

PROTEINE

Le proteine sono macromolecole costituite da amminoacidi.

L'amminoacido è costituito da un C centrale, detto C alfa, a cui è legato un gruppo carbossilico (COOH), un gruppo amminico (NH₂), un idrogeno e un residuo laterale variabile R.

A seconda del residuo laterale si hanno amminoacidi differenti.

Gli amminoacidi polimerizzano a dare una struttura che se più piccola è detta peptide, se è più grande è detta polipeptide o proteina.

Le proteine si trovano all'interno della cellula ad un pH neutro (eccez. lisosomi).

A pH neutro, cioè 7, i 2 gruppi amminico e carboss. sono ionizzati, cioè il gruppo carboss. anzichè essere COOH rilascia l'H e diventa COO⁻; il gruppo amminico diventa NH₃⁺, perchè tende ad acquisire un protone.

Il gruppo laterale può avere delle cariche, le quali variano a seconda del pH.

2 amminoacidi si legano tra loro mediante una reazione di condensazione, per cui perdiamo una molecola d'acqua, a dare un legame detto peptidico.

Questo legame avviene tra il COOH di un amminoacido e l'NH₂ dell'altro amminoacido.

Quindi le proteine sono dei lunghi polimeri di amminoacidi che sono legati mediante legami peptidici (la media di una cellula umana è di 380 amminoacidi).

Nella catena polipeptidica è presente un'estremità in cui c'è NH₂ libero, e un'altra estremità in cui c'è COOH libero.

L'estremità in cui c'è il gruppo amminico libero è detta N terminale della proteina, l'estremità in cui abbiamo il gruppo carboss. libero è detta C terminale della proteina.

Il legame peptidico è un legame rigido, ma i 2 legami che sono attorno al C alfa permettono molta libertà, infatti la struttura polipeptidica è una struttura molto flessibile (si ripiega su se stessa).

Gli amminoacidi differiscono in base al gruppo variabile che presentano.

In totale esistono 20 amminoacidi.

Gli amminoacidi caratterizzati da un residuo laterale basico sono lisina, arginina e istidina; presentano un gruppo NH₂ o NH che può acquisire un idrogeno.

Gli amminoacidi che presentano un residuo laterale acido sono acido aspartico glutammico; terminano con un gruppo carbossilico.

Esempi di amminoacidi con residui laterali idrofobici (non polari) sono la prolina, metionina, cisteina.

La cisteina presenta un gruppo SH, due cisteine possono legarsi mediante un legame covalente S-S detto ponte di solfuro.

Esempi di amminoacidi con residui laterali polari sono asparagina, glutamina.

Se un residuo polare viene a contatto con un residuo apolare questi tenderanno a respingersi e allontanarsi.

Esistono meno proteine con catene lunghe, in quanto frequenza e lunghezza della proteina sono inversam. proporz.

All'aumentare della complessità dell'organismo le proteine diventano + lunghe: un organismo + complesso produce proteine + complesse.

In realtà gli amminoacidi non sono 20, poichè esiste un amminoacido, la selenocisteina, che presenta la stessa struttura della cisteina, ma al posto dello zolfo vi è un atomo di selenio.

La selenocisteina è incorporata in proteine che sono implicate principalmente in controllo redox, cioè nella formazione e regolazione dei ponti di solfuro.

Essa può formare un ponte costituito da 2 atomi di selenio, che è ancora + stabile del ponte di solfuro; è codificata da un codone di stop UGA particolare, cioè seguito da un RNA messaggero con una struttura tridimensionale specifica (a forcina).

Sono poche le proteine che presentano la selenocisteina (25), ma hanno un ruolo molto importante.

Le proteine sono delle catene amminoacidiche che si ripiegano a dare delle strutture tridimensionali.

Quindi si descrive la struttura primaria della proteina, che è la sequenza amminoacidica, e ordini superiori di strutture tridimensionali: la struttura secondaria per cui parti della

proteina si ripiegano a dare delle alfa eliche e altre parti si ripiegano a dare foglietti beta; la struttura terziaria (un avvolgimento ancora + complesso della proteina); la struttura quaternaria (ad esempio quando le proteine agiscono come dimero, con due catene).

La sequenza amminoacidica di una proteina (la sua struttura primaria) determina la struttura tridimensionale che acquisirà la proteina al termine del processo di ripiegamento (il folding), detta conformazione nativa.

I primi esperimenti sul folding sono stati eseguiti nel 1960 da Anfinsen che studiò il folding dell'RNasi (un enzima che degrada l'RNA).

Una proteina è ripiegata correttamente se svolge la sua funzione, quindi l'RNasi è ripiegata correttamente se l'RNA viene degradato.

L'RNasi è caratterizzata dalla presenza di 4 ponti di solfuro.

Anfinsen ha denaturato l'RNA attiva utilizzando l'urea e il beta mercapto etanolo, che è un agente riducente, cioè una molecola chimica che presenta degli SH e che va ad attaccare i ponti di solfuro rompendoli.

In questo modo ha ottenuto una catena di amminoacidi, in seguito ha eliminato gli agenti denaturanti mediante la dialisi, ma notò che nonostante l'avesse completamente svolta, l'RNasi raggiungeva la sua struttura tridimensionale corretta formando i ponti di solfuro.

Levinthal, studiando il folding delle proteine, arrivò ad affermare che un polipeptide potrebbe raggiungere, se il folding procedesse per caso, 10 alla 300 diverse conformazioni tridimensionali.

Quindi è chiaro che il folding è un processo che non avviene a caso.

Prima del folding le proteine possiedono molta energia, quando si ripiegano correttamente raggiungono uno stato stabile, a bassa energia.

Le forze che guidano la proteina a raggiungere la sua conformazione nativa sono delle interazioni idrofobiche, interazioni elettrostatiche e ponti idrogeno tra gli atomi dell'ossatura della catena amminoacidica e tra gli atomi dei residui laterali.

Se una proteina con residui polari e residui apolari lavora in ambiente acquoso, si richiude su se stessa nascondendo i residui apolari all'interno.

La formazione dei ponti di solfuro può avvenire all'interno della stessa catena peptidica e si parla di ponte di solfuro intracatena, o tra 2 catene peptidiche differenti e si parla di ponte di solfuro intercatena (serve per stabilizzare alcuni polimeri).

Le proteine che presentano le cisteine nello stato SH sono dette ridotte, le proteine che presentano le cisteine nello stato di ponte di solfuro sono dette ossidate.

Il folding delle proteine può essere un processo difficoltoso soprattutto per le proteine molto lunghe: può capitare che una proteina finisca nello stato misfolding e c'è bisogno di energia per passare dallo stato misfolding a quello folding: la cellula utilizza una serie di enzimi detti chaperon molecolari (essi sono delle proteine che aiutano il folding di altre proteine legandosi ad esse o inglobandole) e le ossidoriduttasi (enzimi che aiutano a formare i ponti di solfuro).

La catena lineare di amminoacidi raggiunge una struttura secondaria: alfa elica o foglietto beta determinata dalla formazione di ponti idrogeno.

L'alfa elica la troviamo in proteine che raggiungono una struttura globulare.

Quando si forma un'alfa elica, se abbiamo delle sequenze che presentano amminoacidi carichi e amminoacidi apolari, si possono formare delle strutture chiamate alfa eliche anfipatiche (un composto anfipatico è un composto costituito da una parte idrofila e una parte idrofobica, riferito ad un'alfa elica vuol dire che quando l'alfa elica si ripiega, presenterà tutti gli amminoacidi carichi da una parte, e gli amminoacidi che non sono carichi dall'altra).

Se immergiamo in acqua più alfa eliche anfipatiche, tenderanno a interagire facendo in modo che le parti idrofiliche sporgano verso l'esterno, e le parti idrofobiche verso l'interno.

In un ambiente idrofobico (es. membrana della cellula), invece, verranno esposte verso l'esterno le regioni idrofobiche, e verso l'interno quelle idrofiliche.

La presenza di alfa eliche anfipatiche determina inoltre la formazione di una struttura di ordine superiore (con grado di complessità maggiore) che si chiama COILED COIL: più alfa eliche che si arrotolano tra di loro, quando la struttura si richiude su se stessa le regioni idrofobiche vengono a contatto.

Un esempio particolare di coiled coil è il LEUCINE ZIPPER: un'alfa elica anfipatica la cui parte idrofobica è costituita da leucine.

Il foglietto beta è un altro esempio di struttura secondaria in cui le catene si dispongono in modo diverso rispetto all'alfa elica. Si tratta di una struttura planare, che può avere filamenti antiparalleli o paralleli (la struttura parallela presenta dei loop, cioè delle regioni che non sono strutturate né in alfa elica né in foglietto beta e che permettono il ripiegamento), i residui laterali sporgono sopra e sotto i filamenti.

La formazione di alfa eliche e foglietti beta permette alla proteina di ripiegarsi ulteriormente raggiungendo la struttura terziaria.

La struttura di una proteina varia a seconda dello stato della proteina stessa.

Molti enzimi sono ALLOSTERICI, cioè hanno un sito di legame per un'altra molecola che può modularne l'attività; nel momento in cui legano una particolare molecola cambiano conformazione.

Ci sono molte proteine che mantengono sempre delle regioni disordinate, cioè non si trovano in uno stato folded, e sono dette INTRINSICALLY DISORDERED PROTEINS.

Queste proteine assumono una conformazione tridimensionale stabile solo quando legano il loro substrato.

Il dominio di una proteina è una parte della proteina che esiste, si è evoluta e si può ripiegare indipendentemente dal resto della proteina (è all'interno della struttura terziaria delle proteine).

Alcune proteine sono costituite da un solo dominio, altre proteine sono costituite da tanti domini, che man mano che vengono sintetizzati si ripiegano.

I domini sono spesso collegati tra loro tramite delle regioni che non strutturate.

Molte proteine svolgono la loro funzione nel momento in cui sono assemblate ad altre catene polipeptidiche (struttura quaternaria).

Quindi molte proteine lavorano come polimeri e possono essere OMOPOLIMERI, cioè costituiti da catene identiche (es. emoglobina); oppure ETEROPOLIMERI, cioè costituiti da catene polipeptidiche diverse (immunoglobulina di tipo M, cioè IgM).

Spesso le proteine sono glicosilate, cioè hanno degli zuccheri legati (es. le proteine di membrana, cioè quelle proteine che sporgono dalla membrana delle cellule insieme ai loro residui zuccherini, i quali hanno la funzione di interagire con le cellule che sono nelle vicinanze).