

Posttranslationale Modifikation

Posttranslationale Modifikationen

Amino-terminale und carboxy-terminale Modifikationen

Ursprünglich beginnen alle Polypeptide mit einem N-Formylmethionin- (bei Prokaryonten) oder Methionin-Rest (bei Eukaryonten). Diese und häufig noch weitere amino-terminale und carboxy-terminale Reste können jedoch enzymatisch entfernt werden und sind in den endgültigen funktionellen Proteinen nicht immer vorhanden.

Verlust der Signalsequenzen

Modifikation einzelner Aminosäuren

- Die Hydroxygruppe bestimmter Ser-, Thr- und Tyr-Reste einiger Proteine werden enzymatisch mittels ATP als Phosphatdonor phosphoryliert, wodurch die Polypeptide negative Ladungen erhalten.
- An die Asp- und Glu-Reste einiger Proteine können zusätzliche Carboxygruppen angefügt werden.
- In einigen Proteinen werden bestimmte Lys-Reste enzymatisch methyliert.

Glykosylierungen

Bei einigen Glykoproteinen wird während oder nach der Synthese der Polypeptidkette enzymatisch eine Kohlenhydrat-Seitenkette an Asn-Reste, bei anderen an Ser- oder Thr-Reste addiert. Viele extrazellulär lokalisierte Proteine sowie die Schleimhäute auskleidenden Proteoglykane erhalten so ihre Oligosaccharid-Seitenketten.

Proteolytische Prozessierung

Viele Proteine, darunter das Insulin sowie die Proteasen Trypsin und Chymotrypsin, werden zunächst als größere inaktive Vorstufen hergestellt, die dann proteolytisch zu ihrer endgültigen, aktiven Form gespalten werden.

Addition prosthetischer Gruppen

Viele prokaryontische und eukaryontische Proteine benötigen kovalent gebundene prosthetische Gruppen für ihre Funktion. Diese Gruppen werden an die Polypeptidkette angefügt, nachdem diese das Ribosom verlassen hat. Ein Beispiel hierfür ist die kovalent gebundene Hämgruppe des Cytochroms c.

Funktion des Signalpeptids

Signalpeptid

Transport ins ER

H3N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Phe-Trp-
Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-

Zurückhalten im ER-Lumen

-Lys-Asp-Glu-Leu-COO

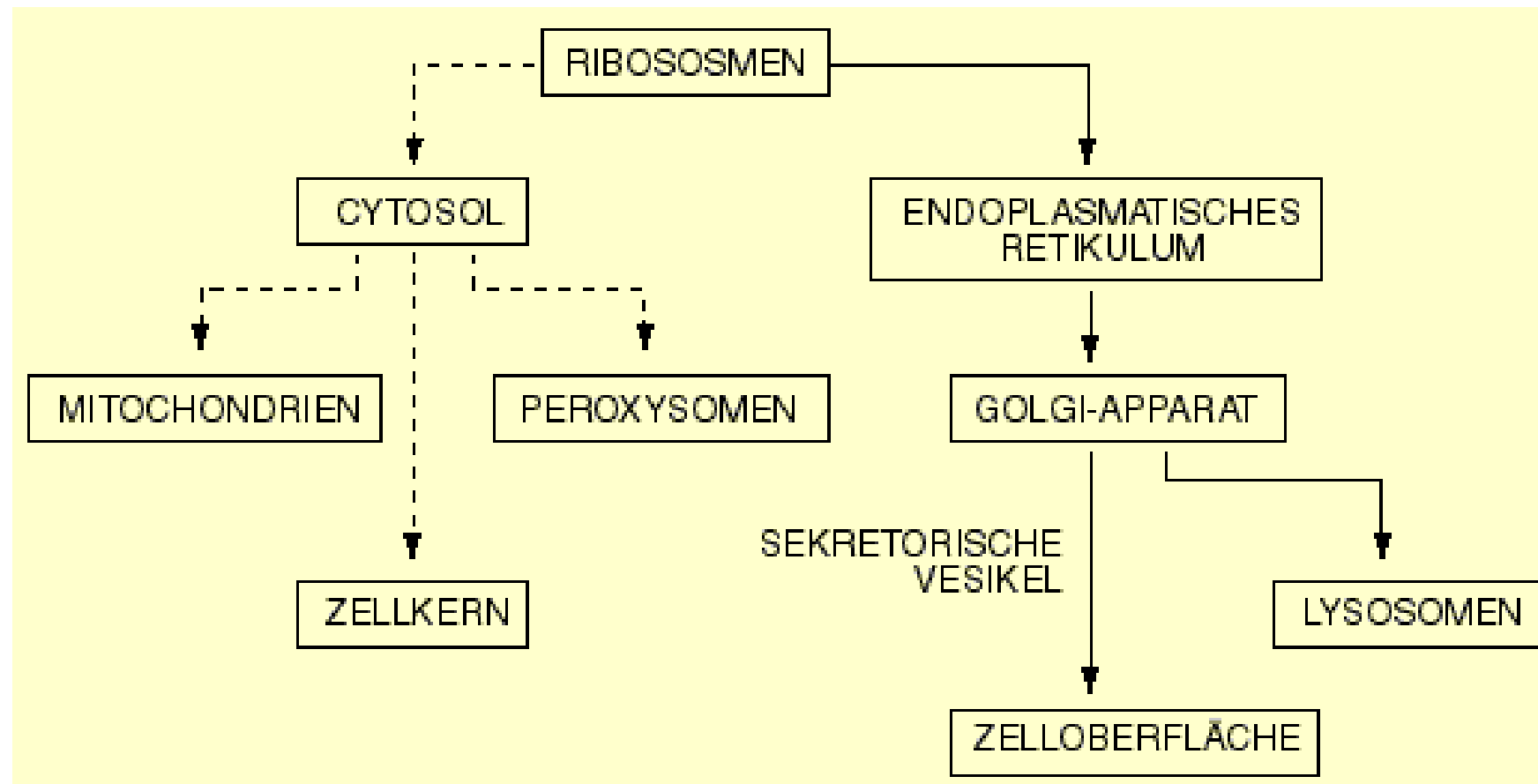
Transport in die Mitochondrien

H3N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-
Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-

Transport in den Zellkern

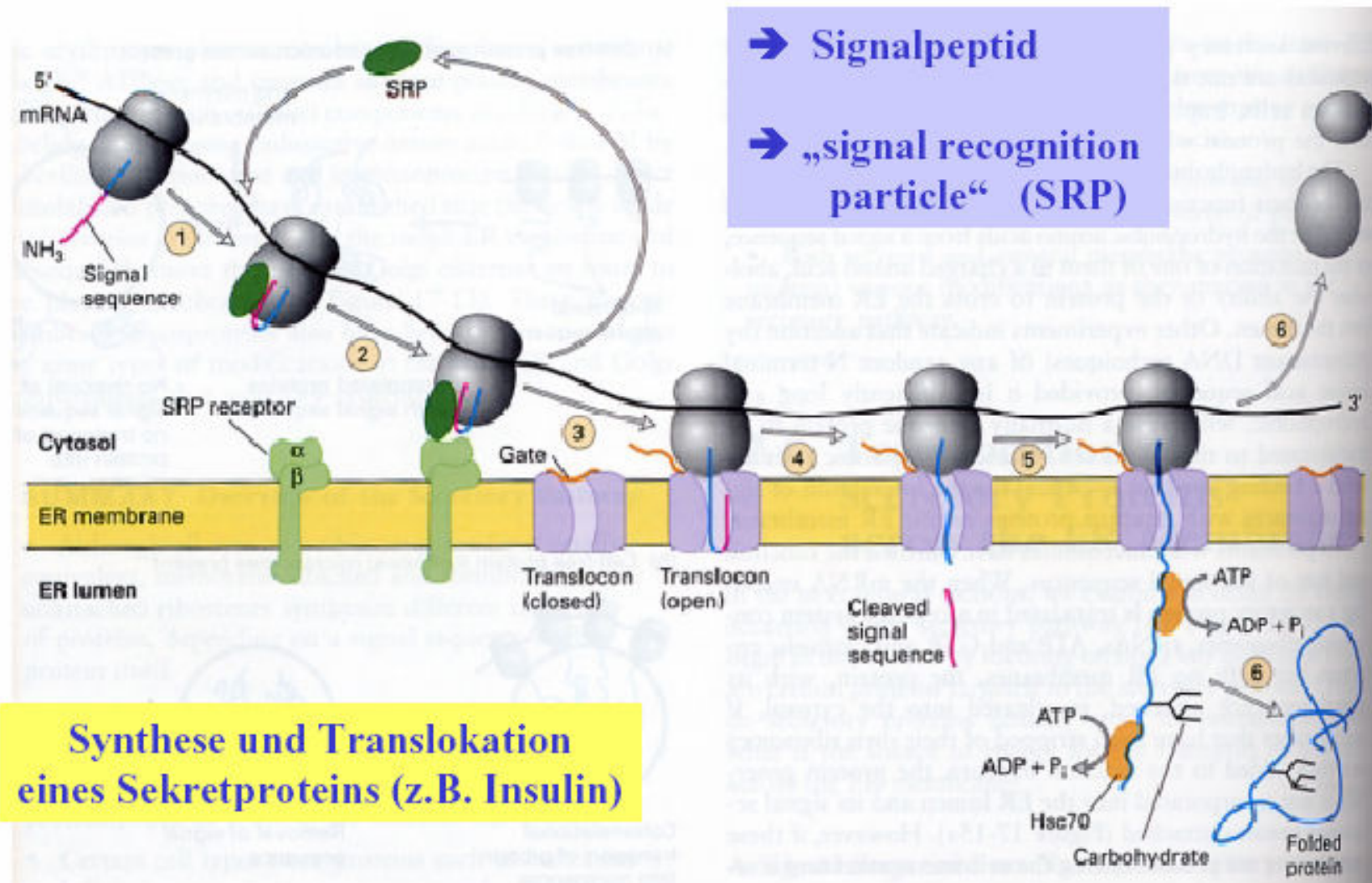
-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-

Protein-Targeting

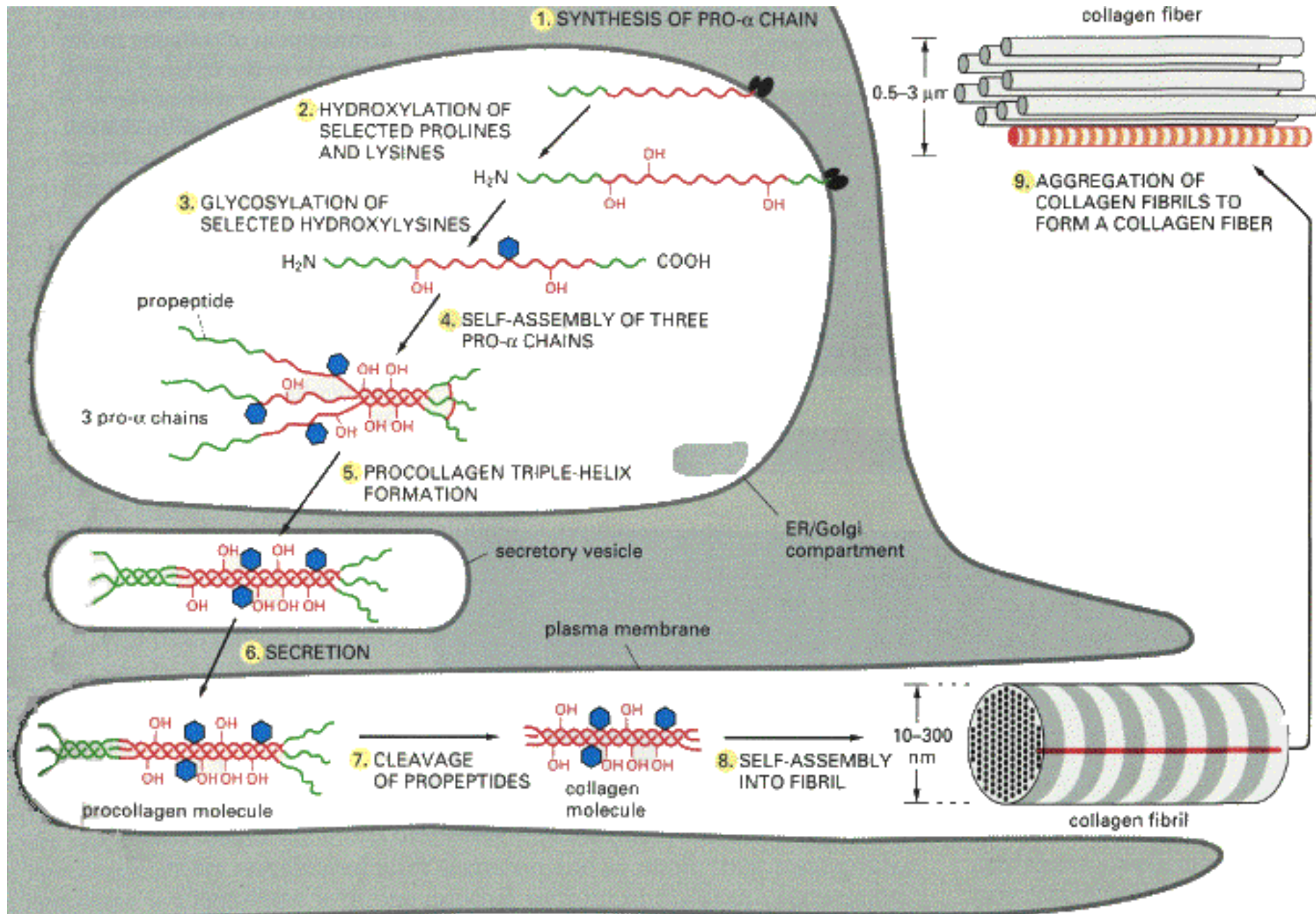


Funktionen des RER

- **Einschleusung von Proteinen für ER, Golgi-Apparat, Lysosomen, Endosomen, Plasmamembran, Sekretproteine!**

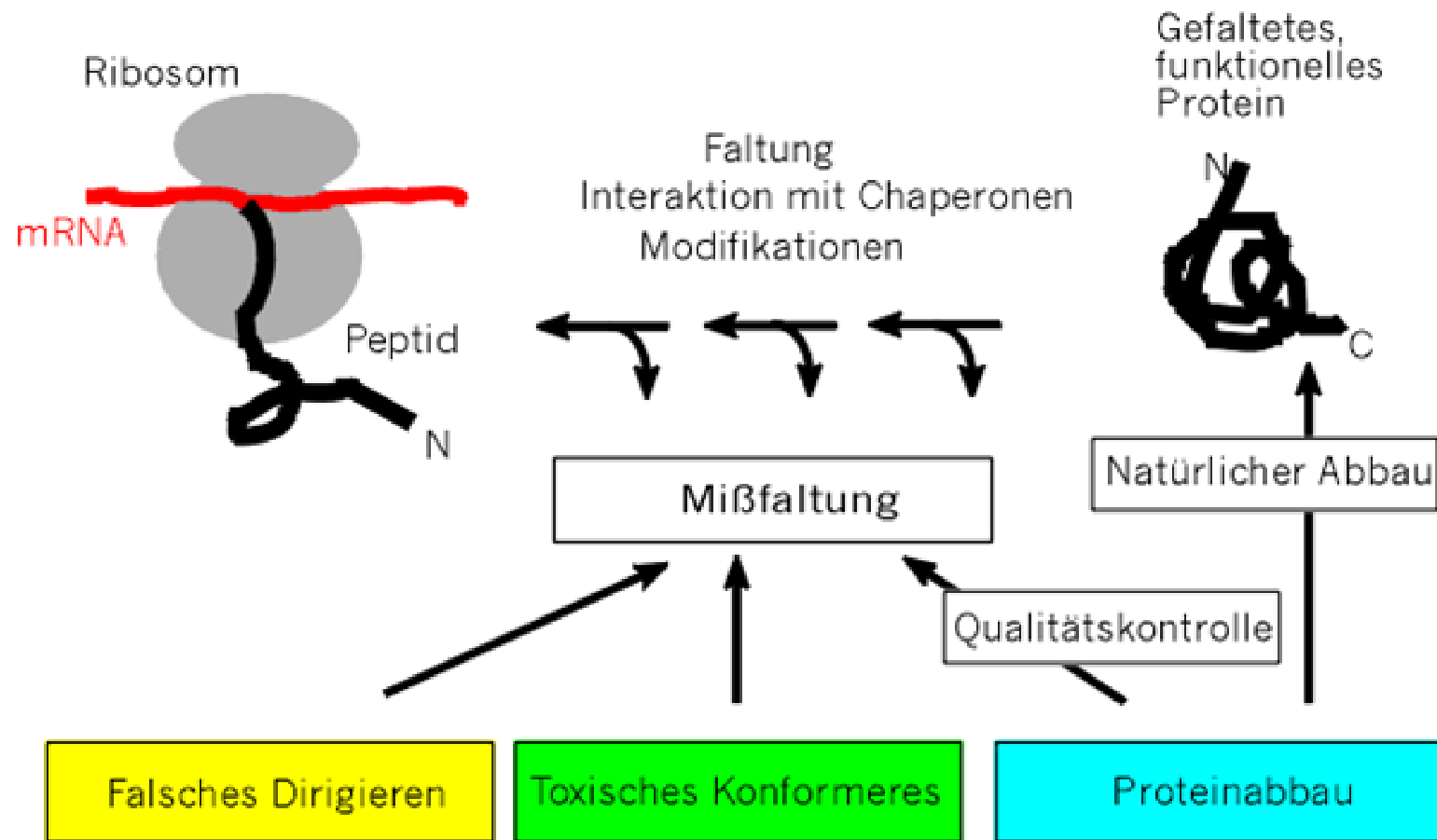


Kollagensynthese

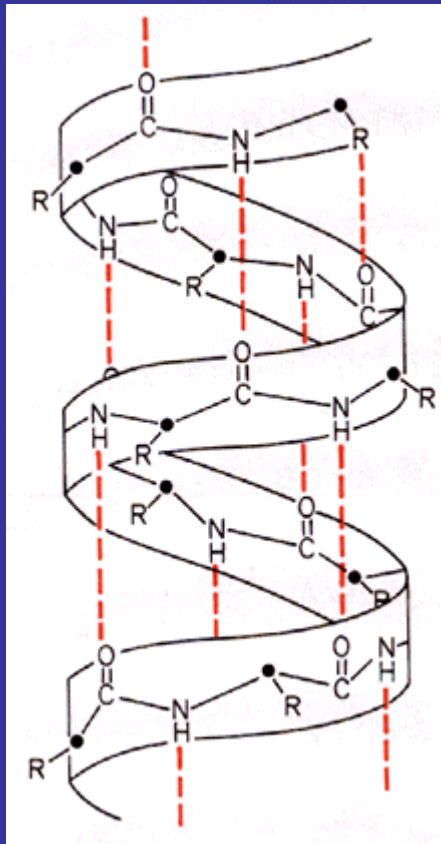


Proteinfaltung

PROTEINFALTUNG

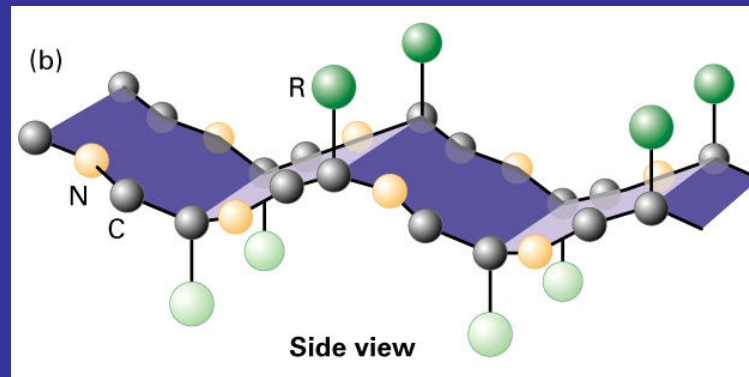
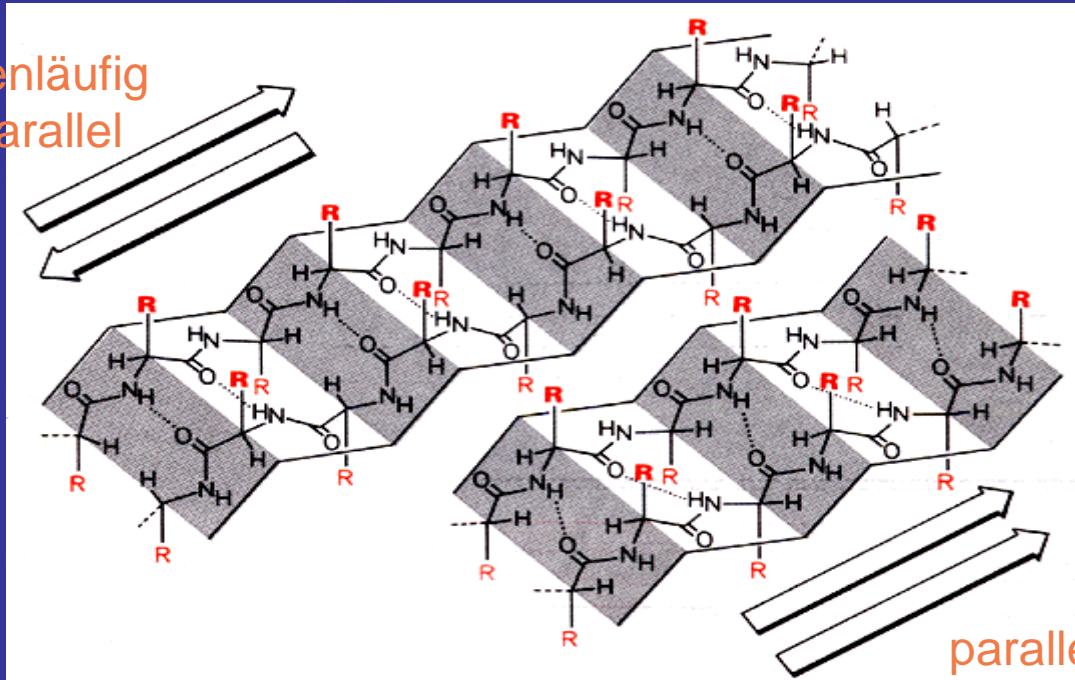


Die **Sekundärstruktur** ergibt sich aus regelmäßigen Wasserstoffbrücken-Wechselwirkungen zwischen den Peptidbindungen selbst



α -Helix

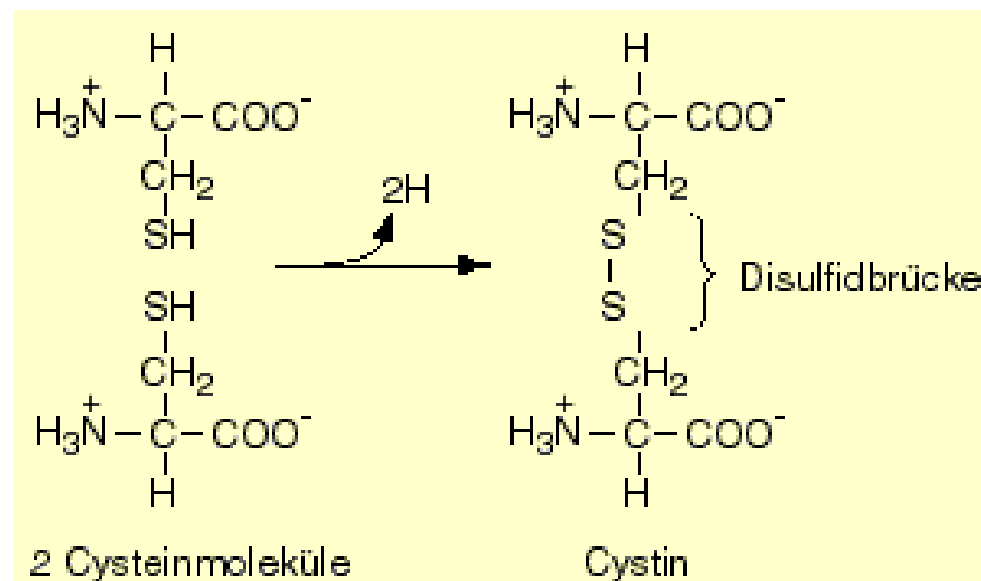
Gegenläufig
antiparallel



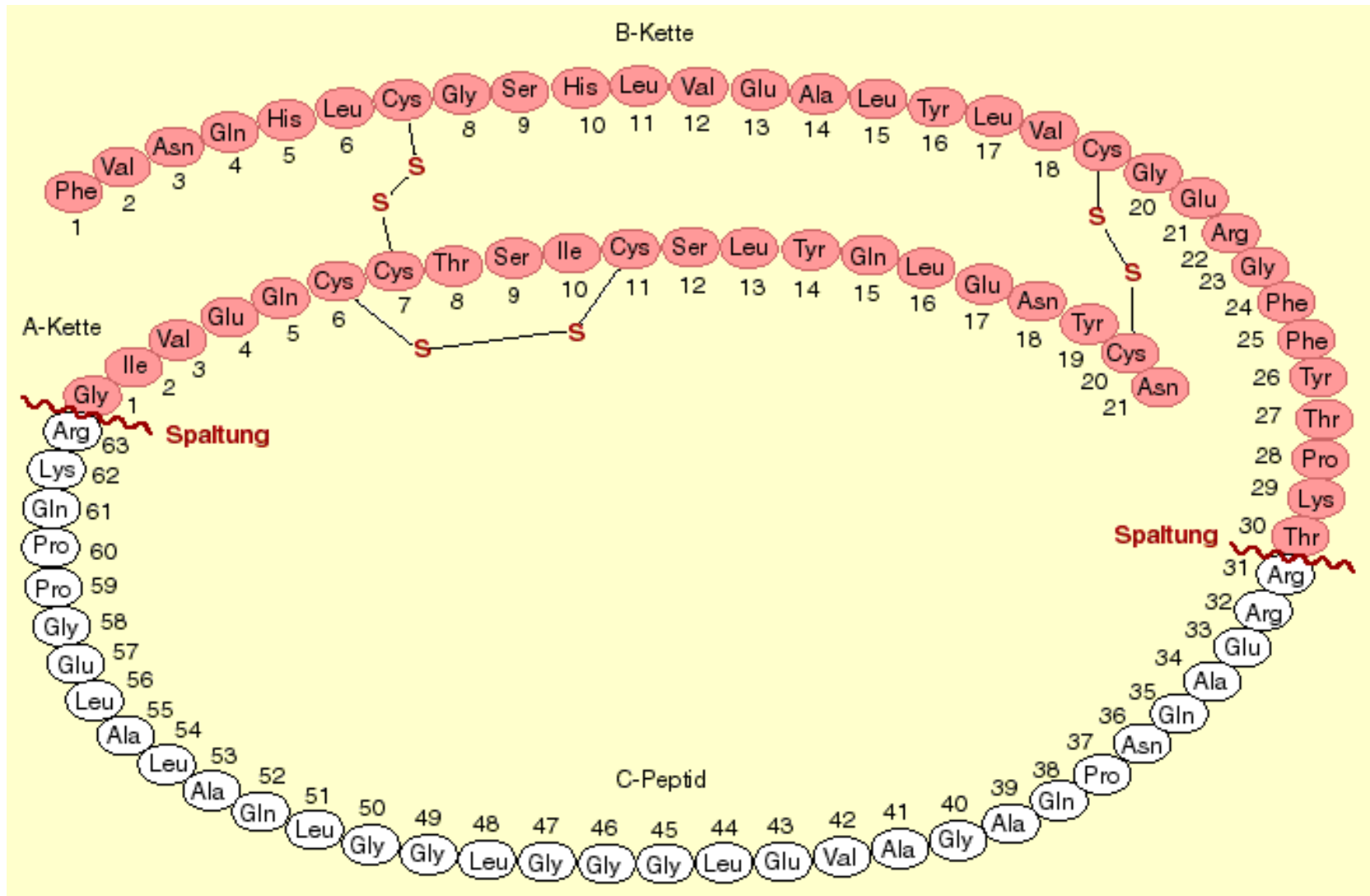
β -Faltblattstruktur

Die **Tertiärstruktur** ist die dreidimensionale Konformation eines Proteins:

- **Wasserstoffbrückenbindungen**
- **Ionenbindungen** zwischen positiv und negativ geladenen Gruppen der Seitenketten,
- **hydrophobe Bindungen** im Inneren der Proteine
- **Disulfidbrücken**, die durch Dehydrierung (Oxidation) von zwei SH-Gruppen zweier Cystein-Reste entstehen:



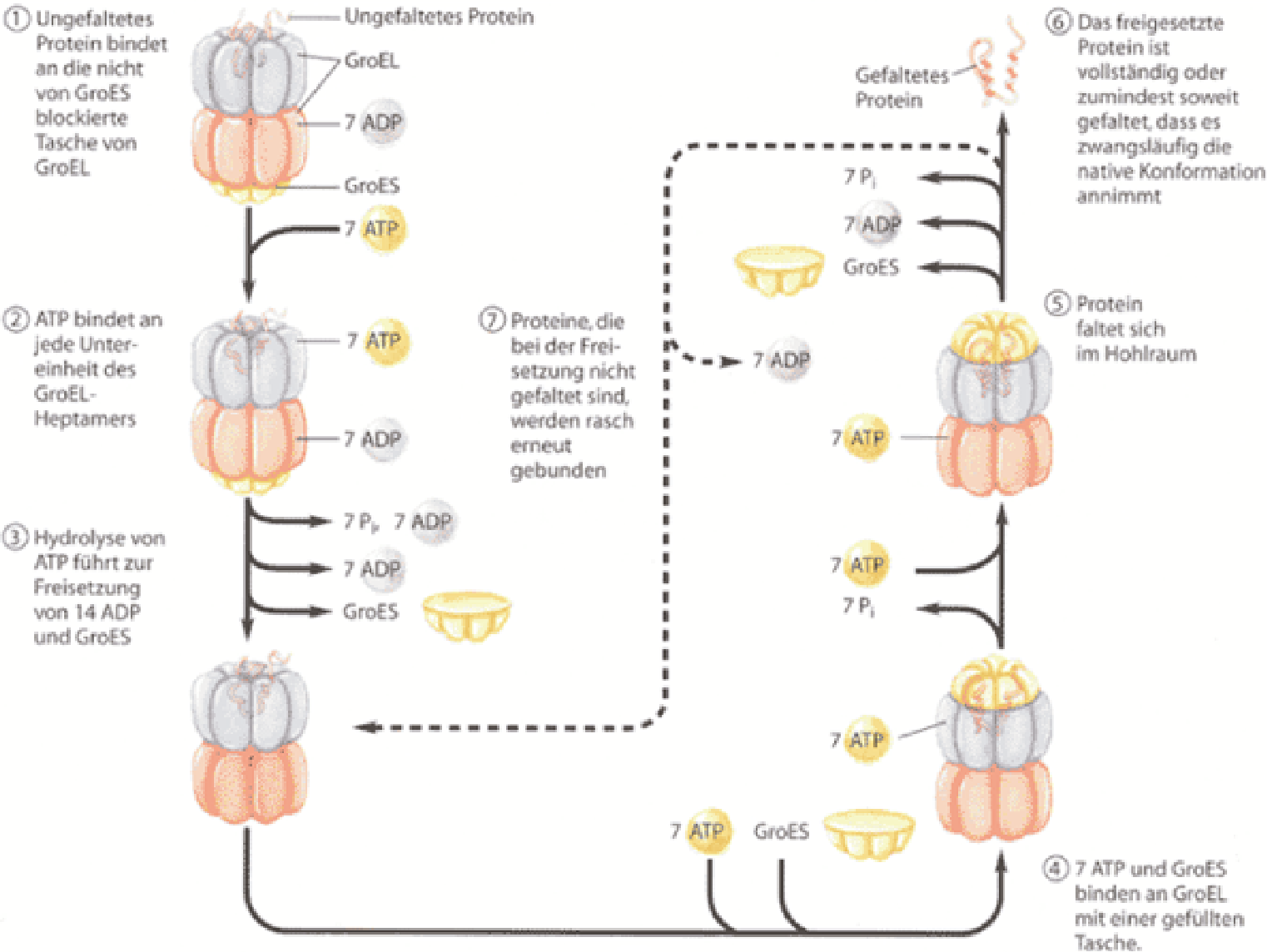
Pro-Insulin



Von **Quartärstruktur** sprechen wir bei Proteinen, welche aus zwei oder mehr Untereinheiten bestehen

Protein	Molekulargewicht [Dalton]	Anzahl Untereinheiten
β-Lactoglobulin	35'000	2
Hämoglobin	64'500	4
Hexokinase	96'000	4
Lactat-Dehydrogenase	150'000	4
Apoferritin	480'000	20
Urease	483'000	6
Myosin	620'000	3

Modell des Faltungsmechanismus im GroEL/GroES-Komplex



Proteinabbau

Proteolyse

- Lysosomen
- 50-70% des zellulären Proteinabbaus
- Abbau anderer Polymere
- Autophagie
- Abbau findet in Vesikeln statt
- Saures Milieu (pH 4-5)
- Proteasomen
- Abbau im Cytoplasma
- Ausschließlich Proteinabbau
- Neutrales Milieu
- Ubiquitin

UBIQUITIN ALS SIGNAL FÜR SPEZIFISCHEN PROTEINABBAU

Instabile Proteine enthalten häufig eine kurzes Aminosäuremotiv, die das Protein für den Abbau kennzeichnet (PEST-Sequenz, Destruction-Box, KEN-Box).

Proteine, die für den Abbau durch das Proteasom bestimmt sind, werden vorher markiert.

Die Markierung erfolgt durch Anhängen (kovalente Modifizierung) von Ubiquitinmolekülen

Ubiquitin ist ein 76 Aminosäuren umfassendes Polypeptid

Das Proteasom erkennt polyubiquitinierte Proteine und baut sie ab.

Figure 8-43 The ubiquitin cycle involves three activities. E1 is linked to ubiquitin, E3 binds to the substrate protein. E2 transfers ubiquitin from E1 to the substrate. Further cycles generate polyubiquitin.

Ubiquitin is a 76 residue polypeptide



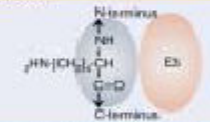
C-terminal Gly is linked by a thioester bond to Cys on E1



Ubiquitin is transferred to E2



E3 binds to substrate protein



E2 transfers ubiquitin to -NH₂ of Lys in substrate protein



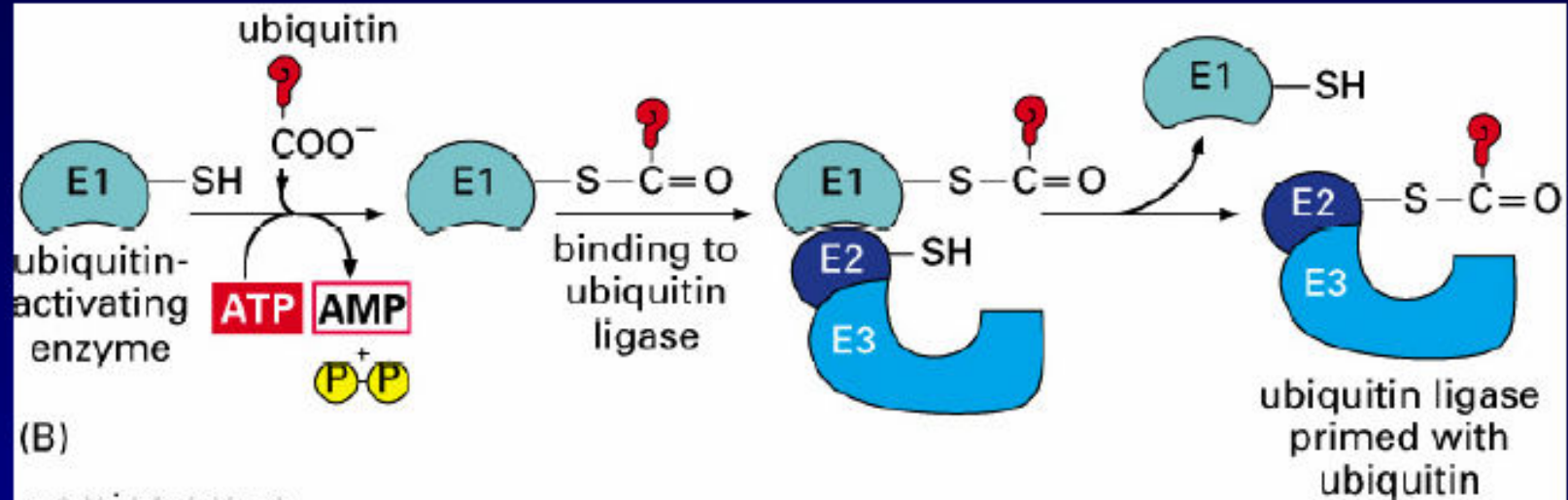
Polyubiquitin is formed by using Lys 46 of ubiquitin as the target



Substrate is degraded and Ubiquitin is released

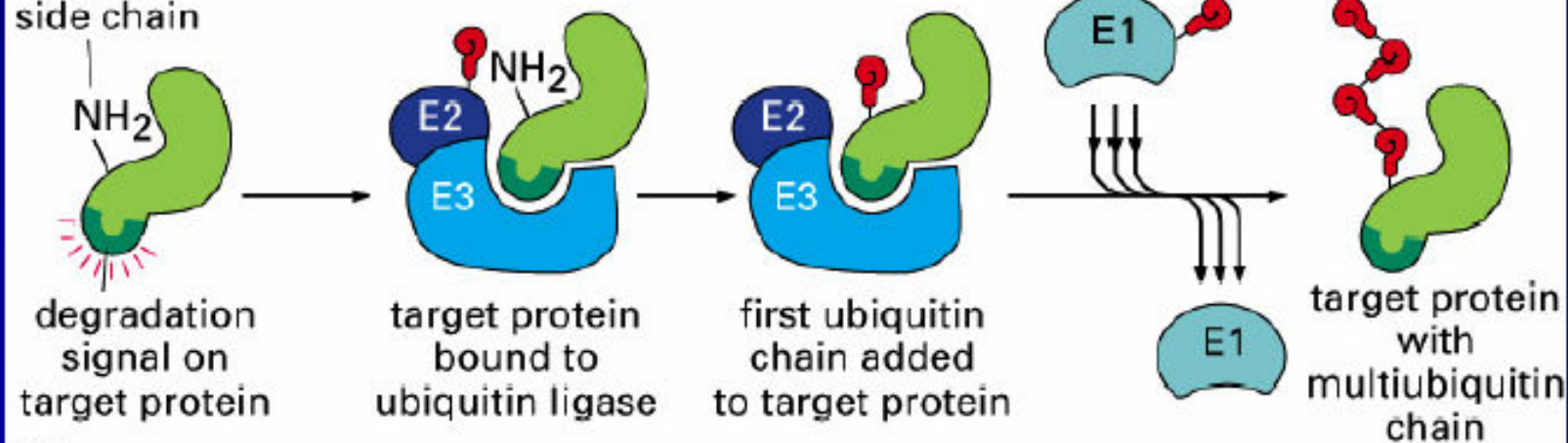


Ubiquitylierung von Proteinen



(B)

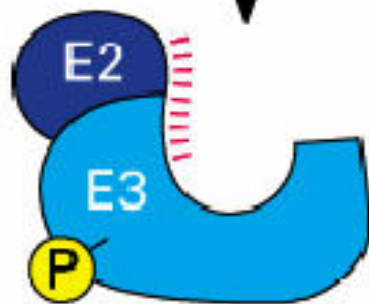
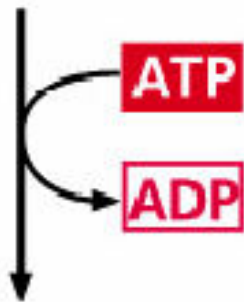
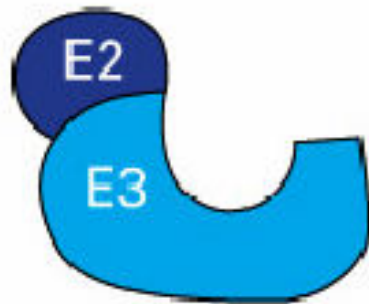
ϵ -amino group
on lysine
side chain



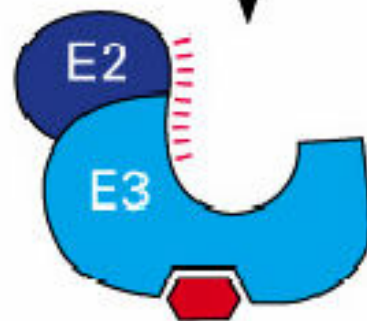
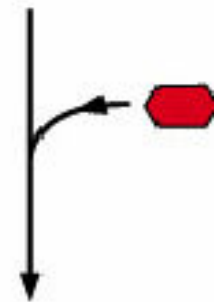
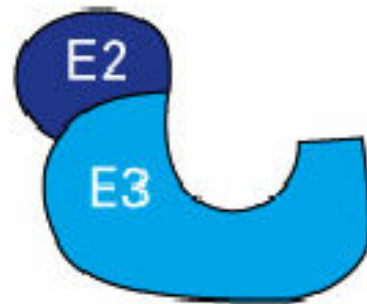
(C)

Aktivierung von Ubiquitin-Ligasen

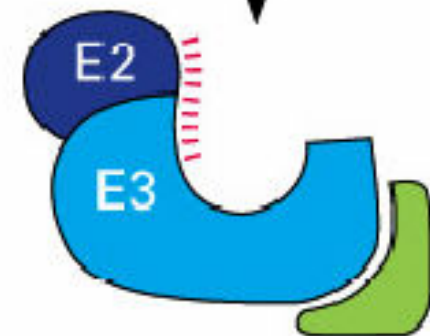
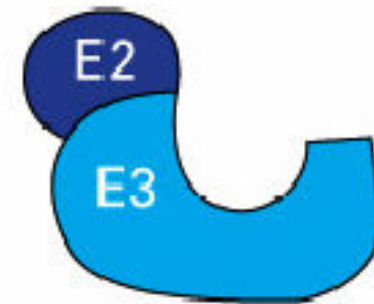
(A) ACTIVATION OF A UBIQUITIN LIGASE



phosphorylation
by protein kinase



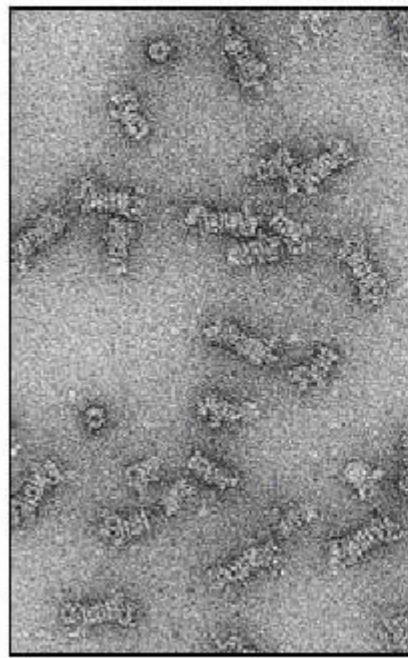
allosteric transition
caused by ligand binding



allosteric transition
caused by protein
subunit addition

DAS PROTEASOM

als Ort des spezifischen Proteinabbaus



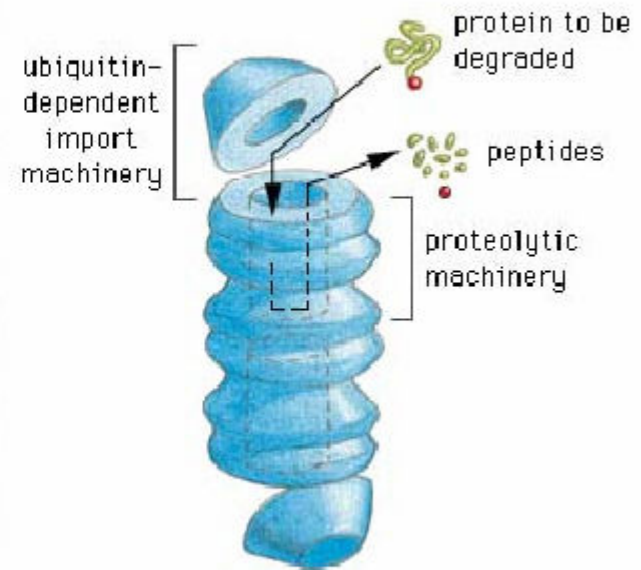
(A)

100 nm

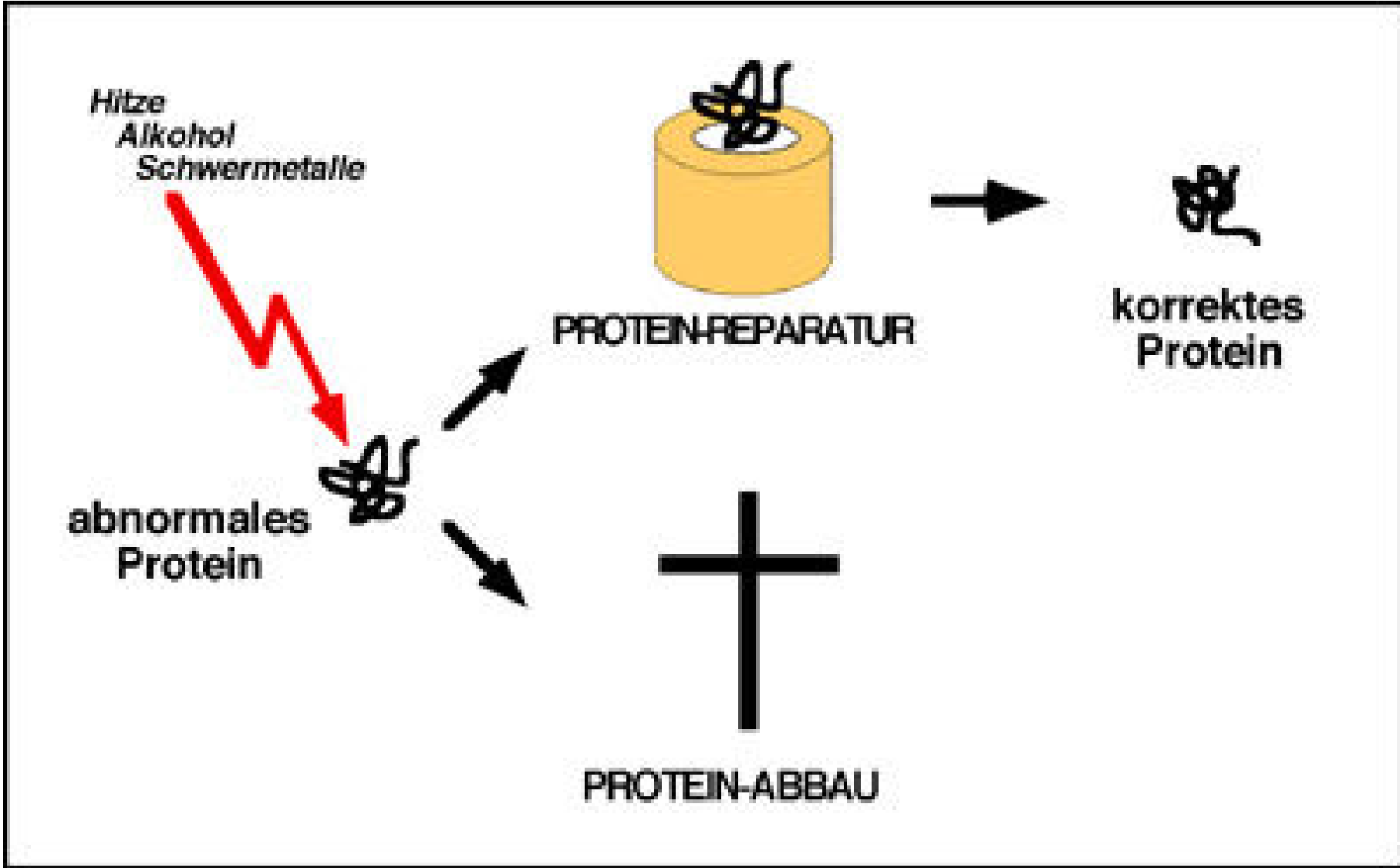


(B)

10 nm



(C)



PROTEIN ABBAU



"MÜLLABFUHR"

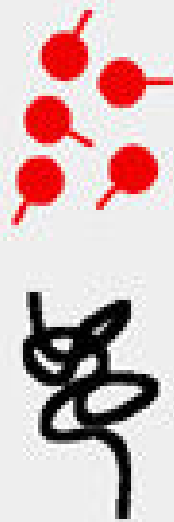
- **falsch gefaltete Proteine**
(Hitze, Alkohol, Schwermetalle)
- **fehlerhaft exprimierte Proteine**
(Alzheimer, Altern)
- **Mutanten-Proteine**
(Erbkrankheiten)

REGULATION

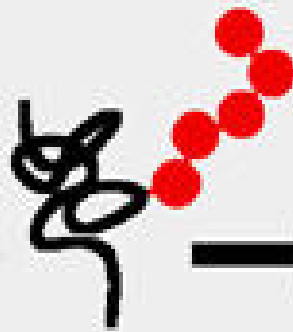
- **Signalüberträger-Proteine**
(Wachstum, Krebs, Zelltod)
- **Zellzyklus-Regulatoren**
(Zellteilung, Wachstum, Krebs)
- **Expressions-Regulatoren**
(Differenzierung, Entwicklung)

ERKENNUNG UND MARKIERUNG

ABBAU



Enzyme



UBIQUITIN-SYSTEM

PROTEASOM

Function of the 26S Proteasome

- There are three types of enzymes that are involved in ubiquitination
 - E1 is the ubiquitin activator protein.
 - It uses ATP to form a high energy thiolester bond between gly-76 α -carboxy group and cysteine on the E1 protein.
 - E2 is the ubiquitin carrier protein
 - The ubiquitin is transferred from the cysteine on E1 to a cysteine on E2.
 - E3 is the ubiquitin ligase.
 - E3 binds to the target protein, and then forms a ternary complex with the ubiquitinated carrier protein (E2-Ub)
 - There are 100's of E3 proteins
 - E3 proteins are responsible for selecting the proteins that are to be destroyed.

Proteasome and human disease

- **Have be directly or indirectly associated with a wide range of diseases:**
 - **Cystic Fibrosis**
 - The mutant protein in carriers of this diseases is the 1480-aa CF transmembrane regulator (CFTR) protein, which is a regulated epithelial cell surface chloride channel protein.
 - 70% of the known CF mutations include the deletion of phenylalanine 508.
 - Without this phenylalanine the CFTR protein never reaches the cell surface but instead is retained in the endoplasmic reticulum where it is degraded by the 26S proteasome.
 - Otherwise the mutant protein is physiologically capable.
 - Inhibitors of the proteasomal activity are seen to stabilize CFTR within cells.

Auf Protein-Defekten beruhende Krankheiten

Krankheit	Betr. Protein	Molekularer Phänotyp
<i>Faltung nicht möglich</i>		
Cystische Fibrose	CTFR	Mißfaltung/Hsp70 Interakt.
Marfan Syndrom	Fibrillin	Mißfaltung
Amyotrophe Lateralsklerose	Superoxid-Dismutase	Mißfaltung
Skorbut	Kollagen	Mißfaltung
Ahornsirup-Krankheit	Keto-DH Komplex	Falsches Assemblieren
Krebs	p53	Mißfaltung/Hsp70 Interaktion
Osteogenesis imperfecta	Typ I-Kollagen α	Falsches Assemblieren/ BiP-Expression
<i>Toxische Faltung</i>		
Scrapie/Creutzfeldt-Jakob	Prion-Protein	Aggregation
Alzheimer	β -Amyloid	
Familiäre Amyloidose	Transthyretin	
Katarakte	Kristalline (Augenlinse)	
<i>Falsche Lokalisation</i>		
Fam. Hypercholesterinämie	LDL Rezeptor	
α 1-Antitrypsin-Mangel	α 1-Antitrypsin	
Tay-Sachs Krankheit	β -Hexose-desaminase	
Retinitis pigmentosa	Rhodopsin	