

Seminario

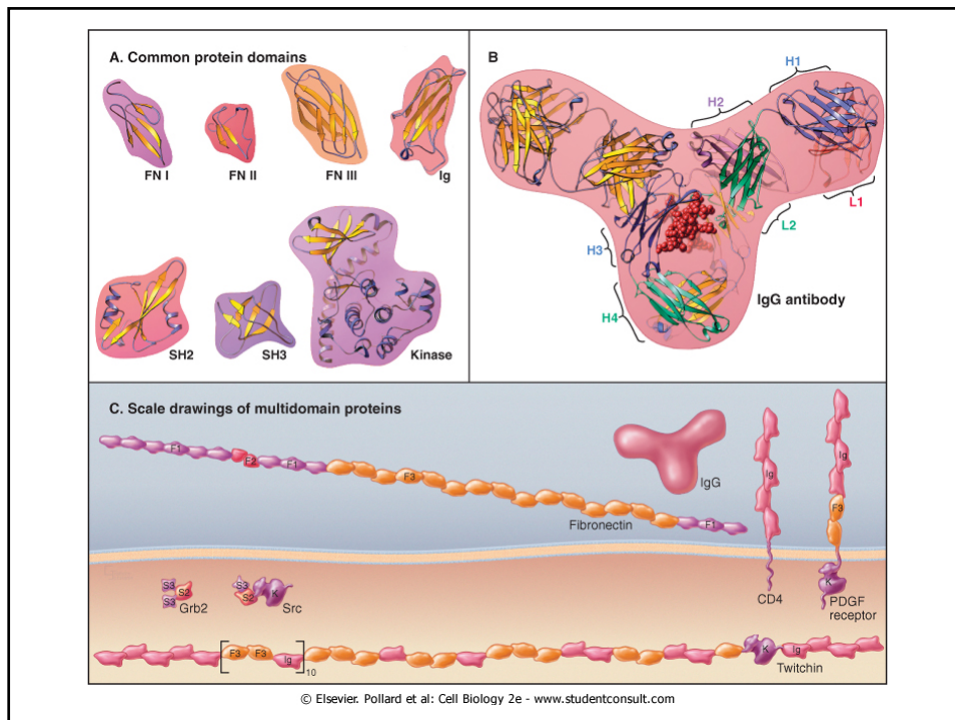
Proteine della matrice

DOMINI E MODULI

Domini modulari delle proteine - 1

- ✦ La maggior parte dei peptidi consiste in **disposizioni lineari di regioni globulari**, ripiegate in modo indipendente, dette **domini**, collegati in modo **modulare**.
- ✦ La maggior parte dei domini consiste di 40-100 residui, ma i **domini chinasici** e i **domini motore** sono molto più estesi.
- ✦ Si pensa che ciascuna delle 1000 famiglie note di domini si sia evoluta da un antenato comune diverso.
- ✦ In questo senso, i membri di una famiglia vengono detti **omologhi**.

Pollard & Earnshaw



Domini modulari delle proteine - 2

- Mediante processi di **duplicazione genica**, **trasposizione** e **evoluzione divergente**, i domini di impiego più ampio (ad es. il dominio immunoglobulinico) sono stati incorporati in centinaia di proteine diverse, dove svolgono funzioni caratteristiche e uniche.
- I domini omologhi in proteine diverse hanno ripiegamenti simili** ma **possono differire significativamente in sequenze aminoacidiche**.

Domini modulari delle proteine - 3

- ✚ Ciò nonostante, la maggior parte dei domini correlati può essere riconosciuta dalla presenza di patterns caratteristici di aminoacidi lungo le loro sequenze.
- ✚ Ad esempio, i **residui di cisteina dei domini immunoglobulinici** (Ig) sono **distanziati** in un pattern necessario **per la costruzione di legami intramolecolari di tipo disolfuro**.
- ✚ Più raramente, domini proteici con strutture correlate possono essere comparsi indipendentemente e converguito durante l'evoluzione verso una conformazione particolarmente favorevole.
 - Questa è l'ipotesi avanzata per spiegare ripiegamenti simili dei domini immunoglobulinico e fibronectina-III, che hanno sequenze aminoacidiche non correlate.

Pollard & Earnshaw

PROTEINE: motivi , domini, moduli _ 1

- ✚ I **motivi** sono combinazioni regolari di strutture secondarie (α -eliche o β -foglietti)
- ✚ Molte proteine contengono uno o più **motivi**.
- ✚ Un **motivo** è definito come una **combinazione specifica di strutture secondarie** che ha una **topologia particolare** ed è **organizzata in una struttura tridimensionale caratteristica**.

Lodish/Alberts

PROTEINE: motivi , domini, moduli _ 2

✚ Il motivo a **“coiled-coil”** comprende due, tre o quattro α -eliche anfipatiche avvolte una attorno all'altra. In questo motivo, **le catene laterali idrofobiche di ogni elica si proiettano come protuberanze da una α -elica e si inseriscono nei buchi fra le catene idrofobiche laterali dell'altra elica lungo la superficie di contatto.**

- Le subunità in alcune proteine multimeriche e in fibre a bastoncello sono tenute insieme da interazioni a **“coiled-coil”**.

Lodish/Alberts

PROTEINE: motivi , domini, moduli _ 3

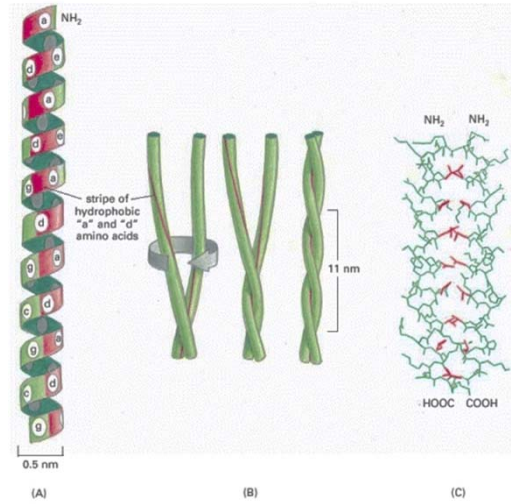
✚ Il motivo legante il Ca^{2+} **“elica-loop-elica”** è caratterizzato dalla presenza di alcuni residui idrofili in posizioni invariabili nell'ambito del loop.

✚ In un altro motivo comune, il **“dito di zinco”**, tre strutture secondarie – una α -elica e due foglietti- β con orientamento antiparallelo – formano un fascio a forma di dito tenuto insieme da un ione zinco. Questo motivo si trova frequentemente nelle proteine che legano il RNA o il DNA.

✚ La presenza dello **stesso motivo** con **funzioni simili** in **proteine diverse** indica che durante l'evoluzione queste combinazioni utili di strutture secondarie sono state conservate

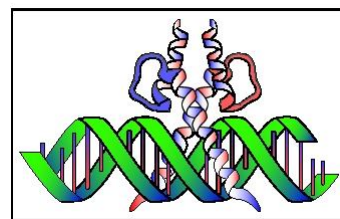
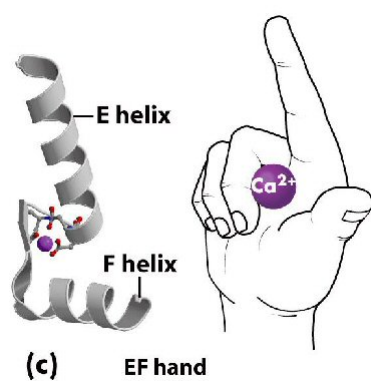
Lodish/Alberts

Motivo "coiled-coil"



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A405/?report=objectonly>

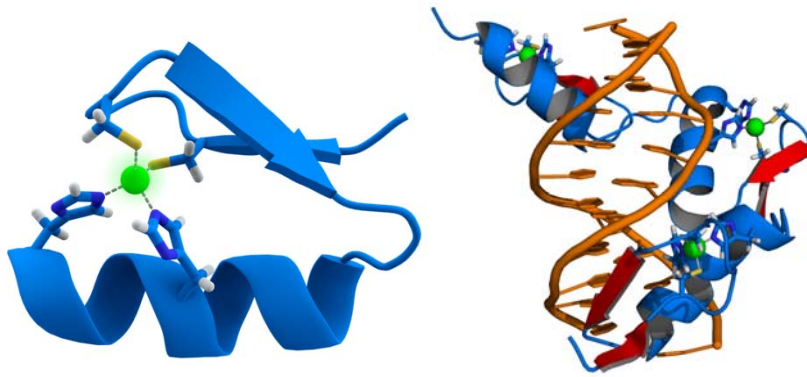
Motivo "helix-coil.helix"



Un dimero "helix-loop-helix" legato all'impalcatura del DNA.

<http://chemistry.umeche.maine.edu/MAT500/Proteins8.html>

Motivo “Zinc-finger”



http://en.wikipedia.org/wiki/Zinc_finger

PROTEINE motivi, domini , moduli - 4

✚ I **domini** strutturali e funzionali sono **moduli della struttura terziaria**

- La struttura terziaria delle proteine di grandi dimensioni è spesso suddivisa in **regioni globulari** o **fibrose** dette **domini**.
- Da un punto di vista strutturale un **dominio** è una **regione di un polipeptideripiegata in modo molto compatto** . Queste regioni separate sono ben distinguibili o separate fisicamente da altre zone della proteina, ma sono collegate da una catena polipeptidica.

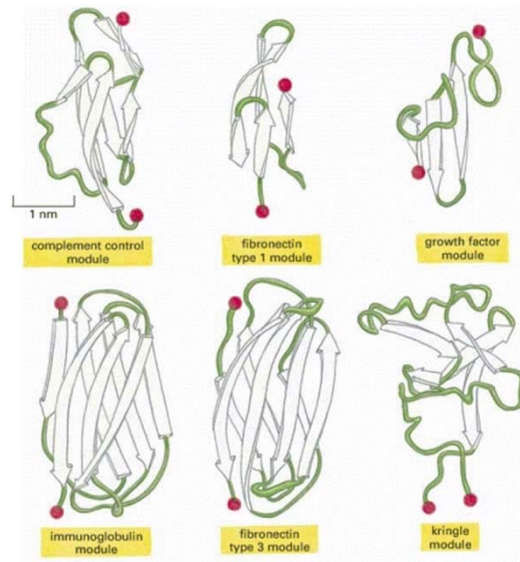
Moduli - 1

- ✚ **Alcuni domini di proteine**, detti **moduli**, sono presenti in molte proteine diverse.
- ✚ La maggior parte delle proteine è composta di diversi domini proteici, in cui regioni diverse della catena polipeptidica si ripiegano indipendentemente, formando strutture compatte.
- ✚ Si ritiene che tali proteine a domini multipli sia originate quando sequenze di DNA che codificano per tali domini, in modo incidentale si siano riunite, creando un nuovo gene.
- ✚ Dalla juxtaposizione dei domini spesso si sono create nuove superficie di legame, e molti siti funzionali dove le proteine si legano a piccola molecole.

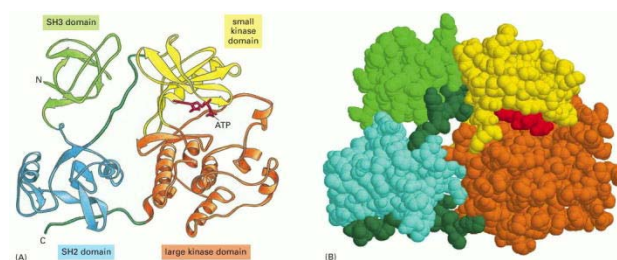
Moduli -2

- ✚ Molte proteine di grandi dimensioni mostrano di essere evolute mediante riunione di domini pre-esistenti in nuove combinazioni, un processo evolutivo detto "**domain shuffling**" (rimescolamento dei domini).
- ✚ Un sottogruppo di proteine è risultato specialmente mobile durante l'evoluzione:
 - Questi moduli sono di solito più piccoli (40–200 amino acids) di un dominio tipico e sembrano essere strutture particolarmente versatili.

Esempi di moduli diversi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A420/>



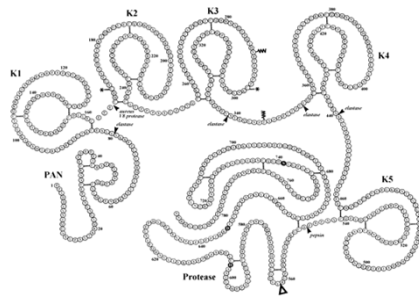
Una **proteina** formata da **quattro domini**. Nella proteina **Src** illustrata, **due dei domini formano un enzima ad attività proteina chinasi**, mentre i domini **SH2** e **SH3** svolgono **funzioni regolatorie** [riconoscono tirosine fosforilate]. (A) Un modello "ribbon" con l'ATP in rosso. (B) Un modello "spacing-filling" con il substrato ATP in rosso. Notare che il sito che lega l'ATP è posizionato nell'interfaccia dei due domini che formano la chinasi.

Domini Kringle

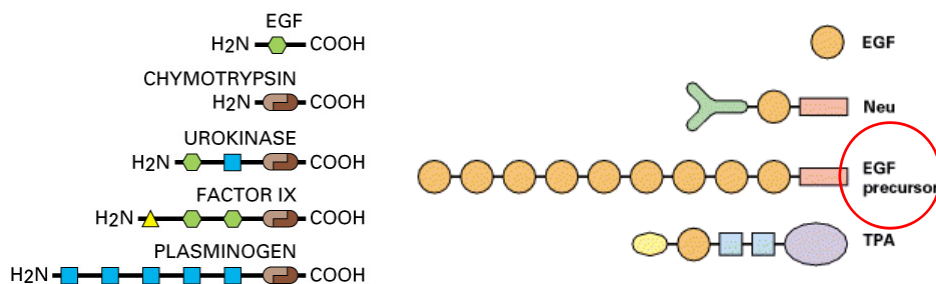
(Importanti per capire la formazione dell'angiostatina a partire dal plasminogeno)

✦ Domini proteici a **triplo-loop collegati da ponti disolfuro**. Questi comuni strutturali, così designati a causa della loro somiglianza con i biscotti Danneski noti come kringle, sono coinvolti nel legame alle membrane, proteine, e fosfolipidi, nonché alla **regolazione della proteolisi**.

✦ I kringles sono inoltre presenti in proteine coinvolte nella coagulazione e fibrinolisi e in altre proteinasi plasmatiche.



Il dominio "epidermal growth factor" (EGF) modulo presente in diverse proteine



Il **fattore di crescita epidermico** ("Epidermal Growth Factor; EGF") è generato mediante **scissione proteolitica della proteina precursore che contiene diversi domini EGF** (arancione). Il dominio EGF è presente inoltre nella proteina Neu e nell'attivatore tissutale del plasminogeno (TPA). Altri domini o moduli in queste proteine includono un dominio di chimotripsina (porpora), un dominio immunoglobulinico (verde), un dominio fibronectina (giallo), un dominio di attraversamento della membrana (rosa) e un dominio kringle (blu).

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A419/>

“Epidermal Growth Factor” (EGF)

- ✚ L’**EGF** é una piccolo ormone peptidico solubile che si lega alle cellule della pelle e del tessuto connettivo, provocando la loro divisione.
- ✚ Viene **generato mediante scissione proteolitica fra i domini ripetuti di EGF nella proteina precursora dell’EGF**, che é **ancorata alla membrana plasmatica mediante un dominio di attraversamento della membrana**.
- ✚ Sei residui conservati di cisteina formano tre coppie di legami disulfuro che mantengono l’EGF nella sua conformazione nativa. Il dominio EGF si trova anche in altre proteine, incluso l’attivatore tissutale del plasminogeno (TPA), una proteasi che viene usata per sciogliere i coaguli di sangue negli infarti di miocardio. La proteina Neu, che è coinvolta nel differenziamento embrionale e la proteina Notch, una molecola di adesione che incolla le cellule una all’altra. Oltre al dominio EGF, queste proteine contengono domini aggiuntivi che si trovano anche in altre proteine. Ad esempio, il TPA possiede un dominio chimotripsina, una caratteristica comune alle proteine che catalizzano la proteolisi.

Domini, segue 3

- ✚ I **domini** spesso sono definiti in **termini funzionali** basati su osservazioni che **l’attività della proteina é localizzata in una piccola regione lungo la sua estensione**.
 - Ad esempio, una particolare regione o regioni di una proteina possono essere responsabili della sua azione catalitica (ad es. un dominio chinasi) o capacità di legame (ad es. un dominio di legame al DNA, un dominio di legame alla membrana, un dominio che si lega a determinate sequenze glicidiche – dominio lectinico).
- ✚ I domini funzionali spesso sono identificati sperimentalmente mediante frazionamento della proteina fino ad ottenere il suo frammento attivo più piccolo con l’aiuto di proteasi, enzimi che scindono i legami peptidici. In alternativa, il DNA che codifica per la proteina può essere sottoposto a mutagenesi, in modo tale che i segmenti dell’impalcatura proteica sono rimossi o alterati. L’attività della proteina troncata o alterata sintetizzata dal gene mutato viene monitorata.

Domini, segue 4

- ✚ La **definizione funzionale di un dominio è meno rigorosa della definizione strutturale**. Tuttavia, se la struttura tridimensionale della proteina non è stata individuata, l'identificazione di domini funzionali può fornire informazioni utili sulla proteina. Dato che l'attività della proteina di solito dipende da una struttura 3-D adeguata, un **dominio funzionale** consiste al meno di uno e spesso di vari domini strutturali.
- ✚ L'organizzazione della struttura terziaria in domini illustra ulteriormente il principio che **le molecole complesse sono costruite a partire di componenti più semplici**.
 - Come avviene con i motivi della struttura secondaria, **i domini della struttura terziaria sono incorporati sotto forma di moduli in proteine diverse**, così modificando le loro attività funzionali.
 - L'approccio modulare all'architettura proteica è particolarmente facile da riconoscere nelle **proteine di grandi dimensioni**, che tendono ad essere un **mosaico di domini diversi** e perciò **possono svolgere diverse funzioni simultaneamente**.