

Macromolecole biologiche

1. Introduzione

MACROMOLECOLE BIOLOGICHE & COSTITUENTI DI BASE

building blocks of the cell	larger units of the cell
SUGARS	POLYSACCHARIDES
FATTY ACIDS	FATS, LIPIDS, MEMBRANES
AMINO ACIDS	PROTEINS
NUCLEOTIDES	NUCLEIC ACIDS

ZUCCHERI → POLISACCARIDI

ACIDI GRASSI → GRASSI, LIPIDI, MEMBRANE

AMMINOACIDI → PROTEINE

NUCLEOTIDI → ACIDI NUCLEICI

Molecole biologiche (1)

MACROMOLECOLE

- Di grandi dimensioni & molto organizzate.
- Contengono da decine a milioni di atomi di Carbono.
- Possono svolgere compiti complessi con grande precisione ed efficienza.

1. PROTEINE
2. ACIDI NUCLEICI
3. POLISACCARIDI
4. Certi LIPIDI

Molecole biologiche (2)

Proteine, acidi nucleici e polisaccaridi sono *polimeri* costituiti da un gran numero di unità a basso peso molecolare (*monomeri*).

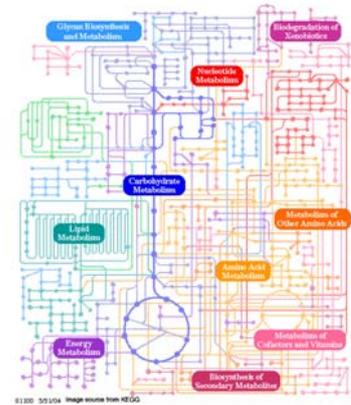
Molecole biologiche (3)

✚ Unità costitutive delle macromolecole (**pool di precursori**):

- Amminoacidi, precursori delle proteine
- Zuccheri, precursori dei polisaccari
- Nucleotidi, precursori degli acidi nucleici
- Acidi grassi, precursori dei lipidi

Molecole biologiche (4)

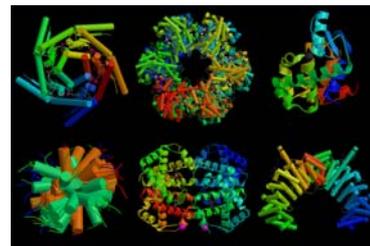
✚ Composti intermediari del metabolismo (**metaboliti intermedi**)



Molecole biologiche (5)

✚ Molecole con funzione varie:

- Vitamine (cofattori dei enzimi)
- Ormoni steroidei o aminoacidici
- Molecole di riserva energetica (ATP, fosfocreatina)
- Molecole regolatrici (es. AMP ciclico)
- Prodotti di scarto del metabolismo (es. Urea)
- Ecc.



Macromolecole biologiche

2. PROTEINE

<http://martin-protean.com/protein-structure.html>

Le proteine giocano ruoli chiave negli organismi viventi

☛ Tre esempi di funzioni delle proteine

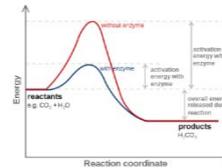
- **Catalisi:**
Quasi tutte le reazioni chimiche in una cellula vivente sono catalizzate da enzimi proteici.
- **Trasporto:**
Alcune proteine trasportano diverse sostanze, come ossigeno, ferro, ecc.
- **Trasferimento di informazione:**
Ad esempio ormoni.



<http://issofty17.is.noda.tus.ac.jp>

FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE (1)

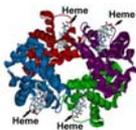
- ☛ **Catalisi enzimatica.** La maggior parte delle reazioni chimiche è catalizzata da enzimi che sono proteine. Gli enzimi possiedono un enorme **potere catalitico** aumentando la velocità delle reazioni almeno di un milione di volte. Si conoscono diverse migliaia di enzimi, e molti sono stati cristallizzati.



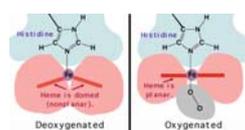
<http://en.wikipedia.org/wiki/Enzyme>

FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE (2)

- ☛ **Trasporto e immagazzinamento.** La maggior parte delle piccole molecole e degli ioni vengono **trasportati da proteine specifiche**. Ad es. l'*emoglobina* e la *mioglobina* trasportano l'ossigeno nel sangue e nel tessuto muscolare, rispettivamente. Il ferro è trasportato nel plasma sanguigno dalla *transferrina* ed è immagazzinato nel fegato come complesso con la *ferritina*.



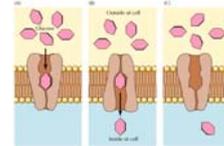
<http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Hemoglobin/MetalComplexinBlood.html>



<http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Hemoglobin/MetalComplexinBlood.html>

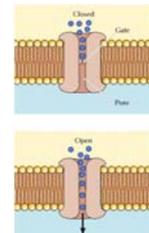
FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE (2.1) _Esempi di trasportatori nelle membrane

Trasportatori («carrier») di zuccheri o di aminoacidi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9847/figure/A1991/?report=objectonly>

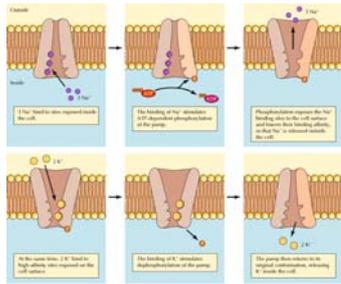
Canali ionici



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9847/figure/A1993/?report=objectonly>

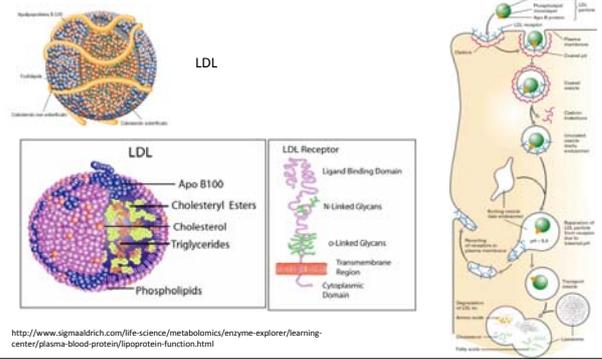
FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE
(2.2)_Trasportatori nelle membrane, segue

Pompe scambiatrici di ioni contro gradiente



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9847/figure/K2005/?report=objectonly>

FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE
(2.3)_Recettori per endocitosi di grandi complessi molecolari



<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/learning-center/plasma-blood-protein/lipoprotein-function.html>

FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE
(3)

Movimenti coordinati. Le proteine sono il principale componente del muscolo. Per es. la **contrazione muscolare** è realizzata mediante un movimento di scivolamento reciproco di due tipi di filamenti proteici (*actina e miosina*). Il **movimento dei cromosomi** durante la mitosi, la **propulsione degli spermatozoi** mediante flagelli o il **movimento di vescicole** all'interno delle cellule sono anche essi prodotti da insiemi contrattili proteici.

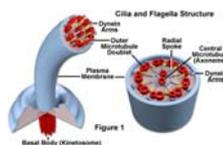
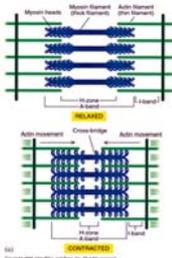
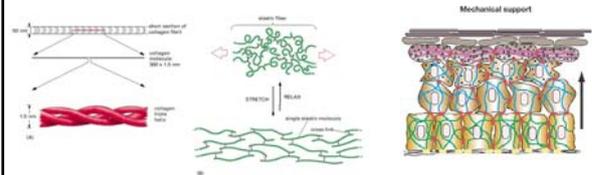


Figure 1

FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE
(4)

Sostegno meccanico. Ad es. l'elevata **resistenza alla tensione** della pelle e dell'osso è dovuta alla presenza di **collagene**, una proteina fibrosa extracellulare. La resistenza agli stress meccanici delle cellule della pelle è dovuta alla presenza di **cheratina**, una proteina fibrosa del citoscheletro.

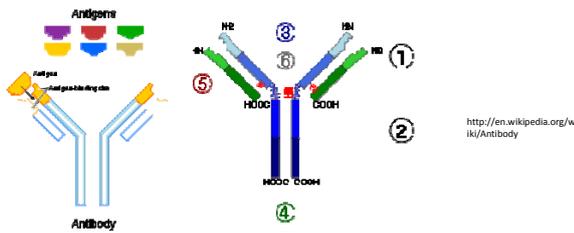


http://www.nature.com/nchj/journal/v6/n8/fig_tab/ncb0804-699_F1.html

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A435/>

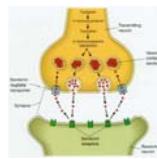
FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE (5)

📌 **Protezione immunologica.** Gli *anticorpi* sono proteine altamente specifiche che riconoscono e si combinano con sostanze estranee tipo virus, batteri e cellule di altri organismi.



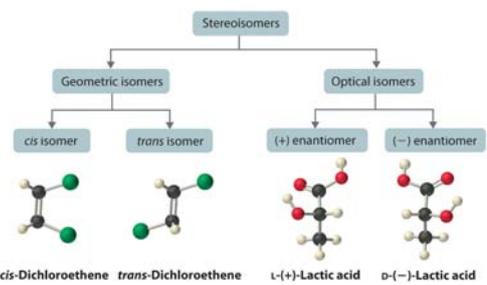
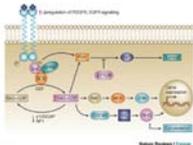
FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE (6)

📌 **Generazione e propagazione di impulsi nervosi.** La risposta delle cellule nervose a stimoli specifici è mediata da *proteine recettrici*. Ad es. la rodopsina è il *fotorecettore* delle cellule dei bastoncelli della retina. Proteine recettrici che vengono stimulate da piccole molecole specifiche, come l'acetilcolina, sono responsabili della *trasmissione degli impulsi nervosi nelle sinapsi*. Le sinapsi sono giunzioni tra le cellule nervose.



FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE (7)

📌 **Crescita e differenziamento.** L'espressione controllata e sequenziale dell'espressione genica è essenziale per la crescita e il differenziamento ordinato delle cellule. Soltanto una piccola frazione del genoma di una cellula viene espresso in ogni momento. Nei batteri, *proteine ad azione repressiva* sono importanti elementi di controllo che silenziano segmenti specifici del DNA di una cellula. Negli organismi superiori la crescita e il differenziamento sono coordinati da proteine dette *fattori di crescita o fattori di trasformazione*. Ad es. il "*nerve growth factor*" (NGF) (fattore di crescita delle cellule nervose) guida la formazione delle cellule neurali. Le attività delle diverse cellule negli organismi multicellulari sono coordinate dagli ormoni.



Concetti importanti di Chimica Organica

ISOMERI

http://images.flatworldknowledge.com/averillfwk/averillfwk-fig24_009.jpg

ISOMERI

✚ Variazioni della struttura delle molecole organiche si possono osservare negli **isomeri**, composti che hanno lo stesso numero di atomi degli stessi elementi ma **differenti strutture** e quindi **proprietà differenti**.

✚ Ci sono diversi tipi di isomeri:

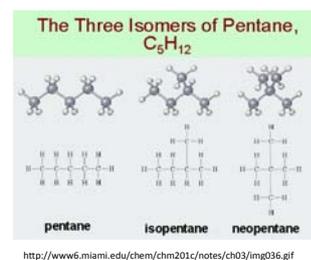
- Isomeri strutturali
- Isomeri *cis-trans*
- Enantiomeri (stereoisomeri)
- ecc.

Adattato da Purves, Biology

Isomeri strutturali

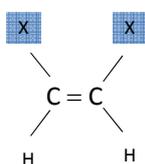
✚ Differiscono nel tipo di partners covalenti.

Es: Isomeri del pentano:

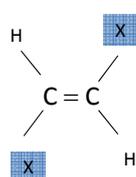


Isomeri *cis-trans*

✚ Differiscono nella disposizione di gruppi rispetto ad un legame doppio:



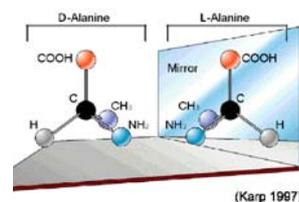
Forma *cis*: i due gruppi X sono dello stesso lato rispetto al legame doppio



Forma *trans*: i due gruppi X sono in lati opposti rispetto al legame doppio

Enantiomeri / Stereoisomeri

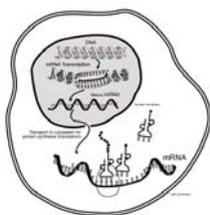
✚ Differiscono nella disposizione spaziale attorno ad un carbonio asimmetrico dando origine a molecole che sono immagini speculari. I due isomeri qui illustrati sono designati isomeri L e D dalle parole latine per «sinistra» e «destra» (*levo* e *dextro*)



Dogma Centrale della Biologia (parere classico)

(Francis Crick, 1958)

in biologia molecolare il flusso dell'informazione genetica è monodirezionale

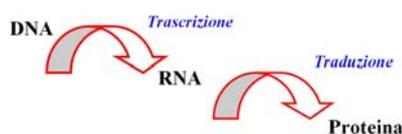


- ⚡ L'informazione "scorrerebbe" dal DNA al RNA e dal RNA alle proteine, ma non in senso contrario (Francis Crick) ossia
- ⚡ I **geni (genotipo)** codificano per **messaggeri** che vengono tradotti in **proteine**, gli effettori, che costituiscono il **fenotipo**

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Class/MLACourse/Modules/MoBioReview/central_dogma.html

- ⚡ I geni vengono espressi mediante un processo di trascrizione seguito da traduzione

- **Trascrizione ("transcription")**: sintesi del RNA sotto la direzione del DNA
- **Traduzione ("translation")**: sintesi delle proteine sotto la direzione del RNA
- Un gene nel filamento stampo ("template") viene usato per la trascrizione, dando origine ad un trascritto complementare al filamento stampo del DNA.



Vantaggio di avere un intermediario tra il DNA e le proteine che codifica

- ⚡ Il DNA può rimanere incontaminato e protetto, lontano dai processi chimici che si svolgono nel citoplasma.
- ⚡ L'informazione genetica può essere amplificata mediante molteplici copie di un RNA ottenute da una singola copia di DNA.
- ⚡ La regolazione dell'espressione genica può essere influenzata da punti di controllo specifici ad ogni componente della via fra il DNA e le proteine. Quanti più elementi ci sono nella via tante più opportunità ci sono di controllarli in diverse circostanze.

MIT, sito non più attivo

Dogma centrale della biologia molecolare

Il **dogma centrale della biologia molecolare**, o più semplicemente **dogma centrale**, è un principio formulato negli anni cinquanta del XX secolo, secondo il quale in **biologia molecolare il flusso dell'informazione genetica è monodirezionale: parte dagli acidi nucleici per arrivare alle proteine, senza considerare un percorso inverso.**^{[2][3]} Il termine «dogma» non era inteso in senso assoluto, ma derivava da una personale interpretazione dell'ideatore della teoria, Francis Crick.

(EN)

« since I thought that all religious beliefs were without foundation, I used the word the way I myself thought about it, not as most of the world does, and simply applied it to a grand hypothesis that, however plausible, had little direct experimental support. »

(IT)

« dal momento che pensavo che tutte le credenze religiose fossero senza fondamento, ho usato la parola nell'accezione che io stesso gli davo, non quella data dalla maggior parte del mondo, e l'ho semplicemente applicata ad una importante ipotesi che, sebbene fosse plausibile, aveva pochi riscontri sperimentali. »

(Francis Crick, *What Mad Pursuit: A Personal View of Scientific Discovery*)

http://it.wikipedia.org/wiki/Dogma_centrale_della_biologia_molecolare

(EN)

« Dogma was just a catch phrase. »

(IT)

« "Dogma" era solo una frase ad effetto. »

(Francis Crick)

Il **dogma centrale della biologia molecolare**, o più semplicemente **dogma centrale**, è un principio formulato negli anni cinquanta del XX secolo, secondo il quale **in biologia molecolare il flusso dell'informazione genetica è monodirezionale**: parte dagli acidi nucleici per arrivare alle proteine, senza considerare un percorso inverso. Il termine «dogma» non era inteso in senso assoluto, ma derivava da una personale interpretazione dell'ideatore della teoria, Francis Crick.

Allo stato attuale, il dogma centrale non è altro che una rapida rassegna sommaria dei meccanismi alla base dell'espressione genica, in quanto nel tempo sono stati scoperti meccanismi biologici che non rientrano in questa teoria. Nel sistema dell'espressione genica cellulare sono identificabili tre punti che rappresentano la direzione

http://it.wikipedia.org/wiki/Dogma_centrale_della_biologia_molecolare

Il "dogma" non è assoluto

Fanno eccezione al principio centrale varie recenti scoperte: i **retrovirus** conservano la propria informazione genetica sotto forma di RNA, ed hanno un ciclo di replicazione che prevede la retroscrittura in DNA, che va a integrarsi nel genoma dell'ospite; la retroscrittura non è ristretta solo ai virus: i **retrotrasposoni** sono sequenze di DNA che si replicano attraverso una retroscrittura dell'RNA trascritto dalla propria sequenza.

Anche i meccanismi di **regolazione epigenetica** l'attività del DNA senza però modificarne la sequenza: **editing e splicing alternativo** sono ulteriori meccanismi con cui l'RNA può modificare il prodotto proteico finale; rimane in questi casi ancora valida una forma del dogma centrale, in quanto l'informazione **fluisce comunque monodirezionalmente dagli acidi nucleici alle proteine**.

Infine i **prioni** sono proteine capaci di replicarsi agendo sulla struttura delle altre proteine dello stesso tipo, senza prendere in considerazione alcun tipo di informazione genetica; sono stati considerati **il più importante punto nevralgico del dogma centrale**.

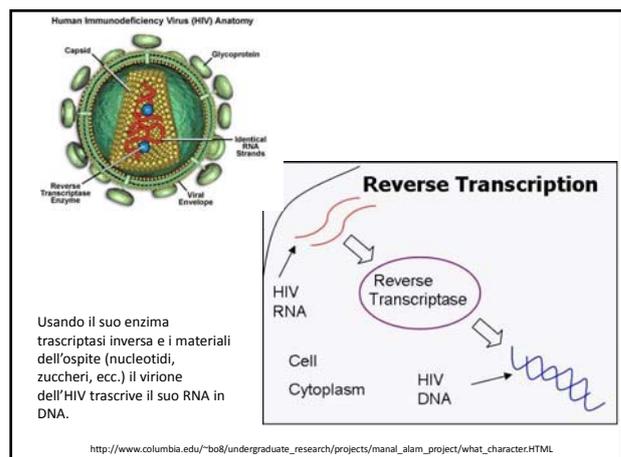
Tutte le eccezioni al dogma centrale vengono oggi classificate come "Trasmissione speciale" dell'informazione biologica, in opposizione alla "Trasmissione generale" prevista dalla teoria classica.

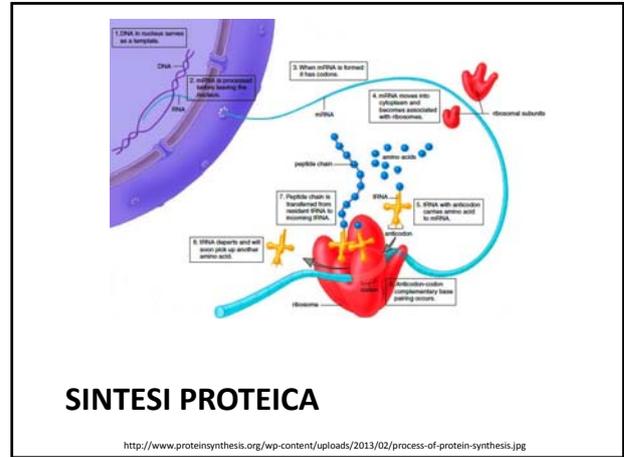
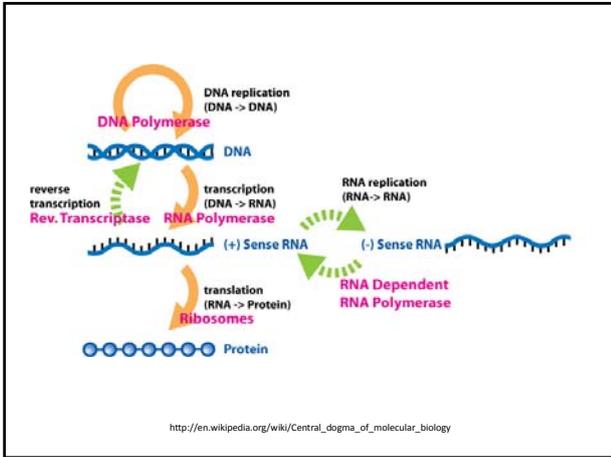
http://it.wikipedia.org/wiki/Dogma_centrale_della_biologia_molecolare

Nuove scoperte ed eccezioni alla regola (risultato da recenti studi genomici)

- ✚ Molto del DNA che non codifica per **proteine** codifica per diversi tipi di **RNA funzionali**.
- ✚ I **retrovirus** non ubidiscono al "dogma centrale" in quanto il loro RNA codifica per il DNA – trascrizione inversa («reverse transcription»).
- ✚ I **prioni** sono proteine capaci di replicarsi influenzando la struttura di altre proteine dello stesso tipo, senza prendere in considerazione alcun tipo di informazione genetica.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Class/MIACourse/Modules/MolBioReview/central_dogma.html





SINTESI PROTEICA: 1ª fase: TRASCRIZIONE («Transcription»)

Prima che la sintesi della proteina inizi, la corrispondente molecola di RNA è prodotta mediante il processo di trascrizione del RNA. Uno dei filamenti della doppia elica del DNA viene utilizzato come **stampo** ("template") dall'enzima RNA polimerasi per sintetizzare un **RNA messaggero (mRNA)**. Questo mRNA migra dal nucleo nel citoplasma. Durante questo passo, il mRNA subisce diversi tipi di passi di **maturazione**, incluso uno detto di "splicing" in cui le **sequenze non codificanti** vengono **eliminate**. La sequenza di mRNA codificante può essere descritta come una **unità di tre nucleotidi** chiamata un **codone**.

The diagram shows the elongation phase of transcription. RNA polymerase is moving along the non-template strand of DNA, synthesizing a complementary RNA strand. The template strand is oriented 3' to 5', and the RNA strand is synthesized 5' to 3'. The direction of transcription is indicated as "downstream".

<http://dna-rna.net/2011/08/24/rna-transcription/>

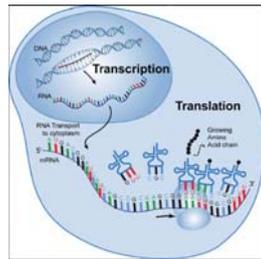
SINTESI PROTEICA: 1ª fase: TRASCRIZIONE, segue

The diagram shows a DNA duplex with 5' and 3' ends. One strand is being transcribed into an RNA strand, which is also shown with 5' and 3' ends.

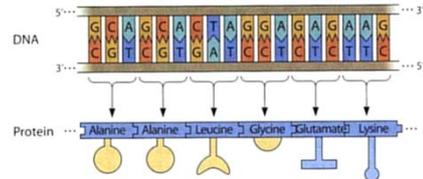
<http://biochem.co/2008/08/transcription-dna-rna/>

SINTESI PROTEICA: 2ª fase: TRADUZIONE
(«Translation»)

Il ribosoma si lega al mRNA nel **codone iniziale (AUG)** che viene riconosciuto dal **tRNA iniziatore**. Il ribosoma procede allora alla **fase di allungamento** della sintesi proteica. In questo stadio, i complessi, composti da un aminoacido legato al tRNA, si legano in modo sequenziale al codone appropriato del mRNA, formando coppie di basi complementari con l'anticodone del tRNA. Il ribosoma si muove da codone a codone lungo il mRNA. Gli aminoacidi vengono aggiunti uno ad uno, tradotti in sequenze polipeptidiche dettate dal DNA e rappresentate dal mRNA. Alla fine, un fattore di rilasciamento lega al **codone finale**, terminando la traduzione e rilasciando il **polipeptide** completo dal ribosoma.



<http://dna-ma.net/2011/08/28/translation-of-mrna/>

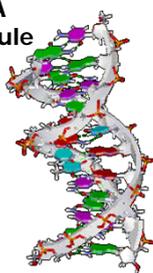


La **sequenza di basi del DNA** determina la **sequenza di aminoacidi delle proteine**.

(H. Kreuzer & A. Massey: *Biology and Biotechnology: Science, Applications and Issues* ASM Press, Washington, D.C., 2005)

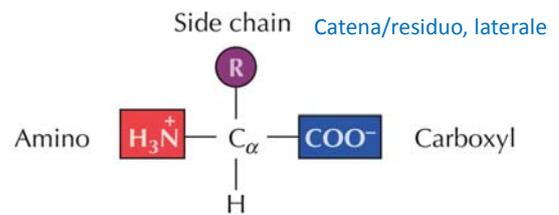
La sequenza di Amminoacidi è codificata dalla sequenza di basi del DNA in un gene

DNA molecule



=

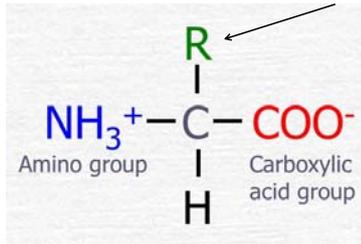
DNA base sequence
 G ≡ C
 C ≡ G
 G ≡ C
 C ≡ G
 T = A
 T = A
 A = T
 A = T
 G ≡ C
 C ≡ G
 G ≡ C
 C ≡ G



Le unità fondamentali delle Proteine

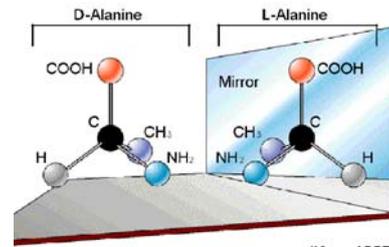
AMMINOACIDI

Aminoacidi: unità basilari delle proteine



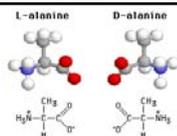
I diversi gruppi (residui) laterali, **R**, determinano le proprietà degli aminoacidi (20 tipi incorporati nelle proteine; diversi altri tipi di aminoacido liberi per interagire con altre molecole)

Stereoisomeria degli aminoacidi

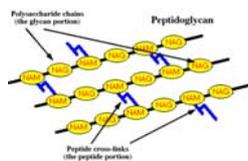
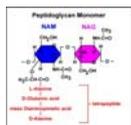


Poichè il carbonio α di tutti gli aminoacidi (ad eccezione della glicina) è legato a 4 gruppi diversi, **per ogni AA possono esistere due stereoisomeri**.
(qui illustrate le forme D e L per l'alanina)

Stereoisomeri degli aminoacidi



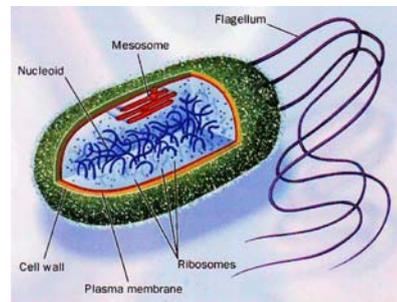
- ⚡ Gli AA usati per la sintesi delle proteine sono sempre **L-aminoacidi**.
- ⚡ I microorganismi (procarioti) usano D-aminoacidi nella sintesi di alcuni piccoli peptidi, incluso quelli della parete cellulare e di parecchi antibiotici (es. Gramicidina A)



<http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/library/micro229/terry/223p00/lectures/cell2.html>

http://www.detectingdesign.com/mages/Antibiotics_Viruses/antibi13.jpg

Parete cellulare nei procarioti (1) («Cell wall»)



Gramicidina

- Polipeptide con L- & D- aminoacidi alternati, composti con la formula generale: formil-L-X-Gly-L-Ala-D-Leu-L-Ala-D-Val-L-Val-D-Val-L-Trp-D-Leu-L-Y-D-Leu-L-Trp-D-Leu-L-Trp-etanolamina.
- E' attiva contro batteri Gram-positivi, tranne che per bacilli Gram-positivi, e contro organismi selezionati Gram-negativi, quali i batteri Neisseria.

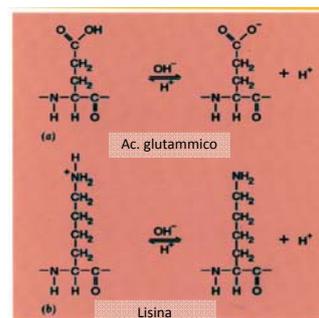
<http://en.wikipedia.org/wiki/Gramicidin>

Amminoacidi

CATEGORIE

Amino acids with electrically charged side chains				
Positive			Negative	
Arginine	Histidine	Lysine	Aspartic acid	Glutamic acid
Amino acids with polar but uncharged side chains				
Serine	Threonine	Glutamine	Asparagine	
Special cases				
Cysteine	Glycine	Proline		
Amino acids with hydrophobic side chains				
Alanine	Isoleucine	Methionine	Tryptophan	Phenylalanine
Valine	Leucine	Tyrosine		

Ionizzazione degli AA polari previsti di carica

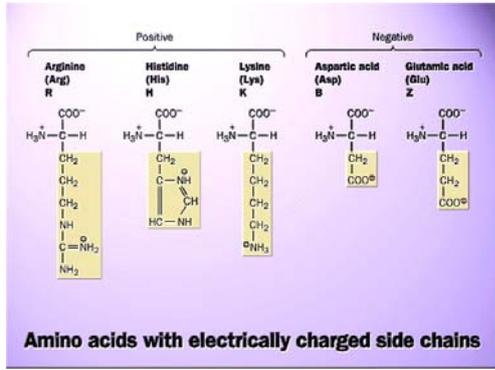


A pH fisiologico (pH ~7.0) praticamente tutti i residui di **ac. glutammico** sono carichi negativamente

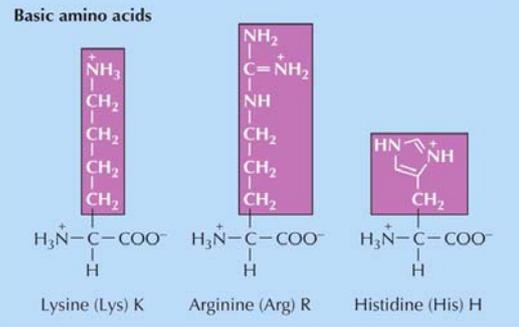
A pH fisiologico praticamente tutti i residui di **lisina** sono carichi positivamente

Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

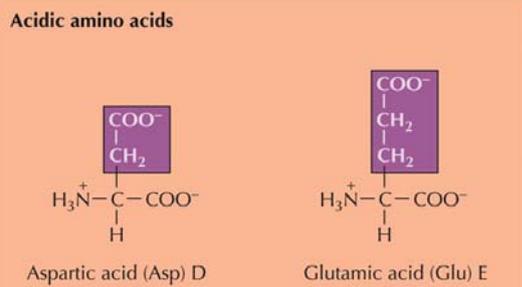
Polari carichi (1)



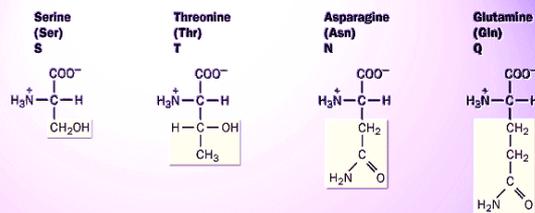
Aminoacidi polari carichi basici (al pH tipico dei liquido biologici, ~7)



Aminoacidi polari carichi acidi (al pH tipico dei liquido biologici, ~7)

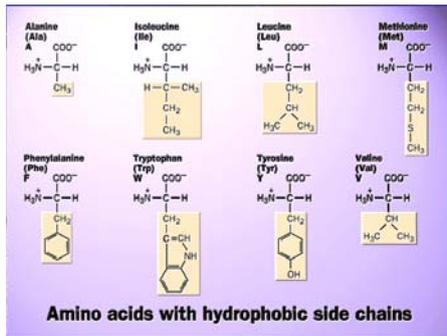


Polari ma privi di carica



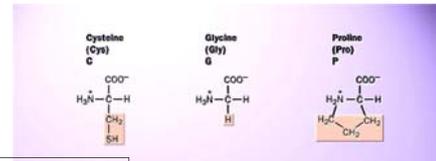
Amino acids with polar but uncharged side chains

Non Polari (Idrofobici) (1)



Quanto maggiori sono le dimensioni dei gruppi laterali tanto più idrofobico sarà l'aminoacido

Catene laterali con proprietà particolari

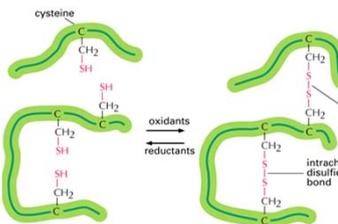


CISTEINA: Sebbene la catena laterale abbia un carattere polare non carico, ha la particolarità di **costituire un legame covalente con un'altra cisteina**, per formare ponti disolfuro (S-S), che irrigidiscono la catena.

GLICINA: la catena laterale è formata solo da un atomo di H e **può adattarsi sia ad un ambiente idrofilo che idrofobico**. Spesso si trova in siti dove due polipeptidi sono a stretto contatto

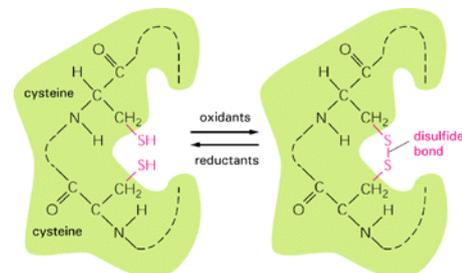
PROLINA: Sebbene la catena laterale abbia carattere polare non carico, ha la particolarità di creare **snodi** nelle catene polipeptidiche ed interrompere la struttura secondaria ordinata

Ponti disolfuro (S-S) tra residui di cisteina



Questi legami incrociati possono collegare sia due parti della stessa catena polipeptidica che due catene polipeptidiche diverse. Poiché l'energia necessaria per rompere un legame covalente è molto superiore all'energia necessaria per rompere persino un intero insieme di legami non-covalenti, **un legame disolfuro può avere un effetto stabilizzante notevole in una proteina.**

FORMAZIONE DI PONTI S-S NELLE PROTEINE



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A437/>

Tipica proteina con diversi legami S-S (1)

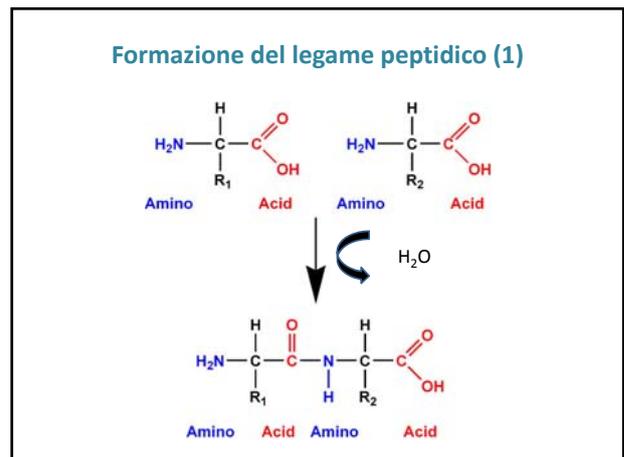
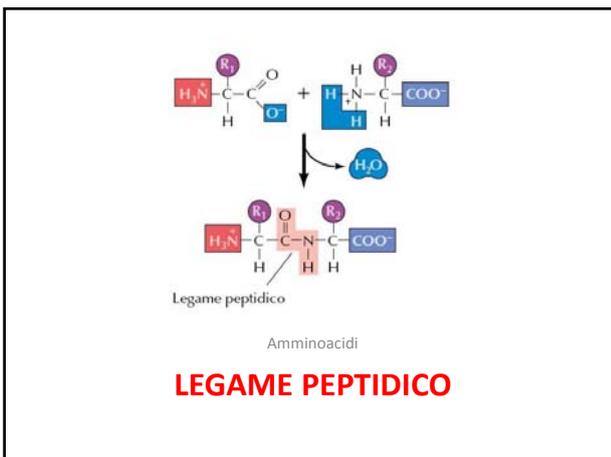
Tipica proteina transmembrana a passaggio singolo "single-pass". Si noti che la catena lipidica attraversa il doppio strato lipidico come α -elica destrogira e che le catene oligosaccaridiche e i legami disolfuro sono tutti sulla superficie non citosolica della membrana. I legami disolfuro non si formano fra i gruppi sulfidrilici nel dominio citoplasmatico della proteina, perché l'ambiente riducente del citosol mantiene questi gruppi nella loro forma ridotta (-SH).

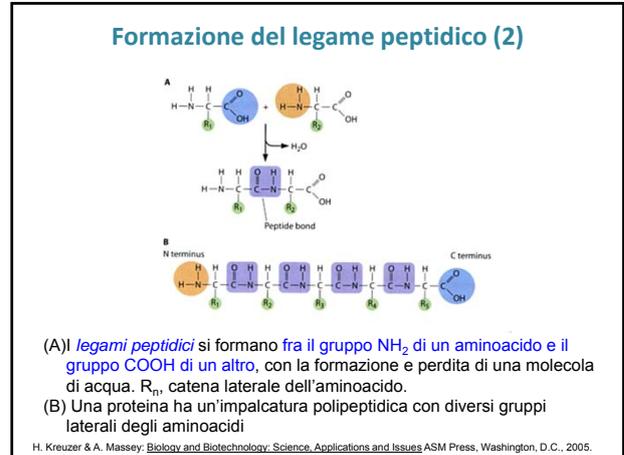
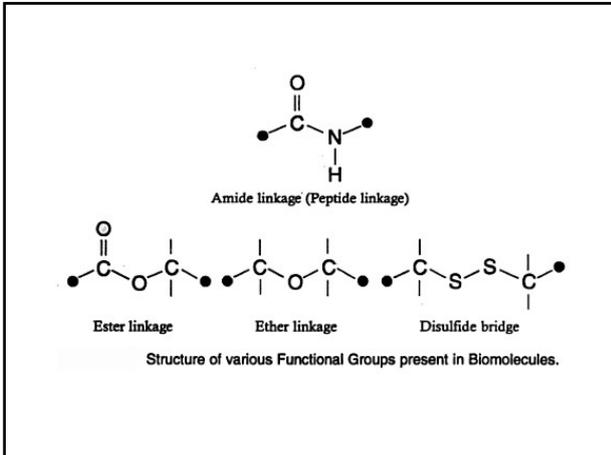
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28291/figure/A2474/>

Tipica proteina con diversi legami S-S (2)

Una molecola di anticorpo. (A) Una tipica molecola di anticorpo ha la forma a Y e ha due siti di legame identici per il suo antigene, uno in ciascuna delle braccia della Y. La proteina è composta da quattro catene polipeptidiche (due catene pesanti identiche e due catene leggere identiche e più piccole) tenute insieme da legami disolfuro. Ogni catena è fatta da diversi domini di tipo immunoglobulina, qui ombreggiati sia in azzurro che in grigio. Il sito di legame con l'antigene si forma laddove un dominio variabile della catena pesante (V_H) e un dominio variabile della catena leggera (V_L) vengono a contatto. Questi sono i domini che differiscono di più in sequenza e struttura nei diversi anticorpi.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26911/figure/A421/>
/?report=objectonly





Hydrophilic backbone

Side chains can be hydrophobic or hydrophilic

Gli **amminoacidi** hanno un'impalcatura idrofila che può formare catene e uno fra i 20 diversi tipi di catene laterali, che possono essere idrofiliche o idrofobiche.

Una **proteina** è una catena di aminoacidi che si piega in una conformazione tridimensionale specifica.

H. Kreuzer & A. Massey: *Biology and Biotechnology: Science, Applications and Issues* ASM Press, Washington, D.C., 2005.

STRUTTURA TRIDIMENSIONALE DELLE PROTEINE

Hydrophobic interactions

Polypeptide backbone

Disulfide bridge

Hydrogen bond

Ionic bond

α Helix

Pleated sheet

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

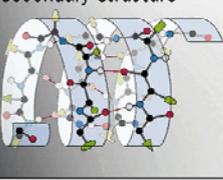
STRUTTURA PROTEINE (1)

Primary structure



Amino acid residue

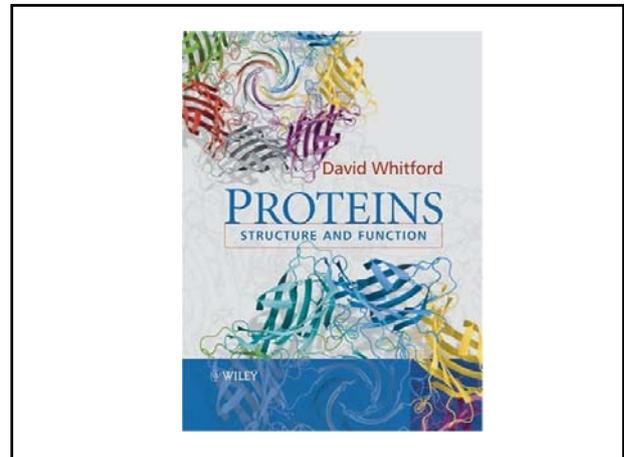
Secondary structure



Tertiary structure



Cooper: the Cell, a Molecular Approach, 2nd ed.



Natura ierarchica della struttura delle proteine

Struttura Primaria (Sequenza di AA)

↓

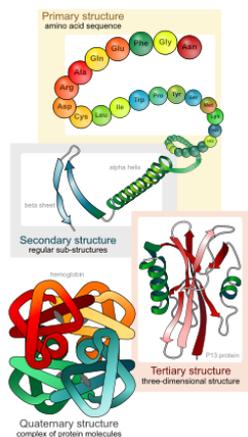
Struttura Secondaria (α -elica, β -foglietto)

↓

Struttura Terziaria (struttura 3D formata dall'assemblaggio di strutture secondarie)

↓

Struttura Quaternaria (Struttura formata da piú di una catena polipeptidica)



Primary structure
amino acid sequence

Secondary structure
regular sub-structures

Tertiary structure
three-dimensional structure

Quaternary structure
complex of protein molecules

STRUTTURA PROTEINE (3)

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

STRUTTURA PRIMARIA DELLE PROTEINE (1)

Primary Structure

Amino end $+H_3N$

Amino acid subunits

- E' la **sequenza lineare specifica degli AA** che compongono la catena.
- Determina da sola il ripiegamento della proteina.
- Con 20 diversi AA il n° di differenti polipeptidi che si possono formare è di 20^n dove n è il n° di AA della catena.

http://w3.hwdsb.on.ca/hillpark/Departments/Science/Watts/5813U/Class_Summary/class_summary_spring_2009_sbi3u.html

Anemia falciforme (1)

(«Sickle cell anemia»)

VALINA

Ac. GLUTAMICO

<http://thesecretoftheblood.blogspot.com/>

- Questa grave malattia ereditaria deriva da un **unico cambiamento nella sequenza amminoacidica** della molecola di emoglobina: nella proteina mutata una **VALINA** (AA non polare) si trova al posto di un **ACIDO GLUTAMICO** (AA polare carico).

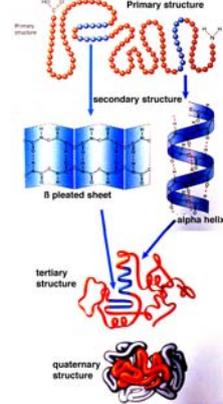
Anemia falciforme (2)

- Le persone con anemia falciforme ("sickle cell anemia") producono una forma di emoglobina A diversa, detta emoglobina S (S sta per "sickle").
- Gli eritrociti che contengono soprattutto l'emoglobina S non hanno un tempo di vita lungo quanto i globuli rossi normali (che di solito è di 120 giorni).
- Inoltre diventano **più rigide, distorte** in forma e hanno difficoltà a passare attraverso i vasi sanguigni più sottili (capillari).
- Quando un eritrocito falciforme blocca un vaso sanguigno sottile, la quantità di sangue che raggiunge quella parte del corpo è inferiore. Il tessuto che non riceve un normale flusso sanguigno finisce per diventare danneggiato.
- Ci sono diverse forme di anemia falciforme. Le più comuni sono: Sickle Cell Anemia (SS), Sickle-Hemoglobin C Disease (SC), la "Sickle Beta-Plus Thalassemia" e la "Sickle Beta-Zero Thalassemia".

Struttura secondaria α -elica & foglietto β

- La struttura secondaria rappresenta la **conformazione ordinata che alcuni tratti di proteina possono assumere, sulla base della struttura primaria**, cioè della sequenza amminoacidica.
- La struttura secondaria è caratterizzata dalla **presenza di ponti idrogeno fra i gruppi del legame peptidico di residui non adiacenti**, mentre **non sono direttamente coinvolte le catene laterali degli aminoacidi**.
- All'interno della stessa proteina, diversi tratti possono assumere la medesima struttura secondaria o strutture secondarie differenti. Le principali forme di strutture secondarie presenti nelle proteine sono l' α -elica e le strutture β foglietto.

<http://www.unisr.it/biotechbook/view.asp?id=250>

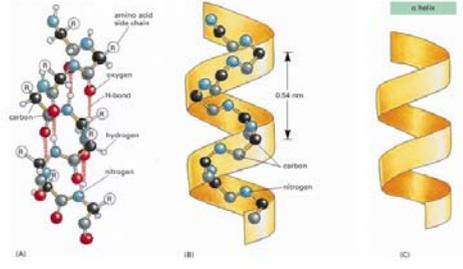


Primary structure
Secondary structure
 beta pleated sheet
 alpha helix
Tertiary structure
Quaternary structure

IMPORTANZA DEI PONTI DI IDROGENO PER LA FORMAZIONE DI UN'ELICA E DI ALTRE STRUTTURE ORDINATE

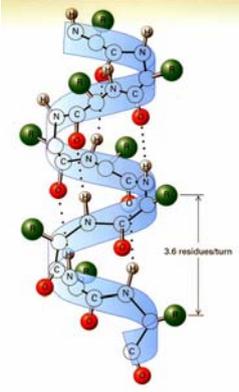
Una elica si forma quando una serie di subunità si legano una all'altra in modo regolare

α-elica (1)



(A) (B) (C)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A402/?report=objectonly>

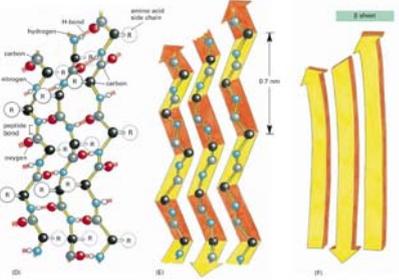


α-elica (2)

3.6 residues/turn

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21581/figure/A529/>

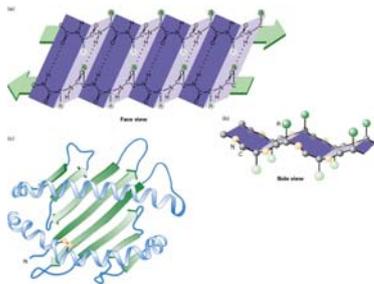
β-foglietto (1)



(A) (B) (C)

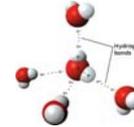
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26830/figure/A402/?report=objectonly>

β-foglietto (2)



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21581/figure/A532/?report=objectonly>

Note sul ripiegamento delle proteine (1)



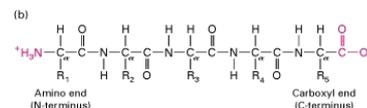
- ⚡ L'acqua contiene due legami polari ossigeno-idrogeno ed è una molecola estremamente polare.
- ⚡ Perciò si associa "confortevolmente" con altre molecole polari o cariche elettricamente.
- ⚡ Per questa ragione, le molecole che sono elettrostaticamente cariche o polari sono **IDROFILICHE**.
- ⚡ Poiché le molecole non polari non si associano "confortevolmente" con l'acqua, esse sono **IDROFOBICHE**.
- ⚡ Le catene laterali idrofobiche (non polari) degli aminoacidi **non** si associano stabilmente con il fluido intracellulare (o extracellulare).

Note sul ripiegamento delle proteine (2)

- ⚡ Viceversa, le catene laterali idrofiliche degli aminoacidi (cariche o polari) si possono associare stabilmente con il fluido perché le loro cariche, o cariche parziali possono essere neutralizzate dalle cariche parziali complementari delle molecole polari dell'acqua.
- ⚡ Una regola basilare che determina la struttura delle proteine in ambiente acquoso è, per quanto possibile, il ripiegamento dei gruppi laterali idrofobici concentrandoli all'interno della proteina, così creando un ambiente idrofobico privo di acqua.
- ⚡ Le catene laterali idrofiliche sono invece stabili quando esposte al citoplasma sulla superficie della proteina.

Note sul ripiegamento delle proteine (3)

- ⚡ Si dice perciò che una proteina in un ambiente acquoso contiene una zona centrale ("core"; nocciolo) idrofobica e stabile.
- ⚡ La struttura tridimensionale di ogni singola proteina (**STRUTTURA TERZIARIA**) può essere vista come la migliore soluzione al problema di creare la zona centrale idrofobica per ogni struttura primaria.
- ⚡ Questo presenta un ulteriore problema: l'impalcatura/asse comune (sequenza di legami peptidici) contiene un gran numero di **legami NH e CO**, che sono altamente **polari**.

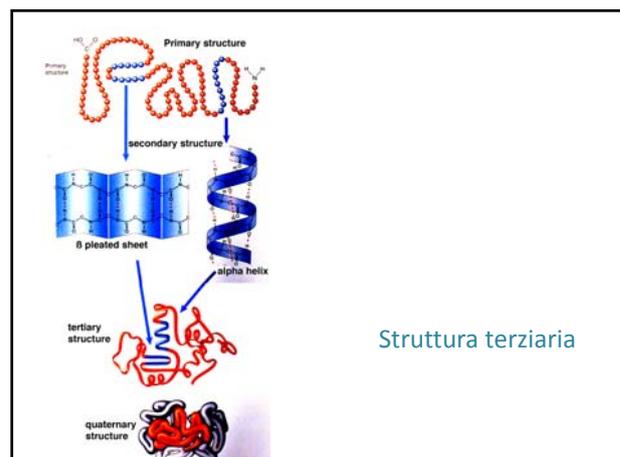
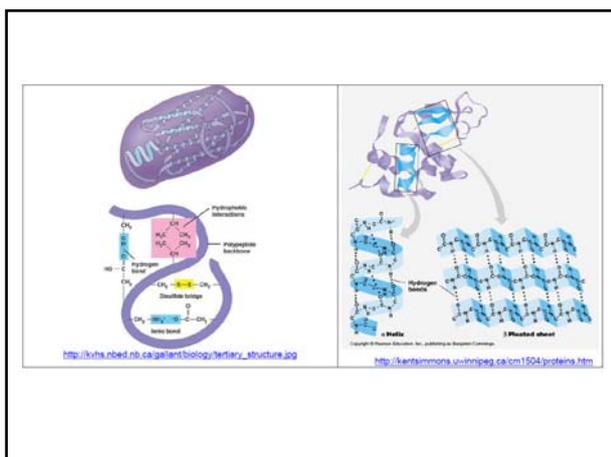


Note sul ripiegamento delle proteine (4)

- ⚡ Alla superficie della proteina questi legami parzialmente carichi possono essere prontamente neutralizzati mediante **legami di idrogeno con l'acqua**.
- ⚡ Tuttavia, perchè una struttura proteica sia stabile **le cariche parziali dell'impalcatura polipeptidica debbono essere neutralizzate anche all'interno della proteina, dove l'acqua non è presente**.

Note sul ripiegamento delle proteine (5)

- ⚡ La soluzione di questo problema è un fattore di importanza fondamentale che determina la struttura della proteina:
 - **L'asse della proteina deve neutralizzare le sue stesse cariche parziali.**
 - **I gruppi NH possono formare legami d'idrogeno con i gruppi CO, neutralizzandosi a vicenda.**
 - Per costrizioni geometriche, i gruppi CO e NH dello stesso amminoacido non sono in posizione tale da poter formare ponti d'idrogeno l'uno con l'altro.
 - Viceversa, **l'asse polipeptidico deve essere disposto accuratamente in posizione tale che gruppi NH e CO lungo l'asse siano in posizione da potere formare ponti d'idrogeno con gruppi complementari in altre posizioni lungo l'asse.**
 - L' α -elica e il foglietto β (**STRUTTURE SECONDARIE**) sono le due disposizioni più comunemente riscontrate nelle proteine che permettono la formazione dei legami d'idrogeno.



Three-dimensional structure of proteins

Tertiary structure

Quaternary structure

Struttura terziaria

Fosfoglicerato chinasi

- ↓ Gli elementi strutturali (spirali e tornanti, eliche, filamenti e stratti) si combinano a formare «**motivi**».
- ↓ I motivi a loro volta si combinano a formare «**domini**». Le proteine di piccole dimensioni possono formare un solo dominio.
- ↓ Le proteine di maggiori dimensioni sono combinazione di domini. La struttura prodotta dall'organizzazione di elementi strutturali in domini nella struttura globale viene chiamata **struttura terziaria della proteina**.
- ↓ In genere i domini si comportano come se potessero avere esistenza e stabilità indipendenti.

<http://chemistry.umeche.maine.edu/CHY431/Proteins8.html>

Struttura terziaria

Hydrophobic interactions

Polypeptide backbone

Hydrogen bond

Disulfide bridge

Ionic bond

Struttura quaternaria

<http://www.answers.com/topic/hemoglobin>

Struttura quaternaria (1)

- ✚ Molte proteine contengono **più di una catena polipeptidica**.
- ✚ L'interazione tra queste catene sta alla base della struttura quaternaria.
- ✚ Le interazioni sono esattamente le stesse che determinano la struttura terziaria (**ponti S-S, ponti di idrogeno, interazioni ioniche e interazioni idrofobiche**) solo con l'eccezione che hanno luogo fra una o più catene polipeptidiche, dette «subunità».

D. Whitford: «Proteins: Structure and Function». Wiley, 2005.

Struttura quaternaria (2)

- ✚ Può essere basata su **subunità identiche** o **subunità diverse**:
 - **Omodimeri**: es. triosifosfato isomerasi (enzima coinvolto nella glicolisi), HIV proteasi, molti fattori di trascrizione.
 - **Trimeri**: es. proteina MS2 del capsido virale
 - **Tetrameri**: es. emoglobina, con due diverse subunità: 2 subunità α e 2 subunità β .

D. Whitford: «Proteins: Structure and Function». Wiley, 2005.

Struttura quaternaria (3)

- ✚ La **corretta attività funzionale** della proteine richiede la formazione della struttura quaternaria e la **specifica associazione della subunità**.
- ✚ Nonostante singolarmente le **forze** siano **deboli**, esse sono **numerose** e portano **all'assemblaggio delle subunità** ed ad aumentata **stabilità**.
- ✚ La struttura quaternaria permette la formazione di **siti di catalisi o di legame nell'interfaccia fra le unità**; tali siti sono impossibili da trovare nelle proteine monomeriche.

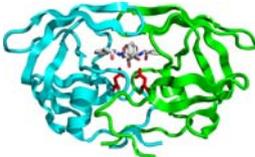
D. Whitford: «Proteins: Structure and Function». Wiley, 2005.

Struttura quaternaria (4)

- ✚ Ulteriori vantaggi derivano dal fatto che **il legame con il substrato della reazione catalitica o con il ligando provoca alterazioni conformazionali** all'interno di tutto il complesso e offre la **possibilità di regolazione dell'attività biologica** – BASE PER LA **REGOLAZIONE ALLOSTERICA DELLE PROTEINE**.
- ✚ Permette quindi una grande **versatilità** di funzioni.

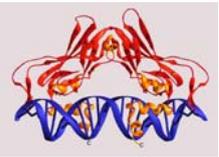
D. Whitford: «Proteins: Structure and Function». Wiley, 2005.

HIV proteasi



http://upload.wikimedia.org/wikipedia/en/1/1d/HIV_protease_1EBX.png

Complesso fra fattore di trascrizione T-box /DNA



<http://www.embl-grenoble.fr/groups/dna/t.gif>

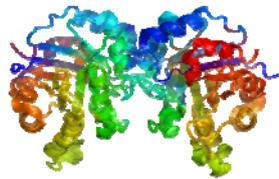
Dihydroxyacetone phosphate triose phosphate isomerase D-glyceraldehyde 3-phosphate



triose phosphate isomerase

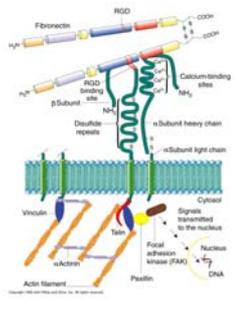
Triosifosfato isomerasi

Dimero della Triosifosfato isomerasi



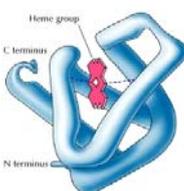
http://en.wikipedia.org/wiki/Triosephosphate_isomerase

Altre proteine con struttura quaternaria (1)



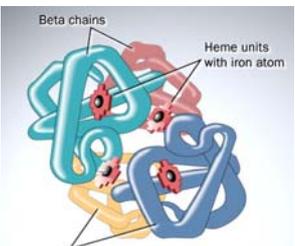
Integrina

Mioglobina e emoglobina



Mioglobina
(Non ha struttura quaternaria)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3879/figure/A271/>



Hemoglobin

http://www.evolutionnews.org/2012/10/gene_duplication_064971.html

