

PROTEINE GLOBULARI

PROTEINE GLOBULARI

- la catena polipeptidica è avvolta in una struttura globulare compatta. Hanno conformazione più complessa. Hanno varietà di funzioni più grande.
- effetto della denaturazione
- lunghezza delle catene a parità di numero di residui amminoacidici

STRUTTURA TERZIARIA

- Come si può determinare la struttura terziaria?
- La catena polipeptidica è avvolta nello stesso modo in tutte le proteine?
- Quali fattori mantengono la proteina nella sua conformazione nativa?

ASSOCIAZIONE DELLA STRUTTURA DELLE PROTEINE CON LA FUNZIONE BIOLOGICA

- Molte proteine legano reversibilmente un'altra molecola = **LIGANDO**
- **LIGANDO** si lega ad uno specifico **SITO DI LEGAME**; interazione specifica
- Proteine sono flessibili; modificazioni conformazionali in seguito all'interazione con **LIGANDO**
- Il legame tra proteina e ligando è spesso accoppiato a un cambiamento conformazionale della proteina. **ADATTAMENTO INDOTTO.**
- In una proteina multimerica, la modificazione conformazionale che avviene in una subunità può influenzare le altre subunità
- Interazione tra proteina e **LIGANDO** può essere regolata

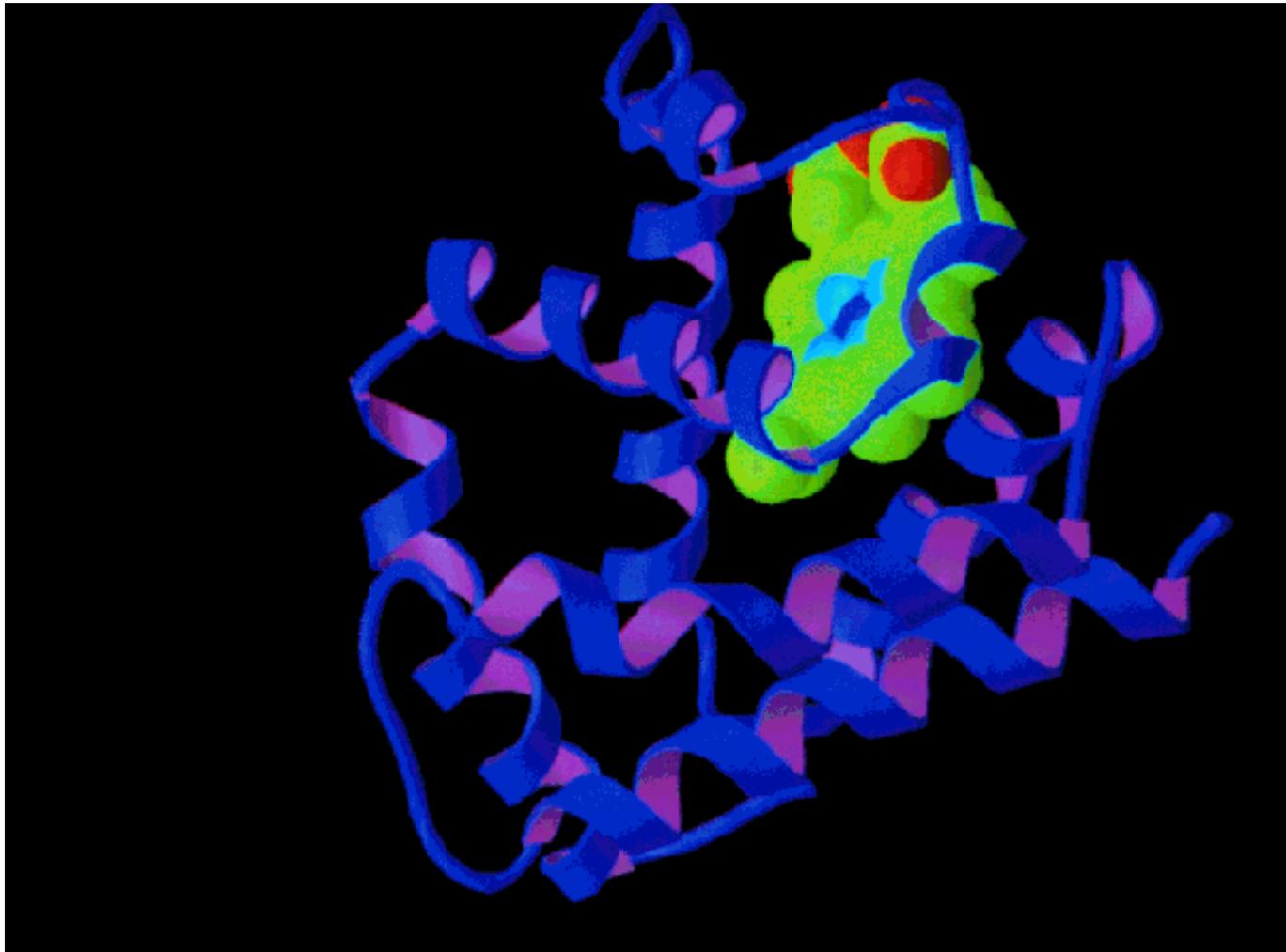
MIOGLOBINA

Immagazzina O_2 e ne favorisce la diffusione nelle cellule muscolari in rapida contrazione

una sola catena polipeptidica e una ferroprotoporfirina o gruppo eme (uguale a quella dell'emoglobina)

mioglobine da specie diverse hanno omologie di sequenza e presentano struttura terziaria simile. Quindi la sequenza amminoacidica determina la struttura terziaria.

MIOGLOBINA



Da esperimenti di denaturazione-rinaturazione è stato dimostrato che l'informazione necessaria per il corretto ripiegamento di una proteina sta nella sequenza amminoacidica.

FORZE CHE STABILIZZANO LA STRUTTURA TERZIARIA

- 1) legami idrogeno tra gruppi R
- 2) legami ionici tra gruppi R con carica opposta
- 3) interazioni idrofobiche
- 4) legami covalenti (ponti disolfuro)

**MULTIMERO = PROTEINA COSTITUITA DA PIU'
SUBUNITA'**

**OLIGOMERO = PROTEINA COSTITUITA DA POCHE
SUBUNITA'**

hanno più catene polipeptidiche separate, che possono essere uguali o diverse. Pesi molecolari maggiori e funzioni più complesse.

ESEMPIO: EMOGLOBINA

Ogni subunità ha la sua conformazione spaziale secondaria e terziaria. In più hanno la struttura quaternaria. Indica la disposizione delle catene delle subunità l'una in relazione con l'altra.

EMOGLOBINA

HbA

globina (parte proteica)

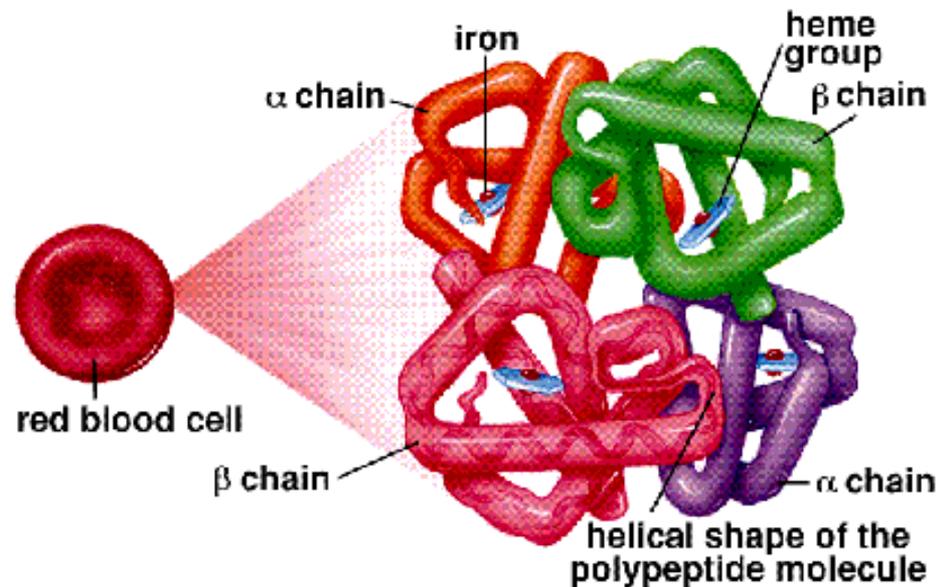
2 catene α e 2 catene β

4 gruppi prostetici

eritrociti (globuli rossi) si trovano nel plasma. Il sangue deve trasportare ogni giorno 600 litri di ossigeno dai polmoni ai tessuti. Una piccolissima parte è trasportata dal plasma sanguigno per scarsa solubilità. Quasi tutto l'ossigeno è legato e trasportato dall'emoglobina che si trova negli eritrociti. Gli eritrociti umani normali sono a forma di disco biconcavo, non hanno nucleo, mitocondri, reticolo endoplasmico, o altri organelli. Si formano da precursori chiamati reticolociti e sono incapaci di riprodursi. Hanno una vita media di 120 giorni. La loro funzione principale è di trasportare emoglobina.

Hemoglobin Structure

- Four subunits
 - two α
 - two β
- Iron
- Heme
- Binds 4 O_2



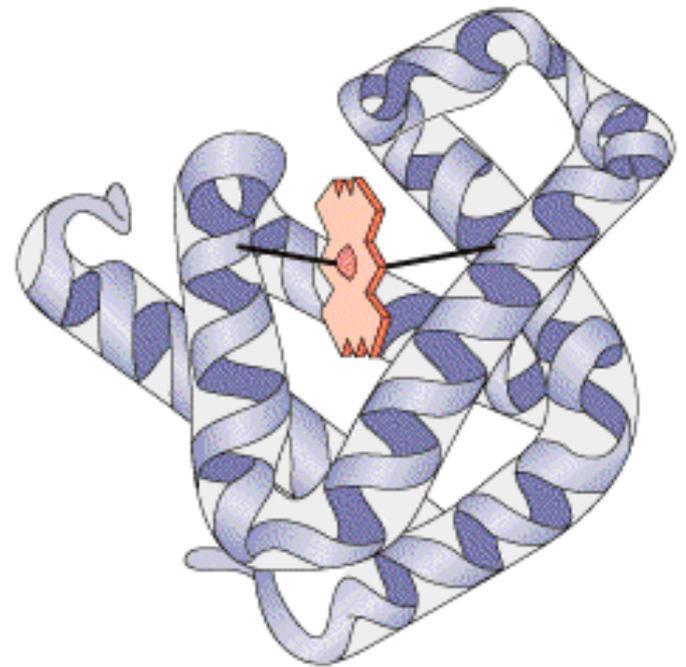
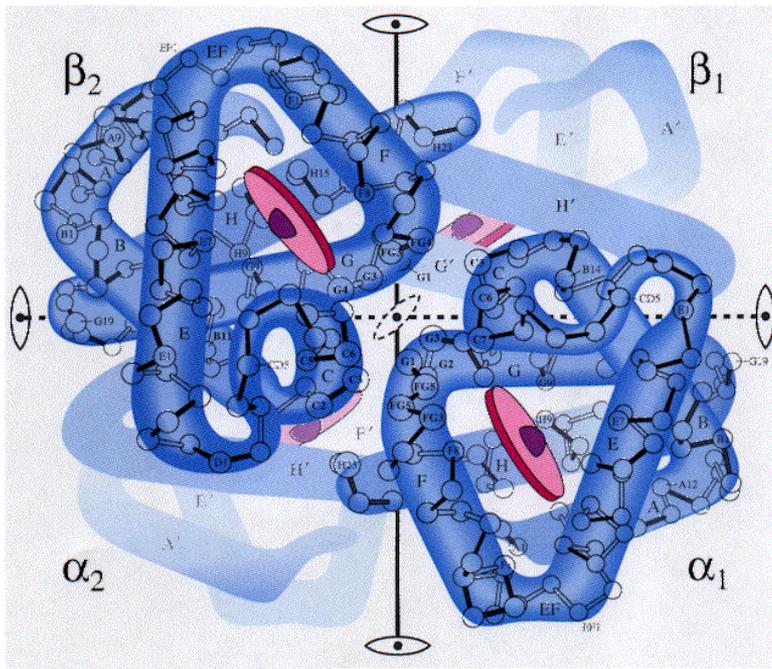
DIFFERENZE FUNZIONALI FRA Hb e Mb

CHE COSA NELLA STRUTTURA DELL'EMOGLOBINA LE CONSENTE DI POSSEDERE QUESTE DIVERSITÀ NELLA SUA AFFINITÀ?

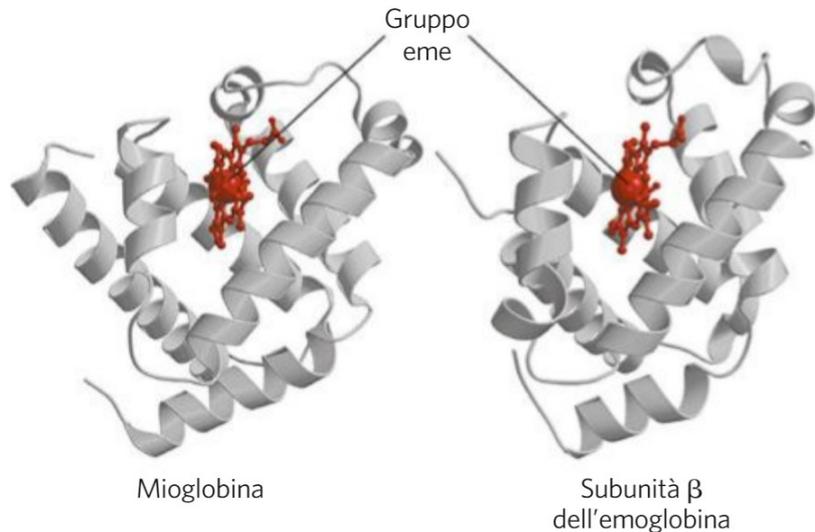
COME VIENE TRASMESSA L'INFORMAZIONE DELL'AVVENUTO LEGAME?

PERCHÈ L'EMOGLOBINA HA QUESTE CAPACITÀ E LA MIOGLOBINA NO?

Quando Hb lega O_2 subisce un cambiamento di conformazione. $\alpha_1\beta_1$ e $\alpha_2\beta_2$ dopo aver legato O_2 cambiano leggermente posizione l'una rispetto all'altra. Si verifica quindi un cambiamento nella struttura quaternaria.



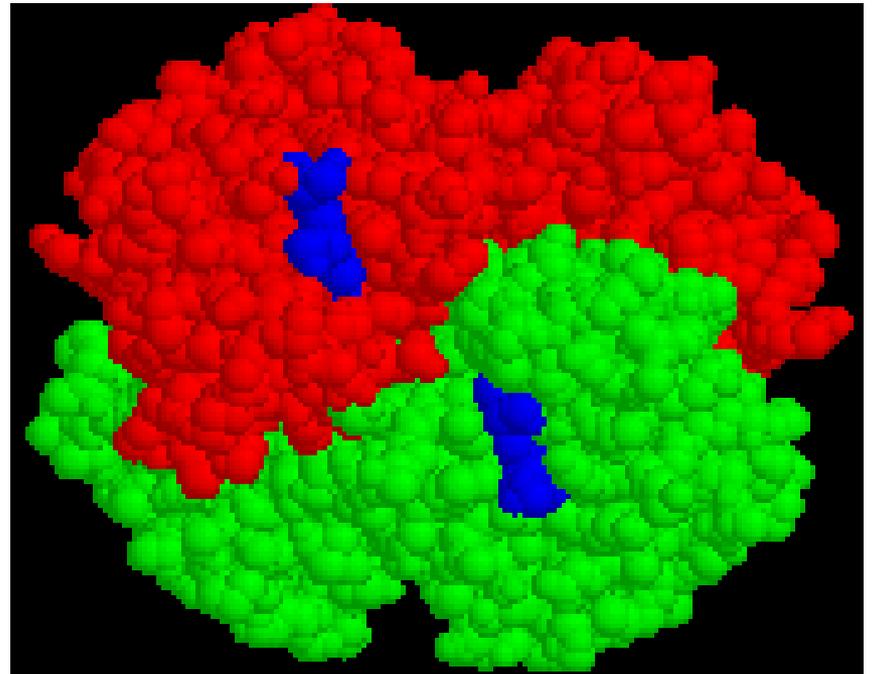
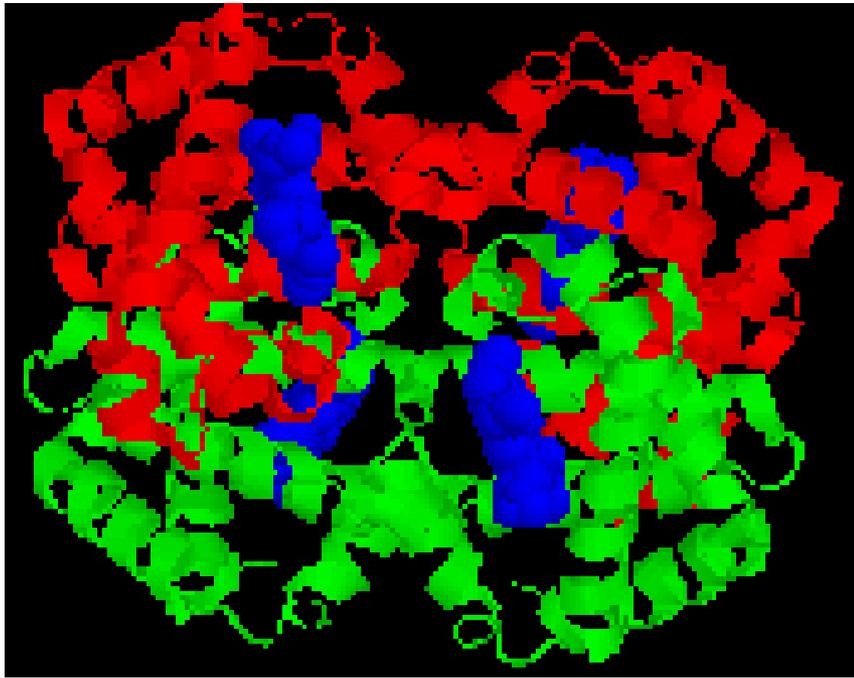
Myoglobin, a globular protein

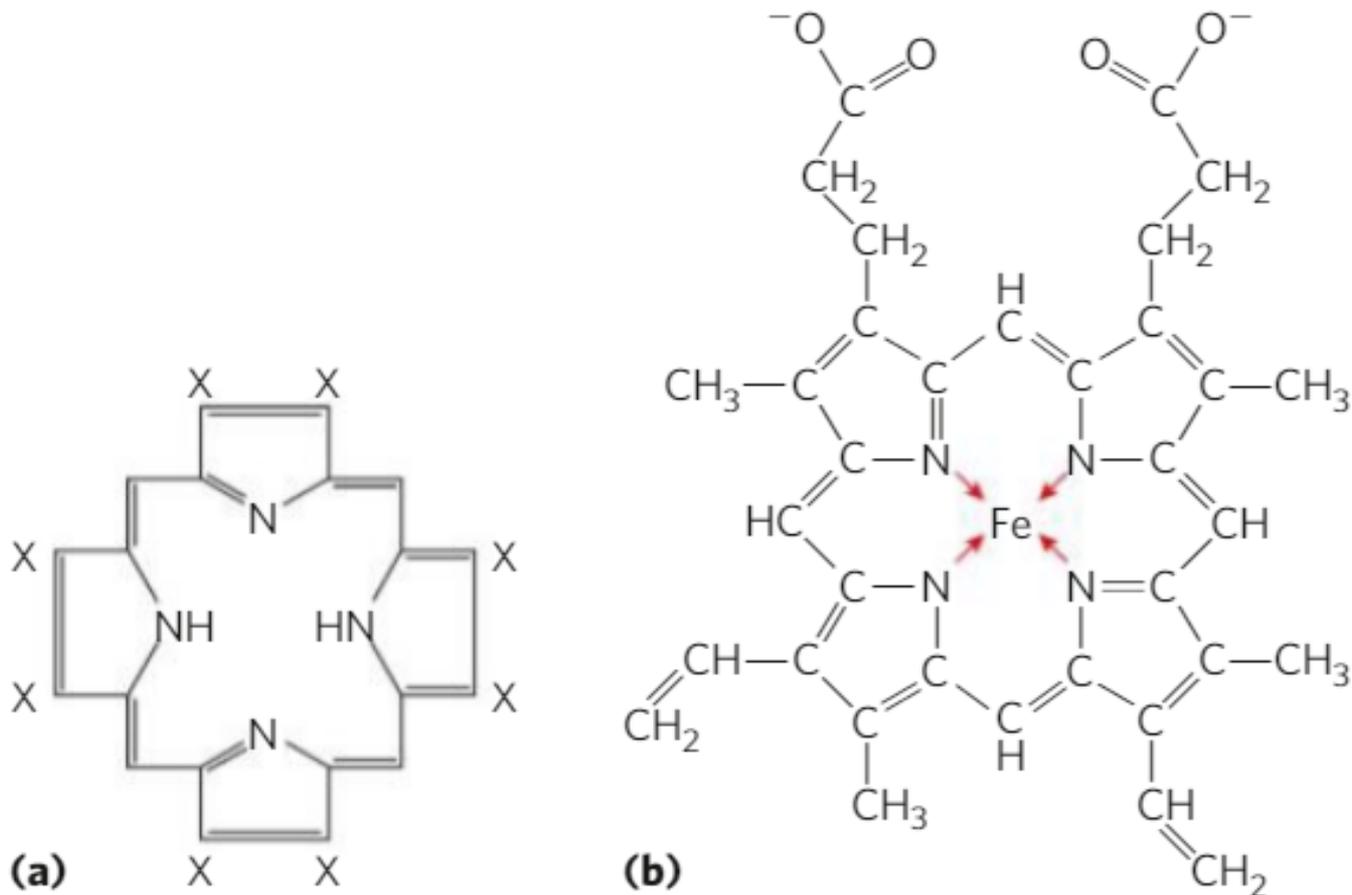


Mioglobina

Subunità β
dell'emoglobina

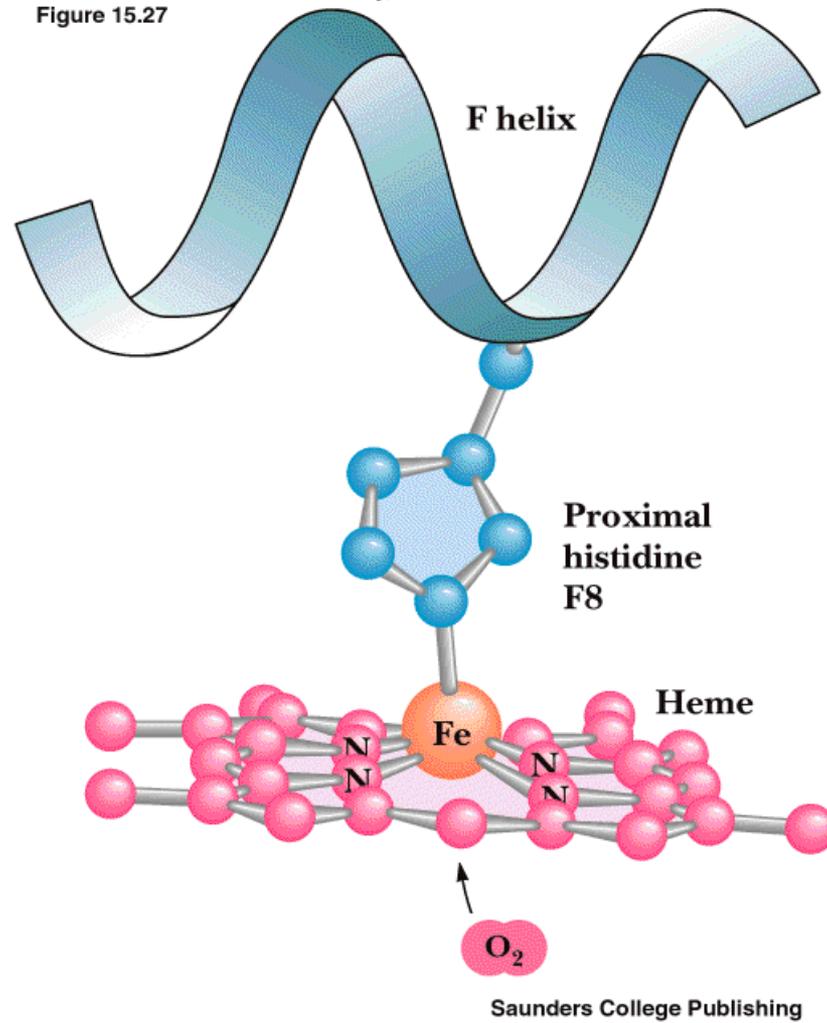
Figura 5.6 Confronto tra le strutture della mioglobina e della subunità β dell'emoglobina. [Fonti: (sinistra) PDB ID 1MBO; Phillips, S.E., *J. Mol. Biol.* **142**, 531 (1980); (destra) PDB ID 1HGA; Liddington, R. et al., *J. Mol. Biol.* **228**, 551 (1992).]

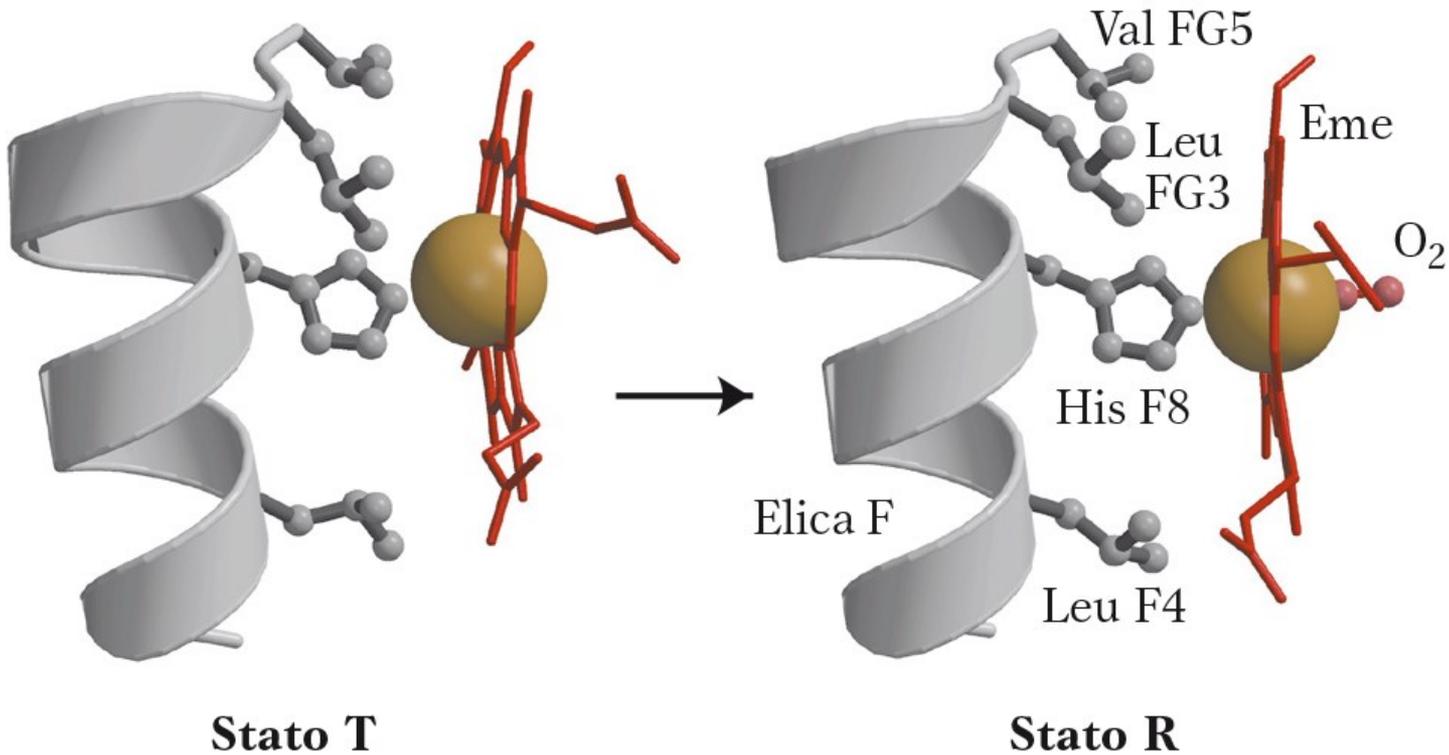




Eme: costituito da una complessa struttura organica ad anello, la protoporfirina IX, a cui è legato uno ione ferroso (Fe^{2+}).

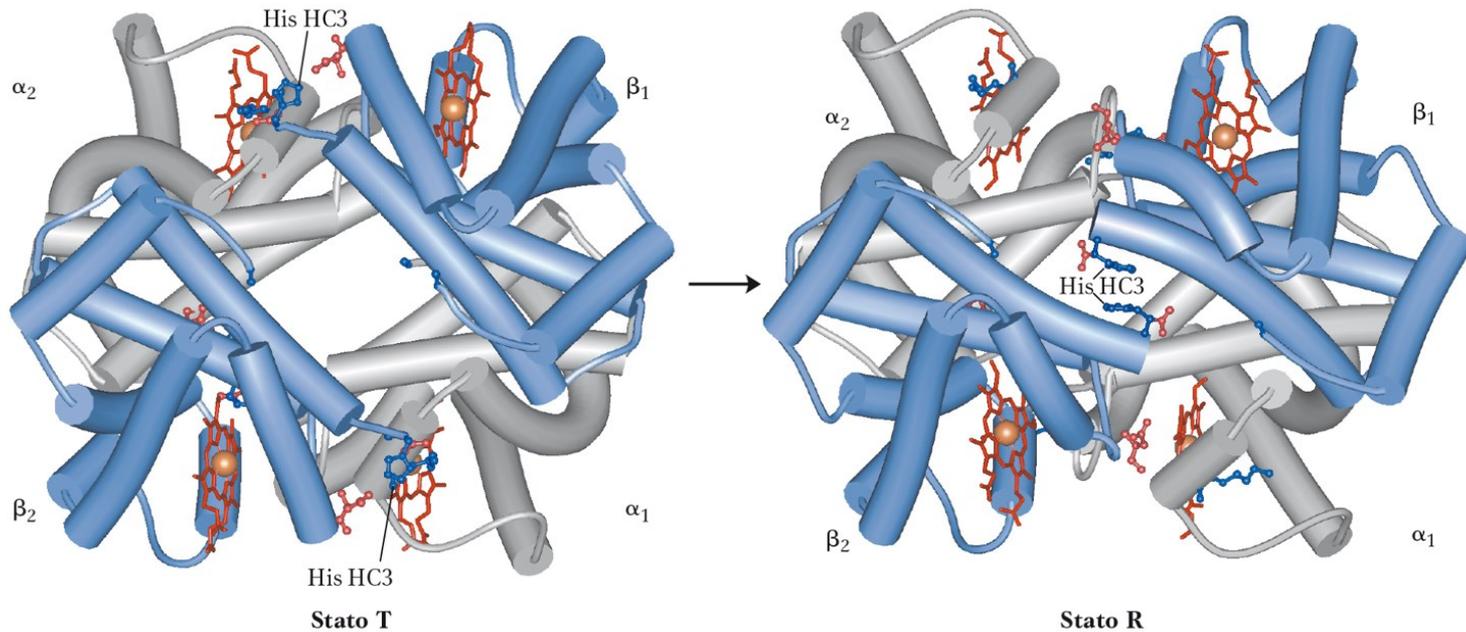
Garrett & Grisham: Biochemistry, 2/e
Figure 15.27





Modificazioni della conformazione vicino al gruppo eme della deossiemoglobina in seguito al legame con l'ossigeno. Lo **spostamento dell'elica F** dopo il legame dell'ossigeno all'eme è una delle modificazioni che innescano **la transizione T→R**

LA TRANSIZIONE T \rightarrow R



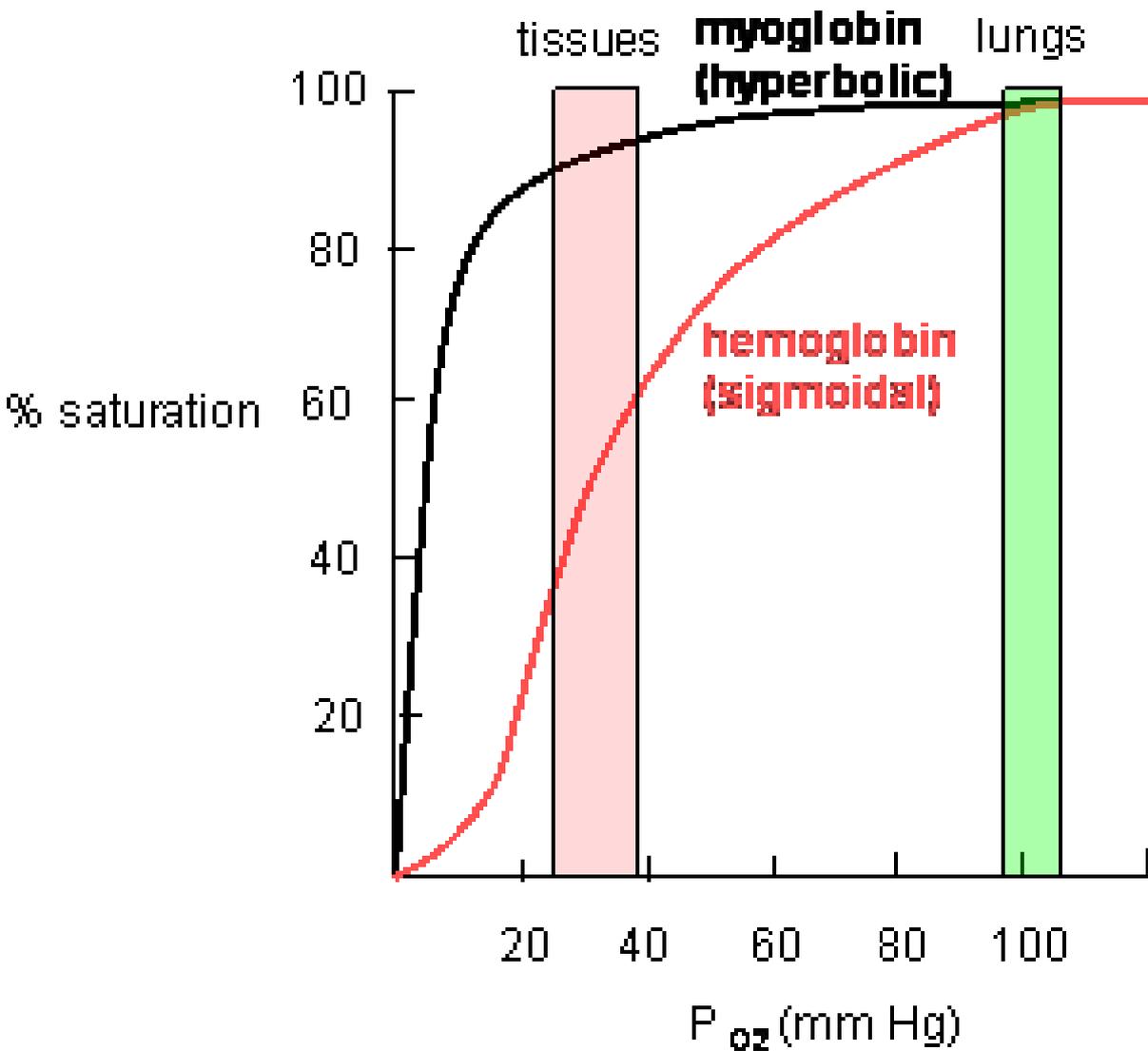
Subunità β in azzurro e subunità α in grigio.

Stato T (teso): deossiemoglobina

Stato R (rilassato): ossiemoglobina

O_2 ha affinità maggiore per lo stato R. Il legame di O_2 stabilizza lo stato R.

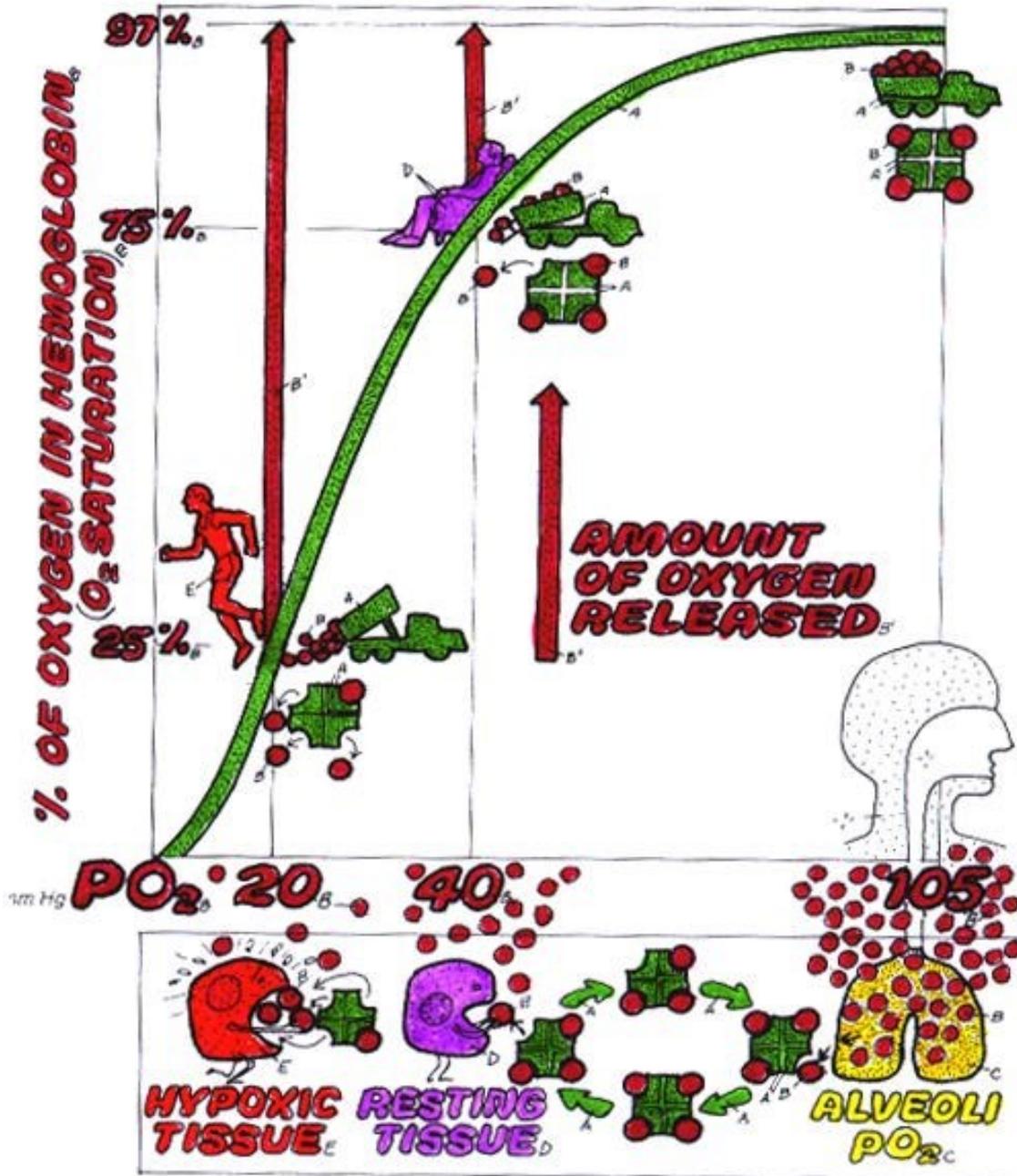
% saturation vs P_{O_2}



**O₂ modulatore
allosterico
omotropo**

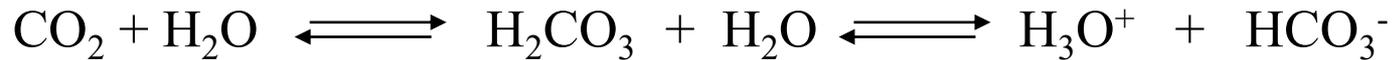
**Effetto
cooperativo**

DISSOCIATION CURVE



EMOGLOBINA TRASPORTA ANCHE H⁺ E CO₂

Nelle cellule dei tessuti gli alimenti organici vengono ossidati dai mitocondri con produzione di CO₂, acqua e altri prodotti. CO₂ abbassa il pH nei tessuti:



(Negli eritrociti l'anidrasi carbonica catalizza la formazione di acido carbonico)

Il legame dell'ossigeno da parte di Hb è influenzato dal pH e dalla concentrazione di CO₂.

TESSUTI PERIFERICI

pH relativamente basso e CO₂ alto

Hb ha bassa affinità per O₂, alta affinità per H⁺ e CO₂.

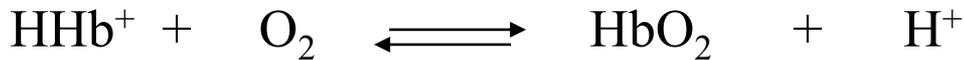
Hb lega H⁺ e CO₂

CAPILLARI POLMONARI

CO₂ viene escreta, di conseguenza il pH aumenta

Hb aumenta affinità per O₂

Effetto del pH e della CO₂ sul legame e rilascio di O₂ da parte di Hb si chiama **effetto Bohr**

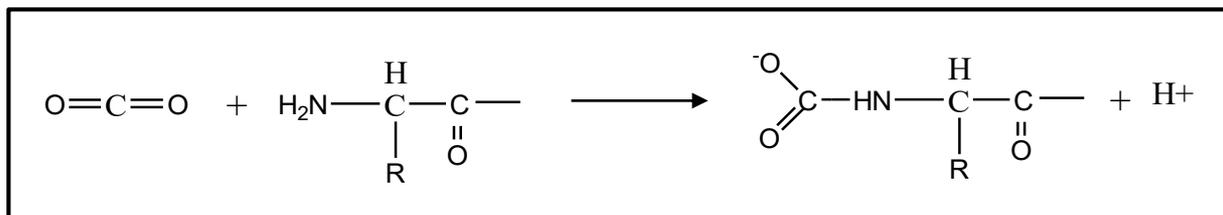


O₂ e H⁺ non sono legati agli stessi siti. O₂ è legato agli ioni Fe²⁺ dell'eme, H⁺ ai gruppi R dei residui di istidina.

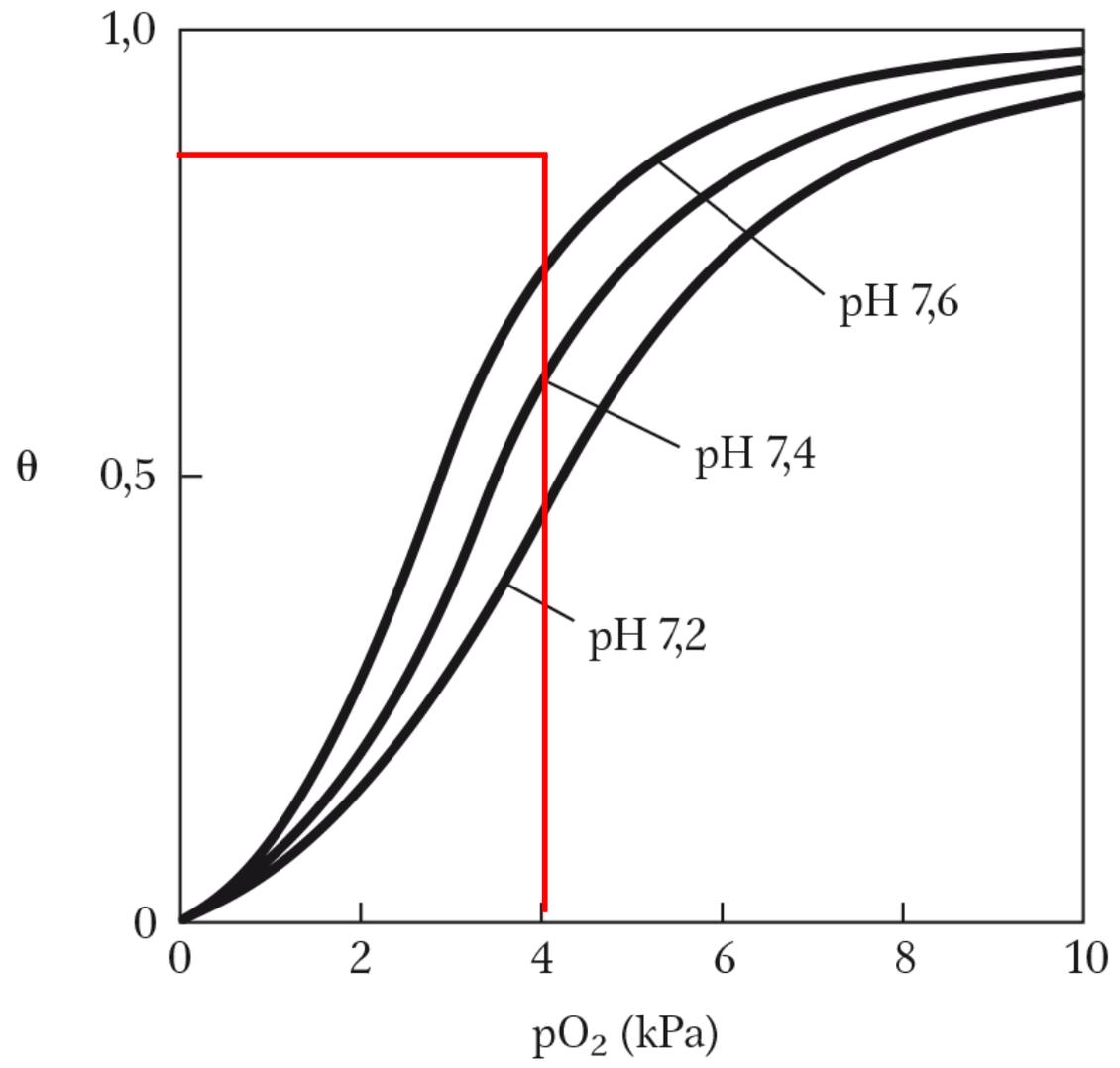
CO₂ si lega al gruppo amminico dell'estremità ammino terminale di ogni catena polipeptidica, formando carbamminoemoglobina. Il legame con CO₂ diminuisce l'affinità di Hb per O₂. Gli effetti strutturali del legame di H⁺ e di CO₂ a Hb favoriscono lo stato T.

Questa relazione inversa tra il legame dell'O₂ e il legame di H⁺ e CO₂ è molto vantaggioso per l'organismo.

La capacità di comunicare la presenza del ligante legato da una subunità polipeptidica alle altre subunità rende l'emoglobina adatta a compiere il trasporto di O₂, H⁺ e CO₂ da parte delle cellule rosse del sangue.



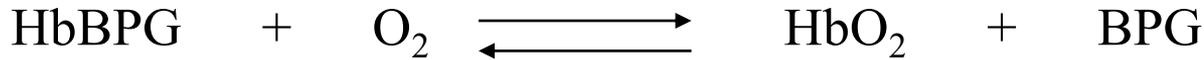
Effetto del pH sul legame dell'ossigeno all'emoglobina



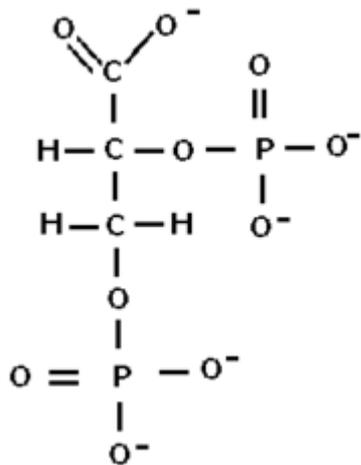
L'emoglobina trasporta ai polmoni e ai reni circa il 40% degli ioni H^+ totali e il 15-20 % di CO_2 formato dai tessuti. Gli ioni H^+ rimanenti vengono assorbiti dal tampone bicarbonato del plasma, mentre il CO_2 restante viene trasportato sotto forma di HCO_3^- e CO_2 disciolti.

Emoglobina lega anche 2,3 bisfosfo glicerato (BPG)

BPG è presente in concentrazione relativamente alta negli eritrociti. BPG riduce l'affinità di Hb per O₂



BPG regola l'affinità di legame per O₂ nell'eritrocita in funzione della pressione parziale di O₂ nei polmoni. Ad altitudini elevate la concentrazione di BPG aumenta, esso si lega ad Hb, che a sua volta diminuisce l'affinità per O₂. Ad altitudini elevate, la pressione parziale di O₂ è minore e anche la pressione parziale nei tessuti è minore. L'aumento di BPG ad altitudini elevate permette ad Hb di rilasciare O₂ più rapidamente.



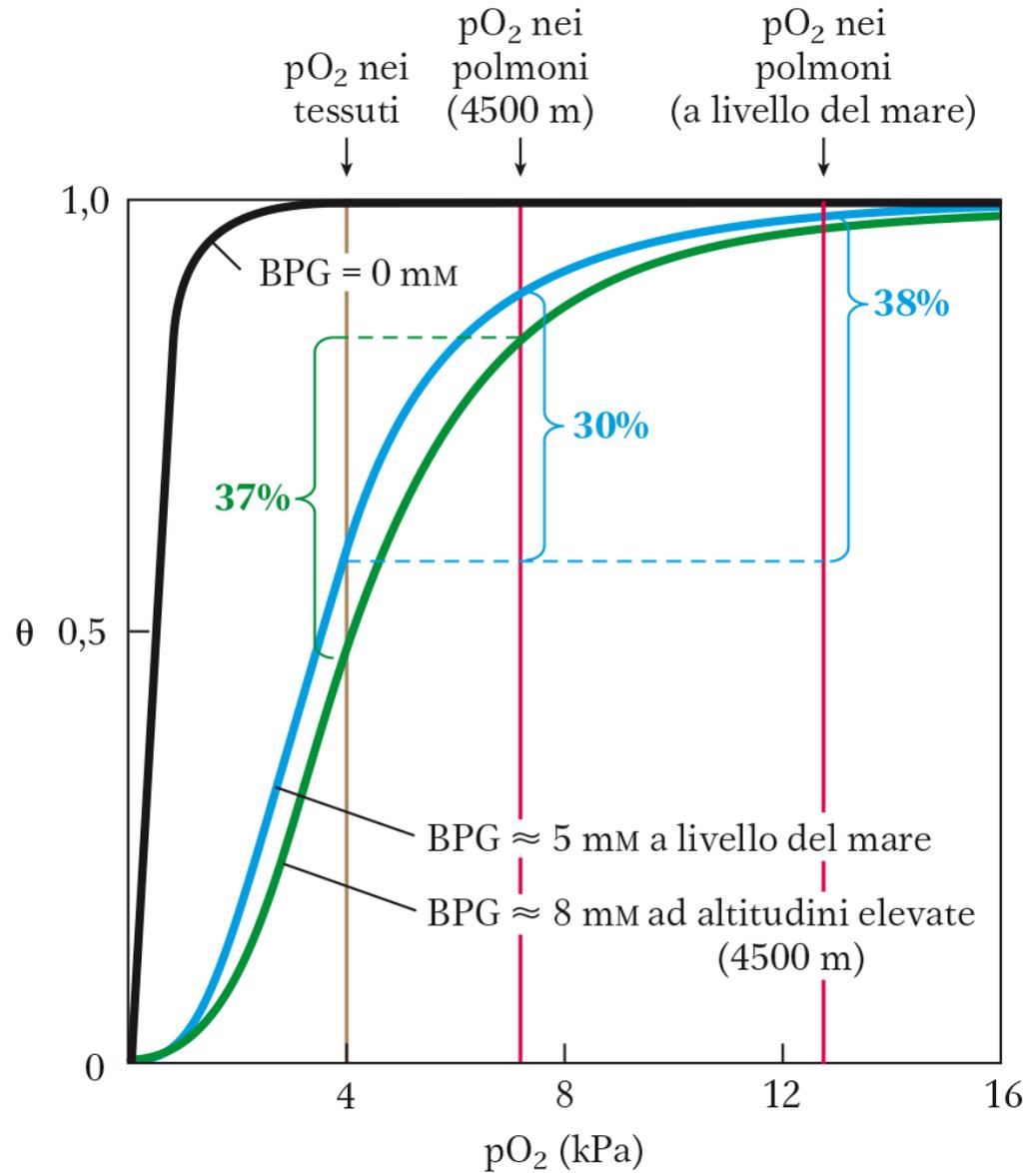
BPG

BPG si lega nella cavità centrale di Hb nello stato T, (a gruppi R carichi positivamente). Il BPG stabilizza lo stato T. Quando si lega O₂, esso spiazza il BPG dalla cavità. In assenza di BPG, Hb viene convertita più facilmente nello stato R.

Modulatore allosterico eterotropo

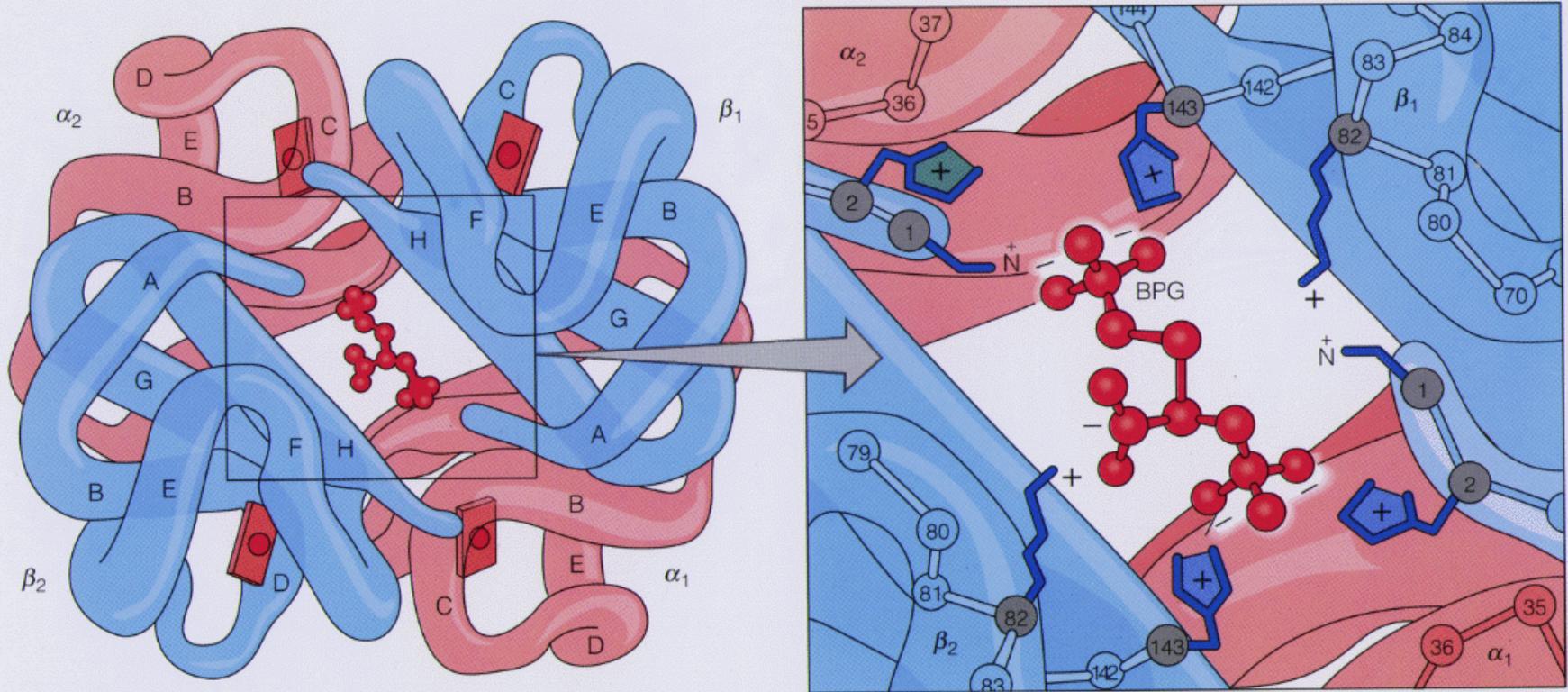
EFFETTO DEL BPG SUL LEGAME DELL'OSSIGENO ALL'EMOGLOBINA

Al livello del mare BPG=5 mM,
ad altitudini elevate BPG=8 mM.

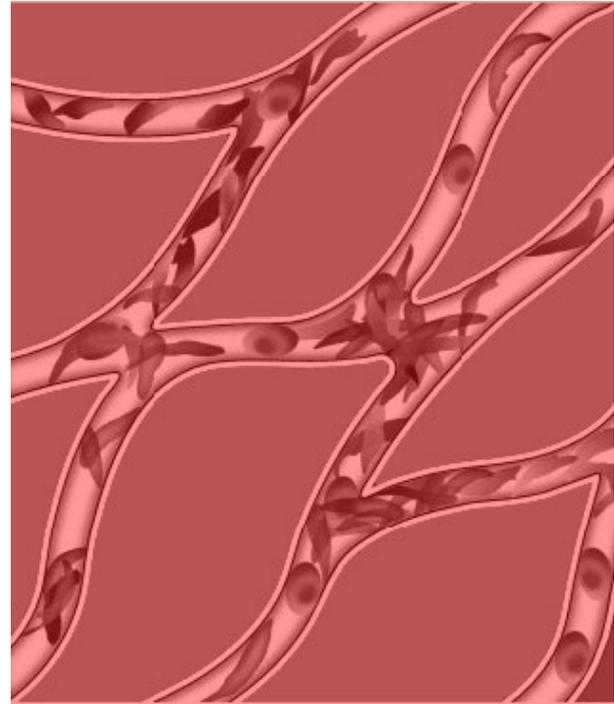
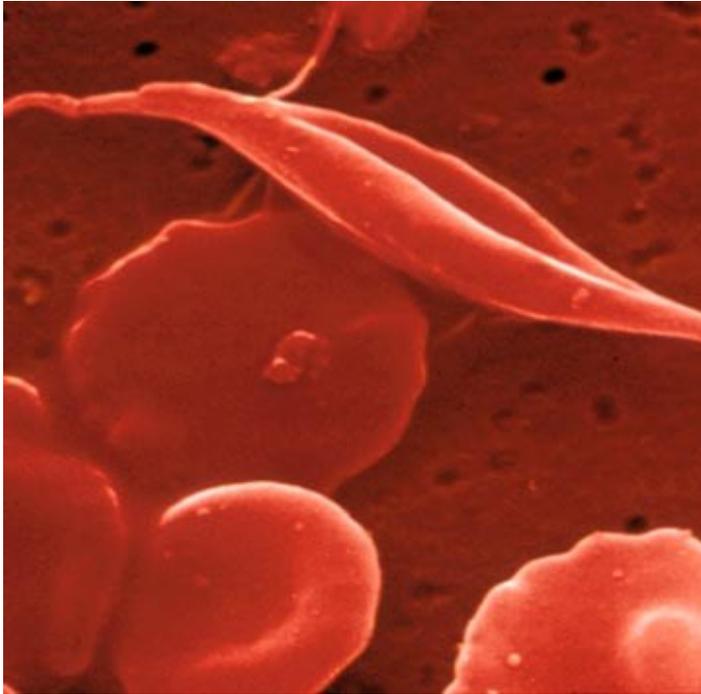


2,3-Bisphosphoglyceric acid (2,3-Bisphosphoglycerate or 2,3-BPG, also known as 2,3-diphosphoglycerate or 2,3-DPG) is a three-carbon isomer of the glycolytic intermediate 1,3-bisphosphoglyceric acid (1,3-BPG). 2,3-BPG is present in human red blood cells (RBC; erythrocyte) at approximately 5 mmol/L. It binds with greater affinity to deoxygenated hemoglobin (e.g. when the red cell is near respiring tissue) than it does to oxygenated hemoglobin (e.g., in the lungs) due to spatial changes: 2,3-BPG (with an estimated size of about 9 angstroms) fits in the deoxygenated hemoglobin configuration (11 angstroms), but not as well in the oxygenated (5 angstroms). It interacts with deoxygenated hemoglobin beta subunits by decreasing their affinity for oxygen, so it allosterically promotes the release of the remaining oxygen molecules bound to the hemoglobin, thus enhancing the ability of RBCs to release oxygen near tissues that need it most. 2,3-BPG is thus an allosteric effector

Figure 7.18 Binding of 2, 3-bisphosphoglycerate to deoxyhemoglobin



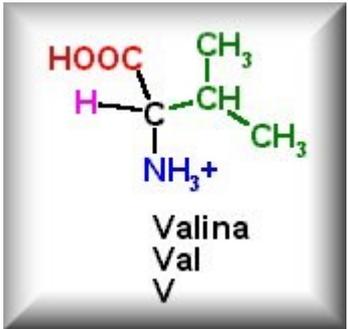
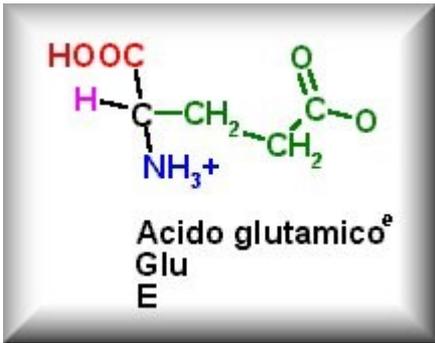
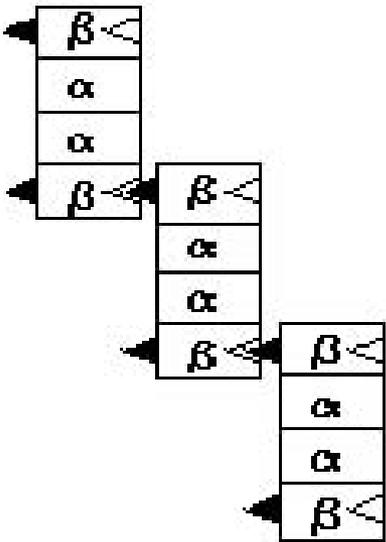
ANEMIA FALCIFORME



Malattia ereditaria che colpisce i globuli rossi. Questi contengono principalmente Hb S, un tipo di Hb anormale. Qualche volta questi globuli rossi assumono la forma a falce e hanno difficoltà a passare attraverso i capillari. Meno sangue raggiunge quella parte del corpo e i tessuti che non ricevono un flusso normale di sangue vengono danneggiati. Nei pazienti affetti il contenuto di Hb è circa la metà del valore normale. Gli eritrociti a falce sono molto fragili e si rompono facilmente.

La causa è dovuta alla presenza di Hb S che differisce da Hb A perchè ha un residuo di Val al posto di Glu nelle catene β . Questa sostituzione causa l'associazione delle molecole di HbS deossigenate che formano aggregati lunghi e fibrosi, responsabili della forma a falce degli eritrociti.

HBB Sequence in Normal Adult Hemoglobin (Hb A):							
Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GAG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Glu	Glu	Lys	Ser
	3			6			9
HBB Sequence in Mutant Adult Hemoglobin (Hb S):							
Nucleotide	CTG	ACT	CCT	GTG	GAG	AAG	TCT
Amino Acid	Leu	Thr	Pro	Val	Glu	Lys	Ser
	3			6			9



Importanza della sequenza amminoacidica nel determinare la struttura secondaria, terziaria e quaternaria e la funzione biologica delle proteine.

Emoglobina normale e delle cellule falciformi

