

# Degradční systém buňky

## Lyzosomy

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Lysozomy.*

Místo intracelulárního trávení a obměny buněčných komponent. Váčky obdařené membránou obsahující celé spektrum nejčastěji **hydrolytických enzymů** – pocházejí z RER (to, že patří do lysozomů poznají podle navázané signální molekuly na svém váčku – **manosa-6-fosfát**). Ve velkém množství se nacházejí ve fagocytyjících buňkách. V zásadě jsou aktivní v kyselém pH.

- **Primární** (0,05–0,5  $\mu\text{m}$ ) – primární lysozomy jsou ty, které ještě nevstoupily do procesu trávení (těžko v buňce prokazatelné);
- **sekundární** (0,2–2  $\mu\text{m}$ );
- **fagosom** = primární lysozom + pohlcený materiál;
- **fagolysosom** = sekundární lysozom;
- **autofagosom** – lysozomy obměňují též opotřebované organely, po splynutí organely s primárním lysozomem vzniká **autofagosom**;
- **heterofagie** – materiál je pohlcen do autofagické vakuoly, dostává se do buňky z prostředí. Lysozomy pak s touto vakuolou splývají a vyprazdňují své hydrolytické enzymy do vakuoly → následuje trávení a tato složená struktura se označuje jako sekundární lysozom;
- **reziduální tělíska** = nestrávené zbytky zůstávající uvnitř vakuol;
- **lipofuchsin** = pigment z opotřebování, ukládá se v některých dlouho žijících buňkách jako depozita reziduálních tělísek.

## Peroxisomy

Okrouhlé membránou ohraničené organely velké 0,2–1  $\mu\text{m}$ . Jsou tvořeny v endoplazmatickém retikulu. Obsahují enzymy pro degradaci peroxidu vodíku – například **katalázu** (enzym, který rozkládá peroxid vodíku na vodu a kyslík). Jsou místem degradace mastných kyselin. Redukují  $\text{O}_2$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ochraňují buňku před účinkem peroxidu vodíku – ten může způsobit poškození buňky.

## Cytoplazmatické inkluze

Obvykle přechodné součásti cytoplazmy, tvořeny nashromážděnými metabolity nebo depozity různého původu. V buňce existují v několika podobách: tukové kapénky, glykogen (shluky sacharidů).

- **Sekreční granula** – forma proteinů skladovaných ve žláзовých buňkách, jsou periodicky uvolňována do extracelulárních médií;
- **pigmenty** – depozita barevných substancí, buď syntetizovány uvnitř buňky – melanin nebo přicházejí zvenčí – karoten.

 *Podrobnější informace naleznete na stránce Buněčné inkluze.*

## Proteazom

### Charakteristika

Protein, který na sobě nese K48 polyubikvitinový řetězec. Může být rozpoznán tzv. 26S proteazomem a degradován v něm.

26S proteazom je běžný typ proteazomu, obsažený v našich buňkách. Skládá se ze dvou základních částí<sup>[1]</sup>:

1. 20S proteazom čili **hlavní partikule** (core particle), která má tvar válce a v níž probíhá samotná proteolýza PDG;
2. 19S proteazom čili **regulační partikule** (regulatory particle), která se také nazývá PA700.

#### Hlavní partikule

20S proteazom se skládá celkem ze čtyř prstenců. Dva vnější jsou tvořeny sedmi  $\alpha$  *podjednotkami* a dva vnitřní sedmi  $\beta$  *podjednotkami*. Aktivní místa štěpící proteiny jsou v  $\beta$  prstencích a jsou obráceny dovnitř válce 20S proteazomu, konkrétně se jedná o:

- $\beta 1$  podjednotku s aktivitou podobnou kaspázám;
- $\beta 2$  podjednotku s aktivitou podobnou trypsinu;
- $\beta 5$  podjednotku s aktivitou podobnou chymotrypsinu.

Kromě běžného 20S proteazomu existují v našich buňkách také inducibilní proteazomy. Ty mají jiná aktivní místa ( $\beta 1i$ ,  $\beta 2i$  a  $\beta 5i$ ), jež se nazývají imunoproteazomy nebo směsné proteazomy. Hrají roli v imunitní odpovědi buněk na cizorodé látky<sup>[2]</sup>. Zcela speciální typ proteazomů existuje v brzlíku, jde o tzv. **thymoproteazomy**. Obsahují  $\beta 5t$  podjednotku s neobvyklou katalytickou aktivitou. Jejich role souvisí s pozitivní selekcí CD8+ T buněk<sup>[3]</sup>.

## Regulační partikule

Regulační částice se vážou na vnější, tedy  $\alpha$  prstence 20S proteazomu. Kromě 19S proteazomu to mohou být i jiné komplexy, jako jsou PA28 či PA200, nebo dokonce proteiny, které se reverzibilně připojují k 20S proteazomu v substechiometrických množstvích<sup>[4]</sup>. I když uspořádání proteazomů se různě dynamicky mění, bylo prokázáno, že 26S proteazom zůstává během degradace proteinů intaktní<sup>[5]</sup>.

Regulační částice 26S proteazomu (PA700) obsahuje dvě základní, navzájem spojené oblasti: **bázi** a **víko**. V bázi můžeme najít šest rozdílných AAA+ ATPáz a další čtyři podjednotky. Jejím hlavním posláním je regulovat vstup do nitra 20S proteazomu<sup>[6]</sup>. Víko obsahuje devět ne-ATPázových podjednotek<sup>[7]</sup> a jeho základní funkcí je deubikvitinace ubikvitinovaných proteinů pomocí JAMM doménové DUB Poh1 před jejich vstupem do nitra 26S proteazomů<sup>[8]</sup>.

## Degradace neubikvitinovaných proteinů

Typický protein, degradovaný v eukaryotní buňce proteazomy, musí být ubikvitinován. Avšak podle nedávného zjištění asi 20% všech proteinů, štěpených proteazomy v eukaryotních buňkách, nemusí mít ubikvitinové značení. Takové proteiny obsahují špatně uspořádaná místa ve svých strukturách, která slouží jako nespecifický signál pro degradaci v proteazomech bez nutnosti ubikvitinace daného proteinu<sup>[9]</sup>.

## Degradace ubikvitinovaných proteinů

Zaměříme se na mechanismus degradace ubikvitinovaných PDG v 26S proteazomech.

V rozpoznání ubikvitinovaného proteinu hrají klíčovou roli některé podjednotky z báze (ubikvitinové receptory) a také některé proteiny, které se jen přechodně asociují s 26S proteazomy<sup>[10]</sup>. Jestliže je ubikvitinovaný protein již navázán na 26S proteazom, jeho polyubikvitinový řetězec může být proteazomem různě štěpen a znovu syntetizován pomocí deubikvitináz a ubikvitin-ligáz<sup>[11]</sup>. Bylo také ukázáno, že snížení intenzity degradace samotných ubikvitinů v proteazomu souvisí s činností specifické DUB, nazývané Ubp6, která není stálou podjednotkou 26S proteazomů<sup>[12]</sup>.

### Jednotlivé kroky

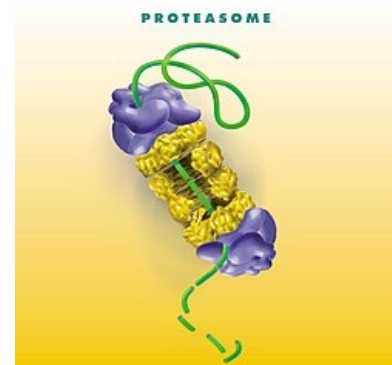
- Před samotnou degradací PDG je polyubikvitinový řetězec zpravidla odštěpen en bloc (vcelku, najednou) pomocí **Poh1** a dále je odstraňován jinými DUBy<sup>[13]</sup>.
- Rozplétání proteinu do primární struktury a jeho přesunutí do otvoru proteazomu je pak spojeno s hydrolýzou ATP AAA+ ATPázami<sup>[14]</sup>.
- Rozpletený protein může být „skladován“ v  $\alpha$  prstencích, pokud  $\beta$  prstence jsou ještě vytiženy degradací předchozího PDG<sup>[15]</sup>. Proteiny mohou přitom vcházet do 20S proteazomu z obou stran<sup>[16]</sup>. Degradace probíhá tak dlouho, dokud vzniknuvší oligopeptidy nejsou dostatečně malé, aby mohly samovolně difundovat ven<sup>[17]</sup>.
- Jakmile se oligopeptidy dostanou ven z 26S proteazomů, jsou v buňce dále štěpeny jinými peptidázami až na aminokyseliny, které lze použít pro další proteosyntézu<sup>[18]</sup>, nebo jsou použity v rámci imunitního systému jako antigeny<sup>[19]</sup>.

## Regulace aktivity proteinů

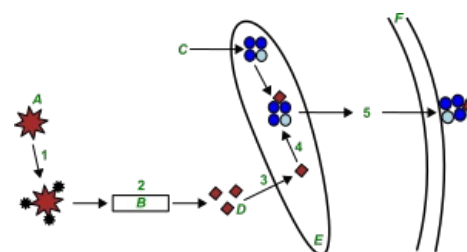
Některé proteiny jsou 26S proteazomy degradovány neúplně, nýbrž jsou vlastně aktivovány. K tomu dojde degradací jiných proteinů, které jsou na ně vázány a inhibují je. Typickým příkladem je aktivace tzv. jaderného faktoru- $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ), který se běžně v cytoplazmě vyskytuje v komplexu se svým inhibitorem I- $\kappa B$ . Jakmile je tento I- $\kappa B$  ubikvitinován a degradován, NF- $\kappa B$  se translokuje do jádra a spouští transkripci příslušných genů<sup>[20]</sup>. Funkce 26S proteazomů není spojena jen s regulací množství daného proteinu v buňce, nýbrž i s regulací aktivity různých proteinů. Z toho vyplývá, že UPS hraje klíčovou roli v mnoha terapeuticky významných procesech, jako jsou zánětlivá onemocnění, neurodegenerativní procesy, svalové dystrofie, virové infekce nebo karcinogeneze<sup>[21]</sup><sup>[22]</sup>.

## Odkazy

## Použitá literatura



Proteazom



Úloha proteazomu v prezentaci antigenu:

- A – Bílkovina
- B – Proteazom
- C – MHC I syntéza proteinu
- D – Peptidy k prezentaci
- E – ER
- F – Plasmatická membrána

1. Ubikvitinace
2. Degradace proteinu na peptidy pomocí proteazomu
3. Transport peptidu do lumen ER pomocí ABC přenašečů
4. Navazování peptidů v zářezu MHC I komplexu
5. Prezentace antigenu na plasmatické membráně

- JUNQUIERA, L. Carlos, José CARNEIRO a Robert O. KELLEY. *Základy histologie*. 1. vydání. Jinočany : H & H 1997, 1997. 502 s. ISBN 80-85787-37-7.
1. BEDFORD, Lynn, Simon PAINE a Paul W SHEPPARD, et al. Assembly, structure, and function of the 26S proteasome. *Trends Cell Biol* [online]. 2010, vol. 20, no. 7, s. 391-401, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2902798/?tool=pubmed>>. ISSN 0962-8924 (print), 1879-3088.
  2. STREHL, Britta, Ulrike SEIFERT a Elke KRÜGER, et al. Interferon-gamma, the functional plasticity of the ubiquitin-proteasome system, and MHC class I antigen processing. *Immunol Rev* [online]. 2005, vol. 207, s. 19-30, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16181324>>. ISSN 0105-2896.
  3. MURATA, Shigeo, Yousuke TAKAHAMA a Keiji TANAKA. Thymoproteasome: probable role in generating positively selecting peptides. *Curr Opin Immunol* [online]. 2008, vol. 20, no. 2, s. 192-6, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18403190>>. ISSN 0952-7915.
  4. DEMARTINO, George N a Thomas G GILLETTE. Proteasomes: machines for all reasons. *Cell* [online]. 2007, vol. 129, no. 4, s. 659-62, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17512401>>. ISSN 0092-8674.
  5. KRIEGENBURG, Franziska, Michael SEEGER a Yasushi SAEKI, et al. Mammalian 26S proteasomes remain intact during protein degradation. *Cell* [online]. 2008, vol. 135, no. 2, s. 355-65, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18957208>>. ISSN 0092-8674 (print), 1097-4172.
  6. LI, Xiaohua a George N DEMARTINO. Variably modulated gating of the 26S proteasome by ATP and polyubiquitin. *Biochem J* [online]. 2009, vol. 421, no. 3, s. 397-404, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2872633/?tool=pubmed>>. ISSN 0264-6021 (print), 1470-8728.
  7. SHARON, Michal, Thomas TAVERNER a Xavier I AMBROGGIO, et al. Structural organization of the 19S proteasome lid: insights from MS of intact complexes. *PLoS Biol* [online]. 2006, vol. 4, no. 8, s. e267, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1523230/?tool=pubmed>>. ISSN 1544-9173 (print), 1545-7885.
  8. VERMA, Rati, L ARAVIND a Robert OANIA, et al. Role of Rpn11 metalloprotease in deubiquitination and degradation by the 26S proteasome. *Science* [online]. 2002, vol. 298, no. 5593, s. 611-5, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12183636>>. ISSN 0036-8075 (print), 1095-9203.
  9. BAUGH, James M, Ekaterina G VIKTOROVA a Evgeny V PILIPENKO. Proteasomes can degrade a significant proportion of cellular proteins independent of ubiquitination. *J Mol Biol* [online]. 2009, vol. 386, no. 3, s. 814-27, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2649715/?tool=pubmed>>. ISSN 0022-2836 (print), 1089-8638.
  10. VERMA, Rati, Robert OANIA a Johannes GRAUMANN, et al. Multiubiquitin chain receptors define a layer of substrate selectivity in the ubiquitin-proteasome system. *Cell* [online]. 2004, vol. 118, no. 1, s. 99-110, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15242647>>. ISSN 0092-8674.
  11. CROSAS, Bernat, John HANNA a Donald S KIRKPATRICK, et al. Ubiquitin chains are remodeled at the proteasome by opposing ubiquitin ligase and deubiquitinating activities. *Cell* [online]. 2006, vol. 127, no. 7, s. 1401-13, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17190603>>. ISSN 0092-8674.
  12. HANNA, John, Alice MEIDES a Dan Phoebe ZHANG, et al. A ubiquitin stress response induces altered proteasome composition. *Cell* [online]. 2007, vol. 129, no. 4, s. 747-59, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17512408>>. ISSN 0092-8674.
  13. KOULICH, Elena, Xiaohua LI a George N DEMARTINO. Relative structural and functional roles of multiple deubiquitylating proteins associated with mammalian 26S proteasome. *Mol Biol Cell* [online]. 2008, vol. 19, no. 3, s. 1072-82, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2262970/?tool=pubmed>>. ISSN 1059-1524 (print), 1939-4586.
  14. STRIEBEL, Frank, Wolfgang KRESS a Eilika WEBER-BAN. Controlled destruction: AAA+ ATPases in protein degradation from bacteria to eukaryotes. *Curr Opin Struct Biol* [online]. 2009, vol. 19, no. 2, s. 209-17, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19362814>>. ISSN 0959-440X (print), 1879-033X.
  15. SHARON, Michal, Susanne WITT a Karin FELDERER, et al. 20S proteasomes have the potential to keep substrates in store for continual degradation. *J Biol Chem* [online]. 2006, vol. 281, no. 14, s. 9569-75, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16446364>>. ISSN 0021-9258.
  16. HUTSCHENREITER, Silke, Ali TINAZLI a Kirstin MODEL, et al. Two-substrate association with the 20S proteasome at single-molecule level. *EMBO J* [online]. 2004, vol. 23, no. 13, s. 2488-97, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC449772/?tool=pubmed>>. ISSN 0261-4189.
  17. KÖHLER, A, P CASCIO a D S LEGGETT, et al. The axial channel of the proteasome core particle is gated by the Rpt2 ATPase and controls both substrate entry and product release. *Mol Cell* [online]. 2001, vol. 7, no. 6, s. 1143-52, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11430818>>. ISSN 1097-2765.
  18. VABULAS, Ramunas M a F Ulrich HARTL. Protein synthesis upon acute nutrient restriction relies on proteasome function. *Science* [online]. 2005, vol. 310, no. 5756, s. 1960-3, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16373576>>. ISSN 0036-8075 (print), 1095-9203.
  19. KLOETZEL, Peter M. Generation of major histocompatibility complex class I antigens: functional interplay between proteasomes and TPPII. *Nat Immunol* [online]. 2004, vol. 5, no. 7, s. 661-9, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15224091>>. ISSN 1529-2908.
  20. RAPE, Michael a Stefan JENTSCH. Productive RUPTure: activation of transcription factors by proteasomal processing. *Biochim Biophys Acta* [online]. 2004, vol. 1695, no. 1-3, s. 209-13, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15571816>>. ISSN 0006-3002.
  21. RUBINSZTEIN, David C. The roles of intracellular protein-degradation pathways in neurodegeneration. *Nature* [online]. 2006, vol. 443, no. 7113, s. 780-6, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17051204>>. ISSN 0028-0836 (print), 1476-4687.
  22. SCHWARTZ, Alan L a Aaron CIECHANOVER. Targeting proteins for destruction by the ubiquitin system: implications for human pathobiology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* [online]. 2009, vol. 49, s. 73-96, dostupné také z <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18834306>>. ISSN 0362-1642.

