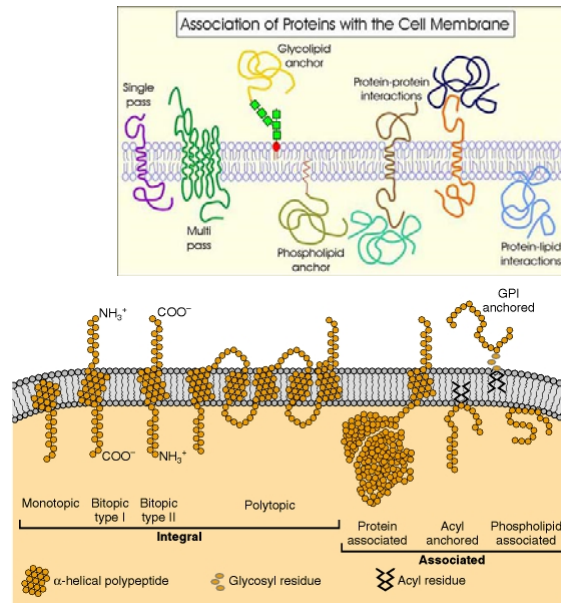
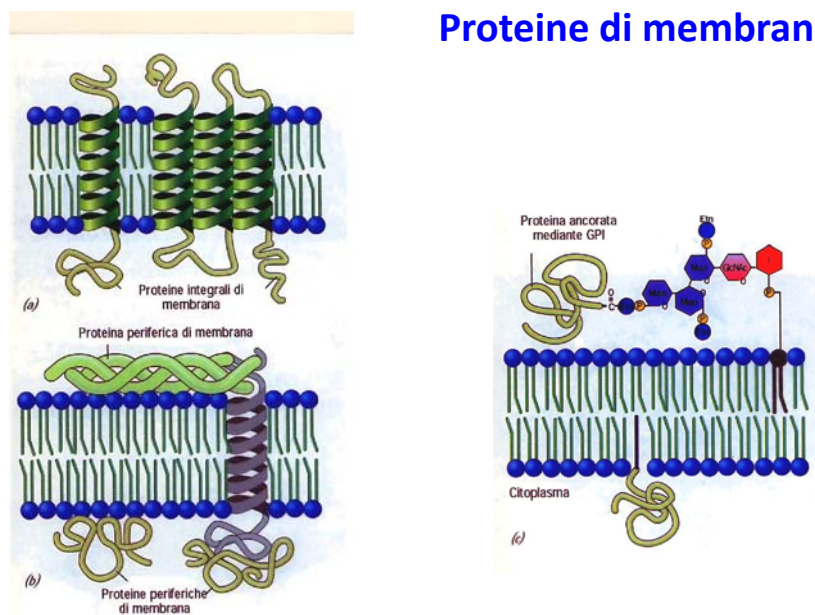


Proteine di membrana



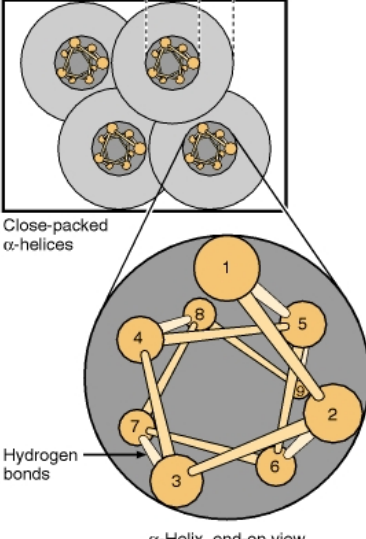
<http://www.nfsdsystems.com/w3bio315/>; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28193/figure/A105/?report=objectonly>

Proteine di membrana



I domini transmembrana delle proteine integrali di membrane sono predominantemente delle eliche α

Average residue length: 5.1 Å
Peptide backbone: 6.8 Å



Close-packed α -helices

Hydrogen bonds

α -Helix, end-on view

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28193/figure/A103/?report=objectonly>

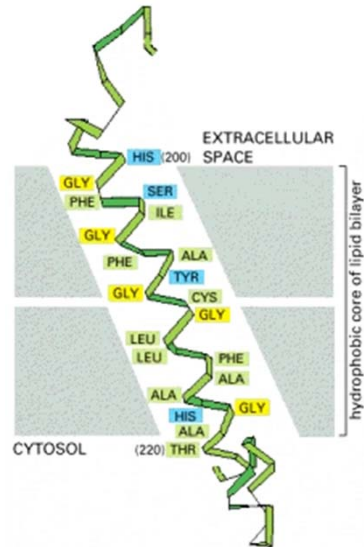
- Questa struttura induce le catene laterali degli aminoacidi a proiettarsi radialmente.
- Quando diverse eliche α sono impacchettate strettamente le loro catene laterali possono essere interconnesse oppure delle costrizioni stereochimiche possono provocare la formazione di **canali** all'interno delle catene.
- I residui che si proiettano all'esterno devono essere predominantemente idrofobici per interagire con le catene di acidi grassi dei bilayers lipidici.**
- Il bilayer ha uno spessore di circa 3 nm. Ogni residuo peptidico si estende all'interno dell' α elica per 1.5 Å. Perciò, nonostante modificazioni locali del bilayer o interazioni con altri polipeptidi di membrana possano alterare questo requisito, **i segmenti transmembrana di solito richiedono circa 20 residui aminoacidici per attraversare totalmente il bilayer.**
- Le proteine integrali di membrana sono caratterizzate dalla presenza di segmenti idrofobici con approssimativamente questa lunghezza.

Nella maggior parte delle proteine transmembrana la catena polipeptidica attraversa il doppio strato lipidico in conformazione ad α -elica (1)

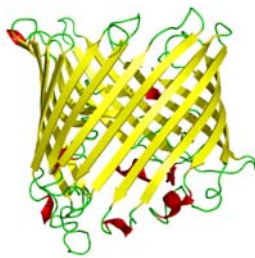
- Una proteina transmembrana ha sempre un orientamento caratteristico nella membrana.
- Questo riflette il **modo asimmetrico con cui è sintetizzato ed inserito nel doppio strato** nel **Reticolo Endoplasmatico ruvido** e le **diverse funzioni dei suoi domini citosolici e non-citosolici.**
- Questi domini sono separati da **segmenti della catena polipeptidica che attraversano la membrana**, che sono in contatto con l'ambiente idrofobico del doppio strato lipidico e **sono composti in gran parte di residui di aminoacidi con catene laterali non polari.**

Proteine transmembrana (2)

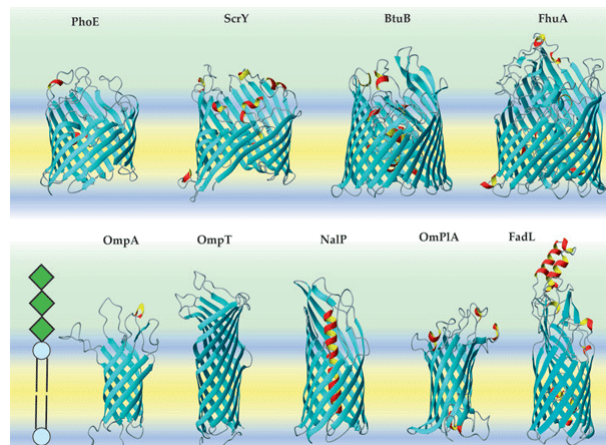
- Poichè **i legami peptidici stessi sono polari** e dato che l'acqua è assente, **tutti i legami peptidici nell'ambito del doppio strato sono portati a formare legami di idrogeno gli uni con gli altri.**
- Il legame di idrogeno fra i legami peptidici viene massimizzato se la catena polipeptidica forma una α -elica regolare nell'attraversamento;** si ritiene che sia in questo modo che la grande maggioranza dei segmenti che attraversano la membrana delle catene polipeptidiche attraversino il doppio strato.



... ma anche i β -foglietti si adattano all'attraversamento della membrana



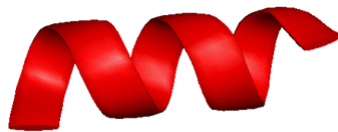
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/f/fb/Sucrose_porin_1a0s.png



http://www.membranproteine.de/Betabarrels2004_100dpi.gif

Proteine periferiche

- Alcune proteine di membrana sono localizzate totalmente nel citosol e sono collegate al monostrato citosolico del doppio strato lipidico da una α -elica anfifilica esposta sulla superficie della proteina e parallela al piano della membrana...

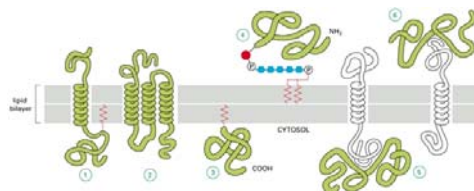


Le α -eliche spesso hanno una unilaterialità di aspetto: un lato è predominantemente polare mentre l'altro è chiaramente idrofobico.

https://bioweb.uwlax.edu/GenWeb/Molecular/Bioinformatics/Unit_4/Lab_4-1/lab_4-1.htm

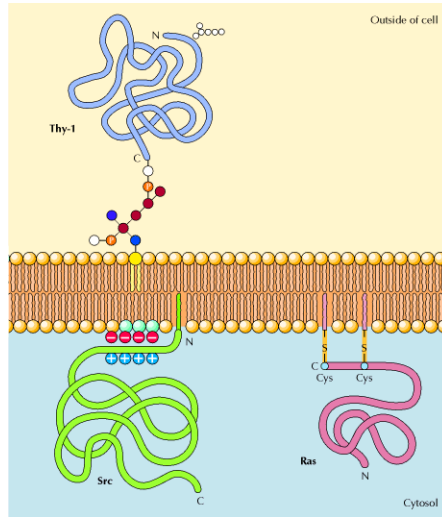
Proteine periferiche (2)

- ... oppure sono collegate al **monostrato citosolico** da una o più catene lipidiche collegate covalentemente.
- Altre proteine sono esposte interamente sulla **superficie esterna** dato che sono collegate al doppio strato lipidico soltanto mediante un legame covalente (mediato da un oligosaccaride) ad un'ancora lipidica che si insderisce sul monostrato esterno della membrana plasmatica.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28291/figure/A2469/>

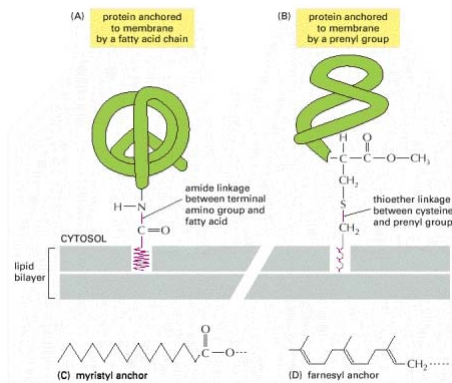
Proteine ancorate alla membrana da lipidi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9898/figure/A1979/?report=objectonly>

Ancore lipidiche per collegamento al foglietto citosolico CATENE DI ACIDO GRASSO O DI GRUPPO PRENILICO

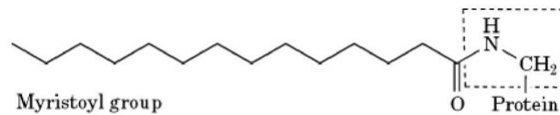
citosol



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26878/figure/A1893/>

Ancore lipidiche
catene di acidi grassi o gruppi prenilici
Acido miristico

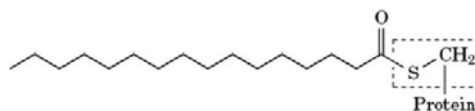
- ✚ **Acido grasso saturo** con 14 atomi di carbonio.
- ✚ Viene aggiunto al gruppo aminico N-terminale di una proteina durante la sua sintesi nel ribosoma.
- ✚ Tutti i membri della **famiglia Src** di proteina tirosina chinasi citoplasmatiche sono miristoilate.
- ✚ Poichè **il collegamento alla membrana tramite una sola ancora lipidica non è molto forte** viene spesso aggiunto un secondo gruppo lipidico che permette di ancorare le proteine in modo più forte.



http://what-when-how.com/wp-content/uploads/2011/05/tmp493_thumb.jpg

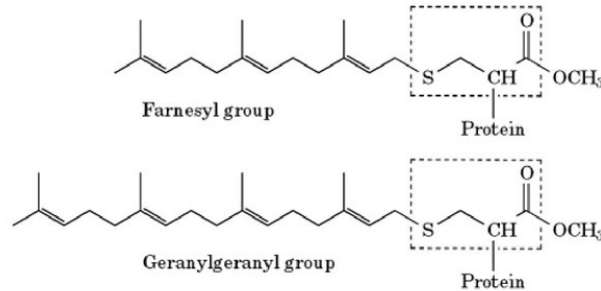
Ancore lipidiche
catene di acidi grassi o gruppi prenilici
Acido palmitico

- ✚ Per la maggior parte delle **Src chinasi** la seconda modificazione lipidica consiste **nel collegamento di acido palmitico**, un **acido grasso saturo con 16 atomi di carbonio** ad una **catena laterale di cisteina della proteina**.
- ✚ Questa modificazione è reversibile, avviene in risposta ad un segnale extracellulare, ed **aiuta a reclutare la chinasi verso la membrana plasmatica**.
- ✚ Quando la via di segnalazione è spenta l'acido palmitico viene rimosso permettendo alla chinasi di ritornare allo stato di soluzione nel citosol.



<http://what-when-how.com/molecular-biology/palmitoylation-molecular-biology/>

Ancore lipidiche
catene di acidi grassi o gruppi prenilici
Gruppi prenilici

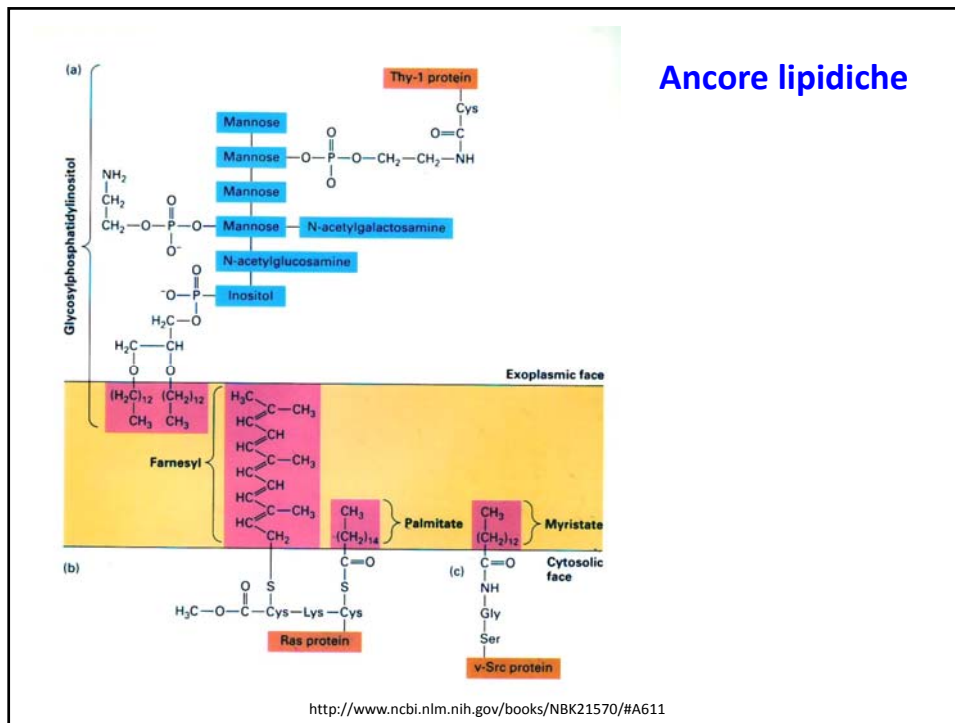


- ✚ La **prenilazione** o l'**isoprenilazione** è un processo post-traduzionale in cui **residui di cisteina vicini al C-terminale** di alcune proteine eucariotiche sono modificate mediante aggiunta di un gruppo isoprenoide: il **gruppo farnesilico** con 15 atomi di carbonio o il **gruppo geranylgeranil** con 20 atomi di carbonio.

<http://what-when-how.com/molecular-biology/prenylation-molecular-biology/>

Ancore lipidiche
catene di acidi grassi o gruppi prenilici

- ✚ Alcune proteine di segnalamento quali la **famiglia Ras** delle **piccole proteine G monomeriche** usano una combinazione di **collegamento con un gruppo prenilico** e un **acido palmitico** per reclutare la proteina alla membrana plasmatica.
- ✚ Le proteine che si legano al foglietto citosolico mediante aggiunta di un acido grasso o gruppo prenilico sono prodotte come proteine solubili nel citosol e vengono successivamente ancorate alla membrana mediante il collegamento covalente di un'ancora lipidica.



Ancora di GPI

- ✚ I **glicosilfosfatidil inositoli (GPI)** sono glicolipidi complessi che si legano ad alcune proteine presenti sulla superficie esterna della membrana plasmatica. Il loro legame è simile a quello indicato sotto, nonostante **la composizione dell'oligosaccaride possa variare**:

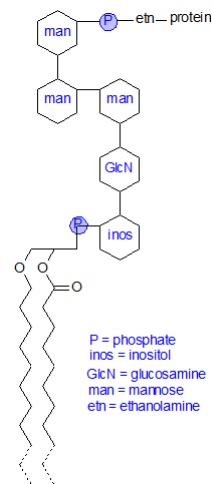
Proteina (C-terminale) - fosfoetanolamina – mannosio - mannosio - mannosio - *N*-acetilglucosamina - inositolo (di fosfatidilinositolo inserito nella membrana)

- ✚ La proteina è **ancorata ad una certa distanza all'esterno della membrana dalla lunga catena oligosaccaridica**.
- ✚ Le proteine legate a GPI possono essere rilasciate dalla superficie esterna delle cellule dalle **fosfolipasi**.

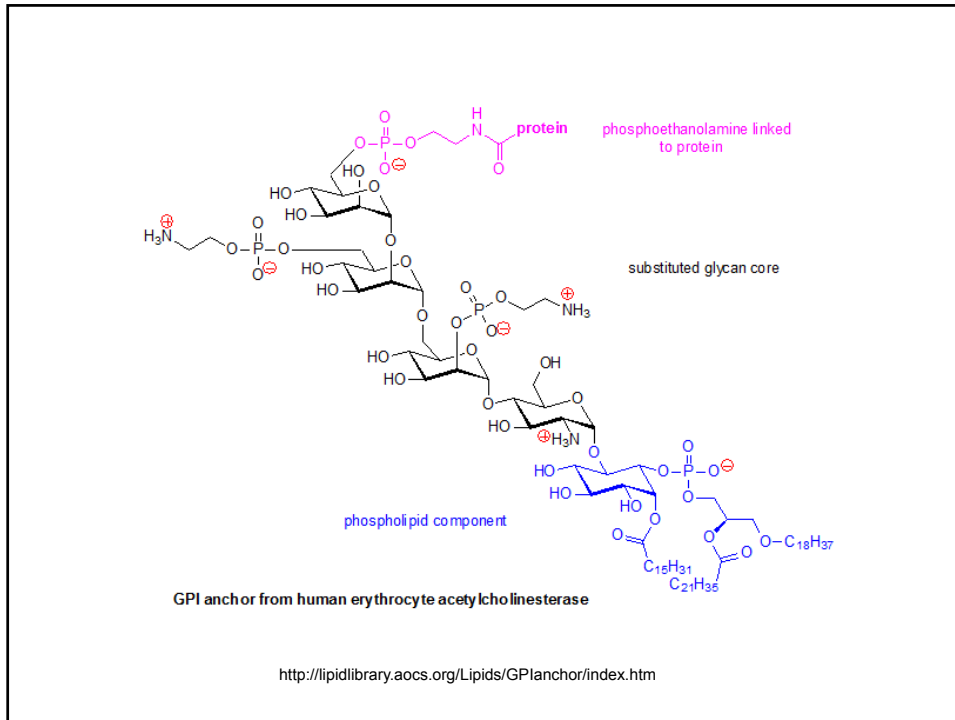
Foglietto esoplasmico

Ancora di Glicosil-fosfatidil-inositolo (GPI)

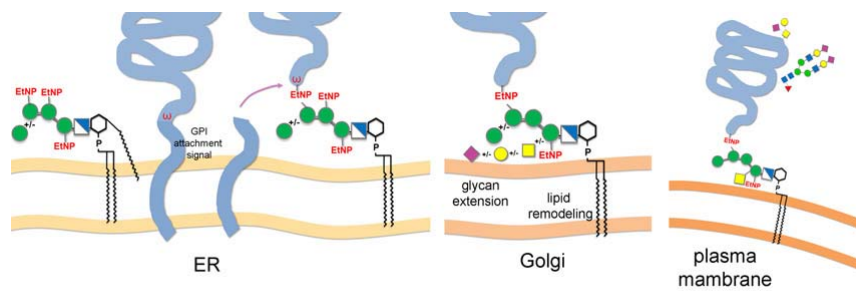
- Le **proteine associate al foglietto esoplasmico che hanno una coda di GPI**, sono invece **sintetizzate come proteine di membrana a singolo passo, nel reticolo endoplasmatico**.
- Ancora quando sono nel RE **il segmento transmembrana viene rimosso** e viene **aggiunta una coda di glicosilfosfatidilinositolo (GPI)**
- In questo modo la proteina rimane legata alla superficie non-citosolica dell'ER soltanto tramite questa ancora.

Glicosilfosfatidil inositolo (GPI)

<http://lipidlibrary.aocs.org/Lipids/GPIanchor/Figure1.png>



Biosintesi di una proteina collegata ad un'ancora di GPI



- inositol EINP Ethanolamine phosphate ● mannose ● galactose ■ GlcNAc (N-acetylglucosamine)
- GlcN (glucosamine) ■ GalNAc (N-acetylgalactosamine) ◆ sialic acid ▲ fucose

Seminario

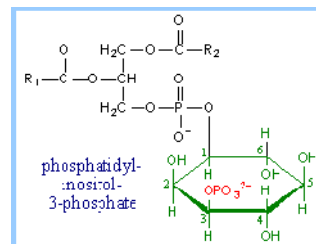
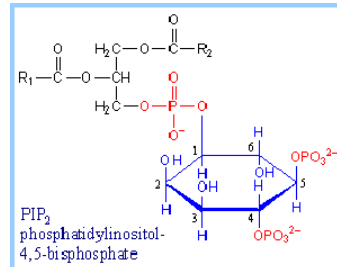
<https://international.neb.com/applications/glycobiology/biosynthesis-of-glycans-in-eukaryotes/glycosaminoglycan-chains-gags-and-glycolipids>

Associazione proteine con lipidi di membrana

Alcune **proteine citosoliche** hanno **domini che si legano alle teste polari di lipidi** che occorrono transientemente nella membrana.

Gli enzimi che creano o degradano questi lipidi sono soggetti a regolazione mediata da segnali, fornendo un meccanismo per modulare l'affinità di una proteina verso la superficie di una membrana:

- Ad es. i domini "**pleckstrin homology**", (PH) sono in grado di **legare il fosfatidilinositolo**.
- Alcuni domini PH si legano al PIP₂ (PI-4,5-P2).
- Altri domini PH riconoscono e si legano a derivati del fosfatidilinositolo con gruppi P_i esterificati con il gruppo 3'-OH dell'inositolo.
 - ES: PI-3-P, PI-3,4-P2, e PI-3,4,5-P3.



<http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/part2/lipid.htm#animat1>