



Corso di
Proprietà di Biopolimeri

Prof. R. Urbani

Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche

e-mail: rurbani@units.it

a.a. 2023-2024

Struttura terziaria

STRUTTURA TERZIARIA

Struttura tridimensionale complessiva di una catena biopolimerica.

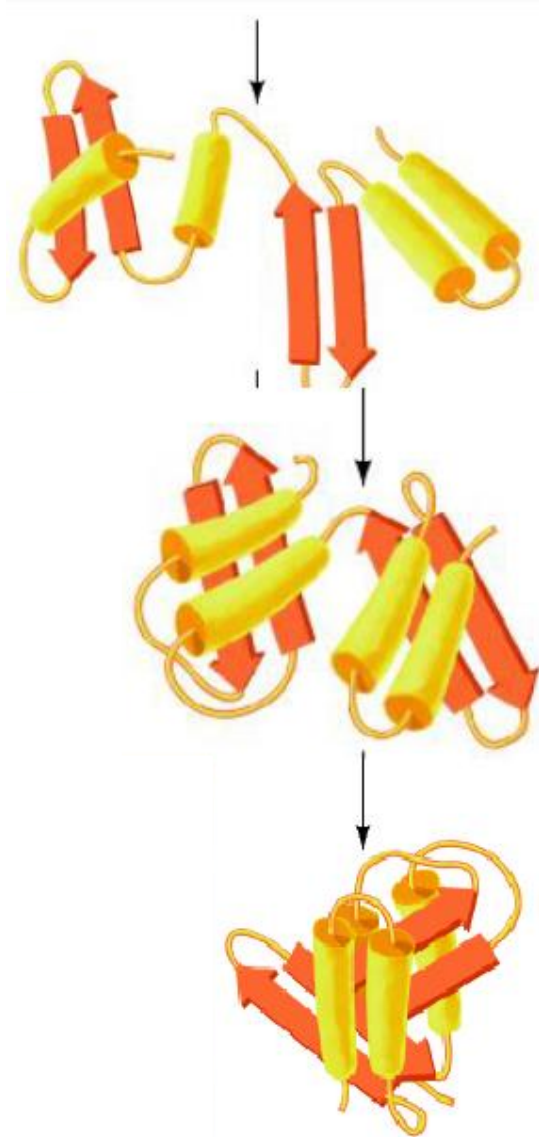
Le proteine dopo aver organizzato il proprio scheletro polipeptidico con elementi di struttura secondaria (α -eliche e β -foglietti, β -turns) vanno incontro ad un ulteriore ripiegamento della catena polipeptidica sino ad assumere **una struttura fortemente impaccata**.

Le porzioni con strutture secondarie sono avvicinate e impaccate mediante **anse** e **curve** della catena.

Residui lontani nella struttura primaria sono avvicinati dal ripiegamento in modo da stabilire interazioni tra le loro catene (**interazioni a lungo raggio**).

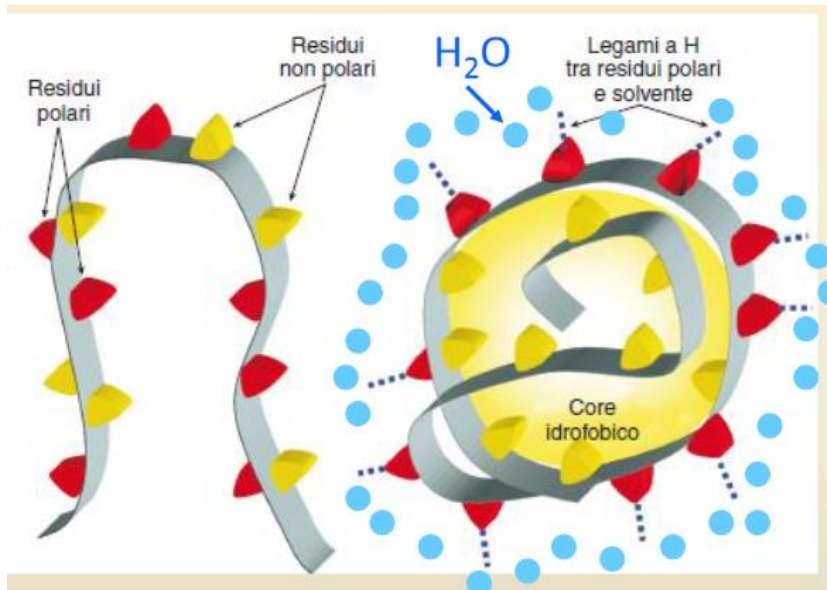
Stabilizzata da ponti disolfuro e legami non covalenti.

Dato il piccolo numero di motivi secondari possibili in DNA, anche le strutture terziarie possibili sono molto piú semplici.



Una proteina, fra tutti i possibili ripiegamenti che può assumere, adotta quello in cui le interazioni fra le catene R dei suoi residui sono **OTTIMALI** e consentono di raggiungere la maggiore stabilità (e quindi uno **stato di minima energia**)
La proteina adotta la sua conformazione nativa.

La catena polipeptidica si ripiega in modo da costringere **i domini non polari** ad associarsi tra loro in un **CORE idrofobico** da cui sono escluse le molecole d'H₂O.



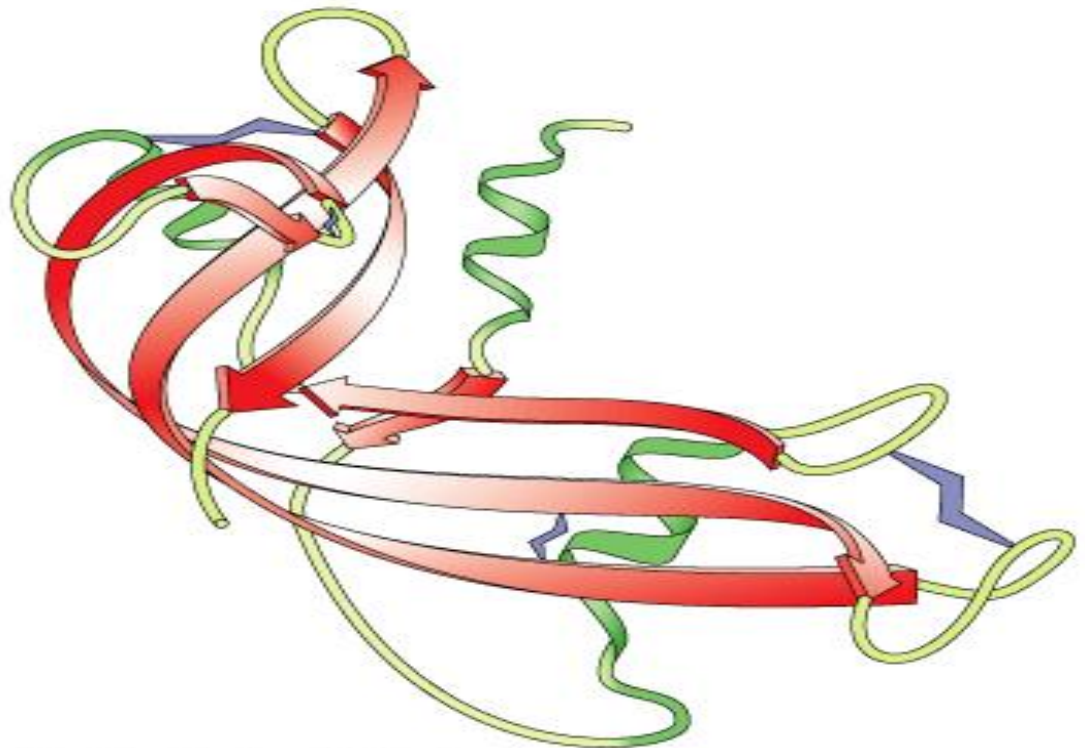
Durante l'avvolgimento **le catene laterali polari** tendono ad essere spinte sulla superficie esterna della proteina, a contatto con le molecole d'H₂O della sfera di solvatazione.

Per azione **dell'effetto idrofobico** la proteina collassa su stessa e assume una struttura più ordinata, quindi **diminuisce l'entropia del polipeptide** e **aumenta quella del solvente** (dal core della proteina vengono espulse molecole d'H₂O).

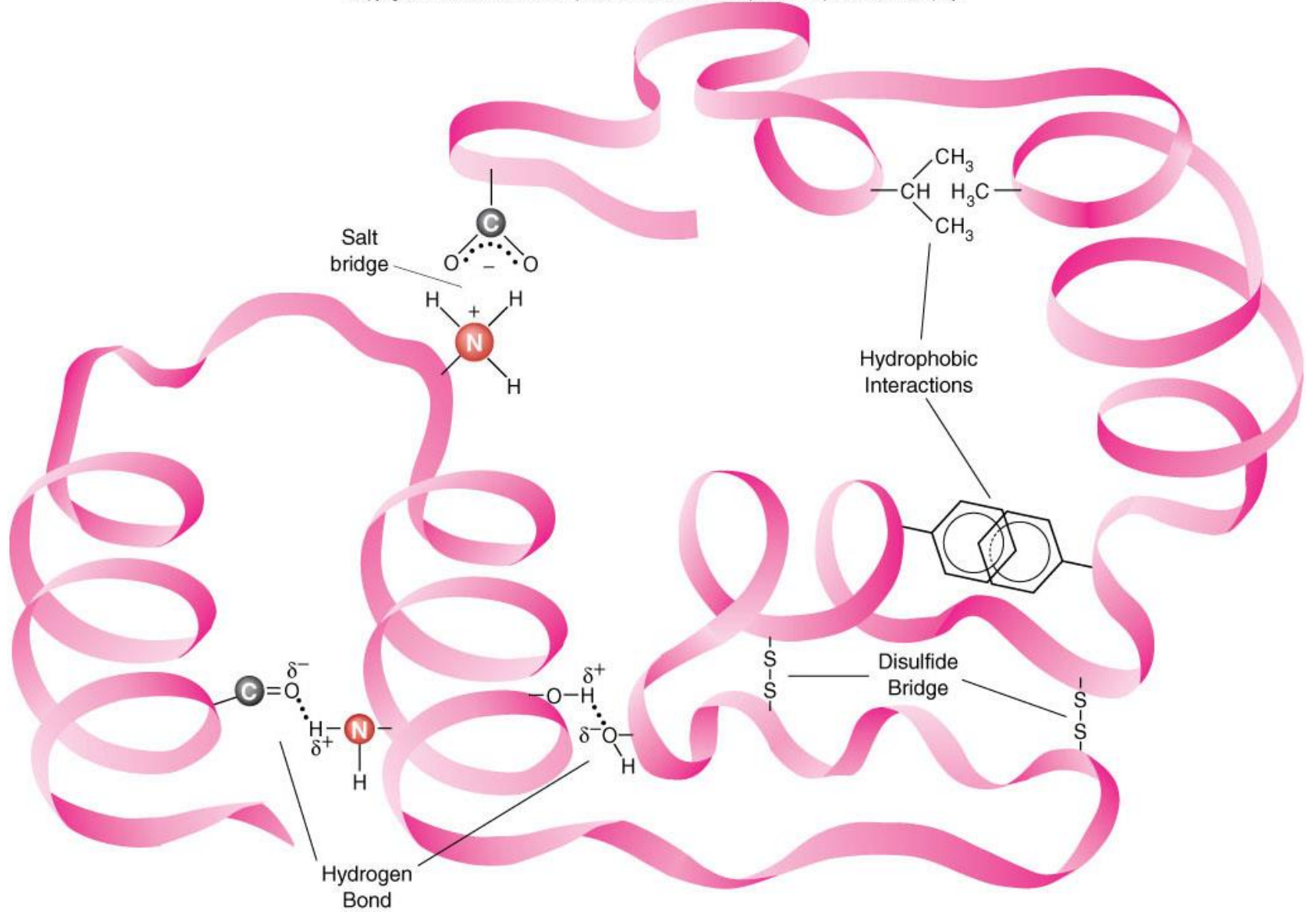
Il processo risulta energeticamente favorito dalla formazione di numerosissime interazioni tra le catene laterali degli amminoacidi che vengono avvicinati.

N.B.: La struttura terziaria si riferisce alla struttura tridimensionale **globale** di una **singola catena polipeptidica**.

Regioni di struttura secondaria regolare come le α eliche e i foglietti β si riarrangiano nello spazio insieme alle regioni piu' destrutturate ("random coil" o gomitolo statistico) per dar luogo ad una struttura regolare compatta generalmente globulare che e' stabilizzata da interazioni non covalenti e, talvolta, da ponti disolfuro.



After a drawing by Jane S. Richardson.
Copyright 1999 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.



INTERAZIONI DEBOLI IN AMBIENTE ACQUOSO

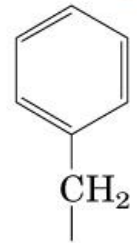
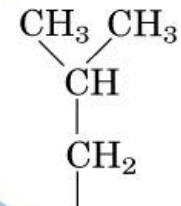
• Legami idrogeno



• Interazioni ioniche



• Interazioni idrofobiche



H₂O

• Interazioni di Van der Waals



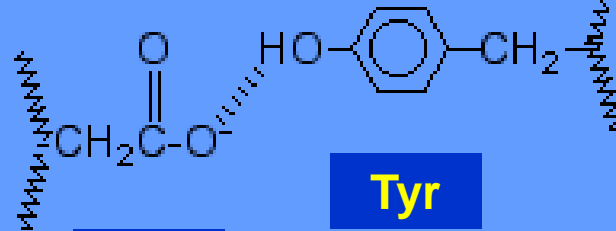
Due atomi
sufficientemente vicini

LEGAME IDROGENO E STRUTTURA TERZIARIA DELLE PROTEINE

Accettore di idrogeno

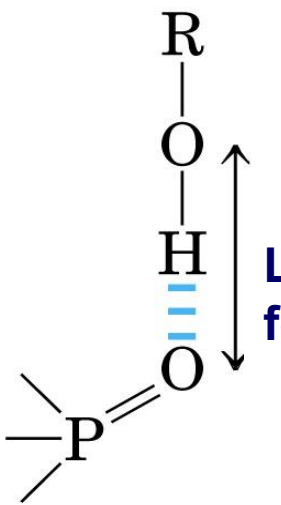
Donatore di idrogeno

Asp - Tyr



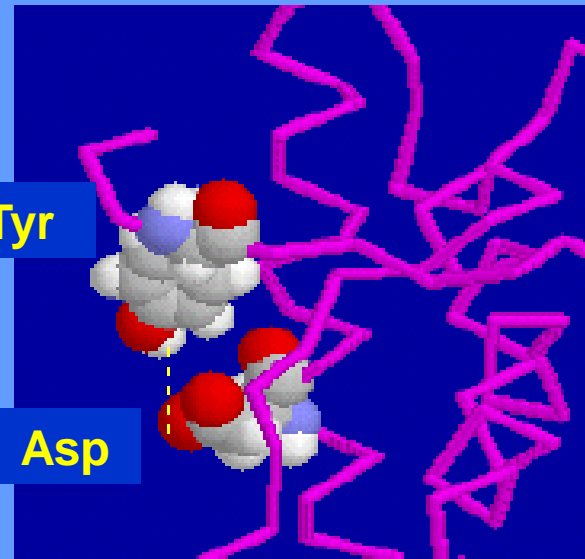
Asp

Tyr



Tyr

Asp

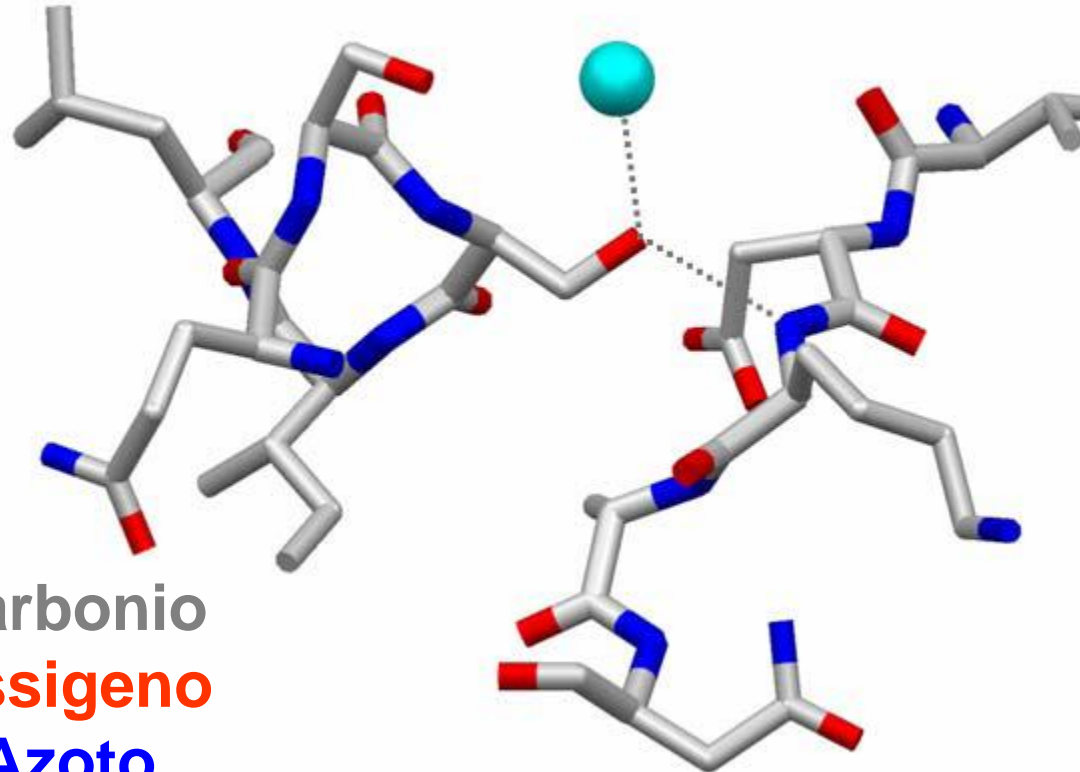
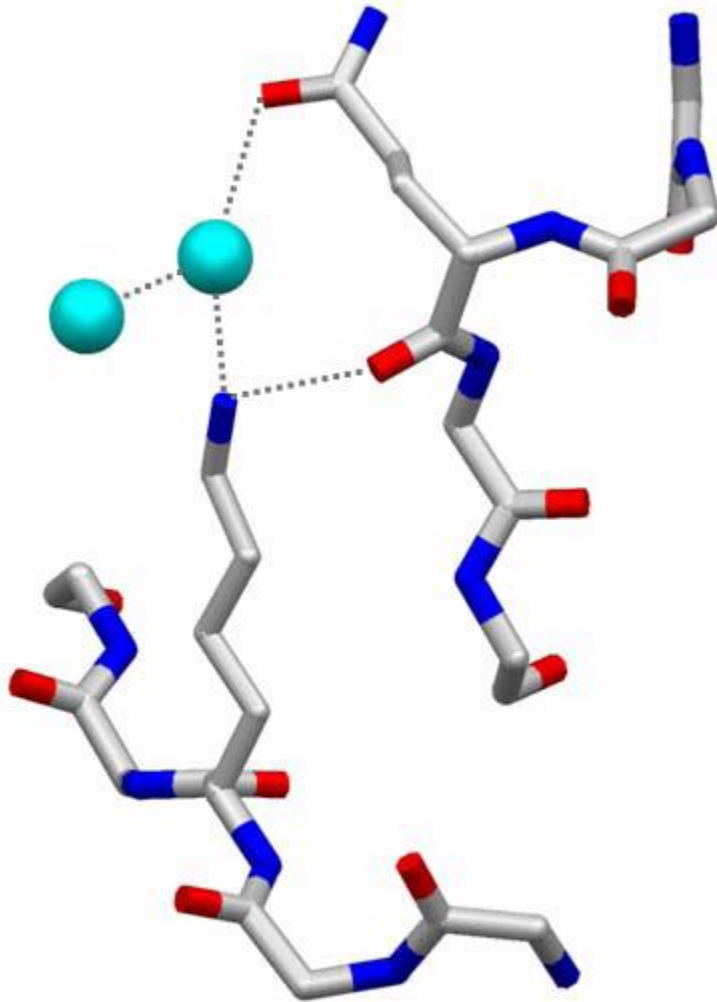


bole

LEGAME IDROGENO

Lys –carbonile <3.5Å,
12.5 -21 kJ/mole

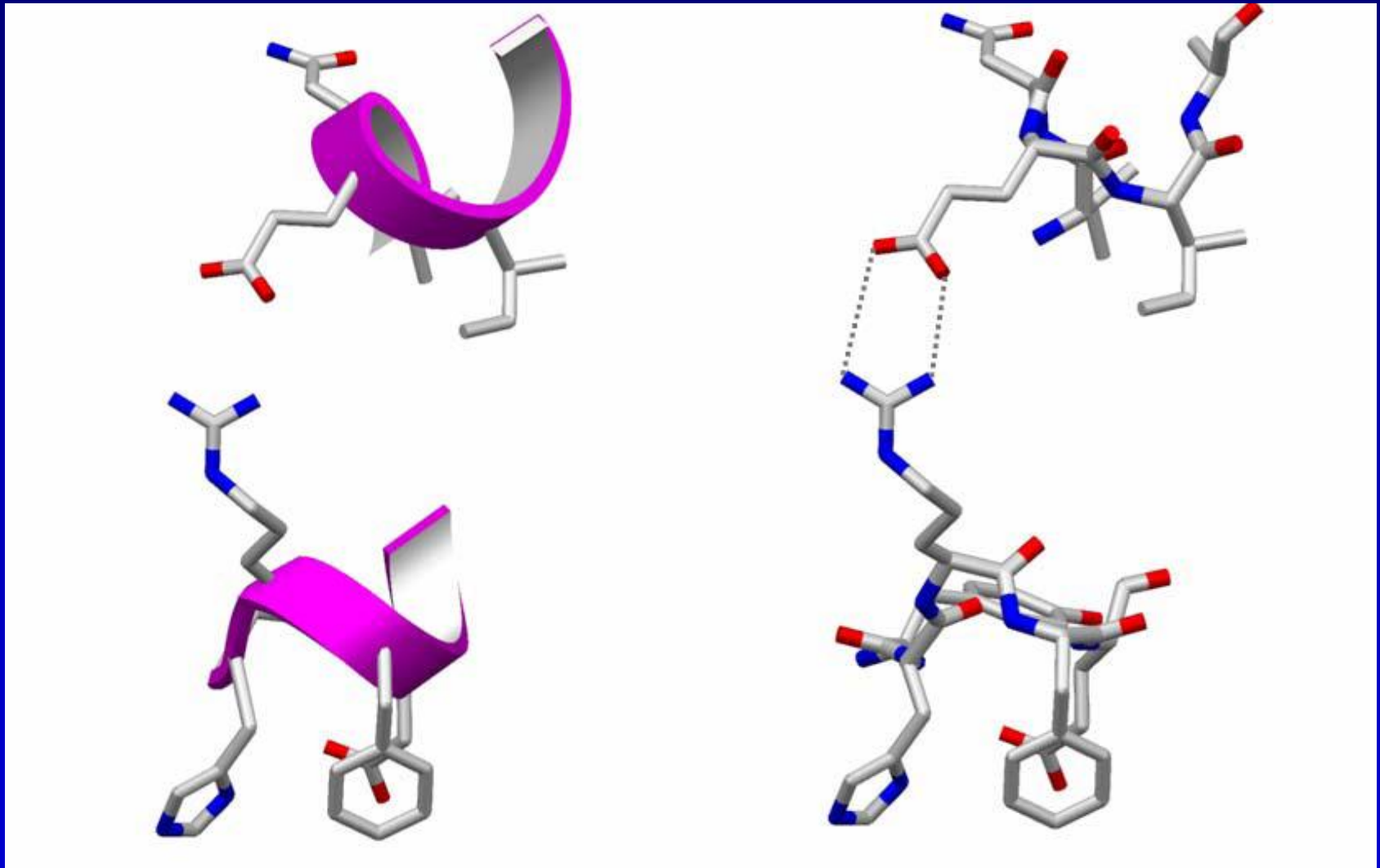
Ser -NH
<3.5Å, 2-6 kJ/mole



Carbonio
Ossigeno
Azoto

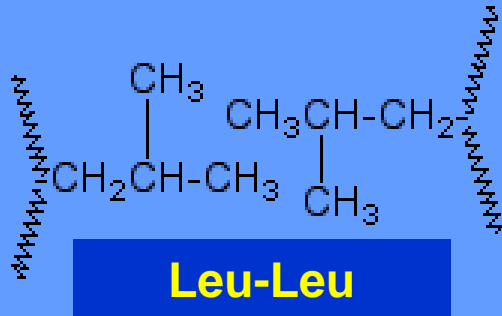
PONTI SALINI E STRUTTURA TERZIARIA DELLE PROTEINE

Arg- Glu
<3.5Å, 12.5 -17 kJ/mol

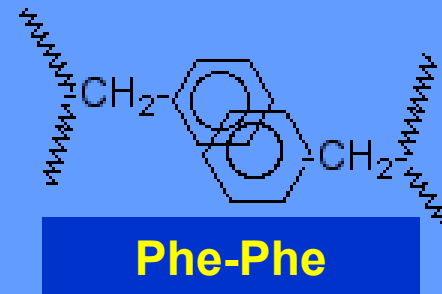


INTERAZIONI IDROFOBICHE E STRUTTURA TERZIARIA DELLE PROTEINE

Catene laterali contenenti gruppi non polari



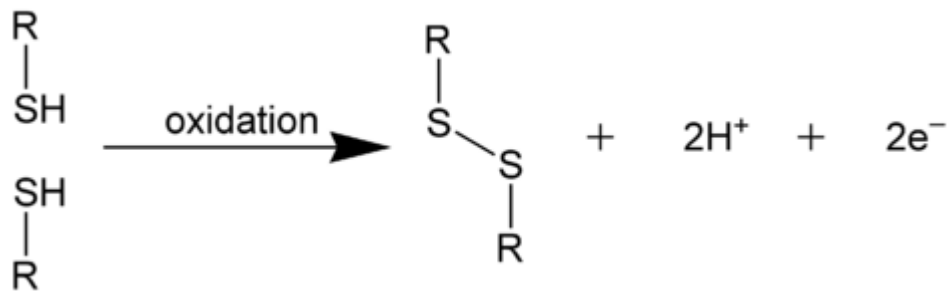
**gruppi alchilici
(Ala, Val, Leu, Ile)**



**anelli aromatici
(Phe, Tyr, Trp)**

Legame disolfuro

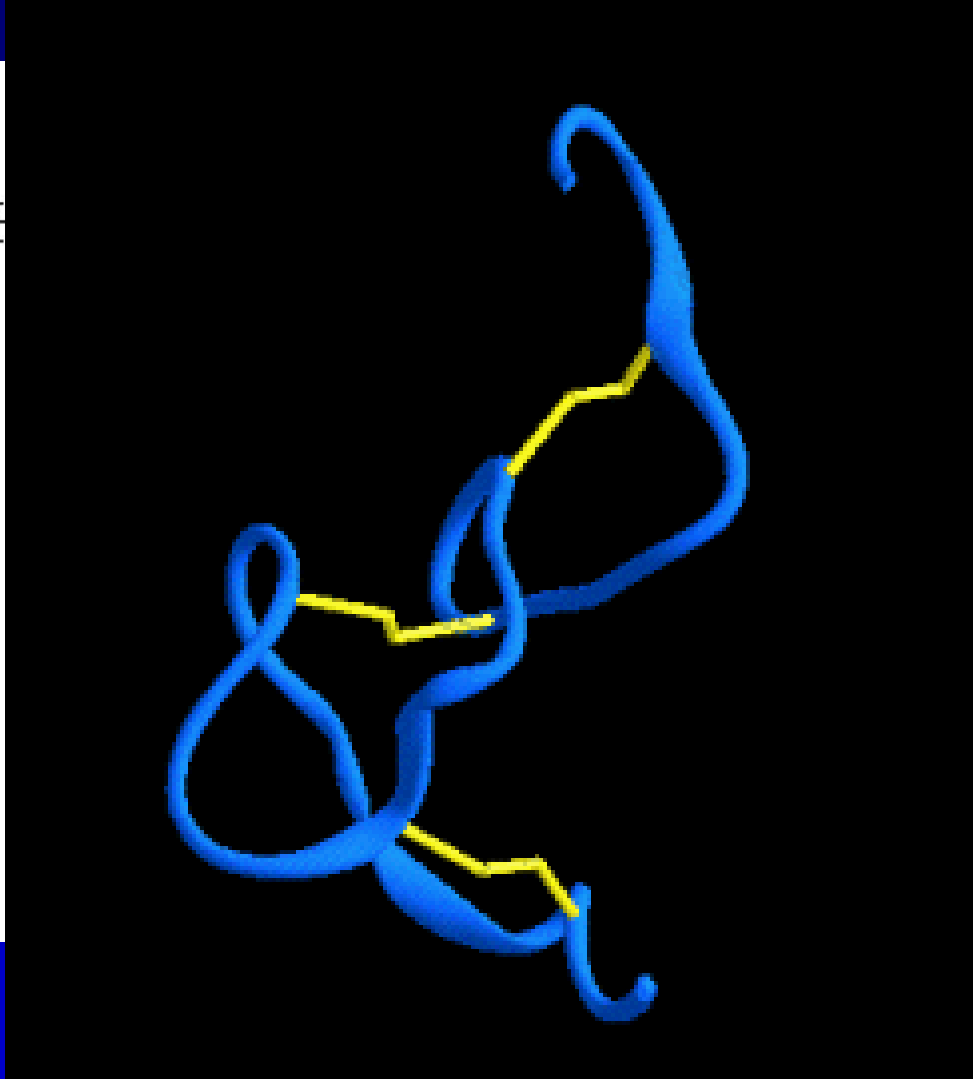
- E' un legame covalente che deriva dalla ossidazione del gruppo sulfidrilico (-SH) di *due* residui di *cisteina* con *formazione di un residuo di cistina*.
- Le due cisteine possono essere molto lontane nella stessa catena polipeptidica o appartenere a due diverse catene.
- Essendo legami covalenti, i legami disolfuro concorrono a stabilizzare la struttura delle proteine impedendone la denaturazione nell'ambiente extracellulare.



PONTI DISOLFURO

Cisteina

Cisteina



COO⁻

H

H₂

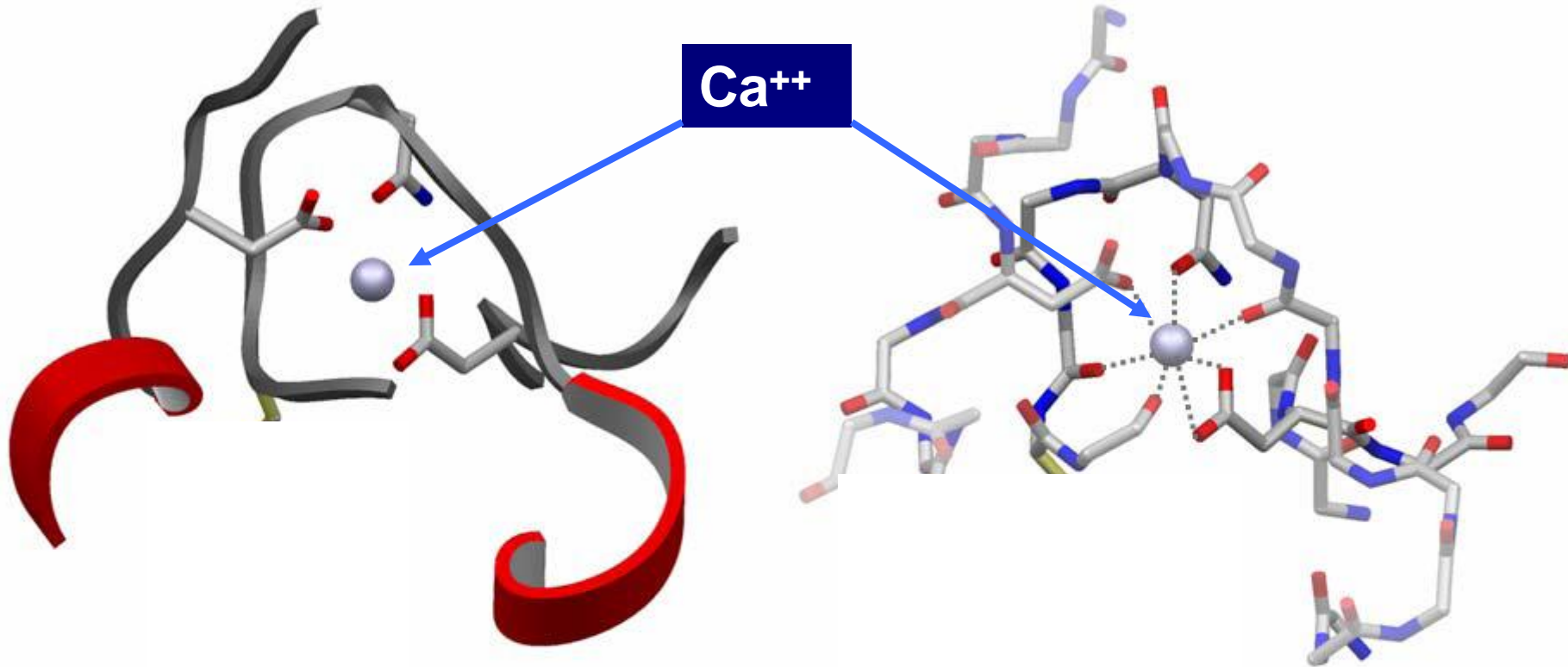
Cistina

H₂

H—NH₃⁺

COO⁻

LEGAMI CON IONI METALLICI

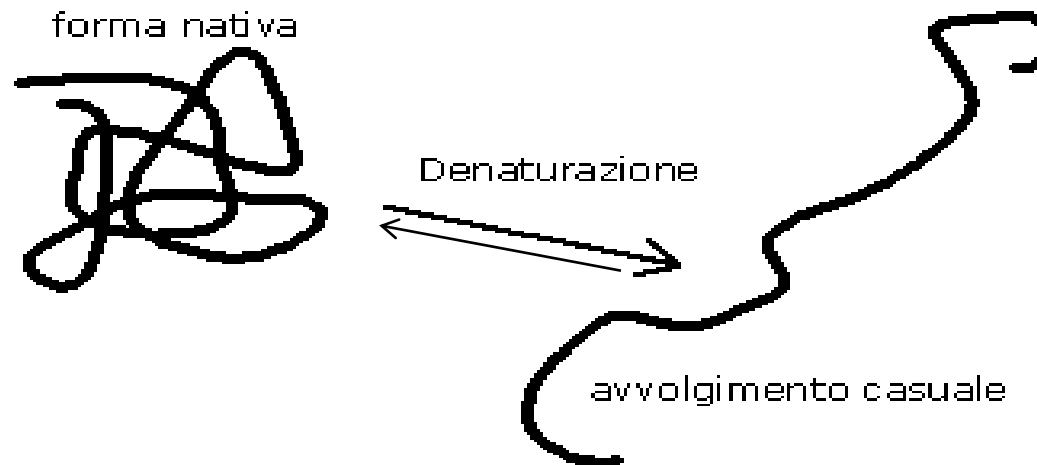


La Struttura Terziaria

- Quando le interazioni vengono meno, in presenza di elevate temperature, di pH non ottimale o di detergenti, la struttura tridimensionale viene persa, così la proteina va incontro a denaturazione, **perdendo la sua attività biologica**.



la denaturazione a volte è un processo reversibile, e, allontanando l'agente denaturante, la proteina riprende spontaneamente la sua conformazione tridimensionale (che è dettata dalla **struttura primaria**).



FOLDING DI PROTEINE

Domini e struttura terziaria

Fold (ripiegamenti) proteici

- spesso le proteine hanno strutture terziarie simili ad altre già note e/o sono composte da domini che hanno strutture terziarie simili ad altri già noti, sebbene la loro composizione nella proteina possa essere nuova
 - quasi tutti i fold delle strutture terziarie scoperti finora compaiono in molte proteine diverse
- ⇒ le **varie combinazioni** di un **numero limitato di fold** proteici genera la **diversità proteica** riscontrata negli organismi viventi

Fold proteico e funzione

Le proteine possono essere raggruppate a seconda del tipo di fold dei suoi domini

⇒ **spesso (ma non sempre) la funzione può essere riconosciuta da somiglianze strutturali e di sequenza**

Esempio:

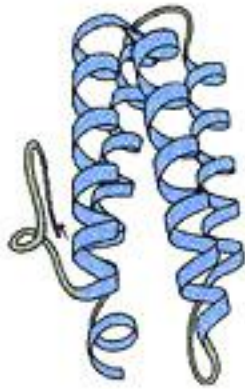
- proteine contenenti un dominio chinasi sono quasi sempre chinasi
- proteine contenenti un dominio alfa/beta idrolasico sono quasi sempre idrolasi

L'accoppiamento struttura complessiva-funzione in alcuni casi può essere debole

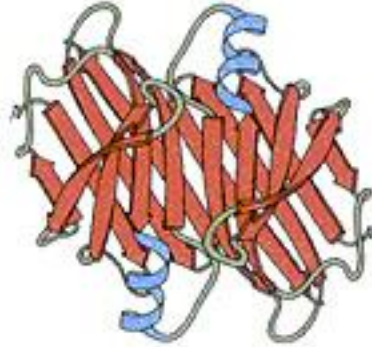
Esempio:

- dominio TIM barrel: comune a molti enzimi con funzioni biochimiche molto diversificate

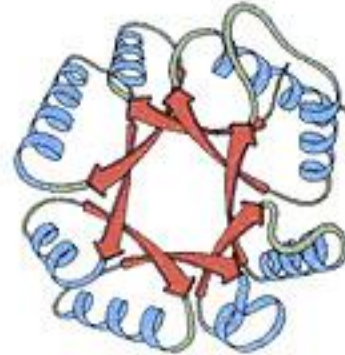
Esempi di strutture terziarie



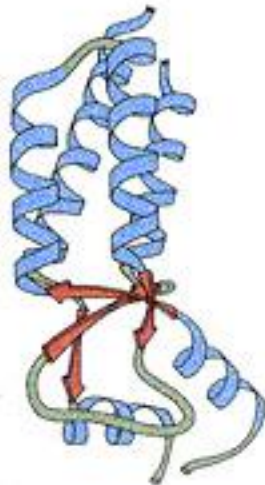
Myohemerythrin



Prealbumin



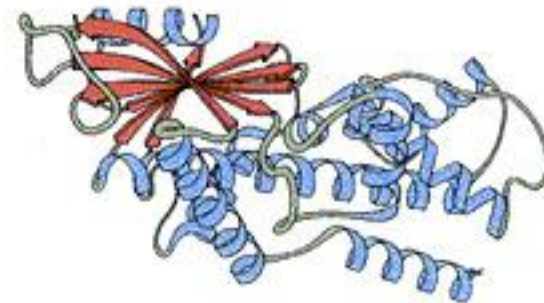
Pyruvate kinase, domain 1



Tobacco mosaic coat protein



Immunoglobulin, V, domain



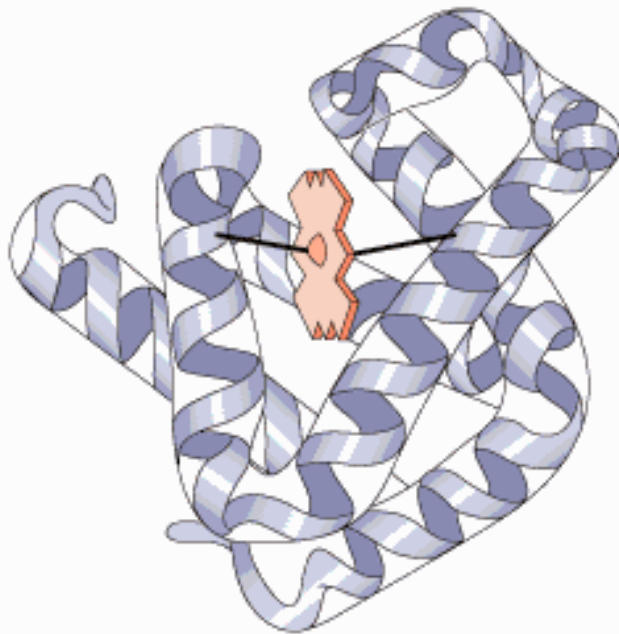
Hexokinase, domain 2

(a) Predominantly α helix

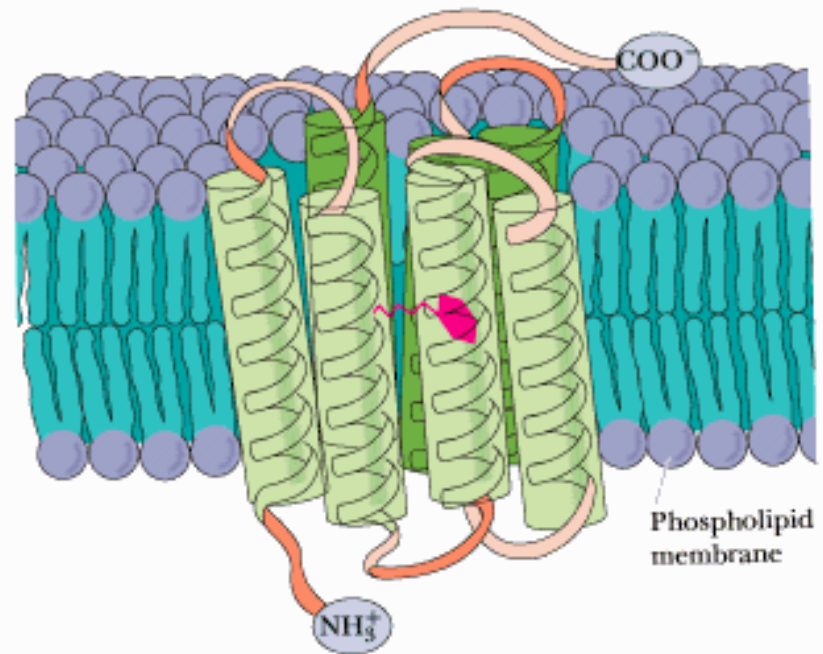
(b) Predominantly β sheet

(c) Mixed α helix and β sheet

STRUTTURA TERZIARIA DELLE PROTEINE



Myoglobin, a globular protein

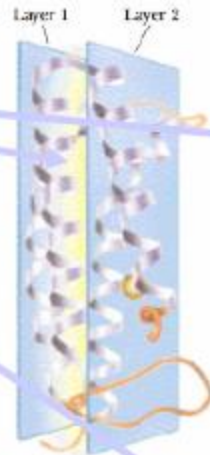


Bacteriorhodopsin

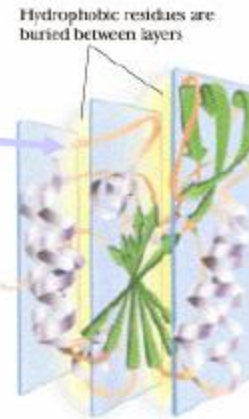
Esempi di domini proteici con diverso numero di strati dello scheletro proteico

Residui idrofobici in giallo

due strati di α -elica

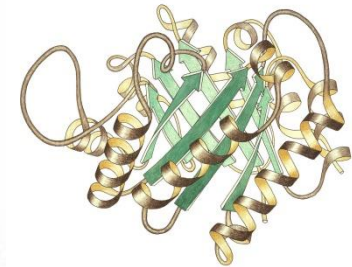


(a) Cytochrome *c*'

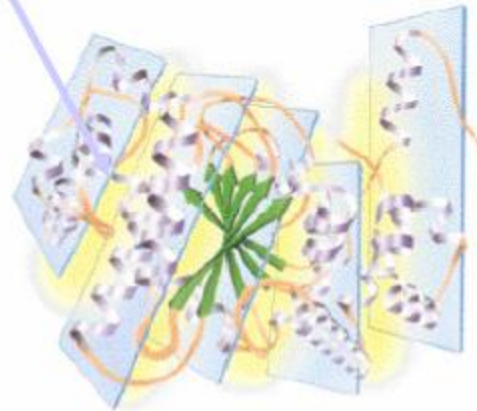


(b) Phosphoglycerate kinase (Domain 2)

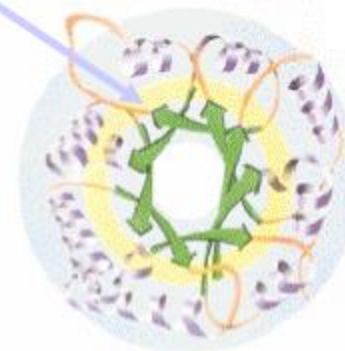
uno strato di foglietti β fra due strati di elica, in tutto 3 strati



Una inusuale struttura a 5 strati: uno strato di filamenti β chiuso a sandwich tra 4 strati di α -eliche



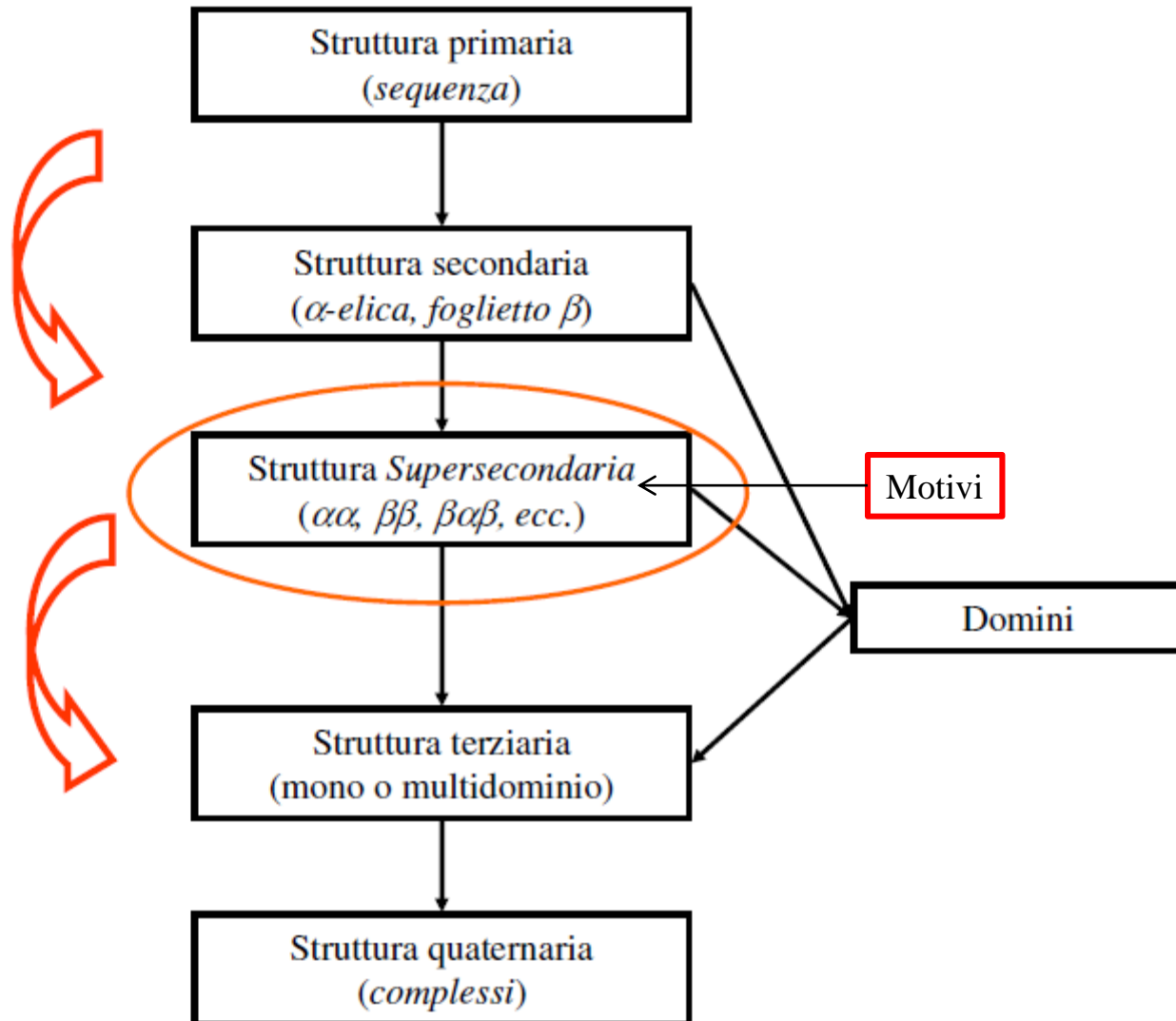
(c) Phosphorylase (Domain 2)



(d) Triose phosphate isomerase

strati concentrici di filamenti β all'interno e di α eliche all'esterno (struttura nota anche come barile α - β)

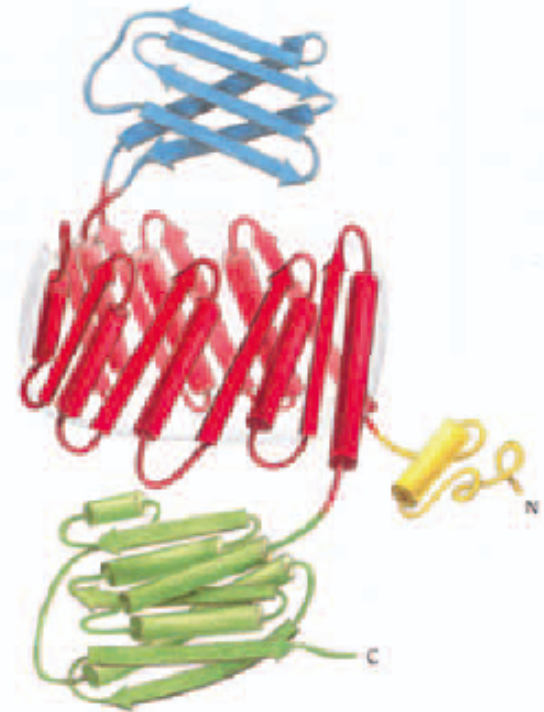
Durante il processo di avvolgimento della catena polipeptidica più strutture secondarie riconoscibili si combinano a formare i **MOTIVI O STRUTTURE SUPERSECONDARIE**



Architettura della Struttura terziaria

Le strutture terziarie delle proteine sono molto diversificate.
E' tuttavia possibile trovare una **logica nello loro architettura**:

- alcuni elementi di struttura secondaria possono organizzarsi reciprocamente a dare **motivi strutturali** o **strutture supersecondarie**
- più motivi possono unirsi a e dar luogo ad un **dominio strutturale** (regione strutturalmente – parzialmente – autonoma)
- una molecola proteica può essere costituita da uno o più domini



I domini sono costituiti da diverse **combinazioni di elementi di struttura secondaria** e di **motivi**

Struttura supersecondaria o motivi

- le α eliche e i filamenti β costituenti i motivi sono **adiacenti uno all'altro nella struttura tridimensionale** e connessi da regioni di loop; a loro volta, i motivi adiacenti o formati da regioni consecutive della catena polipeptidica sono vicini nella struttura tridimensionale

- alcuni di questi motivi si possono associare ad **una particolare funzione**, come ad esempio il legame del DNA, mentre altri non hanno una funzione biologica specifica, ma sono semplicemente **parte di organizzazioni strutturali più ampie e complesse**.

I principali motivi individuati nelle proteine sono:

(1) motivi α , (2) motivi β , (3) motivi α/β

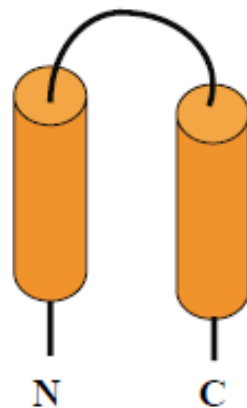
Motivi α

Le α eliche isolate non sono stabili in soluzione

\Rightarrow nelle strutture terziarie delle proteine le α eliche si impaccano in **modo adiacente** una all'altra attraverso interazioni tra le catene laterali idrofobiche.

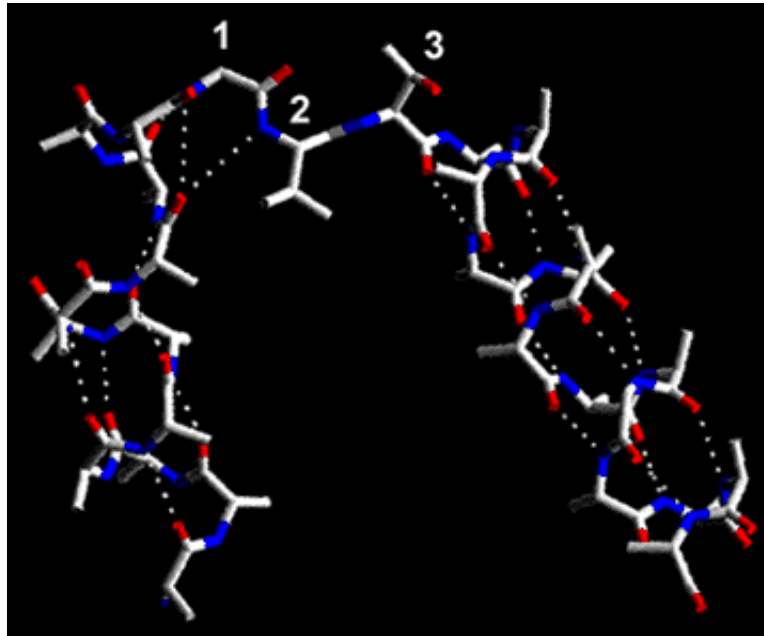
I principali **motivi α** sono: (1) **α -loop- α** e (2) **EF-hand**

α -loop- α



Il motivo α più semplice consiste di 2 α eliche antiparallele collegate da una regione di loop, chiamato **α hairpin**.

La più breve connessione fra 2 α eliche coinvolge 2 amminoacidi, di cui il secondo è sempre Gly, orientati perpendicolarmente agli assi delle eliche.



Nella figura che segue, il residuo 1 è in conformazione α -elica levogira ed è frequentemente una Gly; il residuo 2 è idrofobico e posto alla giunzione tra le due eliche mentre il terzo è spesso polare e può formare legami idrogeno con la parte terminale della seconda elica

Motivi α

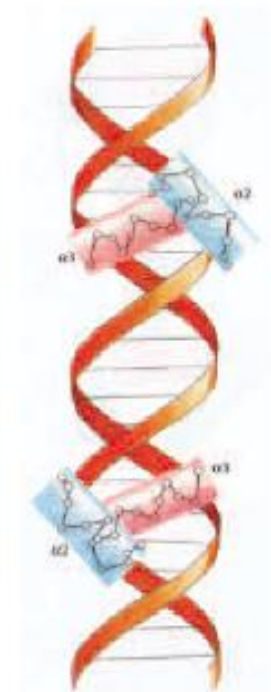
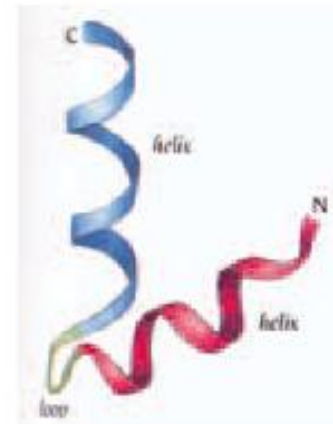
α -loop- α

Un particolare motivo α -loop- α è caratteristico di alcune proteine che riconoscono e legano specifiche zone di DNA.

un'elica si va ad inserire nel solco maggiore del DNA, e riconosce le basi nucleotidiche,

mentre l'altra interagisce con i gruppi fosfato dello scheletro desossiribosio-fosfato.

Nelle proteine, la configurazione α -loop- α è il motivo strutturale principale in grado di legare il DNA.



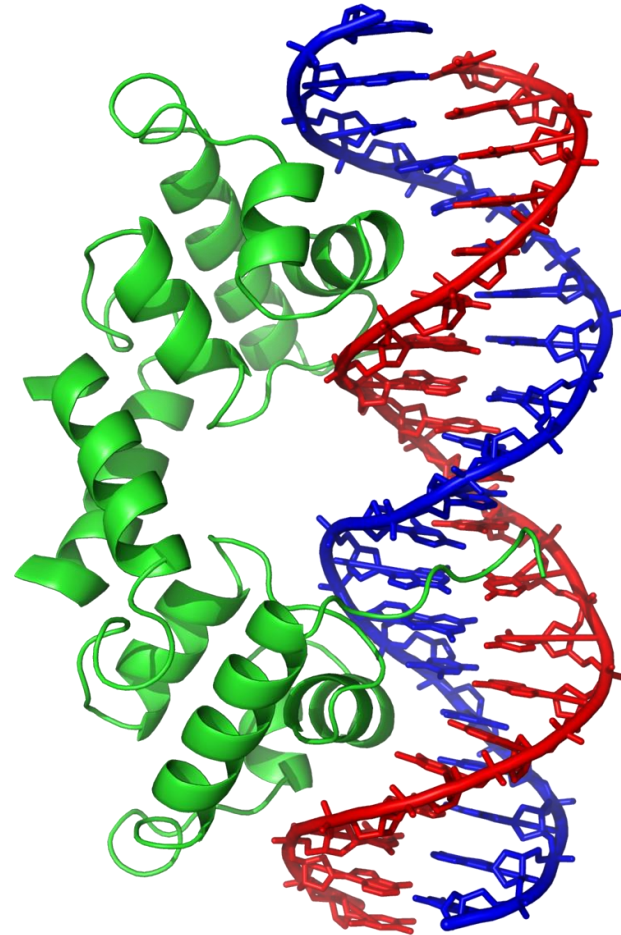
Motivi α

α -loop- α

Esempio: Proteina repressore lambda

Il repressore lambda, con la sua caratteristica struttura elica-giro-elica, è legato al proprio DNA bersaglio

Il motivo si lega al solco maggiore del DNA tramite diversi legami idrogeno e diverse interazioni di van der Waals con le basi esposte.

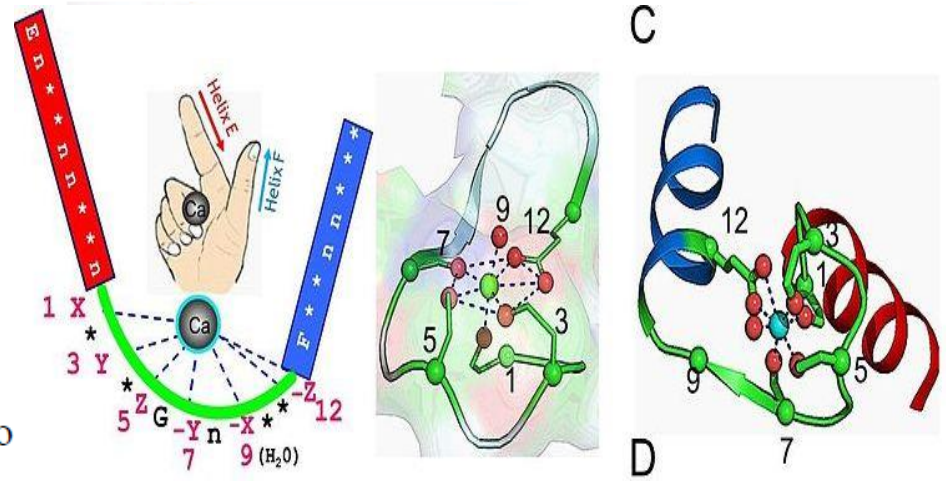


Motivi α

EF-hand (calcium-binding proteins)

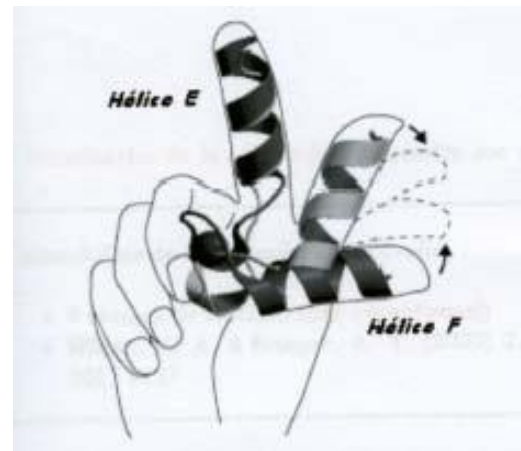
motivo α è specifico per il legame del calcio ed è presente in proteine che legano il calcio quali parvalbumina, calmodulina e troponina C, che regolano l'attività cellulare

Il loop fra le 2 eliche (12 aa) lega l'atomo di calcio



- 6 a.a. (1, 3, 5, 7, 9 e 12) legano il calcio con le catene laterali che contengono anche gruppi anionici (Asp e Glu)
- il sesto amminoacido del loop deve essere Gly;
- un certo numero di amminoacidi devono essere idrofobici per formare una piccola zona idrofobica fra le 2 α eliche

Nell'ambito della fissazione di calcio l'elica F passa da una conformazione "chiusa" (apo-CaM in grigio chiaro nella immagine) in una conformazione "aperta" (holo-CaM in grigio scuro). (Cell Adhesion Molecule)

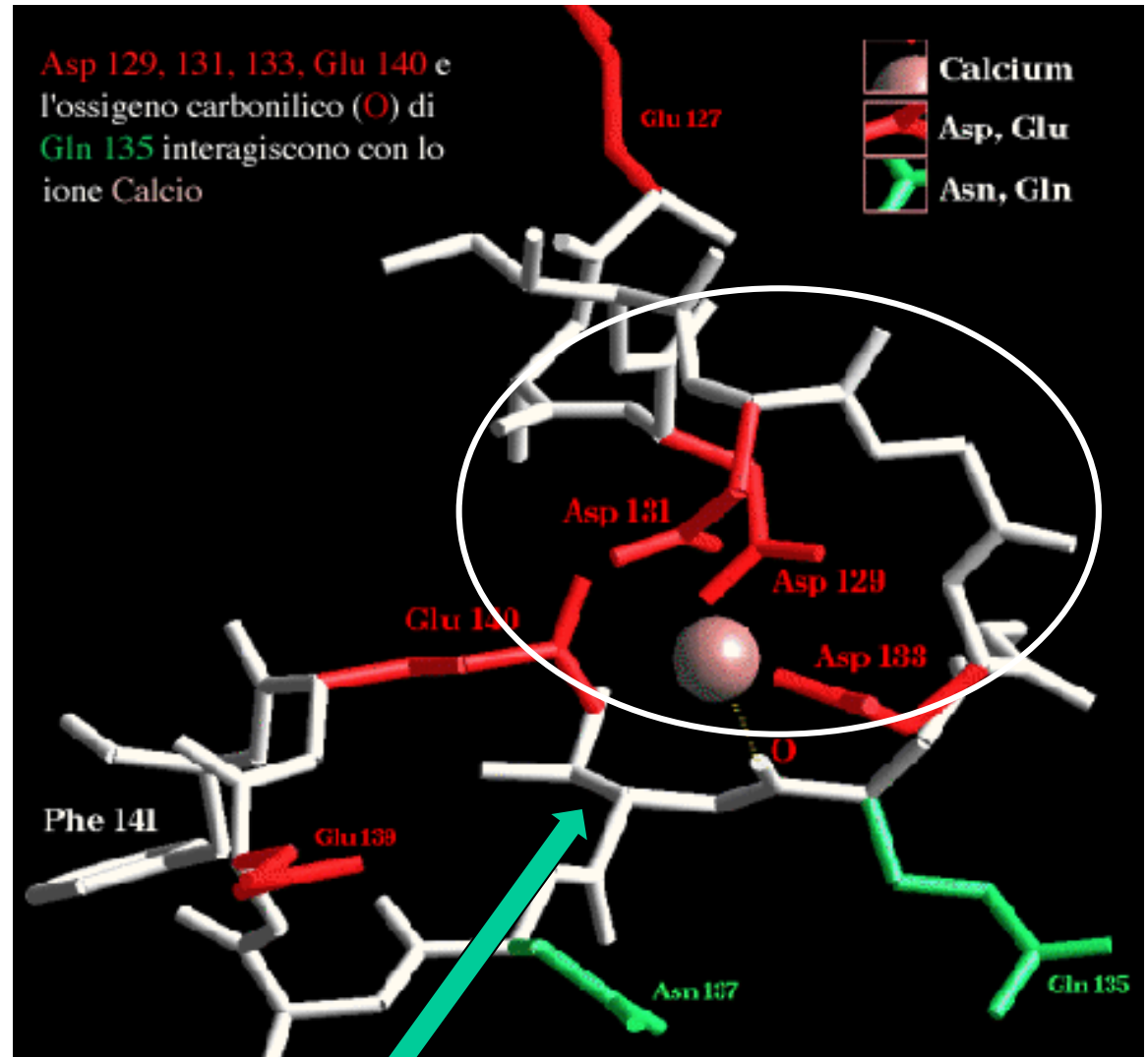


Questo motivo è stato chiamato EF hand perché si trova tra le eliche E ed F della parvalbumina

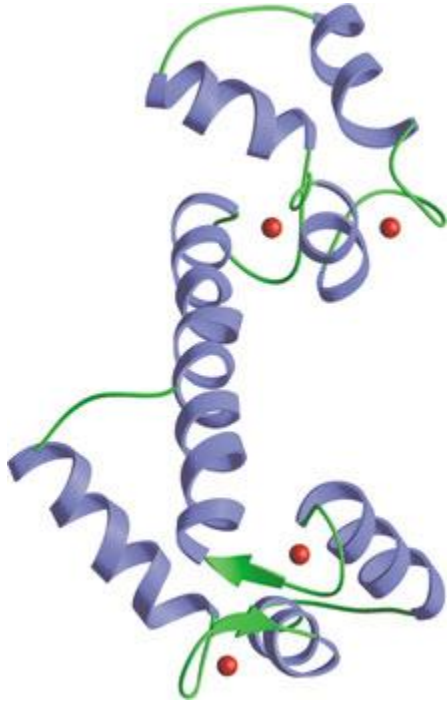
Le regioni EF hands, formate da un loop di **12 residui** con residui polari ed idrofobici.

Gly è invariante nella sesta posizione del loop per ragioni strutturali.

Il calcio è coordinato con **geometria octaedrica** dalle catene laterali carbossiliche, da gruppi della catena principale e dal solvente legato.

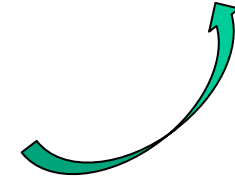


12 residui con residui polari ed idrofobici in posizioni conservate, sono cruciali per legare ioni metallici e formare un core idrofobico stabile.



CALcium MODULated proteIN)

Il dominio EF-Hand in **calmodulin** da *Drosophila melanogaster* (Ca++ in rosso).



La calmodulina è una piccola proteina regolatrice attivata dal calcio presente in tutte le cellule eucariotiche.

Ha un ruolo centrale nella comunicazione cellulare e nel *sensing* della concentrazione di calcio intracellulare

È abbondante nel citoplasma di tutte le cellule più evolute ed è rimasta quasi immutata nel corso dell'evoluzione.

La calmodulina agisce come una proteina intermediaria che sente i livelli di calcio e rilascia segnali ai vari enzimi sensibili al calcio, ai canali ionici e ad altre proteine.

Motivi β

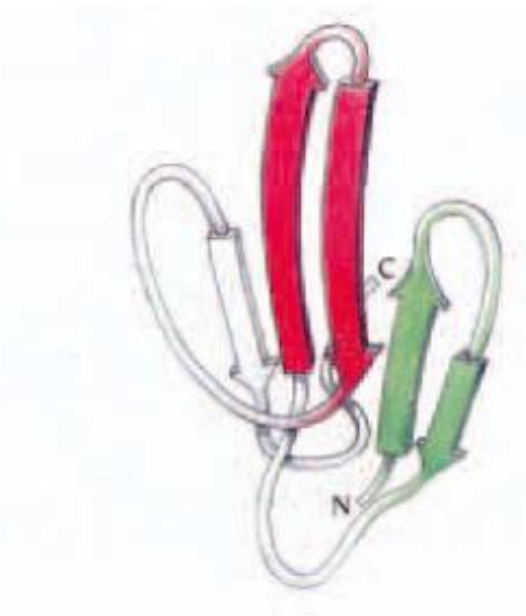
β -hairpin

2 filamenti β antiparalleli adiacenti collegati da un tratto di loop.

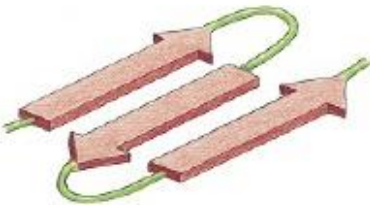
ricorre molto frequentemente nelle strutture β antiparallele, come motivo isolato o come parte di un foglietto β più complesso.

La lunghezza del tratto di loop tra i filamenti β è variabile, ma di solito è costituito da 2-5 amminoacidi.

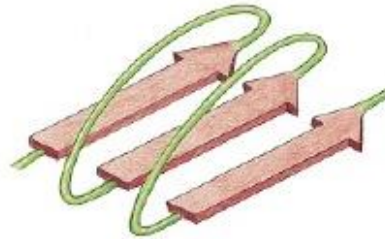
A questo motivo β non è associata nessuna funzione specifica.



The connections between adjacent polypeptide strands in β -pleated sheets:



The hairpin connection between antiparallel strands. Sheets may contain 2 – 15 strands, 6 strands on average.



A right-handed crossover connection between successive strands of parallel β -sheet. Sheets comprise more than 5 strands.

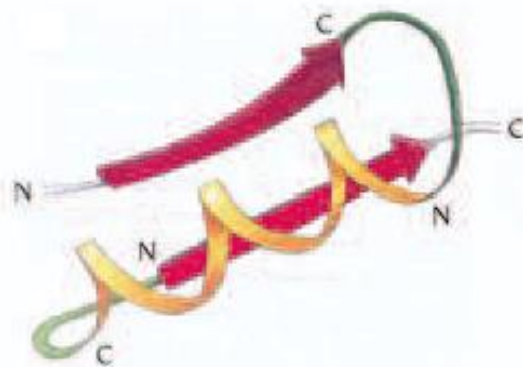
Motivi $\alpha\beta$

Crossover connection

La **cross over connection** consiste di di due filamenti β paralleli, un' α elica e due loop (che possono variare notevolmente in lunghezza).

L' α elica si impacca con i 2 filamenti β , riparando dal solvente gli amminoacidi idrofobici dei filamenti β .

La cross over connection può essere considerata come un largo giro di superelica, a partire dal primo filamento β , attraverso la connessione, fino al secondo filamento β .



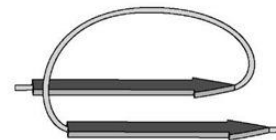
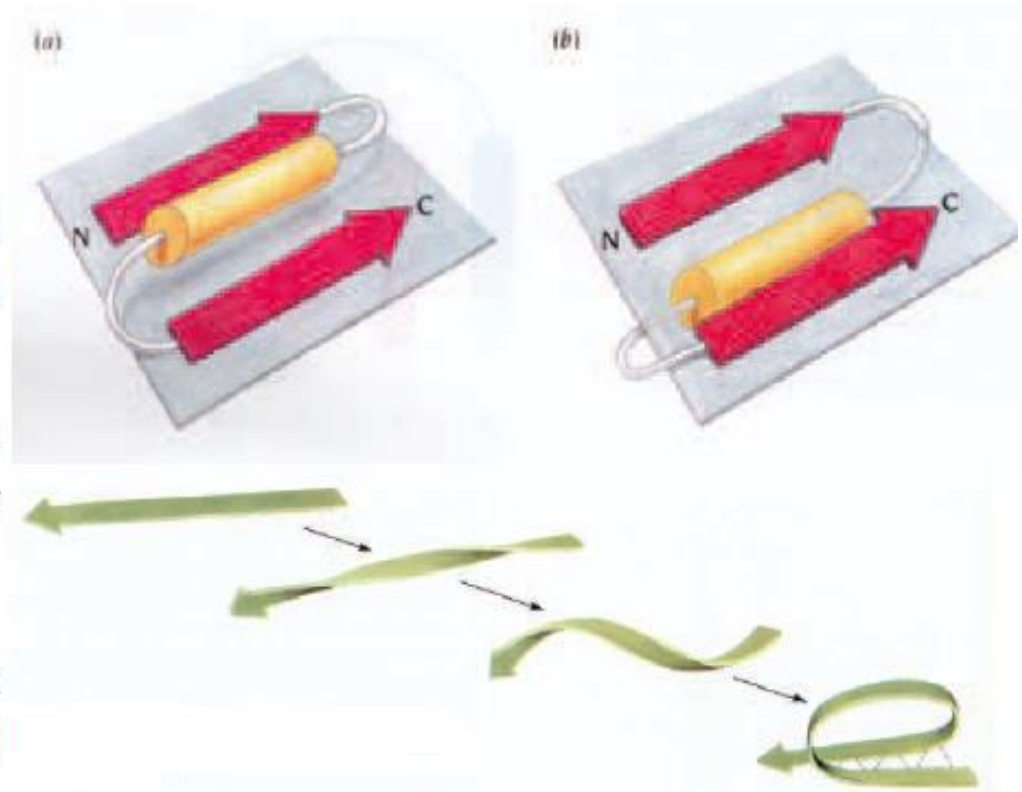
Motivi $\alpha\beta$

Crossover connection

La cross over connection può essere di tipo destrorso (a) o sinistrorso (b).

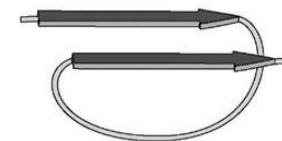
Quasi tutte le proteine presentano una cross over connection destrorsa.

cross-over connection destrorsa per meglio adattarsi al twist destrorso dei foglietti β .



Right-handed crossover
(observed)

(a)



Left-handed crossover
(exceedingly rare)

(b)

NKSKFGANAILAVSLANAKAAAAAKGMPLYEHIAELNGTPGKYSMPVPMIM

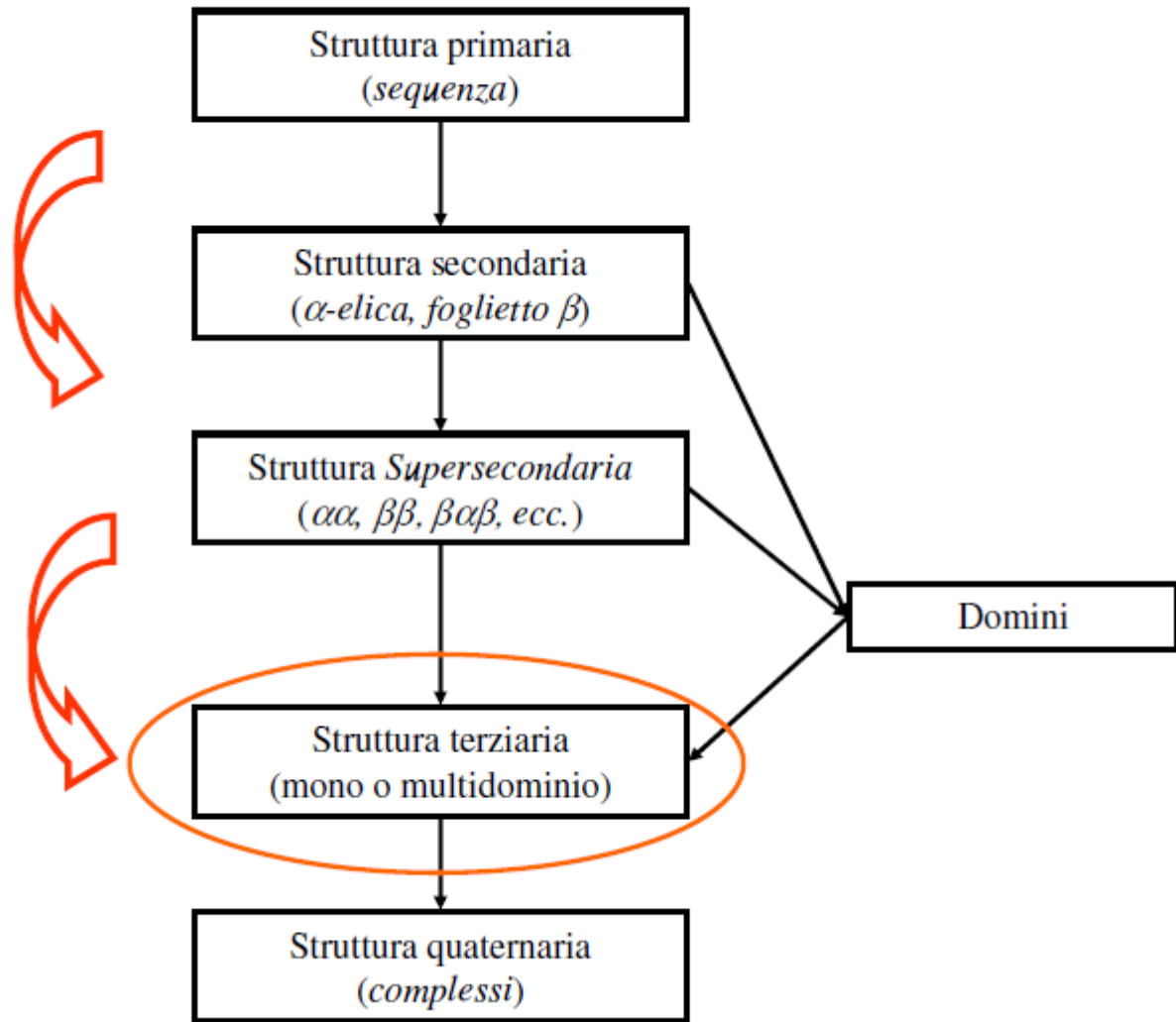
Più motivi si possono associare per formare dei **DOMINI**:

Unità distinte di una stessa proteina che si ripiegano e si compattano indipendentemente (da 30 a 300 residui amminoacidici).

Hanno una struttura riconoscibile e sono in genere **associati a particolari funzioni**.

Sono connessi da anse e legati tra loro da interazioni deboli.

Non tutte le proteine globulari hanno un'organizzazione a domini.

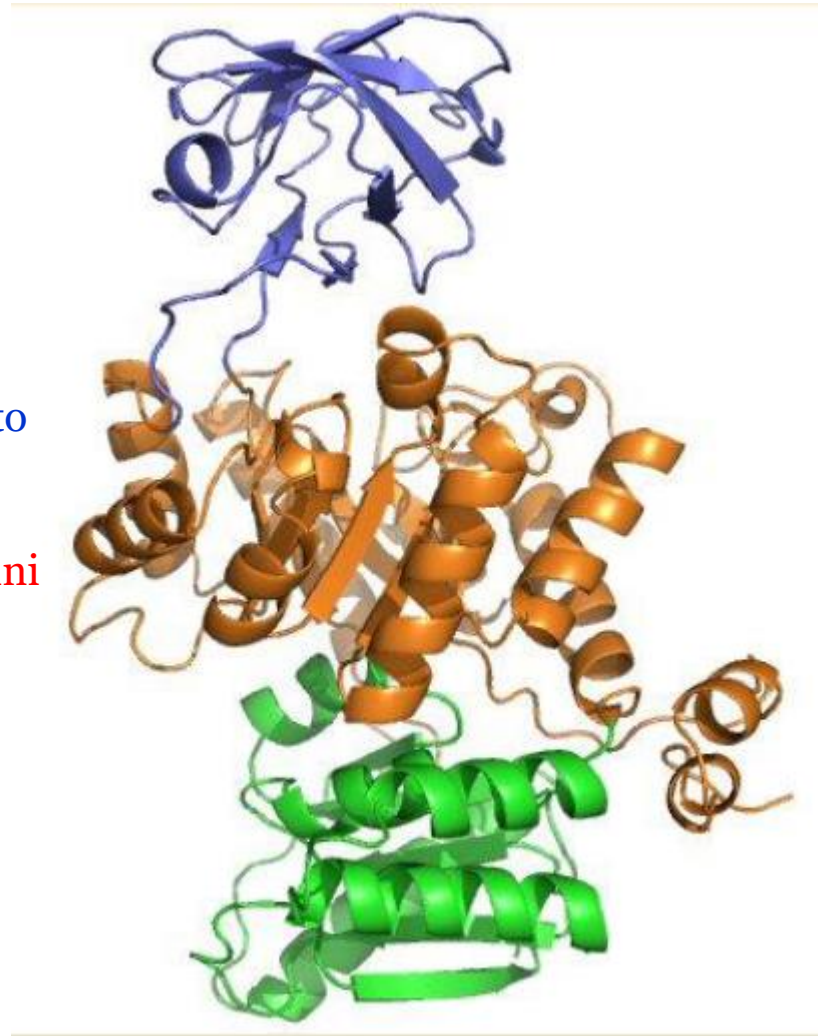


piruvato chinasi (enzima, appartenente alla categoria delle transferasi).

Catalizza la seguente reazione nella glicolisi:

$\text{ADP} + \text{fosfoenolpiruvato} \rightleftharpoons \text{ATP} + \text{piruvato}$

1 catena polipeptidica organizzata in **3 domini**



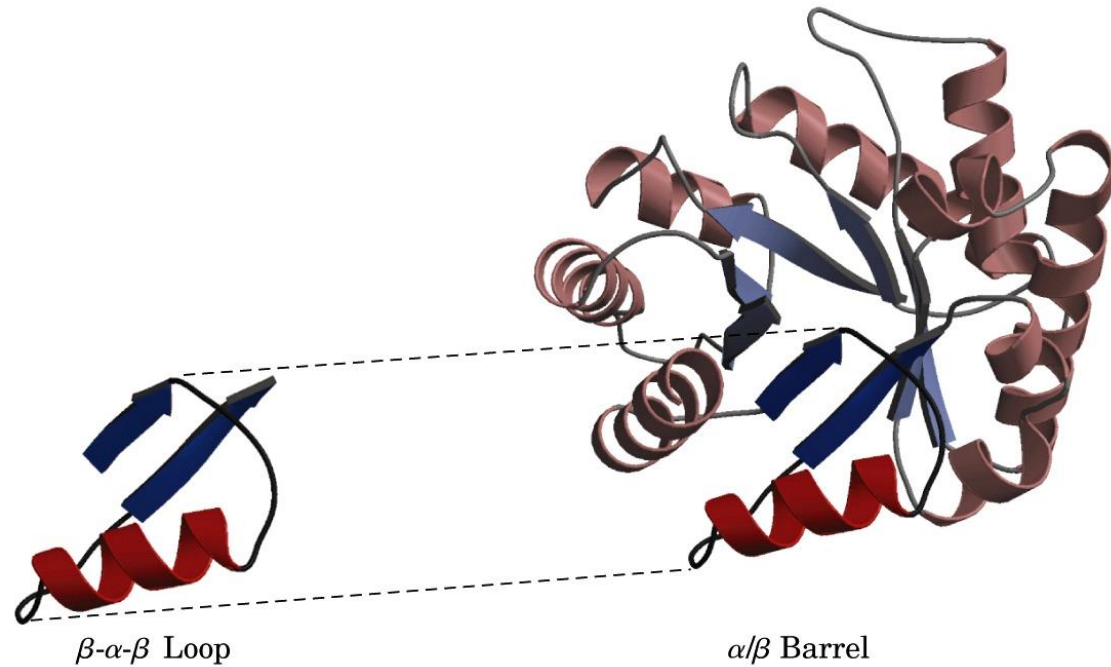
DOMINI

Combinazioni diverse di motivi ed elementi di struttura secondaria

Il dominio è una regione di struttura terziaria compatta e ripiegata localmente

Il dominio è una regione di struttura terziaria in grado di ripiegarsi autonomamente dal resto della molecola proteica.

Il dominio è una regione che può godere di autonomia funzionale



- **stabili substrutture globulari**
- **entità di ripiegamento autonome**
- **entità topologiche definite**

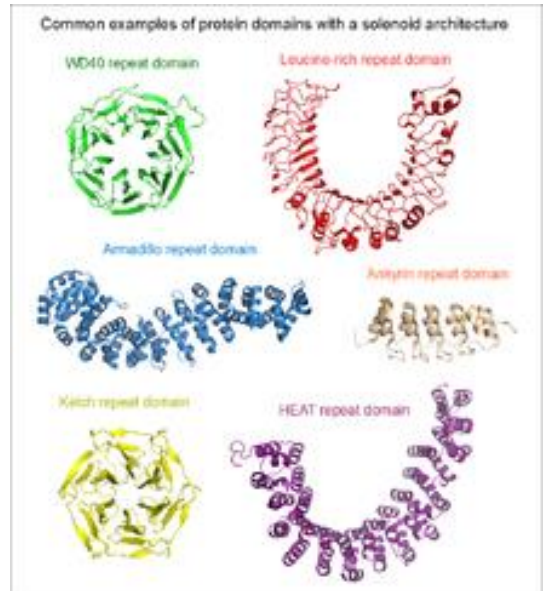
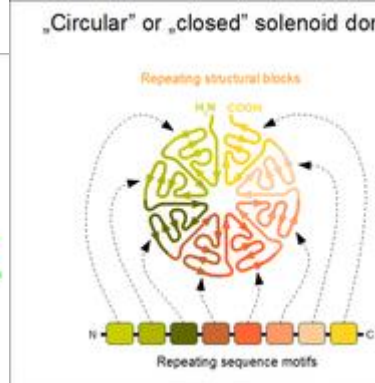
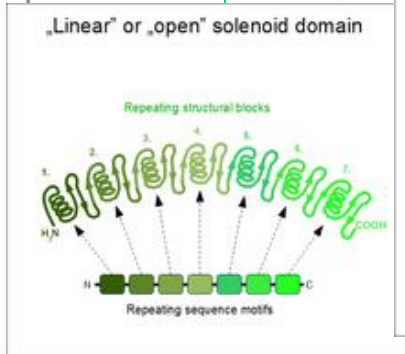
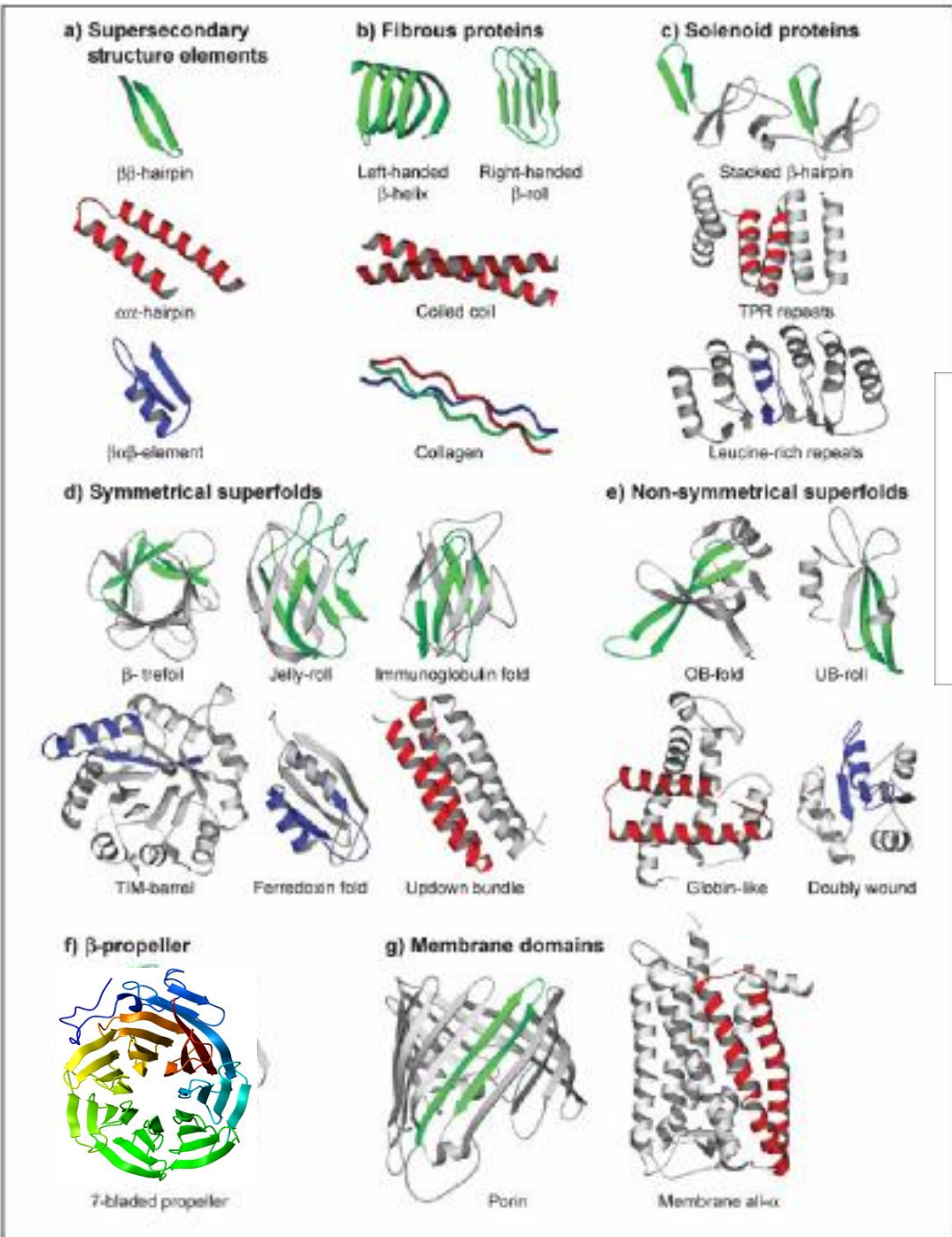
Domini

- i domini hanno dimensione variabile, di solito < 250 aa
- il 49% di tutti i domini varia tra 51 e 150 aa
- il dominio più grande ha 907 aa

I domini sono unità funzionali e spesso a domini diversi di una proteina sono associate funzioni diverse.

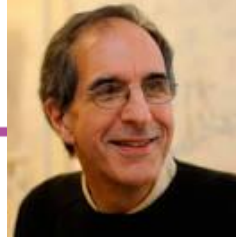
I domini hanno **cuori idrofobici**

- ⇒ minimizzazione numero interazioni sfavorevoli dei gruppi idrofobici con il solvente acquoso
- ⇒ massimizzazione numero interazioni favorevoli di van der Waals dei gruppi idrofobici fra loro



**Si riscontrano più frequentemente
solo alcune combinazioni di motivi strutturali**

Nobel per la
chimica nel 2013



Motivi e domini

Domini

Michael Levitt and Cyrus Chothia, sulla base di semplici considerazioni sulla connessione dei motivi, hanno classificato i **domini** in **3 gruppi** principali, a seconda delle strutture secondarie e dei motivi coinvolti nella loro formazione:

- **domini α** (coiled-coil, fascio a 4 eliche, fold globinico)
- **domini β** (topologia ad up-and-down, chiave greca, jelly roll)
- **domini α/β**
- **altro (domini $\alpha+\beta$, domini irregolari con legami crociati)**

Domini α

Fascio a 4 eliche (α helical bundle)

L' α helical bundle si può anche formare con arrangiamenti topologici diversi delle α eliche

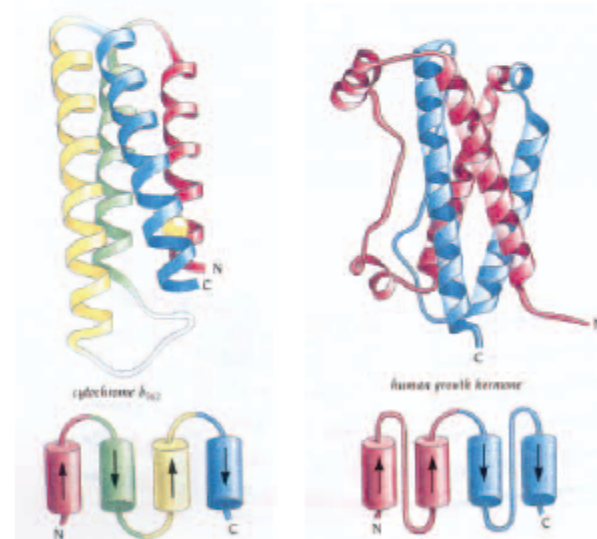
1) α eliche sequenzialmente vicine sono sempre **antiparallele**.

Es: mioemieritina, citocromo c' e b_{562}
ferritina, proteina del capsido del virus
del mosaico del tabacco

2) due coppie di eliche parallele disposte in
modo **antiparallelo** nell' α helical bundle

Es: ormone umano della crescita

impaccamento antiparallelo \Rightarrow
maggiore stabilità in quanto i macrodipoli
associati a ciascuna α elica si annullano a vicenda.



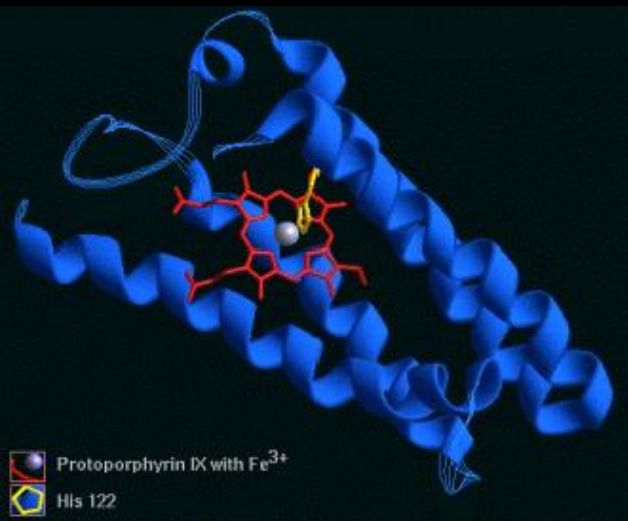
Domini α

Fascio di 4 eliche

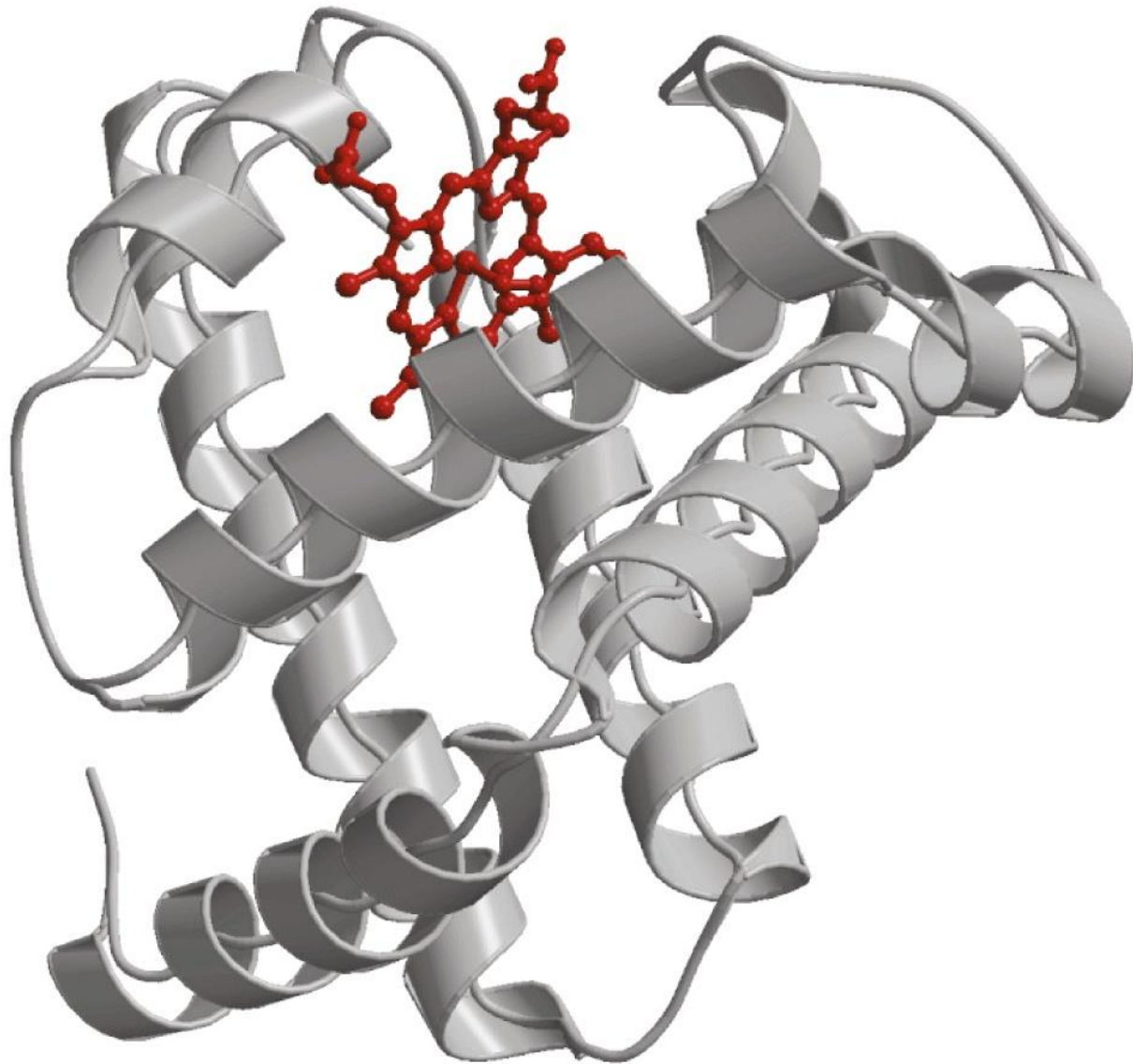


Citocromo

Ferritina-simile



Dominio α delle globine



(a)

Mioglobina

Fascio di 8 eliche

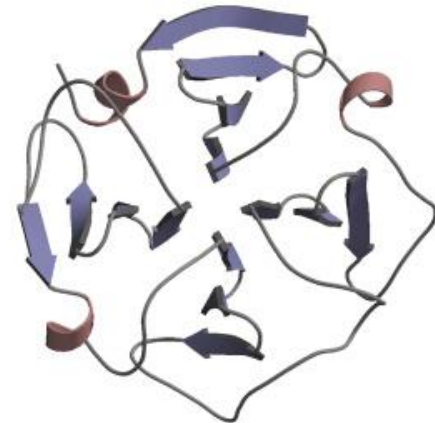
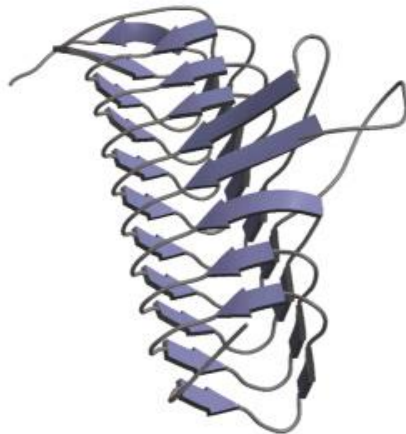
Domini β

Nei domini β i filamenti β sono disposti in modo tale da formare 2 foglietti β impaccati uno con l'altro (detti “**sandwich**” se aperti, “**barili**” se chiusi), a formare un core idrofobico.

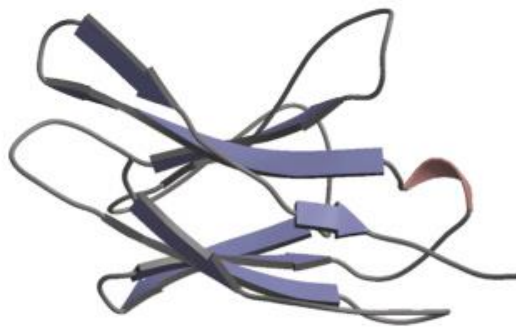
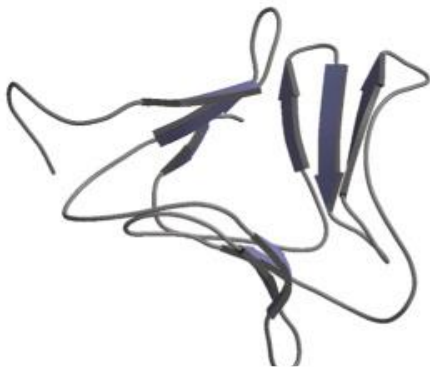
i **domini β** più frequentemente osservati hanno le seguenti 3 topologie:

- **up and down**
- **chiave greca**
- **jelly roll**

Domini β



Le catene β si dispongono prevalentemente in senso antiparallelo



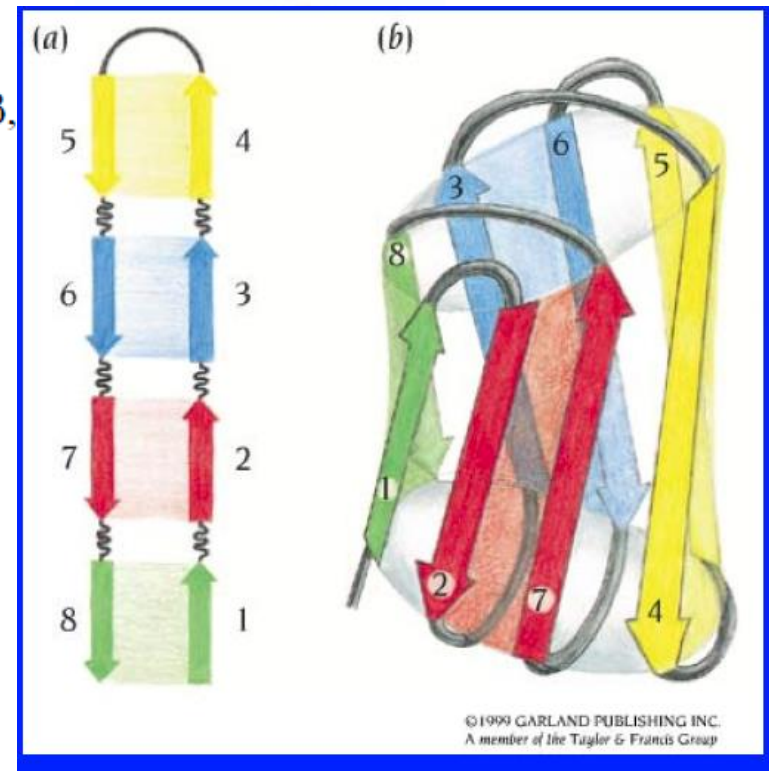
Domini β

topologia ad up-and-down

filamenti β adiacenti sono collegati da regioni di loop (β -hairpin).

Spesso l'ultimo filamento β è collegato al primo da legami a H, a formare un barile (**β barrel**) di 8 filamenti β .
(Es: proteine che legano il retinolo o acidi grassi)

In sequenza si alternano catene laterali idrofobiche e polari, in modo tale da formare il core idrofobico all'interno del barile e da interagire esternamente con il solvente.



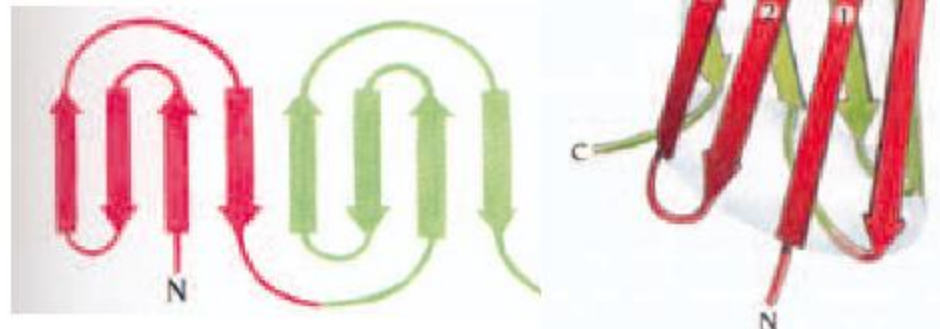
Domini β

topologia a chiave greca

Motivo base costituito da 4 filamenti β : 3 presentano topologia up and down e sono collegati da β hairpin, seguiti da una connessione più lunga al quarto filamento β , che è adiacente al primo.

Esempi: superossido dismutasi a Cu,Zn, immunoglobuline, proteina γ cristallino.

nelle strutture proteiche si è trovata finora sempre la topologia destrorsa



Domini $\alpha\beta$

La **cross over connection** è l'unità costitutiva su cui si basa la topologia di 3 tipi di domini α/β osservati nelle proteine:

- **α/β barrel**
- **motivi ricchi di Leu (fold a ferro di cavallo)**
- **α/β open sheet**

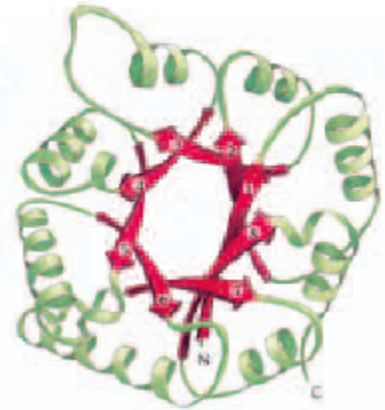
Domini $\alpha\beta$

barili α/β

8 filamenti β paralleli, posizionati in modo tale che il filamento β_8 sia adiacente e faccia legami a H con β_1

dominio che coinvolge almeno 200 aa ed è tipico di molti enzimi

chiamato anche **TIM barrel** dalla struttura dell'enzima trioso fosfato isomerasi, dove fu osservato per la prima volta



Esempi: enzimi coinvolti in isomerizzazione di piccole molecole di zucchero, trasferimento di gruppi fosfato, degradazione di zuccheri polimerici

Domini $\alpha\beta$

barili α/β

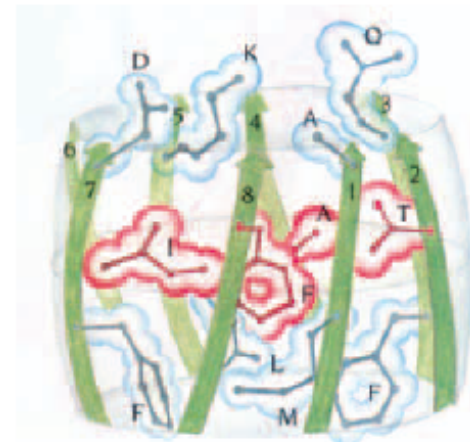
catene laterali idrofobiche delle α eliche si impaccano con le catene laterali idrofobiche dei filamenti β

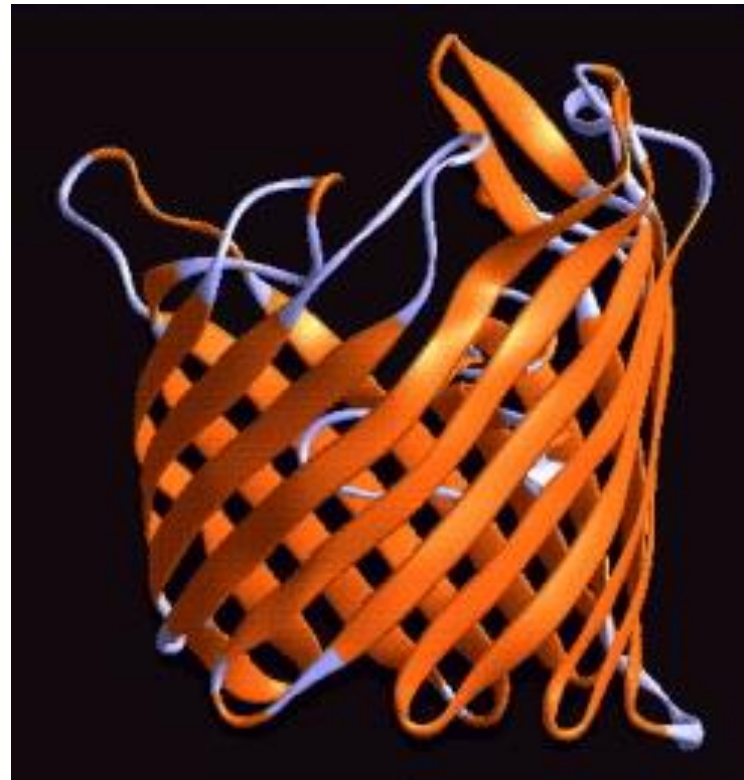
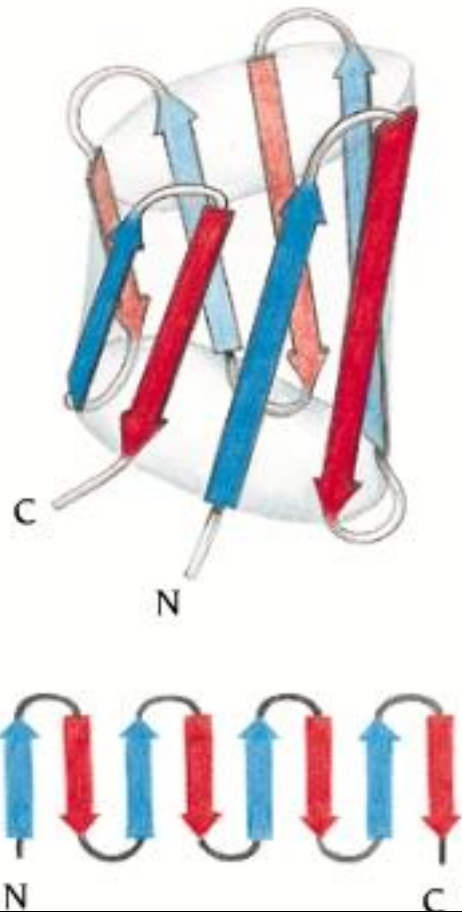
le altre catene laterali degli aa (in posizione 1, 3, 5, ...) dei filamenti β sono rivolte verso l'interno del barile e formano un core idrofobico strettamente impaccato

Arg, Lys e Gln alle 2 estremità del barile, in modo da poter interagire con il solvente esterno

sito attivo sempre in una tasca costituita dagli 8 loop che connettono l'estremità C-terminale dei filamenti β con l'estremità N-terminale delle α eliche

gli aa che partecipano al legame del substrato e alla catalisi appartengono a queste regioni di loop





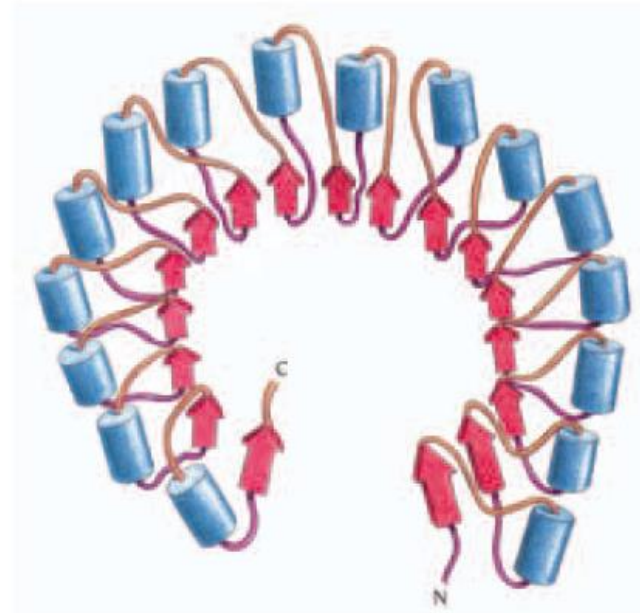
Barile β
8 catene β antiparallele unite da forcelle

Domini $\alpha\beta$

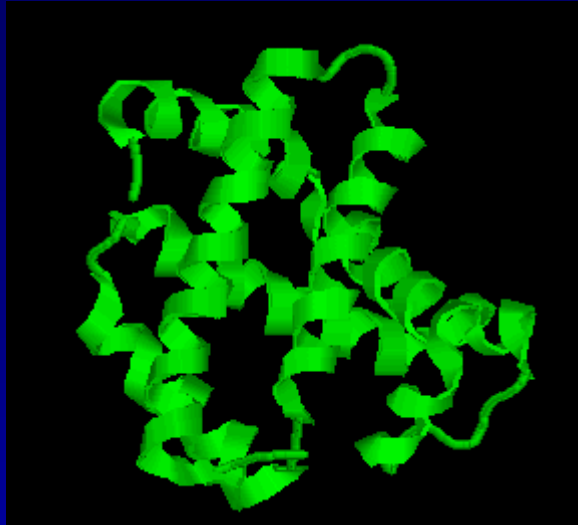
Fold ferro di cavallo

I filamenti β formano una struttura aperta ricurva, che ricorda un **ferro di cavallo**, con le α eliche sul lato esterno e il foglietto β che forma la parte interna del ferro di cavallo.

Un lato del foglietto β si interfaccia con le α eliche, formando un core idrofobico, mentre l'altro lato del foglietto β è esposto al solvente, caratteristica che gli altri motivi α/β non hanno.



1 Dominio



2 Domini



Una proteina può essere formata dall'insieme di più domini

3 Domini



4 Domini



Proteine globulari

- Le regioni di catena polipeptidica che non possono essere definite come eliche o foglietti, vengono chiamate "Random coil" (avvolgimento casuale)
- Ma nei tratti "random coil" l'avvolgimento non e' casuale:
 - si tratta di strutture organizzate variabili e stabili come le altre strutture secondarie: semplicemente sono difficili da descrivere
- Sono fortemente influenzate dalle interazioni delle catene laterali
- I livelli di struttura di una proteina globulare non devono assolutamente essere immaginati come statici
- Vari elementi e domini di una proteina si muovono e i movimenti si possono studiare tramite spettroscopia NMR o di fluorescenza:
 - Fluttuazioni atomiche, che dipendono dell'energia cinetica all'interno della proteina e sono funzione della temperatura
 - Cambiamenti conformazionali in risposta a particolari stimoli

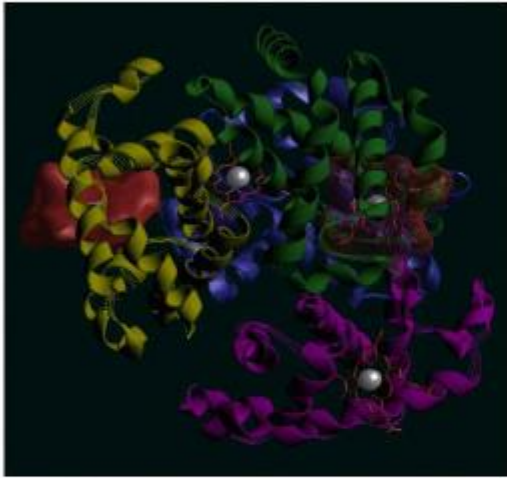
Classificazione strutturale delle proteine globulari

*le proteine possono
venir raggruppate in base al tipo e alla disposizione della struttura
secondaria*

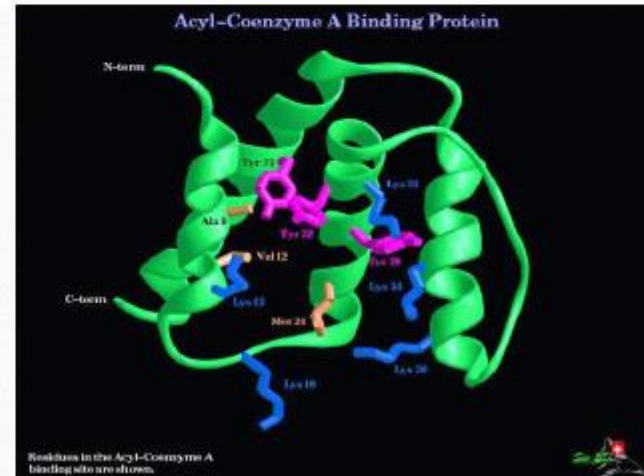
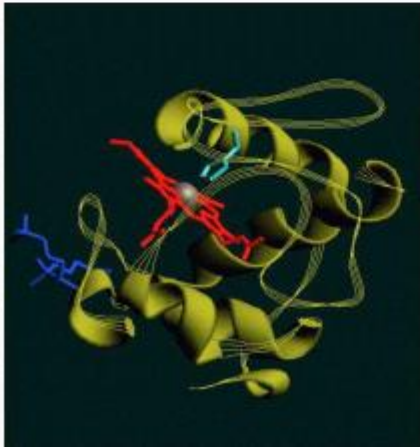
- Si possono dividere in 7 classi principali:
 1. proteine tutte alfa
 2. proteine tutte beta
 3. Proteine α/β
 4. Proteine $\alpha + \beta$
 5. Proteine multidominio (alfa e beta)
 6. Proteine e peptidi di membrana e della superficie cellulare
 7. Piccole proteine
- Ognuna di queste classi comprende (spesso centinaia!) di ripiegamenti diversi

Proteine tutte alfa

E' la maniera piu' semplice di impaccare le eliche - con collegamenti corti e impaccamento antiparallelo



- Le proteine globiniche -
mioglobina ed emoglobina
- sono proteine tutte alfa



La globina è una proteina che concorre alla formazione delle emoproteine emoglobina e mioglobina, all'interno delle quali rappresenta la struttura proteica (apoproteina).

Proteine tutte beta

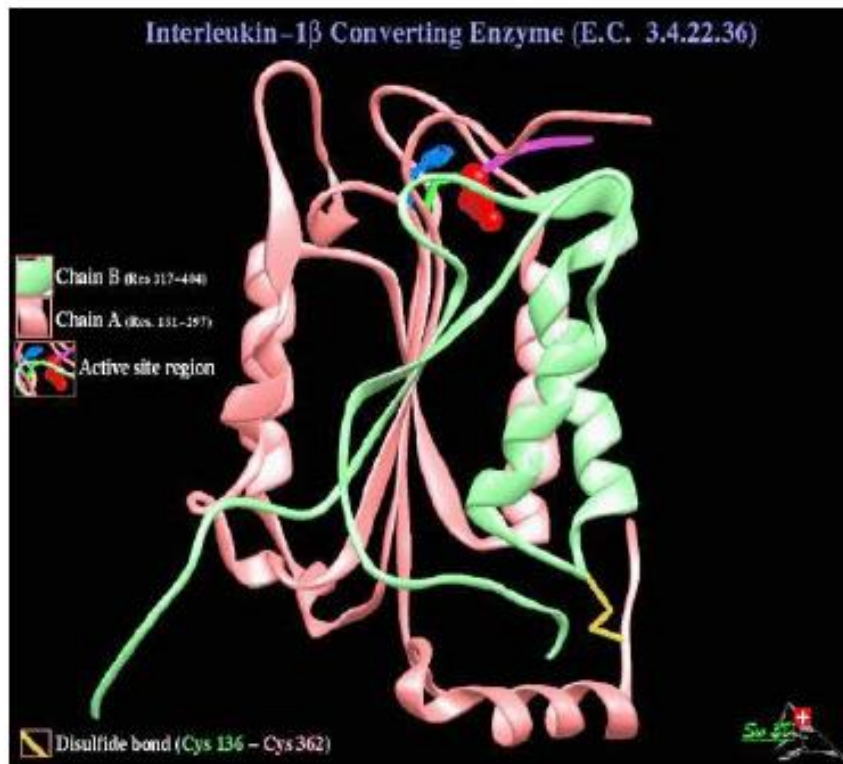
i filamenti sono solitamente antiparalleli



- Usualmente nei filamenti beta antiparalleli i residui idrofobici sono sistemati solo su di un lato del foglietto
- Quindi solo un lato deve essere protetto dal solvente
- Sono di solito sistemate a formare barili, cilindri o foglietti

proteine alfa e beta (α/β)

formate da unita' beta alfa beta. I foglietti beta sono (di solito) paralleli

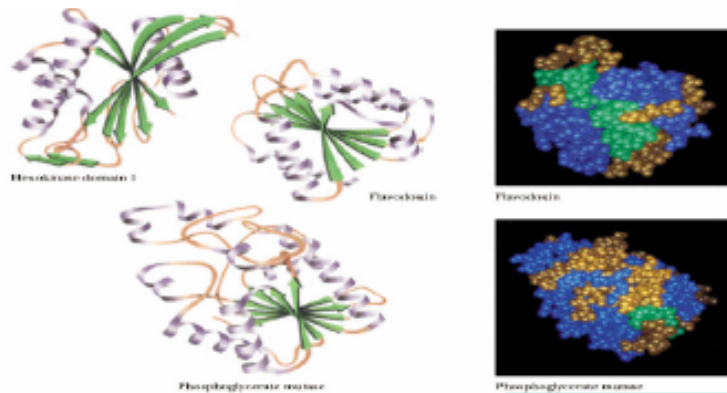
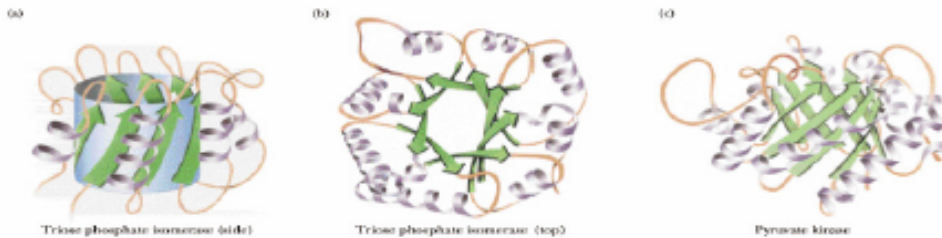


- I filamenti beta paralleli solitamente distribuiscono i residui non polari su **entrambi i lati** del foglietto β
- Questo comporta che entrambi i lati del foglietto debbano essere protetti dal solvente
- Quindi questo tipo di struttura costituisce tipicamente il nucleo interno o “core” di una proteina, dove l’accesso al solvente e’ minimo

Proteine α/β -segue

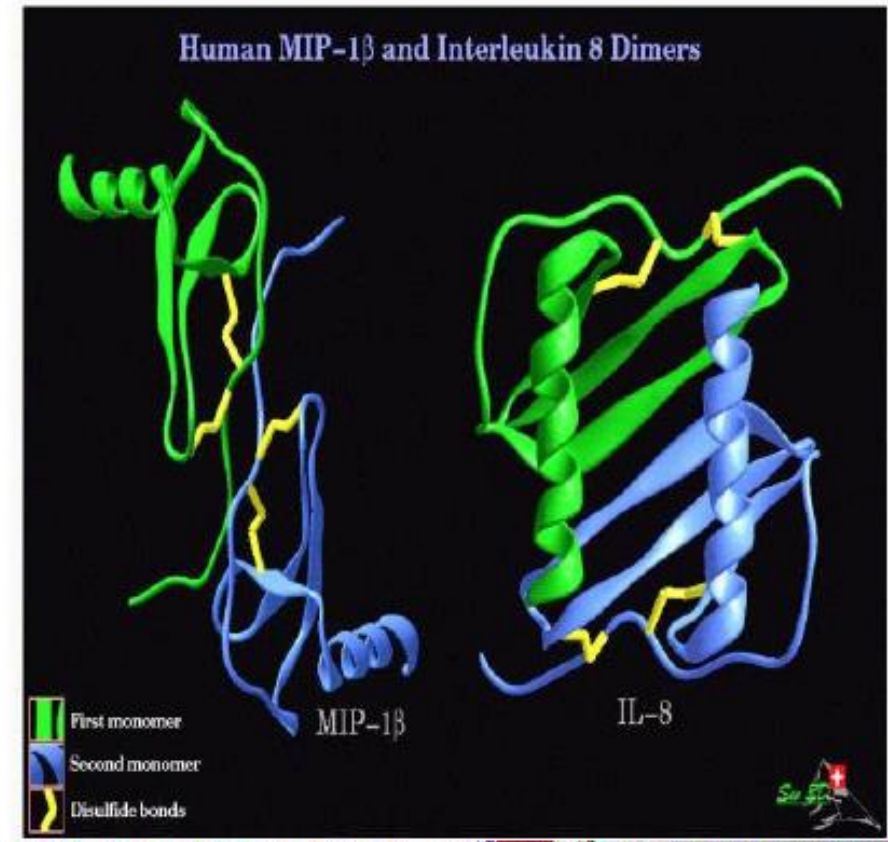
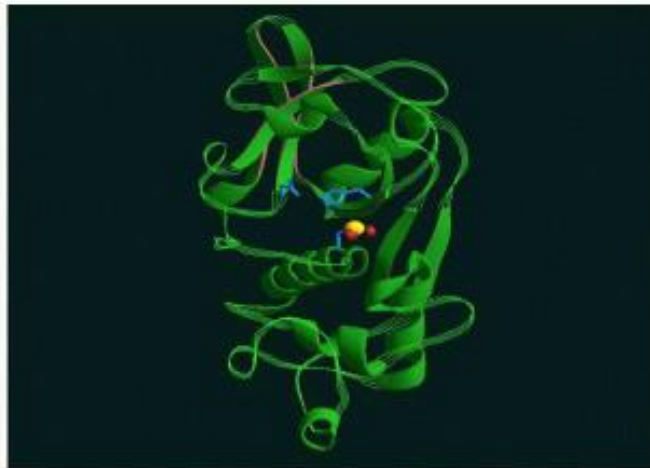
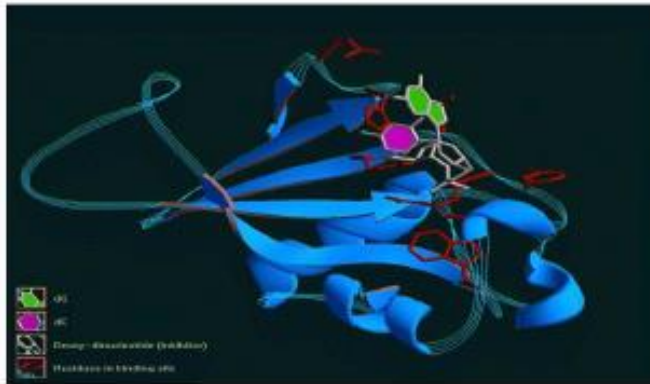
A questa classe appartengono:

- Le cosiddette strutture a barile β parallelo a otto filamenti :
 - Ogni filamento β nel barile e' affiancato da una α elica antiparallela: le α -eliche formano cosi' un cilindro piu' grande di eliche parallele concentriche con il barile. Entrambi i cilindri hanno un leggero ripiegamento destrorso
- I foglietti paralleli doppiamente avvolti (Doubly wound parallel β sheets)
 - Una parete di filamenti β paralleli o misti protetta su entrambi i lati da eliche o altre strutture



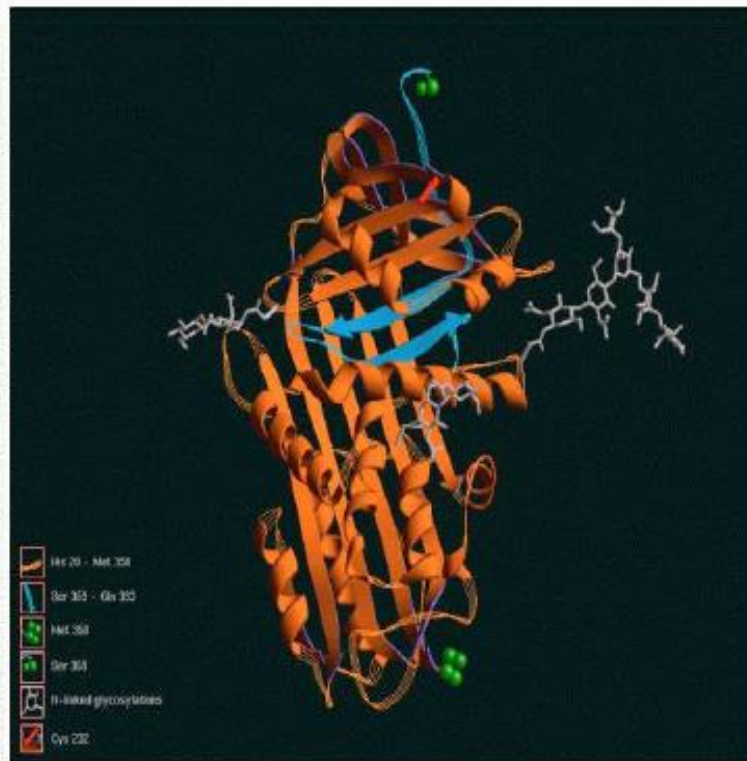
Proteine alfa e beta ($\alpha+\beta$)

Costituite da regioni alfa e beta separate. Le regioni beta sono soprattutto foglietti beta antiparalleli.



Proteine multidominio

per dominio si intendono quelle parti di peptide in una proteina capaci di generare una struttura tridimensionale caratteristica indipendentemente dal resto della catena polipeptidica



- I ripiegamenti consistono di uno o piu' domini appartenenti alle diverse classi descritte

Proteine e peptidi di membrana e della superficie cellulare

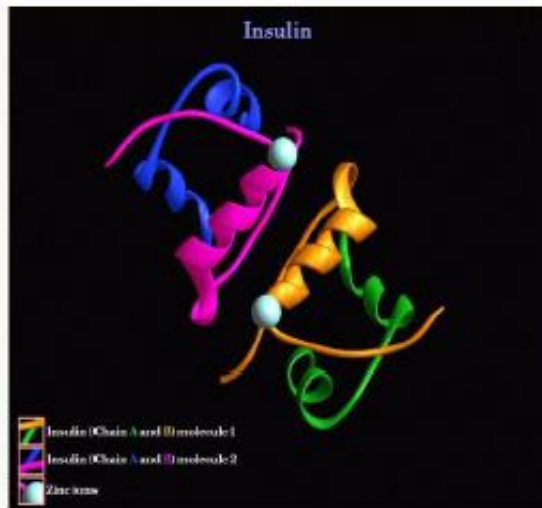
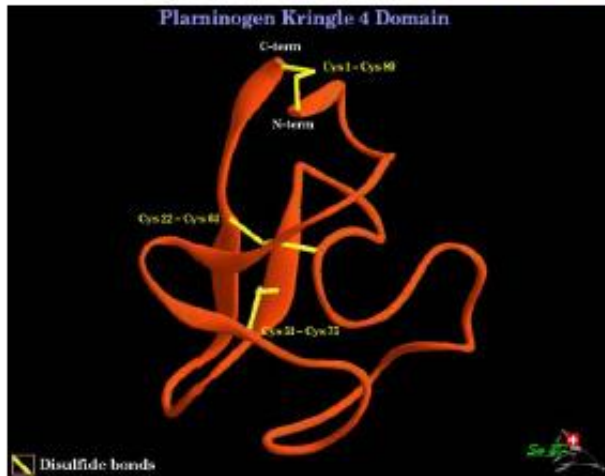
non include le proteine del sistema immunitario



- Possono contenere i domini descritti con ripiegamenti diversi rispetto alle proteine solubili

Piccole proteine

Ne fanno parte proteine (o parti di proteine) che contengono metalli, eme e che contengono ponti disolfuro

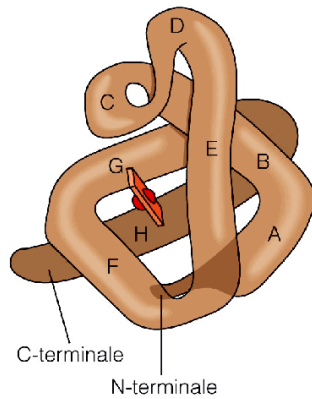


- Le loro conformazioni sono di solito fortemente influenzate dalla presenza di metalli e/o da ponti disolfuro
- Sono di solito instabili se vengono ridotti i disolfuri o se i metalli sono rimossi.

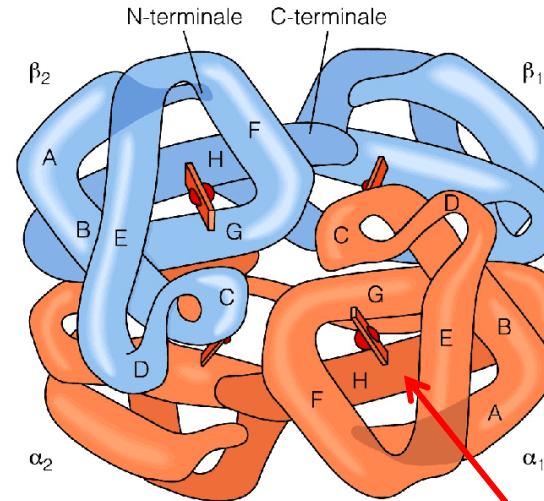
ESEMPIO

Proteine coniugate: emoproteine

Mioglobina



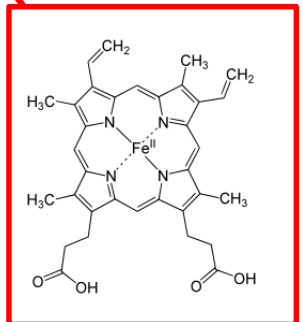
Emoglobina

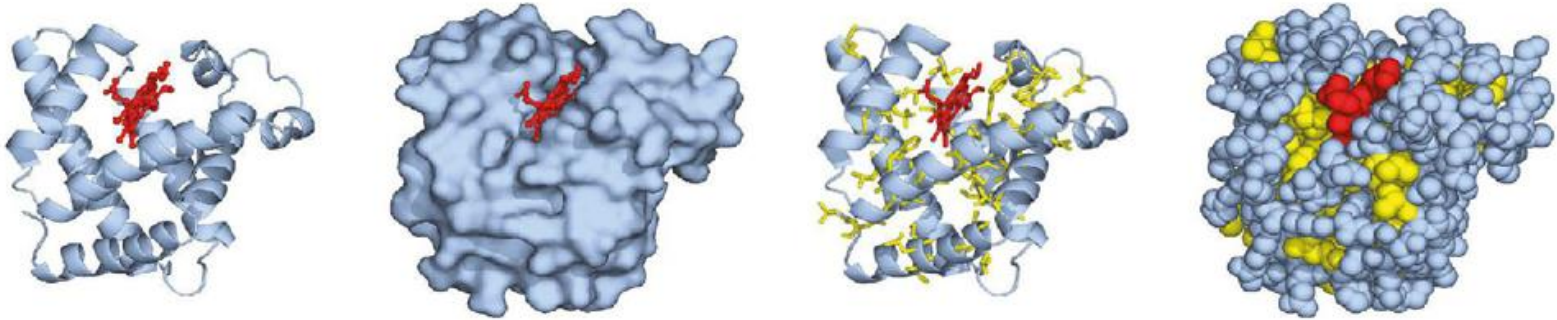


N.B. Motivo strutturale comune : α -elica

La mioglobina è costituita da un'unica catena polipeptidica (struttura III)

L'emoglobina è un tetramero composto da due catene di tipo α e due catene di tipo β (struttura IV)





STRUTTURA TERZIARIA DELLA MIOGLOBINA

- Lo scheletro della molecola della mioglobina (catena singola) è costituito da **8** segmenti relativamente compatti di α -eliche interrotte da ripiegamenti.
- L'elica più lunga ha **23** residui amminoacidici e la più corta ne ha soltanto **7**; tutte sono destrorse.
- **Più del 70% degli amminoacidi della molecola della mioglobina è strutturato in α -elica.**
- La posizione delle catene laterali degli amminoacidi è dovuta a una struttura la cui stabilità dipende in gran parte da **interazioni idrofobiche**.
- La maggior parte dei gruppi **R idrofobici** si trova all'interno della molecola della mioglobina, lontano dal contatto con l'acqua.
- Tutti i gruppi **R polari**, sono localizzati sulla superficie esterna della molecola e tutti sono quindi idratati.
- La molecola della mioglobina è così compatta che al suo interno vi è spazio solo per quattro molecole di acqua. Questo denso nucleo idrofobico è tipico delle proteine globulari.

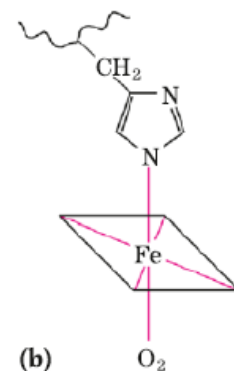
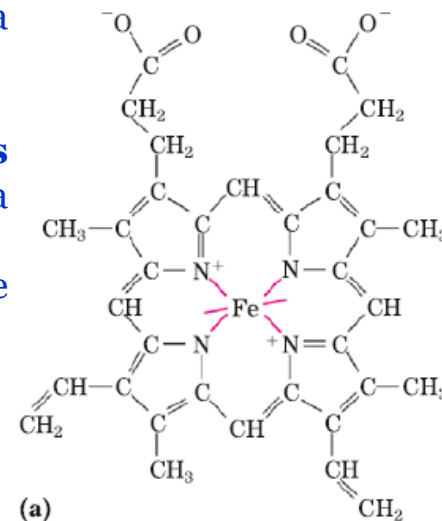
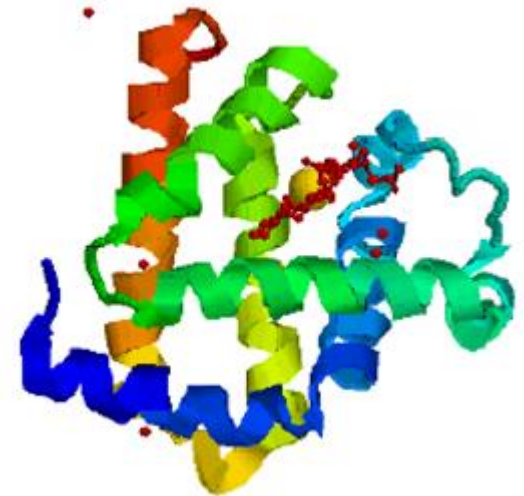
Il gruppo eme è presente nella mioglobina, nell'emoglobina, nei citocromi e in molte altre proteine.

Il **gruppo eme** relativamente piatto è confinato in un'infossatura, o tasca, della molecola della mioglobina.

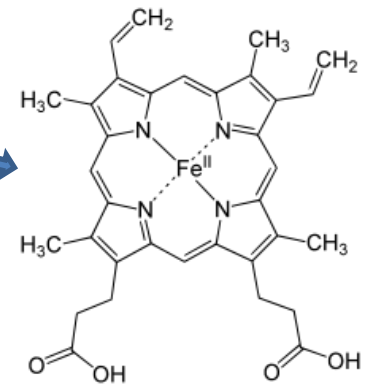
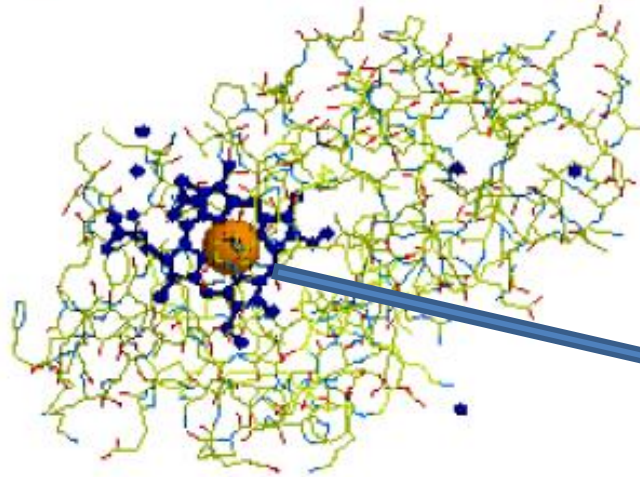
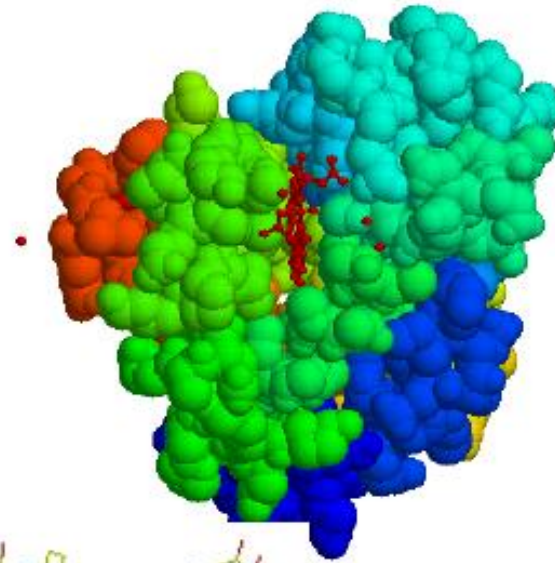
L'eme è costituito da una struttura organica ad anello, la protoporfirina, a cui è legato un atomo di ferro sotto forma di Fe^{2+} .

L'atomo di ferro posto al centro del gruppo eme ha 6 valenze di coordinazione: 4 sullo stesso piano, legate alla molecola della porfirina, e 2 perpendicolari al piano delle altre quattro.

Uno di questi si lega ad un atomo di azoto R di un residuo di **His** nella posizione 93; l'altro è invece il sito al livello del quale si lega la molecola di ossigeno (nella mioglobina e nell'emoglobina). In questa tasca la possibilità che il gruppo eme acceda al solvente è molto limitata.



Mioglobina

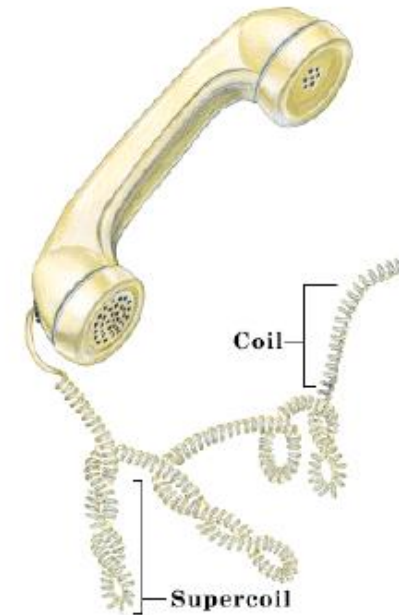


STRUTTURE TERZIARIE DEL DNA

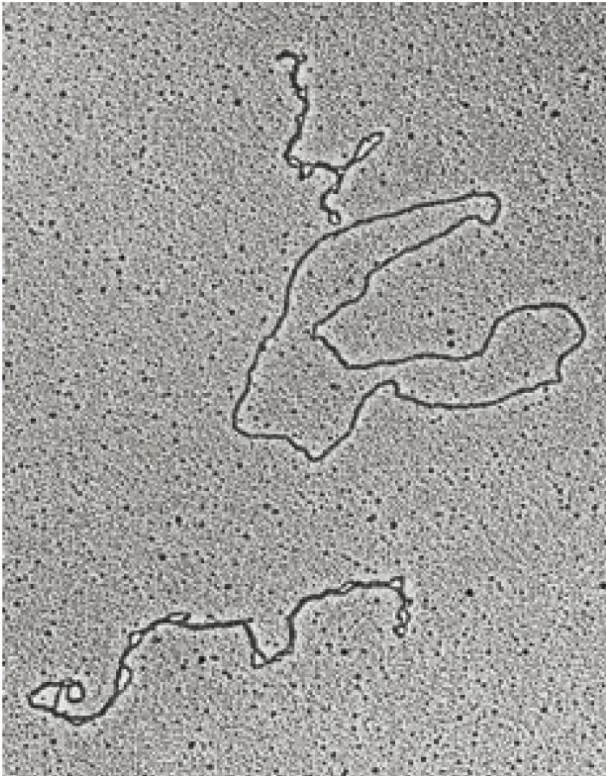
Dato il piccolo numero di motivi secondari possibili in DNA, anche le strutture terziarie possibili sono molto piú semplici.

Una molto frequente è il **superavvolgimento**.

Se ad una doppia elica viene imposto uno stress torsionale rispetto alla situazione rilassata corrispondente a circa 10bp per giro, sia in senso negativo che positivo, essa tende ad attorcigliarsi su se stessa, esattamente come fa il filo del telefono

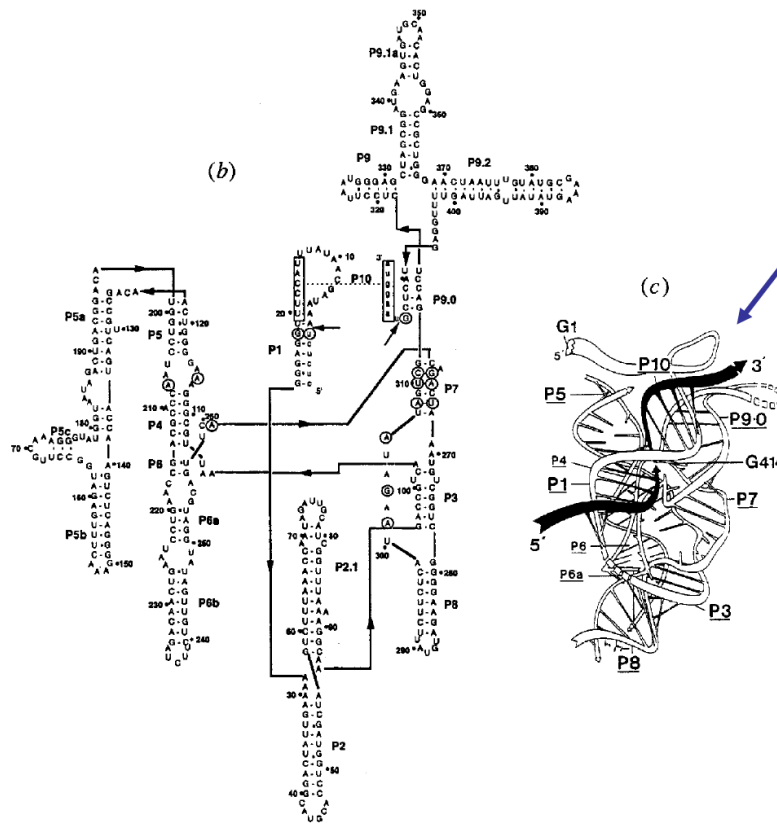


Struttura terziaria del DNA



- Molte molecole naturali di DNA sono circolari, senza code 3' o 5' libere.
- La maggior parte del DNA circolare naturale è superavvolto.
- Il tipo di struttura tridimensionale che coinvolge un'organizzazione di ordine superiore degli elementi, come il superavvolgimento, è detta **struttura terziaria**.

Anche gli acidi nucleici auto-assemblano in complesse strutture terziarie, solo sulla base della loro sequenza primaria



```

cucucuAAAUAGCAAUUUUACCUUUGGAGGGAAAAGUUAUCA
GGCAUGCACCUUGUAGCUAGUCUUUAAACCAAUAGAUUGCA
UCGGUUUAAAAGGCAAGACCGUCAAAUUGCGGAAAGGGGU
CAACAGCCGUUCAGUACCAAGUCUCAGGGGAAACUUUGAGA
UGGCCUUGCAAAGGGUAUGGUAAUAGCUGACGGACAUGGU
CCUAACCACGCAGCCAAGUCCUAAGUCAACAGAUCUUCUGUU
GAUUAUGGAUGCAGUUCACAGACUAAAUGUCGGUCGGGAAG
AUGUAUUCUUCUCAUAGAUUAGUCGGACCUCUCCUUAAU
GGGAGCUAGCGGAUGAAGUGAUGCAACACUGGAGCCGCUGG
GAACUAAUUUGUAUGCGAAAGUAUUAUUGAUUAGUUUUGGAG
UACUCGuaag
    
```

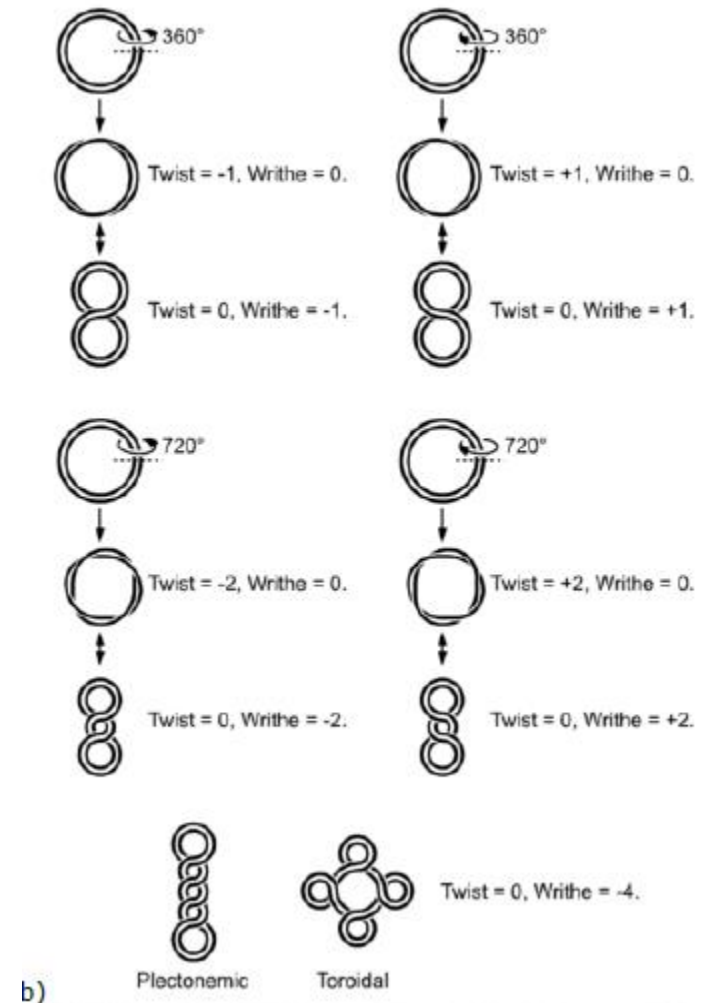
Si possono definire due quantità geometriche associate al superavvolgimento:

il **twist (T)** che misura l'eccesso di torsione di un tratto doppia elica intorno al suo asse (0 corrisponde a elica rilassata, $+(-)1$ significa che in un certo tratto l'elica ha compiuto un giro in più (in meno) rispetto alla situazione rilassata)

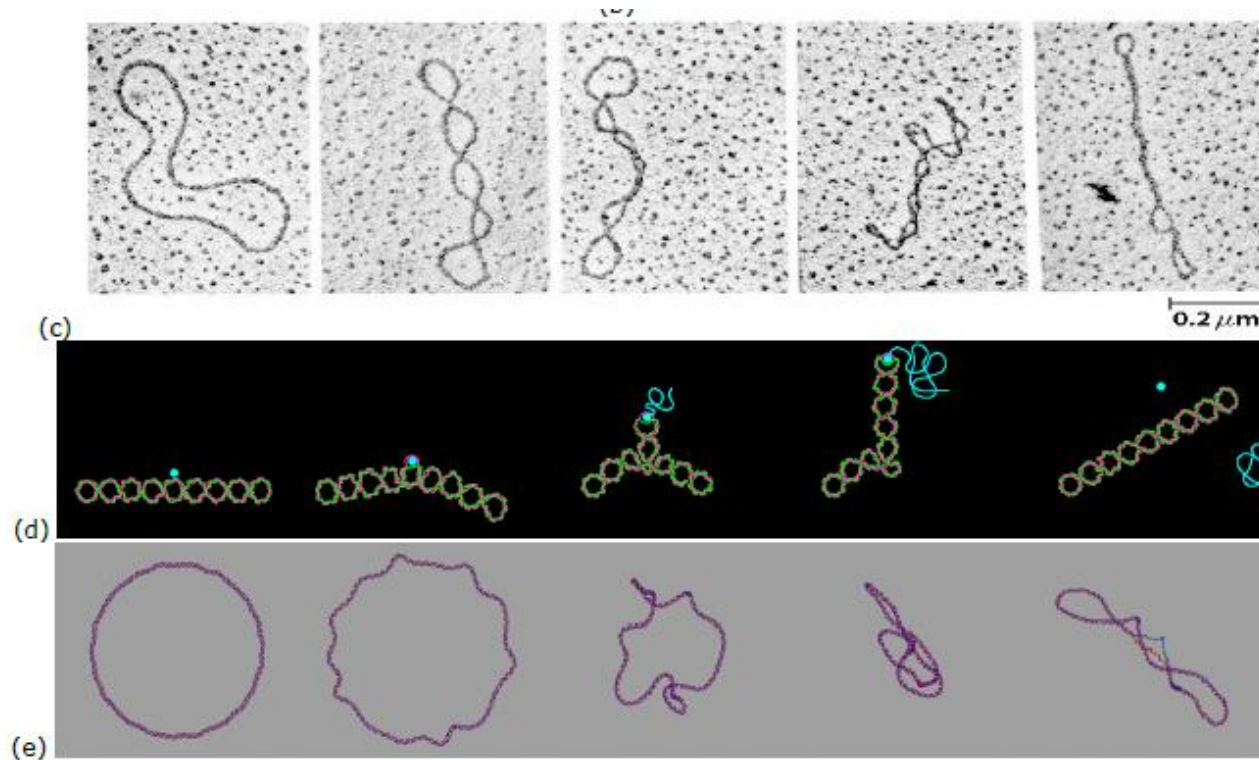
il **writhe (W)**, attorcigliamento) che misura il numero di volte che l'asse dell'elica si attorciglia su se stesso.

In generale le due quantità sono indipendenti l'una dall'altra.

Ma se le estremità del polimero sono bloccate oppure collegate tra loro, come nel DNA circolare, che si trova nei cromosomi batterici o mitocondriali e nei plasmidi, lo stress torsionale in eccesso non può variare.



c) Micrografia di un plasmide planare e superavvolto (d) Modello dell'azione di una polimerasi su un plasmide superavvolto (e) supercoiling e denaturazione locale di un plasmide di circa 900bp



Una funzione del superavvolgimento è la compattazione della struttura del DNA, che altrimenti avrebbe estensione macroscopica.

Tutto quanto detto vale anche per DNA non circolari, dal momento che in generale tratti anche lunghi di doppia elica hanno le estremità bloccate.

In particolare, nel DNA nei cromosomi eucariotici la compattazione è ottenuta con un superavvolgimento di tipo solenoidale intorno alle proteine istoniche.

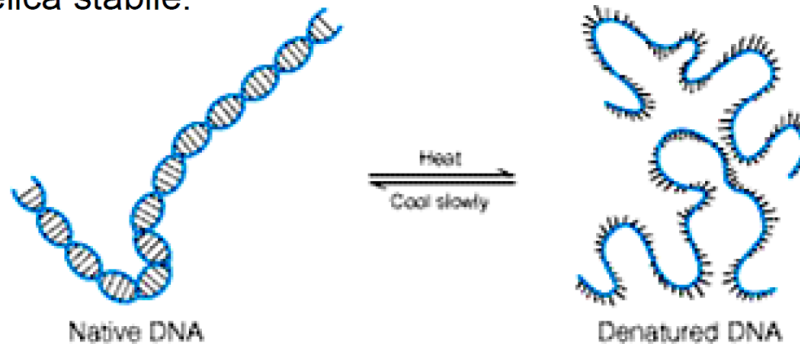
Nell'RNA, come già accennato, il ripiegamento in strutture terziarie con specifiche forme tridimensionali ha principalmente ruoli funzionali.

Per questo motivo, mentre il DNA superavvolto può avere una struttura piuttosto “fluttuante” (ad esempio le anse delle strutture si muovono) stabilizzata solo da interazioni di tipo “non-bonded”, in RNA la struttura terziaria ha la necessità di essere stabilmente mantenuta.

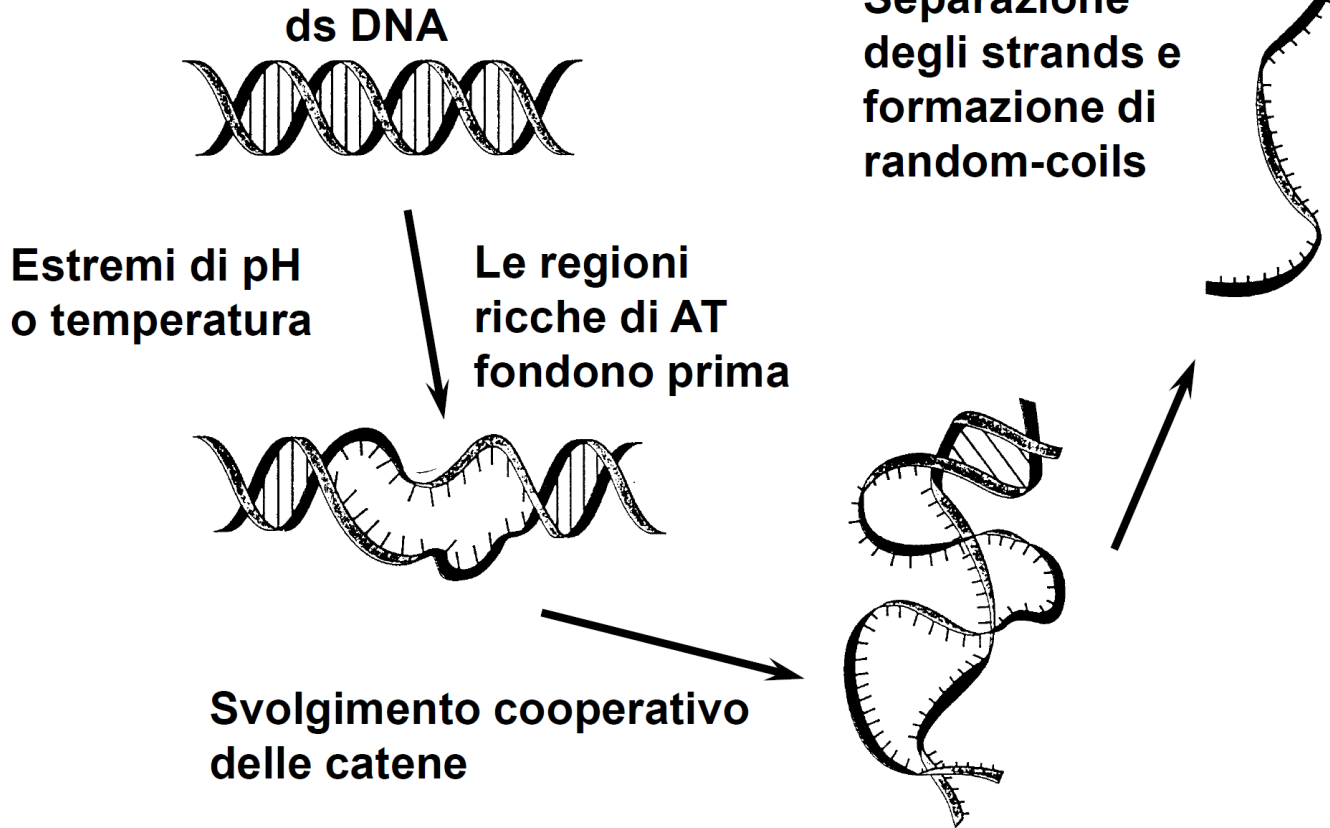
I tratti di elica e gli altri motivi strutturali secondari vengono mantenuti in posizioni e orientazioni relative stabili dagli accoppiamenti tra nucleotidi.

La denaturazione degli acidi nucleici

- Transizione elica-gomitolo (helix-coil transition): Fattori in competizione creano un equilibrio tra le forme strutturata e non strutturate degli acidi nucleici.
- Due fattori favoriscono la denaturazione degli acidi nucleici:
 - 1) La repulsione elettrostatica delle catene
 - A $\text{pH} > 2$, ogni residuo ha almeno una carica negativa
 - Le cariche sono parzialmente neutralizzate dai controioni, ma la carica netta è comunque negativa.
 - 2) L'entropia del gomitolo statistico (random coil)
 - Il random coil ha entropia più alta e, siccome $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$, il contributo dell'entropia spinge nella direzione del gomitolo statistico e ΔH deve compensare per mantenere la doppia elica stabile.



Denaturazione del DNA



Micrografia al microscopio elettronico di DNA parzialmente fuso

