

Corso di

# PROPRIETA' DI BIOPOLIMERI

*Prof. Ranieri Urbani*

a.a. 2021-2022

## INTRODUZIONE

Problematiche generali:  
Struttura e funzione di un biopolimero  
Rigidità e flessibilità. Strutture estese o a gomito

## MODIFICAZIONI CHIMICHE:

Degradazione/depimerizzazione parziale della struttura  
Perdita/formazione di gruppi funzionali  
Formazione di ponti intracatena

## MODIFICAZIONI CONFORMAZIONALI

(interazione con solventi, pH, T, ioni, piccole molecole...)  
Denaturazione  
Transizione conformazionale  
Associazione/agggregazione di catene

## PROPRIETA' STRUTTURALI di BIOPOLIMERI GERARCHIA DEI LIVELLI STRUTTURALI

### STRUTTURA PRIMARIA

Monomeri R ed S

### PROTEINE

Amino acidi  
Legame peptidico  
Chiralità  
Classi di a.a.  
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.  
Conformazione monosaccaridi. Sedia , barca, twist, busta.  
Carbonio anomero  
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 conformi 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

##### POLISACCARIDI

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

#### 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"

#### STRUTTURA TERZIARIA E QUATERNARIA DI PROTEINE

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

#### 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

## PREDIZIONE DELLA STRUTTURA SECONDARIA, TERZIARIA QUATERNARIA E DELLA FUNZIONE DELLE PROTEINE

Simmetria delle strutture quaternarie: esempi  
Evoluzione convergente e divergente  
Omologia e similitudine

### Fold Recognition

Allineamento di sequenze  
Esempio: Metodo GOR (1978)

## Ripasso PREDIZIONE DELLA STRUTTURA

**Meccanica Molecolare** e le mappe di energia conformazionale

**Dinamica Molecolare**: definizione dei parametri del metodo

Energia cinetica e temperatura

Integrazione delle equazioni del moto (algoritmo di Verlet)

Calcolo delle traiettorie ed analisi dei risultati

Solvatazione: modelli implicito (continuo) o esplicito ("ALL-ATOMS")

## 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  $\alpha$  o  $\beta$  del legame glicosidico

Sequenza di monosaccaridi nell'unità ripetitiva

## DETERMINAZIONE DELLA STRUTTURA PRIMARIA DI ACIDI NUCLEICI

Metodo di Sanger

## PROPRIETA' ACIDO-BASE DI AMINOACIDI E PEPTIDI

Titolazione di amino acidi. Determinazione delle costanti di equilibrio

Punto isoelettrico

## ELETTROFORESI

Principi ed equazioni fondamentali

Applicazioni ai biopolimeri

Gel per elettroforesi

Elettroforesi denaturante: SDS-PAGE

Preparazione di un'elettroforesi su gel

Colorazione

Essiccamento del gel

Determinazione dei PM di polipeptidi

Tecnica di focalizzazione isoelettrica (IEF)

Elettroforesi 2D

Elettroforesi capillare (CE)

DIFFUSIONE DINAMICA DELLA LUCE (DLS)

Dipendenza dall'angolo

SPETTROSCOPIA UV-VISIBILE DI BIOPOLIMERI

Cromofori importanti in molecole biologiche

Spettri UV di proteine e acidi nucleici

Denaturazione del DNA e di proteine

RICHIAMI DI TERMODINAMICA

Transizione tra due stati

Grafico di Van't Hoff

Proprietà misurabili

Reagenti identici

DICROISMO CIRCOLARE

L'attività ottica e la rotazione ottica

Il polarimetro

Dispersione ottica rotatoria (ORD)

Spettroscopia di dicroismo circolare

Unità di misura e sensibilità. Ellitticità molare

Lo spettro CD per strutture secondarie

CALORIMETRIA DSC E ITC.

Deconvoluzione di termogrammi

Termodinamica delle transizioni

TRANSIZIONE ELICA-GOMITOLO

Curve di transizione ordine-disordine

Variabili chimico-fisiche nelle transizioni conformazionali

Processi cooperativi

Esempio: fusione del DNA

TC di polisaccaridi

Meccanismo molecolare della transizione di peptidi

Interazione tra i dipoli ammidici. Contributi entropici

Modello di Schellman, grado di cooperatività

Modello "a cerniera" (Zipper model) di Zimm-Brag (a basso ed alto PM)

Elicità frazionaria e probabilità

TERMODINAMICA DEL LEGAME CON SUBSTRATI

Costante macroscopica e microscopica

Siti indipendenti ed identici

Scatchard plot

Scatchard plot non-lineari

Modello di Hill

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

CASO STUDIO 1: Misfolding proteico

CASO STUDIO 2: Caratterizzazione della proteina HUG

CASO STUDIO 3: Caratterizzazione di biopolimeri marini