

CHƯƠNG II: AMINO ACID VÀ PROTEIN

1. Khái niệm và chức năng của Protein:

1.1. Khái niệm:

Là một polymer sinh học , có khối lượng lớn, gồm nhiều monomer (đơn phân) là các aa.
Pr ↓ bởi dung dịch TCA (trichloroacetic) 10%.

1.2. Chức năng:

- Tạo hình:
- Xúc tác sinh học:
- Điều hòa chuyển hóa:
- Vận chuyển các chất
- Co duỗi, vận động
- Bảo vệ cơ thể
- Trợ giúp cơ học
- Phát xung và vận chuyển các xung thần kinh
- Chức năng dự trữ:
- Cung cấp năng lượng

2. Cấu tạo Protein:

Protein được cấu tạo từ các nguyên tố hoá học phổ biến trong tự nhiên và theo tỷ lệ là (% khối lượng protein).

C: 50 – 54%; O: 20 – 23%; H: 6 – 7%; N: 16%. Ngoài ra còn có S, P, Fe, ...

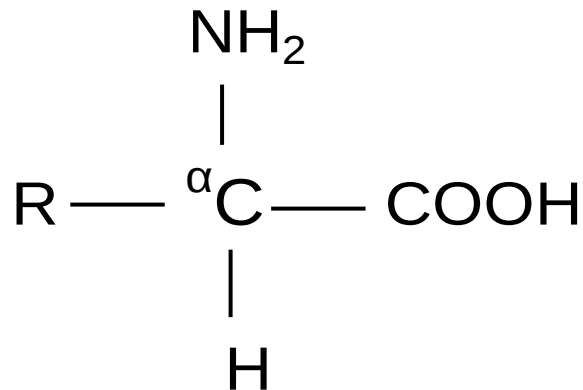
Đơn vị cấu tạo nên mọi loại protein đó là các acid amin.

2.1. Các acid amin (aa):

Là những đơn vị cơ bản tạo nên protein.

Có 20 loại aa để tạo nên tất cả protein.

2.1.1. Cấu tạo:



Gốc R có thể mạch C thẳng và số C khác nhau.

Gốc R có thể là mạch nhánh

Gốc R có thể là mạch vòng (6 cạnh, 5 cạnh)

Gốc R có thể là các nhóm khác: -OH, -SH, S-S

* Phân loại dựa vào cấu tạo hóa học aa:

Monoamin monocarboxyl (1 gốc $-NH_2$; 1 gốc $-COOH$)

Glycin	Leucin	Treonin	Methionin
Alanin	Izoleucin	Xistein	
Valin	Serin	Xistin	

Diamin monocarboxyl (2 gốc $-NH_2$; 1 gốc $-COOH$).

Lyzin	Arginin
-------	---------

Monoamin dicarboxyl (1 gốc $-NH_2$; 2 gốc $-COOH$)

Acid aspartic	Glutamic
---------------	----------

aa mạch vòng:

Vòng 6 cạnh: Tyrozin

Vòng 5 cạnh: Prolin

2 loại vòng: Tryptophan

Phenylalanin

Histidin

Oxyprolin

* **Phân loại theo giá trị dinh dưỡng:**

+ **Aa không thay thế:**

cơ thể trưởng thành có 8/20 aa không thay thế: Iơxin, izolơxin, methionin, valin, lizin, treonin, phenylalanin, tryptophan

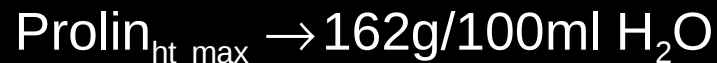
trẻ em cần thêm 2 loại aa là $8 + 2 = 10$ aa (arginin, histidin)

+ **Aa thay thế**

2.1.2. Tính chất của aa

* **Tính chất chung:**

aa có thể tồn tại dưới dạng tinh thể màu trắng, tan trong nước ở mức độ khác nhau.



+ Khi nhiệt độ tăng nhanh thì độ hoà tan cũng tăng nhanh hoặc khi chuyển thành muối thì độ hoà tan cũng tăng.

- + **Trong môi trường acid, nhiệt độ**, một số aa có S có thể phân hủy 10 – 30%. Nhìn chung các aa bền.
- + **Với pH >7 (kiềm)** các aa chuyển sang dạng đồng phân D (L ↔ D) điều đó sẽ có hại vì dạng D không hấp thu được sẽ làm tổn hao 1 lượng aa.
- + Trong môi trường kiềm có hiện tượng khử amin, tức là hiện tượng desamin (khử -NH₂)

* Hoạt động quang học:

Vì aa có C* - bất đối (trừ glycin). (C nối với 4 gốc khác nhau) → tạo nhiều đồng phân khác nhau do sự thay đổi của vị trí các nhóm. Nếu gọi n là số C* thì số đồng phân là 2ⁿ

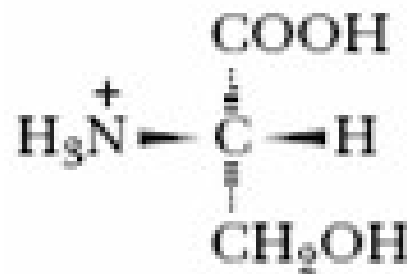
Cấu hình L: nhóm NH₂ ở bên trái C_α

Cấu hình D: nhóm NH₂ ở bên phải C_α

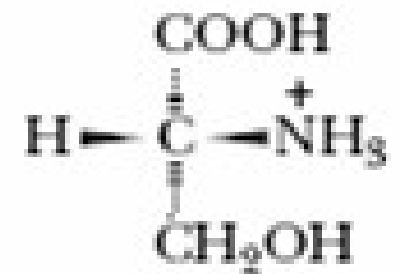
+ : dextrorotatory

- : levorotatory

• Đa số amino acid trong tự nhiên có cấu hình L

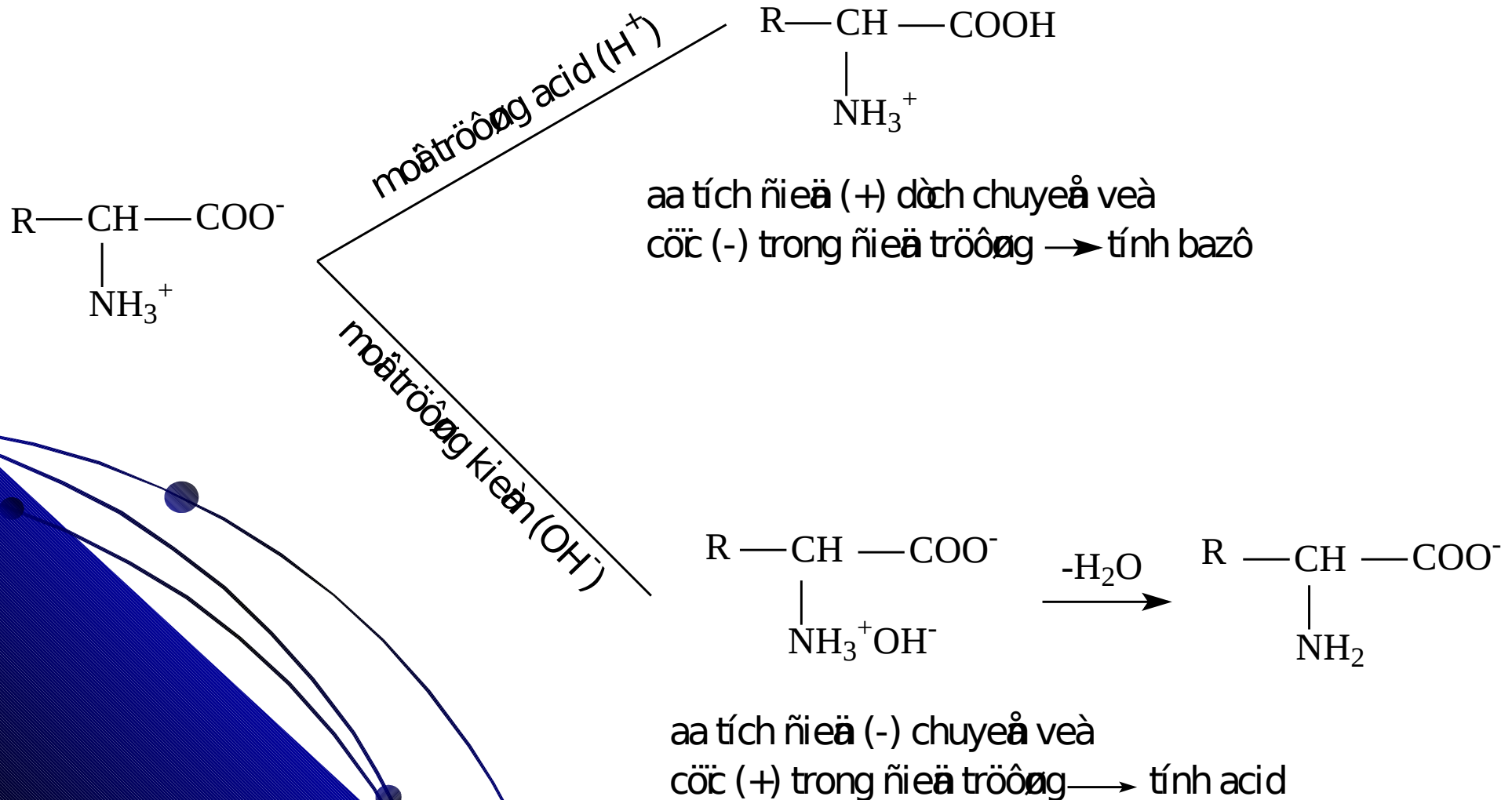


L-Serine



D-Serine

Vì aa có đồng thời nhóm (-NH₂ và -COOH) nên aa có tính lưỡng tính. pH môi trường thay đổi, aa có thể hiện tính chất bazơ hoặc acid.



Tùy theo pH các amino acid có thể ở dạng anion, cation, lưỡng cực, trung hòa điện

+ Trong môi trường acid sự phân ly của nhóm carboxyl bị kìm hãm

+ Trong môi trường kiềm sự phân ly của nhóm amine bị kìm hãm

Điểm đẳng điện (pI): Ở trị số pH $(+) + (-) = 0$

Tại pI amino acid không chuyển dịch trong điện trường.

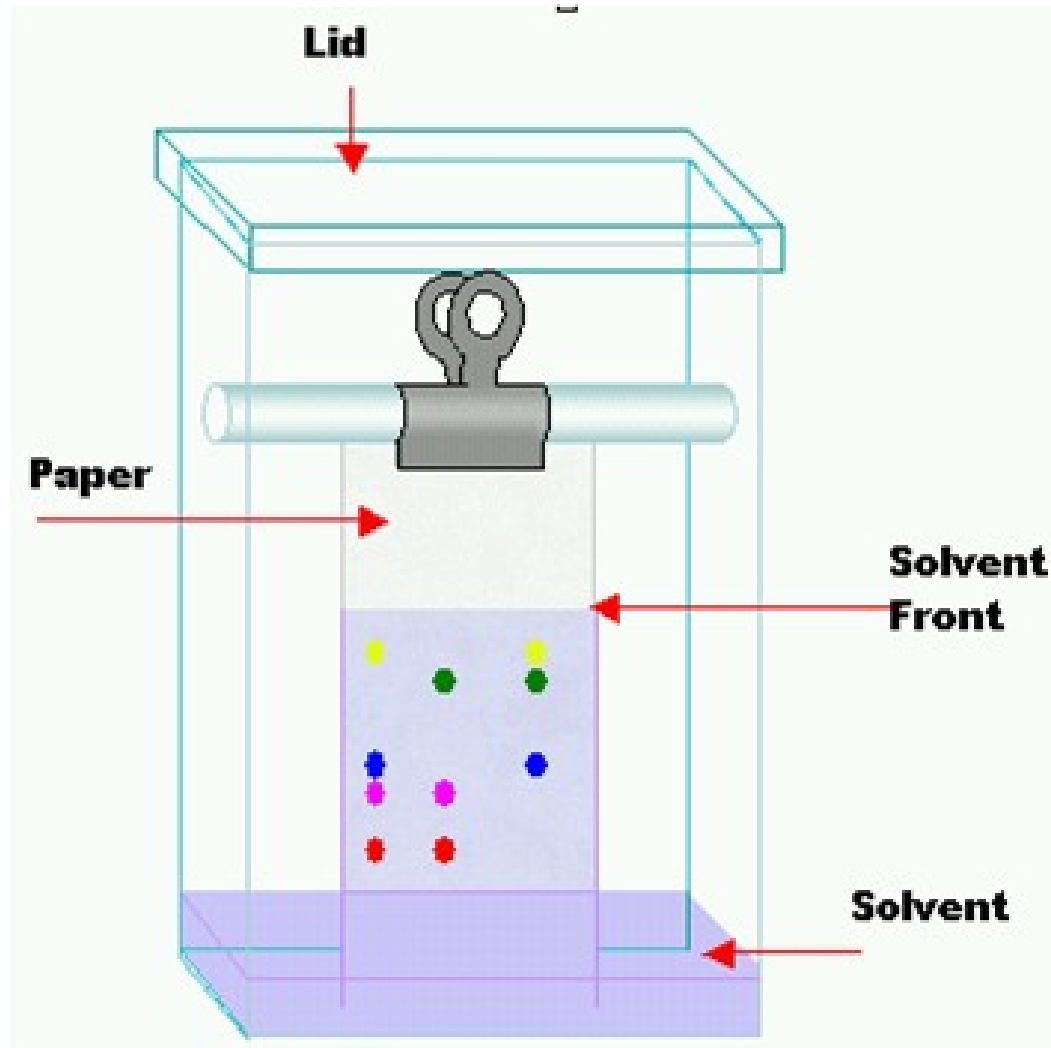
Mỗi aa có pI riêng. Tại $pH_{mt} = pI$ aa thì aa sẽ kết tủa
→ ứng dụng để tách riêng 1 aa ra khỏi hỗn hợp 20aa.

Bảng liệt kê tên, ký hiệu và pI của aa

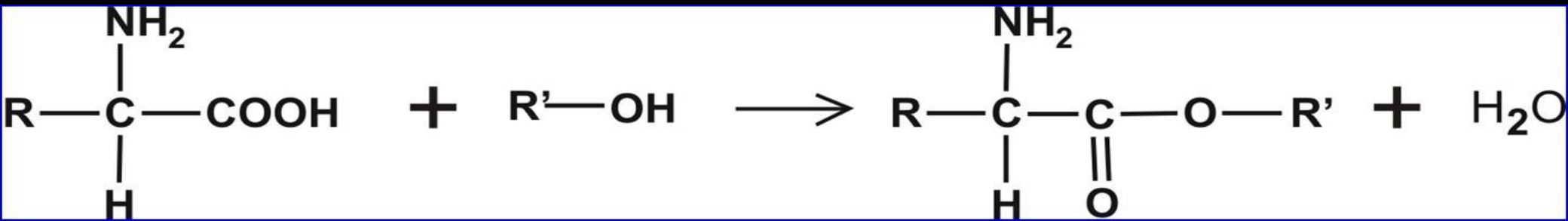
Tên thường	Ký hiệu	Tên theo IUPAC	pI
Alanine	A, Ala	2-aminopropanoic acid	6,00
Cysteine	C, Cys	2-amino-3-sulfanylpropanoic acid	5,07
Aspartic acid	D, Asp	2-aminobutanedioic acid	2,77
Glutamic acid	E, Glu	2-aminopentanedioic acid	3,22
Phenylalanine	F, Phe	2-amino-3-phenylpropanoic acid	5,50
Glycine	G, Gly	Aminoethanoic acid	5,97
Histidine	H, His	2-amino-3-imidazolpropanoic acid	7,59
Isoleucine	I, Ile	2-amino-3-methylpentanoic acid	6,02
Lysine	K, Lys	2,6-diaminohexanoic acid	9,74
Leucine	L, Leu	2-amino-4-methylpentanoic acid	5,98
Methionine	M, Met	2-amino-4-(methylsulfanyl)butanoic acid	5,74
Asparagine	N, Asn	2-amino-3-carbamoylpropanoic acid	5,41
Proline	P, Pro	Pyrrolidine-2-carboxylic acid	6,30
Glutamine	Q, Gln	2-amino-4-carbamoylbutanoic acid	5,65
Arginine	R, Arg	2-amino-5-(diaminomethylideneamino)pentanoic acid	10,76
Serine	S, Ser	2-amino-3-hydroxypropanoic acid	5,68
Threonine	T, Thr	2-amino-3-hydroxybutanoic acid	5,60
Valine	V, Val	2-amino-3-methylbutanoic acid	5,96
Tyrosine	Y, Tyr	2-amino-3-(4-hydroxyphenyl)propanoic acid	5,66
Tryptophan	W, Trp	2-amino-3-indolpropionic acid	5,89

Phân tích hỗn hợp amino acid

Sắc ký giấy (thực hành):

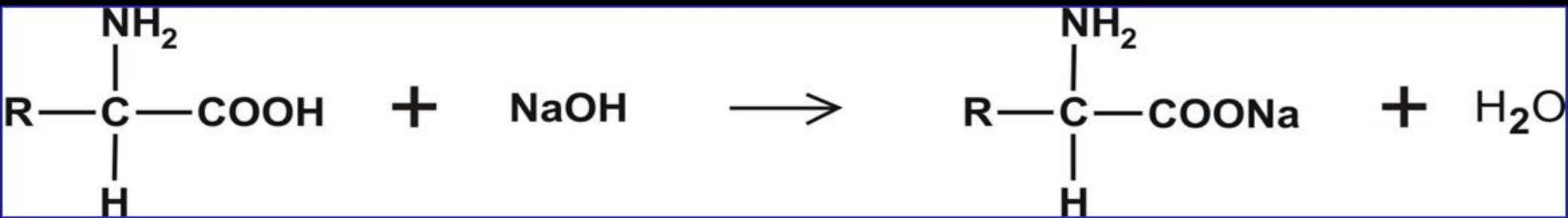


* Tạo ester:

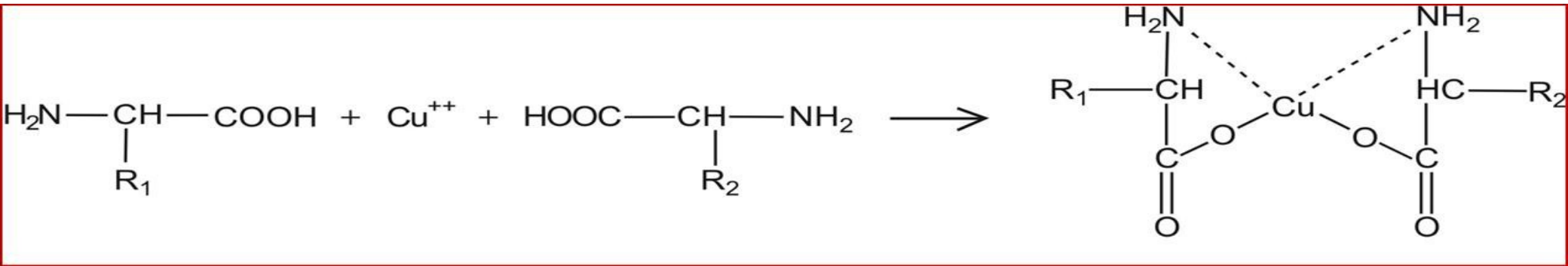


* Tác dụng tạo muối:

Aa là những chất lưỡng tính nên có thể tác dụng với acid hoặc bazơ để tạo thành muối



*Phản ứng với KL tạo phức



Phản ứng với kim loại: hầu hết aa đều có khả năng tạo phức với các ion kim loại hóa trị 2

Phản ứng xảy ra trong môi trường kiềm cho sản phẩm có màu tím

Độ bền của phức tăng theo thứ tự như sau



Phức tím

* Tác dụng với Formol:

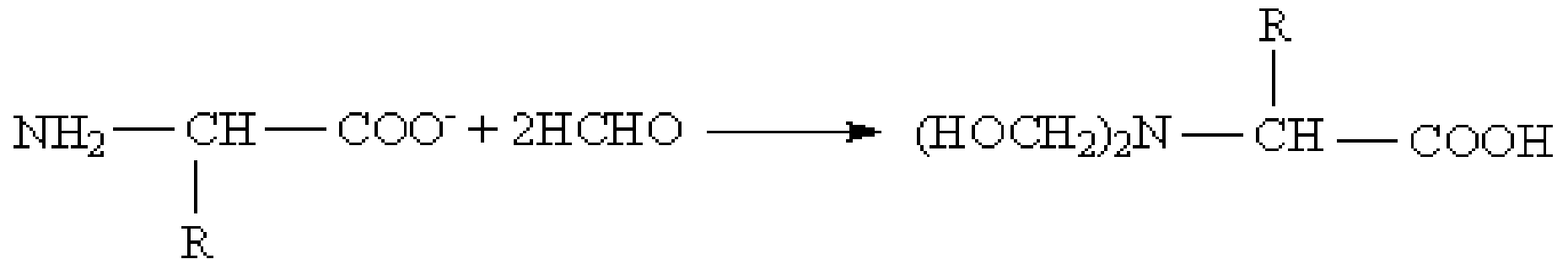
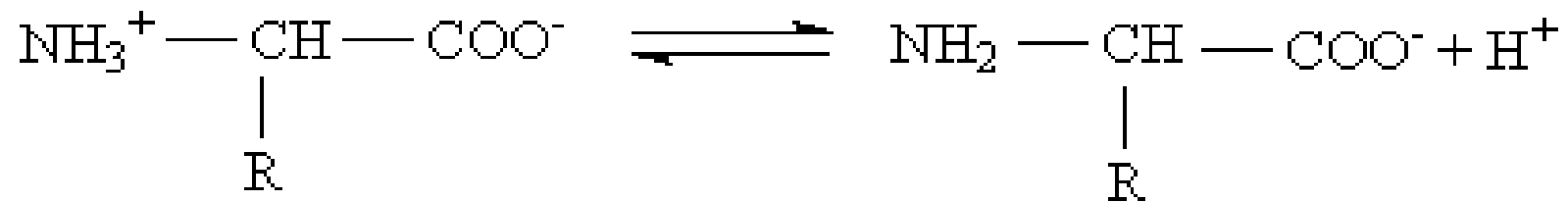
Aa có đồng thời nhóm amin và nhóm cacboxyl nên không chuẩn độ trực tiếp được mà phải vô hiệu hóa 1 trong 2 nhóm.

aa + formol → metyl hóa nhóm amin.

→ Mất tính chất kiềm của aa → còn lại nhóm $-\text{COOH}$ tự do (tính acid) nên chuẩn độ bằng kiềm

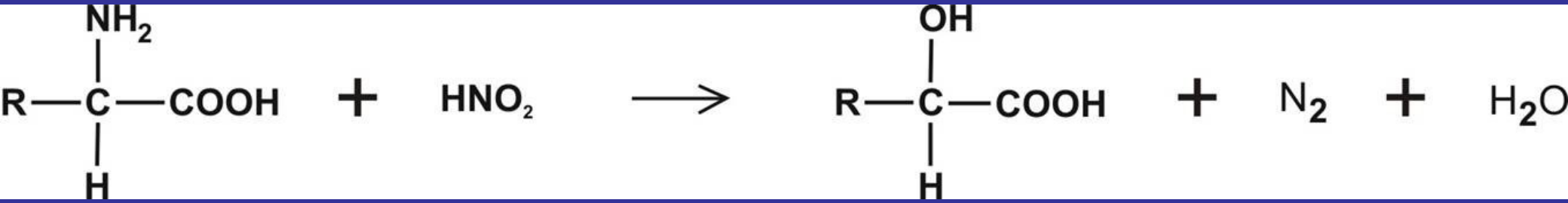
→ từ lượng NaOH chuẩn độ được lượng aa.

Cơ sở phân tử lượng aa “Chuẩn độ formol Sorena”



* Tác dụng với HNO_2

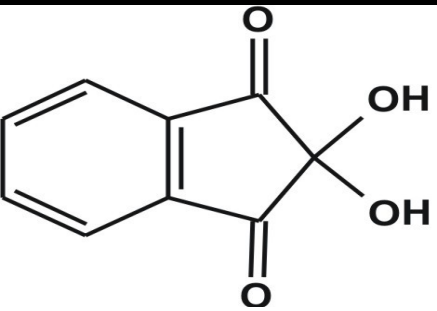
Giải phóng N_2 , định lượng N_2 suy ra được lượng aa



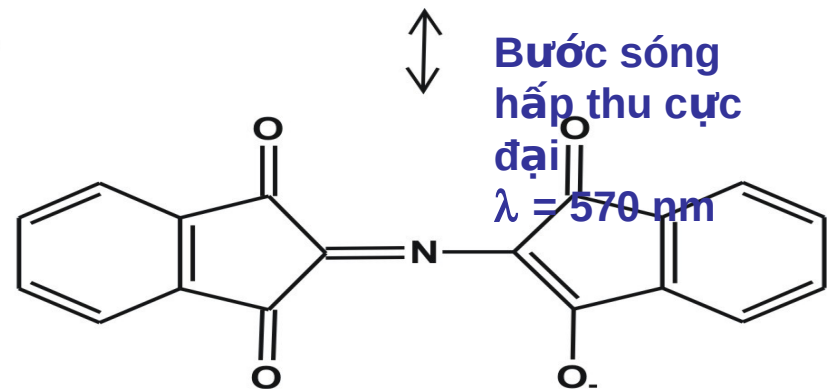
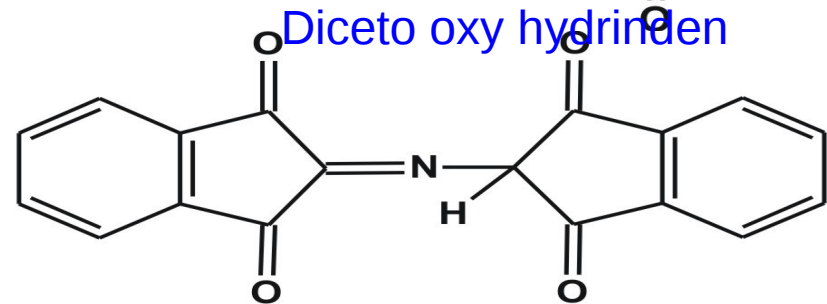
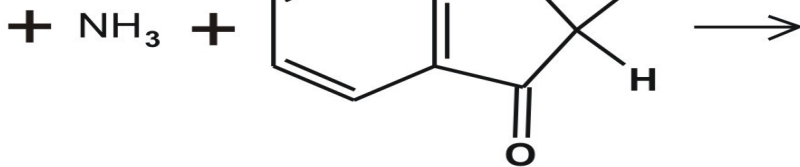
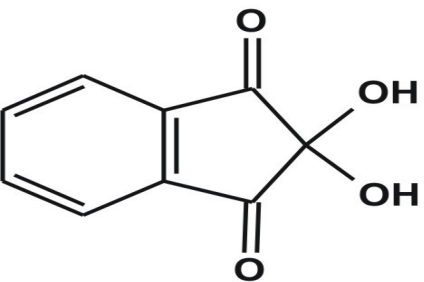
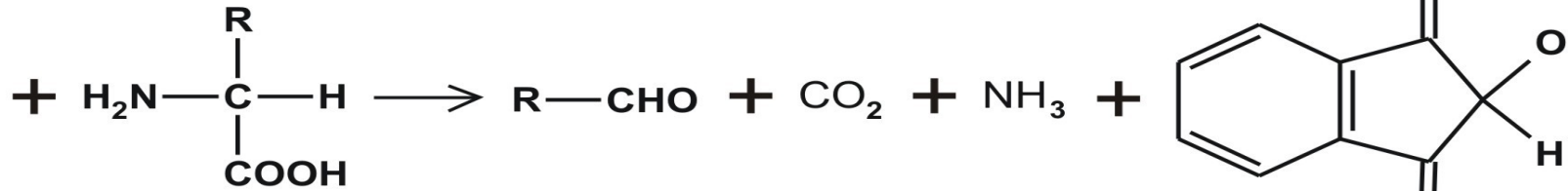
Phản ứng với HNO_2 (trừ proline, hydroproline), tạo thành oxy acid tương ứng

Cơ sở để xây dựng phương pháp định lượng aa \rightarrow phương pháp Vanslyke

*Phản ứng với Ninhydrin:



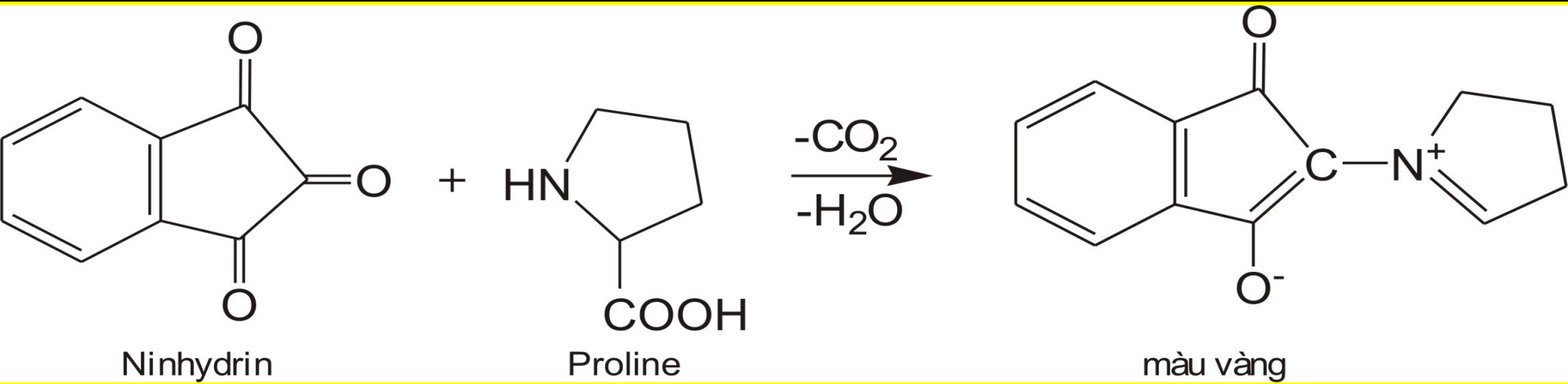
Ninhydrin



Phức màu tím (Ruhemann Purple)

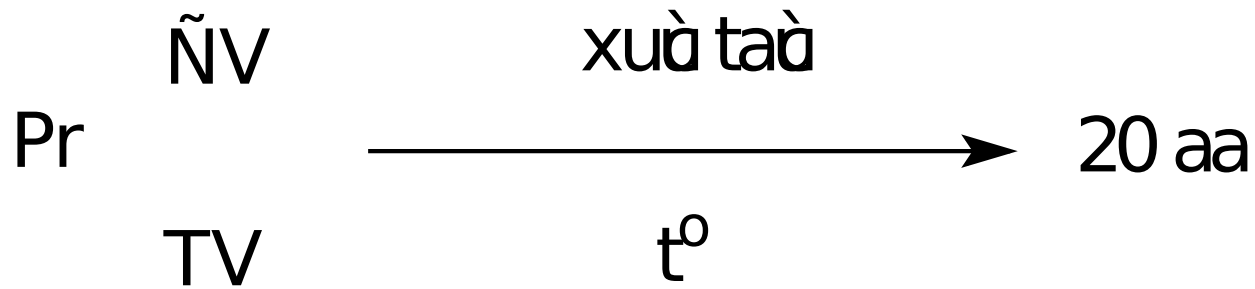
Nhóm NH_2 của amino acid phản ứng với ninhydrin cho phức màu tím, riêng proline cho phức màu vàng

Phản ứng của Proline với Ninhydrin



Ứng dụng: dùng để định tính và định lượng Proline (520 nm)

2.2. Sự thủy phân protein tạo acid amin:



2.3. Peptid:

Peptit được tạo thành từ các aa

Từ 2 aa → có dipeptit

Từ 3 aa → có tripeptit

Từ 4 aa → có tetrapeptit

Từ hàng trăm ngàn aa → có polypeptit

(Mạch peptit mà tập hợp hơn 50 aa và có phân tử lượng cao hơn 6000 thì nó thuộc về protein).

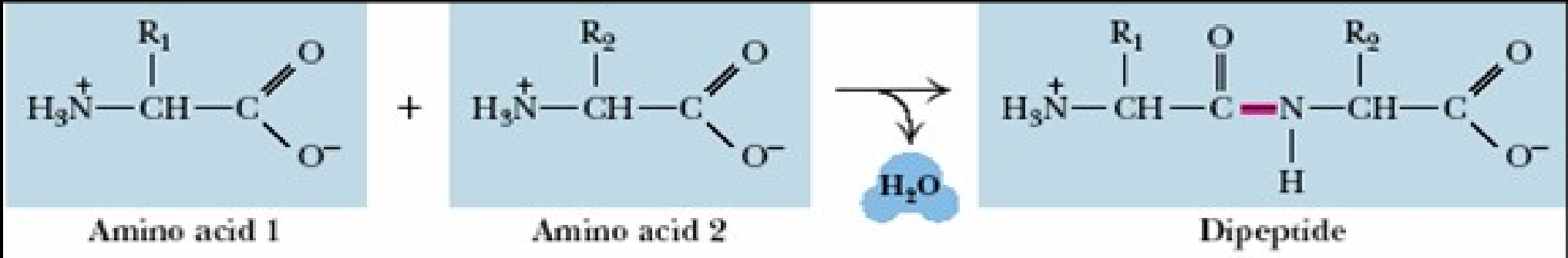
Nguyên tắc cấu tạo một peptit:

aa₁ góp nhóm –COOH

aa₂ góp nhóm –NH₂

Mất một H₂O (–H₂O), tạo

liên kết –CO–NH–



2.4. Protein:

Định nghĩa:

Là polypeptit được tạo thành từ các aa và liên kết nhau bằng **liên kết peptit**.

Nguyên tắc cấu tạo của mạch polypeptit giống nguyên tắc cấu tạo của peptit.



Trong phân tử Pr, liên kết chủ yếu là liên kết peptit –CO–NH. Các liên kết khác là:

Liên kết H

Liên kết S - S

Liên kết tĩnh điện

Liên kết Vandervan

Tùy theo mức độ phức tạp của cấu trúc KG mà chia cấu tạo của Pr làm 4 bậc cấu trúc

2.4.1. Cấu trúc bậc 1:

Là trình tự sắp xếp của các aa trong chuỗi polypeptide

Liên kết cơ bản trong cấu trúc bậc 1 là liên kết peptide

Sự rối loạn sắp xếp liên kết peptide gây ra một số bệnh lý

Vd: Bệnh thiếu máu hình lưỡi liềm:

Người bình thường: His-Val-Leu-Thr-Pro-Glu-Lys

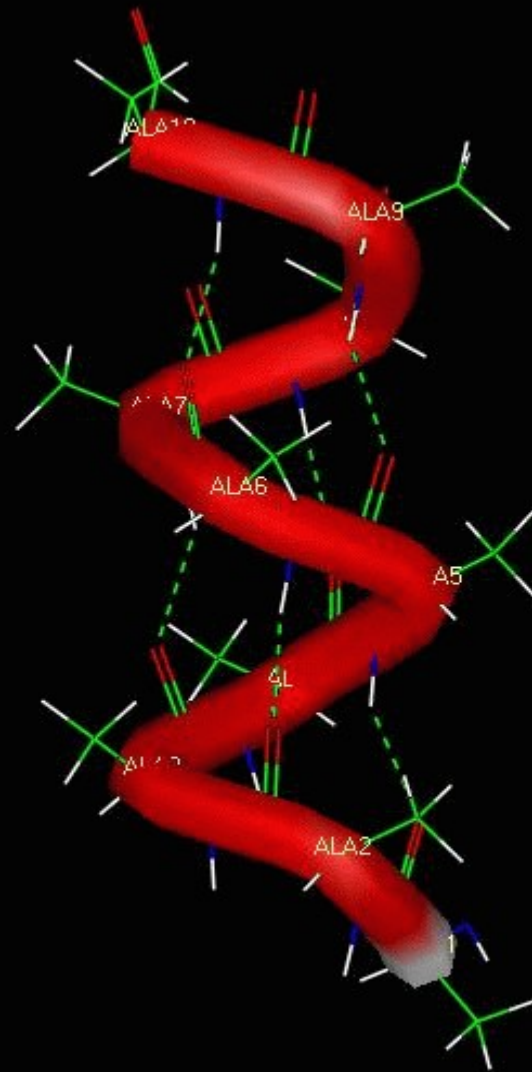
Người bệnh: His-Val-Leu-Thr-Pro-Val-Glu-Lys

2.4.2. Cấu trúc bậc 2:

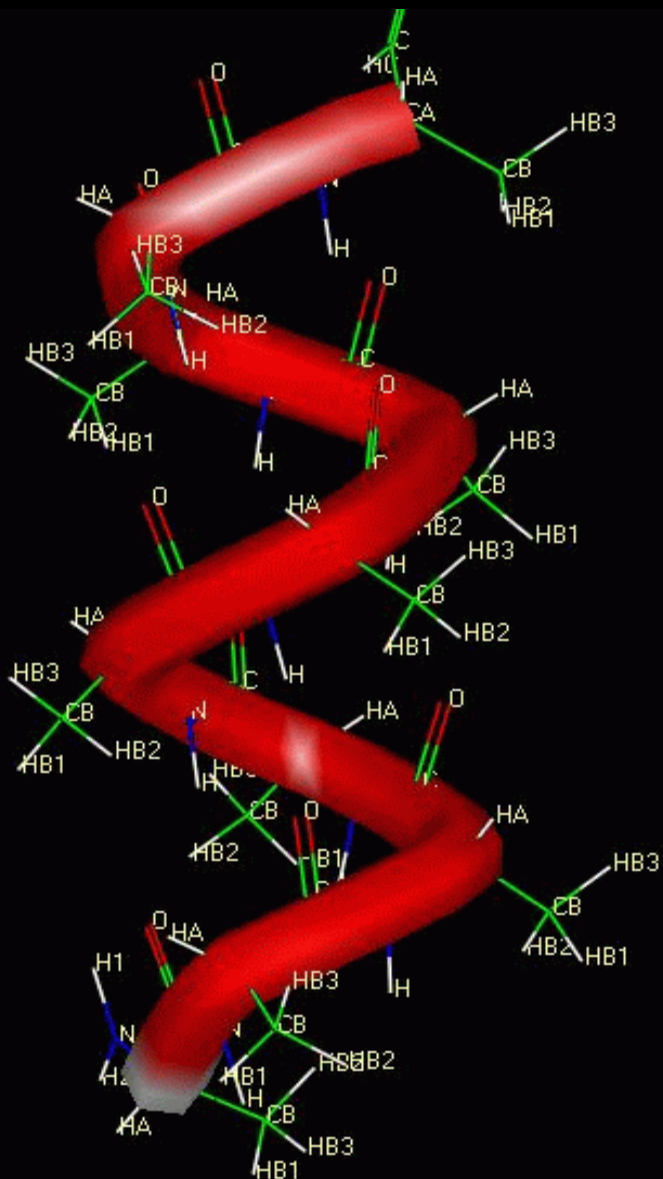
Julian Voss-Andreae's Alpha Helix for Linus Pauling (2004), powder coated steel, height 10' (3 m). The sculpture stands in front of Pauling's childhood home on 3945 SE Hawthorne Boulevard in Portland (Ore., USA).

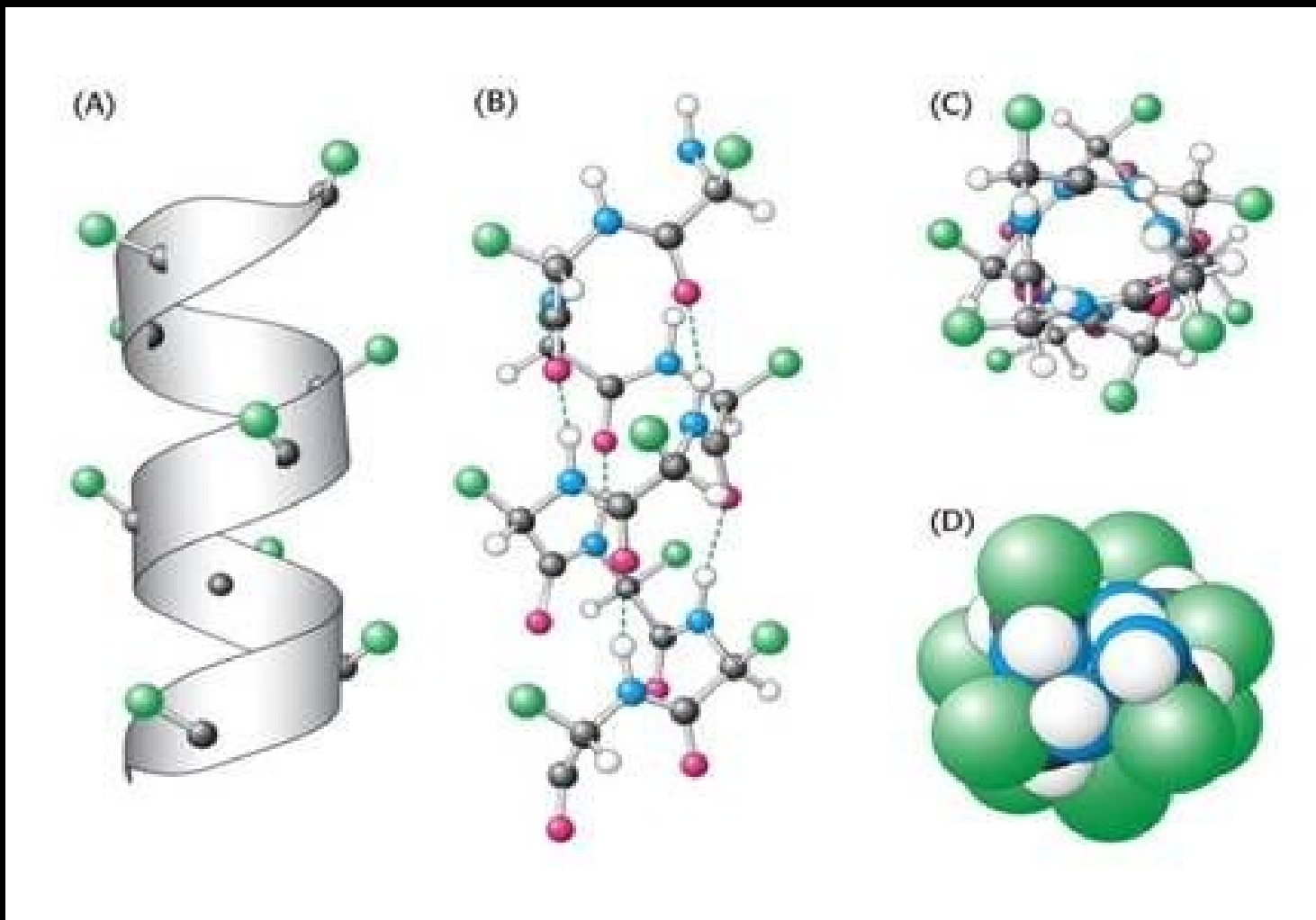


left-handed alpha-helix

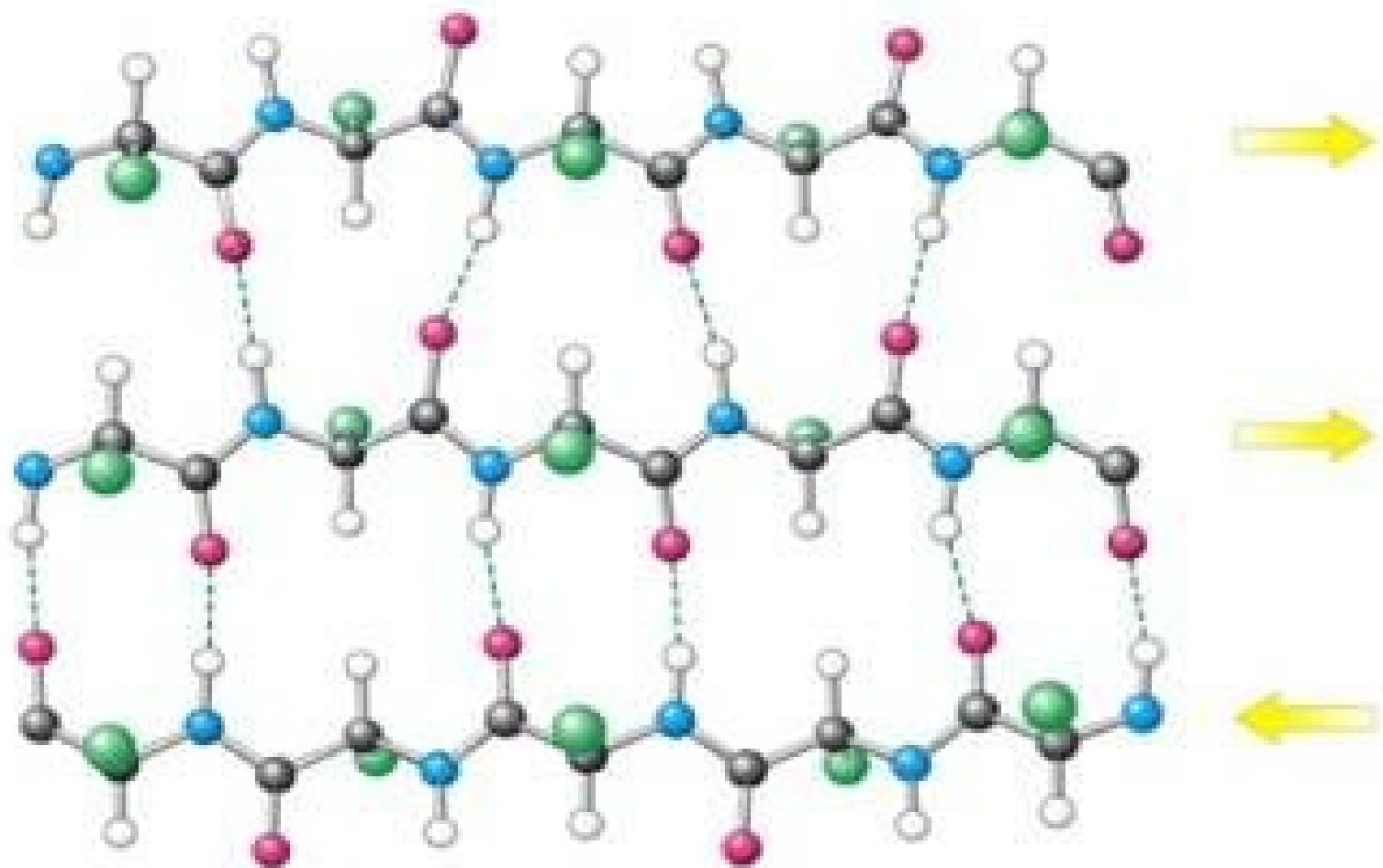


right-handed alpha-helix





cấu trúc xoắn alpha. A: mô hình giản lược, B: mô hình phân tử, C: nhìn từ đỉnh, D: mô hình không gian.

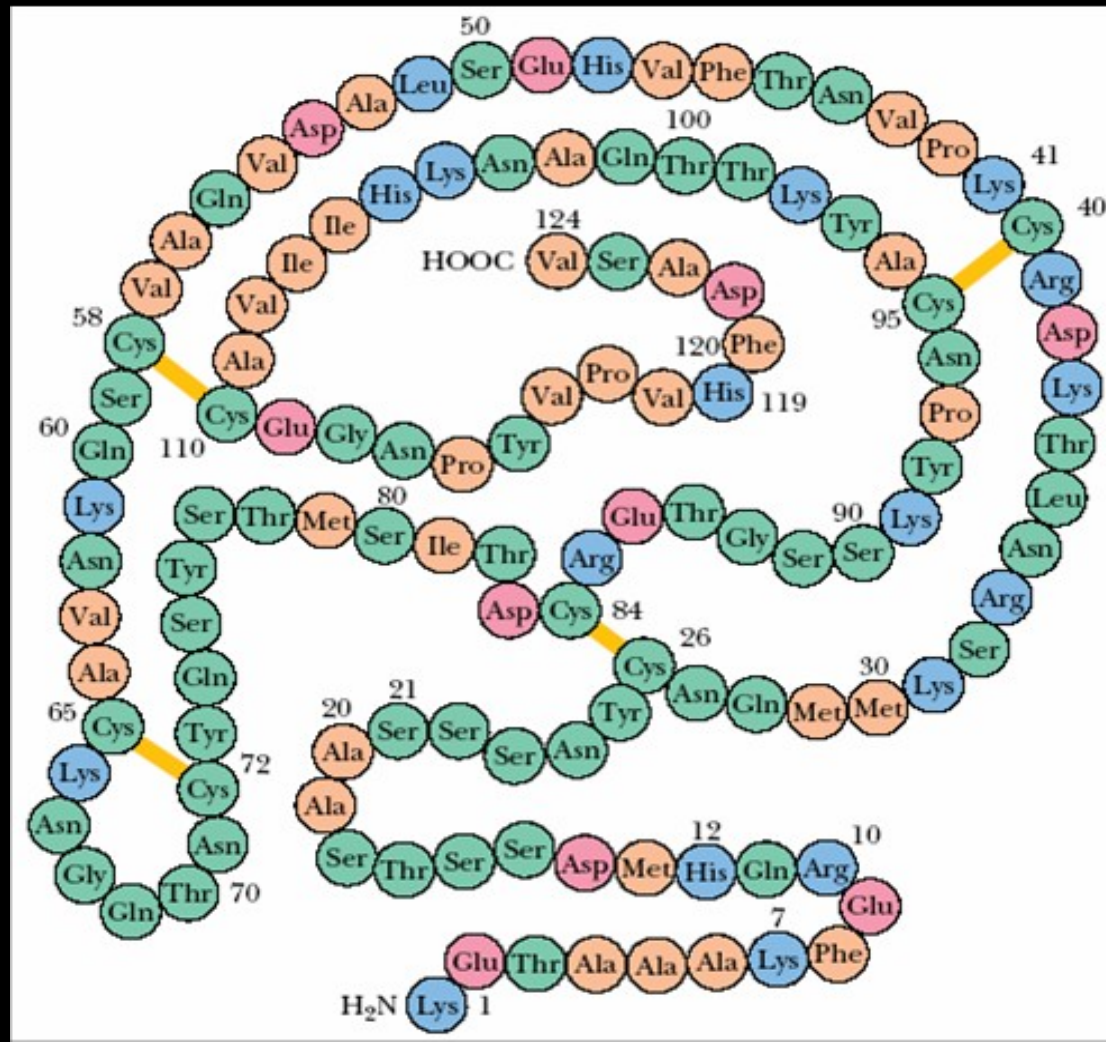


Cấu trúc chuỗi β

2.4.3. Cấu trúc bậc 3:

Là sự sắp xếp lại về mặt không gian của cấu trúc bậc 2

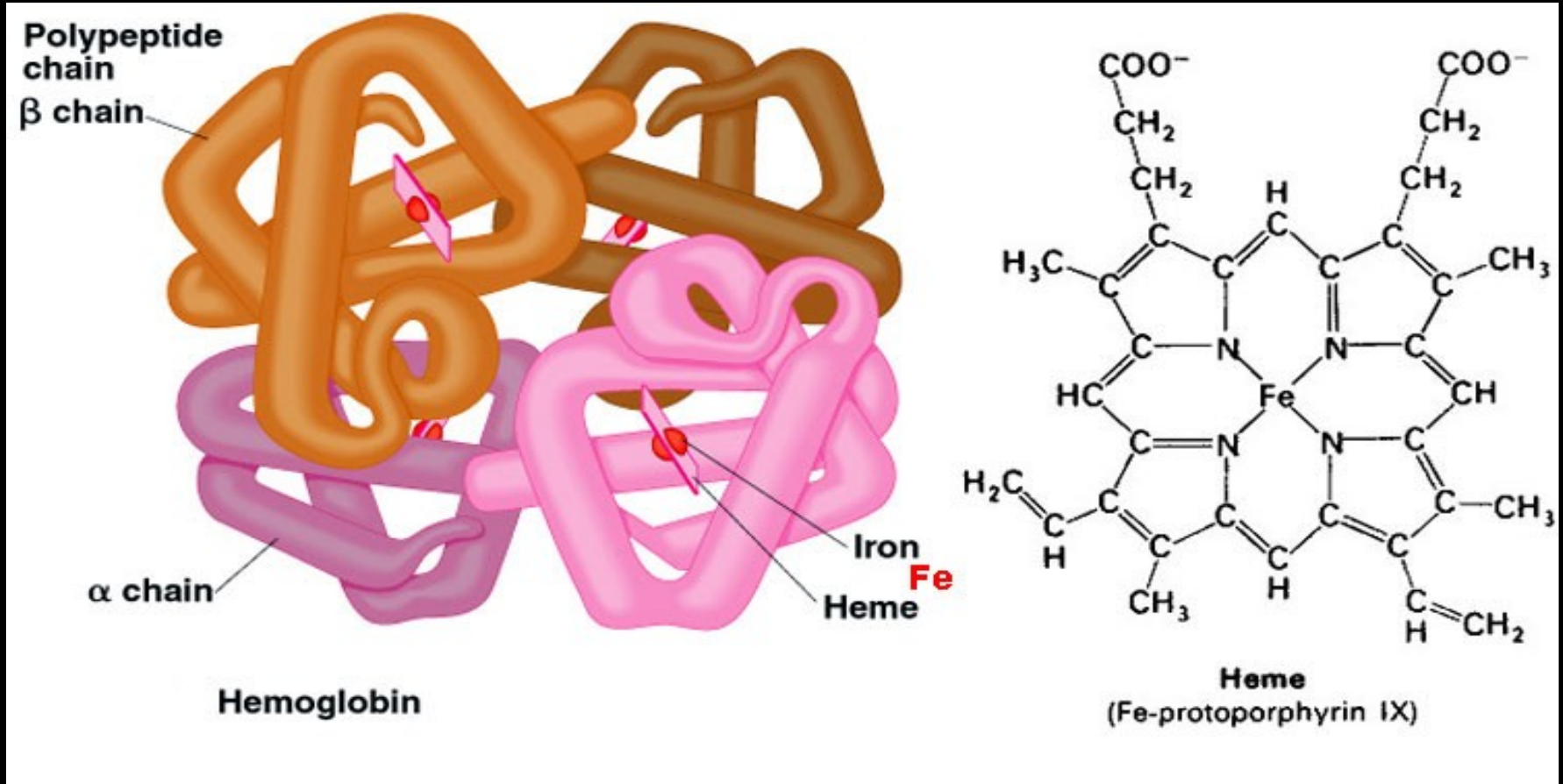
Cấu trúc bậc 3 được tạo ra nhờ tương tác tương hỗ giữa các mạch bên, đặc biệt là liên kết – S – S – (cầu disulfite). Ngoài ra còn có sự đóng góp của các liên kết H, ion, tương tác kỵ nước, ...



2.4.4. Cấu trúc bậc 4

Là sự phối hợp (tổ hợp) các cấu trúc bậc 3.

cấu trúc bậc IV = n x tiểu đơn vị



Các cấu trúc bậc cao của Pr có vai trò quan trọng quyết định hoạt tính sinh học của Pr

2.4.5. Tính chất của Protein

* Hình dạng và trọng lượng phân tử:

* Pr hình sợi:

chiều dài/ chiều rộng = hàng trăm đến hàng nghìn.

* Pr hình cầu:

chiều dài/ chiều rộng $\approx 1 \rightarrow 20$.

* Phân tử lượng (M):

M_{Pr} rất lớn

* Sự hòa tan và kết tủa Pr:

Tỷ lệ nhóm ưa nước/ nhóm kỵ nước cao thì dễ hoà tan.

* Phản ứng màu đặc trưng:

Khi cho dung dịch $\text{Pr} + \text{CuSO}_4 / \text{kiềm} \rightarrow$ tạo phức tím (tím pha đỏ)

\rightarrow Phản ứng phát hiện ra Pr và các peptit. Phản ứng này chỉ xảy ra khi có liên kết peptit $-\text{CO}-\text{NH}-$

* Tính chất quang học của Pr:

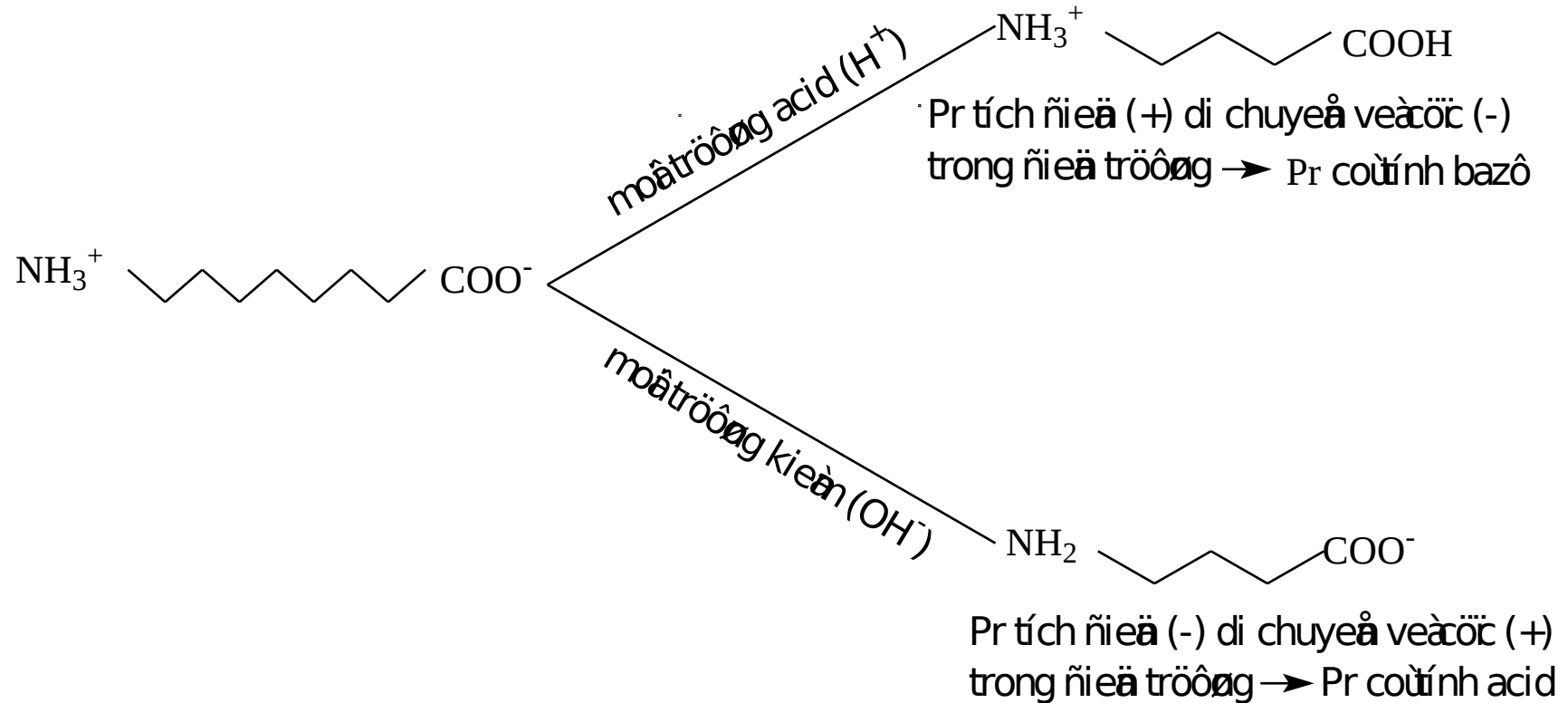
Dung dịch Pr không phải là 1 dd đồng nhất mà bao gồm những hạt Pr rất nhỏ kết hợp lại nên có 1 số tính chất sau:

Khuếch tán ánh sáng

Khúc xạ ánh sáng

Khi so sánh sự khúc xạ ánh sáng qua H_2O với sự khúc xạ ánh sáng qua dung dịch Pr 1% sẽ có sự chênh lệch \rightarrow và từ cơ sở này, người ta xây dựng phương pháp đo hàm lượng Pr

* Tính chất lưỡng tính:

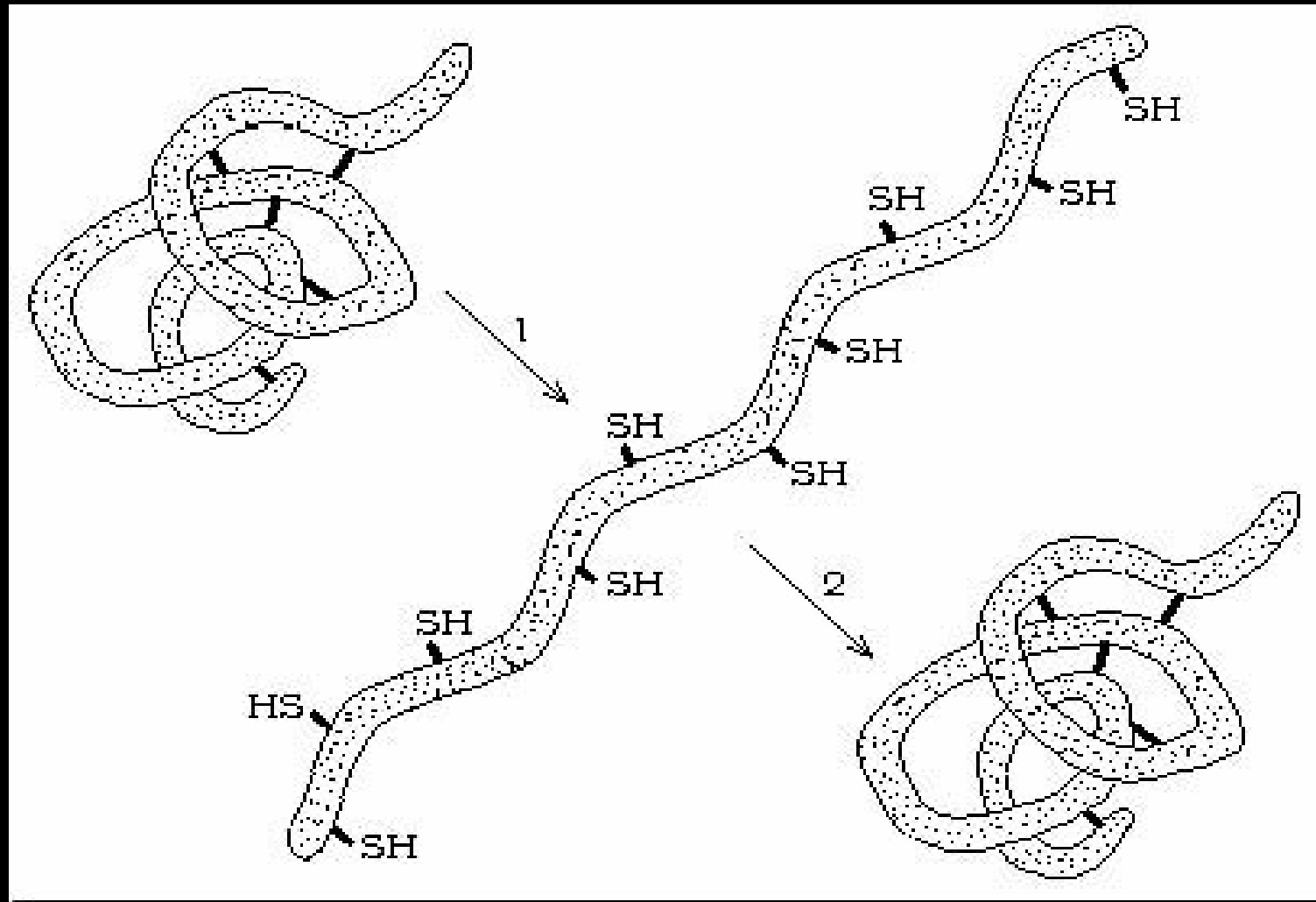


Pr trung hòa điện, không di chuyển trong điện trường

$$\text{pH} = \text{pI} \rightarrow \text{Pr} \downarrow$$

Tương tự như E, xây dựng pp tách nhiều Pr khác nhau ra khỏi hỗn hợp Pr.

* Tính chất biến tính của Pr:



. Sự biến tính thuận nghịch của Pr 1-Biến tính. 2-Khôi phục trạng thái ban đầu
Gạch nối đậm là liên kết disulfide

* Chức năng sinh học:

+ **Chức năng tạo hình:** tham gia cấu trúc có ở mọi tế bào, Pr liên kết gluxit, a.Nucleic, lipit → tạo những hợp chất có đặc tính khác nhau với các cấu tử thành phần.

Vd: Pr + gluxit → tạo phức có độ nhớt cao hơn. Các đặc tính này đáp ứng nhu cầu cao của sinh vật.

Pr + lipit → lipoprotein (vừa mang tính chất của Pr, vừa mang tính chất của lipit) → có tính thấm chọn lọc của màng tế bào, điều đó giúp bảo vệ cho tế bào ngăn cản bớt những sự xâm nhập của những chất lạ.

+ **Pr tham gia cấu tạo những chất quan trọng như:** enzyme, hormone, kháng thể, máu, dịch tiêu hóa.

+ **Pr có vai trò trong các chức năng chuyên hóa** (co cơ, sự chuyển gốc, chuyển nhóm, bảo vệ, dự trữ)

Mỗi loại Pr có đặc tính, hoạt tính sinh học chuyên biệt khác nhau.

2.5. Phân loại Protein:

2.5.1. Protein đơn giản: là những Pr trong thành phần cấu tạo chỉ có aa. Có đặc trưng về mặt cấu tạo: đơn giản hơn, độ hoà tan tốt hơn, đa số là Pr hình cầu.

+ Albumin lòng trắng trứng, Albumin huyết thanh hoặc Albumin có trong 1 số loại tế bào thực vật, động vật khác nhau: là Pr hình cầu dễ tan trong nước nhưng dễ bị biến tính bởi nhiệt độ.

+ Globulin: không tan trong nước, tan trong môi trường có acid loãng và muối loãng, có nhiều trong hạt thực vật (đậu nành, đậu phộng), có trong huyết thanh. M khá lớn: 100.000 → 300.000

+ Prolamin: không tan trong nước, tan trong dung dịch muối, rượu, có nhiều trong các loại ngũ cốc.

+ Histon: là 1 Pr có nhiều trong nhân tế bào, có tính chất kiềm (là 1 Pr kiềm tính điển hình) nó liên kết với a.Nucleic tạo nhiều chức năng quan trọng trong tế bào.

2.5.2. Protein phức tạp: trong thành phần cấu tạo Pr phức tạp có **nhóm aa là chính + 1 phần nhóm ngoại (phi Pr)**. Tùy theo thành phần nhóm ngoại mà người ta chia Pr phức tạp ra những phân nhóm nhỏ.

+ **Nucleo –Pr:** cấu tạo gồm có: **Pr + a.Nu** có nhiều trong nhân tế bào. (Pr thường là protamin). Đây là 1 nhóm Pr phức tạp có vai trò khá quan trọng vì nó quyết định một số đặc tính về tính chất di truyền của sinh vật.

+ **Gluco – Pr:** thành phần gồm **Pr + gluxit** (Gluxit có thể là gluco, galacto, manose, dẫn xuất có nhóm amin của đường; oligo-saccaric (số nhóm từ 2-10). Đặc tính của nhóm này là khi liên kết được phức hệ có độ nhớt cao thường tham gia vào cấu tạo màng bên trong của các đường dẫn như ống tiêu hóa, khoang miệng làm cho quá trình vận chuyển thức ăn dễ hơn, và có tính chất bảo vệ, hỗ trợ cho quá trình tiêu hóa.

+ Lipo – Pr: thành phần là **Pr + lipit** (lipit có thể là triacylglycerit, photphatit, . . .)
Do đặc tính của lipit không tan trong nước chỉ tan trong dung môi hữu cơ nên khi liên kết với Pr thì tạo thành phức hệ có tính chọn lọc phổ biến trong cấu trúc tế bào, đặc biệt là màng tế bào, hạt diệp lục, . . .

+ Photpho – Pr: thành phần **Pr + các gốc acid photphoric**, giữa chúng là các liên kết ester. Vai trò tham gia trong quá trình trao đổi gốc P. Photphoprotein điển hình là casein sữa, ovabumin trứng, photvitin của trứng.

+ Metalo –Pr: thành phần **Pr + 1KL** (1 số KL phổ biến là Fe, Cu, . . .) tạo những chức năng đặc biệt

Catalaza, peroxydaza, citochrom, . . .Pr + Fe

Ascobat-oxydaza, polyfenol-oxydaza, . . .Pr + Cu

+ Chromo – Pr: thành phần **Pr + nhóm chất có màu**

Enzyme Flavin (FAD, FMN) gồm Pr + dẫn xuất Flavin (có màu vàng) có vai trò quan trọng trong quang hợp, hô hấp, phản ứng oxy hóa khử