

La digestione delle proteine

- Numerosi enzimi sono in grado di idrolizzare il legame peptidico

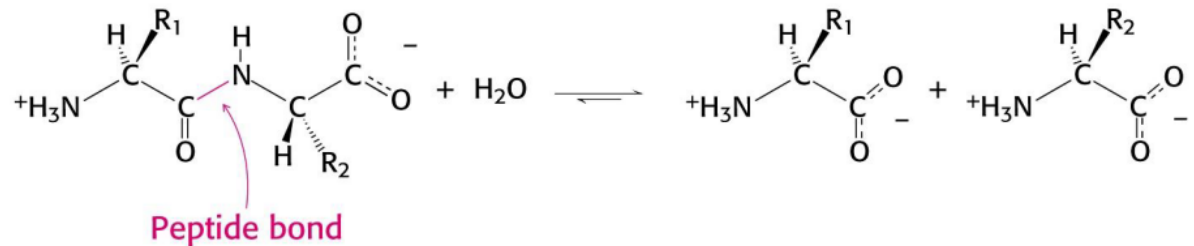
– Endopeptidasi

- Chimotripsina
- Tripsina
- Papaina
- Elastasi
- Pepsina

– Esopeptidasi

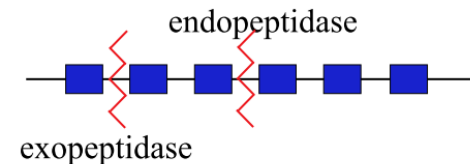
- Aminopeptidasi
- Carbossipeptidasi

Le proteasi catalizzano la scissione idrolitica di un legame peptidico



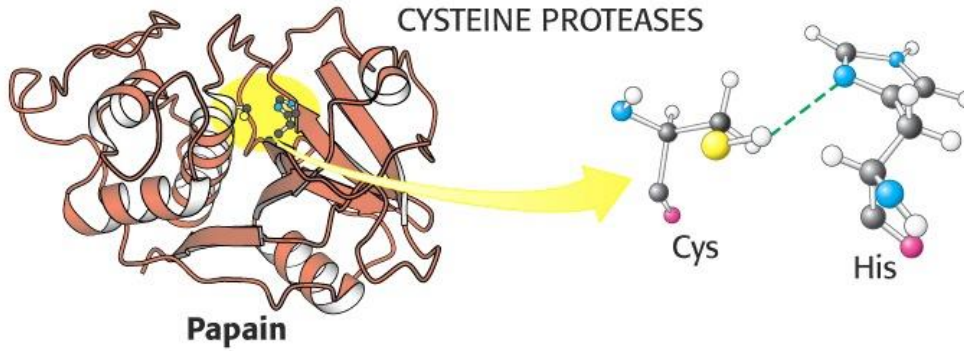
**La reazione di idrolisi e' termodinamicamente favorita
La biosintesi del legame richiede un apporto di energia**

Due tipi di scissione

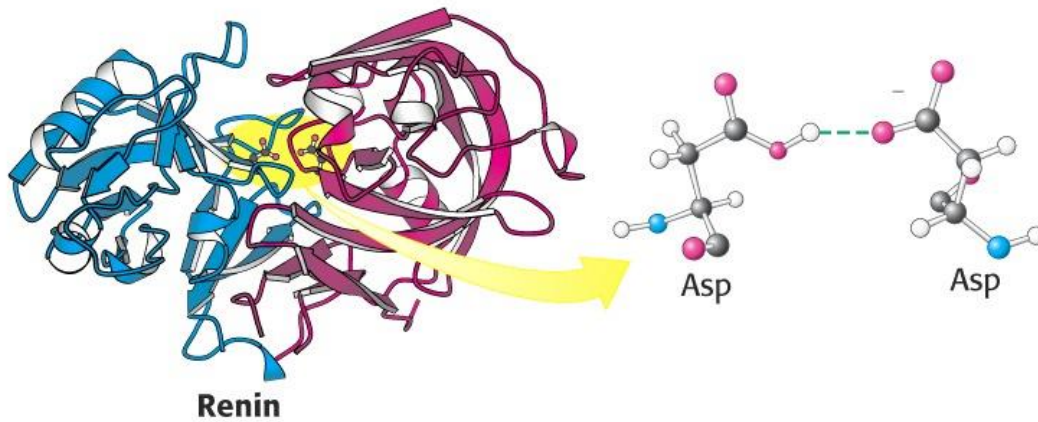


Le proteasi

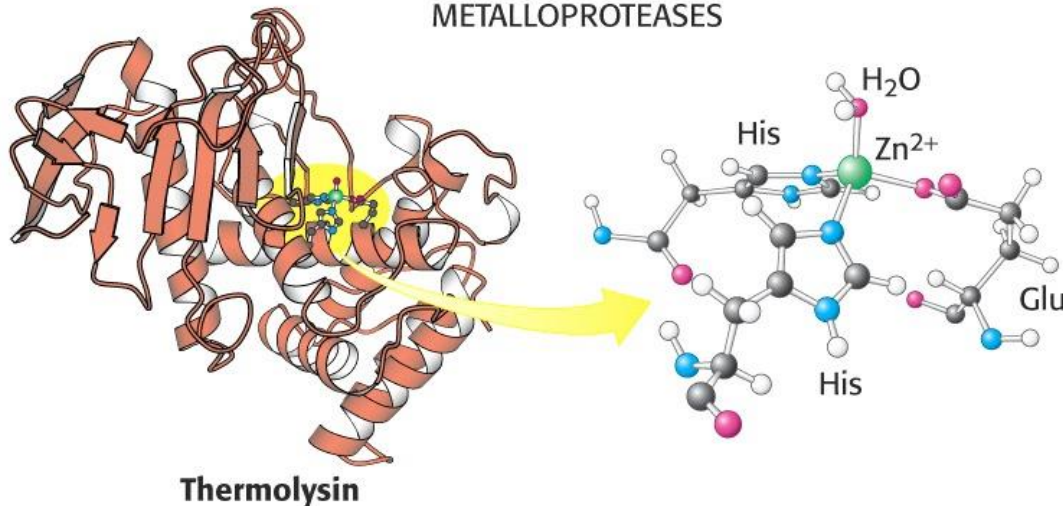
CYSTEINE PROTEASES



ASPARTYL PROTEASES

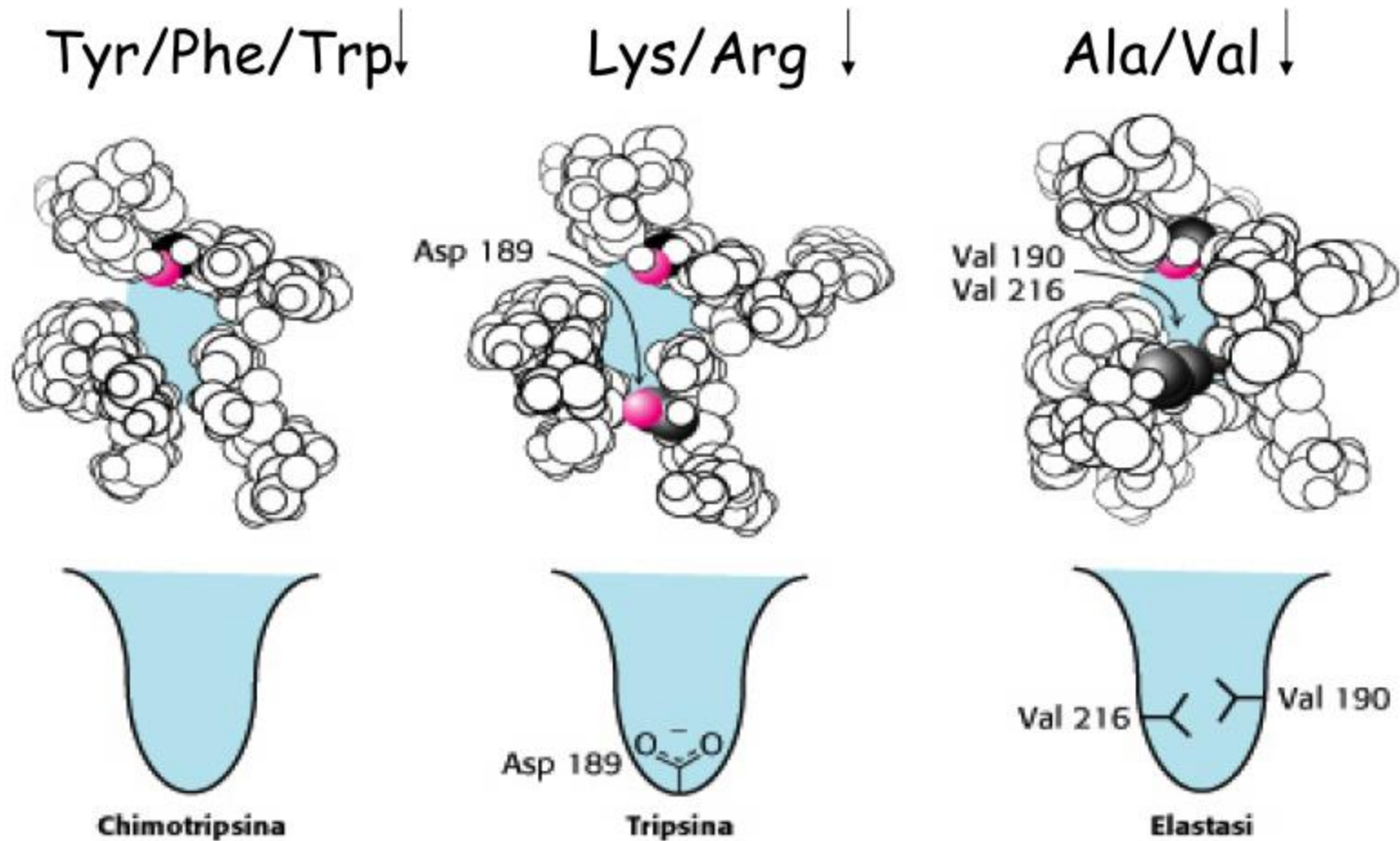


METALLOPROTEASES



- Sono distinguibili in 4 classi
 - Seriniche
 - Cisteiniche
 - Aspartiche
 - Metallo-

Siti di idrolisi delle proteasi



La tasca di specificità

La specificità delle proteasi

Proteasi	Sorgente	Famiglia	Proenzima	Attivazione	Specificità
Tripsina (endo)	pancreas	serina	tripsinogeno	enteropeptidasi tripsina	<i>Aa basici (arg, lys)</i>
Chimotripsina (endo)	pancreas	serina	chimo- tripsinogeno	tripsina	<i>aa aromatici (trp, phe, tyr, met)</i>
Elastase (endo-)	pancreas	serine	proelastasi	tripsina	<i>Aa piccoli e neutri (gly, ser, ala)</i>
Carbossipeptidasi A (eso-)	pancreas	zinco	procarboxsi- peptidasi A	tripsina	<i>Aa aromatici (tyr, phe, trp) idrofobici (val, leu, ile)</i>
Carbossipeptidasi B (eso-)	pancreas	zinco	procarbossi- peptidasi B	tripsina	<i>Aa basici (arg, lys)</i>

Ogni proteasi viene prodotta come zimogeno

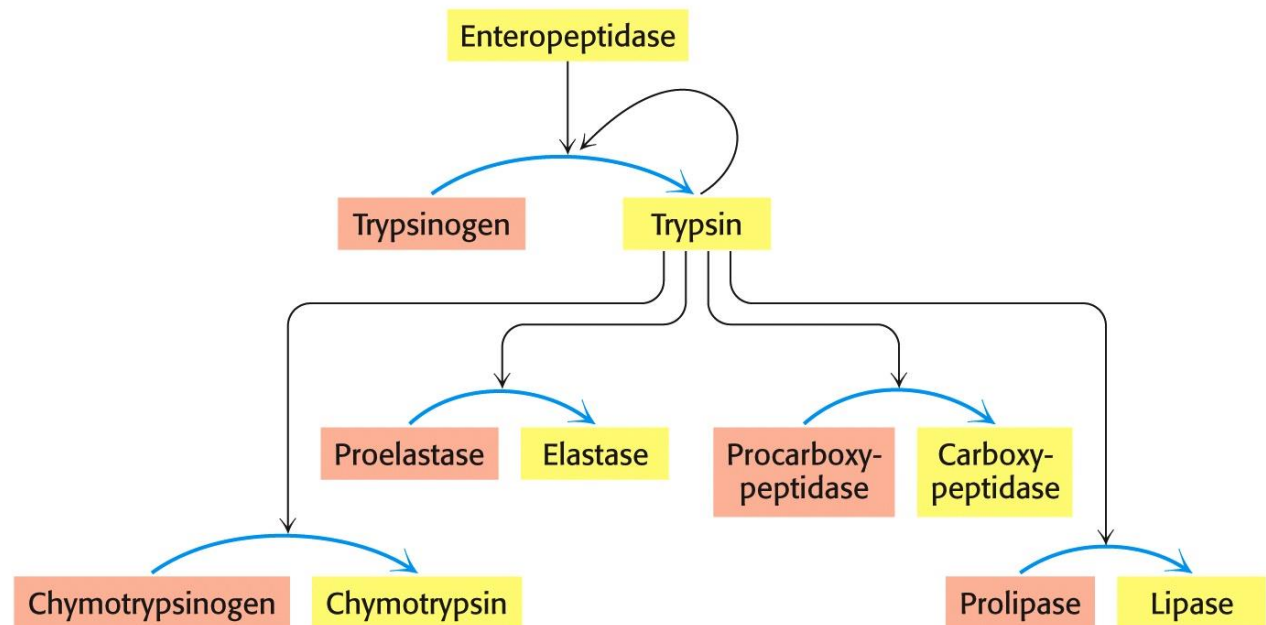
- Le proteasi rappresentano una classe di enzimi molto pericolosa per la cellula e vengono prodotte in forma inattiva per non incorrere in auto-proteolisi. Una volta escrete vengono attivate (spesso si auto attivano)

TABLE 10.3 Gastric and pancreatic zymogens

Site of synthesis	Zymogen	Active enzyme
Stomach	Pepsinogen	Pepsin
Pancreas	Chymotrypsinogen	Chymotrypsin
Pancreas	Trypsinogen	Trypsin
Pancreas	Procarboxypeptidase	Carboxypeptidase
Pancreas	Proelastase	Elastase

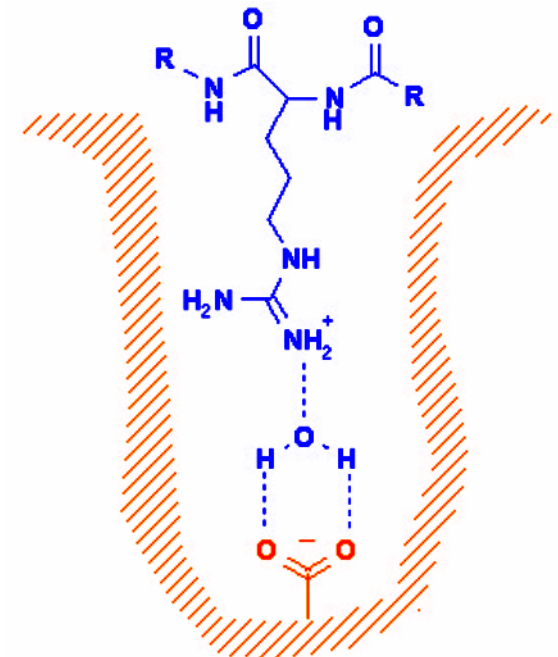
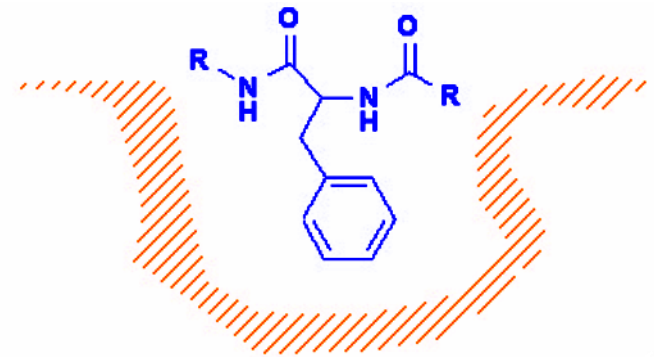
Le proteasi digestive

- Le proteasi pancreatiche vengono escrete in forma inattiva come zimogeni
- La loro attivazione è controllata mediante ormoni (secretina e colecistochinina) che vengono escreti in seguito all'introduzione di un alimento nel sistema digerente e dal pH acido presente nello stomaco



Le proteasi seriniche (serin proteasi)

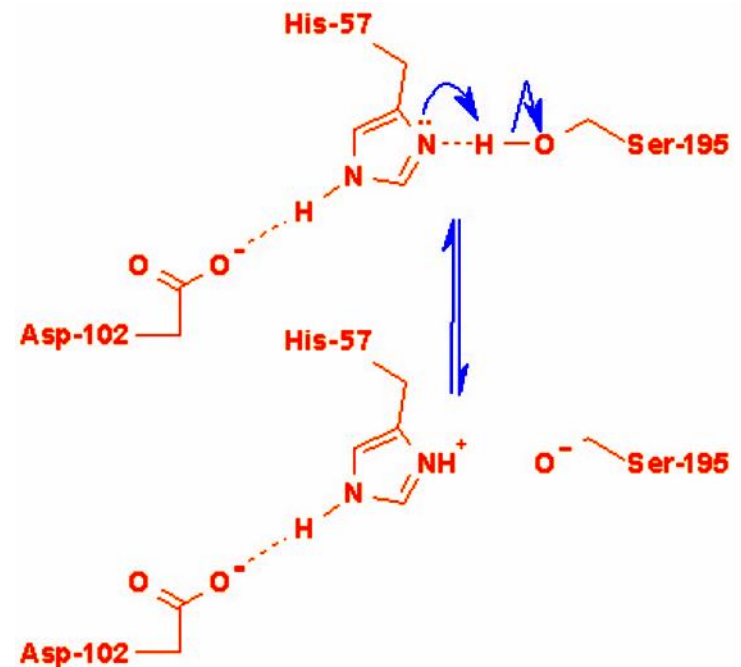
- Nella tasca idrofobica della **chimotripsina**, completamente ricoperta da residui di aminoacidi apolari, trova alloggio la catena idrofobica della fenilalanina, della tirosina o del triptofano.
- Nel sito attivo della **tripsina** è invece presente un residuo di aspartato che, con lo ione carbossilato, interagisce mediante una molecola d' acqua con la carica positiva della lisina o dell' arginina.



Appartengono alle proteasi seriniche l'elastasi, la subtilisina, la trombina

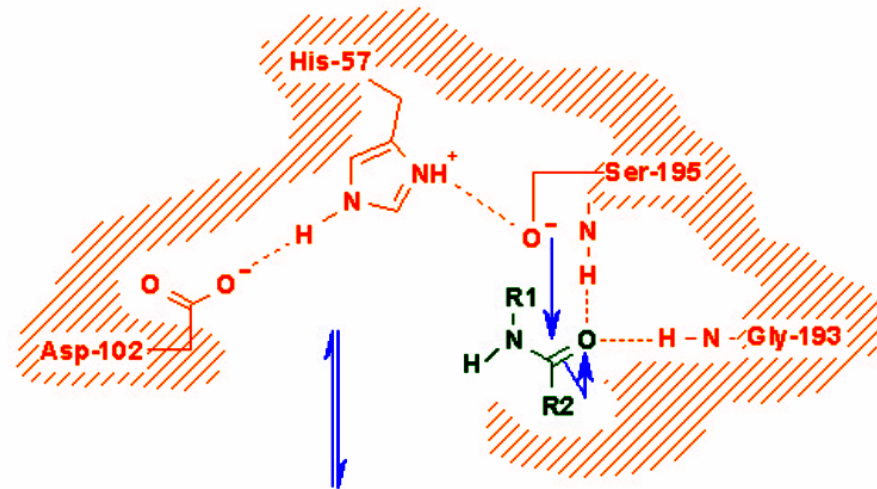
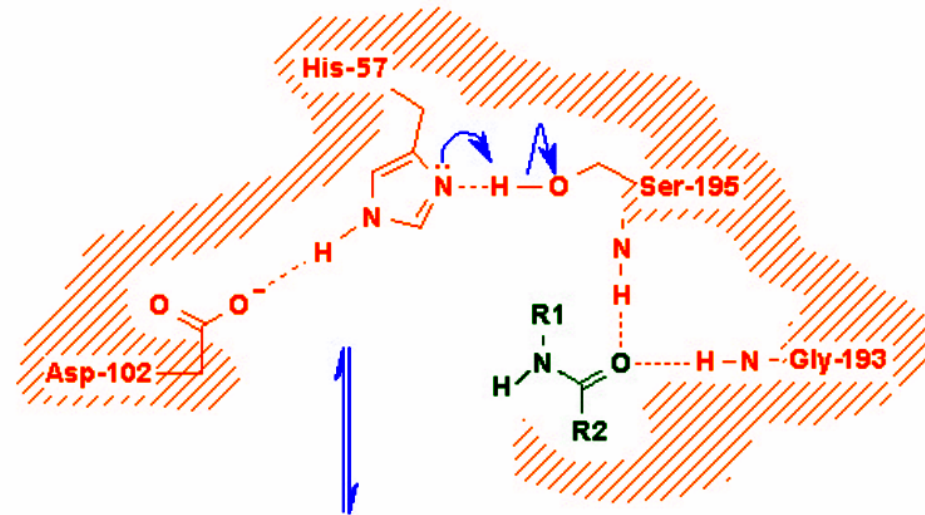
Meccanismo 1

- Le serin proteasi sono così denominate perchè un residuo di serina è responsabile dell'attacco nucleofilo al carbonile del legame peptidico. Normalmente l'ossidrile della serina non è un buon nucleofilo in quanto il pKa di dissociazione del protone è estremamente elevato. Nelle serin proteasi esiste però un sistema di legami idrogeno detto "triade catalitica", che coinvolge i residui aminoacidici di Asp-102, His-57 e Ser-195 il cui ruolo è quello di abbassare il pKa dell'ossidrile della serina permettendone la ionizzazione.



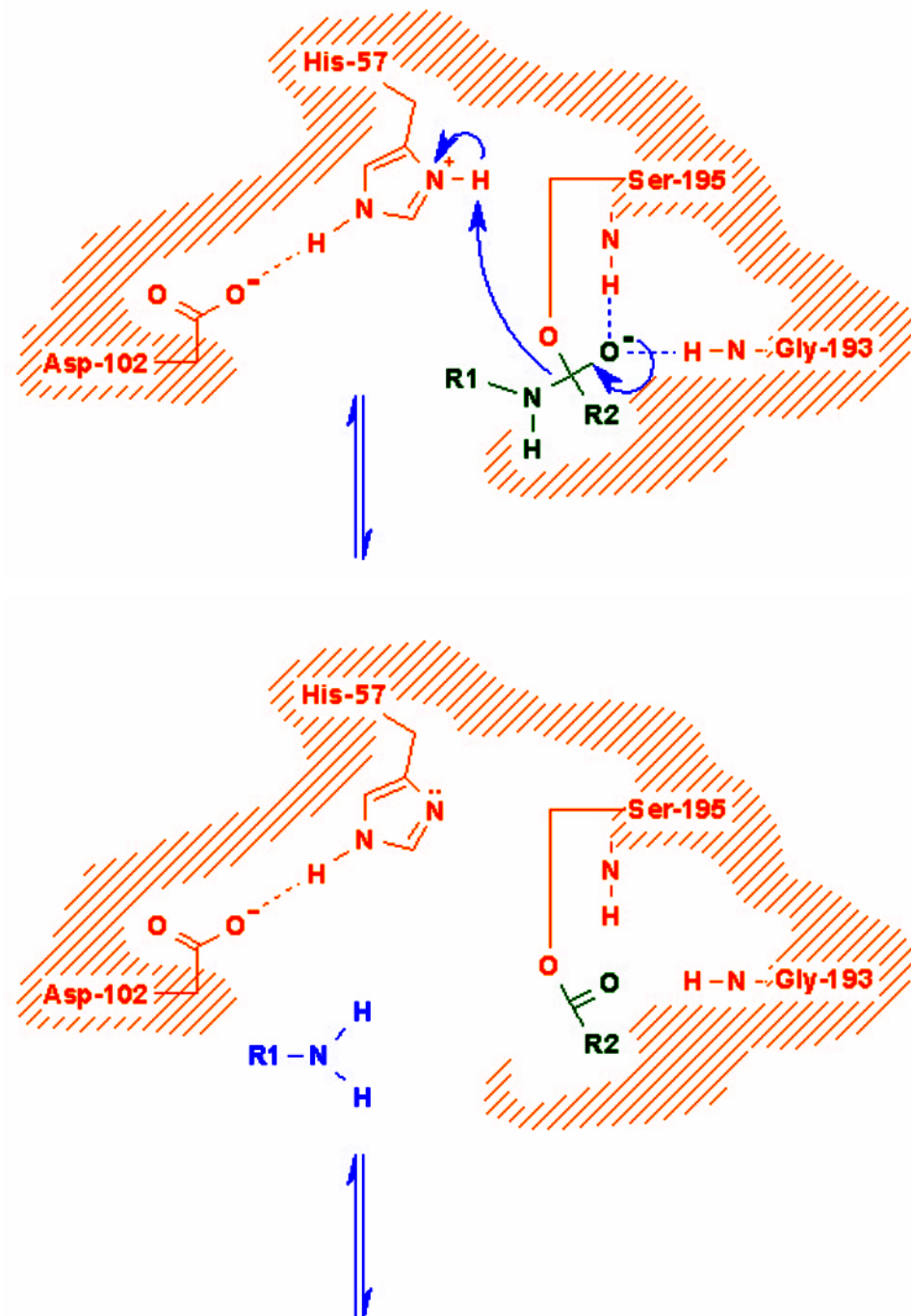
Meccanismo 2

- E' stato dimostrato che Asp-102 non si protona durante il processo di catalisi avendo un $pK_a < 2$. Esso probabilmente orienta His-57 in modo che sia in grado di accettare il protone dalla Ser-195 e stabilizza la carica positiva di His-57 protonata.
- Nel complesso enzima-substrato (ES) il substrato è mantenuto in posizione dalle interazioni specifiche tra il residuo aminoacidico (R_2) coinvolto nel legame suscettibile di rottura e i legami idrogeno tra l'ossigeno carbonilico e gli NH amidici di Gly-193 e Ser-195. L'azoto basico di His-57 rimuove il protone da Ser-195 generando un ossianione.



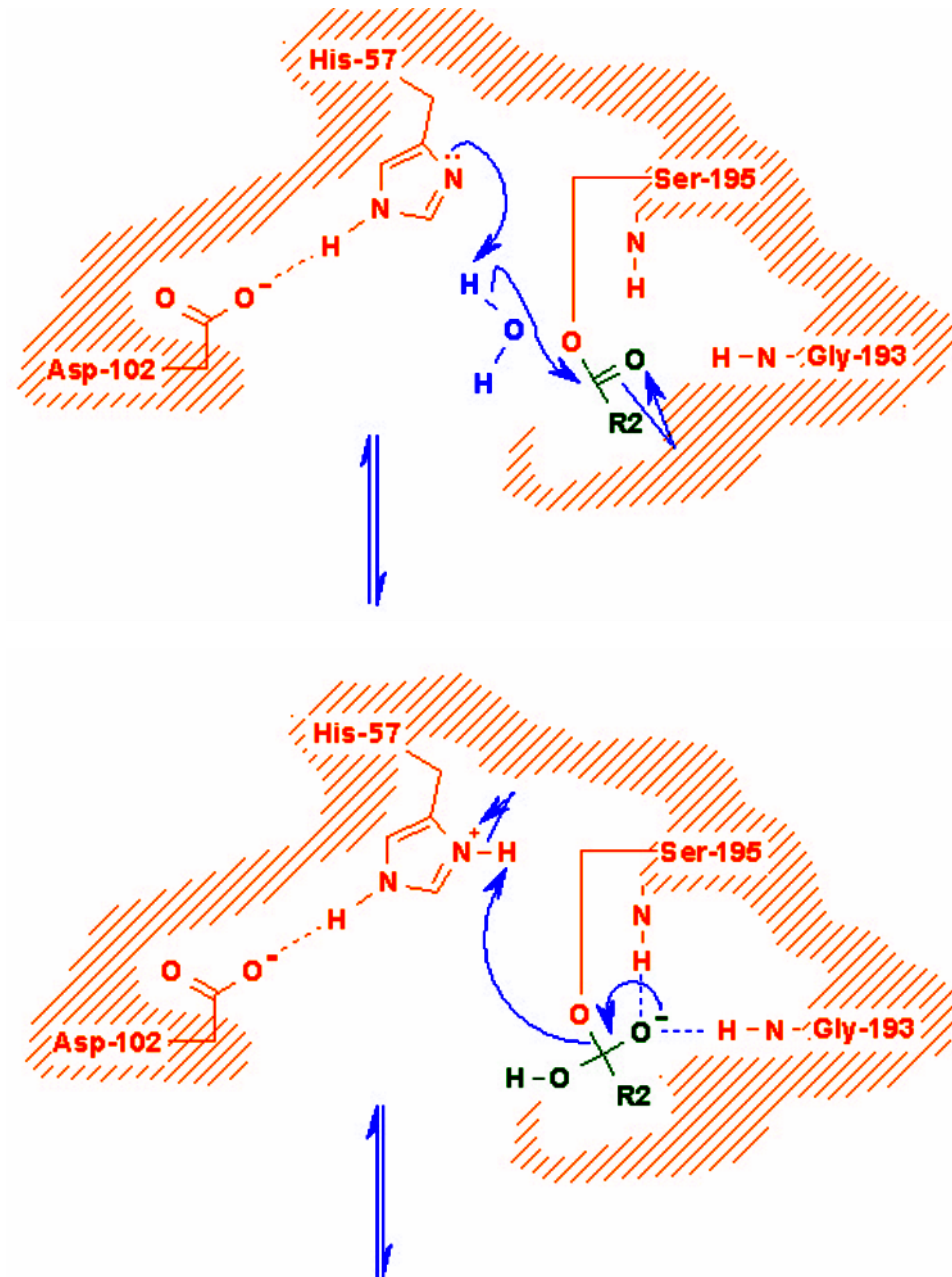
Meccanismo 3

- Il forte nucleofilo rappresentato dall'ossianione attacca il carbonio carbonilico del legame amidico generando un intermedio tetraedrico.
- La formazione dell' intermedio tetraedrico è stabilizzata dalla formazione di legami ponte idrogeno tra l'ossianione e i gruppi NH di Gly-193 e Ser-195. Successivamente l' intermedio tetraedrico collassa in seguito alla catalisi acida esercitata da His-57.



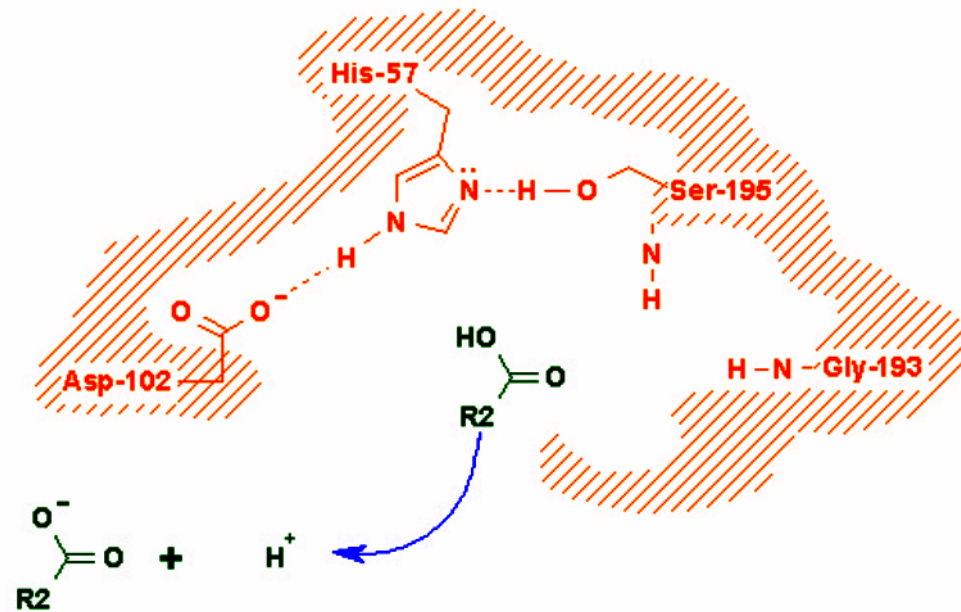
Meccanismo 4

- Si libera quindi la porzione del polipeptide con NH_2 terminale mentre il resto del polipeptide risulta legato con legame estereo a Ser-195.
- Il residuo di His-57 strappa un protone ad una molecola di acqua generando un gruppo ossidrilico che attacca il carbonio carbonilico: si genera così un nuovo intermedio tetraedrico.



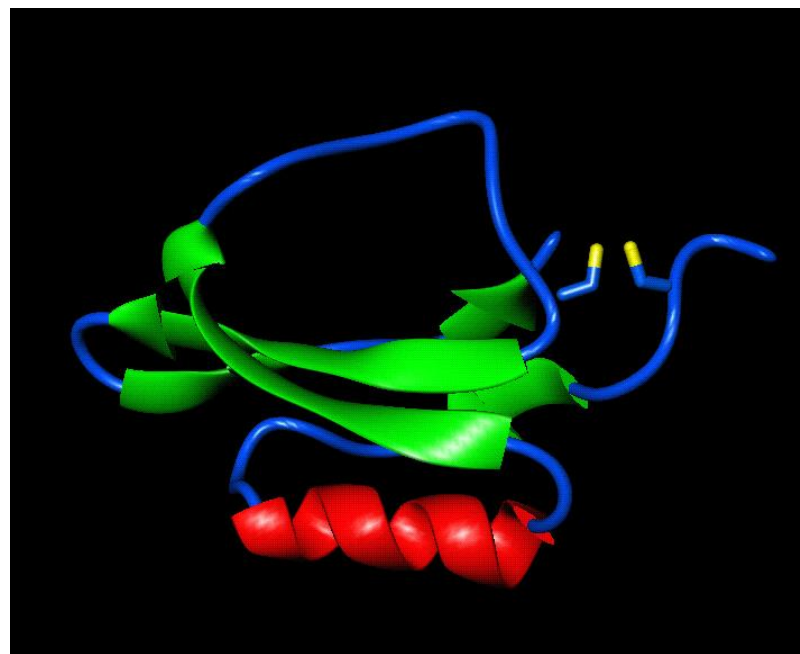
Meccanismo 5

- L'intermedio tetraedrico viene stabilizzato dalla formazione di legami ponte idrogeno tra l'ossianione e i gruppi NH di Gly-193 e Ser-195. Successivamente l'intermedio tetraedrico collassa in seguito alla catalisi acida esercitata da His-57.
- La seconda parte del polipeptide viene rilasciata e la serin proteasi torna nello stato iniziale, pronta per un nuovo ciclo di catalisi.



Inibitori delle proteasi

- Molte specie vegetali possiedono proteine che si legano alle proteasi digestive inibendole completamente
 - Inibitori della tripsina (P.M. ~ 22.000)
 - Inibitori della chimotripsina (P.M. 6.000 - 10.000)
- Si trovano in tutti i legumi (fagioli, soia, piselli)
- Vengono completamente denaturate in fase di cottura



Inibitore della tripsina
da *Cucurbita maxima*
(zucchina)

Le transglutaminasi



- Le transglutaminasi (R-glutammil-peptide:ammina-gamma-glutammil transferasi) modificano le caratteristiche fisiche, chimiche e biologiche delle proteine substrato.
- Le diverse transglutaminasi, distribuite in un gran numero di organismi viventi, manifestano caratteristiche differenti nei confronti della specificità di substrato, della modalità d'azione, della temperatura e del pH a cui sono stabili.

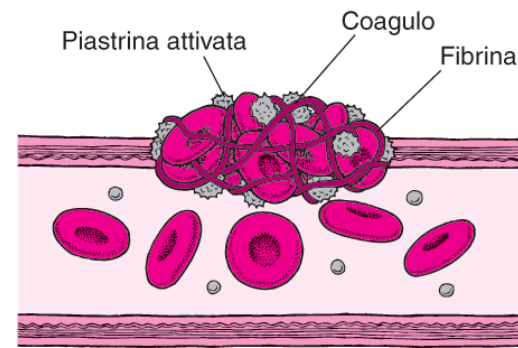
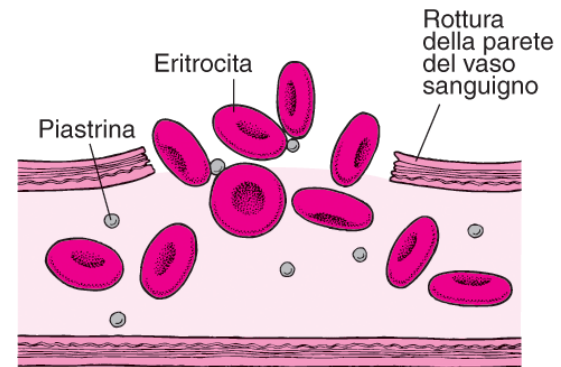
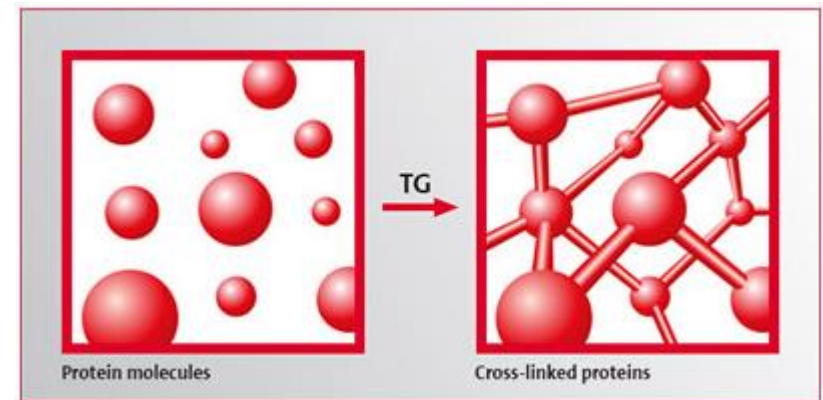
Le transglutaminasi

- Una **transglutaminasi** è un enzima che catalizza la formazione di un legame **isopeptidico** tra un gruppo amminico primario (ad esempio di una proteina o dell'amminoacido lisina) ed il gruppo amidico dell'amminoacido glutamina.



Azione delle transglutaminasi

- Le transglutaminasi formano reticoli estesi di polimeri proteici, generalmente insolubili.
- Ne sono esempi, i coaguli del sangue (dovuti al fattore XIII della coagulazione), come la formazione dello strato corneo della pelle e nei capelli.



Applicazioni nella carne



- L'introduzione di transglutaminase nei prodotti carnei
 - Migliora la tessitura finale dell'alimento
 - Facilita l'eliminazione di fosfati e caseinati
 - Aumenta la succosità del prodotto
 - Aumenta la capacità di ritenere acqua
 - Non genera allergeni

Applicazioni sul pesce

- L'applicazione di transglutaminase sul pesce:
 - Trasforma tagli di scarso valore commerciale in prodotti porzionati standardizzati
 - Facilita l'ingresso di acqua nel prodotto
 - Crea legami stabili tra le proteine



Applicazioni sul latte e latticini



- **Formaggi**

- Aumenta la produzione finale di formaggio fino al 15%
- Riduce la perdita d'acqua della cagliat
- Migliora la tessitura

- **Yoghurt**

- Aumenta la forza del gel
- Riduce la Perdita d'acqua
- Aiuta nella riduzione di stabilizzanti
- Aumenta la cremosità del prodotto

Applicazioni sui prodotti da forno



- L'applicazione di transglutaminase sui prodotti da forno:
 - Migliora il processo di produzione in prodotti a basso contenuto di proteine nella farina
 - Migliora la funzionalità del prodotto nei prodotti senza glutine
 - Migliora il volume e la tessitura dei prodotti congelati