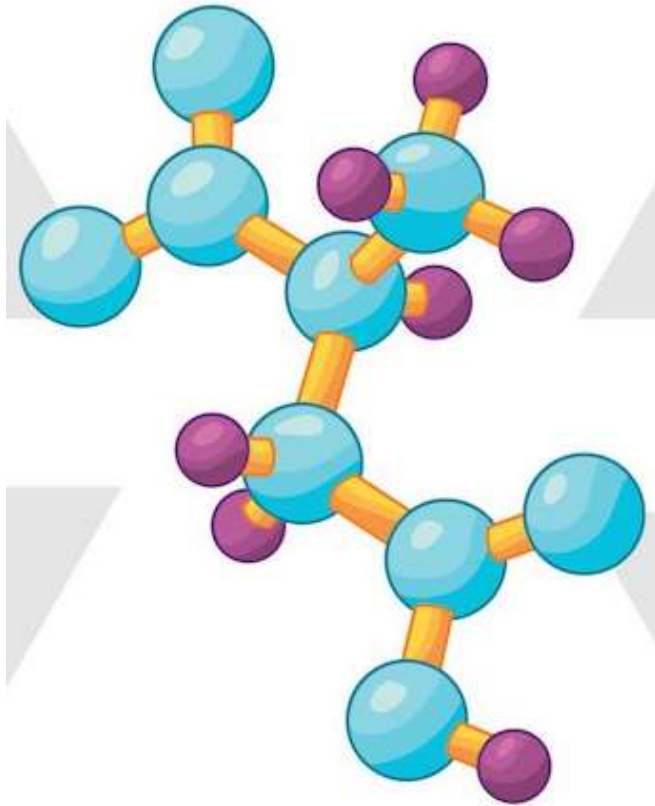




PROTEINE -2

Principi di Biologia e Genetica
Scienze Motorie
a.a 2020-21
Dr ssa Elisa Mazzoni



livelli di organizzazione delle PROTEINE:

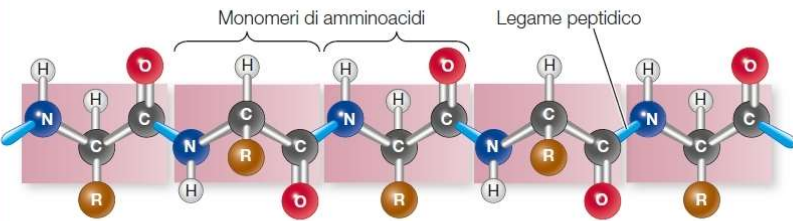
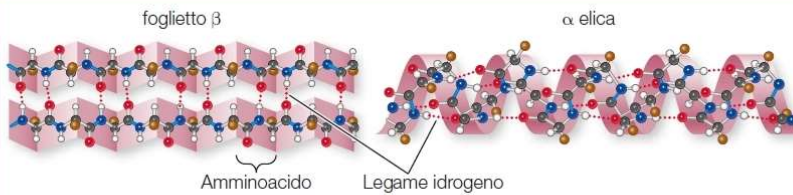
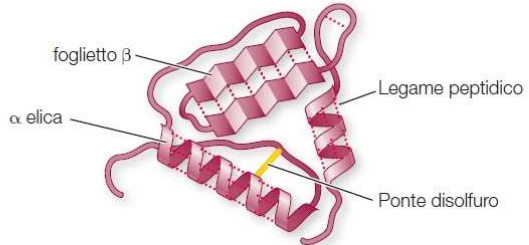
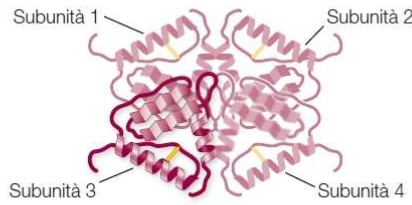
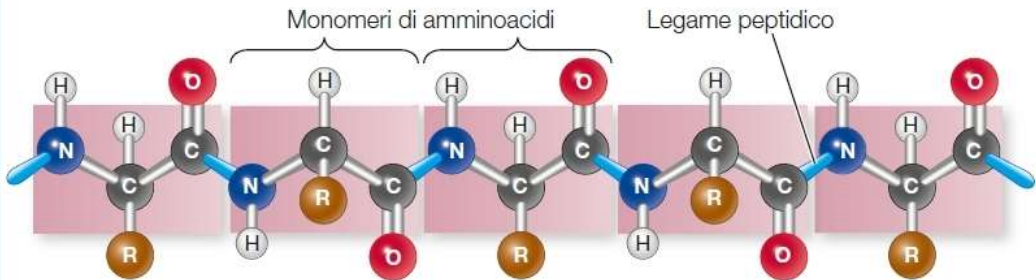
Livello	Descrizione	Stabilizzato da	Esempio
(A) Struttura primaria	Monomeri di amminoacidi sono uniti a formare catene polipeptidiche.	Legame peptidico.	
(B) Struttura secondaria	Le catene polipeptidiche possono formare α eliche o foglietti β .	Legame idrogeno.	
(C) Struttura terziaria	I polipeptidi si ripiegano, dando origine a forme specifiche.	Legami idrogeno; ponti disolfuro; interazioni idrofobiche.	
(D) Struttura quaternaria	Due o più polipeptidi possono aggregarsi formando grandi molecole proteiche.	Legami idrogeno; ponti disolfuro; interazioni idrofobiche; interazioni ioniche.	

Figura 3.7 I quattro livelli della struttura proteica Le strutture secondaria, terziaria, e quaternaria derivano tutte dalla struttura primaria della proteina.



La struttura primaria delle proteine

è data dalla successione degli aminoacidi che compongono la proteina

Livello	Descrizione	Stabilizzato da	Esempio
(A) Struttura primaria	Monomeri di aminoacidi sono uniti a formare catene polipeptidiche.	Legame peptidico.	

La sequenza aa è **unica** per ogni tipo di proteina, e in ogni molecola di quella proteina la sequenza è rigorosamente **la stessa**

Sono state identificate molte **migliaia** di proteine diverse: ognuna ha una sua propria sequenza amminoacidica

Possono esistere infinite proteine **con identica composizione aa, ma con diversa sequenza**: sono proteine diverse

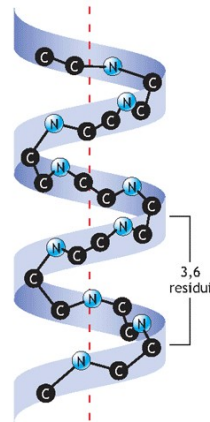


La struttura secondaria delle proteine

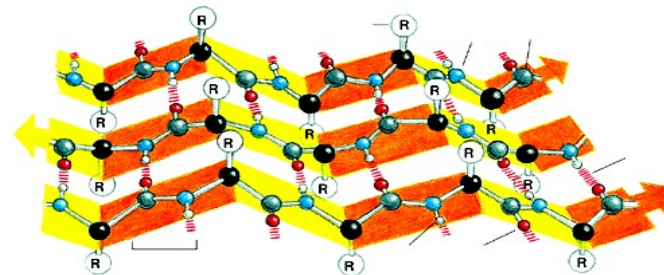
Interessa tratti più o meno lunghi di una catena polipeptidica, che assumono un ripiegamento regolare e ripetitivo

Entrambe queste strutture secondarie sono tenute insieme da **legami idrogeno** fra gruppi NH e CO dei legami peptidici

Alfa elica



Beta foglietto



La struttura secondaria delle proteine: Struttura alfa-elica

Un'α-elica si forma quando una regione di una catena polipeptidica si avvolge su se stessa, con il gruppo CO che forma un **legame idrogeno** con l'H del gruppo NH, posto **4 residui più a valle** nella catena polipeptidica lineare

La struttura α elica conferisce elasticità

Presenti in lana capelli, unghie e pelle

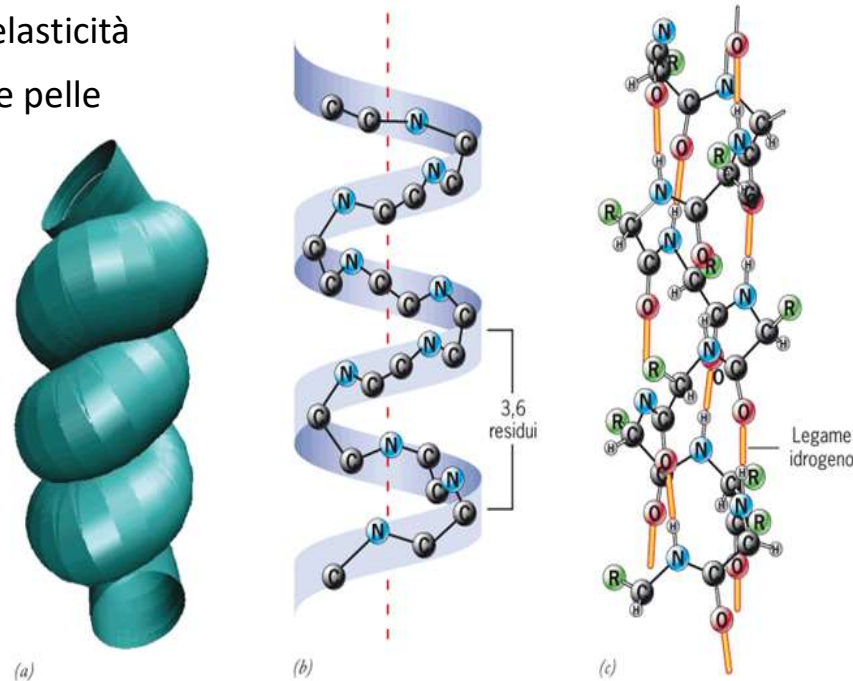


Figura 2.30 L'alfa elica. (a) Rappresentazione tubulare di una α-elica. Gli atomi della catena principale hanno la forma di una spirale delimitata da un cilindro. (b) In una regione ad α-elica lo scheletro polipeptidico è avvolto ad elica intorno ad un asse centrale. Ogni giro completo dell'elica (360°) corrisponde a 3,6 residui di amminoacidi; la distanza fra residui adiacenti, misurata lungo l'asse centrale, è 1,5 Å. (c) La disposizione degli atomi dello scheletro dell'α-elica ed i legami idrogeno che si formano fra gli amminoacidi. Per la forma dell'elica, i legami peptidici formati da amminoacidi che distano

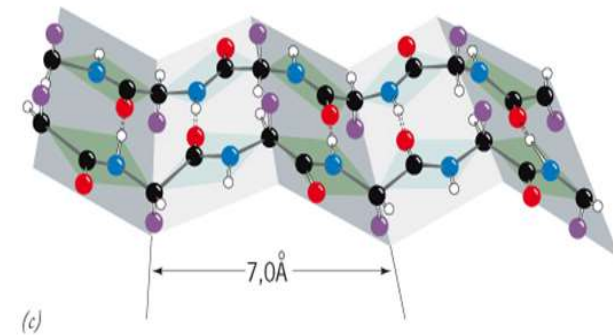
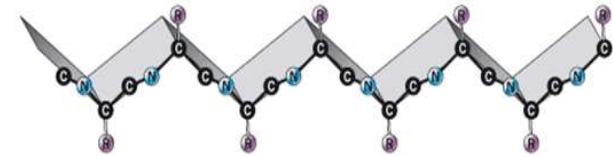
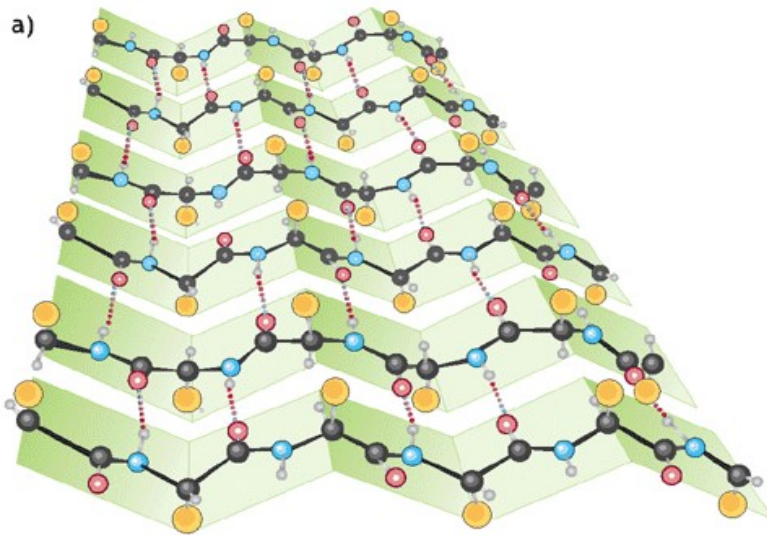
quattro posizioni nel filamento sono molto ravvicinati. La vicinanza del gruppo carbonilico (C=O) di un legame peptidico al gruppo imminico (N—H) di un altro legame peptidico porta alla formazione di un legame idrogeno fra di essi. I legami idrogeno (barre arancioni) sono praticamente paralleli all'asse del cilindro e così servono a mantenere insieme le spire dell'elica. (A: DA JAYNATH R. BANAVER E AMOS MARITAN. FIGURA CREATA DA TIMOTHY LEZON. RIPRODOTTA PER GENT. CONC. DALL'ANNUAL REVIEW OF BIOPHYSICS, VOLUME 36; © 2007, DELL'ANNUAL REVIEWS, INC.)



La struttura secondaria delle proteine: Struttura beta-foglietto

I legami ad H si formano tra catene polipeptidiche differenti o anche tra regioni differenti di una stessa catena polipeptidica ripiegata su se stessa.

Il foglietto ripiegato è flessibile più che forte
Si forma una struttura a zig-zag, la struttura conferisce forza.



La struttura secondaria delle proteine

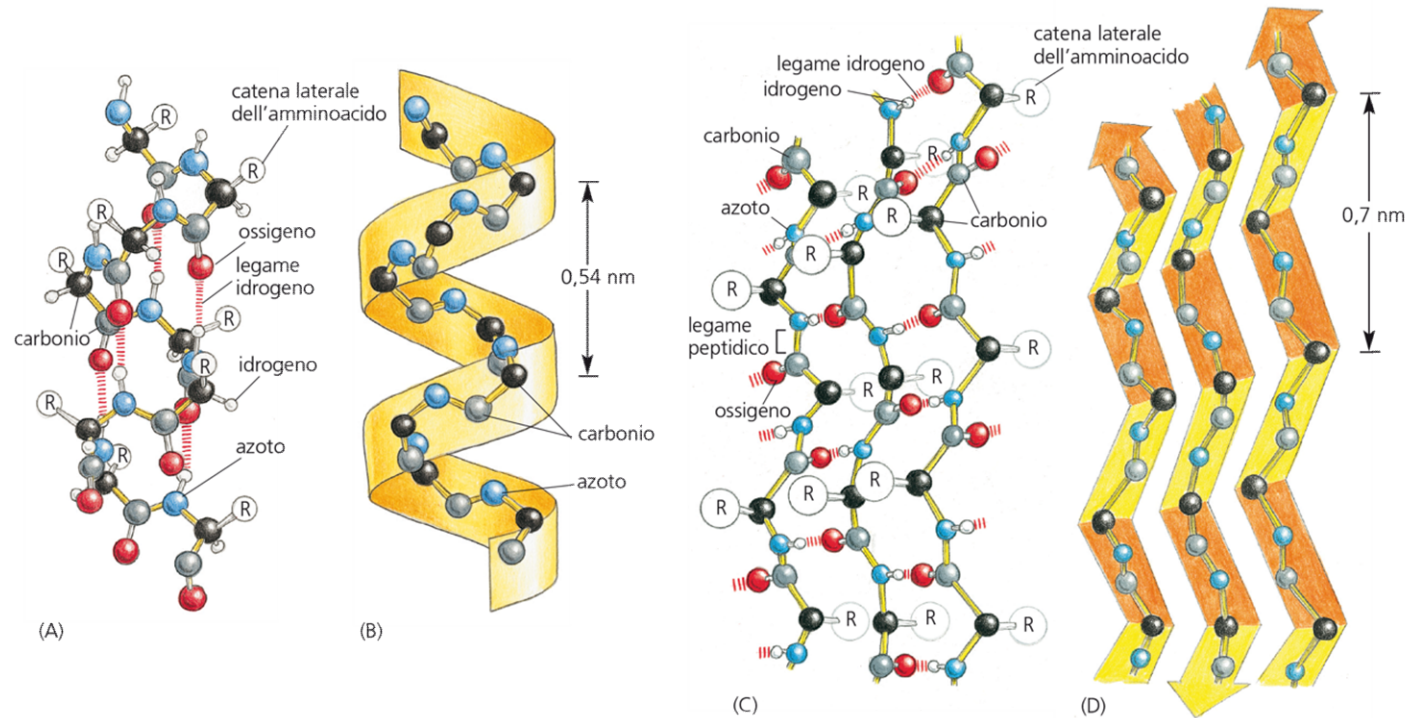


Figura 3.7 La conformazione regolare dell'ossatura polipeptidica osservata nell' α -elica e nel foglietto β . L' α -elica è mostrata in (A) e (B). L' $N-H$ di ogni legame peptidico forma legami idrogeno con il $C=O$ di un legame peptidico vicino posto a quattro legami peptidici di distanza sulla stessa catena. Si noti che tutti i gruppi $N-H$ sono rivolti in alto in questo disegno e che tutti i gruppi $C=O$ sono rivolti in basso (verso il C-terminale); (D). In questo esempio catene peptidiche adiacenti corrono in direzioni opposte (antiparallele). Le singole catene polipeptidiche (filamenti) in un foglietto β sono tenute insieme da legami idrogeno fra legami peptidici di filamenti diversi e le catene laterali degli amminoacidi di ciascun filamento si proiettano alternativamente sopra e sotto il piano del foglietto (Fig. 3.3). (A) e (C) mostrano tutti gli atomi dell'ossatura polipeptidica, ma le catene laterali degli amminoacidi sono tronche e indicate con R. (B) e (D) invece mostrano soltanto gli atomi di carbonio e di azoto.



La struttura secondaria delle proteine

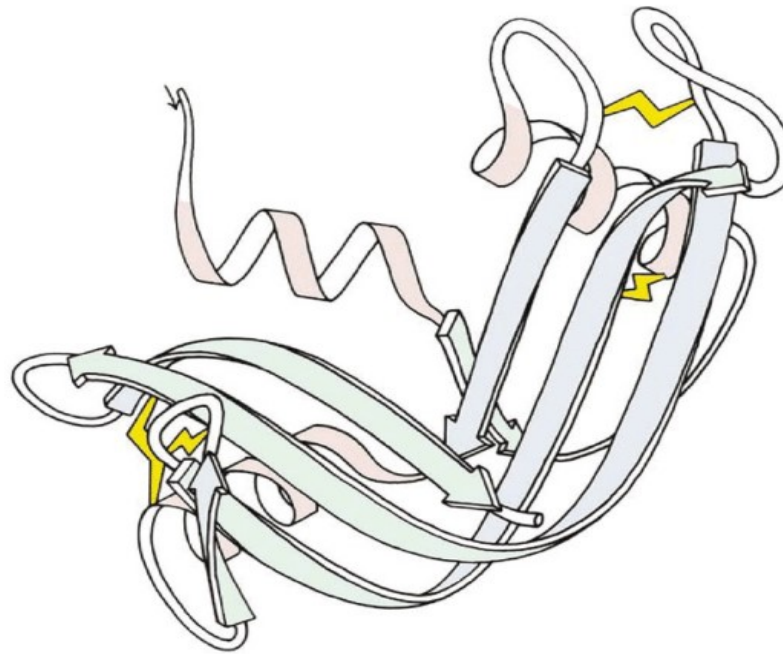


Figura 2.32 Modello a nastro di una ribonucleasi. Le regioni ad α -elica sono disegnate come spirali e i filamenti β come nastri appiattiti, con le frecce che indicano la direzione N-terminale $\rightarrow$ C-terminale del polipeptide. I segmenti della catena che non presentano una struttura secondaria regolare (cioè α -elica e foglietti β) formano soprattutto anse e forcine. I legami disolfuro sono mostrati in giallo. (DA UN DISEGNO DI JANE S. RICHARDSON.)



La struttura terziaria delle proteine:

Legami deboli (Legami H, ponti disolfuro, Interazioni idrofobiche) fra **catene laterali di aa** che si trovano in regioni diverse della sequenza primaria

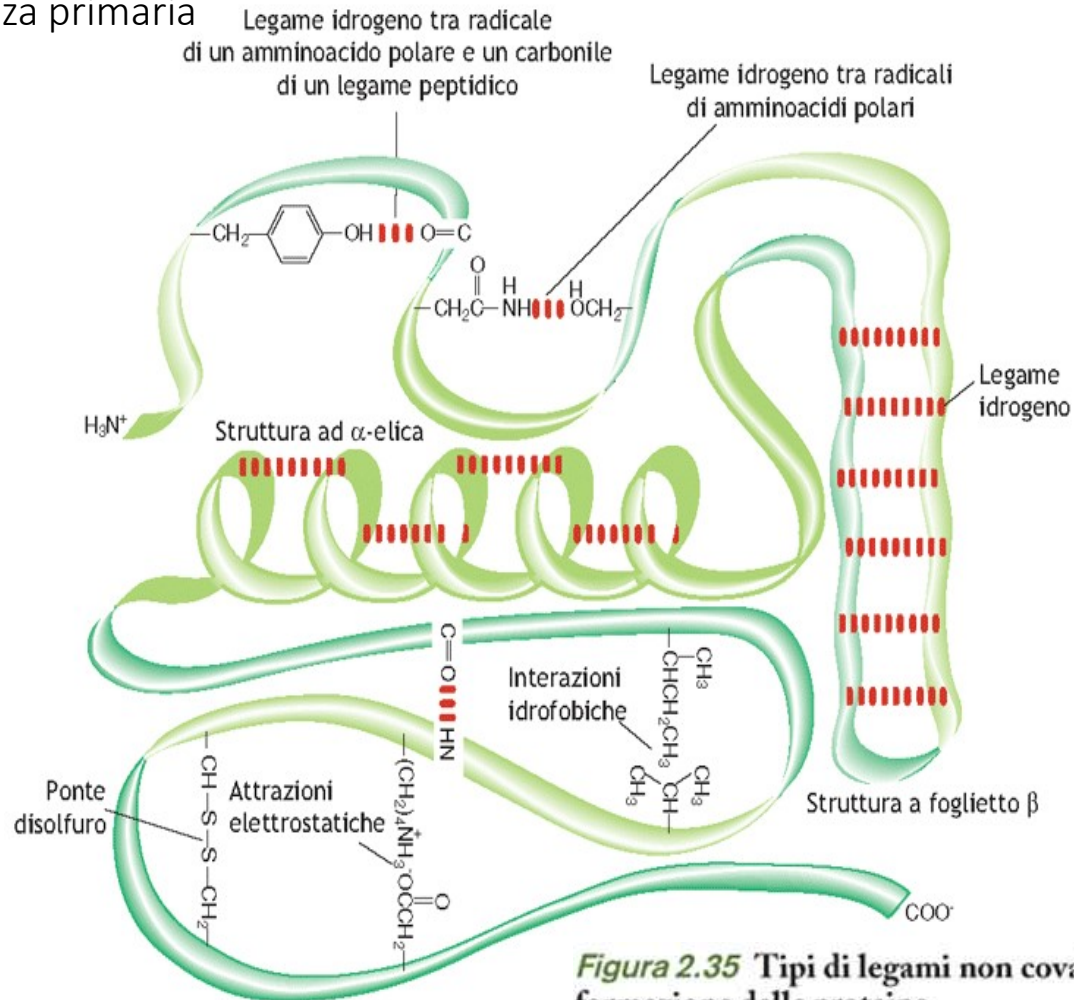


Figura 2.35 Tipi di legami non covalenti che mantengono la conformazione delle proteine.

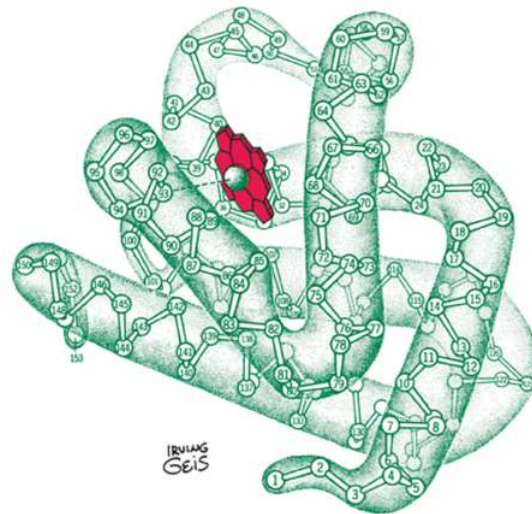
La struttura terziaria delle proteine:

La maggior parte delle proteine può essere classificata sulla base della conformazione globale: proteine fibrose con forma allungata e proteine globulari con forma più compatta

Mioglobina

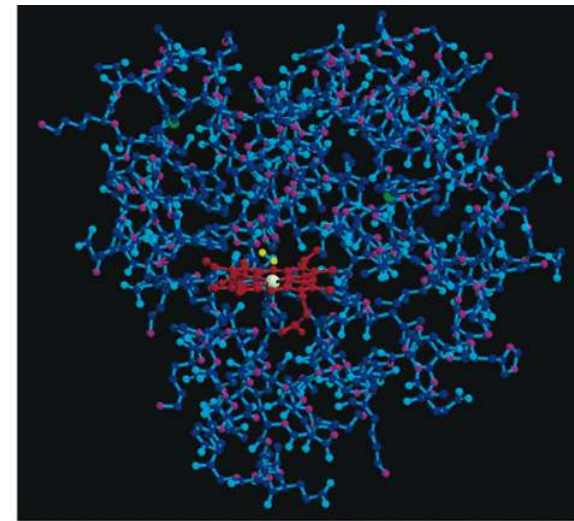
La Mioglobina è la prima proteina globulare di cui è stata identificata la struttura terziaria: è nel tessuto muscolare e funziona come depositi di ossigeno.

La molecola di ossigeno si lega all'atomo di ferro presente al centro del gruppo eme. Il gruppo eme della mioglobina conferisce ai muscoli il colore rosso



(a)

Figura 2.34 La struttura tridimensionale della mioglobina. (a) Struttura terziaria della mioglobina di balena. La maggior parte degli amminoacidi forma α -eliche; le altre regioni formano principalmente foricine, dove la catena polipeptidica cambia direzione. (b) Struttura tridimensionale della mioglobina, in cui sono mostrate le



(b)

posizioni di tutti gli atomi diversi dall'idrogeno. In entrambe le immagini il gruppo eme è disegnato in rosso. (A: ILLUSTRAZIONE, IRVING GEIS. IMMAGINE DI IRVING GEIS COLLECTION/HOWARD HUGHES MEDICAL INSTITUTE. COPYRIGHT HHMI. RIPRODOTTA PER GENT. CONC.; B: KEN EDWARD/PHOTO RESEARCHERS.)



La struttura terziaria delle proteine:

La struttura terziaria dettagliata di una proteina viene solitamente determinata usando la tecnica della cristallografia a raggi X.

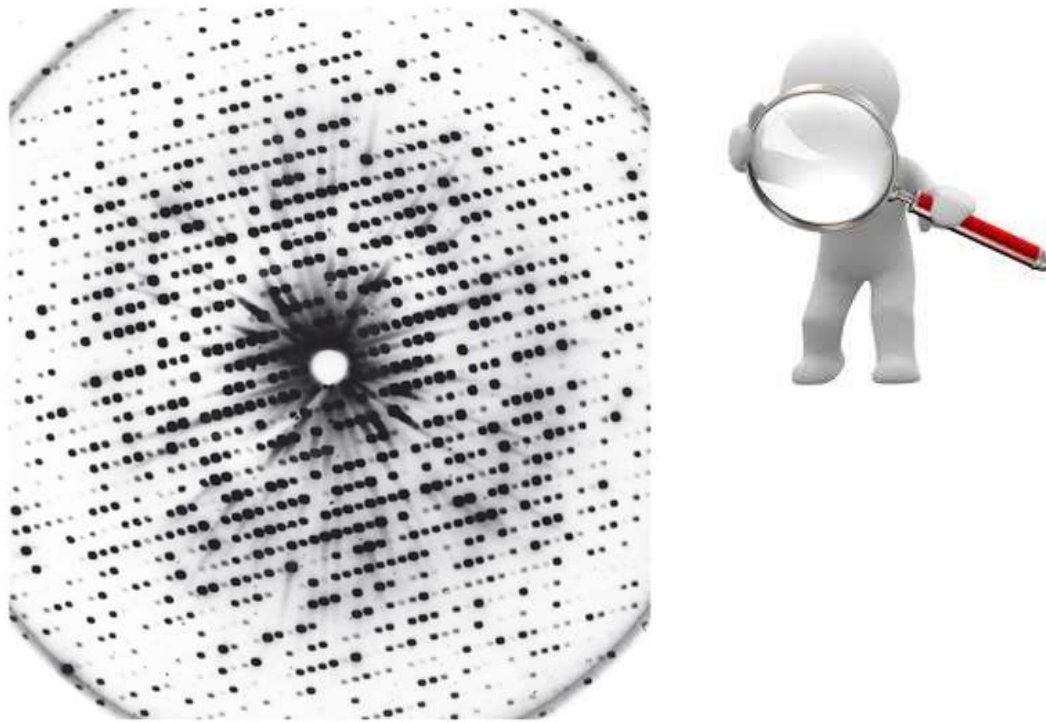


Figura 2.33 Una figura di diffrazione a raggi X della mioglobina. L'immagine a macchie si forma quando un fascio di raggi X, diffratto dagli atomi nel cristallo proteico, impressiona una pellicola fotografica in siti specifici. L'informazione derivata dalla posizione e dall'intensità delle macchie (scala di grigio) può essere usata per calcolare la posizione nella proteina degli atomi che hanno diffratto il raggio e portare alla definizione di strutture complesse come quella mostrata in Figura 2.34. (PER GENT. CONC. DI JOHN C. KENDREW.)



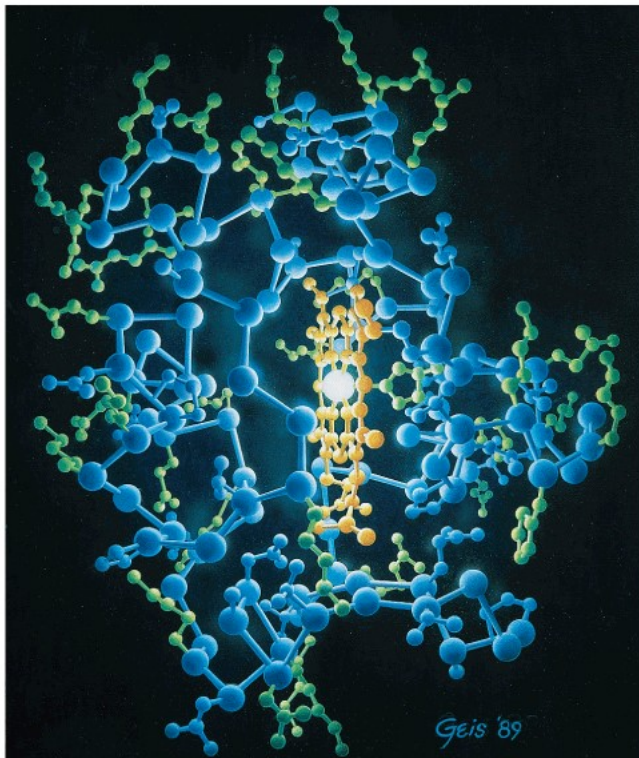
(a)

Figura 2.28 Disposizione degli amminoacidi idrofilici e di quelli idrofobici nella proteina solubile citocromo c. (a) Le catene laterali idrofiliche, colorate in verde, sono localizzate principalmente sulla superficie della proteina, dove sono in contatto con il mezzo acquoso circostante. (b) I residui idrofobici, colorati in rosso, sono disposti essen-

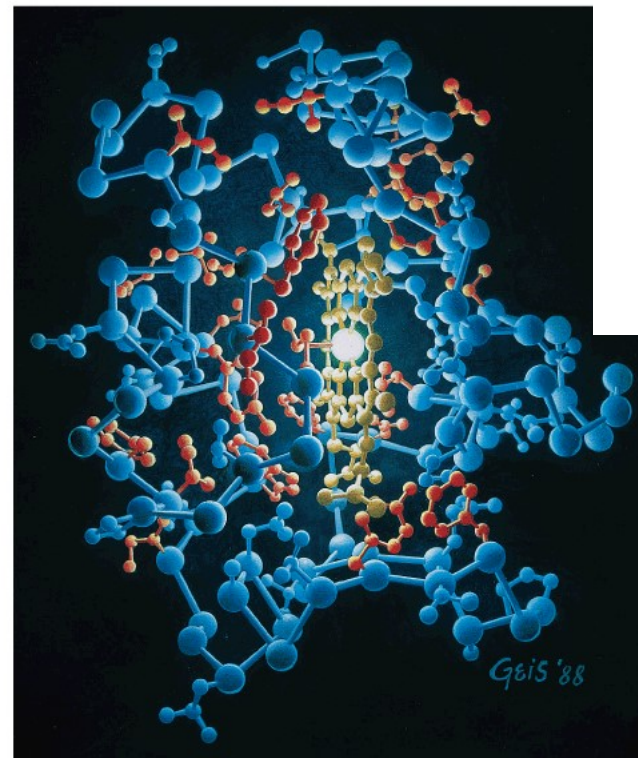
(b)

zialmente al centro della proteina, prevalentemente in vicinanza del gruppo eme, colorato in giallo. (ILLUSTRAZIONE, IRVING GEIS. IMMAGINE DI IRVING GEIS COLLECTION/HOWARD HUGHES MEDICAL INSTITUTE. COPYRIGHT HHMI. RISTAMPATO PER GENT. CONC.)

Interazioni IDROFOBICHE tipiche della struttura terziaria e Quaternaria delle **PROTEINE**



(a)



(b)



La struttura quaternaria delle proteine

La struttura quaternaria consiste nelle **interazioni fra catene polipeptidiche diverse** in proteine composte da più di un polipeptide.

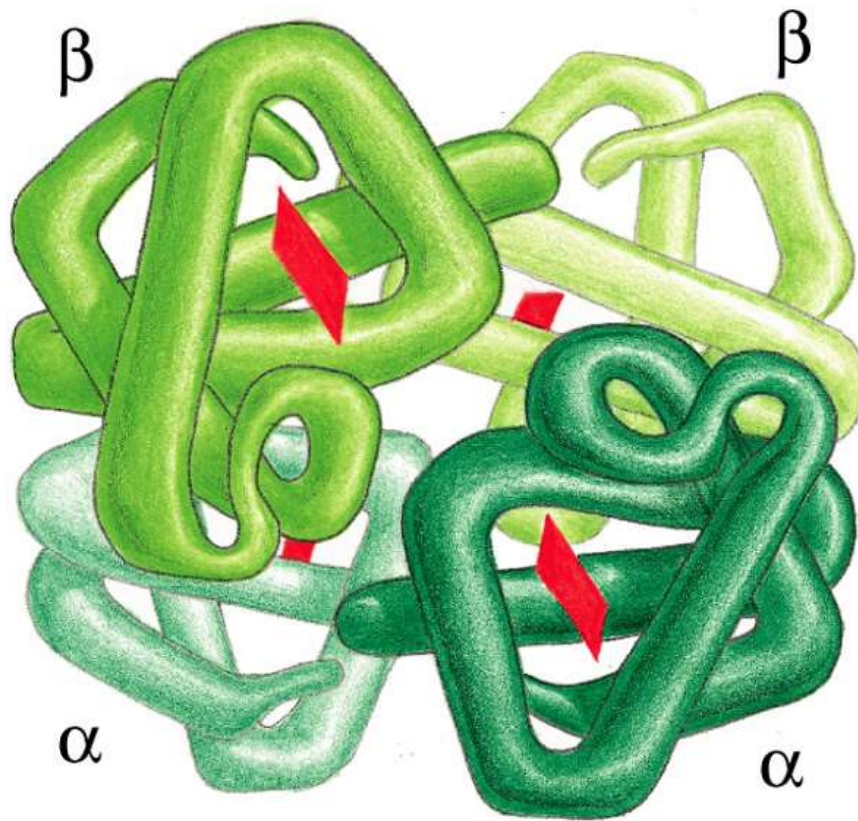
L'associazione delle diverse catene è guidata dalla **stessa logica** che ha consentito il raggomitolamento nella struttura terziaria:

- legami H
- ponti disolfuro
- INTERAZIONI ODROFOBICHE
- INTERAZIONI IONICHE

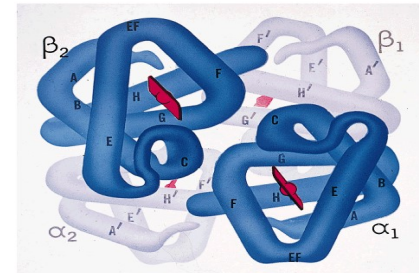


Emoglobina

Eterodimero costituito dall'aggregazione di 4 subunità uguali: $2\beta + 2\alpha$



(a)



(b)

Figura 2.38 Proteine con struttura quaternaria. (a) Disegno del fattore di crescita trasformante $\beta 2$ (TGF- $\beta 2$), proteina costituita da due subunità identiche colorate in giallo e in blu (omodimero). In bianco sono colorate le catene laterali delle cisteine e i ponti disolfuro. Le sfere gialle e blu sono i residui idrofobici che formano l'interfaccia fra le due subunità. (b) Disegno di una molecola di emoglobina, costituita da due catene di globine α e due catene di globine β unite da legami non covalenti (eterotetramero). Quando i quattro polipeptidi si uniscono in una molecola completa di emoglobina, la cinetica della fissazione e della liberazione dell' O_2 è completamente diversa da quella mostrata dai polipeptidi isolati. Questo si verifica perché il legame di O_2 ad un polipeptide causa negli altri polipeptidi un cambiamento conformazionale, che altera la loro affinità per le molecole di O_2 . (A: DA S. DAOPIN, ET AL., SCIENCE 257:372, PER GENT. CONC. DI DAVID R. DAVIES. © 1992, RIPRODOTTA CON IL PERMESSO DI AAAS; B: ILLUSTRAZIONE, IRVING GEIS. IMMAGINE DI IRVING GEIS RIPRODOTTA CON IL PERMESSO DI AAAS. COLLECTION/HOWARD HUGHES MEDICAL INSTITUTE. COPYRIGHT HHMI. RIPRODOTTA PER GENT. CONC.)

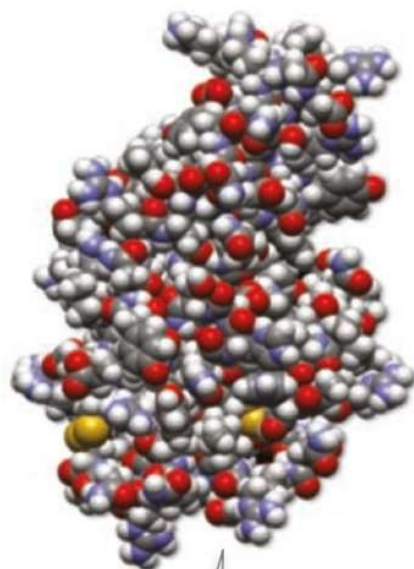


Figura 3.9 Tre rappresentazioni del lisozima Rappresentando in vari modi una molecola proteica, si mettono in evidenza aspetti diversi della sua struttura terziaria: i contorni della superficie, i siti in cui si curva e si ripiega o i siti dove predominano le strutture alfa o beta. Queste tre rappresentazioni del lisozima sono orientate nello stesso modo.

? Sai identificare le regioni della proteina che sono idrofiliche? E quelle idrofobiche?

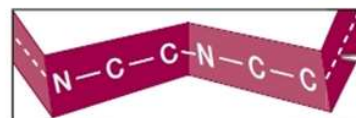
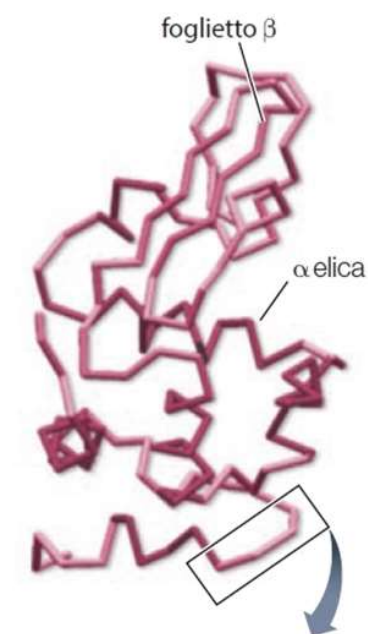
Media Clip 3.1 Strutture proteiche in 3D
Protein Structures in 3D

(A) Modello a spazio pieno

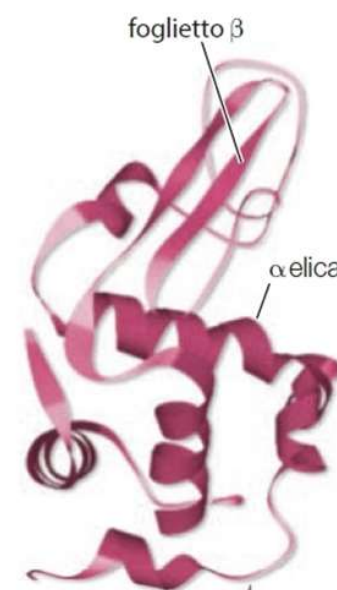


Una rappresentazione realistica del lisozima mostra che i suoi atomi riempiono molto densamente lo spazio.

(B) Modello a bastoncini



(C) Modello a nastro



L'ossatura del lisozima consiste di una serie ripetitiva di unità $N-C-C$ tante quanti sono gli amminoacidi.



LA PROTEINA PRIONICA

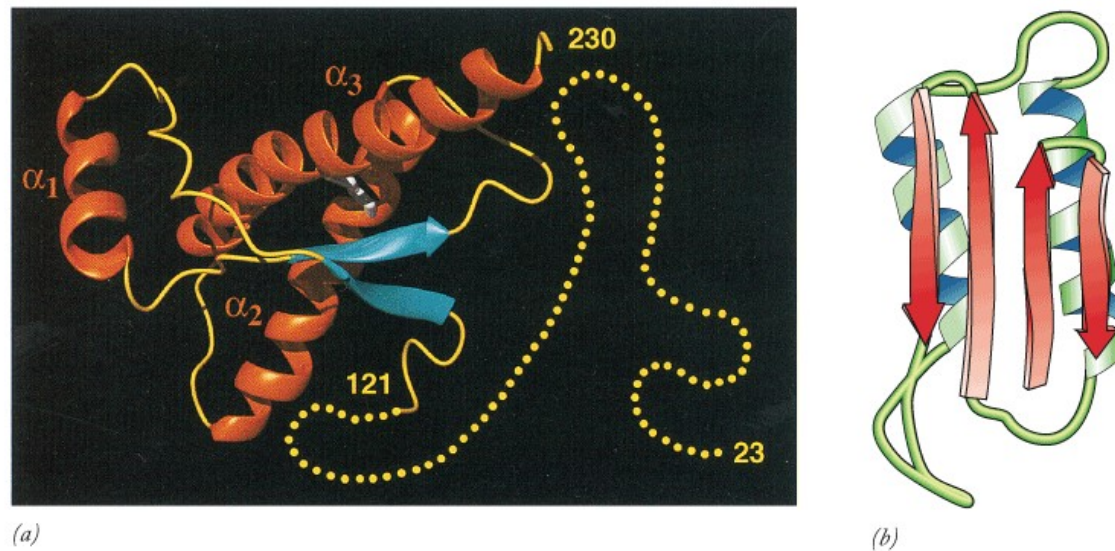


Figura 1 Differenza di struttura. (a) Struttura terziaria, determinata mediante spettroscopia NMR, della proteina normale (PrP^C). Le porzioni in arancione rappresentano segmenti ad α -elica, mentre quelle blu sono corti filamenti β . La linea formata da puntini gialli rappresenta la porzione N-terminale del polipeptide, che manca di una struttura definita. (b) Un modello proposto per la proteina anormale, infettiva (PrP^{Sc} o prione), che consiste soprattutto di foglietti- β (la reale struttura terziaria non è stata determinata). Le due proteine sono formate da catene polipeptidiche che possono essere

identiche nella sequenza amminoacidica, ma si ripiegano in maniera diversa. In conseguenza delle differenze nel ripiegamento, PrP^C rimane solubile, mentre PrP^{Sc} produce aggregati insolubili che provocano la morte cellulare (le due molecole mostrate in questa figura sono chiamate *conformer*, in quanto differiscono solamente nella conformazione). (A: DA R. RIEK, ET AL., FEBS 413, 287, FIG. 1. ©1997, CON IL PERMESSO DELLA ELSEVIER. IMMAGINE DI KURT WÜTHRICH; B: DA S. B. PRUSINER, TRENDS BIOCHEM. SCI. 21:483, 1996. COPYRIGHT 1996, CON IL PERMESSO DELLA ELSEVIER.)



Figura 2 Malattia di Alzheimer. (a) Alterazioni caratteristiche presenti nel tessuto cerebrale di una persona deceduta a causa della malattia di Alzheimer. (b) Le placche amiloidi contenenti aggregati del peptide A β si trovano nello spazio intercellulare, mentre i grovigli neurofibrillari (NFT) si trovano all'interno dei neuroni. Gli NFT sono

composti da grovigli mal ripiegati di una proteina, chiamata tau, che è coinvolta nel mantenimento dell'organizzazione microtubulare della cellula nervosa. Sia le placche sia i grovigli sono stati considerati come possibili cause della malattia. (A: © THOMAS DEERINCK, NCMIR/PHOTO RESEARCHERS, INC. B: © AMERICAN HEALTH ASSISTANCE FOUNDATION.)

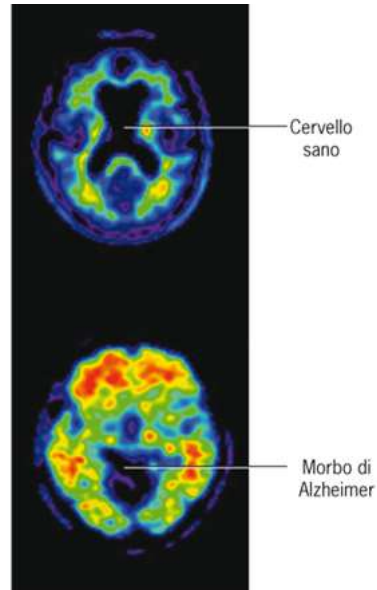
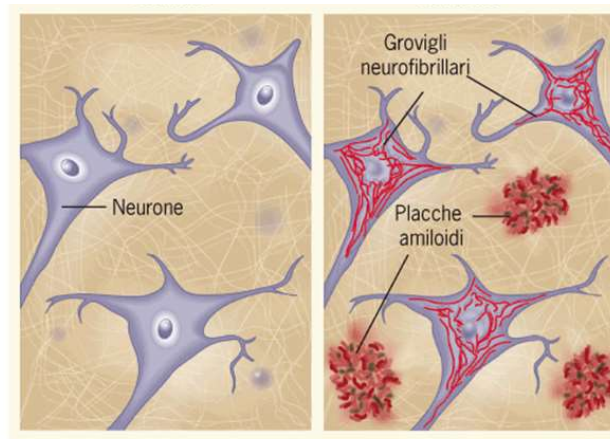
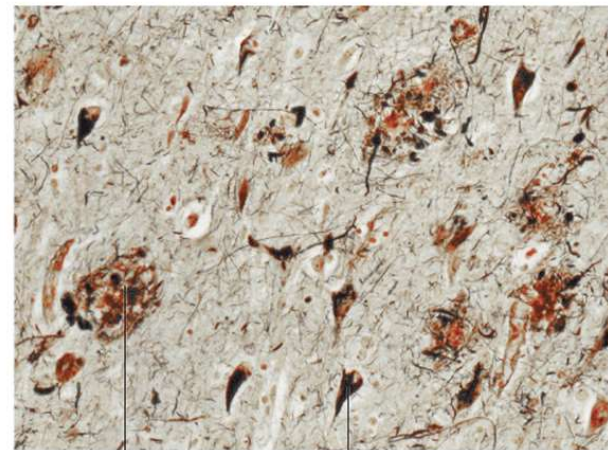


Figura 4 Una tecnica di neuroimaging rivela la presenza di amiloide nel cervello. Queste scansioni di PET (tomografia ad emissione di positroni) mostrano il cervello di due individui che hanno ingerito un composto radioattivo, chiamato Amyvid, che lega i depositi di amiloide e appare rosso nell'immagine. L'immagine in alto mostra un cervello sano e quella inferiore un cervello di un paziente con AD, in cui si sono venuti a creare estesi depositi di amiloide. I depositi di amiloide si possono evidenziare con questa tecnica in cervelli di persone che non presentano nessuna evidenza di disturbo cognitivo. Si presume che questi individui privi di sintomi siano ad alto rischio di sviluppare AD in futuro. Quelli privi di depositi, invece, sono considerati a rischio molto basso. (PER GENT. CONC. DI ELI LILLY/AVIAD PHARMACEUTICALS.)



(b)



(a)

Placca amiloide

Groviglio neurofibrillare (NFT)



La struttura primaria delle proteine determina la proteina

Nell'anemia falciforme un unico cambiamento nella sequenza di aa nella proteina emoglobina mediante la sostituzione Sostituzione della Valina (aa apolare) con l'acido glutammico (catena laterale carica) comporta la malattia genetica anemia falciforme.

L'emoglobina è alterata e vi è alterazione della forma dei globuli rossi da disco biconcavo a falce : si possono formare occlusioni vasali, danni vasali, la vita dei globuli rossi è piu' breve e l'individuo va incontro ad anemia.

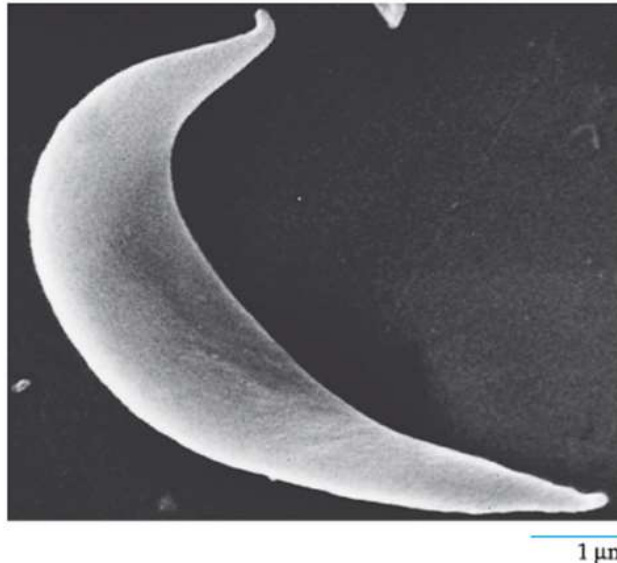


Figura 2.29 Fotografia al microscopio elettronico a scansione di un globulo rosso di una persona affetta da anemia falciforme. Confrontare con la micrografia di un globulo rosso normale mostrata nella Figura 4.32a. (PER GENT. CONC. DI J. T. THORNWAITE, B. F. CAMERON, E R. C. LEIF.)



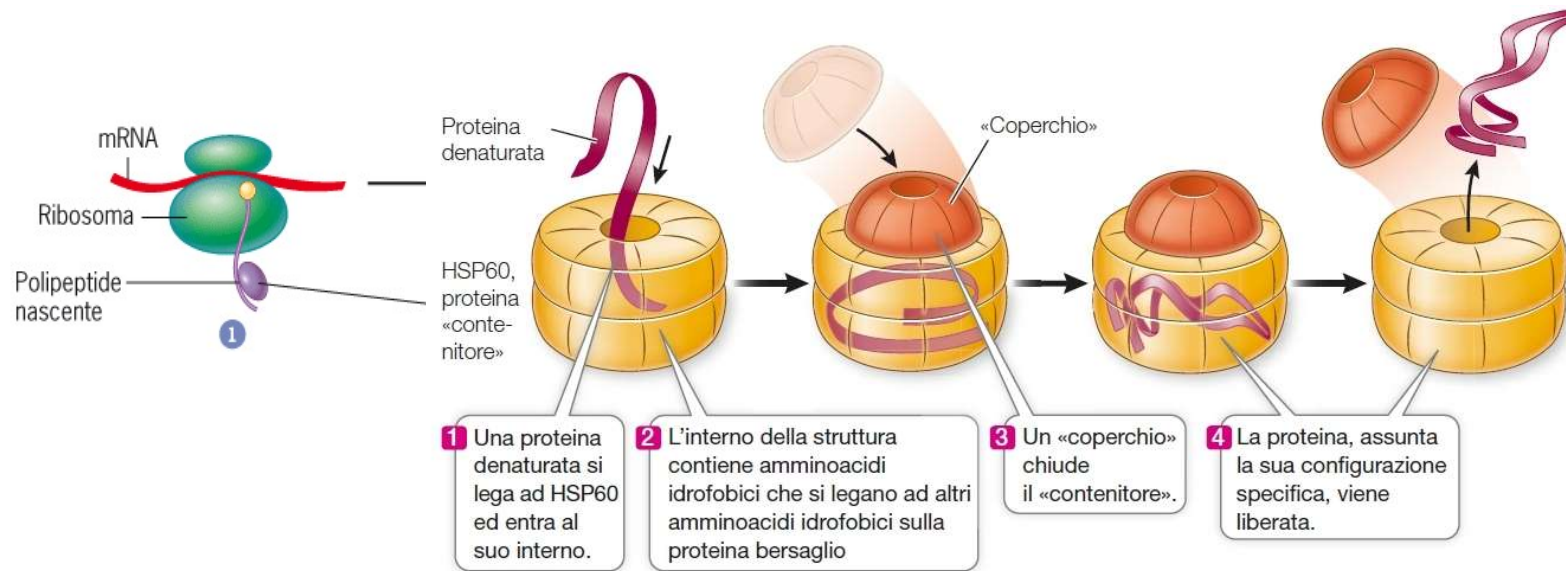


Figura 3.14 Gli chaperon molecolari proteggono le proteine da legami inopportuni Le proteine chaperon avvolgono le proteine neosintetizzate o denaturate, evitando che si leghino erroneamente a qualche sostanza. Le proteine dello shock termico, come HSP60, qui illustrata, sono una classe di proteine chaperon.

? Perché le proteine dello shock termico sono importanti?



Denaturazione e rinaturazione di una proteina

Il riscaldamento e il trattamento con un riducente disgregano la conformazione nativa denaturando la proteina

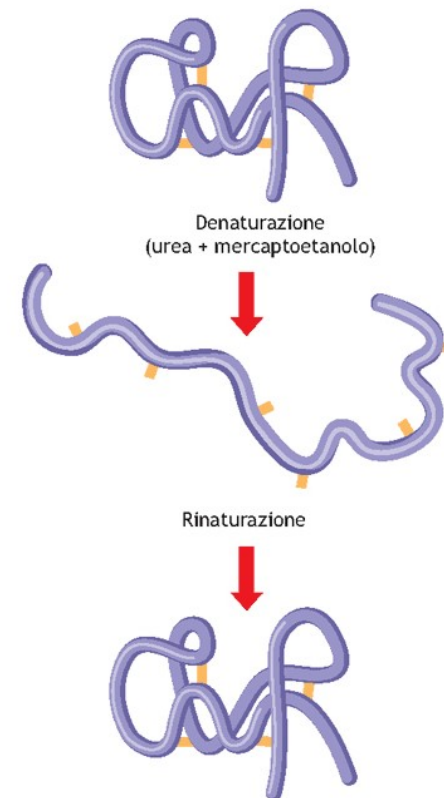
Agenti denaturanti:

- Fisici: calore, radiazioni
- Chimici: pH, urea, guanidina, ecc

Rompono i legami che stabilizzano le strutture **secondaria, terziaria e quaternaria**: si modifica la struttura tridimensionale senza modificare la seq aa

La denaturazione causa la **scomparsa dell'attività biologica** della proteina, ciò evidenzia chiaramente il legame tra attività biologica e struttura tridimensionale

La **rinaturazione** si accompagna alla ricomparsa di tutte le proprietà della proteina nativa, compresa l'attività biologica

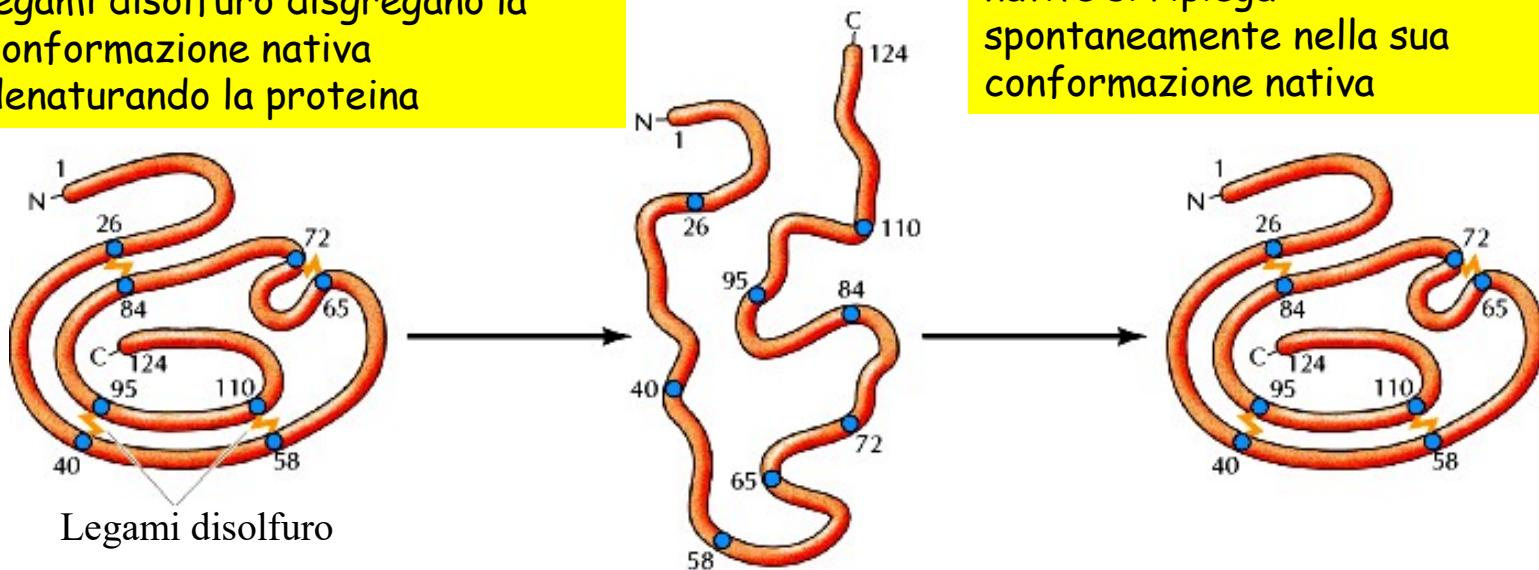


Le proteine

Rinaturazione e ripiegamento delle proteine

Il riscaldamento e il trattamento con un riducente che rompe i legami disolfuro disgregano la conformazione nativa denaturando la proteina

Se la Rnasi denaturata viene poi riportata in condizioni native si ripiega spontaneamente nella sua conformazione nativa



RNasi nativa

RNasi denaturata

RNasi nativa

La ribonucleasi (Rnasi)



Figura 3.12 Interazioni non covalenti tra proteine e altre molecole

molecole Le interazioni non covalenti (▶ pp. 53 e 54 consentono a una proteina (in magenta) di stabilire un legame forte con un'altra molecola (verde) dotata di proprietà specifiche. Interazioni non covalenti si stabiliscono anche tra regioni diverse di una stessa proteina.

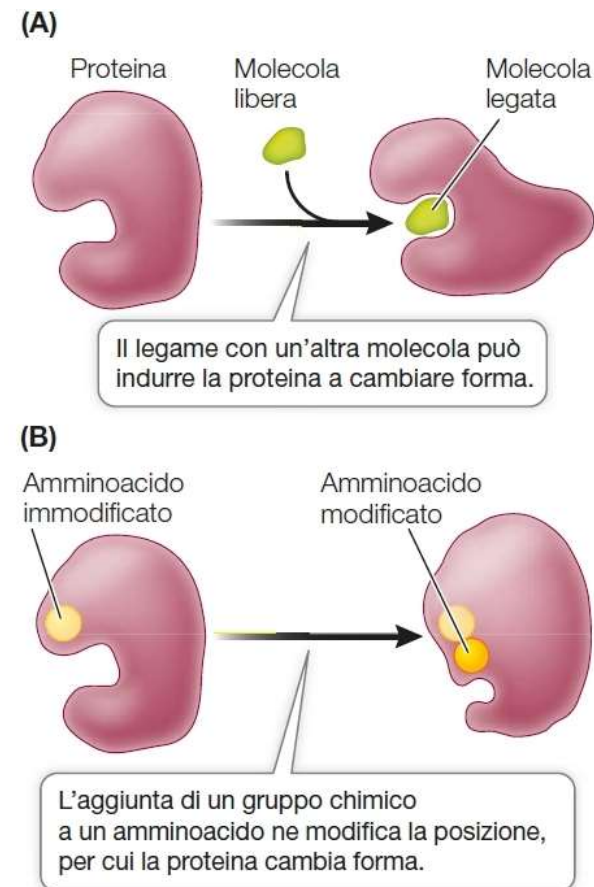
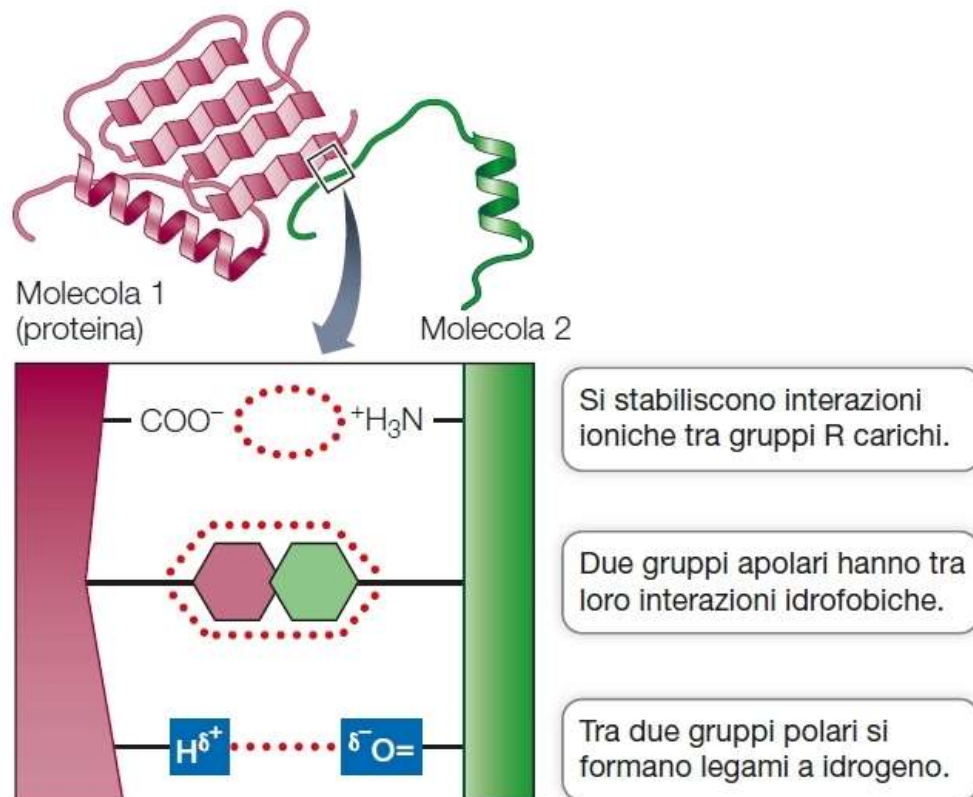


Figura 3.13 La struttura delle proteine può cambiare

Le proteine possono cambiare a livello di struttura terziaria quando si legano ad altre molecole (A) o quando vanno incontro a modificazioni chimiche (B).



Domini proteici

Le conformazioni di due serina-proteasi a confronto. Le conformazioni dell'ossatura di elastasi e chimotripsina. Sebbene soltanto gli amminoacidi ombreggiati in verde siano gli stessi nelle due proteine, le due conformazioni sono molto simili quasi dappertutto.

Il sito attivo di ciascun enzima è cerchiato in rosso: punto in cui i legami peptidici delle proteine che servono da substrato sono legati e tagliati per idrolisi.

Le serina proteasi derivano il loro nome dall'amminoacido serina, la cui catena laterale è parte del sito attivo di ciascun enzima e partecipa direttamente alla reazione di taglio.

I due punti sul lato destro della molecola di chimotripsina segnano le due nuove terminazioni create quando l'enzima taglia la sua stessa ossatura.

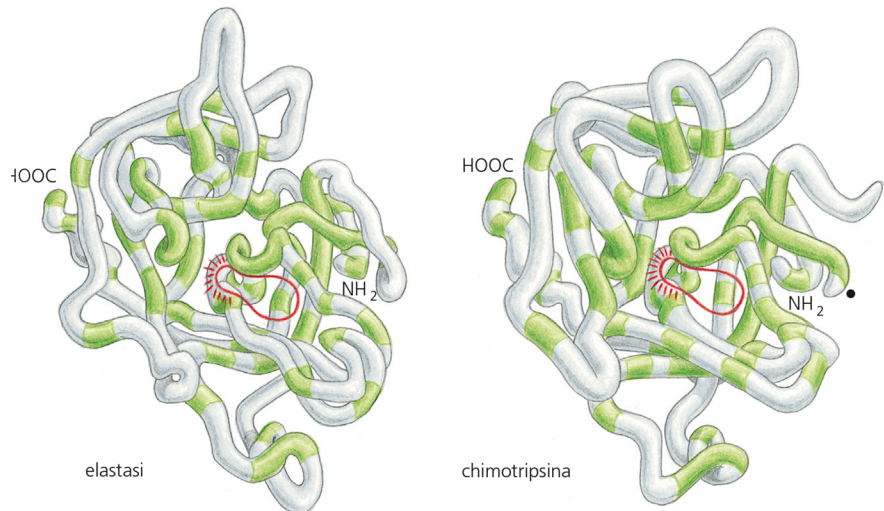
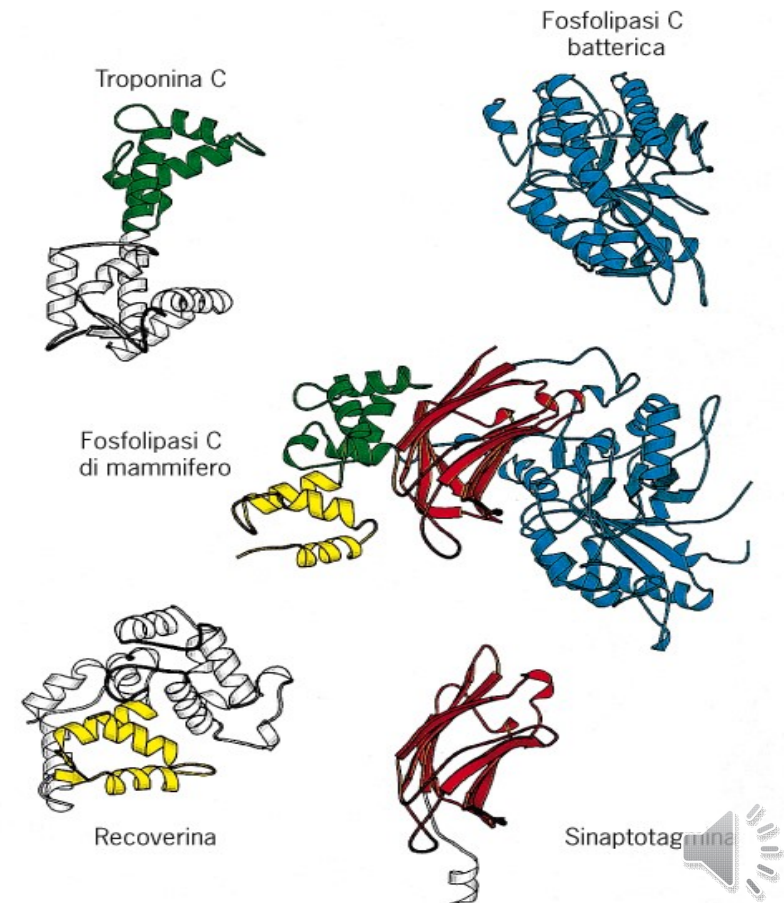
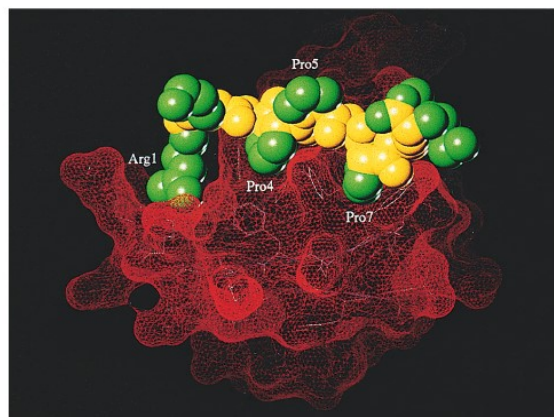
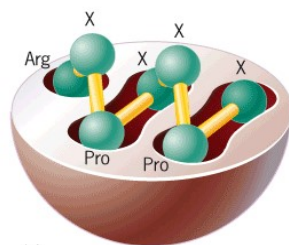


Figura 2.36 Le proteine sono costituite da unità strutturali, o domini. L'enzima dei mammiferi fosfolipasi C è costituito da quattro domini, indicati con differenti colori. Il dominio catalitico dell'enzima è disegnato in blu. Ognuno dei domini di questo enzima può trovarsi indipendentemente in altre proteine, come indicato dal relativo colore. (DA LIISA HOLM E CHRIS SANDER, STRUCTURE 5:167, © 2007, CON IL PERMESSO DELLA ELSEVIER.)





(a)



(b)

Figura 2.40 Interazioni proteina-proteina. (a) Un modello che illustra le superfici complementari di porzioni di due proteine che interagiscono. La molecola colorata in rosso è un dominio SH3 della fosfatidilinositolo-3-chinasi (PI3K), la cui funzione è descritta nel Capitolo 15. Questo dominio si lega in maniera specifica ad una varietà di peptidi che contengono prolina, come quello mostrato (modello a spazio pieno, scheletro polipeptidico colorato in giallo e catene laterali in verde). Sono indicati i residui di prolina del peptide che si incastrano in avvallamenti idrofobici sulla superficie dell'enzima. (b) Modello schematico d'interazione tra un dominio SH3 e un peptide, che mostra il modo in cui certi residui del peptide si incastrano in tasche idrofobiche del dominio SH3. (A: DA HONGTAO YU E STUART SCHREIBER, CELL 76:940, © 1994, CON IL PERMESSO DI ELSEVIER.)

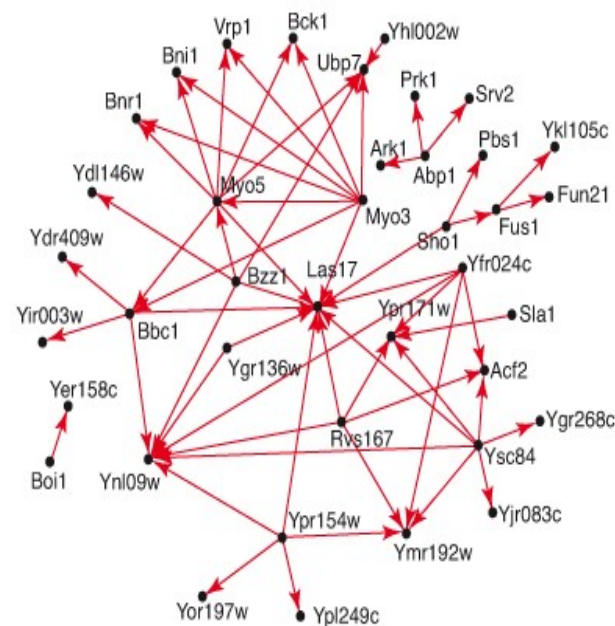
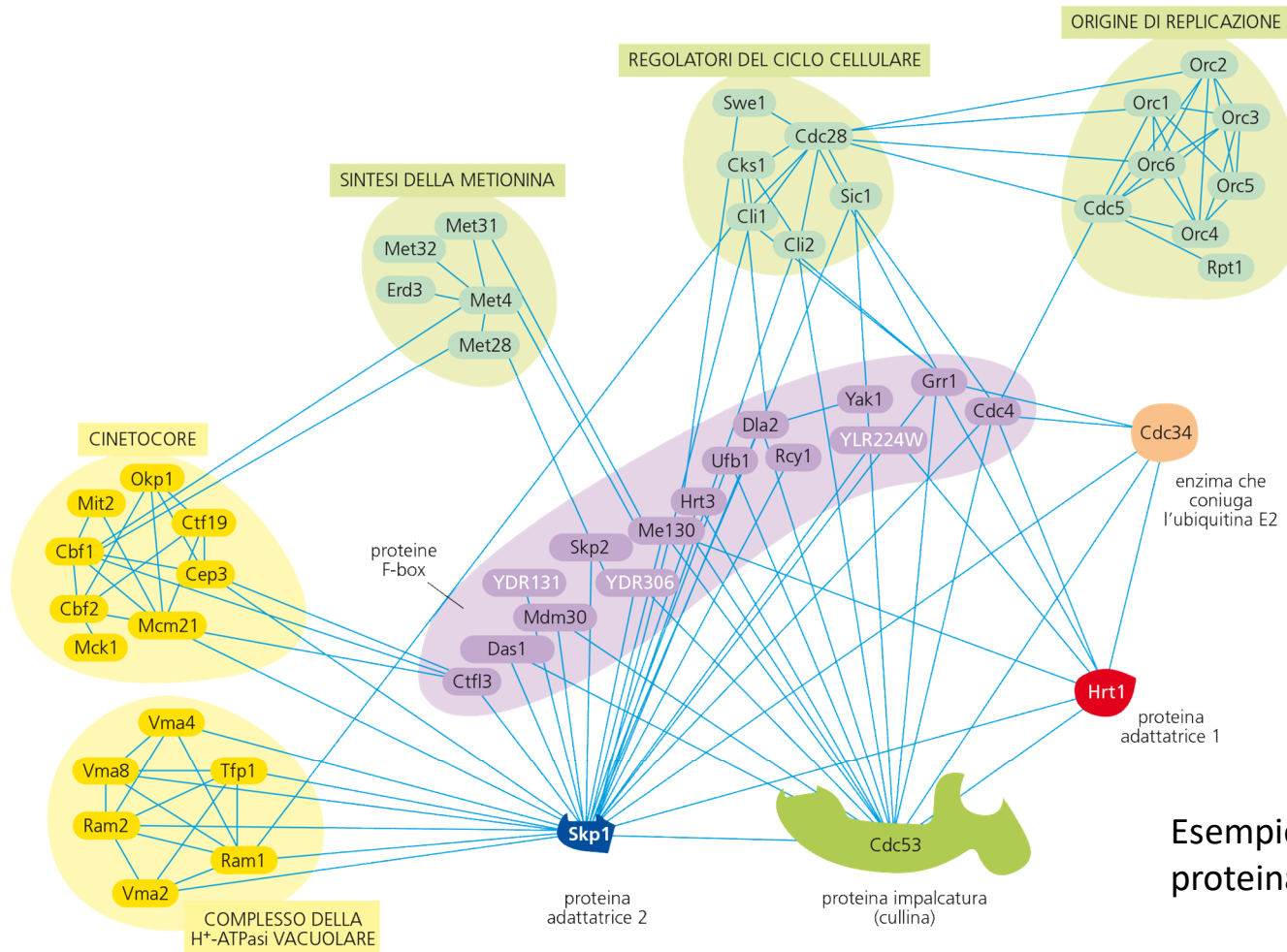


Figura 2.41 Rete d'interazioni proteina-proteina. Ogni linea rossa rappresenta un'interazione tra due proteine di lievito, le quali sono indicate con puntini neri. Le frecce vanno da una proteina con un dominio SH3 verso la proteina bersaglio con la quale si può legare. Le 59 interazioni disegnate qui sono state scoperte usando due differenti tipi di tecniche che misurano le interazioni proteina-proteina. (Vedi *Trends Biochem. Sci.* 34:1, 2009, per la discussione sulla validità degli studi dell'interazione proteina-proteina) (DA A.H.Y. TONG, ET AL., SCIENCE 295:323, 2002, COPYRIGHT © 2002. RIPRODOTTA PER GENT. CONC. DELL'AAAS.)





Esempio di interazione proteina –proteina nel lievito



RUOLO DELLE PROTEINE

TABELLA 3-2 Principali classi di proteine e loro funzioni

Classi di proteine	Funzioni ed esempi
Enzimi	Catalizzano specifiche reazioni chimiche
Proteine strutturali	Rafforzano e proteggono le cellule e i tessuti (ad es. il collagene rafforza i tessuti animali)
Proteine di riserva	Nutrienti di riserva; particolarmente abbondanti nelle uova (ad es. l'ovoalbumina nell'albume dell'uovo) e nei semi (ad es. la zeina nei semi di grano)
Proteine di trasporto	Trasportano specifiche sostanze tra le cellule (ad es. l'emoglobina trasporta l'ossigeno nei globuli rossi); spostano specifiche sostanze attraverso la membrana cellulare (ad es. ioni, glucosio, aminoacidi)
Proteine di regolazione	Alcune sono ormoni (insulina); alcune controllano l'espressione di specifici geni
Proteine di movimento	Partecipano al movimento cellulare (ad es. actina e miosina sono fondamentali per la contrazione muscolare)
Proteine di difesa	Proteine che proteggono da agenti estranei (ad es. gli anticorpi giocano un ruolo fondamentale nel sistema immunitario)

le proteine ricoprono molte funzioni essenziali nel corpo:

