

ŞL. Dr. Diana Bontë bonte.diana@umft.ro

Toate întrebările vor fi adresate cadrului de predare la adresa de email furnizată.

Proprietăţile proteinelor (I)

■ *Masa moleculară*

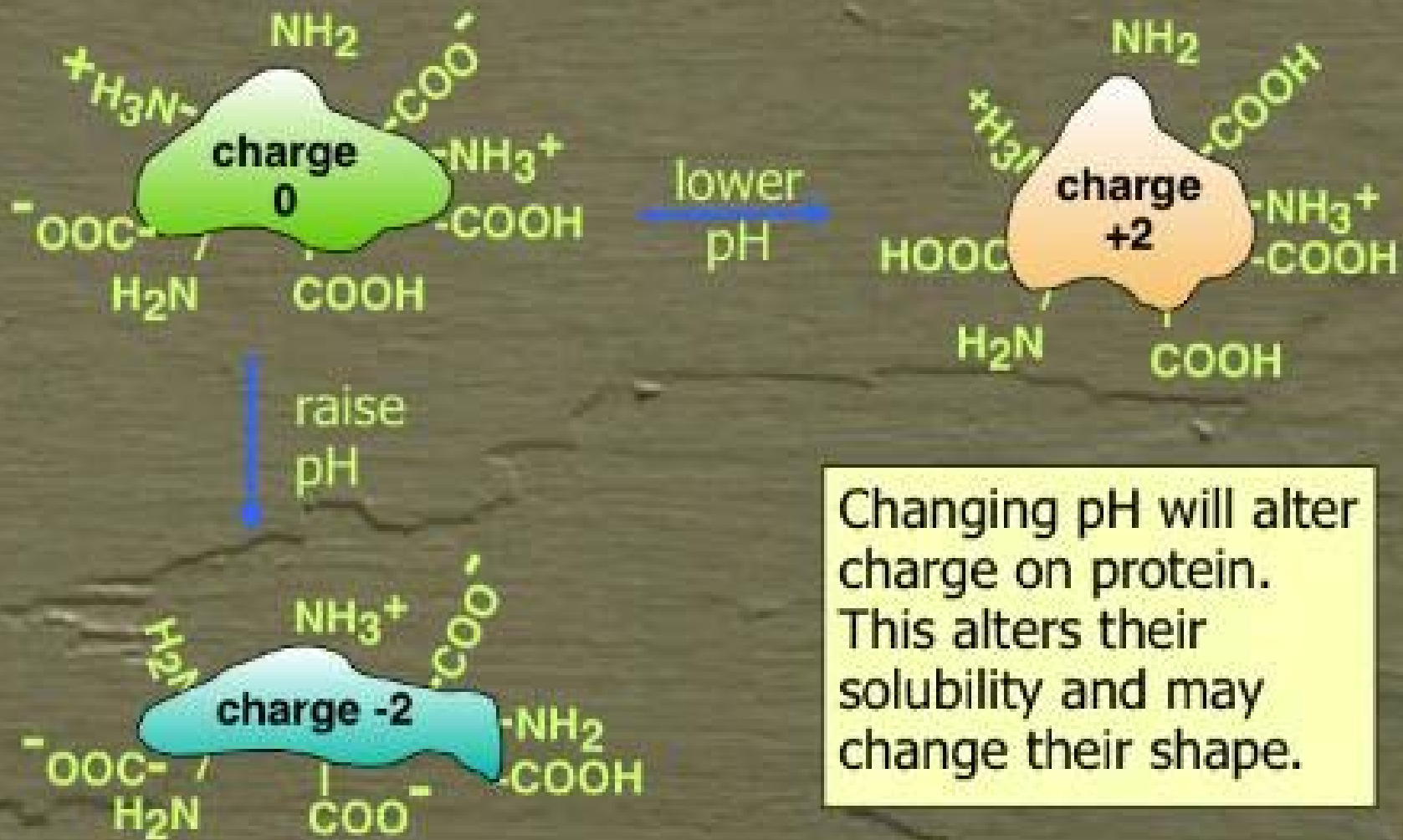
- este un parametru caracteristic al macromoleculelor biologice.
- pentru proteinele constituite dintr-un singur lanţ, precum şi pentru protomerii oligomerelor, aceasta variază între 5000 si 4,2 mil Da
- la oligomere şi la nucleoproteine, masa moleculară este mult mai mare, ajungând şi la valori de 10^9 .
- metodele de determinare a masei moleculare a proteinelor sunt ELFO în gel de poliacrilaamidă, cromatografia de gel-filtrare, ultra centrifugare, det. presiunii osmotice

Proprietățile proteinelor (II)

■ *Proprietățile electrolitice*

- proteinele sunt **polielectroliti**, având caracter amfiionic sau amfoter.
- caracterul acesta este conferit de **prezența în moleculă a unor grupări polare disociabile acide, bazice, fenolice, tiolice și imidazolice.**
- la un pH izoelectric, proteina apare electric nulă.
- la valori mai mici decât pH-ul izoelectric, proteinele se comportă ca și cationi, iar la valori mai mari ca și anioni.

Effect of pH on proteins



Proprietățile proteinelor (III)

■ *Solubilitatea*

- este influențată de forma moleculei, mărimea ei, dar mai ales de existența grupărilor polare hidrofile localizate la suprafața moleculei care se pot solvata, fixând moleculele de apă prin punți de hidrogen.
- în soluție apoasă, solubilitatea este influențată de pH-ul mediului.
- în soluții diluate, proteinele manifestă caracteristicile unor coloizi hidrofilii.
- în soluții concentrate, particulele coloidale de proteine se asociază formând agregate macromoleculare denumite micelii.
- proteinele determină manifestarea unei presiuni osmotice speciale – presiunea coloid-osmotică.

Proprietățile proteinelor (IV)

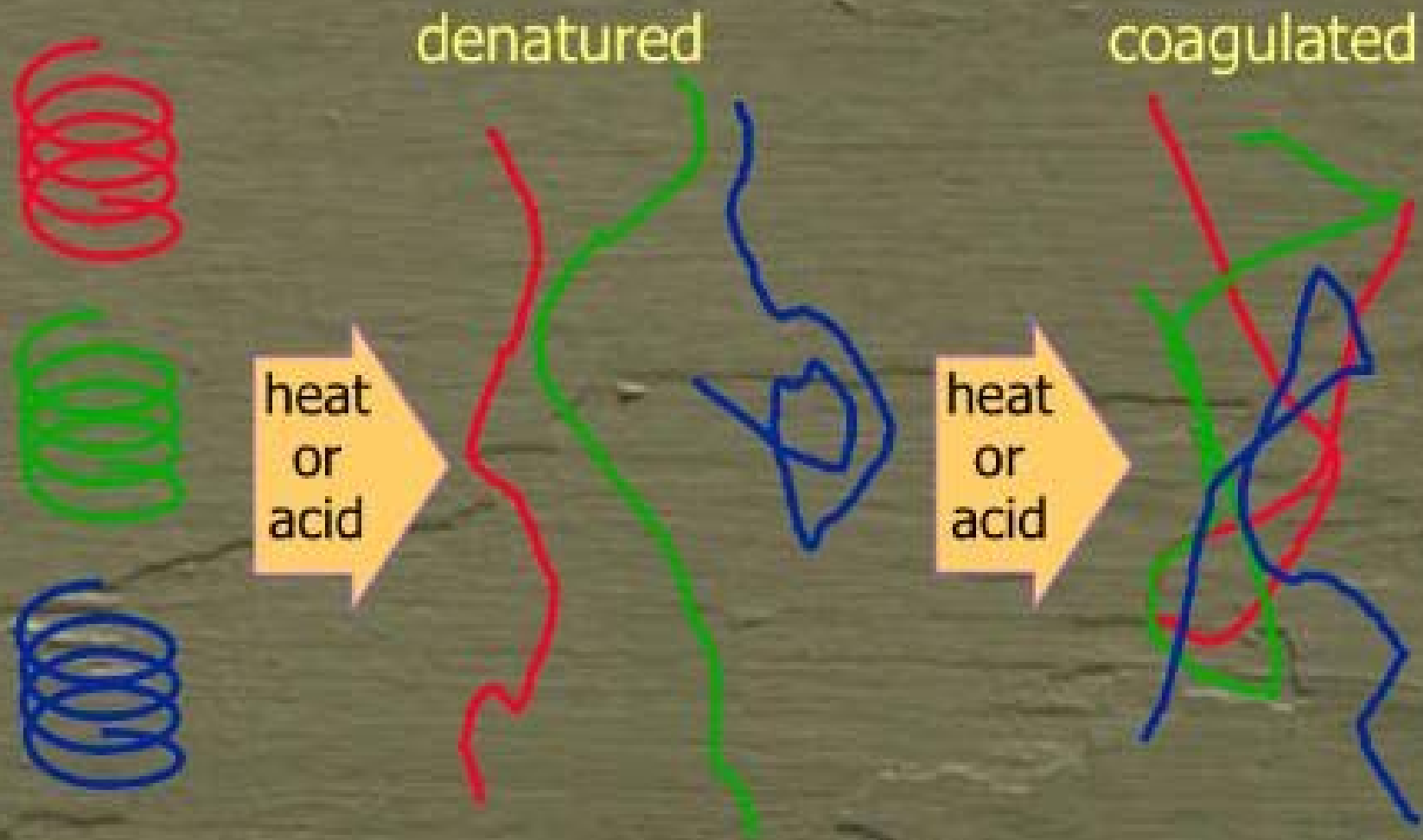
- *Hidroliza proteinelor* – sub acțiunea acizilor sau bazelor (în laborator) sau a enzimelor proteolitice (în organism), proteinele sunt scindate până la stadiul de aminoacizi
- *Absorbția radiației UV – în lumina vizibilă, soluțiile de proteine sunt incolore, excepție-cromoproteine-*
Ele absorb însă radiațiile UV, cu 2 maxime: la 190 nm (data de leg. peptidică) și la 280 nm (data de radicalii aromatici ai resturilor de Trp, Phe, Tyr și specifică pt. Prot)
- *Determinarea cantitativă a proteinelor* – prin utilizarea reacțiilor de culoare (reacția biuretului, metoda Lowry, metoda Coomassie Brilliant Blue G 250)

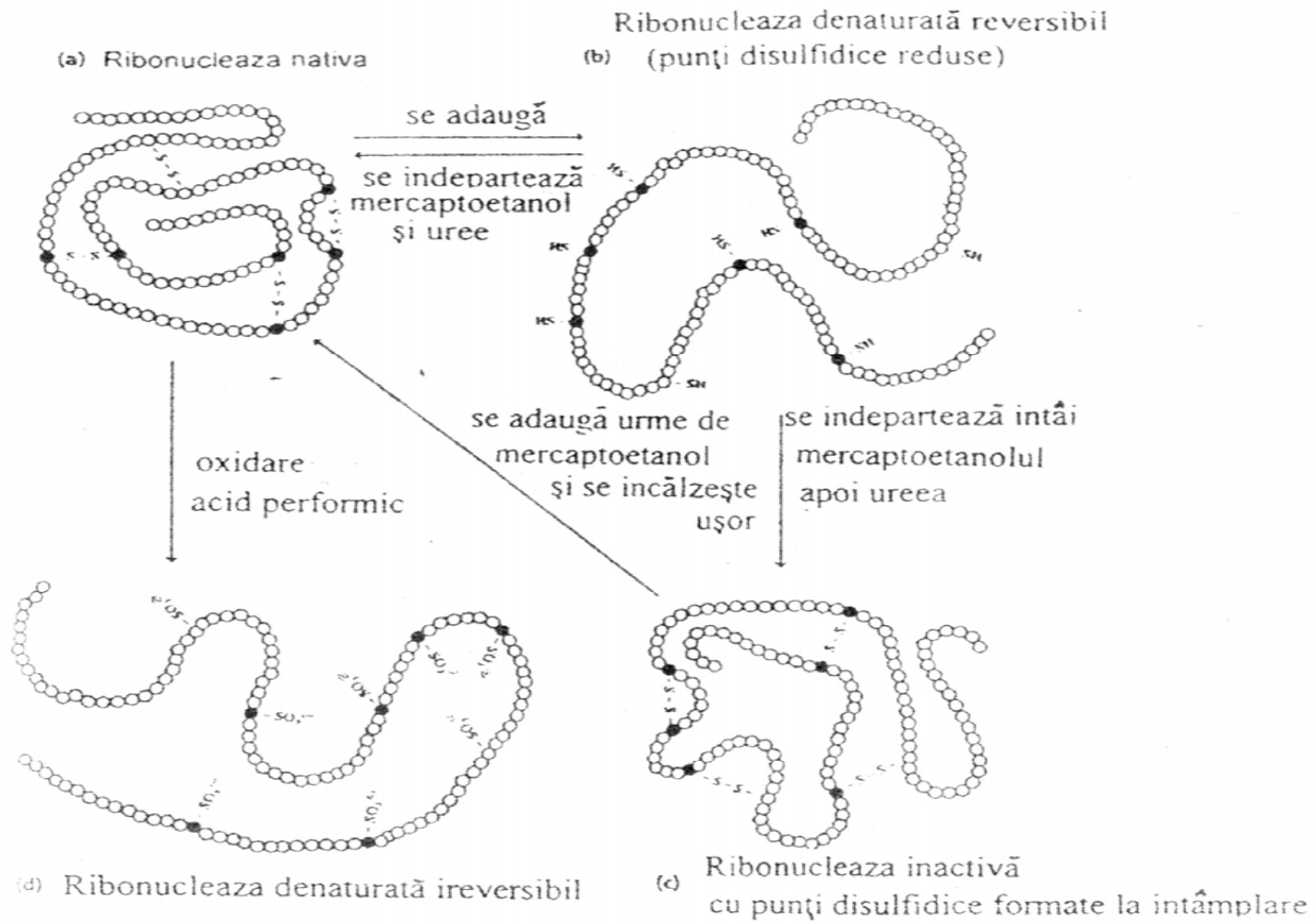
Proprietățile proteinelor (V)

■ *Denaturarea proteinelor*

- este un proces prin care structura spațială a proteinelor suferă o dezorganizare, fără alterarea structurii primare.
- ca agenți denaturanți amintim: căldura, agitarea, raze X, razele UV (de natură fizică), acizi și baze concentrate, detergenți, ureea (de natură chimică).
- consecințele denaturării se manifestă prin pierderea activității biologice, diminuarea solubilității, pierderea capacității de a interacționa cu apa, modificarea vâscozității și a presiunii osmotice, creșterea valorii pI, creșterea activității optice, intensificarea reacțiilor de culoare.
- în unele cazuri, în condițiile suspendării agenților denaturanți, se poate reconstitui structura spațială a proteinei (ex: ribonucleaza).

Denaturing of a protein





Denaturarea și renaturarea ribonucleazei

■ *Separarea proteinelor* – se poate realiza pe diverse căi:

- *Separare bazată pe mărimea moleculelor*: ultrafiltrare sub presiune pozitivă sau negativă; ultracentrifugare (analitică sau preparativă) – bazată pe diferența de greutate; tehnica cromatografică de gel-filtrare
- *Separare bazată pe diferența de solubilitate* – din această categorie fac parte metodele de fracționare a soluțiilor proteice bazate pe modificarea forței ionice, a constantei dielectrice, a pH-ului, a temperaturii: fracționarea cu ajutorul sărurilor, fracționarea cu ajutorul acetonei sau a etanolului, precipitarea fracționată la pH izoelectric, termoprecipitarea proteinelor
- *Separare bazată pe sarcina electrică a proteinelor*: ELFO (metoda de separare a componentelor unui amestec în câmp electric), cromatografia cu schimbători de ioni
- *Separare bazată pe caracteristici biologice* – cromatografia de afinitate

Clasificarea proteinelor

■ După forma lor:

- *Globulare*, cu formă sferică sau elipsoidală
- *Fibrilare*, cu molecule mult alungite

■ După compoziția chimică:

- *Proteine simple (holoproteine)* – conduc prin hidroliză doar la aminocizi
- *Proteine conjugate (heteroproteine)* – conduc prin hidroliză la aminoacizi și la substanțe de altă natură, substanțe numite „grup prostetic”
 - Metaloproteine
 - Fosfoproteine
 - Glicoproteine
 - Lipoproteine
 - Cromoproteine
 - Nucleoproteine

Holoproteine de importanță pentru biochimia omului

■ *Holoproteinele vegetale* de interes sunt:

- **prolaminele** (sărace în lizină și triptofan și au valoare alimentară incompletă);
- **glutelinele** (au caracter acid, iar împreună cu gliadina formează glutenul; au valoare alimentară mai mare decât a prolaminelor);
- **albuminele și globulinele** (se remarcă prin compoziția bogată în acid glutamic și asparagină)

■ ***Holoproteinele animale*** se împart în două categorii: **proteine solubile (globulare)** și **proteine insolubile (fibrilare)** – scleroproteinele.

■ ***Proteinele globulare*** au ca reprezentanți:

- **Protaminele** – solubile în apă, reprezintă componenta proteică a unor nucleoproteine
- **Histonele** – rol biologic mult investigat
- **Albuminele** – sunt solubile în apă; cea mai importantă este **serumalbumina** (55-60% din totalul proteinelor serice)
- **Globulinele** – de mare importanță sunt globulinele serice (1,5-3,5 g / 100 ml ser); pot fi separate prin ELFO; ex: α_1 , α_2 , β , γ , Ig A, Ig M, Ig G, Ig D.

- *Proteinele fibrilare* – scleroproteinele - exercită în organismul animal un rol de susținere, de protecție și de rezistență mecanică și intră în constituția țesuturilor conjunctive de susținere și epiteliale. Reprezentanți:
 - *Colagenele* – intră în structura țesuturilor conjunctive, a tendoanelor, ligamentelor, oaselor, cartilagiilor, pielii, fiind deosebit de rezistente
 - *Elastinele* – participă la structura fibrelor elastice din artere și tendoane, manifestând proprietăți elastice și termoelastice.
 - *Keratinele* – conținute în epidermă, păr, unghii.

Heteroproteine de importanță pentru biochimia omului

- *Metaloproteine* – sunt proteine conjugate, având grupul prostetic alcătuit dintr-un atom (sau mai mulți) de metal; fier, cupru, zinc: transferina, feritina. Ionul de metal este legat complex, coordinativ(chelat) de catenele laterale ale unor AA ca His. EX. Majoritatea enzimelor – Ascorbat oxidaza, MAO = $2+$ Cu $^{2+}$, enzime, Anhidraza carbonica, FAL = Zn $^{2+}$ enzime
- *Fosfoproteine* – au drept componentă prostetică acidul fosforic. Ca reprezentanți: caseina – principalul component proteic al laptelui; vitelina – apare în gălbenușul de ou. Au caracter acid, formează saruri. Există și mai numesc prot care pot regla activitatea biologică prin fosforilare-defosforilare-ex enzime
- *Glicoproteinele* – proteine care prezintă lanțuri oligozaharidice atașate covalent de lanțul proteic. Proteoglicanii-conținut mai mare de glucide-peste 90%, conțin MPZ, se află în matricea extracelulară, rol în semnalizare și adeziune celulară

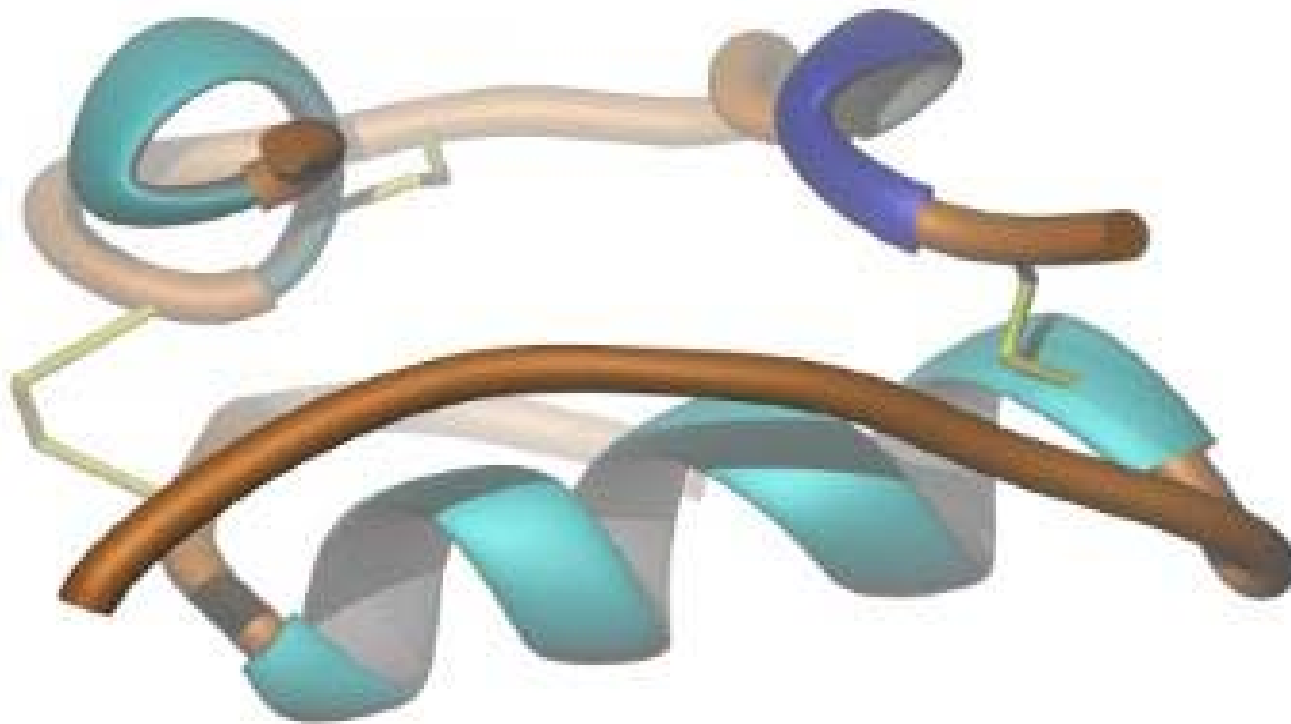
Heteroproteine de importanță pentru biochimia omului

- *Lipoproteinele* – au componenta prostetică de natură lipidică: FL, triacilglicerol, colesterol liber sau esterificat. Se găsesc în mitocondrii, membranele celulare(rol de permeabilitate izolare), plasmă(transporta lipide, hormoni hidrofobi,vit,medicamente. După densitate sint:chilomicroni, VLDL,IDL,LDL,HDL.
- *Cromoproteinele* – sunt constituite dintr-o grupare prostetică colorată și o componentă proteică. După natura chimică a grupului prostetic deosebim cromoproteineporfirinice(Hb,Mb,cit,enz.porf.-catalaza,peroxidaza) și neporfirinice(carotenoizi=pign. Viz.,flavoprot=cofactori enz ca FMN,FAD.)
- *Hemoproteinele* – grupul prostetic se numește **hem** (derivat tetrapirolic ciclic particular protoporfirinic tip III asociat cu

Size of some important proteins

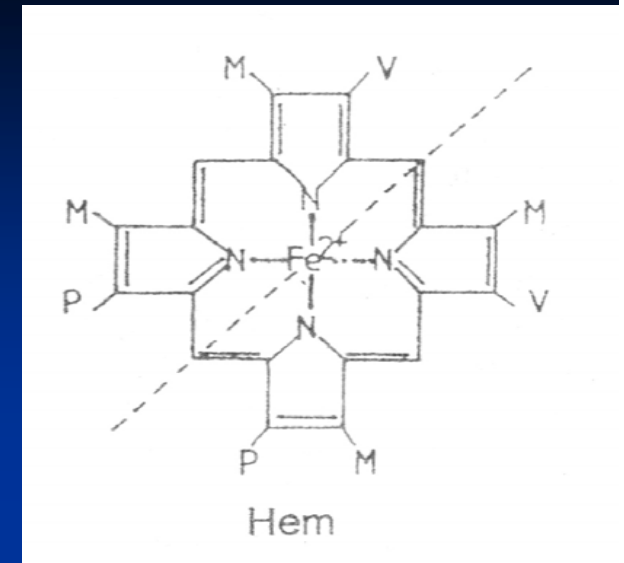
Protein	Formula mass	Amino acid residues
Insulin	6000	51
Cytochrome C	16000	104
Hemoglobin	65000	574
Gamma globulin	176000	1320
Myosin	800000	6100

Human Insulin. 51 residues, 3 S-S crosslinks.



Hemoglobina (I)

- Are o structură **cuaternară caracteristică**: este constituită din patru subunități, două câte două identice ($\alpha 1$ și 2; $\beta 1$ și 2) fiecare subunitate fiind constituită din câte o componentă proteică numită **globină** și câte un grup prostetic **hem**.



- Subunitatea are greutatea moleculară de cca 17000, iar Hb tetrameră de cca 68000, în care Fe^{2+} reprezintă 0,338%.
- Structura descrisă este caracteristică **HbA** majoritare a adultului normal (97-98% din totalul Hb).
- La făt, în mod fiziologic există **HbF**, cu structură polipeptidică diferită, Mai este cunoscută **HbA2**, precum și așa-numitele Hb patologice – **HbS**.

Hemoglobin

2 α chains

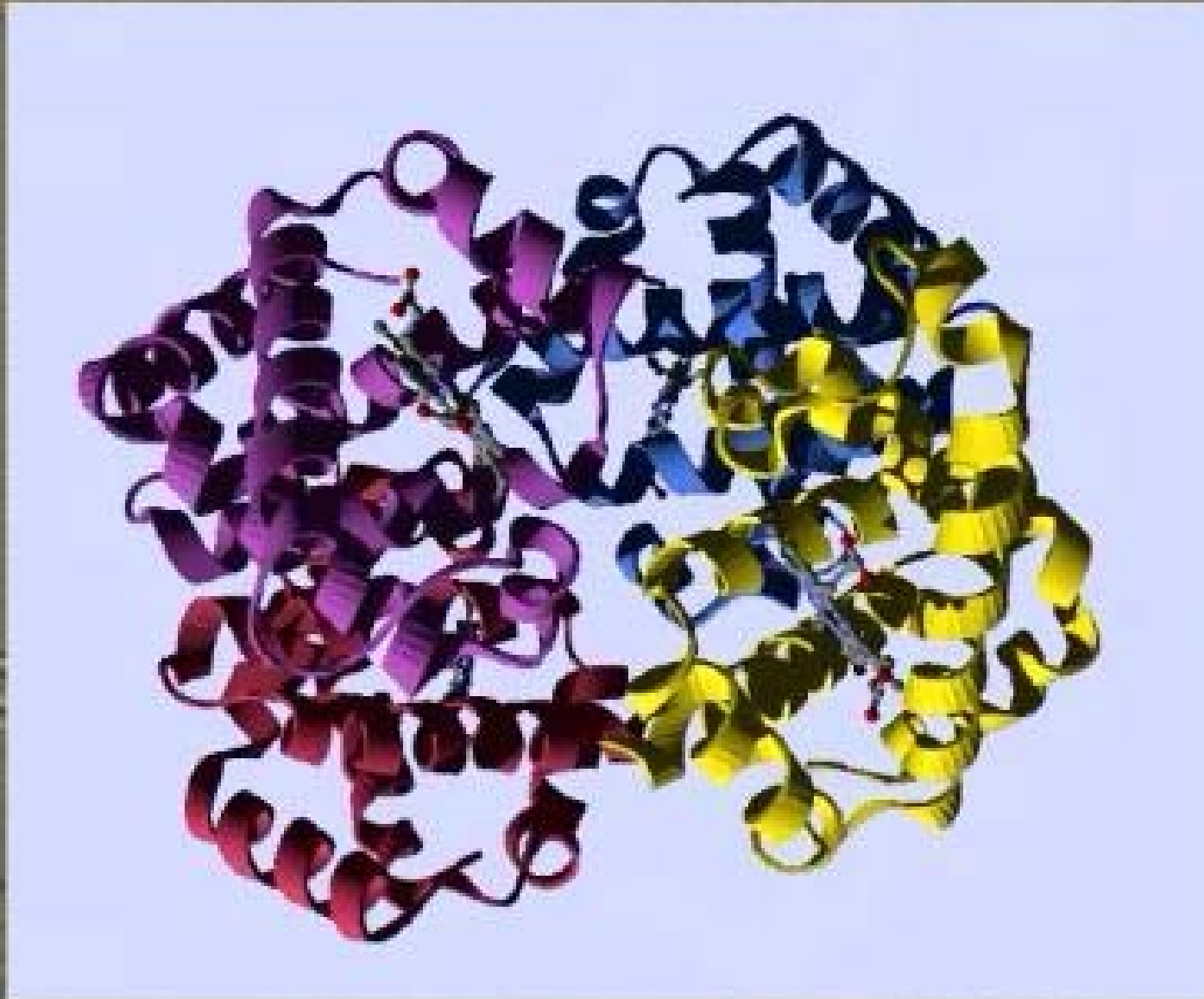


4 heme

2 β chains



Hemoglobin



Hemoglobina (I)

■ Proprietățile funcționale ale hemoglobinei:

- **Transportor al oxigenului**, prin transformarea **Hb**, la o presiune parțială a oxigenului de 100 mmHg (din alveolele pulmonare) în **oxihemoglobină** în care oxigenul este legat de fier pe baza unei interacțiuni slabe și în mod reversibil.
- Legarea slabă și reversibilă a oxigenului, cu păstrarea fierului în starea de oxidare 2, se datorează în primul rând faptului că în Hb, hemul nu este liber, ci legat de globină, structura realizată având, de asemenea, un rol decisiv.
- **Formarea de carboxihemoglobină** – afinitatea marcat crescută a a CO față de Hb, departe de a fi o anomalie, este o necesitate de prim ordin fiziologic datorită faptului că, prin intermediul echilibrelor care se stabilesc, devine posibilă **eliminarea** CO₂ endogen rezultat din catabolismul tuturor hemoproteinelor.
- **Formarea de met-Hb**

Hemoglobin and oxygen transport

In the lungs, there is an abundance of O_2 so oxygen is picked up by the hemoglobin.



When blood reaches the cells, there is a lack of O_2 so oxygen is given up by the hemoglobin.



Baza structurală a funcțiilor proteinelor

- Funcțiile prot – determinate de struct. lor tridimensională, pot fi definite dpdv **BC**, **FIZ**, **CEL**, **GEN**
- **Ex-tubulina-BC**: este o enzimă ce hidrolizează **GTP** și o prot structurală ce produce prin polimerizare protofilamente și microtubuli; **CEL**: formează o rețea de transport intracelular; **GEN**: în diviziune formează axa de scindare a **cz**; **FIZ**: în celule mobile formează cili și flageli
- În genomica se det. **Funcția** prin analiză comparativă a secvențelor și prin recunoașterea motivelor functionale în struct. I și III

Prot .au 4 funcții principale:

1. interacțiuni cu diferite elem. functionale-enzimele leagă substratele și co-factorii
2. rol catalitic
3. rol comutator GTP-aze (se leagă de GTP în hidroliză, de molecule cu care interacționează, de unele molecule reglatoare)
4. elem. structurale

Situsuri de legare

- Macromoleculele pot fi recunoscute de catre proteine si se pot atasa de suprafata acestora, in situsuri de legare-in gen. buclele de legare proeminente si cavitatile mari (pt ADN si ARN), mai rar situsuri plane sau liniare
- Proteinele mai pot lega si molecule mici-liganzi: substraturi pt cataliza enzim., cofatori enzim., efectori alosterici ce modifica activitatea enzimei
- Daca prot. E formata din 2 sau n domenii, sau din 2 sau n unitati, situsul de legare va fi situat la interfata lor

Proprietati functionale ale proteinelor structurale

- Prot. structurale formeaza in general ansambluri care isi modifica forma sau conformatia prin modificari ale cel putin unui component,uzind de energia eliberata de un proces chimic;ex-hidroliza ATP, patrunderea virusurilor prin mbr celulei
- Ex 2:sarcomerul,cu filamente de actina si miozina II cu structura compacta , cu situs activ de cataliza a hidrolizei ATP, care va permite glisarea actinei(modificarea pozitiei capului miozinei) si scurtarea sarcomerului

Profile ale familiilor de proteine

- Sunt **seturi de caracteristici particulare** ale secventelor proteice, care cresc probabilitatea de recunoastere a *prot inrudite* sau a *functiilor inrudite*
- Portiunile de secventa cu *importanta functionala* si cele cu *importanta structurala* tind sa ramina mult timp nemodificate de-a lungul evolutiei
- Pornind de la familiile mai vechi de proteine apar astfel noi familii, formand o **superfamilie** a proteinelor
- Azi se cunoaste secventa completa a ADN genomic pt .100 specii bacterii, pt unii germ patogeni mai importanti, pt 3 drojdii, pt unele protozoare, pt genomul uman

Evolutie divergenta si convergenta

- **Evolutie divergenta**=2 proteine din organisme **diferite**, dar cu **identitate secventiala completa** care apar dintr-un stramos **comun**
- **Evolutie convergenta**=2 proteine la care resturile de la situsul activ sunt conservate, desi restul secventelor difera f. mult;ex-
serin-proteazele, amino-transferazele cu structura si infasurare diferite dar cu situsuri catalitice similare si cu aceeasi functie biochimica
- Proteine omoloage=au similaritate secventiala redusa dar cu structura globala si situsuri active f asemanatoare(glicozil-transferazele)

