



Modulo 2

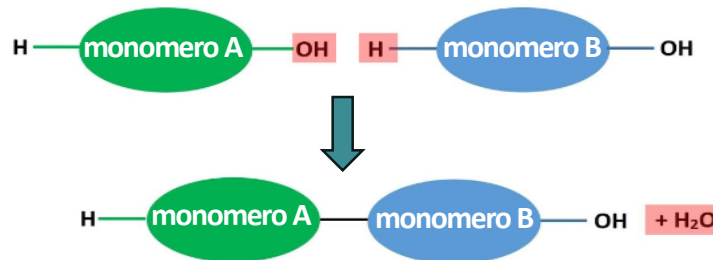
Struttura delle proteine

2023-24

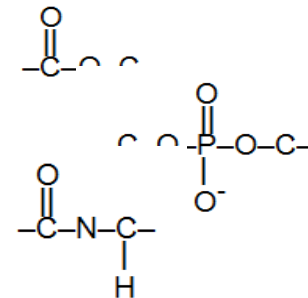
Macromolecole biologiche

- ▶ I tre principali tipi di macromolecole biologiche sono:
 - **polisaccaridi** (oligosaccaridi)
 - **acidi nucleici** (polinucleotidi)
 - **polipeptidi** (proteine)
- ▶ Le unità costitutive di questi polimeri biologici sono rispettivamente:
 - **monosaccaridi** (zuccheri)
 - **ribonucleotidi** (o desossiribonucleotidi)
 - **amminoacidi** (proteinogenici)
- ▶ I polimeri biologici si formano per la condensazione delle unità costitutive

- legame con perdita di H_2O



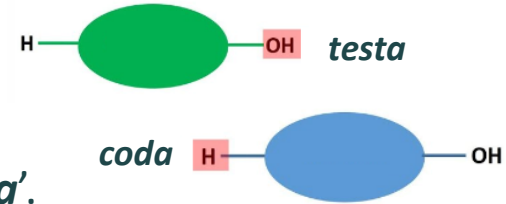
- nei polisaccaridi si formano legami **O-glicosidici** (legame estere)
- negli acidi nucleici si formano legami **fosfodiesterici** (legame fosfoestere)
- nei polipeptidi si formano legami **peptidici** (legame ammidico)



Macromolecole biologiche: struttura della catena

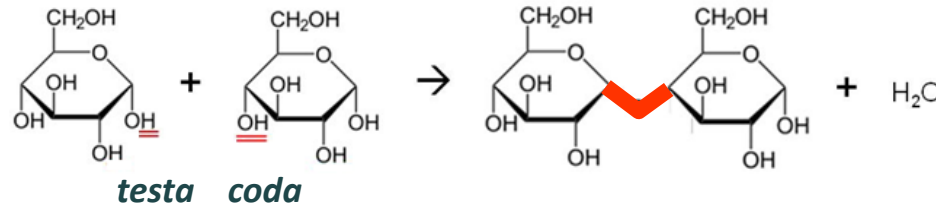
Le macromolecole biologiche hanno una *direzionalità*

- le componenti monomeriche hanno *strutture asimmetriche*.
- una estremità della molecola, la '**testa**' è diversa dall'altra, la '**coda**'.
- polimerizzano generalmente per formare *catene testa/coda*

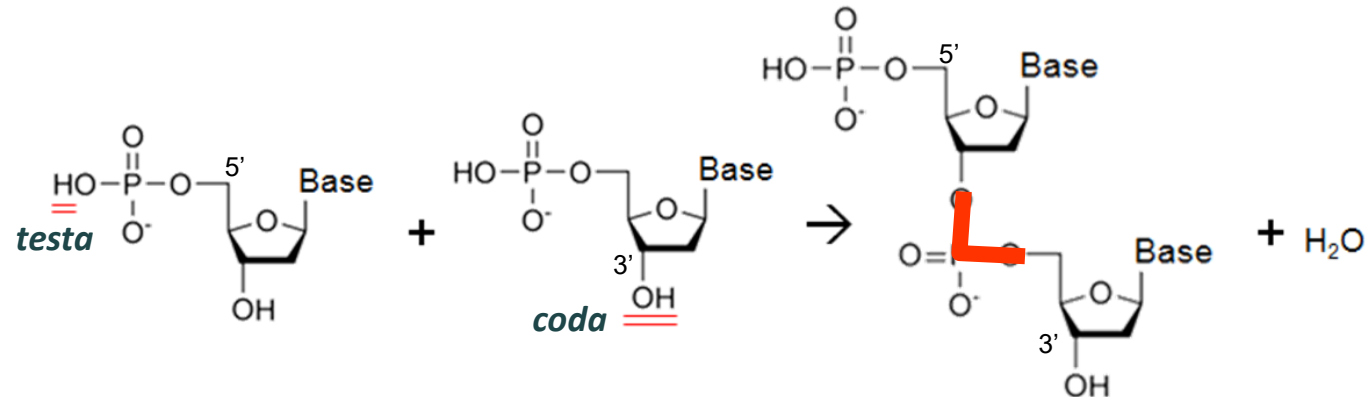


I legami che si formano sono:

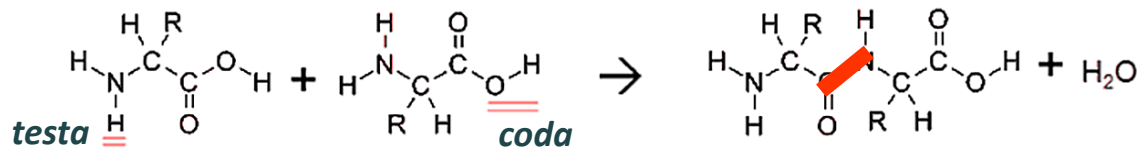
legame glicosidico



legame fosfodiesterico



legame peptidico



Caratteristiche e funzioni delle proteine

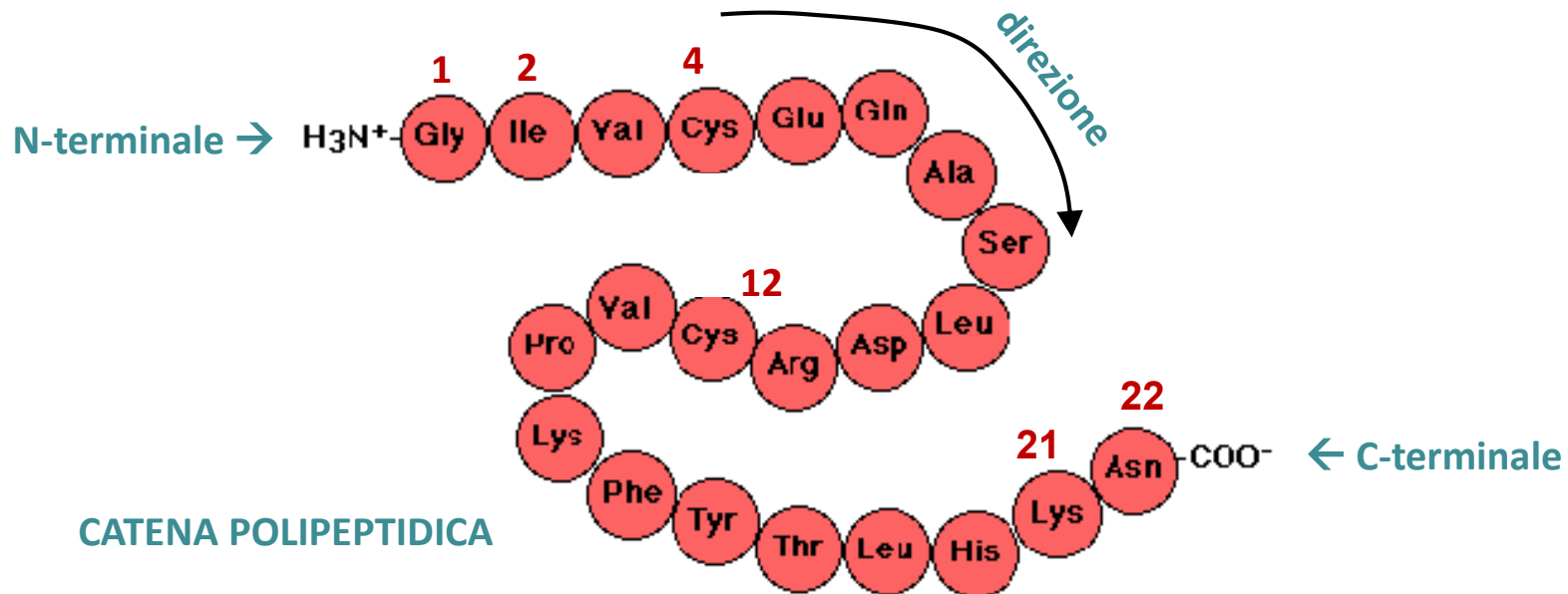


- ▶ **Macromolecole più abbondanti e varie delle cellule** - vasta diversità molecolare
- ▶ **Ruolo primario nelle cellule e nell'organismo** (il nome deriva da **pròteios** = *primario*, Mulder 1839: "*unquestionably the most important of all known substances in the organic kingdom. Without it no life appears possible on our planet*")
- ▶ **Molteplici funzioni:** catalisi, ruoli strutturali, trasporto, difesa, immagazzinamento, movimento, signalling, regolazione, etc.
- ▶ **Tutte le proteine sono polimeri lineari costituite da solo 20 tipi di unità monomeriche** (gli amminoacidi proteinogenici) connessi tra loro da legami covalenti (legame peptidico).

Proteine: la catena polipeptidica

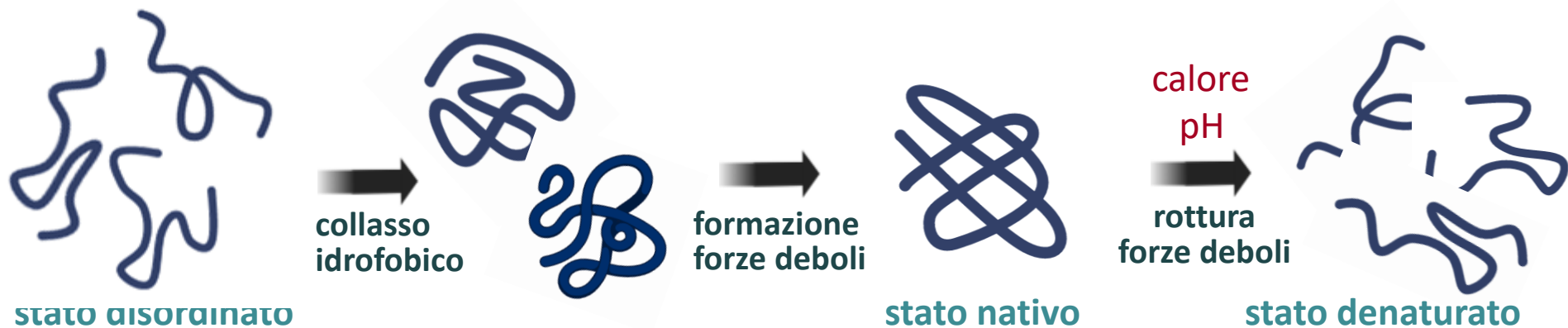
► La catena polipeptidica si forma per condensazione degli AA.

- è un processo endoergonico, l'equilibrio di reazione è spostato verso l'idrolisi. La sintesi proteica quindi richiede energia, ma il legame è molto stabile (vita media ~ 7 anni in condizioni intracellulari).
- il processo di condensazione '**testa-coda**' conferisce una **direzionalità** alla catena.
- per convenzione la catena inizia col residuo con il gruppo α -amminico libero (**N-terminale**)
- termina al residuo con il gruppo α -carbossilico libero (**C-terminale**)
- La catena è **lineare** – se ci sono residui di cisteina si possono formare tratti ciclici (**ponti S-S**)
- l'unità di grandezza delle catene di polipeptidi e proteine è il **kilodalton (kDa)**



Proteine: considerazioni sulla loro strutturazione

- ▶ i polipeptidi sfruttano la **libertà conformazionale dei loro legami** per ripiegarsi
- ▶ **interazioni idrofobiche dei residui apolari** favoriscono la formazione di **strutture compatte** (per ridurre la superficie proteica apolare esposta al solvente acquoso)
- ▶ la necessità di formare il **massimo numero di legami-H** (direzionali) porta alla formazione di una **struttura nativa** ben definita
- ▶ **Legami elettrostatici** e di **vdW** contribuiscono a stabilizzare la **struttura nativa** che è quella **termodinamicamente più stabile** (con **minore energia**)
- ▶ Le interazioni deboli confinano la gran parte delle proteine ad un **ristretto intervallo di condizioni ambientali** (temperature, pH, salinità, ecc.)
- ▶ Per queste ragioni ***'la sequenza determina la struttura'*** e poi ***'la struttura determina la funzione'***.
- ▶ **diverse sequenze → diverse funzioni** nelle diverse proteine, **ma hanno componenti strutturali comuni**



La gerarchia di struttura nelle proteine

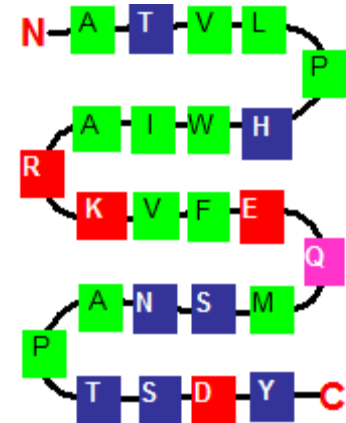
► La struttura delle proteine è concettualmente suddivisa in quattro livelli d'organizzazione:

Struttura primaria (1^a)

- la precisa sequenza lineare amminoacidica lungo la catena (per convenzione dall'*N*-terminale → *C*-terminale)

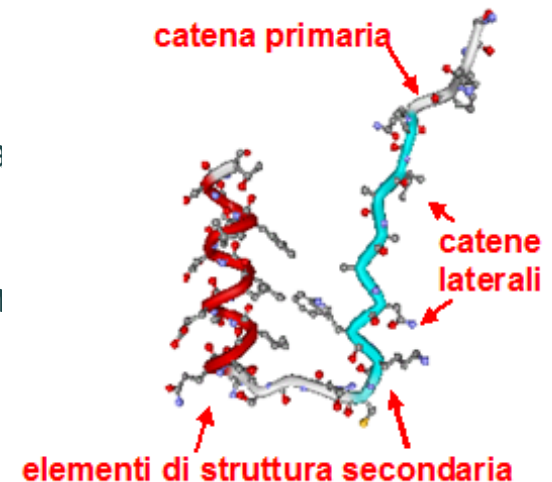
Ala-Thr-Val-Leu-Pro-His-Trp-Ile-Ala-Arg-Lys-Val-Phe-Glu-Gln.....

ATVLPHWARKVPEQANSMPDSDYC



Struttura secondaria (2^a)

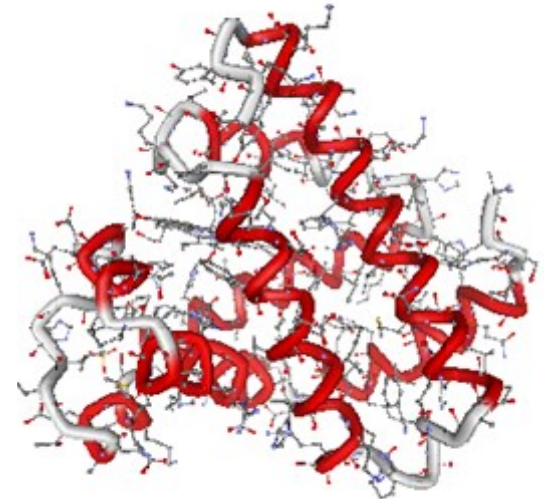
- 1) la **conformazione dei singoli residui** lungo la catena primaria
- 2) **ripetizione periodica** della conformazione in **segmenti di catena**
(strutture regolari → **elementi di struttura 2^a**)



La gerarchia di struttura nelle proteine (cont.)

- **Struttura terziaria (3^a)**

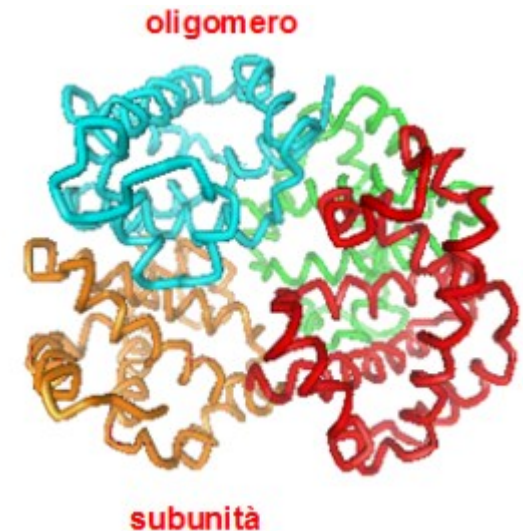
- ripiegamento dell'intera **catena** in una **struttura tridimensionale** ben definita (struttura nativa)
- gli elementi di struttura 2° si posizionano
- **collocazione precisa nello spazio** di tutti gli atomi che compongono la catena



- **Struttura quaternaria (4^a)**

- associazione di **diverse catene** polipeptidiche (**subunità**)
- Formazione di **strutture oligomeriche** (omo- o etero-multimeriche, con sequenze identiche o diverse)

NB - ogni subunità ha una sua precisa struttura 3^a



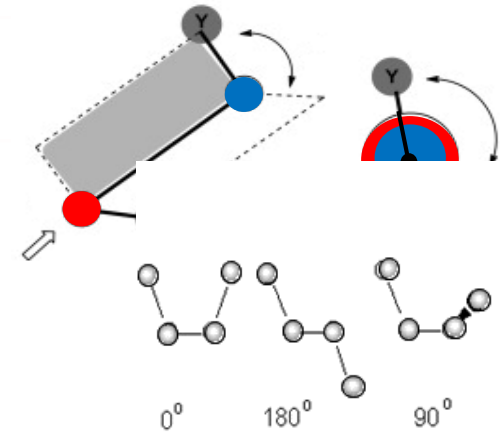
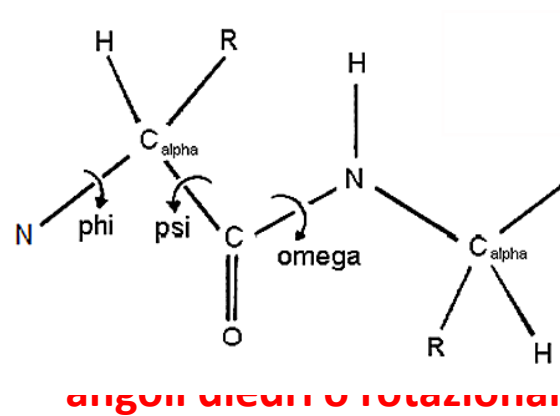
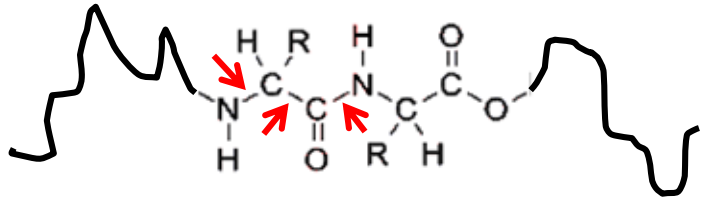
La struttura primaria (1^a) nelle proteine

- ▶ La struttura primaria è la sequenza di residui amminoacidici; questa è importante poiché:
 - la sequenza determina la struttura
es. **S-C-Y-A-L** ha gli stessi residui ma è un peptide molto diverso da **L-A-Y-C-S**
- ▶ Il numero di residui nella struttura primaria determina la grandezza della catena proteica:
 - **oligopeptide:** catene molto piccole (fino a 10-12 residui)
 - **peptide:** catene non molto lunghe (fino a 40-50 residui)
 - **polipeptidi:** catene più lunghe (oltre 40-50 residui)
 - **proteine:** una o più catene proteiche che adottano una struttura nativa
- ▶ La struttura primaria di una catena proteica è determinata dalla sequenza del gene che la codifica.
 - una **mutazione** in un codone nel gene può causare una **variazione nell'amminoacido** codificato
 - la variazione anche di solo un amminoacido nella sequenza può avere un **notevole effetto su come la proteina si struttura**
 - la struttura **determina la funzione**
- ▶ La struttura primaria genera una vasta diversità molecolare (*la sequenza determina la struttura*)
 - Dati 20 diversi a.a., una catena di n residui può dare origine a 20^n possibili sequenze
 - Per una piccola proteina con 100 residui $\rightarrow 20^{100} = 1.3 \times 10^{130}$ strutture 1^e
 - Il n° è però limitata dal numero di geni in un organismo (< 25000 nel uomo)

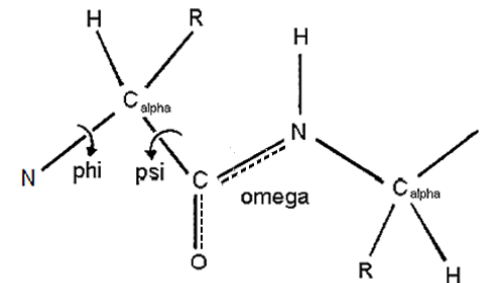
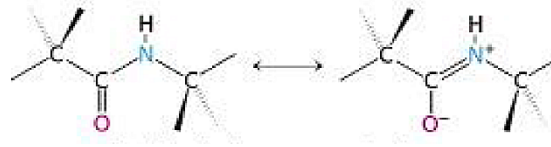
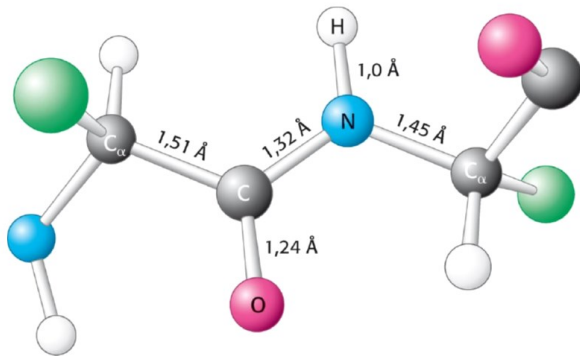
La struttura secondaria (2^a) nelle proteine

1) determinata dalla conformazione dei singoli residui lungo la catena primaria

- rotazione attorno a singoli legami



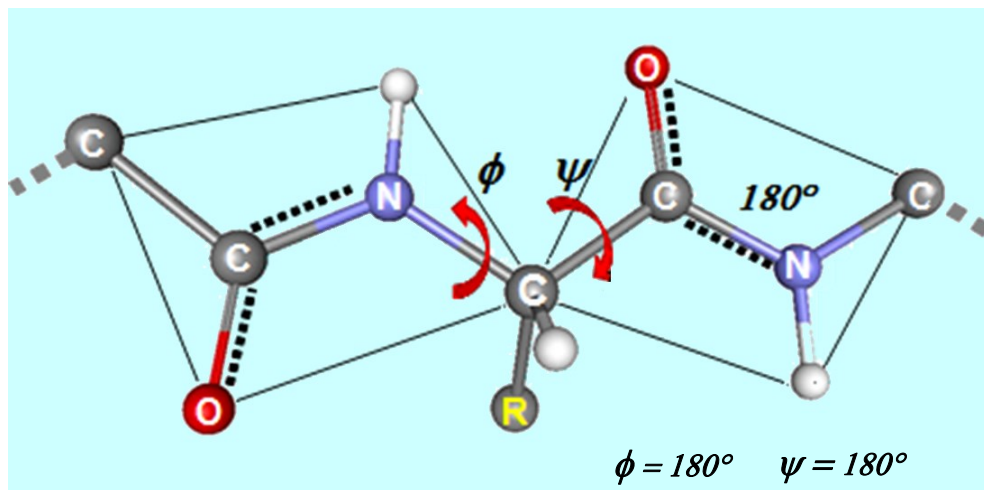
- per una catena di 100 residui e supponendo 10 possibili conformazioni per legame (numero conservativo), il numero di possibili conformazioni = 10^{300}
- però il **legame peptidico è più corto di un normale legame singolo covalente**



- ha un **carattere di parziale doppio legame** (delocalizzato da $\text{C}=\text{O}$ a $\text{C}-\text{N}$), e la **rotazione è impedita**
- la libertà conformazionale attorno agli altri due legami (ϕ , ψ) è limitata per motivi sterici

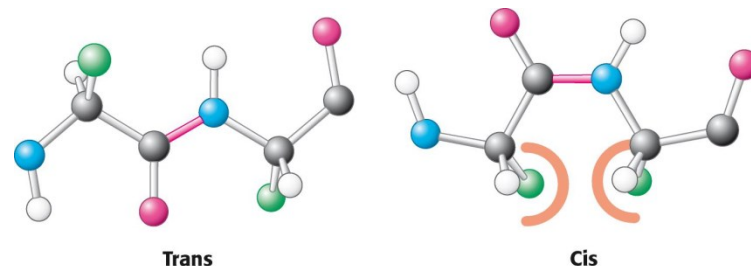
Struttura 2^a: conformazioni permesse

- la conformazione di ogni residuo lungo la catena è definita solo dagli angoli diedri ϕ (phi) e ψ (psi)



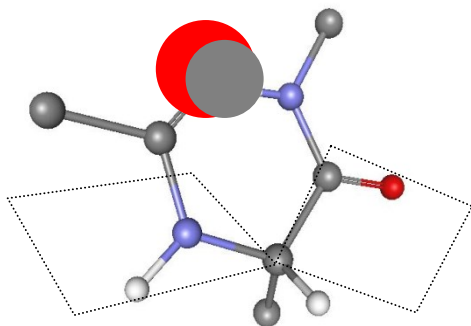
permessa

ϕ (phi) e ψ (psi) liberi di ruotare
 ω bloccato in 'configurazione' trans (180°)

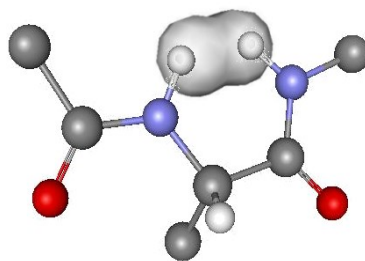


- molte combinazioni di angoli ϕ e ψ però sono escluse per motivi sterici

esclusa

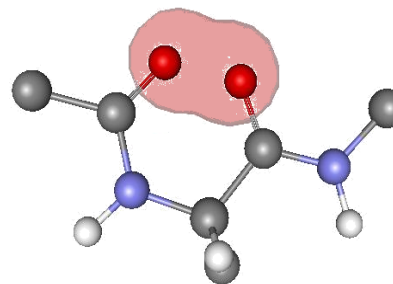


esclusa



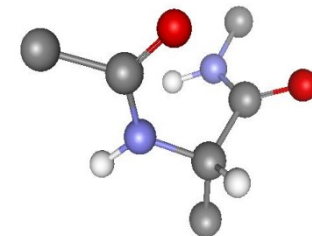
$\phi = 180^\circ$ $\psi = 0^\circ$

esclusa



$\phi = 0^\circ$ $\psi = 180^\circ$

permessa

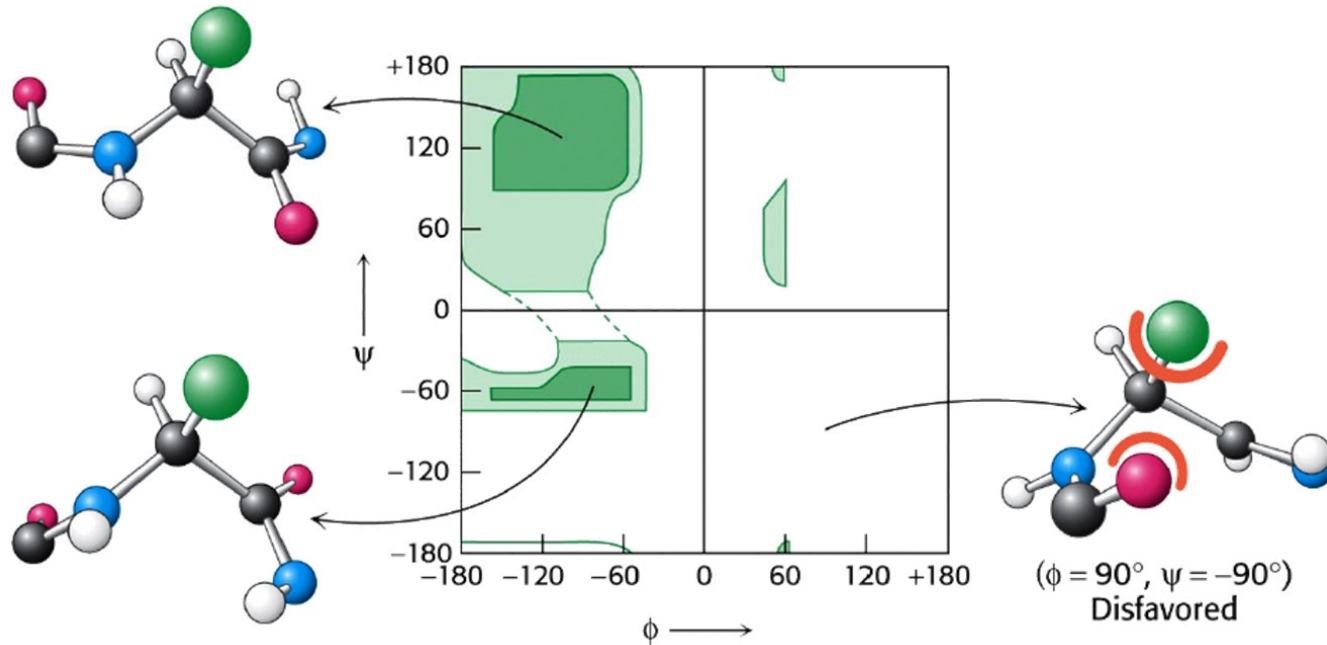


$\phi = -60^\circ$ $\psi = -50^\circ$

Struttura 2^a: grafico di Ramachandran

► lo spazio conformazionale è limitato per esigenze steriche

- questo favorisce la **ripetizione periodica di angoli ϕ (phi) e ψ (psi)** stericamente permessi
- che a sua volta favorisce la formazione di alcuni tipi di **strutture regolari**



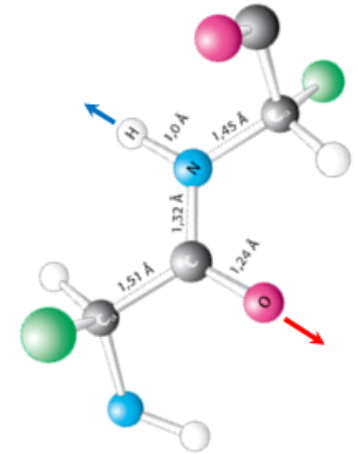
► Grafico di Ramachandran.

- nel 1963 determinò gli angoli diedri permessi nelle strutture di alcune proteine.
- ha poi tracciato ϕ e ψ per ogni residuo su un grafico (**Ramachandran plot**)
- Lo **spazio conformazionale permesso** (angoli diedri osservati) si limita a **due zone principali**

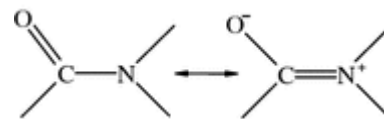
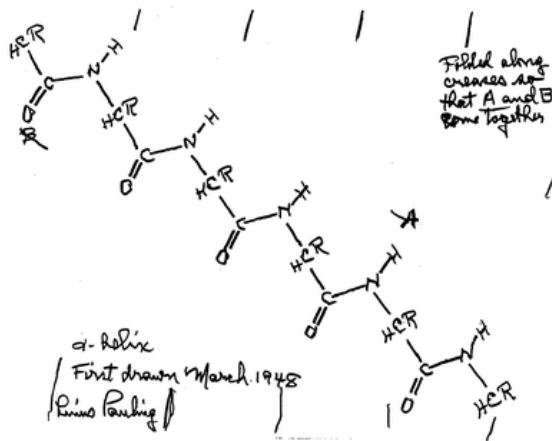
Struttura 2^a: fattori determinanti

► nel determinare quali conformazioni rientrano nello spazio conformatzionale ammissibile si deve tenere conto che:

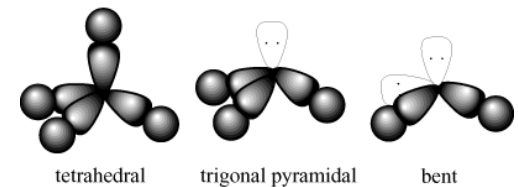
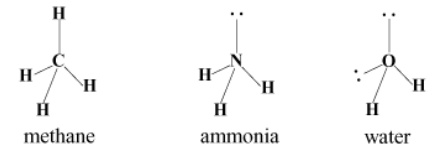
- le distanze di legame sono vincolate (C-C, C=O, C-N, N-H ecc.):
- il gruppo peptidico è rigido (doppio legame parziale) e planare
- le combinazioni degli angoli ϕ e ψ sono limitate da fattori sterici
- tutti i gruppi amminici e i carbonili della catena devono formare legami
- questi vincoli portano alla formazione di tratti di catena con struttura regolare dovuta alla ripetizione di conformazioni simili.



► Linus Pauling e il suo gruppo, alla fine degli anni '40 del secolo scorso, usarono queste informazioni per proporre possibili strutture regolari per proteine.



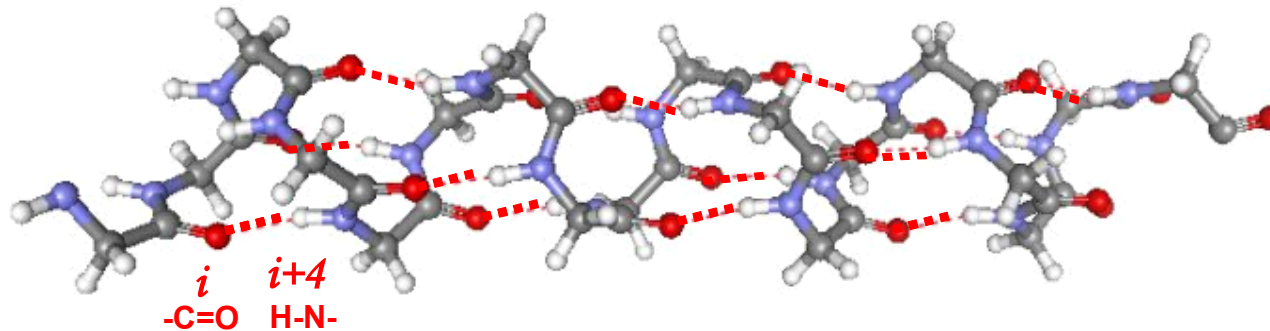
peptide bond resonance



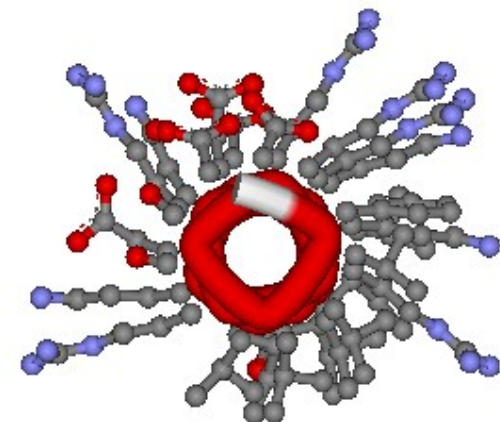
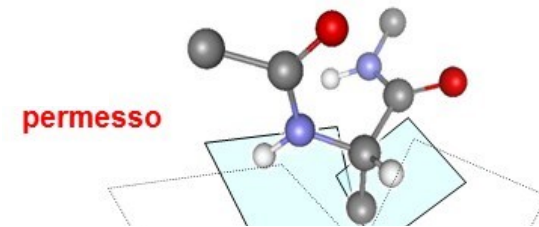
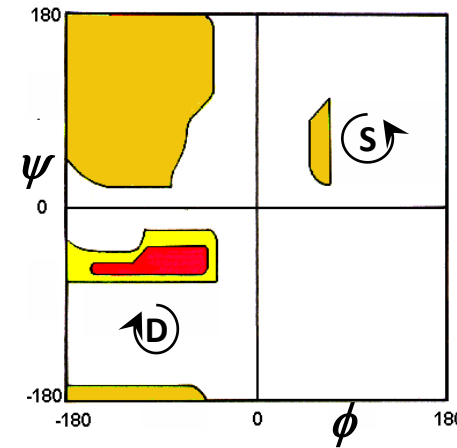
valence bond theory

Esempi di struttura 2^a: alfa elica (α -elica)

- La ripetizione di angoli diedri simili tratti da una zona di spazio conformazionale permesso porta alla formazione di una struttura elicoidale



- angoli diedri: $\phi \approx -60^\circ$ $-(80-50)$; $\psi \approx -45^\circ$ $-(25-60)$;
- **un giro** dell'elica copre **3.6 residui** (passo è 5.4 Å)
- i **gruppi carbossilici** (proton accettori) del legame peptidico **puntano verso gruppi amminici** (proton donatori) 4 residui dopo
- Il tratto ad α -elica è stabilizzato da legami-H interni allo stesso, con orientamento parallelo all'asse dell'elica. Questi tratti si estendono normalmente dai 4 - 40 residui (media ~ 10)
- il senso di avvolgimento nelle proteine è quasi sempre **destrorso**
- le catene laterali dei residui sono poste come a raggio attorno all'elica

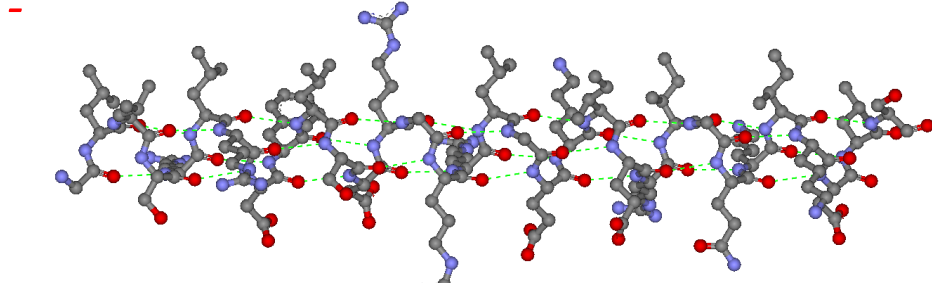
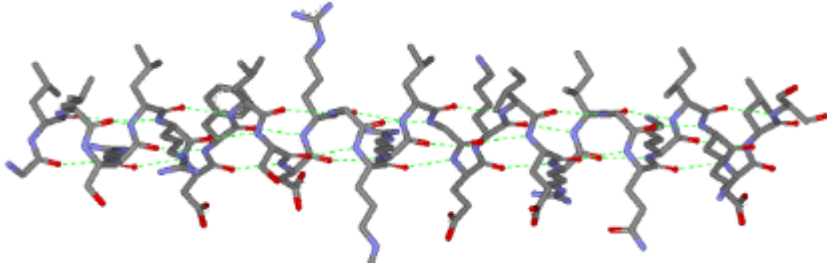


α -elica destrorsa $\curvearrowright$ D

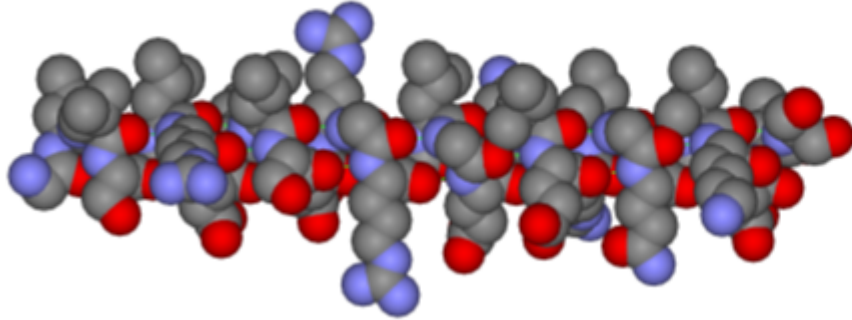
Modi per visualizzare l' α -elica

► Ci sono diversi modi per rappresentare elementi conformazionali nelle proteine:

- *stick*



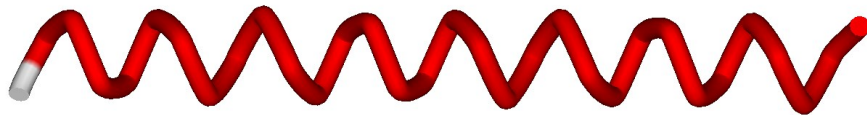
- *CPK (spacefilling)*



- *solid ribbon & line ribbon*



- *tube*



- *schematic*



Ruolo dei diversi residui nel determinare strutture elicoidali

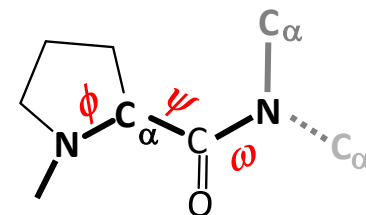
► Alcuni amminoacidi favoriscono la formazione di α -eliche più di altri

- la formazione dell' α -elica è meno favorita da residui ramificati al $C\beta$, con eccessivo ingombro sterico o con gruppi polari vicini alla catena

Ala, Leu, Met, Glu > **Gly, Asp, Ser, Tyr, Trp** >> **Pro**
compatibili *non compatibile*

► Pro è poco incompatibile con la conformazione ad α -elica

- l'angolo ϕ è bloccato a -75° e ψ per ragioni steriche tende a $> 145^\circ$
- la catena laterale non è stericamente compatibile con l'elica
- l'azoto imminico non può formare legami-H con il carbonile $i-4$
- se Pro è presente nell'elica (raro) ne causa una distorsione
- Pro è spesso presente all'inizio e/o alla fine di un segmento elicoidale

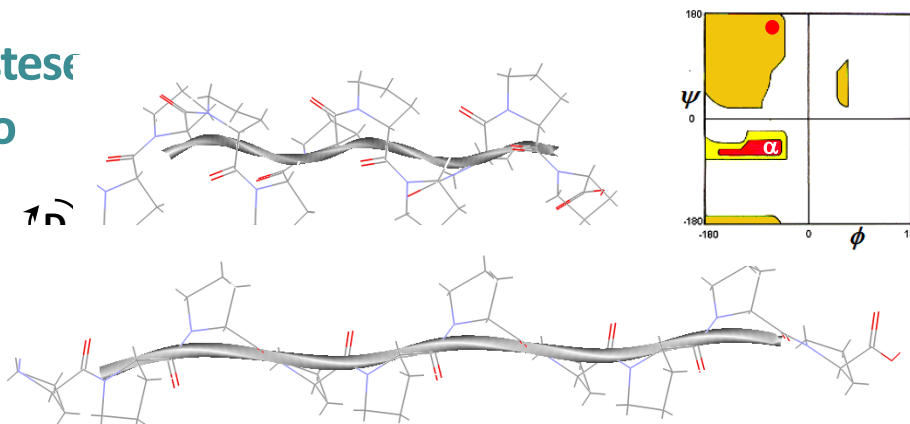


► Sequenze ricche in Pro formano eliche più estese e non stabilizzate da legami-H inter-segmento

Poliprolina I: $\phi \sim -80^\circ$, $\psi \sim 150^\circ$, $\omega = 0$ (rara)

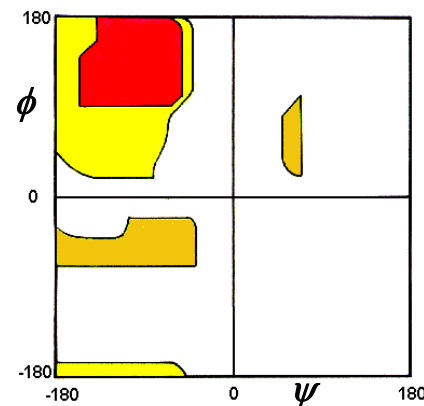
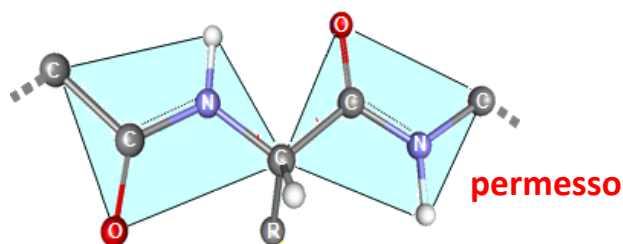
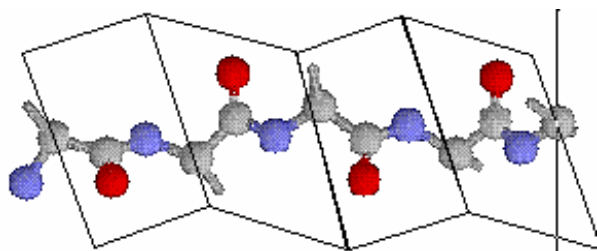
Poliprolina II: $\phi \sim -80^\circ$, $\psi \sim 160^\circ$, $\omega = 180^\circ$

NB: per Pro $\sim 5\%$ dei residui ha il legame peptidico in configurazione *cis*



Esempi di struttura 2^a: beta-struttura e beta-foglietto (β -sheet)

- La ripetizione di angoli diedri nell'altra zona di spazio conformazionale permesso porta alla formazione di una struttura estesa

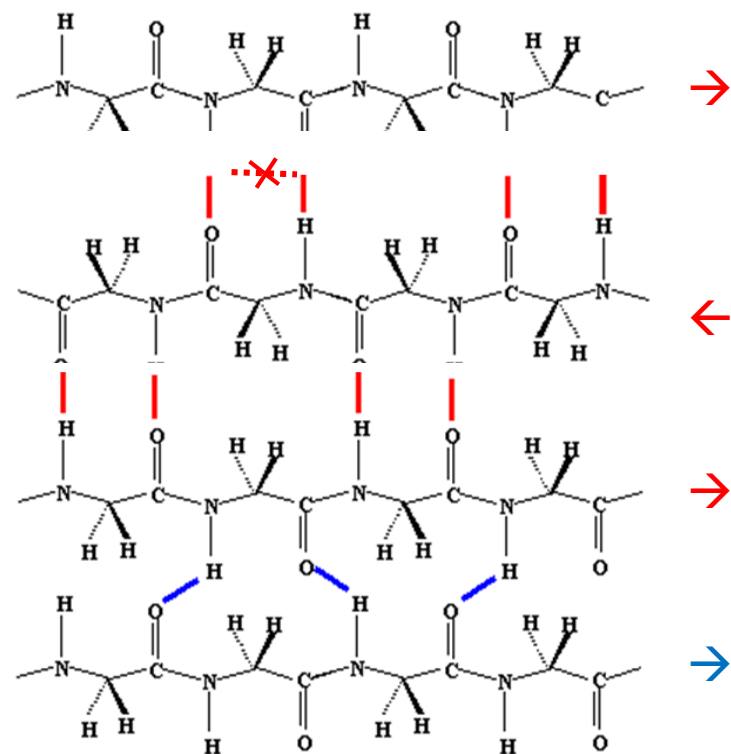


- angoli diedri: $\phi \approx -135^\circ (\pm 30)$; $\psi \approx 135^\circ (\pm 35)$;
ripetizione ogni ~3 residui (passo 3.4 Å)

- non si possono formare legami-H all'interno di un singolo **filamento** β (incorretta direzionalità)

- **due o più** filamenti si incontrano per formare un β -**foglietto**. I carbonili in un filamento formano legami-H con gli NH ammidici dell'altro filamento,

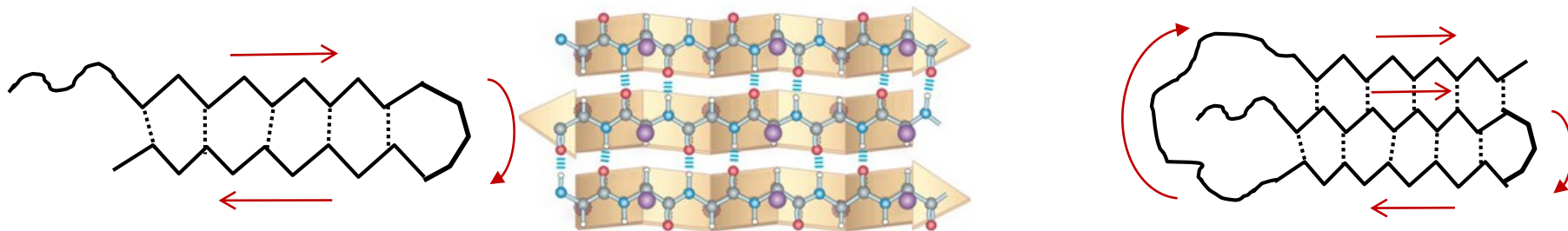
- le catene adiacenti nei β -foglietti possono avere la stessa direzione (**parallelo**, $\phi \approx -120^\circ$, $\psi \approx 115^\circ$), o direzione opposta (**antiparallelo**, $\phi \approx -140^\circ$, $\psi \approx 135^\circ$ più stabili) o essere di **tipo misto**



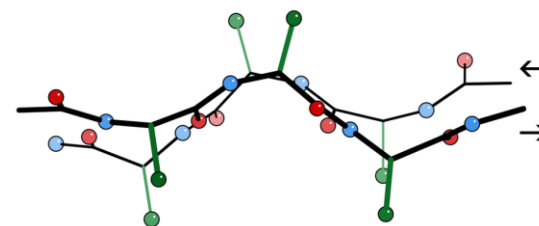
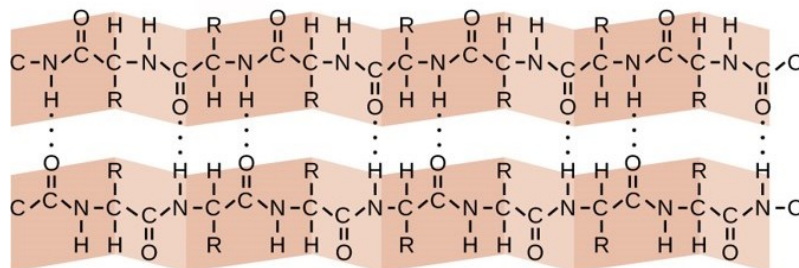
Esempi di struttura 2^a: β -foglietti paralleli ed antiparalleli

► i β -foglietti sono formati da DUE o PIÙ filamenti β

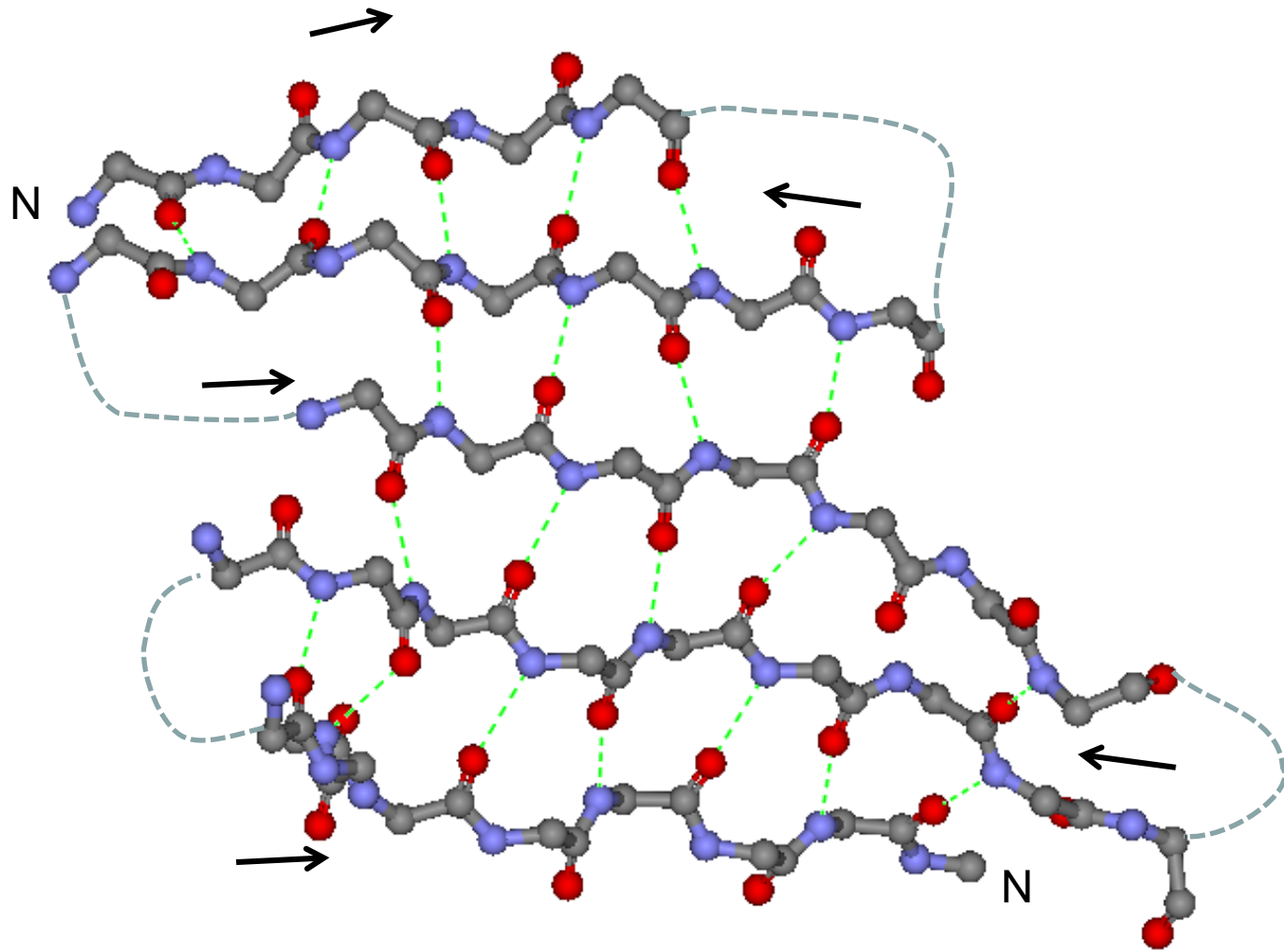
- questo richiede che i due segmenti siano congiunti da tratti di catena con altra conformazione
- i β -foglietti **antiparalleli** richiedono tratti di congiunzione con pochi residui (**turn**)
- i β -foglietti **paralleli** richiedono tratti di congiunzione più ampi (molti residui)



- I tratti a β -struttura sono formati generalmente da **4 – 10 residui**
- le catene laterali dei residui adiacenti puntano in direzioni opposte, sopra e sotto il piano del foglietto che ha un andamento a zig-zag (foglietto β ripiegato, *β -pleated sheet*)



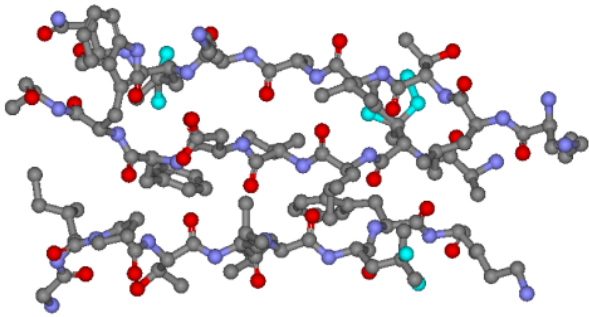
Esempio di un β -foglietto antiparallelo



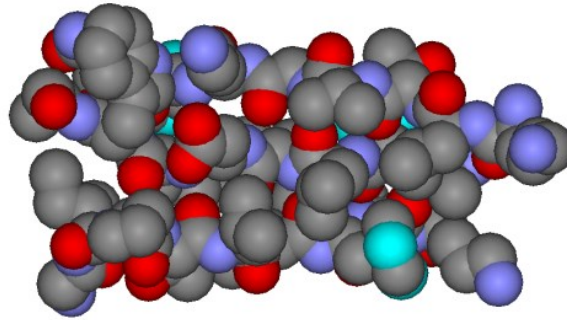
Esempi di struttura 2^a: modi per rappresentare i β -foglietti

► Anche β -foglietti possono essere rappresentati in diversi modi

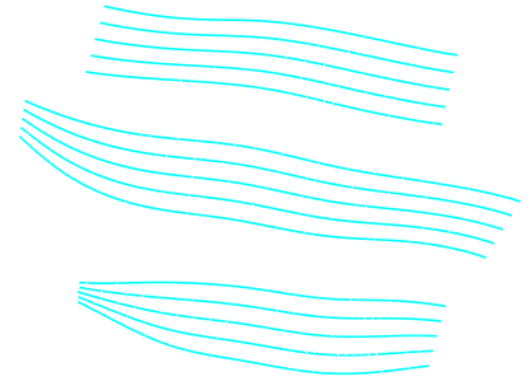
- spesso sono indicati con un diverso colore (es. azzurro) dalle α -eliche (es. rosso)



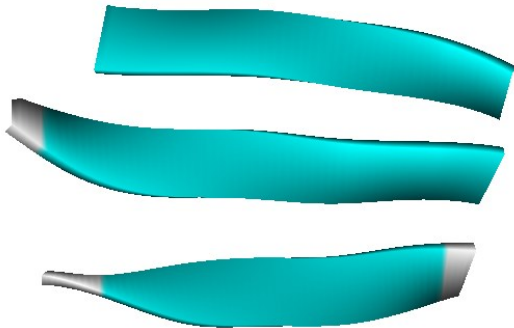
- *ball & stick*



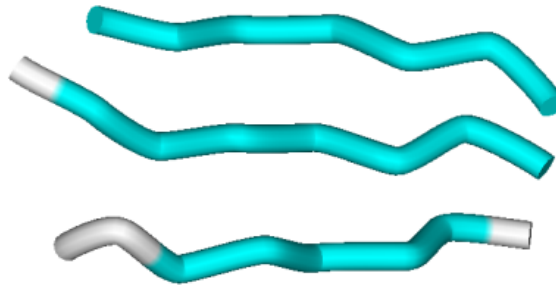
- *CPK (spacefilling)*



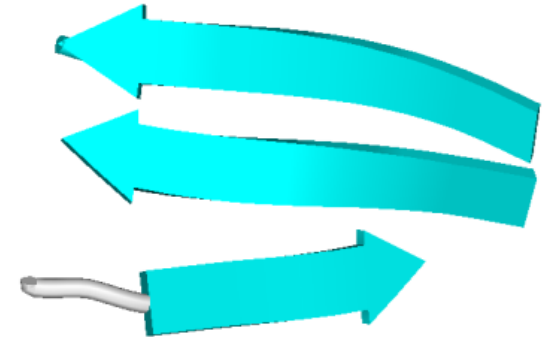
- *thin ribbon*



- *solid ribbon*



- *tube*

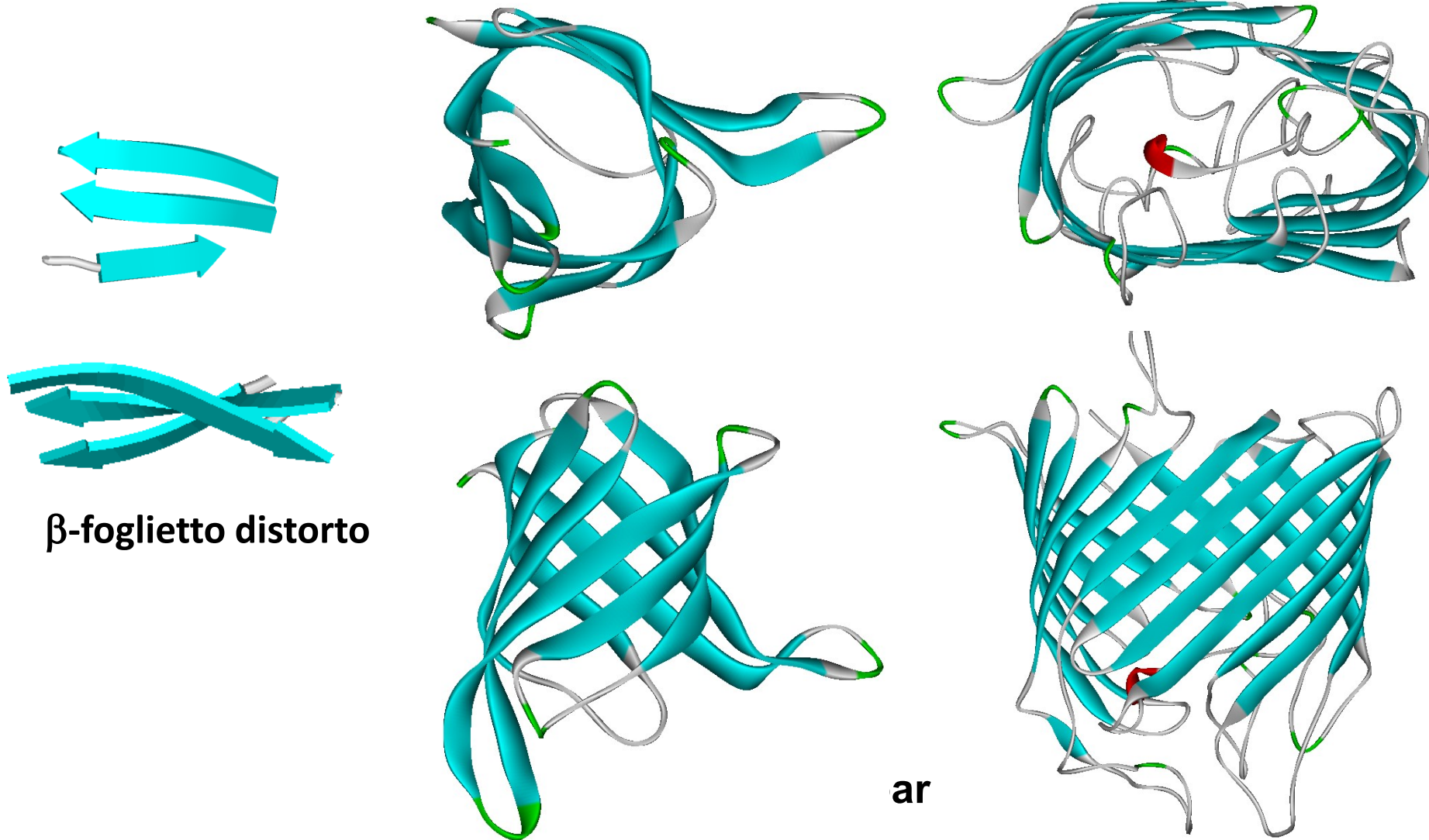


- *schematic*

Esempi di struttura 2^a: strutture a β -foglietto

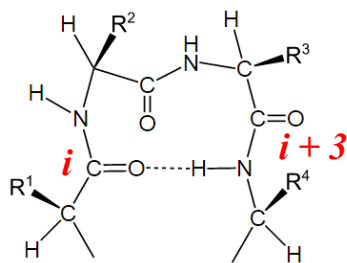
► Nelle proteine, i β -foglietti sono raramente planari.

- formano piani distorti o strutture cilindriche.

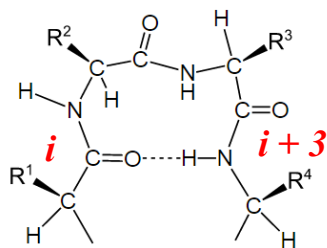


Esempi di struttura 2^a: tratti di congiunzione – turn e loop

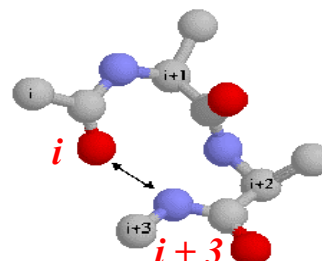
- ▶ Tratti della catena ad α -elica o a β -struttura sono connessi da tratti con altre conformazioni
 - nei **β -foglietti antiparalleli**, i tratti di β -struttura sono spesso connessi da brevi «**turn**»
 - due tratti ad α -elica, o tratti ad elica seguiti da β -struttura sono connessi da «**loop**»; (tratti più ampi, per motivi sterici, e disordinati; senza ripetizione periodica)
 - nei **β -foglietti paralleli**, i tratti di β -struttura sono connessi da tratti ancora più ampi, che includono diverse conformazioni (es. loop-helix-loop)
- ▶ **β -turn e γ -turn (ripiegamenti- β e - γ)**
 - permettono un **cambio di direzione repentino** (fattori sterici permettendo)
 - si forma legame-H fra -CO di un residuo i e HN- del residuo $i + 2$ o $i + 3$. Gly e Pro sono frequenti nei ripiegamenti
 - ci sono quattro tipi di ripiegamenti stretti, ciascuno con varianti:



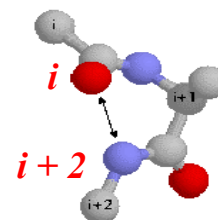
β -turn type I



β -turn type II



β -turn type III

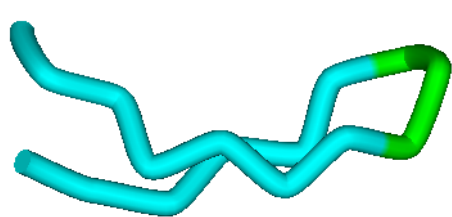


γ -turn

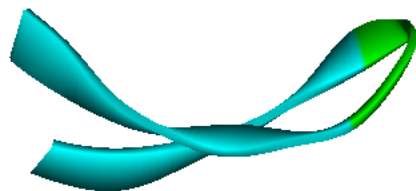
Esempi di struttura 2^a: turn e loop (cont.)

► β -forcina

- elemento di struttura 2^a nel quale un *turn* congiunge due filamenti β antiparalleli



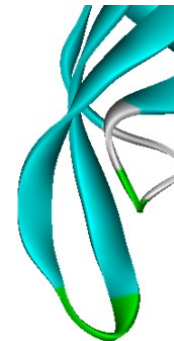
- tube



- solid ribbon

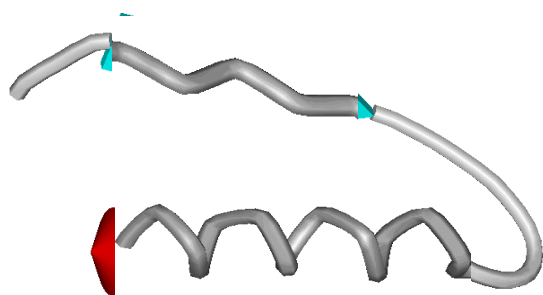


- schematic

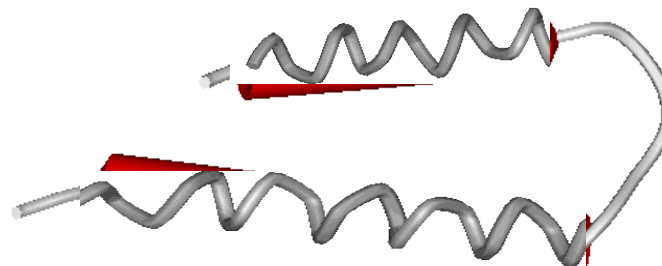


► Loop (anse) - strutture irregolari

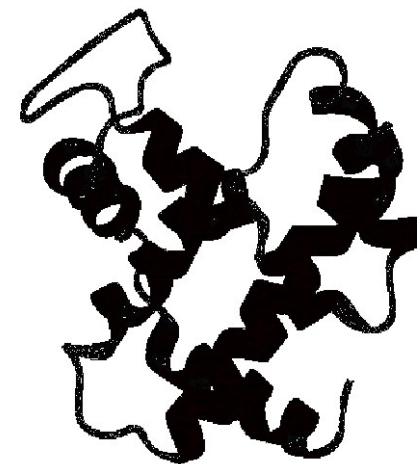
- tratti con **conformazione irregolare** (ϕ e ψ non ripetuti periodicamente), spesso congiungono tratti a conformazione regolare (α -eliche, β -strutture) con un maggiore **ingombro sterico**
- ~ **6 a 16 residui**, tendono a **collocarsi sulla superficie** delle strutture proteiche; la loro conformazione è indicata come *random coil* (rc)



β -loop- α



α -loop- α

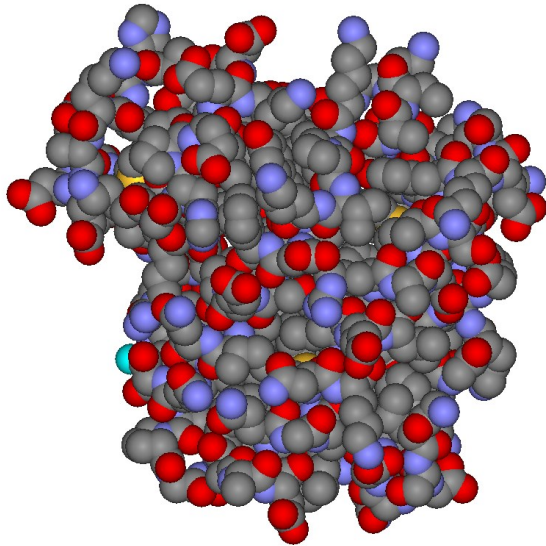


La struttura terziaria (3^a) nelle proteine

- ▶ Descrive il ripiegamento nello spazio tridimensionale di una singola catena polipeptidica
- ▶ A questo livello di struttura:
 - **tutti gli atomi** che la compongono trovano una **esatta posizione nello spazio**
 - **tutti gruppi C=O ed -NH** dei legami peptidici, e **gruppi proton accettori/donatori** delle catene laterali, **formano legami-H** (fra di loro o con molecole d'acqua)
 - **tratti con struttura secondaria** regolare (α -eliche / β -foglietti) **si associano**
 - **non vi è spazio libero nel nucleo** della struttura, il **solvente è escluso** (legami-H ed elettrostatici sono forti) e gli **atomi sono a contatto** (interazioni vdW rilevanti)
 - I **tratti di congiunzione** (turn e loop) sono brevi e generalmente **posti in superficie**
- ▶ **Nelle proteine globulari**
 - I residui con **catene laterali polari** sono posti in **superficie** (sono **solubili in acqua**)
 - se un'ampia parte della superficie in una struttura 3^a è **idrofobica**, questa **serve per interagire con un'altra superficie idrofobica** (es. con un'altra superficie proteica o con le membrane biologiche)

Esempi di struttura 3°

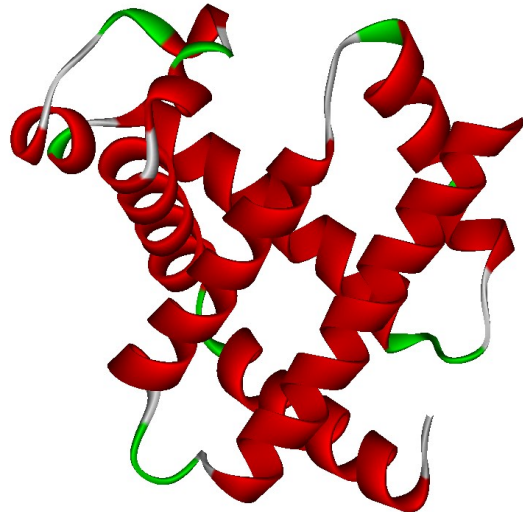
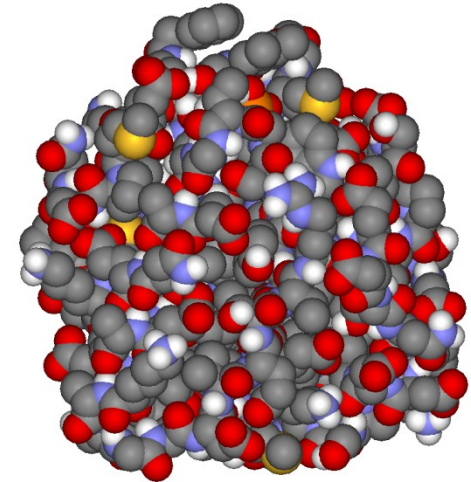
- posizionamento nello spazio tridimensionale di tutti gli atomi di una singola catena proteica



globina

Flavodossina

rappresentazione
ball & stick



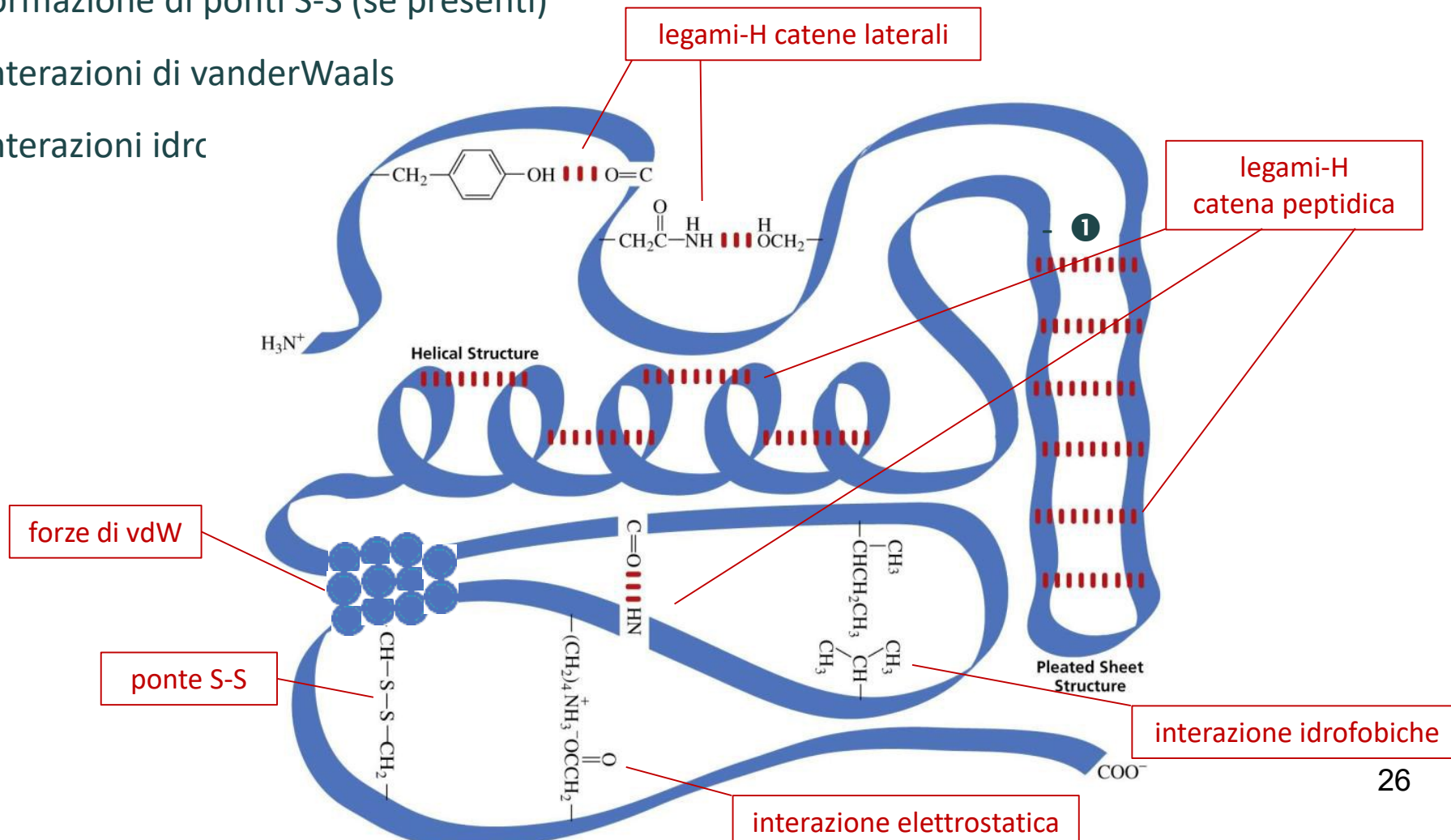
rappresentazione
a nastro solido



Caratteristiche della struttura 3°

► La struttura terziaria è stabilizzata da:

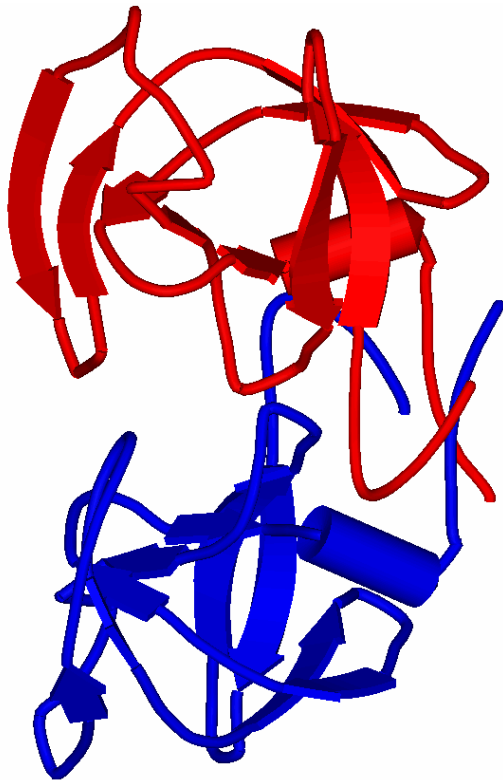
- interazioni reversibili tra residui lontani nella sequenza ma che si avvicinano nello spazio, e che coinvolgono sia la catena centrale che le catene laterali
- formazione di ponti S-S (se presenti)
- Interazioni di vanderWaals
- Interazioni idriche



La Struttura Quaternaria (4ª) nelle proteine

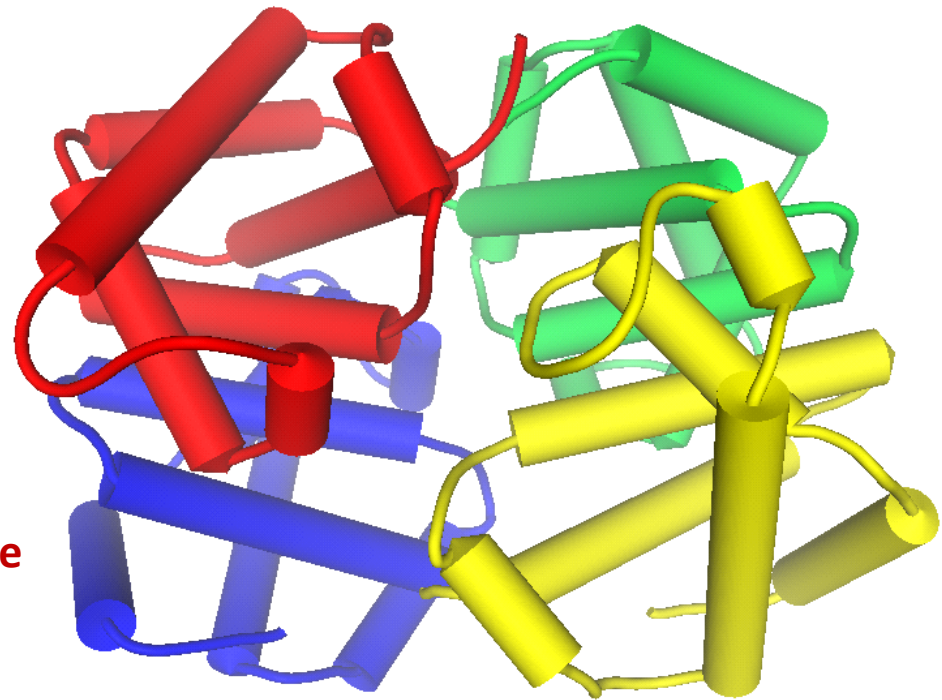
► Associazione di due o più catene proteiche

- ogni catena è indicata come una **subunità** della struttura 4ª
- Si formano **oligomeri** (dimeri, trimeri, tetrameri)



rappresentazione
schematica

aspartico proteasi di HIV-1
(un **omodimero**)

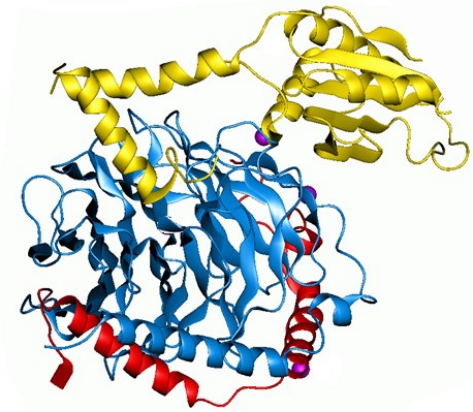


emoglobina
eterotetramero di tipo $\alpha_2\beta_2$

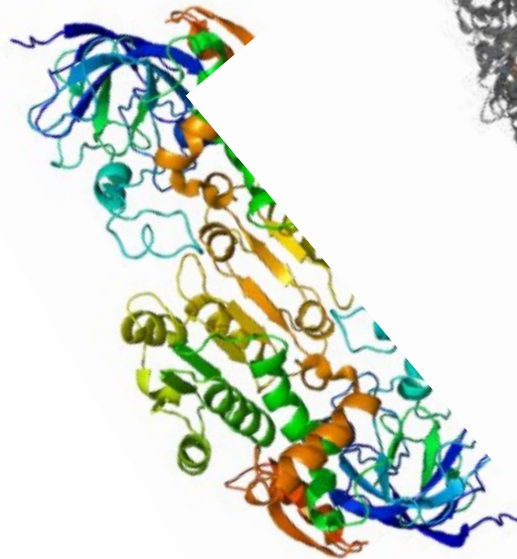
La Struttura Quaternaria (4ª) (cont.)

► La struttura quaternaria descrive la disposizione spaziale delle diverse subunità e la natura delle loro interazioni.

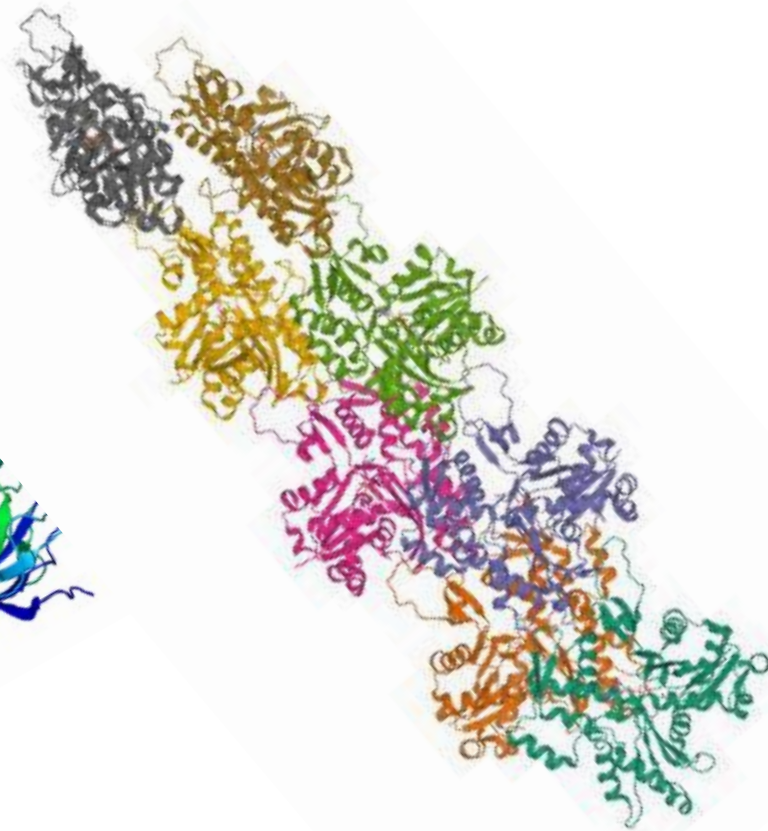
- le proteine multimeriche possono avere subunità diverse
- alcune strutture possono comprendere molte subunità che formano complessi polimerici



Proteina G
(eterotrimero)

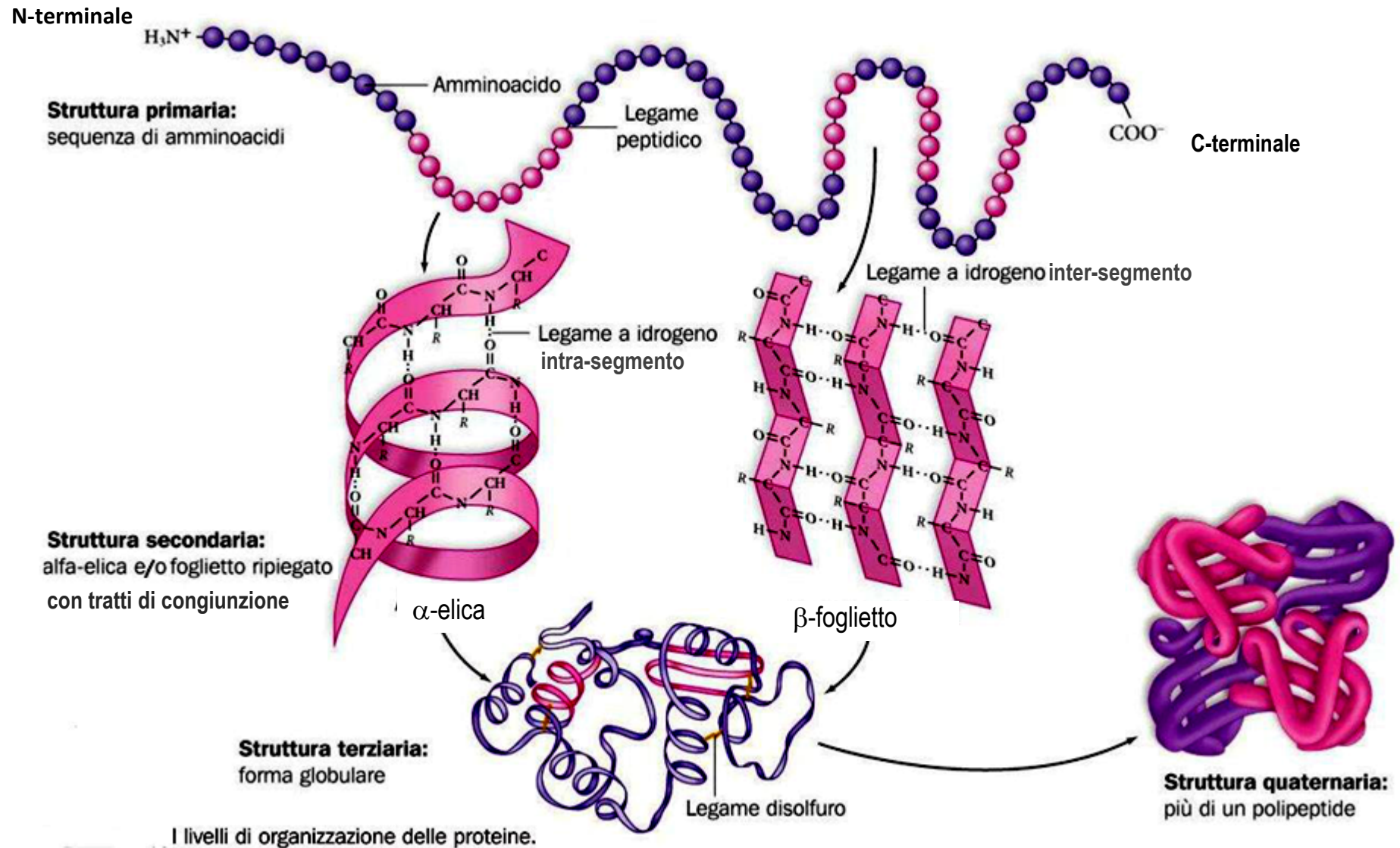


Alcol deidrogenasi
(omodimero)



F-actina
(omopolimero 4ª)

La gerarchia di struttura nelle proteine - riassunto



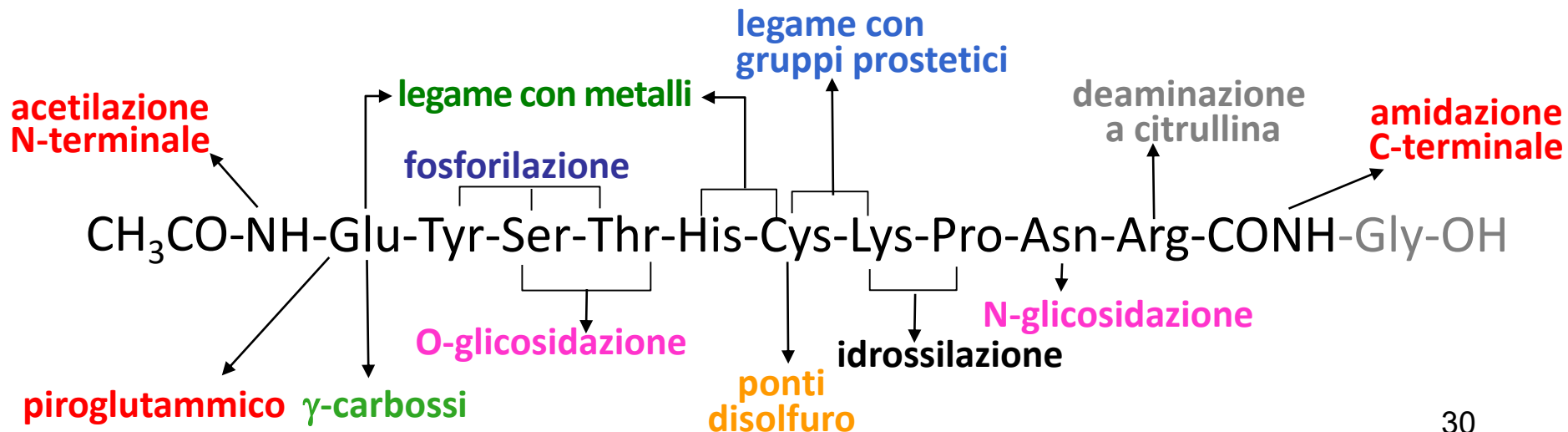
Livelli intermedi di struttura: modificazione della struttura 1^a

► GRANDEZZA

- dipende dalla sequenza (**struttura 1^a**) e dal numero di catene presenti (**struttura 4^a**)
- normalmente indicata dalla **massa** delle proteine (**kDa**) che permette di:
 - 1) **identificare univocamente** una proteina, se ne si conosce la sequenza
 - 2) identificare eventuali **modificazioni genetiche o postraduzionali** nella proteina

► MODIFICAZIONI POSTRADUZIONALI (PTM)

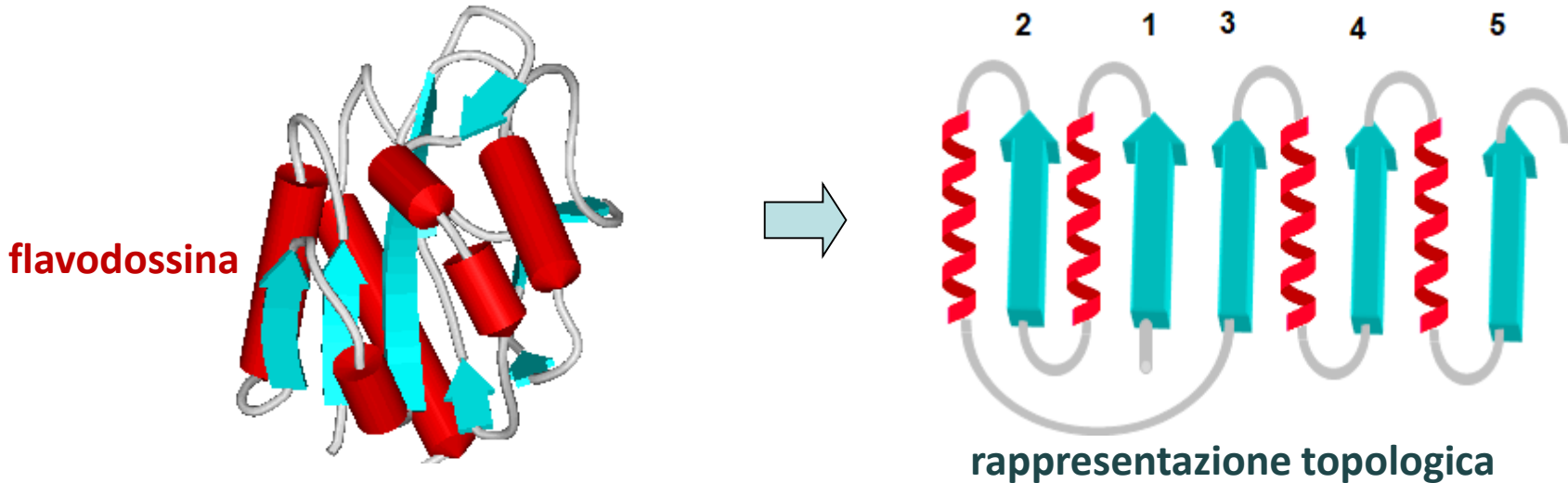
- alcune catene laterali possono andare incontro a modificazioni postraduzionali
- queste avvengono dopo la sintesi proteica ad opera di specifici enzimi



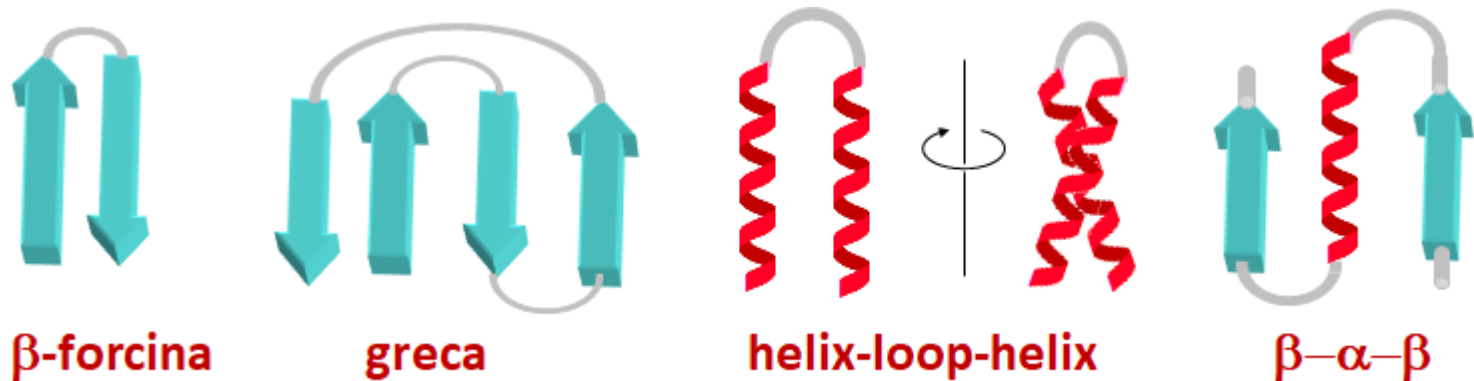
Livelli intermedi di struttura: struttura super 2^a

► Struttura supersecondaria

- **associazione di elementi di struttura 2^a** adiacenti, secondo una precisa **topologia**
- questi elementi topologici possono fungere da **punti di nucleazione** per il ripiegamento



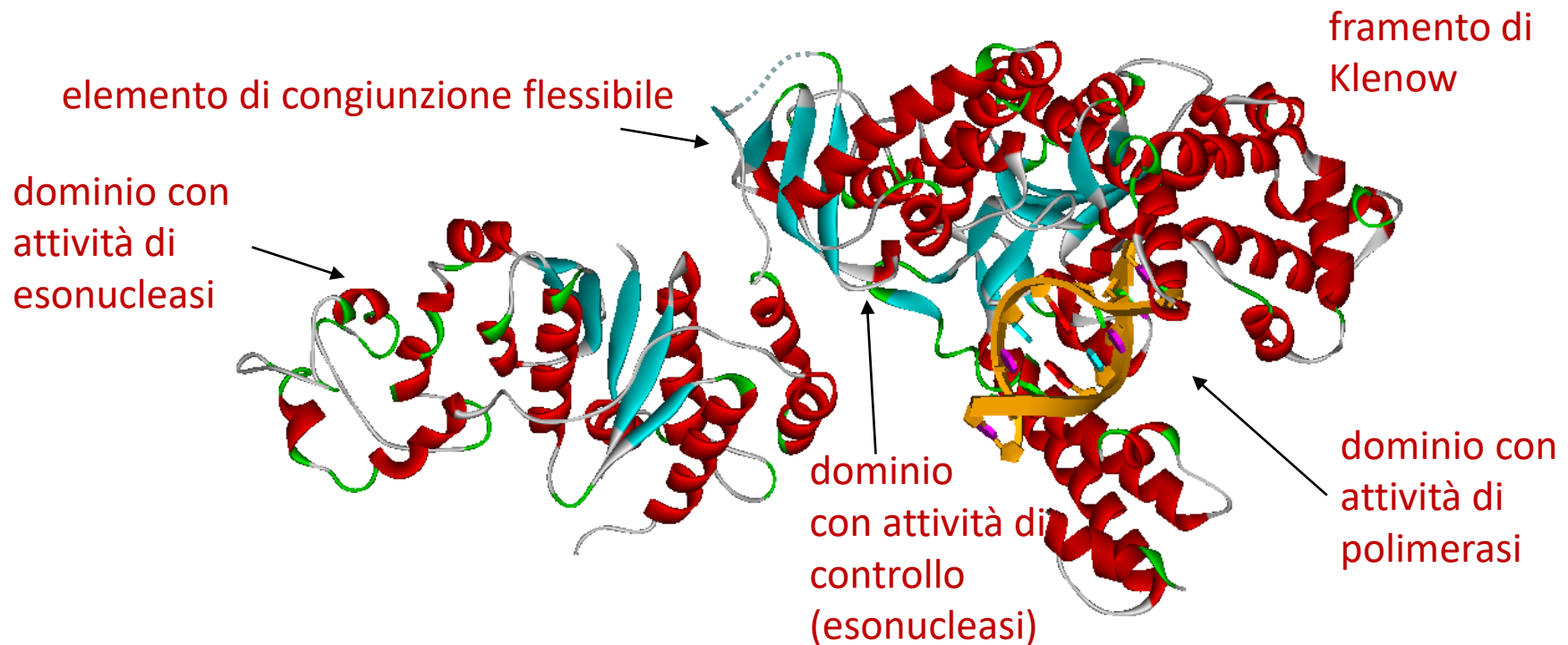
► Alcuni elementi topologici (di struttura 2^a) sono spesso osservati nelle proteine



Livelli intermedi di struttura: struttura super 3^a

► Domini strutturali

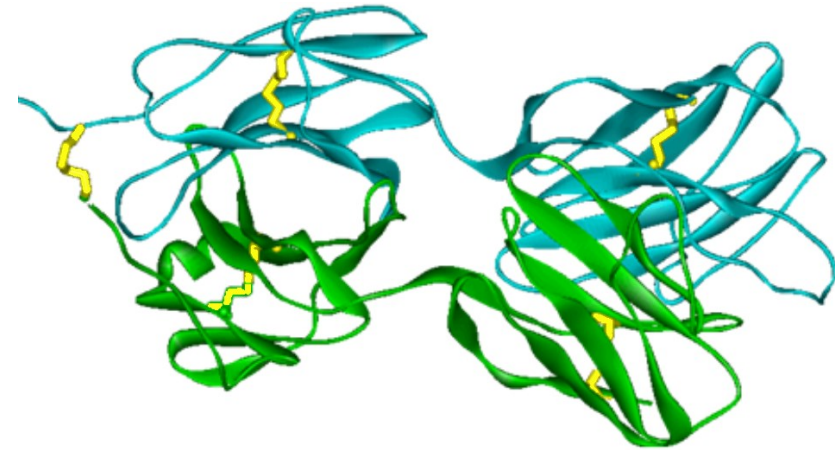
- alcune proteine, anche se a **singola catena**, hanno **domini strutturali ben distinti**.
- questi corrispondono a tratti di sequenza che si **strutturano autonomamente**, dando luogo a regioni strutturali ben definite (**moduli proteici**), separati da segmenti flessibili.
- questi moduli possono essere strutturalmente simili (es. immunoglobuline) o diversi e avere diverse funzioni (es. DNA polimerasi, acido grasso sintasi)



DNA polimerasi: singola catena di ~1000 residui con tre domini, ciascuno con propria struttura e funzione

► PONTI DISOLFURO

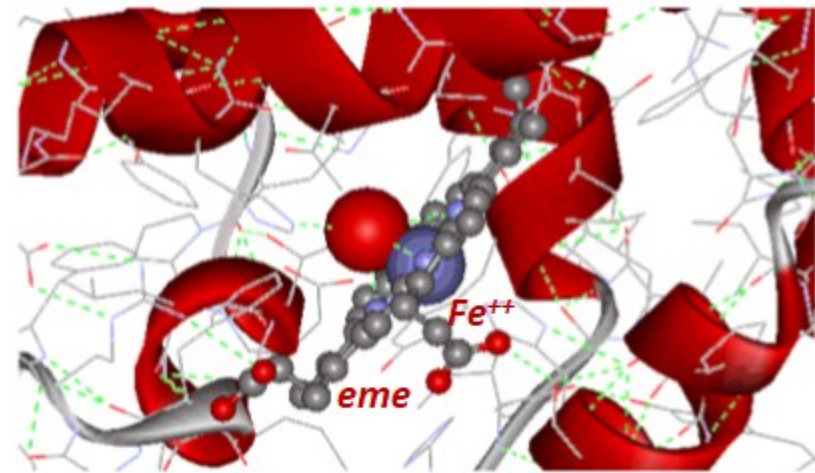
- molte proteine sono stabilizzate da **ponti disolfuro**
- frequenti in **proteine extracellulari**
- anche in **proteine multimeriche**, due o più catene possono essere **connesse da ponti S-S**



Immunoglobulina (frammento)

► GRUPPI PROSTETICI

- molte proteine richiedono **ioni meta** e/o **molecole aggiuntive** (non aminoacidi) per essere completamente funzionali
- Es., l'eme è presente in molte proteine. Questo '**gruppo prostetico**' a sua volta include uno **ione di ferro** (es. emoglobina)
- sono note come '**proteine coniugate**' differenziarle da proteine, senza gruppi prostetici, che sono le '**proteine semplici**'.



sito attivo dell'emoglobina

Livelli intermedi di struttura: PTM alla struttura 3° (cont.)

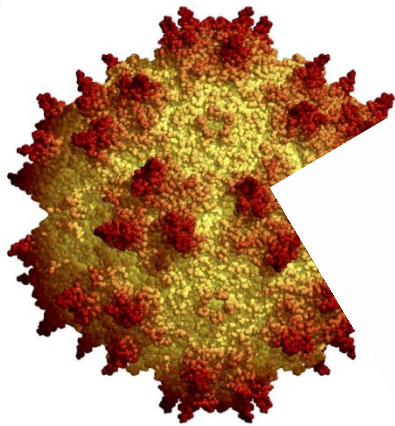
► Diversi tipi di gruppi prostetici e cofattori

- Nelle proteine coniugate, diversi tipi di gruppi chimici o ioni metallici sono associati da un legame covalente. In alcuni casi questo è reversibile (es. fosforilazione)
- La proteina coniugata è nota come una **oloproteina**. Senza il gruppo prostetico è nota come **apoproteina**, e solitamente non è attiva.

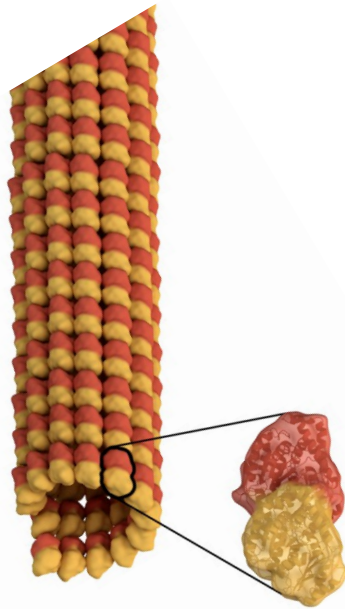
<i>Classe</i>	<i>Gruppo prostetico</i>	<i>Esempio</i>
Lipoproteine	Lipidi	β_1 -lipoproteina del sangue
Glicoproteine	Carboidrati	Immunoglobulina G
Fosfoproteine	Gruppi fosforici	Caseina del latte
Emoproteine	Eme (ferro porfirina)	Emoglobina
Flavoproteine	Nucleotidi flavinici	Succinato deidrogenasi
Metalloproteine	Ferro	Ferritina
	Zinco	Alcol deidrogenasi
	Calcio	Calmodulina
	Molibdeno	Dinitrogenasi
	Rame	Plastocianina

Livelli intermedi di struttura: strutture super 4^e

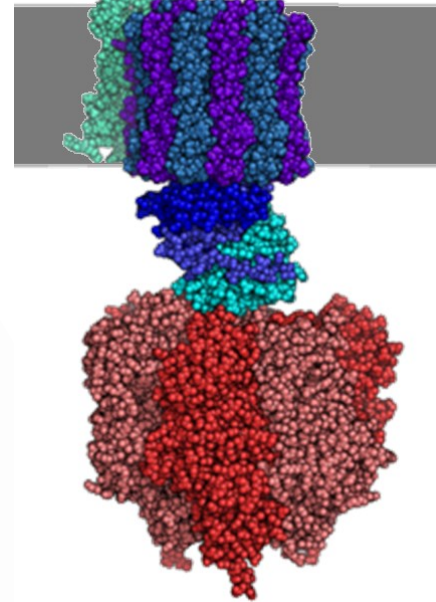
- Le strutture supramolecolari sono strutture 4^e composte da molte subunità
- complessi multimerici proteici su larga scala (talvolta legati a subunità di acido nucleico)
- Le strutture 4^e possono essere di tipo 'chiuso' o 'aperto'



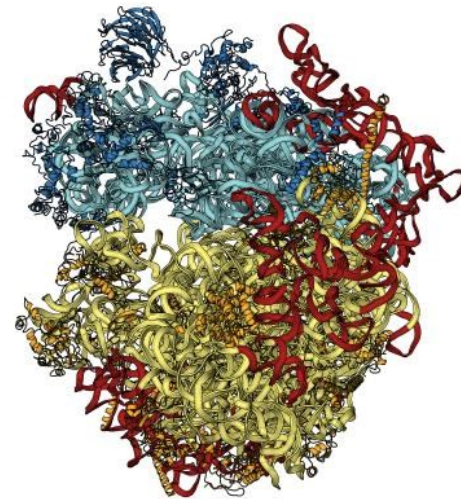
capside di virus
(struttura chiusa)



*protofilamento
di microtubulo*
(struttura aperta)



ATP sintasi
(struttura chiusa)

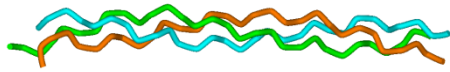


*Ribosoma
(riboproteina)*
(struttura chiusa)

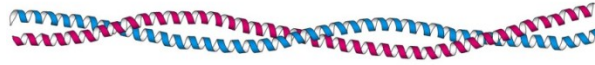
Tipologie principali di proteine

- ▶ È utile definire gruppi di proteine con diversa organizzazione dei livelli strutturali
- ▶ Le proteine possono essere classificate in:

- Fibrose



collagene

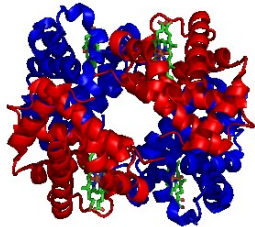


α -cheratina

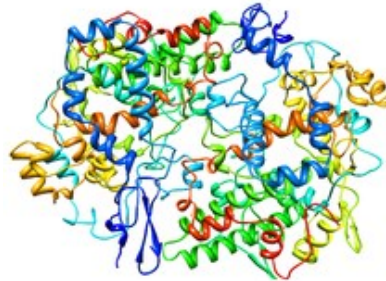


F-actina

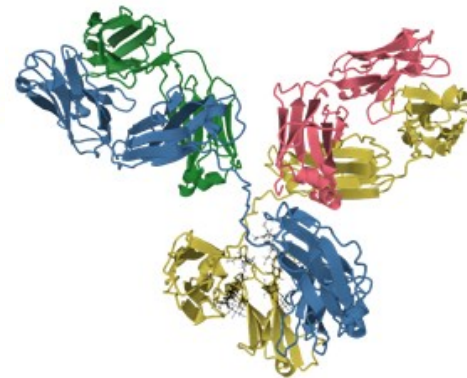
- Globulari



emoglobina

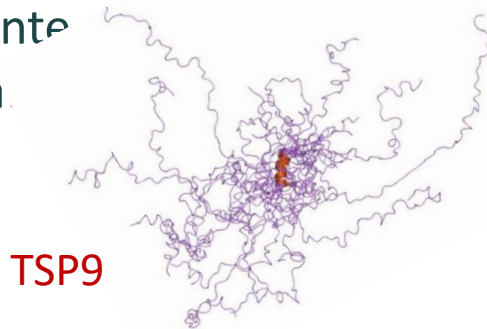


ciclossigenasi



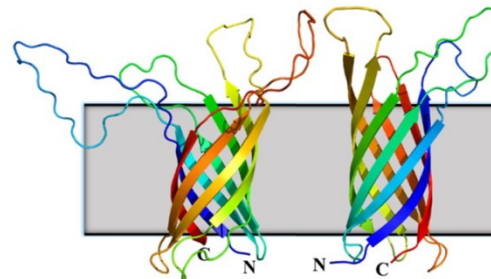
G-actina

- Intrinsecamente disordinate (IDP)



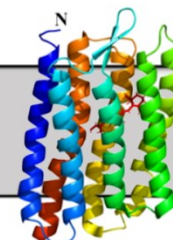
TSP9

- di membrana



OprH

Ail

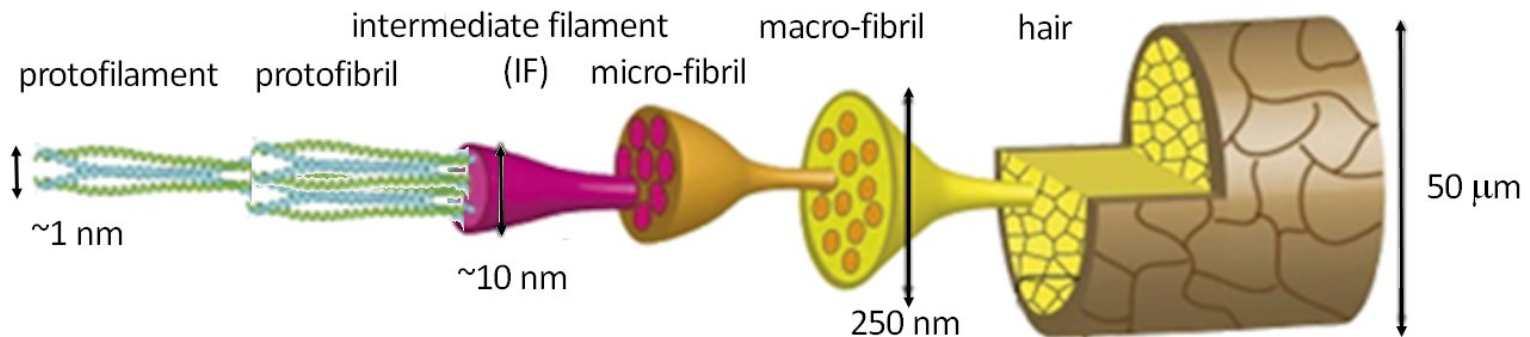
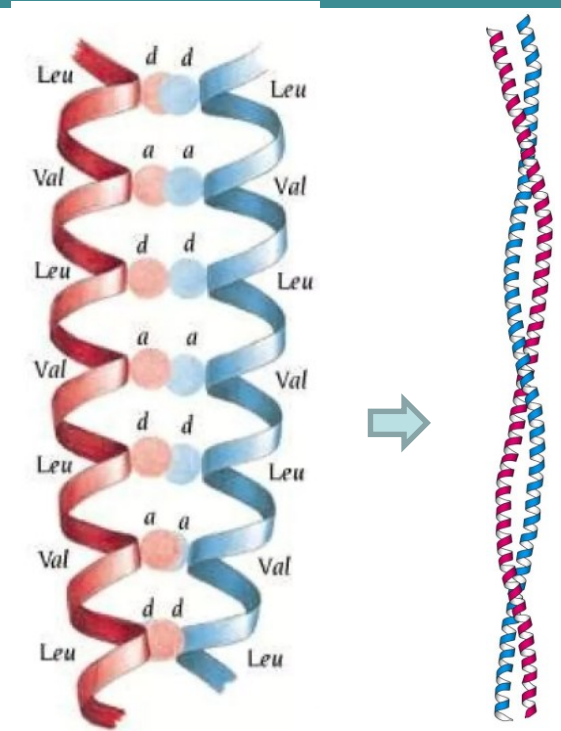


Rodopsine

Proteine fibrose: α -cheratine

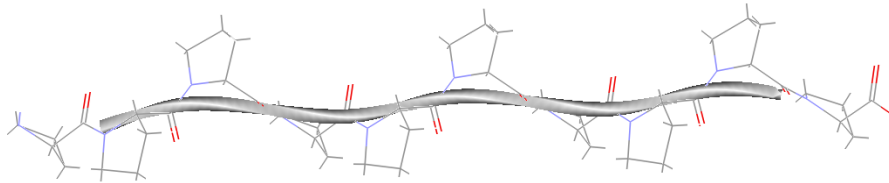
► Proteine filamentose e allungate dei mammiferi

- adatte a resistere alla tensione; componenti principali della pelle, tessuti connettivi, capelli, unghie, corna, e zoccoli
- formate da lunghissime α -eliche (~ 300 residui) con ripetizioni di sette residui; quelli *a* e *d* nell'eptade sono **idrofobici** e questo risulta in un **lato idrofobico** nell'elica
- due eliche si avvolgono una attorno all'altra in un **super-avvolgimento** sinistrorso (**coiled coil**)
- il dimero è stabilizzato da interazioni idrofobiche.
- Il dimero forma protofilamenti (tetrameri) e poi protofibrille, fino a formare filamenti (multimeri) e poi fibre rigide, insolubili e molto resistenti, simili a un cavo; sono più o meno flessibili a seconda del contenuto di ponti S-S (maggiori in unghie e corna che nei capelli).

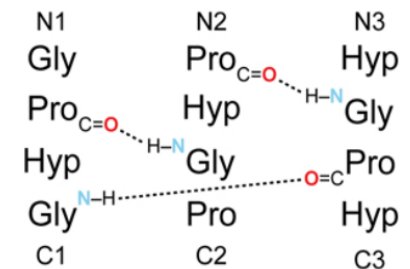
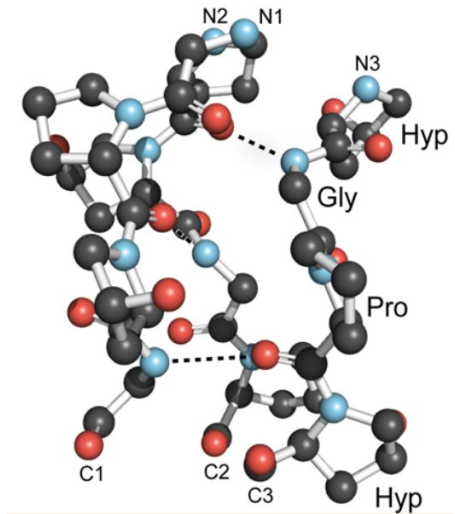


Proteine fibrose: Collagene

- Il collagene (o collagene) è la proteina più abbondante nei vertebrati.
- principale componente fibroso di pelle, ossa, tendini, e cartilagini
- la struttura 1^a è ricca in **glicina e prolina**, con una sequenza ripetuta di Gly-X-Y fino a ~1000 residui. X è spesso Pro e Y è spesso idrossy-Pro (Hyp). È presente anche idrossi-Lys (Hyl)
- la struttura 2^a è quella dell'elica **poliprolina tipo II** (non α -elica, non ci sono legami-H intra-segmento)



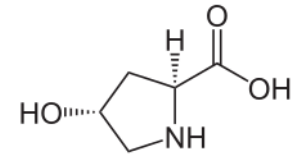
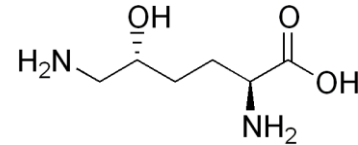
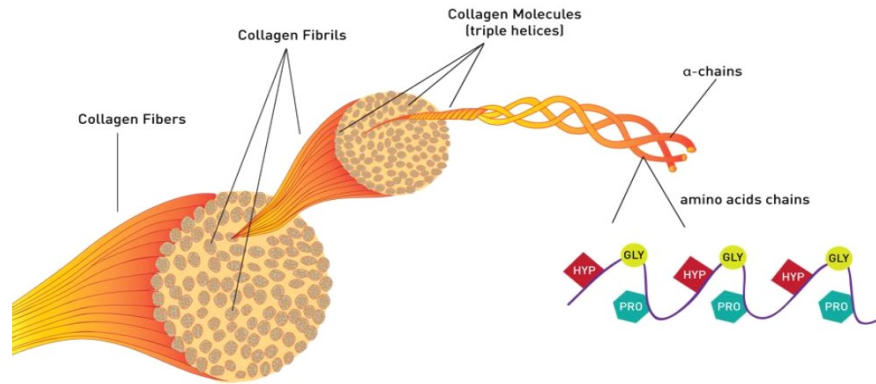
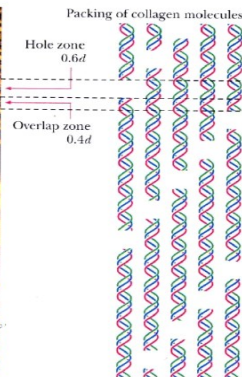
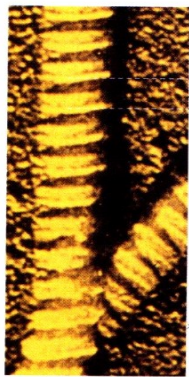
- Tre catene avvolte tra loro formano una **tripla elica** con andamento destrorso (**tropocollagene**), stabilizzato da **legami idrogeno inter-catena**, tra i carbonili del residuo X e protone ammidico di Gly in un'altra catena
- I residui di Gly sono indispensabili e presenti nei punti centrali di contatto delle tre eliche per motivi sterici. Pro favorisce la conformazione PPII e HYP stabilizza la tripla elica



Proteine fibrose: Collagene (cont.)

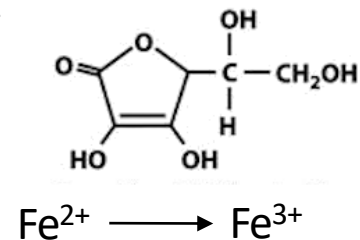
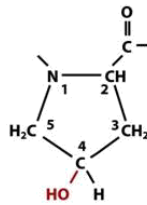
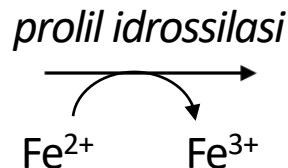
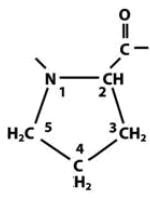
► Il collagene forma fibre resistenti

- le molecole di **tropocollagene** si associano formando fibrille di **protocollagene**, fortemente stabilizzate da legami covalenti crociati (tra e catene laterali di residui **Lys** e **idrossiLys**)



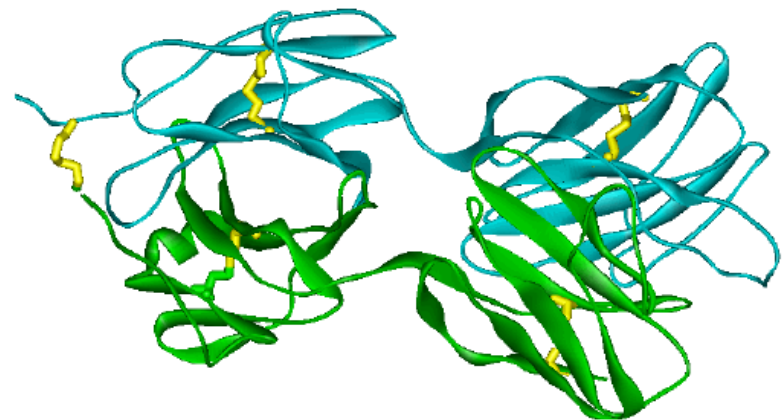
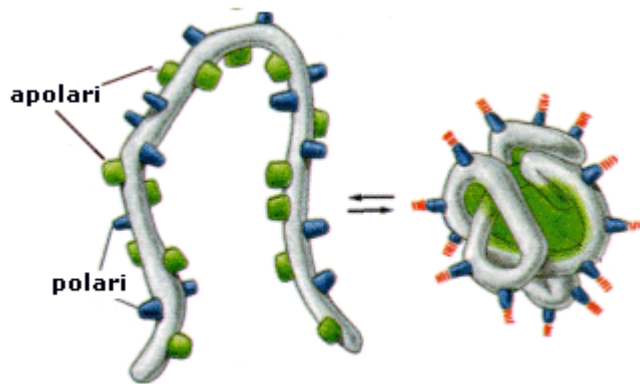
► Ruoli di Hyp e Hyl

- Hyp e Hyl stabilizzano la struttura del collagene nel tessuto connettivo e osseo.
- specifiche **idrossilasi** convertono Pro e Lys a Hyp e Hyl fino a che si forma tropocollagene, in una reazione che richiede la **vitamina C** (acido ascorbico, la sua carenza porta ad un collagene meno stabile, condizione presente nello scorbuto).



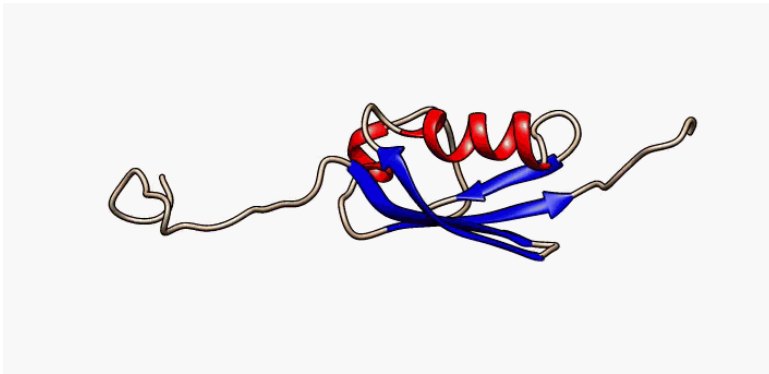
Proteine globulari

- ▶ **Le proteine globulari hanno un'enorme diversità strutturale**
- il loro ripiegamento è complesso; le informazioni necessarie per ottenere la struttura 3^a è presente nella struttura 1^a
- quasi tutte contengono tratti ad α -elica e/o in β -foglietto con tratti di congiunzione reviti (turn), o più lunghe (loop, *random coil*) e generalmente sulla superficie della struttura
- le catene laterali dei residui apolari inducono il collasso idrofobico e si raggruppano all'interno della struttura, le catene laterali dei residui polari restano sulla superficie
- gruppi proton donatori ed accettori sono tutti legami H, fra di loro o con l'acqua.
- In genere non vi è spazio libero all'interno della struttura
- La struttura è fortemente stabilizzata se ci sono ponti disolfuro

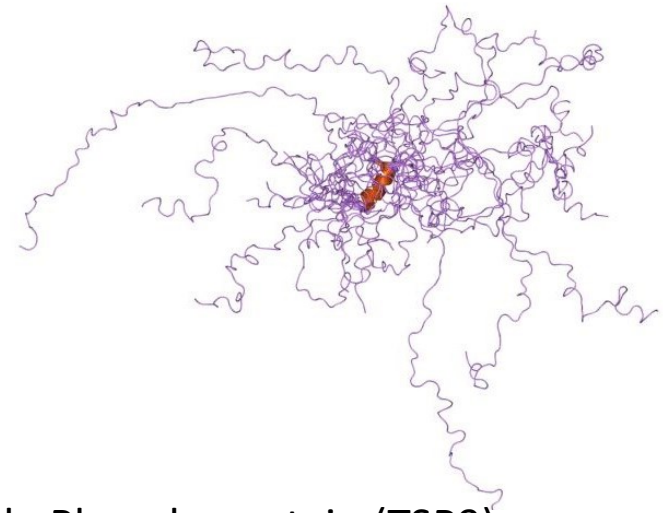


Proteine intrinsecamente disordinate (IDP)

- ▶ Le IDP sono proteine a cui manca una struttura nativa fissa od ordinata.
- note anche come *intrinsically unstructured protein* (IUP), o *natively unfolded protein*
- elevato contenuto di residui polari e potenziali siti di fosforilazione (es. Ser, Thr e Tyr)
- difficoltà a strutturarsi con core idrofobico centrale; le catene rimangono in parte o totalmente disordinate e mostrano grande flessibilità e plasticità
- si strutturano quando legano a specifiche altre proteine, acidi nucleici o membrane
- spesso hanno ruoli regolatori del ciclo cellulare, e nella trascrizione e traduzione



Struttura di SUMO-1 una piccola IDP con ruoli regolatori della cellula



Thylakoid Soluble Phosphoprotein (TSP9)
Si struttura in presenza di membrane biologiche

Protein structural engineering: un semplice esempio

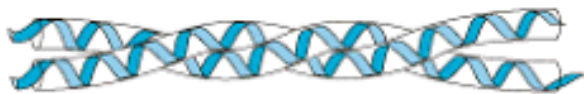
► La *messa in piega* e la *permanente* nei capelli sono un esempio di ingegneria strutturale delle proteine

- operano sulla struttura dell' α -cheratina a livello dei legami deboli e ponti S-S

α -Helix



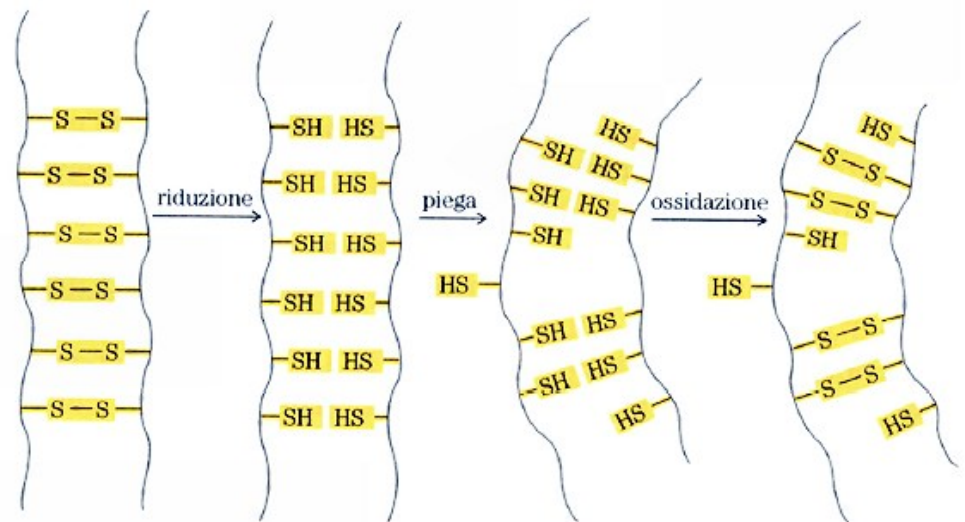
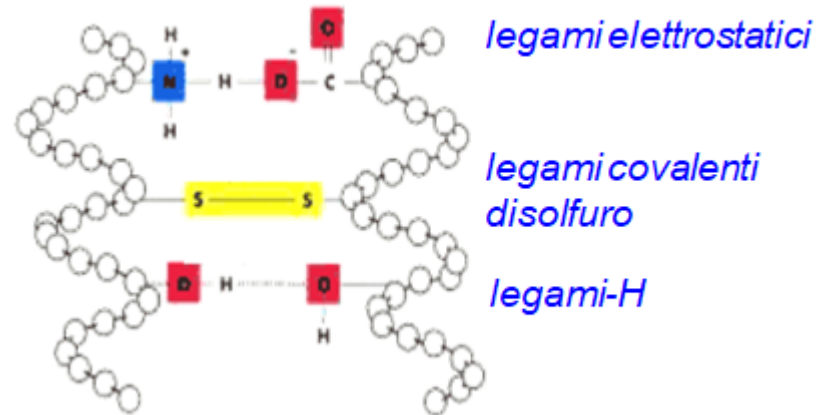
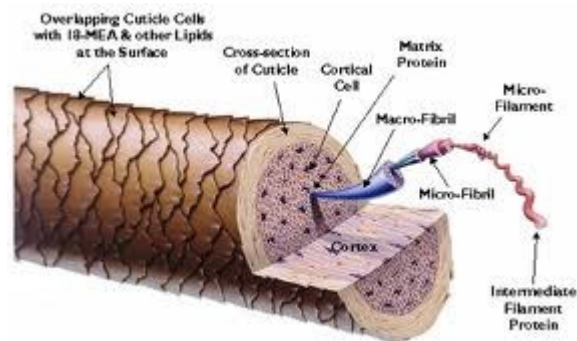
Coiled coil of two α -helices



Protofilament (pair of coiled coils)

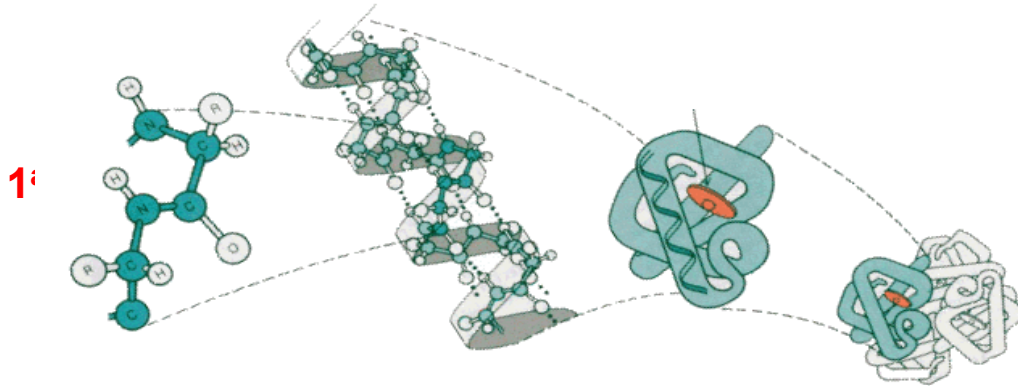


Filament (four right-hand twisted protofibrils)



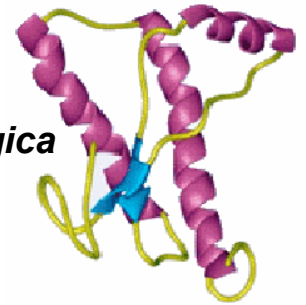
L'importanza della corretta struttura nativa

- ▶ la sequenza determina il corretto ripiegamento di una proteina

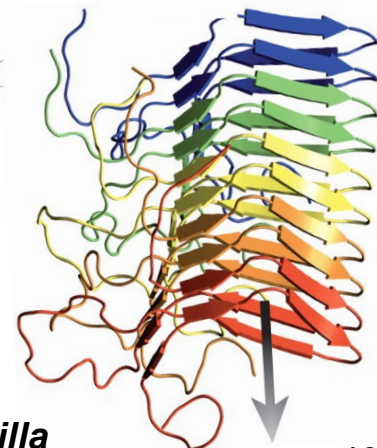
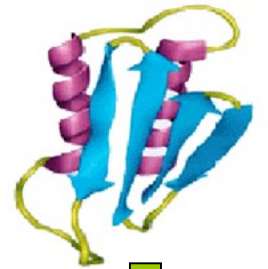


PRIONE (IDP)

*forma
fisiologica*



*forma
patologica*



fibrilla

- ▶ un incorretto ripiegamento può derivare da:

- mutazione nel gene che codifica la proteina
es. la mutazione di Gly nel collagene rallenta la formazione della tripla elica che aumenta eccessivamente la conversione di Pro e Lys a Hyp e Hyl. Questo destabilizza il collagene
- ripiegamento alternativo (es. di una IDP)

