



Principi di bioingegneria

Lezione 5

Biomolecole

Gabriele Maria Fortunato

gabriele.fortunato@unipi.it

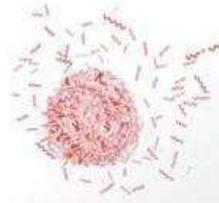




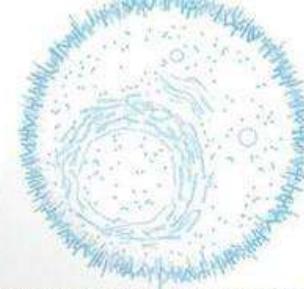
Le biomolecole principali

- lipidi
- proteine
- acidi nucleici
- carboidrati

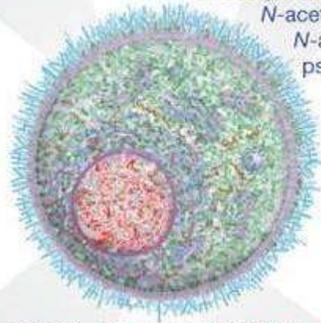
Nucleic acids (DNA and RNA)



Deoxyadenosine, deoxycytidine, deoxyguanosine, deoxythymidine, adenosine, cytidine, guanosine, uridine



Fucose, galactose, glucose, glucuronic acid, mannose, N-acetylgalactosamine, N-acetylglucosamine, neuraminic acid, xylose, nononic acid, octulosonic acid, arabinose, arabinofuranose, colitose, fructose, galactofuranose, galacturonic acid, glucolactilic acid, heptose, legionaminic acid, mannuronic acid, N-acetylfucosamine, N-acetylgalacturonic acid, N-acetylmannosamine, N-acetylmannosaminuronic acid, N-acetylmuramic acid, N-acetylperosamine, N-acetylquinovosamine, perosamine, pseudaminic acid, rhamnose, talose



dA, dC, dG, dT, rA, rC, rG, rU
A, R, D, N, C, E, Q, G, H, I, L, K, M, F, P, S, T, W, Y, V
Fuc, Gal, Glc, GlcA, Man, GalNAc, GlcNAc, NeuAc, Xyl, Kdn, Kdo, Ara, Araf, Col, Frc, Galf, GalUA, GlcLA, Hep, Leg, ManUA, FucNAc, GalNAcUA, ManNAc, ManNAcUA, MurNAc, PerNAc, QuiNAc, Per, Pse, Rha, Tal
Fa, Gl, Glpl, Pk, Pl, Scl, Spl, Stl

Proteins

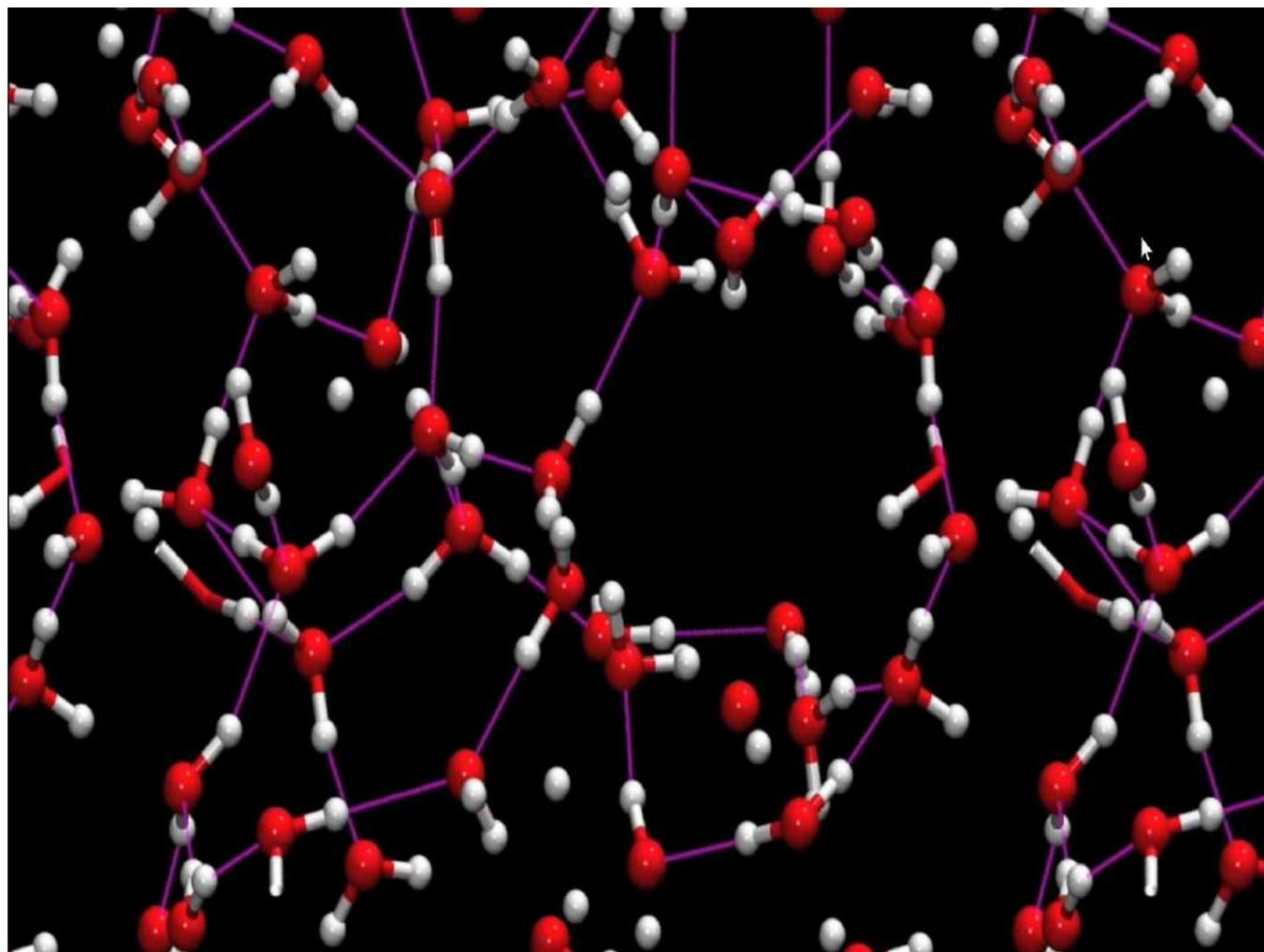


Alanine, arginine, aspartic acid, asparagine, cysteine, glutamic acid, glutamine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, methionine, phenylalanine, proline, serine, threonine, tryptophan, tyrosine, valine

Lipids



Fatty acyls, glycerollipids, glycerophospholipids, polyketides, prenol lipids, saccharolipids, sphingolipids, sterol lipids





Proprietà

- Tensione superficiale
- Capacità termica
- Temperatura
- Densità

Energia (1 kcal=4.2 J)

ATP: 12 kcal/mol

vibrazione termica RT :0.6 kcal/mol

dissoc legame C-C: 83 kcal/mol

Ossidazione glucosio: -3000 KJ/mol (700 kcal/mol)

legami deboli: ~3 kcal/mol

Tempi

visione: 10 ps

rotazione proteine: 5 ns

disassociazione di DNA : 1 μ s

reazione enzimatica : ms

sintesi proteica: pochi s

generazione di batteri: 1 ora

Dimensioni

Legame O-H 0.1 nm

legame C-C: 0.154 nm

H₂O 0.3 nm

glucosio: 0.6 nm

emoglobina:6.5 nm

ribosomi: 30 nm

virus: 10 nm-100 nm

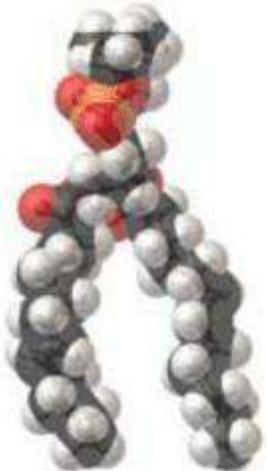
batterio: 5 μ m

globulo rosso: 7 μ m

→ Risoluzione del microscopio ottico (circa 0.2 μ m)

-  CO₂
-  O₂
-  N₂
-  Cl⁻
-  Mg²⁺
-  K⁺
-  Na⁺
-  H₂O

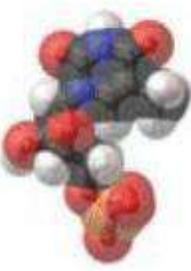
phospholipid
(PC)



sugar
(glucose)



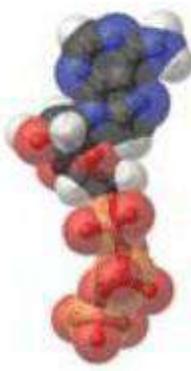
nucleotide
(dTMP)



amino acid
(serine)



ATP



NAD

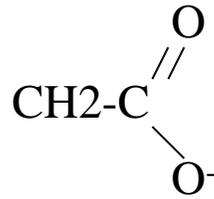


1 nm

Legami chimici

Legami deboli

1) elettrostatici: attrazione dato da legge di coulomb. Distanza ottimale circa 0.3 nm.

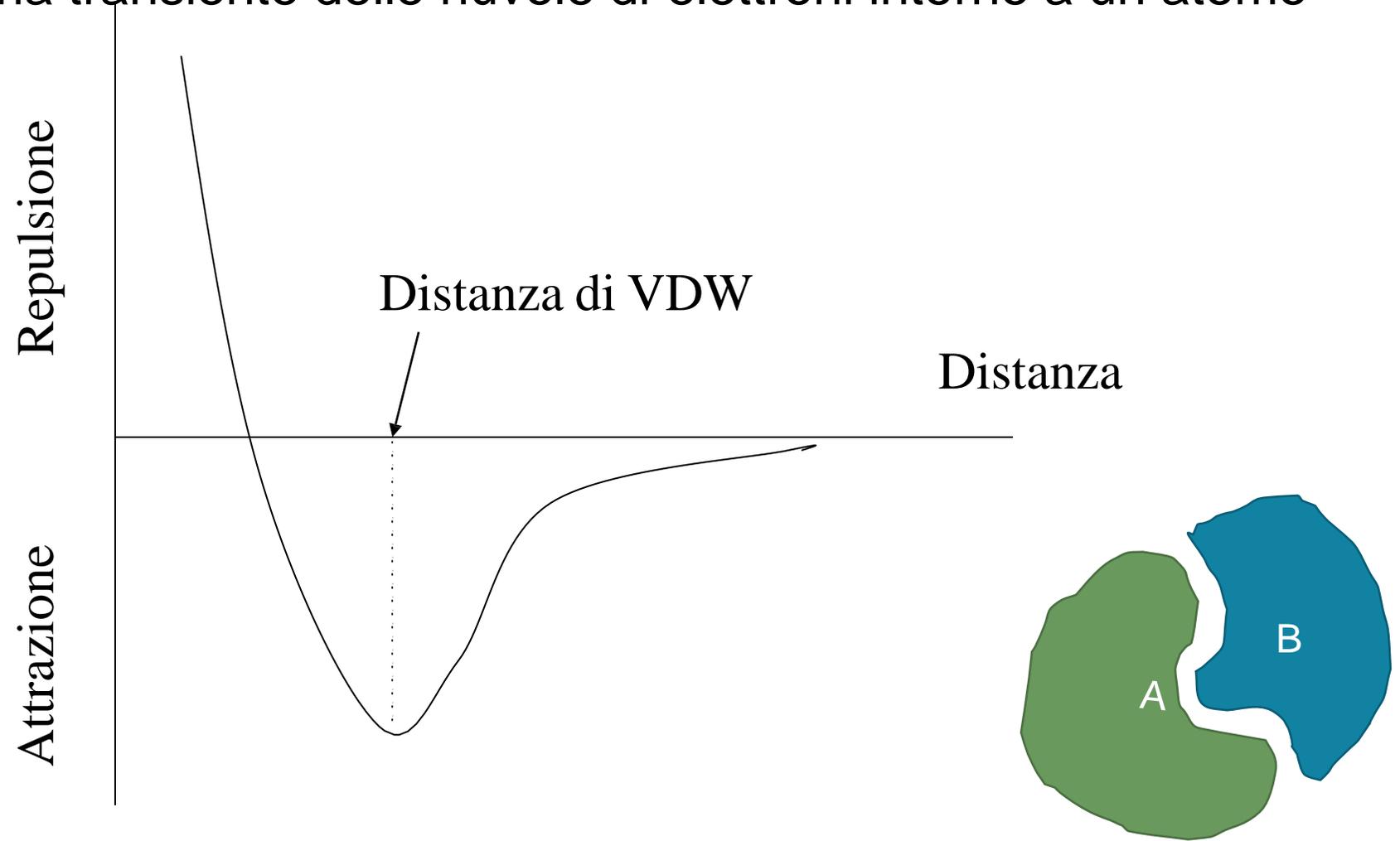


2) idrogeno: un H viene diviso tra due atomi (O o N) di cui uno è più negativo, e attrae l'H. L'altro è il donatore, che è più fortemente legato al H. E' un legame direzionale.



3) Van der Waals: legame non specifico attrattivo quando 2 atomi sono distanti circa 3-4 Å. Legame molto debole (1 kcal/mol). Le forze diventano importanti quando si tratta di un gran numero di legame VDW tra due molecole. La specificità del legame dipende dalla forma delle due molecole (lock and key).

Dovuto all'asimmetria transiente delle nuvole di elettroni intorno a un atomo



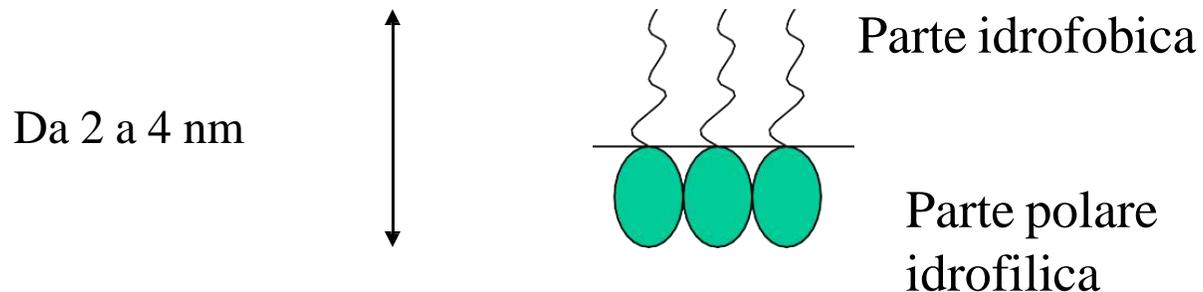
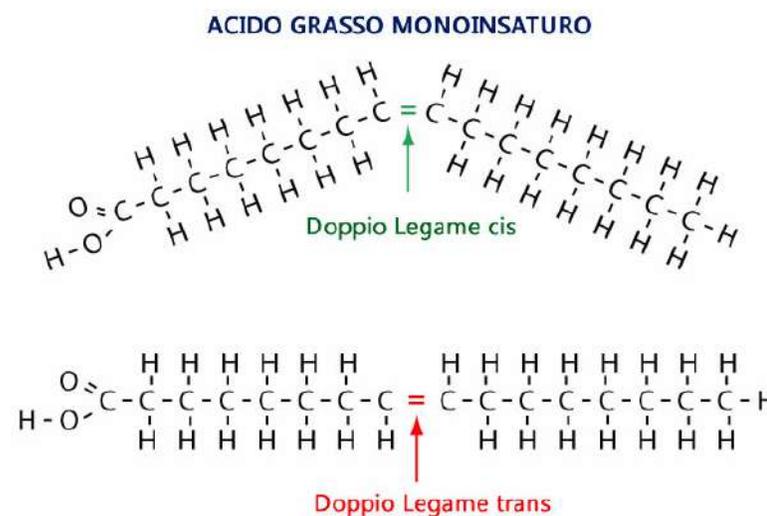
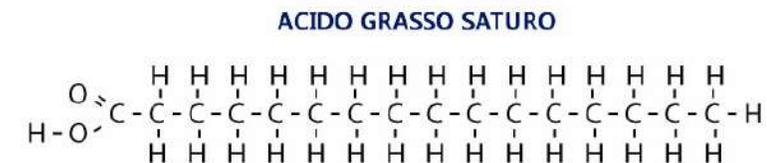
Lipidi

Classe di molecole eterogenee che hanno in comune l'insolubilità in acqua. Invece sono solubili in solventi organici comuni (es. alcol, acetone e benzene)

- acidi grassi
- grassi e olii
- trigliceridi
- fosfolipidi
- steroidi

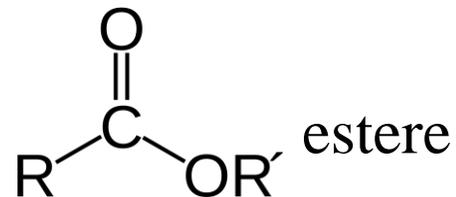
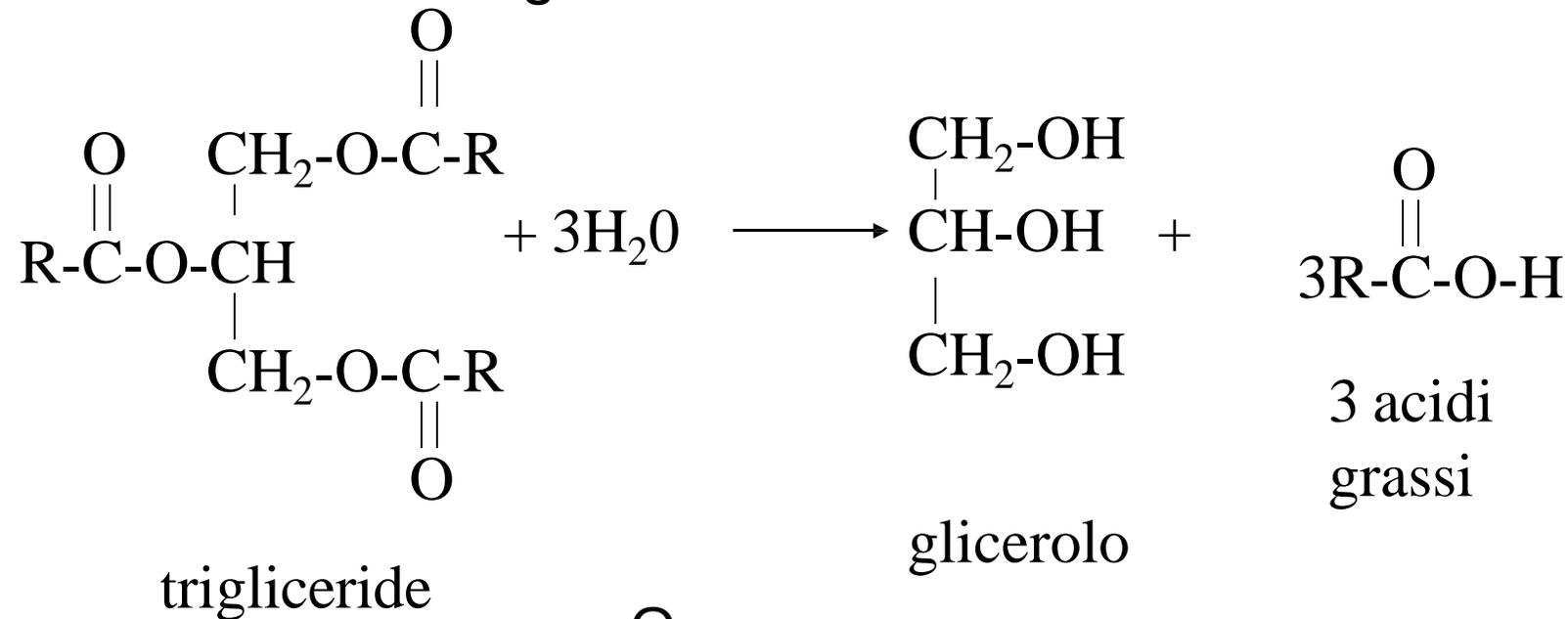
Acidi grassi

- hanno un numero pari di C tra 12 e 20, (C12, C14, C16, C18 ecc)
- I tre più comuni sono acido stearico (C18), palmitico (C16) e oleico (C18 con =)
- con aumento di C, aumenta la temp di fusione
- quelli saturi (senza=) hanno una t.f. più alta di quelli insaturi (con =). Questo è dovuto all'ingombro sterico di quelli insaturi
- hanno la proprietà di interagire con acqua formando strati monomolecolari: sono anfifiliche

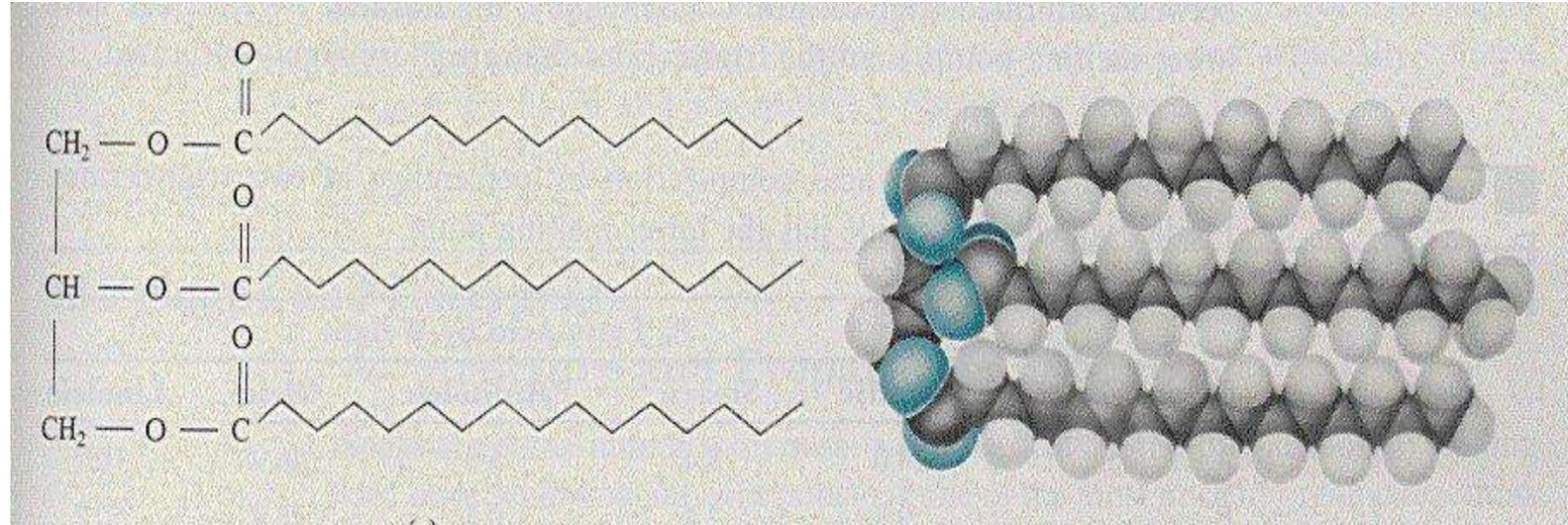


- 
- Formula generale: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{COOH}$ (saturi),
 - $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_m\text{COOH}$ (non saturi)
 - Gli acidi grassi saturi hanno un punto di fusione (pf) alto, mentre quelli non saturi sono liquidi a temp ambiente
 - Perché??
 - Saturi: C12: laurico; C14: miristico; C16: palmitico; C18: stearico; C20: arachidico.
 - Non Saturi: C16 palmitoleico; C18 oleico, linoleico, linolenico; C20 arachidonico

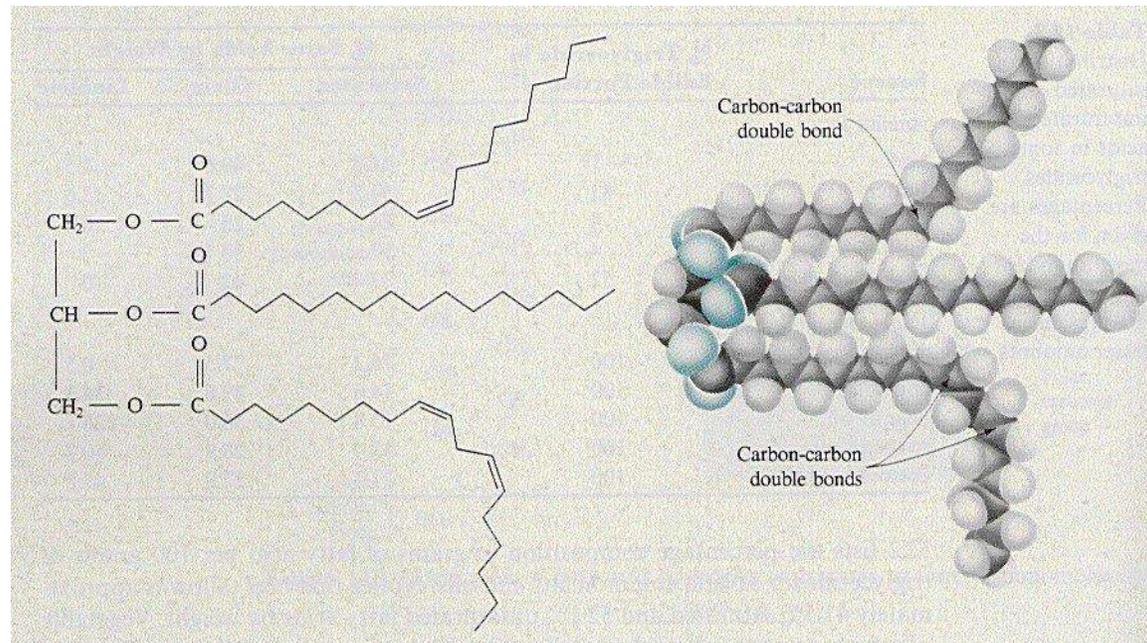
I trigliceridi sono i lipidi più abbondanti in natura (e nella membrana cellulare). I grassi e oli che mangiamo sono praticamente dei triesteri di glicerolo. Infatti, l'idrolisi completa di un trigliceride da 3 molecole di acidi grassi e una molecola di glicerolo.



Trigliceridi: hanno tre acidi grassi



Trigliceride saturo: tripalmitina
(pf alto perché è più compatto)



Trigliceride non saturo (pf basso)

sono piu comuni i trigliceridi con tre catene di acido grasso diverse

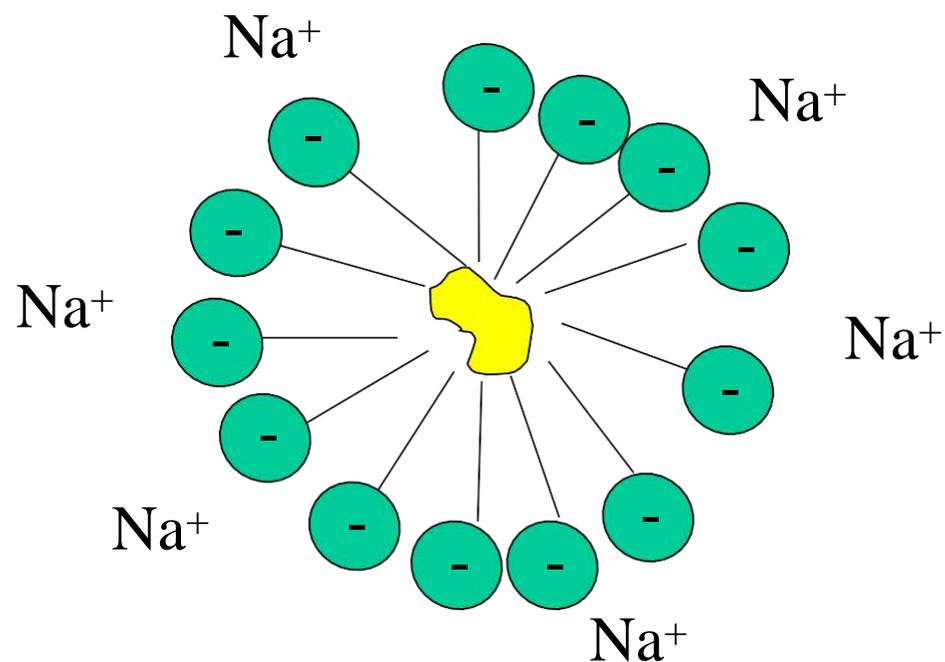
I trigliceridi ricchi in acidi grassi saturi sono “grassi”, quelli con grassi non saturi sono olii.

Grasso	% triglicer	% ag sat	% oleico + linoleico (ns)
maiale	52	37	52
mais	100	14.6	84.3

Conversione industriale di olii a grassi: togliere i doppi legami attraverso la loro idrogenazione. Si può modulare la “consistenza” per dare ad un grasso la giusta morbidezza (es. margarina)



Le molecole di sapone formano delle micelle intorno ad gocce di grasso, così si sciolgono in acqua. Nella presenza di una soluzione acida, le molecole di sapone tendono a formare l'acido, diventando insolubili (la micella è solubile). Inoltre, nella presenza di Ca, Mg e Fe, formano precipitati.



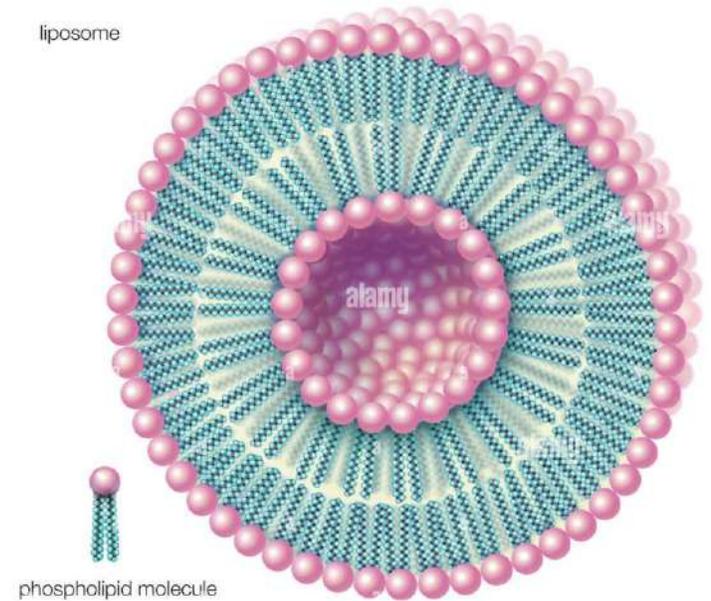
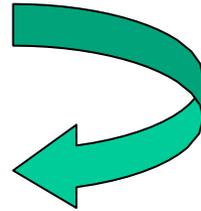
Micelle (dentro idrofobiche)

monostrati

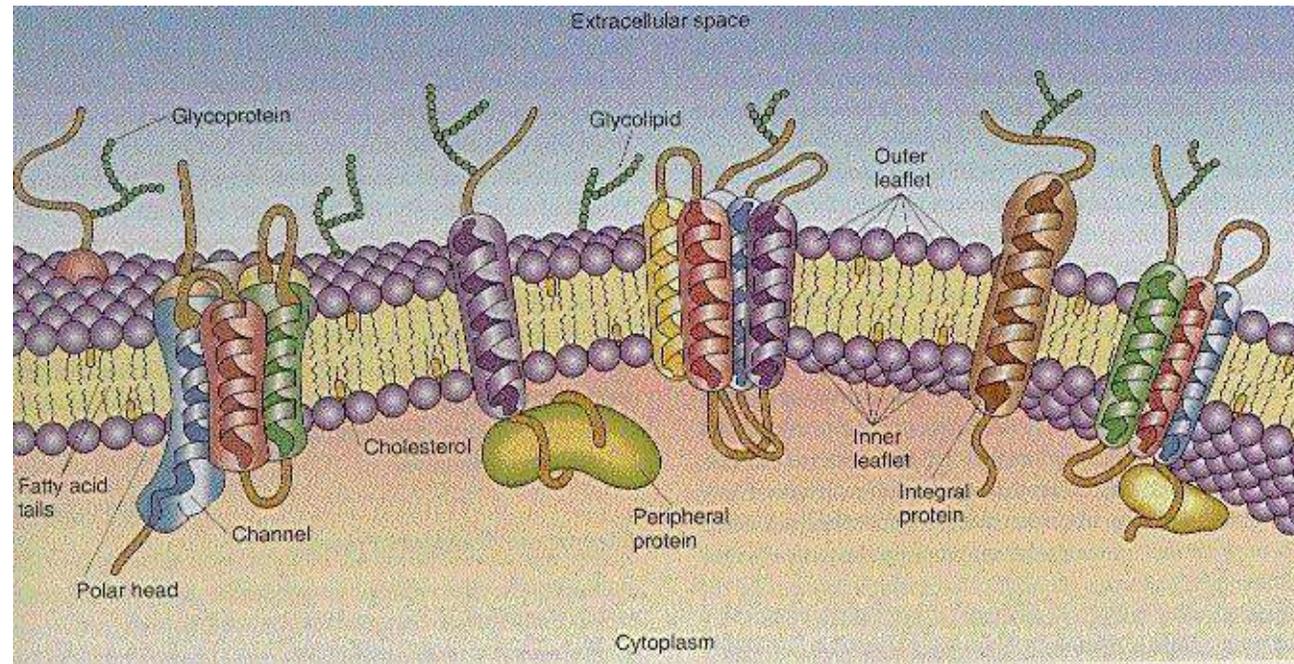
bistrati

membrane

liposoma (dentro idrofilico)



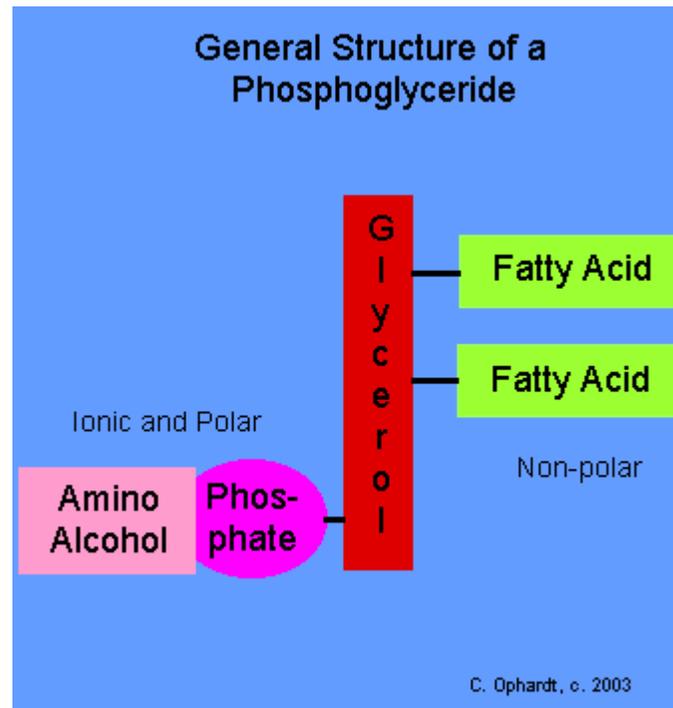
Modello di un mosaico fluido (metà della membrana cellulare è fatta di lipidi, metà di proteine). Membrana che non fa passare tante molecole

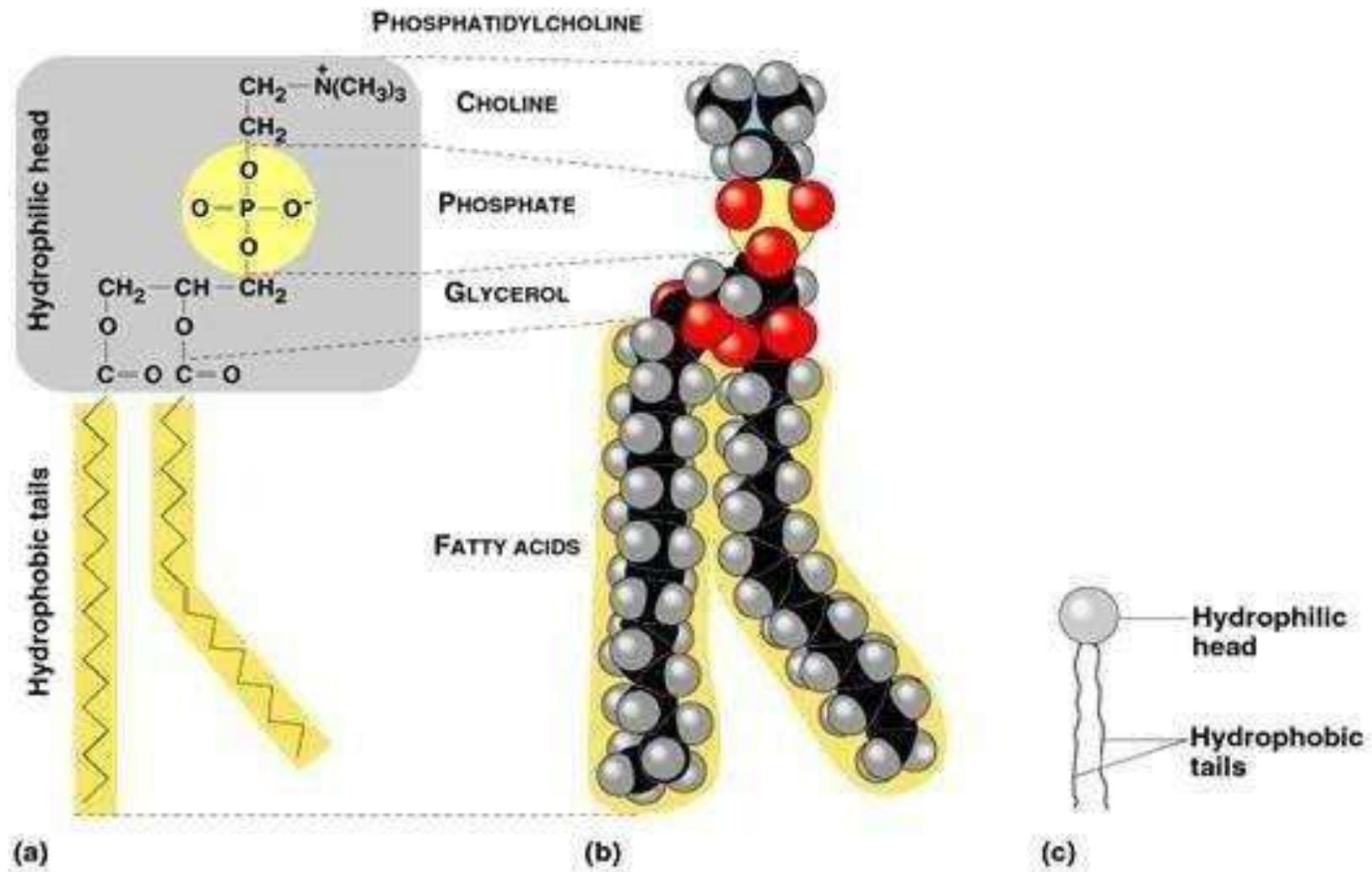


Fosfolipidi: sono secondi in abbondanza, e si trovano quasi esclusivamente nelle membrane cellulari.

Membrane=40-50% fosfolipidi+ 50-60% proteine

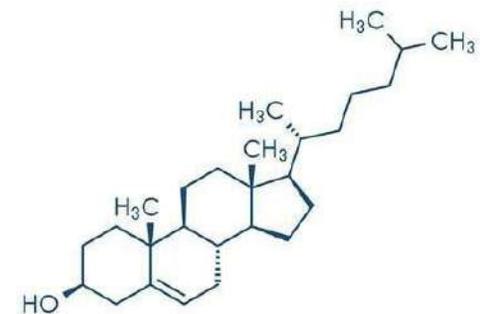
Contengono glicerolo, 2 acidi grassi, acido fosforico e un alcol.
I più abbondanti sono lecitina (fosfatidilcolina) e cefalina.



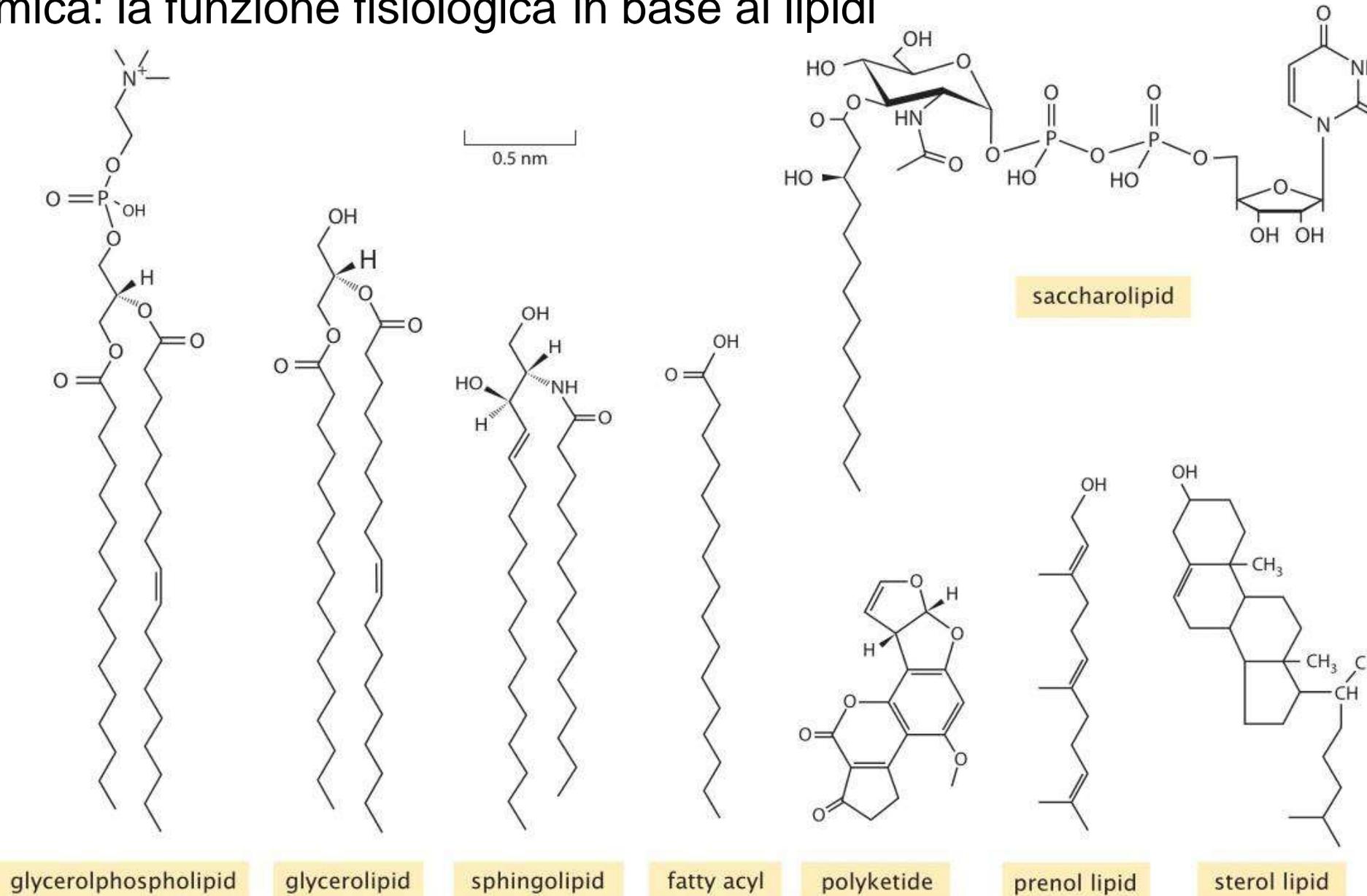


Steroidi

- Colesterolo: lipide con struttura ad anelli. E' una parte essenziale delle membrane. Noi abbiamo circa 140 mg di colesterolo, di cui 120 mg sono nelle membrane. Più colesterolo fa irrigidire le membrane.
- Nel sangue esistono due tipi colesterolo. Essendo insolubili in H₂O viaggiano nelle lipoproteine
- Quello buono (HDL: high density lipoprotein): lipoproteine con poco grasso che portano colesterolo dalle cellule al fegato
- Quello cattivo (LDL: low density lipoprotein): Sono lipoproteine con tanto colesterolo che vengono depositate sulle pareti delle arterie



Lipidomica: la funzione fisiologica in base ai lipidi





Ormoni e vitamine non idrosolubili
fanno parte degli steroidi

Esercizi

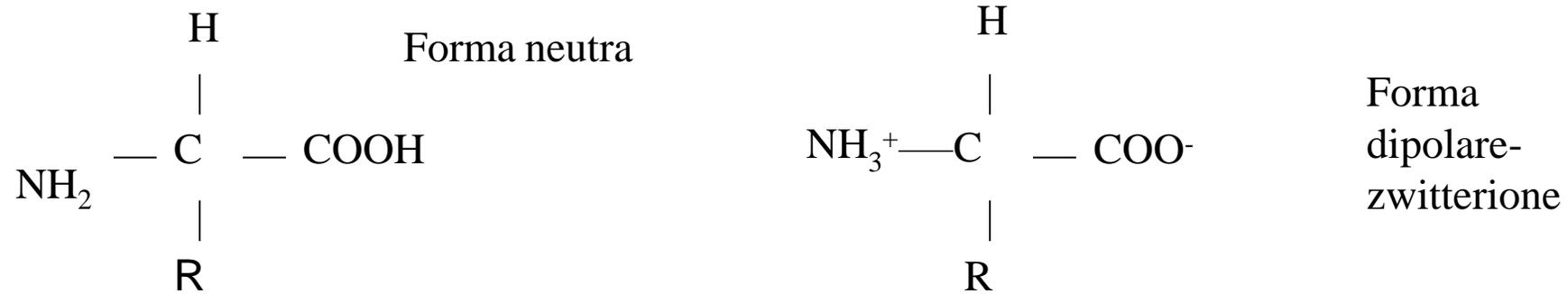
- Stimare il numero di lipidi/m² distesi sull'acqua disposti in monostrato.
- Stimare la quantità di grasso nel corpo magro. Quasi tutto il grasso è contenuto nella membrana cellulare (anche gli organelli sono contenuti in membrane lipidiche).

Aminoacidi e Proteine

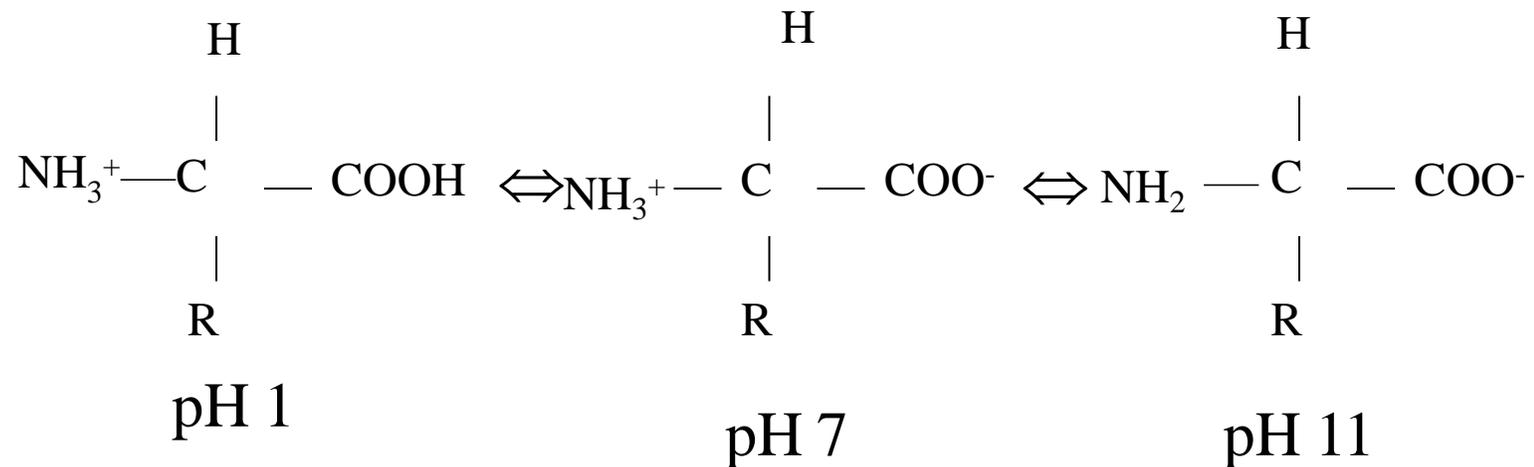
- Catalisi enzimatica: velocità aumenta di 10^6 volte.
- Trasporto e immagazzinamento
- Moto
- Supporto meccanico
- Protezione immunitaria
- Generazione e trasmissione di impulsi nervosi (es. Recettori per la luce)
- Controllo di crescita e differenziazione (repressor proteins, NGF)

Aminoacidi

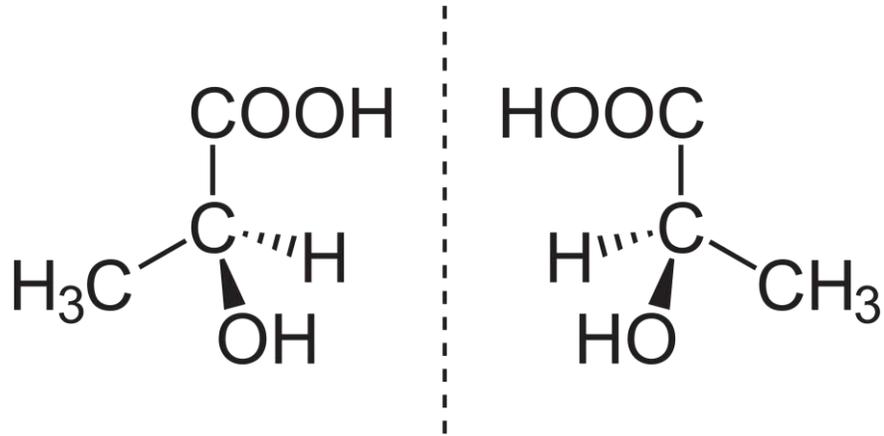
1 gruppo aminico, 1 carbossilico, 1 gruppo R (gruppo laterale), 1 H



Lo stato di ionizzazione varia con il pH. A pH 1, il COOH è neutro, a pH 11, il NH₂ è neutro. A pH fisiologico sono entrambi carichi



Attività Ottica: solo gli AA L esistono in natura: le proteine sono formate da AA L. Le due forme sono enantiomeri o isomeri ottici



Lactic acid

L and D isomers of amino acids

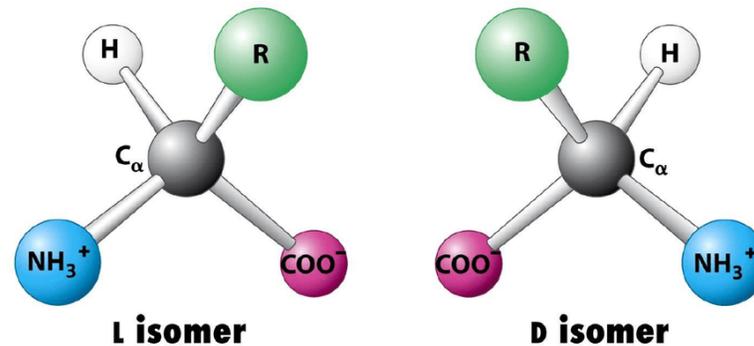
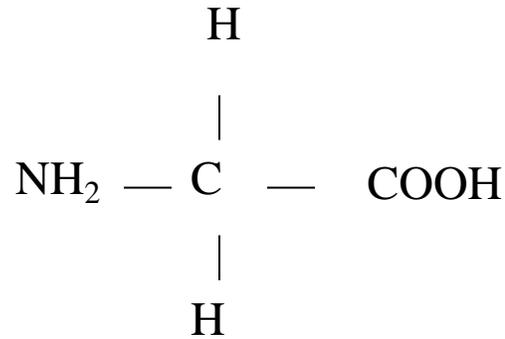
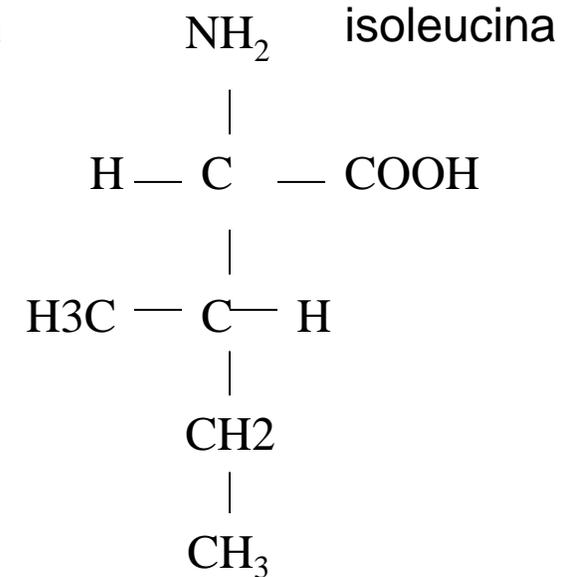
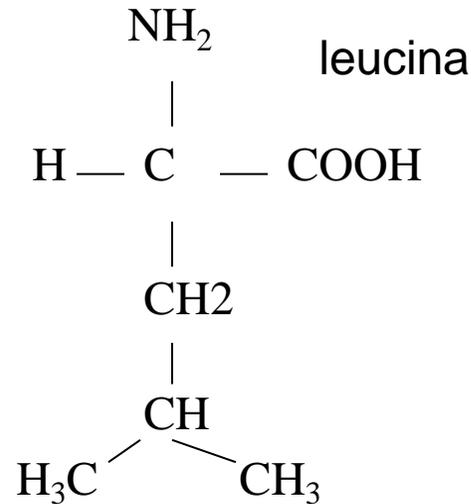
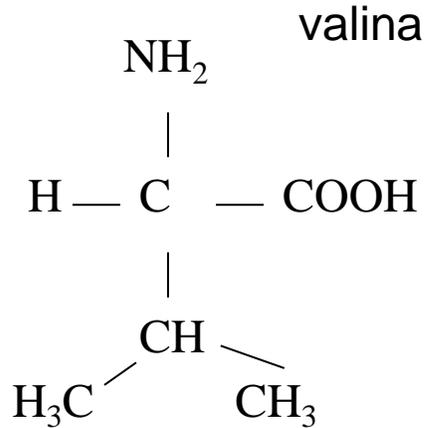
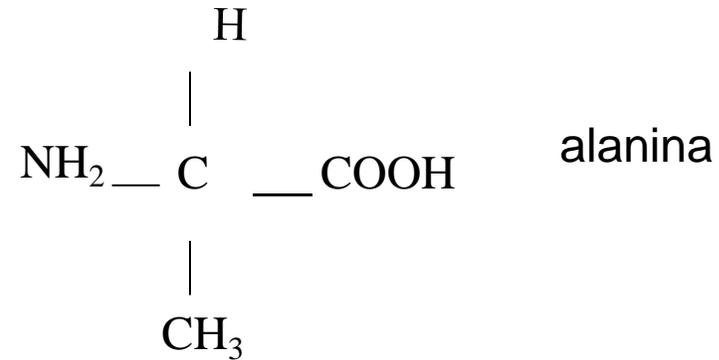


Figure 2-4
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

R è alifatico, quindi non carico

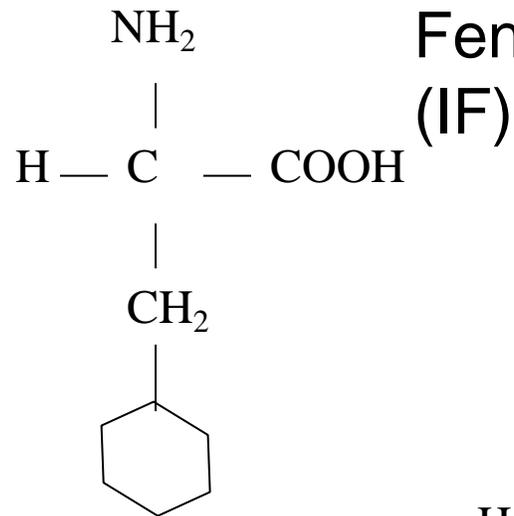


Glicina: otticamente inattivo

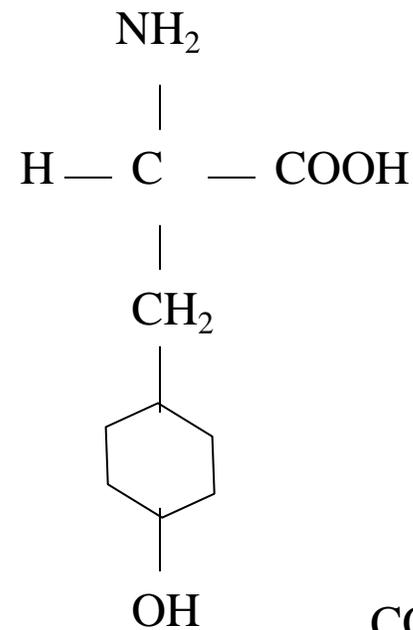


Gli AA grandi sono idrofobici: tendono a legarsi insieme per evitare l'acqua, e così formano strutture compatte

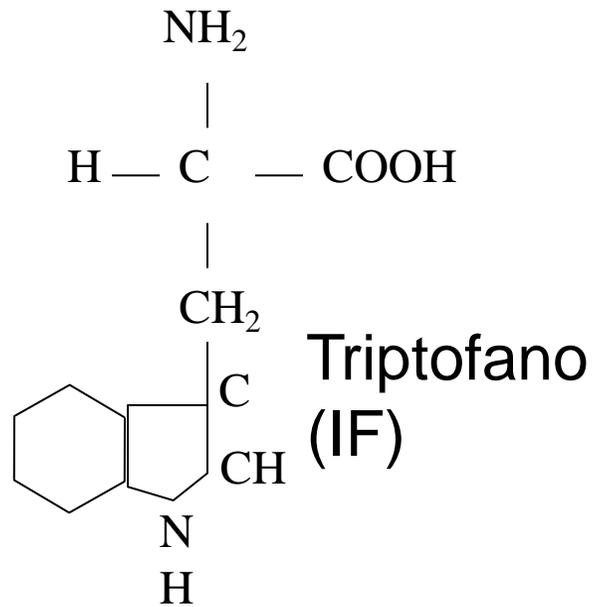
R è aromatico



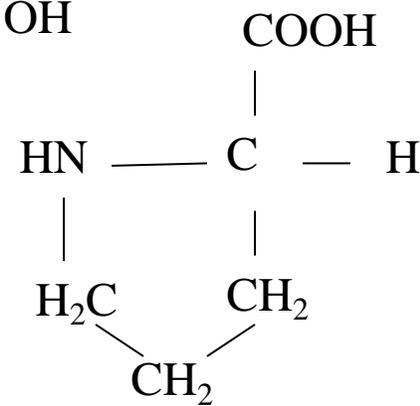
Fenilalanina:
(IF)



Tirosina
gruppo OH
reattivo

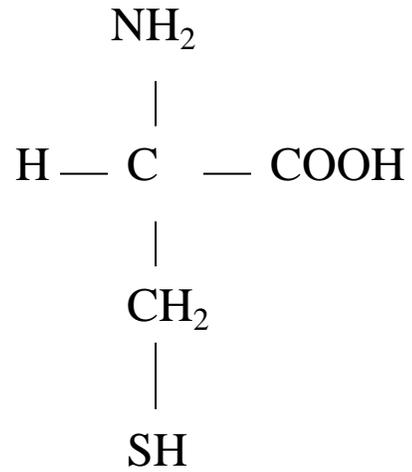


Triptofano
(IF)

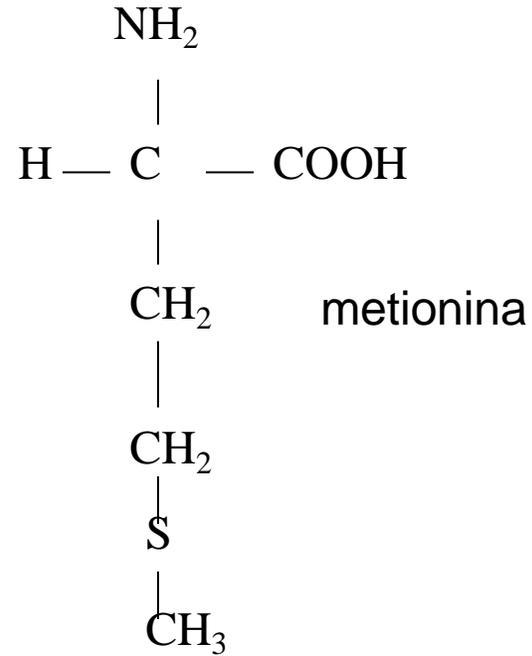


Prolina: R è legato sia al α C che all'azoto.
Importante per la determinazione della
struttura di una proteina

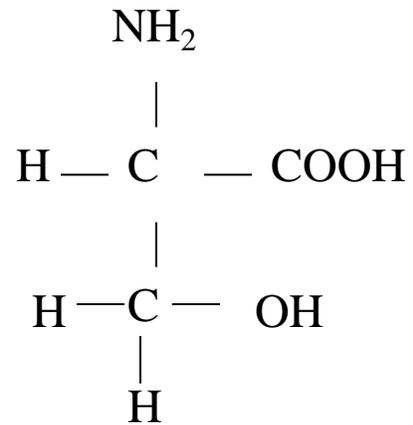
R contiene un S: idrofobici



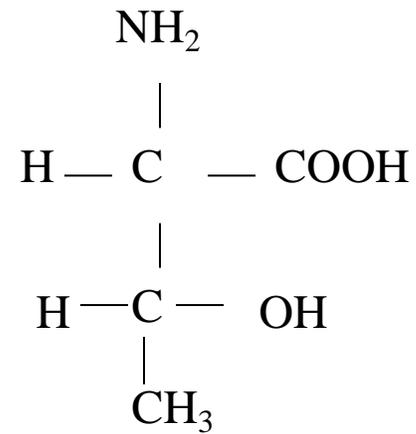
Cisteina: molto reattivo, forma legami disolforici



R è alifatico con un gruppo idrossilico (OH), quindi sono idrofilici

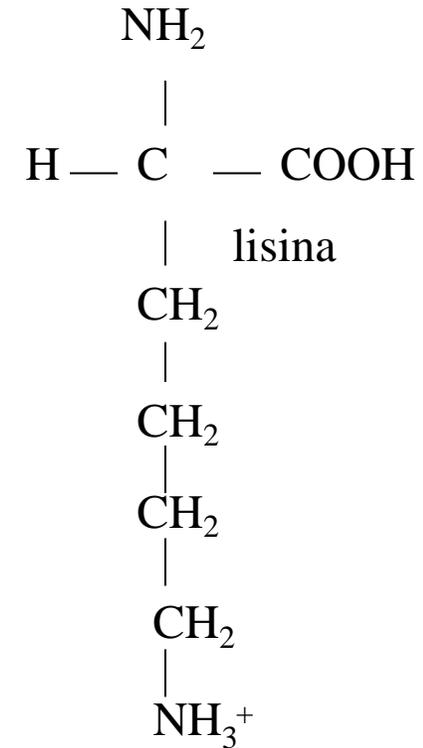
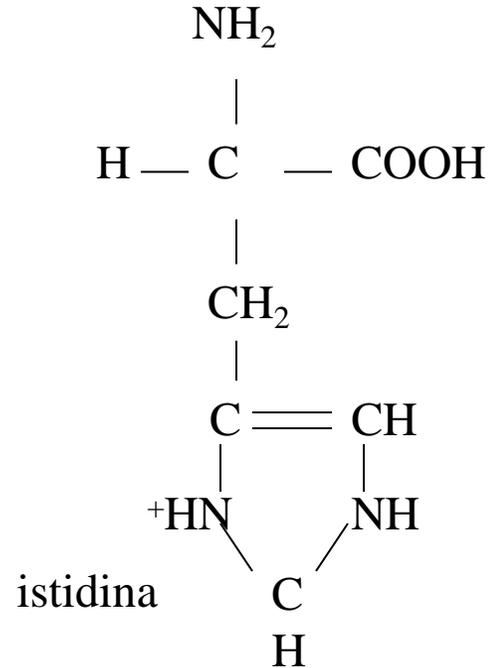
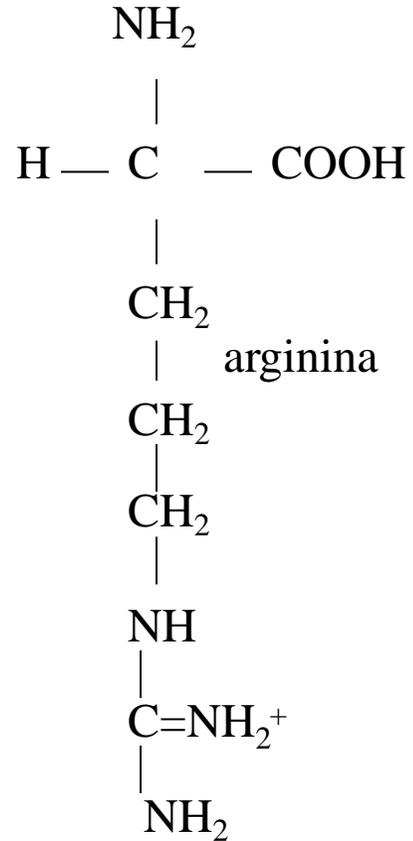


serina



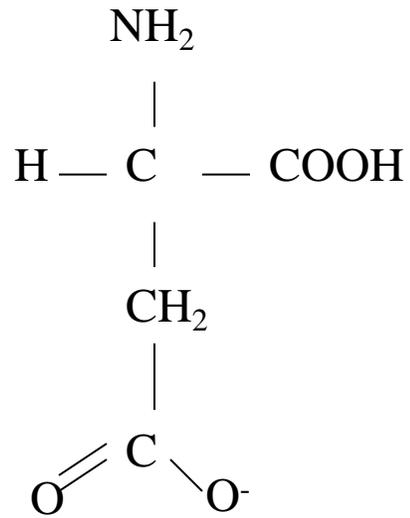
treonina

R è molto polare, quindi l'AA è molto idrofilico

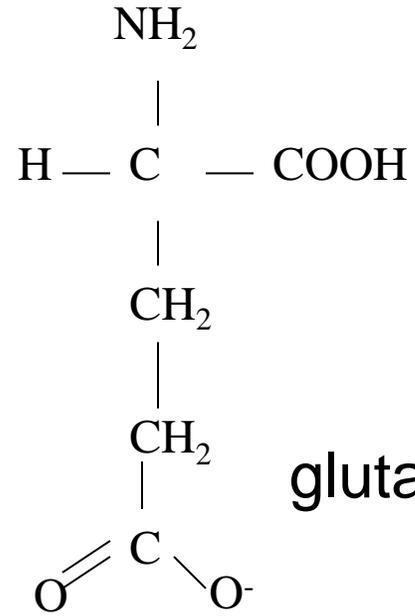


Questi sono amino acidi basici (cioè carica +). Lisina e arginina sono + a pH neutro. La carica di Istidina dipende dal ambiente locale. Istidina è molto diffuso nei siti attivi di enzimi dove l'anello imidazolo può switchare tra + e - per formare e rompere legami.

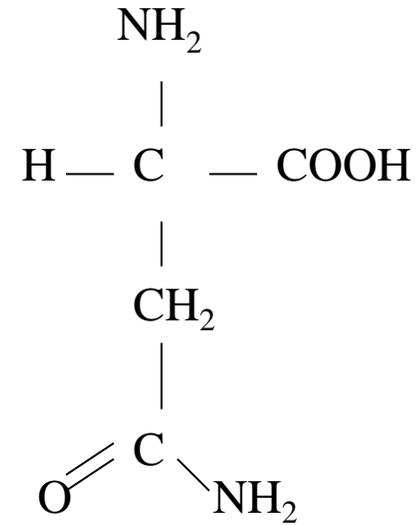
R è acidico (carica -)



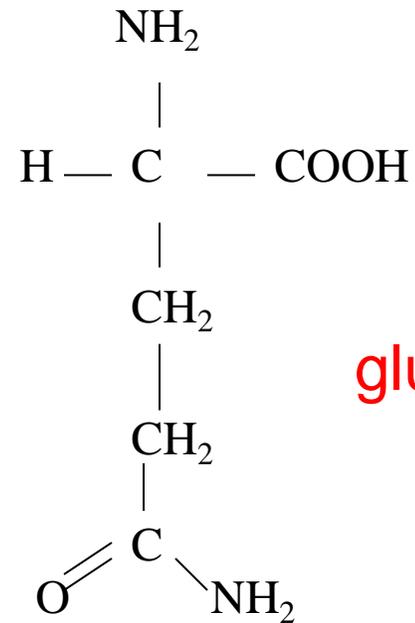
aspartato



glutamato

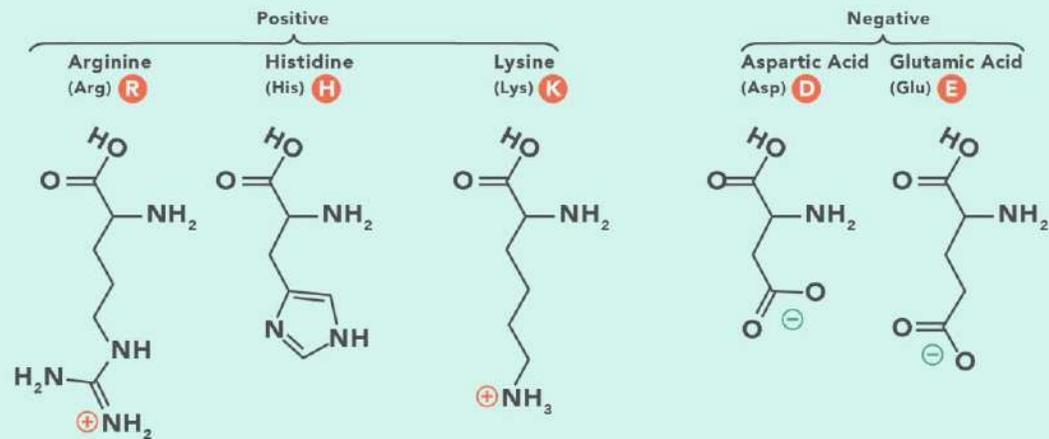


asparagina

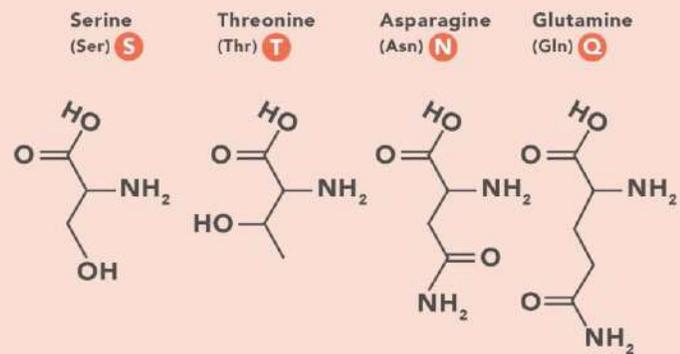


glutamina

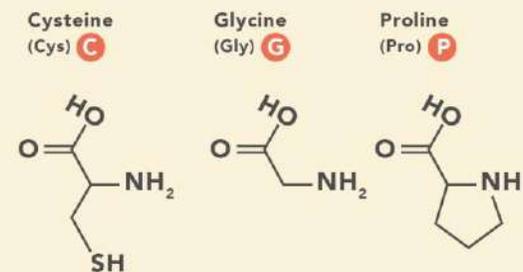
A. Amino Acids with Electrically Charged Side Chains



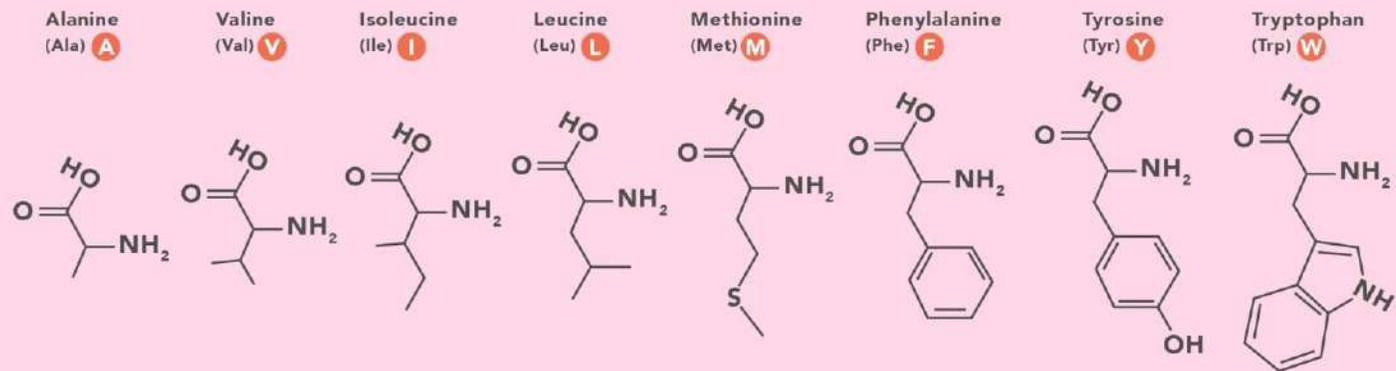
B. Amino Acids with Polar Uncharged Side Chains



C. Special Cases



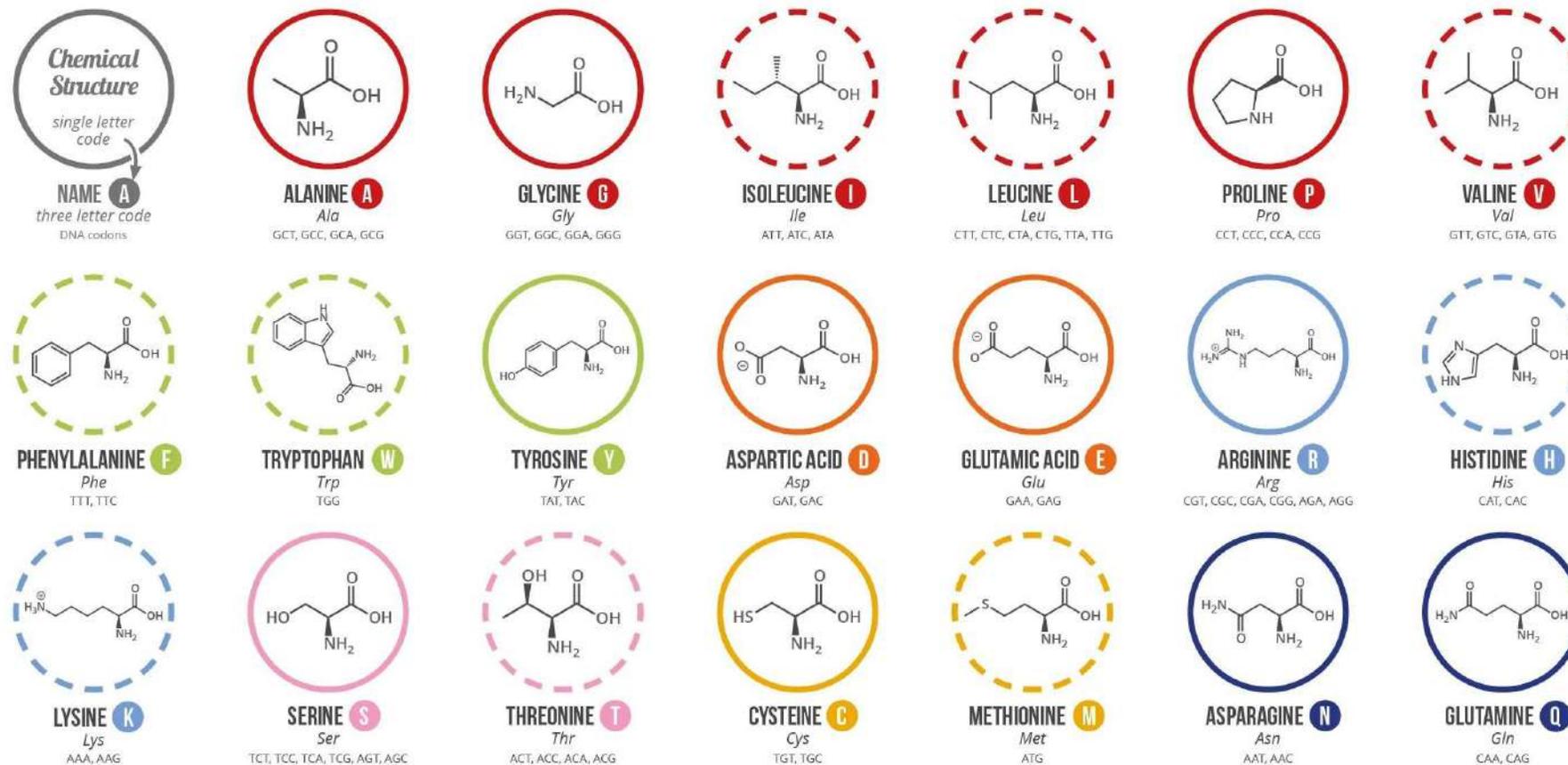
D. Amino Acids with Hydrophobic Side Chains



A GUIDE TO THE TWENTY COMMON AMINO ACIDS

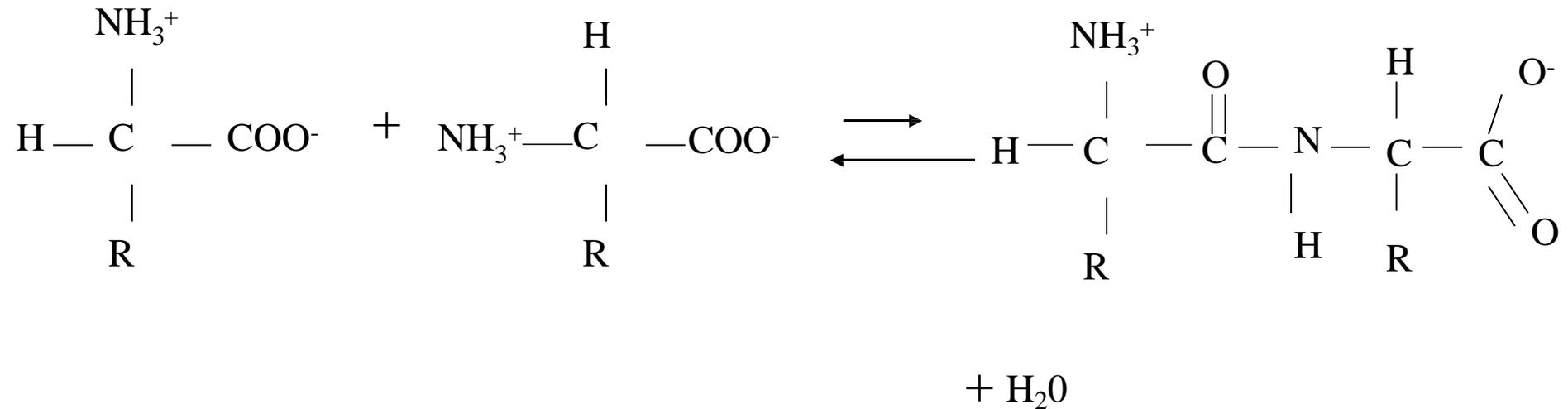
AMINO ACIDS ARE THE BUILDING BLOCKS OF PROTEINS IN LIVING ORGANISMS. THERE ARE OVER 500 AMINO ACIDS FOUND IN NATURE - HOWEVER, THE HUMAN GENETIC CODE ONLY DIRECTLY ENCODES 20. 'ESSENTIAL' AMINO ACIDS MUST BE OBTAINED FROM THE DIET, WHILST NON-ESSENTIAL AMINO ACIDS CAN BE SYNTHESISED IN THE BODY.

Chart Key: ● ALIPHATIC ● AROMATIC ● ACIDIC ● BASIC ● HYDROXYLIC ● SULFUR-CONTAINING ● AMIDIC ○ NON-ESSENTIAL ○ ESSENTIAL



Note: This chart only shows those amino acids for which the human genetic code directly codes for. Selenocysteine is often referred to as the 21st amino acid, but is encoded in a special manner. In some cases, distinguishing between asparagine/aspartic acid and glutamine/glutamic acid is difficult. In these cases, the codes asx (B) and glx (Z) are respectively used.

Il legame peptidico: Il carbonio del acido di un AA è legato al azoto del altro. La formazione di un dipeptide da due AA avviene con la perdita di una molecola di acqua. L'equilibrio di questa reazione è shiftato verso l'idrolisi, anzichè sintesi, quindi la sintesi di proteine ha bisogno di un input di energia .



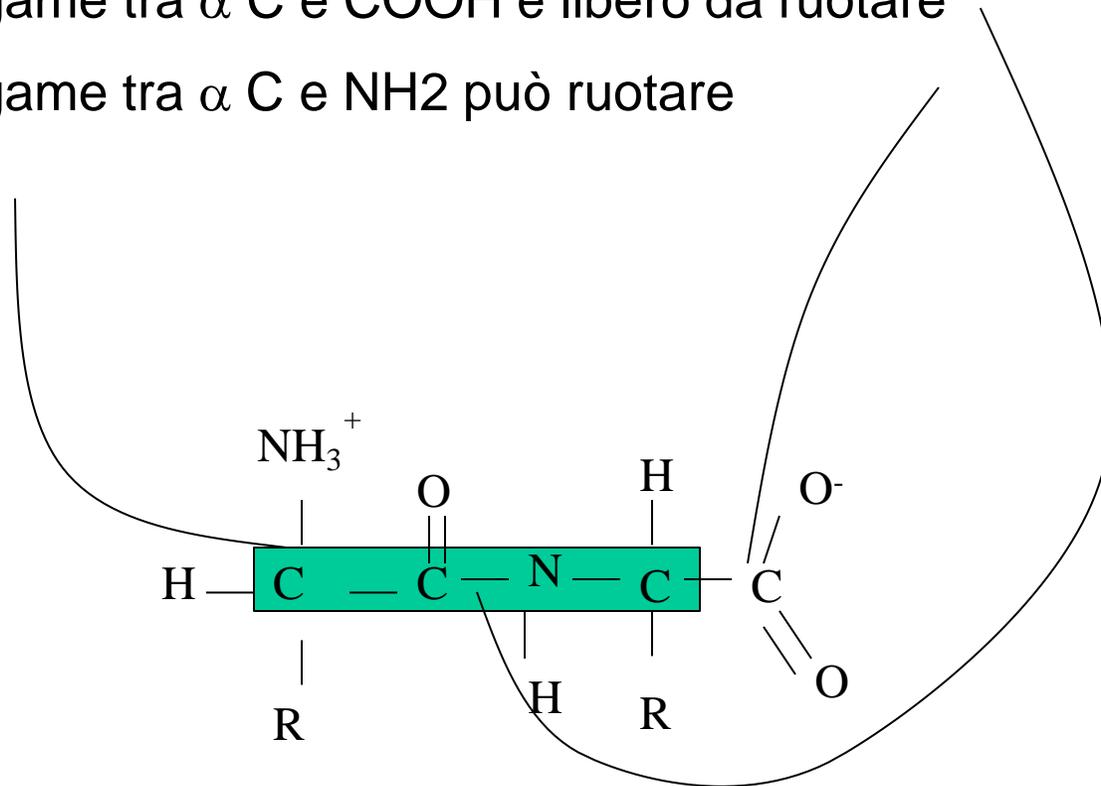
L'inizio del AA è il terminale amminico. Quindi Ala-Gly-Trp non è uguale a Trp-Gly-Ala. Il backbone è uguale, le catene laterali sono diversi.

I peptidi naturali hanno circa 50-2000 residui AA (pm 5500-220,000). Se hanno >10 residui sono definiti polipeptidi.

Le proteine

- Definite come peptidi con $PM > 5000$
- Molto sensibili a T, pH

- La funzione dipende dalla conformazione
- La conformazione è l'organizzazione 3D
- La sequenza AA determina la conformazione
- Il legame peptidico è rigido e planare, lungo 0.132 nm
- Il legame tra α C e COOH è libero da ruotare
- Il legame tra α C e NH₂ può ruotare





Struttura primaria

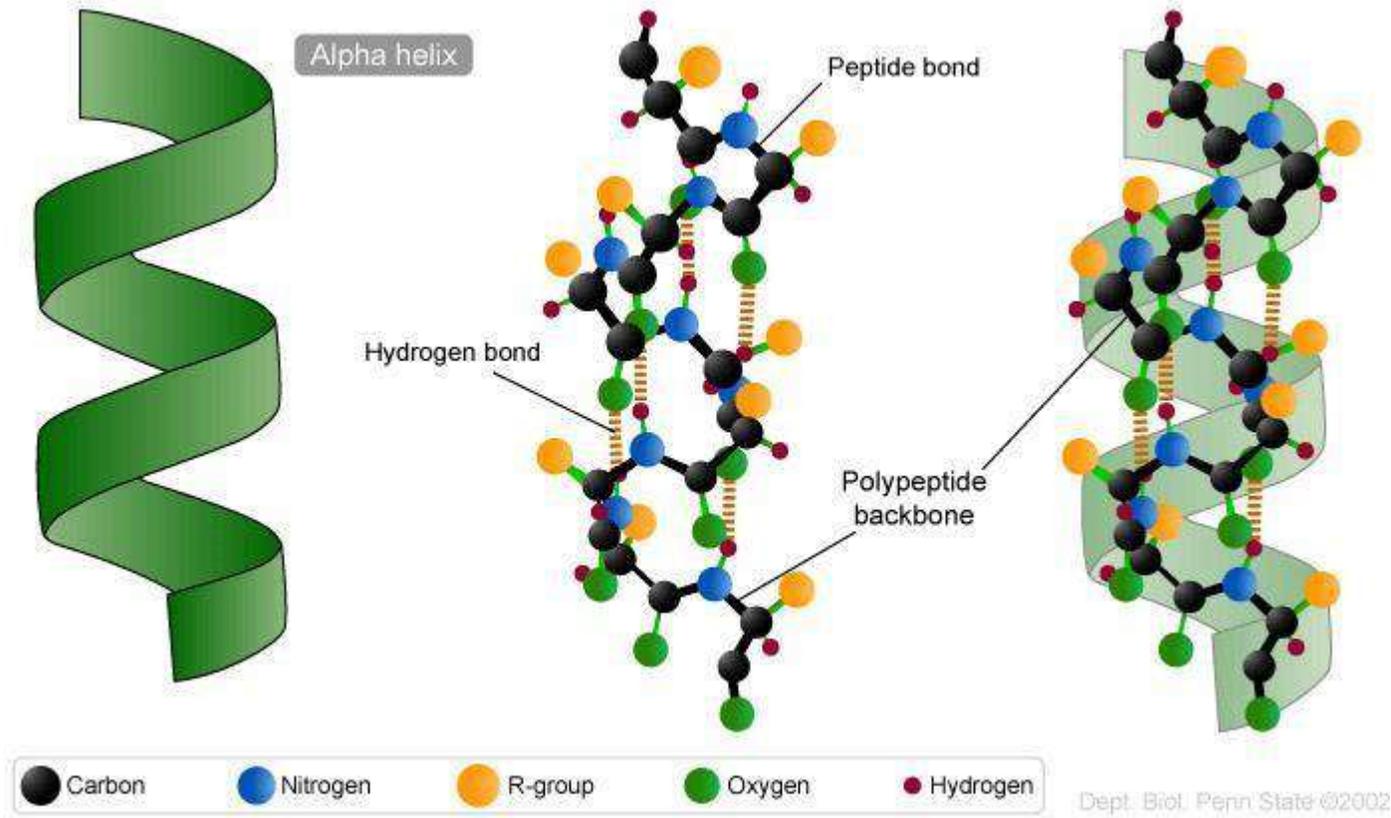
- Sequenza peptidica



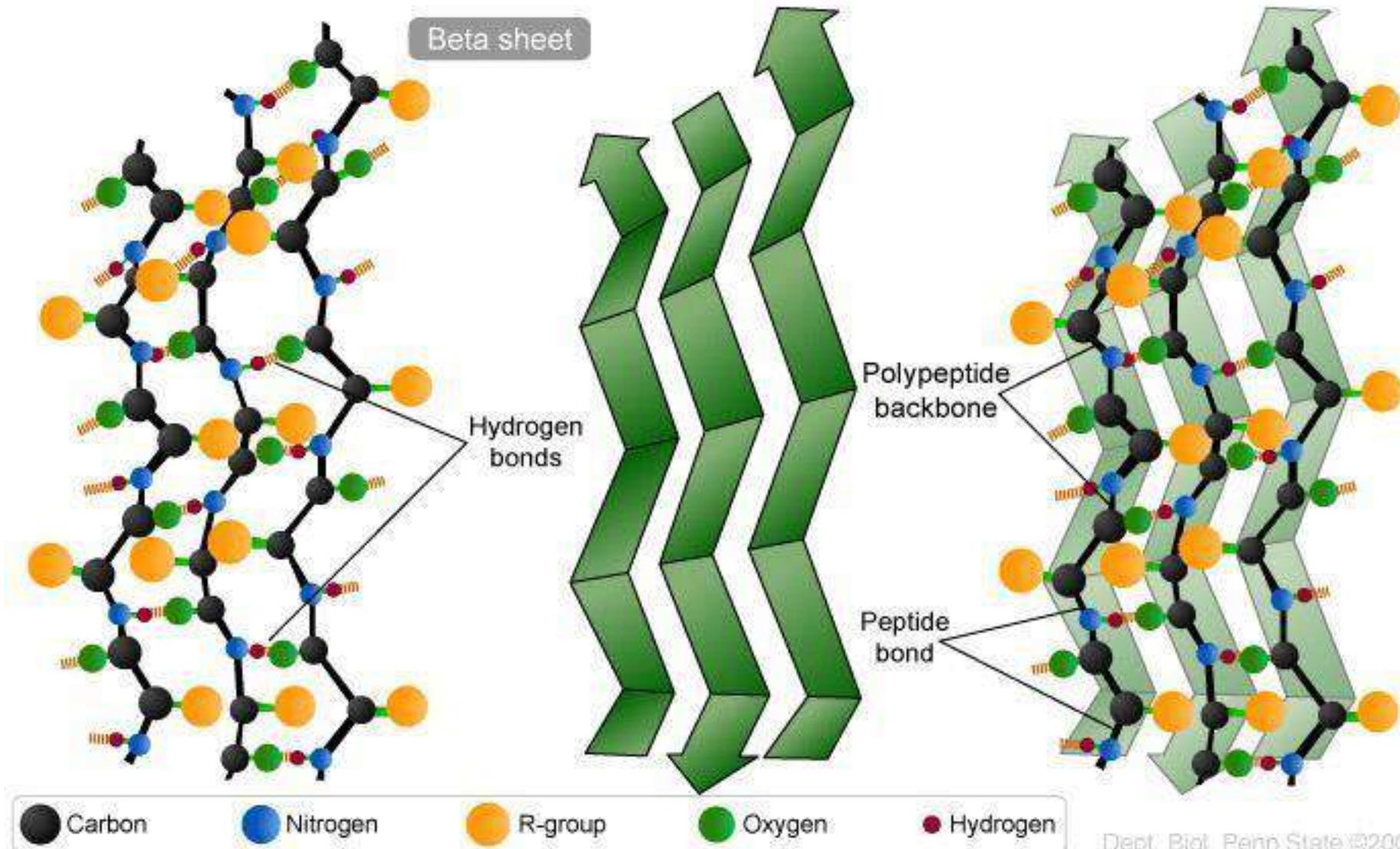
Struttura secondaria

- Organizzazione della catena

L' α helica (destra): Tutti i gruppi CO e NH del backbone sono legati attraverso legami idrogeno. Ci sono 3.6 AA per giro. Pitch= 0.54 nm. Distanza tra AA= 0.15 nm. La cheratina è una proteina formata da due α eliche intrecciate. Anche il collagene.

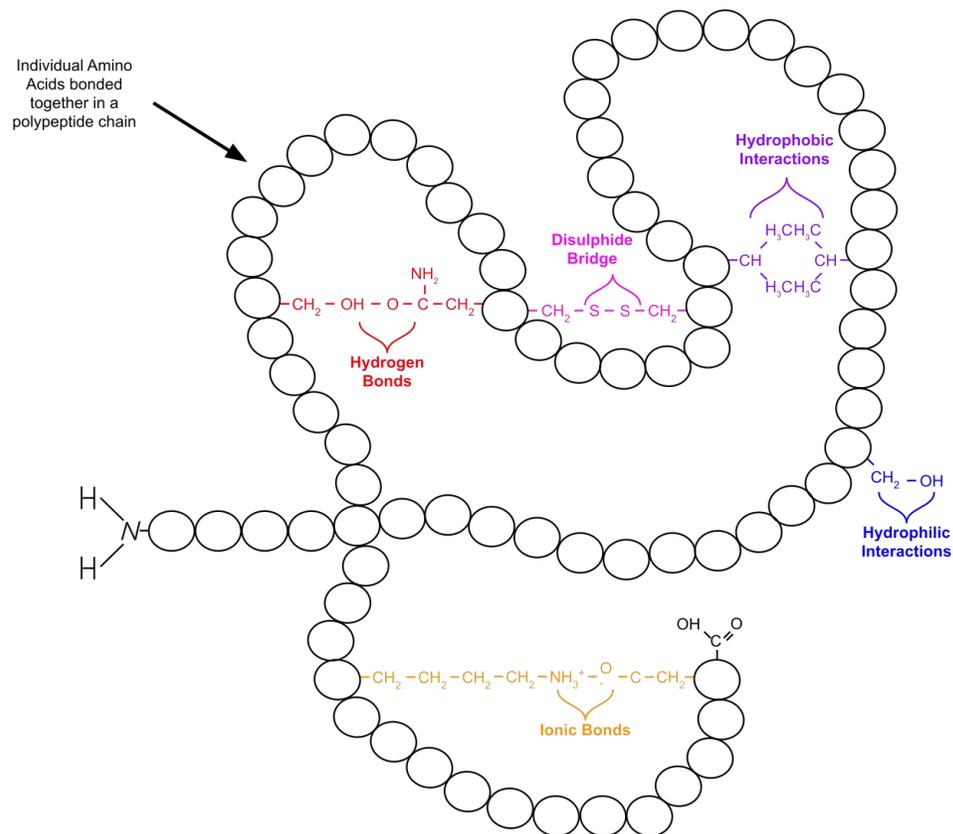


Lo β sheet: è proprio un lenzuolo piegato, ed è molto esteso. Distanza fra due AA= 3.5 Å. La stabilità è data da legami idrogeno tra catene polipeptidiche diverse. (Nell' α sono tra AA nella stessa catena). La seta è una proteina che consiste in gruppi di β sheet.



Struttura terziaria: forma 3D

- Dovuto a legami S-S, interazioni steriche, idrofobiche/idrofiliche e struttura primaria



Bond Types

Hydrophobic Interactions:

These amino acids orient themselves towards the center of the polypeptide to avoid the water

Disulphide Bridge: The amino acid cysteine forms a bond with another cysteine through its R group

Hydrogen Bonds: Polar "R" groups on the amino acids form bonds with other Polar R groups

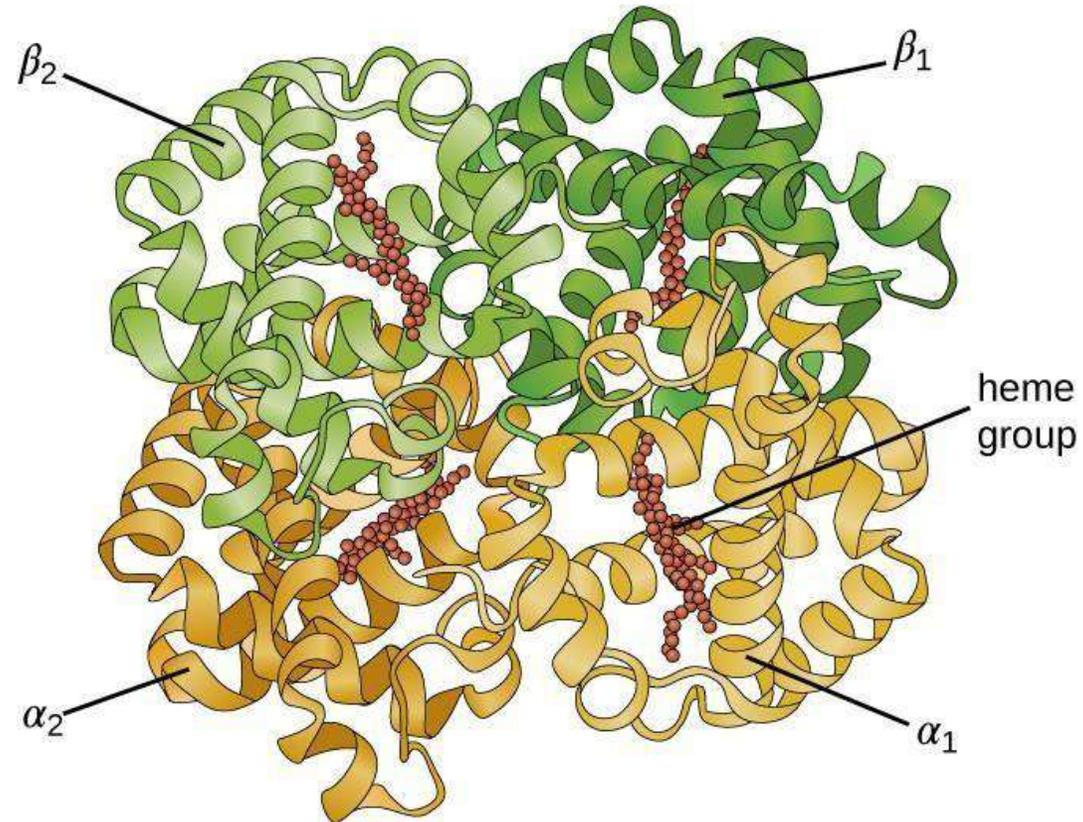
Hydrophilic Interactions:

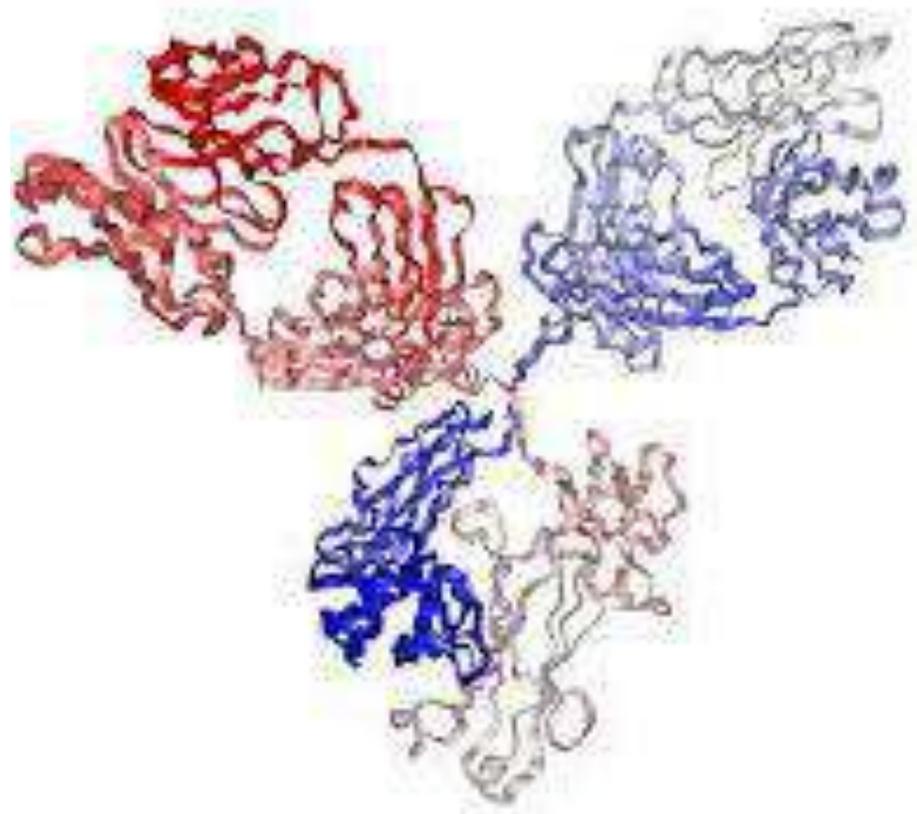
These amino acids orient themselves outward to be close to the water

Ionic Bonds: Positively charged R groups bond together

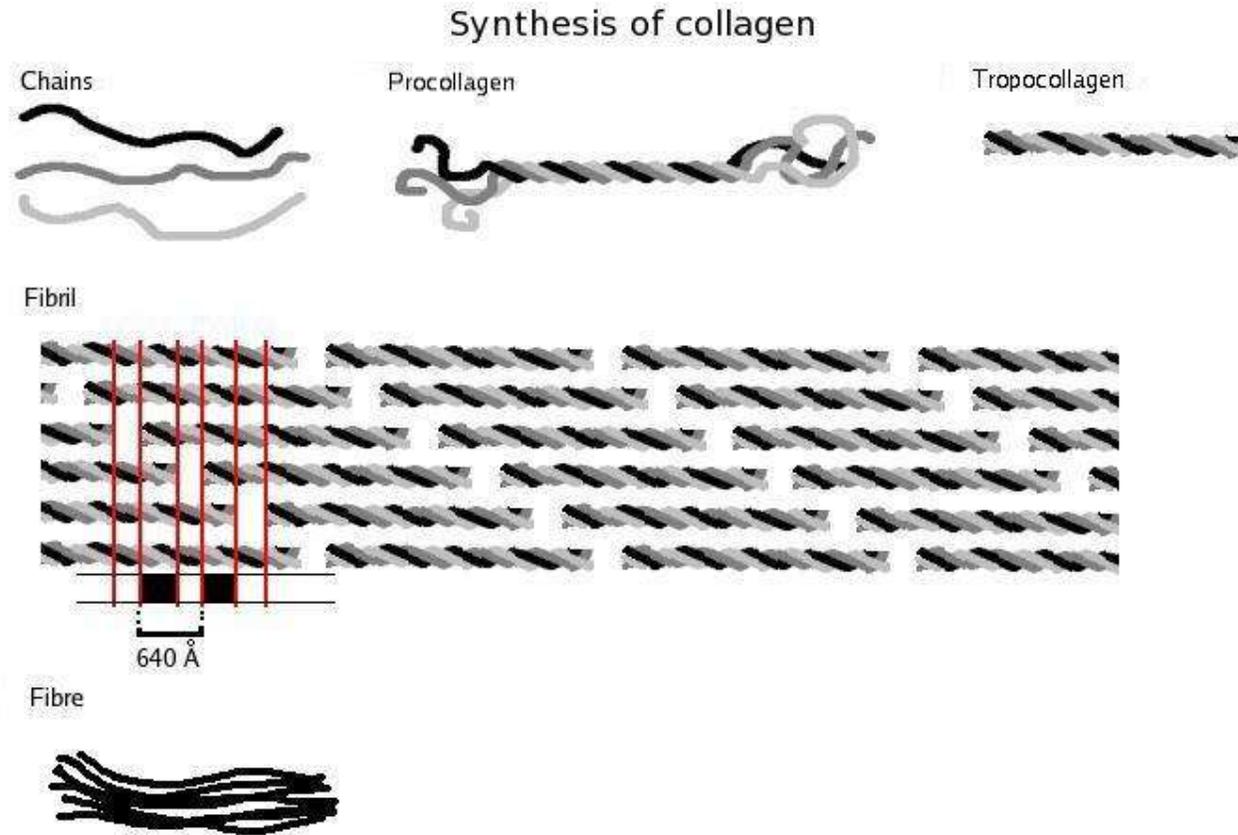
Struttura quaternaria

(proteine che hanno più catene AA, o più domini)



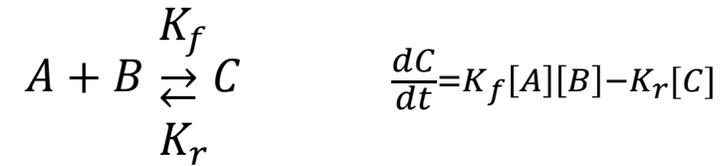
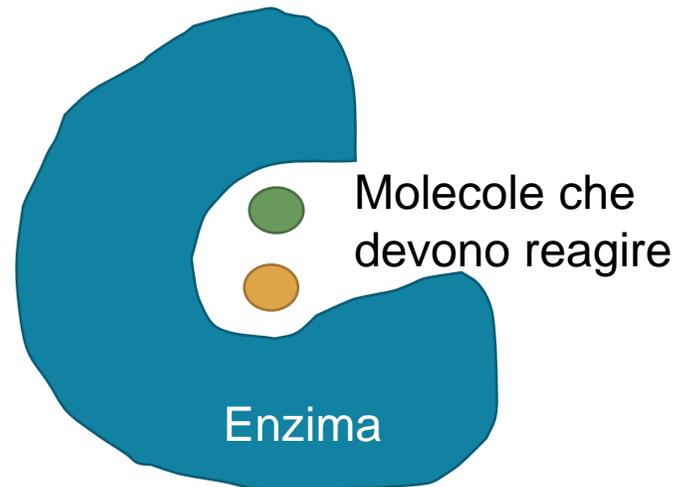


Collagene

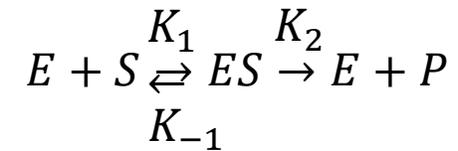


Enzimi

- Ossiriduttasi
- Ligasi
- Idrolasi

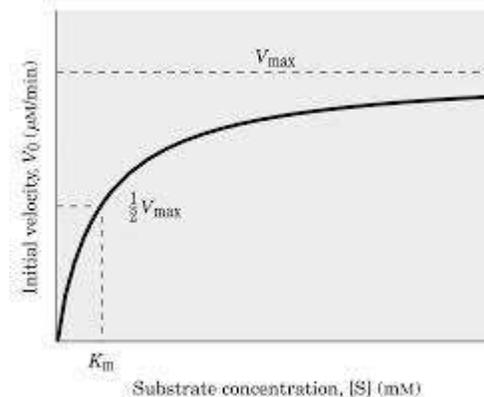


Equazione di Michaelis-Menten

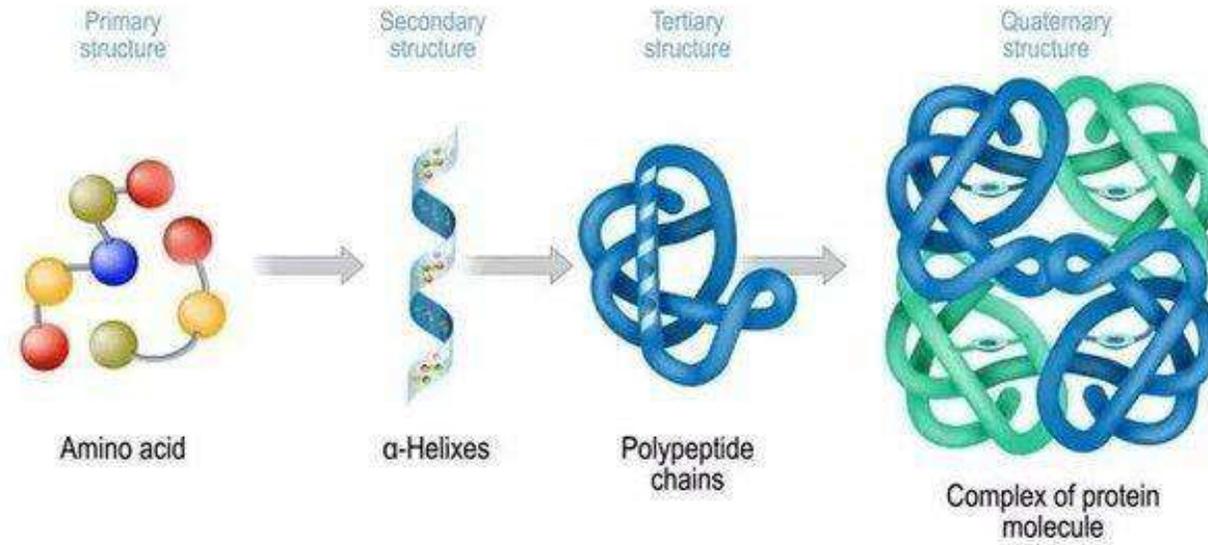


$$\frac{dP}{dt} = \frac{K_2[E][S]}{[S] + K_m} = \frac{V_{max}[S]}{[S] + K_m}$$

$$K_m = \frac{K_{-1} + K_2}{K_1}$$



Protein structure





Denaturazione: tutto cioe che rompe la struttura 2°, 3° o 4° attraverso rottura di legami deboli: la struttura proteica è dovuta a un equilibrio delicato di tutte le forze deboli. E' facile denaturare una proteina.

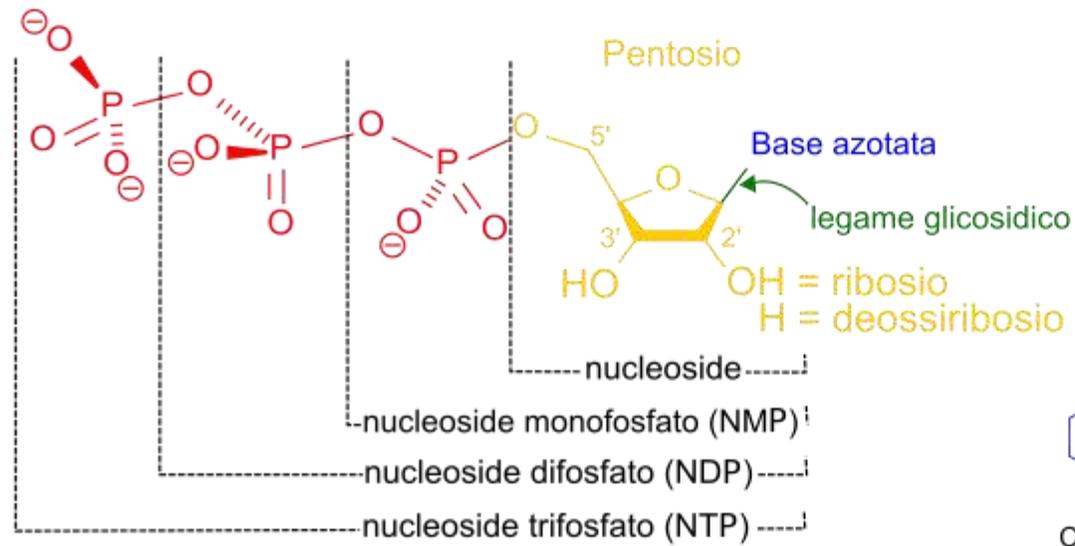
- Calore
- Solventi
- pH
- Detergenti
- Urea

La denaturazione può essere reversibile.



Acidi Nucleici: DNA, RNA, ADP, ATP

Nucleotidi= acido+zucchero+base



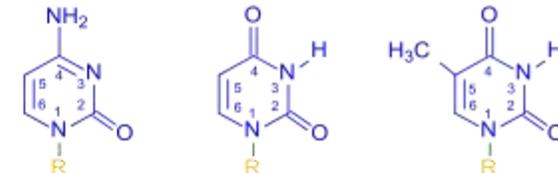
Basi puriniche



Adenina

Guanina

Basi pirimidiniche



Citosina

Uracile

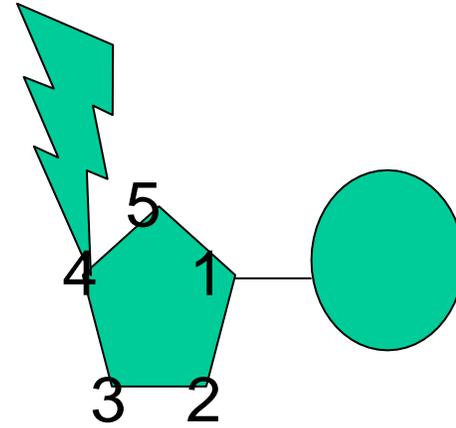
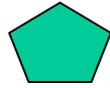
Timina

DNA (molecola negativa)

acido fosforico



Zucchero pentosio:
2 diossi D ribosio



Basi amminiche
aromatiche

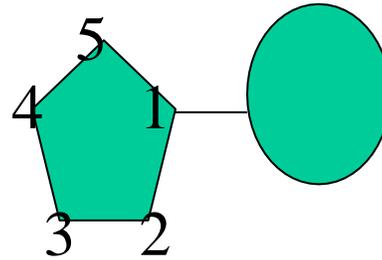


Ci sono 4 basi, 2 che hanno un anello (si chiamano basi pirimidiniche), e 2 con due anelli (basi puriniche).

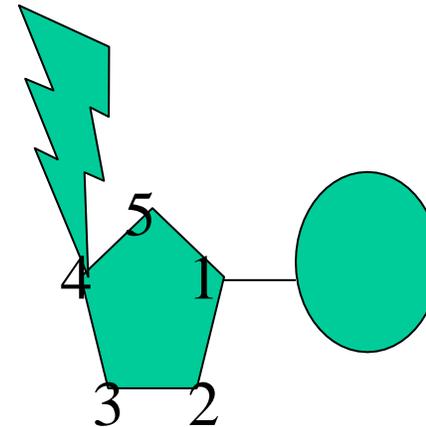
1 anello = citosina (uracile nel RNA) / timina

2 anelli = adenina / guanina

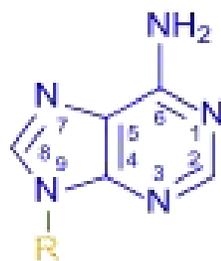
Nucleoside= base + zucchero



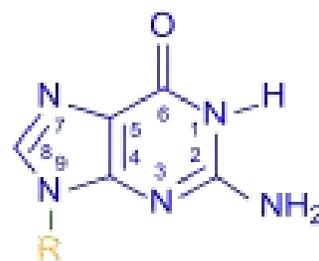
Nucleotide= nucleoside + acido fosforico
(dAMP; dCMP, dGMP, dTMP)
diossaladenosina monofosfato



Basi puriniche

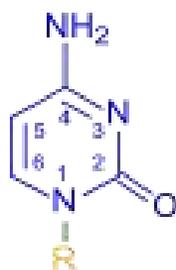


Adenina

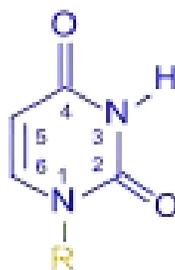


Guanina

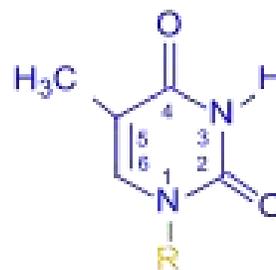
Basi pirimidiniche



Citosina



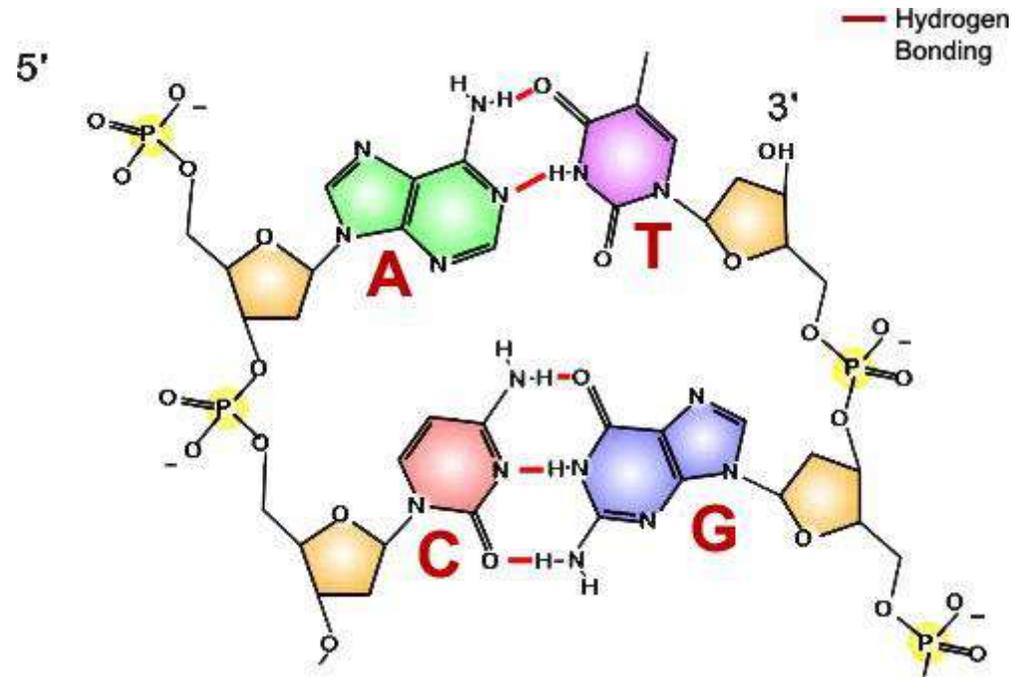
Uracile



Timina

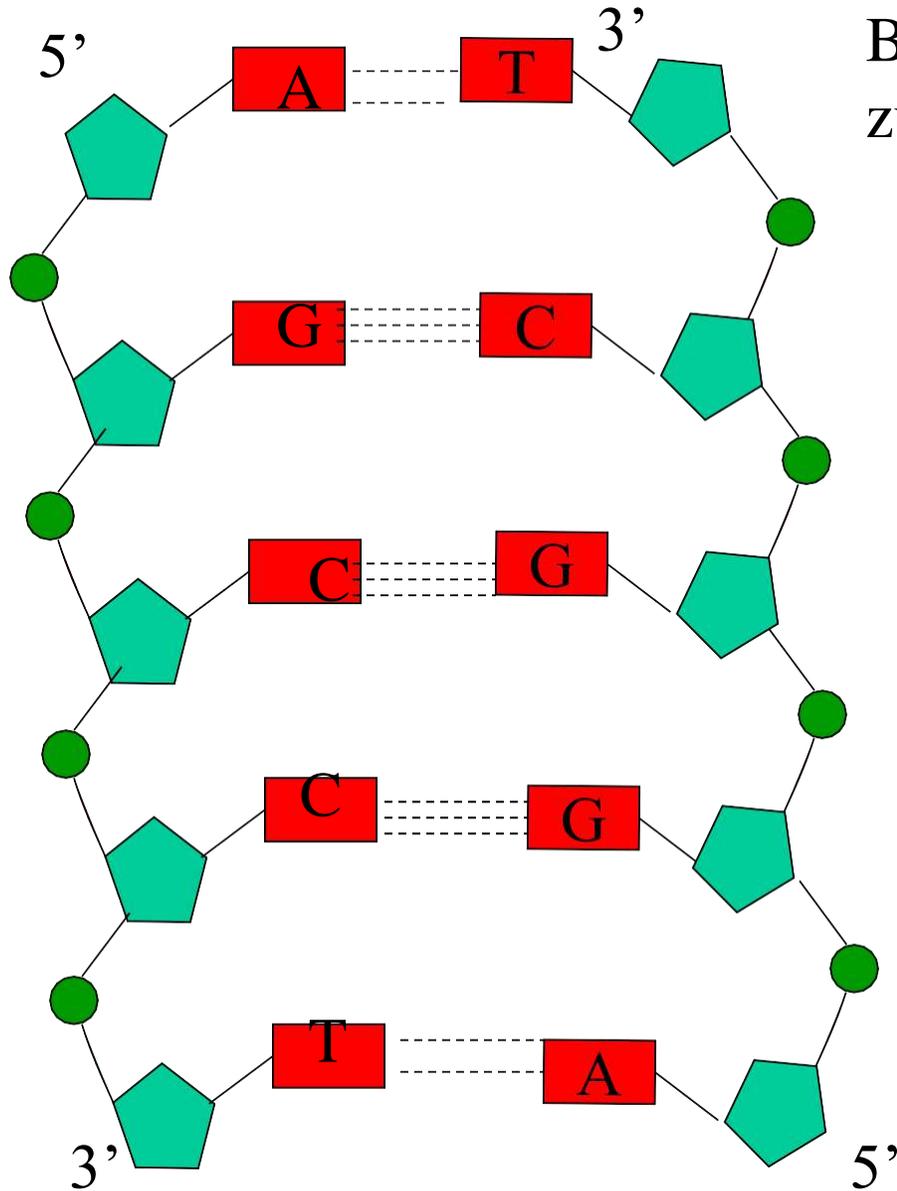
Le basi

DNA: deoxyribonucleic acid



Legami H tra i basi. Legame CG è più stabile del TA

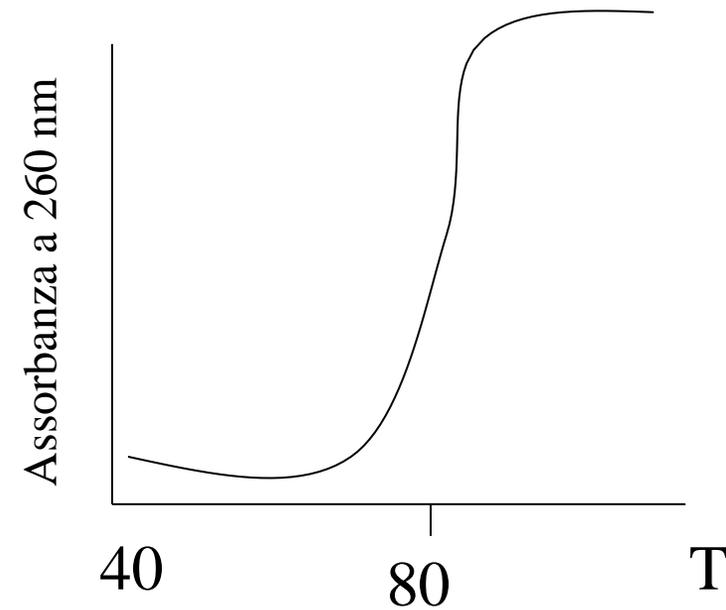
Coppie di Basi (base pairing) e complementarietà

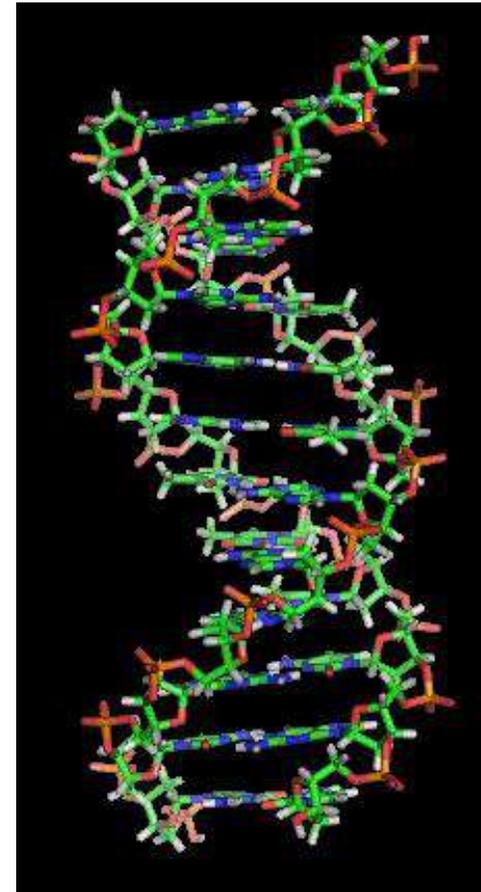
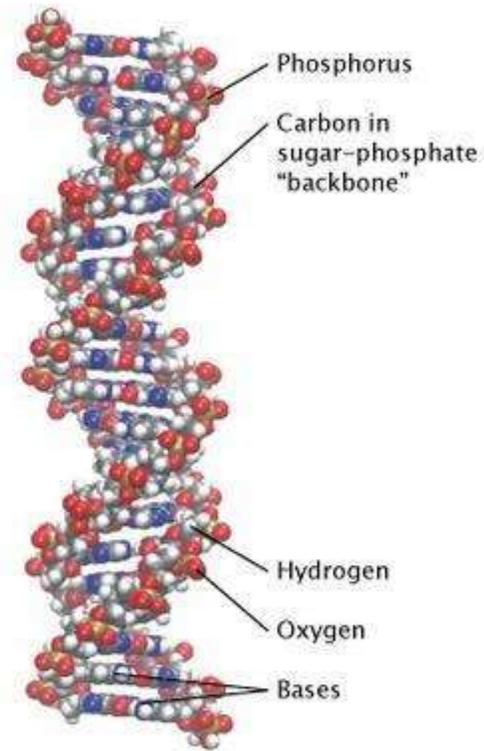
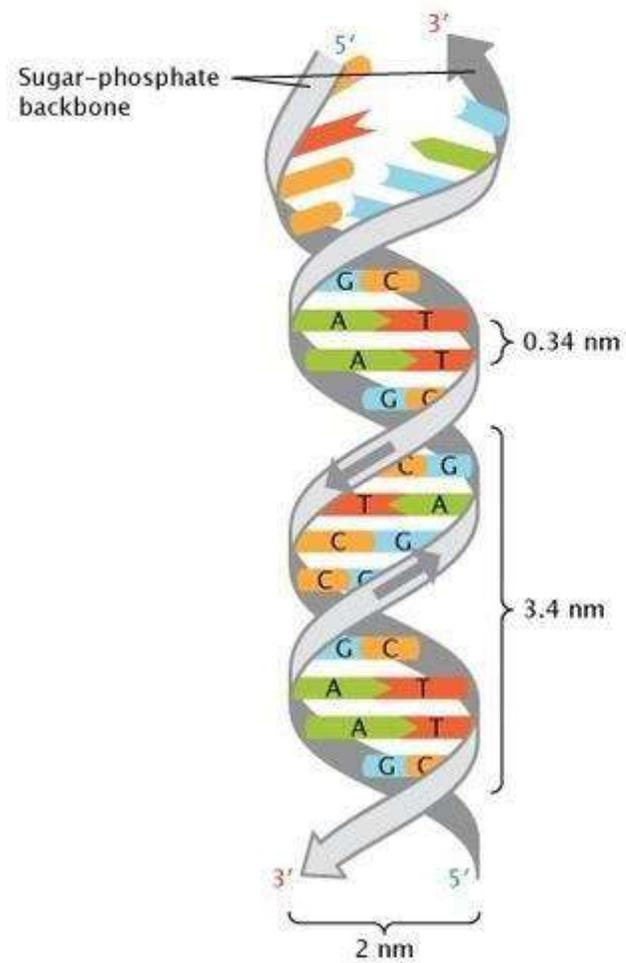


Backbone di
zuccheri

5'AGCCT3'
3'TCGGA5'

La denaturazione è reversibile
ma dipende dalla lunghezza





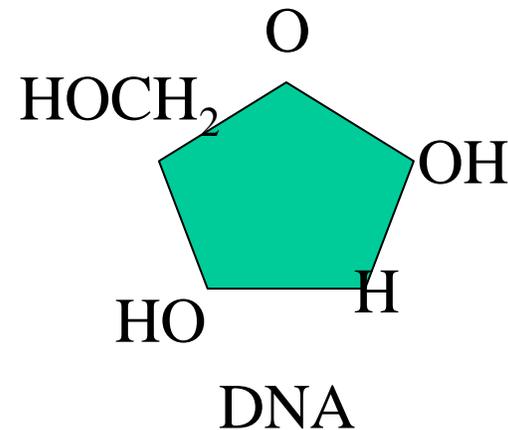
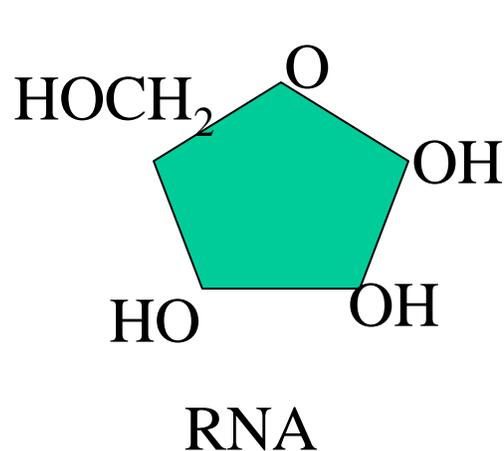
La doppia elica: struttura scoperta nel 1953. 10 basi per giro



RNA-ribonucleic acid

RNA: simile a DNA ma

- lo zucchero pentosio è D-ribosio (anziché 2 diossidri D ribosio)
- le basi pirimidiniche sono uracile (non timina) e citosina
- RNA è una catena singola.
- RNA si trova anche nel citoplasma
- Non si assembla o ibridizza spontaneamente



100 anni fa si pensava che info. genetica era contenuta nelle proteine. Solo negli anni 50, con la scoperta della doppia elica e il fatto che A/T e C/G =costante per una specie è stato confermato che l'informazione viene conservata nel DNA.

%adenina=%timina, %citosina=%guanina

%basi purine= %basi pirimidine

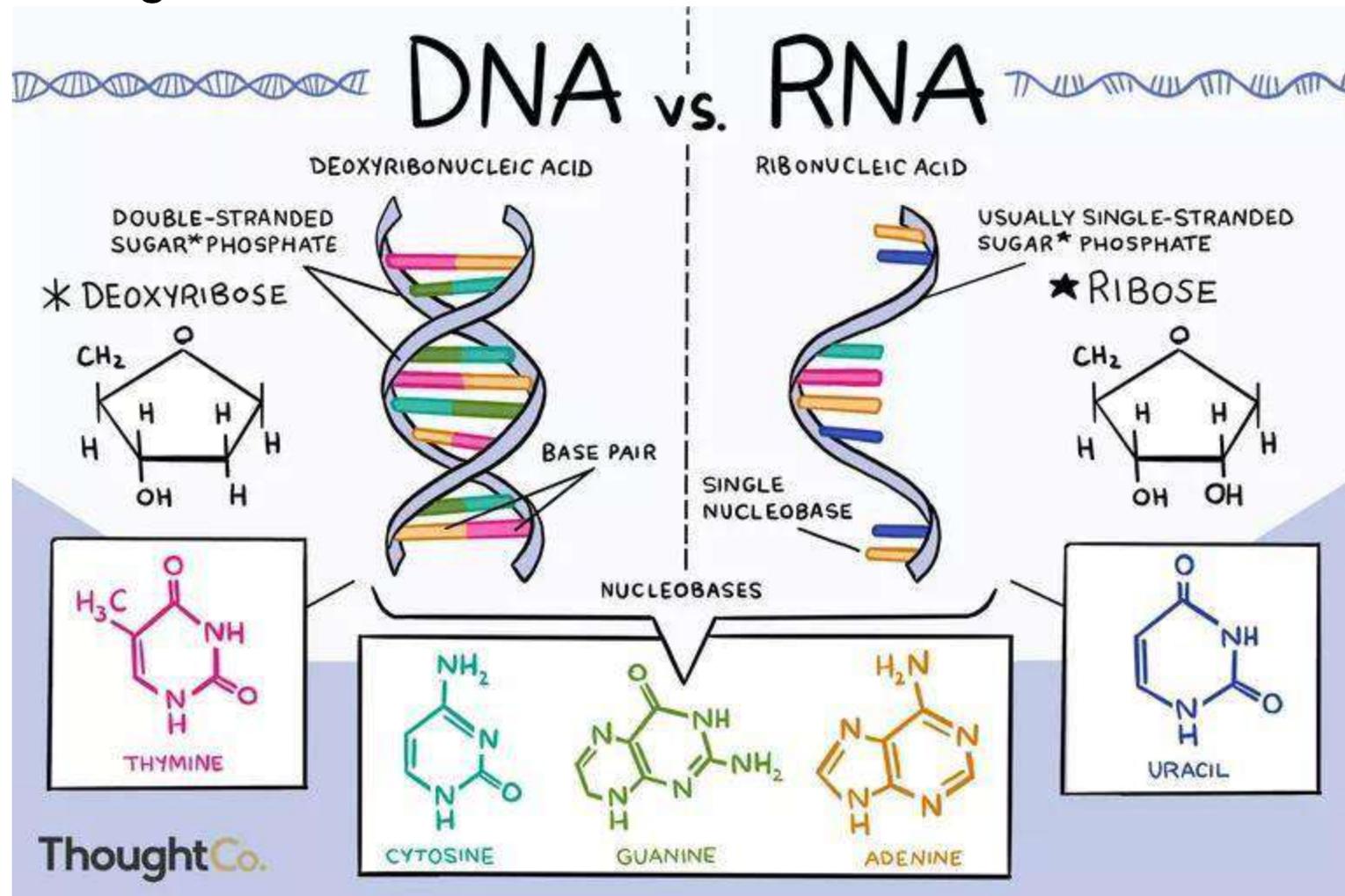
per tutte le cellule di una specie

Perche info nel DNA? DNA è molto stabile grazie alla struttura a doppia elica. Catene singole di DNA sono instabili e insolubili in acqua.

NB: il DNA o RNA e' molto piu grande dell'amino acido per cui codifica!

Immagazzina informazione

trasla informazione



DNA: stabile, auto replicante,



PCR: polymerase chain reaction

amplificazione di DNA: serve primer, nucleotide e DNA Polimerase

1) denaturazione

2) aggiungere i primer al termine 3' di ogni catena

3) Nella soluzione viene aggiunta Taq polimerase + dA, dT, dC, dG e ATP.

4) Raffreddamento

5) Riparto da 1)

Ogni ciclo dura circa 4 -10 minuti.

Applicazioni: studi forensici, Ingegneria proteica, paleontologia, sequenziamento DNA



Carboidrati: una classe di molecole e macromolecole che è il più abbondante in natura. Sono dolci=zuccheri

Funzioni:

immagazzinamento di energia in animali (glucosio)

supporto (cellulosa nelle piante, mucopolisaccaridi)

componente di acidi nucleici

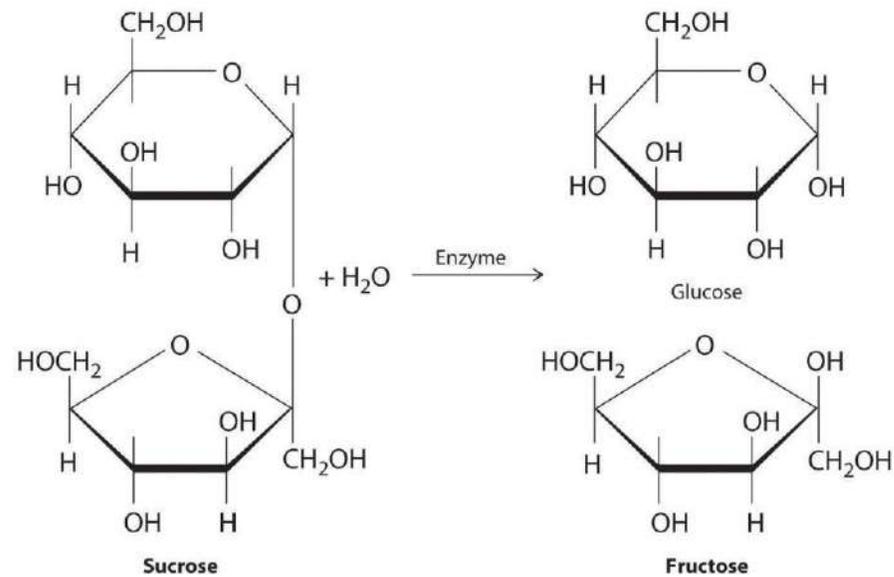
Tutte le membrane e tantissime proteine hanno dei carboidrati legati

Formula generale= $C_N(H_2O)_M$ (però alcuni hanno anche gruppi amminici)

Carboidrati: monosaccaridi, disaccaridi, polisaccaridi

- Glucosio, galattosio, fruttosio - monosaccaridi
- Saccarosio, lattosio -disaccaride
- Cellulosa, amido, glicogeno (polisaccaridi)

- Gli zuccheri complessi si idrolizzano per formare zuccheri semplici.



Il processo in figura è catalizzato dall'enzima sucrasi

Esercizio Matlab

- Scrivere una funzione che prenda in ingresso numero min (2000) e max (3000) kcal/giorno e numero di soggetti (10)
- Calcolare grammi glucosio/giorno necessari
- $C_6H_{12}O_6$, PM=180.
- 55% energia giornaliera da carboidrati
- Reazione glucosio ossidasi 3000 kJ/mol
- Colazione 30%, pranzo 50%, cena 20%

