenije 2-aminokiseline (α -aminokiseline) opšte formule



L-aminokiseline

R = alkil, acil, amino, hidroksi, merkapto, sulfid, karboksi, guanidino, ili imidazolil grupe

Aminokiseline su monomerne jedinice polipeptida. Polipeptidi su gradivne jedinice različitih bioloških struktura.



Za protein, $n \geq 8000$ je $MW > 1,000,000$. Proteini su ključni za transport (O_2 , hemoglobin), skladištenje energije, katalizu, kontrolu različitih reakcija, antitela, itd.

- Poznato je više od 500 prirodnih aminokiselina
- 20 najčešćih su poznate i kao glavne aminokiseline, od kojih ljudski organizam ne može sintetisati 8 (esencijalne aminokiseline)

Nomenklatura: Koriste se uobičajena imena. α -Stereocentar je obično *S* (ili po staroj nomenklaturi *L*)

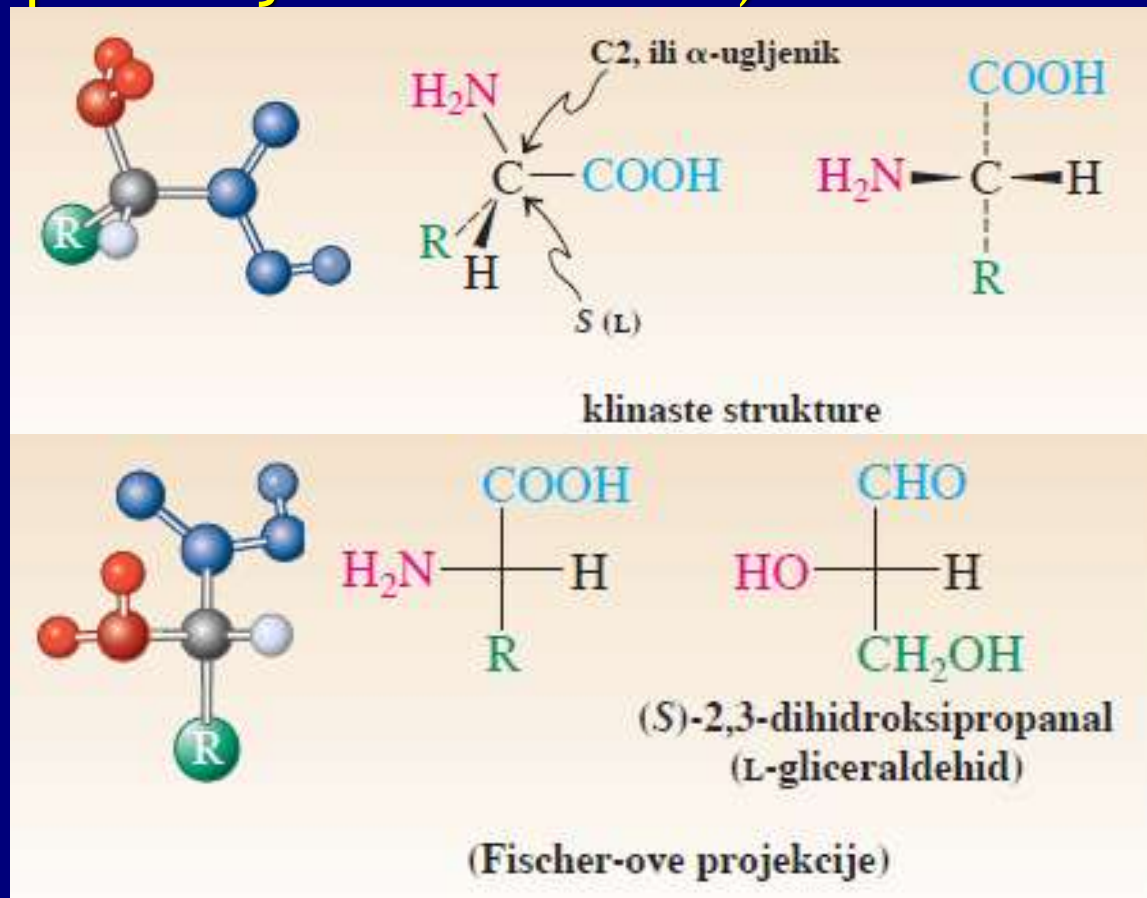
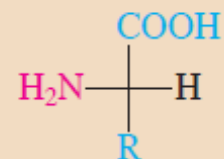


TABELA 26-1

Prirodne (2S)-aminokiseline




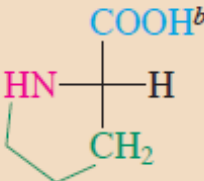
R	Ime	Kôd od tri slova	Kôd od jednog slova	pK _a α-COOH	pK _a α-NH ₃ ⁺	pK _a kiseline funkcije u R	Izoelektrična tačka, pI
H	glicin	Gly	G	2,3	9,6	—	6,0
Alkil-grupa							
CH ₃	alanin	Ala	A	2,3	9,7	—	6,0
CH(CH ₃) ₂	valin ^a	Val	V	2,3	9,6	—	6,0
CH ₂ CH(CH ₃) ₂	leucin ^a	Leu	L	2,4	9,6	—	6,0
CHCH ₂ CH ₃ (S) CH ₃	izoleucin ^a	Ile	I	2,4	9,6	—	6,0
H ₂ C— 	fenilalanin	Phe	F	1,8	9,1	—	5,5
	prolin	Pro	P	2,0	10,6	—	6,3

TABELA 26-1

Prirodne (2S)-aminokiseline (nastavak)


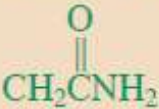
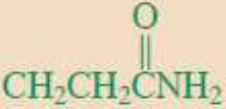

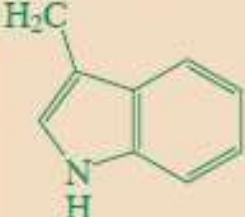
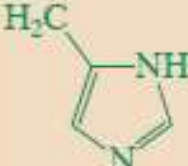
R	Ime	Kôd od tri slova	Kôd od jednog slova	pK _a α-COOH	pK _a α- ⁺ NH ₃	pK _a kiselinske funkcije u R	Izoelektrična tačka, pI
Aminokiseline sa hidroksilnom grupom							
CH ₂ OH	serin	Ser	S	2,2	9,2	—	5,7
CHOH (R)	treonin ^a	Thr	T	2,1	9,1	—	5,6
CH ₃							
	tirozin	Tyr	Y	2,2	9,1	10,1	5,7
Aminokiseline sa amino-grupom							
	asparagin	Asn	N	2,0	8,8	—	5,4
	glutamin	Gln	Q	2,2	9,1	—	5,7
(CH ₂) ₄ NH ₂	lizin ^a	Lys	K	2,2	9,0	10,5 ^c	9,7
	arginin ^a	Arg	R	2,2	9,0	12,5 ^c	10,8

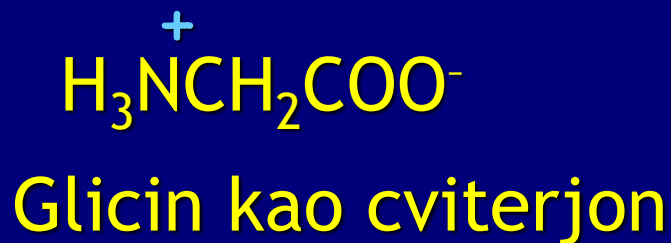
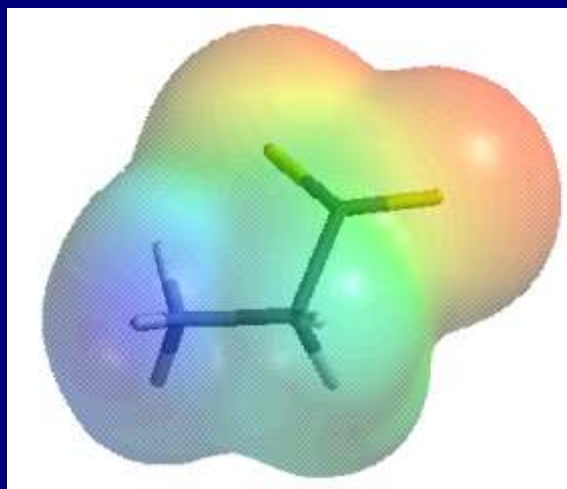
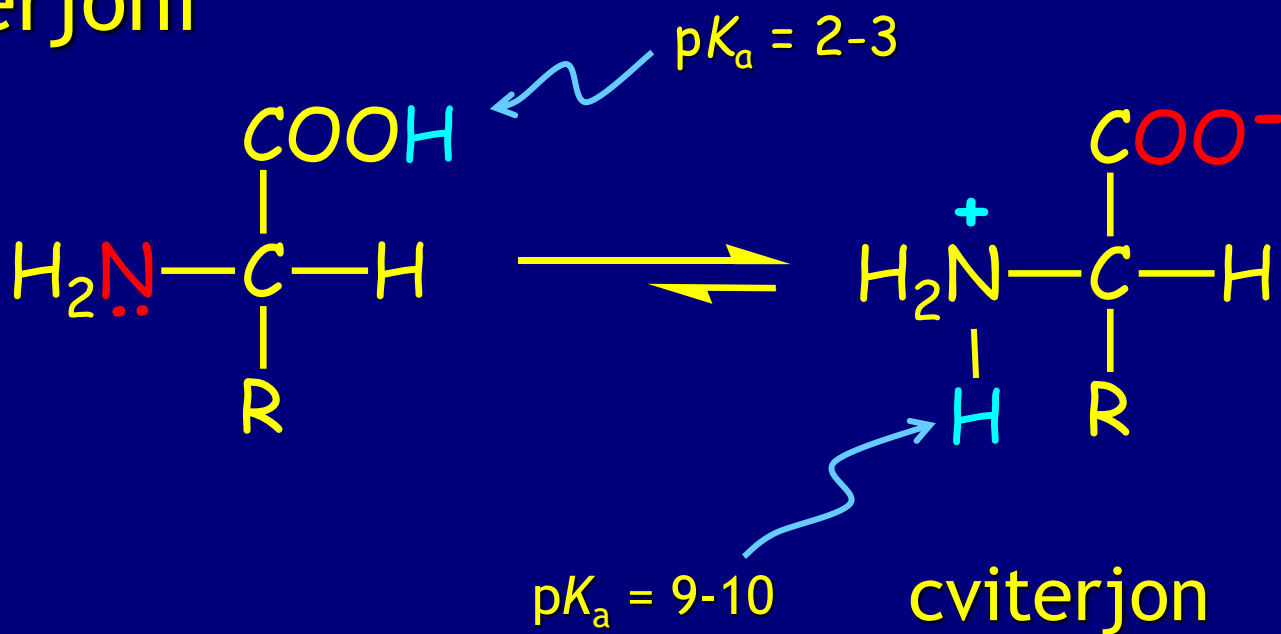
TABELA 26-1

Prirodne (2S)-aminokiseline (nastavak)

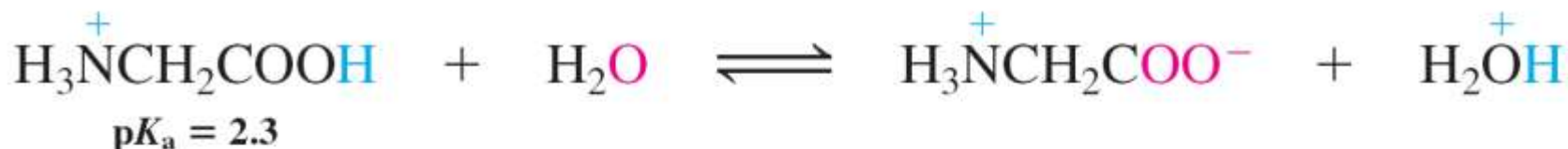
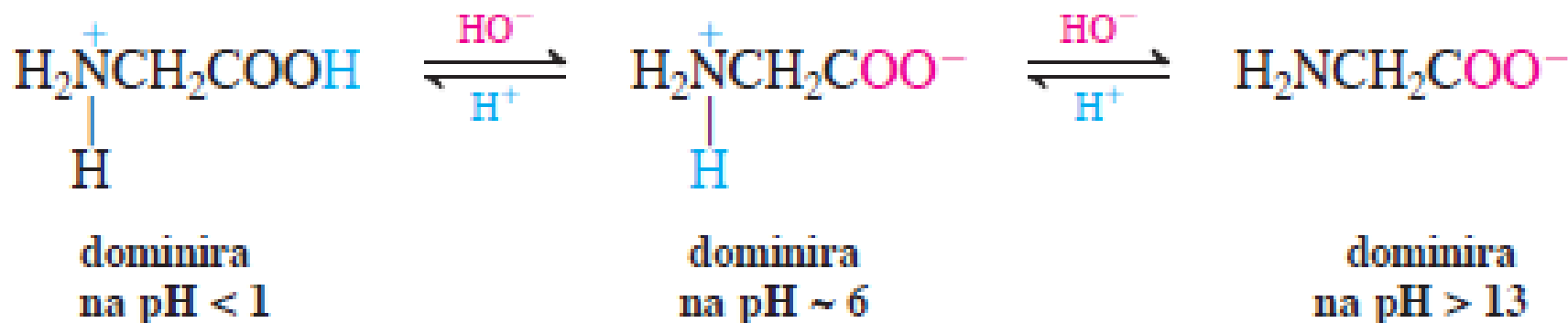
R	Ime	Kôd od tri slova	Kôd od jednog slova	pK _a α-COOH	pK _a α- ⁺ NH ₃	pK _a kiselinske funkcije u R	Izoelektrična tačka, pI
Aminokiseline sa amino-grupom (nastavak)							
	triptofan ^a	Trp	W	2,8	9,4	—	5,9
	histidin ^a	His	H	1,8	9,2	6,1 ^c	7,6
Aminokiseline sa merkaptoli ili sulfidnom grupom							
CH ₂ SH	cistein ^d	Cys	C	2,0	10,3	8,2	5,1
CH ₂ CH ₂ SCH ₃	metionin ^a	Met	M	2,3	9,2	—	5,7
Aminokiseline sa karboksilnom grupom							
CH ₂ COOH	asparaginska kiselina	Asp	D	1,9	9,6	3,7	2,8
CH ₂ CH ₂ COOH	glutaminska kiselina	Glu	E	2,2	9,7	4,3	3,2

^aesencijalne aminokiseline; ^bkompletna struktura; ^cpK_a konjugovane kiseline; ^dstereocentar je R, jer je supstituent CH₂SH višeg prioriteta od grupe COOH.

Aminokiseline su kisele i bazne: postoje kao cviterjoni

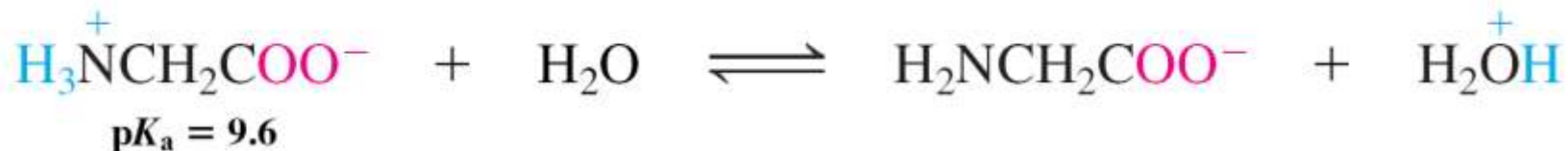


Zavisnost strukture od pH:



$$K_1 = \frac{[\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-][\text{H}_2\text{OH}^+]}{[\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COOH}]} = 10^{-2.3}$$

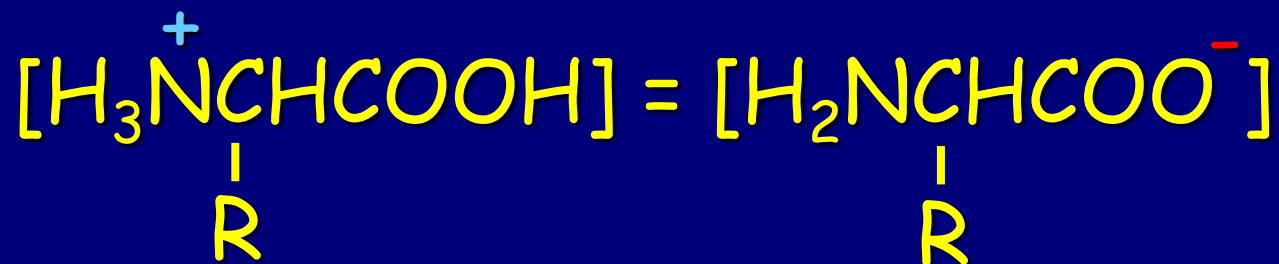
poredjenje $\text{p}K_a$ $\text{CH}_3\text{COOH} = 4.74$; $-\text{NH}_3^+$ grupa pojačava kiselost



$$K_2 = \frac{[\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COO}^-][\text{H}_2\text{OH}^+]}{[\text{H}_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{COO}^-]} = 10^{-9.6}$$

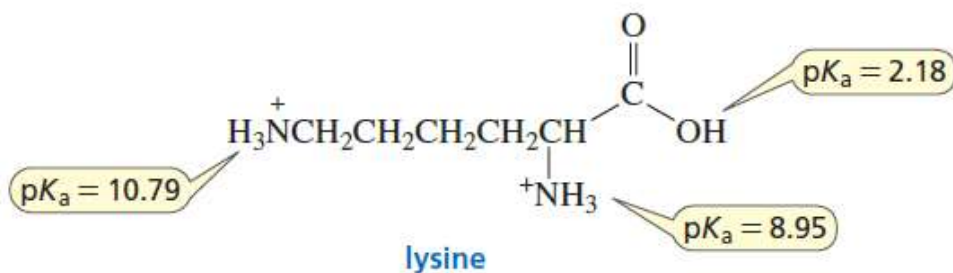
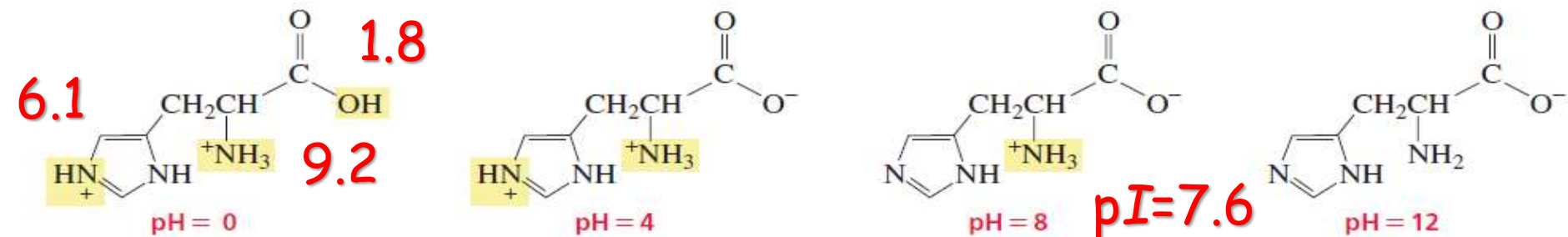
Cf. $pK_a \text{CH}_3\text{NH}_3^+ = 10.62$; $-\text{CO}_2^-$ takođe pojačava kiselost

Izoelektrična tačka: naelektrisanja su neutralizovana

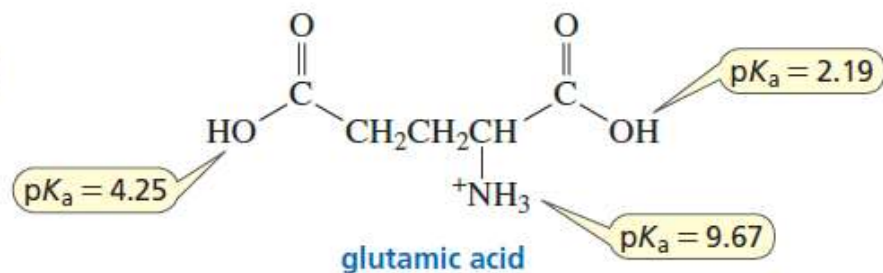


$$pH = pI = \frac{pK_{a-\text{COOH}} + pK_{a-\text{NH}_2\text{H}^+}}{2}$$

Izoelektrična tačka



$$pI = \frac{8.95 + 10.79}{2} = \frac{19.74}{2} = 9.87$$



$$pI = \frac{2.19 + 4.25}{2} = \frac{6.44}{2} = 3.22$$

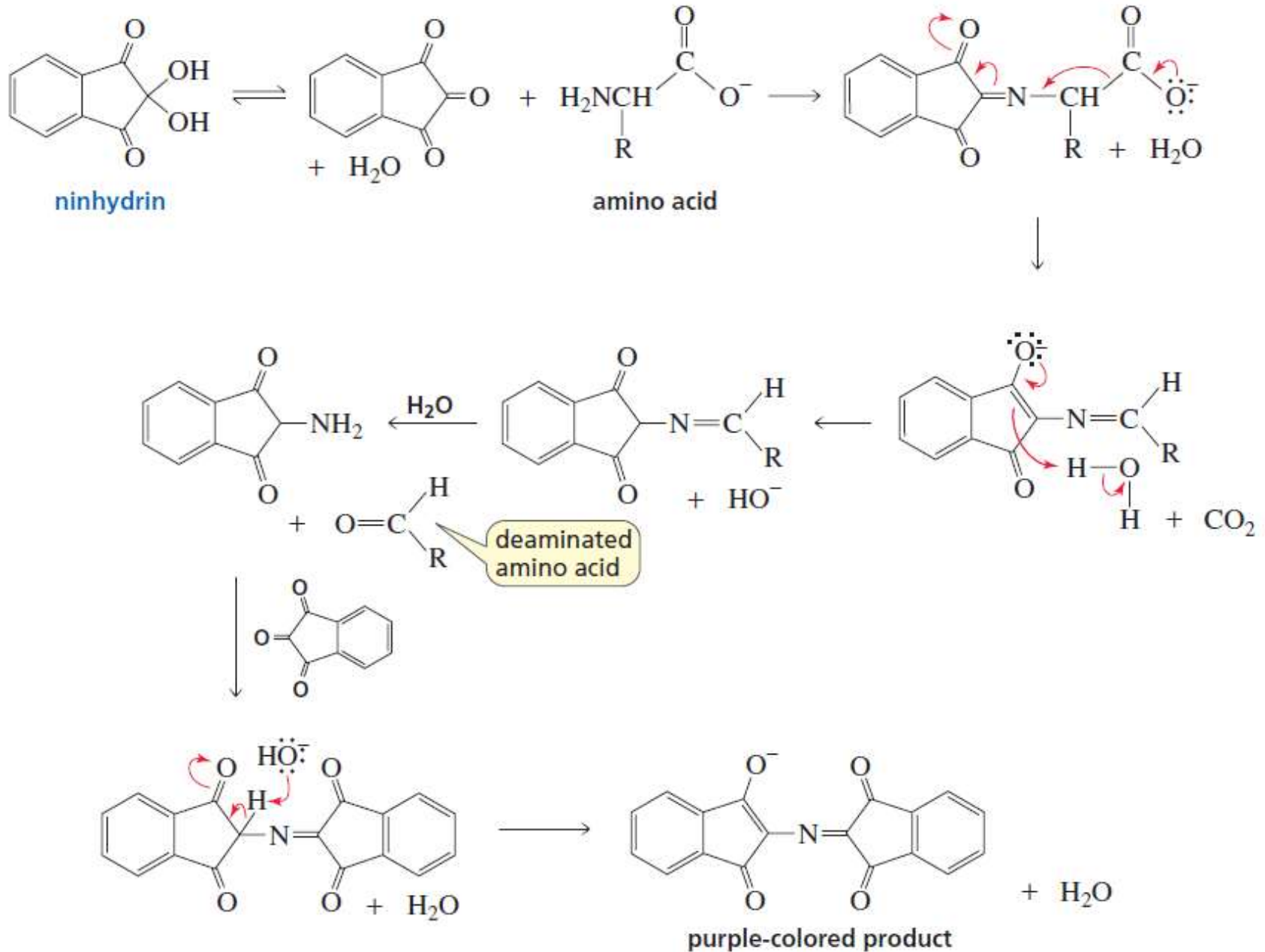
TABLE 25.2**Acid–Base Properties of Amino Acids with Neutral Side Chains**

Amino acid	pK_{a1}^*	pK_{a2}^*	pI
Glycine	2.34	9.60	5.97
Alanine	2.34	9.69	6.00
Valine	2.32	9.62	5.96
Leucine	2.36	9.60	5.98
Isoleucine	2.36	9.60	6.02
Methionine	2.28	9.21	5.74
Proline	1.99	10.60	6.30
Phenylalanine	1.83	9.13	5.48
Tryptophan	2.83	9.39	5.89
Asparagine	2.02	8.80	5.41
Glutamine	2.17	9.13	5.65
Serine	2.21	9.15	5.68
Threonine	2.09	9.10	5.60
Tyrosine	2.20	9.11	5.66

TABLE 25.3**Acid–Base Properties of Amino Acids with Ionizable Side Chains**

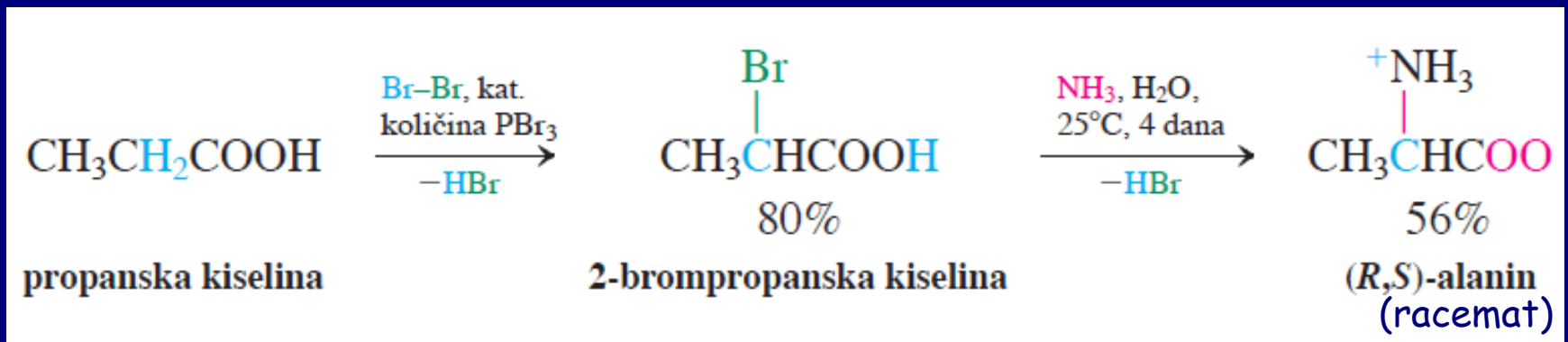
Amino acid	pK_{a1}^+	pK_{a2}	pK_a of side chain	pI
Aspartic acid	1.88	9.60	3.65	2.77
Glutamic acid	2.19	9.67	4.25	3.22
Lysine	2.18	8.95	10.53	9.74
Arginine	2.17	9.4**	13.8**	11.6**
Histidine	1.82	9.17	6.00	7.59

Ninhidrinska reakcija



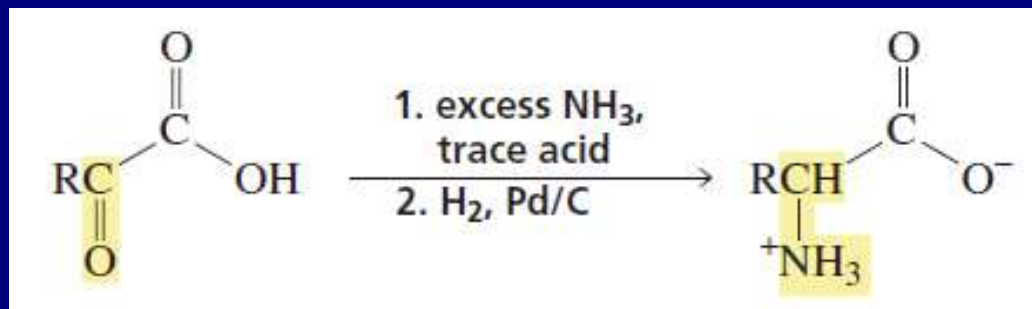
Sinteze aminokiselina

1. Hell-Volhard-Zelinsky + uvođenje NH₂

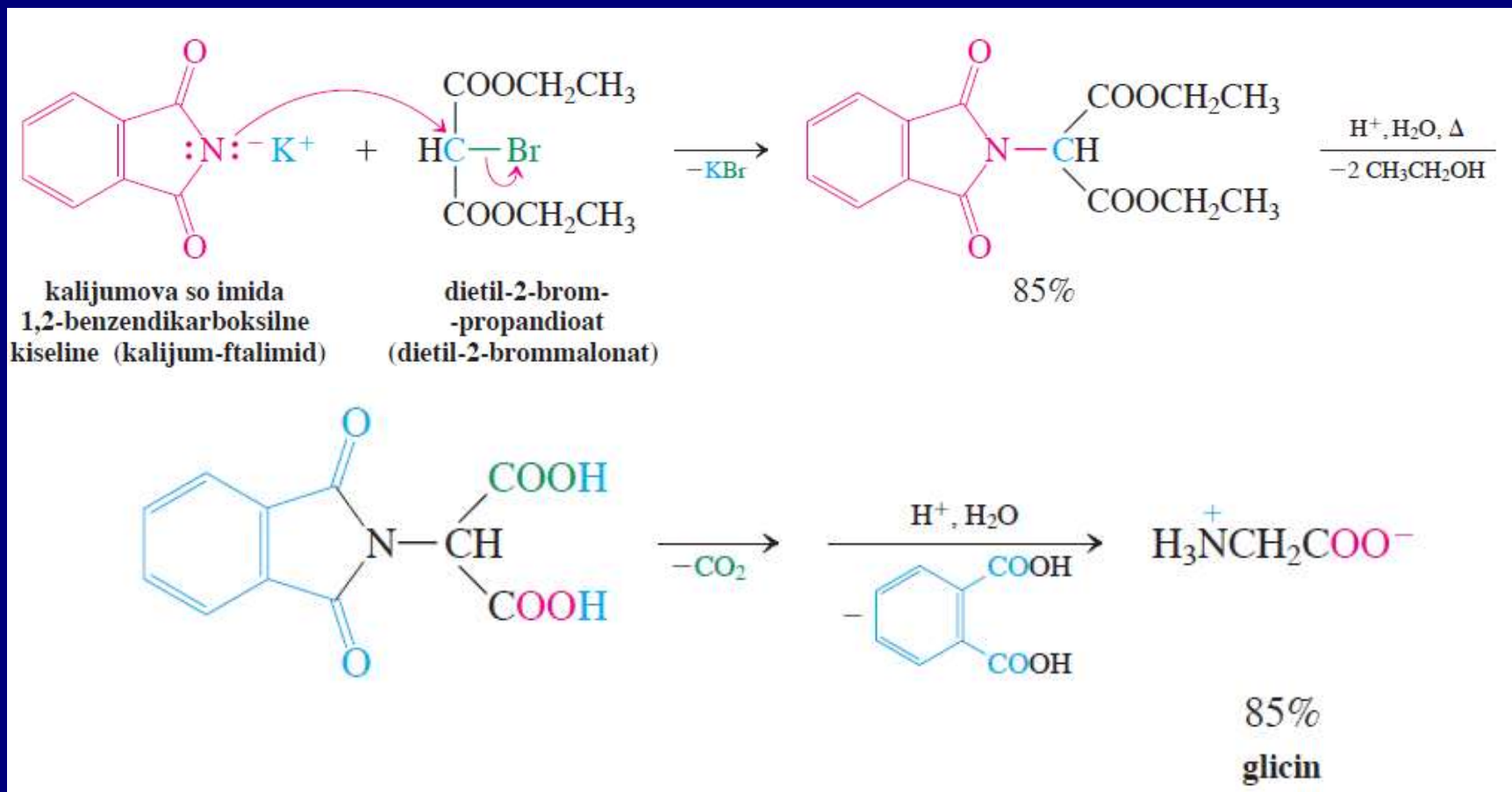
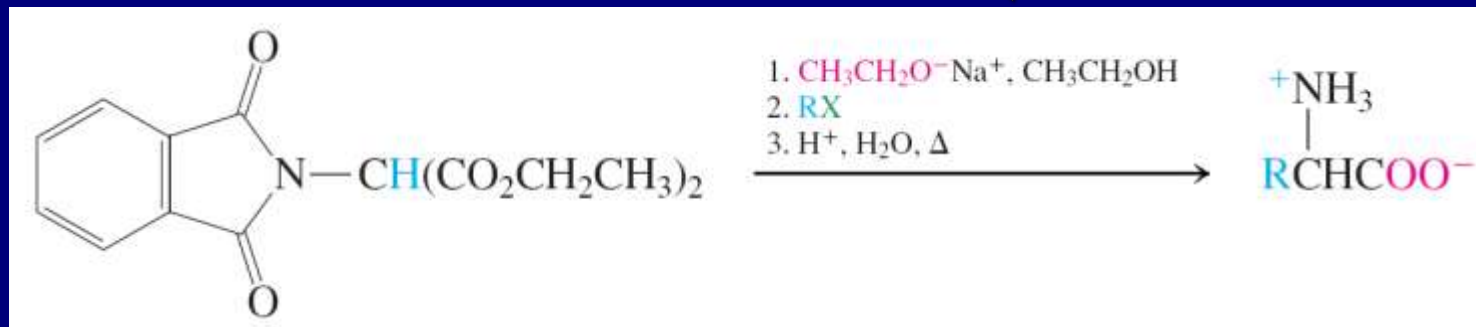


Prinos nije najbolji!!!

Reduktivno aminovanje keto-kiselina



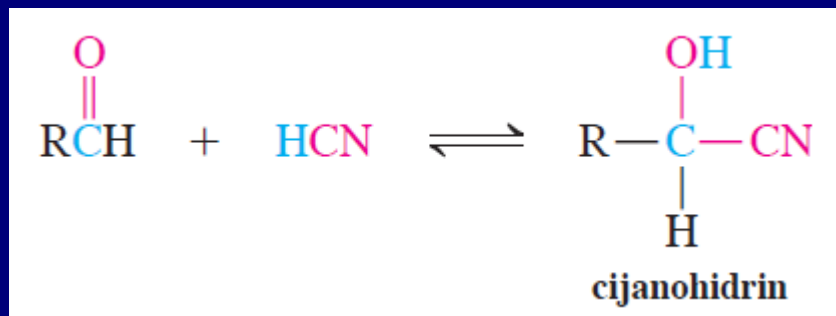
2. Gabriel-ova sinteza (RX → RNH₂)



3. Strecker-ova sinteza

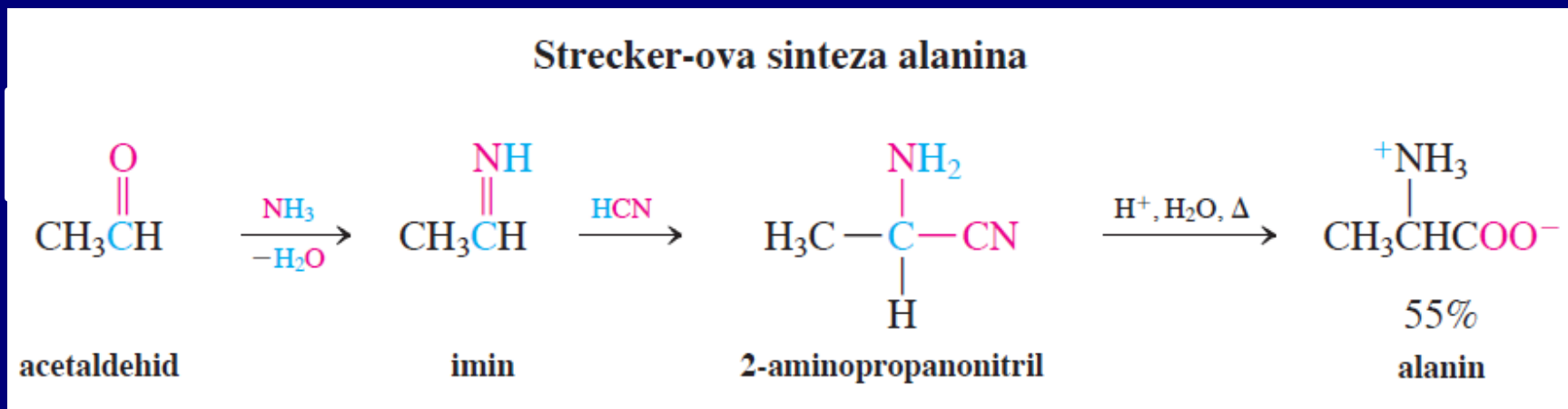
Adicija CN na imine + hidroliza

podsećanje:



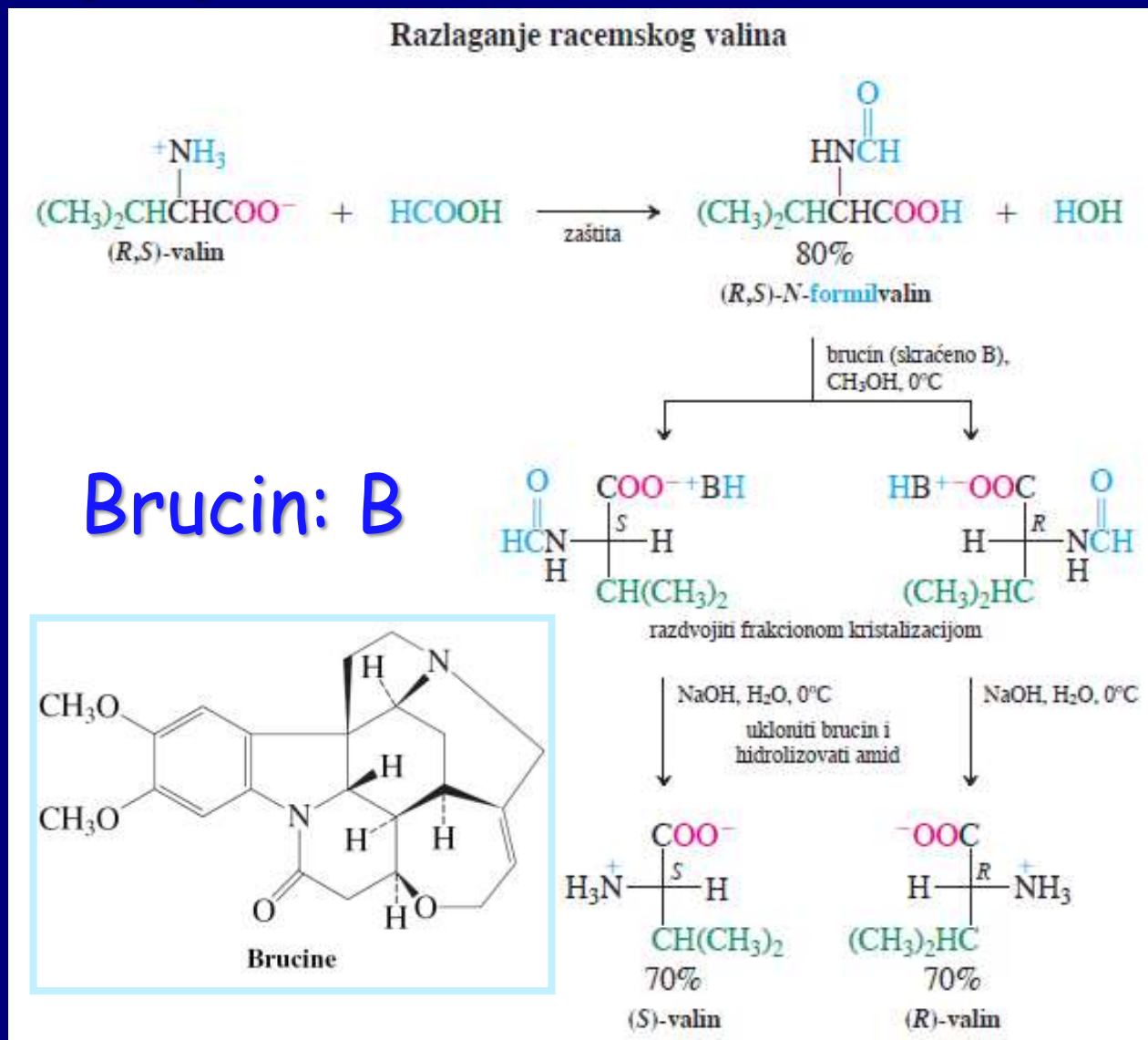
Adolf Strecker
(1822-1871)

Reakcija aldehida sa HCN u prisustvu amonijaka to jest sa NH_4CN , ili $\text{NH}_4\text{Cl}/\text{NaCN}$, dobijaju se aminocijanidi:

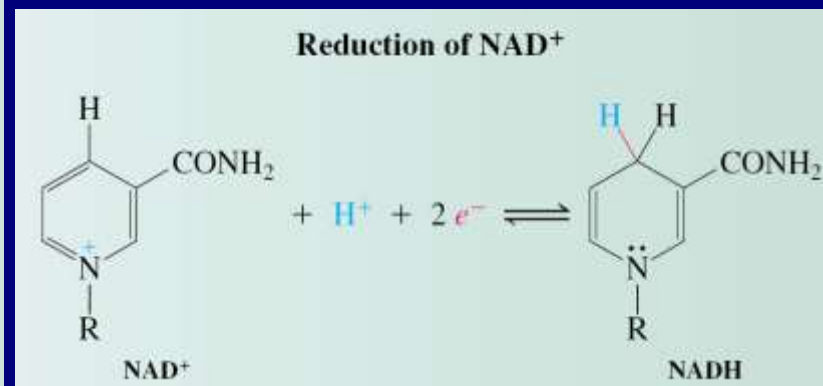
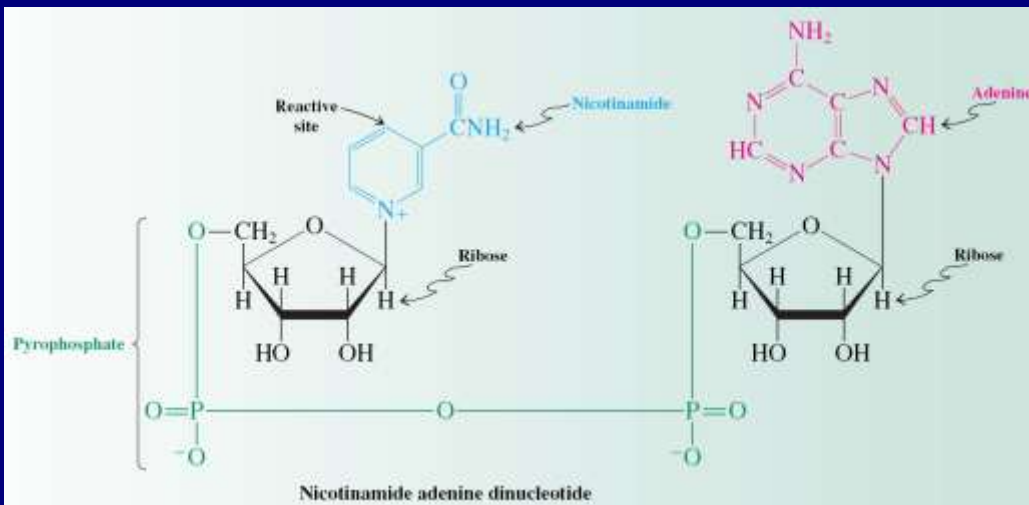
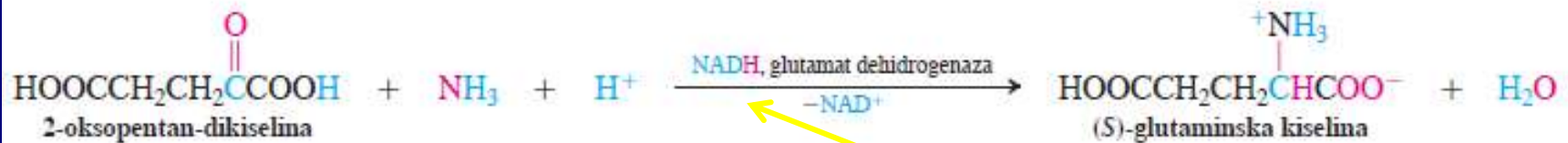
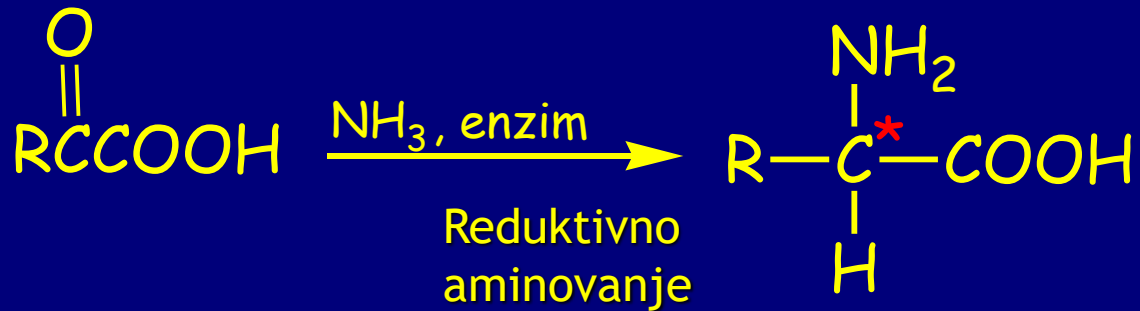


4. Dobijanje enantiomerno čistih aminokiselina

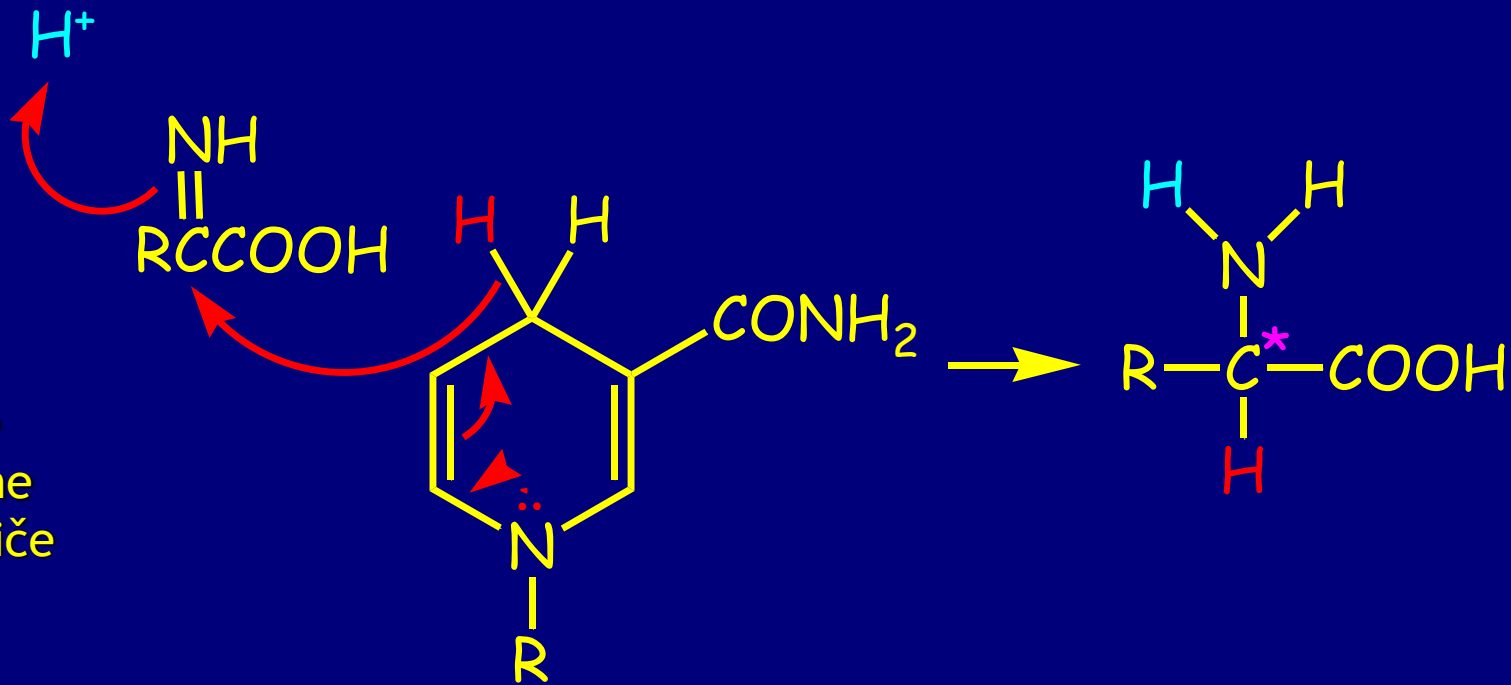
a. Razdvajanjem racemata:



b. Biosinteza aminokiselina

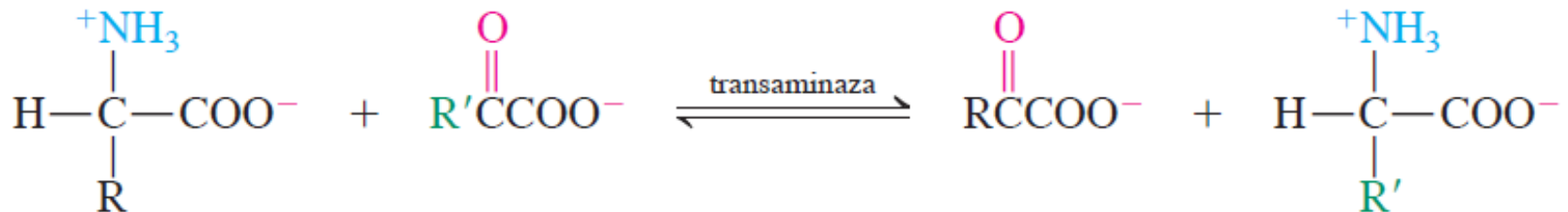


Mehanizam:

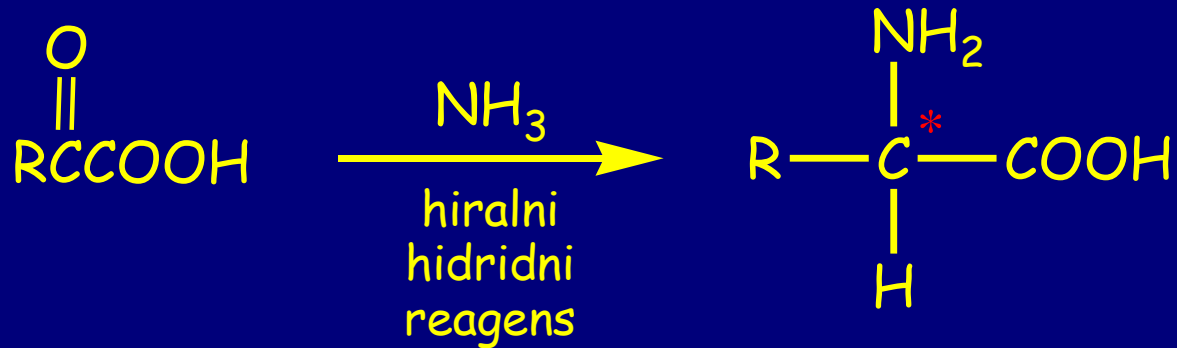


Transfer hidrida samo sa jedne strane dvostruke veze usled hiralne okoline koja potiče od enzima.

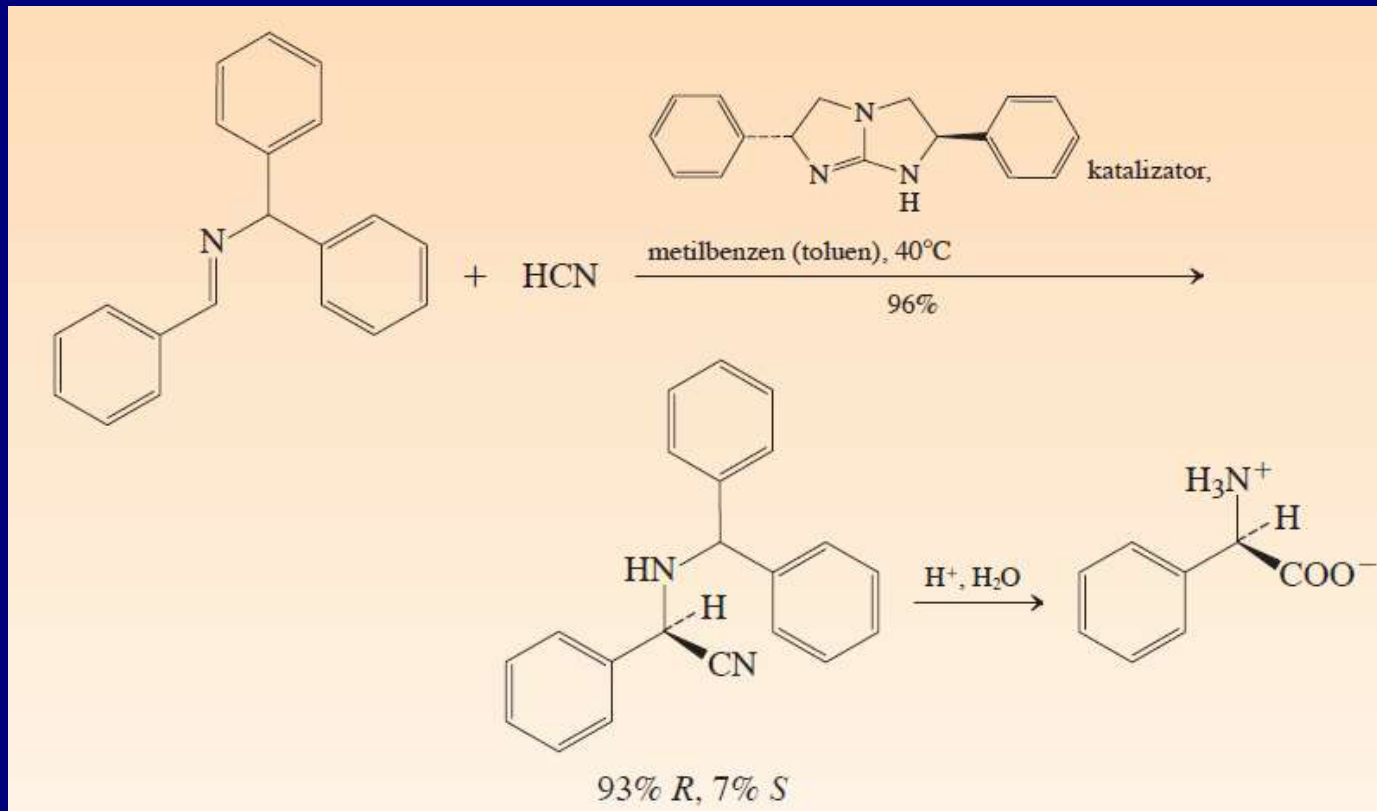
Glutaminska kiselina uz pomoć transaminaze služi za prevođenje keto-kiselina u amino kiseline



c. Primena hiralnih reagenasa

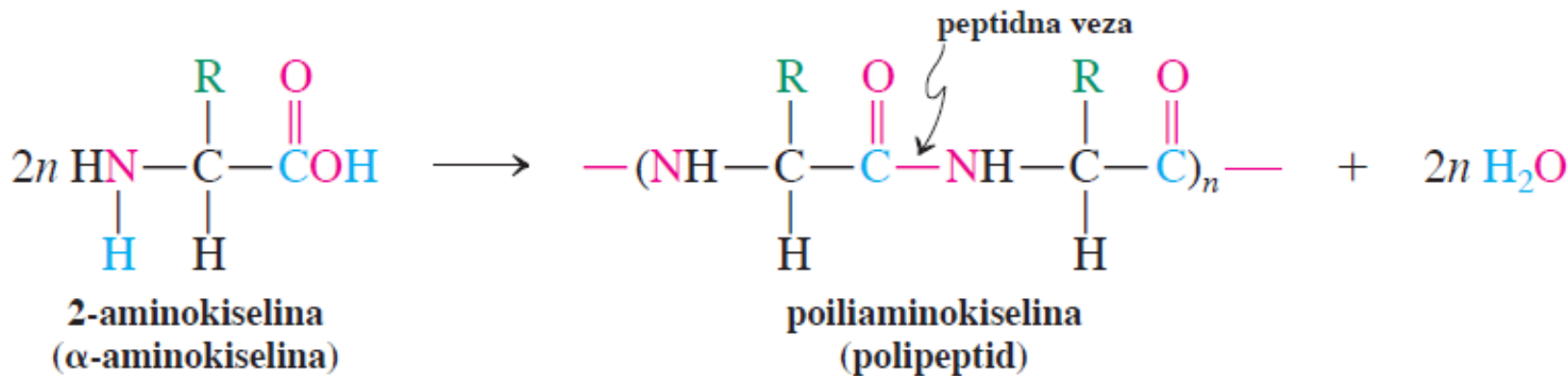


Enantioselektivna Strecker-ova sinteza



Peptidi

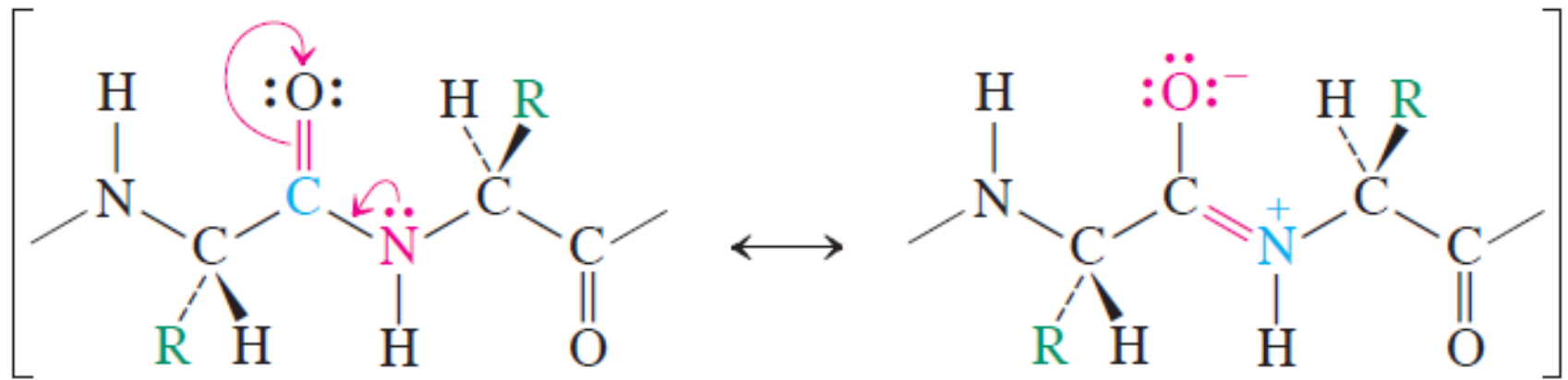
Aminokiseline grade peptidnu vezu



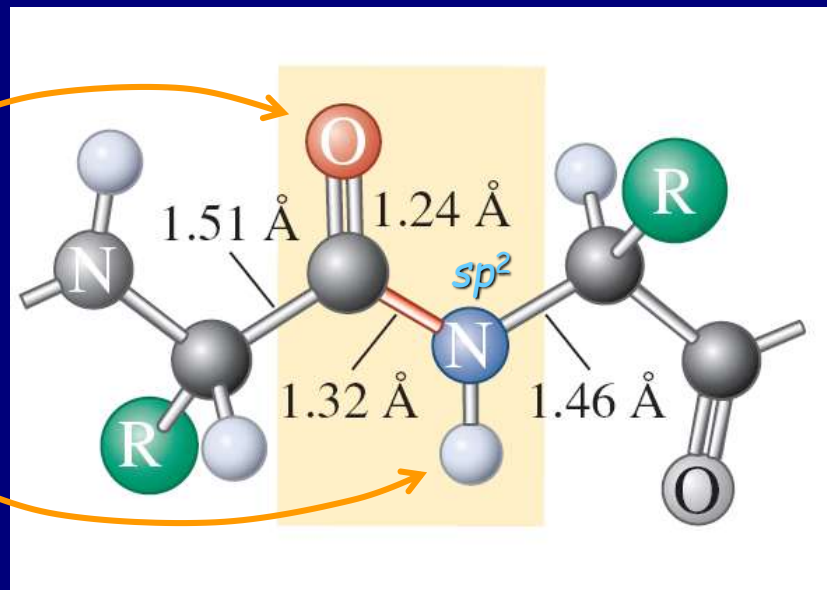
Dimer = dipeptid, trimer = tripeptid, i tako dalje. Na uređenost polipeptidnog lanca utiču: vodonične veze, elektrostatičke interakcije, hidrofobne-hidrofilne interakcije (sa vodom), i krutost amidne veze.

Krutost i planarnost peptidne veze posledica rezonancije

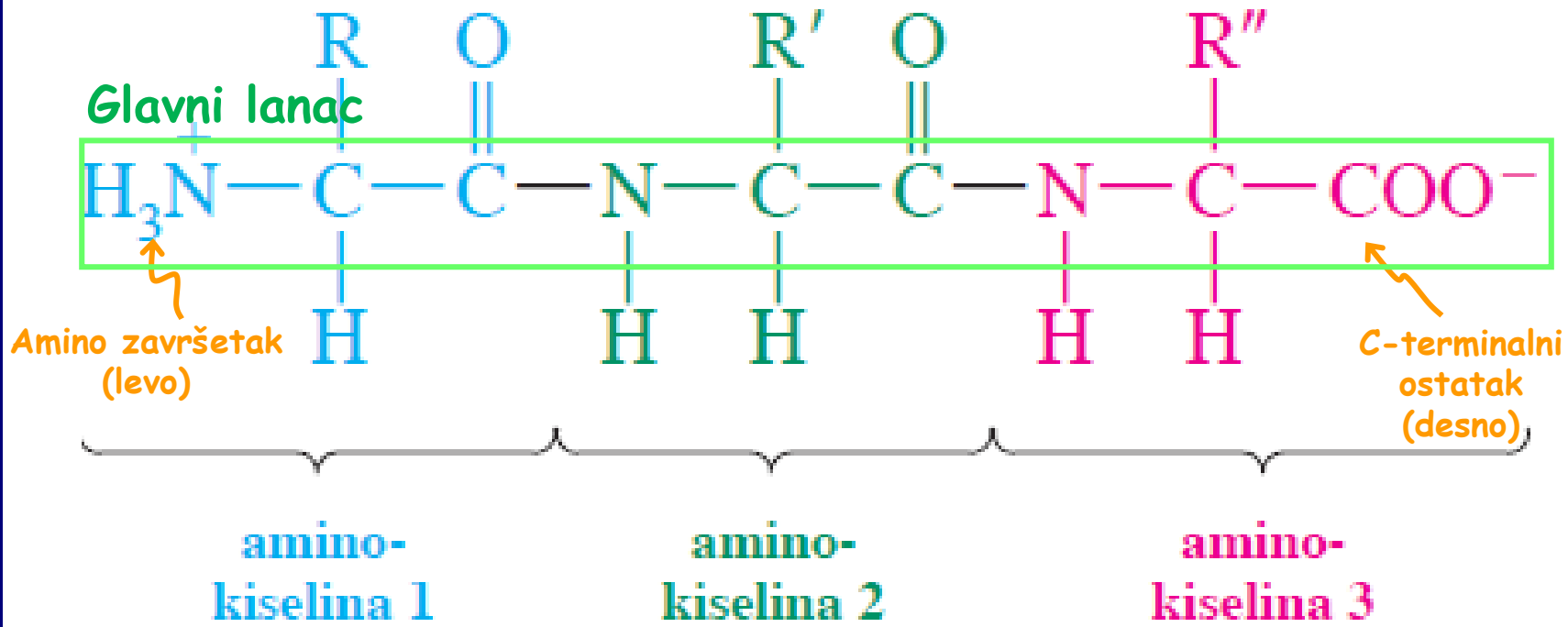
Rezonancija peptidne veze uslovljava planarnost



trans



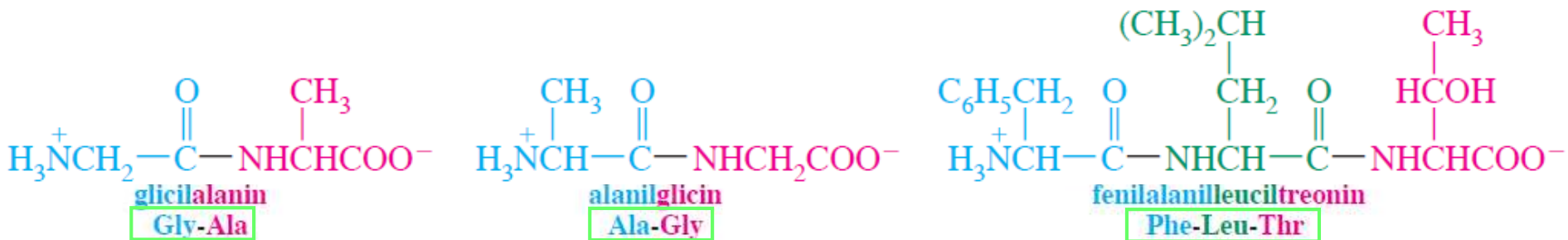
Predstavljanje strukture tripeptida



R, R', R'', se nazivaju boćni nizovi.

Svi stereocentri su S (osim na cisteinskom ostatku)

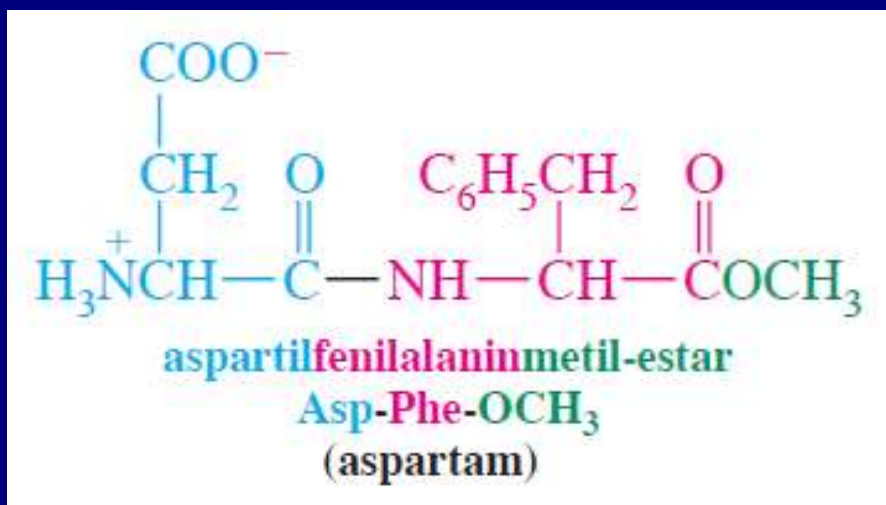
Imenovanje: Sve aminokiseline se navode redom od N-kraja sa nastavkom il, dok se ne dođe do C-kraja



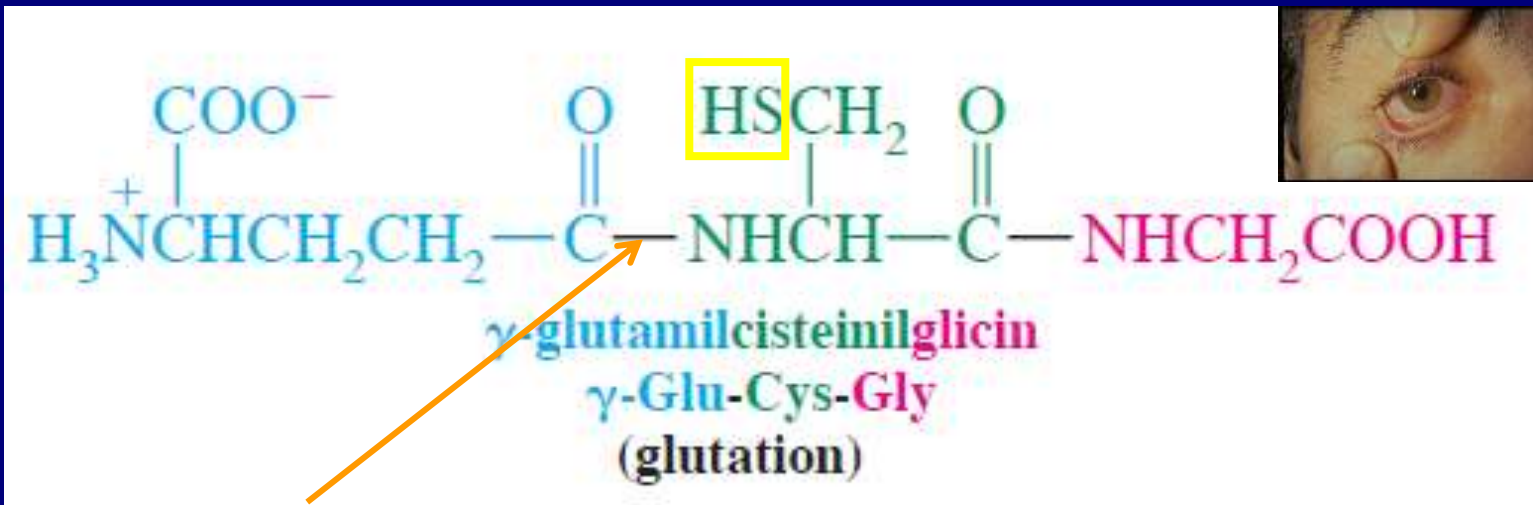
kod od tri slova
skraćenice imena aminokiselina

Primeri peptida

Nutrasweet, niskokalorični veštački zaslađivač
200 puta sladji od šećera, energetska vrednost samo 4 cal/g naspram 4 kcal/g (za saharozu).
poređenje: mast 9 kcal/g, čokolada 3 kcal/g.



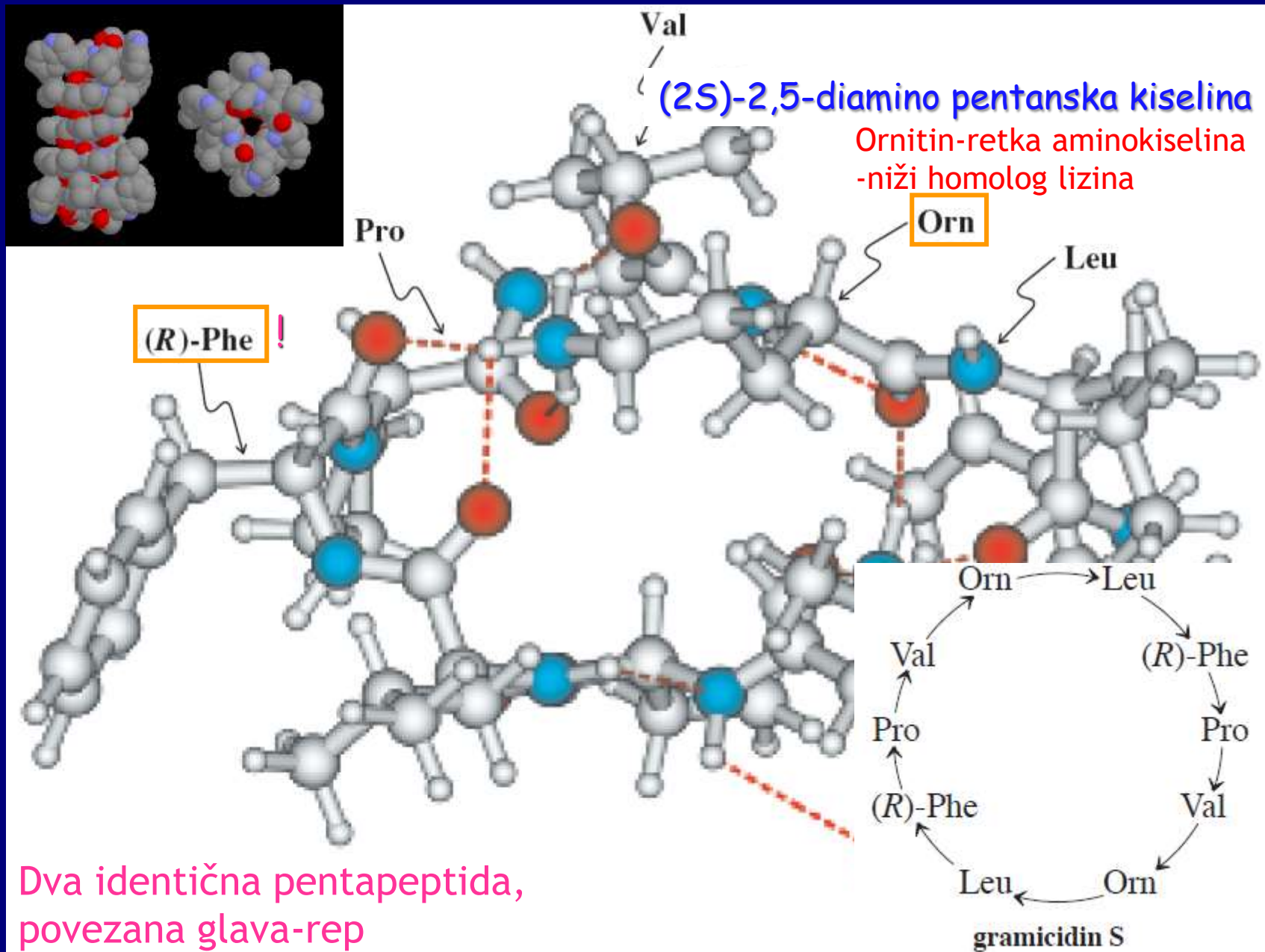
Glutation



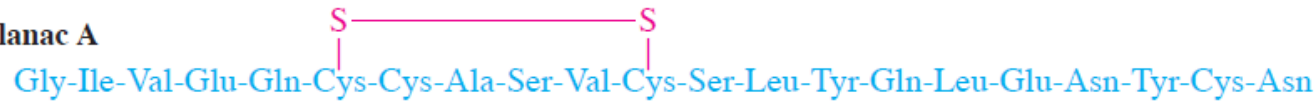
Primer za netipičnu peptidnu vezu: Glutaminska kiselina gradi amidnu vezu preko γ -karboksilne grupe (γ -Glu).

Nalazi se u svim živim ćelijama posebno u očnom sočivu. Deluje kao biološko redukciono sredstvo, jer se njegova cisteinska merkapto-grupa lako enzimski oksiduje u disulfidnim vezama premošteni dimer.

Gramicidin S: ciklični peptidni antibiotik



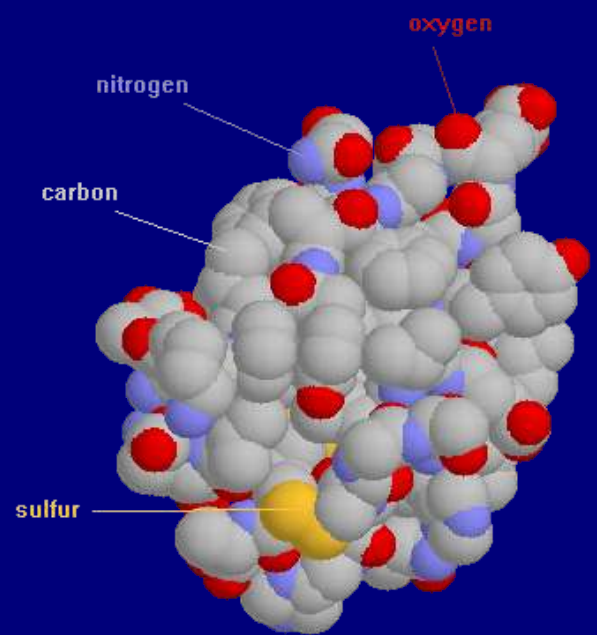
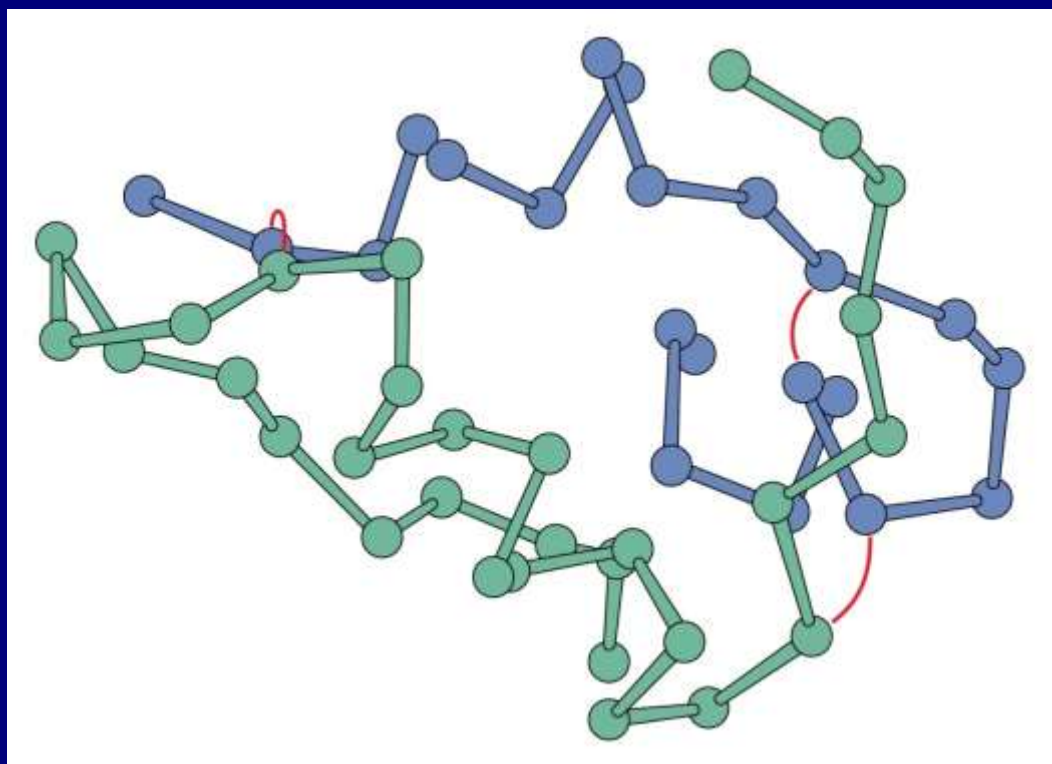
Insulin: Proteinski hormon koji se koristi za lečenje šećerne bolesti. Lanci A i B povezani disulfidnim mostovima



5 10 15 21



5 10 15 20 25 30

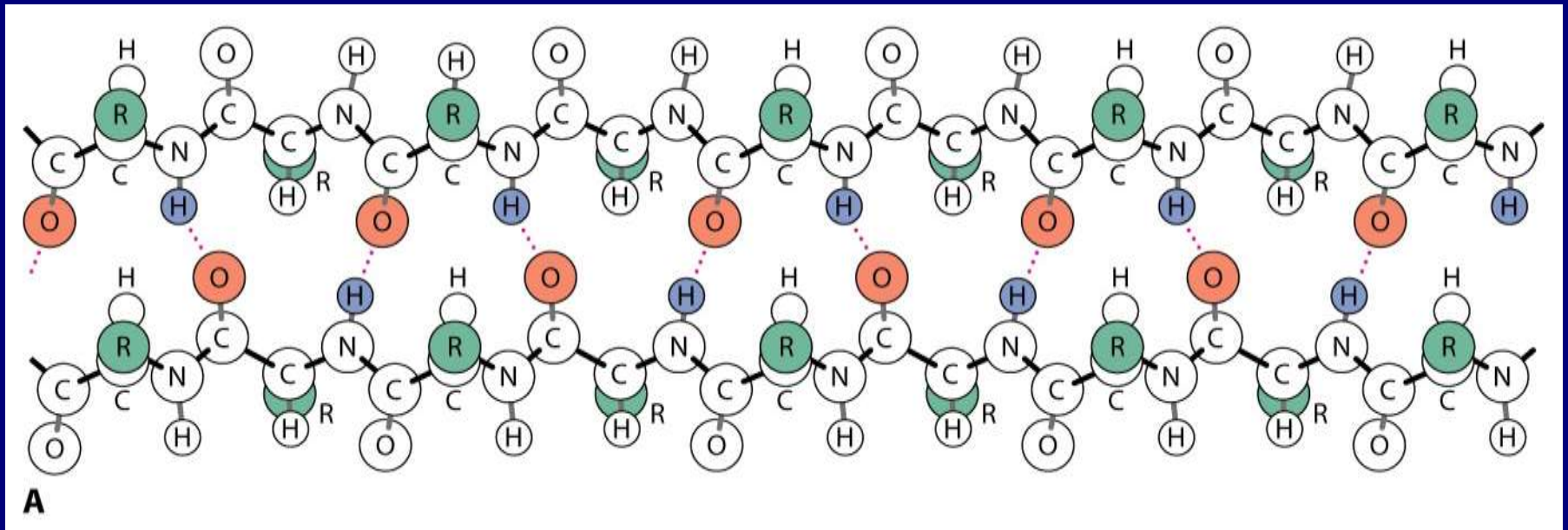


INSULIN (CPK colors)

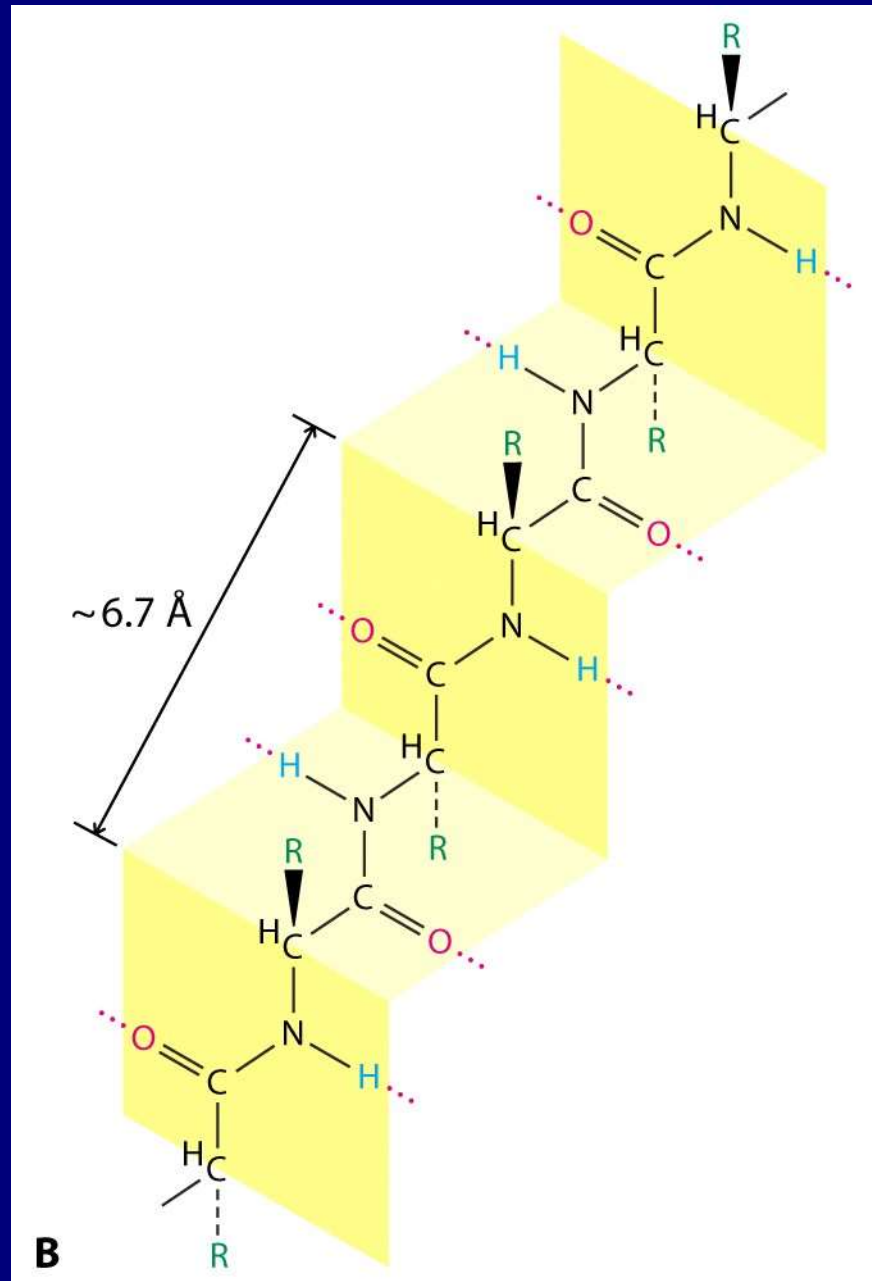
Primarnu strukturu predstavlja redosled aminokiseline.
Trodimenzionalni raspored proteina se opisuje preko sekundarne, tercijarne i kvaternerne strukture.

Sekundarna struktura: vodonične veze

Nabrane strukture: formiranje vodonični veza između dva lanca

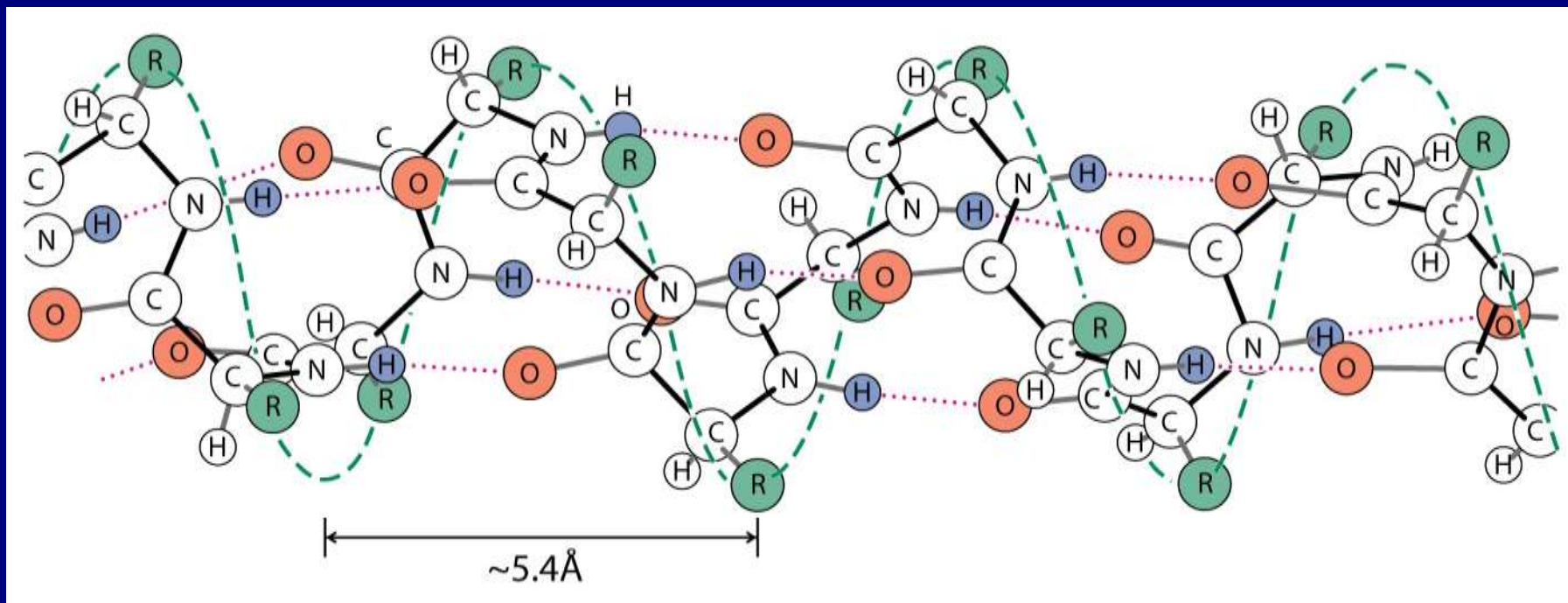


Peptidne veze definišu nabore



α - Heliks

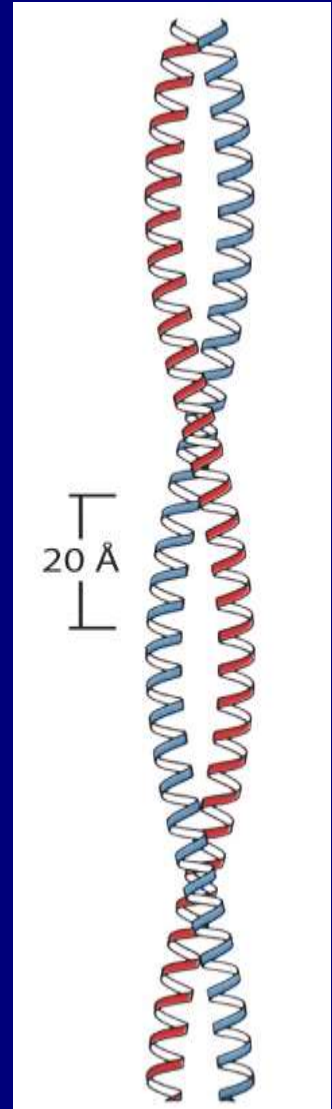
Kod α -heliksa omogućeno je intramolekulsko vezivanje između aminokiselina u lancu, pri čemu se formira spirala od 3,6 aminokiselina po zavoju a dve ekvivalentne tačke susednih zavoja udaljene su oko 5,4 Å



Tercijarna struktura: dobija se daljim savijanjem, uvijanjem u spiralu i drugim agregacijama polipeptida. Denaturacija je razgradnja ove strukture

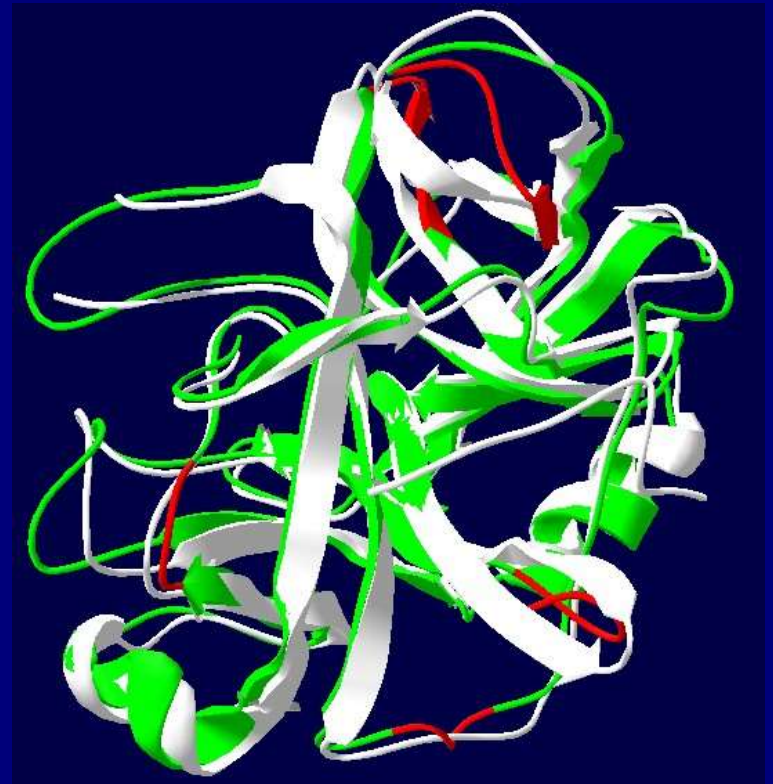
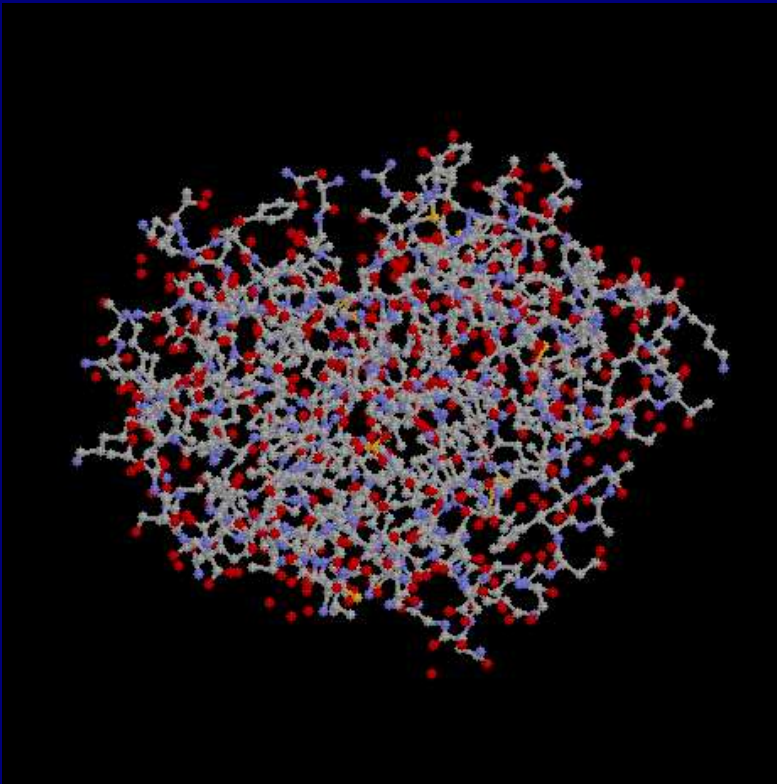
Idealizovana slika
superheliksa,
spiralne spirale

Fibrilarni proteini:
miozin (u mišićima),
fibrin (u zgrušanoj krvi),
 α -keratin (u kosi, noktima i vuni)



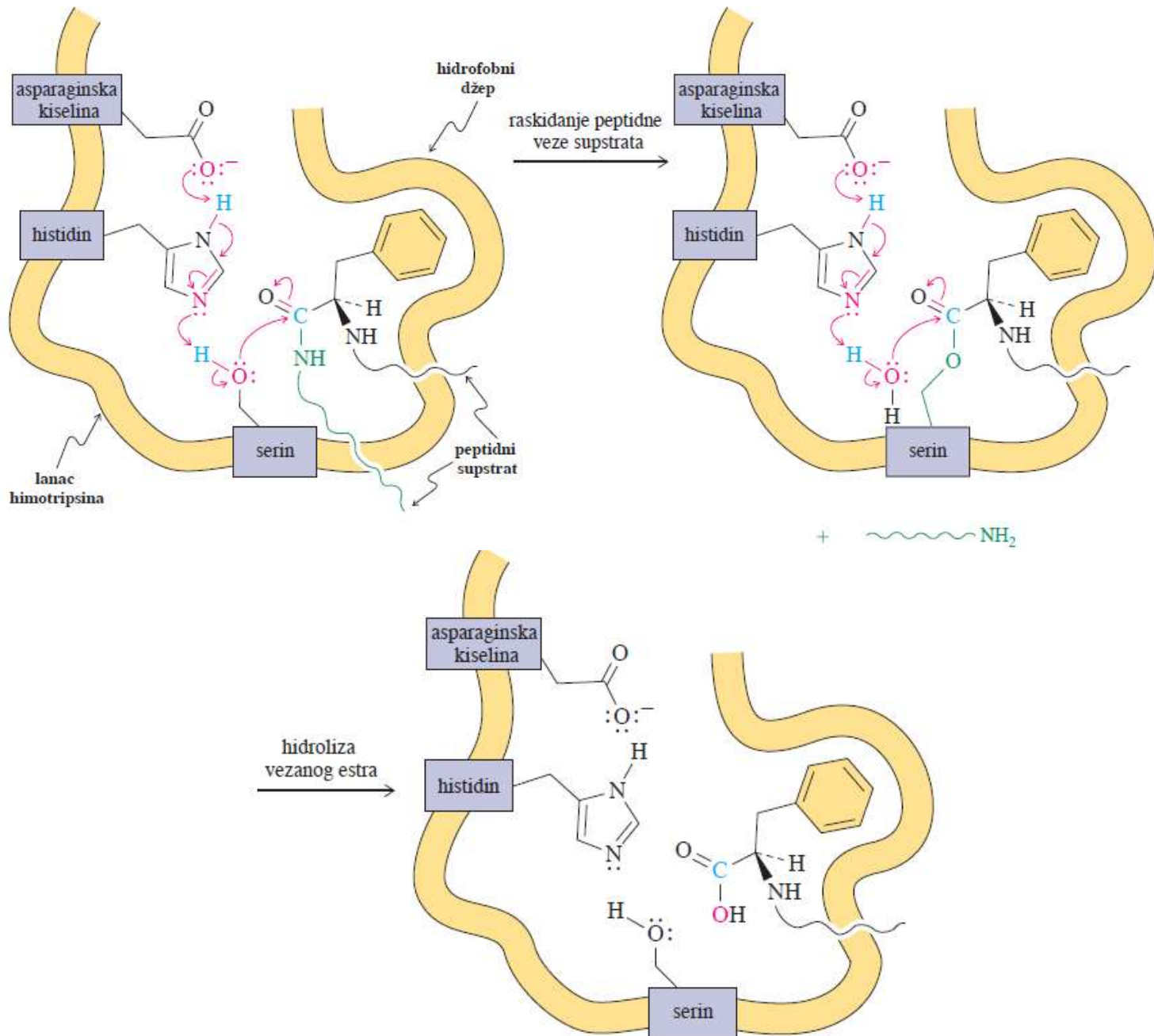
Tercijarna struktura enzima i transportnih proteina definiše trodimenzionalni džep, ili aktivno mesto u koje se specifično uklapa određeni supstrat.

Primer: Himotripsin, enzim odgovoran za razlaganje proteina iz hrane



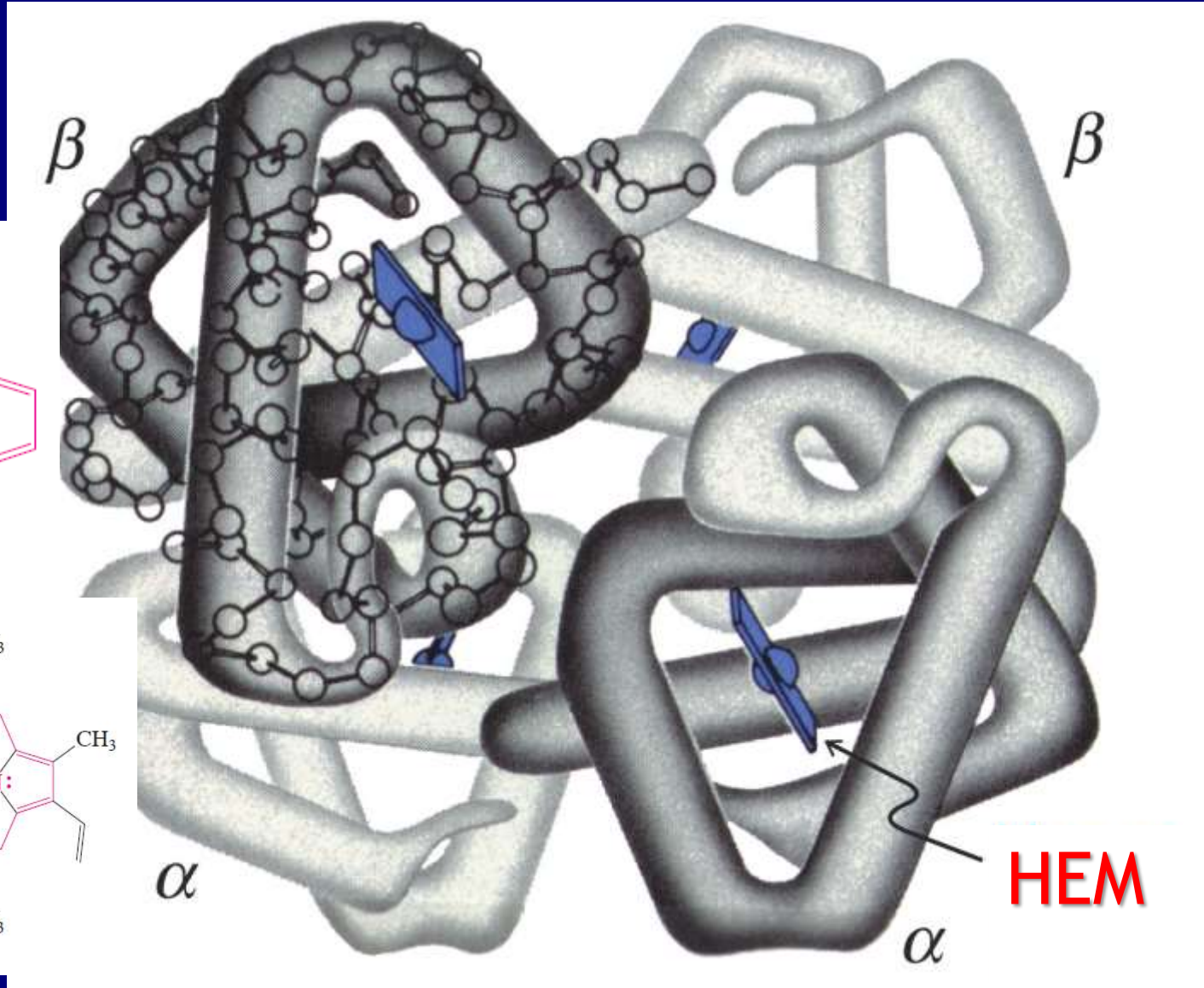
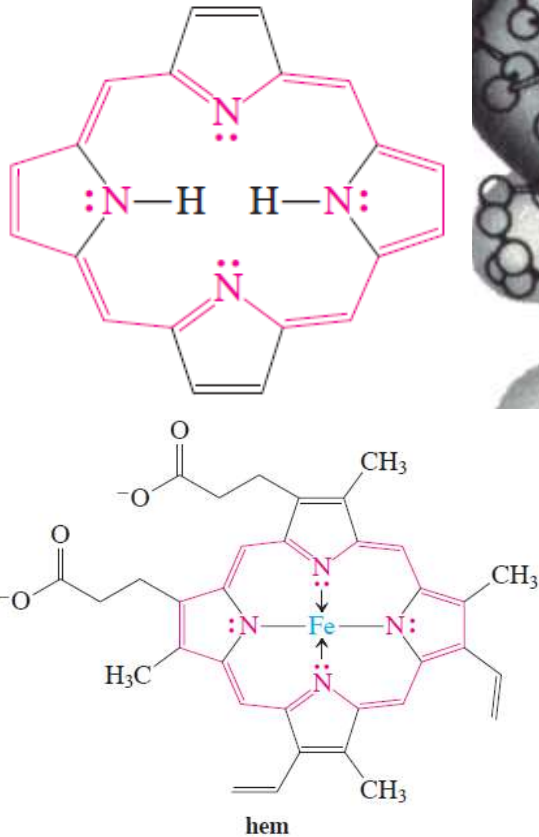
Himotripsin omogućava hidrolizu amidne veze

Enzim prepoznaje određene proteine i selektivno ih raskida, kao što je karboksilni kraj fenilalaninskih ostataka



Kvaternerna struktura: Agregacija nekoliko jedinica

Primer:
Hemoglobin

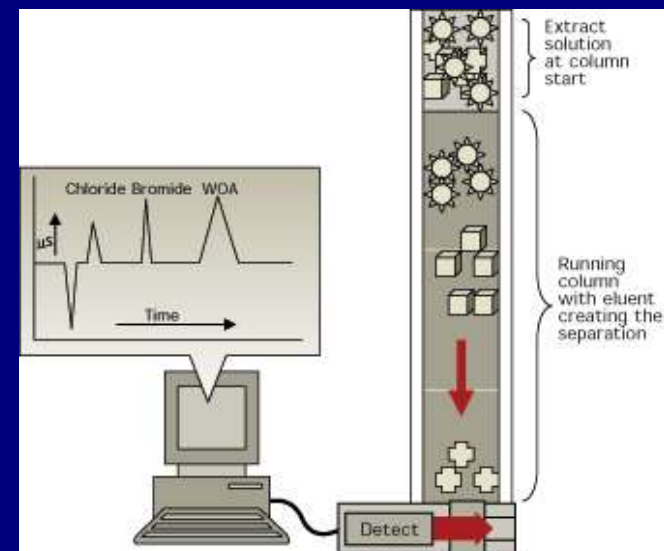


Određivanje primarne strukture proteina *sekvencionisanje polipeptida*

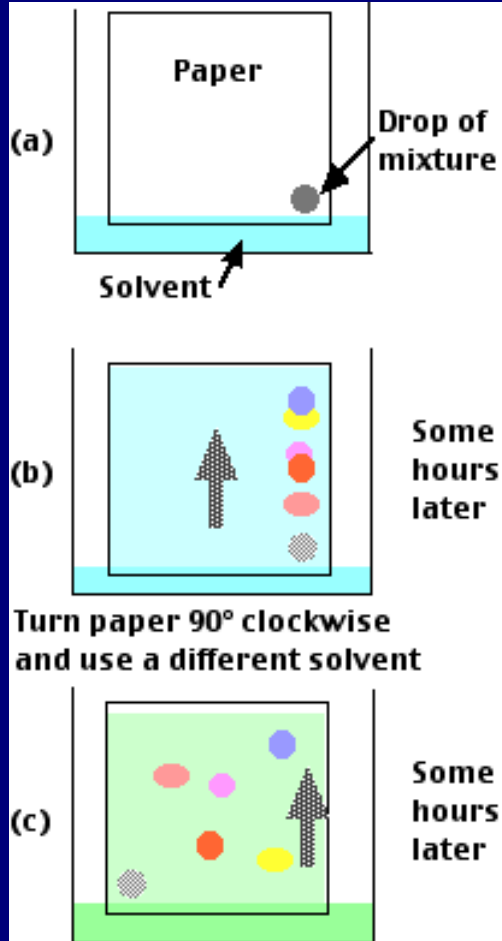
1. Raskidanje disulfidnih mostova oksidacijom → razdvajanje



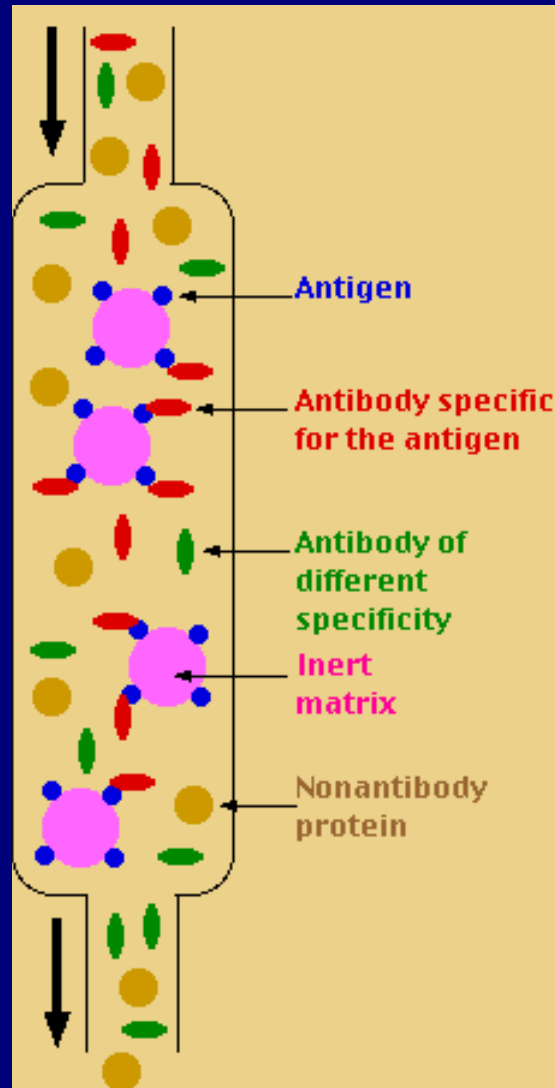
Prečišćavanje primenom različitih metoda: Dijaliza, gel-filtracija, jonoizmenjivačka hromatografija, elektroforeza, afinitetna hromatografija



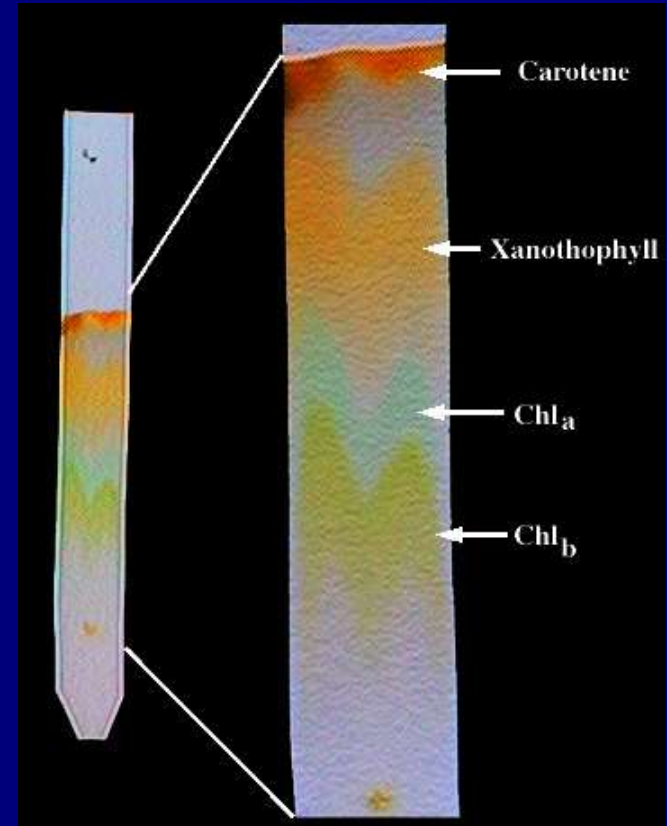
Hromatografija



Papir



Afinitetna hromatografija

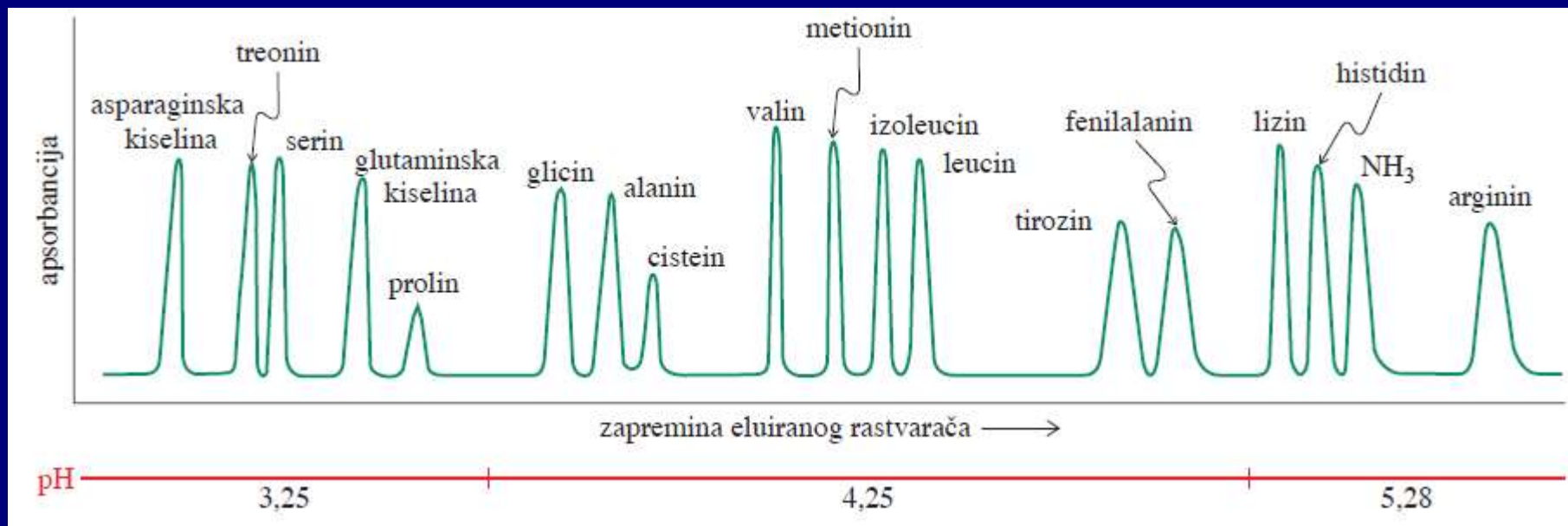


Kolona

2. Određivanje prisutnih aminokiselina određivanje sastava polipeptida

Potpuna hidroliza polipeptida na aminokiseline od kojih je sastavljen (6 N HCl, 110 °C, 24 h). Razdvajanje aminokiselina hromatografijom na koloni i detekcija

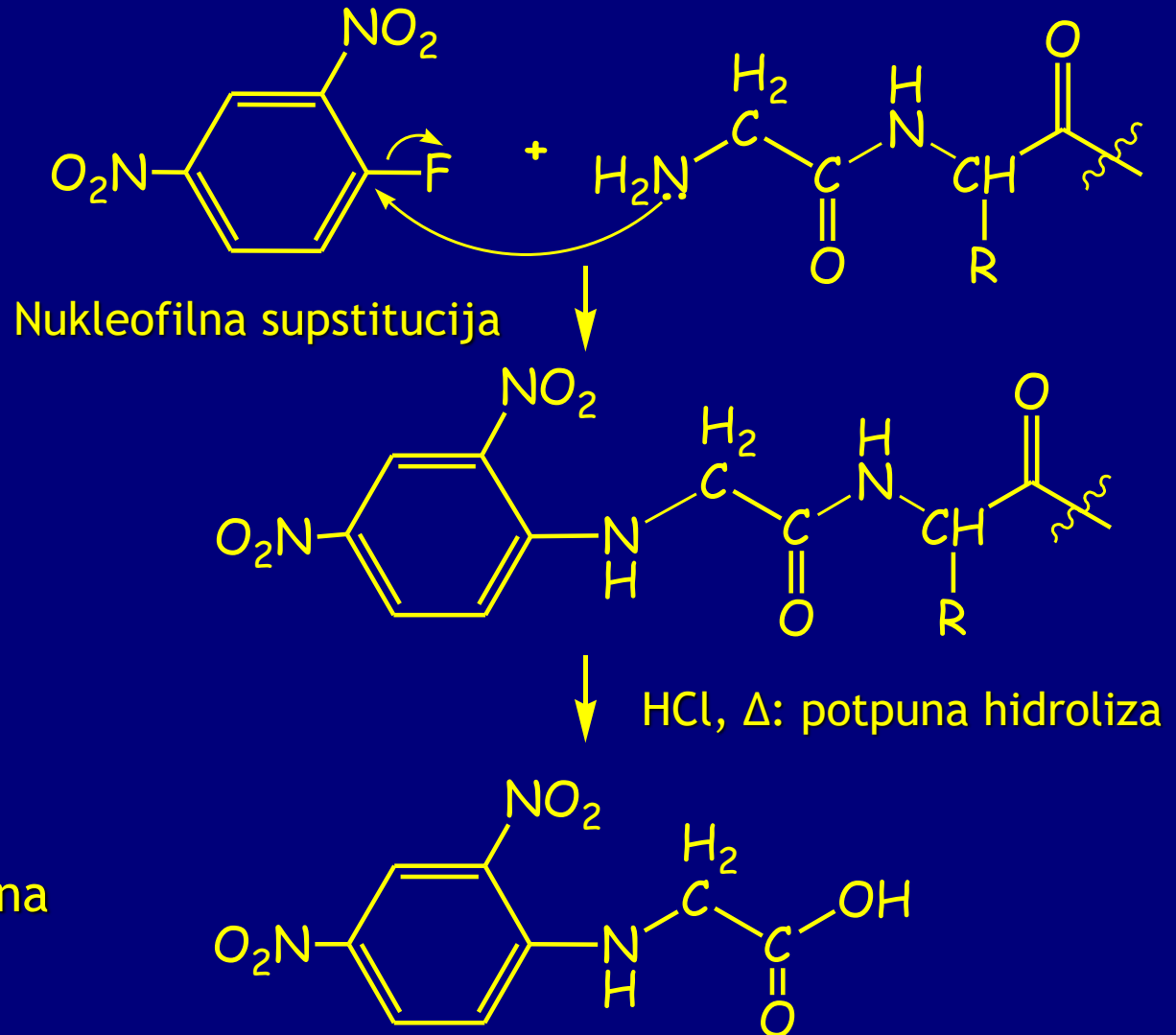
Različite aminokiseline



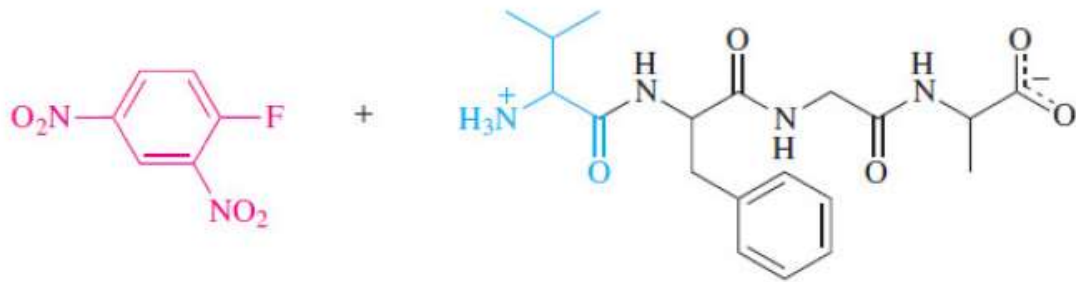
3. Sekvencionisanje peptida

utvrđivanje rasporeda aminokiselina

a. Sanger:
degradacija od
N-terminalne
aminokiseline



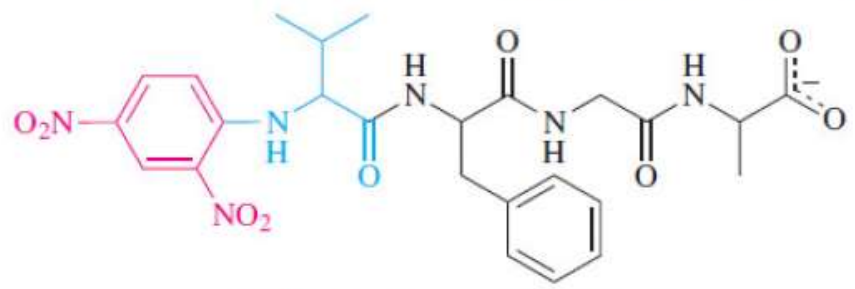
Analiza: dinitrofenil
derivati svih aminokiselina
su poznati



1-Fluoro-2,4-dinitrobenzene

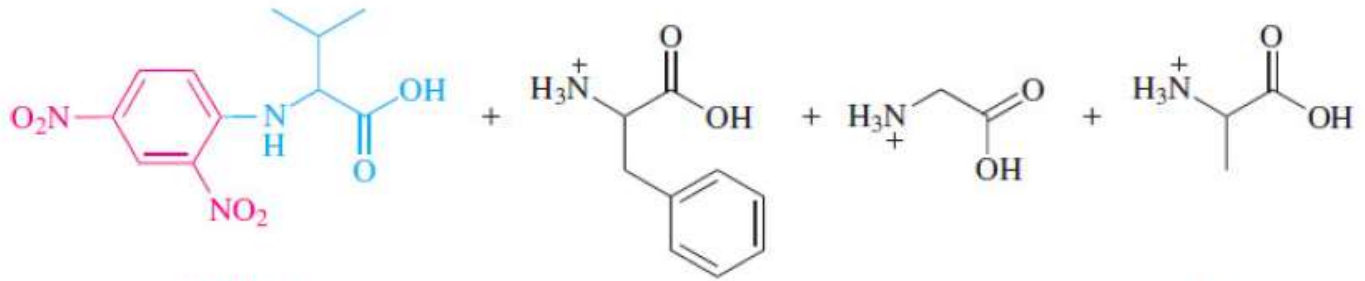
Val-Phe-Gly-Ala (VFGA)

Na_2CO_3 ↓ The purpose of Na_2CO_3 is to deprotonate the N-terminal nitrogen. The resulting amino group then reacts with 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene by nucleophilic aromatic substitution.



DNP-Val-Phe-Gly-Ala (DNP-VFGA)

H_3O^+ ↓ Acid hydrolysis cleaves the amide bonds and gives the 2,4-dinitrophenyl derivative of the N-terminal amino acid and a mixture of unlabeled amino acids.



DNP-Val

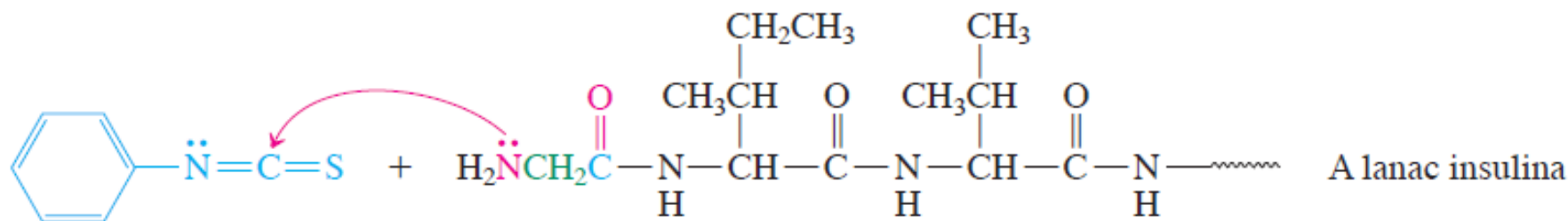
Phe (F)

Gly (G)

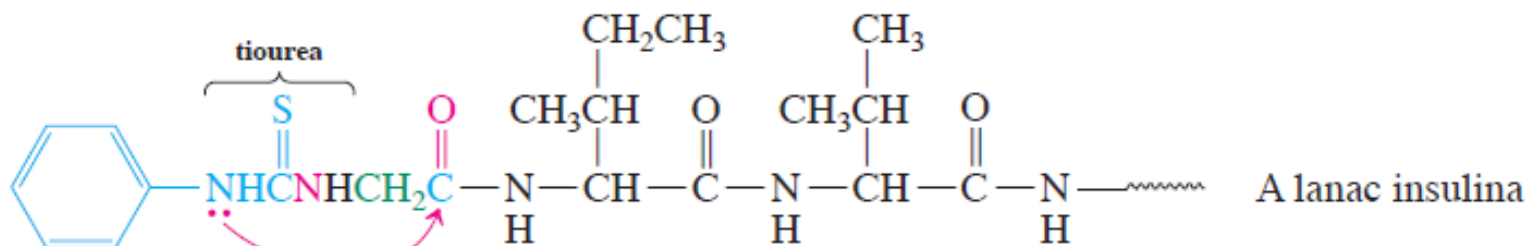
Ala (A)

b. Edman-ova degradacija sekvencionisanje od N-terminalne aminokiselina

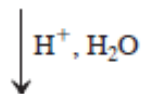
Edman-ova degradacija A lanca insulina

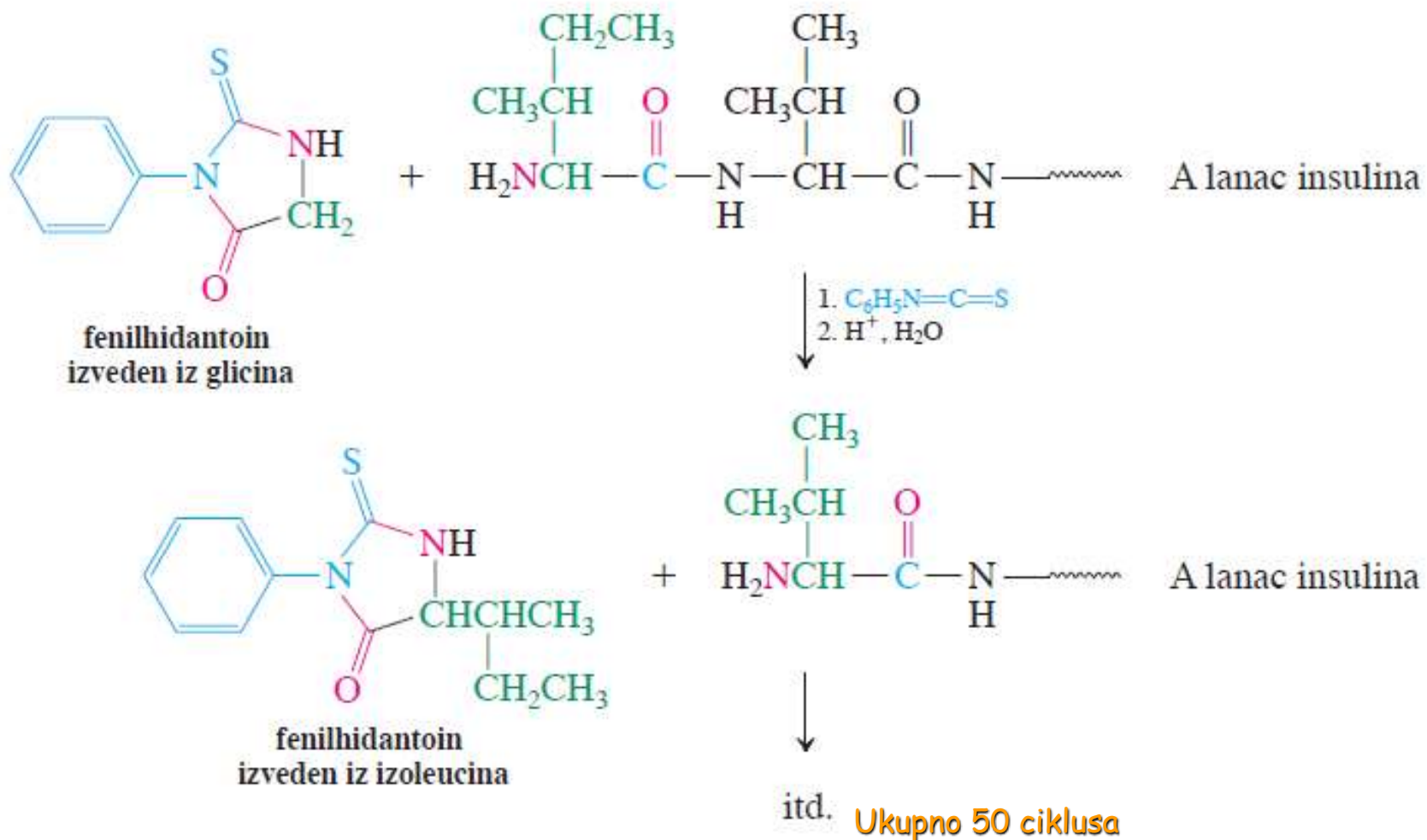


Fenilizotocijanat
sličnost sa R-N=C=O

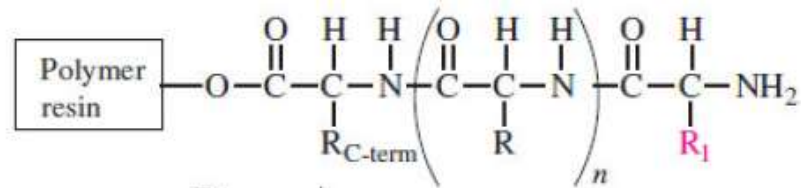


Transamidacija



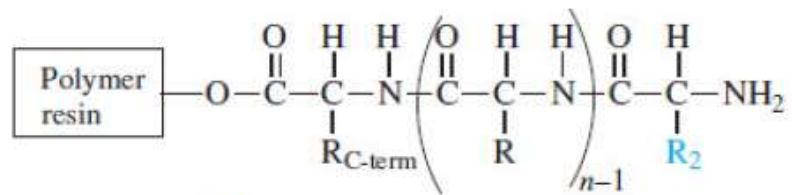
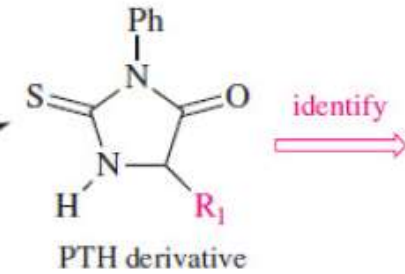


Fenilhidantoini svih aminokiselina su poznati. Edman-ovom degradacijom se uspešno sekvencioniraju kraći polipeptidi (do 50 aminokiselinskih lanaca). Zato se veći lanci raskidaju na manje fragmente, na selektivan i predvidiv način, a potom sledi Edman-ova degradacija.



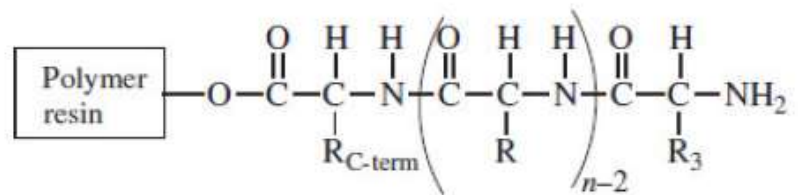
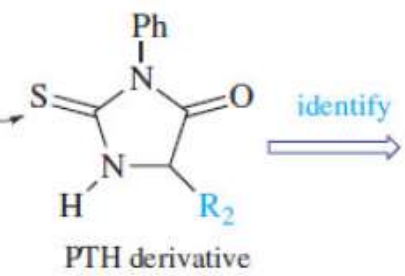
Edman reactions

wash



Edman reactions

wash



continue cycles

Raskidanje dužih nizova pomoću enzima

Tehnika preklapanja peptida

Tripsin: raskida polipeptide samo na karboksilnom kraju arginina i lizina



Himotripsin: hidrolizuje polipeptide samo na karboksilnom kraju fenilalanina, triptofana i tirozina



Termolizin: Hidrolizuje polipeptide samo na amino kraju leucina, izoleucina, valina



TABELA 26-2

Specifičnost hidrolitičkih enzima u raskidanju polipeptida

Enzim	Mesto raskidanja
tripsin	Lys, Arg, karboksilni završetak
klostripain	Arg, karboksilni završetak
himotripsin	Phe, Trp, Tyr, karboksilni završetak
pepsin	Asp, Glu, Leu, Phe, Trp, Tyr, karboksilni završetak
termolizin	Leu, Ile, Val, završetak sa amino-grupom

Vežba 26-14

Polipeptid s 21 aminokiselinom hidrolizovan je termolizinom. Proizvodi dobijeni na ovaj način, su Gly, Ile, Val-Cys-Ser, Leu-Tyr-Gln, Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser i Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn. Kada se isti polipeptid hidrolizuje himotripsinom, dobijeni su Cys-Asn, Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr i Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr. Navedite sekvencu aminokiselina ovog molekula.

Rešenje slagalice

Prvo poređati fragmente dobijene iz dva enzimska razlaganja, od većih ka manjim

Hidroliza termolizinom

Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser (a)

Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn (b)

Leu-Tyr-Gln (c)

Val-Cys-Ser (d)

Gly (e)

Ile (f)

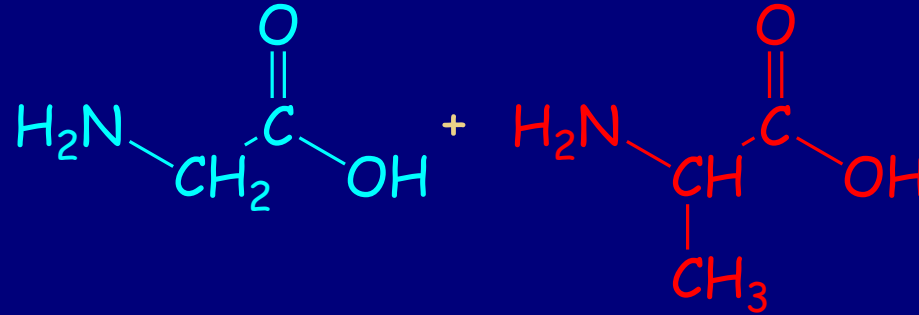
Hidroliza himotripsinom

Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser-
-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr (g)

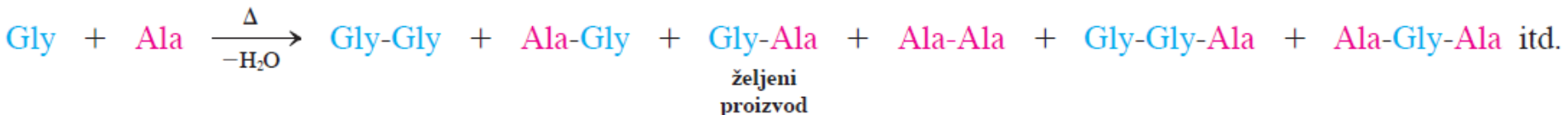
Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr (h)

Cys-Asn (i)

Sinteza polipeptida



Pokušaj sinteze glicilalanina termičkom dehidratacijom



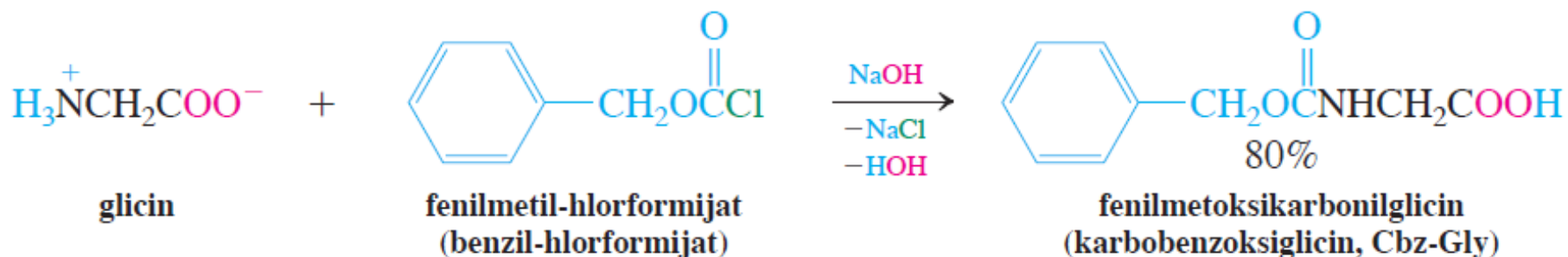
Za selektivnu sintezu neophodna je upotreba zaštitnih grupa

a. Zaštita amino-grupe sa fenilmetoksikarbonilnom grupom

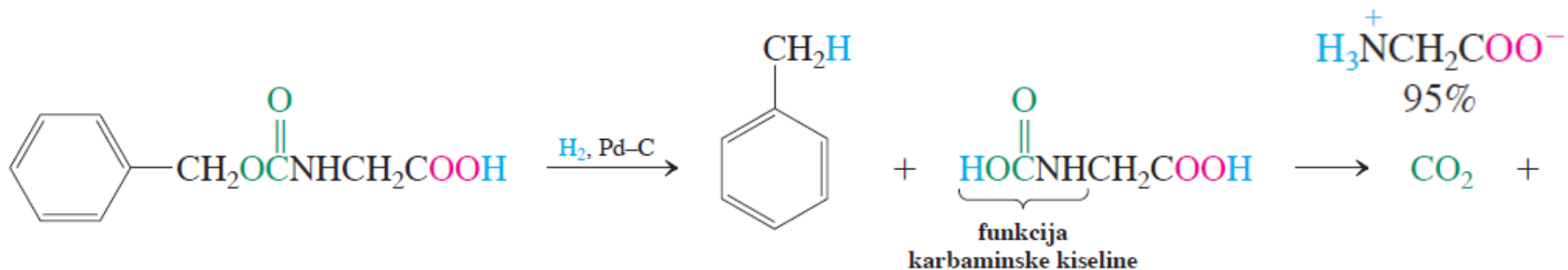


Fenilmetoksikarbonil
(karbobenzoksi, Cbz)

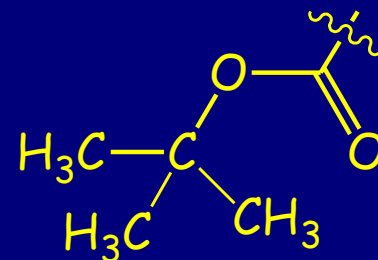
Zaštita amino-grupe glicina



Deprotekcija amino-grupe glicina

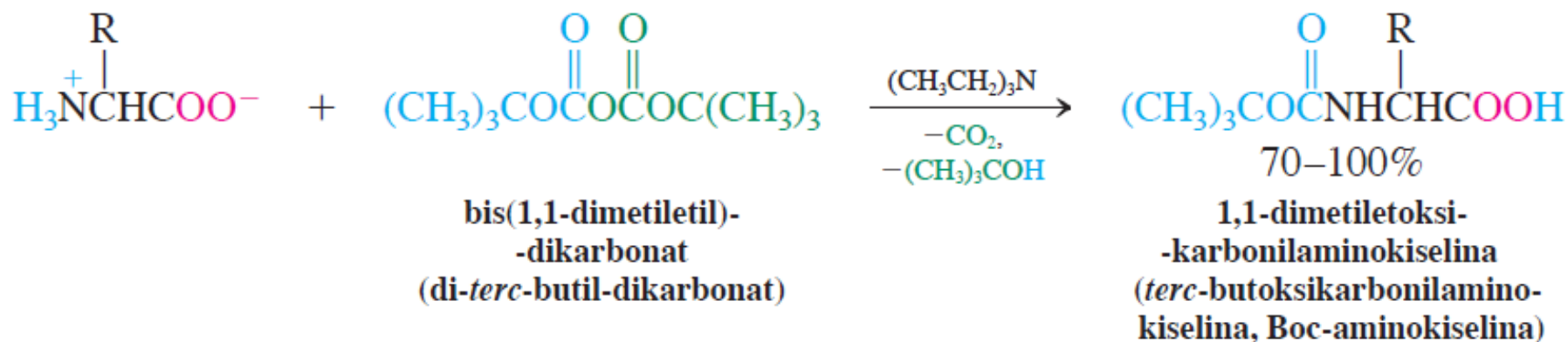


b. Zaštita amino-grupe sa *tert*-butoksikarbonilnom grupom

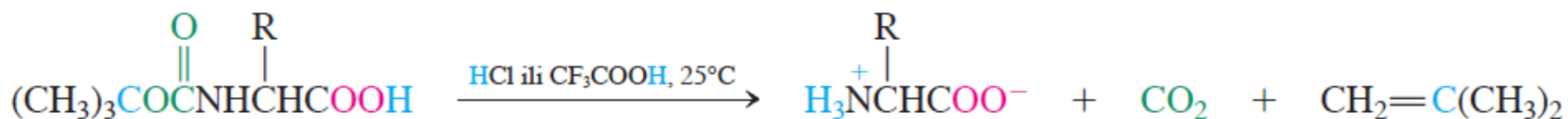


tert-butiloksikarbonil
(Boc)

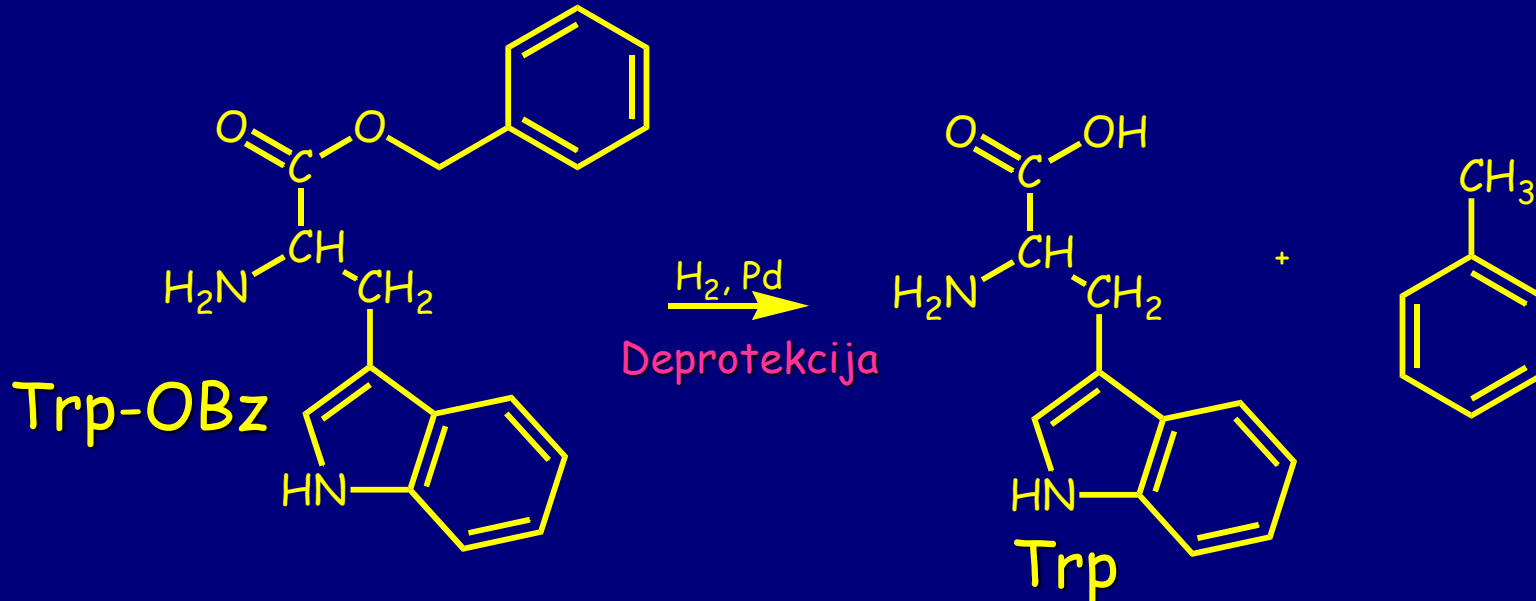
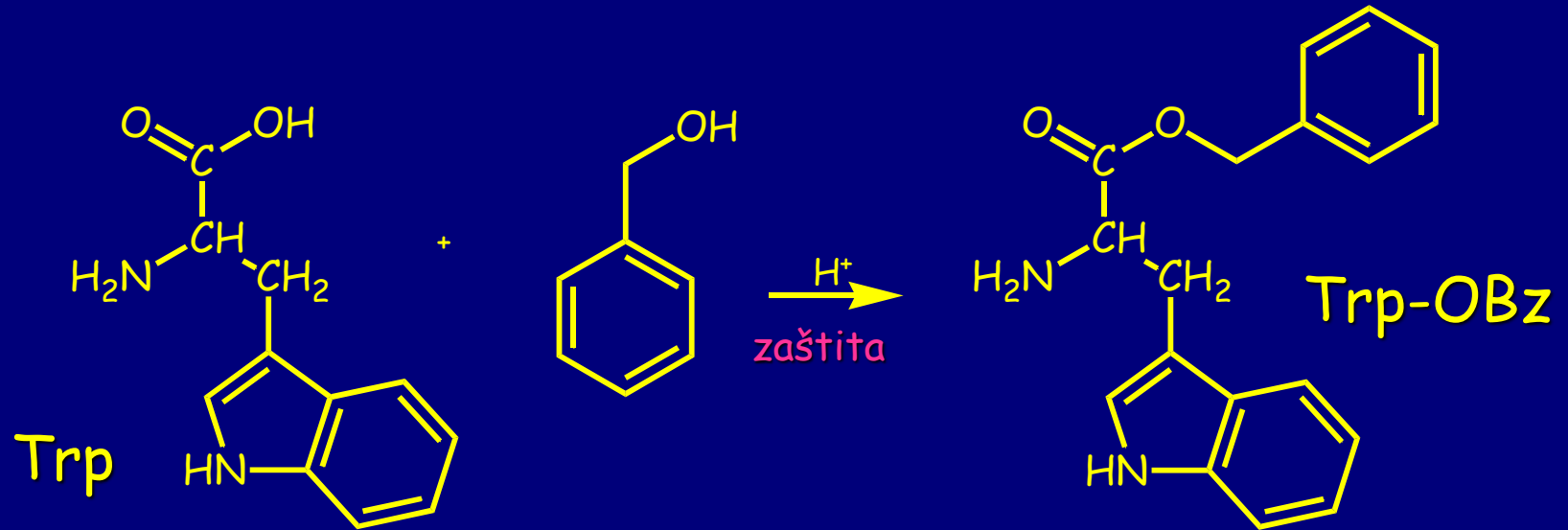
Zaštita amino-grupe aminokiselina kao Boc-derivata



Deprotekcija Boc-aminokiselina

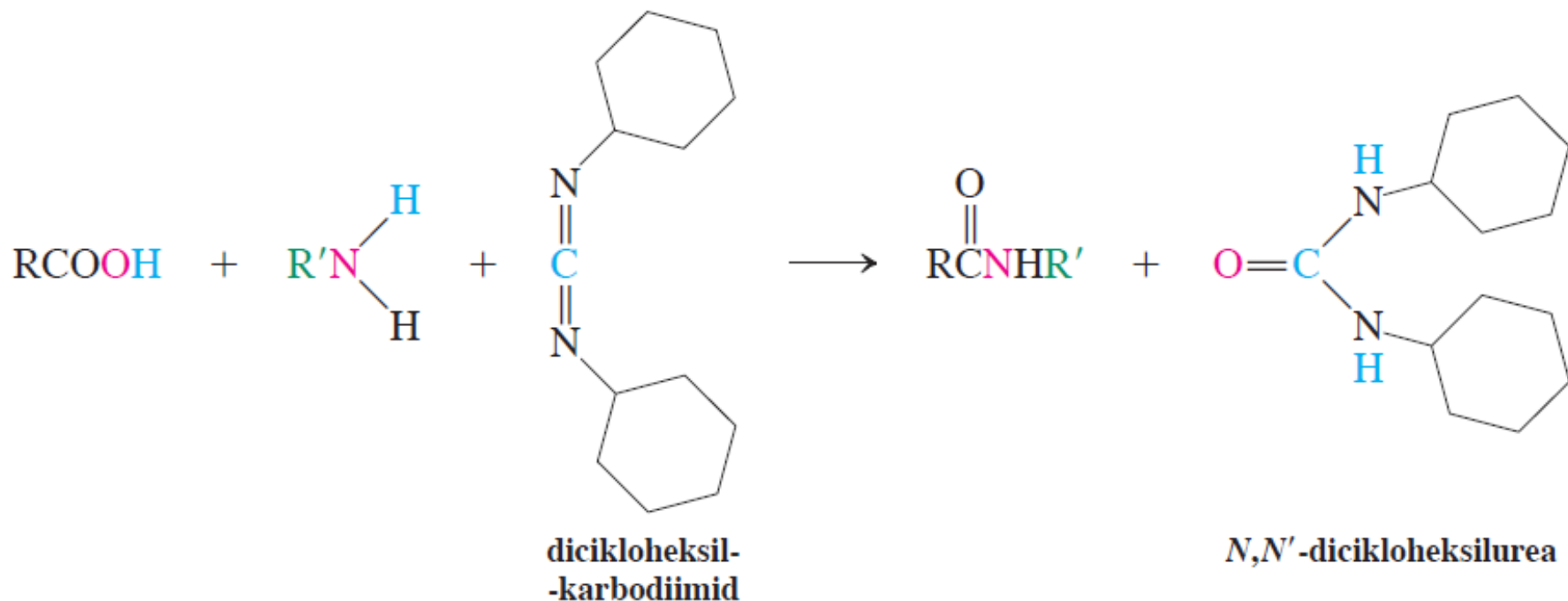


c. Karboksilni kraj se štiti esterifikacijom



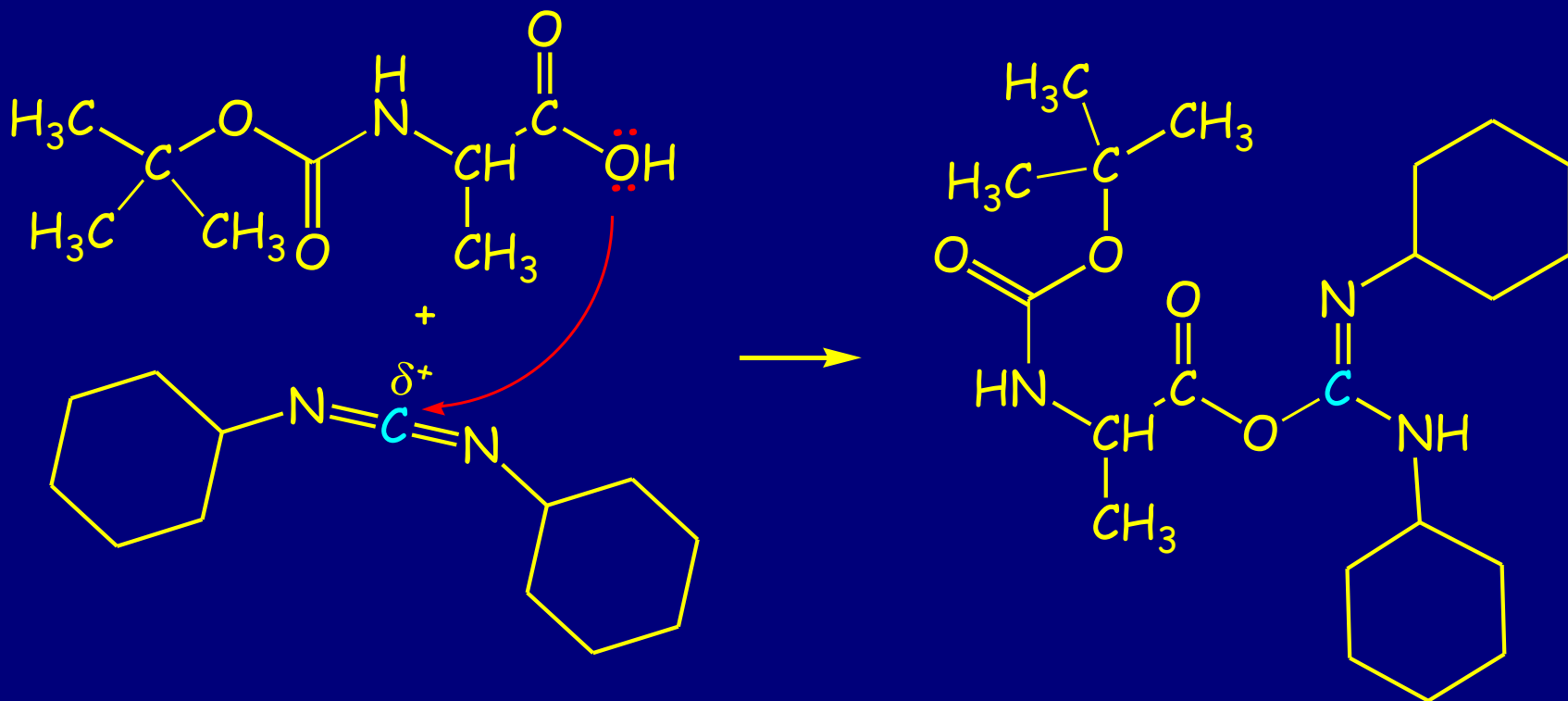
Formiranje peptidne veze uz aktivaciju karboksilne grupe

Nastajanje peptidne veze pomoću dicikloheksilkarbodiimida



Mehanizam:

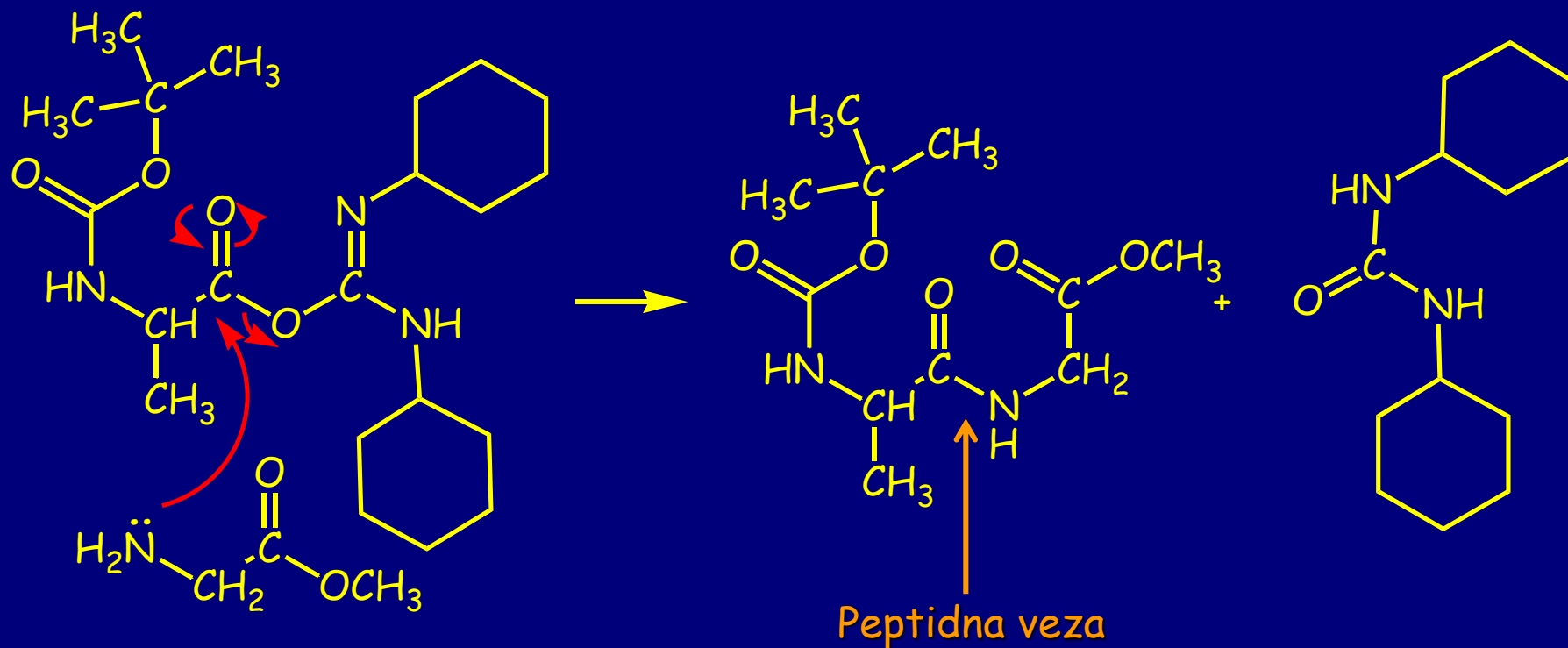
1. Aktivacija karboksilne grupe (formiranje O-acilizouree)



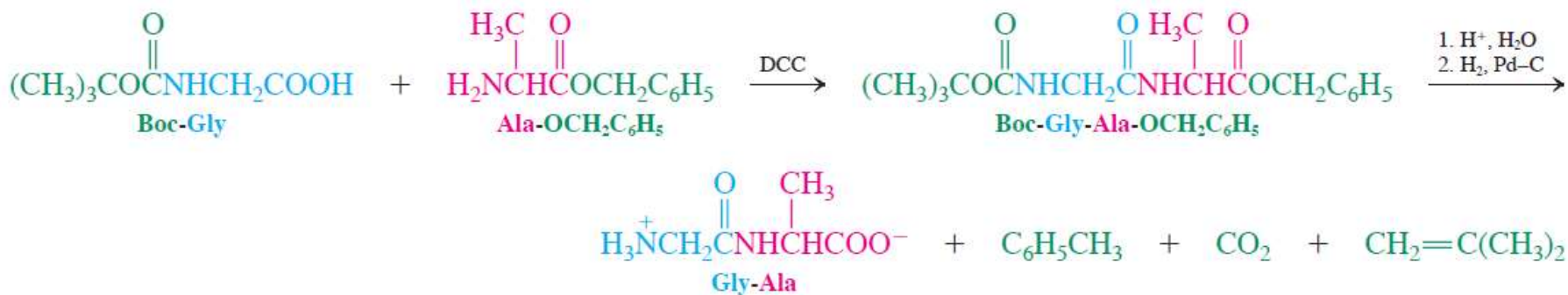
O-acilizourea sa karbonilnom grupom
Aktiviranom slično kao u anhidridu

2. Kuplovanjem nastaje amidna veza

Nakon uklanjanja zaštitnih grupa nastaje željeni dipeptid



Sinteza Gly-Ala



Prinos oligopeptida

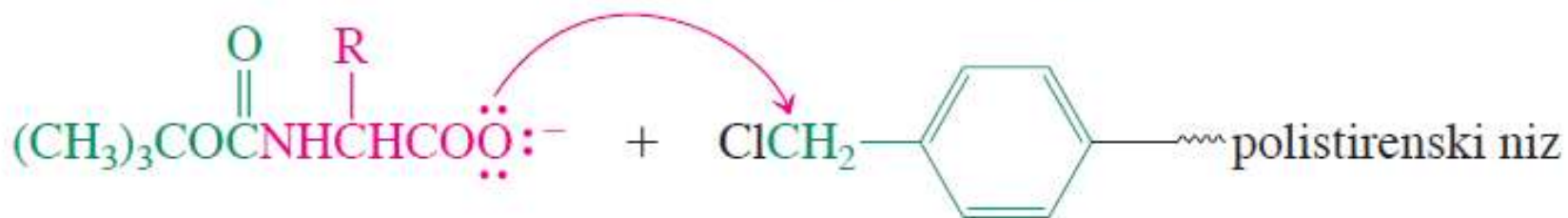
	Number of amino acids							
	2	3	4	5	6	7	8	9
Overall yield	80%	64%	51%	41%	33%	26%	21%	17%

Merrifield-ova sinteza peptida na čvrstoj fazi

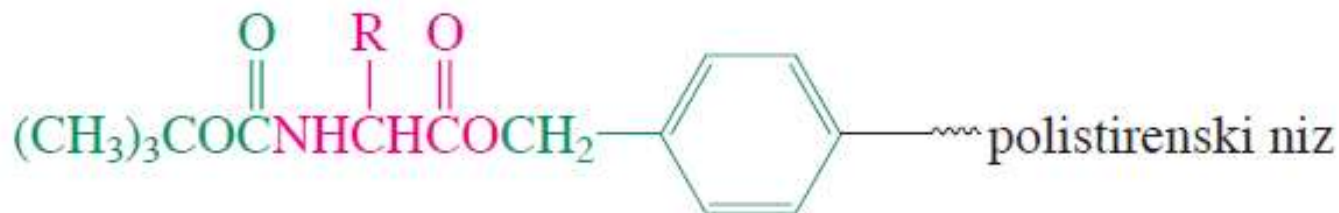
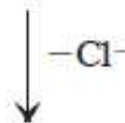


Robert B. Merrifield
b. 1921

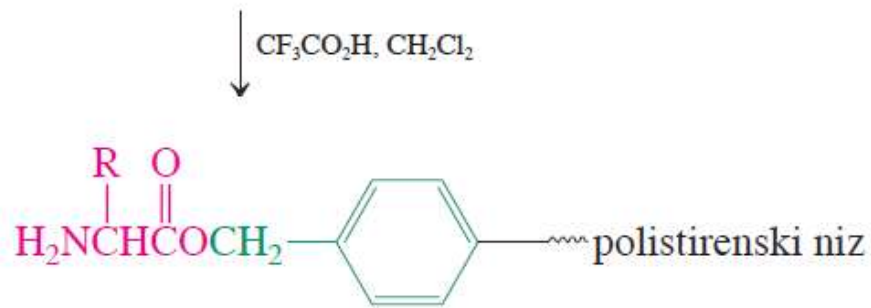
Sinteza dipeptida na čvrstoj fazi



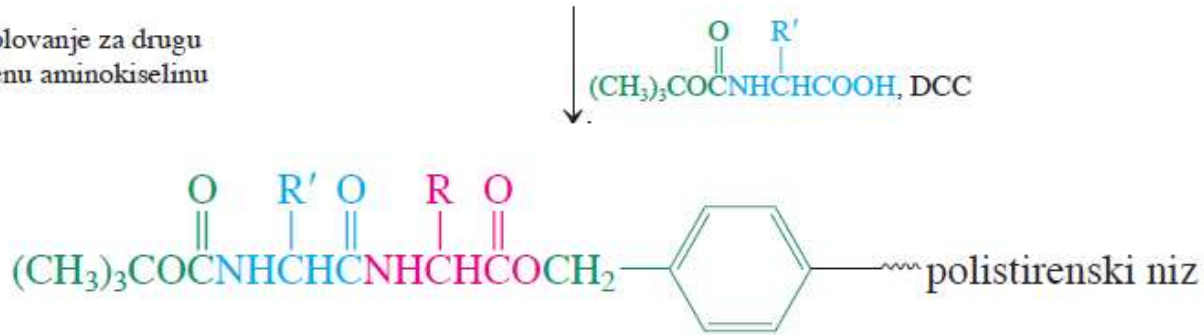
1. vezivanje
zaštićene aminokiseline



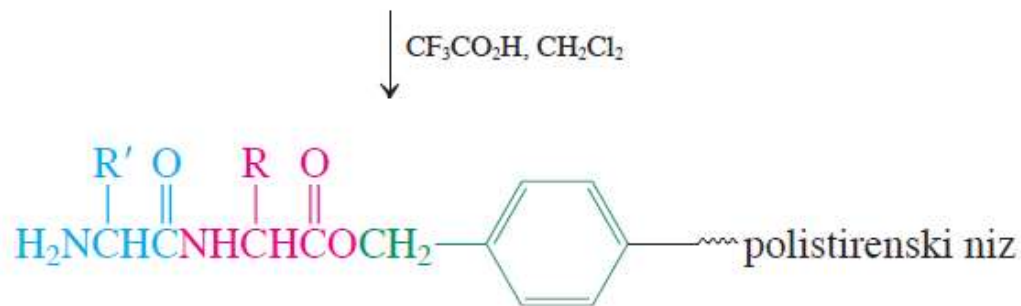
2. deprotekcija na amino-kraju



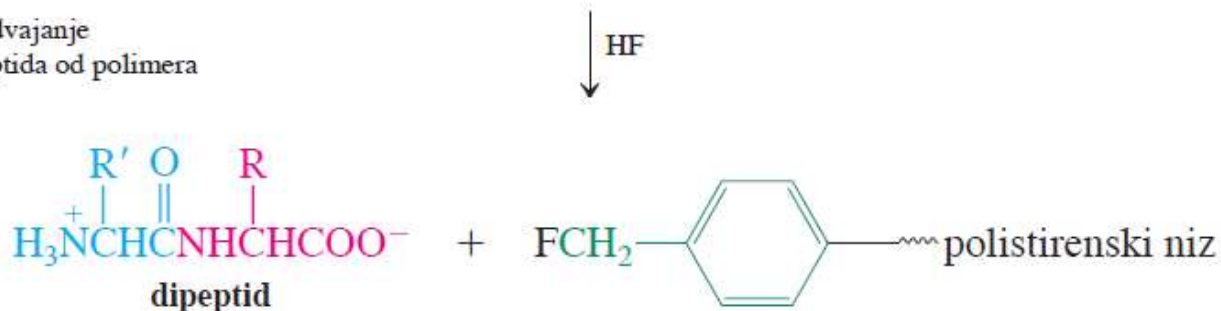
3. kuplovanje za drugu zaštićenu aminokiselinu



4. deprotekcija amino-kraja



5. odvajanje dipeptida od polimera

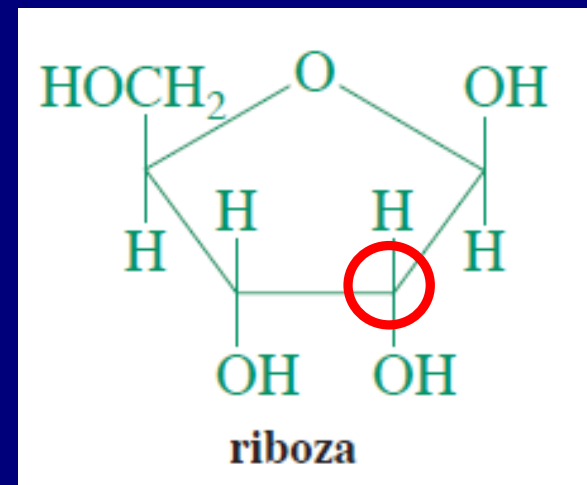
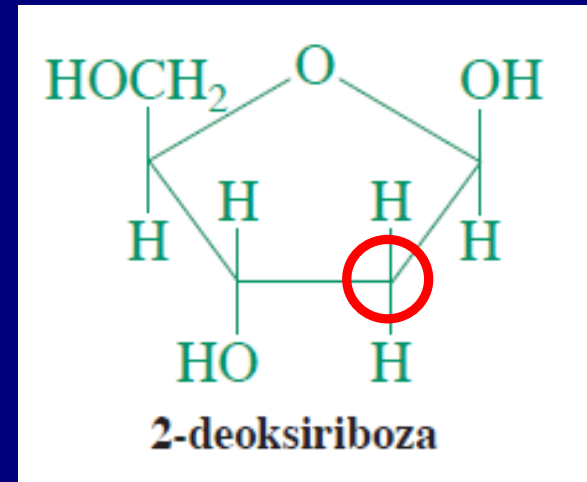


1966:
Izvršena prva totalna sinteza insulina na čvrstoj fazi.
Potrebno više od 5000 različitih manipulacija da se poveže 51 aminokiselina.

Nukleinske kiseline: DNK i RNK

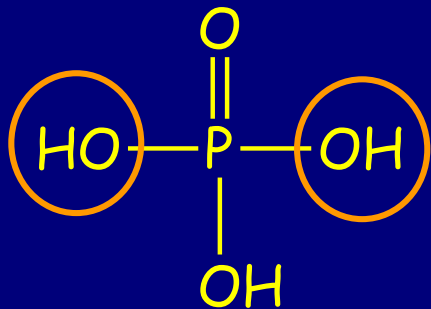
Život je sinteza proteina, koja se dešava u našem telu. Informacija za sintezu se čuva u DNK

Informacija se čita pomoću RNK

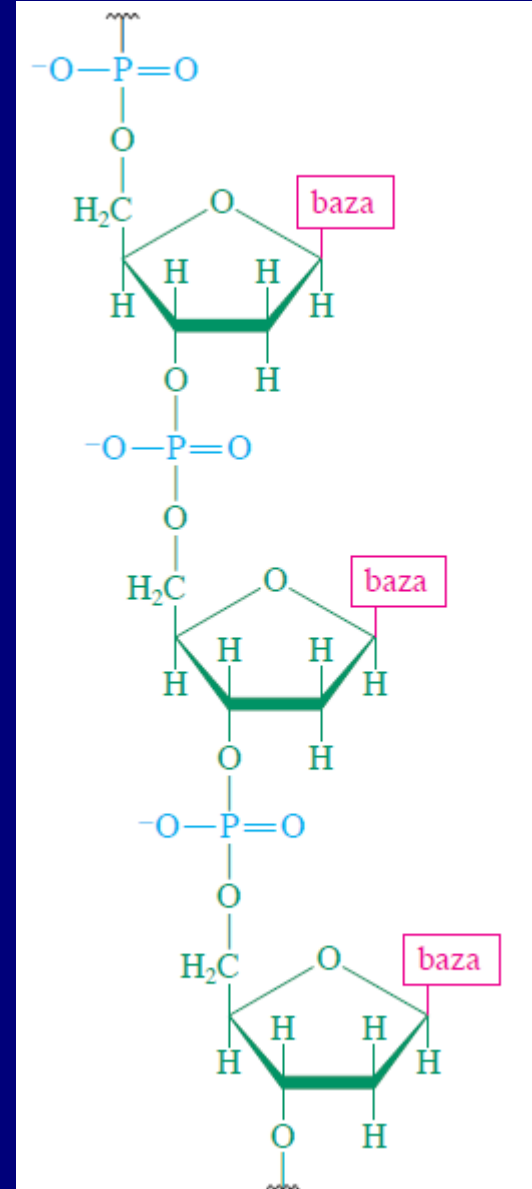
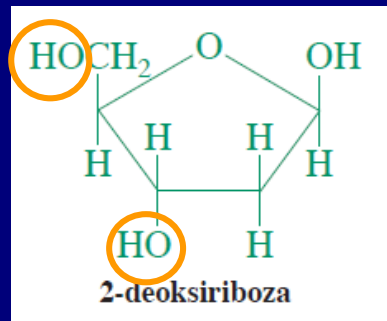


Struktura nukleinskih kiselina

Nukleinske kiseline su polimeri u kojima fosfatne jedinice povezuju šećere, za koje su vezane heterociklične baze



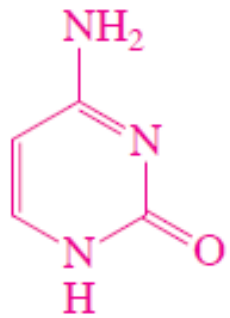
Fosforna kiselina



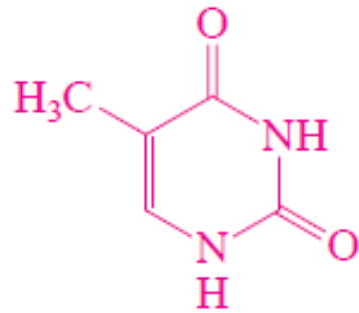
“Monomer”
se naziva
nukleotid

Informacija je sačuvana u redosledu baza koje su vezane za anomerni ugljenik iz šećera (četiri baze)

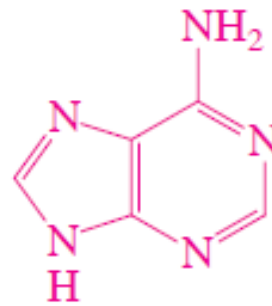
Baze: aromatični heterocikli



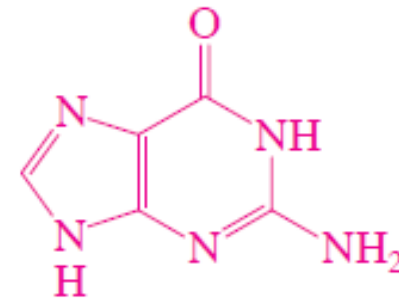
citozin (C)



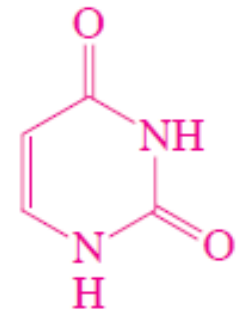
timin (T)



adenin (A)



guanin (G)

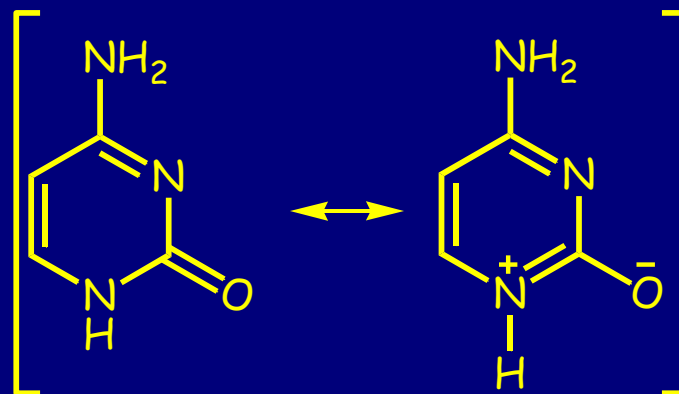


uracil (U)

DNK: citozin, timin, adenin, guanin

RNK: citozin, uracil, adenin, guanin

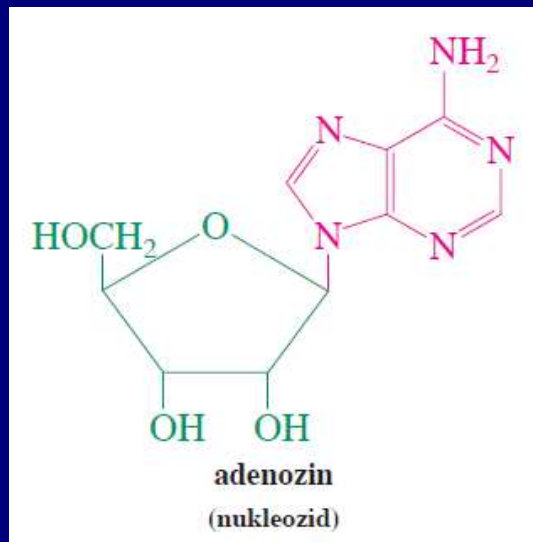
Rezonancione
strukture
citozina



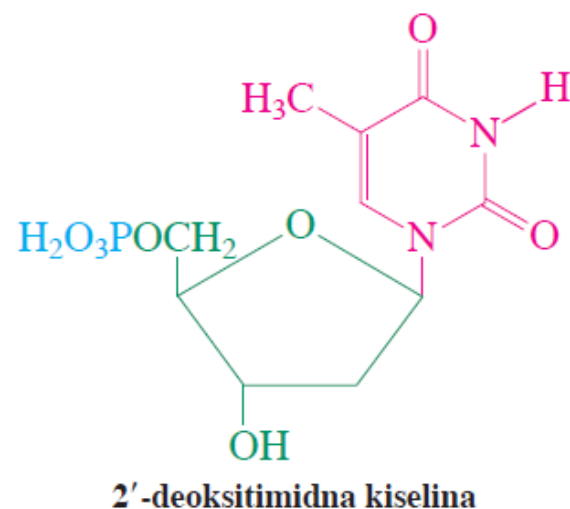
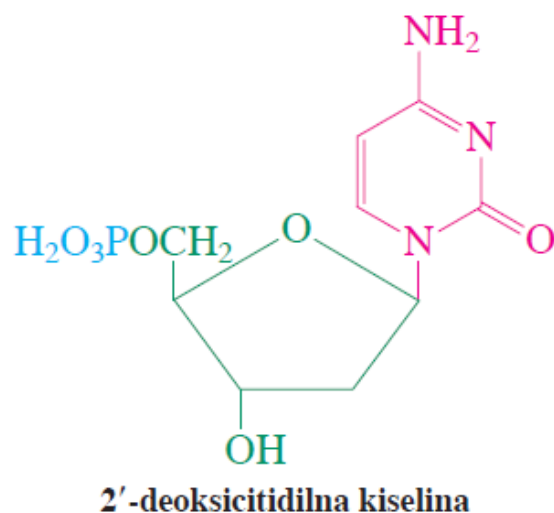
Imenovanje nukleotida:

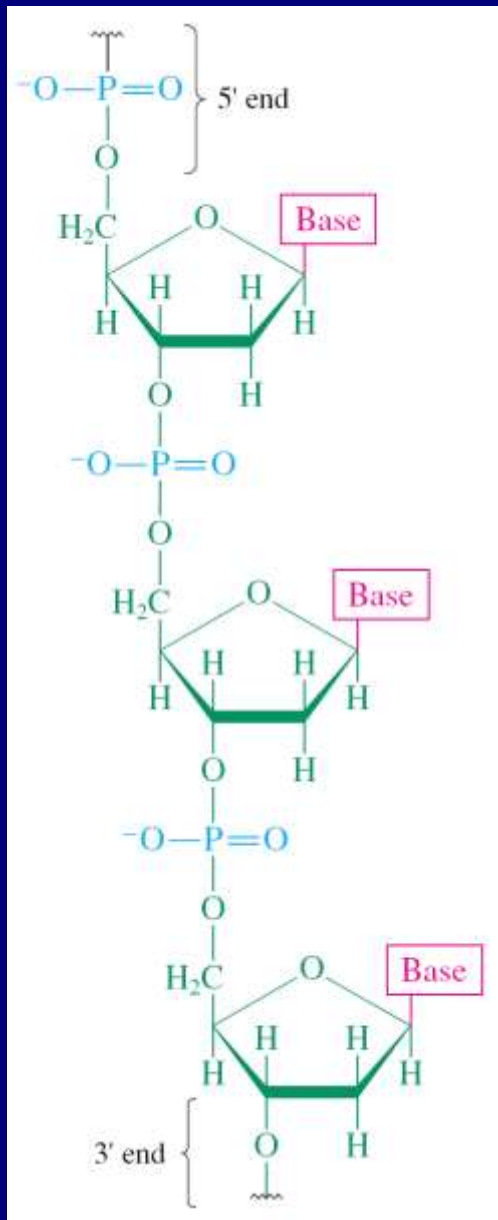
Sastoje se od tri komponente: šećer, baza, fosfat

Šećer + baza = nukleozid



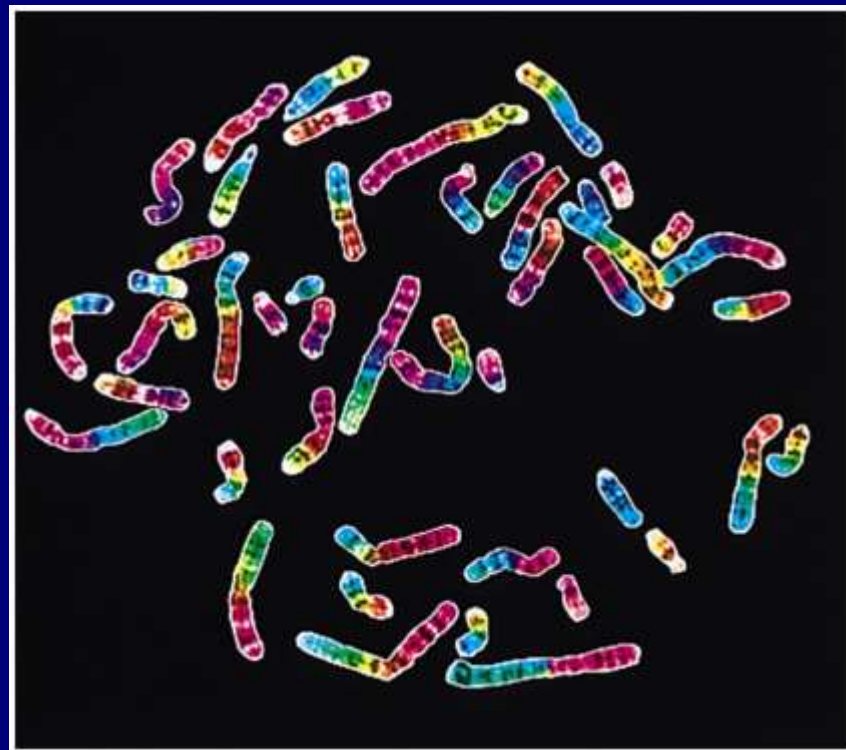
Šećer + baza +
fosfat = nukleotid





Primarna struktura

Nukleinske kiseline mogu formirati izuzetno dugačke nizove i do nekoliko centimetara, molekulske težine i 150 milijardi.



Human chromosomes

The Structure of DNA: Watson, Crick, Franklin, and Wilkins

James D. Watson was born in Chicago in 1928. He graduated from the University of Chicago at the age of 19 and received a Ph.D. three years later from Indiana University. In 1951, as a postdoctoral fellow at Cambridge University, Watson worked on determining the three-dimensional structure of DNA.

Francis H. C. Crick (1916–2004) was born in Northampton, England. Originally trained as a physicist, Crick did research on radar during World War II. After the war, deciding that the most interesting problem in science was the physical basis of life, he entered Cambridge University to study the structure of biological molecules by X-ray analysis. He was a graduate student when he carried out his portion of the work that led to the proposal of the double helical structure of DNA. He received a Ph.D. in chemistry in 1953.

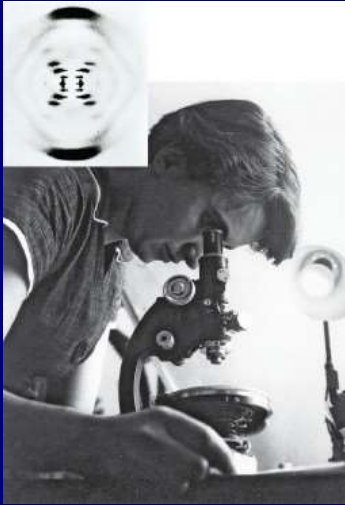


Francis Crick (left) and James Watson (right)

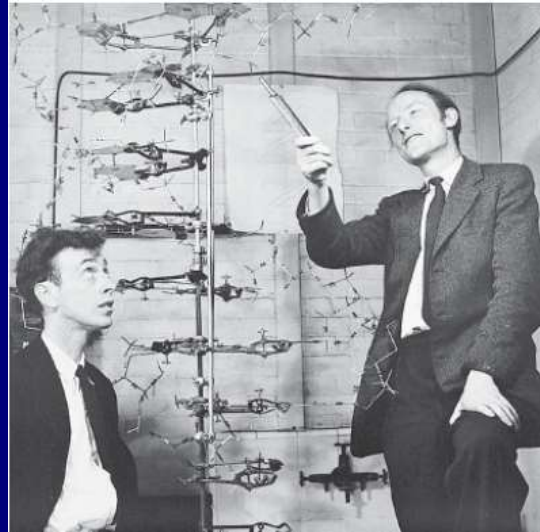
Rosalind Franklin (1920–1958) was born in London. She graduated from Cambridge University and studied X-ray diffraction techniques in Paris. In 1951 she returned to England and accepted a position to develop an X-ray diffraction unit in the biophysics department at King's College. Her X-ray studies showed that DNA was a helix with the sugars and phosphate groups on the outside of the molecule. Tragically, Franklin never protected herself from her X-ray source and died without knowing the role her work had played in determining the structure of DNA, and without being recognized for her contribution.



Rosalind Franklin

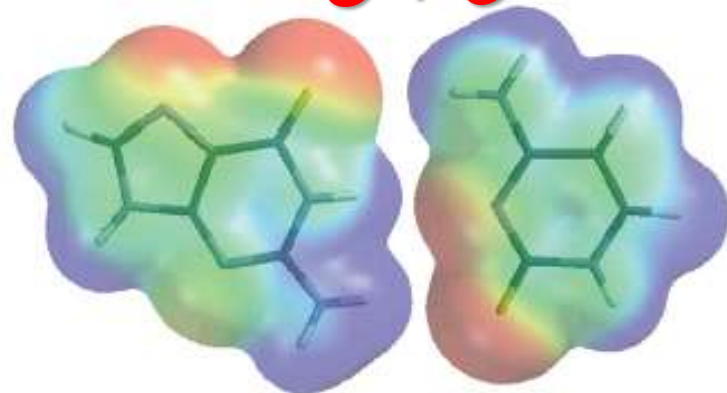
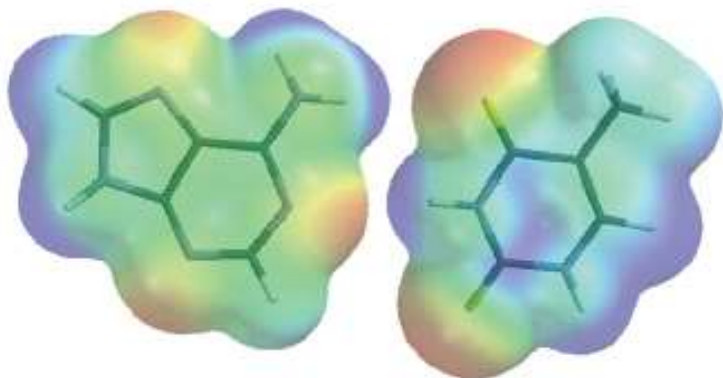
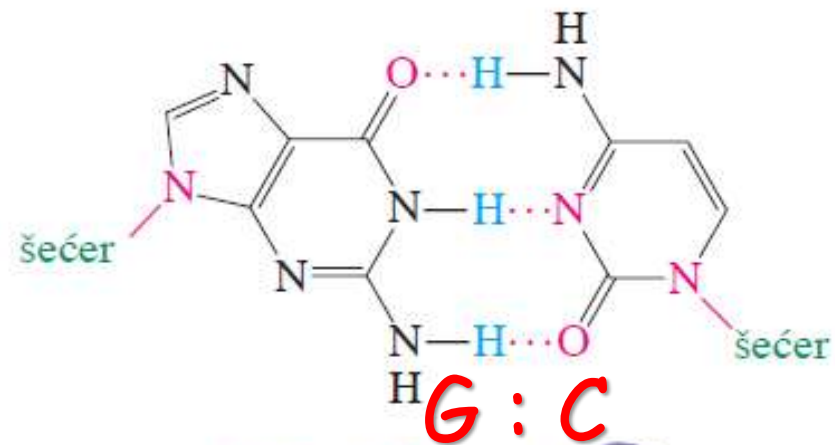
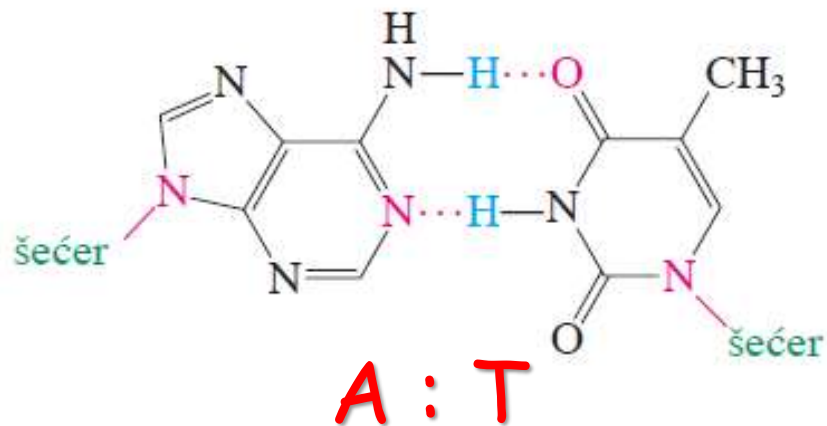


Rosalind Franklin: Her X-ray crystallographic data were used to solve the structure of DNA.



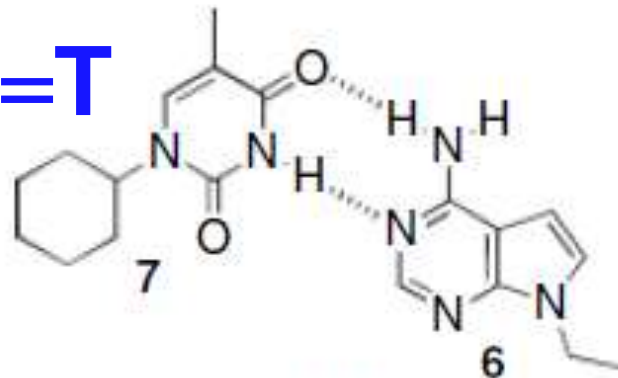
Molecular modeling-1953 style.
James Watson (Jeff) and Francis Crick (right) with their DNA model

Watson-Crick: Vodonično vezivanje komplementarnih baza: u DNK A-T, G-C

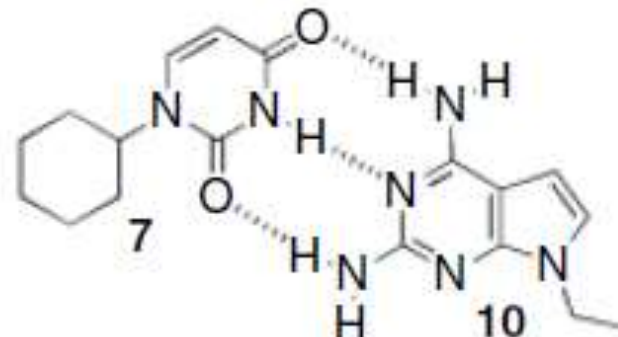


vodonične veze

A=T

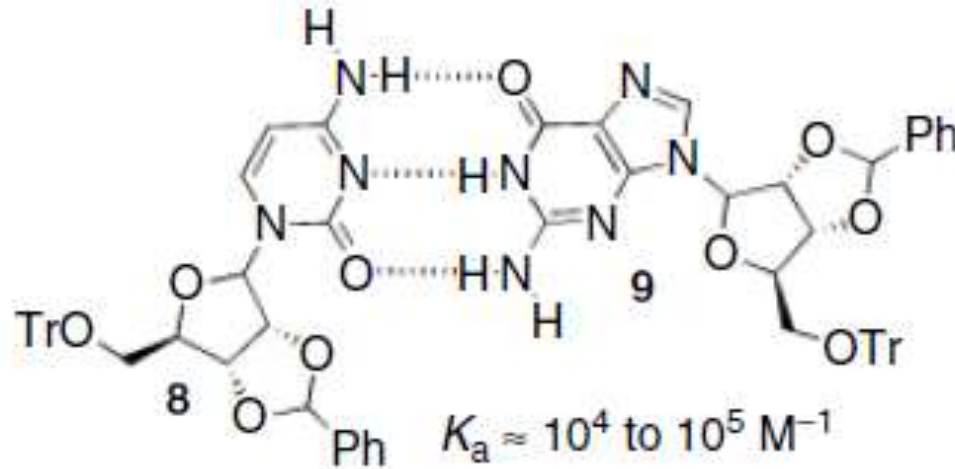


$$K_a = 130 \text{ M}^{-1}$$



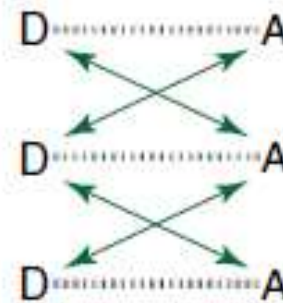
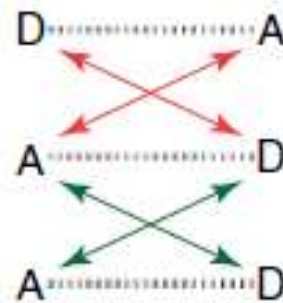
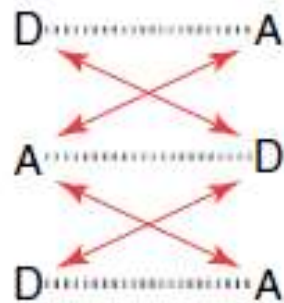
$$K_a = 170 \text{ M}^{-1}$$

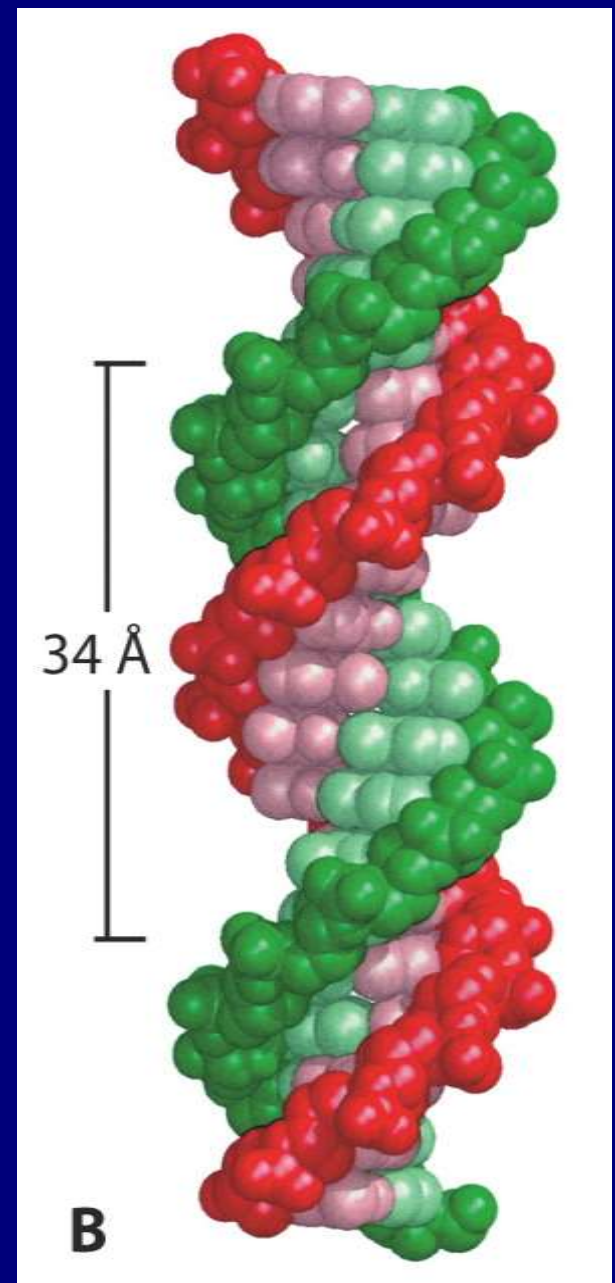
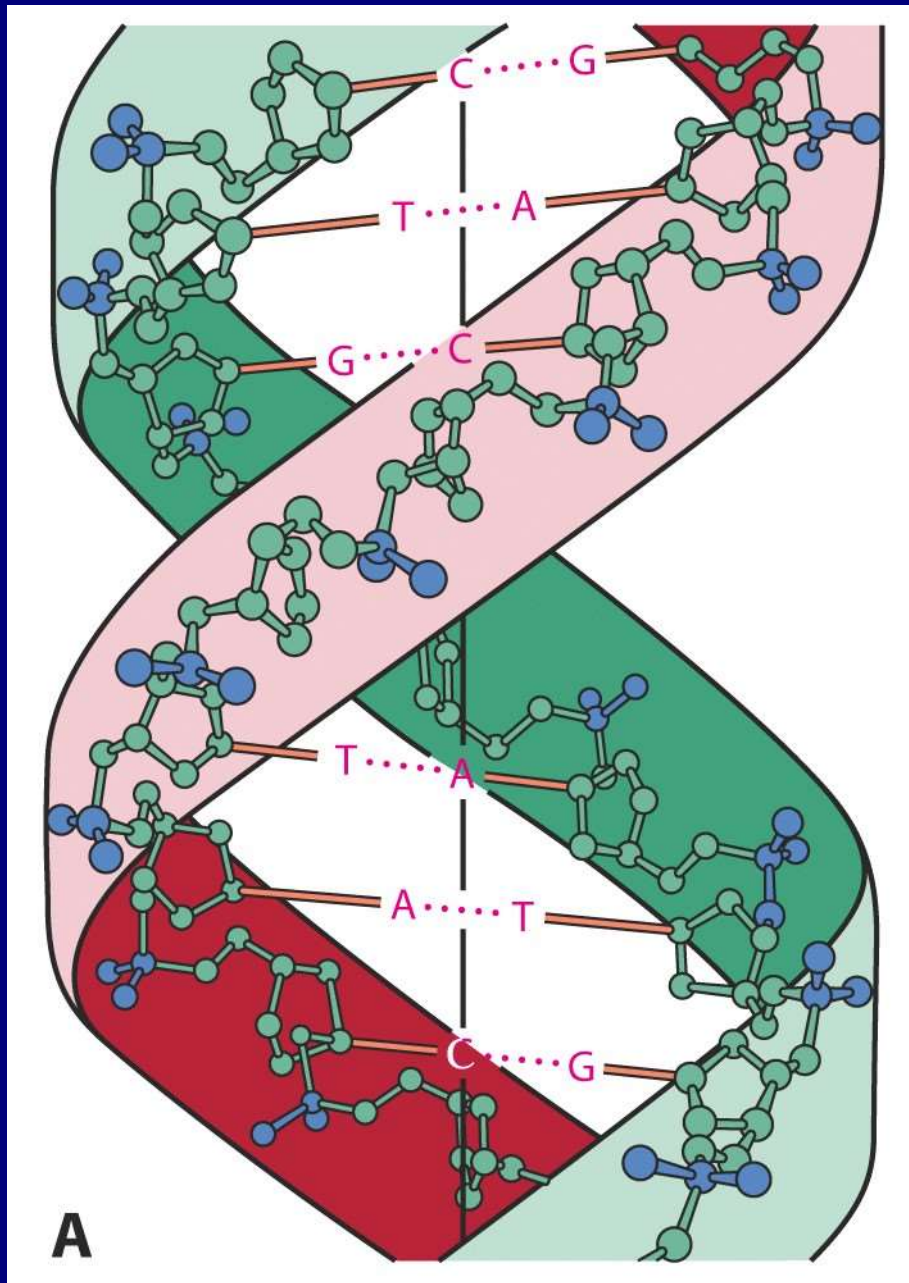
C≡G



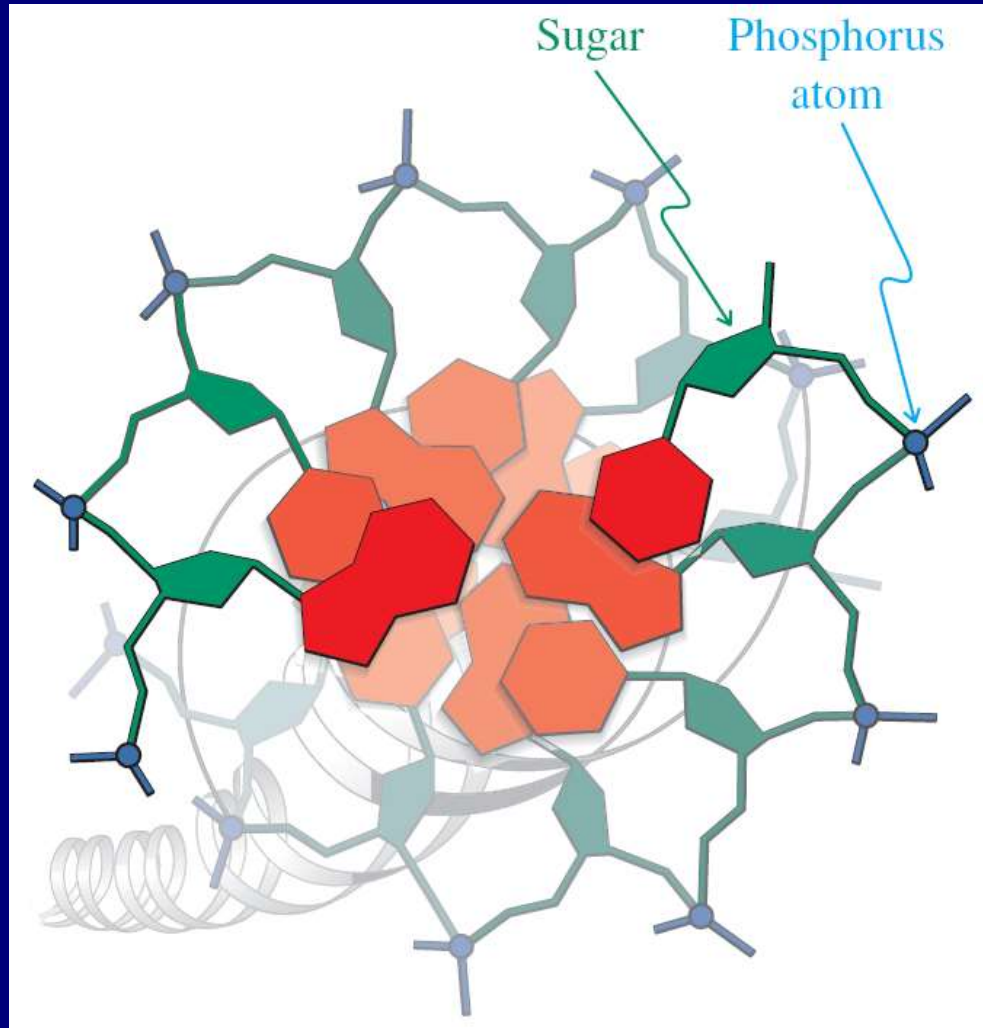
(a)

$$K_a \approx 10^4 \text{ to } 10^5 \text{ M}^{-1}$$





Pogled kroz heliks

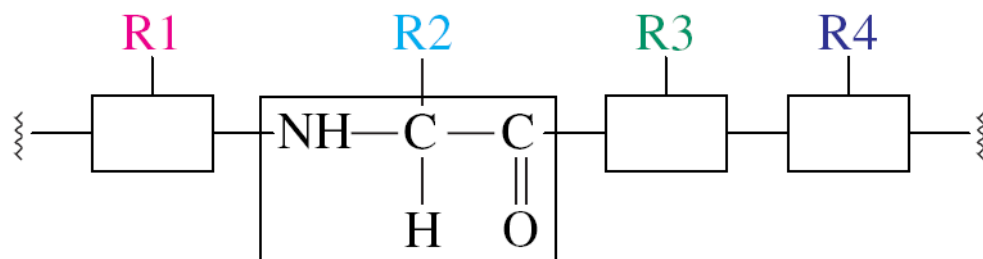


Komplementarnost:

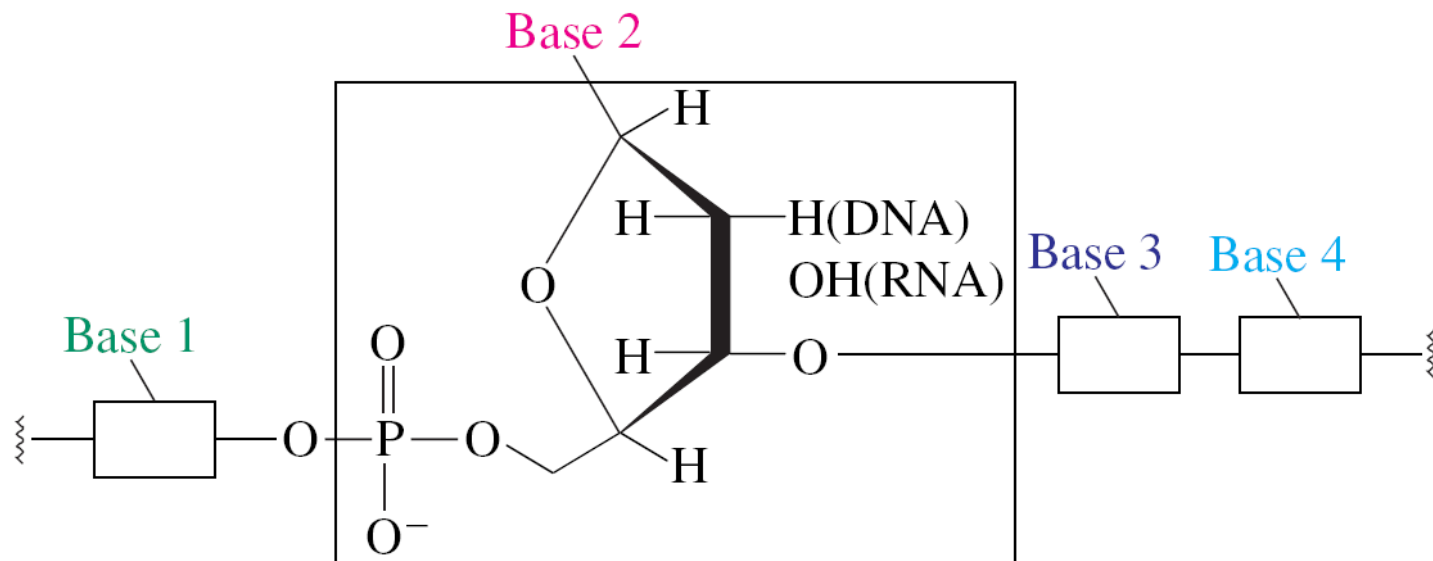


Čuvanje informacija: Peptidi naspram nukleinskih kiselina

A polypeptide R = 20 slova: 20 prirodnih aminokiselina



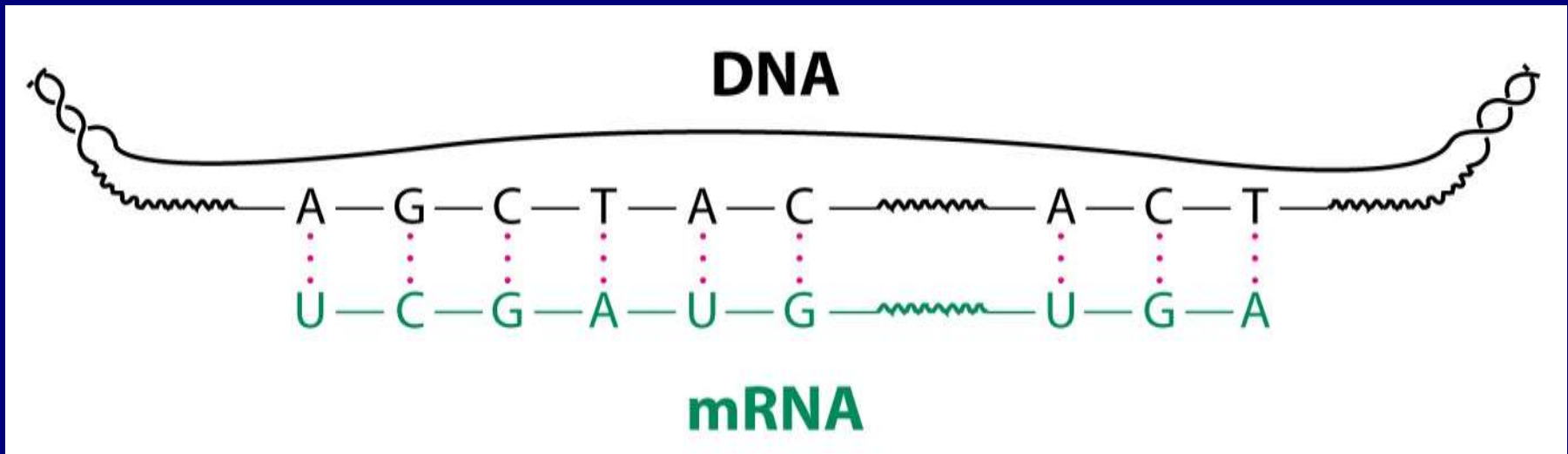
A nucleic acid Četiri slova: četiri baze

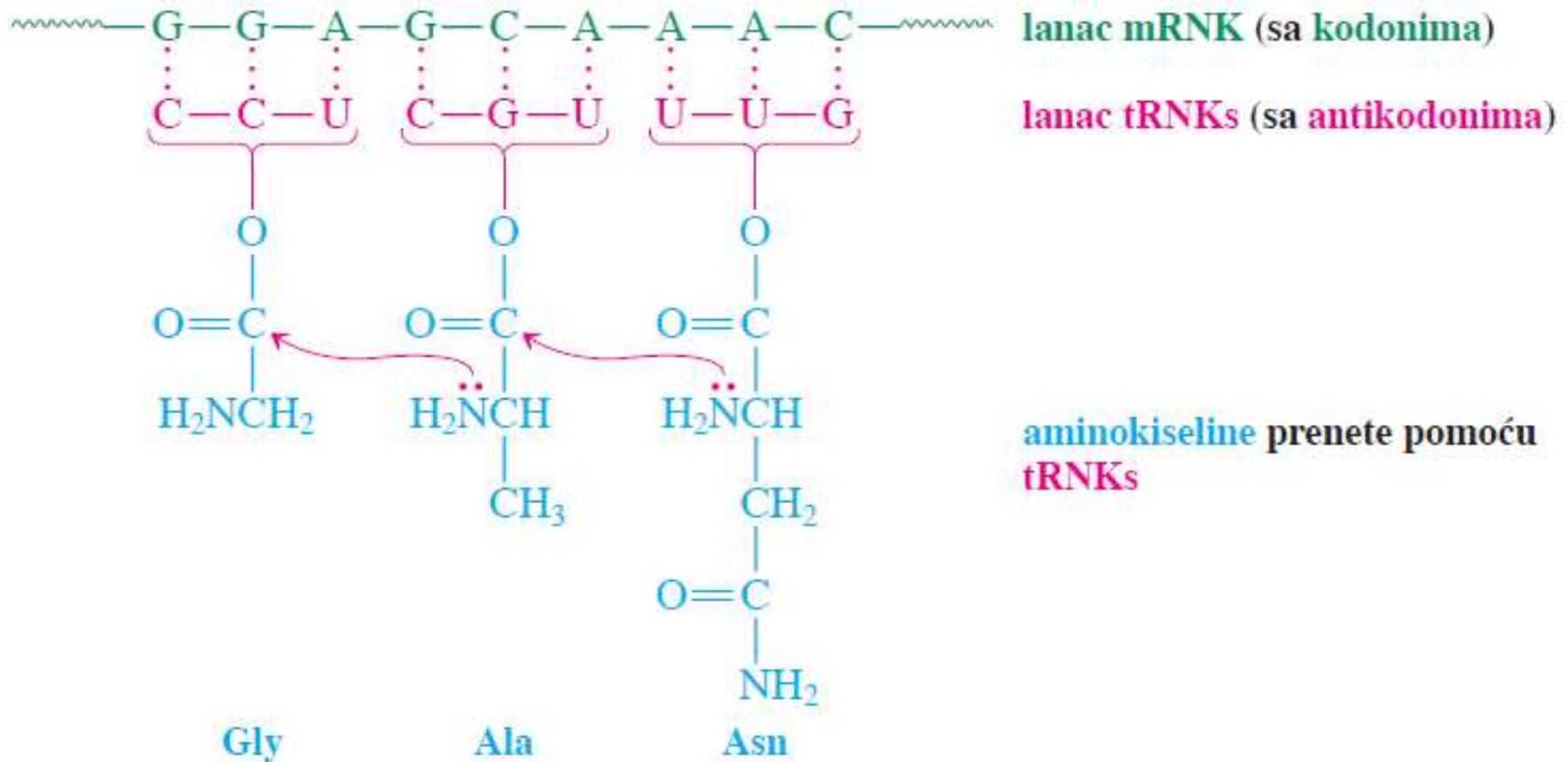


Redosled baza u DNK sadrži informacije za sintezu proteina

DNA \rightarrow mRNA \rightarrow polipeptid

informaciona RNK





Tri baze kod (kodon): broj kombinacija $4^3 = 64$
 → Više nego dovoljno za 20 aminokiselina

TABELA 26-3

Trobozni kôd uobičajenih aminokiselina upotrebljenih u sintezi proteina

Amino-kiselina	Sekvenca baza	Amino-kiselina	Sekvenca baza	Amino-kiselina	Sekvenca baza
Ala (A)	GCA	His (H)	CAC	Ser (S)	AGC
	GCC		CAU		AGU
	GCG	Ile (I)	AUA		UCA
	GCU		AUC		UCG
Arg (R)	AGA		AUU	UCC	
	AGG	Leu (L)	CUA	UCU	
	CGA		CUC	ACA	
	CGC		CUG	ACC	
	CGG		CUU	ACG	
	CGU		UUA	ACU	
UUA	UUG		Trp (W)	UGG	
AAU	Lys (K)	AAA		Tyr (Y)	UAC
Asn (N)		GAC	AAG		UAU
	AAU	Met (M)	AUG	Val (V)	GUA
Asp (D)	UGC		Phe (F)		UUU
	GAU	UUC			GUC
Cys (C)	UGU	Pro (P)	CCA		GUU
	Gln (Q)		CAA	CCC	iniciranje niza
CAG			CCG	terminacija niza	
Glu (E)	GAA		CCU		UAA
	GAG	Gly (G)	GGA		UAG
GGC	GGC				
GGG	GGG				
GGU	GGU				

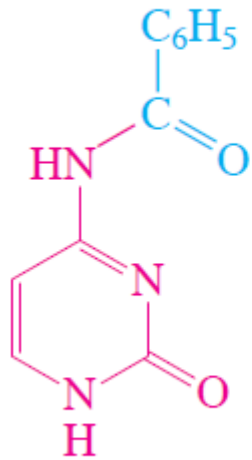
Sekvencionisanje DNK i sinteza: temelji genske tehnologije



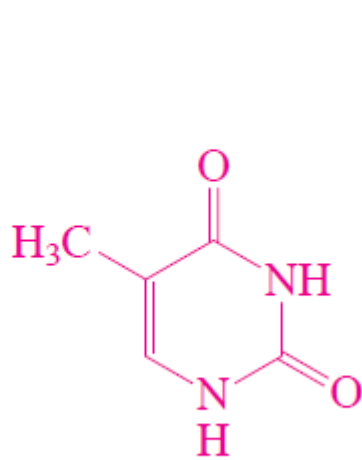
ovca Doli

Sinteza DNK

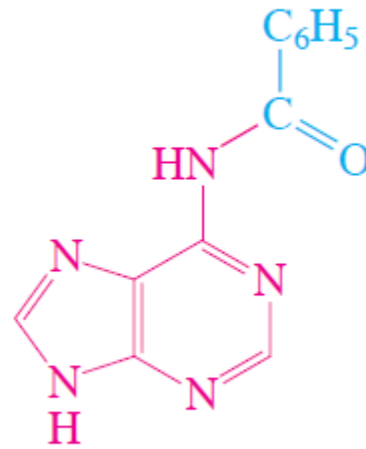
Zaštićene baze DNK (osim timina)



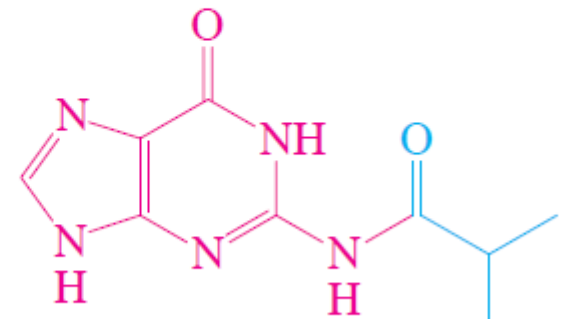
citozin (C)



timin (T)

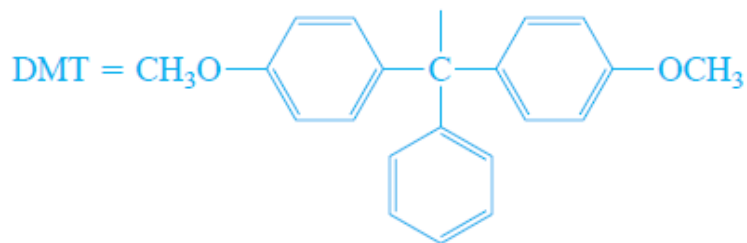
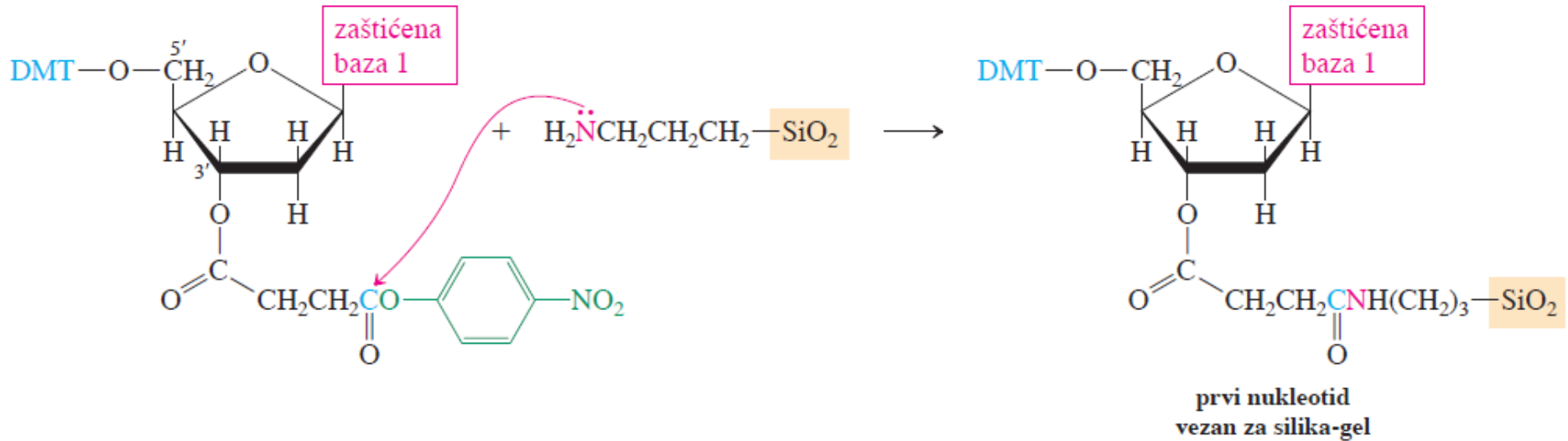


adenin (A)



guanin (G)

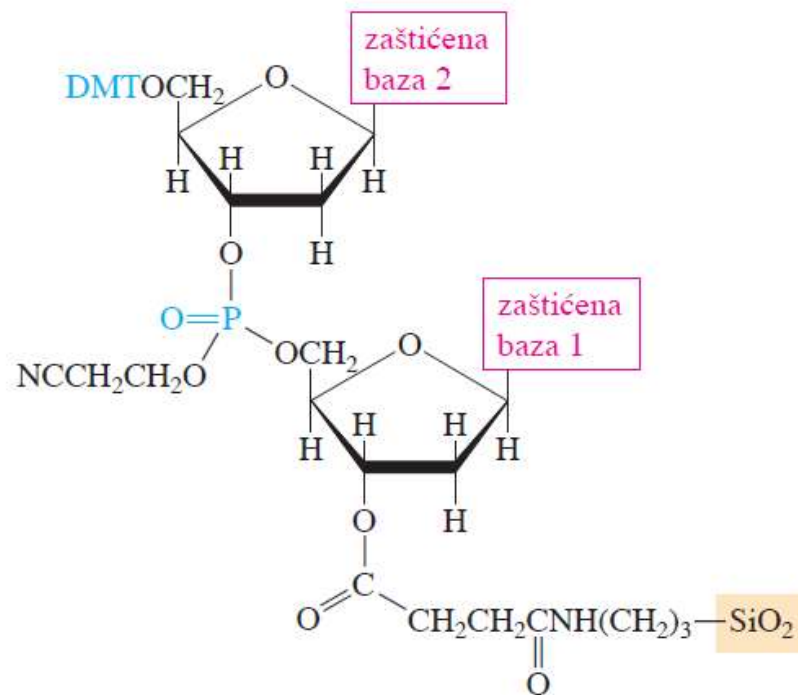
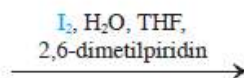
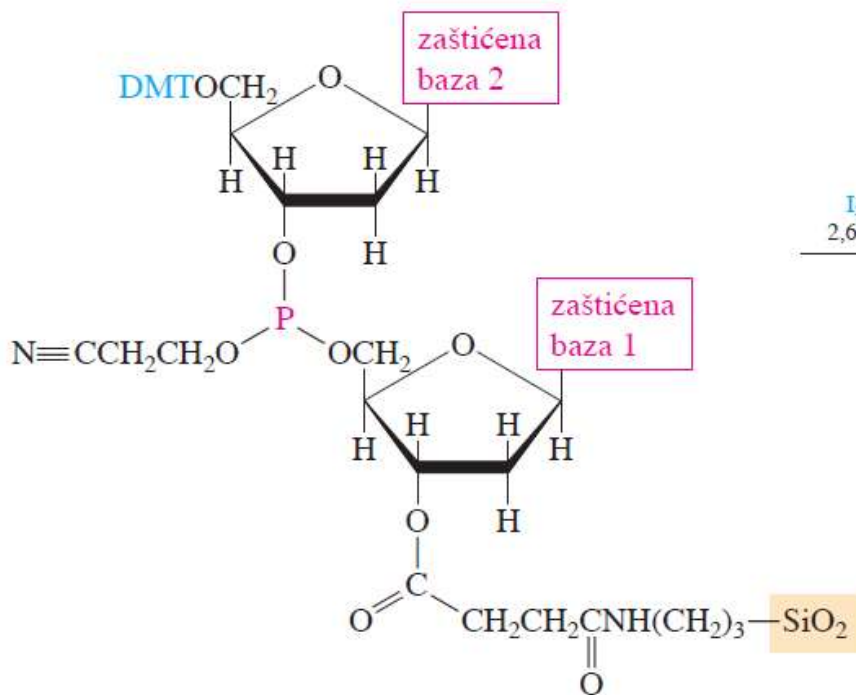
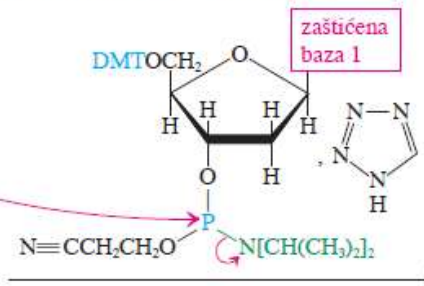
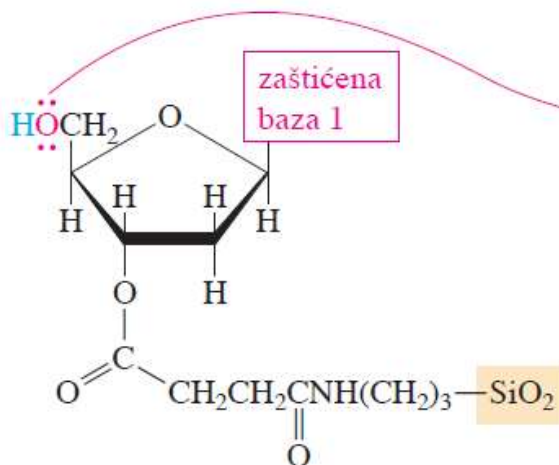
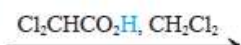
Vezivanje prvog zaštićenog nukleotida na SiO₂



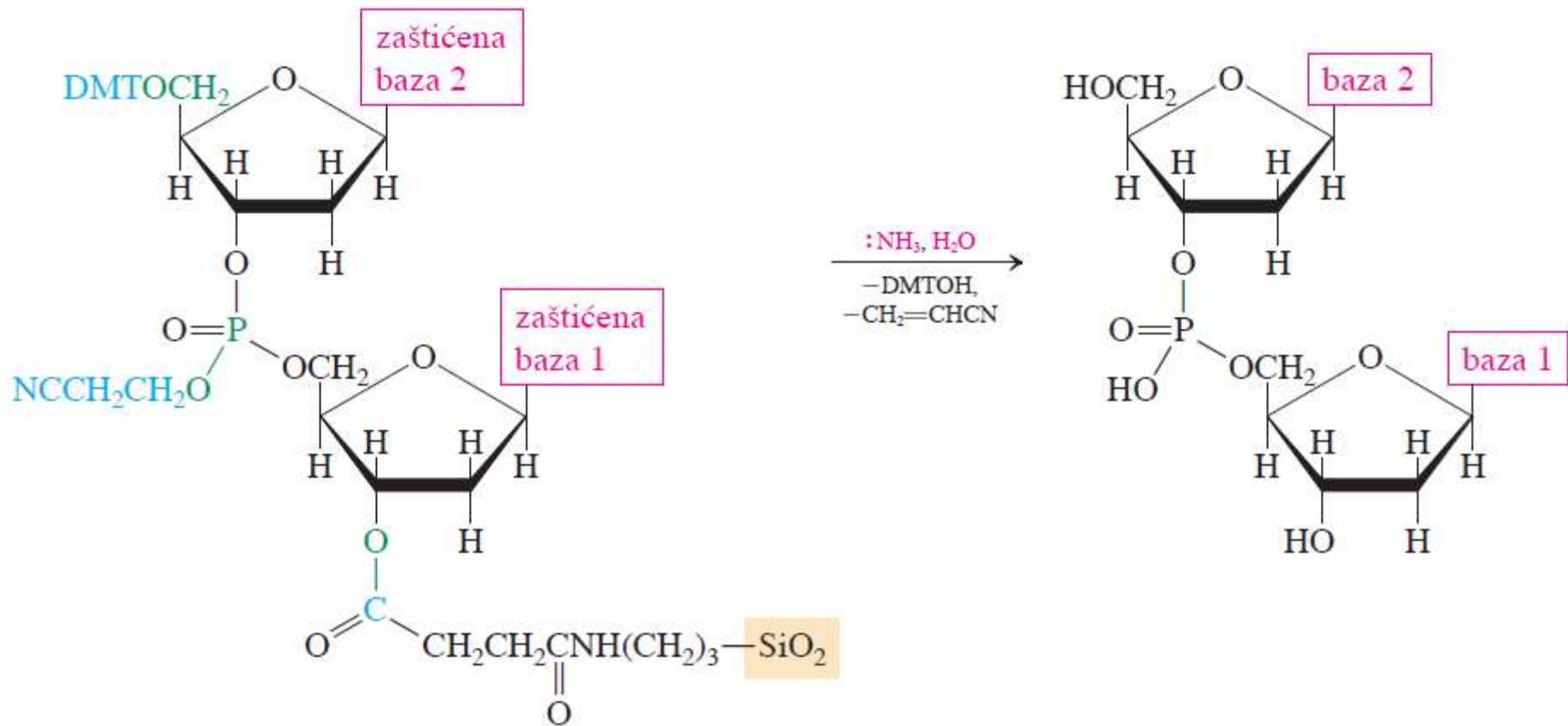
dimetoksitritil-
[Di(4-metoksifenil)fenilmetil-]

Sinteza dinukleotida: uklanjanje zaštitne grupe, kuplovanje i oksidacija

zaštićeni nukleotid
vezan na SiO₂



Uklanjanje zaštite i čvrste faze

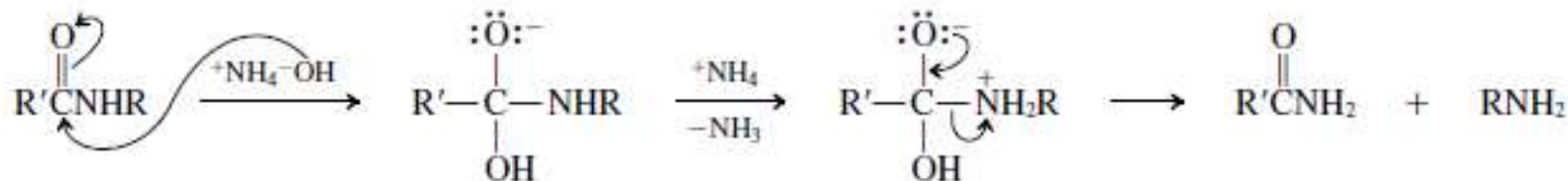


26-21

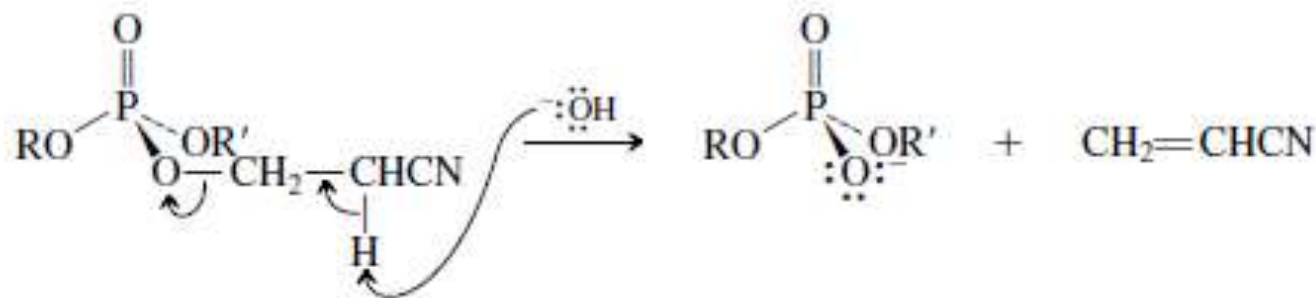
1. Deprotekcija DMT-OR (R = šećer ili nukleotid): hidroliza S_N1-mehanizmom



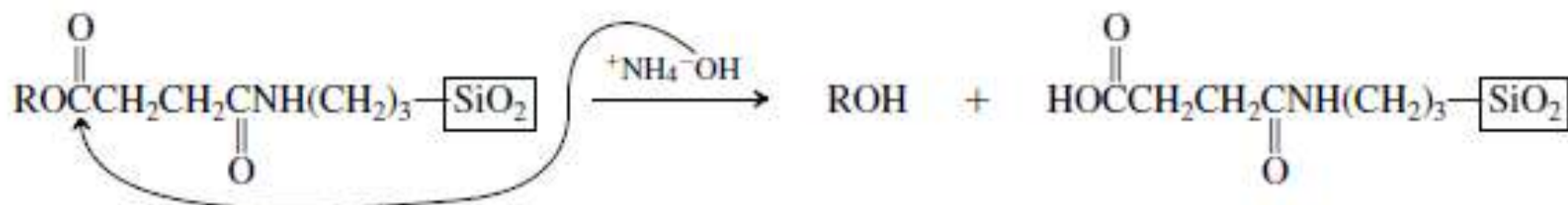
2. Deprotekcija baze nukleinske kiseline (RNH₂ = baza, R'CO₂H = karboksilna kiselina): hidroliza amida



3. Deprotekcija fosfata (R i R' = šećeri ili nukleotidi): E2



4. Uklanjanje sa čvrste faze (ROH = šećer ili nukleotid): hidroliza estera



Vežbanja za kolokvijum

Vežba 26-1

Navedite sistematska imena alanina, valina, leucina, izoleucina, fenilalanina, serina, tirozina, lizina, cisteina, metionina, asparaginske kiseline i glutaminske kiseline.

Vežba 26-2

Nacrtajte klinaste strukture (*S*)-alanina, (*S*)-fenilalanina, (*R*)-fenilalanina i (*S*)-prolina.

Vežba 26-4

Guanidin se nalazi u soku od repe, pečurkama, klicama kukuruza, ljusci pirinča, dagnjama i kišnim glistama. Baznost ove grupe prouzrokovana je rezonancijom veoma stabilizovane protonizovane strukture. Nacrtajte odgovarajuće rezonancione strukture. (Pomoć: ponovite odeljak 18-1.)

U histidinu se nalazi još jedan novi supstituent: imidazol (videti zadatak 29 iz poglavlja 25), baznog karaktera. U ovim aromatičnim heterocikličnim jedinjenjima, jedan azotov atom je hibridizovan kao kod piridina, a drugi kao kod pirola.

Vežba 26-5

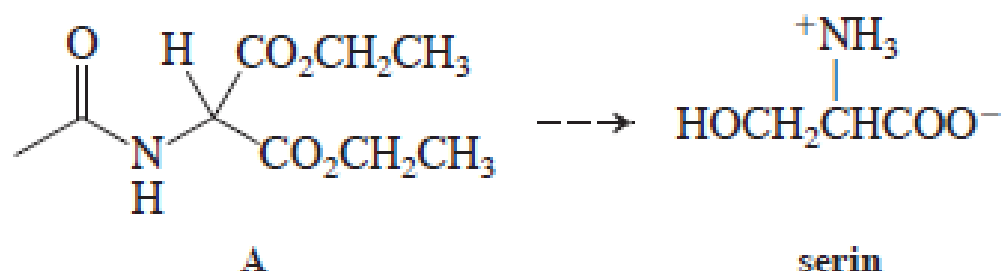
Nacrtajte orbitalnu sliku imidazola. (Pomoć: koristite sliku 25-1 kao model.)

Vežba 26-6

Predložite Gabriel-ovu sintezu metionina, asparaginske i glutaminske kiseline.

Vežba 26-7

U jednoj varijanti Gabriel-ove sinteze koristi se dietil-*N*-etanoil-2-aminopropandioat (acetamidomalonski estar) A. Predložite sintezu racemskog serina iz ovog reagensa.

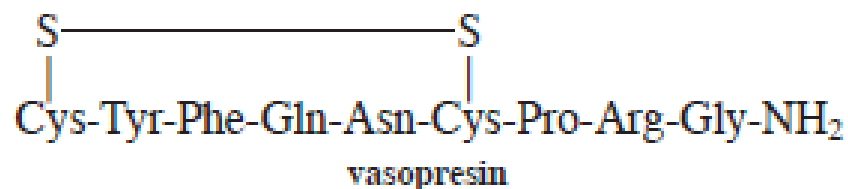


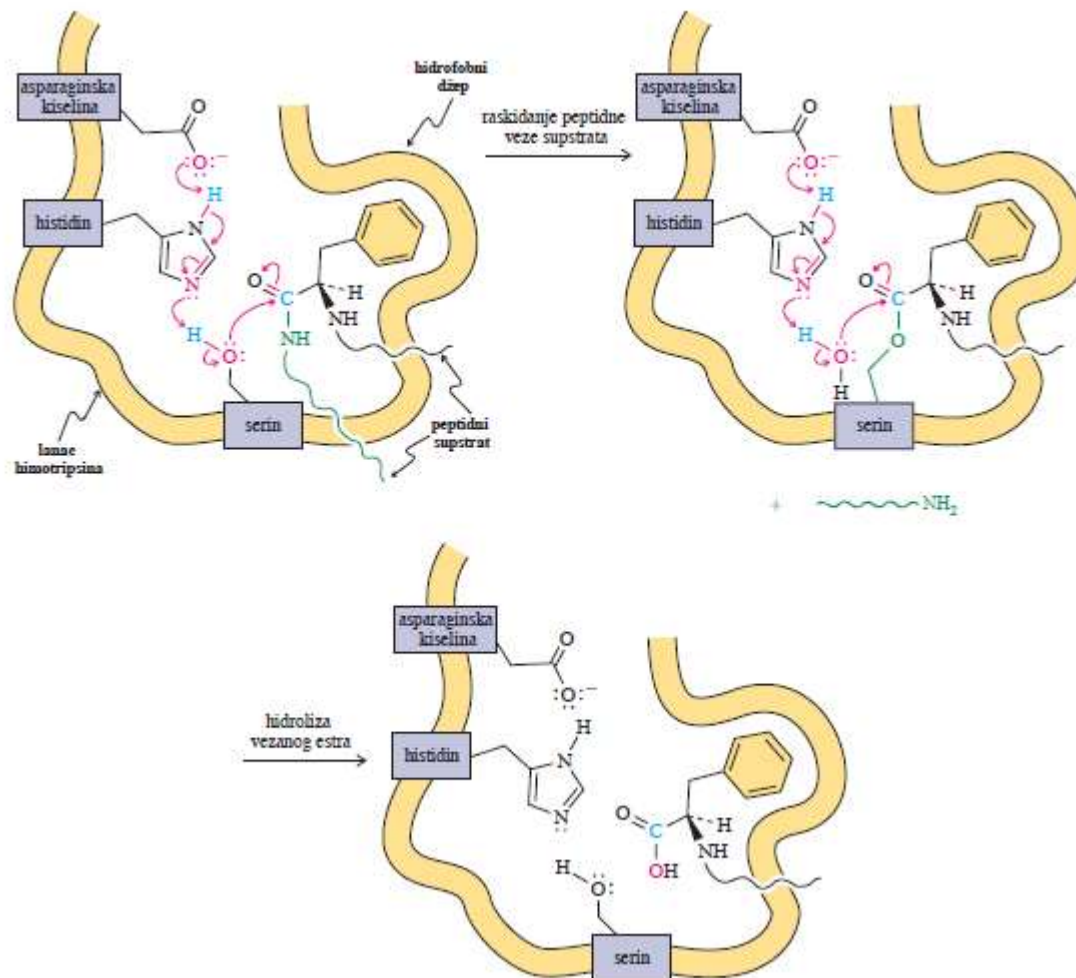
Vežba 26-8

Predložite Strecker-ovu sintezu glicina (iz formaldehida) i metionina (iz 2-propenala). (Pomoć: podsetite se odeljka 18-9.)

Vežba 26-9

Vasopresin, poznat i kao antidiuretični hormon, kontroliše izlučivanje vode iz organizma. Napišite njegovu punu strukturu. Zapazite da postoji intramolekulski disulfidni most između dva molekula cisteina.



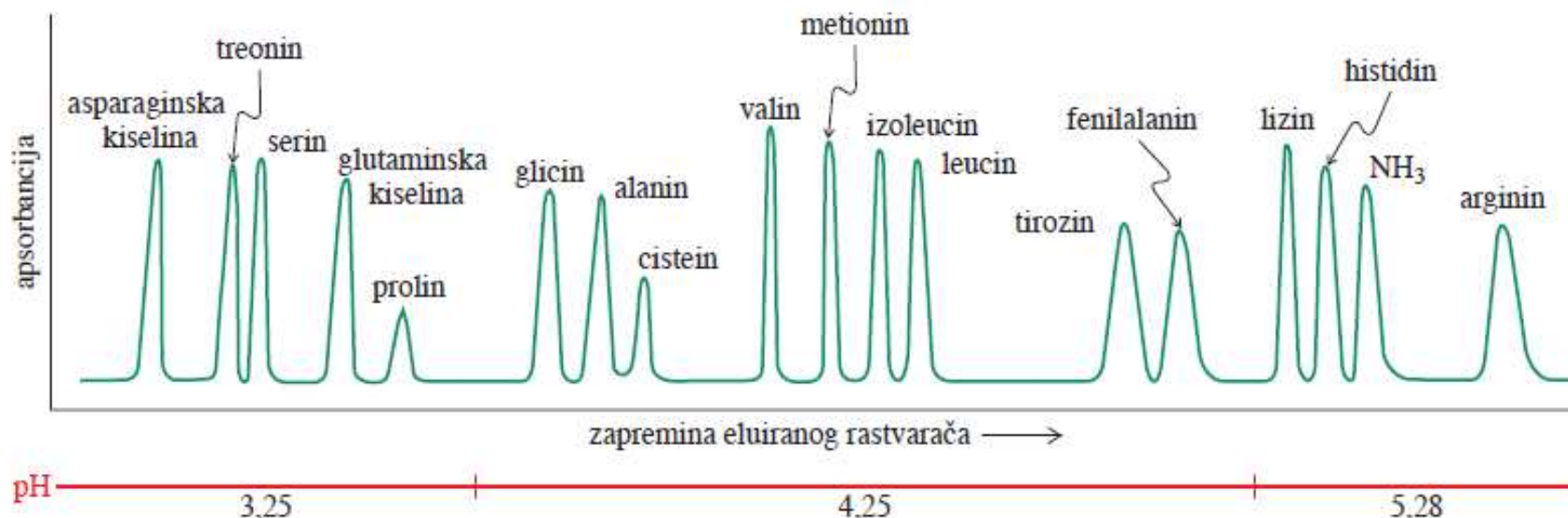


Vežba 26-10

Na shemi, prikazanoj na prethodnoj strani, izostavljene su dve faze obe nukleofilne adiciono-eliminacione reakcije. Prikažite kako enzim potpomaže njihovo odvijanje. (Pomoć: nacrtajte rezultat prenosa elektrona koji je prikazan na prvoj (ili drugoj) slici date sheme, razmislite na koji način prenos elektrona i protona može da potpomogne reakciju u suprotnom smeru.)

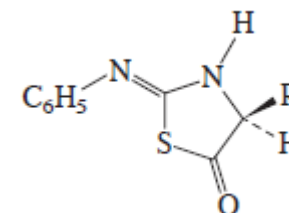
Vežba 26-11

Napišite očekivane rezultate analize aminokiselina A lanca insulina (slika 26-1).



Vežba 26-12

Feniltiohidantoin se ne gradi direktno, kako je prikazano crvenom strelicom u drugoj fazi prethodne sheme, već preko intermedijernog izomernog tiazolina (prikazanog na margini), koji u kiselj sredini podleže premeštanju u stabilniji feniltiohidantoin. Predstavite mehanizam njegovog građenja (R = H) iz feniltiouree glicinamida, C₆H₅NHC(=S)NHCH₂C(=O)NH₂, u kiselj sredini. [Pomoć: sumpor je nukleofilniji od azota (odjeljak 6-8).]



Vežba 26-13

Razlaganje polipeptida na fragmente sastavnih aminokiselina može se postići tretiranjem suvim hidrazinom. Na taj način može se identifikovati karboksilni završetak. Objasnite.

Vežba 26-14

Polipeptid s 21 aminokiselinom hidrolizovan je termolizinom. Proizvodi dobijeni na ovaj način, su Gly, Ile, Val-Cys-Ser, Leu-Tyr-Gln, Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser i Leu-Glu-Asn-Tyr-Cys-Asn. Kada se isti polipeptid hidrolizuje himotripsinom, dobijeni su Cys-Asn, Gln-Leu-Glu-Asn-Tyr i Gly-Ile-Val-Glu-Gln-Cys-Cys-Ala-Ser-Val-Cys-Ser-Leu-Tyr. Navedite sekvencu aminokiselina ovog molekula.

Vežba 26-15

Mehanizam deprotekcije Boc-aminokiselina razlikuje se od normalne hidrolize estara (odjeljak 20-4): vrši se preko intermedijarnog 1,1-dimetiletil- (*terc*-butil) katjona. Formulшите ovaj mehanizam.

Vežba 26-16

Predložite sintezu Leu-Ala-Val iz sastavnih aminokiselina.

Vežba 26-17

Formulшите mogući mehanizam hlormetilovanja benzenovog prstena na polistirenu. (Pomoć: podsetite se odeljka 15-11.)

Vežba 26-18

Iako navedene strukture ne ukazuju (osim za adenin), citozin, timin, guanin i uracil su aromatični, mada nešto manje od odgovarajućih azapiridina. Objasnite. (Pomoć: podsetite se diskusije o rezonanciji kod amida koja je data u odeljcima 20-1 i 26-4 i rešenom zadatku 25-13.)

Vežba 26-19

Koju sekvencu azotnih baza ima molekul mRNK dobijen iz DNK templata datog sastava?
5'-ATTGCTCAGCTA-3'

Vežba 26-20

- (a) Kakva sekvencu aminokiselina je kodirana sledećom mRNK (počevši sa leve strane)?
A-A-G-U-A-U-G-C-A-U-C-A-U-G-C-U-U-A-A-G-C
- (b) Gde bi trebalo da dođe do mutacije, pa da u peptidu bude prisutan Trp?

Vežba 26-21

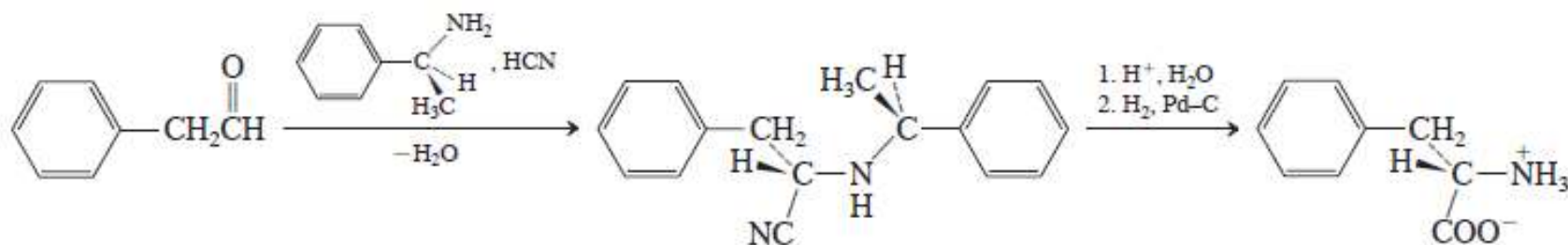
Predstavite mehanizam svake od reakcija hidrolize sa prethodne sheme koje dovode do deprotekcije.

Vežba 26-22

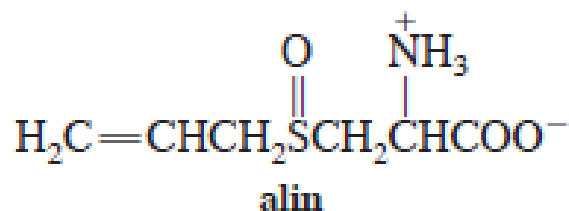
U prethodno opisanoj sintezi dinukleotida, pri vezivanju prvog nukleotida za silika-gel, koristi se 4-nitrofenil-estar kao odlazeća grupa, Zbog čega je pogodna njegova upotreba?

25. Nacrtajte stereochemijski ispravne strukturne formule izoleucina i treonina (tabela 26-1). Kakvo je sistematsko ime treonina?
26. Skraćenica *alo-* znači, kada su aminokiseline u pitanju, *diastereomer*. Nacrtajte *alo-L-*izoleucin i napišite njegovo sistematsko ime.
27. Nacrtajte strukturu svake aminokiseline u vodenom rastvoru na datoj pH vrednosti. Izračunajte izoelektričnu tačku svake aminokiseline: (a) alanin na pH = 1, 7 i 12; (b) serin na pH = 1, 7 i 12; (c) lizin na pH = 1, 7, 9,5 i 12; (d) histidin na pH = 1, 5, 7 i 12; (e) cistein na pH = 1, 7, 9 i 12; (f) asparaginska kiselina na pH = 1, 3, 7 i 12; (g) arginin na pH = 1, 7, 12 i 14; (h) tirozin na 1, 7, 9,5 i 12.
28. Grupišite aminokiseline iz zadatka 27 prema tome da li su (a) pozitivno naelektrisane, (b) neutralne, ili (c) negativno naelektrisane na pH = 7.
29. Koristeći jednu od metoda iz odeljka 26-2, ili svoju ličnu, predložite logičnu sintezu svih navedenih aminokiselina u racemskom obliku: (a) Val; (b) Leu; (c) Pro; (d) Thr; (e) Lys.

30. (a) Predstavite Strecker-ovu sintezu fenilalanina. Da li je proizvod hiralan? Da li pokazuje optičku aktivnost? (b) Nađeno je da se zamenom NH_3 optički aktivnim aminom u Strecker-ovoj sintezi fenilalanina dobija jedan enantiomer. Odredite *R*- ili *S*-konfiguraciju svakog stereocentra u navedenim strukturama i objasnite zašto se upotrebom hiralnog amina kao krajnji proizvod pretežno dobija jedan stereoizomer.

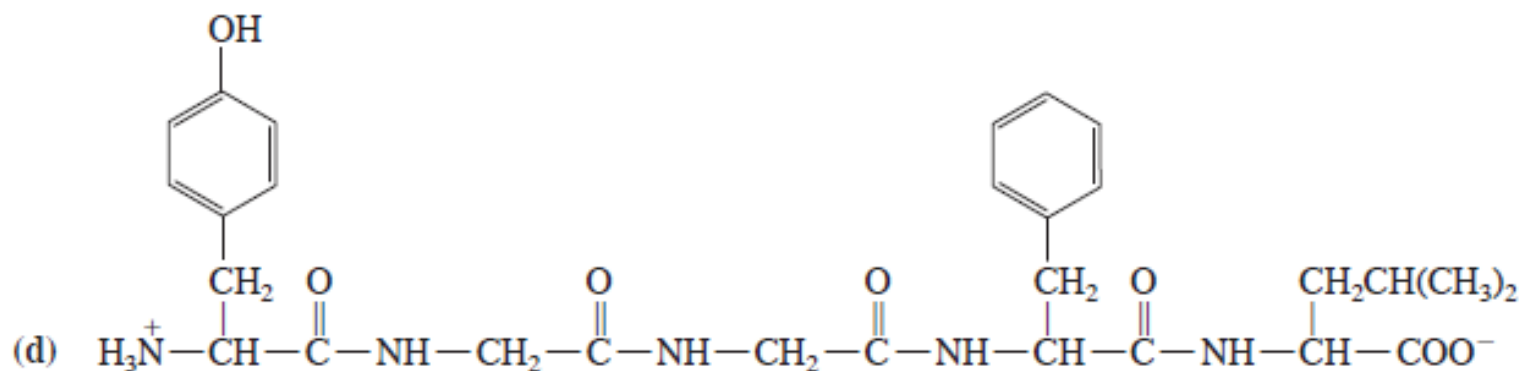
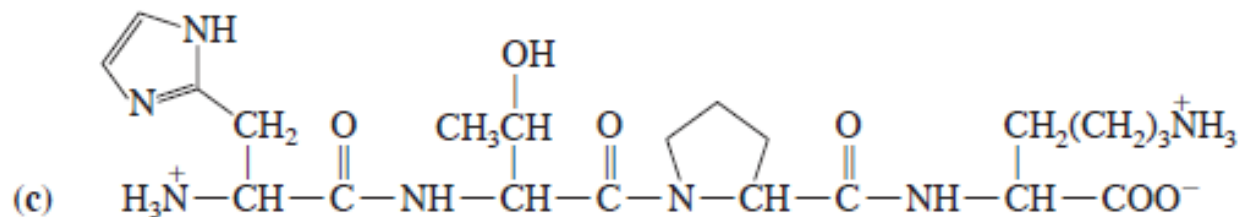
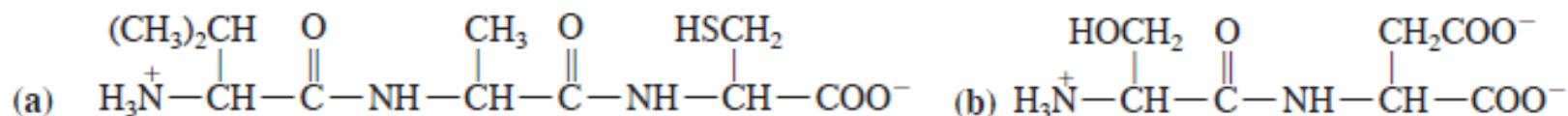


31. Antibakterijsko sredstvo iz belog luka, alicin (naglasak 9-4, zadatka 65 iz poglavlja 9), sintetiše se iz neobične aminokiseline alina dejstvom enzima alinaze. Kako je alinaza ekstracelularni enzim, ovaj proces se vrši samo kada se smrve ćelije belog luka. Predložite logičnu sintezu aminokiseline alina. (Pomoć: započnite s planiranjem sinteze strukturo slične aminokiseline iz tabele 26-1.)



32. Osmislite potupak za razdvajanje smese četiri stereoizomera izoleucina na sastavne komponente: (+)-izoleucin, (–)-izoleucin, (+)-aloizoleucin i (–)-aloizoleucin (zadatak 26). (Napomena: aloizoleucin je mnogo rastvorljiviji u 80% etanolu od izoleucina na svim temperaturama.)

33. Identifikujte svaku zadatu strukturu kao dipeptid, tripeptid itd. i istaknite sve peptidne veze.

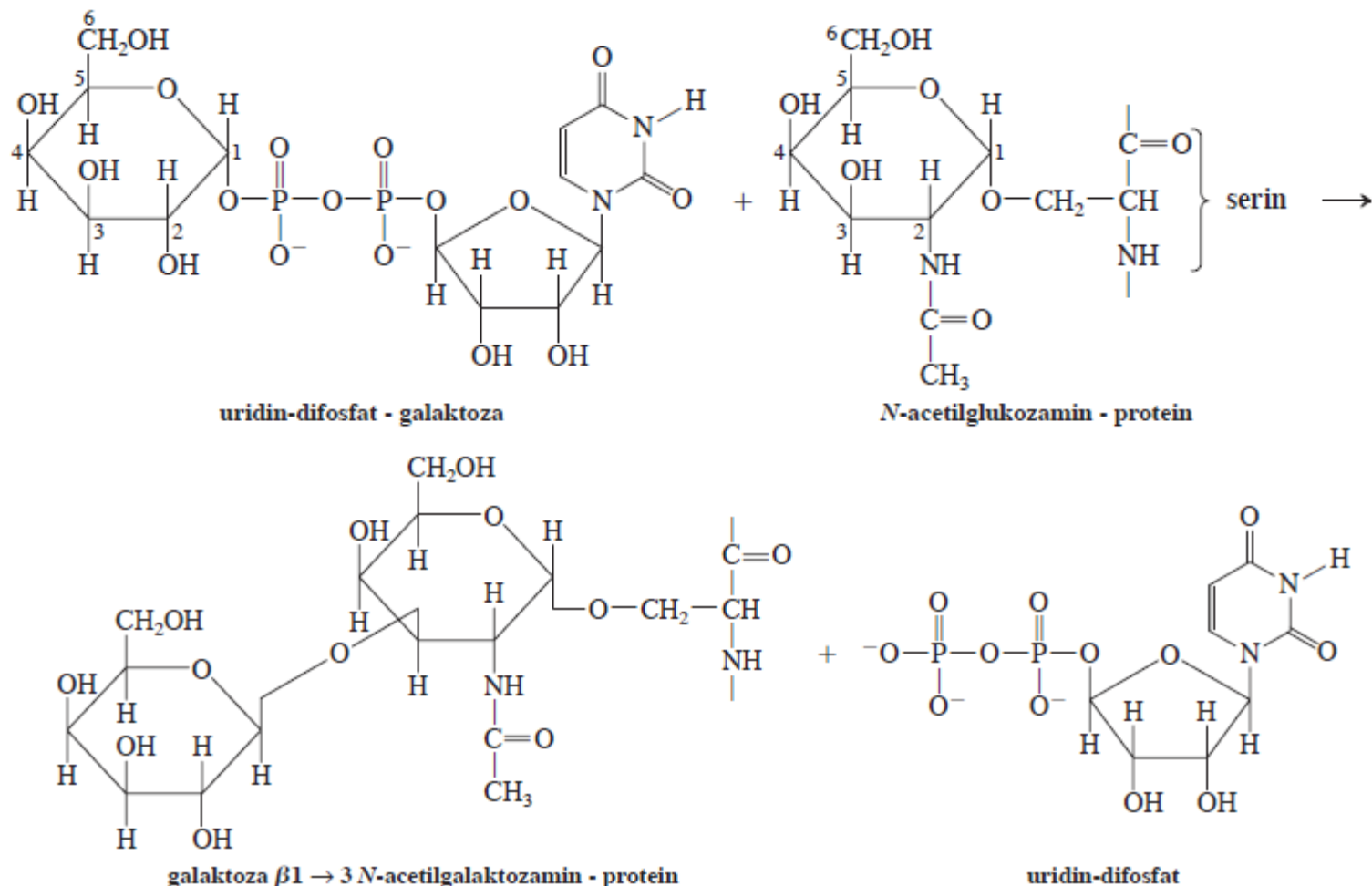


34. Koristeći standardne troslovne skraćenice aminokiselina, skraćenom notacijom napišite strukture peptida iz zadatka 33.

35. Naznačite koje aminokiseline iz zadatka 27, i peptidi iz zadatka 33, u aparatu za elektroforezu na $\text{pH} = 7$ migriraju (a) ka anodi ili (b) ka katodi.

36. Svila se sastoji iz β -ravni čiji se polipeptidni lanci sastoje od aminokiselina koje se ponavljaju u sekvenci Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala. Kakve osobine bočnih nizova aminokiselina favorizuju konfiguraciju β -ravni? Da li ilustracije struktura β -ravni (slika 26-3) ukazuju na objašnjenje ovog izbora?
37. Identifikujte što više možete pravih delova u α -heliksi mioglobina (slika 26-8C). Molekuli prolina nalaze se u mioglobinu na mestima 37, 88, 100 i 120. Kako oni utiču na tercijarnu strukturu molekula?
38. Od 153 aminokiseline mioglobina, 78 sadrže polarne bočne nizove (tj., Arg, Asn, Asp, Gln, Glu, His, Lys, Ser, Thr, Trp, i Tyr). Kada se mioglobin nalazi u prirodno uvijenoj konformaciji, 76 od ovih 78 polarnih bočnih nizova (svi osim dva histidinska) upravljena su od njegove površine. U isto vreme, uz dve histidinske jedinice, ka unutrašnjosti mioglobina upravljani su Gly, Val, Leu, Ala, Ile, Phe, Pro, i Met. Objasnite.
39. Objasnite sledeća tri zapažanja. (a) Svila se, slično najvećem broju polipeptida sa nabranom strukturom, ne rastvara u vodi. (b) Globularni proteini slični mioglobinu obično se lako rastvaraju u vodi. (c) Narušavanjem tercijarne strukture globularnog proteina (denaturacija) dolazi do njegovog taloženja iz vodenog rastvora.
40. Sopstvenim rečima opišite postupak koji su mogli da koriste istraživači u određivanju aminokiselinskog sastava vasopresina (vežba 26-9).

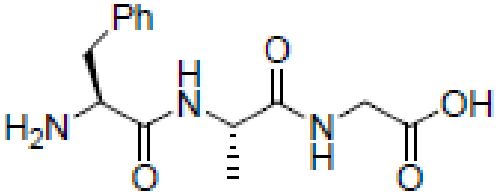
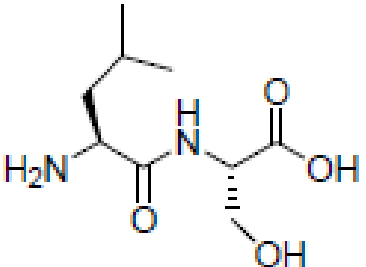
52. U biosintezi oligosaharida (poglavlje 24) učestvuju proteini, nukleinske kiseline i ugljeni hidrati. U prikazanom primeru formira se disaharid povezivanjem molekula galaktoze i i *N*-acetilgalaktozamina. Galaktoza („donorski“ šećer) ulazi u proces kao difosfatni ester, a „akceptor“ galaktozamin je glikozidno povezan sa hidroksilnom grupom serinskog ostatka proteina. Enzim galaktozil transferaza specifično katalizuje građenje disaharidne veze između C1 donora i C3 akceptora:



Sa kojom vrstom osnovnih mehanističkih procesa je slična ova reakcija? Prodiskutujte ulogu različitih učesnika u reakciji.

14. Predložite sintezu dipeptida Ala-Gly iz pojedinačnih aminokiselina.

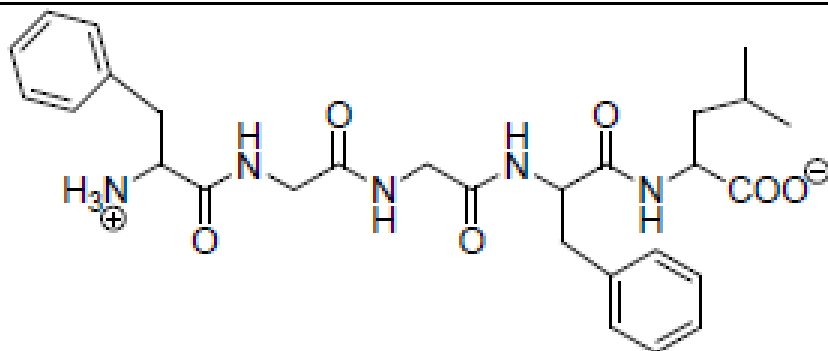
15. Napišite jedinjenja koja nastaju Sanger-ovom degradacijom sledećih peptida:

peptidi	proizvodi degradacije
	
	

11. Napišite strukture organskih proizvoda A, B i C.

Leucin + C ₂ H ₅ OH/H ⁺ → <u>A</u>	fenilalanin + etanoil-hlorid → <u>B</u>	A + B → <u>C</u>
---------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------	------------------

13. Napišite proizvode Edman-ove degradacije sledećeg peptida:



15. Predložite sintezu tripeptida Leu-Ala-Val iz sastavnih aminokiselina.

10. Predložite sintezu leucina (2-amino-4-metilpentanske kiseline) koristeći najmanje jednu reakciju za formiranje veze ugljenik-ugljenik.

13. Sekvenca aminokiselina met-enkefalina, peptida iz mozga snažnog biološkog dejstva sličnog opijatima, je Tyr-Gly-Gly-Phe-Met. Koji proizvodi nastaju postepenom Edmanovom degradacijom met-enkefalina?

14. Nacrtati strukturu oligopeptida Gly-Val-Ala. Napišite proizvode Edmanove degradacije ovog tripeptida.

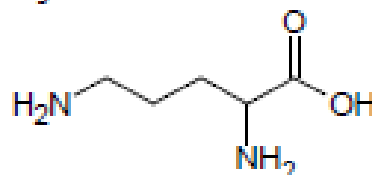
11. Zadatak:

a) Kiselim hidrolizom oligopeptidnog lanca koji se sastoji od 8 aminokiselina dobijaju se sledeći tripeptidi: Ala-Ala-Lys; Gln-Ala-Ala; Cys-Gln-Ala; Lys-Asp-Phe; Ala-Lys-Asp; Asp-Phe-Gly

Napišite formulu oligopeptidnog lanca.

b) Aminokiselina ornitin pripada grupi baznih aminokiselina i ima tri kiselobazne konstante: $pK_1 = 1,94$, $pK_2 = 8,65$, $pK_3 = 10,76$. Nacrtajte strukture ove aminokiseline u sledećim vodenim rastvorima:

- pH ispod 1,9
- pH između 1,9 i 8,7
- pH između 8,7 i 10,8
- pH iznad 10,8



15. Prikažite postupak za efikasno dobijanje dipeptida Phe-Phe, ukoliko na raspolaganju imate fenilalanin dobijen Strecker-ovom sintezom. Koliko se dipeptida može dobiti na ovaj način?

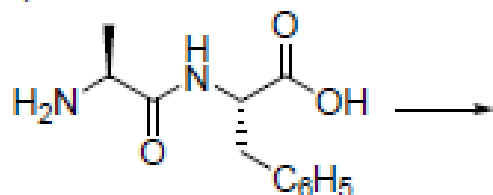
Prema kojoj elektrodi će, u aparatu za elektroforezu na pH=5, migrirati sintetisani dipeptid.

15. Predložite postupak za dobijanje valina Strecker-ovom sintezom. Da li je proizvod hiralan? Napišite naziv L-valina prema IUPAC-ovoj nomenklaturi.

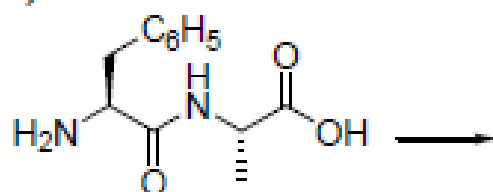
15. Merrifield-ovom sintezom na čvrstoj fazi efikasno se dobijaju peptidi. Čvrsta faza je hlormetilovani polistiren. Predložite sintezu dipeptida Leu-Ala iz sastavnih aminokiselina ovim postupkom.

13. Napišite jedinjenja koja nastaju Sanger-ovom degradacijom sledećih dipeptida:

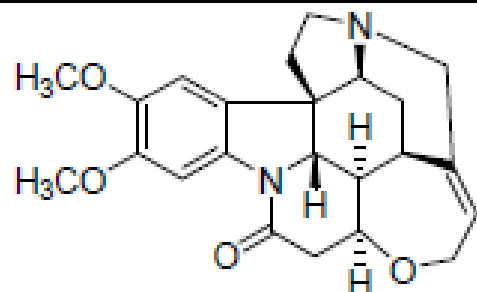
a)



b)



14. Valin se može dobiti Gabriel-ovom i Strecker-ovom sintezom. Ovim metodama dobijaju se aminokiseline u recemskim oblicima. Predložite postupak razlaganja racemskog valina na enantiomere pomoću brucina. (umesto formule brucina koristite simbol B, vodeći računa o naelektrisanju)



brucin

(2,3-dimetoksistrihmidin-10-on)