

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 Giacomini¹ Stuffler

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

L'UNITÀ DIDATTICA "BIOLOGIA MOLECOLARE" COMPRENDE:

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

UNITÀ DIDATTICA
"PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA" (2 CFU)

VET.
UNITÀ DIDATTICA "PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA"

LE PROTEINE DEL
CONNETTIVO:

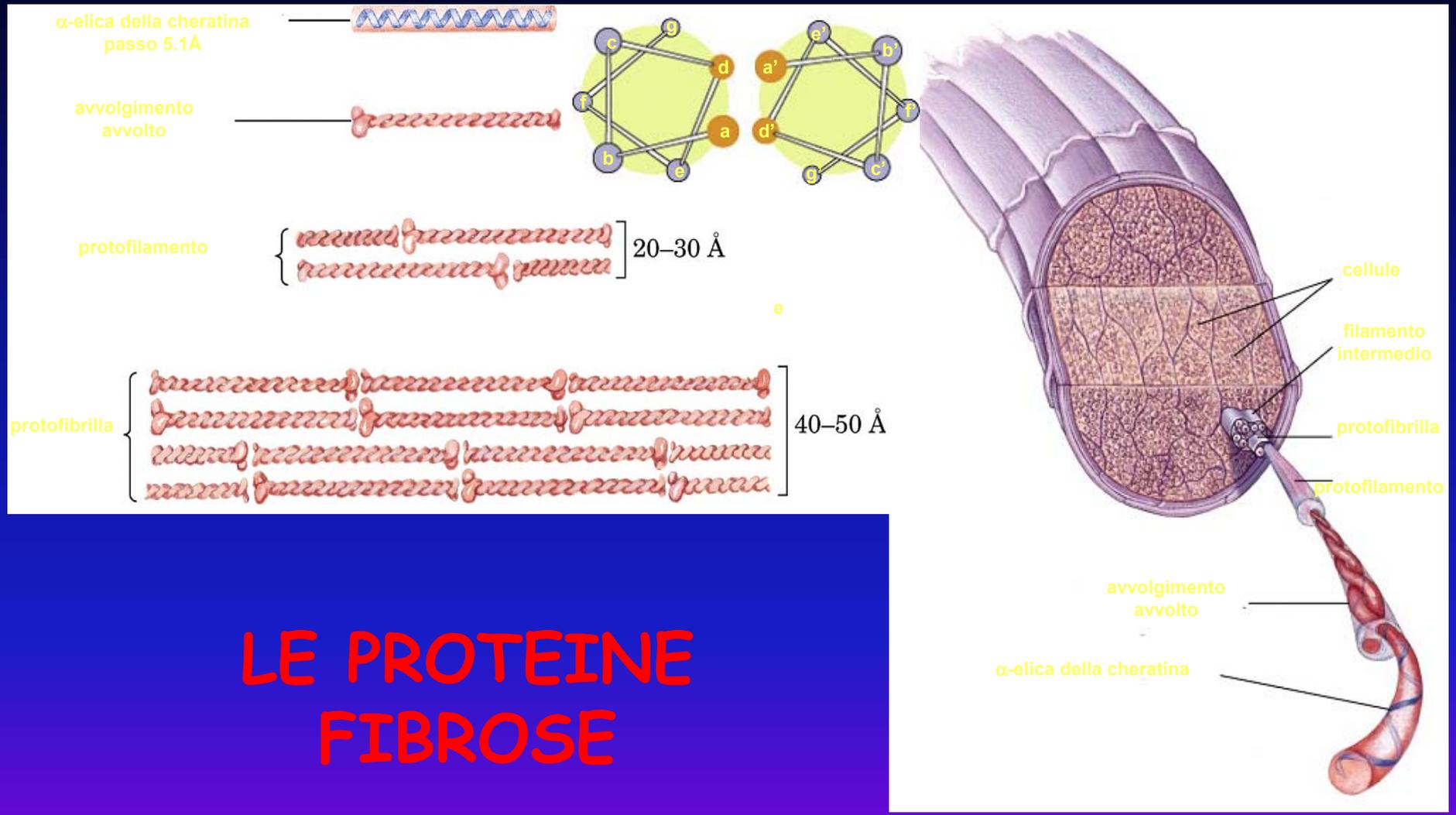
IL COLLAGENO,
L'ELASTINA.

Roberto Giacomini Stuffer

IL COLLAGENO

IL COLLAGENO

E' una famiglia di proteine fibrose con ruolo strutturale,
nei vertebrati costituisce ~ il 25% delle proteine totali,
forma fibre insolubili che hanno una elevata resistenza alla tensione.

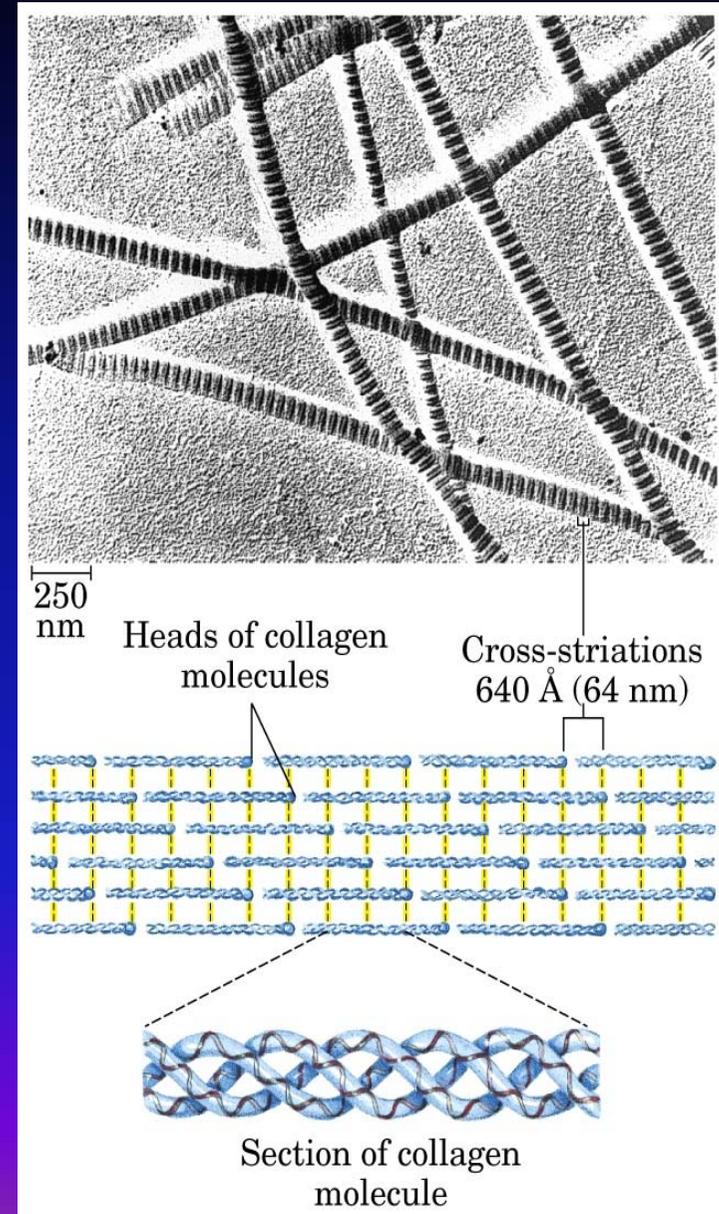


LE PROTEINE FIBROSE

IL COLLAGENO

È presente in tutti gli organismi multicellulari:

- nelle **ossa e nei denti** è un polimero di fosfato di calcio,
- nella **cornea dell'occhio** è così ordinato da risultare trasparente,
- nei **tendini** è organizzato in fibre simili a funi,
- nella **pelle** è in fibre poco intrecciate rivolte in ogni direzione,
- nei **vasi sanguigni** è organizzato in fibre disposte in reti elicoidali elastiche.



L'UNITÀ STRUTTURALE DEL COLLAGENO É

IL TROPOCOLLAGENO

Esso é formato da **tre** catene polipeptidiche a elica **sinistrorsa**, avvolte l'una attorno all'altra a formare una superelica **destrorsa**, così lo svolgimento delle prime é impedito dalla seconda.
Ogni catena contiene circa **1000** residui.

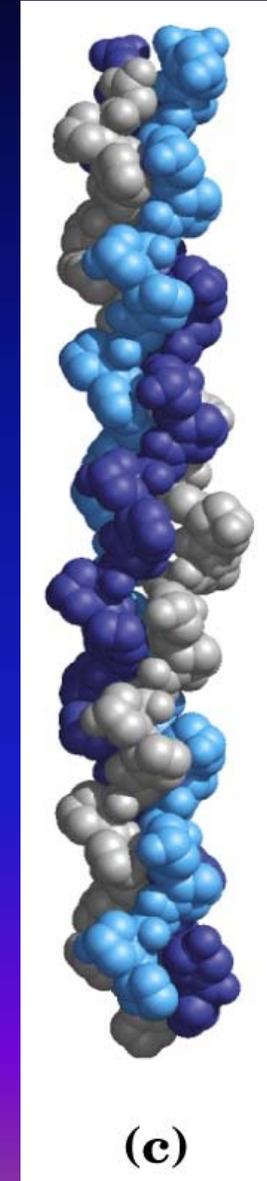
Le principali caratteristiche

passo dell'elica : 0,31 nm

lunghezza: 300 nm

diametro: 1,5 nm

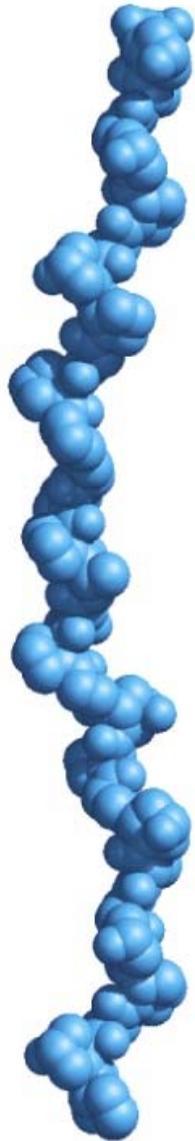
massa: 285 kDa



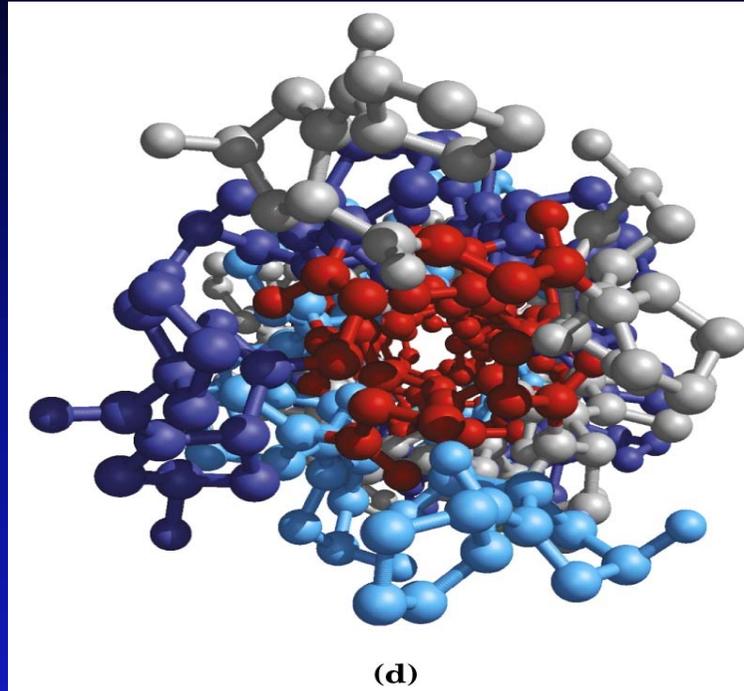
I TIPI DI COLLAGENO

TIPO	COMPOSIZIONE	DISTRIBUZIONE
I	$[\alpha_1 (I)]_2\alpha_2 (I)$	Pelle, tendini, ossa, cornea
II	$[\alpha_1 (II)]_3$	Cartilagine, dischi intervertebrali, corpo vitreo
III	$[\alpha_1 (III)]_3$	Pelle fetale, sistema cardiovascolare, fibre reticolari
IV	$[\alpha_1 (IV)]_2\alpha_2 (IV)$	Membrana basale
V	$[\alpha_1 (V)]_2\alpha_2 (V)$	Placenta, pelle

IL COLLAGENO

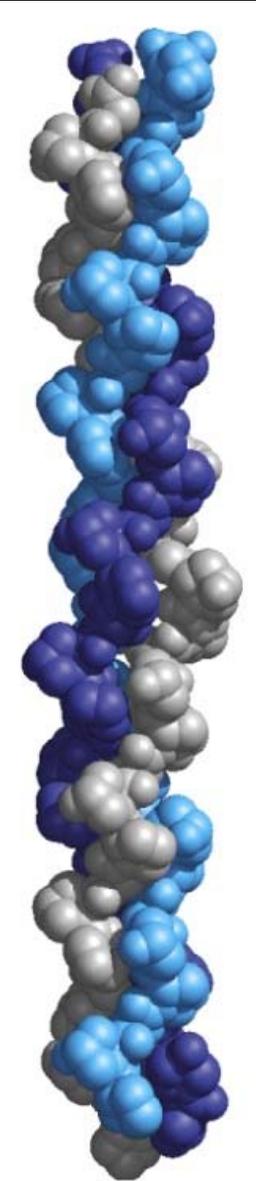


(b)



(d)

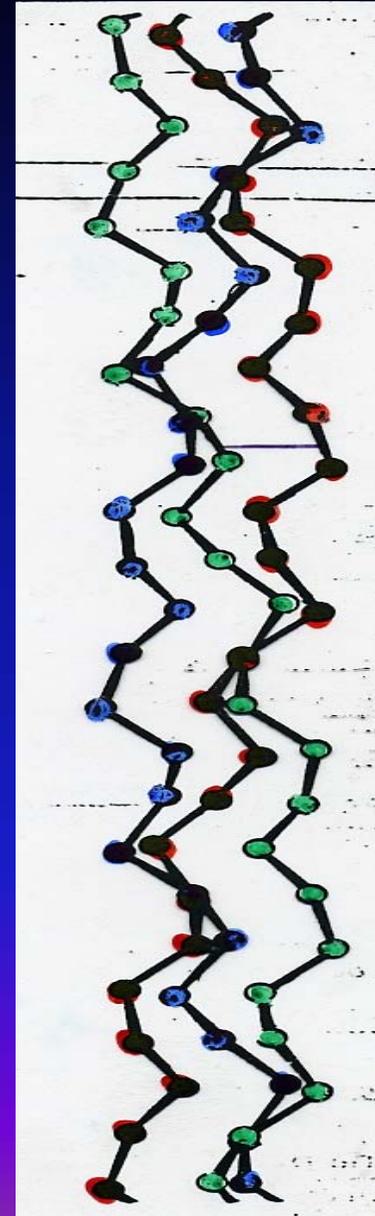
- b) Modello spaziale dell'elica sinistrorsa (3,3 residui per giro),
- c) tre catene di collagene si arrotolano insieme con un andamento destrorso,
- d) rappresentazione a palle-e-bastoncini della superelica a tre catene di collagene vista dall'alto.



(c)

IL TROPOCOLLAGENO

In esso non sono presenti legami idrogeno intra-catena;
sono invece presenti legami idrogeno inter-catena.



La struttura primaria del collagene è insolita:



X è molto spesso Pro,

Y è molto spesso Hyp,

N-Glu	Met	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Asp	Glu	Lys	Ser	Ala	Gly	Val	Ser	Val	15
Pro	Gly	Pro	Met	Gly	Pro	Ser	Gly	Pro	Arg	Gly	Leu	Hyp	Gly	Pro	30
Hyp	Gly	Ala	Hyp	Gly	Pro	Gln	Gly	Phe	Gln	Gly	Pro	Hyp	Gly	Glu	45
Hyp	Gly	Glu	Hyp	Gly	Ala	Ser	Gly	Pro	Met	Gly	Pro	Arg	Gly	Pro	60
Hyp	Gly	Pro	Hyp	Gly	Lys	Asn	Gly	Asp	Asp	Gly	Glu	Ala	Gly	Lys	75
Pro	Gly	Arg	Hyp	Gly	Gln	Arg	Gly	Pro	Hyp	Gly	Pro	Gln	Gly	Ala	90
Arg	Gly	Leu	Hyp	Gly	Thr	Ala	Gly	Leu	Hyp	Gly	Met	Hyl	Gly	His	105
Arg	Gly	Phe	Ser	Gly	Leu	Asp	Gly	Ala	Lys	Gly	Asn	Thr	Gly	Pro	120
Ala	Gly	Pro	Lys	Gly	Glu	Hyp	Gly	Ser	Hyp	Gly	Glx	Asx	Gly	Ala	135
Hyp	Gly	Gln	Met												

1/3 degli aminoacidi è costituito da Gly,

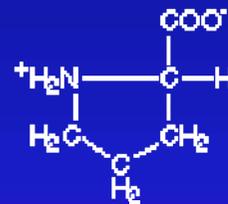
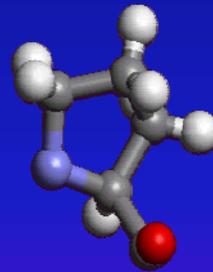
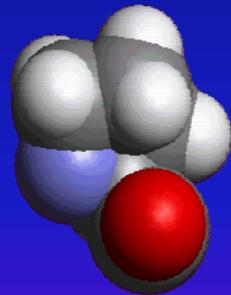
1/4 degli aminoacidi è costituito da Pro,

vi è una elevata presenza di 5-idrossilisina e di 4-idrossiprolina (25%).

LA PROLINA

Avendo una flessibilità conformazionale molto limitata, essa conferisce **rigidità** alle catene, quindi alle fibre;

i loro anelli si respingono a vicenda, costringendo la catena ad assumere una struttura **ad elica sottile e distesa**.



Pro

IL COLLAGENO

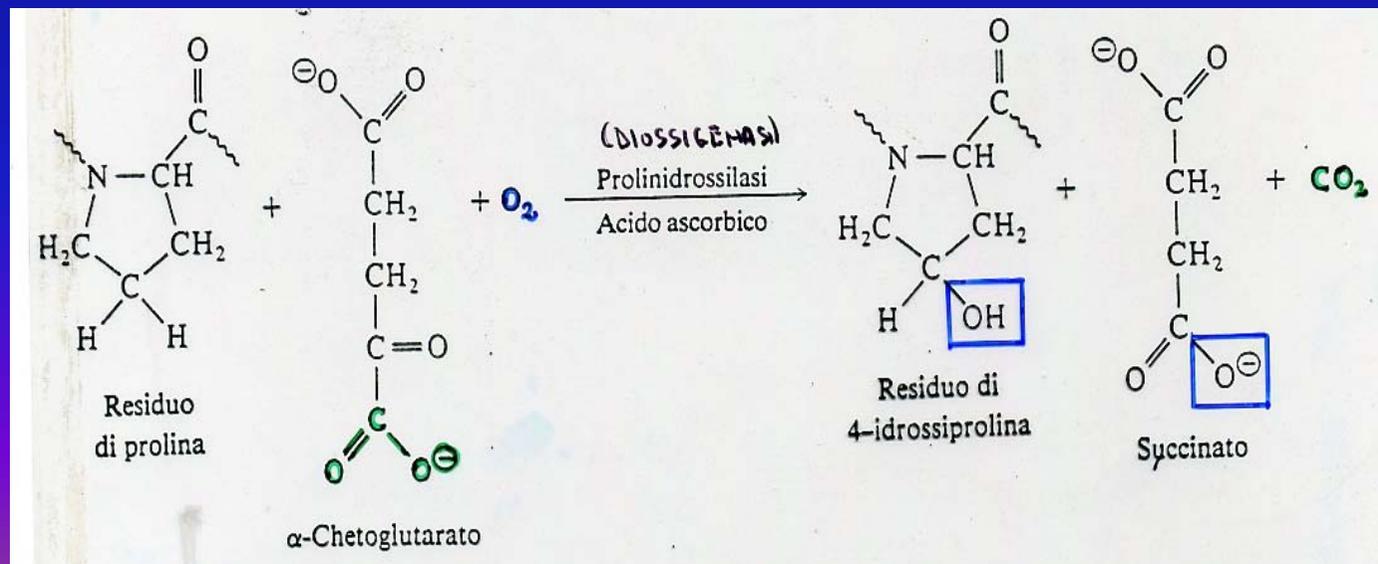
Nel collagene, è diffusa la idrossilazione della prolina in idrossiprolina ad opera della **prolinidrossilasi**,

la prolina è idrossilata solo se è situata sul lato amminico di un residuo di glicina,

la **4-idrossiprolina** forma legami H tra le catene di tropocollagene;

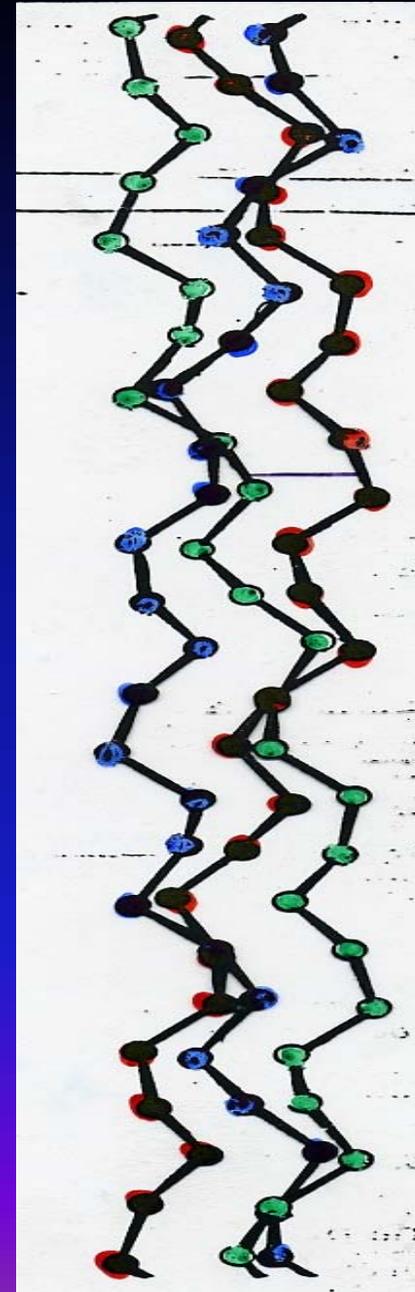
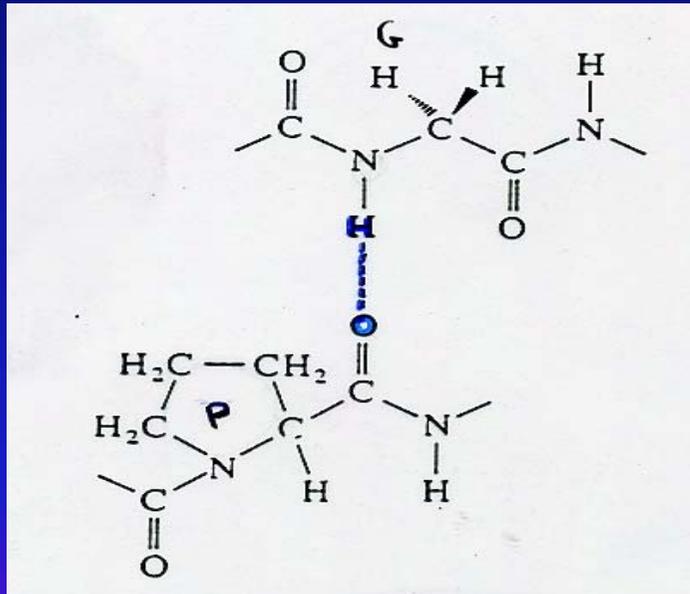
le idrossilazioni coinvolgono la **vitamina C** (ac. Ascorbico) che mantiene il Fe dell'enzima a **Fe⁺²**,

la sua mancanza provoca lo **scorbuto**, che causa lesioni cutanee, fragilità dei vasi, emorragie gengivali, ecc.



IL COLLAGENO

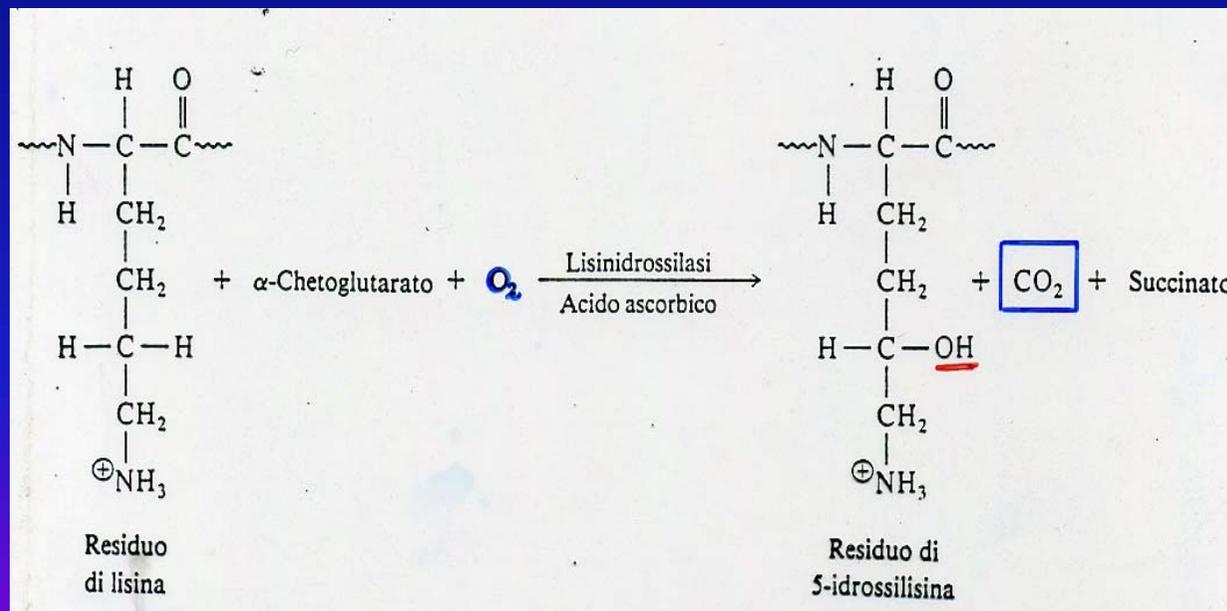
I **legami H** stabilizzano il collagene e sono perpendicolari all'asse longitudinale del bastoncino di tropocollagene.



IL COLLAGENO E' UNA GLICOPROTEINA

Una piccola percentuale di lisina é idrossilata a livello del C-5 ad opera dell'enzima **lisinidrossilasi**,

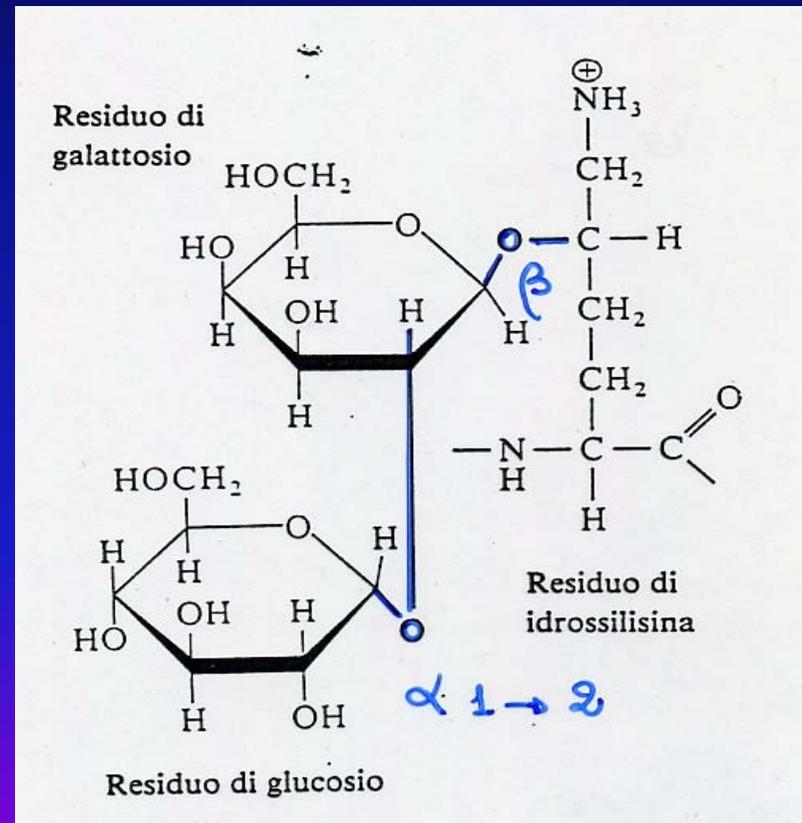
la **5-idrossilisina** rappresenta il sito d'attacco per i polisaccaridi.



IL COLLAGENO E' UNA GLICOPROTEINA

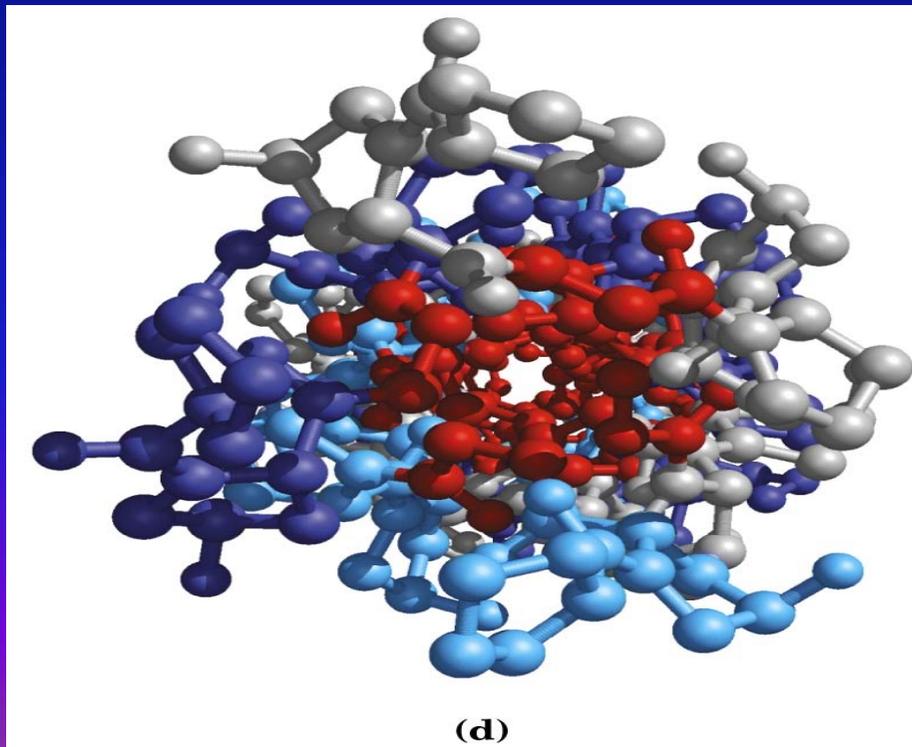
Il numero di unità saccaridiche legate per molecola di tropocollagene varia in funzione del **tipo** di tessuto.

- Gli enzimi, che intervengono prima che le catene assumano una struttura elicoidale, sono:
 - 1) la **galattosiltransferasi**,
 - 2) la **glucosiltransferasi**.



LA SEZIONE TRASVERSALE DEL TROPOCOLLAGENO

L'interno del cavo elicoidale della tripla elica é molto compatto, il solo residuo amminoacidico che può adattarsi ad una posizione interna dell'elica é la **glicina**, poiché vi sono 3 residui per giro, un residuo ogni 3 di ciascuna catena deve essere **glicina**.



La T_m (TEMPERATURA DI FUSIONE)

La forma ad elica é la conseguenza di molti legami che si **rinforzano** l'un l'altro,

la tripla elica é stabilizzata da **interazioni cooperative**;

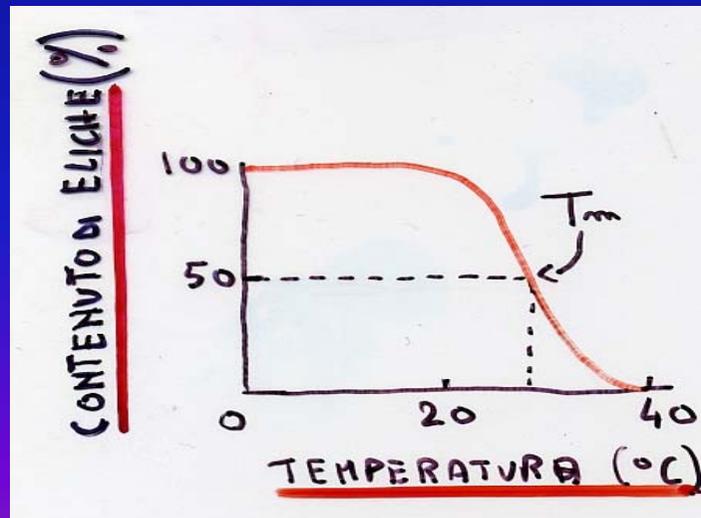
se una soluzione di tropocollagene viene scaldata, raggiunta una certa temperatura, la struttura elicoidale viene distrutta (\rightarrow **gelatina**) e la viscosità diminuisce.

La T_m (TEMPERATURA DI FUSIONE)

I **movimenti termici**, ad una certa temperatura, superano le forze che stabilizzano l'elica a tripla catena,

questa transizione strutturale avviene **bruscamente**;

la T_m (temperatura di fusione) é la temperatura a cui **metà** della struttura elicoidale viene persa.



La T_m (TEMPERATURA DI FUSIONE)

La T_m del collagene é correlata alla **temperatura corporea** della specie da cui deriva il collagene;

Fonte	Prolina + idrossiprolina (per 1000 residui)	Stabilità termica (°C)		Temperatura del corpo (°C)
		T_m	T_m	
Pelle di vitello	232	65	39	37
Pelle di squalo	191	53	29	24-28
Pelle di merluzzo	155	40	16	10-14

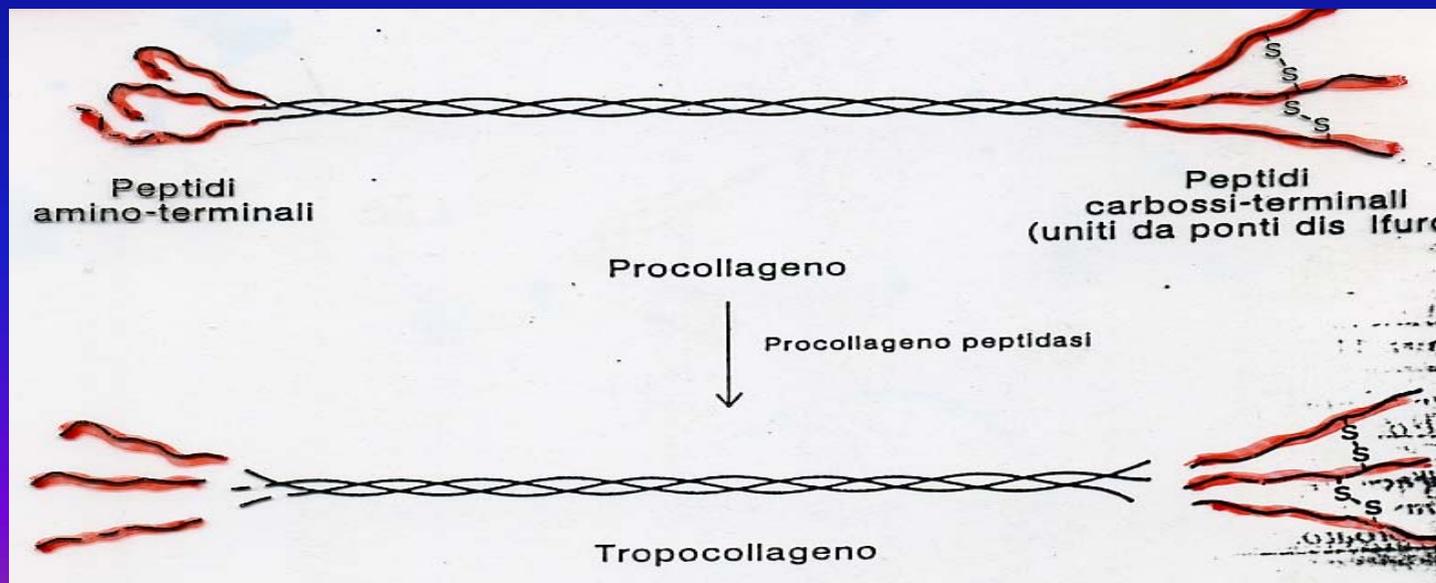
la tripla elica é fortemente stabilizzata dalla **idrossilazione** dei residui di prolina che formano legami idrogeno,
il contenuto in **imminoacidi** (prolina e idrossiprolina) aumenta nell'evoluzione.

LA MATURAZIONE DEL COLLAGENO

Il **procollagene** é il precursore del tropocollagene.

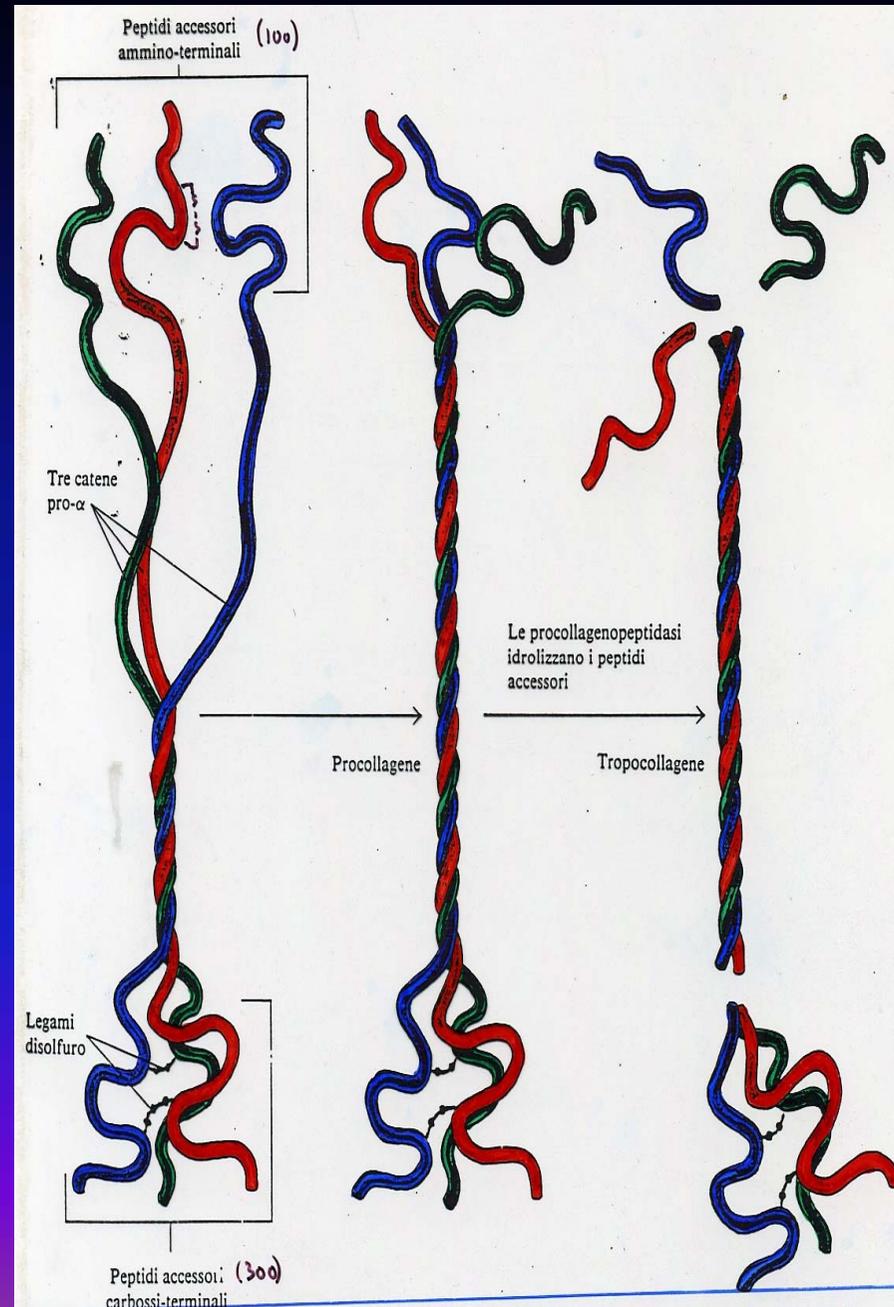
Le catene che costituiscono il tropocollagene vengono sintetizzate in forma di precursori più grandi.

I propeptidi vengono rimossi, al di fuori della cellula, da parte delle **procollagene peptidasi** (sia per i **propeptidi amino-**, sia per i **propeptidi carbossi-terminali**).

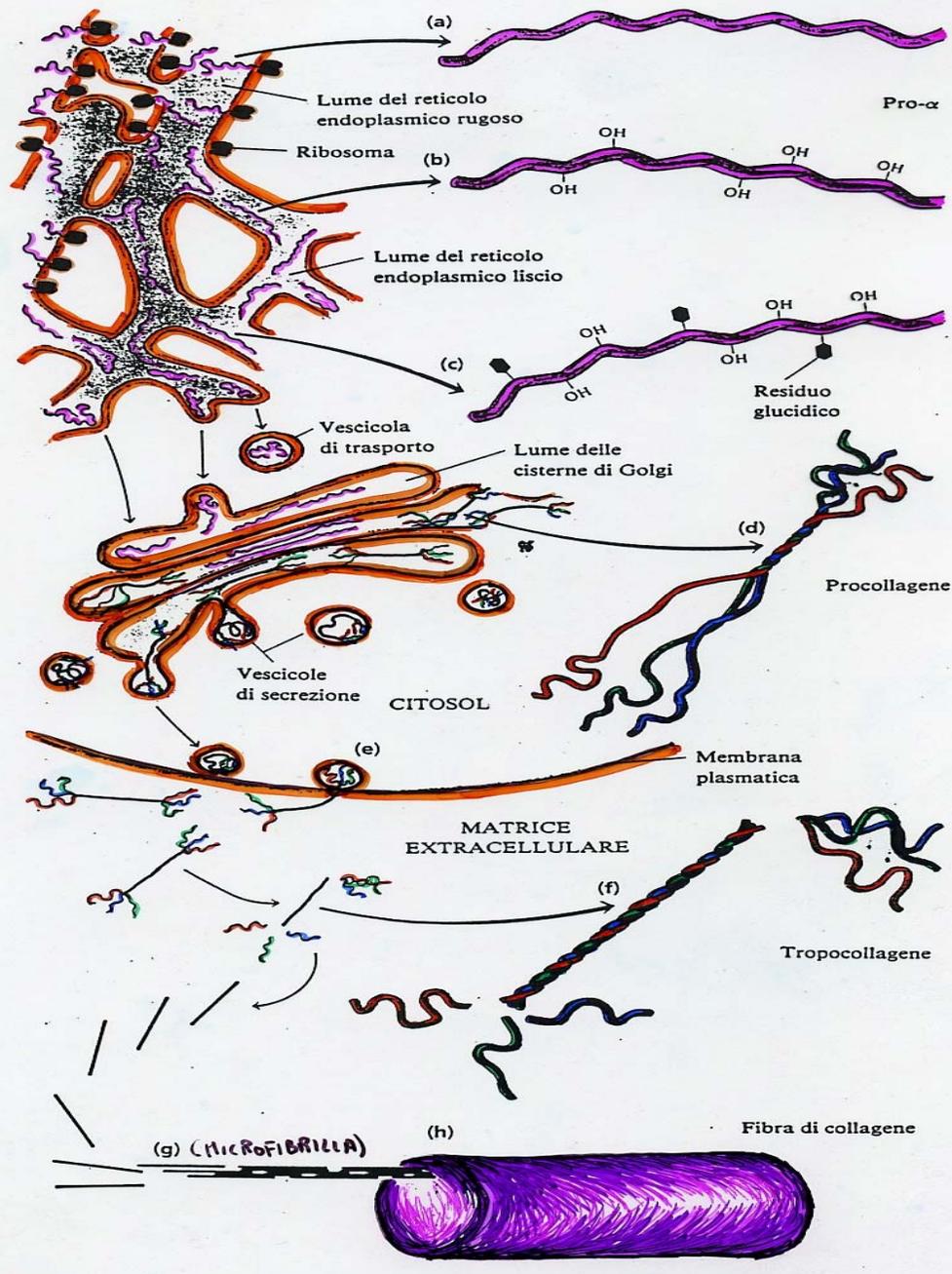


LA PROCOLLAGENO PEPTIDASI

La rimozione difettosa dei propeptidi determina la **"Sindrome di Ehlers Danlos"**:
pelle tesa,
giunture ipermobili,
bassa statura associata a
fragilità cutanea,
lassità articolare.



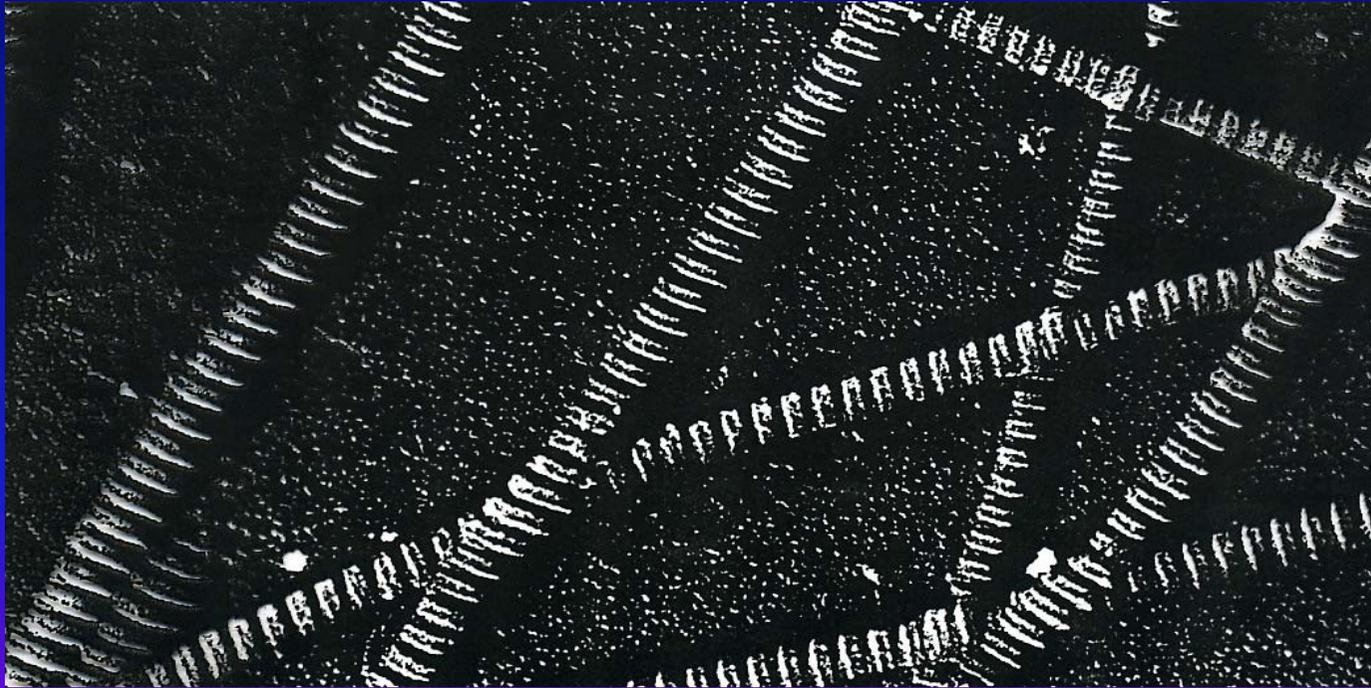
FIBROBLASTI



LA MATURAZIONE DEL COLLAGENO

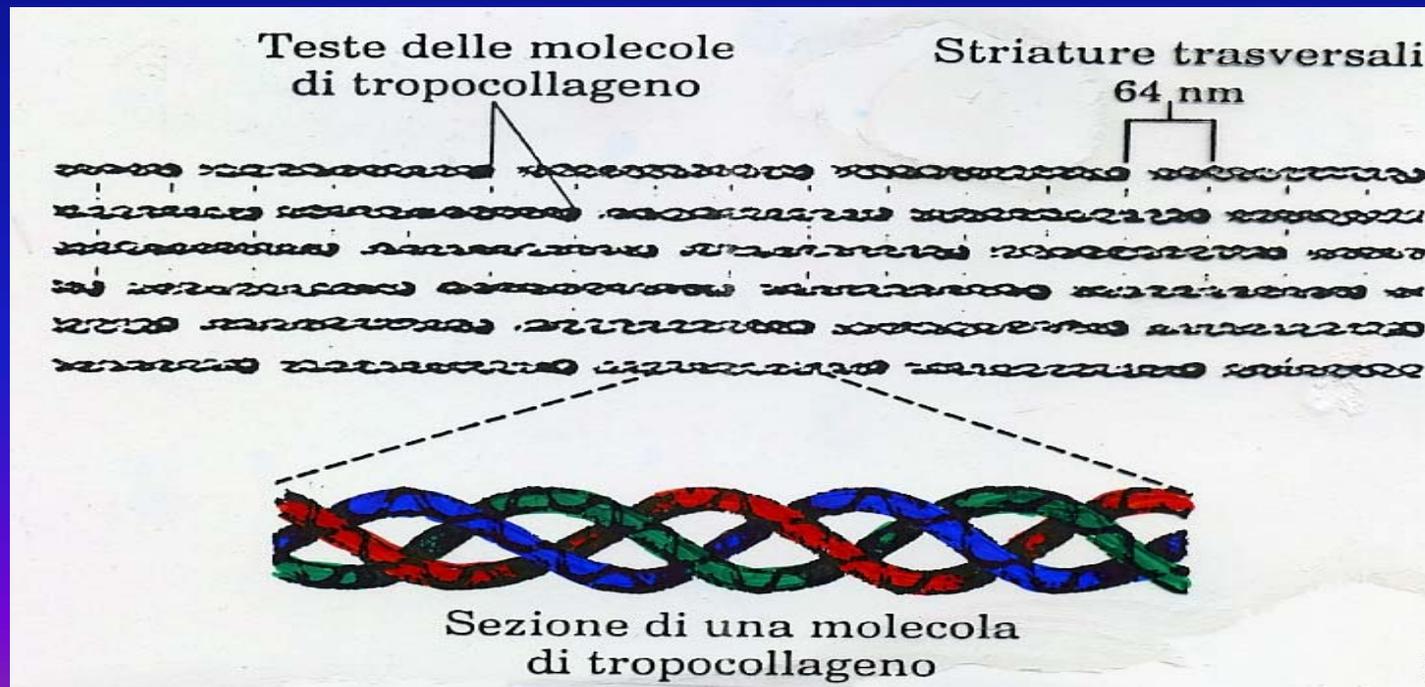
IL COLLAGENO AL M.E.

Si alternano bande scure a bande chiare ad intervalli regolari;
lo spessore della banda scura è di 35 nm,
lo spessore di banda scura e banda chiara è di 67 nm.

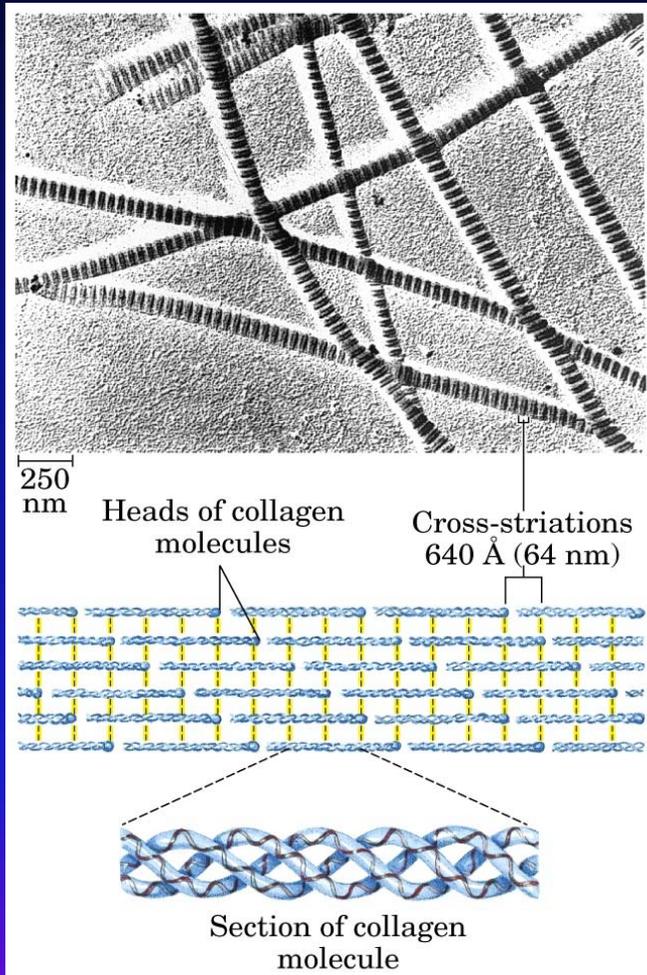


LA STRUTTURA DELLA FIBRA DI COLLAGENO

Le molecole di tropocollagene hanno una **disposizione sfalsata**,
ogni molecola é spostata di $\frac{1}{4}$ della propria lunghezza rispetto a
quelle vicine,
si ha la completa sovrapposizione solo ad intervalli di **5 molecole**,
la distanza tra l'estremità C-terminale di una molecola e l'estremità
N-terminale di quella adiacente é di **40 nm**;
nell'osso, questo spazio é occupato da un fosfato di calcio: **l'idrossiapatite**.



LA STRUTTURA DELLA FIBRA DI COLLAGENO



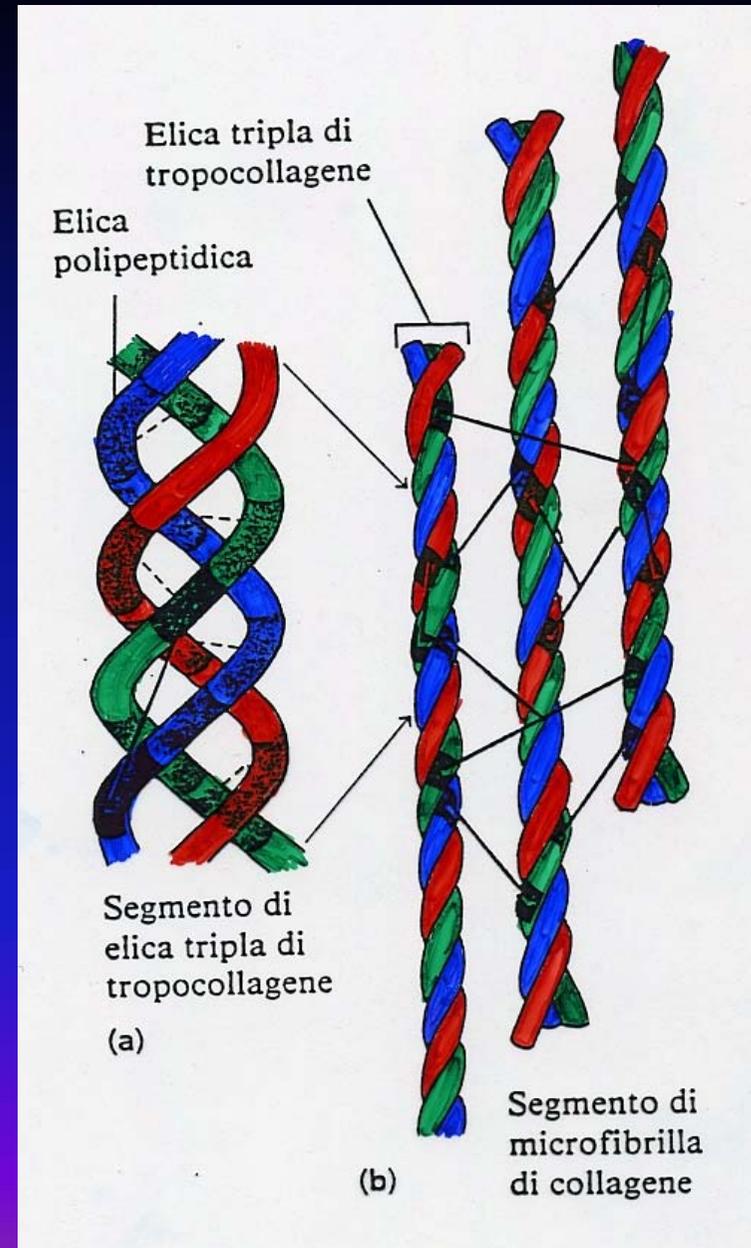
IL COLLAGENO

I legami trasversali covalenti aumentano la resistenza meccanica del collagene.

Sono presenti

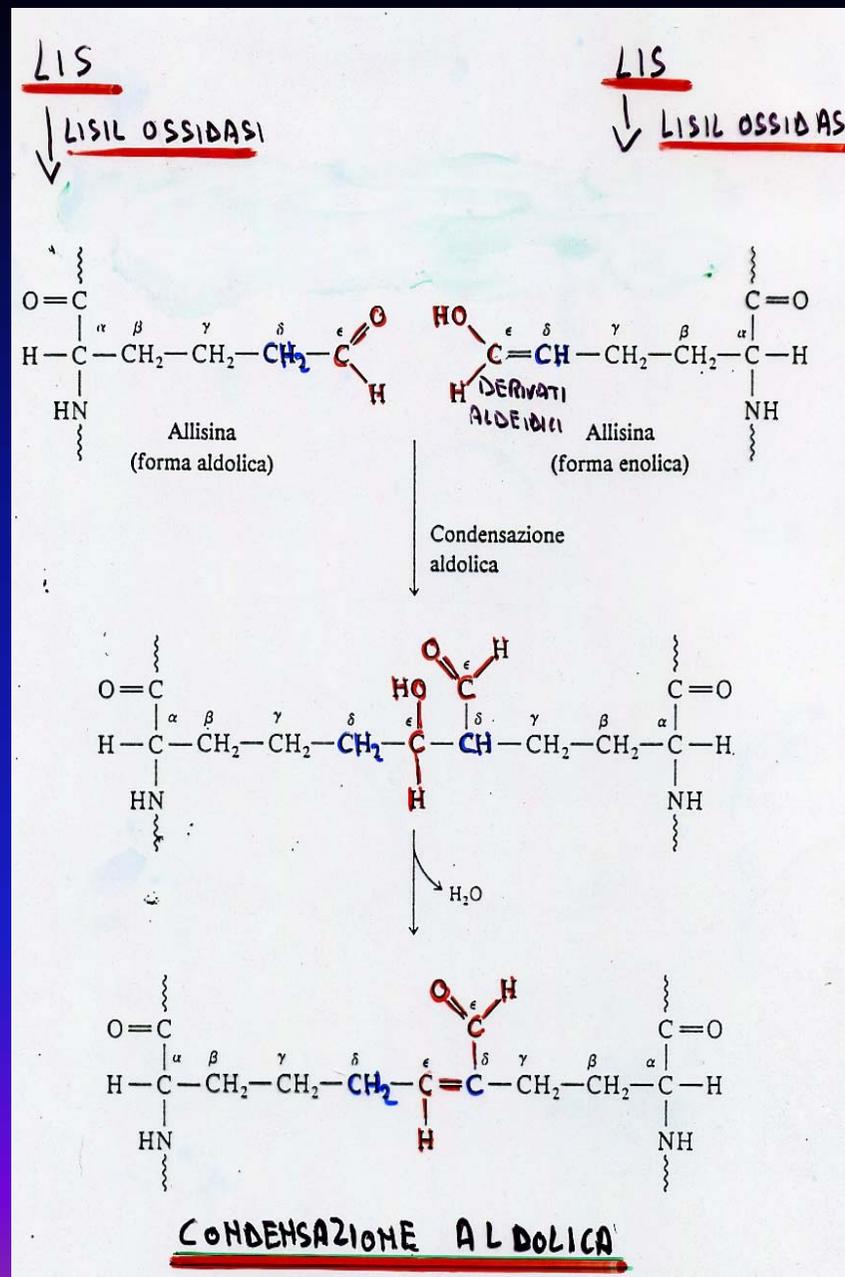
i legami intramolecolari
tra le catene di ogni singola tripla elica,

i legami intermolecolari
tra eliche di tropocollagene di una microfibrilla.



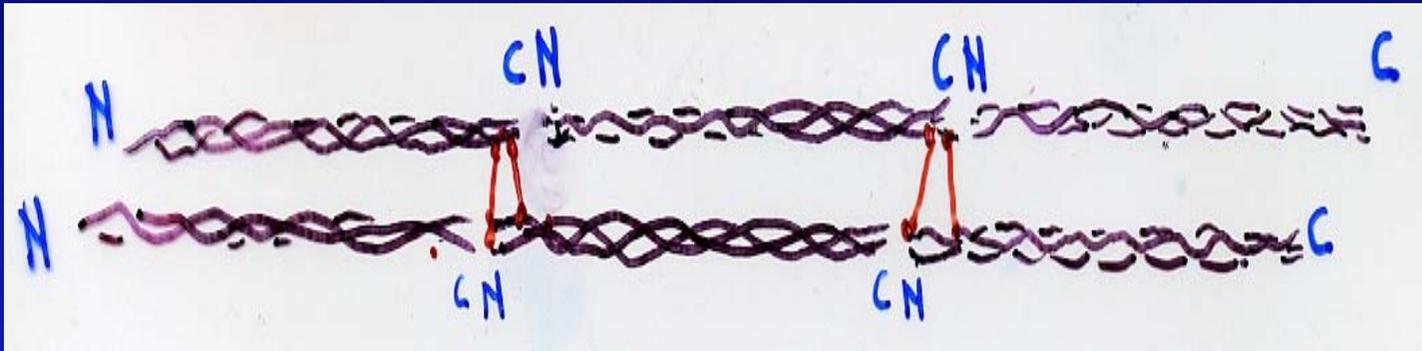
I LEGAMI CROCIATI INTRAMOLECOLARI

Essi si formano in regioni vicine al terminale amminico.



I LEGAMI CROCIATI INTERMOLECOLARI

La regione amminoterminale di una molecola si lega alla regione carbossiterminale di un'altra molecola di una fila adiacente;



il numero dei legami trasversali varia con la funzione fisiologica e l'età del tessuto.

LE COLLAGENASI

Sono enzimi che degradano i legami peptidici nelle regioni a tripla elica del collagene,
es. le collagenasi del *Clostridium Histolyticum*
(batterio patogeno).

Le collagenasi tessutali

Esse sono responsabili della metamorfosi negli anfibi e della riorganizzazione dell'utero dopo la gravidanza, *nei mammiferi*.

Le collagenasi dei fibroblasti umani (52KD) sono **metalloproteasi** contenenti Ca^{+2} e Zn^{+2} .

L'ELASTINA

L'ELASTINA

È presente in molti tessuti che devono essere elastici: parete dei vasi, cute, legamenti, ecc,

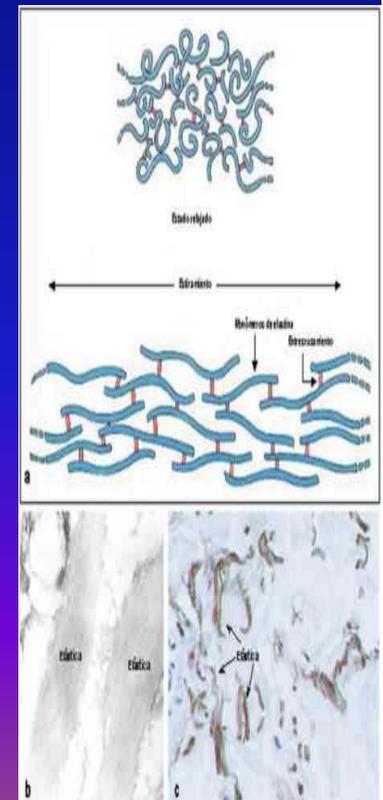
ha un elevato contenuto in prolina, valina, glicina (1/3) ed alanina,

è povera di idrossiprolina e priva di idrossilisina,

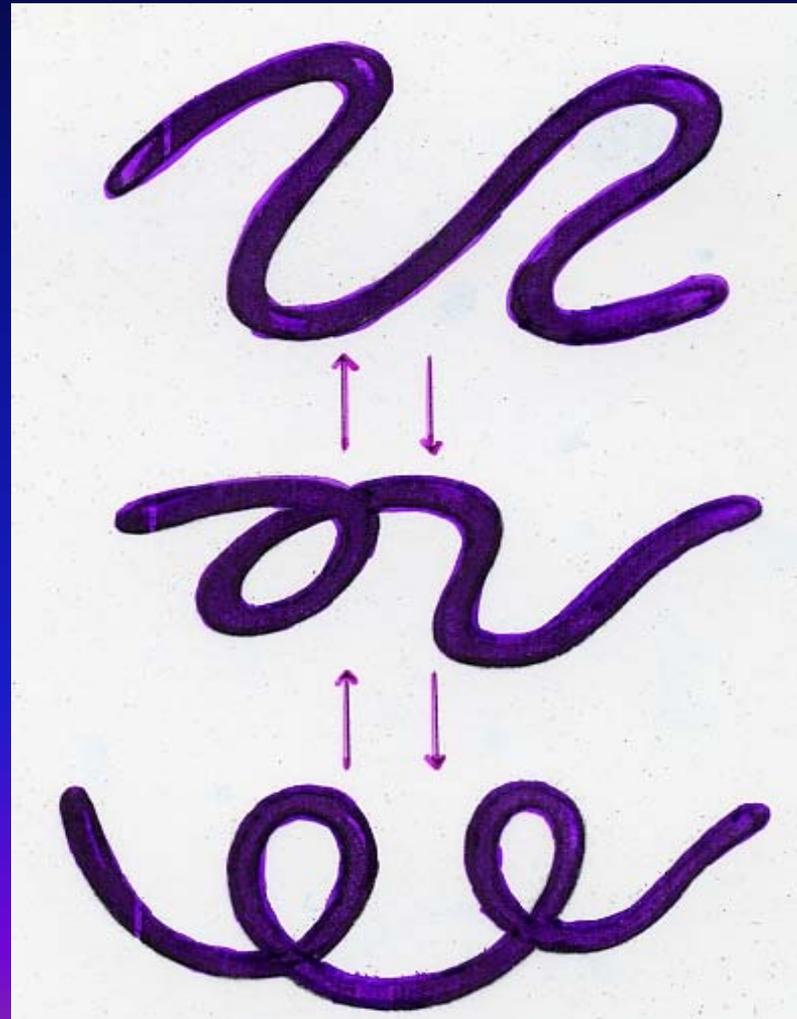
le fibre di elastina si formano quando le catene laterali dei polipeptidi adiacenti formano legami trasversali covalenti, che sono:

- 1) **lisinorleucina** (1 residuo di lisina + 1 residuo di allisina),
- 2) **desmosina** (3 residui di allisina + 1 residuo di lisina);

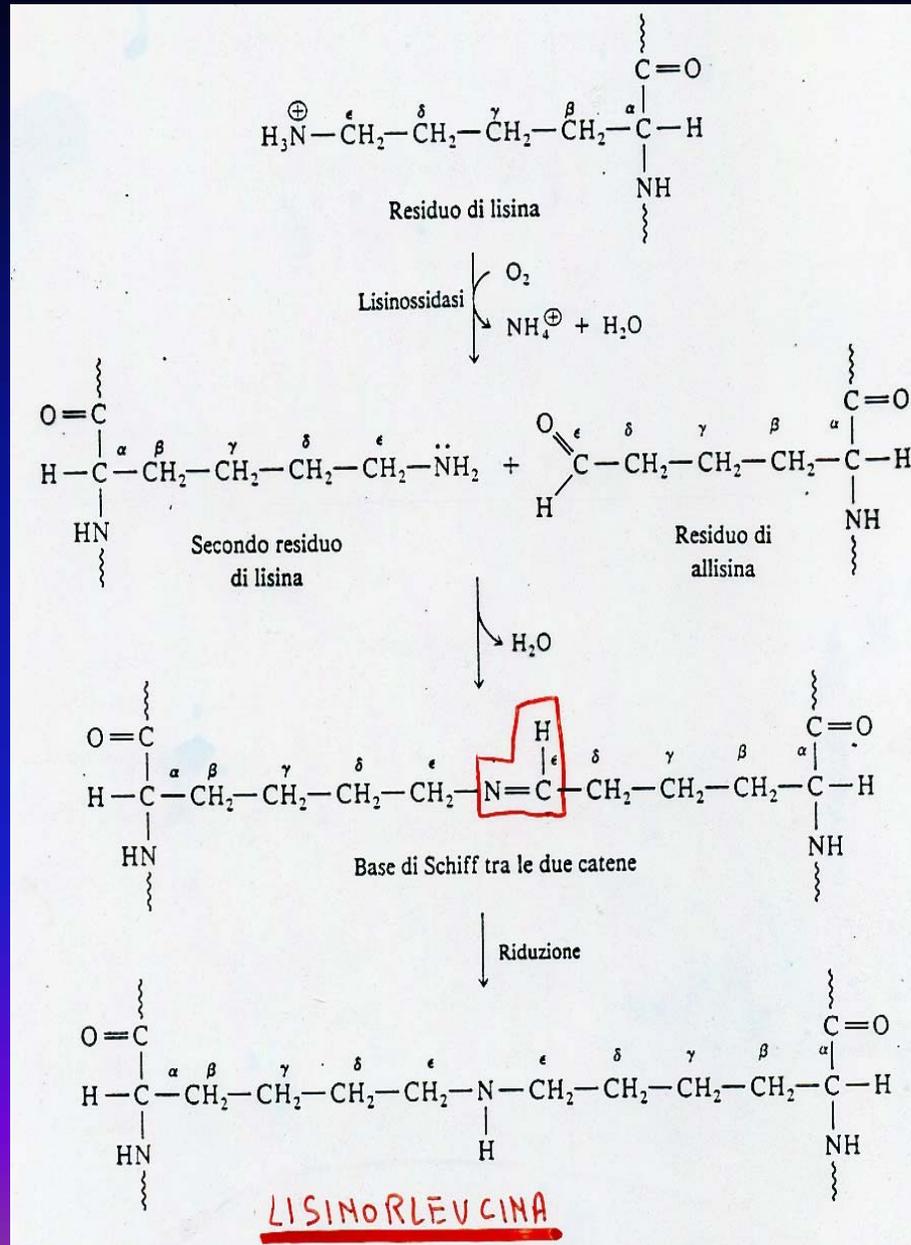
la **allisina** si forma dalla lisina ad opera dell'enzima lisinossidasi.



LA CONFORMAZIONE E L'AVVOLGIMENTO CASUALE DELL'ELASTINA

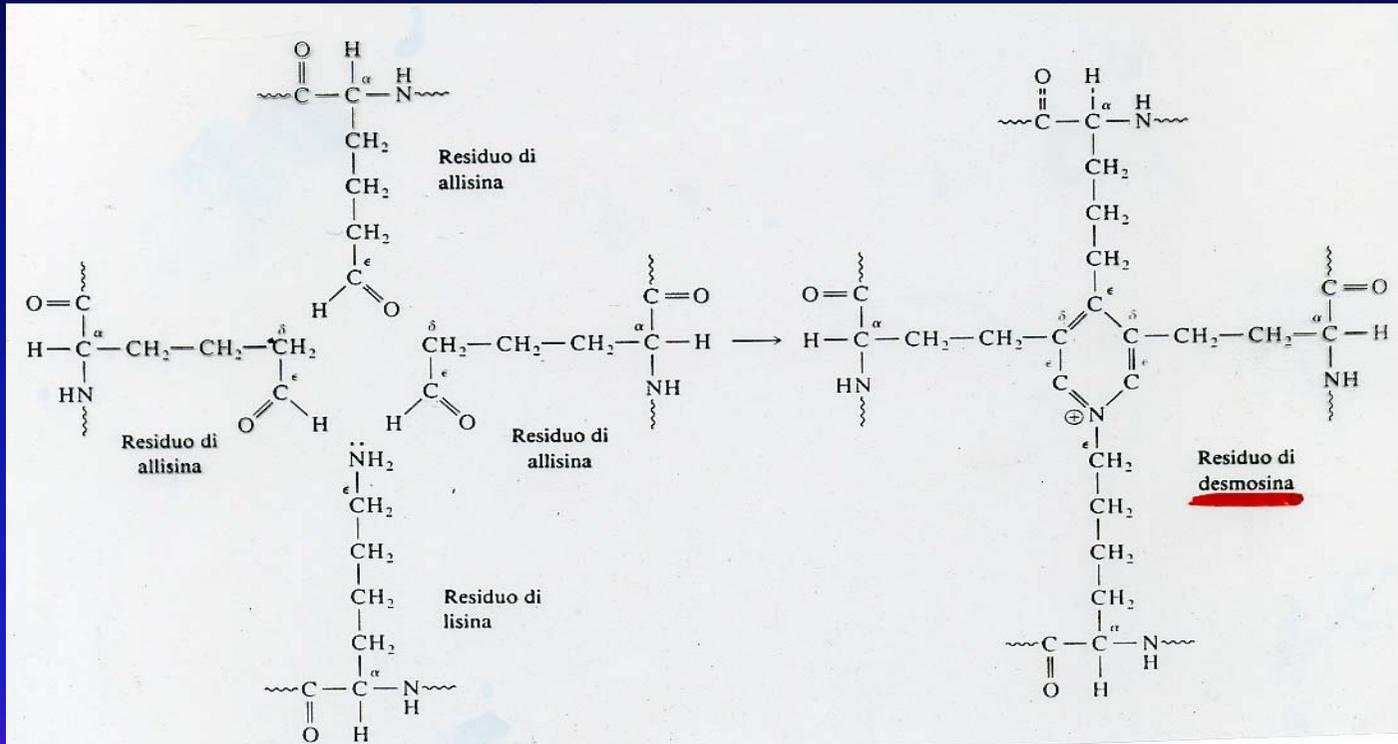


LA LISINORLEUCINA È UN LEGAME TRASVERSALE STABILE



LA DESMOSINA

(3 RESIDUI DI ALLISINA, 1 RESIDUO DI LISINA)

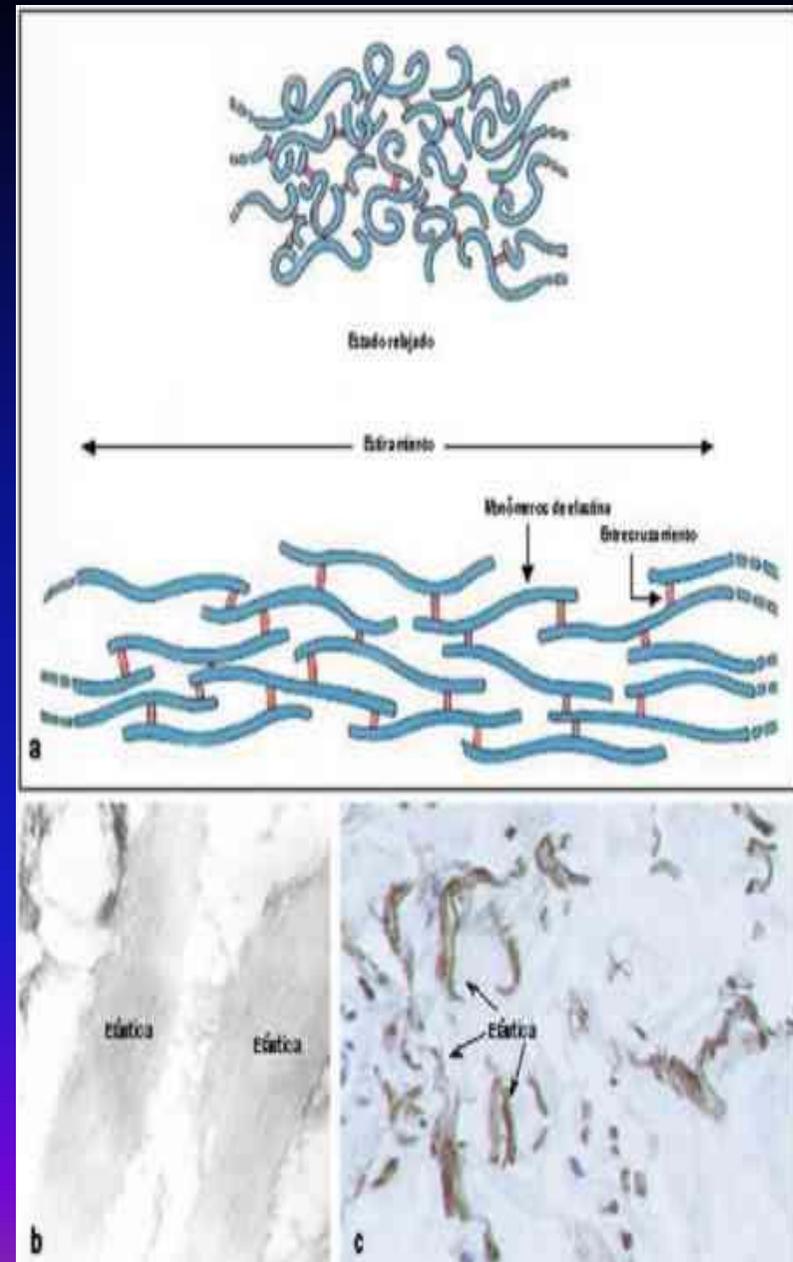


I LEGAMI CROCIATI

Essi riportano l'elastina alle sue dimensioni e forma originali dopo l'allungamento,

danno stabilità, infatti la resistenza delle fibre di elastina alla trazione aumenta con l'aumentare del numero di tali legami,

sono responsabili anche della sua **insolubilità**.



LA RESISTENZA DELLE FIBRE ALLA TRAZIONE AUMENTA CON IL NUMERO DEI LEGAMI TRASVERSALI

