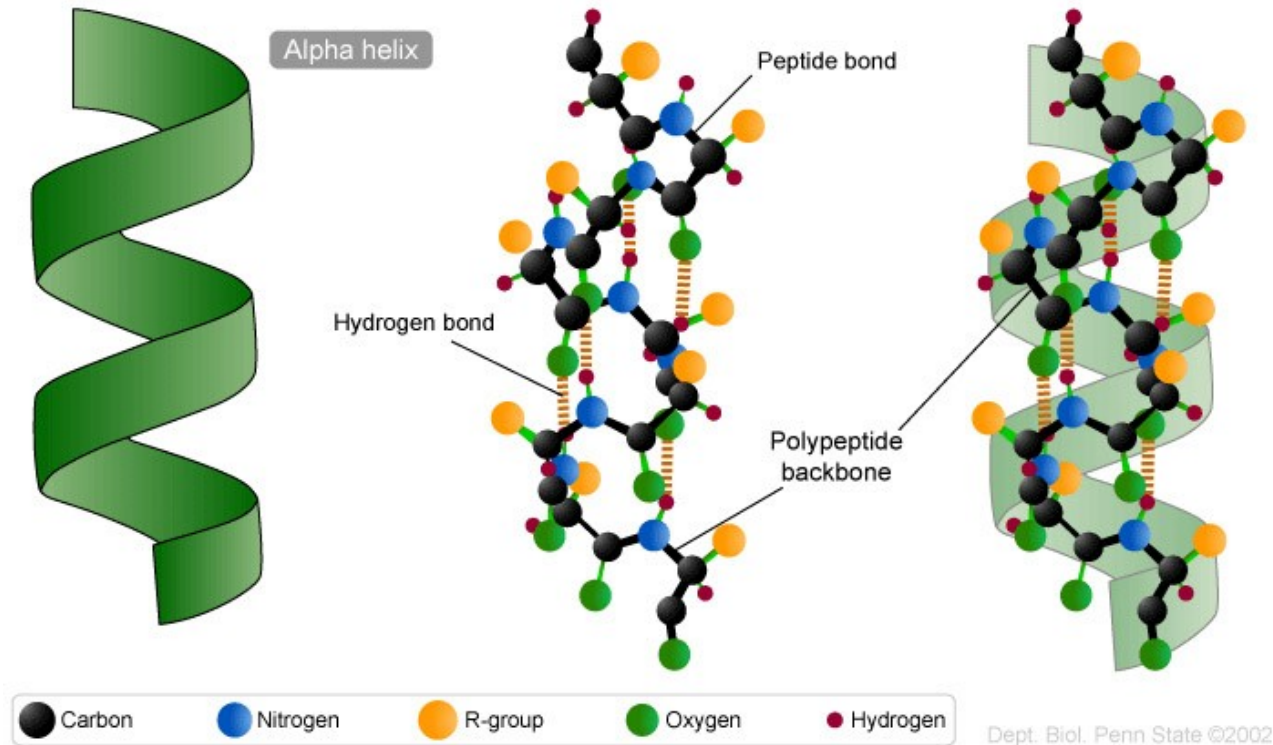


La struttura secondaria: l' α elica

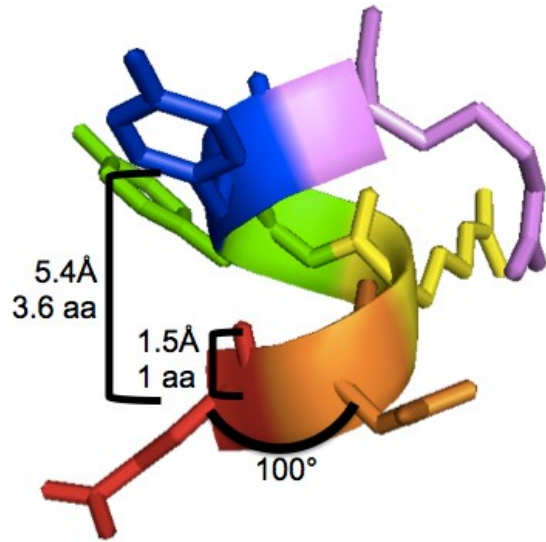
La catena si ripiega a formare una struttura spaziale con ripetizione periodica (valori invariati) della conformazione.

Le catene laterali sporgono verso l'esterno dell'elica minimizzando l'ingombro sterico.



La struttura elicoidale è stabilizzata da legami H intracatena paralleli all'asse dell'elica e formati tra i gruppi C=O di ogni residuo peptidico ed gruppi N-H del quarto aa lungo la catena.

La struttura secondaria: l' α elica (II)



Alfa α -elica: struttura + comune. L'unità ripetuta è un giro che si estende per 5,4 Å lungo l'asse. Ci sono 3,6 aa/giro.

Senso di avvitamento: destrorso (in senso orario procedendo lungo l'elica)

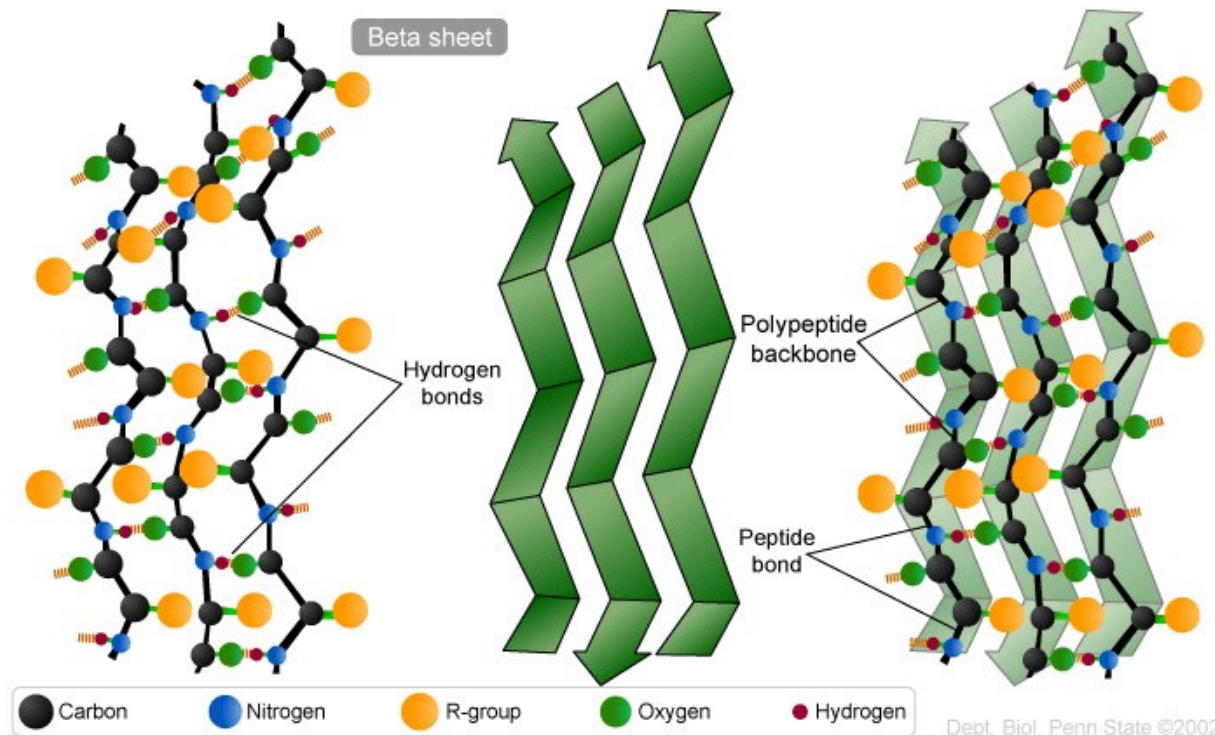
Alcuni aminoacidi si trovano più frequentemente impegnati nella conformazioni ad alfa-elica che altri (no Pro, raro Gly)

Altri tipi di elica possibili (3.10, alfa elica sinistrorsa) più rare.

Contenuto di α -elica varia : da 0 a 100%. Circa 25% di tutti i residui delle proteine sono in alfa-elica.

La conformazione β (foglietto β)

E' la conformazione in cui lo scheletro della catena polipeptidica è la più estesa possibile e procede a zig-zag. Distanza assiale tra amminoacidi 3,5 Å.

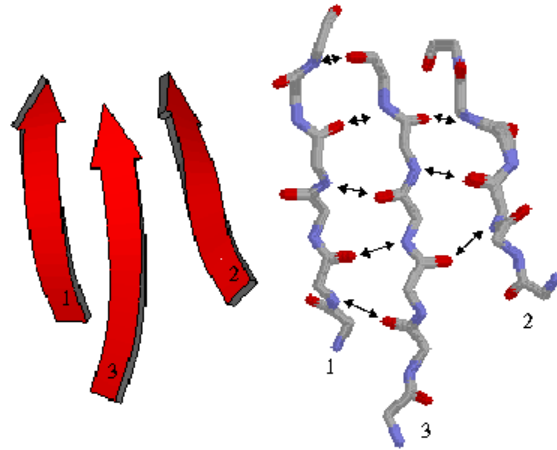


Due o più catene polipeptidiche si dispongono l'una a fianco dell'altra a formare strutture definite **foglietti β (beta sheet)**.

Stabilizzata da legami H tra due catene adiacenti (**intercatena**).

Nei foglietti β I gruppi R sporgono al di fuori della struttura alternativamente sopra e sotto il piano del foglio pieghettato

Foglietti paralleli ed antiparalleli

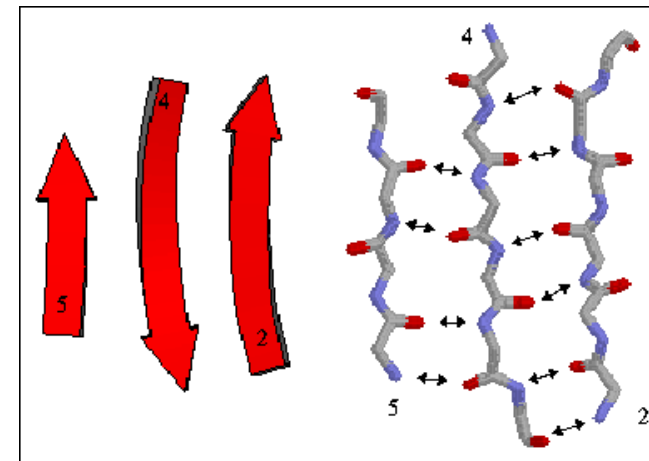


Foglietto parallelo

I foglietti β sono formati in genere da 4-5 catene ma in alcuni casi anche da 8-10. Non sono strutture piatte.



Le catene adiacenti possono essere disposte parallelamente o antiparallelamente. Sono rappresentate da frecce: puntano al C-terminale.



Foglietto antiparallelo

I ripiegamenti e le porzioni non ripetitive della catena principale

Le inversioni di direzione della catena si attuano con elementi comuni: **ripiegamenti β (β -turn)**.
Il gruppo CO forma legame H con il gruppo NH del residuo $n+3$.

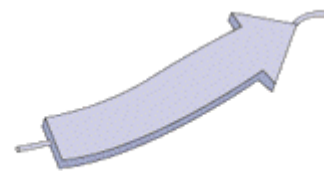


Loop (ansa)

Altri tipi di inversione : le **anse** (loops, anse omega Ω)
Non hanno una struttura periodica e sono esposte sulla superficie.



α eliche



strutture β



loop

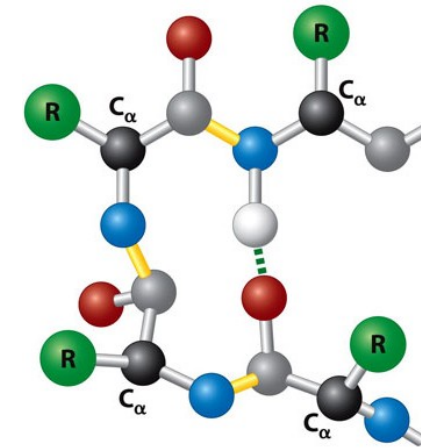


Figure 3-6
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

ripiegamento β

Spesso in posizione 2 e 3
ci sono **Gly** e/o **Pro**.

Gli aminoacidi hanno diverse tendenze a formare α -eliche, foglietti β o ripiegamenti

From **Protein Structure and Function**
by Gregory A Petsko and Dagmar Ringe

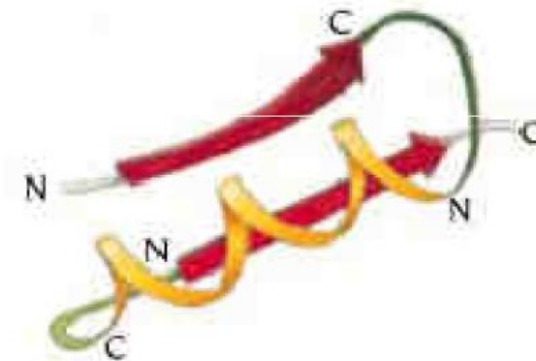
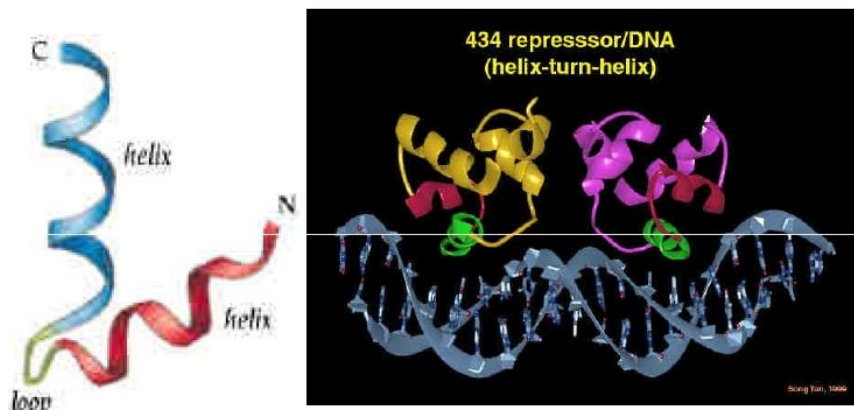
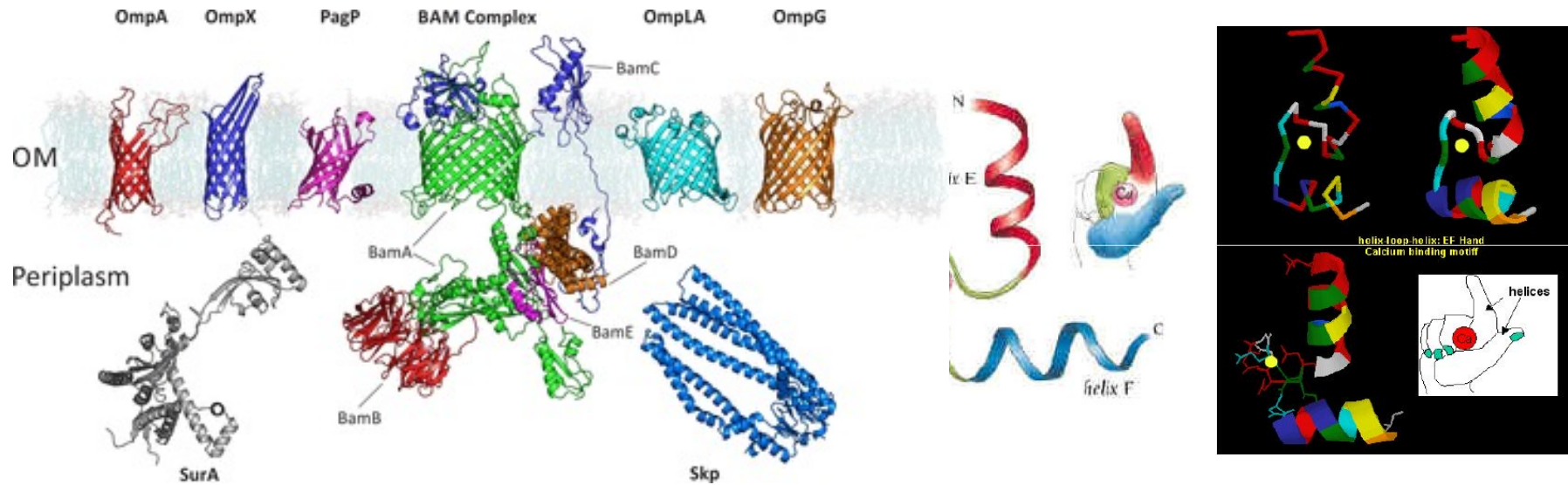
Aminoacidi con catene R ramificate in C-beta hanno preferenza per foglietti β , Ser, Asp hanno catene R che formano legami H vicino catena principale, competono con i gruppi delle catene principali
Pro destabilizza sia α -eliche sia foglietti β

Si può predire la struttura secondaria di corti frammenti delle proteine con una probabilità del 60-70%

Conformational Preferences of the Amino Acids

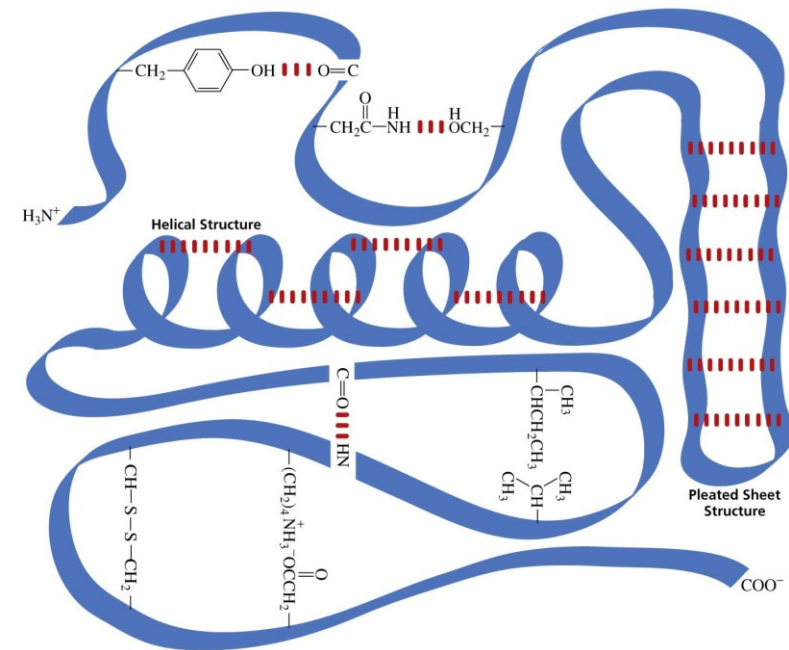
Amino acid	Preference		
	α -helix	β -strand	Reverse turn
Glu	1.59	0.52	1.01
Ala	1.41	0.72	0.82
Leu	1.34	1.22	0.57
Met	1.30	1.14	0.52
Gln	1.27	0.98	0.84
Lys	1.23	0.69	1.07
Arg	1.21	0.84	0.90
His	1.05	0.80	0.81
Val	0.90	1.87	0.41
Ile	1.09	1.67	0.47
Tyr	0.74	1.45	0.76
Cys	0.66	1.40	0.54
Trp	1.02	1.35	0.65
Phe	1.16	1.33	0.59
Thr	0.76	1.17	0.90
Gly	0.43	0.58	1.77
Asn	0.76	0.48	1.34
Pro	0.34	0.31	1.32
Ser	0.57	0.96	1.22
Asp	0.99	0.39	1.24

Alcune strutture secondarie possono essere presenti in combinazioni dette **MOTIVI** o **strutture supersecondarie**



La struttura terziaria delle proteine

- Descrive il ripiegamento nello spazio dell'intera proteina e definisce l'esatta posizione di tutti gli atomi.
- La struttura terziaria tiene conto delle **interazioni a lungo raggio esistenti** tra residui aa lontani tra loro nella sequenza lineare e la disposizione dei ponti S-S.
- I segmenti delle catene polipeptidiche che devono interagire sono mantenuti da diversi tipi di interazioni deboli.
- Possono essere classificate in:
 - **Proteine fibrose**
 - **Proteine globulari**
 - **Proteine di membrana**



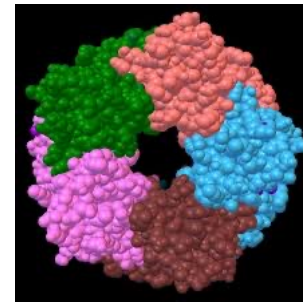
Interazioni che caratterizzano la struttura terziaria di proteine

I dati sulla struttura tridimensionale delle proteine sono riuniti nella banca dati Protein Data Bank (PDB) (<http://www.rcsb.org/pdb/>)

La struttura quaternaria: le proteine multisubunità

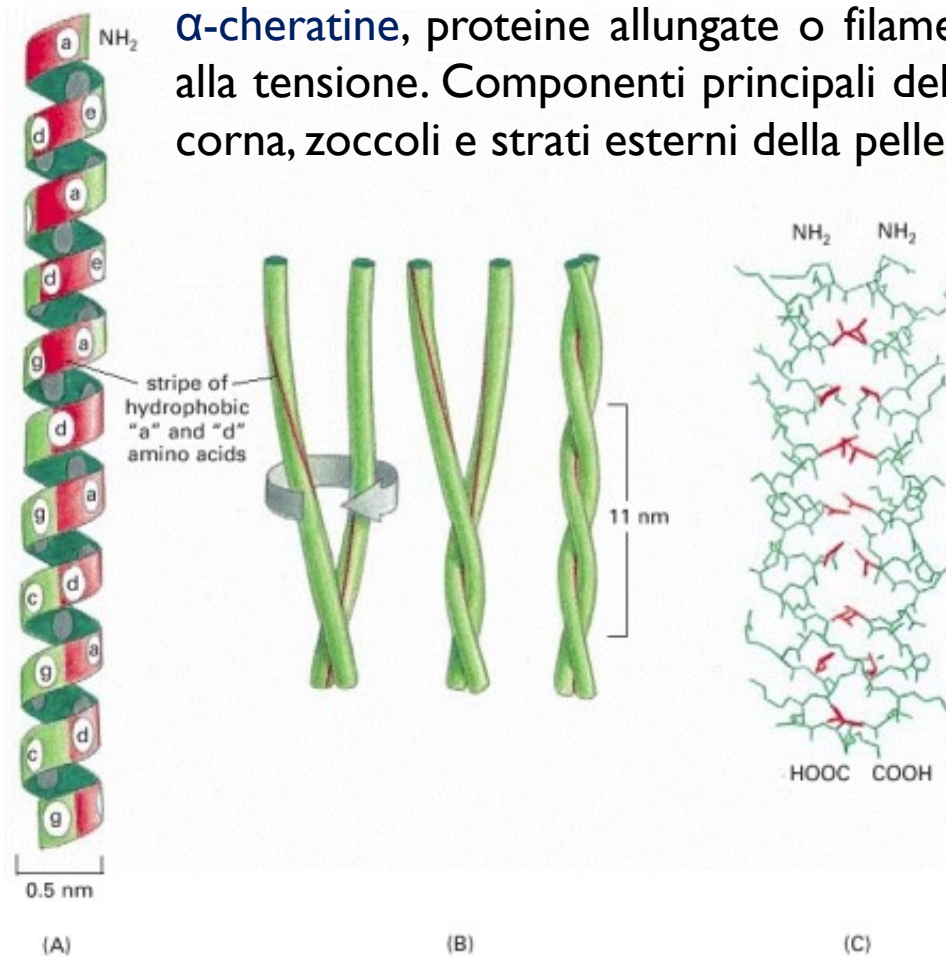
La struttura quaternaria descrive la disposizione spaziale delle diverse subunità e la natura delle loro interazioni. Le proteine multisubunità, o **multimeriche** possono avere subunità uguali o diverse

La struttura quaternaria descrive strutture che possono comprendere numerosissime subunità proteiche che formano complessi su larga scala.



Esempi di proteine in scala, molte di esse con struttura quaternaria

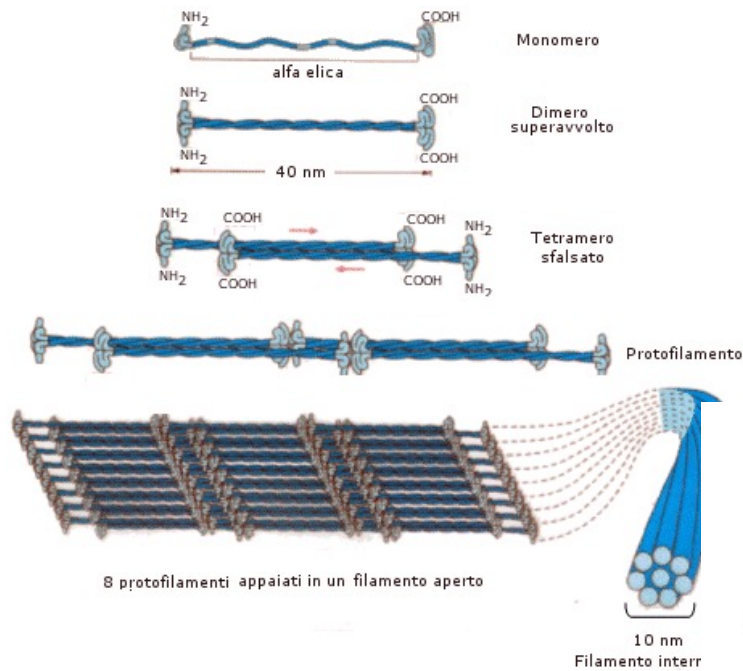
Proteine fibrose - α -cheratina



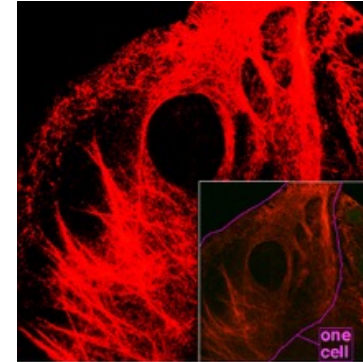
α -cheratine, proteine allungate o filamentose dei mammiferi: adatte a resistere alla tensione. Componenti principali della pelle, tessuti connettivi, capelli, unghie, corna, zoccoli e strati esterni della pelle,

Forma α -eliche (300 residui) con ripetizioni di sette residui ed un aa idrofobico circa ogni quattro residui: ogni elica ha una **porzione idrofobica** lungo un lato (in rosso). 2 eliche si avvolgono una sull'altra producendo un superavvolgimento sinistrorso (**avvolgimento avvolto**) producendo dimeri stabilizzati da interazioni idrofobiche. Alcune si assemblano all'esterno delle cellule, formando fibre rigide **insolubili in acqua**.

Struttura dei filamenti e delle fibrille di α -cheratina

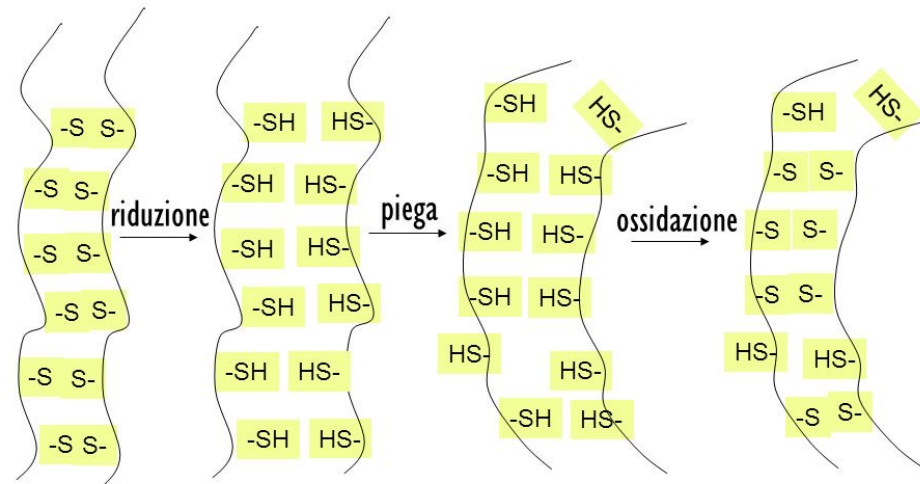


L'unità di dimero superavvolto può formare **protofilamenti** e quindi **filamenti (10 nm)**.



Alterazione "permanente" della cheratina

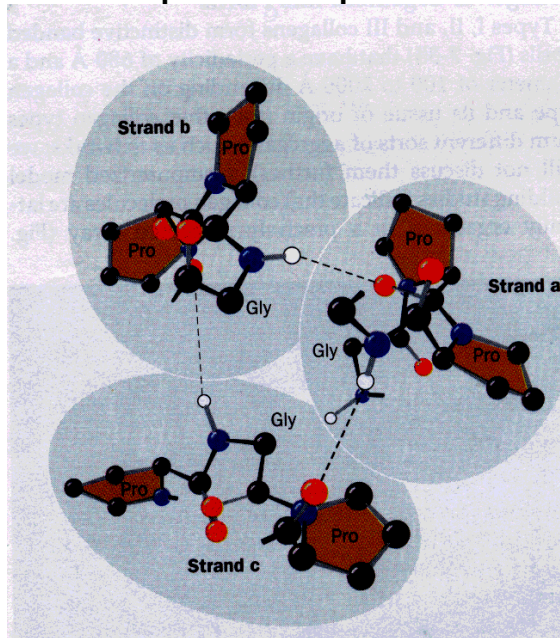
Strutture molto resistenti alle cavi e variabilmente flessibili contenute di S e della p disolfuro (> nelle unghie e i capelli).



Proteine fibrose: il collagene

Il collagene. Principale componente fibroso della pelle delle ossa, dei tendini, e delle cartilagini. Proteina più abbondante.

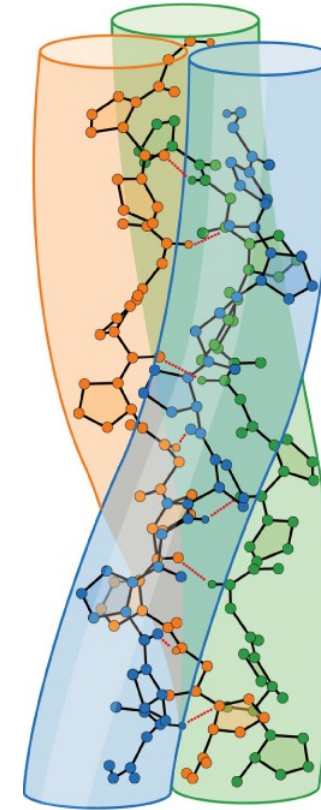
La subunità base del collagene: **elica sinistrorsa** con avvolgimento di ~ 3.3 residui per giro (no α -elica, no legami H) Tipica sequenza **tripeptidica** ripetuta Gly-X-Pro (o idrossi-Pro) lunga anche 1000 residui. I residui di gly sono indispensabili per formare un'elica molto compatta.



Tre eliche attorcigliate tra loro formano una **tripla elica** con andamento destrorso (**tropocollagene**).

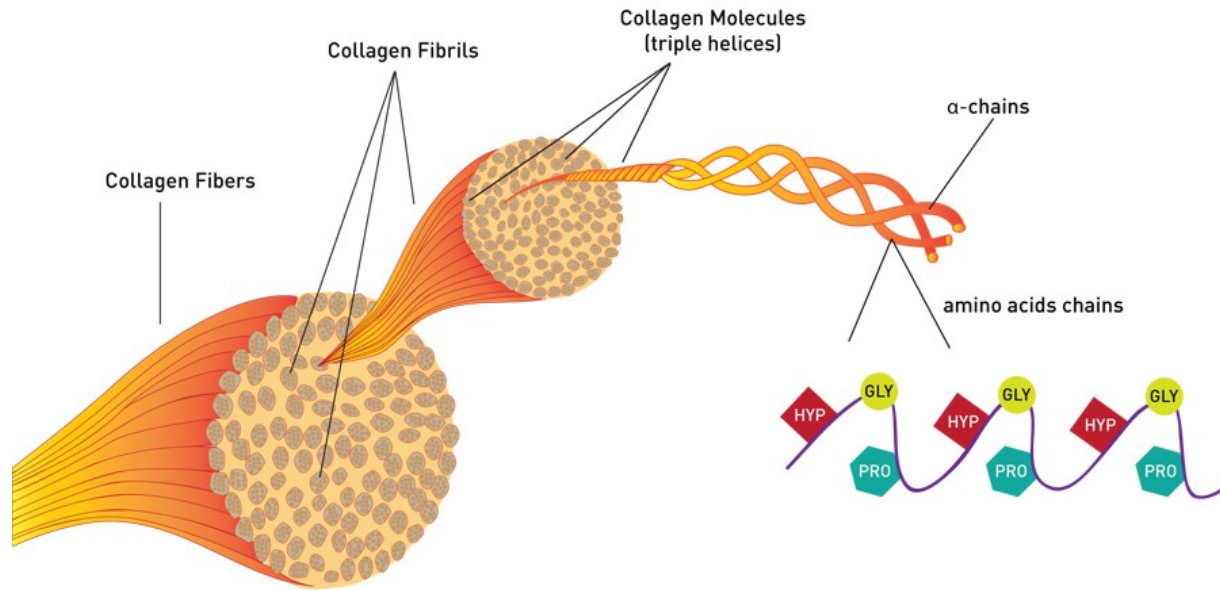
Le tre catene sono stabilizzate da **legami idrogeno intercatena** che coinvolgono residui di **glicina** presenti nei punti centrali di contatto delle tre eliche e di **idrossiprolina**, un aminoacido modificato.

From **Protein Structure and Function**
by Gregory A Petsko and Dagmar Ringe



© 1999-2004 New Science Press

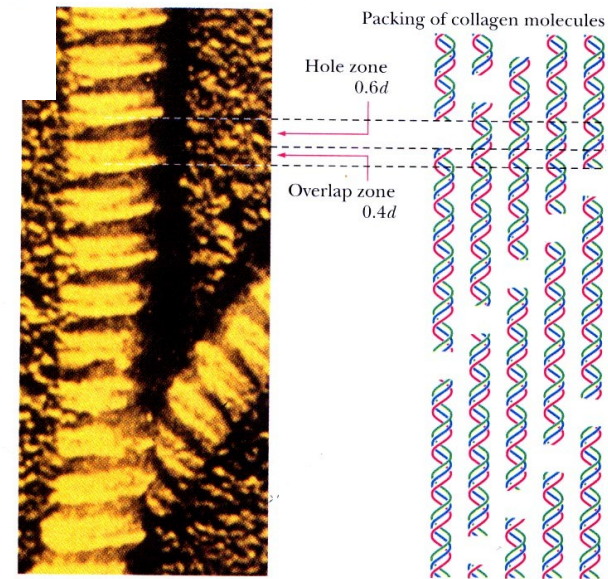
Il collagene forma fibre resistenti



Le triple eliche di collagene formano fibrille resistenti formate da gruppi di molecole di tropocollagene impilate e unite da legami crociati che aumentano la resistenza

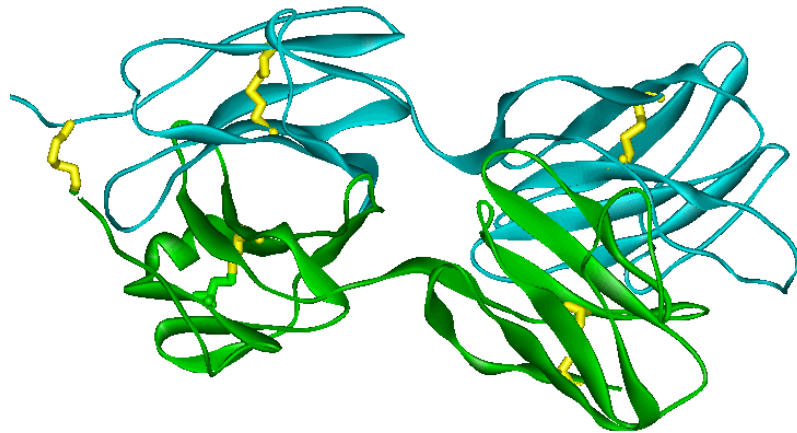
Struttura della fibrilla di collagene di tipo I

La struttura della fibra con catene impilate e sfalsate osservate al microscopio elettronico



Le proteine globulari

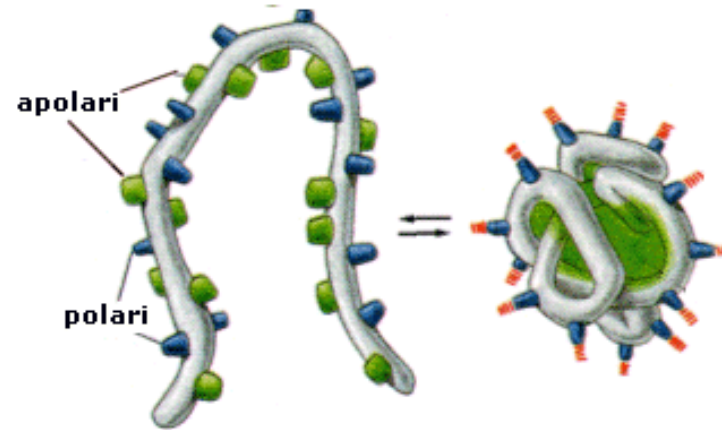
Esistono in una enorme varietà strutturale. Quasi tutte hanno parti in α -elica o in conformazione- β . Il loro ripiegamento è complesso e privo di simmetria.



Frammento di immunoglobulina

I tratti di congiunzione (ripiegamenti e loop) sono brevi e generalmente sulla superficie della struttura.

- **Domini**: sono regioni distinte, separate da segmenti flessibili, spesso capaci di strutturarsi indipendentemente (moduli proteici).
-

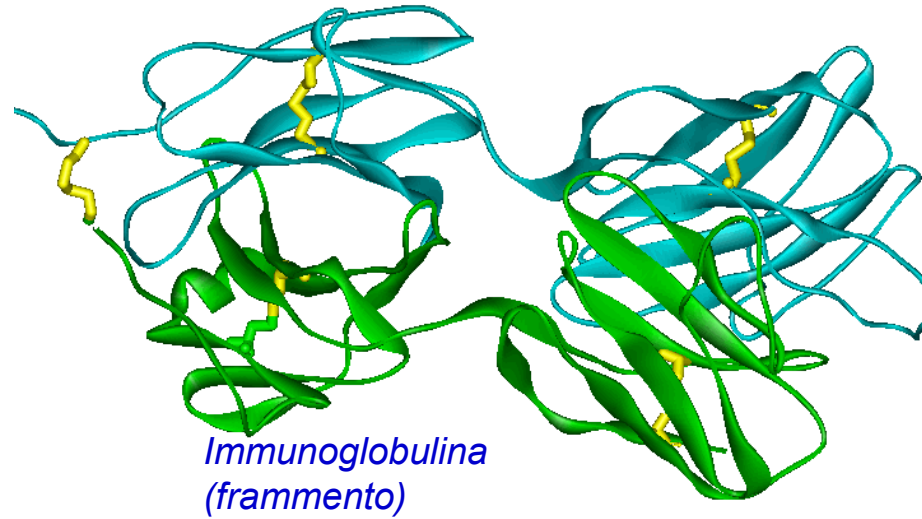


Le catene laterali dei residui apolari si raggruppano **all'interno** della struttura, le catene laterali dei residui **polari** restano sulla **superficie**. Gruppi CO e NH non impegnati in legami H hanno preferenza per l'acqua. In genere non vi è spazio libero all'interno della struttura

Modificazioni covalenti – gruppi prostetici

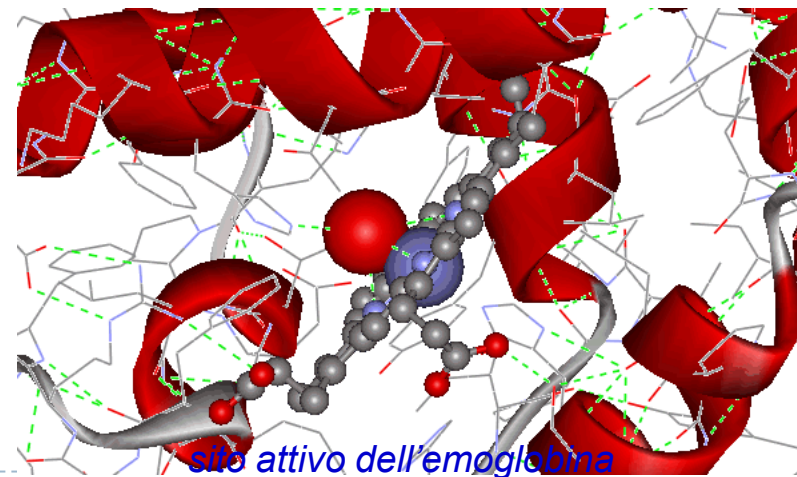
Ponti disolfuro:

Sia intracatena che intercatena: in proteine composte da due o più subunità legate da ponti disolfuro.



Gruppi prostetici:

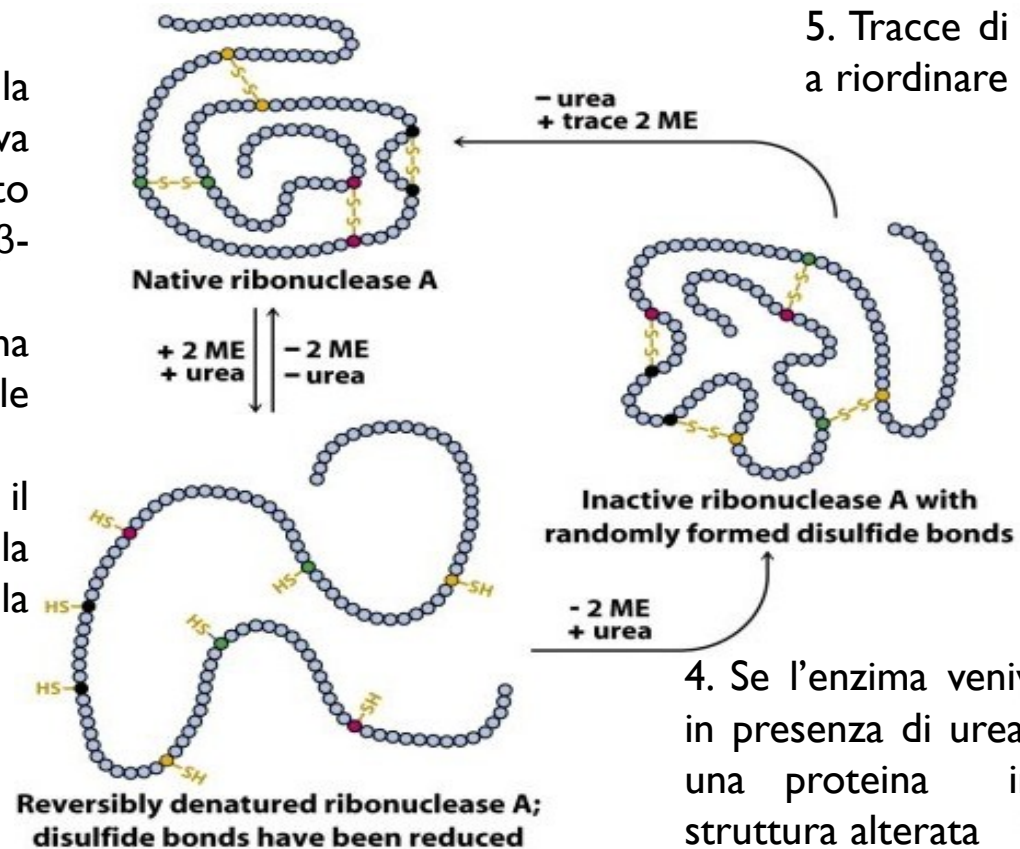
molecole non proteiche strettamente (a volte covalentemente) legate alla catena polipeptidica. Sono necessarie per svolgere funzioni che non possono essere esercitate dagli amminoacidi.



Come si realizza la struttura tridimensionale delle proteine ?

L'esperimento di Anfinsen, con la **Ribonucleasi A**: dimostra la relazione tra sequenza e conformazione di una proteina

1. La struttura della ribonucleasi A veniva distrutta dal trattamento con urea 8M e β -mercaptoetanololo (2ME)
2. La proteina assumeva una conformazione casuale priva di attività.
3. Allontanando per dialisi il riducente 2ME e l'urea, la ribonucleasi riacquistava la sua attività.



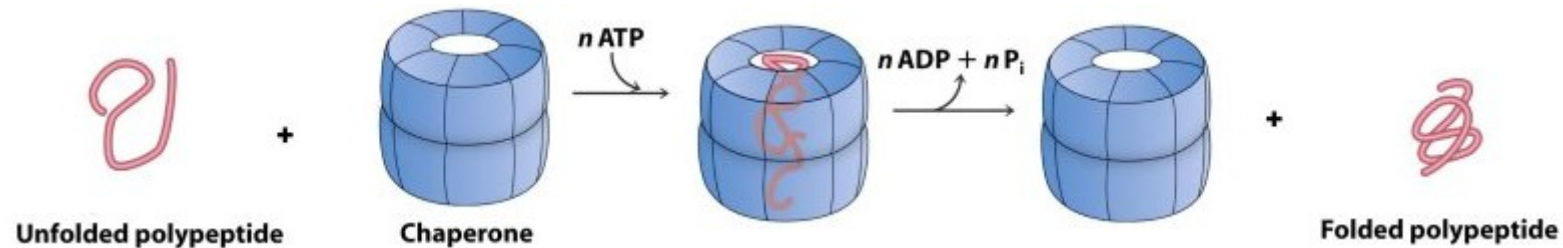
5. Tracce di 2ME aiutavano a riordinare i ponti S-S

4. Se l'enzima veniva ossidato in presenza di urea si otteneva una proteina inattiva con struttura alterata

Ci sono >100 modi per riordinare 8 Cys in 4 ponti S-S

La sequenza di una proteina determina la sua struttura tridimensionale

- ▶ L'informazione necessaria per specificare la conformazione tridimensionale della proteina è contenuta nella sequenza amminoacidica
- ▶ Così il ripiegamento delle proteine è un processo spontaneo che non richiede l'assistenza di fattori esterni (non sempre)
- ▶ Il processo di rinaturazione è favorito dalla riduzione di energia libera che accompagna alla formazione di una forma stabile (nativa) dell'enzima.



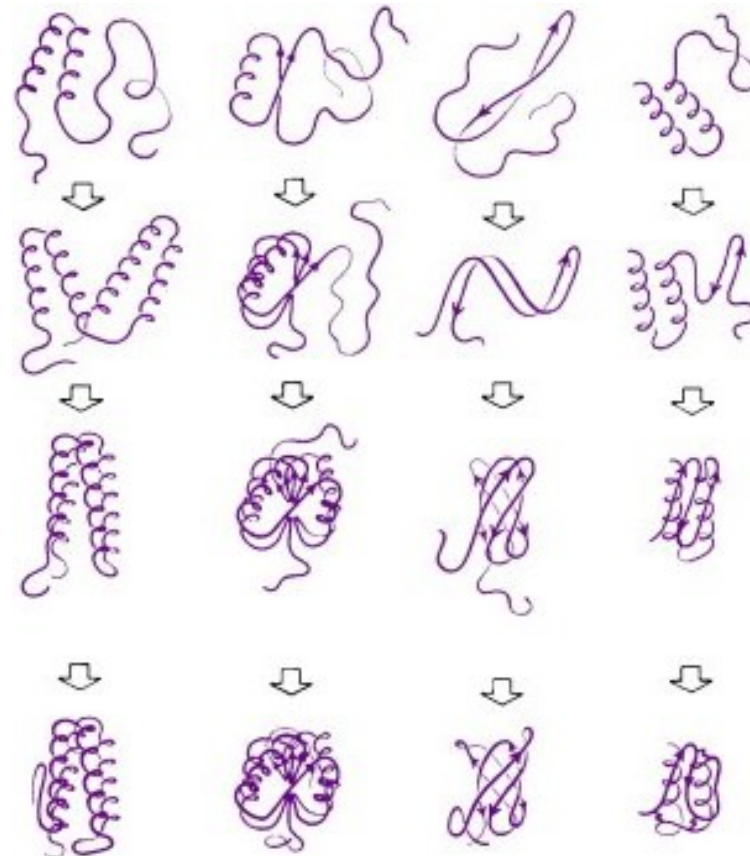
- ▶ In altri casi il ripiegamento è più complesso (proteine + grandi e multisubunità) richiede proteine (chaperonine) che bloccano la formazione delle conformazioni errate

Le proteine si ripiegano per progressiva stabilizzazione degli intermedi

Come passa una proteina da una struttura casuale non avvolta all'unica struttura ben definita che costituisce la forma nativa?

1 possibilità : per tentativi di tutte le possibilità : proteina 100 aa
Ci vorrebbero 4×10^9 anni
(paradosso di Levinthal)

2 possibilità per conservazione degli intermedi corretti: modello di **nucleazione-condensazione**.
Si stabilizzano alcuni intermedi che vengono conservati.
Esistono più percorsi alternativi per condurre alla proteina nativa funzionale



**QUALI SONO I MOTIVI CHE CI SPINGONO A STUDIARE LA
STRUTTURA PRIMARIA di UNA PROTEINA?**

Piccole differenze nella struttura primaria implicano FUNZIONI BIOLOGICHE COMPLETAMENTE DIVERSE

- **ossitocina e vasopressina** sono due oligopeptidi con struttura molto simile e funzioni biologiche ed usi molto differenti

OSSITOCINA



Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly-NH₂

Causa la contrazione dell'utero

Causa la produzione del latte dalle ghiandole mammarie

Viene somministrato per indurre il parto

VASOPRESSINA

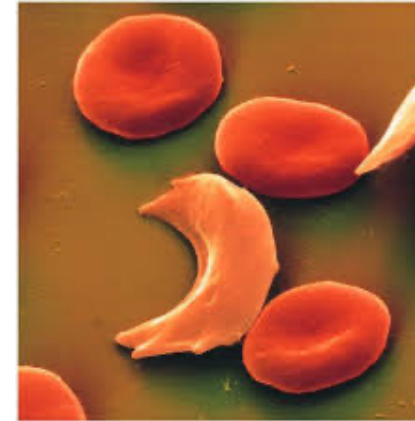


Cys-Tyr-Phe-Gln-Asn-Cys-Pro-Arg-Gly-NH₂

Regola il riassorbimento di acqua dalle urine

Viene somministrato nel trattamento del diabete insipido (eccesso di produzione di urine)

Anemia falciforme



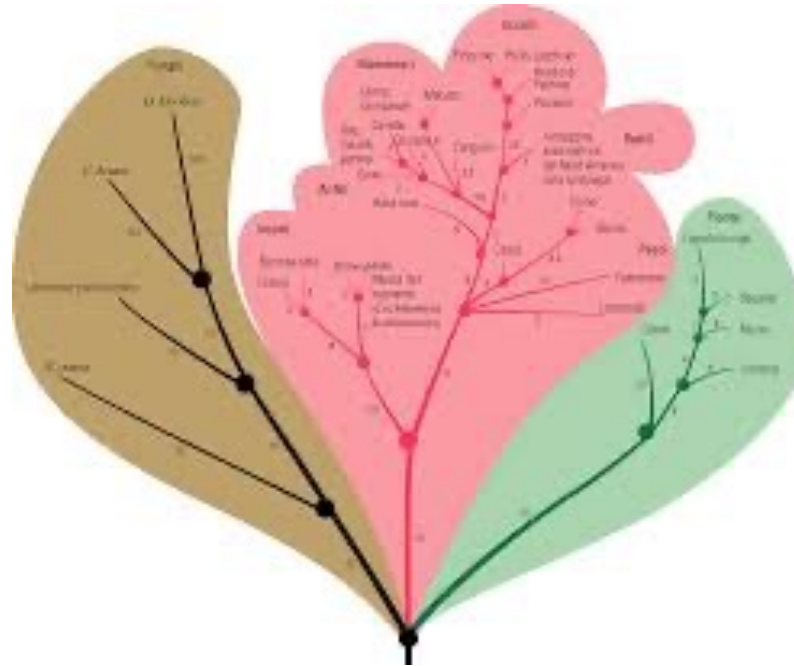
- L'emoglobina è costituita da 4 catene:

2 catene α di 141 AA
2 catene β di 146 AA

- Nei malati di anemia falciforme un residuo di **acido glutammico** (polare) nella catena β è sostituito da un residuo di **valina** (apolare) a causa di un errore genetico
- Emoglobina normale ...Val-His-Leu-Thr-Pro-Glu-Gly-Lys....
- Emoglobina anormale ...Val-His-Leu-Thr-Pro-Val-Gly-Lys....

tratto di catena β dell'emoglobina

L'evoluzione degli organismi è legata a mutazioni spontanee che avvengono nei loro geni.



Il **Citocromo C** è una buona proteina per studi evolutivi comparati perché si trova nella catena respiratoria di trasporto degli elettroni di tutti gli organismi. Quando le linee evolutive divergono aumenta il numero di differenze tra le sequenze.

LE INFORMAZIONI SUL NUMERO DI DIFFERENZE DI RESIDUI TRA PROTEINE OMOLOGHE DI SPECIE DIVERSE PERMETTONO LA COSTRUZIONE DI MAPPE EVOLUTIVE

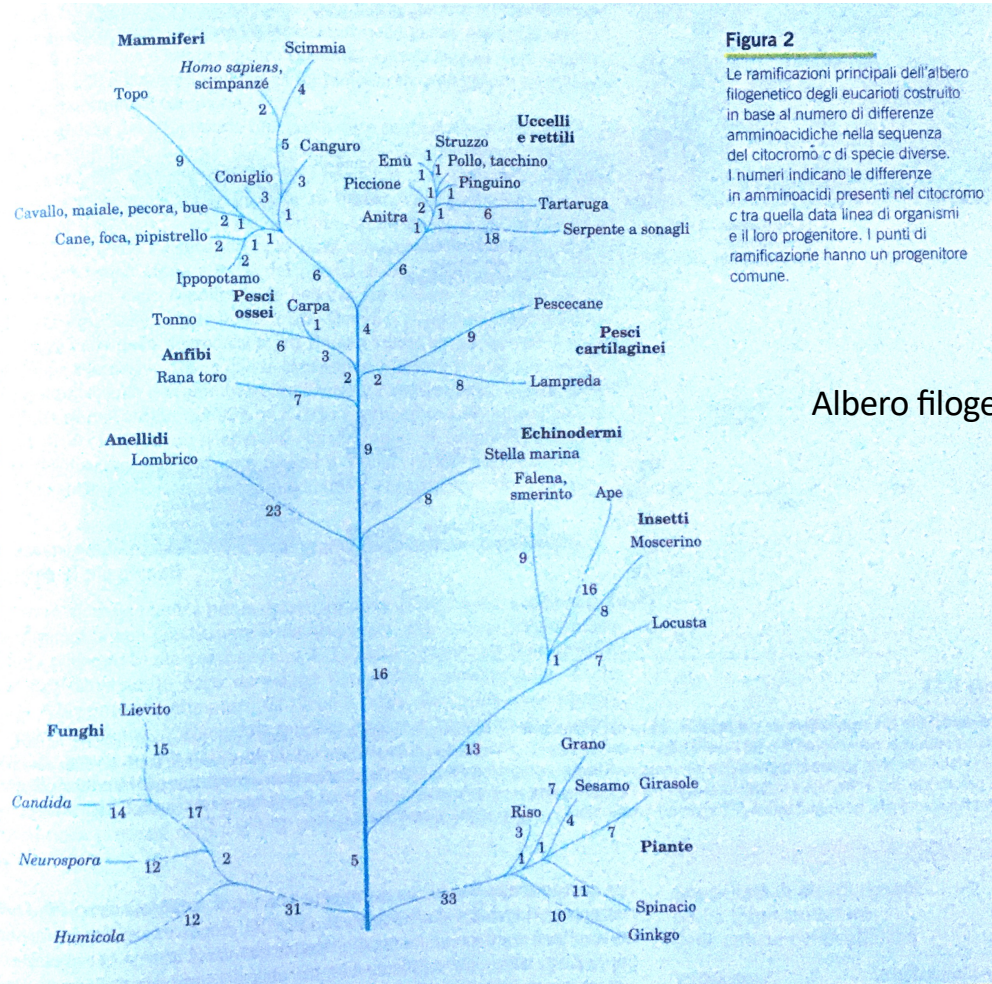


Figura 2

Le ramificazioni principali dell'albero filogenetico degli eucarioti costruito in base al numero di differenze aminoacidiche nella sequenza del citocromo c di specie diverse. I numeri indicano le differenze in aminoacidi presenti nel citocromo c tra quella data linea di organismi e il loro progenitore. I punti di ramificazione hanno un progenitore comune.

Albero filogenetico

Conclusioni

- ▶ Ogni proteina ha una sua struttura tridimensionale dalla quale dipende la sua funzione
- ▶ La strutture tridimensionale dipende dalla sequenza amminoacidica della proteina
- ▶ Le molteplici strutture sono costruite da pochi comuni motivi strutturali (alfa eliche, conformazioni beta)
- ▶ Le principali classi strutturali sono: le proteine fibrose e quelle globulari.
- ▶ La conformazione nativa è stabilizzata da interazioni deboli quali interazioni idrofobiche e legami H.
- ▶ La struttura tridimensionale può essere alterata (denaturata) da trattamenti che distruggono le interazioni deboli. Ciò provoca la perdita della funzione dimostrando che esiste una relazione tra struttura e funzione