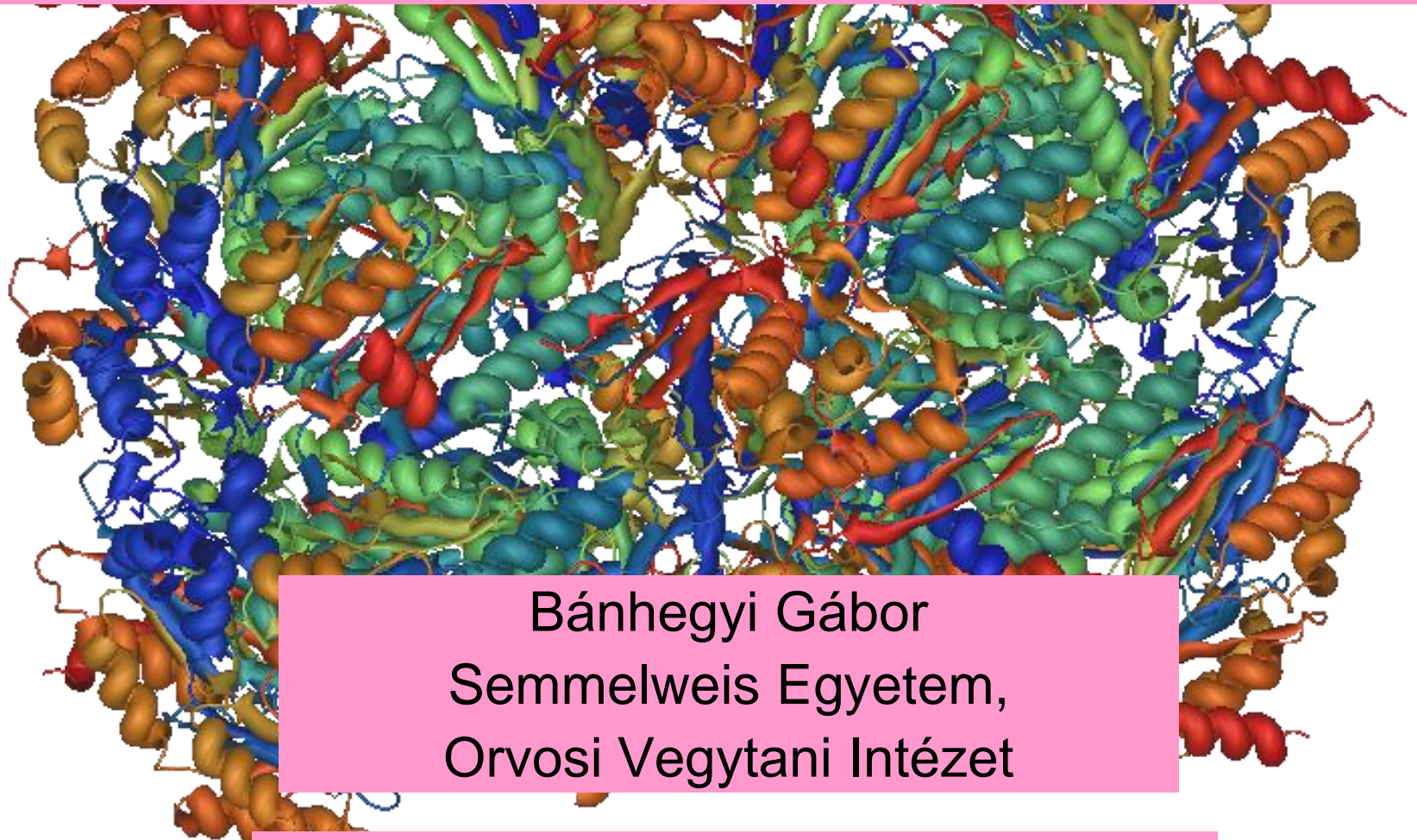


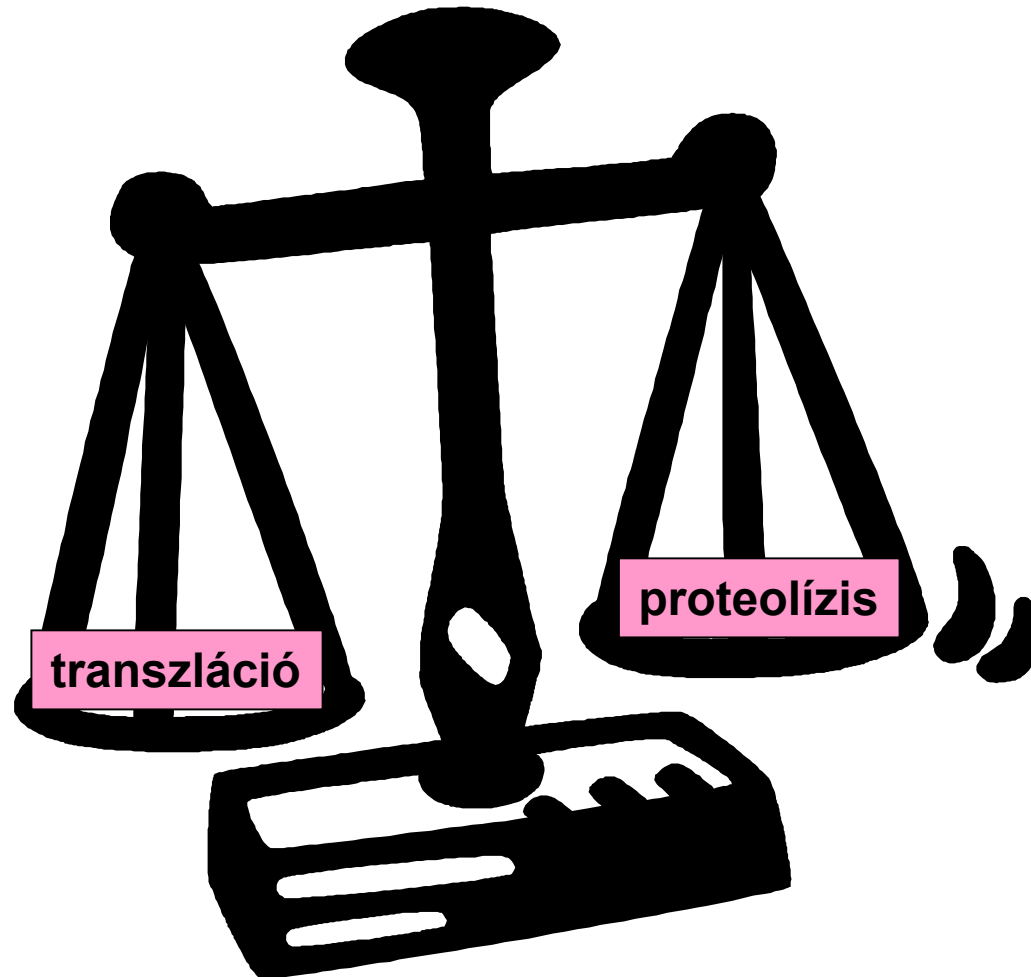
Proteaszomális fehérjelebontás



Bánhegyi Gábor
Semmelweis Egyetem,
Orvosi Vegytani Intézet

BME Patobiokémia Biomérnök M.Sc.
2018. május 3.

Fehérjeegyensúly - proteosztázis





"Now, here, you see, it takes all the running you can do, to keep in the same place. If you want to get somewhere else, you must run twice as fast as that."

Proteolízis

Limitált proteolízis

Teljes proteolízis

IC

EC

IC

EC

Proteolítikus kaszkádok
(pl. kaszpáz)
Transzkripciós faktorok
aktiválódása
(SREBP, ATF6)

Proteolítikus kaszkádok
(véralvadás, komplement
rendszer, kininek)
Zimogének aktiválódása
(tripszin)

Rövid élettartamú, felesleges,
káros és károsodott fehérjék
eltávolítása
Aminosavak reciklálása
Energiatermelés

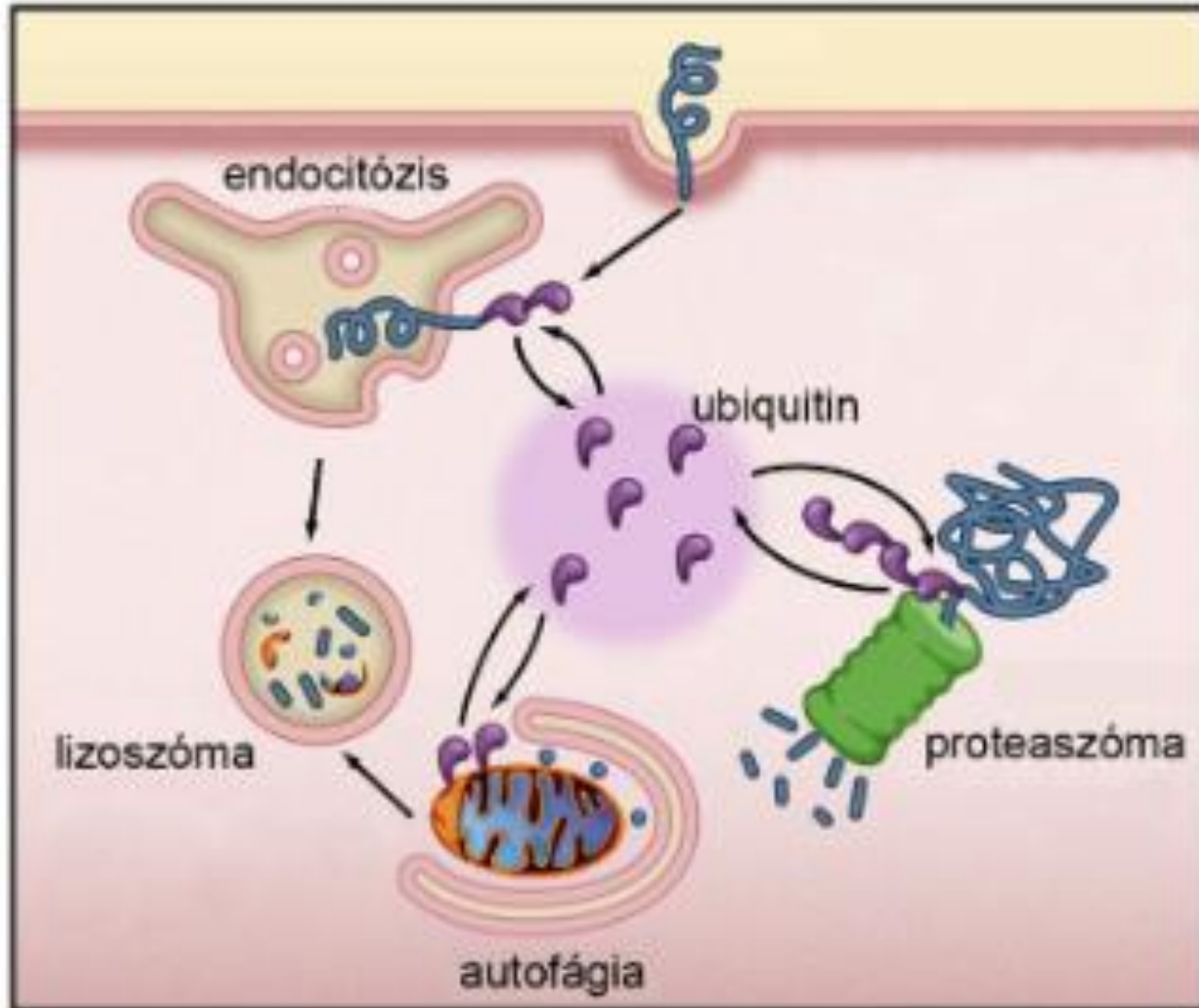
Emésztés

Reguláció

Nehézségek

- Szubsztrátfelismerés
 - Polipeptid bizonyos szekvenciái alapján (konstitutív)
 - Poszttranszlációs módosítások révén (szabályozott)
 - Hidroxiláció
 - Foszforiláció
 - Ubikvitináció
 - Előregedett fehérjék (chaperon-mediált?)
- Nem-szubsztrátok nem-felismerése - KOMPARTIMENTÁCIÓ
 - Valódi kompartmentáció
 - Lizoszóma
 - Autofág vakuólum
 - Álkompartmentáció v. autokompartmentáció
 - Proteaszóma lumen

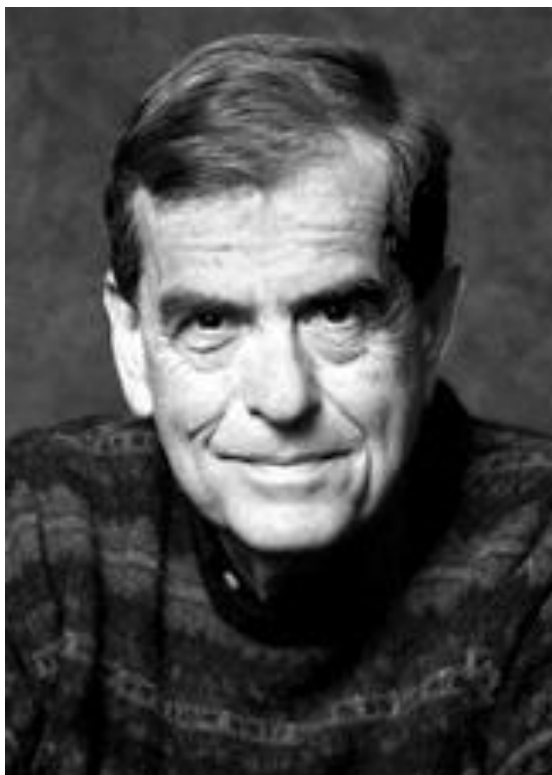
Az intracelluláris proteolízis helyszínei





The Nobel Prize in Chemistry 2004

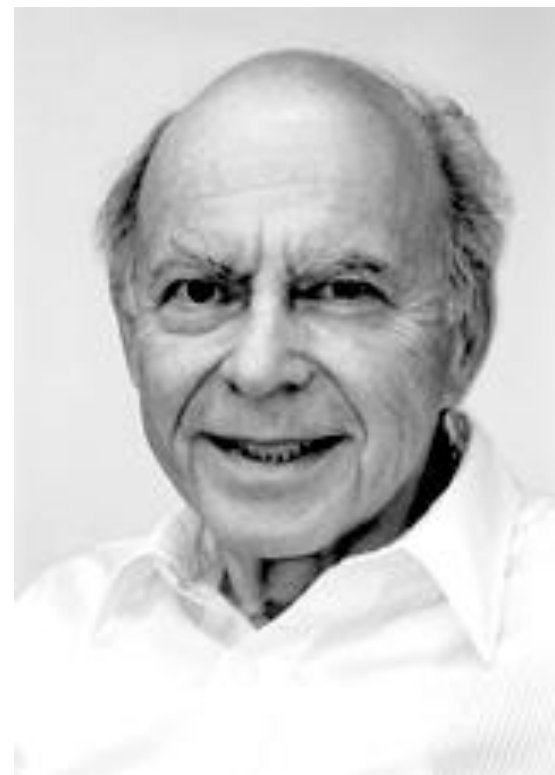
"for the discovery of ubiquitin-mediated protein degradation"



Aaron Ciechanover

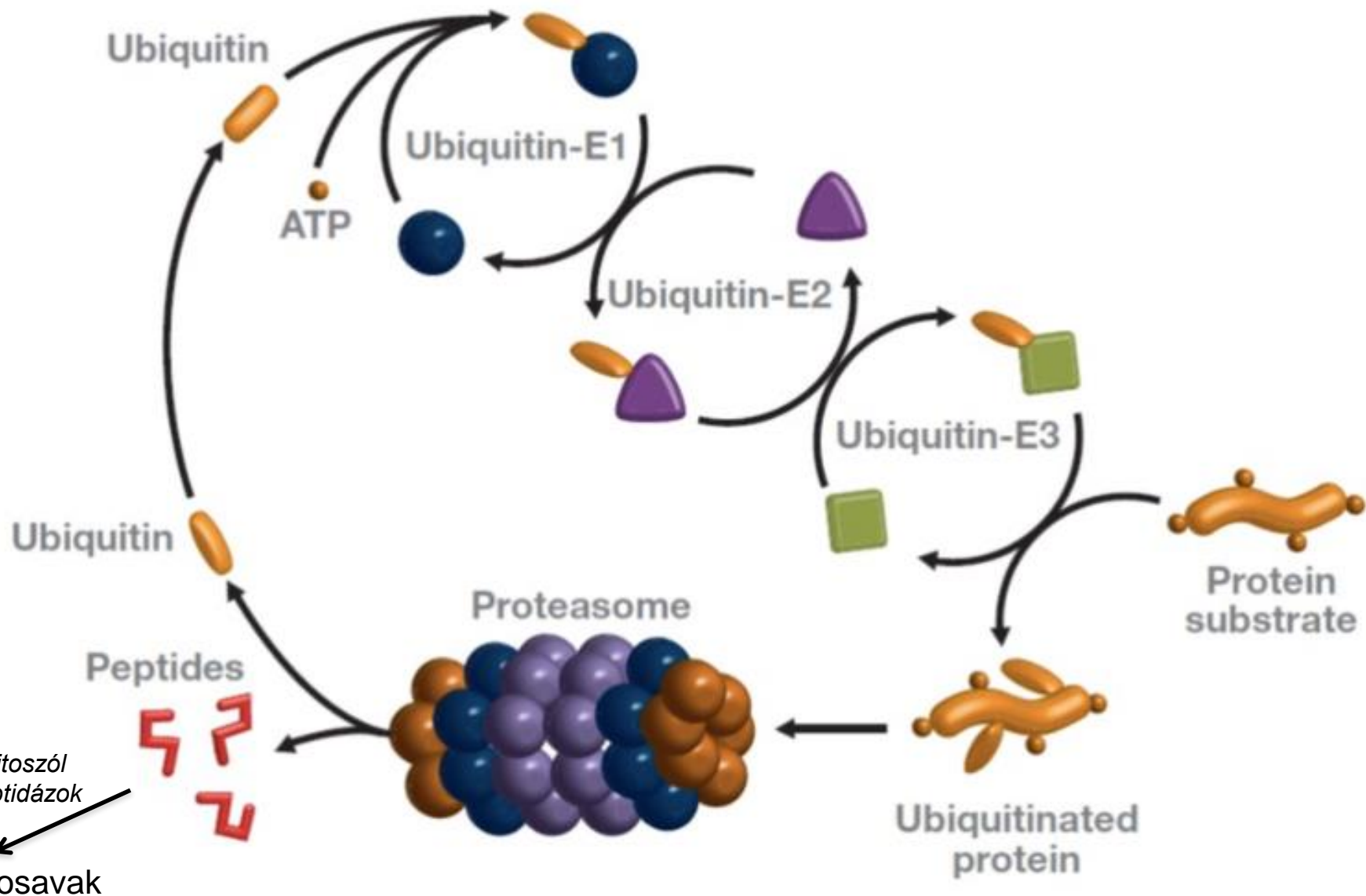


Avram Hershko



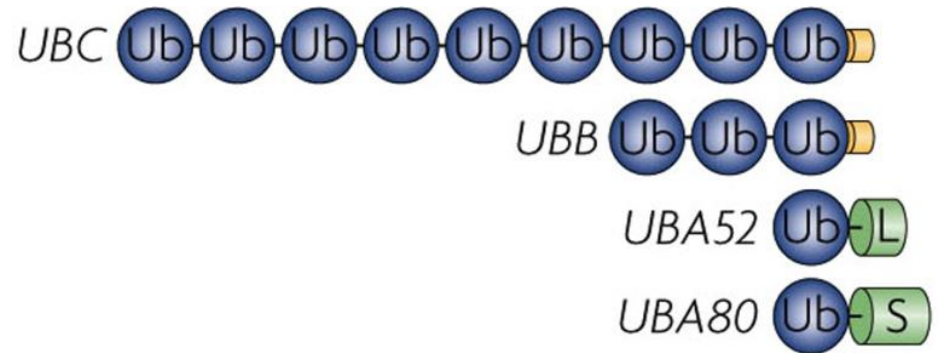
Irwin Rose

Az ubikvitin – proteaszóma rendszer működése

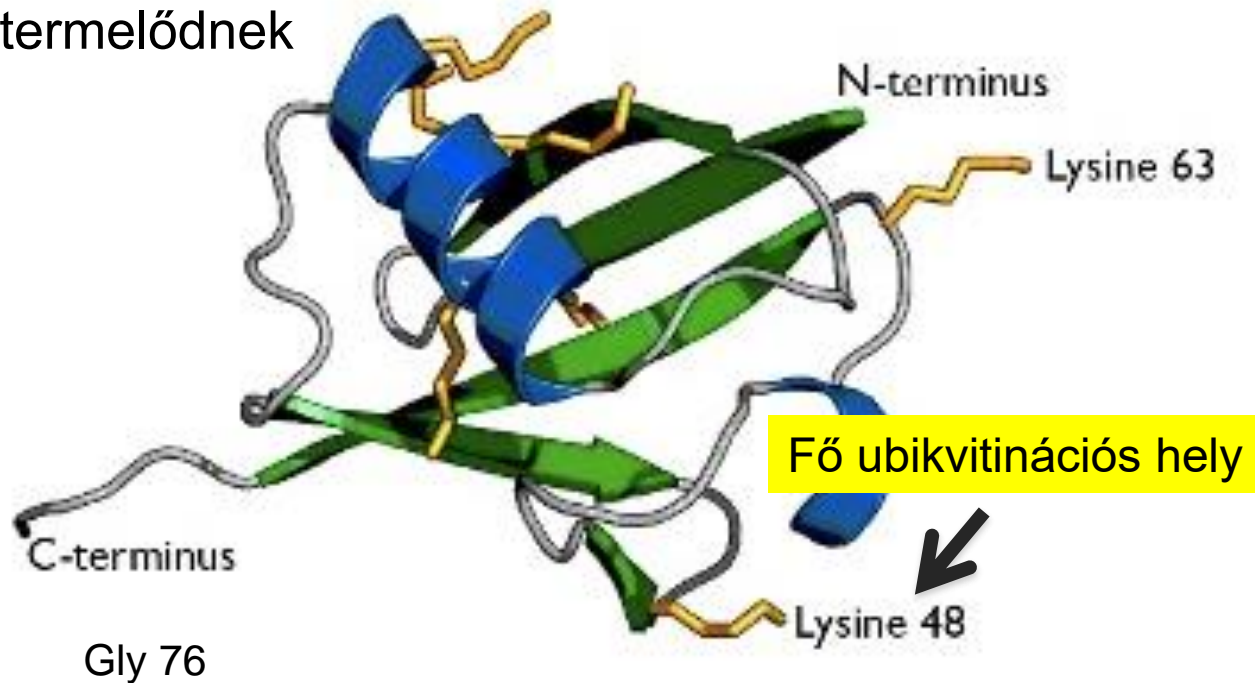


Ubikvitin

- Konzervatív fehérjék
- Ubikviter
- 76 aminosav, 8,5 kDa
- 4 gén terméke
- Fúziós fehérjeként termelődnek

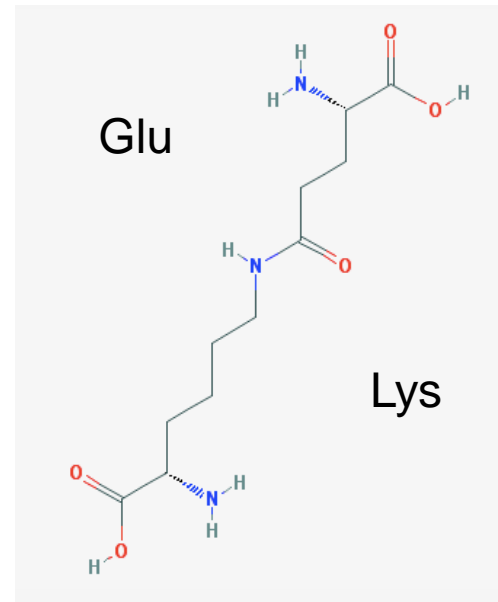
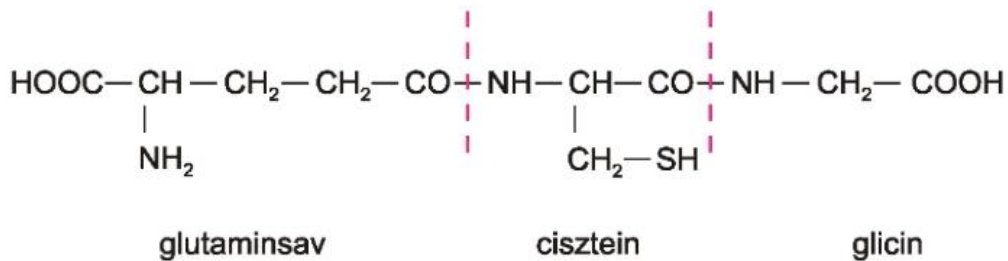
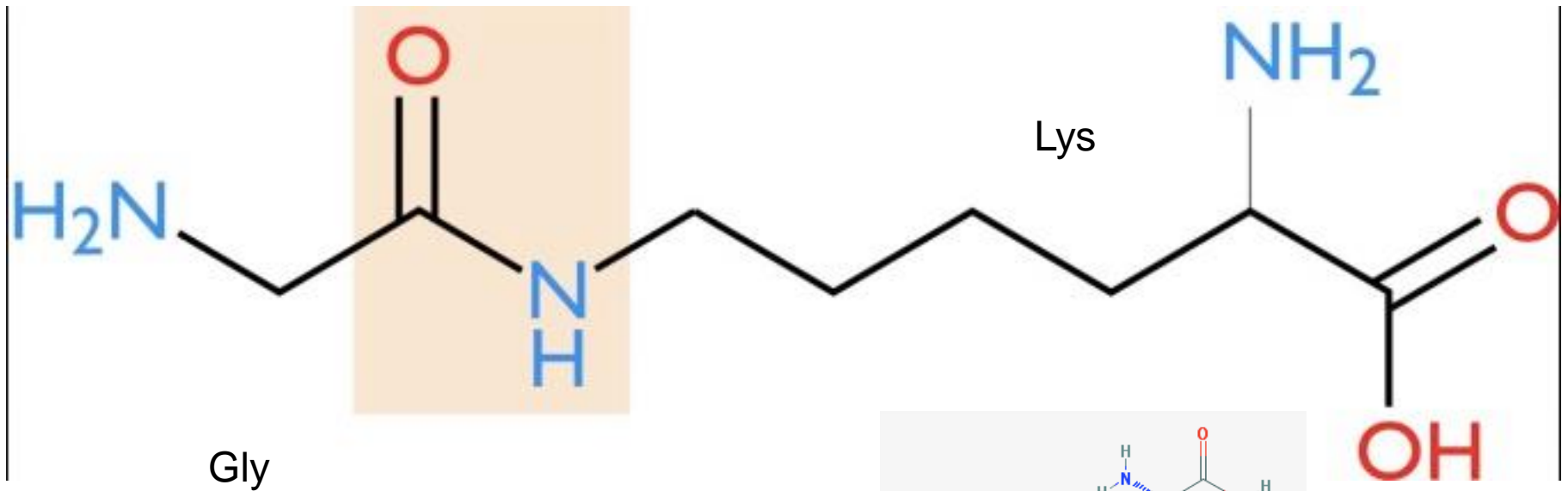


szubsztrátkötés



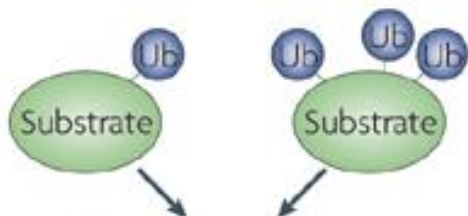
Egyéb ubikvitinációs helyek: Lys 6, Lys 11, Lys 27, Lys 33, Lys 29

Izopeptid kötés



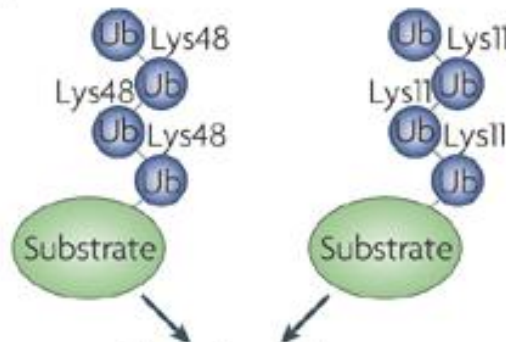
Az ubikvitináció fajtái

monoubikvitináció és
multi-monoubikvitináció



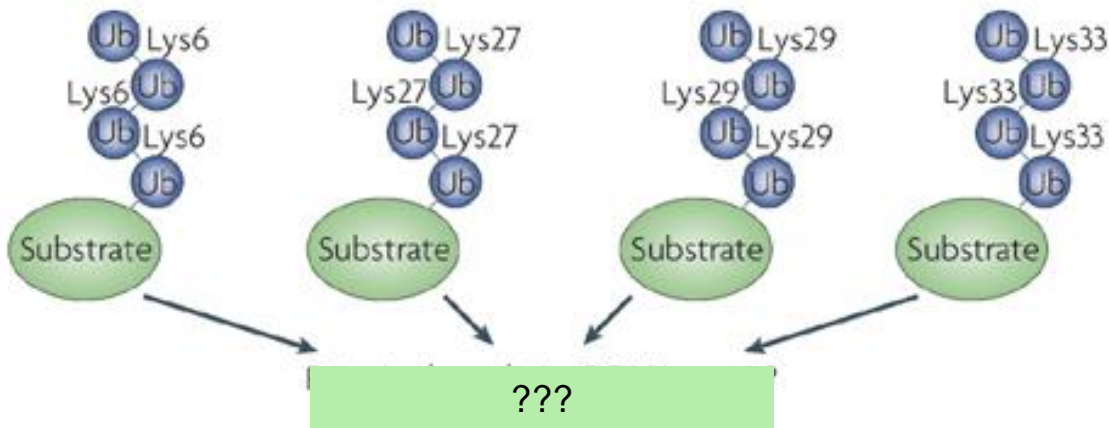
fehérje interakciók, targeting,
aktivitásszabályozás

poliubikvitináció

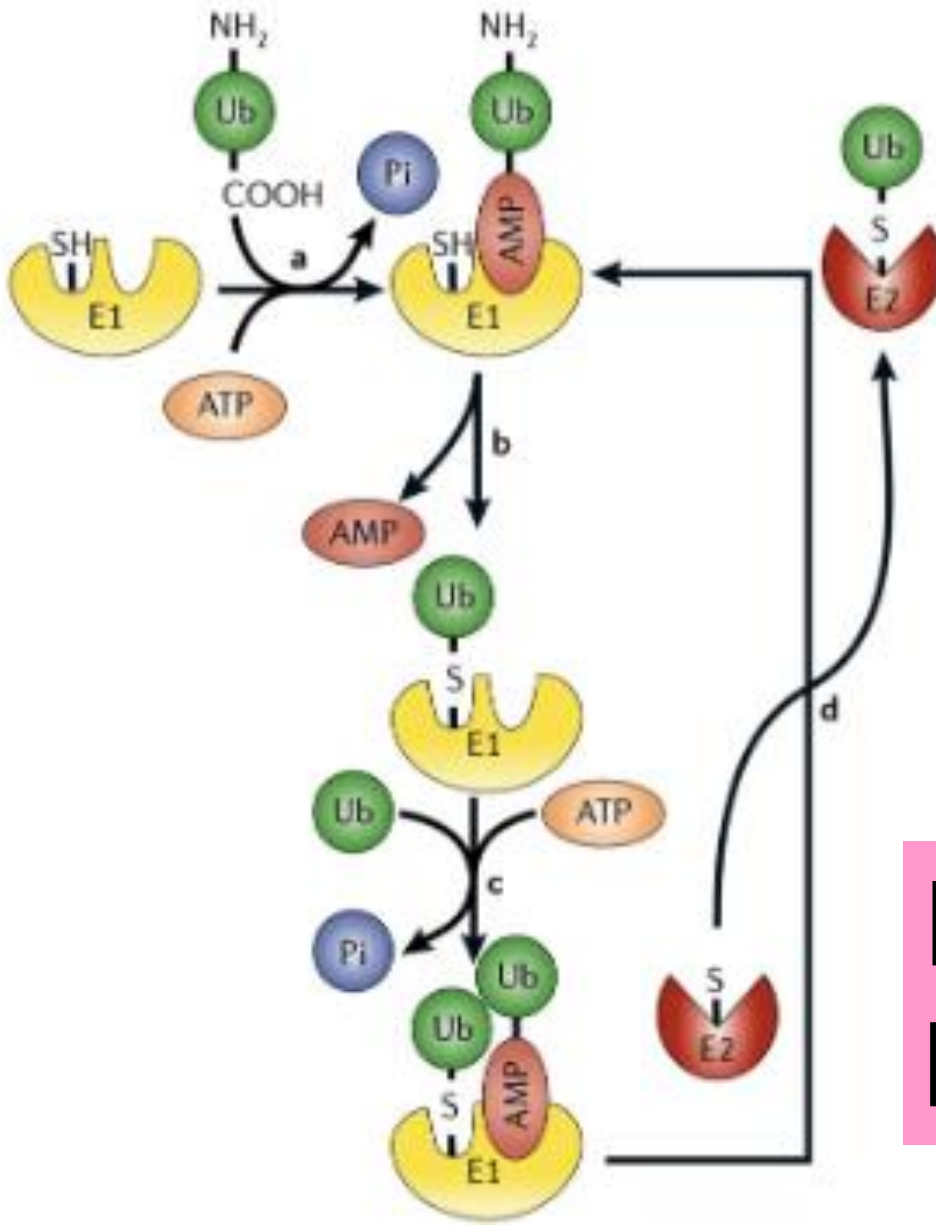


26S proteasómába
irányítás

Poliubikvitináció ismeretlen céllal

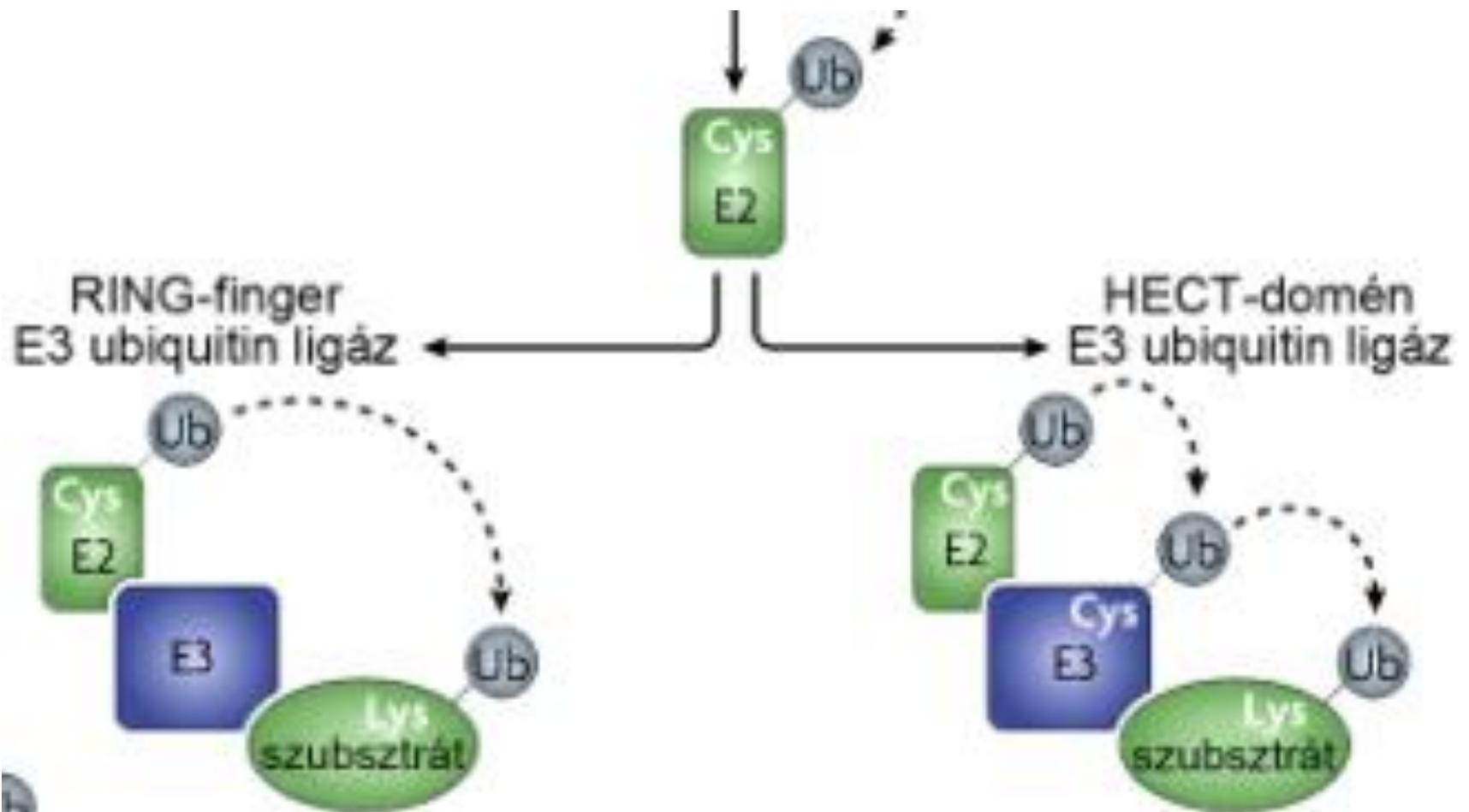


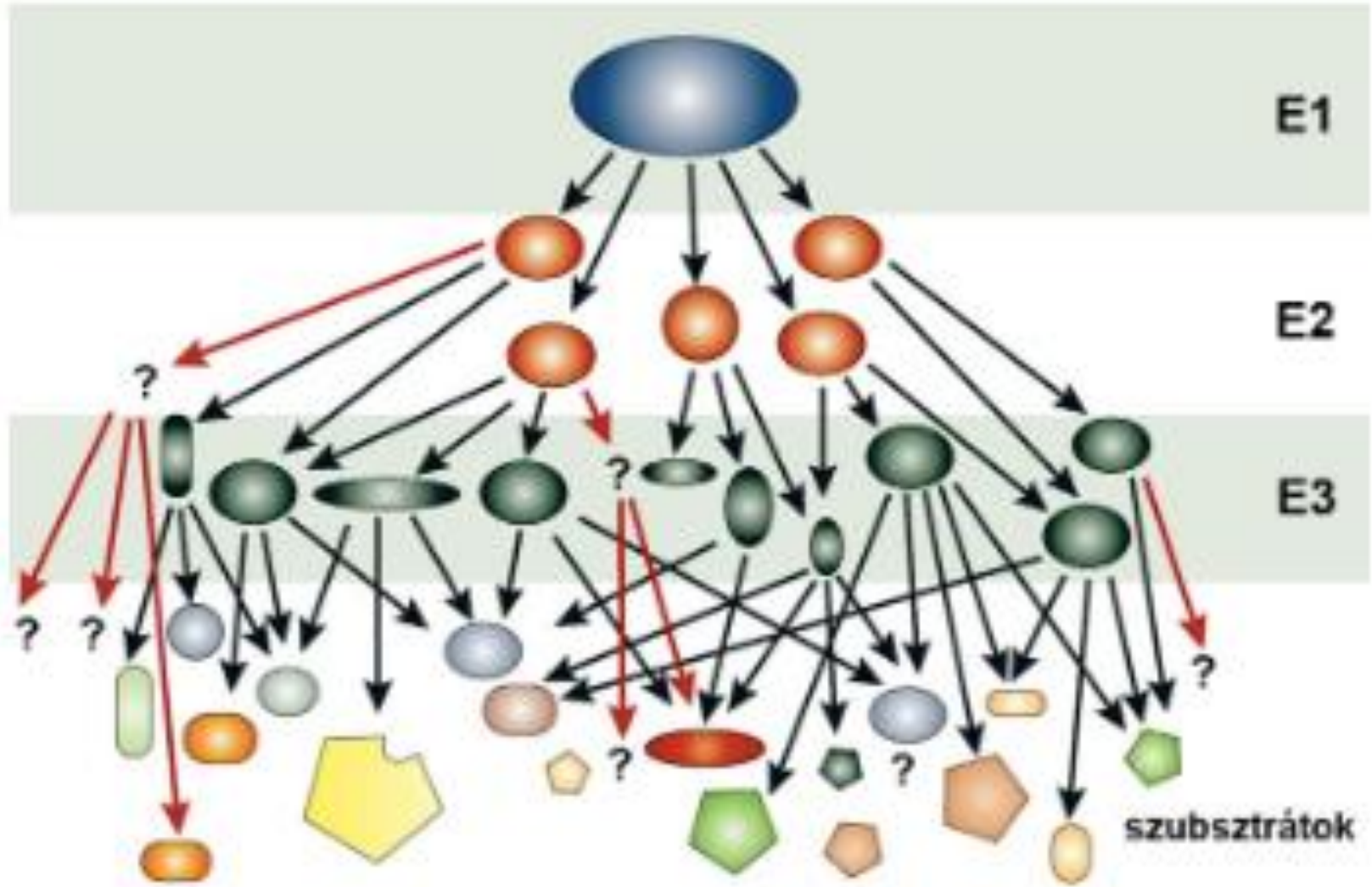
E1 – ubikvitin aktiváló enzim



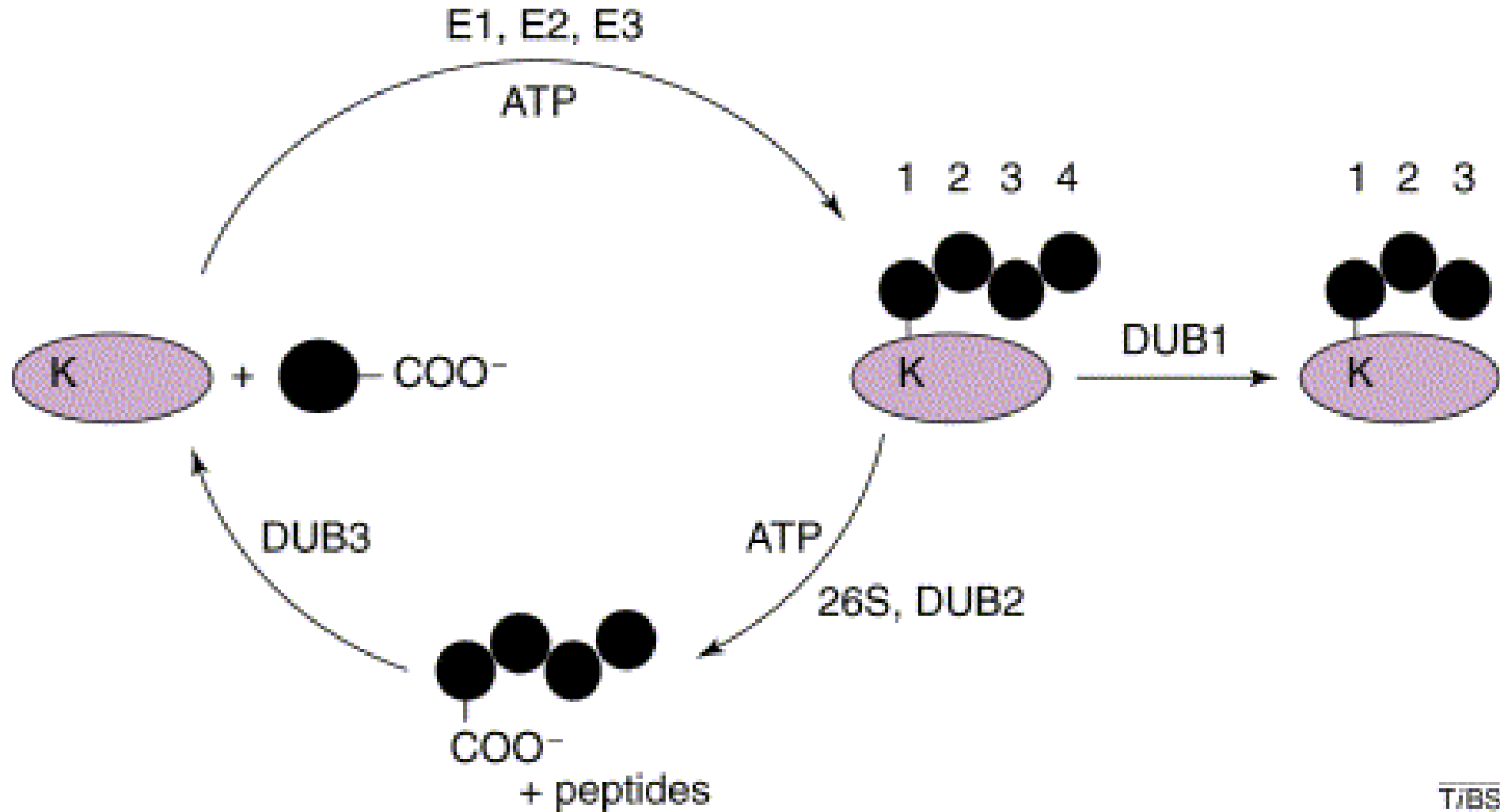
E2 – ubikvitin
konjugáló enzim

E3 – ubikvitin ligáz



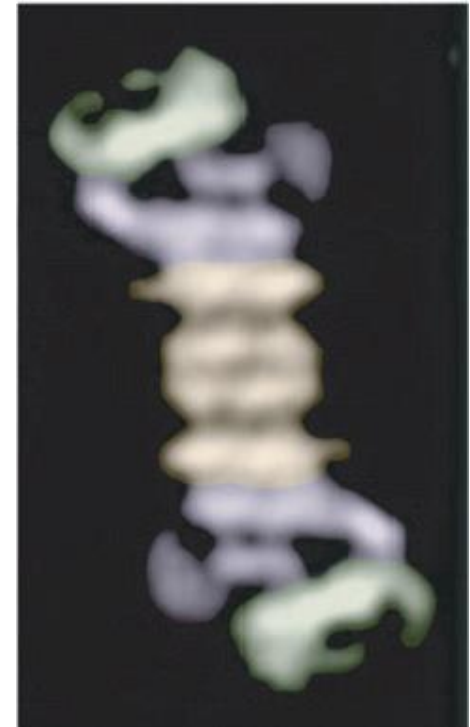
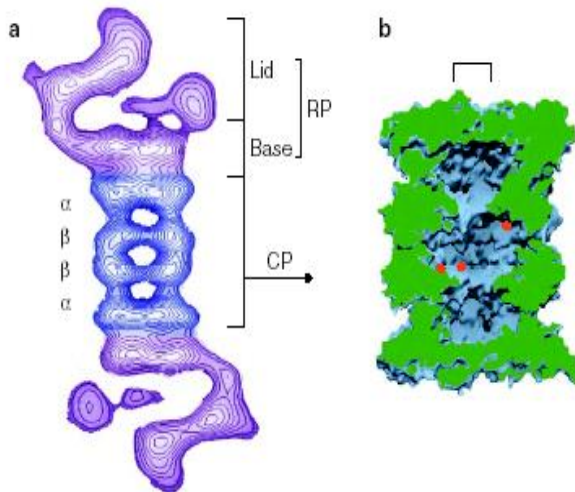


Deubikvitináló enzimek (DUB) - izopeptidázok

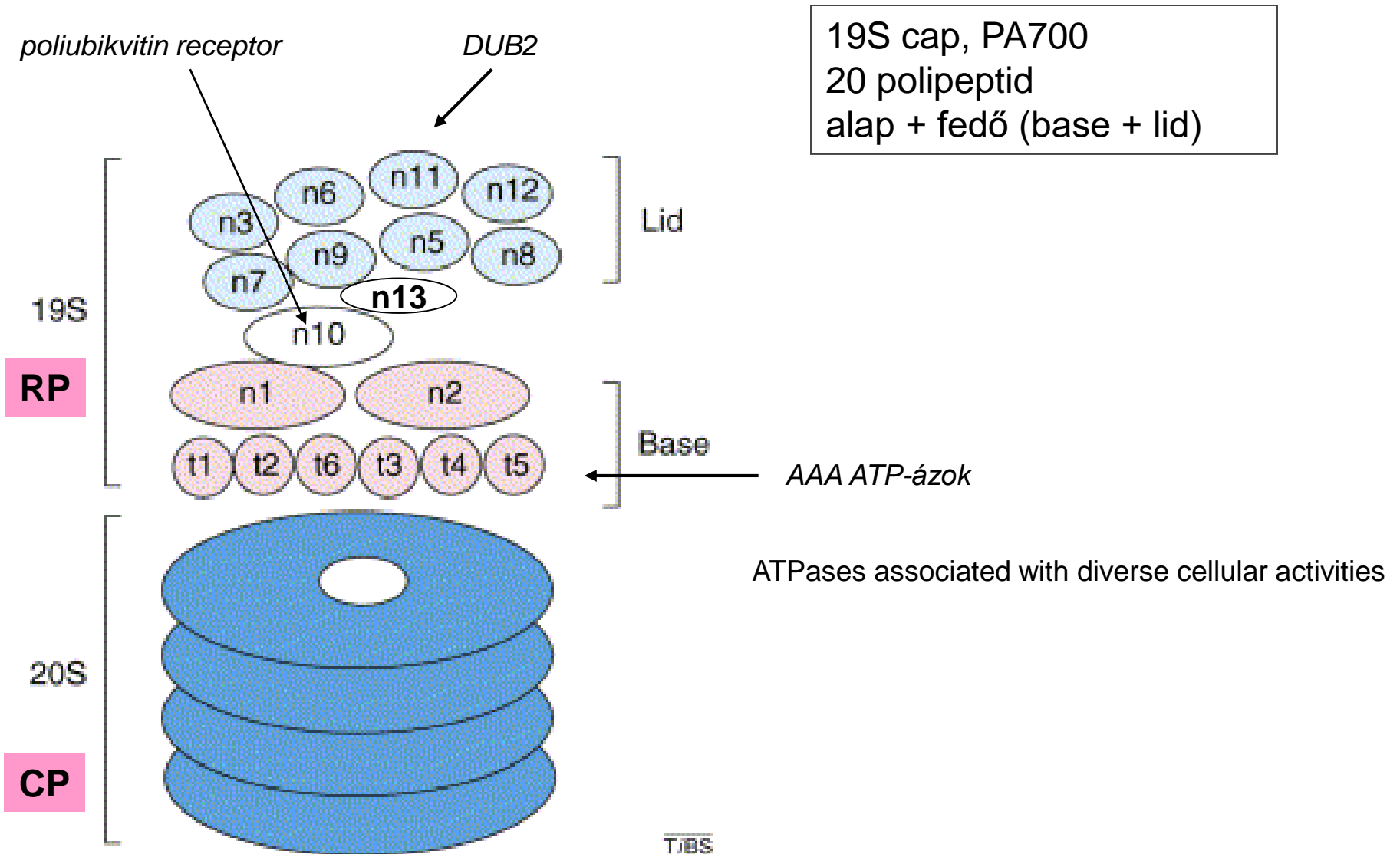


Proteaszóma

- 26S proteaszóma
- 2,5 MDa komplexum
- 20S magrészcse (CP)
- Két 19S szabályozó részecske (RP)
- multikatalitikus proteáz (MCP)



Proteaszóma – 19S szabályozó részecske



Proteaszóma – 20S magrészecke

28 alegység

4 gyűrű (2α , 2β)

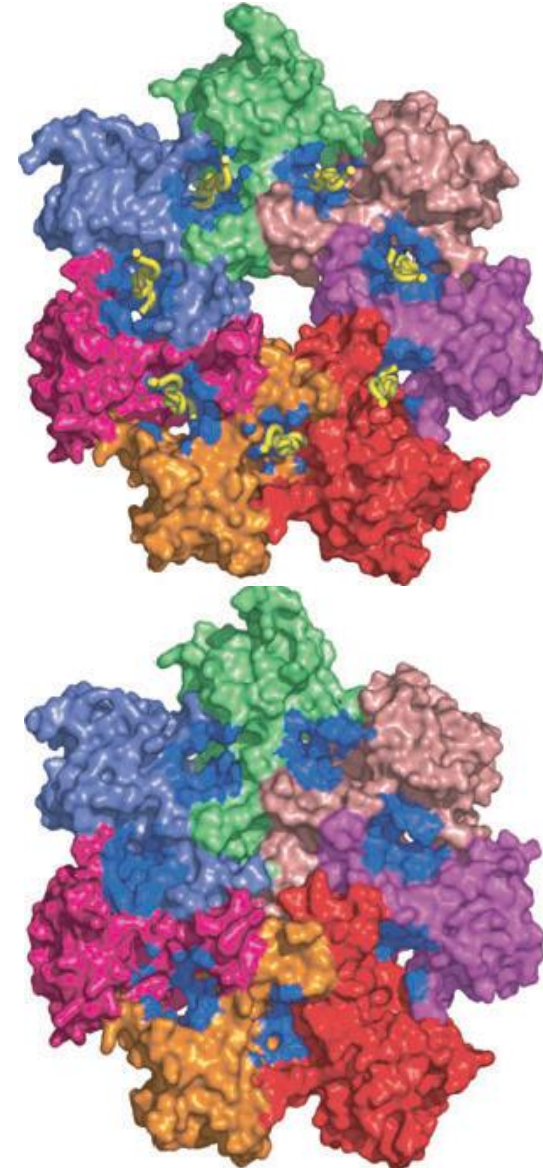
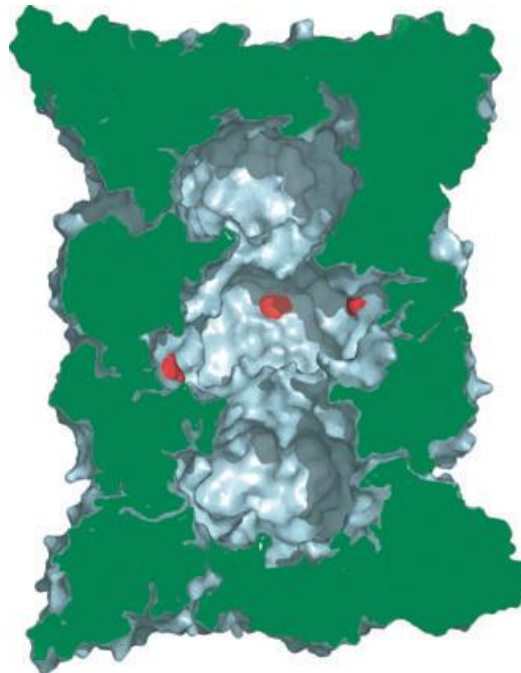
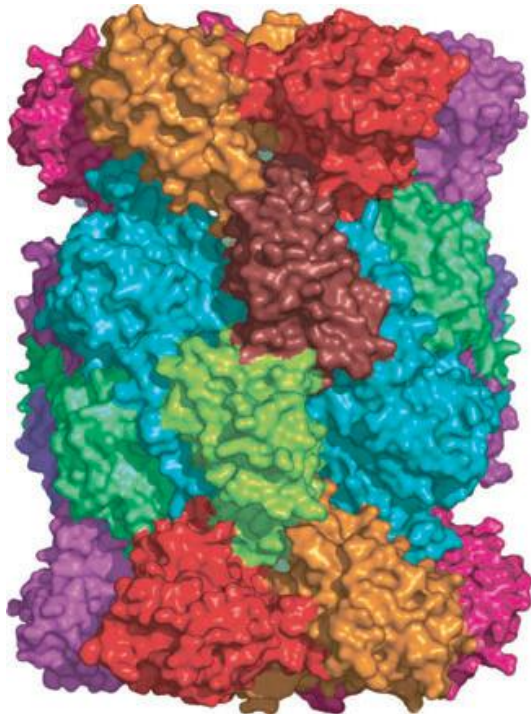
eukarióta: 7-tagú hetero-oligomer

Katalitikus alegységek:

$\beta 1$ – kaspáz-szerű aktivitás (Asp, Glu után)

$\beta 2$ – tripszin-szerű aktivitás (Arg, Lys után)

$\beta 5$ – kimotripszin-szerű aktivitás (Tyr, Phe után)



A proteaszomális lebontás lépései

- felismerés
- kitekeredés
- deubikvitinálás
- transzlokáció
- proteolízis
- peptidek kijutása

Fontosabb proteaszomális szubsztrátok

- Neurodegeneratív betegségeket okozó fehérjék
- Transzkripciós faktorok
- Proto-onkogének termékei
- Sejthalál mechanizmusának fehérjéi
- Sejtciklus mechanizmusának fehérjéi
- Óragének termékei
- Foldinghibás fehérjék
 - (minőségellenőrzés: ERAD)

A szubsztrátok kiválasztása



Annual Reviews
www.annualreviews.org/aronline

Table 1 Proteins degraded most rapidly in rat liver

Enzyme	Half-life (hr) ^a
1. Ornithine decarboxylase	0.2
2. δ -Aminolevulinatase synthetase (soluble)	0.33
(mitochondrial)	1.1
3. RNA polymerase I	1.3
4. Tyrosine aminotransferase	2.0
5. Tryptophan oxygenase	2.5
6. Deoxythymidine kinase	2.6
7. β -Hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme-A reductase	3.0
8. Serine dehydratase	4.0
9. Amylase	4.3
10. PEP carboxykinase	5.0
11. Aniline hydroxylase	5.0
12. Glucokinase	12
13. RNA polymerase II	12
14. Dihydroorotase	12
15. Glucose-6-phosphate dehydrogenase	15
16. 3-Phosphoglycerate dehydrogenase	15

^aFor original references for these values, see (5, 14, 15). [These data for half-lives were obtained by a variety of techniques by different experimenters. Therefore, the precise values may not be always comparable and may be subject to different types of methodological problems (1).]

A szubsztrátok kiválasztása: N-terminális szabály

N-terminális aminosav

féléletidő

stabilizáló

Met, Gly, Ala, Ser, Thr, Val

> 20 óra

destabilizáló

Ile, Gln

~ 30 perc

Tyr, Glu

~ 10 perc

Pro

~ 7 perc

Leu, Phe, Asp, Lys

~ 3 perc

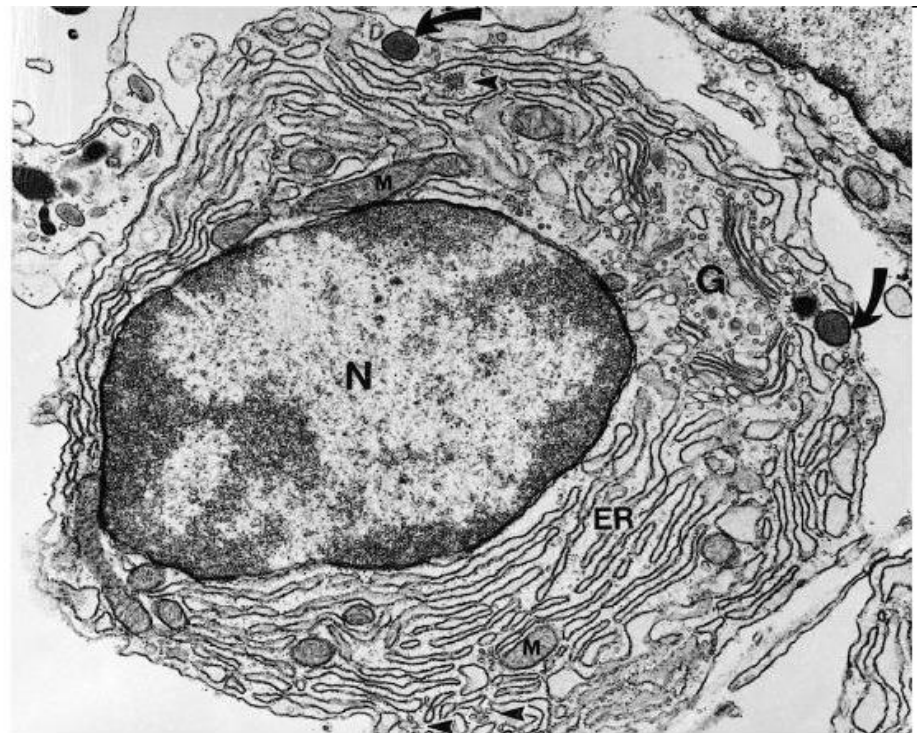
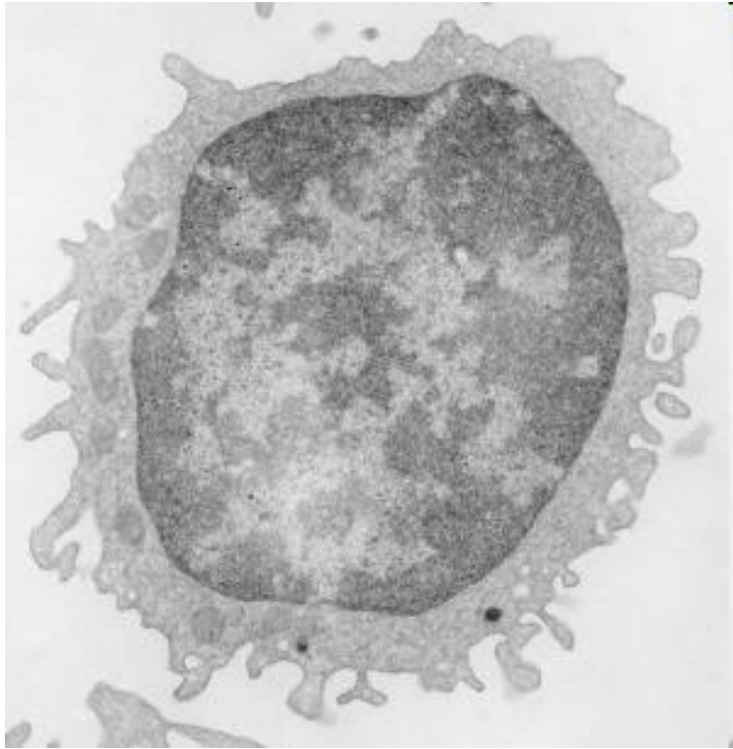
Arg

~ 2 perc

“N-degron”

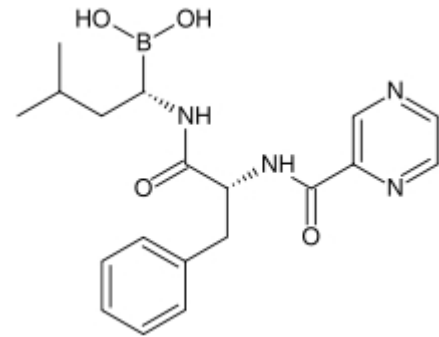
Más degradációs szignál szekvenciák

Myeloma multiplex



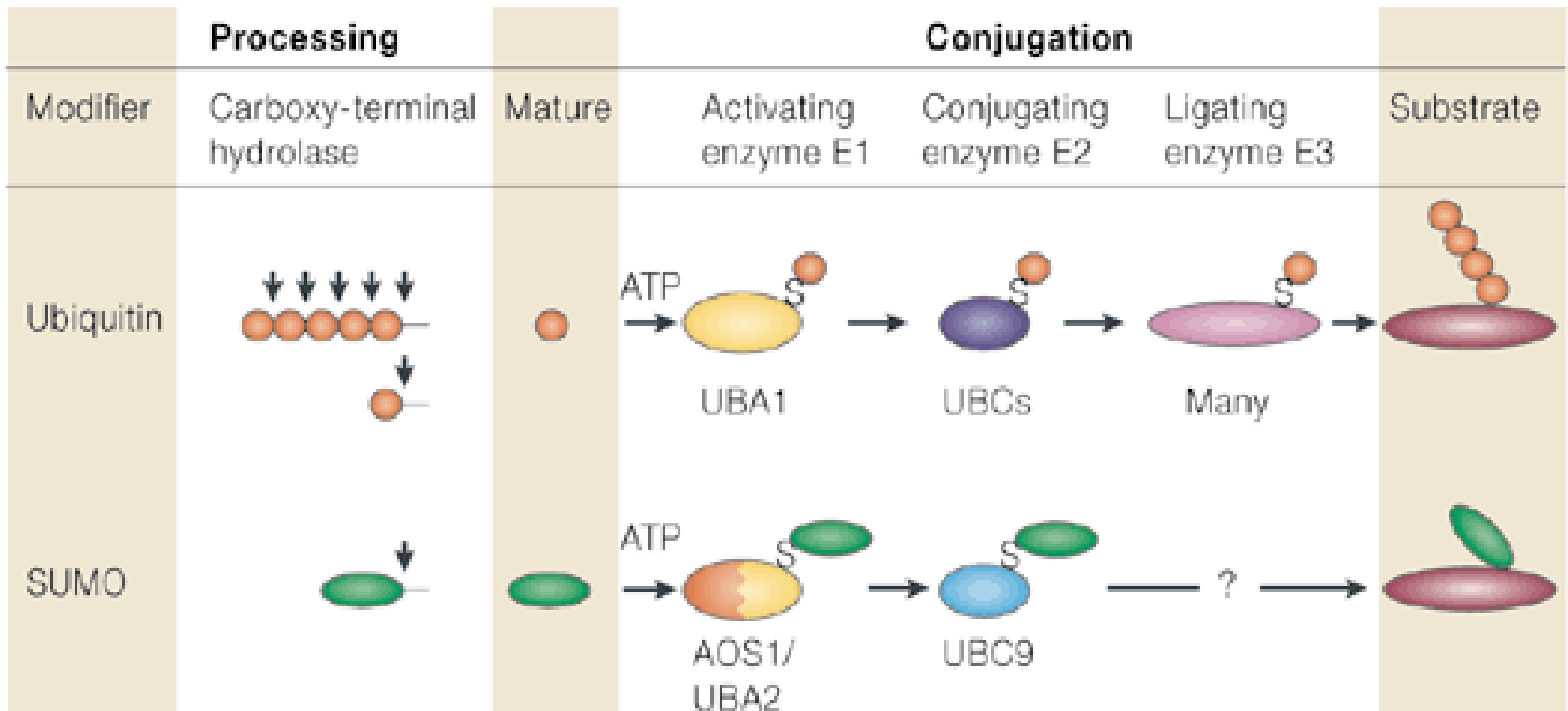
Terápiás lehetőségek

- proteaszóma gátlószererek
 - peptid aldehidek
 - laktacisztin
 - β -laktonok, LiCl, stb.
- E1 gátlószererek
- E3 gátlószererek
- szubsztrátfehérje kötődésének gátlása



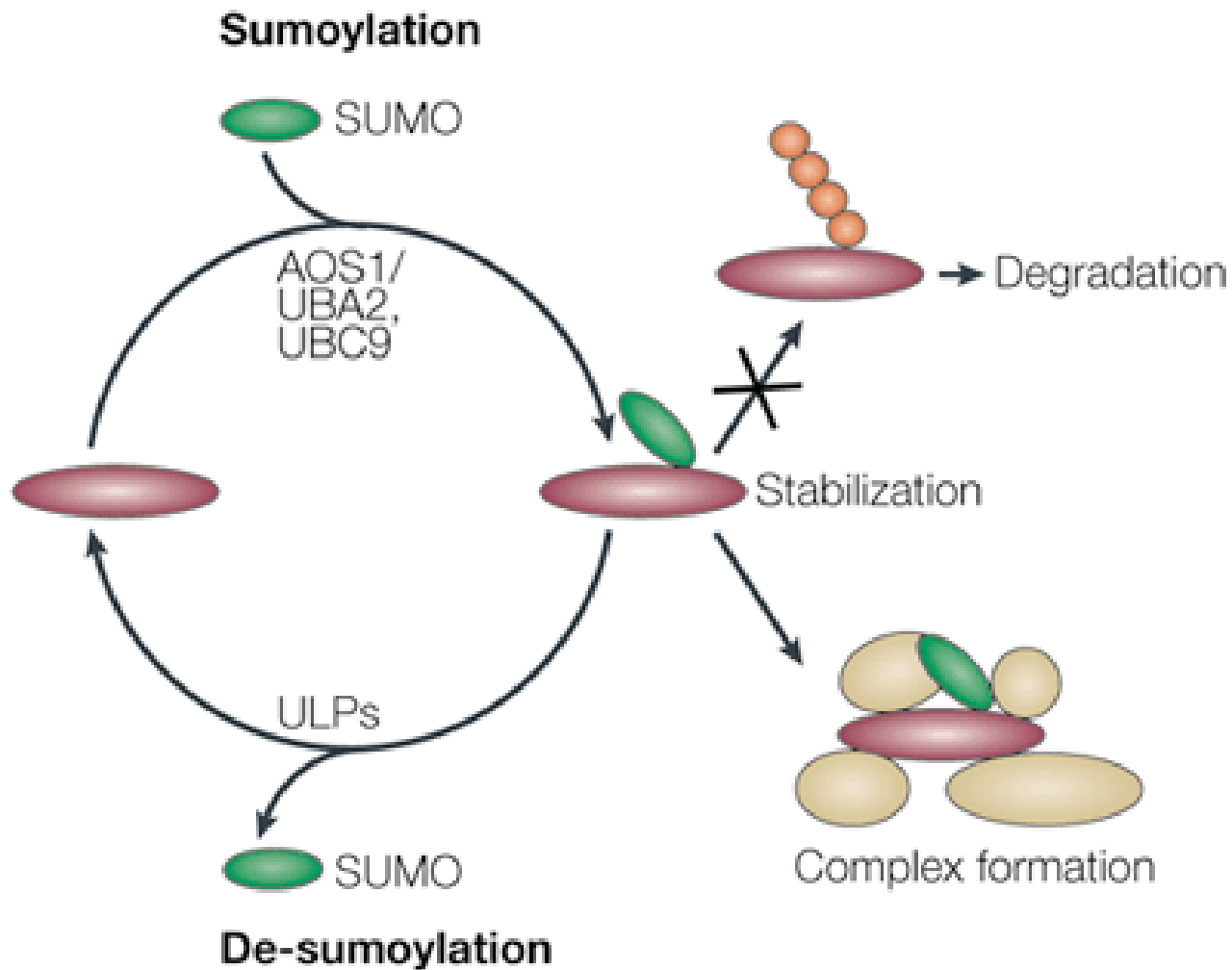
Ubikvitin-szerű fehérjék (UBL)

Hasonlóság: funkcionális, de nem szerkezeti
C-terminális Gly



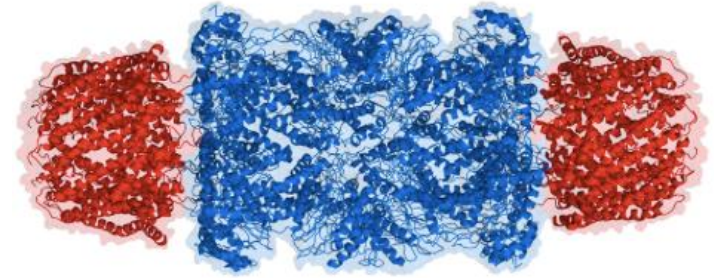
Ubikvitin domént tartalmazó fehérjék (UBD): szerkezeti, de nem funkcionális hasonlóság

A sumoilálás hatásai

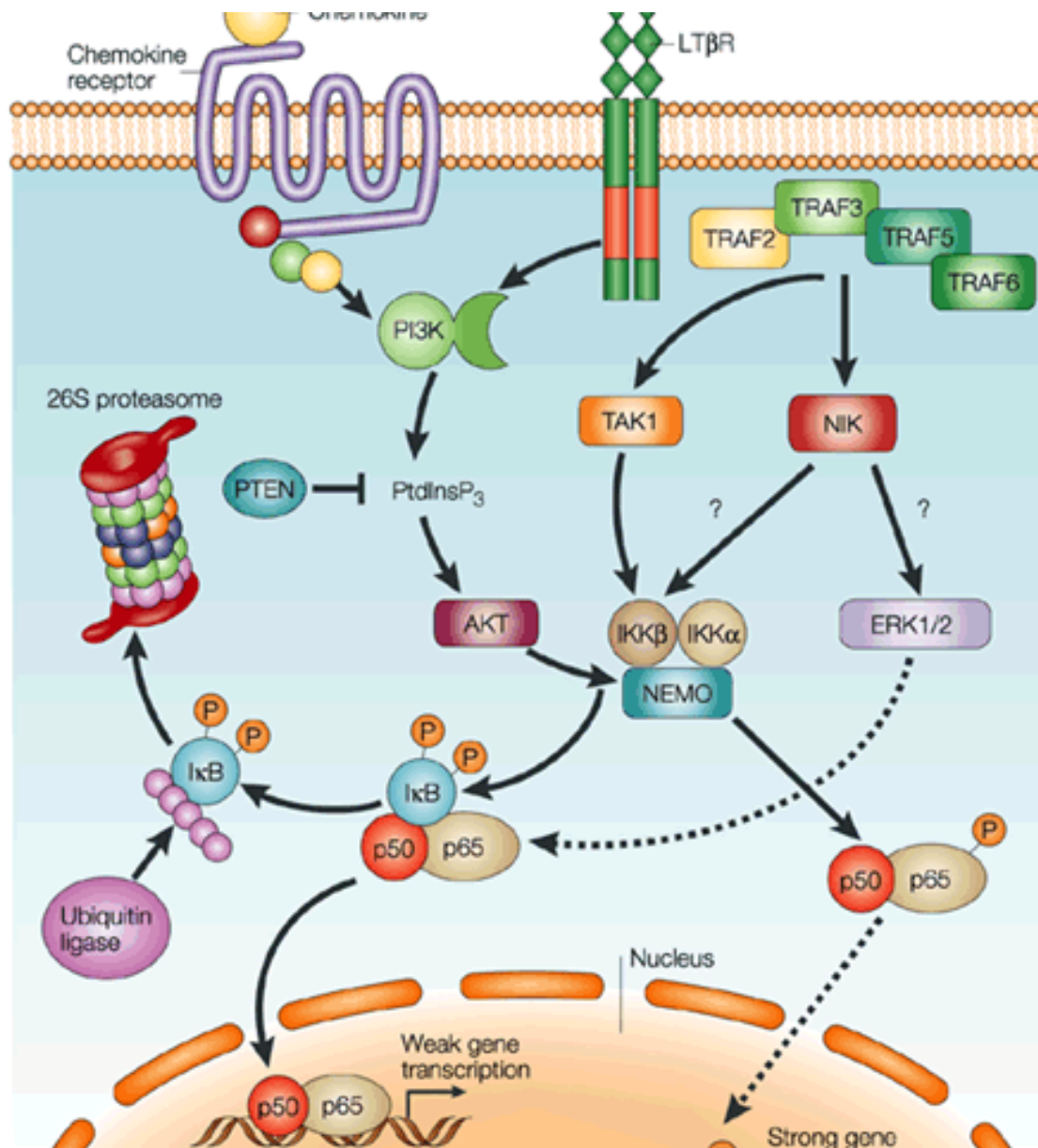


Immunoproteaszóma

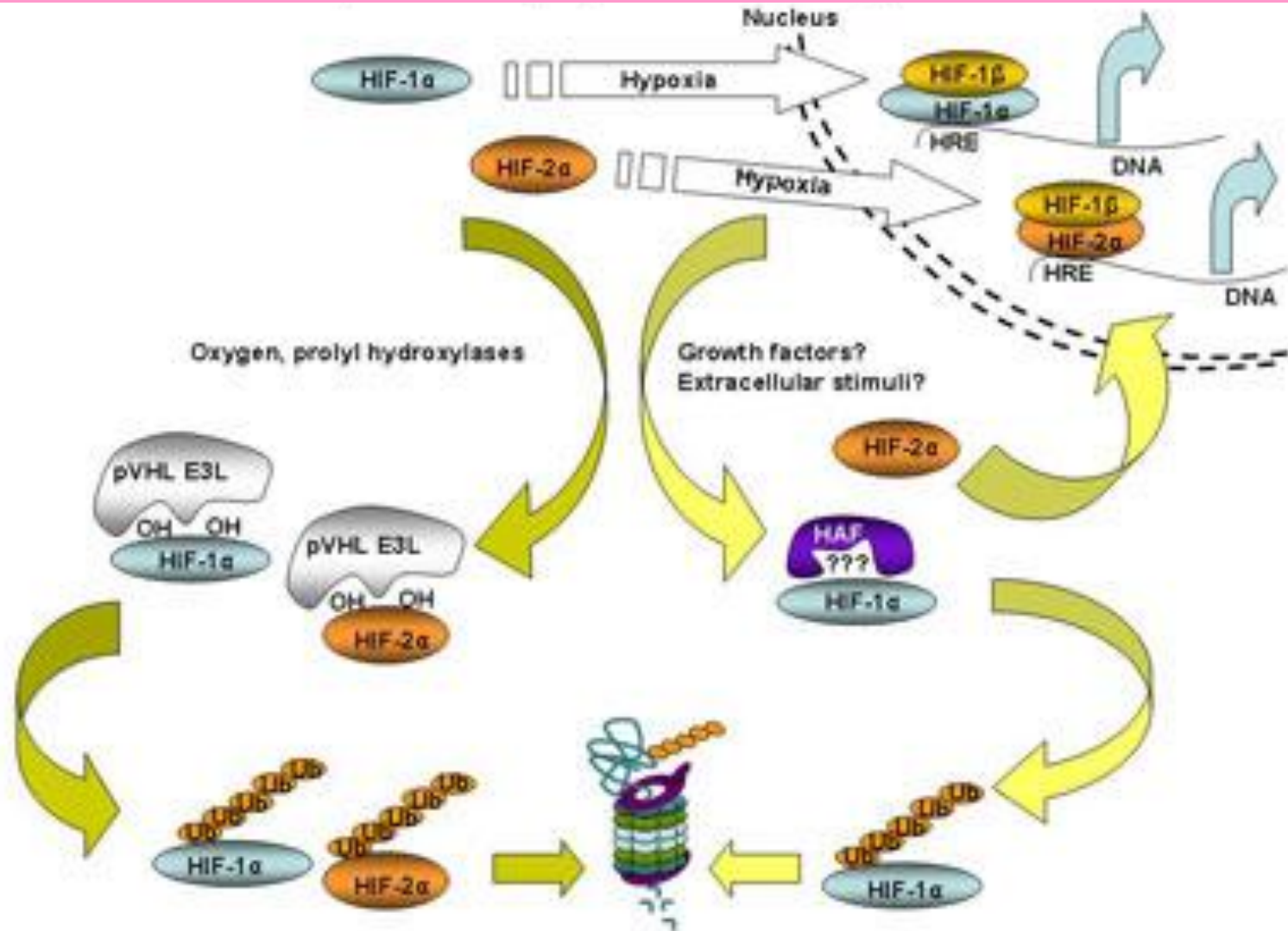
- 11S szabályozó részecske
- ATP független hatás
- interferon- γ hatás
- CP (20S) $\beta 1$, $\beta 2$ és $\beta 5$ kicserélődik
- új alegységek: $\beta 1i$, $\beta 2i$ és $\beta 5i$
- megváltozott proteolitikus aktivitás
- termékek: peptidek bázikus C-terminálissal
- TAP (transporter associated with antigen processing)
- MHC I (major histocompatibility complex)
- prezentálás a sejtfelszínen: „saját”



Foszforiláció - ubikvitinálás – lebontás - aktiválás: NFkappaB jelpálya



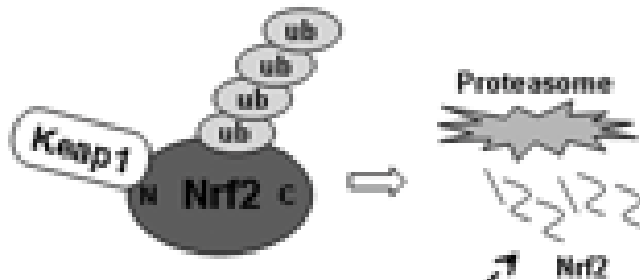
Hidroxiláció - ubikvitinálás – lebontás - gátlás: HIF1 □ Ifa jelpálya



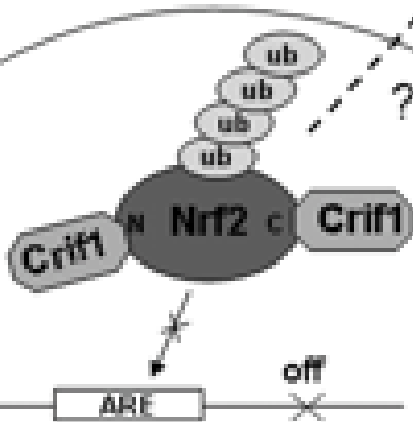
Nem-oxidáció - ubikvitinálás - lebontás: Nrf2 jelpálya

Reduced Condition

Cytosol



Nucleus

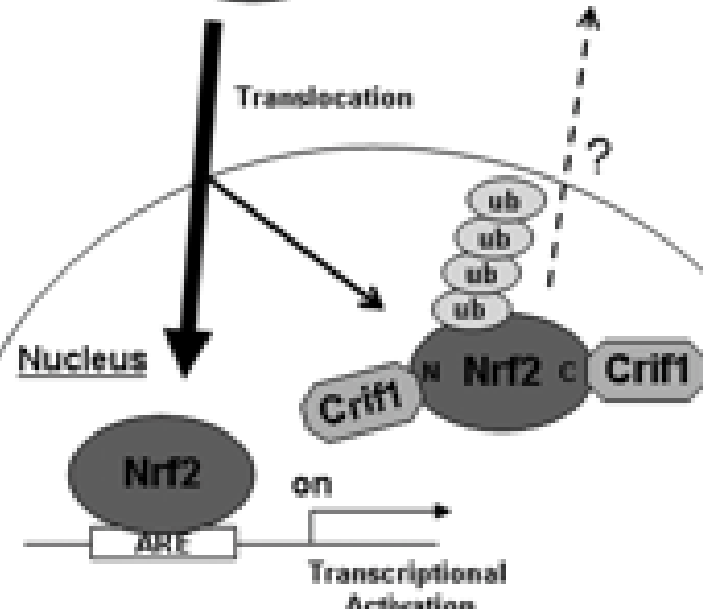


Oxidized Condition

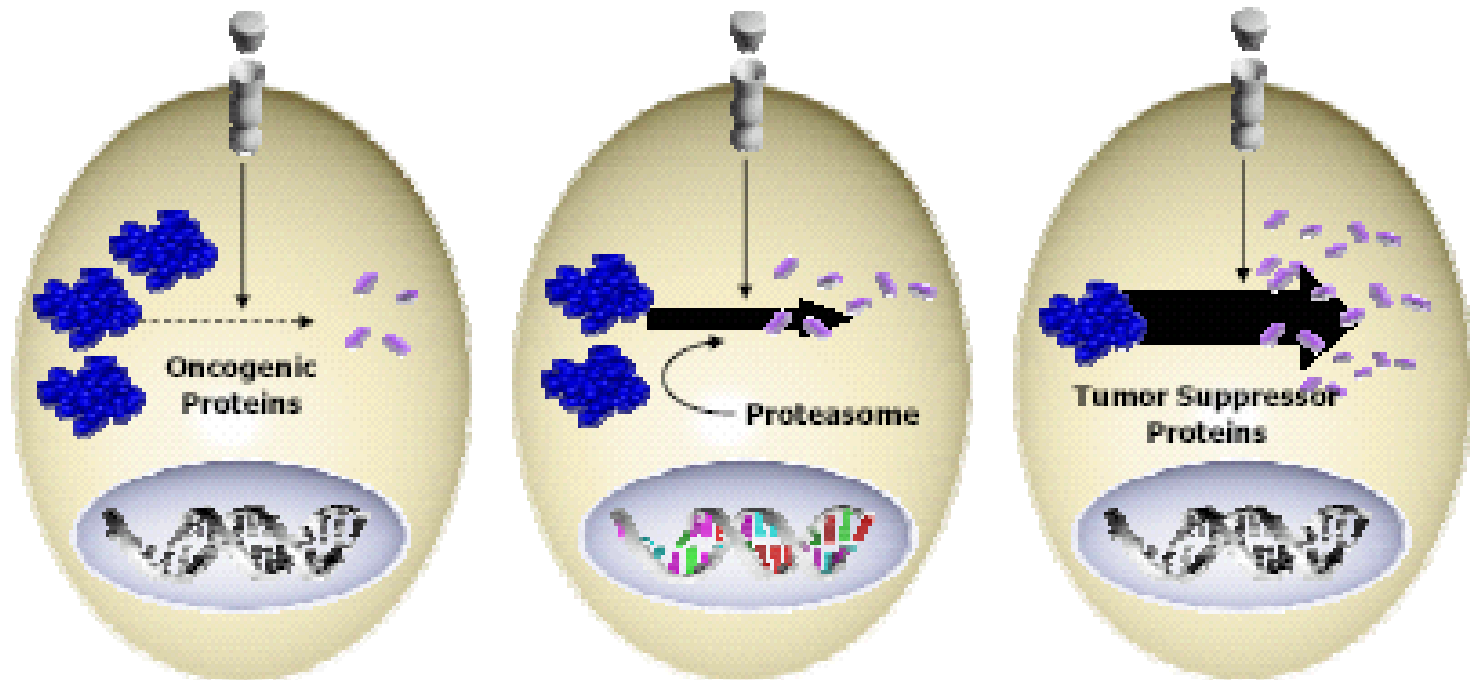
Cytosol



Nucleus



Aberrant Protein Degradation Leads to Disease



Cancer

Cancer

Decreased
Degradation

Normal
Degradation

Increased
Degradation