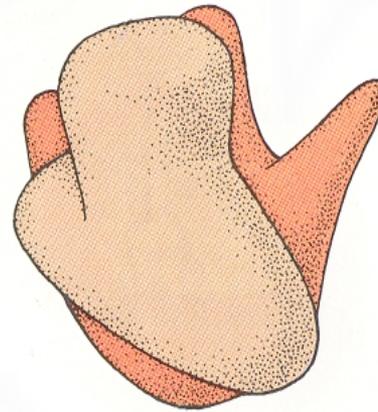
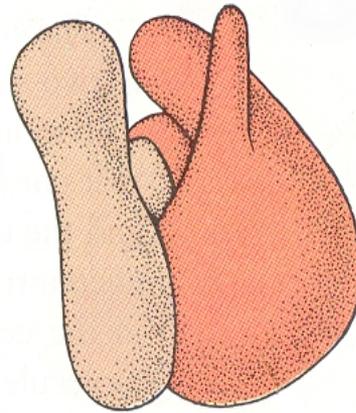
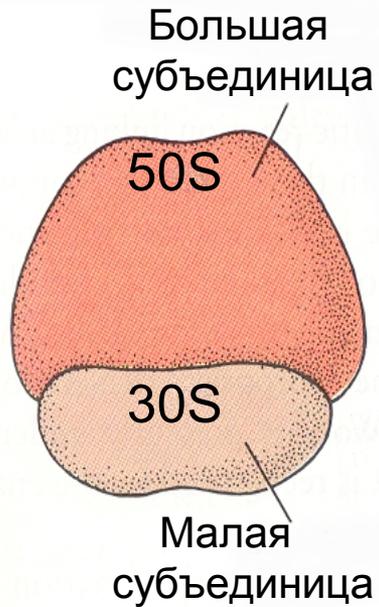


Тема 5. 1. Структурная организация метаболических процессов в клетке. Синтез, модификации и транспорт белка через мембраны. Котрансляционные процессы на мембране шероховатой ЭПС.

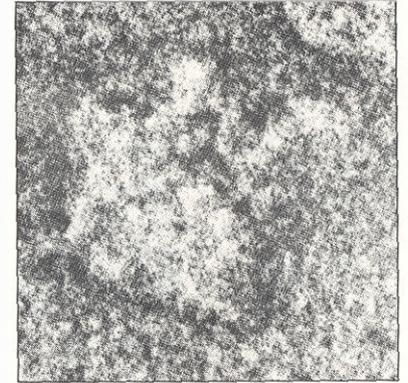
Этапы «жизни» белковой молекулы в клетке

- *Синтез*
- *Образование вторичной и третичной структуры*
- *Созревание - разрезание, модификации,*
- *Формирование четвертичной структуры*
- *Транспорт в нужный компартмент*
- *Деградация испорченных или отработавших молекул*

Синтез белка осуществляется на рибосомах

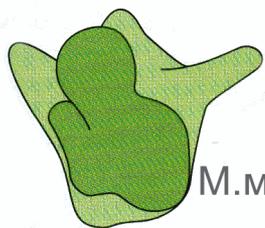


70S рибосома прокариот



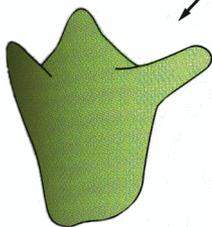
10 nm

Прокариотическая рибосома 70S



М.м. 2 500 000

50S



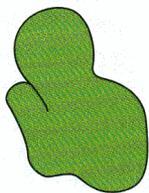
М.м. 1 600 000

5S рРНК

120 н.

34 полипептида

30S



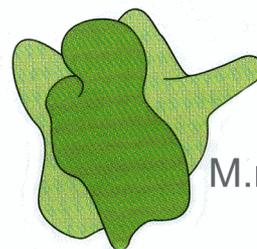
М.м. 900 000

16S рРНК

1 540 н.

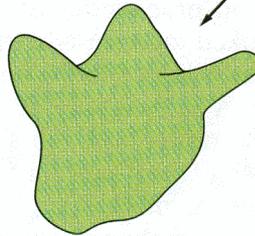
21 полипептид

Эукариотическая рибосома 80S



М.м. 4 200 000

60S



М.м. 2 800 000

5S рРНК

120 н.

49 полипептидов

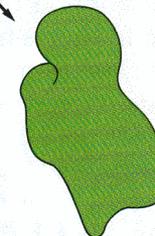
28S рРНК

4 700 н.

5,8S рРНК

160 н.

40S



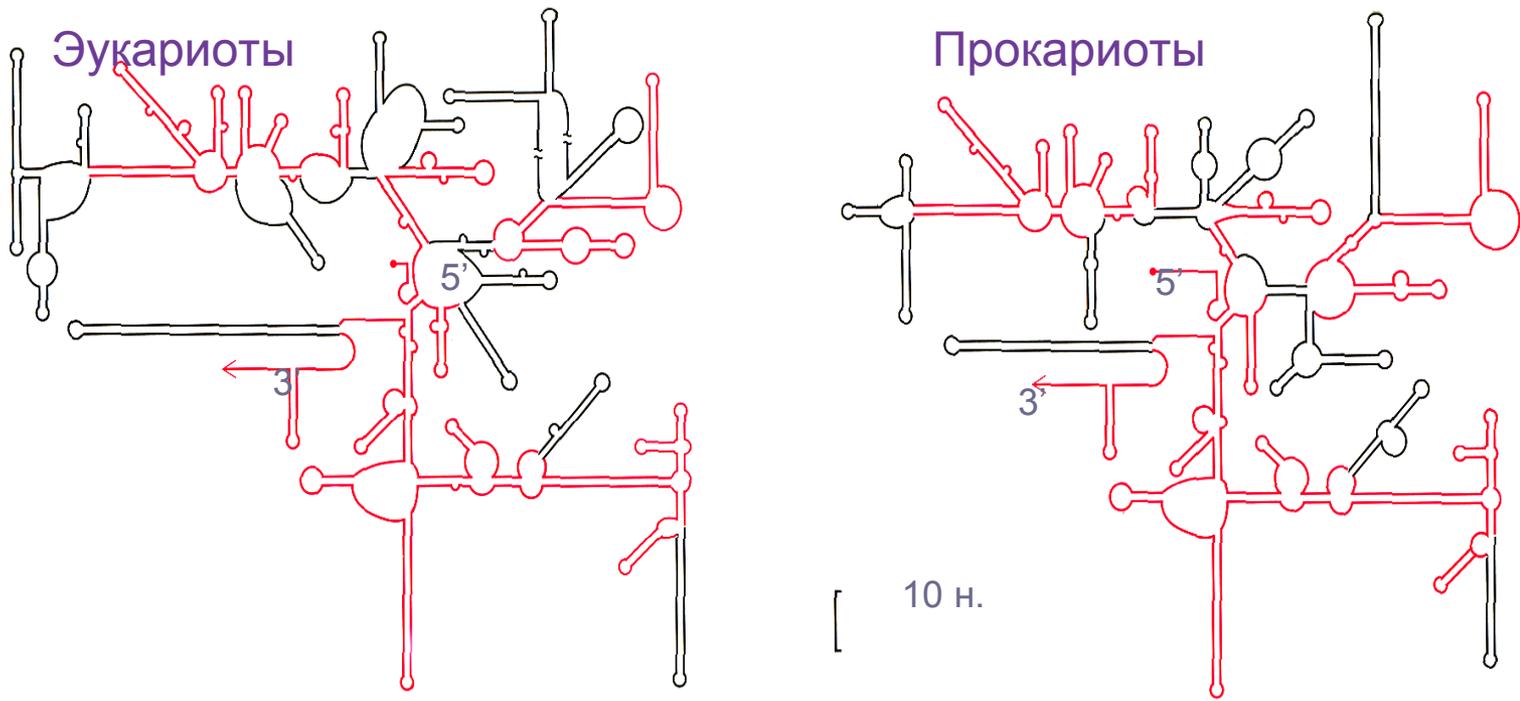
М.м. 1 400 000

18S рРНК

1 900 н.

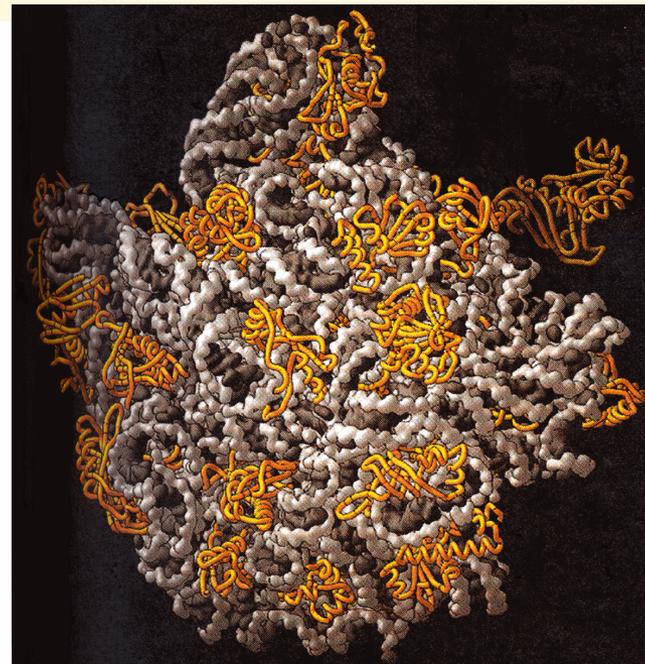
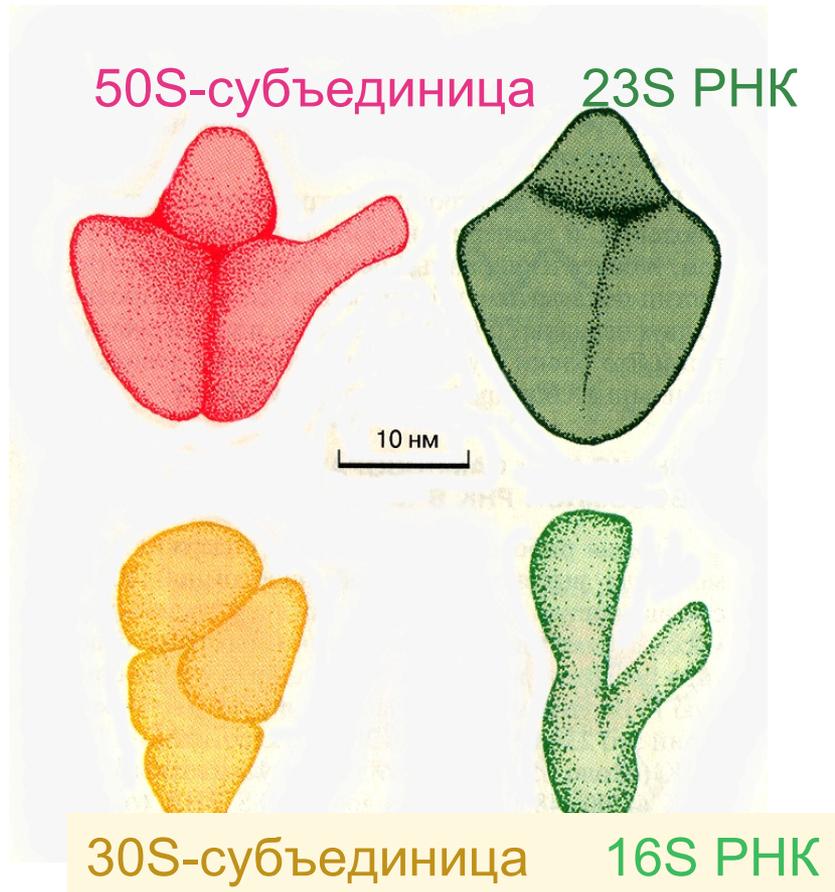
33 полипептида

Вторичная структура рРНК про- и эукариот похожа



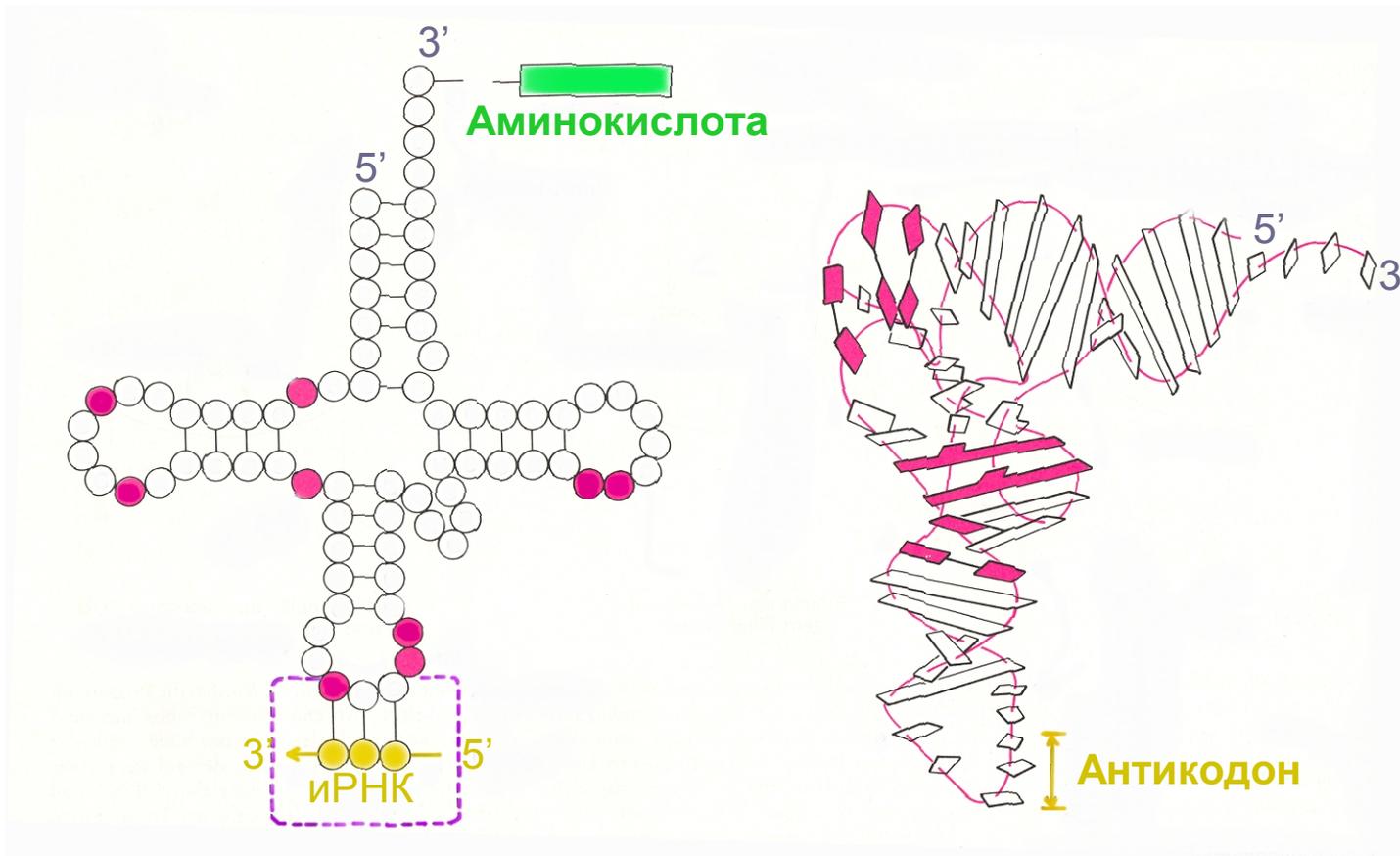
рРНК малых субъединиц

Сравнение контуров рибосомных субъединиц и рРНК в их составе

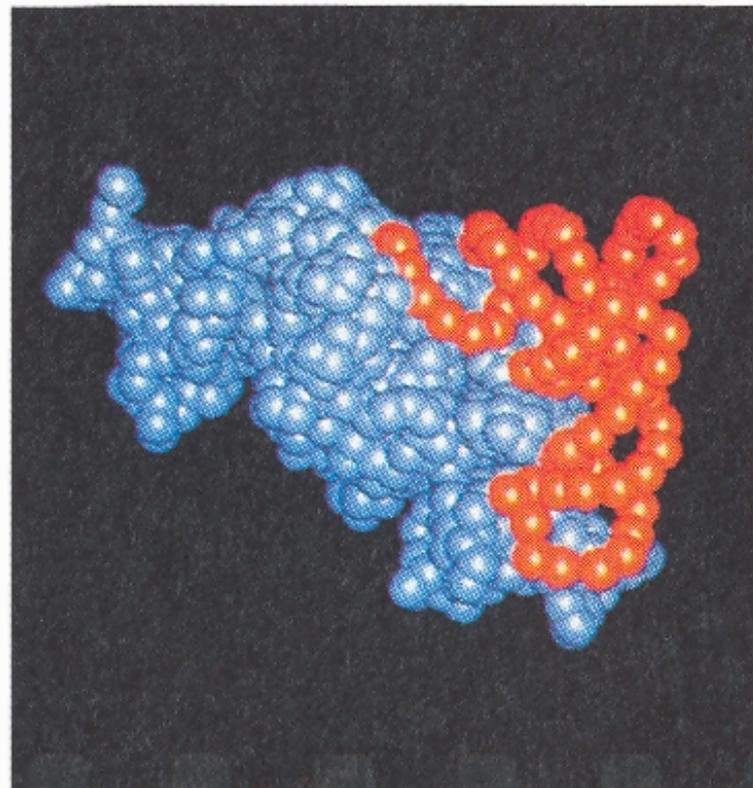
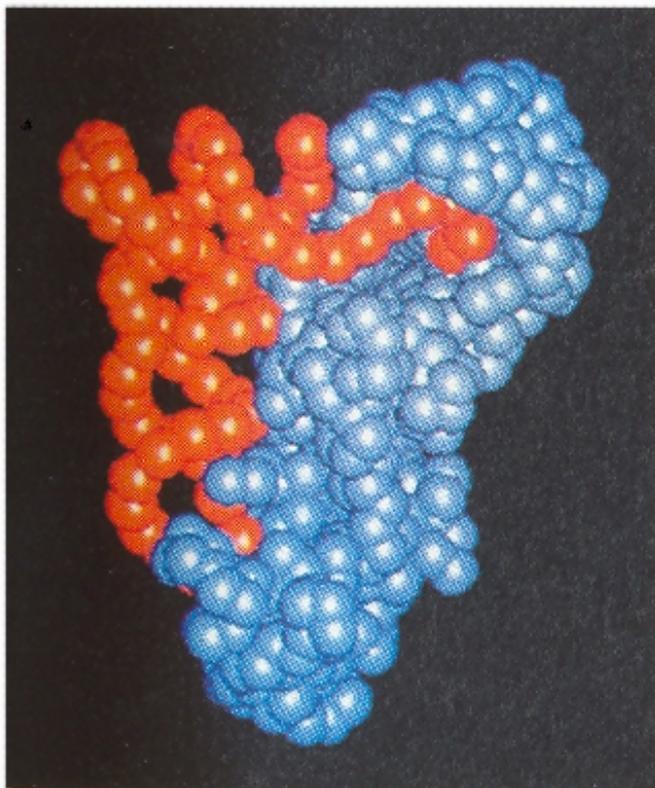


РНК и белки
в большой
субъединице
рибосомы
прокариот

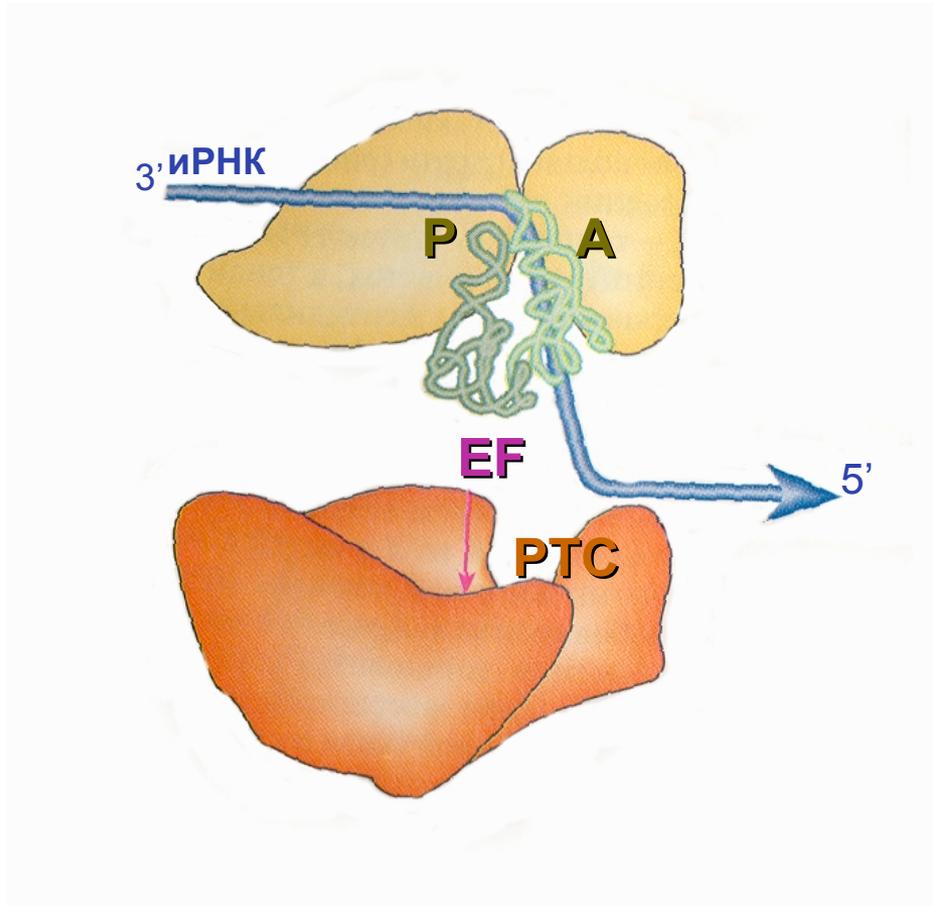
Вторичная и третичная структура тРНК (аланиновой)



Модели строения глутаминовой и аспарагиловой тРНК-синтетаз



Функциональные центры рибосомы



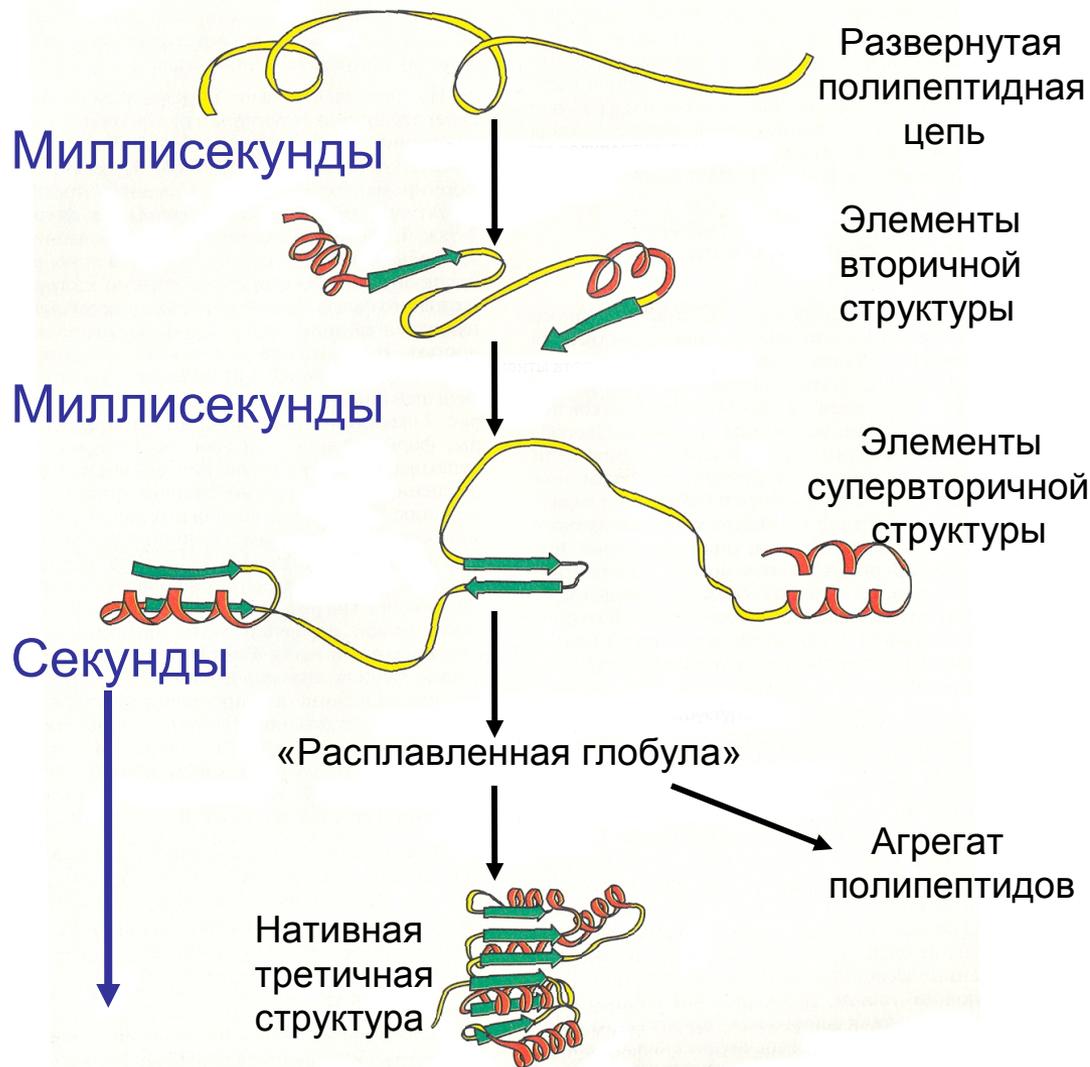
Р - пептидил-тРНК-
связывающий участок

А - аминоацил-тРНК-
связывающий участок

EF - центр связывания
факторов элонгации

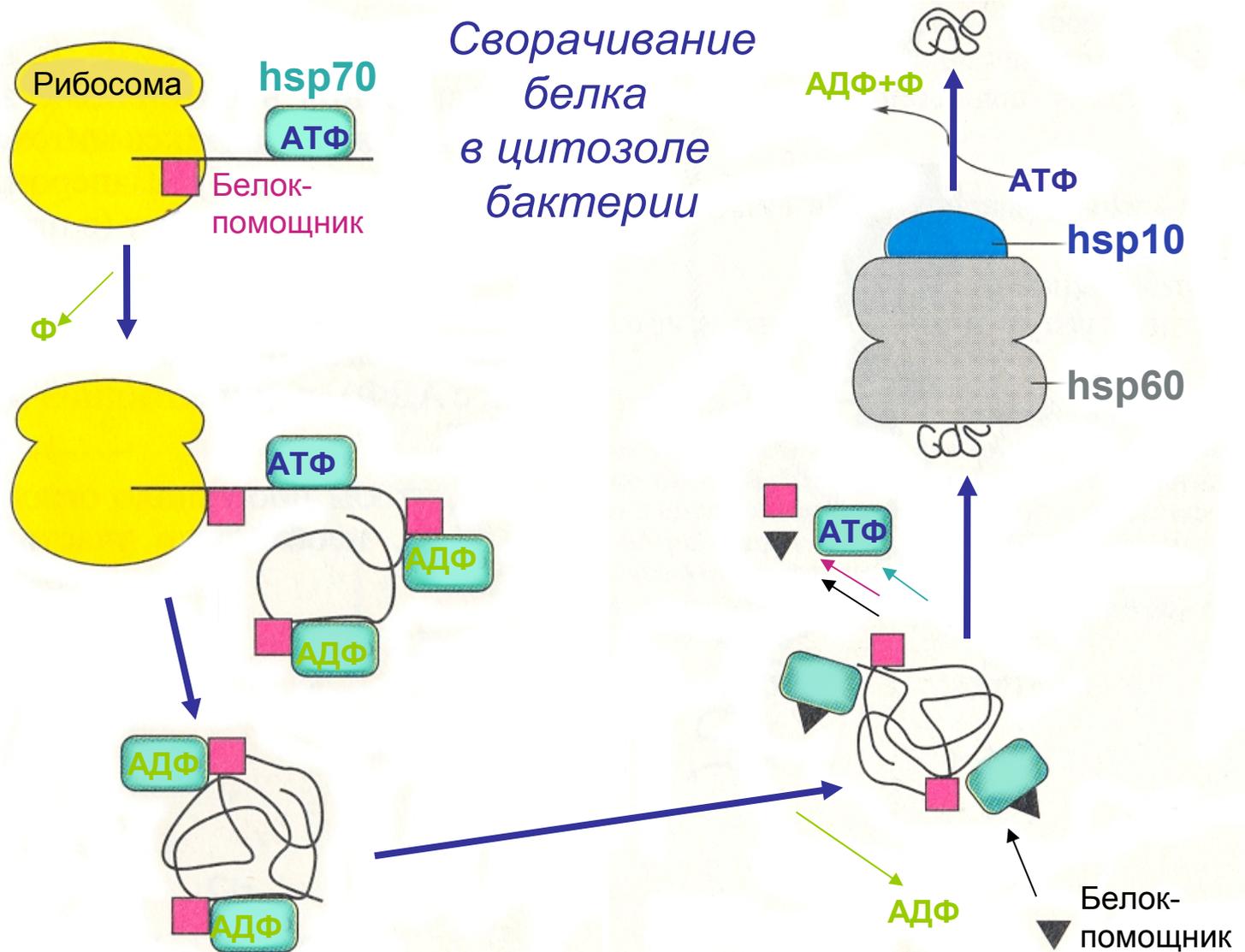
РТС - пептидилтранс-
феразный центр

При самопроизвольном свертывании молекулы, например, лизоцима, в водной среде высвобождается примерно 40 кДж/моль энергии , т.е. свернутое состояние – более устойчивое

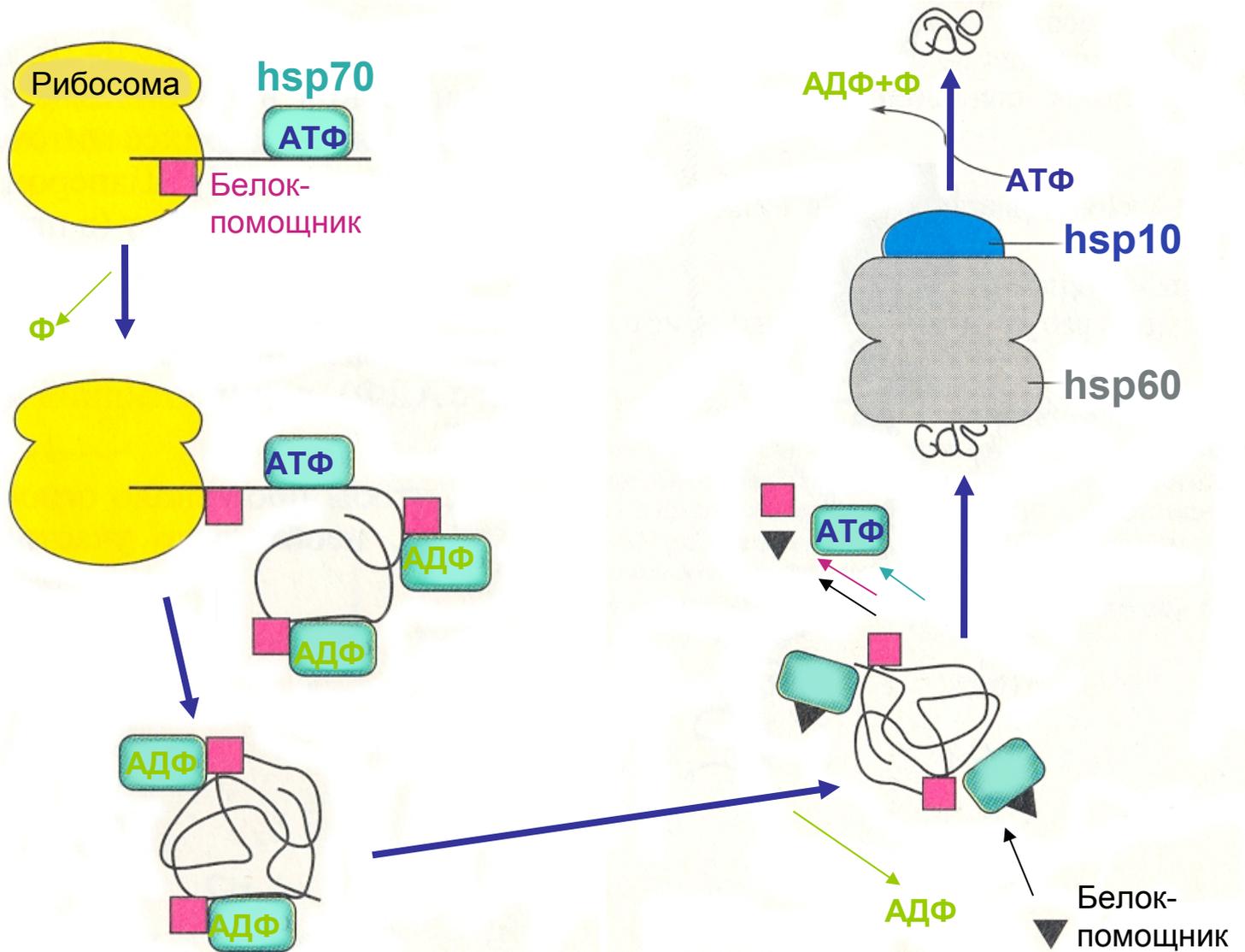


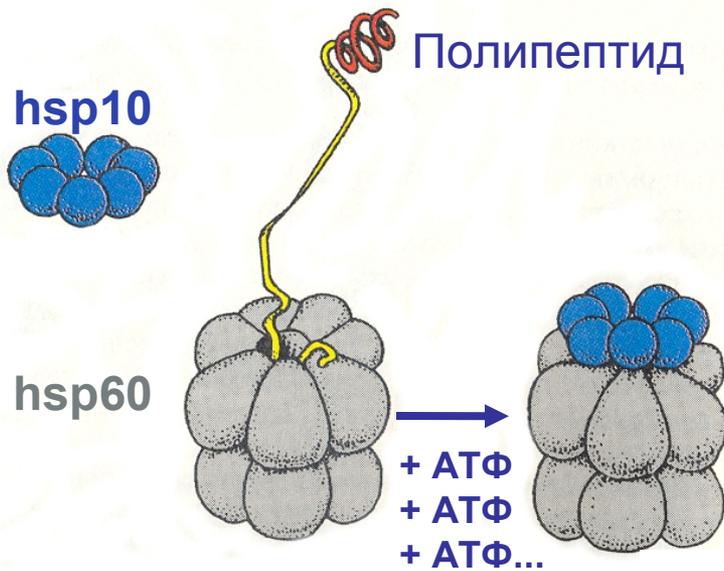
В сворачивании полипептида принимают участие вспомогательные белки

Сворачивание
белка
в цитозоле
бактерии

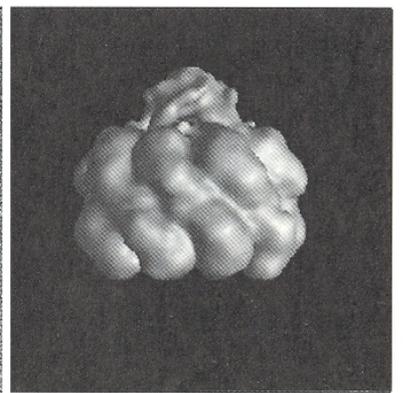
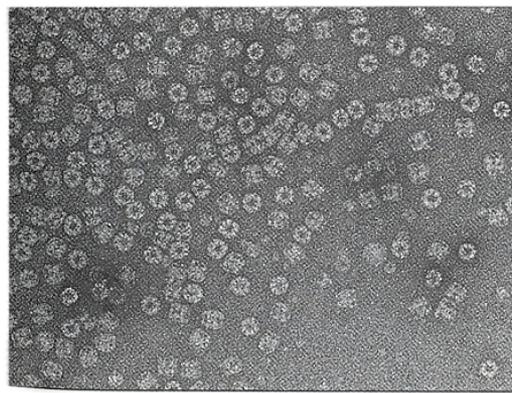


Шапероны = hsp70, hsp60 и hsp10

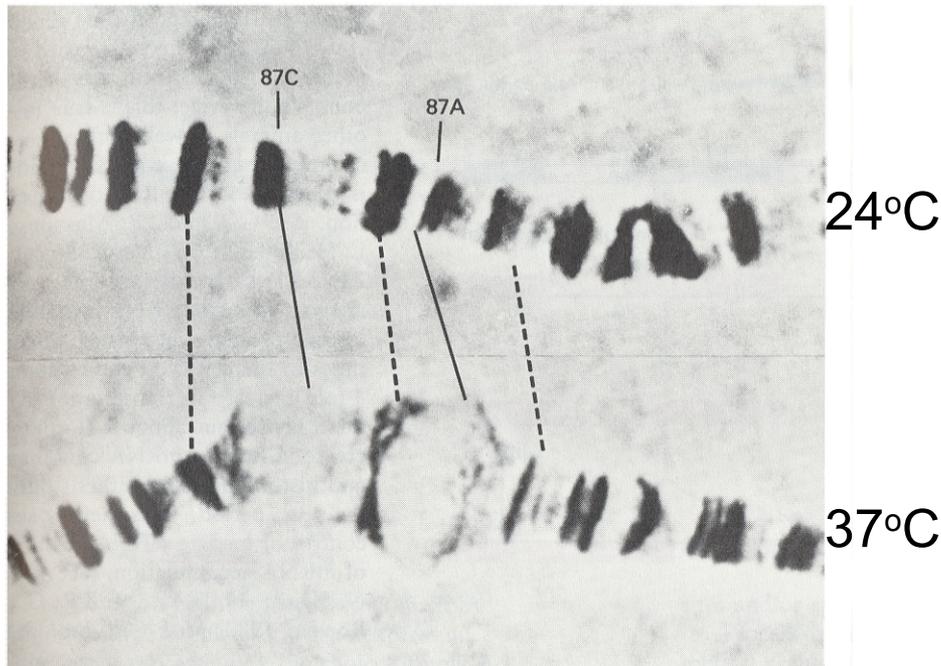




Шапероны препятствуют сворачиванию, шаперонины обеспечивают эффективное сворачивание белков



Hsp -белки теплового шока были открыты при изучении политенных хромосом дрозофилы

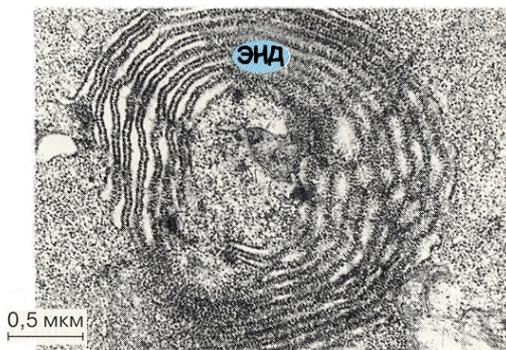
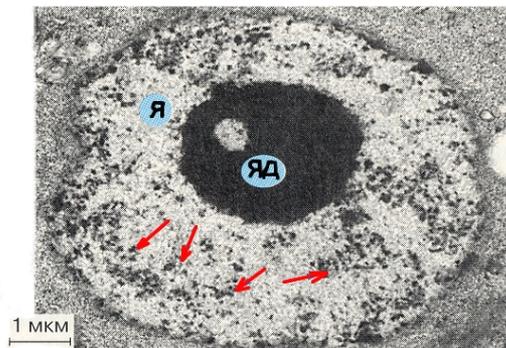


Пример пufов, возникающих в политенных хромосомах слюнных желез у D.melanogaster, при тепловом воздействии

Тепловому шоку подвержены клетки всех организмов



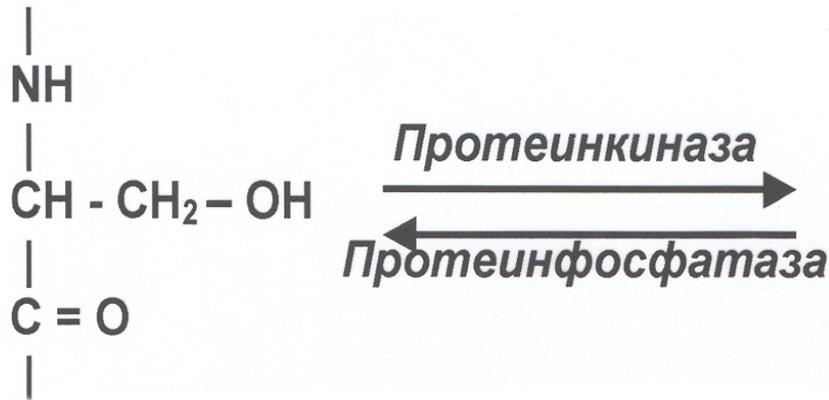
28° С



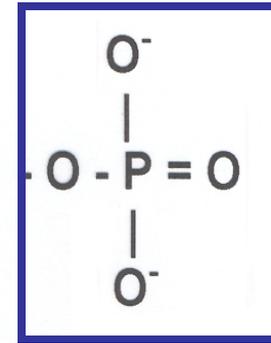
40°С, 1,5 час.

Изменение
ультраструктуры
растительной
клетки при
разной
температуре

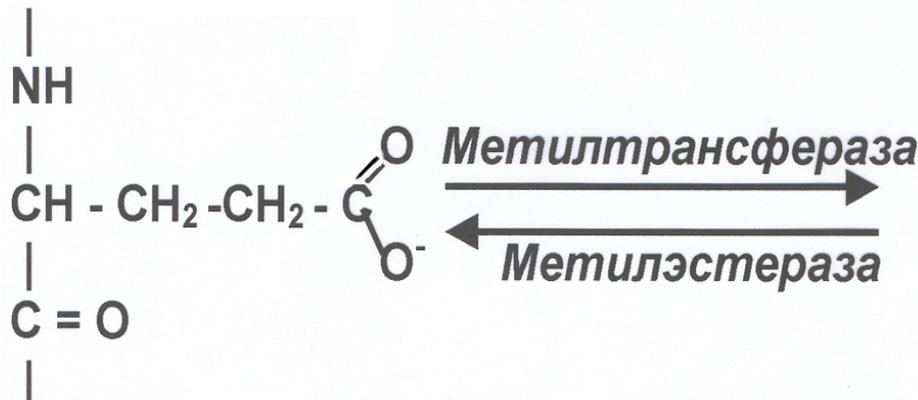
Тре, Тир, Сер



Фосфорилирование



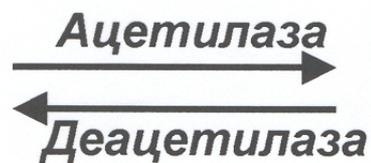
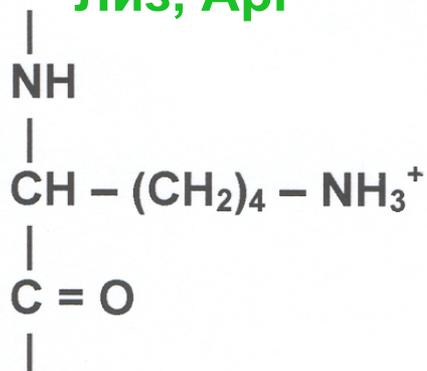
Асп, Глу, (Лиз, Арг)



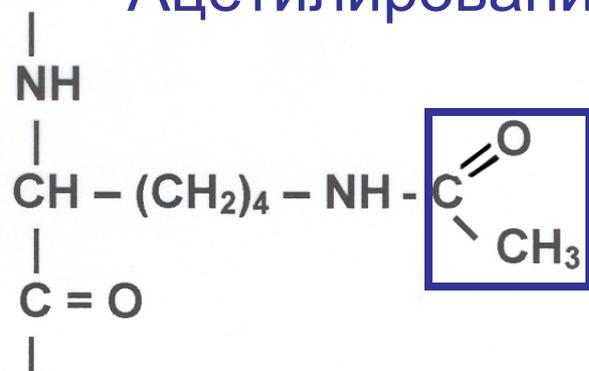
Метилирование



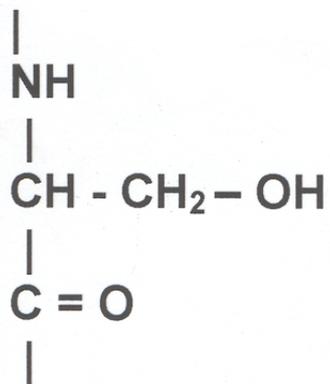
Лиз, Арг



Ацетилирование

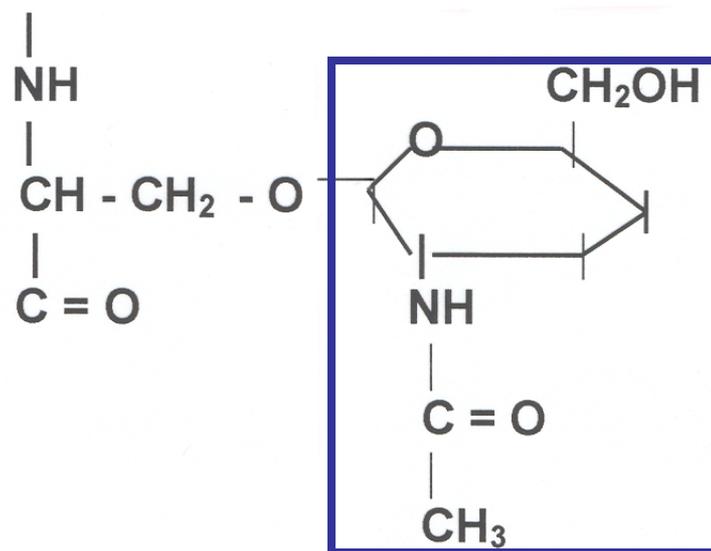


Сер, Тре

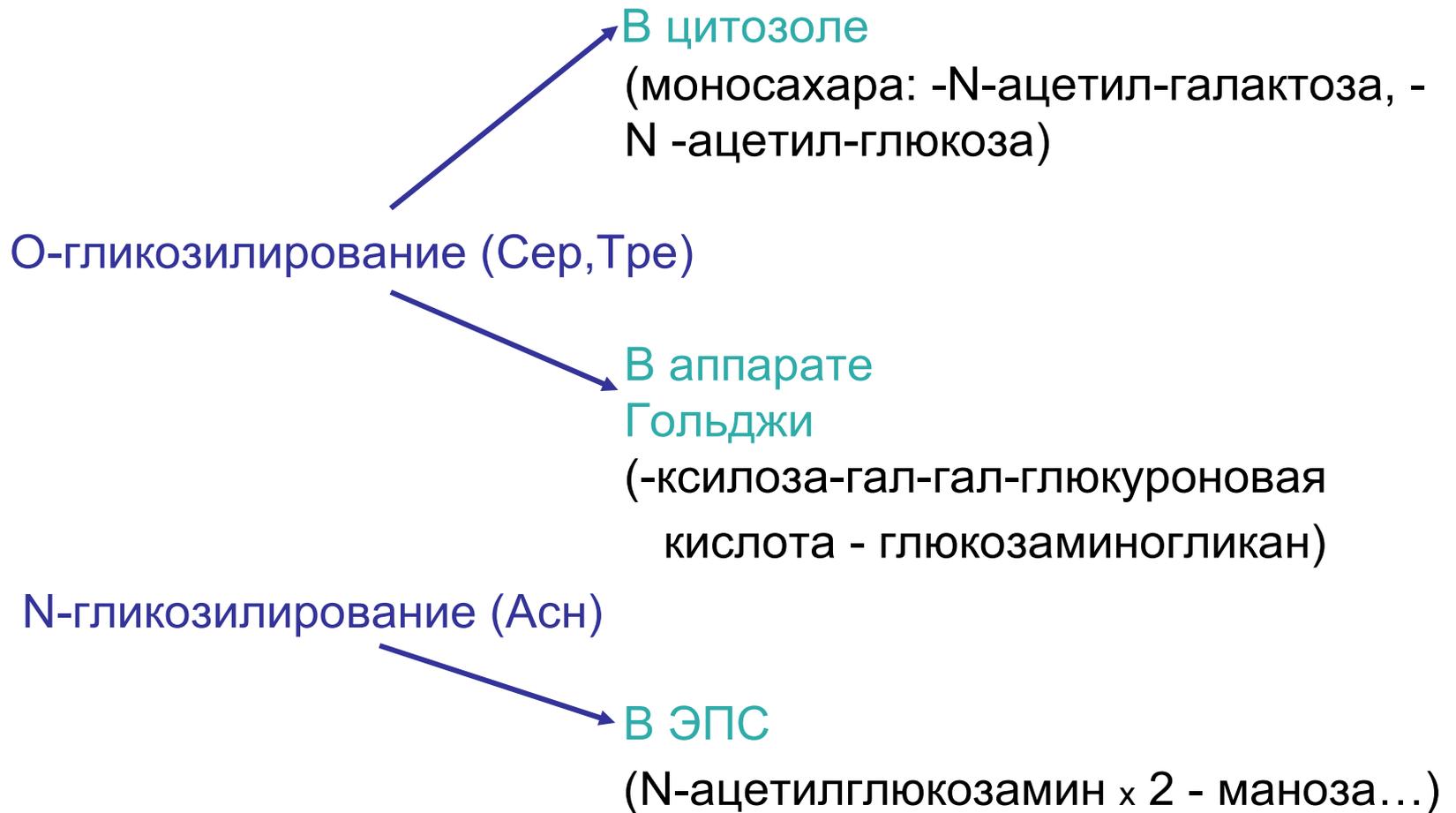


Гликозилирование

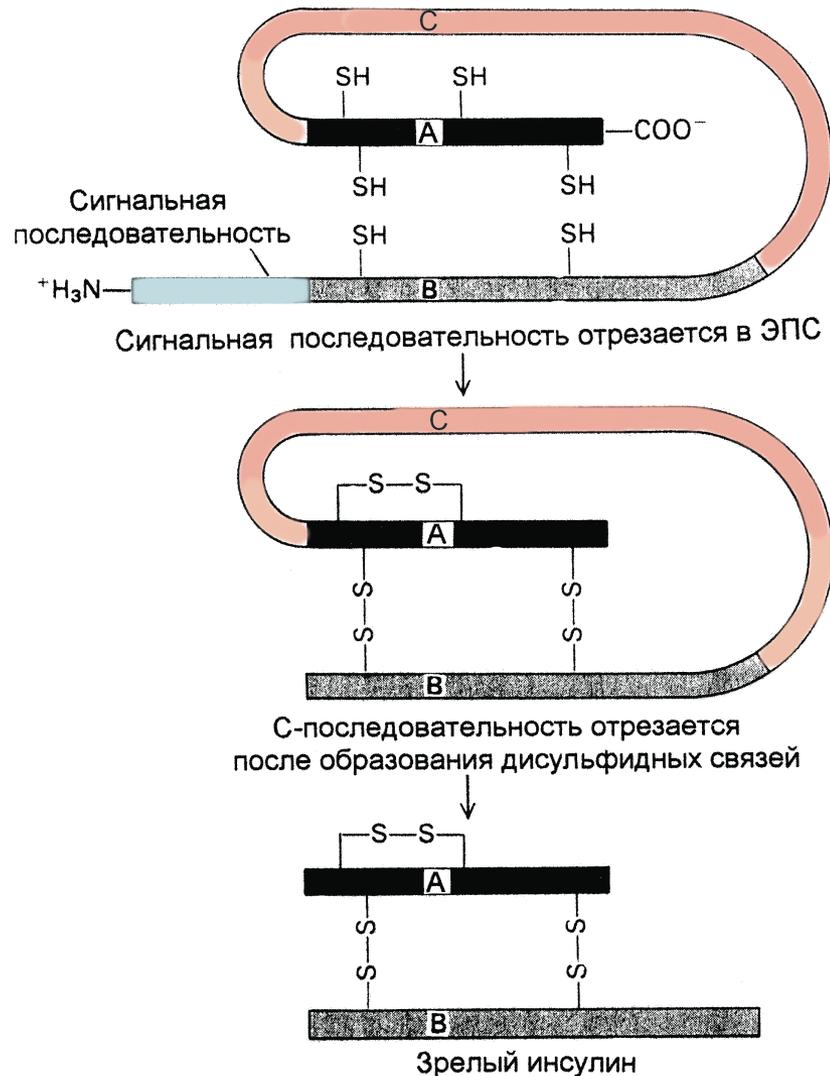
О-гликозилирование



Модификация белков в разных компартментах может различаться

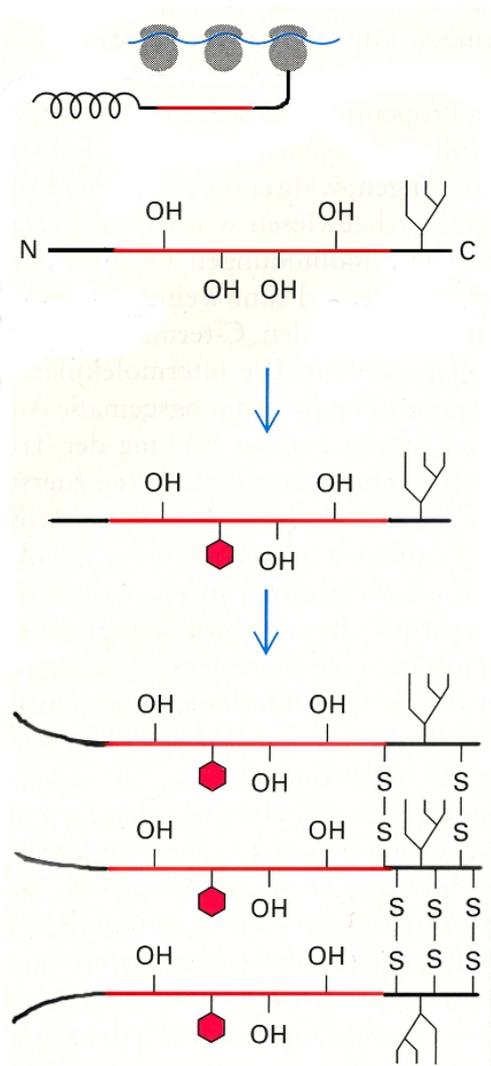


Пример разрезания пептида в процессе созревания



*Этапы созревания
молекулы инсулина*

Образование четвертичной структуры - этап в созревании молекулы коллагена

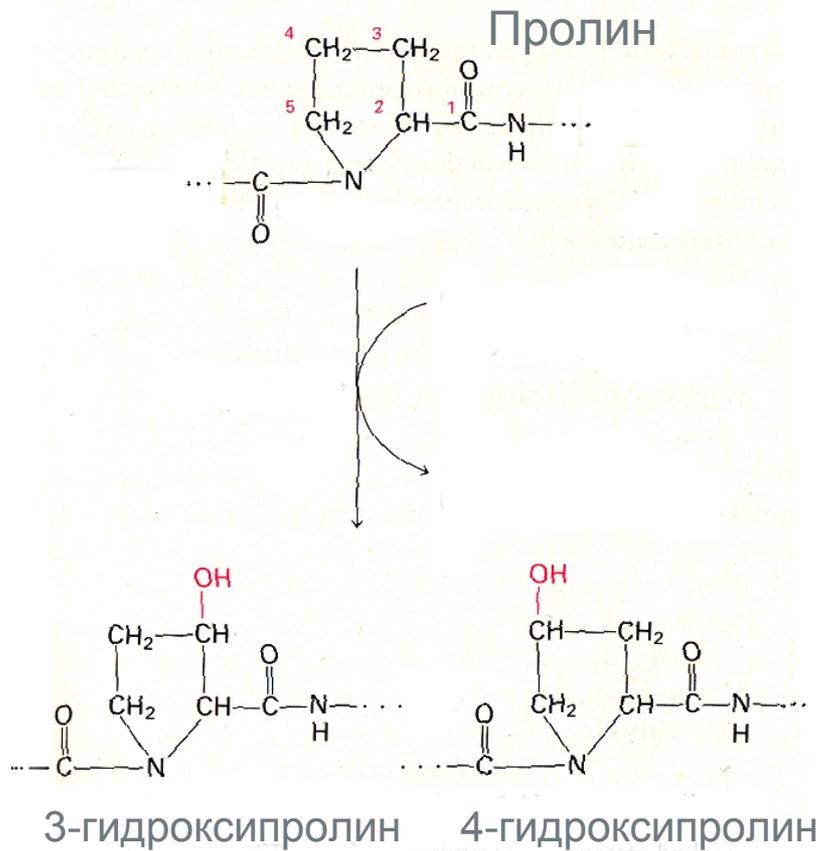


Синтез

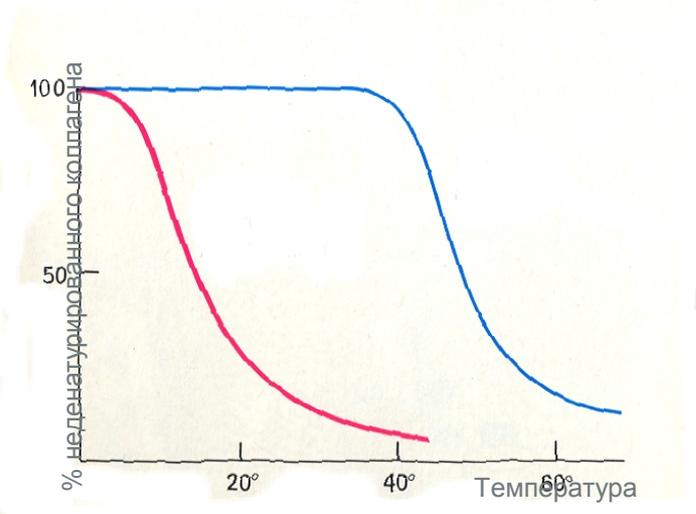
Гидроксилирование пролина и лизина

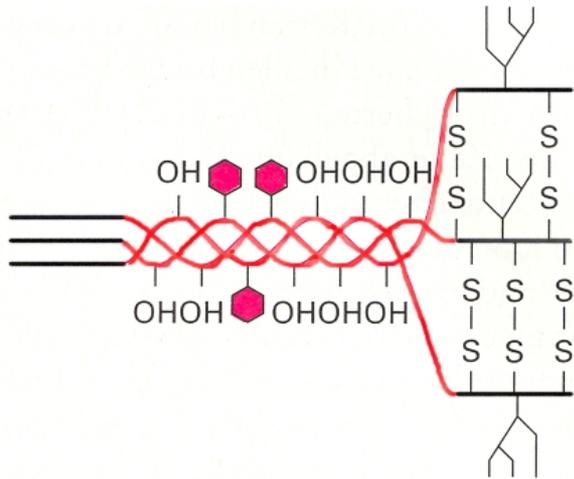
Гликозилирование (галактоза)

Образование дисульфидных мостиков между тремя полипептидами

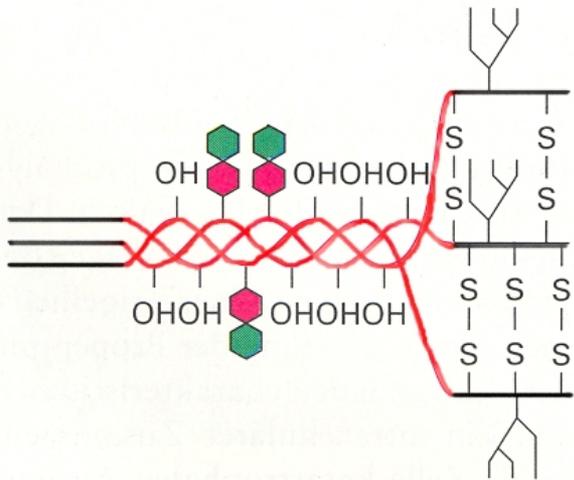


*Кривые денатурации
нормального коллагена
и
коллагена, содержащего
негидроксилированные
пролины*





Образование
тройной
спирали



Дальнейшее
гликозилирование



Отрезание
концевых
пептидов

Где и какие белки разрушаются?

ЛИЗОСОМЫ

Все белки

ЭПС

?

ЦИТОЗОЛЬ

Белки, предназначенные для разрушения:

- неправильно свернутые
- не соединившиеся в комплексы
- поврежденные
- короткоживущие
- содержащие бокс деструкции

N-концевое правило:

На конце аминокислоты:

Met Сер Тре Ала
Вал Цис Гли Про

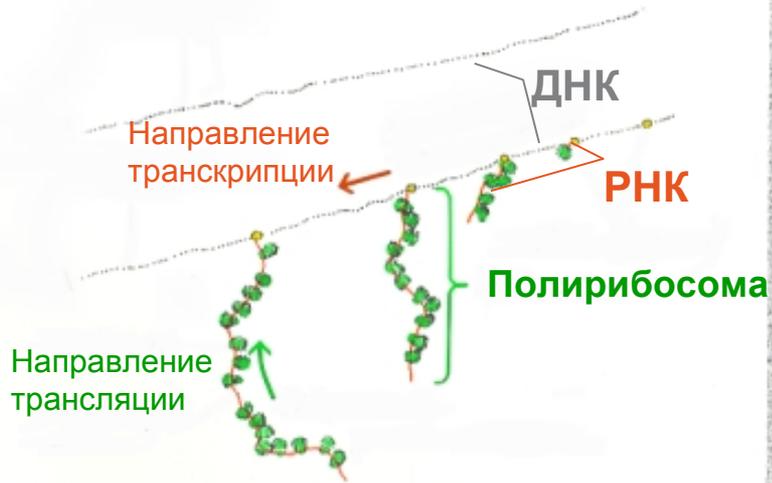
- белки живут долго

остальные аминокислоты,
прежде всего

аргинин
аспартат глутамат аспарагин
глутамин

- белки быстро разрушаются

У прокариот транскрипция, трансляция и функционирование белка происходят в одном компартменте

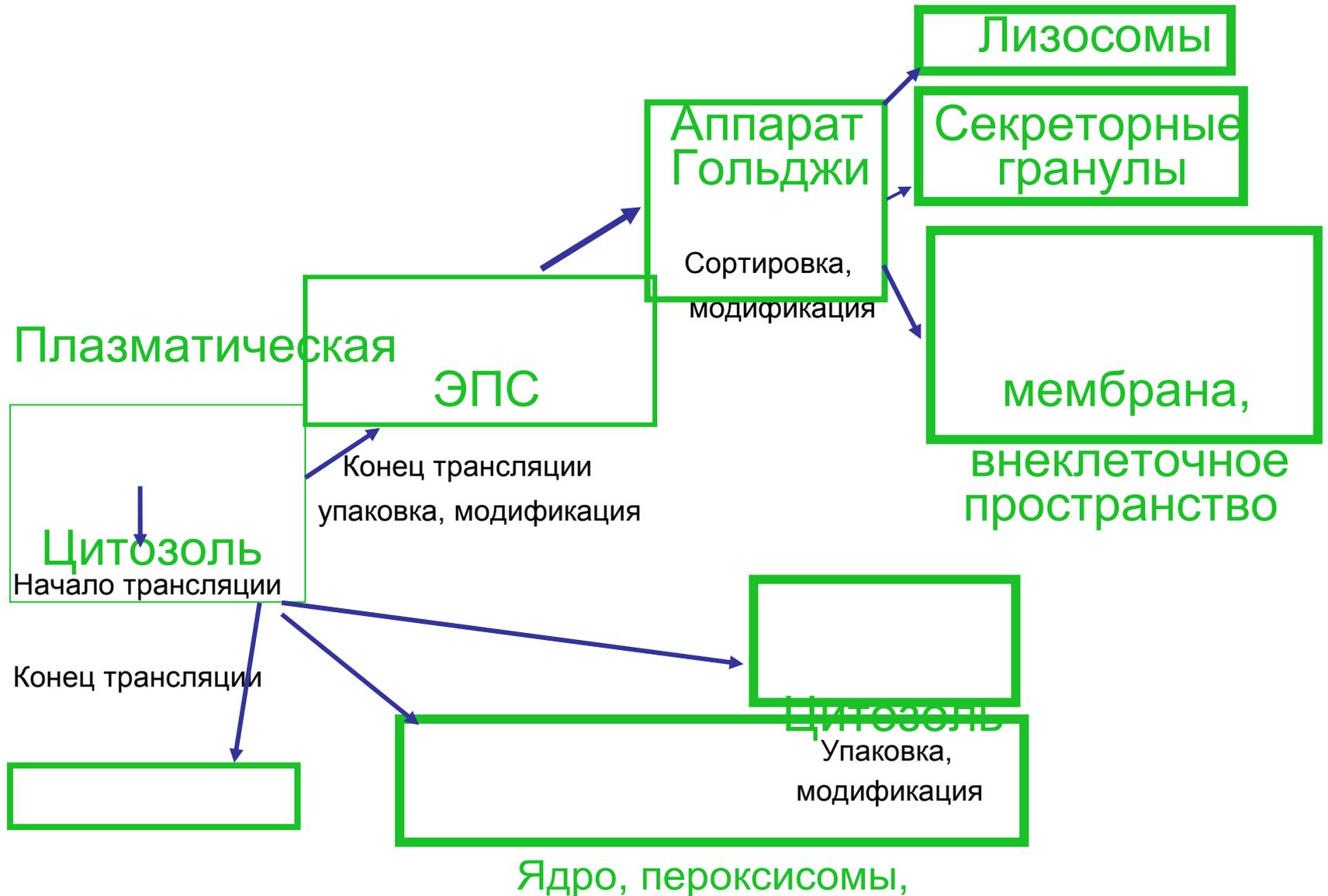


У эукариот транскрипция, трансляция и функционирование белка могут осуществляться в разных компартментах

- Существует консервативная система распределения
- белков по клеточным компартментам.

- Многие процессы осуществляются в результате кооперации различных компартментов

Синтез, созревание и транспорт белков

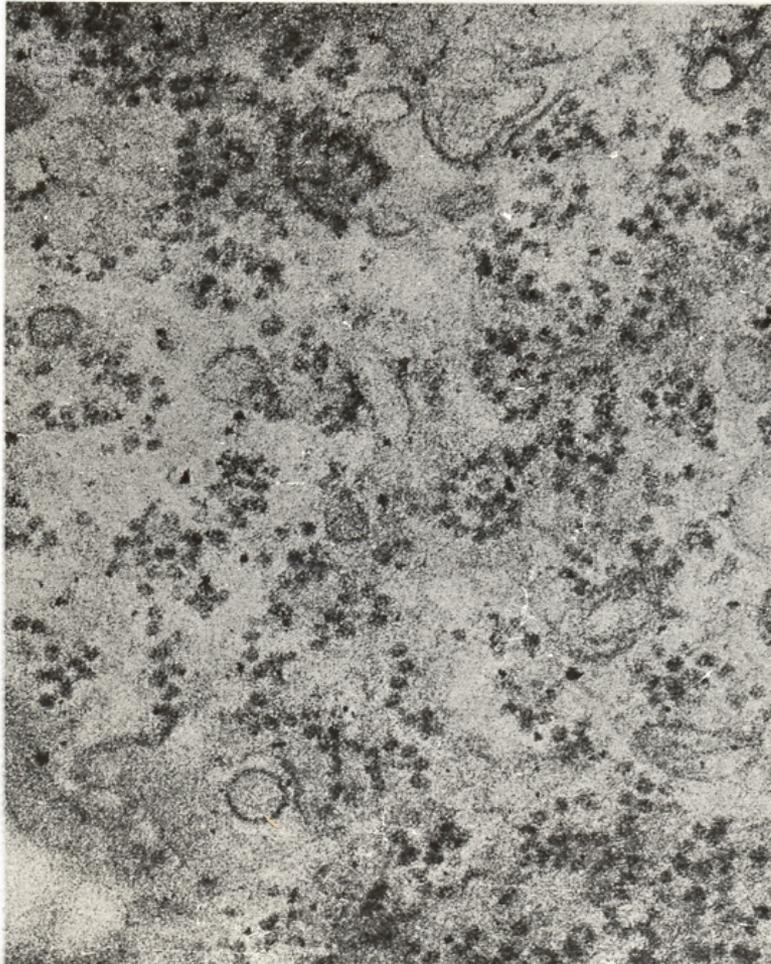


Синтез, созревание и транспорт белков

Клеточные компартменты на примере гепатоцита

<i>Компартмент</i>	<i>% клеточного объема</i>	<i>Количество в клетке</i>
Ядро	6	1
Цитозоль	54	1
ЭПС шероховатый	9	
ЭПС гладкий + аппарат Гольджи	6	
Митохондрии	22	1700
Лизосомы	1	300
Пероксисомы	1	400

***Свободные рибосомы
в цитозоле***

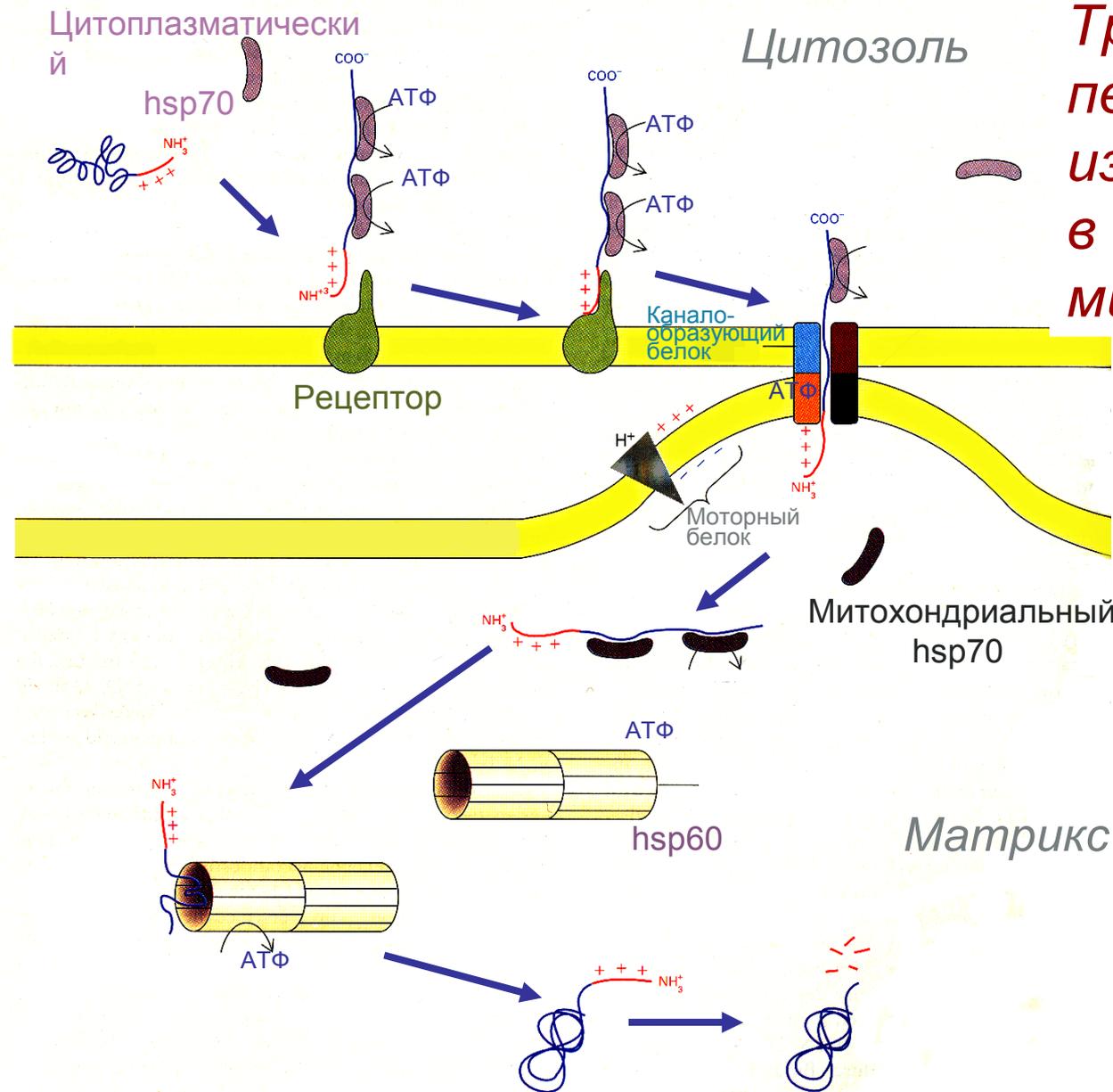


***Шероховатая ЭПС и
свободные рибосомы***



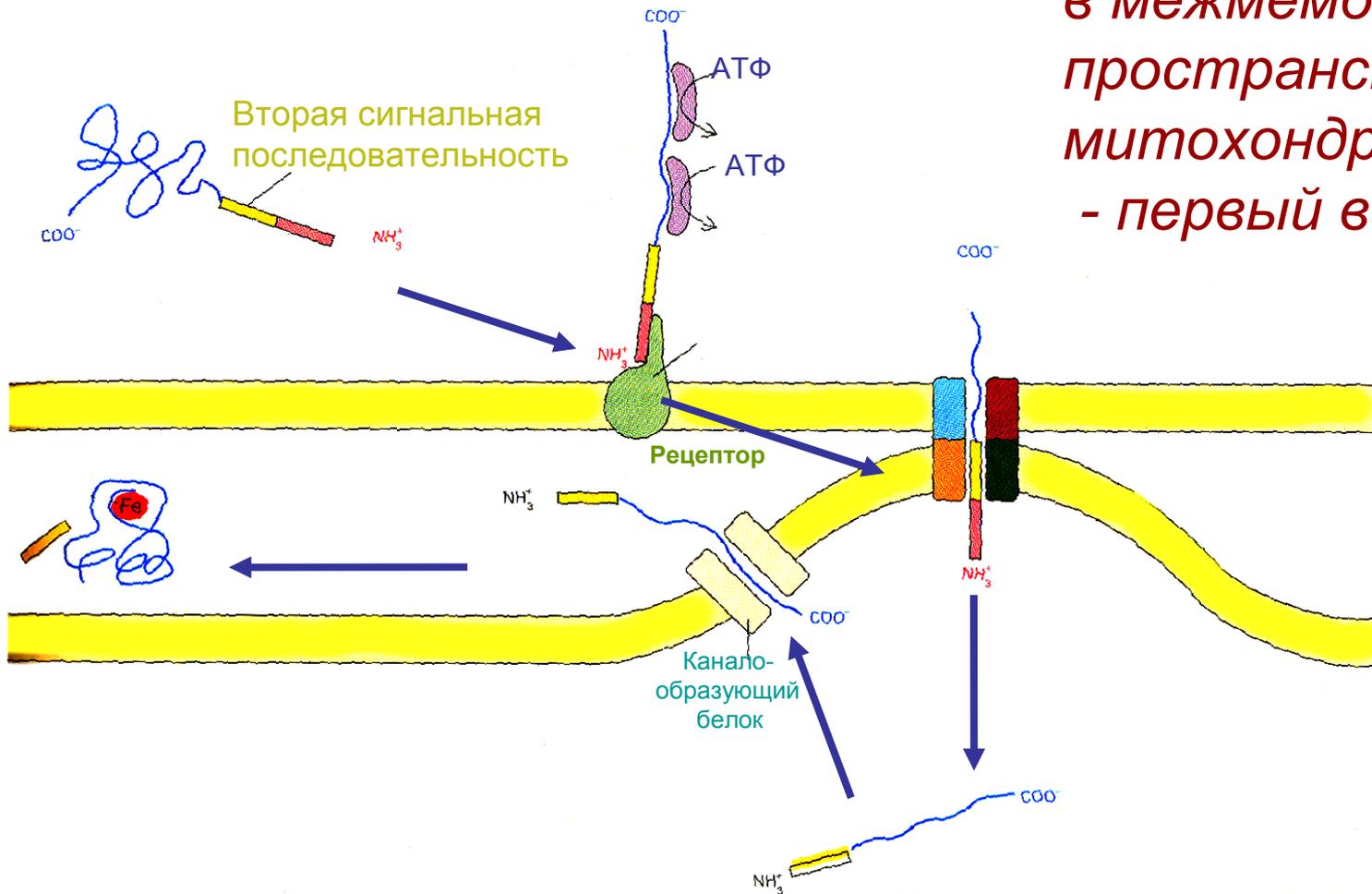
Для транспорта пептидов необходимы адресные последовательности

В полость ЭПС	$+H_3N-$ Мет-Мет-Сер-Фен-Вал-Сер-Лей-Лей-Лей-Вал-Гли-Иле-Лей-Фен-Три-Ала-Тре-Глу-Ала-Глу-Глн-Лей-Тре-Лиз-Цис-Глу-Вал-Фен-Глн
Задержка в полости ЭПС	-Лиз-Асп-Глу-Лей- COO^-
В митохондрии	$+H_3N-$ Мет-Лей-Сер-Лей-Арг-Глн-Сер-Иле-Арг-Фен-Фен-Лиз-Про-Ала-Тре-Арг-Тре-Лей-Цис-Сер-Сер-Арг-Тир-Лей-Лей-
В пероксисомы	-Сер-Лиз-Лей- COO^-
Прикрепление к мембране ЭПС со стороны цитозоля	$+H_3N-$ Гли-Сер-Сер-Лиз-Сер-Лиз-Про-Лиз-

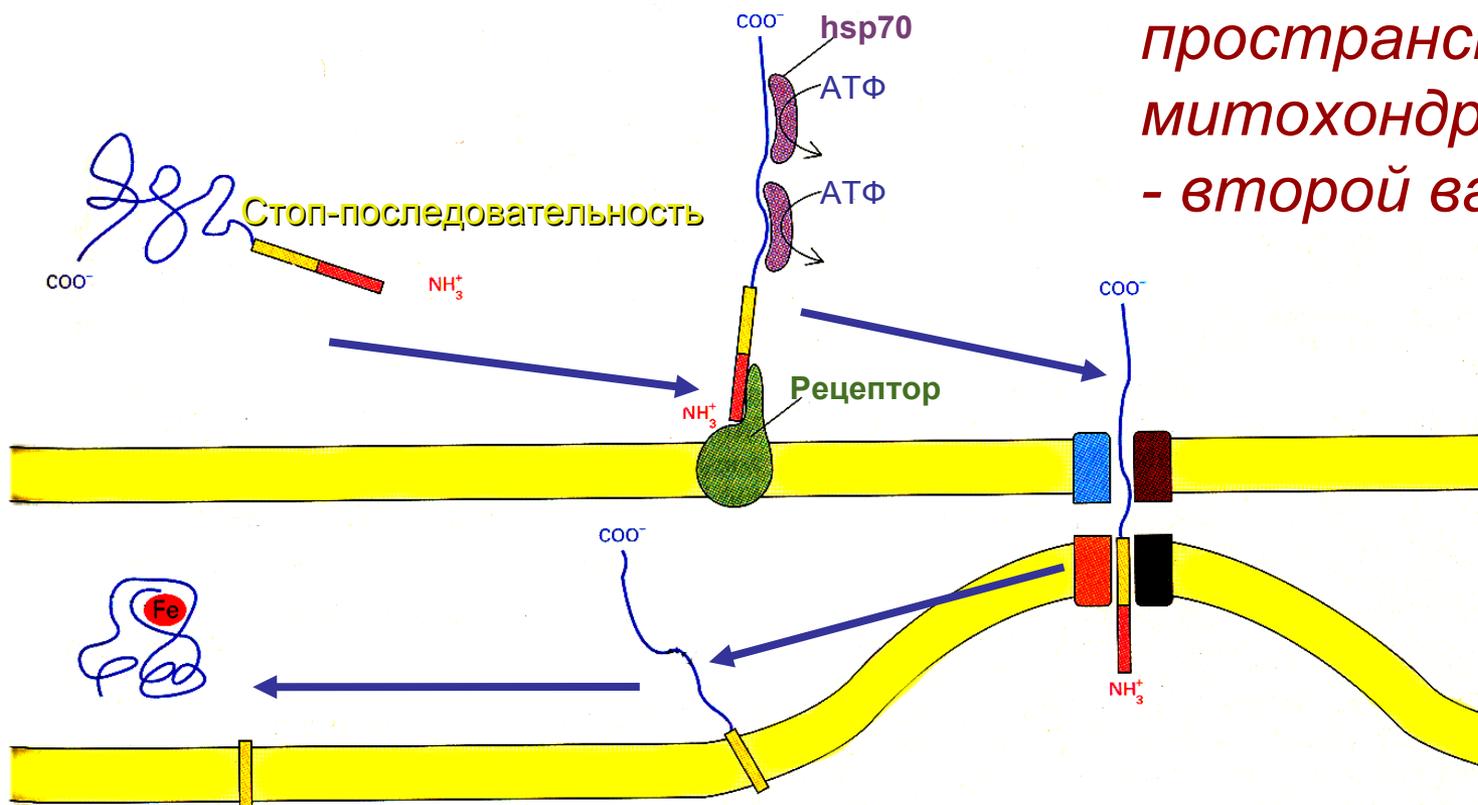


Транспорт пептида из цитозоля в матрикс митохондрии

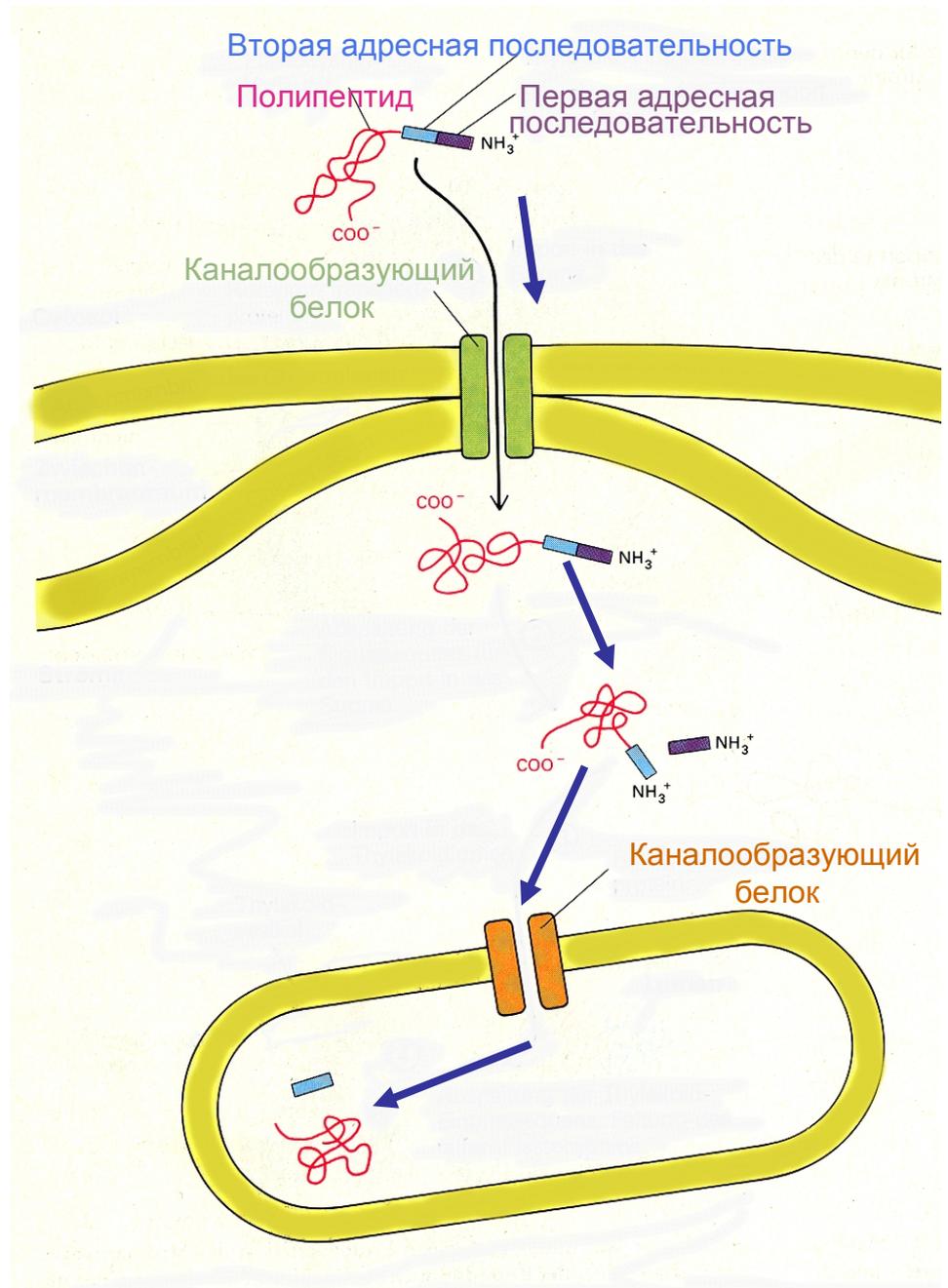
Транспорт
полипептида
в межмембранное
пространство
митохондрии
- первый вариант



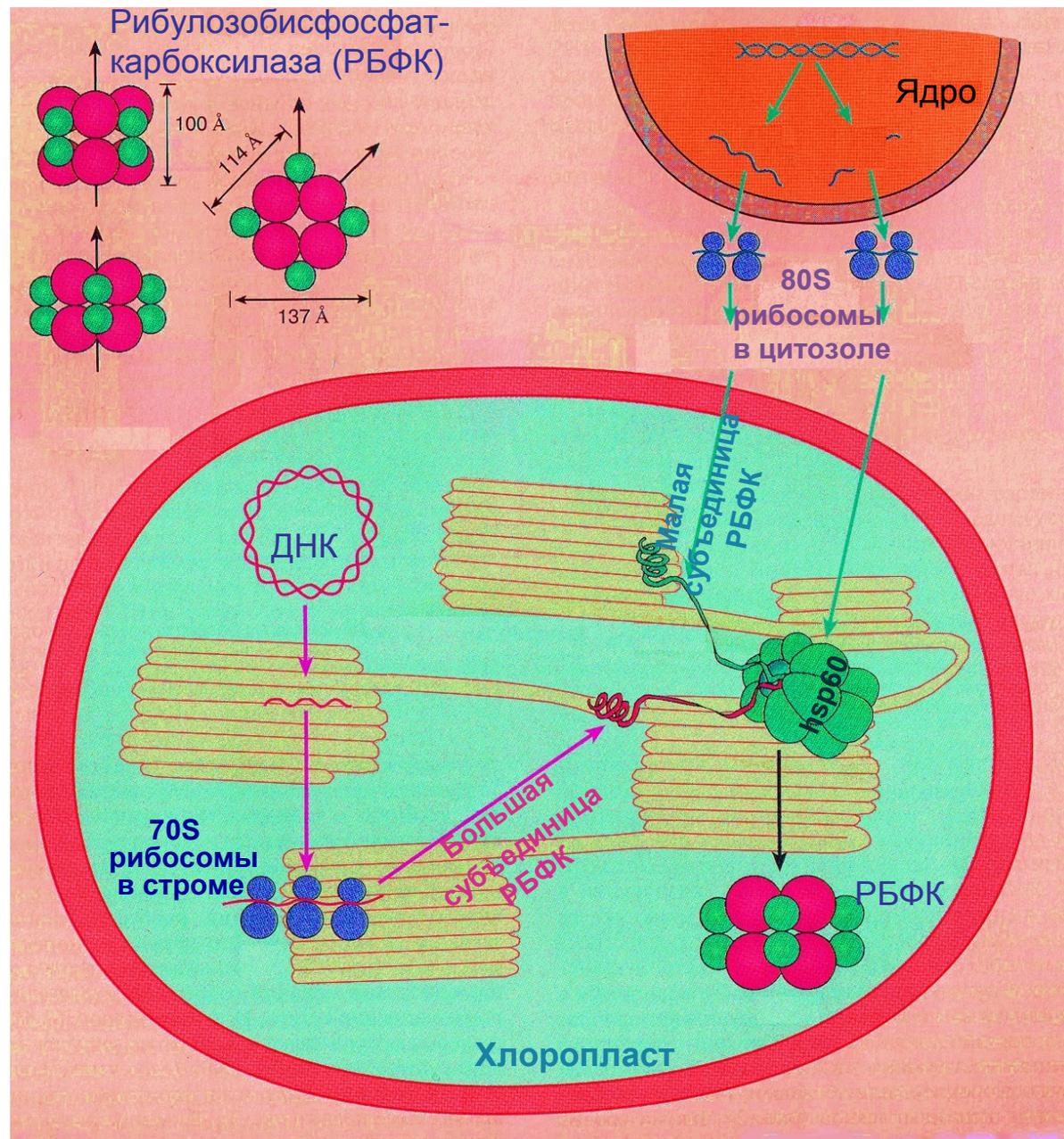
*Транспорт
полипептида
в межмембранное
пространство
митохондрии
- второй вариант*



*Транспорт
полипептида во
внутрилакоидное
пространство
хлоропласта*



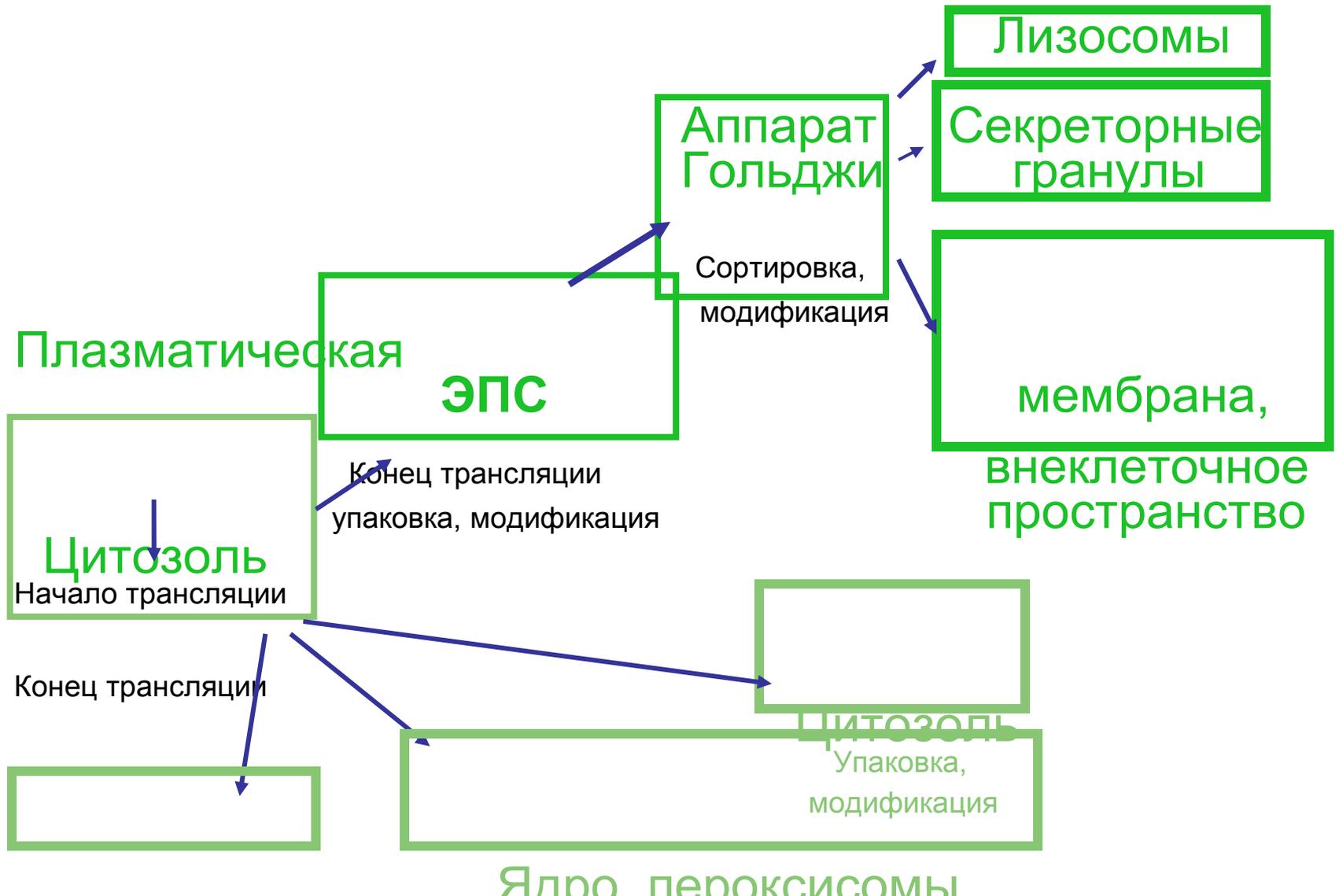
Малая
субъединица
РБФК – пример
транспортируе-
мого из цитозоля
полипептида



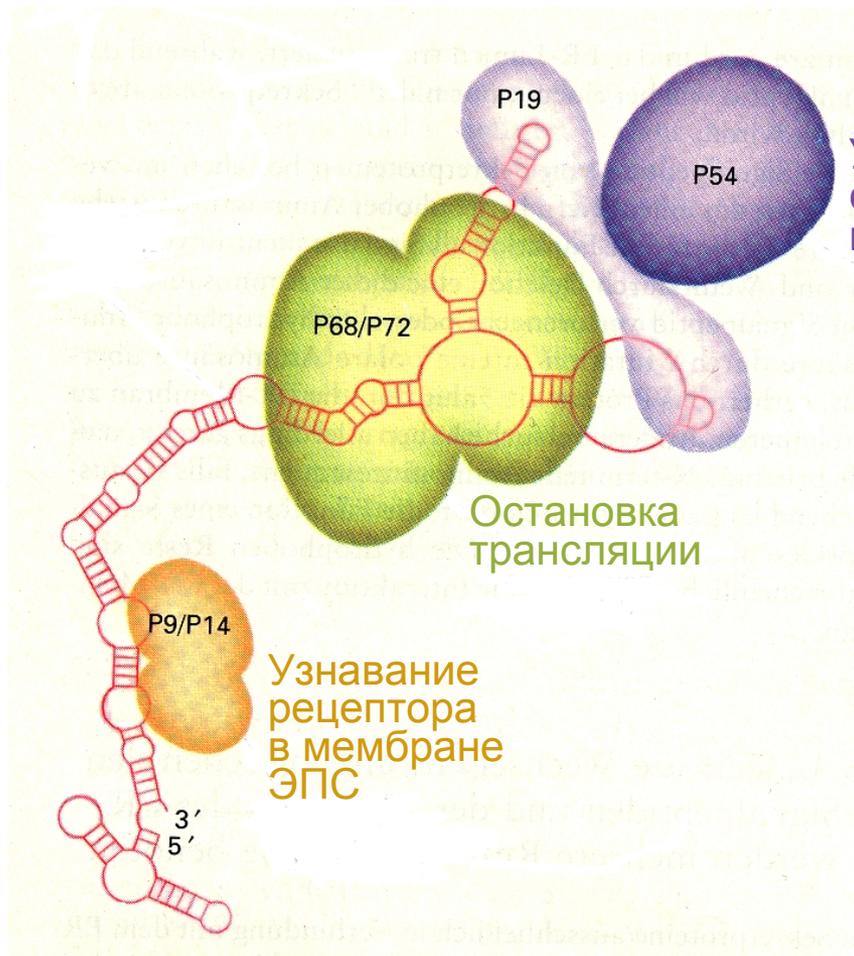
Для транспорта полипептидов требуются:

- *сигнальная(ые) последовательность(и)
в транспортируемом пептиде*
- *рецептор в мембране*
- *каналообразующие белки*
- *энергетические затраты*
- *шапероны и шаперонины внутри компартмента*

Синтез, созревание и транспорт белков



SRP - частица, узнающая сигнальную последовательность в синтезируемом полипептиде (11S, 25нм) содержит РНК (300 н., 7S) и 6 белков



Узнавание
сигнальной
последовательности

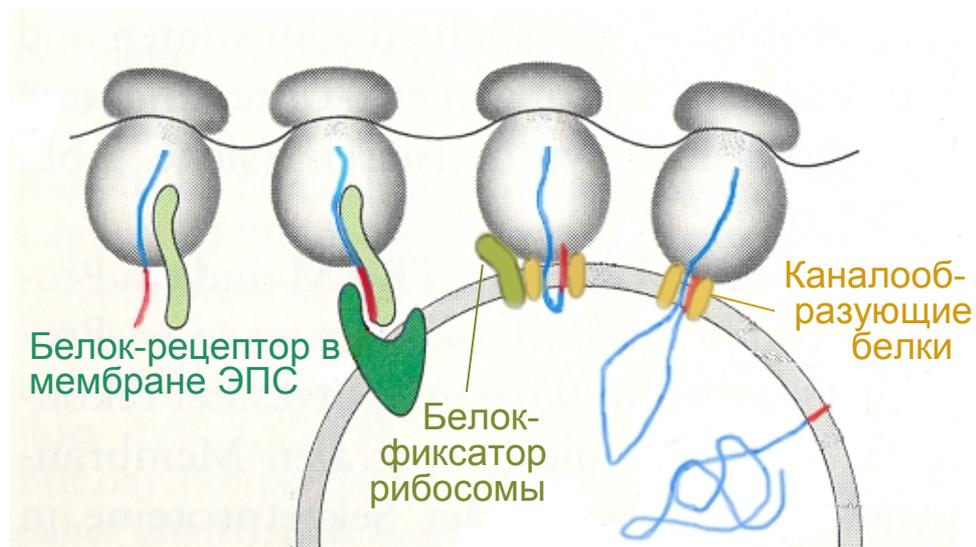
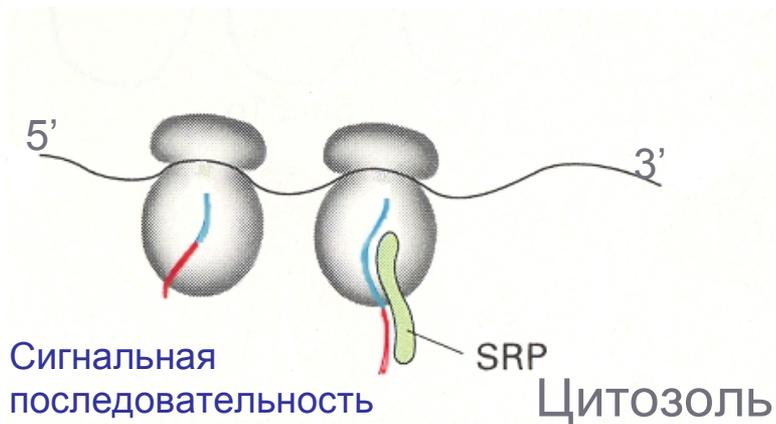
Остановка
трансляции

Узнавание
рецептора
в мембране
ЭПС

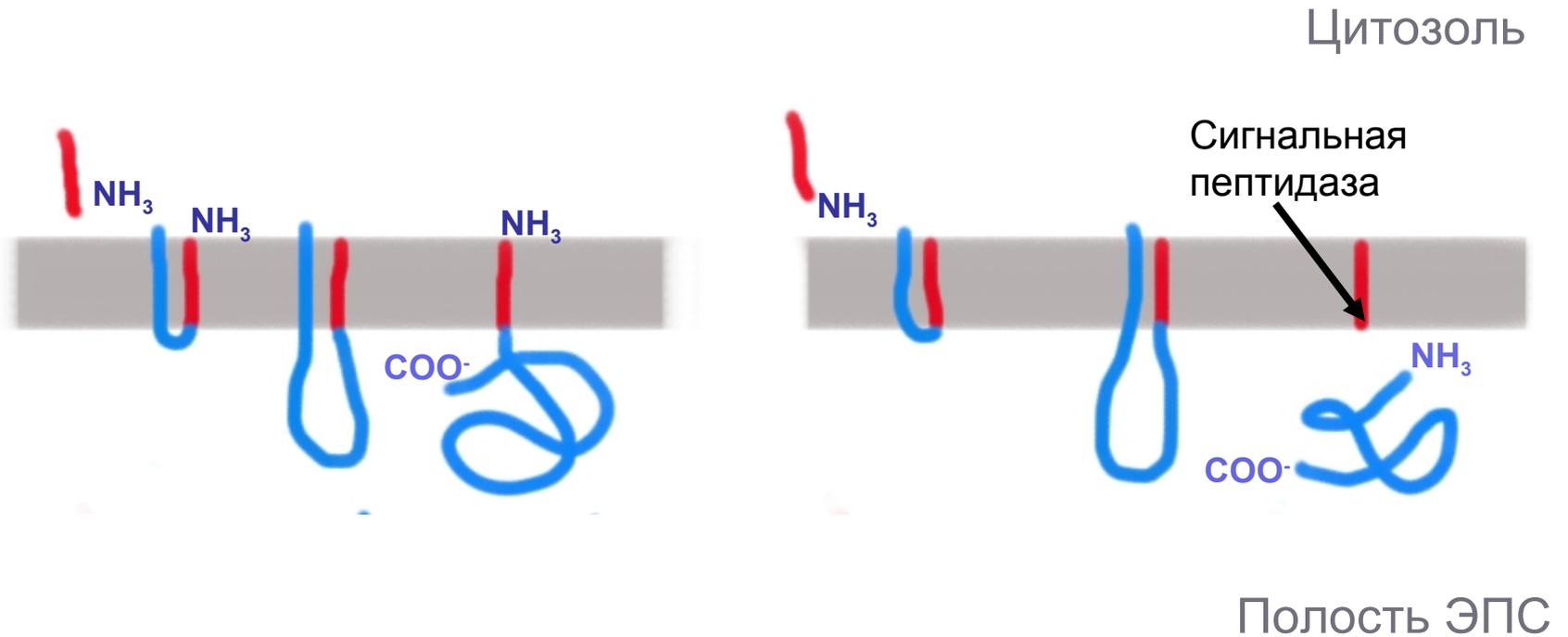
SRP соединяется с сигнальной последовательностью и при этом останавливает трансляцию.

При встрече с рецептором на мембране ЭПС рибосома фиксируется на мембране, образуется канал.

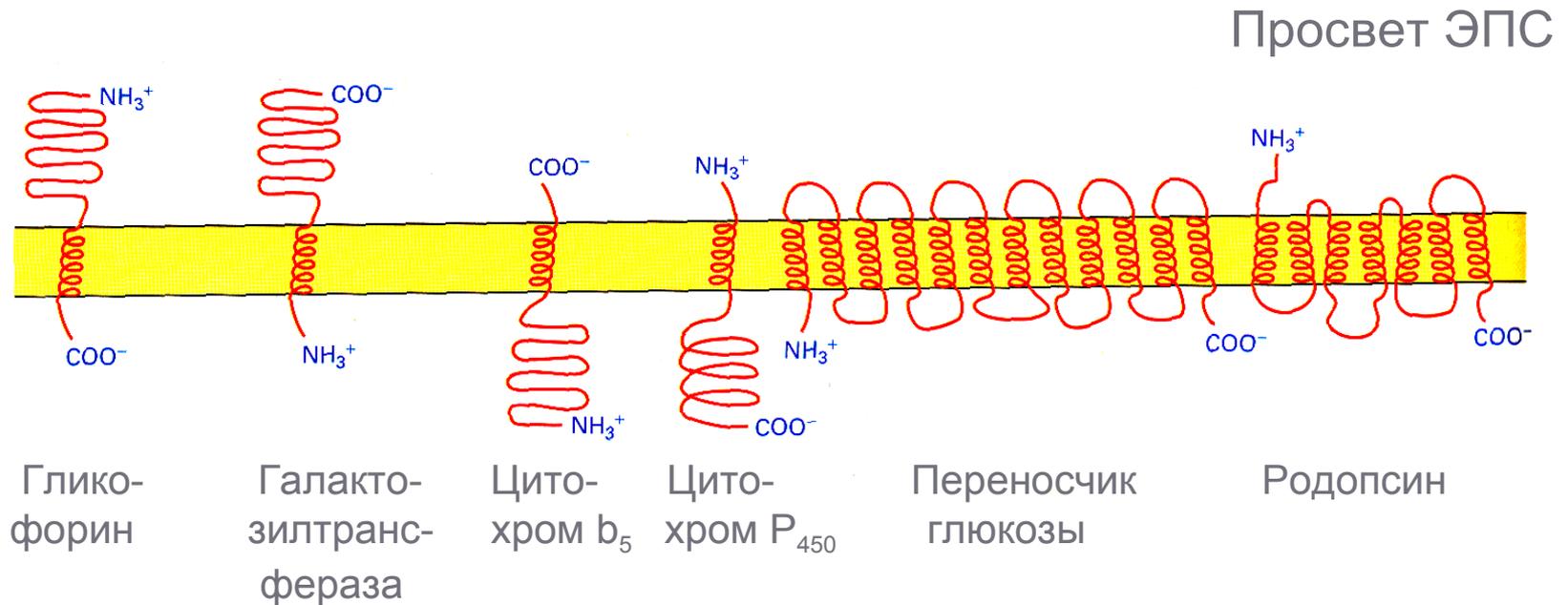
SRP уходит и трансляция продолжается в просвет ЭПС



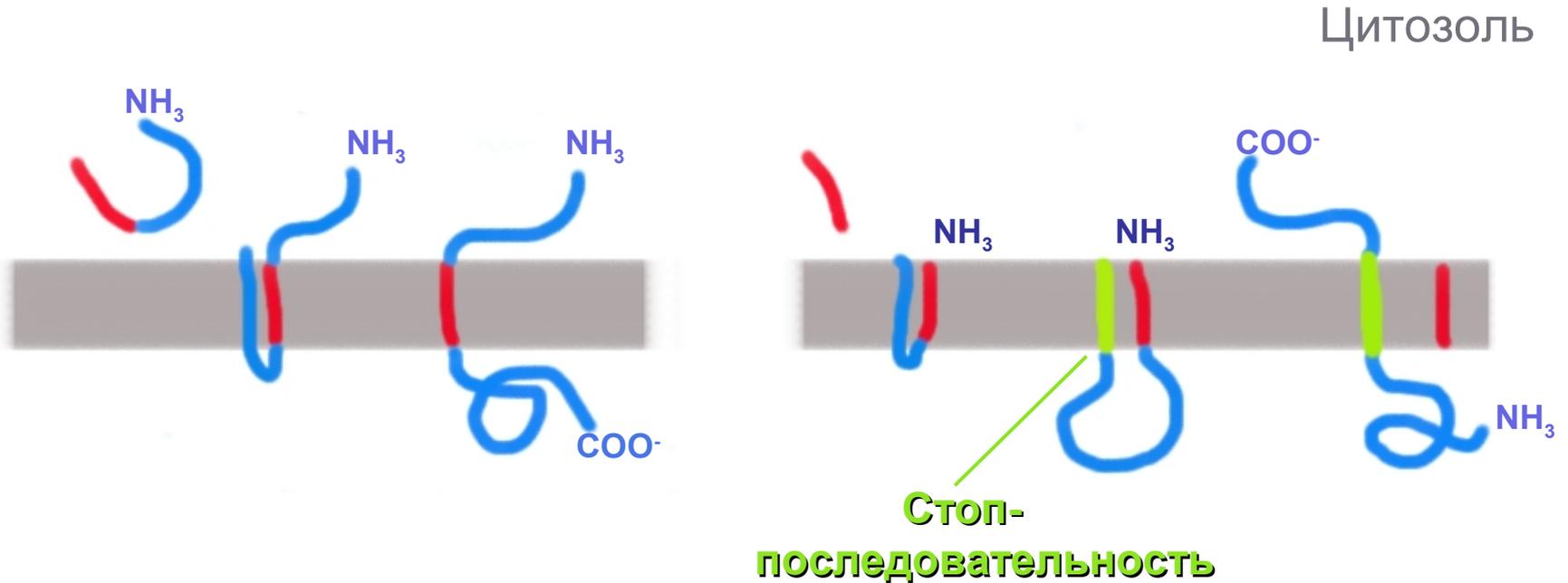
Синтезированный полипептид может сохранить связь с мембраной, а может оказаться свободным в полости ЭПС



Интегральные белки в мембране могут быть по-разному ориентированы и пересекать липидный бислой один или несколько раз

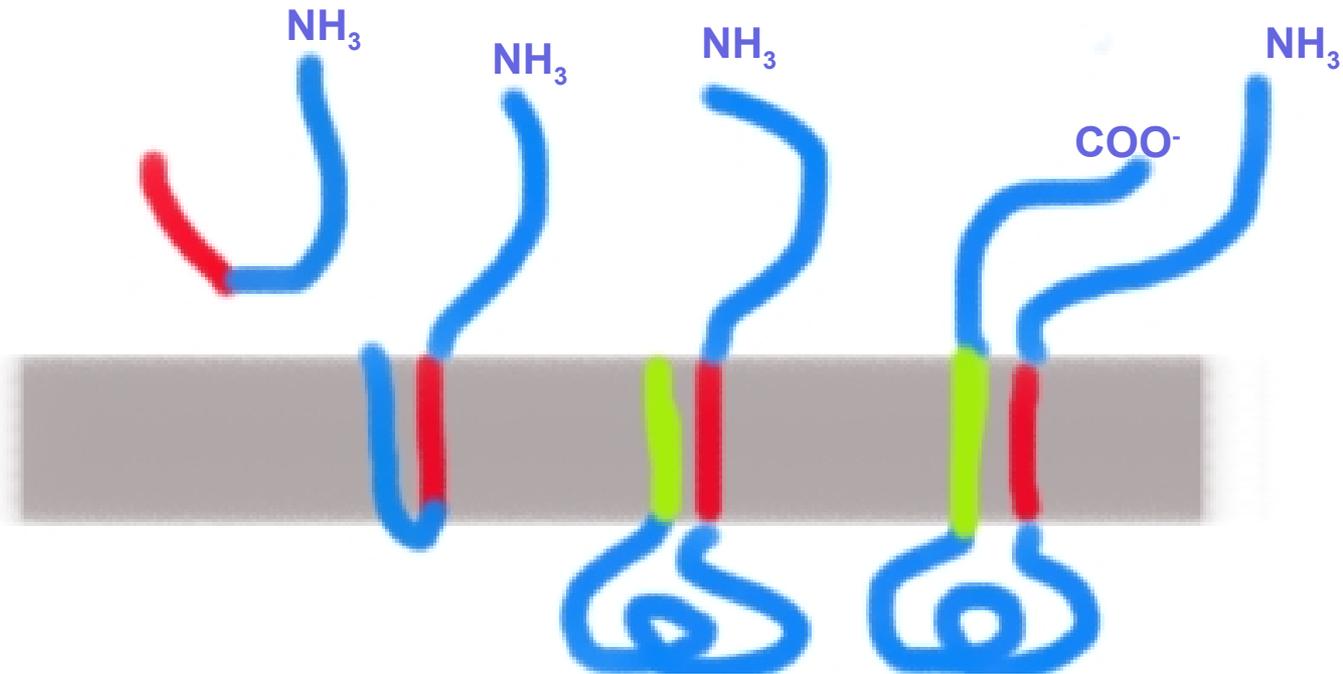


Сигнальная последовательность не всегда находится на N-конце полипептида

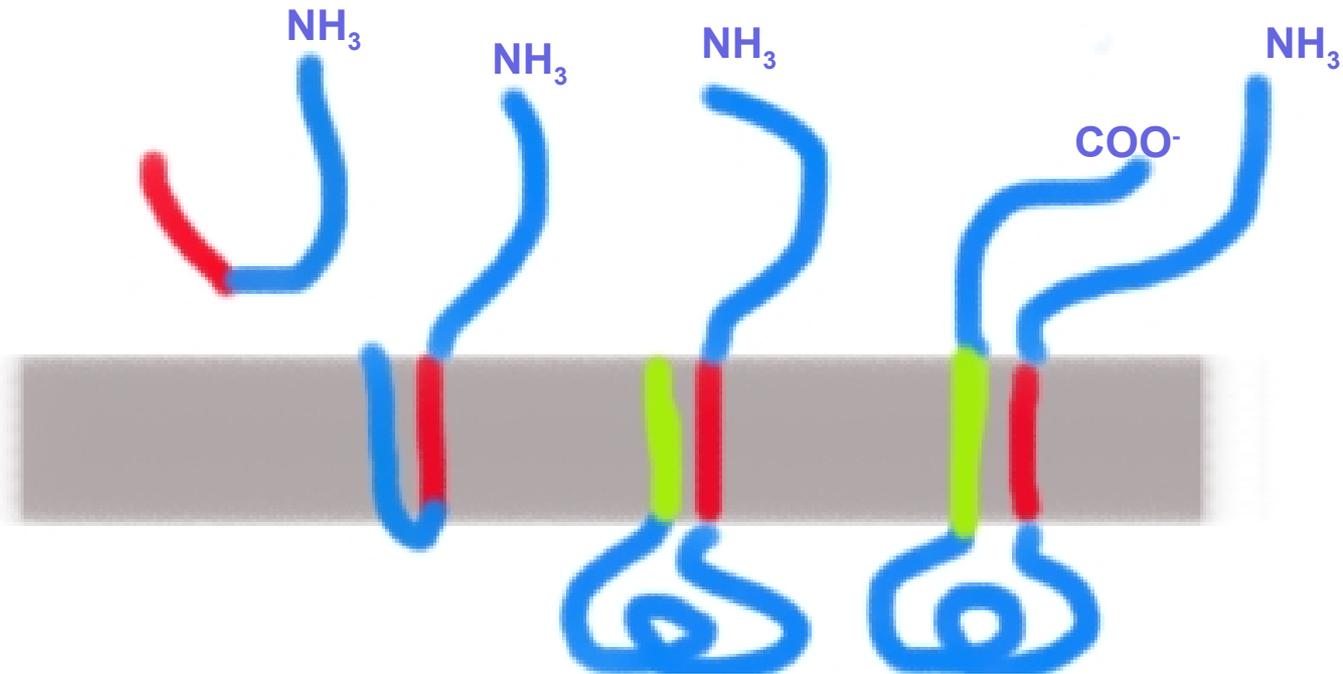


Кроме **сигнальной** существует **стоп-последовательность**, которая застревает в мембране и заставляет рибосому отсоединиться от мембраны и продолжить трансляцию в цитозоле

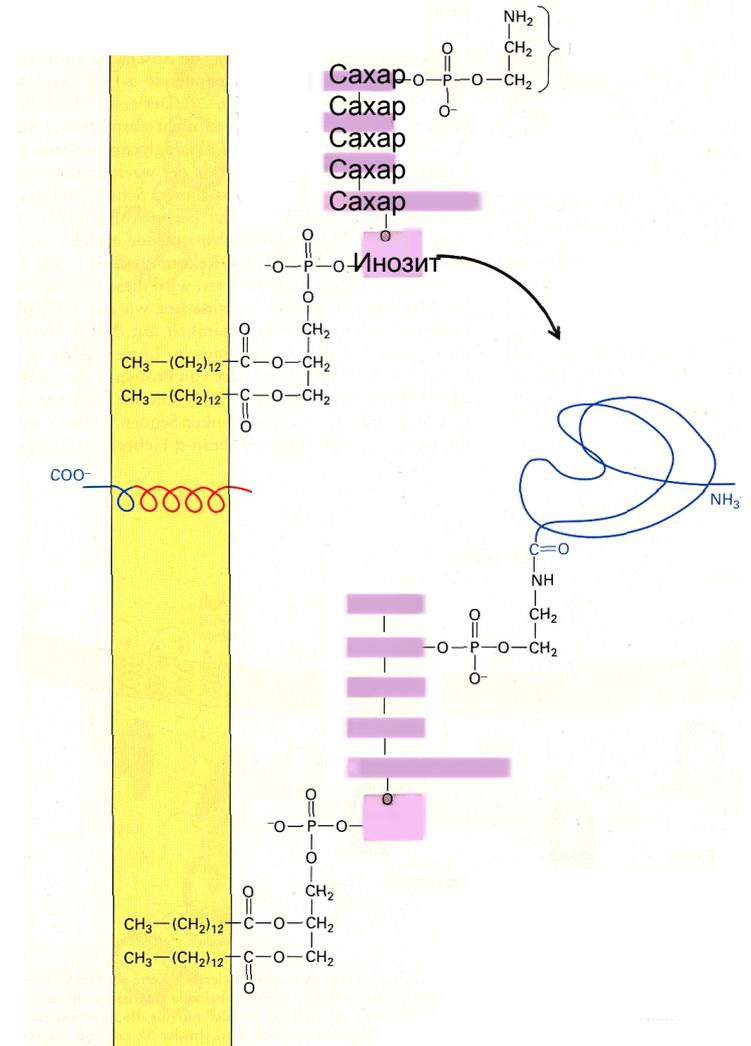
Сигнальная последовательность «приводит»
рибосому на мембрану ЭПС, **стоп-последовательность**
«заставляет» ее вернуться в цитозоль



Сигнальная последовательность «приводит» рибосому на мембрану ЭПС, стоп-последовательность «заставляет» ее вернуться в цитозоль

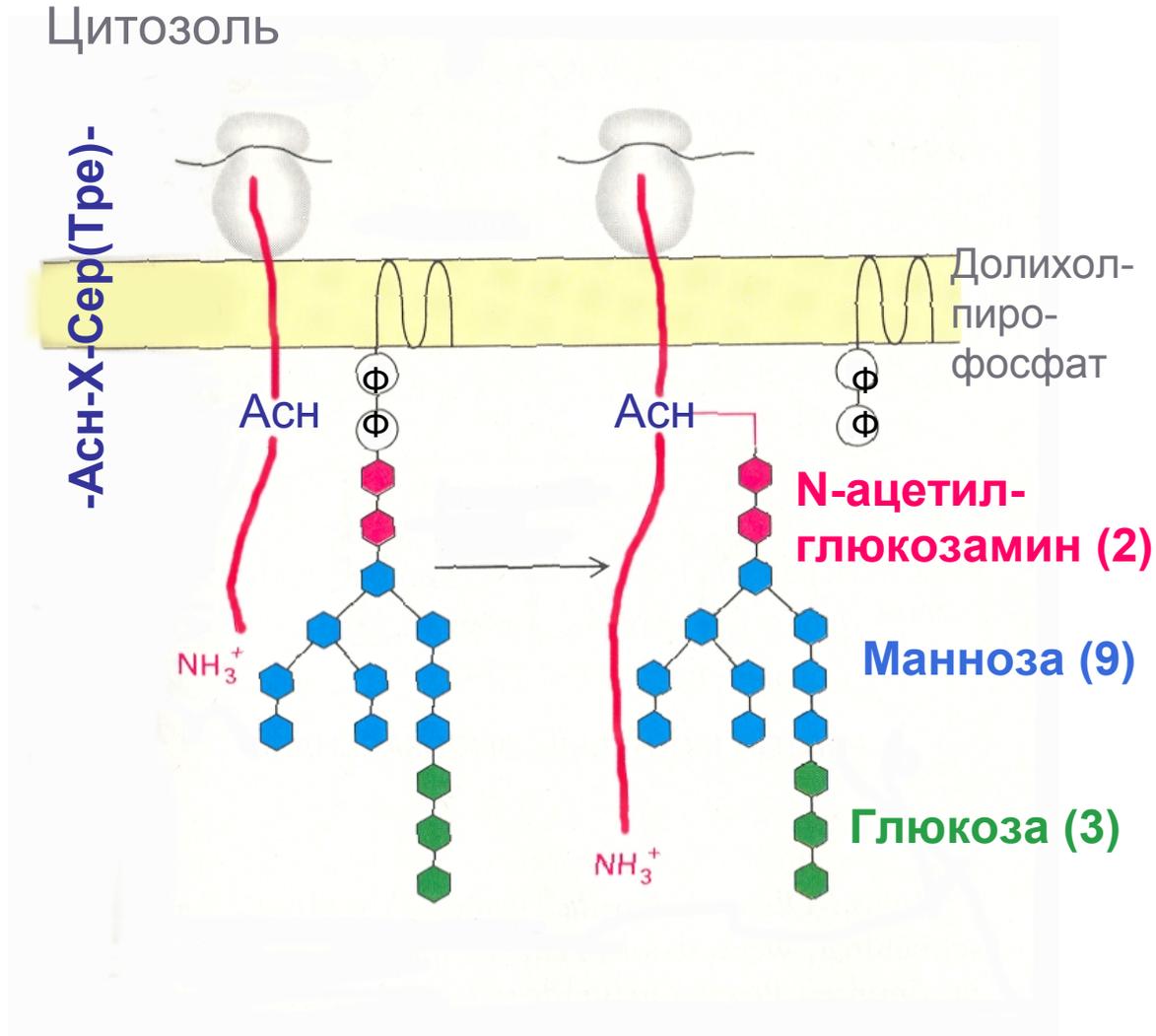


*Полипептид может быть
заякорен в мембране ЭПС
с помощью гликолипида*

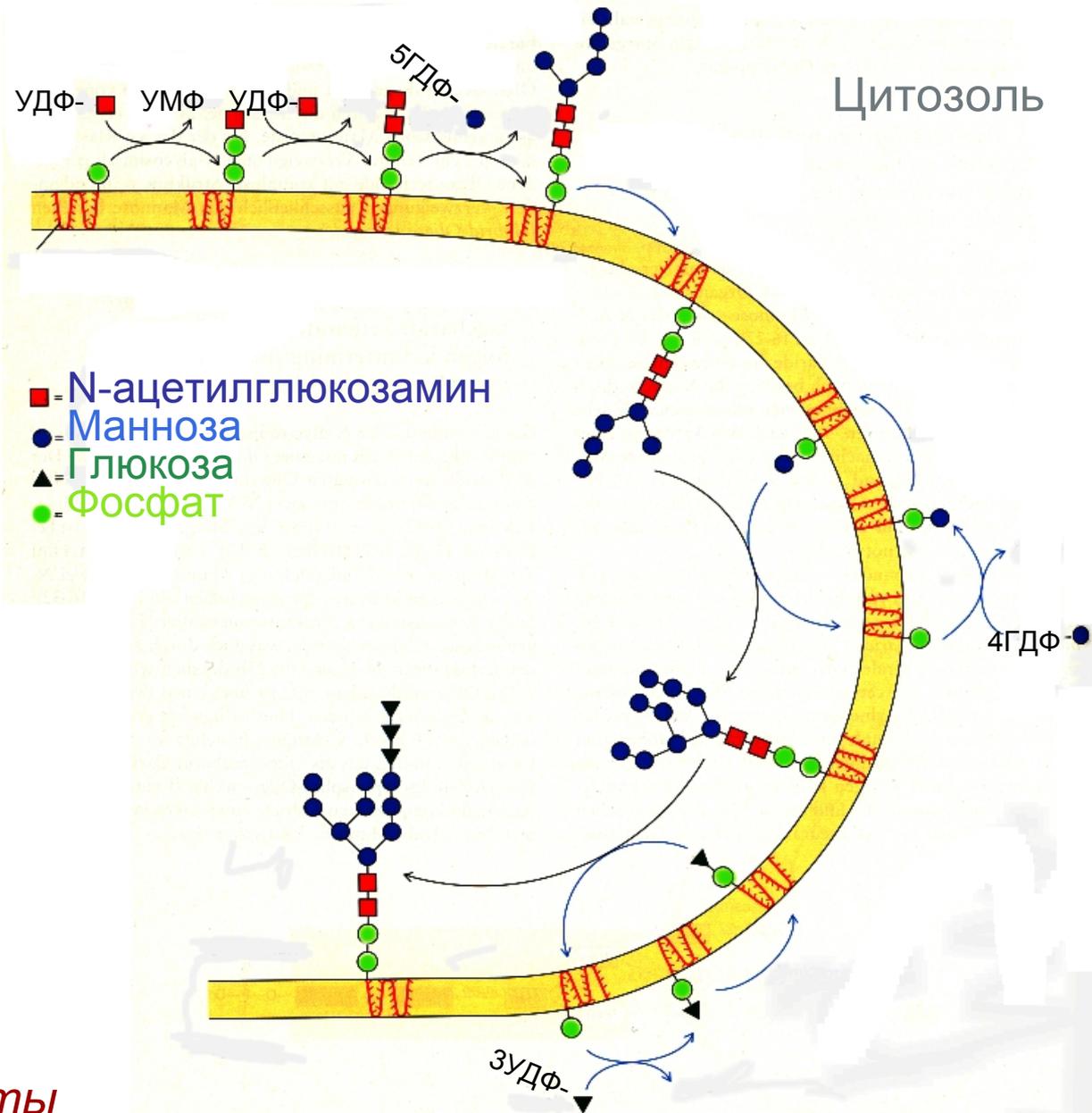


ЦИТОЗОЛЬ

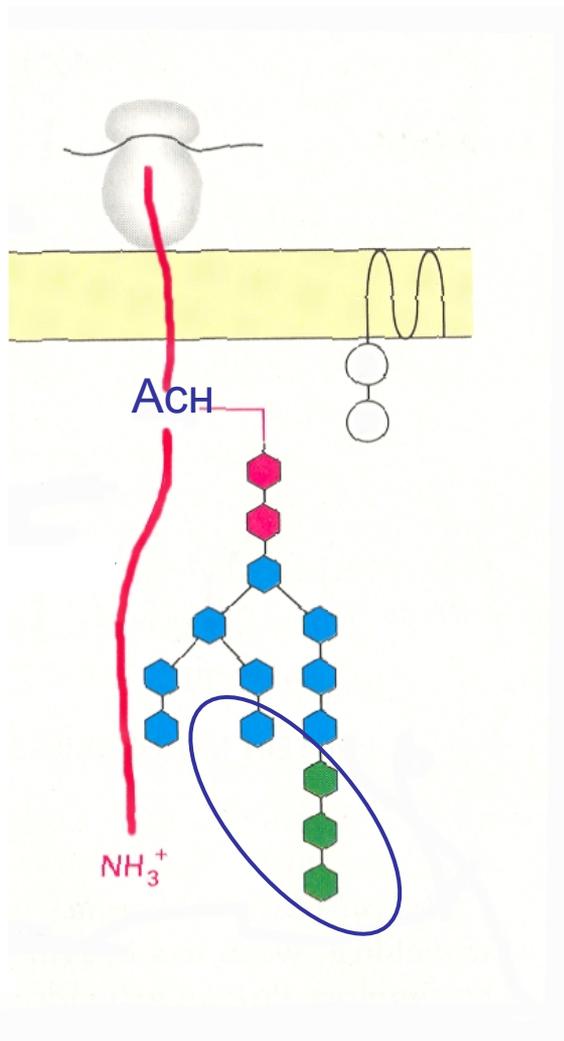
N-гликозилирование в полости ЭПС



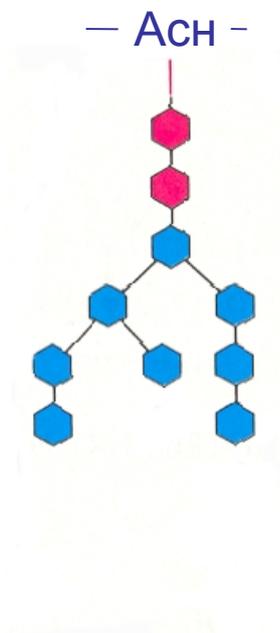
Олигосахарид-протеин-трансфераза перебрасывает олигосахарид с долихолпирофосфата на аспарагин.



*Долихолфосфат
 умеет переносить
 моно- и олиго-
 сахара через
 мембрану.
 Переносчиками
 сахаров в цитозоле
 являются
 нуклеотиддифосфаты*



*Частичное
дегликозилирование
в ЭПС*



Процессы преобразования белков

в цитозоле

в ЭПС

Котрансляционные процессы:

Транспорт через мембрану ЭПС

N-гликозилирование по аспарагину

Отрезание (или нет) сигнальной
последовательности

Посттрансляционные процессы

Сворачивание с помощью шаперонов и шаперонинов

BiP=hsp70

Модификации

Присоединение жирных кислот

Обратимое присоединение
фосфатной, метильной и
ацильной групп

Необратимое присоединение
липоевой кислоты, пиридоксаль-
фосфата, биотина;

O-гликозилирование по серину

Ацетилирование N-концов

Метилирование NH-группы лизина

Частичное дегликозилирование

Присоединение гликозил-
фосфатидинозитола

Гидроксилирование лизина и
пролина