

# **PROTEINE (1)**

1

**Le proteine svolgono numerose funzioni fondamentali all'interno della cellula. Le più ricorrenti sono:**

- **Funzione strutturale (cheratine, collagene, ecc.)**
- **Funzione di trasporto (emoglobina, albumina, ecc.)**
- **Funzione catalitica (enzimi)**
- **Funzione specializzate (immunoglobuline)**

**Sono biopolimeri costituiti da  $\alpha$ -L-amminoacidi legati tra loro mediante legame peptidico**

**In base alla struttura si possono classificare in proteine fibrose e proteine globulari**

## **PROTEINE (2)**

2

**Nella struttura tridimensionale si possono riconoscere quattro livelli di organizzazione strutturale, caratterizzati da tipi di legami diversi alla base della loro stabilizzazione.**

- **Struttura primaria**

**Legame peptidico (legame covalente)**

- **Struttura secondaria**

**Legami ad idrogeno tra gruppi peptidici**

- **Struttura terziaria**

**Legami intermolecolari tra le catene laterali**

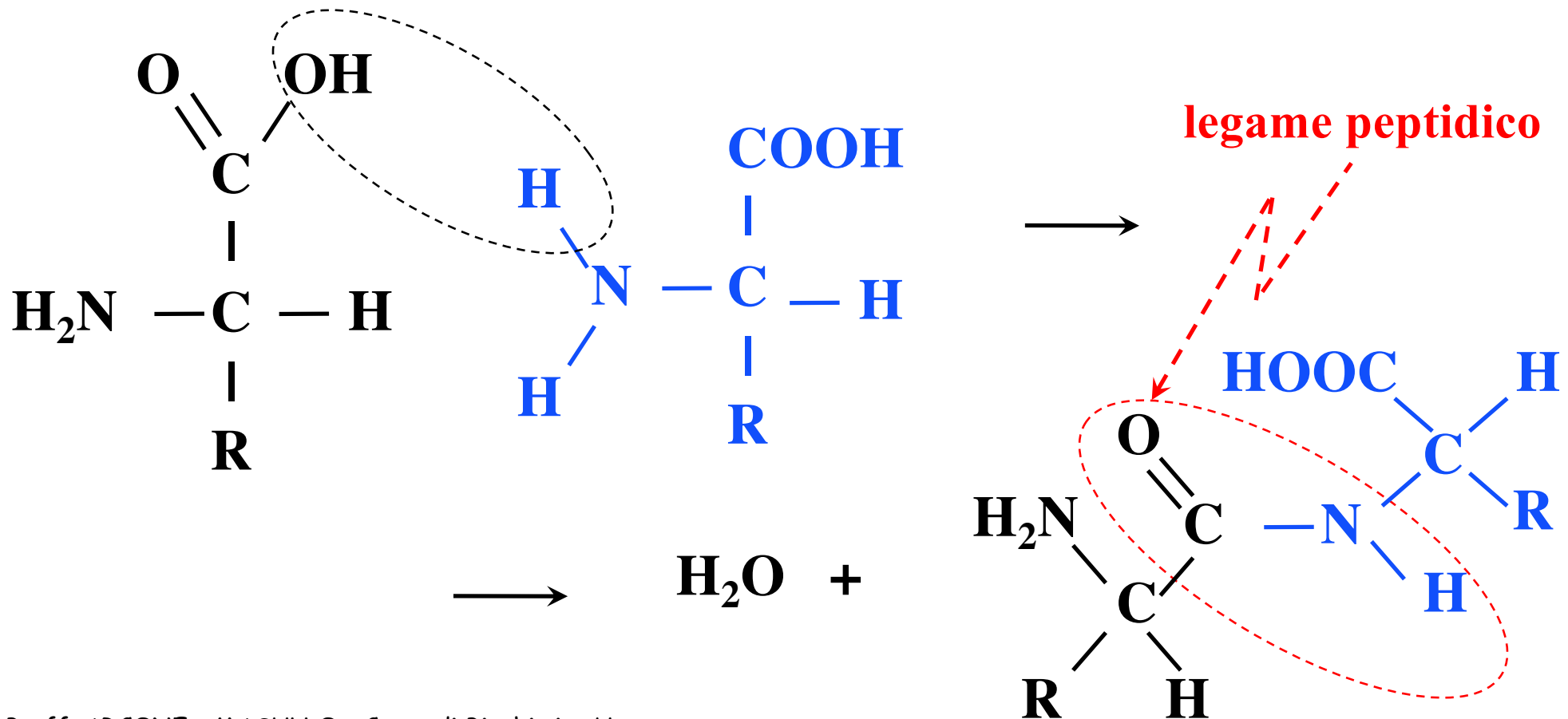
- **Struttura quaternaria**

**Legami intermolecolari tra le catene laterali di catene polipeptidiche diverse**

# Struttura primaria: il legame peptidico (1)

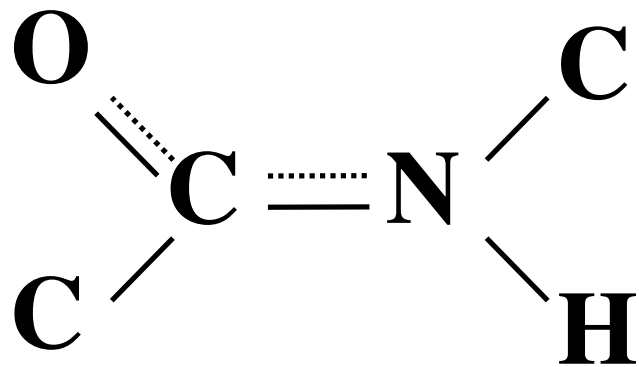
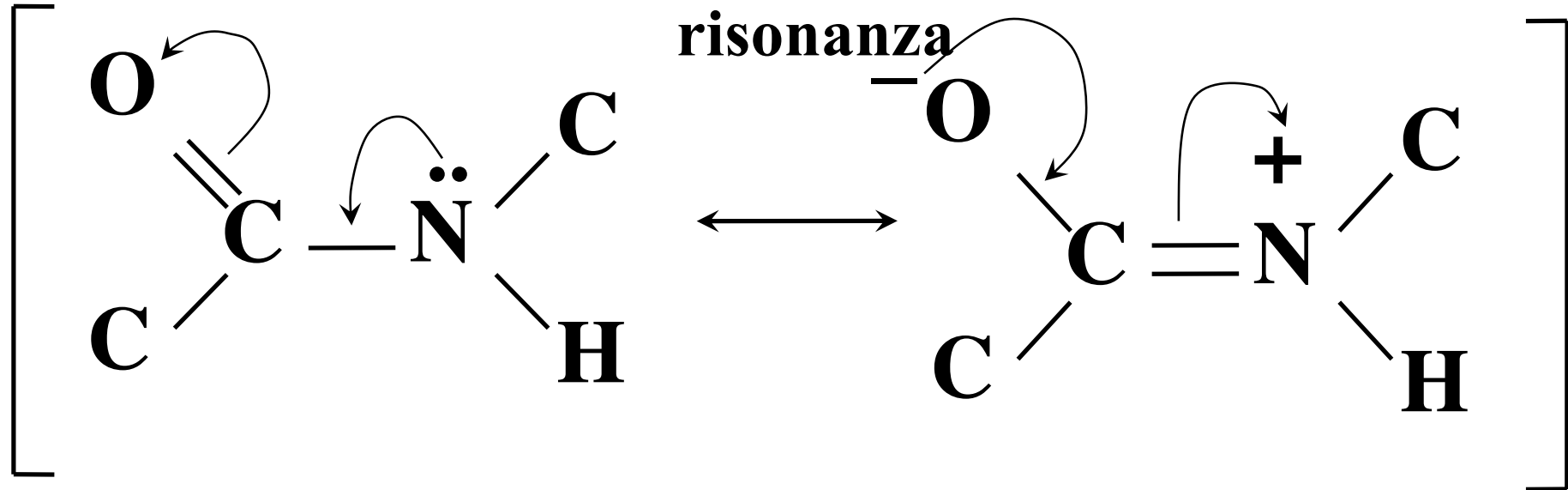
3

I gruppi  $\text{-COOH}$  e  $\text{-NH}_2$  di due diversi  $\alpha$ -amminoacidi possono reagire e attraverso l'eliminazione di una molecola di acqua formano il legame peptidico



## Legame peptidico (2)

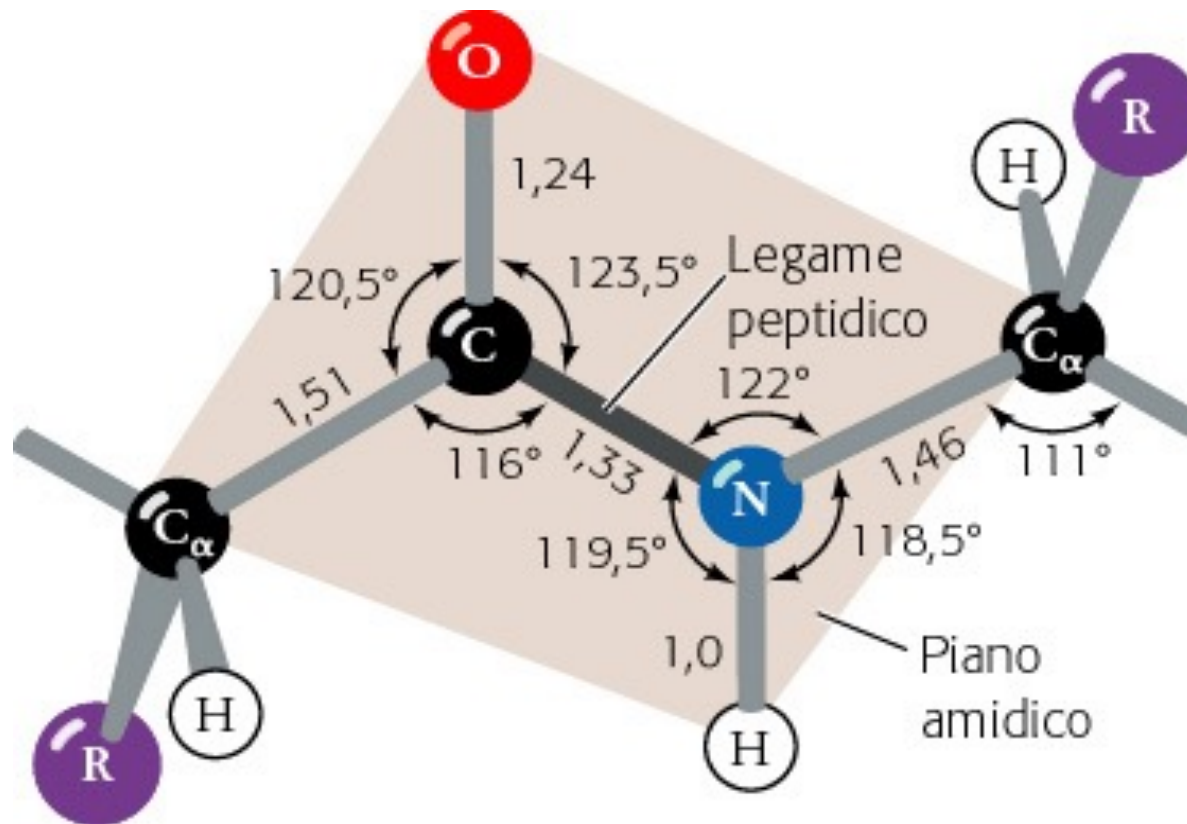
**E' un legame molto forte perché stabilizzato per**



**Gli atomi di C, N e O impegnati nel legame peptidico sono ibridati  $sp^2$  e quindi giacciono, insieme agli atomi ad essi legati, sullo stesso piano.**

## Legame peptidico (3): geometria

5

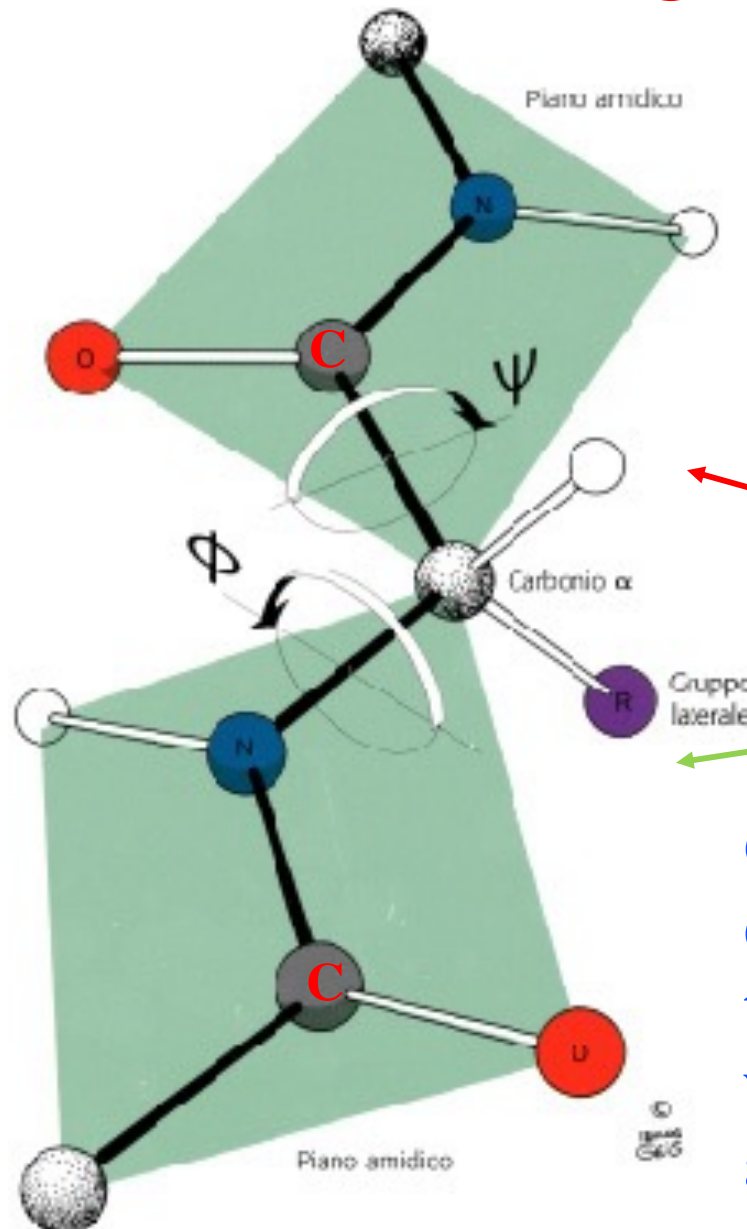


I 6 atomi del gruppo peptidico giacciono sullo stesso piano.

Non è possibile la rotazione intorno al legame C-N a causa del parziale carattere di doppio legame.

Tranne alcuni casi particolari, l'ossigeno del gruppo carbonilico è in posizione trans rispetto all'atomo di idrogeno legato all'azoto ammidico; i gruppi R dei due carboni alfa si trovano da parti opposte.

## Legame peptidico (4)



C'è libera rotazione  
intorno ai legami:

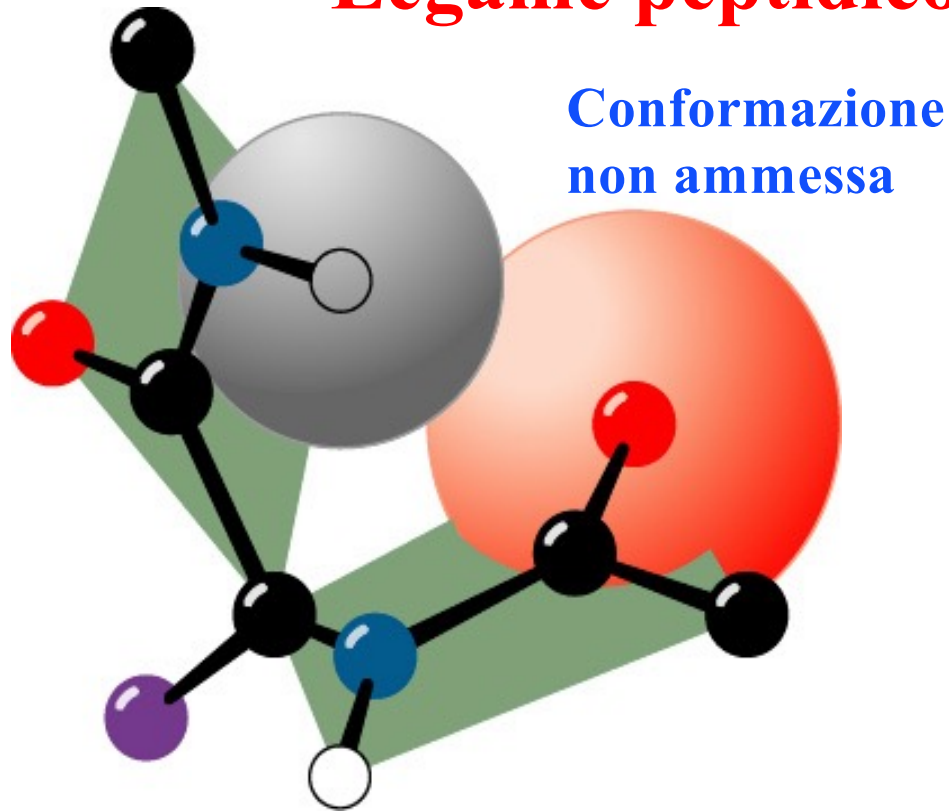
C-C $\alpha$  (angolo  $\psi$ -psi)

C $\alpha$ -N (angolo  $\Phi$ -phi)

Gli angoli  $\Phi$  e  $\psi$  sono angoli diedri, i cui valori sono compresi tra  $-180^\circ$  e  $+180^\circ$ , ma molti valori non sono permessi in base alla natura del gruppo R.

## Legame peptidico (5)

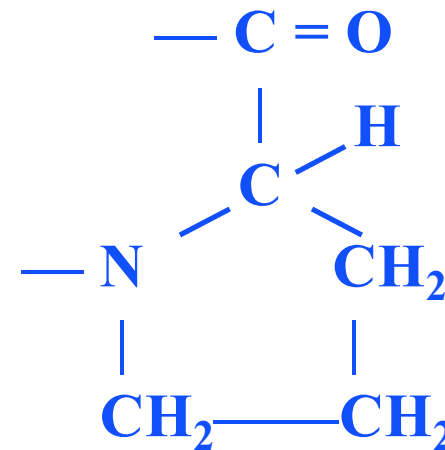
7



I gradi di libertà di rotazione dipendono dall'ingombro sterico dei gruppi R.

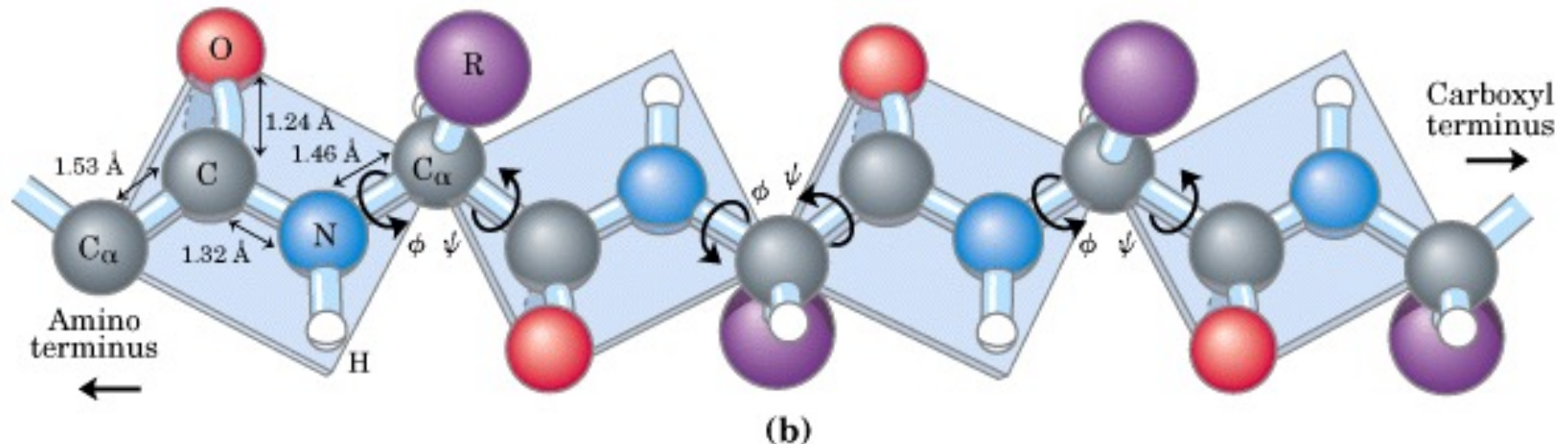
Non tutte le possibili posizioni sono consentite.

Nel caso della prolina, il legame N-C $\alpha$  non può ruotare in quanto l'azoto è legato alla catena laterale.



# Struttura primaria delle proteine

La sequenza degli amminoacidi in una catena polipeptidica rappresenta la struttura primaria di una proteina e costituisce il primo livello di organizzazione strutturale



I diversi gruppi peptidici sono “incernierati” dai legami N-C $\alpha$  ( $\phi$ ) e C $\alpha$ -C ( $\psi$ ).

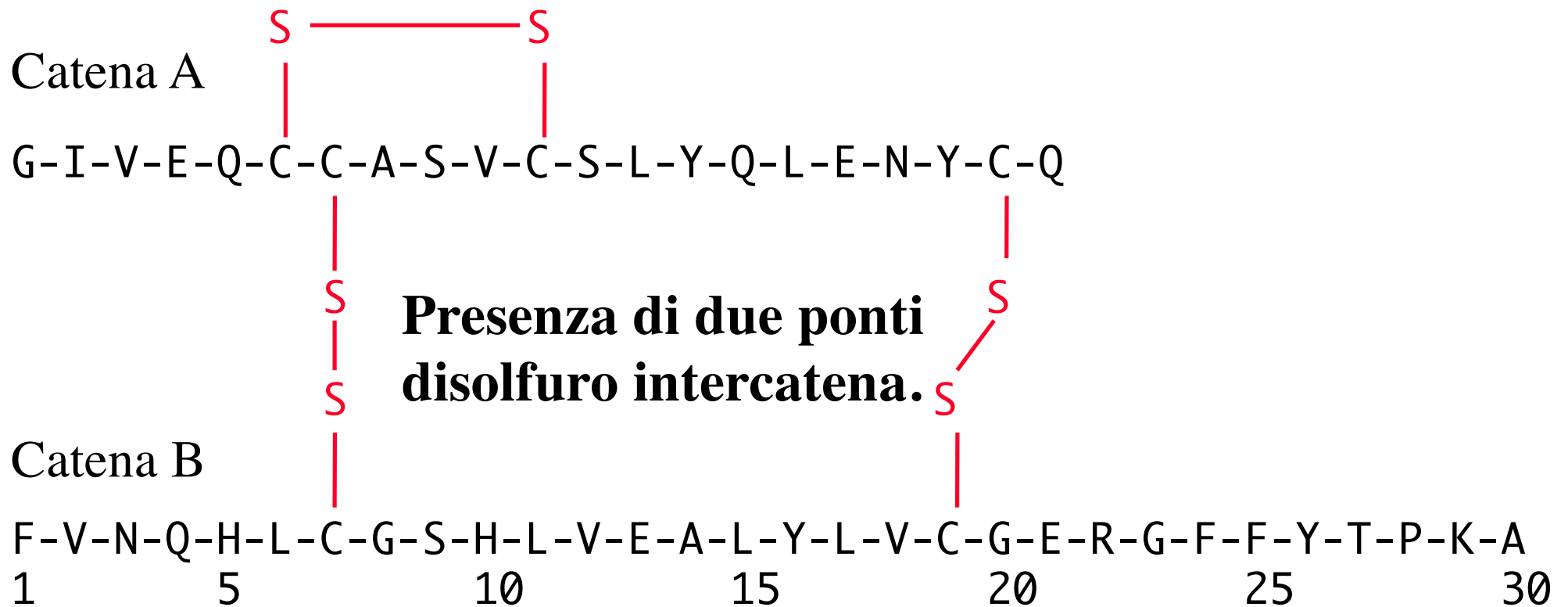
**Si identificano una estremità N-terminale ed una C-terminale.**



# Struttura primaria dell'insulina bovina

Nella struttura primaria dell'insulina bovina ci sono due piccole catene polipeptidiche.

Presenza di un ponte disolfuro nella catena A.



# Struttura secondaria delle proteine <sup>10</sup>

**La struttura secondaria** indica l'organizzazione spaziale di un **SEGMENTO** della catena polipeptidica. E' una struttura regolare, in cui gli angoli  $\Phi$  e  $\Psi$  restano invariati.

I legami che stabilizzano la struttura secondaria sono i legami ad idrogeno. Questi legami si instaurano tra i gruppi  $-NH$  e  $-C=O$  di gruppi peptidici diversi.

- $\alpha$ -elica
- Struttura  $\beta$
- Ripiegamenti inversi (anse o angoli  $\beta$ ):  
provocano un ripiegamento nello spazio della catena polipeptidica

## Struttura secondaria ad $\alpha$ -elica

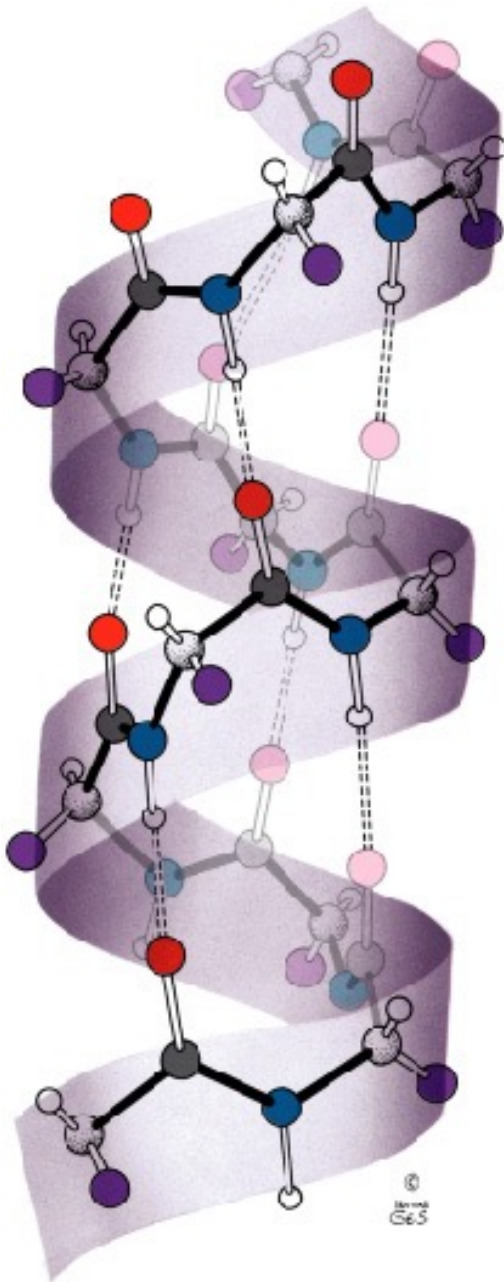
**E' la più comune struttura secondaria.**

**E' dovuta alla formazione di legami a idrogeno tra il  $-C = O$  di un gruppo peptidico e l'idrogeno di un  $-NH$  di un altro gruppo peptidico, distante 3 residui.**

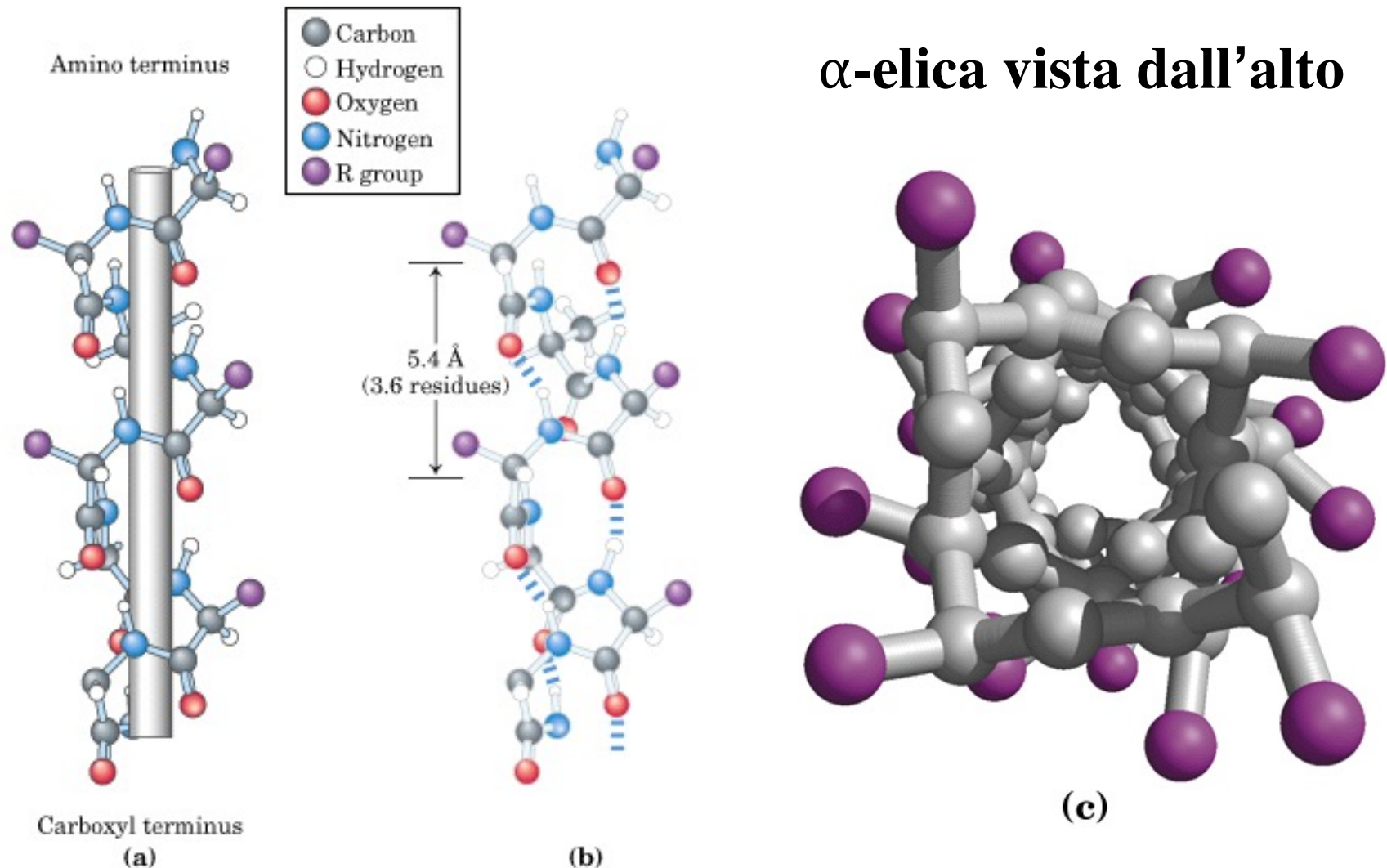
**Le catene laterali si trovano all'esterno dell'elica.**

**La prolina, a causa della sua struttura, non può essere contenuta in una struttura ad  $\alpha$ -elica.**

**La glicina, a causa dell'assenza di catena laterale raramente si ritrova in strutture ad  $\alpha$ -elica.**



# Struttura secondaria ad $\alpha$ -elica: geometria

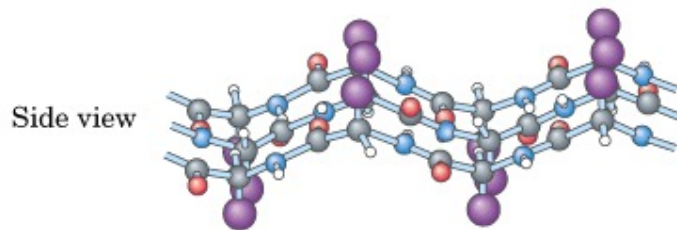
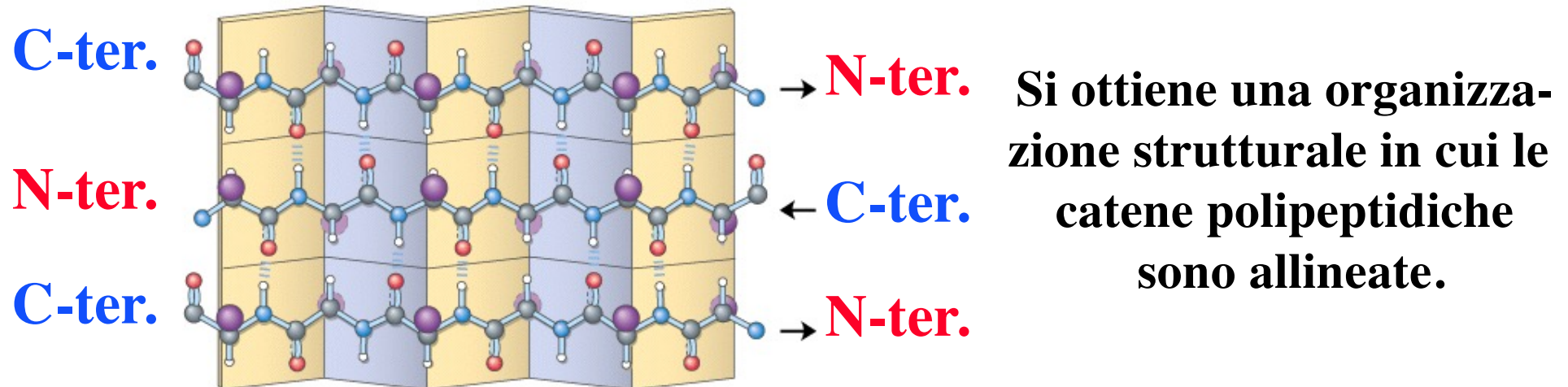


La distanza che intercorre tra due punti omologhi dell'elica (giro di elica) è di 5.4 Å e contiene mediamente 3.6 residui

## Struttura secondaria a foglietto $\beta$ (1)

E' dovuta alla formazione di legami a idrogeno tra il  $-C=O$  di un gruppo peptidico e l'idrogeno di un  $-NH$  di un altro gruppo peptidico molto distante nella sequenza.

(a) Antiparallelo

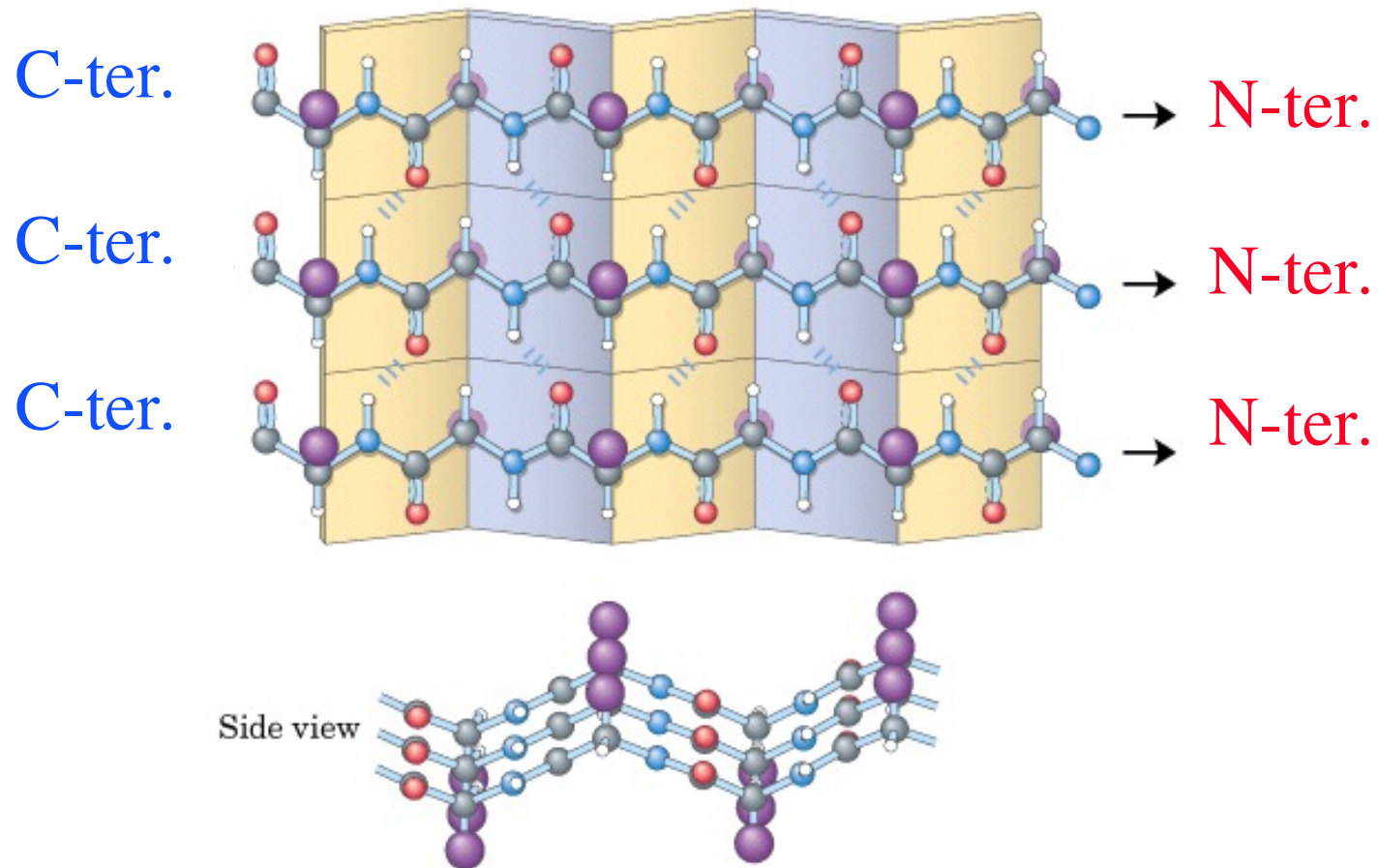


Nella forma **antiparallela** le catene polipeptidiche sono orientate in direzioni opposte.

## Struttura secondaria a foglietto $\beta$ (2)

Nella forma **parallela**, invece, le catene polipeptidiche sono orientate nella stessa direzione.

(b) Parallel





## Le proteine fibrose

Questa classe di proteine svolge un ruolo di supporto fisico o di protezione. Conferiscono resistenza ed elasticità. Sono insolubili in acqua (elevata % aa idrofobici). Le proteine fibrose sono ricche di elementi con struttura secondaria.

**Cheratine  $\alpha$ :** principali componenti degli strati epidermici esterni e delle appendici da essi derivati (pelle, capelli, lana, corna, unghie, ecc.); hanno elevata resistenza alla tensione.

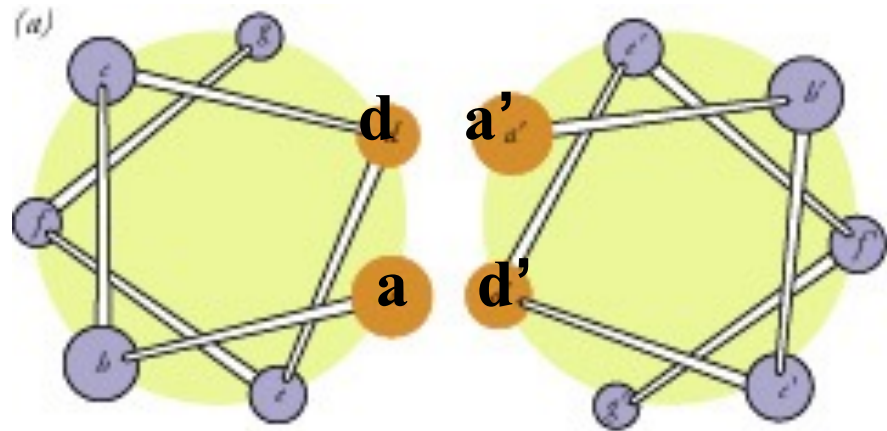
**Cheratine  $\beta$ :** fibroina prodotta dagli insetti (baco da seta) e dai ragni (ragnatela)

**Collagene:** principale componente dei tessuti connettivi (ossa, denti, cartilagine, tendini, ecc.)

## $\alpha$ -cheratina (1)

16

L' $\alpha$ -cheratina è una proteina molto resistente allo stress fisico. E' costituita da una coppia di  $\alpha$ -eliche avvolte una intorno all'altra, generando un superavvolgimento ("coiled coils")



Sequenza ripetitiva di **sette residui** di cui **a** e **d** sono idrofobici.

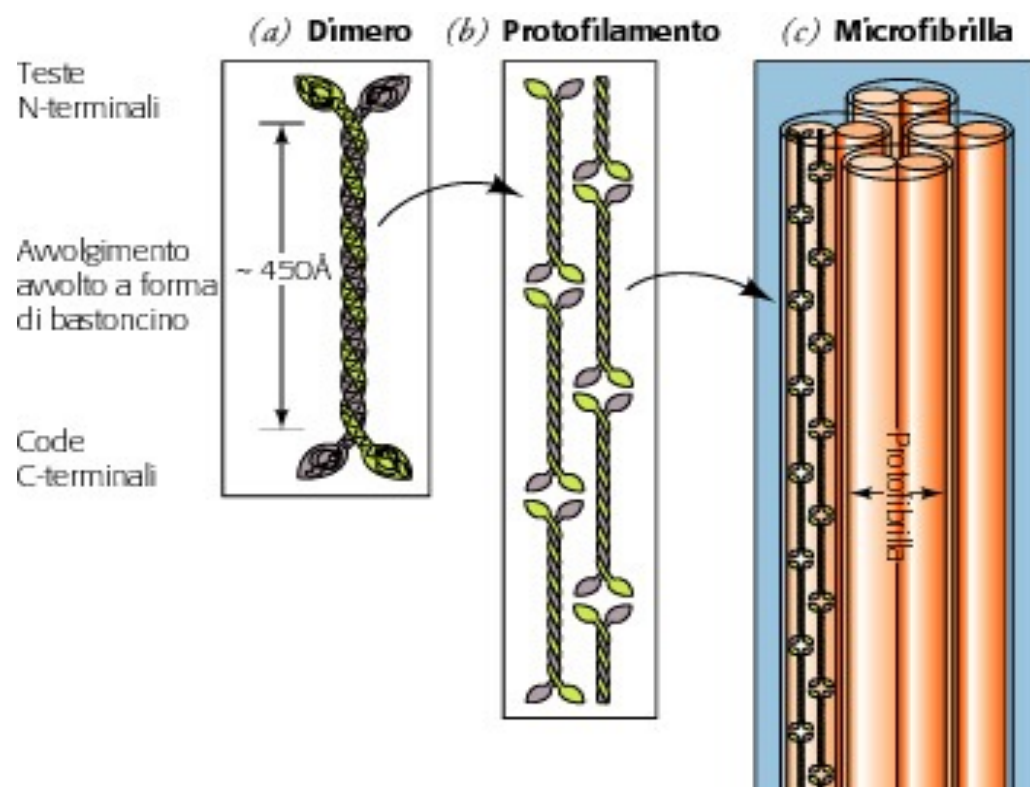
Le due eliche sono tenute insieme da interazioni idrofobiche che si instaurano tra i residui **a** e **d** di un elica con quelli **a'** e **d'** dell'altra. Il passo dell'elica è ridotto a 5.1 Å (invece di 5.4 Å) proprio a causa del superavvolgimento.



## $\alpha$ -cheratina (2)

17

La struttura fibrosa viene ottenuta dalla formazione di un **protofilamento** in cui si instaurano interazioni deboli tra le estremità C-terminale ed N-terminale di ogni dimero avvolto.



I protofilamenti dime-  
rizzano a loro volta  
formando le **protofibrille**.

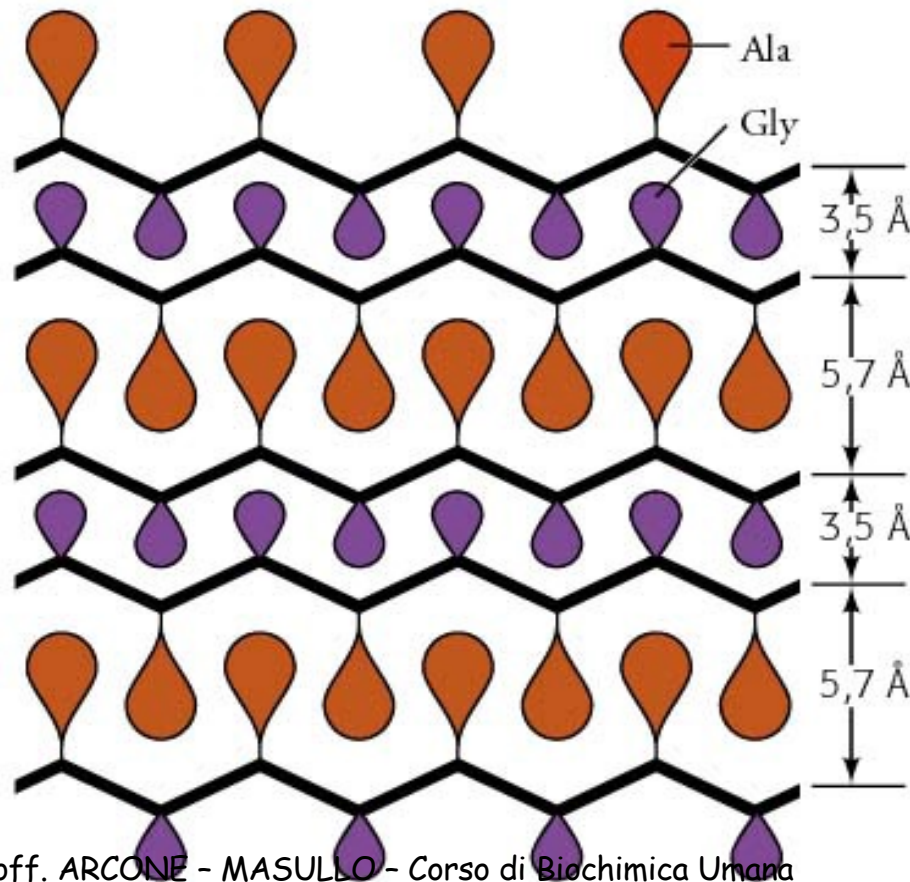
L'associazione di  
quattro protofibrille  
porta alla formazione  
delle **microfibrille**.

Oltre ad interazioni idrofobiche, la presenza di molte cisteine favorisce la formazione di numerosi ponti disolfuro.

**Legami deboli reversibili.**

## $\beta$ -keratine

Le  $\beta$ -keratine sono ricche di residui di piccole dimensioni (**Gly, Ala, Ser**) e prive di cisteina. Prevalentemente costituite dalla conformazione  $\beta$ ; le catene polipeptidiche sono tra loro ravvicinate, per le piccole dimensioni dei gruppi R, rendendo il foglietto compatto.



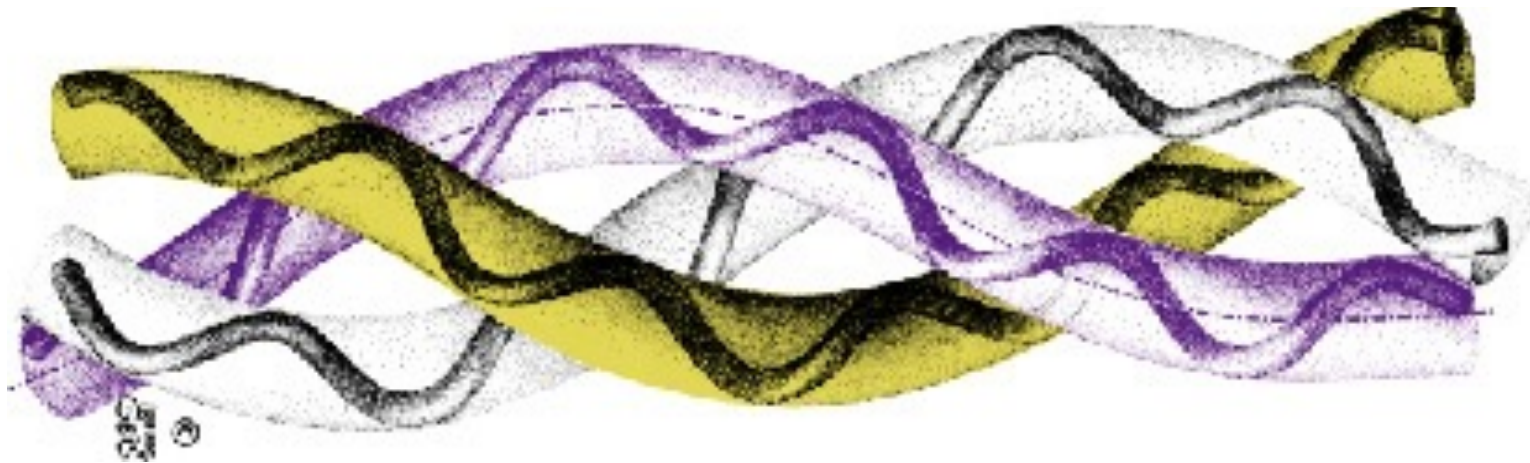
Le catene laterali di **glicina** e di **alanina** (o **serina**) sono disposti in maniera alternata.

I gruppi R di una catena si adattano perfettamente a quelli della catena adiacente.

Inoltre, tra le catene laterali dei residui più ingombranti, si instaurano interazioni idrofobiche.

## Collageno (1)

Conferisce resistenza alla tensione. La presenza abbondante nel collageno di **Gly (circa 35%)**, **Ala (circa 11%)**, **Pro e 4-Hyp (circa 21%)** impedisce la formazione della caratteristica  $\alpha$ -elica. Il collageno presenta una struttura secondaria unica, con elica. Questa proteina assume una conformazione elicoidale dovuta alla configurazione dei residui di prolina.



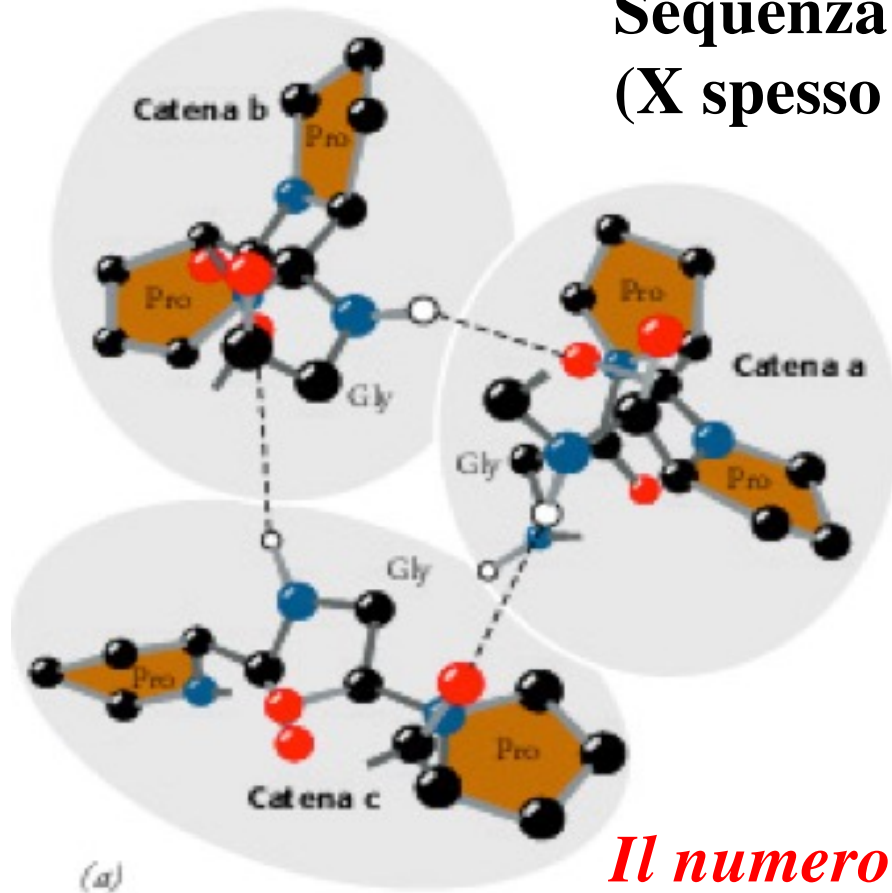
**Tre catene polipeptidiche diverse si avvolgono una sull'altra (coiled-coils) generando così una tripla elica.**

## Collagene (2)

20

La tripla elica viene stabilizzata da legami ad idrogeno tra i gruppi peptidici di residui appartenenti ad eliche diverse.

Sequenza ripetuta del tripeptide: Gly-X-Y  
(X spesso Pro, Y spesso 4-Hyp)



Le diverse 3 eliche sono unite tra loro mediante **legami covalenti trasversali** (senza ponti disolfuro per assenza dei residui di cisteina).

Questi legami coinvolgono i residui di lisina, idrossilisina e istidina.

*Il numero di legami trasversali è correlato alla consistenza posseduta dal collagene.*

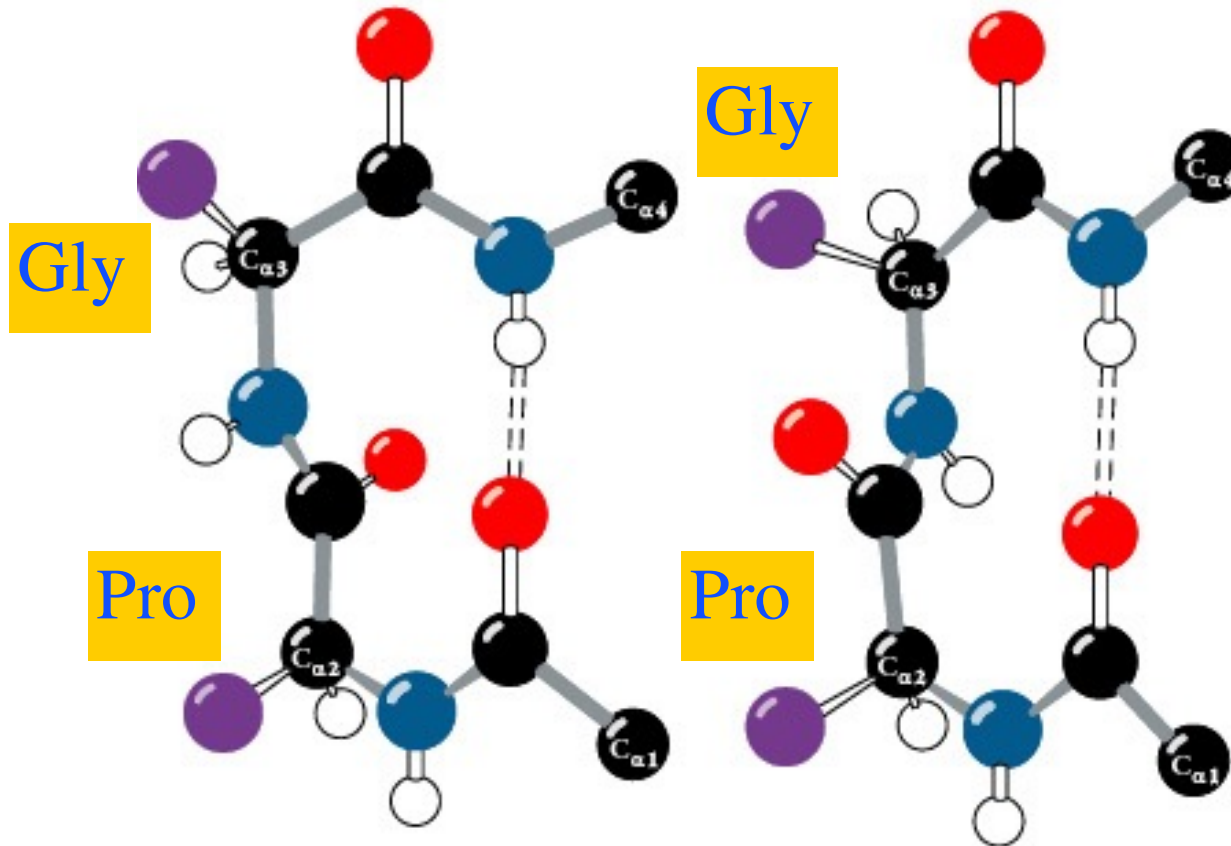


# Ripiegamenti inversi o angoli $\beta$

21

(a) Ripiegamento Tipo I

(b) Ripiegamento Tipo II



Si ritrovano molto spesso nelle proteine perché provocano un brusco cambiamento della direzione della catena polipeptidica.

Sono di due tipi e sono costituiti da 4 residui amminoacidici.

Vengono stabilizzati da un legame ad idrogeno tra i gruppi peptidici dei residui **1 e 4**. *Il residuo n. 2 è quasi sempre Pro mentre il n. 3 è Gly.*

# Struttura terziaria delle proteine (1)

22

La **struttura terziaria** delle proteine descrive la posizione nello spazio di tutti i suoi atomi.

E' caratteristica delle proteine globulari

La determinazione della **struttura terziaria** viene generalmente determinata mediante tecniche spettroscopiche sofisticate.

- **Diffrazione dei raggi X (strutture cristalline)**
- **Risonanza magnetica nucleare (in soluzione)**

## **Conoscenza delle coordinate atomiche di tutti gli atomi**

- **Banche dati di raccolta (pubbliche)**  
**Protein Data Bank ([www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb))**
- **Programmi di visualizzazione e manipolazione (freeware)**  
**RasMol (<http://www.rcsb.org/software>)**  
**SwissPdbViewer (<http://www.rcsb.org/software>)**

## **Struttura terziaria delle proteine (2)**

**Viene stabilizzata dalle interazioni che si instaurano tra le catene laterali dei residui amminoacidici, anche quelli già organizzati in struttura secondaria.**

- **Ponti disolfuro (residui di cisteina)**
- **Interazioni ioniche (Asp, Glu, Arg, Lys, His)**
- **Legami ad idrogeno (Ser, Thr, Asn, Gln, Tyr, His, Pro)**
- **Interazioni dipolo-dipolo**
- **Interazioni idrofobiche (Ala, Val, Leu, Ile, Met)**
- **Interazioni di van der Waals (Phe, Tyr, Trp, His)**

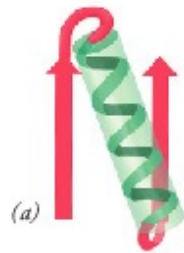
# Struttura terziaria delle proteine (3)

24

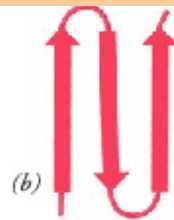
La **struttura terziaria** delle proteine porta al ripiegamento delle strutture secondarie (se presenti) nello spazio.

I ripiegamenti vengono spesso utilizzati per collegare diversi segmenti di struttura secondaria. Tali organizzazioni sono definiti **motivi strutturali** e sono abbastanza comuni nelle proteine.

motivo  $\beta\alpha\beta$



forcina  $\beta$



motivo  $\alpha\alpha$



barili  $\beta$



barile  $\alpha\beta$

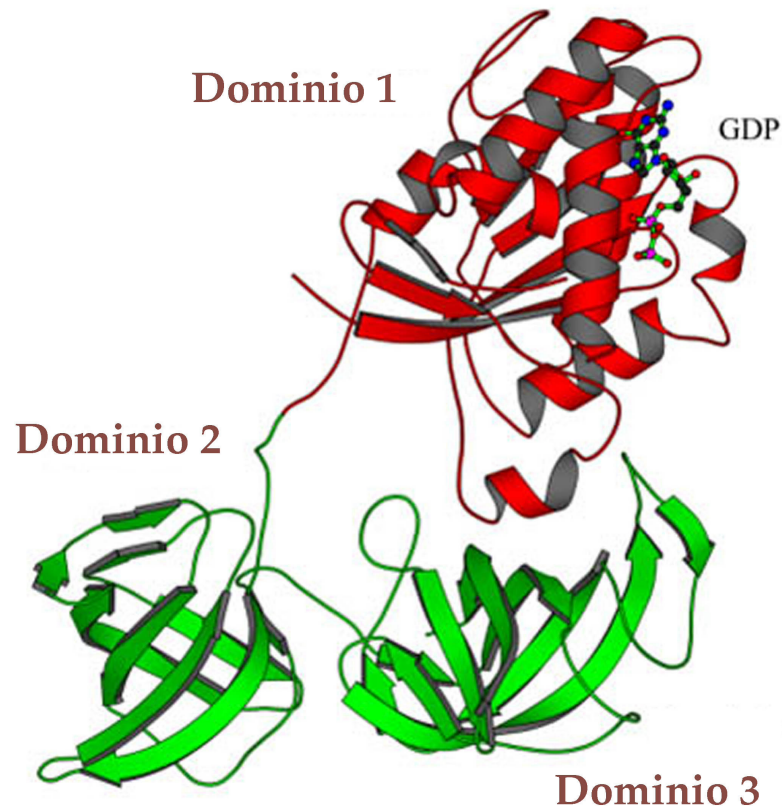




# Struttura terziaria delle proteine (5)

25

**I polipeptidi di grandi dimensioni (>200 residui) sono organizzate in unità strutturalmente indipendenti denominate domini.**



**I domini proteici presentano la caratteristica struttura di piccole proteine globulari.**

**Possono avere diverse funzioni: strutturale, funzionale, catalitica, regolatoria.**

**Conservano la stessa funzione anche in proteine non correlate.**

# **Struttura quaternaria delle proteine (1)** <sup>26</sup>

**Si verifica quando diverse catene polipeptidiche con strutture terziarie indipendenti si associano.**

**Viene stabilizzata dagli stessi legami responsabili della struttura terziaria, tranne i ponti disolfuri. Le diverse catene vengono definite subunità. Queste possono essere identiche o diverse.**

- Gliceraldeide 3-P deidrogenasi: omotetramero**
- Emoglobina: Tetramero con due tipi di subunità**
- Proteine G: Trimerico con tre tipi diversi di subunità**
- Chaperoni molecolari: 14 subunità di due tipi diversi**

**In genere le subunità si dispongono in maniera simmetrica.**

# Relazione struttura-funzione ed evoluzione nelle proteine

- **Perché si sono evoluti i domini strutturali e le proteine oligomeriche ?**
- **Perché le proteine presentano un particolare tipo di conformazione (stato nativo) ?**
- **Quali meccanismi molecolari e quali forze partecipano a questo processo ?**
- **In che modo le proteine, dopo la sintesi, assumono la loro conformazione ?**

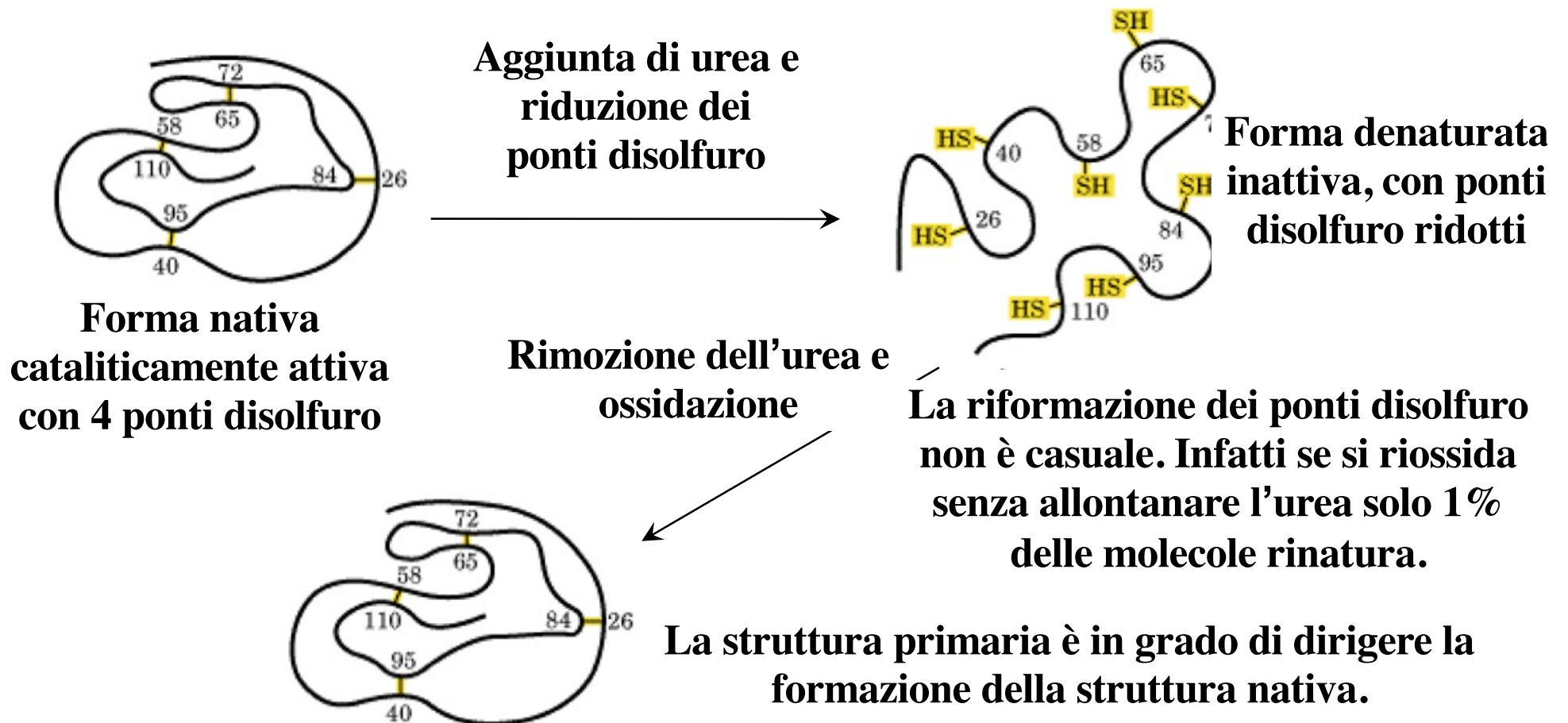


# Relazione tra conformazione e stabilità

- **Studio della denaturazione delle proteine (perdita della conformazione nativa)**
  - **Denaturanti chimici (pH, sali, agenti caotropici, detergenti)**
  - **Denaturanti fisici (temperatura, pressione)**
- **Metodiche per misurare la conformazione**
  - **Proprietà funzionali**
  - **Metodi spettroscopici**
  - **Metodi calorimetrici**

**Molto spesso la denaturazione è un processo reversibile. Allontanando l'agente denaturante si può riottenere la forma nativa (rinaturata).**

## Esperimenti di Anfinsen sulla ribonucleasi A

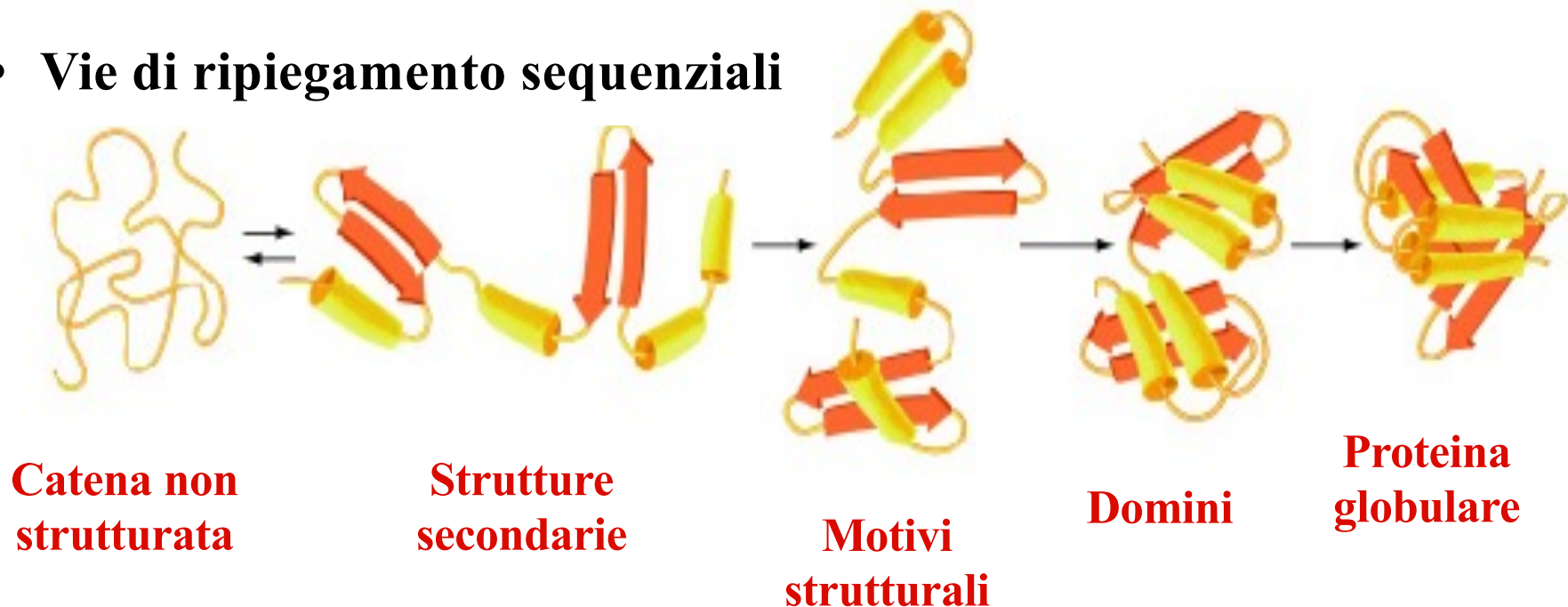


# Vie di ripiegamento delle proteine (1)

- Fenomeno non casuale

Per una proteina di 100 residui, considerando tutti i possibili angoli di torsione ( $\psi$  e  $\varphi$ ) anche se il tempo necessario per verificare una singola conformazione è molto piccolo ( $10^{-13}$  s) il tempo necessario per verificare tutte le possibili conformazioni ( $10^{87}$  s) sarebbe molto più grande dell'età dell'universo ( $\sim 10^{18}$  s).

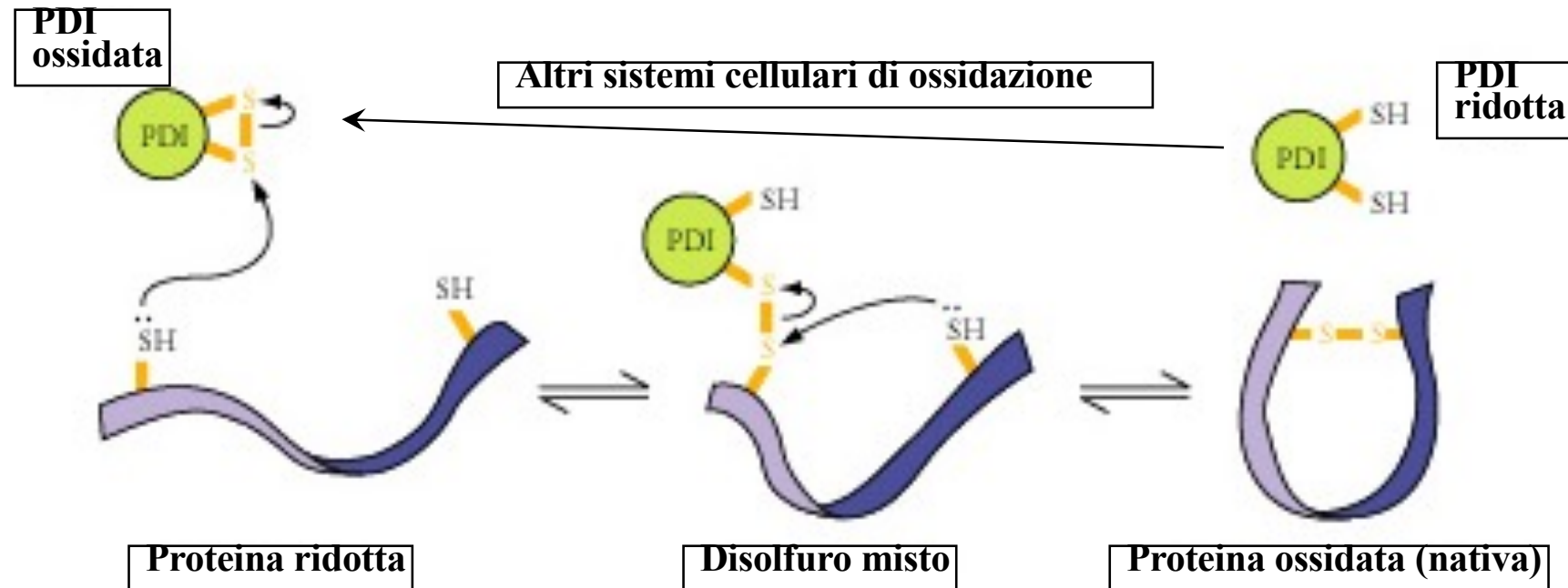
- Vie di ripiegamento sequenziali



## Vie di ripiegamento delle proteine (2)

### Fenomeni cellulari assistiti da proteine specializzate (1)

- **Disolfuro isomerasi delle proteine (PDI)**  
Dirigono la formazione dei ponti disolfuro



## Interscambio di ponti disolfuro tra PDI e proteina ridotta



## Vie di ripiegamento delle proteine (3)

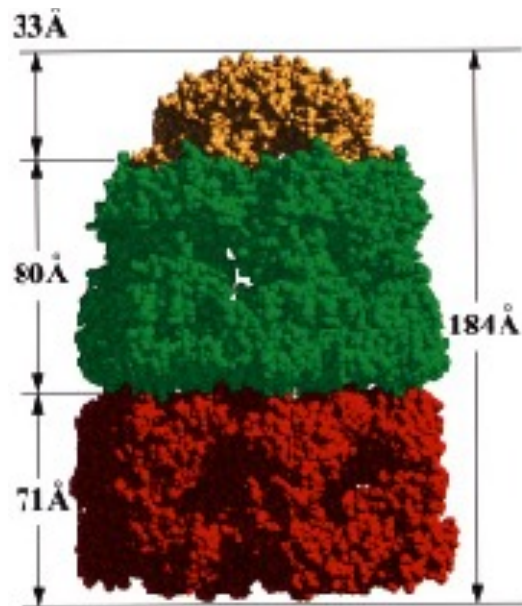
### Fenomeni cellulari assistiti da proteine specializzate (2)

- **Chaperoni molecolari**

Proteine molto complesse costituite molte subunità (>7)

Elevato consumo di energia (ATP)

Struttura a simmetria rotazionale cilindrica



La proteina non strutturata entra da un'apertura mentre quella nativa esce dall'altra