

Folding di proteine

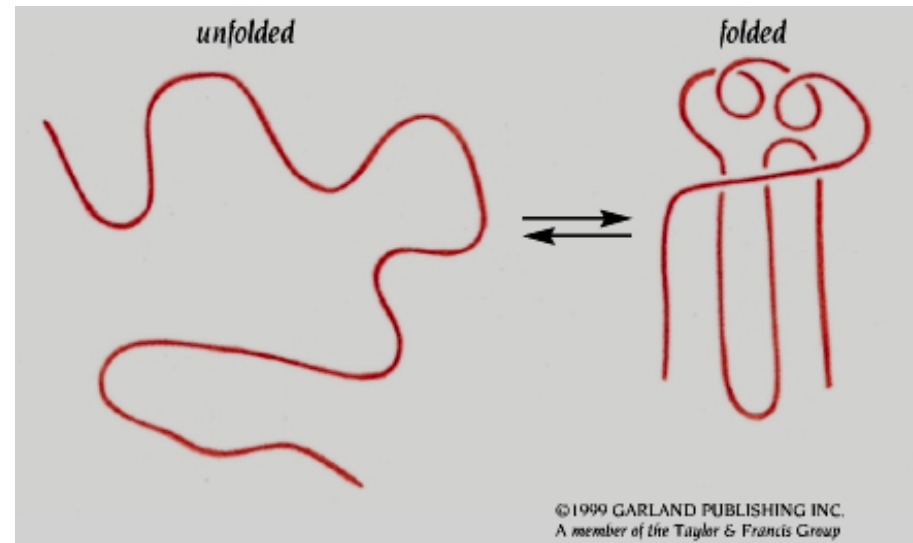
- Concetto di folding
- Forze e cinetica
- La transizione
- Gli intermedi
- I chaperoni

Folding

- Un polipeptide si ripiega (fold) in una ed una sola struttura nativa in tempi rapidi (ms – min)
- La struttura nativa è scritta nella sequenza in un codice ora ignoto
- La comprensione del codice è un argomento centrale della biologia
- Permetterebbe di costruire proteine nuove

Folding in vitro

- Unfolded: polipeptide esteso e flessibile, con molte conformazioni
- Nativa: una conformazione globulare e compatta



Sperimentalmente si pone il peptide da condizioni denaturanti a quelle native

Considerazioni energetiche

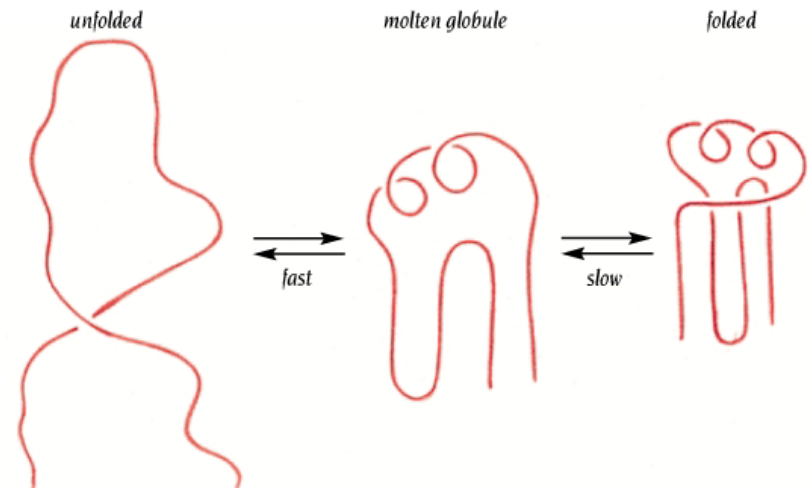
- Stato unfolded: alta entropia, bassa entalpia
- Stato nativo: bassa entropia, alta entalpia
- La differenza di energia libera tra due stati è minima (5-15 Kcal/mol) e deriva dalla differenza di grandi numeri.
- La stabilità marginale dello stato nativo è biologicamente necessaria per la sua degradazione e flessibilità

Energia o cinetica?

- La struttura nativa può essere determinata da fattori termodinamici: è la conformazione con energia minima.
- Oppure da fattori cinetici: la conformazione con bassa energia raggiungibile in tempi veloci (minimo locale)

Molten globule

- Spesso nella rinaturazione si forma un intermedio chiamato Molten Globule, con le corrette strutture secondarie, ma non strettamente impaccato
- Esso si forma molto velocemente (ms), mentre il riarrangiamento successivo è lento

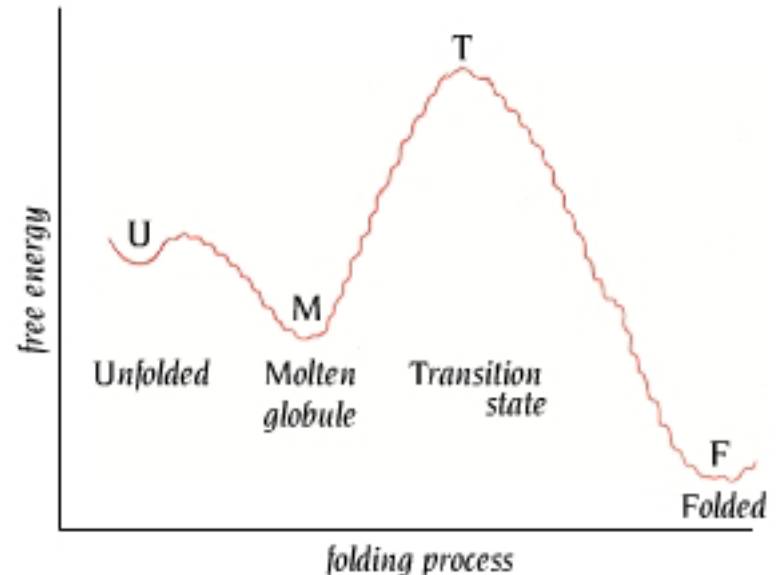
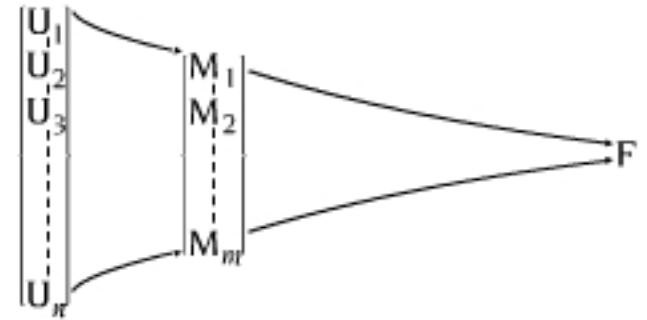


Fattori cinetici

- Il peptide deve raggiungere le conformazioni più stabili e cinematicamente accessibili
- Esse non sono necessariamente quelle con energia minima
- Può trovare ostacoli sul cammino:
 - Aggregazione per interazioni idrofobiche
 - Ponti –S-S- non corretti
 - Isomerizzazione delle proline

La reazione di rifolding

- Si passa da popolazioni con molte conformazioni ad un'unica conformazione.
- Il molten globule contiene diverse conformazioni



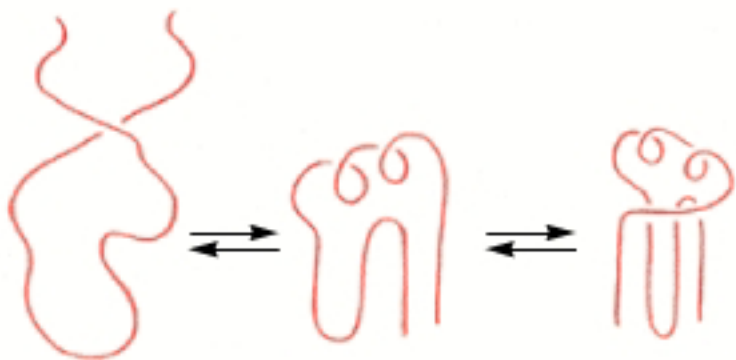
La componente idrofobica

- Il primo passaggio verso la struttura nativa è definito “collasso idrofobico”:
- Le catene idrofobiche si allontanano dall’acqua
- Questo induce la formazione delle strutture secondarie per accomodare lo scheletro idrofilo in ambiente idrofobico.
- I gruppi idrofobici sono distribuiti lungo la sequenza, alcuni di essi si “sotterrano” velocemente nella proteina. Come?

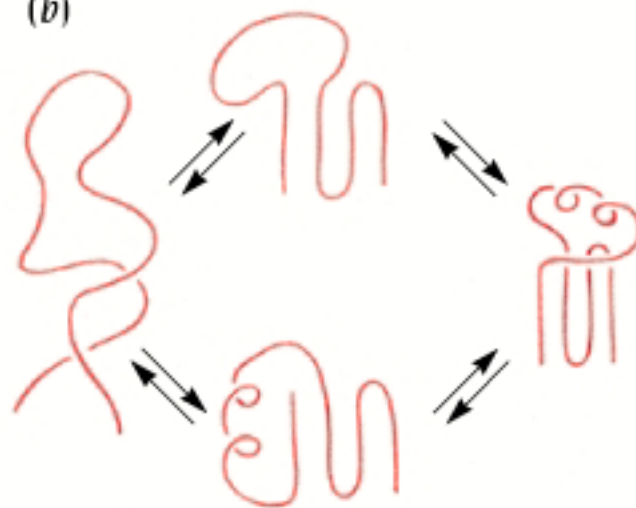
Diversi cammini di reazione

- Alcune reazioni presentano intermedi diversi che indicano cammini alternativi.
- Questo è spesso associato alla presenza di due o più domini strutturali

(a)

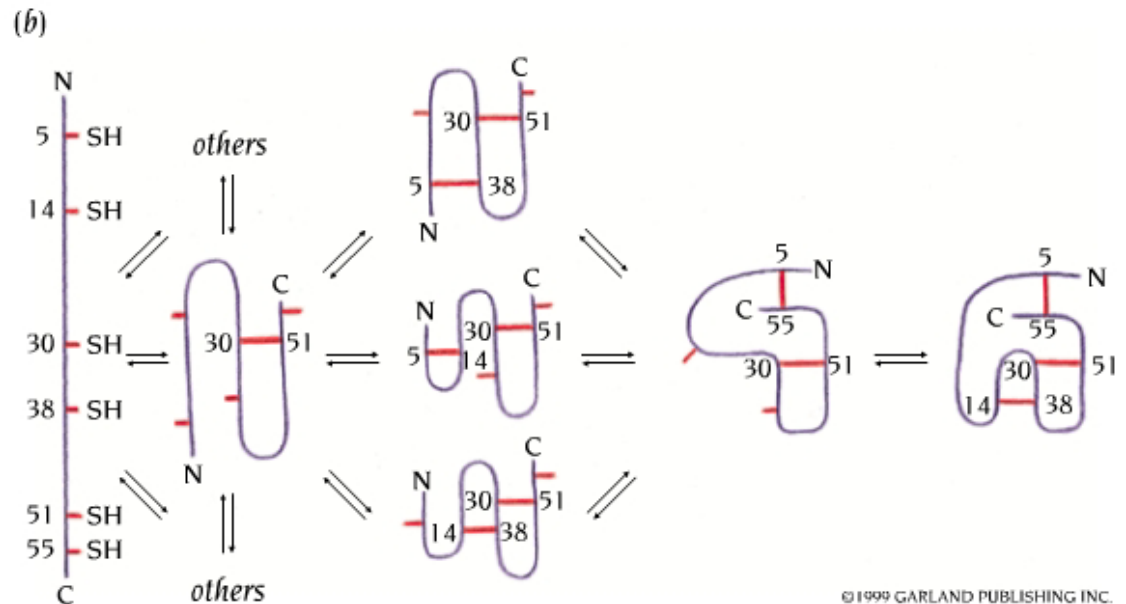
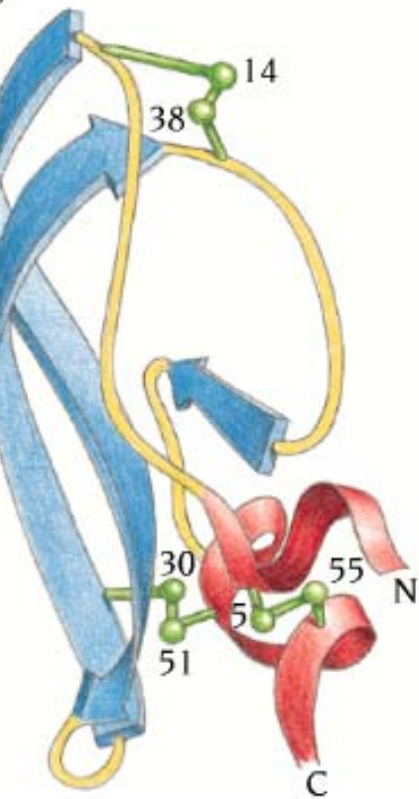


(b)



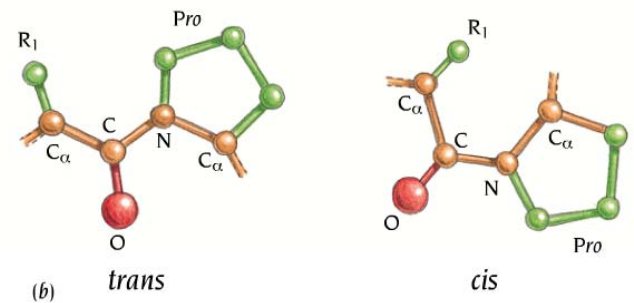
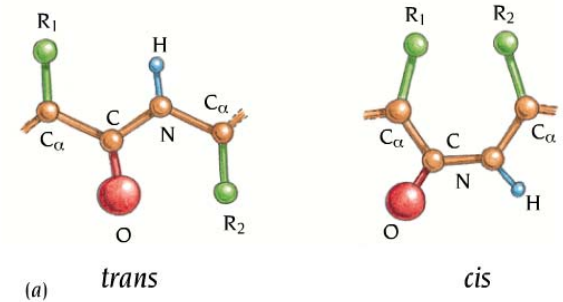
I ponti disolfuro

- L'inibitore delle tripsina ha 3 ponti disolfuro, essi si formano sequenzialmente possono andare incontro a riarrangiamenti.
- Il processo è accelerato da un enzima che catalizza la formazione/rottura dei ponti

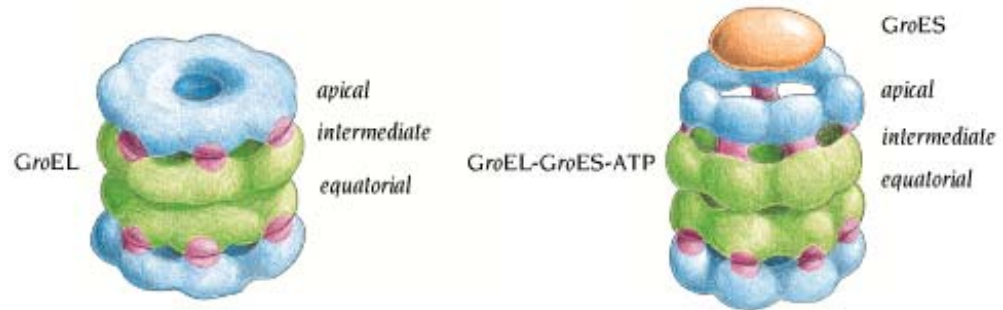


Prolina

- La forma Cis del legame peptidico della prolina è relativamente stabile.
- Esso permette conformazioni particolari, necessarie in alcune proteine.
- Il riarrangiamento del legame Trans-Cis è lento e facilitato da un enzima: la ciclofillina



Folding in vivo: i chaperoni

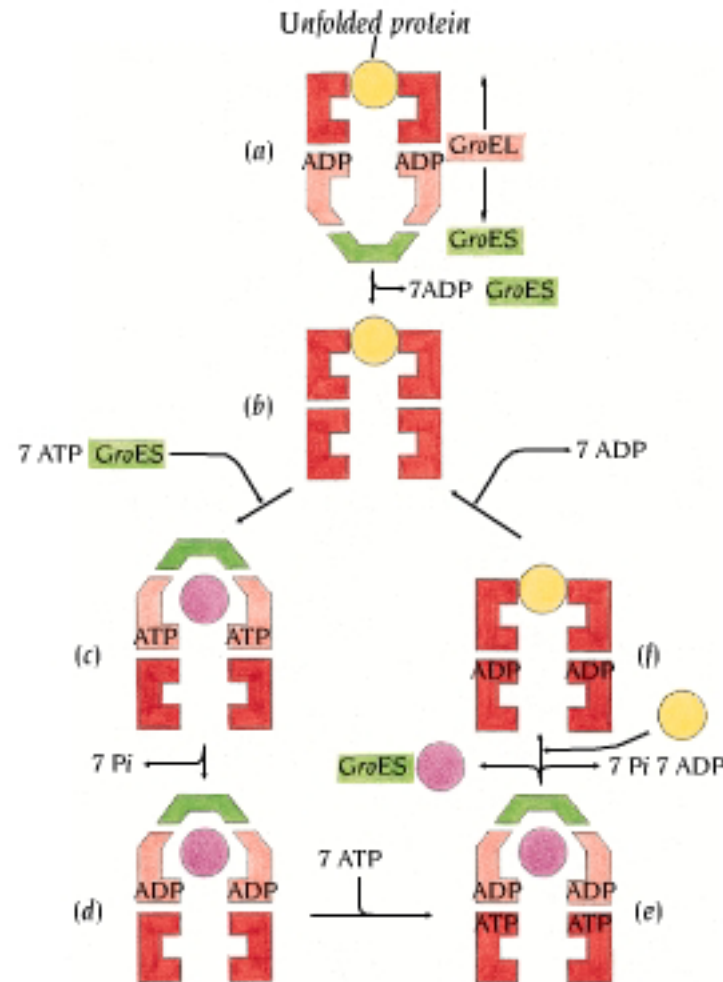


© 1999 GARLAND PUBLISHING INC.
A member of the Taylor & Francis Group

- L'efficienza del folding varia nelle proteine, ed alcune espongono nel cammino residui idrofobici.
- In vivo il folding è assistito da proteine specifiche: i chaperoni.
- Essi riducono l'aggregazione tra le proteine e facilitano il folding
- Vene sono di molti tipi, le più caratterizzate sono GroEL/GroES (Batteriche)

GroES/GroEL

- Il peptide unfolded entra nella cavità idrofobica di GroES
- Questa va incontro a complessi cambiamenti conformazionali che inducono o il folding o l'unfolding completo
- Il peptide è rilasciato



Conclusioni

- La stabilità termodinamica delle proteine native è necessariamente piccola
- Quando un polipeptide unfolded comincia il folding i residui idrofobici si muovono nell'interno. Questo restringe il numero delle possibile conformazioni
- successivamente ci possono essere barriere energetiche, es formazione di –S-S- o isomerizzazione di Pro.
- In vivo il processo è accelerato da enzimi e assistito dai chaperoni

Disordini di folding di proteine

Malattie dei prioni

- Trasmissibili
- Distruggono il cervello con una apparenza spongiforme
- Chiamate Transmissible Spongiform Encephalopathies (TSE)
- Morbo di Creutzfeldt-Jacob (CJD)
- Variante del morbo di Creutzfeldt-Jacob (vCJD)
- Encefalopatia bovina spongiforme (BSE)
- Kuru
- Morbo di Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS)
- Insonnia familiare fatale (FFI)
- Scrapie

I Prioni

- Il termine Prioni deriva dalla proteina PrP
- I prioni sono proteine normali con una configurazione diversa.
- PrP^c (cellulare)
 - È una glicoproteina di membrana
 - Struttura alfa, solubile, digeribile da proteasi
- PrP^{Sc} (Scrapie)
 - Ha sequenza identica a PrP^c
 - Ha struttura beta, insolubile, non digeribile
 - Converte PrP^c come se stessa, e forma aggregati

Le malattie

- aspetti genetici
 - Alcune mutazioni di PrP sono associate a CJD, GSS e FFI. Altre sembrano essere predisponenti per la malattia
- Aspetti infettivi
 - Kuru e scrapie sembrano collegati a cannibalismo. BSE sembra essere originato da alimentazione con cervelli di pecore con scrapie
 - Il morbo è trasmissibile per iniezione di materiale infetto.
 - PrP umano e bovino differiscono per un amino acido

Basi della malattia

- È trasmessa solo dalla proteina, anche in forma ricombinante.
- Nei lieviti può essere curata da una maggior produzione di chaperoni
- PrP^{sc} converte solo PrP^c identiche e molto simili
- Agisce come un seme. Le interazioni contengono Gln-Asn
- I depositi di PrP^{sc} sono chiamati amiloidi. Amiloidi si trovano anche nei cervelli di pazienti con morbo di Alzheimer o di Huntington