

IZBIRNI PREDMET, APRIL/MAJ 2013
STRUKTURA IN FUNKCIJA PROTEINOV

4. predavanje:
Tudi proteini umrejo

Matjaž Zorko

E-mail: zorko@mf.uni-lj.si

DOSEGLJIVO: <http://ibk.mf.uni-lj.si/teaching/objave/izbir1MZ.htm>

Proteinsko metabolično obračanje (turnover):

Proteini živijo različno dolgo.

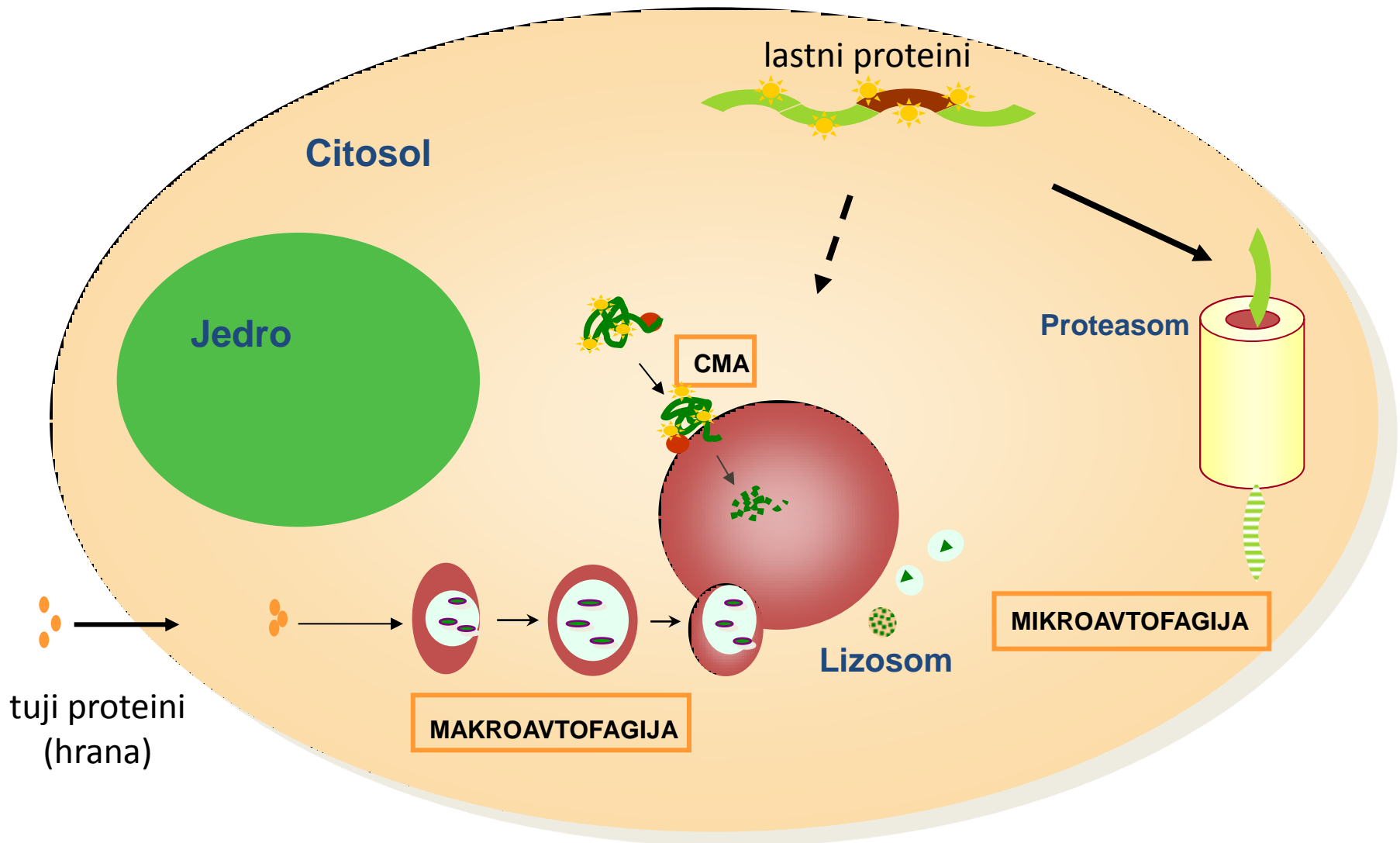
Razpolovni časi številnih encimov v jetrih so od 0.2 do 150 ur.

Pravilo N-konca: Razpolovni časi proteinov so povezani s strukturo N-terminalne AK.

- ◆ Proteini z N-terminalnim Met, Ser, Ala, Thr, Val, ali Gly imajo razpolovne čase večje od 20 ur.
- ◆ Proteini z N-terminalnim Phe, Leu, Asp, Lys, ali Arg pa razpolovne čase manjše od 3 minut.

PEST proteini, bogati s Pro (P), Glu (E), Ser (S), Thr (T), se hitreje razgradijo kot drugi proteini.

Proteolitični sistemi v celici



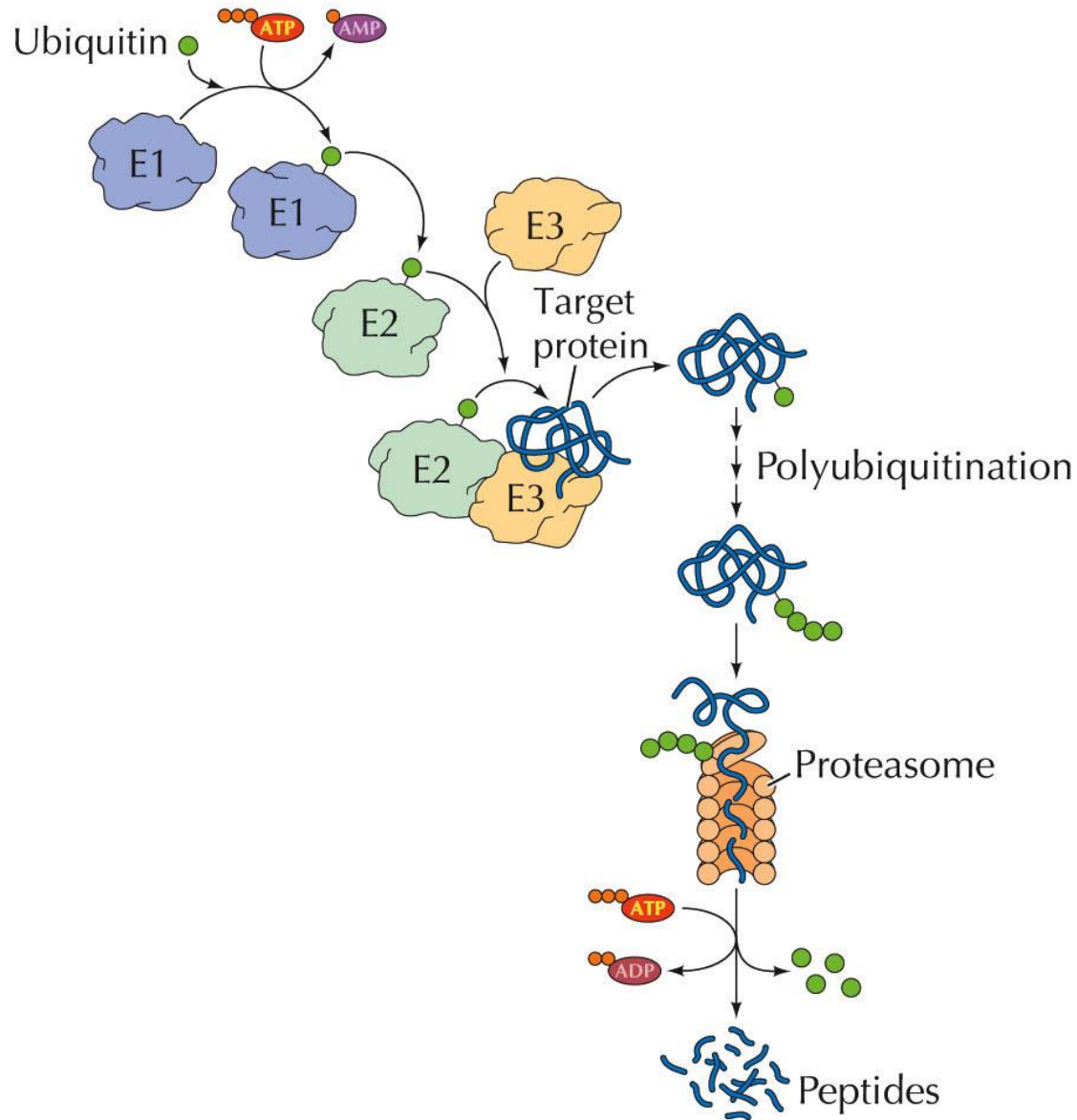
„Domači“ proteini se pretežno razgrajujejo v proteolitičnem kompleksu proteasomu. Najprej jih ustrezni encimi označijo za razgradnjo z vezavo malega, evolucijsko zelo ohranjenega, proteina **ubikvitina**.

Vzpostavi se izopeptidna vez med **terminalnim karboksilom ubikvitina in ϵ -amino skupino lizina** na „obsojenem“ proteinu.



ubiquitin PDB 1TBE

Proteasomska pot razgradnje proteinov

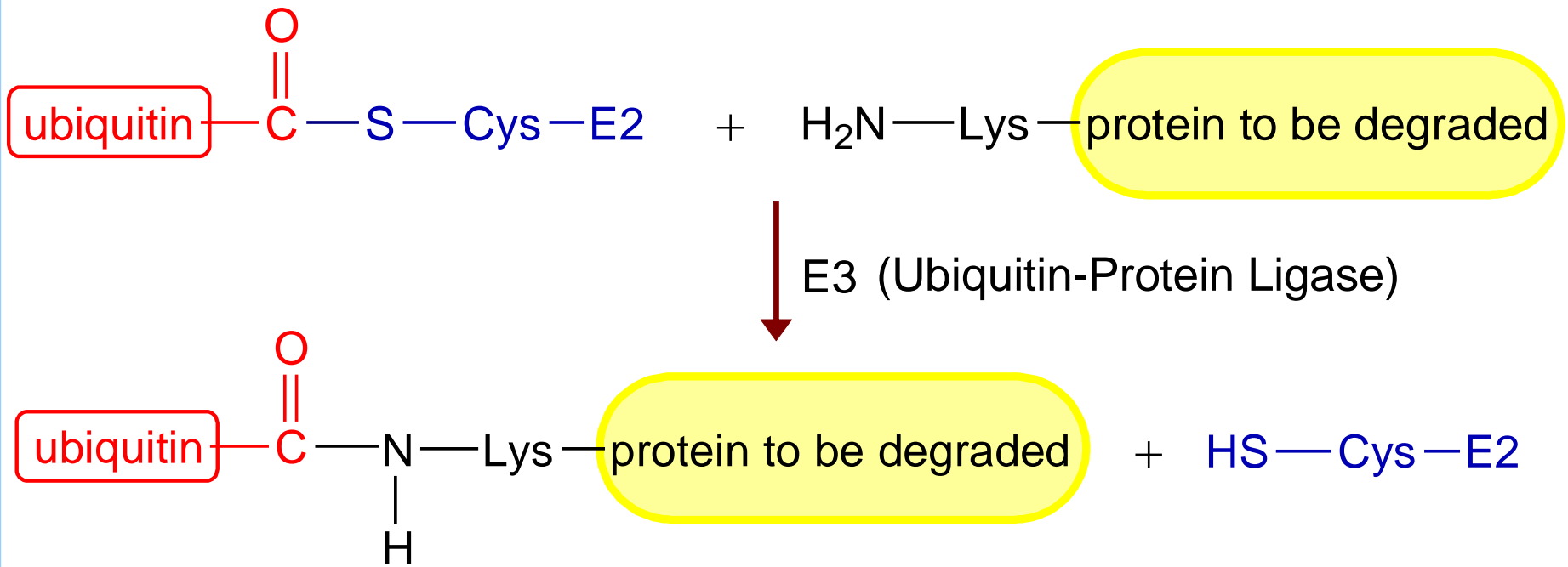


Razgradijo se delno denaturirani ali okvarjeni proteini, ki imajo specifično mesto razkrito, da ga prepozna aktivni center encima ubikvitin ligaza, ki tja ,pripne' ubikvitin.

Vezava ubikvitina na ,obsojeni' protein je sklopljena s hidrolizo **ATP**.

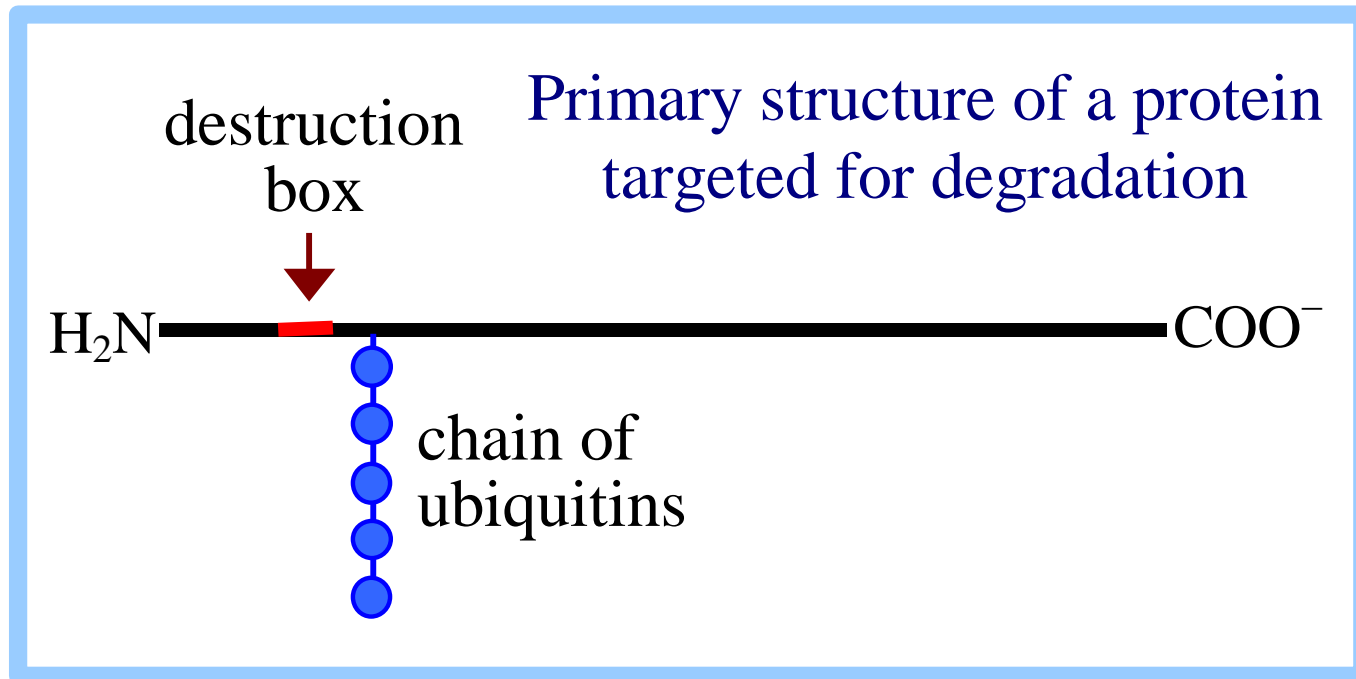
Delujejo trije encimi (E1, E2 & E3).

- ◆ Najprej se **terminalni karboksil ubikvitina** poveže s sulfhidrilno skupino (-SH) cisteina na **E1**. To je sklopljeno s hidrolizo ATP.
- ◆ Za tem se ubikvitin prenese na -SH cisteina na **ubikvitin-konjugacijskem encimu (E2)**.



Končno **ubikvitin-protein ligaza (E3)** prenese aktiviran ubikvitin na ϵ -amino skupino na Lys ,obsojenega' proteina (izopeptidna vez).

Poznamo veliko različnih **ubikvitin ligaz** z različno substratno specifičnostjo. En E3 je specifičen za N-konec (pravilo N-konca). Nekateri E3 so specifični za prav določene proteine.

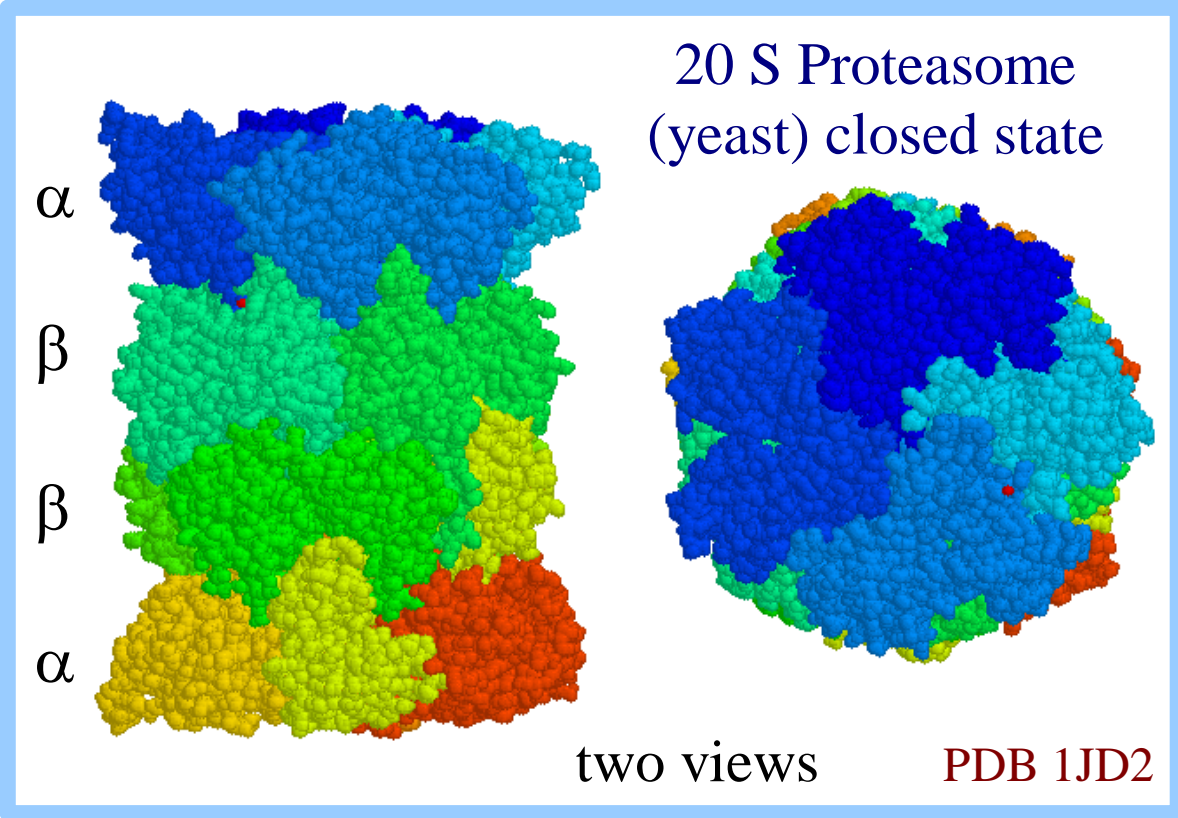


Več ubikvitinov se doda, dobimo **verigo ubikvitinov**.

Terminalni karboksil ubikvitina se veže na ϵ -amino skupino Lys na sosednjem ubikvitinu.

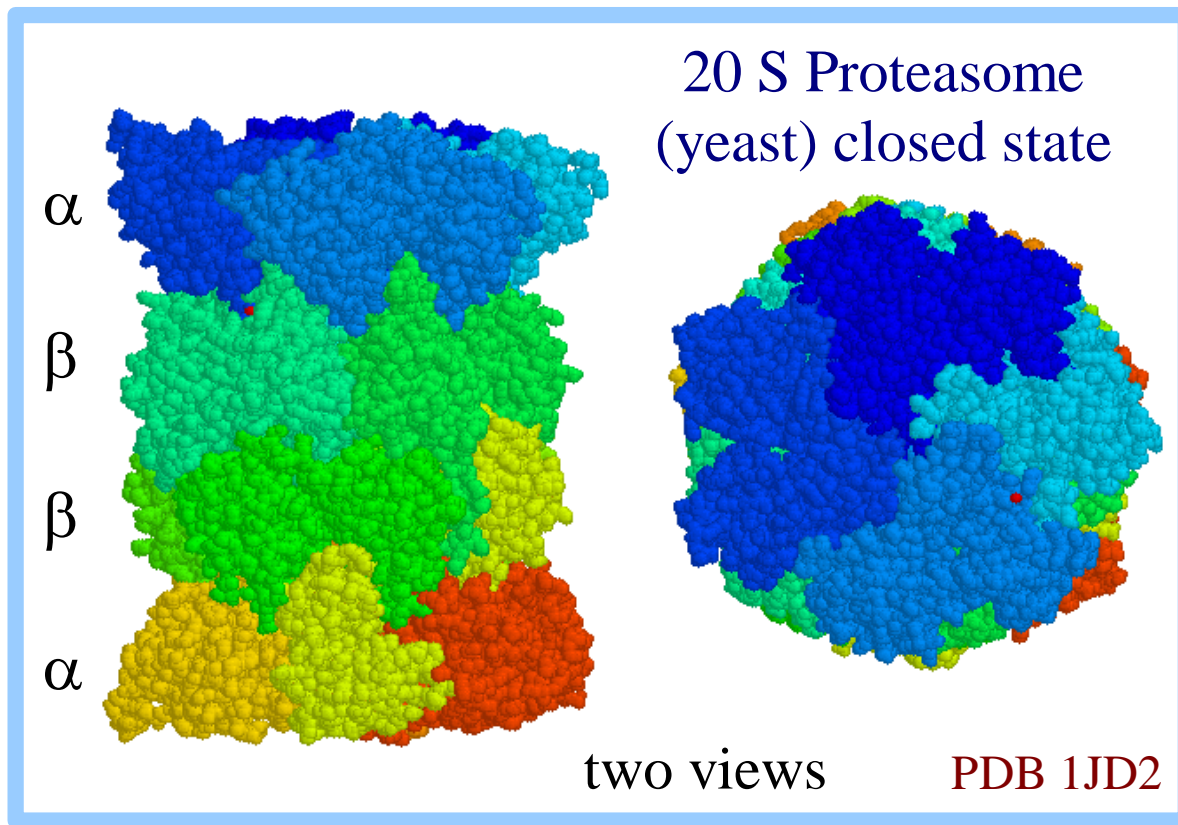
Veriga najmanj **4** ubikvitinov je znak, da se bo protein razgradil v proteasomu.

Proteasom: je velik proteinski kompleks, ki v jedru in citosolu eukariotskih celic omogoča nadzorovano razgradnjo proteinov.



Jedro proteasoma (**20S**) vsebuje 2 x14 različnih proteinov.

- ◆ 7 α -proteinov tvori α obroče na koncih valja.
- ◆ 7 β -proteinov tvori 2 centralna β obroča.

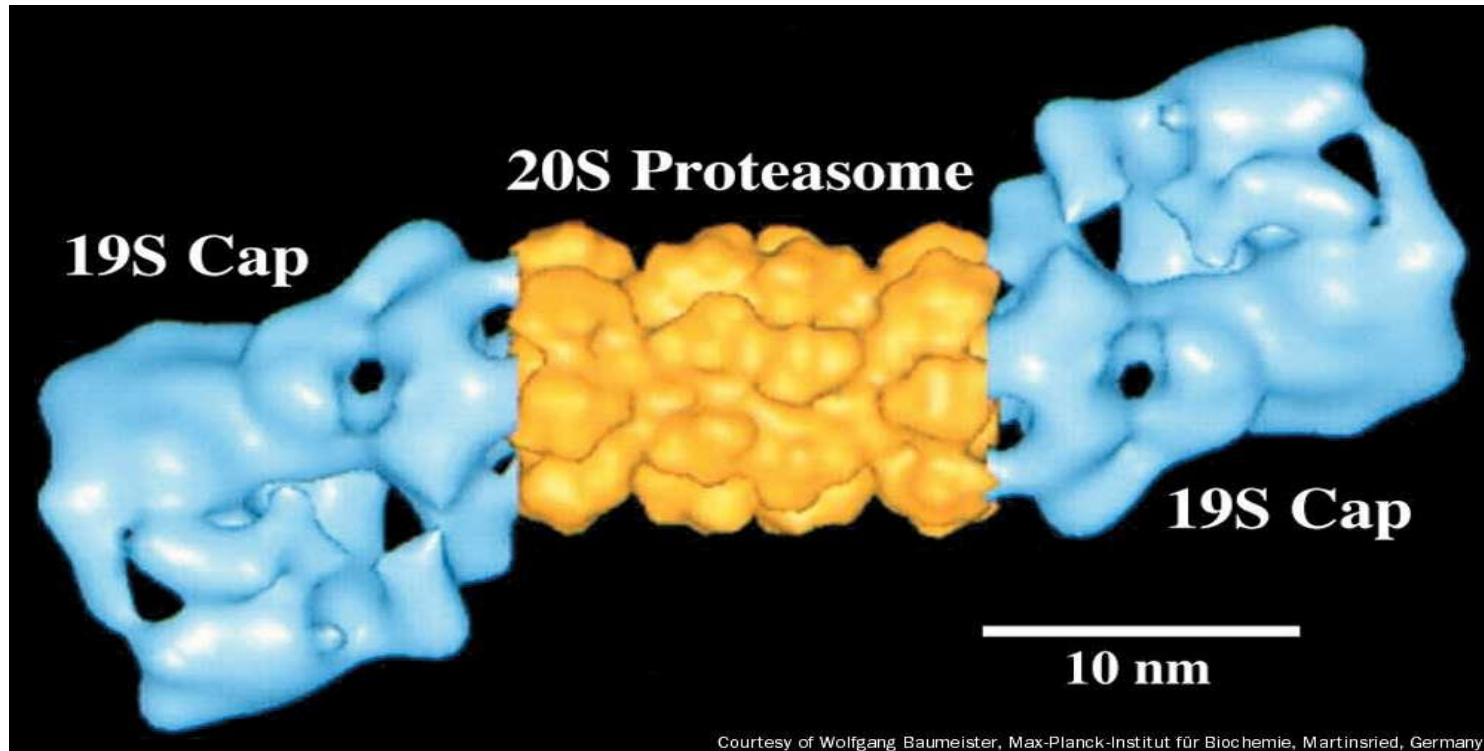


V jedru proteasoma je votlina (prostor) s 3 kompartmenti, ki jih povezujejo ozki prehodi.

3 β podenote imajo proteazno aktivnost z različno substratno specifičnostjo. Gre za **treoninske proteaze**, aktivni centri so znotraj votline.

Cilinder (jedro) proteasoma ima lahko dve vrsti pokrovov (cap) – manjši je 11S in večji 19S.

Vloga 19S pokrova je, da denaturira protein, preden se bo v jedru proteasoma razgradil. Za to je potrebna hidroliza ATP. Poleg tega ta pokrov odcepi ubikvitine, da se lahko ponovno uporabijo.

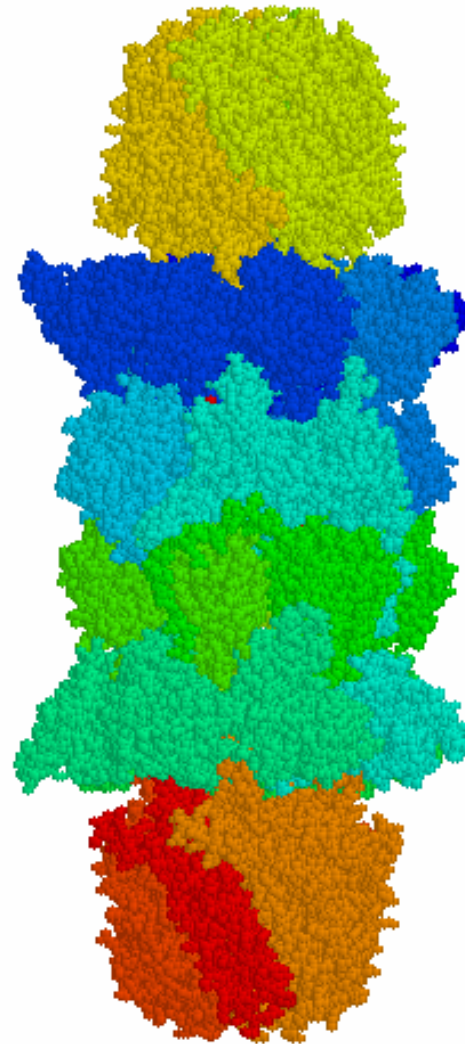


Manjši 11S pokrov:

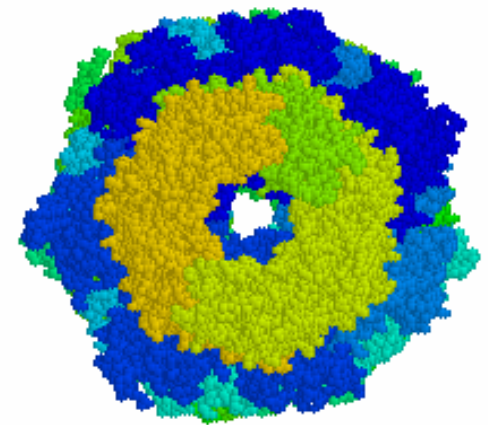
Omogoča, da majhni, **neubikvirani proteini** & **peptidi** lahko pridejo v jedro proteasoma. To **ne** zahteva hidrolize ATP. Za vstop morajo biti vsaj delno razviti.

11S pokrov je **kupolast**, na vrhu ima veliko luknjo.

Vezava 11S pokrova povzroči konformacijsko spremembo jedra, da se odpre vhod vanj.



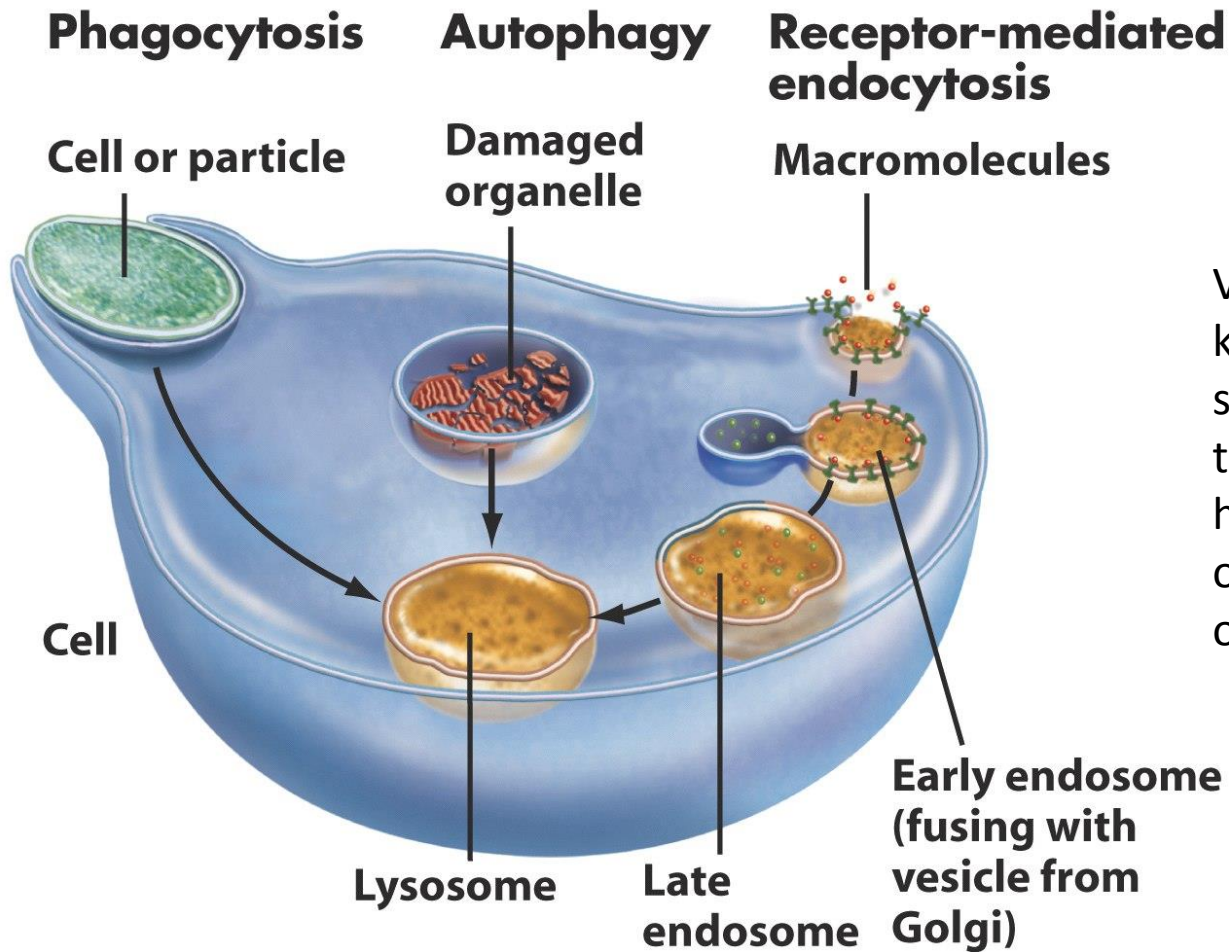
20 S Proteasome
(yeast), with
11S Regulator
(Trypanosome)



two views

PDB 1FNT

„Tuji“ proteini in del „domačih“ proteinov se razgradi v lizosomih

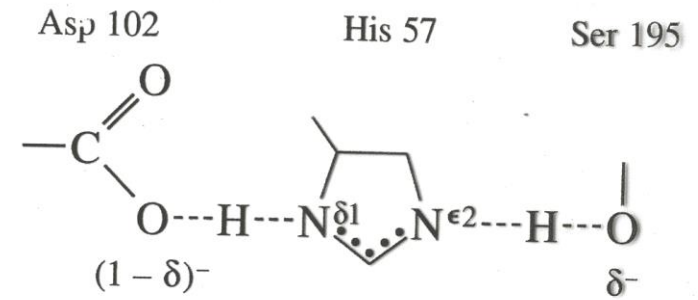
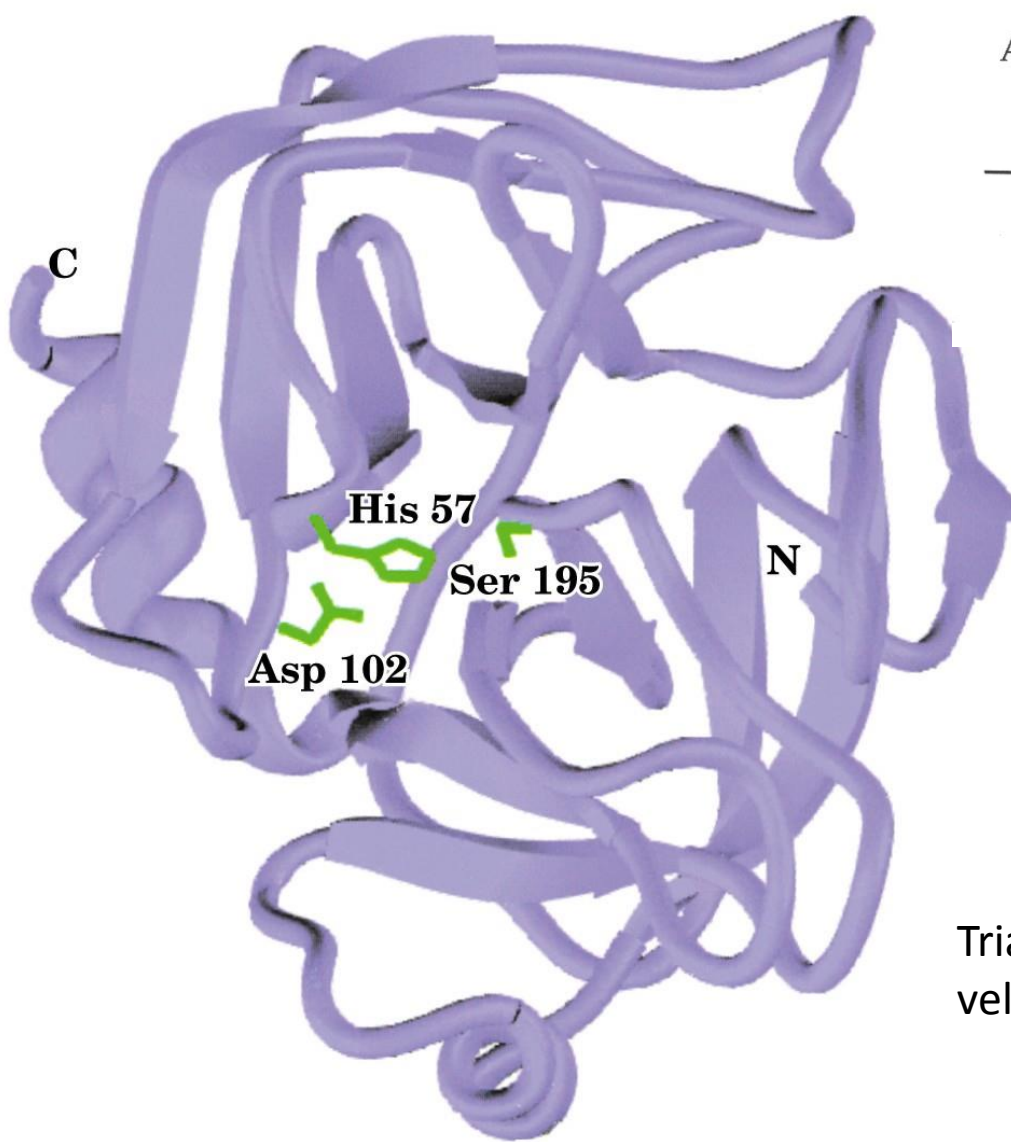


V lizosomih so proteinaze katepsini z zelo raznovrstno specifičnostjo. Poleg njih je tam še vrsta drugačnih hidrolitičnih encimov. Vsi optimalno delujejo pri pH okrog 4,5.

Proteinaze v lizosomih so KATEPSINI, razlikujejo po ‚aktivni‘ AK in po specifičnosti.

Vrste proteinaz (tudi katepsinov):

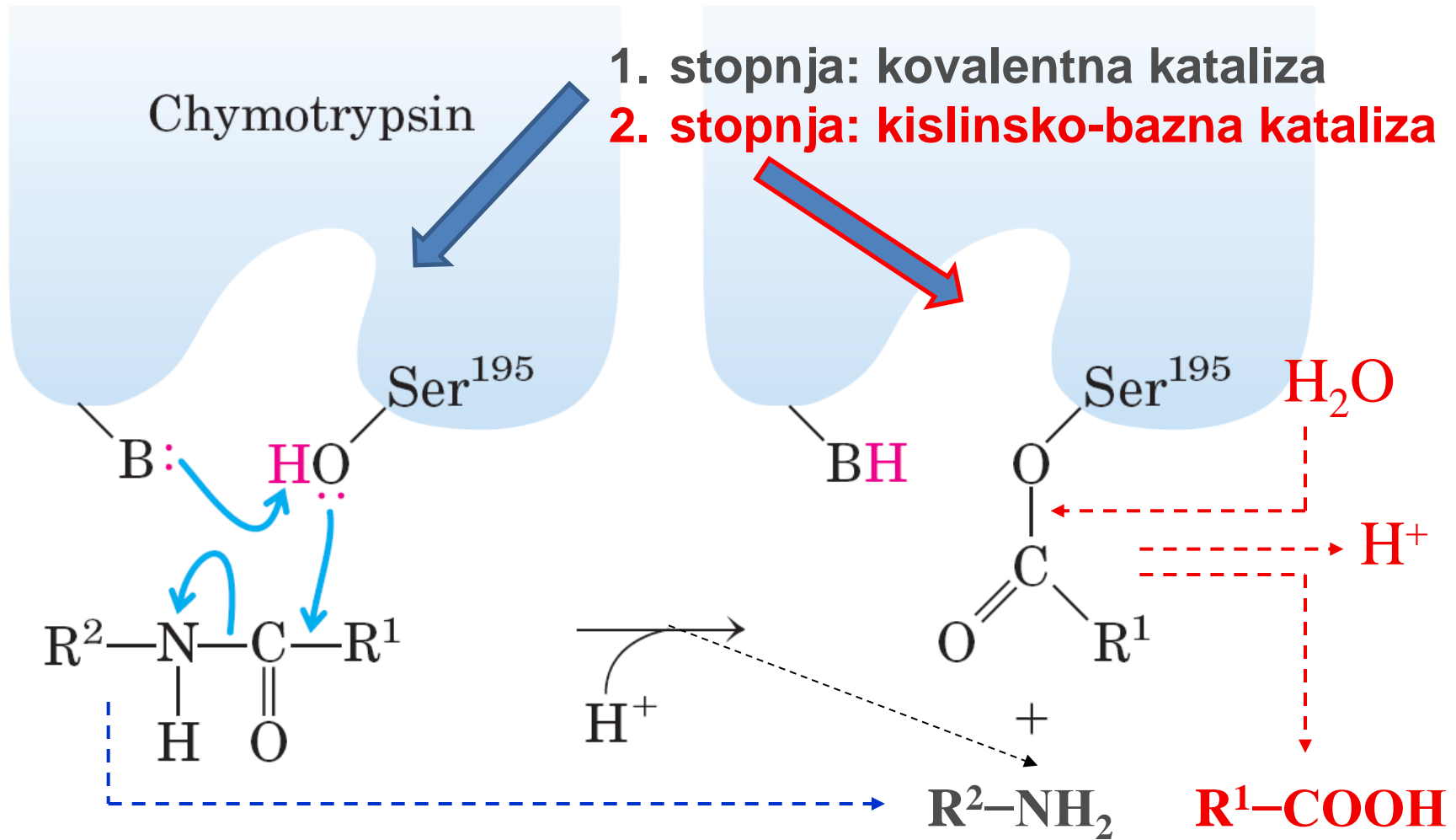
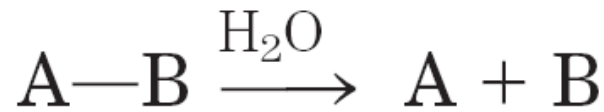
- serinske proteinaze (treoninske proteinaze)
- tiolne proteinaze
- karboksilne proteinaze
- metalo-proteinaze



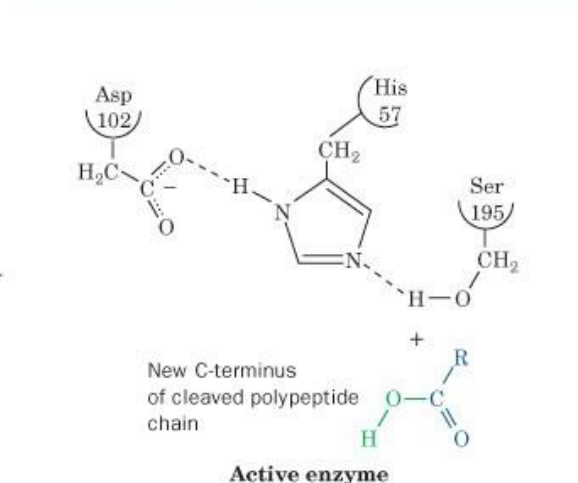
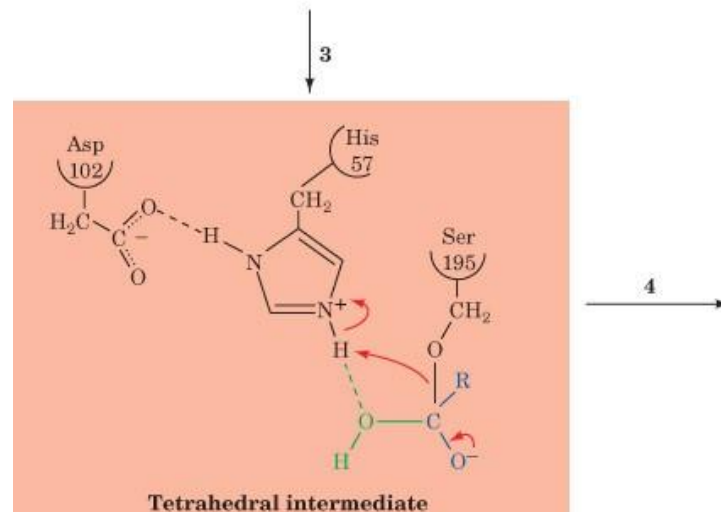
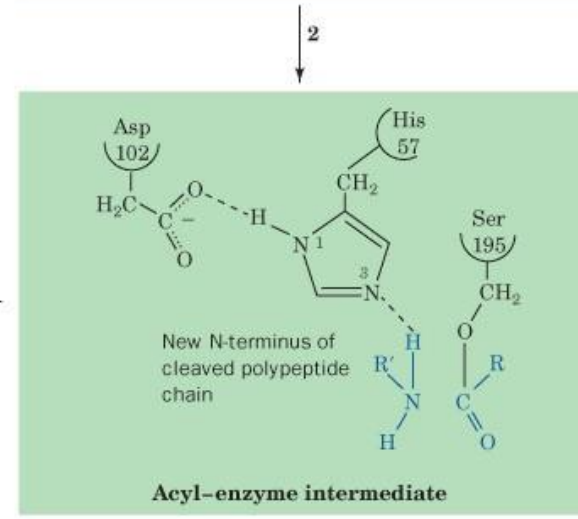
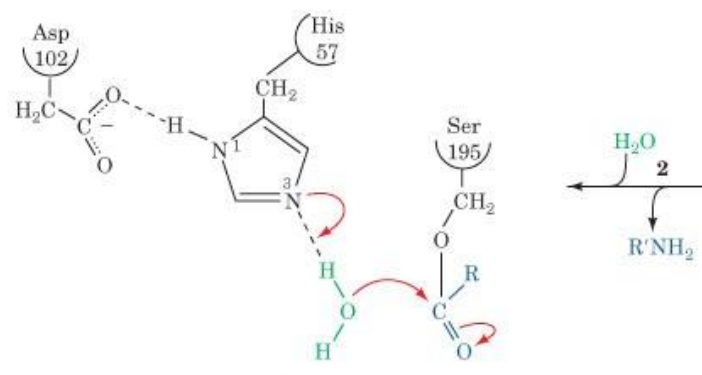
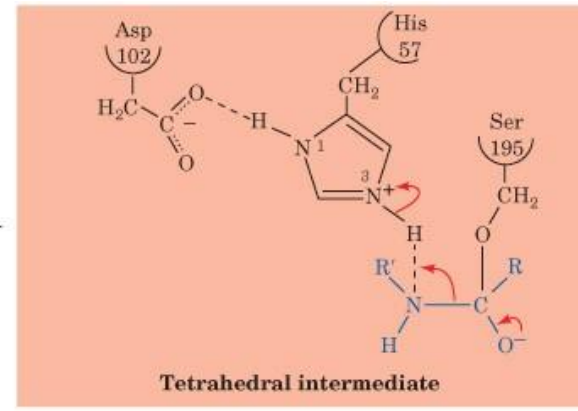
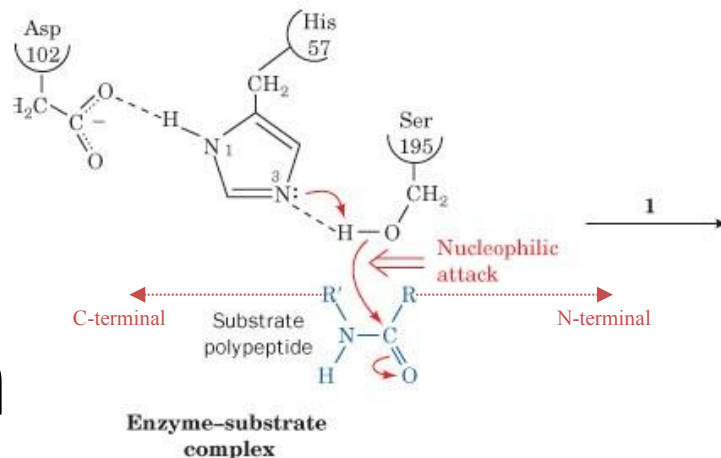
katalitična triada

Triada povzroči, da postane OH- od Ser veliko bolj reaktivna (nukleofilna).

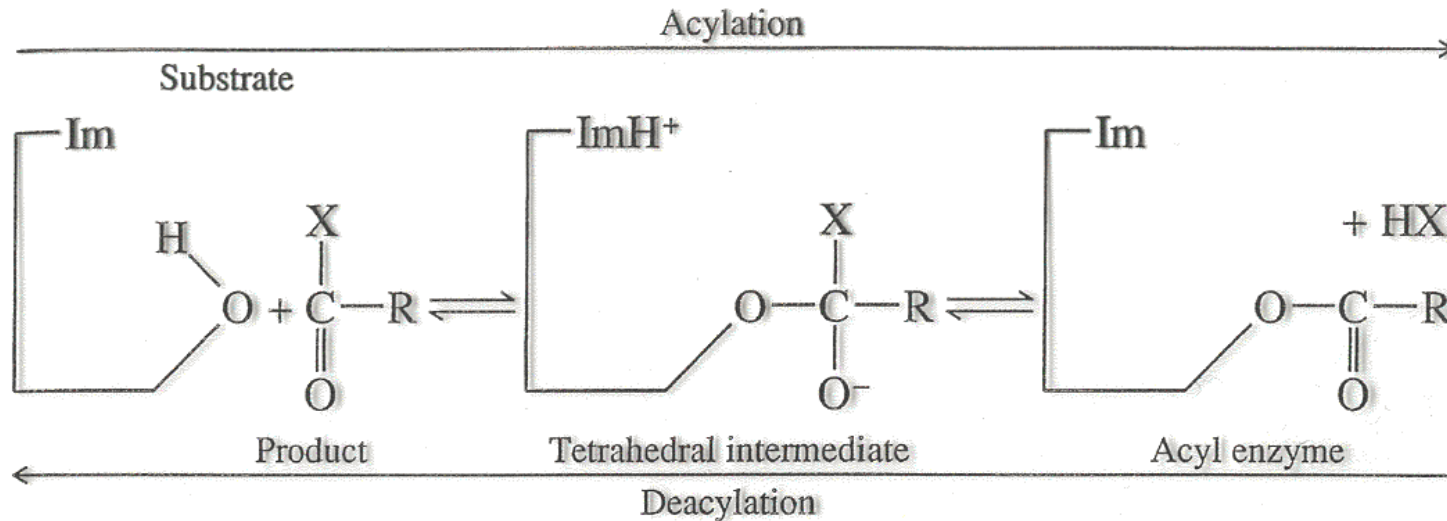
Struktura tripsina, tipične serinske proteinaze,
in njegova katalitična triada



Katalitični mehanizem serinskih proteinaz.

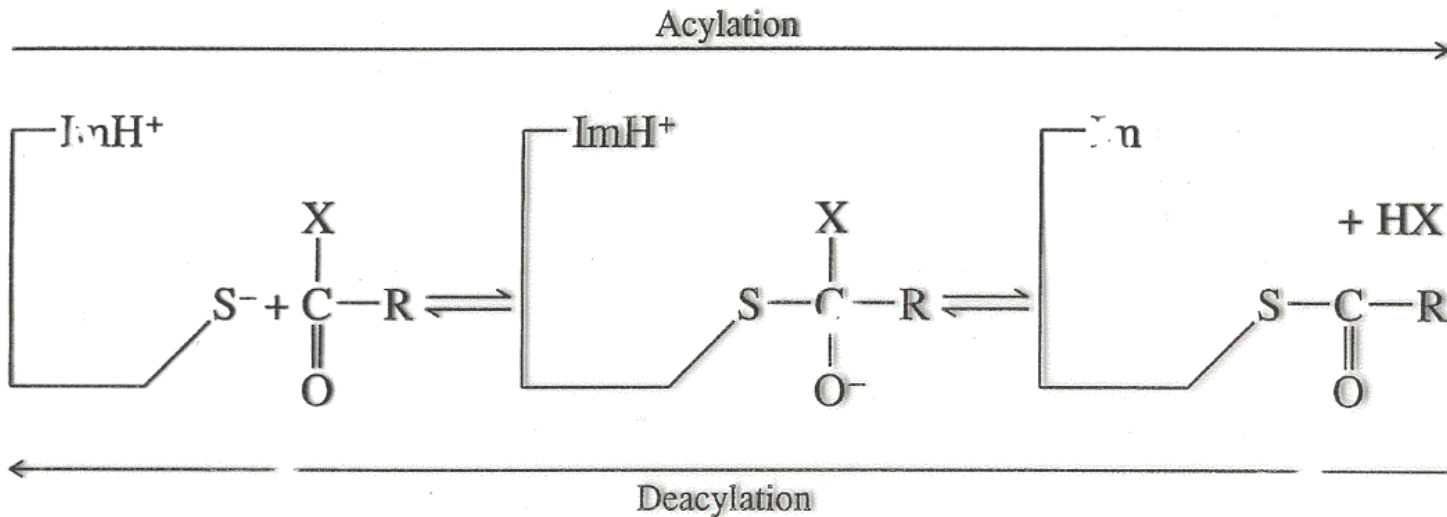


Serinske and tiolne proteinaze



A Serine protease

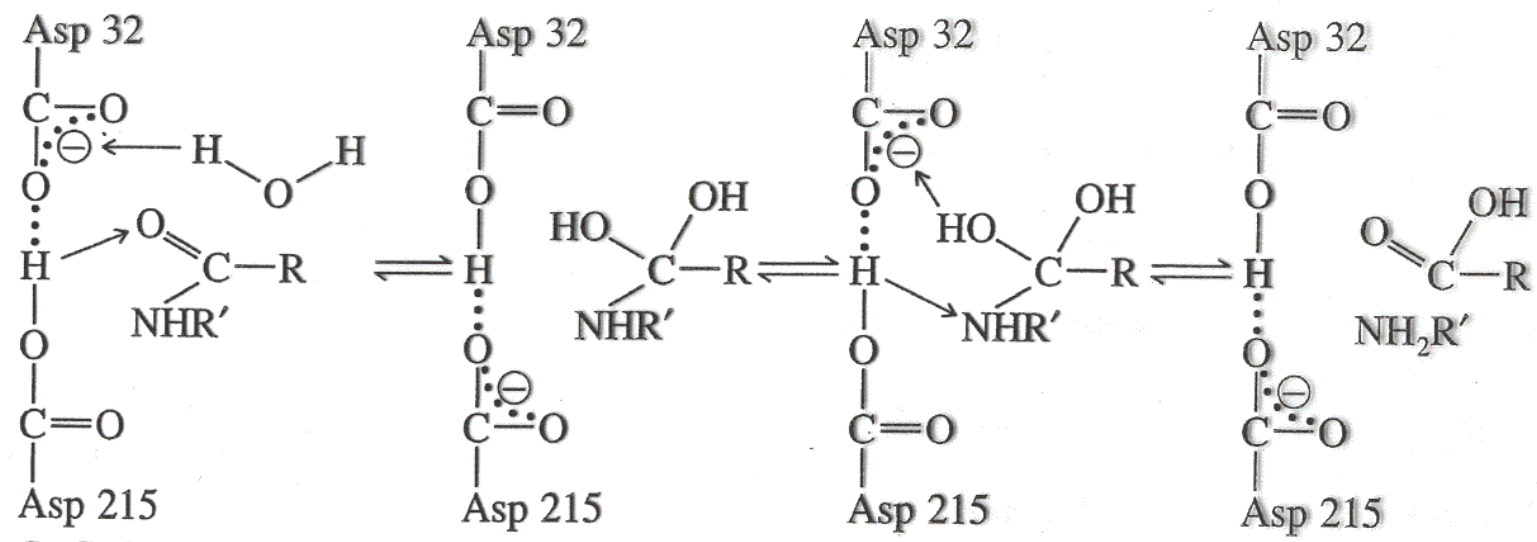
Katalitična triada aktivira OH- Ser



B Thiol protease

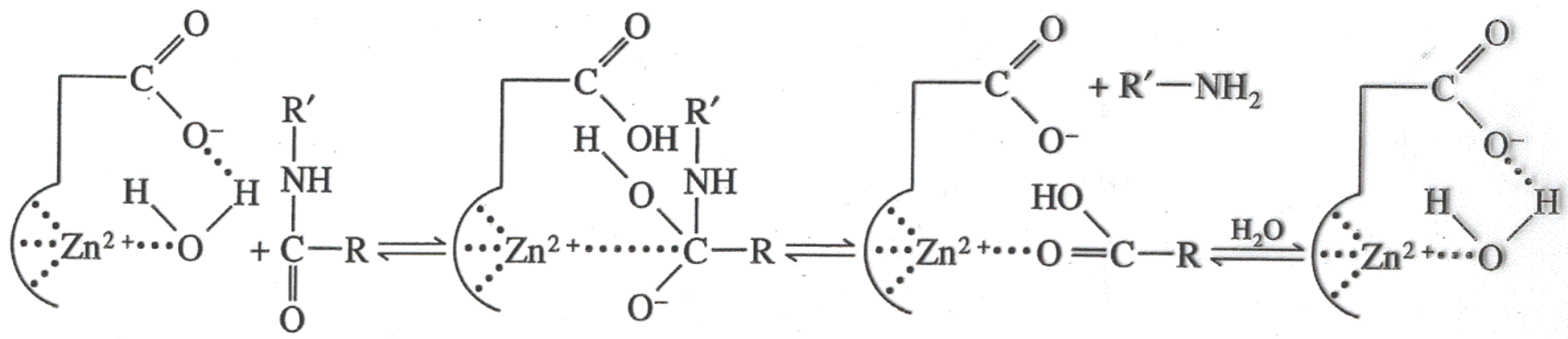
Katalitična triada aktivira SH- Cys

Karboksilne and metalo-proteinaze delujejo preko aktivirane molekule vode



C Carboxyl protease

Aktivno vlogo ima voda, ki jo aktivira COOH- skupina Asp



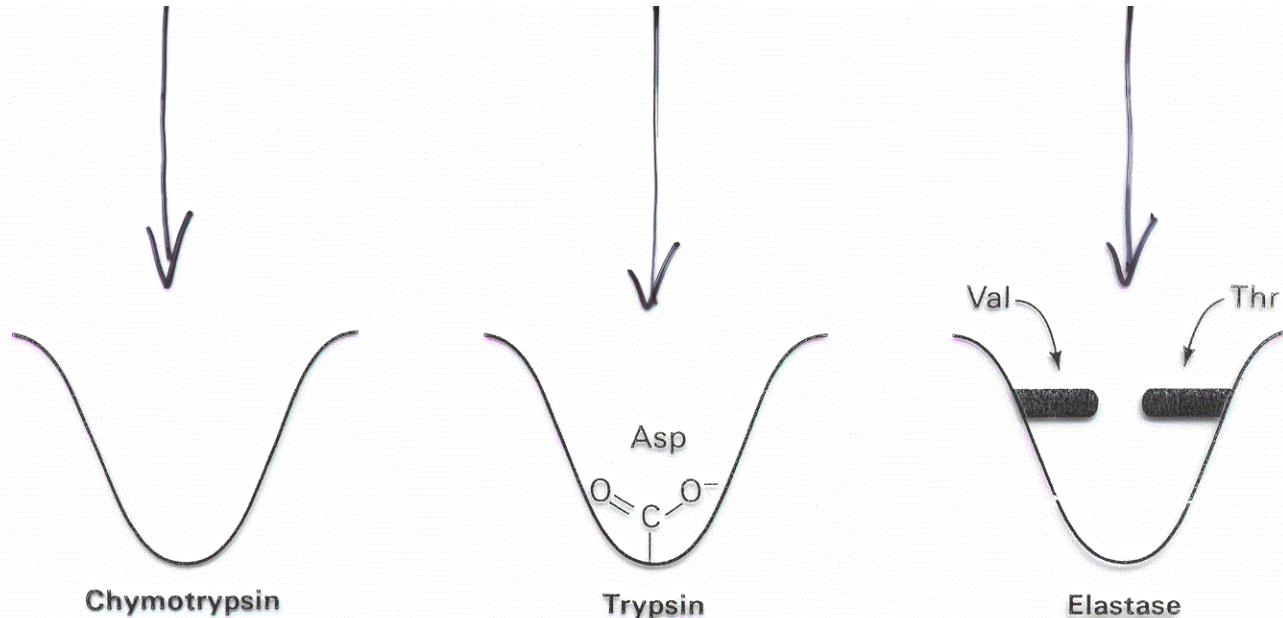
D Metallo protease

Aktivno vlogo ima voda, ki jo aktivira kovinski ion, največkrat Zn^{2+}

velike AK
(aromatične)

+ nabite AK
(Lys, Arg)

male AK
(Ala itd)



Katalitična reža v aktivnem centru določa specifičnost - razlikuje med radikali AK, ki je ob peptidni vezi, ki se bo razcepila (ta AK je seveda del tistega proteina, ki je substrat).

Kontrola kvalitete proteinov - povzetek

- Proteasomski sistem je glavno kontrolno mesto za razgradnjo poli-ubikvitiniranih proteinov.
- Nekateri proteini (specifična sekvenca in delno razvitje!) so mono-ubikvitinirani. Ti se verjetno prenesejo v lizosom.
- Lizosomi vsebujejo proteolitične encime katepsine , ki predvsem razgradijo ekstracelularne proteine ter le nekatere (mono-ubikvitirane) celici lastne proteine.
- Oba sistema potrebujemo za odstranjevanje ‘izrabljenih’ in napačno zvitih proteinov.
- Skoraj 50 % vseh sintetiziranih proteinov se takoj razgradi!