



Structura și metabolismul macromoleculelor informaționale

10.01.2025 - 16.01. 2025

Metabolismul proteinelor

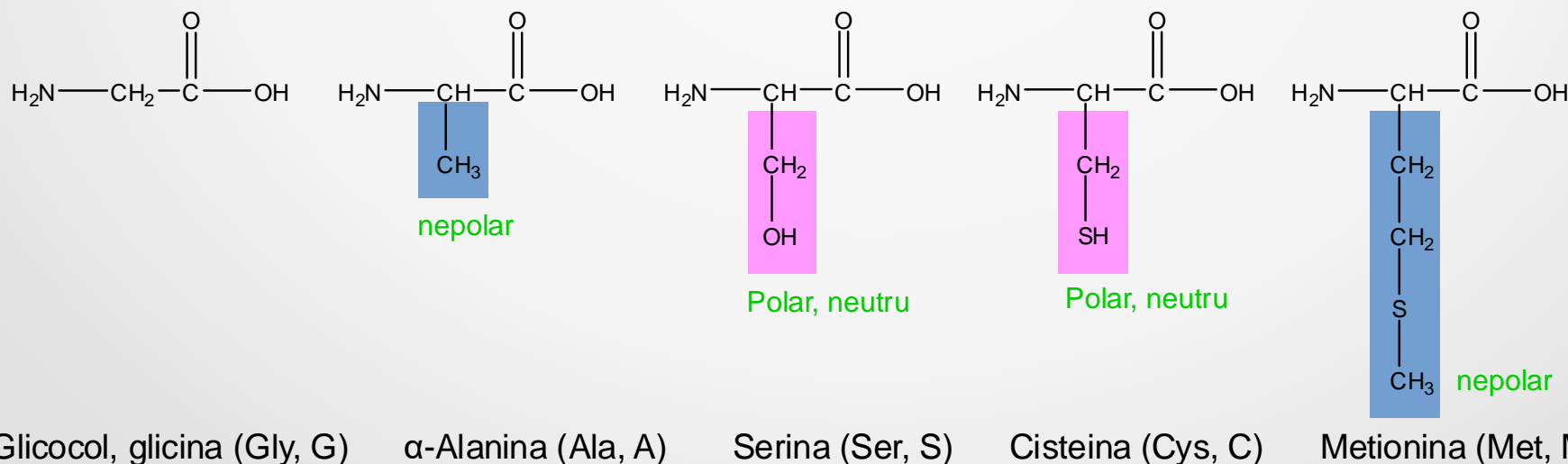
Proteine – Aminoacizi - Generalități

Principalele roluri :

- 1)cataliza biologică – enzimele – proteine globulare ce catalizează în mod specific anumite reacții Ex: alcool-dehidrogenaza – dehidrogenarea alcoolului etilic în aldehydă acetică
- 2)apărare – anticorpii (imunoglobulinele) – proteine globulare ce recunosc potențialii agenți patogeni
- 3)transport – proteine globulare ce vehiculează molecule sau ioni în organism sau în celule – hemoglobina
- 4)structural – proteine fibrilare – cheratina din păr, colagenul din piele, ligamente
- 5)mișcare – proteinele fibrilare actina și miozina ce transformă energia chimică în mișcare
- 6)reglare – proteine de dimensiuni mici ce funcționează ca mesageri intercelulari

Proteinele sunt **polimeri** rezultați în urma condensării unui număr mare de **L-aminoacizi** uniți prin **legături peptidice**.
Toate proteinele conțin **20-22 aminoacizi naturali** ce fac parte din **seria L** și au **gruparea amino în poziția α**.

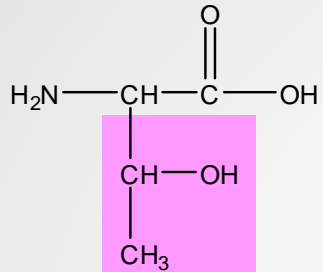
Aminoacizi alifatici:



Tipuri, clasificarea și notarea aminacizilor!!!!

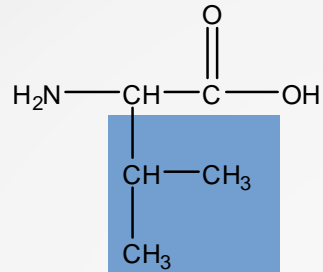
Proteine – Aminoacizi - Generalități

Aminoacizi alifatici:



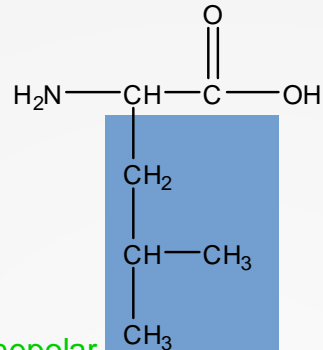
Polar, neutru

Treonina (Thr, T)



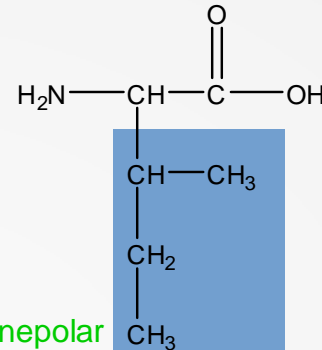
nepolar

Valina (Val, V)



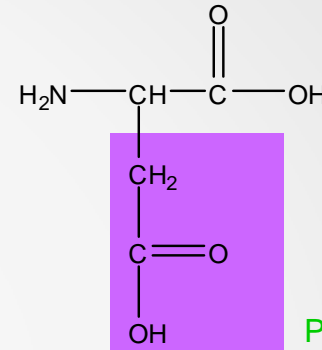
nepolar

Leucina (Leu, L)



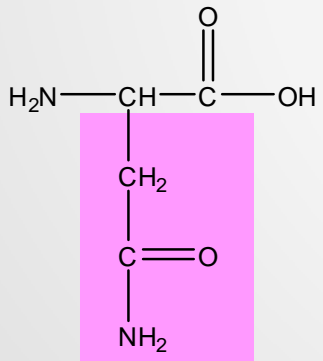
nepolar

Izoleucina (Ile, I)



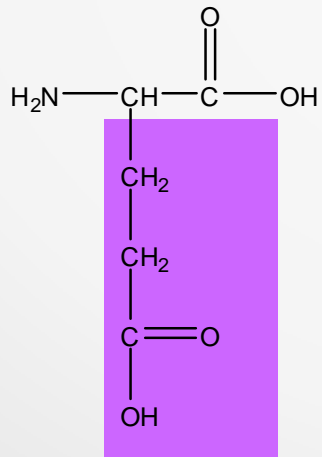
Polar, negativ

Acid aspartic (Asp, D)



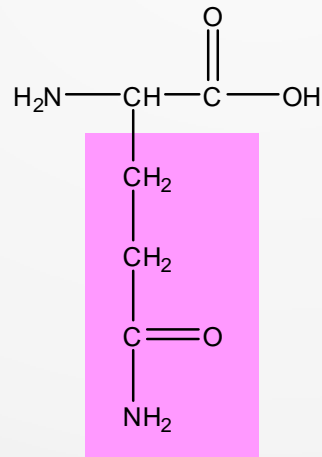
Polar, neutru

Asparagina (Asn, N)



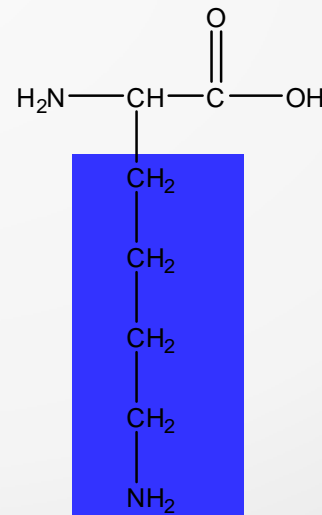
Polar, negativ

Acid glutamic (Glu, E)



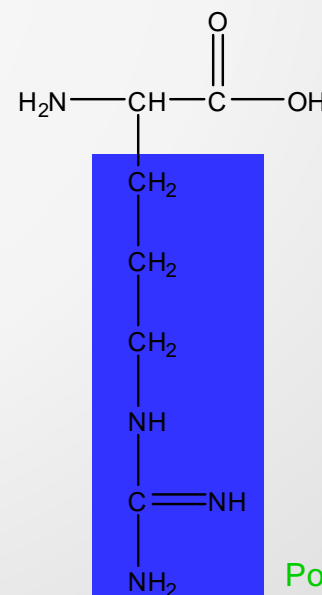
Polar, neutru

Glutamina (Gln, Q)



Polar, pozitiv

Lizina (Lys, K)

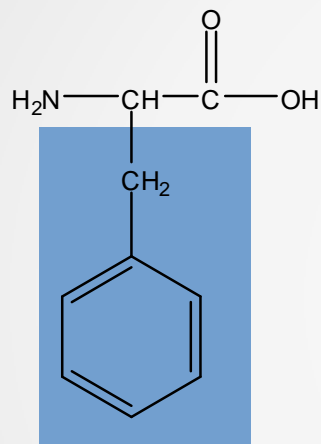


Polar, pozitiv

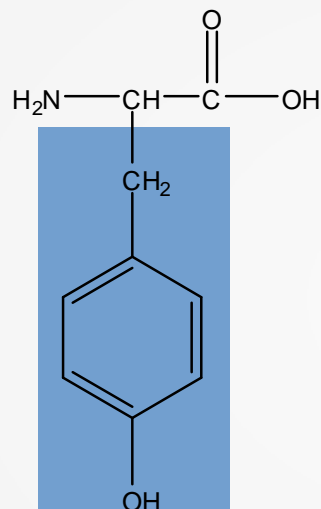
Arginina (Arg, R)

Proteine – Aminoacizi - Generalități

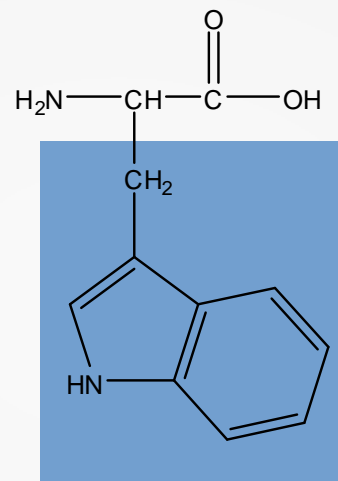
Aminoacizi ciclici



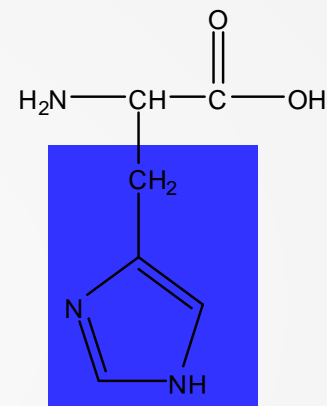
Fenilalanina (Phe, P)



Tirozina (Tyr, Y)

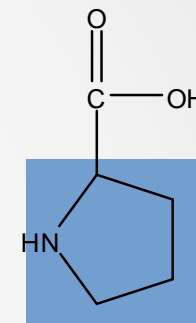


Triptofan (Trp, W)



Polar, pozitiv

Histidina (His, H)

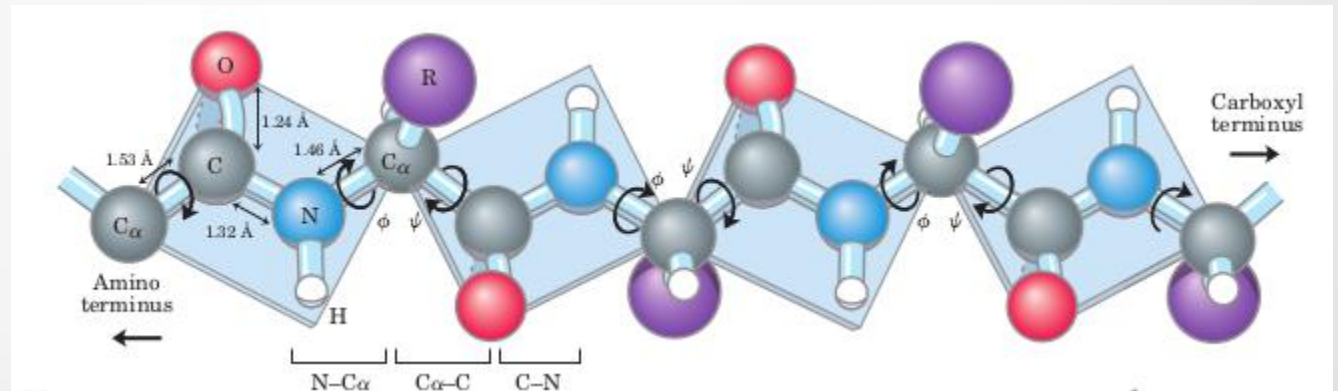
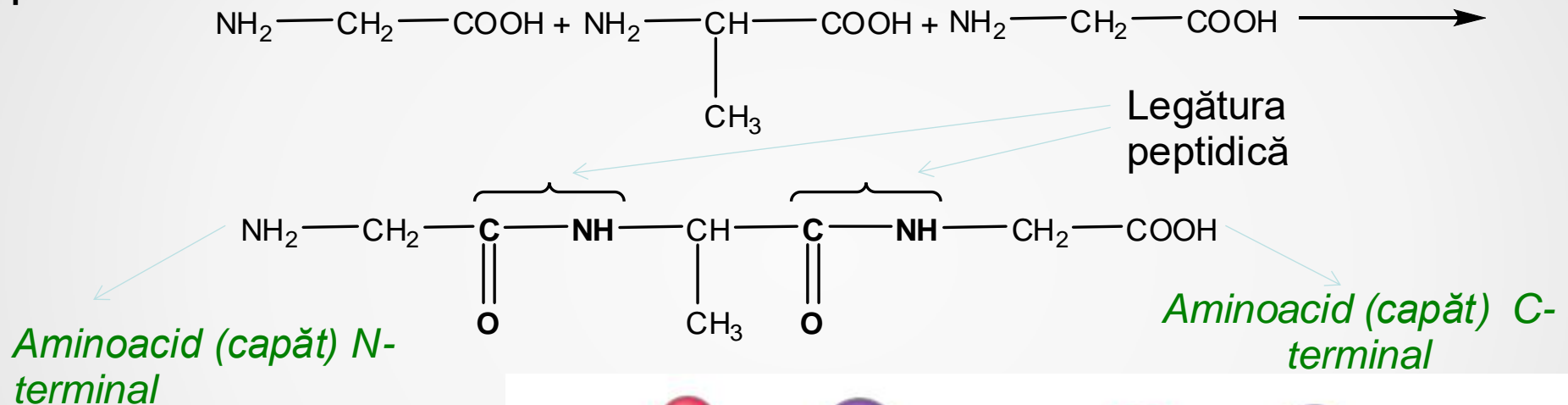


nepolar

Prolina (Pro, P)

Structura proteinelor

1. O proteină poate conține una sau mai multe catene de aminoacizi – **catenă polipeptidică (polipeptidă)**. Fiecare polipeptidă are un capăt **C-terminal** și unul **N-terminal**, legăturile dintre resturile de aminoacizi fiind **legături peptidice**.



Electronii π ai dublei legături C=O intră în rezonanță cu atomul de N și legătura peptidică capătă caracter parțial de dublă legătură. Atomul de C și N legați prin legătura peptidică nu se mai pot roti liberi unul față de celălalt, astfel încât toți atomii grupării peptidice devin co-planari. Catenă peptidică poate fi văzută astfel ca un sir de planuri rigide, ce se pot roti între ele la nivelul legăturilor N-C_α și C_α-C. Unghiurile de rotație au fost notate ϕ (phi) și ψ (psi).

Proteine - structură

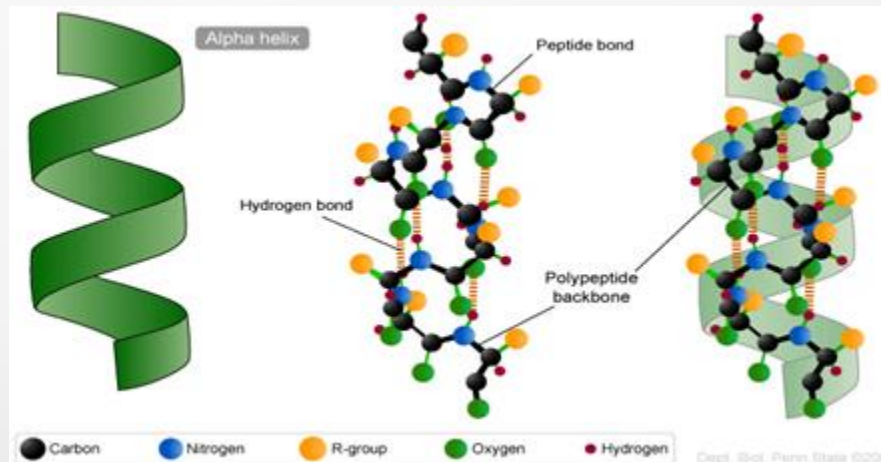
2. catenele polipeptidice sunt împachetate în **conformații tridimensionale specifice**. Forma tridimensională a unei proteine dictează funcția acesteia. În general, pliarea unei proteine în forma tridimensională specifică se realizează spontan, pe baza principiilor de minimizare a energiei—aminoacizii nepolari hidrofobi în interior, iar cei polari la exterior. Plierea corectă a proteinelor este însă controlată enzimatic și corectată atunci când este cazul de către proteinele **chaperone**.

3. există 3 **nivele** de organizare a structurii proteinelor:

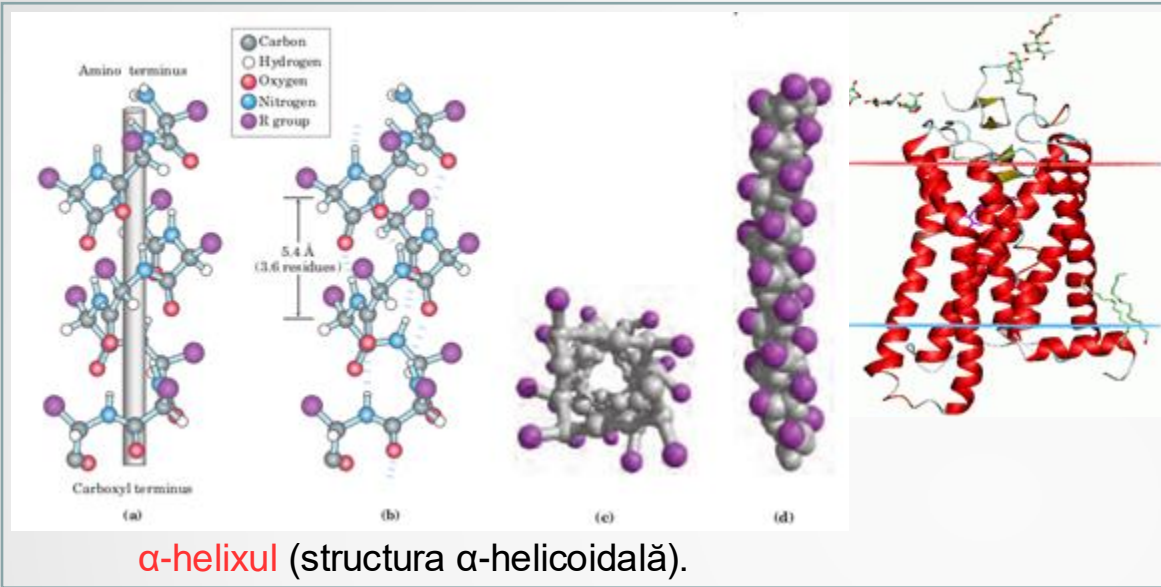
A. Structura primară - este dată de numărul, natura și succesiunea resturilor de aminoacizi.

```
1   vlspadktnv kaawgkvgah ageygaeale rmflsfpttk tyfphfdlsh gsaqvkgghgk
61  kvadaltnav ahvddmpnal salsdlhahk lrvdpvnfkl lshcllvvla ahlpaeftpa
121 vhasldkfla svstvltsky r
```

B. Structura secundară - este dată de orientarea spațială a catenei polipeptidice. Caracterul parțial de dublă legătură al legăturii peptidice și legăturile de H dintre $-COOH$ și $-NH_2$ favorizează apariția unor structuri spațiale specifice: **α -helix și β -pliate**



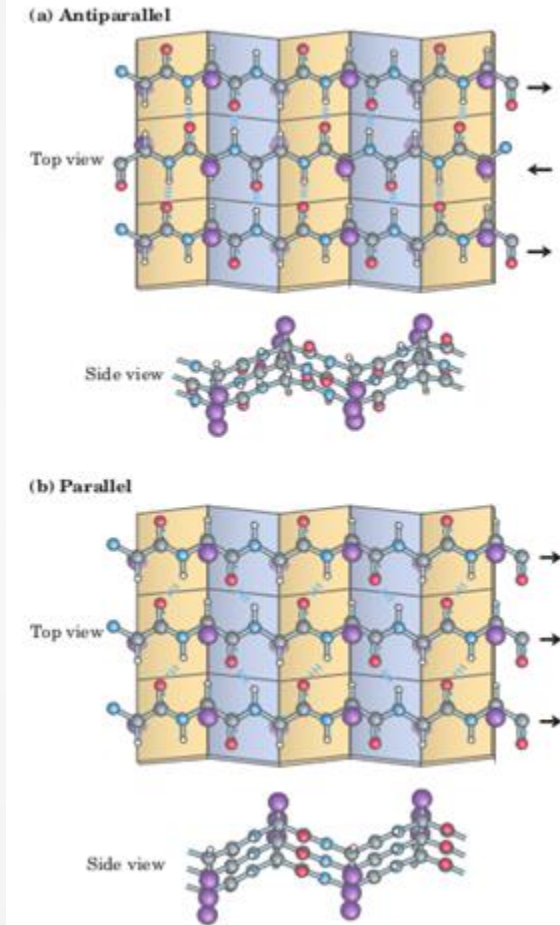
Proteine - structură



Linus Pauling, Robert Corey și Herman Branson în 1951



Motive – (structuri supersecundare) elementele structurii secundare se pot combina în mod specific, rezultând **motive proteice** deosebit de stabile și foarte frecvent întâlnite în structurile proteice. Ex: **motivul $\beta\alpha\beta$** ce creează așa numitul **Rosman-fold** ce leagă nucleotide.



structura β -pliată

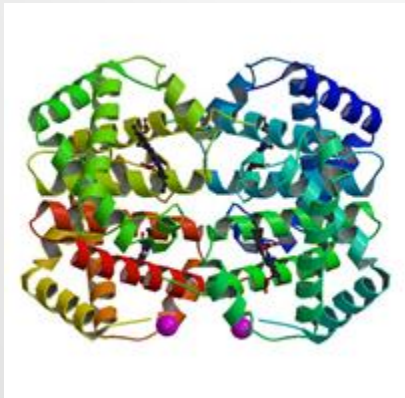


Proteine - structură

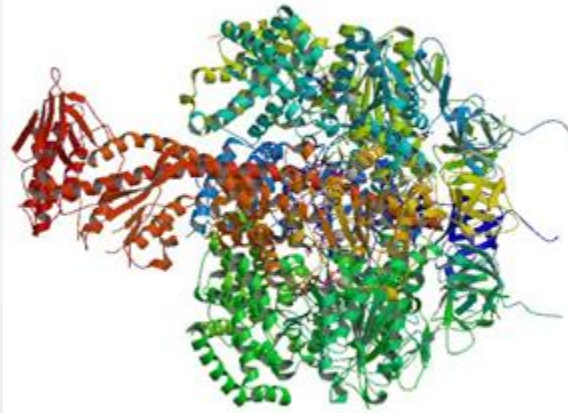
D. Structura terțiară – aranjarea, replierea și înfășurarea segmentelor α -helicoidale și β -pliate într-o organizare spațială complexă sub formă de ghem sau globulă.

Domenii – unități structurale independente din cadrul aceleiași catene polipeptidice cu formă și funcție specifică. O catenă polipeptidică poate conține mai multe domenii.

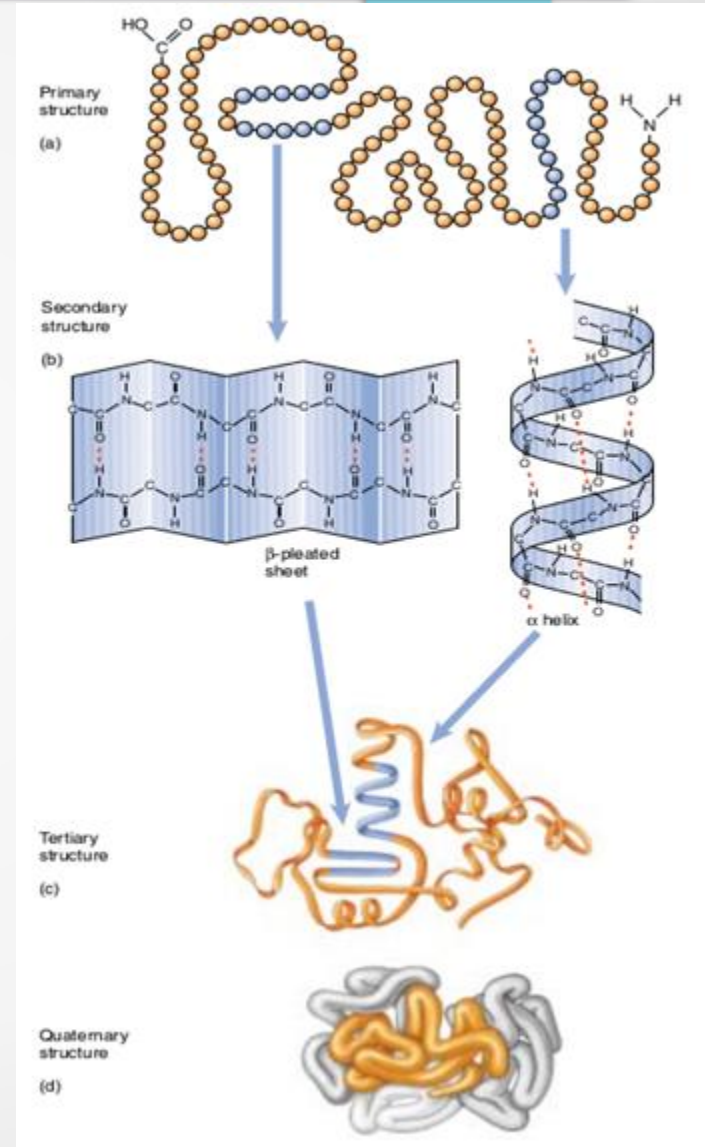
F. Structura cuaternară – este specifică numai anumitor proteine și reprezintă nivelul de organizare structurală cel mai înalt. Este rezultatul asocierii a două sau mai multe catene polipeptidice numite **protomeri**, fiecare cu structura sa primară, secundară și terțiară într-un conglomerat spațial complex.



Hemoglobina



ATP-sintaza



RSCB PDB

Bază de date cu structuri proteice disponibilă la adresa:

<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

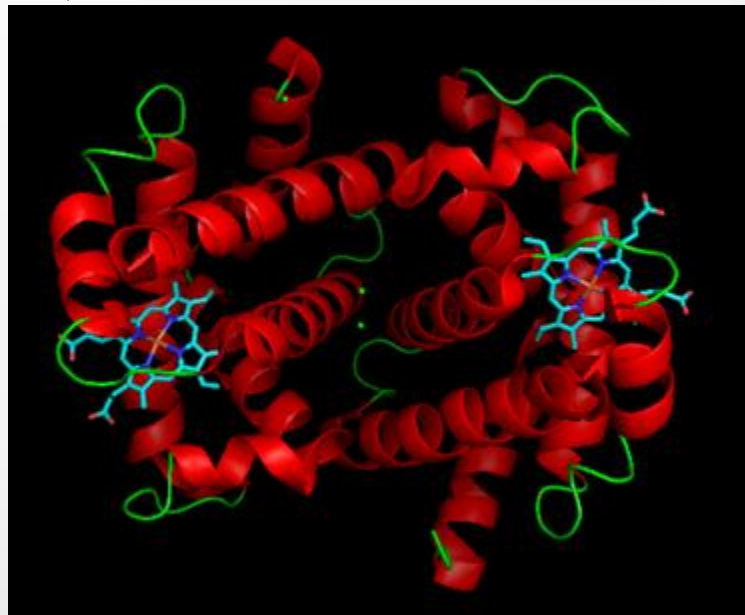
Peste 159000 de structuri proteice, pentru fiecare proteină fiind prezentate:

1. **un cod de identificare unic (PDBID) alcătuit din 4 litere**
2. referința bibliografică unde a fost descrisă acea structură
3. data la care structura a fost publicată în PDB
4. metoda prin care a fost stabilită structura: difracție cu raze X, NMR sau microscopie electronică
5. numărul de aminoacizi și eventualii leiganzi non-proteici (cofactor, metale, etc)
6. **un fișier .pdb** care conține pozițiile în spațiu a tuturor atomilor din structura moleculei

Hemoglobina - PDBID 2DHB

```
ATOM      1  N   VAL A   1       7.744 19.404  6.879  1.00  0.00      N
ATOM      2  CA  VAL A   1       7.616 19.012  5.452  1.00  0.00      C
ATOM      3  C   VAL A   1       9.076 18.660  5.064  1.00  0.00      C
ATOM      4  O   VAL A   1       9.526 17.555  5.442  1.00  0.00      O
ATOM      5  CB  VAL A   1       6.895 20.047  4.503  1.00  0.00      C
ATOM      6  CG1 VAL A   1       6.250 19.382  3.284  1.00  0.00      C
ATOM      7  CG2 VAL A   1       5.879 21.001  5.149  1.00  0.00      C
ATOM      8  N   LEU A   2       9.832 19.736  4.849  1.00  0.00      N
ATOM      9  CA  LEU A   2      11.285 19.835  4.679  1.00  0.00      C
ATOM     10  C   LEU A   2      11.762 21.045  5.487  1.00  0.00      C
ATOM     11  O   LEU A   2      11.194 22.153  5.350  1.00  0.00      O
ATOM     12  CB  LEU A   2      11.749 19.807  3.199  1.00  0.00      C
ATOM     13  CG  LEU A   2      12.143 18.420  2.616  1.00  0.00      C
ATOM     14  CD1 LEU A   2      11.169 17.261  2.832  1.00  0.00      C
ATOM     15  CD2 LEU A   2      12.482 18.507  1.135  1.00  0.00      C
ATOM     16  N   SER A   3      12.387 20.667  6.601  1.00  0.00      N
ATOM     17  CA  SER A   3      13.208 21.544  7.483  1.00  0.00      C
ATOM     18  C   SER A   3      14.478 22.011  6.720  1.00  0.00      C
ATOM     19  O   SER A   3      14.668 21.521  5.581  1.00  0.00      O
ATOM     20  CB  SER A   3      13.548 20.738  8.754  1.00  0.00      C
ATOM     21  OG  SER A   3      13.995 19.349  8.484  1.00  0.00      O
ATOM     22  N   ALA A   4      14.985 23.194  7.087  1.00  0.00      N
ATOM     23  CA  ALA A   4      16.300 23.755  6.593  1.00  0.00      C
ATOM     24  C   ALA A   4      17.406 22.670  6.385  1.00  0.00      C
ATOM     25  O   ALA A   4      17.502 22.226  5.219  1.00  0.00      O
ATOM     26  CB  ALA A   4      16.793 24.985  7.485  1.00  0.00      C
ATOM     27  N   ALA A   5      17.414 21.865  7.449  1.00  0.00      N
ATOM     28  CA  ALA A   5      18.113 20.600  7.772  1.00  0.00      C
ATOM     29  C   ALA A   5      17.788 19.415  6.824  1.00  0.00      C
ATOM     30  O   ALA A   5      18.502 18.389  6.854  1.00  0.00      O
ATOM     31  CB  ALA A   5      17.678 20.260  9.204  1.00  0.00      C
ATOM     32  N   ASP A   6      16.577 19.491  6.261  1.00  0.00      N
ATOM     33  CA  ASP A   6      16.023 18.620  5.203  1.00  0.00      C
ATOM     34  C   ASP A   6      16.425 18.938  3.778  1.00  0.00      C
ATOM     35  O   ASP A   6      17.476 18.335  3.472  1.00  0.00      O
```

Fișierul 2DHB vizualizat în pyMol



Proteine - structură

Polipeptidele cu câteva sute de aminoacizi se pliază frecvent în unități globulare, stabile, numite **domenii**. În multe cazuri un domeniu ce face parte dintr-o proteină mai mare își va păstra structura chiar dacă este separat de proteină prin procese proteolitice.

Clasificarea proteinelor funcție de structură – baza de date SCOP

The Structural Classification of Proteins (SCOP)

<http://scop.mrc-lmb.cam.ac.uk/scop>

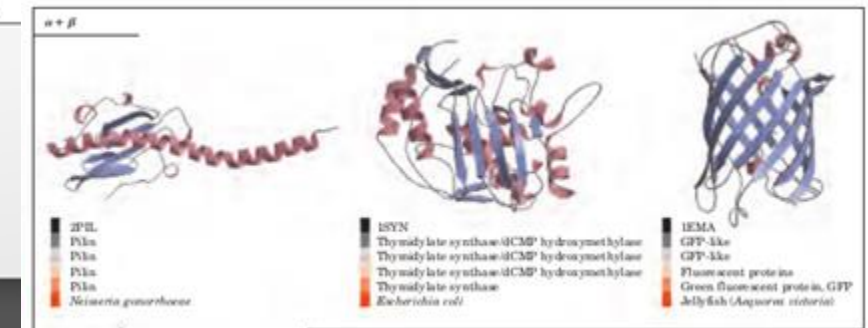
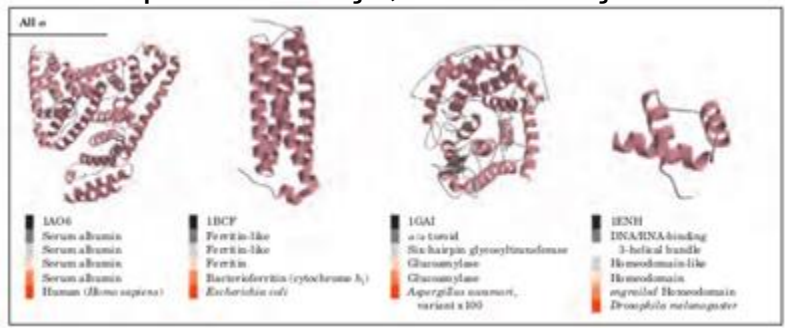
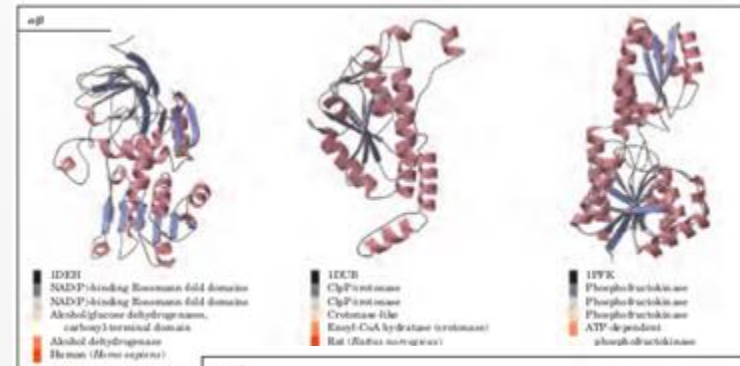
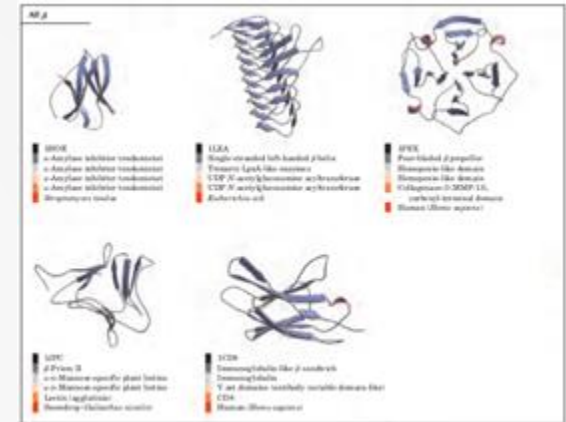
În SCOP, structurile proteinelor sunt organizate ierarhic în:

.Clasă – cuprinde proteine ce au preponderent unul, două sau toate tipurile de structuri secundare

.Motiv

.Familie – cuprinde proteine apropiate d.p.v. evolutiv ce au secvențe și structuri 3D similare și îndeplinesc funcții apropiate;

.Superfamilie – cuprinde familii de proteine ce nu sunt asemănătoare dpv al secvenței, dar au funcții similare



Metabolismul proteinelor A. Sinteza

Sinteza proteinelor se realizează în cursul procesului de **traducere a** mesajului transcris ca ARNm într-o catenă de aminoacizi, proces ce se realizează în **ribozomi** cu participarea **ARNt**.

ARNt :

- tip specific de ARN codificat de molecula de ADN dar care nu este tradus în aminoacizi
- are rolul de a transporta și poziționa aminoacizi în viitoarea catenă.
- au fost descrise 45 de tipuri diferite de ARNt ce au aceeași formă tri-lobară dar care diferă unul de celălalt prin:
 - o secvență specifică de trei nucleotide amplasată pe cea de-a doua buclă – secvență numită **anticodon**. Fiecare tip de ARNt conține un alt anticodon ce este complementar cu un codon.
 - afinitatea față de aminoacizi – fiecare tip de ARNt are capacitatea de a se cupla cu un aminoacid specific, funcție de anti-codonul de pe cea de-a doua buclă.

Ribozomul:

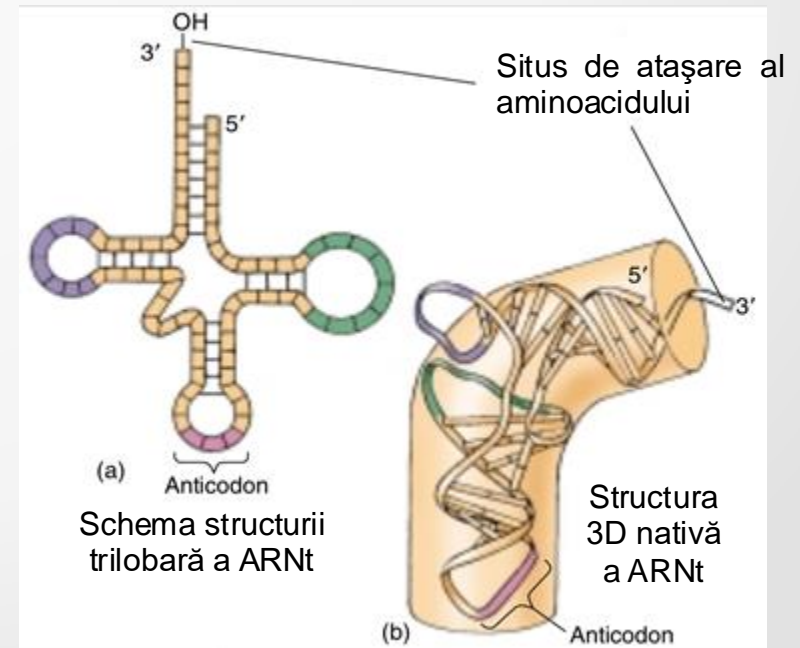
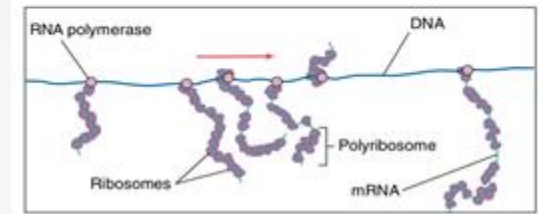
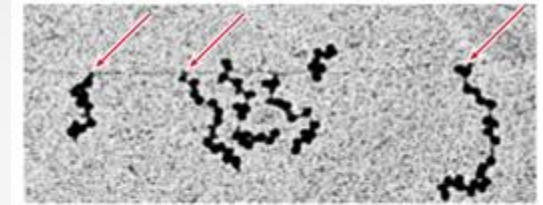
Care este structura ribozomului? Ce conține ribozomul?

La nivelul ribozomului au fost descrise 3 situs-uri funcționale:

Situs P – (peptidil) – are loc formarea legăturii peptidice

Situs A – (aminoacil) – legarea moleculelor de ARNt cu aminoacizi

Situs E – (exit) – situs-ul pe unde ARNt fără aminoacizi părăsește ribozomul



Codul genetic

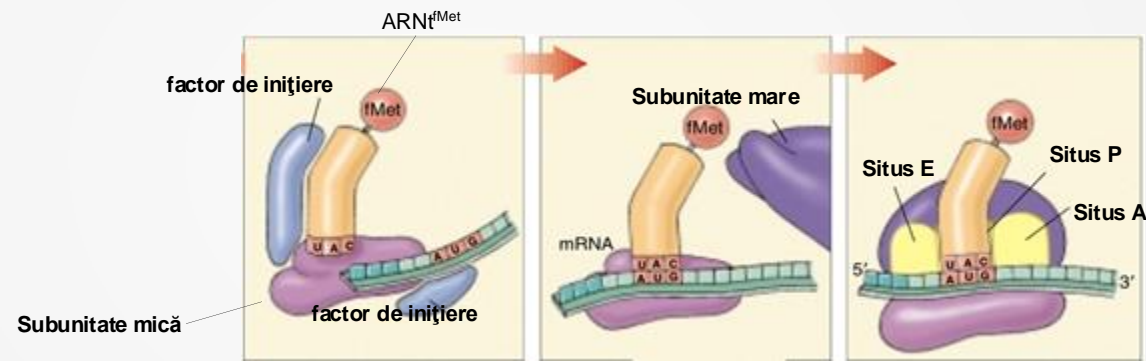
Traducerea informației din ADN/ARNm (limbaj bazat pe nucleotide) în catena polipeptidică (limbaj bazat pe aminoacizi) se realizează după **un set strict de reguli** ce alcătuiesc **codul genetic**. La baza codului genetic stă noțiunea de **codon** - o **succesiune de 3 baze azotate (tripletă) din secvența ARNm ce specifică un anumit aminoacid din secvența catenei de aminoacizi**.

Prima nucleotidă	A doua nucleotidă						A treia nucleotidă				
	U	C	A	G							
U	UUU	(Phe/F) Fenilalanină	UCU	(Ser/S) Serină	UAU	(Tyr/Y) Tirozină	UGU	(Cys/C) Cisteină	U		
	UUC	(Leu/L) Leucină	UCC		UAC	(Arg/R) Arginină	UGC	(Arg/R) Arginină	C		
	UUA		UCA		UAA		Stop		UGA	Stop	A
	UUG		UCG		UAG		Stop		UGG	(Trp/W) Triptofan	G
C	CUU		(Leu/L) Leucină	CCU	(Pro/P) Prolină		CAU		(His/H) Histidină	CGU	(Arg/R) Arginină
	CUC	CCC		CAC		CGC	C				
	CUA	CCA		CAA		(Gln/Q) Glutamină	CGA	A			
	CUG	CCG		CAG		CGG	G				
A	AUU	(Ile/I) Izoleucină	ACU	(Thr/T) Treonină	AAU	(Asn/N) Asparagină	AGU	(Ser/S) Serină	U		
	AUC		ACC		AAC	(Arg/R) Arginină	AGC	C			
	AUA		ACA		AAA		(Lys/K) Lizină	AGA	A		
	AUG		(Met/M) Metionină		ACG		AAG	AGG	G		
G	GUU	(Val/V) Valină	GCU	(Ala/A) Alanină	GAU		(Asp/D) Acid aspartic	GGU	(Gly/G) Glicină	U	
	GUC		GCC		GAC	(Glu/E) Acid glutamic	GGC	C			
	GUA		GCA		GAA		GGA	A			
	GUG		GCG		GAG		GGG	G			

Etapele sintezei proteinelor

La **procariote** etapele traducerii informației genetice și deci a sintezei proteinelor sunt:

1. Inițierea – o moleculă de ARNt cu formil-metionină ($\text{ARNt}^{\text{fMet}}$) se asociază de subunitatea mică (30S) a ribozomului. Proteine specifice numite **factori de inițiere** amplasează $\text{ARNt}^{\text{fMet}}$ în situsul P. **Complexul de inițiere** format se leagă apoi de ARNm pe baza complementarității dintre anti-codonul $\text{ARNt}^{\text{fMet}}$ și codonul AUG specific pentru metionină din ARNm precum și prin **intermediul unui situs de legare al ribozomului** de pe ARNm (secvența Shine-Dalgarno (AGGAGG) la procariote sau capătul 5' modificat la eucariote)

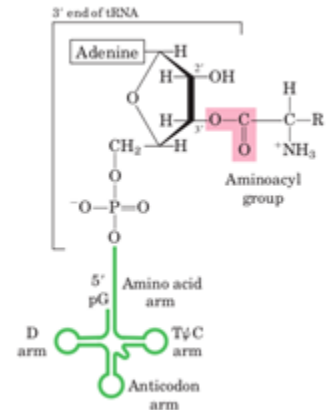


Parte a primei etape este și reacția catalizată de **aminoacil-ARNt sintetaze**. Fiecare sintetază **este specifică pentru un anumit aminoacid** și poate esterifica aminoacidul pe molecula sau moleculele de ARNt corespunzătoare după reacția:



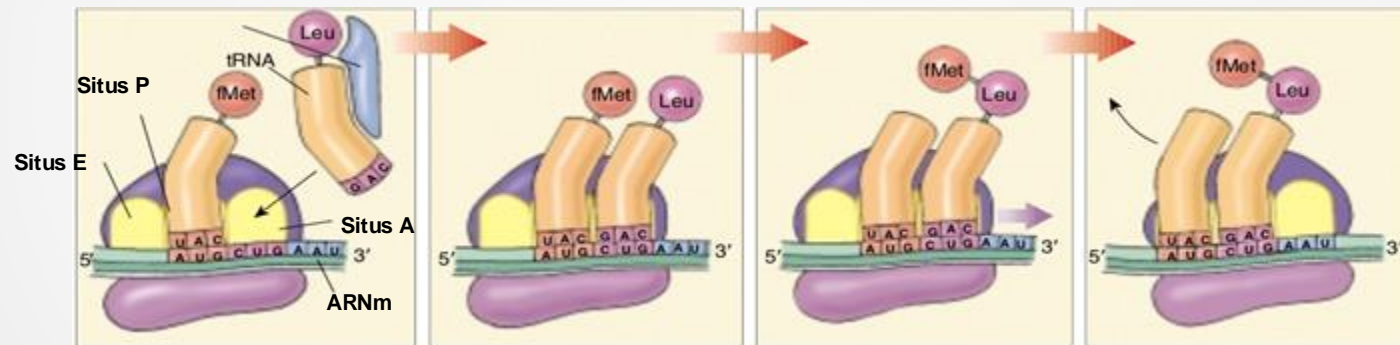
Reacția catalizată de aminoacil-ARNt sintetaze îndeplinește 2 roluri esențiale:

1. **activează** molecula de aminoacid pentru a putea forma legătura peptidică;
2. **atașează aminoacidul de un adaptor (ARNt)** ce asigură **încorporarea corectă funcției de secvență de ARNm**. Ribozomul nu verifică corectitudinea aminoacizilor încorporați, sarcina aceasta fiind îndeplinită de specificitatea cu care aminoacil-ARNt sintetazele asociază ARNt cu aminoacizi – **al doilea cod genetic, mai complicat decât primul**.



Etapele sintezei proteinelor

2. Elongarea – la complexul de inițiere se atașează subunitatea mare a ribozomului. Codonul adiacent codonului AUG este amplasat în situsul A și poate interacționa cu o moleculă ARNt. Pe baza **complementarității codon (ARNm) – anti-codon (ARNt)** o moleculă de ARNt cu aminoacidul corespunzător se atașează în situs-ul A, aminoacidul fiind adus în apropiere de Met. Între cei doi aminacizi are loc o reacție ce duce la formarea unei legături peptidice.

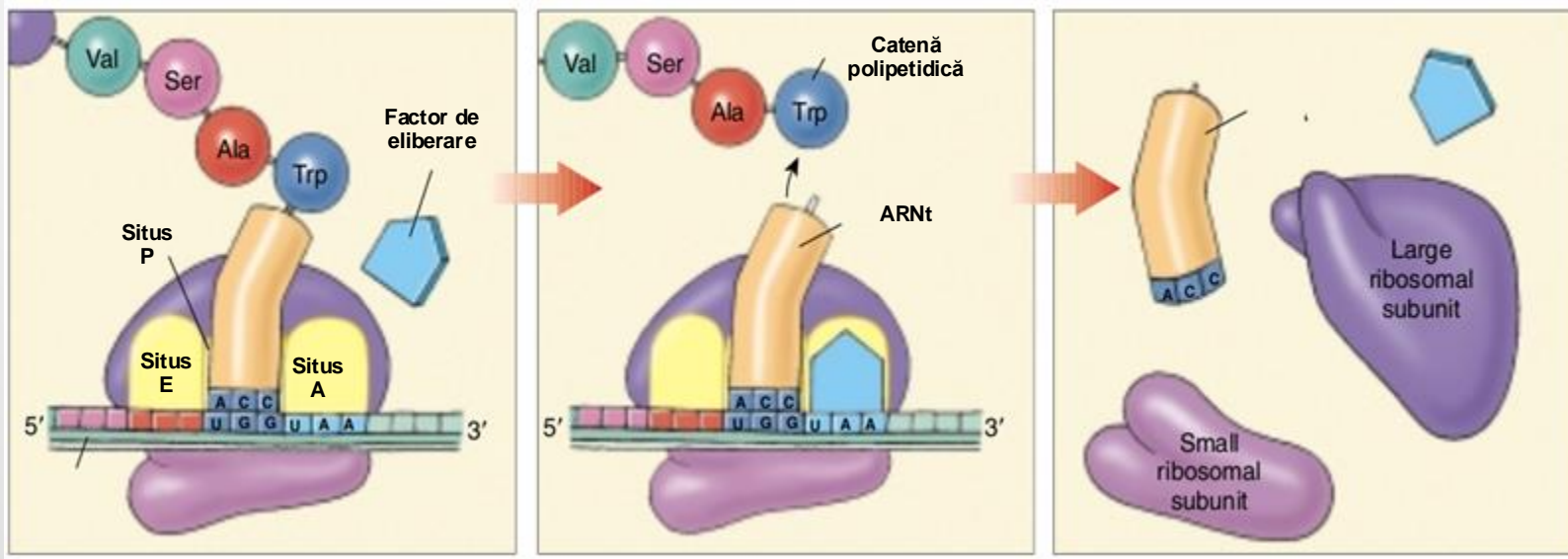


Reacția enzimatică ce duce la formarea unei legături peptidice se numește **peptidil-transferază** și multă vreme a fost considerată ca fiind apanajul unei proteine ribozomale. Reacția este însă realizată de **ARNr 23S**, fiind însă un exemplu de reacții enzimatică esențiale catalizate de molecule de ARN.

Etapele sintezei proteinelor

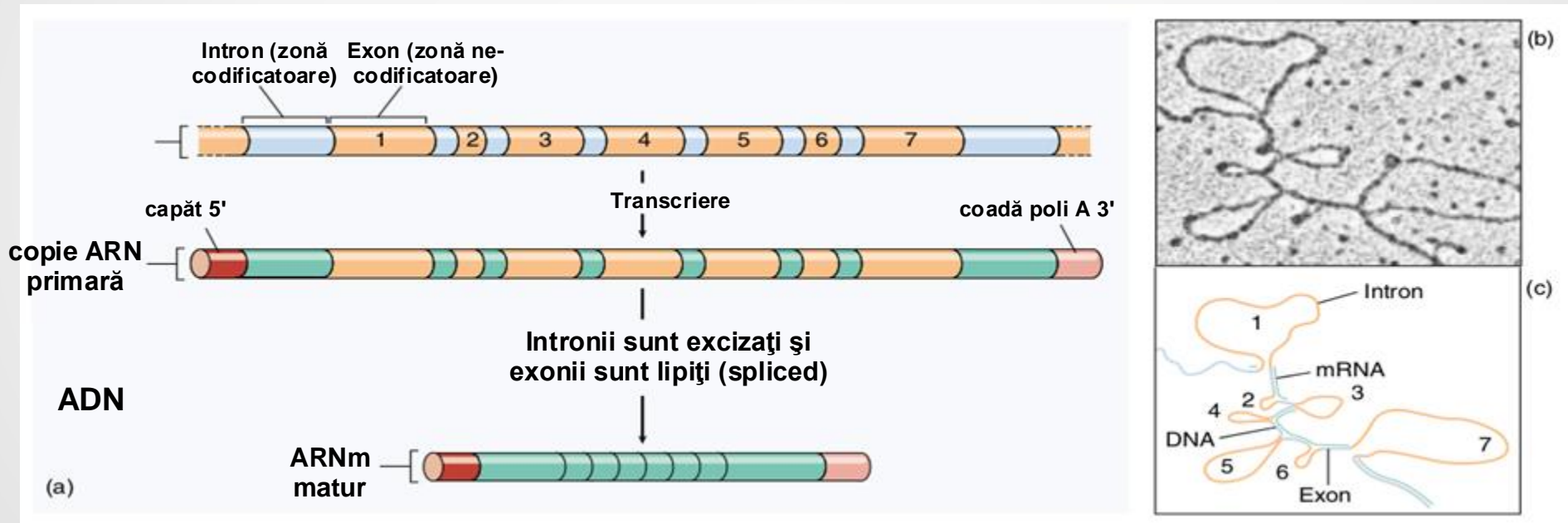
3. Translocarea – ribozomul face un **salt de 3 nucleotide în direcția 5' -> 3'** pe molecula de ARNm, ceea ce amplasează ARNt^{fMet} în situs-ul E și al doilea ARNt în situsul P, iar **situs-ul A devine din nou liber**. ARNt^{fMet} din situs-ul E părăsește ribozomul și un al treilea ARNt cu aminoacidul corespunzător se atasează în situsul A. Catenă are 2 aminoacizi, al treilea urmând a fi încorporat printr-o nouă etapă de elongare.

4. Terminarea – etapele de elongare și translocare se repetă, ribozomul deplasându-se de-a lungul moleculei de ARNm până când în situsul A se situează un codon STOP. Pentru acești codoni nu există ARNt cu anticodonii corespunzători astfel încât înaintarea ribozomului este oprită. Prin legarea unor factori de eliberare, complexul ARNm-ribozom se desface și procesul de traducere se finalizează



Etapele sintezei proteinelor

La **eucariote** procesul de traducere a informației genetice este similar cu cel de la procariote, însă intervine o etapă suplimentară de **procesare și asamblare a ARNm (splicing)**.



[WEHImovies](#)

Transcription - Central Dogma Part 1
Translation - Central Dogma Part 2
Ribosome

<https://www.youtube.com/watch?v=DA2t5N72mgw>
https://www.youtube.com/watch?v=Wkl_Vbwn14g
<https://www.youtube.com/watch?v=morl5e-jBNk>

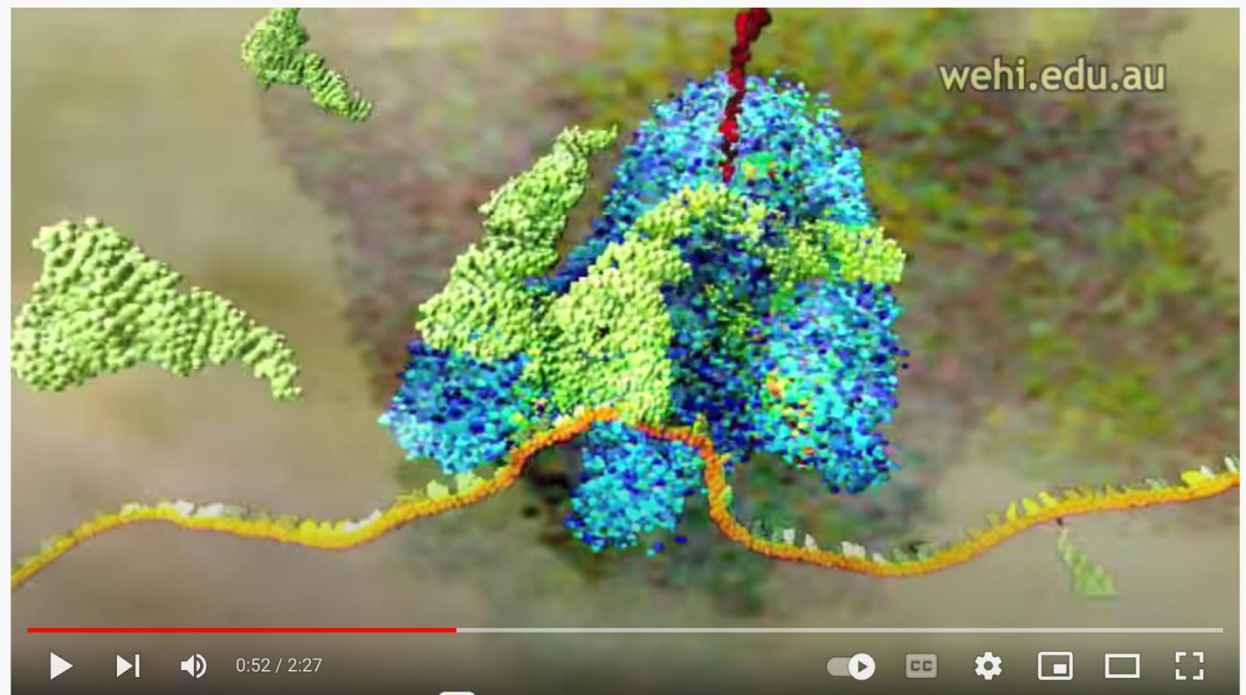
RCSB PDB-101

Ribosomal Subunits

<https://pdb101.rcsb.org/motm/10>
<https://pdb101.rcsb.org/motm/121>

YouTube^{RO}

Search



0:52 / 2:27

Costul și fidelitatea procesului de sinteză a proteinelor

Sinteza lanțului de aminoacizi conform secvenței de baze azotate de pe ARNm este un proces ce necesită energie:

1. pentru fiecare **moleculă de aminoacid-ARNt** se utilizează **2 grupe PO_4** ;
2. dacă în procesul de sinteză este amplasat în situsul A al ribozomului un aminoacid greșit, eliminarea lui necesită liza **unei molecule de ATP**;
3. o moleculă de **GTP este clivată în procesul de inițiere**;
4. o moleculă de **GTP este clivată în procesul de translocare**.

În total, în medie **mai mult de 4 molecule NTP** sunt hidrolizate la NDP pentru a sintetiza **1 legătură peptidică** dintr-o moleculă proteică. Bilantul energetic este de $4 \times 30,5 \text{ kJ/mol} = 122 \text{ kJ/mol}$ **cheltiți** pentru a sintetiza **o legătură peptidică ce conține 21 kJ/mol**.

Proteinele sunt oligomeri ce conțin informație, deci scopul nu este de a sintetiza legături peptidice, ci de a **asambla aminoacizii într-o anumită ordine** și de **a forma legături peptidice între aminoacizi specifici**. Fiecare grupare PO_4 folosită are rol în a asigura inserarea corectă a aminoacizilor în procesul biosintetic și deci fidelitatea procesului de traducere.

Rata de eroare a procesului de sinteză a proteinelor este de **1 aminoacid eronat la 10^4 aminoacizi incorporați**.

Este această rată mai mare sau mai mică decât rata de eroare a sintezei ADN-ului?
Afectează acest lucru funcția unei proteine? Dar a celulei sau organismului?

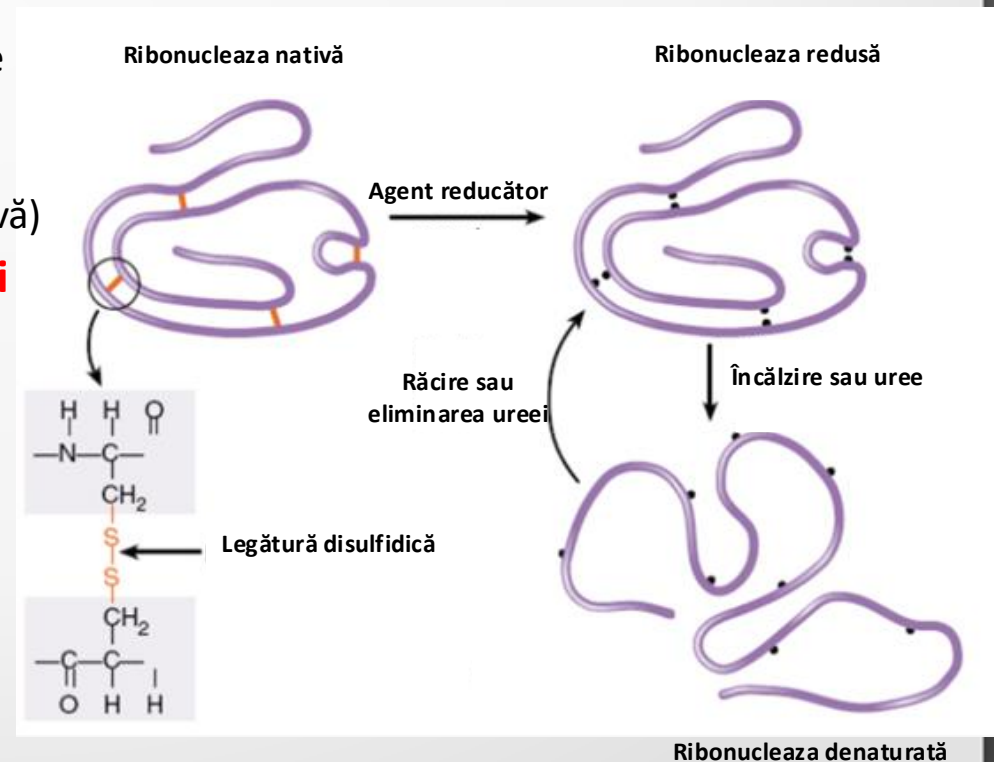
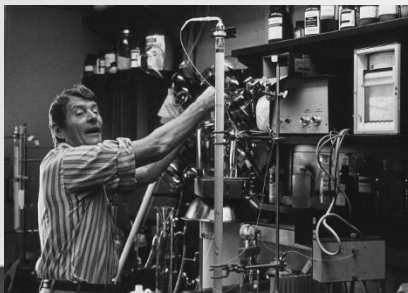
Plierea proteinelor în forma nativă

Procesul prin care catena polipeptidică a unei proteine capătă structura spațială tridimensională specifică se numește **pliere**. Structura tridimensională normală a unei proteine în care aceasta își poate îndeplini funcția specifică se numește **structură (formă) nativă**. Orice **alterare a structurii** native a unei proteine va fi însoțită **de o alterare** (mai mare sau mai mică) **a funcției** proteinei respective.

Deși mecanismul procesului de pliere a proteinelor în structurile native nu este complet cunoscut, câteva din **principiile implicate în procesul de pliere a proteinelor** ce se respectă în acest proces sunt bine aprofundate teoretic:

- Principiul lui Anfinsen** – proteinele sunt capabile de **auto-asamblare**. Procesul de pliere este unul strict termodinamic prin care catena ne-pliată **trece de la un nivel superior la unul inferior energetic** (proteina nativă)

Structura primară a catenei polipeptice, prin tipul și succesiunea aminoacizilor, este cea care conține toată informația necesară plieri proteinei în forma nativă.



Plierea proteinelor în forma nativă

2. Paradoxul lui Levinthal – timpul necesar pentru ca o peptidă să se plieze aleatoriu în structura nativă respectând strict regulile termodinamicii **este mai lung decât durata de viață a universului**. Majoritatea proteinelor se pliază în fracțiuni de secundă => **paradoxul**

3. Secvențele proteice sunt supuse selecției evolutive. Evoluția a selectat și păstrat doar acele secvențe proteice ce se pliază **rapid, corect și repetabil** în forma nativă. Acest lucru este demonstrat de faptul că o peptidă sintetizată în laborator având o secvență aleatorie nu se pliază niciodată într-o structură ordonată.

Plierea proteinelor nu este un proces aleatoriu, ci este direcționat prin evoluție.

4. Plierea proteinelor în forma nativă poate fi **asistată** de alte proteine – **chaperoni moleculari**. În cazul proteinelor de peste 100 de aminoacizi, pliarea poate dura un timp mai lung și poate conține etape intermediare în care proteina este parțial pliată. În aceste etape intermediare există pericolul ca proteina parțial pliată să interacționeze cu alte proteine și să formeze **agregate proteice** – aglomerări de proteine în stare denaturată, puțin solubile. Chaperonii moleculari au rolul de a proteja aceste forme parțial pliate și de a le ‘dirija’ către forma nativă.



Care este semnificația cuvântului chaperon?

Cum funcționează chaperonii moleculari?

Au fost identificate **două clase** de **chaperoni** moleculari:

- 1. Proteine din familia Hsp70** – **proteine cu masă moleculară mică (70 kDa) și care sunt abundente când celulele sunt expuse la temperaturi ridicate** (*heat shock proteins*, 70 kDa => **Hsp70**). Proteinele Hsp70 interacționează cu zonele hidrofobe ale polipeptidelor nepliate sau denaturate și preîntâmpină agregarea acestora (ce legătură are acest lucru cu faptul că sunt exprimate la expunerea la temperaturi înalte?). Tot Hsp70 opresc de asemenea și plierea acelor proteine ce trebuie să fie translocate prin membrana celulară. Legarea Hsp70 de peptide și apoi desprinderea de acestea este un proces ciclic, ce necesită ATP și prezența unei alte clase de chaperoni moleculari de dimensiuni mai mici – **Hsp40**.

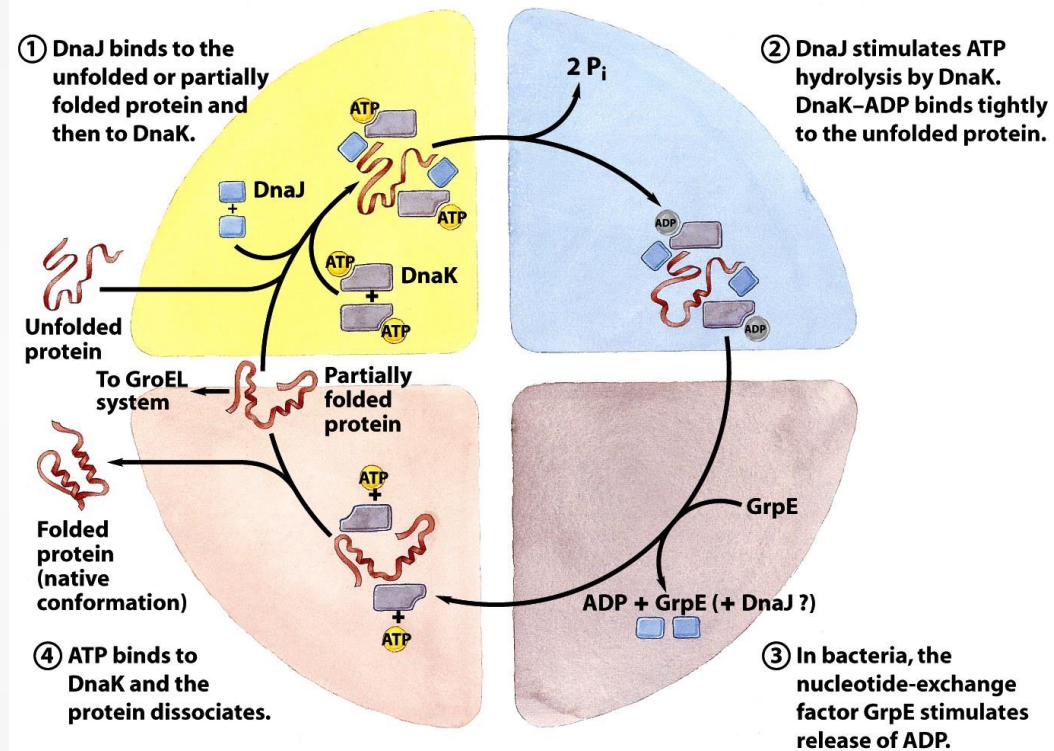


Figure 4-29
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Plierea asistată de chaperoni moleculari la bacterii
DnaK – omologul de la bacterii al proteinei Hsp70 eucariote
DnaJ - omologul de la bacterii al proteinei Hsp40 eucariote

Cum funcționează chaperonii moleculari?

2. Chaperonine – complexe proteice de dimensiuni mari ce intervin în plierea acelor proteine ce nu se pot plia în mod spontan, pe baza legilor termodinamice. Se estimează că în *E. coli*, 10-15% din proteine necesită chaperonine pentru a se plia și procentul crește la 30% în condiții de stres termic.

Cel mai cunoscut sistem de chaperonine este GroEL/GroES de la *E.coli*. Peptidele nepliate se leagă de un buzunar al complexului GroEL ce este mai apoi acoperit de GroES. GroEL suferă o serie de modificări de structură ce sunt alimentate de ATP și prin care peptida este pliată în forma nativă. GroES se desprinde de pe buzunar și eliberează proteina pliată.

Deși nu sunt chapeoni moleculari, un rol important în plierea proteinelor îl au și enzimele **protein-disulfid izomerase (PDI - protein disulfide isomerase)**. Acestea sunt localizate în retocolul endoplasmic la eucariote și spațiul periplamic la procariote și **catalizează formarea punților disulfurice în timpul plierii proteinelor**

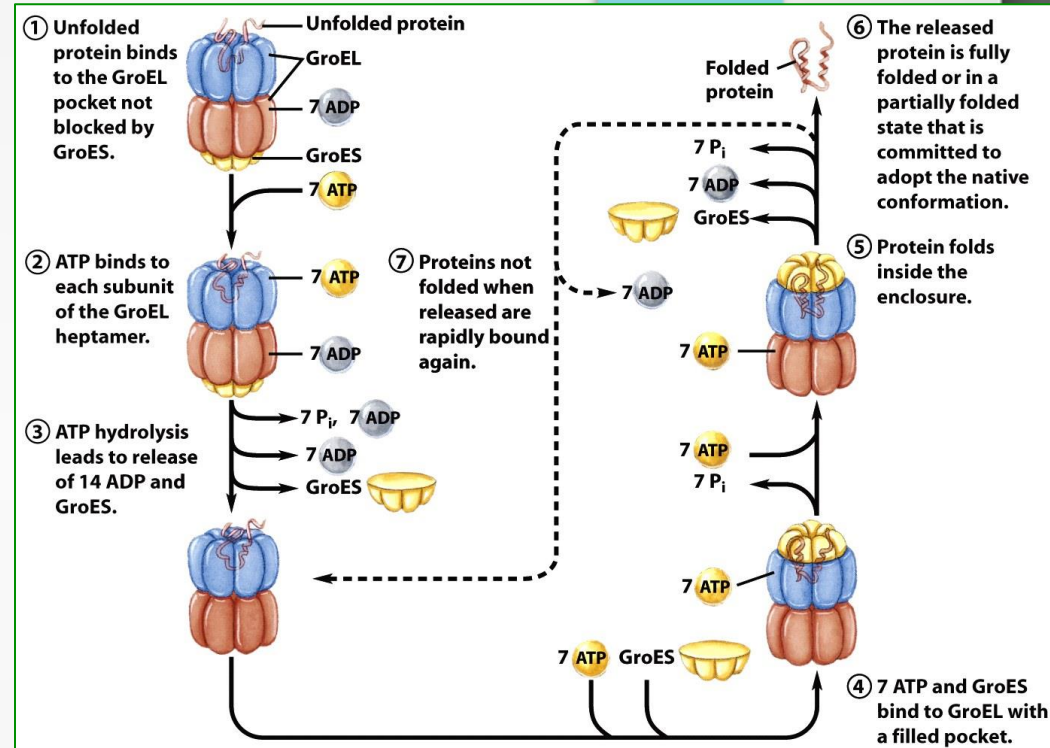


Figure 4-30a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

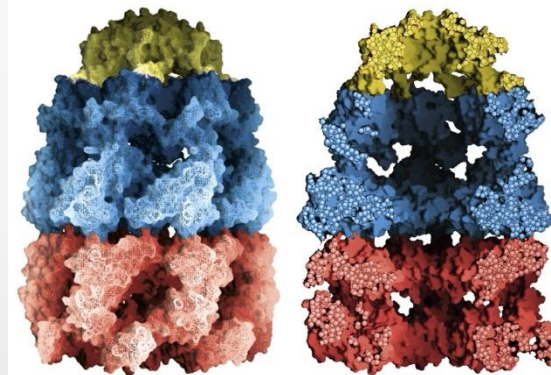
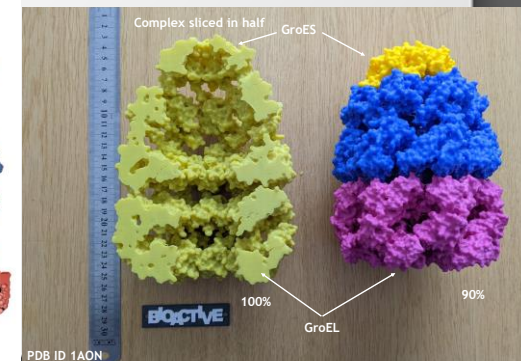


Figure 4-30b
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company



Modificări post-traducere ale proteinelor

Pe măsură ce **lanțul de aminoacizi este sintetizat**, este pliat și modificat în mod specific pentru a forma **structura tridimensională specifică** pe baza cărei proteina nou sintetizată își va îndeplini **funcția biologică**. Plierea se realizează prin formarea legăturilor de H, ionice și a interacțiunilor hidrofobe dintre radicalii aminoacizilor. **În acest fel mesajul genetic liniar, unidimensional din ARNm este transformat într-o structură tridimensională.**

Unele proteine nu sunt complet funcționale decât după ce au suferit o serie de modificări **post-tranlaționale specifice** precum:

1. modificări la capătul C și N terminal – sinteza catenei polipeptidice nascente începe cu un rest de N-formil-metionină la bacterii și metionină la eucariote. Restul de formil, restul de metionină, uneori încă câțiva aminoacizi de la capătul N și, mai rar, câțiva aminoacizi de la capătul C terminal al peptidei sintetizate sunt eliminați enzimatic. De asemenea, 50% din proteinele EK sunt acetilate la capătul N terminal;

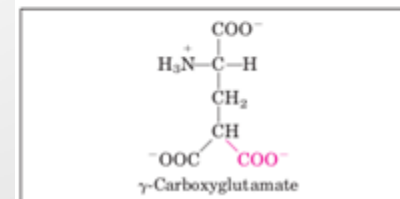
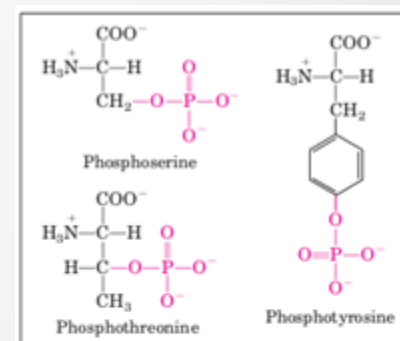
2. formarea de punți disulfidice între 2 resturi de Cys.

3. derivarea specifică a unor aminoacizi

A. radicalul OH din Ser, Thr sau Tyr poate fi fosforilat în mod specific de către **protein-fosforilaze**, gruparea PO_4 provenind de la o moleculă de ATP. Rolul funcțional al fosforilării proteinelor variază de la o proteină la alta.

Exemple ale rolului fiziologic al fosforilării proteinelor:

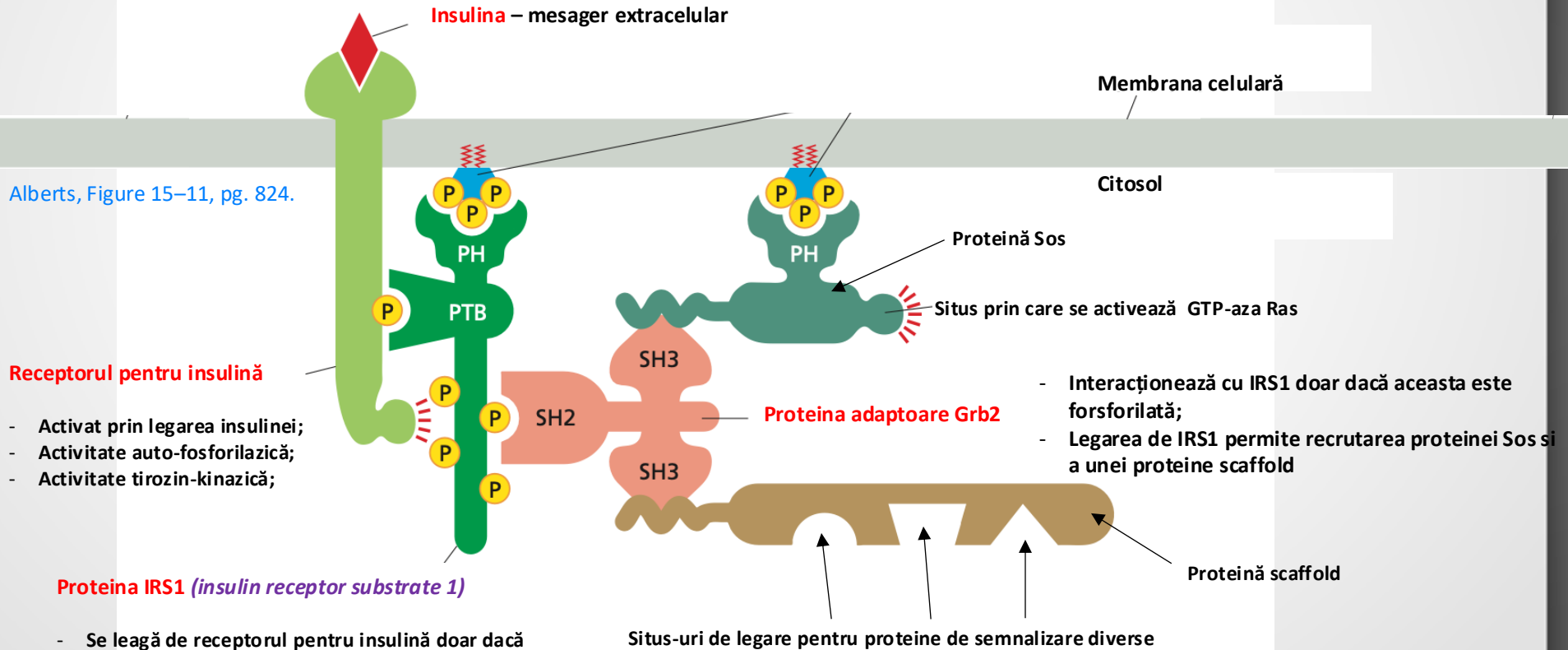
- caseina din lapte conține numeroase resturi de fosfoserină ce chelatează ionii de Ca^{2+} . Caseina reprezintă astfel o modalitate eficientă de a transporta de la mamă la făt 3 nutrienți importanți: aminoacizi, fosfor și Ca^{2+} ;
- Fosforilarea histonelor implicată în procesele reparatorii ale ADN-ului;
- Reglarea activității unor enzime – fosforilarea glicogen-fosforilazei activează enzima, fosforilarea glicogen-sintazei inactivează această enzimă.



Exemplu de mecanism de semnalizare celulară bazat pe fosforilarea proteinelor

Majoritatea căilor reglatorii celulare importante funcționează pe baza fosforilării proteinelor implicate. Ele funcționează astfel printr-o așa numită **cascadă a fosforilării proteice** – o secvență de reacții prin care o enzimă fosforilează pe alta, realizându-se fosforilarea înlănțuită a mii de proteine la nivel celular. Un exemplu elocvent al cascadei fosforilării este **transducerea** mesajelor transmise prin intermediul hormonilor extracelulari, precum **insulina**.

Alberts, Figure 15–11, pg. 824.



Exemple de PTMs si semnificația lor

B. Grupări -COOH pot fi adăugate la resturile de Glu. Ex. Pro-therombina conține resturi de gama-carboxiglumat ce sunt esențiale pentru legarea Ca și procesul de coagulare sangvină;

C. Grupări -CH₃ pot fi adăugate la resturile amino din lizină, cu formare de metil, dimetil sau trimetil-lizină; procesul este implicat în organizarea cromatinei;

D. Grupări -CH₃ pot fi adăugate la resturile de Glu cu formare de metilglutamat și inactivarea unei grupe negative COO⁻.

E. Acetilarea grupelor -COOH din lizină; proces implicat în activarea expresiei genice prin acetilarea histonelor;

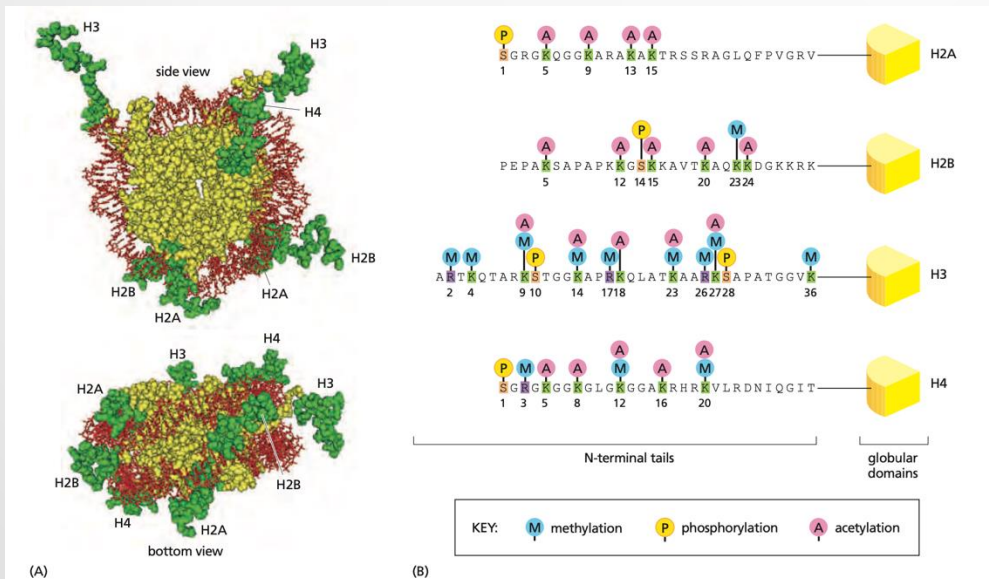
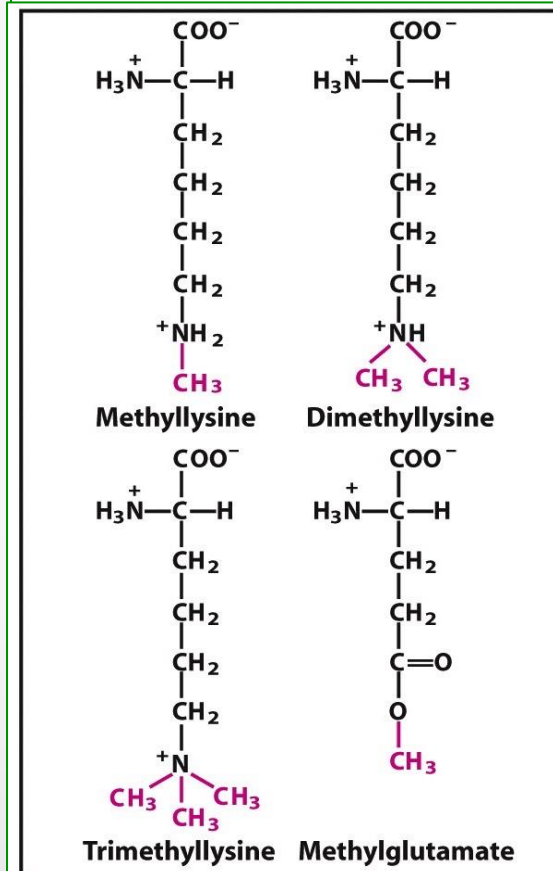
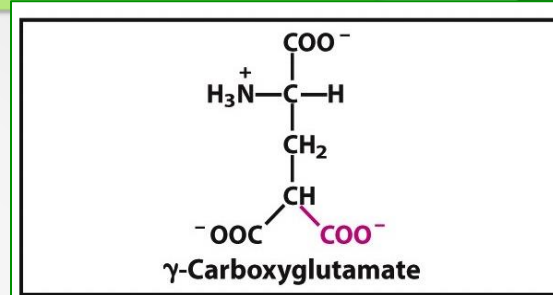


Figure 4-34 The covalent modification of core histone tails. (A) The structure of the nucleosome highlighting the location of the first 30 amino acids in each of its eight N-terminal histone tails (green). These tails are unstructured and highly mobile, and thus will change their conformation depending on other bound proteins. (B) Well-documented modifications of the four histone core proteins are indicated. Although only a single symbol is used here for methylation (M), each lysine (K) or arginine (R) can be methylated in several different ways. Note also that some positions (e.g., lysine 9 of H3) can be modified either by methylation or by acetylation, but not both. Most of the modifications shown add a relatively small molecule onto the histone tails; the exception is ubiquitin, a 76-amino-acid protein also used for other cell processes (see Figure 3-69). Not shown are more than 20 possible modifications located in the globular core of the histones. (A, PDB: 1KX5; B, adapted from H. Santos-Rosa and C. Caldas, *Eur. J. Cancer* 41:2381-2402, 2005. With permission from Elsevier.)

Exemple de PTMs si semnificatia lor

4. **aditia de grupe izoprenil sau palitoil la nivelul grupelor SH din Cys** au rolul de a ancora proteinele de membranele celulare;

5. **Procesarea proteolitica a precursorilor proteici de dimensiuni mari** pentru a forma proteinele active de dimensiuni mai mici. Ex: pro-insulina, chimiotripsinogenul, tripsinogenul, proteina spike din SARS-CoV2.

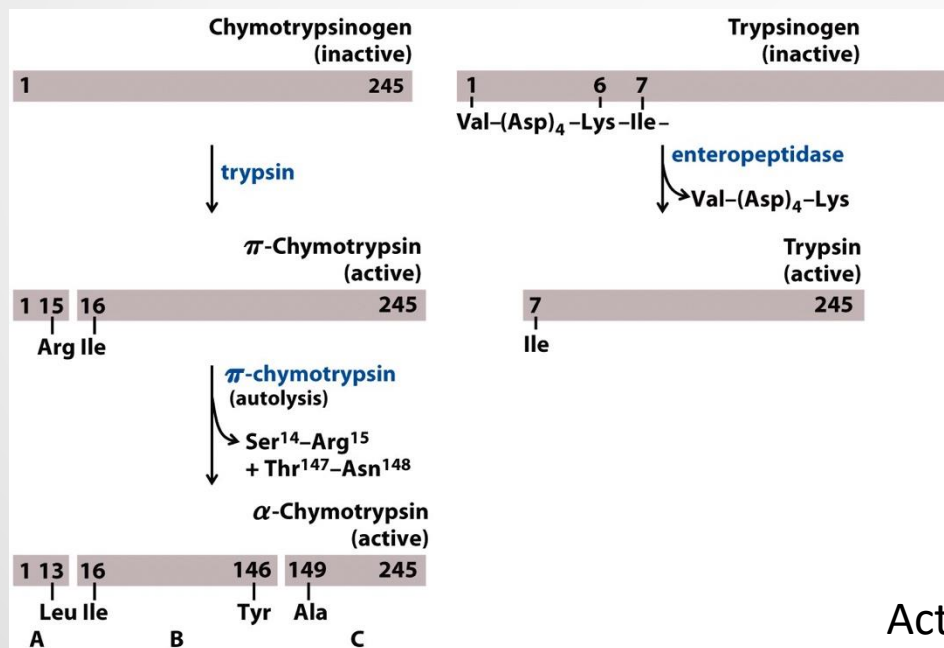
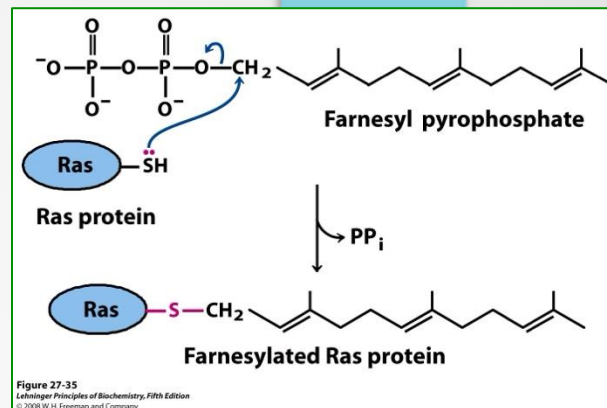
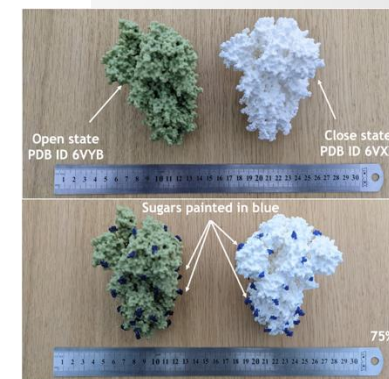
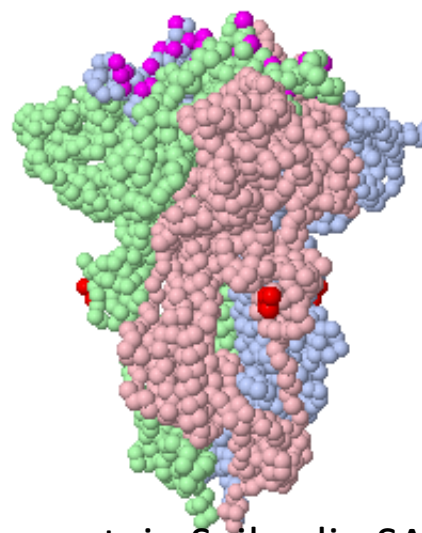


Figure 6-38
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company



Activarea protein Spike din SARS-CoV2 printr-o clivare proteolitica realizata de catre furina

magenta – situs de legare al ACE2; rosu – situs de clivare pt furina.

Exemple de PTMs si semnificația lor

6. Eliminarea proteolitică a secvențelor de semnalizare. Celulele conțin numeroase structuri macromoleculare, compartimente și organite, fiecare dintre acestea cu un set propriu de proteine. Toate proteinele celulare (exceptând unele proteine mitocondriale și plastidiale) sunt produse de ribozomi în citoplasmă. De aceea este necesar un mecanism de transport și distribuire țintită a proteinelor nou sintetizate către compartimentele celulare în care își desfășoară funcția. La baza acestui sistem de distribuire stau **secvențele semnal (de semnalizare)** prezent în unele proteine - **secvențe scurte de câțiva aminoacizi ce dictează localizarea finală a unei proteine în celulă și care este cel mai frecvent eliminată proteolitic în timpul transportului sau după ce proteina și-a atins ținta finală.** Au fost descrise secvențe de semnalizare distincte, ce permit distribuirea țintită către **mitocondrii, cloroplaste, reticolul endoplasmatic, lizozomi, membrana celulară** sau care dictează **exportul extracelular.** **Cel mai frecvent, secvența semnal este localizată la capătul N-terminal.**

Deși secvențele de semnalizare pot avea dimensiuni diferite (13-26 aminoacizi), toate au o serie de proprietăți comune:

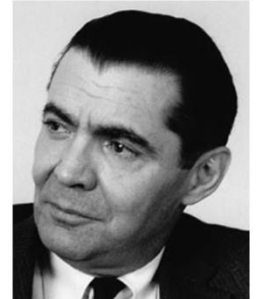
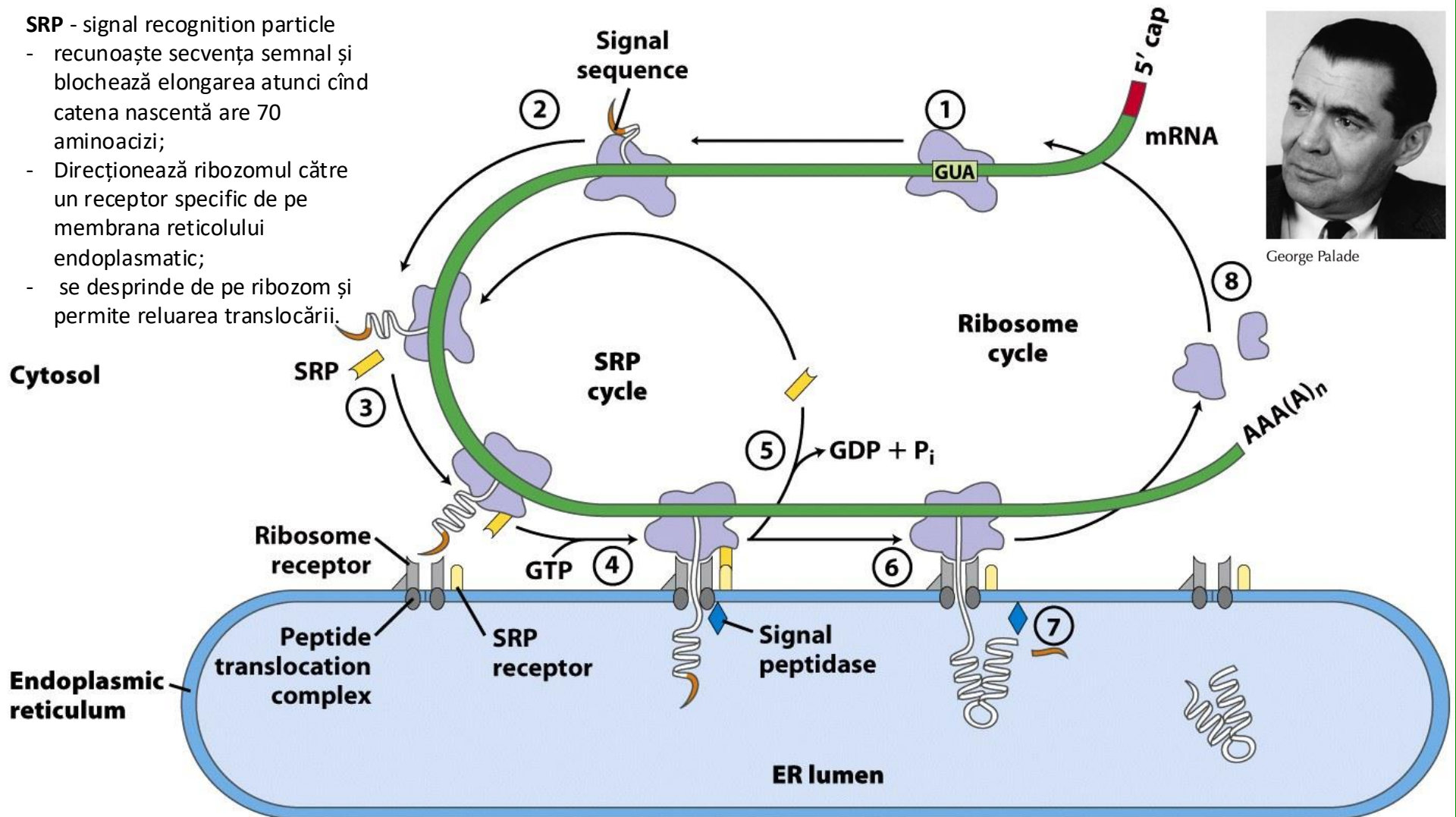
1. **10-15 aminoacizi hidrofobi;**
2. **unul sau mai mulți aminoacizi încărcăți pozitiv la capătul N-terminal, precedând astfel zona hidrofobă;**
3. **O secvență polară scurtă alcătuită din aminoacizi cu catenă laterală scurtă (Ala) la capătul C-terminal, aproape de situsul de clivare proteolitic;**



Exemple de PTMs si semnificația lor

SRP - signal recognition particle

- recunoaște secvența semnal și blochează elongarea atunci când catena nascentă are 70 aminoacizi;
- Direcționează ribozomul către un receptor specific de pe membrana reticolului endoplasmatic;
- se desprinde de pe ribozom și permite reluarea translocării.



George Palade

Figure 27-38

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Exemple de PTMs si semnificația lor

Inner membrane proteins

Phage fd, major coat protein

Met Lys Lys Ser Leu Val Leu Lys Ala Ser Val Ala Val Ala Thr Leu Val Pro Met Leu Ser Phe Ala ↓ Ala Glu --

Phage fd, minor coat protein

Met Lys Lys Leu Leu Phe Ala Ile Pro Leu Val Val Pro Phe Tyr Ser His Ser ↓ Ala Glu --

Periplasmic proteins

Alkaline phosphatase

Met Lys Gln Ser Thr Ile Ala Leu Ala Leu Leu Pro Leu Leu Phe Thr Pro Val Thr Lys Ala ↓ Arg Thr --

Leucine-specific binding protein

Met Lys Ala Asn Ala Lys Thr Ile Ile Ala Gly Met Ile Ala Leu Ala Ile Ser His Thr Ala Met Ala ↓ Asp Asp --

β -Lactamase of pBR322

Met Ser Ile Gln His Phe Arg Val Ala Leu Ile Pro Phe Phe Ala Ala Phe Cys Leu Pro Val Phe Ala ↓ His Pro --

Outer membrane proteins

Lipoprotein

Met Lys Ala Thr Lys Leu Val Leu Gly Ala Val Ile Leu Gly Ser Thr Leu Leu Ala Gly ↓ Cys Ser --

LamB

Leu Arg Lys Leu Pro Leu Ala Val Ala Val Ala Ala Gly Val Met Ser Ala Gln Ala Met Ala ↓ Val Asp --

OmpA

Met Met Ile Thr Met Lys Lys Thr Ala Ile Ala Ile Ala Val Ala Leu Ala Gly Phe Ala Thr Val Ala Gln Ala ↓ Ala Pro --

Figure 27-43

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

FIGURE 27-44 Model for protein export in bacteria.

① A newly translated polypeptide binds to the cytosolic chaperone protein SecB, which ② delivers it to SecA, a protein associated with the translocation complex (SecYEG) in the bacterial cell membrane. ③ SecB is released, and SecA inserts itself into the membrane, forcing about 20 amino acid residues of the protein to be exported through the translocation complex. ④ Hydrolysis of an ATP by SecA provides the energy for a conformational change that causes SecA to withdraw from the membrane, releasing the polypeptide. ⑤ SecA binds another ATP, and the next stretch of 20 amino acid residues is pushed across the membrane through the translocation complex. Steps ④ and ⑤ are repeated until ⑥ the entire protein has passed through and is released to the periplasm. The electrochemical potential across the membrane (denoted by + and -) also provides some of the driving force required for protein translocation.

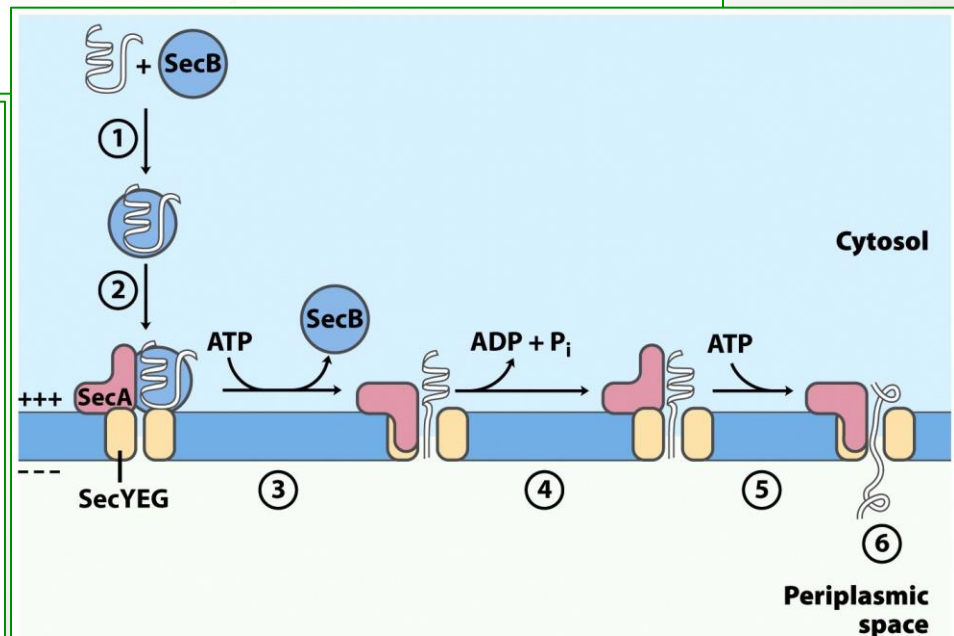


Figure 27-44
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Exemple de PTMs si semnificația lor

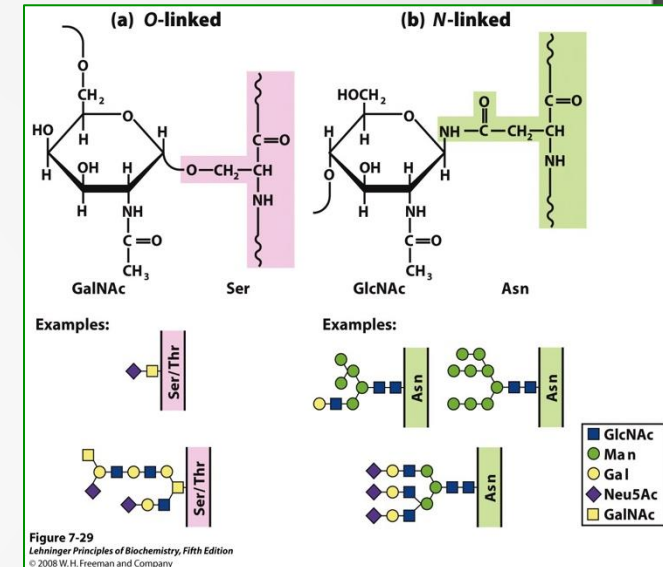
7. **atașarea de catene glucidice** – la nivelul grupei NH_2 din Asn sau OH din Ser și Thr, cu formarea de **glicoproteine**. Numeroase proteine extracelulare, precum și proteoglicanii conțin catene glucidice.

Unele proteine ce sunt modificate posttraducere prin glicozilare fac parte dintr-un sistem de semnalizare și transmitere a informației biologice în care rolul esențial îl au **lectinele** - proteine membranare (atașate sau integrate în membrana celulară) ce sunt capabile să recunoască și să interacționeze în mod specific cu glucidele. Două exemple ce demonstrează modul cum funcționează sistemul de transmitere a informației pe bază de glucide sunt:

A. Eritrocitele tinere produse de măduva osoasă conțin în membrana celulară, spre exterior, glicoproteine a căror porțiune glucidică se termină cu derivatul glucidic acid N-Acetil-neuraminic (acid sialic, Neu5Ac). Pe

măsură ce îmbătrânesc, eritrocitele pierd acest Neu5Ac sau afinitate pentru glicoproteinele lipsite de Neu5Ac ale eritrocitelor. Celulele roșii îmbătrânite vor fi reținute, fagocitate de către hepatocite și astfel eliminate din circulație, pe când celulele roșii tinere nu pot interacționa cu lectinele hepatocitelor și vor continua să circule. În cazul glicoproteinelor eritrocitare, prezența Neu5Ac semnalizează că celula este tânără;

B. Bacteria *Helicobacter pylori* responsabilă de apariția ulcerului gastric conține lectine ce recunosc specific glicoproteinele și proteoglicanii de pe suprafața celulei epiteliale din stomac, permițând astfel atașarea celulelor bacteriene în mod specific de suprafața stomacului. În acest caz, glucidele de pe suprafața celulei epiteliale semnalizează bacteriei că a ajuns la „destinație”.



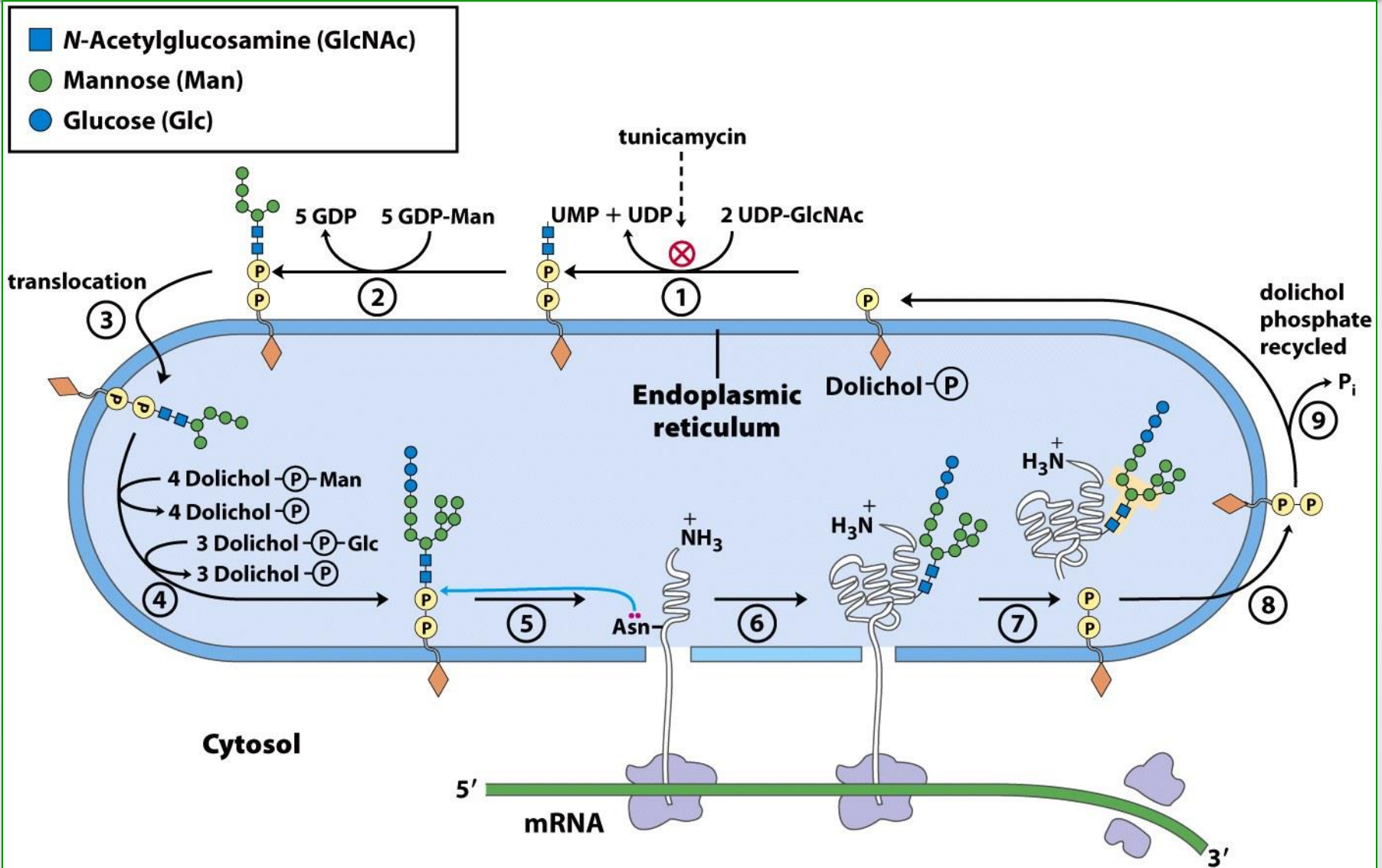


Figure 27-39

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W.H. Freeman and Company

Catabolismul proteinelor

La fel ca și în cazul ARN-ului, degradarea proteinelor este un proces extrem de activ. Timpul de înjumătățire al proteinelor variază în limite largi, de la 30 sec (factori de transcripție, proteine reglatoare) la câteva zile (110 zile pentru hemoglobină). Pe durata îndeplinirii rolului specific, proteinele pot acumula defecte (Ex. Carboxilarea nespecifică a aminoacizilor datorită stresului oxidativ).

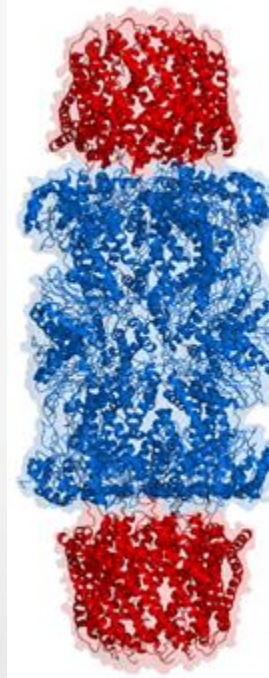
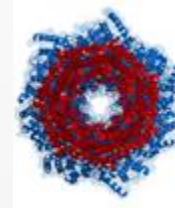
Degradarea proteinelor prin **procesele proteolitice celulare ATP-dependente** previne acumularea proteinelor defecte și a celor ce și-au îndeplinit funcția, nemaifiind necesare celulei, permițând reciclarea aminoacizilor.

La *E. coli* proteinele sunt degradate de o protează ATP-dependentă numită **Lon** ce hidrolizează 2 ATP/ legătură peptidică)

La EK, degradarea presupune marcarea specifică a proteinelor ce urmează a fi distruse prin atașare de **ubiquitină**. Ubiquitina este una dintre cele mai înalt conservate proteine, secvența sa de 76 de aminoacizi fiind practic identică la toate organismele de la drojzii la oameni. Ubiquitina se atasează de proteinele ce urmează a fi degradate printr-o legătură covalentă la formarea căreia participă 3 enzime și 1 moleculă de ATP.

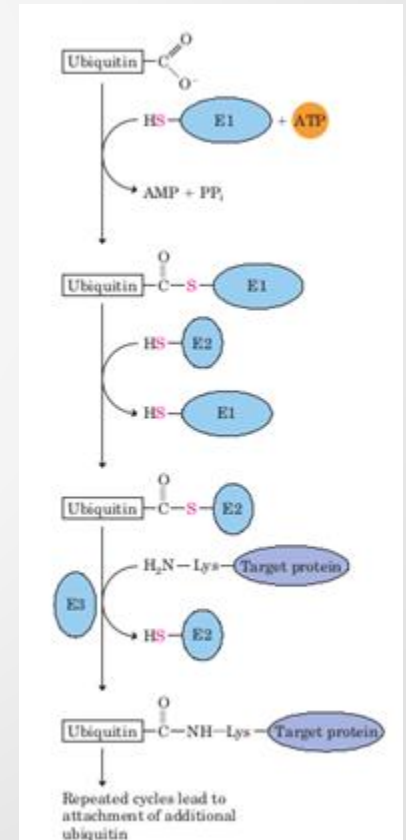
Proteinele ubiquitinate sunt degradate într-un complex macromolecular numit **proteasome 26S** similar unui butoi alcătuit din:

- **o subunitate centrală 20S** – o structură ciclică alcătuită din subunități α cu rol structural și subunități β cu rol catalitic.



În subunitățile β au fost descrise situsuri catalitice asemănătoare celor din tripsină și chemotripsină;

- **2 subunități 19S reglatoare** amplasate precum capacele butoiului și alcătuite din 18 proteine diferite ce controlează accesul în interiorul proteasomului. 6 dintre proteine sunt ATP-aze ce de-pliază proteinele și le introduc în particula centrală pentru degradare.



The Proteasome

