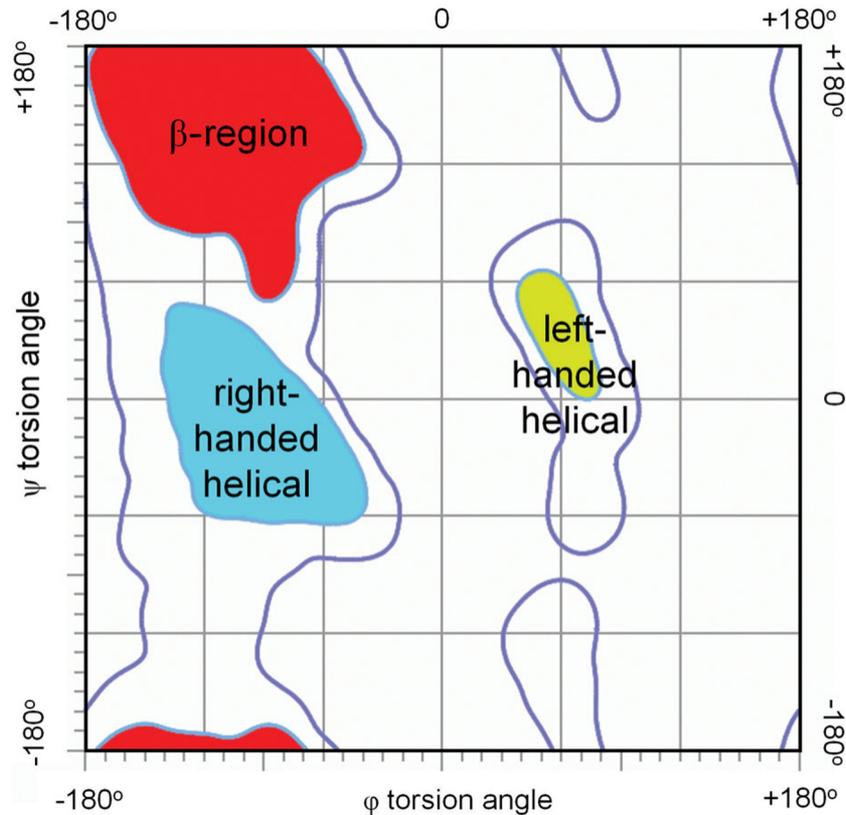


Il grafico di Ramachandran

Ipoteticamente tutti i valori tra -180° e $+180^\circ$ di ψ e ϕ sono accessibili.

In realtà solo alcuni angoli sono possibili senza incorrere in orientazioni proibite stericamente, che implicherebbero collisioni tra atomi.



Classificazione delle strutture proteiche

1. Basata sulla Conformazione

(livello di struttura interessato)

Fibrose primario, secondario, terziario

Globulari primario, secondario, terziario, quaternario

2. Basata sulla Funzione

(suddivisione a volte artificiosa, perché alcune proteine hanno contemporaneamente funzioni biologiche diverse e per molte di esse non è ancora nota la funzione biologica principale)

Catalisi

Gli enzimi agiscono da catalizzatori biologici rendendo veloci e specifiche reazioni che in loro assenza si verificherebbero in tempi estremamente lunghi

Struttura

Proteine che conferiscono elasticità a pelle, ossa e tendini

Proteine che costituiscono cartilagine, capelli, unghie

Proteine che, associandosi al DNA, lo aiutano a piegarsi e ad organizzarsi nei cromosomi

Movimento

Proteine che permettono la contrazione ed il rilascio dei muscoli

Proteine che determinano il movimento dei globuli rossi nei vasi o degli spermatozoi nel liquido seminale

Trasporto

Trasferimento di molecole e ioni da un organo all'altro

Es.: trasporto di O₂ e CO₂ da parte dell'emoglobina, trasporto dei trigliceridi nel torrente circolatorio da parte delle lipoproteine

Riserva

Trattenere alcune molecole e ioni come scorta da utilizzare nei momenti di necessità

Es.: la ferritina trattiene gli ioni ferroso nel fegato, milza e midollo osseo per rilasciarli quando l'organismo necessita di questi ioni per sintesi specifiche

Protezione

Gli anticorpi: patrimonio di proteine specifico per ogni organismo che ha lo scopo di proteggerlo da molecole estranee (antigeni) che possono danneggiarlo

Controllo

Numerose proteine controllano in maniera estremamente accurata il processo di trasmissione dell'informazione genetica da un organismo alla sua discendenza

Tamponi

I gruppi acidi e basici delle proteine neutralizzano le basi e gli acidi presenti nell'ambiente biologico, funzionando in tale modo da tamponi.

Es.: nel sangue le proteine fanno sì che il pH mantenga un valore costante di 7,35.

Accettori, conduttori e trasformatori di energia

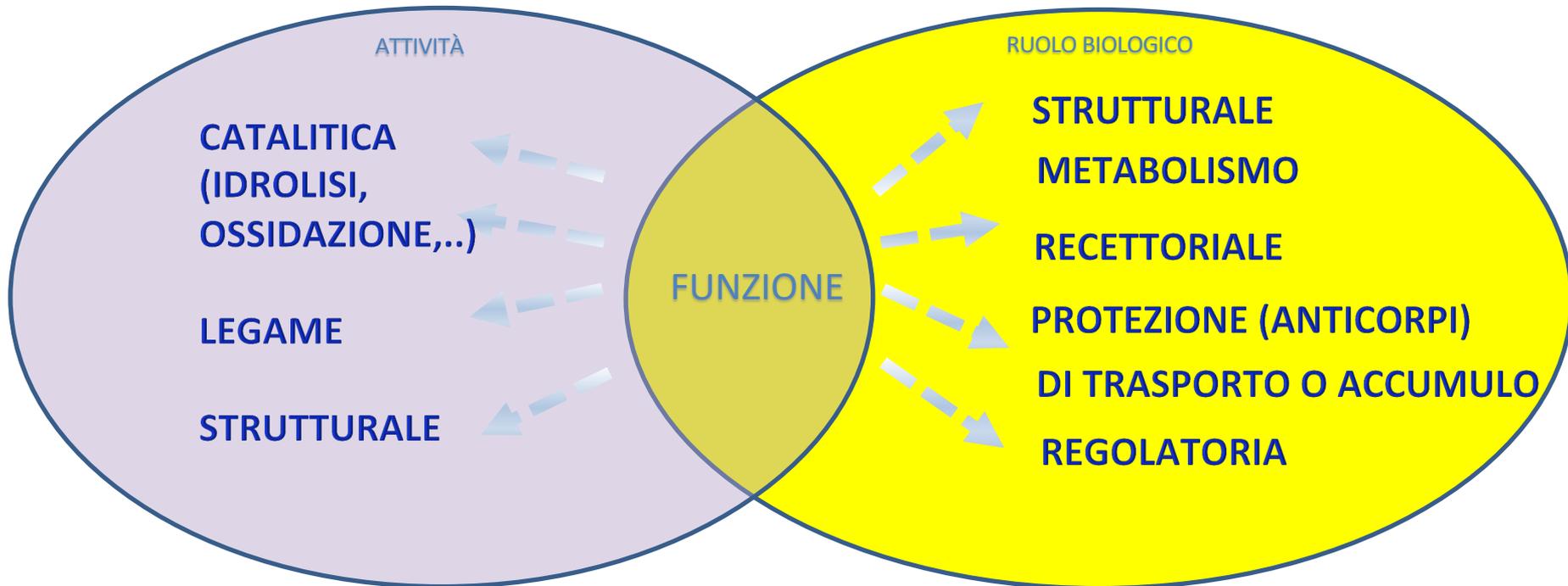
Attività complesse e estremamente diversificate che hanno lo scopo di rendere disponibile alle cellule l'energia in forma utilizzabile.

Es.: una proteina associata alla vitamina A trasforma l'energia luminosa che colpisce la retina in impulso elettrico da trasferire al cervello

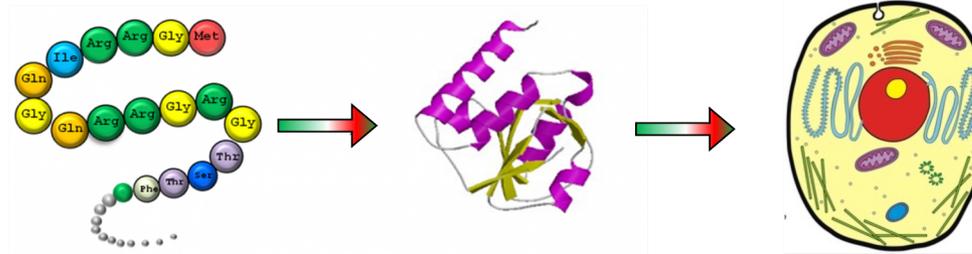
STRUTTURA



FUNZIONE



Le proteine sono coinvolte in qualsiasi processo biologico!



Paradigma della biologia molecolare e strutturale

STRUTTURA



FUNZIONE

SEQUENZA



STRUTTURA



FUNZIONE

«La struttura determina la funzione di una macromolecola proteica»

Concetto RIVISITATO, RIVOLUZIONATO ed AMPLIATO

Le strutture secondarie:

1. α - elica
2. β - sheet (foglietto beta)
3. β – turn

Le strutture secondarie

Le strutture secondarie sono disposizioni regolari della catena polipeptidica principale, che vengono classificate senza fare riferimento al tipo di aminoacidi.

Esse sono stabilizzate da **legami idrogeno** fra il gruppo aminico e il gruppo carbonilico della catena principale.

La regolarità della conformazione risulta dalla regolarità della struttura atomica della catena polipeptidica, ed è evidenziata dai valori degli **angoli diedri (ϕ, ψ) di ciascun aminoacido, che si ripetono quasi costantemente all'interno di ogni elemento di struttura secondaria.**

Si distinguono fondamentalmente **tre tipi di strutture secondarie**:

α elica

foglietto β

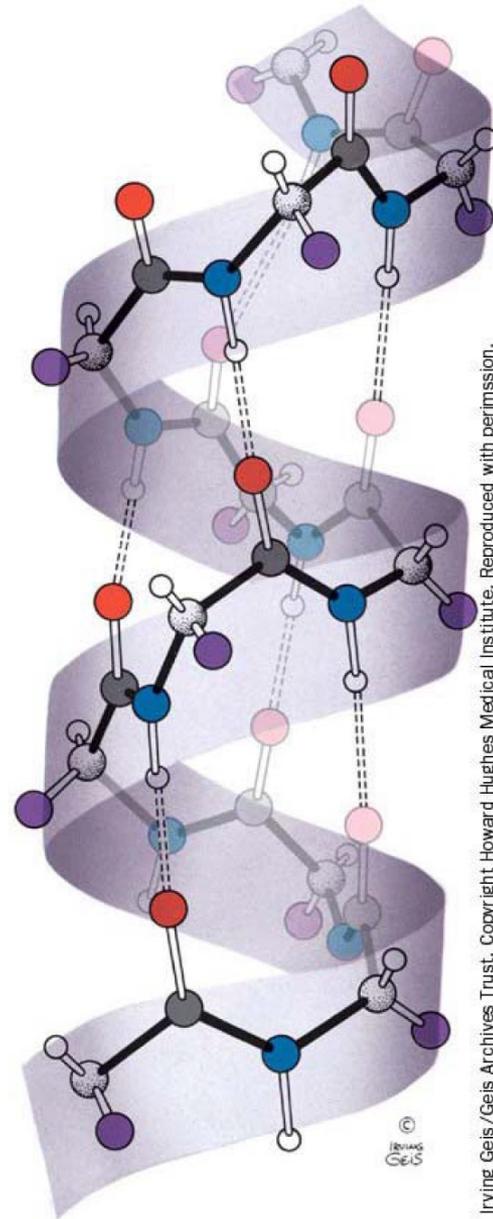
reverse o β turn

Circa il 70-80 % degli aminoacidi delle proteine globulari assume la conformazione regolare tipica di uno dei tre tipi di struttura secondaria.

I segmenti di catena polipeptidica che non sono in α elica, foglietto β o turn, assumono la conformazione chiamata **loop o '**random coil**', struttura non ripetitiva né regolare, spesso priva di legami idrogeno tra gli aminoacidi che la compongono.**

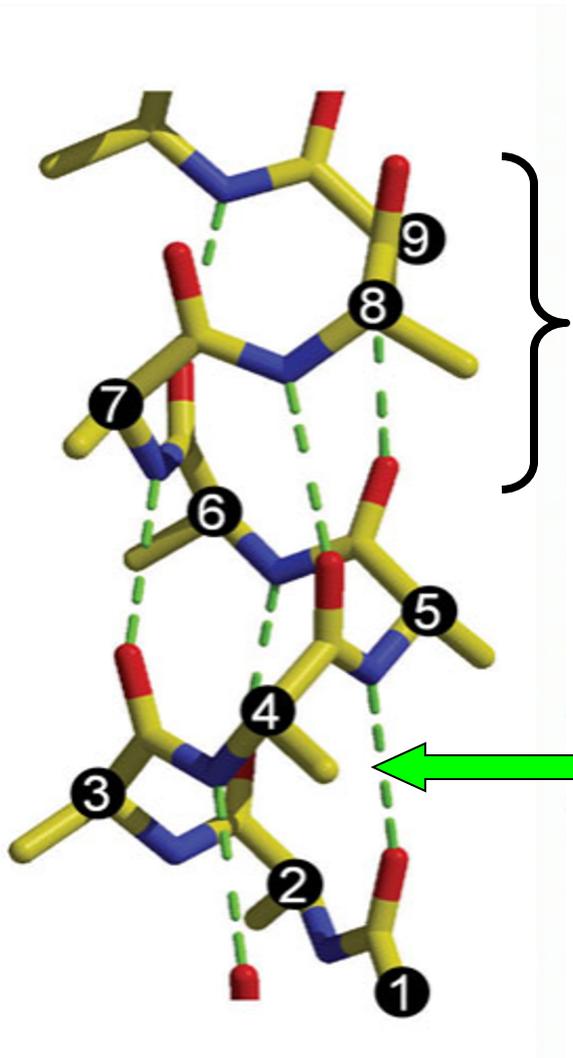
α -elica

Le catene laterali degli aminoacidi che appartengono ad un' α - elica destrorsa sono rivolte verso l'esterno e verso l'estremità N-terminale dell'elica. In questo modo si evitano interferenze steriche con la catena polipeptidica principale e tra le catene laterali stesse. Un' α - elica sinistrorsa si trova molto raramente nelle proteine (solo brevi tratti di 3-5 aminoacidi) perché le catene laterali tendono ad interferire stericamente con la catena principale.



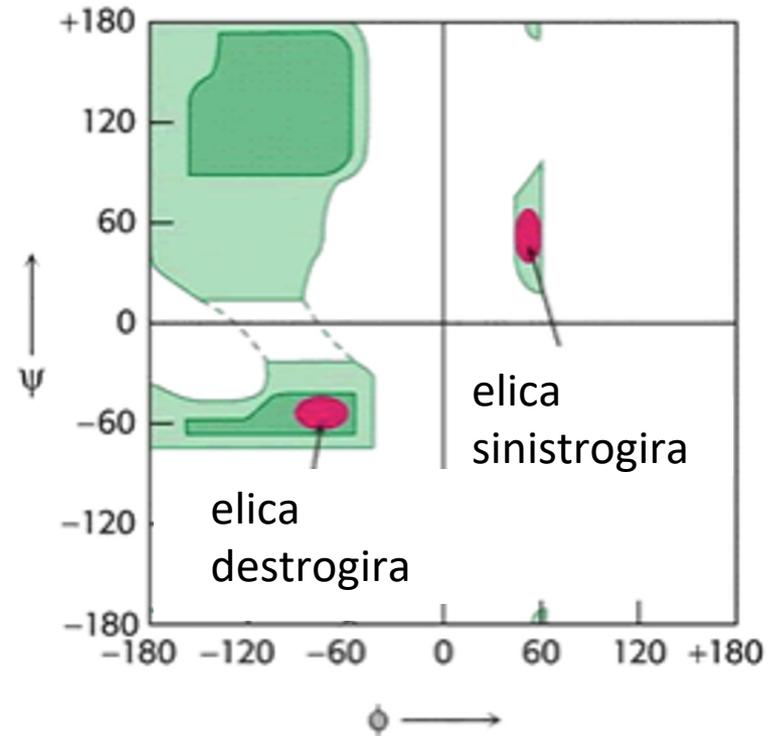
Irving Geis/Geis Archives Trust. Copyright Howard Hughes Medical Institute. Reproduced with permission.

Le strutture secondarie: alfa-elica



passo dell'elica
5.4 Å (=0.54 nm)
con
3.6 aminoacidi

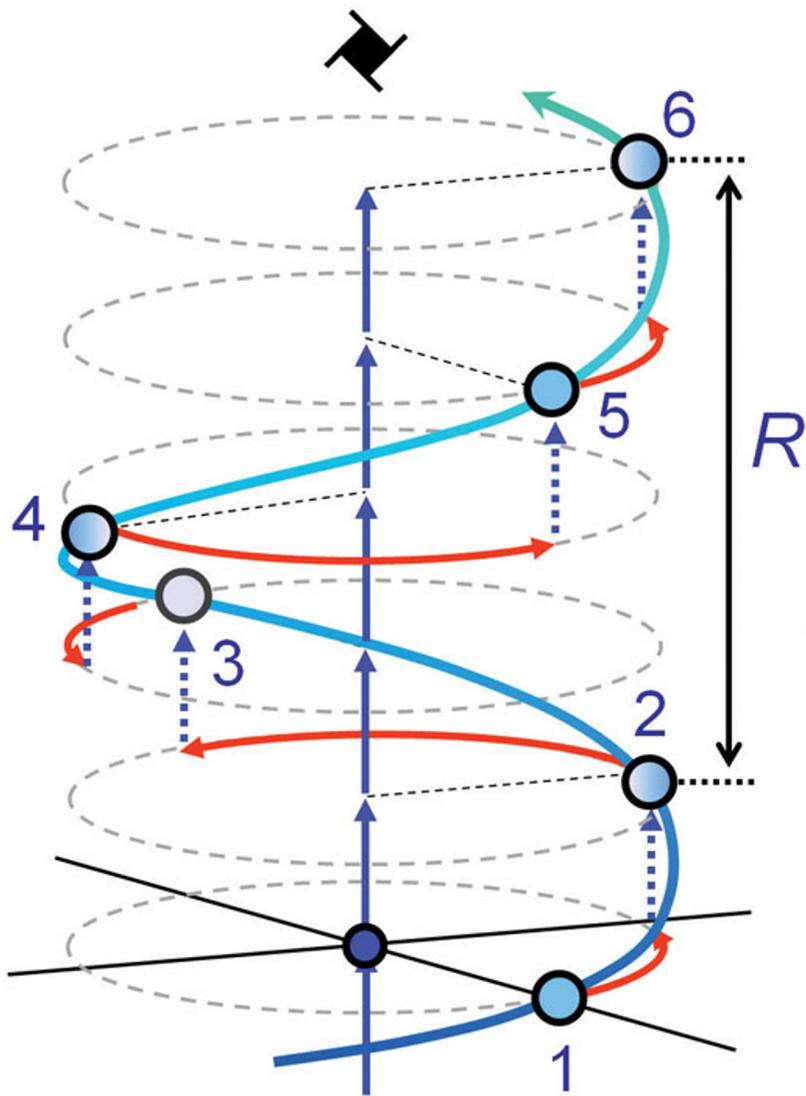
legami idrogeno intramolecolari
coinvolgono CO ed NH della catena
polipeptidica



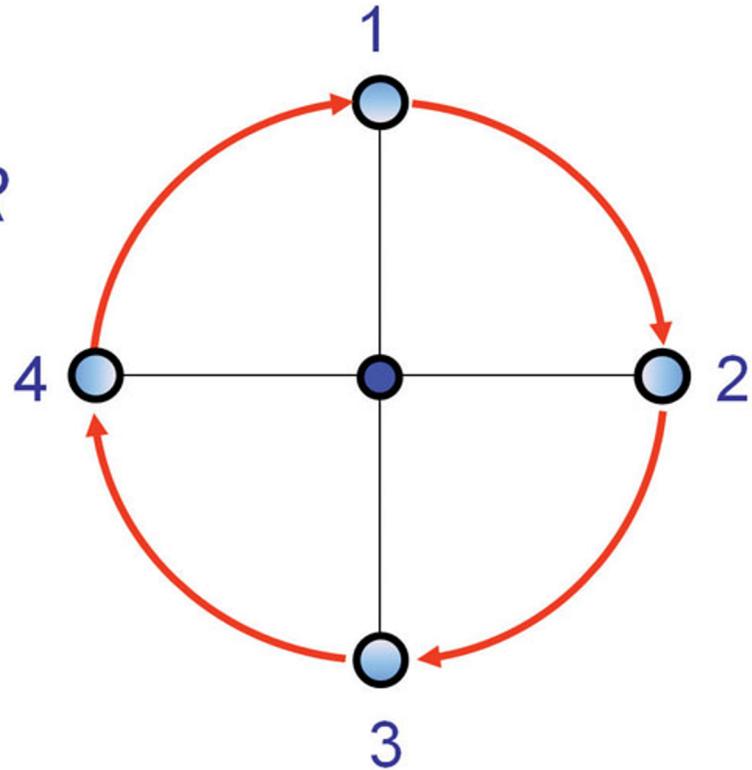
α -eliche

Φ between -40° and $\sim -120^\circ$

Ψ between -40° and -65°



La maggior parte delle alfa-eliche è destrogira, raramente sinistrogira.



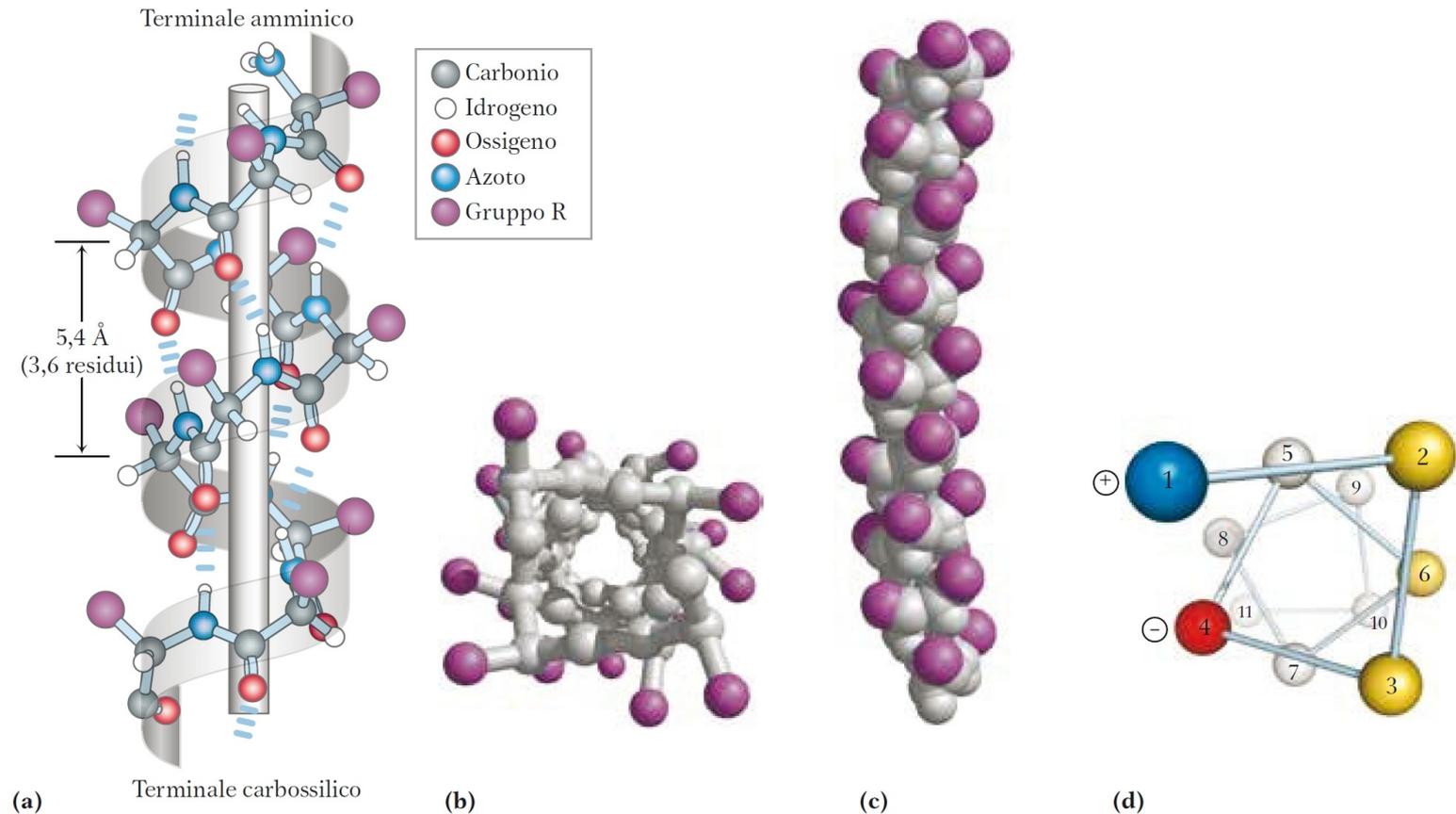


Figura 4.4 Quattro modelli dell' α elica, che mostrano aspetti diversi della struttura. (a) Modello a palle e bastoncini, che mette in evidenza i legami idrogeno intracatena. L'unità ripetitiva è un giro completo dell'elica contenente 3,6 residui. (b) L' α elica vista dall'alto, lungo l'asse longitudinale della struttura. Si notino le posizioni dei gruppi R, rappresentati da sfere viola. Questo modello a palle e bastoncini mette bene in luce la successione elicoidale degli atomi dello scheletro polipeptidico, ma dà la falsa impressione dell'esistenza di un foro centrale, in quanto le sfere non hanno dimensioni in scala con i raggi di van der Waals dei singoli atomi. (c) Il modello a spazio pieno,

che mostra gli atomi al centro dell' α elica in stretto contatto tra loro. (d) Proiezione a ruota dell' α elica. Il modello può utilizzare colori che rappresentano caratteristiche particolari. In questo caso i residui gialli potrebbero corrispondere a residui idrofobici in grado di interagire con altri residui idrofobici appartenenti a una porzione dello stesso polipeptide o di un polipeptide diverso. I residui in rosso (negativi) e in blu (positivi) illustrano la potenziale interazione tra due gruppi carichi positivamente e negativamente, distanziati di due residui nell'elica. [Fonte: (b, c) Tratte da PDB ID 4TNC, K. A. Satyshur et al., *J. Biol. Chem.* 263:1628, 1988.]

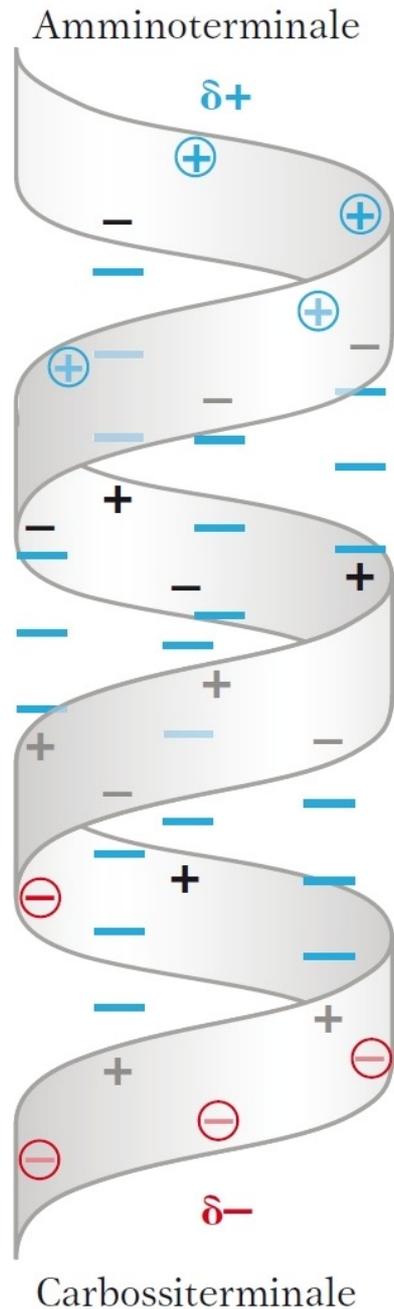
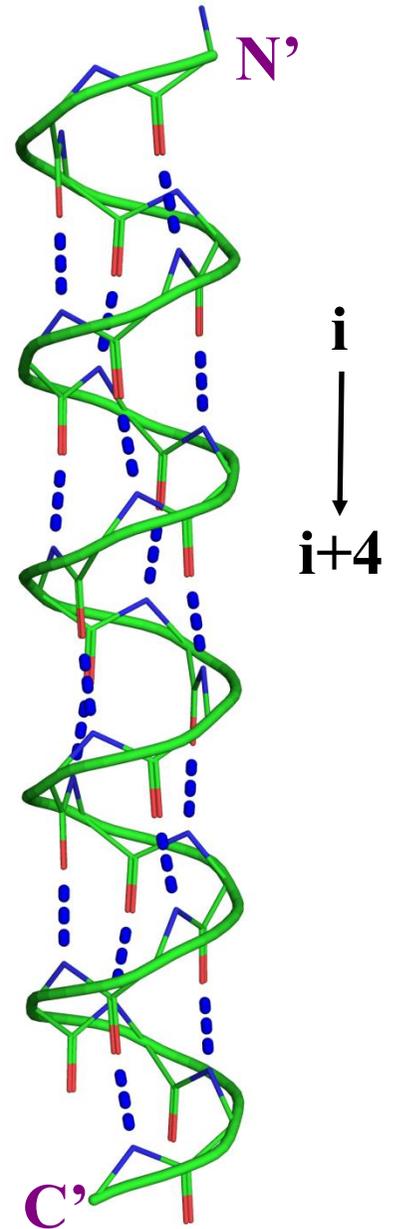
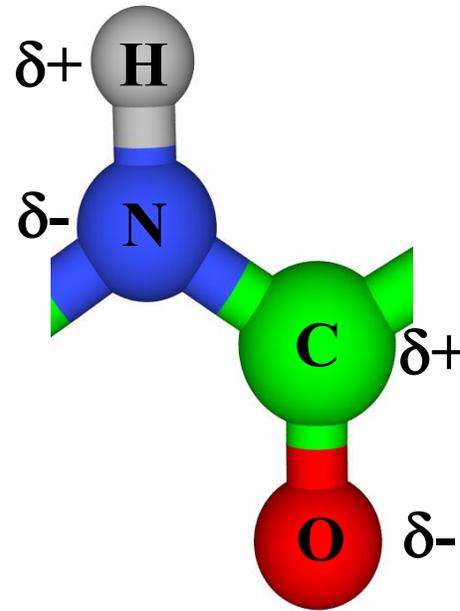
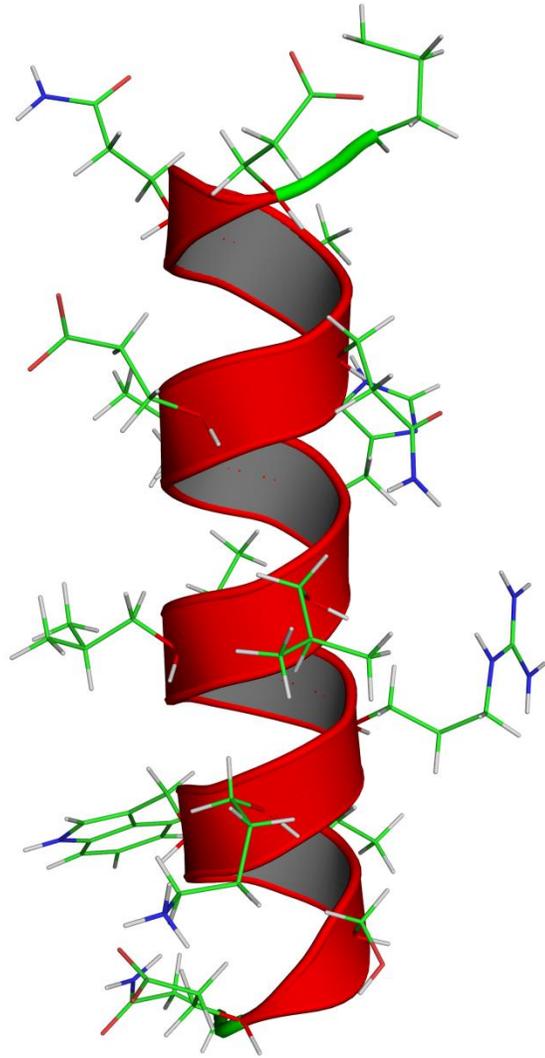


Figura 4.5 Il dipolo dell'elica. Il dipolo elettrico di un legame peptidico (vedi la Figura 4.2a) viene trasmesso lungo un segmento ad α elica mediante i legami idrogeno intracatena, generando un dipolo complessivo dell'elica. In questa illustrazione i costituenti amminici e carbonilici di ogni legame peptidico sono rispettivamente indicati con i simboli + e -. I costituenti amminici e carbonilici non impegnati in legami idrogeno presenti alle estremità dell'elica sono cerchiati e colorati.

L' α -elica destrorsa

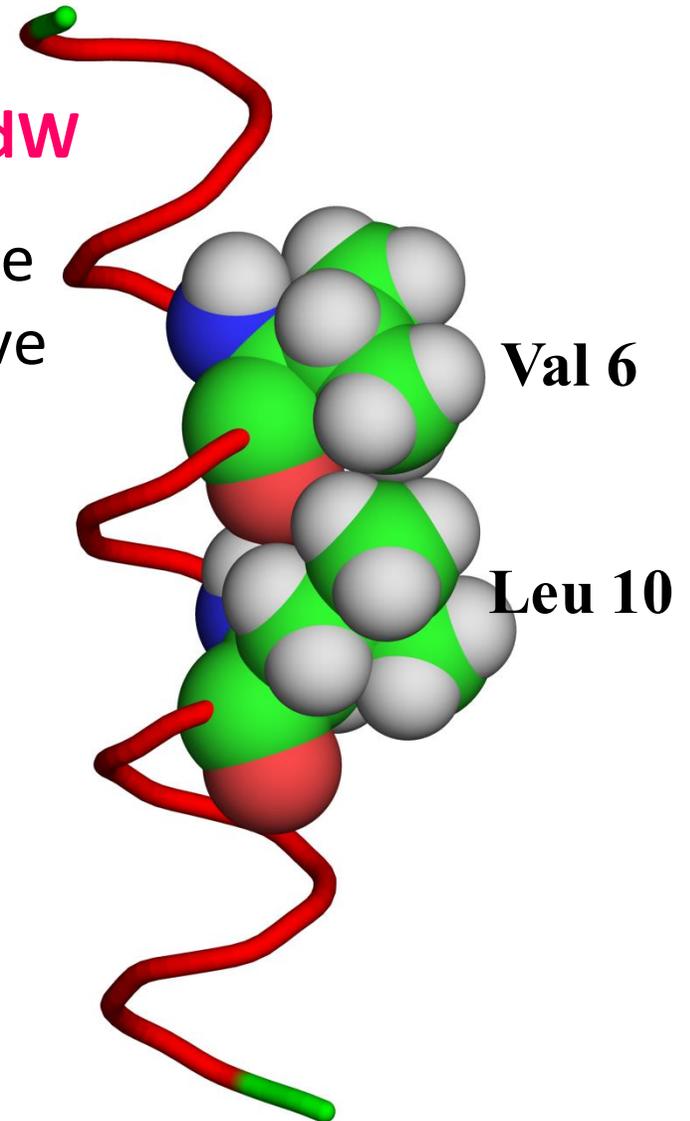
- Forma generale ed organizzazione



L' α -elica destrorsa

Stabilizzazione guidata da:

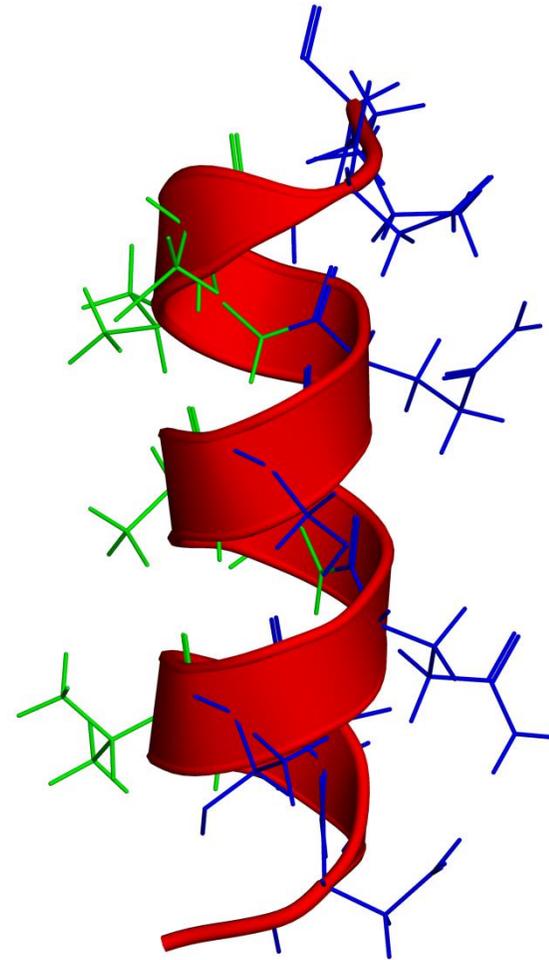
- Soprattutto interazioni **non polari & vdW**
- Legami idrogeno nella catena principale (mentre molto deboli /poco significative nel caso delle catene laterali)



L' α -elica destrorsa

Eliche anfipatiche:

- Residui polari e non polari alternati si affacciano su lati opposti dell'elica
- Ciò si ottiene con una distribuzione di aa che si ripetono eguali o della medesima natura ogni 3 o 4 residui

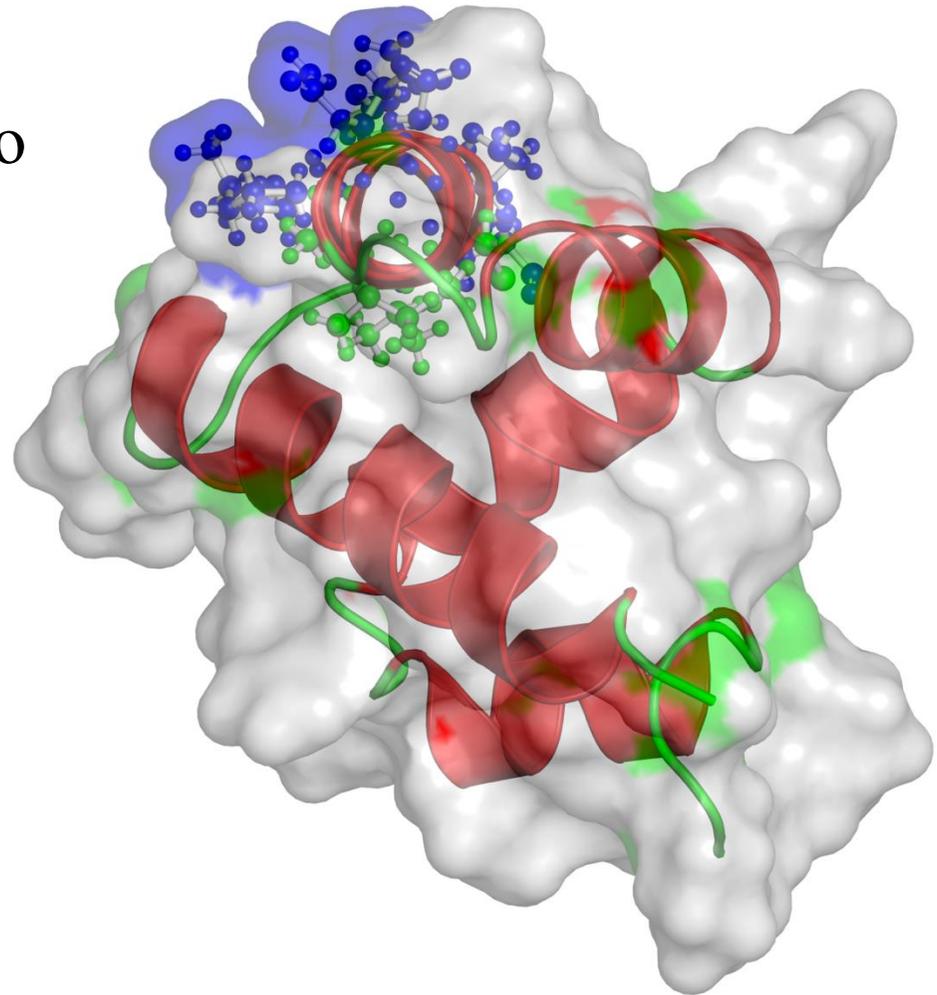


D₁-T₂-V₃-T₄-Q₅-A₆-A₇-S₈-Q₉-V₁₀-C₁₁-D₁₂-K₁₃

L' α -elica destrorsa

Eliche anfipatiche:

- Tendono a collocarsi esponendo il lato idrofilico /polare verso la superficie mentre.....



propensità degli aa a formare α -eliche

- **Proprietà (at least one):**

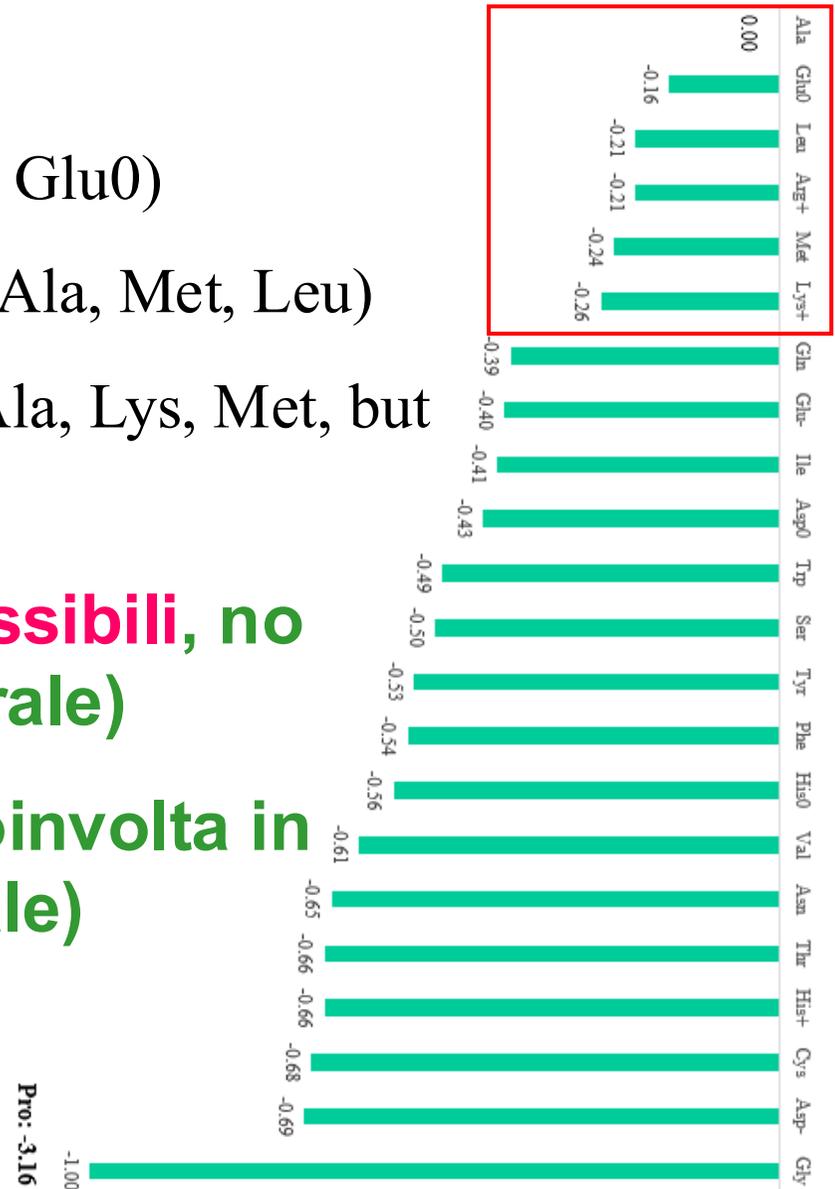
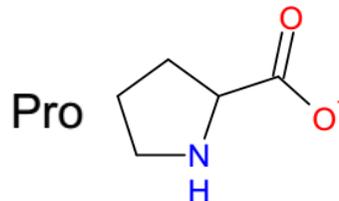
1. **Dimensioni medio-piccole** (Ala, Glu0)

2. **Non polari/debolmente polari** (Ala, Met, Leu)

3. **Piccolo svantaggio entropico** (Ala, Lys, Met, but rarely branched amino acids)

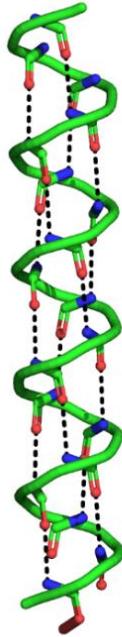
- **Gly** – raramente (troppo **flessibili**, no interazioni della catena laterale)

- **Pro** – rarissima (**kink**, non coinvolta in H-bonds via catena principale)

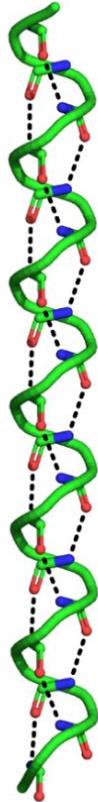


Other types of helices

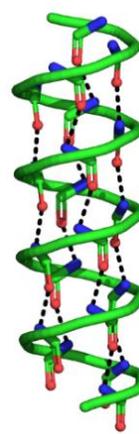
α



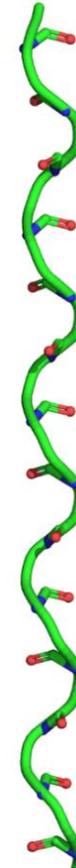
3_{10}



π



PPII



H-bonds: $i \rightarrow i+4$

$i \rightarrow i+3$

$i \rightarrow i+5$

-

Res/turn: 3.6

3.0

4.4

3.0

Radius (Å): 2.5

1.9

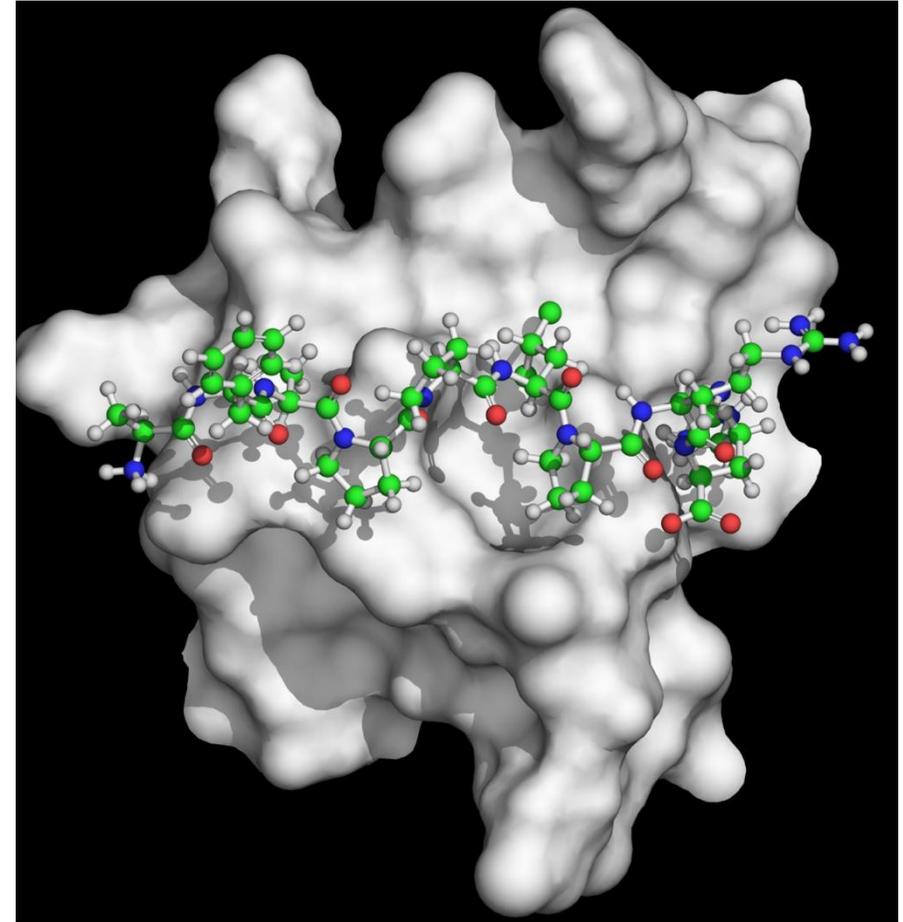
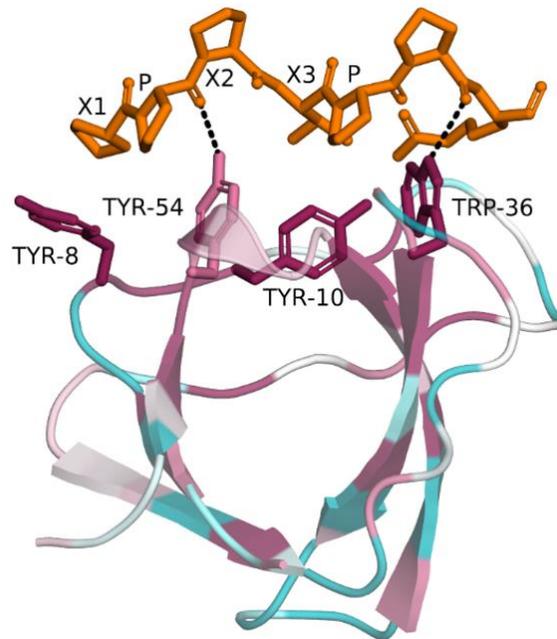
2.8

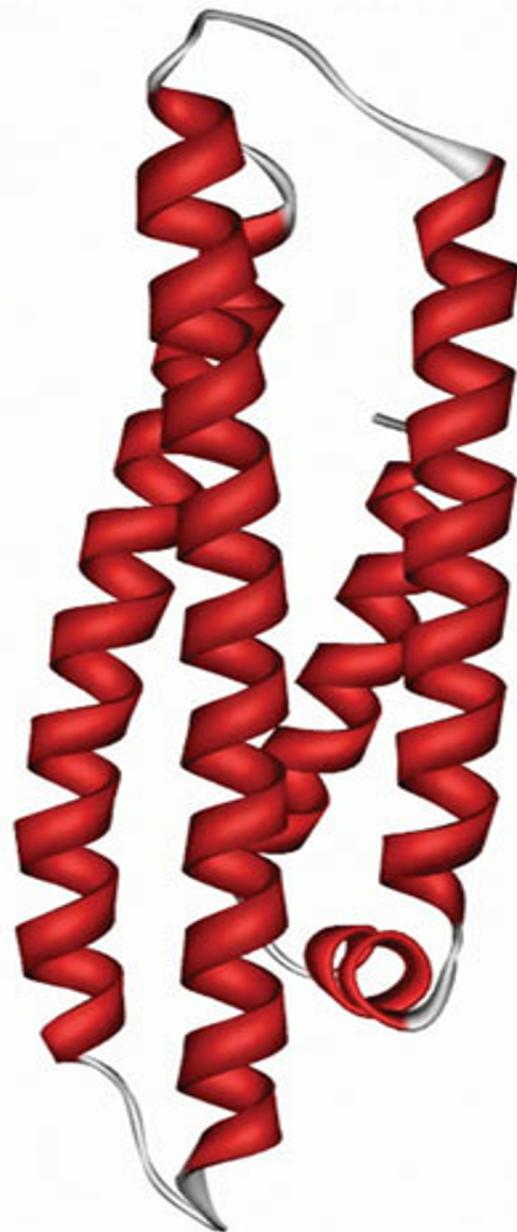
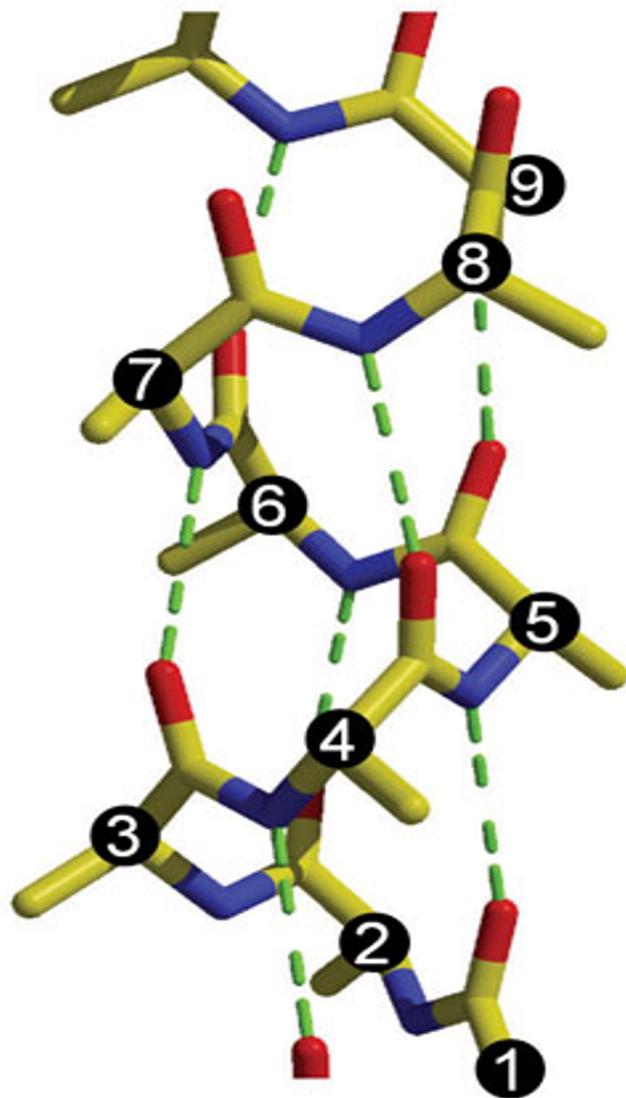
1.4

Altre tipologie di eliche

Eliche PPII

- **domini SH3** – si trovano in protein che hanno ruoli di segnalazione e riconoscono eliche PPII nelle protein partner che vanno a legare





Le strutture secondarie

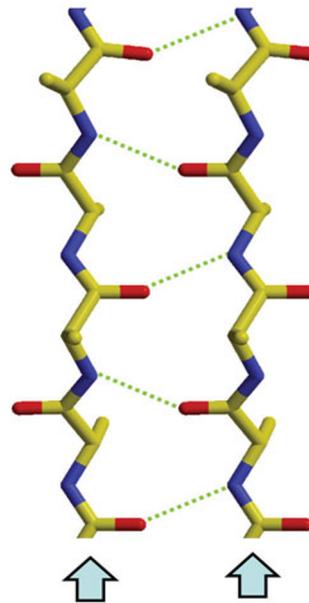
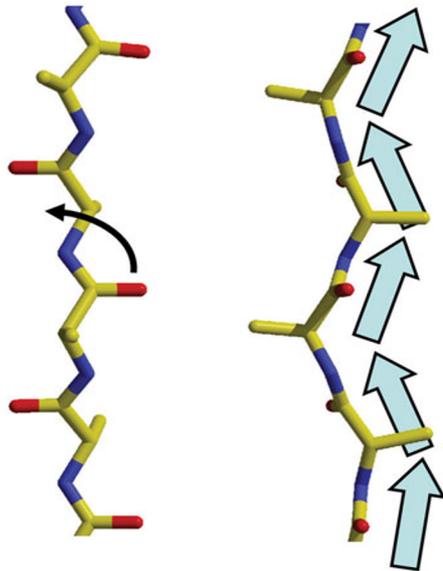
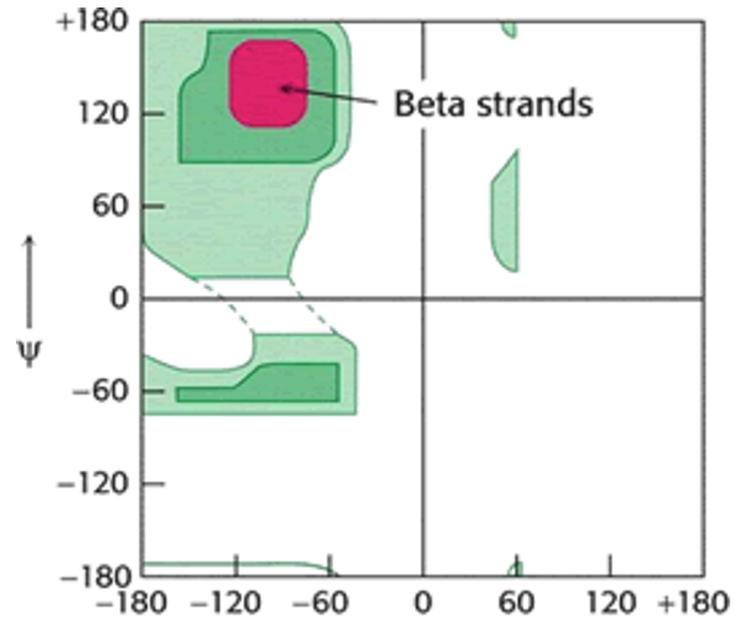
- Foglietti β

Φ between -80° and -120°

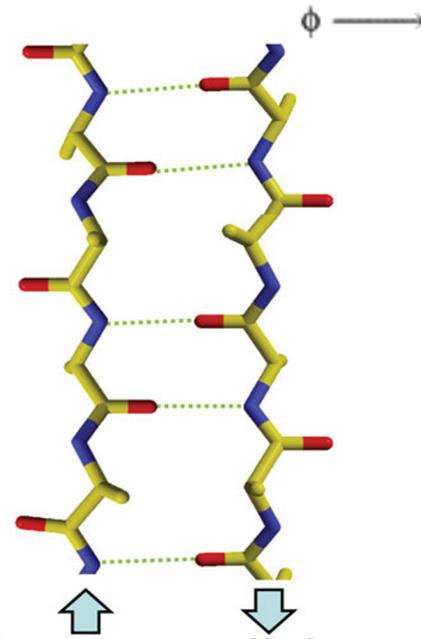
Ψ between 120° and 170°

- Foglietti β **paralleli** ed **antiparalleli**

- Le conformazioni beta organizzano le catene polipeptidiche in “foglietti”



β paralleli

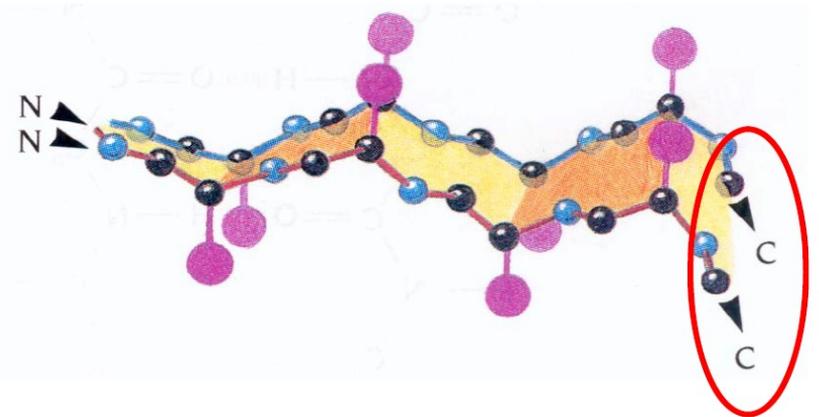
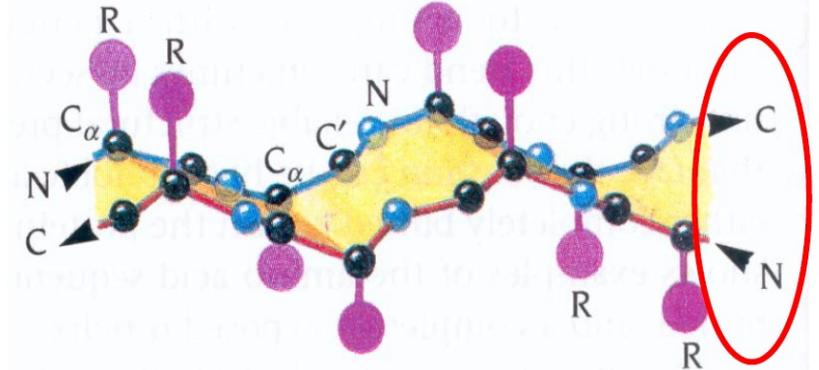


β antiparalleli

I filamenti β possono interagire fra loro a formare i foglietti β in due modi diversi:

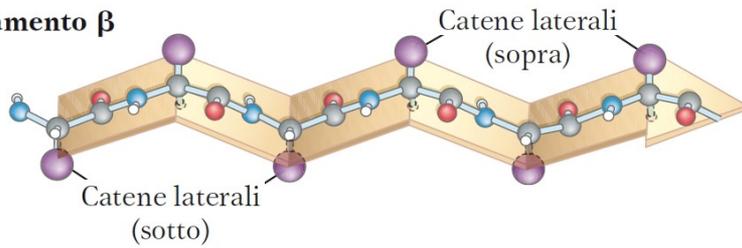
- gli aminoacidi nei filamenti β adiacenti hanno direzioni alternate (N-term \rightarrow C-term seguito da C-term \rightarrow N-term seguito da N-term \rightarrow C-term, ...) e si parla di **foglietto β antiparallelo**;

- gli aminoacidi nei filamenti β allineati vanno tutti nella stessa direzione (sempre N-term \rightarrow C-term) e si parla di **foglietto β parallelo**.



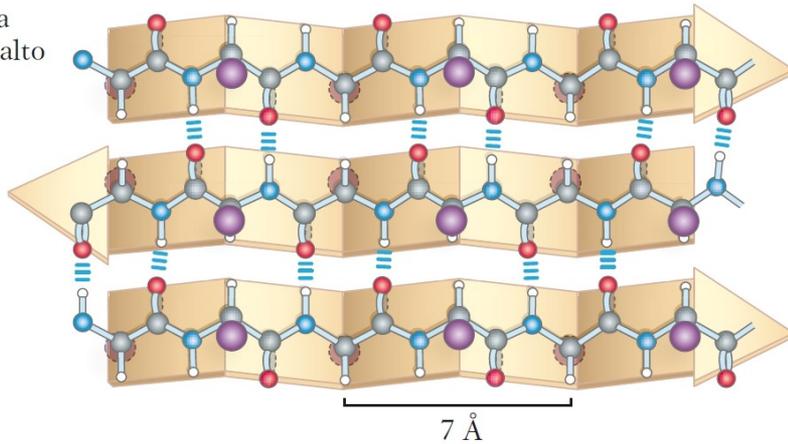
(a) Filamento β

Vista laterale



(b) Foglietto β antiparallelo

Vista dall'alto



(c) Foglietto β parallelo

Vista dall'alto

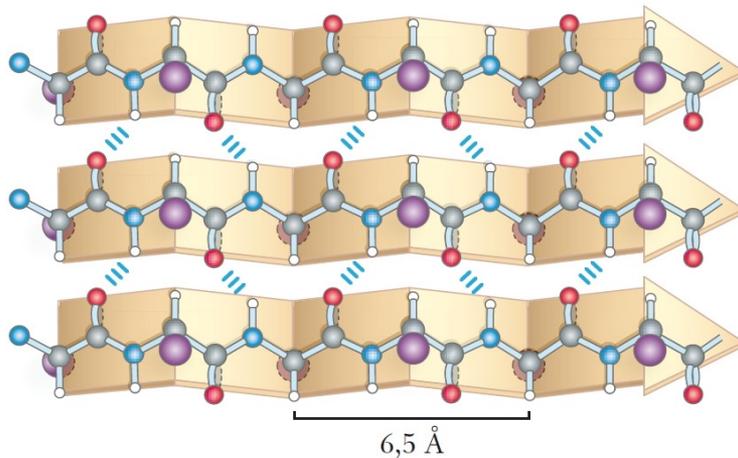


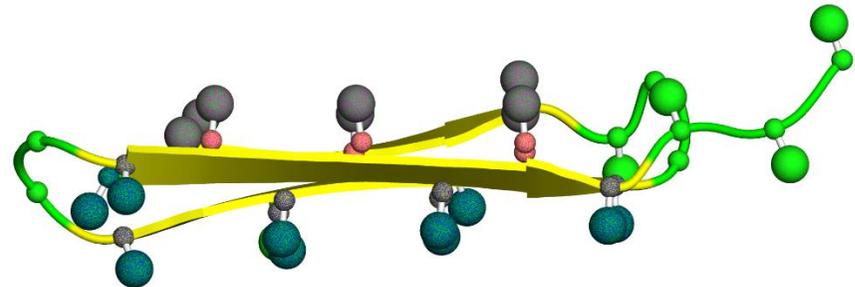
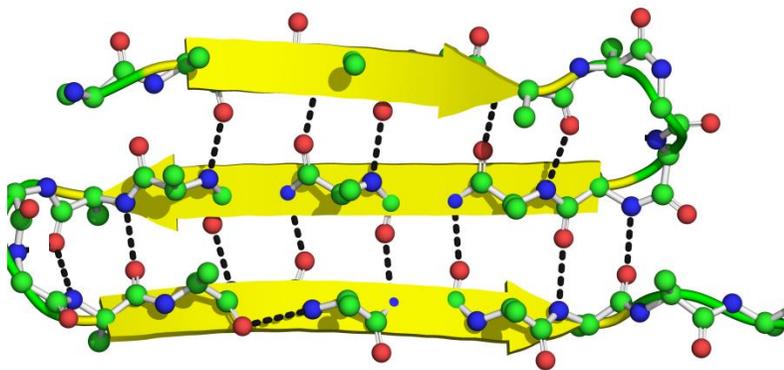
Figura 4.6 Conformazione β delle catene polipeptidiche.

Queste illustrazioni, in cui le catene polipeptidiche sono osservate (a) di lato e (b, c) dall'alto, mostrano la disposizione dei gruppi R che sporgono al di fuori del foglietto β e mettono in risalto l'andamento pieghettato formato dai piani in cui giacciono i legami peptidici (infatti una denominazione alternativa della struttura è foglietto β pieghettato). Sono anche mostrati i legami idrogeno tra catene adiacenti. L'orientamento delle catene adiacenti (frecche) dall'estremità amminica verso l'estremità carbossilica può avere la stessa direzione o quella opposta, formando (b) un foglietto β antiparallelo o (c) un foglietto β parallelo.

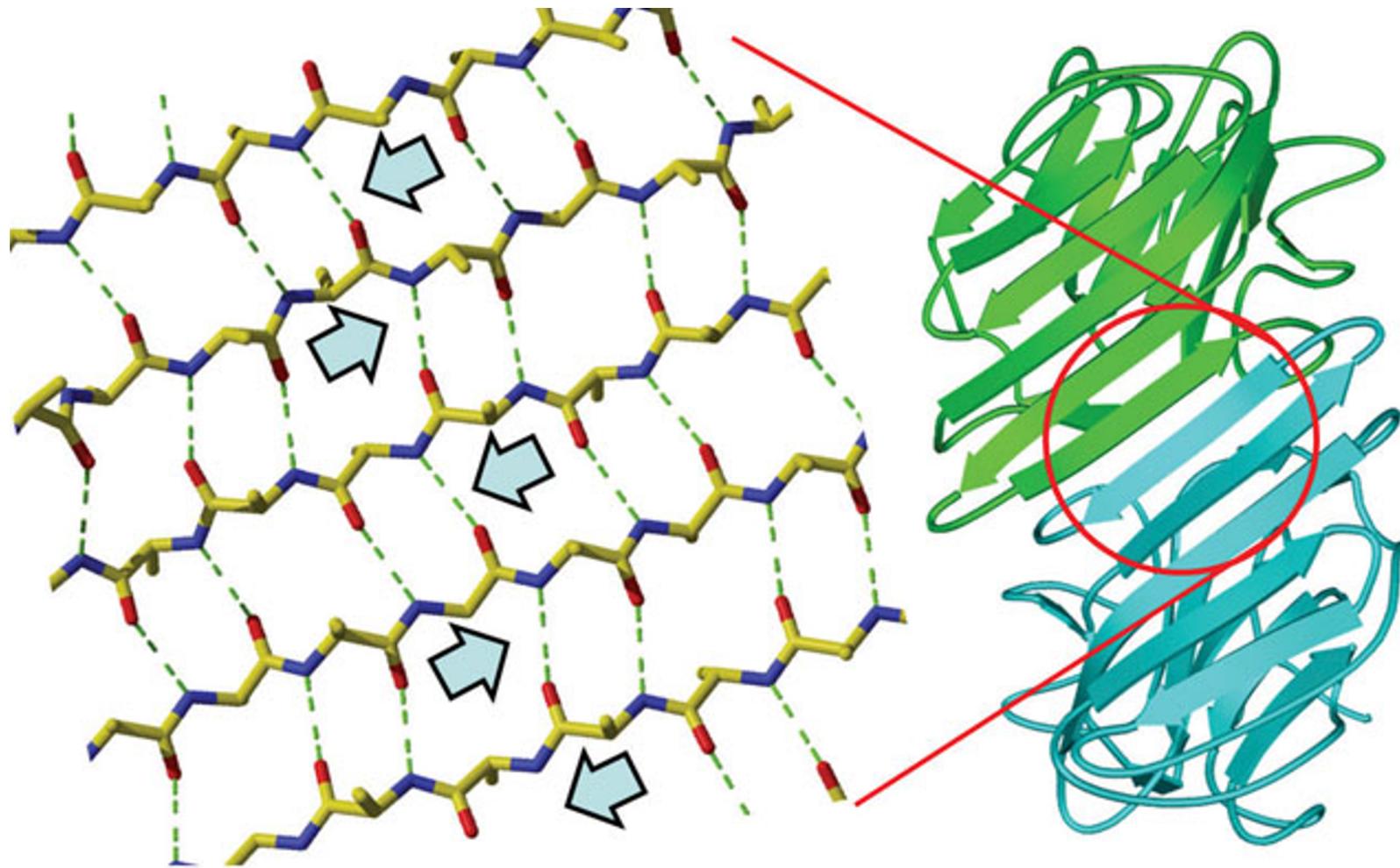
La conformazione β (extended)

Fatti e statistiche:

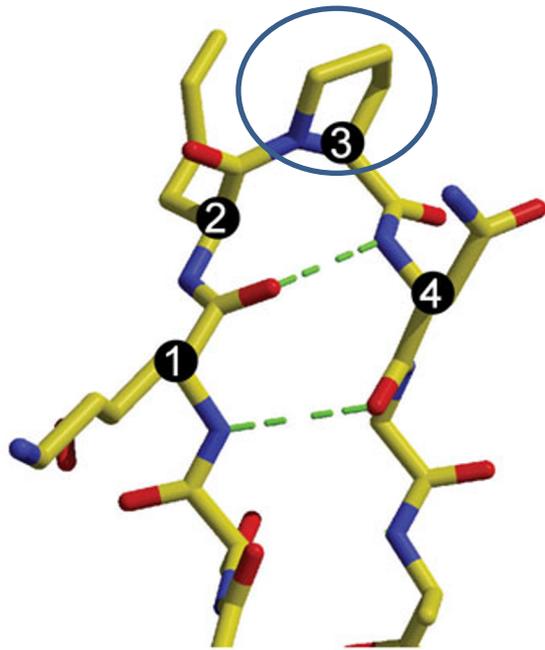
1. $\sim 20\%$ nelle proteine globulari
2. Fino a ~ 10 residui per ogni strand/foglietto
3. $\sim 3 \text{ \AA}$ rise per residuo (=extended)
4. Gli stessi foglietti osservano spesso una torsione di $\sim 30^\circ$ (right twist)



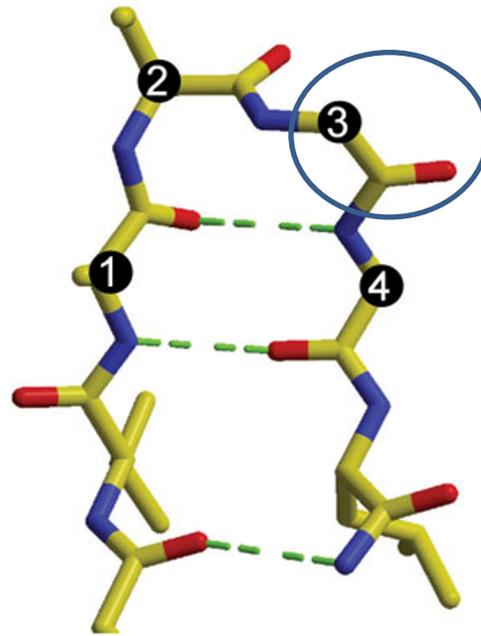
Le strutture secondarie



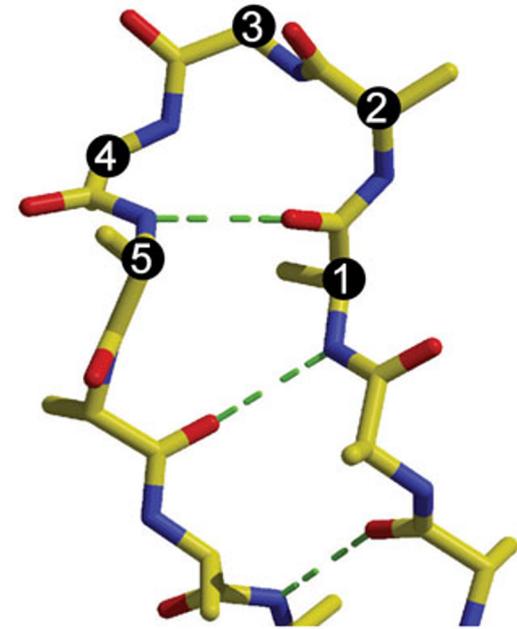
Altre strutture secondarie coinvolte nel ripiegamento delle catene polipeptidiche.....



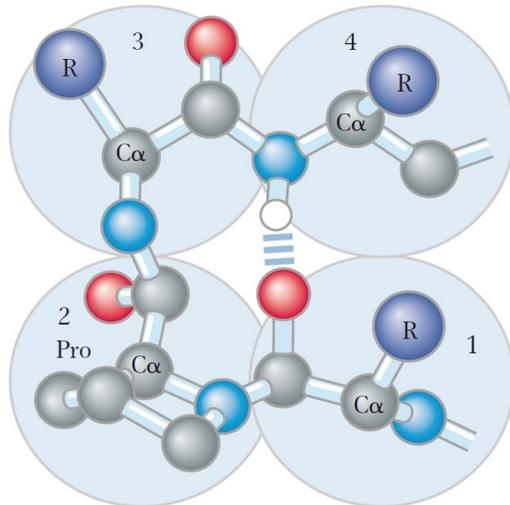
type I'
 β -turn



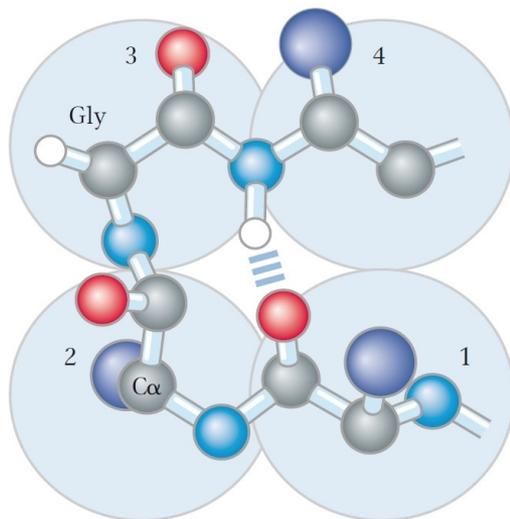
type II'
 β -turn



α -turn
with bulge



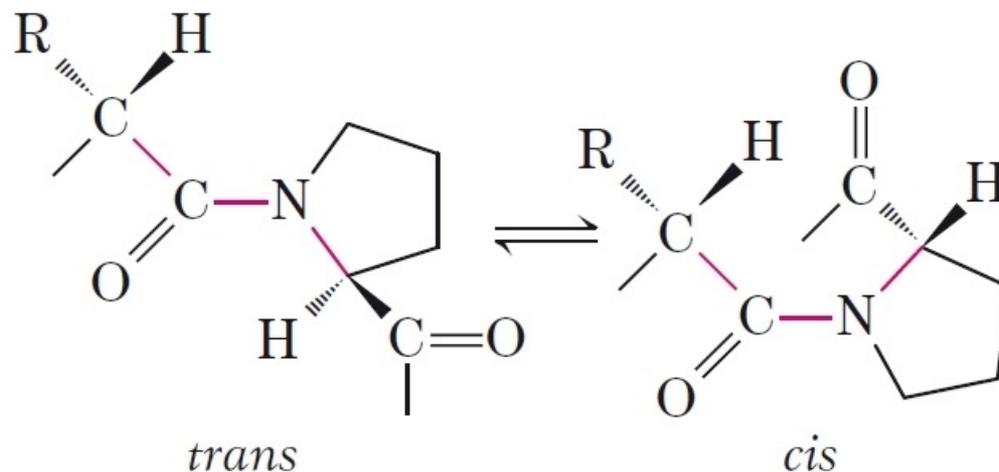
Ripiegamento β di tipo I



Ripiegamento β di tipo II

Figura 4.7 Struttura di un ripiegamento β . I ripiegamenti β di tipo I e II sono i più comuni e si differenziano tra loro in base ai valori degli angoli ϕ e ψ dello scheletro peptidico nel ripiegamento (vedi la Tabella 4.1). Il ripiegamento di tipo I è riscontrabile nelle proteine con frequenza più che doppia rispetto al ripiegamento di tipo II. Anche se molti tipi di amminoacidi possono essere presenti in questi ripiegamenti, sono facilmente riscontrabili alcune preferenze.

1. Elevata frequenza di Pro in posizione 2 nei turn di tipo I
2. Elevata frequenza di Gly in posizione 3 nei turn di tipo II



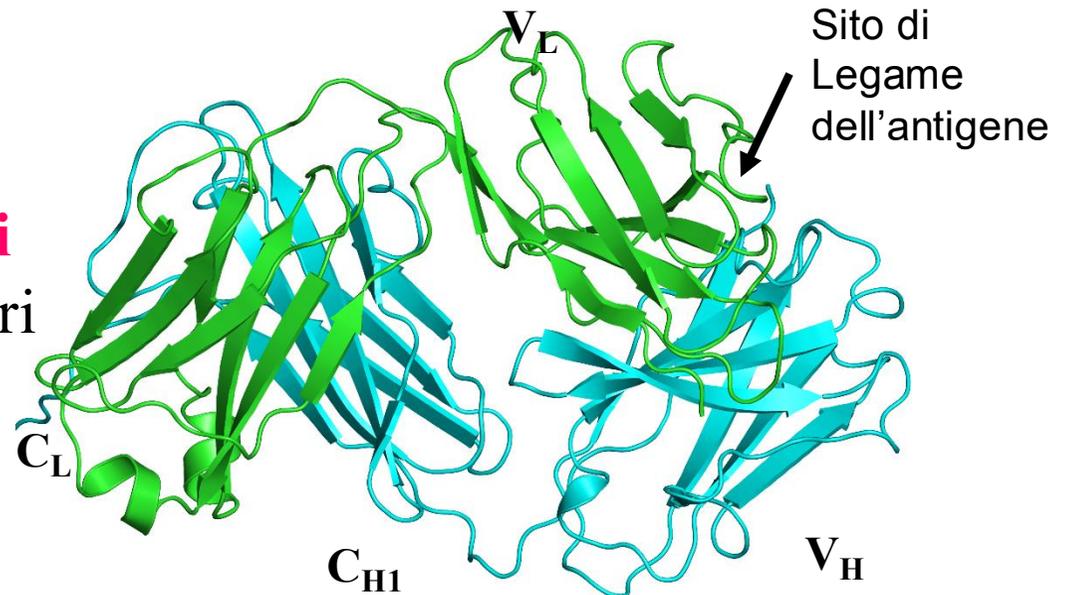
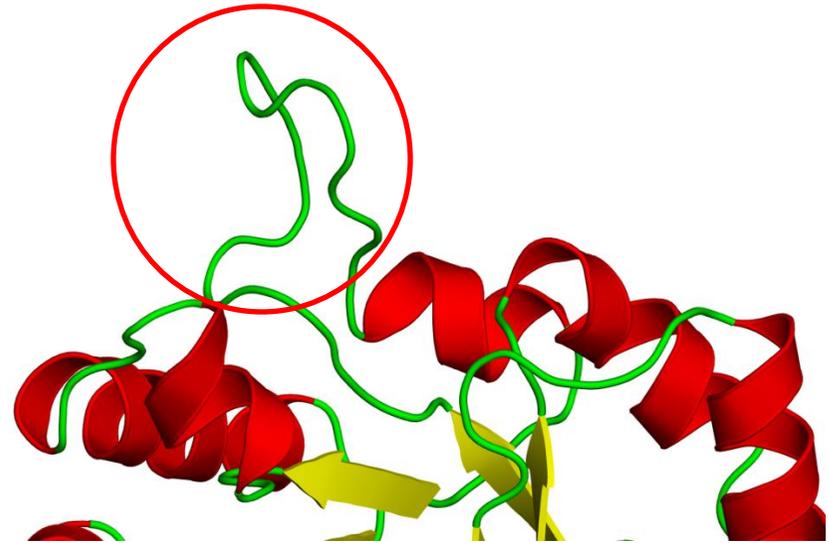
Isomeri della prolina

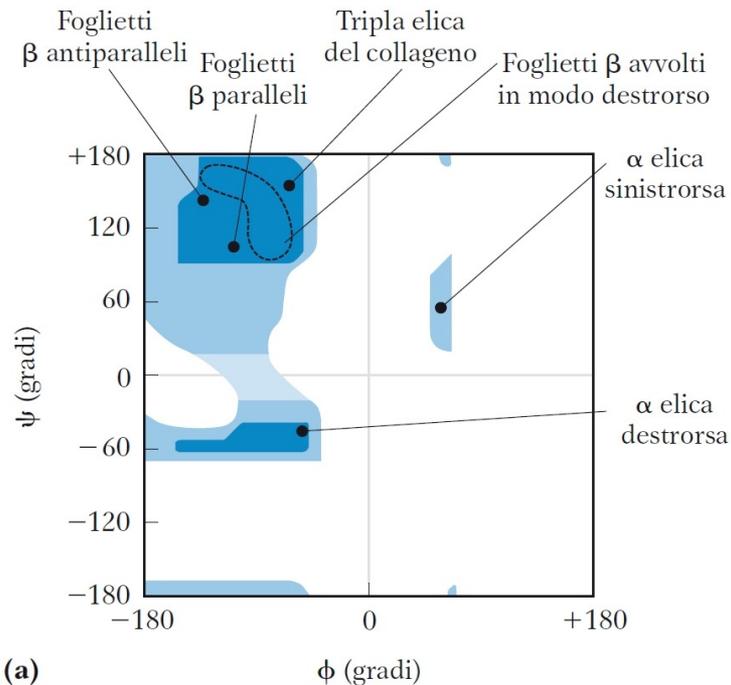
Figura 4.8 Gli isomeri *trans* e *cis* del legame peptidico a cui partecipa l'atomo di azoto imminico della prolina. Oltre il 99,95% dei legami peptidici tra residui amminoacidici diversi dalla prolina è nella configurazione *trans*. Circa il 6% dei legami peptidici in cui è coinvolto l'atomo di azoto imminico della prolina è invece nella configurazione *cis*; molti di questi legami sono presenti in ripiegamenti β .

Loops

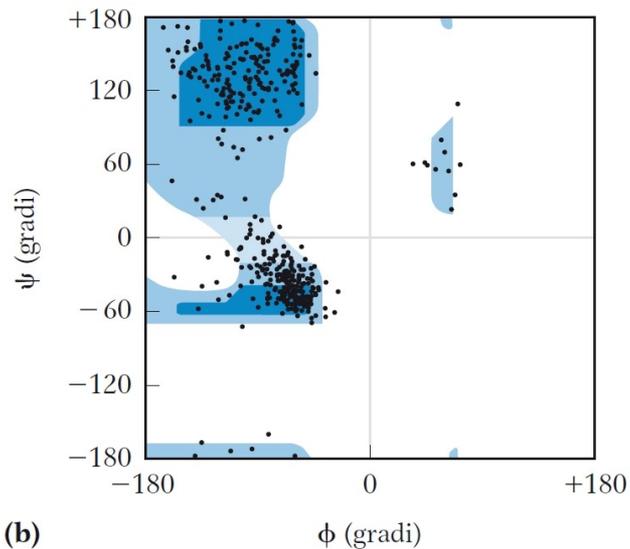
Caratteristiche:

- Connettono elementi di struttura secondaria
- Generalmente **idrofilici** (residui polari, non coinvolti in legami H-bond con la catena principale)
- Esposti in **superficie**
- Creano spesso **siti attivi/di legame** in enzimi e recettori





(a)



(b)

Figura 4.9 Grafico di Ramachandran per varie strutture.

(a) I valori degli angoli ϕ e ψ delle varie strutture secondarie teoricamente permesse sono gli stessi della Figura 4.3. Anche se strutture ad α elica sinistrorse lunghe diversi residui sono teoricamente possibili, esse non sono mai state osservate nelle proteine. (b) I valori degli angoli ϕ e ψ per tutti gli amminoacidi, eccetto la glicina, nell'enzima piruvato chinasi (isolato nel coniglio) si sovrappongono a quelli delle aree teoricamente permesse (vedi la Figura 4.3). I residui di Gly, piccoli e con un'elevata flessibilità conformazionale, sono stati esclusi in quanto molto spesso ricadono al di fuori degli intervalli attesi (in blu). [Fonti: (a) da T. E. Creighton, *Proteins*, p. 166. © 1984 by W. H. Freeman and Company. (b) Per gentile concessione di Hazel Holden, University of Wisconsin–Madison, Department of Biochemistry.]

1. Classificazione delle strutture proteiche basata sulla Conformazione (e conseguente livello di struttura interessato)

Fibrose (=estese non compatte) livelli di struttura primario, secondario, terziario

Globulari (=compatte) primario, secondario, terziario, quaternario

Conformazione β
 $2000 \times 5 \text{ \AA}$

α Elica
 $900 \times 11 \text{ \AA}$

Forma globulare nativa
 $100 \times 60 \text{ \AA}$

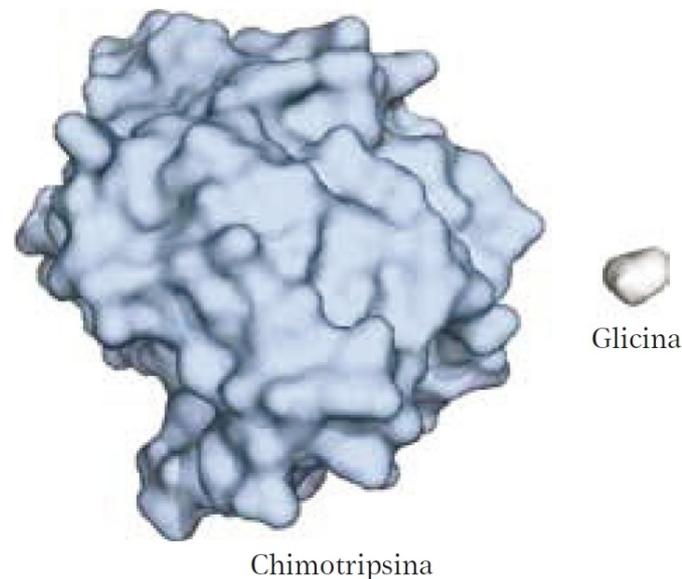


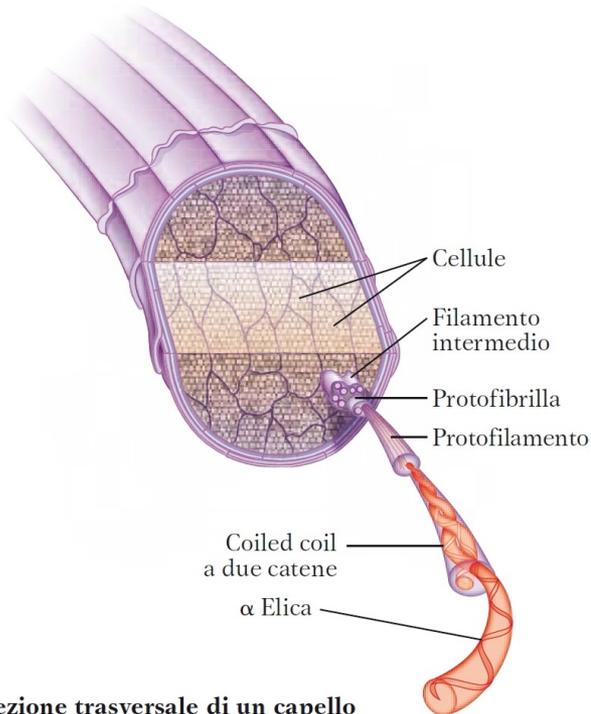
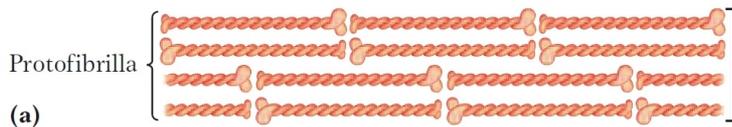
Figura 4.15 La struttura delle proteine globulari è varia e compatta. L'albumina del siero umano (M_r 64 500) ha 585 amminoacidi in una sola catena polipeptidica. Nella figura sono mostrate le dimensioni approssimative che questo singolo polipeptide potrebbe avere se potesse assumere per intero conformazioni ad α elica o a foglietto β . È anche indicata la dimensione reale della proteina nella sua forma globulare nativa, determinata per cristallografia ai raggi X. La catena polipeptidica deve avvolgersi in modo molto compatto per poter assumere queste dimensioni.

Figura 4.1 Struttura dell'enzima chimotripsina, una proteina globulare. Per un confronto, a destra è mostrata una molecola di glicina (in grigio). Le strutture tridimensionali note delle proteine sono conservate nelle banche dati delle proteine come Protein Data Bank, o PDB (vedi il Box 4.4). L'immagine qui mostrata è stata ottenuta utilizzando il file 6GCH in PDB ID. [Fonte: PDB ID 6GCH, K. Brady et al., *Biochemistry* 29:7600, 1990.]

Proteine Fibrose (=estese non compatte)

Esempi: collagene, actina e miosina, cheratina, seta, etc...

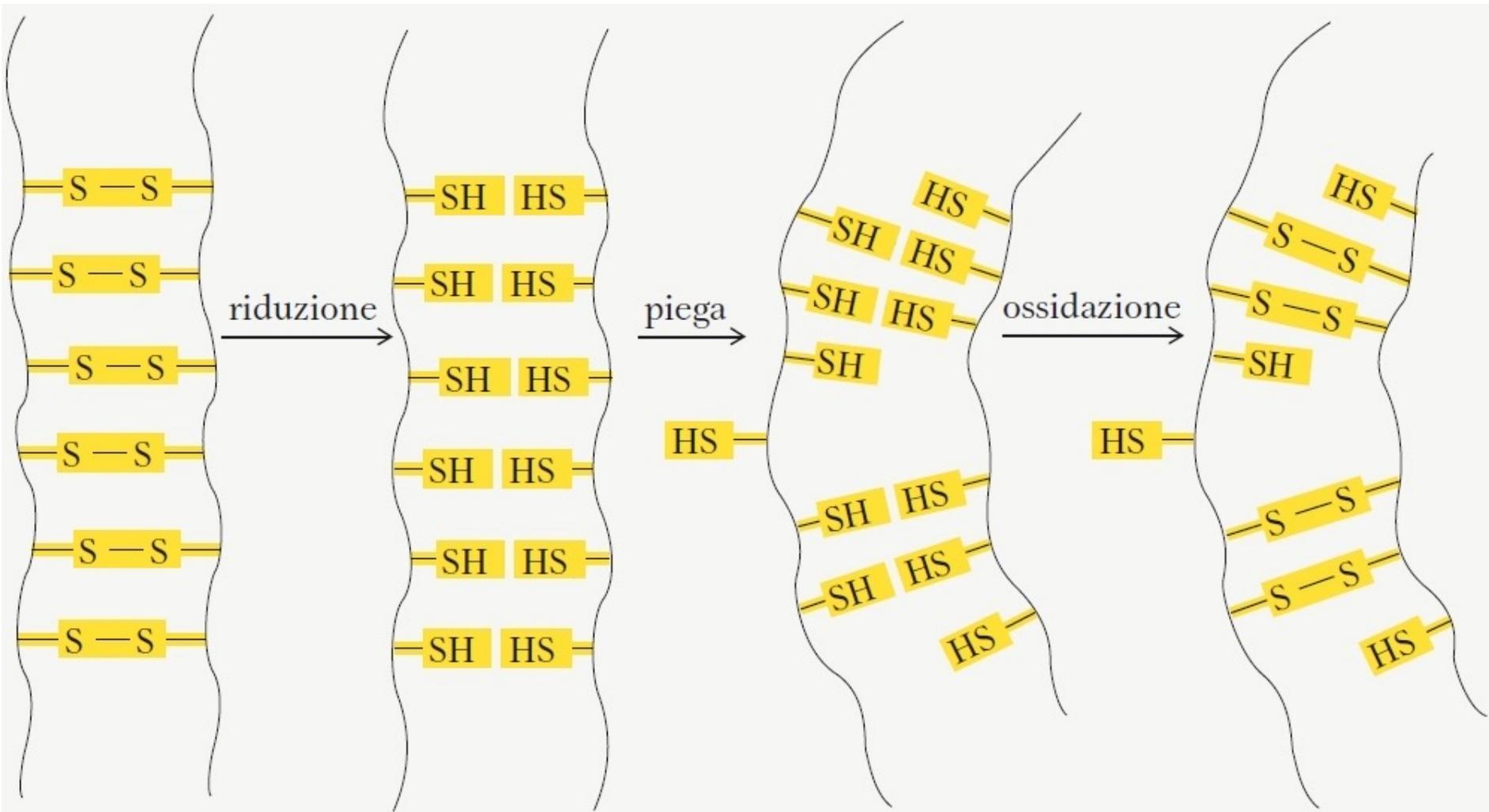
Le α -cheratine



(b) Sezione trasversale di un capello

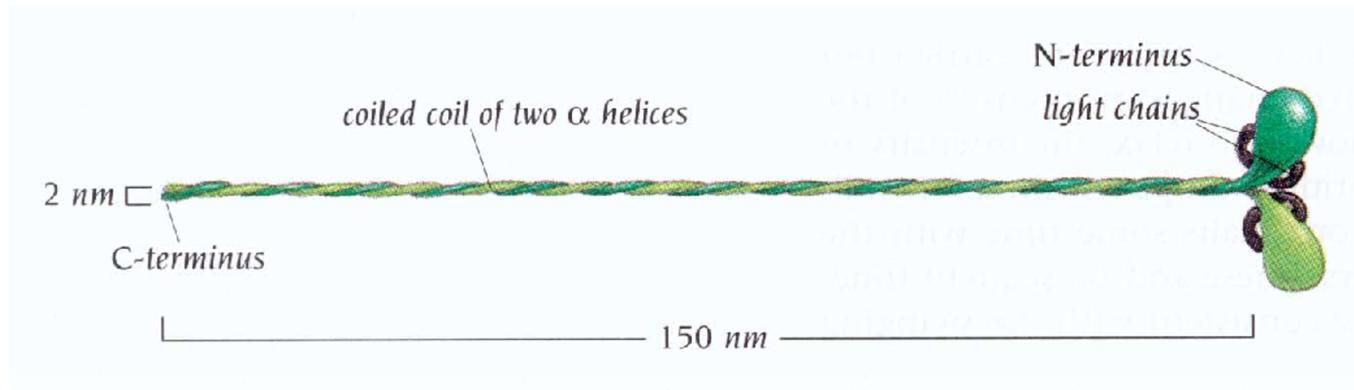
- Superavvolgimento coil coiled delle due α -eliche in senso sinistrorso
- Le superfici delle eliche che entrano in contatto sono decorate da catene laterali prevalentemente idrofobiche, tipo Ala, Val, Leu, Ile, Met, Phe
- Legami covalenti (Cys) crociati conferiscono resistenza ai protofilamenti connettendo catene adiacenti (nelle strutture supramolecolari)

Figura 4.11 Struttura del capello. (a) L' α -cheratina dei capelli è una lunga α elica con diversi ispessimenti in corrispondenza delle terminazioni amminiche e carbossiliche. Alcune coppie di queste eliche si avvolgono con andamento sinistrorso e formano avvolgimenti avvolti (*coiled coils*). Queste, a loro volta, generano strutture ancora più ordinate dette protofilamenti e protofibrille. Quattro protofibrille – 32 filamenti di α -cheratina insieme – si combinano per formare un filamento intermedio. Le due catene singole che formano i coiled coil nelle varie strutture sembrano essere a loro volta avvolte insieme, ma non conosciamo le modalità di questo avvolgimento e altri particolari strutturali. (b) Un capello è un aggregato di molti filamenti di α -cheratina costituiti da sottostrutture, come mostrato in (a). [Fonte: (a) PDB ID 3TNU, C. H. Lee et al., *Nature Struct. Mol. Biol.* 19:707, 2012.]



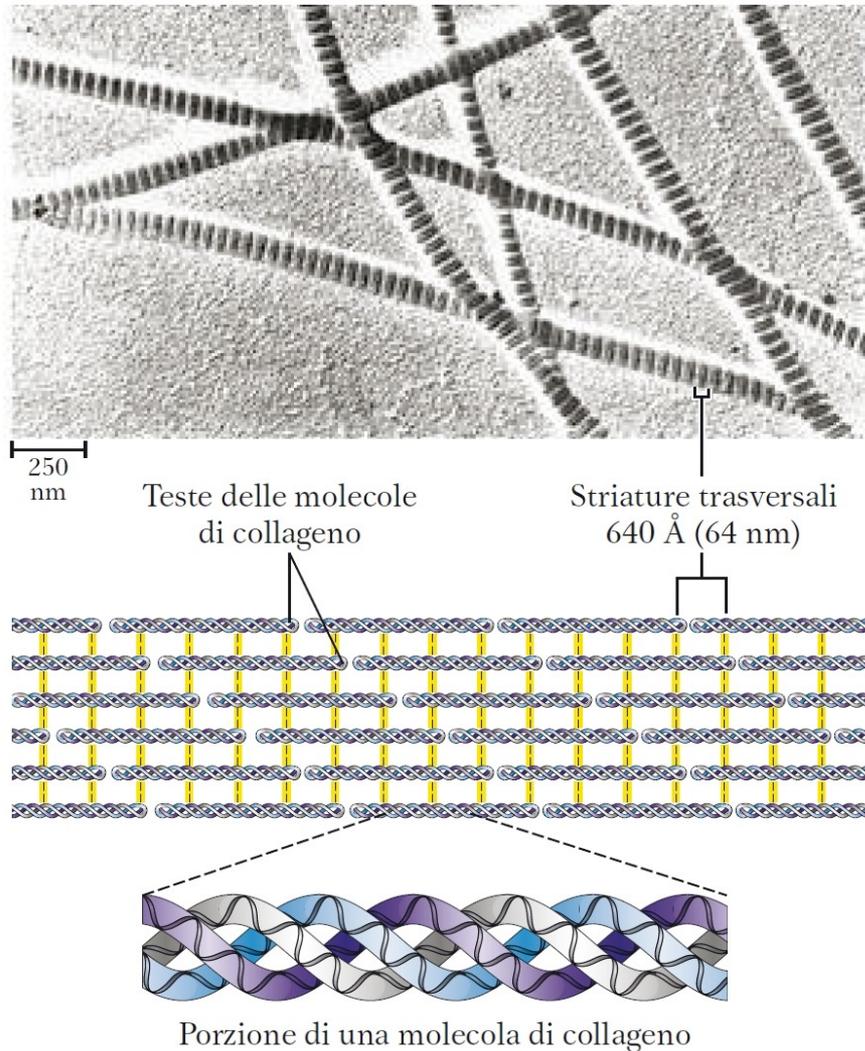
Coiled-coil α elica: actina e miosina

La molecola di **miosina** è un dimero costituito da due catene pesanti (MW 230 kDa) e quattro catene leggere (MW 20 kDa) e forma una coda lunga 1400 Å e due teste.



Frammenti di miosina, costituiti da due catene leggere e la parte N-terminale di una delle catene pesanti, si possono separare e costituiscono il sottoframmento S1.

Il collagene

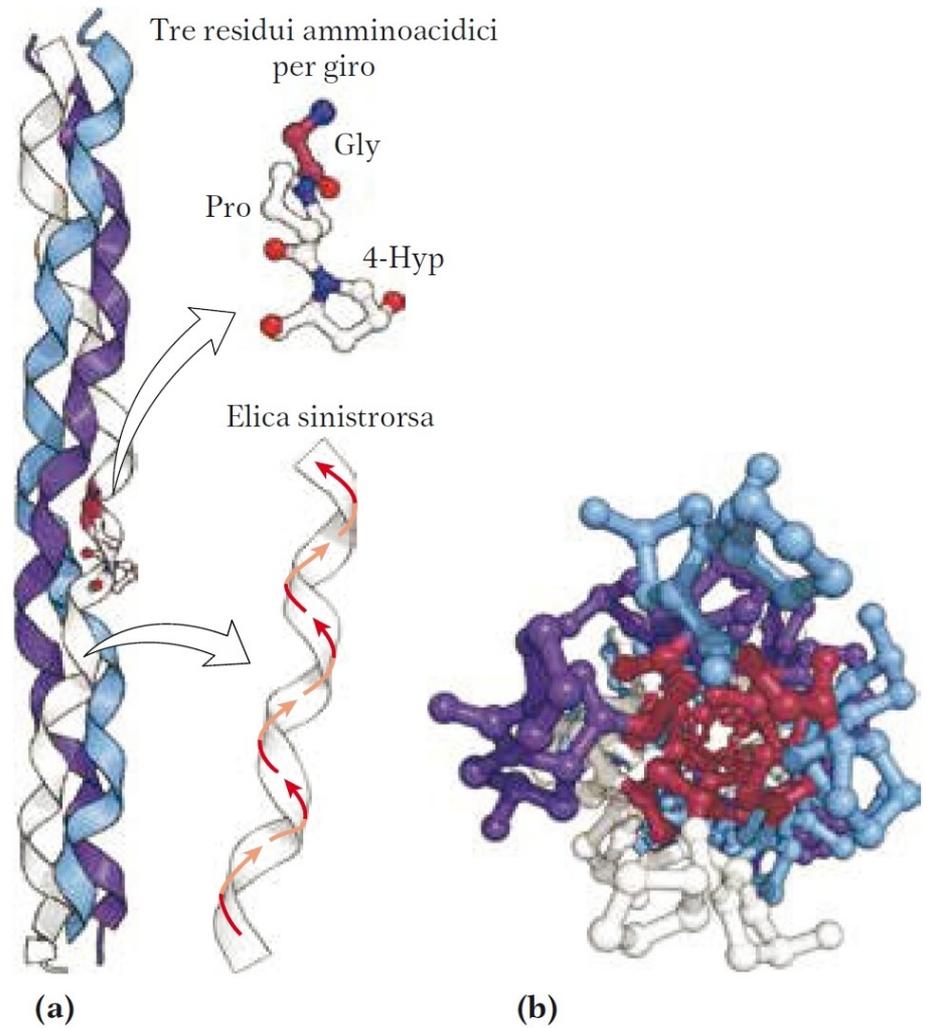


Costituito da super-avvolgimenti di tre polipeptidi organizzati in modo elicoidale, sinistrorsi:

Le catene non sono α -eliche, ma sequenze elicoidali Sinistrorse uniche, costituite da aa ripetitivi di Gly-X-Pro oppure Gly-X-4Hyp (modificazione)

Figura 4.13 Struttura della fibra di collagene. Il collagene (M_r 300 000) è una molecola a forma di bastoncino, lunga circa 3000 Å e con uno spessore di soli 15 Å. I tre polipeptidi avvolti in modo elicoidale possono avere diverse sequenze, ma ognuno contiene circa 1000 residui amminoacidici. Le fibre di collagene sono costituite da molte molecole allineate in modo sfalsato e unite da legami crociati che ne aumentano la forza. Questo tipo di allineamento e il contenuto di legami crociati variano da tessuto a tessuto e producono le tipiche striature trasversali che si osservano al microscopio elettronico. Nell'esempio mostrato, l'allineamento delle teste ogni quarta molecola produce striature distanziate da 640 Å (64 nm). [Micrografia: J. Gross/Biozentrum, University of Basel/Science Source.]

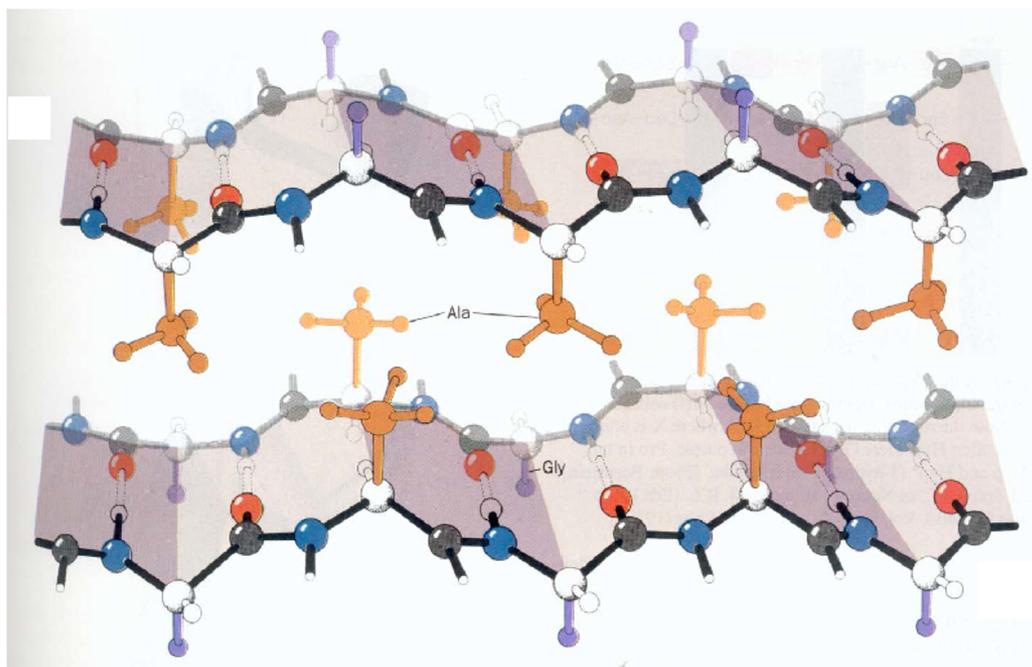
Figura 4.12 Struttura del collagene. (a) La catena α del collagene ha una struttura secondaria ripetitiva peculiare. La sequenza ripetitiva del tripeptide Gly-X-Pro oppure Gly-X-4-Hyp assume una struttura elicoidale sinistrorsa con tre residui per giro. La sequenza ripetitiva usata per generare questo modello è Gly-Pro-4-Hyp. (b) Una rappresentazione a palle e bastoncini della superelica a tre catene del collagene vista da una delle estremità. I residui di Gly sono in rosso. La glicina, proprio per le sue piccole dimensioni, è necessaria per conferire compattezza alla tripla elica, consentendo la formazione di giunzioni forti nei punti in cui le tre catene entrano in contatto. I modelli usati in questa rappresentazione non rispettano le dimensioni reali dei raggi di van der Waals dei singoli atomi. Il centro della tripla elica non è vuoto, come appare nella figura, ma è invece totalmente riempito. [Fonte: modificata da PDB ID 1CGD, J. Bella et al., *Structure* 3:893, 1995.]



Fibroina della seta

L'analisi della sequenza delle fibrine della seta ha mostrato la presenza di un motivo comune: domini variabili alle estremità N- e C-terminali, affiancati da ampie regioni (fino a 800 aminoacidi) caratterizzate dalla ripetizione del motivo **(-Gly-Ser-Gly-Ala-Gly-Ala)_n**.

Questi tratti ripetitivi di catena polipeptidica formano foglietti β , in cui gli aminoacidi Gly si trovano su un lato del foglietto β e Ala/Ser sull'altro lato.



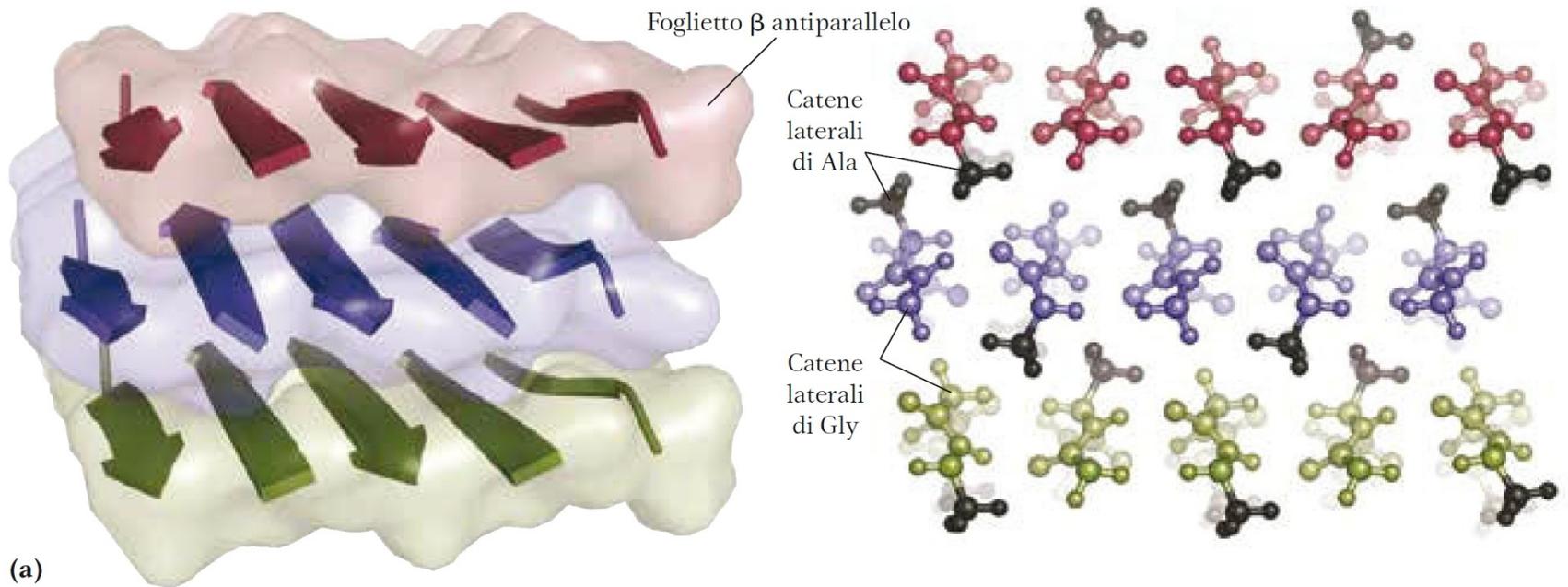


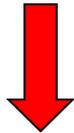
Figura 4.14 Struttura della seta. Le fibre di un tessuto di seta o della rete di una ragnatela sono costituite da fibroina. (a) La fibroina contiene strati antiparalleli di foglietti β ricchi di residui di Ala e di Gly. Le catene laterali di piccole dimensioni di questi residui permettono una perfetta sovrapposizione dei foglietti, come mostrato nel modello a palle e bastoncini. (b) In questa fotografia a colori al microscopio elettronico, i fili di fibroina stanno emergendo dalla filiera di un ragno. [Fonti: (a) modello derivato da PDB ID 1SLK, S. A. Fossey et al., *Biopolymers* 31:1529, 1991. (b) Tina Weatherby Carvalho/MicroAngela.]

Le strutture terziarie

Le strutture secondarie si arrangiano nello spazio a formare **motivi strutturali**.

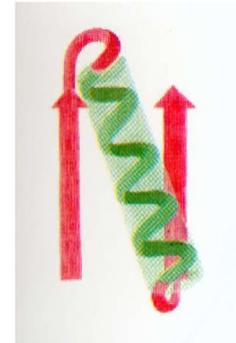
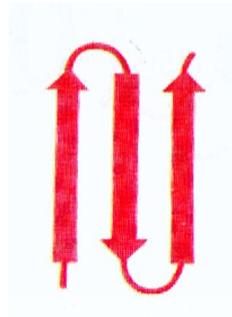


Tali motivi associano secondo una definita architettura = “topologia” e costituiscono **domini strutturali** autoconsistenti.



Le proteine possono essere costituite da **uno o più domini** che si associano a definirne la **struttura terziaria**.

La struttura terziaria – I motivi strutturali o strutture supersecondarie



Elementi di struttura secondaria si combinano a costituire aggregati locali con geometria specifica, che definiscono la **struttura supersecondaria** (o **motivi**).

Alcuni di questi motivi si possono associare ad una particolare funzione, come ad esempio il legame del DNA, mentre altri non hanno una funzione biologica specifica, ma sono semplicemente parte di organizzazioni strutturali più ampie e complesse.

I principali motivi individuati nelle proteine sono:

- **motivi α**

- **motivi β**

- **motivi α/β**

Motivi α/β : Cross over connection

Motivi α : α -loop- α

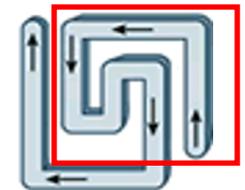
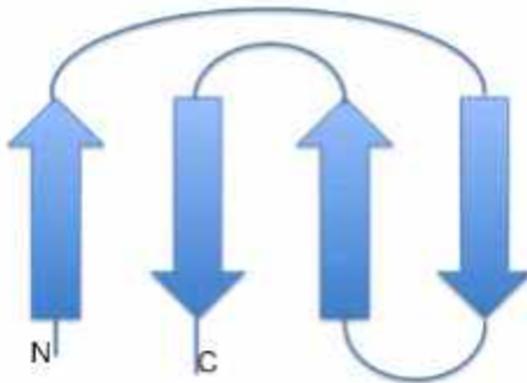
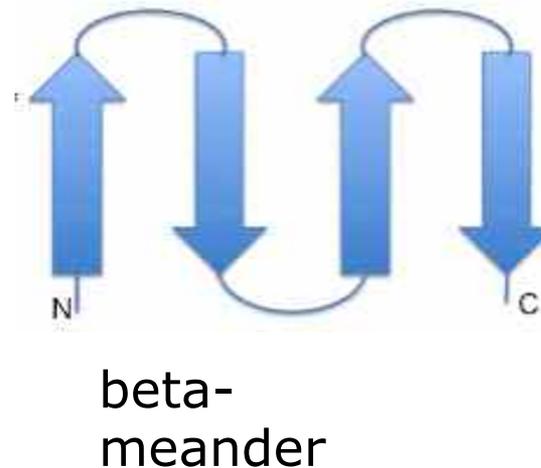
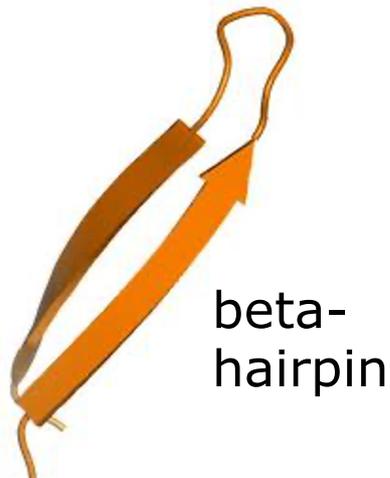
Motivi β : β -hairpin

Motivi α : EF hand

La struttura terziaria - I motivi strutturali

Due o più elementi di struttura secondaria si associano a definire **motivi strutturali** comuni.

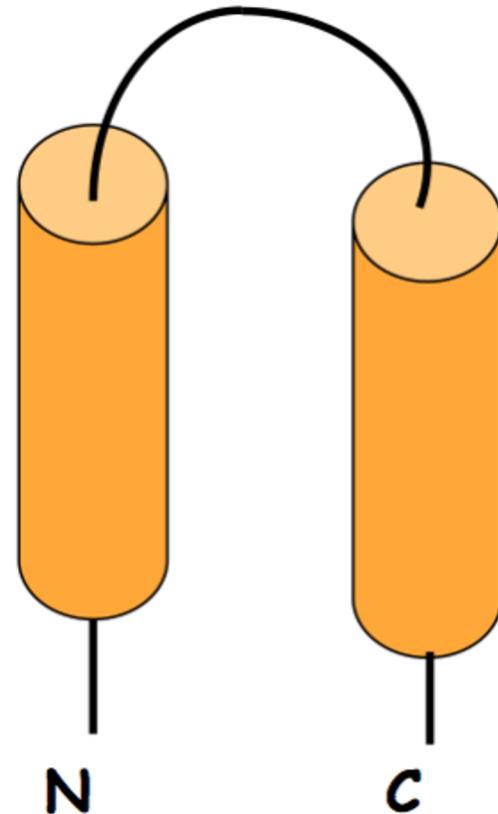
La descrizione della loro organizzazione corrisponde alla topologia.



La struttura terziaria - I motivi strutturali

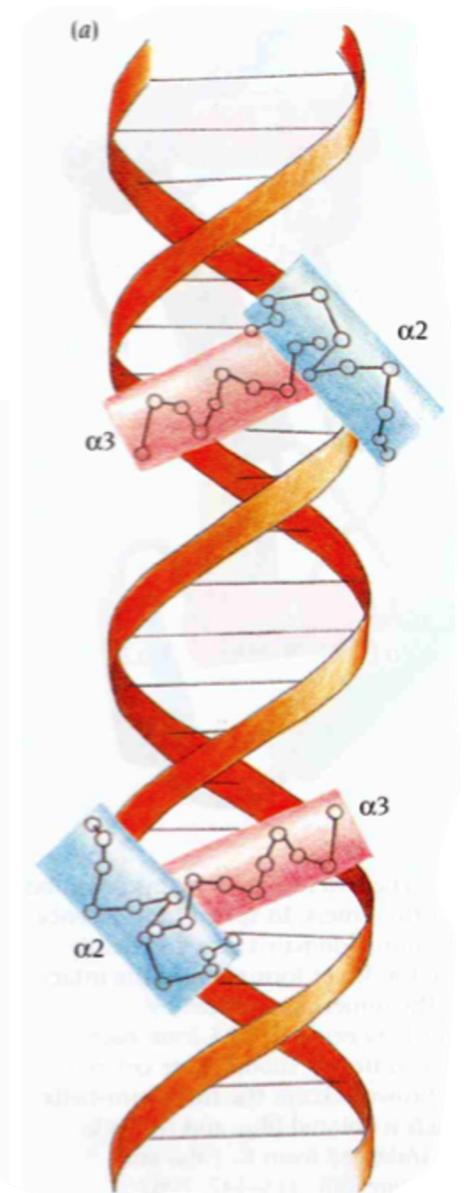
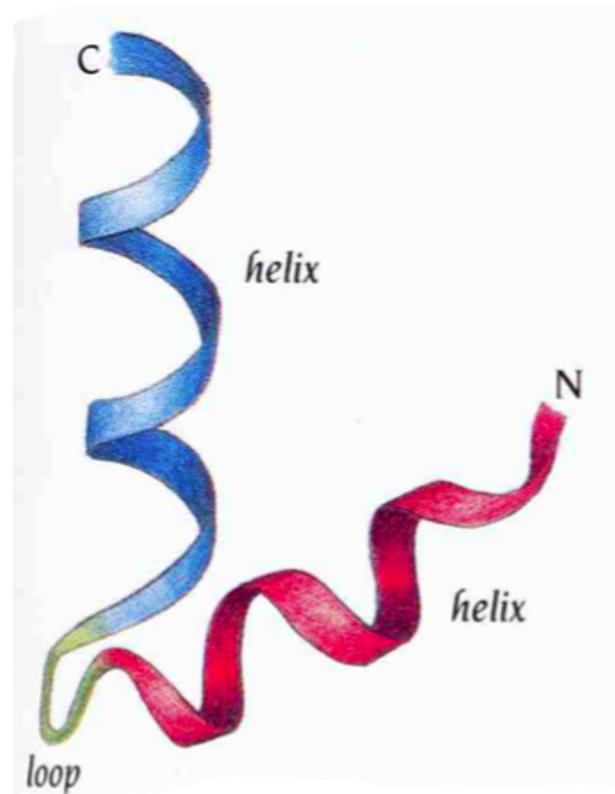
Due o più elementi di struttura secondaria in alfa elica possono associarsi a definire un motivo tipo α -loop- α .

Si tratta di due alfa eliche antiparallele connesse da un loop costituito da almeno due amminoacidi.



Dove ritroviamo i motivi α -loop- α ?

Spesso sono porzioni di proteine che sono in grado di legare la doppia elica del DNA in corrispondenza dei solchi maggiore o minore in modo specifico.



Dove ritroviamo i motivi α -loop- α ?

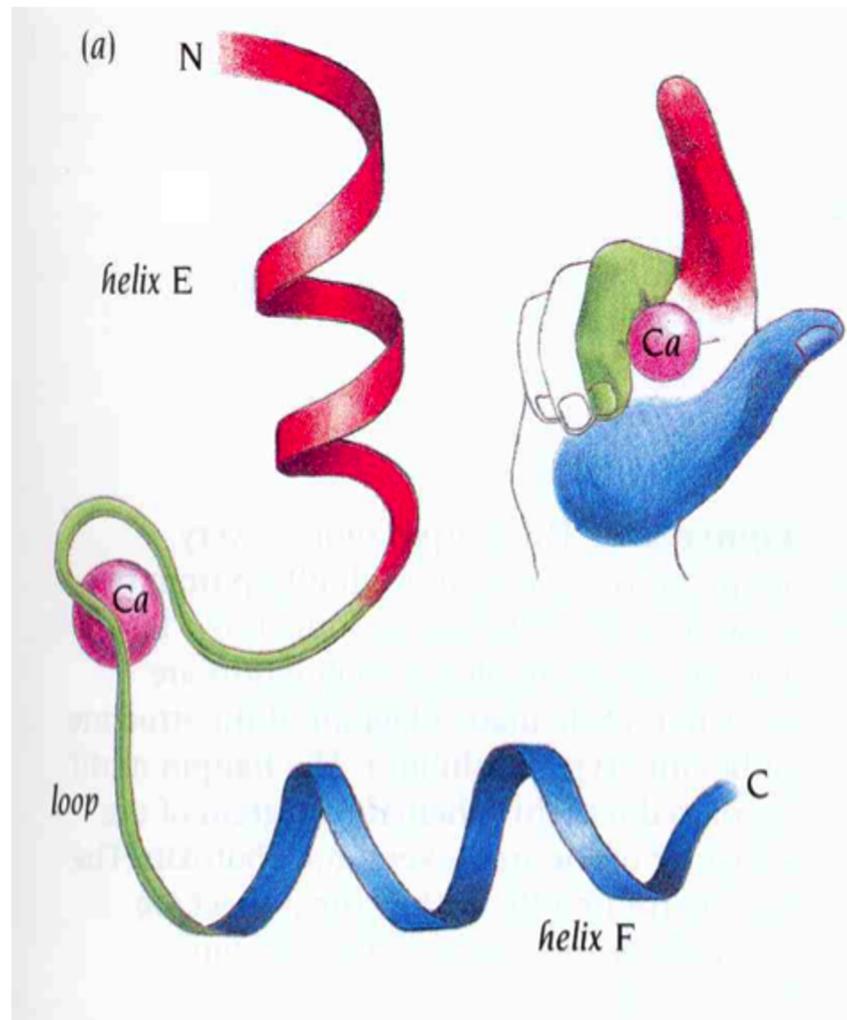
Altre volte sono coinvolti nel definire i motivi denominati :

EF-hand

In questo caso il loop centrale coordina un atomo di Calcio, come indicato.

E' costituito da 5 aminoacidi di cui alcuni devono possedere cariche negative come Glu ed Asp.

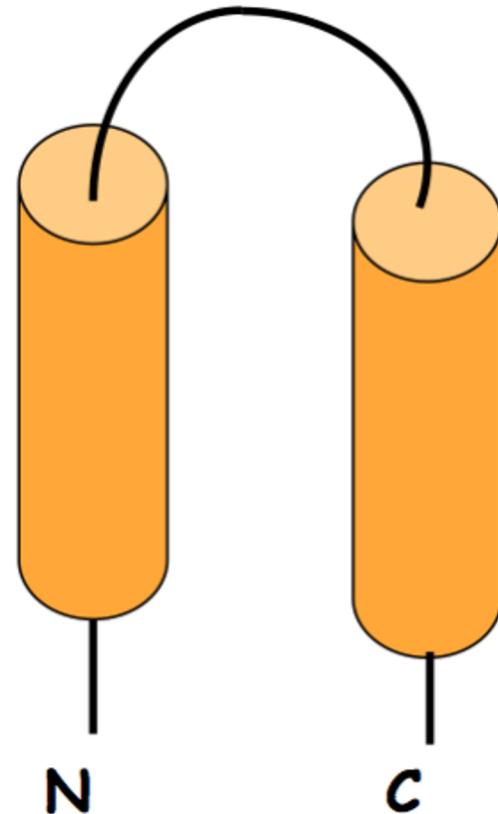
Questo motivo è caratteristico di proteine che legano il calcio ed in questo modo svolgono un ruolo di regolatori delle attività cellulari.

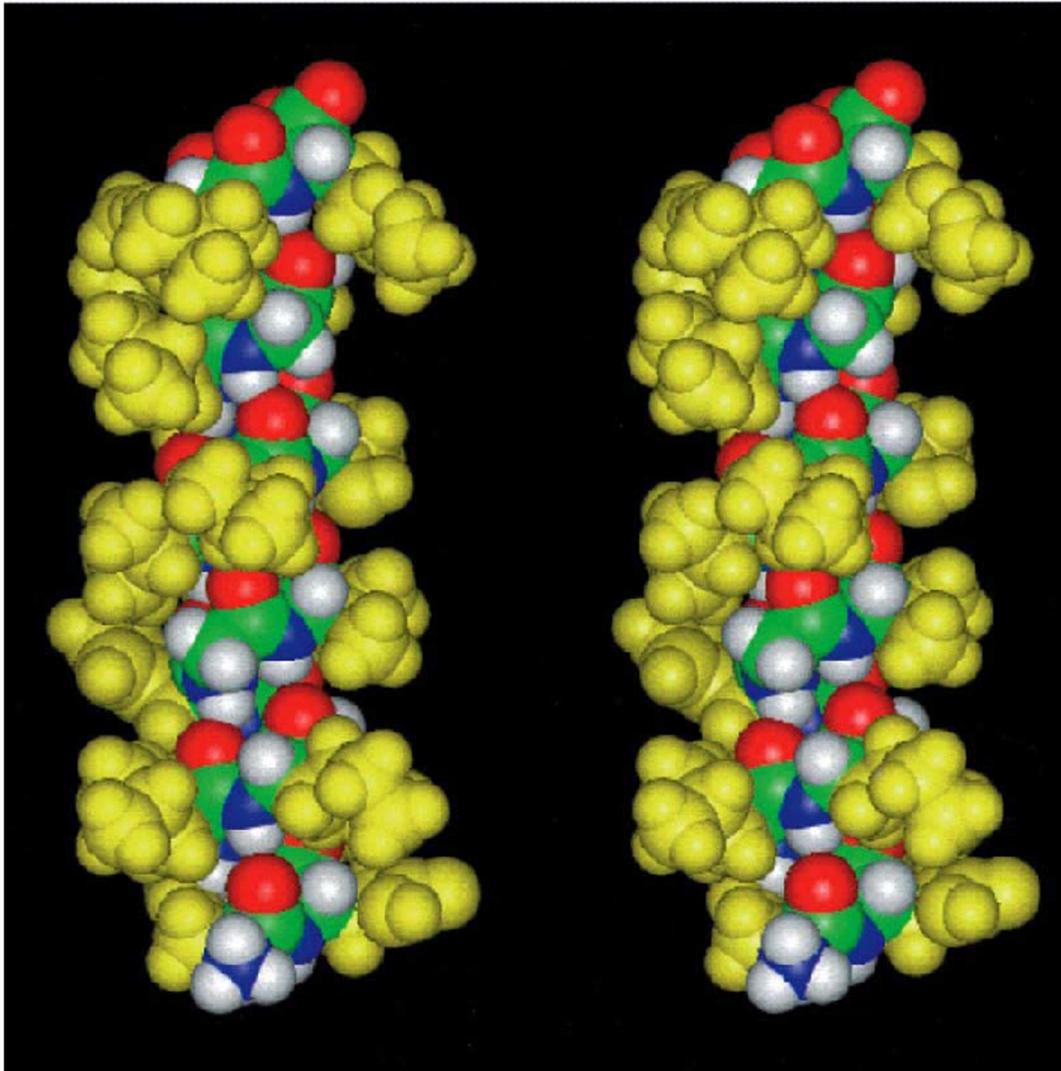


La struttura terziaria - I motivi strutturali

Due o più elementi di struttura secondaria in alfa elica possono associarsi a definire un motivo tipo α -loop- α .

Si tratta di due alfa eliche antiparallele connesse da un loop costituito da almeno due amminoacidi.

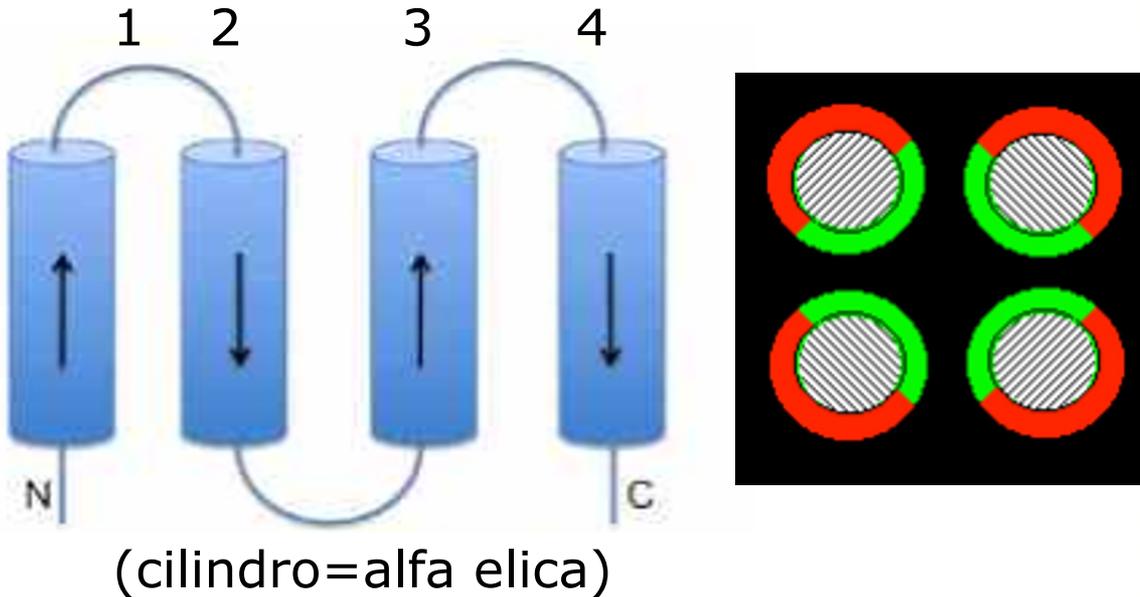




(D. Voet, J.G. Voet, Biochemistry, 3^o ed., John Wiley & Sons, 2004)

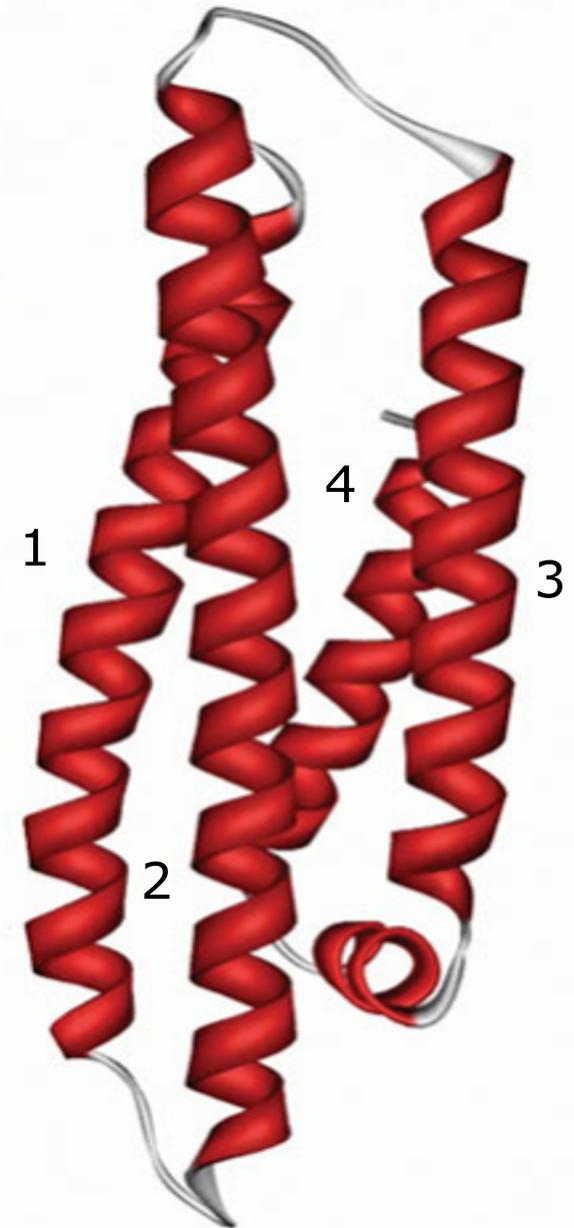
La struttura terziaria - I motivi strutturali

DOMINIO: 4-helix bundle

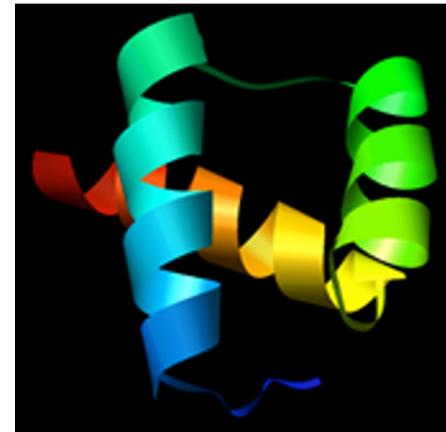


- motivo strutturale in cui 4 eliche si associano in modalità antiparallela (up-and-down topology)

- tipicamente rivolgono verso l'interno catene laterali idrofobiche (verde) mentre espongono sulla superficie residui idrofilici (rosso)

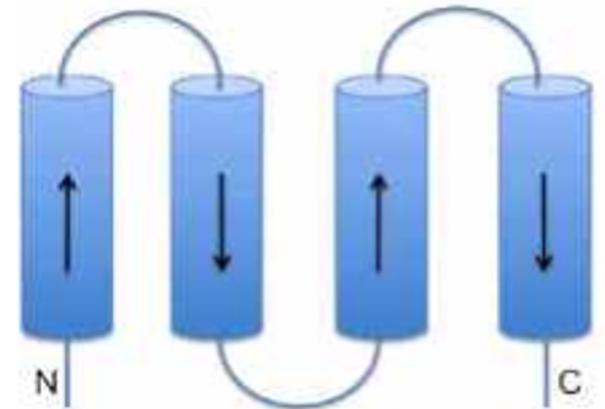


Esistono anche tipologie più semplici di associazioni tra eliche, tipo le 3-helix bundle (topologia up-and-down, destrogira), spesso presenti in siti di legame per DNA/RNA .

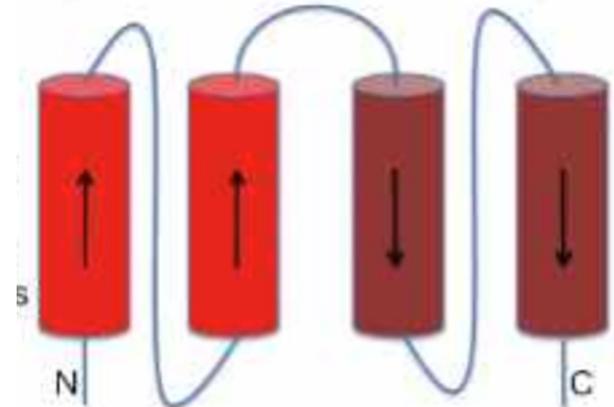


Esistono diverse tipologie di 4-helix bundle poiché esistono diverse modalità di associazione delle 4 eliche:

1. modalità antiparallela (up-and-down topology)



2. modalità in cui le eliche si arrangiano a due a due parallele



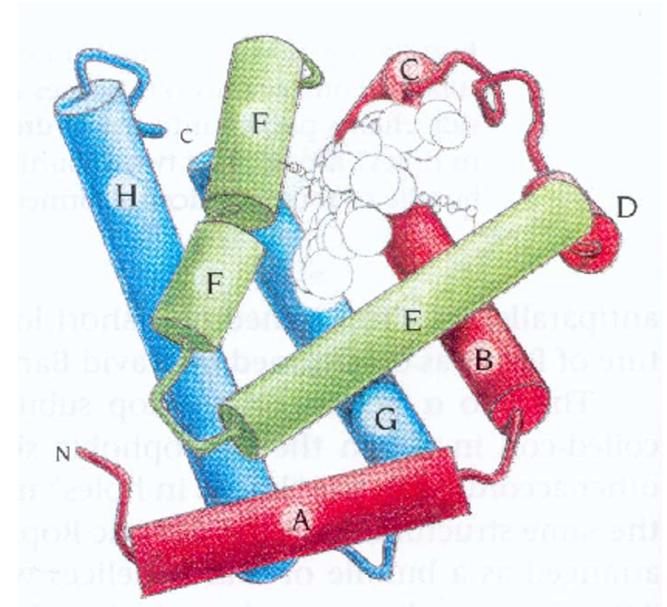
Domini α : Globin fold

Un altro impaccamento tipico delle α eliche è quello osservato nel **globin fold**, caratteristico di emoglobine, mioglobine e ficocianine.

Il globin fold è costituito da 8 α eliche, indicate con le lettere A-H, collegate da loop piuttosto corti, in modo da disporsi a formare la tasca del sito attivo, che in mioglobina e emoglobina, ospita il gruppo eme.

La lunghezza delle α eliche varia considerevolmente: da 7 aminoacidi per l'elica C a 28 aminoacidi per l'elica H.

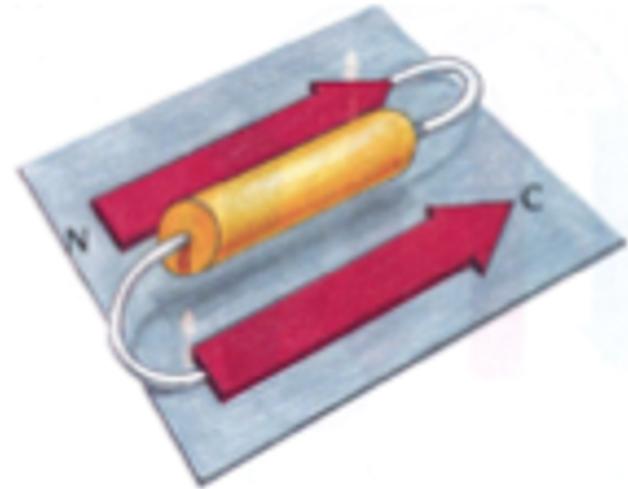
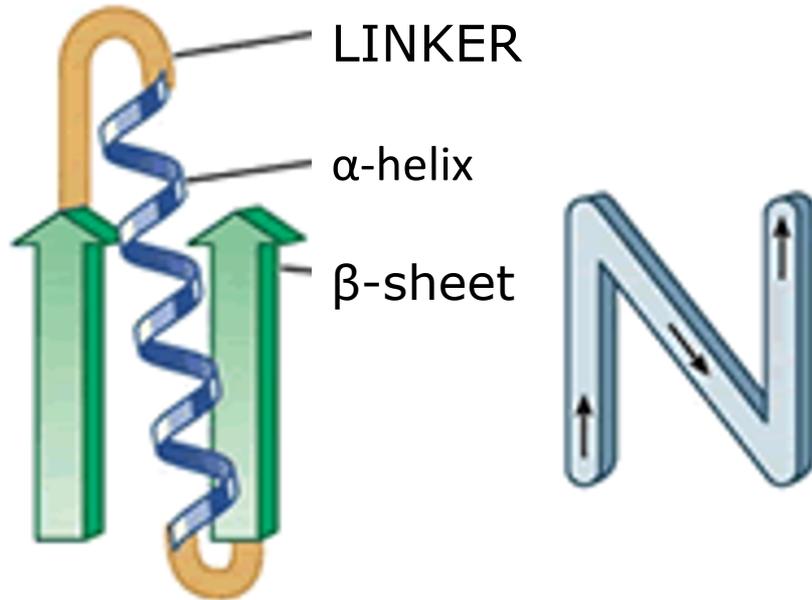
Le α eliche sono disposte in direzioni diverse, in modo tale che α eliche adiacenti in sequenza non lo sono nella struttura, con l'eccezione delle eliche G e H.



La struttura terziaria - I motivi strutturali

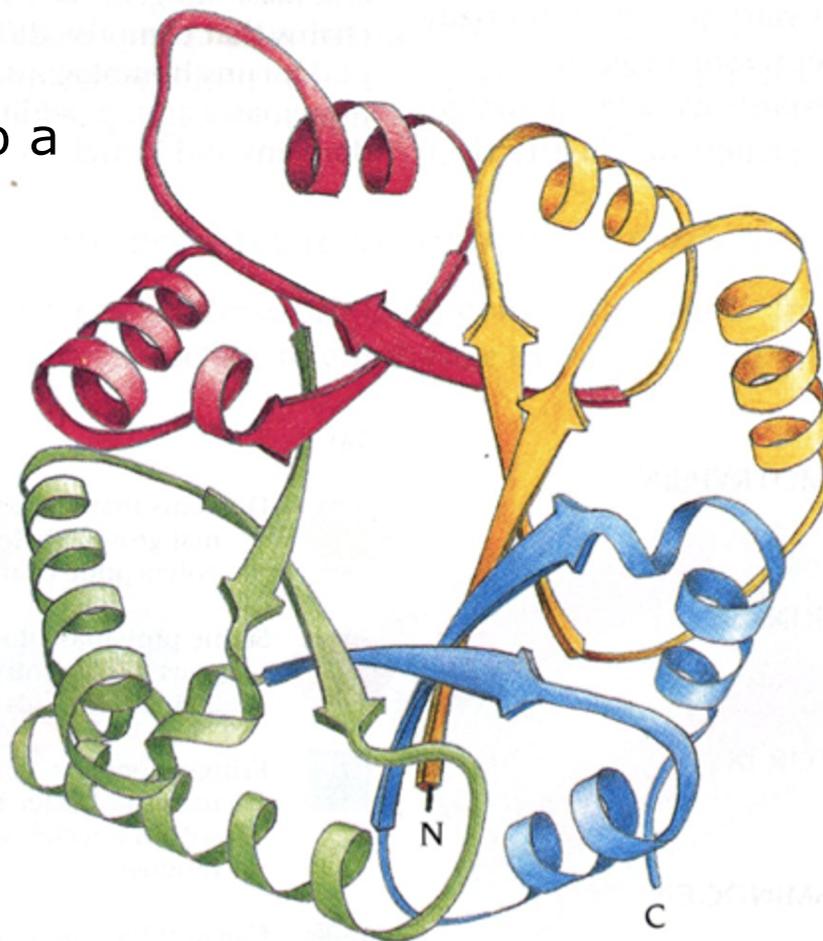
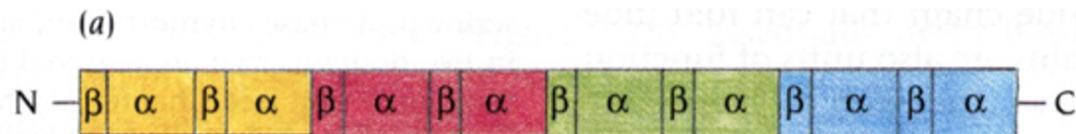
motivi: $\beta\alpha\beta$ loop o crossover connection

L'elica di connessione di fatto consente alle due strutture beta di associare in modalità parallela



NOTA: l'associazione parallela di strutture secondarie richiede sempre una connessione più estesa

DOMINIO: TIM BARREL



Più motivi $\beta\alpha\beta$ loop associano a definire un tipico $\alpha\beta$ barrel, definito “TIM barrel” (TIM=barile).

Il TIM barrel è uno dei più comuni motivi strutturali che si ritrovano in natura.

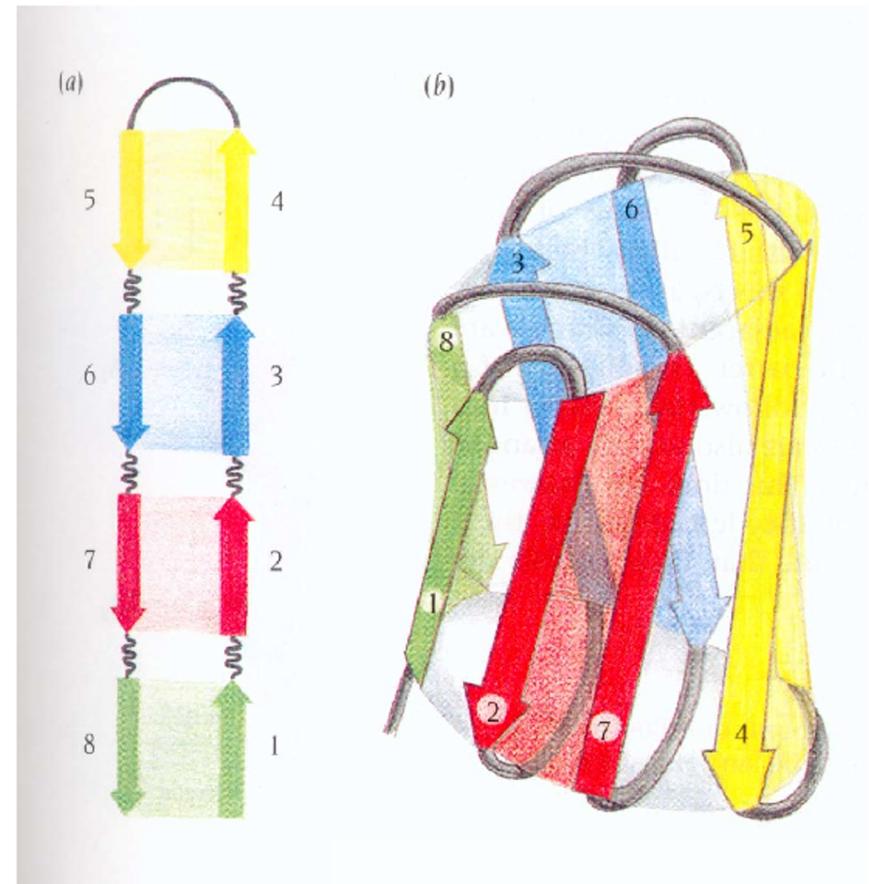
Nell'esempio è raffigurato l'enzima trioso-fosfato isomerasi (TIM barrel).

Domini β : Jelly roll

Un'altra topologia caratteristica dei filamenti β antiparalleli è chiamata **jelly roll**.

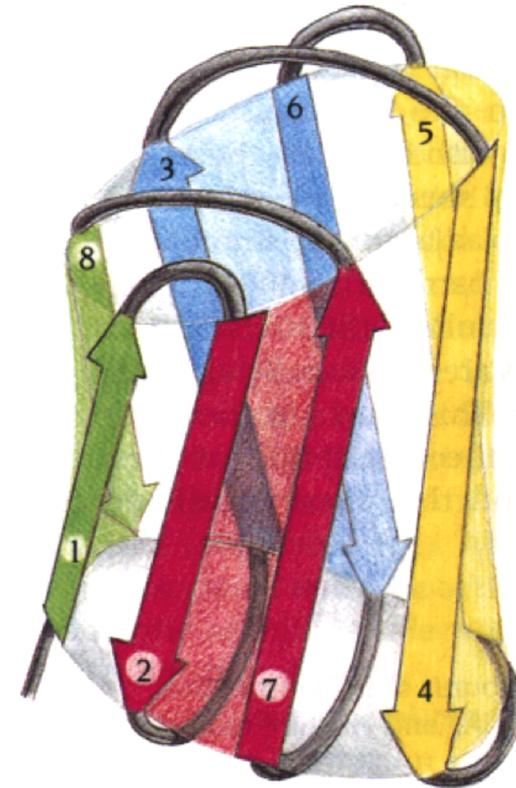
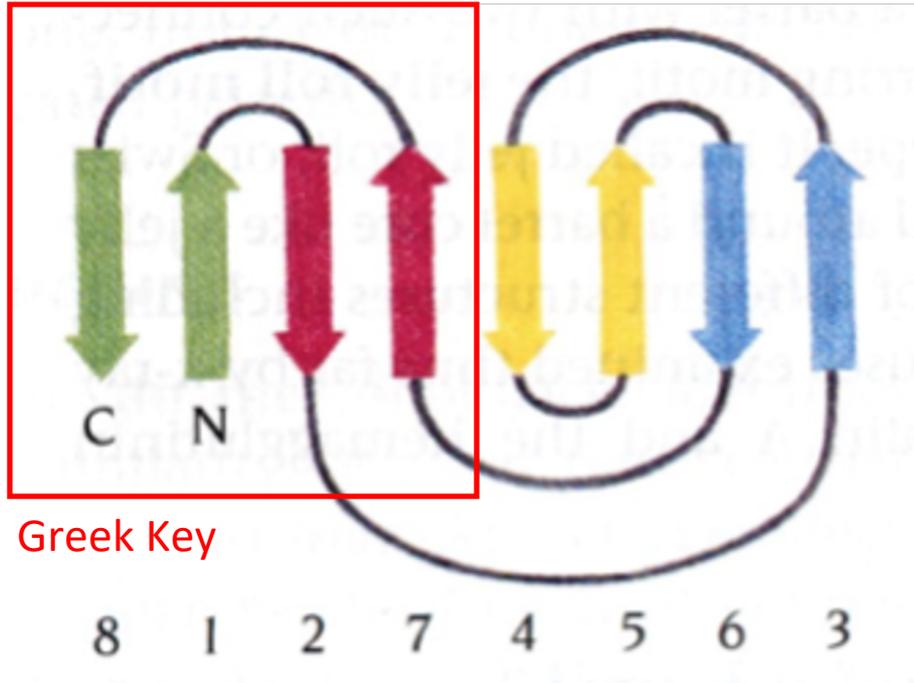
Consideriamo una stringa costituita da 8 filamenti β antiparalleli, collegati a 2 a 2 da legami idrogeno (coppie 1-8, 2-7, 3-6 e 4-5).

Se si avvolge questa stringa intorno ad un cilindro, in modo tale che i filamenti β si trovino sulla superficie del barile mentre le regioni di loop alle 2 estremità, si ottiene la topologia jelly roll.



Più motivi del tipo “Jelly roll” possono associarsi a definire dei domini che sono definiti “beta-barrel” : **DOMINIO BETA BARREL**

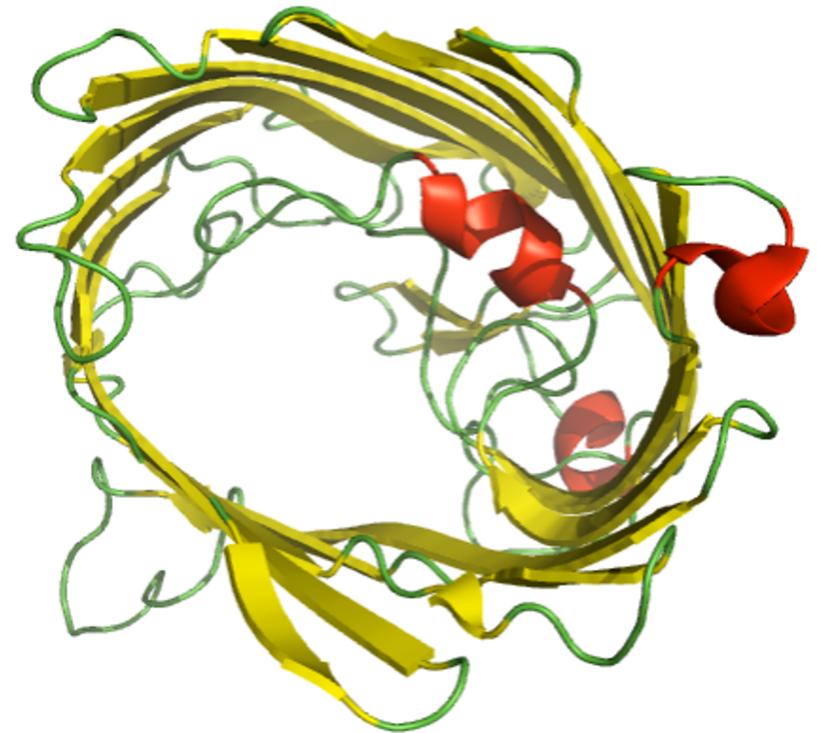
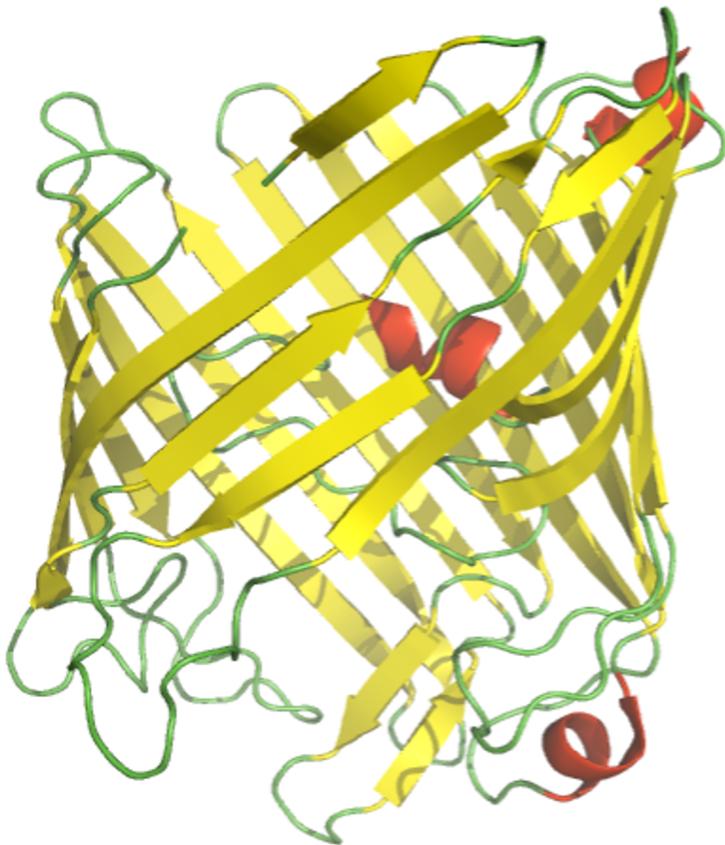
Nell’esempio riportato sotto ciò accade per associazione di foglietti beta secondo la topologia sotto descritta:



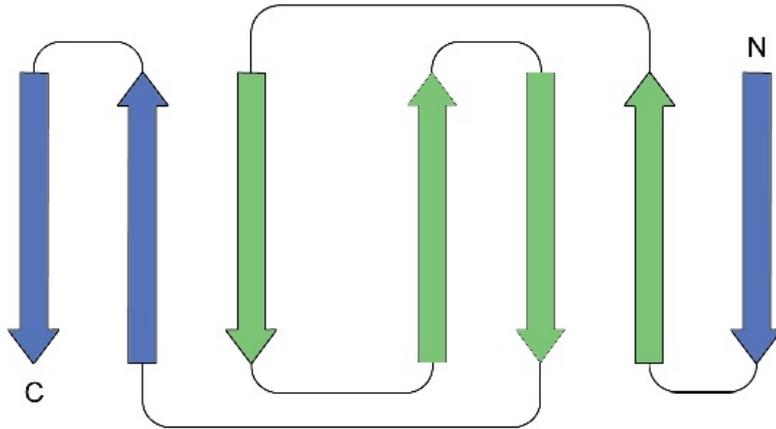
La struttura terziaria

OmpF= porina che assicura il trasporto passivo attraverso la membrana batterica esterna di piccole molecole come glucosio, acqua, ioni etc...

Beta barrel costituito da 16 foglietti beta antiparalleli



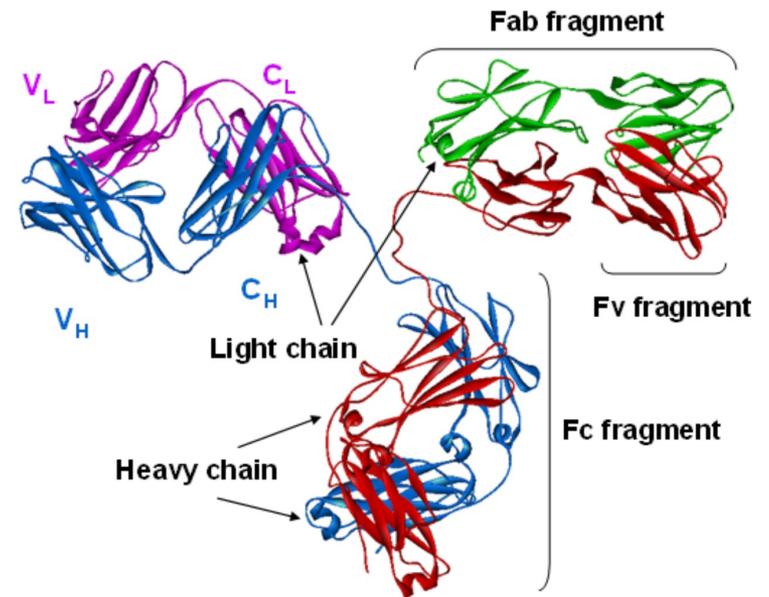
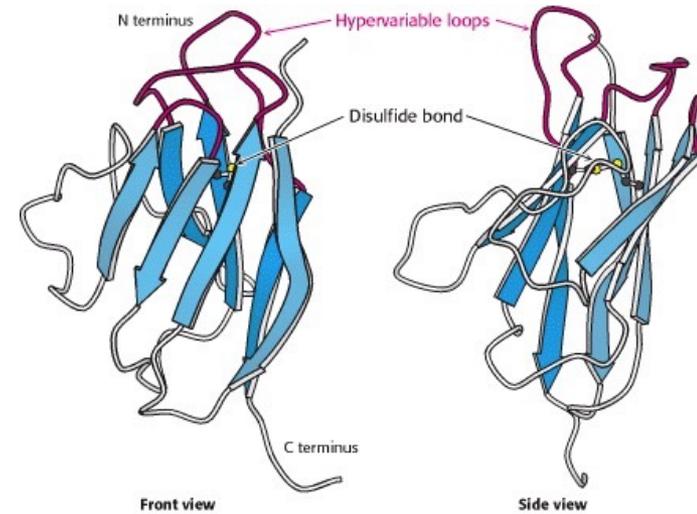
Il dominio immunoglobulinico (Ig)



Il dominio immunoglobulinico Ig, si trova in un'ampia varietà di proteine, in particolare in quelle coinvolte nella risposta immunitaria: dagli anticorpi, ai recettori delle cellule B e T, alle proteine del sistema maggiore di istocompatibilità (MHC), i recettori anticorpali, e molte altre proteine anche batteriche.

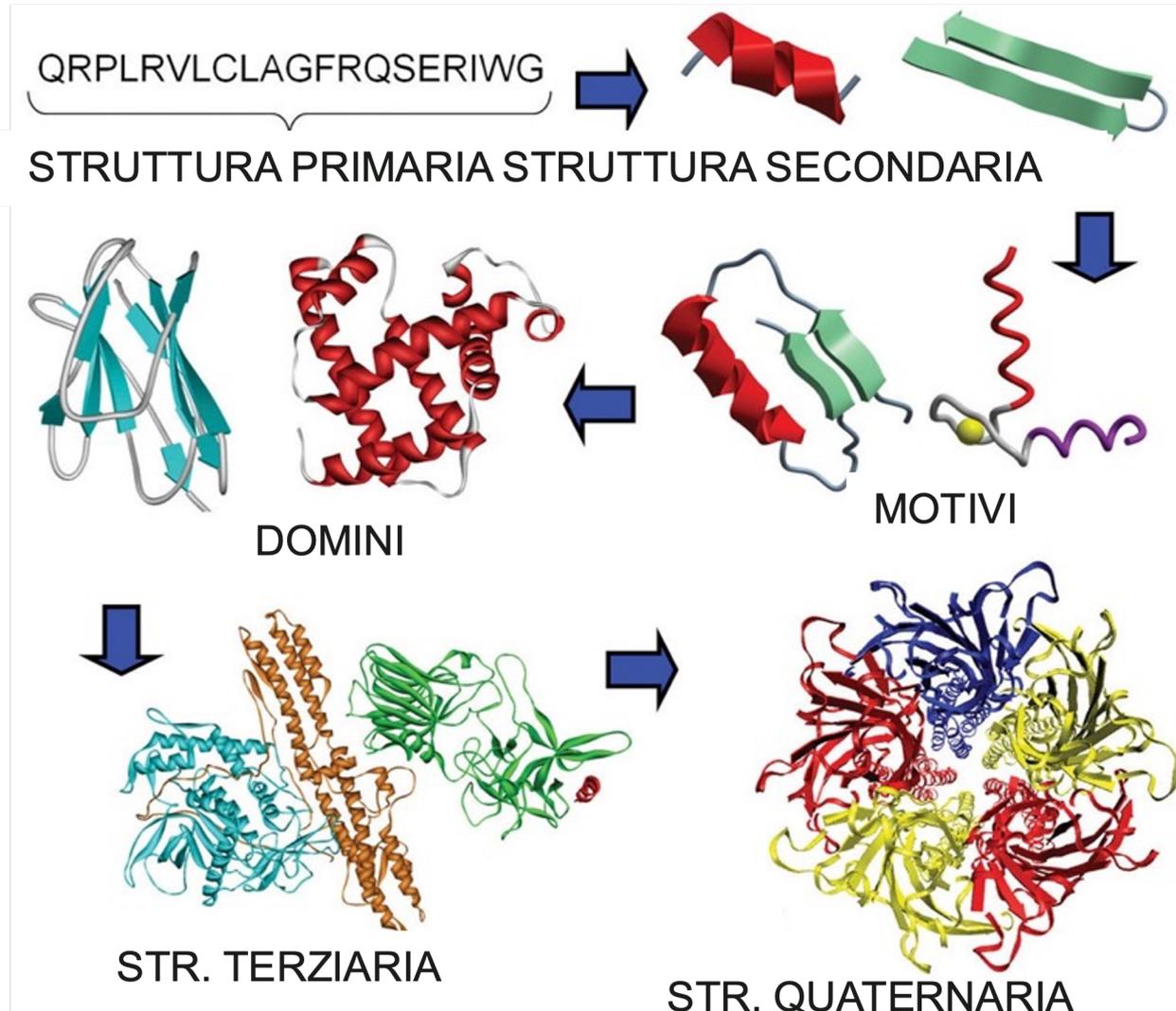
Ogni dominio immunoglobulinico consta di circa 110 amminoacidi, e 7 beta-strands (da 7 a 10), 4 definenti un foglietto beta antiparallelo, e 3 un secondo foglietto antiparallelo. I de sono vincolati da un ponte disolfuro. Nel core della topologia del dominio Ig si osserva un motivo a chiave greca (vedi elementi di struttura secondaria in verde).

Regioni variabili che conferiscono le proprietà di riconoscimento dell'antigene o del ligando



La struttura di un anticorpo

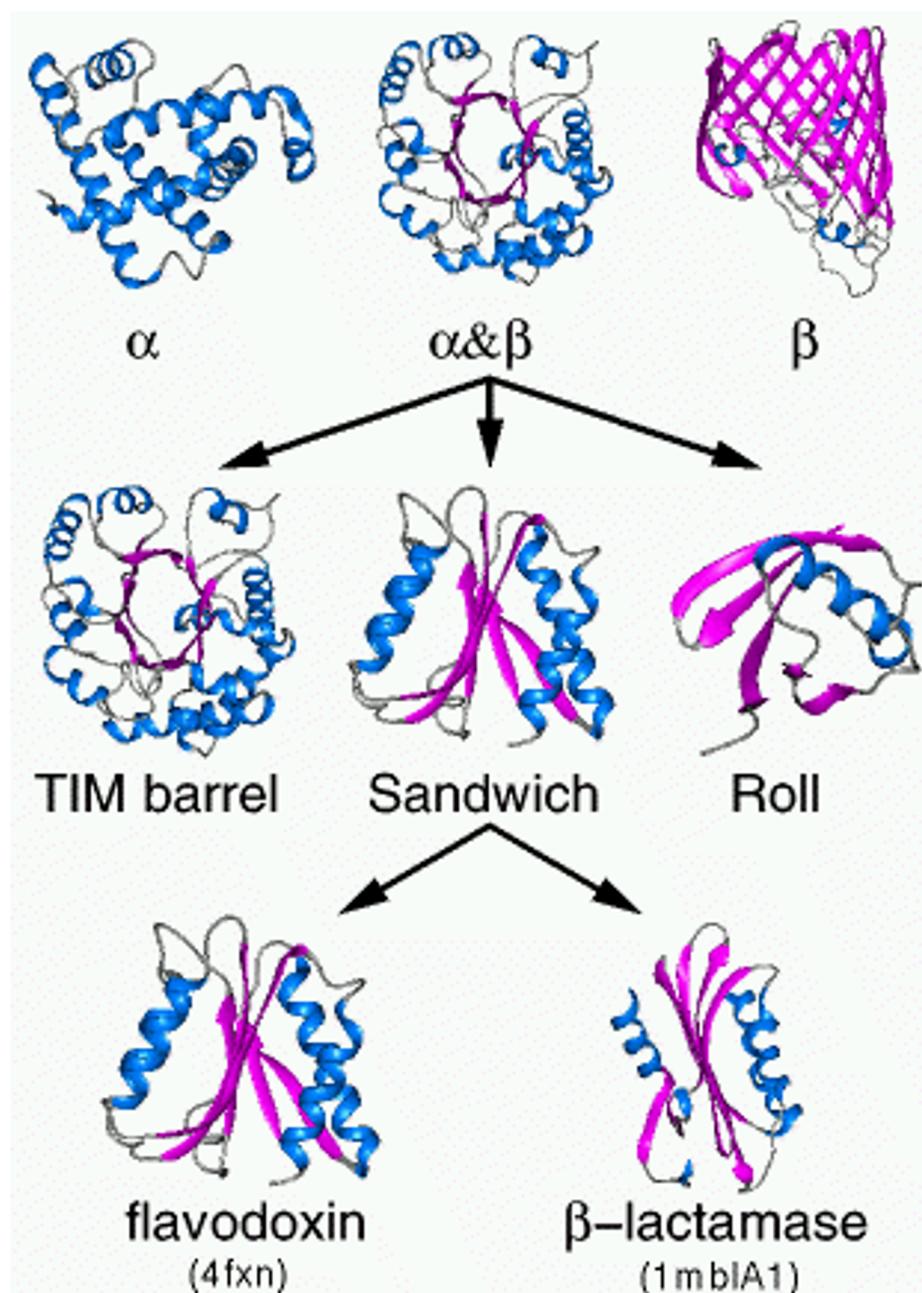
Complessità strutturale su **4 livelli**:
struttura primaria, secondaria, terziaria e quaternaria

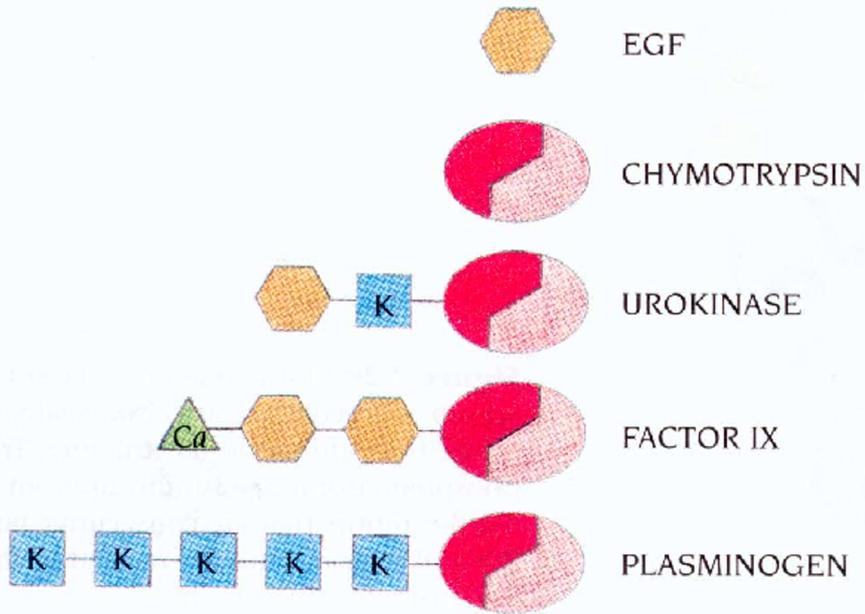


Le strutture terziarie vengono classificate anche in base al loro contenuto complessivo di strutture secondarie:

- puramente α ,
- puramente β ,
- miste α/β

Nonostante siano note migliaia di strutture proteiche, esse sono combinazione di relativamente pochi motivi strutturali e domini piuttosto conservati.





Domains that are homologous to the epidermal growth factor, EGF, which is a small polypeptide chain of 53 amino acids.



Serine proteinase domains that are homologous to chymotrypsin, which has about 245 amino acids arranged in two domains.



Kringle domains, which have a characteristic pattern of three internal disulfide bridges within a region of about 85 amino acid residues.



Calcium-binding domain

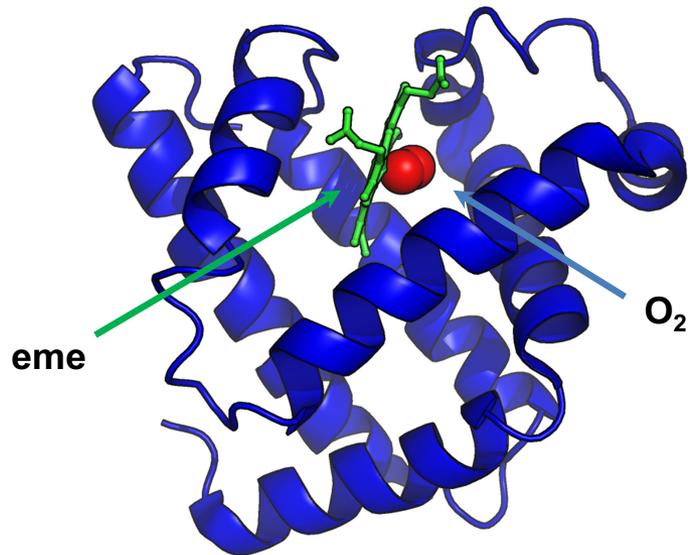
DOMINIO PROTEICI:

Unità strutturali e/o funzionali indipendenti all'interno di una proteina

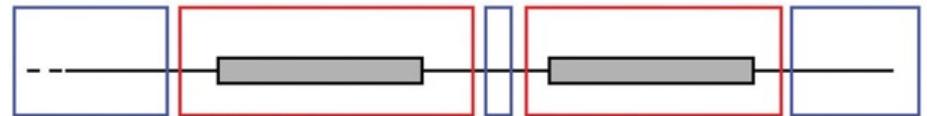
LE PROTEINE POSSONO ESSERE COSTITUITE DA UNO O PIU' DOMINI

Responsabili di una peculiare funzione, interazione, regolazione

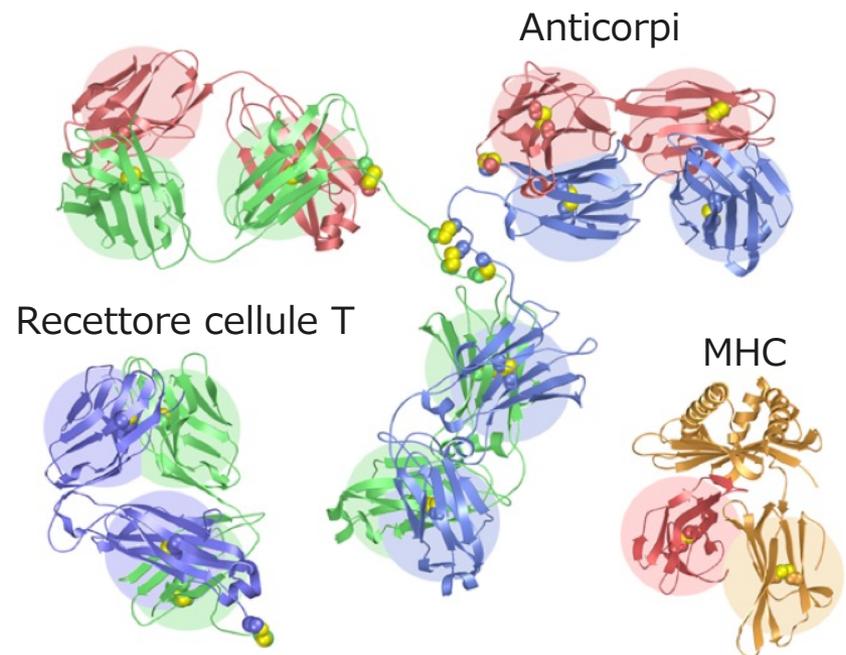
Es. dominio globinico (mioglobina)



Più di un dominio può essere presente in una proteina (molto frequente)

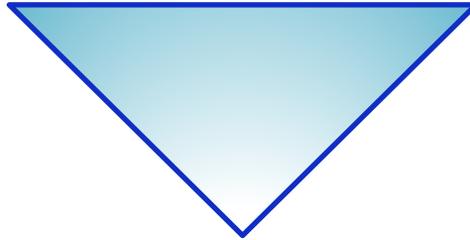


Es. Natura modulare di domini Ig



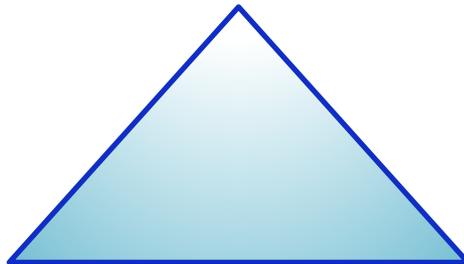
>> Variabilità di sequenza

<< STRUTTURE SECONDARIE E TOPOLOGIA 3D



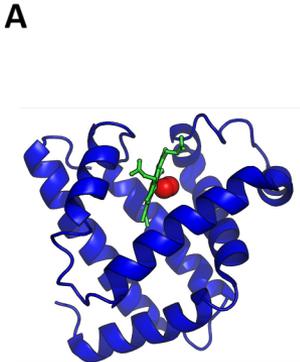
<< Relativamente pochi domini (poche migliaia)

>> miriadi di funzioni svolte da proteine differenti

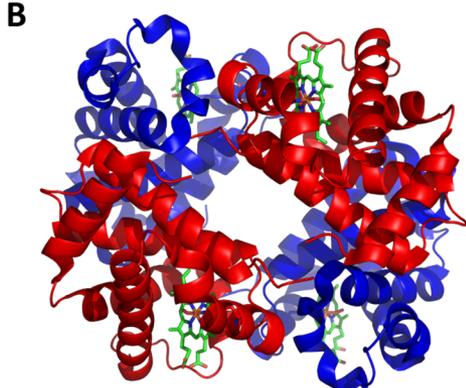


Proteine con funzione simile possono avere sequenze e strutture completamente differenti

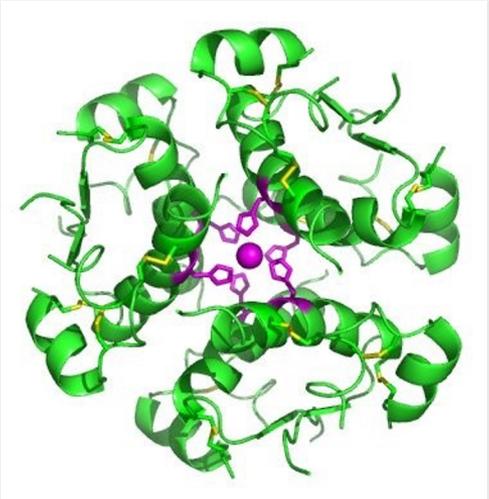
Per svolgere la loro funzione possono interagire con ligandi, altre proteine, cofattori e substrati



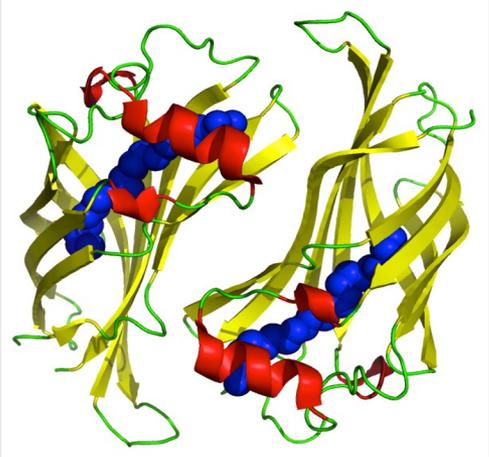
Mioglobina (A)



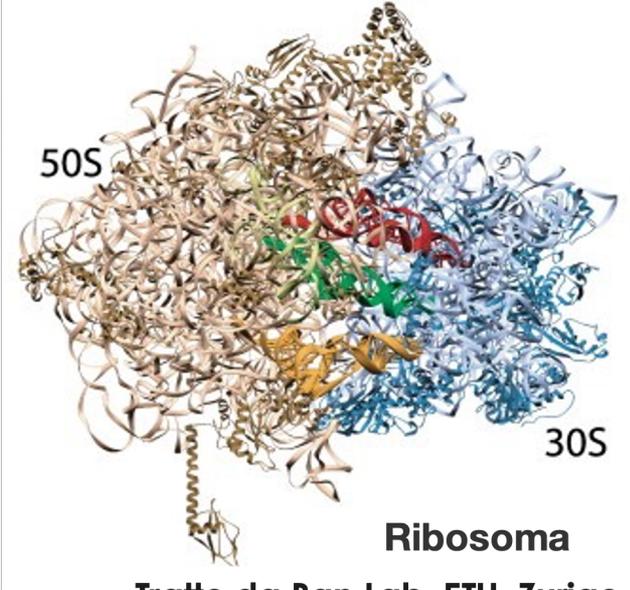
Emoglobina (B)



Esameri di Zn²⁺:Insulina



Lipocalina di *H. pylori*



Ribosoma

Tratto da Ban Lab, ETH, Zurigo

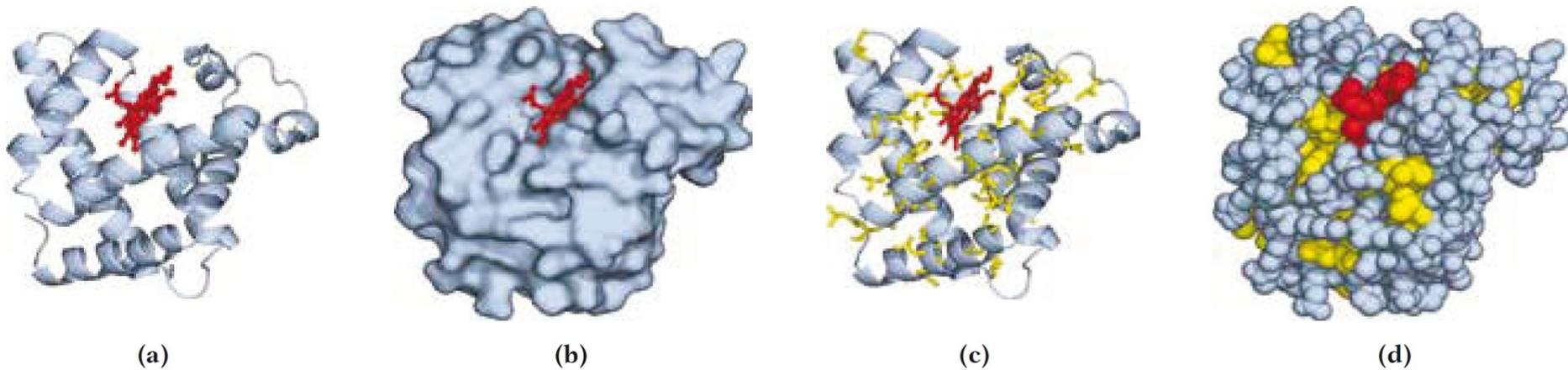


Figura 4.16 Struttura terziaria della mioglobina di capodoglio. L'orientamento della proteina è lo stesso da (a) a (d); il gruppo eme è mostrato in rosso. Oltre a illustrare la struttura della mioglobina, la figura mostra anche esempi di modi diversi di rappresentare le strutture proteiche. **(a)** Lo scheletro del polipeptide è rappresentato sotto forma di nastro, secondo una convenzione introdotta da Jane Richardson, per mettere in evidenza le regioni a struttura secondaria. Qui sono evidenti le regioni ad α elica. **(b)** Immagine della superficie della proteina; in questa rappresentazione della struttura proteica vengono

messe in evidenza le infossature o tasche superficiali a cui si possono legare altre molecole. **(c)** Rappresentazione a nastro che comprende le catene laterali (in giallo) dei residui idrofobici Leu, Ile, Val e Phe. **(d)** Modello a spazi pieni comprendente tutte le catene laterali amminoacidiche. Ciascun atomo è rappresentato da una sfera proporzionale al suo raggio di van der Waals. I residui idrofobici sono ancora rappresentati in giallo. La maggior parte di essi, però, non è visibile perché nascosta all'interno della molecola. [Fonte: PDB ID 1MBO, S. E. Phillips, *J. Mol. Biol.* 142:531, 1980.]

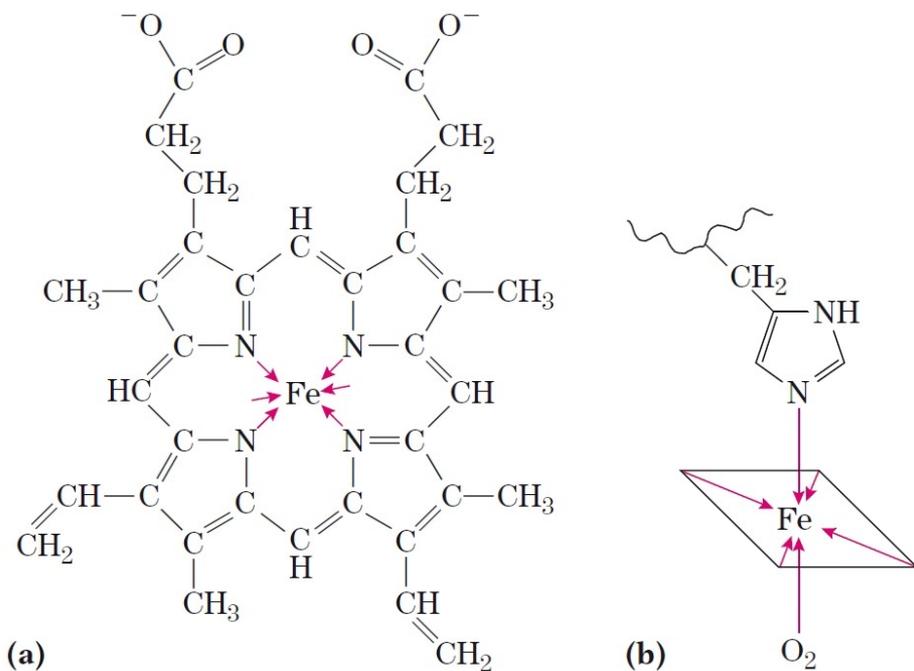
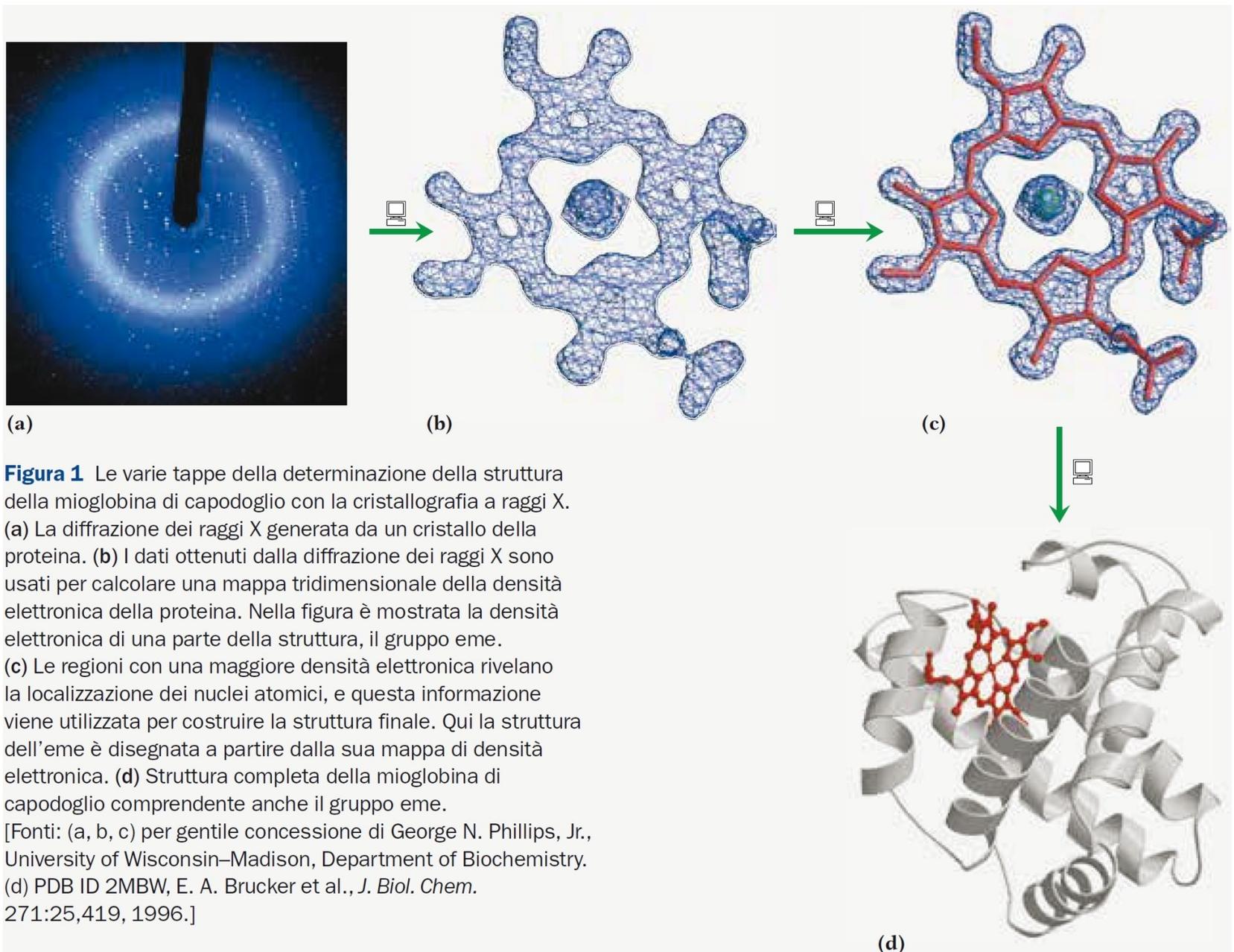
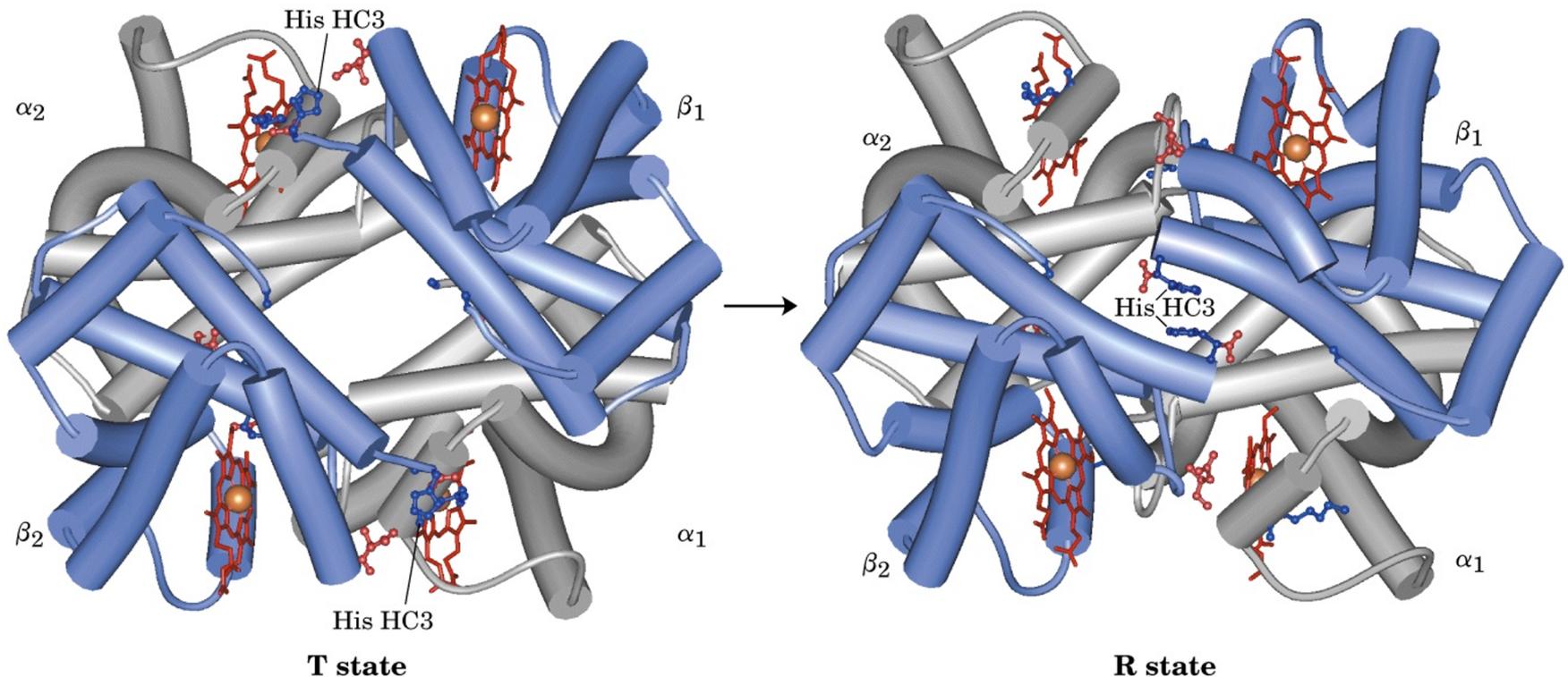


Figura 4.17 Il gruppo eme. Questo gruppo è presente nella mioglobina, nell'emoglobina, nei citocromi e in molte altre proteine (proteine contenenti eme). (a) L'eme è costituito da una struttura organica ad anello, la protoporfirina, a cui è legato un atomo di ferro sotto forma di ione ferroso (Fe^{2+}). L'atomo di ferro ha sei valenze di coordinazione: quattro sullo stesso piano, legate alla molecola della porfirina, e due perpendicolari al piano delle altre quattro. (b) Nella mioglobina e nell'emoglobina uno dei legami perpendicolari di coordinazione è legato a un atomo di azoto di un residuo di His. L'altro è "vuoto" e serve come sito di legame per una molecola di O_2 .



ESEMPIO:

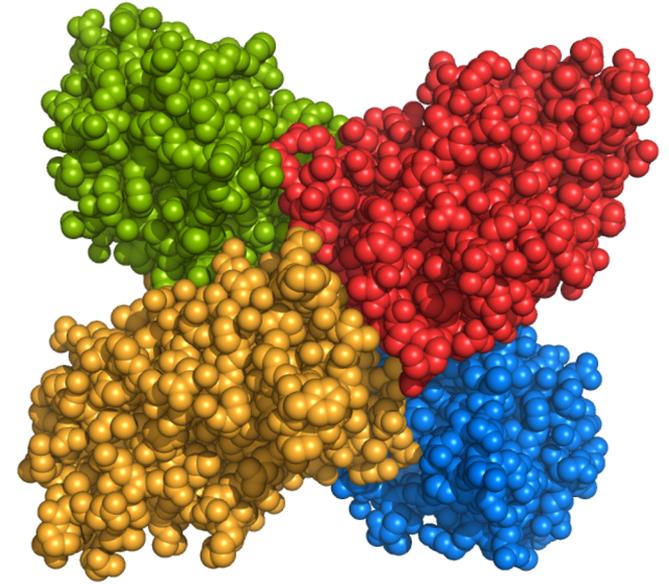
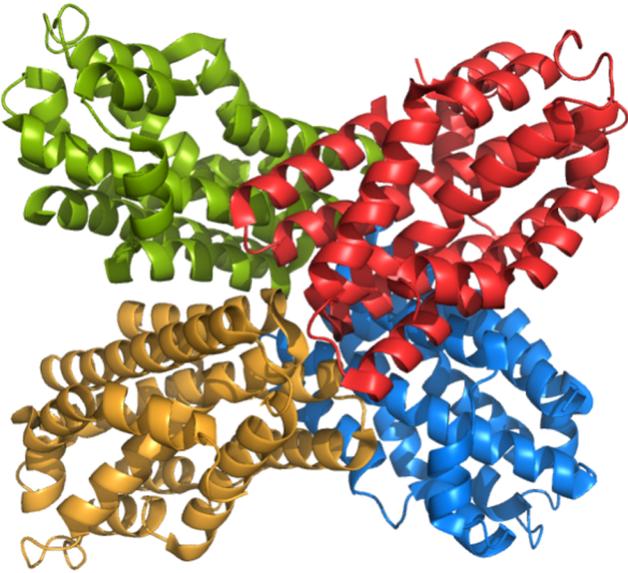
Le due conformazioni Tense e Relaxed dell'emoglobina corrispondono a due stati diversi della proteina con diversa affinità per l'ossigeno.



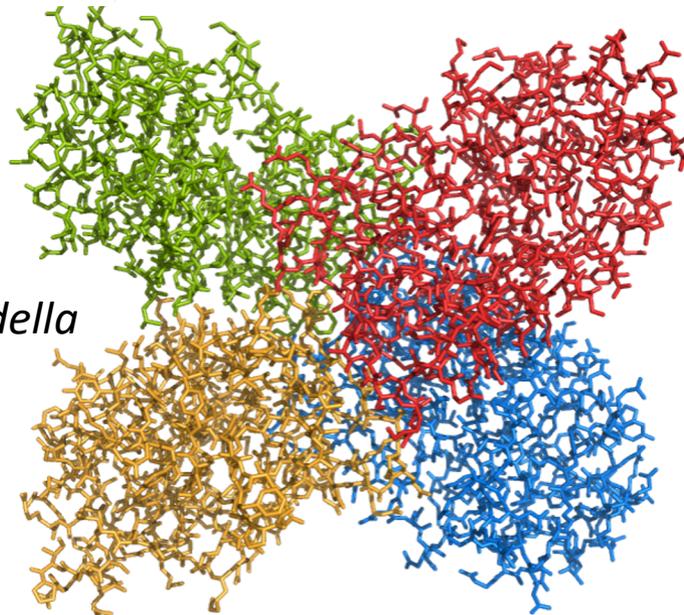
bassa affinità per O₂

alta affinità per O₂

Non si deve **MAI DIMENTICARE** che tali rappresentazioni, seppure molto chiare e ricche di informazioni, sottointendono legami chimici ed atomi con un loro ingombro sterico....

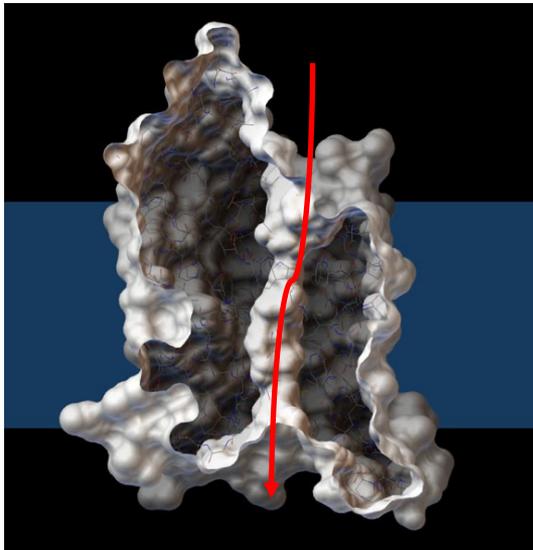
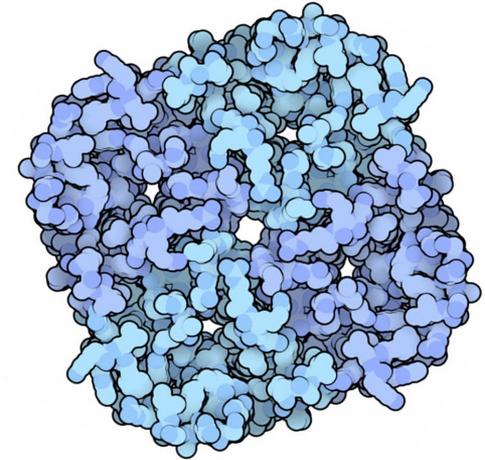
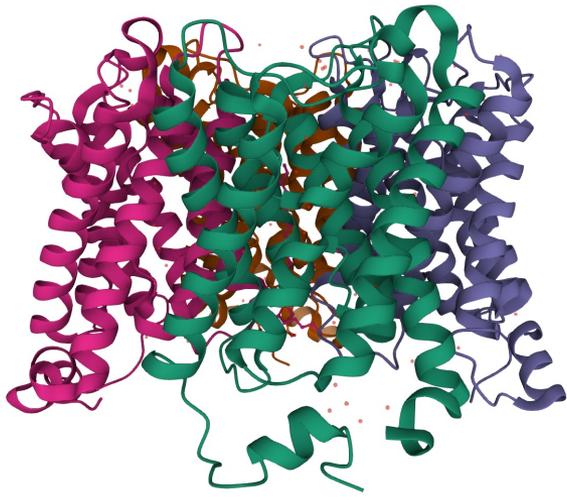


proteina TenA di
Helicobacter pylori
(coinvolta nel metabolismo della
tiamina)



La struttura terziaria

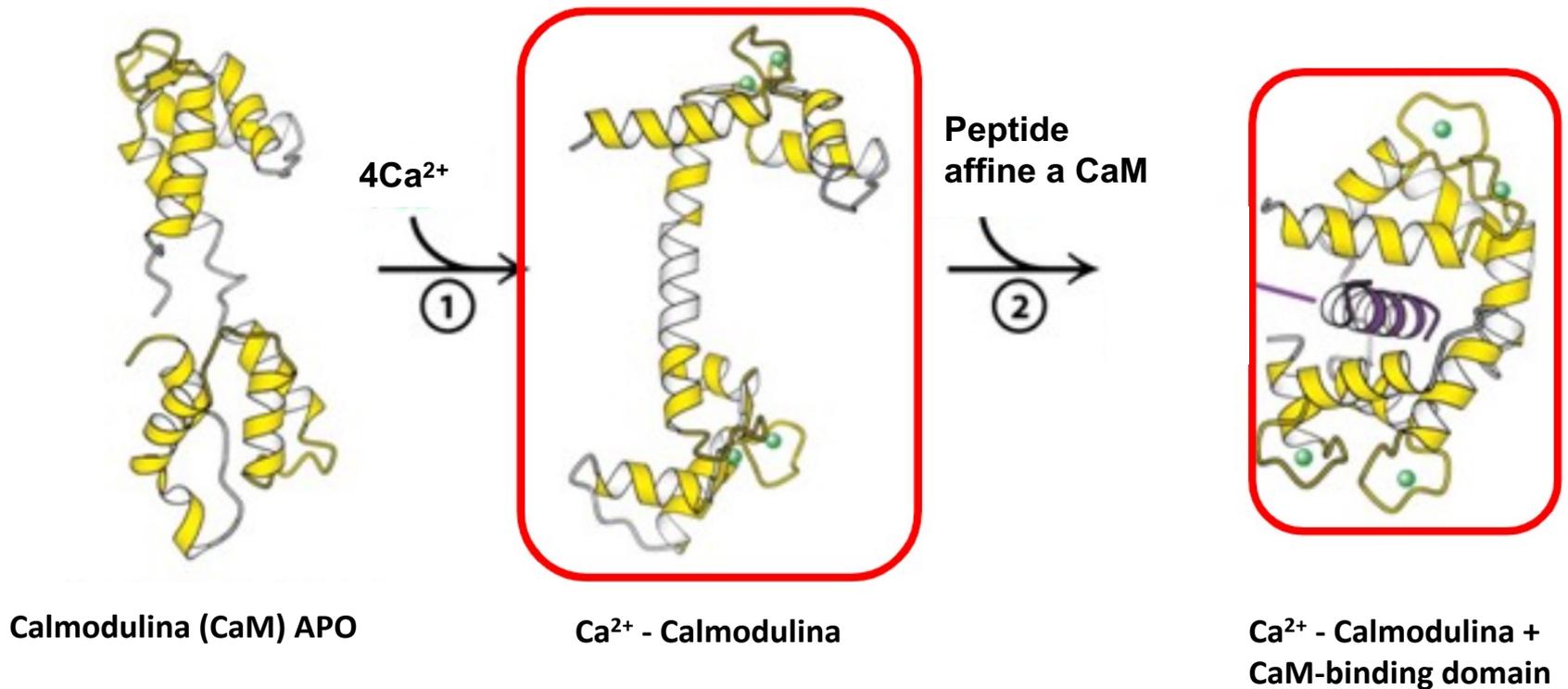
Le acquaporine sono sempre proteine di membrana con il compito di permettere la permeazione dell'acqua (COSTITUITE DA 4 CATENE EQUIVALENTI).



Ogni catena è fonte di trasporto di molecole d'acqua, non si crea un canale/passaggio frutto dell'assemblaggio delle 4 catene (freccia rossa indica la via attraverso al quale può permeare l'acqua):<https://pdb101.rcsb.org/motm/173>

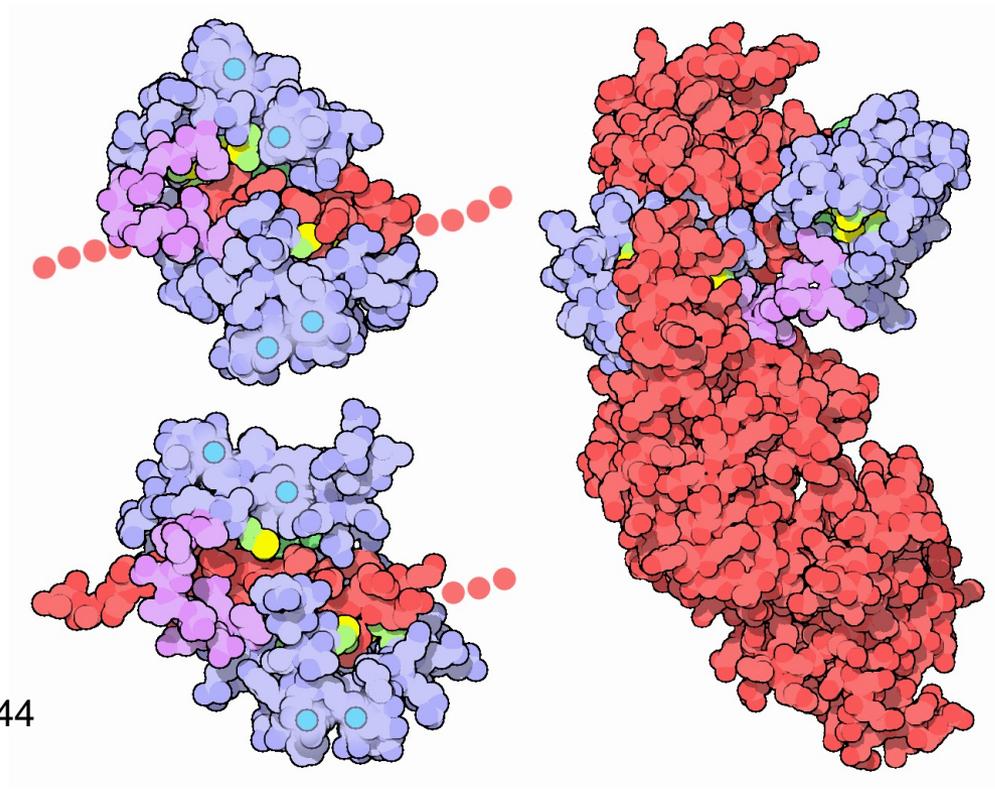
Una proteina può esplorare diverse conformazioni, con diverse caratteristiche; questo tipo di variazioni rispondono alle condizioni in cui si trova ed hanno un significato funzionale.

DINAMICITA' CONFORMAZIONALE: SIGNIFICATO FUNZIONALE!



PLASTICITA' STRUTTURALE DI CALMODULINA

- Elevata flessibilità dell'elica centrale (STUDI NMR)
- Studi strutturali dei complessi CAM:Proteina target rivelano l'elevato grado di adattamento e plasticità dei due domini esterni e dell'elica di connessione ad ottimizzare il legame



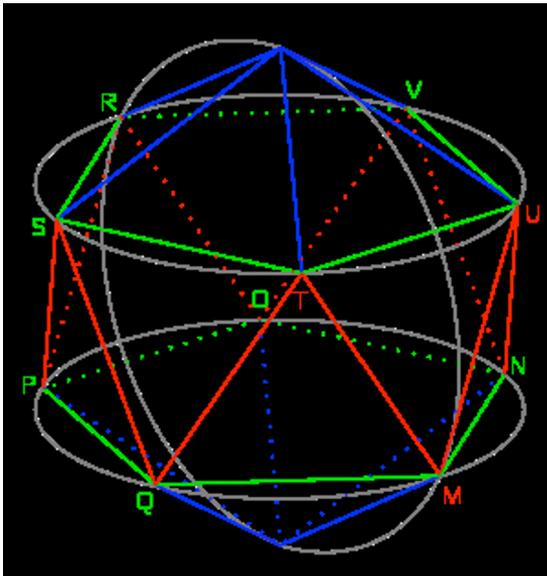
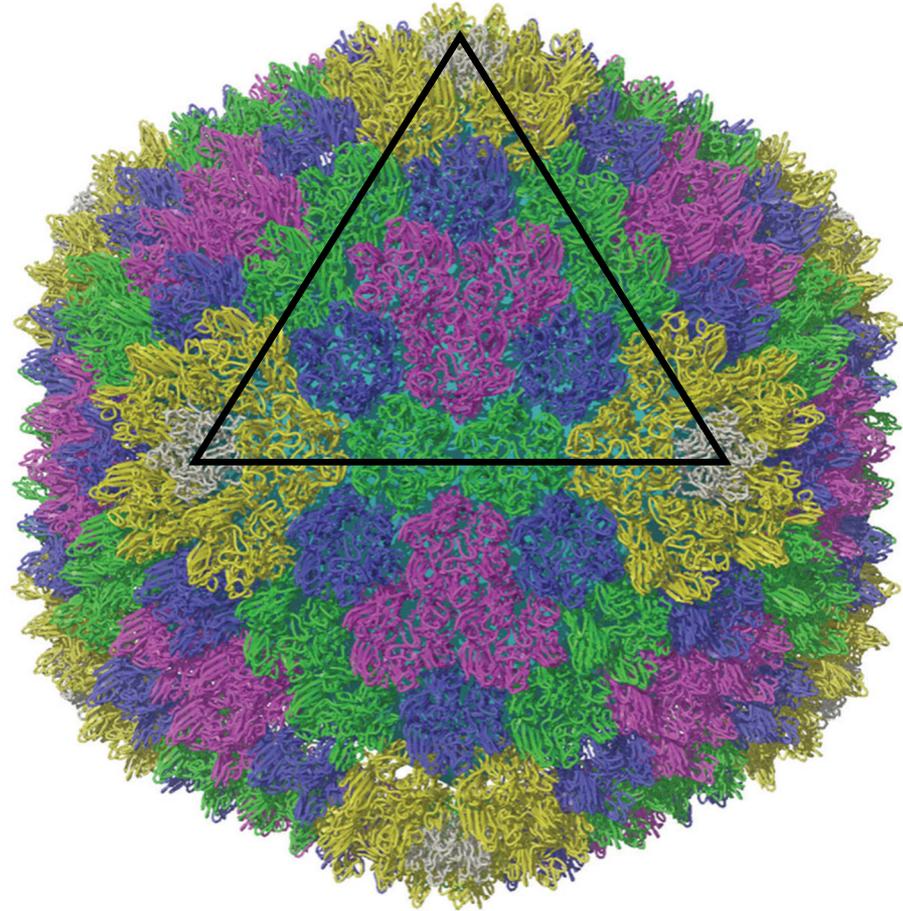
Tratto da <https://pdb101.rcsb.org/motm/44>

Struttura tridimensionale di un capsid virale ottenuta

mediante diffrazione dei raggi X

~ 2000 subunità
simmetria icosaedrica
(20 facce, 30 spigoli)

4 diverse proteine sono i costituenti
principali del capsid



Si arrangiano in modo perfettamente ed
altamente simmetrico.