

Una proteina qualsiasi assume costantemente un' *unica* conformazione ben definita, cui è legata la sua azione biologica.

www.sunhope.it

La conformazione è quella a più basso contenuto energetico

Considerando i **20 aminoacidi**, le catene polipeptidiche possibili dalle loro diverse combinazioni sono **20^n** . Per una catena di 300 residui è possibile prevedere **10^{390}** differenti proteine.

Non tutte le proteine teoricamente possibili sono presenti in natura

Perchè?

www.sunhope.it

Esistono in natura **solo** quelle
proteine la cui **sequenza**
aminoacidica è tale da assicurare
la **massima stabilità** ad una **sola**
conformazione che è quella
biologicamente utile.

www.sunhope.it

**ORIGINE
DELLA
STRUTTURA
TERZIARIA**

Tutte le informazioni necessarie a definire la struttura tridimensionale di una proteina **sono contenute nella sequenza amminoacidica**

Sequenza amminoacidica



Struttura tridimensionale



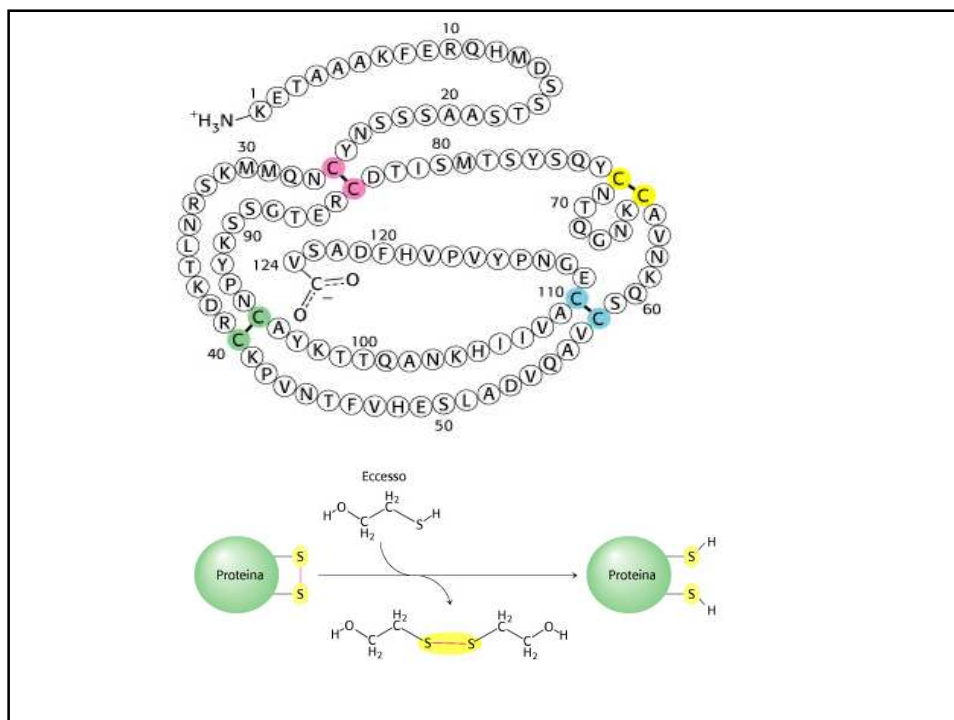
Funzione biologica

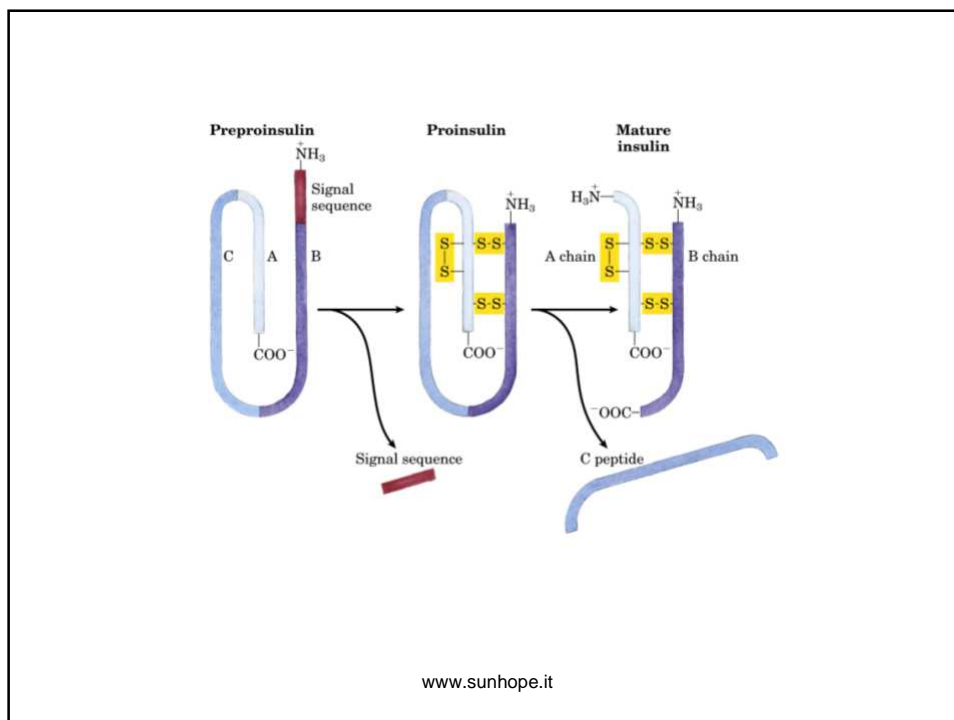
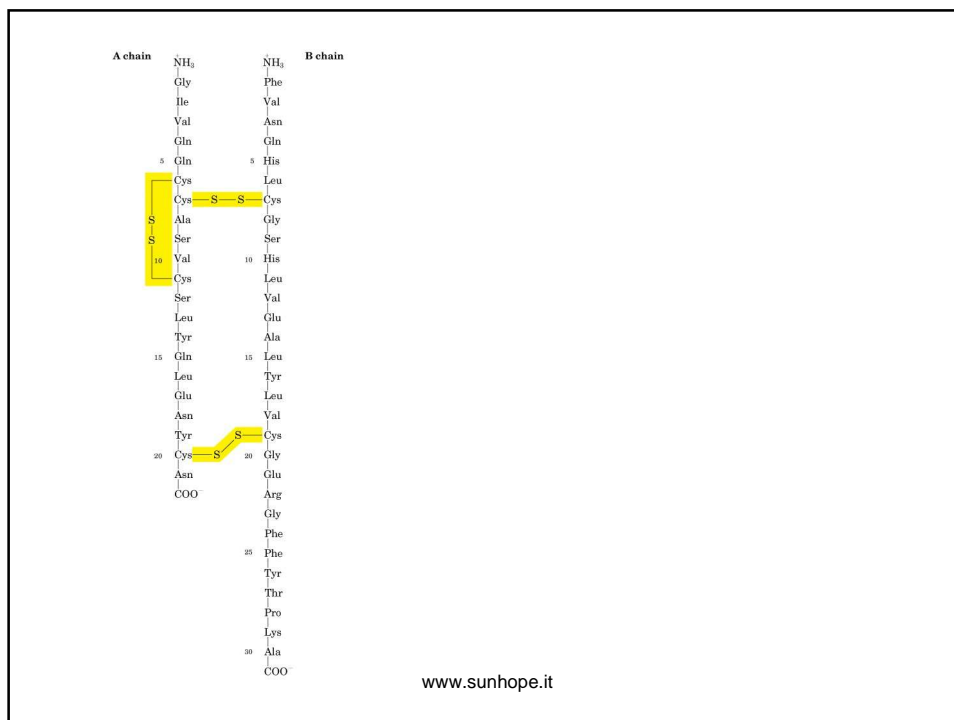
www.sunhope.it

Denaturazione = Perdita di Conformazione

PER EFFETTO DEL PH (AUMENTO O DIMINUZIONE), DELLA TEMPERATURA (AUMENTO), DI AGENTI CHIMICI (SOLVENTI ORGANICI, UREA, DETERGENTI, GUANIDINA ETC.)

www.sunhope.it





L'effetto idrofobico è la forza motrice del ripiegamento di una proteina

www.sunhope.it

Le strutture secondarie sono preferite

Le strutture secondarie consentono, infatti, l'instaurarsi del maggior numero di legami a H tra i gruppi dello scheletro polipeptidico ed impediscono a quest'ultimo di interagire con l'ambiente acquoso

Le strutture terziarie sono sempre compatte

La superficie delle proteine è polare mentre l'interno è prevalentemente apolare

www.sunhope.it

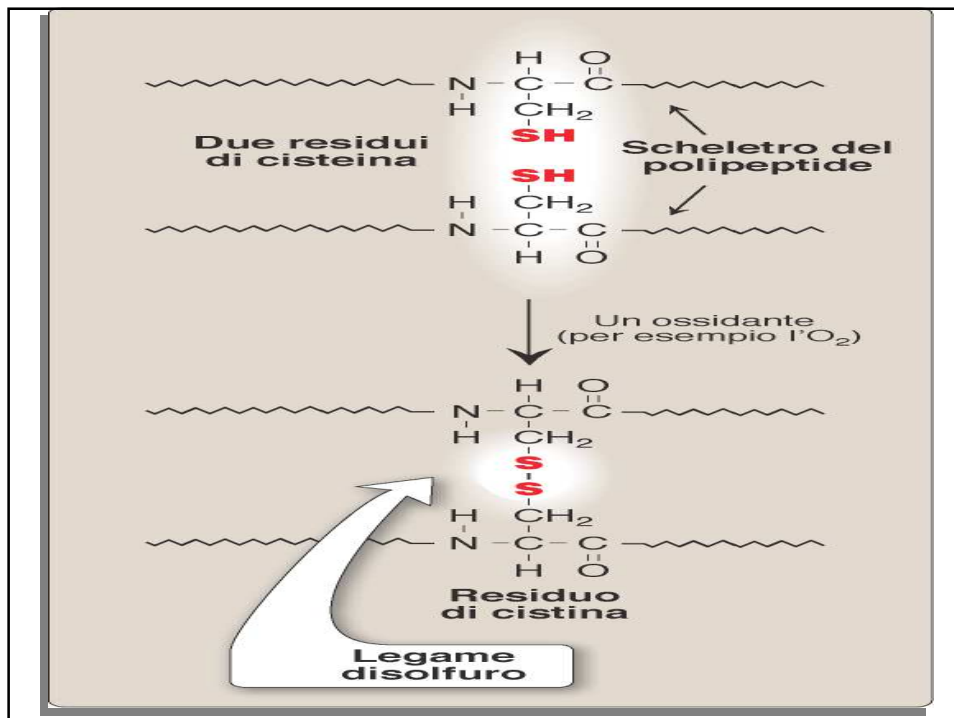
L'avvolgimento della catena deve essere tale da esporre sempre al solvente acquoso le catene laterali idrofile. Catene laterali cariche possono trovarsi all'interno di una proteina solo se la loro carica netta viene neutralizzata.

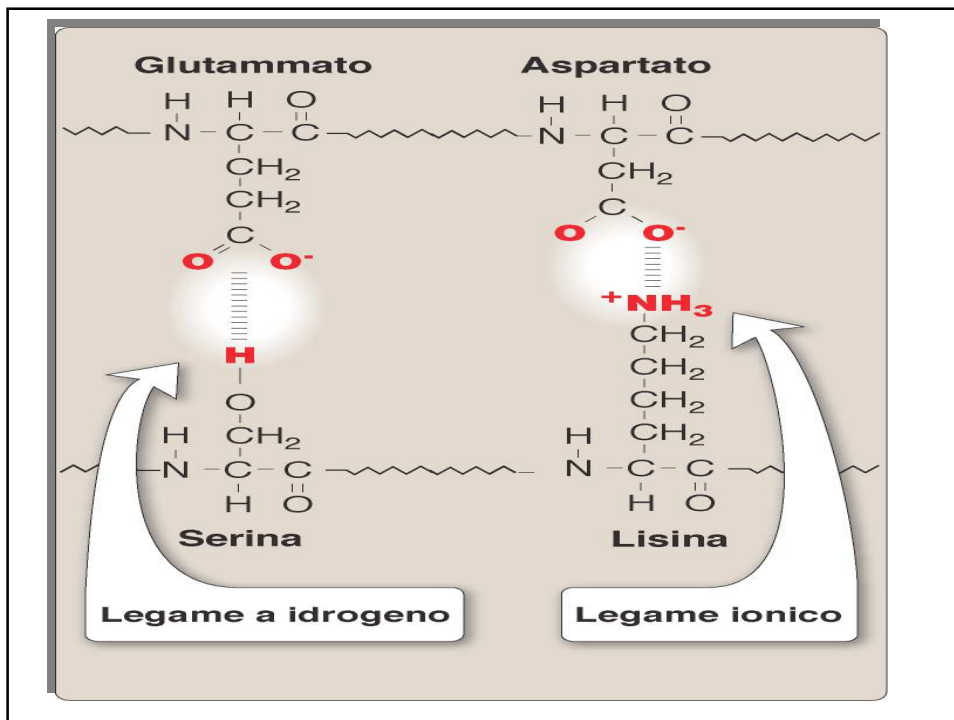
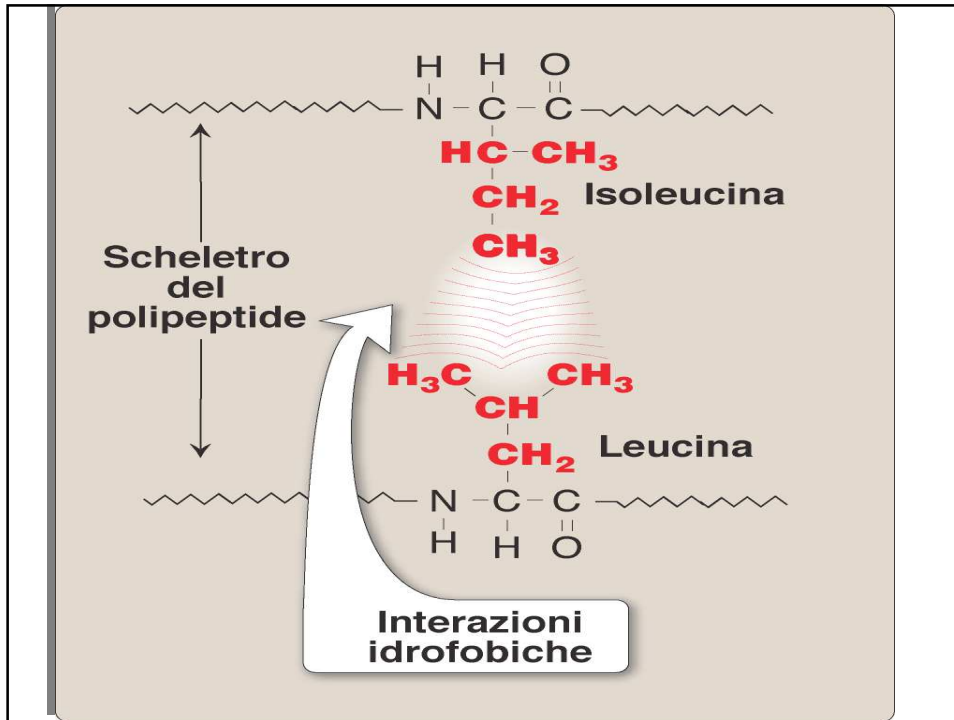
www.sunhope.it

Legami responsabili della struttura terziaria

Forze di Wan der Waals	1-2 Kcal/mole
Legami a H	3-7 Kcal/mole
Legami ionici	5 Kcal/mole
Legami S-S	50 Kcal/mole

www.sunhope.it





In alcune alcune catene polipeptidiche particolarmente lunghe (più di 200 residui) si ritrovano 2 o più zone distinte (30-150 residui) a struttura globulare e compatta, congiunte da segmenti di catena polipeptidica relativamente flessibili.

Queste strutture si definiscono

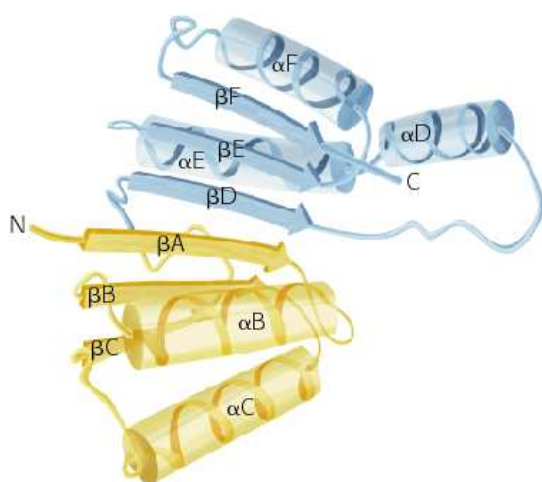
DOMINI

Se si separa, attraverso un'idrolisi controllata, un dominio dal resto della catena polipeptidica di cui fa parte, la molecola corrispondente al dominio mostra la capacità di ripiegarsi riassumendo nuovamente la struttura e spesso anche la funzione che aveva quando era unita al resto della catena polipeptidica.

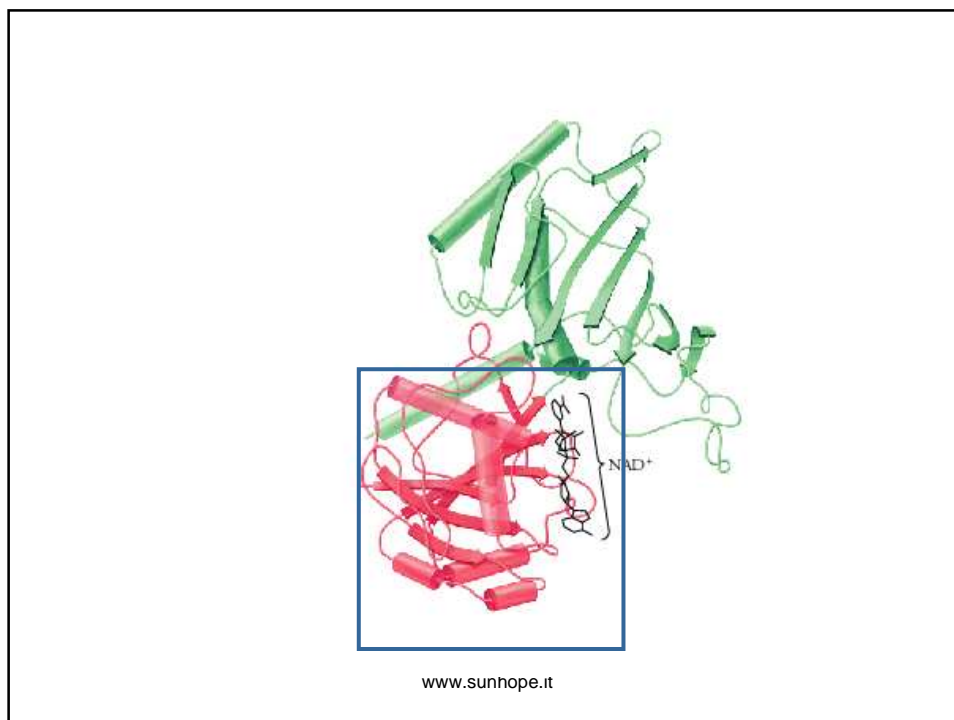
www.sunhope.it

Nel 1974 è stato scoperto uno dei domini più ampiamente distribuito, formato da 70 residui che presenta una super struttura secondaria del tipo $\beta\alpha\beta\alpha\beta$ (ripiegamento di Rosman). Esso è presente in numerose proteine, enzimatiche, anche a struttura molto diversa, ma che hanno in comune la funzione di legare un coenzima nucleotidico (NAD)

www.sunhope.it



www.sunhope.it



E' stata avanzata l'ipotesi che questo dominio sia quello che resta di una primitiva proteina di epoche precellulari.

Come tutti gli organismi viventi discendono da pochi progenitori, così la grande maggioranza delle proteine deve essere derivata da un *numero ristretto di archetipi*

I genomi eucariotici sono costruiti in modo da facilitare la riorganizzazione occasionale di sequenze di DNA atte a creare un gene che codifichi per nuove combinazioni di domini proteici

www.sunhope.it

La struttura terziaria di una proteina globulare costituita da più domini é la conseguenza della organizzazione dei vari domini e di tratti di struttura secondaria che li congiungono.

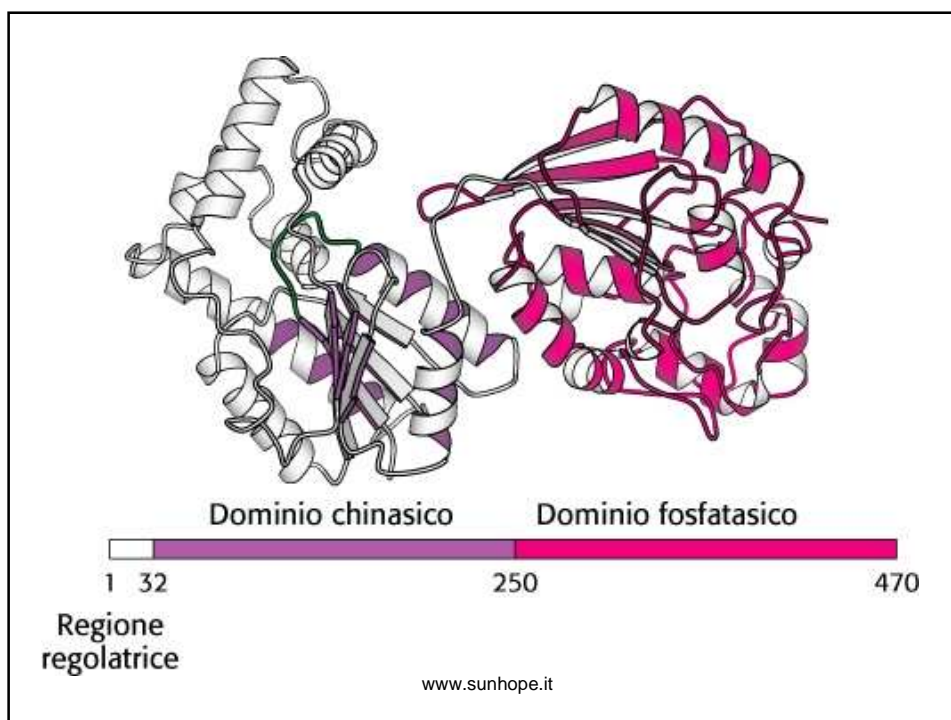
www.sunhope.it

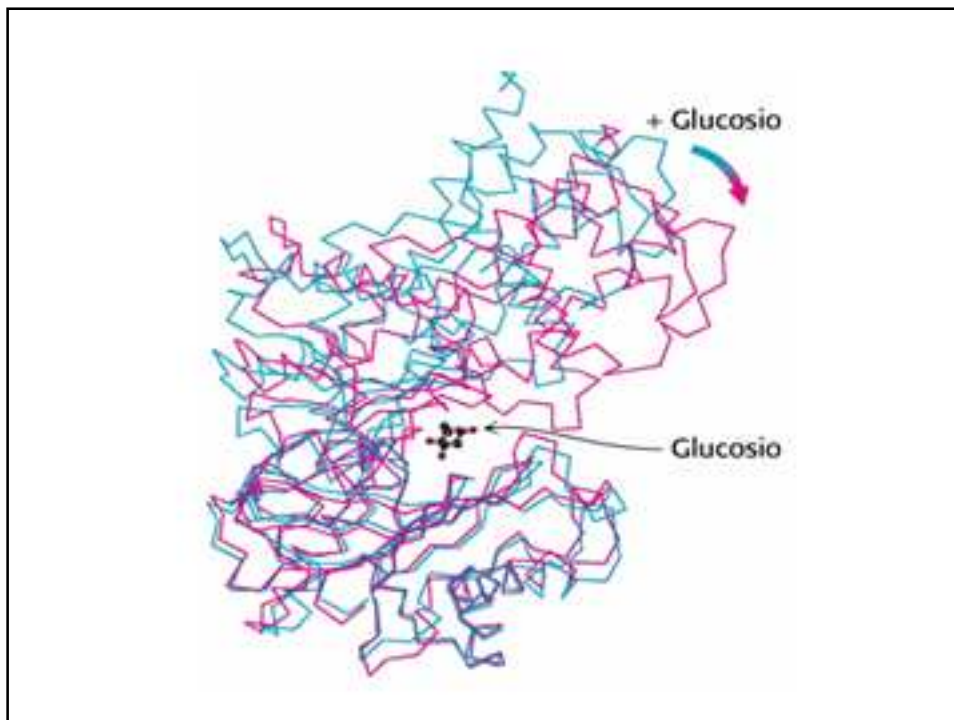
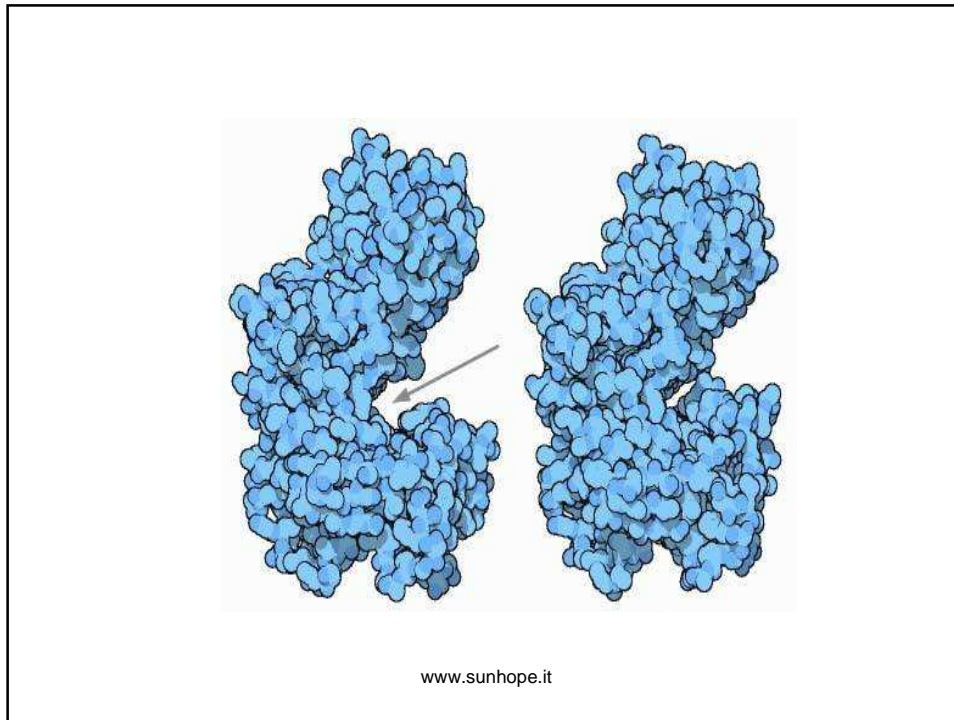
Proteine che possiedono piu' siti di legame per ligandi distinti spesso presentano questi siti di legame localizzati su diversi domini.

Domini diversi in proteine multifunzionali possono svolgere funzioni diverse .

I vari domini presenti su una proteina mostrano talvolta spostamenti reciproci relativi, collegati all'attività della proteina. (Es. Esochinasi)

www.sunhope.it





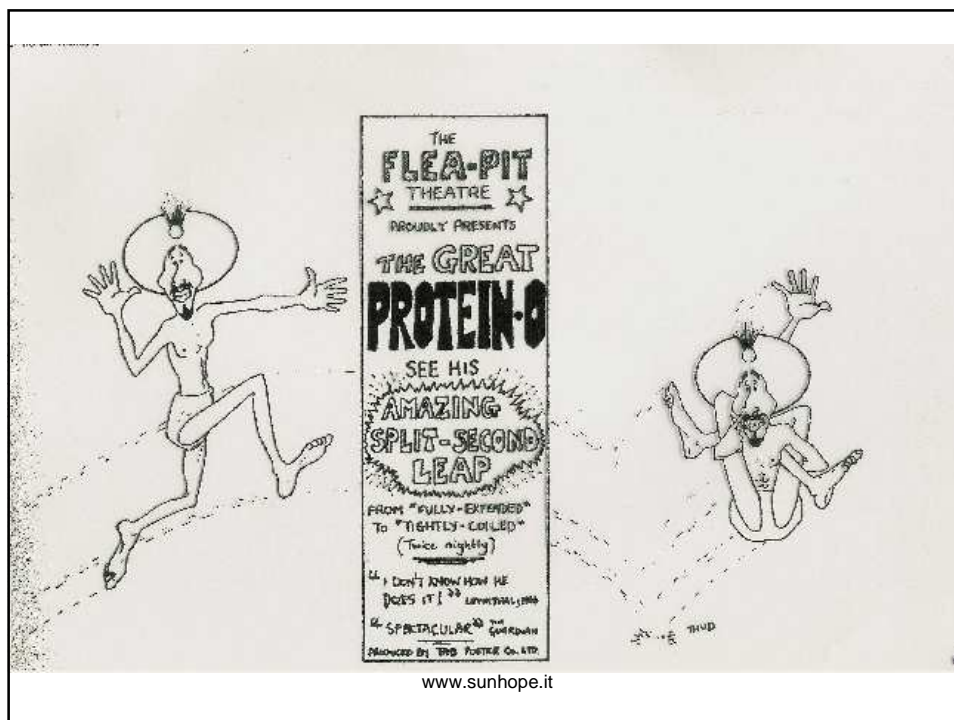
•Nelle cellule le proteine si sintetizzano ad una velocità molto elevata.

Le cellule di *E.Coli* producono una molecola proteica biologicamente attiva contenente 100 residui aminoacidici in 5 sec a 37°.

www.sunhope.it

COME FANNO LE PROTEINE AD AVVOLGERSI NEL TEMPO DI POCHI SECONDI?

www.sunhope.it



❖ Supponiamo che ciascuno dei 2 angoli di torsione, ϕ ψ , di una proteina con n residui possa assumere 3 conformazioni stabili, le conformazioni possibili per questa proteina saranno 3^{2n} circa 100^n

❖ Se la proteina può esplorare una conformazione ogni 10^{-13} secondi

Il tempo in sec necessario per esplorare tutte le conformazioni possibili sarà

$$t = 10^n / 10^{13}$$

Per $n=100$ $t = 10^{87}$ (20 miliardi di anni!)

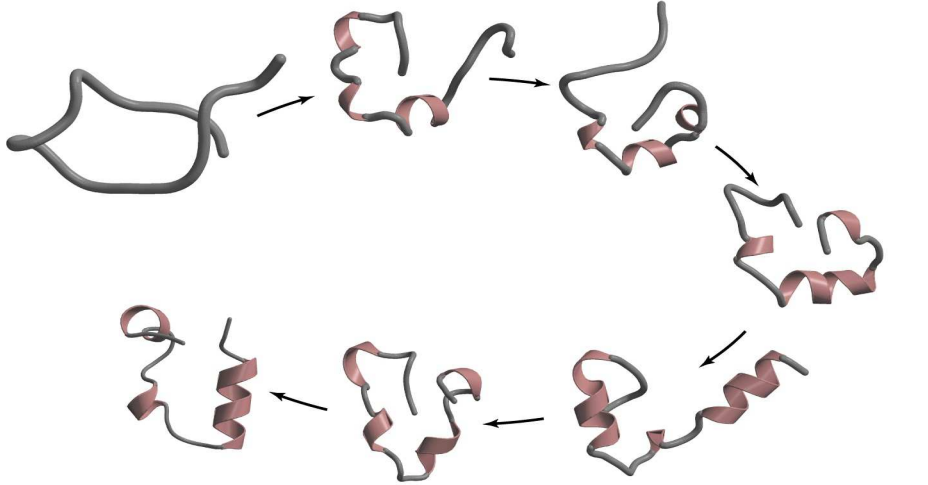
Le proteine

- ▶ **non ricercano casualmente la conformazione nativa fra le molte possibili**
- ▶ **si ripiegano seguendo vie dirette**

www.sunhope.it

**PICCOLI TRATTI DI STRUTTURA
SECONDARIA SERVONO DA
MEDIATORI DEL PROCESSO DI
AVVOLGIMENTO.**

www.sunhope.it



The diagram illustrates the rapid formation of secondary structure elements in a protein chain. It shows a sequence of seven stages connected by arrows, starting from a simple, flexible polypeptide chain on the left and progressing through various intermediate states to a more complex, folded structure on the right. The structures are rendered in a ribbon representation, with the backbone in grey and side chains in red. The stages show the formation of loops, turns, and eventually alpha-helices and beta-strands.

LA FORMAZIONE DI CORTI SEGMENTI DI STRUTTURA SECONDARIA È MOLTO VELOCE.

www.sunhope.it

Questi piccoli tratti (circa 15 residui) si stabilizzano formando dei complessi (es 2α , 2β , $\alpha\beta$) che si chiamano

unità di avvolgimento.

Intorno a questi centri si stabilizzano poi altri tratti di struttura secondaria

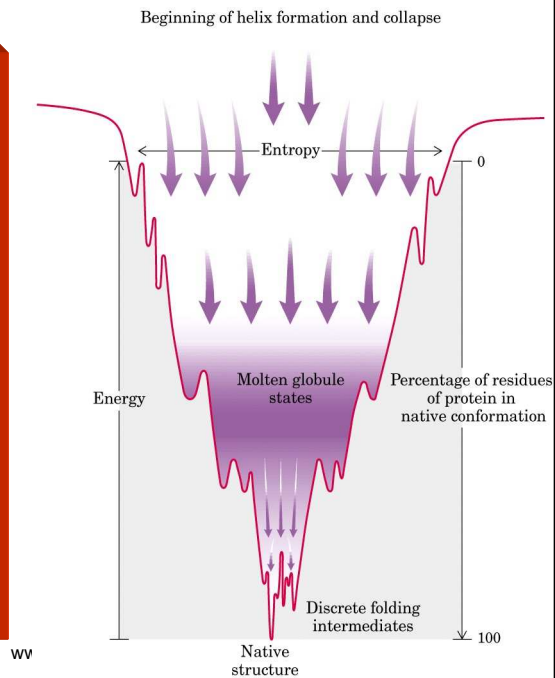
www.sunhope.it



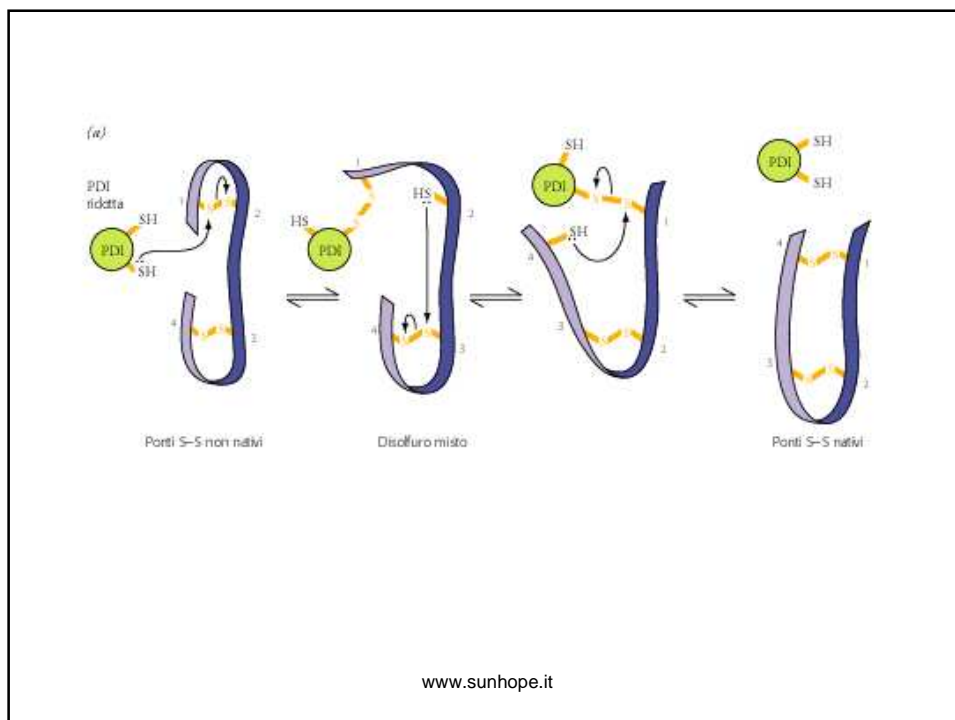
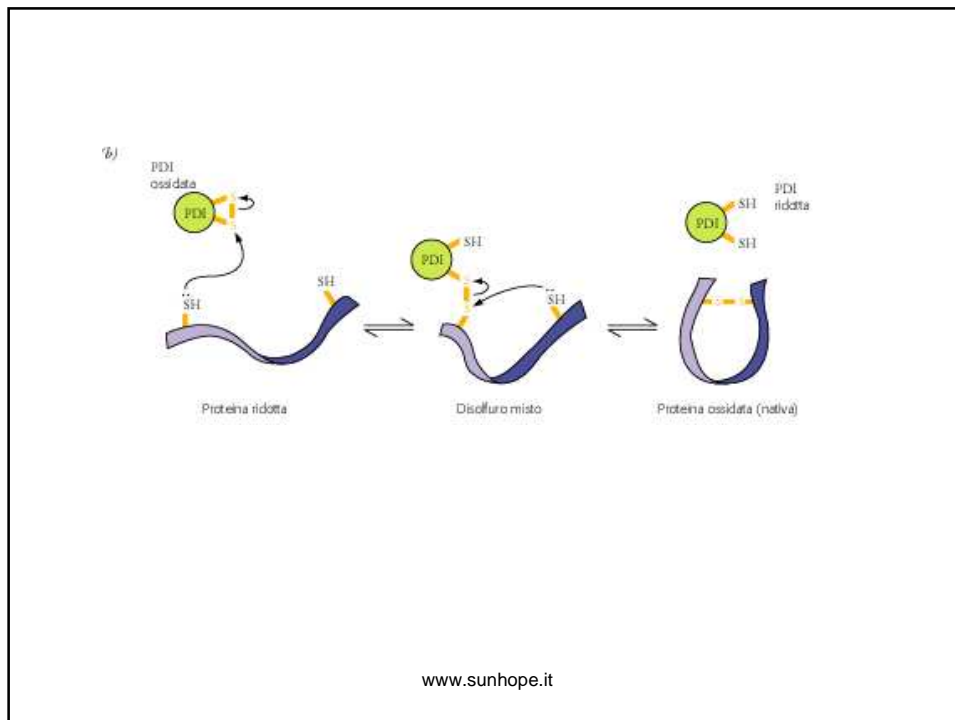
L'avvolgimento spontaneo delle catene polipeptidiche nella loro corretta struttura terziaria è un processo altamente *cooperativo*, in cui la formazione di piccoli elementi accelera la produzione di altri più grandi

www.sunhope.it

Il processo di ripiegamento di una proteina procede da uno stato ad alta energia ed alta entropia ad uno a bassa energia e bassa entropia



IL processo di avvolgimento delle proteine può essere accelerato dall'enzima " proteina disolfuro isomerasi"



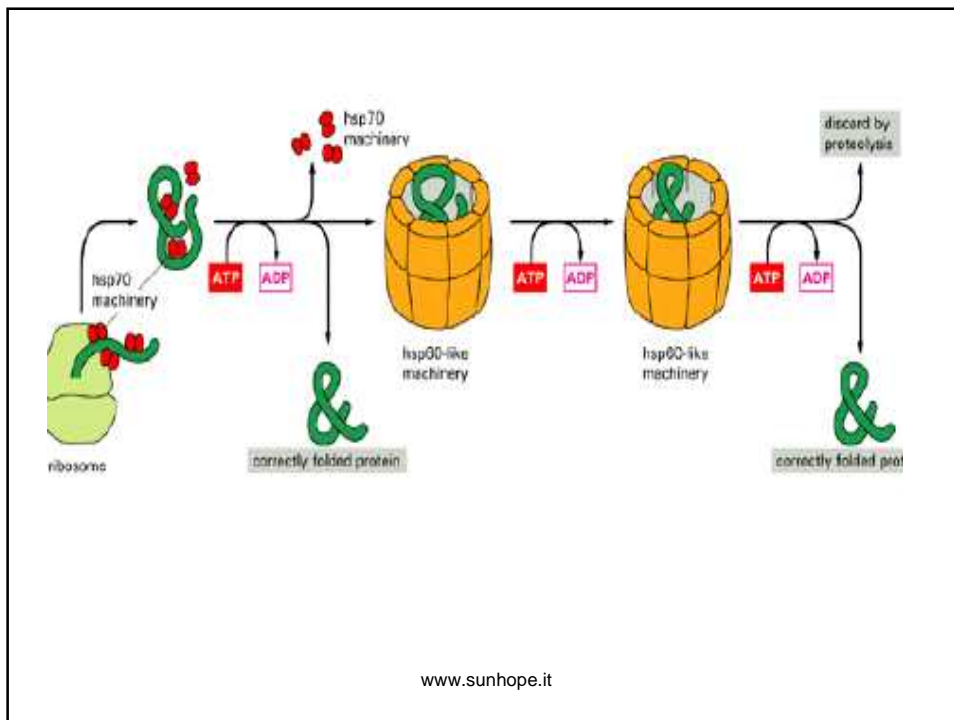
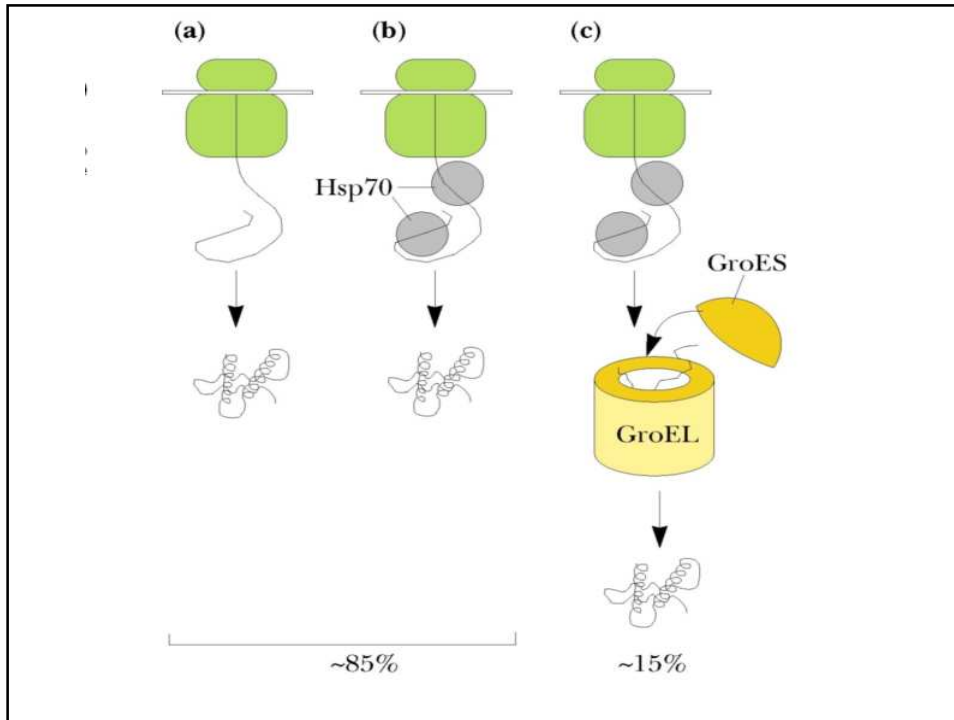
Per alcune proteine a tale processo partecipano gli **chaperoni molecolari** che :

- ▣ contribuiscono al corretto avvolgimento di una proteina nascente

- ▣ consentono alle proteine ripiegate in modo non corretto di raggiungere la conformazione nativa

Esistono due classi di **chaperoni molecolari** : la famiglia **Hsp70** e le **chaperonine** (Hps60 o GroEL ed o Hsp10 GroES)

www.sunhope.it

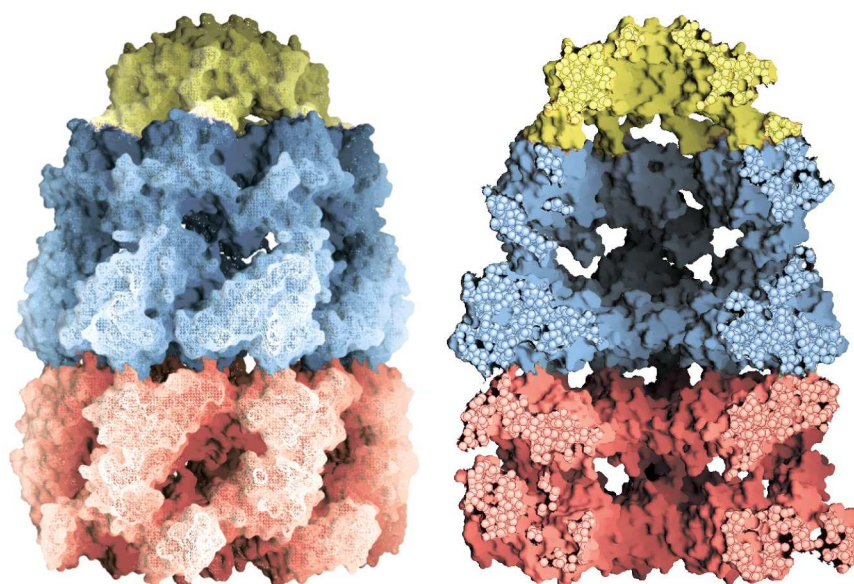


**Le chaperonine sono costituite da due tipi di
proteine HP60 (GroEL) e HP10 (GroES)**

**GroEL 14 subunità identiche (549 aa) disposte in due
anelli sovrapposti (7+7)**

**GroES 7 subunità identiche (97aa) formano un
anello eptamerico**

www.sunhope.it



(b)

