



Corso di
Proprietà di Biopolimeri

Prof. Ranieri URBANI

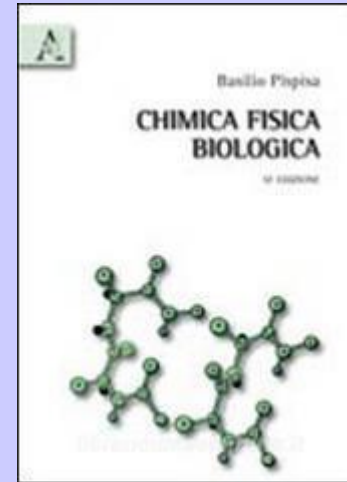
**Dipartimento di Scienze Chimiche
e Farmaceutiche**

Tel 040 558 3684
e-mail: rurbani@units.it

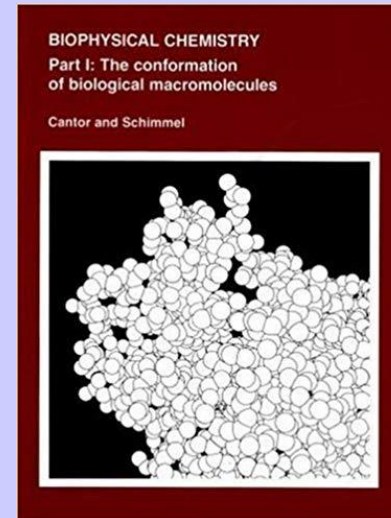
a.a. 2021-2022

Testi:

**B. Pispisa,
CHIMICA FISICA BIOLOGICA
Aracne Ed.**



**Cantor-Schimmel
BIOPHYSICAL CHEMISTRY
Vol. I, II, III
Freeman Ed.**



NB:

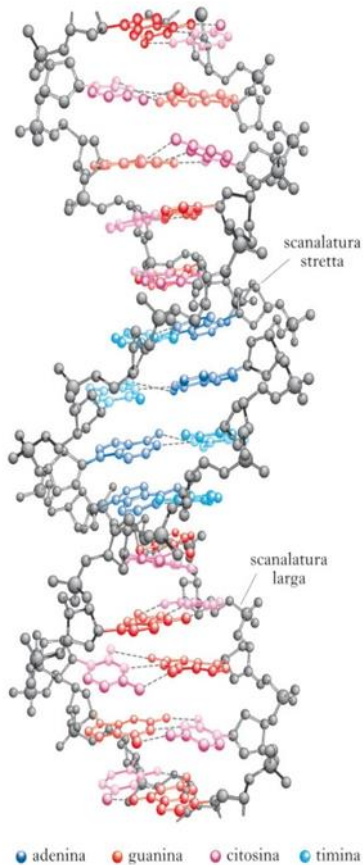
**1) Il materiale elettronico fornito (dispense e figure)
non sostituisce il materiale librario**

2) Wikipedia NON è una fonte controllata e non fa testo

PROVA D'ESAME

L'esame del corso è costituito da una prova orale che prevede almeno tre domande sugli argomenti trattati

Le diapositive e gli appunti del corso sono inserite nella apposita pagina in Moodle.



INTRODUZIONE

Problematiche generali:

Struttura e funzione di un biopolimero

Rigidità e flessibilità. Strutture estese o a gomito

MODIFICAZIONI CHIMICHE:

Degradazione/depimerizzazione parziale della struttura

MODIFICAZIONI CONFORMAZIONALI

(interazione con solventi, pH, T, ioni, piccole molecole...)

PROPRIETA' STRUTTURALI di BIOPOLIMERI

GERARCHIA DEI LIVELLI STRUTTURALI

STRUTTURA PRIMARIA

PROTEINE

Amino acidi

Legame peptidico

Chiralità

Catene polipeptidiche

DNA / RNA

Monomeri

Basi, nucleotidi

Interazione tra basi

Legame difosfoestereo

Catena polinucleotidica

CARBOIDRATI

C chirale, stereoisomeri ed enantiomeri

Aldosi/chetosi

Strutture cicliche Proiezioni di Haworth.

Legame glicosidico

Polisaccaridi: composizione, sequenza, concatenamento, anomeria.

PROPRIETA' CONFORMAZIONALI

Peptidi: definizione degli angoli torsionali.
Interazione tra atomi legati
Interazione tra atomi non-legati
Rigid geometry approximation
Catene polipeptidiche
Mappe di Ramachandran
Proprietà conform di carboidrati, Mappe di Ramachandran



PROPRIETA' CONFORMAZIONALI:

STRUTTURA SECONDARIA

gerarchia dei livelli di organizzazione
Interazioni deboli che stabilizzano le conformazioni
Forze di dispersione di London
Parametri di un'elica

PROTEINE

L'alfa elica
Foglietto beta
Ripiegamento beta
Esempi proteine, AFM, SEM

STRUTTURA TERZIARIA E QUATERNARIA DI PROTEINE

Architettura della struttura terziaria: motivi e domini
Motivi alfa e beta (esempi)

POLISACCARIDI

proprietà strutturali
Strutture elicoidali di polisaccaridi
Effetto anomeroico
Effetto eso-anomeroico

STRUTTURA TRIDIMENSIONALE DEGLI ACIDI NUCLEICI:

Struttura primaria di DNA ed RNA

Le regole di Chargaff

La tripla elica di Pauling

Conformazioni tautomeriche delle basi

Isomorfismo geometrico delle coppie di basi

Puckering del furanosio

1953: La doppia elica del DNA di Watson e Crick

Parametri delle doppie eliche

Struttura terziaria del DNA e RNA (cenni)

FOLDING PROTEICI E DENATURAZIONE

Folding proteico e struttura primaria di proteine

1957: esperimento di Anfinsen

Paradosso di Levinthal

Considerazioni energetiche e cinetiche

La componente idrofobica

Il misfolding e le malattie “conformazionali”

APPROCCI BIOINFORMATICI DI PREDIZIONE

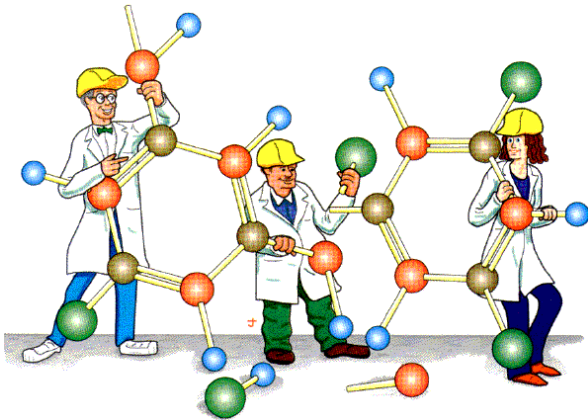
Scale di aminoacidi

Supporti informatici on-line (esempio: EXPASY)

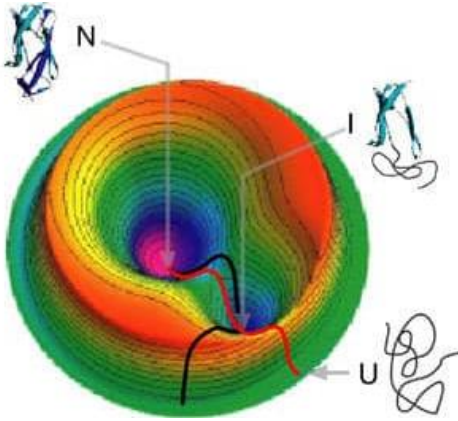
Le scale di idropatia (Kyte-Doolittle)

Previsione della struttura secondaria: metodi di prima e seconda generazione

Previsione della struttura secondaria: metodo di Chou-Fassman



Evoluzione convergente e divergente
Omologia e similitudine
Fold Recognition
Allineamento di sequenze
Esempio: Metodo GOR



PREDIZIONE DELLA STRUTTURA

Meccanica Molecolare
Dinamica Molecolare
Calcolo delle traiettorie ed analisi dei risultati
Solvatazione

STATISTICA CONFIGURAZIONALE (predizione della struttura delle catene biopolimeriche)

Simulazione di catene, definizione di legami (virtuali) di una catena.

Distanza testa-coda. Raggio di girazione. Lunghezza di persistenza. Funzione di correlazione.

Esempi. Poliosaccaridi, proteine.

Modelli stocastici: Metodo Monte Carlo



PROPRIETA' ACIDO-BASE DI AMINOACIDI E PEPTIDI

Titolazione di amino acidi. Determinazione delle costanti di equilibrio. Punto isoelettrico

POLIELETTROLITI

Definizione. Effetto delle interazioni elettriche sulla statistica conformazionale

Viscosità di soluzioni polielettrolitiche

Equilibrio di dissociazione di un poliacido debole

Modello di Smidsrod and Haug: parametro di rigidità

Teoria delle soluzioni di elettroliti: cenni

Teoria della Condensazione dei Contro-ioni di Manning



MISROCOPIA OTTICA: BIRIFRANGENZA



DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA PRIMARIA DI PROTEINE

Lisi delle proteine con metodi enzimatici (mappa triptica)

La degradazione di Edman

Composizione mediante HPLC

Spettrometria di massa

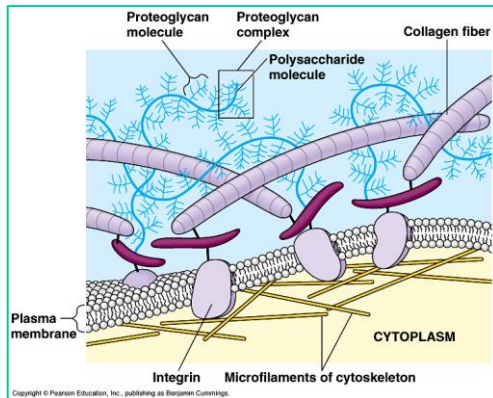
DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA PRIMARIA DI UN POLISACCARIDE

Composizione monosaccaridica: natura e rapporti molare

Concatenazione del legame glicosidico e delle eventuali ramificazioni

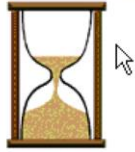
Configurazione anomeric: configurazione α o β del legame glicosidico

Sequenza di monosaccaridi nell'unità ripetitiva



DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA PRIMARIA DI ACIDI NUCLEICI

Metodo di Sanger

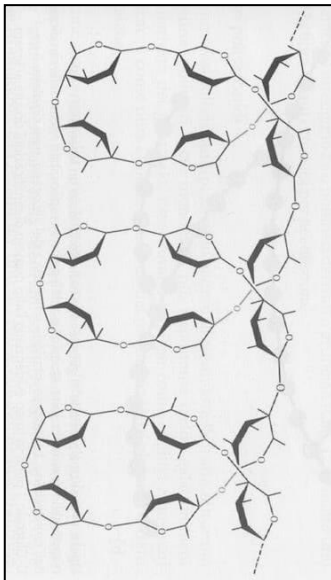


Panta rei

La reologia è lo studio della deformazione
e del flusso della materia.

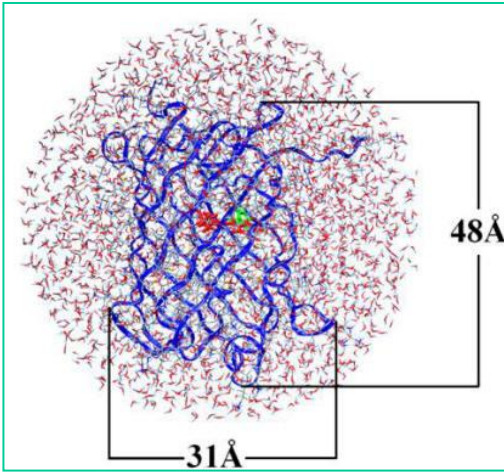
SISTEMI LIQUIDI, SOLIDI E VISCOELASTICI

Il numero di Deborah. Materiali viscoelastici
Comportamento viscoelastico: curve di flusso
Curve di stress-strain per deformazione ciclica
Modulo elastico e modulo viscoso



TRANSIZIONE ELICA-GOMITOLO

Curve di transizione ordine-disordine
Variabili chimico-fisiche nelle transizioni conformazionali (TC)
Processi cooperativi
Modello di Schellman, grado di cooperatività
Modello “a cerniera” (Zipper model) di Zimm-Brag
(a basso ed alto PM)
Elicità frazionaria e probabilità



RICHIAMI DI TERMODINAMICA

Transizione tra due stati

Grafico di Van't Hoff

TERMODINAMICA DEL LEGAME CON SUBSTRATI

Costante macroscopica e microscopica

Siti indipendenti ed identici

Scatchard plot

CALORIMETRIA DIFFERENZIALE A SCANSIONE (DSC)

Applicazioni nel campo dei biopolimeri

Analisi delle curve DSC. Cooperatività

GEL PERMEATION CHROMATOGRAPHY (GPC)

Principio di separazione

Proprietà dei gel e fasi stazionarie

Schema strumentale di GPC

Rilevatori e calibrazione

SPETTROSCOPIA UV-VISIBILE DI BIOPOLIMERI

Cromofori importanti in molecole biologiche
Spettri UV di proteine e acidi nucleici
Denaturazione del DNA e di proteine



DICROISMO CIRCOLARE

L'attività ottica e la rotazione ottica
Il polarimetro
Spettroscopia di dicroismo circolare
Unità di misura e sensibilità. Ellitticità molare
Lo spettro CD per strutture secondarie

CARATTERIZZAZIONE DELLE DISTRIBUZIONE DI PESI MOLECOLARI

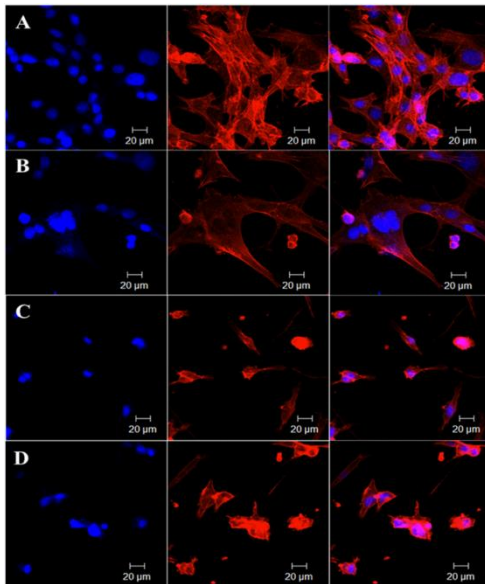
Definizione delle masse molecolari medie, polidispersità e curve di distribuzione.
Metodi per la determinazione dei pesi molecolari (PM)



ELETTROFORESI

Principi ed equazioni fondamentali
Applicazioni ai biopolimeri
Gel per elettroforesi
Elettroforesi denaturante: SDS-PAGE
Preparazione di un'elettroforesi su gel
Determinazione dei PM di polipeptidi
Tecnica di focalizzazione isoelettrica (IEF)
Elettroforesi 2D
Elettroforesi capillare (CE)

DIFFUSIONE ELASTICA ed ANELASTICA della LUCE LASER (SLS ed DLS)



SPETTROSCOPIA DI FLUORESCENZA

Spettro di fluorescenza

Diagramma di Jablonsky delle transizioni

Cinetica delle transizioni

Rendimento quantico

Condizioni fotostazionarie o transienti

Decadimento di fluorescenza

Biomolecole fluorescenti

Strumentazione

Quenching collisionale o statico

Equazione di Stern-Volmer

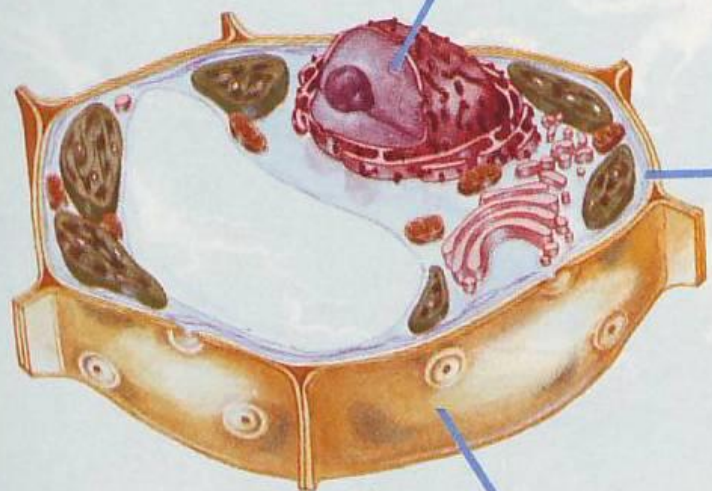
Fluorescenza di proteine

Sonde fluorescenti per proteine e per acidi nucleici

TABELLA 1.2 Dimensioni delle biomolecole

Biomolecola	Lunghezza (unità di misura della lunghezza, nm)	Massa	
		Dalton	Picogrammi
Acqua	0,3	18	
Alanina	0,5	89	
Glucosio	0,7	180	
Fosfolipide	3,5	750	
Ribonucleasi (una piccola proteina)	4	12.600	
Immunoglobulina G (IgG)	14	150.000	
Miosina (una grande proteina muscolare)	160	470.000	
Ribosoma (nel batterio)	18	2.520.000	
Batteriofago $\phi \times 174$ (un virus batterico molto piccolo)	25	4.700.000	
Complesso della piruvato deidrogenasi (un complesso multienzimatico)	60	7.000.000	
Virus del mosaico del tabacco (un virus delle piante)	300	40.000.000	$6,68 \times 10^{-5}$
Mitocondrio (nelle cellule epatiche)	1.500		1,5
Cellula di <i>Escherichia coli</i>	2.000		2
Cloroplasto (nelle cellule di foglia di spinacio)	8.000		60
Cellula epatica	20.000		8.000

**Livello 4:
la cellula
ed i suoi organelli**



**Livello 3:
i complessi
sopramolecolari**

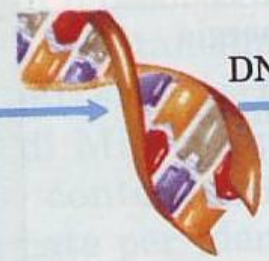


Cromosomi

Membrana plasmatica

Parete cellulare

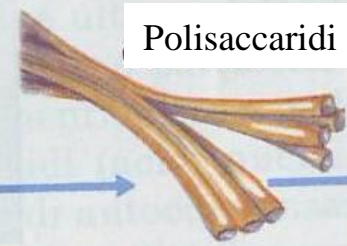
**Livello 2:
le macromolecole**



DNA

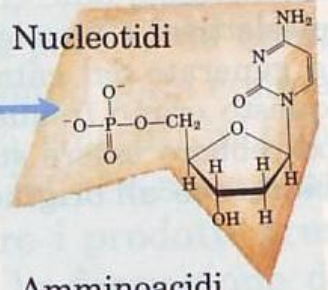


Proteina

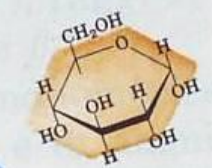


Polisaccaridi

**Livello 1:
le biomolecole**



Amminoacidi



Monosaccaridi

Prokaryotic vs Eukaryotic Cells

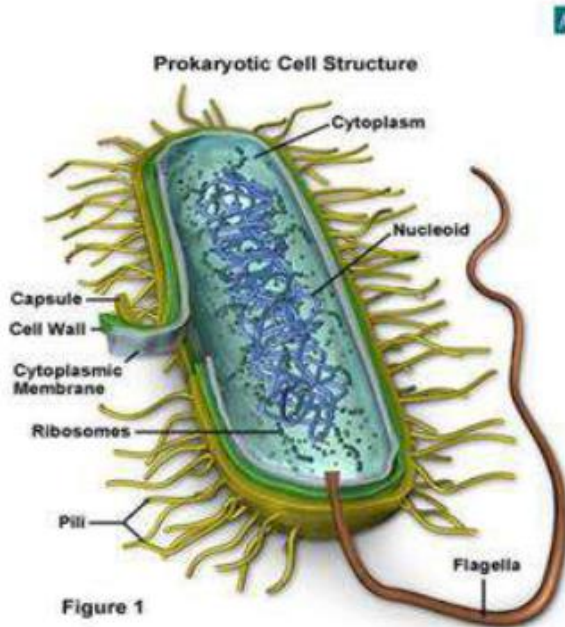
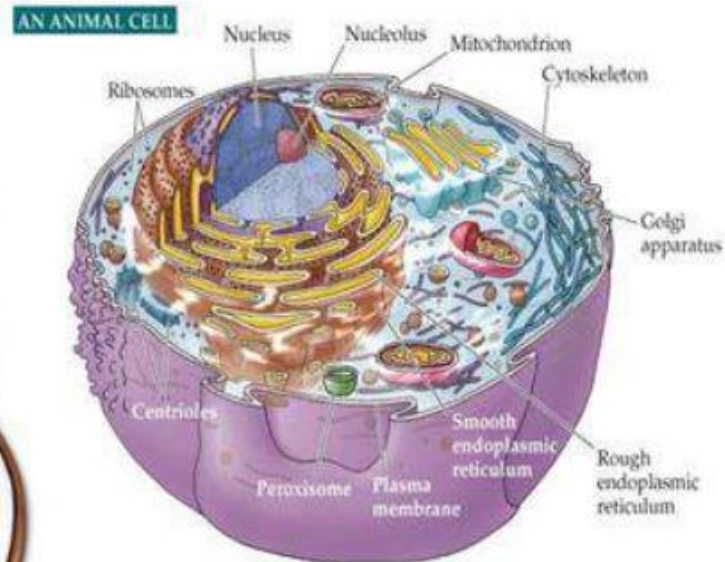
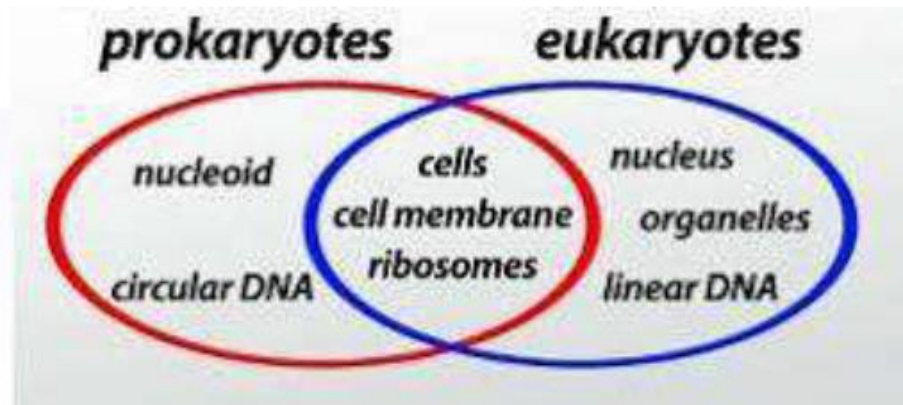
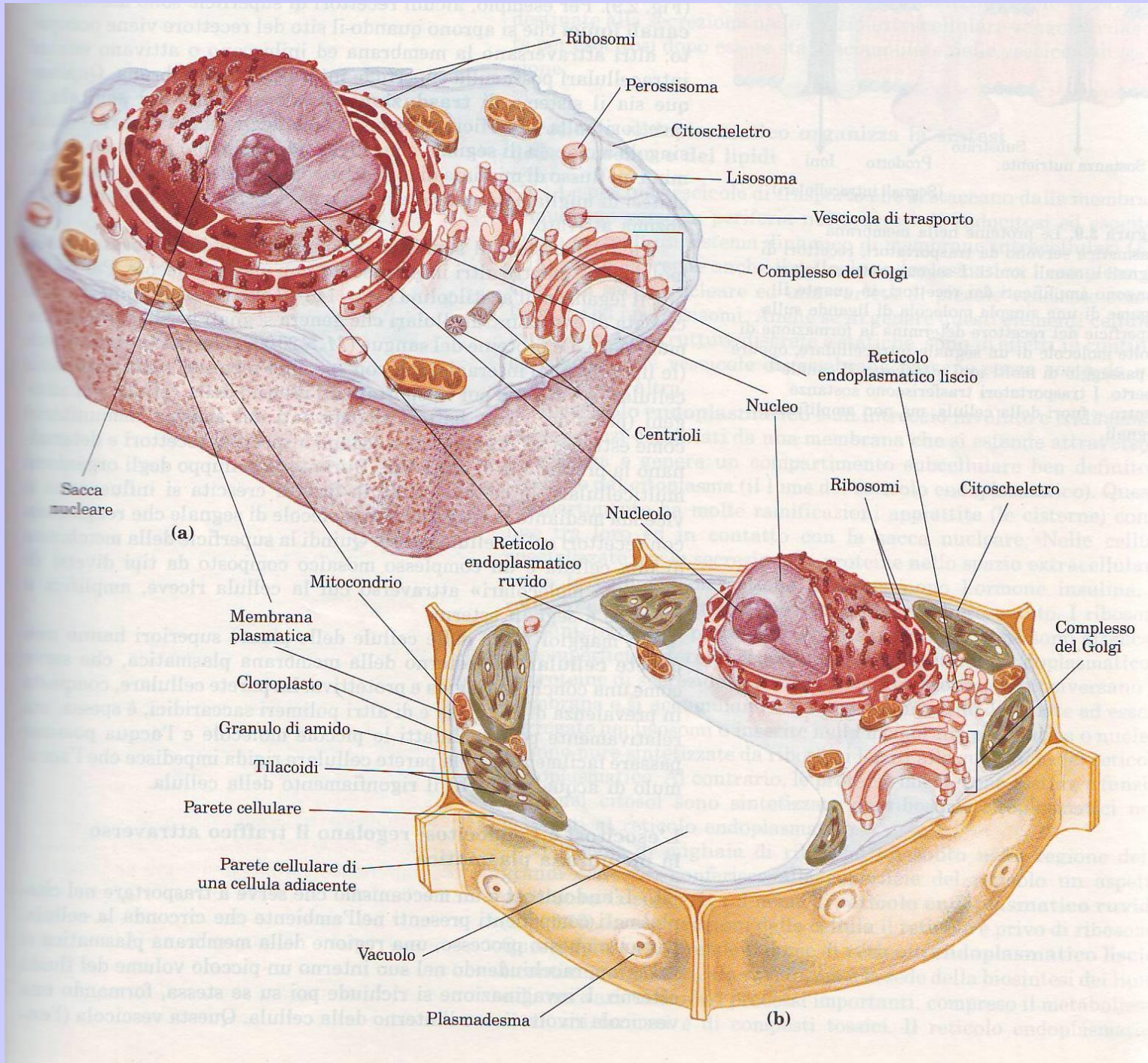


Figure 1



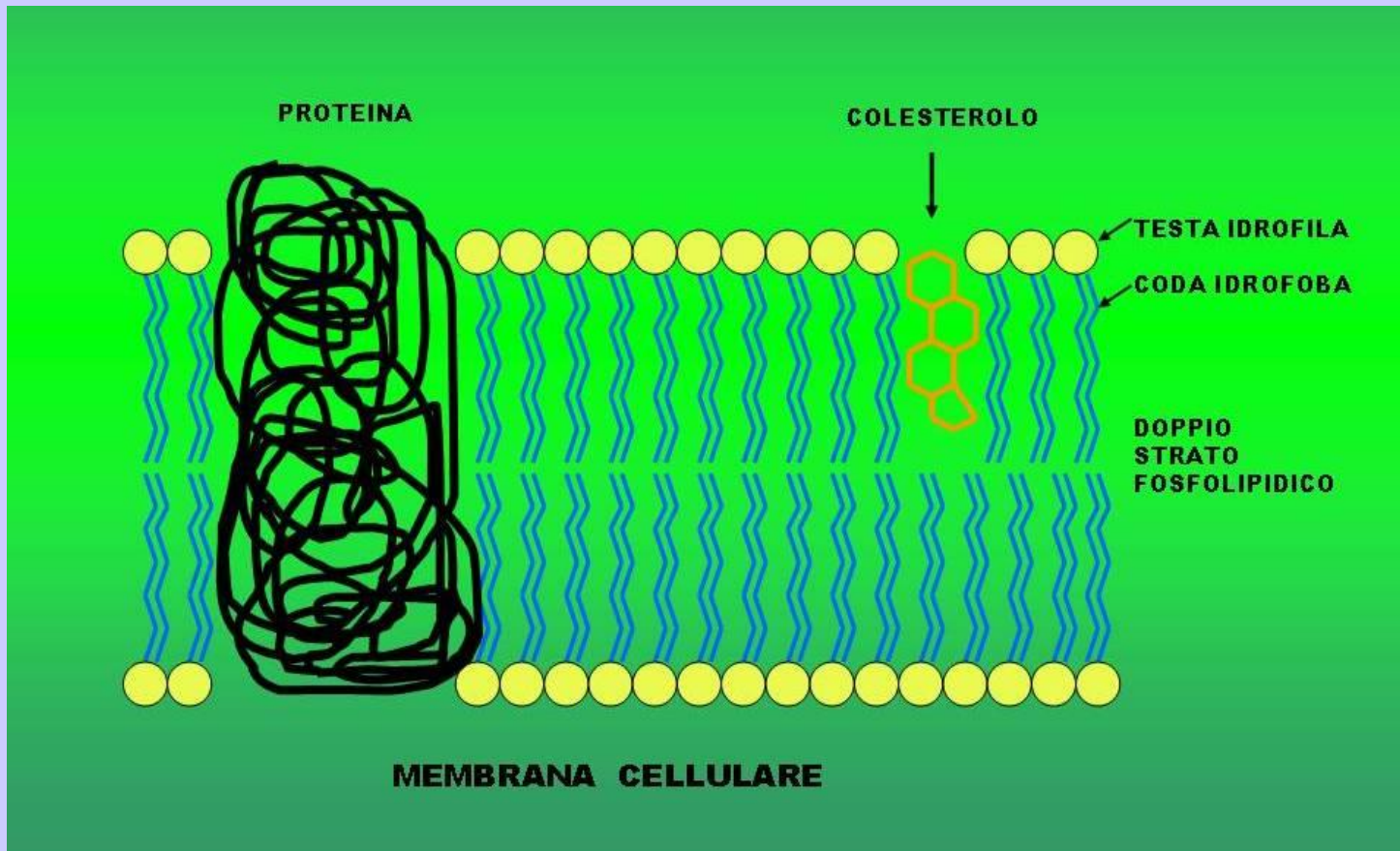
© 2001 Sinauer Associates, Inc.





Modello “mosaico fluido”

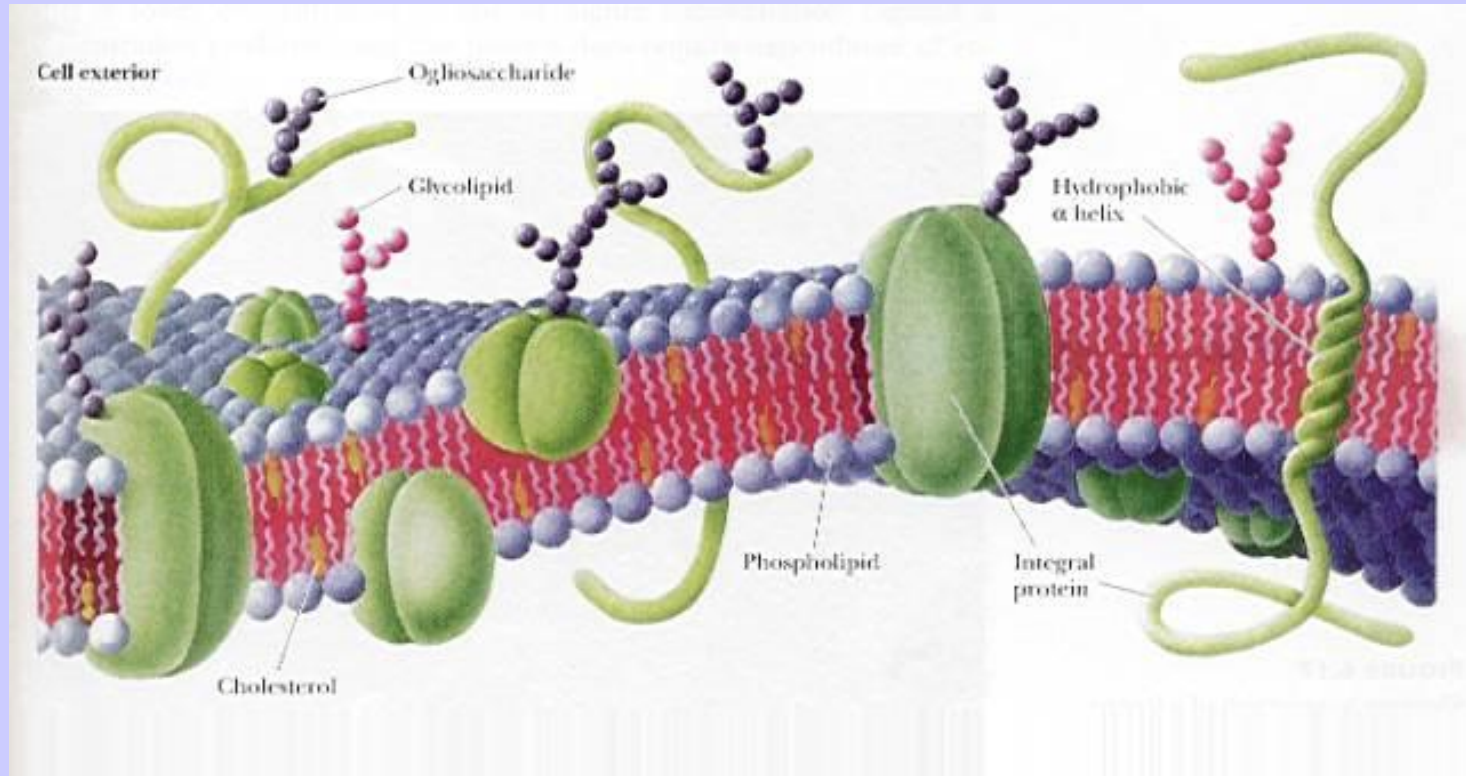
di Singer-Nicolson (1972)



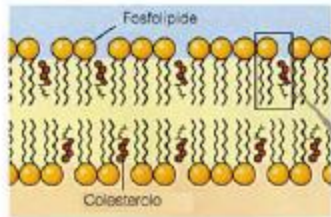
Essendo i lipidi di membrana assimilabili ad un fluido, le proteine di membrana che vi si trovano immerse presentano un notevole grado di mobilità.

Modello “mosaico fluido”

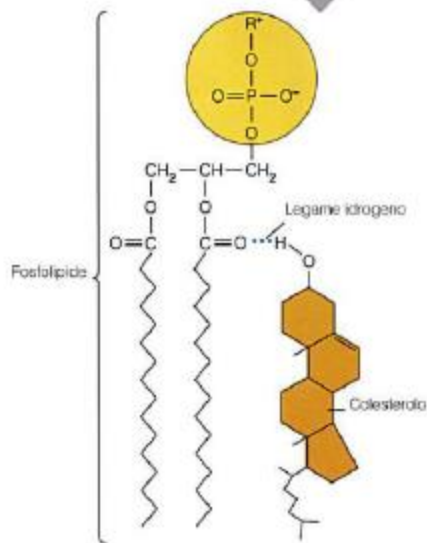
di Singer-Nicolson (1972)



- **Proteine**: le proteine di membrana, che possono essere **intrinseche** ed **estrinseche**, diminuiscono la fluidità delle membrane biologiche
- **Colesterolo**: influisce sulla fluidità delle membrane biologiche
- **Acidi grassi**: gli acidi grassi contenuti nei fosfolipidi influenzano la fluidità delle membrane sia in base alla lunghezza delle catene alchiliche sia in base alla presenza di insaturazioni. Maggiore sarà la lunghezza delle catene alchiliche, minore sarà la fluidità.
Maggiore sarà la percentuale di acidi grassi insaturi, maggiore sarà la fluidità della membrana plasmatica.



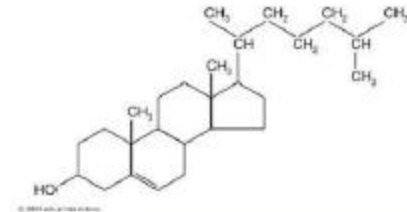
(a) Colesterolo nella membrana plasmatica



(b) Legame del colesterolo ad un fosfolipide

Figura 7-15

Il colesterolo



Impedisce alle catene di $-CH_2$ di interagire troppo e di cristallizzare, quindi inibisce transizioni di fase troppo brusche.

Effetti sulla fluidità:

1- a T relativamente alta ($37^\circ C$) stabilizza le membrane riducendo il movimento dei fosfolipidi

2- a T relativamente bassa **impedisce l'impacchettamento stretto dei fosfolipidi**

Fluidità di membrana

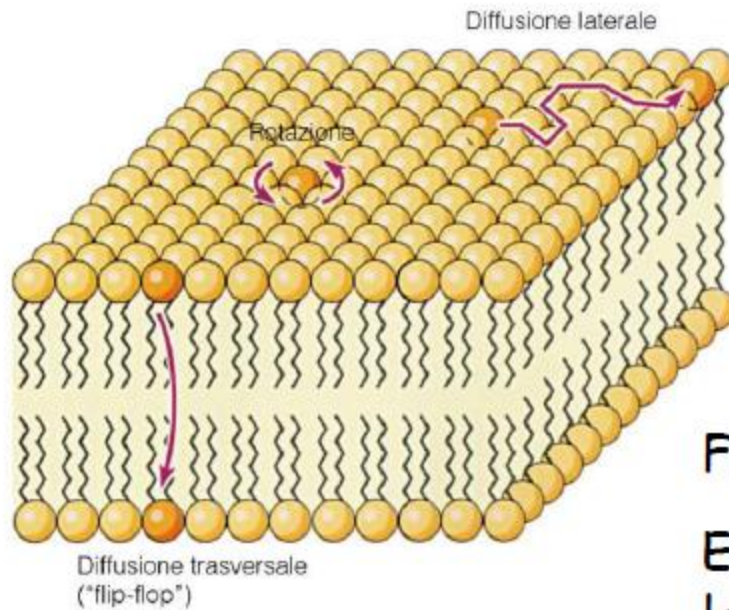
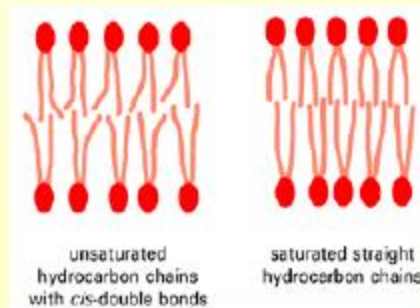
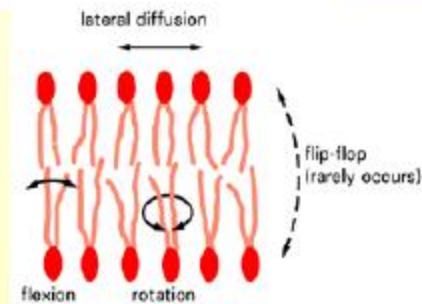


Figura 7-10

Flip-flop: un evento raro

E' invece sostenuta la rotazione e la diffusione laterale.



I lipidi di membrana sono un solvente bidimensionale per le proteine di membrana e regolano con la loro composizione la funzione delle proteine di membrana.

LE PROTEINE DI MEMBRANA

Svolgono la maggior parte delle funzioni specifiche della membrana plasmatica

Possono essere glicosilate sulla faccia esterna (glicocalice o rivestimento cellulare)

Circa il 30% delle proteine codificate sono proteine di membrana

Le membrane sono **MOSAICI** strutturali e funzionali

Le proteine di membrana sono di diversi tipi e
quindi hanno funzioni diverse

Recettori

Enzimi

Trasportatori

Come le **tessere di un mosaico** danno figure diverse nel loro complesso

Il modello strutturale della membrana è **uno**, ma
le membrane **sono tutte diverse per composizione** e assortimento delle
singole “tessere”

Funzioni delle membrane cellulari

1) Supporto strutturale

Preservare *l'individualità* della cellula

Delimitazione: cellula-ambiente; organulo citoplasma

Mantenimento della forma, plasticità: rapporti con il citoscheletro

2) Scambio di molecole

Mantenere una permeabilità altamente *selettiva*

Trasporto regolato in modo attivo

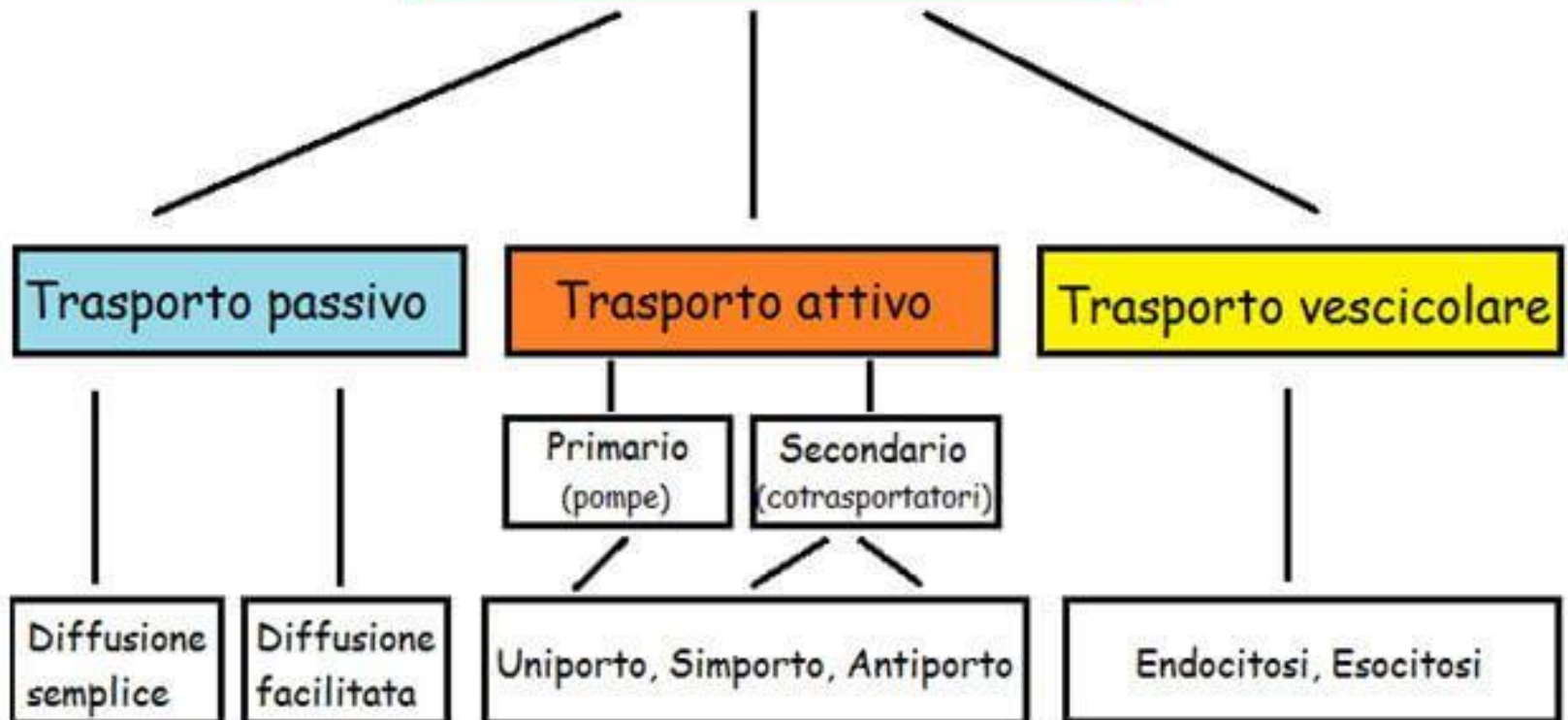
3) Scambio di informazione

Controllare il flusso di informazione

Rapporti cellula-cellula e cellula-matrice extracellulare

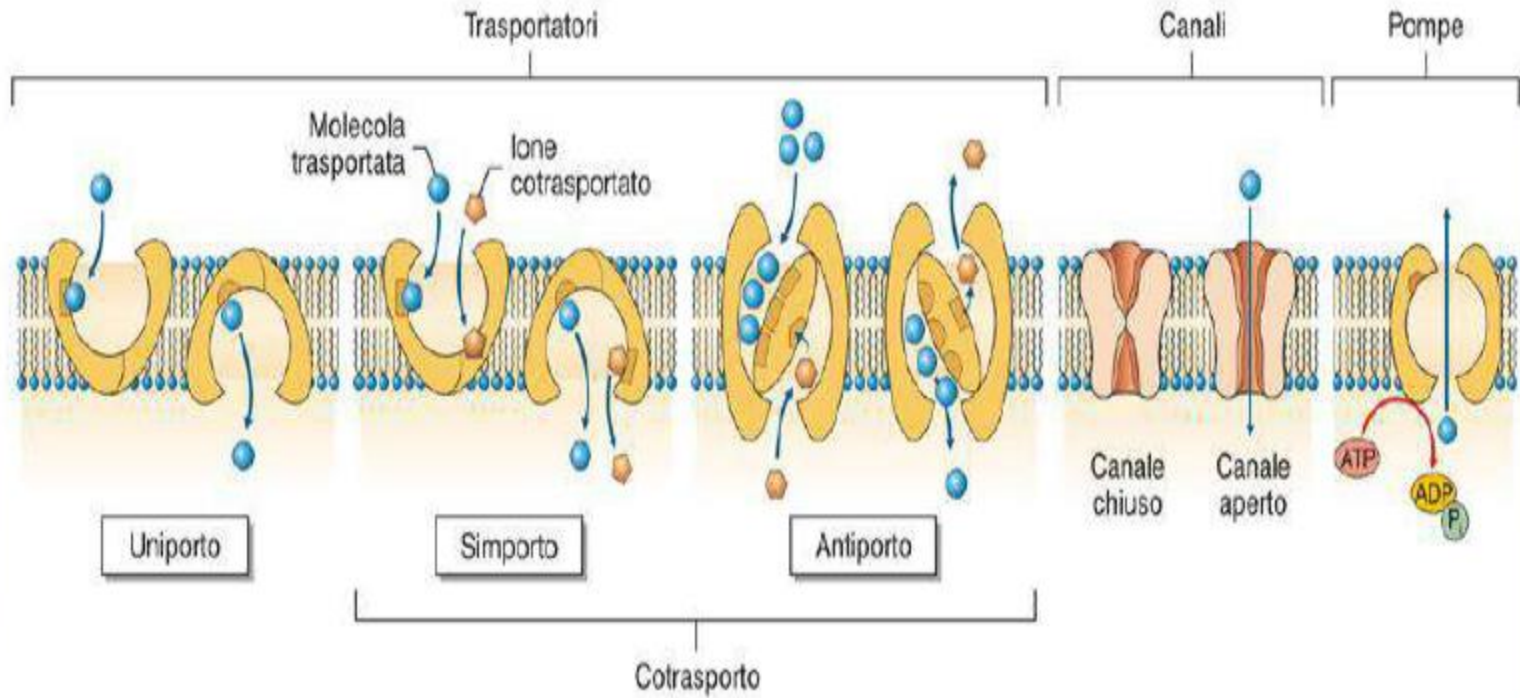
Riconoscimento e “trasduzione” di segnali chimici

TRASPORTO DI MEMBRANA



MECCANISMI DI TRASPORTO -Membrana

«ATTIVO»



La parete cellulare è una struttura cellulare che circonda la **membrana cellulare**.

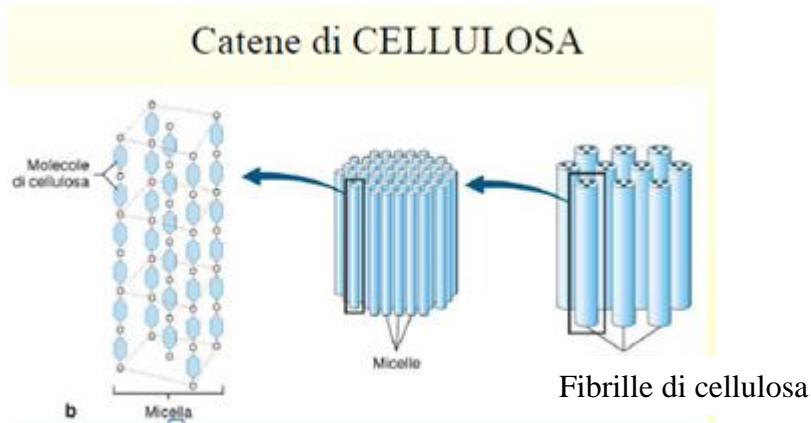
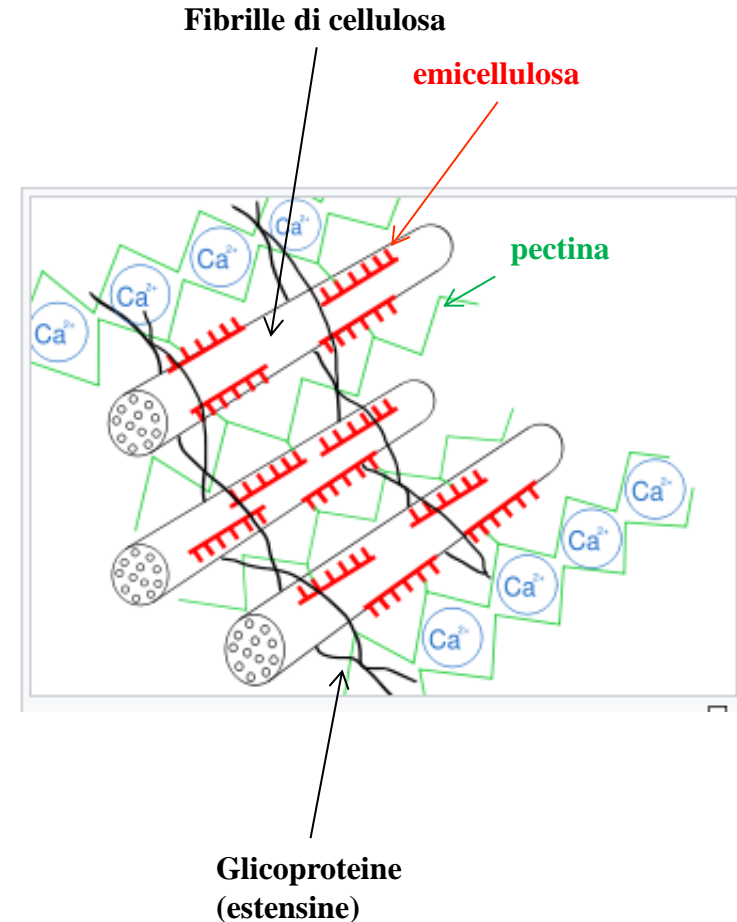
E' presente nelle piante, nei **funghi**, nella maggior parte dei **procarioni**, ed è assente nelle cellule degli animali.

La composizione della parete cellulare è differente nei diversi organismi.

Nelle piante la parete è composta principalmente da **cellulosa**, nei funghi da **chitina** e nei **batteri** da peptidoglicani.

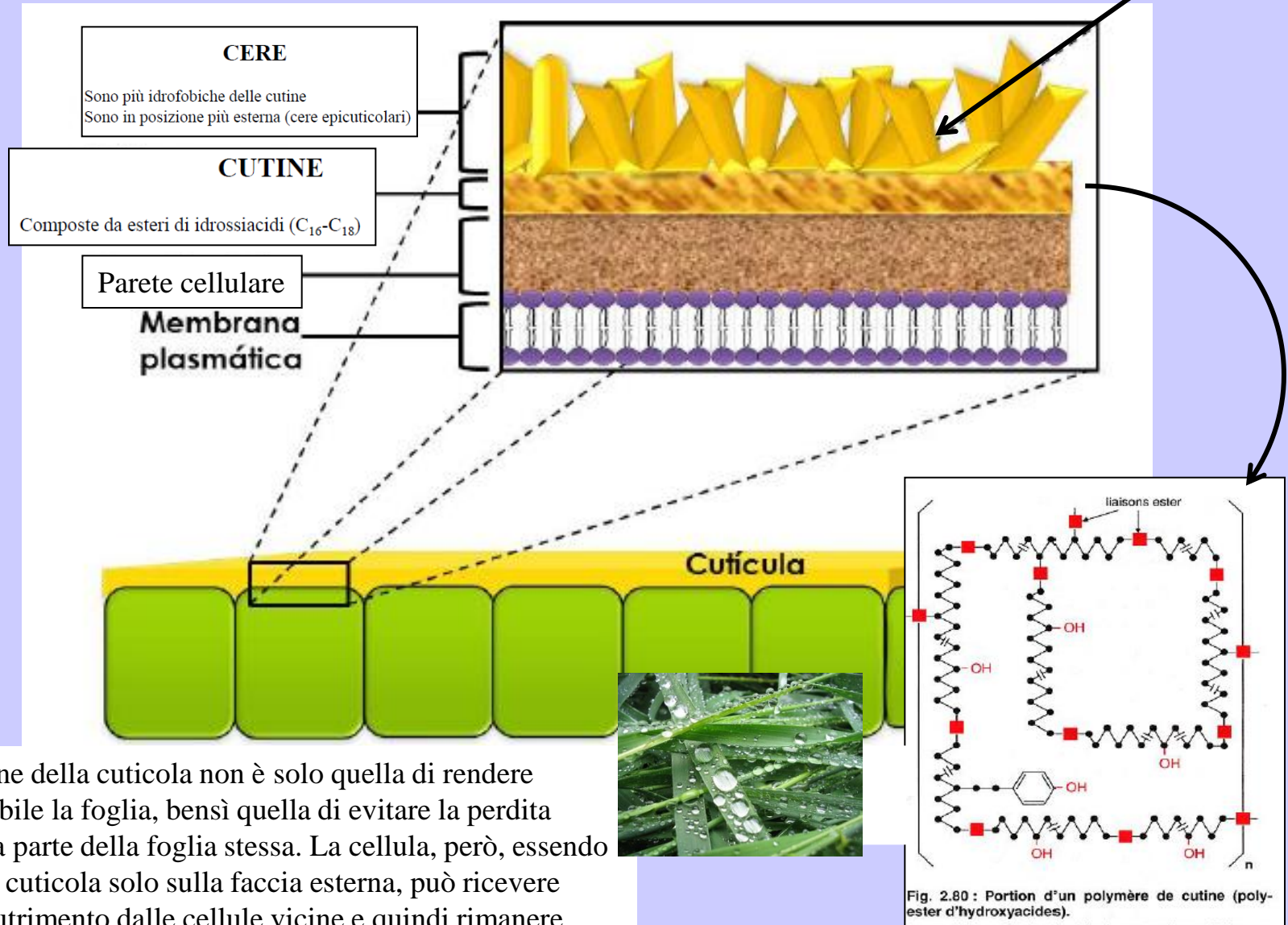
La parete cellulare può avere diverse funzioni, come proteggere la cellula dagli agenti esterni, impedire il disseccamento o l'assorbimento eccessivo di liquidi, mantenere la forma ed il turgore cellulare (si veda: **pressione di turgore**).

In alcuni batteri la parete cellulare è coinvolta nei meccanismi di patogenesi.



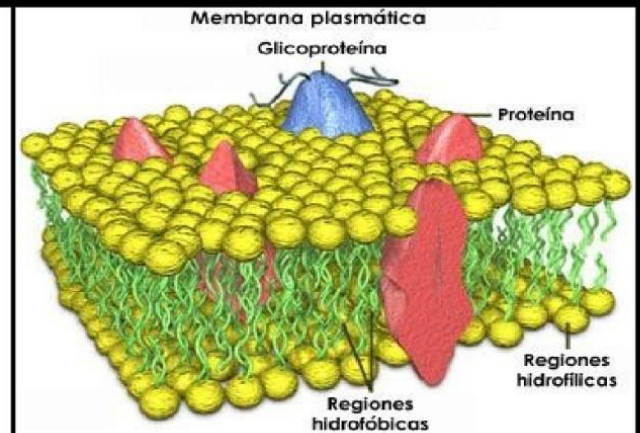
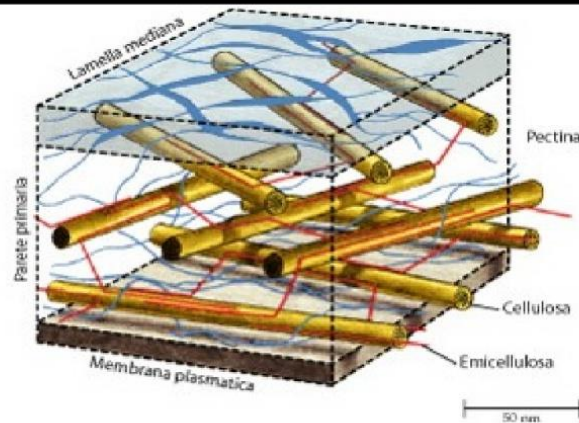
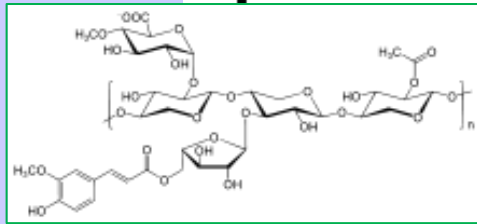
Parete cellulare vegetale

- Idrocarburi alifatici a lunga catena (alcani $C_{21}-C_{37}$)
- Ceridi: esteri tra alcoli alifatici e acidi grassi a lunga catena ($>C_{18}$)



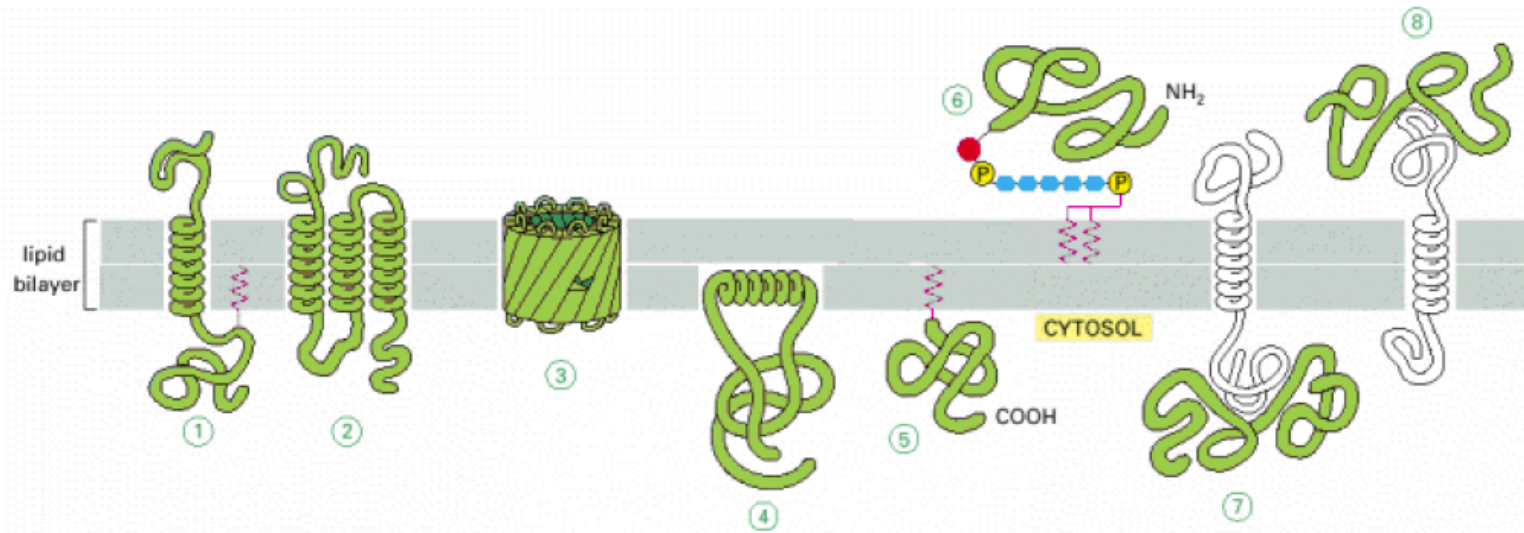
La funzione della cuticola non è solo quella di rendere impermeabile la foglia, bensì quella di evitare la perdita d'acqua da parte della foglia stessa. La cellula, però, essendo coperta di cuticola solo sulla faccia esterna, può ricevere acqua e nutrimento dalle cellule vicine e quindi rimanere vitale.

Differenze tra parete cellulare e membrana plasmatica



Struttura	Spessore di parecchi μm Lamella mediana + Parete I e II	Spessore di pochi μm Mosaico fluido
Componenti principali	Polisaccaridi: Cellulosa, Emicellulosa, Pectine, proteine in minor quantità	Doppio strato Fosfo-lipidico strutture proteiche e glico- proteiche
Resistenza e Selettività	Notevoli resistenza meccanica. Poco efficace come barriera chimica, si lascia attraversare passivamente da un gran numero di sostanze chimiche senza discriminare tra l'una e l'altra	Poca resistenza meccanica. Formidabile barriera chimica, altamente selettiva

I vari modi in cui le proteine si associano con il doppio strato



Attraversando la membrana con

1. una singola elica α , (possono essere covalentemente legate ad un acido grasso inserito nel monostrato)
2. eliche α multiple,
3. β sheet “arrotolato” (β barrel)

Interagendo con un solo strato con

4. un α elica anfifilica,
5. un acido grasso,
6. via un oligosaccaride
7. e 8. Molte sono ancorate alle membrane via legami non covalenti con un'altra proteina

BIOPOLIMERI

- Materiale Genetico: *DNA, RNA*
- Materiale scheletrico: *cellulosa, chitina, collagene, elastina, cheratina, proteine di membrana*
- Trasporto e Muscoli: *emoglobina, miosina, actina*
- Catalisi: *tutti gli enzimi*
- Stoccaggio: *amido, amilosio, glicogeno*

Classe	Esempio specifico	Dim. tipiche, Å (forma)	Peso mol. tipico (g/mol)
Oligomeri	Actinimicina D	20 (sfera)	$10^3 - 10^4$
Piccole proteine	Chimotripsina	40 (sfera)	$10^4 - 10^5$
Acidi nucleici	t - RNA	100 (bacchetta)	$10^4 - 10^5$
Grandi proteine	Aspartato transcarbam.	70 (sfera)	$10^5 - 10^7$
Piccoli aggregati	Ribosoma	200 (sfera)	$10^5 - 10^7$
Grandi aggregati	Membrane, virus	1000 (sfera)	$10^7 - 10^{12}$
DNA intatto	DNA di <i>E. coli</i>	10^7 (0.1 cm) (sfera)	$10^7 - 10^{12}$

PROBLEMATICHE GENERALI RELATIVE ALLO STUDIO DEI BIOPOLIMERI

STRUTTURA DELLA MOLECOLA:

- E' pura? E' nativa? E' completa?
- Qual è la struttura?
- Si può predire la struttura?
- E' rigida o flessibile?
- Come si forma la struttura?

FUNZIONE DELLA MOLECOLA:

- Si può predire o razionalizzare?
- Quali sono le relazioni Struttura \leftrightarrow Funzione?

MODIFICAZIONI CHIMICHE

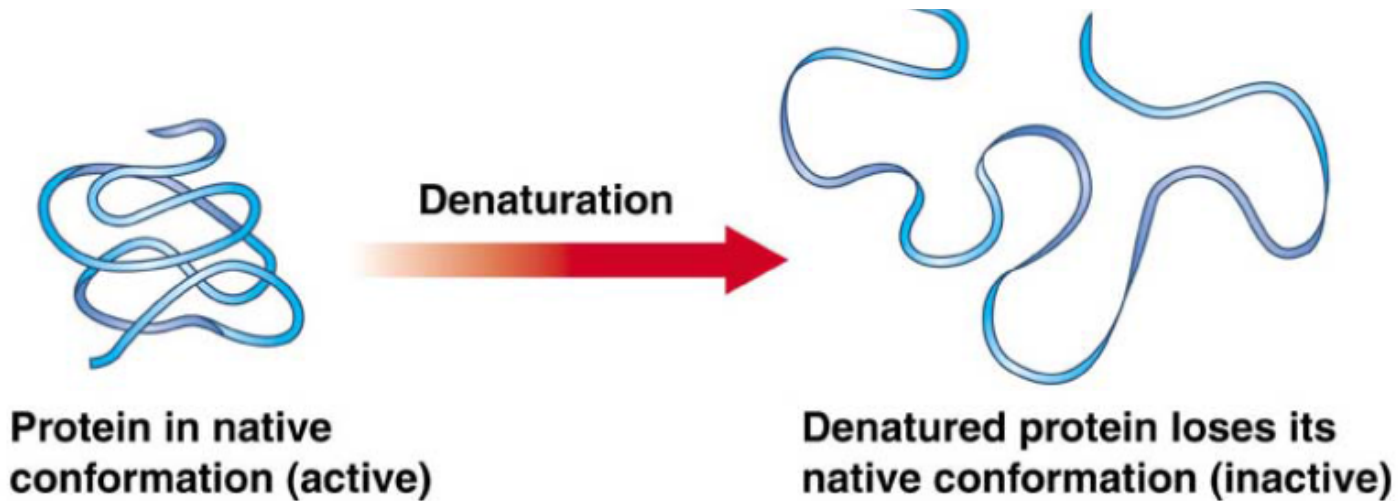
- Degradazione/depolymerizzazione parziale della struttura
- Perdita/formazione di gruppi funzionali
- Formazione o distruzione di ponti intra/inter-catena

MODIFICAZIONI CONFORMAZIONALI

(interazione con solventi, pH, T, ioni, piccole molecole...)

- Denaturazione
- Transizione conformazionale
- Associazione/agggregazione di catene

Denaturazione



Any chemical reaction (e.g. acid-base, oxidation-reduction), that disrupts the interactions of secondary and tertiary structures (not the primary structure), results in **denaturation** of the protein. Heat (e.g. frying an egg), changes in solvent, and heavy metals can also cause denaturation.

Transizioni conformazionali

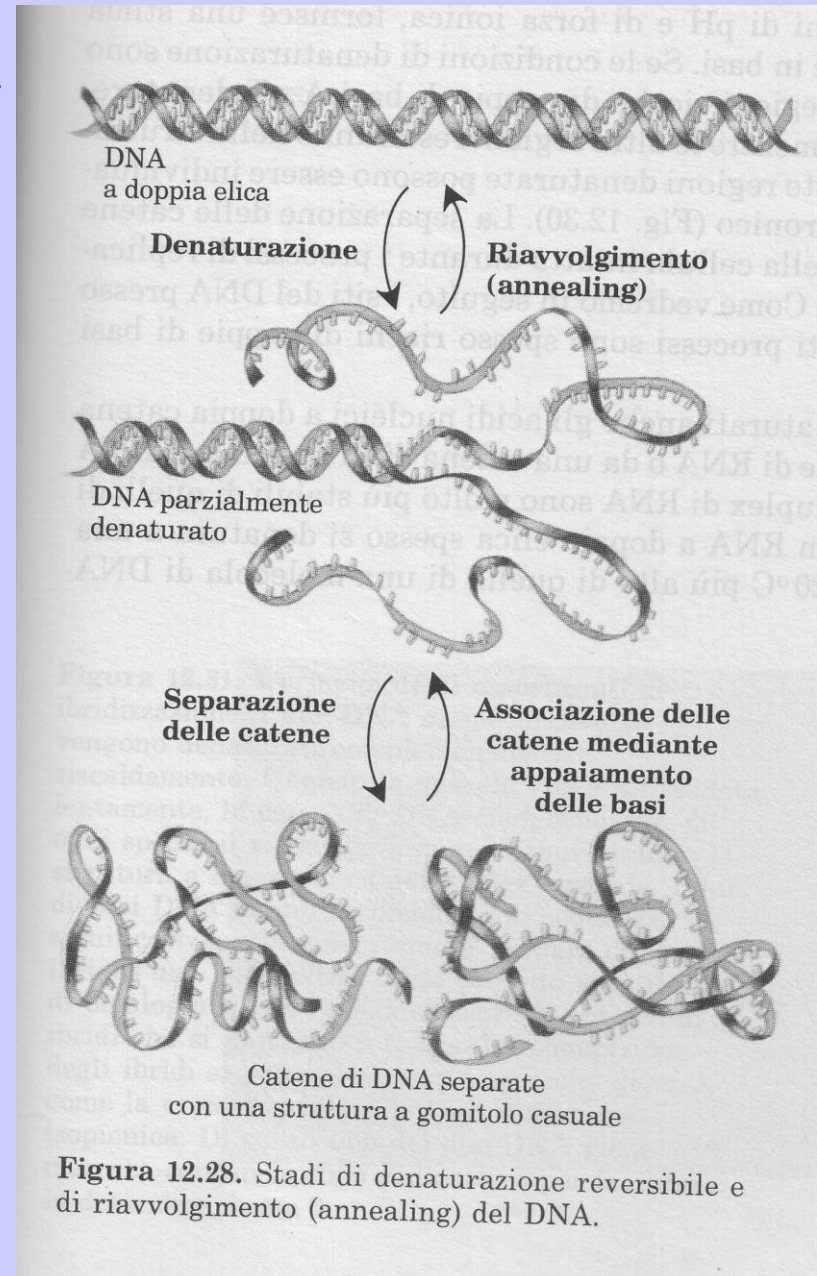
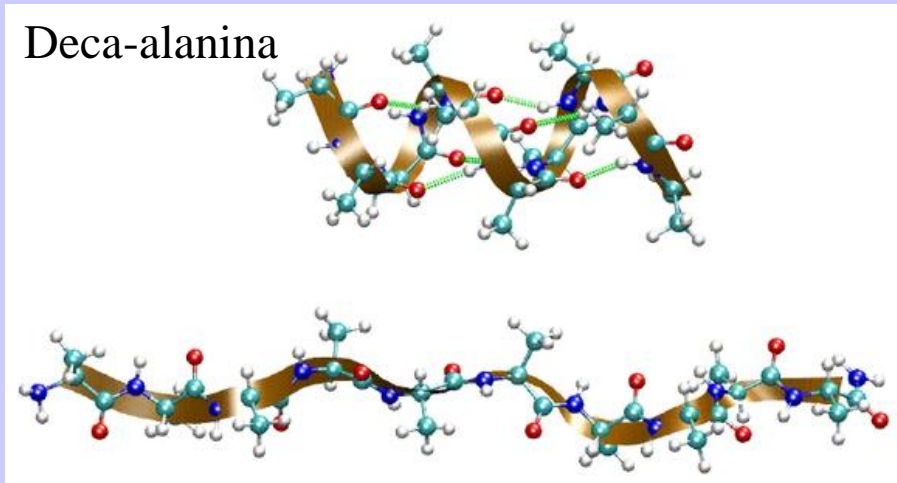
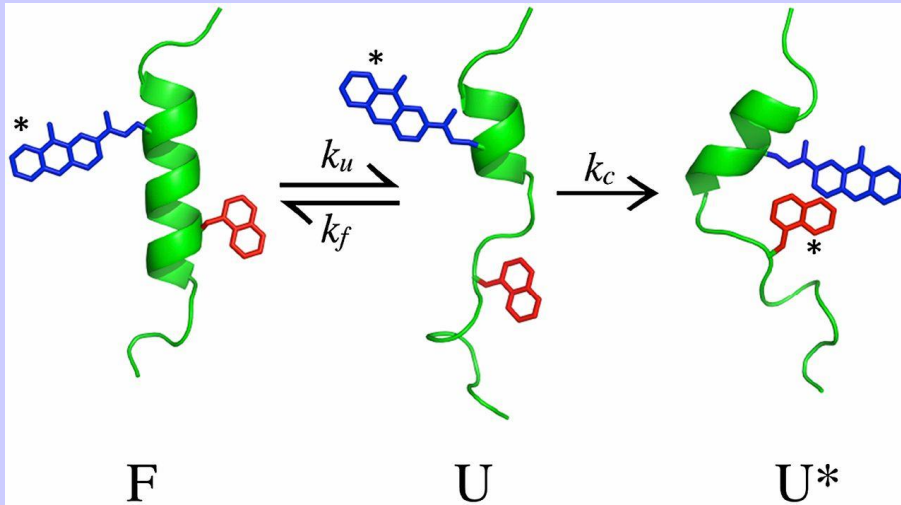
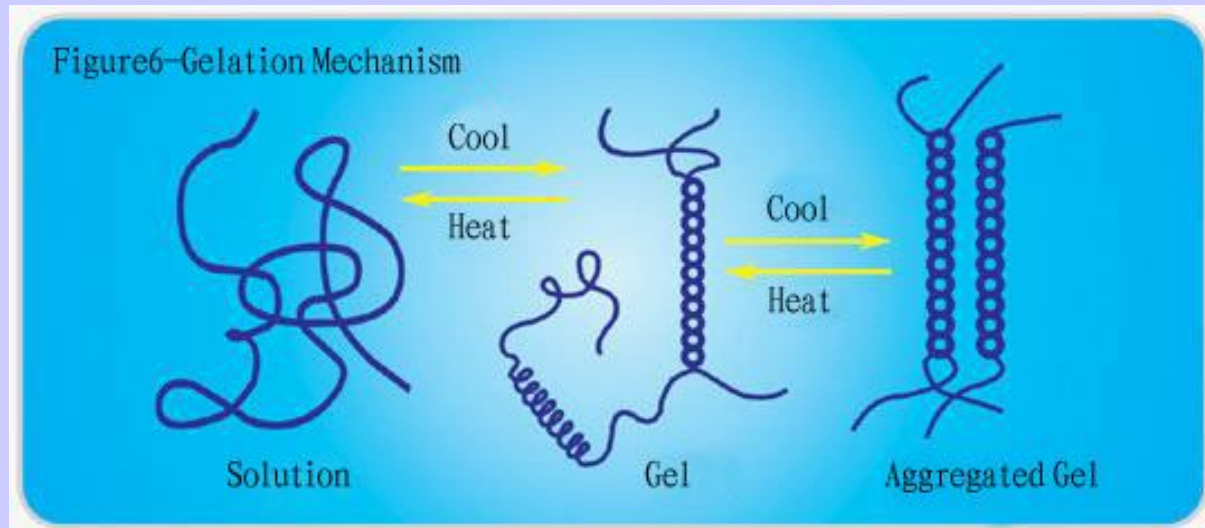
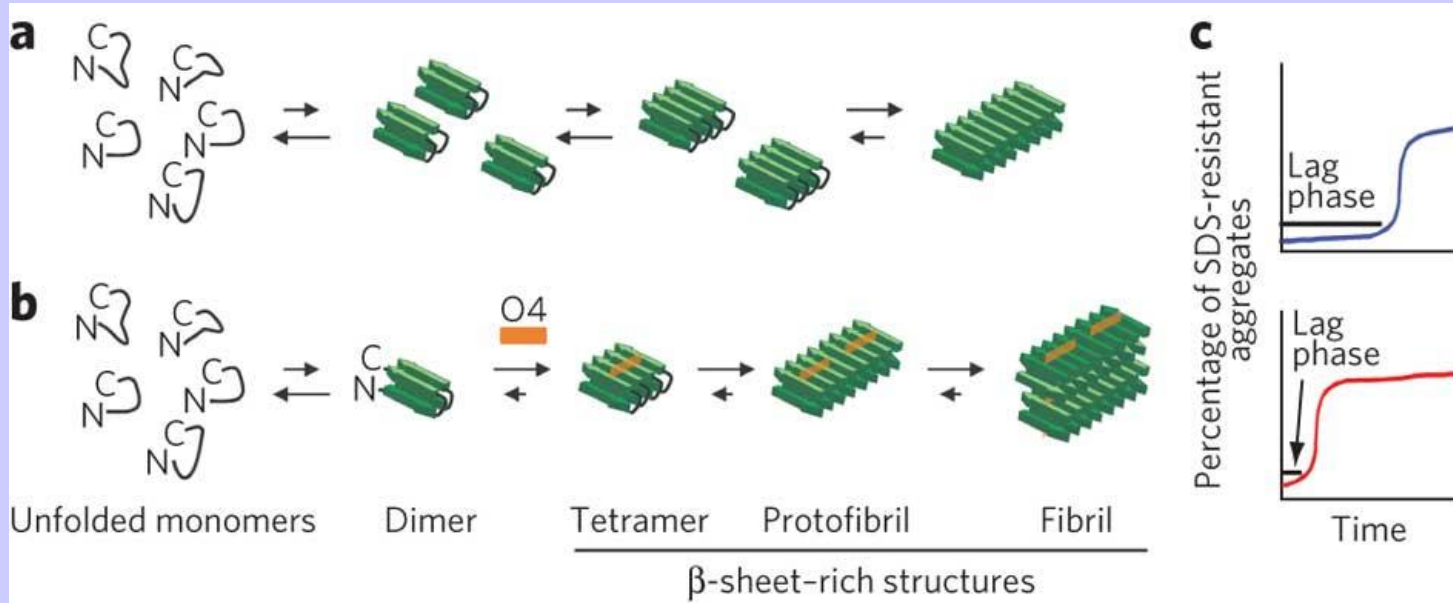


Figura 12.28. Stadi di denaturazione reversibile e di riavvolgimento (annealing) del DNA.

Associazione/aggregazione di catene



PROBLEMATICHE GENERALI

STRUTTURA DELLA MOLECOLA:

- E' pura? E' nativa? E' completa?
- **Qual è la struttura?**
- Si può predire la struttura?
- E' rigida o flessibile?
- Come si forma la struttura?

FUNZIONE DELLA MOLECOLA:

- Si può predire o razionalizzare?
- Quali sono le relazioni Struttura \leftrightarrow Funzione?

PROBLEMATICHE GENERALI

STRUTTURA DELLA MOLECOLA:

- E' pura? E' nativa? E' completa?
- Qual è la struttura?
- **Si può predire la struttura?**
- E' rigida o flessibile?
- Come si forma la struttura?

FUNZIONE DELLA MOLECOLA:

- Si può predire o razionalizzare?
- Quali sono le relazioni Struttura \leftrightarrow Funzione?

PROBLEMATICHE GENERALI

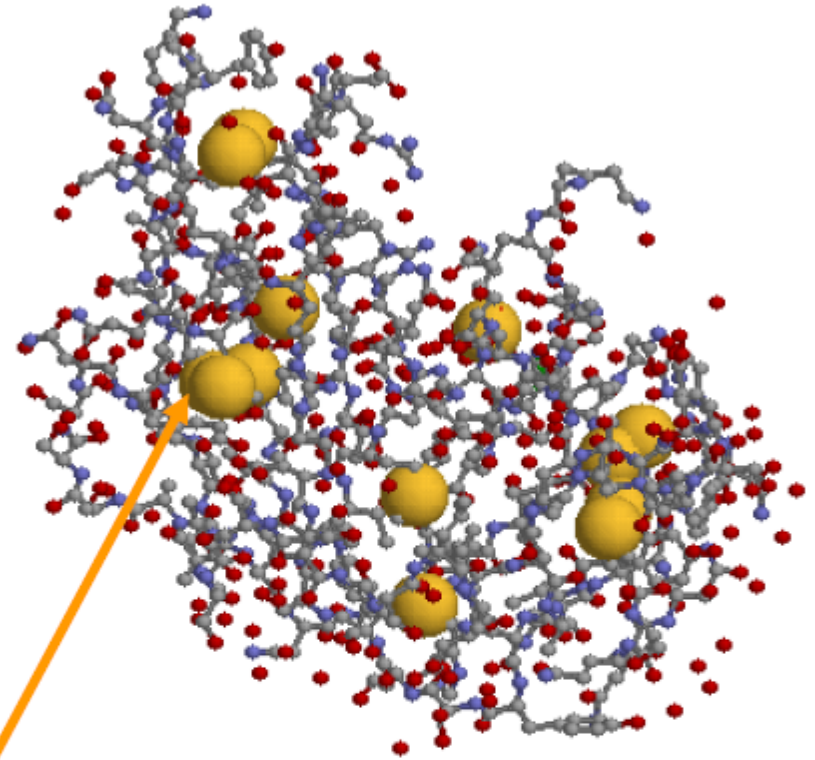
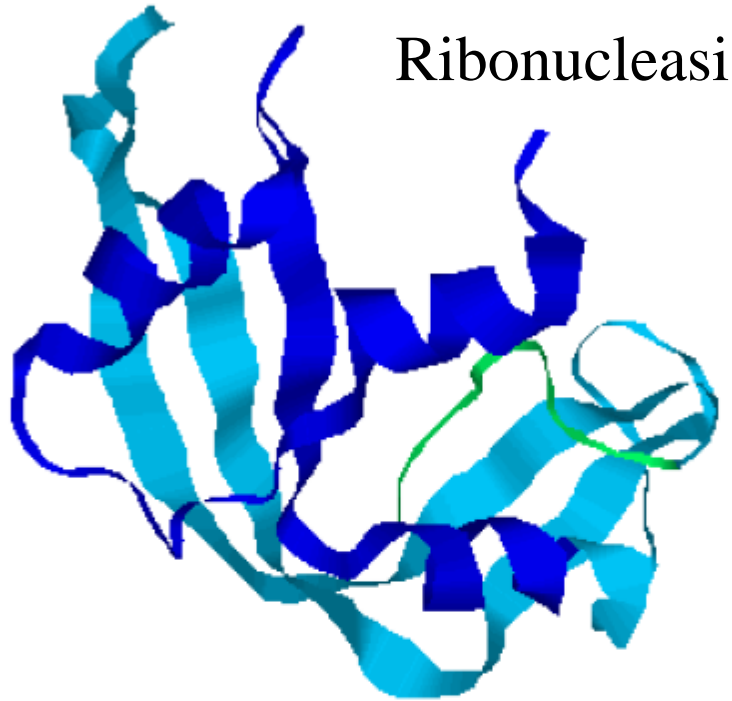
STRUTTURA DELLA MOLECOLA:

- E' pura? E' nativa? E' completa?
- Qual è la struttura?
- Si può predire la struttura?
- **E' rigida o flessibile?**
- Come si forma la struttura?

FUNZIONE DELLA MOLECOLA:

- Si può predire o razionalizzare?
- Quali sono le relazioni Struttura \leftrightarrow Funzione?

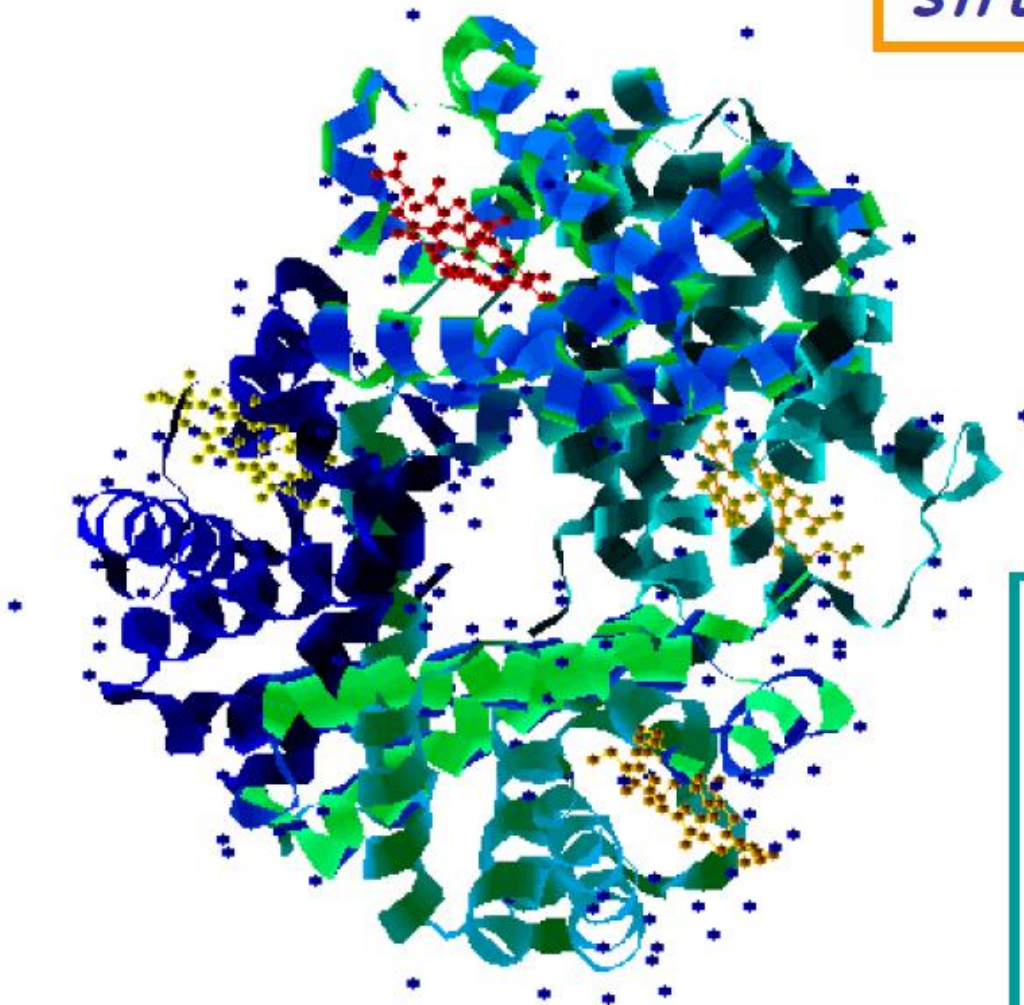
Forme compatte (*globulari*)
raggomitolate (*random-coil*)
Unità (anche ordinate) statisticamente indipendenti



ponti disolfuro (Cys-Cys)

PDB

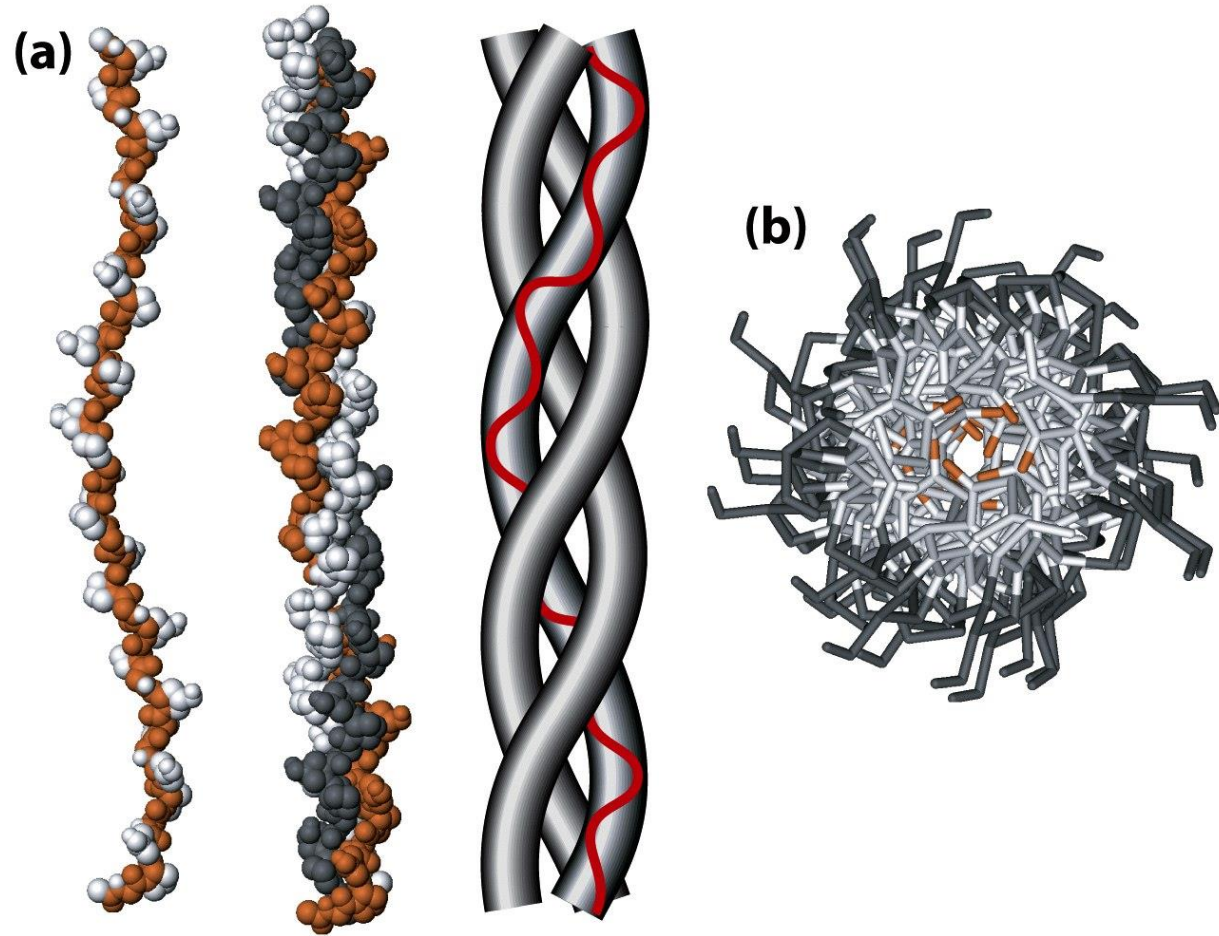
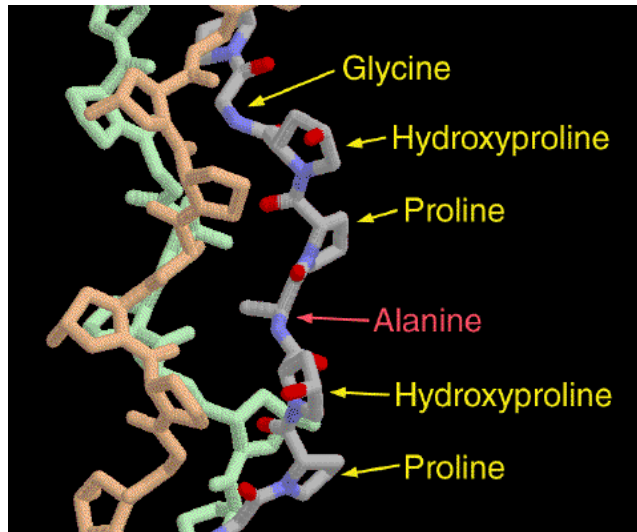
EMOGLOBINA: *struttura quaternaria*



Mioglobina

Strutture estese e/o rigide (*rigid rod*):

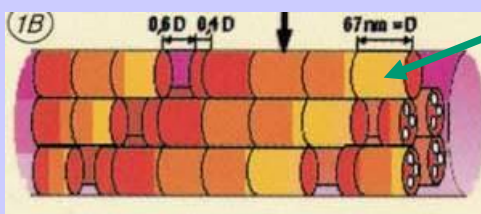
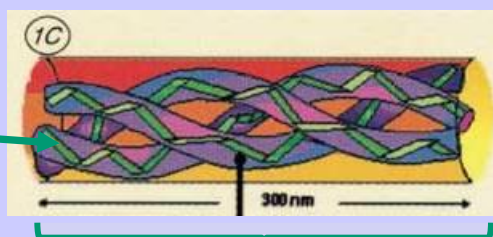
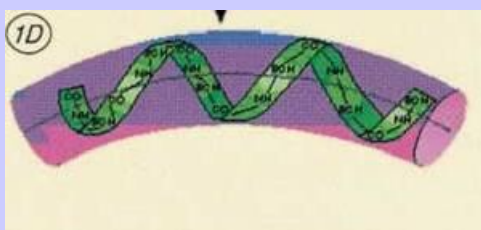
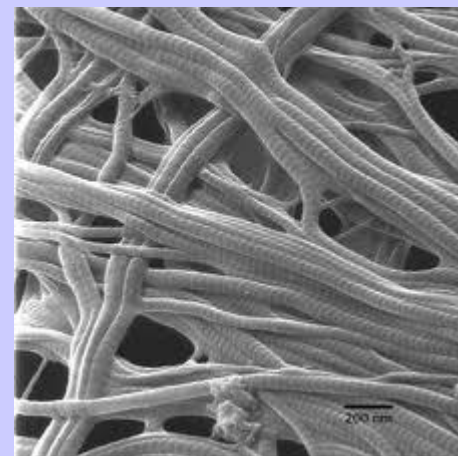
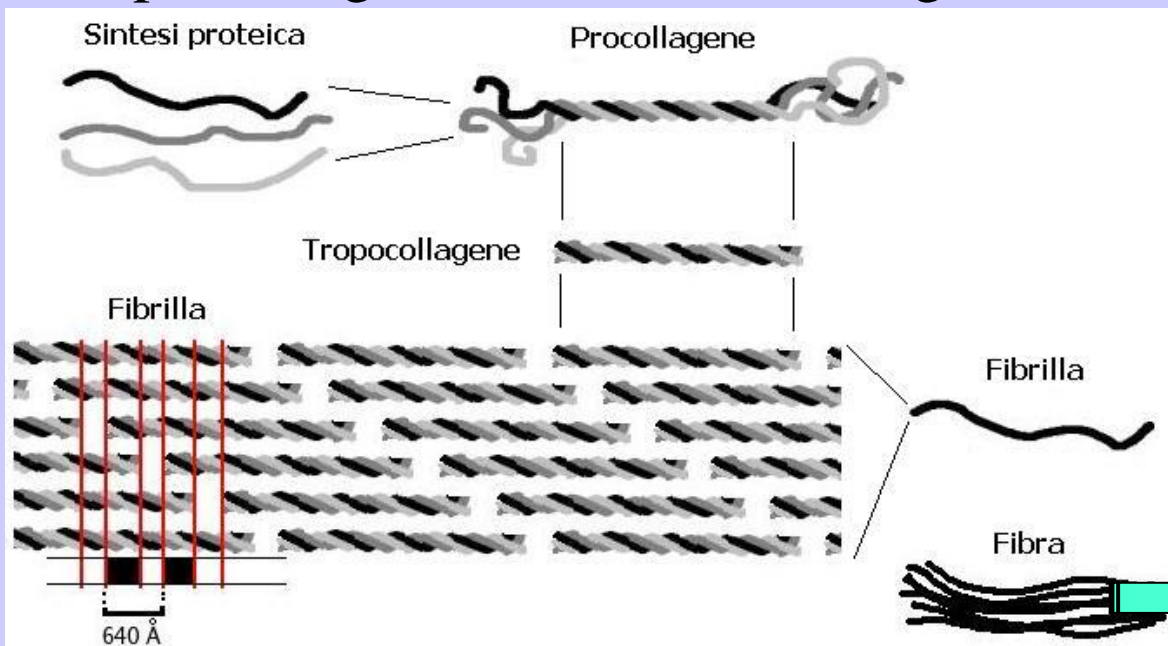
Esempio del collagene

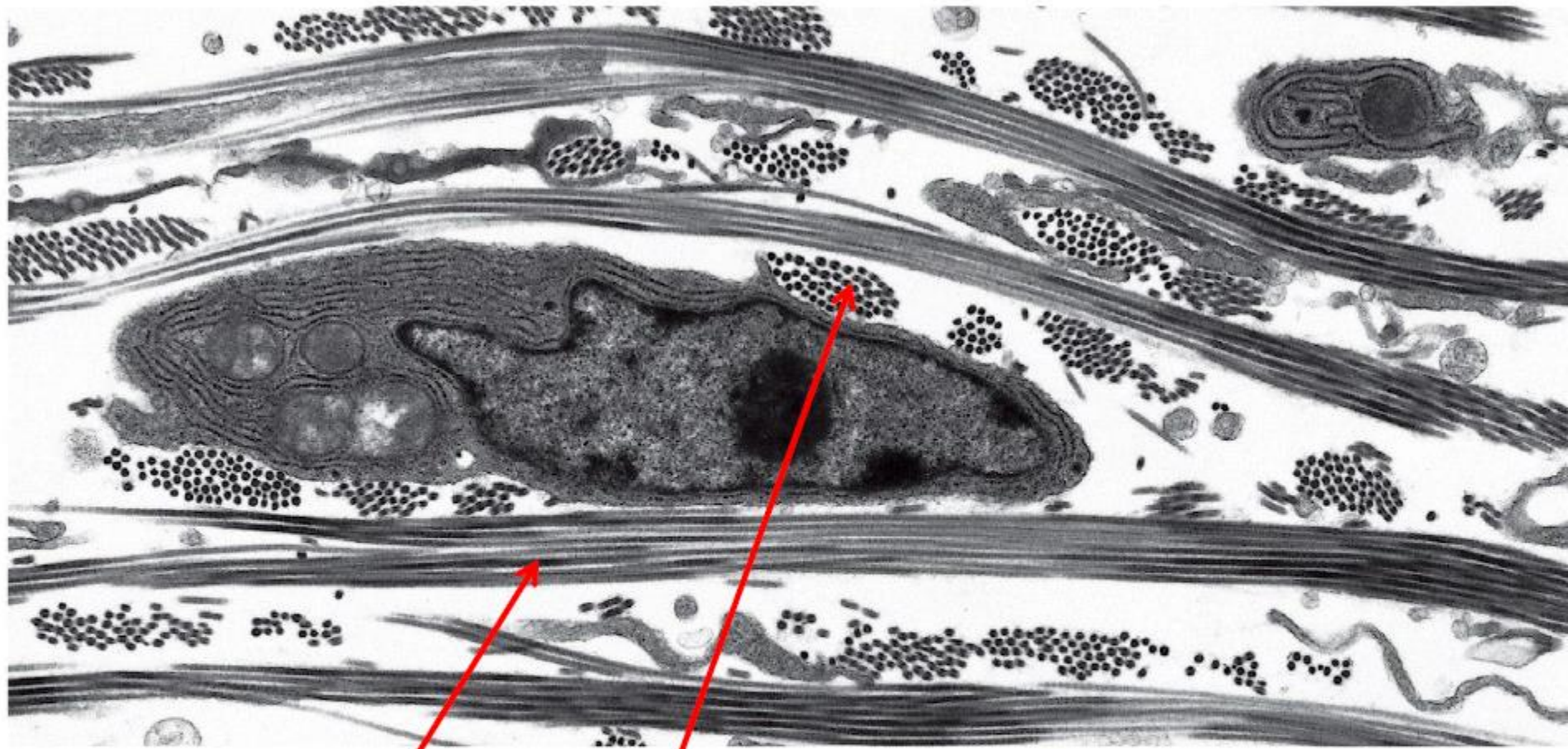


procollagene

Figure 19-22
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Dal procollagene alla fibra di collagene

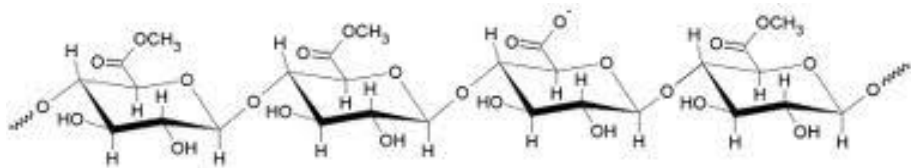




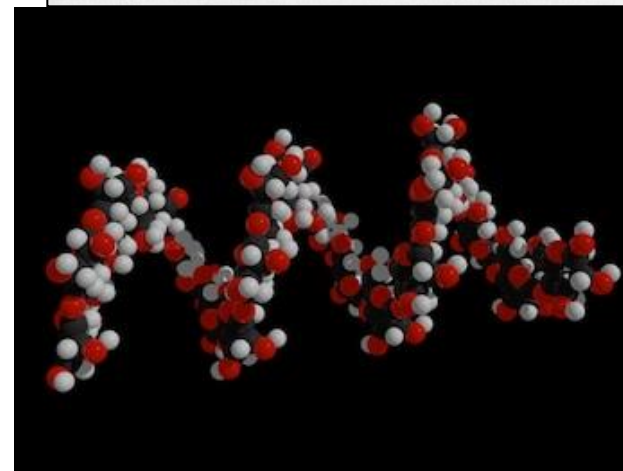
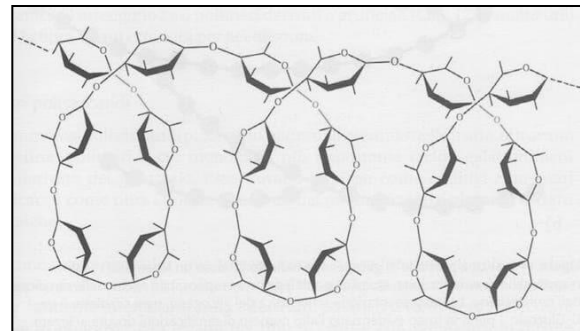
Fibrille di collagene disposte a 90° una rispetto all'altra

esempio di struttura estesa e/o rigida, ordinata o coil di polisaccaridi

cellulosa

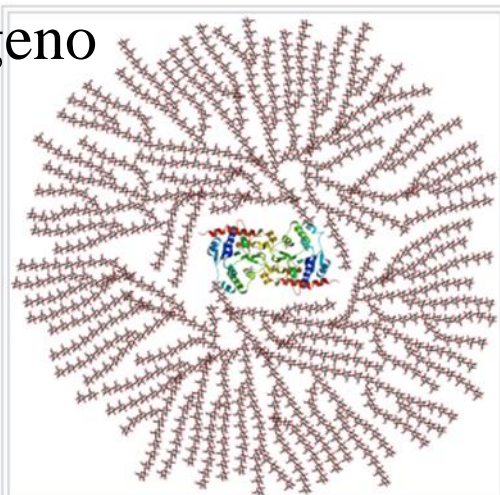
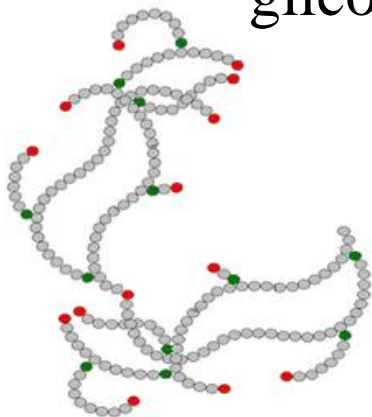


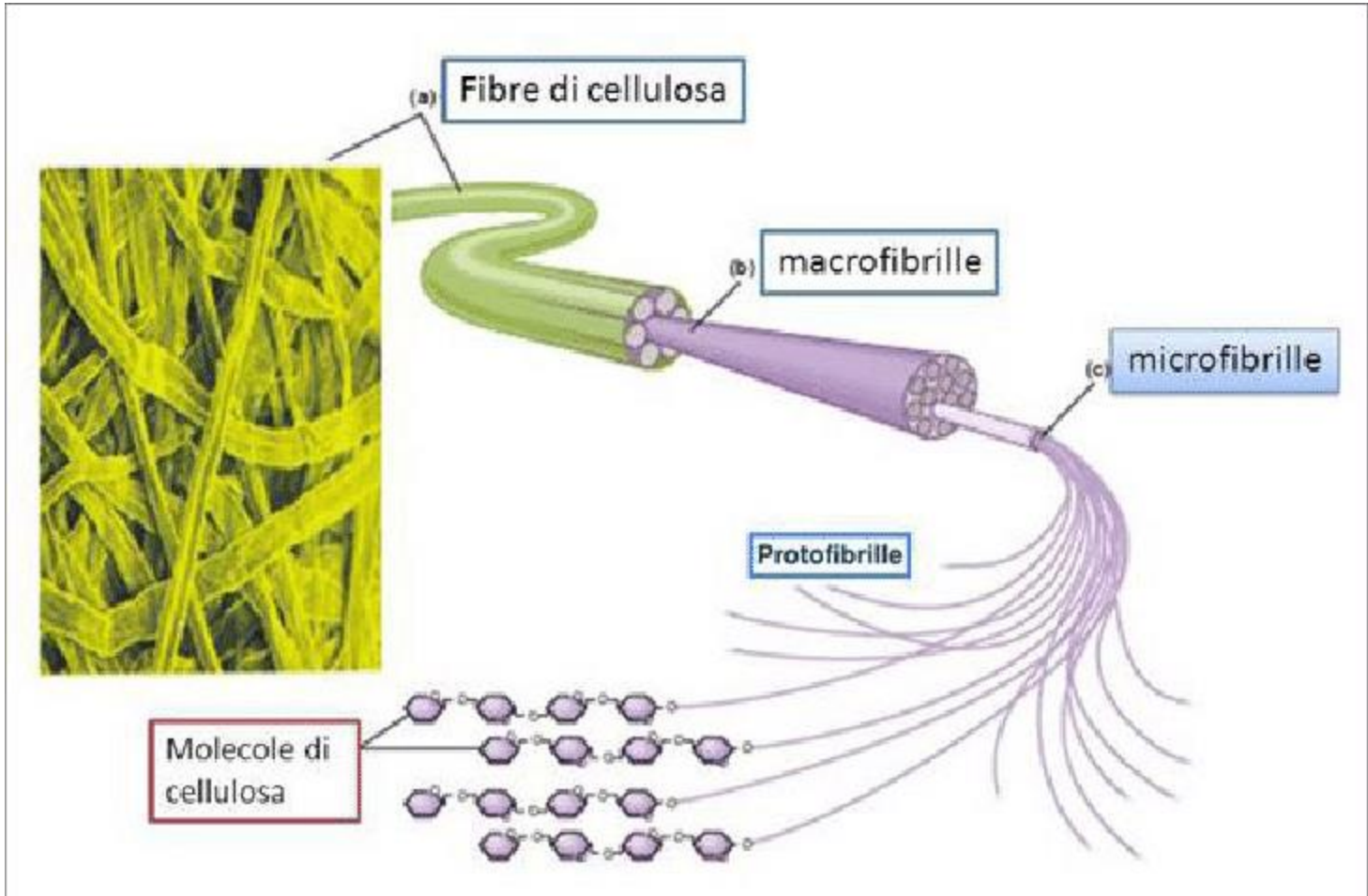
amilosio



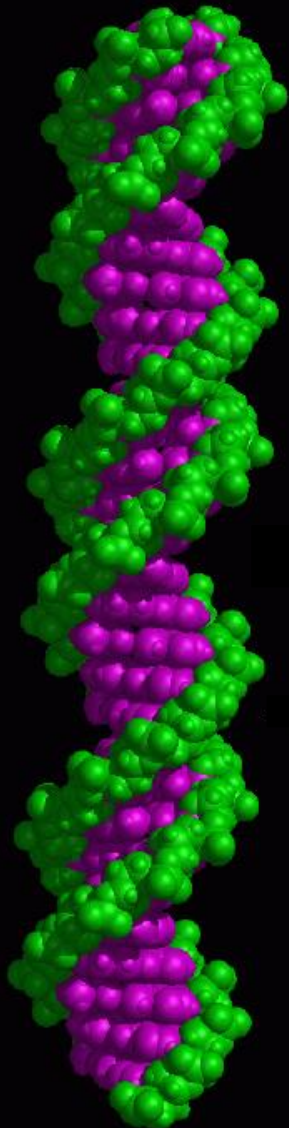
shutterstock.com • 1006068784

glicogeno

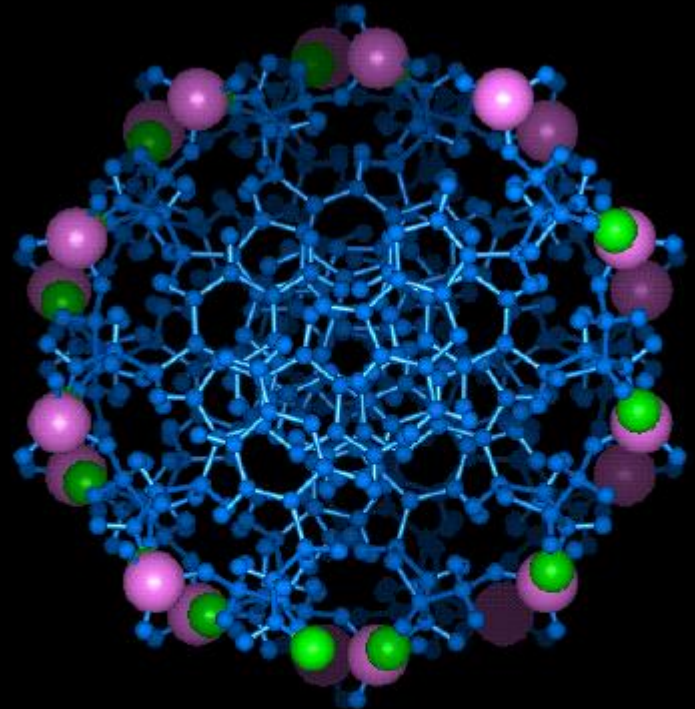




B-DNA



backbone
base

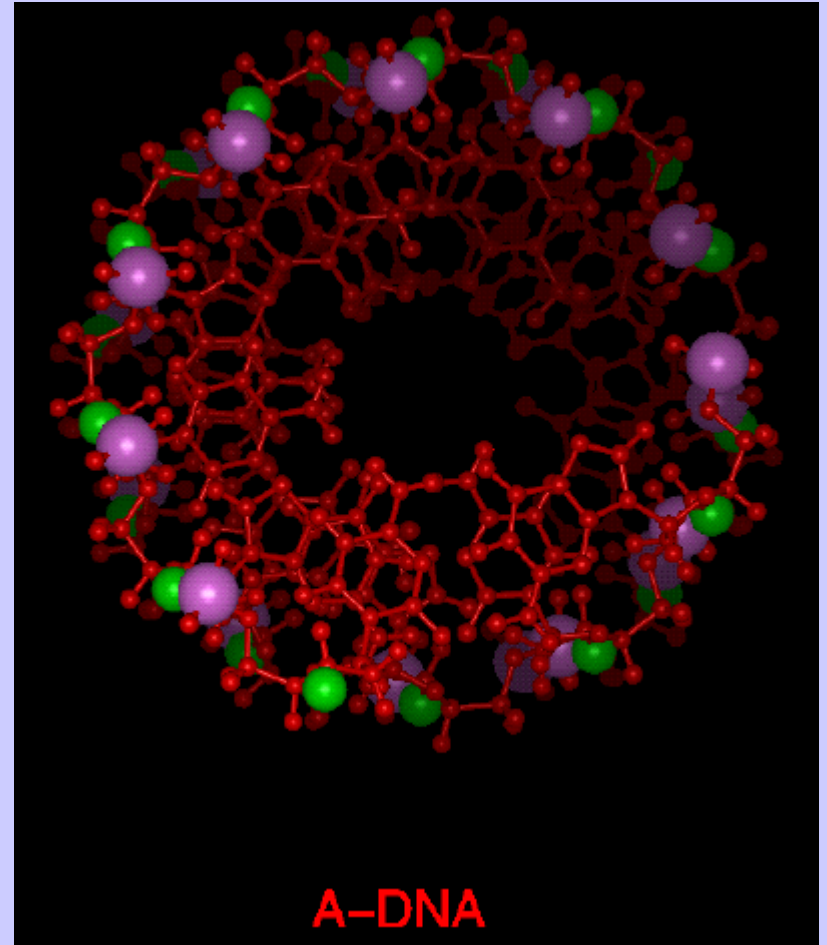


B-DNA

A-DNA



backbone
base



A-DNA

PROBLEMATICHE GENERALI

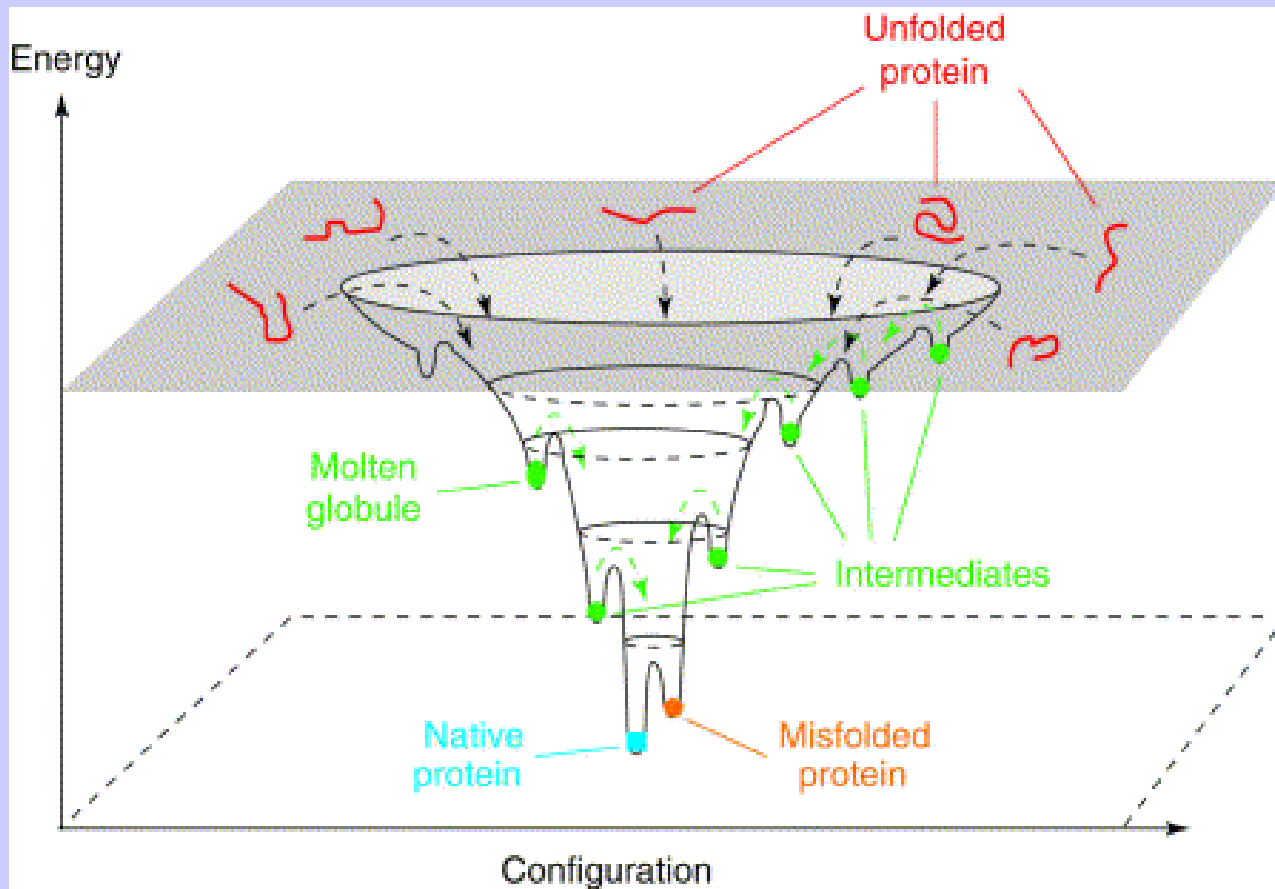
STRUTTURA DELLA MOLECOLA:

- E' pura? E' nativa? E' completa?
- Qual è la struttura?
- Si può predire la struttura?
- E' rigida o flessibile?
- **Come si forma la struttura?**

FUNZIONE DELLA MOLECOLA:

- Si può predire o razionalizzare?
- Quali sono le relazioni Struttura \leftrightarrow Funzione?

La superficie dell'energia libera configurazionale di una proteina (di un biopolimero, in generale) è tipicamente complessa, poichè esistono molti stati energetici metastabili, alcuni dei quali hanno un'energia molto vicina al minimo globale (*problema della ricerca del minimo assoluto*)



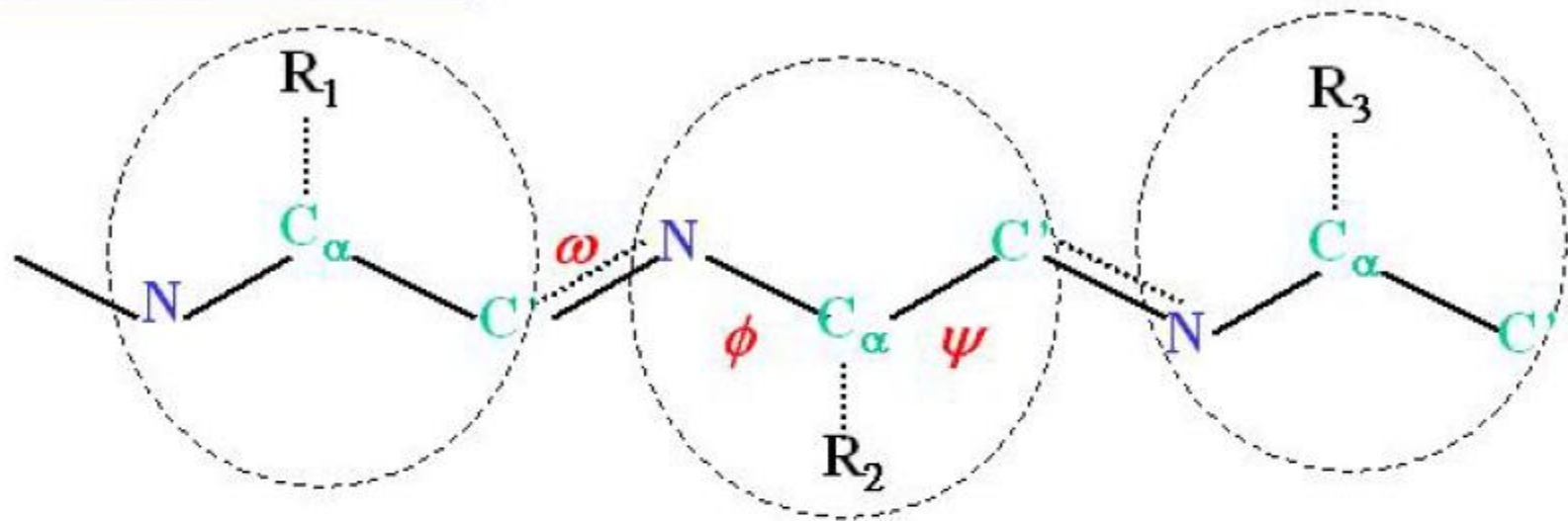
Come si forma la struttura?

- **Interazioni tra atomi vicini**
- **Interazione tra atomi lontani nella catena**
- **Interazioni con le molecole di solvente/co-soluti**

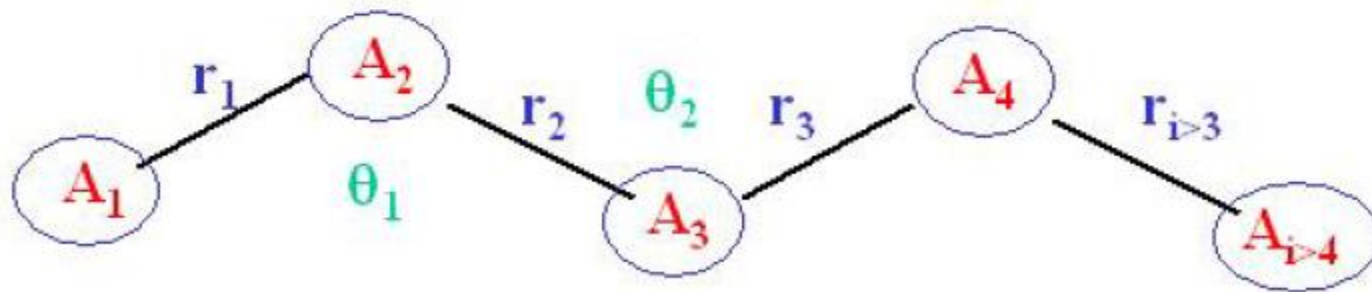
Come si forma la struttura?

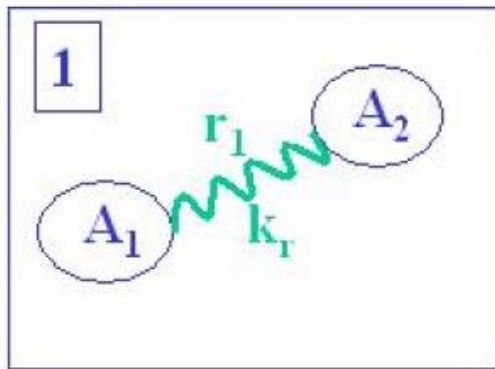
- **Interazioni tra atomi vicini**
- **Interazione tra atomi lontani nella catena**
- **Interazioni con le molecole di solvente**

Catena di amino acidi α

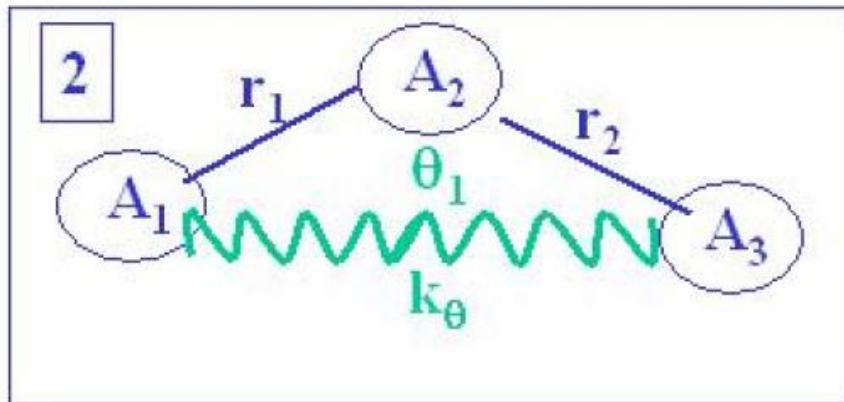


Polimero generico

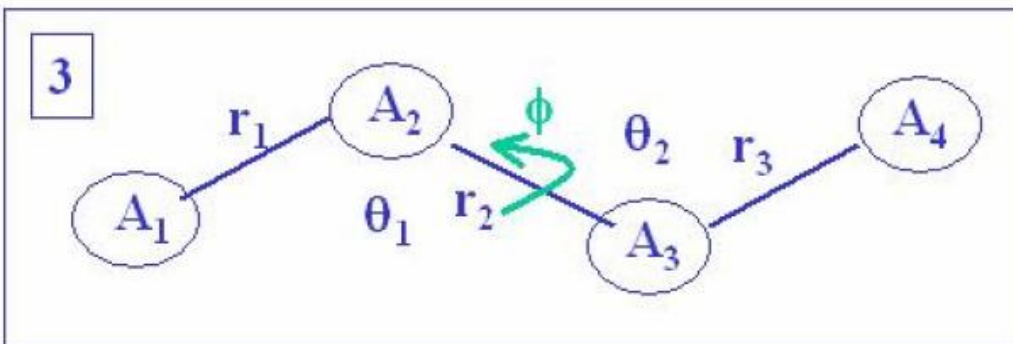




$$U(r) = \frac{1}{2} K_r (r - r_0)^2$$



$$U(\vartheta) = \frac{1}{2} K_\vartheta (\vartheta - \vartheta_0)^2$$

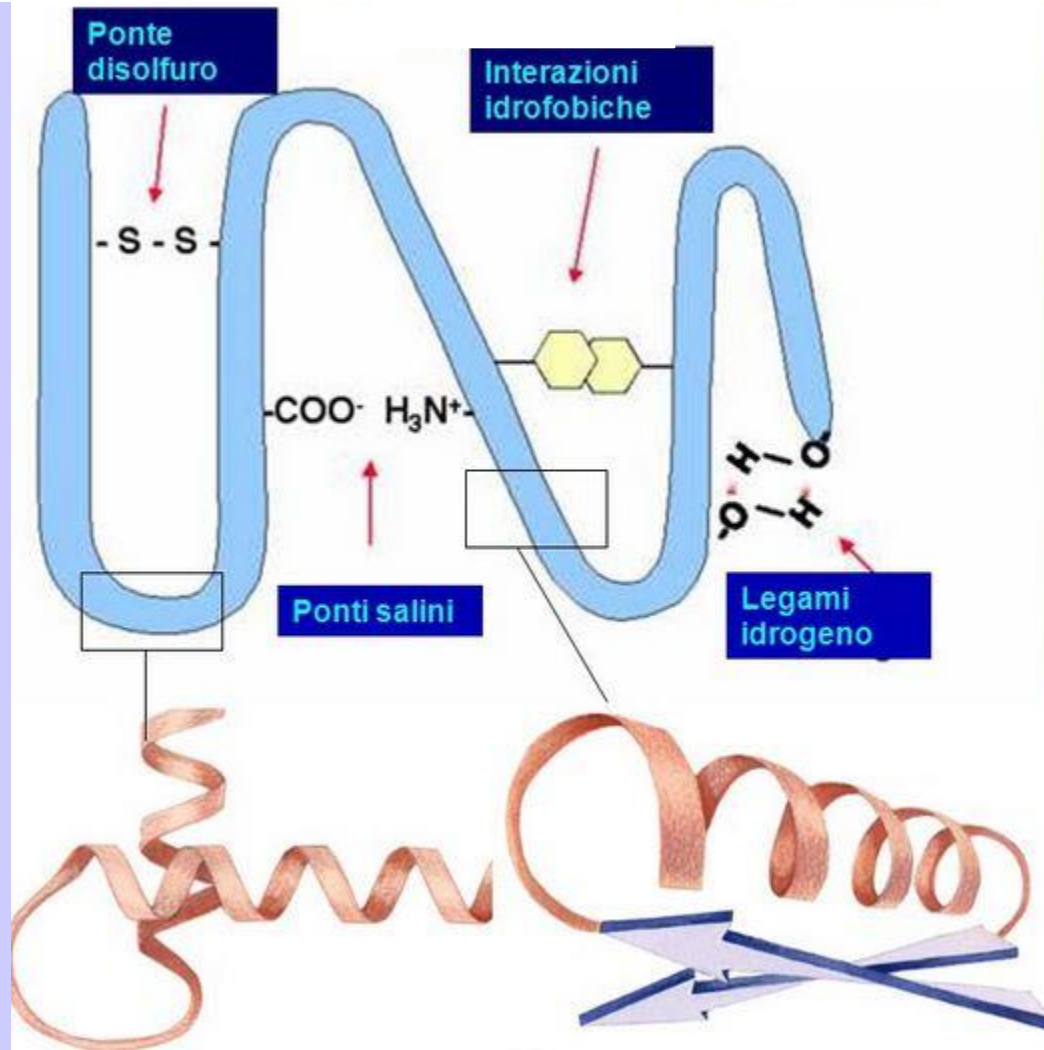


$$U(\varphi) = \sum_k c_k \cos^k \varphi \approx \frac{1}{2} [1 + \cos(3\varphi)]$$

Come si forma la struttura?

- **Interazioni tra atomi vicini**
- **Interazione tra atomi lontani nella catena**
- **Interazioni con le molecole di solvente**

Interazione tra atomi lontana in catena



Struttura terziaria

- Definisce la disposizione di tutti gli atomi nello spazio tridimensionale

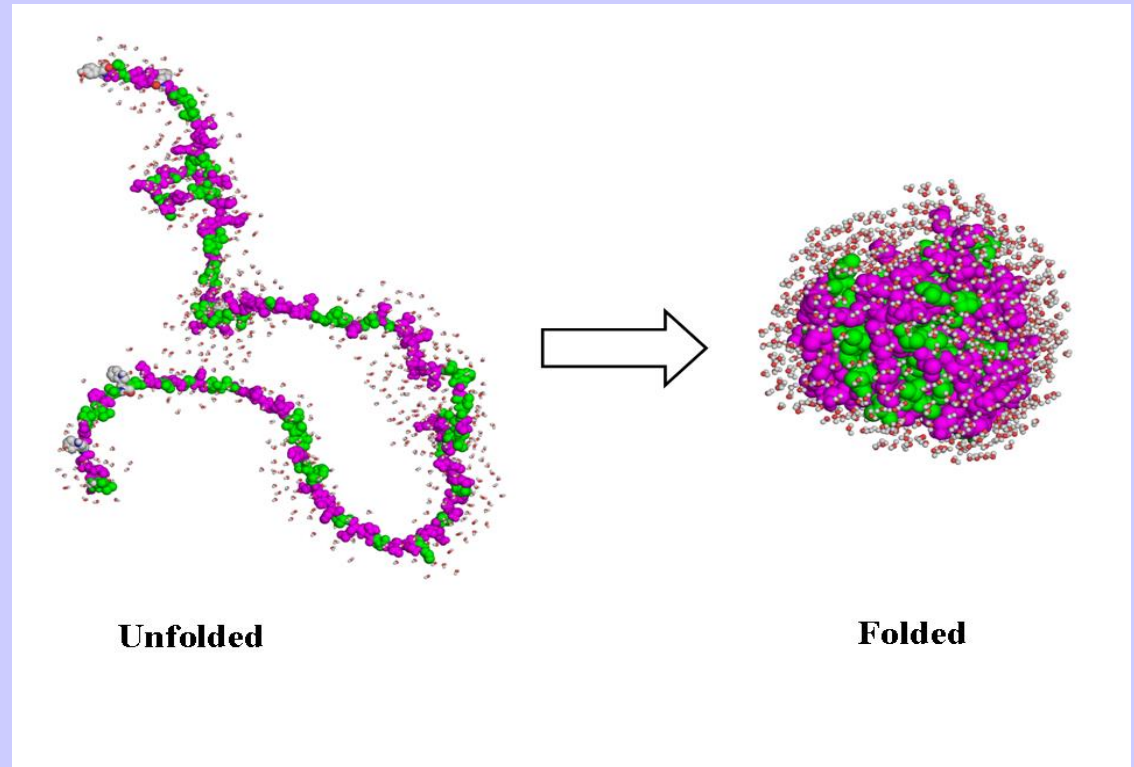
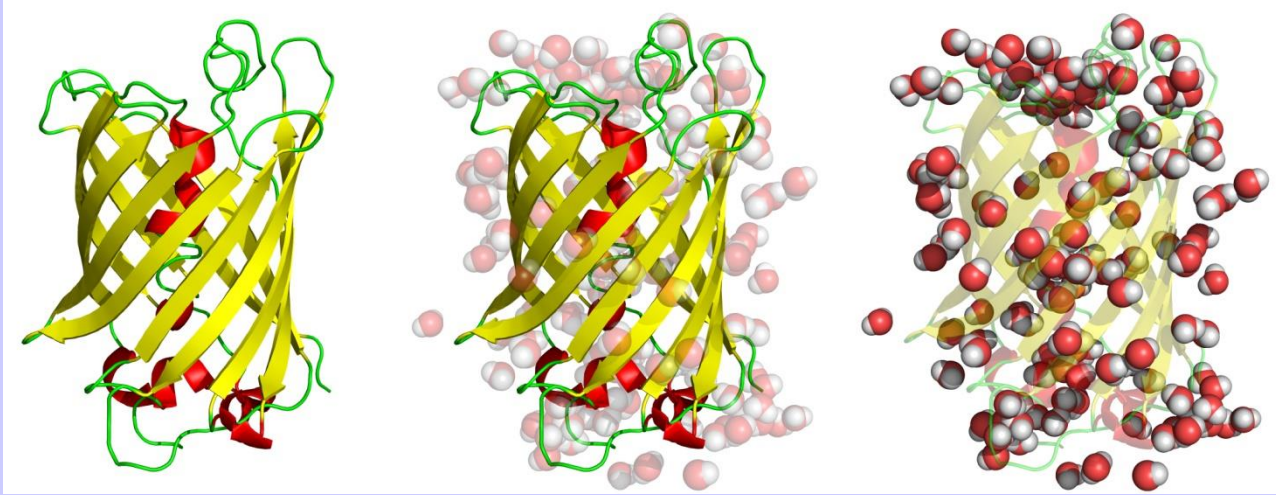
- Ulteriore ripiegamento della catena polipeptidica già organizzata in una struttura secondaria

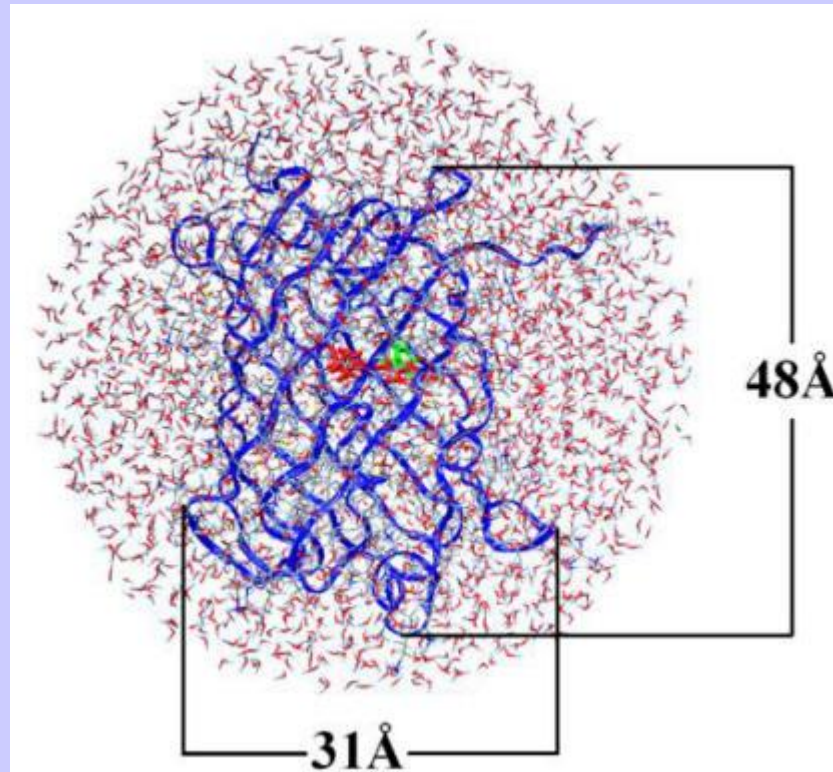
- Amminoacidi localizzati in regioni lontane della sequenza polipeptidica possono interagire tra loro

Come si forma la struttura?

- **Interazioni tra atomi vicini**
- **Interazione tra atomi lontani nella catena**
- **Interazioni con le molecole di solvente**

Interazioni con le molecole di solvente





PROBLEMATICHE GENERALI

LA STRUTTURA DELLA MOLECOLA:

- E' pura? E' nativa? E' completa?
- Qual è la struttura?
- Si può predire la struttura?
- E' rigida o flessibile?
- Come si forma la struttura?

Relazione STRUTTURA-FUNZIONE:

- ➔ • **Si può predire o razionalizzare?**
- Come viene regolata?
- Con quali altre molecole i biopolimeri possono interagire?

Si può predire o razionalizzare la relazione struttura-funzione?

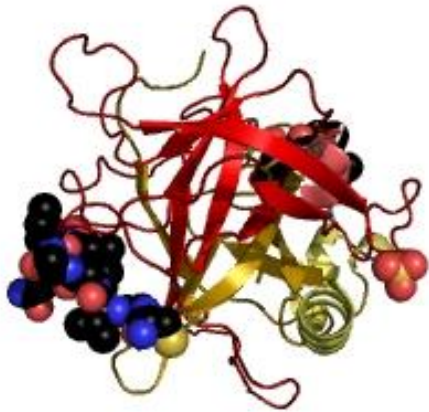
La risposta è «NI» !

Per predire un meccanismo di azione, la funzione, di un biopolimero sono necessari sia **dati termodinamici che cinetici**, oltre a quelli **strutturali e teorici**

Comprendere il funzionamento di una biomolecola partendo dalla sua struttura è compito difficile, specie se si vuole andare nel dettaglio dei meccanismi biochimici nei quali è coinvolta quella molecola.

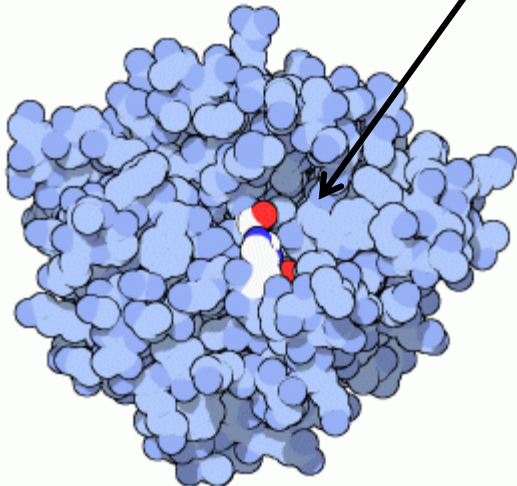
ESEMPIO: La **chimotripsina** è un enzima, appartenente alla classe delle proteasi, che catalizza la rottura del legame peptidico con preferenza per la Tyr, il Trp, la Phe e la Leu.

È una proteina **globulare** e possiede, come la tripsina, una **tasca idrofobica**, ricoperta da residui di amminoacidi apolari.



La **cavità idrofoba** contiene una **triade catalitica** (Ser 195, His 57 e Asp 102) orientata sempre nello stesso modo.

La chimotripsina idrolizza il legame solo in corrispondenza di amminoacidi idrofobici, e scorre lungo la catena fino a trovare questi amminoacidi.



PROBLEMATICHE GENERALI

LA STRUTTURA DELLA MOLECOLA:

- E' pura? E' nativa? E' completa?
- Qual è la struttura?
- Si può predire la struttura?
- E' rigida o flessibile?
- Come si forma la struttura?

Relazione STRUTTURA-FUNZIONE:

- Si può predire o razionalizzare?
- Come viene regolata?



- Le **funzioni** di molte molecole biologiche sono dedicate al controllo della risposta alle diverse necessità dell'organismo.
- Questa è la tendenza all' **omeostasi**, cioè la tendenza di un organismo a resistere oppure compensare variazioni del proprio intorno
- Questa "regolazione" può avvenire a diversi livelli:
chimico, energetico, cinetico
- L'organismo dispone di una serie di molecole grandi e piccole che sono disegnate per il solo scopo del controllo: **ormoni steroidei e peptidici, nucleotidi ciclici e le proteine che li sintetizzano o li riconoscono.**
- La funzione di altre macromolecole è quella di mantenere la struttura della cellula oppure di controllare il **trasporto** di materiale all'interno o all'esterno della cellula.

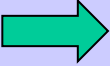
Strategie di base nello studio dei biopolimeri

- ➔ • Utilizzare **sistemi più piccoli** come modelli
- Utilizzo di **sonde** o **marcatori**
- Paragonare due sistemi simili (*omologia e similitudine*)
- Isolare **stati discreti** del sistema

Strategie di base nello studio dei biopolimeri

- Utilizzare **sistemi più piccoli** come modelli
- • Utilizzo di **sonde** o **marcatori**
- **Paragonare due sistemi simili** (*omologia e similitudine*)
- Isolare **stati discreti** del sistema

Strategie di base nello studio dei biopolimeri

- Utilizzare **sistemi più piccoli** come modelli
- Utilizzo di **sonde** o **marcatori**
-  • **Paragonare due sistemi simili** (*omologia e similitudine*)
- Isolare **stati discreti** del sistema

Paragonare due sistemi simili

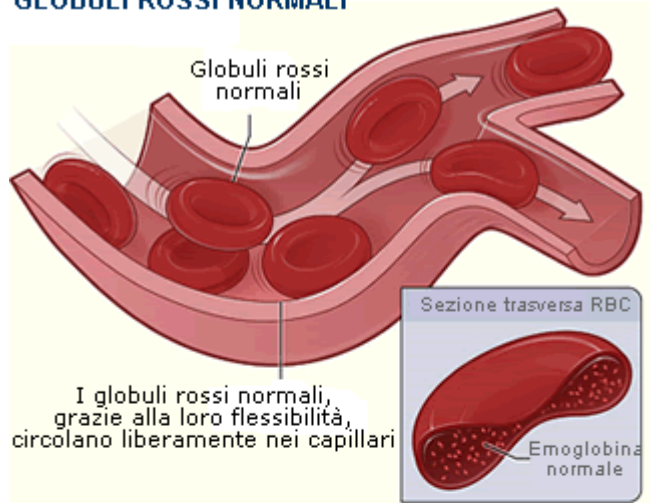
Casi di **similarità** sono diffusi tra i biopolimeri.

Le proprietà funzionali sono simili e quindi si può individuare una relazione diretta tra struttura e funzione; non è difficile allora cercare di capire quali domini strutturali siano necessari per la funzione.

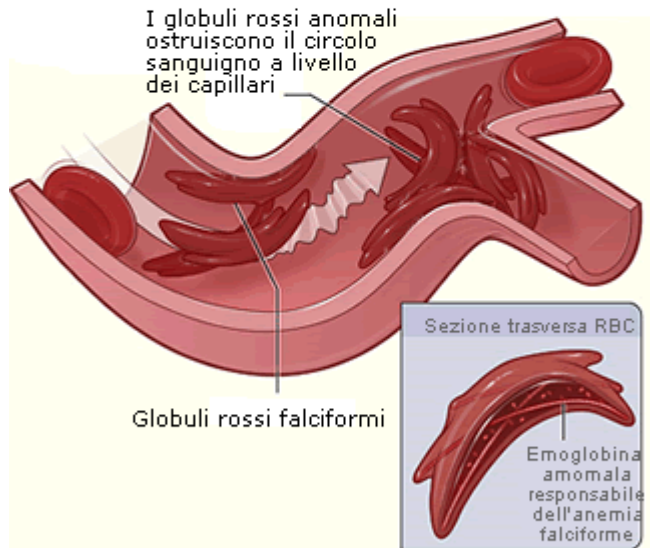
Allo stesso modo, esistono proteine che hanno strutture **omologhe**, ma funzioni differenti: p.es. le "esterasi" della serina (chimotripsina, tripsina, elastasi, etc.).

Una strategia particolarmente efficace per isolare delle variabili strutturali e funzionali critiche consiste nello studio di **proteine o acidi nucleici mutanti**.

GLOBULI ROSSI NORMALI



GLOBULI ROSSI FALCIFORMI



Anemia falciforme

Emoglobina S ed **anemie falciformi**: sono patologie legate all'emoglobina, il principale componente proteico dei globuli rossi. L'anemia falciforme è la conseguenza della presenza di una variante (**mutazione**) emoglobinica, anomala, chiamata **emoglobina S (Hb S)**.

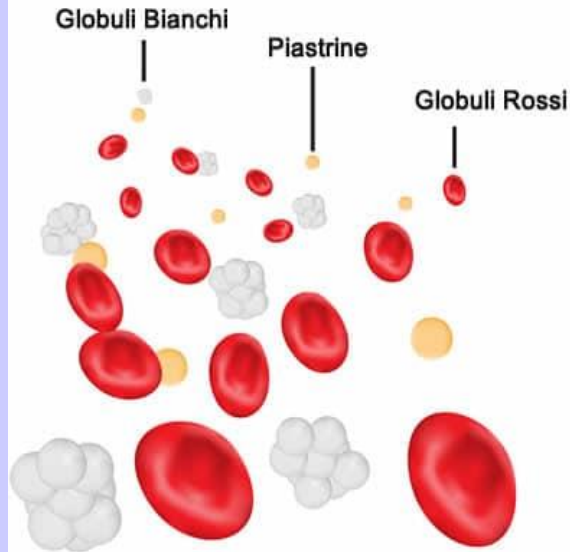
L'emoglobina S (HbS) è caratterizzata dalla sostituzione dell'amminoacido idrofilico glutamina (**GAG**) con l'amminoacido idrofobico valina (**GTG**) in posizione 6 della **catena β**

In presenza di basse tensioni di ossigeno le molecole di **HbS polimerizzano** trasformando l'emoglobina prima in un **gel viscoso** e poi in **cristalli birifrangenti** che **deformano** il globulo rosso e gli fanno assumere una caratteristica forma a **falce (sickle)**

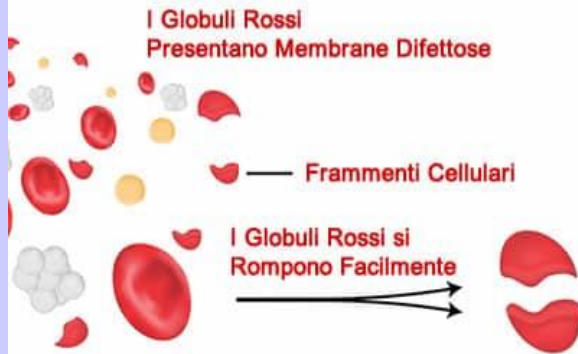
La mutazione dell'emoglobina S comporta la produzione di un'emoglobina meno solubile all'interno dei globuli rossi

I globuli rossi falcizzati perdono la flessibilità necessaria ad attraversare il microcircolo, e vengono **captati e distrutti** dai macrofagi (**anemia emolitica**); la diagnosi di anemia falciforme si basa sulla **identificazione della HbS** mediante **elettroforesi delle emoglobine**

NORMALE



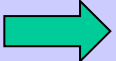
ANEMIA EMOLITICA EREDITARIA

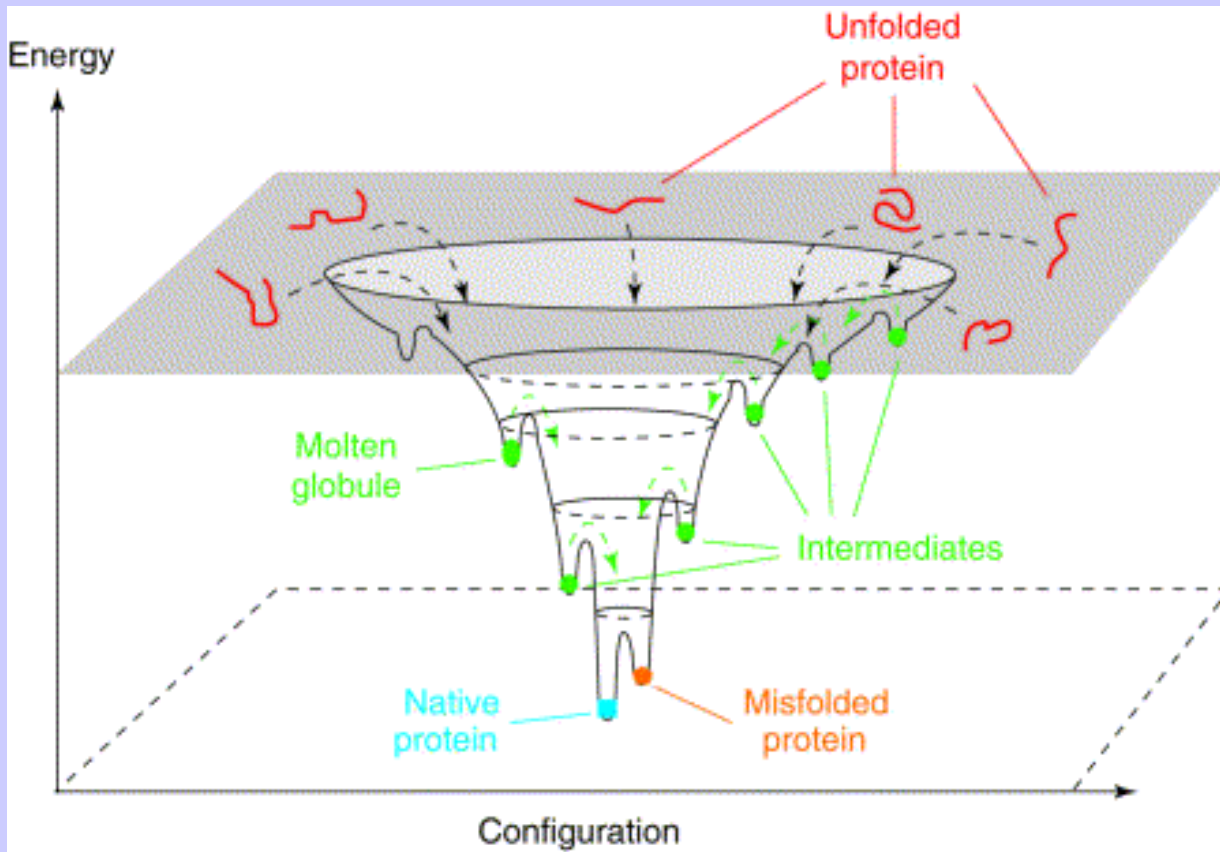


Emoglobina di Sidney: ha un'unica variazione nella composizione in amminoacidi: **una alanina al posto di una valina** nella 67-esima posizione della catena β .

Il fenotipo risultante che si osserva clinicamente è affetto da "**anemia emolitica**": i globuli rossi sono fragili e si rompono facilmente.

Strategie di base nello studio dei biopolimeri

- Utilizzare **sistemi più piccoli** come modelli
- Utilizzo di **sonde** o **marcatori**
- Paragonare due sistemi simili (*omologia e similitudine*)
-  • Isolare **stati discreti** del sistema



Temperatura
pH
Forza ionica

↓

Transizioni conformazionali