

Kolegij Molekularna biologija

RAZVRSTAVANJE I PRIJENOS PROTEINA – 1. dio

dr. sc. Gordana Maravić

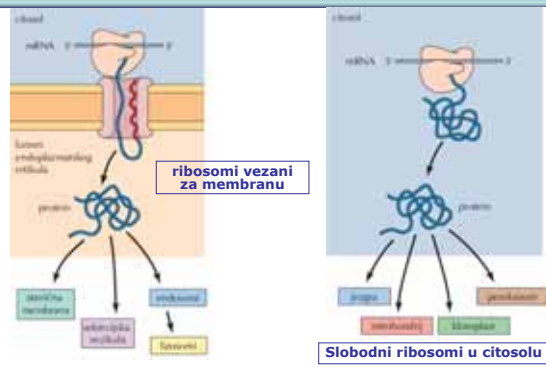
Zavod za biokemiju i molekularnu biologiju
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Sveučilišta u Zagrebu

GM
2004

- **Endoplazmatski retikul**
 - Izlučivanje proteina
 - Usmjeravanje proteina u ER
 - Ugradnja proteina u membranu ER-a
 - Smatanje i dorada proteina
 - Glatki ER i sinteza lipida
 - Odlazak proteina i lipida iz ER-a
- **Golgijev aparat**
 - Organizacija GA
 - Dorada N-vezanih glikoproteina
 - Sinteza glikolipida i sfingomijelina
 - Promet iz Golgijevog aparata
- **Mehanizam vezikularnog transporta**
- **Lizosomi**
 - Kisele hidrolaze
 - Endocitoza i nastanak lizosoma
 - Fagocitoza i autofagija

GM
2004

Sinteza svih proteina započinje na slobodnim ribosomima u citoplazmi - ovisno o signalnom slijedu proteini se upućuju na različita odredišta u stanici

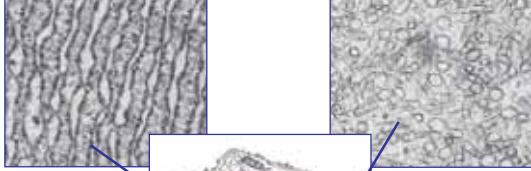


GM
2004

Endoplazmatski retikul (ER)

Hrapavi ER – dorada proteina

Glatki ER – metabolizam lipida



- mreža cjevčica i cisterni
- najveći organel u većini eukariotskih stanica

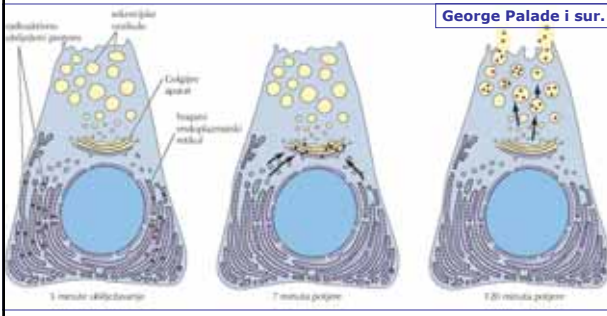


- udio membrane ER-a – i do 50% ukupnih membrana stanice

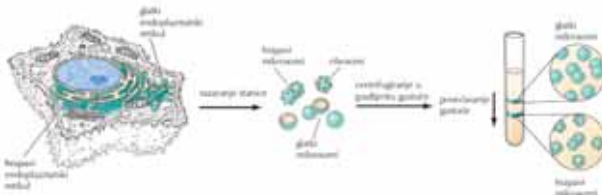
GM 2004

Sekrecijski put

Hrapavi ER ⇒ **Golgijev aparat** ⇒ **sekrecijske vezikule** ⇒ **izlazak iz stanice**



Izdvajanje hrapavoga ER

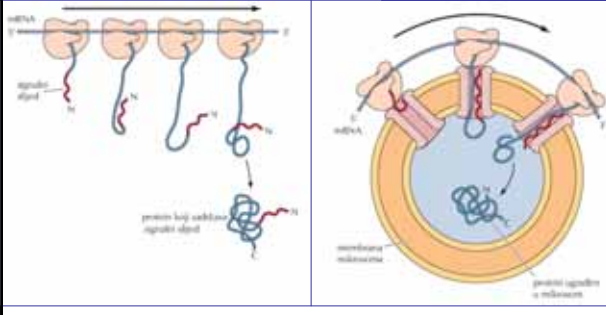


- razaranjem stanice ER se raspada u **MIKROSOME**
- hrapavi i glatki mikrosomi imaju različitu gustoću
 - u hrapavim mikrosomima – puno RNA vezane na ribosome
- moguće razdvajanje centrifugiranjem u gradijentu gustoće

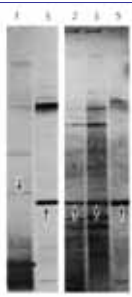
Ugradnja sekrecijskih proteina u mikrosome

Translacija na slobodnim ribosomima

Translacija na mikrosomima



Signalna hipoteza



- 1 - *in vitro* translacija lakih lanaca IgG na slobodnim ribosomima
- S - izlučeni laki lanci IgG
- 2 - sinteza lakih lanaca IgG na ribosomima vezanim uz membranu
- 3 - produkt 2 podvrgnut razgradnji proteazama



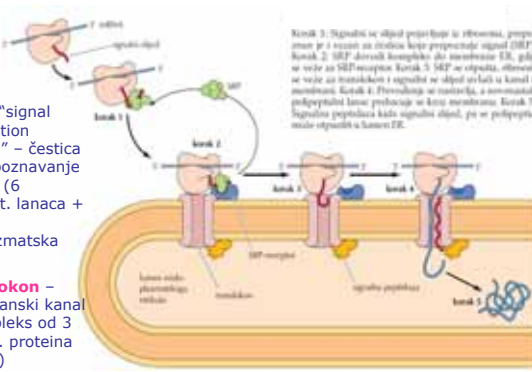
Günter Blobel

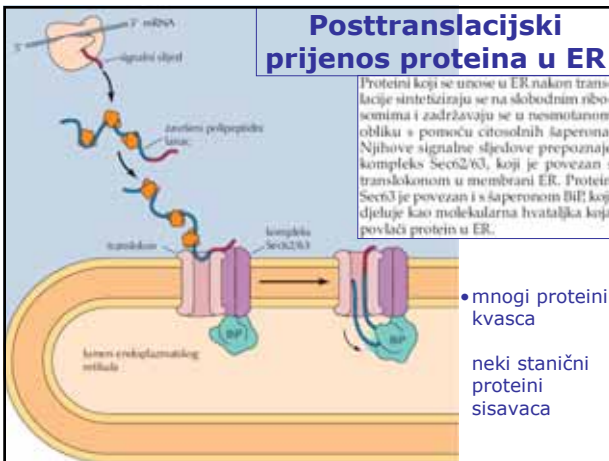
mjesto djelovanja signalne peptidaze

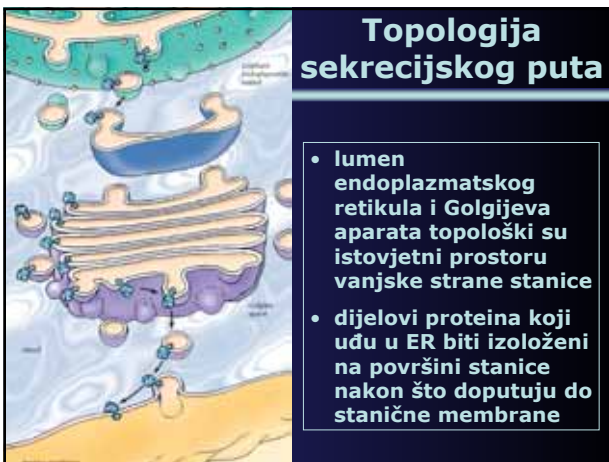


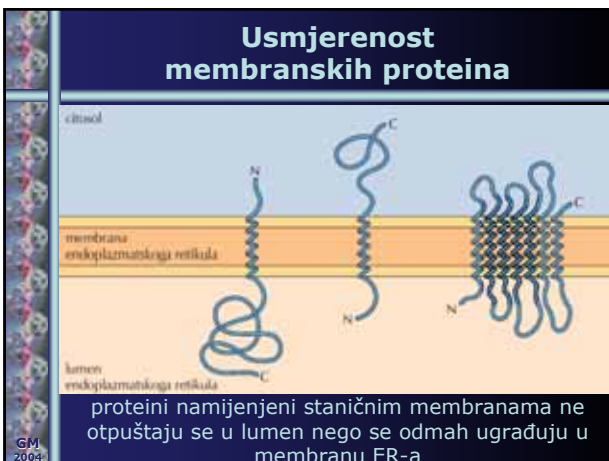
Kotranslacijski prijenos sekrecijskih proteina u ER

- SRP - "signal recognition particle" - čestica za prepoznavanje signala (6 polipept. lanaca + mala citoplazmatska RNA)
- Translokon - membranski kanal - kompleks od 3 transm. proteina (Sec61)

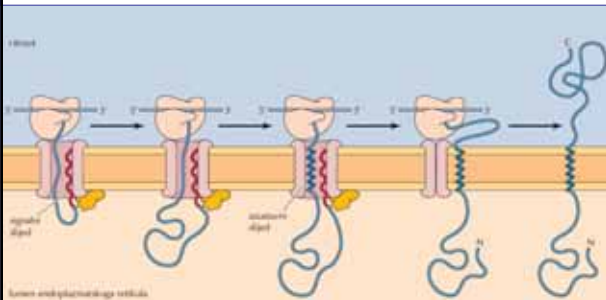






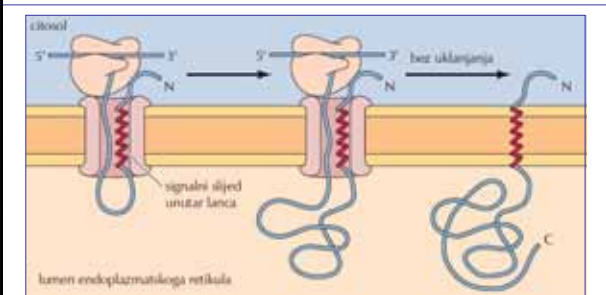


Ugradnja membranskog proteina sa signalnim slijedom i jednim zaustavnim slijedom



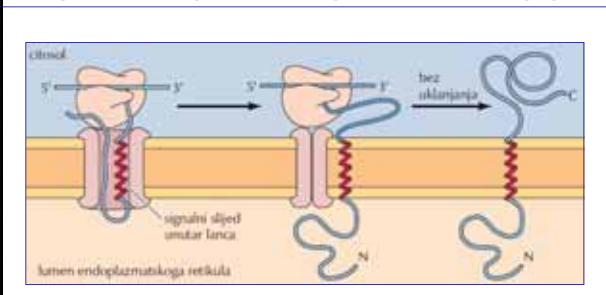
- prijenos putem signalnog slijeda na N-kraju
uklanjanje signalnog slijeda
zaustavni slijed zatvara kanal translokona i
usidruje protein u membrani

Ugradnja membranskih proteina pomoću signalnih sljedova koji se ne uklanjaju



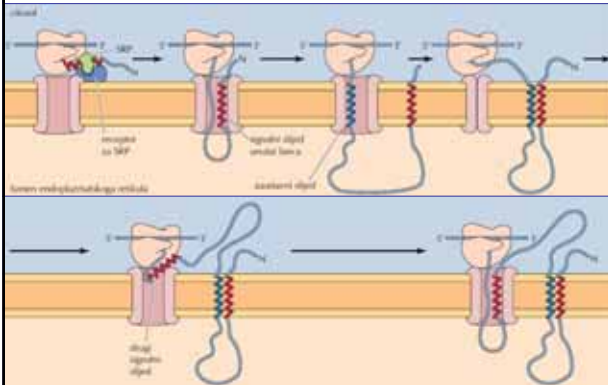
Signalni slijed usmjerava translokaciju počevši od N-kraja...

Ugradnja membranskih proteina pomoću signalnih sljedova koji se ne uklanjaju



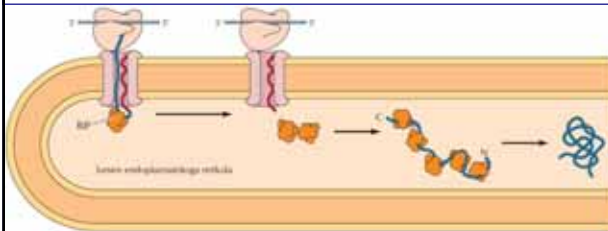
... Ili počevši od C-kraja

Ugradnja proteina koji višestruko premošću membranu



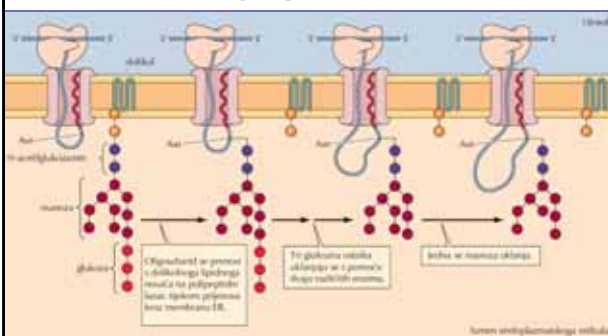
Dorada i smatanje proteina u ER-u

- **uklanjanje signalnog slijeda**
- **smatanje i tvorba disulfidnih veza**
- **protein- disulfid-izomeraza**
- **udruživanje proteinskih podjedinica**
- **početni stupanj glikozilacije**



Molekularni šaperon BiP (Hsp70) veže se za polipeptidni lanac čim on prijeđe membranu ER-a i olakšava smatanje i udruživanje proteina u ER-u

Glikozilacija proteina u ER-u



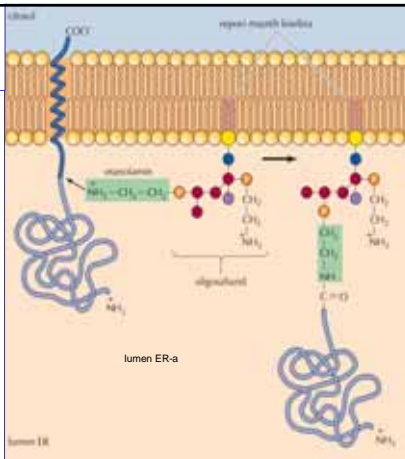
- **N-glikozilacija** – **konsenzus slijed Asn-X-Ser/Thr**
- **oligosaharid se s dolikolnog nosača prenosi pomoću membranskog enzima oligosaharil-transferaze**

Dodavanje GPI sidara

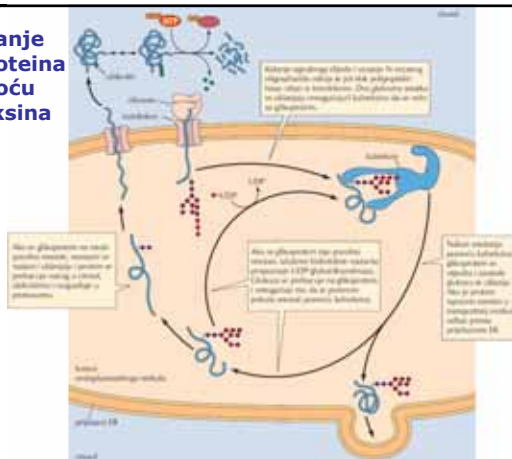
- neki proteini su u st. membranu usidreni pomoću glikolipida – glikozilfosfatidilinozitolna (GPI) sidra (nastaju u membrani ER-a)

transmembransko područje novonastalog proteina zamjenjuje se GPI-sidrom

usmjerenje u lumen ER određuje da će proteini konačno biti okrenuti u izvanstanični prostor



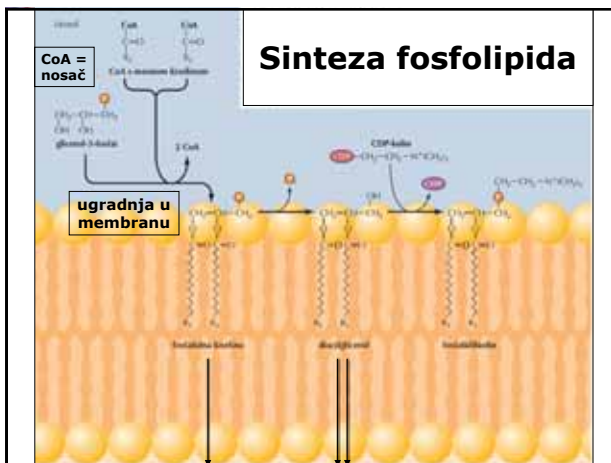
Smatanje glikoproteina pomoću kalneksina

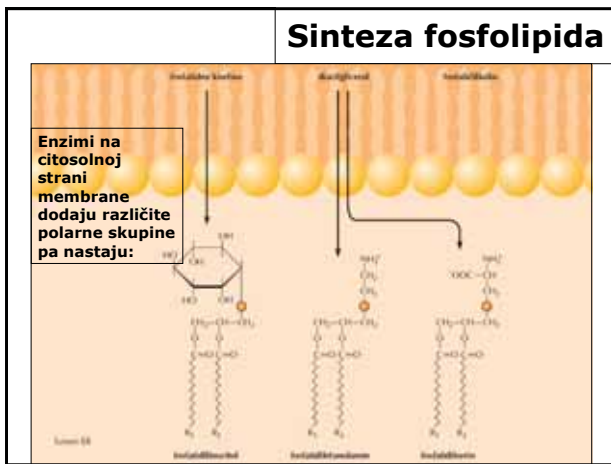


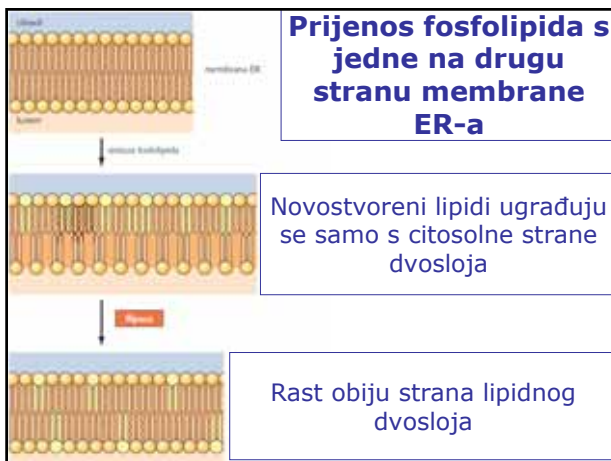
Glatki ER

- **sinteza membranskih lipida**
 - fosfolipidi
 - kolesterol
 - ceramid
 - u GA se pretvara u glikolipide ili sfingomijelin (jedini membranski lipid koji ne nastaje od glicerola)
- **zbog hidrofobnosti lipidi se ne sintetiziraju u citosolu nego uklopljeni u membrane ER, na strani okrenutoj prema citosolu**
- **iz ER-a se lipidi prenose do svog konačnog odredišta u vezikulama ili putem proteinskih nosača**
- **glatki ER – ima ga mnogo u stanicama aktivnim u metabolizmu lipida (st. jajnika i testisa, st. jetre)**

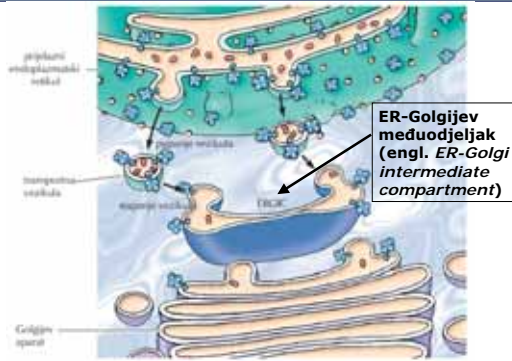
GM 2004





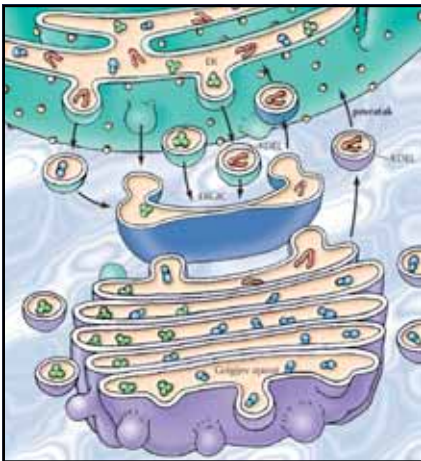


Proteini i lipidi iz ER-a ulaze u GA vezikularnim transportom



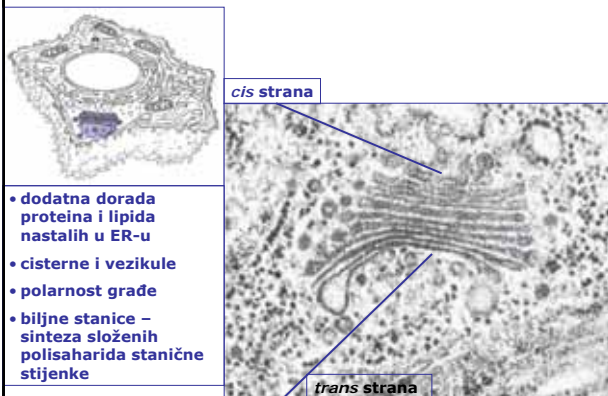
GM 2004

Povratak proteina koji djeluju u ER-u



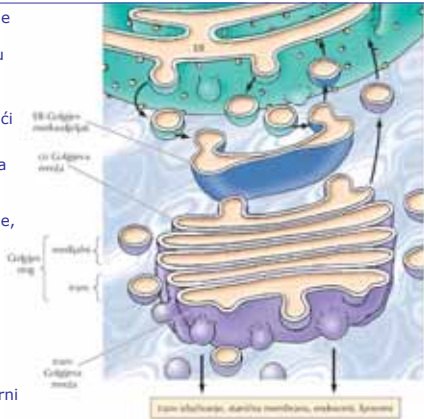
- Proteini namijenjeni zadržavanju u lumenu ER-a (BIP, signalna peptidaza, protein-disulfid-izomeraza) obilježeni su slijedom KDEL na C-kraju
- Oni odlaze iz ER-a prema GA, ali ih prepoznaje receptor u ERGIC ili GA te se vraćaju u ER

Golgijev aparat

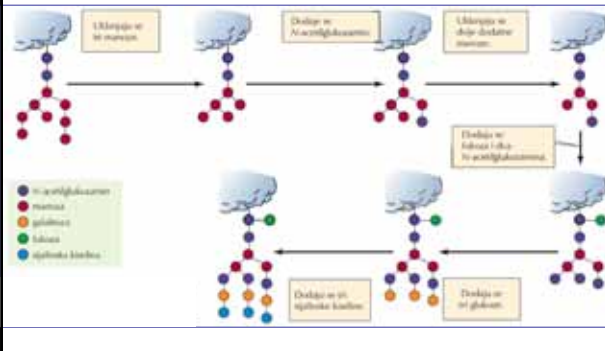


Područja Golgijevog aparata

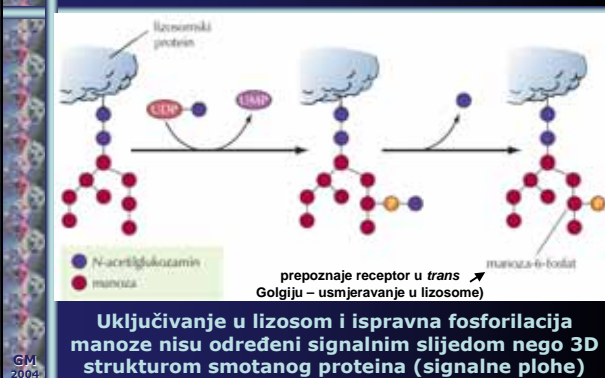
- različiti procesi dorade odvijaju se točno određenim slijedom u različitim područjima GA
- Golgijev stog – najveći dio dorade proteina
- *trans* Golgijeva mreža – razvrstavanje za prijenos na st. membrane, endosome, lizosome, vakuole biljnih st. ili za izlučivanje
- način prijenosa proteina nedovoljno razjašnjen – putem vezikula i/ili dozrijevanjem i napredovanjem cisterni



Dorada N-vezanih oligosaharida u GA



Lizosomski proteini usmjeravaju se fosforilacijom manoze






Lizosomi

- razgradnja tvari unesenih u stanicu
- probava dotrajalih dijelova stanice



Gaucherova bolest



Nedostatak enzima u Gaucherovoj bolesti rezultira u nakupini glukocerebroside u glukozi i ceramid.

Liječenje – terapijsko uzimanje modificirane glukocerebrosidaze koja sadrži manozne ostatke (makrofagi imaju receptore za manozu)

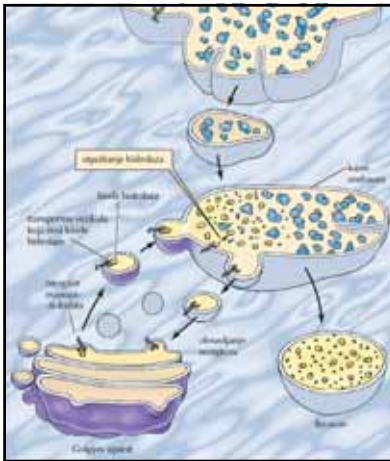
50 vrsta kiselih hidrolaza – mutacije gena odgovorne za 30 različitih bolesti – **lizosomske bolesti nakupljanja**

GM 2004



Endocitoza i nastanak lizosoma

- molekule izvan stanice unose se u endocitotzne vezikule koje se stapaju s ranim endosomima
- sastojci membrane vraćaju se u staničnu membranu



Endocitoza i nastanak lizosoma

- rani endosomi dozrijevaju u kasne endosome
- transportne vezikule iz GA nose kisele hidrolaze i stapaju se s kasnim endosomima – lizosom nastaje nakon unosa svih vrsta lizosomskih enzima
- kisele hidrolaze odvajaju se od receptora koji se vraćaju u GA



Fagocitoza i autofagija

Pregled signala

- **signalni sljedovi**
 - za unos u ER (N-kraj proteina)
 - za ugradnju u membrane (N-kraju, C-kraj i unutar proteina)
 - za ugradnju u membranu lizosoma (sljedovi u citoplazmatskim repovima)
 - za usmjeravanje u vakuolu
- **ugljikohidratni biljeg** – usmjeravanje proteina u lizosome

GM 2004
