

STRUTTURA DELLE PROTEINE

FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE

Enzimi

- proteine con attività catalitica

Proteine di trasporto

- emoglobina (eritrociti) trasporta ossigeno
- lipoproteine (plasma) trasportano i lipidi dal fegato agli altri organi
- proteine delle membrane cellulari

Proteine di nutrimento o di riserva

- i semi di molte piante accumulano proteine di riserva
- ovoalbumina (albume d'uovo)
- caseina (latte)
- ferritina (tessuti animali) serve ad immagazzinare ferro

Proteine dei sistemi contrattili

- actina e miosina (muscolo scheletrico)
- tubulina costituisce i microtubuli che sono componenti delle ciglia e dei flagelli cellulari

Proteine strutturali

- collagene (tendini e cartilagine)
- elastina (legamenti)
- cheratina (capelli, unghie, penne)
- fibroina (seta e tela di ragno)

Proteine di difesa

- immunoglobuline o anticorpi
- fibrinogeno e trombina (coagulazione)

Proteine di regolazione

- ormoni
- repressori (regolano la biosintesi di enzimi nelle cellule batteriche).

CLASSIFICAZIONE DELLE PROTEINE IN BASE ALLA FORMA

Struttura

- **proteine fibrose:** hanno catene polipeptidiche disposte in lunghi fasci o in foglietti. Costituite in gran parte da un unico tipo di struttura secondaria e la struttura terziaria è relativamente semplice
- **proteine globulari:** hanno catene polipeptidiche ripiegate in forme globulari o sferiche. Contengono più tipi di struttura secondaria
- **proteine di membrana:** le catene polipeptidiche sono inserite all'interno delle membrane lipidiche idrofobe;
- **proteine intrinsecamente disordinate,** con catene amminoacidiche prive di una struttura terziaria stabile.

Differenze funzionali

- le proteine che determinano la resistenza, la forma e la protezione esterna delle cellule dei vertebrati sono fibrose;
- gli enzimi sono per la maggior parte globulari
- le proteine regolatorie possono essere globulari, disordinate, o contenere segmenti di entrambi i tipi.

CLASSIFICAZIONE IN BASE ALLA COMPOSIZIONE

semplici: contengono solo amminoacidi

coniugate: contengono altri composti chimici (gruppo prostetico)
lipidi, carboidrati, gruppi fosfato, metalli.

PROTEINE

- Costituite da una singola catena
- Costituite da più catene (subunità) uguali o diverse fra loro = proteine multisubunità
- Se almeno due subunità sono identiche = proteina oligomerica
- Protomero = unità strutturale ripetitiva (identica) di una proteina multimerica; può essere costituita da una o più subunità

PROTEINE

macromolecole più abbondanti

tutte le proteine sono costituite da 20 amminoacidi.

Che cosa dà a una proteina attività enzimatica, ad un'altra attività ormonale, ad un'altra ancora attività anticorpale?

Come differiscono chimicamente?

SEQUENZA

STRUTTURA PRIMARIA

corrisponde alla composizione e sequenza degli amminoacidi in una catena polipeptidica

STRUTTURA SECONDARIA

regioni tridimensionali con struttura della catena ordinata (α elica e β foglietto)

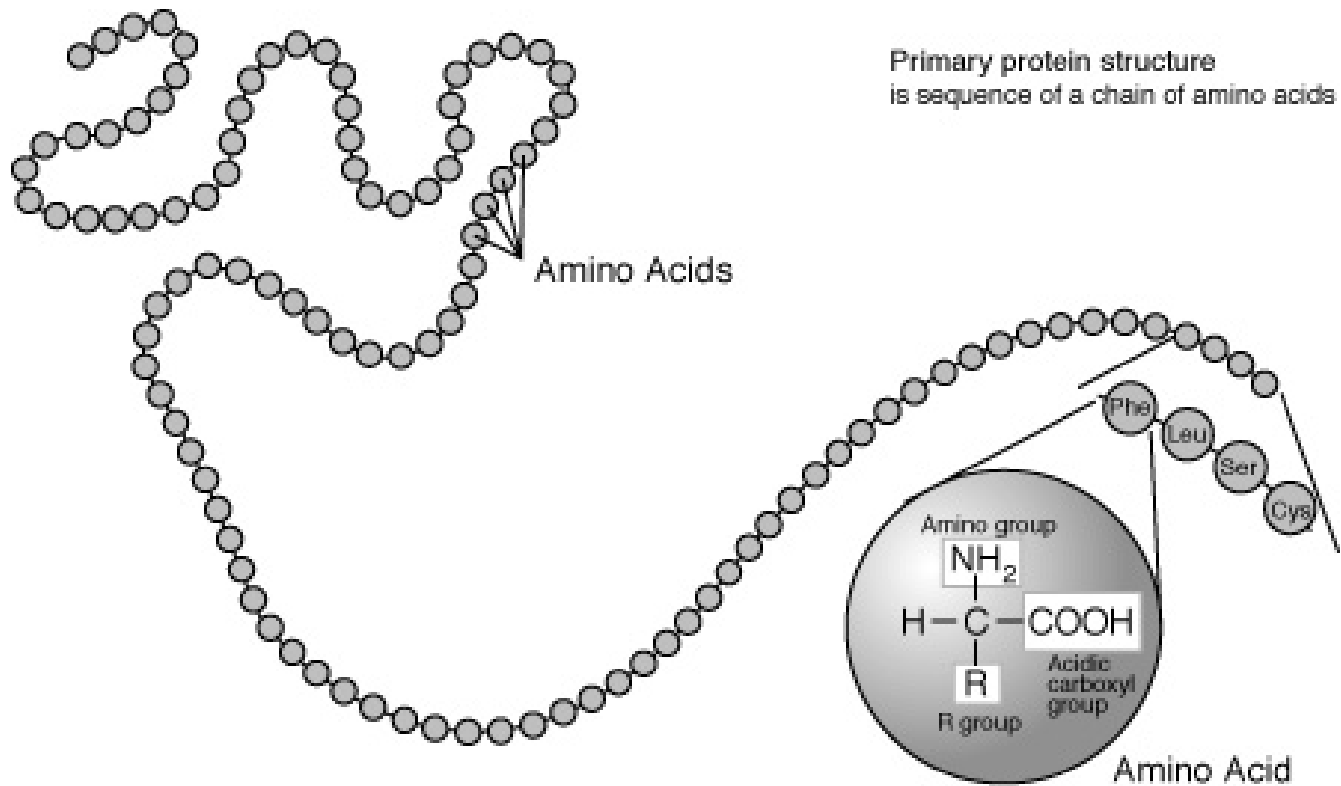
STRUTTURA TERZIARIA

struttura tridimensionale completa di una unità indivisibile

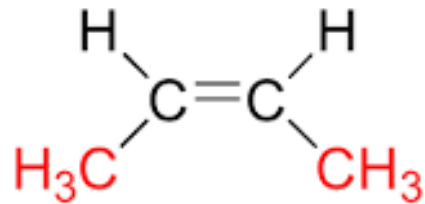
STRUTTURA QUATERNARIA

formata dall'associazione non covalente di unità indipendenti in struttura terziaria

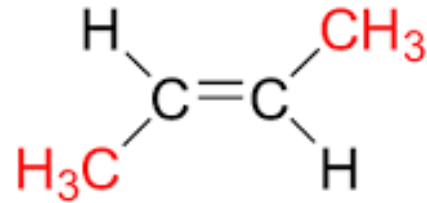
STRUTTURA PRIMARIA



CONFIGURAZIONE: disposizione spaziale di una molecola organica che le viene conferita dai doppi legami e dai centri chirali.



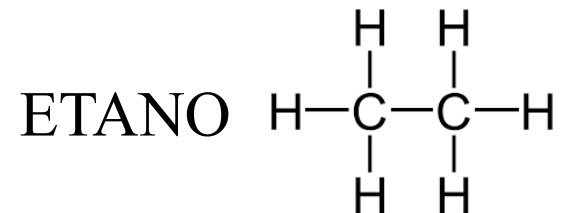
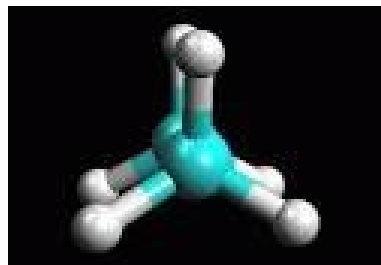
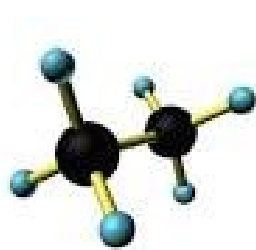
cis-2-butene



trans-2-butene

Chimichiamo.org

CONFORMAZIONE: disposizione spaziale di gruppi sostituenti che sono liberi di assumere posizioni nello spazio per rotazione attorno ai legami singoli, **senza rottura** di legami covalenti



LE PROTEINE NATIVE HANNO UNA O POCHE CONFORMAZIONI

STRUTTURA SECONDARIA

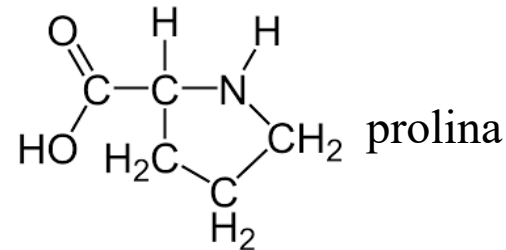
Restrizioni per la conformazione spaziale di una catena polipeptidica:

1)-rigidità e configurazione trans dei legami peptidici

2)-repulsione o attrazione elettrostatica tra gruppi R

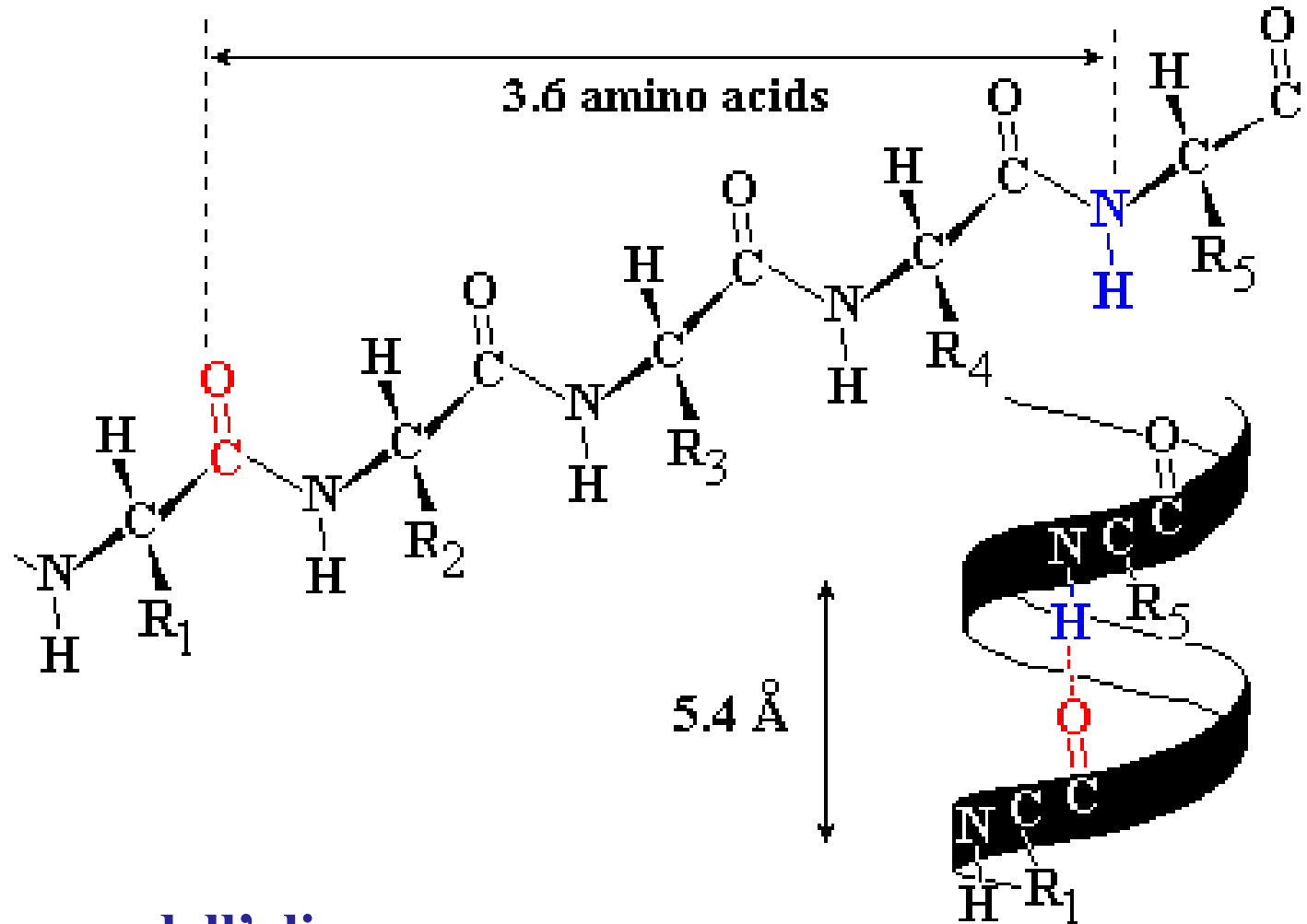
3)-volume dei gruppi R

4)-prolina



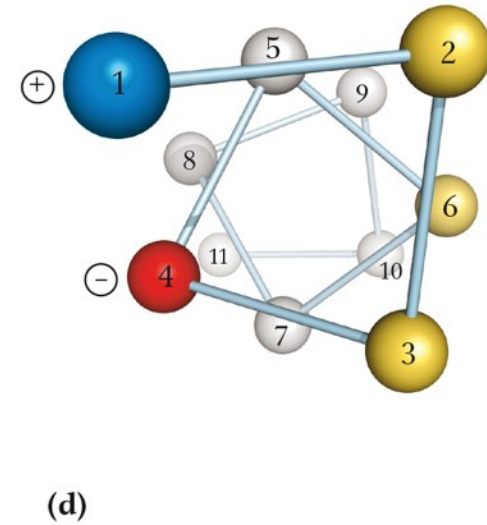
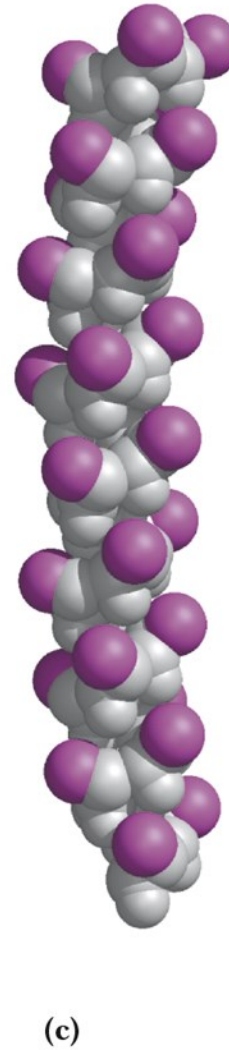
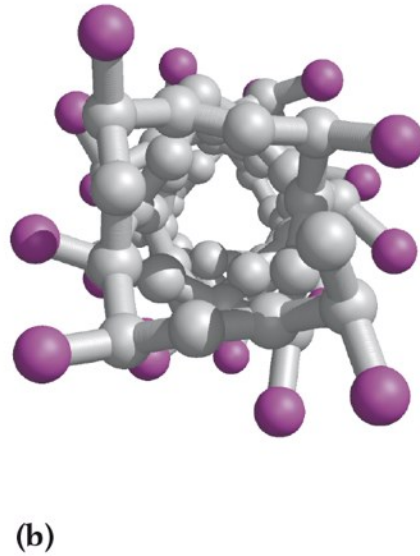
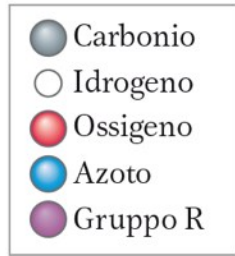
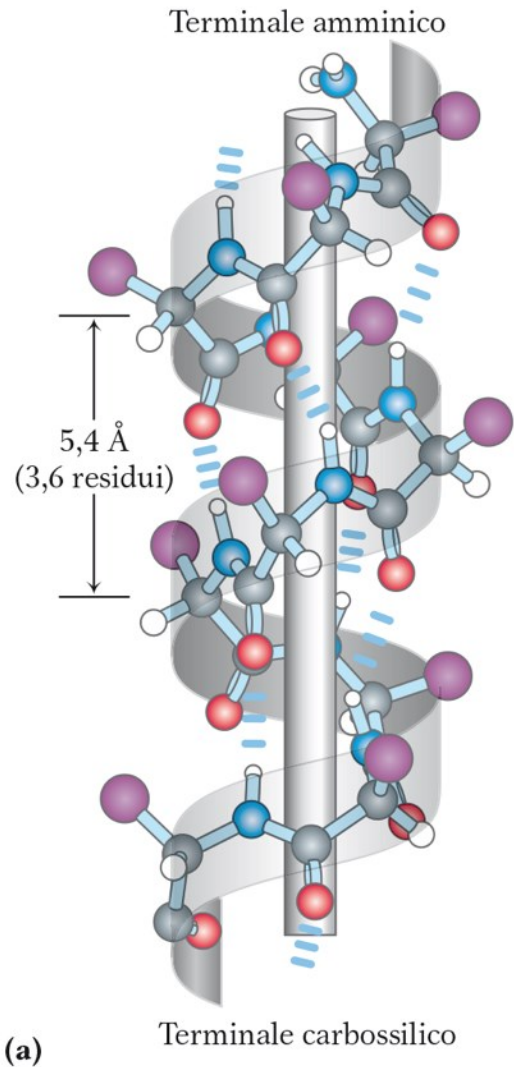
Lo scheletro dei polipeptidi tende ad assumere quella conformazione spaziale che è consentita dall'insieme delle restrizioni poste dal suo contenuto in amminoacidi e dalla sequenza.

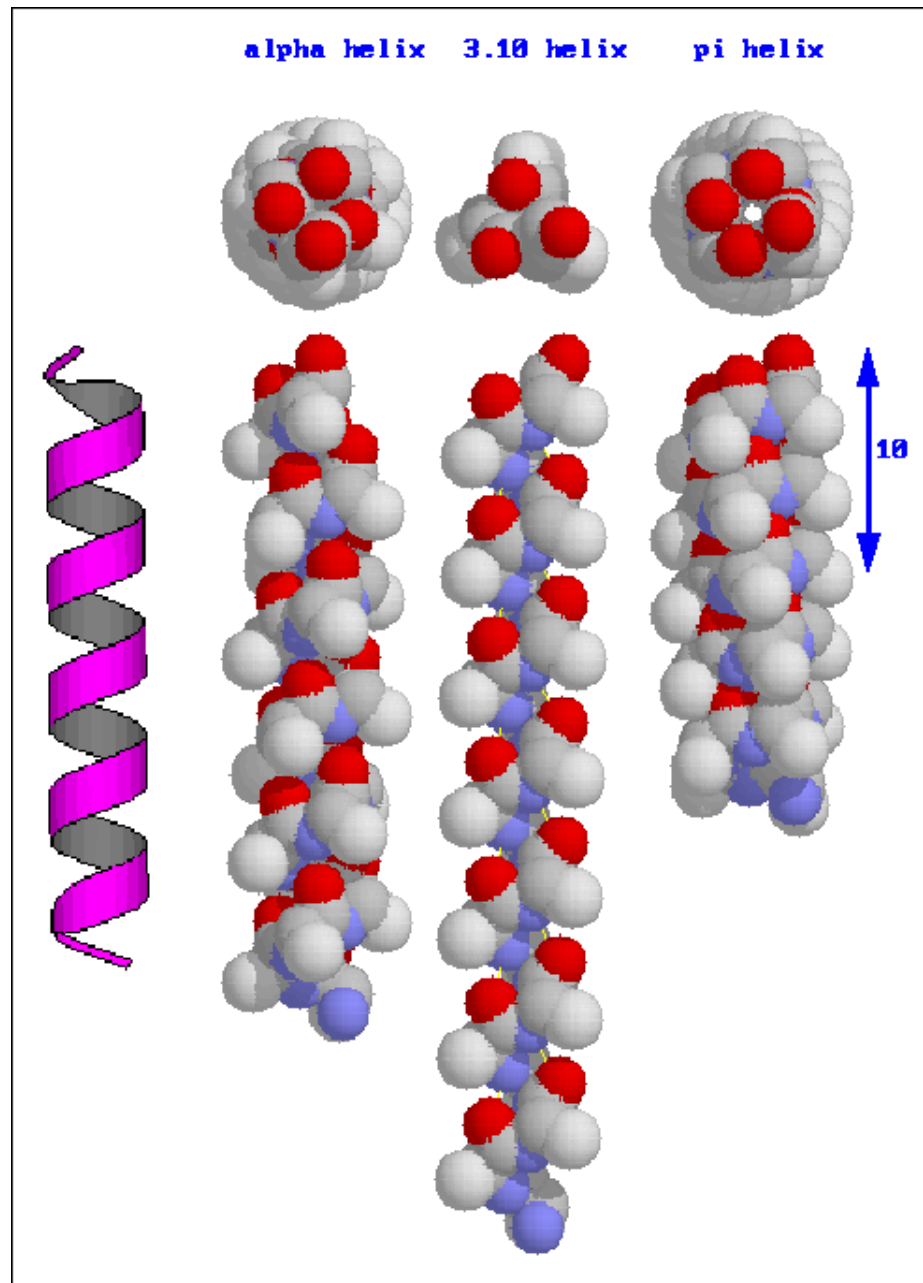
α -ELICA



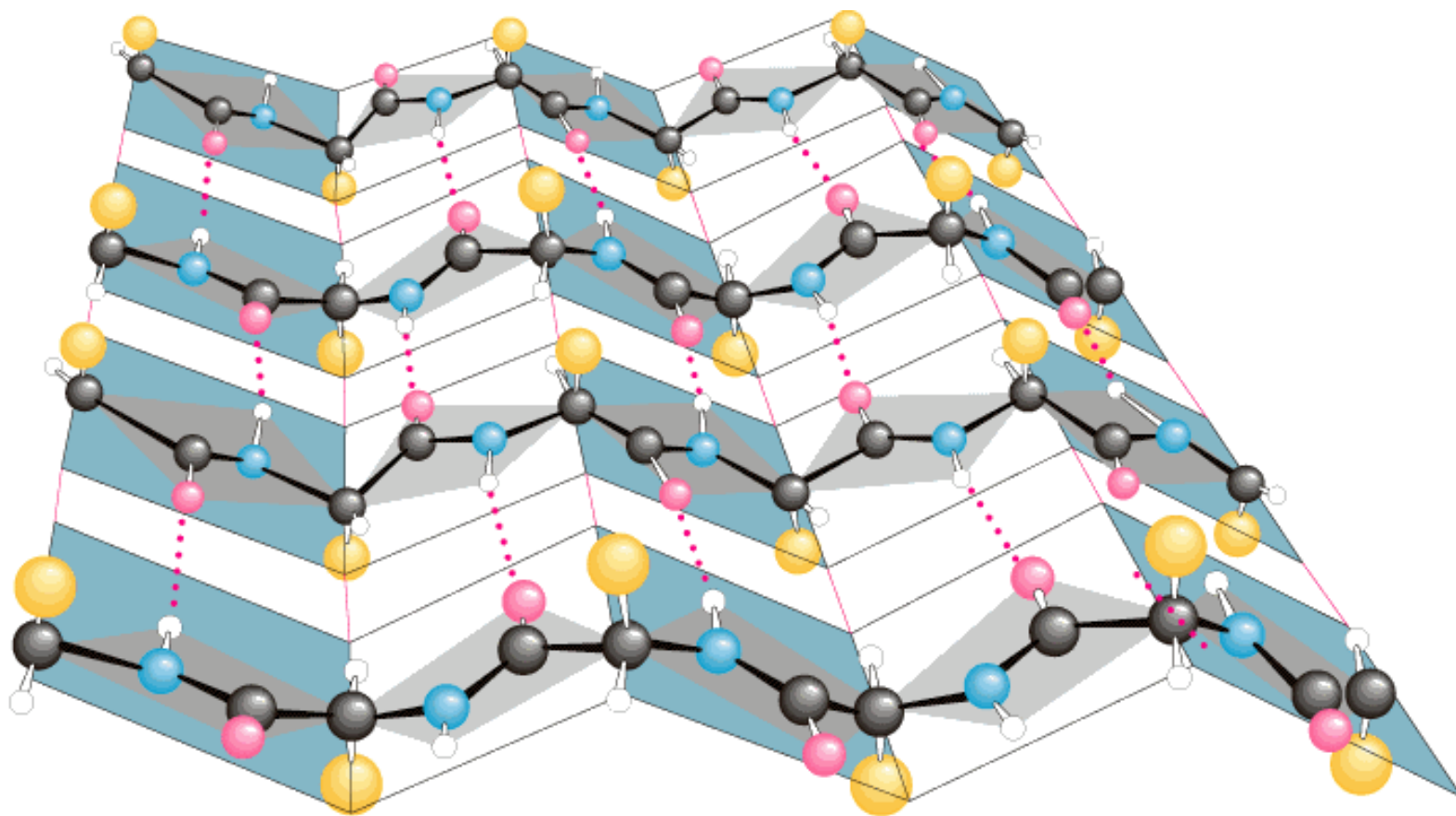
p = passo dell'elica

n = numero AA per spira (1 giro dell'elica)



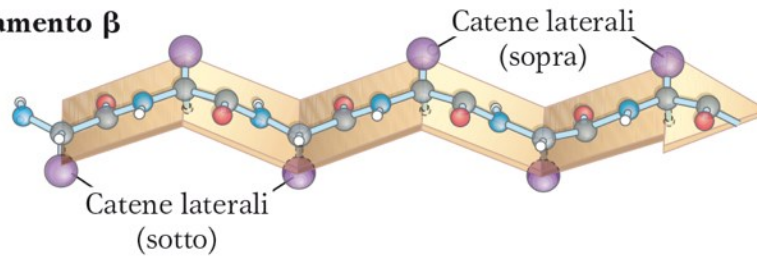


FOGLIETTO β



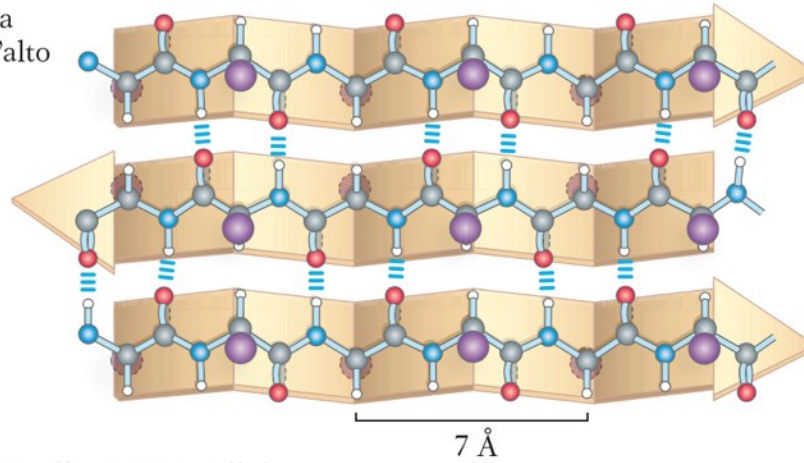
(a) Filamento β

Vista laterale



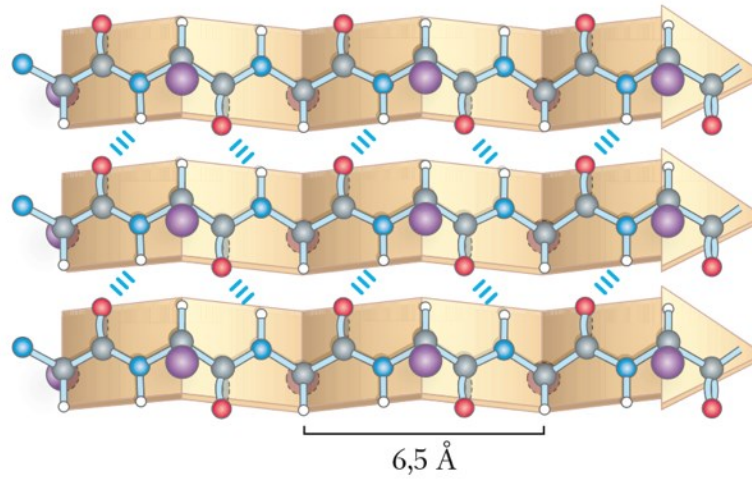
(b) Foglietto β antiparallelo

Vista dall'alto



(c) Foglietto β parallelo

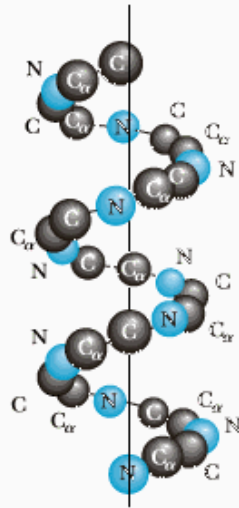
Vista dall'alto



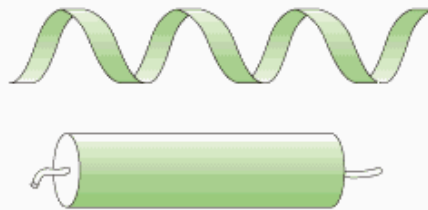
STRUTTURA SECONDARIE

α - Helix

Only the $N-C_{\alpha}-C$ backbone is represented. The vertical line is the helix axis.

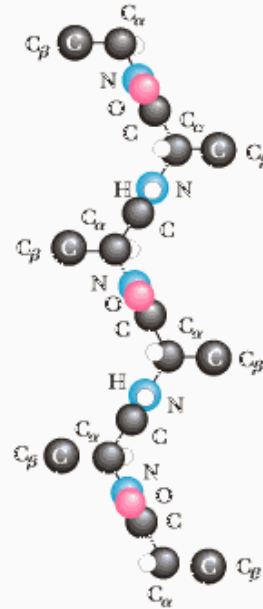


"Shorthand" α -helix

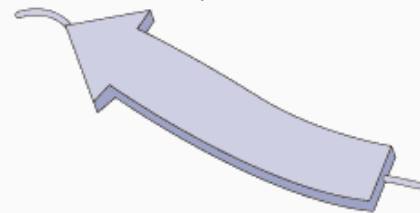


β - Strand

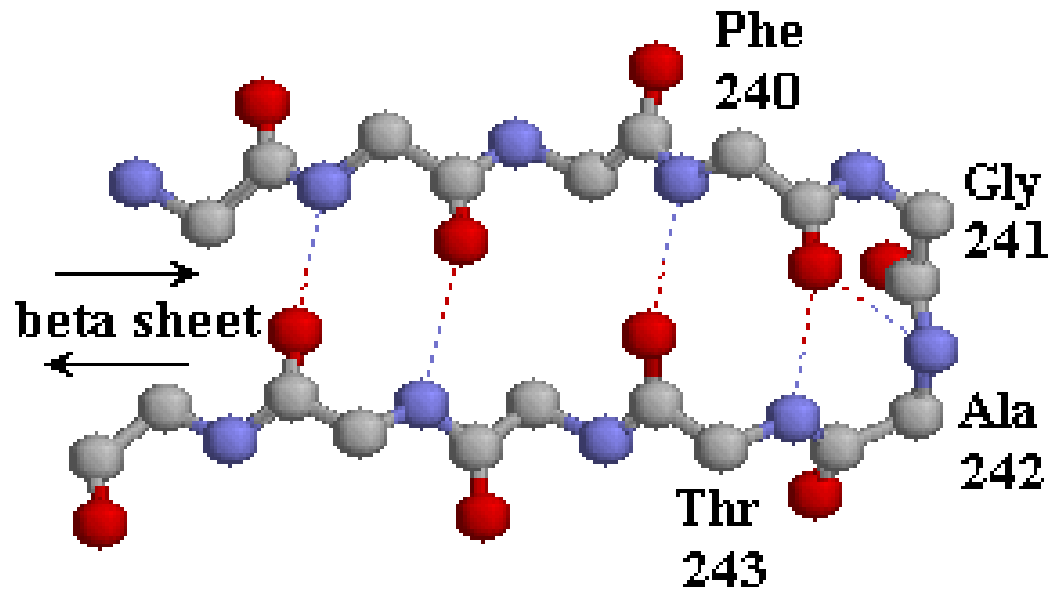
The $N-C_{\alpha}-C$ backbone as well as the C_{β} of R groups are represented here. Note that the amide planes are perpendicular to the image.



"Shorthand" β -strand



Beta TURN




DIMENSIONI DELL'ALBUMINA

se tutta la sua catena potesse assumere la conformazione α -elica o β -foglietto

Conformazione β
 $2000 \times 5 \text{ \AA}$

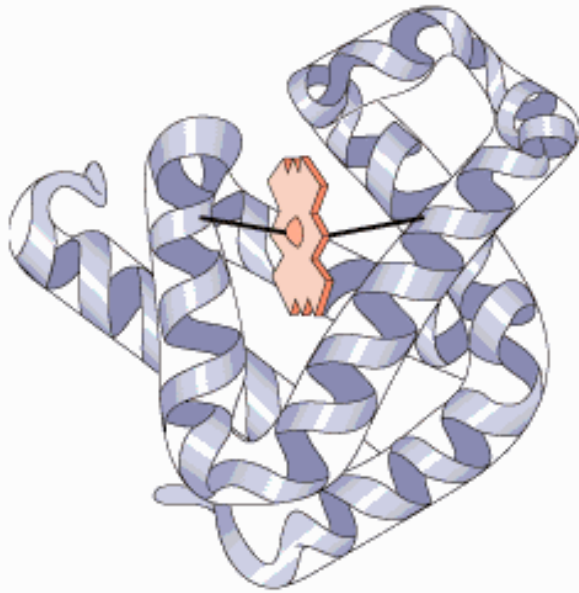
α Elica
 $900 \times 11 \text{ \AA}$



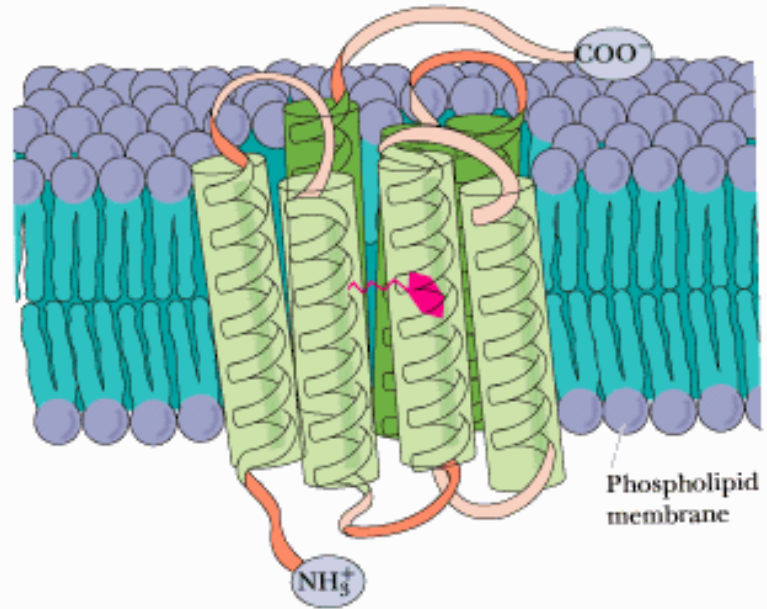
Forma globulare nativa
 $100 \times 60 \text{ \AA}$

dimensioni reali
dell'albumina

STRUTTURA TERZIARIA



Myoglobin, a globular protein



Bacteriorhodopsin

DENATURAZIONE

La denaturazione delle proteine è prodotta dal calore, da pH estremi, da alcuni solventi organici (alcool, acetone), da alcuni soluti (urea), da detergenti.

La denaturazione causa la rottura di legami deboli. La struttura covalente non viene rotta, ma viene persa l'attività biologica.

Esperimenti di C. Anfisen

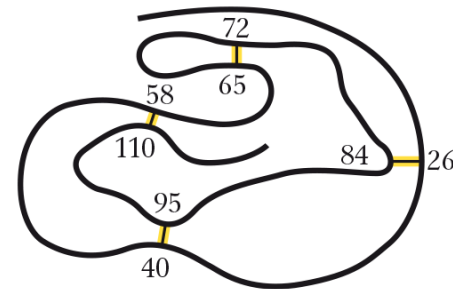
The Nobel Prize in Chemistry 1972 was divided, one half awarded to Christian B. Anfinsen "*for his work on ribonuclease, especially concerning the connection between the amino acid sequence and the biologically active conformation*", the other half jointly to Stanford Moore and William H. Stein "*for their contribution to the understanding of the connection between chemical structure and catalytic activity of the active centre of the ribonuclease molecule*".

proteine native = conservano la loro attività biologica

proteine denaturate = conformazione casuale associata a perdita della loro attività biologica

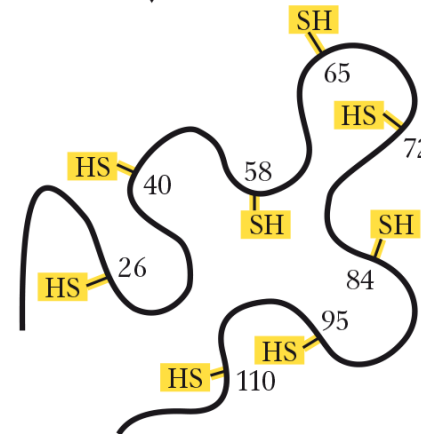
CHE COSA SUCCEDDE NEL PROCESSO DI DENATURAZIONE?

Le catene polipeptidiche delle proteine sono avvolte in strutture tridimensionali in un modo caratteristico per ciascuna proteina. Ciò conferisce alla proteina la sua attività biologica. Quando la proteina viene denaturata, la disposizione tridimensionale della sua catena viene rotta ed essa si avvolge in strutture casuali.



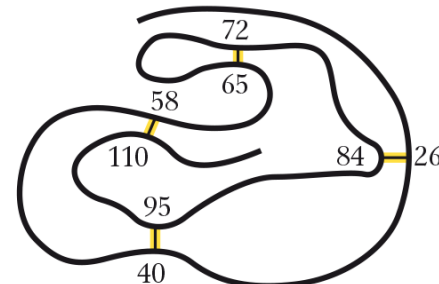
Stato nativo, cataliticamente attivo.

aggiunta di urea e di mercaptoetanolo



Stato srotolato, inattivo. I ponti disolfuro sono stati ridotti a residui di Cys.

allontanamento dell'urea e del mercaptoetanolo



Stato nativo, cataliticamente attivo. I ponti disolfuro si sono riformati correttamente.

RIPIEGAMENTO DELLE PROTEINE

Esperimenti di denaturazione-rinaturazione (C. Anfisen, Premio Nobel per la Chimica nel 1972) hanno dimostrato che l'informazione necessaria per il corretto ripiegamento di una proteina sta nella sua **sequenza amminoacidica**.

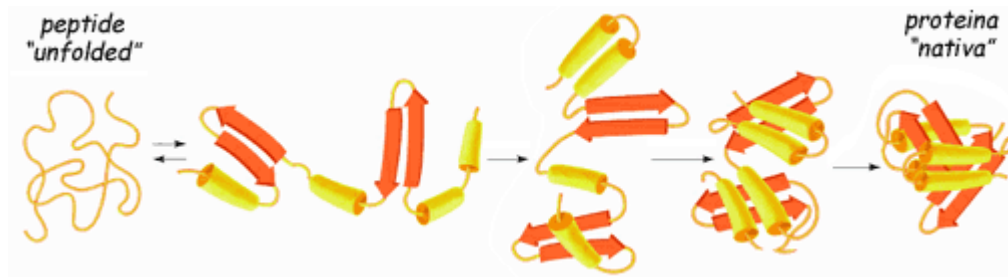
Ipotesi di ripiegamento casuale: una proteina di 100 AA impiegherebbe 1.6×10^{26} anni! In realtà molte proteine si ripiegano in pochi secondi.

Paradosso di Levinthal: la differenza fra il tempo di ripiegamento calcolato e quello effettivo

Due stadi:

1. formazione dei motivi strutturali secondari: **gli AA idrofobici**, rifuggendo l'acqua, tendono ad interagire fra loro determinando la formazione di strutture secondarie.

2. formazione della struttura terziaria: i motivi strutturali secondari poi interagiscono tra loro per dare origine alla struttura terziaria, che si formerà passando attraverso una serie di conformazioni intermedie.



Il ripiegamento corretto è determinato anche dall'intervento di altre proteine: CHAPERON. Impediscono aggregazione e il ripiegamento non corretto.

FORZE CHE STABILIZZANO LA STRUTTURA TERZIARIA

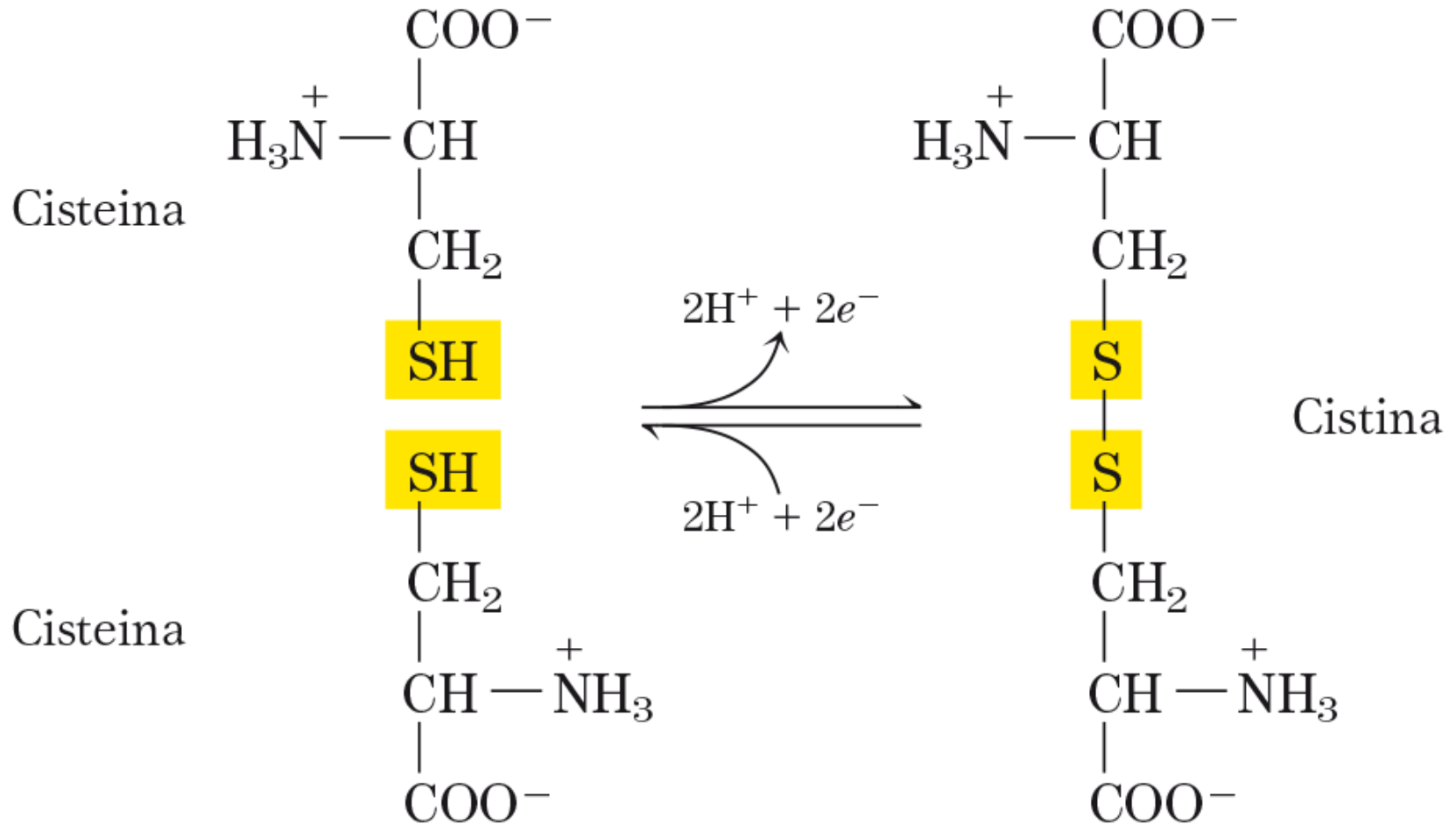
NON COVALENTI: Basso contenuto energetico MA il gran numero di singole interazioni costituisce una forza di legame sufficiente a stabilizzare la struttura della proteina stessa.

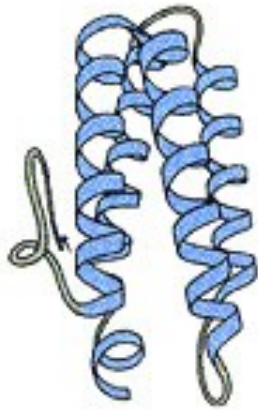
- Forze idrofobiche
- Legami idrogeno
- Interazioni elettrostatiche
- Forze di van der Waals (coinvolgono dipoli)

COVALENTI

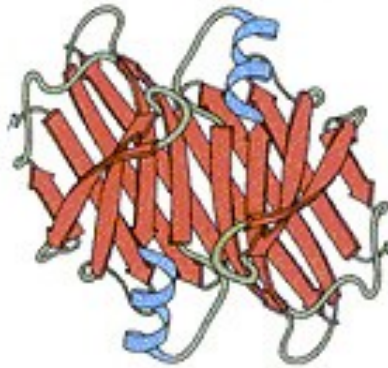
ponti disolfuro

Formazione reversibile di un ponte disolfuro per ossidazione di due molecole di cisteina

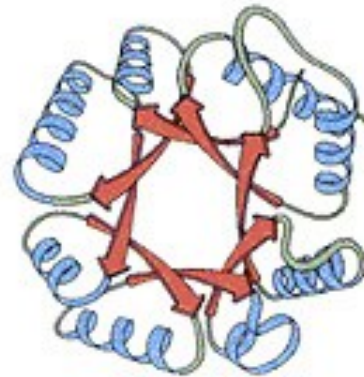




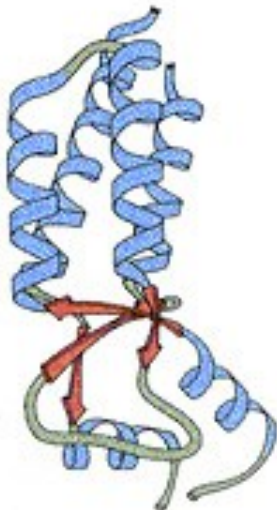
Myohemerythrin



Prealbumin



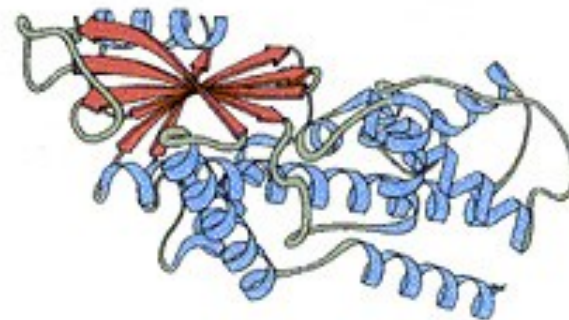
Pyruvate kinase, domain 1



Tobacco mosaic coat protein



Immunoglobulin, V_H domain



Hexokinase, domain 2

(a) Predominantly α helix

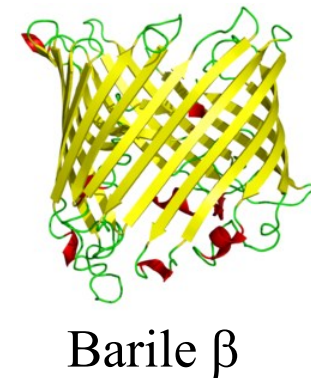
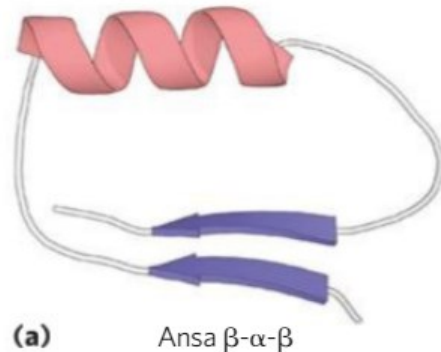
(b) Predominantly β sheet

(c) Mixed α helix and β sheet

Copyright © 2000 Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

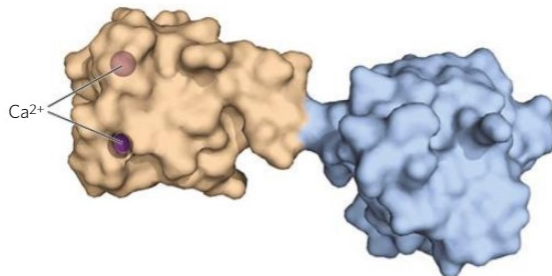
MOTIVO

è un avvolgimento polipeptidico caratteristico, ben riconoscibile formato da due o più elementi di struttura secondaria e dagli elementi di connessione tra di essi.



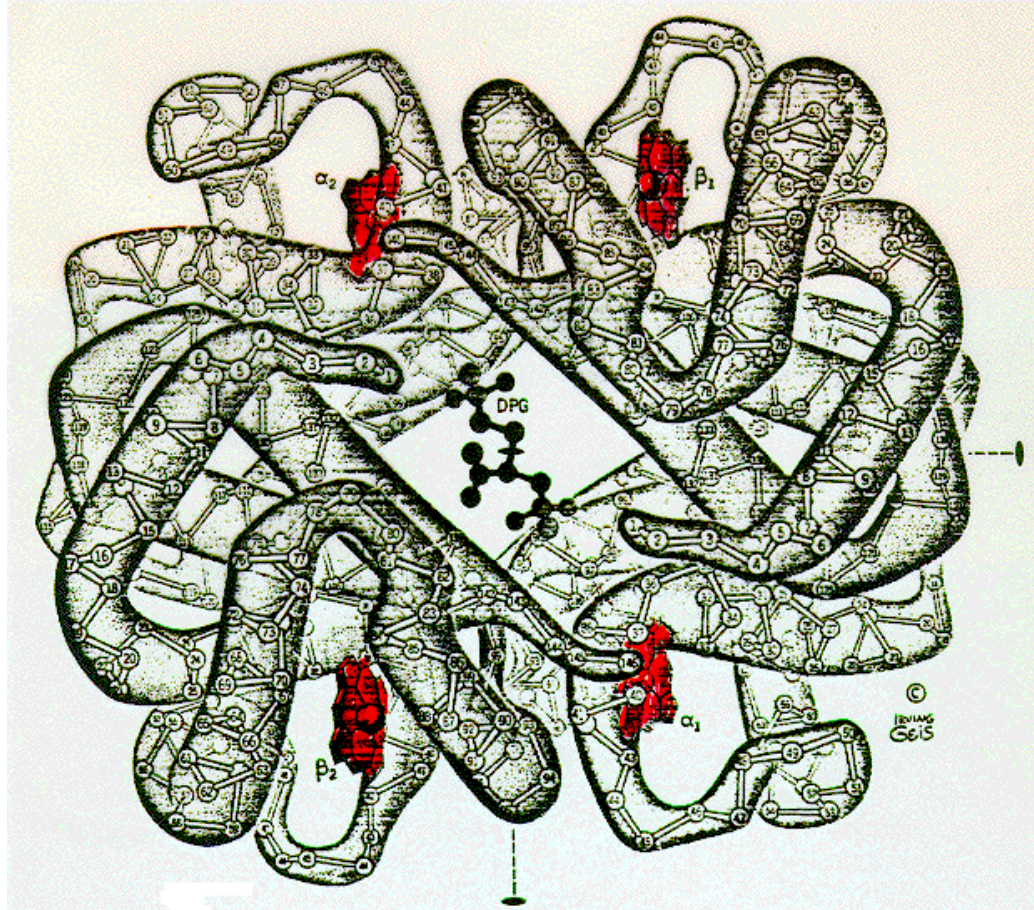
DOMINIO

I domini sono unità funzionali e/o strutturali distinte in una proteina. Parte di struttura terziaria. Di solito sono responsabili di una particolare funzione o interazione, contribuendo al ruolo generale di una proteina.

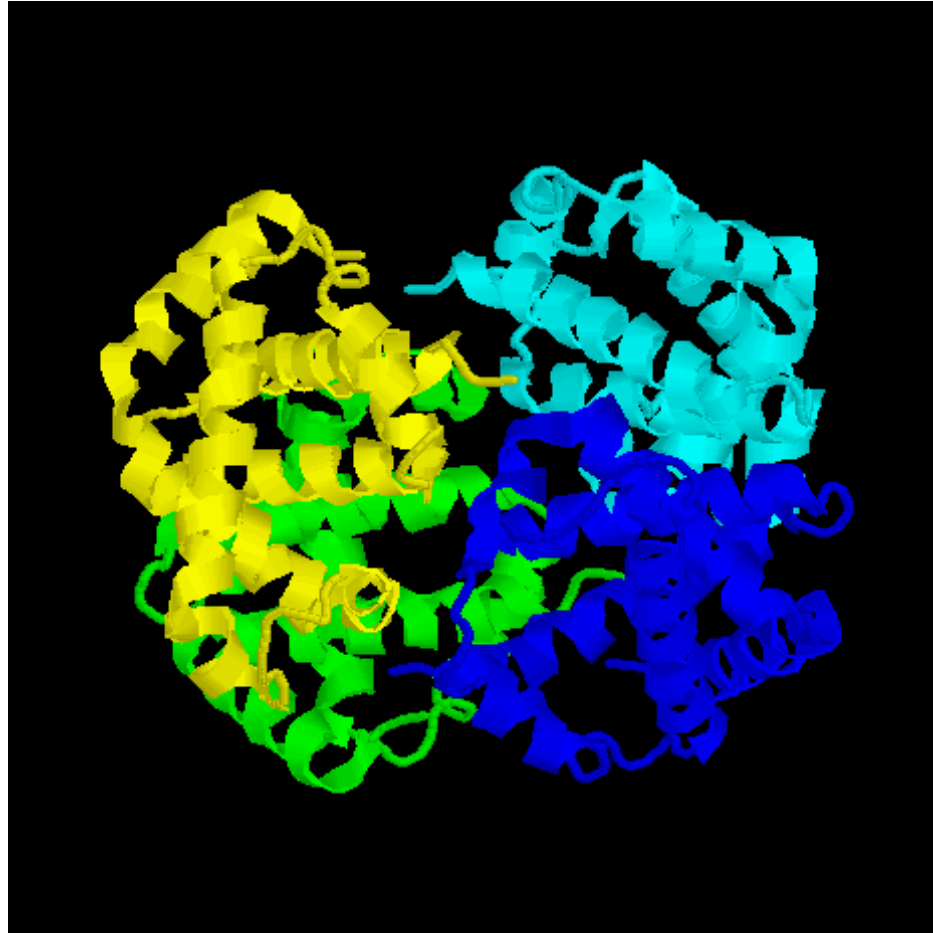


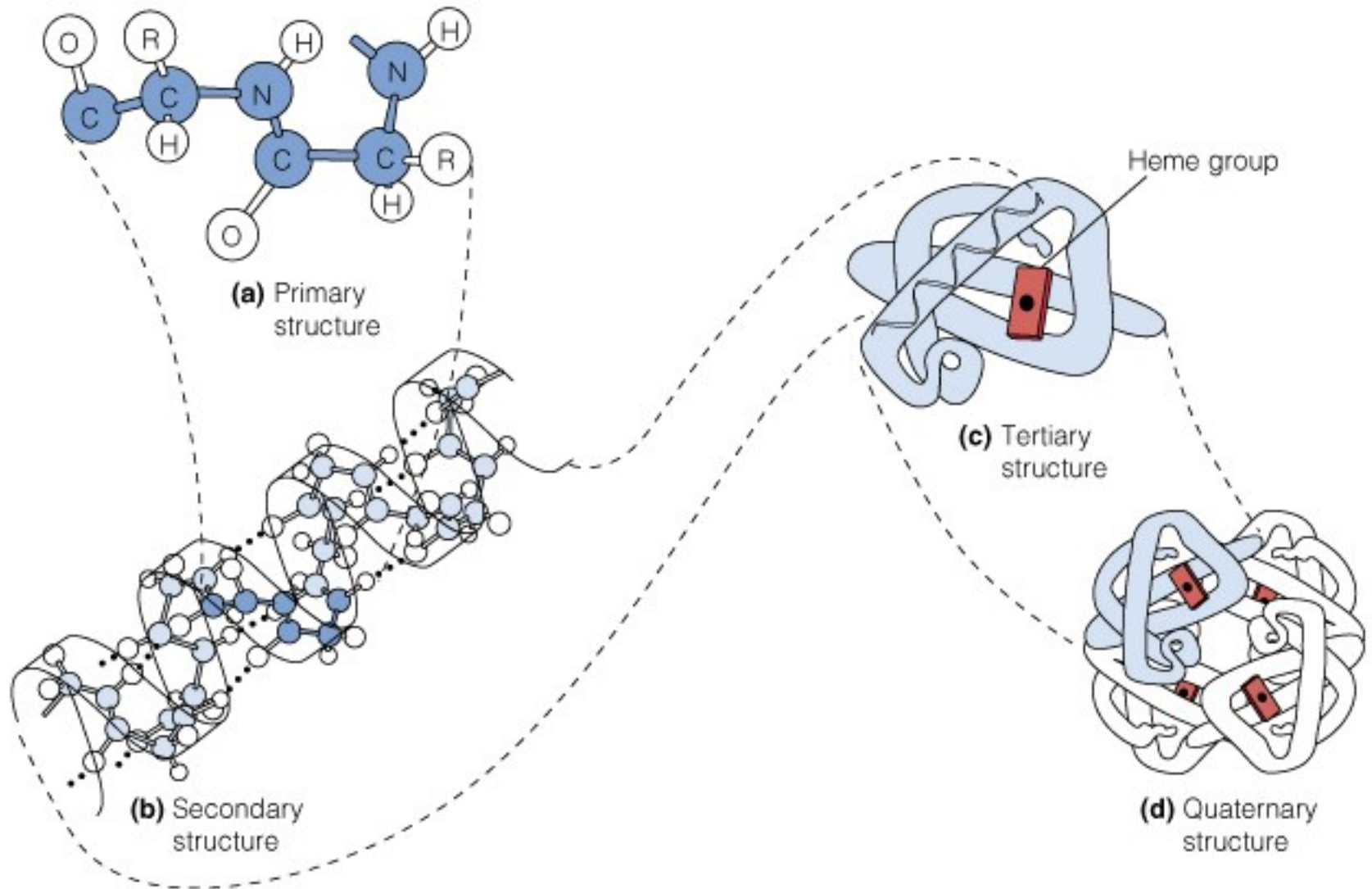
I due domini della troponina C

STRUTTURA QUATERNARIA



EMOGLOBINA



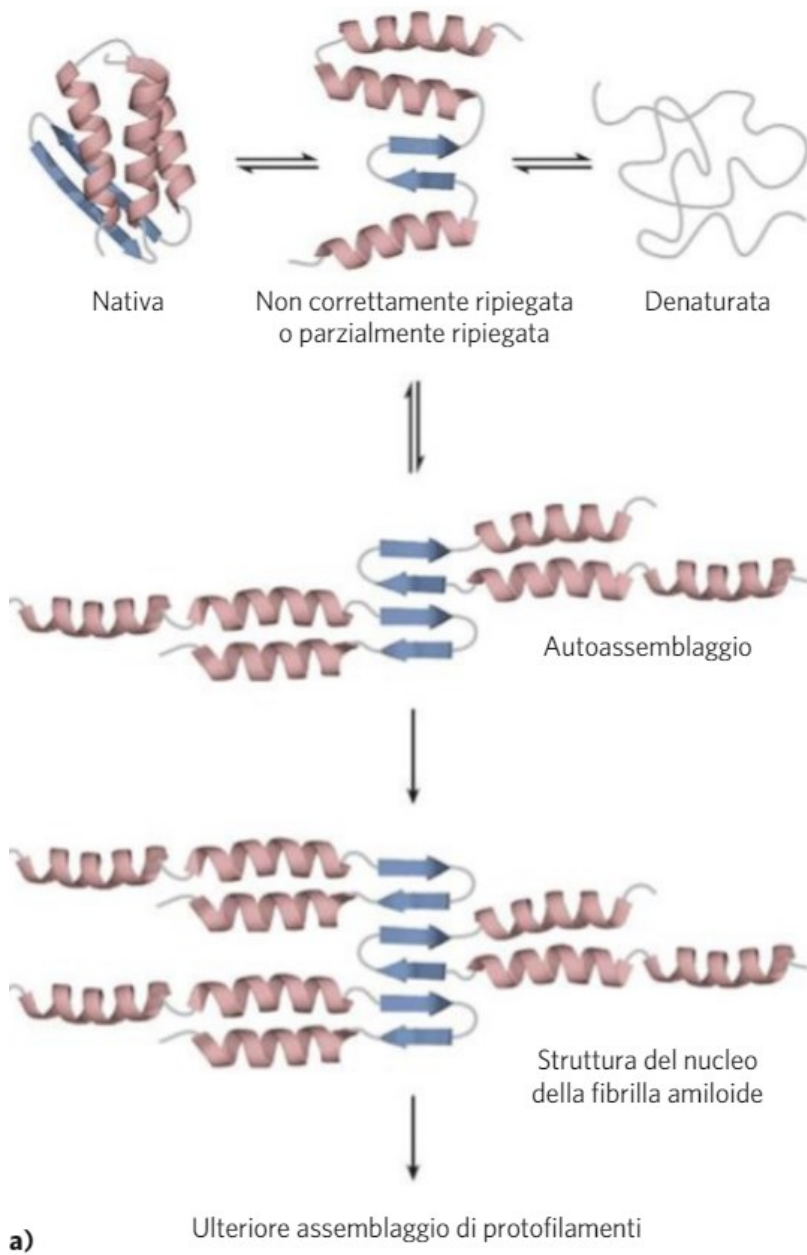


Copyright © 2000 Benjamin/Cummings, an imprint of Addison Wesley Longman, Inc.

**I DIFETTI NELL'AVVOLGIMENTO
DELLE PROTEINE**

I difetti nell'avvolgimento delle proteine

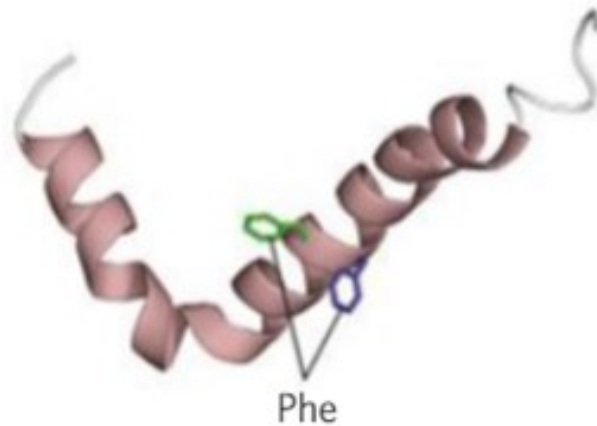
- Gli **avvolgimenti non corretti** costituiscono uno dei problemi principali di tutti i tipi di cellule. Ci sono numerosi processi che favoriscono l'avvolgimento delle proteine, ma circa un quarto o più di tutti i polipeptidi sintetizzati viene distrutto perché essi non sono avvolti in maniera corretta.
- Gli **avvolgimenti non corretti** possono causare o contribuire allo sviluppo di **gravi malattie** (rare). Es: il diabete di tipo 2, la malattia di Alzheimer, la malattia di Huntington e la malattia di Parkinson.
- In molti casi, una proteina solubile viene secreta dalle cellule con un avvolgimento non corretto e convertita in una **fibra extracellulare amiloide** insolubile, da cui il nome di amiloidosi dato a queste malattie (Amiloidosi è il termine usato per definire un gruppo di malattie caratterizzate dall'accumulo, spesso in sede extracellulare, di un materiale proteico fibrillare, definito come amiloide).
- Le fibre sono molto ordinate con un alto numero di strutture a foglietti β . I segmenti β sono ordinati perpendicolarmente all'asse della fibra.



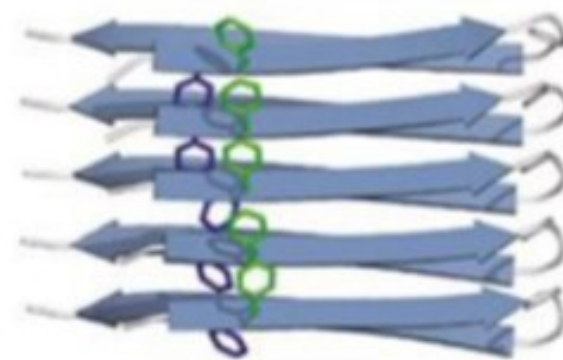
a)

Malattia di Alzheimer: associata al deposito da parte dei neuroni di fibre amiloidi extracellulari costituite dal peptide β -amiloide. Esso deriva da una proteina transmembrana più grande, chiamata proteina precursore del peptide β -amiloide, presente in molti tessuti umani.

Quando proteasi specifiche tagliano la proteina, il peptide β -amiloide diventa strutturalmente instabile, lascia la membrana e perde la sua struttura ad α -elica. A questo punto si può organizzare lentamente in fibrille amiloidi (c), che contribuiscono a formare le caratteristiche placche presenti all'esterno del tessuto nervoso di persone affette dalla malattia di Alzheimer. I gruppi R aromatici hanno un ruolo importante nella stabilizzazione della struttura amiloide. L'amiloide è ricco di strutture β , con le catene β che si dispongono perpendicolarmente all'asse della fibrilla amiloide. Il peptide β -amiloide prende la forma di due strati di foglietti β paralleli estesi e sovrapposti. I depositi di queste fibre amiloidi sembrano essere la causa principale della malattia di Alzheimer



(b) Peptide β -amiloide



(c) Fibrille amiloidi

Prioni

Prione, dall'inglese prion (acronimo di PRoteinaceous Infective ONly particle)
Molecola di natura proteica (un isomero conformazionale di una glicoproteina) con la capacità di trasmettere la propria forma mal ripiegata a varianti normali della stessa proteina.

proteina presente nei mammiferi tra cui l'uomo, in tutti gli organi ma in particolare sulle cellule del tessuto nervoso.

PrP^{Sen} = proteina sensibile alle proteasi

PrP^{C} = proteina cellulare

forma alterata

PrP^{Res} = proteina prionica resistente alle proteasi

PrP^{Sc} = proteina della scrapie

È una glicoproteina, non un virus o un microrganismo, quindi priva di acidi nucleici e conseguentemente dell'informazione genetica basata su di essi.

Stanley B. Prusiner: Premio Nobel per la medicina nel 1997.

Prioni

I prioni non infettivi PrP^C (C =cellulare), si trovano nelle cellule nervose come normali proteine citoplasmatiche o associate alla membrana. Di rado le PrP^C possono trasformarsi spontaneamente nell' isoforma meno solubile e resistente alle proteasi (PrP^{Sc}, dove Sc indica scrapie).

Entrambe le forme hanno struttura primaria identica, ma si distinguono per la struttura secondaria e terziaria (nella figura sono illustrati modelli delle due strutture, visto che non sono ancora note le strutture esatte): la PrP^C contiene più α -eliche, mentre la PrP^{Sc} contiene più strutture a foglietto β .

C. Malattie da prioni

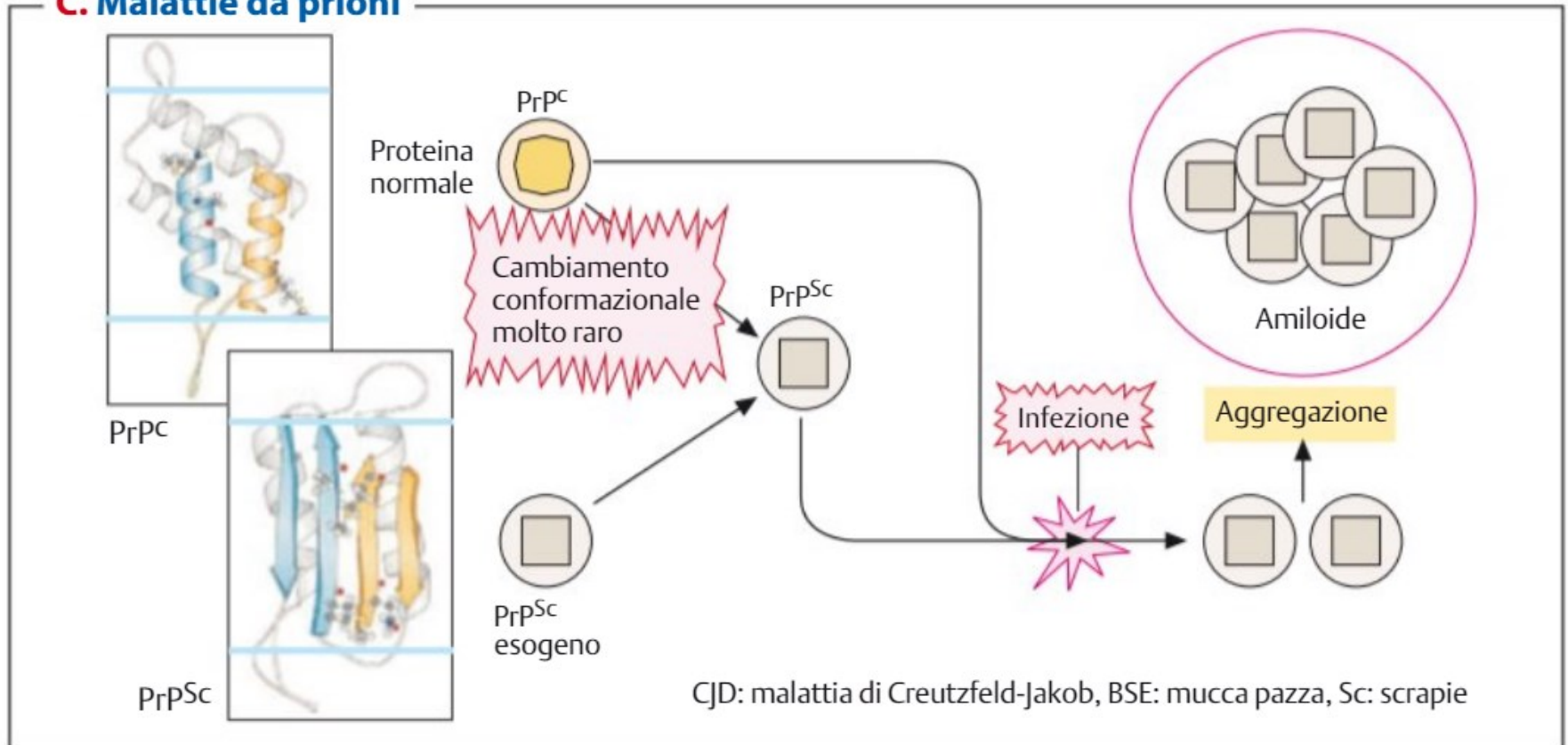


Figura 6.54 Biochimica patologica (C. Da Huang ZI, Prusiner SB, Cohen FE. Scrapie prions: a three-dimensional model of an infectious fragment. *Fold Des.* 1996: 13–19)

Malattie da prioni

Questo gruppo di malattie neurodegenerative è dovuta a un mal ripiegamento di proteine. Ne fanno parte la malattia di Creutzfeldt-Jakob (CJD) negli umani, la scrapie nel cane e nelle pecore, e la BSE (bovine spongiform encephalopathy, cosiddetta mucca pazza) nei bovini. Queste malattie vengono trasmesse dai prioni.

La particolarità dei prioni è che le molecole PrP possono costituire germi cristallini che operano la trasformazione conformazionale da PrP^C in PrP^{Sc} (infezione). **Questo è il motivo della patogenicità delle PrP^{Sc}.** La trasformazione da PrP^C in PrP^{Sc} avviene lentamente e richiede anni. Le PrP^{Sc} si aggregano infine formando delle fibre (amiloidi), inducendo la morte cellulare (apoptosi) delle cellule infette e provocando deficit neuronali. La trasmissione dei prioni può avvenire attraverso il cibo. Poiché i prioni dei bovini somigliano a quelli umani, si pensa che le persone possano contagiarsi mangiando carne bovina infetta da BSE. Il meccanismo con cui la presenza di PrP^{Sc} porta all'encefalopatia spongiforme è sconosciuto.