

# Rozklad buněčných struktur

Jan Šmarda

Ústav experimentální biologie  
Přírodovědecká fakulta MU



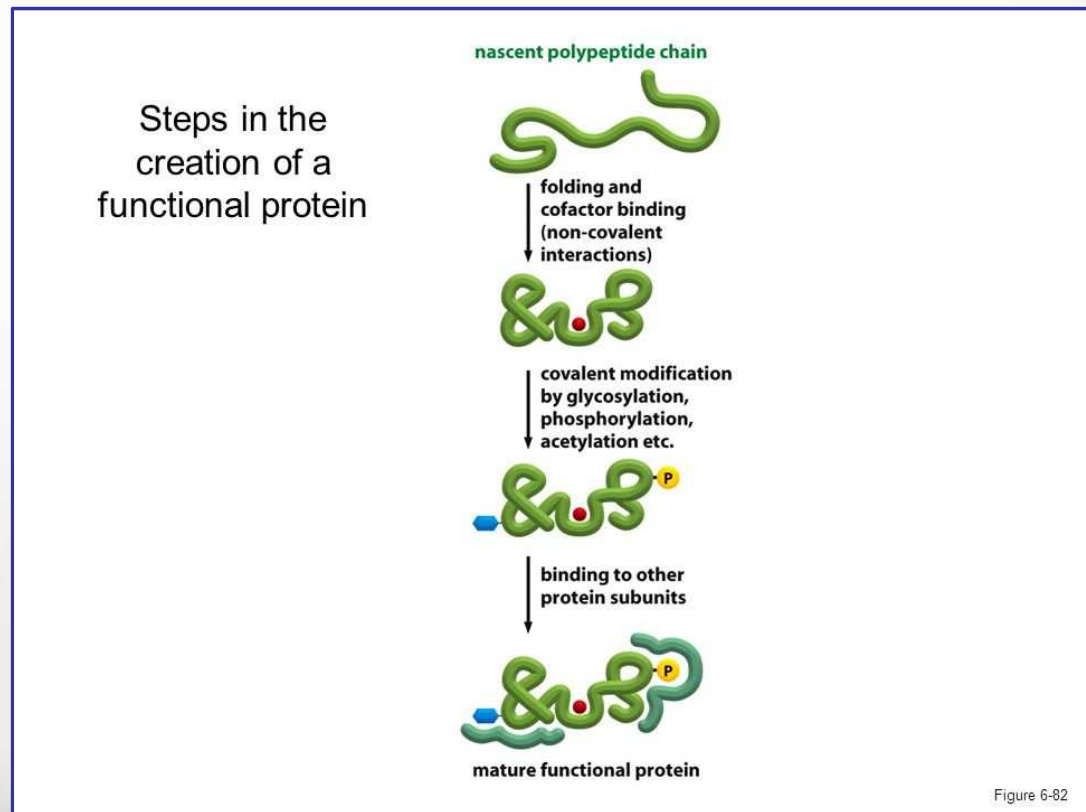
Přednáška kurzu Molekulární biologie eukaryot  
31.10.2019

# Osnova

- způsoby rozkladu nežádoucích proteinů
- degradace proteinů v lysosomech a proteasomech
- autofagie
- struktura a funkce proteasomů
- značení substrátů pro proteasomový rozklad
- rizika plynoucí z poruch degradace chybně složených proteinů

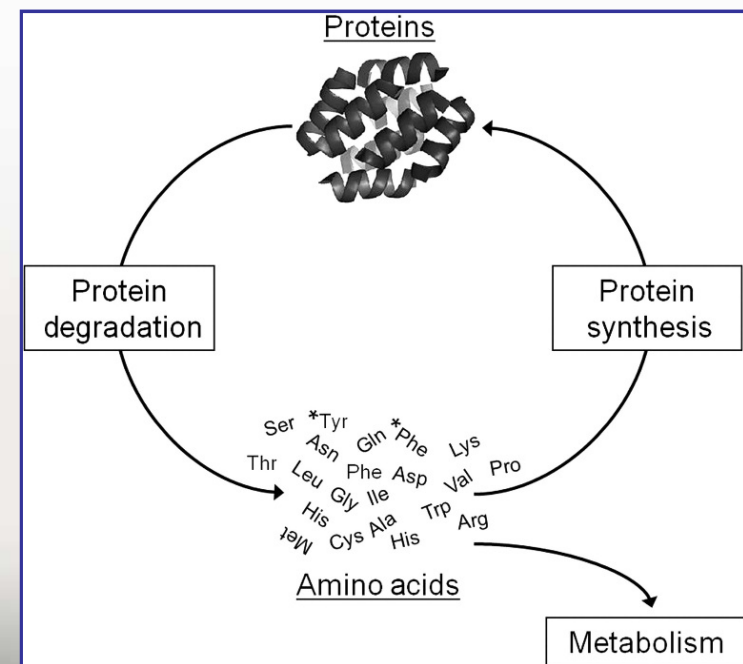
# Funkčnost proteinu závisí na jeho struktuře

- konformace
- vazba kofaktoru
- posttranslační modifikace
- spojení podjednotek
- lokalizace ve správném buněčném kompartmentu
- regulační/aktivační modifikace (dočasná)



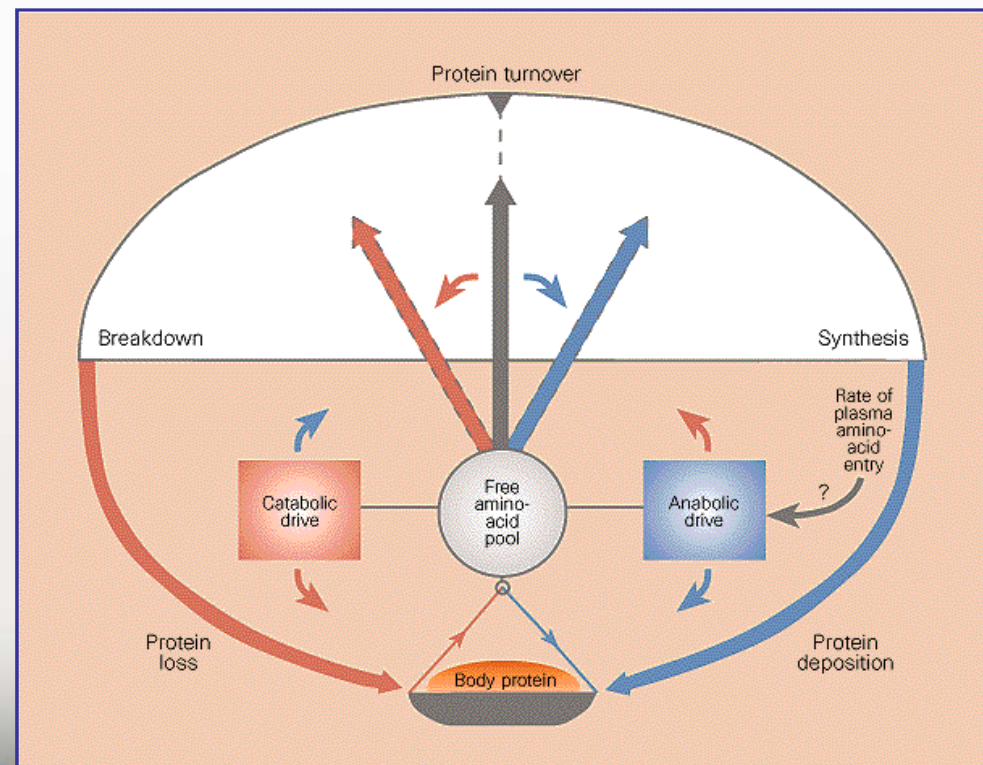
# Proč rozkládat molekuly?

- složky buněk mají kratší životaschopnost než buňky – jsou průběžně nahrazovány
- u zdravého člověka se denně odbourává 300 – 600 g proteinů
- produkty degradace využitelné pro opětovnou syntézu a metabolismus
- likvidace špatně složených proteinů
- aktivní likvidace nežádoucích proteinů (regulace)



# „Turnover“ proteinů

- běžný obrat proteinů - rovnováha mezi jejich syntézou a degradací
- vychýlení směrem k proteosyntéze – anabolismus
- vychýlení směrem k degradaci – katabolismus
- při stárnutí se „turnover“ proteinů prodlužuje, následkem je zvýšení hladiny poškozených proteinů
- příčina nebo následek stárnutí?



# „Turnover“

Rozklad a nahrazování molekul v buňkách:

- **konstitutivní turnover:** udržovací funkce – pravidelné nahrazování starších molekul nově syntetizovanými
- **regulovaný turnover:** rychlý rozklad specifických cílových molekul v reakci na podněty, např. při přenosech signálů, regulaci buněčného cyklu nebo při diferenciaci a vývoji

# Konstitutivní „turnover“

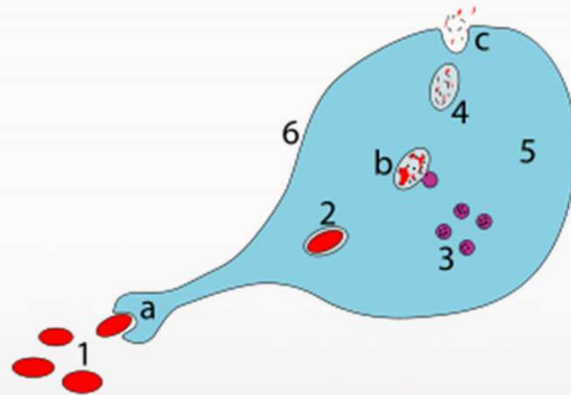
- souvisí s přesným vyvážením syntetických a rozkladných procesů
- obvykle se vyjadřuje jako **poločas rozkladu**, tj. doba, během které se rozloží polovina molekul daného typu
- poločas závisí na velikosti molekuly, náboji, termostabilitě, flexibilitě, hydrofobicitě, způsobu složení a způsobu uspořádání
- poločas rozkladu proteinů se pohybuje v intervalu minut až hodin/dnů



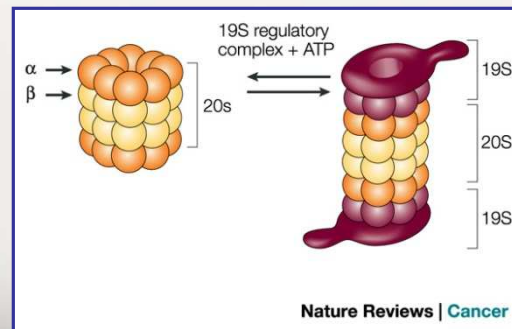
# Kde probíhá proteolýza?

- riziko poškození buňky
- soustředění do specifických buněčných oddílů:

- lysosomů



- proteasomů





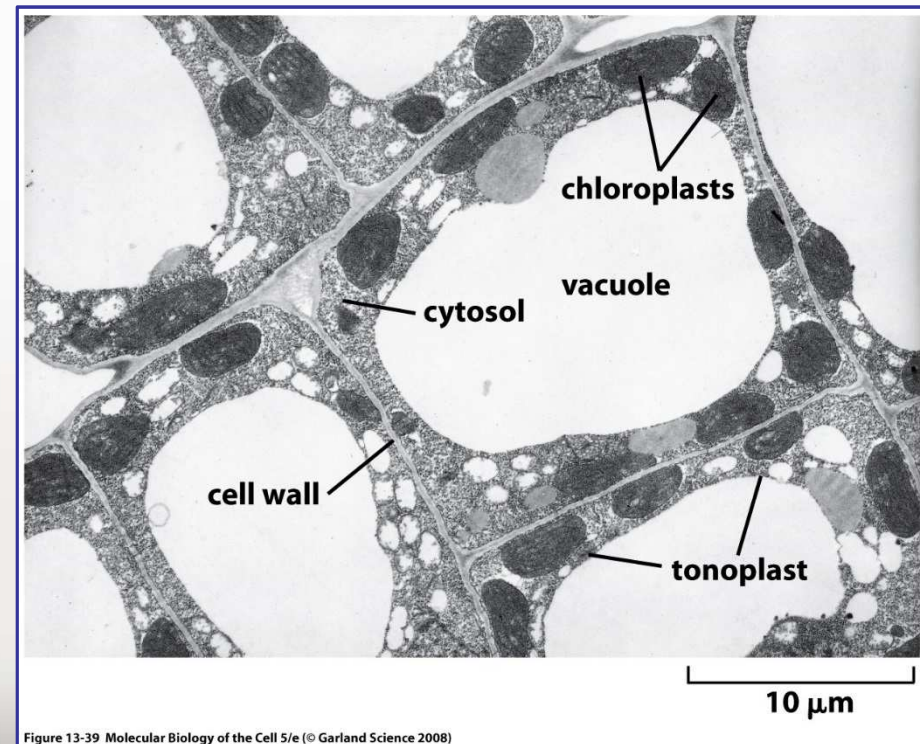
# Lysosomy

- membránou ohraničené organely, ve kterých jsou soustředěny rozkladné enzymy
- hlavní organely rozkladu molekul



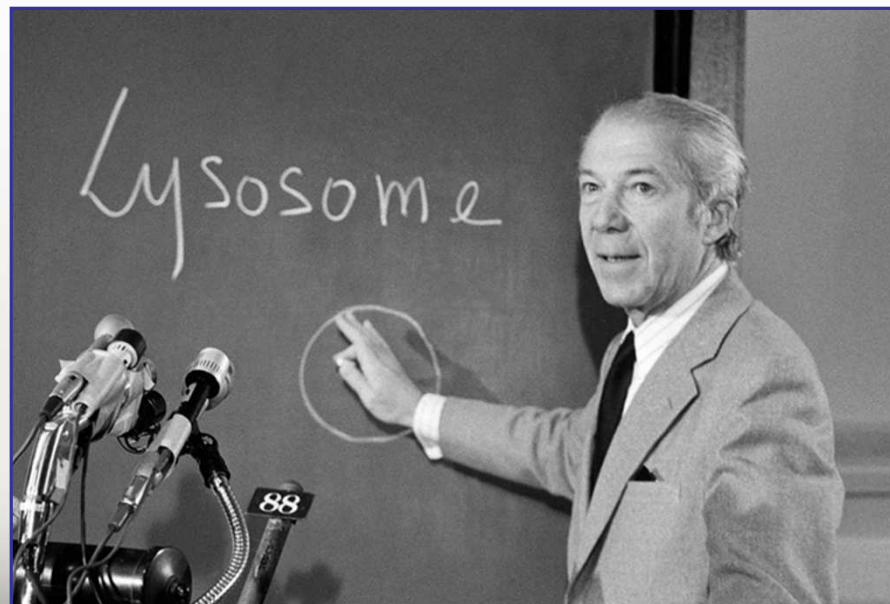
# Vakuoly

- organely podobné lysosomům u rostlinných buněk, hub a kvasinek
- rovněž obsahují hydrolytické enzymy
- zásobárny živin a produktů rozkladu
- podíl na zvětšování velikosti buněk
- udržování turgoru (tlaku na buněčnou stěnu zevnitř buňky)



# Lysosomy

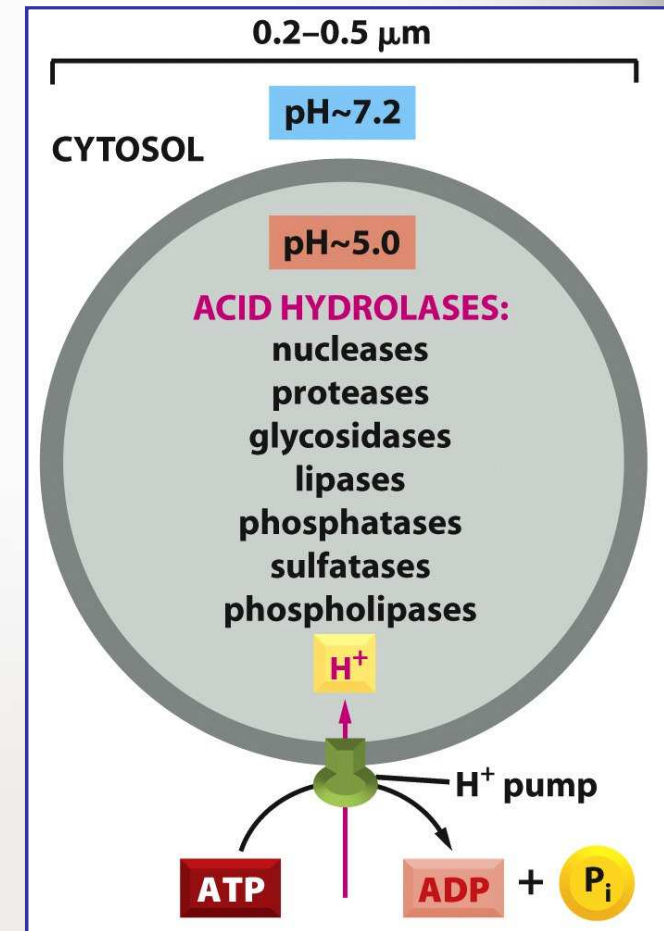
- poprvé pozorovány v polovině 50. let 20. stol. a charakterizovány jako orgány, ve kterých se enzymaticky rozkládají proteiny, uhlovodíky a lipidy
- za objev lysosomů získává v roce 1974 Nobelovu cenu za fyziologii a medicínu Belgičan **Christian de Duve**



Christian de Duve  
(1917-2013)

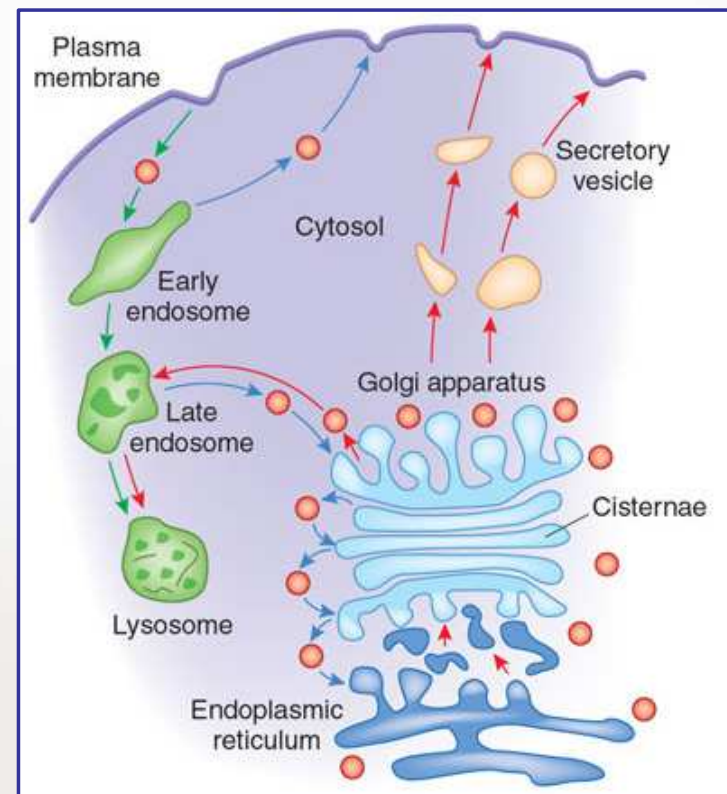
# Lysosomy

- **kyselé pH**
- obsahují směs cca 40 hydrolytických enzymů – **kyselých hydroláz**
- podmínkou aktivity hydroláz je jejich štěpení – syntetizují se jako **neaktivní prekurzory** o vyšší molekulové hmotnosti; aktivující štěpení probíhá až v lysosomech
- ochrana před nežádoucím rozkladem: membrána udržuje enzymy mimo cytozol, ale pokud by do něj pronikly, v neutrálním pH by nemohly příliš škodit



# Transport substrátů a enzymů do lysosomů

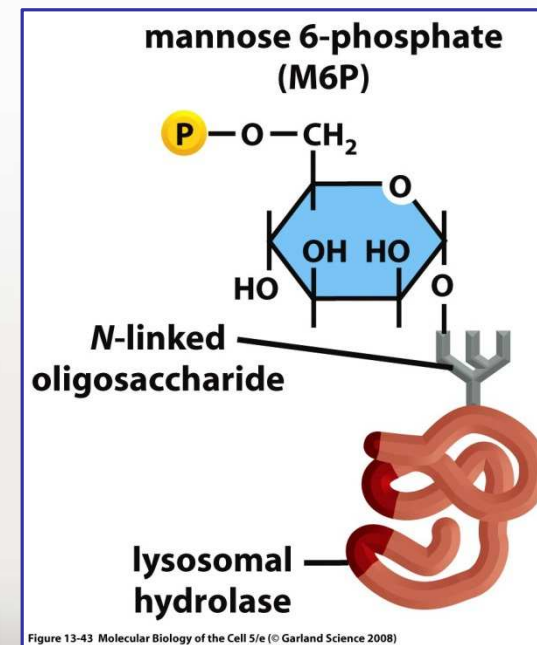
- pomocí váčků (vezikulů) z vnějšího i vnitřního prostoru buňky
- enzymy jsou syntetizovány v ribozomech hrubého ER a do lysosomů se přenášejí přes Golgiho aparát





# Transport lysosomálních enzymů

- modifikace prekurzorů enzymů v Golgiho aparátu, glykosylace, fosforylace
- lysosomální hydrolázy jsou označeny skupinami manoso-6 fosfátu připojenými k oligosacharidu



# Transport lysosomálních enzymů

- skupiny M6P rozeznávají receptory v trans-Golgiho aparátu
- pomocí receptorů a adaptérových proteinů se uzavírají do klathrinových váčků a transportují do raných endozomů

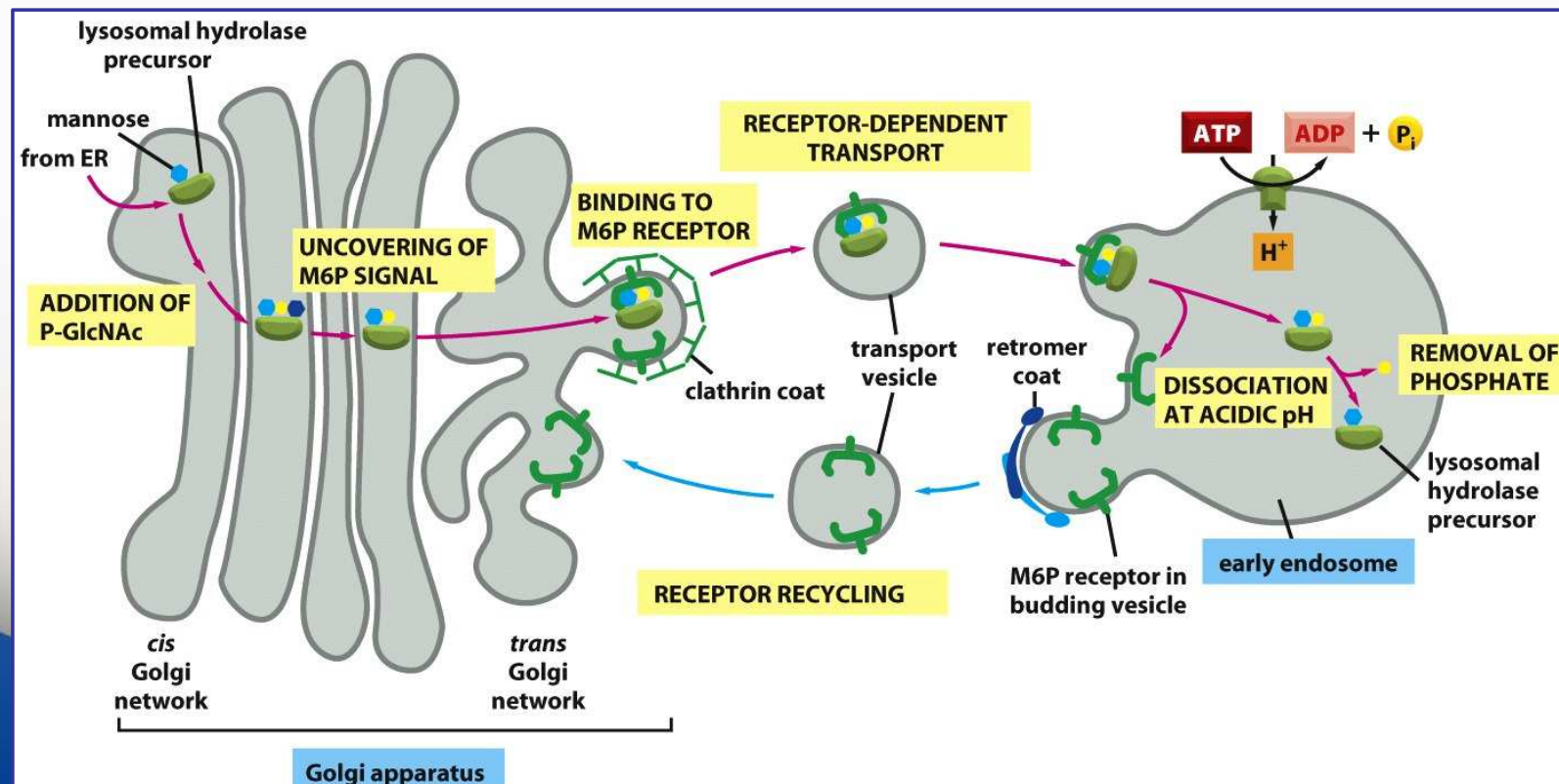
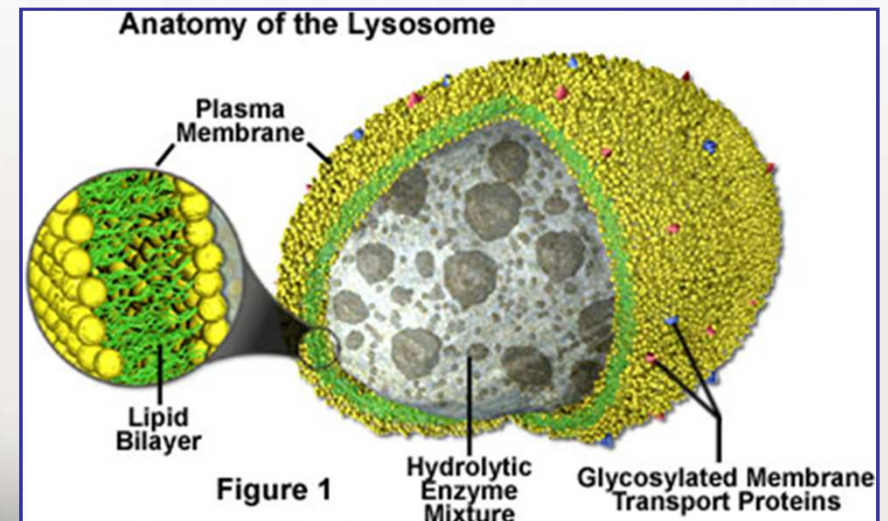


Figure 13-44 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)



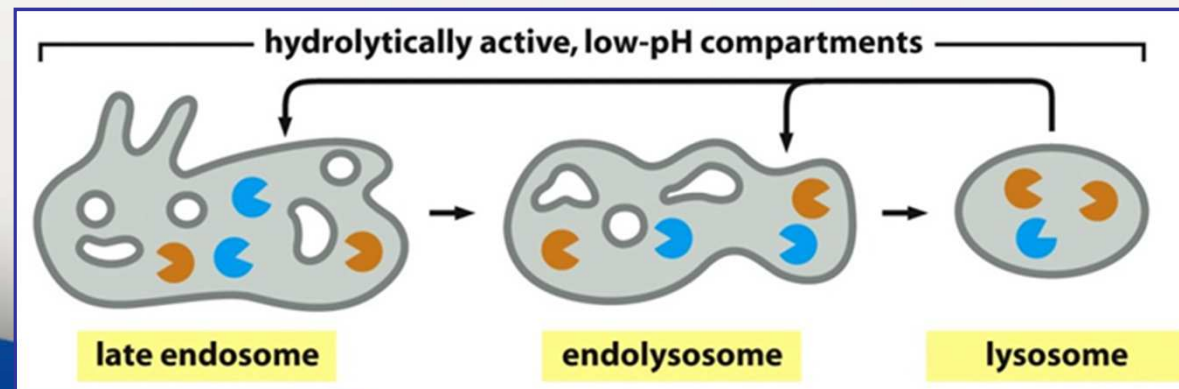
# Proteolýza v lysosomech

- **nízké pH** (4-5) je nezbytné pro účinnou degradaci: podmínka aktivity enzymů, pomoc při denaturaci substrátů
- pH se udržuje **protonovými pumpami**, která tlačí  $H^+$  do lysosomu
- poháněno **hydrolýzou ATP**
- proteiny lysosomální membrány jsou vysoce **glykosylované**, což zvyšuje jejich odolnost k lysosomálním proteázám
- produkty rozkladu (aminokyseliny, cukry, nukleotidy) se pomocí transportních proteinů dostávají z lysosomů do cytozolu a mohou se podílet na biosyntetických procesech nebo být vyloučeny ven z buňky



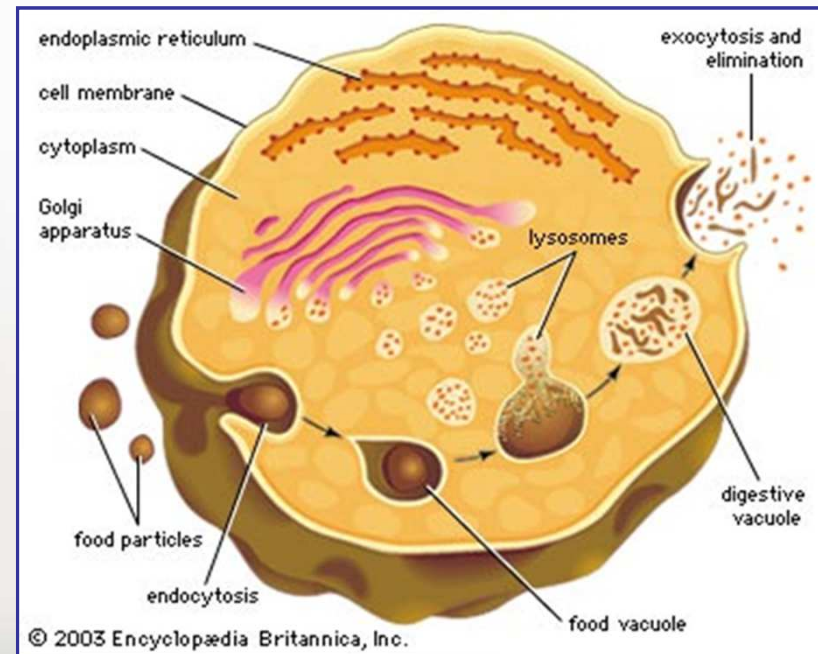
# Lysosomy jsou heterogenní

- velikost a tvar jsou značně rozmanité (ostatní organely uniformní)
- důsledek rozmanitosti rozkládaných substrátů
- pozůstatky různých mimobuněčných i nitrobuněčných struktur
- fagocytovaných mikroorganismů
- trávené potraviny
- pozdní endosomy obsahují vnější materiál z plazmatické membrány pohlcený endocytózou i nově syntetizované hydrolázy
- hydrolyticky aktivní jsou nejen lysosomy, ale také pozdní endosomy a endolysosomy



# Lysosomy jsou heterogenní

- po rozložení většiny dodaného materiálu obsahují pouze nedegradovatelné nebo jen pomalu degradovatelné zbytky (reziduální tělísko), které se vyloučí z buňky exocytózou
- je známo více než 30 různých genetických chorob člověka, které jsou důsledkem mutací v genech lysosomálních enzymů: nerozložený materiál se v lysosomech hromadí

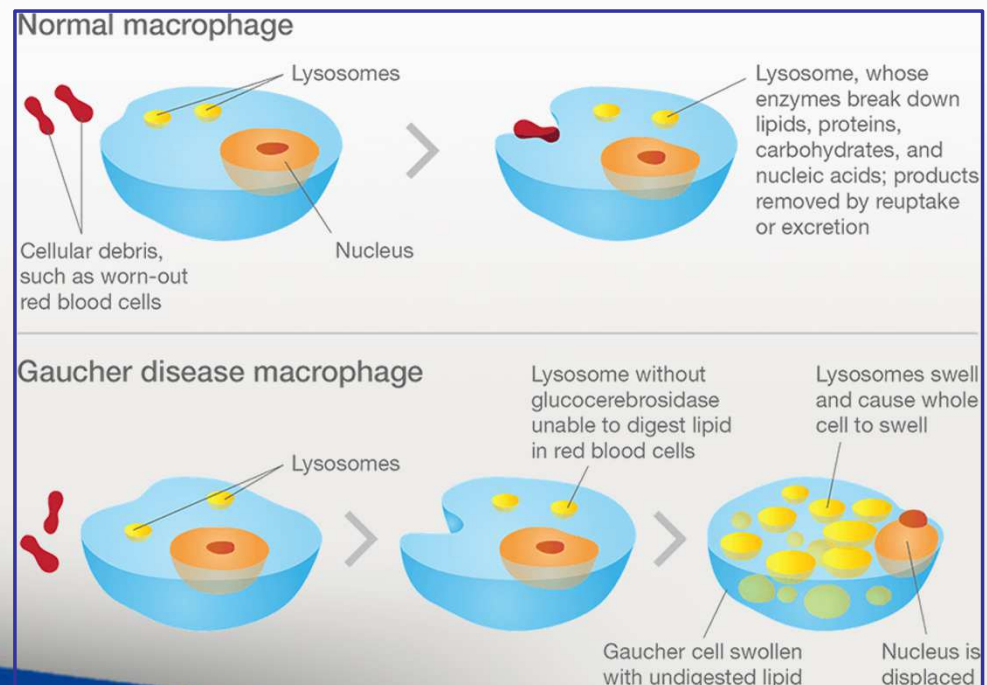


# Gaucherova nemoc

- dědičná nemoc, patologické ukládání tukových látek (především glukocerebrosidu) v lidských orgánech
- příčinou je **deficit glukosylceramidázy**, která katalyzuje štěpení glukosylceramidu (tj. glukocerebrosidu) na glukózu a ceramid; nedegradovaný materiál se v lysozomech hromadí – zvětšování tkání
- léčba: substituční enzymová terapie



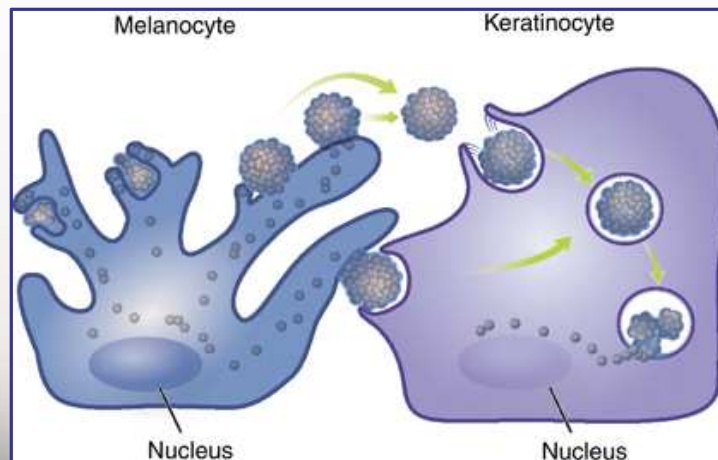
Philippe Gaucher  
(1854-1918)





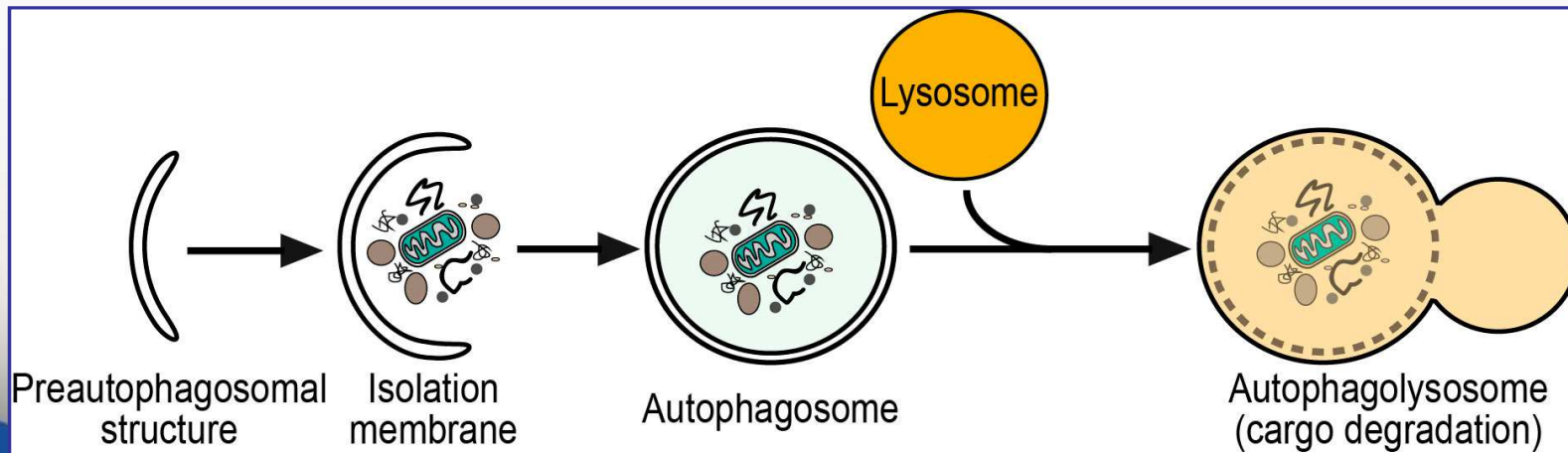
# Melanosomy

- speciální lysosomy kožních melanocytů, ve kterých se hromadí pigmenty
- melanosomy pigmenty uvolňují do mimobuněčného prostoru exocytózou
- uvolněné pigmenty jsou fagocytovány keratinocyty, což vede k normální pigmentaci kůže
- existují genetické choroby, u kterých je exocytóza pigmentů zablokována, následkem je nedostatečná pigmentace kůže - **albinismus**



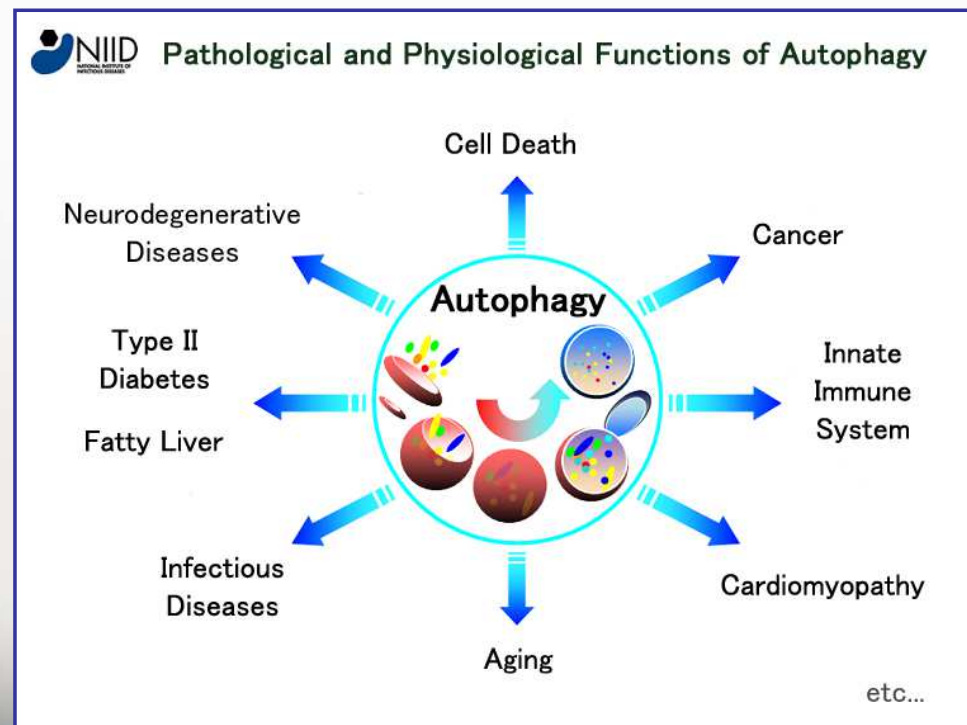
# Autofagie

- forma buněčné smrti
- z řečtiny: auto=vlastní, vnitřní; fagie=jíst)
- autorem termínu je **Christian de Duve**, který uvnitř lysosomů někdy pozoroval velké útvary podobné organelám
- do lysosomů je dopravují speciální transportní váčky – autofagosomy, které poškozené proteiny nebo organely nejprve obklopí a pak předají lysosomům



# Autofagie

- poskytuje buňce živiny a stavební kameny
- nastává v hladovějících nebo infikovaných buňkách
- výměna opotřebovaných organel
- podíl na stárnutí, smrti a dalších procesech





# Význam autofagie

## Fyziologický

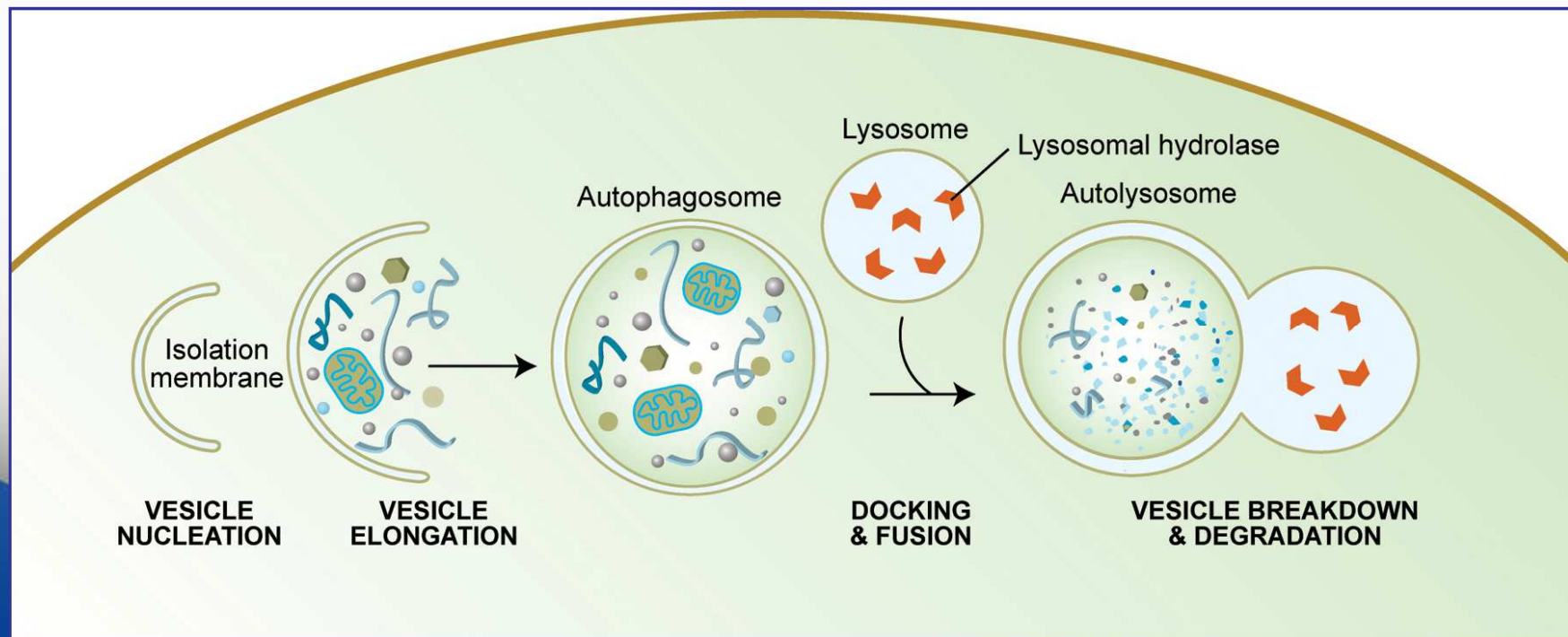
- recyklace makromolekul a organel (rozpad na aminokyseliny, nukleotidy a volné mastné kyseliny), obnova energetického metabolismu
- nevede nutně k zániku buňky
- přežívání za nepříznivých podmínek (vnitřních i vnějších)
- u mnohobuněčných organismů – podíl na regulaci embryonálního vývoje

## Patologický

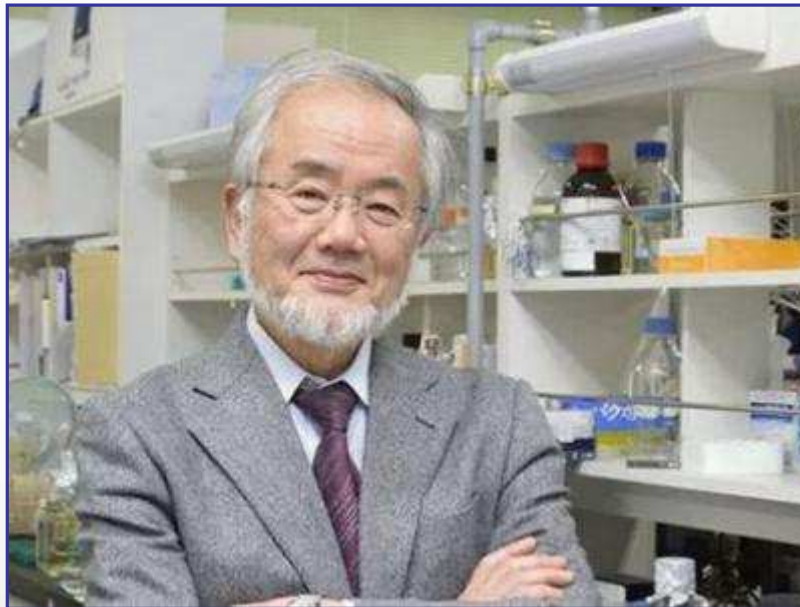
- neurodegenerativní choroby (hromadění poškozených nebo toxických proteinů)
- dědičná svalová onemocnění
- infekční onemocnění (podíl na likvidaci bakteriálních a virových patogenů)
- nádorová onemocnění

# Makroautofagie

- uzavření části buněčného obsahu membránou, včetně organel typu mitochondrií
- vzniká autofagická vakuola (autofagosom), která po fúzi s lysosomem tvoří autolysosom, jehož obsah se rozloží



# Nobelova cena 2016 za výzkum autofagie

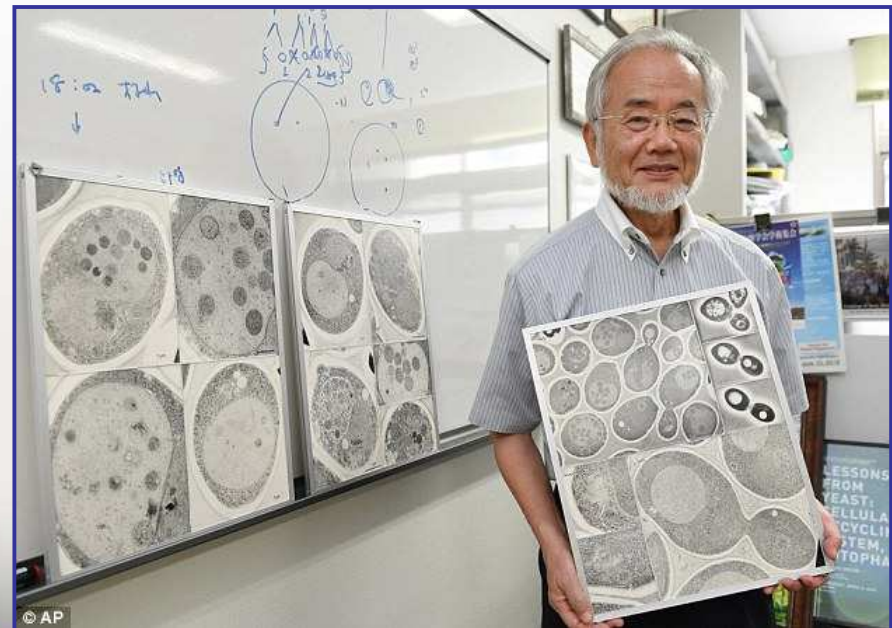


Jošinori Ósumi  
(\*1945)

- výzkum autofagie u kvasinek
- identifikace zodpovědných genů

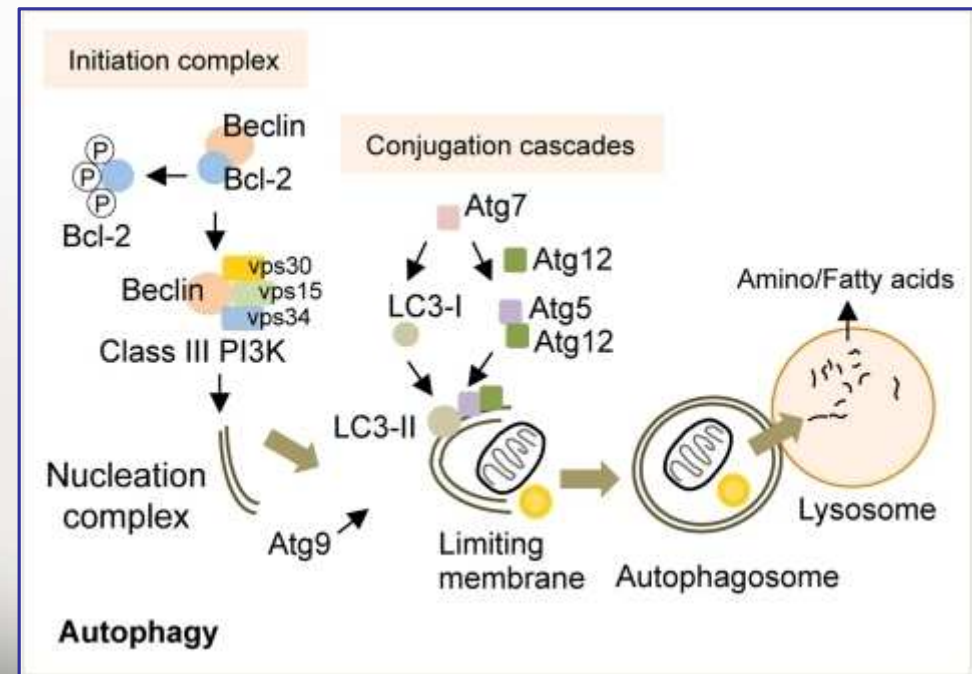
# Kvasinky a autofagie

- malá velikost buněk, obtížné sledování vnitřních struktur mikroskopii
- nejasné, jestli autofagie u kvasinek vůbec existuje
- Ósumiho nápad: přerušení degradačního procesu, čímž by mohla vyniknout tvorba autofagosomů a usnadnila by se jejich detekce
- kultivuje mutantní kvasinky postrádající degradační enzymy
- vyhladověním současně stimuluje autofagii
- výsledek: autofagosomy jasně patrné elektronovou mikroskopii



# Esenciální geny autofagie

- Ósumi využívá svých mutantních kmenů, ve kterých je schopen hladověním vyvolat tvorbu autofagosomů
- tisíce těchto kmenů vystavuje působení mutagenních látek
- hledá varianty, u kterých je tvorba autofagosomů poškozena
- nalézá jich 15
- funkční analýzou prokazuje, že autofagie je řízena kaskádovitě, každý protein má svou přesně definovanou funkci v dané fázi
- homology kvasinkových genů fungují u vyšších organismů



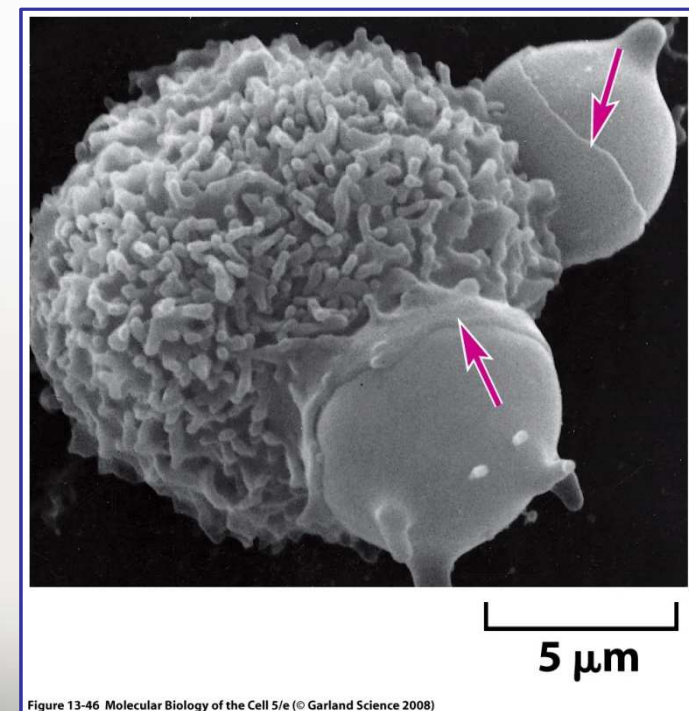
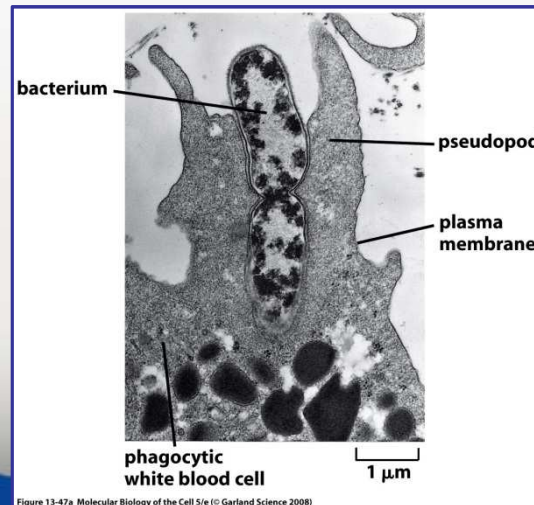


# Význam autofagie - souhrn

- zapojení do degradačních a recyklačních buněčných procesů
- eliminace poškozených proteinů a organel
- eliminace nitrobuněčných bakterií a virů při infekci
- produkce energie a stavebního materiálu pro obnovování buněčných složek
- součást odpovědi buněk na hladovění a jiné formy stresu
- zapojení do vývojových a diferenciačních procesů
- součást kontrolního mechanismu pro nápravu negativních důsledků stárnutí
- narušená autofagie prokázána u onemocnění (např. Parkinson, diabetes typu 2, rakovina)

# Fagocytóza

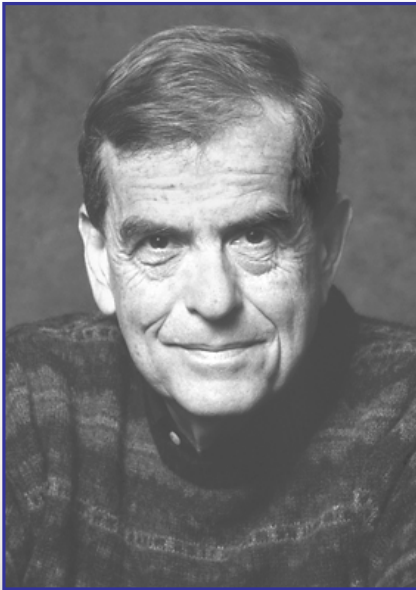
- endocytóza veľkých častíc – mikroorganizmů nebo mrtvých buněk
- u prvoků forma výživy
- u mnohobuněčných organismů – ochrana proti infekci, likvidace senescentních buněk nebo buněk odumřelých apoptózou
- zajišťováno specializovanými buňkami – fagocyty: **makrofágy** a **neutrofilů** – produkty krvetvorného systému
- vysoká aktivita:  $10^{11}$  senescentních erytrocytů denně



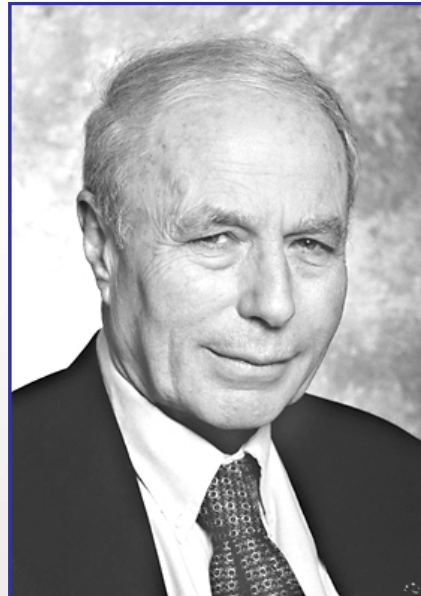


# Proteasom

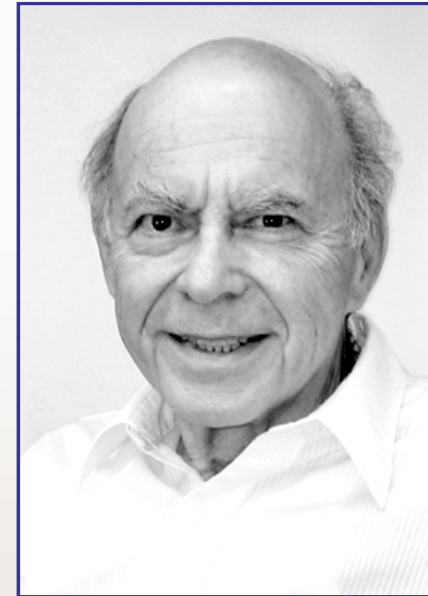
- druhý hlavní buněčný proteolytický systém
- Nobelova cena za chemii v roce 2004



Aaron Ciechanover  
(\*1947)



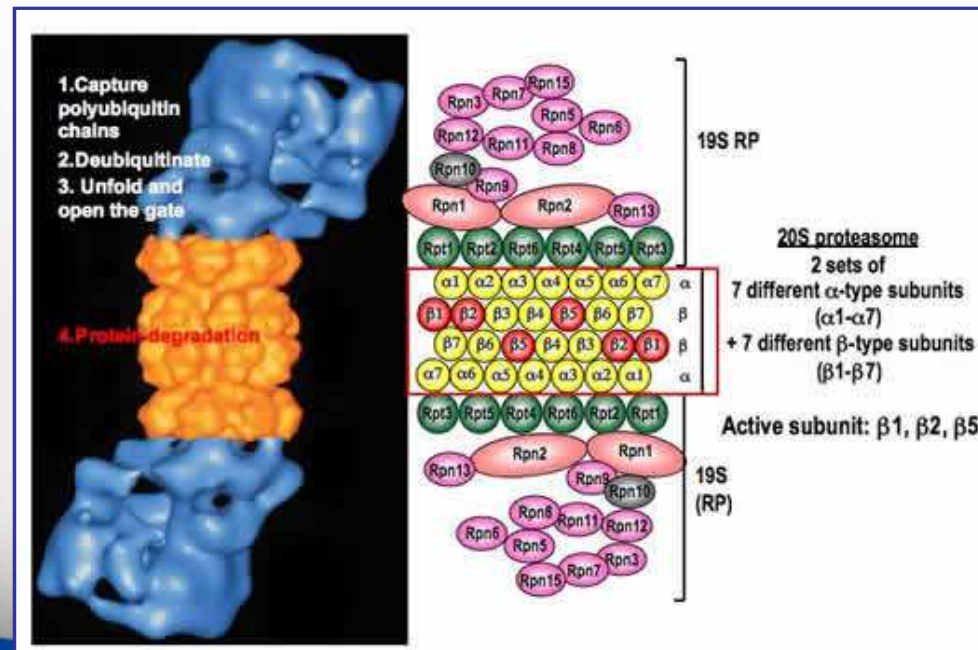
Avram Hersko  
(\*1937)



Irwin Rose  
(\*1926)

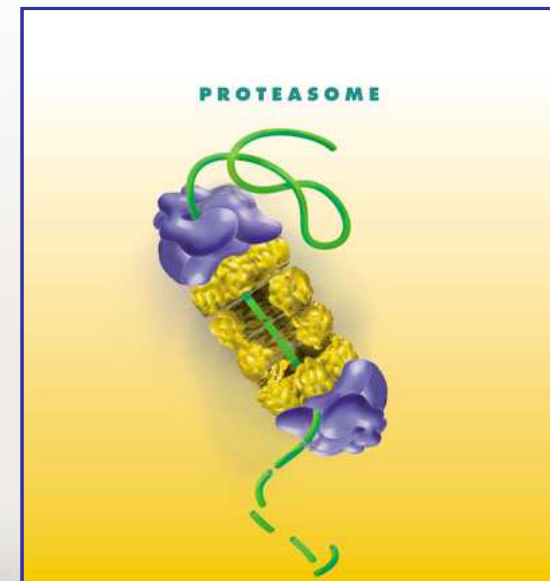
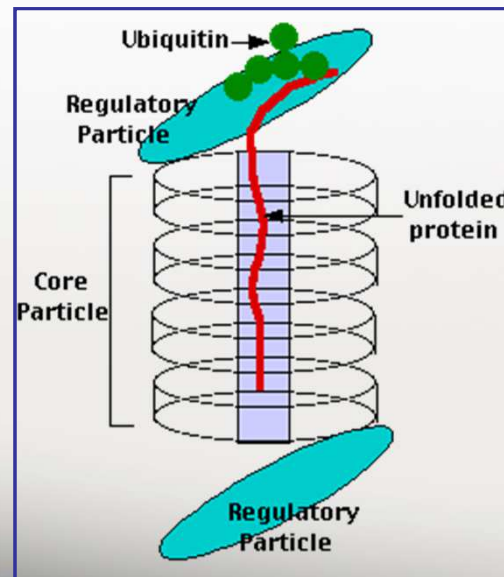
# Proteasom

- v buňce představuje až 1% všech buněčných proteinů
- tvar válce, uvnitř kterého jsou proteolytická místa štěpící proteiny na malé peptidy
- poklopy ovlivňují přístupnost válce pro substráty
- substráty jsou abnormální a špatně složené proteiny + normální proteiny označené k likvidaci



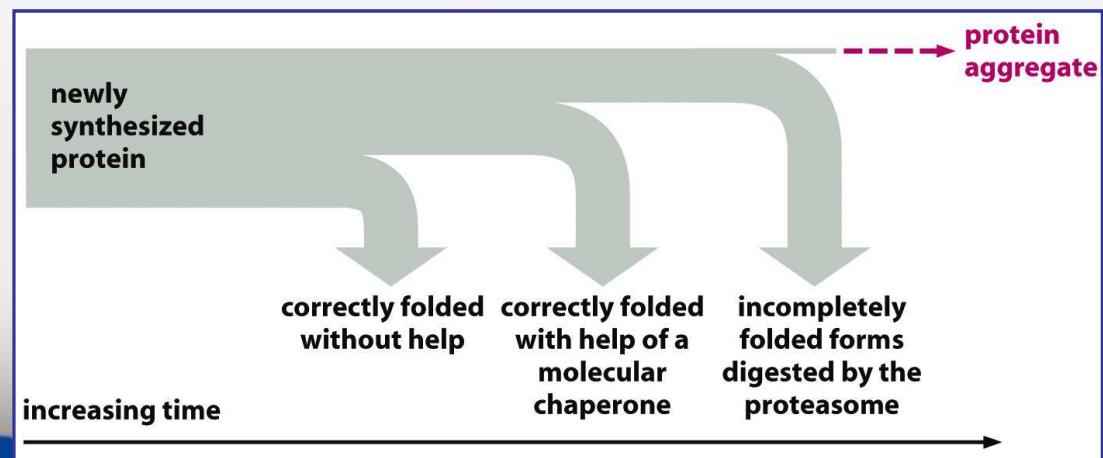
# Proteasom

- sestaven z mnoha proteinových podjednotek
- regulační systémy ovládají otvírání „poklopů“ a umožňují tak vstup pouze vybraným nesloženým molekulám
- podmínkou přenosu molekul do proteasomu je jejich modifikace připojením malého polypeptidu – ubikvitinu – k lyzinovým zbytkům
- nutná energie ATP



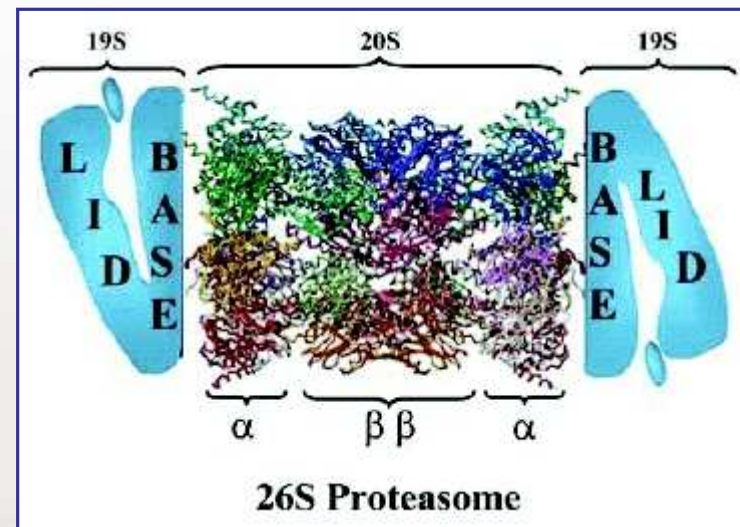
# Proteasom a kontrola kvality proteosyntézy

- proteosyntéza produkuje řádně složené proteiny: najdou si své případné vazebné partnery a řádně fungují
- neúplně složené proteiny jsou zacíleny **chaperony** díky obnaženým hydrofobním sekvencím a buňka se snaží zajistit, aby dosáhly správné konformace
- mutace, chyby v transkripci, sestřihu RNA nebo translaci mohou vést k tvorbě proteinů, které se neposkládají správně, jsou obnaženy jejich hydrofobní úseky, které mají tendenci mezi sebou nespecificky agregovat – buňka je likviduje v **proteasomu**



# Proteasom (26S)

- ATP-dependentní komplex proteáz
- katalyzuje rozvolnění a proteolytický rozklad svých substrátů
- složen z katalytického komplexu 20S, který je obklopen dvěma regulačními komplexy 19S

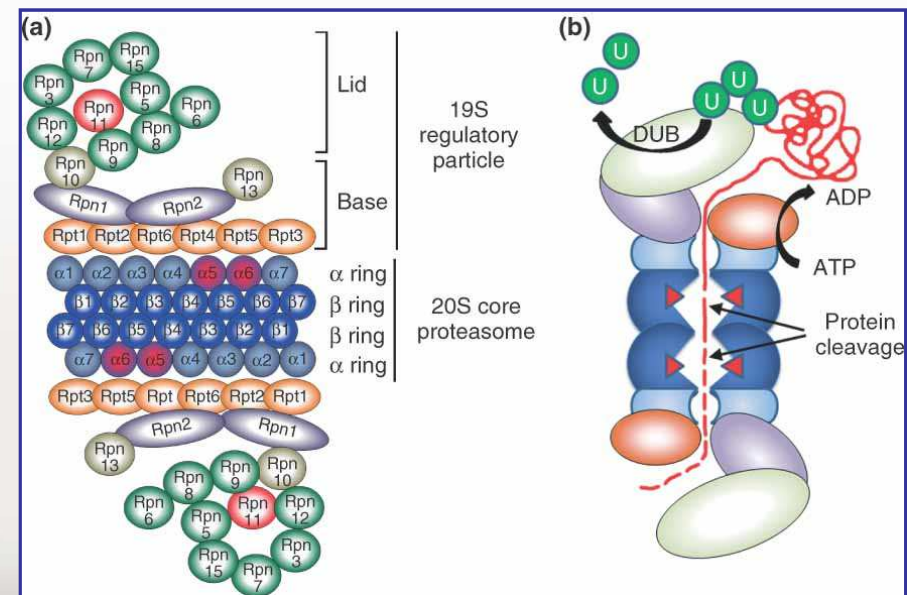




# Struktura proteasomu

## Jádro proteasomu (20S)

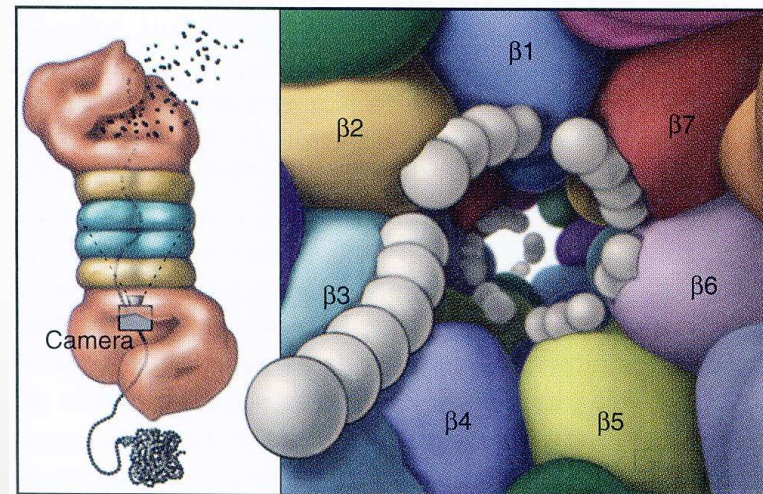
- evolučně konzervativní (baktérie – savci)
- válec složený ze čtyř kruhů (2 $\alpha$ , 2 $\beta$ )
- vnitřní komora přístupná pouze otvory na obou koncích
- otvírání poklopů regulováno
- aktivní místa proteolýzy soustředěna v podjednotkách  $\beta$  a směřují dovnitř válce



# Jádro proteasomu (20S)

- podjednotky **alfa** nemají katalytickou aktivitu, účastní se translokace substrátu do proteolytické komory

- vlastní hydrolýza na malé peptidy je zajišťovaná podjednotkami **beta** a nevyžaduje ATP



- $\beta 1$  štěpí kyselé zbytky (caspase-like activity)
- $\beta 2$  štěpí zásadité zbytky (trypsin-like activity)
- $\beta 5$  štěpí hydrofobní zbytky (chymotrypsin-like activity)

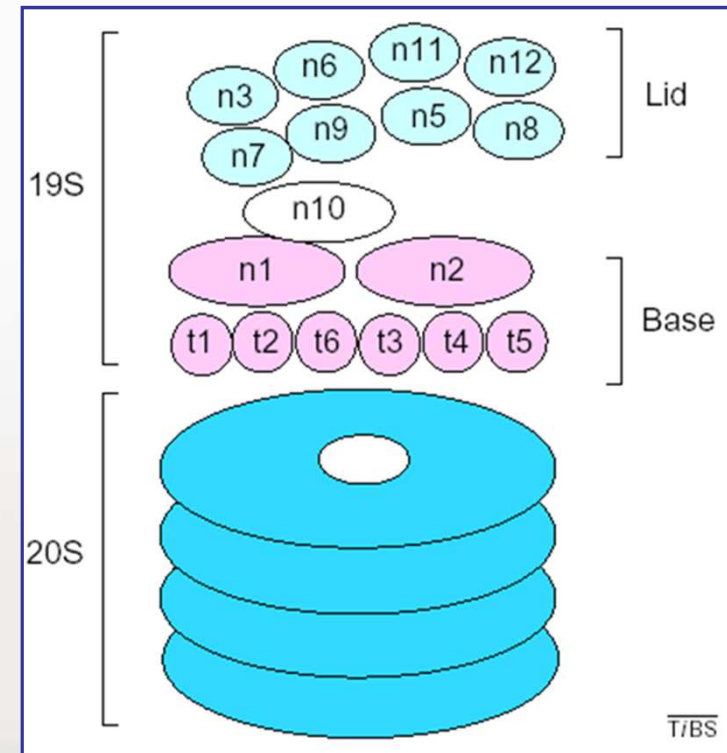


# Poklop - podjednotka 19S

- obsahuje **víko** („lid“) a **základnu** („base“)
- regulační funkce: rozeznávají a rozplétají substrátové proteiny

15-20 jednotek:

- jednotky bez ATPázové aktivity (n1-n12) tvoří poklop: rozeznávají ubiquitinem označené proteiny a odstraňují ubiquitinové značky pro recyklaci
- ATPázy (t1-t6) tvoří základnu: zajišťují rozplétání proteinů a jejich transport do podjednotky 20S



# Postupný rozklad proteinů v proteasomu

- víko rozeznává příslušný substrát
- substrát se rozplétá a za spotřeby ATP se translokuje do válce
- obdobné strukturní rysy s helikázami DNA

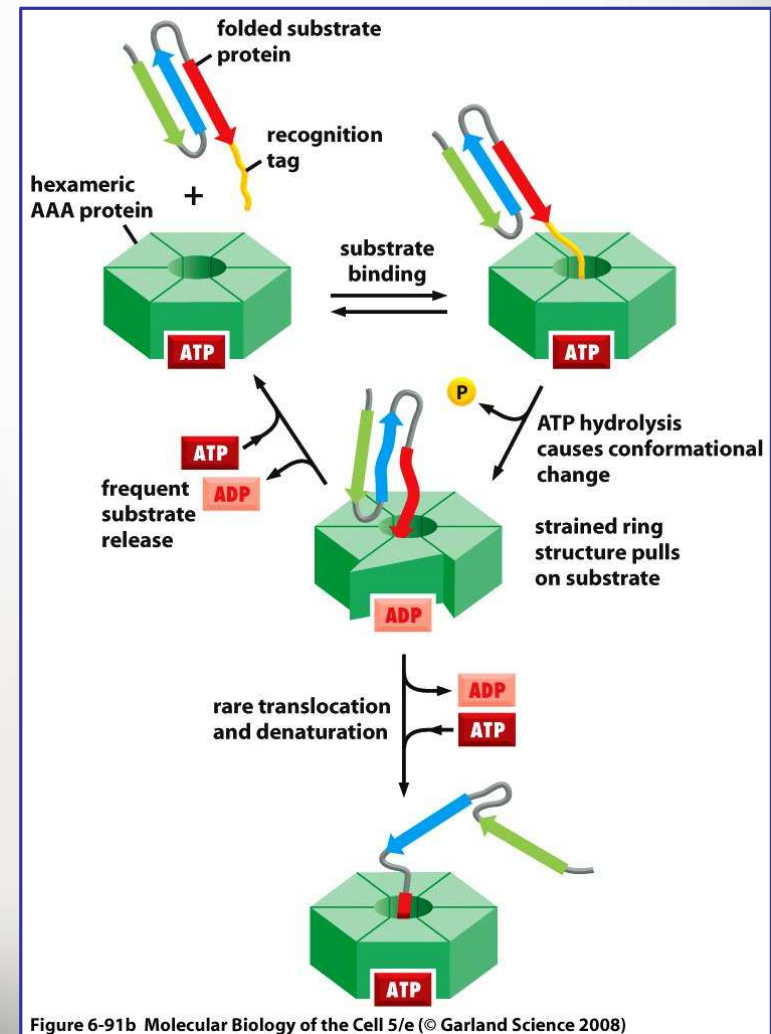
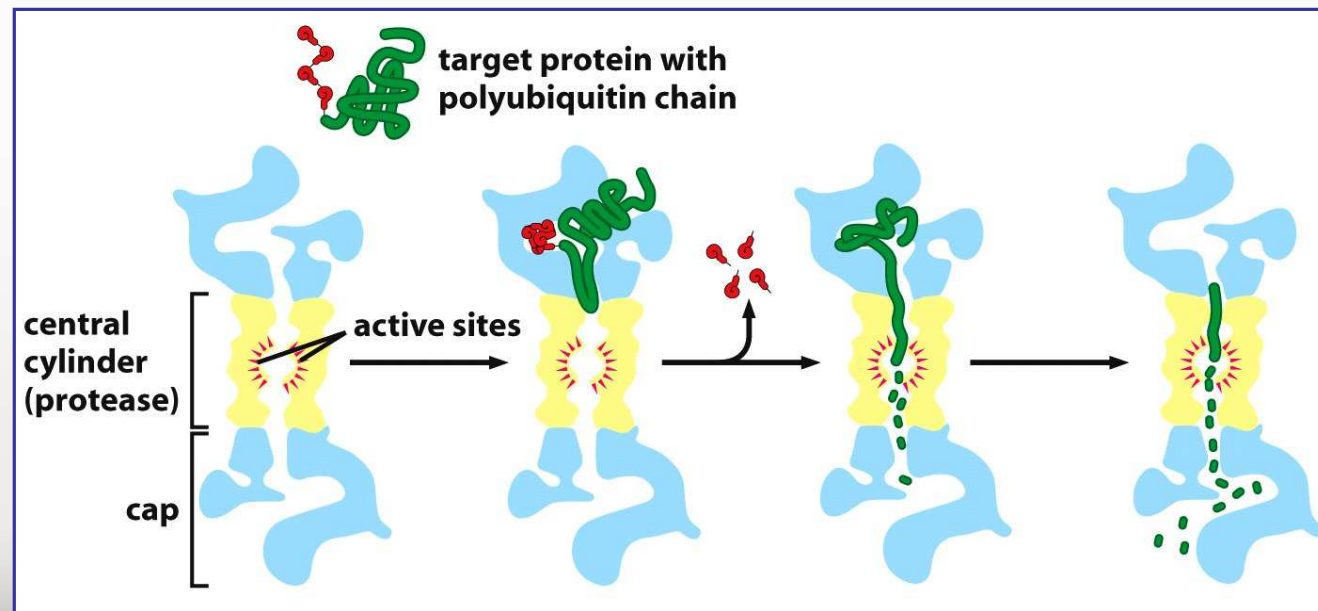


Figure 6-91b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

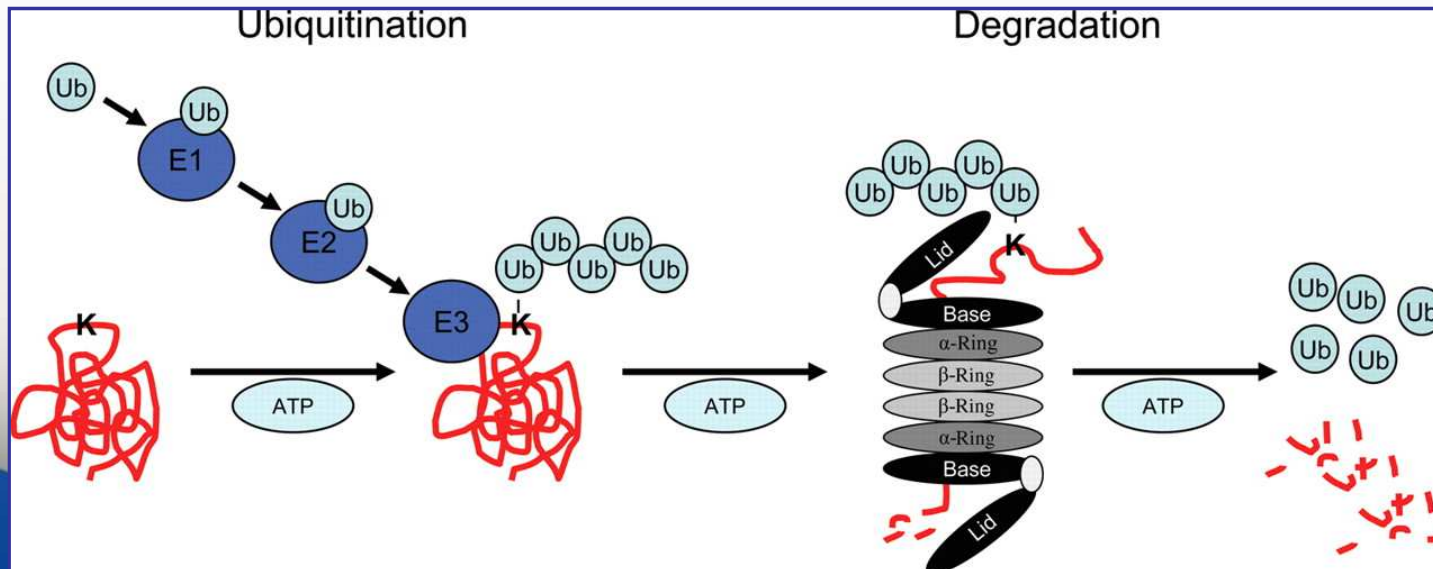
# Postupný rozklad proteinů v proteasomu

- v rané fázi se odštěpuje ubikvitin pro recyklaci
- hydrolýza je důkladná: na malé peptidy (ne jednorázové štěpení jako u běžných proteáz)



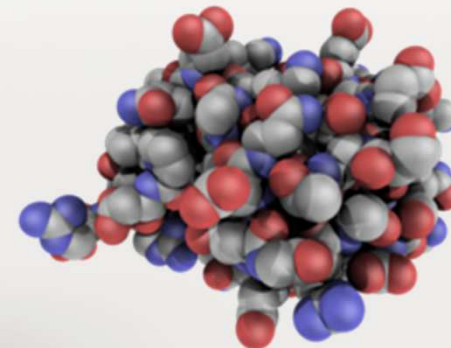
# Značení proteinů pro proteasomovou likvidaci

- regulačním prvkem je vstup do válce proteazomu
- substráty, kterým má být povolen vstup do proteozomu se opatří specifickou značkou (protein-tagging) – **ubikvitinem**
- ubikvitin se k cílovém proteinu (lyzinu) připojuje kovalentní vazbou pomocí specifických enzymů



# Ubikvitin

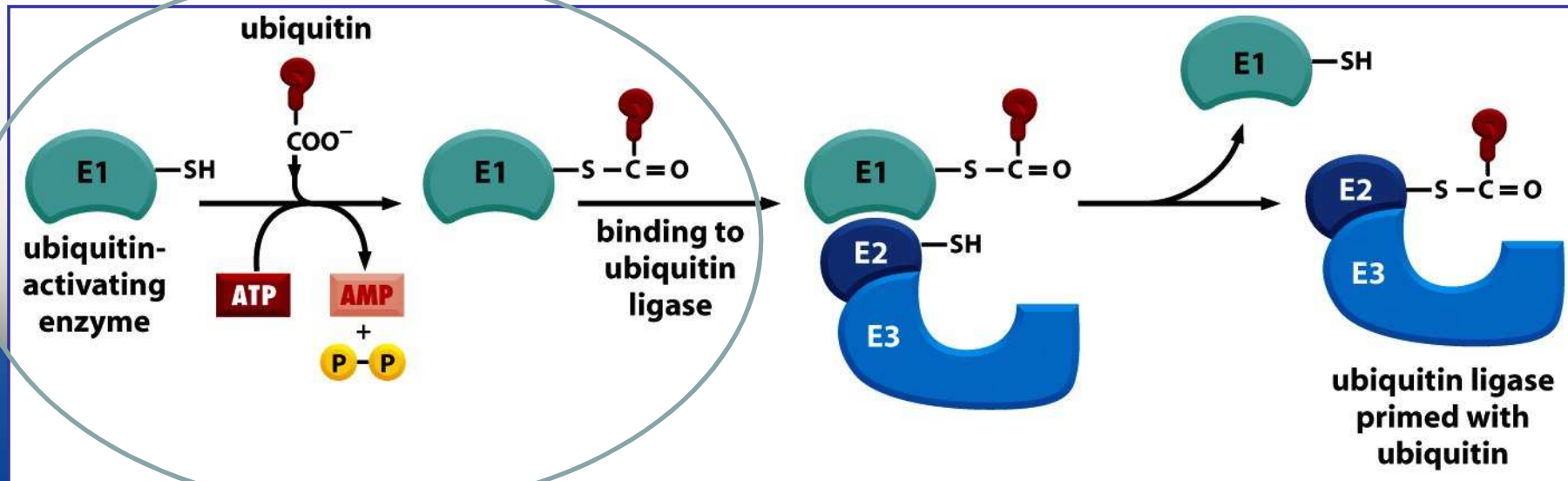
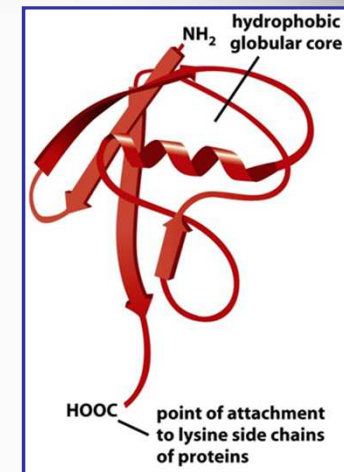
- protein o nízké molekulové hmotnosti (76 aminokyselin)
- kompaktní globulární struktura
- evoluční konzervativnost
- vyskytuje se ve všech tkáních všech eukaryotických organismů
- v buňce - volná molekula nebo kovalentně připojená k jiným proteinům
- váže se k aminoskupině lyzinu cílového proteinu
- vazbou několika molekul ubikvitinu vzniká polyubikvitinový řetězec
- proteiny označené polyubikvitinem jsou rozeznány a degradovány proteasomem





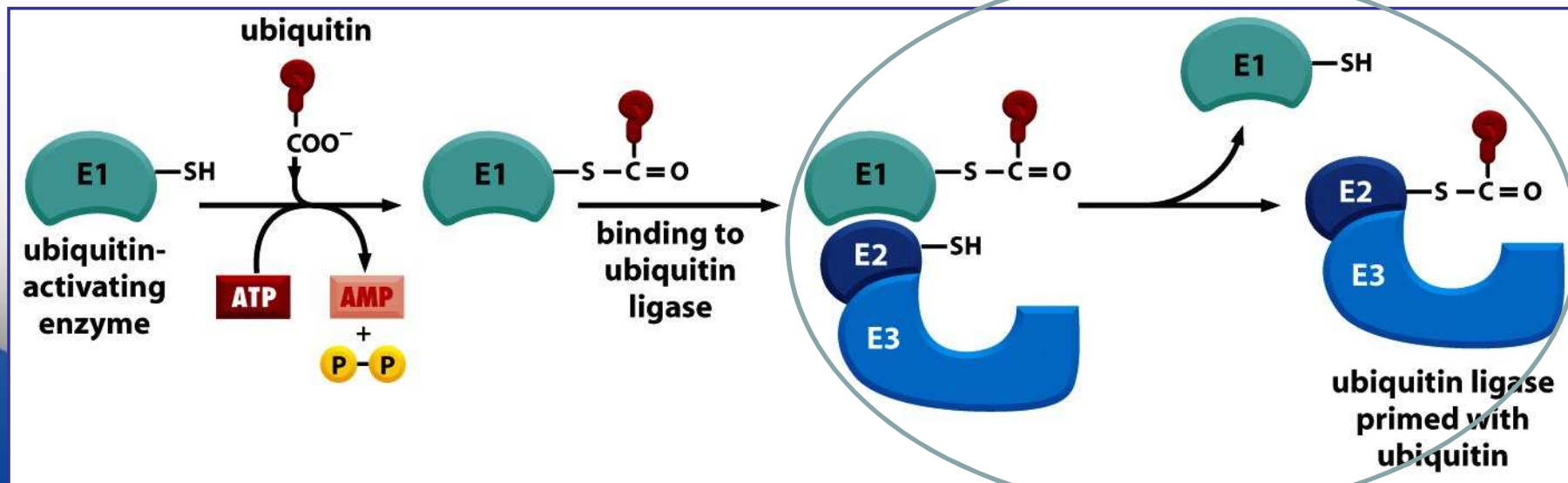
# Značení molekul ubikvitinem

- **aktivace ubikvitinu**
- katalyzovaná ubikvitin-aktivujícím **enzymem E1**
- reakce je podmíněna ATP
- výsledkem je ubikvitin připojený svým C-koncem k cysteinu proteinu E1 thioesterovou vazbou



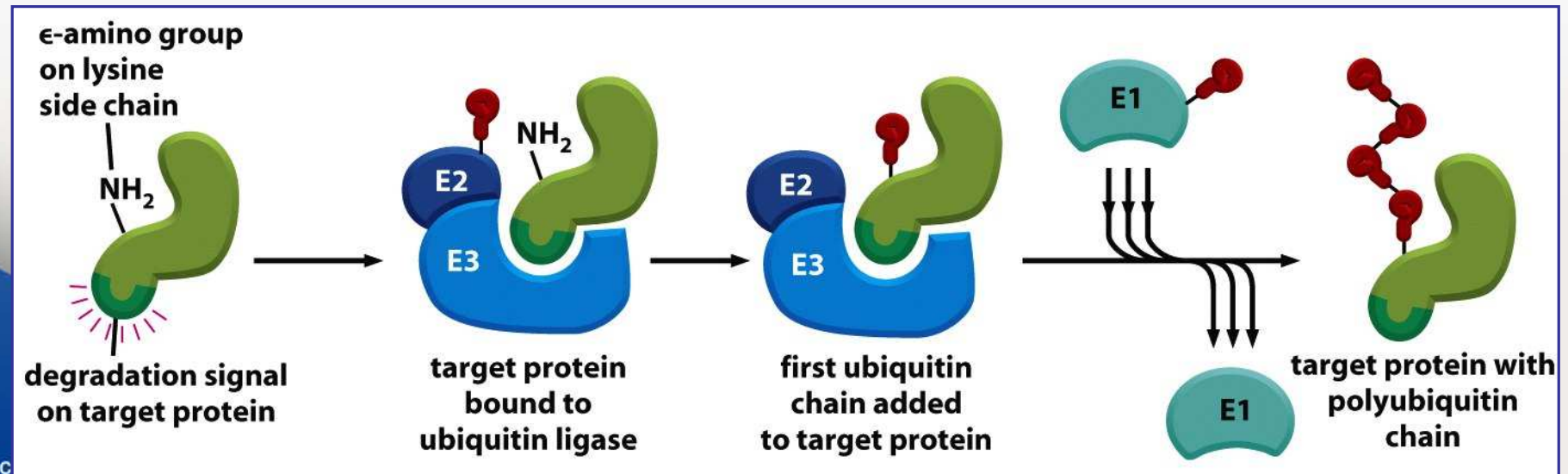
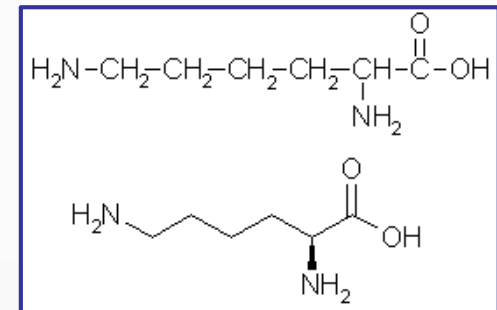
# Značení molekul ubikvitinem

- ubikvitin se přenáší z E1 na cystein ubikvitin-konjugujícího **enzymu E2**
- enzymy E2 fungují v komplexu s **enzymy E3**; tento komplex se označuje jako **ubikvitin-ligáza**



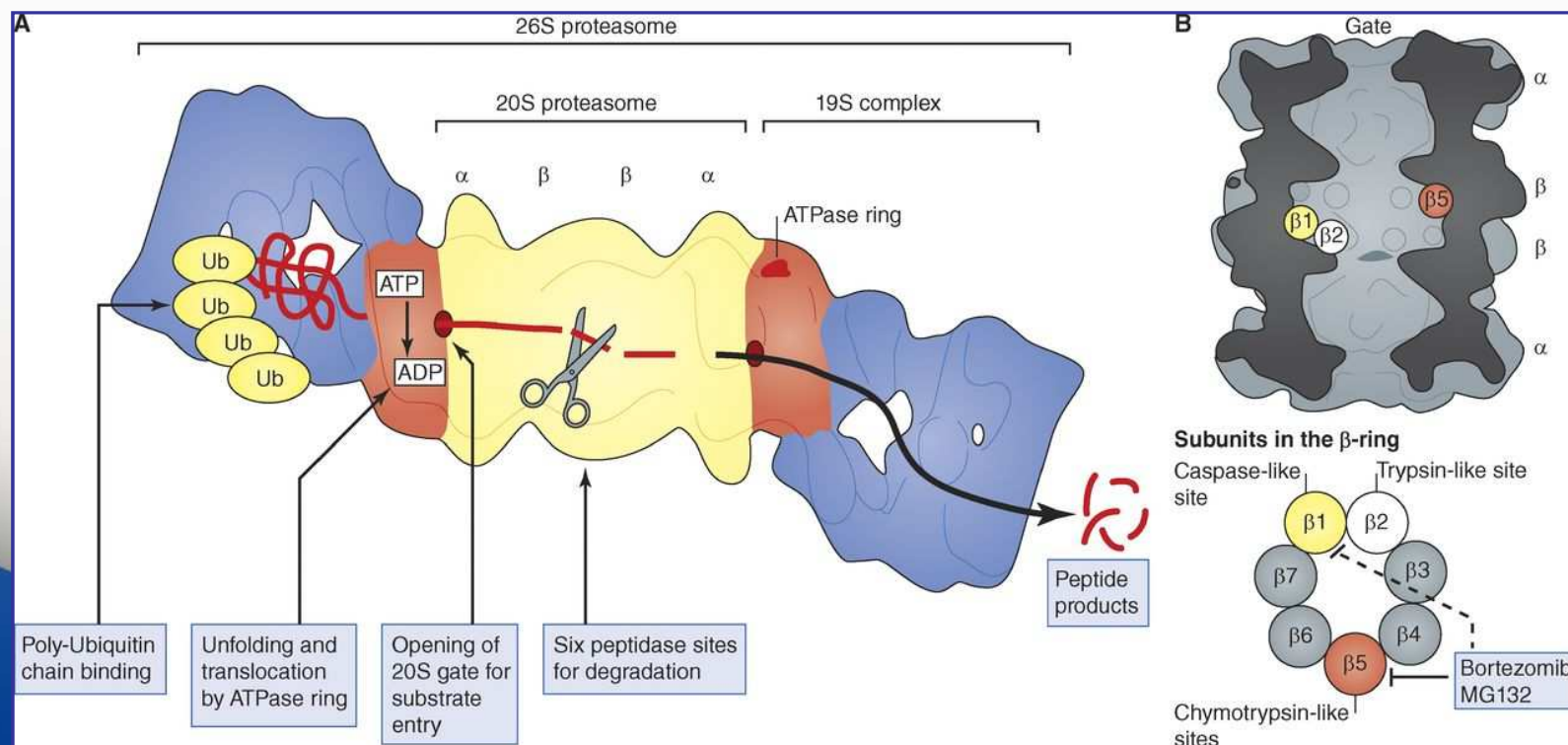
# Značení molekul ubikvitinem

- různé ubikvitin-ligázy rozeznávají určité degradační signály (tzv. **degrony**) na cílových proteinech prostřednictvím části E3 - rozeznání substrátu
- ubikvitin-ligázy pak zajišťují vlastní ubikvitinaci
- vznikají polyubikvitinové řetězce připojené k **lyzinu** cílového proteinu, resp. předchozího ubikvitinu



# Průběh degradace

- vazba poly-Ub označeného substrátu k Ub-receptorové podjednotce proteasomu
- odštěpení Ub izopeptidázami (deubikvitinázami) vázanými na poklop
- rozvinutí a translokace substrátu do válce proteazomu
- degradace substrátu na malé peptidy



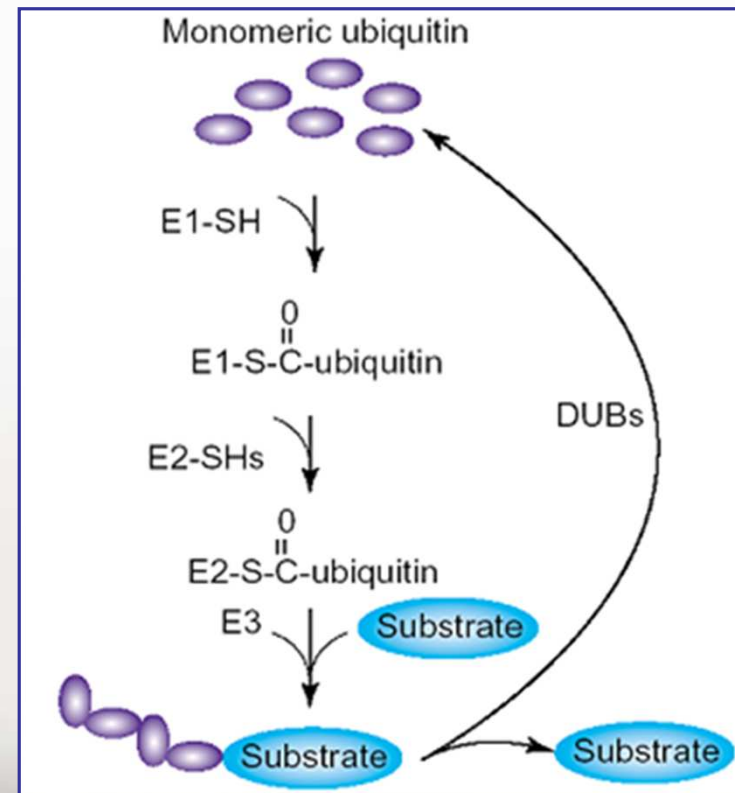
# Specifita proteasomového systému

- správný výběr substrátu zajišťují ubikvitinové ligázy
- u savců je popsáno cca 30 různých enzymů E2 a stovky proteinů E3
- různé komplexy reagují na specifické degradační signály (např. fosforylace, spojení s jinými proteiny, chybně složené proteiny, apod.)



# Ubikvitinace a deubikvitinace

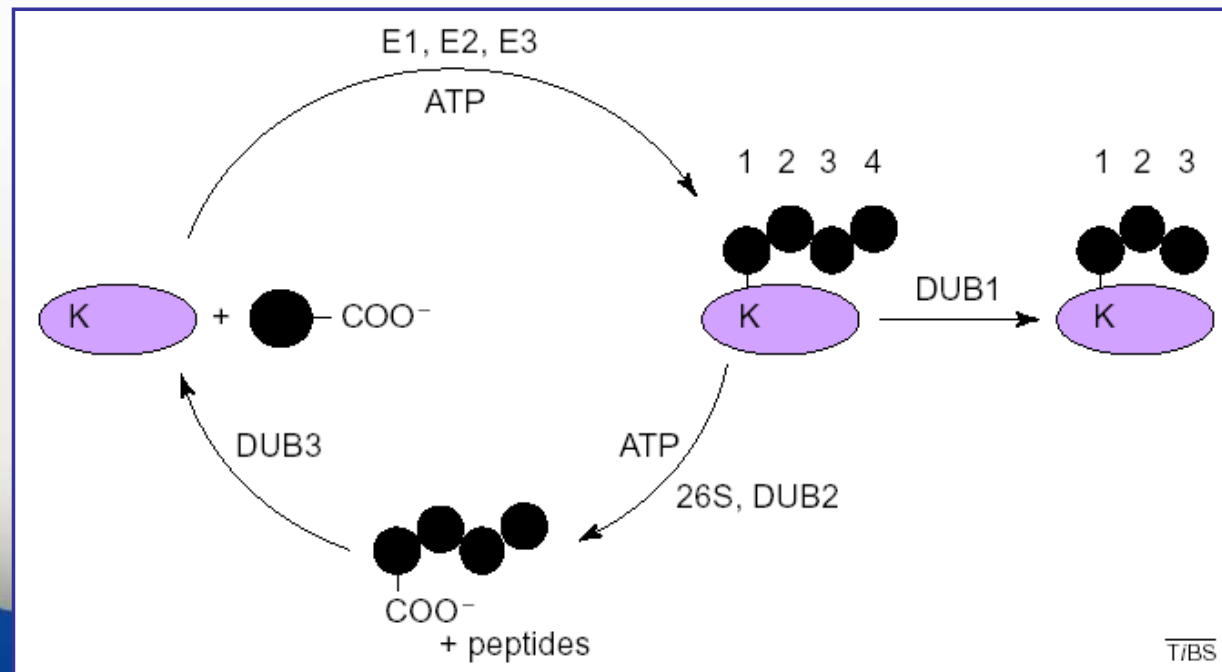
- tvorba thioesterové vazby mezi C-koncovým glycinem Ub a cysteinem v aktivním místě enzymu E1
- přímý přenos Ub z E1 na E2
- přenos Ub na lyzin substrátu
- **DUBs (deubikvitinační enzymy)** jsou cysteinové proteázy specificky štěpící konjugáty Ub – antagonizují E3



# Deubikvitinační enzymy

- DUB1: postupně odstraňuje molekuly ubikvitinu od vzdáleného konce řetězce
- DUB2: odštěpuje ubikvitinový řetězec od substrátu
- DUB3: destabilizuje neukotvené řetězce ubikvitinu

Význam: tvorba volného Ub (recyklace), odstranění Ub z cílových proteinů



T/BS

# Významné cíle proteasomové degradace

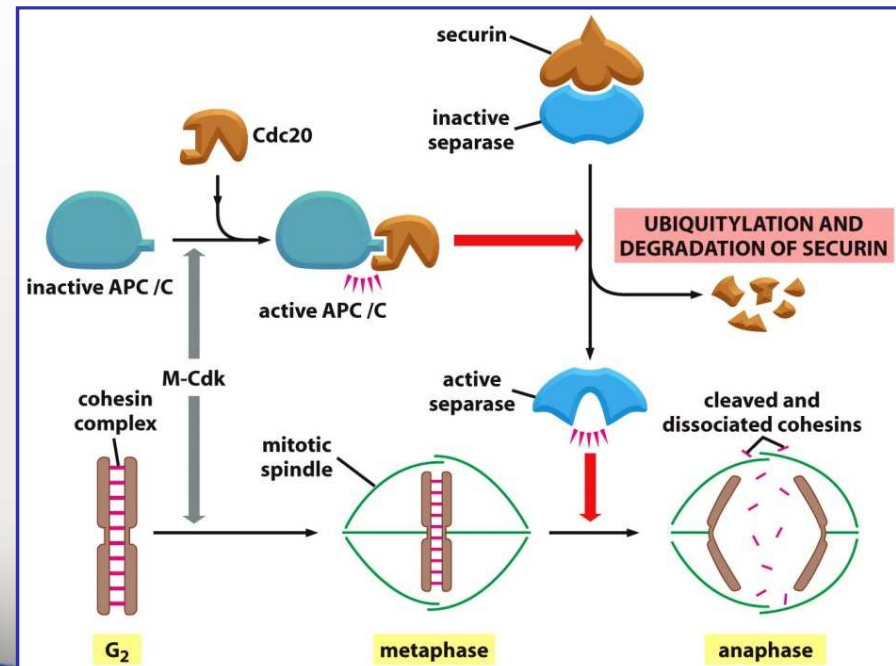
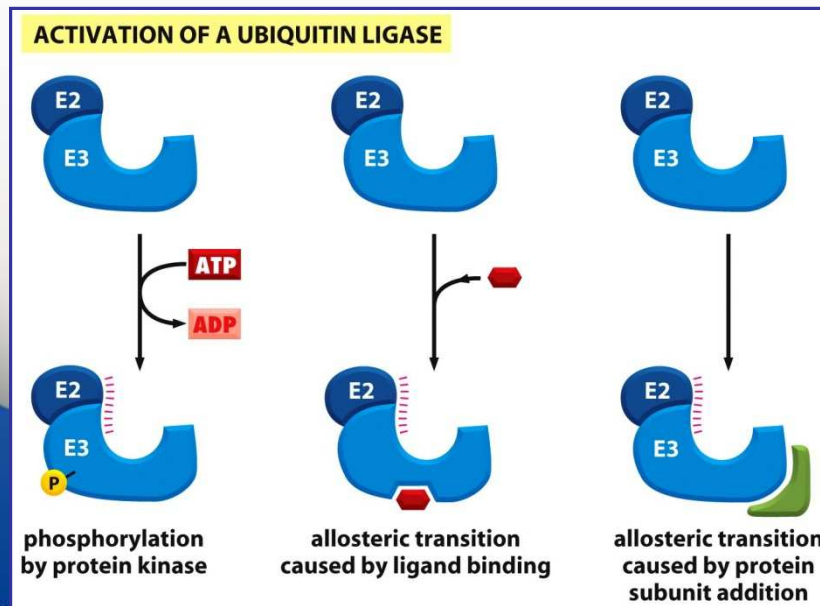
- regulátory buněčného cyklu a růstu
- složky buněčných signálních kaskád
- transkripční faktory
- enzymy zapojené do metabolických reakcí
- varianty proteinů vytvořené v důsledku mutace nebo defektní proteosyntézy
- antigeny hlavního histokompatibilitního komplexu třídy I
- ztráta funkce proteasomu je pro buňky letální

# Příklady řízené destrukce proteinů

- likvidace **špatně složených** nebo jinak abnormálních proteinů
- likvidace **normálních** proteinů, jejichž poločas rozpadu je z nějakého důvodu potřeba zkrátit (např. v souvislosti se změnou stavu buňky, buněčným cyklem, apod.)
- existují proteiny s přirozeně krátkým poločasem rozpadu, jiné se rychle rozkládají jen podmíněčně, jinak jsou stabilní
- např. některé cykliny – přirozeně stabilní v průběhu cyklu - se v určité fázi rychle rozkládají

# Mechanismy řízené destrukce proteinů

- **aktivace ubikvitin-ligázy** fosforylací podjednotky E3 nebo alosterickou aktivací pomocnou molekulou
- APC = ubikvitin-ligáza, která se aktivuje ve správné fázi buněčného cyklu přidáním aktivační podjednotky
- APC pak označí ubikvitinem securin



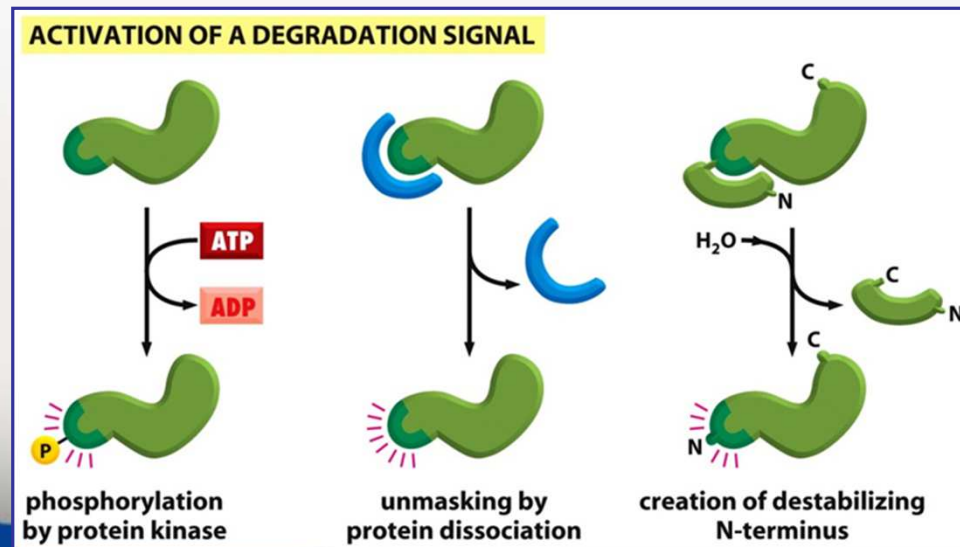


# Mechanisms řízené destrukce proteinů

- **modifikace substrátu**, která umožní jeho označení ubikvitinem
- signál z vnějšího nebo vnitřního prostoru buňky

typy modifikace:

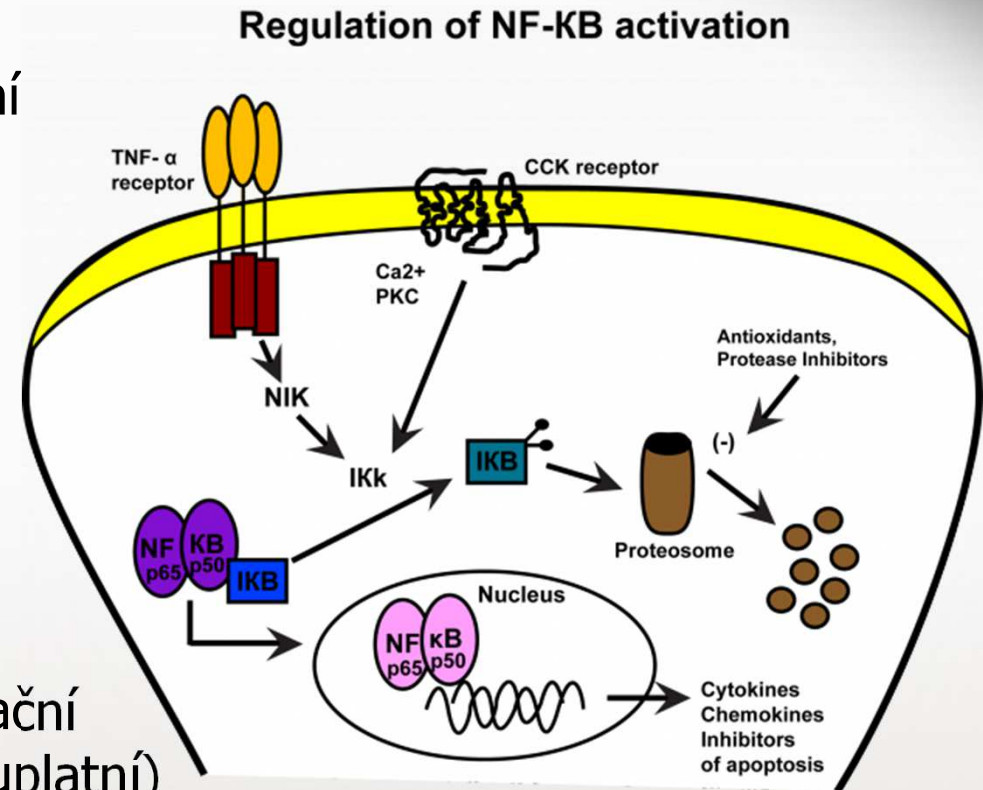
- fosforylace, která obnaží degradační signál, který je normálně ukryt uvnitř proteinu
- disociace proteinové podjednotky, která ukrývá degradační signál
- štěpení určité peptidové vazby za vzniku nové domény, která je rozeznána E3 jako nestabilní



# Řízená destrukce proteinů

## - NFκB/IκB

- NFκB (Rel) je důležitý transkripční faktor
- aktivace NFκB je podmíněna degradací inhibitoru IκB
- autoregulace: NFκB indukuje transkripci genu IκB
- hlavní funkce IκB: zabránění transportu NFκB do jádra vytvořením komplexu NFκB/IκB v cytoplasmě (transkripčně aktivační funkce NFκB se v cytoplasmě neuplatní)
- hladina IκB v buňce je určena mírou jeho degradace



# Aktivace NFκB

- signál zachycen na buněčném povrchu - aktivace IκB kináz (IKK)
- fosforylace IκB
- fosforylovaná molekula IκB je substrátem pro ubikvitinaci
- molekula IκB s navázaným polyubikvitinovým řetězcem je degradována proteazomem
- molekula NFκB zbavená IκB se translokuje do jádra a indukuje transkripci svých cílových genů
- molekula IκB opatřená SUMO-1 nepodléhá modifikaci ubikvitinem a nemůže být proto degradována: transkripce řízená NFκB zastavena

# SUMO-1

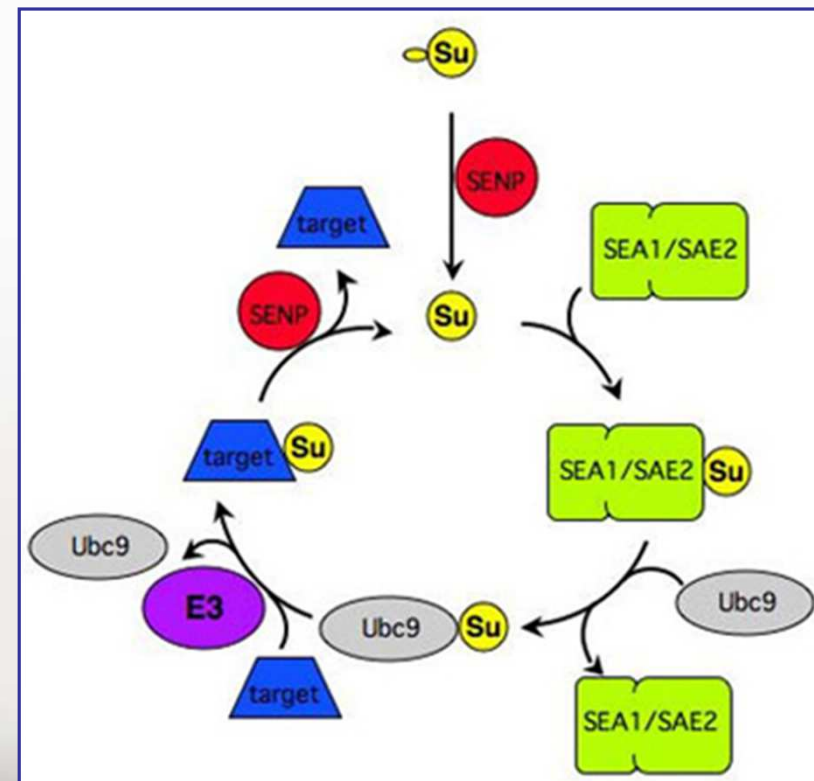
## (Small Ubiquitin-like Modifier)

- protein podobný ubikvitinu
- kovalentně se připojuje k buněčným proteinům
- připojení SUMO je posttranslační modifikace ovlivňující funkci daného proteinu (pozměňuje interakce protein-protein, nitrobuněčnou lokalizaci, stabilitu, atd.)
- substráty jsou:
  - regulátory nitrobuněčného transportu
  - regulátory transkripce
  - regulátory apoptózy
  - regulátory buněčného cyklu
  - regulátory stresové odpovědi



# Značení proteinem SUMO-1

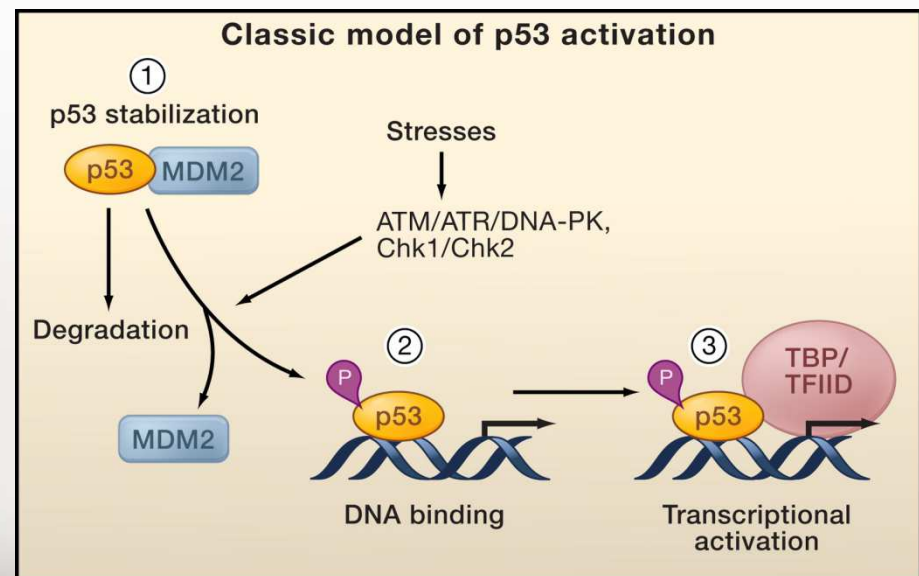
- pro značení substrátů používá podobnou dráhu jako ubikvitin
- aktivuje se proteázou SENP, která odštěpí několik aminokyselin z C-konce
- aktivovaná varianta SUMO-1 se připojuje k SAE (SUMO-activating enzyme) – ekvivalent E1
- ten jej přenáší na Ubc9 (ekvivalent E2)
- SUMO-1-Ubc9 rozeznává substrát: přenos SUMO-1 na cílový proteinu pomocí E3





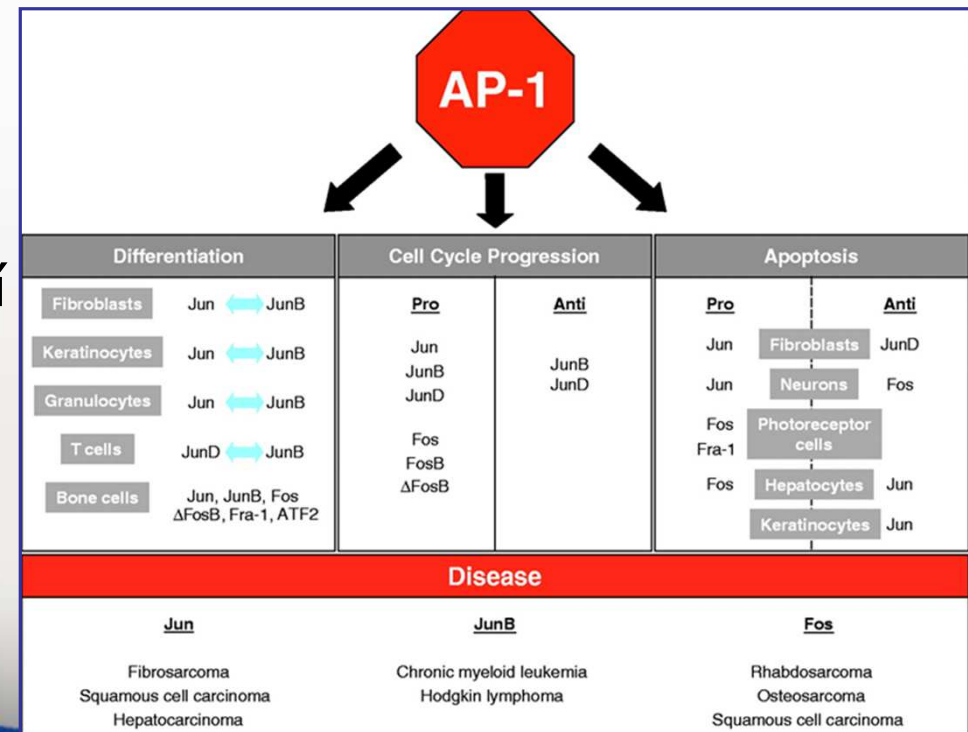
# Protein p53

- chrání genom před mutacemi
- transkripční faktor, který ovlivňuje buněčnou proliferaci, apoptózu
- hladina **p53** je řízena ubikvitinovou degradační drahou
- v normálních buňkách je p53 konstitutivně ubikvitinován ubikvitin ligázou **Mdm2** a průběžně odbouráván
- stresové signály aktivují p53 tím, že inhibují jeho degradaci



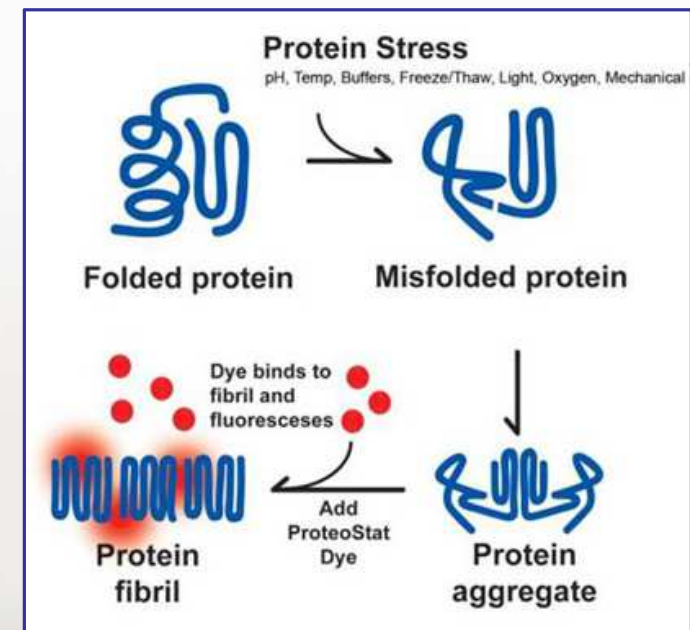
# AP-1 („activator protein 1“)

- transkripční faktor složený z dvojice členů proteinových rodin **Fos** a **Jun**
- zprostředkovává reakce na vnější signály zajištěním indukce exprese genů zapojených do řízení buněčného cyklu, diferenciaci a apoptózy
- hladiny proteinů Fos a Jun v buňce jsou určeny mírou degradace ubikvitinovou drahou
- existují onkoproteiny v-Jun a v-Fos, které postrádají domény podléhající modifikaci ubikvitinem - proteiny jsou mnohem stabilnější



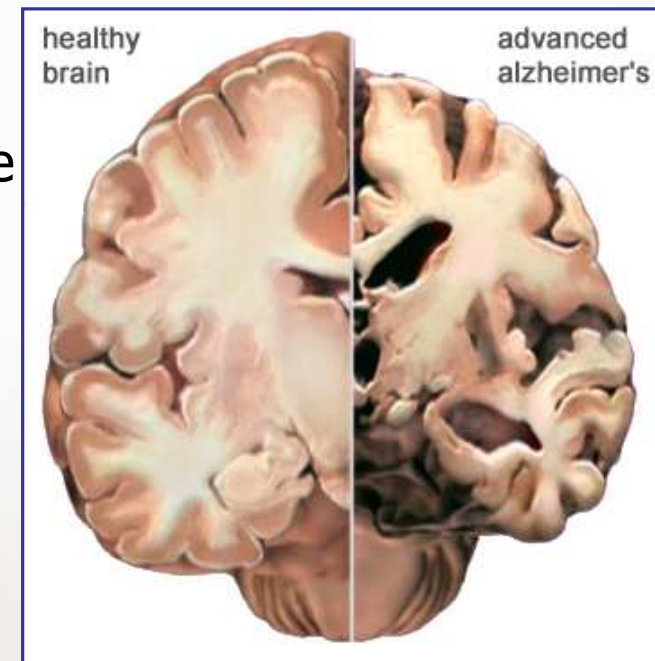
# Chybně složené proteiny jsou nebezpečné

- pokud uniknou buněčnému kontrolnímu systému mohou způsobit závažné choroby (např. srpkovitou anémii – záměna hydrofilní kyseliny glutamové za hydrofobní valin v molekule hemoglobinu)
- mutace způsobí chybné složení proteinu, který má kvůli obnaženým hydrofobním částem tendenci tvořit agregáty
- agregáty proteinů mohou buňky vážně poškodit nebo usmrtit
- závažná je i mutace jediné alely daného genu – normální alela nezabrání vzniku choroby, protože vznik agregátů nemůže odvrátit



# Nefunkční systém pro kontrolu kvality proteinů

- může být problém u stárnoucího organismu
- tolerance chybně složených proteinů,
- budou agregovat, získají odolnost k proteolýze
- agregáty mohou narušovat funkci buněk
- agregáty se z odumřelých buněk mohou uvolnit do extracelulární matrix a tam se hromadit, čímž danou tkáň poškozují
- nejnáchylnější je mozková tkáň
- agregáty proteinů jsou podstatným faktorem vzniku neurodegenerativních chorob



# Agregáty proteinů v mozku u neurodegenerativních chorob

- Alzheimerova choroba
- Parkinsonova choroba
- Huntingtonova choroba
  
- agregáty obvykle obsahují určitý protein, který zodpovídá za vznik choroby
- agregáty proteinů unikají rozkladu v proteazomu (ucpání?)

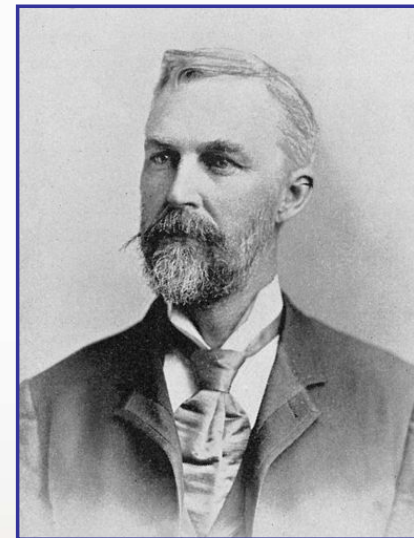


# Agregáty proteinů v mozku u neurodegenerativních chorob

<b>Typ choroby</b>	<b>dysfunkce</b>
Alzheimerova choroba	Zablokování funkce proteazomu abnormálními formami Ub
Huntingtonova choroba	Zablokování funkce proteazomu proteinem, které obsahuje expandované oblasti polyglutaminu
Familiální Parkinsonova choroba	Mutace vedoucí k ztrátě funkce ubikvitin ligázy E3

# HUNTINGTONOVA CHOROBA

- důsledek expanze CAG (kodón kódující glutamin) v genu kódujícím Huntingtin
- mutantní Huntingtin obsahující abnormálně dlouhý polyglutaminový úsek je náchylný k vzájemným agregacím
- agregáty poškozují mozkovou tkáň
- degradace agregátů proteasomem je významně snížena



George Huntington  
(1850-1916)

# PARKINSONOVA CHOROBA

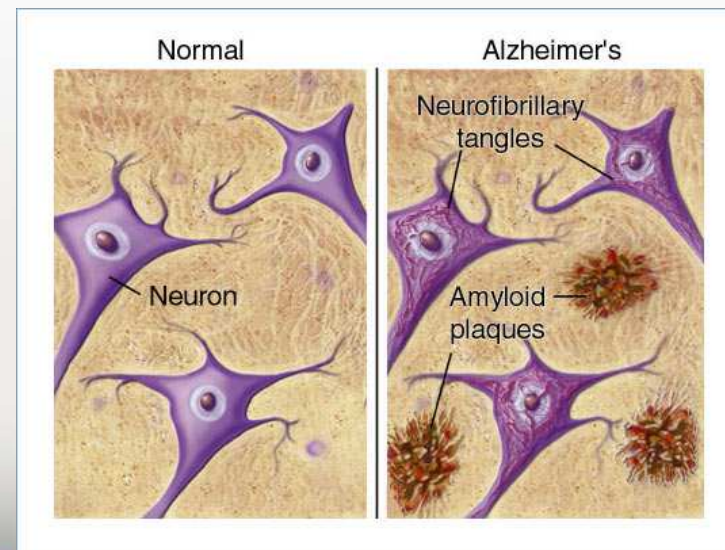
- neurony v mozku pacientů často obsahují inkluzní – tzv. Lewyho tělíska
- Lewyho tělíska obsahují agregáty proteinu  **$\alpha$ -synukleinu**
- $\alpha$ -synuklein se podílí na přenosu signálů mezi neurony
- příčinou akumulace  $\alpha$ -synukleinu je zřejmě mutace v genu kódujícím E3 ubikvitin ligázu, která zodpovídá za ubikvitinaci  $\alpha$ -synukleinu



James Parkinson  
(1755-1824)

# Amyloidní plaky v postižené tkáni

- agregáty jsou nebezpečné v okamžiku, kdy se stanou odolnými k proteolýze
- problematické agregáty často tvoří fibrily, které se skládají ve vrstvách na sebe a tvoří velké sloupce  $\beta$ -struktur – tzv. **křížová beta-filamenta**
- abnormálně složené proteiny různého typu tvoří obdobnou strukturu
- je velmi rezistentní k proteolýze
- často přítomny u různých neurologických chorob
- lze identifikovat barvením jako tzv. **amyloidní plaky**



# Prionové choroby

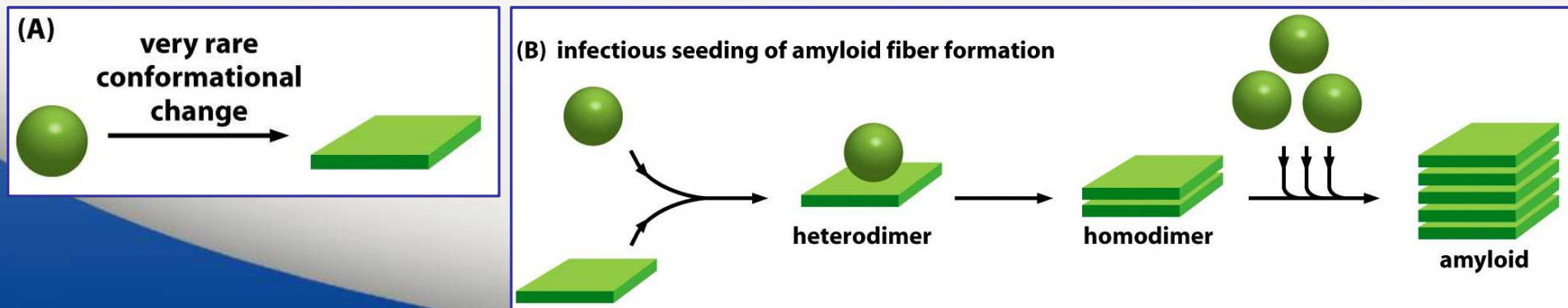
- na rozdíl od Huntingtonovy nebo Alzheimerovy nemoci jsou prionové choroby infekční
- podstatou šíření je to, že jeden organismus s potravou přijme tkáň obsahující proteinový agregát
- chybně složený a agregovaný prionový protein **PrP** způsobuje chorobu zvanou **skrapie** (u ovcí), hovězí spongiformní encefalopatie – **BSE** (u krav) a **Creutzfeldt – Jacobova** nemoc (u člověka)





# Protein Prp

- normálně umístěn na vnějším povrchu plazmatické membrány, především u neuronů
- funkce neznámá, patrně zapojen do transportu měďnatých iontů
- nebezpečná vlastnost proteinu: může se vyskytovat ve velmi specifické – patologické konformaci, která proteinu PrP umožňuje odolnost k proteázám
- umožní tvorbu křížových beta-filament
- umožní pozměnit do této konformace i normální proteiny (je „infekční“)

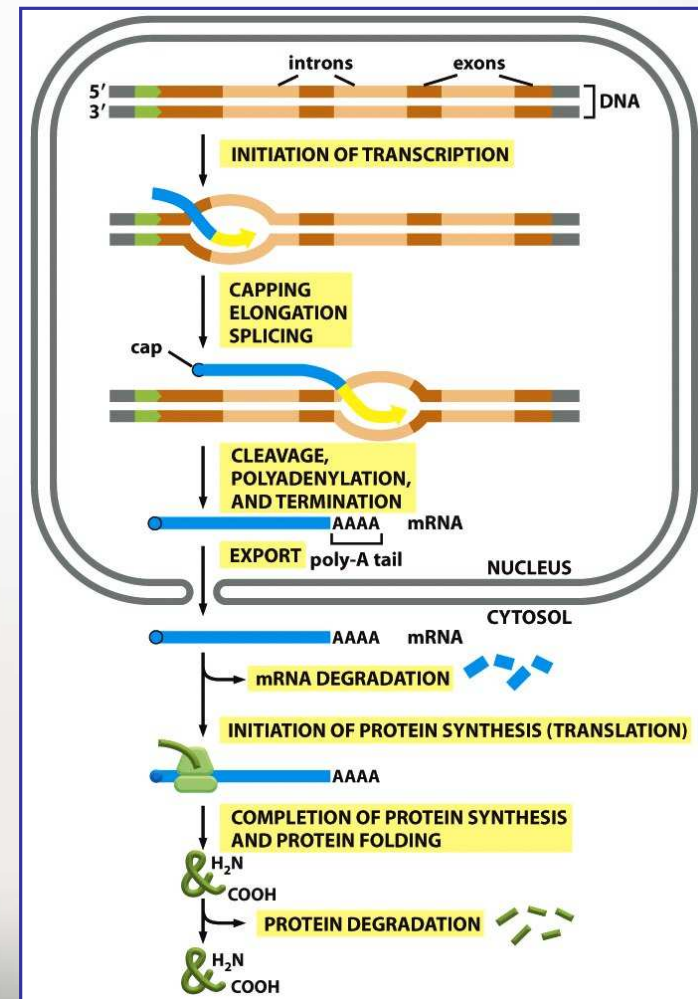


# Protein Prp\*

- patologická varianta prionového proteinu
- rychle se šíří z buňky do buňky v mozku
- způsobuje smrt u zvířat i člověka
- může být nebezpečné jíst tkáň nemocných zvířat

# Skládání a degradace proteinů – závěr cesty od genu k proteinu

konečná hladina řádně složeného proteinu v buňce závisí na účinnosti každého z kroků genové exprese



# Souhrn

- stabilita proteinů ovlivňuje jejich aktuální hladinu v buňce stejně jako účinnost jejich syntézy
- rozklad proteinů zajišťují lysozomy a proteazomy
- proteazomová degradace postihuje substráty značené polyubikvitinovým řetězcem
- poruchy rozkladu proteinů mohou mít vážné důsledky
- nežádoucí proteiny odolné k proteolýze mohou agregovat a narušovat funkci tkání nebo se dokonce šířit do druhých organismů

<http://fof.wz.cz/madcow.htm>