

The background features two 3D molecular models of protein structures. On the left is a grey ribbon model of a protein with a complex, multi-domain structure. On the right is a red ribbon model of a protein, showing a distinct alpha-helical region and a loop structure. The text is centered over these models.

**MODIFICAZIONI
POST-TRADUZIONALI
DELLE PROTEINE**

Nell'ultima fase della sintesi proteica la catena polipeptidica neosintetizzata assume spontaneamente la sua conformazione nativa (massimo numero di legami idrogeno, interazioni di Van der Waals, interazioni ioniche e idrofobiche)

Il messaggio genetico lineare o unidimensionale viene convertito nella struttura tridimensionale della proteina

Alcune proteine, sia eucariotiche che procariotiche, raggiungono la loro conformazione biologicamente attiva solo dopo aver subito una o più modificazioni.

1. MODIFICAZIONI AMMINO-TERMINALI E MODIFICAZIONI CARBOSSI-TERMINALI

-N-formilmetionina (nei batteri) o metionina (negli eucarioti)

-altri residui N-terminali o C-terminali

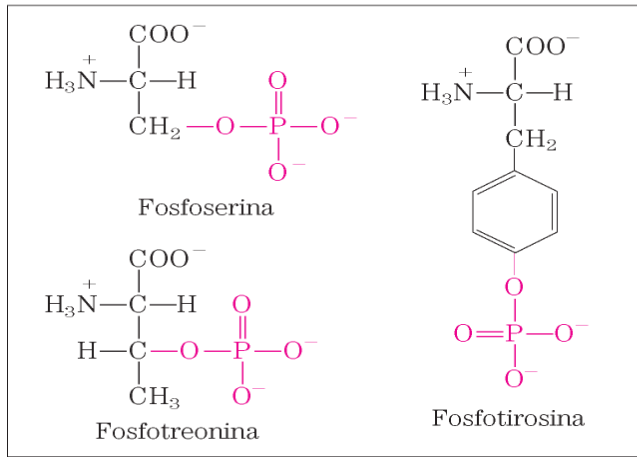
possono essere rimossi enzimaticamente e quindi non compaiono nella proteina matura

-il residuo N-terminale può essere N-acetilato (50% delle proteine eucariotiche)

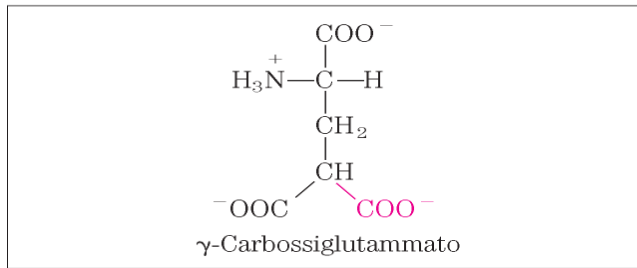
2. PERDITA DELLE SEQUENZE SEGNALE

- i primi 15-30 aminoacidi N-terminali importanti per dirigere la proteina verso la destinazione finale. La sequenza segnale viene rimossa mediante proteolisi.

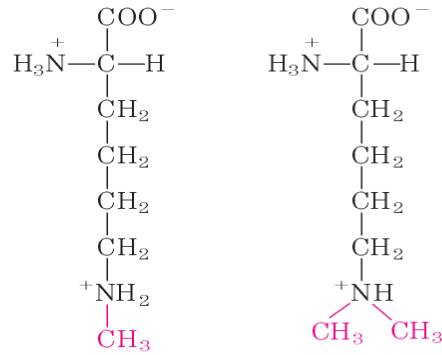
3. MODIFICAZIONI DI SINGOLI AMINOACIDI



(a)

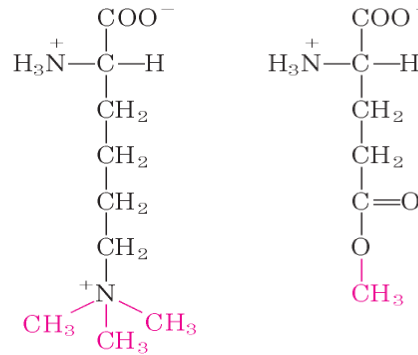


(b)



Metililisina

Dimetililisina



Trimetililisina

Metilglutamato

(c)

- fosforilazione enzimatica dei gruppi ossidrilici di Ser, Thr e Tyr
- carbossilazione di Glu
- metilazione di Lys e Glu

4. AGGIUNTA DI CATENE LATERALI DI CARBOIDRATI

Formazione di legami covalenti con carboidrati durante o dopo la sintesi della catena polipeptidica.

- residui di Asn (legame con N, N-glicosilazione)**
- residui di Ser o Thr (legame a O, O-glicosilazione)**

Proteine che svolgono la loro funzione al di fuori della cellula (proteoglicani lubrificanti che ricoprono le membrane mucose, proteine di riconoscimento)

5. AGGIUNTA DI RADICALI ALCHILICI

Radicale miristoile (acido miristico = a. n-tetradecanoico)

miristoilazione della subunità α delle proteine G eterotrimeriche

sequenza consenso: Met-Gly-Cys-Thr-Lys(o Val)-Ser-Ala

Importante per l'ancoraggio della subunità α alla membrana e per l'associazione alle subunità β e γ .

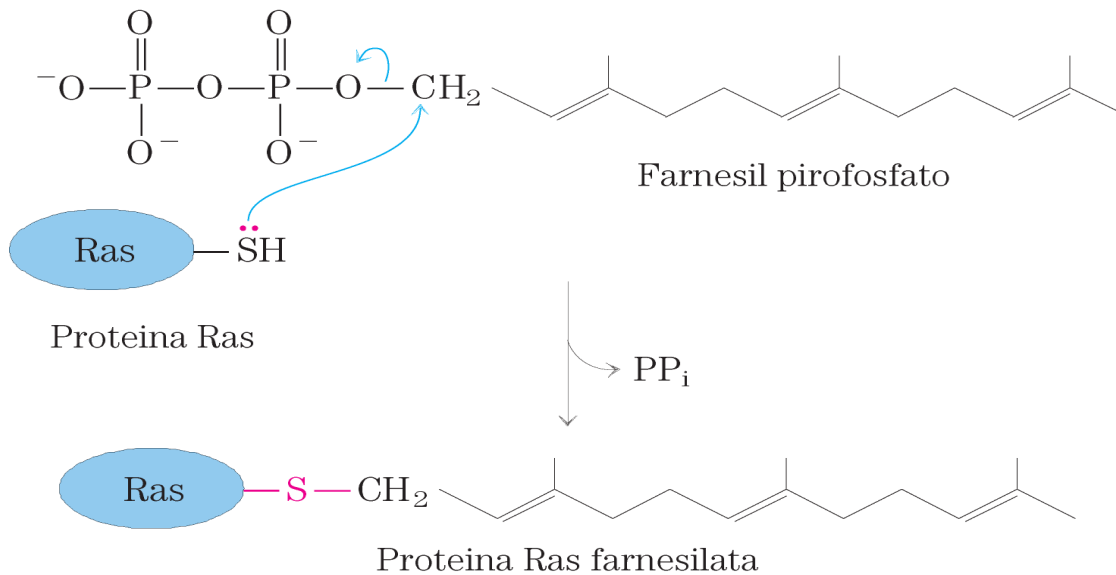
Radicali isoprenilici

farnesile (radicale a 15 atomi di C a struttura sesquiterpenica)

geranilgeranile (radicale a 20 atomi di C a struttura diterpenica)

entrambi prodotti intermedi della biosintesi del colesterolo

isoprenilazione di proteine G monomeriche; consente l'ancoraggio alla membrana plasmatica



Sequenza consenso: CAAX

C = Cys

A = Aminoacido alifatico

X = Met, Ser o Glu
(farnesilazione)

Leu
(geranilgeranilazione)

6. AGGIUNTA DI GRUPPI PROSTETICI

Es. biotina legata covalentemente ad acetil-CoA Carbossilasi
gruppo eme di emoglobina e citocromo C

7. MODIFICAZIONI PROTEOLITICHE

Taglio proteolitico di precursori inattivi per produrre molecole proteiche a più basso PM funzionalmente attive

Es.	PRECURSORE INATTIVO	PROTEINA ATTIVA
	proinsulina	insulina
	tripsinogeno	tripsina
	protrombinogeno	protrombina
	procollagene	collagene

Processo di maturazione dell' insulina

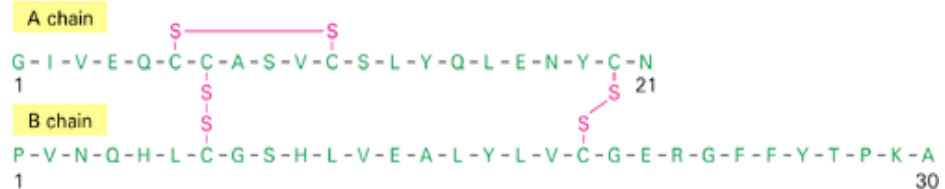
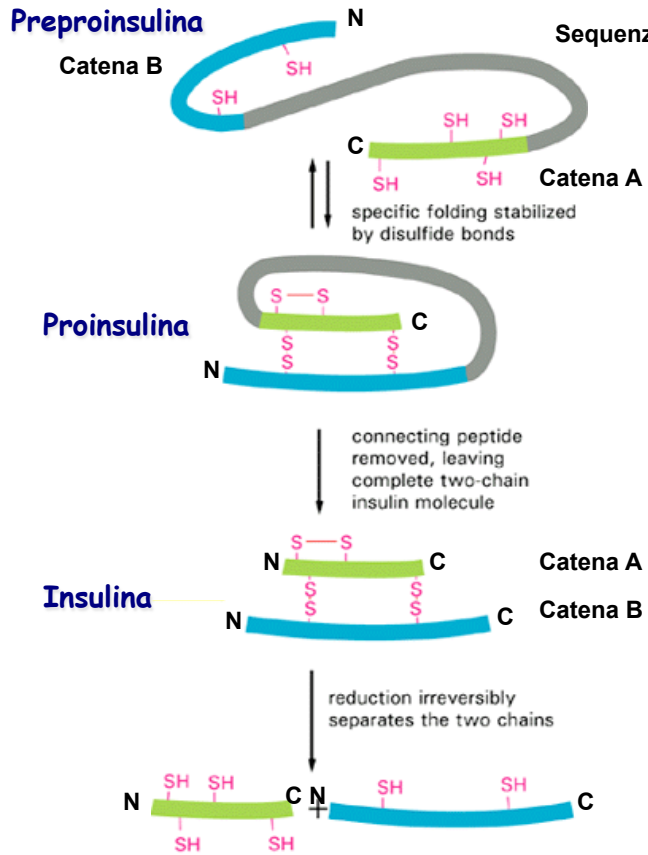
1. La preproinsulina viene sintetizzata come catena ad avvolgimento casuale su ribosomi associati a membrana

2. La sequenza leader viene scissa e la proinsulina così formata si piega in una conformazione stabile

3. Si formano ponti disolfuro

4. La sequenza di connessione viene rimossa e si forma la molecola di insulina matura

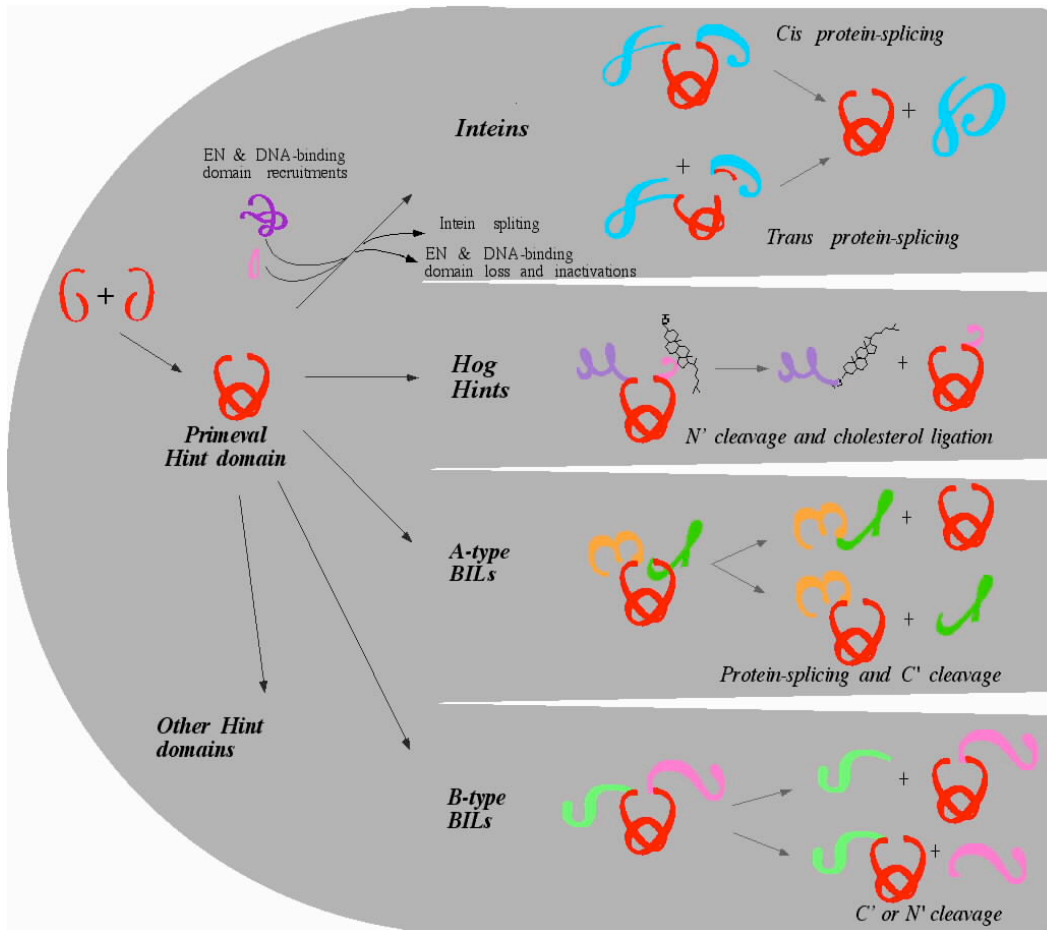
Sequenza leader: coopera al trasporto della catena polipeptidica attraverso la membrana



Self-splicing

Processo autocatalitico

Comporta l'esposizione sulla superficie della proteina di frammenti originariamente non esposti



8. FORMAZIONE DI LEGAMI COVALENTI TRA CATENE LATERALI

-PONTI DISOLFURO

Dopo l'avvolgimento nella loro conformazione nativa, alcune proteine formano legami disolfuro tra due residui di Cys, formando la CISTINA.

-ponti S-S INTERCATENA: stabilizzano l'unione tra catene diverse (insulina, γ -globuline)

-ponti S-S INTRACATENA: stabilizzano la struttura terziaria di una catena (lisozima, ribonucleasi, albumina)

Negli eucarioti, i ponti disolfuro si trovano comunemente nelle proteine che devono essere esportate fuori dalla cellula. I ponti disolfuro contribuiscono a proteggere la conformazione nativa impedendo la denaturazione nell'ambiente extracellulare, che può essere molto diverso dalle condizioni intracellulari e che generalmente è un ambiente ossidante.

-LEGAMI TRASVERSALI NON CONTENENTI ZOLFO

Derivano da catene laterali di lisina. Es. nelle fibre di collagene del tessuto connettivo.

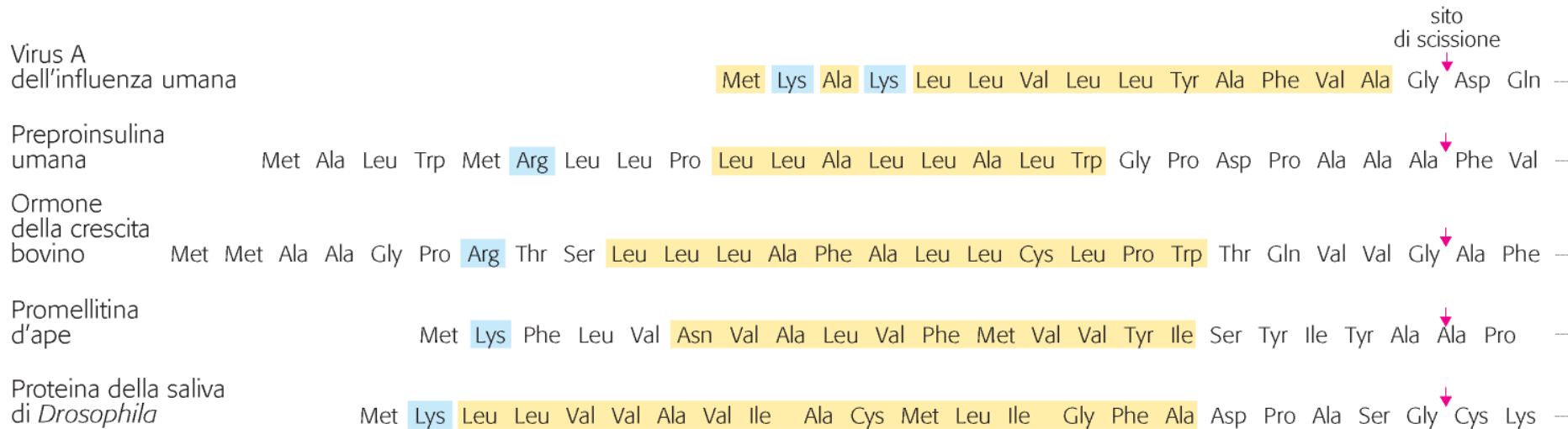
Modificazione	Sito	Funzione
Fosforilazione	Ser, Thr, Tyr	Regolazione dell'attività. Regolazione della formazione di complessi
Acetilazione	Lys	Crea parte del codice istonico nella cromatina
Metilazione	Lys	Crea parte del codice istonico nella cromatina
Metilazione	Arg	Crea parte del codice istonico della cromatina
Attacco di lipidi	Cys, estremità C-terminale	Ancoraggio della proteina alle membrane
Ubiquitinazione	Lys	Regolazione del trasporto e della degradazione. Regolazione della lettura del codice istonico
Proteolisi limitata		Attivazione delle proteasi. Attivazione di ormoni (es. insulina)
Attacco di N-acetilglucosamina	Ser, Thr	Regolazione di enzimi coinvolti nel metabolismo del glucosio
Glicosilazione	Asn, Ser/Thr	Riconoscimento, folding di proteine di membrana
Idrossilazione	Pro	Nel collagene: facilita la formazione della tripla elica (modificazione irreversibile)
ADP-ribosilazione	Arg, Glu, Asp	Nell'ambito della trasduzione del segnale, della riparazione del DNA e dell'apoptosi
Solfatazione	Tyr	Modificazione irreversibile. Probabilmente necessaria per l'attività
Carbossilazione	Glu	Crea il γ-carbossiglutamato, un ligando del calcio, indispensabile per l'inizio della coagulazione

**TRASPORTO DELLE
PROTEINE DAL
RIBOSOMA ALLE
DESTINAZIONI FINALI**

A parte le proteine citosoliche, tutte le proteine sintetizzate a livello dei ribosomi vengono indirizzate alla loro destinazione finale utilizzando meccanismi diversi.

Quello più conosciuto ha inizio nel ER (proteine lisosomiali, proteine di membrana, proteine secrete).

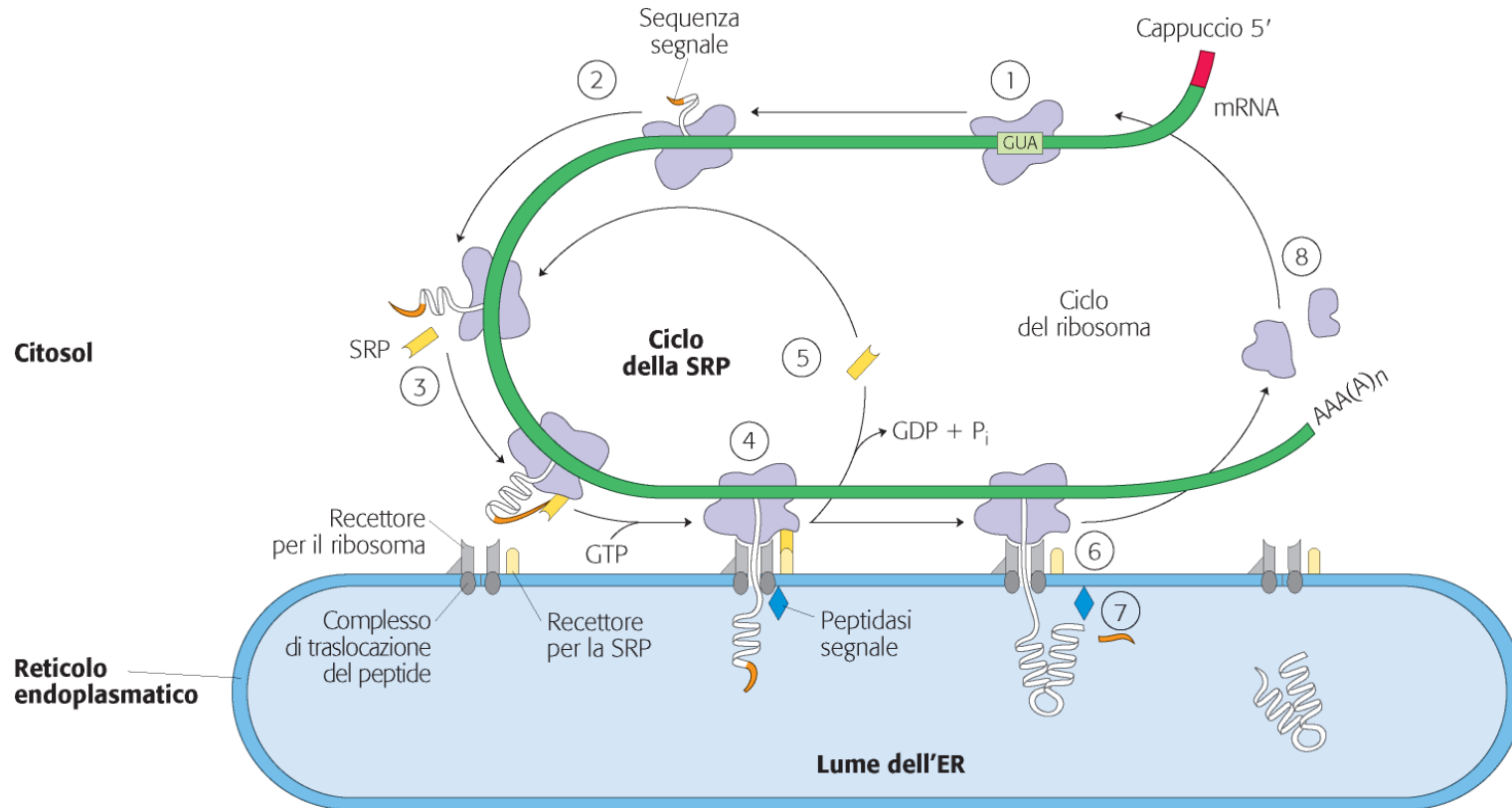
La traslocazione dei polipeptidi neosintetizzati nel lume dell'ER avviene grazie alla presenza della **SEQUENZA SEGNALE**.



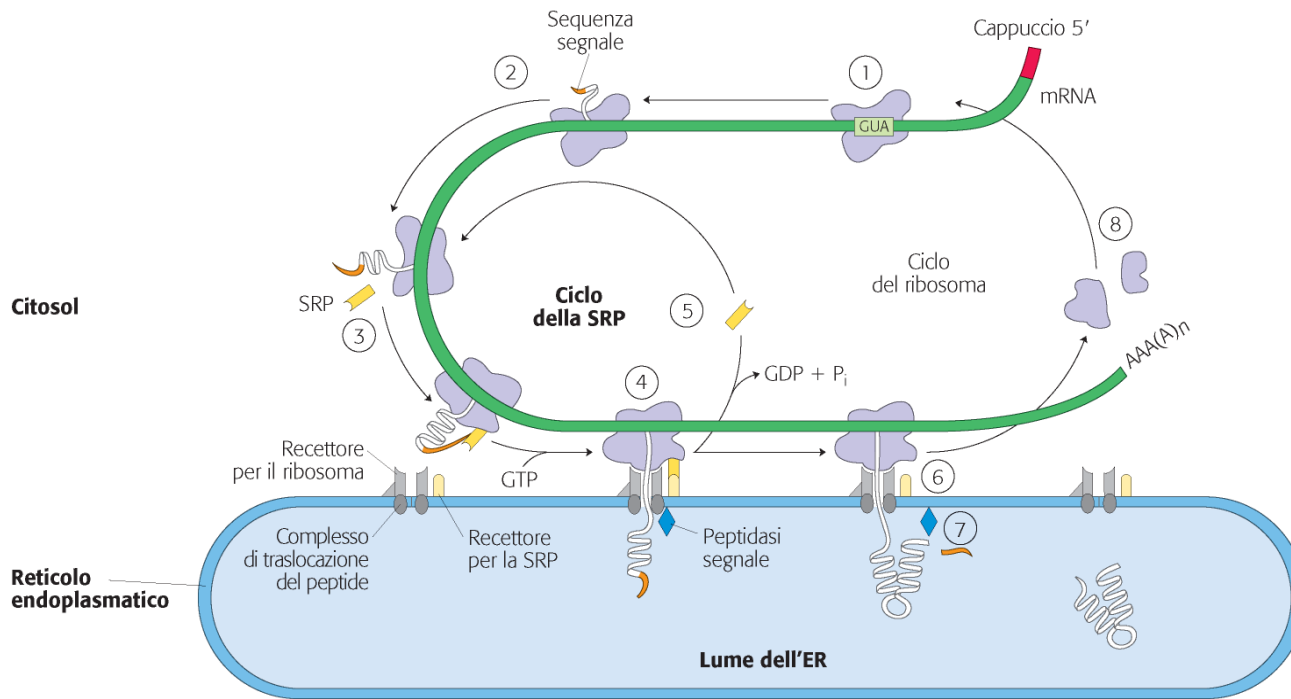
Caratteristiche delle sequenze segnale:

- lunghezza variabile da 13 a 36 residui aa
- una **sequenza di aa idrofobici** lunga 10-15 residui
- uno o più **aa basici**, generalmente vicini all'estremità N- che precede la sequenza idrofobica
- breve sequenza relativamente polare all'estremità C- con aa a catena laterale breve, soprattutto vicino al punto di scissione

LE PROTEINE CHE POSSIEDONO LE SEQUENZE SEGNALE VENGONO SINTETIZZATE SU RIBOSOMI ATTACCATI A ER



1. La sintesi proteica inizia sui ribosomi liberi
2. La sequenza segnale compare in una fase precoce del processo sintetico
3. La sequenza segnale ed il ribosoma si legano al complesso SRP (Signal Recognition Particle) - sospensione temporanea dell'allungamento



4. SRP dirige il ribosoma e il polipeptide incompleto verso un gruppo di recettori specifici posti sul lato citosolico di ER.

Il polipeptide passa al complesso di traslocazione del peptide

5. SRP si dissocia dal ribosoma

6. Riprende l'allungamento del polipeptide che viene introdotto direttamente all'interno di ER

7. La sequenza segnale viene rimossa

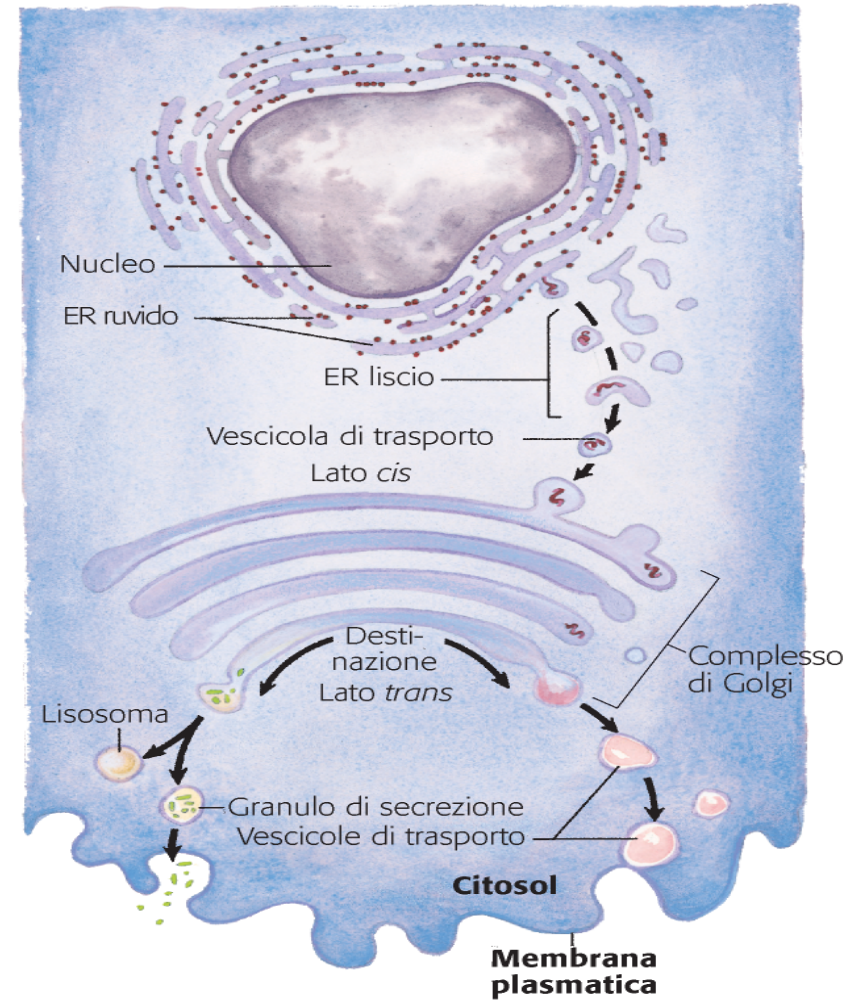
8. Il ribosoma si dissocia e viene riciclato

Nel lume di ER le proteine neosintetizzate vengono ulteriormente modificate, assumono il corretto ripiegamento, si formano eventuali ponti disolfuro, N-glicosilazioni

Le proteine modificate si spostano da ER verso il lato cis del complesso di Golgi all'interno di vescicole di trasporto.

Nel complesso di Golgi le proteine possono subire ulteriori modificazioni (O-glicosilazioni), vengono smistate e indirizzate alle rispettive destinazioni finali (lato trans).

La segregazione delle proteine destinate all'esterno della cellula rispetto a quelle destinate alla membrana plasmatica o ai lisosomi avviene probabilmente sulla base delle diverse caratteristiche strutturali della sequenza segnale.



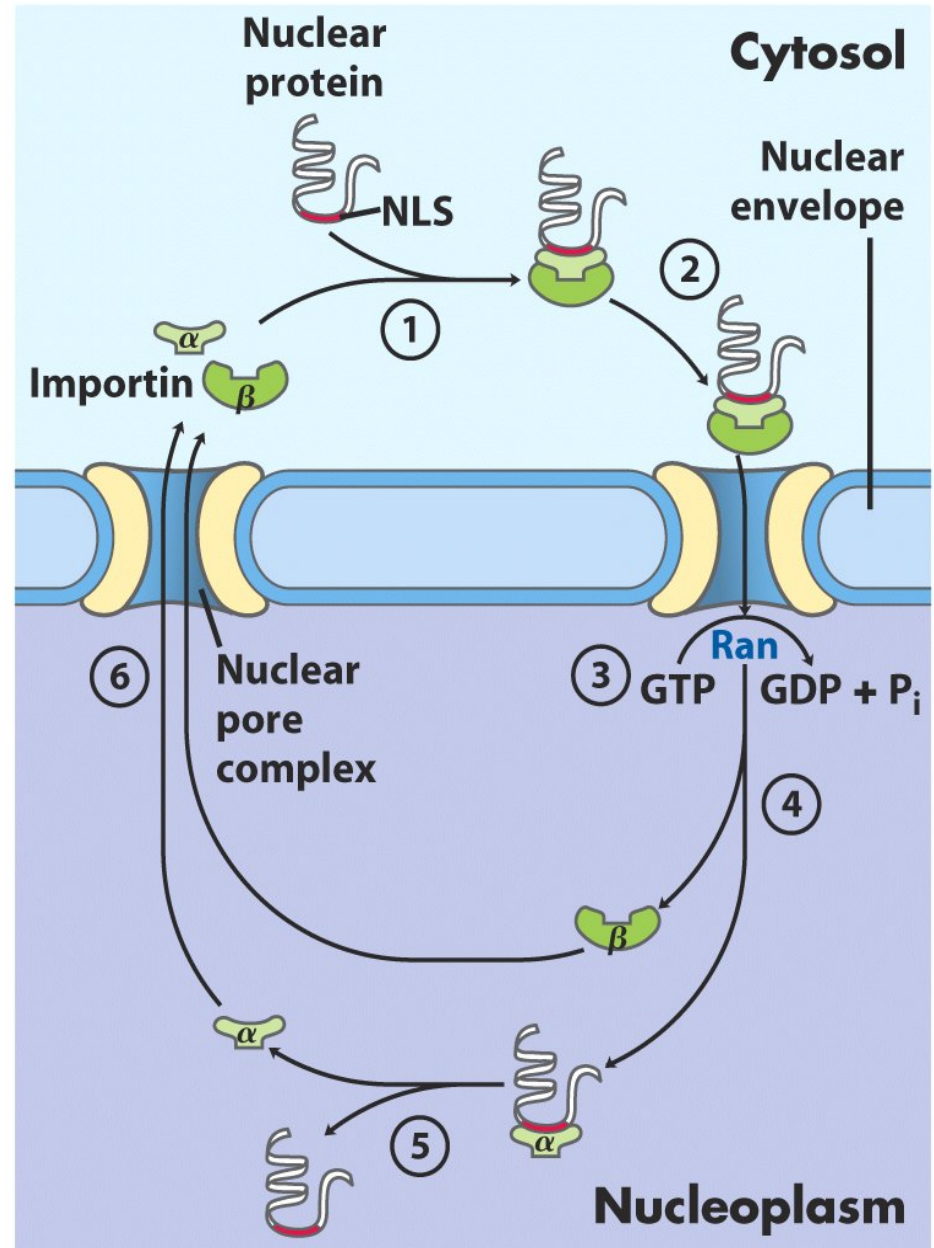
LE SEQUENZE SEGNALE PER IL TRASPORTO VERSO IL NUCLEO (NLS) NON VENGONO ELIMINATE

Nella maggior parte degli eucarioti pluricellulari l'involucro nucleare si rompe nel corso di ogni divisione cellulare. Quando la divisione cellulare è completata e l'involucro nucleare riformato, le proteine nucleari disperse devono rientrare nel nucleo.

Per permettere l'ingresso ripetuto di queste proteine, la sequenza NLS non viene rimossa dopo che la proteina è arrivata alla sua destinazione.

NLS non è localizzata all'estremità N-terminale ma può trovarsi in qualsiasi punto della sequenza primaria della proteina. In genere è costituita da 4-8 aa e include alcuni residui basici consecutivi (Arg o Lys).

Il trasporto verso il nucleo viene mediato da proteine che vanno avanti e indietro tra citosol e nucleo (importine α e β) e da Ran.



DEGRADAZIONE DELLE PROTEINE

Le proteine sono continuamente degradate mediante un processo selettivo che previene l'accumulo di quelle non necessarie o di quelle anormali e per facilitare il riciclaggio degli AA.

Le proteine più rapidamente degradate sono quelle anormali (non funzionanti a causa di errori durante la traduzione o per danneggiamenti post-traduzionali).

L'emivita può variare da 30" a molte ore o a tutta la vita della cellula (emoglobina).

Il processo di degradazione è mediato da segnali N-terminali

TABLE 27-9 Relationship between Protein Half-Life and Amino-Terminal Amino Acid Residue

<i>Amino-terminal residue</i>	<i>Half-life*</i>
Stabilizing	
Met, Gly, Ala, Ser, Thr, Val	>20 h
Destabilizing	
Ile, Gln	~30 min
Tyr, Glu	~10 min
Pro	~7 min
Leu, Phe, Asp, Lys	~3 min
Arg	~2 min

Source: Modified from Bachmair, A., Finley, D., & Varshavsky, A. (1986) In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* **234**, 179-186.

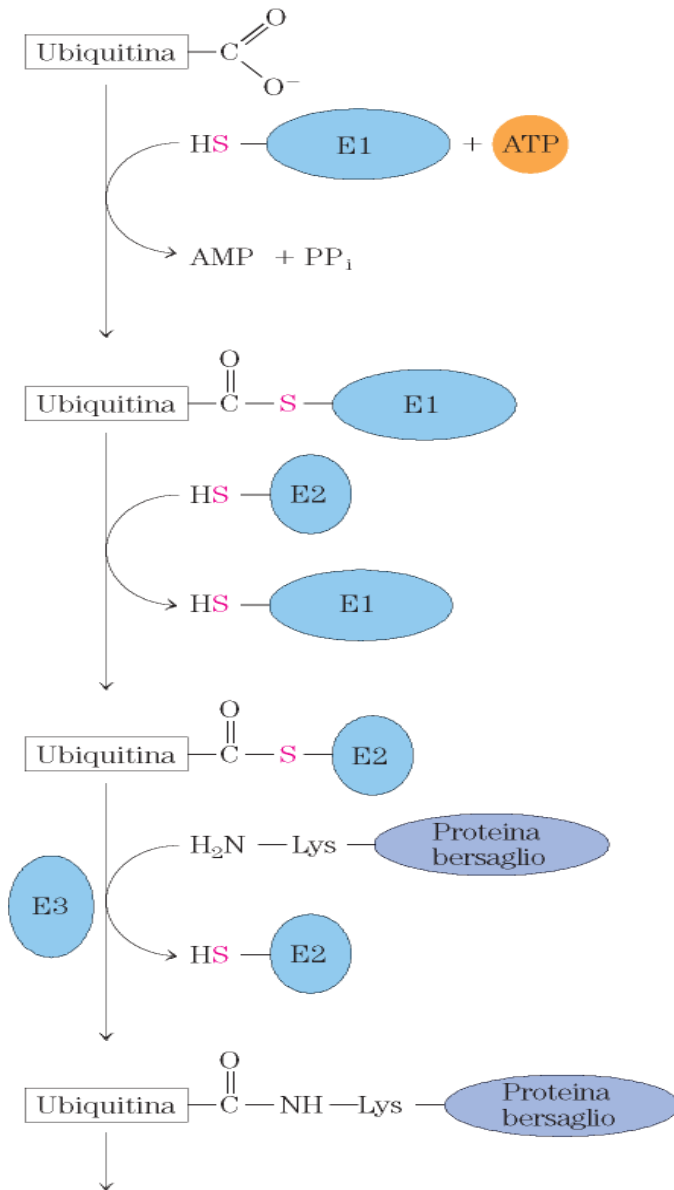
*Half-lives were measured in yeast for the β -galactosidase protein modified so that in each experiment it had a different amino-terminal residue. (See Chapter 9 for a discussion of techniques used to engineer proteins with altered amino acid sequences.) Half-lives may vary for different proteins and in different organisms, but this general pattern appears to hold for all organisms.

In tutte le cellule la degradazione delle proteine è mediata da sistemi specializzati

In genere le proteine sono degradate da sistemi citosolici ATP-dipendenti

Nei vertebrati c'è anche un secondo sistema lisosomiale per proteine di membrana, proteine extracellulari e proteine con emivita lunga

Negli eucarioti un componente chiave per il sistema ATP-dipendente è l'**UBIQUITINA**, piccola proteina di 76AA.



Cicli ripetuti portano all'attacco di un'altra ubiquitina

Legame di Ubiquitina ad una proteina

Nel processo sono coinvolti due diversi intermedi enzima-ubiquitina. Il gruppo carbossilico libero di Gly C-terminale dell'ubiquitina viene alla fine legato all' ϵ -amino gruppo di Lys della proteina bersaglio. Cicli ulteriori producono il polimero poliubiquitina, che indirizza alla distruzione la proteina al quale si trova attaccato.