

3. Sejtalkotó molekulák III.

Fehérjék, fehérjeszintézis
(transzkripció, transzláció, poszt-
szintetikus módosítások).

Enzimműködés

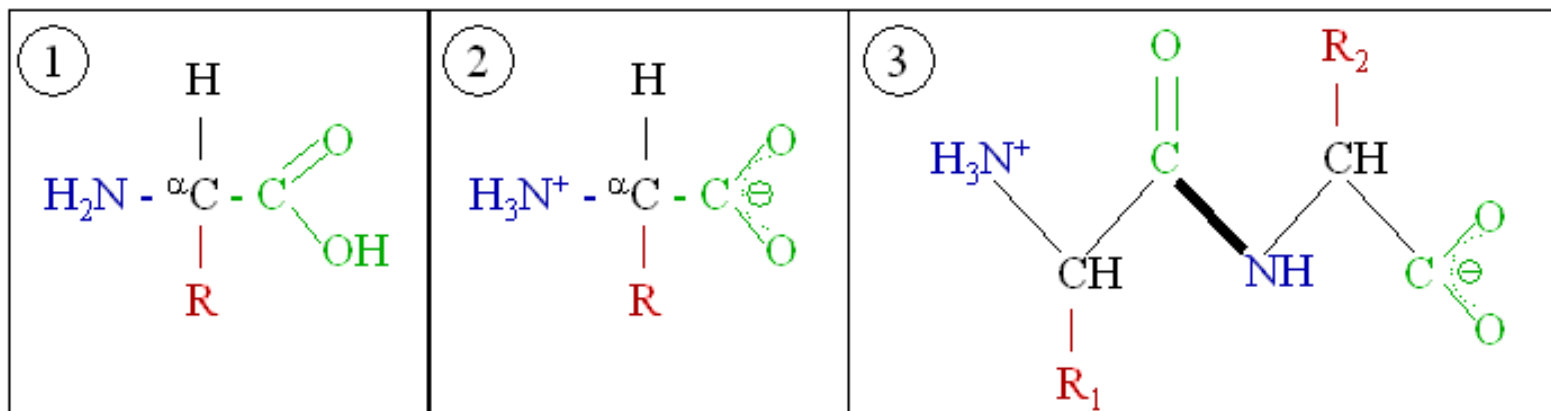
3.1 Fehérjék

- A genetikai információ egyik fő manifesztálódása
- Számos funkció (katalízis, transzport, váz, mozgás, érzékelés, felismerés, növekedés stb.)
- Enzimek (biokatalizátorok)
- Polimerek
- Aminosav építőegységekből

Építőkövek: aminosavak

- L-aminosavak (α -amino-karbonsavak)
- 22 fehérjeépítő
 - Szelenocisztein (eukariótákban)
 - Pirrolizin (ritka, archaeae, prokarioták – metanogének)
 - DNS-ben kódolva
- 25 aminosav (fehérjeépítő aminosavak további módosításával)

- L-konfiguráció (kivéve Gly)
- Ikerionos szerkezet (pH függő)
- Izoelektromos pont (az a pH ahol semleges a molekula)

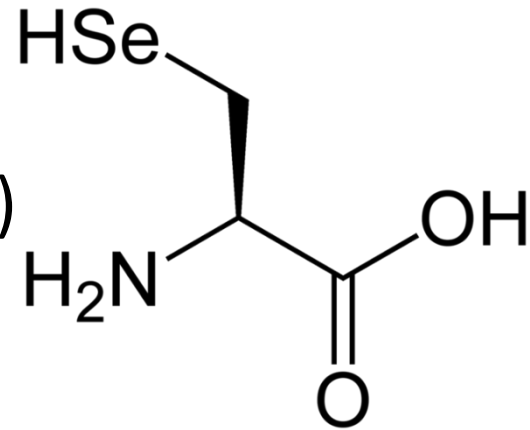


aminosavak

ikerionos szerkezet

21. és 22. aminosav

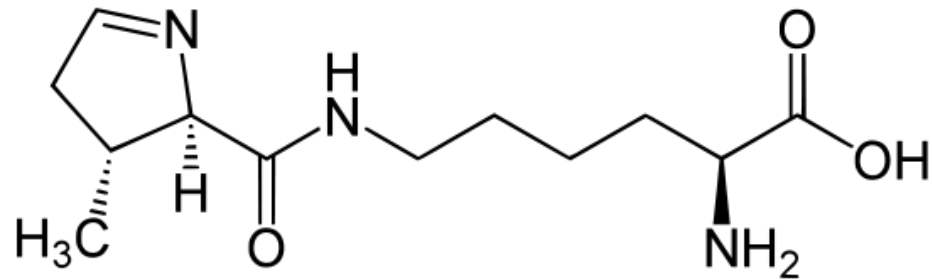
- Szelenocisztein (Sec, U, Se-Cys)
 - Általában redox funkció (antioxidánsok)
 - Szelenoproteinek – 25 az emberben
 - Szelenoenzimek pl. glutation peroxidáz
 - PET imaging ^{73}Se
 - Nagyfelbontású NMR ^{77}Se
 - UGA (Opal – Stop kodon) - Se függő szabályozás



21. és 22. aminosav

- Pirrolizin

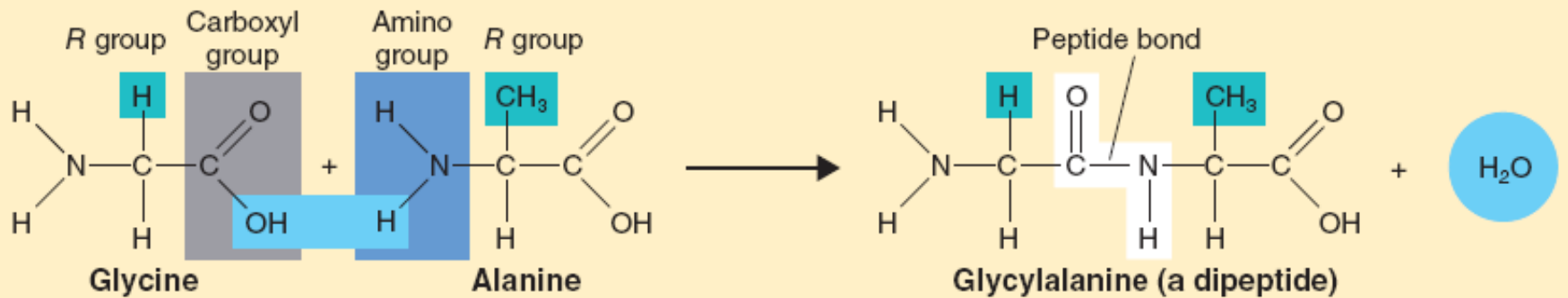
- Metanogén archea
- Metán metabolizmusban részt vevő enzimekben
- UAG (Amber – Stop kodon)
- Lehetőség nem természetes aminosavak kódolására (tRNS-aaRS pár)



Aminosavak

- Csoportosítás
 - Apoláris (Gly, Leu, Ile, Pro, Ala, Val)
 - Poláris (Cys, Thr, Met, Ser, Asn, Gln, Sec)
 - Savas (Asp, Glu)
 - Bázisos (Arg, Lys, His, Pyl)
 - Aromás (Phe, Trp, Tyr)
- Esszenciális aminosavak (az állati / emberi) szervezet nem képes előállítani
 - Met, Thr, Lys, Ile, Val, Leu, Phe, Trp, His

A peptidkötés



- Szabad NH_2 , COOH (NH_3^+ , COO^-)
- N-terminális, C-terminális
- N \rightarrow C irány

A peptidek / fehérjék szerkezete

- Elsődleges (primer) szerkezet: az aminosav sorrend /szekvencia
 - MS, vagy Edman lebontás (darabolás endopeptidázokkal, fixálás pl. üvegen, utána N-terminális reakciója fenilizotiocianáttal, azonosítás pl. kromatográfiásan)
- Másodlagos (szekunder) szerkezet: a hidrogén-hidak által stabilizált, legalább négy aminosavra kiterjedő rendezettség
 - A peptidsíkok által bezárt szögek jellemzik

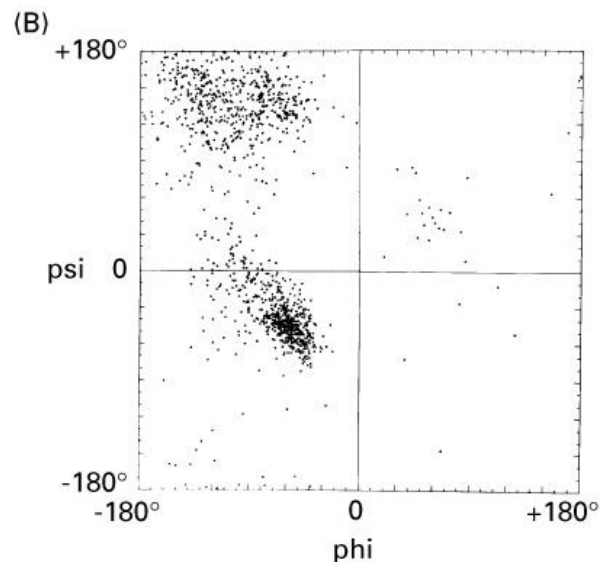
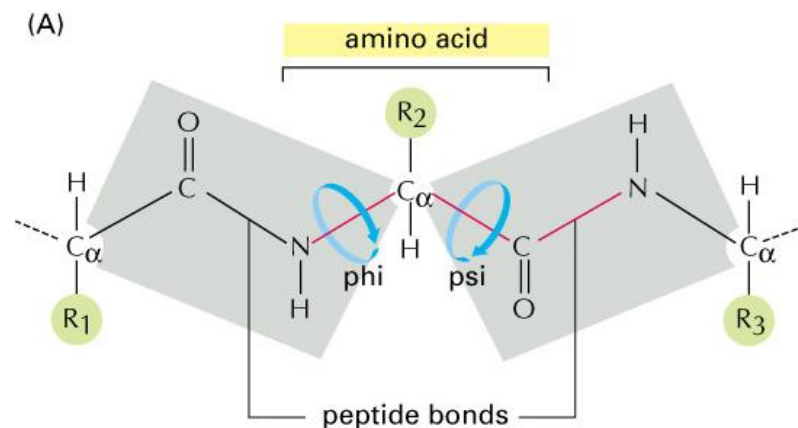
Másodlagos szerkezet

- A peptidsíkok által bezárt szögek (ϕ , ψ) által meghatározott konformációk.

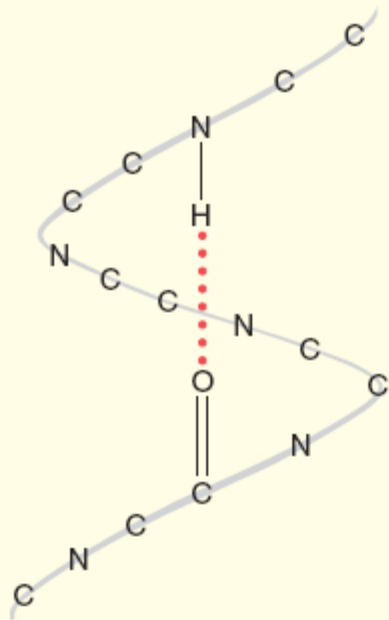
- α -hélix
- β -redő
- β -kanyar

- Szerkezet meghatározható

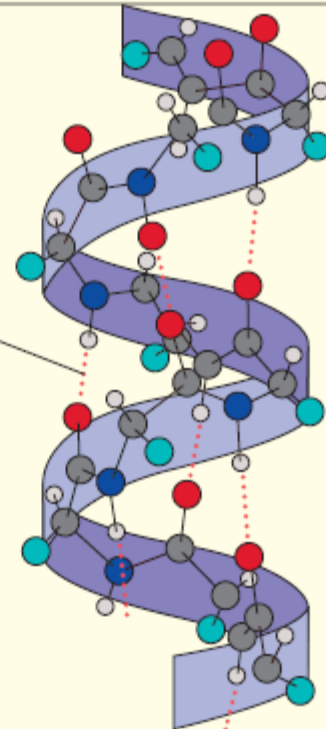
- CD spektroszkópia
- Rtg.
- A primer szerkezetből modellezéssel valószínűsíthető



Másodlagos szerkezet - α -hélix



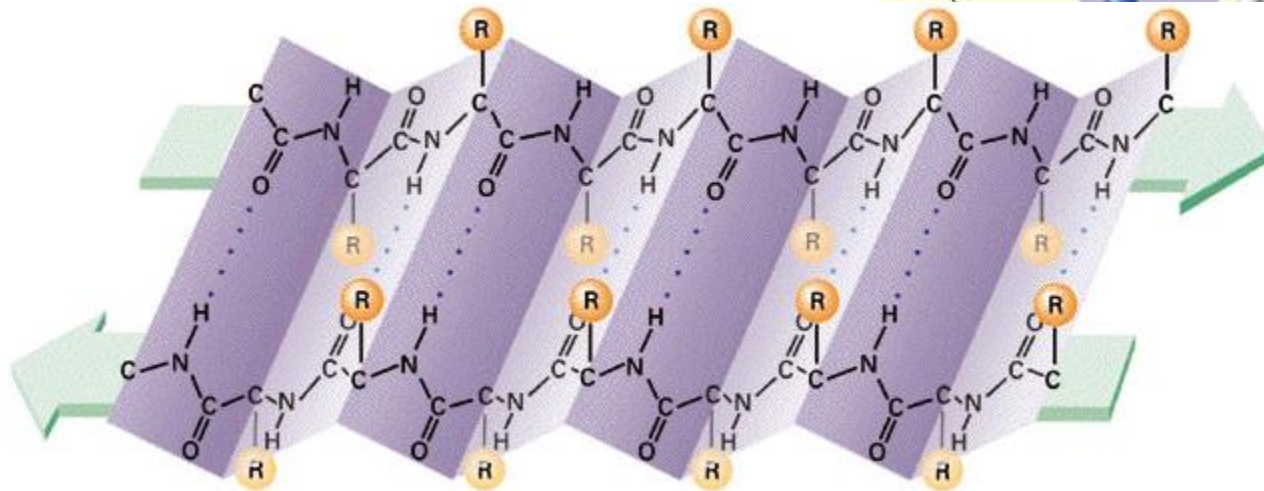
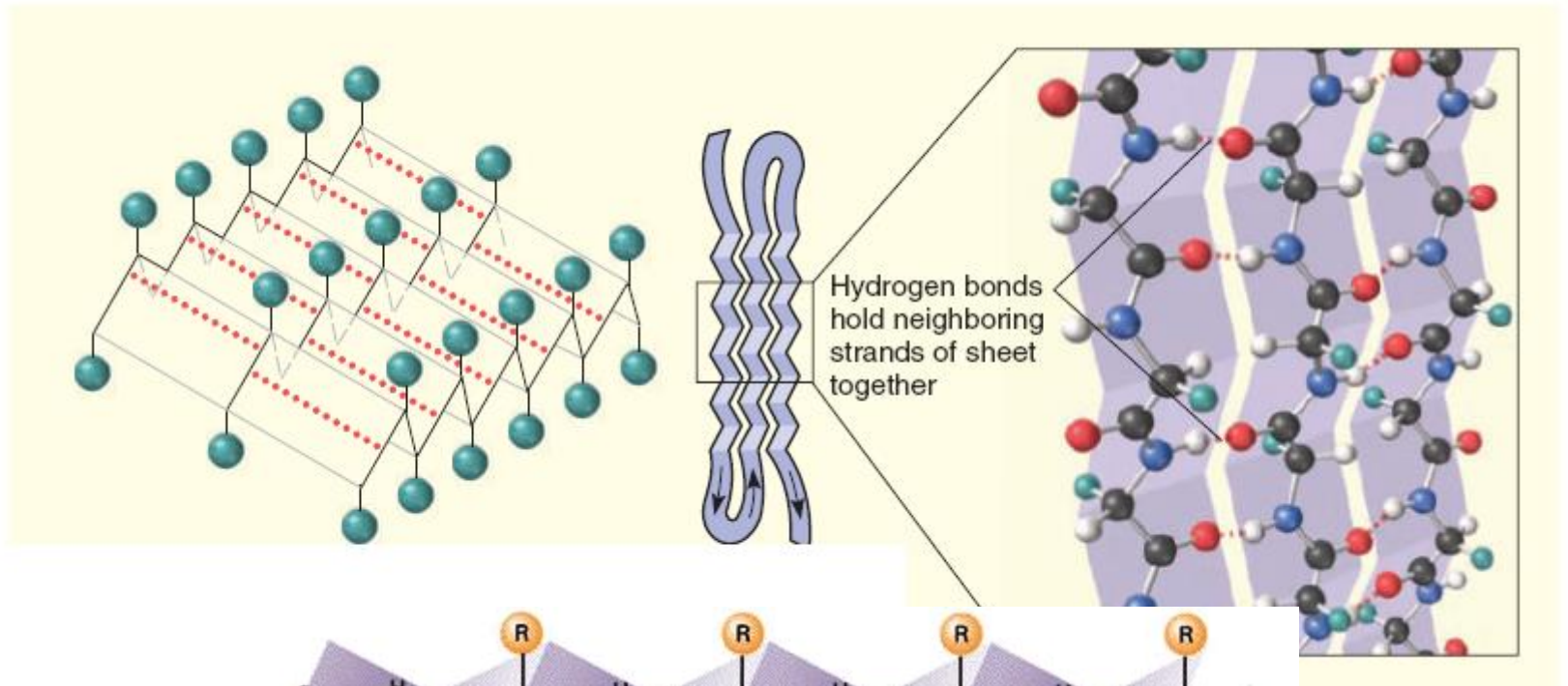
Hydrogen bonds hold helix coils in shape



KEY:

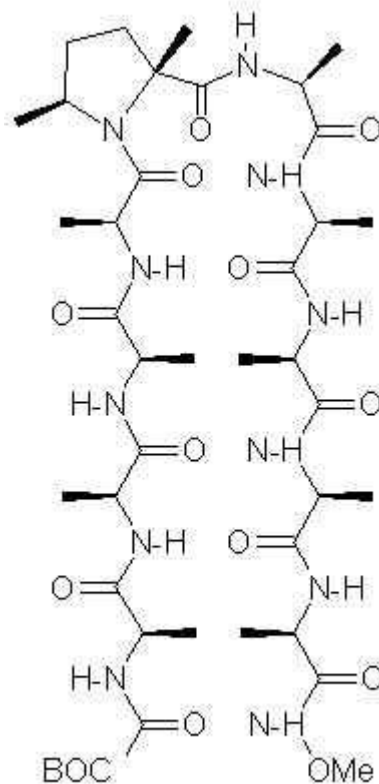
- Carbon atom
- Oxygen atom
- Nitrogen atom
- Hydrogen atom
- R group

Másodlagos szerkezet - β -redő (antiparallel)



Másodlagos szerkezet - β -kanyar

- Antiparallel
- Általában tartalmaz Prolint



Fehérjék harmadlagos szerkezete

- A fehérje 3D szerkezete
- Összetartó erők
 - Apoláris (diszperziós erők) a fehérje belsejében
 - Ionos kölcsönhatás (kívül)
 - H-híd
 - Dipol-dipol
 - Kovalens (diszulfidhidak)
- Globuláris (pl. hemoglobin), fibrilláris (pl. keratin, selyem)

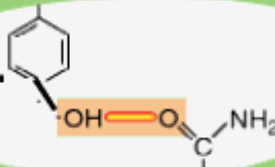
Fehérjék harmadlagos szerkezete

Bonds Stabilizing Tertiary Structure

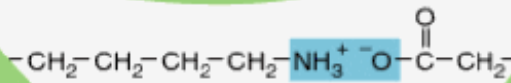
Hydrophobic Interactions



Hydrogen bonds



Ionic Interactions



Sulfhydryl



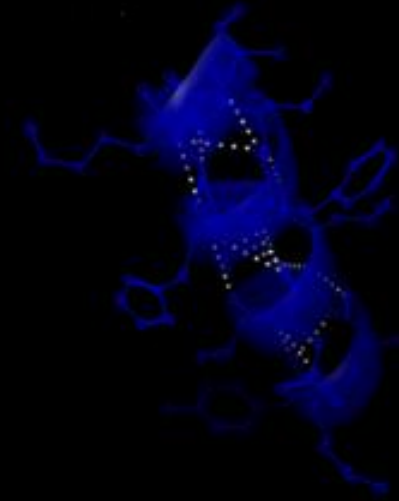
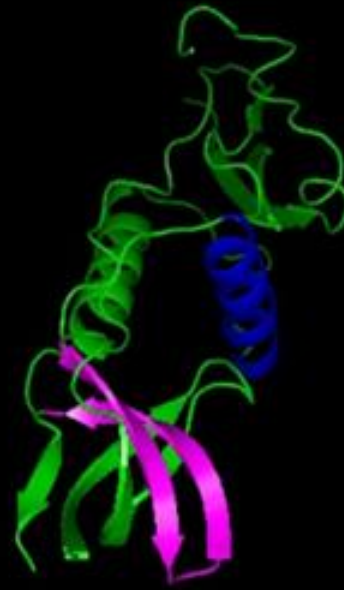
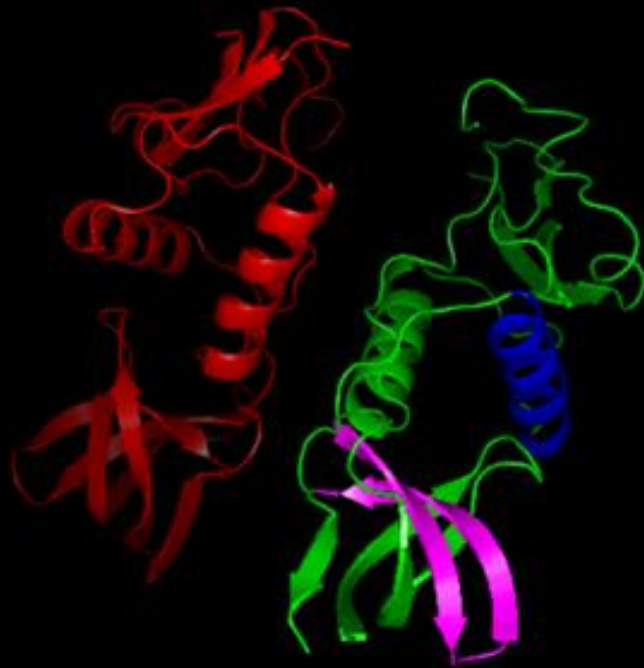
Fehérjék negyedleges szerkezete

- Ha több polipeptid láncból áll össze a funkcionális fehérje
- Az alegységek egymáshoz viszonyított helyzete
- Nem-kovalens összetartó erők
- Az egész fehérje 3D szerkezete
- Hemoglobin, DNS polimeráz, ioncsatornák

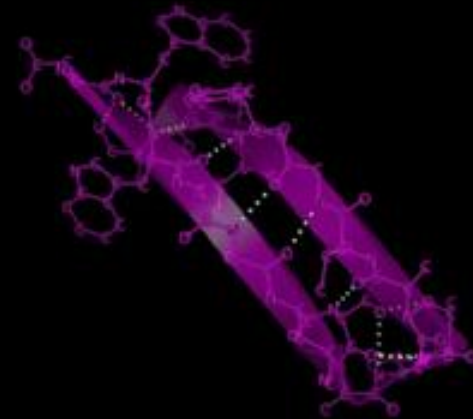
secondary structure

quarternary structure

tertiary structure



α -helix



β -sheet

primary structure

Tyr-Lys- Ala-Ala-Val-Asp-Leu-Ser-His-Phe-Leu-Lys-Glu-Lys

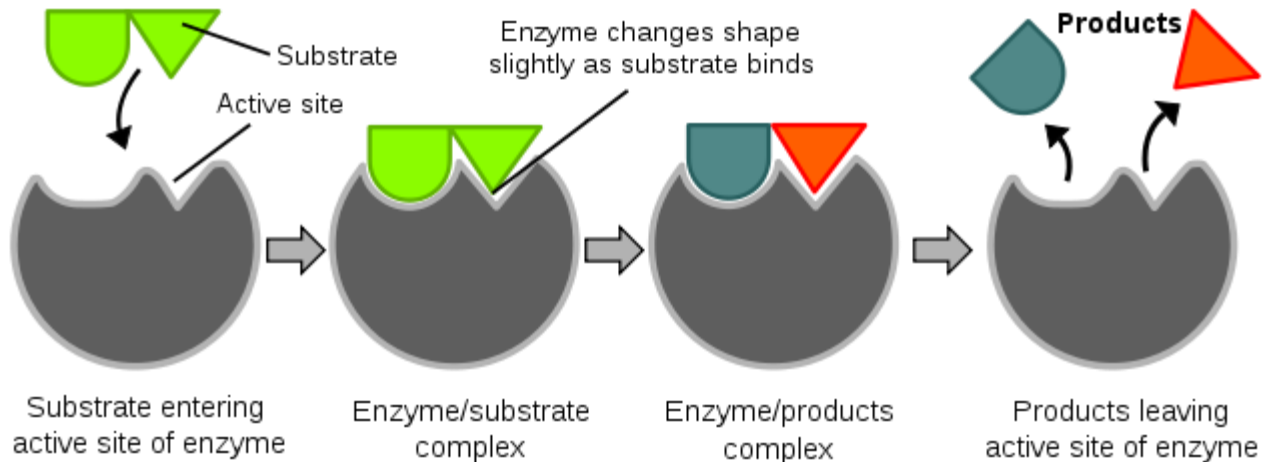
Asp-Trp-Trp-Glu-Ala-Arg-Ser-Leu-Thr-Thr-Gly-Glu-Thr-Gly-Tyr-Pro-Ser

Fehérjék csoportosítása

- Összetétel szerint
 - Egyszerű fehérjék (csak aminosavakból áll)
 - Összetett fehérjék (metallo-, hem-, nukleo-, gliko-, lipo-proteinek)
- Funkció szerint
 - enzim, transzport, struktúr-, védő, hormon, motor, toxin stb.

Enzimek

- Kémiai reakciót katalizáló fehérjék
- Csökkentik a reakció E_a^\ddagger -ját (átmeneti állapot stabilizáció)
- Aktív centrum + ligandum(ok)
- Fischer: kulcs-zár elmélet
- (RNS alapú enzimek = ribozimok)



Enzimek

- Alloszterikus hatás (az enzimen egy másik kötőhely – szabályozás)
- Kofaktorok (szerves: pl. hem; szvetlen: pl. vas)
- Kofaktorok: prosztetikus csoport (szorosan kötődik az enzimhez), vagy koenzim (~szubsztrát)
- Apoenzim (kofaktor nélkül), holoenzim (kofaktorral)
- Inhibitorok (enzimgátlók)

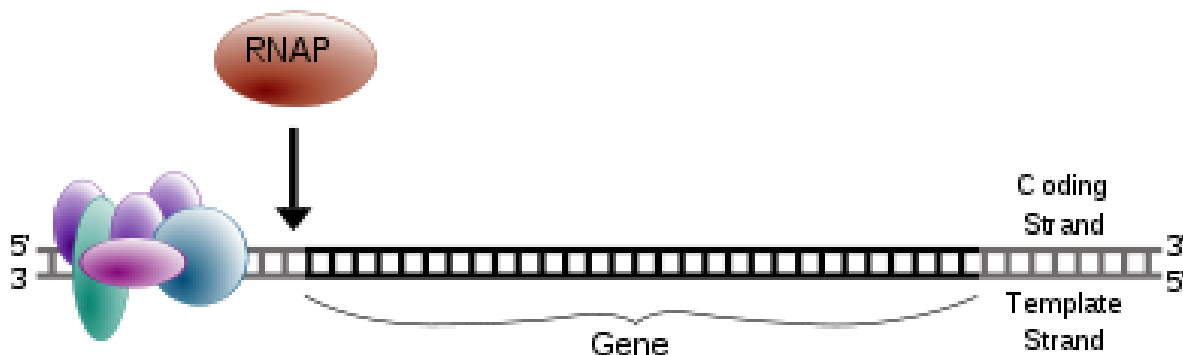
Fehérjék szintézise

- Centrális dogma: DNS-RNS-Fehérje
- Triplet - kodon - antikodon – aminosav

Transzkripció (DNS-RNS)

Preiniciáció:

- Promóter szakasz: a gént megelőző DNS szakasz (pl. TATA-box)
- Transzkripciós faktorok kötődnek a promóter szakaszhoz (pl. TATA-kötő fehérje)
- Egyéb transzkripciós faktorok
- Giráz + Helikáz aktivitású transzkripciós faktor (letekeri és szétszedi a kettős szálát)



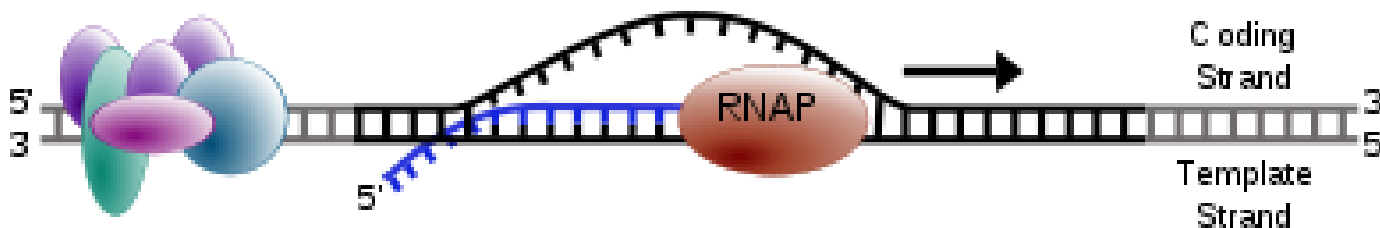
Transzkripció (DNS-RNS)

Iniciáció:

- A transzkripciós faktorok megkötik az RNS polimerázt (RNAP) – DNS dependens (transzkripciós buborék)
- Iniciációs komplex, megkezdődik az átírás (coding = sense, non-coding = antisense strand)

Elongáció:

- A templát (non coding) szárról fordítódik le RNS-re a DNS információ (szintézis 5' -> 3')
- T helyett U



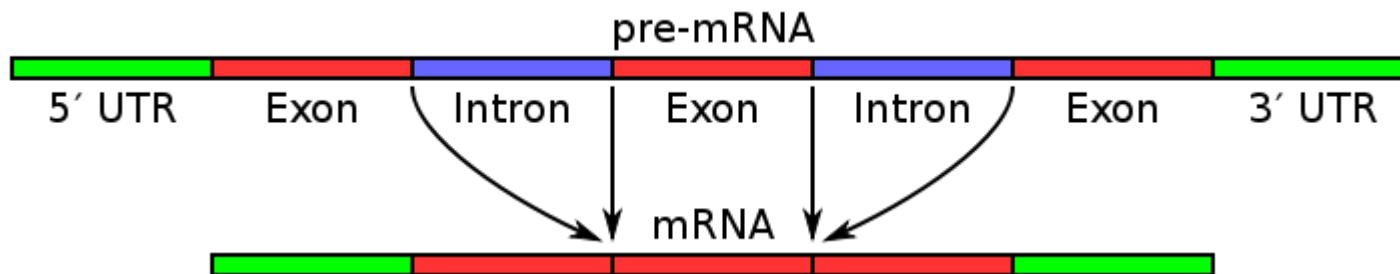
Transzkripció (DNS-RNS)

Termináció:

- A kódoló szakasz végén egy G-C gazdag szakasz, illetve poli A található
- Hajtű szerkezet alakul ki
- Szétesik a transzkripciós apparátus

mRNS módosítás

- mRNS szerkesztés (editing)
- Az elkészült pre-mRNS módosítása
- Sejtmagban (mitokondrium, plasztisz), citoszólban
- Nukleotid módosítás (deaminálás) C-U; A-I
- RNS „átszabás” - splicing



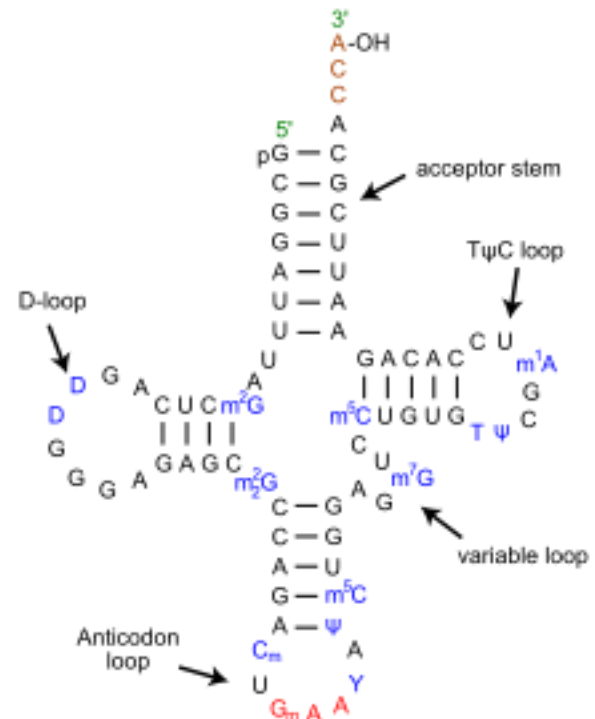
Transzláció (mRNS-tRNS-aminosav)

- Bázishármasok (egymást követő, nem átlapoló)
- Leolvasási keret (reading frame)

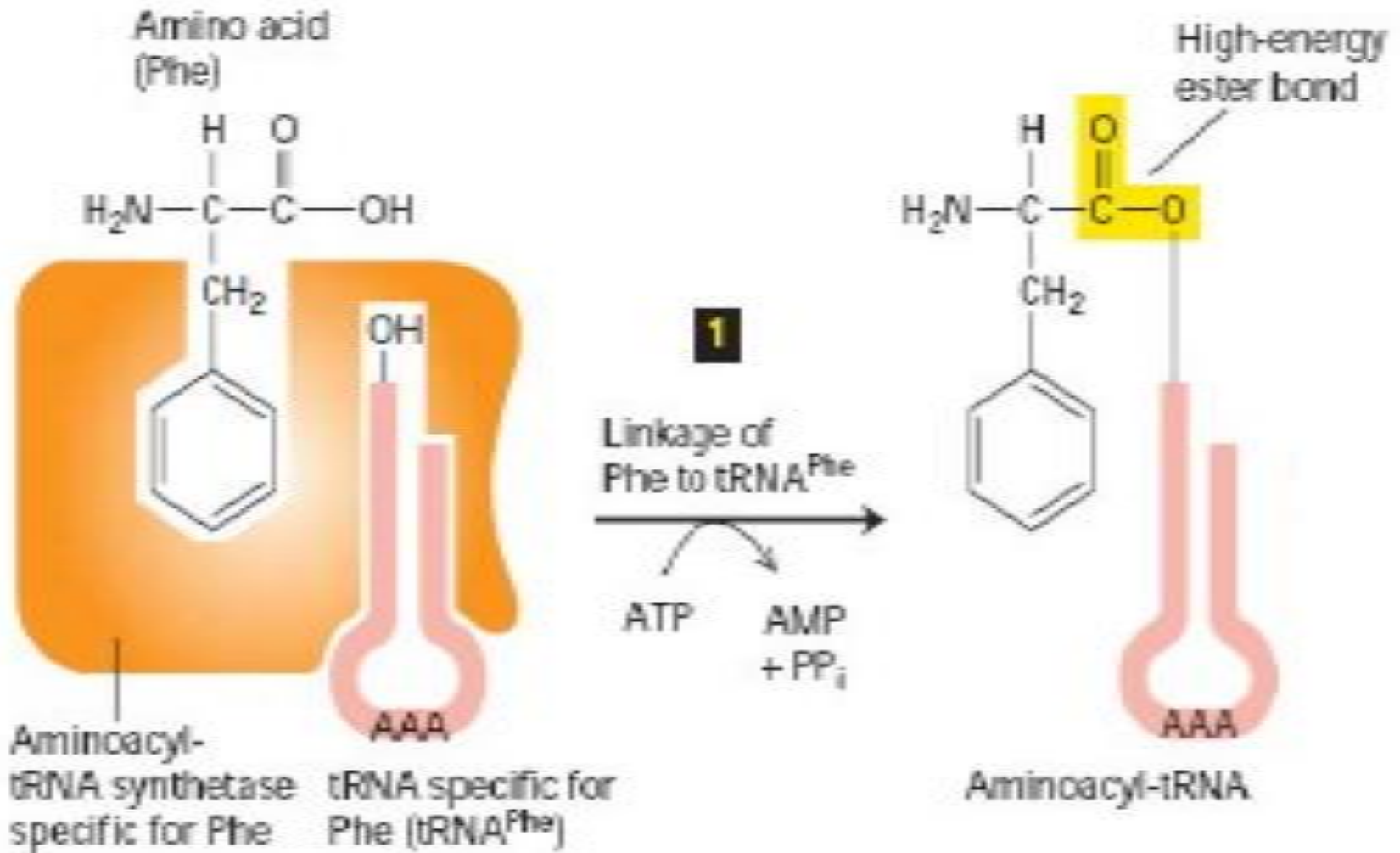


Transzláció (mRNS-tRNS-aminosav)

- mRNS, riboszóma (két alegység rRNS+ fehérje)
- Kialakul a transzlációs komplex
- START kodon (AUG) mindig Met-t kódol
- tRNS

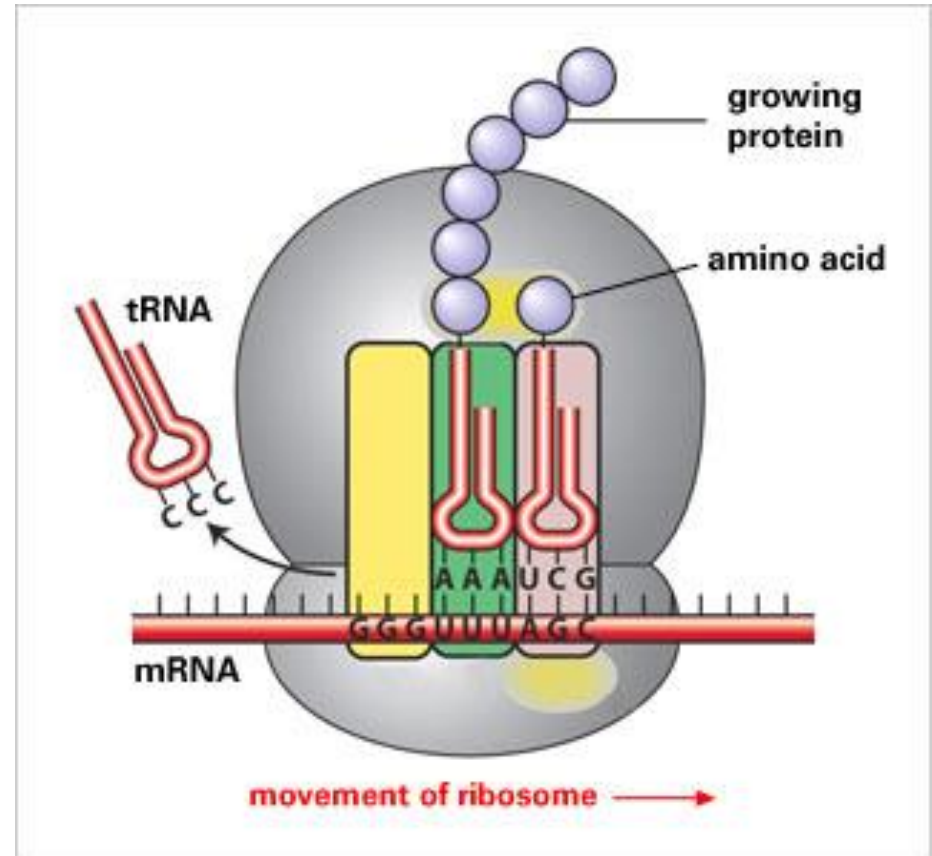


tRNS-Aminosav



Transzláció (mRNS-tRNS-aminosav)

- A riboszóma 5' → 3' irányban olvassa le az mRNS-t
- Iniciáció (START)
- Elongáció
- Transzlokáció
- Termináció (STOP kodon)



STOP kodonok

- UAG ("amber")
- UAA ("ochre")
- UGA ("opal")
- STOP kodonnál leáll a transzláció
- Nem természetes aminosavak kódolására használják

Poszt-transzlációs módosítások

- Enzimek által katalizált
- Funkciós (+ kofaktorok) csoportok hozzáadása
 - Lipid, cukor, nukleinsav stb.
- Egyéb polipeptidláncok hozzáadása
- Aminosav módosítások (pl. Arg → citrulin)
- Szerkezeti módosítások (pl. diszulfidhidak)
- Foszforiláció (kinázok által, fontos szabályozási elem)

Génexpresszió

- START és STOP triplet / kodon között
- Transzkripciós faktorok
- Expresszió szabályozás : egyedfejlődés, differenciáció stb. alatt miről történjen átírás
- DNS silencing (metilálás, hisztonok)

Pontmutációk

- Egy bázispárt érintő mutáció
- „silent” : kodon változik, de ugyanazt az AA-t jelenti
- „neutral” : más aminosavat kódol, de nincs hatása
- „missense” : új aminosavat eredményez aminek hatása is van
- „nonsense” : STOP tripletet / kodont eredményez
- „frameshift” : nukleotid elimináció, addíció miatt eltolódik a leolvasási keret

Back-mutációk (reverziók)

- Exakt reverzió: az eredeti aminosavat eredményezi
- Ekvivalens reverzió : neutrális mutációt eredményez, az új aminosavnak nincsen hatása

Amber szupresszorok

- Amber szupresszor mutáció eredményeként pl. a Tyr-t szállító tRNS antikodonjában AUC jelenik meg, képes a STOP-kodonhoz kötni nem természetes aminosavak beépítési lehetősége.