

# Bioingegneria Elettronica I

---

Macromolecole biologiche

A. Bonfiglio

# Composizione della cellula

---

Acqua, ioni e piccole molecole costituiscono circa il 74% in peso di una cellula di mammifero. L'acqua da sola costituisce il 70%. Il restante 26% e' costituito da:

18% proteine

1% acidi nucleici

5% lipidi

2% zuccheri

Questi sono in effetti i componenti peculiari della materia vivente e la loro organizzazione all'interno della cellula e' molto sofisticata.

# Lipidi

---

I lipidi (o acidi grassi), presenti in una cellula sono di 3 tipi: trigliceridi, steroli e fosfolipidi. Di questi i più importanti sono i fosfolipidi che sono i componenti base della membrana cellulare.

Un fosfolipide è formato da un gruppo polare (testa) e da 2 code idrofobiche. In questo modo la molecola risultante è asimmetrica e costituita da una parte idrofilica e da una idrofobica (molecola anfifilica o anfipatica). Questa particolare caratteristica conferisce ad esse la possibilità di autoassemblarsi in strutture organizzate all'interno di soluzioni.

Ad esempio, in acqua, la parte polare della molecola tende a interagire con le molecole di acqua o gli ioni in soluzione. Al contrario le code idrofobiche non interagiscono con l'acqua e hanno solo deboli interazioni con gli altri gruppi idrofobici presenti.

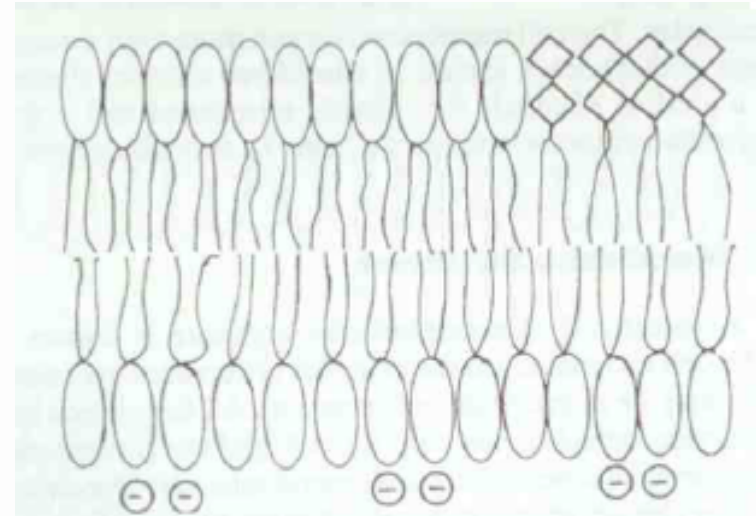
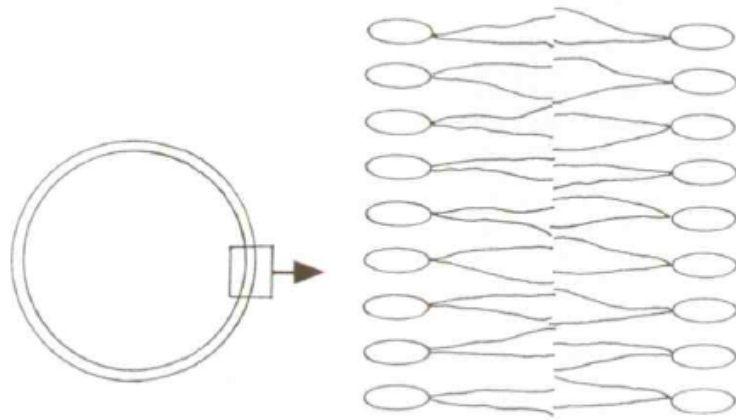
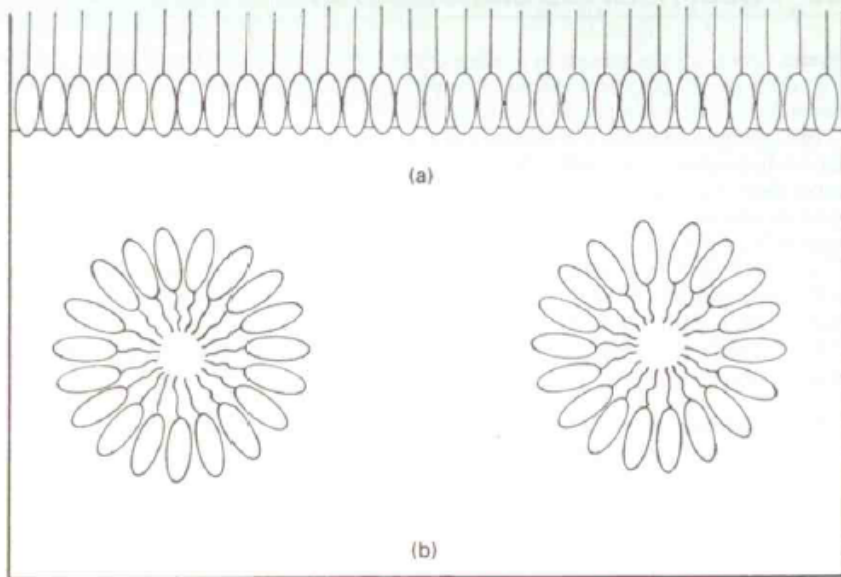
# Lipidi

Come conseguenza, si avranno in acqua 3 possibili comportamenti:

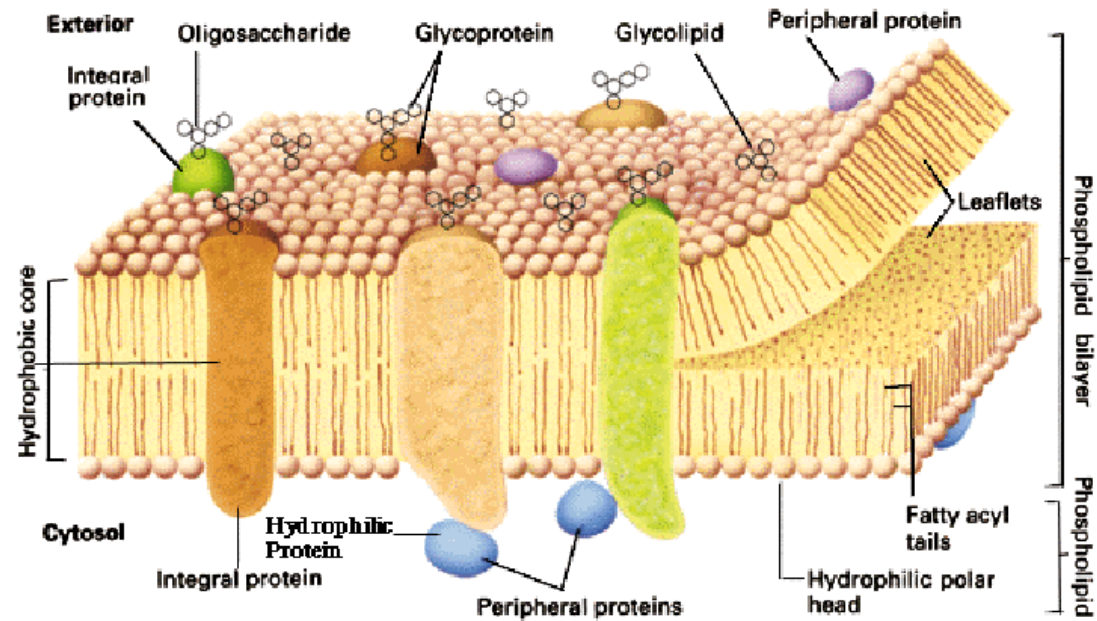
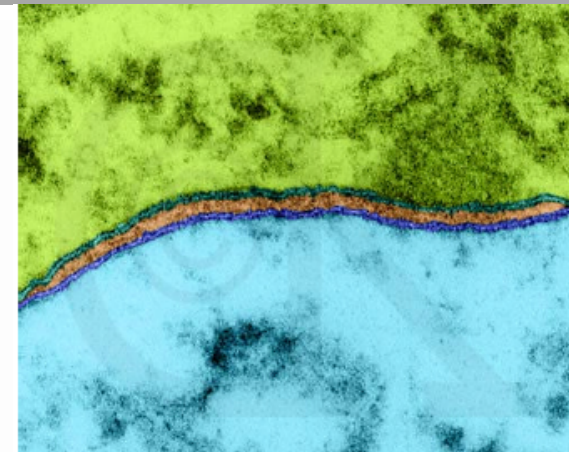
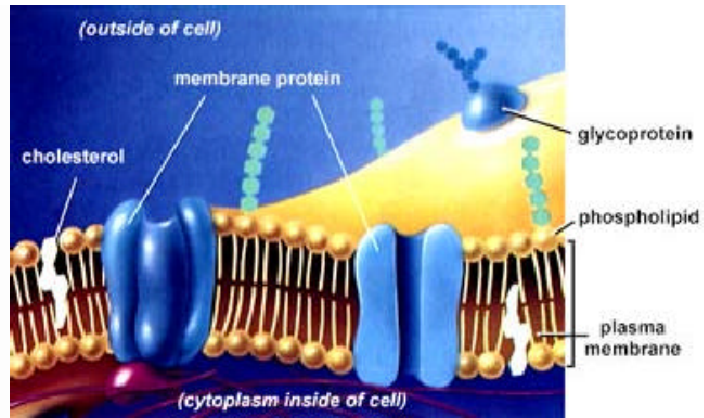
- 1) Le molecole si mettono tutte sulla superficie dell'acqua formando un monostrato con le teste rivolte verso l'acqua e le code esposte all'esterno (possibilita' di costruire strati nanometrici di materiale raccogliendo questo monostrato)
- 2) Le molecole si organizzano in strutture sferiche con la superficie costituita dalle teste e le code rivolte all'interno della struttura (micelle)
- 3) Le molecole si organizzano in un doppio strato e si chiudono su se stesse formando una sfera contenente all'interno dell'acqua (liposomi)

La terza soluzione e' quella corrispondente alla struttura della cellula. La cellula non e' altro che un volume di liquido racchiuso all'interno di una struttura simile al liposoma. In realta' la membrana cellulare non e' fatta di soli fosfolipidi e mantiene la capacita' di comunicare con l'esterno proprio grazie a questa eterogeneita' di composizione.

# Lipidi



**FIGURE 4.15** The asymmetrical distribution of phospholipids and glycolipids in the lipid bilayer. Glycolipids are drawn with double-square polar head groups. Cholesterol (not shown) is thought to be distributed about equally in both monolayers.



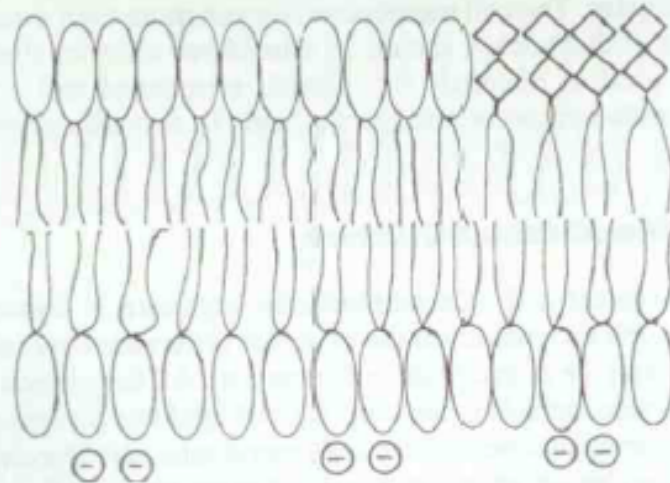
# Membrana plasmatica

La membrana cellulare è più di una semplice interfaccia tra la cellula e il mondo esterno. Può essere vista come un insieme di dispositivi che compiono numerose funzioni.

La membrana cellulare è un sistema fluido e la maggioranza delle sue molecole è libera di muoversi nel piano della membrana. Il doppio strato lipidico costituisce una barriera impermeabile al passaggio di molecole solubili in acqua. Perciò da questo punto di vista possiamo considerarla come un isolante. Essendo poi circondata da entrambi i lati da soluzioni elettrolitiche, la membrana cellulare può essere vista da un punto di vista elettrico come un condensatore. Le molecole proteiche inserite nella membrana (che costituisce per esse una sorta di “solvente bidimensionale”) realizzano molte funzioni come ad esempio quella di trasportare gli ioni da dentro a fuori la cellula e viceversa (canali ionici) o di rilevare segnali esterni (recettori). Diversi tipi di fosfolipidi costituiscono il doppio strato lipidico, di cui quelli carichi negativamente sono localizzati nello strato più interno.

## Doppio strato lipidico

Come conseguenza, esiste una significativa differenza di carica tra le due meta' del doppio strato. Inoltre anche i glicolipidi che sono una particolare categoria di lipidi, sono esclusivamente localizzati nello strato esposto all'esterno. Di solito si aggregano tra loro in microaggregati (che funzionano da recettori, alterando il campo elettrico nei dintorni agiscono soprattutto sulla concentrazione degli ioni  $\text{Ca}^{2+}$ ).



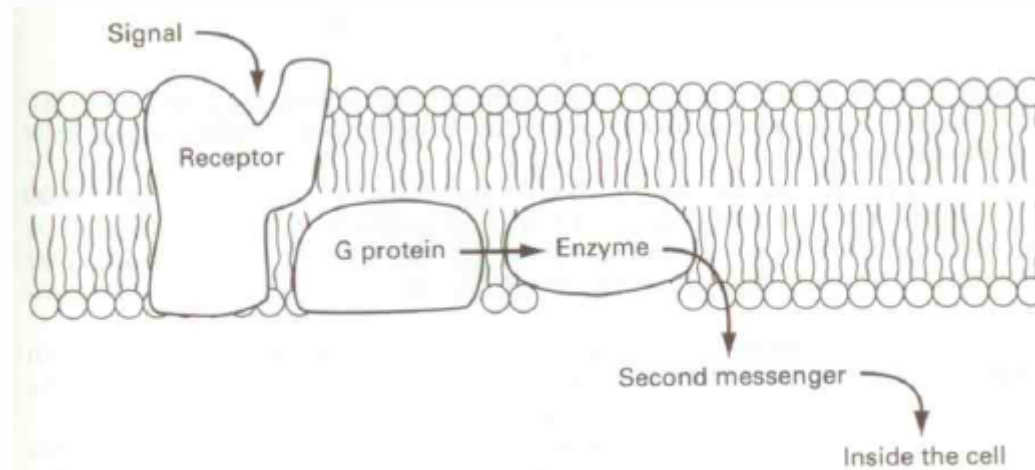
**FIGURE 4.15** The asymmetrical distribution of phospholipids and glycolipids in the lipid bilayer. Glycolipids are drawn with double-square polar head groups. Cholesterol (not shown) is thought to be distributed about equally in both monolayers.



# Proteine transmembrana

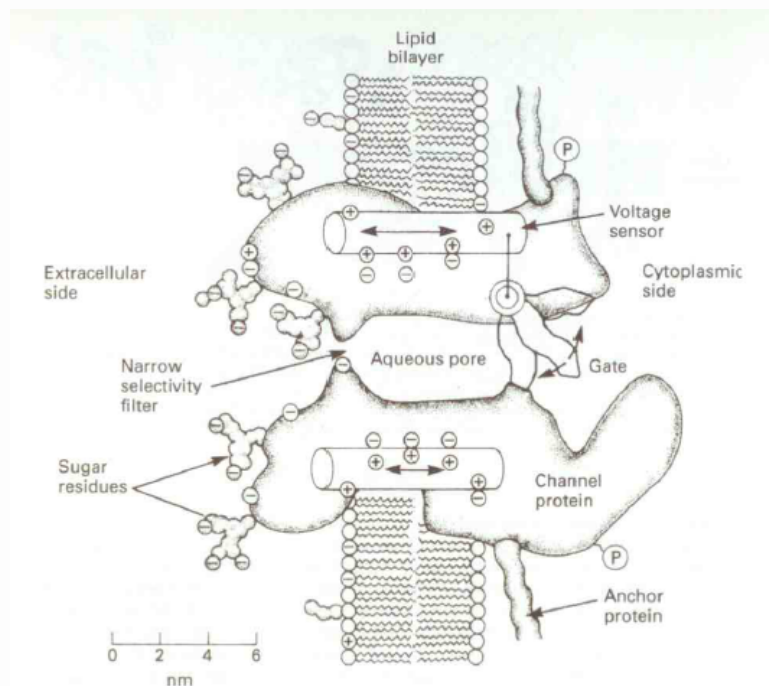
Nella membrana cellulare sono inserite anche molte proteine.

Molte proteine di membrana attraversano l'intero spessore del doppio strato. Le proteine transmembrana possono servire per trasportare ioni attraverso la membrana oppure servono da recettori. Per alcune proteine transmembrana vale un meccanismo complicato che serve, dato un certo segnale proveniente dall'esterno della cellula, a produrre un segnale al suo interno.



# Proteine transmembrana

Tra le proteine transmembrana piu' interessanti ci sono i cosiddetti canali ionici.



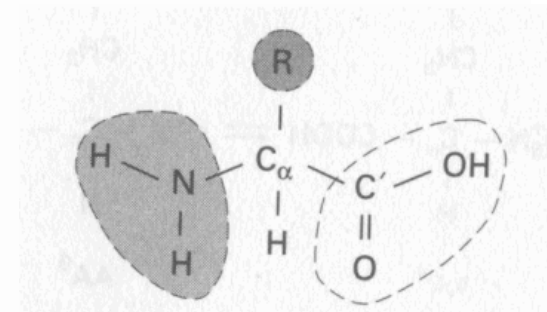
Si tratta di proteine di grandi dimensioni (2-4000 aminoacidi), legata a centinaia di residui di zuccheri sulla superficie esterna. Quando sono aperte sono piene di acqua, ma il canale si restringe in una zona ove puo' avvenire la selezione rispetto agli ioni che passano. La proteina puo' avere una struttura (gate) che si muove in risposta ad un segnale esterno (tipicamente una tensione) chiudendo

il canale (gating) controllata da una struttura che fa da sensore. Si puo' notare che tali molecole agiscono contemporaneamente come un filtro, un sensore ed un attuatore.

# Proteine

Le proteine sono macromolecole complesse che giocano un ruolo chiave in tutti i principali processi e funzioni svolte dalla cellula, come ad esempio catalisi e riconoscimento molecolare. La caratteristica più importante è che le loro proprietà funzionali dipendono più che dalla loro composizione chimica, dalla loro struttura tridimensionale.

Le proteine sono sequenze di blocchi-base detti aminoacidi. Ci sono 20 aminoacidi principali, che hanno in comune la struttura base ovvero un blocco costituito da un carbonio centrale con 4 legami di valenza, di cui 3 associati rispettivamente a 1 idrogeno (H), un gruppo amminico (NH<sub>2</sub>), a un gruppo acido (COOH). Il quarto legame può essere associato a gruppi diversi (catene laterali) che distinguono per l'appunto i diversi tipi di aminoacido.



# Proteine

---

Gli aminoacidi si legano tra loro in catene a formare le proteine e il legame che tiene unite le singole unita' e' quello che si forma tra un gruppo amminico che acquista un protone ( $\text{NH}_3^+$ ) e il gruppo acido che lo perde ( $\text{COO}^-$ ). In questo modo si crea un legame covalente noto come legame peptidico. La reazione conduce ad avere al suo termine la sequenza NH-CO con la contemporanea produzione di una molecola di acqua. La sequenza lineare di aminoacidi costituisce la cosiddetta struttura primaria di una proteina. Il numero di aminoacidi costituenti puo' variare da qualche decina a migliaia. E' evidente che a partire da questo "alfabeto" di 20 aminoacidi, si possono costituire numerosissime proteine diverse. C'e' un gran numero di combinazioni non usate in natura.

I 20 aminoacidi principali sono divisi in classi a seconda della natura chimica della catena laterale.

# Proteine

---

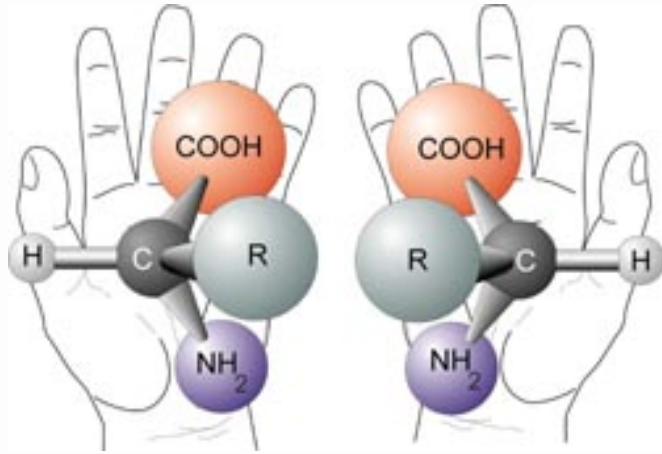
Classe I: catena laterale apolare (ovvero idrofobica)

Classe II: catena laterale polare

Classe III: catena laterale acida o basica

Non e' classificabile in questi 3 gruppi solo la glicina che ha come gruppo laterale un atomo di idrogeno. E' interessante notare che, glicina a parte, in tutti gli aminoacidi i 4 gruppi che circondano il carbonio centrale sono chimicamente differenti. Cio' significa che e' possibile avere 2 "versioni" della stessa molecola pur con gli stessi costituenti che stanno tra loro come 2 immagini allo specchio: si parla in questo caso di molecole chirali, e occorre distinguere la forma sinistra (o levogira, L-) e quella destra (D-). E' importante ricordare che le molecole chirali possono avere delle proprieta' completamente differenti (es.cellulosa/amido).

# Proteine

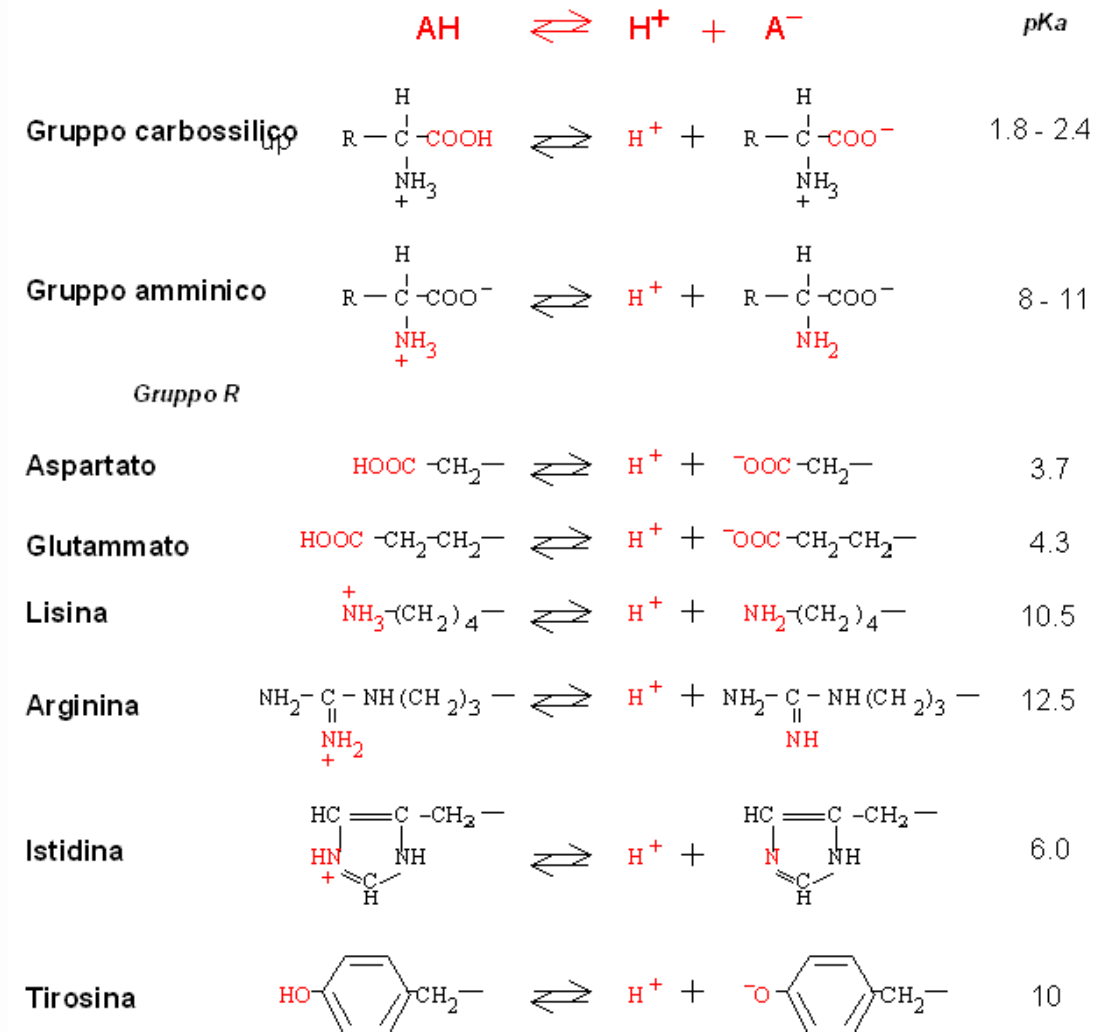


Aminoacidi = molecole chirali (negli esseri viventi quasi tutte di tipo L)

Degli amminoacidi, si usa definire, oltre alla composizione chimica, anche il peso molecolare (che ci da un'idea della dimensione e complessita' della molecola), il punto isoelettrico (cioe' di carica nulla), la costante di dissociazione acida del gruppo acido, quella di dissociazione del gruppo amminico e se e' definibile la costante di dissociazione acida del gruppo laterale.

# Proteine

Esempi:



# Proteine

---

Dal valore del pKa dei gruppi amminici e carbossilici e alcuni gruppi R si possono ricavare informazioni sulla carica parziale nei differenti valori di pH.

Ad esempio, in una soluzione neutra:

Il gruppo carbossilico è preferibilmente carico negativo.

Il gruppo amminico è preferibilmente carico positivo.

Il gruppo R dell'aspartato e glutammato è preferibilmente carico negativamente.

Il gruppo R della lisina e arginina è a pH 7 preferibilmente positivamente caricato.

Il gruppo R della tirosina è per lo più neutro.

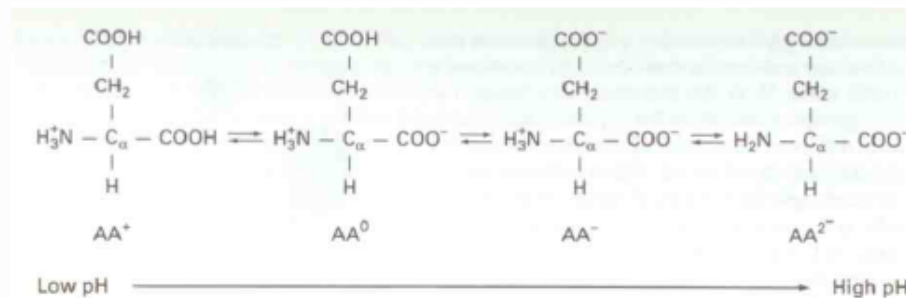
Il gruppo R dell'istidina ha il 10% di probabilità di essere carico positivo a pH 7, ma la probabilità aumenta fino al 50% in soluzioni a pH 6. Per questo l'istidina è molto sensibile alle variazioni di pH nell'intervallo fisiologico.



# Proteine

Gli aminoacidi sono acidi poliprotici, per cui si definisce il punto isoelettrico, come quel valore di pH in corrispondenza del quale la molecola ha carica netta uguale a 0.

Si veda la figura per quanto riguarda l'acido aspartico.

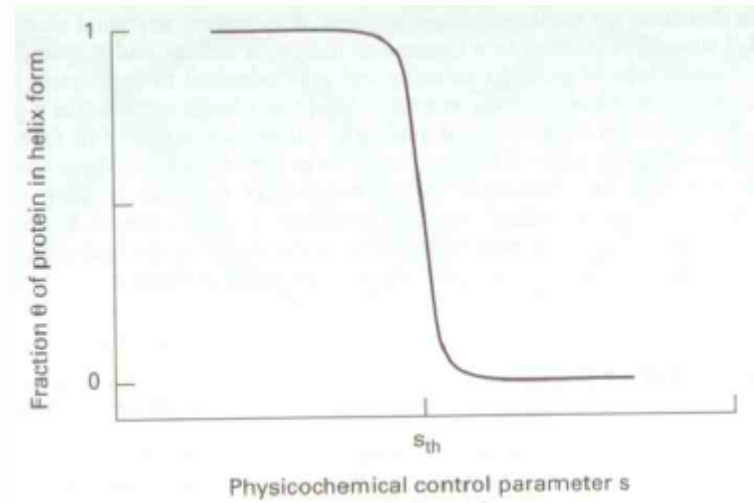
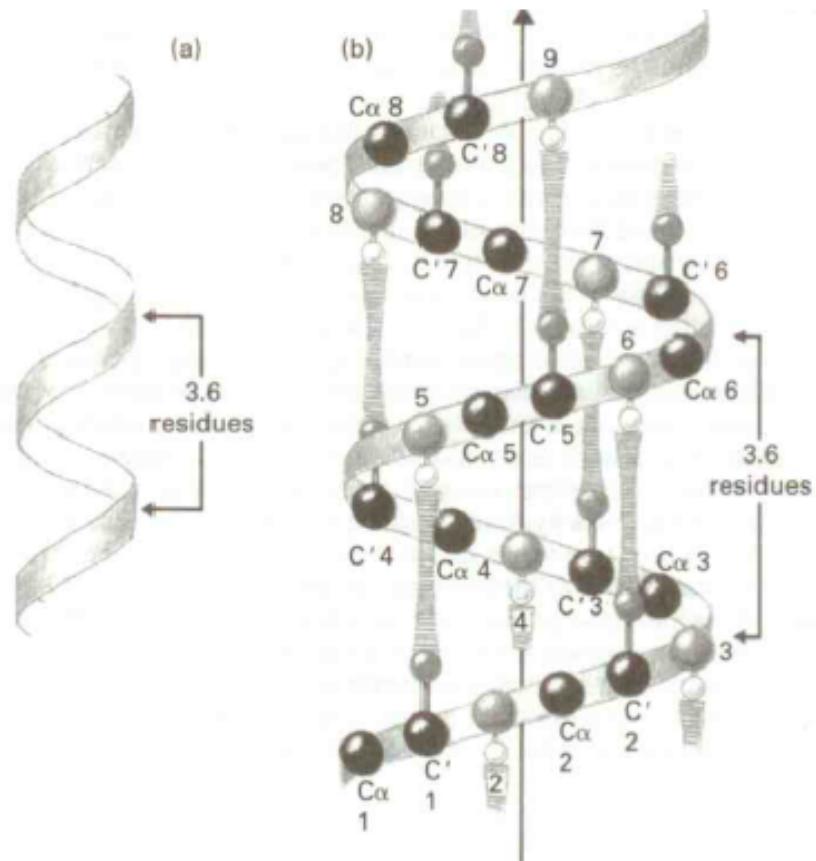


Come si vede, dal valore del pH della soluzione in cui la proteina si trova dipende lo stato di carica della proteina. Ad un dato valore di pH, la proteina si presenta come una sequenza di gruppi carichi positivamente o negativamente più catene laterali polari o idrofobiche. Inoltre, poiché periodicamente lungo la catena si trovano parecchi atomi di N e di O che sono elettronegativi, ci sono molte possibilità di interazioni di tipo legame idrogeno.

# Proteine

Grazie a questa struttura complessa, la proteina, a seconda dei parametri del mezzo in cui si trova (T, pH, etc) può avvolgersi su se stessa e formare strutture più complesse (struttura secondaria). Tipicamente può formare delle eliche (dette  $\alpha$ -eliche) che si formano a causa di un'interazione tra atomi di ossigeno appartenenti ad un dato aminoacido  $i$  e atomi di idrogeno appartenenti all'aminoacido  $i+4$  nella catena. Una caratteristica tipica del fenomeno della formazione delle eliche è che ci vuole più energia per attivarlo che per farlo proseguire. Ciò significa che si plottano curve del tipo grado di elicita' – parametro (es. pH, T, ...) si ottengono sempre delle curve cosiddette sigmoidali (a s), cioè due tratti orizzontali con una brusca transizione in corrispondenza di un valore di soglia. In pratica, la proteina ha 2 stati stabili (come molti dispositivi usati per il processamento binario dell'informazione!). Per comporre una proteina, i 20 aminoacidi possono essere composti in strutture anche ripetitive. Il numero delle combinazioni possibili è enorme (una sequenza di 100 aminoacidi in teoria può codificare  $20^{100}$  proteine diverse).

# Proteine



# Proteine

Un altro esempio di struttura secondaria e' la struttura a fogli  $\beta$ .

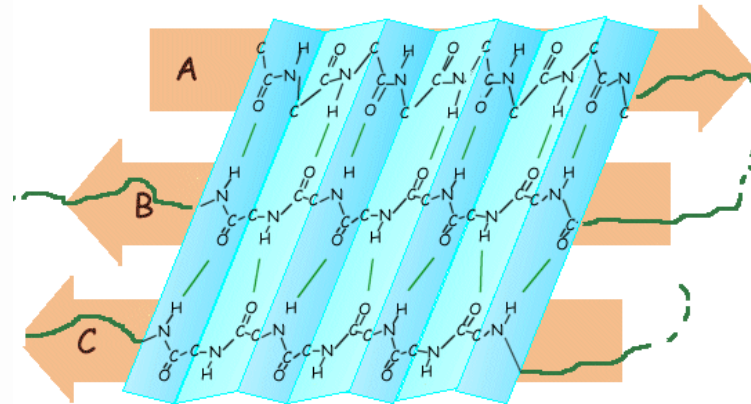
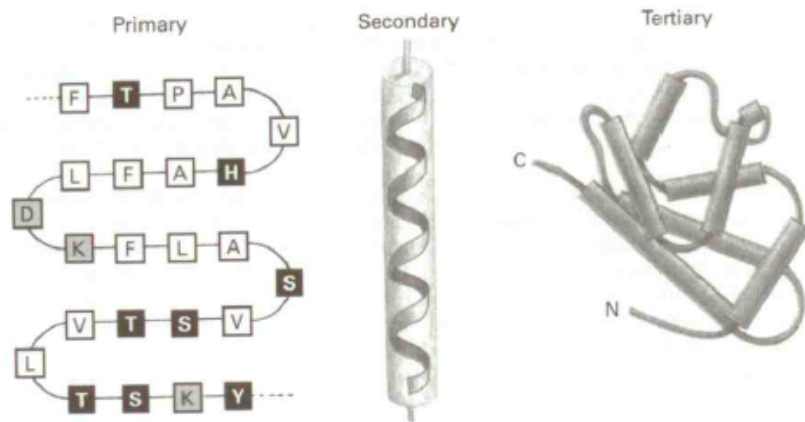


Diagram 1: Beta pleated sheet. The lateral groups (R) are not shown.

A loro volta, le strutture a elica o a fogli, possono compattarsi in strutture ulteriori tridimensionali, piu' complesse, dette domini (di solito globulari o fibrosi). Questa ulteriore strutturazione e' detta struttura terziaria della proteina e i domini possono ancora strutturarsi tra loro a formare la cosiddetta struttura quaternaria. E' interessante notare che l'esistenza delle strutture ternaria e quaternaria consente di mettere vicini dei gruppi funzionali che altrimenti sarebbero lontani tra loro nella sequenza peptidica.

# Proteine

La proteina, in conclusione, costituisce un esempio molto interessante di macromolecola che si autoassembla (cioè si assembla spontaneamente) e forma strutture complesse la cui funzione è determinata proprio da questo processo di assemblamento.



*Denaturare* una proteina significa distruggerne la conformazione spaziale, rompendo i legami idrogeno e ponti disolfuro per mezzo di acidi, basi, calore, radiazioni o agitazione (un esempio comune di denaturazione è la cottura di un uovo nel quale l'albumina, che costituisce la maggior parte dell'albumene, viene denaturata). Una proteina denaturata, pur mantenendo intatta la sua struttura primaria, non è più in grado di esplicare la sua funzione.

# Acidi nucleici

---

In una cellula esistono 2 tipi di acidi nucleici: l'acido deossiribonucleico (DNA) e l'acido ribonucleico (RNA). Entrambi sono carichi negativamente a pH fisiologico (7.4). Si chiamano nucleici perché si trovano nel nucleo, ma il DNA si trova anche nei mitocondri (DNA mitocondriale) e l'RNA nel citoplasma.

La loro struttura è quella di un lungo polimero composto di 4 subunità ripetitive dette nucleotidi.

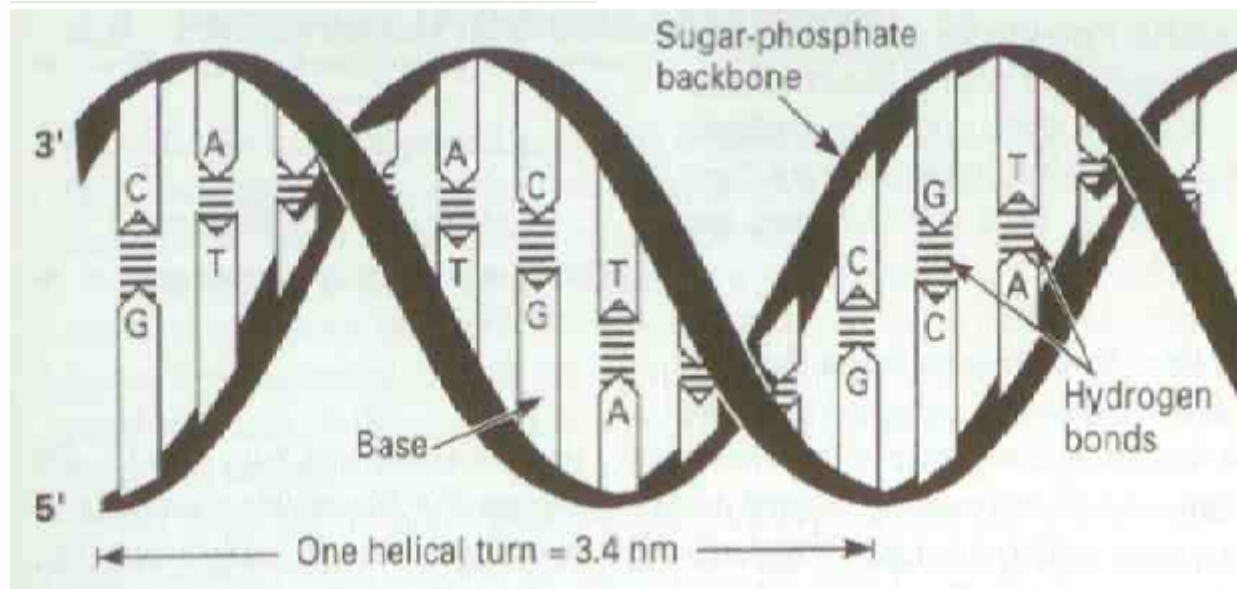
Ogni nucleotide è formato da una base, uno zucchero (deossiribosio nel DNA, ribosio nell'RNA) e un gruppo fosfato. Le basi sono di 4 tipi:

DNA: adenina, guanina, timina, citosina (AGTC)

RNA: adenina, guanina, uracile, citosina (AGUC)

Tra C e G e tra A e T nel DNA, si formano dei legami idrogeno.

# Acidi nucleici



# Acidi nucleici

---

Quest'ultima caratteristica giustifica il fatto che in condizioni fisiologiche, le catene di DNA non si trovano mai da sole, ma sempre accoppiate a formare una doppia elica (evidenziata per la prima volta da Rosalind Franklin nel 1953, da questa prima osservazione nacque la teoria della doppia elica che diede il Nobel a Watson e Crick). Poiché i legami idrogeno non sono molto forti, basta un piccolo aumento di temperatura per separare i filamenti. La doppia elica ha 10 coppie di nucleotidi per giro e ogni giro si estende in lunghezza per 3.4 nm. Il nucleo di una tipica cellula di mammifero contiene  $3 \cdot 10^9$  nucleotidi per un totale di circa 1 metro lineare di filamento. Questo lungo gomitolo è però contenuto in una sfera di raggio pari a 5-10 micron.

Lunghi studi condotti sul DNA dagli anni 50 ad oggi hanno mostrato che sottoinsiemi di DNA (i geni) contengono la codifica di determinate proteine, ovvero il DNA è una specie di “software delle cellule” che descrive le istruzioni per costruire tutte le proteine utili alla sopravvivenza della cellula.



# Acidi nucleici

---

Il DNA e' custodito all'interno del nucleo, mentre dell'RNA esistono piu' copie (di solito piu' piccole) contenute in diverse zone della cellula, e che si distinguono in base alla funzione: RNA messaggero (mRNA), transfer RNA (tRNA), RNA ribosomale (rRNA).

Cerchiamo di capire ora come sono fatte le istruzioni di questo "software" e come il codice viene "interpretato" per costruire poi le proteine.

Innanzitutto, il codice contenuto dentro il DNA viene sempre mantenuto, durante tutte le fasi del processo, e di esso viene fatta una copia (trascrizione del DNA). Per fare questa copia occorrono alcuni "ingredienti": il DNA, un'abbondante quantita' di basi libere, e un enzima noto come RNA polimerasi.

In questo modo si forma una catena di RNA messaggero che si muove all'interno della cellula, arriva ai ribosomi e li' avviene la sintesi delle proteine.

# Acidi nucleici

---

Ci vogliono 3 nucleotidi per codificare un determinato aminoacido. Queste sequenze di 3 basi sono dette codoni. Poiche' ci sono 4 lettere a disposizione per formare una tripletta, ci sono  $4^3 = 64$  possibili combinazioni, quindi in teoria potrebbero esistere ben piu' di 20 aminoacidi. In pratica si e' visto che alcuni aminoacidi sono codificati da piu' di una tripletta (ma non viceversa!!!).