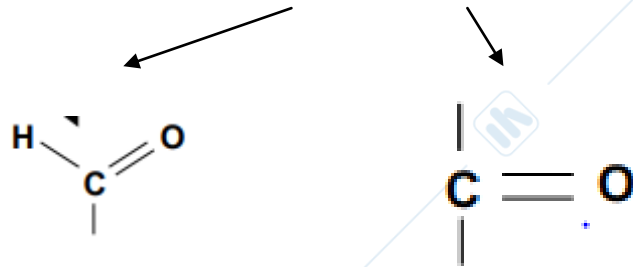


I carboidrati (o glucidi o saccaridi o zuccheri)

Formula bruta $(CH_nO)_n$ e il nome *carboidrati* deriva dal fatto che questi sono composti chimici *idrati* dai carboni. I carboidrati contengono nella loro molecola o un gruppo *aldeidico* o *chetonico* e diversi gruppi alcolici.



Categoria	Suddivisione In base alla struttura	Suddivisione in base ai gruppi funzionali presenti
Monosaccaridi	Triosi (3C) Tetrosi (4C) Pentosi (5C) Esosi (6C) Eptosi (7C)	Aldosi Chetosi
Derivati dei monosaccaridi		Desossizuccheri Aminozuccheri Acidi uronici, ecc.
Oligosaccaridi	Disaccaridi Trisaccaridi, ecc	
Polisaccaridi	Lineari Ramificati	Omopolisaccaridi Eteropolisaccaridi

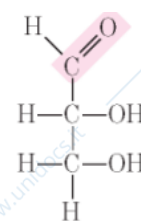
La classificazione dei carboidrati:

- Monosaccaridi: 1 monomero
- Disaccaridi: 2 monomeri
- Oligosaccaridi: da 3 a circa 10 monomeri
- Polisaccaridi: >10

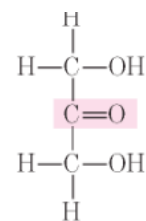
Monosaccaridi:

vengono classificati in base al numero di atomi di carbonio nella molecola; inoltre il suffisso *aldo* o *cheto* viene associato alla presenza di uno dei due gruppi funzionali. Generalmente il gruppo aldeidico si trova all'inizio della catena carboniosa, mentre quello chetonico nella parte centrale.

Numero di atomi di C	Zucchero	Esempi
3	triosi	gliceraldeide
4	tetrosi	eritrosio
5	pentosi	ribosio (RNA) desossiribosio (DNA)
6	esosi	glucosio fruttosio galattosio
7	eptosi	



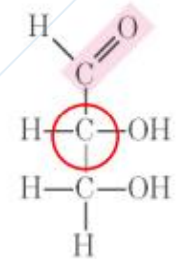
$C_3H_6O_3$
Gliceraldeide
aldo-triosio



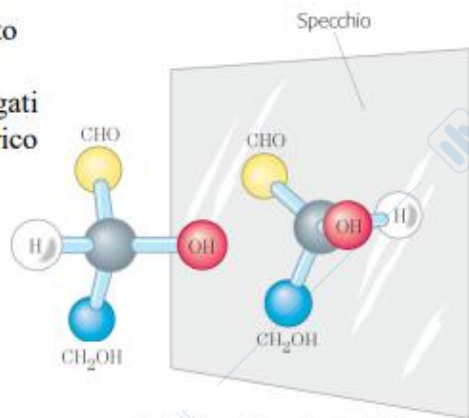
$C_3H_6O_3$
Diidrossiacetone
cheto-triosio

Cosa sono gli stereoisomeri? Sono composti organici nei quali un gruppo di carbonio tetraedrico è legato a quattro gruppi differenti, hanno la caratteristica di essere speculari ma non sovrapponibili (*enantiomeri*)

STEREOISOMERI: I composti organici possono presentarsi sotto forma di stereoisomeri, quando quattro gruppi differenti sono legati ad un atomo di carbonio tetraedrico



Gliceraldeide, un aldotriosio



Modelli a palle-e-bastoncini

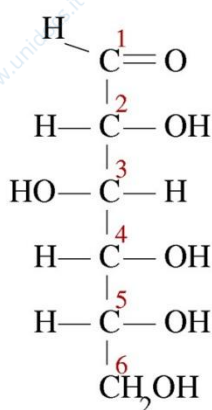


D-Gliceraldeide

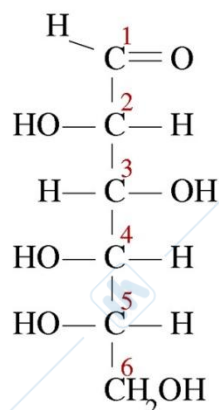
L-Gliceraldeide

Proiezione di Fisher: la catena di atomi di carbonio viene riportata verticalmente, collocando in alto il carbonio a cui spetta il numero più basso derivante dalla numerazione secondo la nomenclatura IUPAC.

I sostituenti legati al carbonio vengono rappresentati da due linee orizzontali; le linee verticali indicano legami che affondano sotto il piano del foglio mentre linee orizzontali indicano legami che emergono dal piano del foglio.



D-glucosio



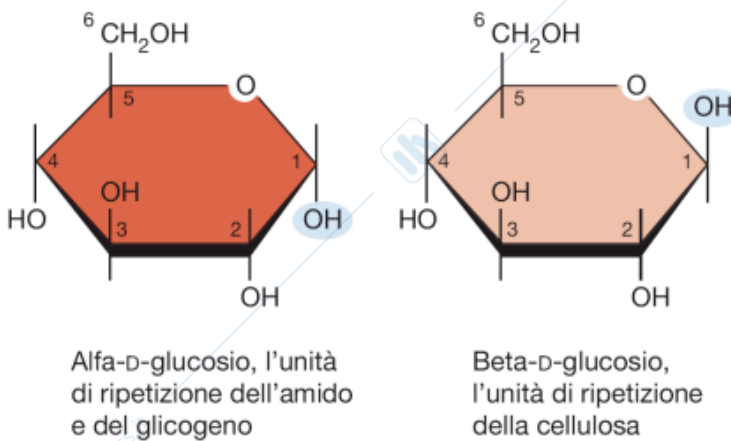
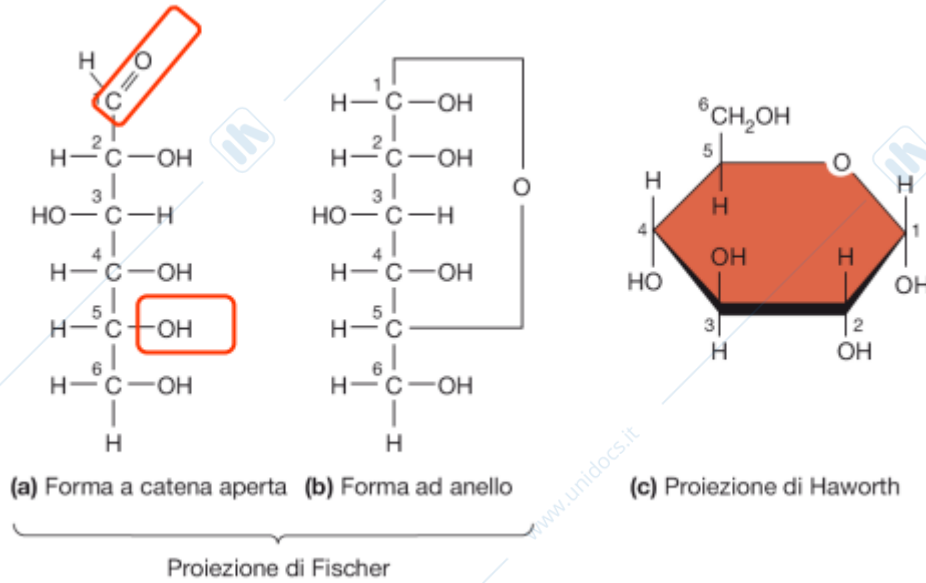
L-glucosio

Il D- glucosio e il L-glucosio sono due enantiomeri; la loro differenza si nota nel carbonio 5, come ben mostra la figura che li rappresenta attraverso le proiezioni di Fisher.

Tuttavia il D-glucosio si trova maggiormente in natura anche se la forma prediletta non è quella lineare ma quella ciclica

Come avviene la ciclizzazione delle molecole? Come si passa dalla formula lineare (Fisher) alla formula piranosica? La chiusura della molecola avviene tra il gruppo aldeidico (C_1) e il gruppo OH (C_5).

Proiezione di *Haworth*: grazie a questo nuovo metodo per rappresentare le molecole, si riesce a posizionare i gruppi con una precisa posizione nello spazio (struttura tridimensionale)

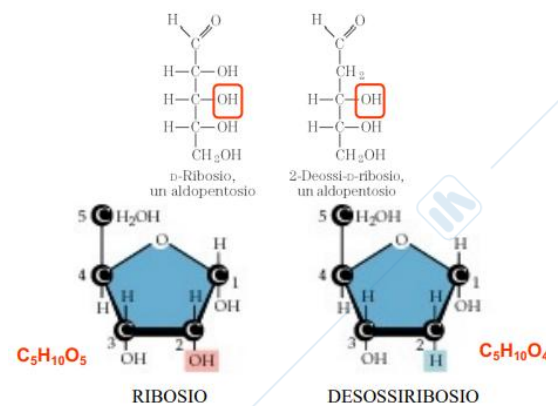


Durante la ciclizzazione del D-glucosio, questo può andare a formare due forme differenti che deriva dalla posizione del gruppo OH in posizione C_1 :

- Alfa-D-glucosio in cui il gruppo OH si trova verso il basso
- Beta-D-glucosio in cui il gruppo OH si trova verso l'alto.

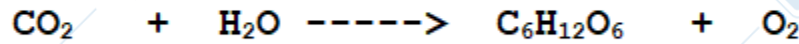
Nella formazione della forma ciclica bisogna ricordare che uno dei vertici è un ossigeno (si veda la forma a pentagono del ribosio e desossiribosio, entrambi aldo-pentosi). Inoltre anche queste molecole hanno una direzionalità e, dunque, è molto importante numerare la molecola.

- Ribosio il C_2 : H+H
- Desossiribosio il C_2 : H+OH



Un esempio di monosaccaride, il glucosio.

- Più abbondante nelle cellule
- Prodotto dalle piante mediante fotosintesi, a partire da anidride carbonica dagli altri organismi a partire da composti organici (*gluconeogenesi*)



- Fonte di energia per tutte le cellule

Disaccaridi

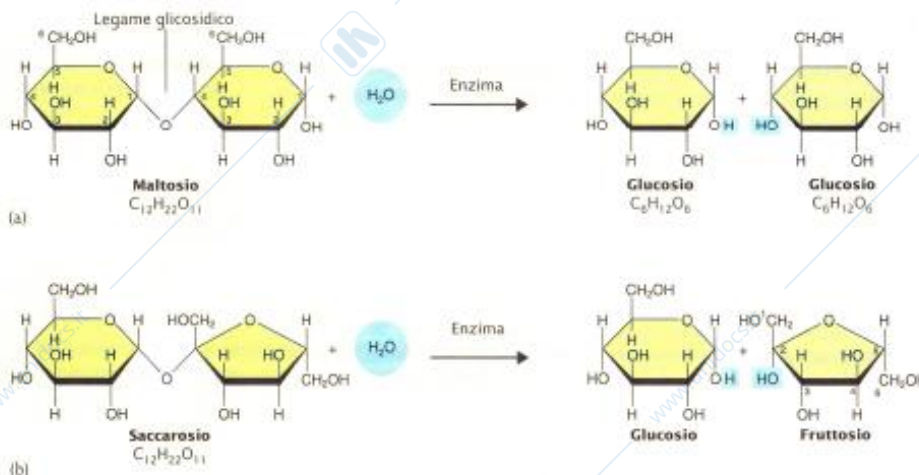
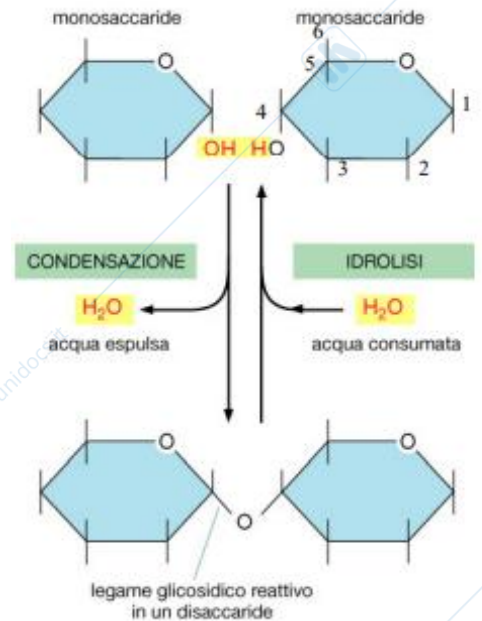
Due monomeri di zucchero uniti da un legame covalente (*glicosidico*):

- *Saccarosio* (comune zucchero da cucina) = glucosio + fruttosio
- *Lattosio* (zucchero presente nel latte) = galattosio + glucosio
- *Maltosio* (zucchero prodotto dalla degradazione dell'amido) = glucosio + glucosio

Un disaccaride può essere idrolizzato, cioè rotto, nelle due unità monosaccaridiche che lo compongono. Affinché questa reazione possa avvenire nelle cellule, è necessario un enzima (catalizzatore proteico). Ogni disaccaride è idrolizzato da un enzima diverso.

Il legame glicosidico avviene tra il C₁ della prima molecola e il C₄ della seconda molecola. Nella formazione viene rilasciata una molecola d'acqua (reazione di condensazione)

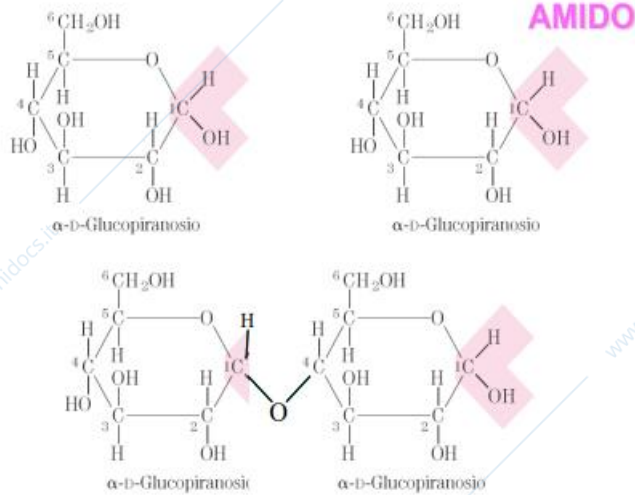
Il legame può essere di tipo alfa se entrambi gli OH si trovano sullo stesso piano della molecola ma al di sotto e beta se entrambi gli OH si trovano sullo stesso piano della cellula ma al di sopra.



Polisaccaridi

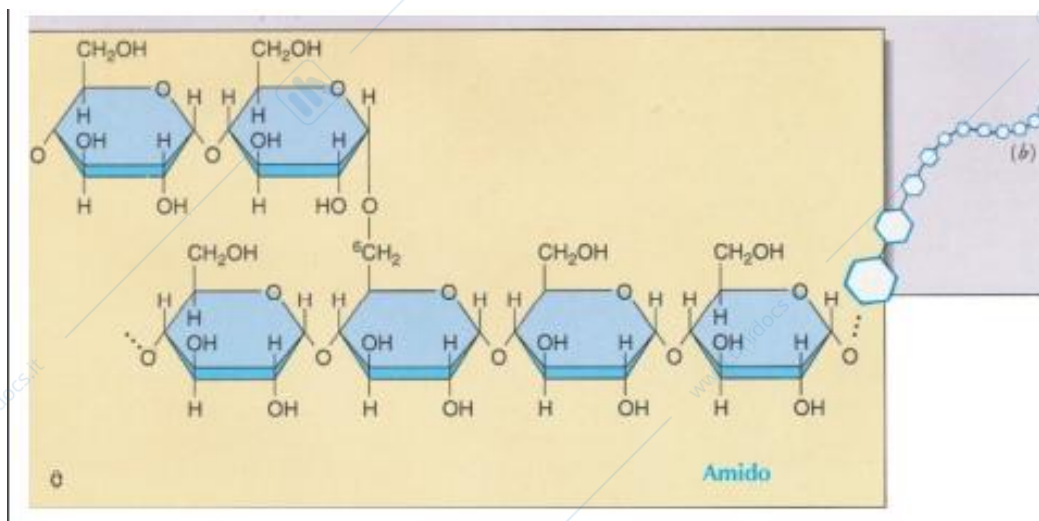
- Macromolecole
- Polimeri di unità ripetute di zuccheri semplici, generalmente il glucosio
- Catena lineare o ramificata

Esempi di polisaccaridi sono l'amido e il glicogeno



Amido è un polimero di alfa glucosio uniti da legame alfa 1-4, mentre le ramificazioni si evincono in posizione alfa 1-6. Si tratta di una reazione di condensazione dove si perde una molecola di acqua.

L'amido è contenuto in grande quantità nei cloroplasti delle cellule vegetali



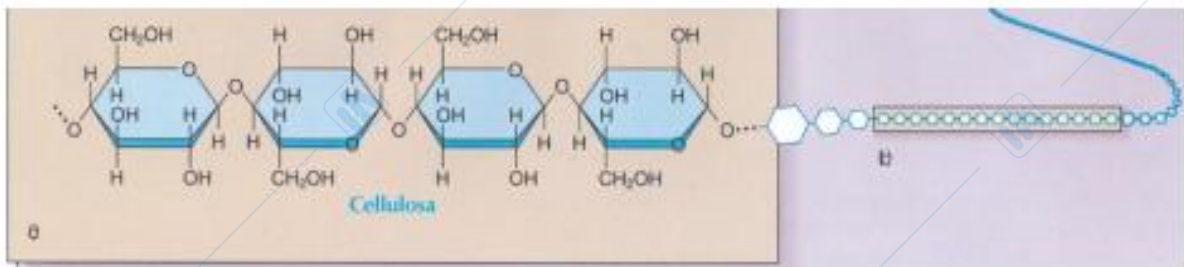
Il Glicogeno, stesse ramificazioni dell'amido; non si trovano nelle piante ma negli esseri animali e si accumula nell'epatocita, ossia nelle cellule del fegato e quelle muscolari. Si formano piccoli grammi vicino al REL in quanto sulla membrana di questo organulo cellulare è presente un enzima che riesce a scindere il glicogeno in molecole di glucosio.

Importante sottolineare come l'epatocita è capace di acquisire il glicogeno per poi rilasciare nel flusso ematico il glucosio, le cellule muscolari, invece, lo immagazzinano ma non lo rilasciano.

Quali sono le differenze tra glicogeno e amido?

- Amido: fatto di amilosio (solo lineare) e amilopectina (con ramificazioni α 1,6) ogni 24-30. Forma granuli grossi presenti nelle cellule dei semi, nei tuberi.
- ramificazioni α 1,6 ogni 12-15 residui di glucosio

Cellulosa è un polimero di beta-D.Glucosio uniti da legami Beta 1-4 ed è un polimero che difficilmente si ramifica in quanto tende ad avere una forma tendenzialmente lineare e comporta un allineamento ordinato di serie di molecole della cellulosa.

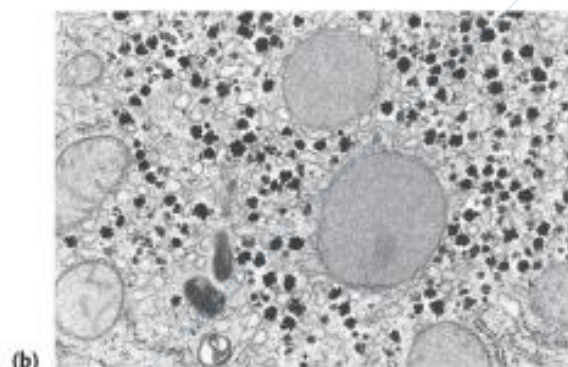


Molti dei nostri enzimi sono capaci di scindere i legami 1-4, tuttavia noi umani siamo capaci di rompere i legami di amido e glicogeno ma non quelli di cellulosa in quanto la sua funzione è prettamente strutturale per via della catena non ramificata.

Perché è fondamentale la ramificazione all'interno della catena? Gli enzimi che possono andare a scindere tali polimeri si attaccano a siti specifici che corrispondono, appunto, ai gomiti delle catene dei monomeri degli zuccheri. Se abbiamo più punti di attacco, allora più enzimi potranno andare a lavorare su più punti.



Cloroplasto



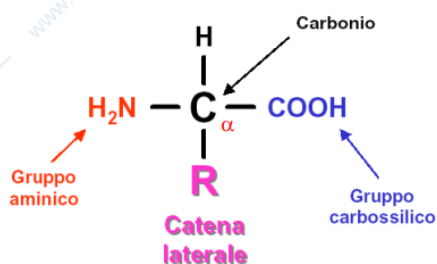
Citoplasma di un epatocita

Le proteine (amminoacidi, amino acidi, ammino acidi)

Le proteine sono la classe di macromolecole che ha più funzioni di tutte; infatti gli enzimi sono particolari proteine e, quindi, essendo che ogni enzima ha una specifica funzione questo comporta a questa classe ad avere un'infinità di funzioni.

Tipo di proteina	Alcune funzioni ed esempi
Enzimi	Ogni enzima è responsabile di catalizzare una specifica reazione chimica (es., DNA polimerasi)
Proteine strutturali	Rafforzano e proteggono le cellule e i tessuti (es., collagene della matrice extracellulare o le proteine del citoscheletro)
Proteine di deposito	Riserva di nutrienti; abbondanti nelle uova (es., ovoalbumina nell' albume) e nei semi (es., zeina)
Proteine di trasporto	Trasportano specifiche sostanze tra le cellule (es., emoglobina trasporta ossigeno nei globuli rossi). Fanno passare specifiche sostanze attraverso le membrane cellulari (es., proteine trasportatrici del glucosio, degli aminoacidi). Funzionano come pompe o canali ionici (es., pompa sodio/potassio)
Proteine regolatorie	Alcune sono ormoni (es., insulina) o fattori di crescita Altre controllano l' espressione di specifici geni
Proteine contrattili	Partecipano ai movimenti cellulari (es., actina e miosina nella contrazione muscolare)
Proteine di protezione	Difendono l' organismo contro agenti invasori (es., anticorpi del sistema immunitario)

Inoltre la funzione di una proteina è determinata dalla sua struttura. Quanti sono gli amminoacidi biologici che costituiscono le proteine? In natura sono solamente 20 (a carattere biologico).



Il carbonio centrale è legato a un gruppo carbossilico a un gruppo amminico, un atomo di idrogeno e una catena laterale R che può variare.

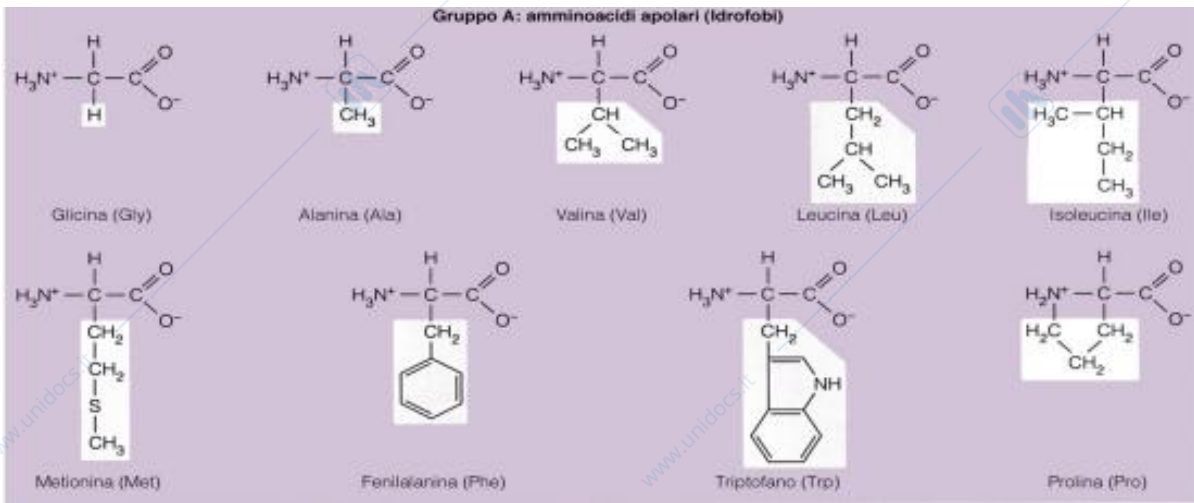
Gli amminoacidi vengono suddivisi in base ad alcune loro proprietà come, ad esempio essere idrofili o idrofobici.

Il modo più comune per classificare gli aminoacidi è in base alla polarità delle catene laterali (gruppi R). Ciò perché le proteine si avvolgono principalmente in risposta alla tendenza a sottrarre al contatto con il solvente acquoso le catene laterali idrofobiche e a solfatare quelle idrofiliche.

- AA APOLARI (idrofobici)
- AA POLARI NON CARICHI (idrofilici)
- AA POLARI CARICHI (idrofilici)

AA NON POLARI o APOLARI (9):

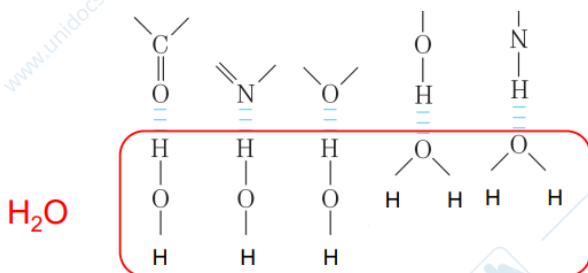
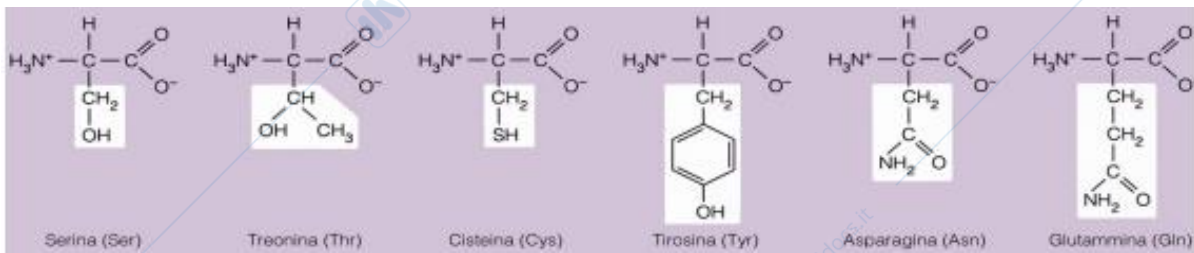
- Glicina, Alanina, Valina, Leucina, Isoleucina
- Metionina, Prolina, Fenilalanina, Triptofano



AA POLARI NON CARICHI (6)

Gli amminoacidi non carichi stanno bene in acqua se non presentano una carica netta sui sostituenti R.

- Serina, Treonina, Asparagina, Glutamina, Tirosina, Cisteina



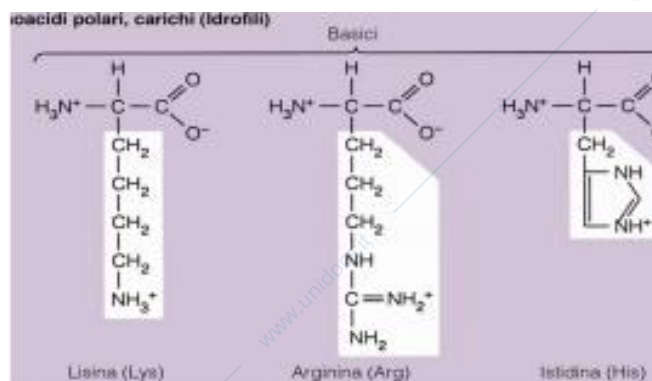
I gruppi idrofilici della catena R degli amminoacidi possono andare a formare legami a idrogeno con le molecole d'acqua

Da ricordare che la grandezza di un amminoacido e se sono carichi o no sono è molto rilevante.

AA POLARI CARICHI (5)

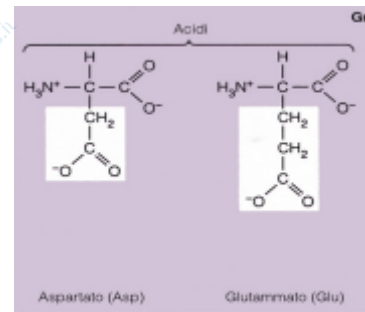
BASICI (carichi + a pH fisiologico)

- Lisina, Arginina, Istidina

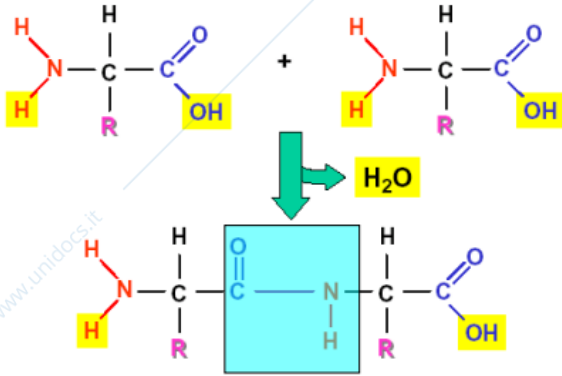


ACIDI (carichi - a pH fisiologico)

- Acido aspartico e acido glutammico



La formazione del legame peptidico:



l'amminoacido ha la caratteristica di avere a sinistra il gruppo amminico e a destra il gruppo carbossilico. Il legame peptidico si forma tra il primo gruppo carbossilico del primo amminoacido e il gruppo carbossilico del secondo amminoacido.

Questo comporta che il primo amminoacido del polimero avrà sempre libero il gruppo amminico a sinistra mentre l'ultimo amminoacido avrà sempre libero il gruppo carbossilico

Chi decide l'ordine degli amminoacidi che determina la funzione della proteina? Il nostro genoma mentre la formazione del legame peptidico non è catalizzato da un enzima, bensì da un organello molto complesso, il ribosoma. Elementi necessari per la formazione di una proteina: ribosoma, RNA messaggero, tRNA.

Ossatura delle proteine: N-C-C(Carboss)-N-C-C(carboss)- [...] - C- C(carboss) da cui spuntano gli R (sostituenti). Questa struttura specifica conferisce una certa flessibilità alla molecola; può assumere diverse forme nello spazio lipidico e acquoso.

Livelli di struttura:

- Primaria
- Secondaria
- Terziaria
- Quaternaria

Come si è compresa la struttura delle proteine? Attraverso la cristallografia, guardandole.

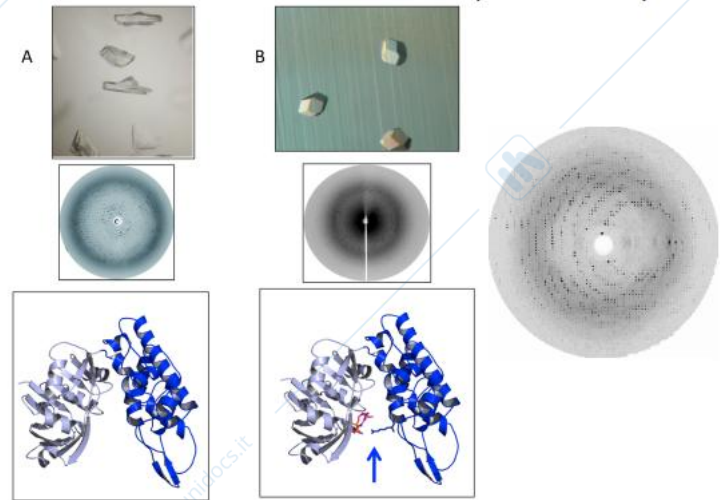
L'espressione "cristallizzazione di proteine" indica sia l'azione che il metodo per la creazione di strutture reticolari ordinate di macromolecole complesse. Tipicamente, le proteine allo stato solido sono amorfe e tendono alla denaturazione; le proteine in strutture reticolari, invece, resistono alla denaturazione e sono caratterizzate da una maggiore stabilità. Le proteine possono cristallizzare se sono poste in ambienti adatti e ospitali. Data l'elevata complessità delle interazioni tra le variabili che influenzano il processo, la cristallizzazione di proteine è considerata un'arte, oltre che una scienza.

Una delle ragioni più comuni per la creazione di cristalli di proteine è la conduzione di indagini biologiche strutturali, in genere tramite cristallografia basata sulla diffrazione dei raggi-X. Attraverso lo studio della struttura tridimensionale delle proteine, i ricercatori possono visualizzare aree nel modello che consentono l'interazione con altre molecole (ad esempio, per comprendere meglio le modalità di interazione di enzimi, substrati e leganti). Inoltre, la cristallizzazione è un mezzo efficace per la creazione di proteine pure, prive di

contaminazione da altre proteine o materiale biologico estraneo, e quindi offre un metodo alternativo alla cromatografia preparativa per la purificazione e la separazione.

Le proteine rivestono un ruolo sempre più importante nei farmaci a scopo terapeutico.

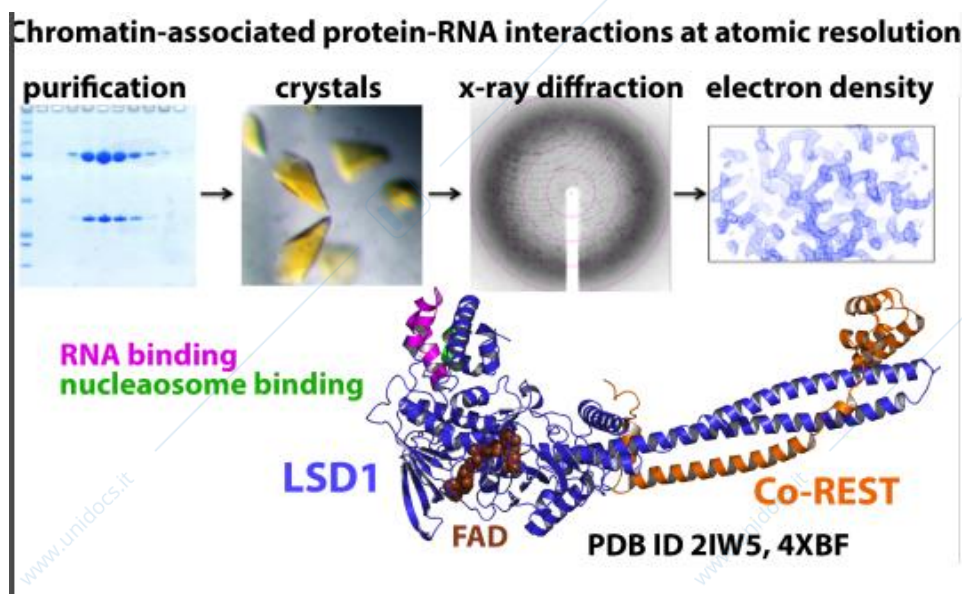
Tuttavia, la produzione di proteine sufficientemente stabili comporta il superamento di notevoli difficoltà, come la variabilità tra prodotti, la perdita di struttura, che può compromettere l'efficacia, e la formazione di sottoprodotti potenzialmente pericolosi

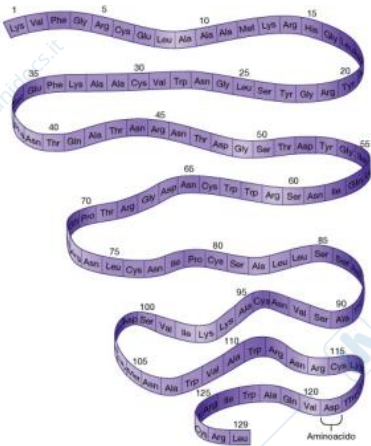


La cristallizzazione di proteine rappresenta un metodo per produrre formulazioni farmaceutiche solide, pure e stabili e numerosi farmaci per infusione e iniezione associati ai cristalli proteici. In passato, la cristallizzazione di proteine era soprattutto un'attività di laboratorio a supporto della cristallografia a raggi-X. Tuttavia, per via della crescita esponenziale dei farmaci a base proteica, il passaggio su scala industriale ha assunto una sempre maggiore rilevanza divenendo un'area su cui si è intensificata l'attenzione.

Nella sostanza, lo scale-up della cristallizzazione di proteine è analogo a quello della cristallizzazione di molecole di dimensioni ridotte, ed entrambi necessitano di ottimizzare i parametri critici di processo (CPP) a livello di laboratorio per ottenere gli attributi qualitativi essenziali (CQA) dei componenti farmaceutici prodotti su scala industriale. Una piattaforma completa per lo sviluppo e lo scale-up dei processi di cristallizzazione di proteine in genere comprende quanto segue:

- Caratterizzazione dei sistemi di particelle in situ
- Monitoraggio spettroscopico e caratterizzazione del polimorfismo
- Ottimizzazione delle strategie di processo e controllo tramite feedback attraverso moduli e sensori integrati

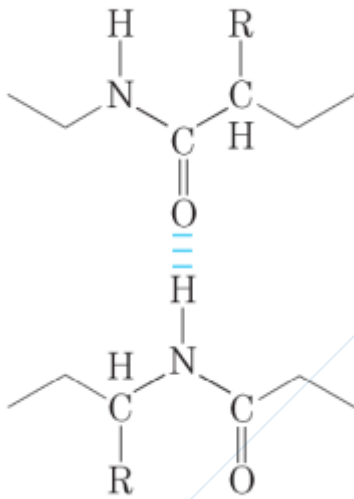




La struttura primaria è la sequenza aminoacidica di una catena polipeptidica

Nella proteina abbiamo punti specifici dove si andranno a formare le strutture ad alfa elica e beta foglietto e zone in cui non avviene nulla (punti di estrema flessibilità). Tuttavia è proprio la sequenza primaria che determina l'esistenza di queste zone dove si formano maggiormente le strutture ad alfa elica e beta foglietto e questo è stato possibile attraverso la cristallografia a raggi X

Con termine **STRUTTURA SECONDARIA** si definiscono conformazioni regolari e ripetitive che la catena polipeptidica assume nello spazio (in certi tratti della proteina) stabilizzata da legami idrogeno tra il gruppo -NH- di un legame peptidico e quello -CO- di un altro legame peptidico



Come si formano le strutture secondarie:

La forza principale che determina il ripiegamento delle proteine globulari idrosolubili è quella che porta all'impaccamento delle catene laterali idrofobiche all'interno della molecola che viene così ad avere un **CORE IDROFOBICO** e una superficie **IDROFILA**.

Tuttavia la catena peptidica è altamente **POLARE** contenendo in ogni unità peptidica un gruppo NH che impegna l'H in un legame a idrogeno e un gruppo C=O che accetta tale atomo.

Questi gruppi **POLARI** vengono **IMPEGNATI** in legami idrogeno e quindi **GRUPPI POLARI** vengono **SCHERMATI** tramite la formazione di legami a idrogeno: ciò si realizza tramite l'acquisizione della struttura secondaria.

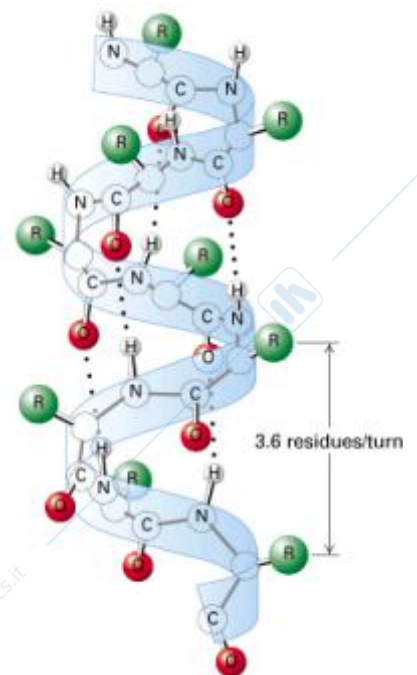
Struttura secondaria che può essere:

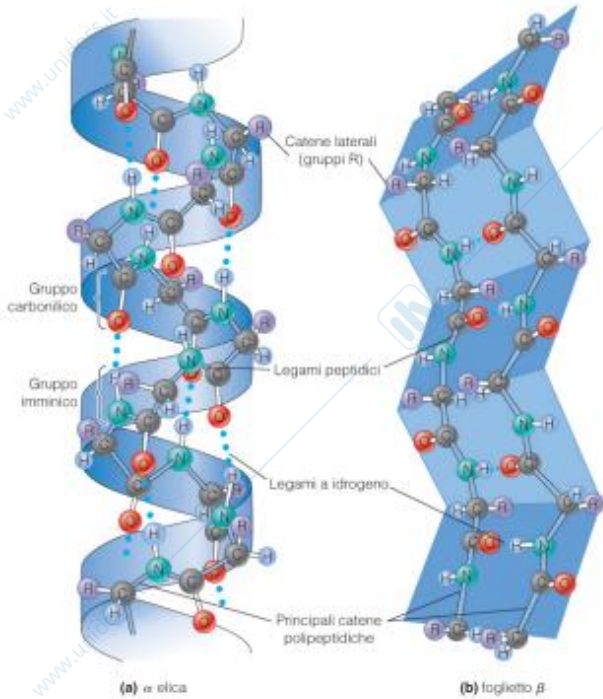
- Alfa elica
- Beta foglietto

Nella struttura ad Alfa elica abbiamo un cilindro molto stretto avente sempre lo stesso diametro e i gruppi laterali vanno a formare la parte esterna della proteina.

Quanti amminoacidi sono presenti in un giro dell'elica? 3,6 amminoacidi vanno a completare un giro completo (quindi, se visti dall'alto, non solo esattamente sovrapposti ma leggermente spostati gli uni rispetto agli altri)

La stabilità della molecola in questa specifica struttura è dovuta ai legami a idrogeno che si formano tra amminoacidi distanti 3-4 tra loro. I sostituenti non influenzano la struttura Alfa elica ma sono importanti per determinare la funzione della molecola





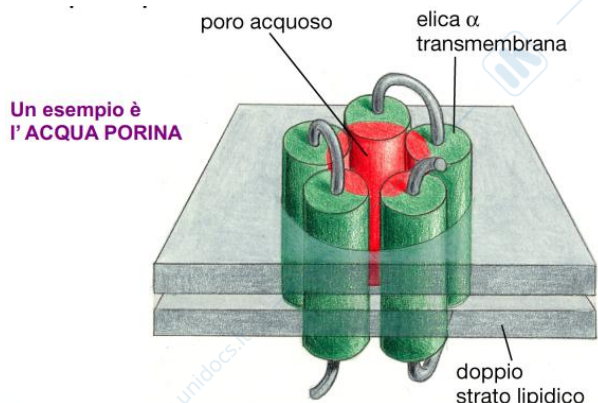
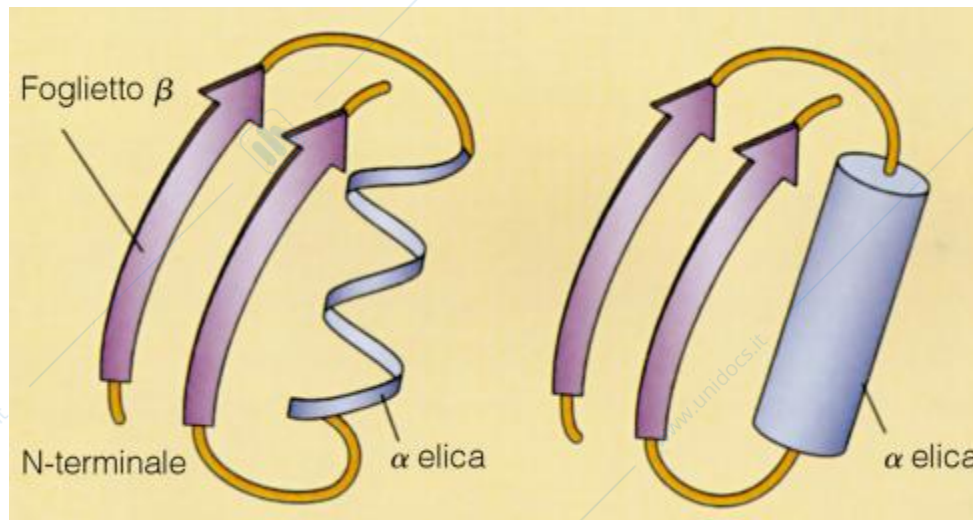
La struttura a Beta foglietto, invece, è più rigida in quanto è planare e i gruppi R sporgono o verso l'alto o verso il basso mai lateralmente; così facendo si possono appaiare più strutture a foglietto Beta.

I legami che tengono uniti due foglietti Beta si creano tra un carbonio e l'idrogeno.

Le direzioni possono essere parallele o anti-parallele (la direzione parte dal gruppo amminico libero e prosegue fino al carbossi terminali).

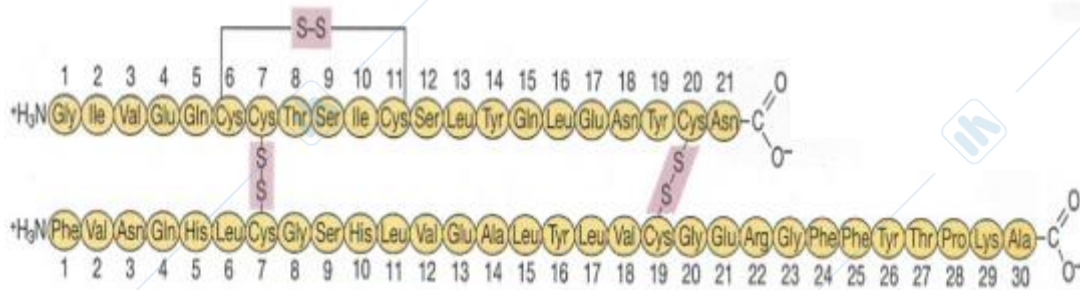
In alcuni casi tutti i gruppi idrofilici o idrofobici si trovano verso l'alto o verso l'alto andando a creare una struttura antipatica.

Qua di seguito mostriamo una proteina aventi nella sua struttura sia foglietti beta ma anche strutture ad Alfa elica:

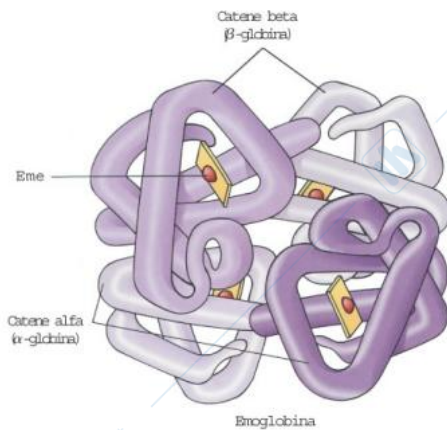


L'acqua porina è un esempio di come le proteine di devono adattare alle diverse esigenze in cui esse sono inserite. In questo canale dove passa l'acqua la parte interna deve far passare l'acqua mentre quella esterna deve, al contrario, stare a contatto con un doppio strato lipidico. Nell'acqua porina abbiamo le alfa elica transmembrana che sono perpendicolari al doppio strato lipidico,

fu messo a punto un sistema batterico in E. coli. L'insulina è collegata al primo brevetto e al primo farmaco biotecnologico, messo in commercio.



Cosa si intende per *folding* di una proteina? Il ripiegamento di proteine o ripiegamento proteico (in inglese protein folding) è il processo di ripiegamento molecolare attraverso il quale le proteine ottengono la loro struttura tridimensionale. Il ripiegamento avviene sia contemporaneamente alla sintesi proteica sia alla fine di questa.



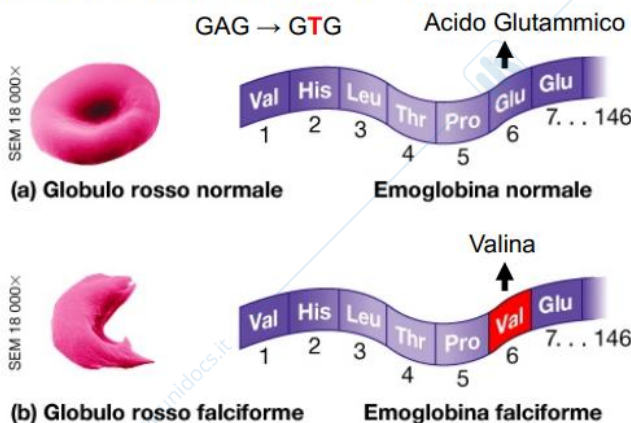
La STRUTTURA QUATERNARIA deriva dalla disposizione tridimensionale delle diverse catene polipeptidiche di una proteina.

Essa quindi è posseduta solo dalle proteine costituite da più catene polipeptidiche un esempio è l'EMOGLOBINA che è formata da 4 subunità.

Anemia calciforme è una malattia del sangue che va a colpire la struttura Beta foglietto dell'emoglobina

La struttura quaternaria si trova anche come base per strutture molto complesse come i microtubuli (associazione di beta tubulina), l'insulina e anche il capello formato da alfa-cheratina.

Mutazione puntiforme nella catena beta



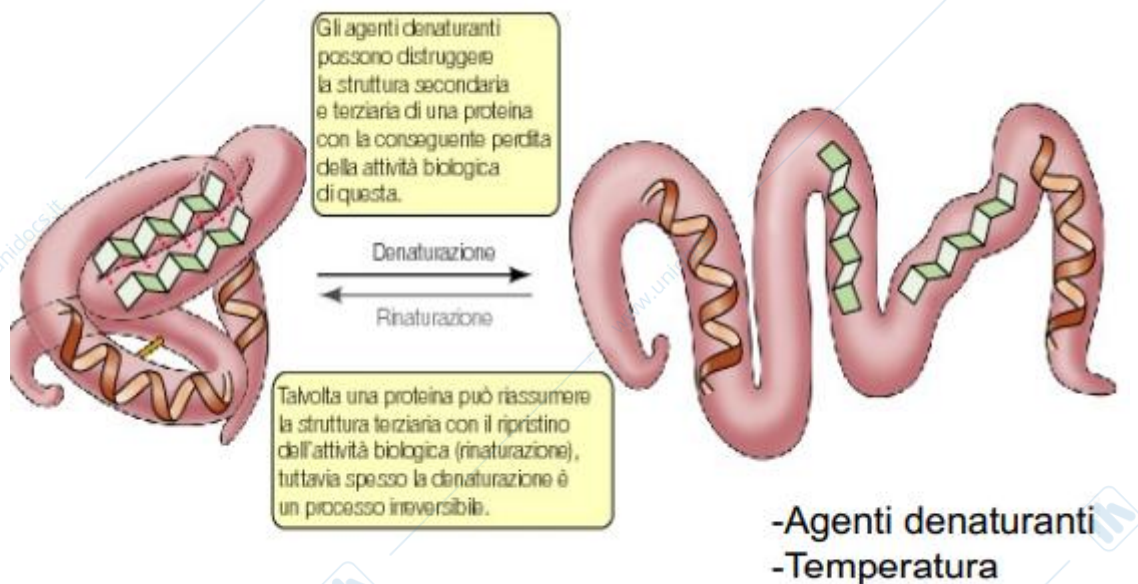
Cosa causa questa sostituzione? L'acido glutammico è IDROFILICO e POLARE, ed esso viene sostituito da una valina che è IDROFOBICA e NON POLARE

Risultato: l'acido glutammico sta "a suo agio" nell'acqua; la valina no... l'emoglobina risulta MENO SOLUBILE IN ACQUA, specie in condizioni acide. L'emoglobina tende quindi a cristallizzarsi (precipita in cristalli), specie quando il pH del sangue diventa più acido (ad es quando si fa esercizio fisico)

Ricorda!

- La sequenza aminoacidica di una proteina determina la sua conformazione
- La conformazione di una proteina ne determina la sua La sequenza aminoacidica di una proteina determina la sua conformazione FUNZIONE

Denaturazione e rinaturazione:



Attraverso determinati fattori riesco a rompere la struttura terziaria e quaternaria. E' parzialmente reversibile, ossia, che alcune proteine non sono più in grado di riprendere la loro struttura originale.

LE CHAPERON PROTEIN SONO PROTEINE CHE CONTROLLANO IL PROCESSO DI AVVOLGIMENTO (FOLDING) NELLO SPAZIO DI UNA PROTEINA.

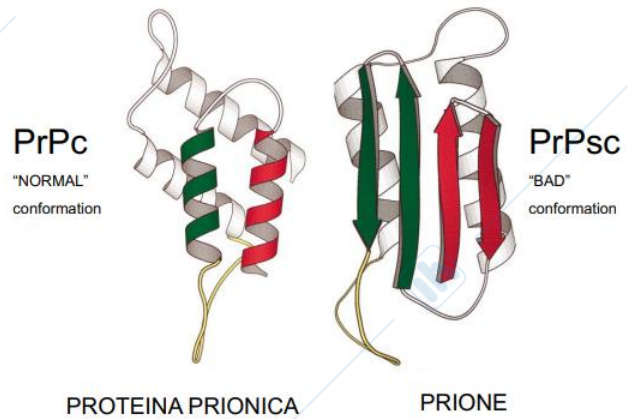
- queste proteine sono presenti in tutti i tipi di cellule, sia pro- che eucariotiche (UBIQUITARIE)
- le proteine chaperon prevengono folding non corretti delle proteine neosintetizzate, legandosi ad esse
- se il folding delle neo-proteine non è corretto, le *srotolan* e consentono loro un'altra chance. Se il folding rimane scorretto, la proteina neo-sintetizzata viene inviata alla degradazione
- le chaperon protein consentono una sorta *controllo di qualità*

Le proteine non vivono per sempre hanno un'*emivita* e la sintesi e la degradazione di queste molecole deve essere equilibrato (la durata è di qualche ora). Il DNA è l'unica molecola che non muore mai se non con quella naturale (morte per necrosi o apoptosi).

Cosa vuol dire che una proteina è STABILE: maggior permanenza all'interno della cellula. In alcuni casi, però, maggiore stabilità non coincide assolutamente con miglioramento; a volte, infatti, questo fatto può portare a patologie molto gravi come, ad esempio, la mucca pazza.

La proteina prionica si può trovare in due forme:

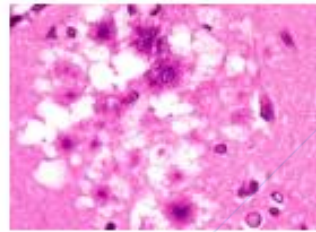
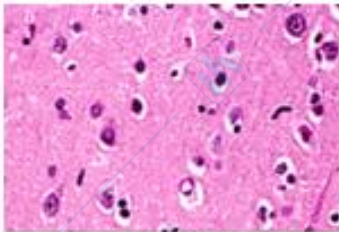
- PrP^c (normale conformazione): fatta da due alfa si può facilmente degradare per poi formarne altre (c'è equilibrio).
 - PrP^{sc} (*bad* conformazione): è molto più stabile e questo porta alla difficile degradazione e, così facendo si accumula nel cervello formando delle placche.
- La proteina prionica PrP(C) è una proteina codificata dal prion protein gene PRNP, sul chr20.



1997: Stanley Prusiner studia le “neuropatie spongiformi”. Per primo propose un collegamento tra kuru, CJD, scrapie e BSE. Propose i “prioni” come responsabili delle manifestazioni patologiche. Le malattie da prioni possono essere infettive, sporadiche o ereditarie.

Conseguenze della malattia da prioni nell'uomo

Paragone tra un cervello umano sano, ed uno affetto da malattia da prioni



All'inizio:

- cambi di personalità
- problemi psichiatrici (es: depressione)
- mancanza di coordinazione
- perdita di percezione spaziale
- movimenti involontari
- insonnia
- confusione
- problemi di memoria

Al progredire della malattia:

- demenza
- movimenti involontari
- cecità
- debolezza delle estremità
- coma
- morte

	PrP ^c	PrP ^{Sc}
struttura 1°	identica	
α eliche	43 %	3 %
β sheet	30 %	43 %
3° / 4° structure	Native	Aggregates
infettiva	No	si
stabilità	-	MOLTO STABILE

Stable at 90° C for 30 minutes
 Resistant to UV radiation at 254nm
 Resistant to Zn²⁺ catalysed hydrolysis
 Resistant to NH₂OH chemical modification
 Resistant to ribonucleases and deoxyribonucleases

La storia dei prioni:

- 17th secolo: viene descritta per la prima volta in Europa la scrapie
- Anni 50: Carleton Gajdusek, studiando le cerimonie di cannibalismo della tribù Fore in Nuova Guinea, scoprì il Kuru. I membri della tribù erano soliti cibarsi del cervello dei loro morti. Il kuru attacca la dura madre del cervello, creando vacuoli nelle persone infette; la morte sopraggiunge in 3 mesi dai primi sintomi

- 1966: Gajdusek – Gli scimpanze si ammalano di kuru ingerendo tessuti cerebrali infetti. Distruggendo tramite radiazioni il DNA dei tessuti infettanti, la malattia si trasmette lo stesso
- 1967: Griffith – La malattia è dovuta a CAMBI CONFORMAZIONALI di una proteina.

Malattie da ripiegamento errato delle proteine

Clinical Syndrome	Precursor Protein
Alzheimer's disease	β -protein
Primary systemic amyloidosis	Immunoglobulin light chain
Secondary systemic amyloidosis	Serum amyloid A
Senile Systemic Amyloidosis	Transthyretin
Familial amyloid polyneuropathy I	Transthyretin
Hereditary cerebral amyloid angiopathy	Cystatin C
Hemodialysis-related amyloidosis	β_2 -microglobulin
Familial amyloid polyneuropathy III	Apolipoprotein A-1
Finnish hereditary systemic amyloidosis	Gelsolin
Type II diabetes	Islet amyloid polypeptide (IAPP)
Medullary carcinoma of the thyroid	Calcitonin
Spongiform encephalopathies	Prion
Atrial amyloidosis	Atrial natriuretic factor (ANF)
Hereditary non-neuropathic systemic amyloidosis	Lysozyme
Injection-localized amyloidosis	Insulin
Hereditary renal amyloidosis	Fibrinogen

I lipidi (o acidi grassi)

Classe eterogenea di composti caratterizzati dall'essere:

- INSOLUBILI o pochissimo solubili in acqua (IDROFOBI)
- SOLUBILI in solventi apolari (es. acetone, benzina ecc.)

Funzioni:

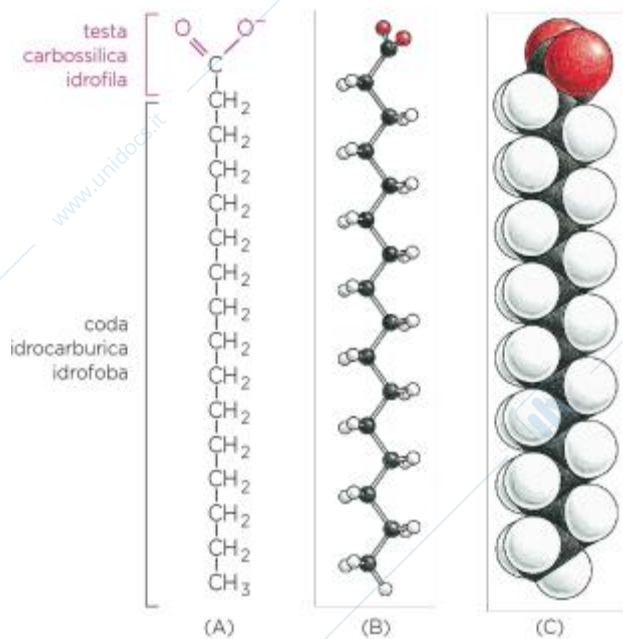
- riserva energetica (LIPIDI DI DEPOSITO)
- componenti principali delle membrane (LIPIDI STRUTTURALI)
- alcuni lipidi sono "messaggeri chimici" sia all'interno della cellula ("secondi messaggeri") che tra cellule diverse (ORMONI)
- alcuni lipidi svolgono la funzione di isolante contro le basse temperature
- alcuni lipidi sono VITAMINE (vitamina A, D, E, K)

I lipidi più importanti dal punto di vista biologico sono:

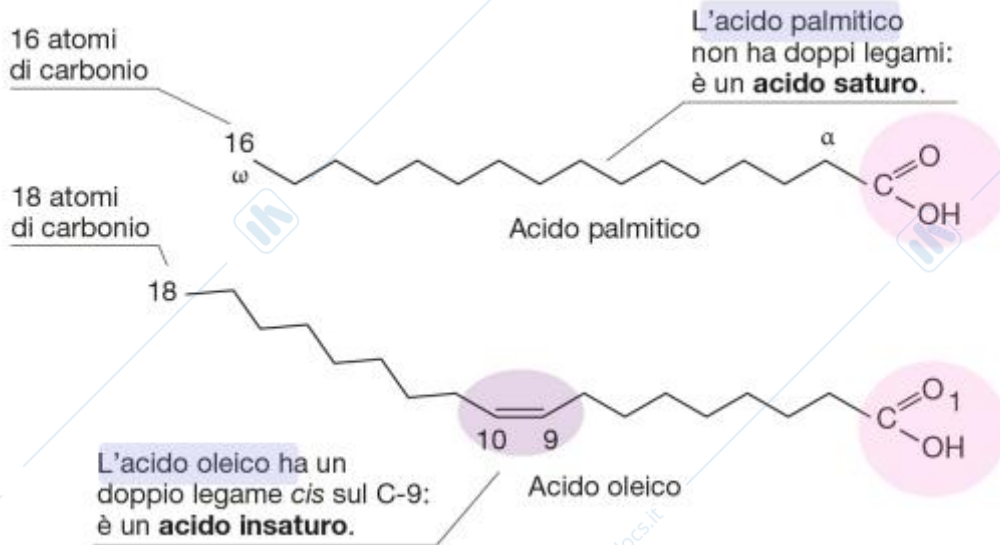
- i lipidi semplici
- i lipidi complessi
- gli steroidi
- i carotenoidi (pigmenti vegetali rossi e gialli, tra cui il beta carotene)

Dal punto di vista chimico alla costituzione della massima parte delle molecole lipidiche concorrono uno o più acidi grassi, legati sotto forma di esteri o di ammidi al resto della molecola

Acidi grassi:



- Acidi monocarbossilici a catena lunga (di solito non ramificata), con un numero pari di atomi di carbonio e possono essere saturi o insaturi (contenenti cioè doppi legami).
- Acidi grassi: catene non ramificate di idrocarburi con un gruppo carbossilico (COOH) ad una estremità
- Generalmente, numero pari di atomi di carbonio: 16 – 18
- Gruppo COOH: "testa" polare
- Catena idrocarburica: "coda" non polare

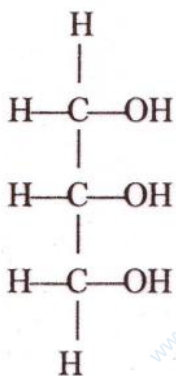


Nome	Formula bruta	Formula di struttura
<i>Acidi grassi saturi:</i>		
ac. butirrico	$C_4H_8O_2$	$CH_3(CH_2)_2COOH$
ac. caproico	$C_6H_{12}O_2$	$CH_3(CH_2)_4COOH$
ac. miristico	$C_{14}H_{28}O_2$	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$
ac. palmitico	$C_{16}H_{32}O_2$	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$
ac. stearico	$C_{18}H_{36}O_2$	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$
ac. arachidico	$C_{20}H_{40}O_2$	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$
<i>Acidi grassi insaturi:</i>		
ac. palmitoleico	$C_{16}H_{30}O_2$	$CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$
ac. oleico	$C_{18}H_{34}O_2$	$CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_9COOH$
ac. linoleico	$C_{18}H_{32}O_2$	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$
ac. arachidonico	$C_{20}H_{38}O_2$	$CH_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_4COOH$

Lipidi semplici (lipidi neutri o gliceridi o grassi neutri):

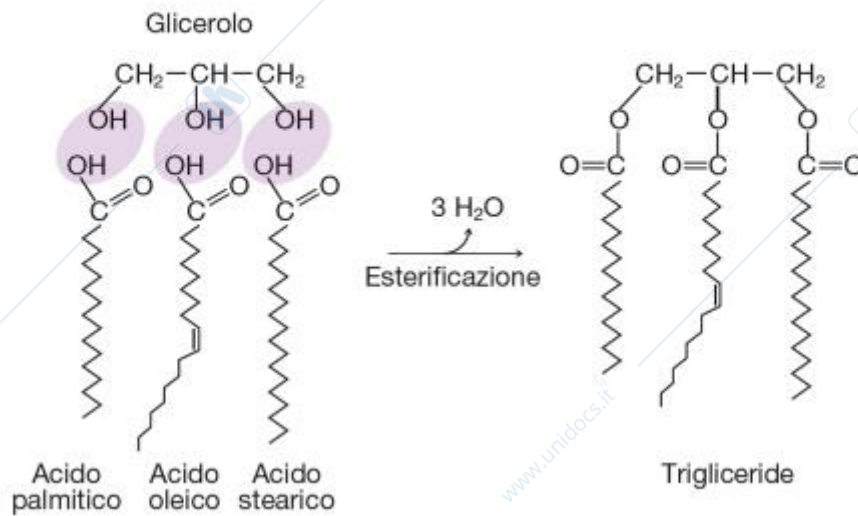
- Sono i lipidi più abbondanti negli esseri viventi
- Hanno funzione di riserva energetica per tutte le cellule

Sono costituiti da: GLICEROLO + 1, 2 o 3 molecole di acido grasso ® alcool + Ac. Grassi



Il glicerolo è un alcool a 3 atomi di C, contenente 3 gruppi chimici (gruppi OH), a ciascuno dei quali può essere legato un acido grasso

Reazione di ESTERIFICAZIONE (alcol [glicerolo] + acido [acido grasso])



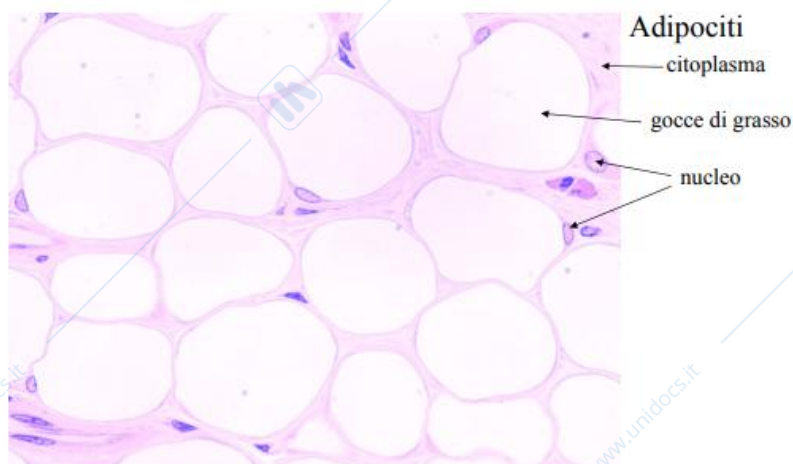
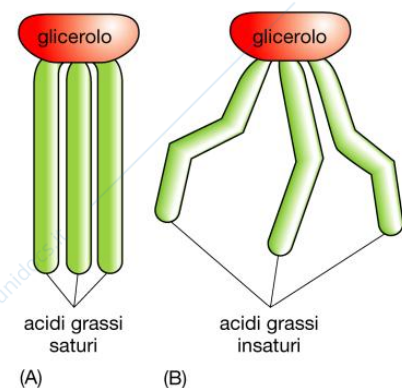
Si tratta di una reazione di condensazione dove, quindi, abbiamo la perdita di molecole d'acqua.

In base al numero di acidi grassi legati alla molecola di glicerolo abbiamo:

- Monogliceridi
- Digliceridi
- Trigliceridi

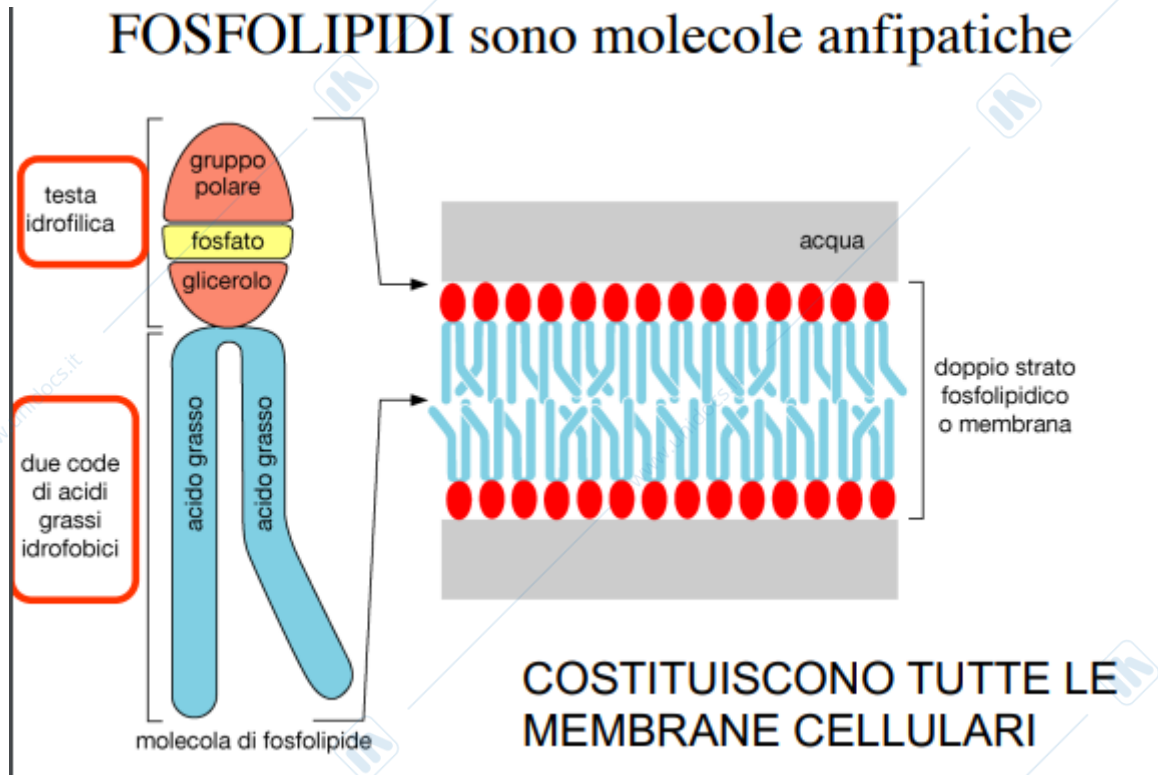
I trigliceridi rappresentano i principali lipidi di deposito sia negli organismi animali che vegetali.

Poiché sono insolubili in acqua, sono presenti nelle cellule sotto forma di goccioline, che in alcuni tessuti specializzati, come il tessuto adiposo, possono occupare gran parte della cellula



Lipidi complessi:

- Trigliceridi
- Glicolipidi



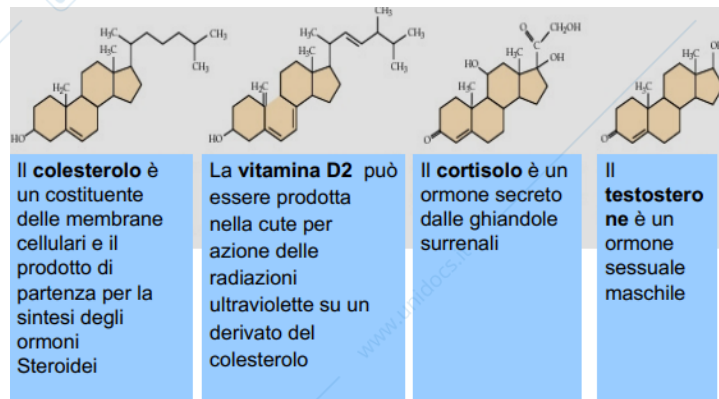
Glicolipidi:

- Cerebrosidi:
 1. Residui monosaccaridici (Dglucosio, D-galattosio)
 2. Guaina mielinica
- Gangliosidi:
 1. Residui oligosaccaridici
 2. Membrana delle cellule nervose

Steroidi

Presentano un complesso scheletro carbonioso ciclico ad anelli condensati (ciclo-pentano-peri-idro-fenantrene) a cui sono legate varie catene laterali e gruppi funzionali. Gli steroidi più importanti da un punto di vista biologico sono:

- colesterolo
- acidi biliari
- ormoni sessuali



Il colesterolo



- è una molecola anfipatica
- è un importante costituente delle membrane (si inserisce nella porzione apolare del doppio strato interferendo nell'impaccamento delle code dei lipidi > aumentando così la fluidità)
- si trova anche nel plasma complessato con proteine di trasporto (altrimenti non sarebbe solubile)
- è il precursore degli ormoni steroidei, che comprendono gli ormoni sessuali sia maschili che femminili

Emivita o TEMPO DI DIMEZZAMENTO: tempo dopo il quale la concentrazione di una sostanza si dimezza
EMIVITA: Negli elementi chimici radioattivi, il tempo in cui decade metà della massa iniziale dell'elemento stesso.

In farmacologia, il tempo che occorre perché la concentrazione di una sostanza farmacologica nel sangue si riduca alla metà del valore iniziale

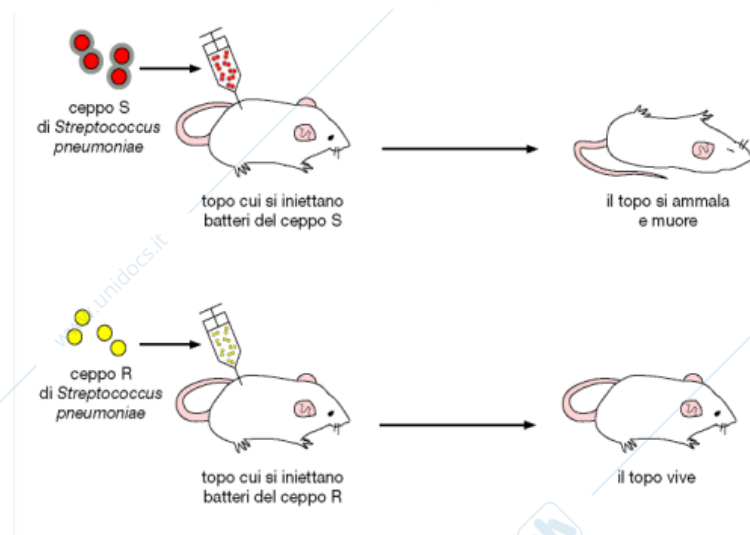
DNA, RNA e acidi nucleici

Il DNA è la molecola depositaria dell'informazione genetica. Caratteristiche richieste ad un composto che sia il depositario dell'informazione genetica:

- Essere presente in tutte le cellule
- Avere una struttura che gli consenta di contenere una grande quantità di informazione
- Avere una struttura che gli consenta di essere duplicato con facilità
- Essere una molecola sufficientemente stabile
- Essere presente nelle cellule di un dato organismo in quantità costante, indipendentemente dalle condizioni ambientali, dall'età.
- Se introdotto, in opportune condizioni, in una cellula deve essere in grado di modificarne le caratteristiche genetiche

Ci furono innumerevoli esperimenti che portarono alla scoperta che il DNA era proprio la molecola che portava l'informazione genetica:

- *Johann Friedrich Miescher* (1871) egli isolò per la prima volta gli acidi nucleici. Egli evidenziò per primo nel 1869, la presenza di vari composti chimici ricchi in fosfato all'interno dei nuclei dei leucociti che chiamò NUCLEINA
- *Esperimenti di Griffith* (1928) Dimostra che una SOSTANZA presente nel ceppo virulento poteva modificare in modo permanente, TRASFORMARE, il ceppo innocuo.



Nell'esperimento viene preso in considerazione il batterio *Streptococcus pneumoniae* che è presente in due varianti:

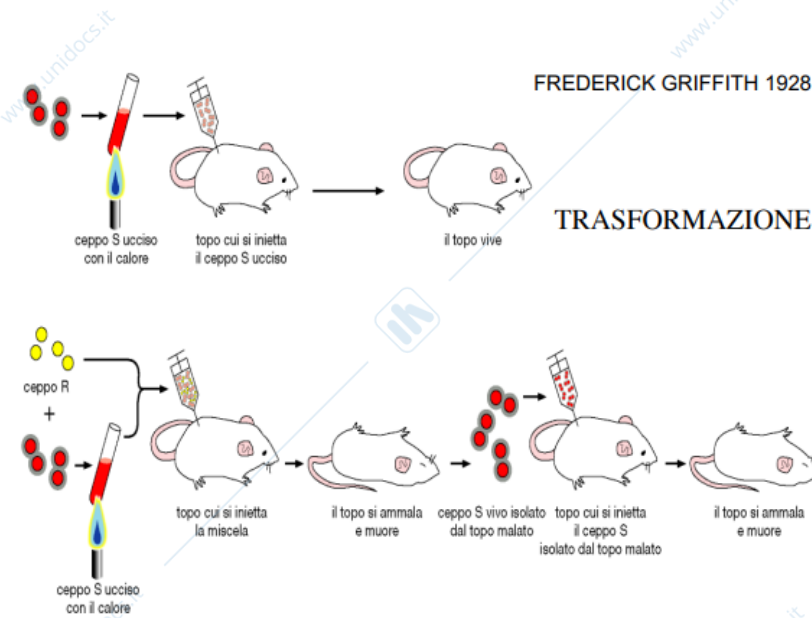
- Ceppo S: superficie rugosa
- Ceppo R: superficie liscia

Il ceppo S ha la caratteristica di essere virulento e, se iniettato in un topo, questo muore; al contrario il ceppo R è innocuo e, se iniettato, il topo continua a vivere

Successivamente Griffith fa un altro esperimento; egli sottopone il ceppo S ad una fonte di calore e lo inietta nel topo. Egli nota che, in questo caso il topo non muore; questo vuol dire che il batterio del ceppo S muore con il calore stesso.

Tuttavia Griffith prende il batterio del ceppo R lo incuba in una provetta con un lisato di ceppo S inattivato con il calore e lo inietta nel topo; in questo caso, sorprendentemente, il topo muore.

Questo porta Griffith a formulare la teoria che nel ceppo S si trovi una molecola rilasciata in questo lisato che, captata dal ceppo R, la trasforma in una virulenta. (vengono rilasciati zuccheri, proteine, RNA, DNA)



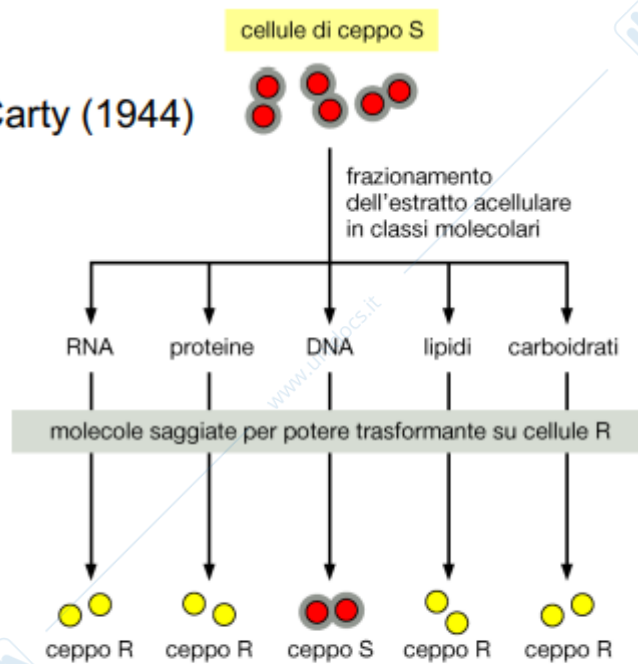
- Ceppo S (virulento) = topo muore
- Ceppo R (non virulento) = topo non muore
- Ceppo S ucciso dal calore = topo non muore
- Ceppo S ucciso dal calore + Ceppo R = topo muore

- *Avery, MacLeod & McCarty (1944)*: nel loro esperimento, a differenza di Griffith, non prendono un lisato ma lo dividono nelle sue parti attraverso una fonte di calore e, ciascuno di questi elementi lo mettono a contatto con il ceppo R

Esperimento di Avery, MacLeod & McCarty (1944)

Materiale estratto da cellule S

usato per testare potere TRASFORMANTE



CONCLUSIONE: la classe di molecole che porta l'informazione ereditabile è il DNA.

E' il DNA la molecola presente nel ceppo S che contiene l'informazione necessaria a fare diventare virulento il ceppo R

- **Hershey e Chase (1952):** questi due scienziati-ricercatori rispondono alla fatidica domanda perché il fattore contenente il materiale genetico non sono le proteine?

Nell'esperimento prendono un batteriofago (virus costituito da un capsido proteico contenente molecola di DNA, non sono in grado di replicarsi autonomamente ma devono infettare un batterio iniettando il loro genoma al suo interno) e un batterio di E. Coli.

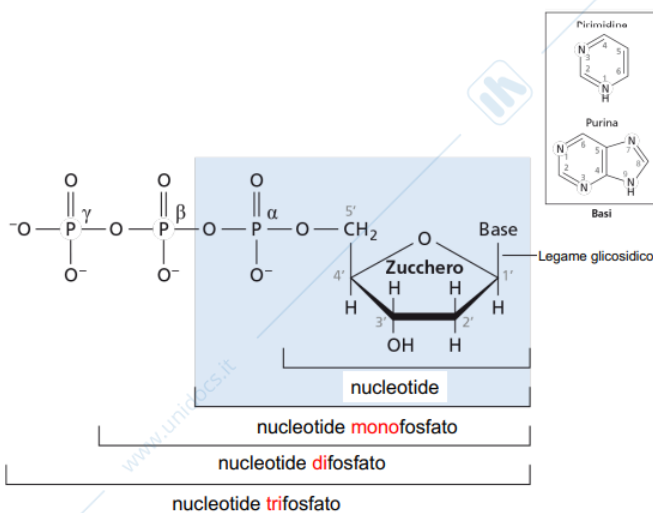
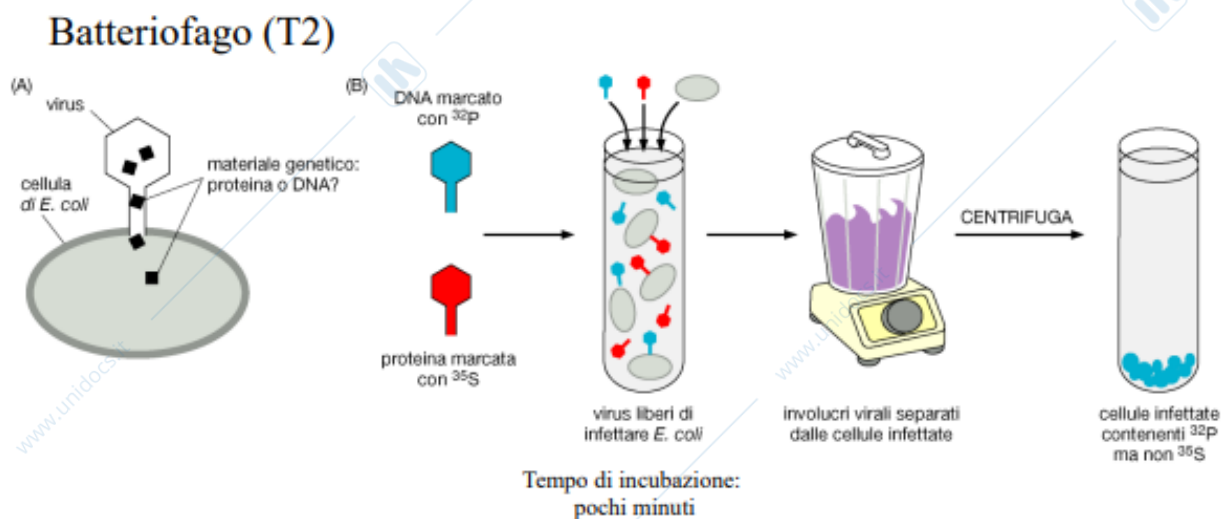
OSSERVA: cosa differisce le proteine dagli acidi nucleici? Le proteine contengono zolfo (cisteina e metionina) mentre gli acidi nucleici il fosforo.

Di conseguenza:

- Un primo batteriofago viene marcato con P_{32} (marca gli acidi nucleici e quindi il DNA)
- Il secondo viene marcato con S_{35} (marca le proteine)

Successivamente prendono i batteriofagi e i batteri di E. Coli e li mettono in incubazione per pochi minuti in modo che o la proteina o il DNA del virus riesca a penetrare all'interno del batterio.

Dopo entrambi il miscuglio viene sottoposto a centrifugazione e quindi il batteriofago si stacca dal batterio ma ciò che è entrato nel batterio rimane al suo interno. Infine il miscuglio viene lasciato a riposo e per decantazione la parte più pesante rimane sul fondo e si tratta proprio delle cellule infettate con P_{32} (le più pesanti) e non quelle con S_{35}



La composizione del DNA:

monomero degli acidi nucleici che consiste di tre parti: uno zucchero pentoso (5 atomi di C) (ribosio nell'RNA o desossiribosio nel DNA), un gruppo fosforico, una base azotata, con il fosfato legato al C_5 dello zucchero pentoso e la base al C_1

I legami gamma e beta persi nella formazione del legame fosfodiesterico

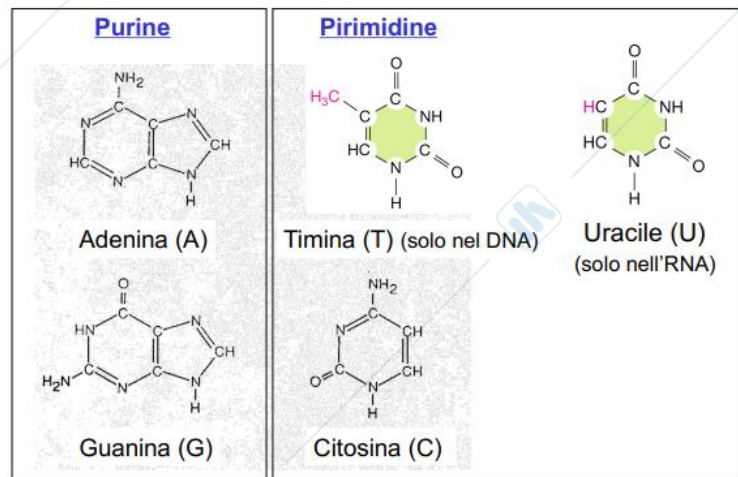
Basi azotate:

- Purine: A-G hanno la caratteristica di avere solo un anello
- Pirimidine: T-C (nell'RNA la Timina è sostituita dall'Uracile) hanno due anelli

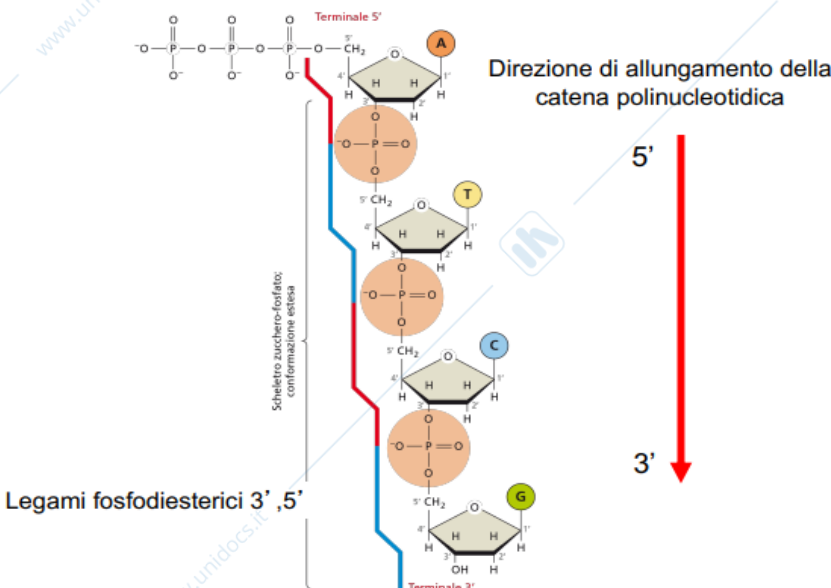
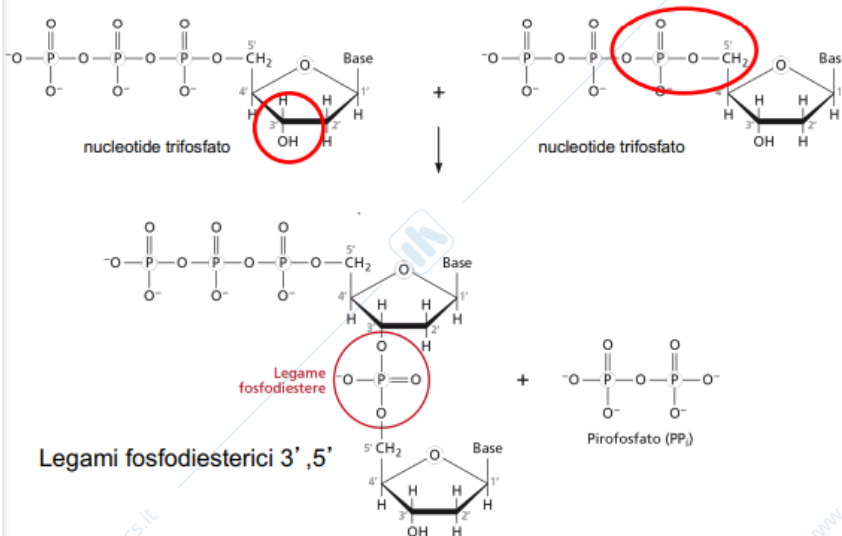
Durante la formazione del legame fosfodiesterico avviene tra il 3' OH di una catena nascente e un gruppo fosfato.

Il primo nucleotide avrà libero il primo gruppo fosfato mentre l'ultimo il 3' OH

Le basi azotate



Il legame FOSFODIESTERICO tra 3' OH del primo nucleotide e il 5'P del successivo



LEGAME FOSFODIESTERICO: E' un legame covalente, generato dalla DNA polimerasi o RNA polimerasi. Può essere scisso enzimaticamente da enzimi quali Dnasi o Rnasi Si forma in una catena polinucleotidica (come il DNA o l'RNA) tra il fosfato associato al carbonio in posizione 5 dello zucchero di un nucleotide e il carbonio in posizione 3 dello zucchero del nucleotide successivo. Il polinucleotide che si forma grazie a questi legami ha una direzionalità intrinseca: ad una estremità della catena il primo nucleotide presenta un ossidrilico libero (-OH) al carbonio in posizione 3 dello zucchero, mentre all'altra estremità l'ultimo nucleotide presenta un gruppo fosforico (-PO₄) al carbonio in posizione 5 dello zucchero. Le due diverse estremità vengono dette estremità 3' (-OH) e 5' (-PO₄).

OSSERVA: anche gli acidi nucleici hanno una loro direzionalità. Infatti il primo nucleotide ha il primo 5' libero mentre l'ultimo ha il 3' libero. La direzionalità, dunque, ha una direzione 5'-3': vengono aggiunti nucleotidi in posizione 3'. Inoltre nella formazione dei legami non intervengono le basi azotate

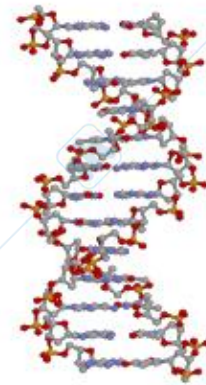
I quattro principali attori nella scoperta della struttura del DNA fatta grazie a studi di cristallografia ai raggi X, 1953



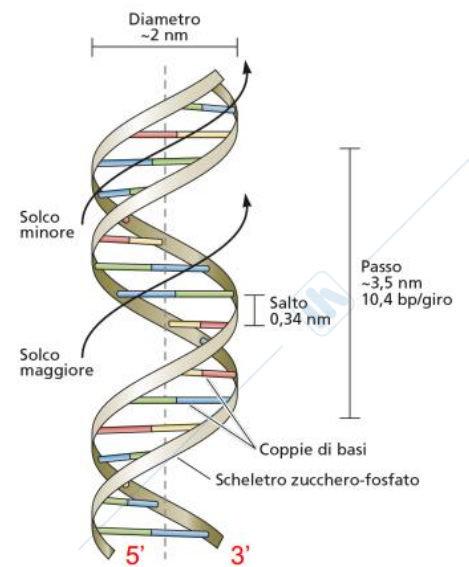
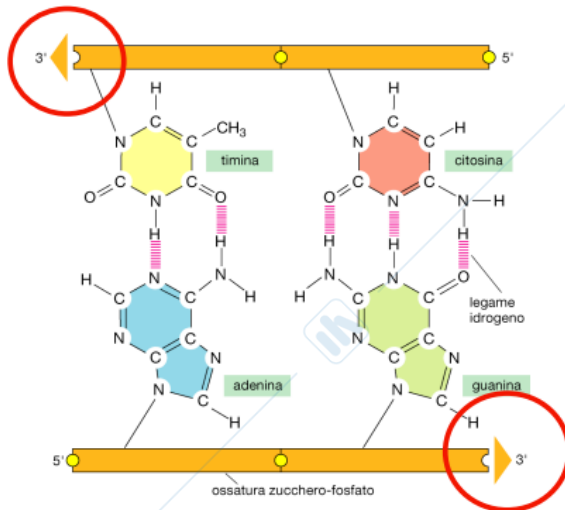
Watson, Crick e Wilkins hanno ricevuto il Premio Nobel della Fisiologia e della Medicina nel 1962. Rosalind Franklin è morta per un tumore nel 1958 (i Premi Nobel non vengono attribuiti postumi).

Hanno risolto la struttura della doppia elica del DNA utilizzando la regola di Chargaff e i dati di diffrazione dei raggi X di Rosalind Franklin e Maurice Wilkins

- Il DNA ha una struttura a doppia elica
- Gli accoppiamenti fra le basi sono A=T & G=C
- I filamenti complementari sono antiparalleli



I FILAMENTI hanno una direzione e sono ANTIPARALLELI



Regola di Chargaff: questo ricercatore prende in considerazione diversi organismi appartenenti a specie differenti. Egli estrae del DNA e lo analizza e i risultati che trova sono sorprendenti; infatti andando ad analizzare le percentuali delle basi azotate presenti nella catena del DNA si evince che la percentuale di adenina è uguale a quella di timina, così come la percentuale di guanina è uguale a quella di citosina.

Regole di Chargaff:

DNA contenuto nelle cellule di diversi organismi presenta:

1) In tutte le specie si mantiene:

quantità di A = quantità di T
quantità di G = quantità di C

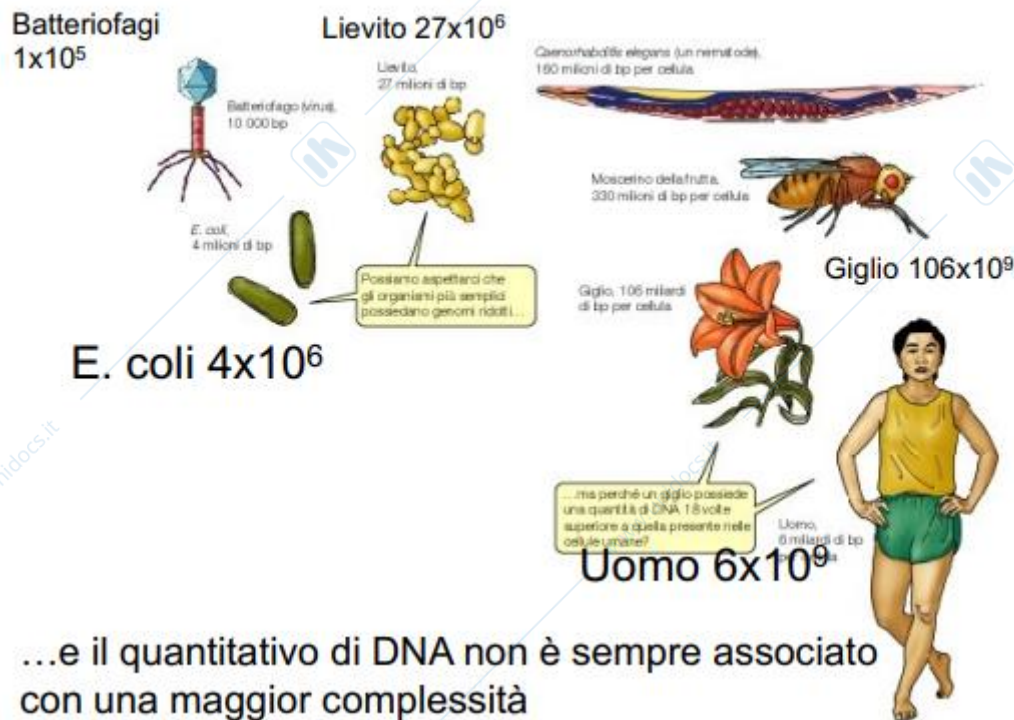
2) quantità di purine (A+G) = quantità di pirimidine (C+T)

Attenzione: il rapporto tra A e G e tra C e T varia tra specie diverse e rispetta la diversità genetica

sorgente	adenina	guanina	citosina	timina
<i>Homo sapiens</i>	30,4	19,6	19,9	30,1
bue domestico	29,0	21,2	21,2	28,7
spermatozoo di salmone	29,7	20,8	20,4	29,1
germe di grano	28,1	21,8	22,7	27,4
<i>Escherichia coli</i>	24,7	26,0	25,7	23,6
riccio di mare	32,8	17,7	17,3	32,1

Osserva: le percentuali sono diversi perché ogni specie ha genomi diversi.

QUANTITA DI DNA IN ORGANISMI DIVERSI



...e il quantitativo di DNA non è sempre associato con una maggior complessità

Nell'immagine sopra viene indicato il quantitativo di DNA presente in diversi organismi; quello che si nota è che **NON SEMPRE** l'organismo più complesso contiene una maggior quantità di DNA. Per esempio il giglio ne contiene molto di più rispetto a quello dell'uomo.

Quali sono le differenze tra genoma batterico e quello umano:

- Il DNA batterico è circolare mentre quello delle cellule eucariotiche è lineare con due estremità.

Una nostra cellula (eucariotica) contiene 46 cromosomi, vale a dire 23 coppie di cromosomi omologhi (1-1, 2-2, 3-3,...) derivanti uno dalla madre e uno dal padre. (omologhi = hanno lo stesso nome). Il batterio E. Coli, per esempio, ha solo una coppia.

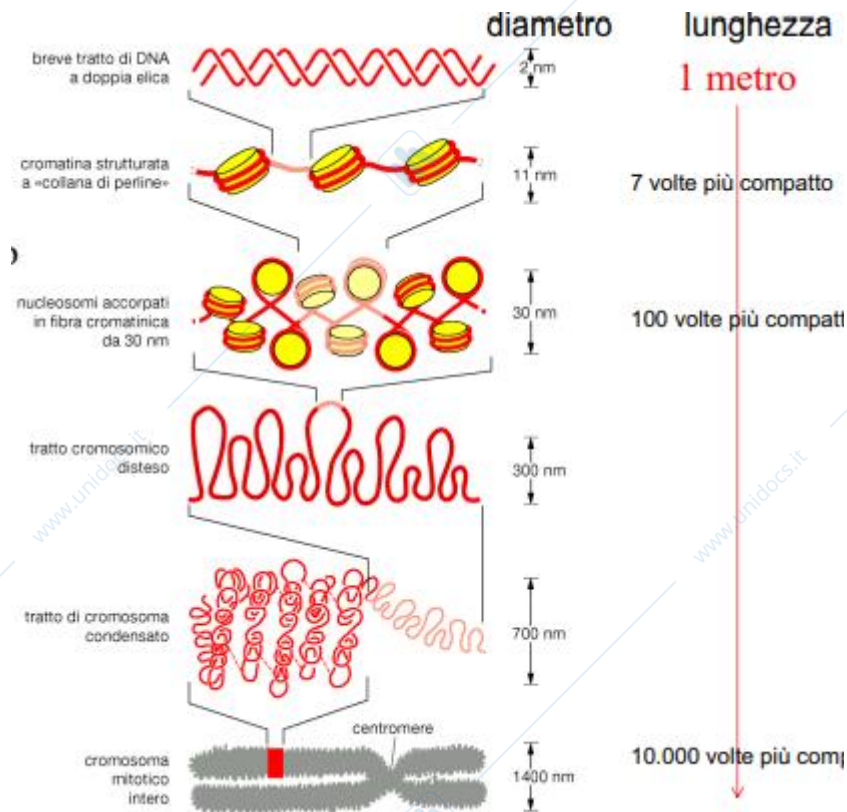
Inoltre Il DNA (aploide) presente nel nucleo di una cellula umana è costituito da circa 3×10^9 paia di basi. La lunghezza calcolata di tale DNA corrisponde a circa 94 cm. La dimensione del nucleo è di circa 5 micron; di conseguenza il DNA per entrare nel nucleo della cellula deve essere compattato!

Il diametro di un leucocita ha un diametro di 5 micrometri (millesimo di quel millimetro).

Di conseguenza IL DNA E' ORGANIZZATO IN UNA STRUTTURA DETTA CROMATINA. LA CROMATINA ASSUME FORME MOLTO DIVERSE NELLE VARIE FASI DEL CICLO CELLULARE

- CROMATINA: DNA associato a proteine istoniche e non istoniche
- Proteine istoniche: piccole proteine basiche che formano la struttura intorno alla quale si avvolge il DNA
- Proteine non istoniche: proteine che formano la struttura di supporto

Si parla di DNA nudo quando quest'ultimo non è associato a nessuna proteina, tutta questa rappresentazione è del tutto immaginaria e non veritiera; il DNA è sempre associato a proteine!



- La doppia elica del DNA si avvolge due volte intorno all'ottetto istonico; questa struttura è composta da proteine uguali a due a due (è un esempio, quindi, di una struttura quaternaria, composta da diverse sub unità), gli istoni. Questo passaggio è fondamentale perché conferisce al DNA un struttura maggiormente ordinata. Abbiamo, quindi istoni H_2A, H_2B, H_3, H_4 . Inoltre la struttura istoni + DNA viene chiamato nucleosoma e per ciascun giro completo ci vogliono circa 146 coppie nucleotidiche e tra due nucleosomi ci stanno 200 coppie di basi

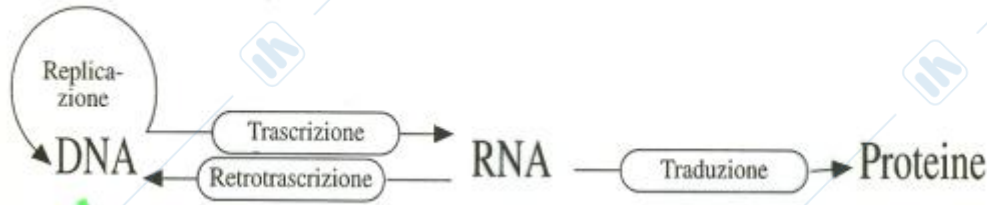
- Successivamente la fibra cromatinica inizia ad addensarsi e ripiegarsi su sé stessa. (nell'interfase noi non riusciamo ancora a distinguere un cromosoma da un altro)

Differenza tra euromatina ed eterocromatina:

- Euromatina: regioni di ciascun cromosoma meno compatte. Sono importanti per i punti di attacco della DNA polimerasi.
- Eterocromatina: geni che non sono funzionali per quello specifico tessuto (cellule del fegato sono diverse da quelle muscolari)

Replicazione e duplicazione del DNA

Il dogma centrale della Biologia (formulato nel 1960 da S. BRENNER, F. CRICK, F. JACOB, J. MONOD), spiega come l'informazione viene trasmessa alle cellule figlie (è un insieme di processi molto complessi)

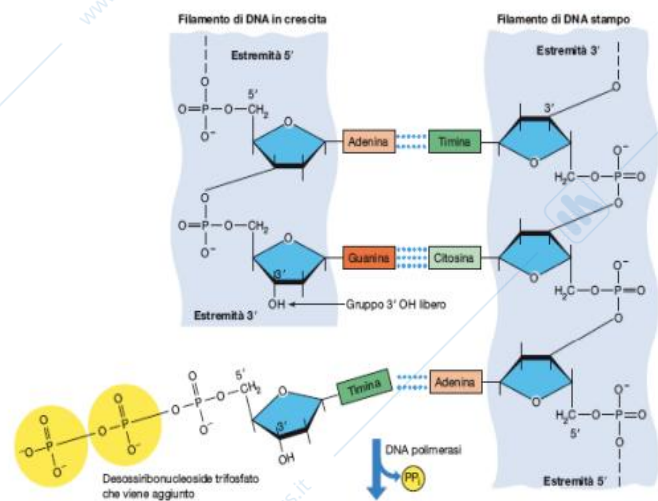


Watson e Crick immaginano che la duplicazione del DNA avvenga in maniera semiconservativa, ovvero che un filamento sia di origine parentale mentre l'altro sia completamente neo sintetizzato.

Questo modello è stato dimostrato essere vero da Meselson e Stall nel 1958.

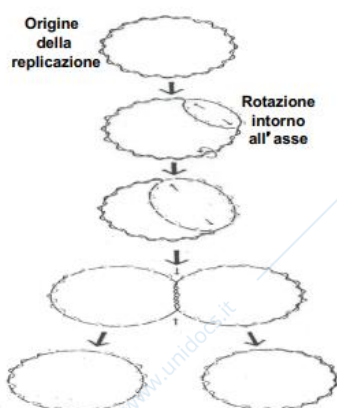
Reazione di allungamento, cosa ha bisogno la DNA polimerasi per far avvenire tale processo?

- Diossi-ribonucleotidi-trifosfati legati al 5'
- Templato
- Piccolo frammento già appaiato al template
- Il nuovo legame fosfodiesterico utilizza il template; inoltre il diametro dell'elica stabilisce la caratteristica dell'appaiamento delle basi e prevede se all'interno di queste ci sia un qualche errore. 3'OH viene allungato (direzione del filamento in crescita)



Chi decide dove inizia la duplicazione dei cromosomi? E' il genoma stesso che al suo interno contiene delle specifiche zone per iniziare la duplicazione chiamate ORI (origine della replicazione).

Nelle cellule procariotiche (dove abbiamo un DNA circolare) il punto di duplicazione è soltanto uno.



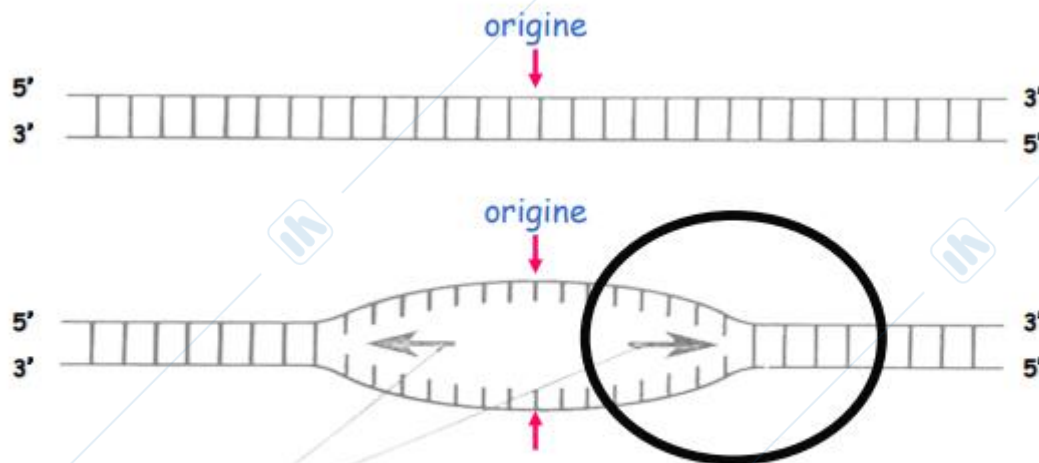
Mentre per quanto riguarda le cellule eucariotiche i punti ORI sono più di uno e si dividono in:

- ORI late
- ORI early

+ tipologie di proteine che riconoscono ORI late o ori early

Perché nei batteri c'è solo un punto per la duplicazione? Poiché è più corto, infatti la duplicazione di tutto il DNA impiega solo una decina di minuti

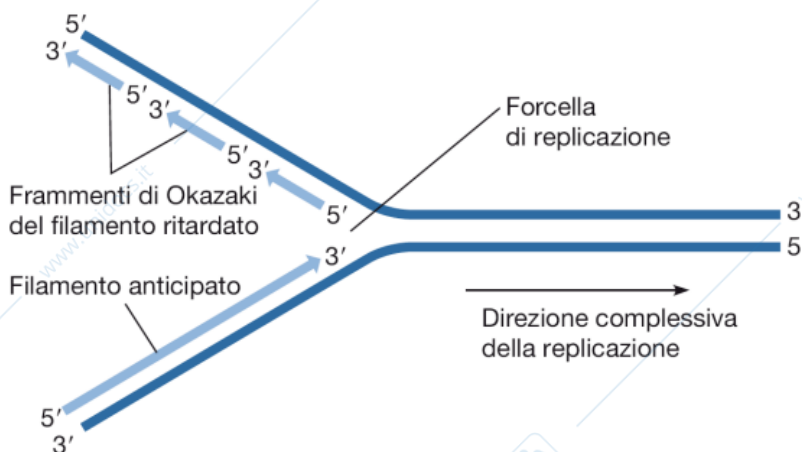
Una sequenza nucleotidica per funzionare deve richiamare una specifica proteina che riconosca il sito di replicazione.



Focalizziamoci sulla forca (o forcella) replicativa

Nelle cellule batteriche (e anche in quelle eucariotiche) si formano le cosiddette bolle di replicazione ovvero una regione molto piccola della sequenza del DNA in cui la doppia elica si apre per essere duplicata, copiata (le basi azotate, infatti devono essere esposte affinché questo processo avvenga correttamente). Nelle cellule eucariotiche avviene la stessa cosa ma con la peculiarità che si formano + bolle di replicazione in modo che + DNA polimerasi possano lavorare contemporaneamente.

Se mettiamo un focus sulla bolla di replicazione notiamo che abbiamo due forcelle (una a destra e una a sinistra) con 4 diversi filamenti.



Colore blu abbiamo tutto il DNA parentale che sarà poi il template per il nuovo filamento neo sintetizzato.

La direzione della DNA polimerasi è SEMPRE 5'-3' (attacca al 3' lasciando alle spalle il 5'). Nel filamento anticipato la DNA polimerasi non si staccherà mai

- Proteina iniziatrice: legge la sequenza dell'ORI e rompe i primi legami della doppia elica, richiamando, così altri fattori per la replicazione
- DNA elicasi: srotola la doppia elica e rompe tutti i legami tra le basi azotate della doppia elica presenti nella zona della bolla di replicazione e la amplia (consumo di energia)
- Single stranded protein: schermano le basi azotate e impediscono che queste di riuniscano nuovamente
- La primasi: fa partire tutto quanto in quanto genera l'innesco per allungarla + velocemente.

Inoltre i filamenti dell'elica (la parte avvolta) tendono a stringersi notevolmente per la forza di torsione opposta a quello delle single stranded protein;

se questo avvenisse la DNA elicasi farebbe moltissima fatica ad andare a srotolare queste regioni. Per questo interviene la topoisomerasi che impedisce che questo avvenga.

Si trova a valle della forca di replicazione, taglia dei legami fosfodiesterici e allenta la forza di torsione, il legame verrà poi ripristinato

SUPERAVVOLGIMENTO DEL DNA A VALLE DELLA FORCA DI REPLICAZIONE TOPOISOMERASI

