

DIFFUSIONE DEL MATERIALE DIDATTICO

Queste immagini sono fornite agli studenti che hanno frequentato il corso di “Biologia Fisiologia Anatomia” tenuto dalla Prof.ssa Giovanna Pontarin nel Corso di Laurea triennale in Ingegneria Biomedica dell’Università di Padova nell’anno accademico 2024-2025.

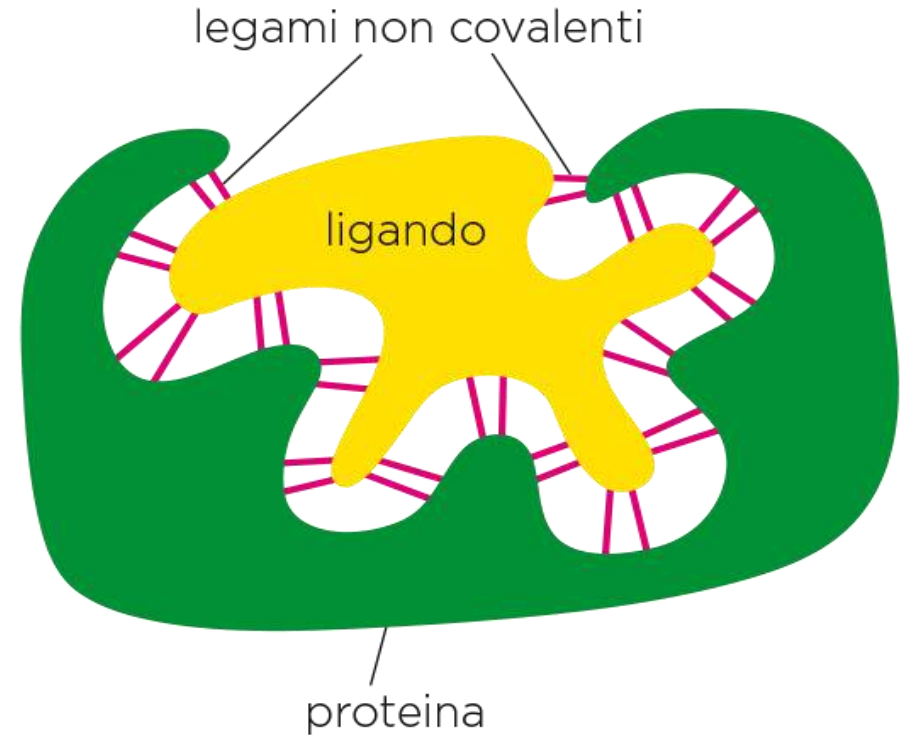
Nel rispetto dei diritti di proprietà, non ne è consentito l’uso per altri scopi o la diffusione su Internet o ad altre persone.

E’ inoltre vietata la diffusione di video, foto, registrazioni, dispense delle lezioni e del materiale delle esercitazioni.

Nella lezione precedente

Struttura delle proteine

- ✓ Determinata dalla sequenza amminoacidica
- ✓ Chaperon molecolari
- ✓ Determina l'attività di una proteina (sito di legame)

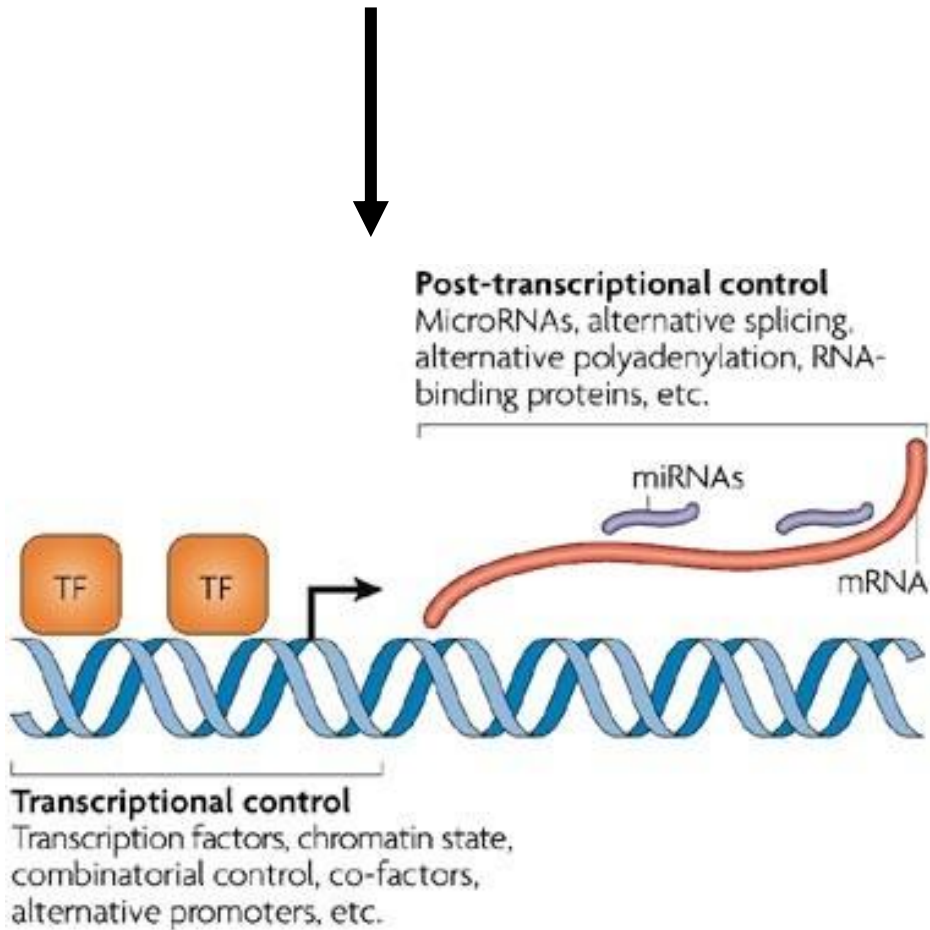


L'attività di alcune proteine è regolata in modo da adattarsi in modo ottimale allo stato in cui la cellula si trova.

La regolazione delle proteine avviene su diversi livelli:

- 1) Sintesi / degradazione
- 2)
- 3)
- 4)

1) Sintesi e/o degradazione



Nature Reviews | Genetics

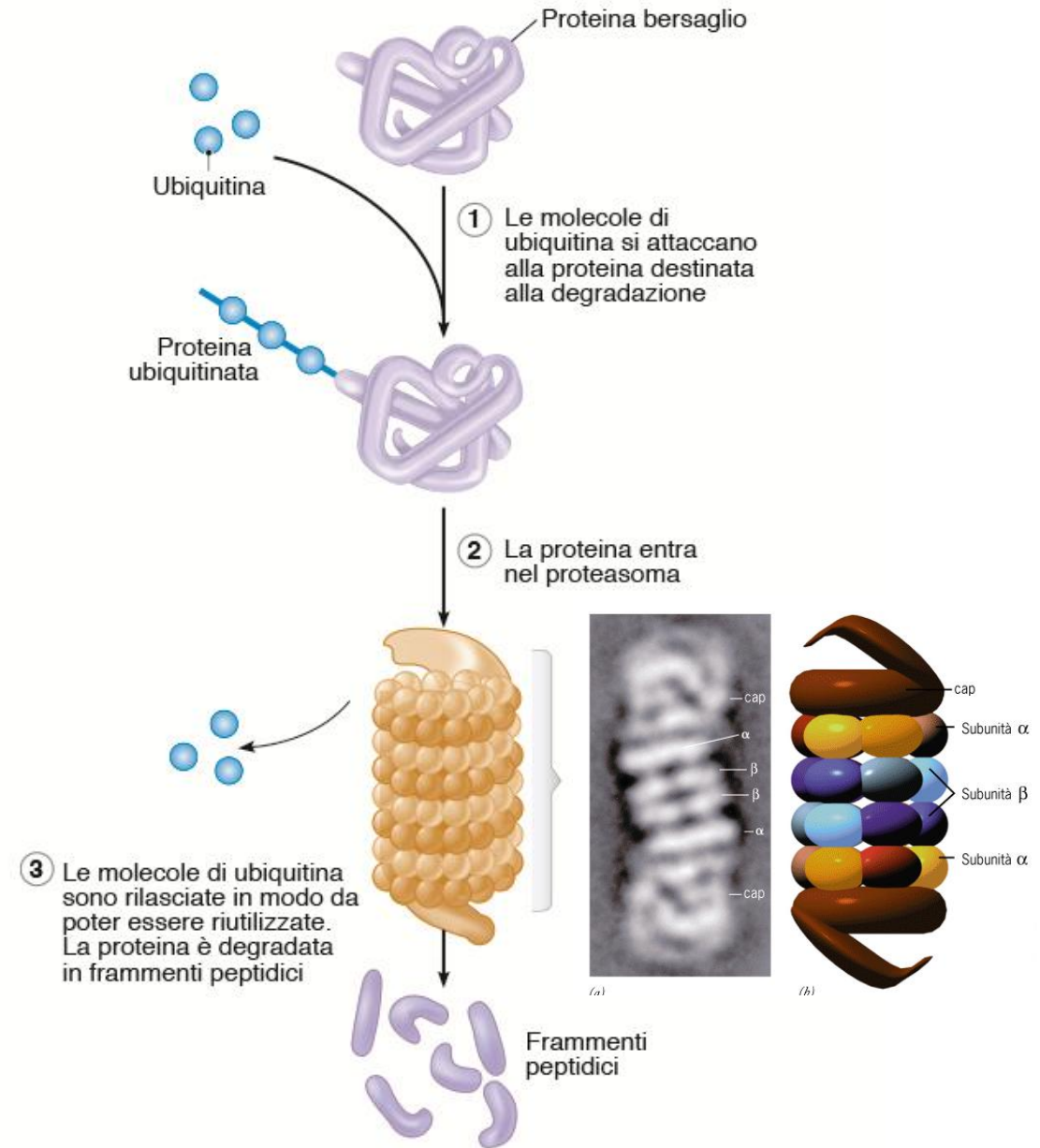


Le proteasi per la degradazione
si trovano nei

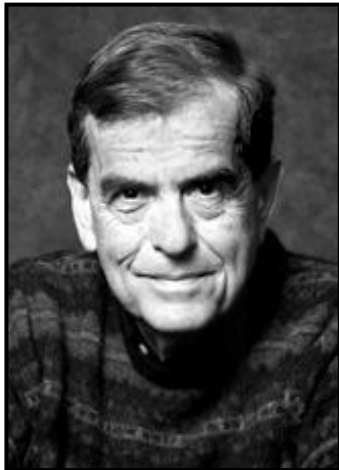
- ✓ Proteasomi
- ✓ Lisosomi

Degradazione delle proteine tramite il sistema di poliubiquitinazione e proteasomi

- 1) La proteina da degradare viene riconosciuta dalle ubiquitina ligasi che legano residui di ubiquitina formando delle catene a livello dei residui di Lys.
- 2) La proteina così marcata viene indirizzata ai proteasomi.
- 3) I residui di ubiquitina vengono rilasciati, la proteina si svolge e viene frammentata dalle proteasi.



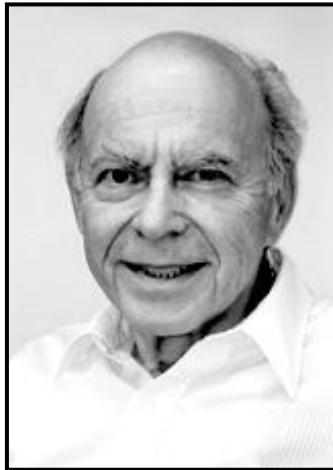
2004. Premio Nobel (chimica) a Ciechanover, Hershko e Rose per la scoperta della degradazione delle proteine mediata dall'ubiquitina.



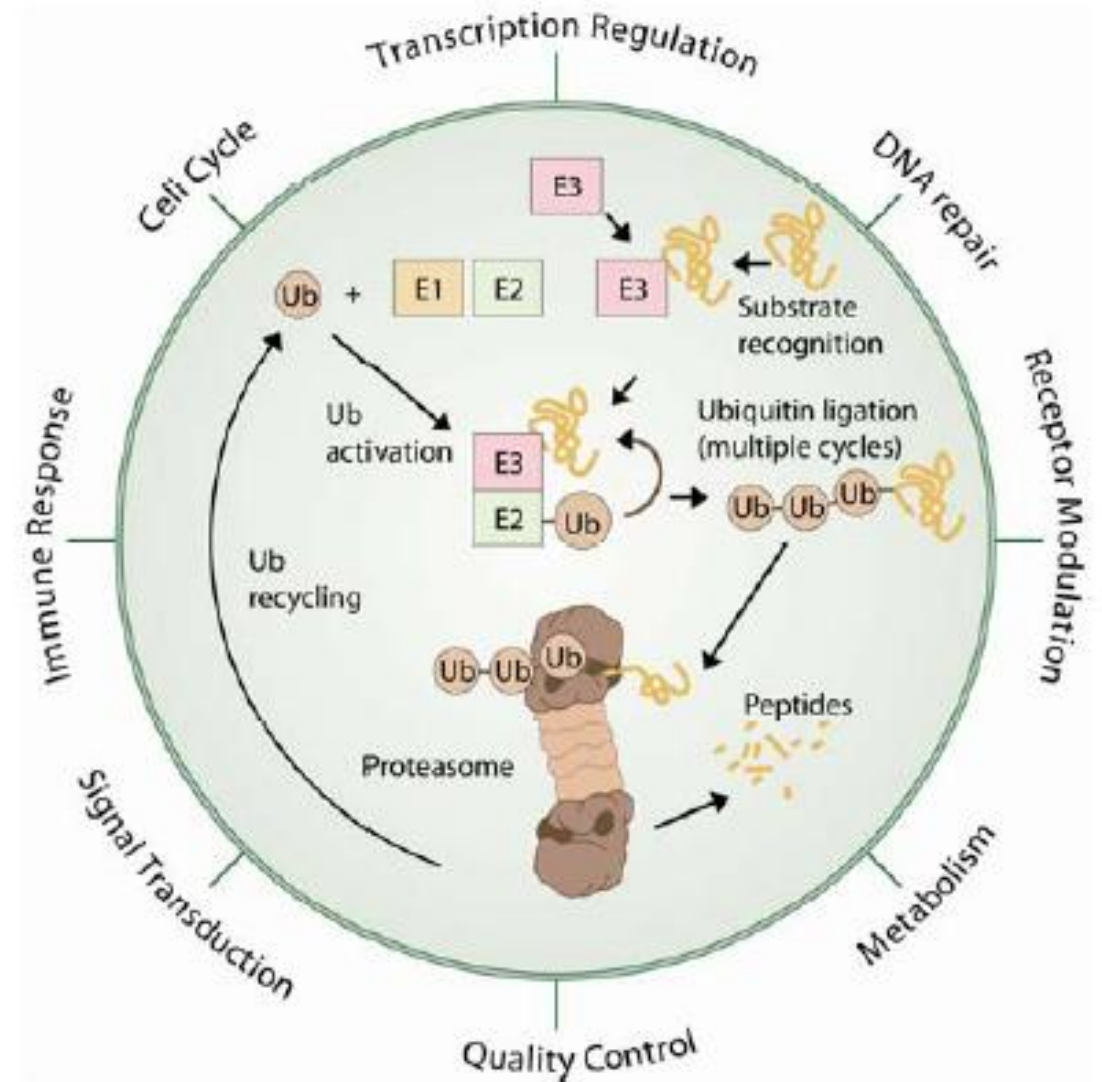
Aaron Ciechanover
(Israele)



Avram Hershko
(Ungheria/Israele)



Irwin Rose
(USA)



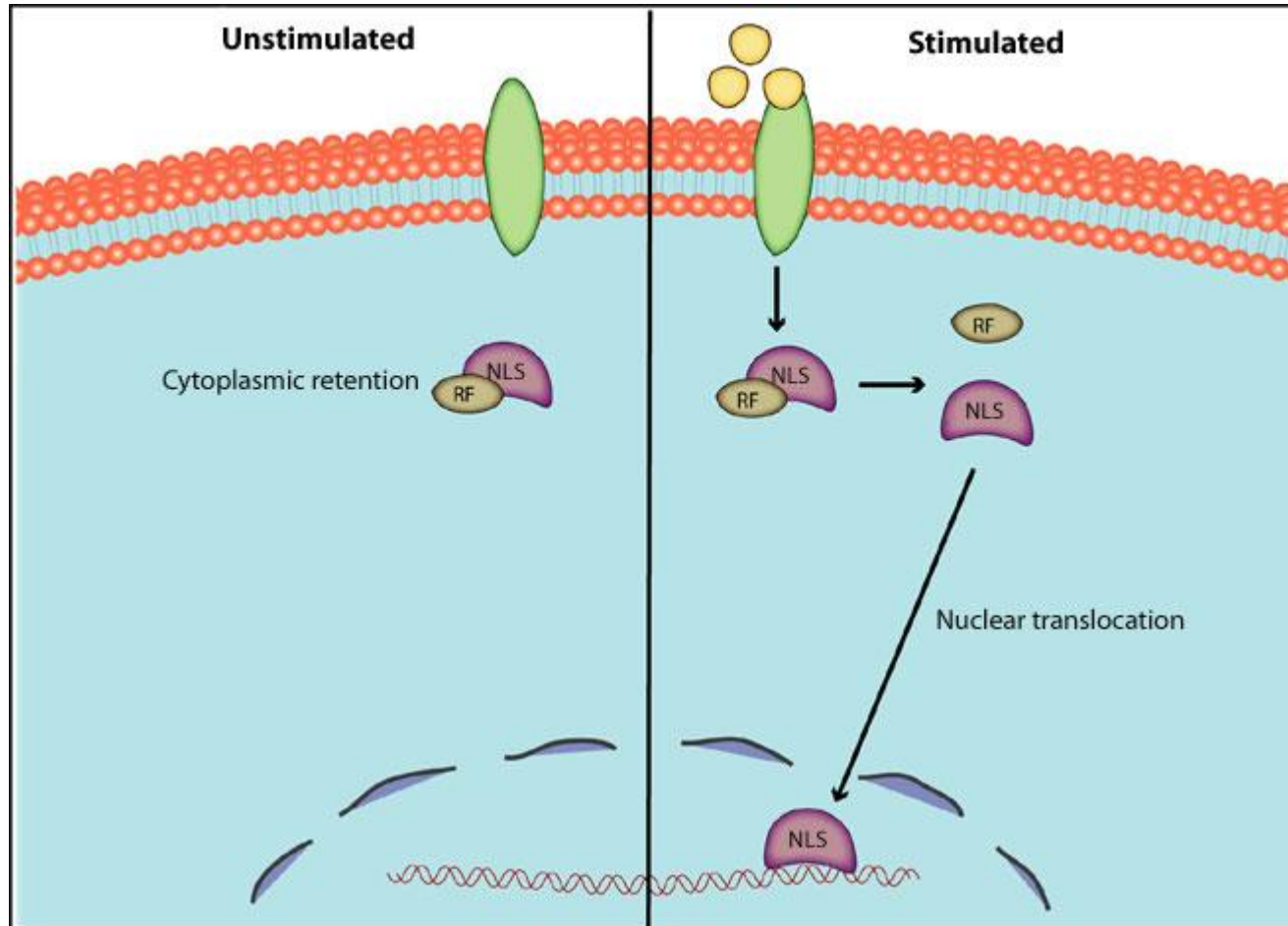
L'attività di alcune proteine è regolata in modo da adattarsi in modo ottimale allo stato in cui la cellula si trova.

La regolazione delle proteine avviene su diversi livelli:

- 1) Sintesi / degradazione
- 2) Controllo della localizzazione subcellulare

2) Controllo della localizzazione subcellulare

Esempio: fattori di trascrizione



NLS

Fattore di trascrizione

RF

Fattore di ritenzione
citoplasmatico

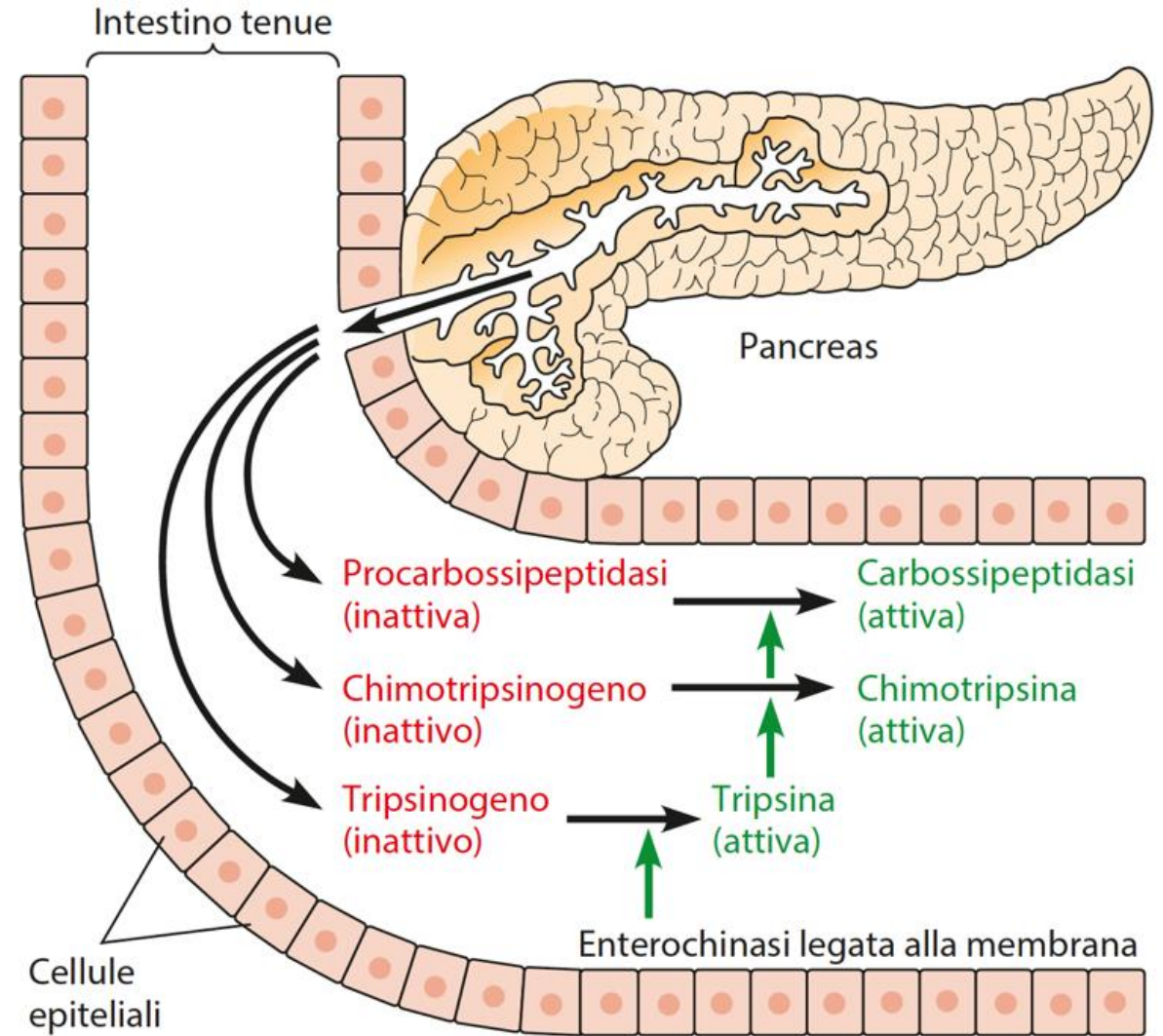
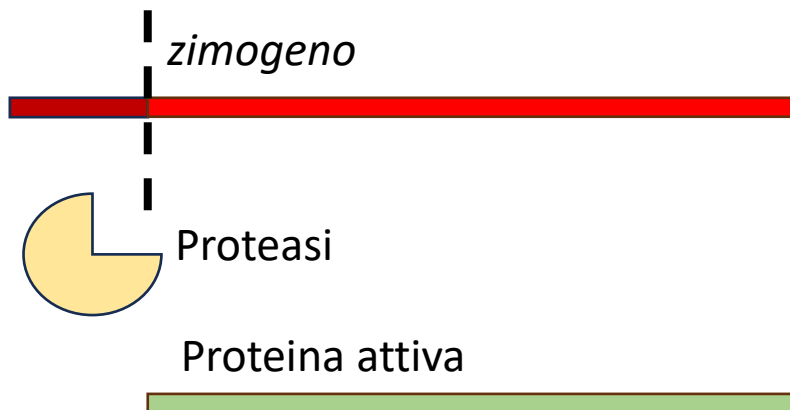
L'attività di alcune proteine è regolata in modo da adattarsi in modo ottimale allo stato in cui la cellula si trova.

La regolazione delle proteine avviene su diversi livelli:

- 1) Sintesi / degradazione
- 2) Controllo della localizzazione subcellulare
- 3) Attivazione mediante taglio proteolitico

3) Attivazione mediante taglio proteolitico

Esempio: enzimi digestivi prodotti dal pancreas, caspasi durante la morte cellulare per apoptosi



L'attività delle proteine è regolata in modo coordinato in modo tale da adattarsi in modo ottimale allo stato in cui la cellula si trova.

La regolazione delle proteine avviene su diversi livelli:

- 1) Sintesi / degradazione
- 2) Controllo della localizzazione subcellulare
- 3) Attivazione mediante taglio proteolitico
- 4) Modulazione mediante modulatori e aggiunta/rimozione di gruppi chimici

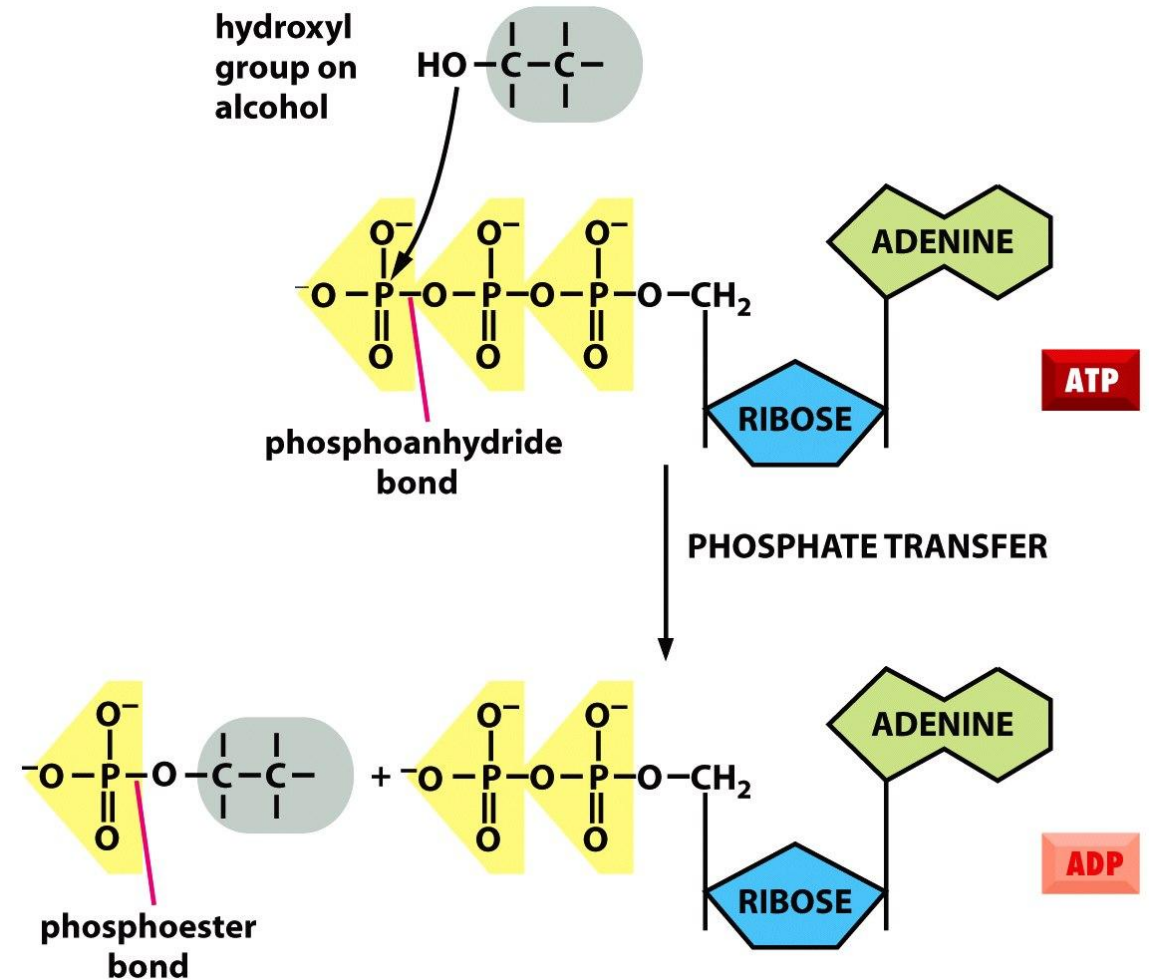
4) **Modulazione** mediante

- ✓ mediante aggiunta/rimozione di gruppi chimici *modulatori covalenti* (gruppo fosfato, acetile, metile)
- ✓ *modulatori* (ATP, GTP, Ca^{++}) che ne alterano la conformazione

Regolazione mediante aggiunta/rimozione del gruppo fosfato

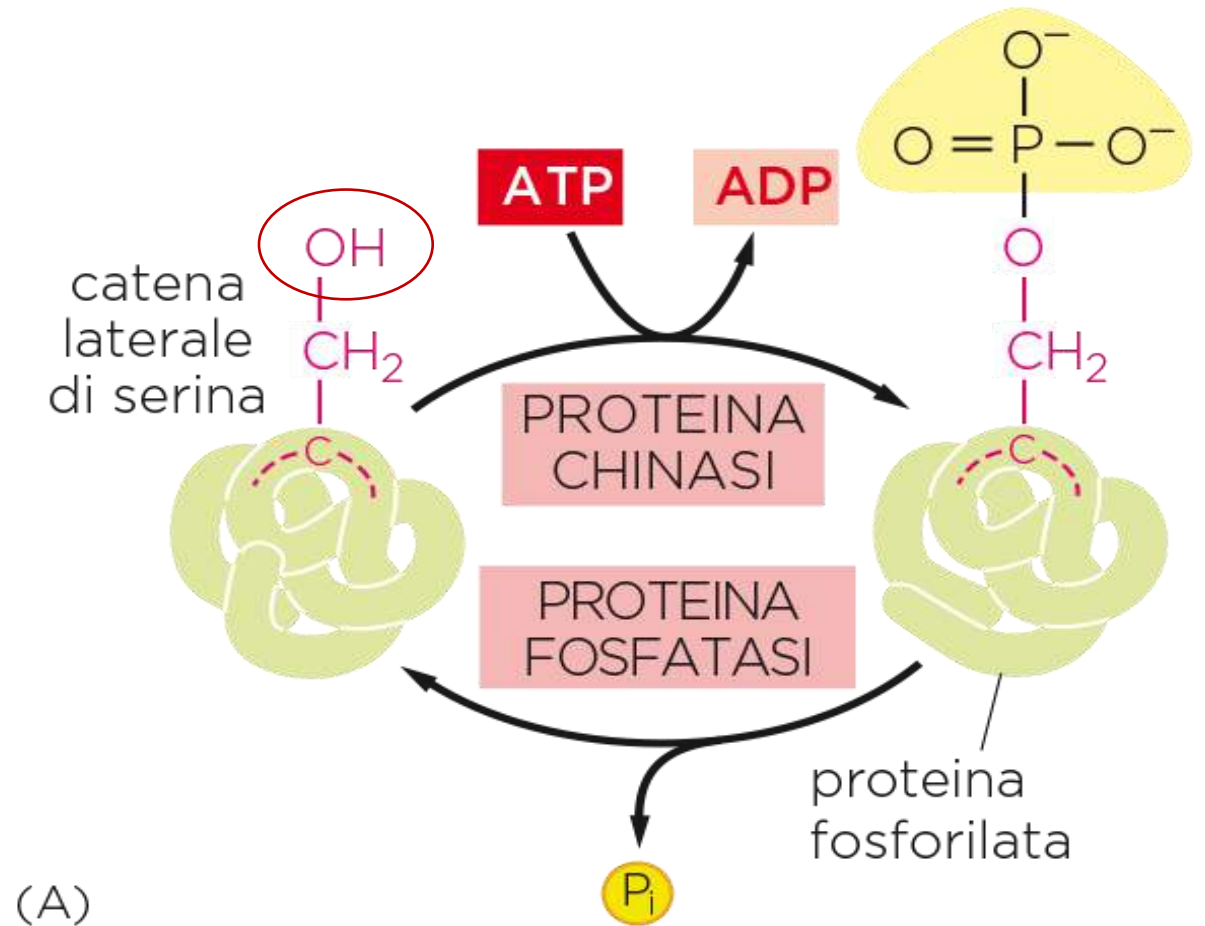
La fosforilazione è un meccanismo di controllo per regolare l'attività delle proteine.

Il gruppo fosfato viene donato da una molecola di ATP.



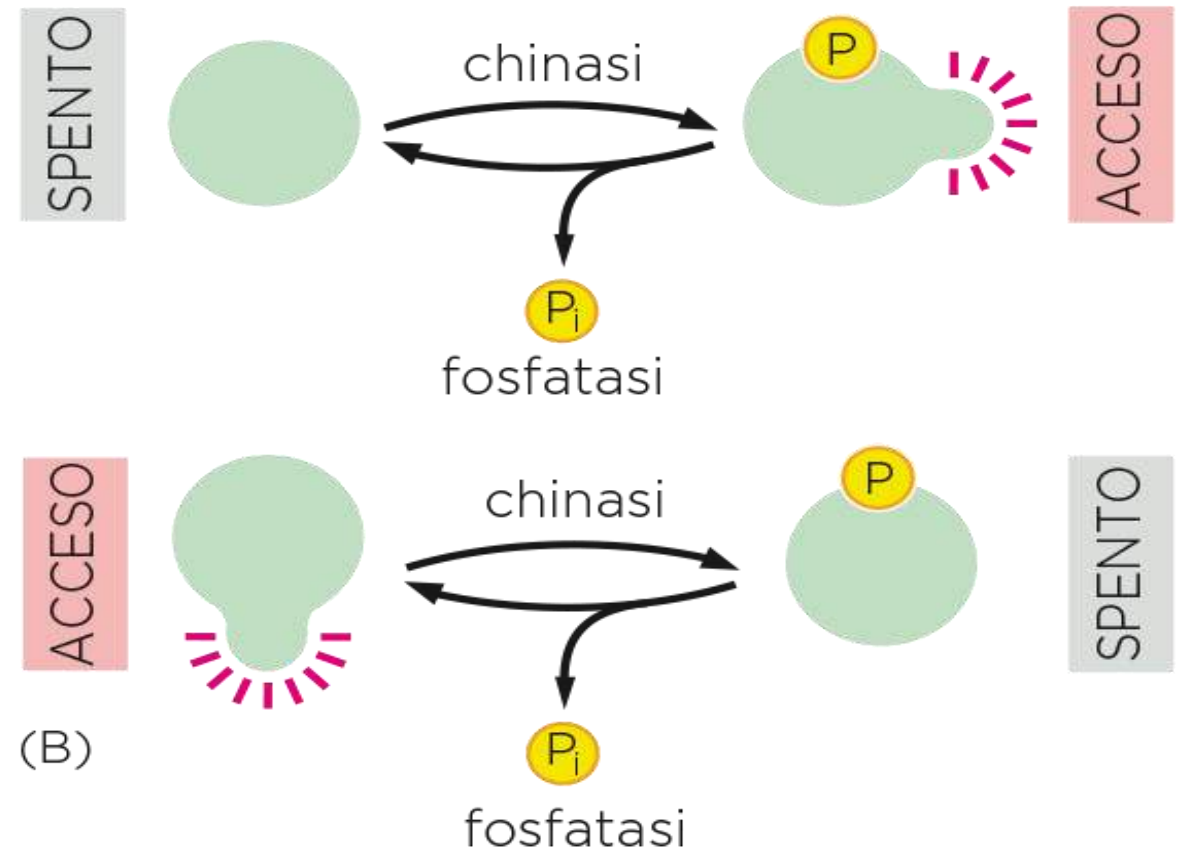
Regolazione mediante aggiunta/rimozione del gruppo fosfato

La reazione comporta il trasferimento di un gruppo fosfato dalla molecola di ATP a una catena laterale amminoacidica che contiene un gruppo -OH (Serina, Treonina, Tirosina).



La fosforilazione avviene ad opera di specifici enzimi (**chinasi**).
Il gruppo fosfato può essere rimosso da altri enzimi (**fosfatasi**).

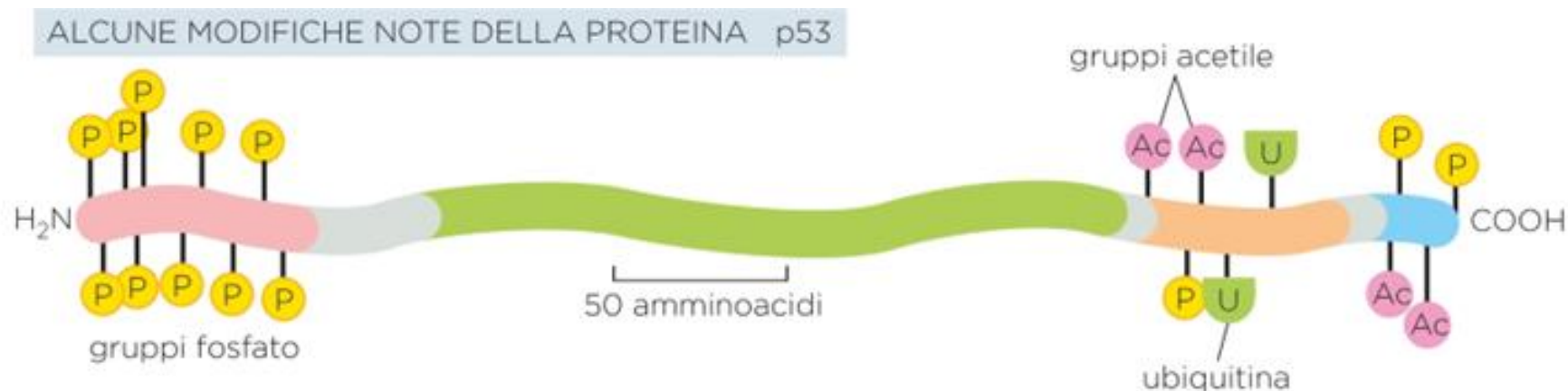
La fosforilazione può determinare un incremento o una diminuzione dell'attività.



L'attività della proteina dipende dall'attività relativa di chinasi e fosfatasi che agiscono su di essa.

Oltre al gruppo fosfato esistono un gran numero di altre modificazioni covalenti. Le modificazioni avvengono in punti ben precisi della catena peptidica.

Fosfato (Ser, Thr, Tyr)	Aumenta/diminuisce l'attività enzimatica. Spinge l'assemblaggio di proteine in complessi più grandi.
Metile/acetile (Lys)	Modifica l'espressione genica legandosi agli istoni.
Ubiquitina (Lys)	Media il trasporto di proteine nelle vescicole (monoubiquitina). Indirizza la proteina per la degradazione (catene di ubiquitina).



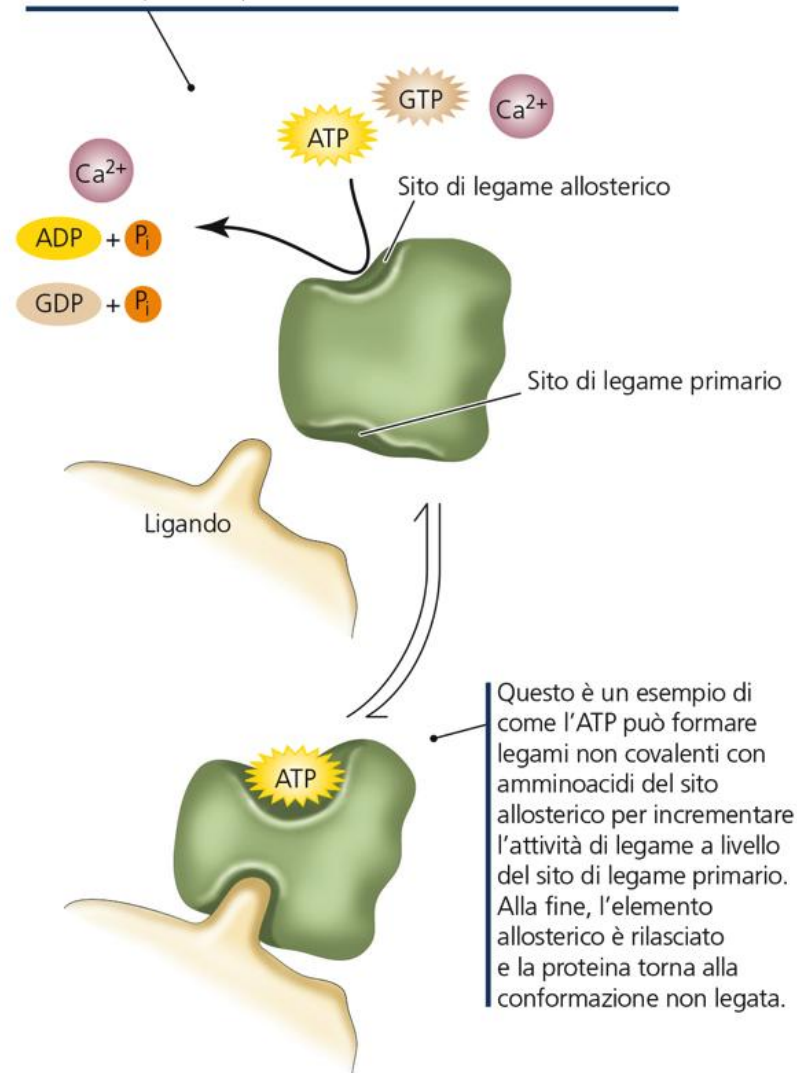
4) **Modulazione** mediante

- ✓ mediante aggiunta/rimozione di gruppi chimici *modulatori covalenti* (gruppo fosfato, acetile, metile)
- ✓ *modulatori* (ATP, GTP, Ca^{++}) che ne alterano la conformazione

Oltre al sito di legame per lo specifico ligando (sito attivo), alcune proteine contengono un secondo sito di legame, chiamato sito di legame allosterico.

Il sito allosterico non lega il ligando ma delle altre molecole che controllano la conformazione del sito attivo.

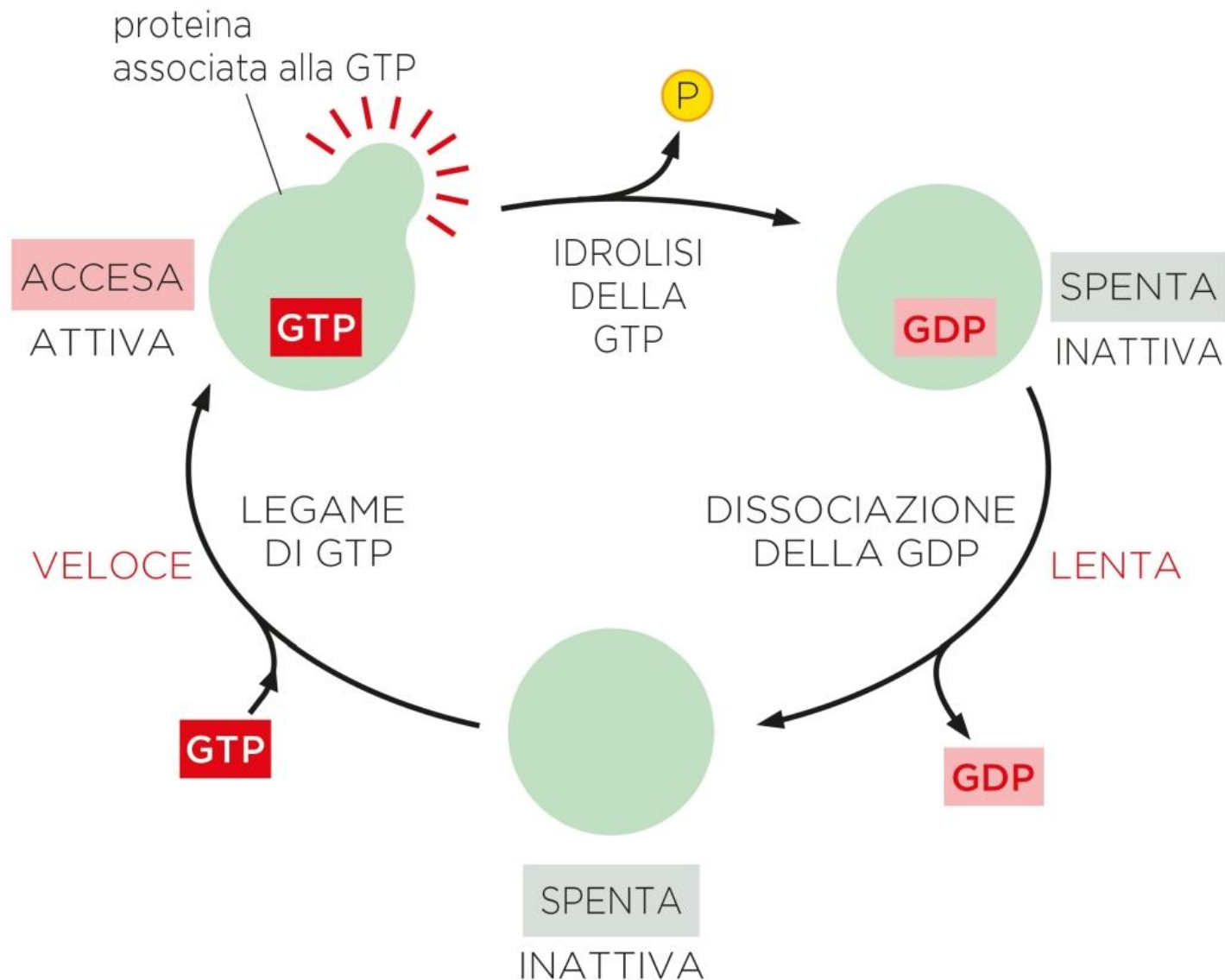
Fra gli elementi allosterici comuni ci sono il Ca^{2+} , l'ATP e il GTP. Questi si legano al sito allosterico per diversi intervalli di tempo e inducono un cambio conformazionale nella proteina che cambia anche la conformazione del sito di legame primario. Una volta che l'elemento allosterico viene rilasciato, può essere tagliato (per esempio, $\text{ATP} \rightarrow \text{ADP} + \text{P}_i$) o riciclato (per esempio, Ca^{2+}).



Le proteine che legano il GTP fungono da interruttori molecolari

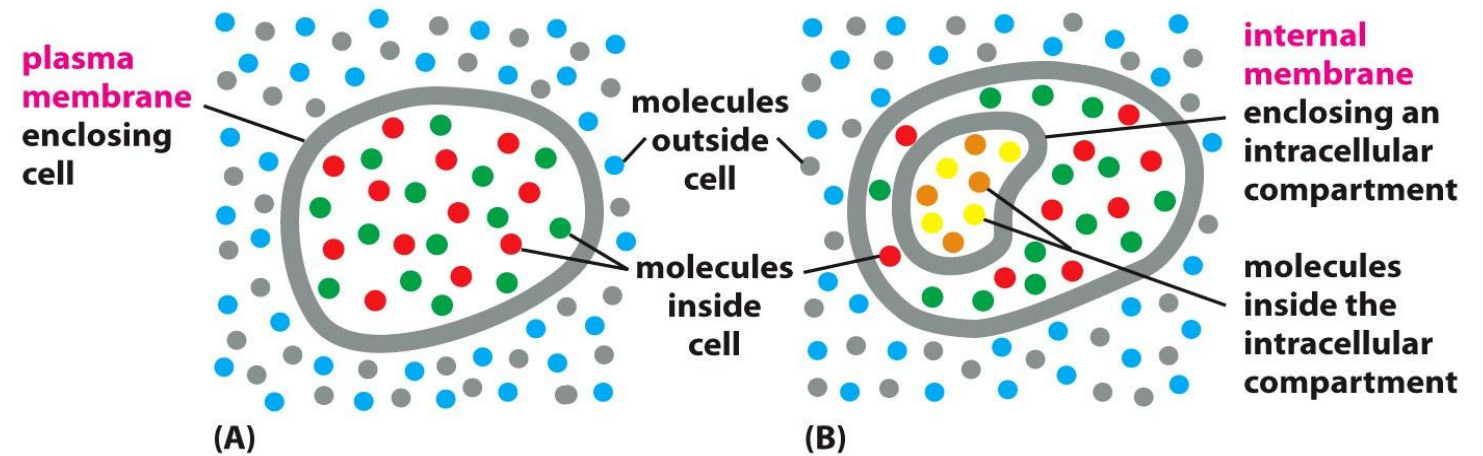
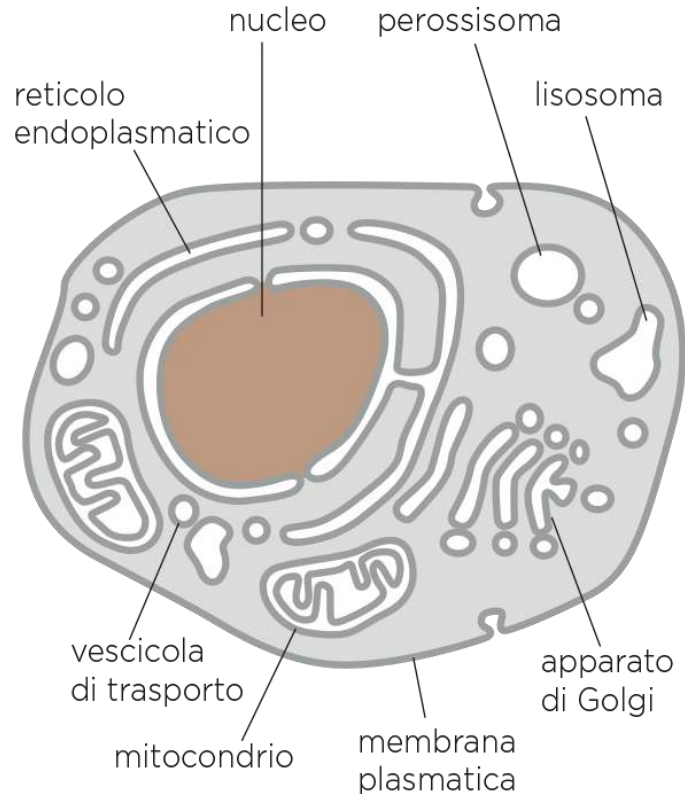
Le **proteine G** trovano nella conformazione attiva con GTP legato, mentre dopo aver idrolizzato il GTP a GDP liberano un fosfato e passano nella conformazione inattiva.

L'intero processo è reversibile.



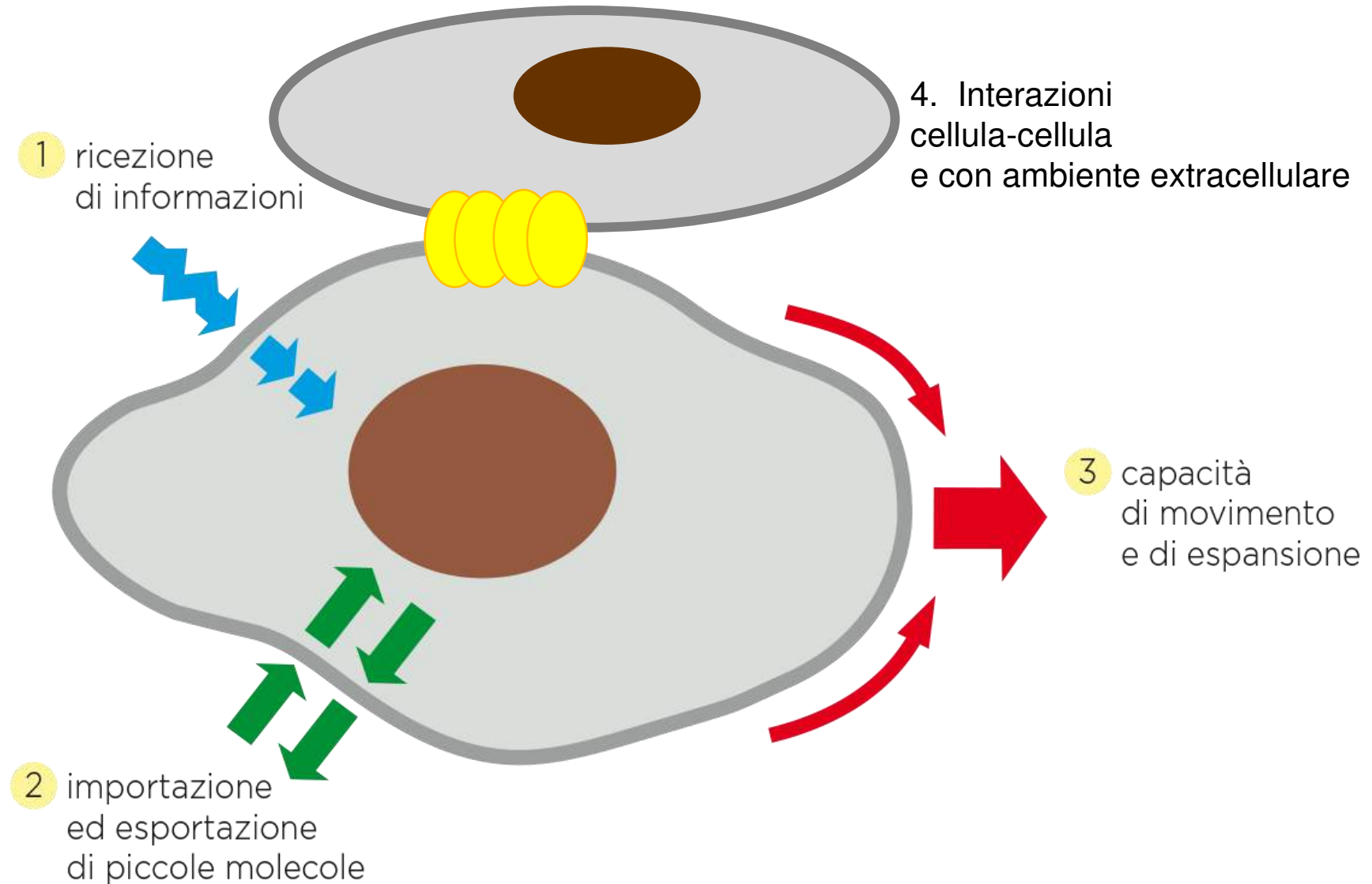
LE MEMBRANE BIOLOGICHE

La membrana plasmatica delimita la cellula. Un sistema di endomembrane definisce i compartimenti interni.

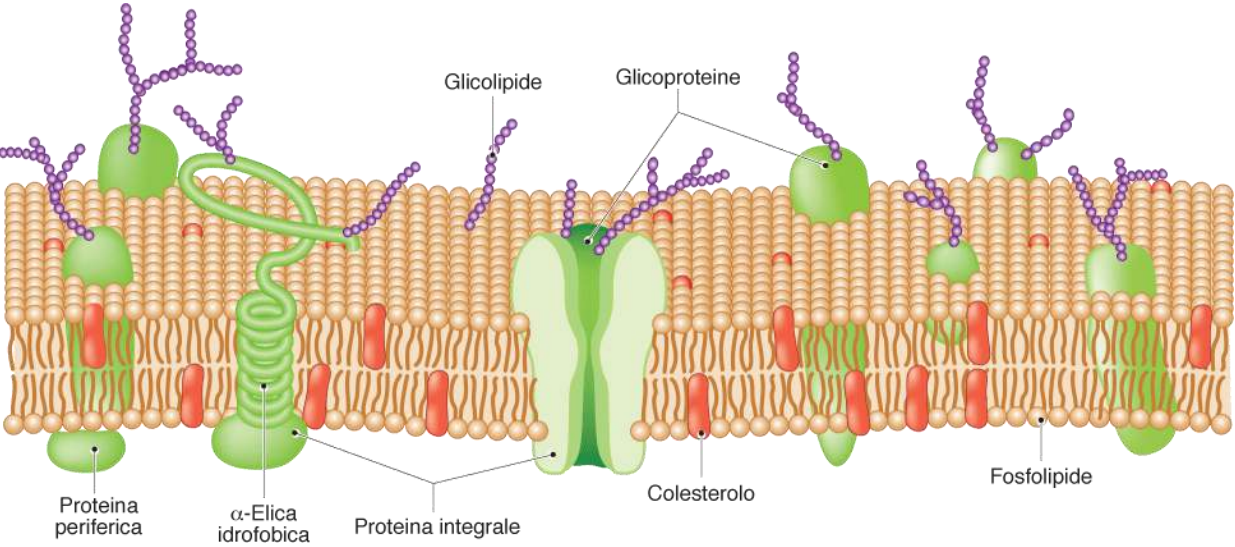


Le membrane biologiche rappresentano delle *barriere selettive* che consentono di mantenere una determinata composizione chimica.

La membrana plasmatica: non solo barriera di permeabilità selettiva.



Le membrane biologiche sono costituite da lipidi con caratteristiche anfipatiche e da proteine ad essi associate.

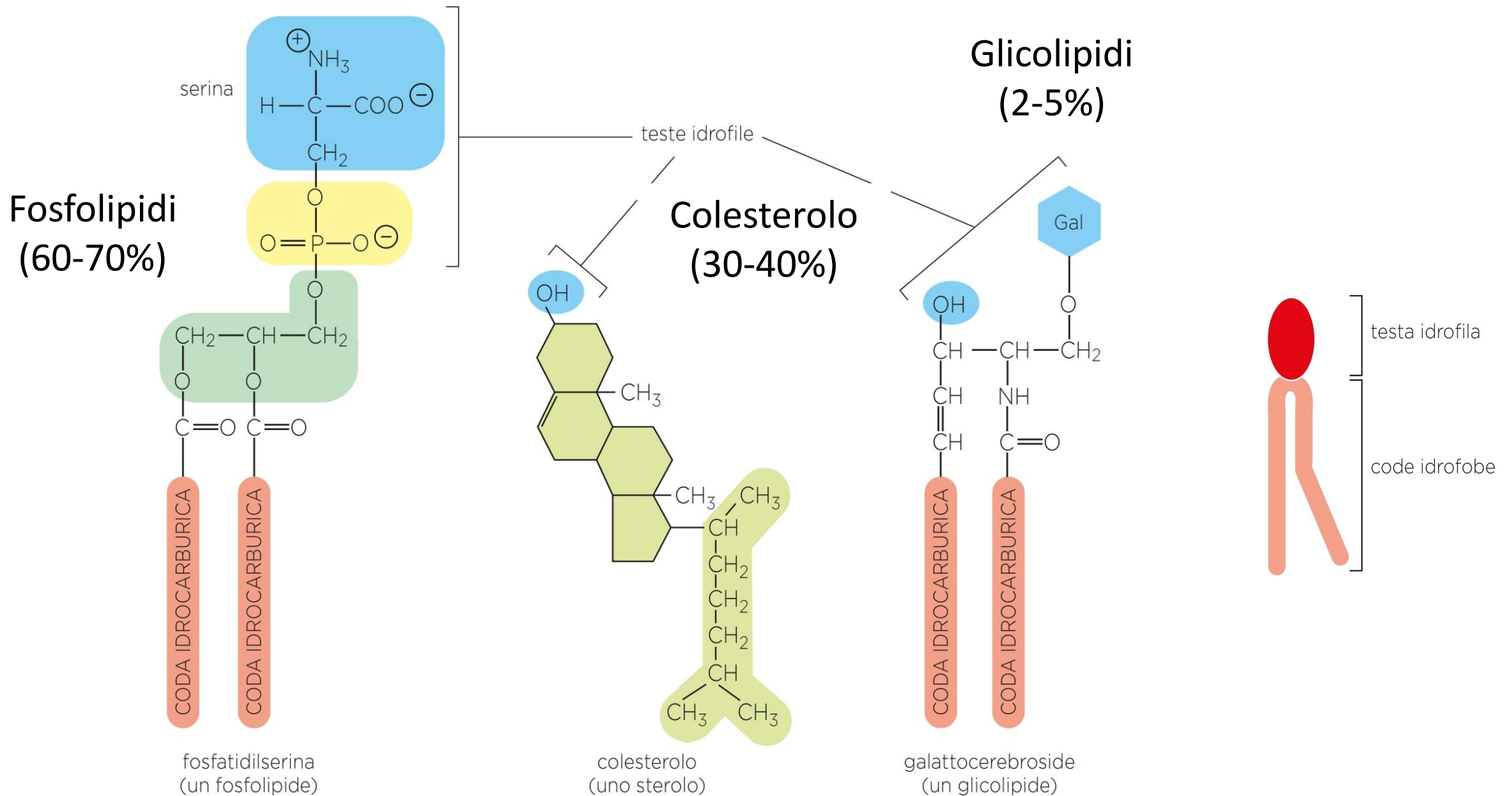


Modello a mosaico fluido
(Sanger e Nicolson, 1973)

Tabella 7.1 **Contenuto in proteine e lipidi delle membrane biologiche**

Membrana	Percentuale approssimata in peso		
	Proteine	Lipidi	Rapporto proteine/lipidi
Membrana plasmatica			
Eritrocita umano	49	43	1,14:1
Cellula epatica di mammifero	54	36	1,50:1
Ameba	54	42	1,29:1
Guaina mielinica dell'assone del nervo	18	79	0,23:1
Involucro nucleare			
Reticolo endoplasmatico	66	32	2,06:1
Apparato del Golgi	63	27	2,33:1
Tilacoidi di un cloroplasto	64	26	2,46:1
Tilacoidi di un cloroplasto	70	30	2,33:1
Membrana esterna mitocondriale	55	45	1,22:1
Membrana interna mitocondriale	78	22	3,54:1
Batterio gram-positivo	75	25	3,00:1

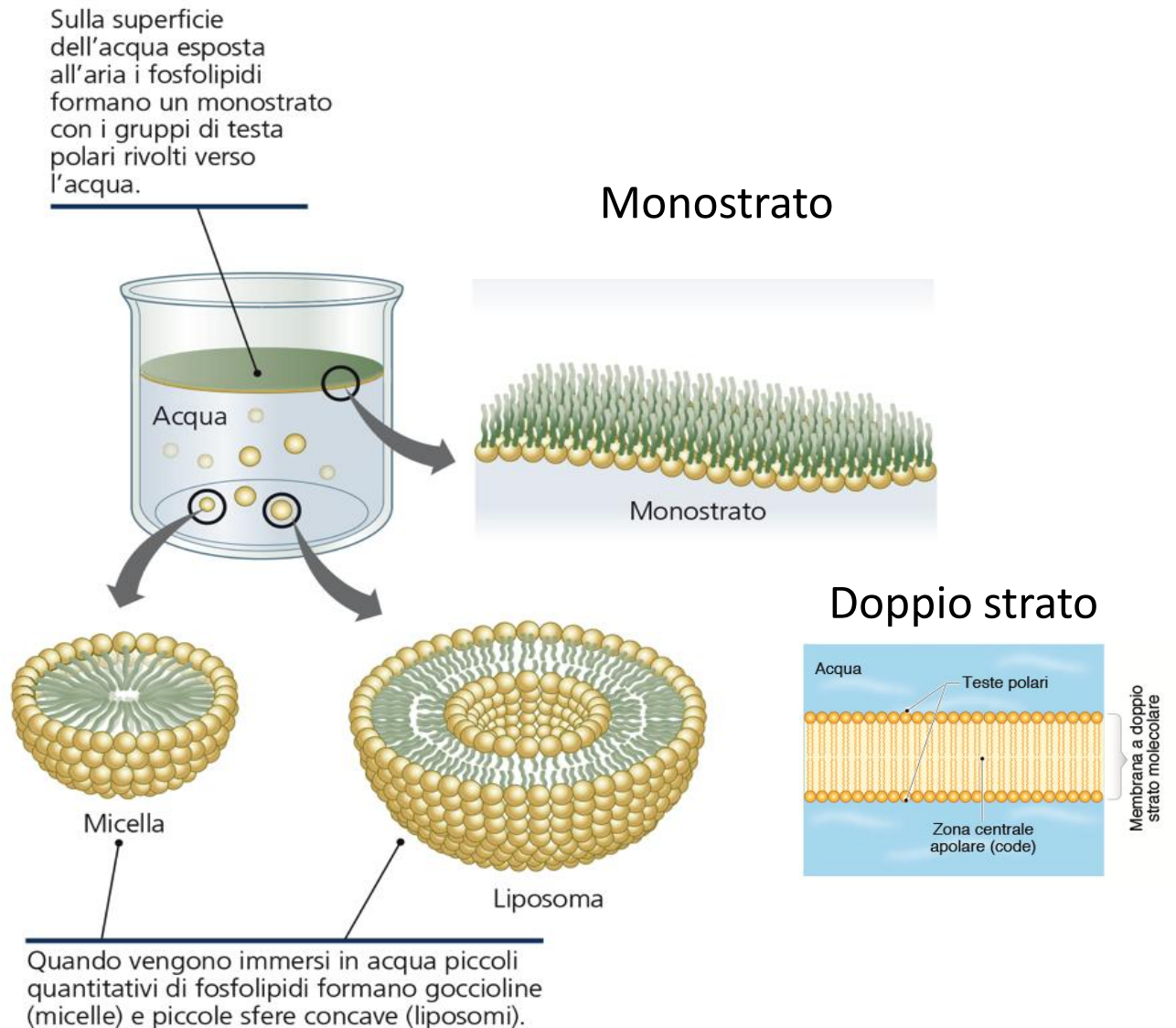
Principali classi di lipidi di membrana



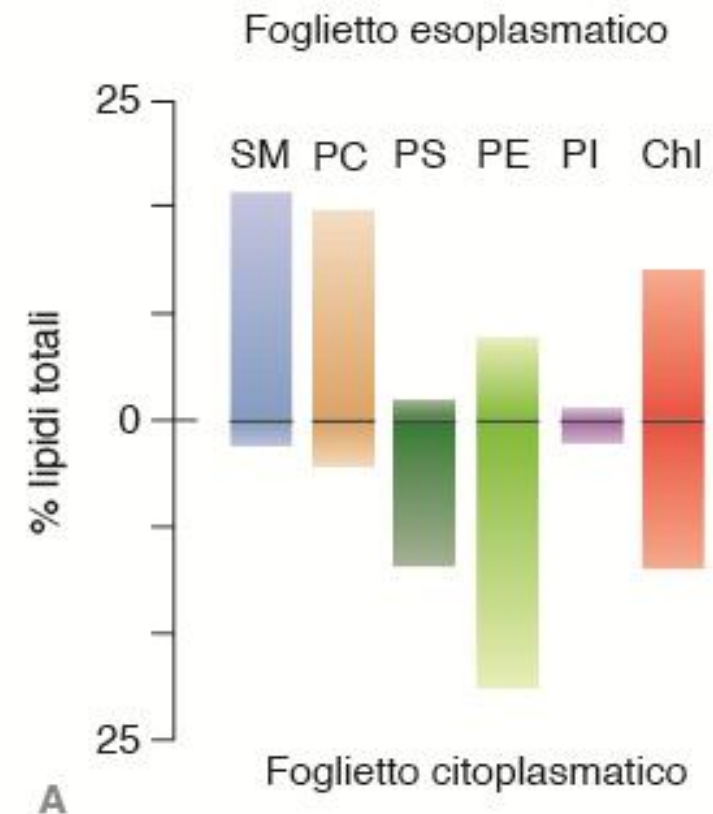
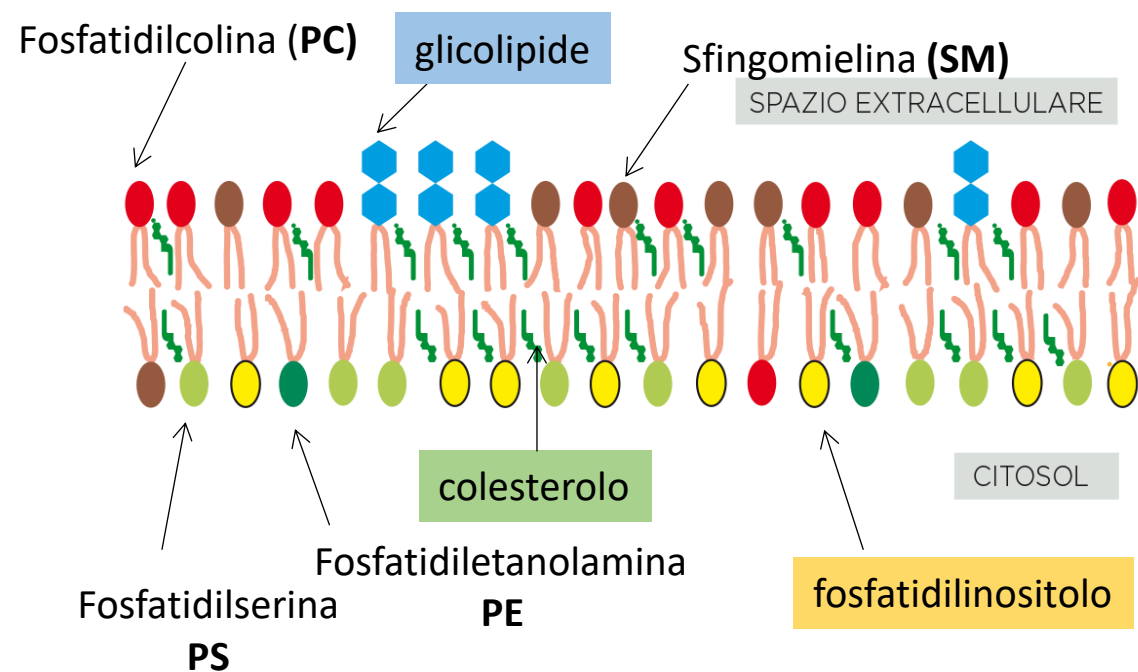
Strutture generate dall'interazione tra acqua e lipidi anfipatici.

Strutture chiuse a monostrato (micelle) o a doppio strato (liposoma)

Le membrane sono costituite da lipidi anfipatici che si organizzano in un doppio strato lipidico che si chiude formando un compartimento chiuso.

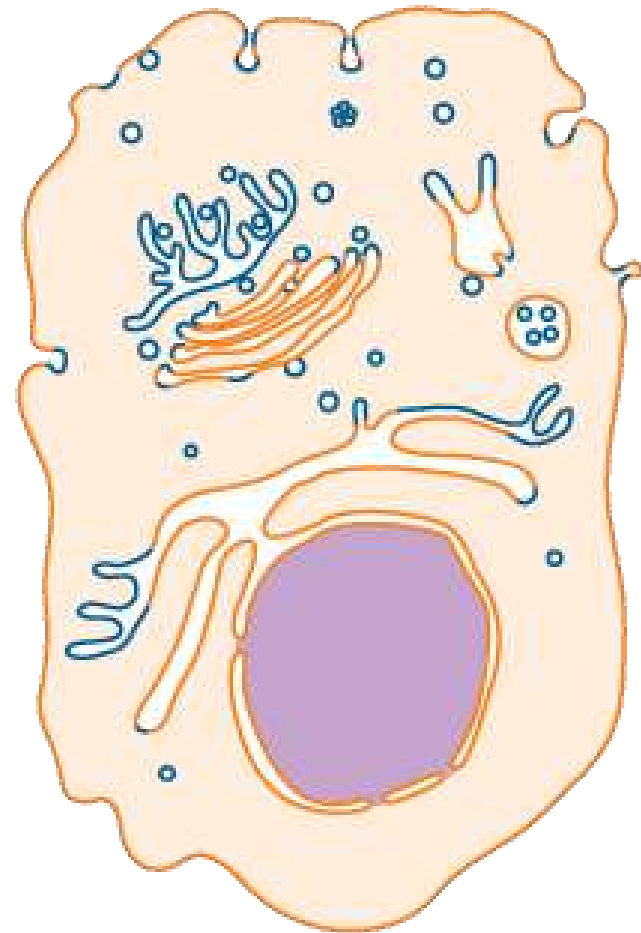
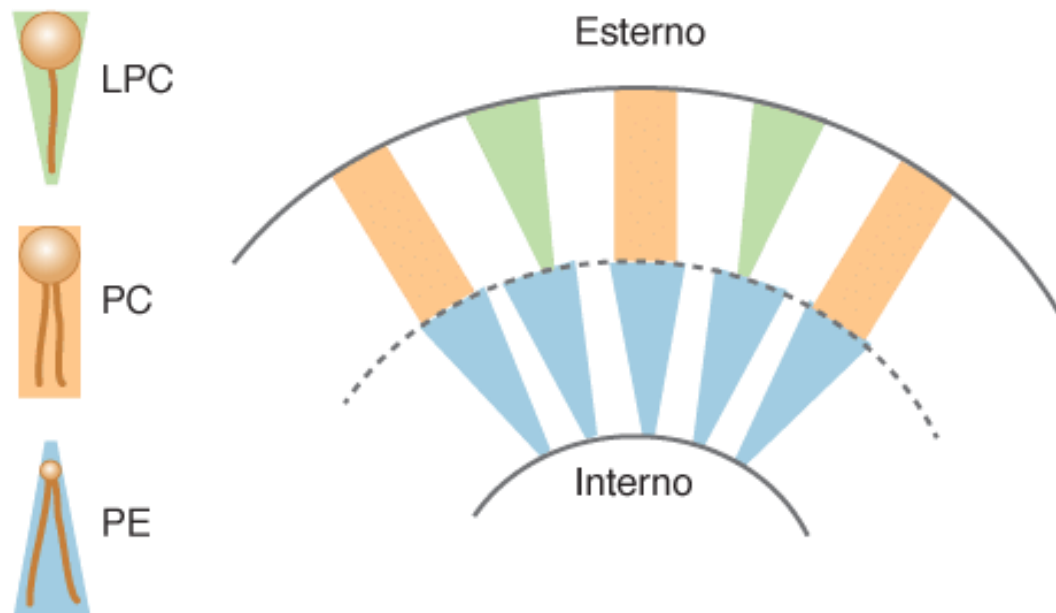


I lipidi di membrana sono distribuiti in modo asimmetrico fra le due metà del doppio strato.



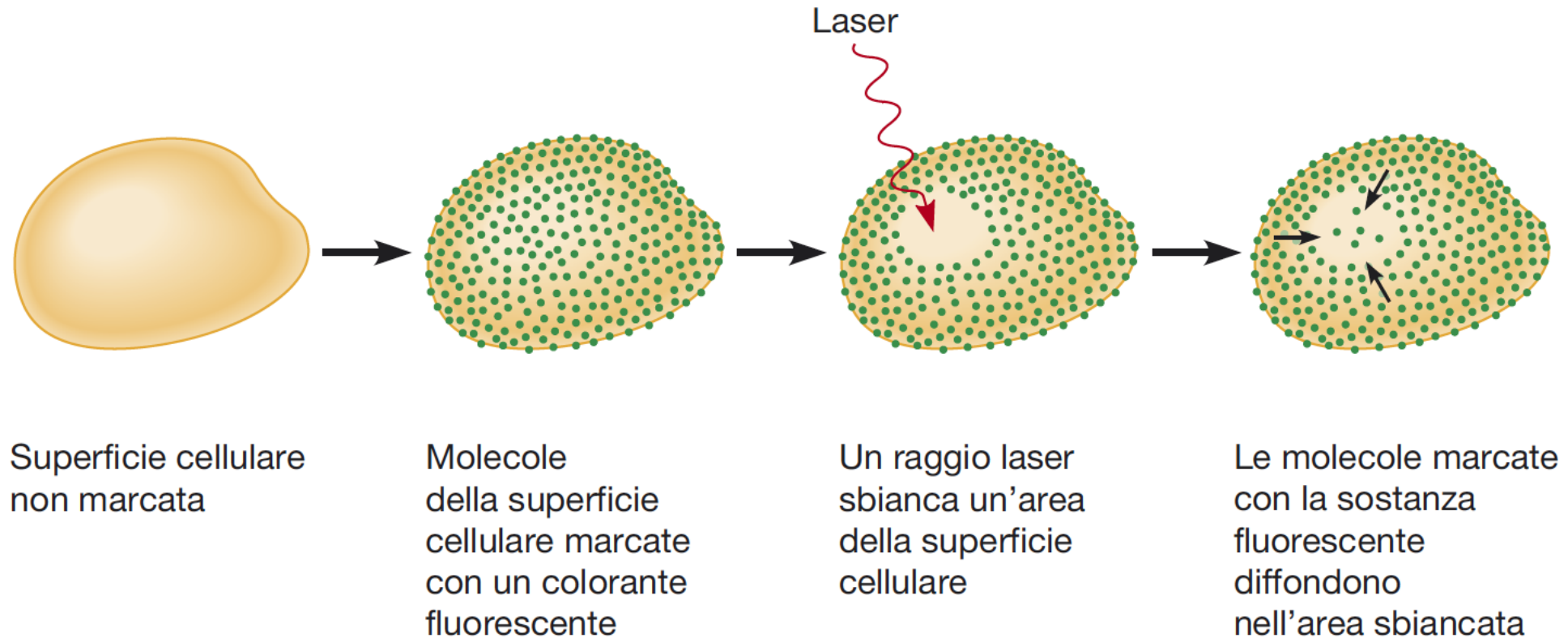
Alcuni specifici lipidi di membrana (fosfatidilserina o fosfatidilinositolo) hanno un ruolo nella segnalazione cellulare oltre alla funzione strutturale.

Effetto della forma e dell'ingombro sterico dei vari tipi di fosfolipidi sulla curvatura della membrana.



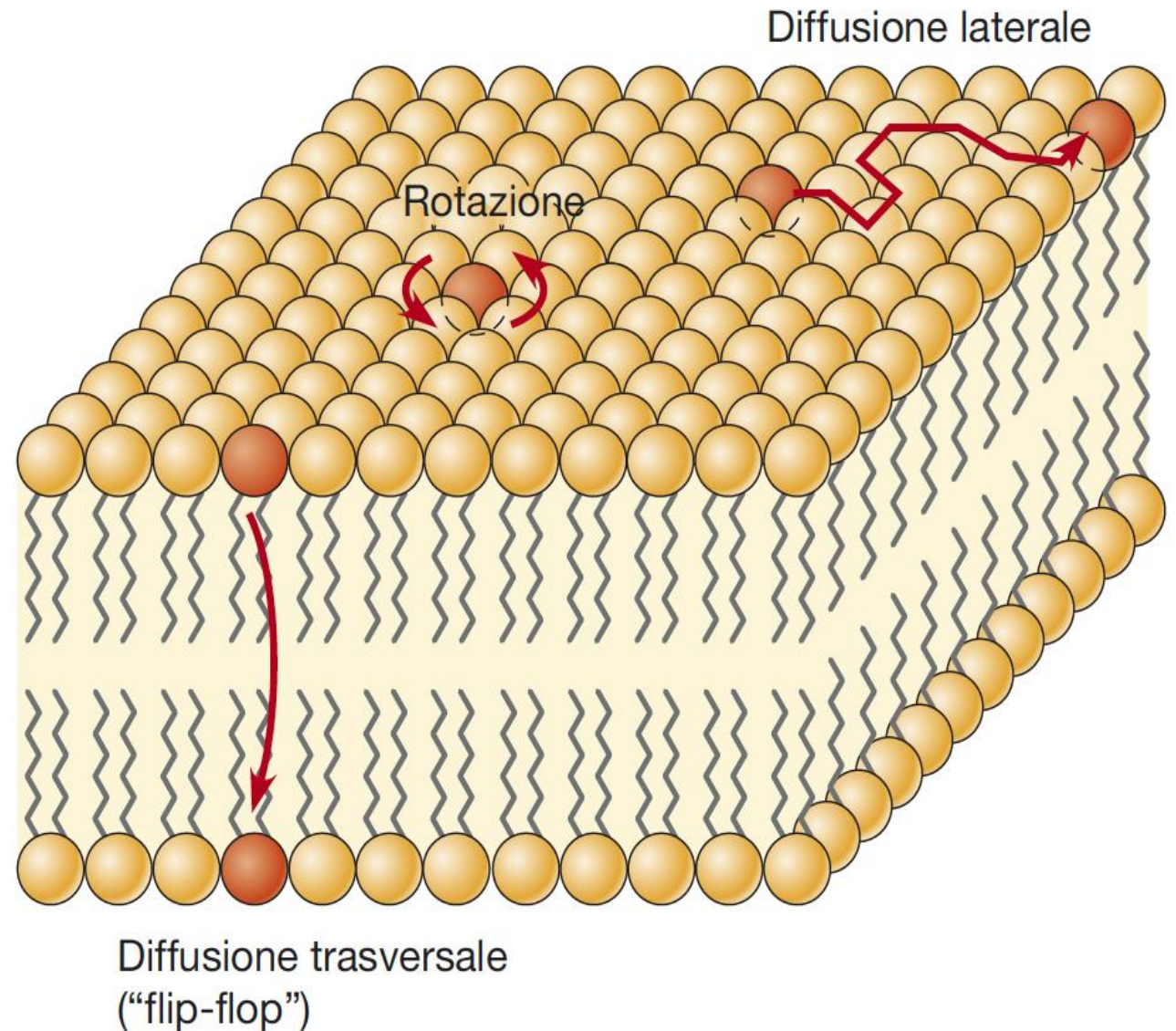
I lipidi possono muoversi all'interno del doppio strato lipidico.

Misura della mobilità dei lipidi mediante FRAP
- *Fluorescence recovery after photobleaching* -



Movimenti delle molecole lipidiche

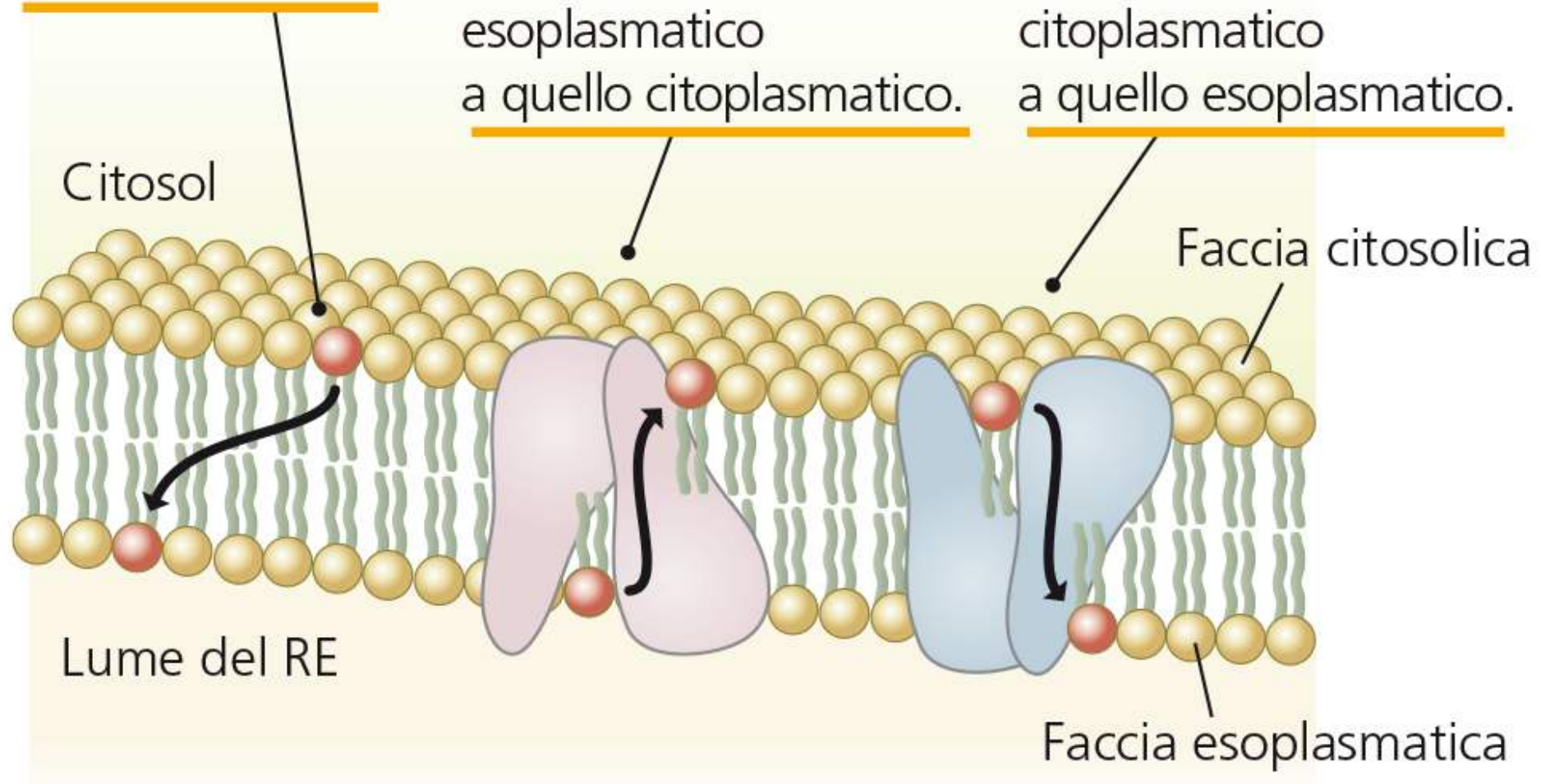
1. Diffusione laterale all'interno dello stesso emistrato
2. Rotazione intorno al proprio asse.
3. Movimento flip-flop: diffusione trasversale da uno strato all'altro. Necessita di specifici enzimi.



L'inversione spontanea avviene a bassa velocità.

Proteine flippasi
trasportano i fosfolipidi dal foglietto esoplasmatico a quello citoplasmatico.

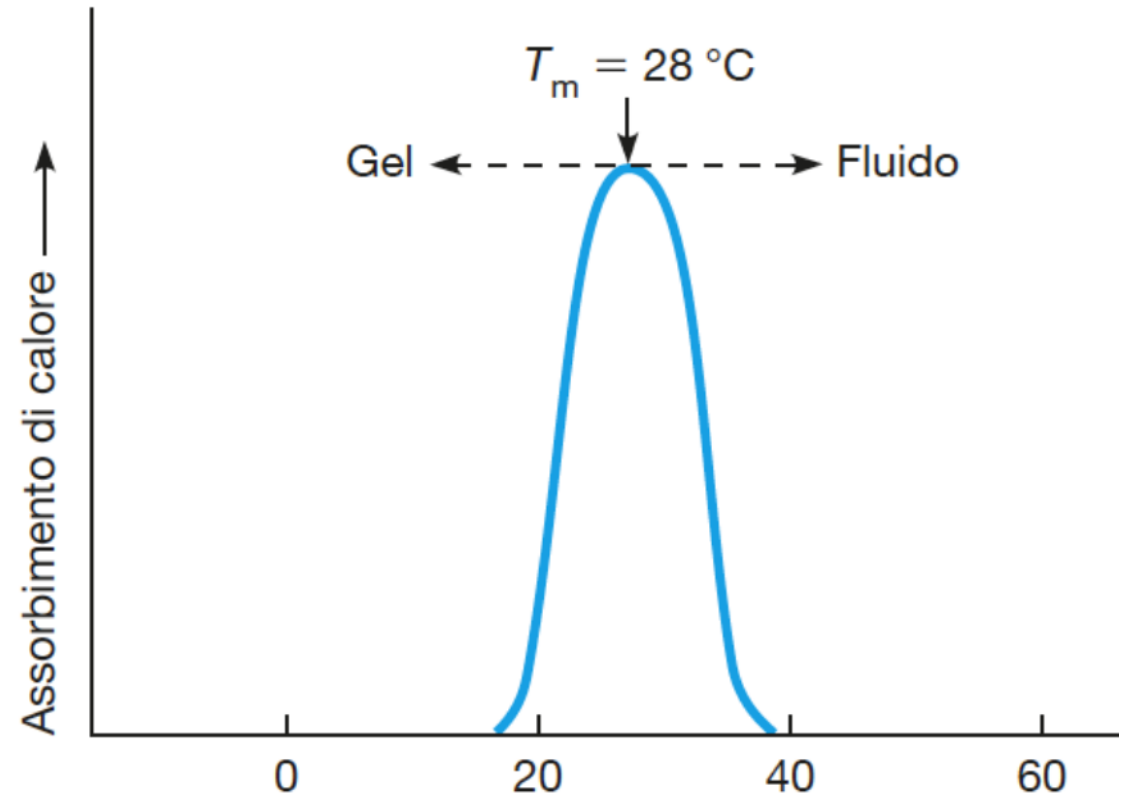
Proteine floppasi
trasportano i fosfolipidi dal foglietto citoplasmatico a quello esoplasmatico.



Il doppio strato lipidico delle membrane biologiche è fluido.

Tutte le membrane sono caratterizzate dalla temperatura di melting.

Alla temperatura di melting (T_m o temperatura di transizione) si passa dallo stato solido di gel a quello fluido.

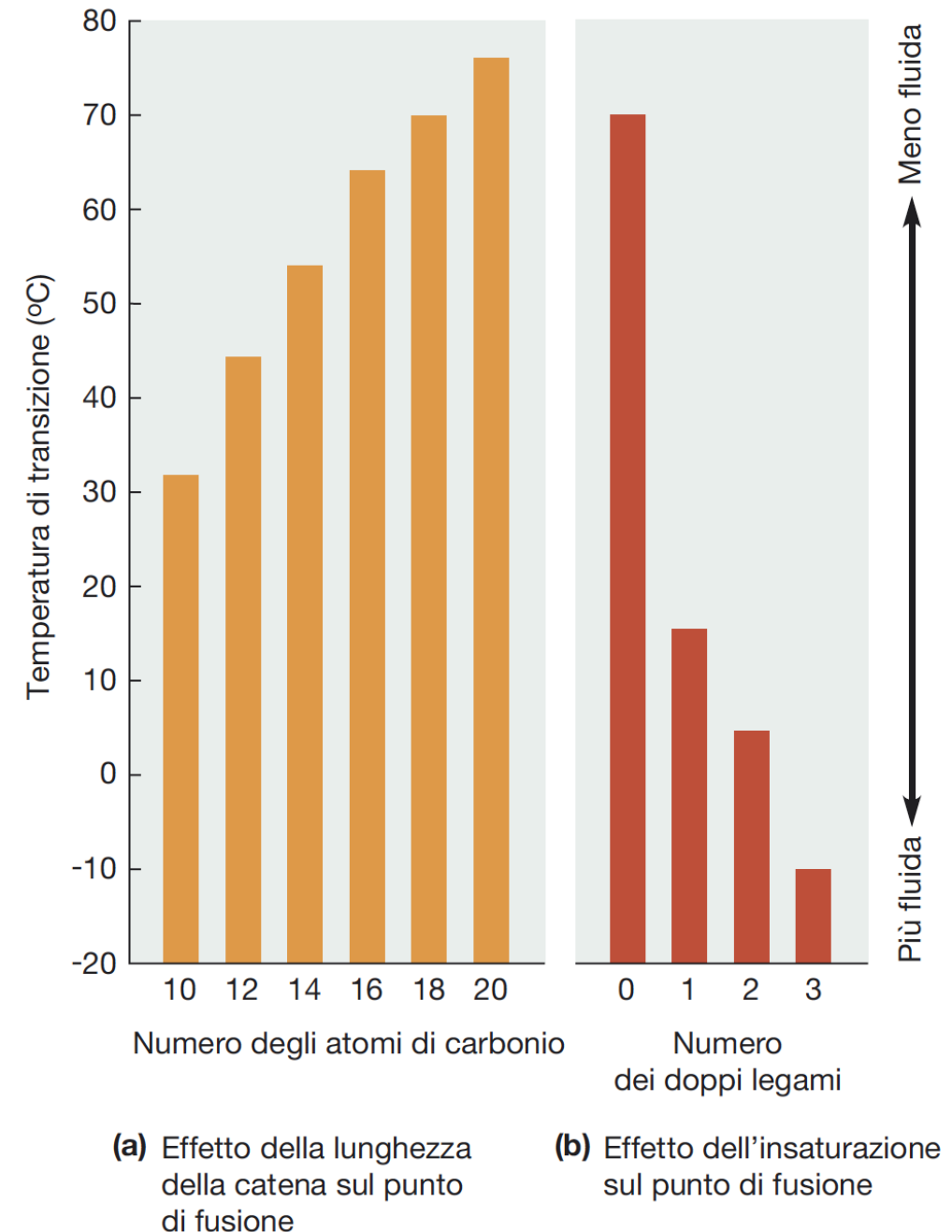


**Le membrane funzionano in modo corretto solo allo stato fluido.
Per poter funzionare devono trovarsi ad una temperatura superiore a quella di melting.**

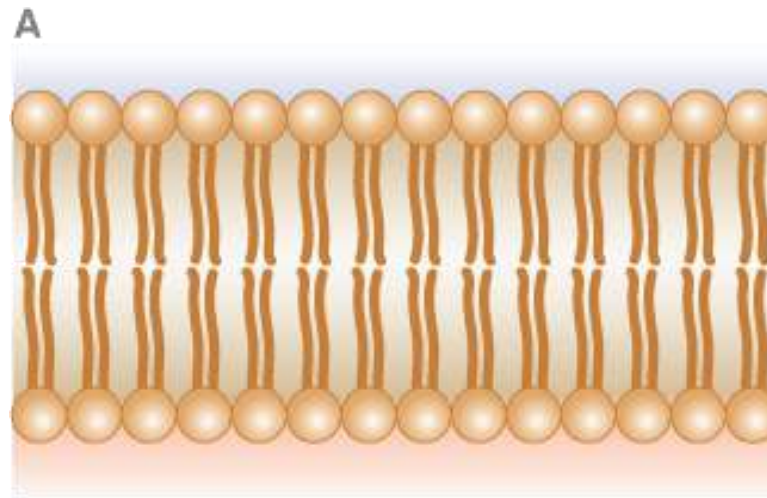
La fluidità delle membrane biologiche dipende dalla lunghezza e dal grado di saturazione degli acidi grassi dei lipidi che la compongono.

Gli acidi grassi a catena lunga hanno T_m più elevate (meno fluidi) rispetto agli acidi grassi a catena corta.

Gli acidi grassi saturi hanno una T_m più elevata degli acidi insaturi.

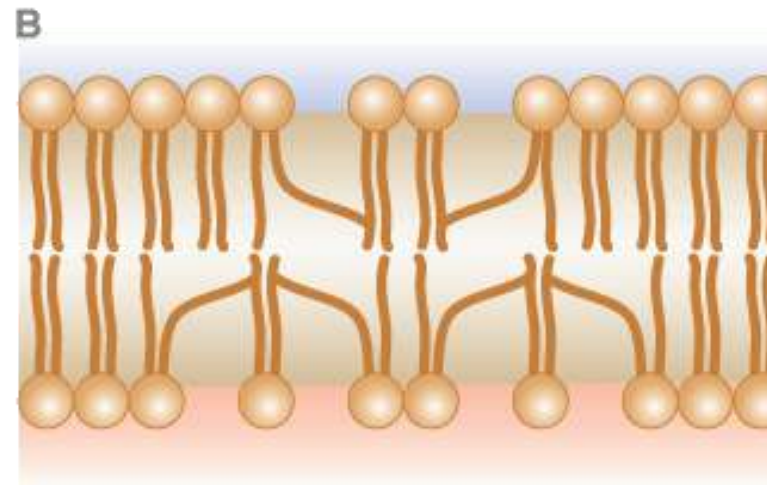


(a) Lipidi con acidi grassi saturi si impacchettano bene nella membrana.



Membrana meno fluida

(b) Lipidi con acidi grassi insaturi non si impacchettano bene nella membrana.



Membrana più fluida

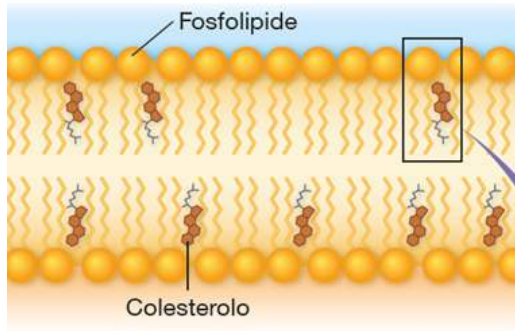
Parametri che influenzano la fluidità di membrana:

- ✓ Temperatura

- ✓ Composizione lipidica

- Ruolo del colesterolo

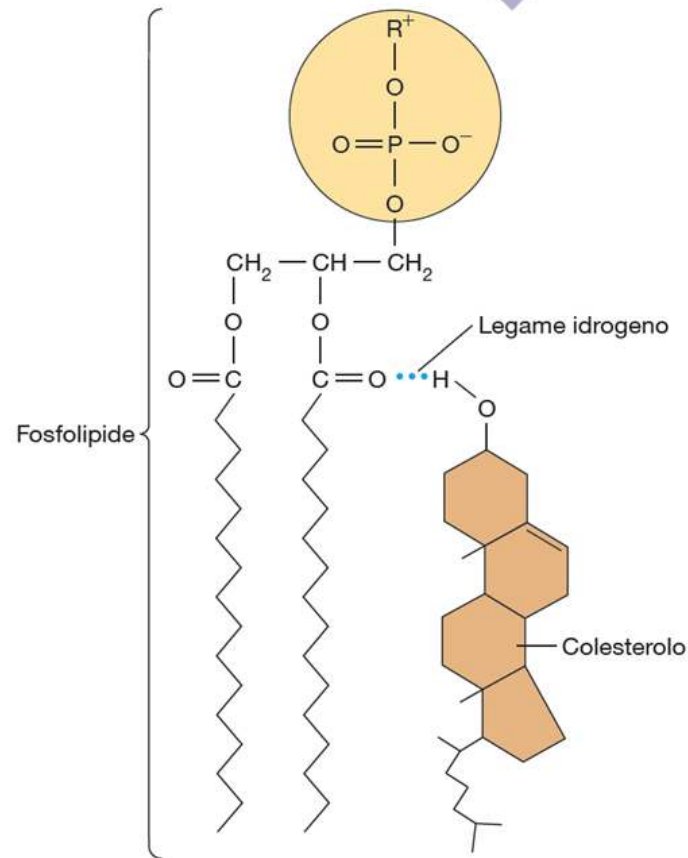
- Adattamento omeoviscoso



a) Colesterolo nella membrana plasmatica

Le molecole di colesterolo sono presenti in entrambi i foglietti dove interagiscono con i lipidi di membrana.

Il colesterolo diminuisce la permeabilità di membrana.



(b) Legame del colesterolo a un fosfolipide

Il colesterolo agisce come un tampone per la fluidità della membrana.

Il colesterolo diminuisce la fluidità a temperature superiori a T_m e la aumenta a temperature inferiori.

Adattamento *omeoviscoso*

Regolazione della viscosità della membrana nonostante le variazioni di temperatura. Presente sia in microrganismi (batteri, lieviti) sia in piante che in animali a sangue freddo.

- variazione della composizione lipidica
- sintesi di enzimi che introducono o eliminano doppi legami nelle catene idrocarburiche
- aumentare la percentuale di colesterolo

