

ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ



структурные изменения в результате котрансляционных и посттрансляционных модификаций, т.е. **во время или после завершения их синтеза рибосомами**. Описано более 100 различных посттрансляционных модификаций белков, большинство посттрансляционных изменений белков регулируются ферментами .

ОСНОВНЫЕ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫЕ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ

ГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ – О-гликозилирование и N-гликозилирование

Фосфорилирование-дефосфорилирование

Убиквитинирование

Метилирование

Сульфатирование - десульфатирование

Присоединение гидрофобных групп для локализации белков в мембране

Фолдинг белков

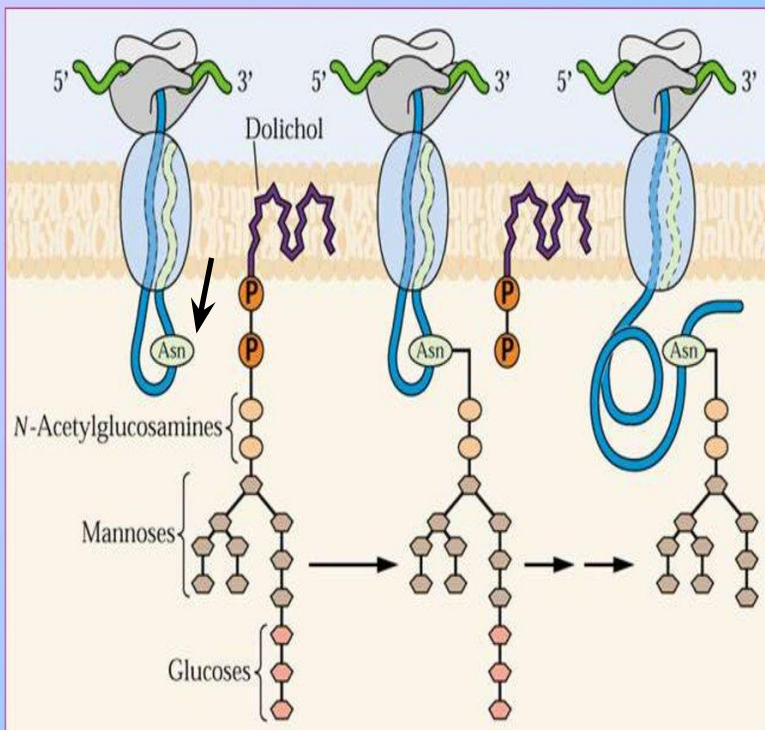
Ограниченный протеолиз белков, шеддинг белков

Формирование устойчивых белковых комплексов

N-гликозилирование – присоединение углеводов к белку - осуществляется в эндоплазматическом ретикулуме и комплексе Гольджи, процесс ферментативный, многостадийный

N-гликозилирование осуществляется по аспарагину!

Секреторный путь транспорта белков: гликозилирование в ЭР



N-гликозилирование наиболее распространено

1. Перенос в ER олигосахаридной цепочки, состоящей из 9Man+1Glu+1NAClc (N-ацетилглюкозамин) при участии долихолфосфата
Долихолфосфаты – длинноцепочечные полиизопренолы, специальные мембраносвязанные липиды
2. Удаление 1Glu+1NAClc глюкозидазой
3. Удаление 4Man маннозидазой I
4. В аппарате Гольджи происходит присоединение 1NAClc и удаление 1Man - NAClc-трансфераза, маннозидаза II
5. В аппарате Гольджи - 1NAClc
6. В аппарате Гольджи происходит окончательное присоединение фукозы, 3 Gal и 3SA (фукозилтрансфераза, галактозилтрансфераза, сиалилтрансфераза)

О-гликозилирование – присоединение 1-2 углеводных остатков по серину, триптофану или треонину, осуществляется в комплексе Гольджи, процесс ферментативный, присоединяются чаще NAClc и SA.

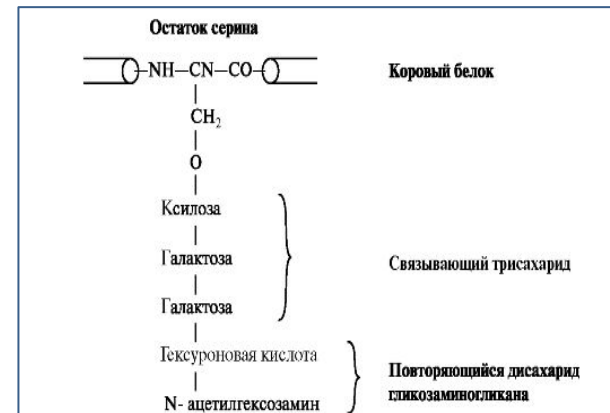
Примеры О-гликозилированных белков

Интерлейкин 2 (И-2)

ЦИТОКИН– присоединяемая по треонину в 3 положении углеводная цепь содержит NAClc, SA и GAL, кол-во углеводных остатков определяет несколько изоформ И-2

Остеопонтин –секреторный сиалопротеин, О-гликозилирован, участвует в процессах минерализации костной ткани

IGFBP-6 – белок, связывающий инсулиноподобные факторы роста, О-гликозилирование приводит к связыванию белка с остатками N-ацетилглюкозамина, ↑ связывающей акт-ти к IGF-II и гликозаминогликанам, ↓ устойчивости к протеолизу



Гликозилирование в условиях гипергликемии – сахарный диабет I-II типа, нарушение толерантности к глюкозе



Типично неферментативное гликозилирование (в основном присоединяется глюкоза, нет разнообразия сахаров) – альбумина, гемоглобина, ЛПНП, ЛПВП, коллагена

Гликированный HbA - контроль эффективности лечения СД и весоредуцирующих технологий – в норме менее 7%.



Гликозилированный коллаген – более устойчив к коллагеназе, менее растворим, чем нормальный коллаген. Утолщение базальной мембраны эндотелия при микроангиопатии и изменения кожи при диабетической хейропатии обусловлены отложением гликозилированного коллагена

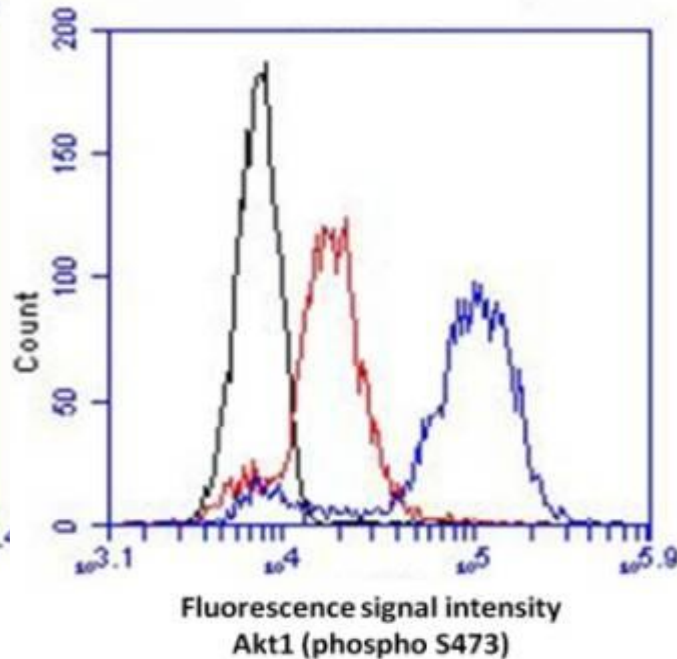
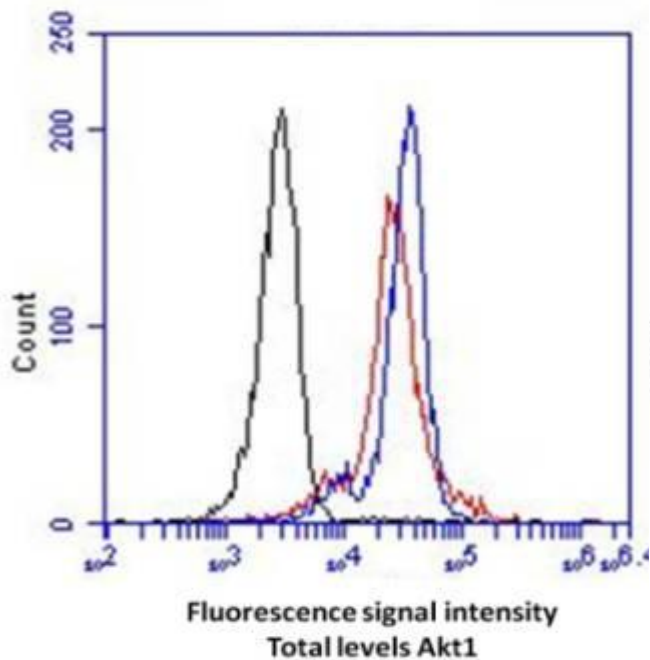
Гликозилированные ЛПНП не распознаются рецепторами ЛПНП печени, поэтому их концентрация в крови высока, а ЛПВП, наоборот, хорошо утилизируются, что играет роль в формировании патологии эндотелия сосудов.

Фосфорилирование – дефосфорилирование белков

Фосфорилирование существенно меняет химические свойства белков. В результате белок становится способным распознавать, связывать, активировать, деактивировать, фосфорилировать и дефосфорилировать свои субстраты. Т.о. фосфорилирование может включать и выключать ферменты.

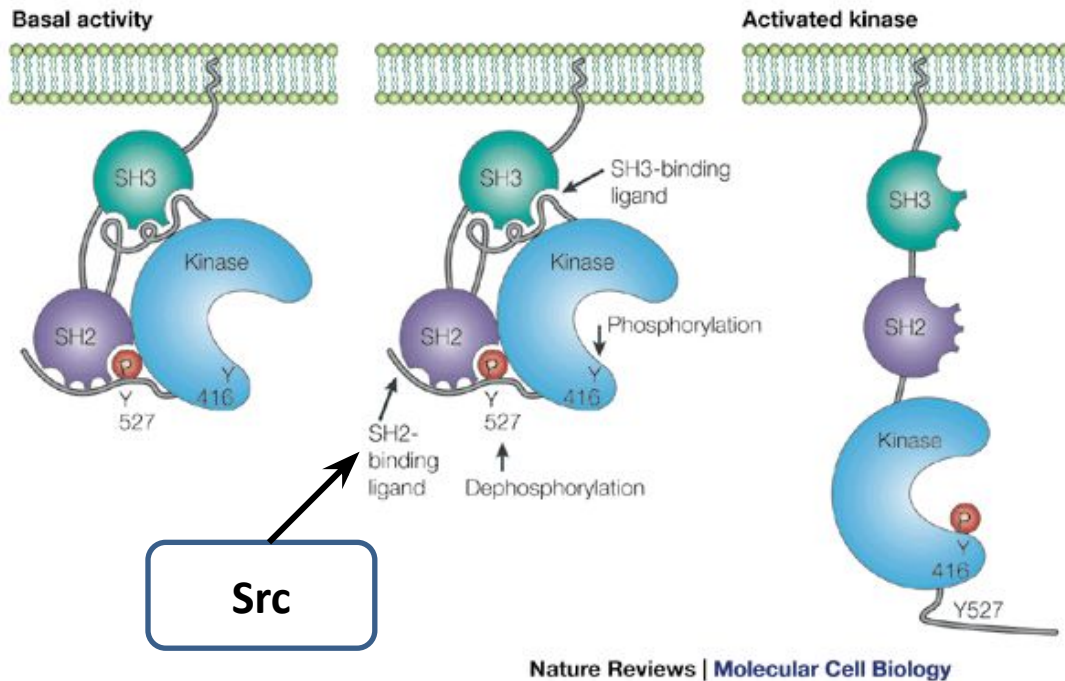
Протеинкиназы – ферменты, катализирующие перенос фосфата от АТФ к специфическому (серину, треонину, тирозину) аминокислотному остатку. Соответственно, выделяют серин-треониновые и тирозиновые протеинкиназы.

АКТ1 – протеинкиназа В – ключевой внутриклеточный фермент сигнального пути PI3K/Akt, вовлечена в регуляцию пролиферации и выживания клеток. В клетке находится в неактивной, нефосфорилированной форме (в цитоплазме), при ее активации (на плазматической мембране) происходит ее фосфорилирование по Ser473. Активированная АКТ1 перемещается в ядро, где фосфорилирует свои мишени.



Субстратам
и АКТ1
являются
p27, p21,
mTor, BAD,
MDM2 –
негативный
регулятор p53

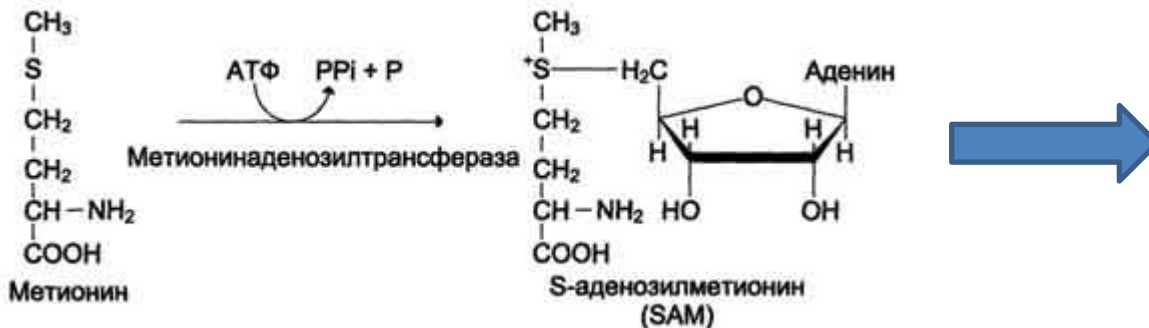
Дефосфорилирование белков осуществляется фосфатазами.



Существует ряд белков (гликогенсинтетаза, Src, c-jun, p56) которые фосфорилированы в состоянии покоя, в активируются при дефосфорилировании.

Взаимодействие CD44 (рецептор адгезии) с киназой c-Src играет ключевую роль в инициации регулируемой кортактином функции цитоскелета и зависимой от гиалуроновой кислоты миграции опухолевых клеток, может быть существенно для прогрессии рака яичника у человека.

Метилирование белков – процесс посттрансляционной модификации, заключающийся в ферментативном присоединении метильной группы к пептиду при помощи метилтрансфераз



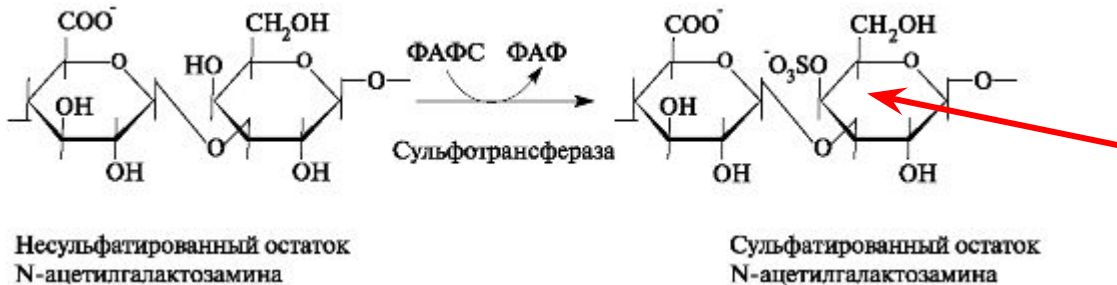
Донором метильной группы является метионин, акцептором - лизин и аргинин

Типично метилирование гистонов (H3, H4, H2A, H2B - core- гистоновый октамер)

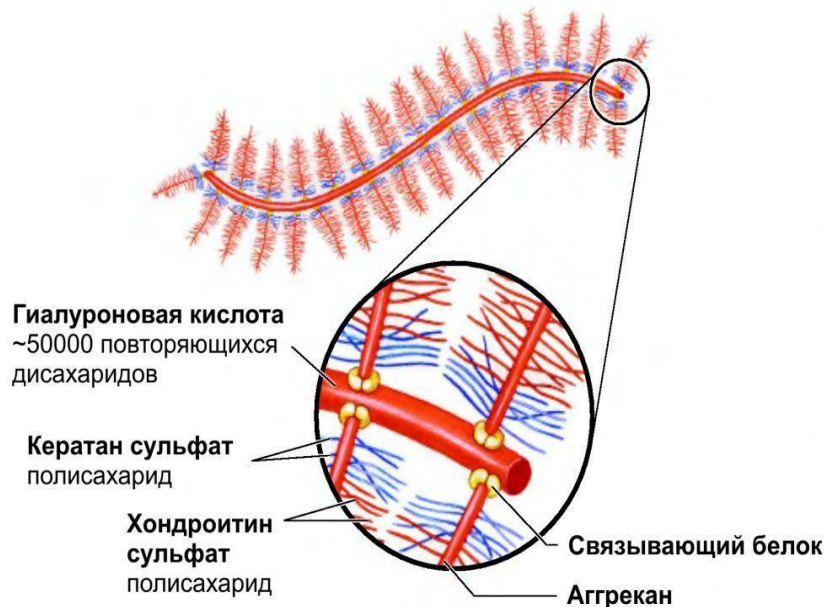
Лизины могут быть моно- (me1), ди- (me2) или три- (me3) метилированными, тогда как аргинины могут быть моно- (me1) или ди- (me2) метилированными; последствия метилирования по отношению к транскрипции могут быть как положительными, так и отрицательными

Поскольку на H3, H4, H2A и H2B имеются по меньшей мере **24 идентифицированных сайта метилирования** лизинов и аргининов, число различающихся метилированных состояний нуклеосом невообразимо велико. Такой комбинаторный потенциал метилированных нуклеосом необходим, чтобы сделать возможным регулирование таких сложных и динамических процессов, как **транскрипция**

Сульфатирование белков – процесс постраниционной модификации, заключающийся в ферментативном присоединении сульфатной группы при помощи сульфотрансфераз (сульфатируются чаще боковые цепи)



сульфатирование идет по углеводным остаткам

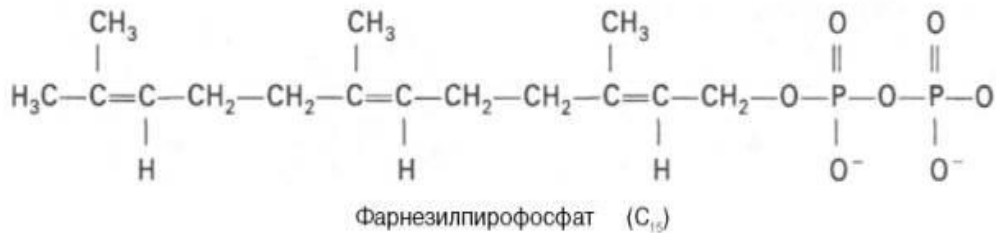


Протеогликаны — компонент экстраклеточного матрикса. Высокомолекулярные соединения, состоящие из белка (на белковую часть приходится 5-10% от общей массы) с высокой степенью гликозилирования (на углеводную часть приходится 90-95% от общей массы), углеводные остатки которых представляют собой длинные неразветвленные полисахаридные цепи — гликозаминогликаны, образованные чередующимися остатками гексозамина и уроновой кислоты (глюкуроновой, идуроновой или галактуроновой) либо галактозы. Гликозаминогликановые цепи зачастую сульфированы

Присоединение гидрофобных групп для локализации белков в мембране

Присоединение гликозилфосфатидил
инозитола – типично для белков
липидных рафтов (кавеолина,
флотиллина)

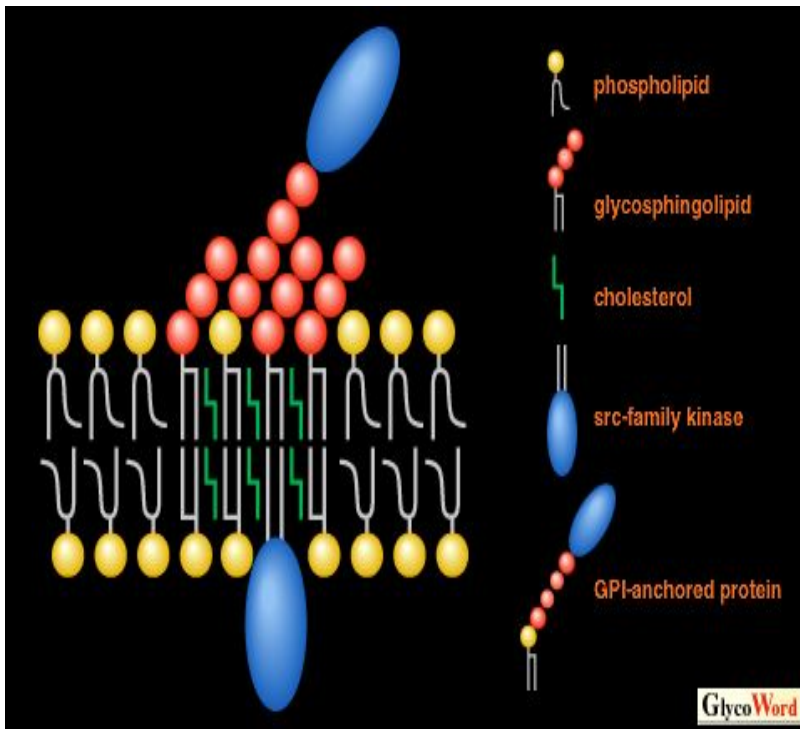
Пренилирование -
присоединение
фарнезилпирофосфата



Предшественник
холестерина

Пренилирование типично для GTP-аз семейства Ras – примембранных заякоренных внутриклеточных белков, регулирующих процессы пролиферации, дифференцировки и морфогенетические процессы клетки. Белковые продукты генов семейства Ras идентифицируются как протоонкогены.

Присоединение гликозилфосфатидил инозитола – типично для белков липидных рафтов (кавеолина, флотиллина)



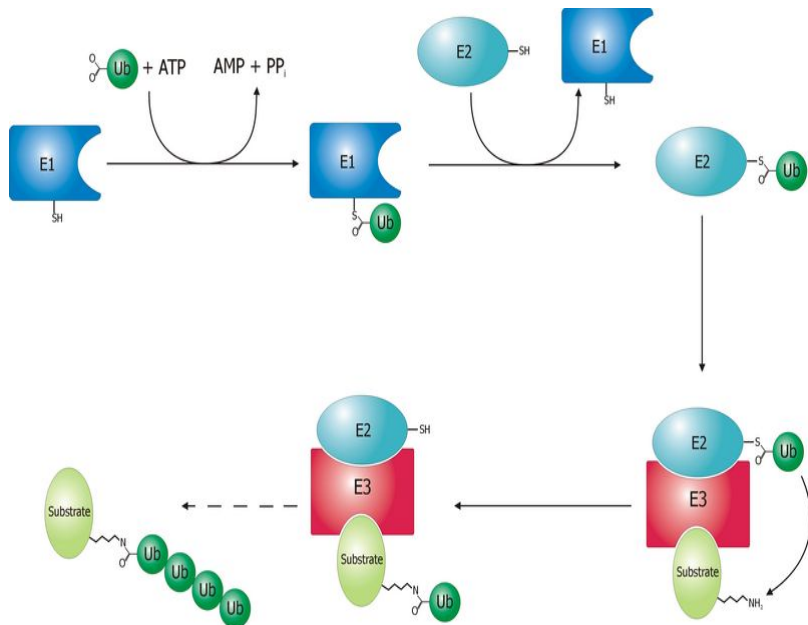
Липидные рафты — особые участки (микродомены) плазматической мембраны, обогащённые гликосфинголипидами и холестерином. Эти участки координируют клеточные процессы, влияют на текучесть мембраны [en], служат организующими центрами для сборки сигнальных молекул, регулируют перемещение мембранных белков, рецепторов, а также регулируют нейротрансмиссию.

Белки, принимающие ГФИ, локализуются на мембране и обращены в **межклеточное пространство**. Эти белки содержат на С-конце гидрофобную последовательность из аминокислот, что позволяет белку погрузиться в ЭПС, эта последовательность затем замещается ГФИ.

**ЛИПИДНЫЕ РАФТЫ – ЛОКУСЫ стабильного функционирования
РЕЦЕПТОР-ЛИГАНДНЫХ КОМПЛЕКСОВ.**

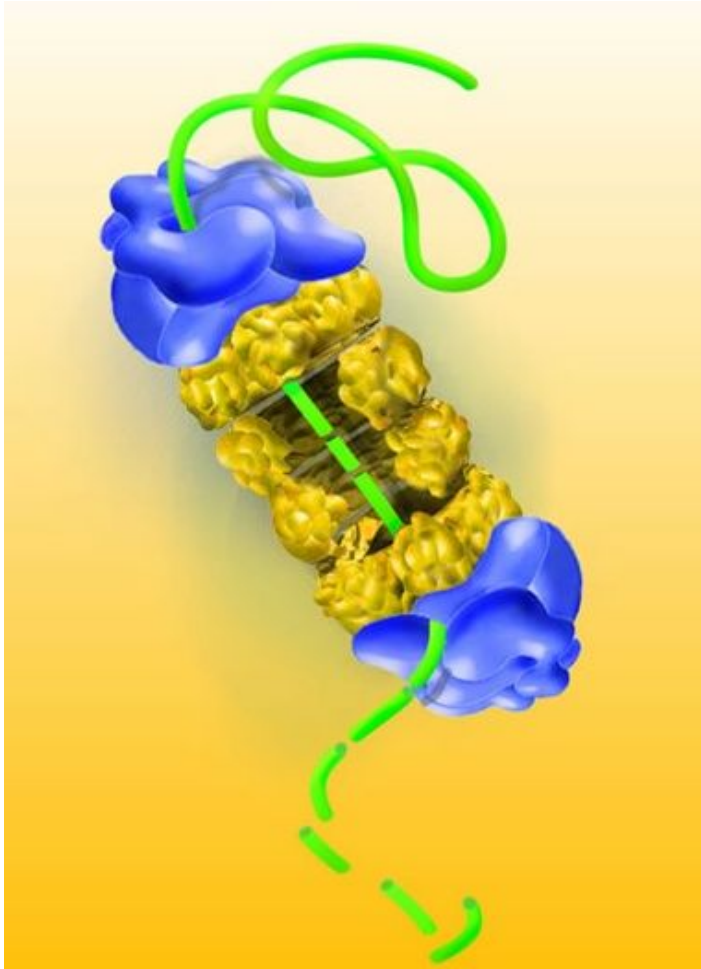
ЛИПИДНЫМИ РАФТАМИ БОГАТЫ ЭКЗОСОМЫ

Убиквитинирование белков - присоединение убиквитина к белку – влияет на функцию и локализацию белка, сигнализирует о потенциальной направленности белка к протеасомному комплексу.



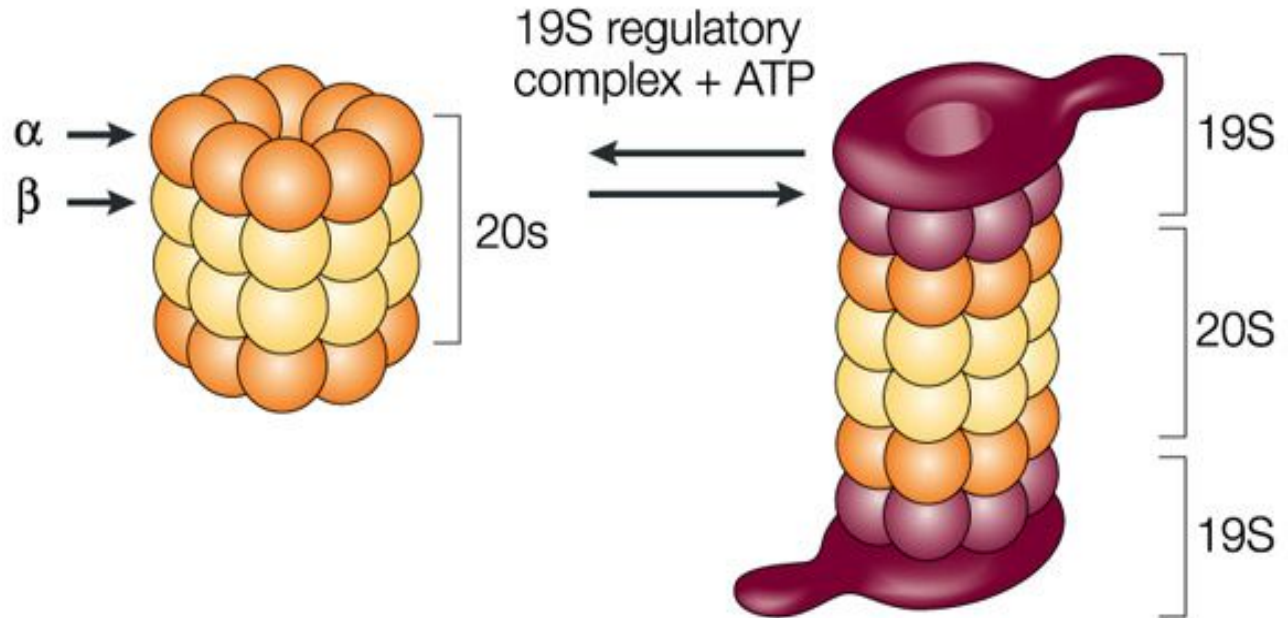
E1 – убиквитинактивирующий фермент АТФ-зависимо активирует убиквитин. Затем активированный убиквитин переносится на молекулу **E2 (убиквитинконъюгирующий фермент)** с формированием сходной тиоэфирной связи. **Убиквитинлигазы E3** взаимодействуют одновременно с E2 благодаря E2-связывающему домену и с белком-субстратом благодаря субстратсвязывающему домену. Белки бывают моно- и полиубиквитинированы.

Формирование устойчивых белковых комплексов с определенными функциями – пример , формирование протеасомы



Протеасома – механоферментный комплекс с протеолитическими активностями

Строение протеасомы

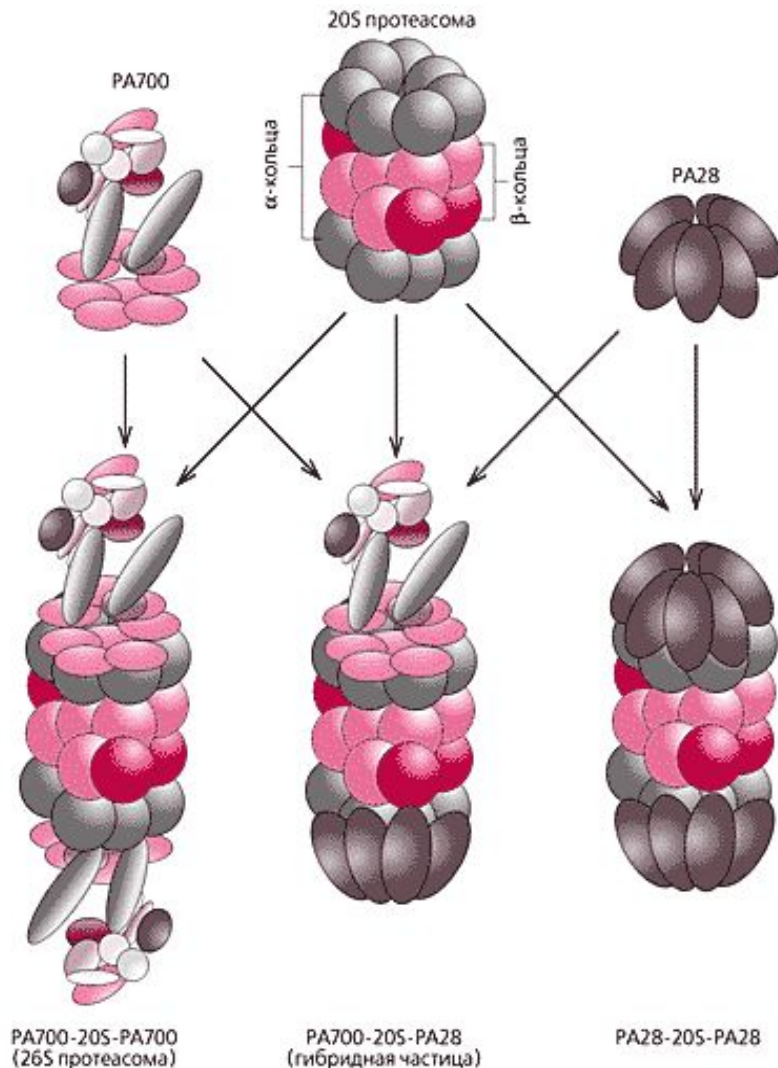


Nature Reviews | Cancer

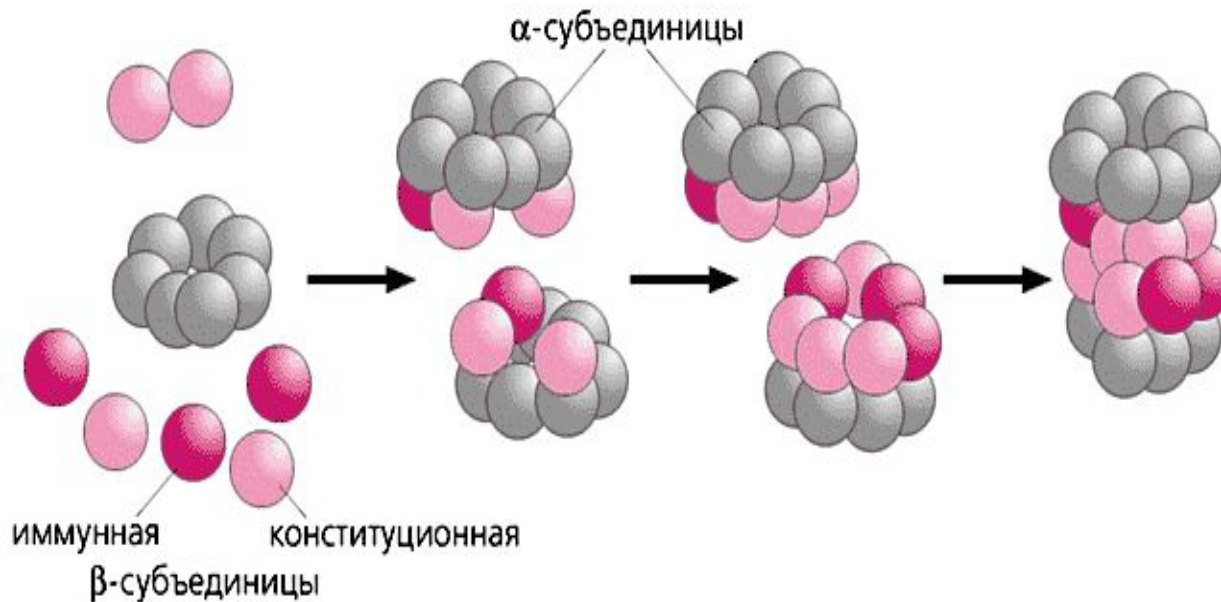
Протеасомы представлены 26S и 20S субпопуляциями. Полный специфический протеолиз происходит в 26S протеасоме. В 20S протеасоме разрушаются аномальные и короткоживущие белки, для деградации белков в 20S протеасомах убиквитинирование не нужно [Emmerich N.P.N., 2000].

Состав 26S протеасом

- Известно, что появление иммунных типов (LMP7, LMP2, PA28) субъединиц в составе протеасом связано с изменением их ферментативной активности [Frisan T., 1998; Almond J.V., 2002].



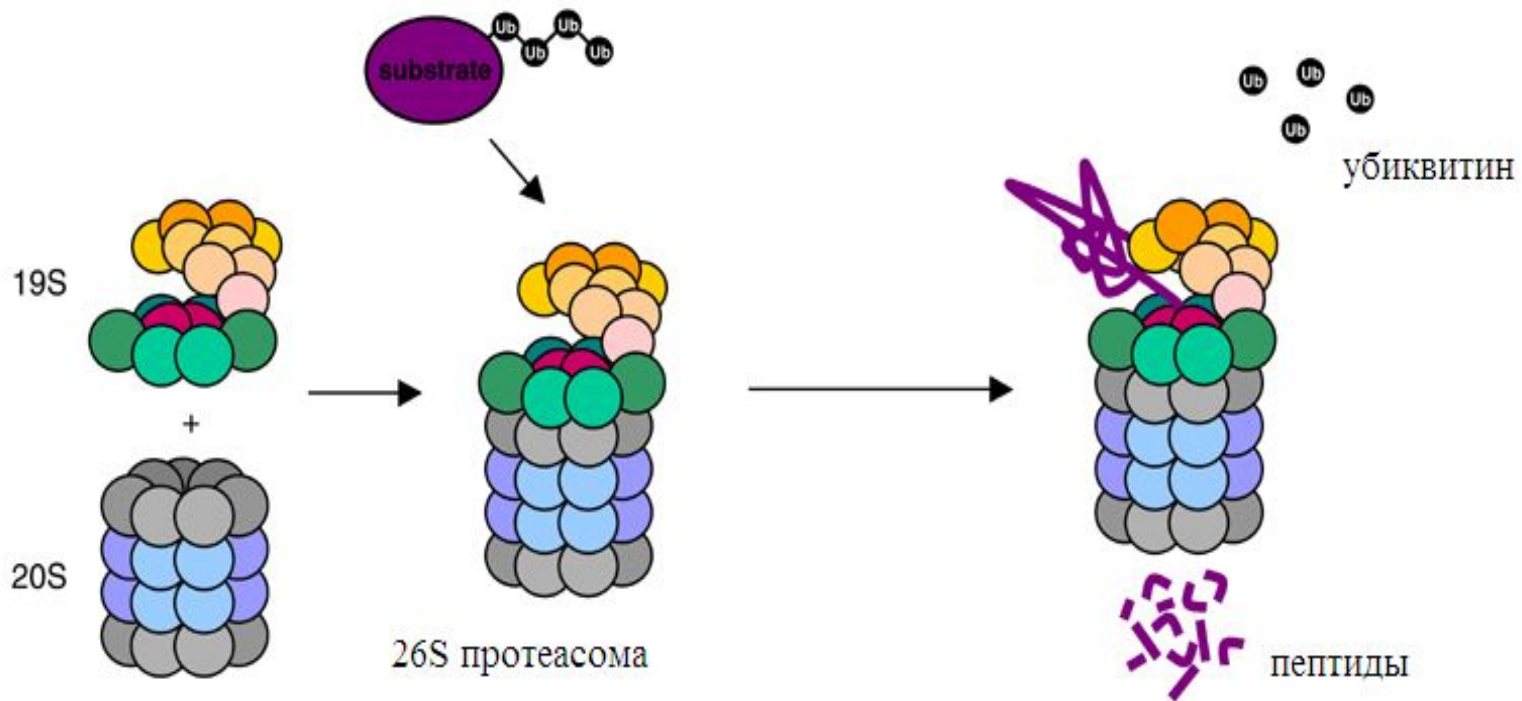
Состав 20S протеасомы



Иммунные субъединицы: LMP-2, LMP-7

Конституционные субъединицы: трипсиноподобная, химотрипсиноподобная, каспазная активности

Схема протеасомной деградации белков

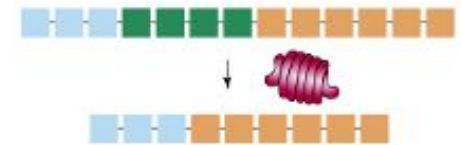


- Реакция присоединения убиквитина катализируется [ферментами убиквитин-лигазами](#). Присоединение первой молекулы убиквитина к белку служит для лигаз сигналом для дальнейшего присоединения молекул убиквитина. В результате к белку оказывается присоединена полиубиквитиновая цепь, которая связывается с протеасомой и обеспечивает расщепление белка-мишени

Функции протеасом

1. Протеолиз цитозольных, ядерных белков: ненормальные белки, короткоживущие белки, поврежденные белки, долгоживущие белки

2. Превращение неактивных белков - предшественников в активные белки



3. Презентация комплекса гистосовместимости I типа

4. Регуляция транскрипции генов

Шеддинг белков (сброс белков) – ограниченный примембранный протеолиз белков, приводящий к отщеплению экстраклеточного домена трансмембранных белков. Осуществляется шеддазами, белки семейства ADAM (ADAM10, ADAM17).

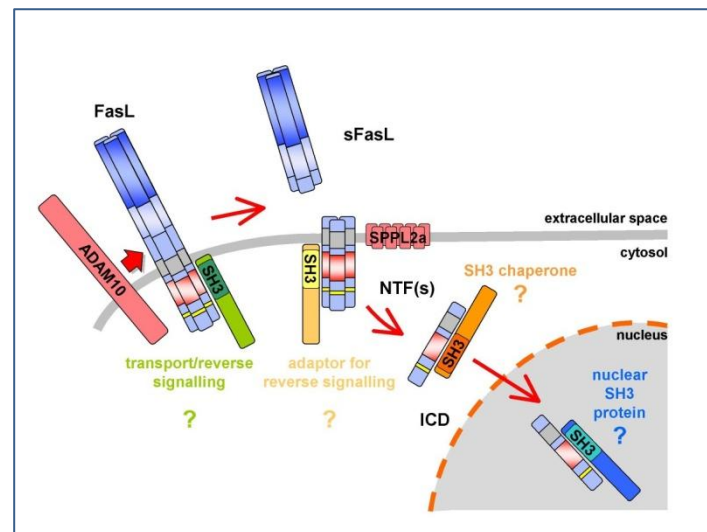
Субстраты шеддаз :

рецепторы ростовых факторов (EGFR1, HER2, TGFbeta-IIIR), рецепторы адгезии CD44, Fas-L рецептор апоптоза

Результат шеддинга – модификация клеточных рецепторов с изменением сигналинга от рецепторов ростовых факторов и адгезии + появление в биологических жидкостях растворимых форм рецепторов:

sCD44, sEGFR1, sHER2, sTGFbeta-IIIR, sFasL.

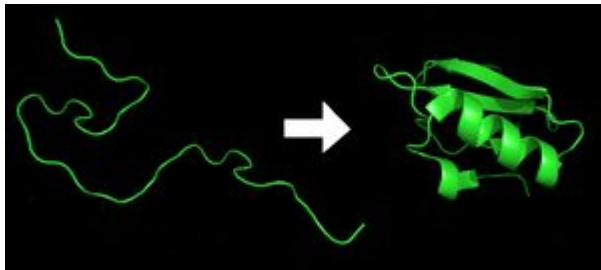
Большинство растворимых форм этих рецепторов индуцируют клеточную подвижность.



Сброс FasL-рецептора, появление растворимых форм рецептора, нарушение апоптоза



Фолдинг белков – процесс спонтанного сворачивания полипептидной цепи в уникальную нативную пространственную структуру

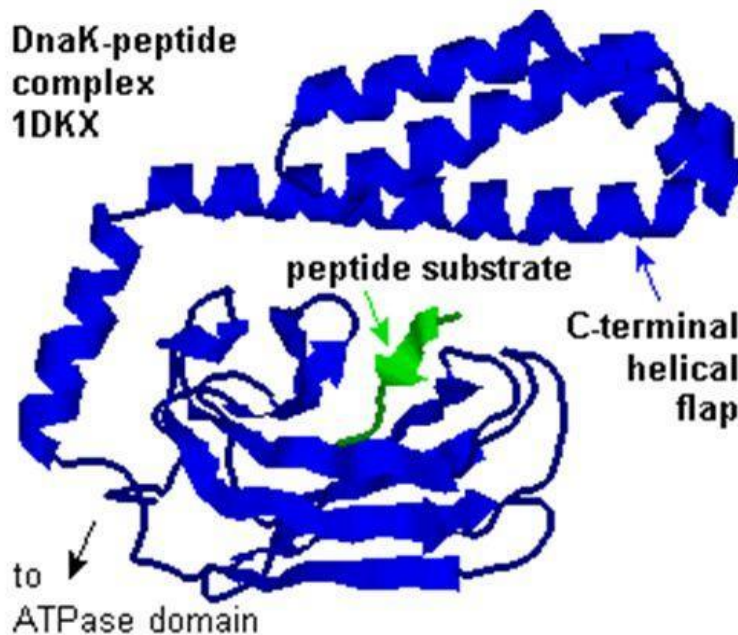


Дисульфидные мостики — ковалентная связь между двумя атомами серы ($-S-S-$), входящими в состав серосодержащей аминокислоты цистеина. Образующие дисульфидную связь аминокислоты могут находиться как в одной, так и в разных полипептидных цепях белка. Дисульфидные связи образуются в процессе посттрансляционной модификации белков и служат для поддержания третичной и четвертичной структур белка.

Каждая молекула белка начинает формироваться как полипептид, транслируемый из последовательности мРНК в виде линейной цепочки аминокислот. У полипептида нет устойчивой трёхмерной структуры. Однако все аминокислоты в цепочке имеют определённые химические свойства: гидрофобность, гидрофильность, электрический заряд. При взаимодействии аминокислот друг с другом и клеточным окружением получается хорошо определённая трёхмерная структура — конформация. В результате на внешней поверхности белковой глобулы формируются полости активных центров

Новосинтезированные белки должны укладываться в стабильные трёхмерные структуры и оставаться такими на протяжении всей функциональной жизни клетки. Поддержание контроля качества структуры белка и осуществляется **шаперонами**, катализирующими укладку полипептидов. **Шапероны** связываются с гидрофобными участками неправильно уложенных белков, помогают им свернуться и достигнуть стабильной нативной структуры и, тем самым, предотвращают их включение в нерастворимые и нефункциональные агрегаты.

Белки теплового шока



- Hsp70 — шаперон *DnaK*
- Hsp60 — шаперон *DnaJ*
- Осуществляют котрансляционный фолдинг

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!