



Κυτταρική Βιολογία

Ενότητα **06** : Σύνθεση, αναδίπλωση, τροποποιήσεις και αποικοδόμηση πρωτεϊνών

Παναγιωτίδης Χρήστος
Τμήμα Φαρμακευτικής ΑΠΘ



Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





Σύνθεση, αναδίπλωση, τροποποιήσεις και αποικοδόμηση πρωτεϊνών



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



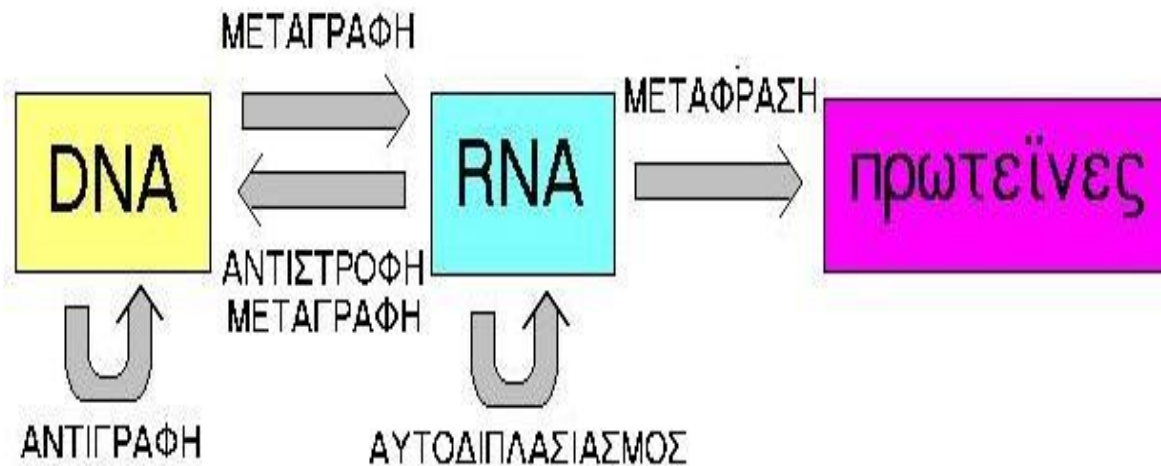
ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Σκοποί ενότητας

- Να περιγραφεί ο ρόλος του μεταφορικού RNA στη σύνθεση των πρωτεϊνών.
- Να κατανοηθεί η διαδικασία της μετάφρασης στους ευκαρυώτες και στους προκαρυώτες.
- Να κατανοηθεί ο ρόλος των συνοδών-πρωτεϊνών στην αναδίπλωση μίας πρωτεΐνης.
- Να περιγραφούν σημαντικές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις πρωτεϊνών.
- Να περιγραφεί η αποικοδόμηση μίας πρωτεΐνης.



Το βασικό δόγμα της μοριακής βιολογίας



http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%9A%CE%B5%CE%BD%CF%84%CF%81%CE%B9%CE%BA%CF%8C_%CE%B4%CF%8C%CE%B3%CE%BC%CE%B1_%CF%84%CE%B7%CF%82_%CE%BC%CE%BF%CF%81%CE%B9%CE%B1%CE%BA%CE%AE%CF%82_%CE%B2%CE%B9%CE%BF%CE%BB%CE%BF%CE%B3%CE%AF%CE%B1%CF%82

Μεταφορά της γενετικής πληροφορίας από νουκλεϊνικά οξέα σε πρωτεΐνες

1. Τα αμινοξέα έχουν τελείως διαφορετική σύσταση από το mRNA. Πως λοιπόν θα μπορέσουν να συνταχθούν με το mRNA κατά τη μετάφραση για να γίνει η αποκωδικοποίηση;
2. Πως είναι δυνατόν μια αλληλουχία τεσσάρων βάσεων να κωδικοποιεί 20 αμινοξέα; Ποιος είναι ο κώδικας;
3. Πως «έσπασε» ο κώδικας;



Ο γενετικός κώδικας

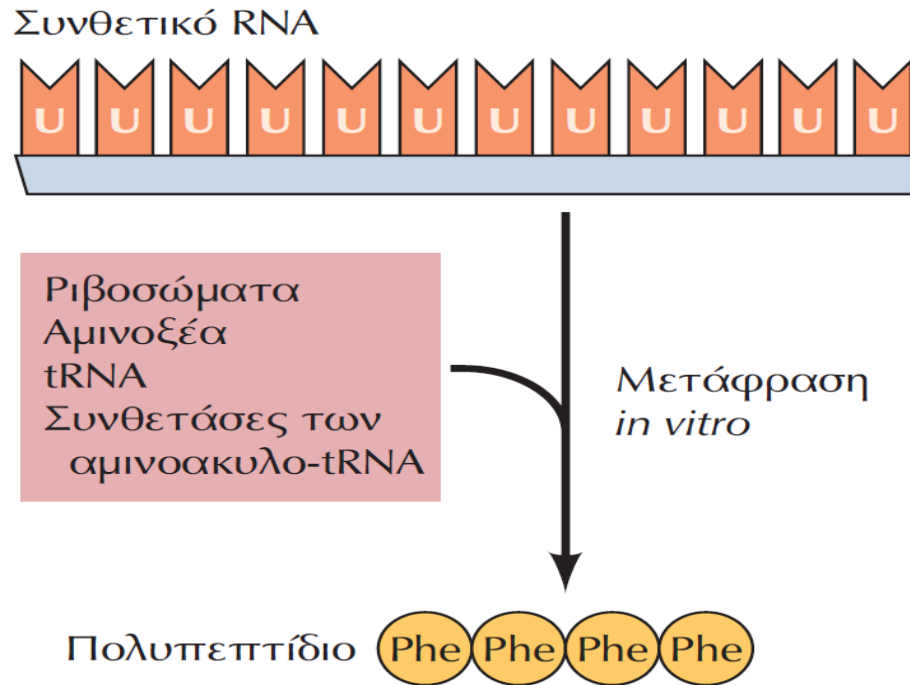
Πρώτη θέση	Δεύτερη θέση				Τρίτη θέση
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	stop	stop	A
	Leu	Ser	stop	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Πως έσπασε ο γενετικός κώδικας;



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Από τη μετάφραση *in vitro* ενός συνθετικού RNA που αποτελείται από διαδοχικά νουκλεοτίδια ουρακίλης προκύπτει ένα πολυπεπτίδιο που αποτελείται αποκλειστικά από φαινυλαλανίνη.

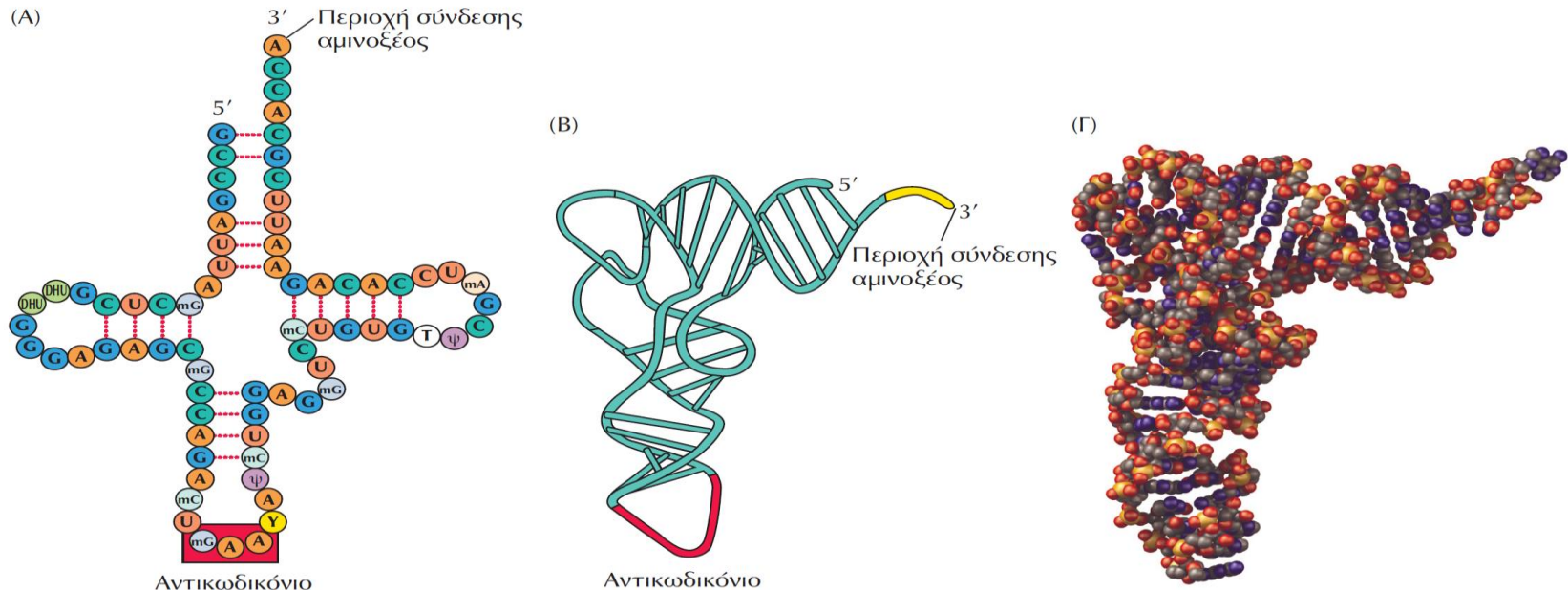


Το μεταφορικό RNA

- Για τη μετατροπή της γενετικής πληροφορίας (αλληλουχία νουκλεοτιδικών βάσεων) σε πρωτεΐνες (αλληλουχία αμινοξέων) απαιτείται ένα ενδιάμεσο μόριο, **το μεταφορικό RNA (tRNA).**



Η δομή του μεταφορικού RNA (tRNA)



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

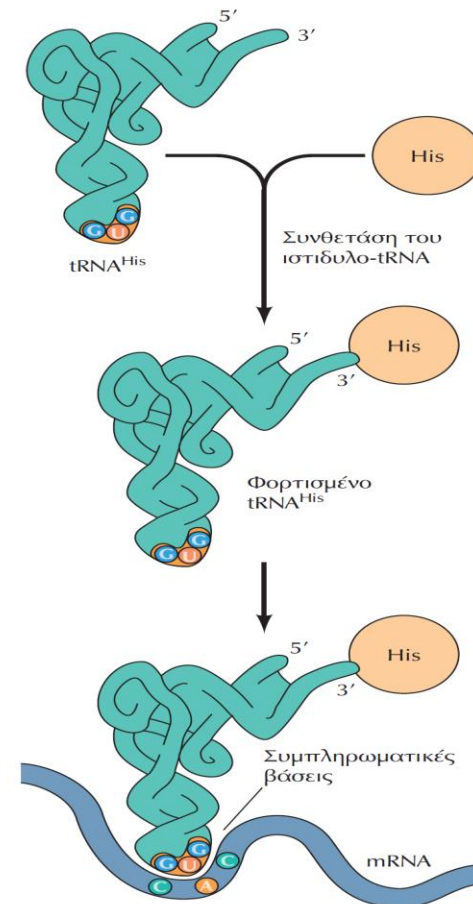
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Παρουσιάζεται η δομή του tRNA της φαινυλαλανίνης στον σακχαρομύκητα.
- (Α) Το tRNA απεικονίζεται στη μορφή του «τριφυλλιού» και υποδεικνύονται οι βάσεις που ζευγαρώνουν μεταξύ τους. Οι τροποποιημένες βάσεις συμβολίζονται με mG (μεθυλογουανοσίνη), mC (μεθυλοκυτιδίνη), DHU (διυδροουριδίνη), T (ριβοθυμιδίνη), Y (μια τροποποιημένη πουρίνη, συνήθως αδενοσίνη) και ψ (ψευδοουριδίνη).
- (Β) Το tRNA απεικονίζεται στην αναδιπλωμένη σε σχήμα L μορφή του.
- (Γ) Χωροπληρωτικό μοντέλο του tRNA.



Το μεταφορικό RNA δρα ως προσαρμογέας

- Το μεταφορικό RNA λειτουργεί ως ένας προσαρμογέας κατά την πρωτεϊνοσύνθεση. Κάθε αμινοξύ (στο συγκεκριμένο παράδειγμα, η ιστιδίνη) προσδένεται στο 3' άκρο ενός εξειδικευμένου tRNA με τη βοήθεια του κατάλληλου ενζύμου (μιας συνθετάσης των αμινοακυλο-tRNA). Κατόπιν, τα φορτισμένα με αμινοξύ μόρια tRNA αλληλεπιδρούν με το mRNA μέσω δεσμών υδρογόνου μεταξύ συμπληρωματικών βάσεων και στοιχίζουν τα αμινοξέα με την αλληλουχία των βάσεων του mRNA.

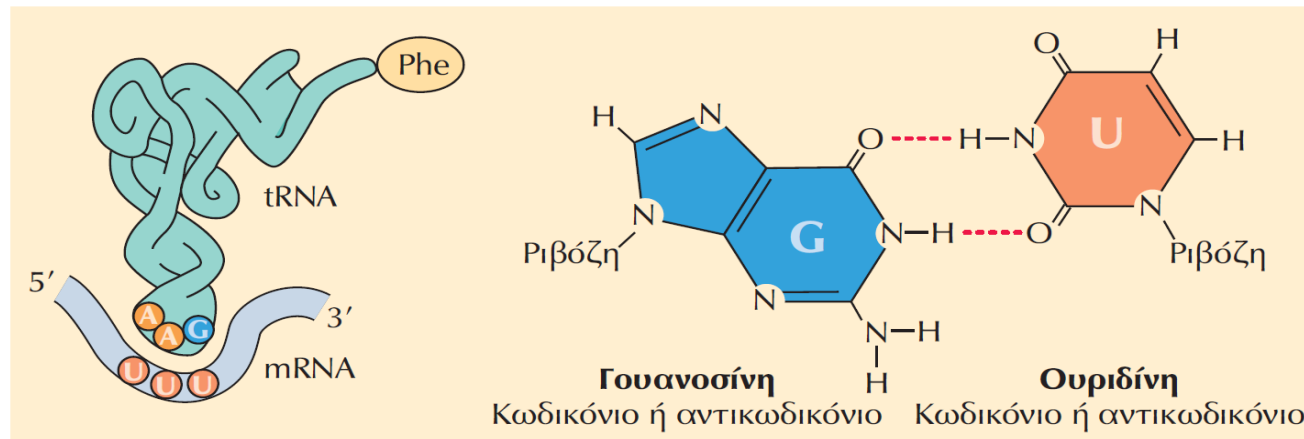
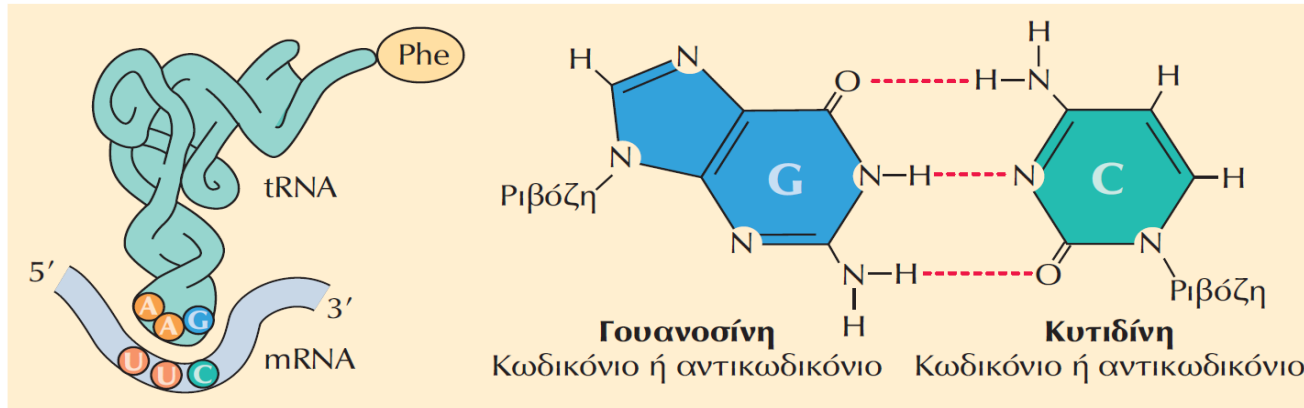


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Δεσμοί υδρογόνου καθορίζουν το ζευγάρισμα κωδικονίου-αντικωδικονίου

Ζευγάρισμα του tRNA της φαινυλαλανίνης

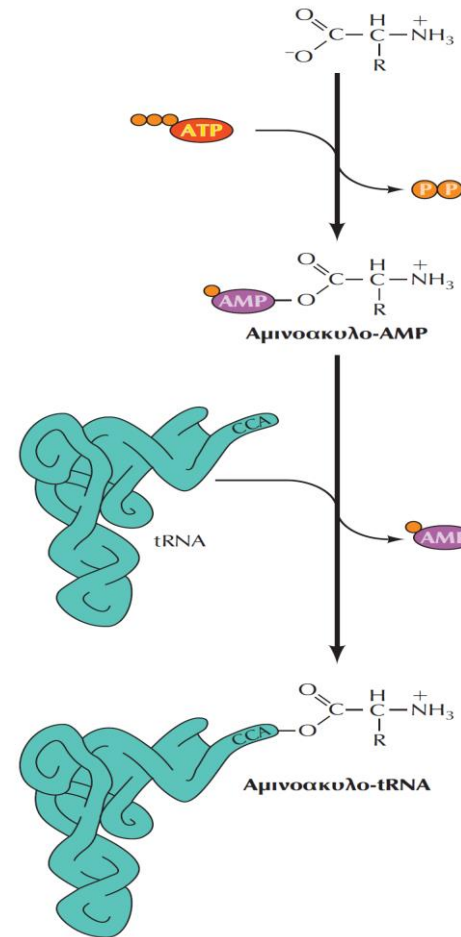


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

Η πρόσδεση του αμινοξέως στο tRNA

- Αρχικά, συνδέεται στο αμινοξύ ένα AMP, ώστε να σχηματιστεί ένα ενδιάμεσο μόριο αμινοακυλο-AMP. Στο επόμενο βήμα, το αμινοξύ μεταφέρεται στο 3' άκρο CCA του αντίστοιχου tRNA με ταυτόχρονη απελευθέρωση του AMP. Και τα δύο βήματα της αντίδρασης καταλύονται από τη συνθετάση αμινοακυλο-tRNA.

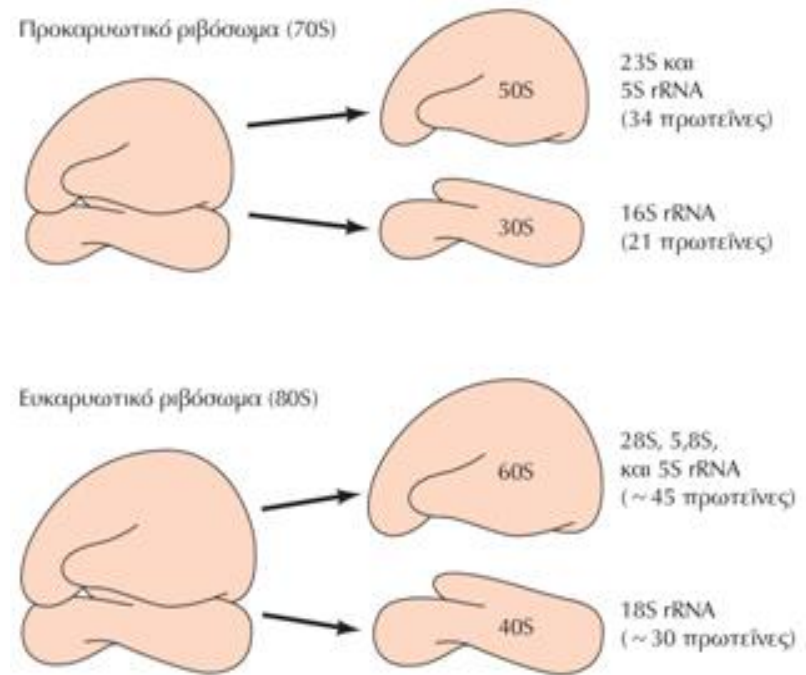


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Ριβοσωμάτια: χώροι αποκωδικοποίησης της γενετικής πληροφορίας

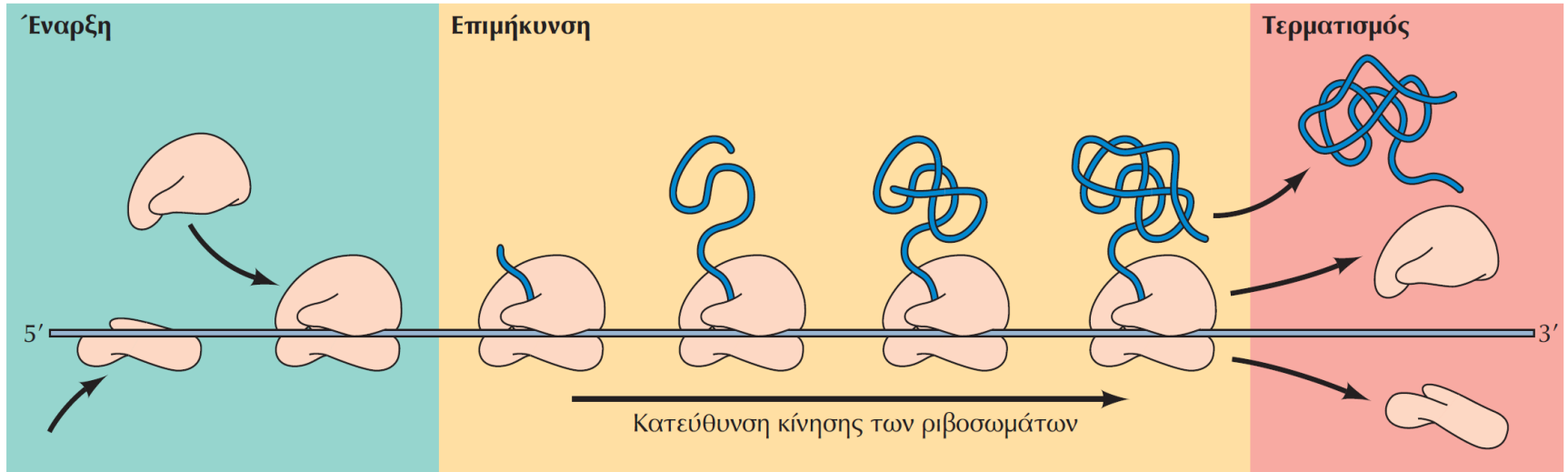
- Τα συστατικά των προκαρυωτικών και των ευκαρυωτικών ριβοσωμάτων. Τα πλήρη προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά ριβοσώματα αναφέρονται ως 70S και 80S αντίστοιχα, με βάση τον συντελεστή καθίζησής τους κατά την υπερφυγοκέντριση. Αποτελούνται από μία μεγάλη και μία μικρή υπομονάδα, οι οποίες συνίστανται από ριβοσωμικές πρωτεΐνες και ριβοσωμικά RNA.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Τα στάδια της πρωτεϊνοσύνθεσης



Το ριβόσωμα προσδένεται στο κωδικόνιο έναρξης του mRNA.

Η πολυπεπτιδική αλυσίδα επιμηκώνεται με την προσθήκη αμινοξέων.

Όταν το ριβόσωμα συναντήσει ένα κωδικόνιο τερματισμού, το ολοκληρωμένο πολυπεπτιδίο απελευθερώνεται και οι δύο υπομονάδες του ριβοσώματος αποσπώνται από το mRNA.

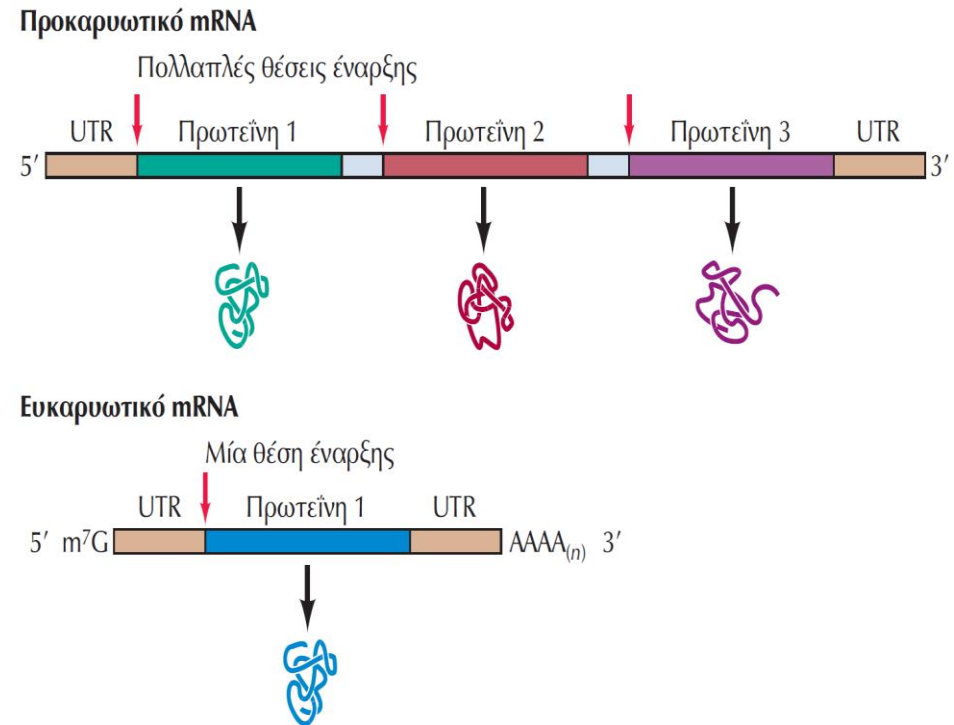
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Διαφορετική οργάνωση προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών mRNAs

- Τόσο τα προκαρυωτικά όσο και τα ευκαρυωτικά mRNA φέρουν μη μεταφραζόμενες περιοχές (UTR) στο 5' και στο 3' άκρο τους. Τα ευκαρυωτικά mRNA φέρουν επίσης μία καλύπτρα 7-μεθυλογουανοσίνης (m7G) στο 5' άκρο τους και μία ουρά πολυ(A) στο 3' άκρο τους. Τα προκαρυωτικά mRNA είναι συχνά πολυσιτρονικά, κωδικοποιούν δηλαδή πολλαπλές πρωτεΐνες, καθεμία από τις οποίες μεταφράζεται από ένα ανεξάρτητο ανοικτό αναγνωστικό πλαίσιο. Με ελάχιστες εξαιρέσεις, τα ευκαρυωτικά mRNA είναι μονοσιτρονικά, κωδικοποιούν δηλαδή ένα μόνο πολυπεπίδιο.

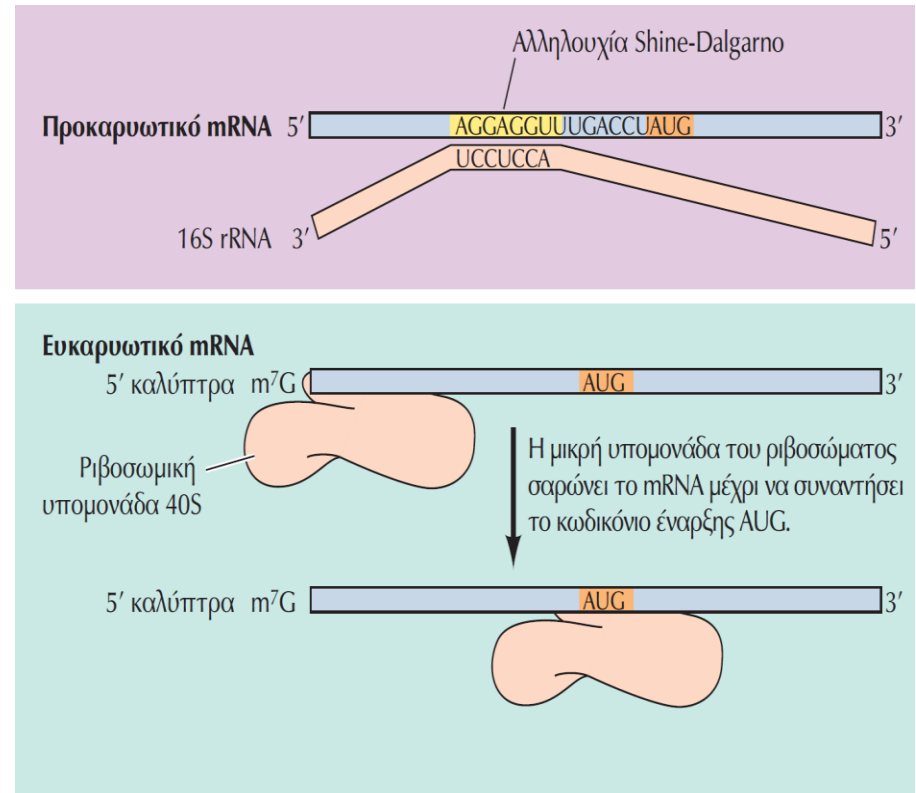


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Προκαρυωτικά και ευκαρυωτικά σήματα έναρξης της μετάφρασης

- Οι θέσεις έναρξης της μετάφρασης στους προκαρυωτικούς οργανισμούς χαρακτηρίζονται από την παρουσία της αλληλουχίας Shine-Dalgarno, η οποία προηγείται του κωδικονίου έναρξης AUG. Μέσω δεσμών υδρογόνου που αναπτύσσονται ανάμεσα στις βάσεις της αλληλουχίας Shine-Dalgarno και τις συμπληρωματικές προς αυτές βάσεις μιας αλληλουχίας κοντά στο 3' άκρο του rRNA, επιτυγχάνεται η σωστή διεύθυνση του mRNA σε σχέση με το ριβόσωμα, προκειμένου να ξεκινήσει η πρωτεϊνοσύνθεση.

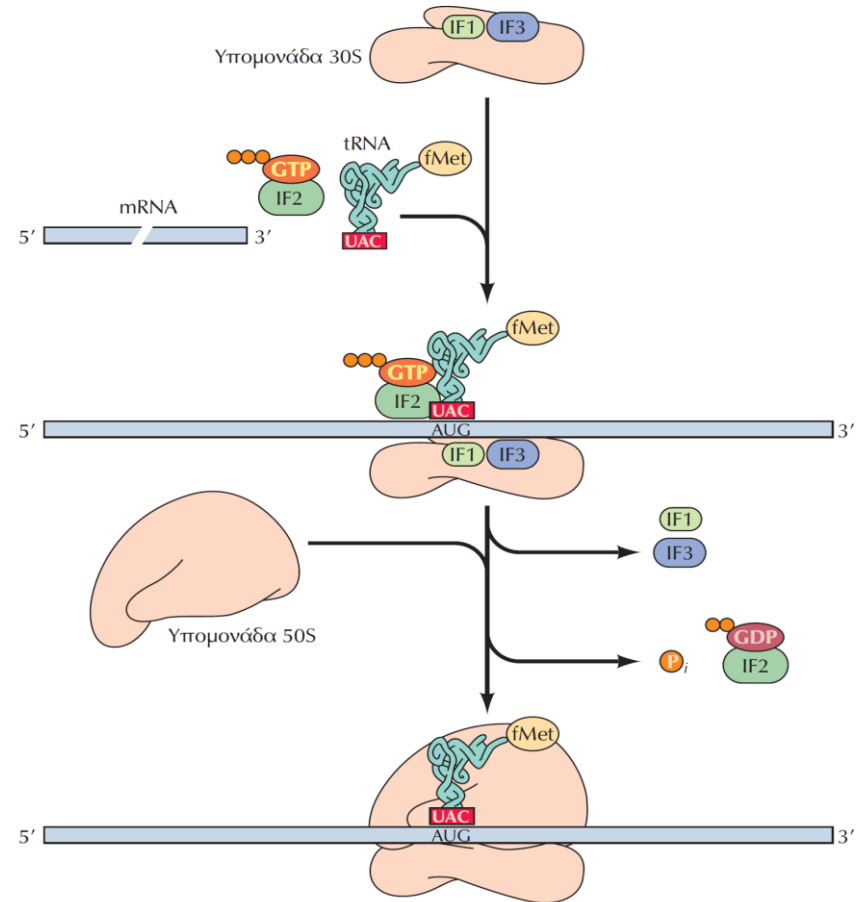


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Η έναρξη της μετάφρασης στα βακτήρια

- Αρχικά, στη ριβοσωμική υπομονάδα 30S προσδένονται οι παράγοντες έναρξης IF1 και IF3. Κατόπιν, στο σύμπλοκο αυτό προσδένονται το mRNA, το εναρκτήριο N φορμυλομεθειονυλο-tRNA (fMet-tRNA) και ο IF2 (συνδεδεμένος με GTP). Τότε ελευθερώνονται οι IF1 και IF3 και στο σύμπλοκο προσδένεται η ριβοσωμική υπομονάδα 50S. Η πρόσδεση της μεγάλης ριβοσωμικής υπομονάδας προκαλεί την υδρόλυση του GTP και την απελευθέρωση του IF2 συνδεδεμένου με GDP.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

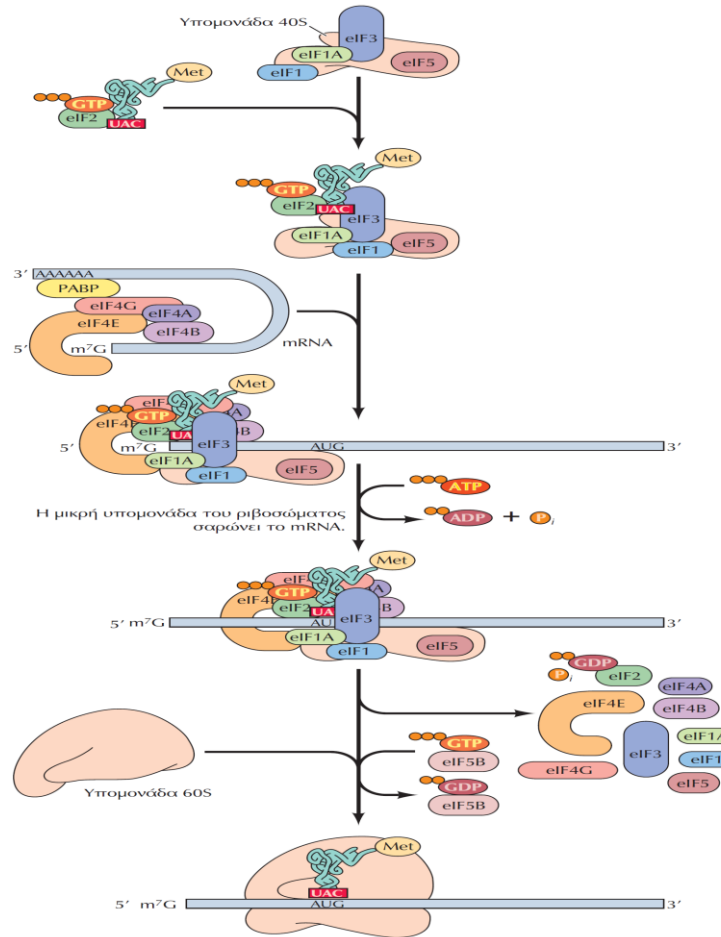


Η έναρξη της μετάφρασης στους ευκαρυώτες (1)

- Αρχικά, προσδένονται στη ριβοσωμική υπομονάδα 40S οι παράγοντες έναρξης eIF1, eIF1A, eIF3 και eIF5. Ακολούθως, το εναρκτήριο μεθειονυλο-tRNA συνδεδεμένο στον eIF2 προσδένεται επίσης στην υπομονάδα 40S. Η μεταφορά του mRNA στο σύμπλοκο αυτό πραγματοποιείται μέσω του eIF4E, του eIF4G, του eIF4A και του eIF4B. Κατόπιν, το ριβόσωμα κινείται καθοδικά προς το 3' άκρο και σαρώνει το mRNA μέχρι να συναντήσει το πρώτο κωδικόνιο έναρξης AUG. Η ενέργεια που απαιτείται για την κίνηση του ριβοσώματος εξασφαλίζεται από την υδρόλυση ATP. Όταν εντοπιστεί το εναρκτήριο AUG, ο eIF5 διεγείρει την υδρόλυση του μορίου GTP που βρίσκεται προσδεδεμένο στον eIF2. Το γεγονός αυτό προκαλεί την απελευθέρωση του eIF2 (σε σύμπλοκο με GDP) και άλλων παραγόντων έναρξης. Τότε, με τη βοήθεια του eIF5B προσδένεται στο υπάρχον σύμπλοκο και η ριβοσωμική υπομονάδα 60S.



Η έναρξη της μετάφρασης στους ευκαρυώτες (2)



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

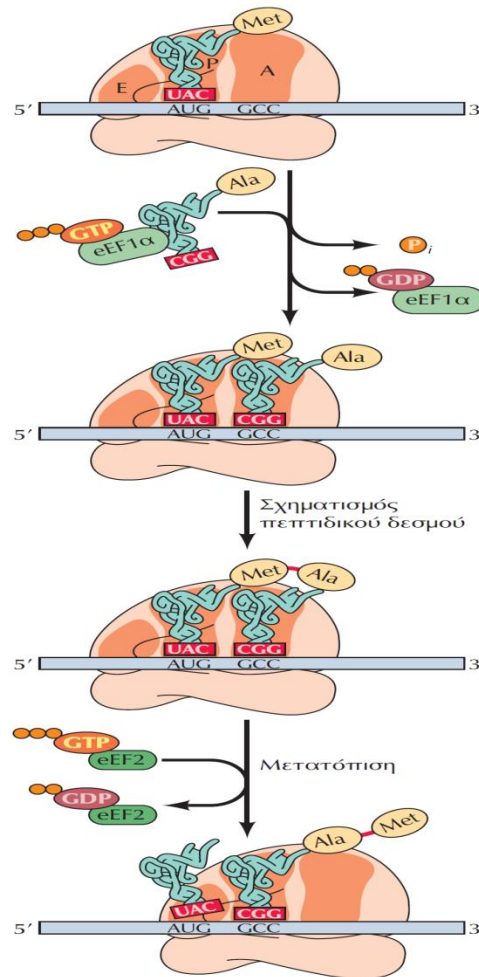
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

Η διαδικασία της επιμήκυνσης (1)

- Πάνω στο ριβόσωμα βρίσκονται τρεις θέσεις πρόσδεσης των tRNA: η P (πεπτιδυλο-, peptidyl), η A (αμινοακυλο-, aminoacyl) και η E (εξόδου, exit). Το εναρκτήριο μεθειονυλο-tRNA τοποθετείται στη θέση P, αφήνοντας άδεια τη θέση A. Το επόμενο αμινοακυλο-tRNA (για παράδειγμα, το tRNA της αλανίνης) μεταφέρεται στη συνέχεια στη θέση A από τον eIF1α (σε σύμπλοκο με GTP). Ακολουθεί η υδρόλυση του GTP και η απομάκρυνση του eIF1α (σε σύμπλοκο με GDP). Τώρα στη θέση A βρίσκεται το φορτισμένο tRNA της αλανίνης. Κατόπιν, συνδέονται με πεπτιδικό δεσμό η μεθειονίνη με την αλανίνη. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μεταφορά της μεθειονίνης στο αμινοακυλο-tRNA της θέσης A. Ακολούθως, το ριβόσωμα μετακινείται τρία νουκλεοτίδια κατά μήκος του mRNA. Λόγω της μετακίνησης αυτής, το πεπτιδυλο(Met-Ala) tRNA μετατοπίζεται στη θέση P, το αφόρτιστο tRNA μεταφέρεται στη θέση E και η θέση A μένει άδεια προκειμένου να δεχτεί το επόμενο φορτισμένο tRNA. Η μετατόπιση του ριβοσώματος διεκπεραιώνεται από τον eIF2 και συνοδεύεται από υδρόλυση GTP. Η διαδικασία που αναπαρίσταται σχηματικά στην εικόνα αυτή αφορά τα ευκαρυωτικά κύτταρα, αλλά είναι παρόμοια με αυτή που συμβαίνει στα βακτήρια.



Η διαδικασία της επιμήκυνσης (2)



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

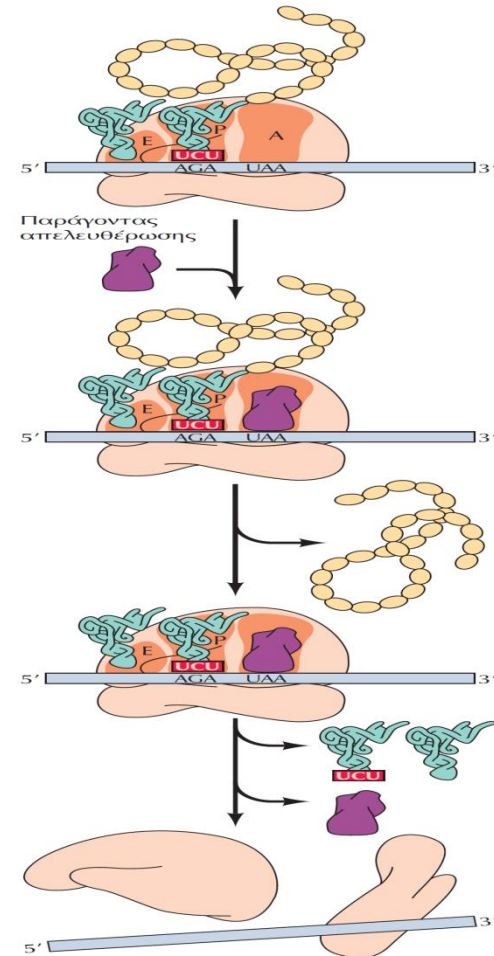
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

Κυτταρική Βιολογία
Τμήμα Φαρμακευτικής



Το τέλος της μετάφρασης

- Όταν στη θέση A εισέρχεται ένα κωδικόνιο τερματισμού (για παράδειγμα, το UAA), τότε αντί για κάποιο tRNA προσδένεται σε αυτό ένας παράγοντας απελευθέρωσης. Ο παράγοντας αυτός προκαλεί την απελευθέρωση της ολοκληρωμένης πολυπεπτιδικής αλυσίδας, η οποία ακολουθείται από την απελευθέρωση του tRNA και του mRNA από το ριβόσωμα.



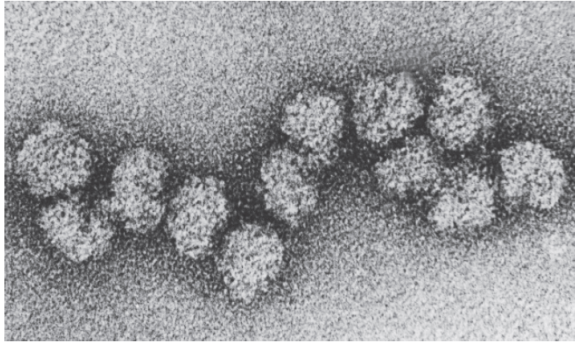
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Το πολυριβωσωμάτιο

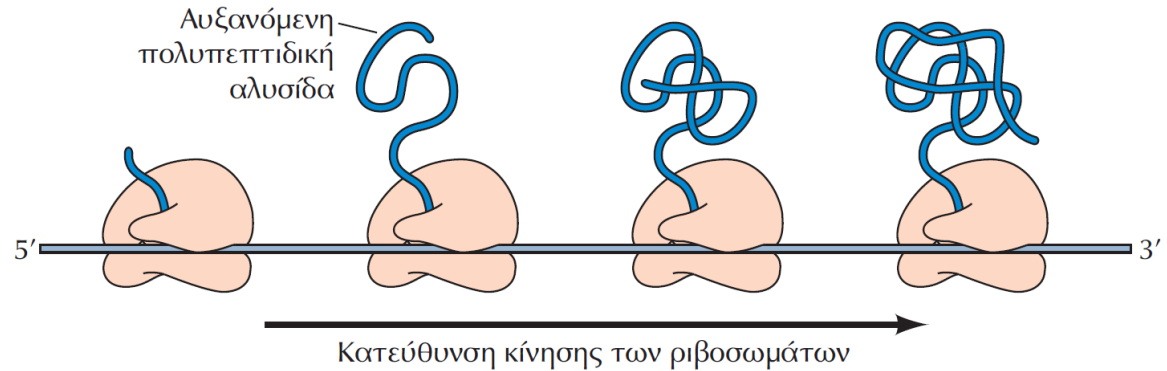
(A)



50 nm

Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

(B)



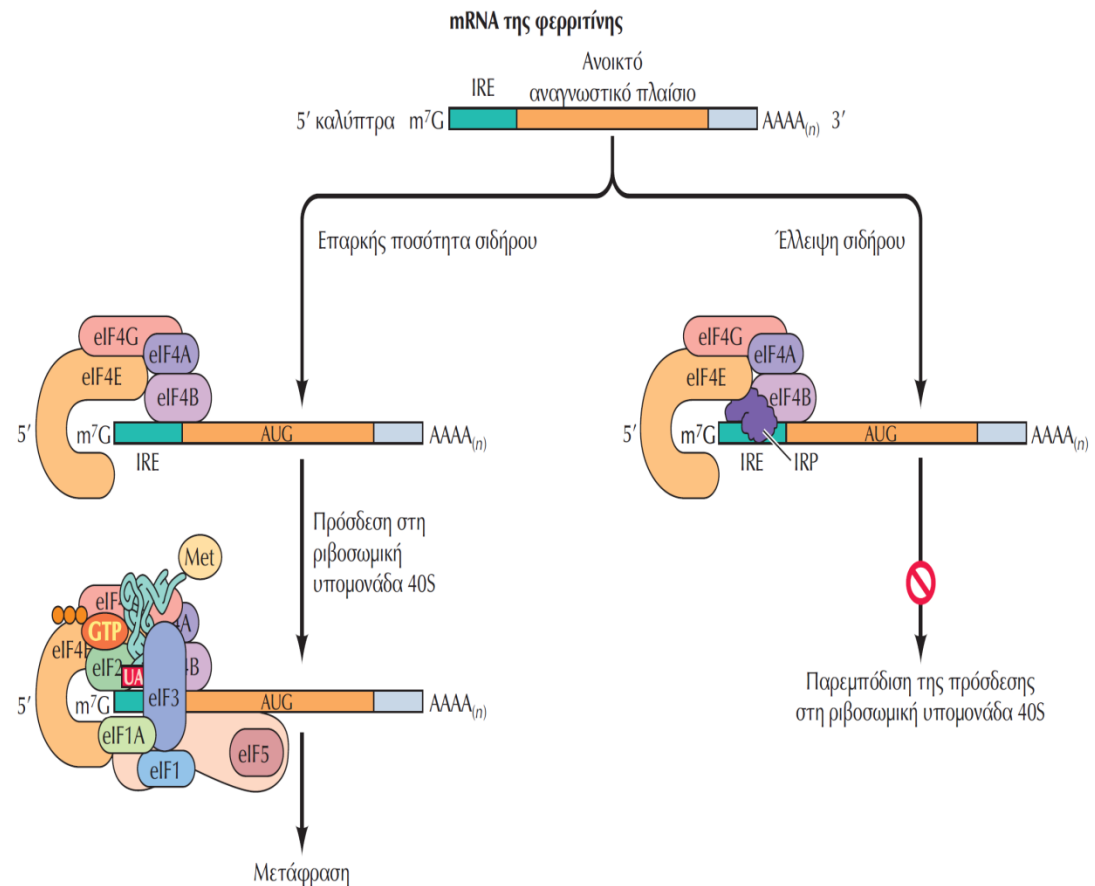
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Ένα mRNA μεταφράζεται από μια σειρά διαδοχικών ριβωσωμάτων (ένα πολυριβωσωμάτιο).
- (A) Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου που δείχνει ένα πολυριβωσωμάτιο.
- (B) Σχηματική αναπαράσταση πολυριβωσωματίου. Προσέξτε πως, όσο πλησιάζει ένα ριβόσωμα στο 3' άκρο του mRNA, τόσο μεγαλύτερη είναι η πολυπεπτιδική αλυσίδα που μεταφέρει.



Μεταφραστική ρύθμιση : Το παράδειγμα της φερριτίνης

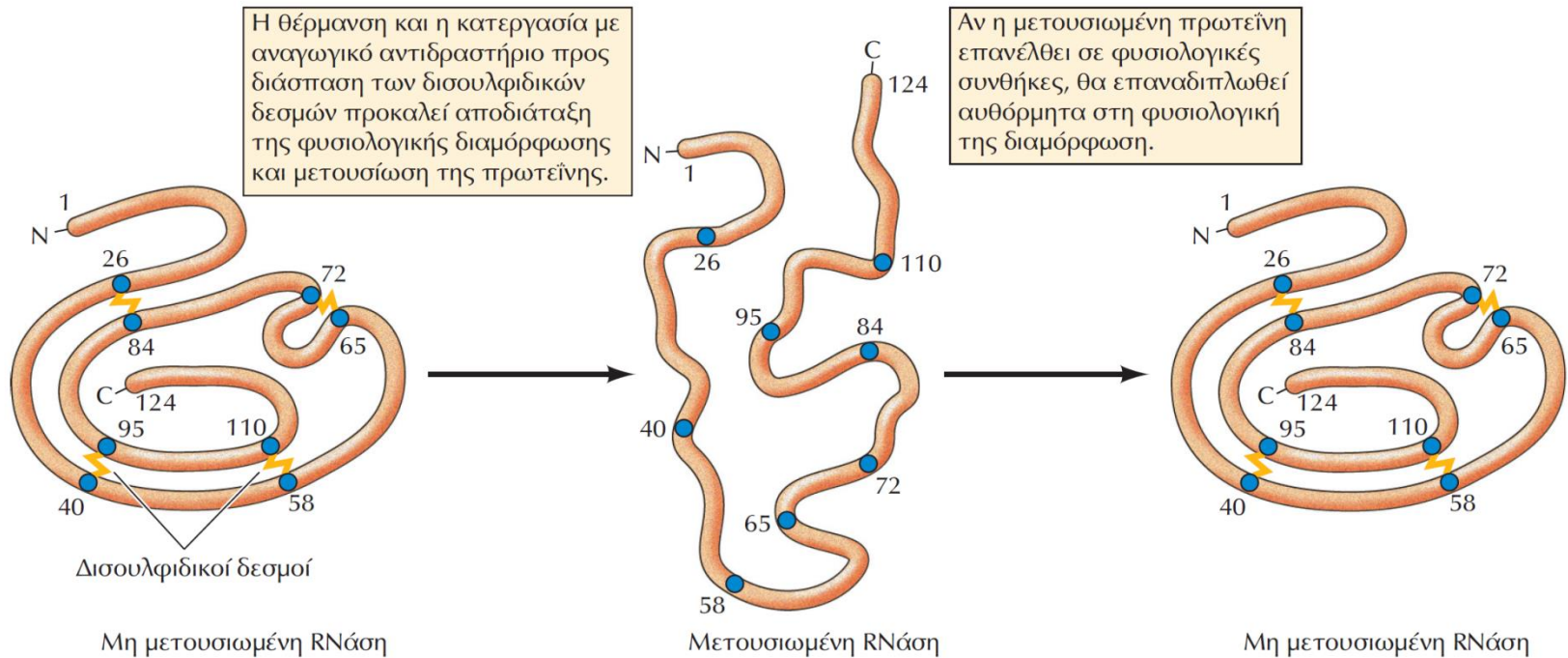
- Ένα mRNA που φέρει το στοιχείο απόκρισης στον σίδηρο (IRE) κοντά στο 5' άκρο του, όταν υπάρχει επαρκής ποσότητα σιδήρου, μεταφράζεται φυσιολογικά. Ωστόσο, όταν ο σίδηρος δεν επαρκεί, μια πρωτεΐνη που ονομάζεται ρυθμιστική πρωτεΐνη του σιδήρου (IRP, Iron Regulatory Protein) προσδένεται στο IRE και καταστέλλει τη μετάφραση παρεμποδίζοντας την αλληλεπίδραση του mRNA με τη ριβοσωμική υπομονάδα 40S.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Η πληροφορία αναδίπλωσης εμπεριέχεται στην πρωτοταγή δομή



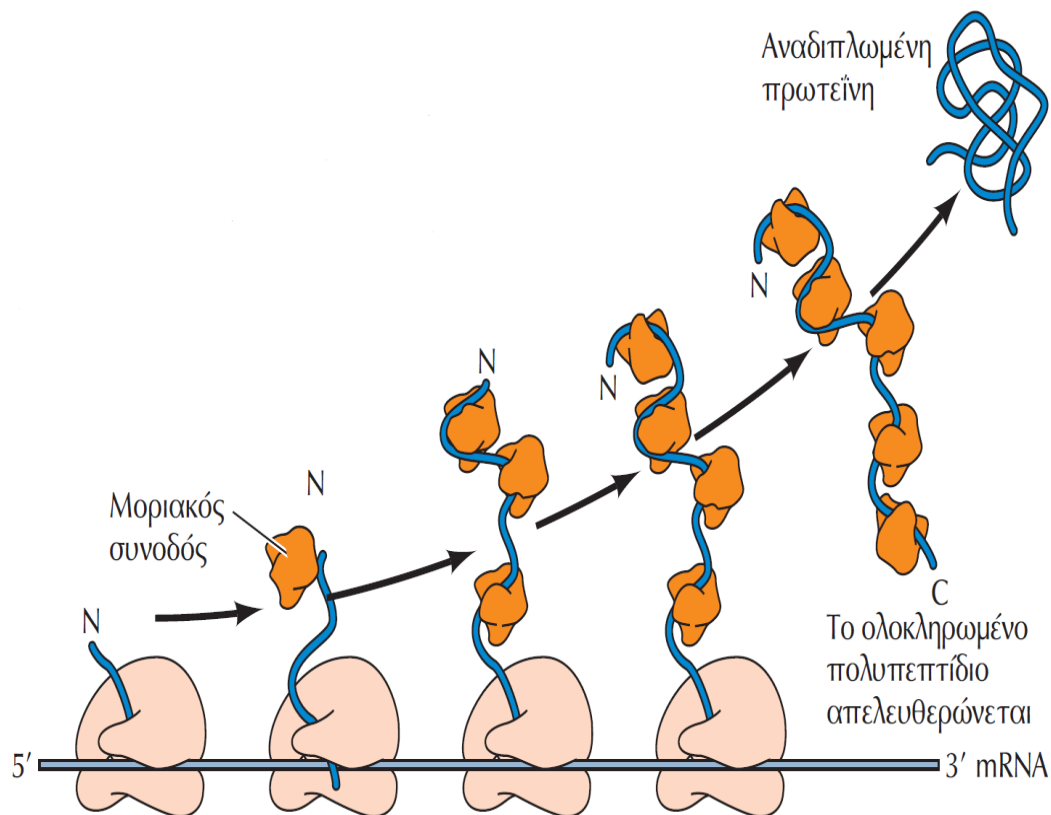
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Η δομή της Ριβονουκλεάσης I (RNάση I, 124 αμινοξέα), σταθεροποιείται από τέσσερις ενδομοριακούς δισουλφιδικούς δεσμούς (Οι μπλέ κύκλοι= μόρια του αμινοξέος κυστεΐνη που συμμετέχουν στους δισουλφιδικούς δεσμούς).



Οι πρωτεΐνες χρειάζονται συνοδούς-πρωτεΐνες για να αναδιπλωθούν σωστά



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Οι συνοδοί-πρωτεΐνες εμπλέκονται στην αναδίπλωση των πρωτεϊνών

- Εμποδίζουν τα υδρόφοβα τμήματα των πρωτεϊνών να έρθουν σε επαφή με άλλα υδρόφοβα μόρια.
- Βοηθούν στη σωστή αναδίπλωση.
- Επάγονται από έκθεση των κυττάρων σε υψηλές θερμοκρασίες.
- Οι δύο κύριες οικογένειες των συνοδών-πρωτεϊνών είναι οι Hsp70 και οι Hsp60.

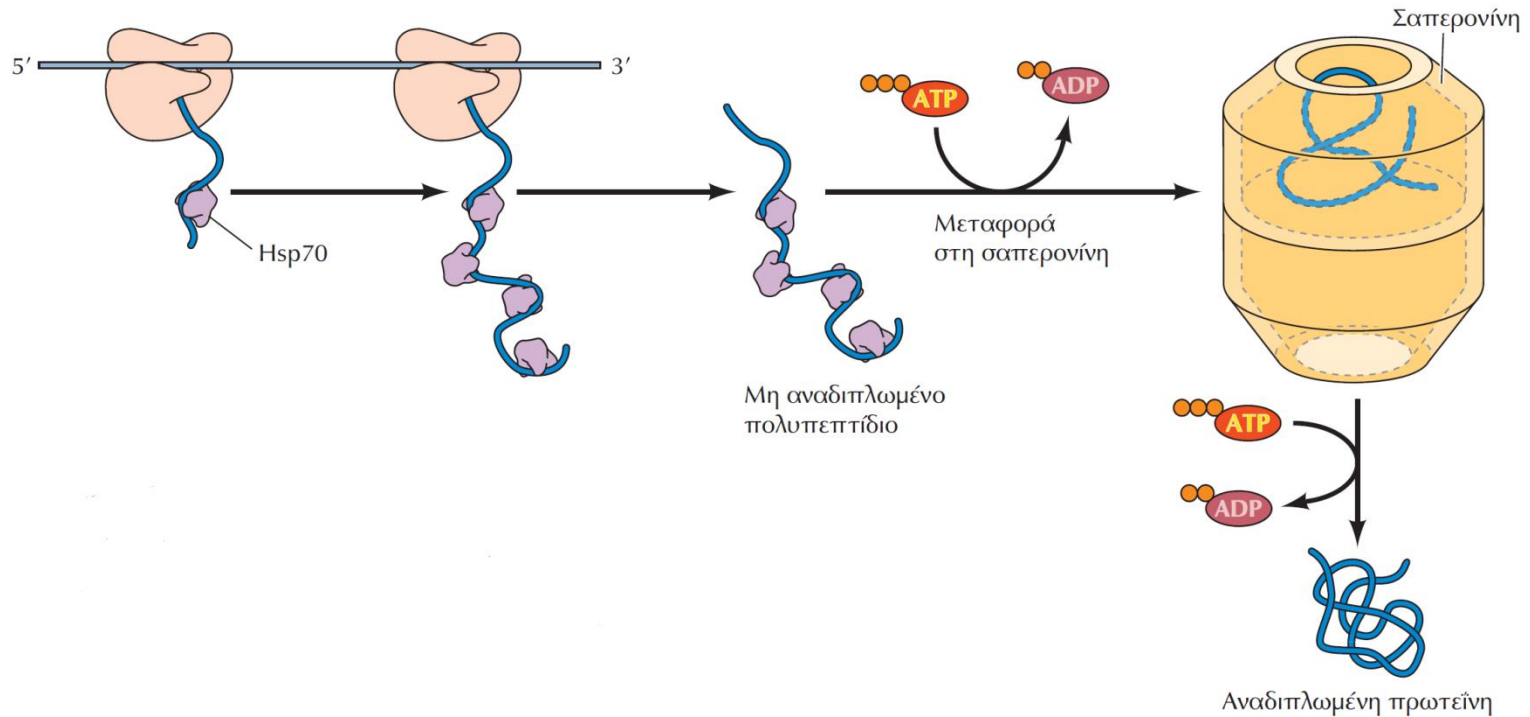


Οι συνοδοί-πρωτεΐνες δρουν διαδοχικά (1)

- Μοριακοί συνοδοί της οικογένειας της Hsp70 προσδένονται στην υπό σύνθεση πολυπεπτιδική αλυσίδα και τη σταθεροποιούν κατά τη διάρκεια της μετάφρασης.
- Κατόπιν, το μη αναδιπλωμένο πολυπεπτίδιο μεταφέρεται σε μέλη της οικογένειας της σαπερονίνης που σχηματίζουν μια δομή, στο εσωτερικό της οποίας λαμβάνει χώρα η αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.
- Τόσο για την απελευθέρωση της μη αναδιπλωμένης πολυπεπτιδικής αλυσίδας από τα μέλη της οικογένειας της Hsp70 όσο και για την αναδίπλωσή της στο εσωτερικό των σαπερονινών απαιτείται η υδρόλυση ATP.



Οι συνοδοί-πρωτεΐνες δρουν διαδοχικά (2)



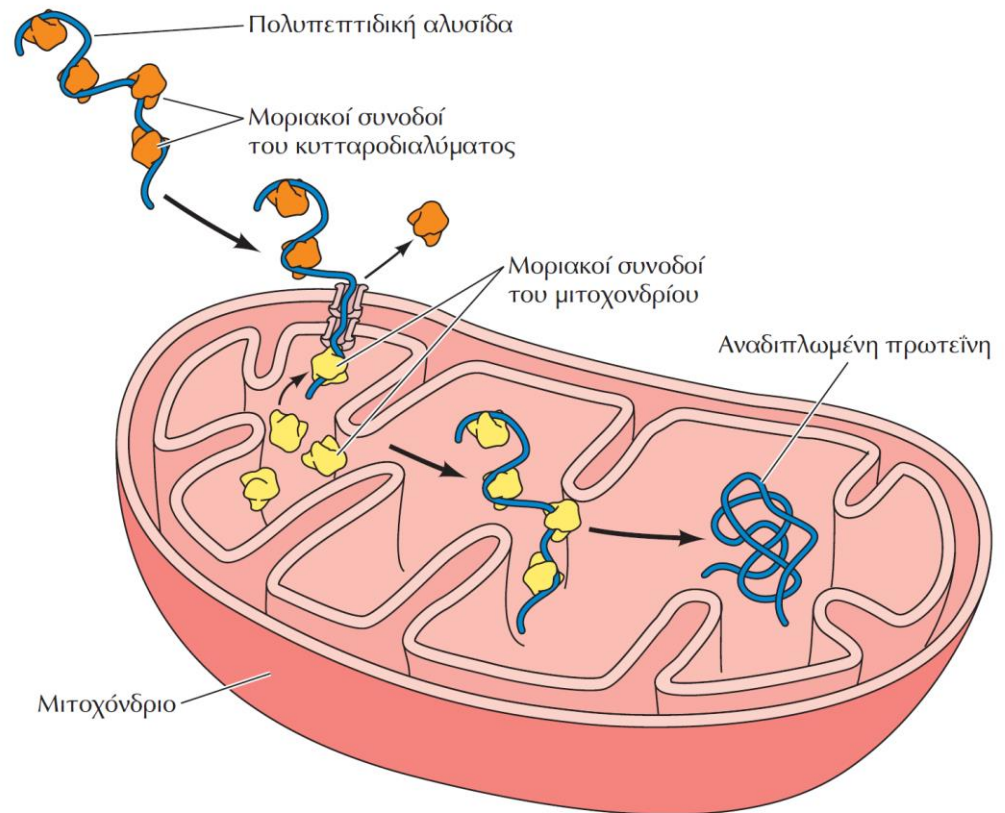
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Συνοδοί πρωτεΐνες εμπλέκονται στη μεταφορά σε μεμβρανικά οργανίδια

- Ένα μερικώς αναδιπλωμένο πολυπεπτίδιο μεταφέρεται από το κυτταροδιάλυμα στο μιτοχόνδριο. Μοριακοί συνοδοί του κυτταροπλάσματος το σταθεροποιούν στη μη αναδιπλωμένη μορφή του. Άλλοι μοριακοί συνοδοί στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου διευκολύνουν τη διαδικασία της μεταφοράς και υποβοηθούν την επακόλουθη αναδίπλωση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας στο εσωτερικό του μιτοχονδρίου.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

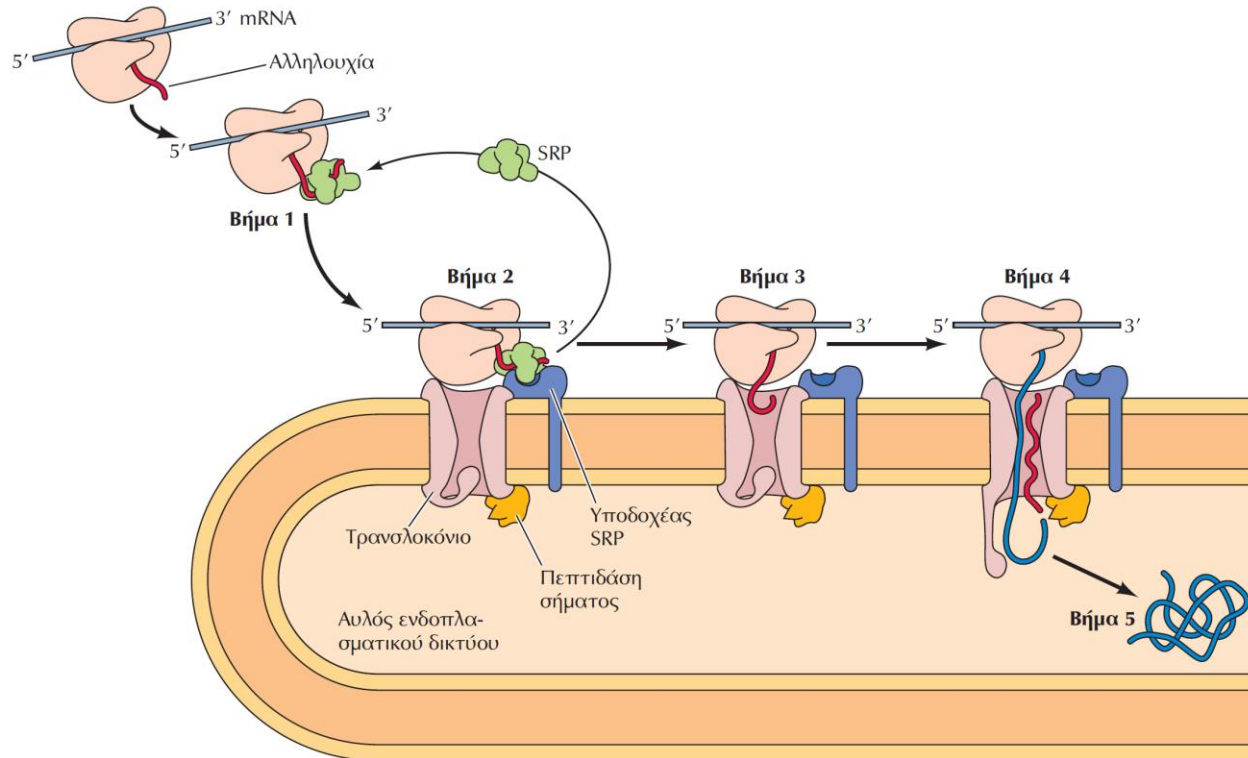


Η είσοδος των πρωτεϊνών στο ΕΔ γίνεται ταυτόχρονα με τη μετάφραση (1)

- **Βήμα 1:** Καθώς η αλληλουχία σήματος εξέρχεται από το ριβόσωμα, αναγνωρίζεται από το σωματίο αναγνώρισης σήματος (SRP), στο οποίο και προσδένεται.
- **Βήμα 2:** Το SRP συνοδεύει το σύμπλοκο στη μεμβράνη του ER, όπου προσδένεται στον υποδοχέα του SRP.
- **Βήμα 3:** Το SRP απελευθερώνεται, το ριβόσωμα προσδένεται στο τρανσλοκόνιο και η αλληλουχία σήματος εισάγεται στον διάυλο της μεμβράνης.
- **Βήμα 4:** Η αλληλουχία σήματος ανοίγει το τρανσλοκόνιο. Η μετάφραση ανακάμπτει και η νεοσυντιθέμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα, καθώς αυξάνεται, διασχίζει τη μεμβράνη.
- **Βήμα 5:** Η αποκοπή της αλληλουχίας σήματος από την πεπτιδάση σήματος απελευθερώνει το πολυπεπτίδιο στον αυλό του ER.



Η είσοδος των πρωτεϊνών στο ΕΔ γίνεται ταυτόχρονα με τη μετάφραση (2)

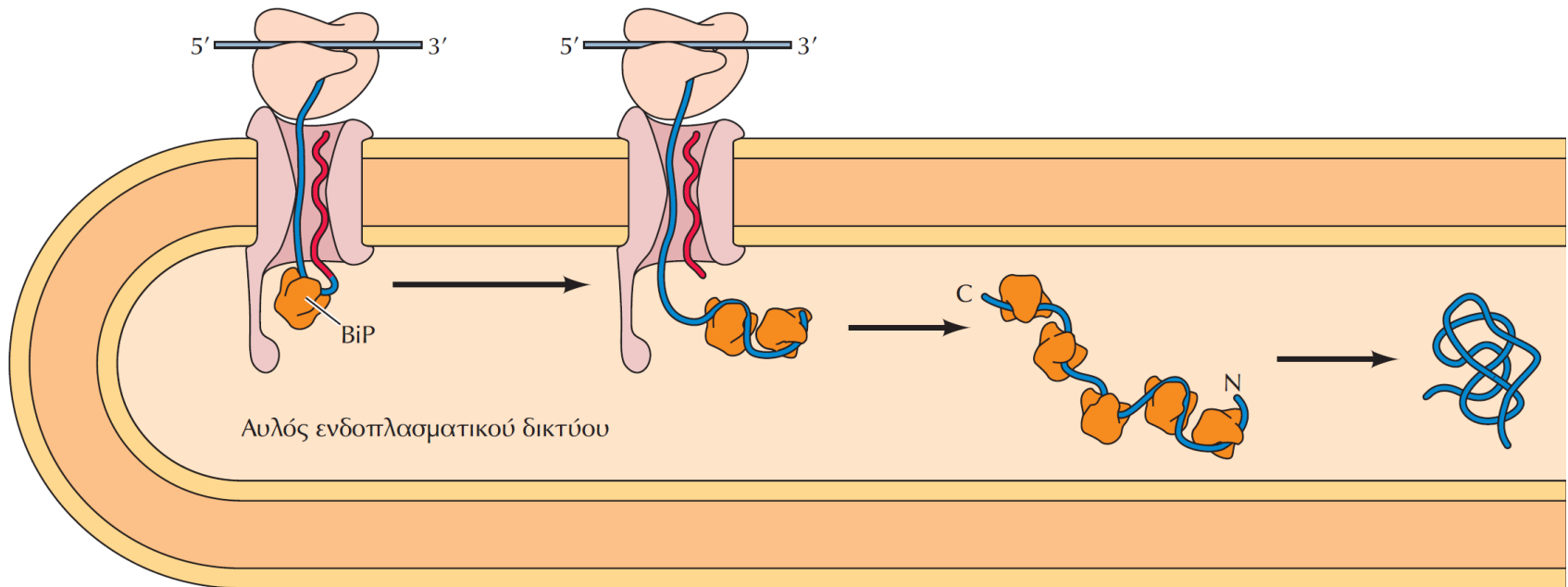


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Συνοδοί-πρωτεΐνες αναδιπλώνουν και συγκρατούν πρωτεΐνες στον αυλό του ΕΔ



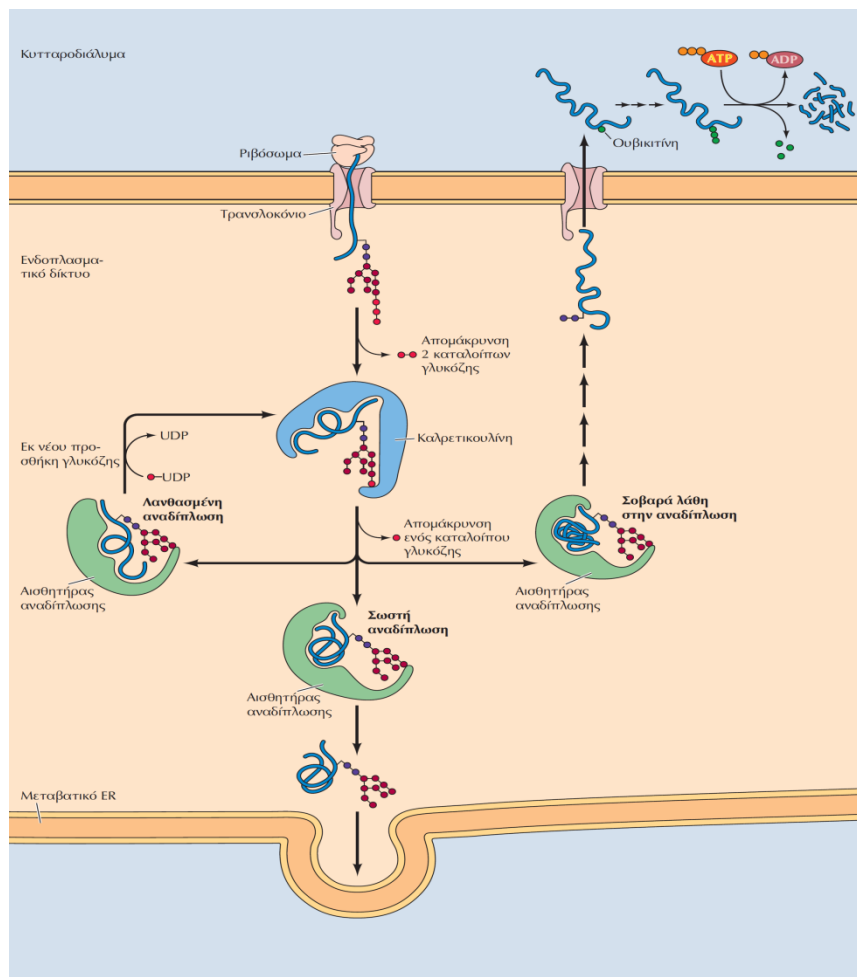
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Η πρωτεΐνη BiP είναι μία μοριακή συνοδός του αυλού του του ενδοπλασματικού δικτύου (ΕΔ) που προσδένεται σε νεοσυντιθέμενες πολυπεπτιδικές αλυσίδες καθώς αυτές διέρχονται από τη μεμβράνη του ΕΔ και εισέρχονται στον αυλό του.
- Ο ρόλος της BiP είναι να διευκολύνει την αναδίπλωση και τη συναρμολόγηση των πρωτεϊνών μέσα στο ΕΔ.



Συνοδοί πρωτεΐνες εμπλέκονται στον ποιοτικό έλεγχο πρωτεϊνών του ΕΔ (1)



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

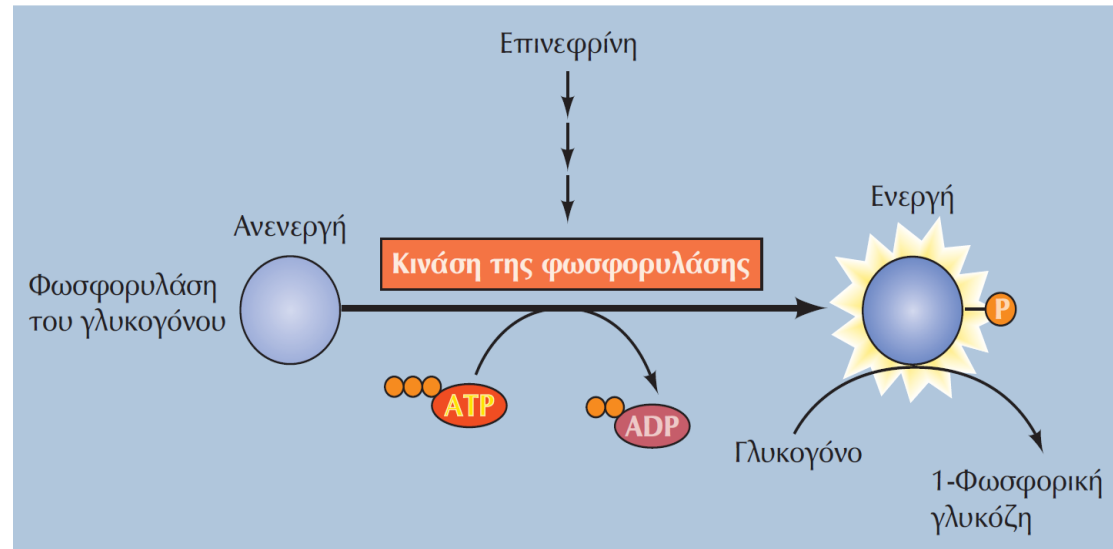
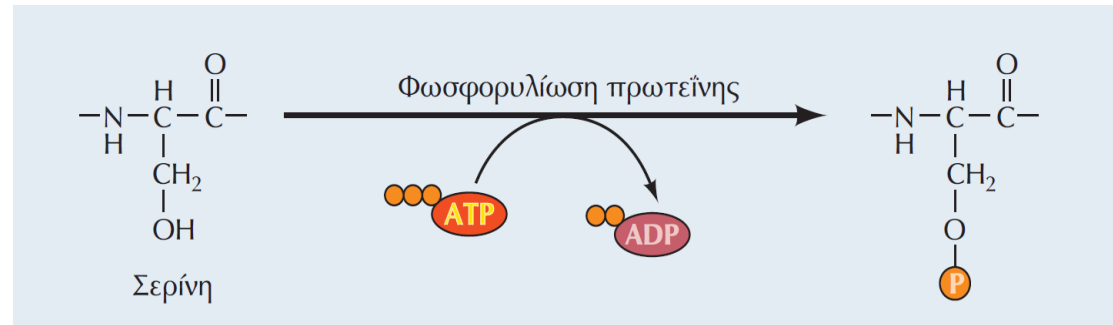
Συνοδοί πρωτεΐνες εμπλέκονται στον ποιοτικό έλεγχο πρωτεϊνών του ΕΔ (2)

- Πολλές νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες μεταφέρονται στο ΕΔ όπου και αποκτούν τις ανώτερες δομές τους με τη βοήθεια συνοδών-πρωτεϊνών ή άλλων παραγόντων που προάγουν την πρωτεϊνική αναδίπλωση.
- Οι σωστά αναδιπλωμένες πρωτεΐνες μεταφέρονται κατόπιν στη συσκευή Golgi και στη συνέχεια κατευθύνονται (με κυστιδιακή μεταφορά) στο σωστό μεμβρανικό οργανίδιο ή στον εξωκυττάριο χώρο.
- Πρωτεΐνες που δεν έχουν αναδιπλωθεί σωστά ανιχνεύονται από τους μηχανισμούς ποιοτικού ελέγχου της πρωτεϊνικής αναδίπλωσης και ανακατευθύνονται με διαφορετικό μηχανισμό (unfolded protein response, απόκριση σε μη αναδιπλωμένες πρωτεΐνες). Ο μηχανισμός αυτός οδηγεί στην ουβικιτίνωση των λάθος αναδιπλωμένων πρωτεϊνών και στην αποικοδόμηση τους από τα πρωτεασώματα.



Φωσφορυλίωση πρωτεϊνών, σημαντική ομοιοπολική τροποποίηση

- Η φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών έχει ως αποτέλεσμα την μεταβολή των φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων και κατά συνέπεια της δομής τους.
- Οι παραπάνω δομικές αλλαγές μπορεί να επηρεάσουν την ενεργότητα της πρωτεΐνης ή/και τις αλληλεπιδράσεις της με άλλα βιομόρια.



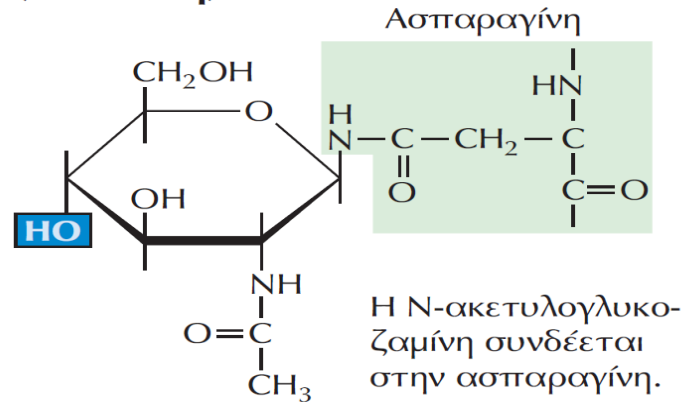
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



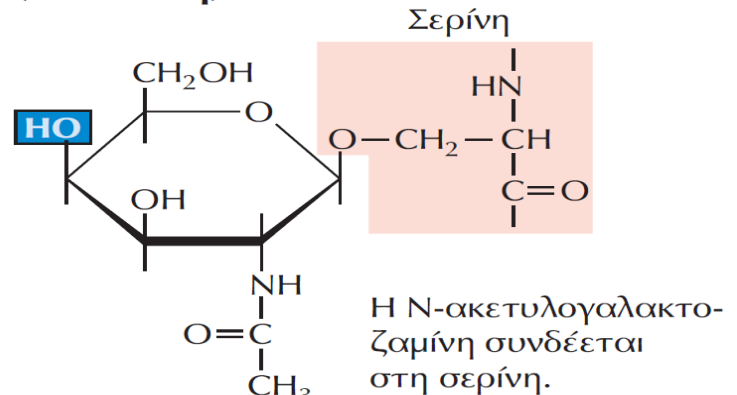
Σύνδεση υδατανθρακικών αλυσίδων στις γλυκοπρωτεΐνες

- Στην περίπτωση των N-συνδεδεμένων γλυκοπρωτεϊνών, οι υδατανθρακικές αλυσίδες συνδέονται σε κατάλοιπα ασπαραγίνης.
- Στην περίπτωση των O-συνδεδεμένων γλυκοπρωτεϊνών, οι υδατανθρακικές αλυσίδες συνδέονται είτε σε κατάλοιπα σερίνης (όπως φαίνεται στην εικόνα αυτή) είτε σε κατάλοιπα θρεονίνης.
- Τα σάκχαρα που προστίθενται στις περιπτώσεις αυτές είναι είτε N-ακετυλογλυκοζαμίνη (στις N-συνδεδεμένες γλυκοπρωτεΐνες) είτε N-ακετυλογαλακτοζαμίνη (στις O-συνδεδεμένες γλυκοπρωτεΐνες).

(N-σύνδεση)



(O-σύνδεση)

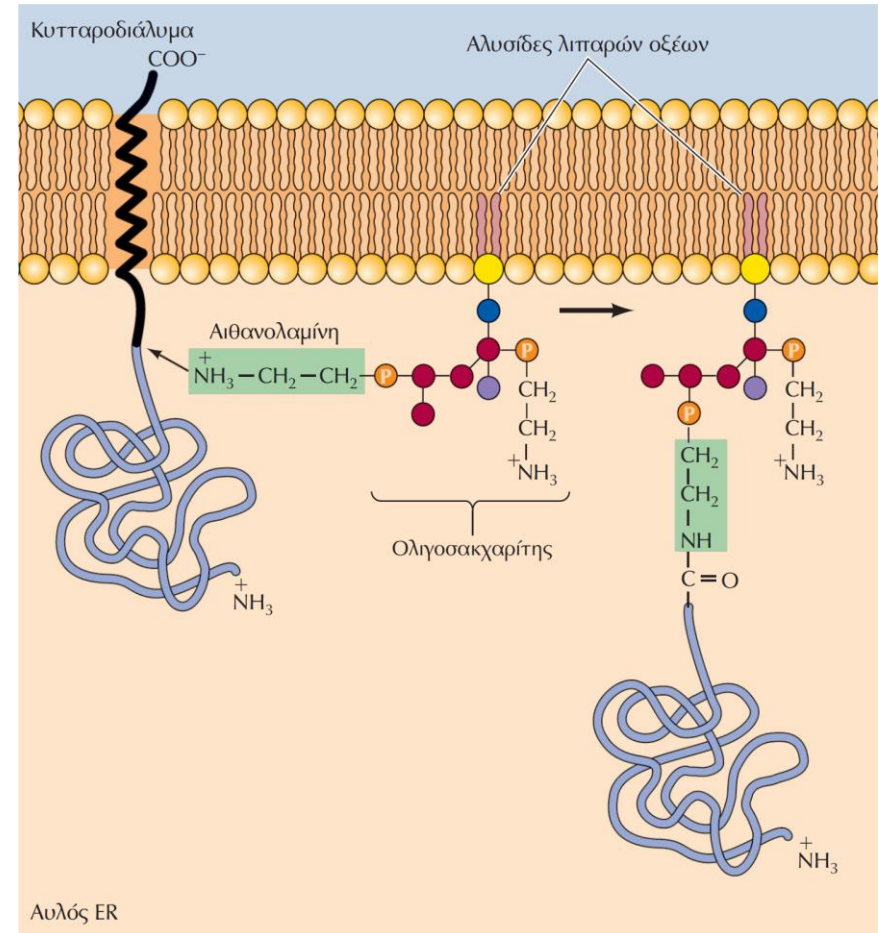


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

Σύνδεση πρωτεϊνών με μεμβρανικά γλυκολιπίδια

- Οι άγκυρες γλυκοζυλοφωσφατιδυλοϊνοσιτόλης (GPI) περιέχουν δύο αλυσίδες λιπαρού οξέος, ένα ολιγοσακχαρικό τμήμα που αποτελείται από ινοσιτόλη και άλλα σάκχαρα, καθώς και μία αιθανολαμίνη .
- Οι άγκυρες GPI συναρμολογούνται στο ER και προστίθενται στα πολυπεπίδια που συγκρατούνται αγκυροβολημένα στη μεμβράνη μέσω μιας καρβοξυτελικής διαμεμβρανικής περιοχής.
- Η διαμεμβρανική περιοχή αποκόπτεται και το νέο καρβοξυτελικό άκρο ενώνεται με την αμινομάδα της αιθανολαμίνης αμέσως μετά την ολοκλήρωση της μετάφρασης, αφήνοντας την πρωτεΐνη προσδεδεμένη στη μεμβράνη μέσω της άγκυρας GPI.



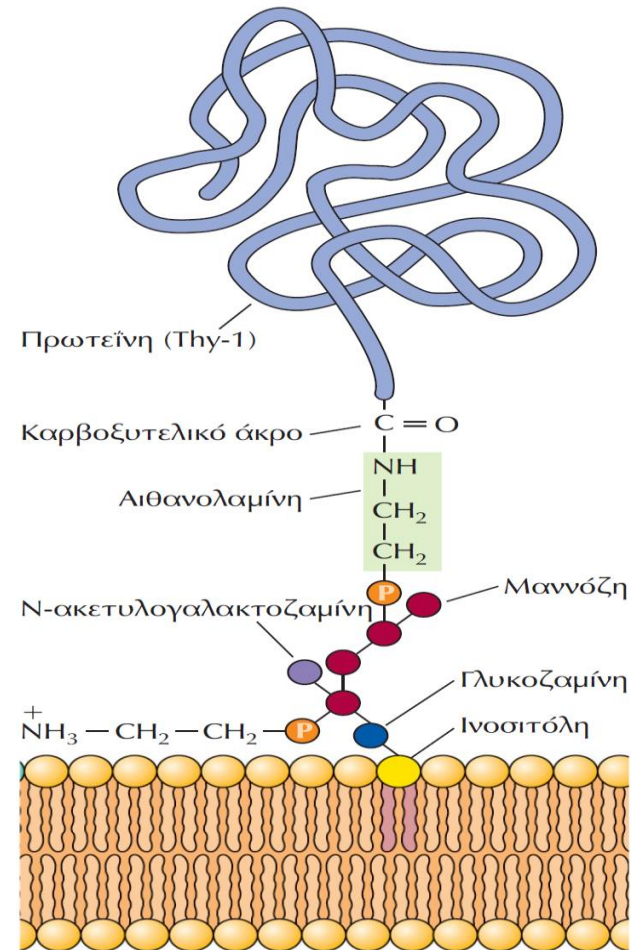
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Τοπολογία μεμβρανικής πρωτεΐνης συνδεδεμένης με «άγκυρα»

- Οι άγκυρες GPI προστίθενται στο καρβοξυ-τελικό άκρο ορισμένων πρωτεϊνών και τις προσδένουν στην εξωτερική όψη της κυτταροπλασματικής μεμβράνης.
- Η πρόσδεση στο καρβοξυ-τελικό αμινοξύ της πολυπεπτιδικής αλυσίδας γίνεται μέσω της αιθανολαμίνης της άγκυρας GPI.
- Οι δύο αλυσίδες λιπαρών οξέων του λιπιδίου βρίσκονται ενσωματωμένες στην κυτταροπλασματική μεμβράνη.
- Στο παράδειγμα αυτό απεικονίζεται η άγκυρα GPI της πρωτεΐνης του επίμουσ Thy-1.

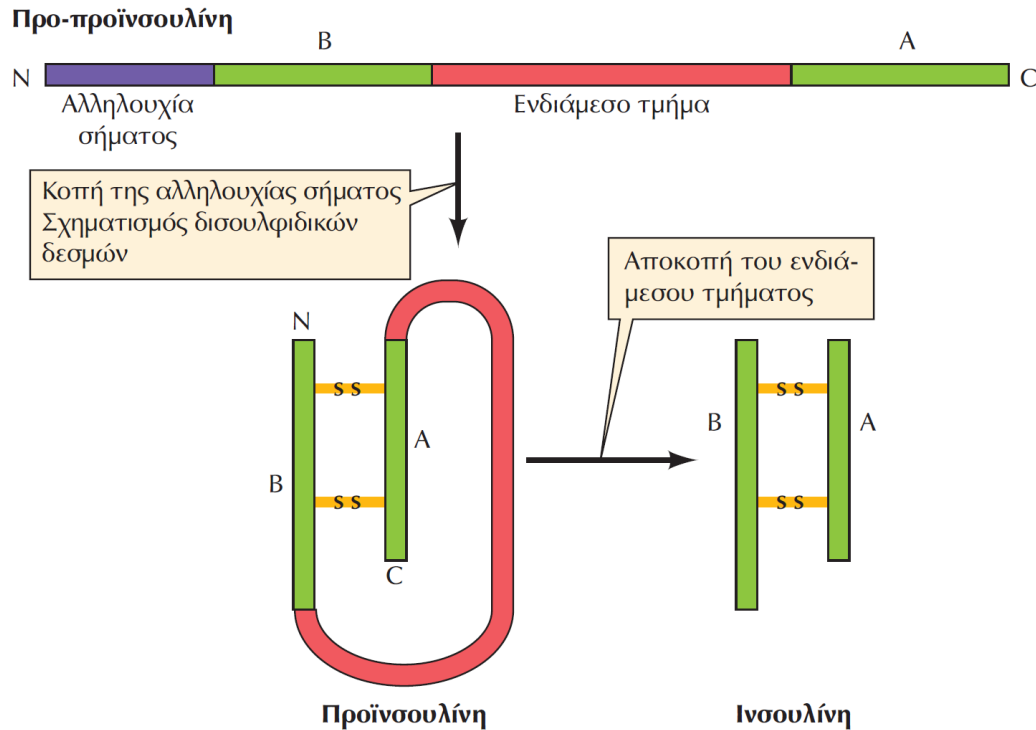


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Ωρίμανση πρωτεϊνών με πρωτεόλυση και σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών



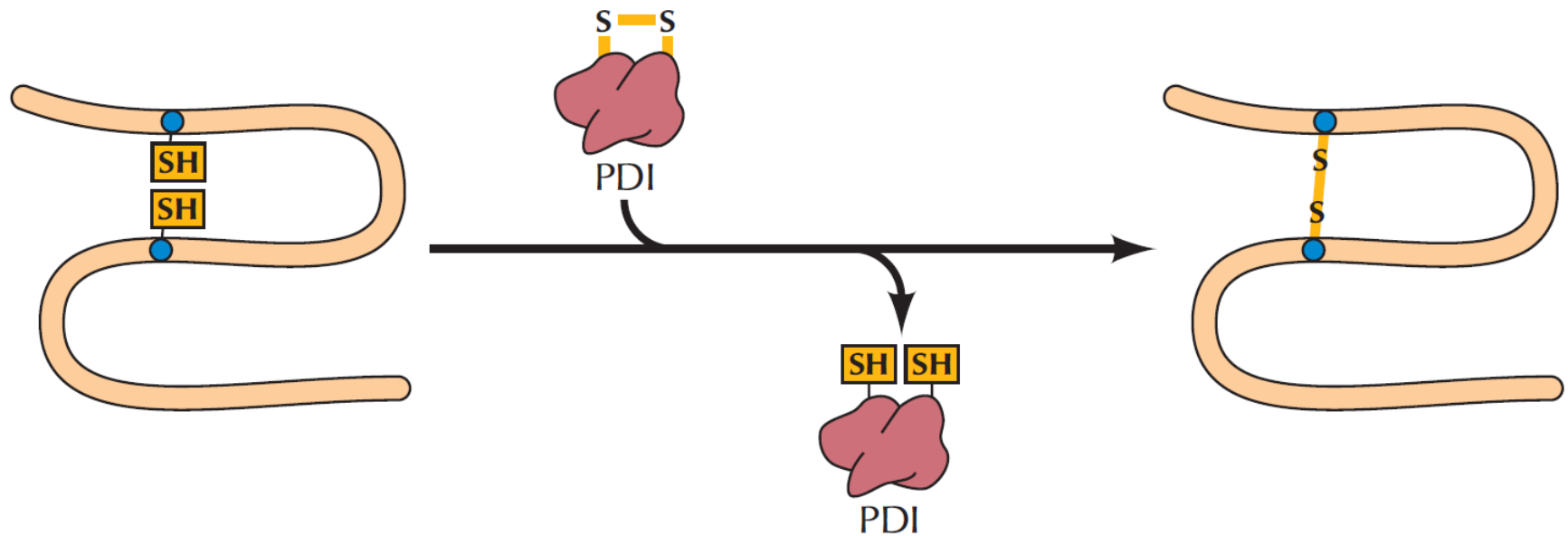
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Ο σχηματισμός των δισουλφιδικών δεσμών απαιτεί οξειδωτικό περιβάλλον και επιταχύνεται από εξειδικευμένα ένζυμα (π.χ. την ισομεράση των δισουλφιδικών δεσμών, PDI).



Επιτάχυνση σχηματισμού δισουλφιδικών δεσμών από εξειδικευμένα ένζυμα



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Η ισομεράση πρωτεϊνικών δισουλφιδικών δεσμών (PDI) αλληλεπιδρά με το υπόστρωμά της μέσω δύο καταλοίπων κυστεΐνης του ενεργού της κέντρου και καταλύει τον σχηματισμό δισουλφιδικών δεσμών.



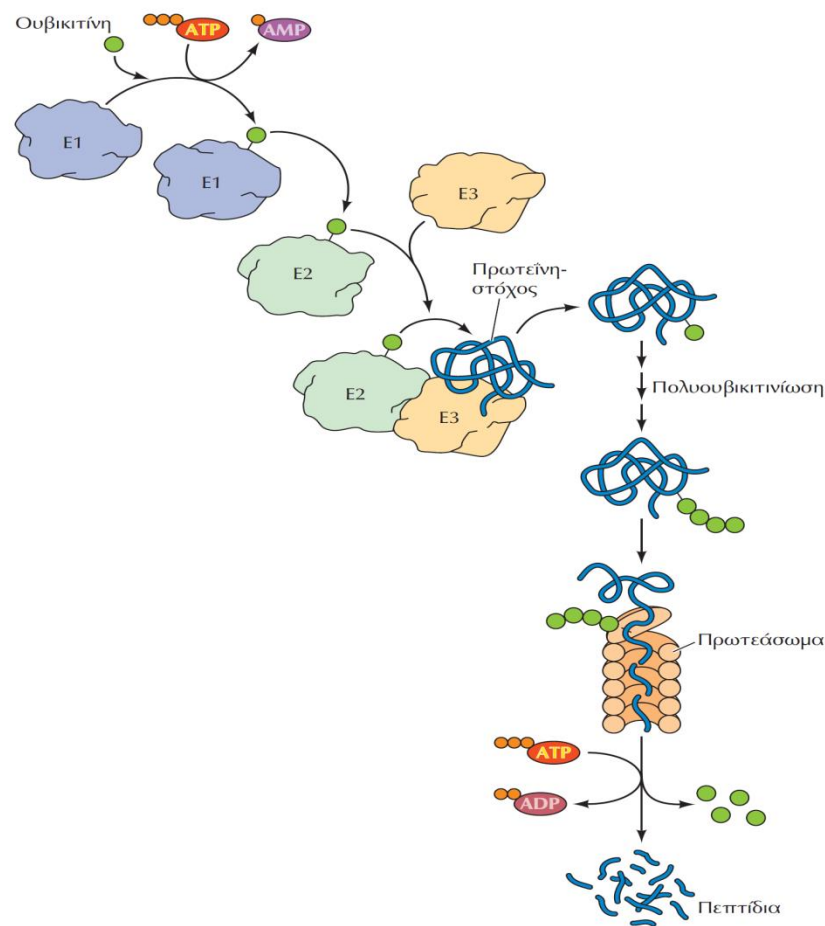
Αποικοδόμηση πρωτεϊνών

- Η αποδόμηση των πρωτεϊνών των ευκαρυωτών επιτελείται κυρίως στα **πρωτεοσωμάτια**.



Οι λιγάσες της ουβικιτίνης «μαρκάρουν» τις πρωτεΐνες για αποικοδόμηση

- Οι πρωτεΐνες στοχοποιούνται για ταχεία αποικοδόμηση μέσω της ομοιοπολικής πρόσδεσης σε αυτές πολλών μορίων ουβικιτίνης.
- Η ουβικιτίνη αρχικά ενεργοποιείται από το ένζυμο E1.
- Η ενεργοποιημένη ουβικιτίνη μεταφέρεται στη συνέχεια σε ένα από τα διάφορα ένζυμα σύζευξης της ουβικιτίνης (E2) που διαθέτει το κύτταρο.
- Κατόπιν, μια λιγάση της ουβικιτίνης (E3) αλληλεπιδρά με το E2 και διεκπεραιώνει τη μεταφορά της ουβικιτίνης σε μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη-στόχο.
- Ακολουθεί η εν σειρά προσθήκη πολλαπλών ουβικιτινών και τέλος η πολυουβικιτινωμένη πρωτεΐνη αποικοδομείται από το πρωτεάσωμα.



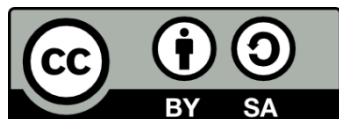
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Τσαχουρίδου Βασιλική
Θεσσαλονίκη, Εαρινό Εξάμηνο 2013-2014



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ