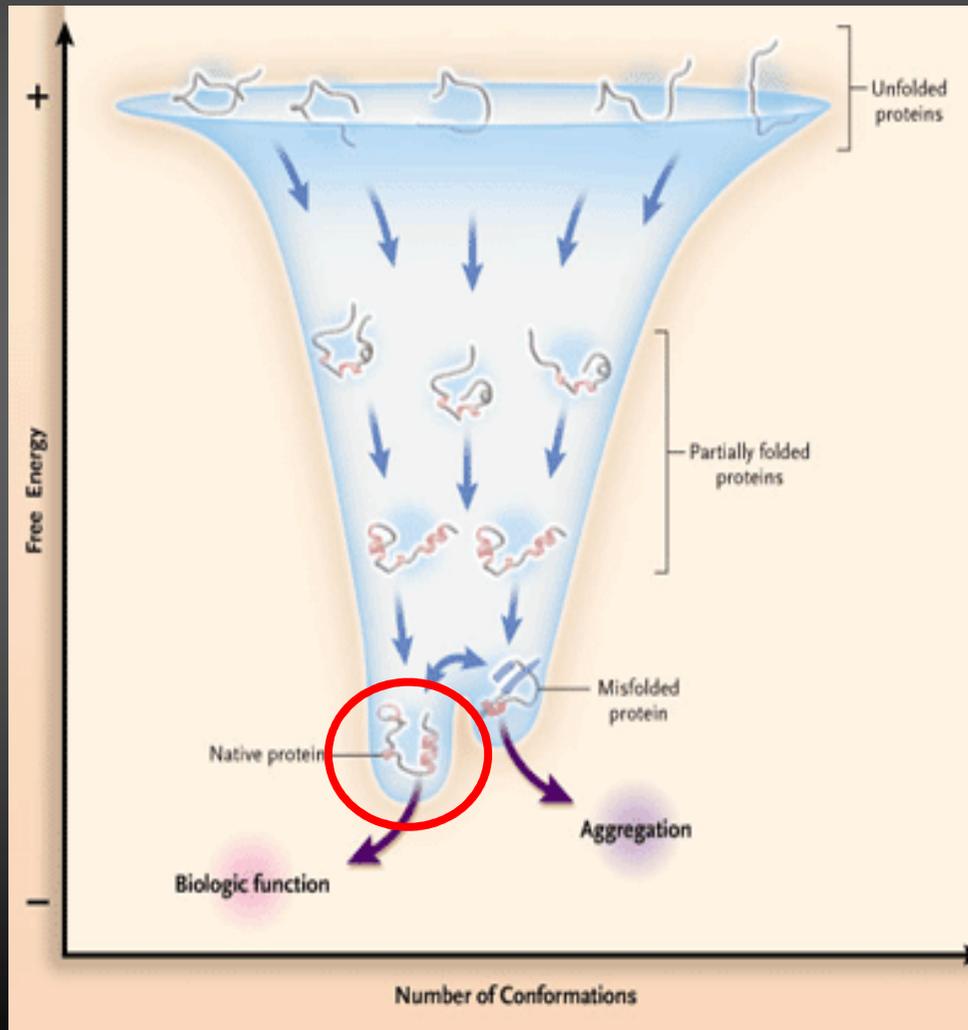


Il folding delle proteine:

Il processo di folding, cioè il raggiungimento da parte delle proteine dello stato nativo, segue una specie di imbuto di energia libera:



Base: stati non ripiegati, alto livello di energia libera, elevata entropia conformazionale

Restringimento: diminuzione del numero di specie conformazionali

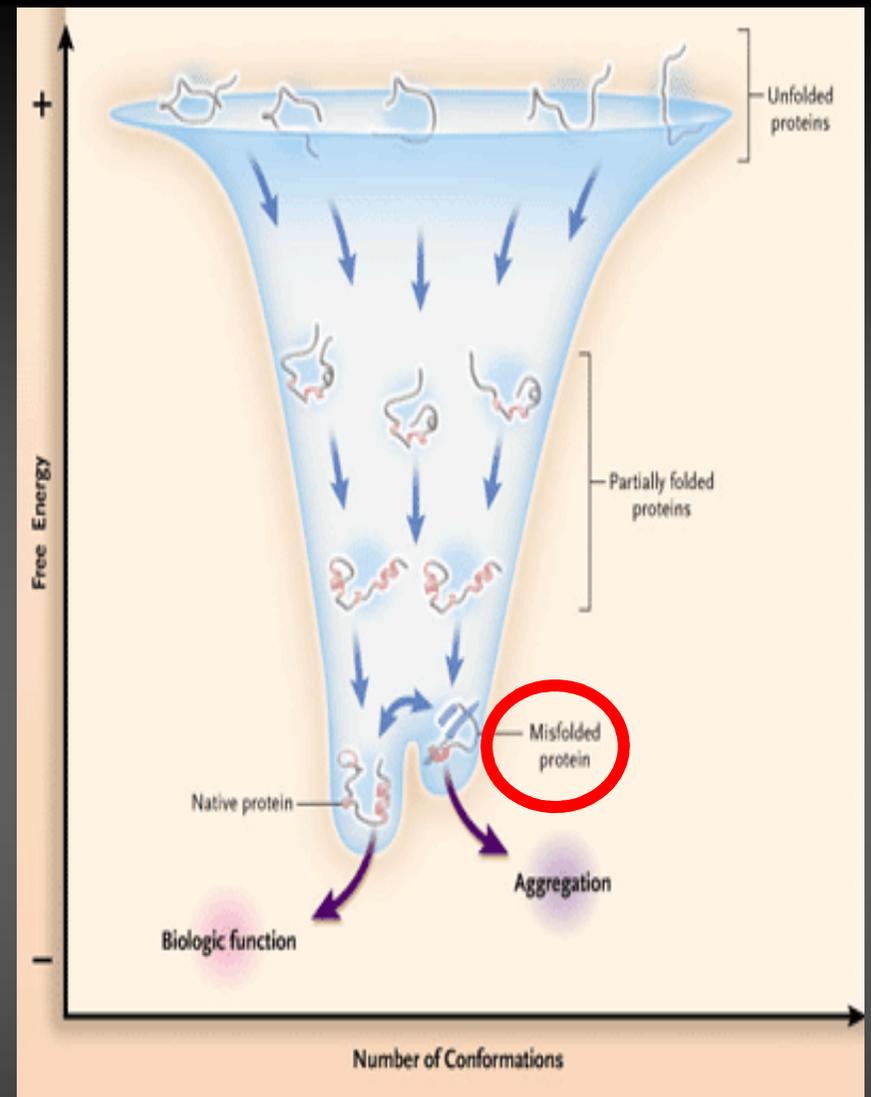
Apice: conformazione nativa stabile, minima energia libera, stato di equilibrio tra entalpia (determinata dai legami intramolecolari) ed entropia (livello di casualità)

Ad un livello di energia libera simile a quello dello stato nativo può esistere una conformazione proteica alternativa (misfolded), dotata di relativa stabilità e che può sfuggire ai sistemi di controllo della cellula

La proteina misfolded espone residui idrofobici, i quali tendono a formare legami con altri aminoacidi non polari, anche appartenenti a diverse catene aminoacidiche, per formare un nucleo isolato dal solvente



Marcata tendenza alla formazione di aggregati proteici “**Protein Conformational Diseases**”, tra cui le **AMILOIDOSI**, locali o sistemiche, sono quelle maggiormente studiate



Formazione di fibrille amiloidi

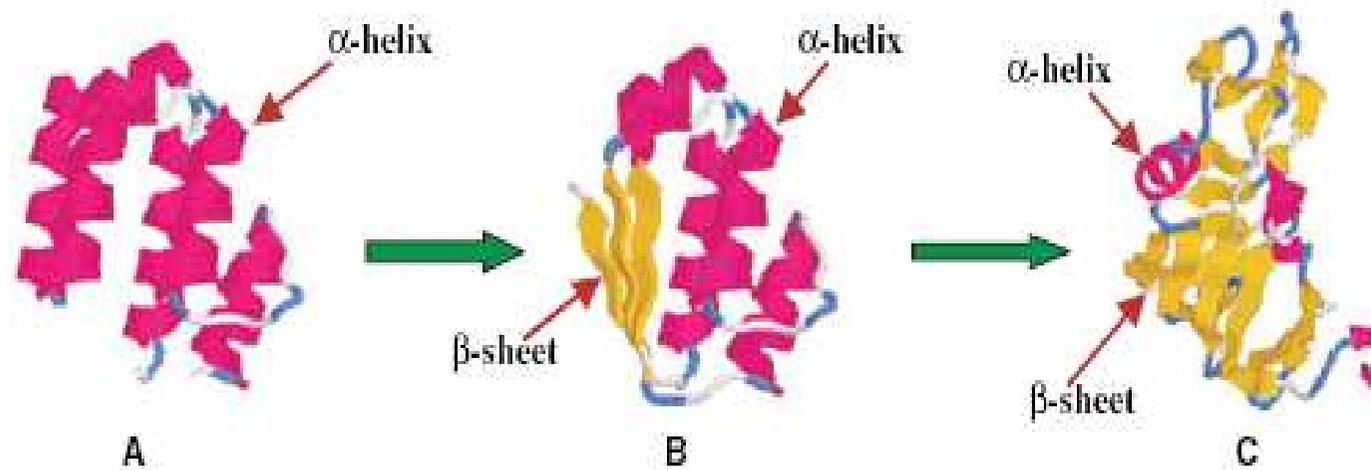
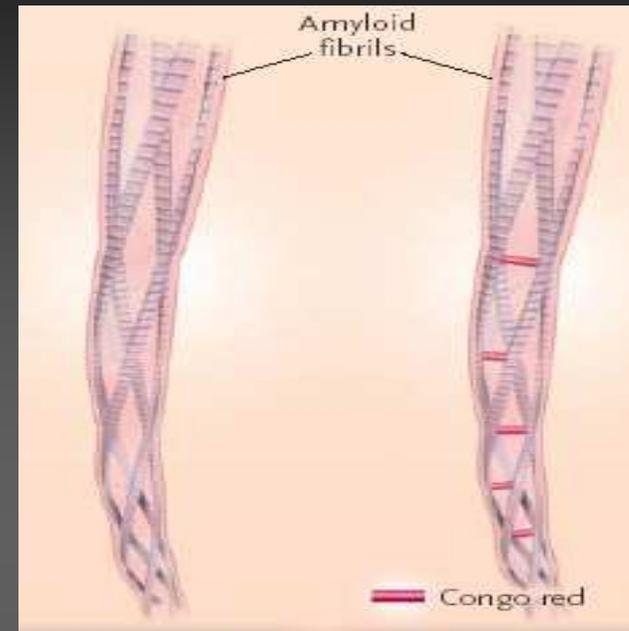


Fig. 1. During amyloid formation most of the α -helical structures in the polypeptide chain of a native protein are converted into β -pleated sheets. (A) Native polypeptide chain composed of mainly α -helical secondary structure. (B) Misfolding causes conversion of α -helical structure to β -pleated sheets and (C) final misfolded structure of polypeptide chain contains mostly β -pleated sheets.

Caratteristiche delle strutture amiloidi:

- capacità di legare in maniera altamente specifica un particolare colorante, definito rosso Congo
- struttura submicroscopica fibrillare
- fibrille rigide con ampiezza di 60-130 Å e lunghezza di 1000-16000 Å
- **pattern di diffrazione ai raggi X: core centrale a foglietti β , che si dispongono perpendicolarmente all'asse della fibrilla**
- inclusioni non fibrillari costituite di lipidi e proteoglicani → resistenza alle proteasi



Sintesi delle fibrille:

Mutazioni / condizioni ambientali → perdita del folding, esposizione di aminoacidi idrofobici



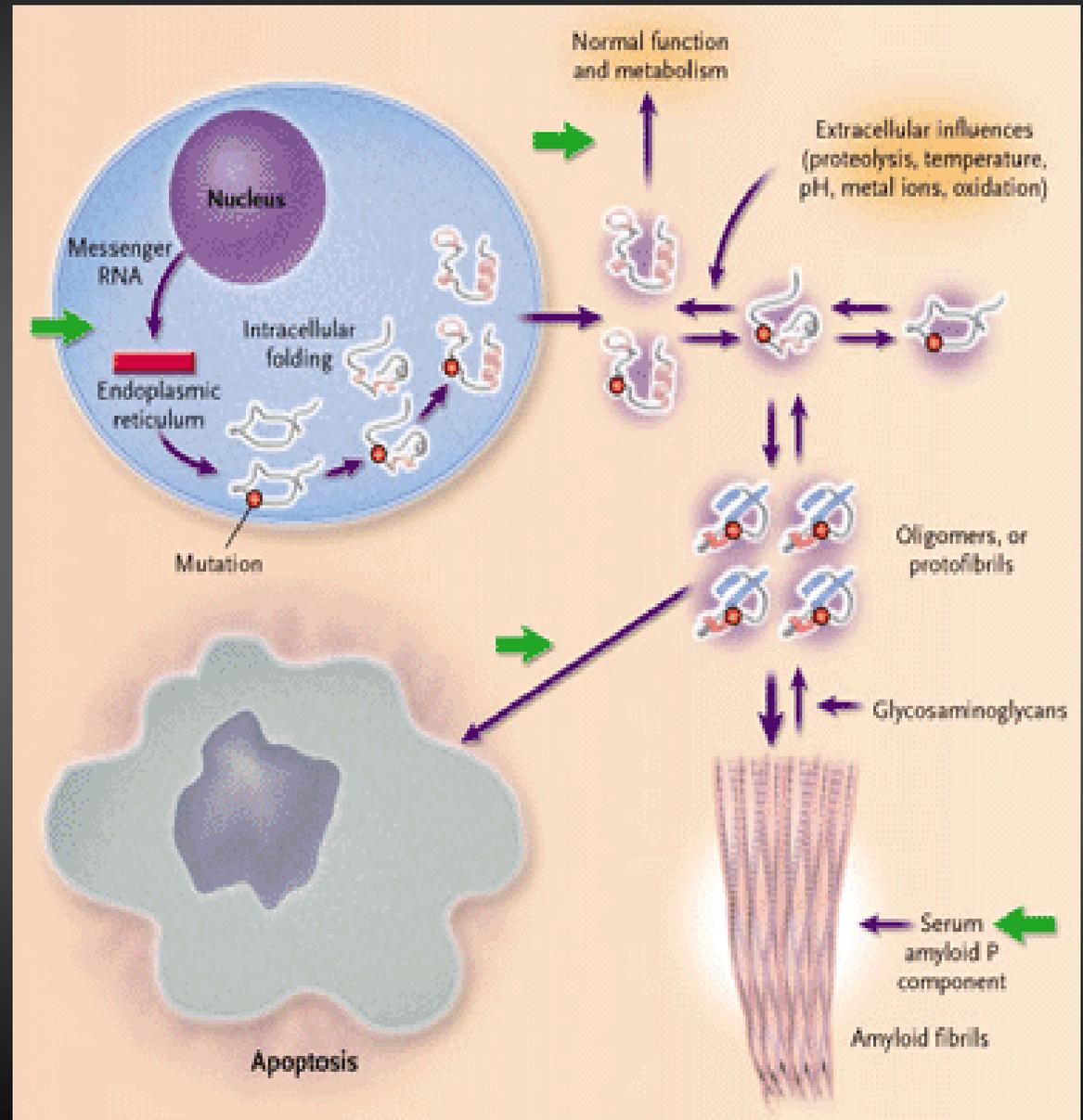
Interazioni tra le proteine misfolded → dimeri → tetrameri → oligomeri



Aggregati protofibrillari → nuclei di assemblaggio



Sviluppo filamenti lunghi 200 nm, a cui si aggregano nuovi monomeri proteici



LINEA BLU: formazione di una fibrilla amiloide a partire da monomeri in soluzione

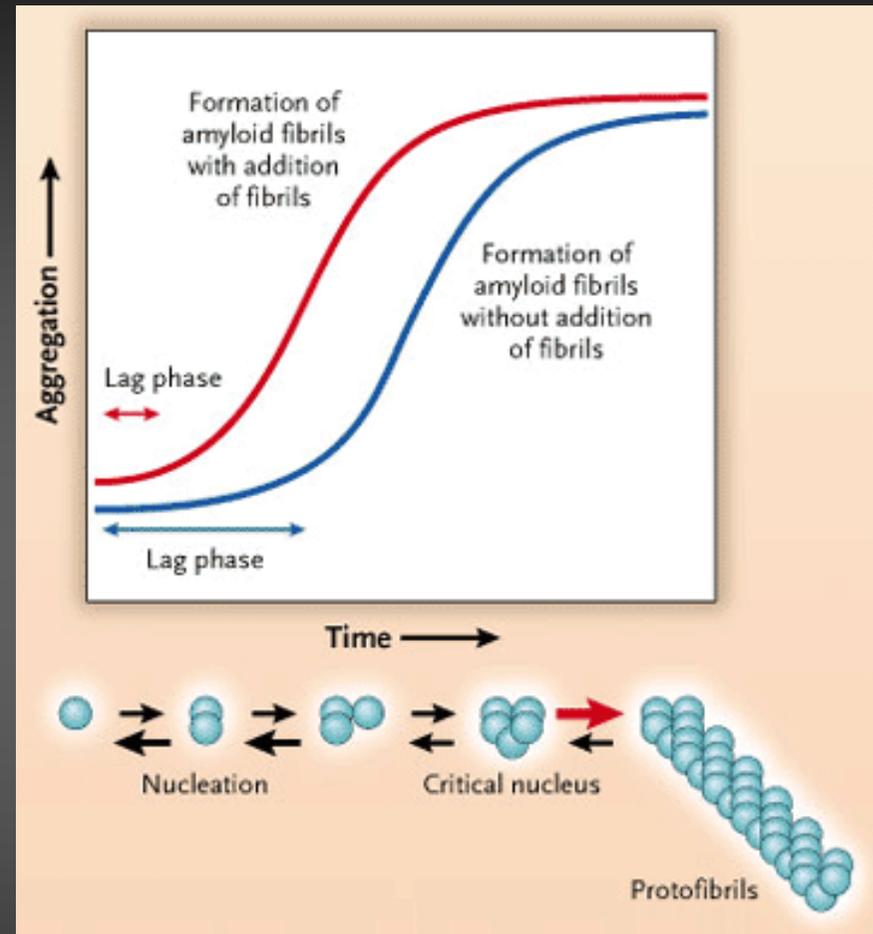
Le condizioni iniziali non favoriscono l'aggregazione → "LAG PHASE"



Appena si forma il primo nucleo di aggregazione, le condizioni diventano favorevoli con una cinetica rapidissima



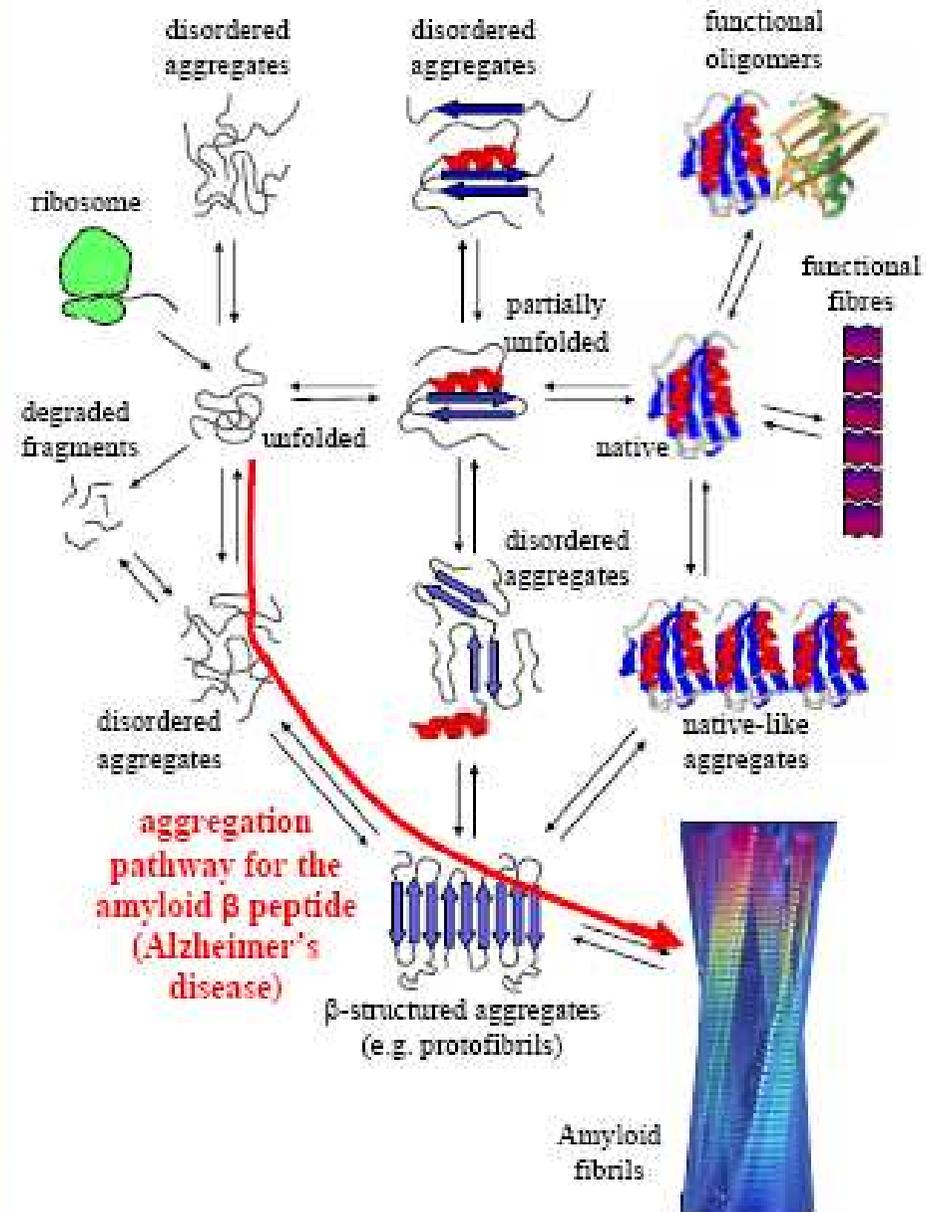
Tutti i monomeri disponibili in soluzione vengono rapidamente intrappolati nella fibrilla



LINEA ROSSA: formazione di una fibrilla a partire da monomeri in soluzione con l'aggiunta di nuclei di aggregazione già preformati

→ netto accorciamento della LAG PHASE

The possible conformational changes for a polypeptide chain



Chiti & Dobson (2006)
Ann. Rev. Biochem. 75, 333-366

**Proteins forming naturally nonpathological amyloid-like fibrils
with specific functional roles**

Protein	Organism	Function of the resulting amyloid-like fibrils
Curlin	<i>Escherichia coli</i> (bacterium)	To colonize inert surfaces and mediate binding to host proteins
Chaplins	<i>Streptomyces coelicolor</i> (bacterium)	To lower the water surface tension and allow the development of aerial hyphae
Hydrophobin ^a EAS	<i>Neurospora crassa</i> (fungus)	To lower the water surface tension and allow the development of aerial hyphae
Proteins of the chorion of the eggshell ^b	<i>Bombyx mori</i> (silkworm)	To protect the oocyte and the developing embryo from a wide range of environmental hazards
Spidroin	<i>Nephila edulis</i> (spider)	To form the silk fibers of the web
Intraluminal domain of Pmel17	<i>Homo sapiens</i>	To form, inside melanosomes, fibrous striations upon which melanin granules form
Ure2p (prion)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast)	To promote the uptake of poor nitrogen sources ([URE3])
Sup35p (prion)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast)	To confer new phenotypes ([PSI ⁺]) by facilitating the readthrough of stop codons on mRNA
Rnq1p (prion)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast)	Not well understood ([RNQ ⁺], also known as [PIN ⁺], phenotype)
HET-s (prion)	<i>Podospora anserina</i> (fungus)	To trigger a complex programmed cell death phenomenon (heterokaryon incompatibility)
Neuron-specific isoform of CPEB (prion)	<i>Aplysia californica</i> (marine snail)	To promote long-term maintenance of synaptic changes associated with memory storage

Le amiloidosi:

- 1854: R. Virchow vide nell'ordinata organizzazione degli aggregati una somiglianza con la struttura dell'amido
- Più di 20 proteine sono state associate alla formazione di aggregati:

Disease	Protein involved
Alzheimer's disease,	Amyloid- β protein
Spongiform encephalopathies	Prion protein
Parkinson disease	α -synuclein
Huntington disease	Huntingtin
Diabetes type II	Amylin
Amyotrophic lateral sclerosis	Superoxide dismutase
Serpin deficiency, emphysema, cirrhosis	Serpins
Haemodialysis amyloidosis, prostatic amyloid	β 2-microglobulin
Cystic fibrosis	CFTR protein
Other systemic amyloidosis	Amyloid A, Transthyretin, etc

