

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO
CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA VETERINARIA

CORSO INTEGRATO: FISICA, CHIMICA
E PROPEDEUTICA BIOCHIMICA (10 CFU)

MODULO:
PROPEDEUTICA BIOCHIMICA ED ELEMENTI DI
BIOLOGIA MOLECOLARE (4 CFU)

Roberto Giacomini Stuffer¹

IL MODULO

"PROPEDEUTICA BIOCHIMICA ED ELEMENTI DI
BIOLOGIA MOLECOLARE" (4 CFU)

È SUDDIVISO IN DUE UNITÀ DIDATTICHE:

A) UNITÀ DIDATTICA

"PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA" (2 CFU)

B) UNITÀ DIDATTICA

"BIOLOGIA MOLECOLARE" (2 CFU)

L'UNITÀ DIDATTICA "PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA" COMPRENDE:

- 1) GLI IDROCARBURI E I GRUPPI FUNZIONALI
- 2) I LIPIDI
- 3) I CARBOIDRATI
- 4) GLI AMMINOACIDI E LE PROTEINE
- 5) LE PROTEINE DEL CONNETTIVO
- 6) LA MIOGLOBINA E L'EMOGLOBINA

L'UNITÀ DIDATTICA "BIOLOGIA MOLECOLARE" COMPRENDE:

- 7) LE MEMBRANE BIOLOGICHE
- 8) LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEI PROCARIOTI (A)
- 9) LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEI PROCARIOTI (B)
- 10) LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEGLI EUCARIOTI
- 11) LA TECNOLOGIA DEL DNA RICOMBINANTE

UNITÀ DIDATTICA
"PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA" (2 CFU)

VET.
UNITÀ DIDATTICA "PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA"

GLI AMMINOACIDI E LE PROTEINE

Roberto Giacomini Stuffer

INTRODUZIONE

- Tutte le proteine, sia nei batteri, sia nelle forme di vita più complesse, sono costituite dallo stesso gruppo di **20** amminoacidi, chiamati **amminoacidi naturali**, legati in modo covalente in caratteristiche sequenze lineari,
- ogni amminoacido ha una caratteristica catena laterale (**gruppo R**) da cui dipendono le sue proprietà chimiche,
- ogni proteina ha proprietà e attività diverse, in quanto è composta da amminoacidi in combinazioni e in sequenze diverse.

LE FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE

- **enzimi,**
- **proteine di trasporto:** emoglobina, lipoproteine, proteine delle membrane, ecc,
- **proteine di riserva:** proteine presenti nei semi delle piante, nell'ovalbumina, nella caseina, nella ferritina, ecc.,
- **proteine contrattili o mobili:** actina, miosina, tubulina, ecc,
- **proteine strutturali:** collagene, elastina, cheratina, fibroina della seta, ecc.,
- **proteine di difesa:** anticorpi, fibrinogeno e trombina, veleni dei serpenti, tossine batteriche e proteine tossiche delle piante, ecc.,
- **proteine regolatrici:** ormoni, ecc.

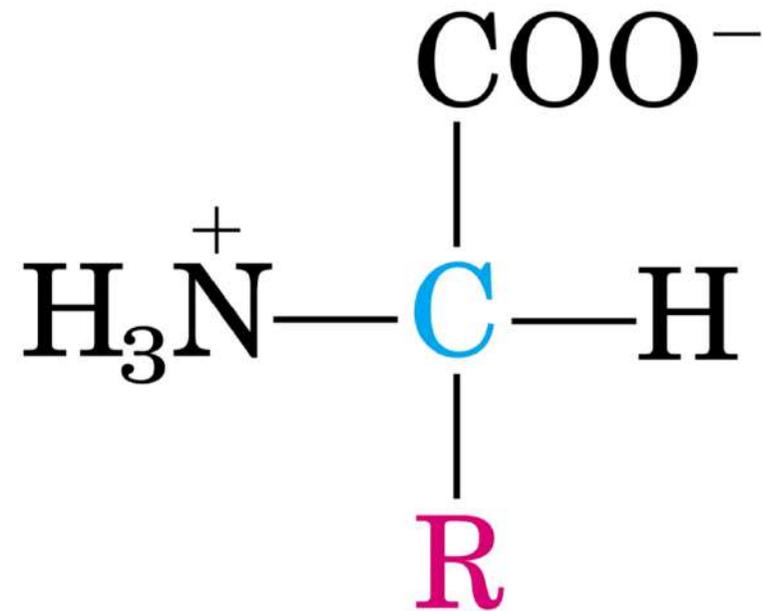
GLI AMMINOACIDI

Essi hanno **nomi comuni**:

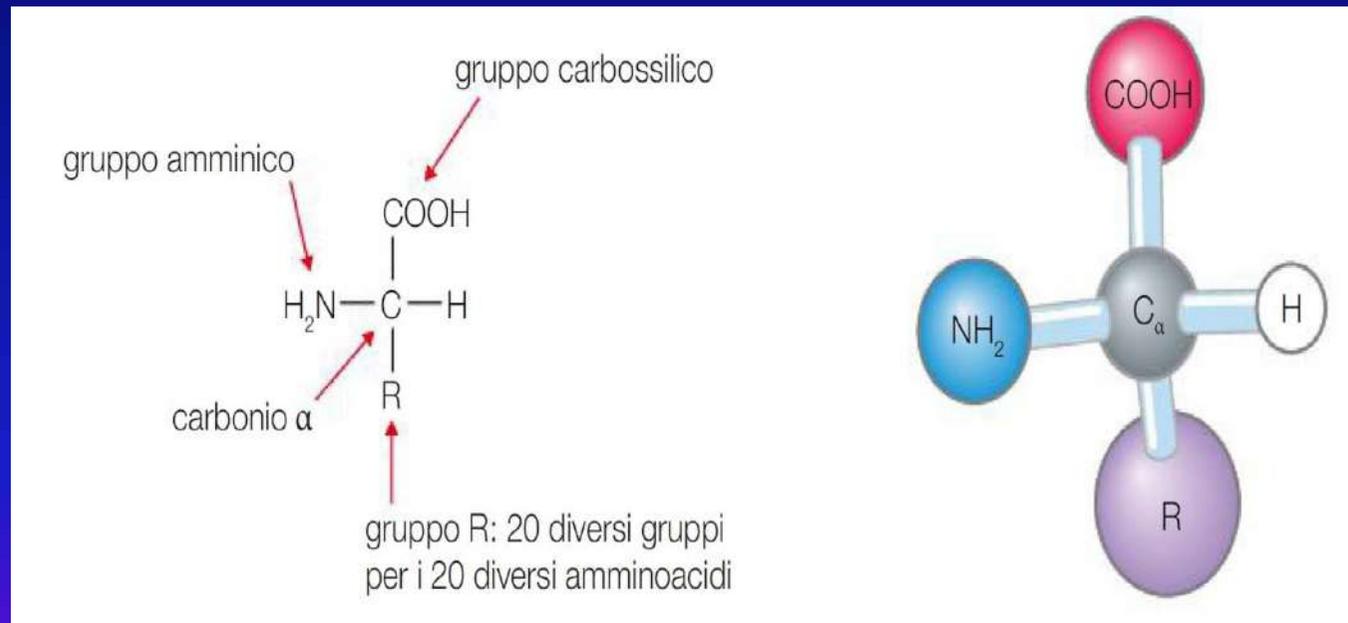
asparagina,
glutammato,
glicina, ecc.

Tutti i 20 amminoacidi hanno proprietà comuni e sono chiamati **amminoacidi standard**.

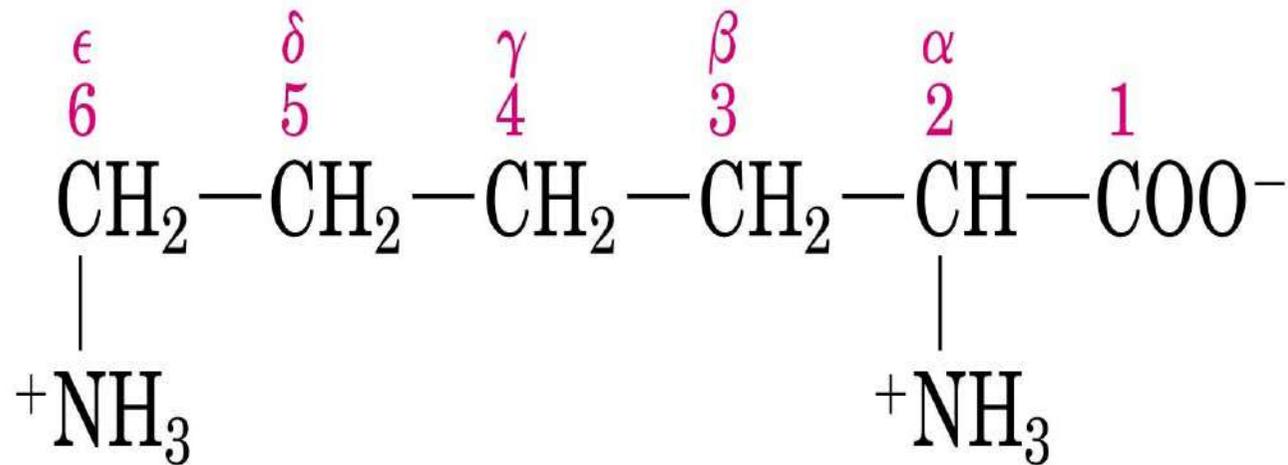
LA STRUTTURA DI UN AMMINOACIDO



STRUTTURA GENERALE DI UN α -AMMINOACIDO

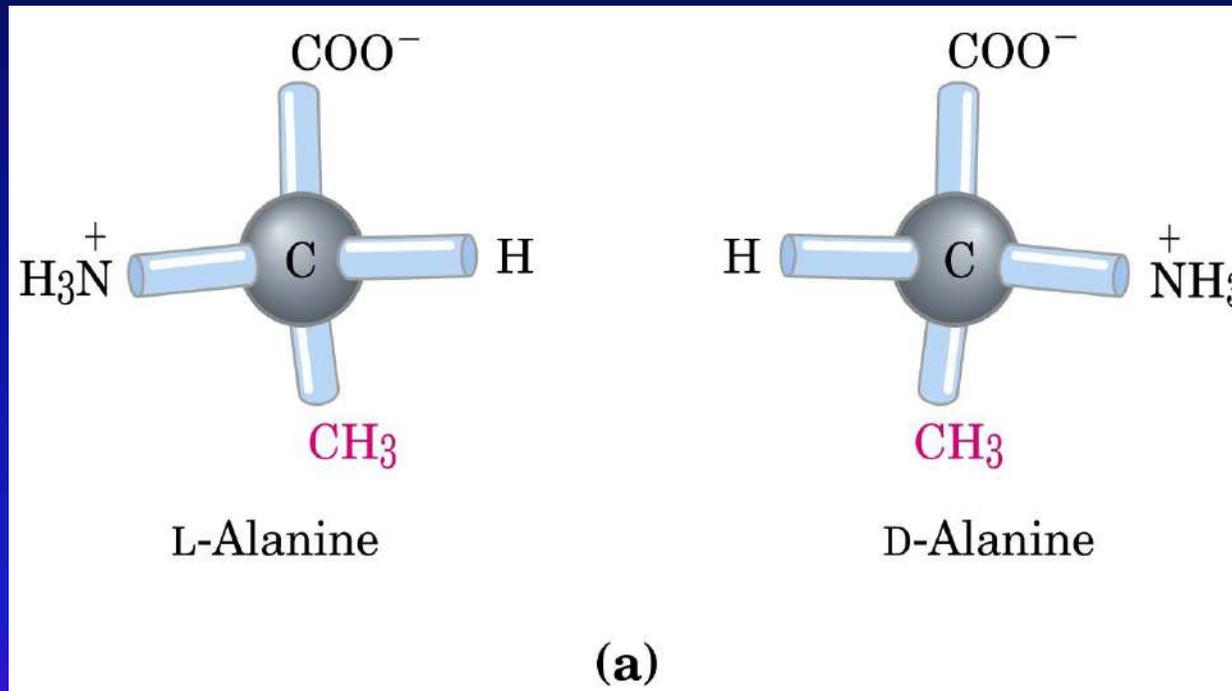


LA STRUTTURA DI UN AMMINOACIDO

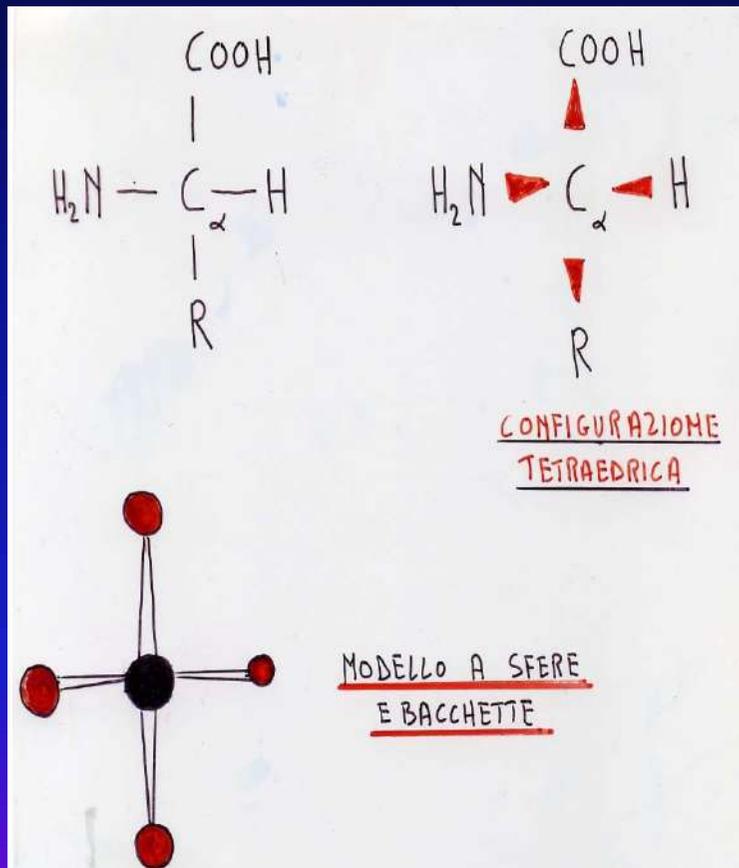


Lysine

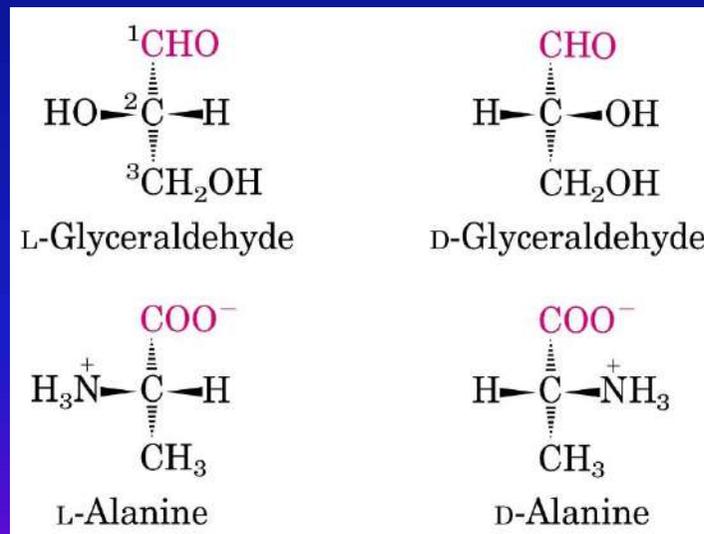
- Tutti gli amminoacidi (esclusa la glicina) hanno il C_α (carbonio alfa) legato a quattro gruppi sostituenti diversi,
- il C_α è quindi un **centro chirale**.



GLI ENANTIOMERI

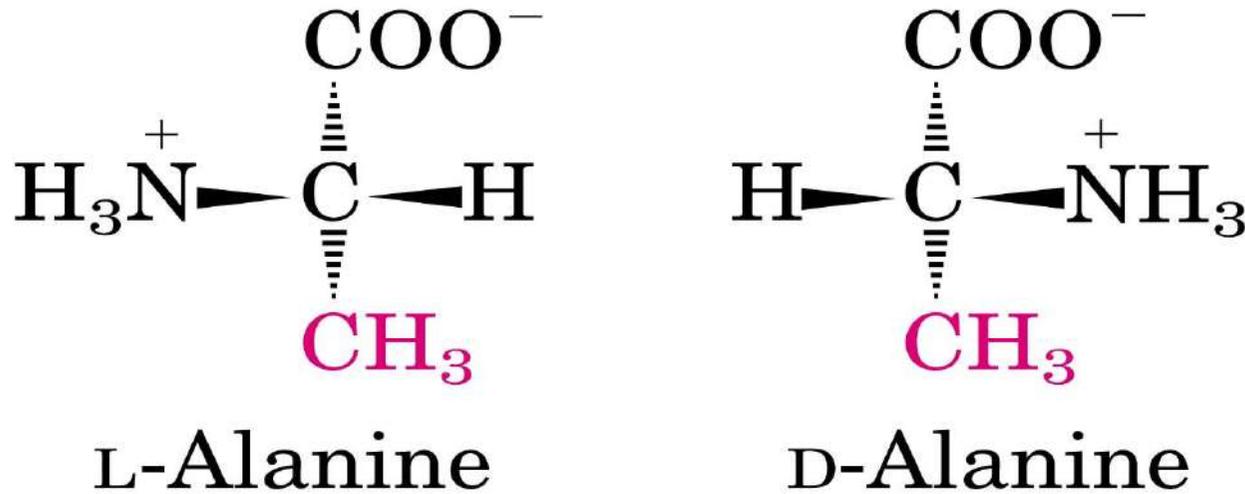


I quattro gruppi sostituenti diversi di ciascun aminoacido possono disporsi nello spazio in **due modi diversi** che sono le immagini speculari non sovrapponibili l'uno dell'altro (forme **L** e **D**).



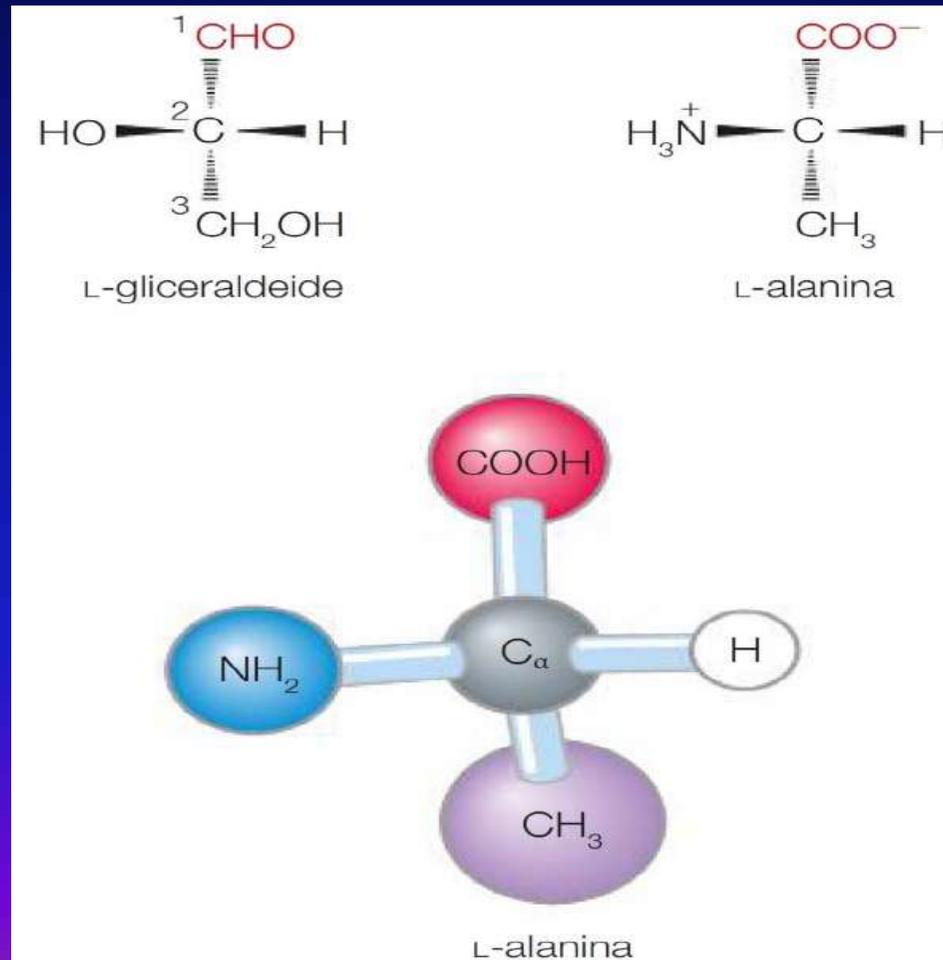
GLI ENANTIOMERI

I 20 amminoacidi standard sono nella forma L-

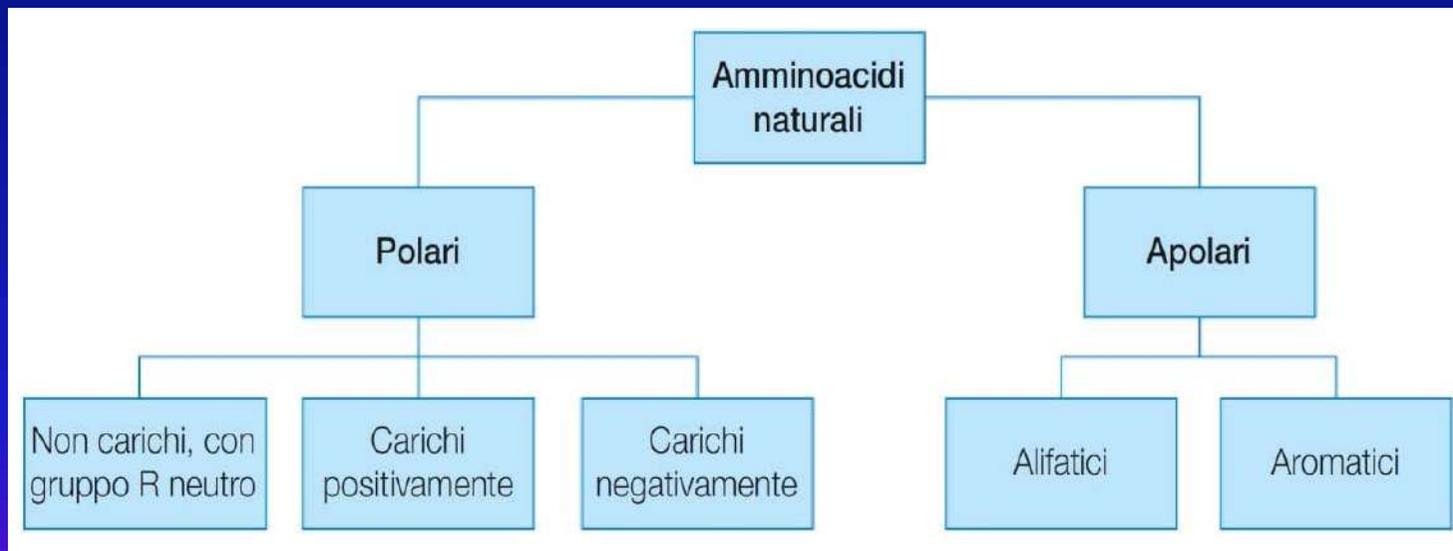


(b)

GLI AMMINOACIDI NATURALI HANNO LA CONFIGURAZIONE ASSOLUTA L- con il gruppo amminico a sinistra



LA CLASSIFICAZIONE DEGLI AMMINOACIDI SECONDO I GRUPPI R

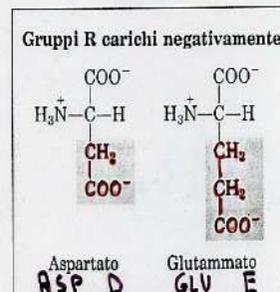
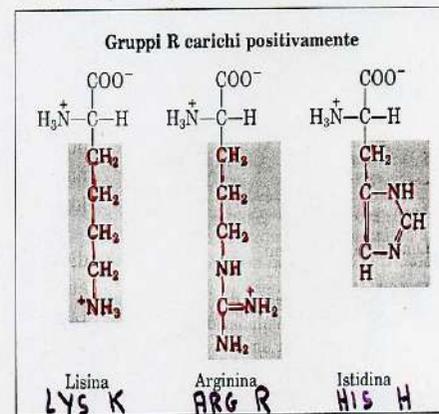
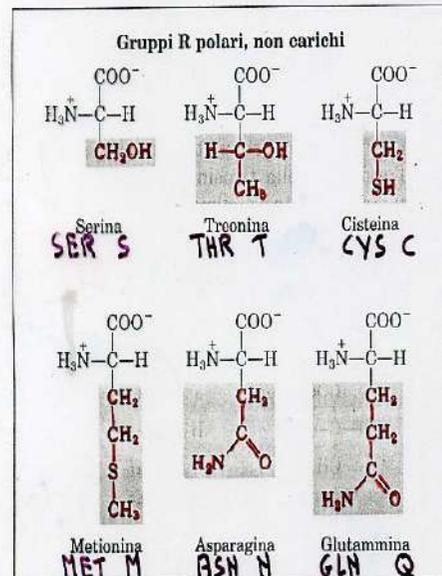
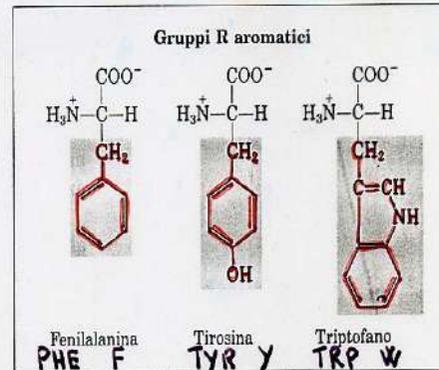
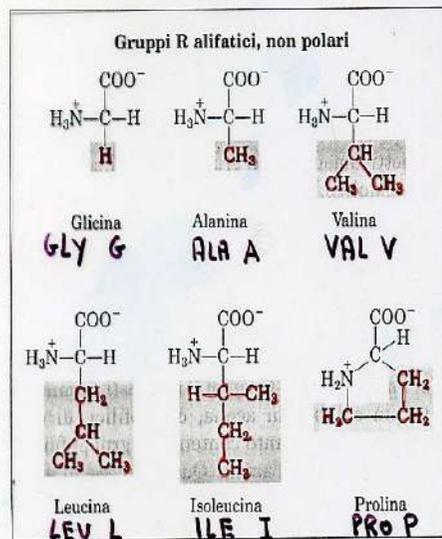


Properties and Conventions Associated with the Standard Amino Acids

Amino acid	Abbreviated names		M_r	pK_a values			pI	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%)
				pK_1 (-COOH)	pK_2 (-NH ₃ ⁺)	pK_R (R group)			
Nonpolar, aliphatic R groups									
Glycine	Gly	G	75	2.34	9.60		5.97	-0.4	7.2
Alanine	Ala	A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Valine	Val	V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu	L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile	I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met	M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
Aromatic R groups									
Phenylalanine	Phe	F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr	Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	-1.3	3.2
Tryptophan	Trp	W	204	2.38	9.39		5.89	-0.9	1.4
Polar, uncharged R groups									
Serine	Ser	S	105	2.21	9.15		5.68	-0.8	6.8
Proline	Pro	P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
Threonine	Thr	T	119	2.11	9.62		5.87	-0.7	5.9
Cysteine	Cys	C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn	N	132	2.02	8.80		5.41	-3.5	4.3
Glutamine	Gln	Q	146	2.17	9.13		5.65	-3.5	4.2
Positively charged R groups									
Lysine	Lys	K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	-3.9	5.9
Histidine	His	H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	-3.2	2.3
Arginine	Arg	R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	-4.5	5.1
Negatively charged R groups									
Aspartate	Asp	D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	-3.5	5.3
Glutamate	Glu	E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	-3.5	6.3

- Gli amminoacidi possono essere classificati in base al gruppo R in:
- alifatici, non polari,
- aromatici,
- polari non carichi,
- polari carichi positivamente,
- polari carichi negativamente.

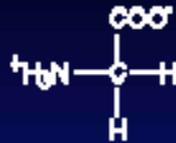
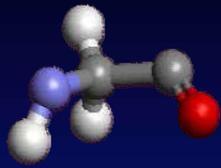
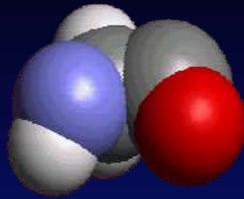
LE FAMIGLIE AMMINOACIDICHE



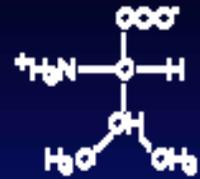
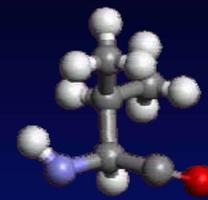
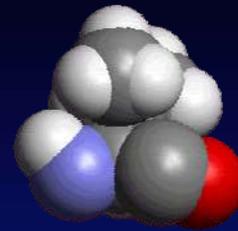
Il sistema di abbreviazione a 3 lettere degli amminoacidi corrisponde alla prima parte del nome inglese,

il codice a una lettera spesso corrisponde alle loro lettere iniziali.

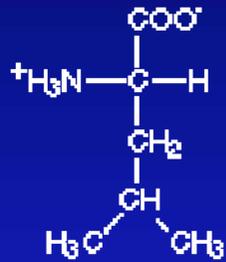
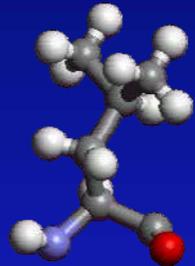
I GRUPPI R ALIFATICI, NON POLARI



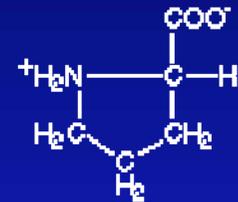
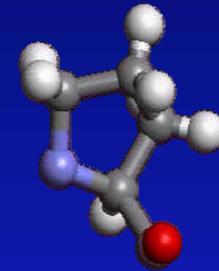
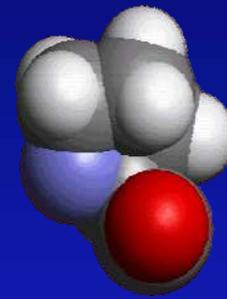
Gly



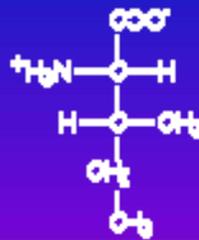
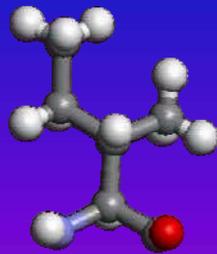
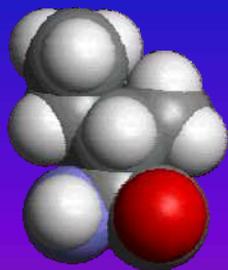
Val



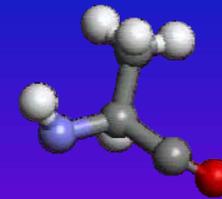
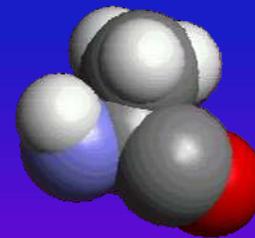
Leu



Pro

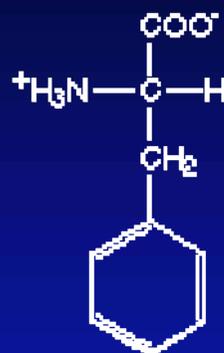
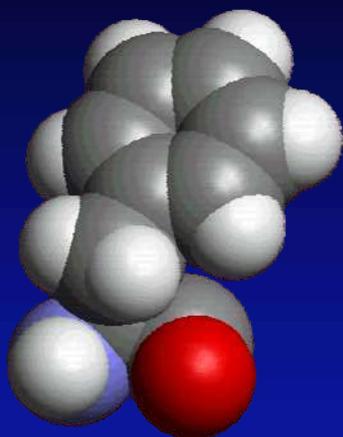


Ile

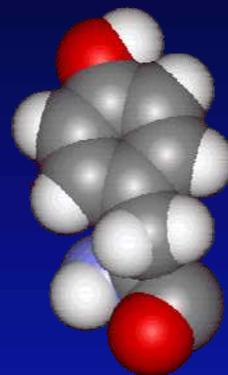


Ala

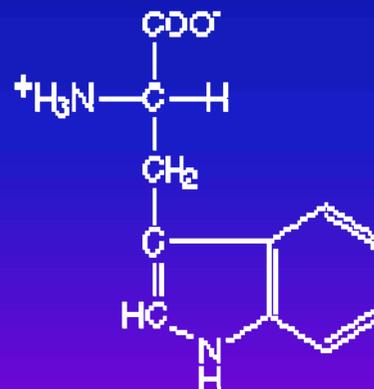
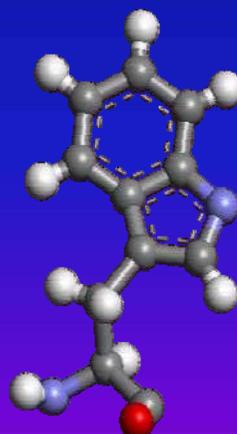
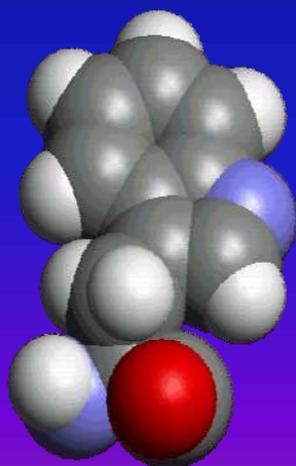
I GRUPPI R AROMATICI, NON POLARI



Phe



Tyr



Trp

GLI AMMINOACIDI CON GRUPPO R APOLARE

Si possono suddividere in 2 sottogruppi,

Amminoacidi con gruppo R apolare, alifatico

glicina, alanina, prolina, valina, leucina, isoleucina

hanno la catena idrocarburica satura, quindi sono idrofobici e promuovono interazioni idrofobiche all'interno delle proteine,

la **glicina** ha un impedimento sterico minimo che consente una flessibilità di struttura superiore agli altri AA, la **prolina** è un imminoacido (**R-NH-R'**), moderatamente polare e con la sua struttura rigida riduce la flessibilità strutturale della catena polipeptidica;

Amminoacidi con gruppo R apolare, aromatico

fenilalanina, tirosina, triptofano

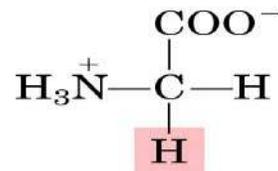
hanno catene laterali aromatiche che permettono interazioni idrofobiche, sono relativamente non polari,

partecipano a interazioni idrofobiche,

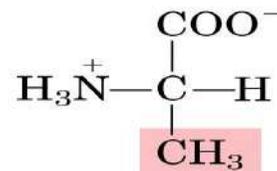
i gruppi **-OH** della **tirosina** e **-NH** del **triptofano** possono formare **legami H**,

il **triptofano** (anello indolico), la **tirosina** (anello benzenico) e in minor misura la **fenilalanina** assorbono la luce a 280 nm.

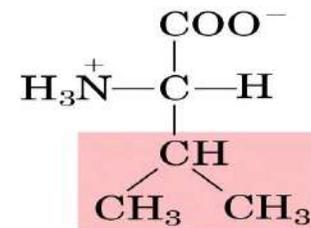
Nonpolar, aliphatic R groups



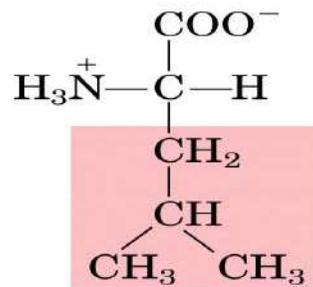
Glycine



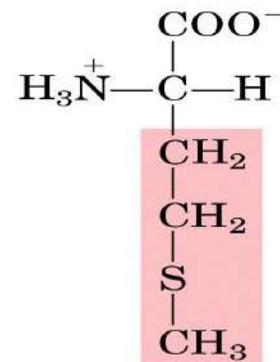
Alanine



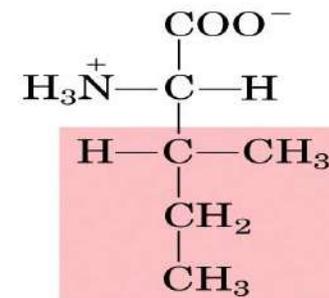
Valine



Leucine

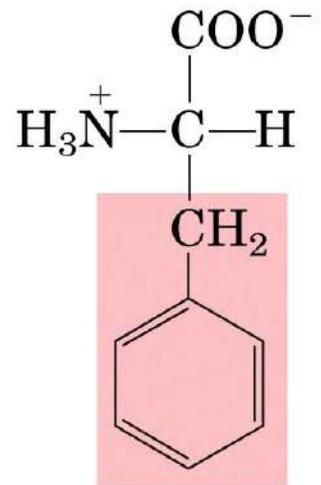


Methionine

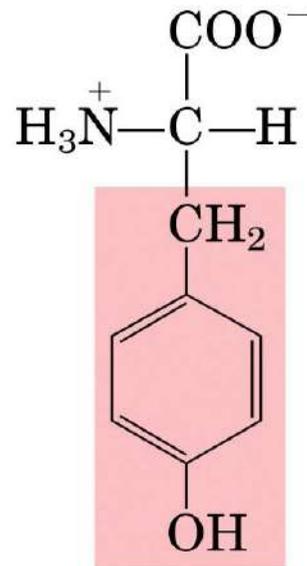


Isoleucine

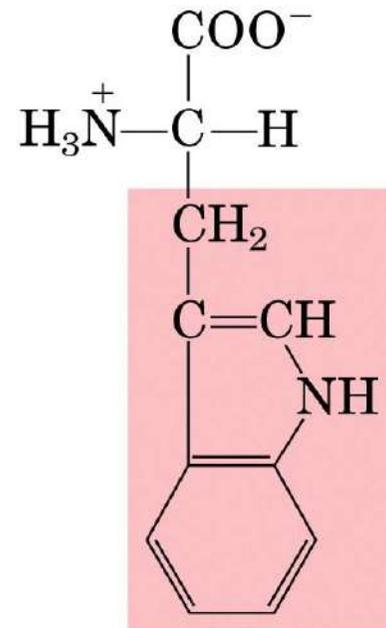
Aromatic R groups



Phenylalanine



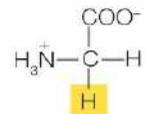
Tyrosine



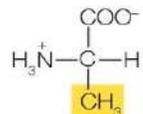
Tryptophan

GLI AMMINOACIDI CON GRUPPO R APOLARE

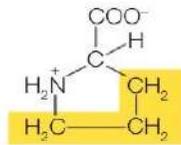
Amminoacidi con gruppo R apolare alifatico



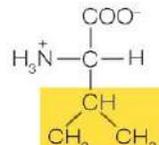
glicina



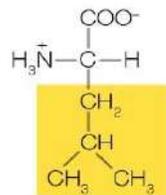
alanina



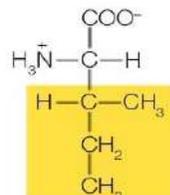
prolina



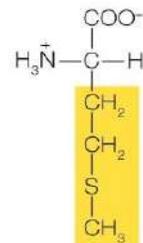
valina



leucina

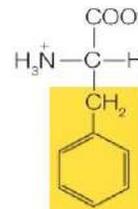


isoleucina

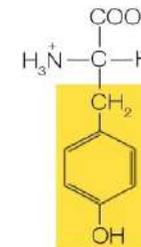


metionina

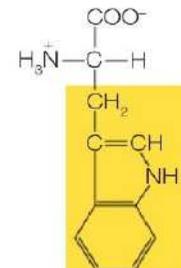
Amminoacidi con gruppo R apolare aromatico



fenilalanina

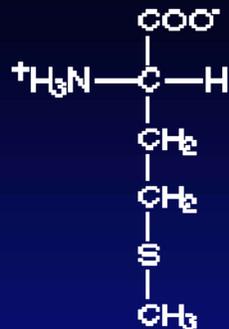
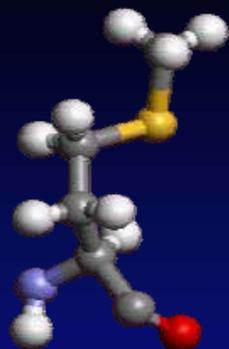
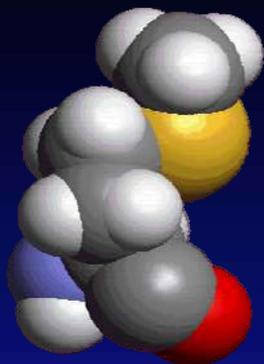


tirosina

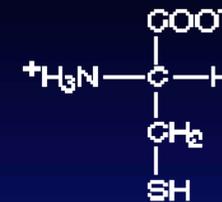
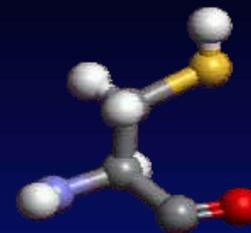
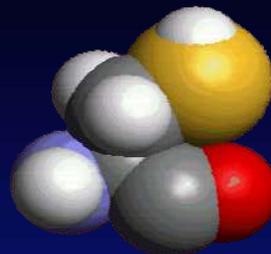


triptofano

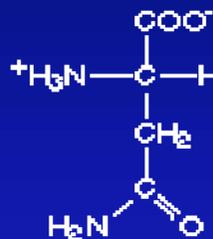
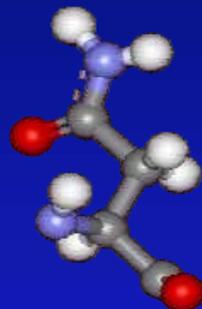
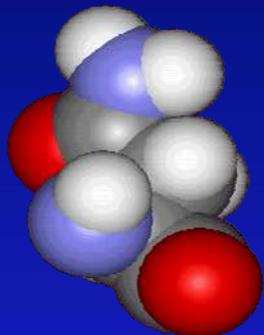
I GRUPPI R POLARI, NON CARICHI



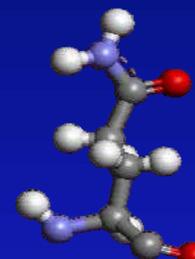
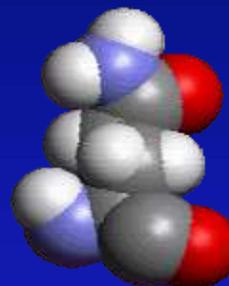
Met



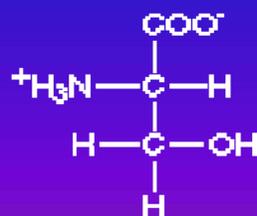
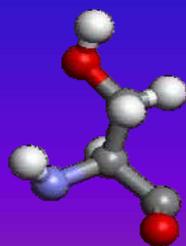
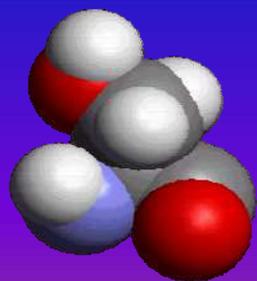
Cys



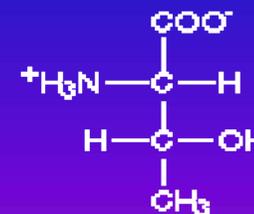
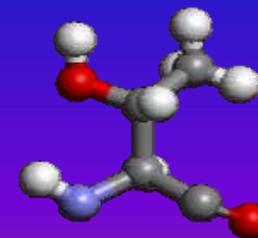
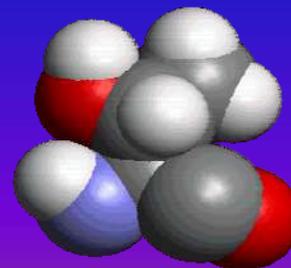
Asn



Gln



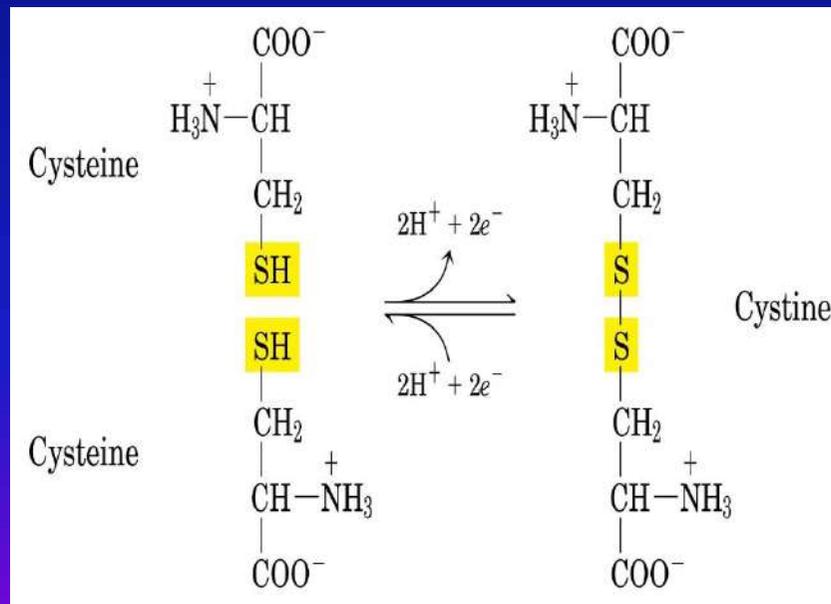
Ser



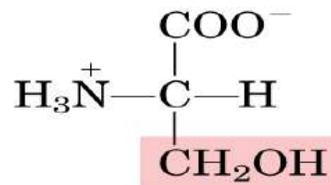
Thr

GLI AMMINOACIDI CON GRUPPO R POLARE NON CARICO

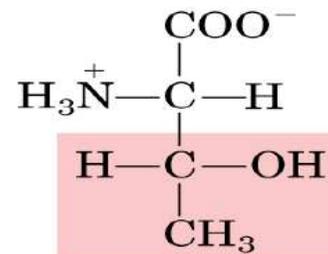
Serina, treonina, cisteina, asparagina, glutammina, metionina sono polari, ma privi di carica elettrica, sono più idrofilici degli apolari e formano **legami H** con l'acqua, la **cisteina** forma ponti disolfuro, **asparagina** e **glutammina** sono le ammidi dell'**acido aspartico** e dell'**acido glutammico**.



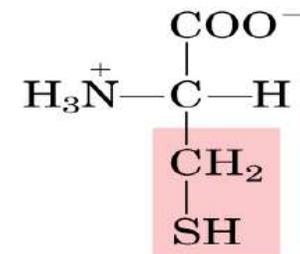
Polar, uncharged R groups



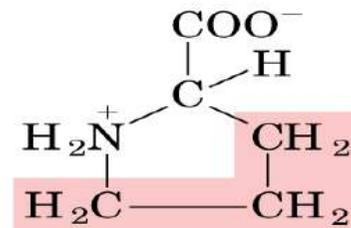
Serine



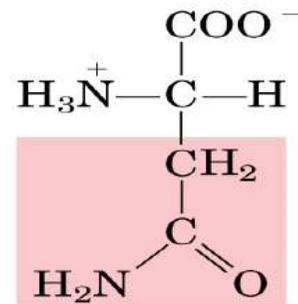
Threonine



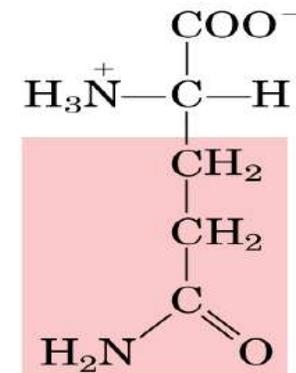
Cysteine



Proline

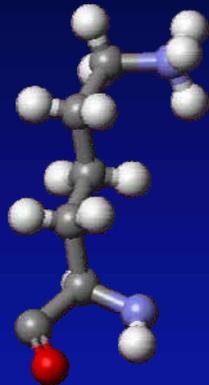
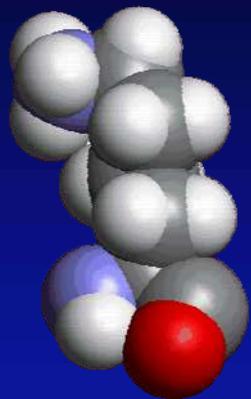


Asparagine

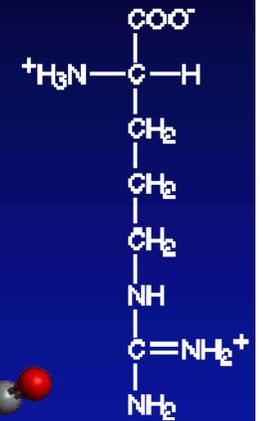
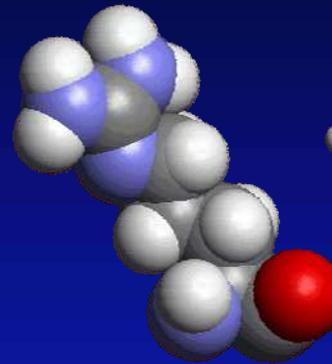


Glutamine

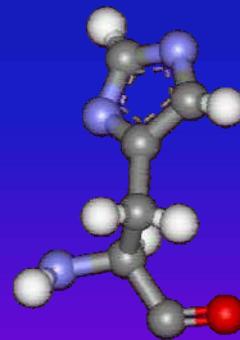
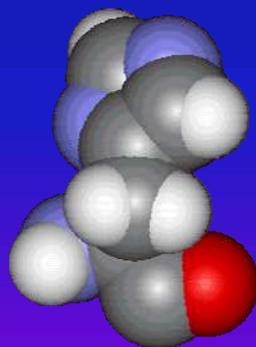
I GRUPPI R CARICHI POSITIVAMENTE



Lys



Arg



His

GLI AMMINOACIDI CON GRUPPO CARICO POSITIVAMENTE, BASICO

Lisina, arginina, istidina

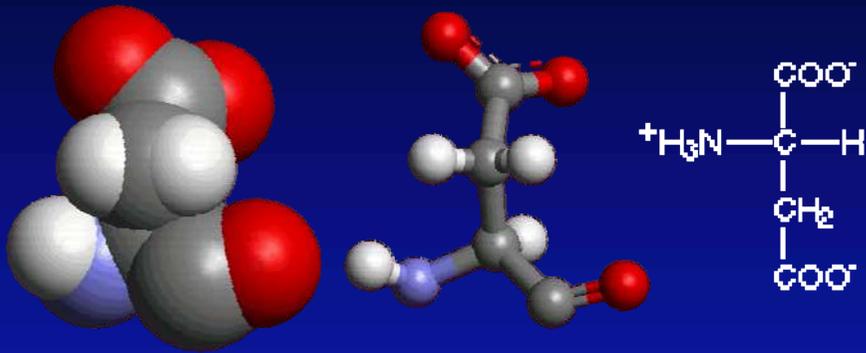
sono accettori di protoni,

hanno carica positiva a **pH 7**,

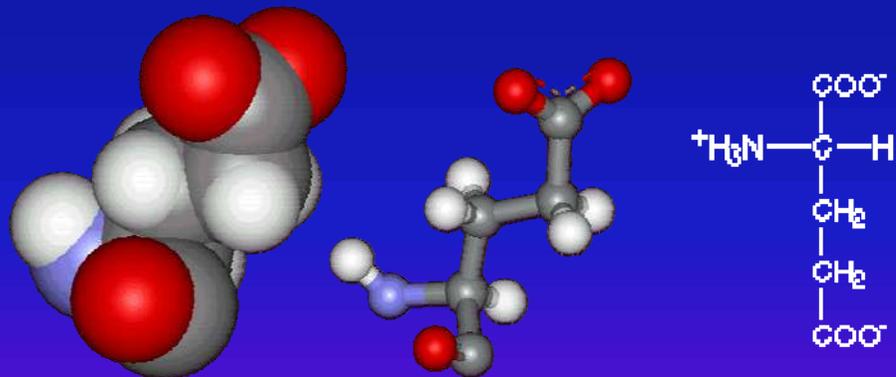
l'**istidina** contiene un gruppo imidazolico (**pK_a 6**) che, quando fa parte di una proteina, può avere carica positiva o essere neutra, influenzando il suo potere tamponante,

l'**arginina** ha un gruppo guanidinico carico positivamente.

I GRUPPI R CARICHI NEGATIVAMENTE



Asp



Glu

GLI AMMINOACIDI CON GRUPPO CARICO NEGATIVAMENTE, ACIDO

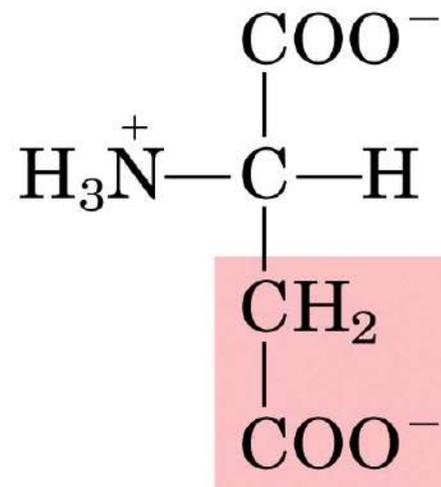
Acido aspartico, acido glutammico

sono donatori di protoni,

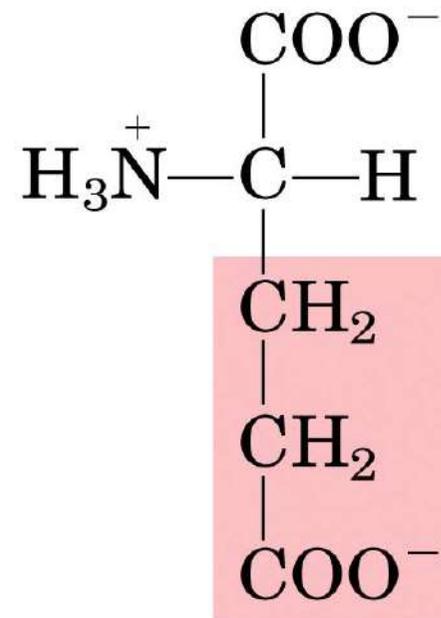
hanno carica negativa a **pH 7**,

da questi amminoacidi derivano l'**asparagina** e la **glutammina**.

Negatively charged R groups



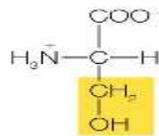
Aspartate



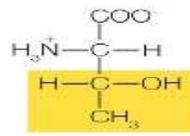
Glutamate

GLI AMMINOACIDI CON GRUPPO R POLARE

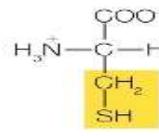
Amminoacidi con gruppo R polare neutro



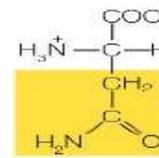
serina



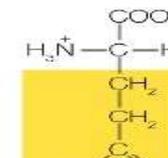
treonina



cisteina

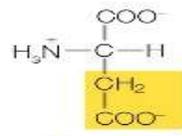


asparagina

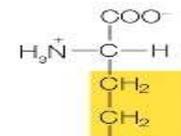


glutamina

Amminoacidi con gruppo R polare carico negativamente

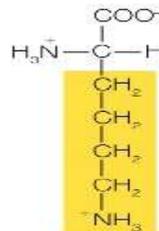


acido aspartico

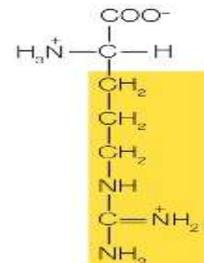


acido glutammico

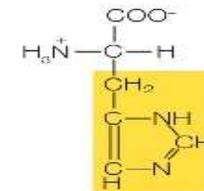
Amminoacidi con gruppo R polare carico positivamente



lisina



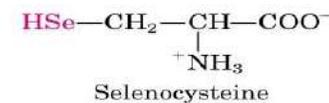
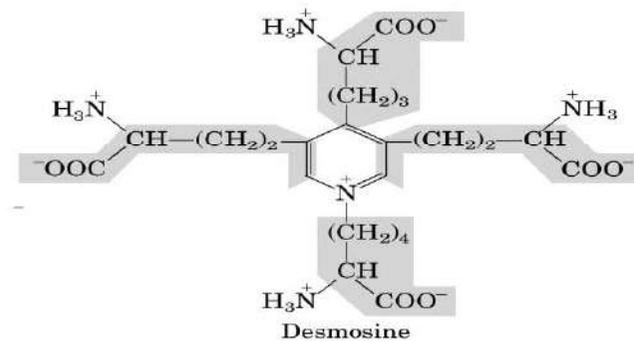
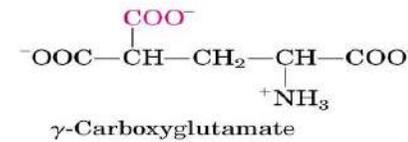
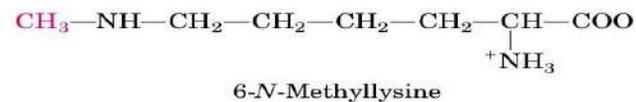
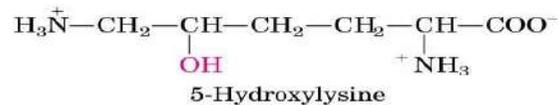
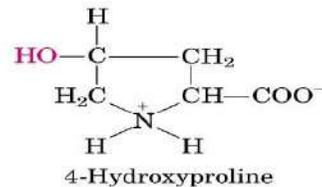
arginina



istidina

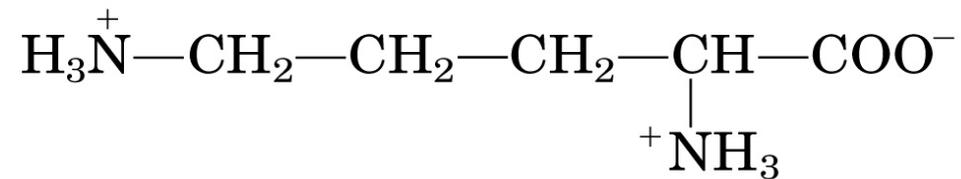
GLI AMMINOACIDI NON STANDARD

Alcuni amminoacidi possono occasionalmente essere modificati chimicamente, dopo essere stati assemblati nelle proteine.

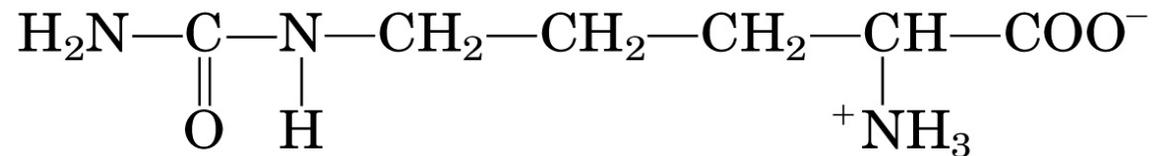


GLI AMMINOACIDI NON STANDARD

L'**ornitina** e la **citrullina** sono intermedi fondamentali nella biosintesi dell'arginina e nel ciclo dell'urea.



Ornithine



Citrulline

GLI AMMINOACIDI ESSENZIALI E NON ESSENZIALI

Amminoacidi essenziali: l'organismo non è in grado di sintetizzarli e sono assunti con la dieta,

amminoacidi non essenziali: l'organismo è in grado di sintetizzarli partendo da composti più semplici,

gli **amminoacidi essenziali** includono tutti gli amminoacidi **idrofobici** (escluse la **glicina** e l'**alanina**), gli amminoacidi **basici** e quelli contenenti **S**:

valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, tirosina (che nei mammiferi deriva dalla **fenilalanina**), **triptofano, metionina, lisina e istidina**;

arginina, cisteina e tirosina sono considerati amminoacidi essenziali solo durante la fase giovanile, quando l'accrescimento è superiore alla capacità biosintetica dell'organismo e alla quantità di AA recuperabili dalla degradazione proteica.

RAPPRESENTAZIONE DEGLI AMMINOACIDI SECONDO LA CONVENZIONE DI FISHER

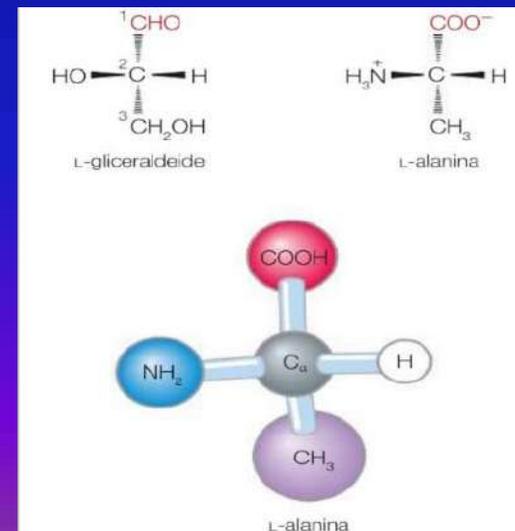
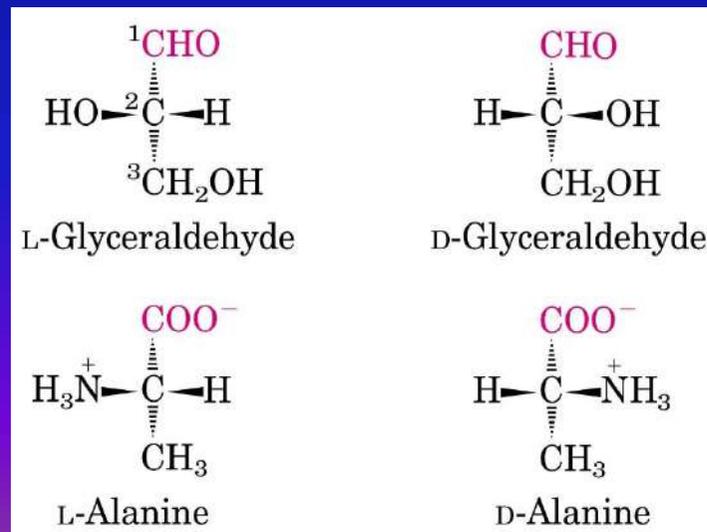
La **stereochemica degli amminoacidi** si basa sulla configurazione relativa del C_α rispetto alla **gliceraldeide**, tutti gli amminoacidi naturali, ad eccezione della **glicina** perché è achirale, sono **L-amminoacidi**, il che significa che la loro configurazione è simile alla **L-gliceraldeide**;

nello specifico:

la **catena principale** (il gruppo carbossilico e il gruppo R) è posizionata verticalmente con il gruppo carbossilico (più ossidato) in alto, questi gruppi sono sotto il piano del foglio,

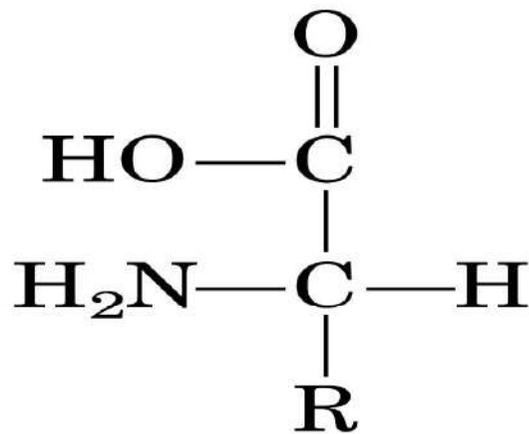
i **legami disposti orizzontalmente** (il gruppo amminico e l'idrogeno) sono convenzionalmente visti come sporgenti verso chi osserva,

il gruppo amminico è posizionato a sinistra per gli **L-amminoacidi** e a destra per i **D-amminoacidi**, l'**H** è sempre opposto al gruppo amminico.

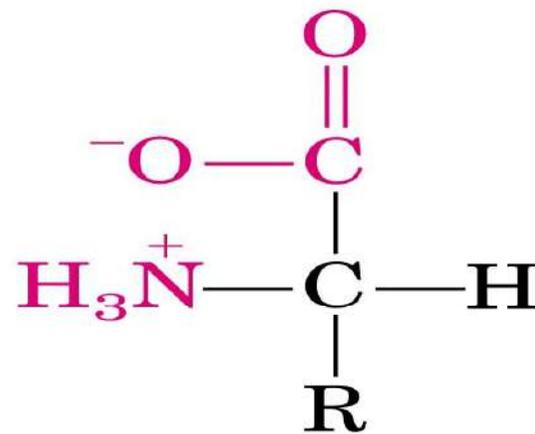


IL COMPORTAMENTO ACIDO-BASE DEGLI AMMINOACIDI

Nelle soluzioni acquose vicine alla neutralità (pH 6-7), gli amminoacidi si ionizzano.



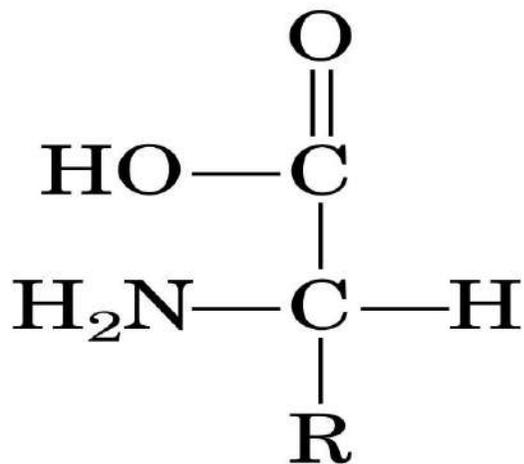
Nonionic
form



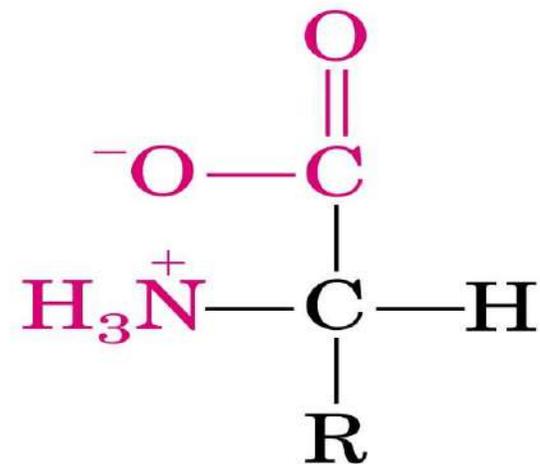
Zwitterionic
form

IL COMPORTAMENTO ACIDO-BASE DEGLI AMMINOACIDI

LO SWITTERIONE: è una forma ionica dipolare di un amminoacido che si forma in seguito alla cessione di uno ione H^+ dal gruppo α carbossilico al gruppo α amminico; essendo presenti entrambe le cariche, **la carica netta è zero.**



Nonionic
form



Zwitterionic
form

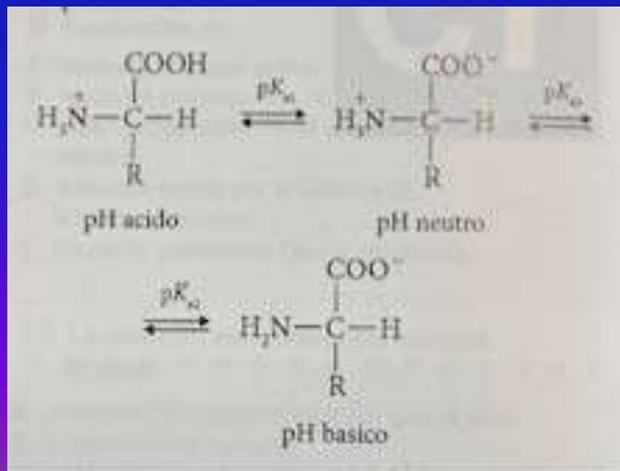
IL PUNTO ISOELETTRICO DI UN AMMINOACIDO

Il punto isoelettrico (**pI**) di un amminoacido è il **pH** al quale la sua carica netta è zero, ovvero quando si trova principalmente nella forma di **zwitterione** (sale interno),

essa è una molecola che ha sia una carica positiva che una negativa, ma **la somma delle due è zero**;

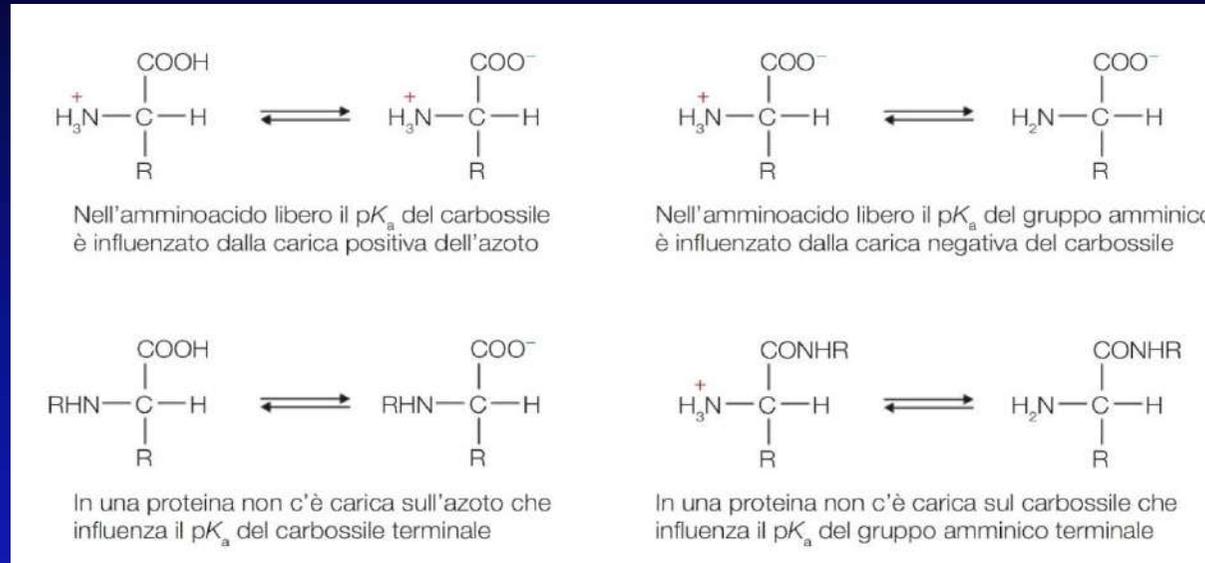
esso è il **pH** in cui la molecola è **elettricamente neutra**,

$$pI = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2}$$



Properties and Conventions Associated with the Standard Amino Acids									
Amino acid	Abbreviated names	<i>M_r</i>	<i>pK_a</i> values			pI	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%)	
			<i>pK₁</i> (—COOH)	<i>pK₂</i> (—NH ₃ ⁺)	<i>pK_R</i> (R group)				
Nonpolar, aliphatic R groups									
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	-0.4	7.2	
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8	
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6	
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1	
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3	
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3	
Aromatic R groups									
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9	
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	-1.3	3.2	
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89	-0.9	1.4	
Polar, uncharged R groups									
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	-0.8	6.8	
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2	
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87	-0.7	5.9	
Cysteine	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9	
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41	-3.5	4.3	
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65	-3.5	4.2	
Positively charged R groups									
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	-3.9	5.9	
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	-3.2	2.3	
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	-4.5	5.1	
Negatively charged R groups									
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	-3.5	5.3	
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	-3.5	6.3	

CONFRONTO TRA pK_a DEGLI AMMINOACIDI LIBERI RISPETTO A QUELLI LEGATI NELLE PROTEINE



La vicinanza tra gruppo carbossilico e amminico negli amminoacidi liberi influenza i rispettivi valori di pK_a rendendo più **acido** il primo e più basico il **secondo**;

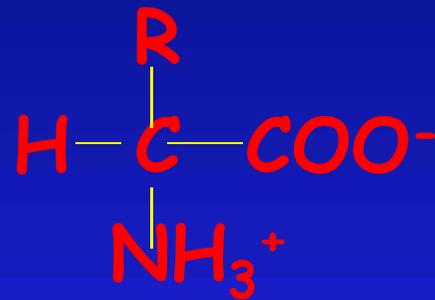
negli amminoacidi liberi il gruppo carbossile è influenzato dalla carica positiva sull'**N** che produce un **effetto induttivo** con **aumento dell'acidità** del carbossile, rendendo più facile la sua deprotonazione (abbassando il pK_a del carbossile)

e il gruppo amminico è influenzato dalla carica negativa sul carbossilato che produce un **effetto induttivo** con **aumento della basicità** dell'ammina, rendendo più facile la sua protonazione (alzando il pK_a dell'ammina).

UNA **MOLECOLA ANFOTERA** SI COMPORTA COME UNA
BASE IN PRESENZA DI UN ACIDO E COME UN ACIDO IN
PRESENZA DI UNA BASE.

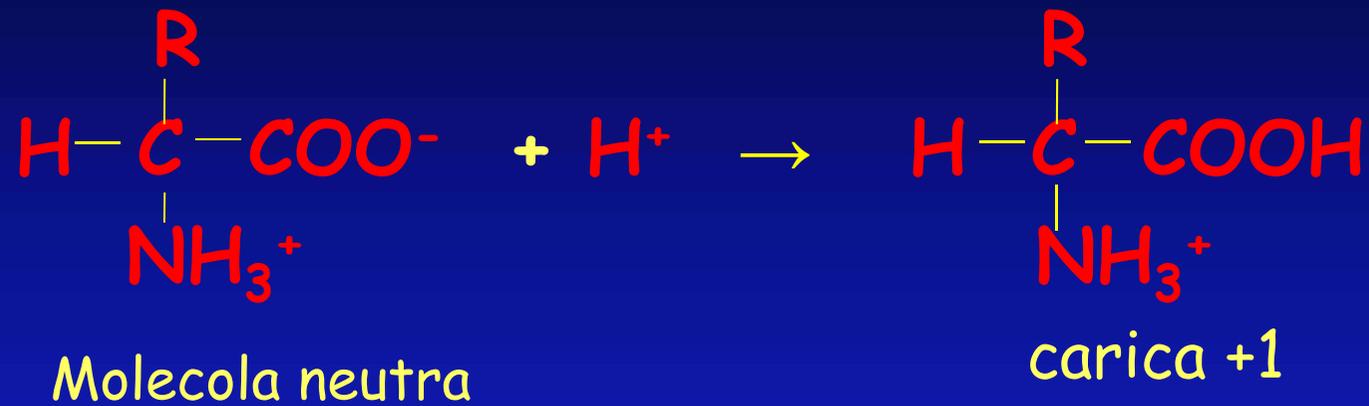
**Gli amminoacidi sono molecole anfotere:
possono agire sia da acidi, sia da basi**

In soluzioni acquose attorno a **pH 6-7**,
la maggior parte degli amminoacidi sono **ioni dipolari neutri**:



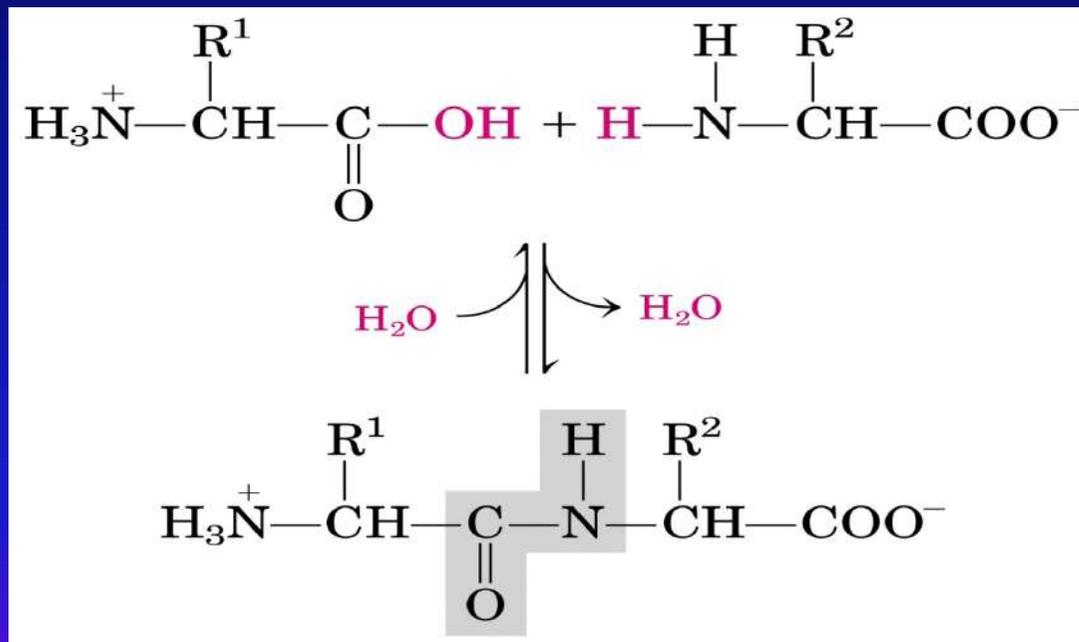
Molecola neutra

In una **soluzione acida**, il gruppo carbossilato accetta uno ione idrogeno e la carica elettrica dell'amminoacido passa **da 0 a +1**



IL LEGAME PEPTIDICO

La formazione del legame peptidico è **endoergonica**
 $\delta G = 21 \text{ KJ/Mole}$



2 AMMINOACIDI: UN DIPEPTIDE

3 AMMINOACIDI: UN TRIPEPTIDE

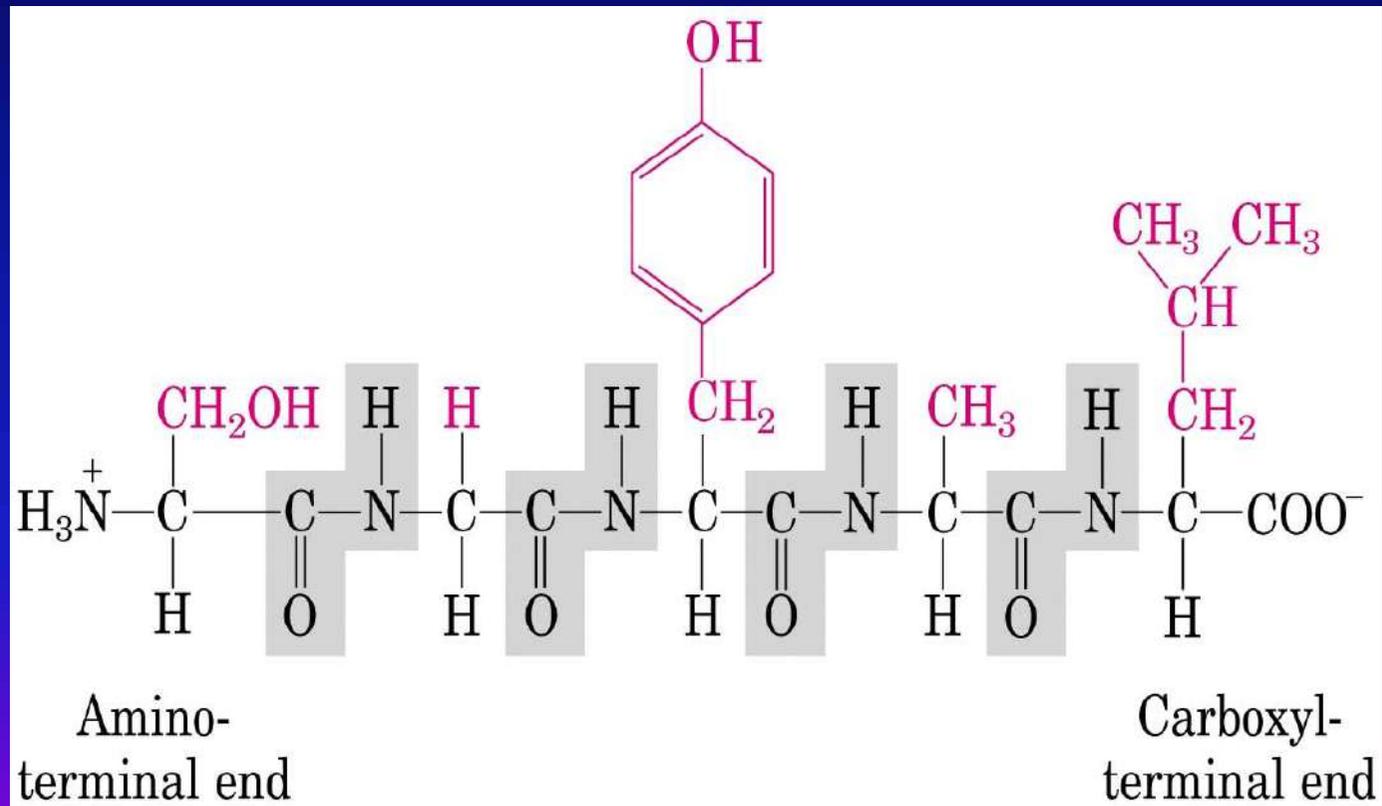
4 AMMINOACIDI: UN TETRAPEPTIDE

5 AMMINOACIDI: UN PENTAPEPTIDE

6 AMMINOACIDI: UN ESAPEPTIDE

ECC.

LA STRUTTURA DI UN PENTAPEPTIDE



TERMINOLOGIA

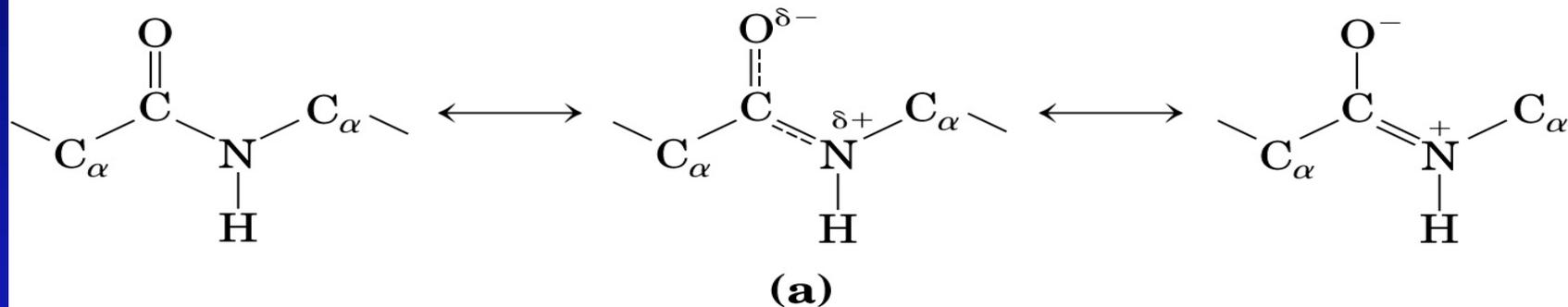
- **I residui:**
sono le unità amminoacidiche presenti in un peptide, ogni residuo è un amminoacido che ha perso un protone dal suo gruppo amminico e un ossidrile dal suo gruppo carbossilico,
- **un oligopeptide:** termine usato quando il n° di AA è inferiore a 20,
- **un polipeptide:** termine usato quando il n° di AA è inferiore a 60,
- il termine **proteina** viene usato quando il n° di AA varia da 60 a oltre 10000.

Tabella 6.2. Composizione in amminoacidi di due proteine

<i>Amminoacido</i>	<i>Numero di residui per molecola proteica</i>	
	<i>Citocromo c umano</i>	<i>Chimotripsinogeno bovino</i>
Ala	6	22
Arg	2	4
Asn	5	15
Asp	3	8
Cys	2	10
Gln	2	10
Glu	8	5
Gly	13	23
His	3	2
Ile	8	10
Leu	6	19
Lys	18	14
Met	3	2
Phe	3	6
Pro	4	9
Ser	2	28
Thr	7	23
Trp	1	8
Tyr	5	4
Val	3	23
Totale	104	245

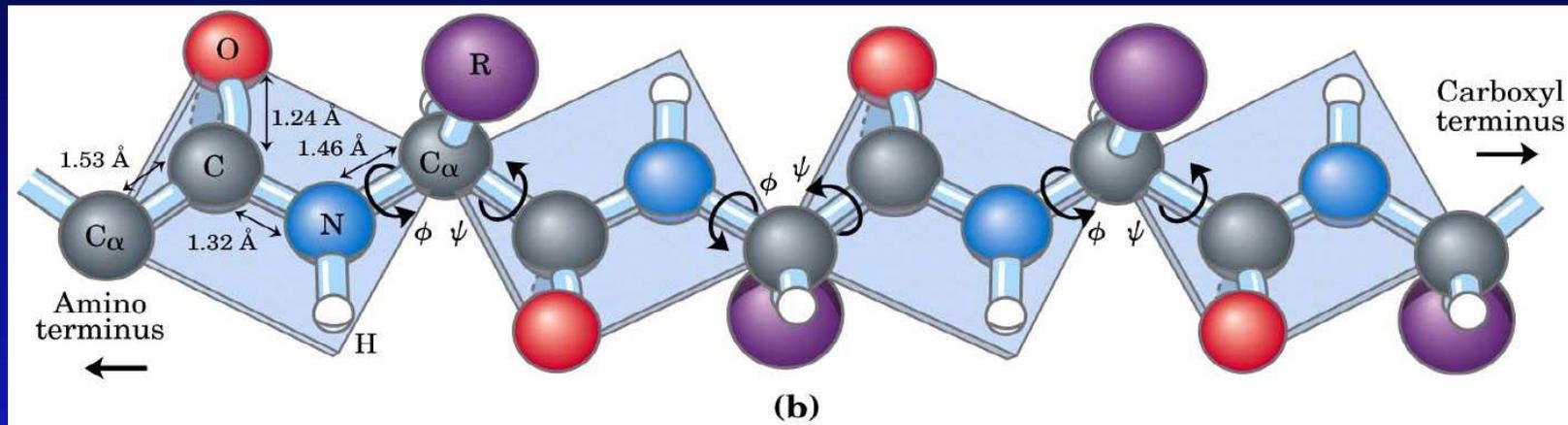
IL LEGAME PEPTIDICO

The carbonyl oxygen has a partial negative charge and the amide nitrogen a partial positive charge, setting up a small electric dipole. Virtually all peptide bonds in proteins occur in this trans configuration; an exception is noted in Figure 6–8b.



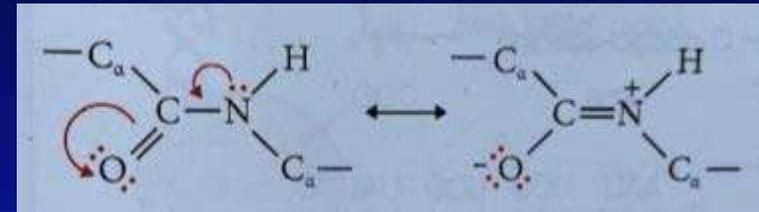
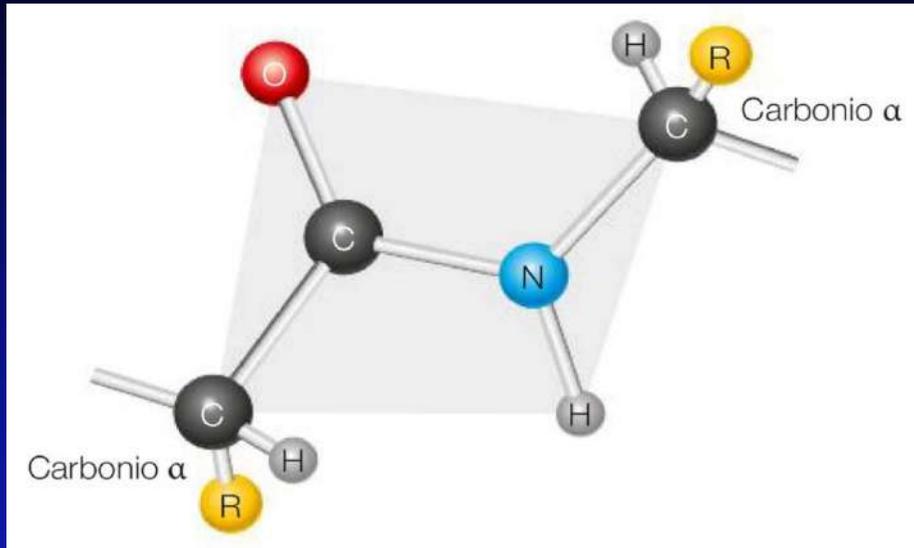
- la coppia di elettroni del gruppo carbonilico è spostata parzialmente verso l'O,
- la coppia non condivisa sull'atomo di N è spostata parzialmente verso il C carbonilico;
- il legame è polare, planare e stabilizzato per risonanza,
- è infatti possibile rappresentare la molecola con più strutture limite diverse (due) per quanto riguarda la distribuzione degli elettroni.

I GRUPPI PEPTIDICI SONO PLANARI E RIGIDI



- La risonanza conferisce al legame peptidico il carattere di **parziale doppio legame**,
- gli atomi di **C_α** sono ai lati opposti del legame peptidico che li tiene uniti (gruppo peptidico trans),
- **C-N = 1,49 Å**
- **C=O = 1,27 Å**.

GEOMETRIA PLANARE DEL LEGAME PEPTIDICO



Le 2 forme limite

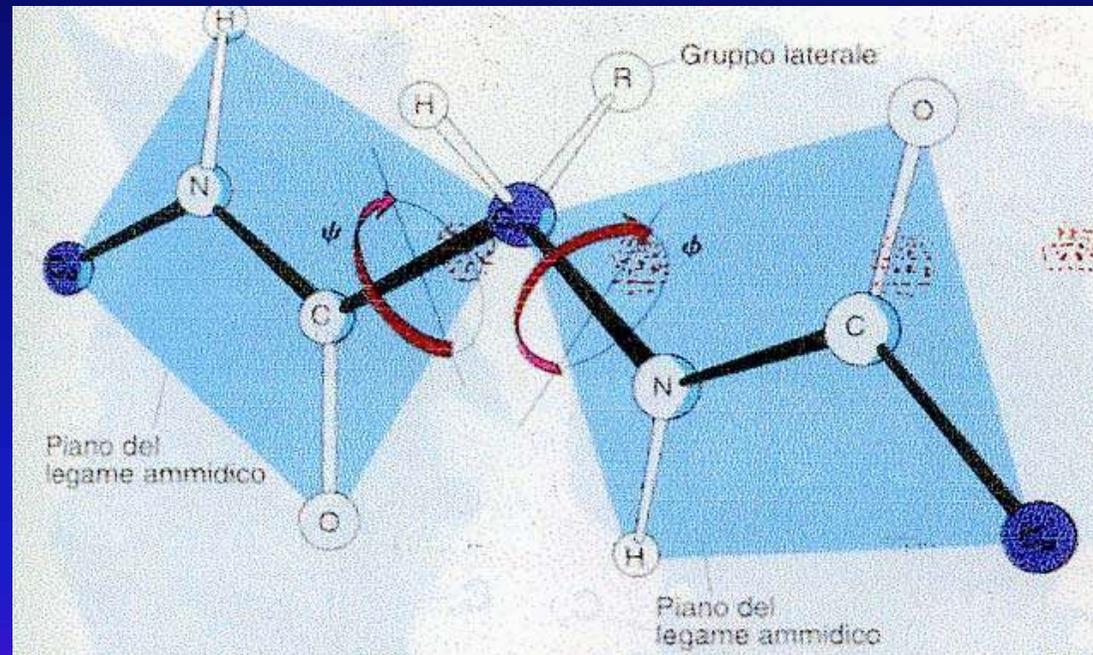
Con la **delocalizzazione elettronica**

non è possibile la rotazione intorno al legame **C-N**,

C e **N** sono ibridati **sp²** e complanari per permettere l'allineamento degli orbitali **p**,

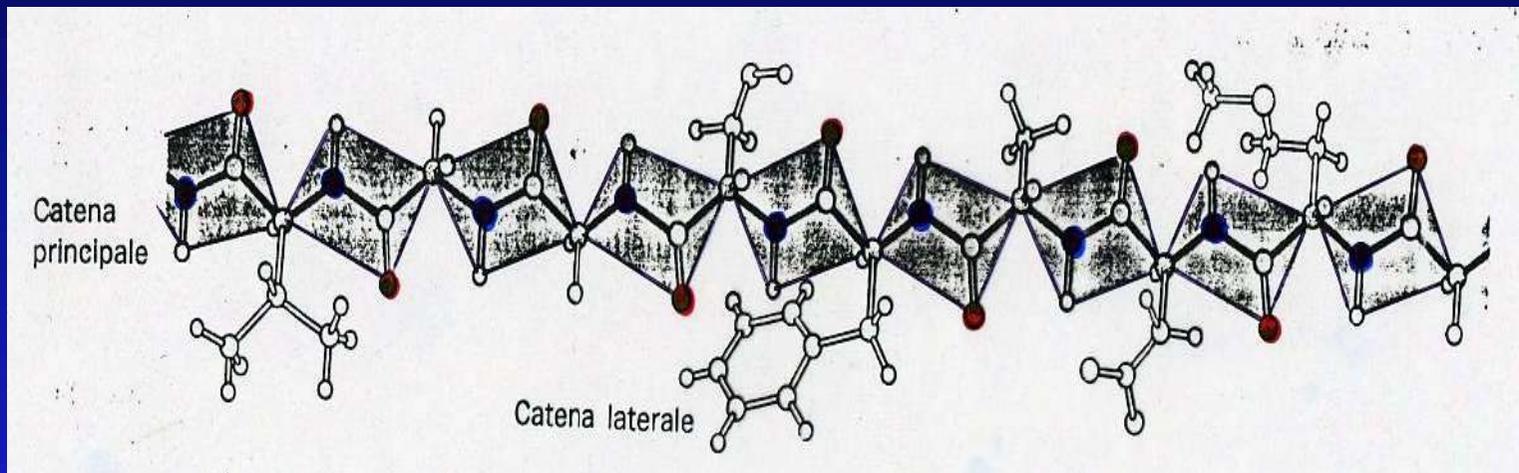
i 6 atomi, il **C**, l'**N**, l'**O** del legame ammidico, l'**H** legato all'**N** e i 2 **C_α** (**alfa**) giacciono sullo stesso piano.

LA ROTAZIONE ATTORNO AI LEGAMI DI UNA CATENA POLIPEPTIDICA



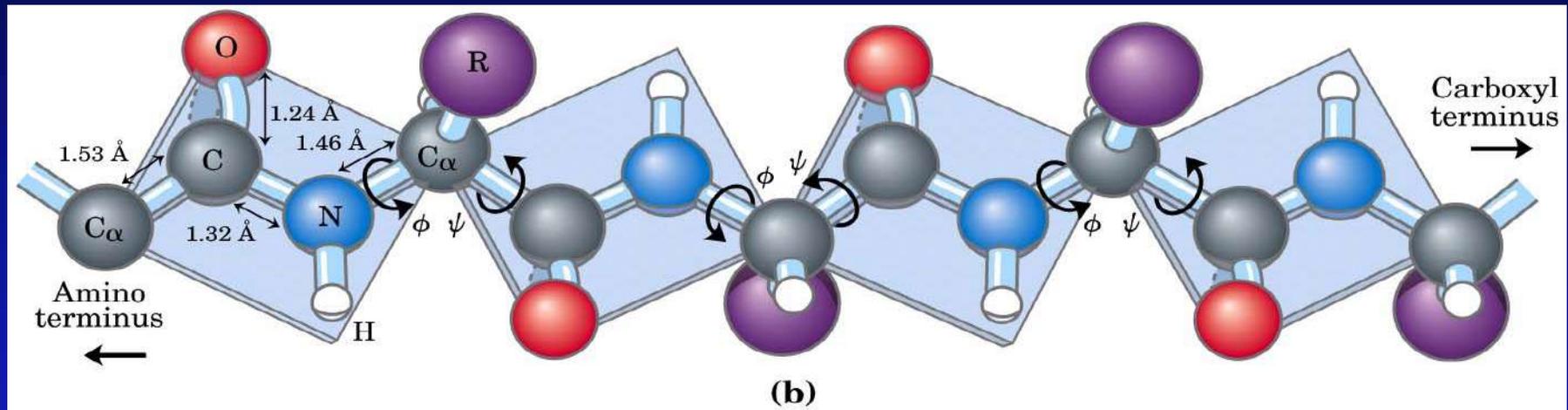
Non c'è possibilità di rotazione tra carbonio carbonilico e azoto.

LA CATENA POLIPEPTIDICA



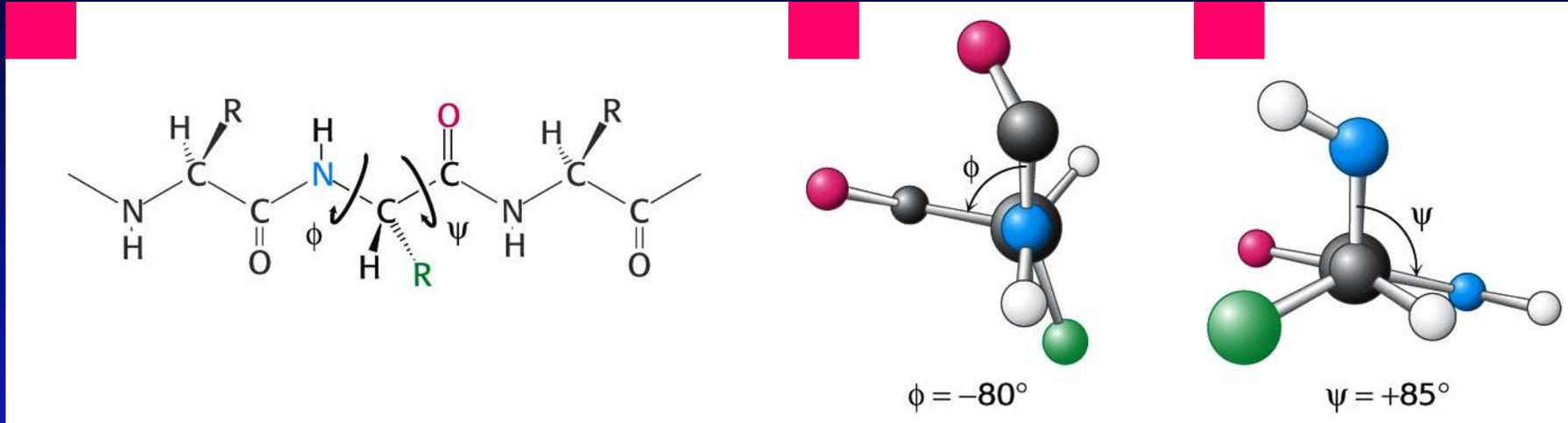
Essa é una sequenza di gruppi peptidici **planari e rigidi**.

GLI ANGOLI DI TORSIONE DELLO SCHELETRO POLIPEPTIDICO



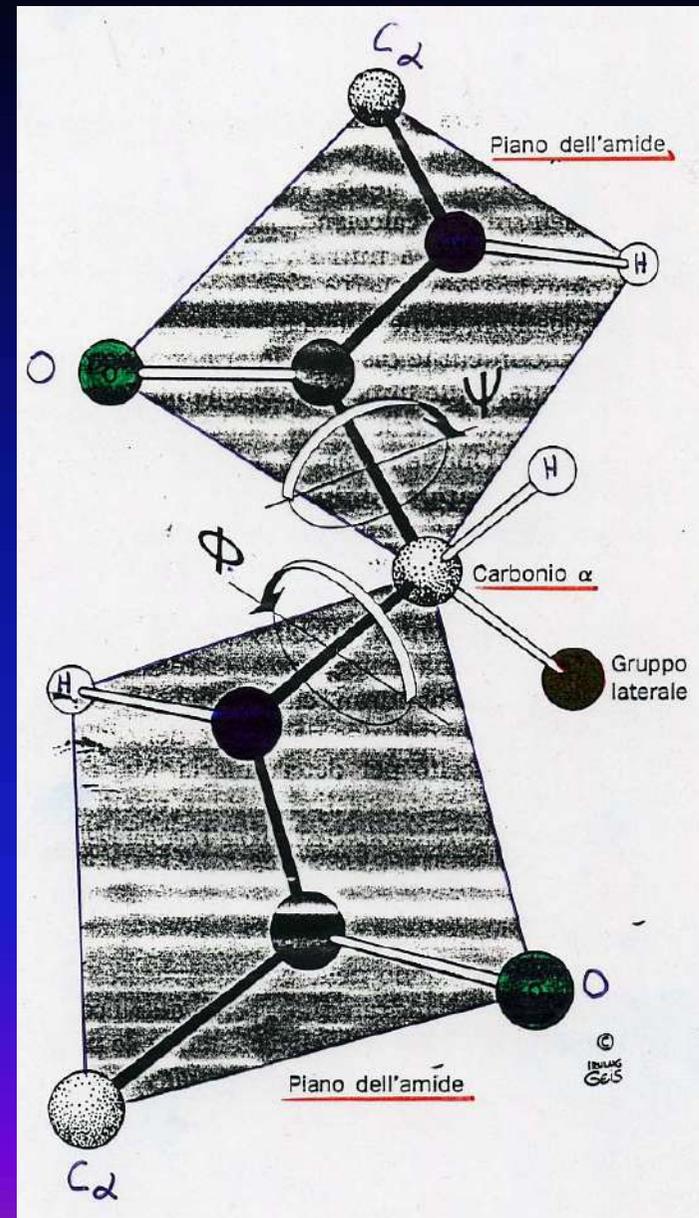
- ϕ (FI) = ANGOLO DI ROTAZIONE INTORNO AL LEGAME C α -N
- ψ (PSI) = ANGOLO DI ROTAZIONE INTORNO AL LEGAME C α -C.

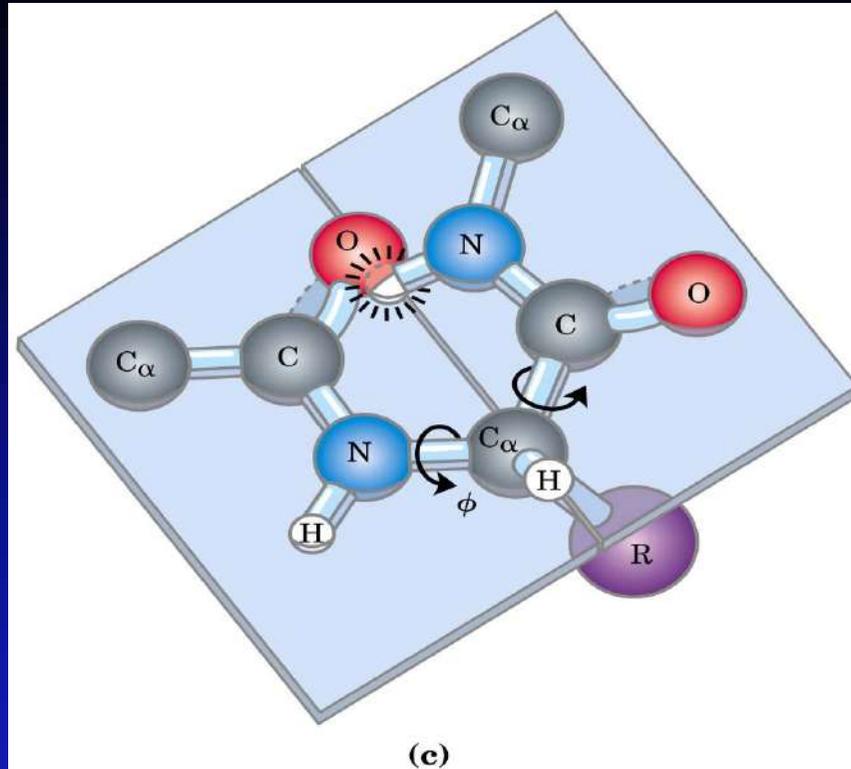
GLI ANGOLI Φ (FI) E Ψ (PSI) DETERMINANO LA STRUTTURA SECONDARIA



La **conformazione** di una catena polipeptidica è determinata dalla coppia di angoli ϕ e ψ di ciascun legame, essi possono ruotare fino a quando i rispettivi **gruppi R** non entrano in collisione fra loro.

GLI ANGOLI DI TORSIONE DELLO SCHELETRO POLIPEPTIDICO

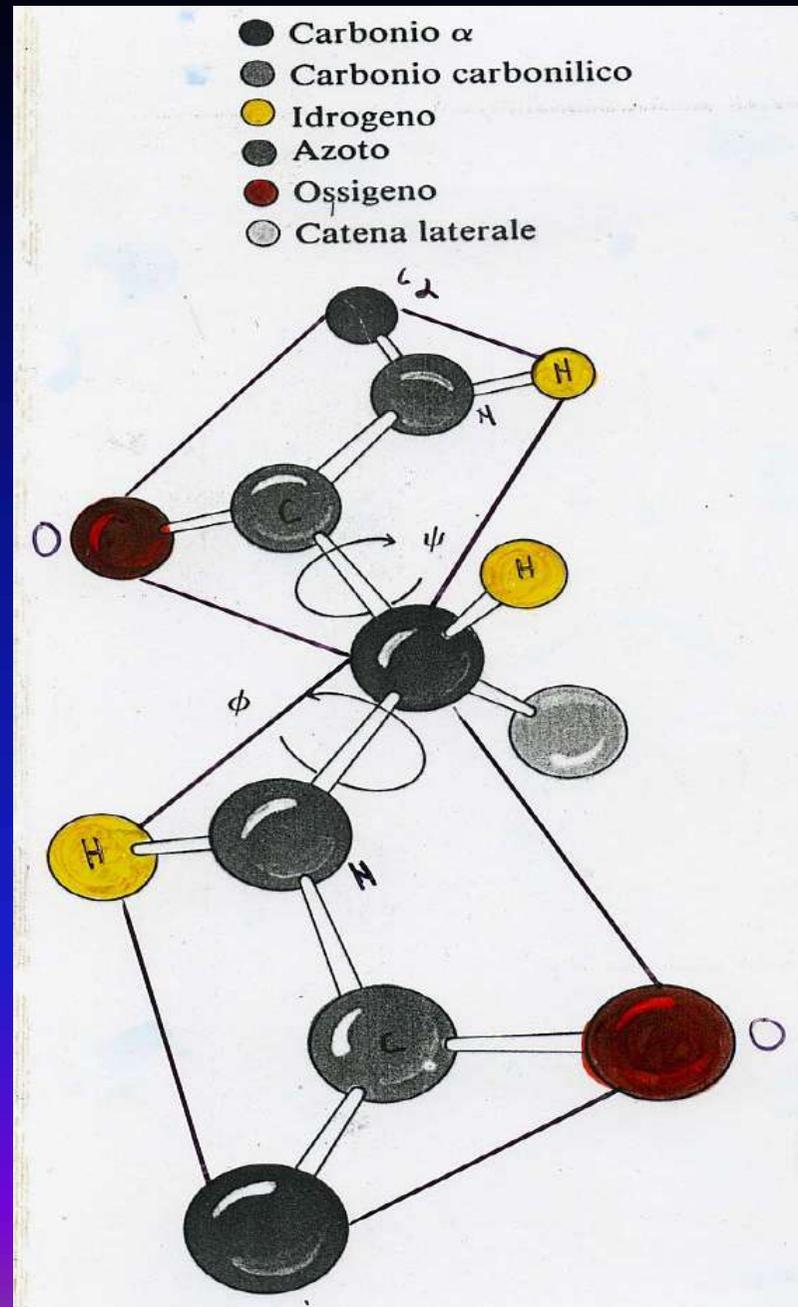




Per convenzione gli angoli φ (fi) e ψ (psi) sono definiti pari a 0° quando i due legami peptidici che fiancheggiano un atomo di C_α sono sullo **stesso piano**,

questa **conformazione** è **proibita** da sovrapposizioni steriche, quindi è puramente teorica.

GLI ANGOLI DI TORSIONE DELLO SCHELETRO POLIPEPTIDICO



LA FORMAZIONE DEL LEGAME PEPTIDICO IN VIVO

L'ATTIVAZIONE DEL GRUPPO CARBOSSILICO DELL'AMMINOACIDO

Nelle cellule (ambiente acquoso e pH neutro) il **gruppo carbossilico** è dissociato,

quello **amminico** è protonato;

per formare il legame peptidico si deve **attivare** il gruppo carbossilico

trasformandolo in un derivato acilico

affinché possa subire **l'attacco nucleofilo** dal gruppo amminico di un altro AA,

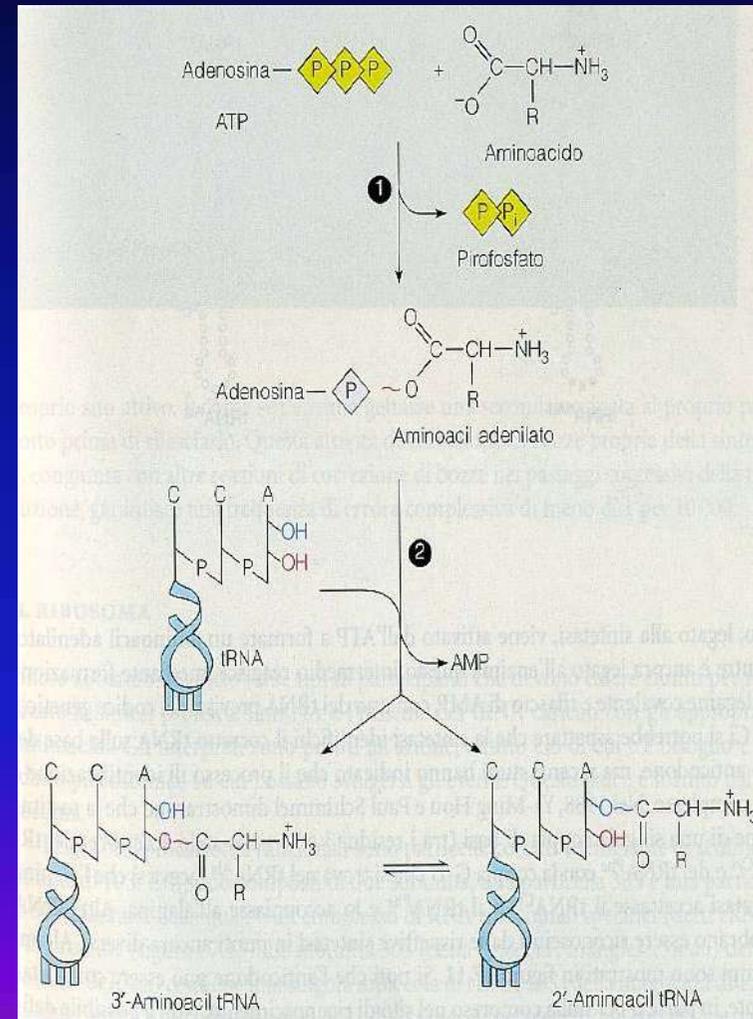
la forma attivata dell'amminoacido è l'**amminoacil-tRNA**

con la formazione preliminare di un **acilfosfato**,

cioè un estere tra il gruppo **carbossilico** e il gruppo **alcolico** del ribosio.

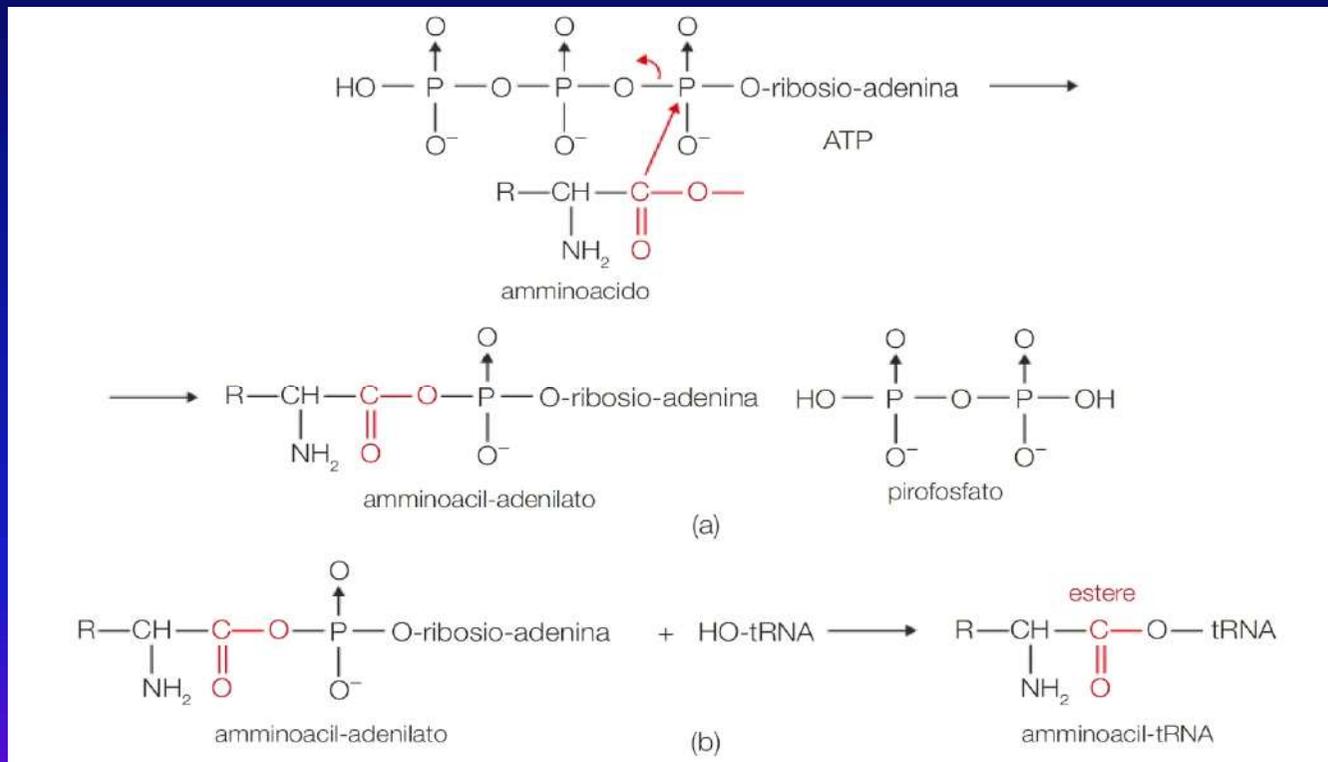
IN VIVO GLI AMMINOACIDI SONO ATTIVATI E LEGATI DA SINTETASI SPECIFICHE A tRNA SPECIFICI

La formazione degli
amminoacil-tRNA
 ad opera delle
amminoacil tRNA sintetasi:

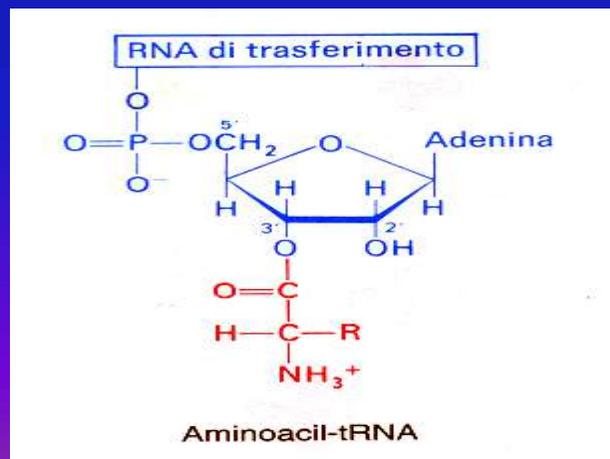
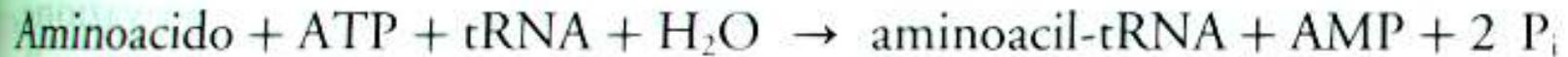
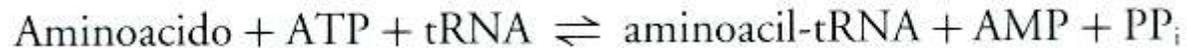


LA FORMAZIONE DELL'AMMINOACIL-tRNA

L'acilfosfato amminoacil-adenilato è un'anidride mista.

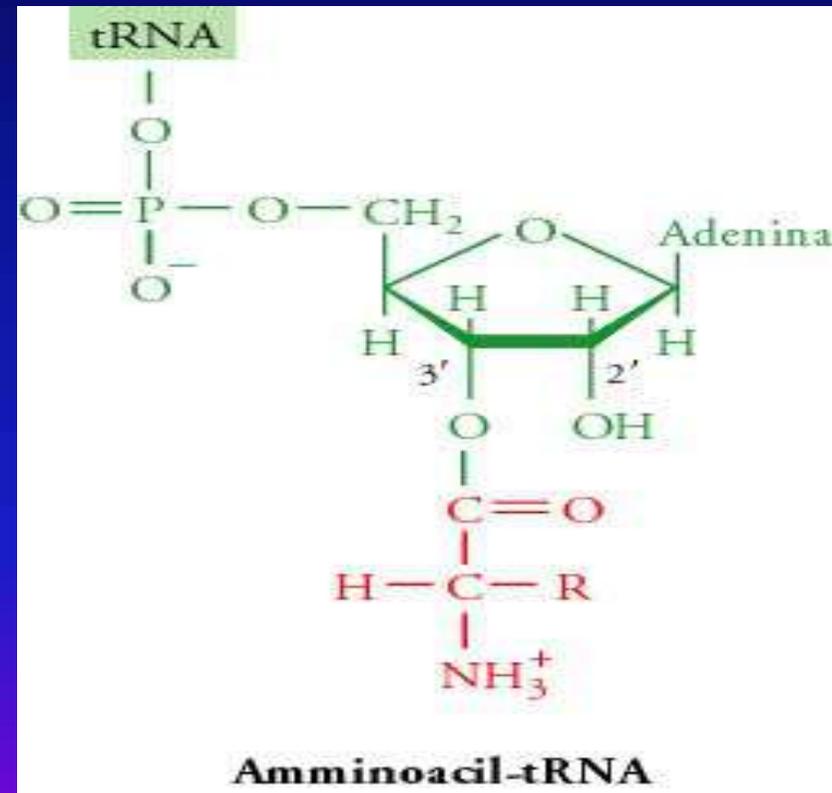


L'ATTIVAZIONE DEGLI AMMINOACIDI



L'AMMINOACIL-tRNA

L'amminoacido può reagire sia con il gruppo ossidrilico 2', sia con il 3';
sembra in grado di passare dall'uno all'altro di questi siti.



L'AMMINOACIL-tRNA SINTETASI

table 27-8

Two Classes of Aminoacyl-tRNA Synthetases*

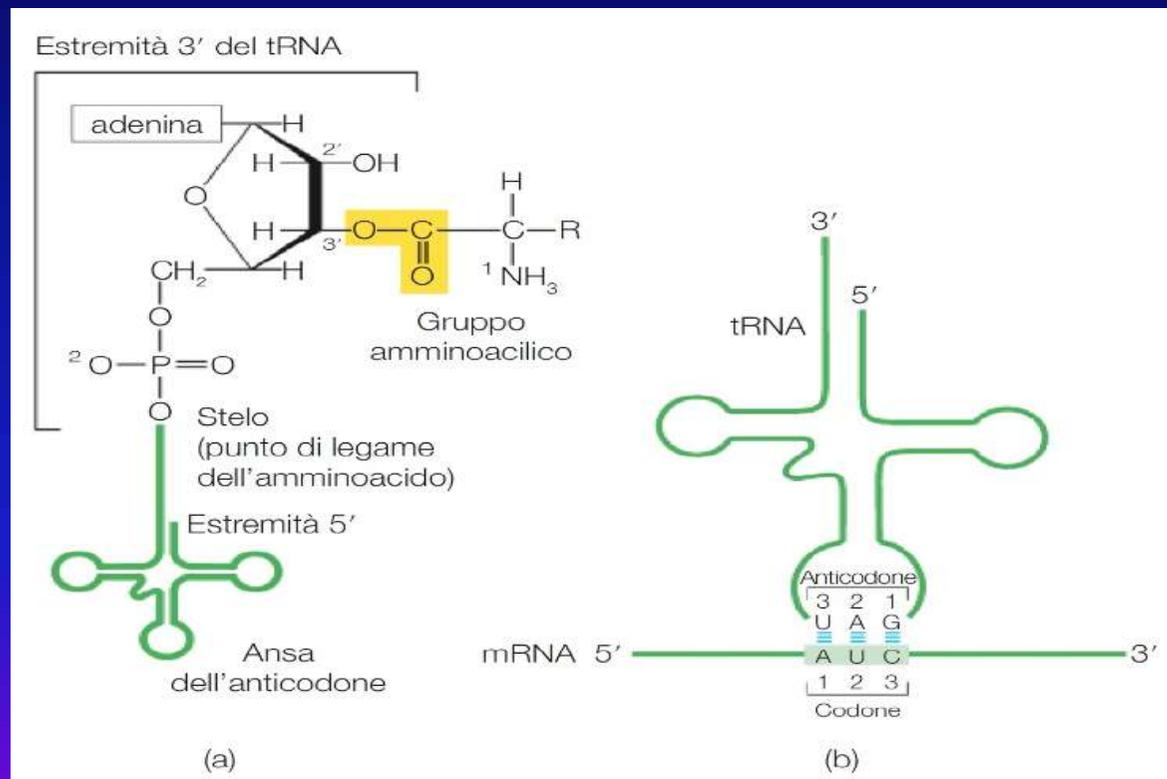
Class I	Class II
Arg	Ala
Cys	Asn
Gln	Asp
Glu	Gly
Ile	His
Leu	Lys
Met	Phe
Trp	Pro
Tyr	Ser
Val	Thr

*Here, Arg represents arginyl-tRNA synthetase, and so forth. The classification applies to all organisms for which tRNA synthetases have been analyzed and is based on protein structural distinctions and on the mechanistic distinction outlined in Figure 27-16.

L'amminoacil-tRNA sintetasi è un **enzima condensante**;

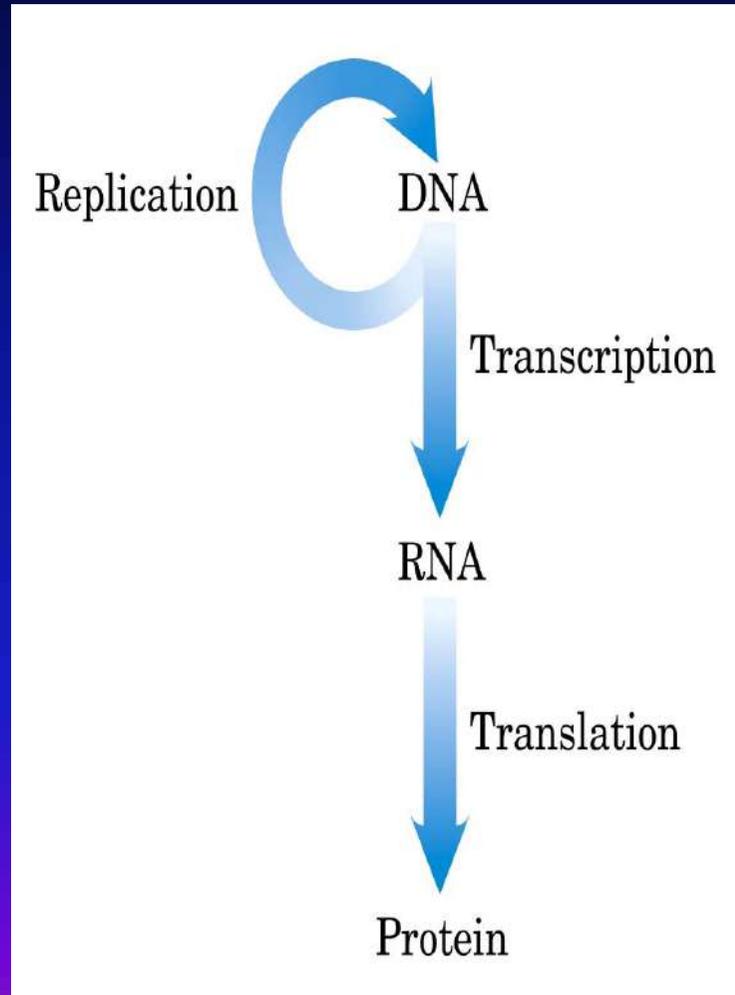
per ciascun amminoacido esiste almeno un **enzima attivante specifico** e almeno un **tRNA specifico**.

(a) LA STRUTTURA DELL'AMMINOACIL-t-RNA
(B) L'ANTICODON DEL tRNA E' COMPLEMENTARE AL CODON DELL'mRNA E SI APPAIA A ESSO DURANTE LA SINTESI PROTEICA



IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA

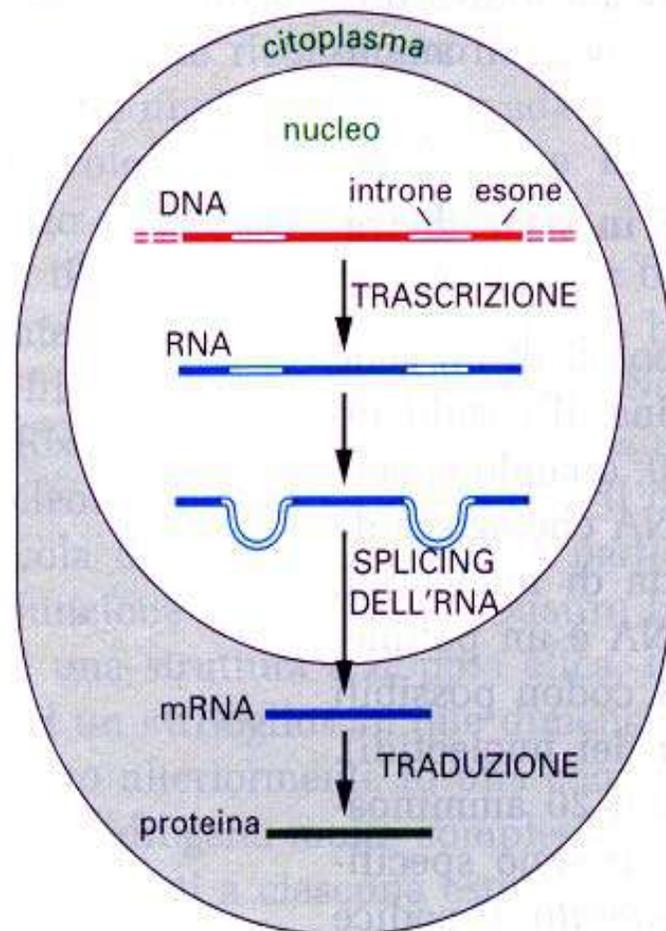
IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA



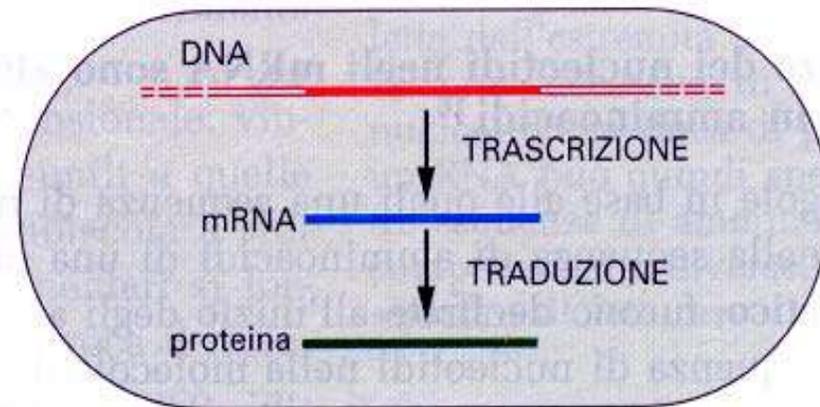
Il DNA conserva e trasmette l'informazione genetica,

il DNA non è lo stampo diretto per la sintesi proteica, che utilizza stampi di RNA.

EUCARIOTI

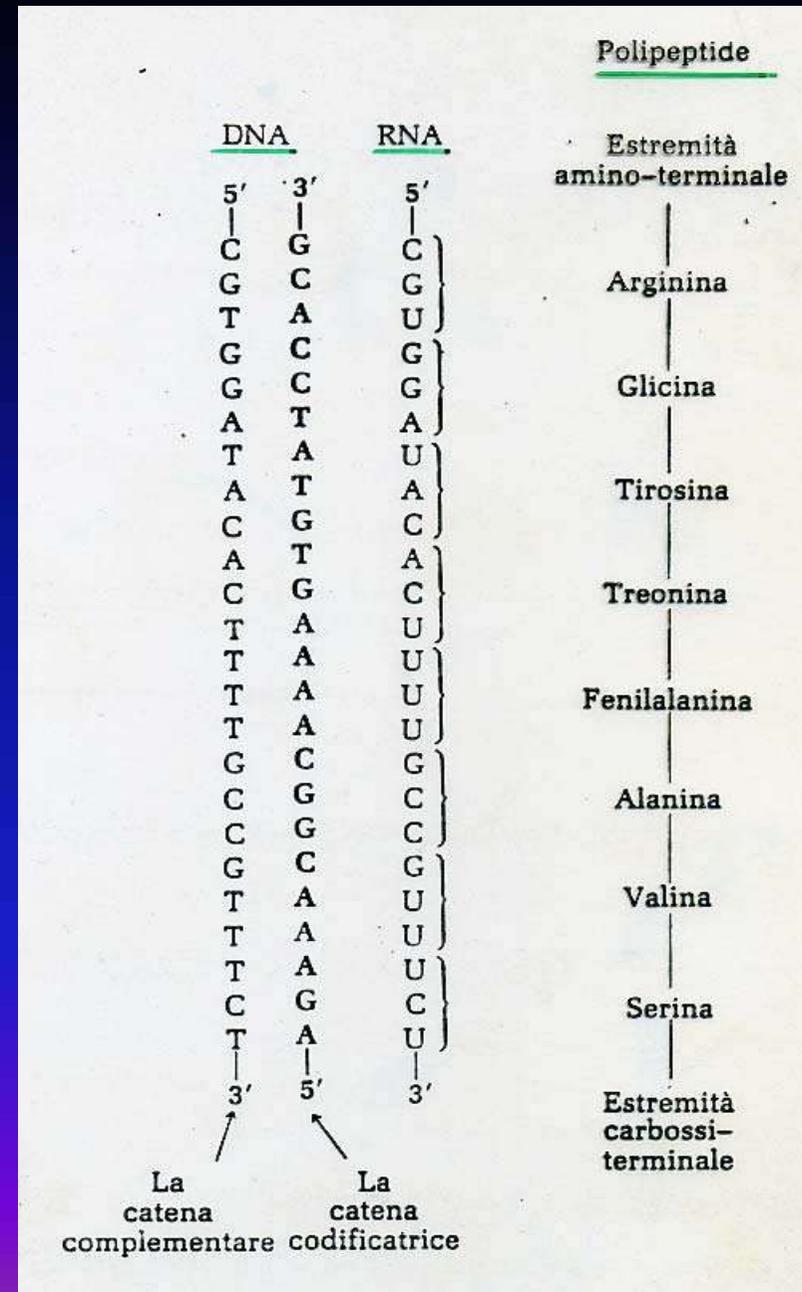


PROCARIOTI



IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA

LA RELAZIONE TRA LA SEQUENZA DI BASI NEL DNA, IL TRASCRITTO DI mRNA E LA SEQUENZA DI AMMINOACIDI DI UNA PROTEINA.



IL FLUSSO DELL'INFORMAZIONE GENETICA

Esiste una **relazione** tra la sequenza di basi azotate del DNA (e del trascritto di mRNA) e la sequenza degli aminoacidi in una proteina,

una sequenza di tre basi azotate (**codon**) codifica per un aminoacido,

i codon vengono letti sequenzialmente sull'mRNA da molecole di **tRNA** che servono da adattatori nella sintesi proteica,

la sintesi delle proteine avviene a livello dei **ribosomi**.

IL CODICE GENETICO

Il codice non è ambiguo: un codon designa un solo aminoacido,

codon che specificano lo stesso aminoacido sono chiamati **sinonimi**,

la degenerazione **minimizza** l'effetto deleterio delle mutazioni,

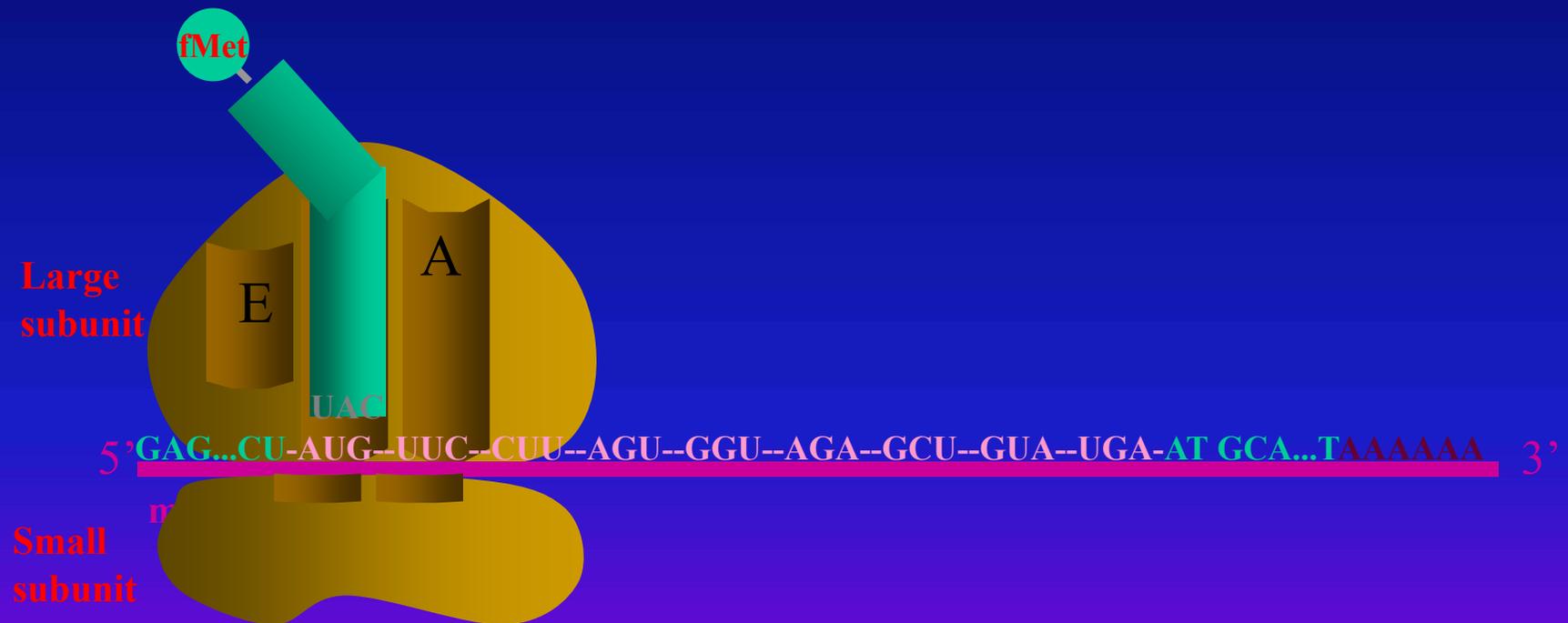
solo **triptofano** e **metionina** sono codificati da una sola tripletta.

		Seconda posizione				
		U	C	A	G	
Prima posizione (estremità 5')	U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
		UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C
		UUA } Leu	UCA } Ser	UAA } Stop	UGA } Stop	A
		UUG } Leu	UCG } Ser	UAG } Stop	UGG } Trp	G
	C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U
		CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C
		CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A
		CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G
	A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U
		AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C
		AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A
		AUG } Met	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G
	G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U
		GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C
		GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Glu	GGA } Gly	A
		GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Glu	GGG } Gly	G
						Terza posizione (estremità 3')

I TRE SITI DEL RIBOSOMA



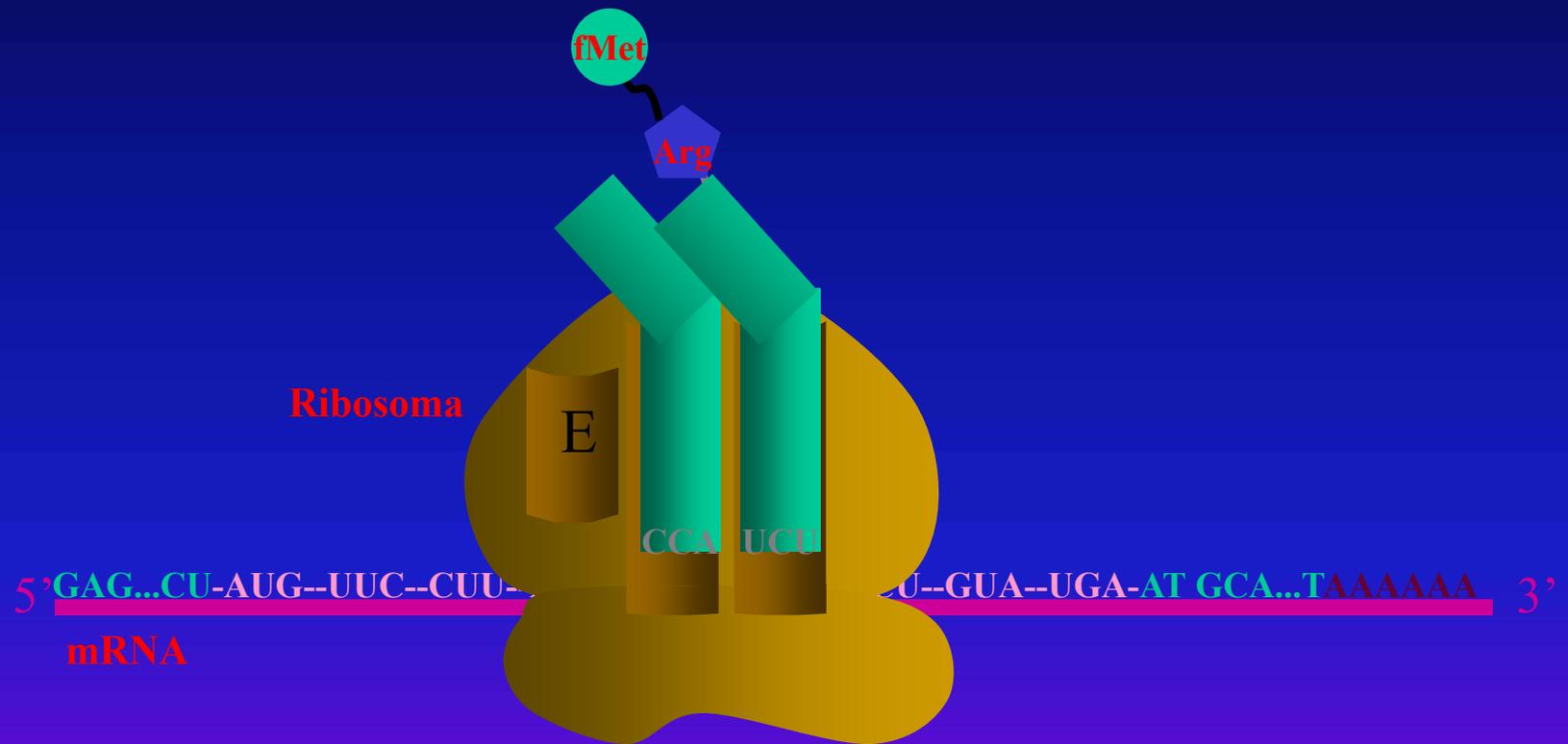
LA FASE DI INIZIO DELLA SINTESI PROTEICA



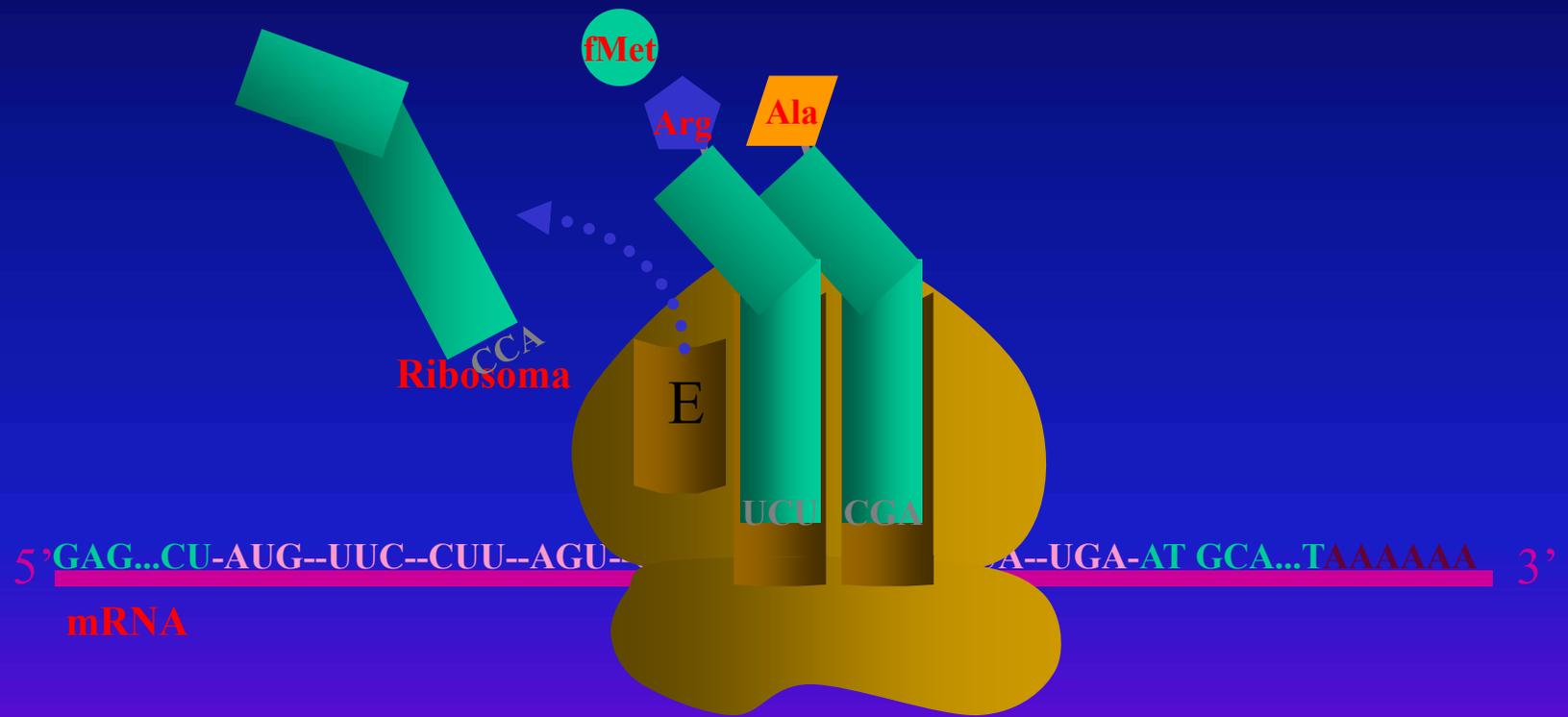
L'ALLUNGAMENTO



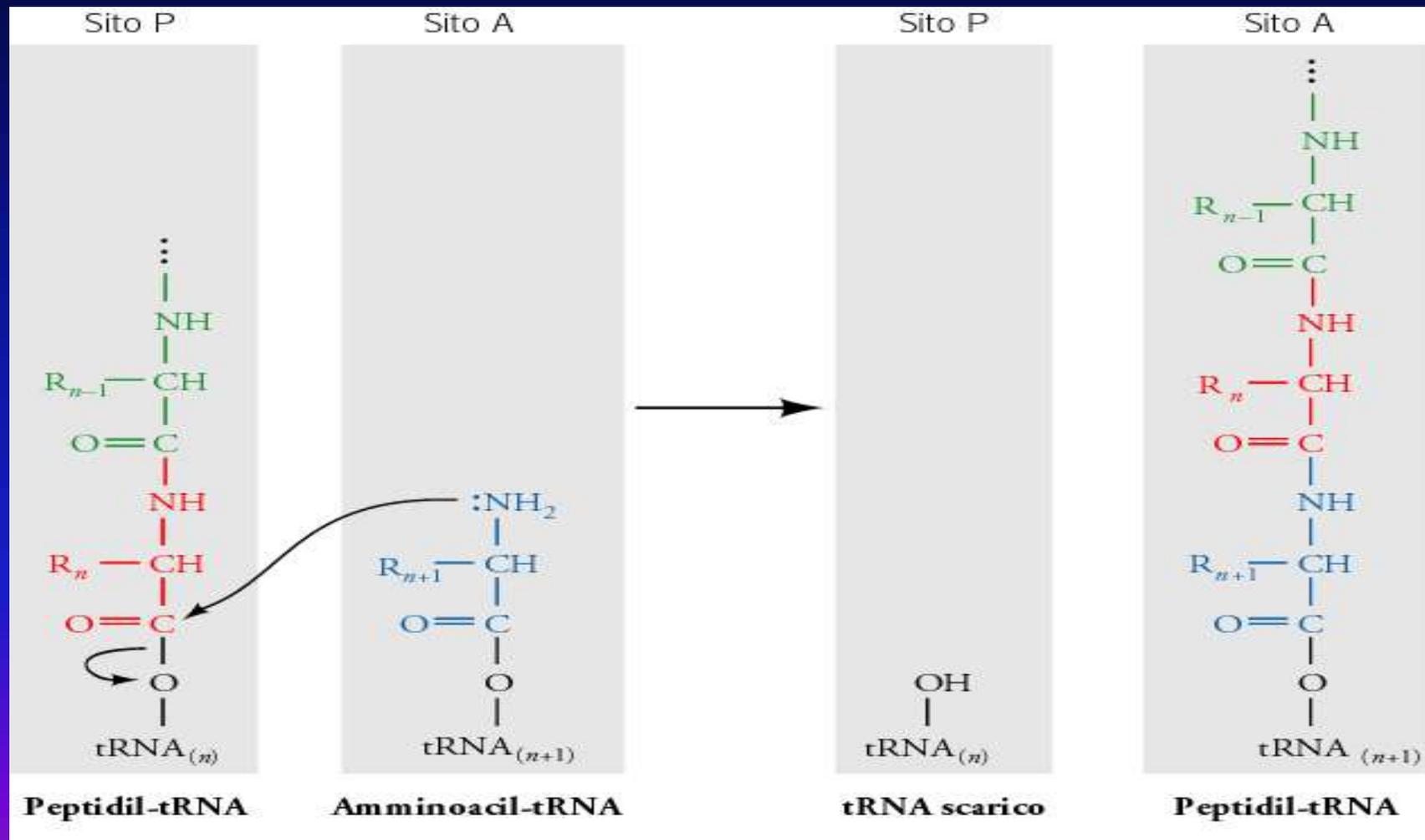
L'ALLUNGAMENTO



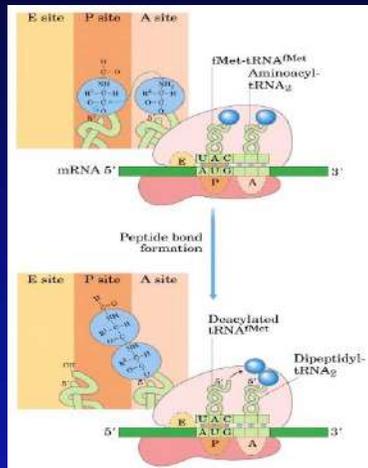
L'ALLUNGAMENTO



La formazione del **legame peptidico** é tra il gruppo carbossilico attivato della catena polipeptidica in fase di crescita e il gruppo amminico dell'aminoacil-tRNA tramite l'enzima **peptidil transferasi** (RNA 23S della subunit  50S nei procarioti).

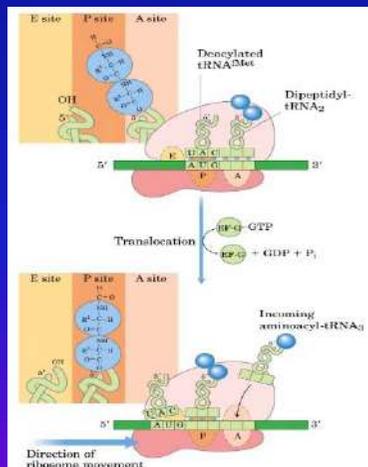


LA TRASLOCAZIONE



Dopo la formazione del legame peptidico, si ha la traslocazione:

- 1) il tRNA scarico lascia il **sito P** per il **sito E** (di uscita),
- 2) il peptidil-tRNA si muove dal **sito A** al **sito P**,
- 3) L'**mRNA** si sposta di tre nucleotidi in modo da porre il codon successivo nella posizione giusta per essere letto;

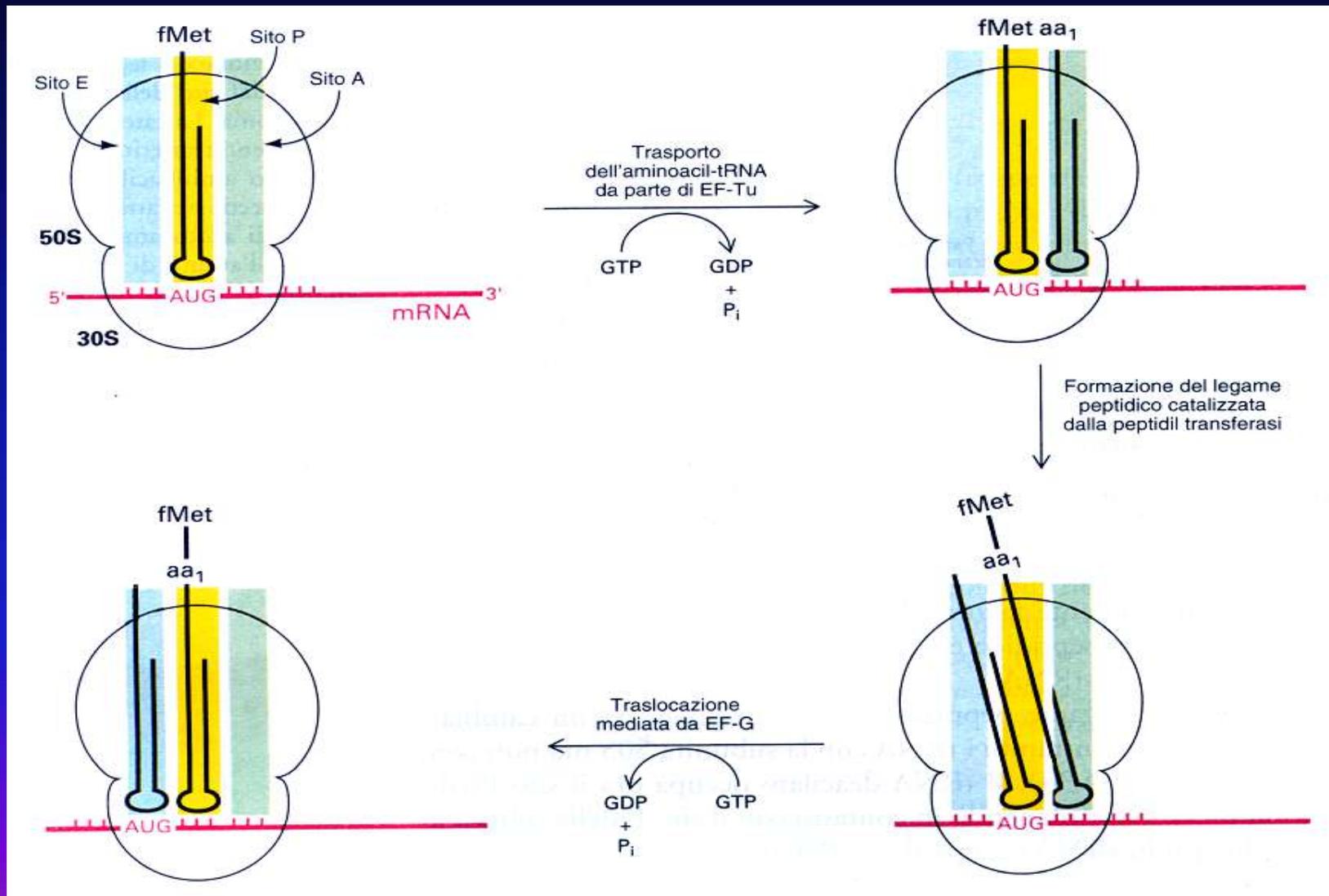


EF-G é il fattore di allungamento della traslocazione.

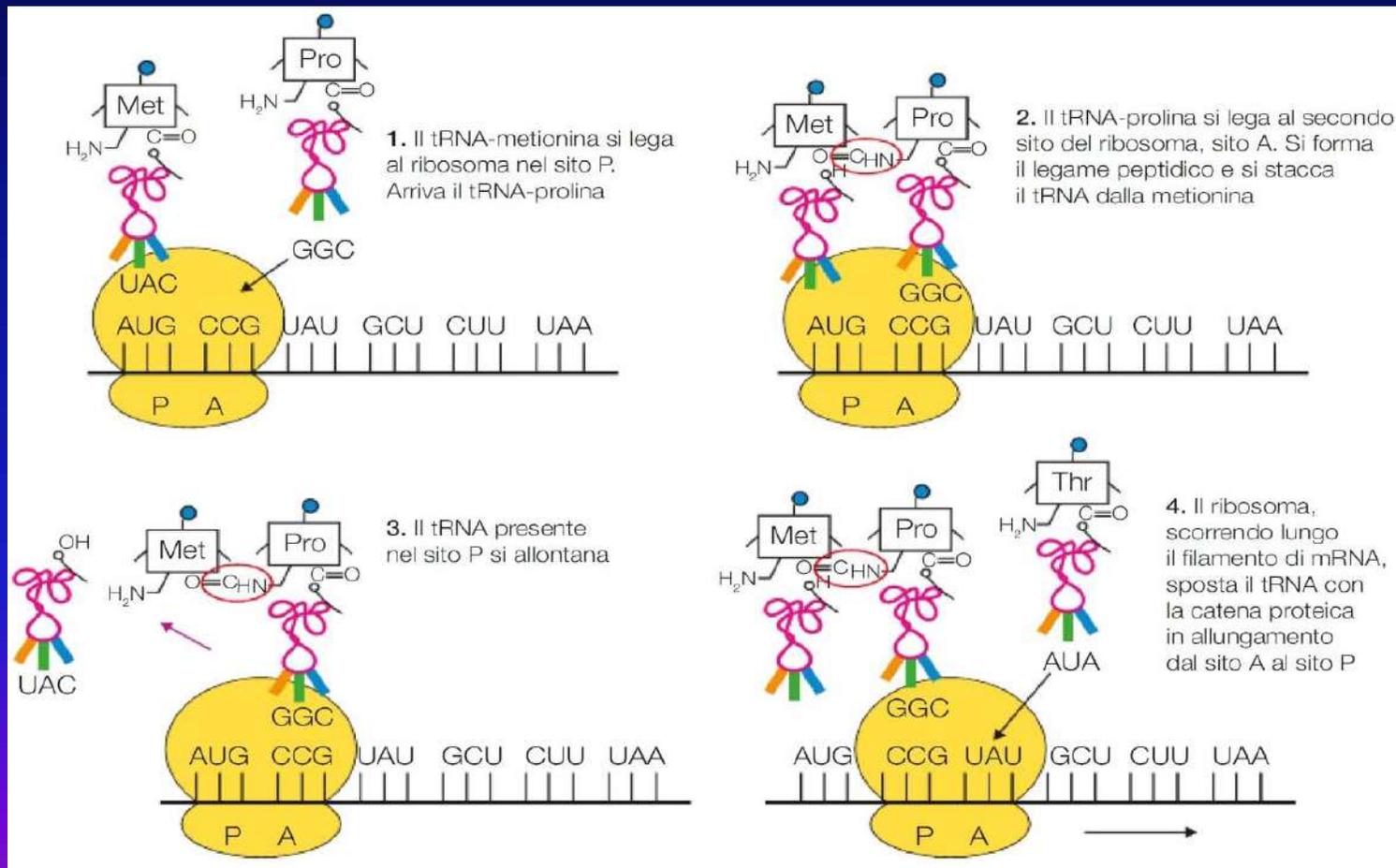
IL CICLO DI ALLUNGAMENTO DELLA SINTESI PROTEICA CONSISTE QUINDI DI TRE MOMENTI:

- 1) l'attacco dell'amminoacil-tRNA
- 2) la formazione del legame peptidico
- 3) la traslocazione.

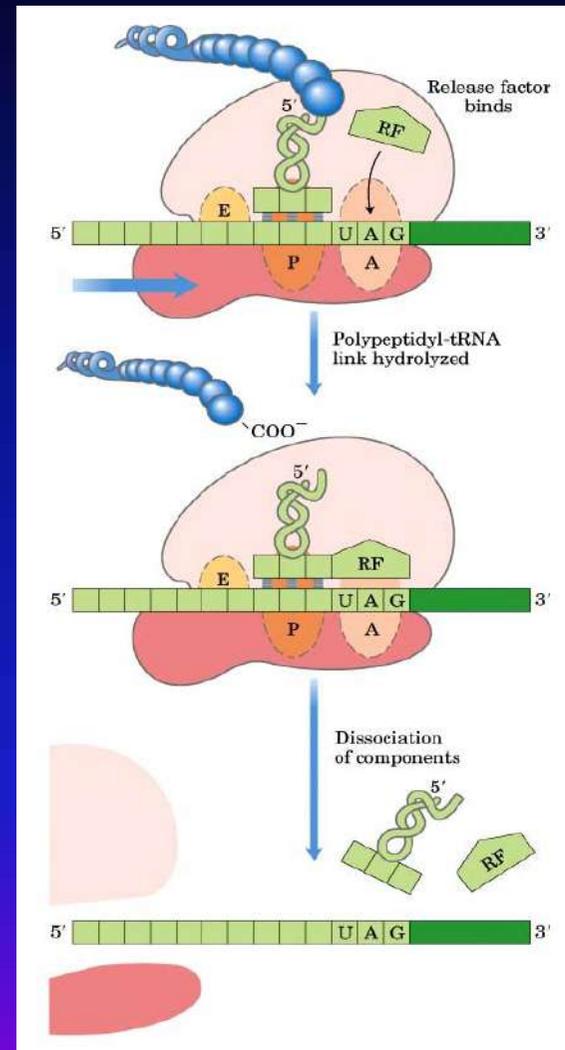
IL CICLO DI ALLUNGAMENTO



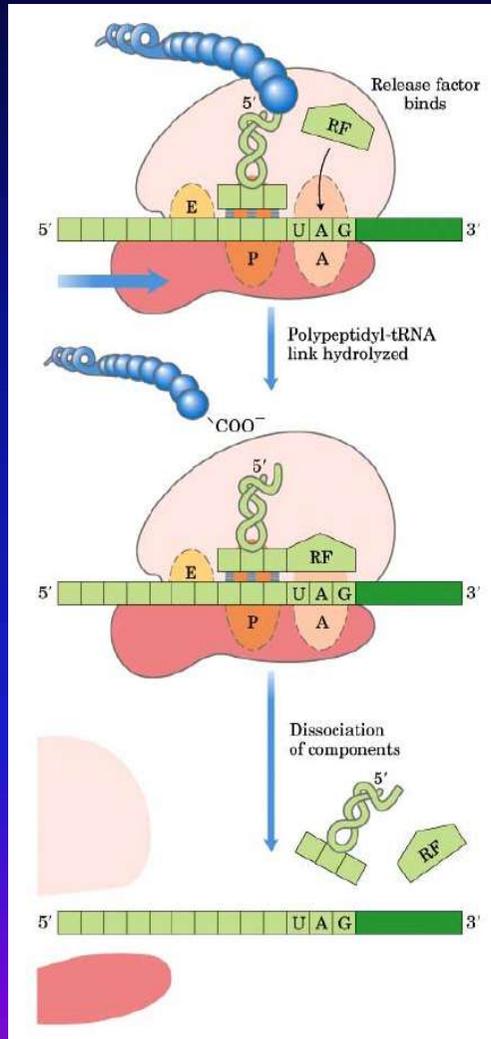
L'ALLUNGAMENTO DELLA CATENA PEPTIDICA DURANTE LA SINTESI PROTEICA NEL RIBOSOMA



LA TERMINAZIONE



LA TERMINAZIONE



La sintesi proteica è terminata da fattori di rilascio che riconoscono i codon di stop **UAA**, **UAG** o **UGA**,

anche l'**RNA 16S** ha un ruolo chiave, particolarmente nella lettura del codon di stop **UGA**,

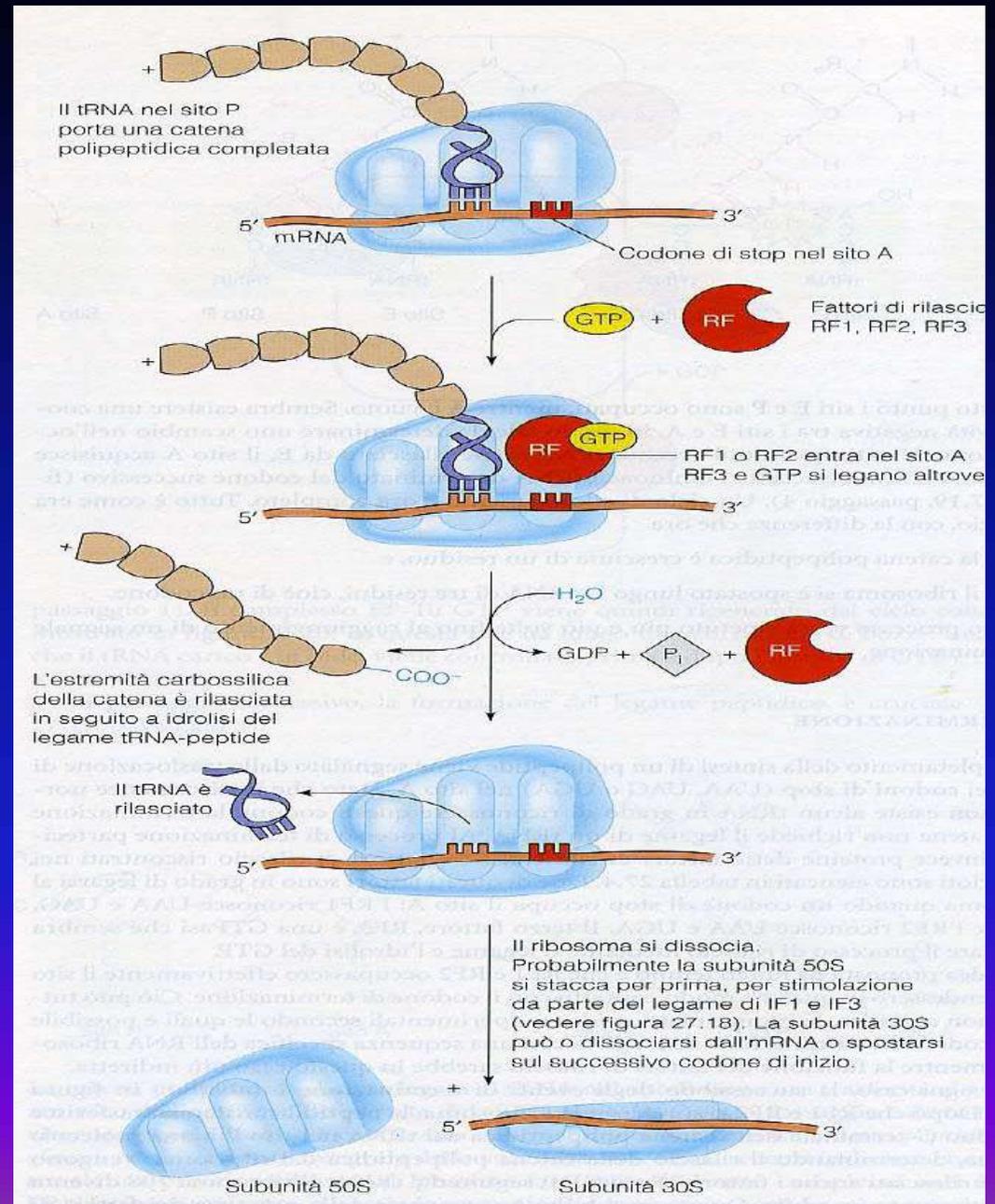
si ha l'**idrolisi** del legame tra il polipeptide e il tRNA,

i fattori di rilascio coinvolti sono **RF1** (per UAA e UAG) o **RF2** (per UAA e UGA).

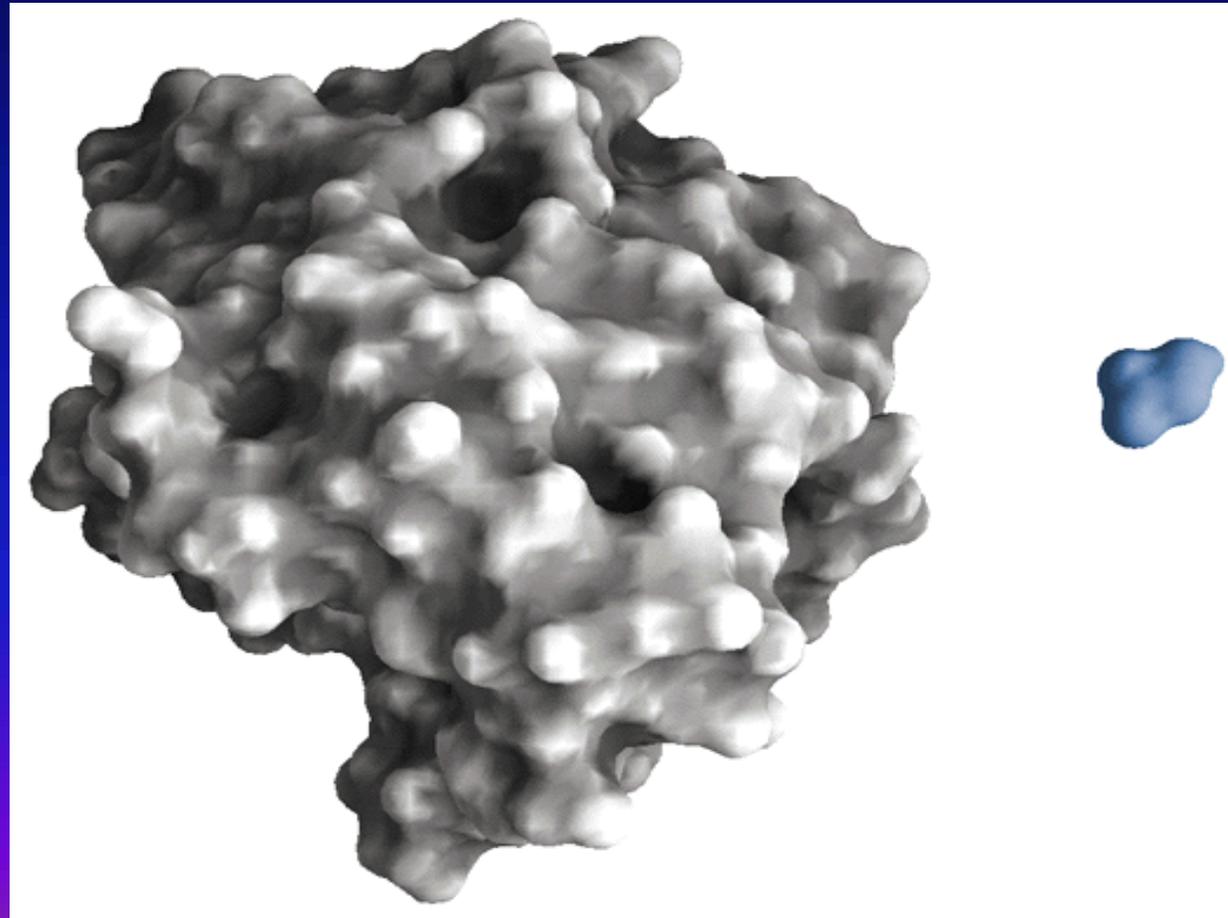
LA TERMINAZIONE

I fattori di rilascio agiscono sulla **peptidil transferasi**, affinché l'accettore del peptide attivato sia l'**acqua** invece del gruppo amminico, **idrolizzando** il legame fra il polipeptide e il tRNA nel **sito P**,

al termine della sintesi la catena polipeptidica **lascia** il ribosoma, seguita dal tRNA e dall'mRNA e il ribosoma si **dissocia** nelle due subunità costituenti (50S e 30S).

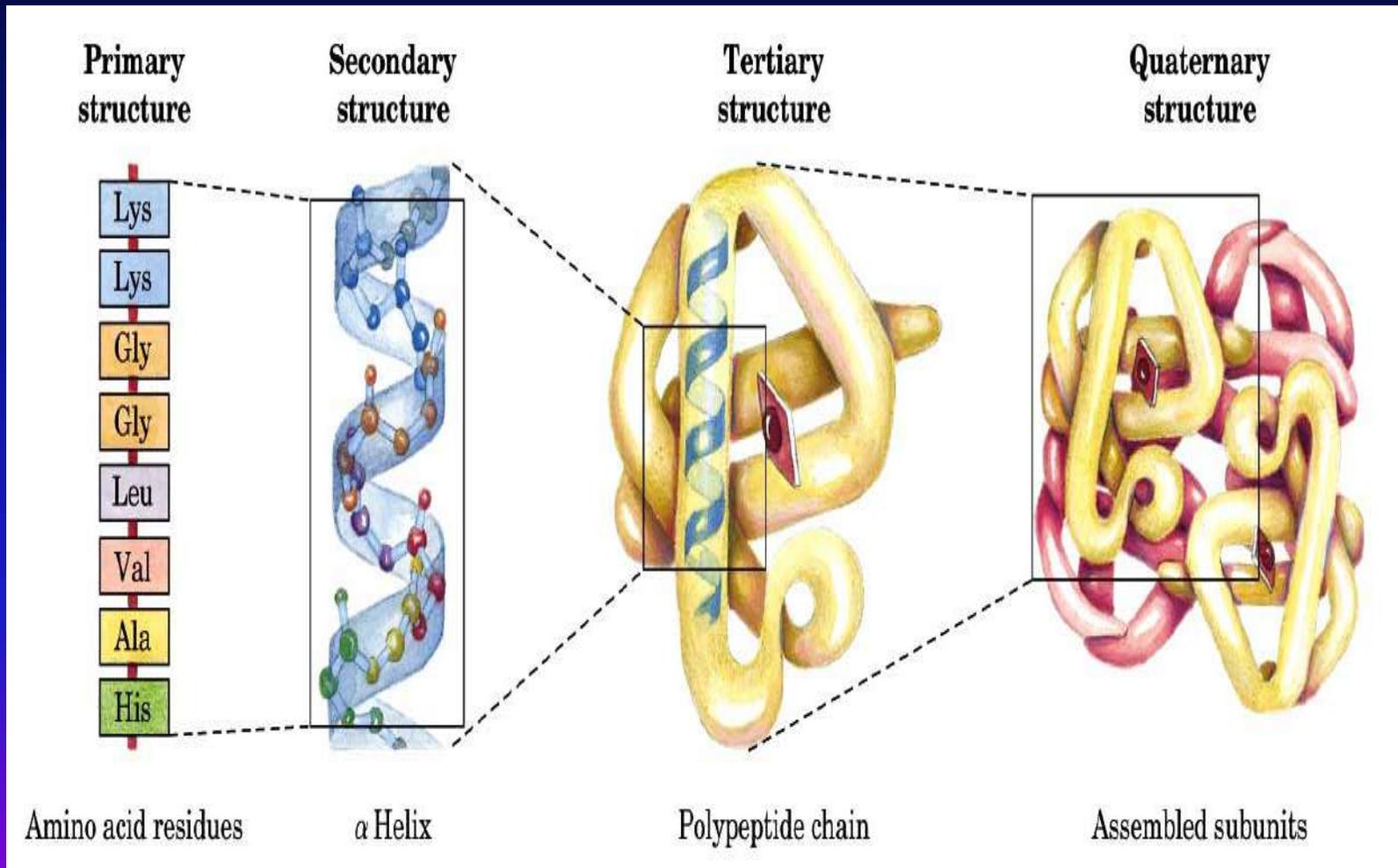


LA STRUTTURA DELLE PROTEINE



LA STRUTTURA PROTEICA E' COMPLESSA; PER FACILITARNE
LA COMPrensIONE, I CHIMICI DELLE PROTEINE
DESCRIVONO TALE STRUTTURA AVVALENDOSI DI
QUATTRO LIVELLI STRUTTURALI PRINCIPALI

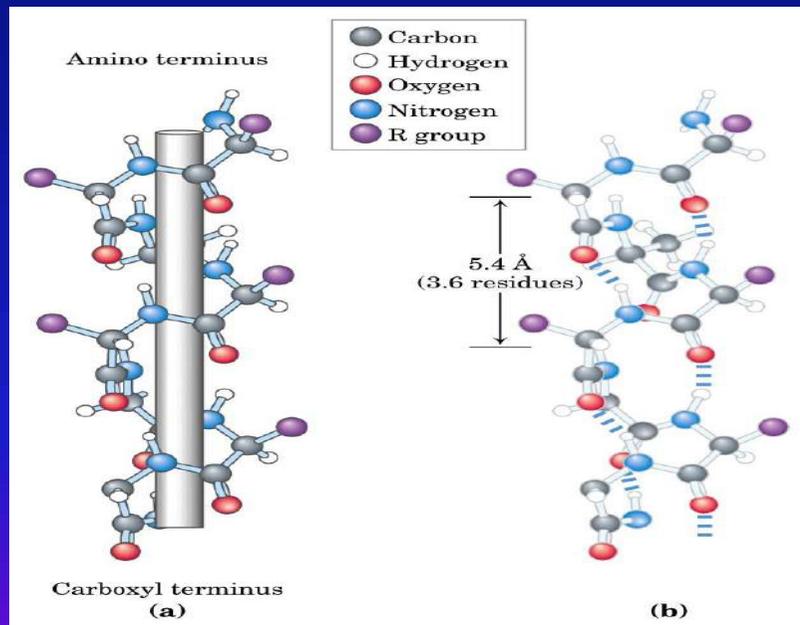
LA STRUTTURA DELLE PROTEINE



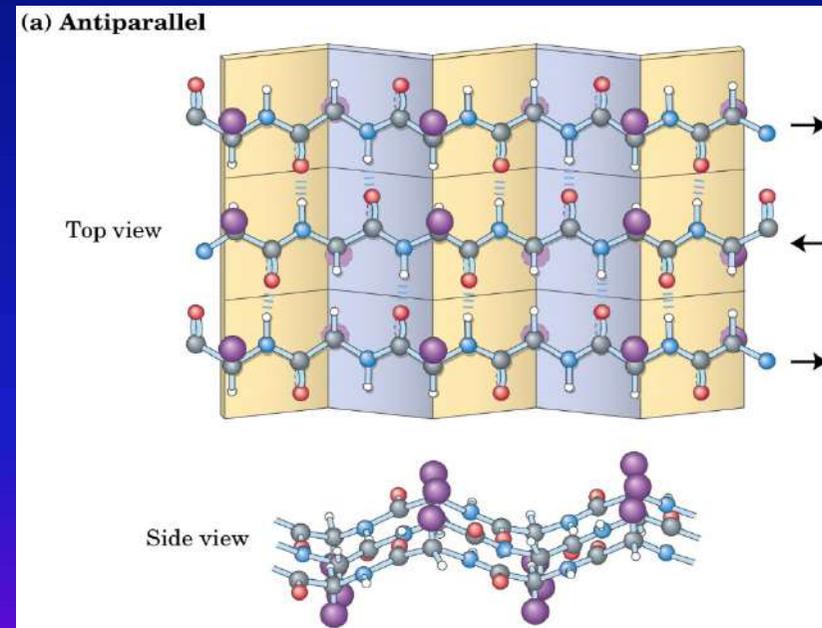
LA STRUTTURA SECONDARIA

E' la disposizione **spaziale locale** degli atomi appartenenti allo **scheletro** di un polipeptide, senza tener conto della conformazione delle catene laterali dei suoi sostituenti; le conformazioni particolarmente favorite sono:

l' α ELICA

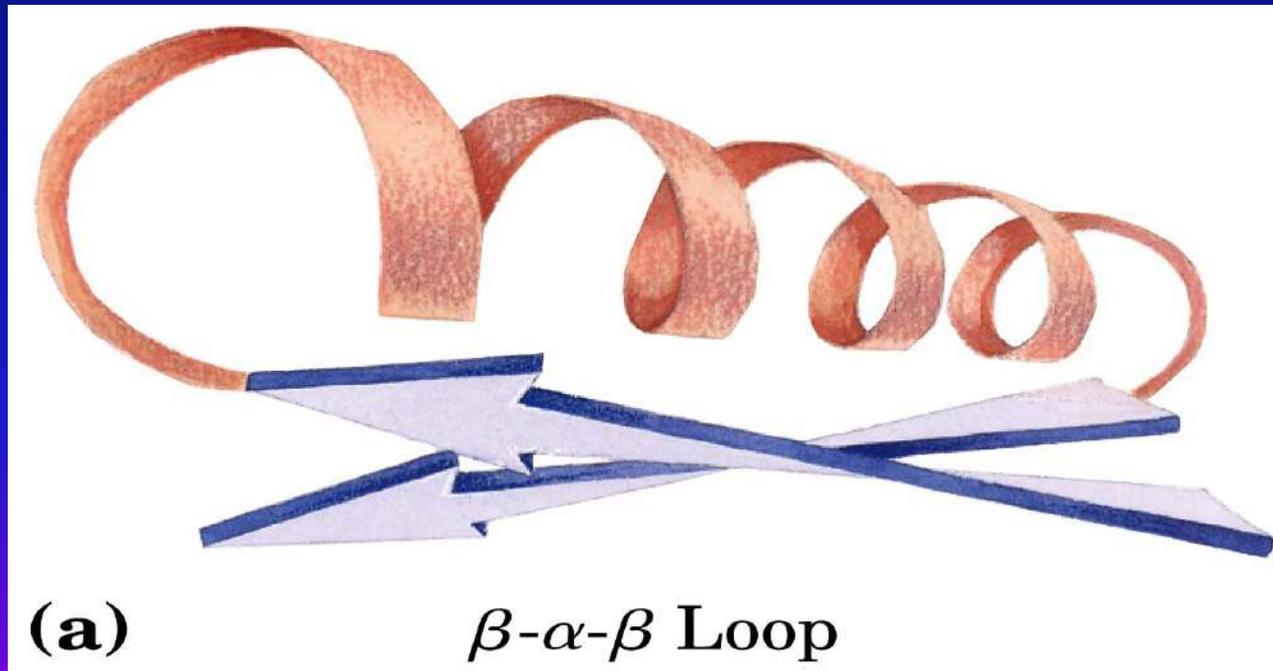


il FOGLIETTO β



LA STRUTTURA SUPERSECONDARIA

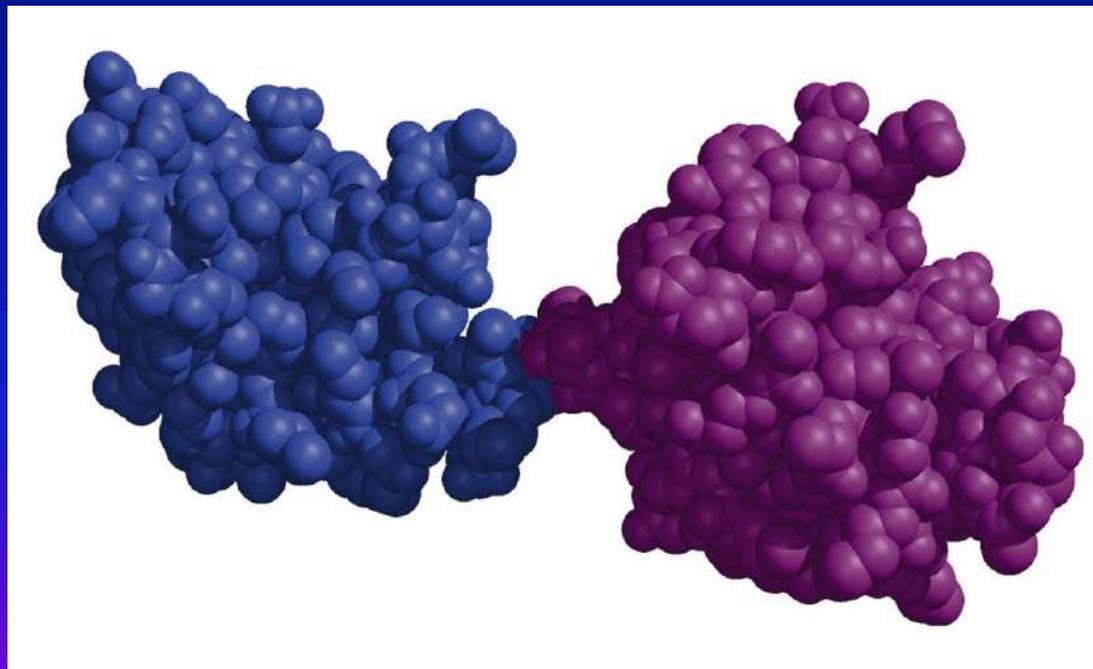
E' il raggruppamento **stabile** di elementi di **strutture secondarie**.



IL DOMINIO

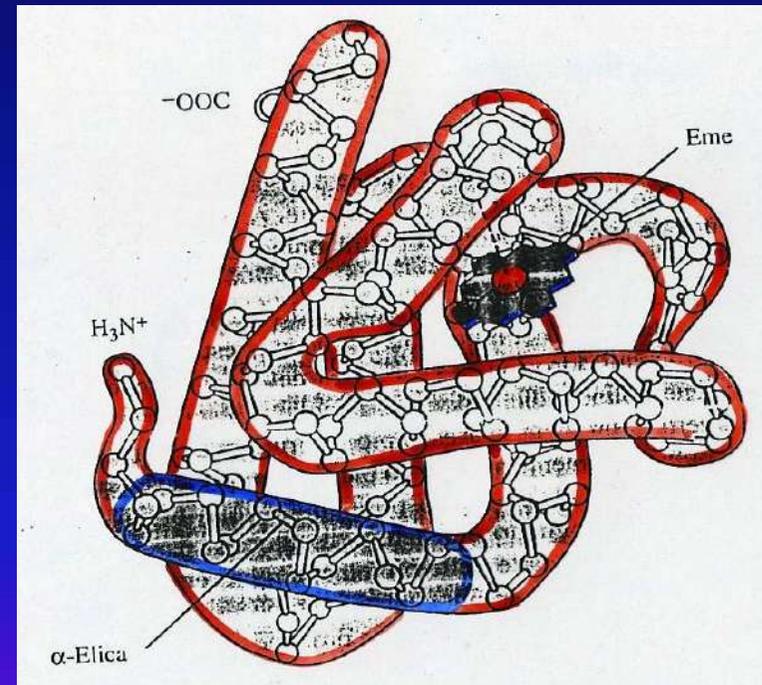
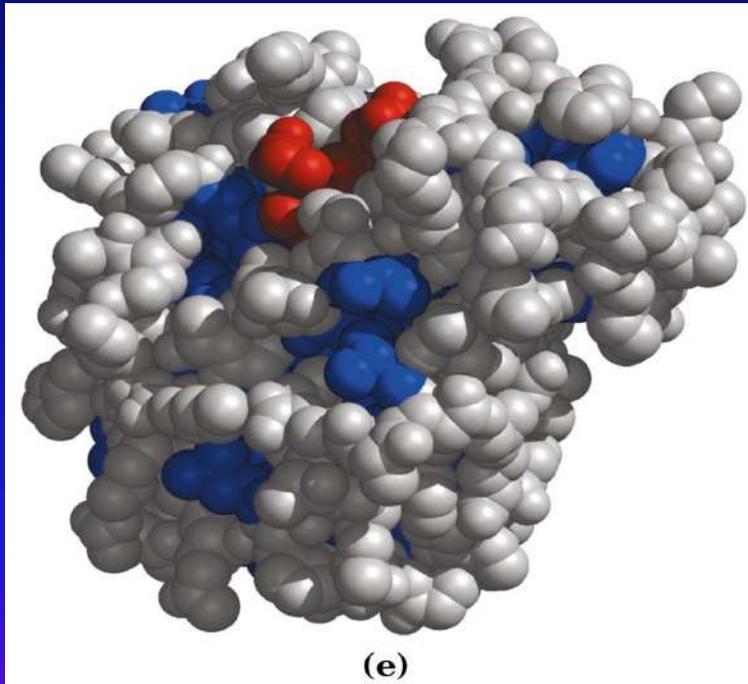
E' un'**unità strutturale distinta** di una catena polipeptidica, ogni dominio si **autostabilizza** e si **ripiega** in modo indipendente dal resto della proteina formando una struttura tridimensionale compatta;

i domini sono spesso responsabili di una **particolare funzione** o **interazione** all'interno della proteina, contribuendo al **suo ruolo globale**.

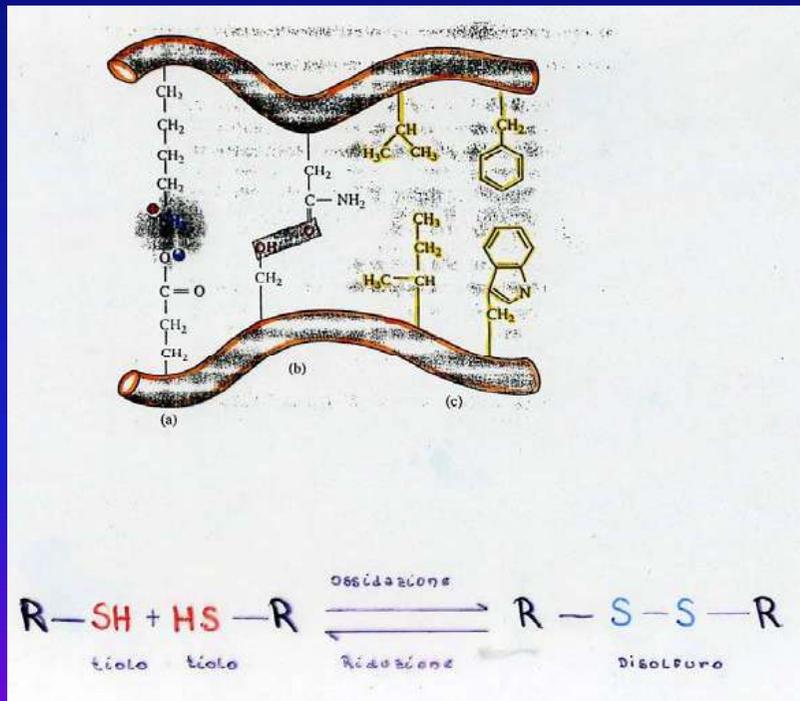


LA STRUTTURA TERZIARIA

E' la **struttura tridimensionale completa** di un polimero a **catena singola** nel suo stato ripiegato comprendente anche le sue catene laterali e le loro interazioni.

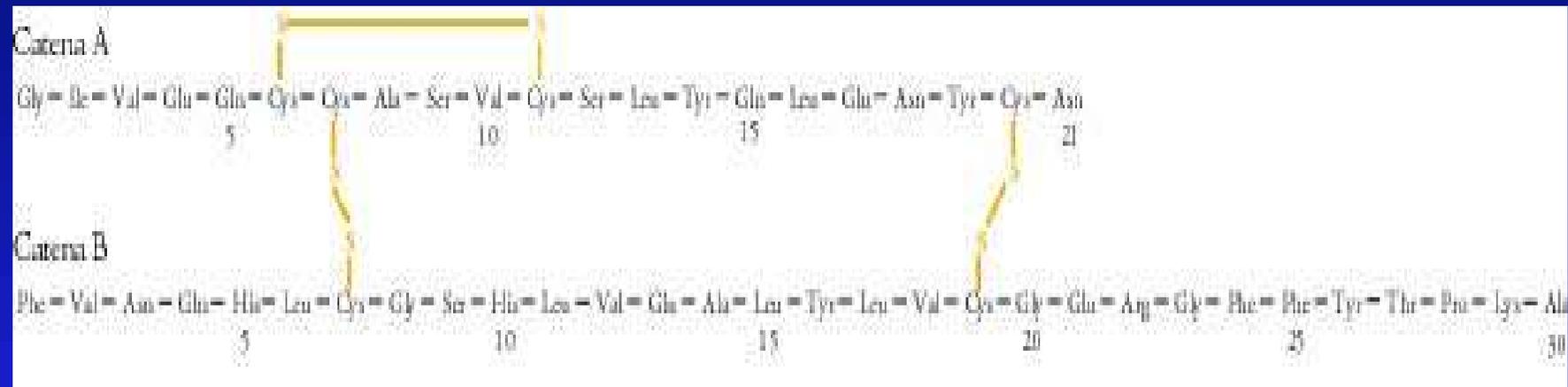


LE FORZE RESPONSABILI DELLA STRUTTURA TERZIARIA



Tipo di legame idrogeno		Distanza fra atomo donatore e atomo accettore (nm)
Ossidrile-ossidrile	$-O-H \cdots O-$	0,28
Ossidrile-carbonile	$-O-H \cdots O=C$	0,28
Ammide-carbonile	$N-H \cdots O=C$	0,29
Ammide-ossidrile	$N-H \cdots O-$	0,30
Ammide-azoto imidazolico	$N-H \cdots N$ (in imidazole ring)	0,31
Ammide-zolfo	$N-H \cdots S$	0,37

IL PONTE O LEGAME DISOLFURO

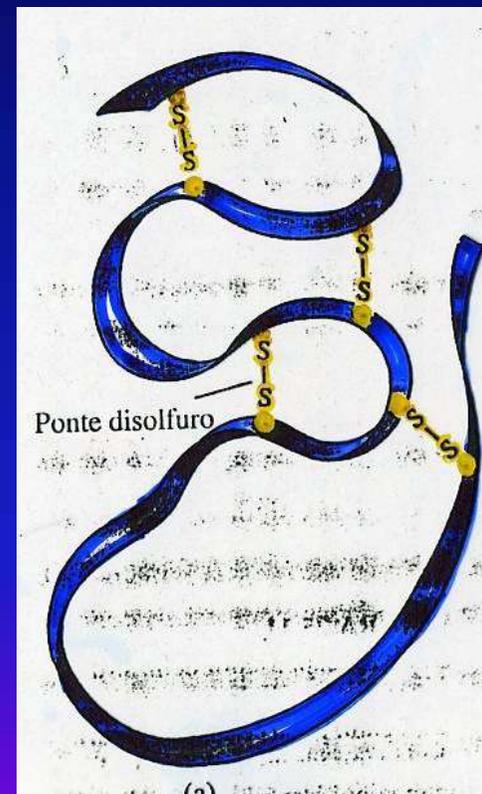


IL RUOLO DEL PONTE DISOLFURO NELLE PROTEINE DI PICCOLE DIMENSIONI

I quattro legami disolfuro dell'enzima ribonucleasi stabilizzano la proteina,

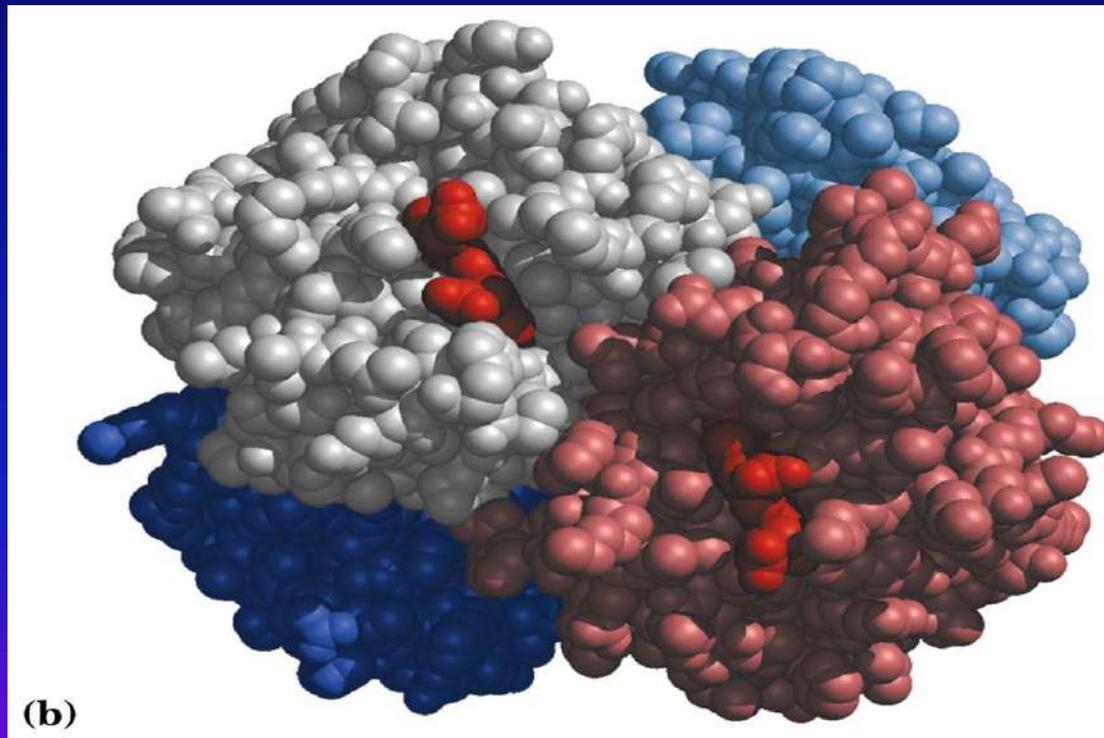
le proteine con un n° piccolo di AA (es. insulina, ribonucleasi), non potendo formare molti nuclei idrofobici, sono stabilizzate dai legami disolfuro;

i ponti disolfuro possono essere presenti anche nelle proteine con un n° elevato di AA.

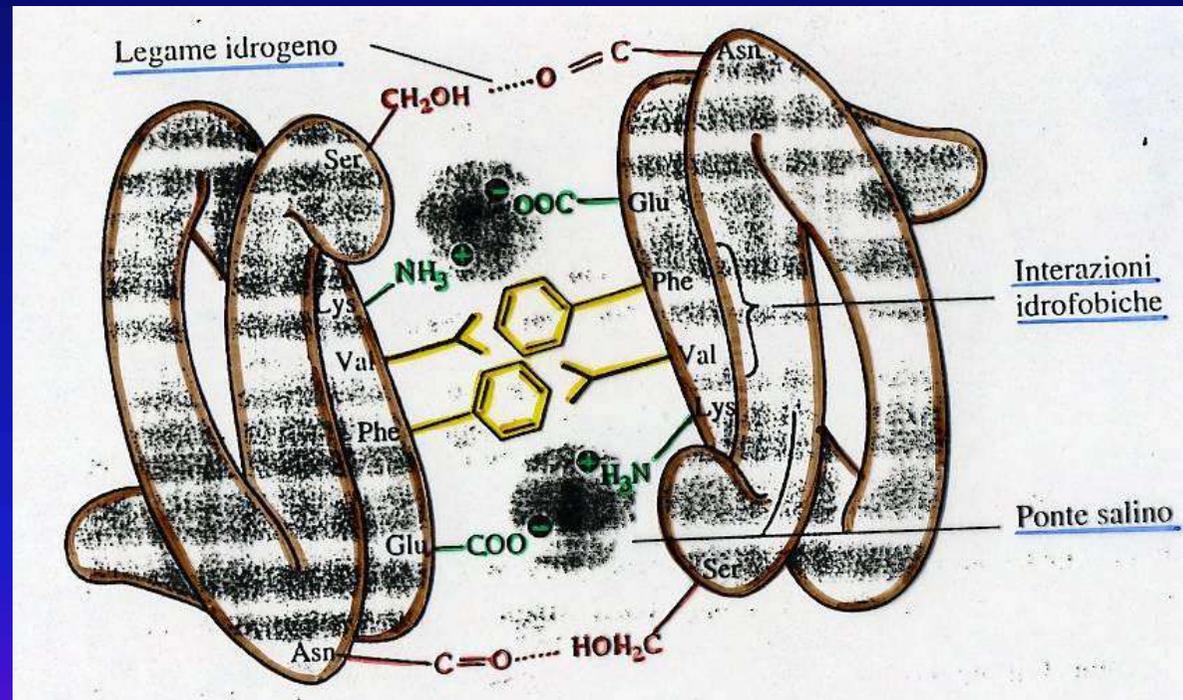


LA STRUTTURA QUATERNARIA

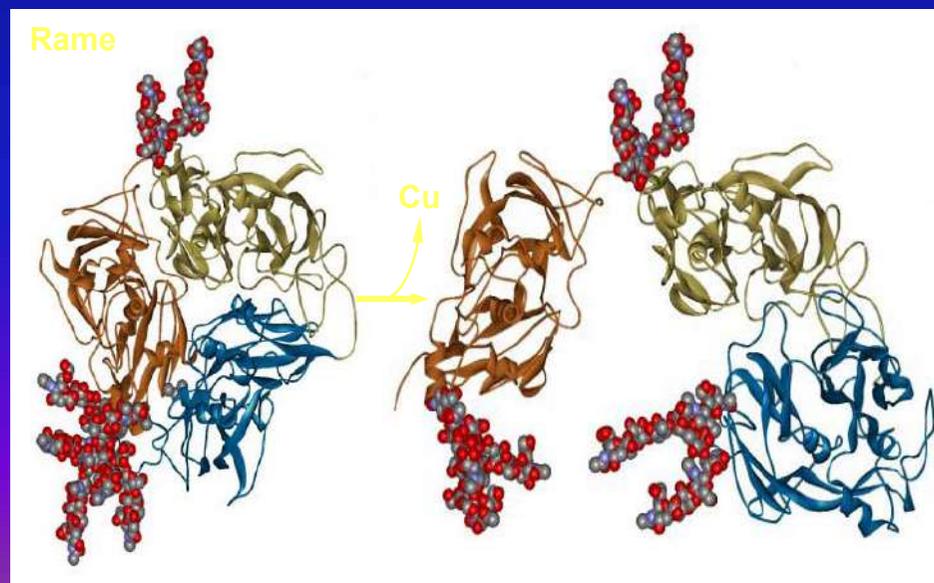
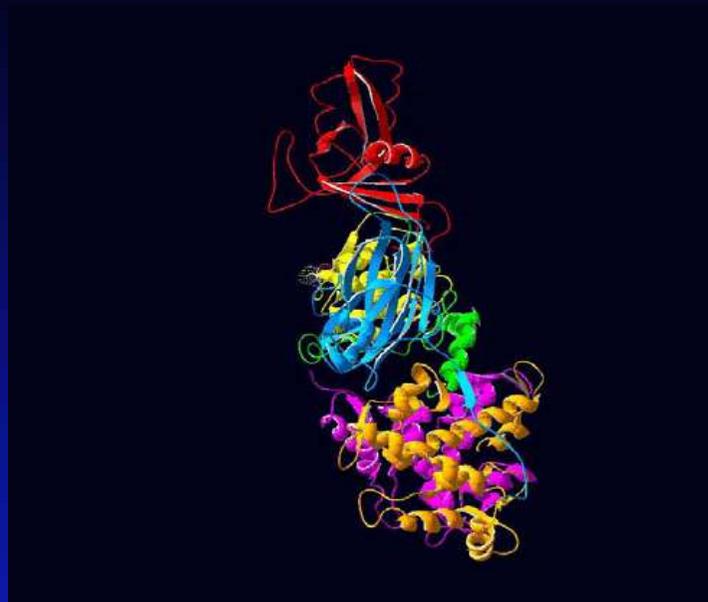
E' la **struttura tridimensionale** di una proteina costituita da **più di una catena polipeptidica** di cui descrive il **numero**, il **tipo** e il **modo** con cui queste subunità interagiscono l'una con l'altra per formare la proteina nella sua **forma attiva**.



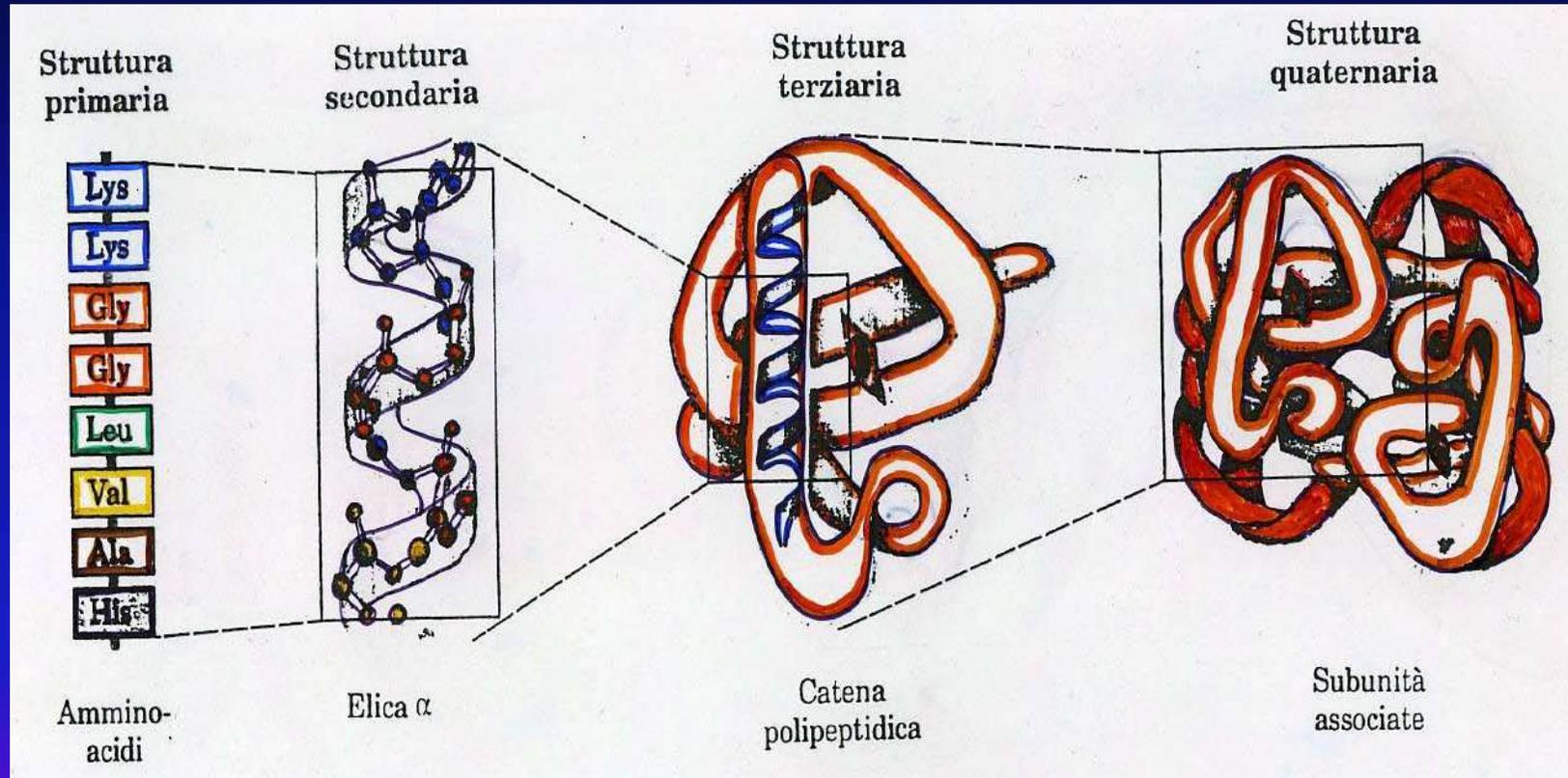
LE FORZE RESPONSABILI DELLA STRUTTURA QUATERNARIA



L'INFLUENZA DEGLI IONI METALLICI NELLA STRUTTURA DELLE METALLOPROTEINE



LA STRUTTURA DELLE PROTEINE



LA CONFORMAZIONE PROTEICA

E' l'organizzazione spaziale degli atomi di una proteina,

è la conformazione più stabile e a più bassa energia e quindi **predomina** fra le altre,

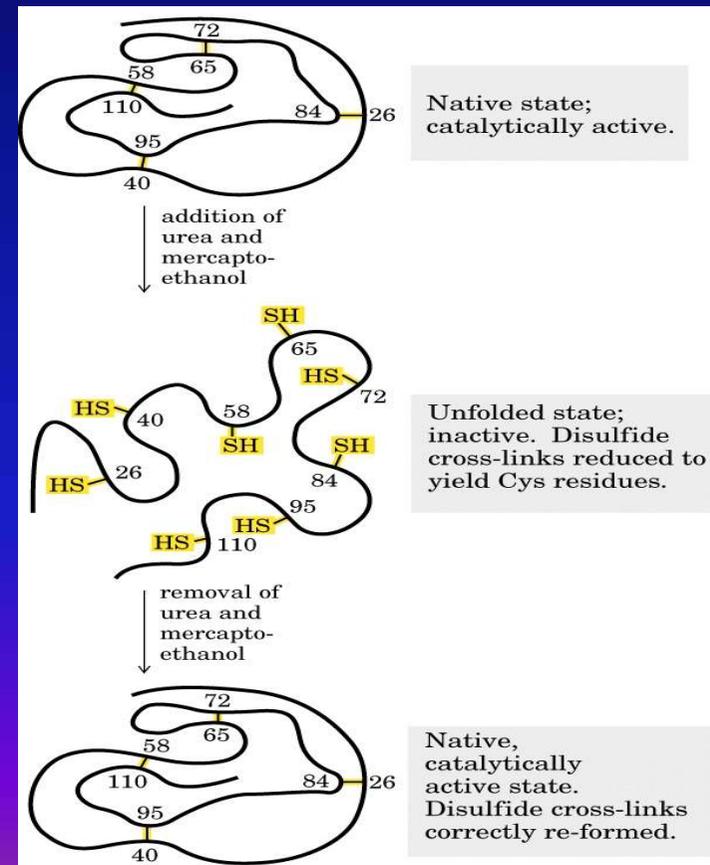
è chiamata **conformazione nativa** e corrisponde alla conformazione funzionale di ogni proteina,

essa è stabilizzata da legami deboli.

LA DENATURAZIONE

E' la **perdita della conformazione nativa e della funzione** di una proteina con l'assunzione di una organizzazione spaziale totalmente aperta,

si ha la rottura dei **legami deboli** e dei **ponti disolfuro**.



I COMPLESSI MACROMOLECOLARI

esempi

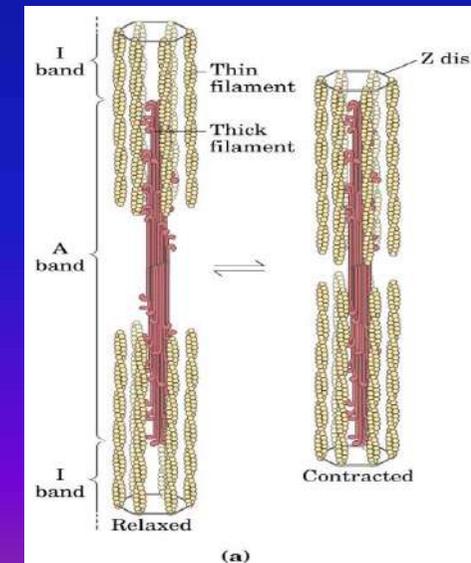
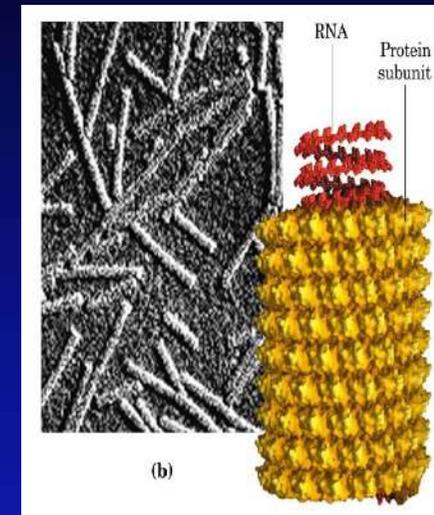
Le strutture di contenimento
(es. il capsid del virus)

le strutture con funzione di motori biologici
(i muscoli, le ciglia)

il macchinario per la sintesi proteica
(i ribosomi)

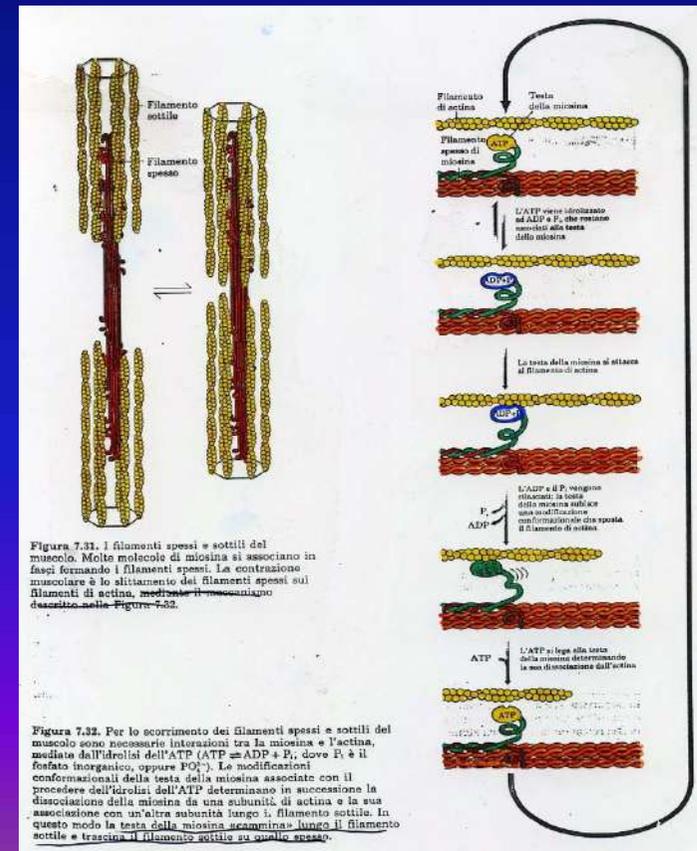
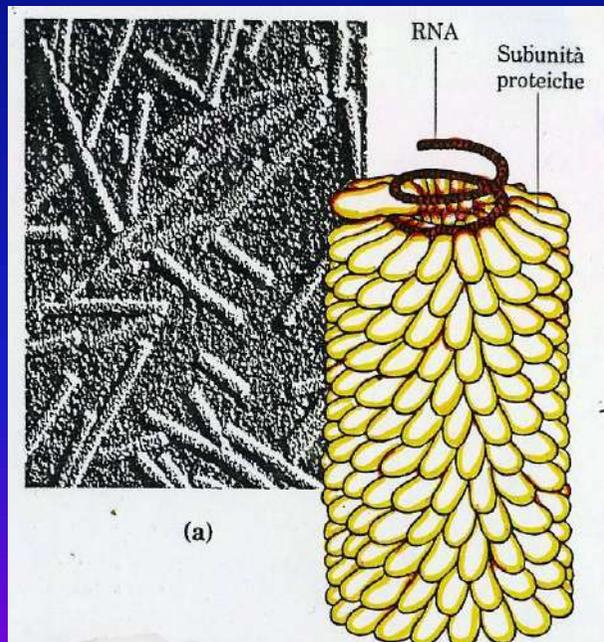
il citoscheletro cellulare
(es. i filamenti di actina e miosina)

i complessi che impacchettano il DNA
(la cromatina).



I COMPLESSI MACROMOLECOLARI

L'autoassemblaggio è una caratteristica di tutti i componenti macromolecolari, esistono forze responsabili del mantenimento di questi complessi: i legami deboli.



LE DIMENSIONI DELLE PROTEINE

Solitamente, le catene polipeptidiche più comuni hanno meno di 2000 residui amminoacidici,

questi limiti sono imposti:

- 1) dalla capacità degli acidi nucleici di operare da codice genetico
- 2) dalla accuratezza del processo di biosintesi delle proteine.

Tabella 6.1. Dati molecolari di alcune proteine

	<i>Massa molecolare</i>	<i>Numero di residui</i>	<i>Numero delle catene polipeptidiche</i>
Insulina (bovina)	5 733	51	2
Citocromo <i>c</i>	13 000	104	1
Ribonucleasi A (pancreas bovino)	13 700	124	1
Lisozima (bianco d'uovo)	13 930	129	1
Mioglobina (cuore di cavallo)	16 890	153	1
Chimotripsina (pancreas bovino)	21 600	241	1
Chimotripsinogeno (bovino)	22 000	245	1
Emoglobina (umana)	64 500	574	4
Albumina serica (umana)	68 500	550	1
Esochinasi (lievito)	102 000	800	2
Immunoglobulina G (umana)	145 000	1 320	4
RNA polimerasi (<i>E. coli</i>)	450 000	4 100	5
Apolipoproteina B (umana)	513 000	4 536	1
Glutammato deidrogenasi (fegato bovino)	1 000 000	8 300	40

LA MASSA PROTEICA

La massa molecolare di una proteina varia da **10000** dalton a valori superiori a **10⁶** dalton,

$$\text{NUM. APPROSSIMATIVO RESIDUI A.A.} = \frac{\text{MASSA PROTEICA}}{110}$$

110 = massa media di un residuo A.A.

LE PROTEINE SEMPLICI E CONIUGATE

Le **proteine semplici** sono costituite esclusivamente da amminoacidi,

le **proteine coniugate** presentano anche un gruppo prostetico, che ha un ruolo determinante nella loro funzione biologica.

LE PROTEINE CONIUGATE

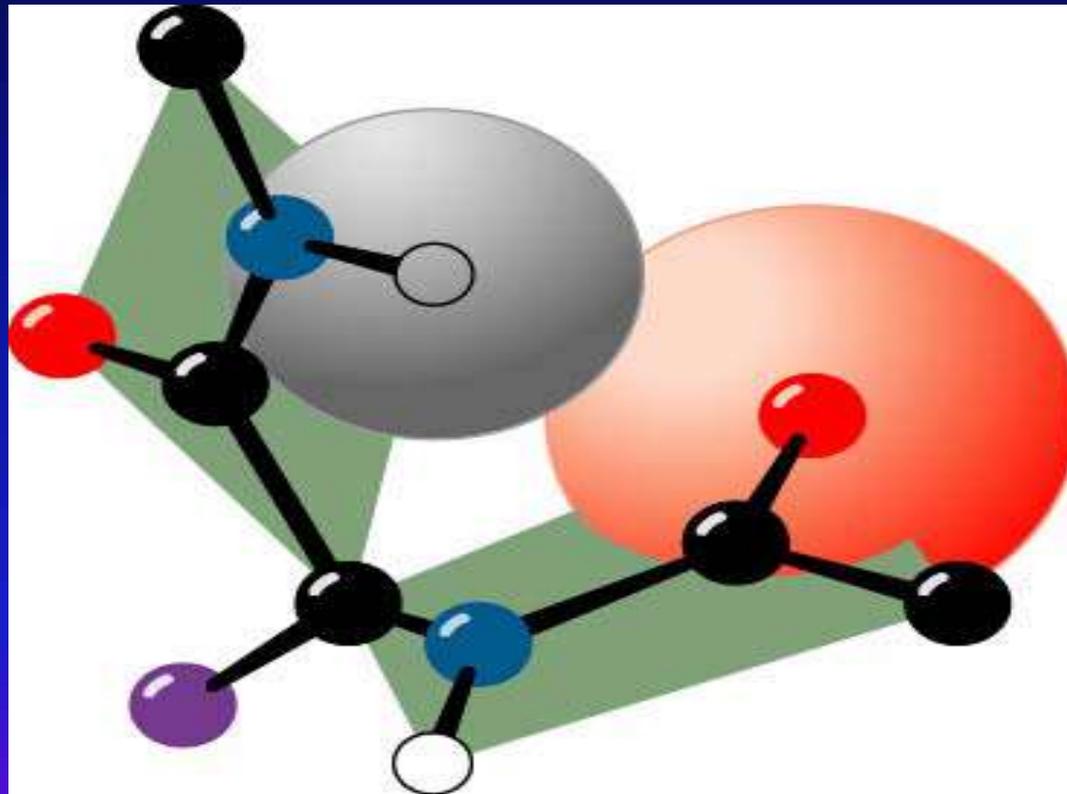
CLASSE	GRUPPO PROSTETICO	ESEMPIO
• LIPOPROTEINE	LIPIDI	β_1 - LIPOPROTEINA DEL SANGUE
• GLICOPROTEINE	CARBOIDRATI	Ig G
• FOSFOPROTEINE	GR. FOSFORICI	CASEINA (LATTE)
• EMOPROTEINE	EME	EMOGLOBINA
• FLOVOPROTEINE	NUCLEOTIDI FLAVINICI	SUCC. DEIDROG.
METALLOPROT.	FERRO	FERRITINA

LE INTERFERENZE STERICHE

Le conformazioni stericamente impossibili hanno le distanze interatomiche tra atomi non direttamente impegnati in legami fra loro **inferiori** a quelle delle corrispondenti distanze di Van der Waals.

<i>Tipo di contatto</i>	<i>Permesso (Å)</i>	<i>Fuori limite (Å)</i>
H···H	2,0	1,9
H···O	2,4	2,2
H···N	2,4	2,2
H···C	2,4	2,2
O···O	2,7	2,6
O···N	2,7	2,6
O···C	2,8	2,7
N···N	2,7	2,6
N···C	2,9	2,8
C···C	3,0	2,9
C···CH ₂	3,2	3,0
CH ₂ ···CH ₂	3,2	3,0

L'INTERFERENZA STERICA TRA L'OSSIGENO CARBONILICO E L'IDROGENO AMMIDICO DEL RESIDUO ADIACENTE



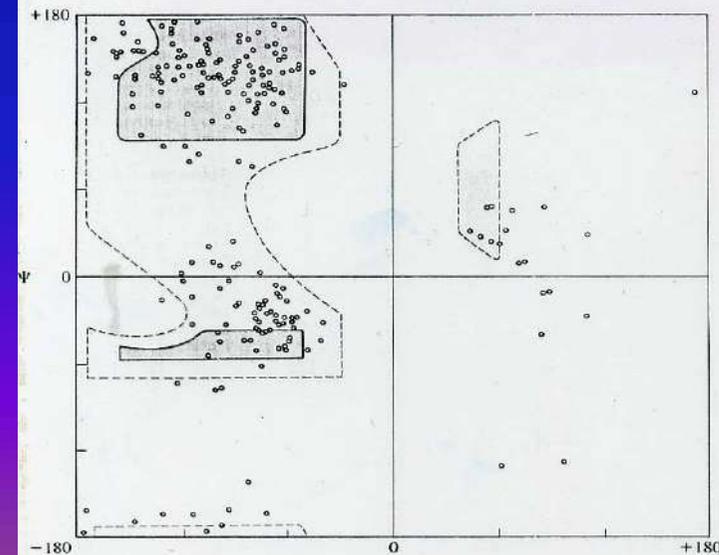
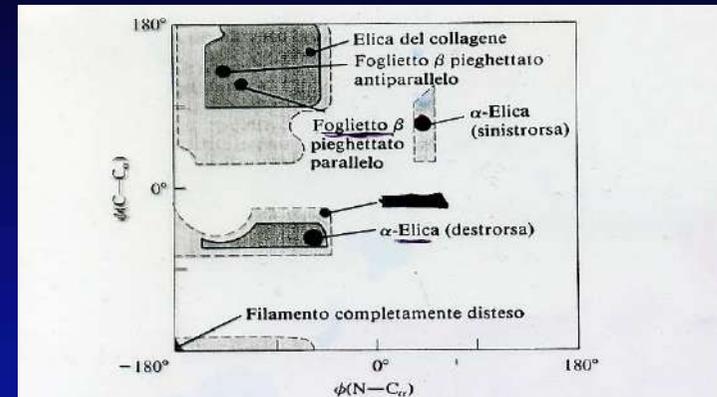
IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN

INFLUENZA DEI GRUPPI LATERALI SULLA CONFORMAZIONE DEL POLIPEPTIDE

Il biochimico indiano Ramachandran ipotizzò che la conformazione di una catena polipeptidica potesse essere completamente descritta riportando i valori di ϕ (fi) e ψ (psi) per ciascun residuo amminoacidico in un grafico bidimensionale,

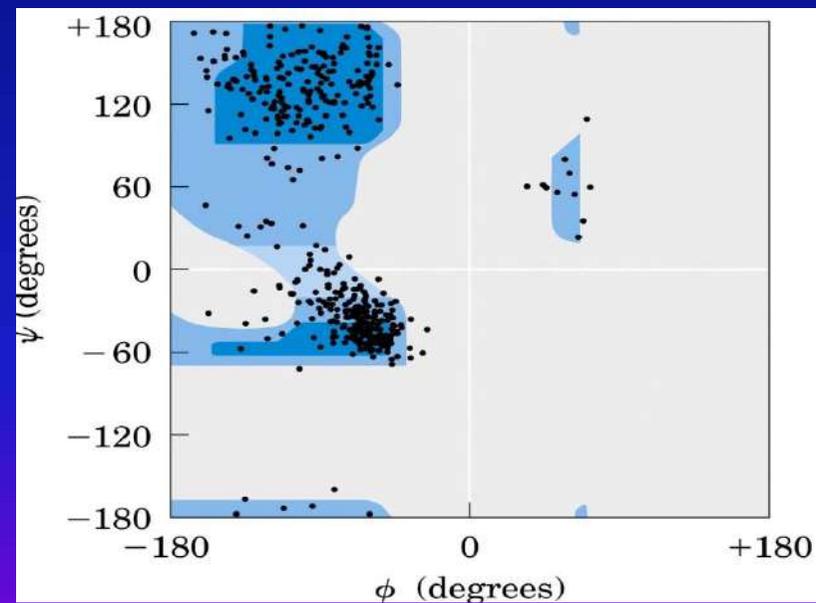
ψ psi (C-Ca)

ϕ fi (N-Ca).

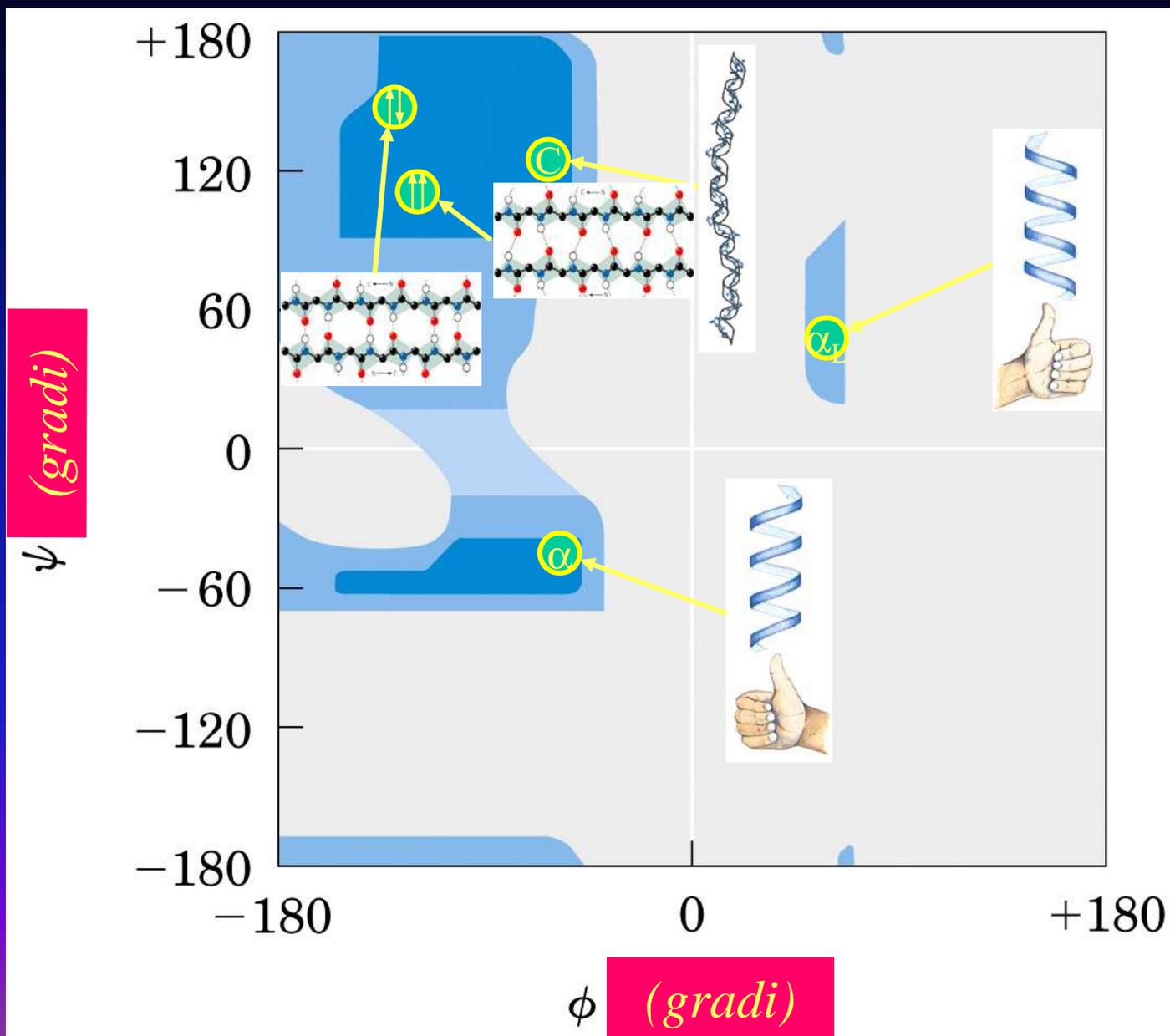


IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN PER L'ENZIMA PIRUVATO CHINASI

I valori degli angoli ϕ e ψ per tutti gli amminoacidi (eccetto la glicina) si sovrappongono a quelli delle aree teoricamente permesse, i residui di **glicina**, piccoli, ricadono spesso al di fuori delle zone aspettate (blu).

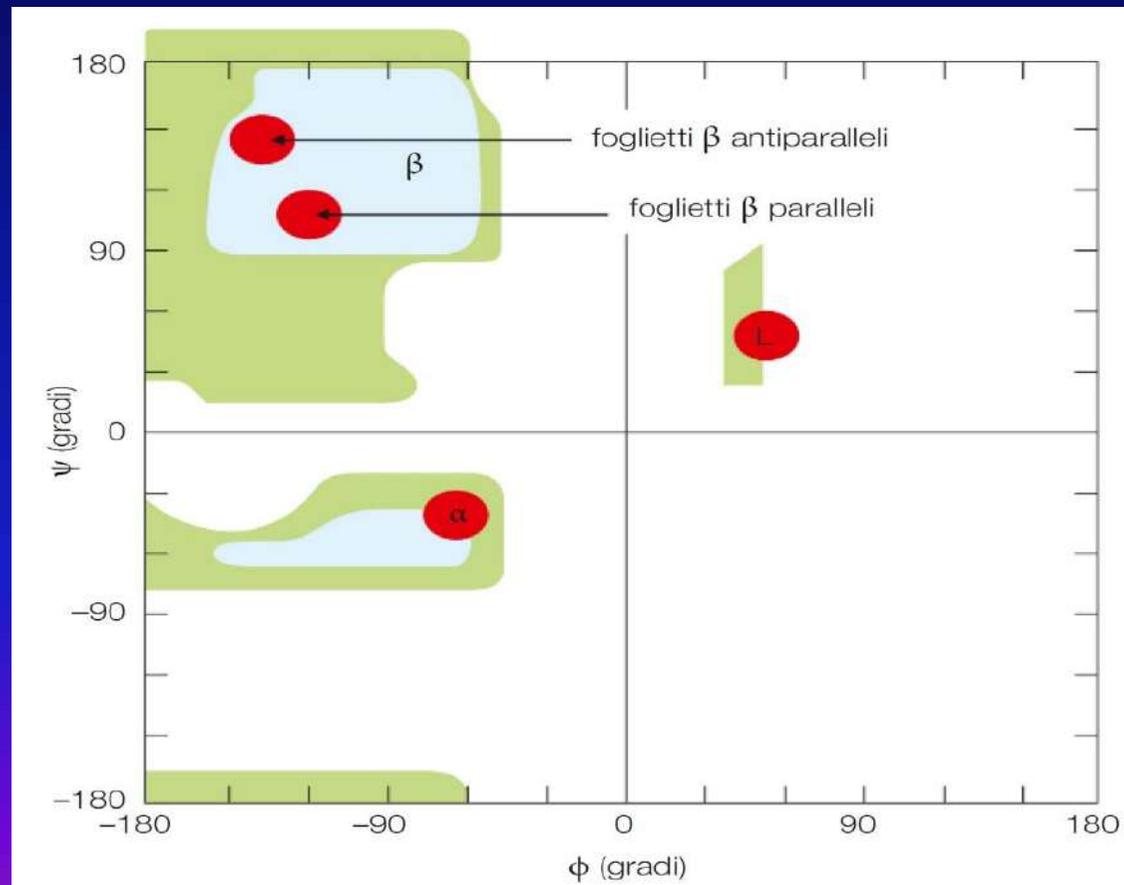


LA STRUTTURA SECONDARIA

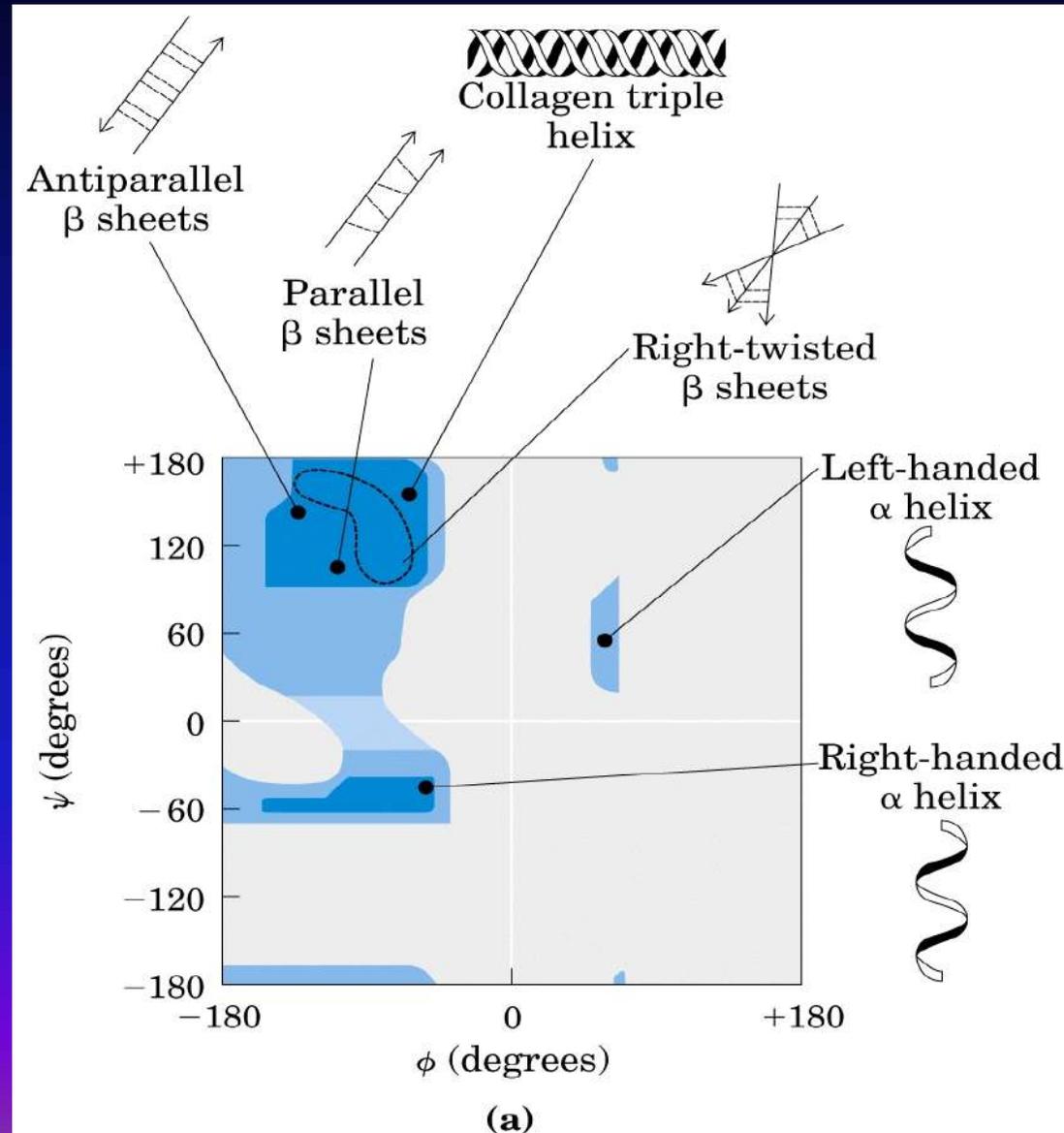


IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN

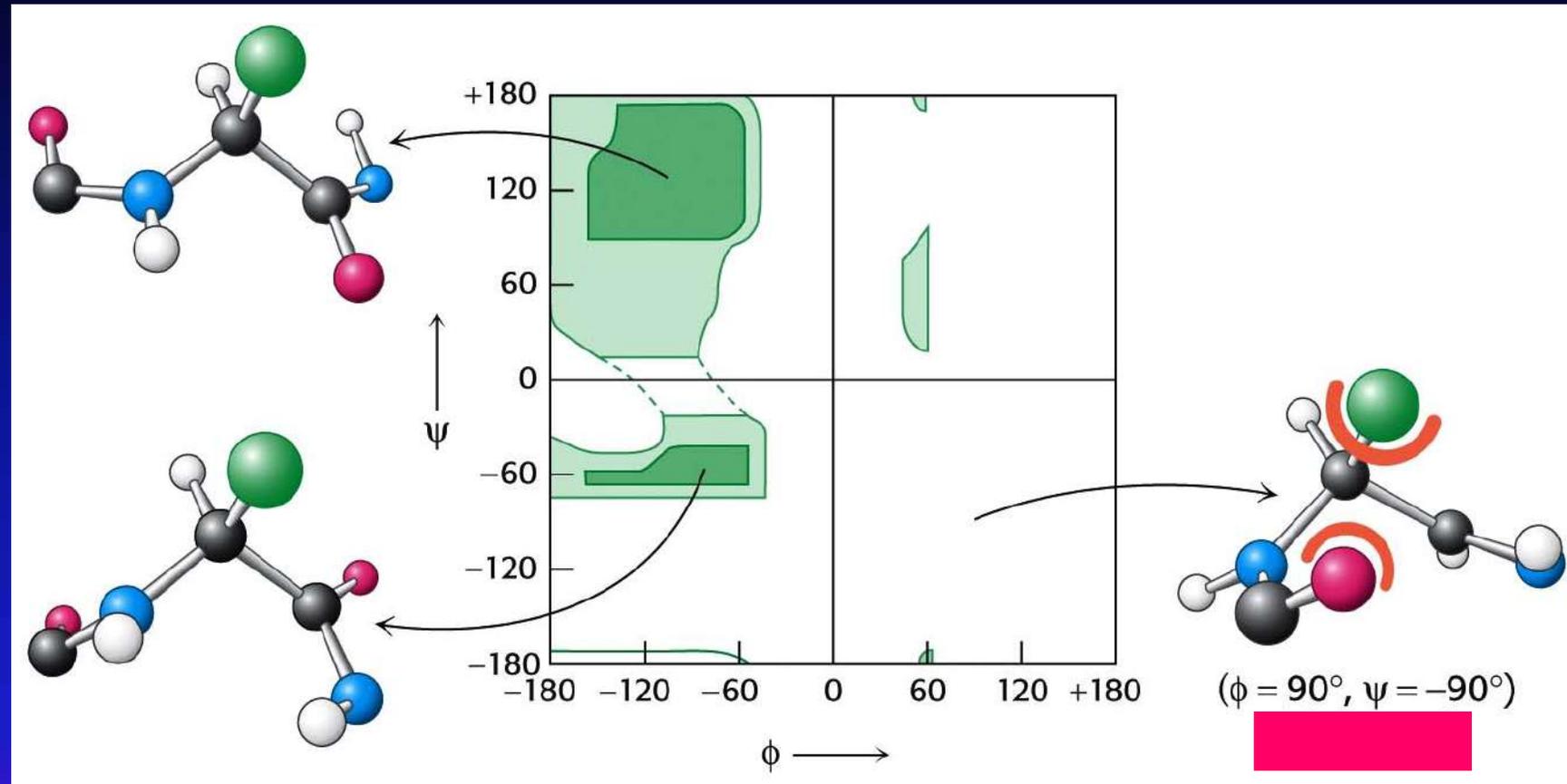
Le **aree verdi** corrispondono alle coppie di angoli consentite; all'interno delle **aree azzurre** alcune coppie di valori si ritrovano con maggiore frequenza, perché corrispondono a conformazioni che permettono legami idrogeno tra i gruppi **N-H** e **C=O** di 2 legami peptidici.



IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN



IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN



Eccezioni:



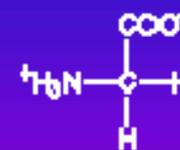
Pro

$$-35^\circ < \phi < -85^\circ$$



Gly

Minori limitazioni



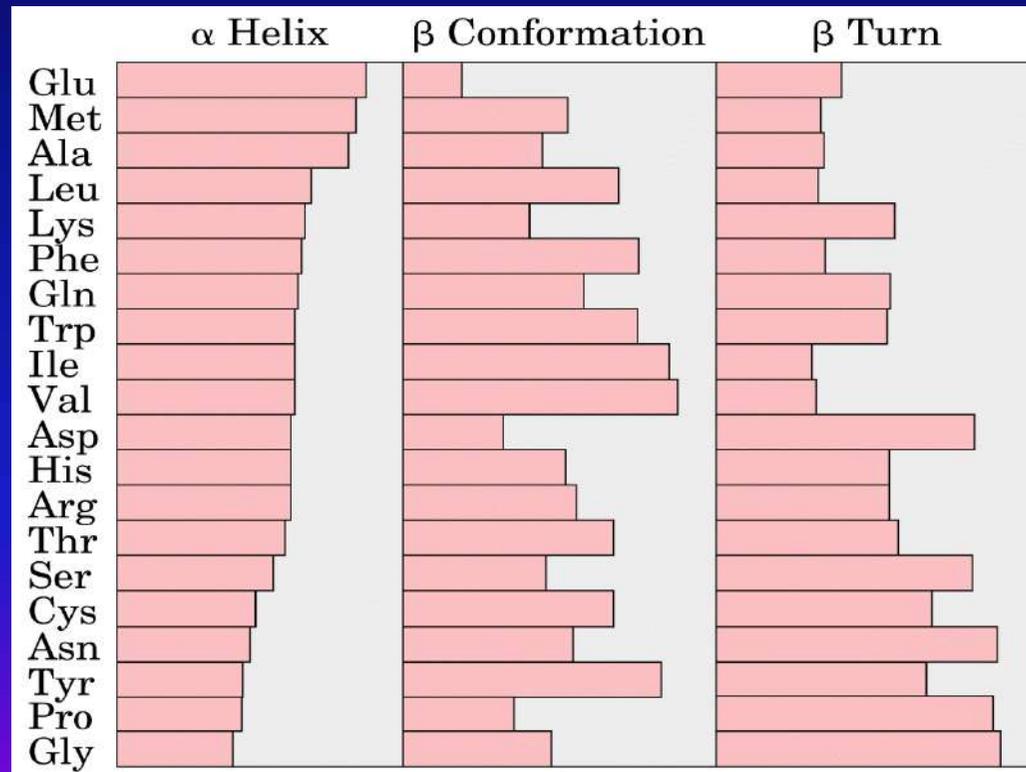
125

IL GRAFICO DI RAMACHANDRAN

In conclusione,

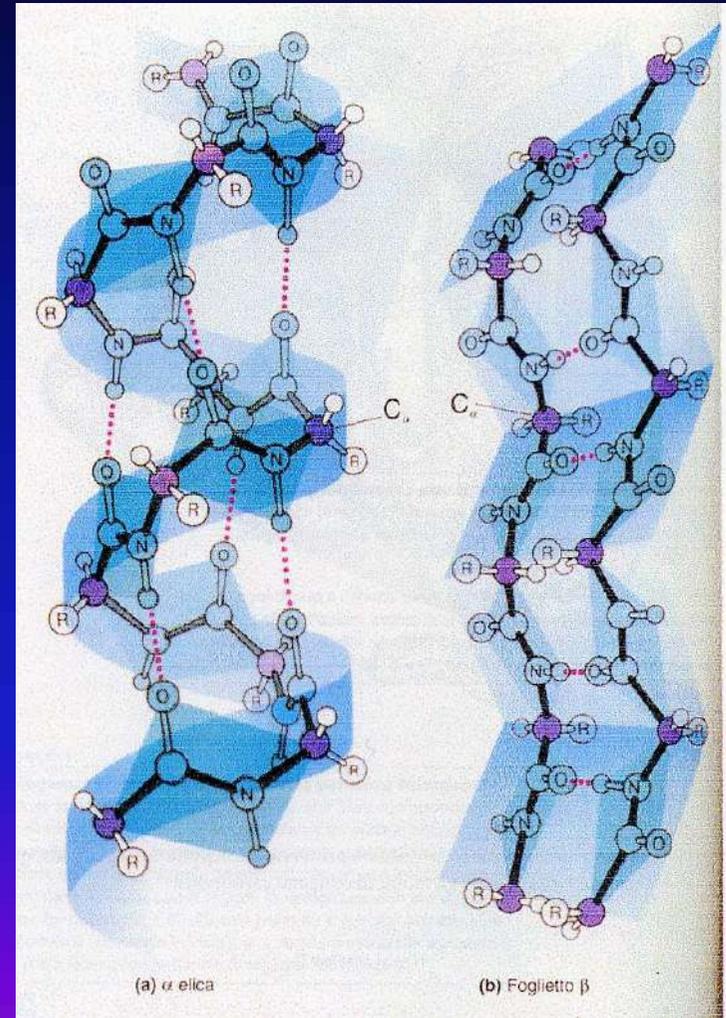
indipendentemente dal tipo di proteina, i valori degli angoli φ e ψ di **tutti** gli amminoacidi tendono ad occupare le aree del grafico **più stabili**, nelle quali le distanze interatomiche tra atomi non direttamente impegnati in legami fra loro siano **superiori** ai rispettivi raggi atomici, così da **non** creare interferenze steriche.

LE PROBABILITÀ RELATIVE DELLA PRESENZA DI UN DATO AMMINOACIDO NEI TRE TIPI PIÙ COMUNI DI STRUTTURA SECONDARIA



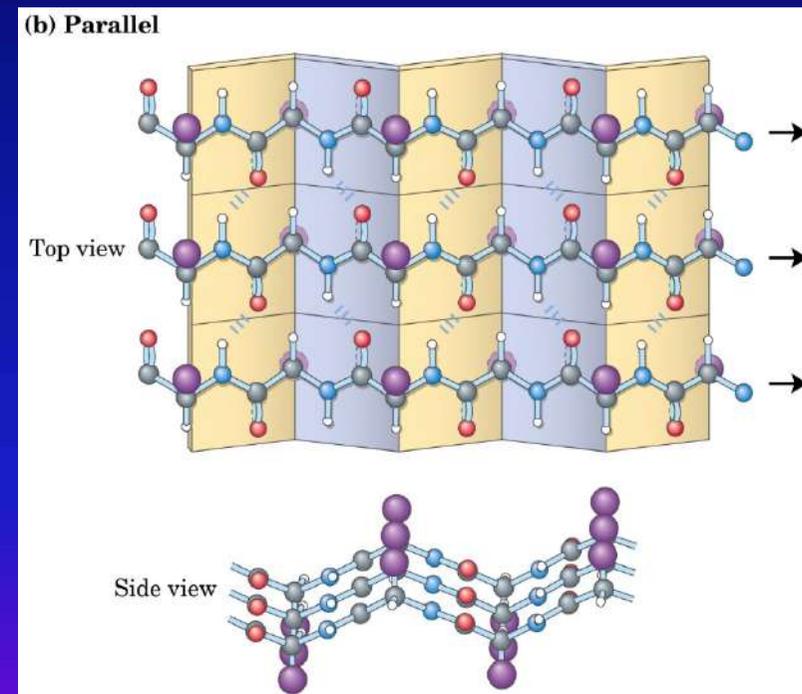
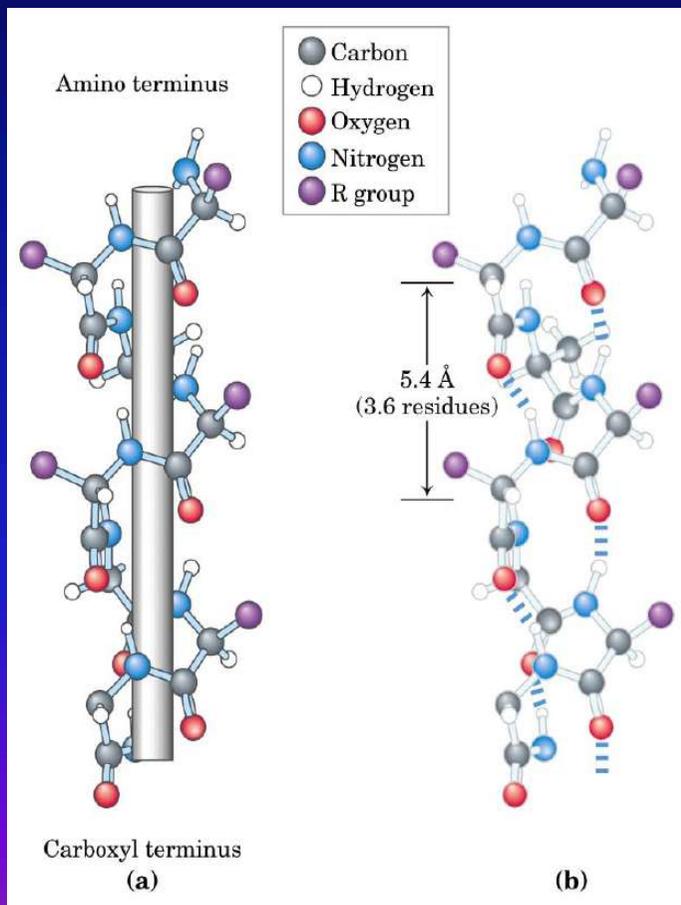
LA STRUTTURA SECONDARIA

- La lunghezza e gli angoli di legame devono essere distorti il meno possibile,
- due atomi, non impegnati in legami fra loro, non devono avvicinarsi più di quanto sia loro consentito dai rispettivi raggi di Van Der Waals,
- il gruppo ammidico deve rimanere planare e nella configurazione trans,
- le conformazioni favorite sono quelle in grado di permettere la formazione del maggior numero di legami idrogeno;
- si rileva che
- **l' α elica ed il foglietto β** sono le strutture secondarie più comuni nelle proteine.



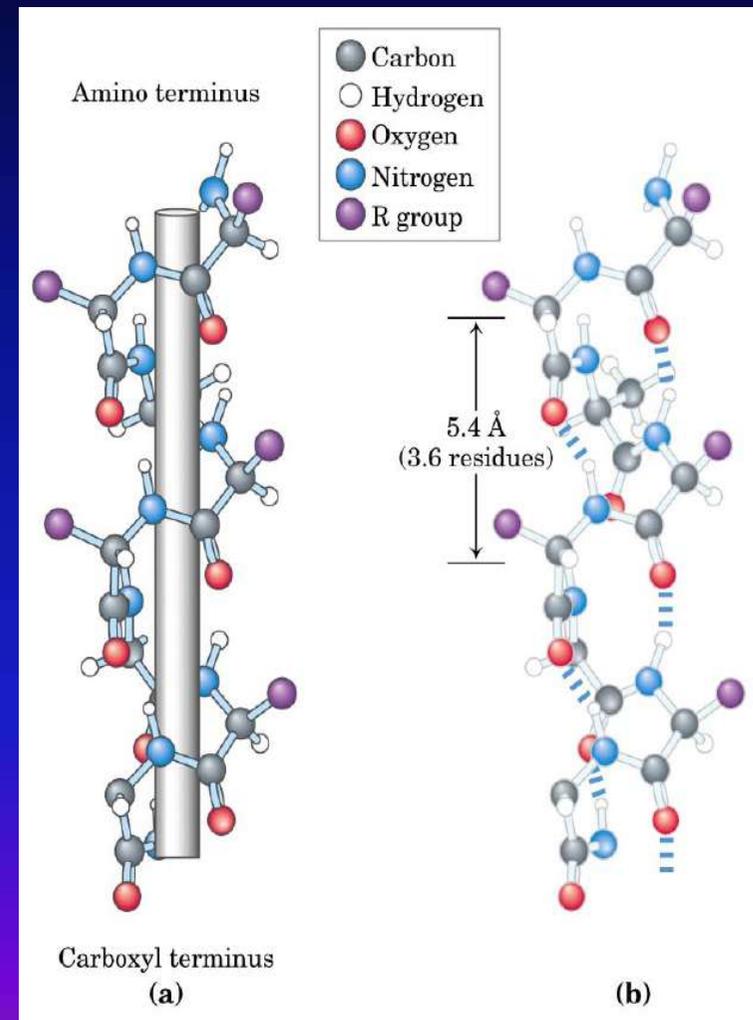
L' α ELICA E IL FOGLIETTO β

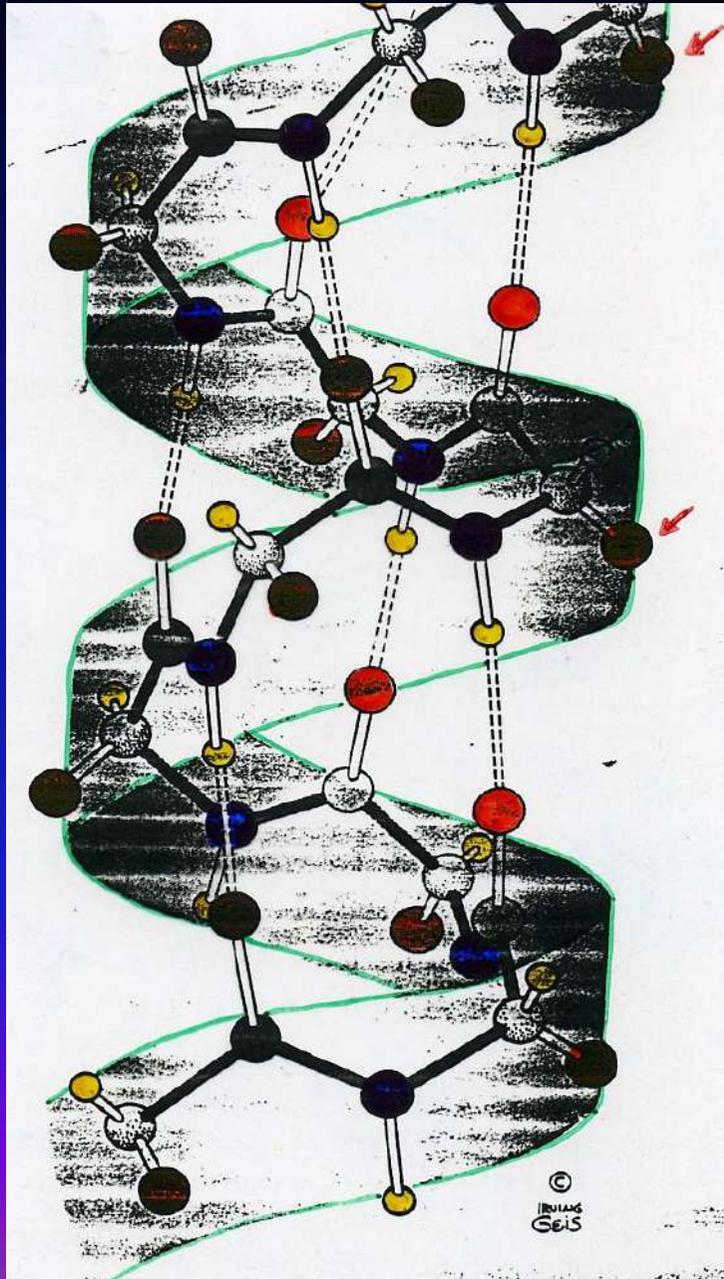
I legami H sono localizzati entro una singola catena nell' α elica, tra segmenti adiacenti della catena polipeptidica nel foglietto β .



L' α ELICA

- Lo scheletro è strettamente arrotolato a spirale intorno all'asse longitudinale,
- le catene laterali sono disposte radialmente estendendosi all'**esterno** dell'elica,
- la **periodicità** (distanza tra due posizioni equivalenti) è di 0,54 nm,
- angoli: ψ va da -45° a -50° ,
- φ è di circa -60° ;
- essa è **predominante** nell' α -cheratina e nelle proteine globulari 1/4 dei residui è in α elica.

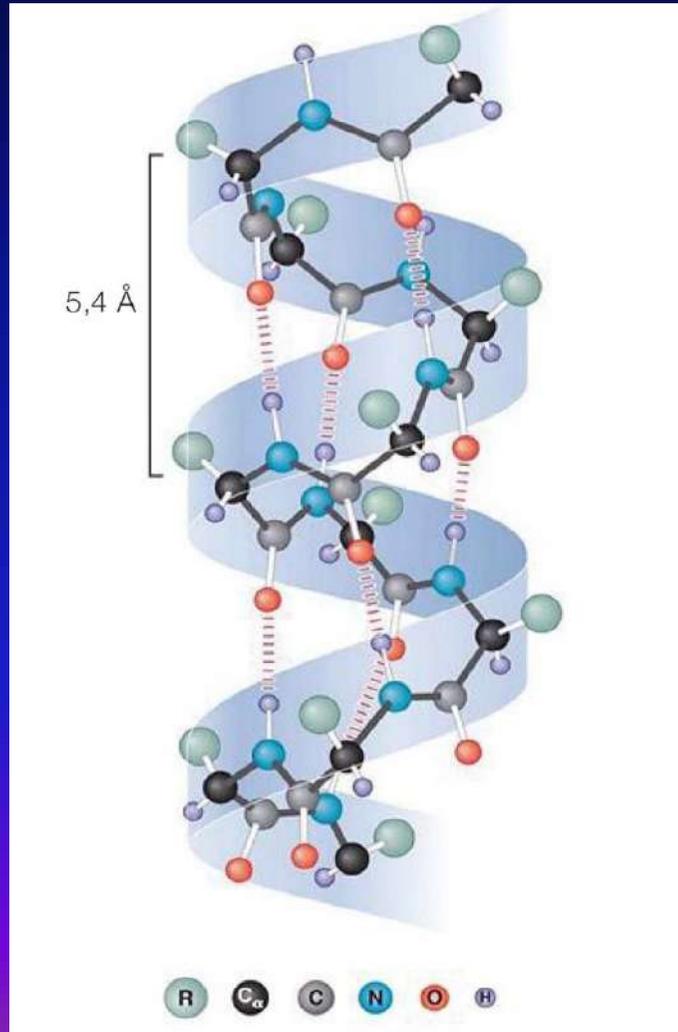




L' α ELICA

- I legami idrogeno si formano tra l'**H** legato all'**N** elettropositivo e l'**O carbonilico** elettronegativo del **quarto** residuo amminoacidico successivo.

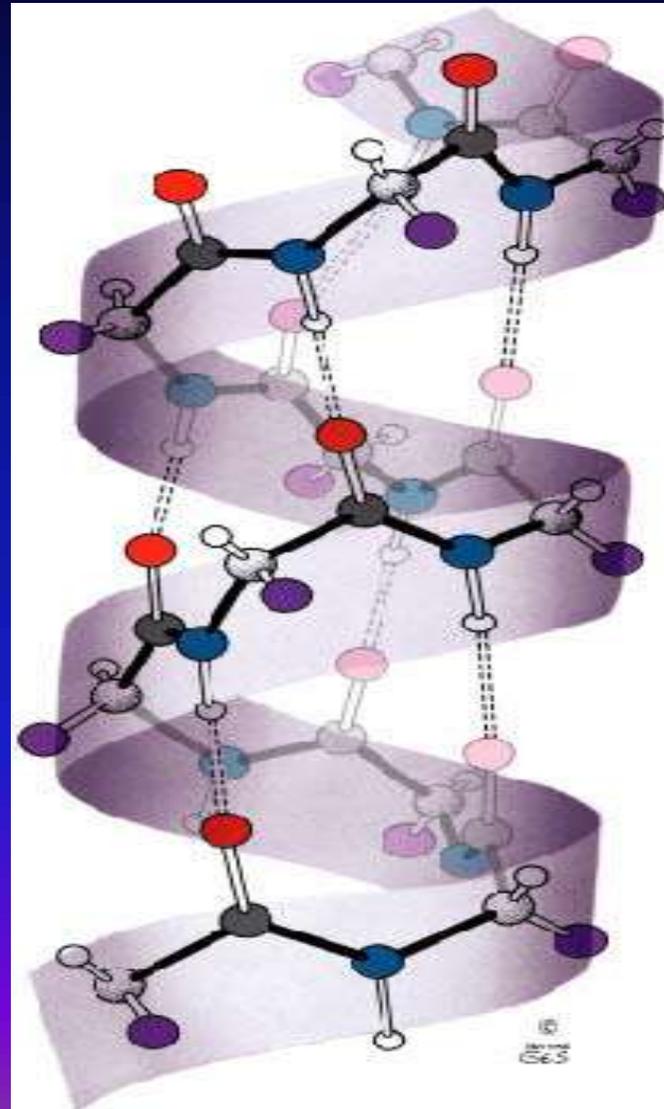
UN MODELLO DELL' α ELICA



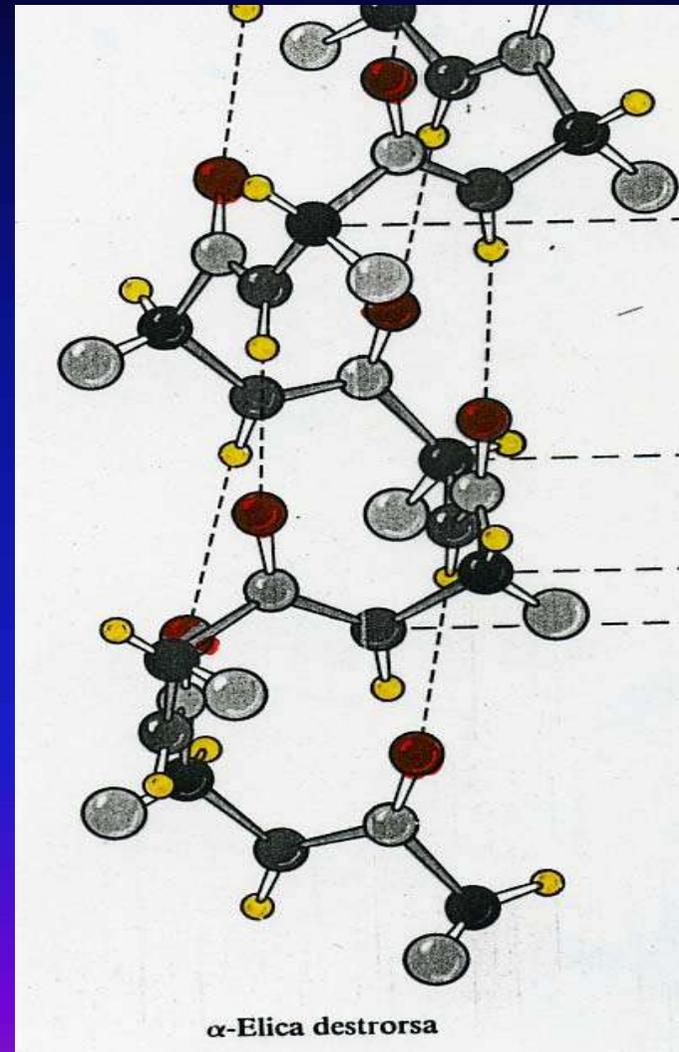
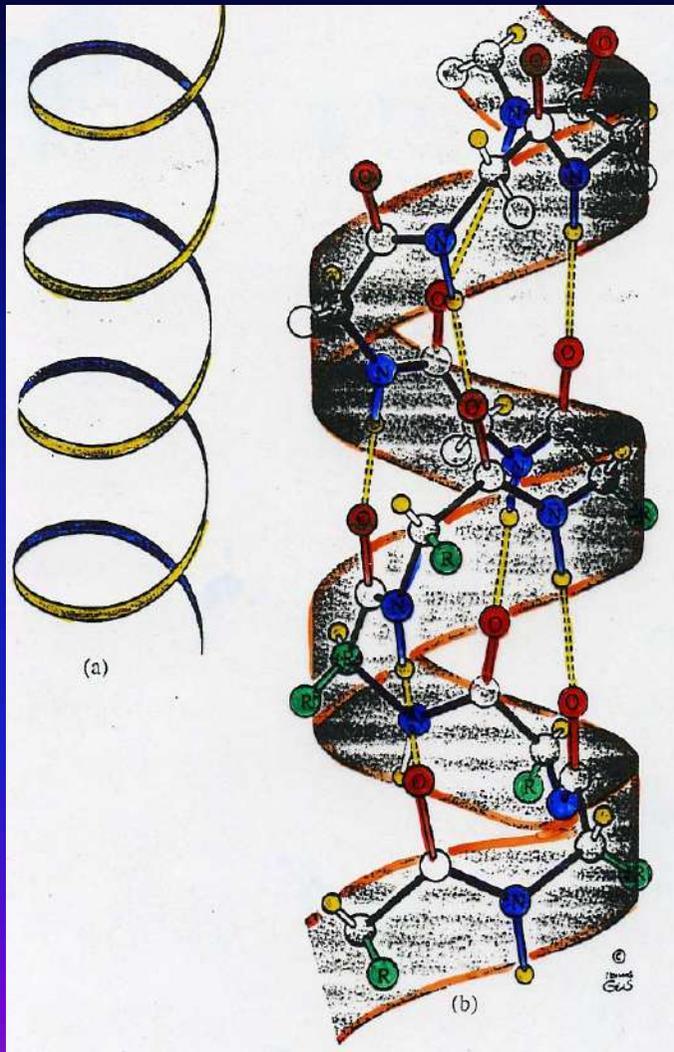
Legami H tra l'**O** del gruppo acilico rivolto verso il basso e l'**H** del gruppo ammidico rivolto verso l'alto,

i **gruppi R** sono disposti **radialmente** estendendosi all'esterno della proteina.

L' α ELICA



L'α ELICA

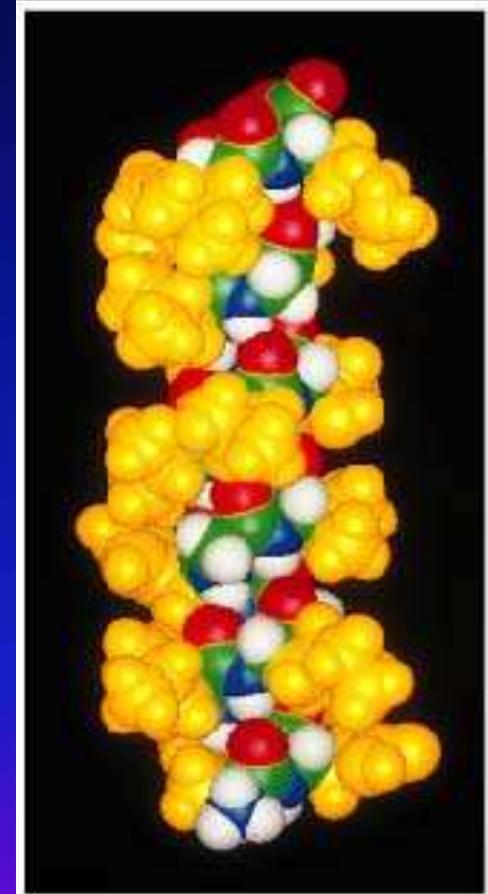


L' α ELICA

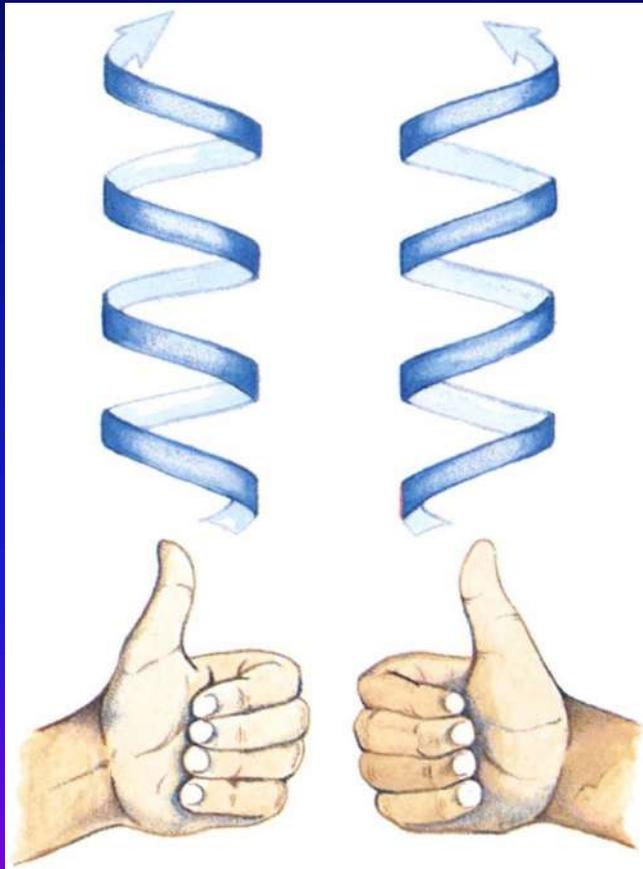
La catena è stabilizzata dai **legami H**,

essa si può formare con gli amminoacidi (tutti) nella forma **L-**,
oppure (tutti) nella forma **D-**,

gli **L-amminoacidi** possono formare eliche sia destrorse sia
sinistrorse.



L' α ELICA



- L' α elica è **destrorsa** ed è l'unica riscontrata nelle proteine naturali,
- il suo passo (la distanza fra due posizioni equivalenti) è di **0,54 nm**,
- ogni giro dell'elica comprende 3,6 residui amminoacidici (**in forma L-**).

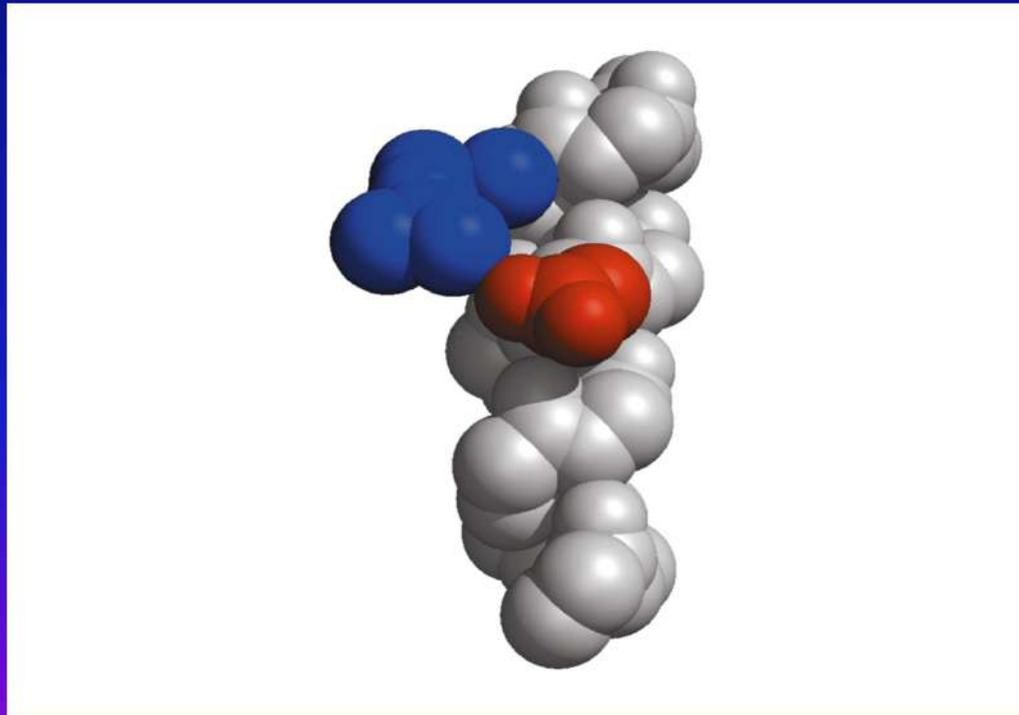
L' α ELICA

La sequenza amminoacidica modifica la sua stabilità,
es. forma, dimensioni, carica della catena laterale.

L' α ELICA

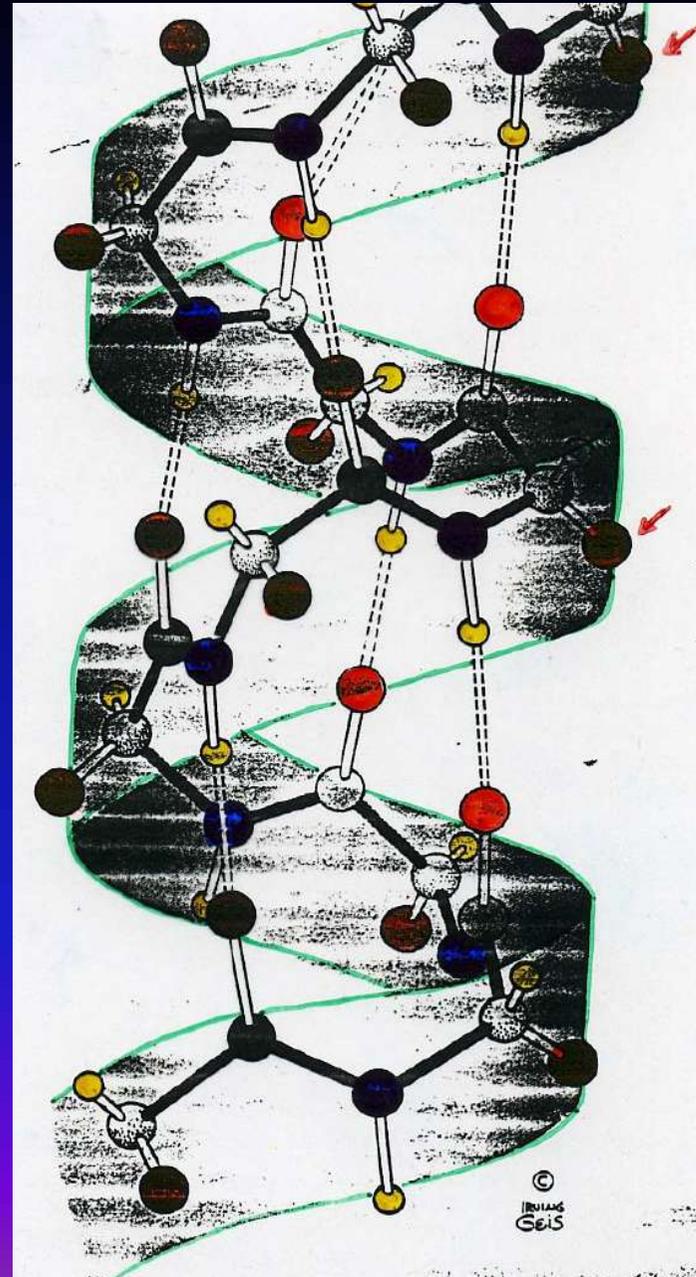
FORMA E DIMENSIONI: *Asn*, *Ser*, *Thr* e *Leu* tendono a impedire la formazione dell' α elica se si trovano in stretta vicinanza nella catena;

CARICA: amminoacidi acidi e basici influenzano la stabilità della α elica.



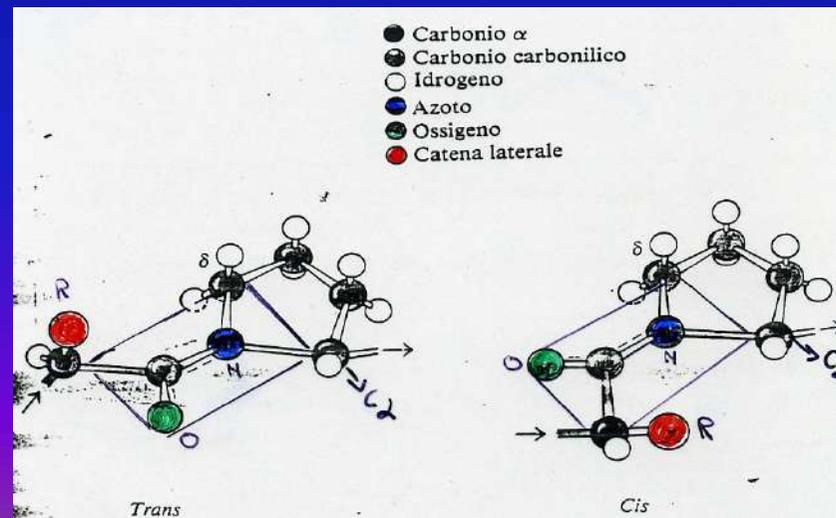
L' α ELICA

- Due amminoacidi aromatici, distanziati di tre amminoacidi, possono **generare** un'interazione idrofobica,
- due amminoacidi aventi catene laterali con le stesse cariche, distanziati di tre residui, **destabilizzano** l' α -elica,
- due amminoacidi aventi cariche opposte e distanziati di tre residui **stabilizzano** l' α -elica.



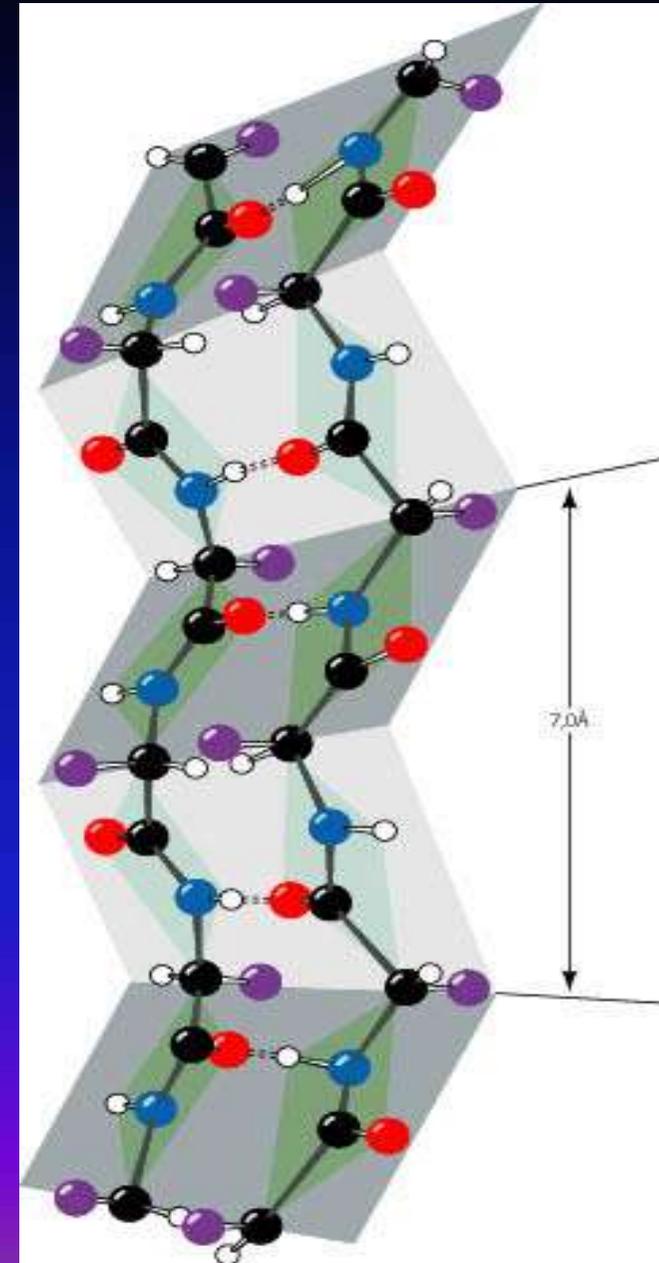
LE RESTRIZIONI ALTERANTI LA STABILITÀ DI UNA α ELICA

1. La repulsione (o attrazione elettrostatica) tra residui amminoacidici adiacenti con gruppi R carichi,
2. la dimensione dei gruppi R adiacenti,
3. l'interazione tra catene laterali spaziate da 3 (o 4) residui,
4. la presenza di residui di prolina che introducono un "nodo" nella catena.

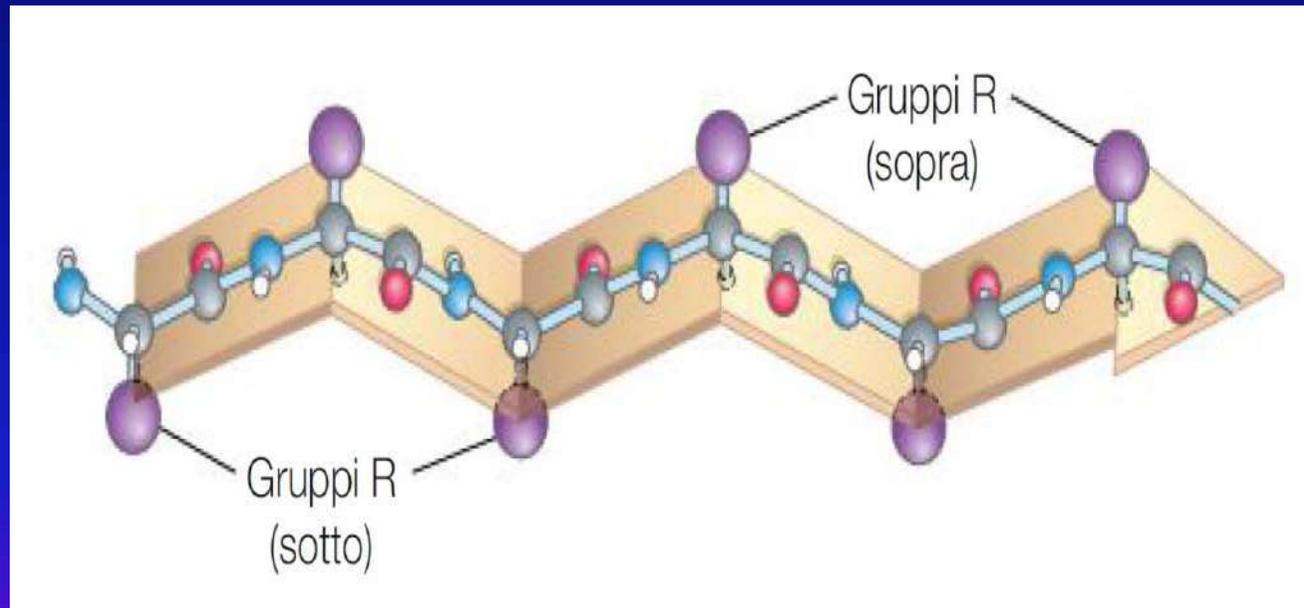


LA STRUTTURA β

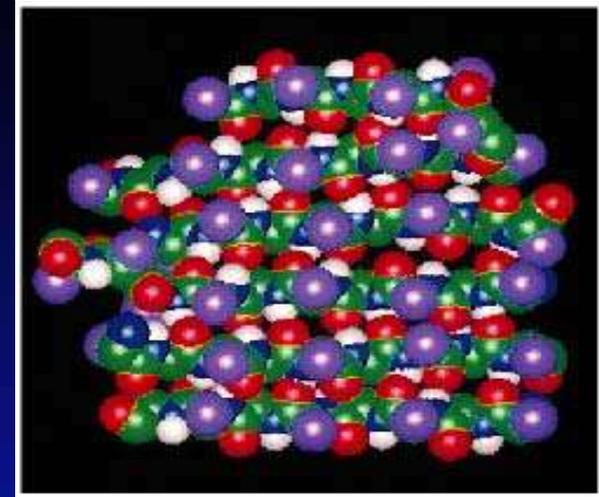
1. Lo scheletro ha andamento a **zig zag**,
2. tutti i segmenti sono disposti **uno a fianco dell'altro** (foglietto ripiegato),
3. i **legami H** tra i gruppi ammidici si formano tra segmenti diversi della catena polipeptidica,
4. i gruppi **R** sono disposti alternativamente sopra e sotto il piano del foglietto.



NEI FOGLIETTI β I GRUPPI R SI DISPONGONO ALTERNATIVAMENTE SOPRA E SOTTO IL PIANO PIEGHETTATO SU CUI GIACCIONO I LEGAMI PEPTIDICI



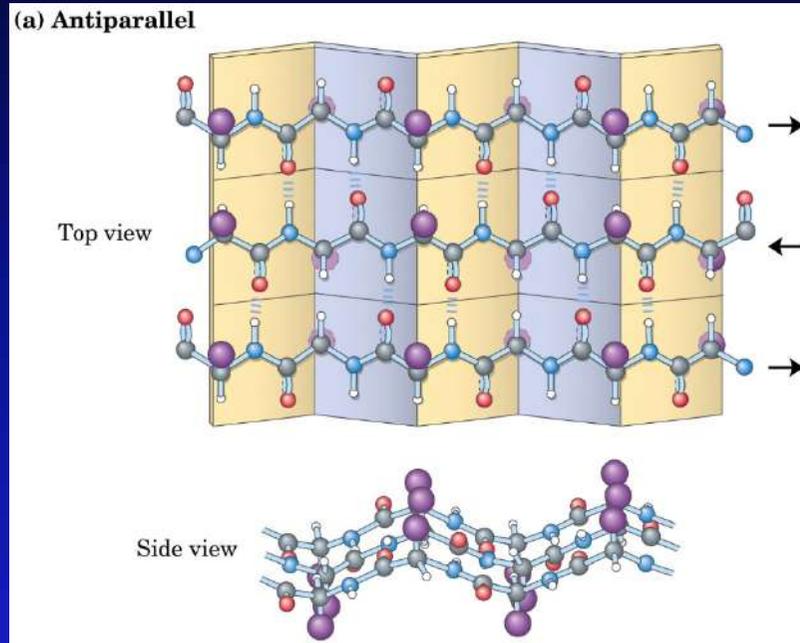
LA STRUTTURA β



5. I segmenti adiacenti della catena possono essere paralleli oppure antiparalleli,
6. quando due o più foglietti ripiegati sono strettamente vicini i gruppi R devono essere relativamente piccoli,
es. le β cheratine (fibroina della seta e proteina della tela dei ragni) hanno un alto contenuto di Gly e Ala.

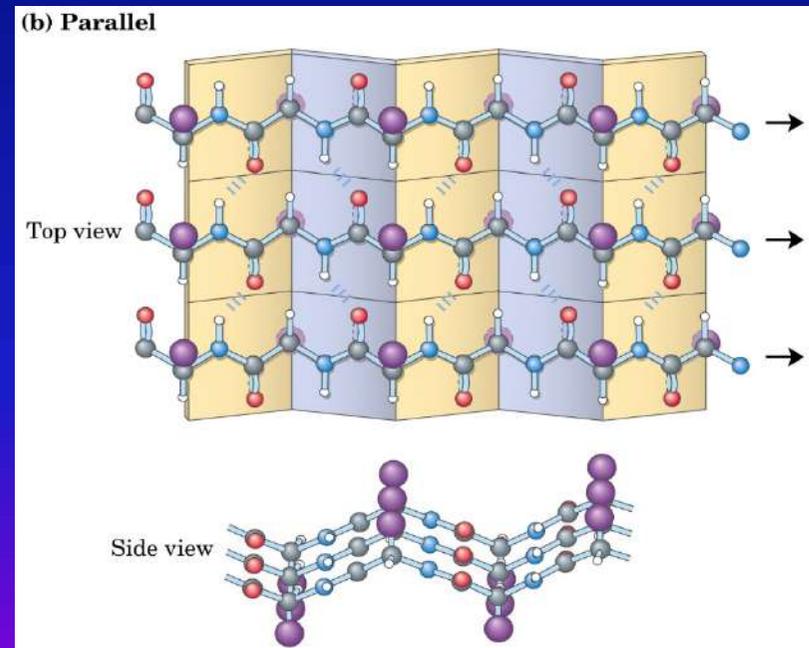
LA CONFORMAZIONE β

(a) Antiparallelo



Queste illustrazioni rivelano che i gruppi R si estendono al di fuori del foglietto β

(b) Parallelo



e dimostrano che il foglietto è determinato dai piani dei vari legami peptidici.

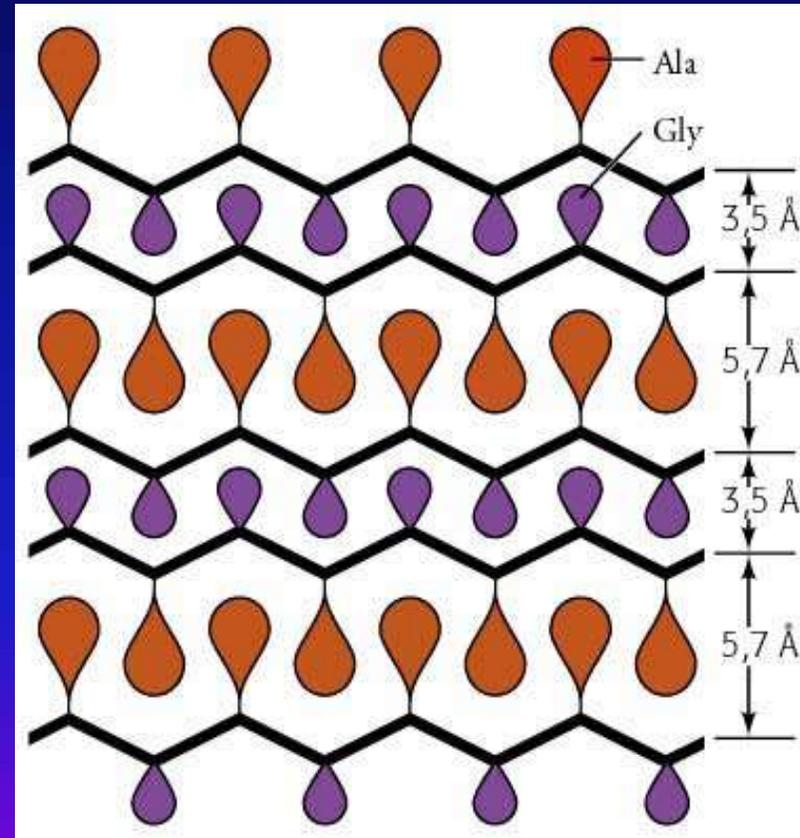
LA CONFORMAZIONE β



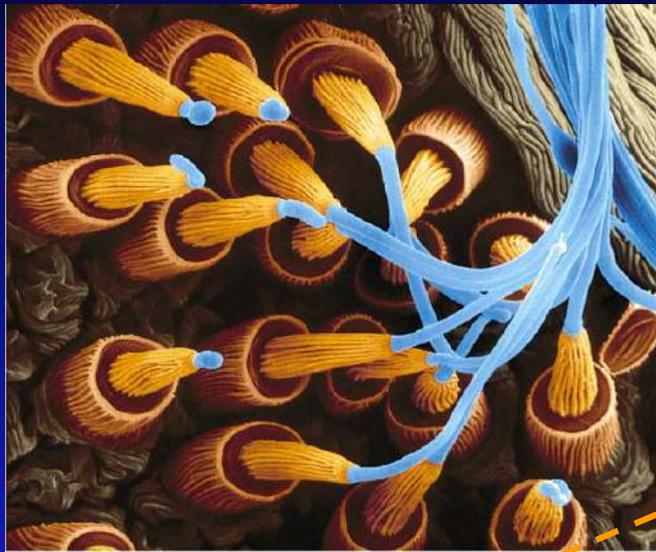
LA STRUTTURA DEL FOGLIETTO β DELLA FIBROINA DELLA SETA

I gruppi R dei residui di **Gly** e **Ala** (o **Ser**) sono disposti in modo alternato sopra e sotto al piano pieghettato;

in questo modo i gruppi R laterali di **Gly** (in viola) di un foglietto si adattano perfettamente a quelli del foglietto vicino; la stessa cosa accade per i gruppi R dei residui di **Ala** o **Ser** (in marrone).

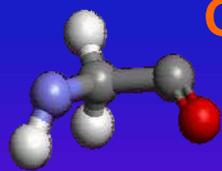
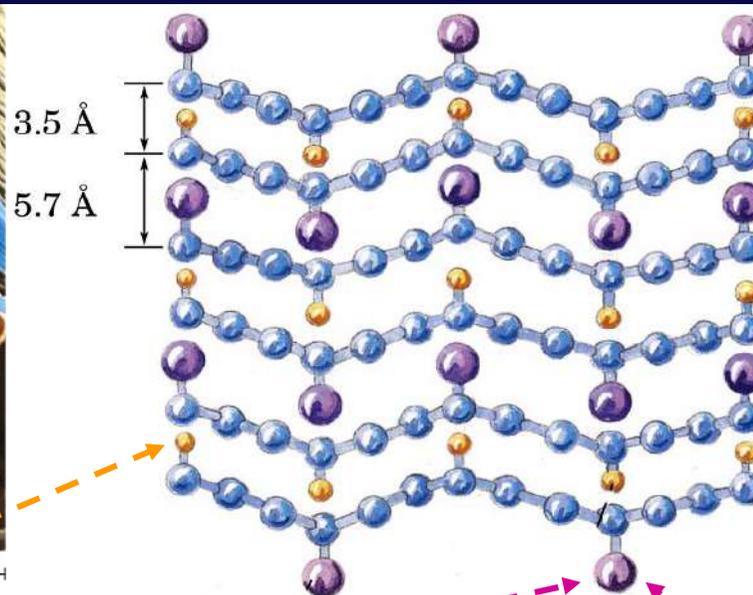


LA FIBROINA DELLA SETA

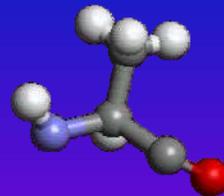
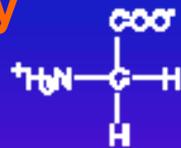


fibroina della seta

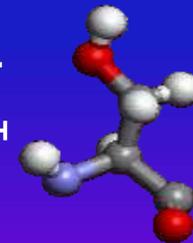
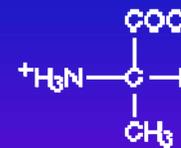
70 μm



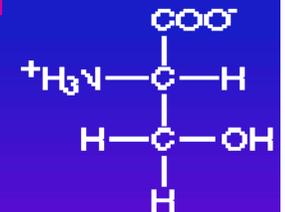
Gly



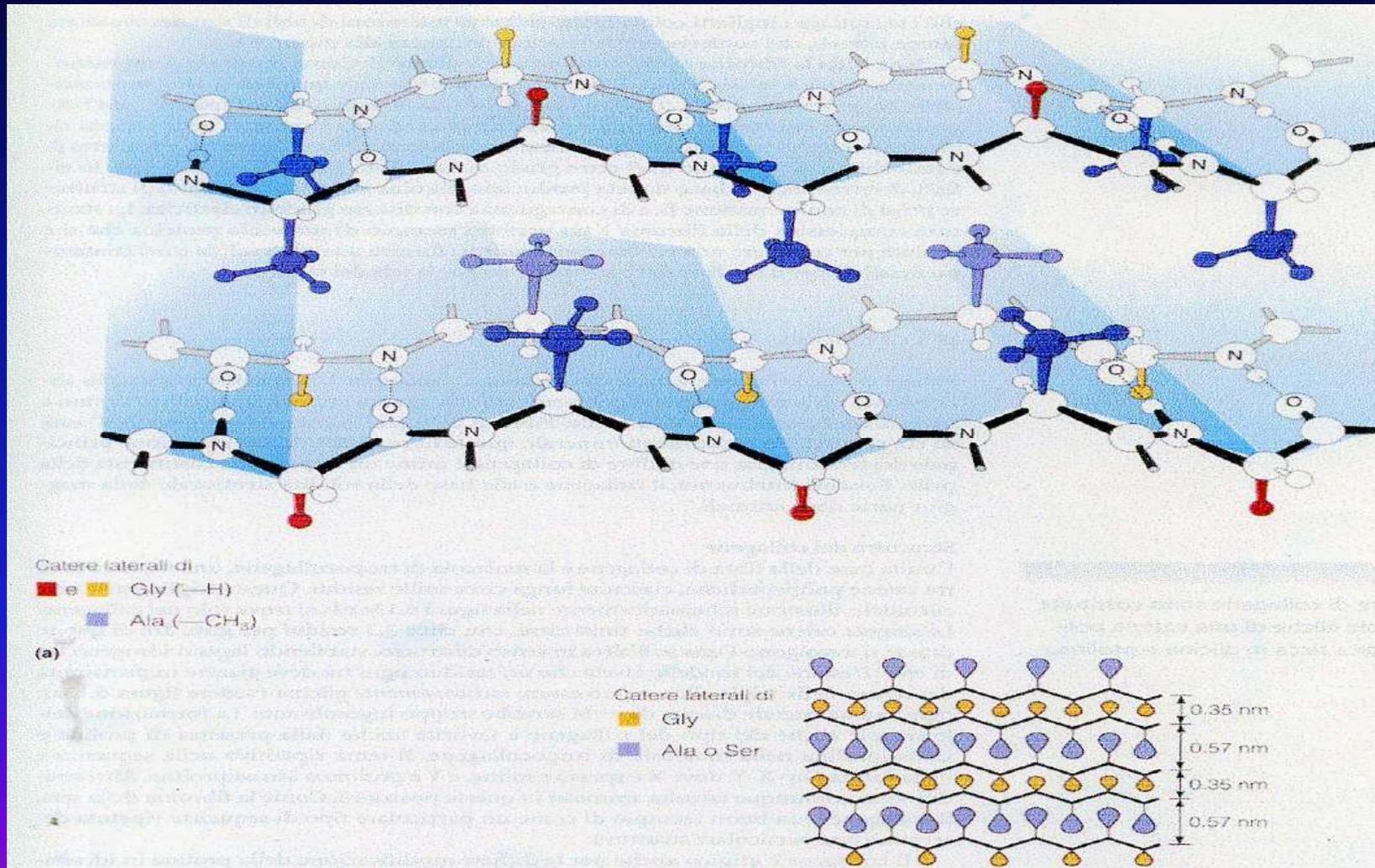
Ala



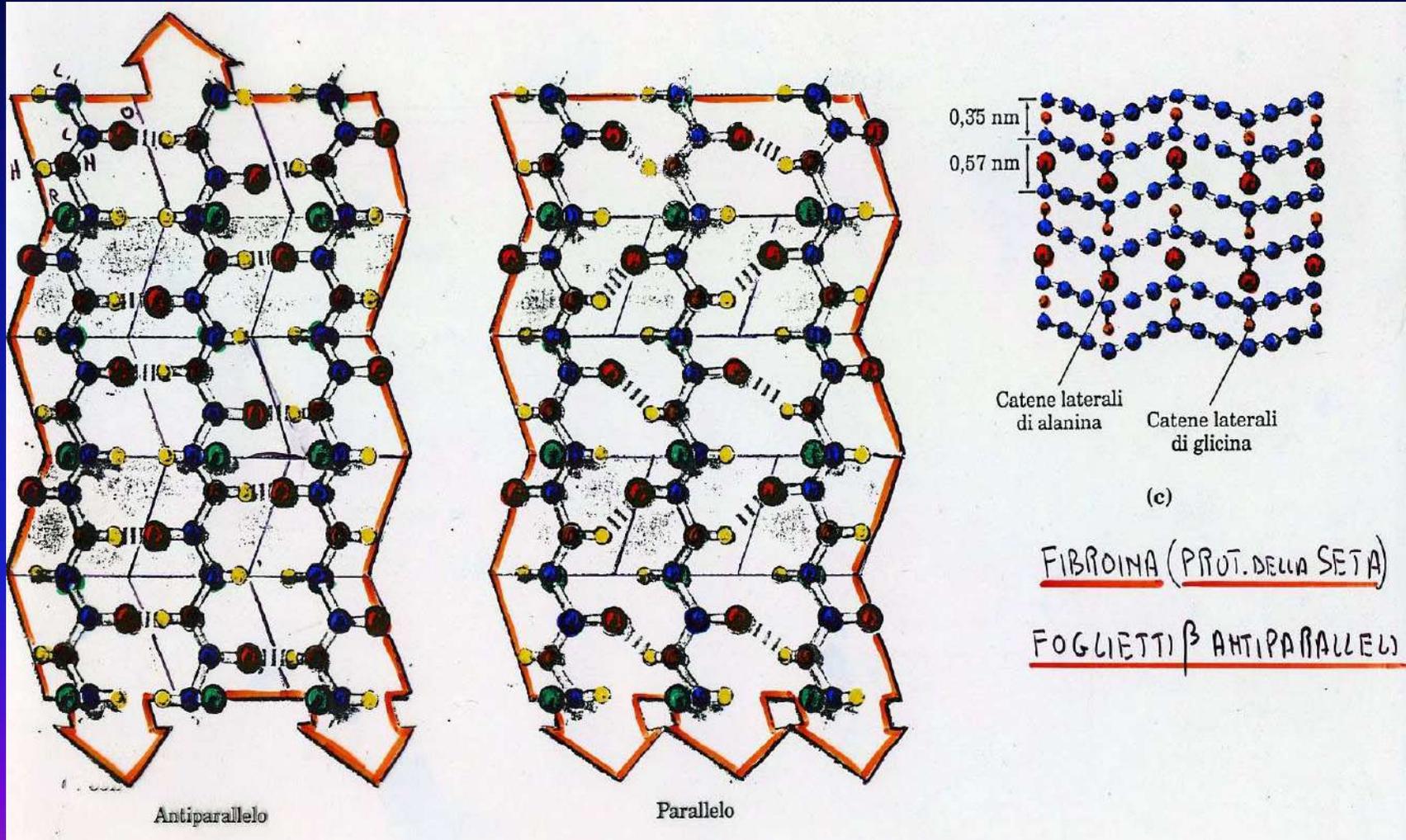
Ser



LA STRUTTURA DELLA FIBROINA DELLA SETA



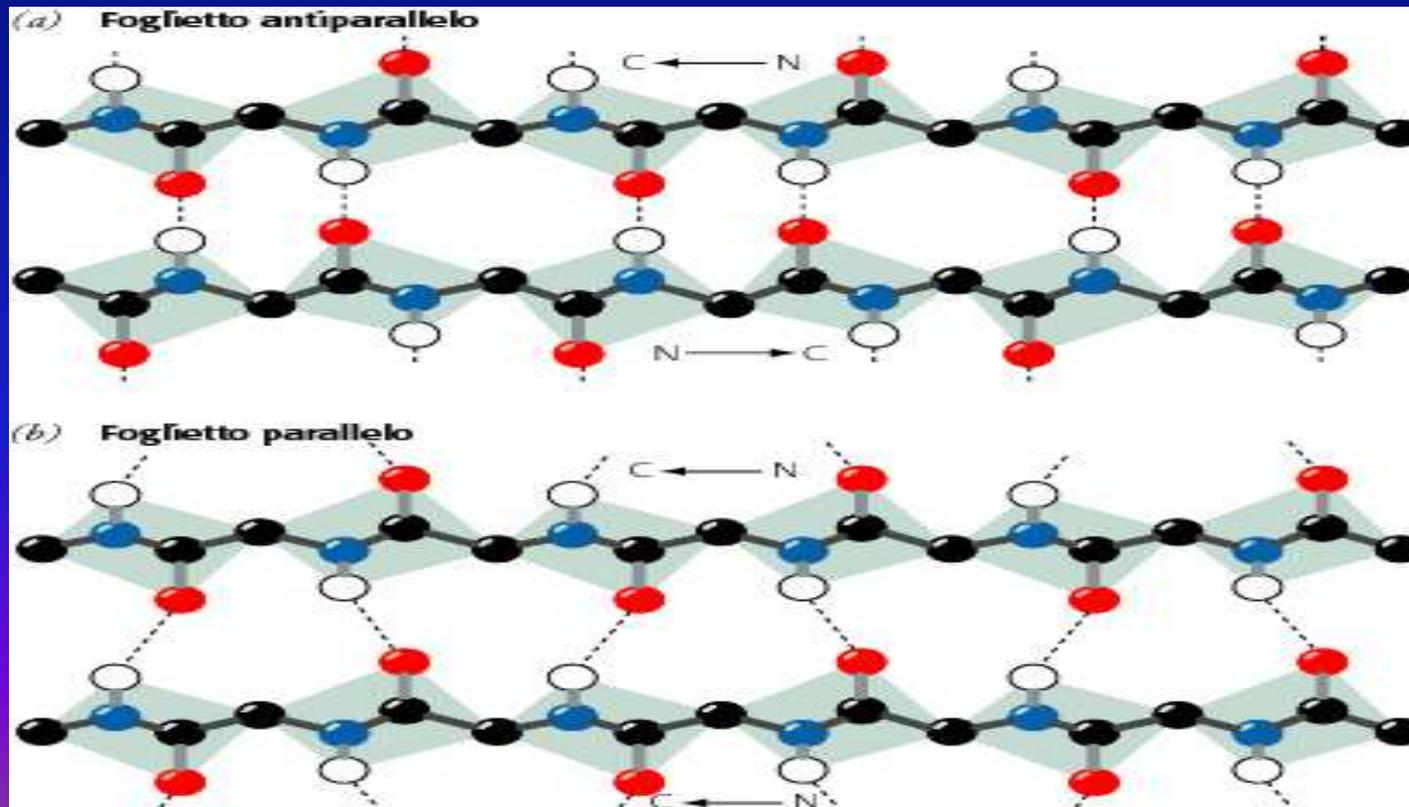
LA CONFORMAZIONE β



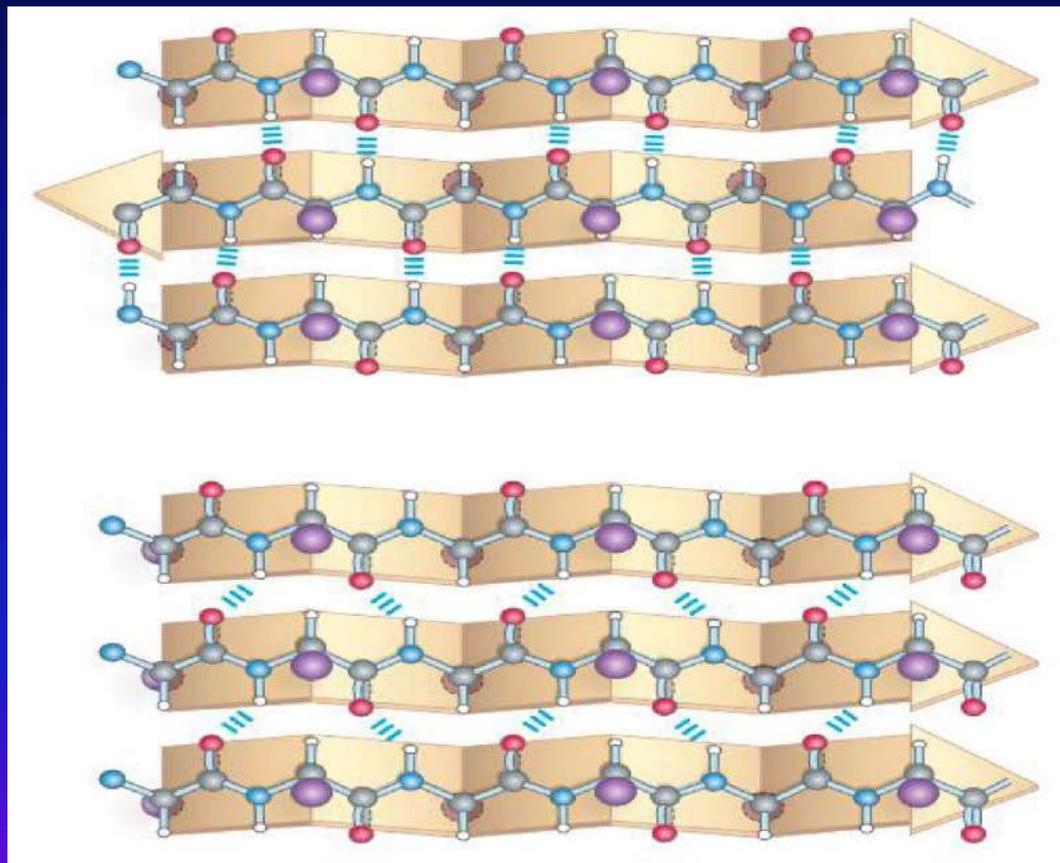
LA CONFORMAZIONE β

I foglietti sono paralleli se i segmenti hanno la stessa direzione (N-terminale C-terminale),

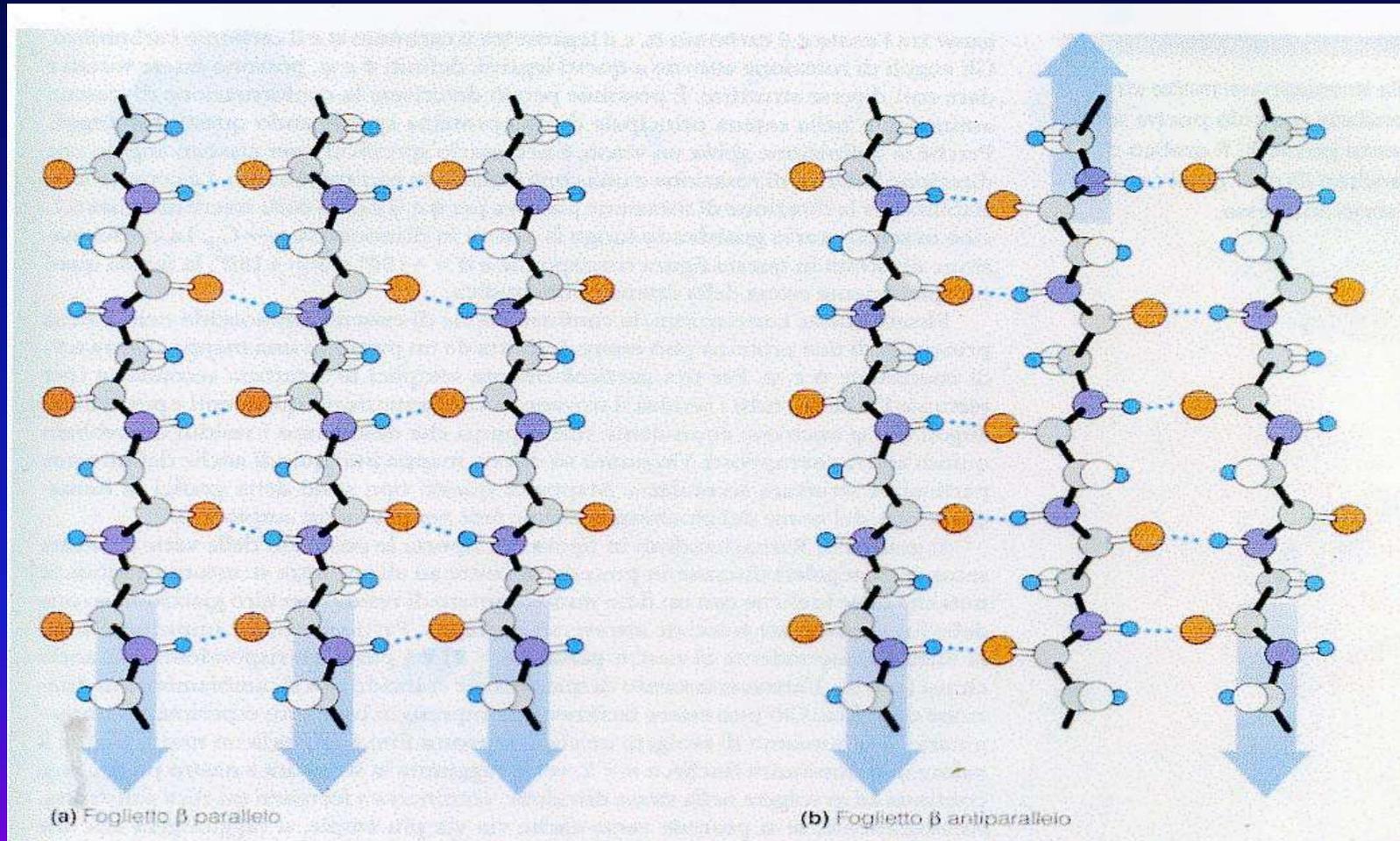
i foglietti sono antiparalleli quando un segmento ha orientamento opposto all'altro, questi sono i più stabili perchè i legami H sono disposti perpendicolarmente all'asse della catena.



I FOGLIETTI β ANTIPARALLELI (IN ALTO) E PARALLELI (IN BASSO)

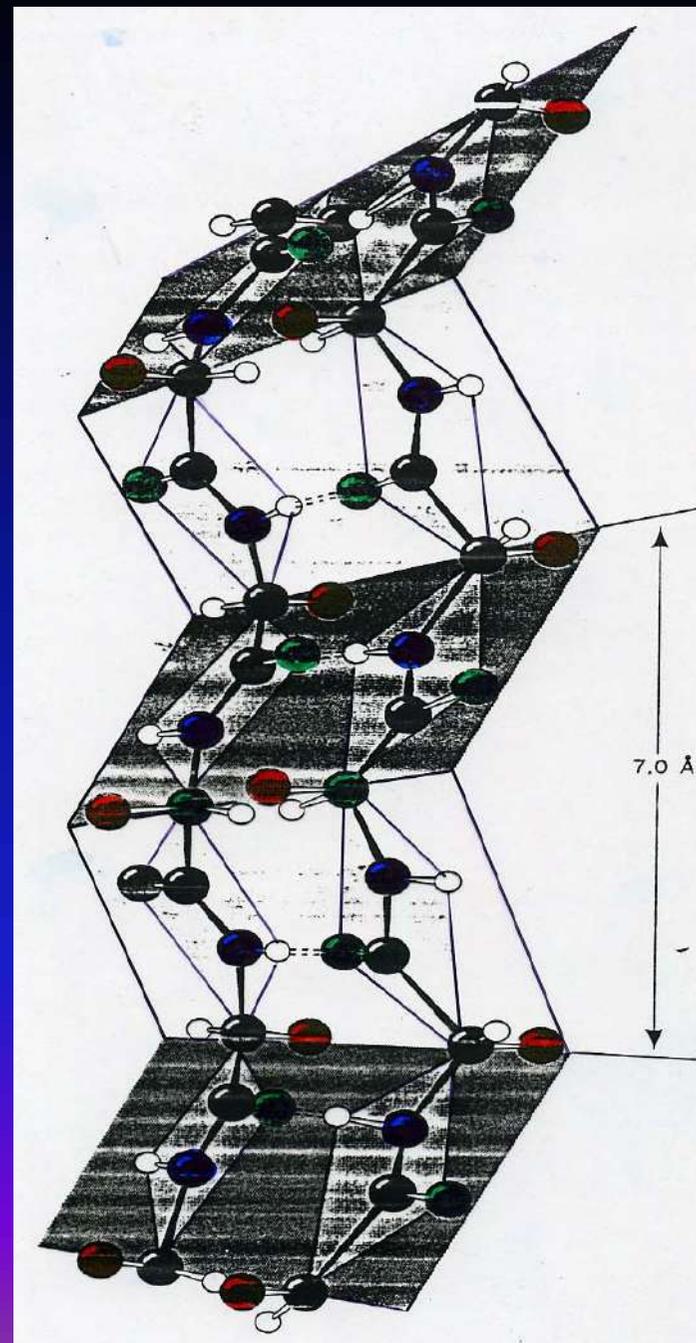


LA CONFORMAZIONE β

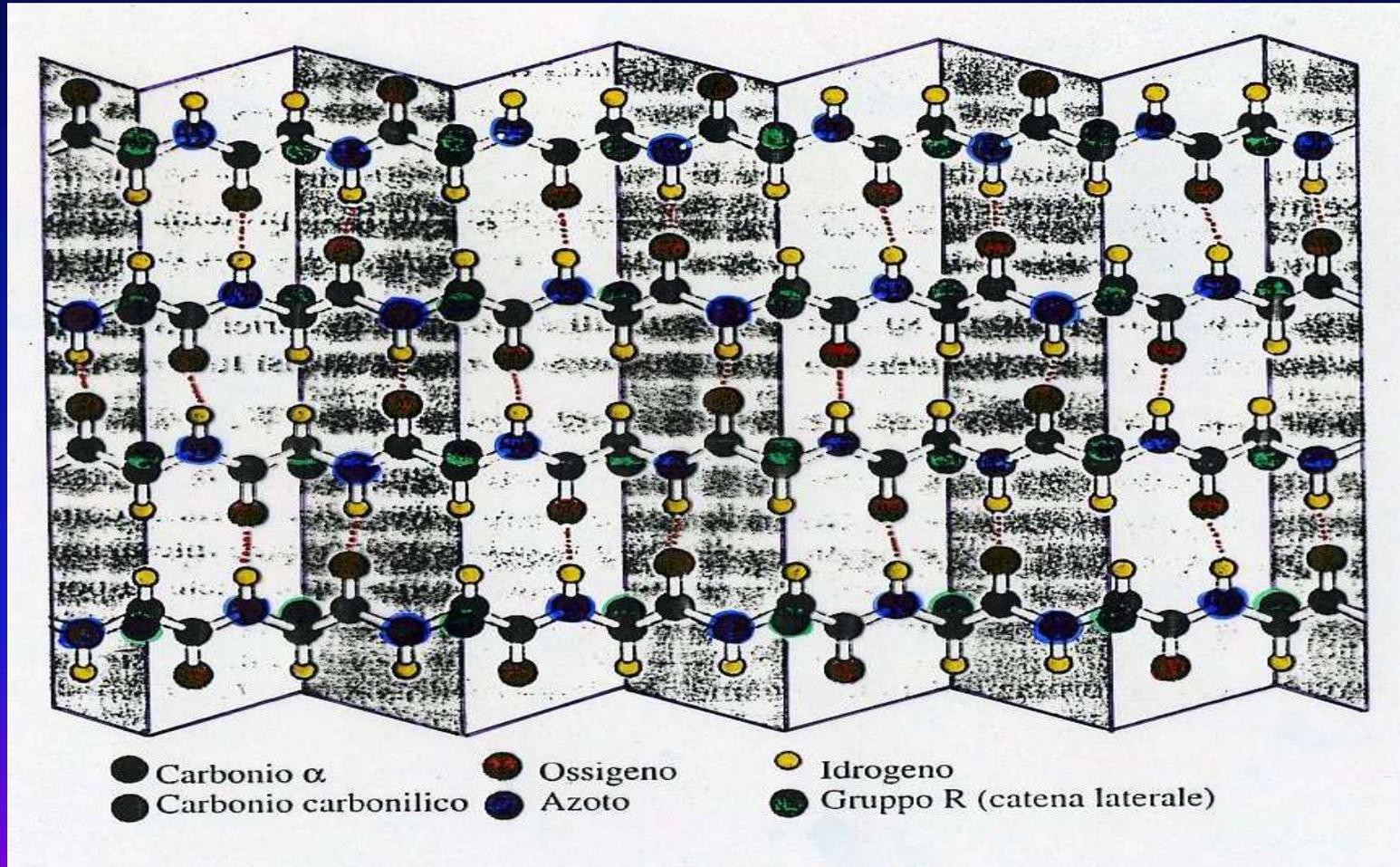


LA CONFORMAZIONE β

I gruppi **R** dei segmenti si estendono alternativamente ai lati opposti del foglietto.

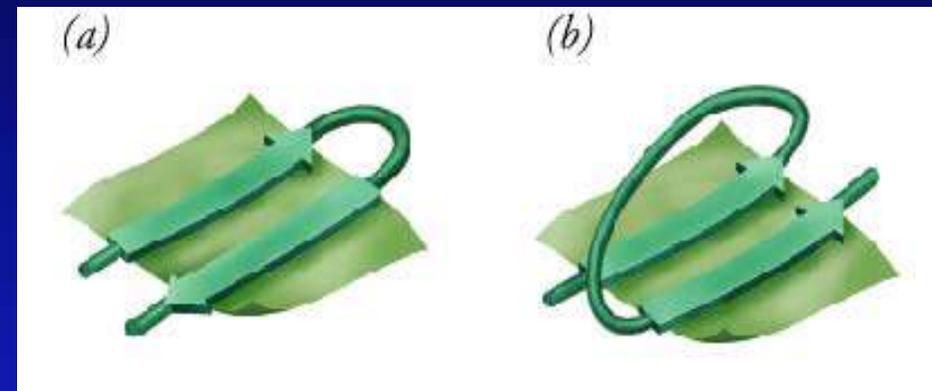


LA CONFORMAZIONE β



LE CONNESSIONI TRA SEGMENTI ADIACENTI NEI FOGLIETTI β

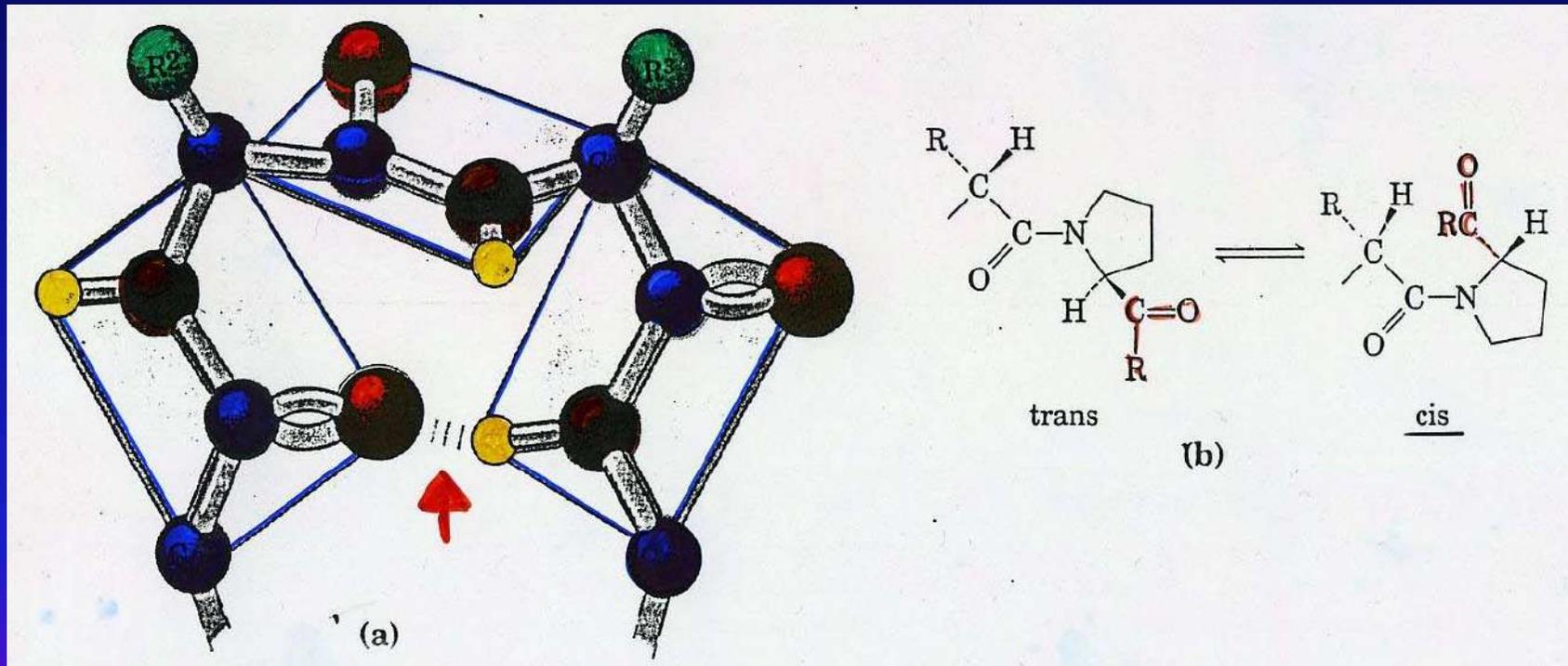
- a) I segmenti antiparalleli possono essere collegati da una piccola ansa disposta nel piano (**connessione a forcina**),
- b) i segmenti paralleli richiedono invece un'estesa connessione trasversale disposta al di fuori del piano (**connessione destrorsa**);



esiste anche una connessione sinistrorsa, ma è rara.

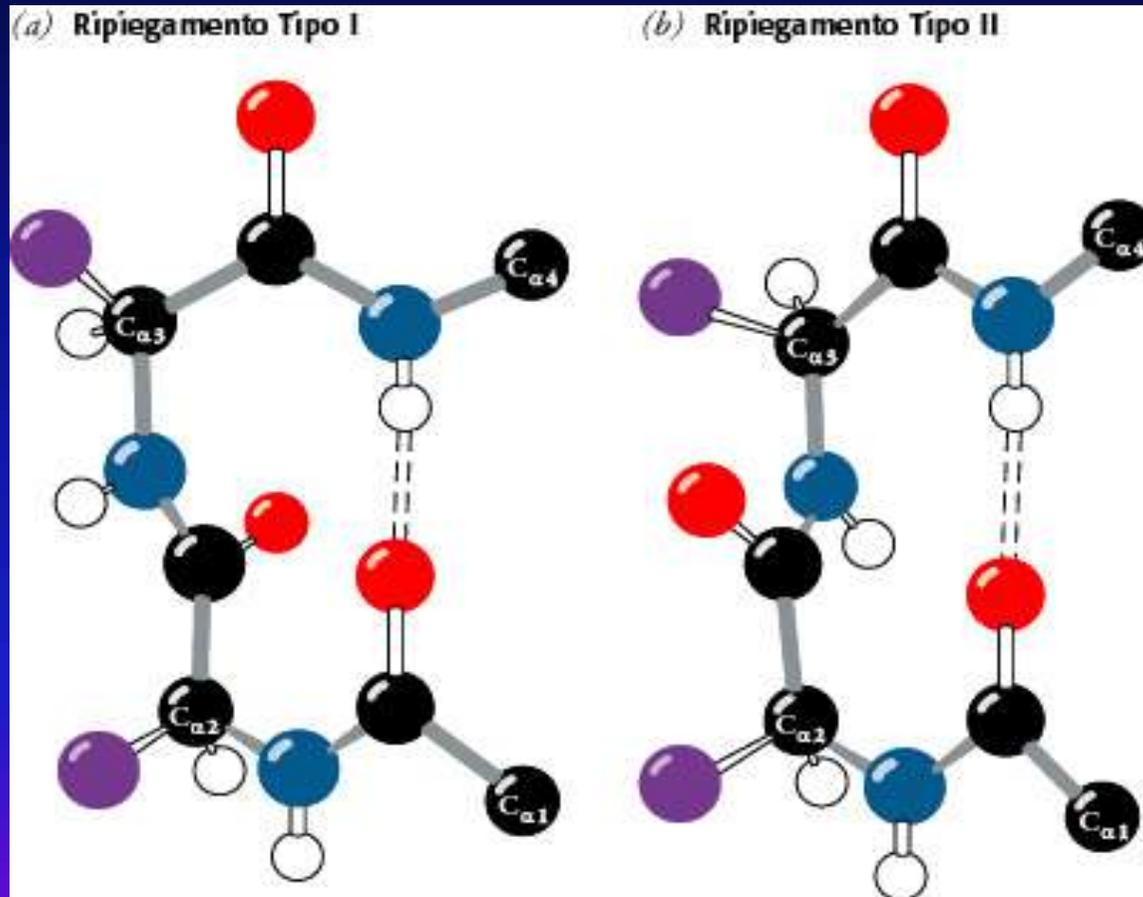
LA STRUTTURA DI UN RIPIEGAMENTO β (INVERSIONE A U o A FORCINA)

Questo permette di invertire la direzione della catena polipeptidica,



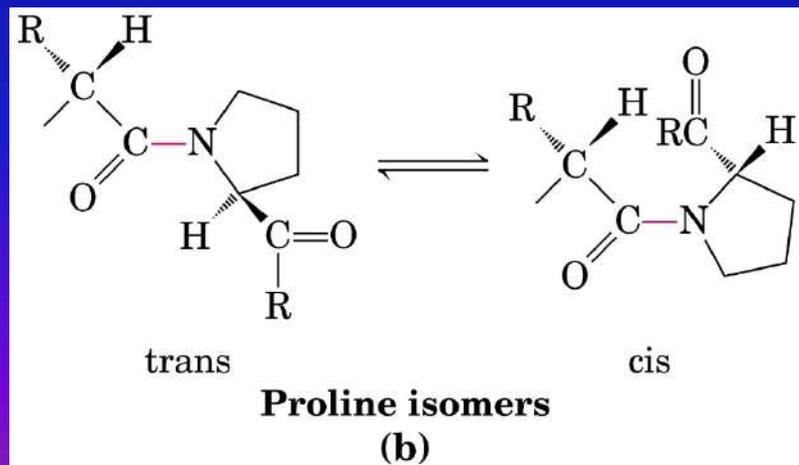
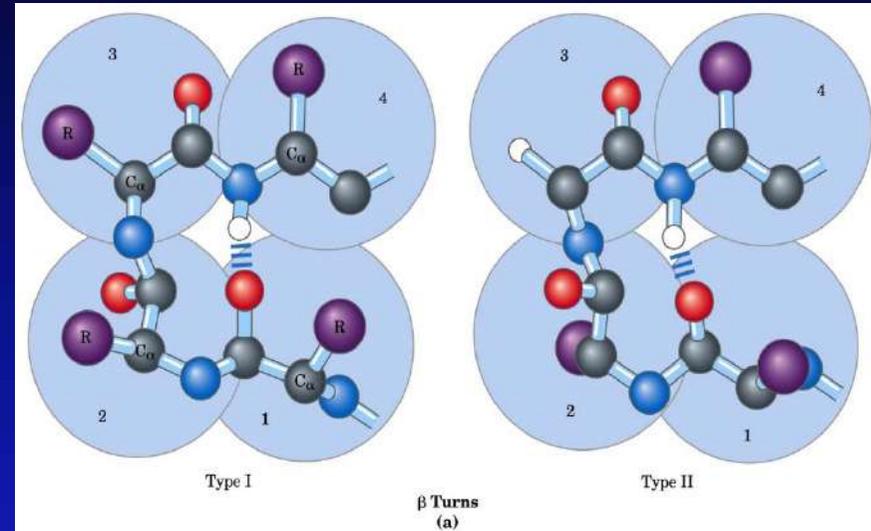
si forma un **legame H** tra i gruppi peptidici del **primo** e del **quarto** residuo del ripiegamento; il residuo **2** è spesso la **prolina**, il residuo **3** può essere la **glicina**.

I RIPIEGAMENTI β



I RIPIEGAMENTI β (INVERSIONE A U O A FORCINA)

Il **tipo I** ha una frequenza nelle proteine circa doppia rispetto al **tipo II**; il ripiegamento β **tipo II** ha sempre un residuo di **Gly** alla terza posizione. Si ha la formazione di un **legame H** tra i gruppi peptidici del primo e del quarto residuo del ripiegamento;



isomeri **trans** e **cis** (più frequente) del legame peptidico a cui partecipa l'atomo di **N** imminico della **prolina** (residuo 2).

LE CONNESSIONI TRA SEGMENTI ANTIPARALLELI (A) E PARALLELI (B e C)

(a) A FORCINA



(b) CONNESSIONE
DESTROSA

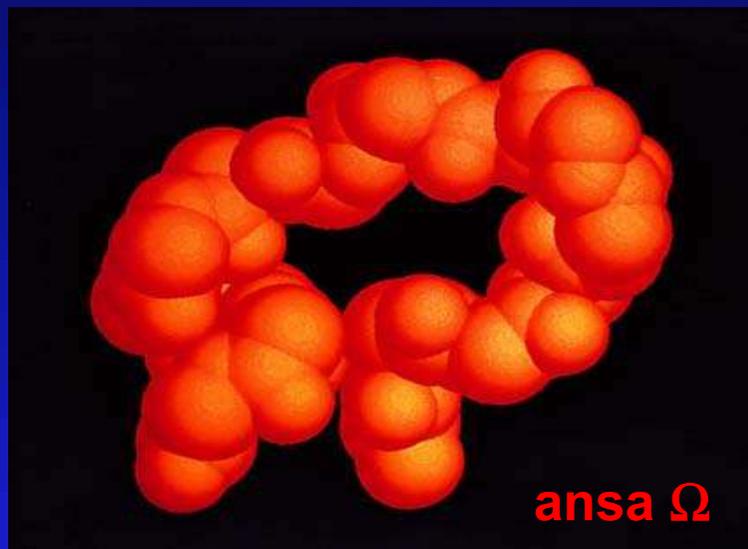


(c) CONNESSIONE
SINISTRORSA (RARA)



B e C = CONNESSIONI CROCIATE AL DI
FUORI DEL PIANO DEL FOGLIETTO

LE ANSE



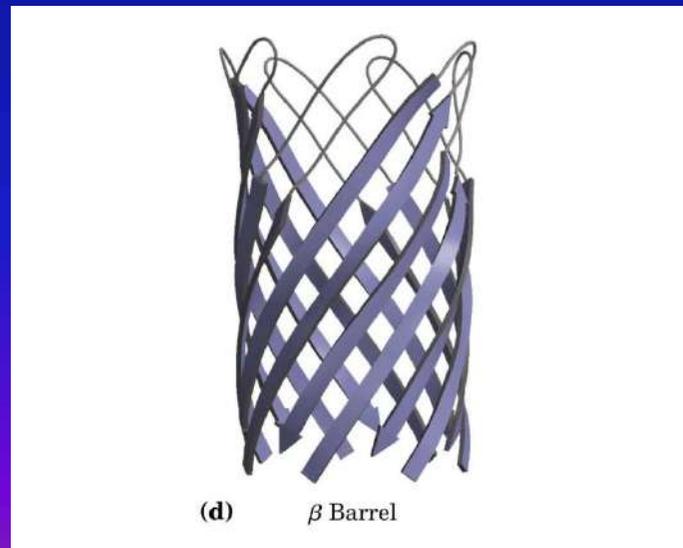
Il numero dei loro residui
é variabile da 6 a 16.

LE STRUTTURE SUPERSECONDARIE

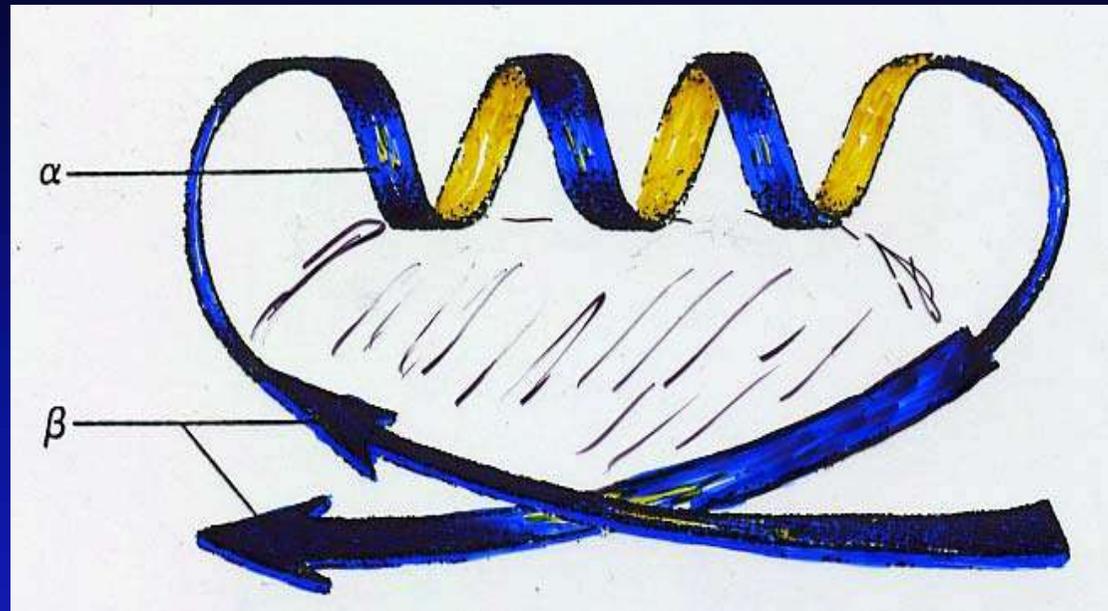
Gli elementi di struttura secondaria α eliche e foglietti β sono spesso combinati in elementi strutturali ricorrenti;

tali combinazioni sono dette
strutture supersecondarie o **motivi**,

la presenza di motivi permette la classificazione delle proteine in **classi** in base alle loro **somiglianze strutturali**.



LA STRUTTURA A CAPPIO $\beta\alpha\beta$

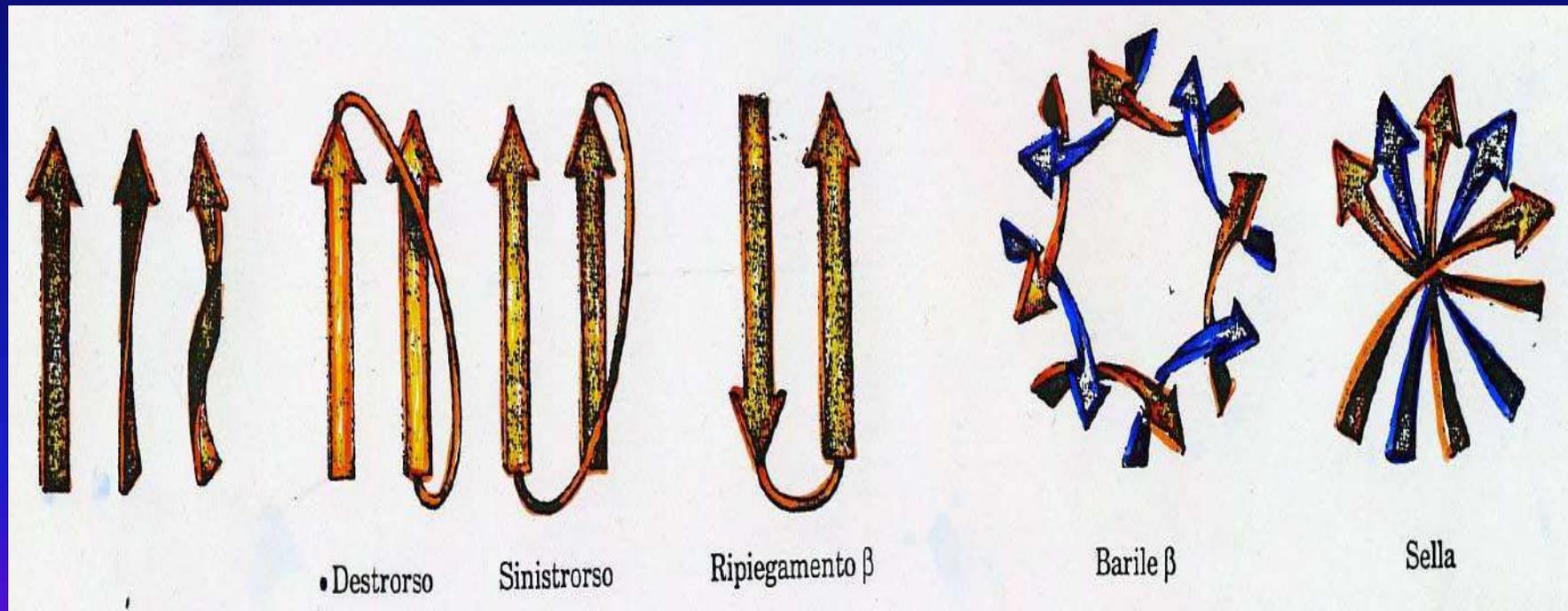


I **gruppi R** degli aminoacidi si proiettano verso l'esterno delle **eliche α** e delle **strutture β** , quindi, per "coprire" i **residui idrofobici** (che costituiscono i **nuclei idrofobici** con funzione stabilizzante) è necessario che le proteine solubili in acqua abbiano più di uno strato di struttura secondaria;

la regione ombreggiata indica l'area in cui sono presenti le interazioni idrofobiche stabilizzatrici.

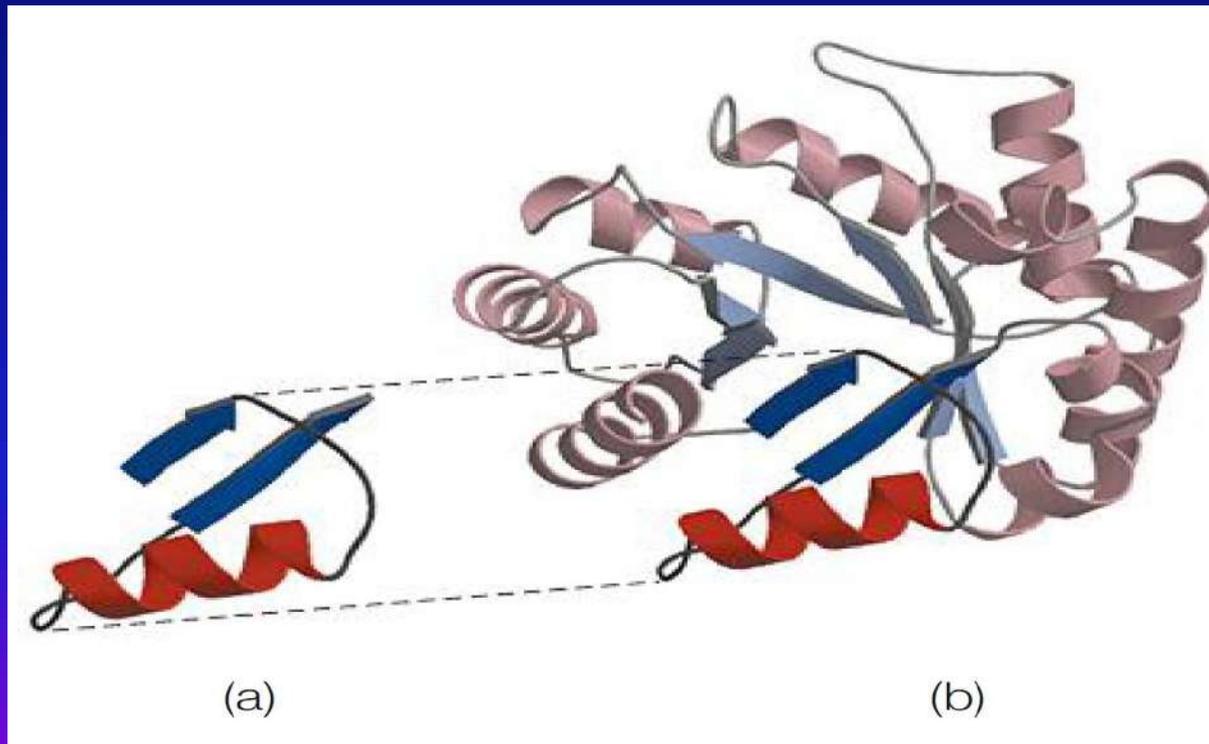
ESEMPI DI STRUTTURE SUPERSECONDARIE

La rotazione in senso destrorso dei **foglietti β** determina anche l'avvitamento della struttura con formazione di **nuclei** di strutture più grandi (es. barile β , ecc).

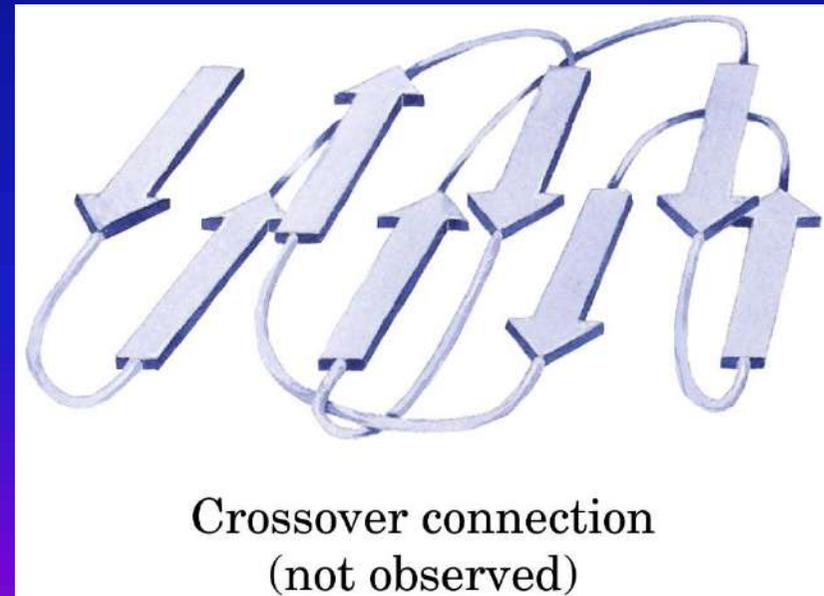
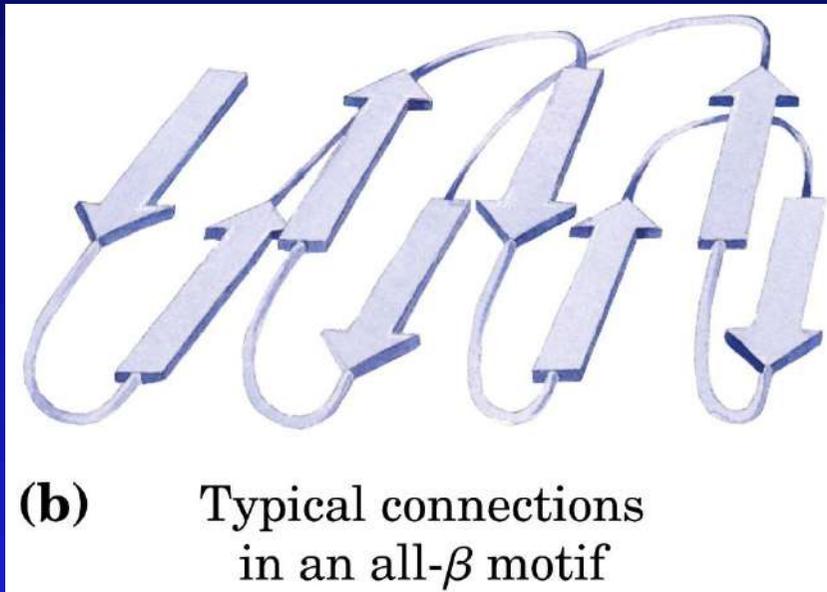


(a) ANSA $\beta\alpha\beta$

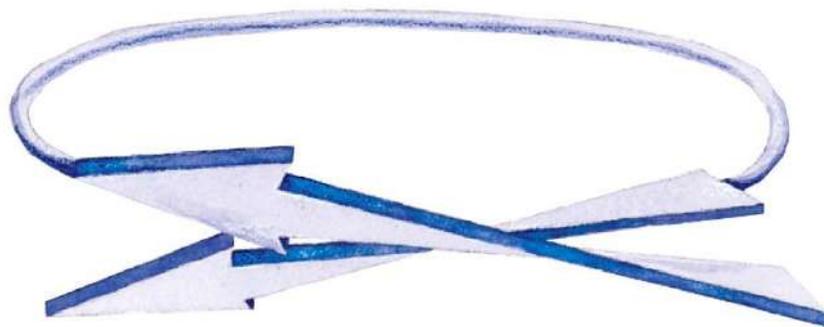
(b) BARILE α/β
frequente negli enzimi



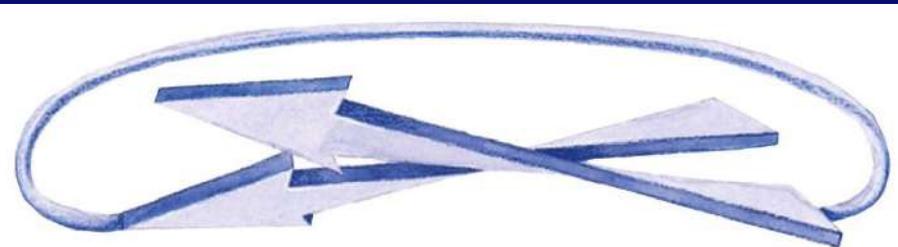
LE STRUTTURE SUPERSECONDARIE



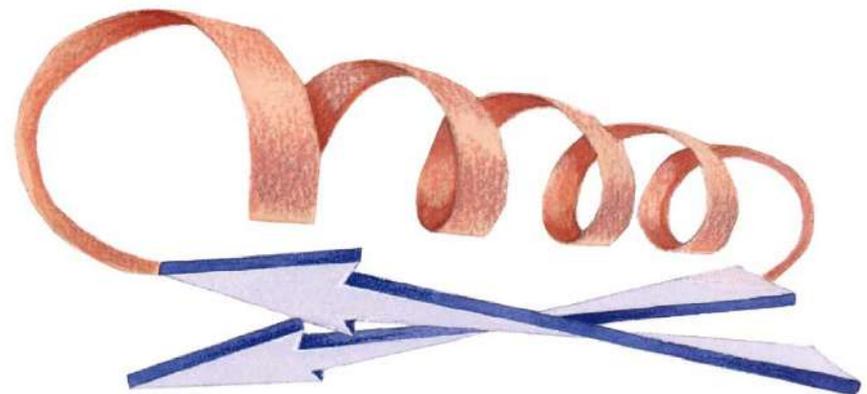
LE STRUTTURE SUPERSECONDARIE



(c) Right-handed connection
between β strands

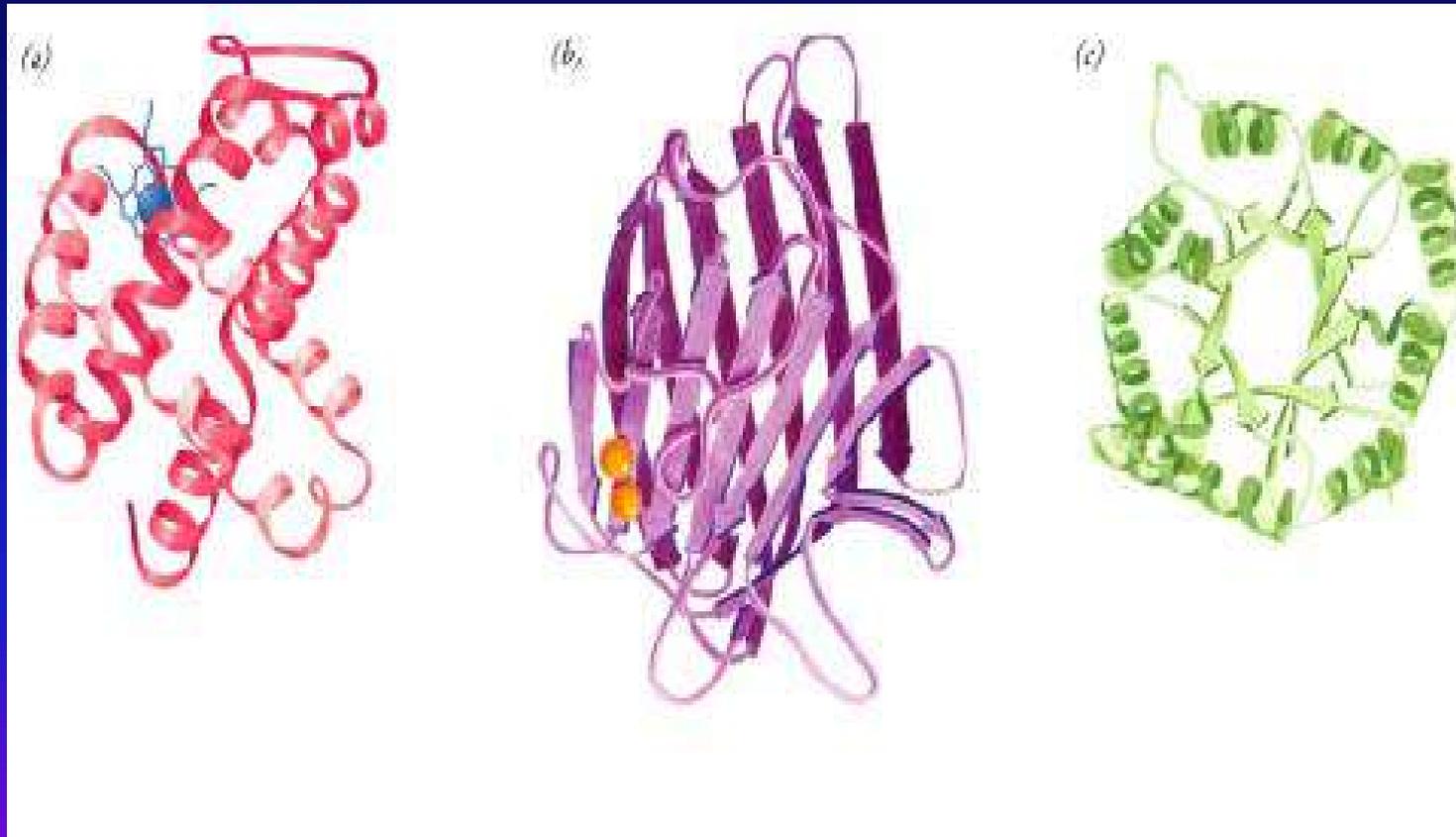


Left-handed connection
between β strands
(very rare)

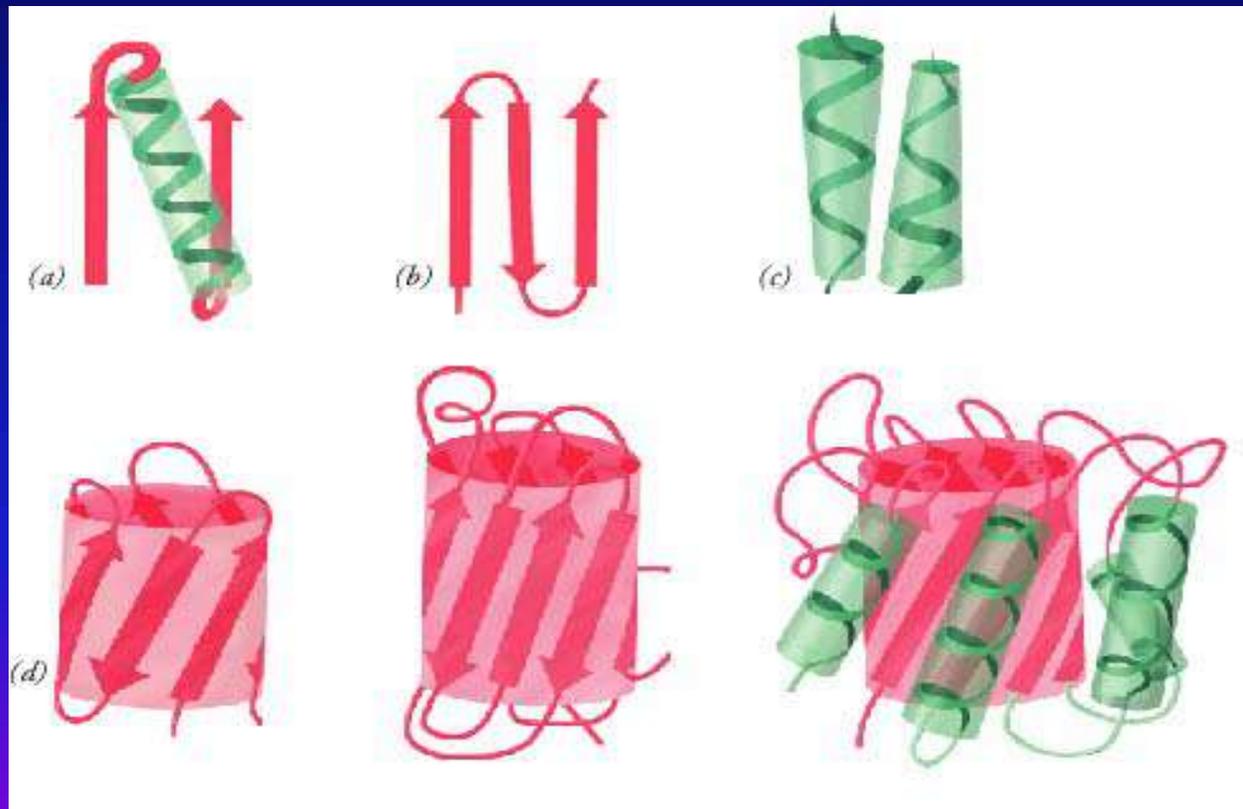


(a) β - α - β Loop

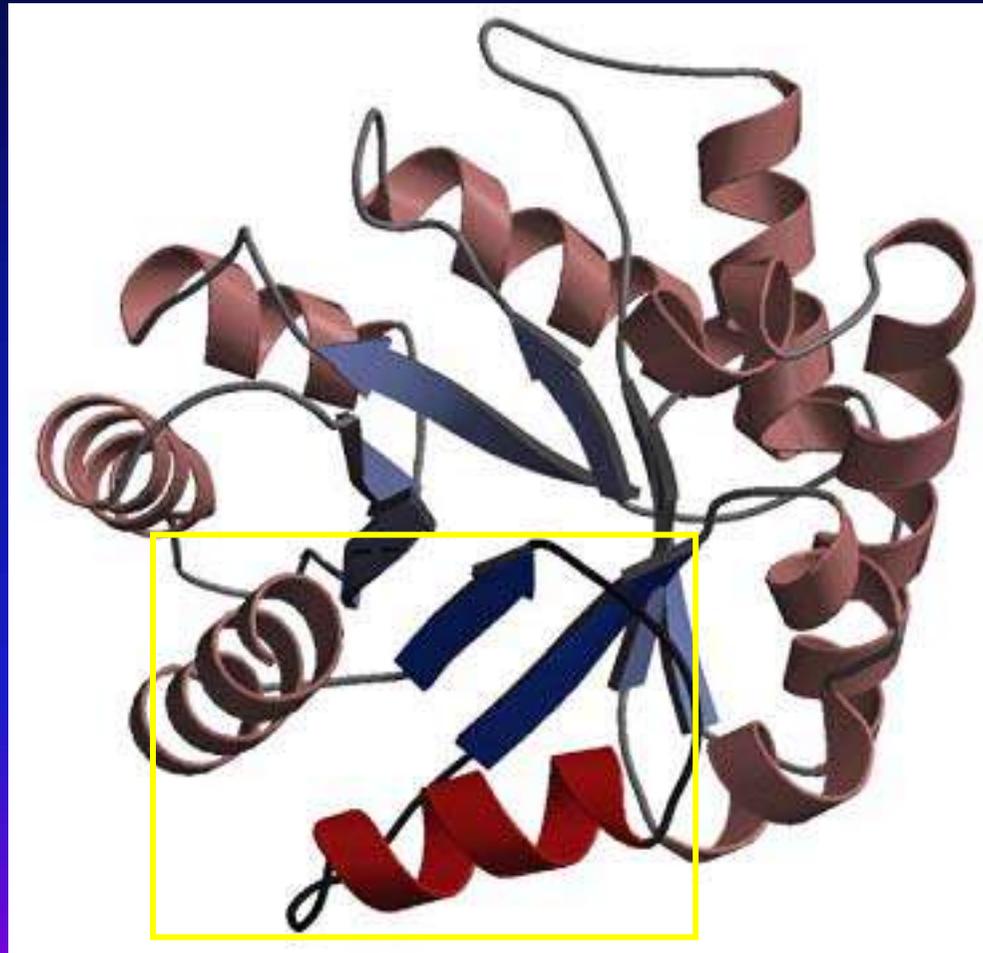
LE STRUTTURE SUPERSECONDARIE



LE STRUTTURE SUPERSECONDARIE



I DOMINI



I DOMINI

Il **dominio** è una porzione strutturale della proteina che svolge funzioni specifiche,

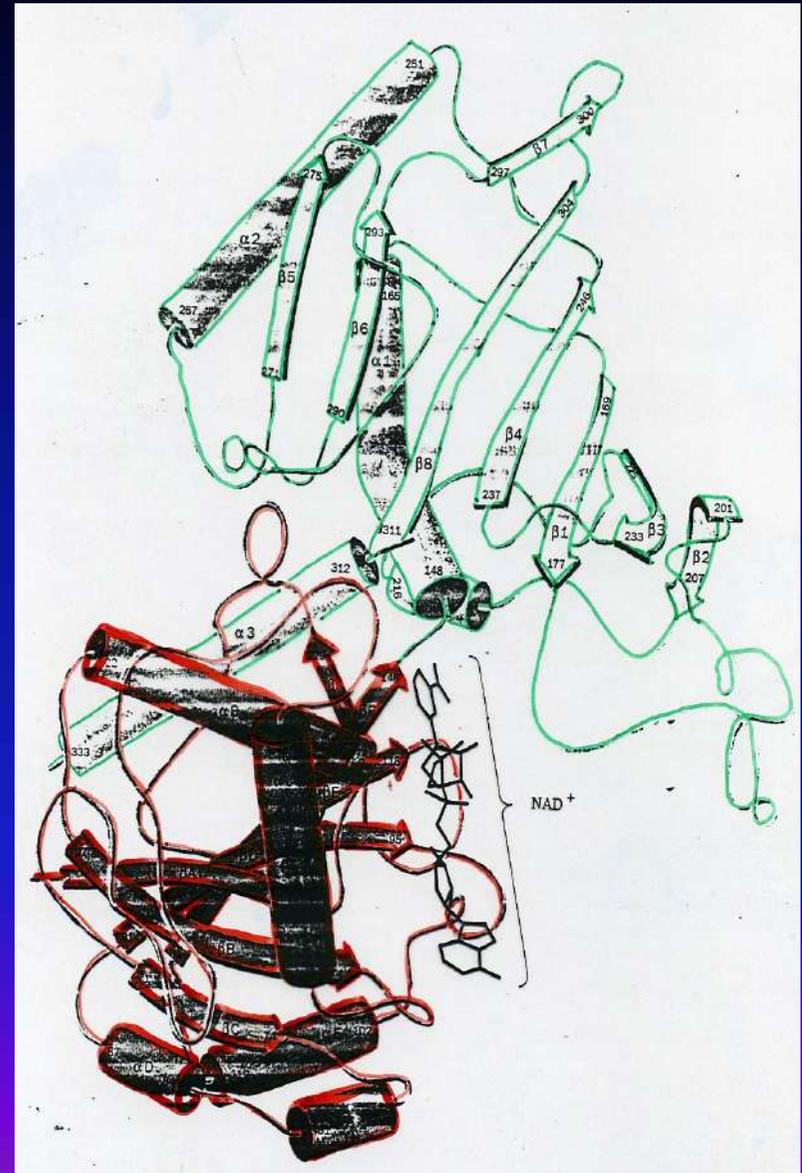
es.:

una subunità dell'enzima

gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi (4 subunità),

il polipeptide si ripiega in due domini distinti, ognuno ha la caratteristica di una piccola proteina globulare e ha una funzione specifica;

di norma, ogni dominio è codificato da un **esone** di un determinato gene.



LA STRUTTURA TERZIARIA

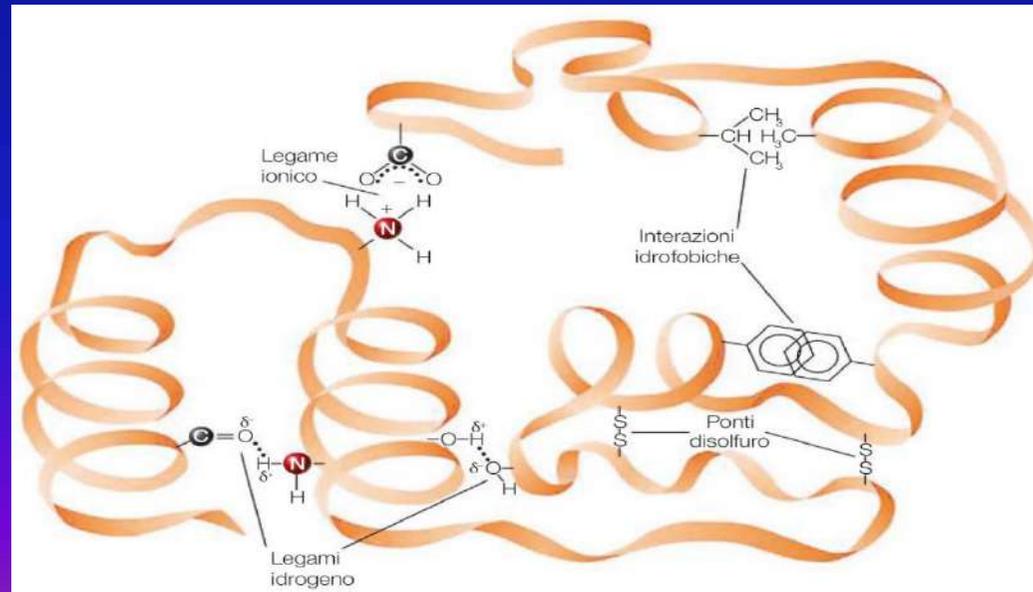
La struttura terziaria è **caratteristica** di ogni singola proteina, essa è dovuta a interazioni dei gruppi **R** attraverso

interazioni idrofobiche: gli AA idrofobici tendono a riunirsi (nuclei idrofobici) e a escludere l'acqua,

legami H: si formano tra AA polari sia tra loro, sia con i legami peptidici della catena,

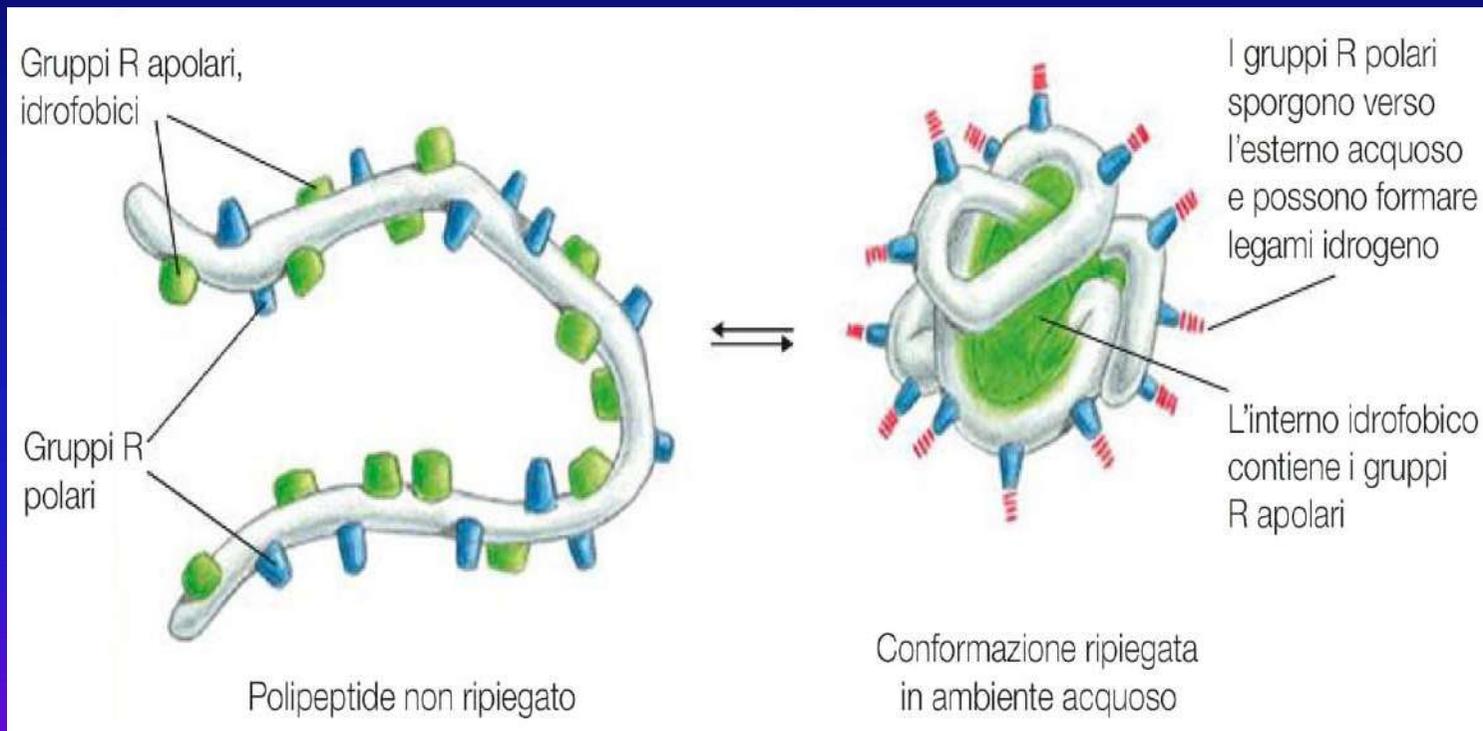
legami ionici: si formano tra AA carichi di segno opposto,

legami disolfuro: si formano per ossidazione dei gruppi **-SH** e rappresentano un rafforzamento della struttura terziaria.



LE INTERAZIONI IDROFICHE

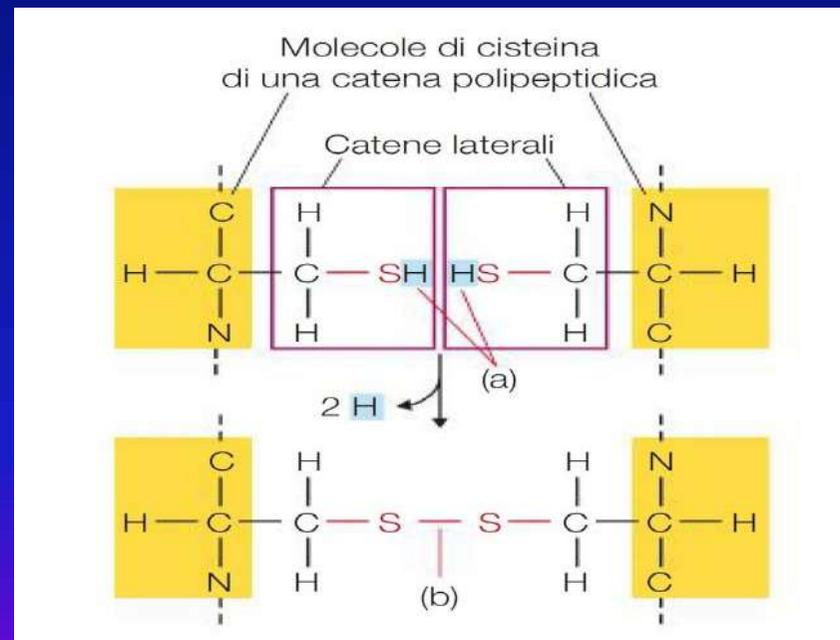
Le **interazioni idrofobiche** determinano il ripiegamento della catena polipeptidica in modo che l'**interno** contenga gruppi **R** apolari, mentre quelli polari rimangono esposti verso il **mezzo acquoso**.



LA FORMAZIONE DEI PONTI DISOLFURO TRA MOLECOLE DI CISTEINA

I **legami disolfuro** sono formati quando la proteina è già stata completamente sintetizzata e ha raggiunto la sua struttura tridimensionale;

essi rappresentano, quindi, **un rafforzamento** della **struttura terziaria**.



LE CLASSI DI PROTEINE (IN BASE A FORMA E SOLUBILITÀ)

➤ LE PROTEINE FIBROSE

In esse, la catena polipeptidica è disposta in lunghi filamenti o foglietti,

hanno funzione strutturale,
danno protezione esterna,
supporto meccanico,
forma alla molecola,

sono generalmente insolubili,

sono costituite da un solo tipo di struttura secondaria;

es. le α cheratine, le β cheratine, il collagene.

➤ LE PROTEINE GLOBULARI

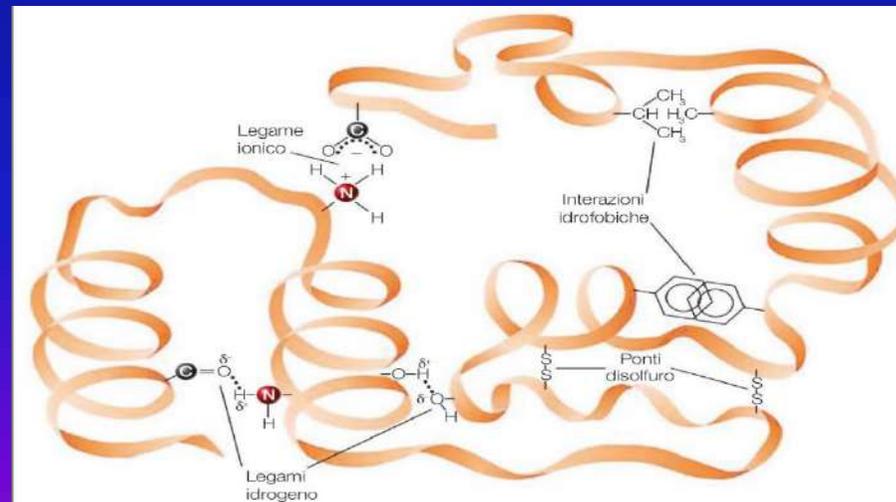
In esse la catena polipeptidica è avvolta su se stessa fino a raggiungere una forma sferica o globulare,
sono presenti in molti enzimi, ormoni,
anticorpi e proteine di trasporto;
sono formate da tipi diversi di strutture secondarie,
generalmente sono solubili nel citosol o nella fase lipidica delle membrane.

LE PROTEINE GLOBULARI: STRUTTURA TERZIARIA E DIVERSITÁ FUNZIONALE

Le proteine globulari sono **ripiegate** in una struttura terziaria compatta,

la struttura terziaria ha origine da interazioni di gruppi che possono essere anche molto **lontani** nella struttura primaria,

la struttura primaria **determina** le strutture secondarie e terziaria.



SEQUENZA AMINOACIDICA → STRUTTURA TRIDIMENSIONALE → FUNZIONE

ne consegue che

l'informazione che determina la struttura **tridimensionale** è contenuta interamente nella sequenza aminoacidica (**struttura primaria**) della proteina,

ciò può essere dimostrato attraverso esperimenti di **denaturazione** in cui è distrutta la struttura nativa.

LE PROPRIETA' COMUNI DELLE PROTEINE GLOBULARI

Le proteine globulari hanno una parte **interna** e una parte **esterna** definite,

si osserva invariabilmente che i **residui idrofobici** si localizzano principalmente all'interno (**nucleo idrofobico**),

mentre i **residui idrofilici** sono sulla superficie a contatto con il solvente.

LE PROPRIETA' COMUNI DELLE PROTEINE GLOBULARI

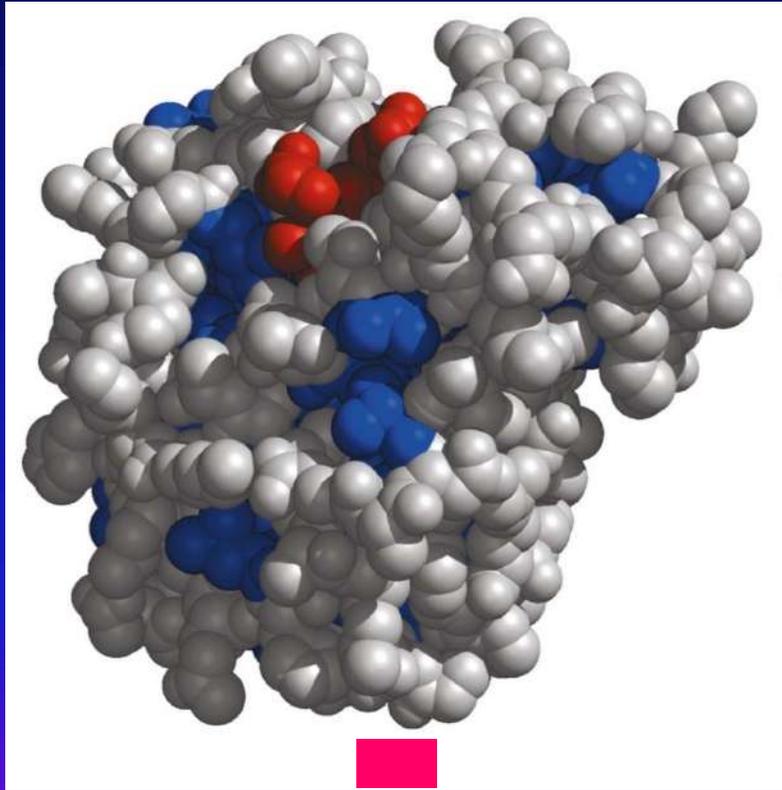
- I **residui idrofobici** (es. val. leu. ile. phe.) devono essere immersi nell'interno della proteina, lontani dal contatto con l'acqua,
- l'**interno** della proteina è un nucleo molto denso di catene idrofobiche,
- le **interazioni idrofobiche** sono estremamente importanti per la stabilizzazione della proteina.

LE PROPRIETA' COMUNI DELLE PROTEINE GLOBULARI

I **residui polari non carichi** (es. ser. thr. asn. gln.) si trovano normalmente sulla superficie, ma frequentemente si riscontrano anche all'interno, dove formano **legami H** fra loro; infatti, ogni gruppo polare non carico senza controparte all'interno di una proteina é destabilizzante,

i **residui polari carichi** (es. arg. his. lys. asp. glu.) sono localizzati quasi costantemente sulla superficie, in contatto con il solvente acquoso.

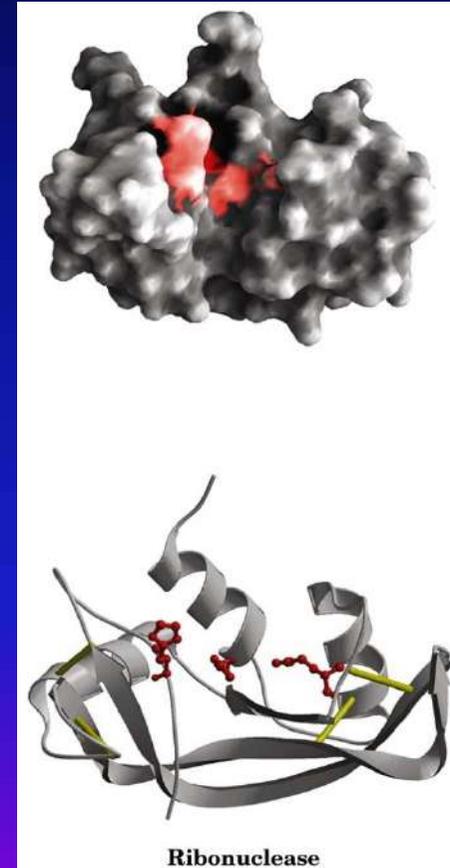
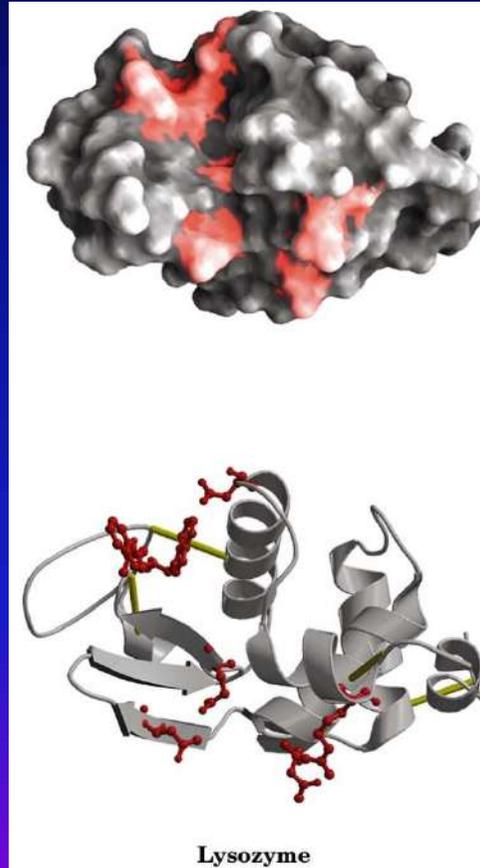
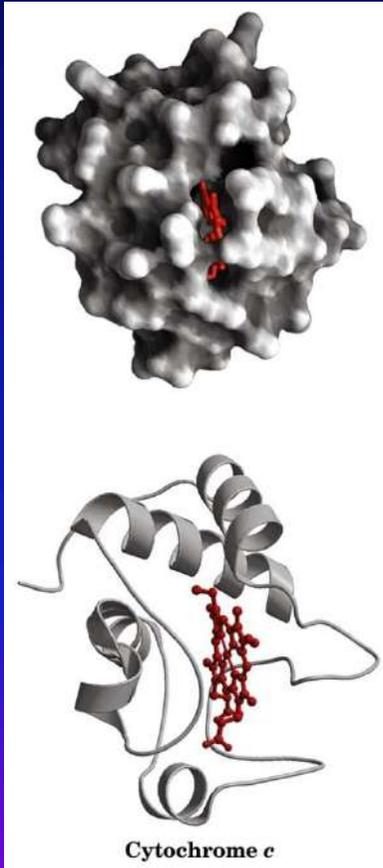
LE PROTEINE GLOBULARI



La localizzazione degli amminoacidi dipende dalle loro catene laterali.

LE PROTEINE GLOBULARI

Modelli spaziali e modelli a nastro



LE PROTEINE GLOBULARI

table 6-2

Approximate Amounts of α Helix and β Conformation in Some Single-Chain Proteins*

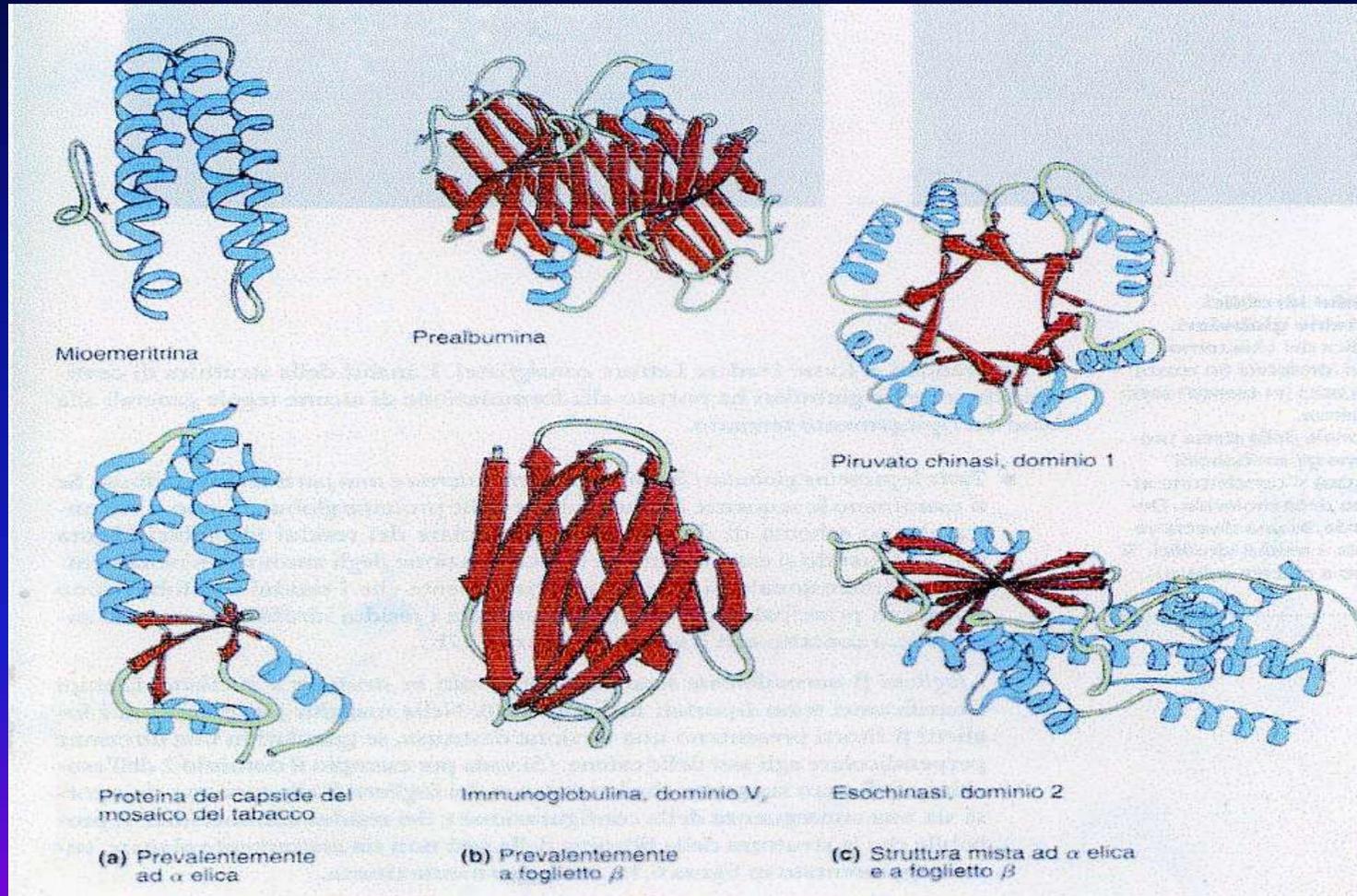
Protein (total residues)	Residues (%)	
	α Helix	β Conformation
Chymotrypsin (247)	14	45
Ribonuclease (124)	26	35
Carboxypeptidase (307)	38	17
Cytochrome <i>c</i> (104)	39	0
Lysozyme (129)	40	12
Myoglobin (153)	78	0

Source: Data from Cantor, C.R. & Schimmel, P.R. (1980) *Biophysical Chemistry*, Part I: *The Conformation of Biological Macromolecules*, p. 100, W.H. Freeman and Company, New York.

*Portions of the polypeptide chains that are not accounted for by α helix or β conformation consist of bends and irregularly coiled or extended stretches. Segments of α helix and β conformation sometimes deviate slightly from their normal dimensions and geometry.

- La restante parte delle proteine é sotto forma di:
- ripiegamenti,
- inversioni di direzione,
- avvolgimenti irregolari,
- segmenti estesi.

LE STRUTTURE β FORMANO MOLTO SPESSO I NUCLEI CENTRALI DELLE PROTEINE



LA STRUTTURA TRIDIMENSIONALE DI UNA PROTEINA E' CRITICA PER LA SUA FUNZIONE

La temperatura di fusione della proteina ($T_m < 100^\circ\text{C}$) é la temperatura alla quale essa perde metà della sua struttura tridimensionale,

la proteina si srotola in modo cooperativo, infatti, raggiunta la T_m si destabilizza anche la parte restante.

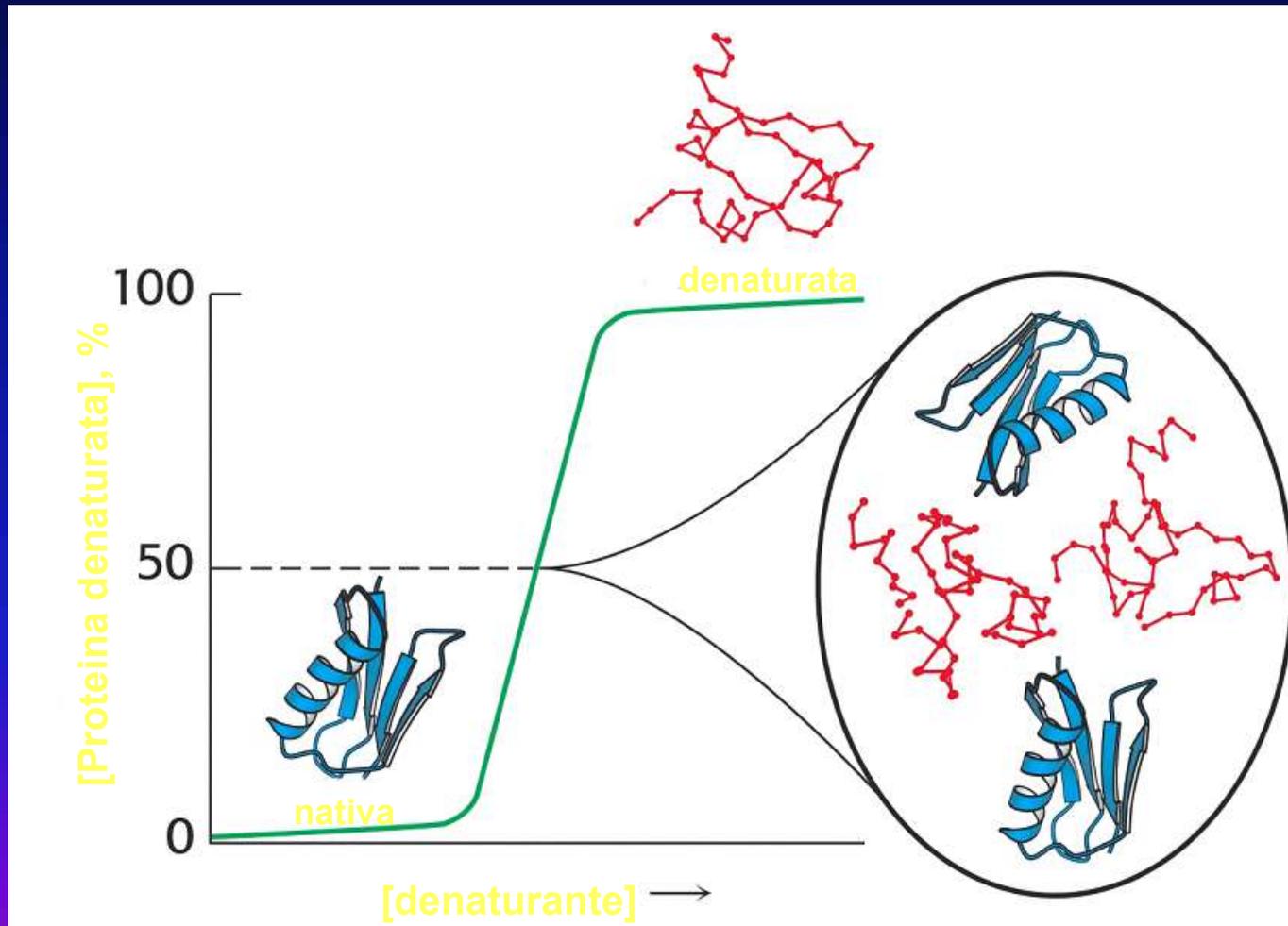
LE PROTEINE PERDONO LA LORO STRUTTURA NATIVA IN SEGUITO A DENATURAZIONE

LA DENATURAZIONE



é la perdita totale dell'organizzazione tridimensionale, con l'assunzione di strutture casuali.

LA DENATURAZIONE PROTEICA



GLI AGENTI DENATURANTI

Il calore rompe le interazioni deboli,

la variazione del pH modifica le cariche,

i solventi organici (es. alcol, acetone) disturbano le interazioni idrofobiche,

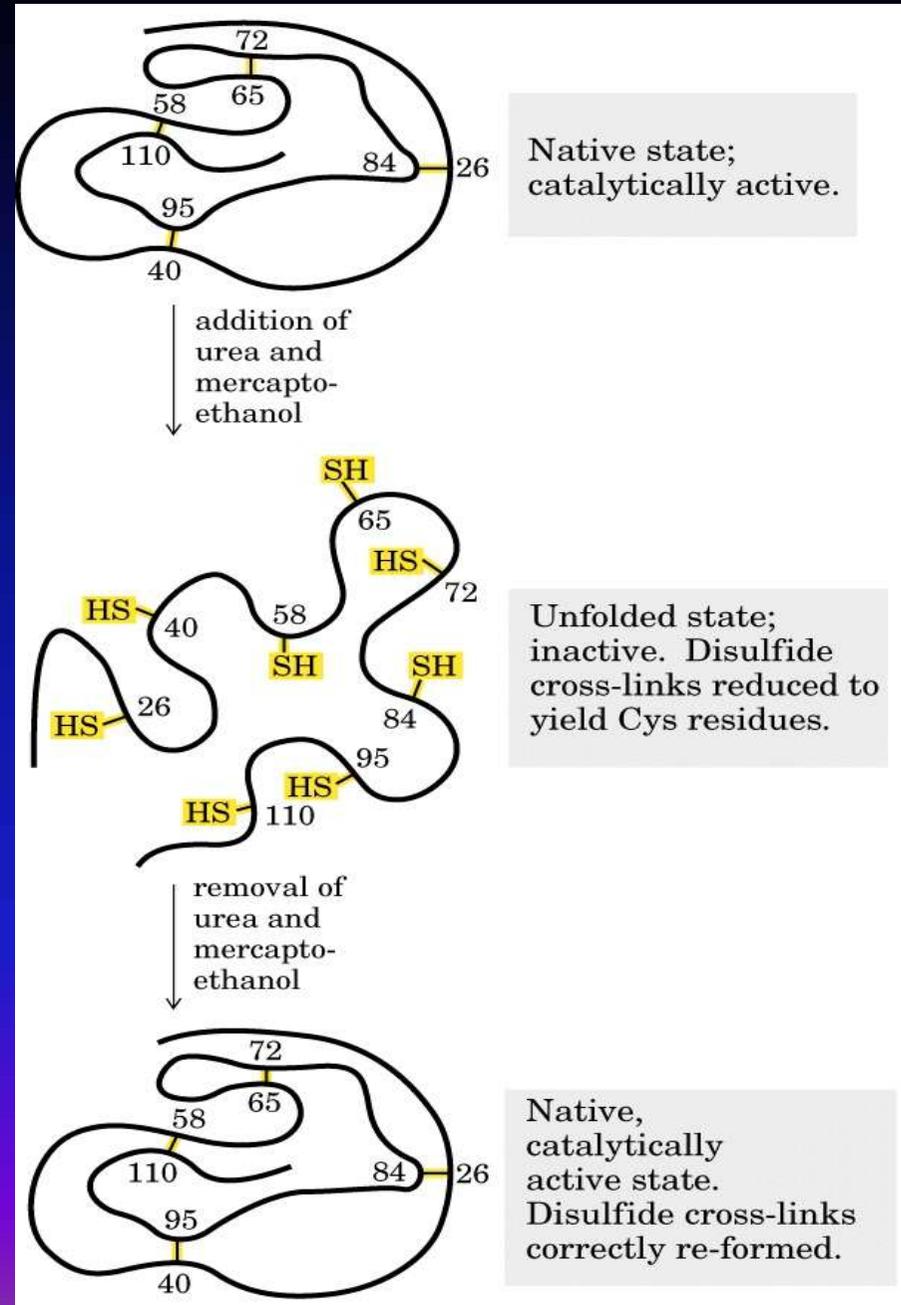
gli ioni (I^- , Li^+ , Mg^+ , Ca^+ , Ba^{2+} ecc.) rompono le interazioni idrofobiche, aumentando la solubilità in acqua delle sostanze non polari.

SOLITAMENTE LA DENATURAZIONE
E' UN PROCESSO REVERSIBILE
(DIPENDE DAL TIPO DI PROTEINA),

LA RINATURAZIONE E' DETERMINATA DALLA SEQUENZA
AMMINOACIDICA.

LA RINATURAZIONE DELLA RIBONUCLEASI

L'esperimento di C. Anfinsen



LE PROTEINE OMOLOGHE E GLI AMMINOACIDI INVARIANTI

In proteine omologhe di specie diverse,
i residui aminoacidici sono **invarianti** in **alcune** posizioni della sequenza,
sono **variabili** nelle **altre**;

esempi di residui invarianti sono

nei ripiegamenti con cambi di direzione della catena,
nei punti di formazione dei legami trasversali (cisteine),
nel sito catalitico degli enzimi,
nei siti di legame dei gruppi prostetici.

LA STRUTTURA TERZIARIA NON E' RIGIDA

Vi è in essa una certa flessibilità e può andare incontro a fluttuazioni a breve raggio.

I MOVIMENTI ALL'INTERNO DELLE MOLECOLE PROTEICHE

		INTERVALLI di AMPIEZZA e TEMPO	
CLASSE	TIPO DI MOVIMENTO	AMPIEZZA nm	TEMPO s
1	Vibrazioni e oscillazioni di singoli atomi e gruppi	0.2	10^{-15} - 10^{-12}
2	Movimenti concertati di elementi strutturali	0.2-1	10^{-12} - 10^{-8}
3	Movimenti di interi domini	1-10	10^{-8}

I POLIPEPTIDI SI AVVOLGONO MEDIANTE UN PROCESSO A TAPPE

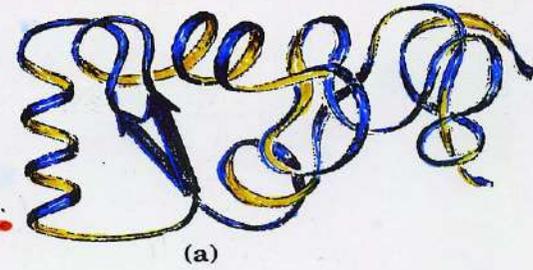
L'avvolgimento e il ripiegamento delle proteine **non** può essere un processo completamente casuale,

di norma l'avvolgimento procede attraverso la formazione di **intermedi discreti**;

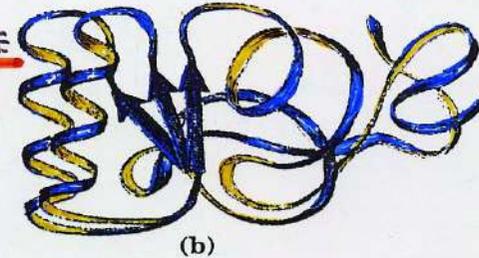
alcune tappe precoci coinvolgono la formazione di regioni con struttura secondaria.

UNA PROBABILE VIA DI AVVOLGIMENTO DELLE PROTEINE

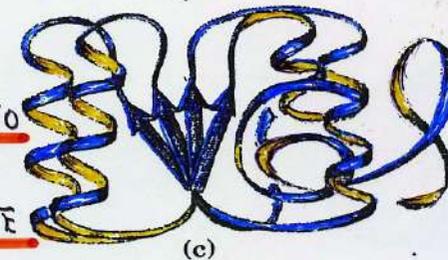
FORMAZIONE DI
REGIONI PARTICOLAR.
STABILI DI STR. SECOND.



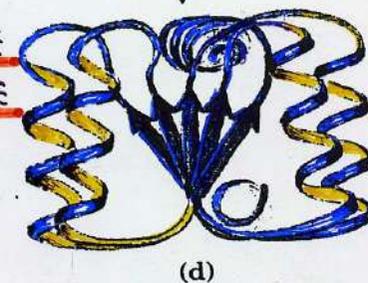
STRUTTURE STABILIZZATE
DA INTERAZ. A LUNGO
RAGGIO CON ALTRI
NUCLEI STRUTTURALI



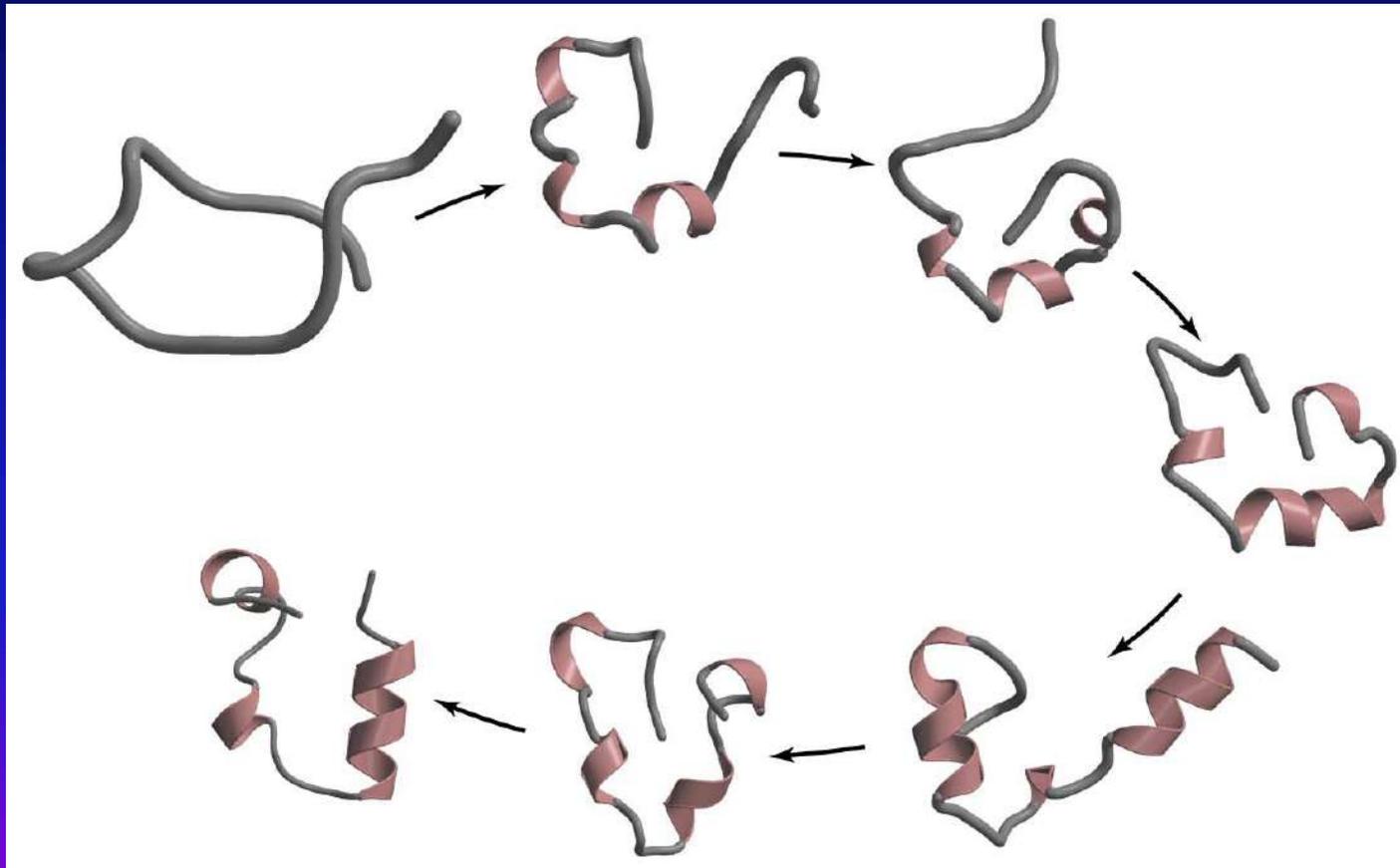
LA MAGGIOR PARTE
DELLA PROT. HA ASSUNTO
LA STRUTTURA
SECONDARIA REGOLARE



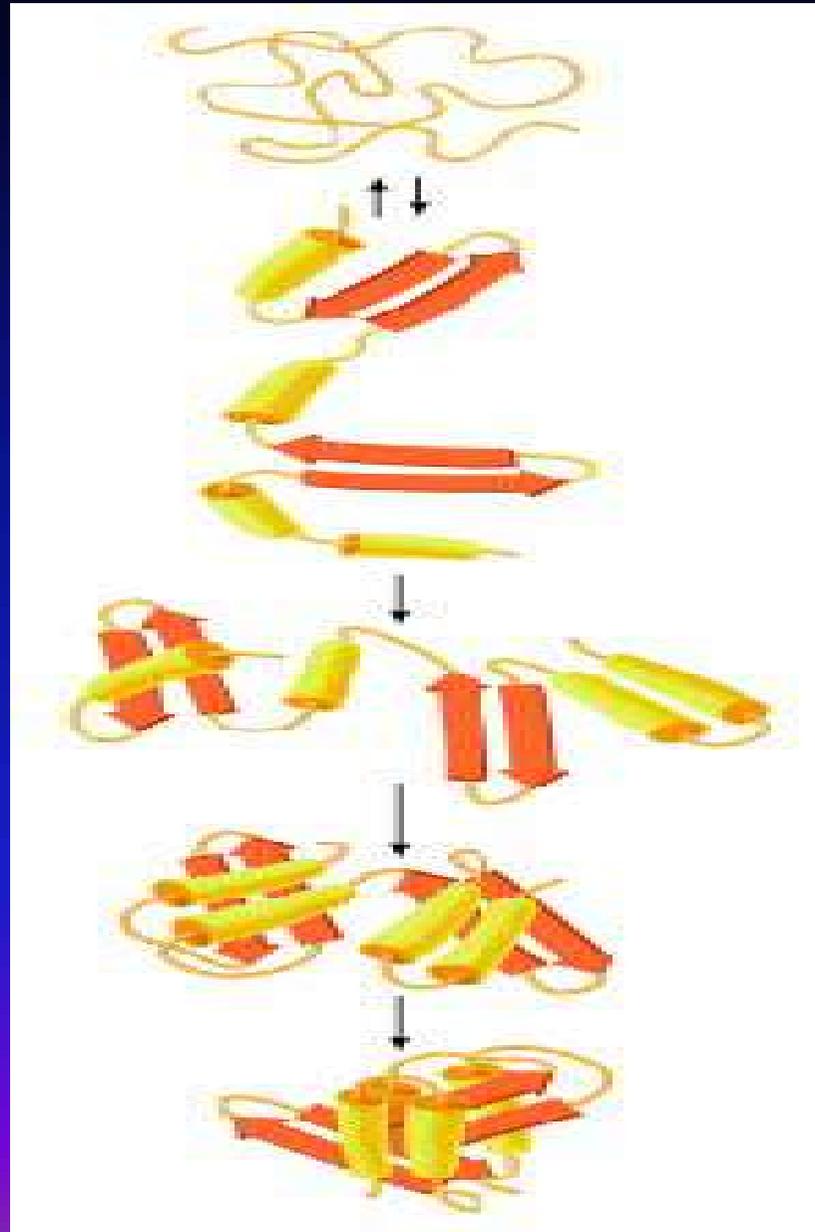
LA STRUTTURA FINALE
HA LA CONFORMAZIONE
TERMODINAMICAMENTE
PIÙ STABILE



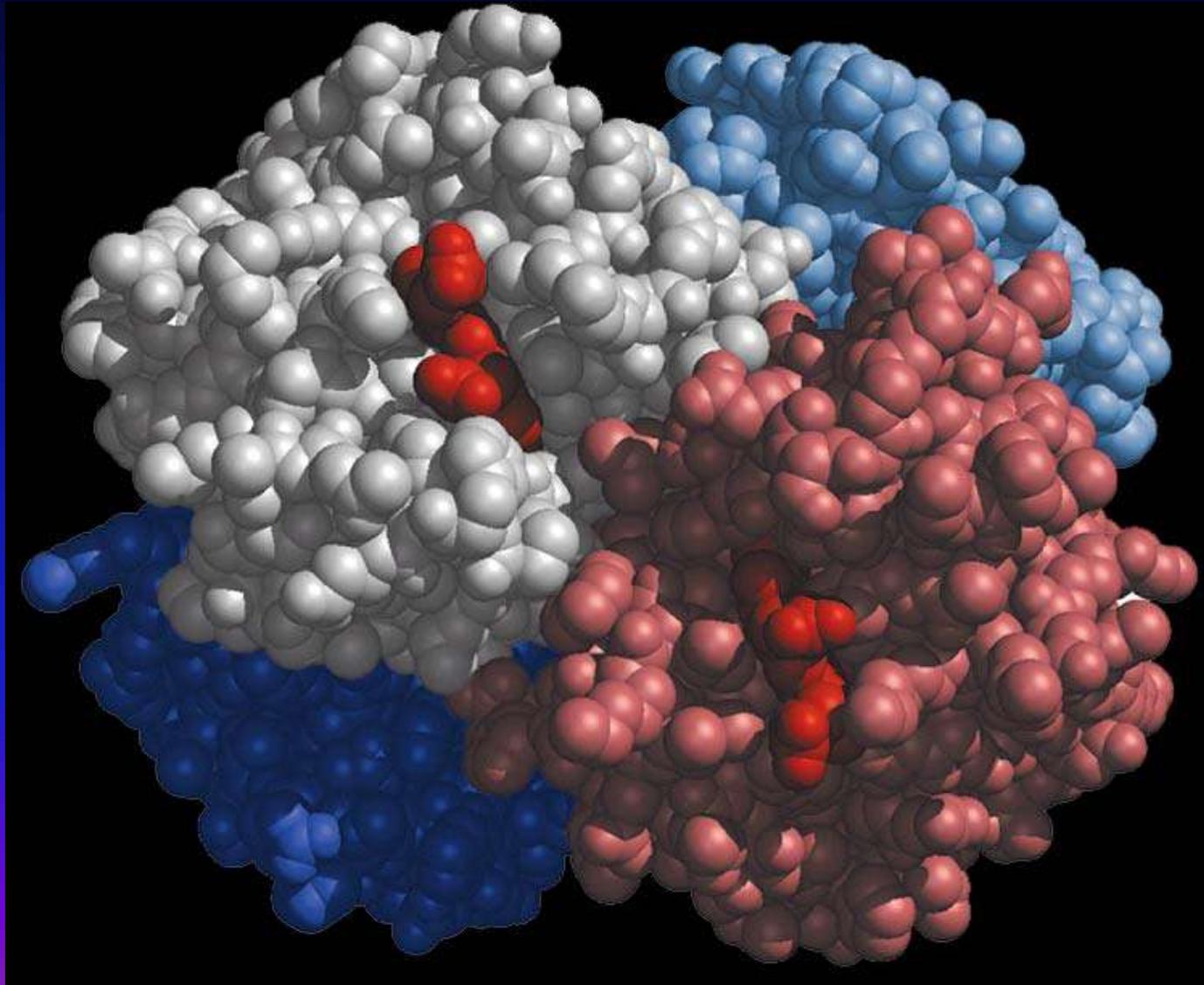
LA SIMULAZIONE DI UNA VIA DI RIPIEGAMENTO



LA SIMULAZIONE DI UNA VIA DI RIPIEGAMENTO



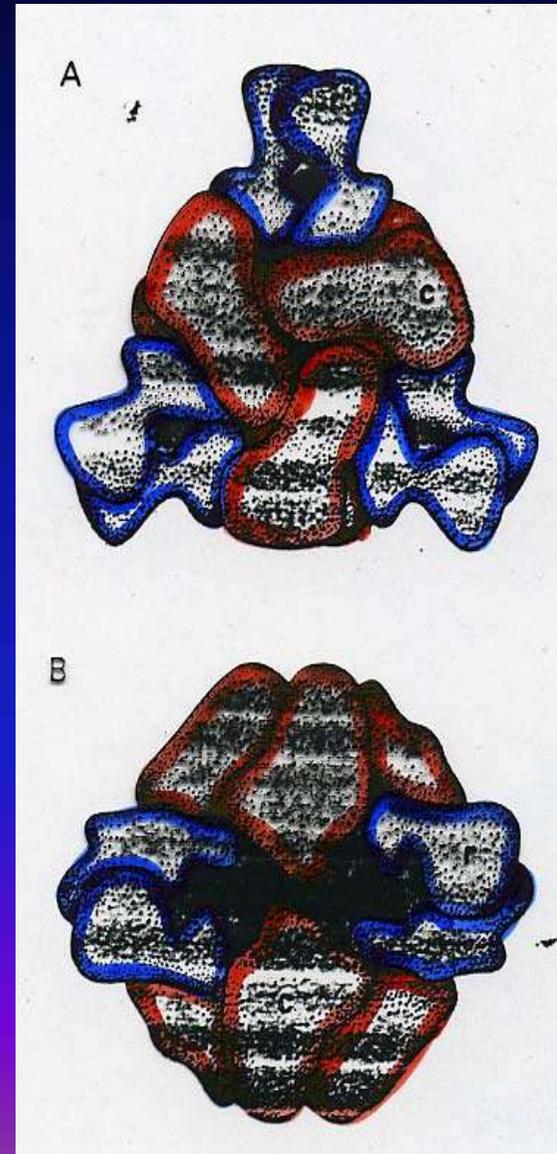
LA STRUTTURA QUATERNARIA



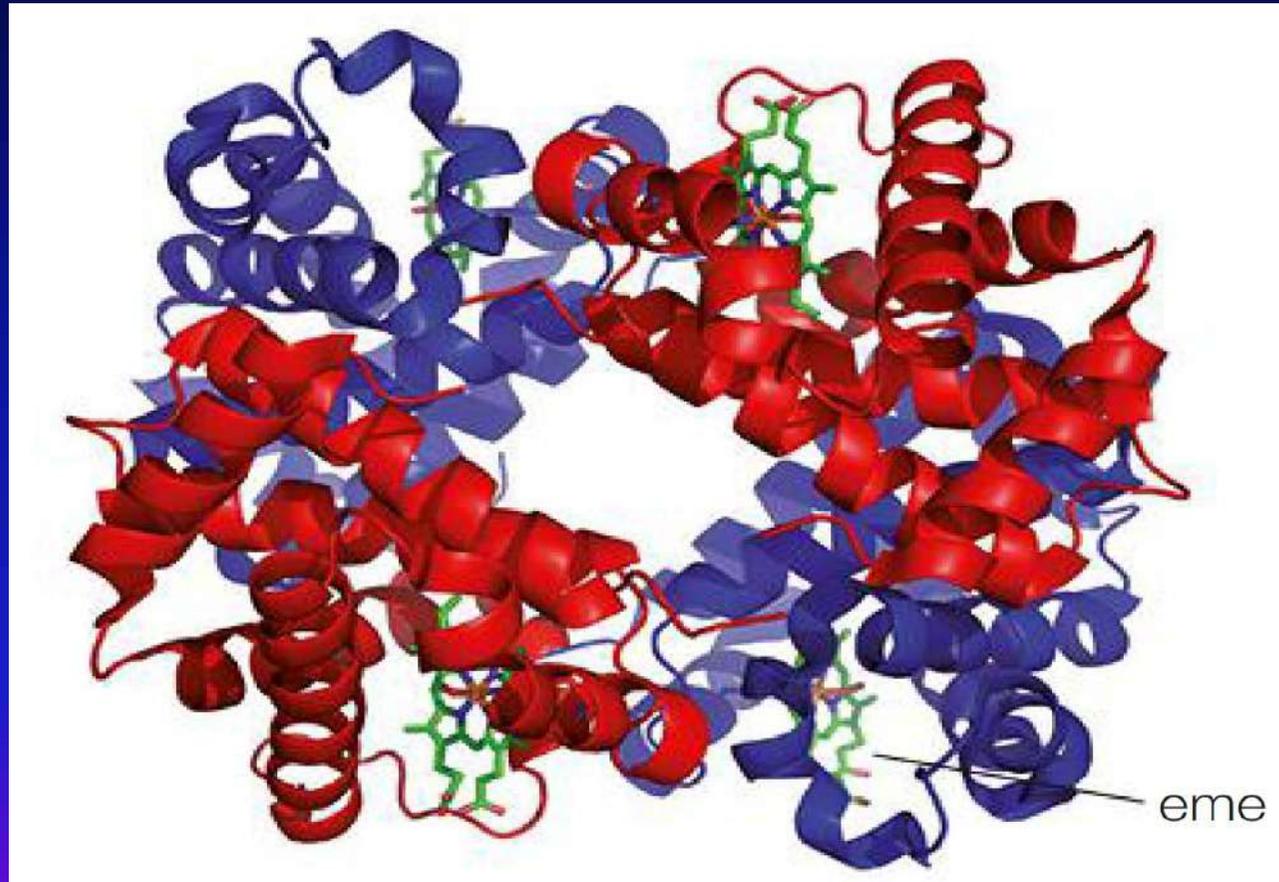
LA STRUTTURA QUATERNARIA

È l'organizzazione spaziale delle catene polipeptidiche (chiamate **subunità**) costituenti la proteina, quando questa si formata da più di una catena polipeptidica,

sia che ci sia l'associazione tra catene polipeptidiche identiche o quasi identiche, sia che ci sia l'interazione tra subunità diverse, si ha la formazione di **proteine multimeriche**.



LA STRUTTURA QUATERNARIA DELL'EMOGLOBINA



GLI OLIGOMERI

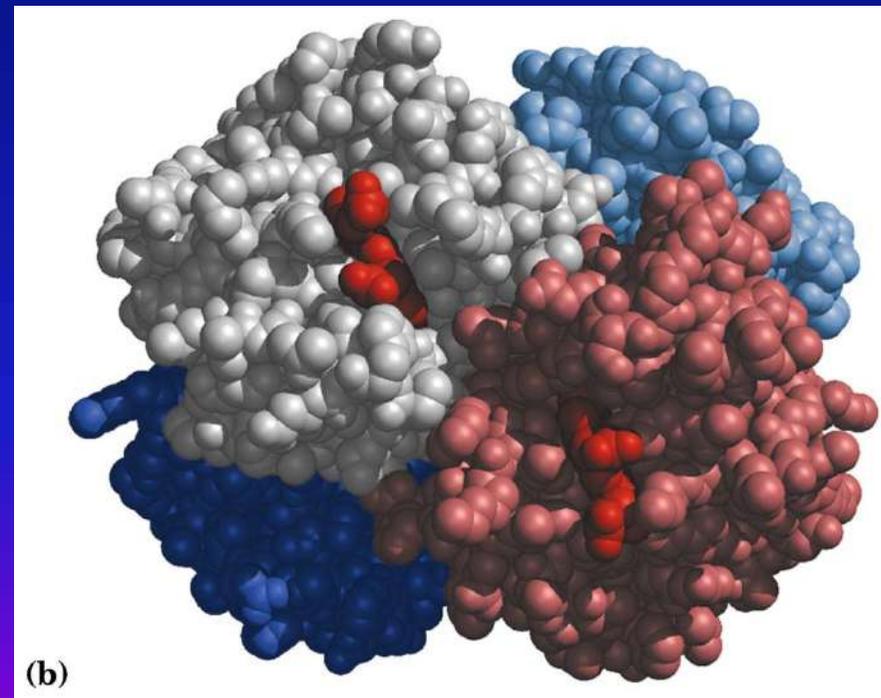
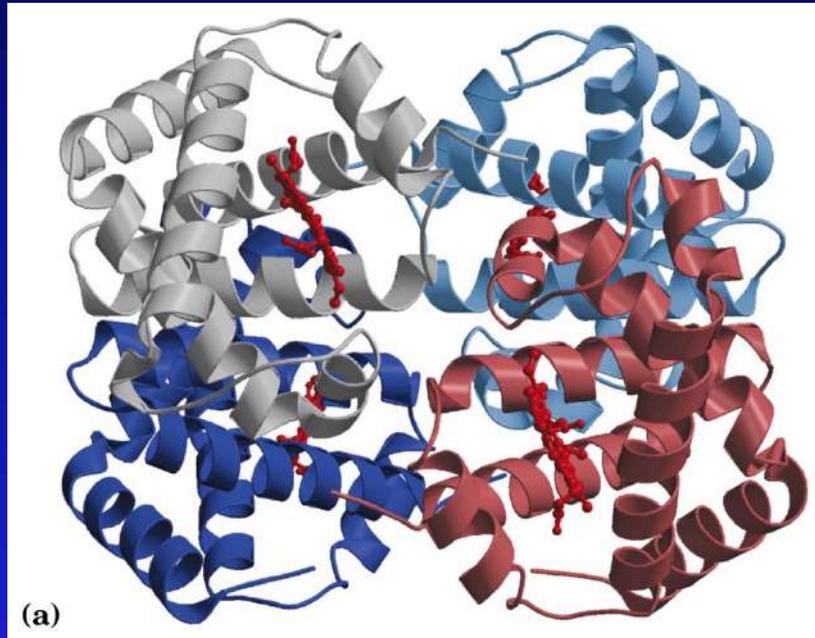
Sono proteine multimeriche con **subunità identiche**,

le subunità che le compongono sono dette **protomeri**;

nelle proteine a struttura quaternaria i **difetti** possono essere riparati rimpiazzando la subunità difettosa,

nel caso degli enzimi ogni subunità ha di norma un **sito catalitico**.

LA STRUTTURA QUATERNARIA DELL'EMOGLOBINA



LA STRUTTURA QUATERNARIA

Le interazioni tra le catene polipeptidiche delle **proteine multimeriche** sono dello stesso tipo di quelle che stabilizzano la struttura terziaria:

ponti salini,
legami H,
interazioni idrofobiche,
ponti disolfuro;

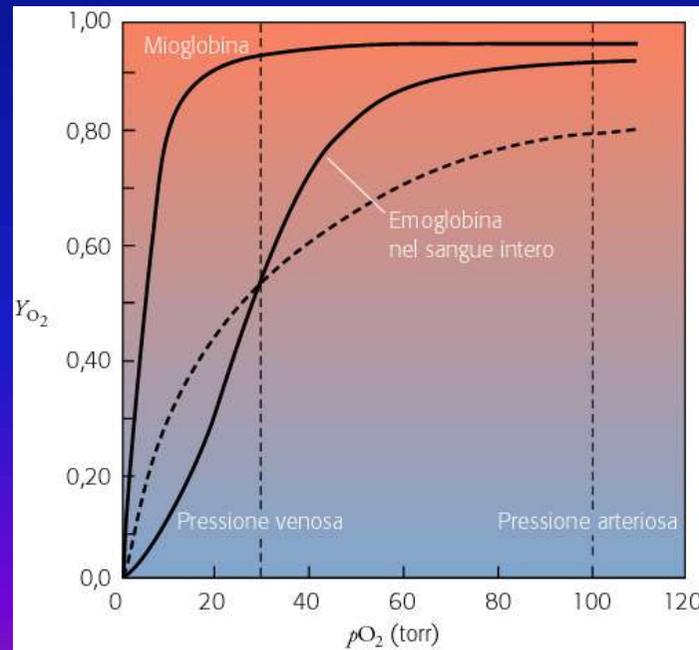
queste interazioni forniscono l'energia di stabilizzazione della struttura multimerica,

tutti i livelli della struttura proteica sono determinati dalla **struttura primaria.**

IL CONTROLLO DELL'ATTIVITA' BIOLOGICA

cooperatività tra le subunità

L'aggregazione di più subunità fornisce un'ulteriore possibilità di regolazione dell'attività biologica, che è **espressa** da una curva di saturazione **sigmoide** (es. l'**emoglobina**, gli **enzimi allosterici**, ecc.).



LE PROTEINE ALLOSTERICHE

il termine **allosterico** deriva dal greco (**állos** = **altro**; **stereós** = **forma**), le proteine così definite possono assumere altre conformazioni indotte dal legame di opportuni modulatori;

le **molecole allosteriche** sono **proteine oligomeriche**, costituite da due o più **subunità** e con diversi siti attivi,

in una **proteina allosterica** il legame di un **ligando** ad un sito modifica le proprietà di un **altro sito** sulla stessa molecola,

le **interazioni allosteriche (cooperative)** avvengono quando il legame di un **ligando** a un sito specifico viene influenzato dal legame di un **altro ligando**, detto **effettore o modulatore**, a livello di siti diversi, nella proteina.

LA DISSOCIAZIONE PROTEICA

Essa é la **separazione** delle singole subunità costituenti una **proteina multimerica** e può essere ottenuta attraverso una **blanda denaturazione**,

così le singole catene rimangono **funzionanti**, ma si ha la **perdita** dell'attività regolatoria proteica complessiva,

la curva di saturazione di ogni subunità é infatti espressa da un **ramo d'iperbole**, non più sigmoide;

questo processo é solitamente **reversibile**,
dipende dal tipo di proteina.

