

LE PROTEINE

Sono le macromolecole più importanti e ubiquitarie, presenti in tutti gli organismi e in ogni regione della cellula (proteina deriva da "proteios" che significa "primo posto"). Tutto ciò che una cellula è o fa dipende dalle proteine che contiene.

Le proteine sono POLIMERI LINEARI di AMMINOACIDI: in una cellula sono presenti più di 60 tipi diversi di amminoacidi, ma solo 20 sono utilizzati nella sintesi delle proteine. Sebbene la maggior parte delle proteine contenga tutti o la maggior parte dei 20 amminoacidi, le proporzioni relative variano molto da proteina a proteina, e non esistono due proteine che abbiano la stessa sequenza amminoacidica.

--- alcune proteine contengono più di venti tipi di amminoacidi, ma questo a seguito di modificazioni chimiche che avvengono dopo che una proteina è stata sintetizzata. ---

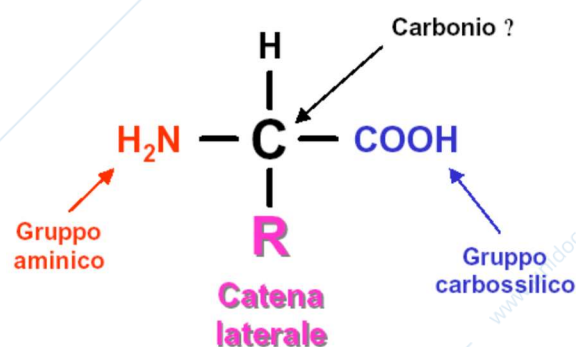
Sono costituite principalmente da cinque elementi: il carbonio C, l'idrogeno H, l'ossigeno O, l'azoto N e lo zolfo S

Le funzioni delle proteine sono molteplici:

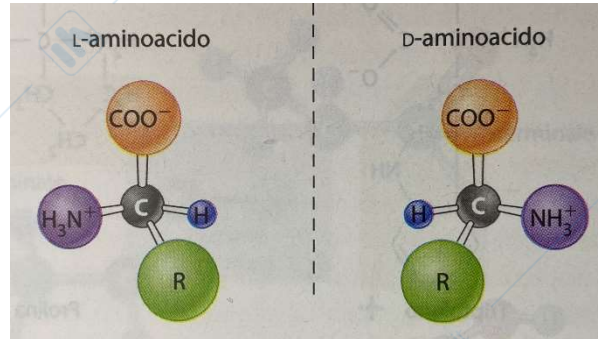
- **Enzimatica:** Ogni enzima è responsabile di catalizzare una specifica reazione chimica, aumentano ovvero la sua velocità (come per esempio la DNA Polimerasi)
- **Strutturale:** rafforzano e proteggono le cellule e i tessuti, forniscono un supporto fisico e una forma alle cellule e agli organelli conferendogli il loro aspetto caratteristico (come per esempio il Collagene della matrice extracellulare o le proteine del citoscheletro)
- **Deposito:** riserva di nutrienti e di amminoacidi. Sono abbondanti nelle uova (come l'Ovoalbumina nell'albume) e nei semi (come la Zeina)
- **Trasporto:** trasportano specifiche sostanze tra le cellule (come l'EMOGLOBINA che trasporta ossigeno nei globuli rossi), fanno passare specifiche sostanze attraverso le membrane cellulari (come le proteine trasportatrici del glucosio e degli amminoacidi) e funzionano come pompe o canali ionici (come la pompa sodio/potassio)
- **Regolatrice:** sono responsabili del controllo e del coordinamento delle funzioni cellulari e garantiscono la regolazione delle attività cellulari, per soddisfare le esigenze della cellula. Alcune sono ormoni (come l'INSULINA) o fattori di crescita, altre controllano l'espressione di specifici geni
- **Contrattile:** hanno un ruolo chiave nella contrazione e nel movimento delle cellule e delle strutture intracellulari (come l'Actina e la MIOSINA nella contrazione muscolare)
- **Protezione:** difendono l'organismo contro agenti invasori (come gli ANTICORPI del sistema immunitario)

AMMINOACIDI

Ogni amminoacido ha questa struttura di base: un GRUPPO CARBOSSILICO, un GRUPPO AMMINICO, un ATOMO di IDROGENO e una CATENA LATERALE (gruppo R) tutti legati ad un singolo atomo di CARBONIO centrale, denominato "carbonio alfa".



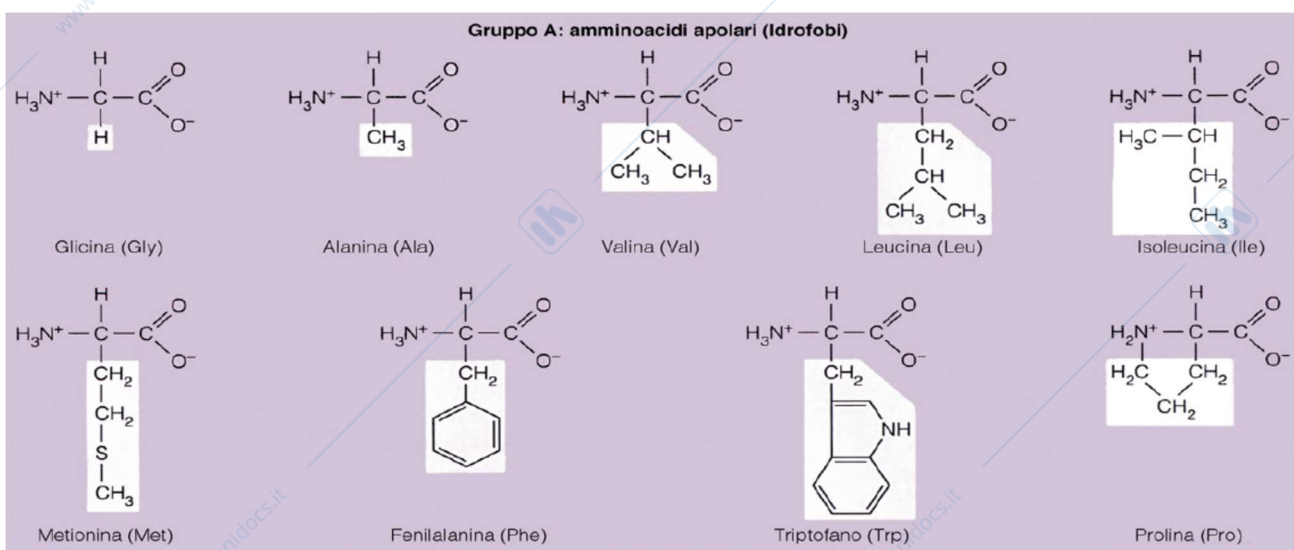
Il gruppo R è diverso per ciascun amminoacido e gli conferisce le sue peculiari proprietà. A eccezione della GLICINA, in cui il gruppo R è costituito da un singolo atomo di idrogeno, tutti gli amminoacidi hanno quattro differenti gruppi legati al carbonio alfa: ciò significa che esistono in due forme stereoisomeriche che sono speculari una rispetto all'altra, ma non sovrapponibili. Queste due forme sono dette D ed L – amminoacidi. In natura si trovano entrambe le forme, ma nelle proteine si trovano solo gli L-amminoacidi



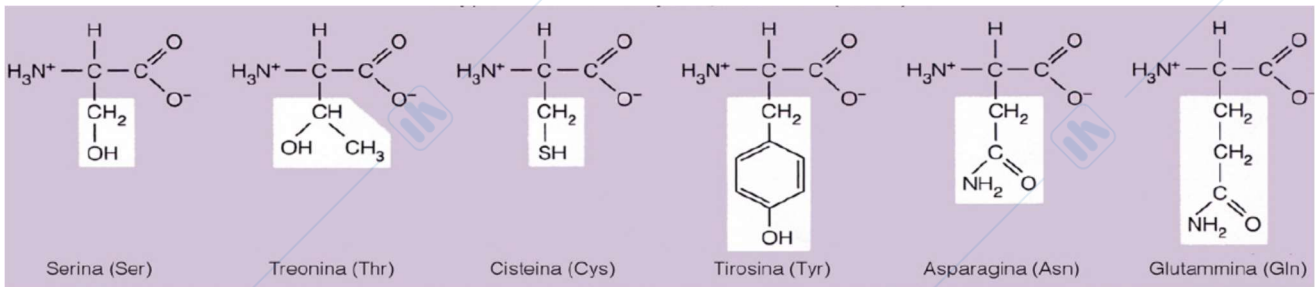
Il modo più comune per classificare gli amminoacidi è rispetto al loro comportamento in ambiente acquoso, dato dal grado di polarità delle catene laterali (gruppi R): Ciò perché le proteine si avvolgono principalmente in risposta alla tendenza a sottrarre, al contatto con il solvente acquoso, le catene laterali idrofobiche e a solfatare quelle idrofiliche.

- Nove amminoacidi presentano gruppi R APOLARI/IDROFOBICI: osservando la loro struttura si può notare la loro natura idrocarburica, con pochi o nessun atomo di ossigeno e di azoto. Questo tipo di amminoacidi tendono a essere localizzati nella parte interna delle proteine quando queste si trovano in ambiente acquoso. Se una proteina è destinata a una membrana cellulare, avrà una preponderanza di amminoacidi idrofobici
- Undici amminoacidi presentano gruppi R IDROFILICI: sono divisi a loro volta in amminoacidi POLARI NON CARICHI e in amminoacidi POLARI CARICHI (dotati di carica ai valori di pH caratteristici delle cellule). Si trovano in genere sulla superficie delle proteine in soluzione, massimizzando in questo modo le interazioni con le molecole d'acqua e con altre sostanze polari o cariche presenti in questo ambiente

AMMINOACIDI APOLARI



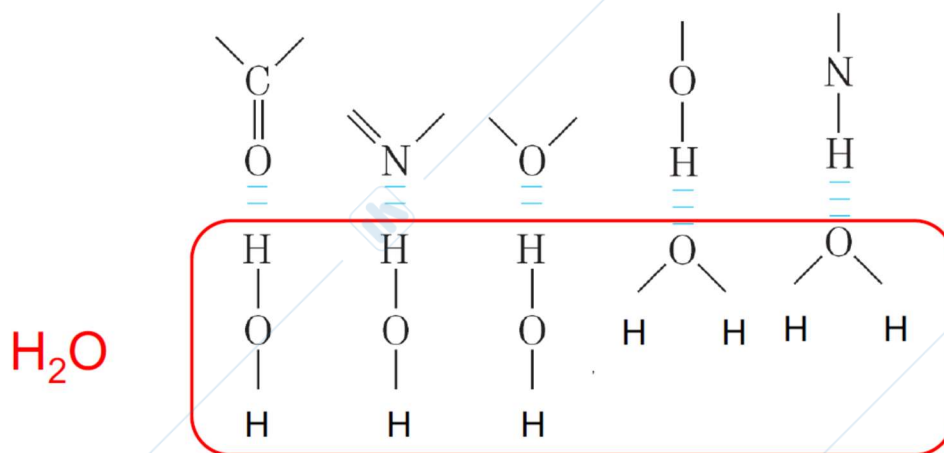
AMMINOACIDI POLARI NON CARICHI



--- La cisteina, grazie al gruppo fosfato, è in grado di creare i cosiddetti PONTI SOLFURO: Il ponte disolfuro (ponte di zolfo) è un gruppo funzionale, costituito da due atomi di zolfo legati (-S-S-), che riveste una notevole importanza nella stabilizzazione della struttura terziaria di molte proteine. La formazione dei ponti disolfuro avviene per ossidazione dei gruppi tiolici di questo aminoacido. ---

--- Serina, Treonina e Tirosina sono molto importanti nel processo di FOSFORILAZIONE: La fosforilazione è una reazione chimica che consiste nell'aggiunta di un gruppo fosfato (PO_4^{3-}) ad una proteina o ad un'altra molecola. Negli organismi eucarioti, la fosforilazione delle proteine è probabilmente il meccanismo di **regolazione** più importante. Molti enzimi e recettori vengono accesi e spenti attraverso eventi di fosforilazione e defosforilazione, attraverso l'azione specifica delle chinasi e delle fosfatasi (proteine deputate alla rimozione di un gruppo fosfato dalla proteina). L'aggiunta di un fosfato (PO_4^{3-}) ad una catena laterale polare (come quella degli aminoacidi serina, treonina o tirosina) basta per convertire una proteina idrofobica ed apolare in una conformazione idrofila ed estremamente polare. ---

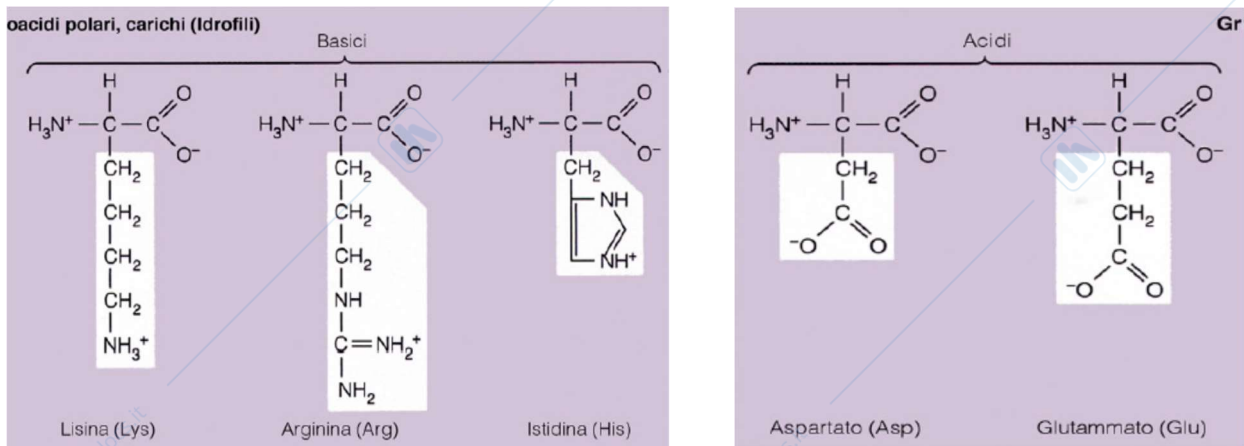
I gruppi idrofili della catena R degli aminoacidi polari formano LEGAMI IDROGENO con l'acqua:



AMMINOACIDI POLARI CARICHI

BASICI (carichi positivamente + a pH fisiologico)

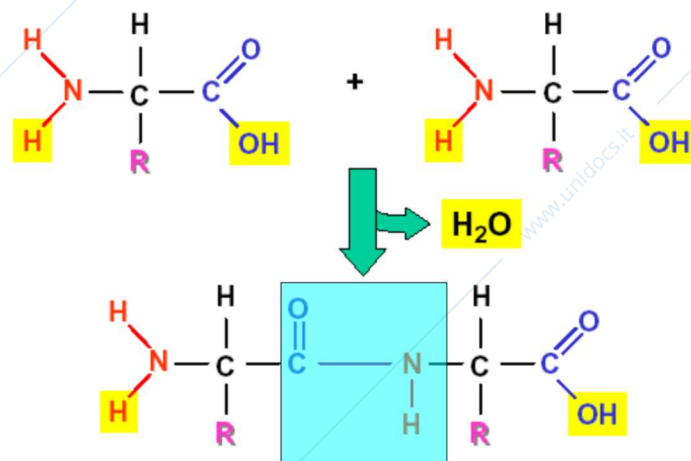
ACIDI (carichi negativamente - a pH fisiologico)



MONOMERI E POLIMERI

Il processo di unione dei singoli amminoacidi in un polimero lineare richiede l'aggiunta successiva di singoli amminoacidi alla catena in corso di sintesi, mediante una reazione di condensazione (o disidratazione).

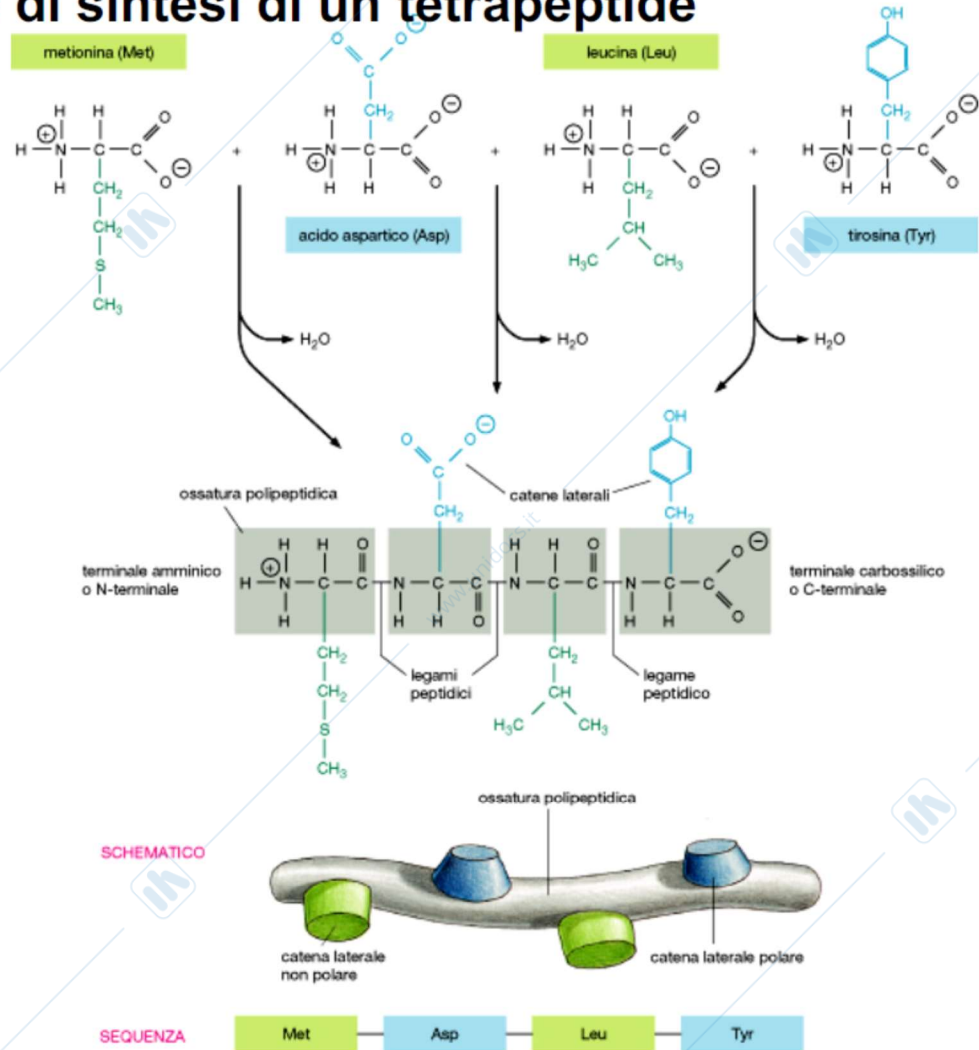
Tra due amminoacidi si viene a creare un **LEGAME PEPTIDICO**: mediante questo legame **COVALENTE**, il carbonio C del gruppo carbossilico del primo amminoacido si lega con l'azoto N del gruppo amminico del secondo amminoacido, liberando una molecola di acqua. I legami peptidici hanno un carattere di doppio legame parziale e quindi i sei atomi più vicini sono disposti su un unico piano (riquadro azzurro nell'immagine).



La catena di amminoacidi che si viene a formare ha una **DIREZIONALITA' INTRINSECA**: il primo amminoacido della catena avrà sempre libero il gruppo amminico e prende il nome di **ESTREMITA' N** (ammino)-**TERMINALE**, mentre l'ultimo amminoacido della catena avrà sempre libero il gruppo carbossilico e prende il nome di **ESTREMITA' C-TERMINALE** (come se avesse una testa e una coda).

La funzione di una proteina dipende dalla forma e da come è organizzata nello spazio. L'ordine preciso con cui si susseguono gli amminoacidi nella catena polipeptidica è dettato dalle sequenze dei geni nel DNA, mentre i **RIPIEGAMENTI** derivano dalle caratteristiche fisico-chimiche degli amminoacidi e l'ambiente in cui si trovano. L'organizzazione nello spazio di una proteina invece dipende dal particolare gruppo R presente (dà anche la caratteristica di idrofobicità o no).

Esempio di sintesi di un tetrapeptide



--- Per sintetizzare i polisaccaridi sono sufficienti uno o pochi enzimi, in quanto non devono scegliere tra molecole diverse per la costruzione della catena.

Nel caso delle proteine non è sufficiente un enzima perché deve anche scegliere gli amminoacidi corretti e unirli in un ordine preciso → non bastano gli enzimi ma serve una nuova struttura di supporto: la sintesi proteica avviene nei ribosomi, nella quale la sequenza giusta di amminoacidi è data dall' mRNA.

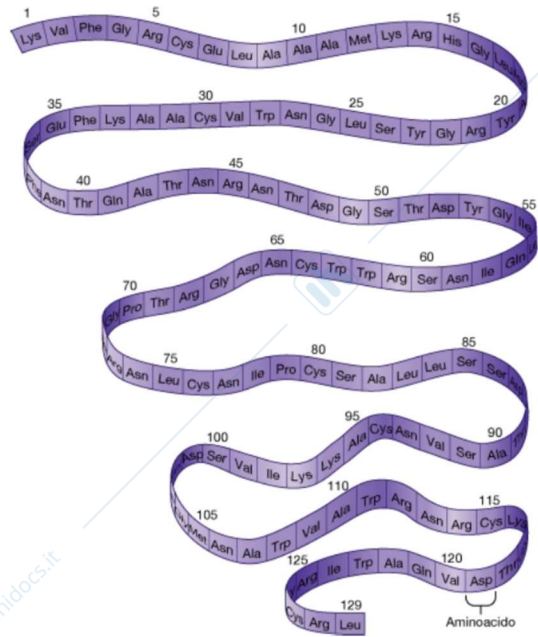
LIVELLI DI STRUTTURA

Le proteine hanno diversi livelli di struttura:

- Primaria, sequenza amminoacidica di una catena polipeptidica (definita nei geni del dna). Amminoacidi lontani potrebbero diventare vicini nelle strutture successive
- Secondaria
- Terziaria
- Quaternaria

STRUTTURA PRIMARIA

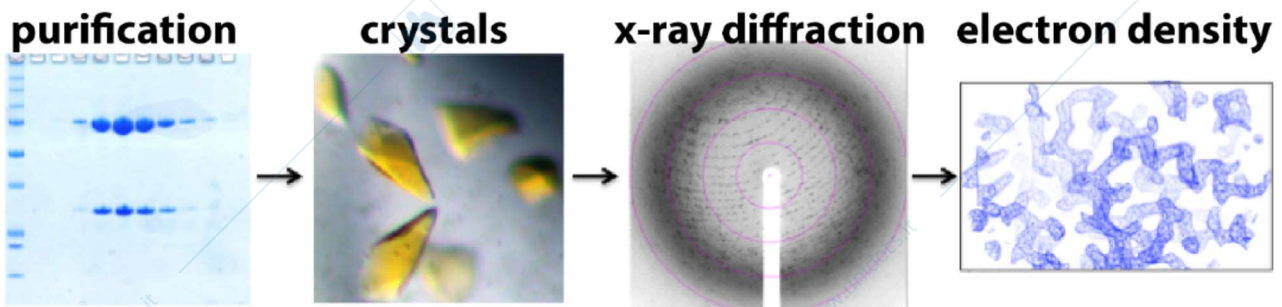
È solo un modo formale per indicare la sequenza di amminoacidi dei polipeptidi, scritte per convenzione a partire dall'estremità N-terminale fino all'estremità C-terminale (direzione che coincide con la direzione di sintesi delle proteine).



L'unico modo per sapere qual è la struttura di una proteina nello spazio è guardarla, non con gli occhi o con microscopi, ma tramite osservazione indiretta.

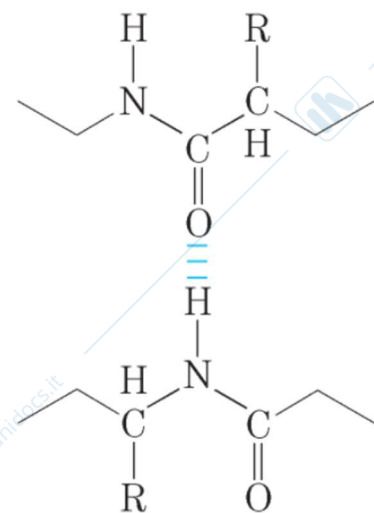
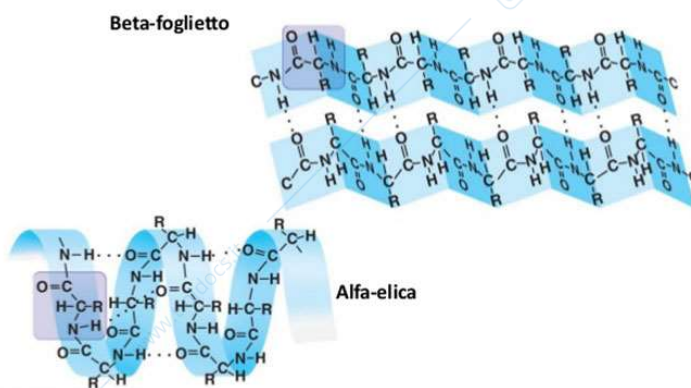
Le proteine si possono osservare grazie alla DIFFRAZIONE A RAGGI X. È necessario isolare prima di tutto la proteina in laboratorio, purificarla e averne una quantità considerabile. Successivamente la si deve inserire in un tubo di reazione a particolari condizioni (temperatura e pressione): la proteina tenderà a cristallizzarsi (i cristalli quasi si possono osservare ad occhi nudo). Infine, irradiando i cristalli con Raggi X, i raggi verranno deviati e diffratti e raccolti su lastre radiografiche, rilevando così la posizione degli atomi nello spazio e ricostruendo la struttura proteica.

Ogni proteina cristallizza in condizioni diverse, quindi bisogna studiarla prima di osservarla. Queste strutture sono così ben definite e conosciute proprio perchè sono state studiate in precedenza.



STRUTTURA SECONDARIA

Con questo termine si definiscono conformazioni regolari e ripetitive che la catena polipeptidica assume nello spazio, solo 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.

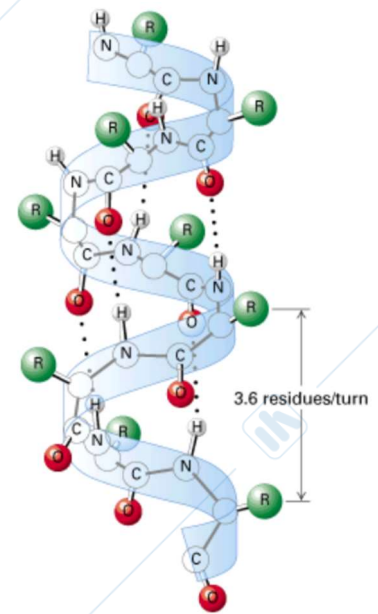


Come si formano le strutture secondarie:

- 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 e SCHERMATI tramite la formazione di **legami idrogeno**: ciò si realizza tramite l'acquisizione della struttura secondaria che può essere ALFA ELICA e BETA FOGLIETTO (dipende dal tipo di amminoacidi presenti in quella regione e dalla loro sequenza relativa).

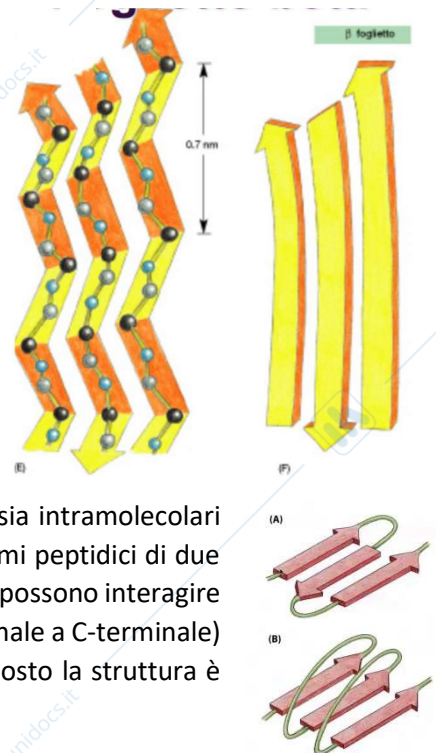
ALFA ELICA

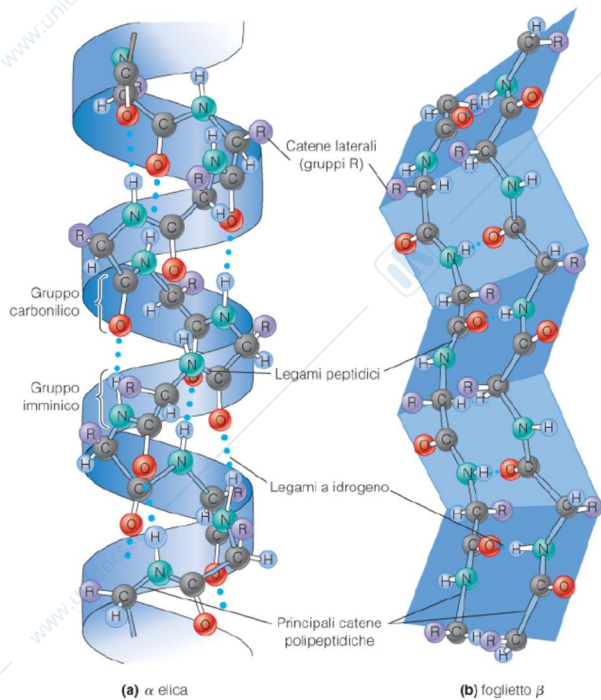
Ha uno schema a nastro, una spirale costituita da uno scheletro di amminoacidi legati da legami peptidici in cui non sono però presenti i gruppi R dei singoli residui amminoacidici: essi si trovano nella parte esterna, in quanto non hanno impatto sulla struttura dell'elica. Sono presenti in media 3,6 amminoacidi per giro, e questo porta vicini i legami peptidici di ogni quarto amminoacido della catena. La distanza tra questi legami è quella corretta per la formazione di un LEGAME IDROGENO tra il gruppo -NH adiacente a un legame peptidico e il gruppo -CO adiacente all'altro. Questi legami idrogeno sono tutti quasi paralleli all'asse principale dell'elica e pertanto tendono a stabilizzare la struttura a spirale, tenendo insieme i giri successivi dell'elica.



FOGLIETTO BETA

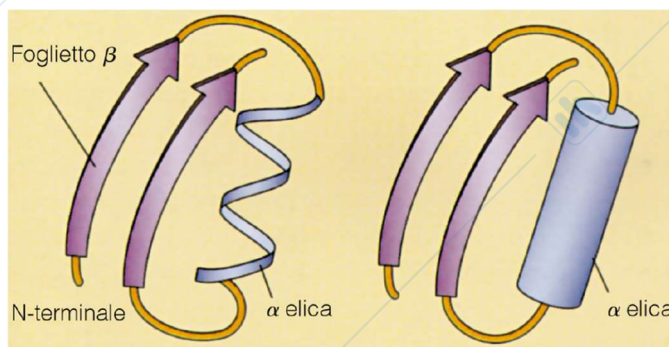
Anche questa struttura ha uno schema a nastro, costituita dal cuore della proteina e dallo scheletro del polipeptide. A differenza dell'alfa elica però è disposto più rigidamente sul piano, è distesa: presenta comunque delle piegature, in cui gli atomi adiacenti nella catena polipeptidica sono localizzati in corrispondenza dei "picchi" e degli "avvallamenti". I gruppi R degli amminoacidi sporgono alternativamente sopra o sotto il piano del foglietto (può succedere a volte che quelli idrofilici siano da una parte e idrofobici dall'altra). Questa struttura viene sempre rappresentata con il proprio orientamento di accrescimento: viene in genere utilizzata la punta della freccia verso la direzione di crescita della proteina. È caratterizzato dal maggior numero di legami idrogeno: mentre nell'alfa elica la formazione di questi legami è sempre intramolecolare (tra legami peptidici all'interno dello stesso polipeptide), nel foglietto beta i legami a idrogeno sono perpendicolari al piano del foglietto e possono essere sia intramolecolari (tra due segmenti dello stesso polipeptide) sia intermolecolari (tra i legami peptidici di due polipeptidi differenti). Le regioni della proteina che formano foglietti beta possono interagire tra loro in due modi diversi: se hanno lo stesso orientamento (da N-terminale a C-terminale) la struttura è detta *foglietto beta parallelo*, se hanno orientamento opposto la struttura è detta *foglietto beta antiparallelo*.



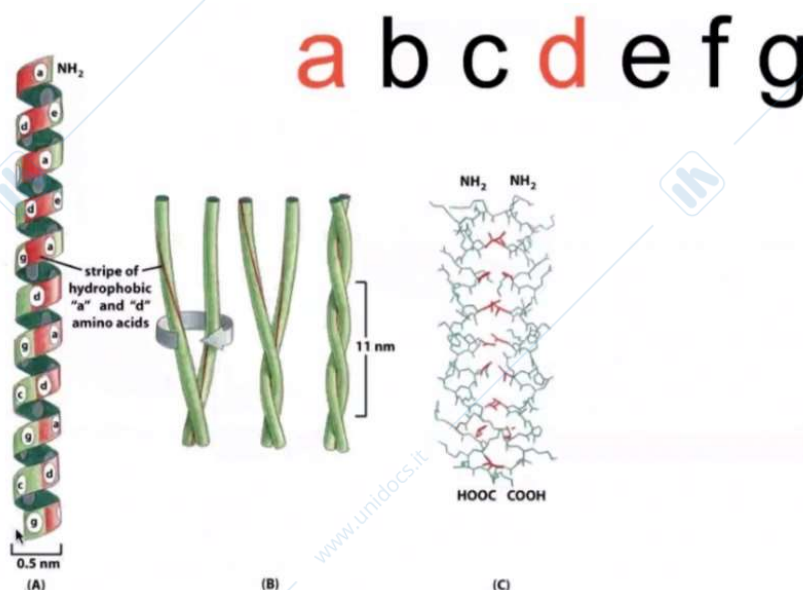


Se uno specifico segmento del polipeptide formerà una struttura ad alfa elica, un foglietto beta o nessuna delle altre strutture dipenderà dagli amminoacidi presenti in quel segmento. Per esempio la Leucina, la Metionina e il Glutammato sono dei forti generatori di alfa elica, il che significa che sono di solito presenti nelle regioni ad alfa elica. L'Isoleucina, la Valina e la Fenilalanina sono dei forti generatori di foglietti beta. La Prolina e Glicina sono considerate distruttori di strutture ad elica, in quanto il loro gruppo R è legato in modo covalente all'azoto del gruppo amminico, che manca quindi dell'atomo di idrogeno necessario per formare il legame idrogeno (quando sono presenti nelle strutture a elica ne producono una curvatura).

Il segmento ad ansa che connette le regioni ad alfa elica e a foglietto beta (filo giallo nella figura) si definisce **AVVOLGIMENTO CASUALE** (random coil), il quale non presenta una struttura secondaria. È intrinsecamente disordinato e si forma perché contiene nella sequenza amminoacidica degli amminoacidi che non sono funzionali alla formazione della struttura secondaria. Sono estremamente flessibili, permettendo così la continuità tra regioni proteiche diverse.



In una proteina è possibile che due strutture ad alfa elica possano associarsi tra loro e formare strutture anfipatiche dominiche dette **COILED COIL**. Durante la formazione di un'alfa elica, gli amminoacidi idrofobici tendono a posizionarsi sempre della stessa parte (riga rossa nella seconda immagine) i quali, non amando stare in presenza di acqua, tendono a schermarsi, avvolgendosi vicino ad un'altra striscia di amminoacidi idrofobici di un'altra alfa elica : le due strutture sono tenute insieme da una forza idrofobica (la repulsione dall'acqua consente loro di rimanere unite → esempio delle goccioline di olio).



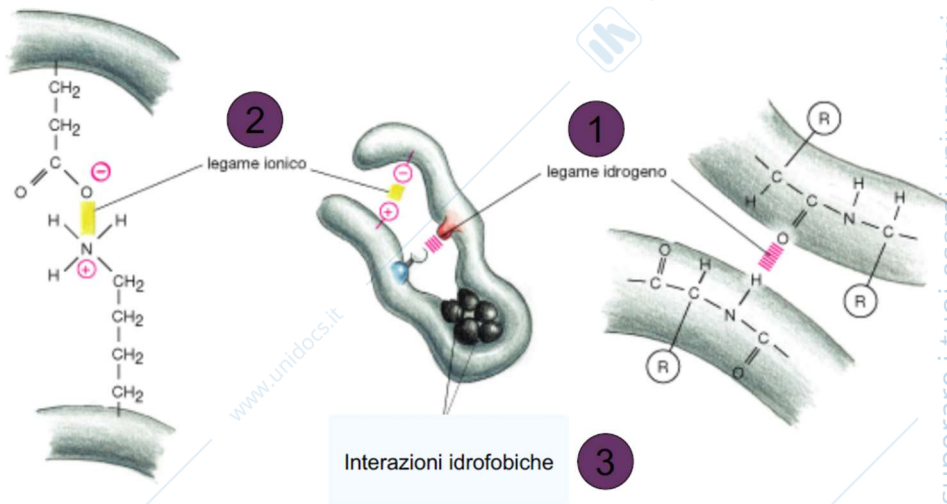
STRUTTURA TERZIARIA

È una struttura piuttosto specifica: non dipende, come la struttura secondaria, dai gruppi carbossilici e amminici comuni a tutti gli amminoacidi della catena, ma riflette l'aspetto non ripetitivo di un polipeptide, ovvero i gruppi R che rendono diverso ogni amminoacido e le loro interazioni (indipendentemente da dove questi si trovino lungo la sequenza primaria).

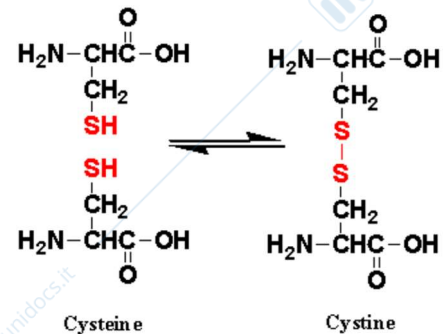
La proteina si ripiega e viene stabilizzata da tre diverse forze:

- Legami a idrogeno
- Attrazioni ioniche
- Interazioni idrofobiche (tendono a formare il core della proteina)
- Ponti disolfuro

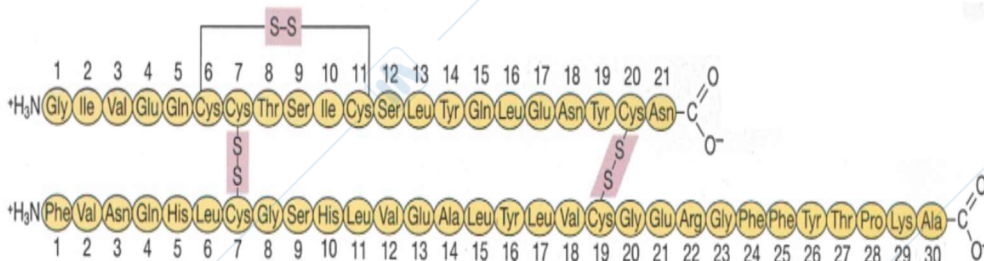
Le prime tre sono interazioni non covalenti, mentre l'ultima è covalente.



Ponte disolfuro: Cisteina e metionina sono gli unici amminoacidi a contenere S, due cisteine all'interno di una stessa catena polipeptidica possono formare un legame covalente, tra i due gruppi tiolici, che prende il nome di Disolfuro. Questa reazione richiede un AMBIENTE OSSIDANTE, quindi i ponti disolfuro sono raramente presenti nelle proteine intracellulari (ambiente riducente) e sono relativamente frequenti nelle proteine extracellulari, nel reticolo endoplasmatico rugoso. Negli eucarioti la formazione di questi ponti si verifica nel LUME del RE, il primo compartimento della via secretiva.



--- L'insulina (funzione ormonale) è prodotta dalle B Cells delle Isole di Langheraans (agglomerati di cellule, sferici concentrici, altamente vascolarizzati, situati nel pancreas) ed è costituita da due catene polipeptidiche legate insieme da ponti solfuro (questi legami sono presenti anche in posizioni intramolecolari alla catena).

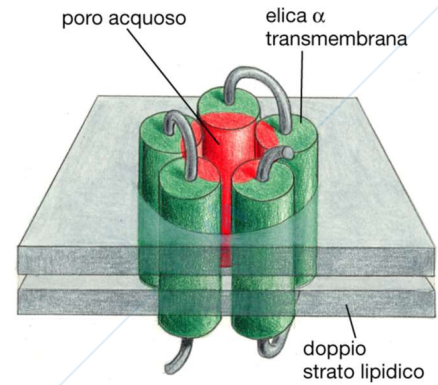


Prima l'insulina veniva purificata mediante cellule di maiale, ora viene prodotta in laboratorio attraverso la tecnica del DNA ricombinante (dal 1982 negli Stati Uniti, quando fu messo a punto un sistema batterico in E. Coli)

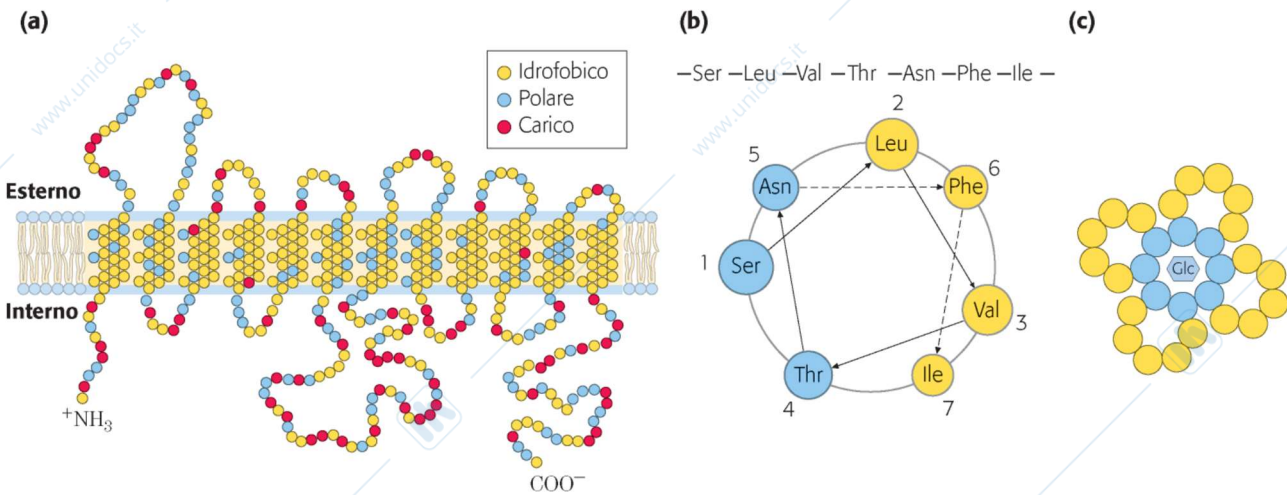
ACQUA PORINA

(funzione della proteina dipende dalla struttura)

È una struttura, un poro acquoso, poro canale, che consente il passaggio di acqua nella cellula da una parte all'altra della membrana (processo di osmosi) attraversando un doppio strato lipidico grazie alla presenza di proteine alfa elica. È formata da un'unica proteina che passa la membrana più volte.

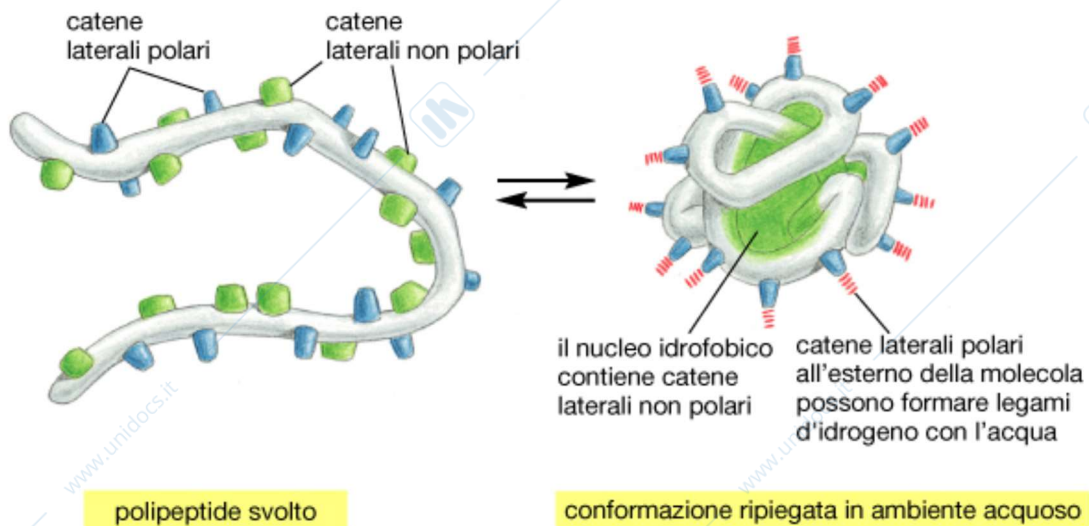


La regione verde è idrofobica mentre la porzione rossa presenta amminoacidi idrofilici.



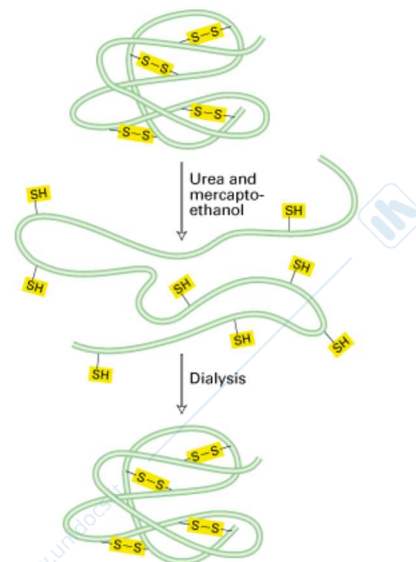
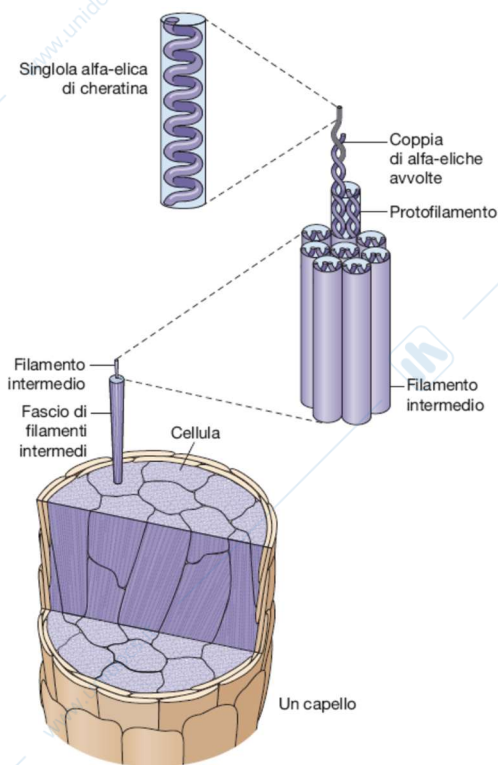
Osservando questa immagine salta all'occhio come ogni volta ci sia una struttura ad alfa elica siano presenti più amminoacidi idrofobici e polari rispetto a quelli carichi, in quanto quest'ultimi sono molto rari e disposti verso l'esterno quando presenti. Nell'alternanza di amminoacidi polari e apolari si viene a creare un'alfa elica ANFIPATICA (una regione gialla idrofoba e una regione azzurra idrofila), la quale, insieme ad altre alfa eliche vanno a formare un cilindro (poro acquoso) interno.

COME SI RIPIEGA UNA PROTEINA



Da un punto di vista generale le proteine possono essere divise in due categorie:

- **FIBROSE:** hanno estese strutture filamentose secondarie lungo tutta la molecola e ciò conferisce loro una struttura molto ordinata e ripetitiva (la s. secondaria è molto più importante delle interazioni terziarie nel determinare la forma delle proteine fibrose) e un insieme di proprietà meccaniche utili alla proteina. Esempi ne sono le Fibroina della seta, la Cheratina dei capelli e della lana, come pure il Collagene presente nei tendini e nella pelle e l'Elastina presente nei legamenti e nei vasi sanguigni.
- **GLOBULARI:** sono la maggior parte delle proteine implicate nelle strutture cellulari. Sono chiamate con questo termine perché le loro catene polipeptidiche sono raggomitolate, dando luogo a strutture compatte. Possono essere spesso ripiegate localmente in regioni con strutture ad alfa elica o a foglietto beta, ma queste regioni sono esse stesse ripiegate una sull'altra per dare alla proteina la sua forma globulare. Sono costituite da un certo numero di segmenti chiamati domini: un'unità discreta, ripiegata localmente, di struttura terziaria che ha in genere una funzione specifica. Presenta in genere dai 50 ai 350 amminoacidi.



--- Esempio di cheratina che costituisce i capelli (tante strutture proteiche identiche)

--- Sostanze riducenti che favoriscono la formazione ponti solfuro per la permanente

STRUTTURA QUATERNARIA

È il livello di organizzazione che riguarda le interazioni tra subunità e il loro assemblaggio, si può osservare quindi solo nel caso delle proteine MULTIMERICHE (aggregazione di più polipeptidi).

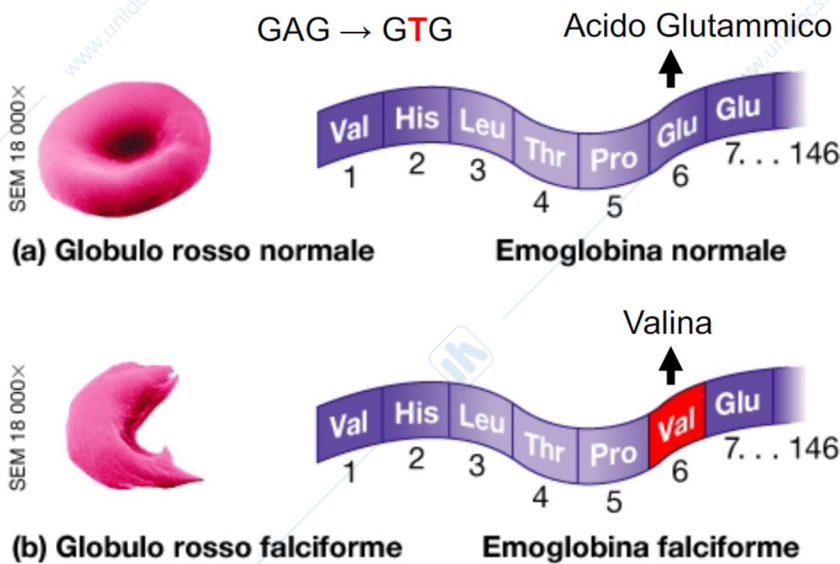
I legami e le forze che stabilizzano una struttura quaternaria sono gli stessi che sono responsabili della struttura terziaria. I legami disolfuro possono crearsi sia all'interno di una stessa catena polipeptidica o tra catene: quando si formano all'interno di un polipeptide essi stabilizzano la struttura terziaria, quando si formano tra polipeptidi stabilizzano quella quaternaria. Il processo di assemblaggio delle subunità è spesso spontaneo e sono necessari chaperon molecolari per assicurare il corretto svolgimento.

EMOGLOBINA: è una proteina multimerica, costituita da due catene alfa (alfa-globine) e da due catene beta (beta-globine) → quattro catene polipeptidiche uguali a due a due + gruppo EME. L'emoglobina consente il trasporto efficiente dell'ossigeno a tutte le cellule del corpo.

Esiste una patologia ereditaria legata al sangue: l'**ANEMIA FALCIFORME**.

È una malattia caratterizzata dall'alterazione/deformazione dei globuli rossi. A differenza della forma tipica a disco, assumono la forma di una "falce": per questo motivo i globuli rossi tendono a ostruire i vasi sanguigni ostacolando il flusso sanguigno e la disponibilità di ossigeno nei vari tessuti.

La forma del globulo rosso cambia perché al suo interno si accumula una proteina modificata: la catena beta dell'emoglobina risulta alterata, in quanto è stata sostituita una **VALINA** ad un **ACIDO GLUTAMMICO** (mutazione puntiforme). È dunque evidente che è sufficiente avere una singola mutazione su un singolo nucleotide nel gene dell'emoglobina per rivoluzionare l'intera proteina.



L'acido glutammico è **IDROFILICO** e **POLARE** (carico negativamente), ed esso viene sostituito da una **valina** che è **IDROFOBICA** e **NON POLARE**. → Risultato = Questa sostituzione determina una non corretta acquisizione della struttura quaternaria e terziaria proprio perché la presenza della valina determina una modifica della capacità dell'emoglobina di rimanere in soluzione: l'acido glutammico sta "a suo agio" nell'acqua, mentre la valina no... l'emoglobina risulta **MENO SOLUBILE IN ACQUA**, specie in

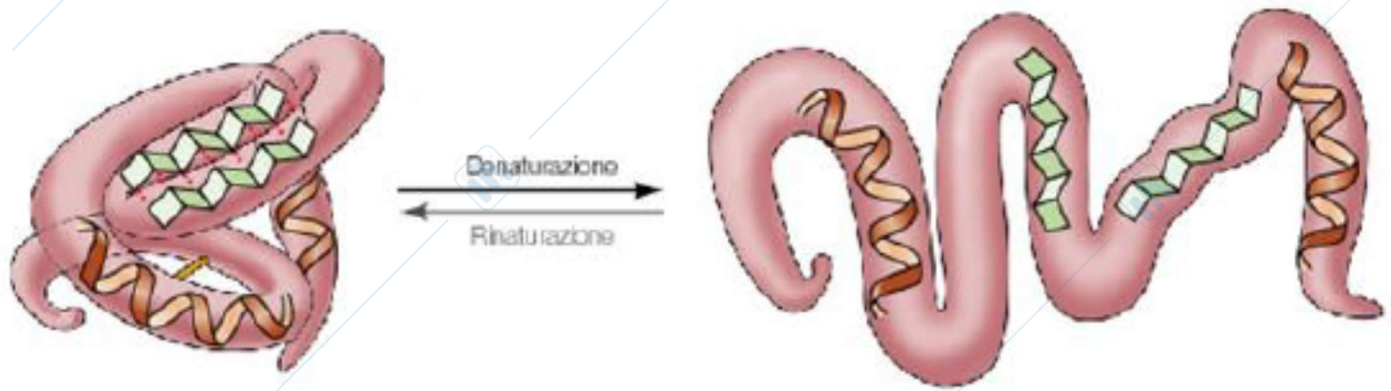
condizioni acide. L'emoglobina tende quindi a cristallizzarsi e precipita in cristalli, specie quando il pH del sangue diventa più acido (ad esempio quando si fa esercizio fisico), formando degli aggregati tossici nella cellula che andranno poi a modificarne la forma (+ non trasporta abbastanza ossigeno e porta alla morte dei globuli rossi → anemia).

DENATURAZIONE E RINATURAZIONE

Le proteine hanno una loro struttura nello spazio, acquisita nel momento stesso in cui vengono sintetizzate nel ribosoma. Viene mantenuta nel tempo, ma può perdere la sua struttura tridimensionale tramite il processo di **DENATURAZIONE**: normalmente non avviene in modo spontaneo e soprattutto in una cellula sana, ma solo quando sono presenti agenti denaturanti (come la soda) o quando c'è una variazione di temperatura. Le importanti interazioni come i legami idrogeno o le interazioni elettrostatiche vengono perse insieme alla struttura 3D, mentre si mantengono le strutture secondarie (quelle terziarie vengono perse più facilmente).

Il processo di denaturazione in alcuni casi può essere reversibile e prende il nome di **RINATURAZIONE**: solo alcune proteine e solo quelle piccole e monomeriche sono in grado di ritornare al processo inverso per riacquisire la propria struttura. Per esempio, cuocendo della carne in una padella, tramite il calore le proteine contenute nel muscolo vengono denaturate. Quando la carne si raffredda non è però più possibile che si ricostruiscano i legami.

Denaturazione e rinaturazione



La proteina può perdere la propria struttura attraverso un processo di denaturazione (distruzione della struttura secondaria e terziaria con conseguente perdita dell'attività biologica), che avviene quando aggiungiamo agenti denaturanti o aumentiamo la temperatura (normalmente, durante la vita della proteina, la denaturazione non avviene).

Talvolta, una proteina può riassumere la struttura terziaria con il ripristino dell'attività biologica (processo di rinaturazione), tuttavia la denaturazione è un processo spesso irreversibile.

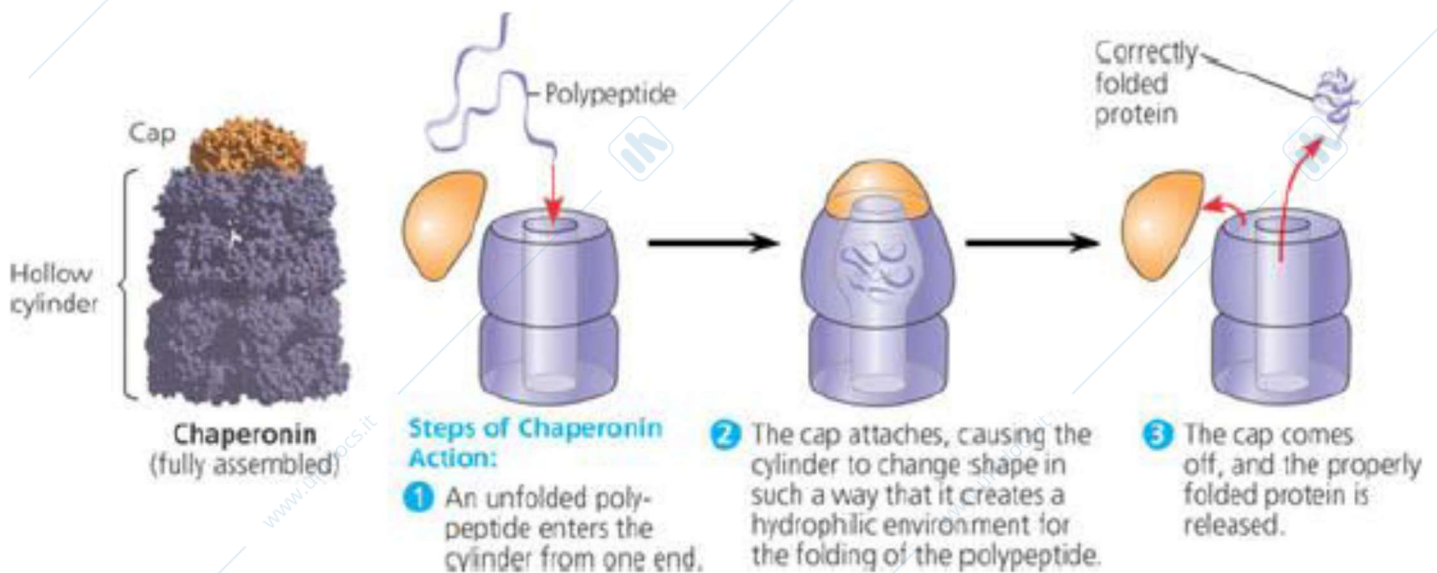
Folding e misfolding

Chaperoni molecolari

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 procariotiche sia 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 "srotolano" e consentono loro un'altra chance; se il folding rimane scorretto, la proteina neosintetizzata viene inviata alla degradazione
- le chaperon protein consentono una sorta "controllo di qualità"

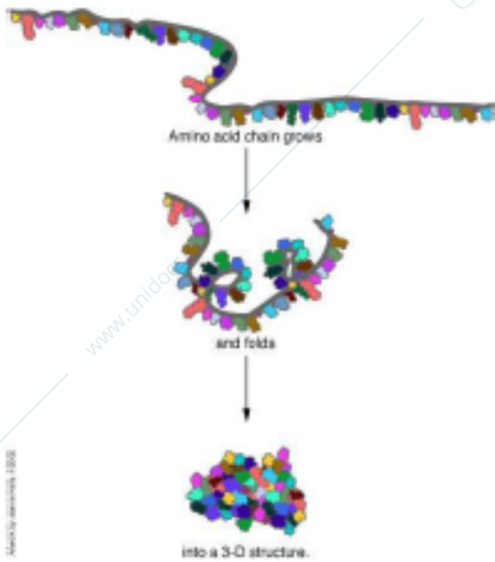
Una chaperonina di *e. coli* in azione:



Prioni e "mucca pazza"

Ogni proteina ha una sua "vita media" caratteristica all'interno della cellula, dopodiché viene degradata. Se una proteina è "troppo stabile", succede che si accumula: la sintesi continua ma la degradazione no. Ci sono molte patologie legate a questo errore, la più nota riguarda i prioni ("mucca pazza").

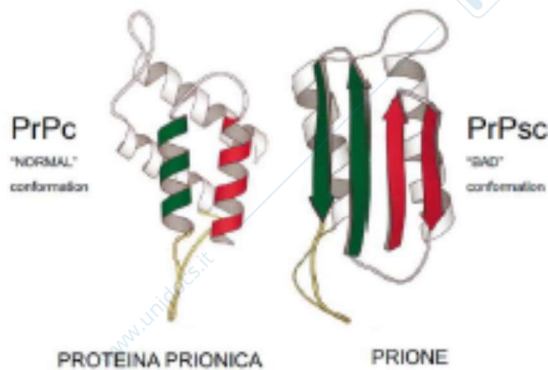
Il folding come lo conosciamo:



Il folding della proteina prionica:



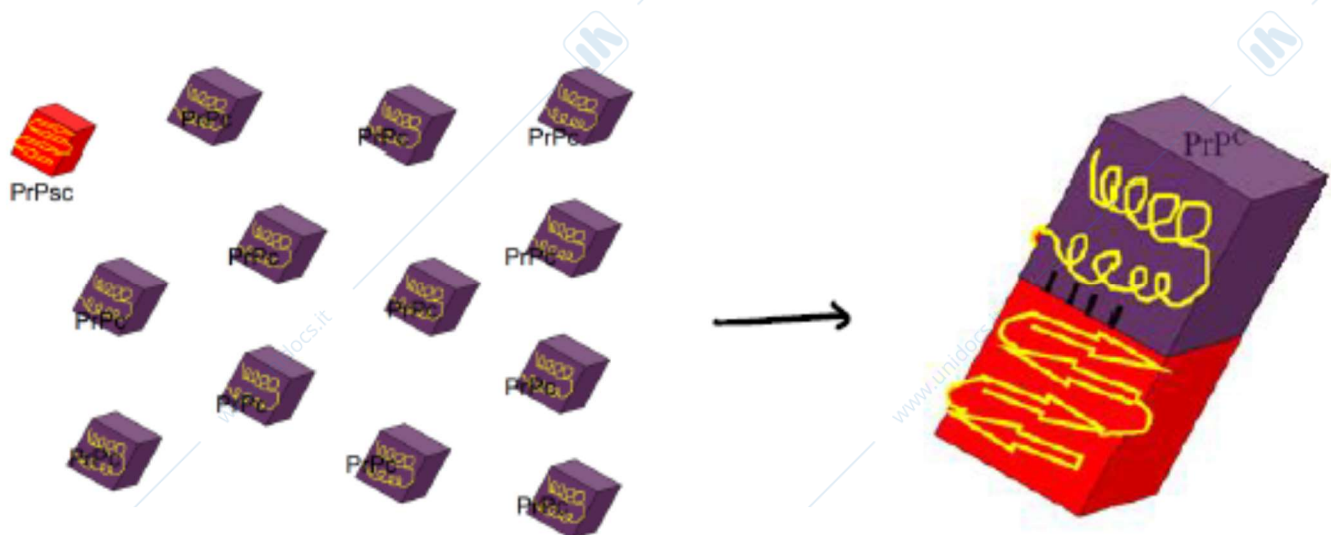
La proteina prionica può assumere due strutture terziarie diverse:



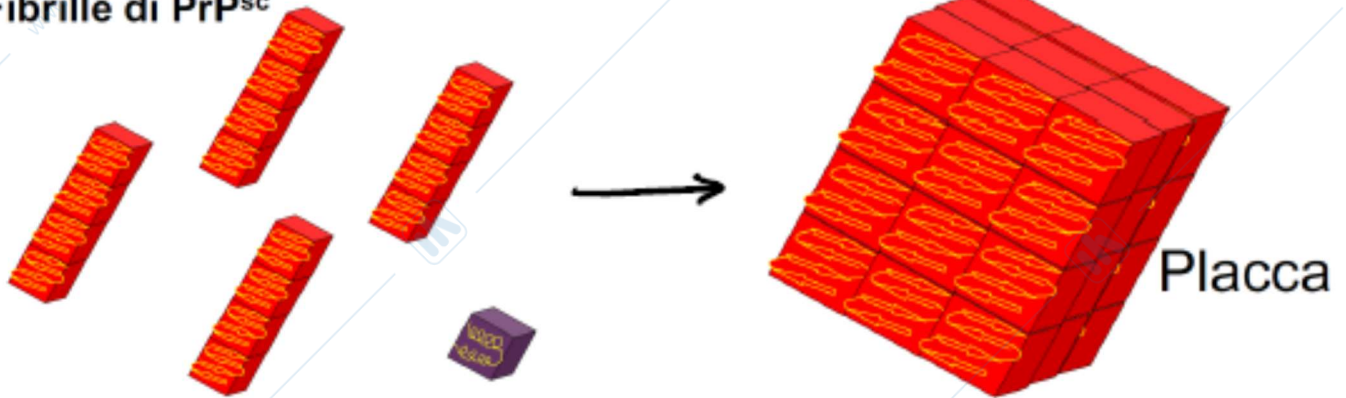
La proteina con la conformazione errata è "troppo stabile": si accumula e non viene più degradata, permanendo nel cervello e portando anche alla morte dell'organismo (non esiste cura).

La proteina normale può essere indotta a cambiare la sua conformazione nel momento in cui viene a contatto con un'altra proteina prionica (non un virus o un batterio, caso rarissimo!) che ha assunto una "bad conformation". È sufficiente anche solo una quantità estremamente limitata affinché ciò accada.

[All'interno delle nostre cellule, il DNA è l'unica molecola che deve permanere costante nel tempo (addirittura i ribosomi, nonostante durino parecchio, hanno un'emivita)].



Fibrille di PrP^{sc}



La proteina prionica PrP(C) è una proteina codificata dal prion protein gene PRNP, sul chr20.

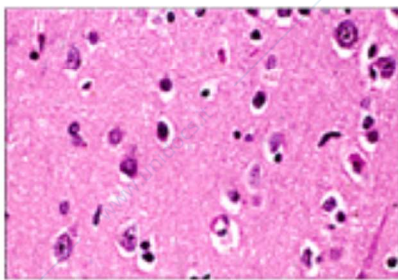
Tutte le malattie prioniche sono causate dall'accumulo della medesima proteina in conformazione bad (prione, Proteinaceous Infective Only Particles).

Altri mammiferi quali pecora, mucca e renna posseggono la medesima proteina. Per questo l'infezione con prione può passare da una specie all'altra.

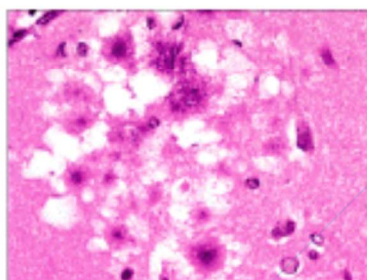
Il gene della proteina prionica può andare incontro ad una mutazione (alterazione della sequenza primaria della proteina) che può avere l'effetto di aumentare la probabilità che la proteina prionica normale assuma, da sola, la bad conformation.

Conseguenze della malattia da prioni nell'uomo

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



Normal human cerebral cortex showing no significant pathological changes



nvCJD cerebral cortex showing the "florid" plaques that consist of vacuoles (spongiform degeneration) containing amyloid plaques

All'inizio:

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

Al progredire della malattia:

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

Infezione nell'uomo

Le malattie da prioni possono essere infettive (strumenti chirurgici, iniezioni con ormone della crescita, assunzione di carne di mucche affette da malattia prionica), sporadiche o ereditarie.

FOLDING E MISFOLDING

Folding, processo per cui quella proteina assume la struttura più stabile la quale le permette di permanere per lungo tempo nelle cellule.

Una proteina ha in generale una vita media. Se la vita media si dilunga, ovvero è troppo stabile, si ACCUMULA. Ci sono molte patologie legate all'accumulo di proteine. La principale è la malattia da prioni.

Proteina prionica che tutti noi abbiamo, espressa a livello del cervello, ha funzioni a livello della sinapsi (contatto tra neuroni). Assume una struttura primaria nello spazio PrPc. Ha una sua emivita, ovvero dura per un lasso di tempo corretto.

Può assumere una struttura terziaria diversa da quella normale, la struttura prionica. La stessa sequenza di aa può assumere una conformazione normale con 4 alfa eliche, o una cattiva conformazione con 2 alfa eliche e 4 foglietti beta. Per motivazioni differenti, la proteina normale modifica la propria struttura e assume quella cattiva. La principale differenza è la perdita della funzione, ma soprattutto quella nuova diventa iperstabile, accumulandosi nel cervello e portando alla morte.

Lo fa se viene a contatto con una proteina che ha già per qualche motivo la conformazione cattiva (contatto con una quantità anche bassa di una proteina vista come agente infettivo). Questa proteina è talmente stabile che se noi ingeriamo della carne infetta da prioni per sviluppare la patologia (non viene digerita, resiste ad alte temperature e all'acidità dell'ambiente digestivo).

Encefalopatie spongiformi...

Quella + importante

Origine di tre tipi:

- Mediante infezione
- Il gene della proteina può andare in contro, anche se raramente, ad una mutazione nella sequenza. Una mutazione acquisita dal nuovo individuo in questa proteina può avere l'effetto di aumentare la prob, che la proteina in conformazione buona DA SOLA assuma la conformazione cattiva. All'inizio ci deve essere sempre una causa genetica
- Ereditaria, mutazione rarissima con cui un individuo nasce: le persone stanno bene perché la proteina ha la giusta conformazione, ma le possibilità che si crei una proteina con conformazione cattiva è molto alta (ne basta una per far avvenire una valanga di infezioni)

Patologia è stata scoperta da stanley che fu il primo a definire un prione

Proteinaceous infective only particles

Per osservare quanto una proteina permane in una cellula:

- Blocco la sintesi delle proteine, si utilizzano reazioni anticorpali / anticorpi colorati che permettono di valutare la presenza della proteina X (identificabile con metodi coloriscenti-fluoriscenti), si osserva l'emivita della proteina
- Marcatura metabolica (aa radioattivo alle cellule)

Il DNA è l'unica molecola che vogliamo che rimanga costante nel tempo, con emivita lunga