

# La digestione delle proteine

- Numerosi enzimi sono in grado di idrolizzare il legame peptidico

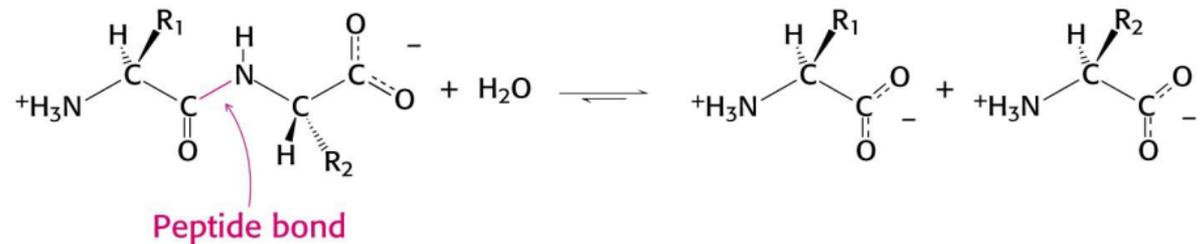
## – Endopeptidasi

- Chimotripsina
- Tripsina
- Papaina
- Elastasi
- Pepsina

## – Esopeptidasi

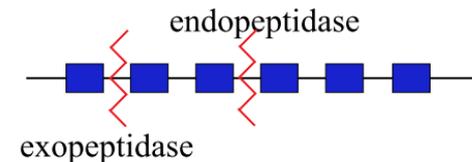
- Aminopeptidasi
- Carbossipeptidasi

Le proteasi catalizzano la scissione idrolitica di un legame peptidico



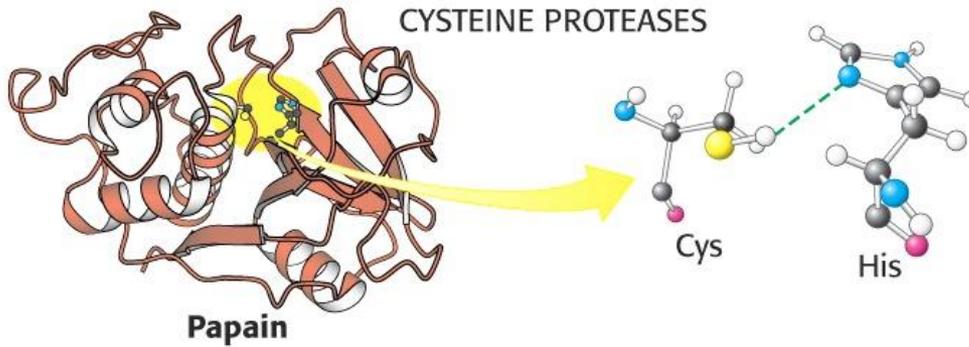
**La reazione di idrolisi e' termodinamicamente favorita  
La biosintesi del legame richiede un apporto di energia**

Due tipi di scissione

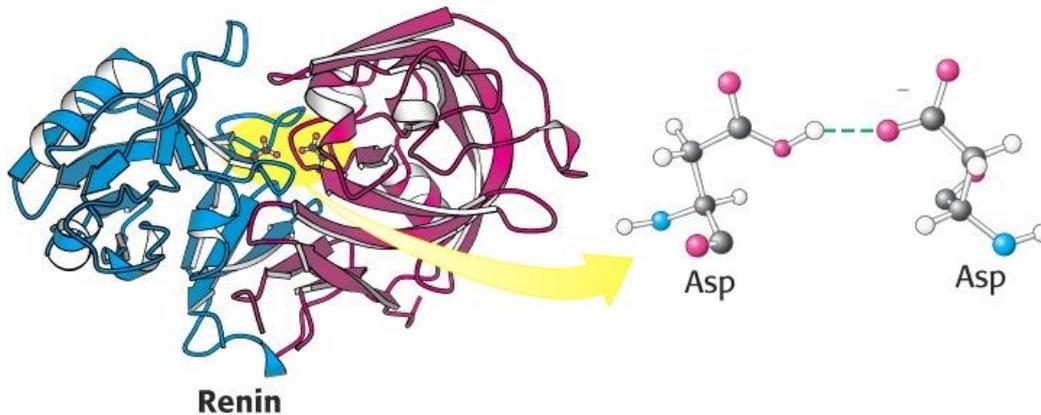


# Le proteasi

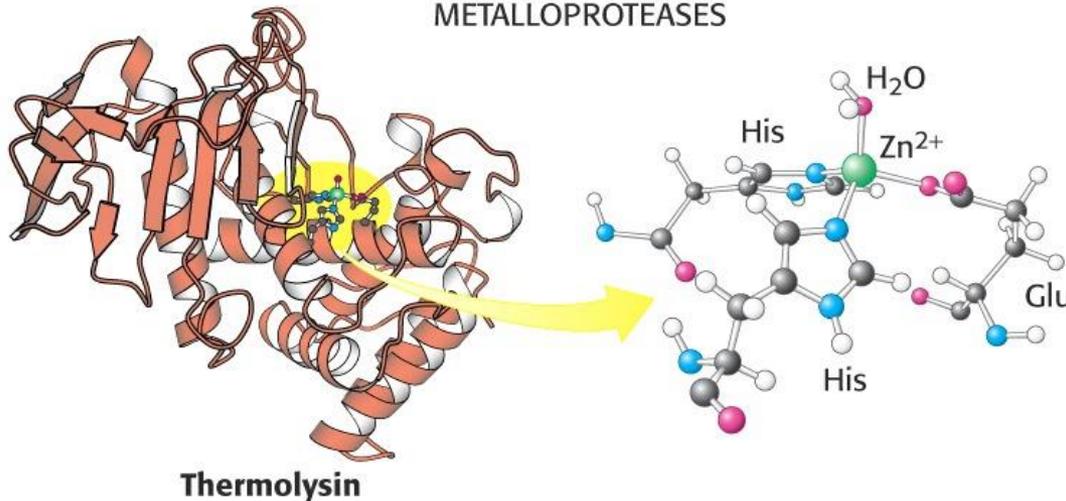
## CYSTEINE PROTEASES



## ASPARTYL PROTEASES

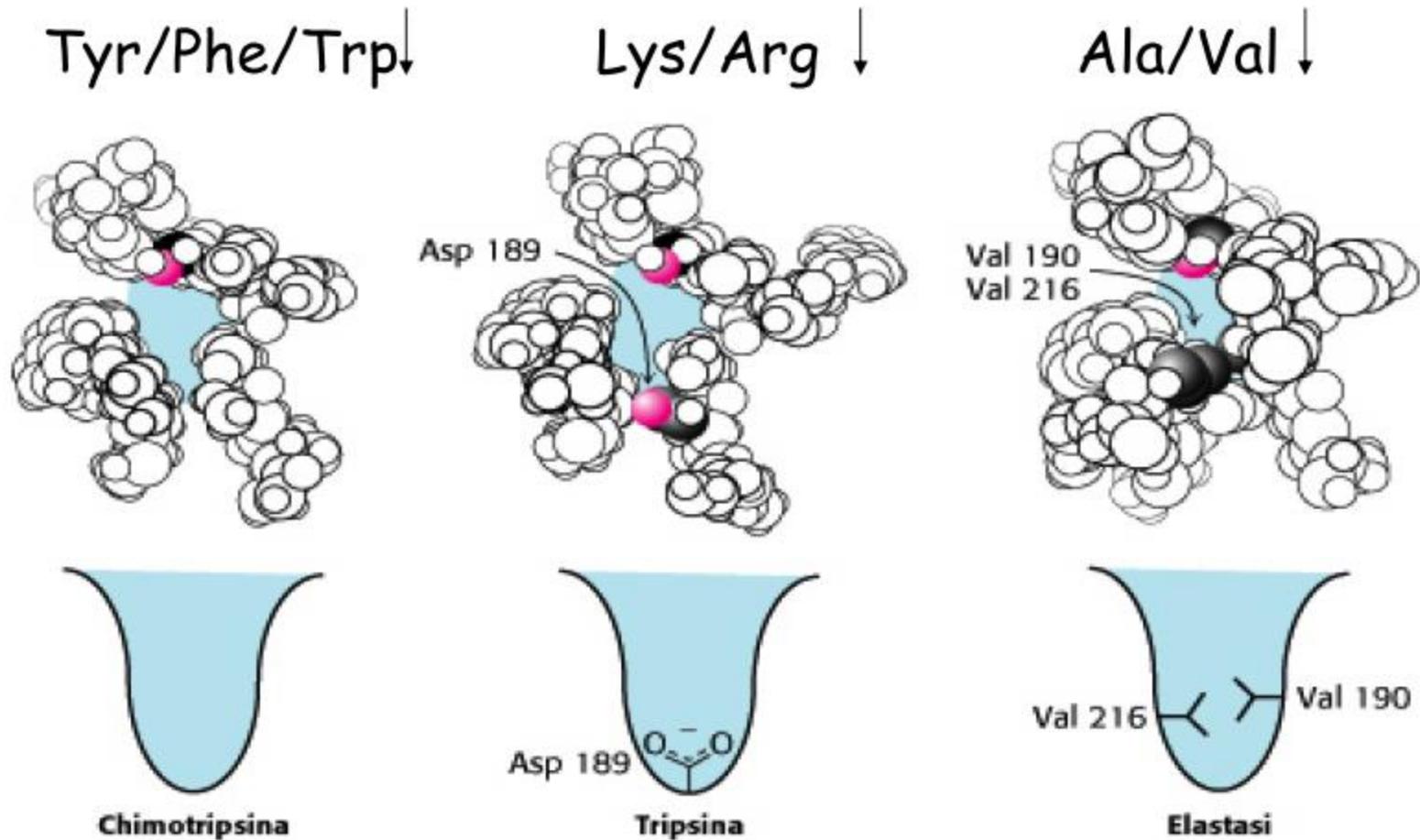


## METALLOPROTEASES



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

# Siti di idrolisi delle proteasi



La tasca di specificità

# La specificità delle proteasi

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

# Ogni proteasi viene prodotta come zimogeno

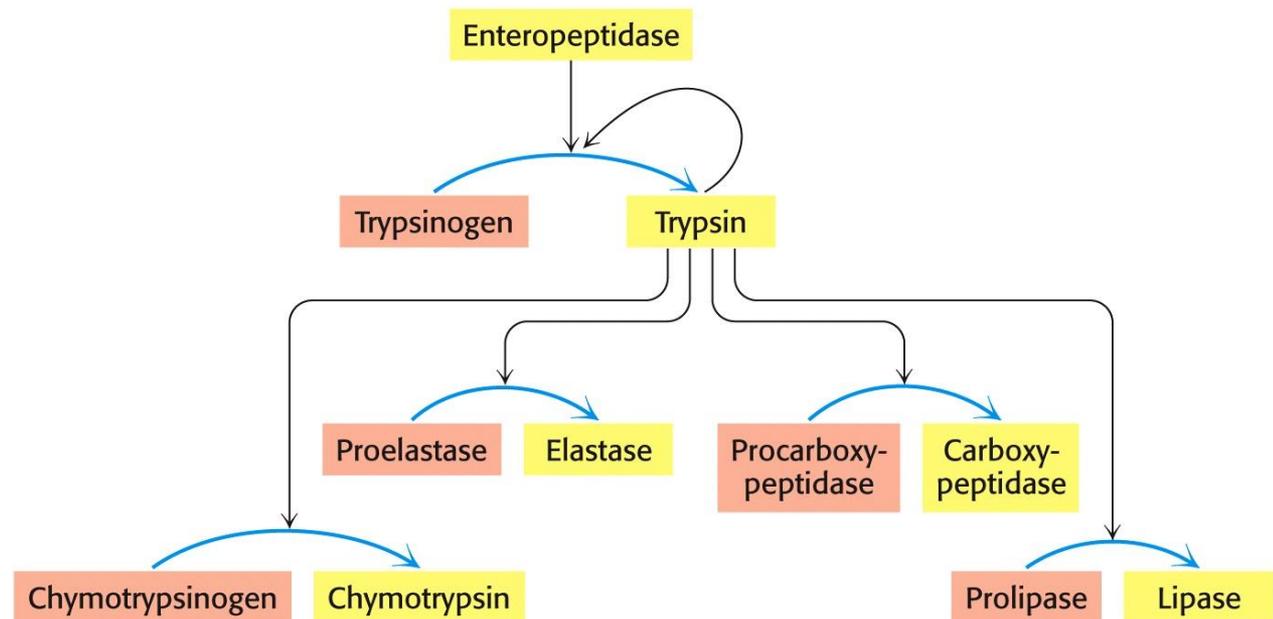
- Le proteasi rappresentano una classe di enzimi molto pericolosa per la cellula e vengono prodotte in forma inattiva per non incorrere in auto-proteolisi. Una volta escrete vengono attivate (spesso si auto attivano)

**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

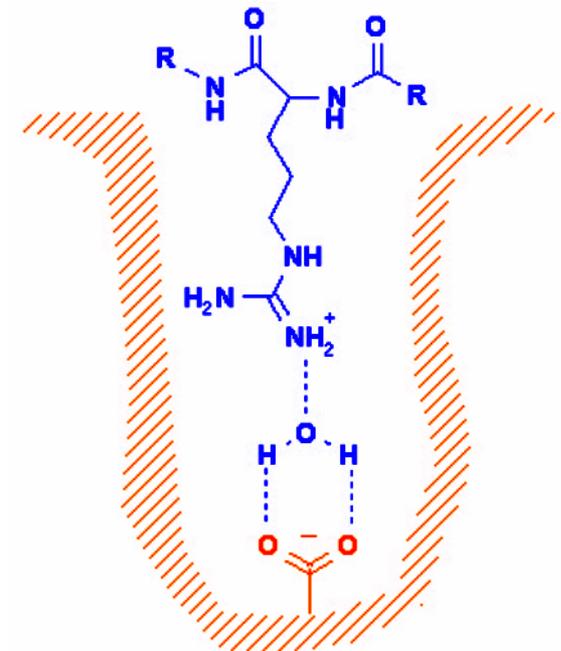
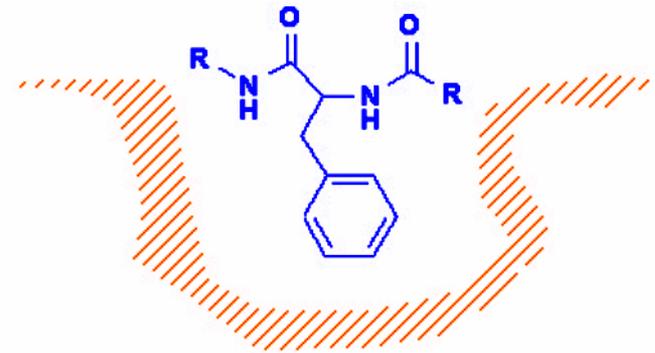
# Le proteasi digestive

- 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)

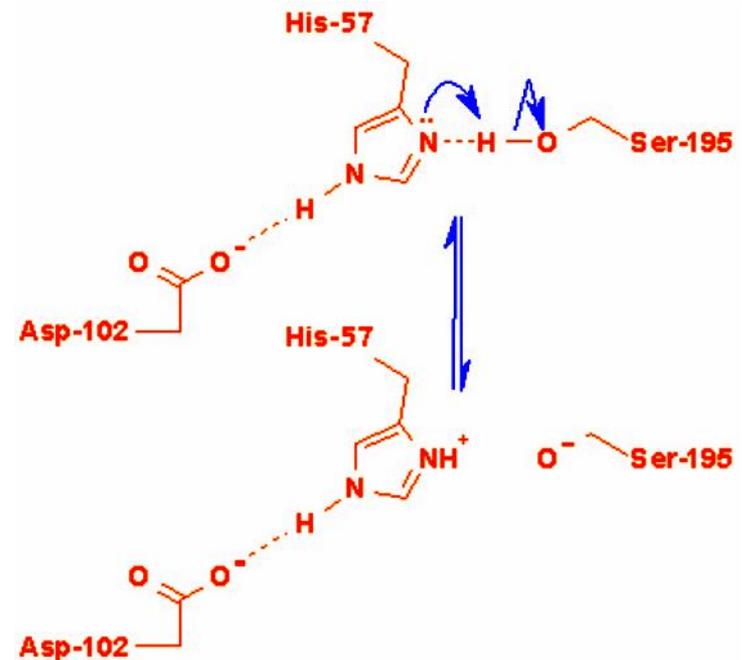
- Nella tasca idrofobica della **chimotripsina**, completamente ricoperta da residui di aminoacidi apolari, trova alloggio la catena idrofobica della fenilalanina, della tirosina o del triptofano.
- Nel sito attivo della **tripsina** è invece presente un residuo di aspartato che, con lo ione carbossilato, 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

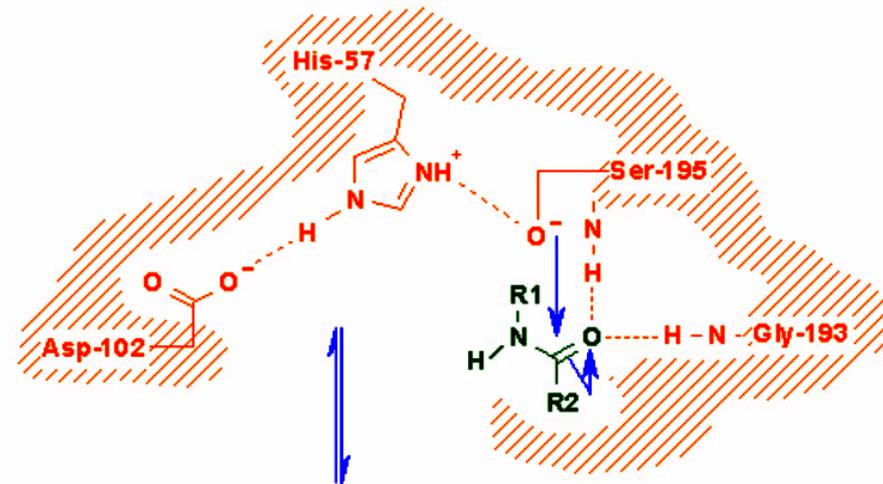
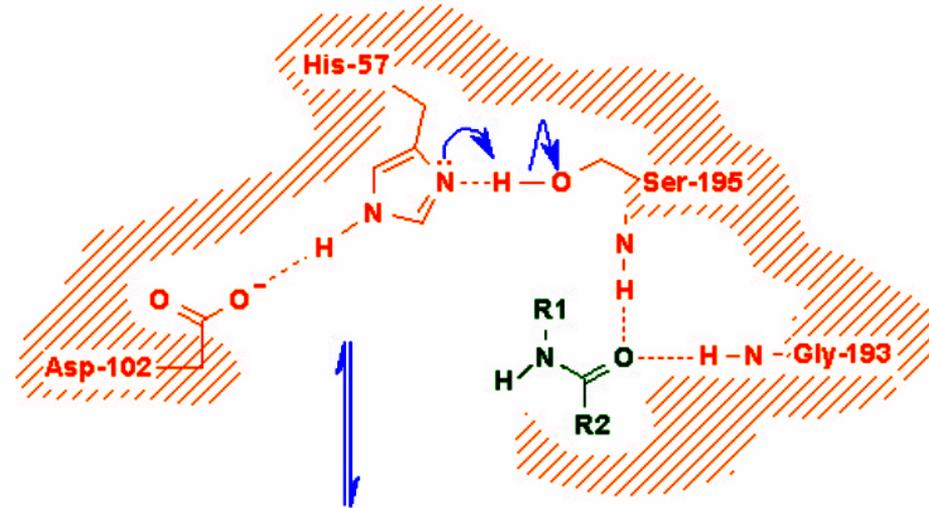
# Meccanismo 1

- 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.



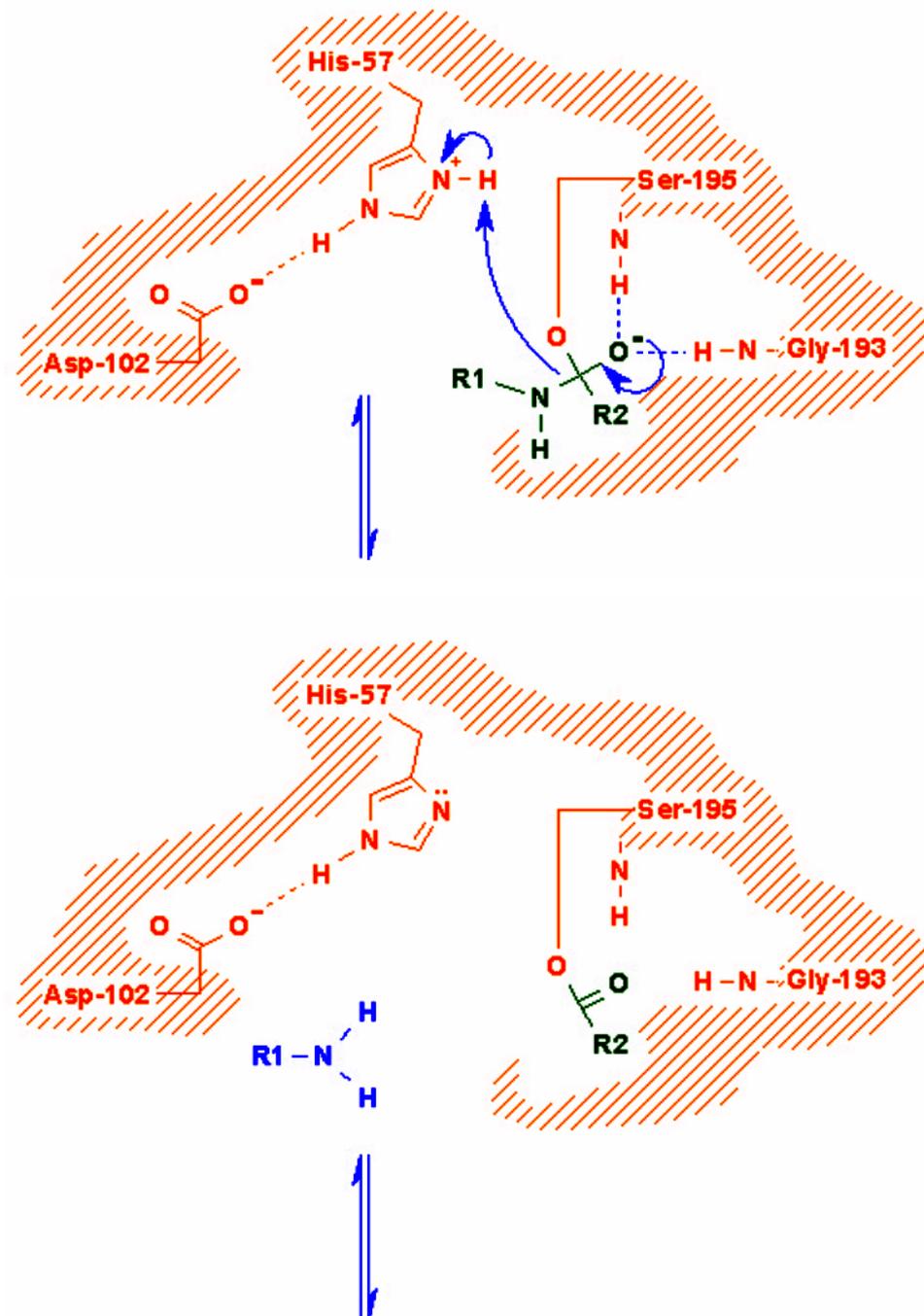
# Meccanismo 2

- 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.



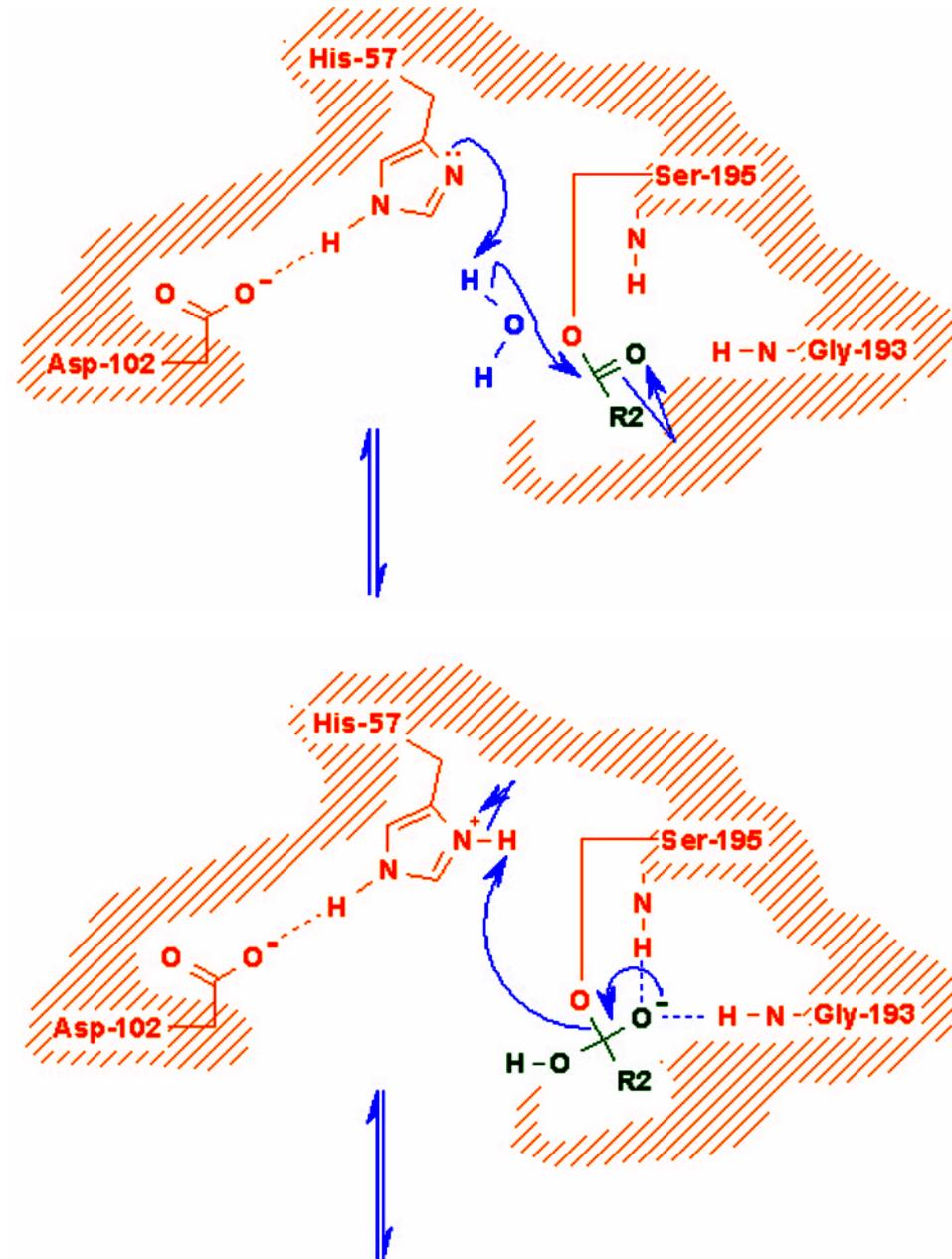
# Meccanismo 3

- 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.



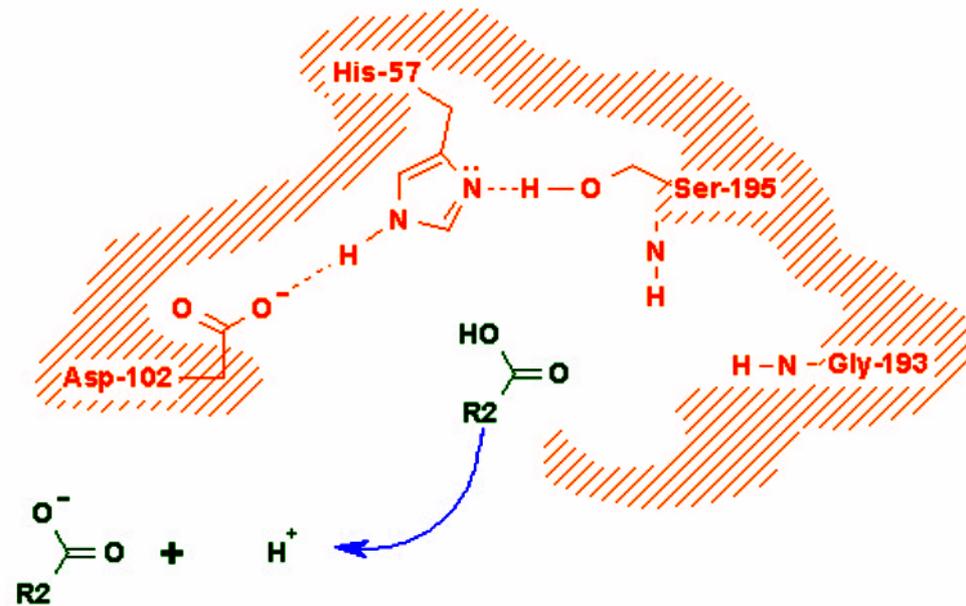
# Meccanismo 4

- Si libera quindi la porzione del polipeptide con  $\text{NH}_2$  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.



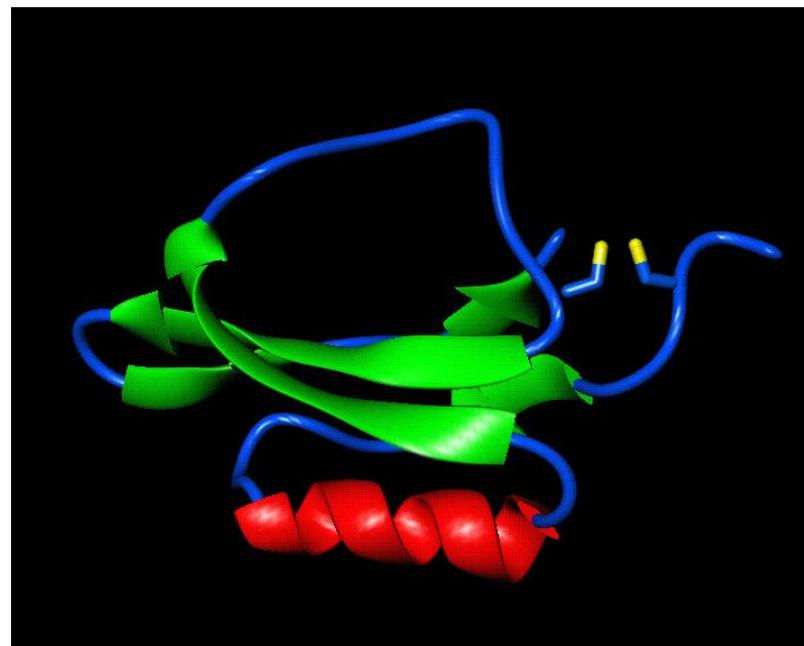
# Meccanismo 5

- 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.



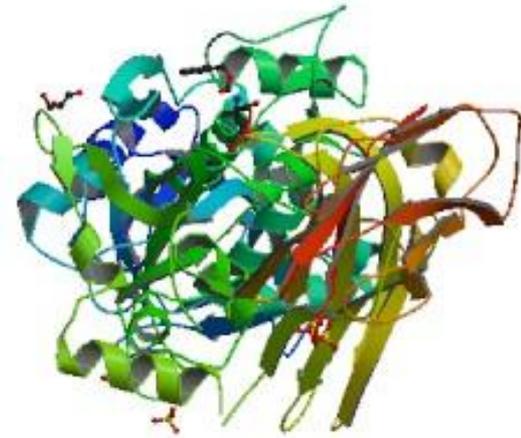
# Inibitori delle proteasi

- 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.

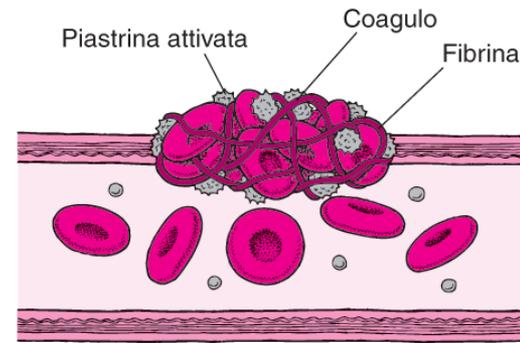
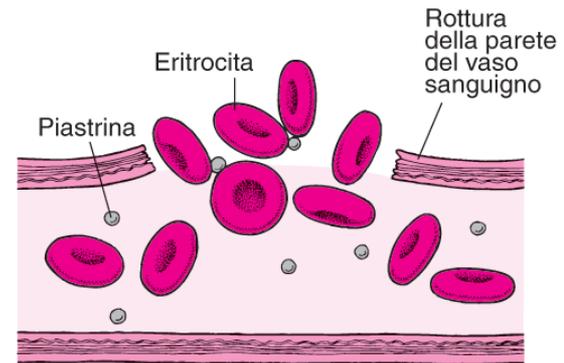
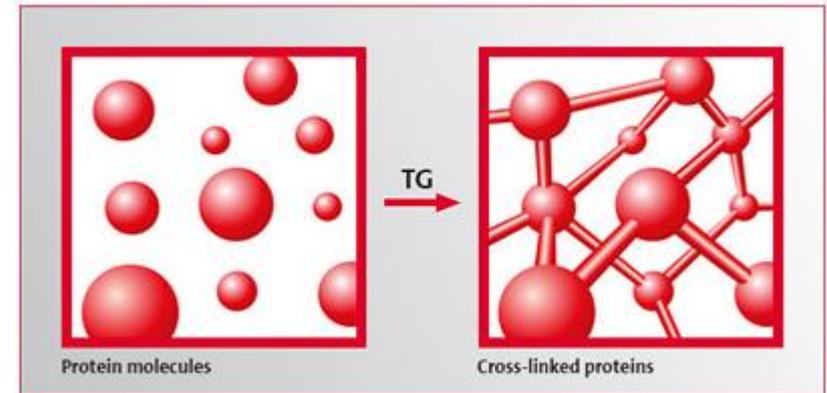
# Le transglutaminasi

- 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