

EL SISTEMA UBIQUITIN - PROTEASOMA

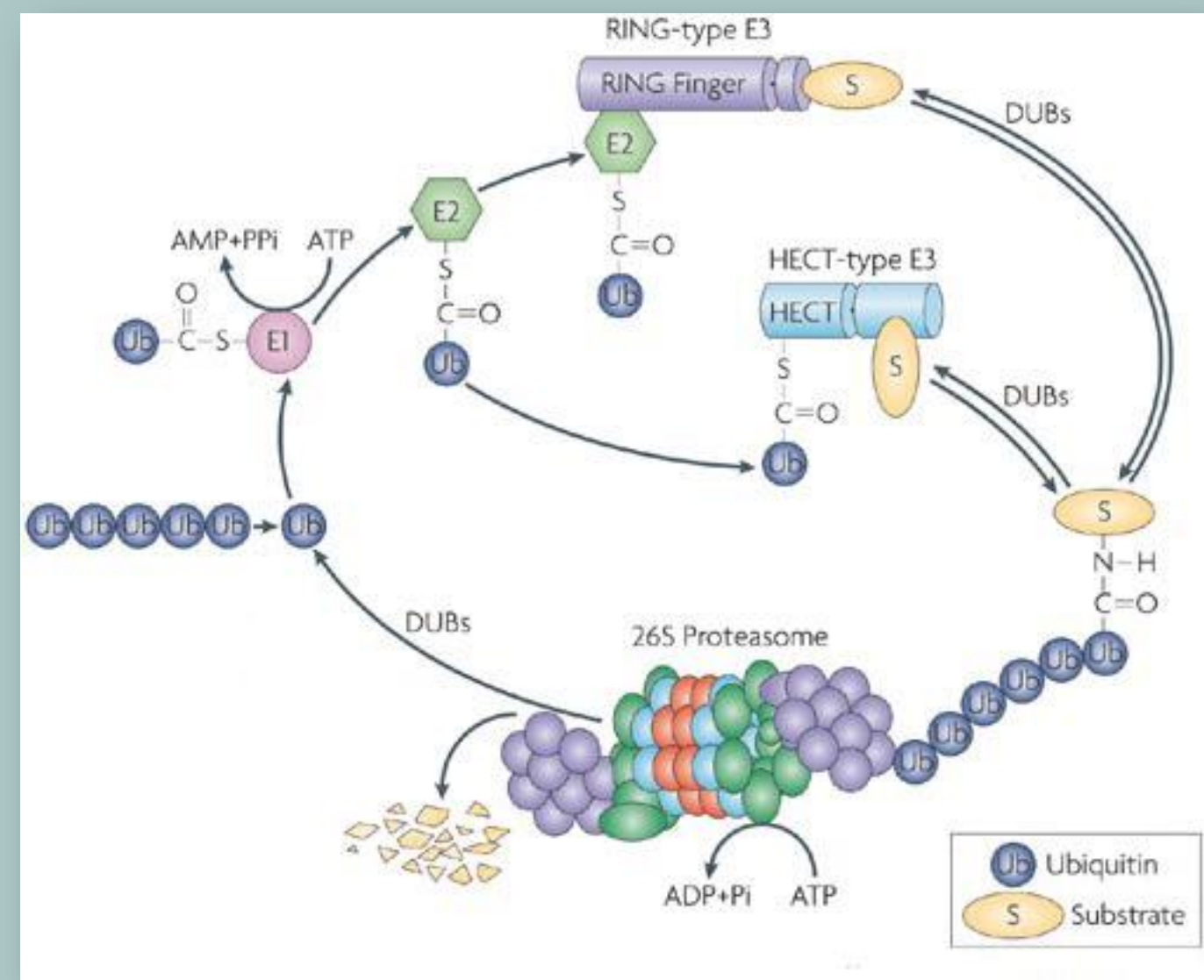
En el llevat com a organisme model

Marina Moliner Culubret
Grau en Bioquímica. Juny 2014

OBJECTIU

Conèixer la importància biològica i el funcionament del sistema ubiquitin – proteasoma per la degradació selectiva de proteïnes, enfocant l'estudi en les característiques estructurals de les unitats enzimàtiques que el conformen i les interaccions que es produeixen entre substrats i enzims conjugatius de la cadena de poliubiquitina; i entre substrats, cadenes d'ubiquitina i subunitats enzimàtiques del propi proteasoma.

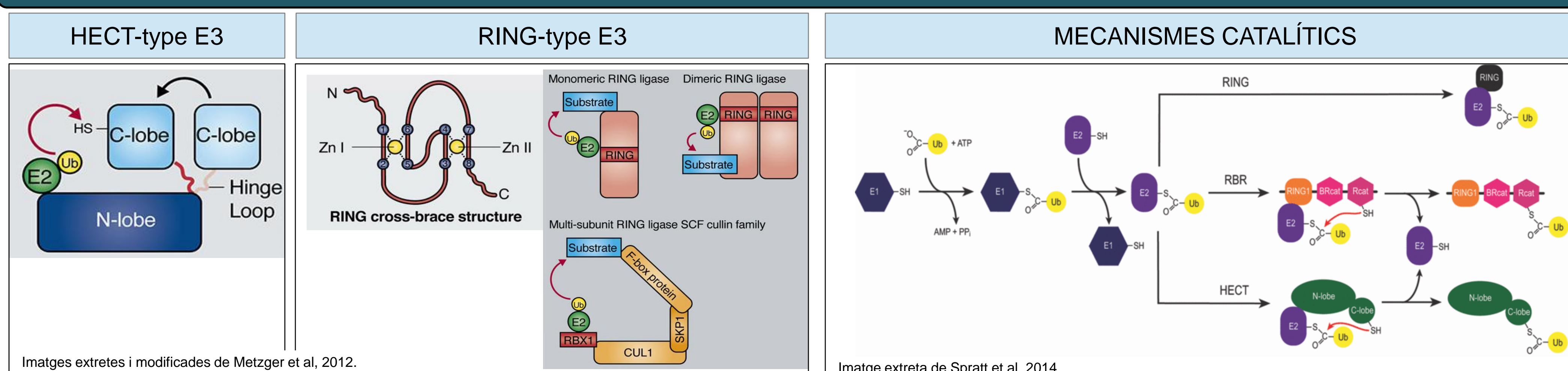
DEGRADACIÓ DE PROTEÏNES PEL SISTEMA UBIQUITIN – PROTEASOMA (UPS)



La via del sistema ubiquitin-proteasoma (UPS) comença amb la poliubiquitinació de la proteïna substrat de degradació a través d'una cascada enzimàtica catalitzada per E1 o enzim activador, E2 o enzim de conjugació i E3 o ubiquitin-lligasa. Una vegada ubiquitinats els substrats seran transportats fins al proteasoma, una proteïna multimèrica que en la seva conformació clàssica s'estructura en un core proteolític, CP de 20S i dues partícules reguladores, RP de 19S, disposades als extrems del core, formant un macrocomplex de 26S que reconeix i degrada les proteïnes substrat, reciclant les cadenes d'ubiquitina i alliberant petits pèptids proteolitzats.

Imatge extreta i modificada de Murata et al., 2009.

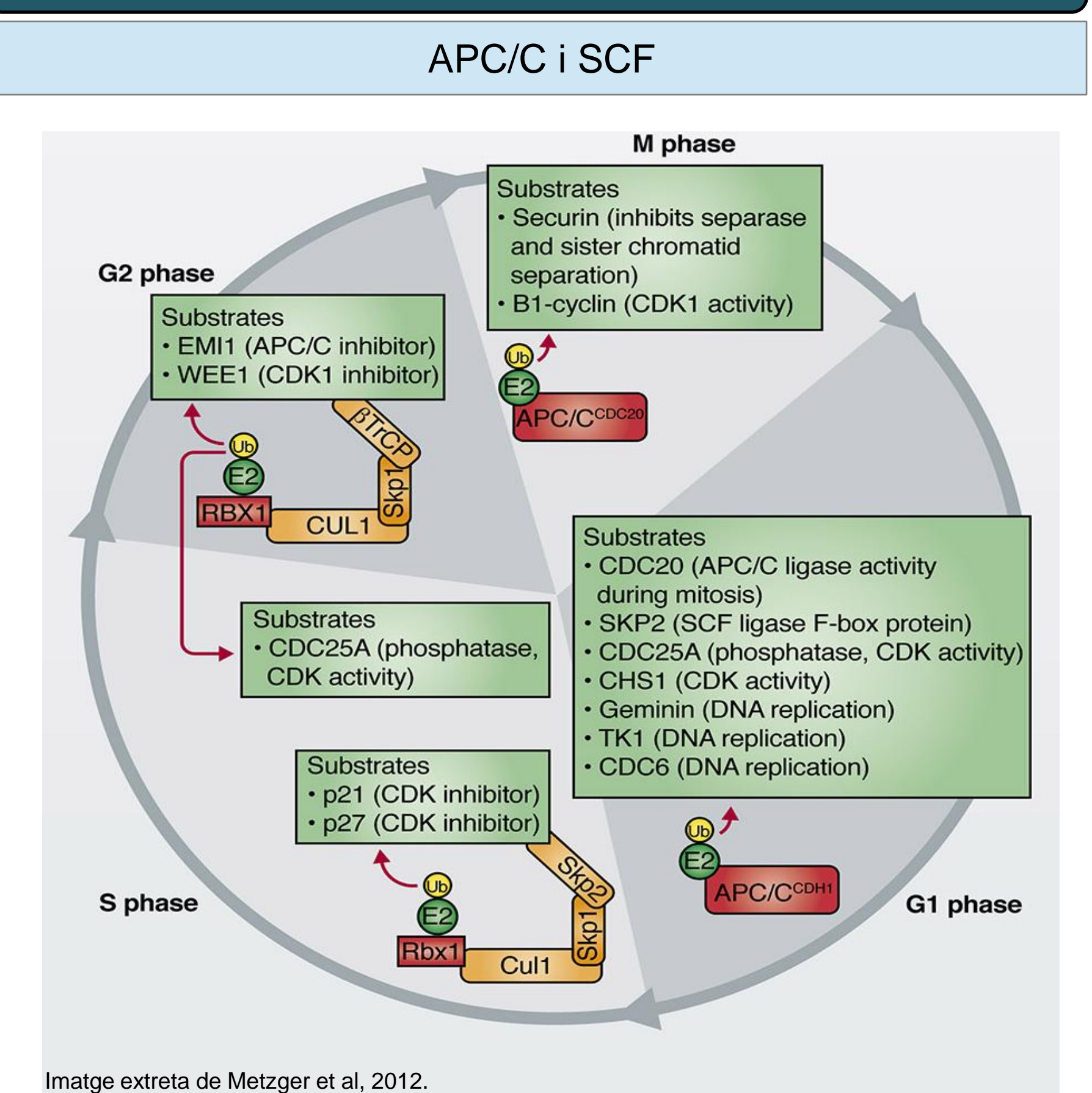
CLASSIFICACIÓ D'E3



Imatges extretes i modificades de Metzger et al., 2012.

- **HECT-type:** conjuga la cadena d'ubiquitina mitjançant la formació d'un intermediari E2 – Ub – E3. E2 ubiquitinada s'uneix a l'*N-lobe* i es transfereix a E3 en el domini *C-lobe*. Té mobilitat conformacional. També contenen dominis WW que reconeixen substrats amb seqüències riques en PY.
- **RING-type:** conjuguen la cadena d'ubiquitina directament a E3 i fan el reconeixement de substrat assistides per E2.
 - **RING-finger:** el domini C-terminal coordina Zn²⁺ per la disposició i activació d'E2.
 - **RING-type:** funcionen sense coordinar Zn²⁺.
 - **Multi-subunit CRL superfamily:** consten d'un domini RING, una proteïna *cullin* fent d'*scaffold*, un adaptador (Skp1) i una proteïna F-box intercanviable que interacciona amb el substrat.
 - **RBR-type:** monoproteïna amb múltiples dominis RING intercalant dominis IBR. Funciona a través d'un mecanisme catalític híbrid.

REGULACIÓ DEL CICLE CEL·LULAR PER E3



Imatge extreta de Metzger et al., 2012.

SUBUNITATS DEL PROTEASOMA I INTERACCIÓ AMB EL SUBSTRAT

<h4>ESTRUCTURA DEL PROTEASOMA</h4> <p>Imatge extreta de: a l'esquerra, PDB; a la dreta, Gomes et al., 2013.</p>	<h4>RP: REGULATORY PARTICLE. INTERACCIÓ AMB EL SUBSTRAT</h4> <p>Imatge extreta i modificada de Kish-Trier and Hill, 2013.</p> <p>Partícules Reguladores no-ATPasa (Rpn): Rpn10 i Rpn13 són les clàssiques subunitats reconeixedores de cadenes d'ubiquitina, per tant, interaccionen amb el substrat poliubiquitinat. Rpn10 a través del domini UIM i Rpn13 amb PRU. Rpn1 i Rpn2 són adaptadores entre cadenes d'ubiquitina i el proteasoma. Rpn1 genera llocs d'unió per proteïnes Ubl-UBA i Rpn2 organitza Rpn10 i Rpn13 perquè siguin funcionals. Rpn8 i Rpn11 formen un complex per la deubiquitinació dels substrats abans d'entrar a l'anell AAA-ATPasa.</p> <p>Partícules Reguladores AAA-ATPasa (Rpt): formen un anell heterohexamèric Rpt1-Rpt2-Rpt6-Rpt3-Rpt4-Rpt5 unint els dominis N-term per formar <i>3coiled-coil</i> amb funció de xaperona pel desplegament parcial del substrat abans de translocar-lo al core. La longitud del porus que defineixen controlarà quines proteïnes seran finalment translocades per degradar.</p> <p>Proteïnes amb dominis Ubl-UBA: són extraproteasòmiques, però poden interaccionar amb les cadenes d'ubiquitina a través del domini UBA i amb el proteasoma mitjançant Ubl.</p>	<h4>DEGRONS PEL RECONeixEMENT DE SUBSTRATS</h4> <p>Ac—K—Spacer—Degron—NH₂</p> <p>K: ubiquitination site lysine Spacer Degron: E3 binding and recognition site</p> <p>Imatge extreta i modificada de Melvin et al., 2013.</p> <h4>DEGRONS</h4> <ol style="list-style-type: none"> Control de qualitat de proteïnes. Senyals de plegament i assemblatge. Senyals específiques de proteïnes reguladores: <ul style="list-style-type: none"> Regla de l'<i>N</i>-terminal Modificacions post-traduccionals (fosforil·lacions, SUMOïlacions) Oxidacions <p>Els degrons es localitzen propers a les Lys receptores de les cadenes d'ubiquitina.</p>
---	--	--

DISCUSSIÓ I CONCLUSIONS

- Els substrats de la via UPS han de presentar *degrons* propers a les lisines receptores de les cadenes d'ubiquitina que n'assenyalaran el destí a degradació. Els *degrons* introduïts com a modificacions post-traduccionals, com els fosfo-degrons de les proteïnes reguladores del cicle cel·lular, permeten la degradació seqüencial i ordenada en el temps.
- Els *degrons* són reconeguts per HECT-E3 o pel conjunt RING-E3 i E2 a través de dominis especialitzats. El tipus de substrat seleccionat i el mecanisme de conjugació de la ubiquitina dependrà de la família d'E3 que intervingui en el procés.
- Els substrats poden unir-se per la ubiquitina a proteïnes amb domini Ubl-UBA i ser transportats fins al proteasoma, o bé, ser estabilitzats per aquesta interacció.
- En el proteasoma en la seva forma clàssica, la RP 19S és la partícula receptora dels substrats i activadora de la CP. L'activació de la degradació dependrà de les interaccions que s'estableixin entre la RP i el substrat.
- Les subunitats catalítiques de la CP 20S, β1, β2 i β5 són essencials pel funcionament de l'organisme.

REFERÈNCIES

• Finley et al., "The Ubiquitin-Proteasome System of *Saccharomyces cerevisiae*", *Genetics*, vol. 192, p. 319-360, 2012.

• Gomes et al., "Genetics of proteasome diseases", *Scientifica*, p. 629-637, 2013.

• Kish-Trier and Hill, "Structural biology of the proteasome", *Annual Review of Biophysics*, vol. 42, p. 29-49, Feb. 2013.

• Murata et al., "Molecular mechanisms of proteasome assembly", *Nature Reviews*, vol. 10, p. 104-115, 2009.

• Melvin et al., "A comparative analysis of the ubiquitination kinetics of multiple degrons to identify an ideal targeting sequence for a proteasome reporter", *PLoS One*, vol. 8, 2013.

• Metzger et al., "HECT and RING finger families of E3 ubiquitin ligases at a glance", *Journal of Cell Science*, vol. 125, p.531-537, 2012.

• Spratt et al., "RBR ubiquitin ligases: new structures, new insights, new questions", *The Biochemical Journal*, vol. 458, p. 421-437, 2014.

• Imatge procedent de PDB: http://dx.doi.org/10.2210/rcsb_pdb/mom_2013_10