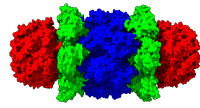


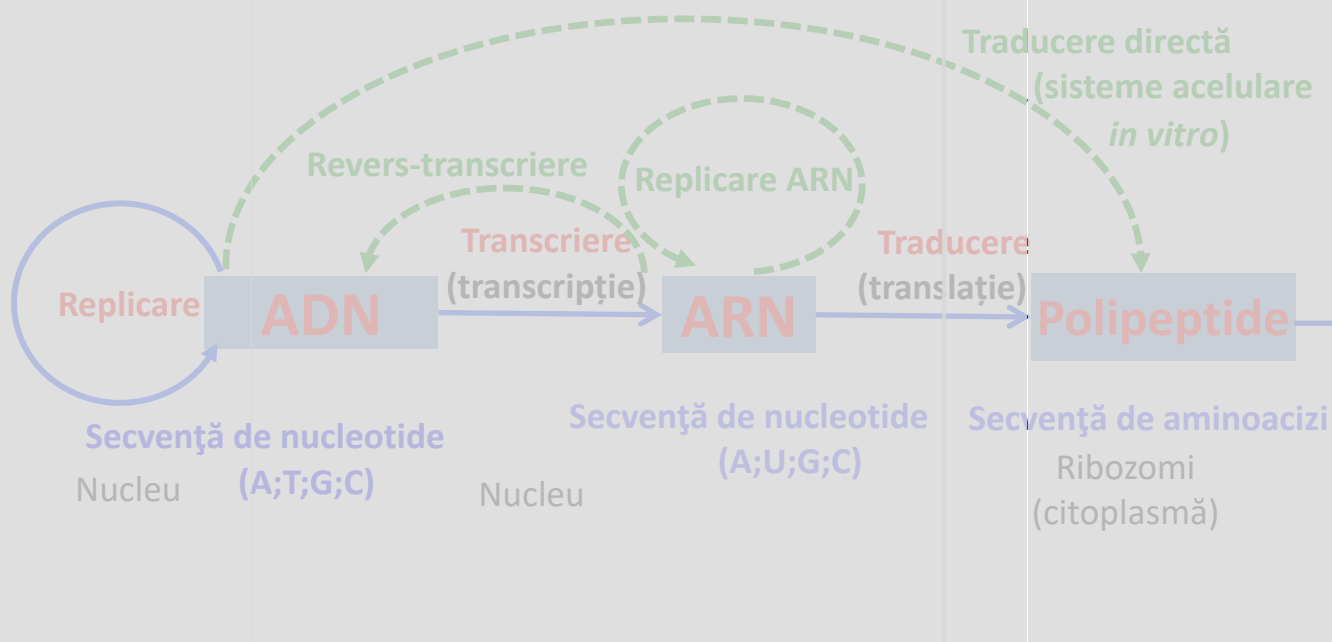
Capitolul III. Cum citesc celulele informația genetică

Modificări post-traducere la nivelul proteinelor

Amplasarea cursului în traseul informației genetice



Transferul informației genetice



Expresia informației genetice



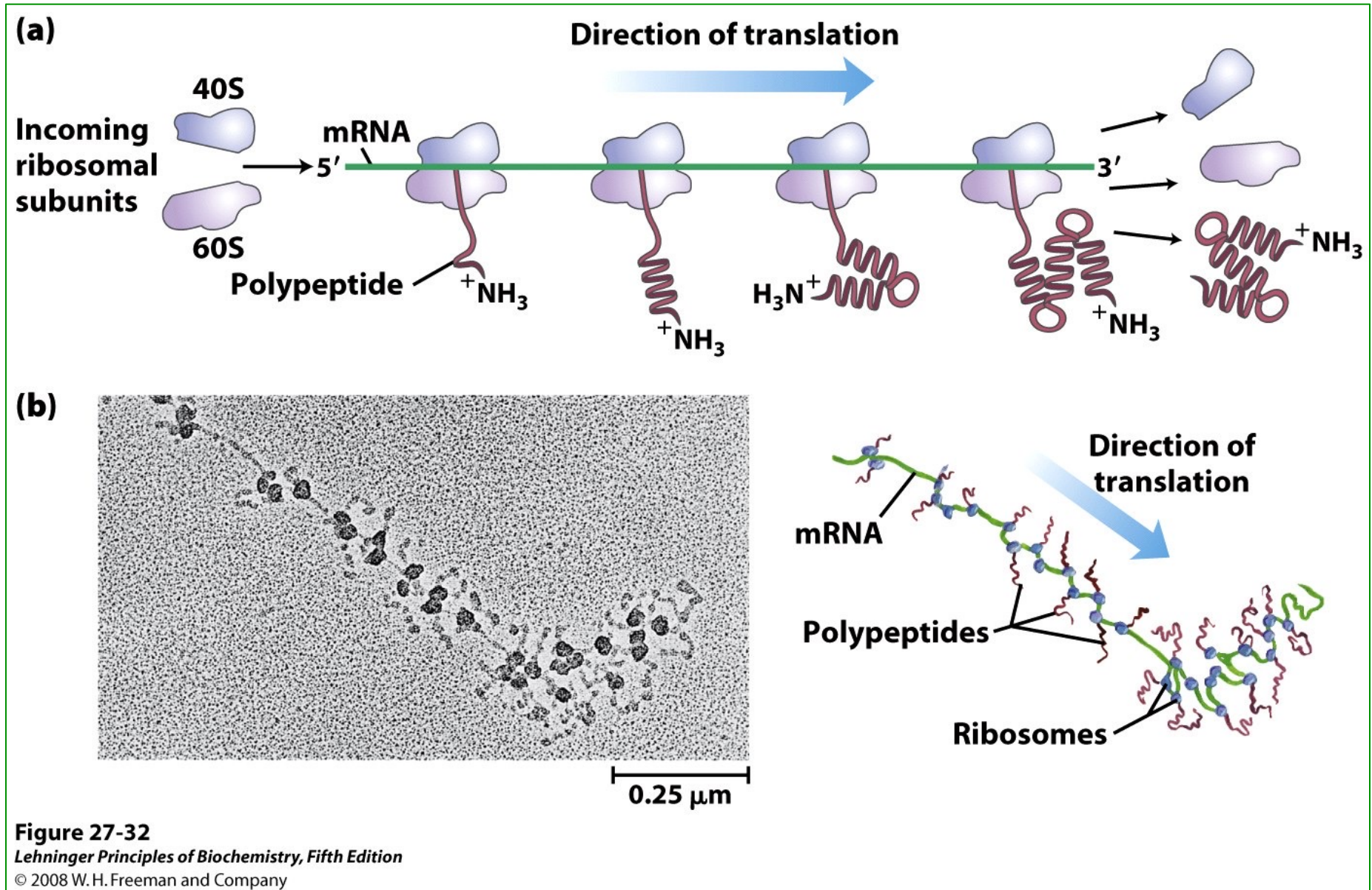
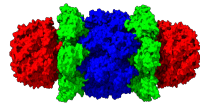
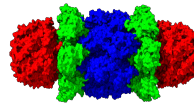


Figure 27-32

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Modificări post-traducere ale proteinelor - PTMs



Pe măsură ce lanțul de aminoacizi este sintetizat, este pliat și modificat în mod specific pentru a forma structura tridimensională specifică pe baza cărei proteina nou sintetizată își va îndeplini funcția biologică. Plierea se realizează prin formarea legăturilor de H, ionice și a interacțiunilor hidrofobe dintre radicalii aminoacizilor. În acest fel mesajul genetic liniar, unidimensional din ARNm este transformat într-o structură tridimensională.

Unele proteine nu sunt complet funcționale decât după ce au suferit o serie de modificări post-traducere (*post-translational / posttranslational modifications, PTMs*) specifice precum:

- 1. modificări la capătul C și N terminal** – sinteza catenei polipeptidice nascente începe cu un rest de N-formil-metionină la bacterii și metionină la eucariote. Restul de formil, restul de metionină, uneori încă câțiva aminoacizi de la capătul N și, mai rar, câțiva aminoacizi de la capătul C terminal al peptidei sintetizate sunt eliminați enzimatic. De asemenea, 50% din proteinele EK sunt acetilate la capătul N terminal;
- 2. formarea de punți disulfidice** între 2 resturi de Cys.

3. derivarea specifică a unor aminoacizi

A. radicalul OH din Ser, Thr sau Tyr poate fi fosforilat în mod specific de către protein-fosforilaze, gruparea PO₄ provenind de la o moleculă de ATP. Rolul funcțional al fosforilării proteinelor variază de la o proteină la alta.

Exemple ale rolului fiziologic al fosforilării proteinelor:

- caseina din lapte conține numeroase resturi de fosfoserină ce chelatează ionii de Ca²⁺. Caseina reprezintă astfel o modalitate eficientă de a transporta de la mamă la făt 3 nutrienți importanți: aminoacizi, fosfor și Ca²⁺;
- Fosforilarea histonelor implicată în procesele reparatorii ale ADN-ului;
- Reglarea activității unor enzime – fosforilarea glicogen-fosforilazei activează enzima, fosforilarea glicogen-sintazei inactivează această enzimă.

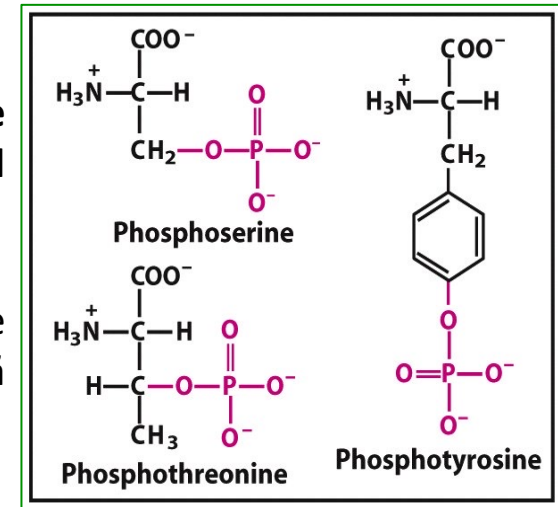
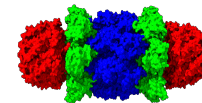


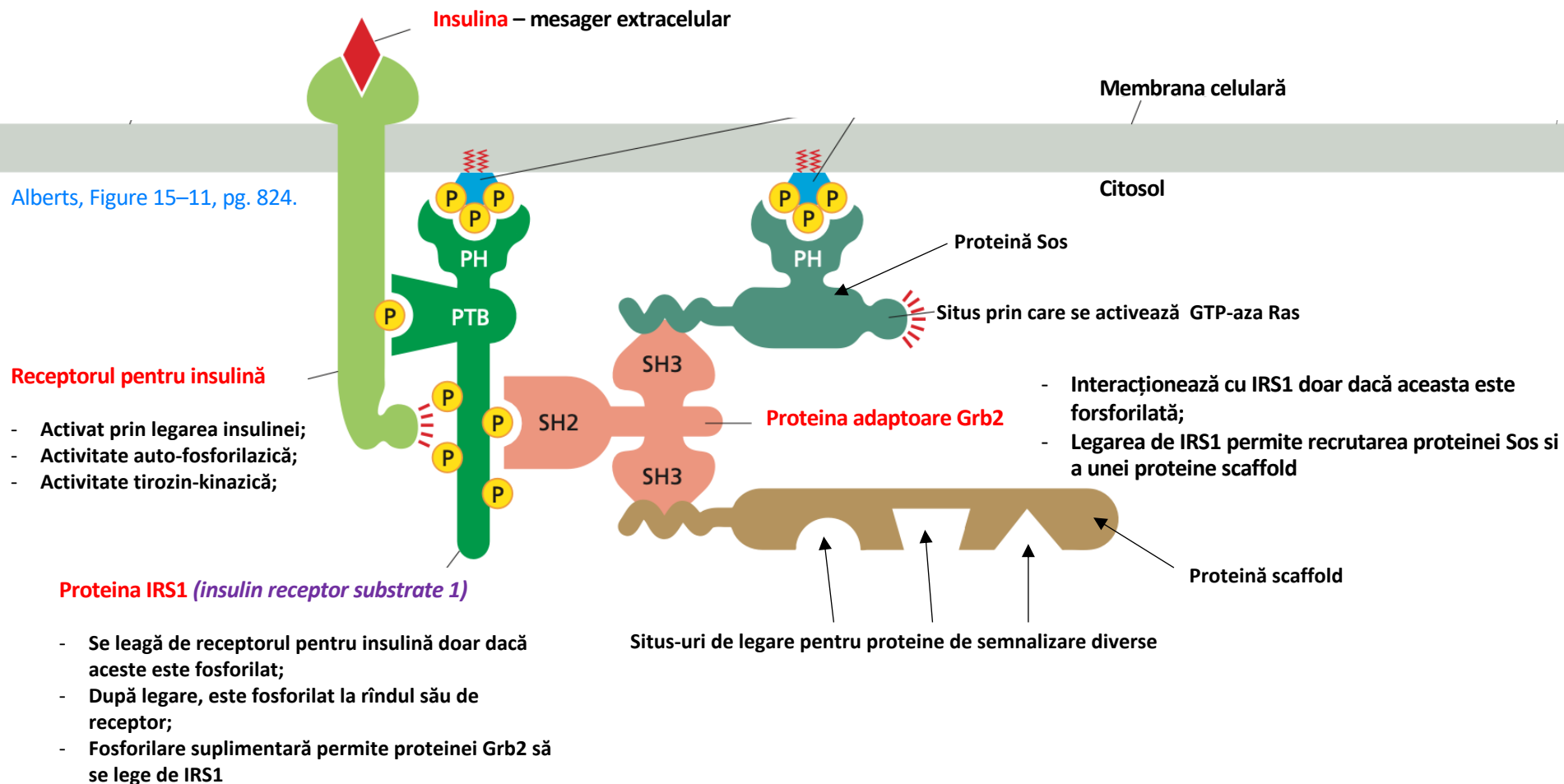
Figure 27-34

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

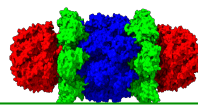
Exemplu de mecanism de semnalizare celulară bazat pe fosforilarea proteinelor



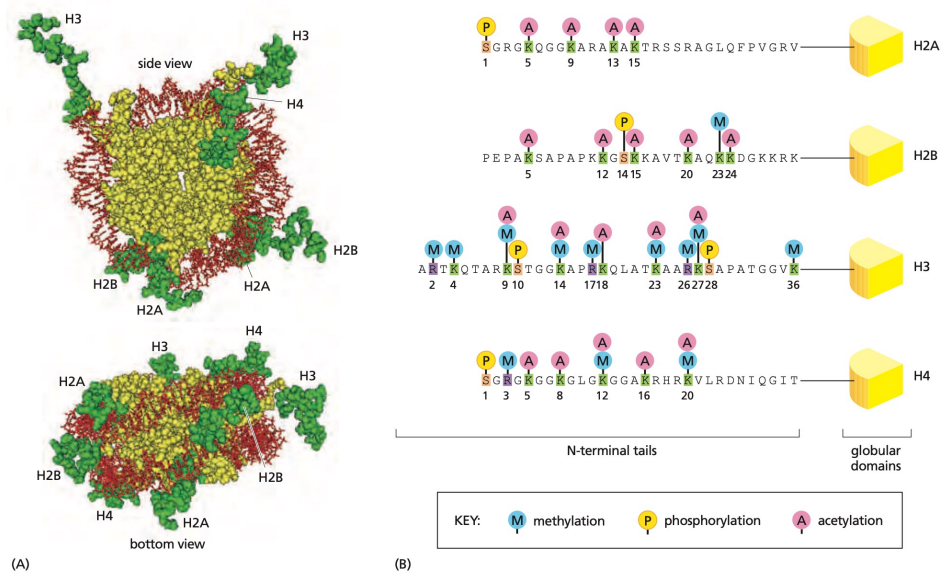
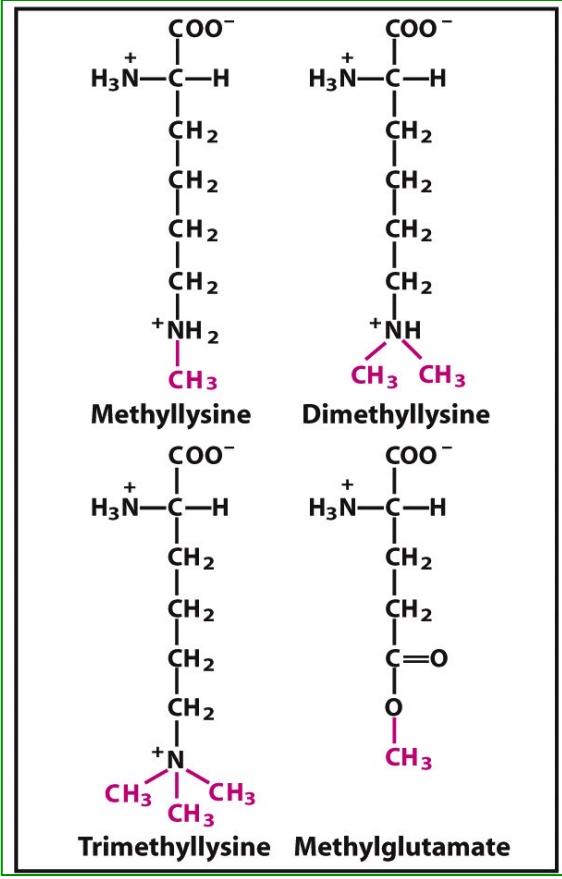
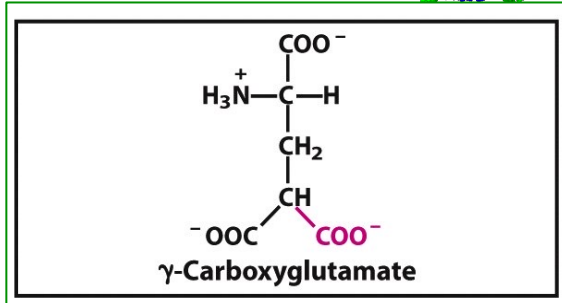
Majoritatea căilor reglatorii celulare importante funcționează pe baza fosforilării proteinelor implicate. Ele funcționează astfel printr-o așa numită **cascadă a fosforilării proteice** – o **secvență de reacții prin care o enzimă fosforilează pe alta, realizându-se fosforilarea înlănțuită a mii de proteine la nivel celular**. Un exemplu elocvent al cascadei fosforilării este **transducerea** mesajelor transmise prin intermediul hormonilor extracelulari, precum **insulina**.



Exemple de PTMs si semnificatia lor

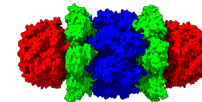


- B. Grupări -COOH pot fi adăugate la resturile de Glu.** Ex. Pro-therombina conține resturi de gama-carboxiglutamat ce sunt esențiale pentru legarea Ca și procesul de coagulare sangvină;
- C. Grupări -CH₃ pot fi adăugate la resturile amino din lizină,** cu formare de metil, dimetil sau trimetil-lizină; procesul este implicat în organizarea cromatinei;
- D. Grupări -CH₃ pot fi adăugate la resturile de Glu** cu formare de metilglutamat și inactivarea unei grupe negative COO⁻.
- E. Acetilarea grupelor -COOH din lizină;** proces implicat în activarea expresiei genice prin acetilarea histonelor;



Alberts, pg. 197.

Figure 4-34 The covalent modification of core histone tails. (A) The structure of the nucleosome highlighting the location of the first 30 amino acids in each of its eight N-terminal histone tails (green). These tails are unstructured and highly mobile, and thus will change their conformation depending on other bound proteins. (B) Well-documented modifications of the four histone core proteins are indicated. Although only a single symbol is used here for methylation (M), each lysine (K) or arginine (R) can be methylated in several different ways. Note also that some positions (e.g., lysine 9 of H3) can be modified either by methylation or by acetylation, but not both. Most of the modifications shown add a relatively small molecule onto the histone tails; the exception is ubiquitin, a 76-amino-acid protein also used for other cell processes (see Figure 3-69). Not shown are more than 20 possible modifications located in the globular core of the histones. (A, PDB: 1KX5; B, adapted from H. Santos-Rosa and C. Caldas, *Eur. J. Cancer* 41:2381-2402, 2005. With permission from Elsevier.)



Exemple de PTMs si semnificatia lor

4. **aditia de grupe izoprenil sau palitoil la nivelul grupelor SH din Cys** au rolul de a ancora proteinele de membranele celulare;

5. **Procesarea proteolitica a precursorilor proteici de dimensiuni mari** pentru a forma proteinele active de dimensiuni mai mici. Ex: pro-insulina, chimiotripsinogenul, tripsinogenul, proteina spike din SARS-CoV2.

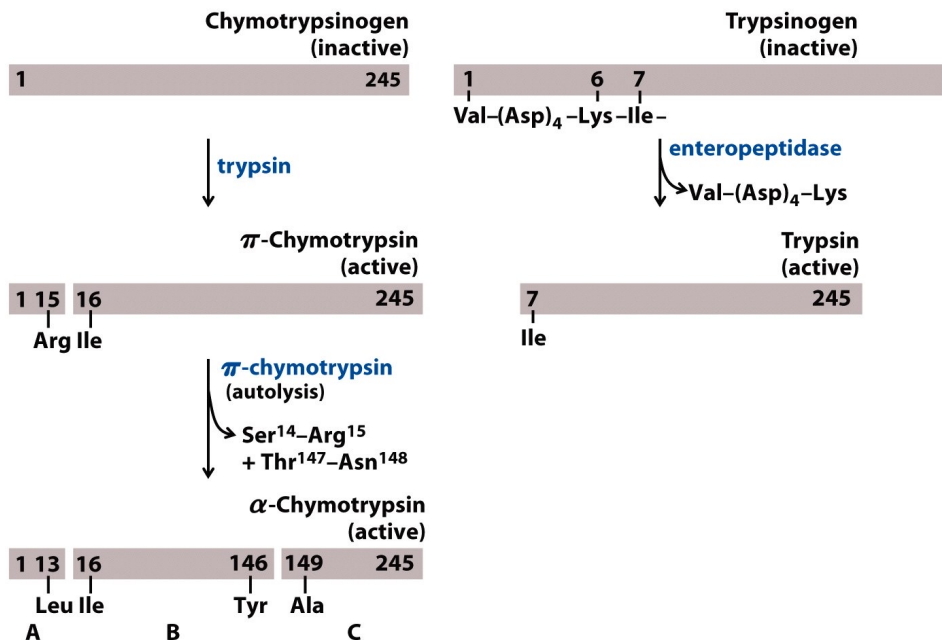
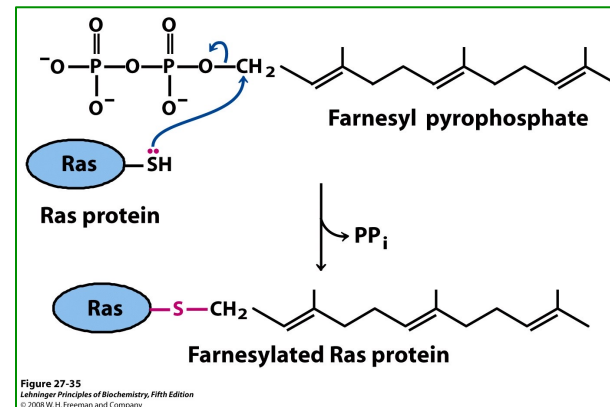
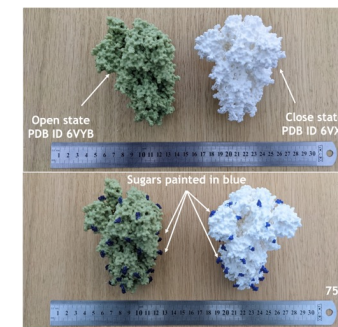
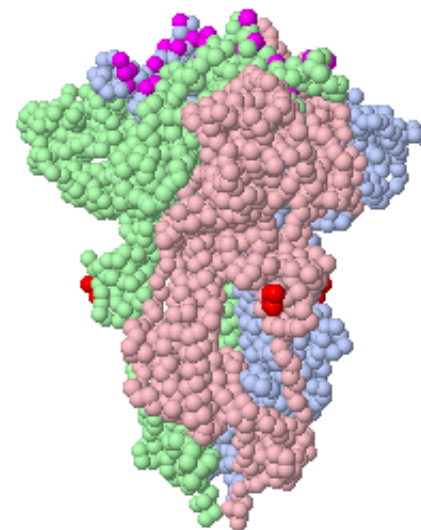


Figure 6-38
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



<https://modele moleculare.ro/spike-sars/>

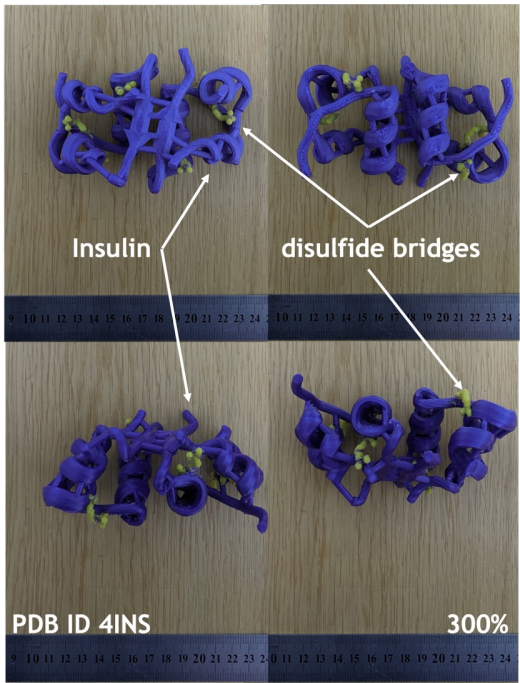
Jmol

Activarea protein Spike din SARS-CoV2 printr-o clivare proteolitica realizata de catre furina

magenta – situs de legare al ACE2; rosu – situs de clivare pt furina.

https://proteopedia.org/wiki/index.php/SARS-CoV-2_spike_protein_priming_by_furin

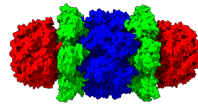
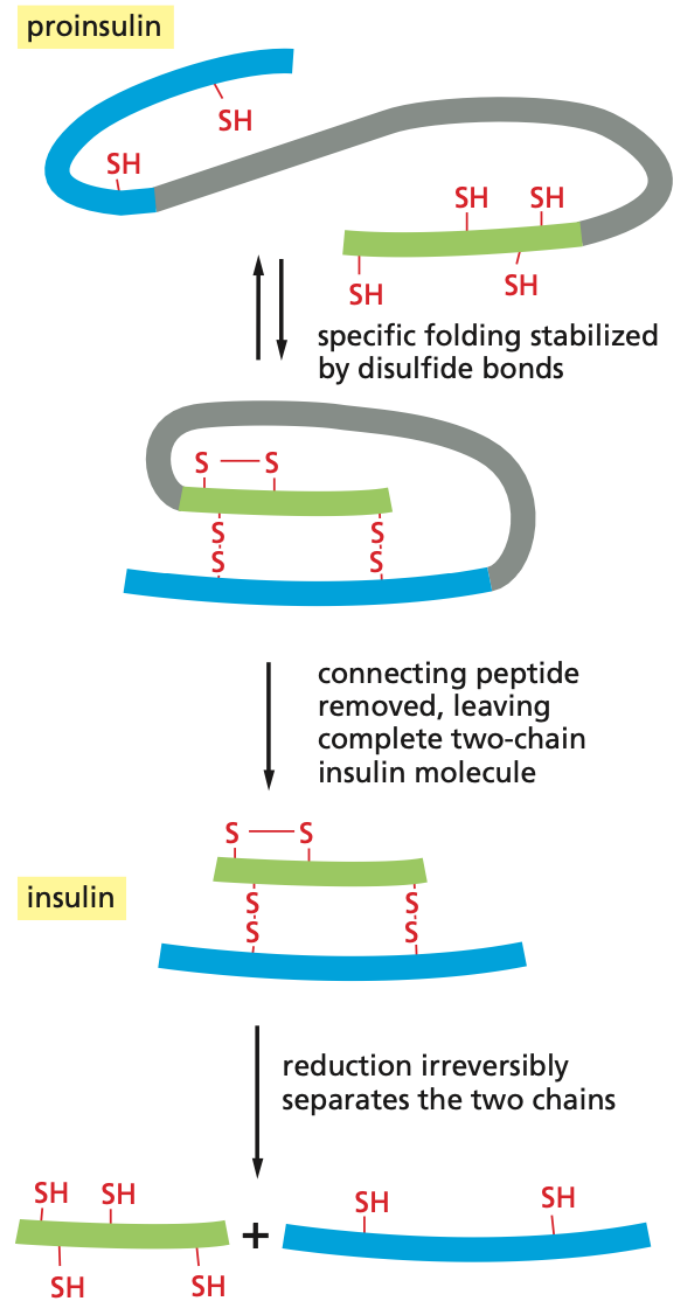
Exemple de PTMs si semnificatia lor



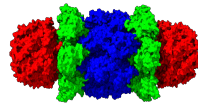
<https://modele moleculare.ro/insulin/>

Figure 3–30 Proteolytic cleavage in insulin assembly. The polypeptide hormone insulin cannot spontaneously re-form efficiently if its disulfide bonds are disrupted. It is synthesized as a larger protein (*proinsulin*) that is cleaved by a proteolytic enzyme after the protein chain has folded into a specific shape. Excision of part of the proinsulin polypeptide chain removes some of the information needed for the protein to fold spontaneously into its normal conformation. Once insulin has been denatured and its two polypeptide chains have separated, its ability to reassemble is lost.

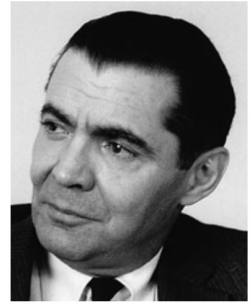
Alberts, Figura 3–30, pg. 130.



Exemple de PTMs si semnificatia lor



- SRP - signal recognition particle**
- recunoaște secvența semnal și blochează elongarea atunci când catena nascentă are 70 aminoacizi;
 - Direcționează ribozomul către un receptor specific de pe membrana reticulului endoplasmatic;
 - se desprinde de pe ribozom și permite reluarea translocării.



George Palade

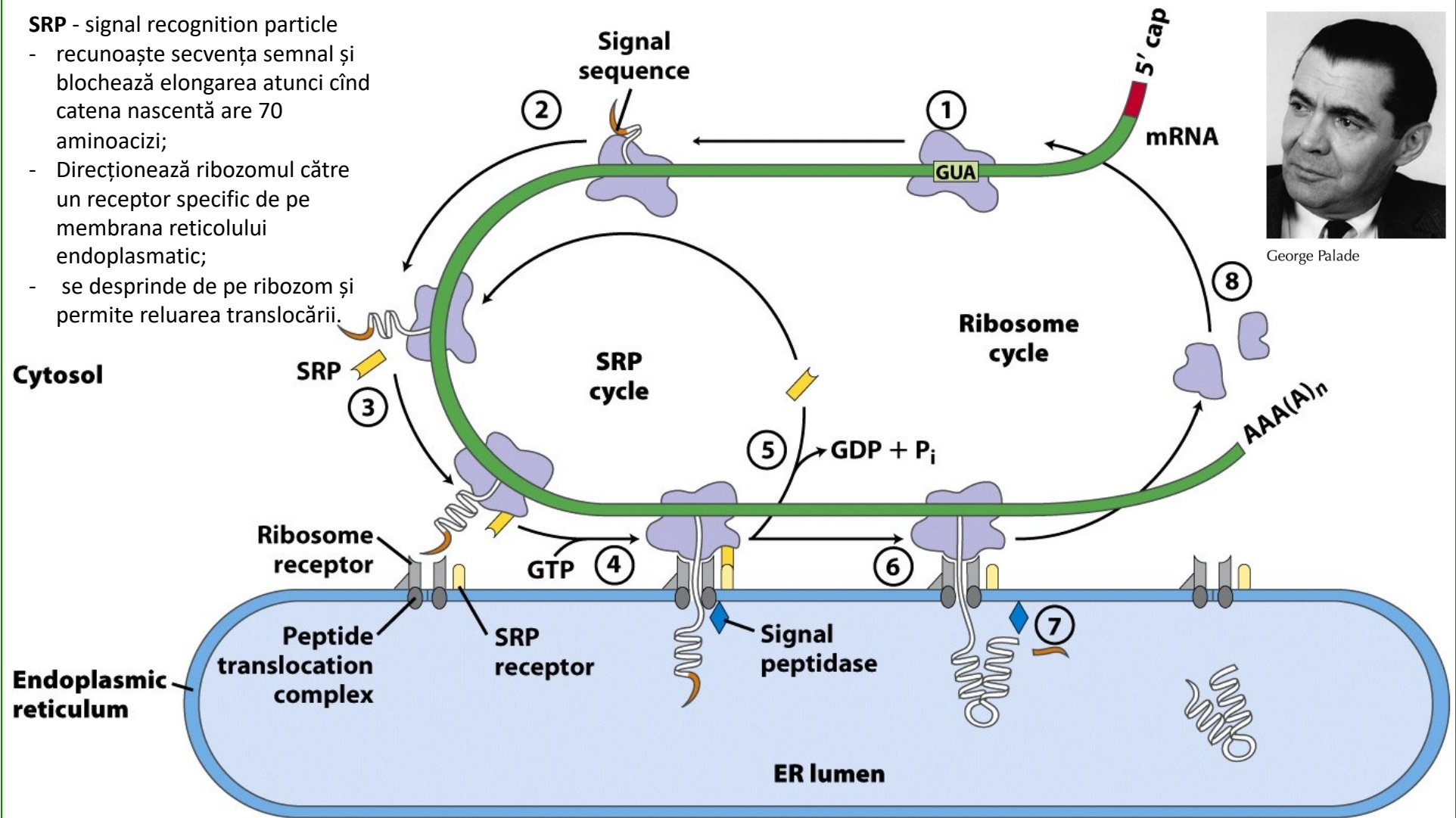
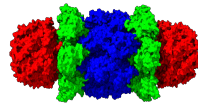


Figure 27-38
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company

Exemple de PTMs si semnificatia lor



Inner membrane proteins

Phage fd, major coat protein

Met Lys Lys Ser Leu Val Leu Lys Ala Ser Val Ala Val Ala Thr Leu Val Pro Met Leu Ser Phe Ala Ala Glu --

Phage fd, minor coat protein

Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser His Ser Ala Glu --

Periplasmic proteins

Alkaline phosphatase

Met Lys Gln Ser Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr Pro Val Thr Lys Ala Arg Thr --

Leucine-specific binding protein

Met Lys Ala Asn Ala Lys Thr Ile Ile Ala Gly Met Ile Ala Leu Ala Ile Ser His Thr Ala Met Ala Asp Asp --

β -Lactamase of pBR322

Met Ser Ile Gln His Phe Arg Val Ala Leu Ile Pro Phe Phe Ala Ala Phe Cys Leu Pro Val Phe Ala His Pro --

Outer membrane proteins

Lipoprotein

Met Lys Ala Thr Lys Leu Val Leu Gly Ala Val Ile Leu Gly Ser Thr Leu Leu Ala Gly Cys Ser --

LamB

Leu Arg Lys Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Ala Gly Val Met Ser Ala Gln Ala Met Ala Val Asp --

OmpA

Met Met Ile Thr Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala Thr Val Ala Gln Ala Ala Pro --

Figure 27-43

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

FIGURE 27-44 Model for protein export in bacteria.

① A newly translated polypeptide binds to the cytosolic chaperone protein SecB, which ② delivers it to SecA, a protein associated with the translocation complex (SecYEG) in the bacterial cell membrane. ③ SecB is released, and SecA inserts itself into the membrane, forcing about 20 amino acid residues of the protein to be exported through the translocation complex. ④ Hydrolysis of an ATP by SecA provides the energy for a conformational change that causes SecA to withdraw from the membrane, releasing the polypeptide. ⑤ SecA binds another ATP, and the next stretch of 20 amino acid residues is pushed across the membrane through the translocation complex. Steps ④ and ⑤ are repeated until ⑥ the entire protein has passed through and is released to the periplasm. The electrochemical potential across the membrane (denoted by + and -) also provides some of the driving force required for protein translocation.

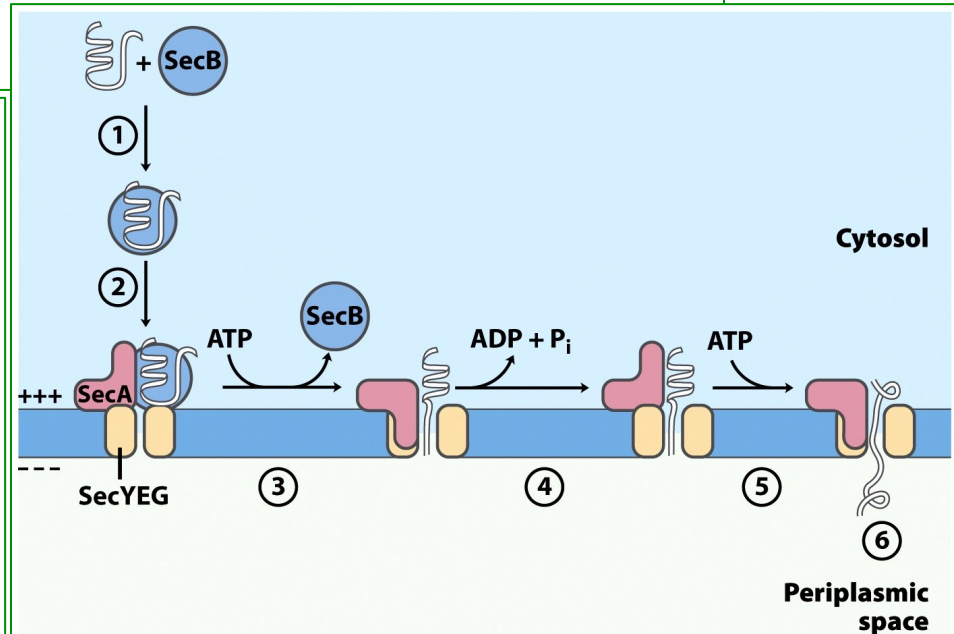
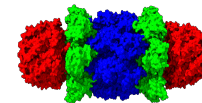


Figure 27-44

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company



7. atașarea de catene glucidice – la nivelul grupei NH₂ din Asn sau OH din Ser și Thr, cu formarea de glicoproteine.

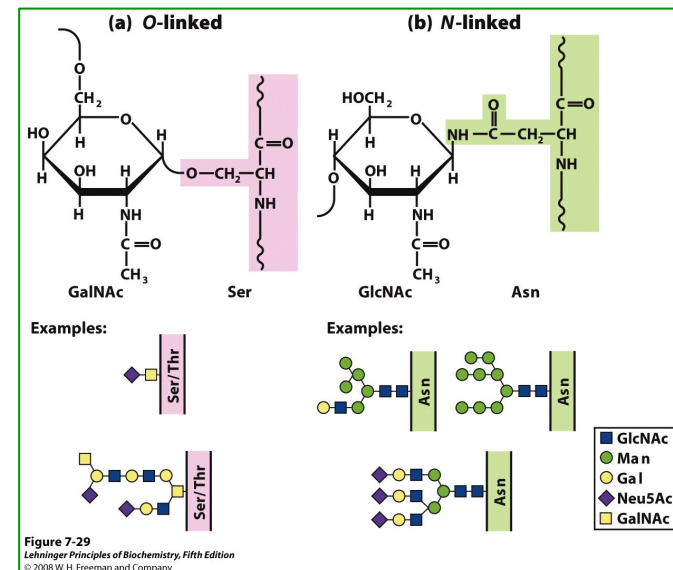
Numeroase proteine extracelulare, precum și proteoglicanii conțin catene glucidice.

Unele proteine ce sunt modificate posttraducere prin glicozilare fac parte dintr-un sistem de semnalizare și transmitere a informației biologice în care rolul esențial îl au **lectinele** - proteine membranare (atașate sau integrate în membrana celulară) ce sunt capabile să recunoască și să interacționeze în mod specific cu glucidele. Două exemple ce demonstrează modul cum funcționează sistemul de transmitere a informației pe bază de glucide sunt:

A. Eritrocitele tinere produse de măduva osoasă conțin în membrana celulară, spre exterior, glicoproteine a căror porțiune glucidică se termină cu derivatul glucidic acid N-Acetil-neuraminic (acid sialic, Neu5Ac). Pe măsură ce îmbătrânesc, eritrocitele pierd restul Neu5Ac.

Celulele din ficat și splină conțin lectine ce recunosc și au afinitate pentru glicoproteinele lipsite de Neu5Ac ale eritrocitelor. Celulele roșii îmbătrânite vor fi reținute, fagocitate de către hepatocite și astfel eliminate din circulație, pe când celulele roșii tinere nu pot interacționa cu lectinele hepatocitelor și vor continua să circule. În cazul glicoproteinelor eritrocitare, prezența Neu5Ac semnalizează că celula este tânără;

B. Bacteria *Helicobacter pylori* responsabilă de apariția ulcerului gastric conține lectine ce recunosc specific glicoproteinele și proteoglicanii de pe suprafața celulei epiteliale din stomac, permițând astfel atașarea celulelor bacteriene în mod specific de suprafața stomacului. În acest caz, glucidele de pe suprafața celulei epiteliale semnalizează bacteriei că a ajuns la „destinație”.



Exemple de PTMs si semnificatia lor

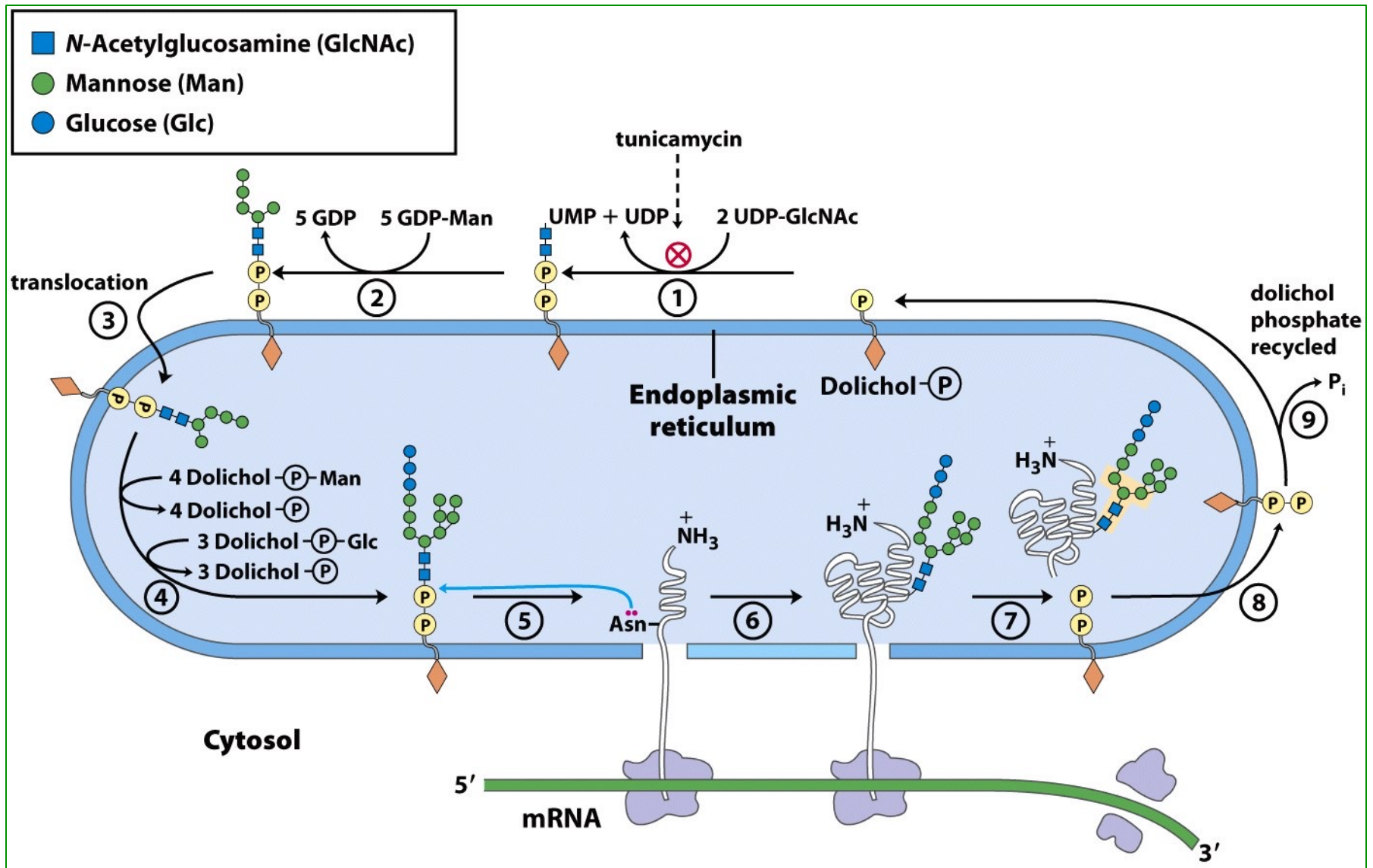
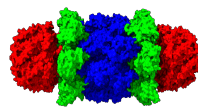
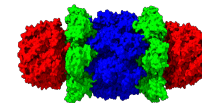


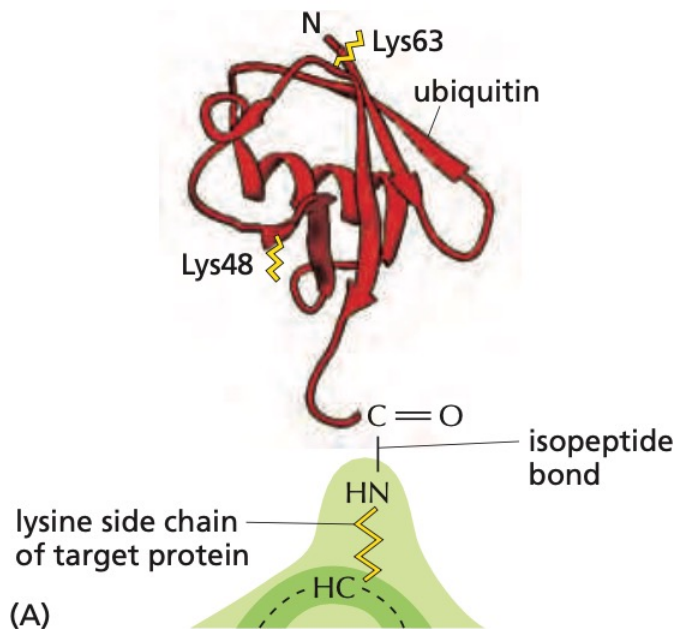
Figure 27-39
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W. H. Freeman and Company



Exemple de PTMs si semnificația lor

8. Ubiquitinarea - marcarea proteinelor cu ubiquitină.

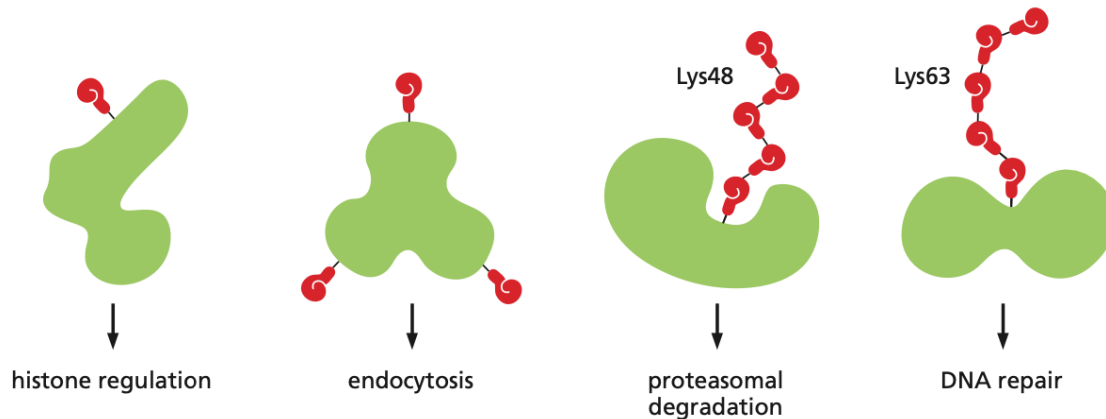
Ubiquitina este una o proteină înalt conservată, secvența sa de 76 de aminoacizi fiind practic identică la toate organismele de la drozdii la oameni. Ubiquitina poate fi atașată de proteine diverse pe un rest de Lys cu formarea unei legături peptidice atipice, numită **legătură isopeptidică**. O moleculă de ubiquitina conține 2 resturi de Lys ce pot fi utilizate pentru atașarea unei altă moleculă de ubiquitină, formând lanțuri într-un proces numit **poliubiquitinare**. Atașarea ubiquitinei de o proteină țintă poate avea semnificații diverse, funcție modul de atașare și numărul de molecule atașate.



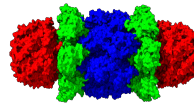
MONOUBIQUITYLATION

MULTIUBIQUITYLATION

POLYUBIQUITYLATION



Alberts, pg. 159.



Poliubiquitinare ca modalitate de marcare a proteinelor ce urmează a fi degradate în proteasom

La fel ca și în cazul ARN-ului, degradarea proteinelor este un proces extrem de activ. Timpul de înjumătățire al proteinelor variază în limite largi, de la 30 sec (factori de transcripție, proteine reglatoare) la câteva zile (110 zile pentru hemoglobină). Pe durata îndeplinirii rolului specific, proteinele pot acumula defecte (Ex. Carboxilarea nespecifică a aminoacizilor datorită stresului oxidativ).

Degradarea proteinelor prin **procesele proteolitice celulare ATP-dependente** previne acumularea proteinelor defecte și a celor ce și-au îndeplinit funcția, nemaifiind necesare celulei, permițând reciclarea aminoacizilor.

•La *E. coli* proteinele sunt degradate de o protează ATP-dependentă numită **Lon** ce hidrolizează 2 ATP/ legătură peptidică).

•La EK, degradarea presupune marcarea specifică a proteinelor ce urmează a fi distruse prin atașare unor lanțuri **ubiquitină într-un proces numit poliubiquitinare**. Ubiquitina se atasează de proteinele ce urmează a fi degradate printr-o legătură covalentă la formarea căreia participă 3 enzime și 1 moleculă de ATP

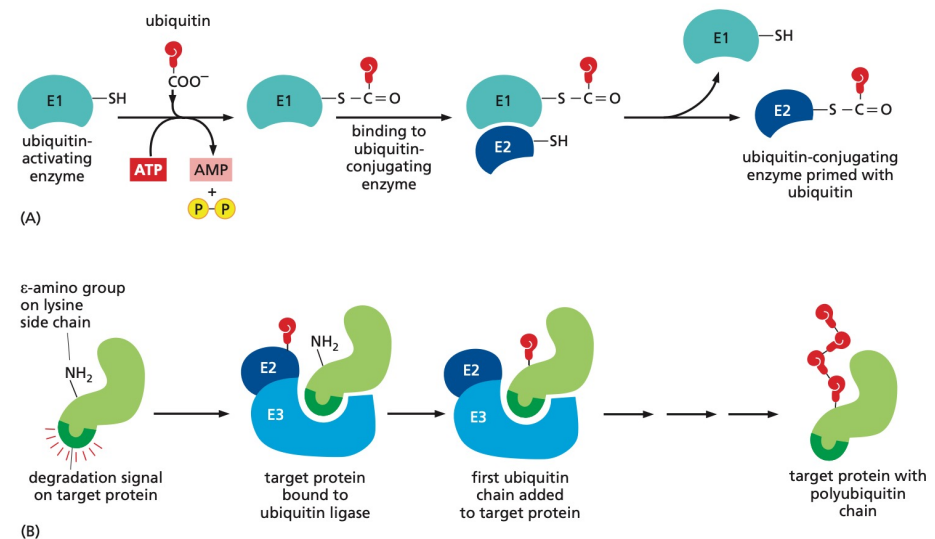
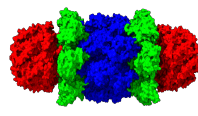


Figure 3-70 The marking of proteins with ubiquitin. (A) The C-terminus of ubiquitin is initially activated by being linked via a high-energy thioester bond to a cysteine side chain on the E1 protein. This reaction requires ATP, and it proceeds via a covalent AMP-ubiquitin intermediate. The activated ubiquitin on E1, also known as the ubiquitin-activating enzyme, is then transferred to the cysteine on an E2 molecule. (B) The addition of a polyubiquitin chain to a target protein. In a mammalian cell, there are several hundred distinct E2-E3 complexes. The E2s are called ubiquitin-conjugating enzymes. The E3s are referred to as ubiquitin ligases. (Adapted from D.R. Knighton et al., *Science* 253:407-414, 1991.)

Exemple de PTMs si semnificatia lor

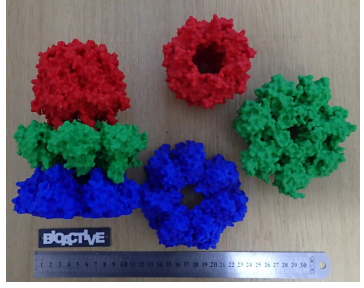


Proteinele poli-ubiquitinate sunt degradate într-un complex macromolecular numit **proteasom 26S** similar unui butoi alcătuit din:

- **o subunitate centrală 20S** – o structură ciclică alcătuită din subunități α cu rol structural și subunități β cu rol catalitic.

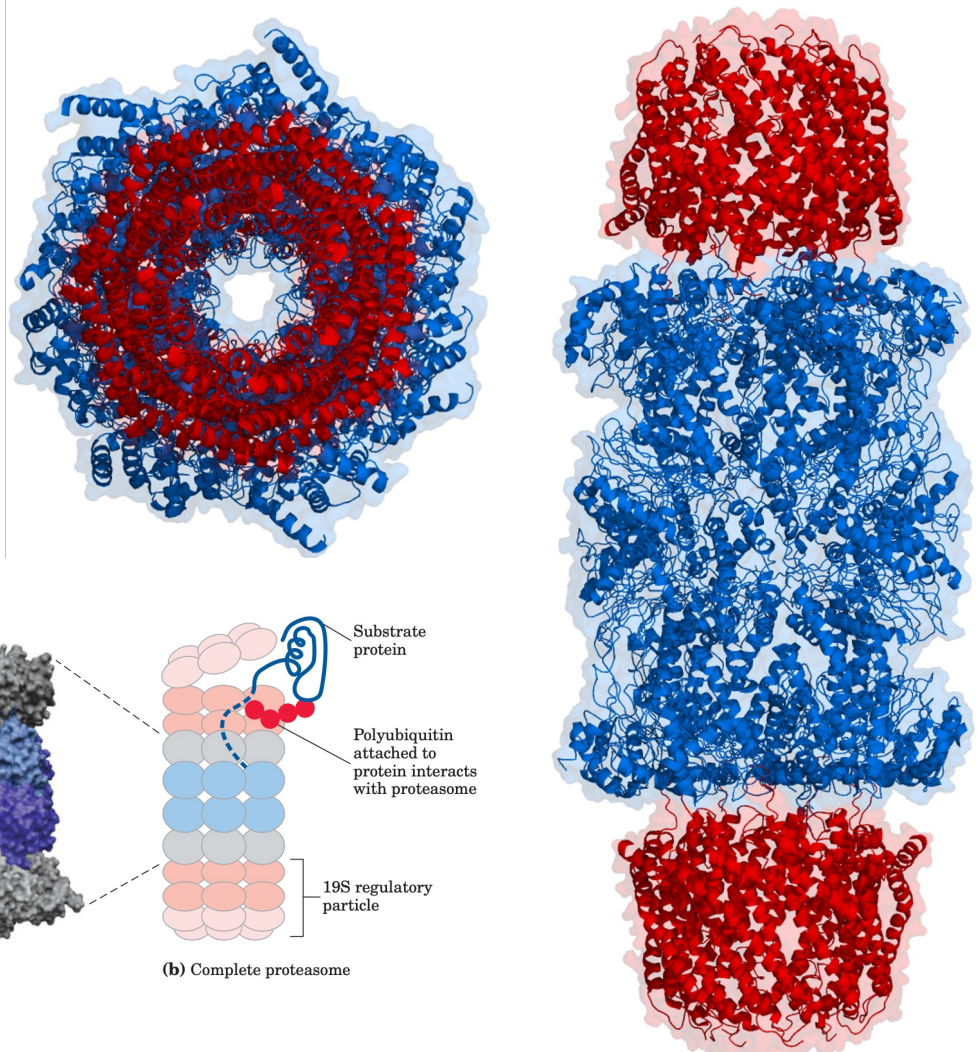
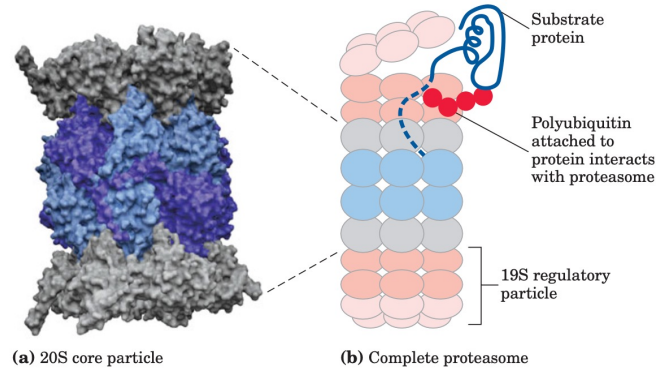
În subunitățile β au fost descrise situsuri catalitice asemănătoare celor din tripsină și chemotripsină;

- **2 subunități 19S reglatoare** amplasate precum capacele butoiului și alcătuite din 18 proteine diferite ce controlează accesul în interiorul proteasomului. 6 dintre proteine sunt ATP-aze ce de-pliază proteinele și le introduc în particula centrală pentru degradare.



<https://modele-moleculare.ro/product/proteasomul/>

FIGURE 27–48 Three-dimensional structure of the eukaryotic proteasome. The 26S proteasome is highly conserved in all eukaryotes. The two sub-assemblies are the 20S core particle and the 19S regulatory particle. (a) (PDB ID 1IRU) The core particle consists of four rings arranged to form a barrel-like structure. Each of the inner rings has seven different β subunits (light blue), three of which have protease activities (dark blue). The outer rings each have seven different α subunits (gray). (b) A regulatory particle forms a cap on each end of the core particle. The core particle is colored as in (a). The base and lid segments of each regulatory particle are presented in different shades of pink. The regulatory particle unfolds ubiquitinated proteins (blue) and translocates them into the core particle, as shown.



The Proteasome

