

# Sumário

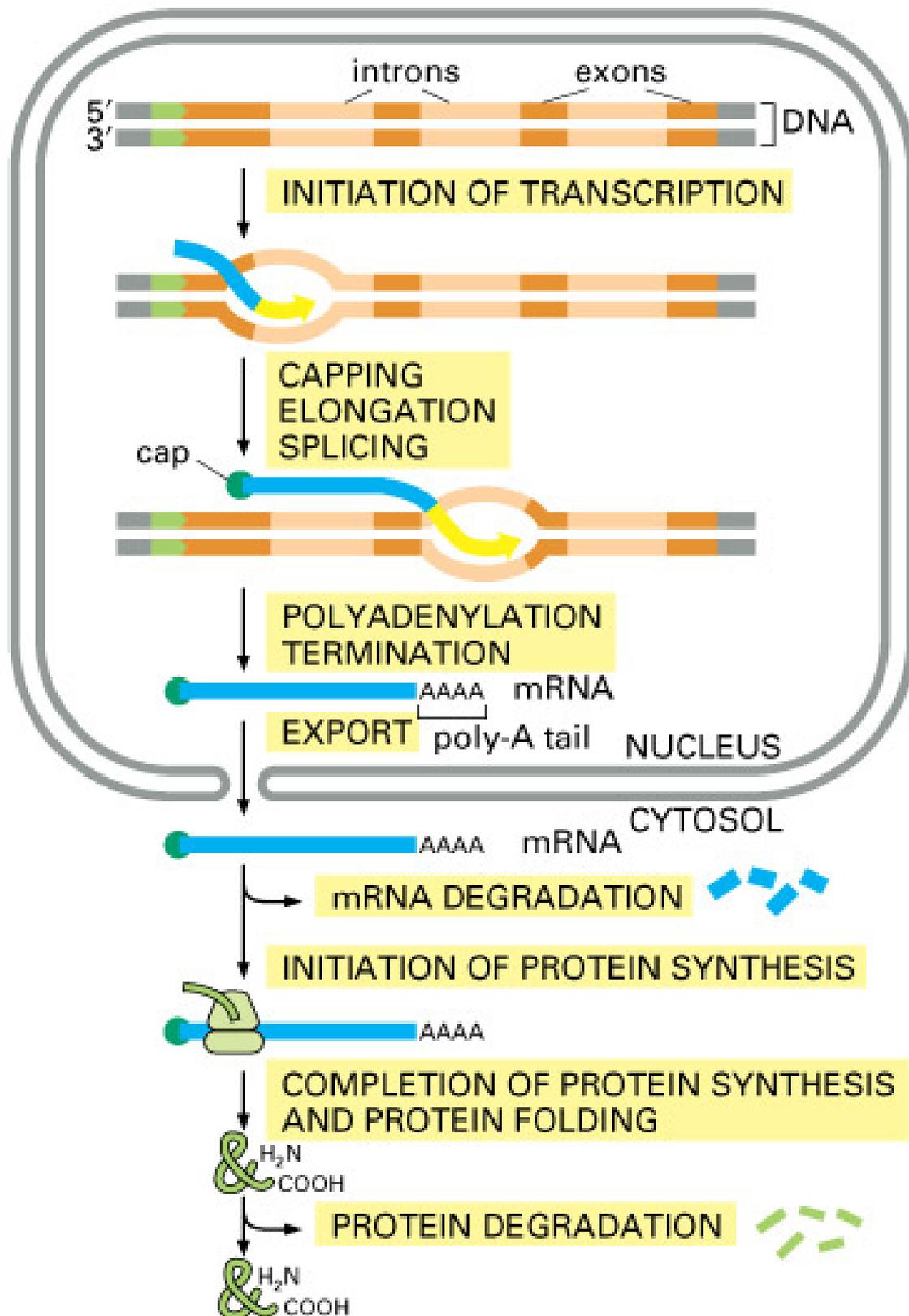
## A Síntese Proteica e *Folding* de Proteínas *Sorting* de Proteínas

- Proteínas: passos na formação de uma proteína funcional. *Folding* de proteínas.
- O papel dos chaperones moleculares no *folding* de proteínas. Conceito de *chaperone* molecular: origem e definição. Principais famílias de *chaperones* moleculares: Hsp70 e Hsp60.
- Vias de degradação de proteínas. Ubiquitinação e degradação de proteínas no proteossoma.
- Ribossomas livres e ligados. *Sorting* (distribuição) intracelular de proteínas. Sinais de *sorting*: o 'código postal' das proteínas. A via secretora dos Eucariotas.

## Bibliografia

- Bruce Alberts, Dennis Bray, Karen Hopkin, Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts and Peter Walter (2004) *Essential Cell Biology* 2ª ed. Garland Science Publishing. Cap.7.
- Alberts B, Bray D, Lewis J, Raff M, Roberts K & Watson J (2002) *Molecular Biology of the Cell* 4<sup>th</sup> ed, Garland, New York. Caps. 6 e 12.

# Eucariotas: Do Gene à Proteína



# Passos na Formação duma Proteína Funcional

nascent polypeptide chain



folding and cofactor binding  
(non-covalent interactions)



covalent modification by glycosylation,  
phosphorylation, acetylation etc.

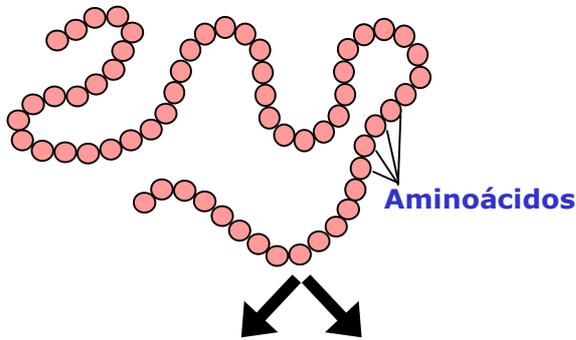


binding to other protein subunits

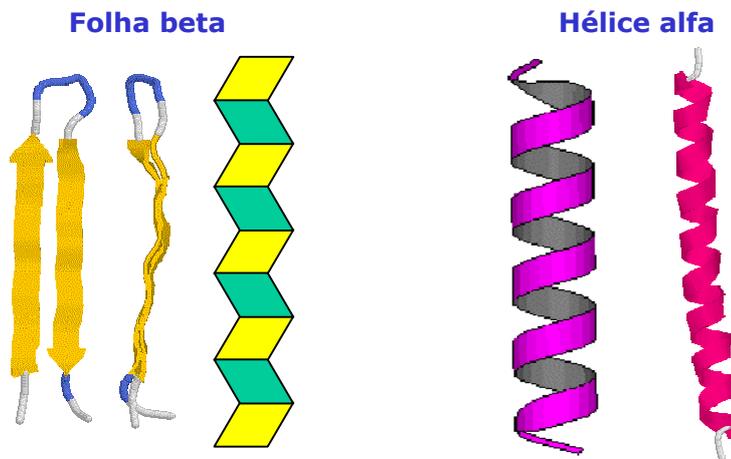


mature functional protein

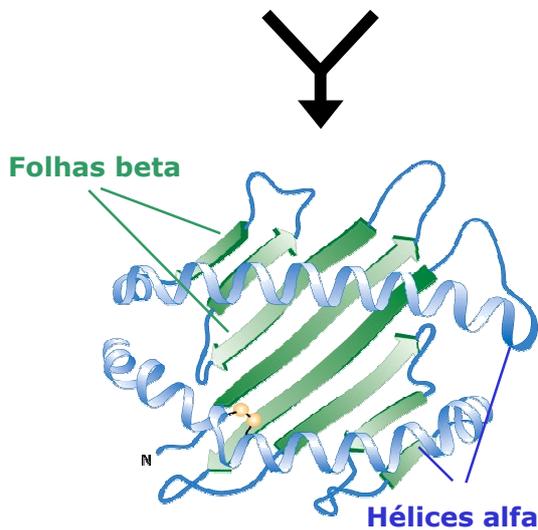
# O Que é o *Folding* das Proteínas?



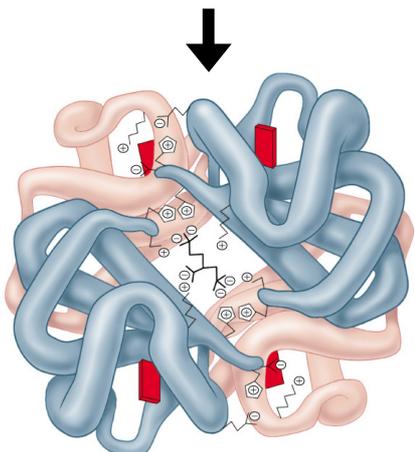
Nível primário de estrutura proteica: sequência de aminoácidos



Nível secundário de estrutura proteica: ligações por hidrogénio



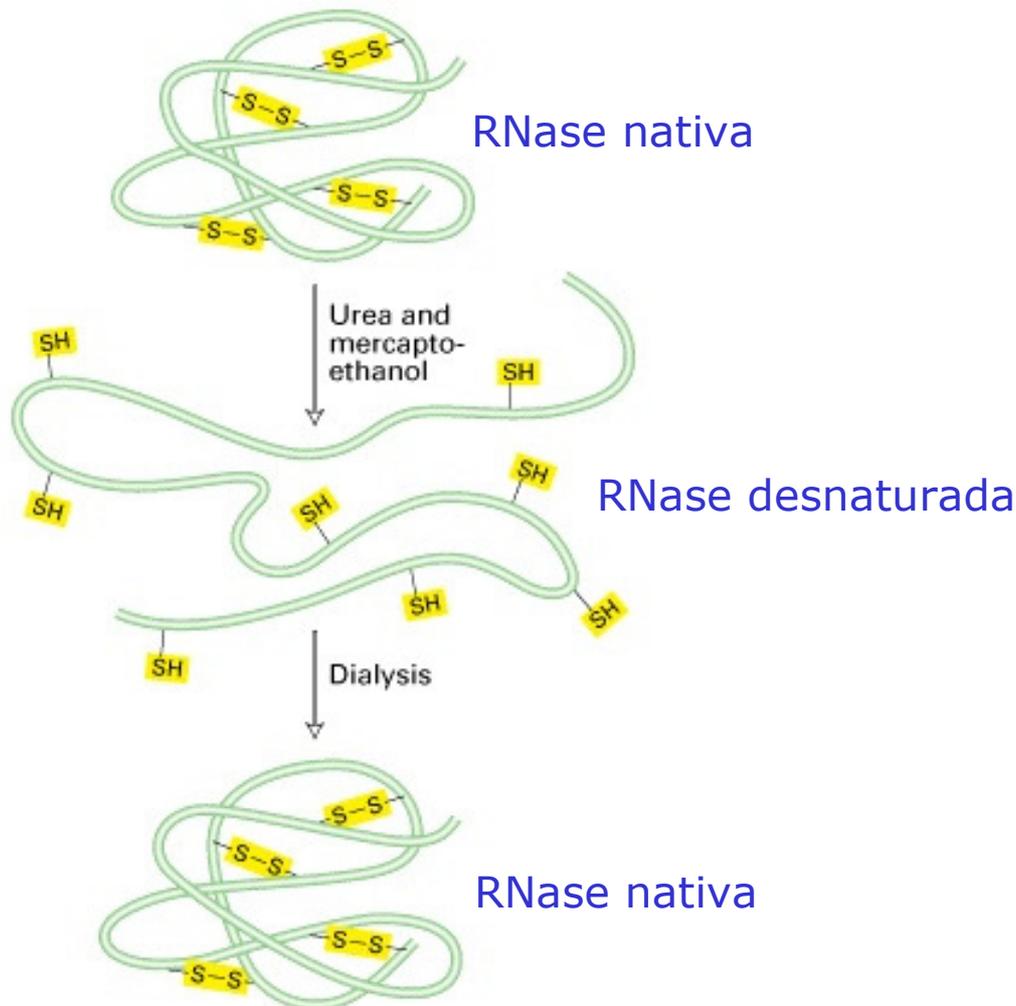
Nível terciário de estrutura proteica: ligações intramoleculares e diminuição da superfície



Nível quaternário de estrutura proteica: associação de subunidades

# Chaperones Moleculares

Anfinsen, 1973



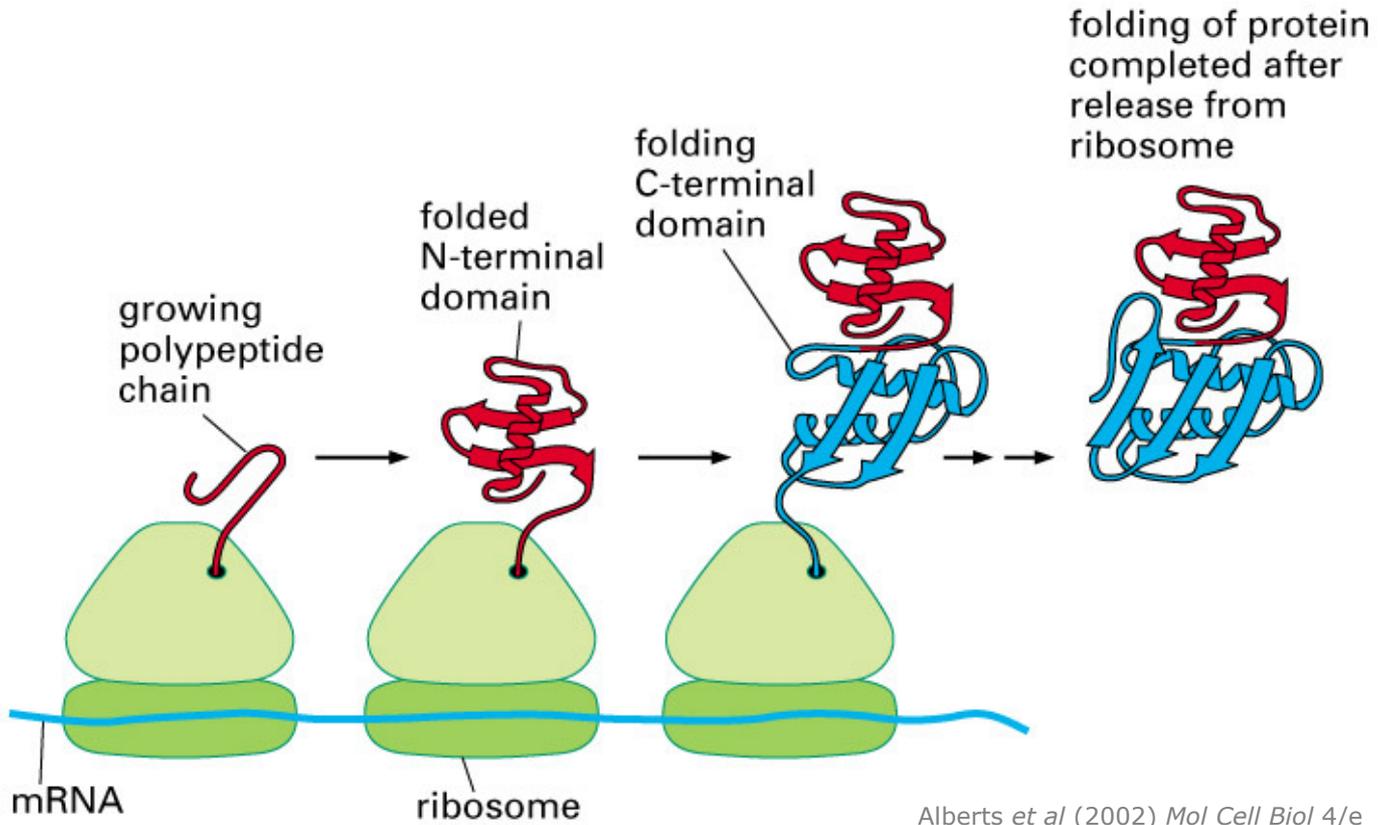
<http://ww2.mcgill.ca/biology/undergra/c200a/sec1-6.htm>

- Ron Laskey, 1973
- Pelham, 1986
- Ellis, 1990 – conceito de chaperone molecular

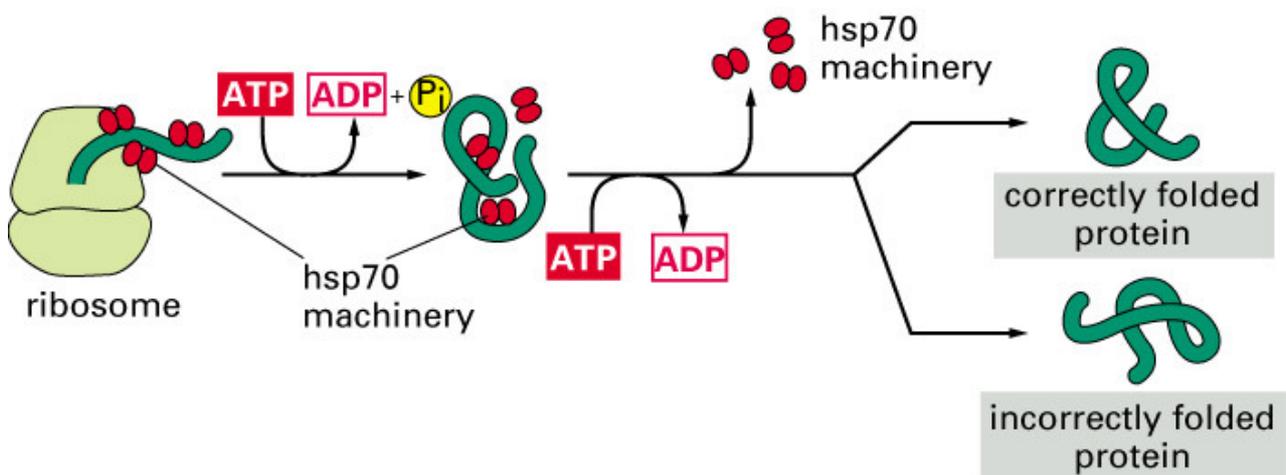
## Chaperones Moleculares

- Assistem ao *folding* correcto das proteínas *in vivo*.
- Não são componentes das proteínas funcionais.
- Não possuem qualquer informação espacial para o *folding*.

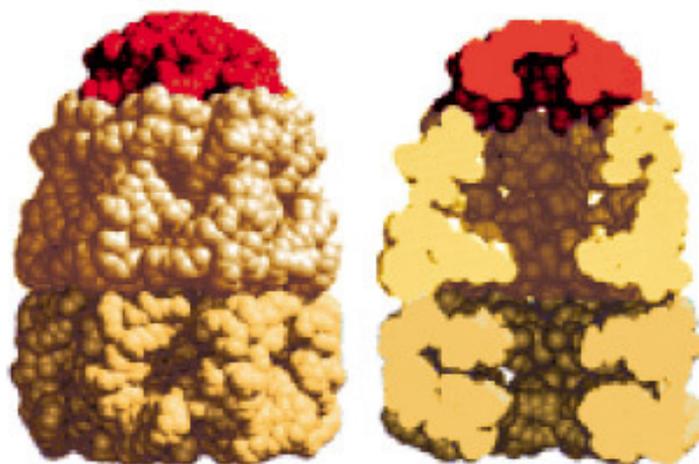
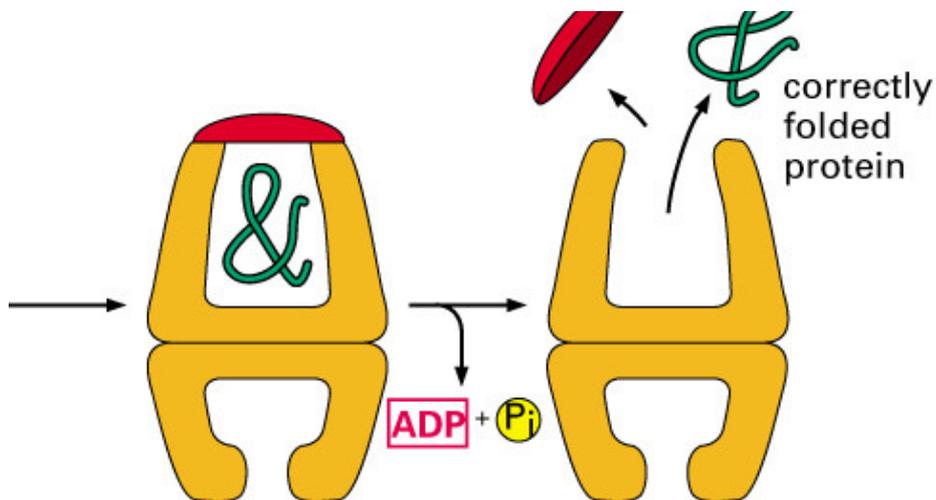
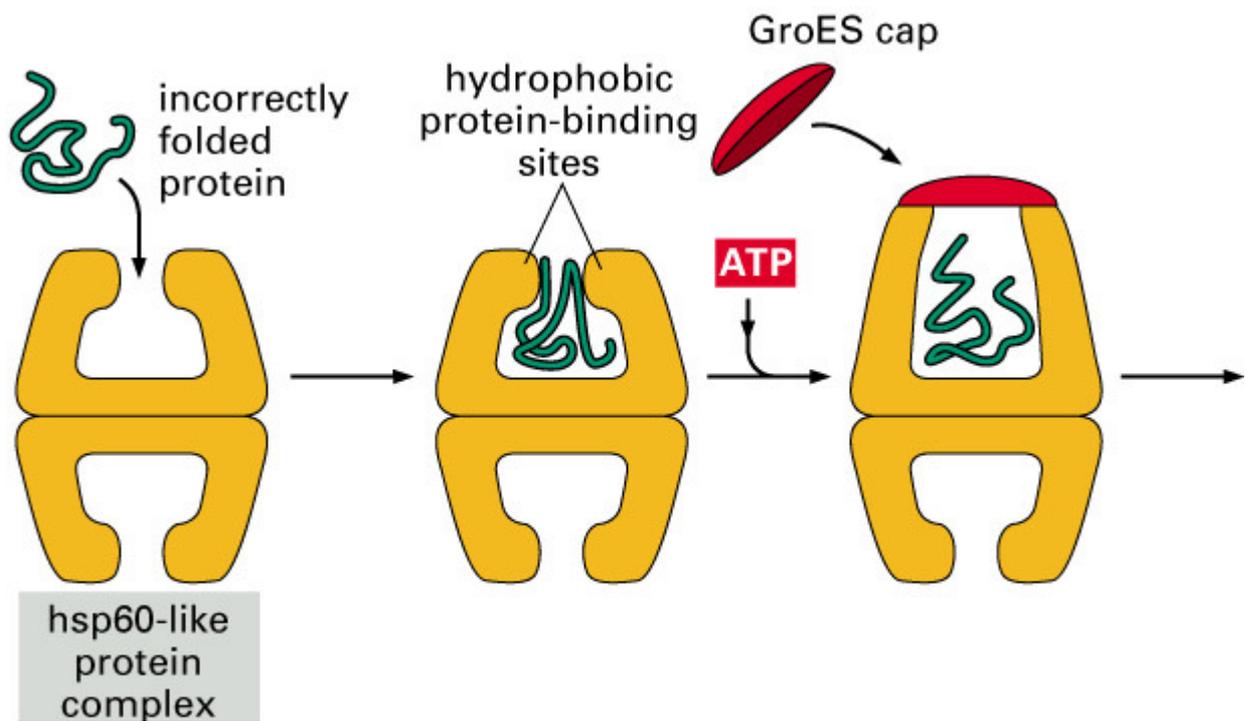
# Folding Co-Traducional de Proteínas



## Chaperones Moleculares: Hsp70

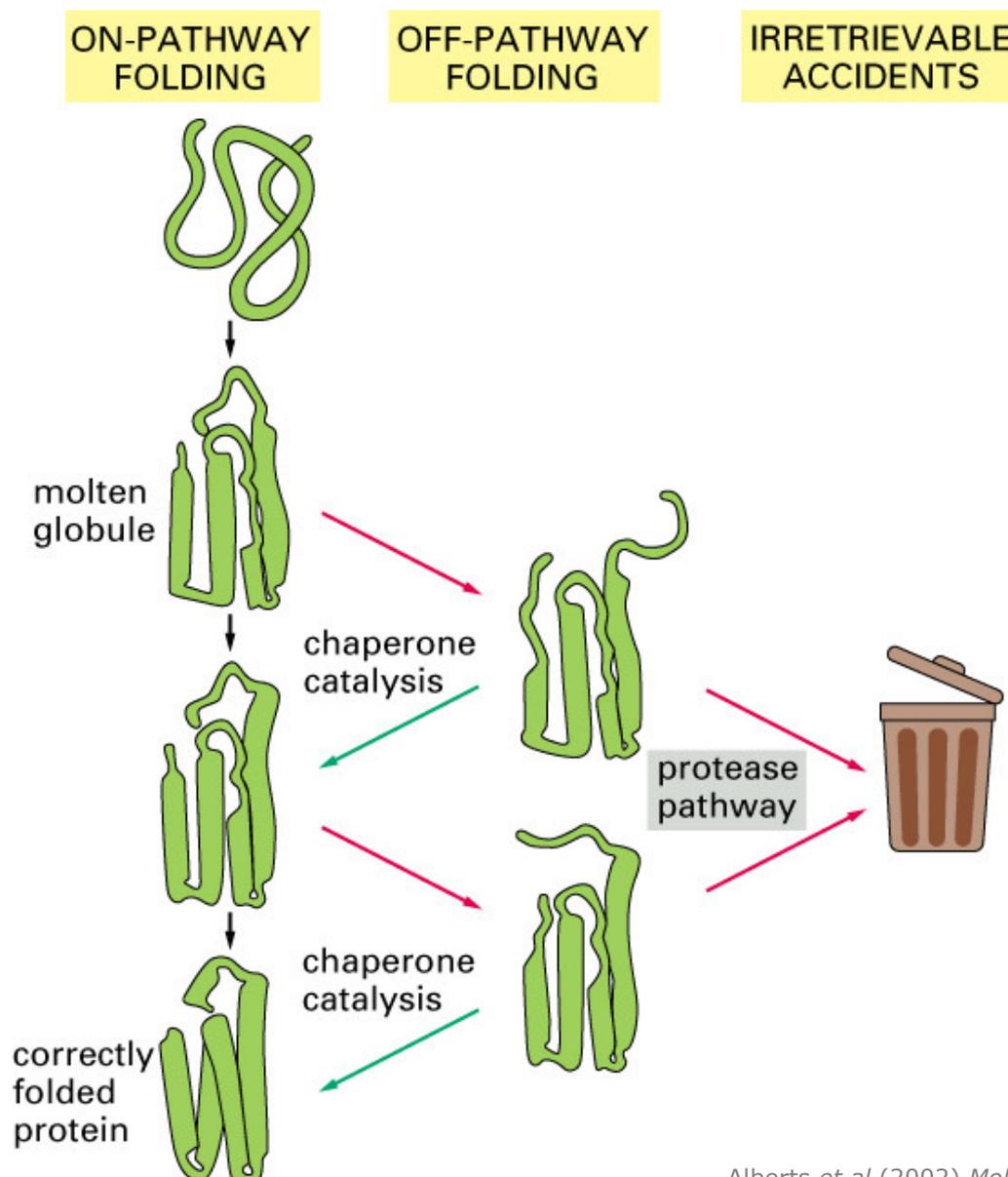


# Chaperones Moleculares: Hsp60

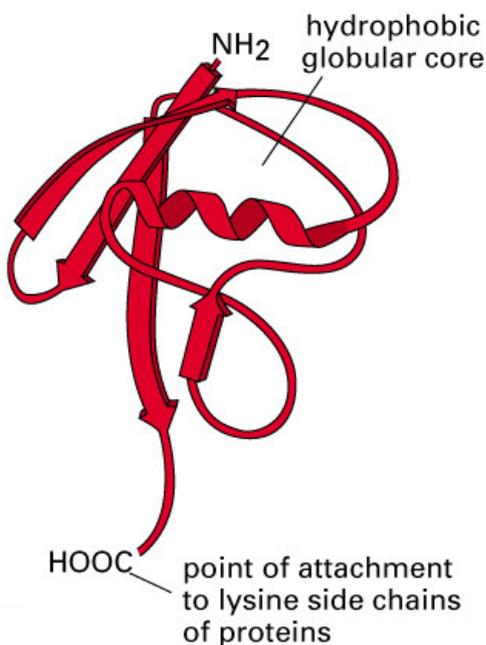
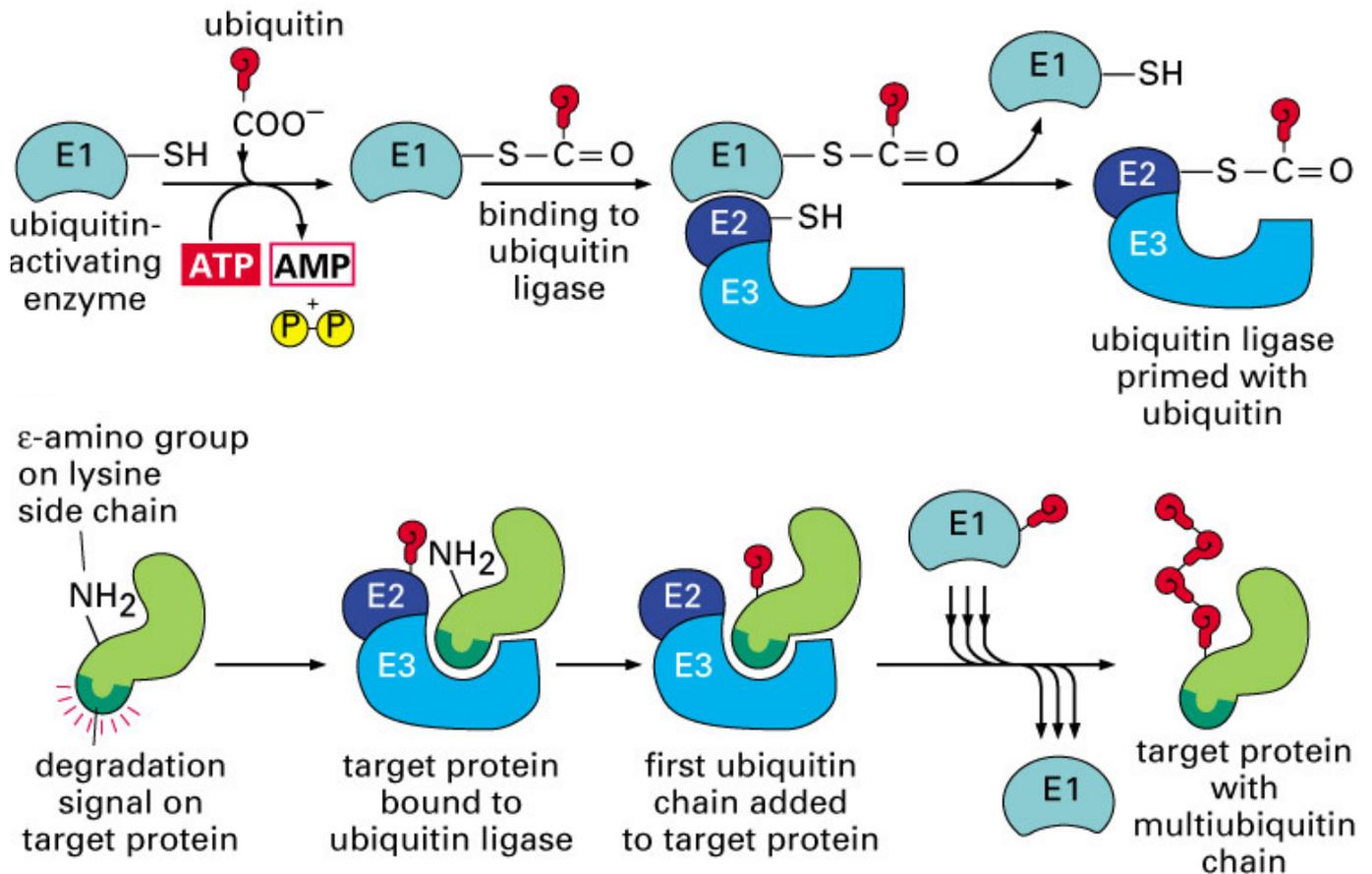


# Vias de Degradação das Proteínas

- Proteases específicas
- Lisossoma (proteínas importadas)
- Proteassoma:
  1. Targeting
  2. Proteólise



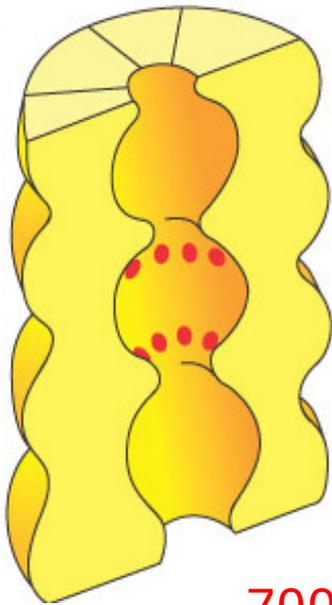
# Targeting das Proteínas para Degradação por Ubiquitinação



O **ciclo da ubiquitina** envolve três actividades:

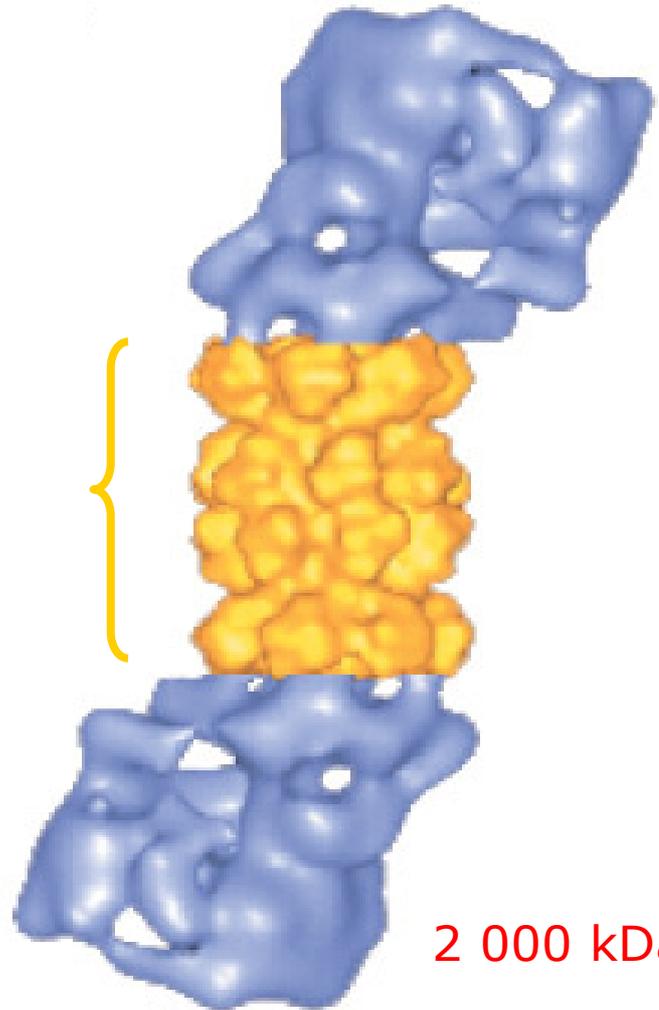
- E1 → ligação à ubiquitina (Ub).
- E2 → transferência da Ub de E1 para a proteína-substrato.
- E3 → ligação à proteína-substrato.

# O Proteassoma 26S (Eucariotas)



700 kD

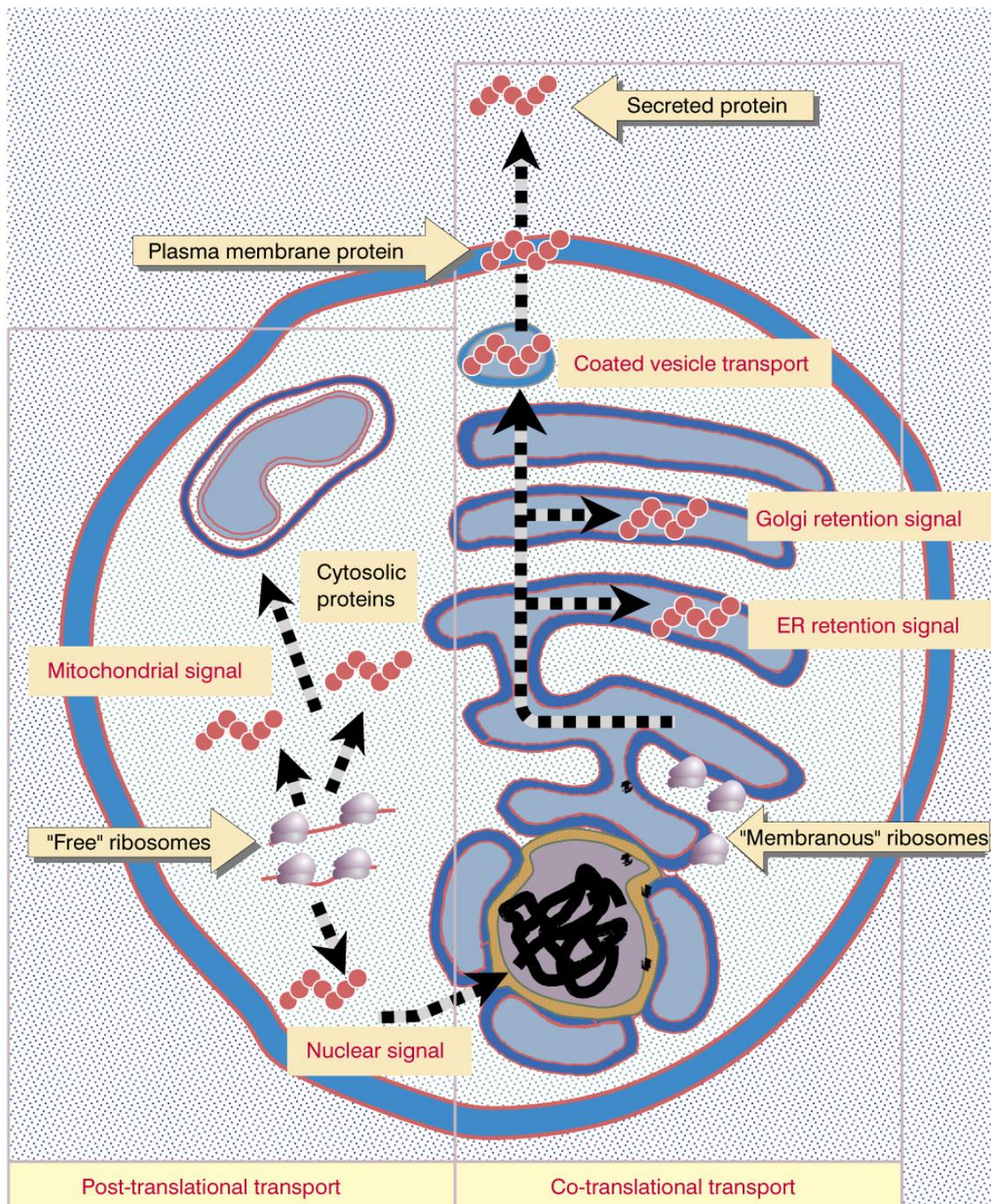
O Proteassoma 20S  
(Activ Proteásica)



2 000 kDa

● Centros activos

# Localização Intracelular de Proteínas

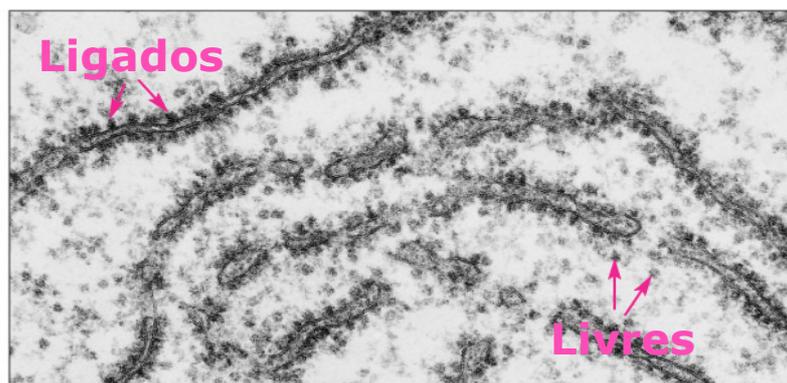
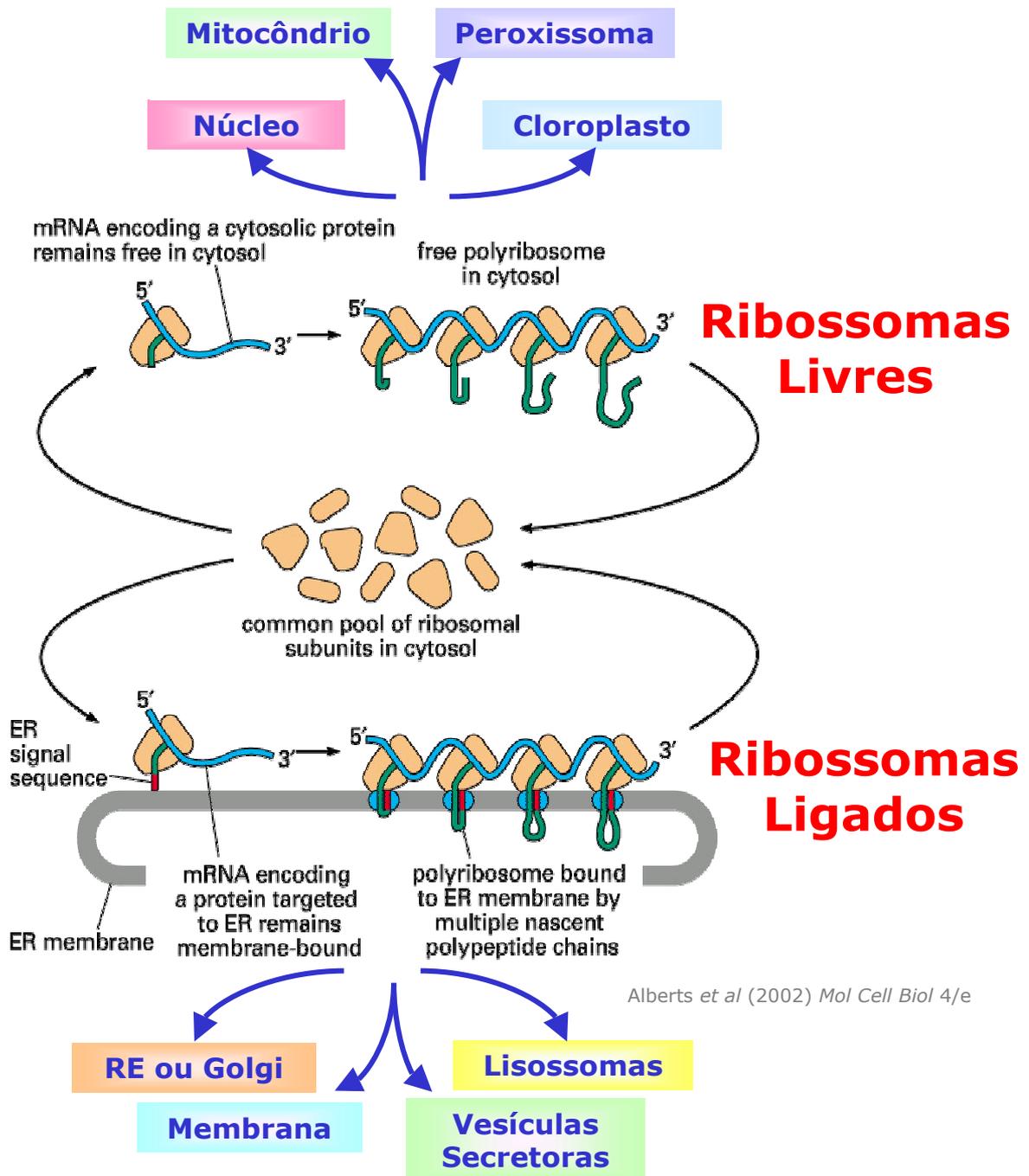


Lewin (2000) *Genes VII*

As proteínas podem ir para a sua devida localização após terem sido completamente sintetizadas no citoplasma, em ribossomas 'livres', ou seja, **pós-traducionalmente**. Para tal, possuem sinais de localização, e.g., para o **núcleo** ou **mitocôndrios**.

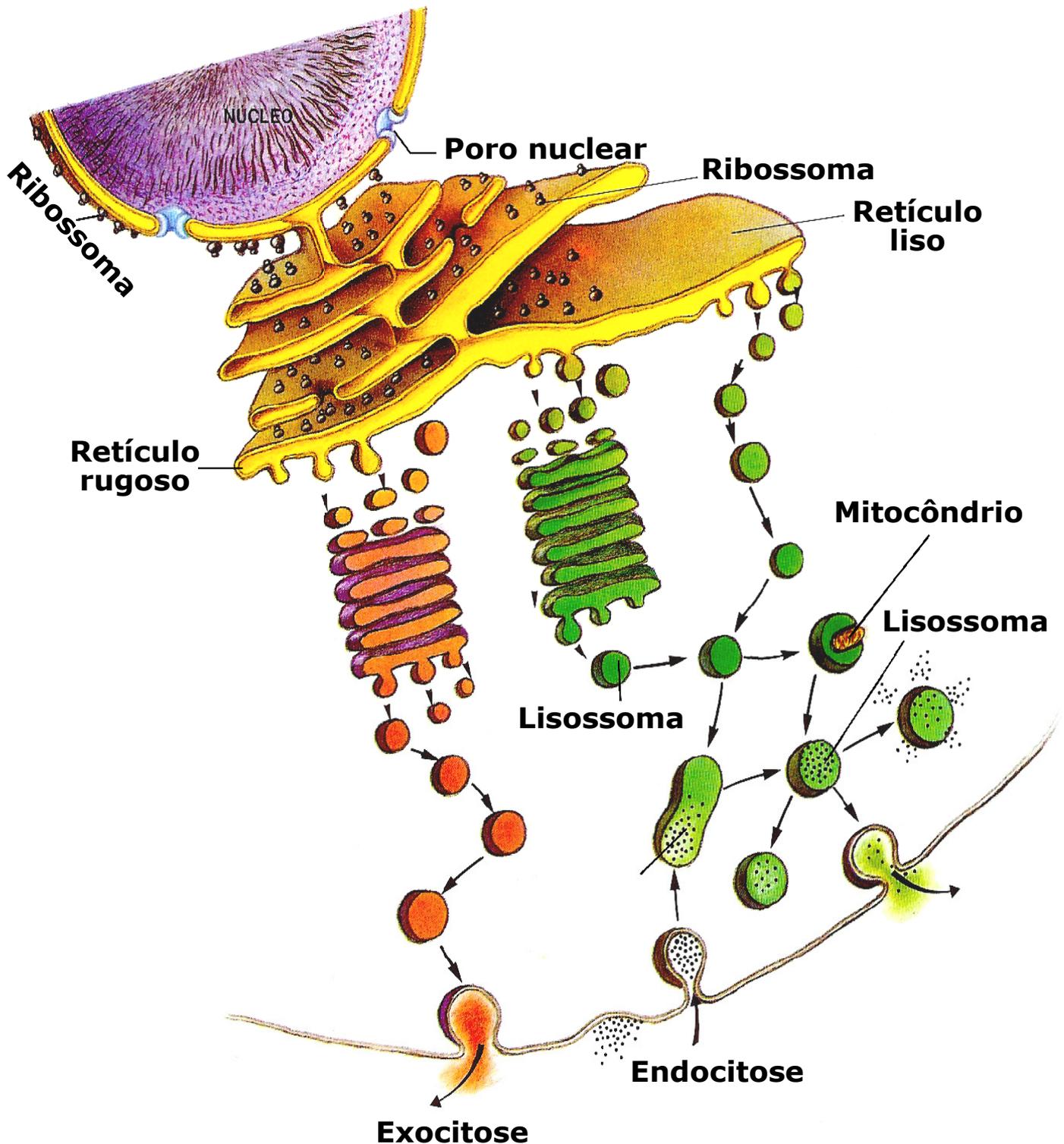
Alternativamente, podem ser inseridas nos organelos **co-traducionalmente** como p.ex, as proteínas destinadas à **via secretora** (RE, Golgi, membrana, meio extracelular ou ainda endossomas ou lisossomas).

# Ribossomas: Livres e Ligados ao RE



*Alberts et al (2004) Ess Cell Biol 2/e*

# As Actividades do Retículo Endoplasmático e do Golgi



**Meio Extracelular**

# Sinais de *Sorting*: o Código Postal das Proteínas

**Table 12–3** Some Typical Signal Peptides

Function of Signal Peptide	Example of Signal Peptide
Import into ER	$^+H_3N$ -Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser- <span style="background-color: yellow;">Leu-Leu-Leu-Val</span> Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr- <span style="color: green;">Glu-Ala-Glu</span> - Gln-Leu-Thr- <span style="color: red;">Lys</span> -Cys- <span style="color: green;">Glu</span> -Val-Phe-Gln-
Retain in lumen of ER	- <span style="color: red;">Lys</span> - <span style="color: green;">Asp</span> - <span style="color: green;">Glu</span> -Leu-COO $^-$
Import into mitochondria	$^+H_3N$ -Met-Leu-Ser-Leu- <span style="color: red;">Arg</span> -Gln-Ser-Ile- <span style="color: red;">Arg</span> -Phe- Phe- <span style="color: red;">Lys</span> -Pro-Ala-Thr- <span style="color: red;">Arg</span> -Thr-Leu-Cys-Ser- Ser- <span style="color: red;">Arg</span> -Tyr-Leu-Leu-
Import into nucleus	-Pro-Pro- <span style="color: red;">Lys</span> - <span style="color: red;">Lys</span> - <span style="color: red;">Lys</span> - <span style="color: red;">Arg</span> - <span style="color: red;">Lys</span> -Val-
Import into peroxisomes	-Ser- <span style="color: red;">Lys</span> -Leu-
Attach to membranes via the covalent linkage of a myristic acid to the amino terminus	$^+H_3N$ -Gly-Ser-Ser- <span style="color: red;">Lys</span> -Ser- <span style="color: red;">Lys</span> -Pro- <span style="color: red;">Lys</span> -

Positively charged amino acids are shown in *red* and negatively charged amino acids in *green*. An extended block of hydrophobic amino acids is enclosed in a *yellow* box.  $H_3N^+$  indicates the amino terminus of a protein;  $COO^-$  indicates the carboxyl terminus.

Alberts et al (2002) *Mol Cell Biol* 4/e

As proteínas sintetizadas nos ribossomas livres do citoplasma são dirigidas para os seus **destinos específicos** através de **sinais** (sequências de aminoácidos) que funcionam como 'códigos postais'.

Organito	Localização	Tipo	Comprimento
Mitocôndrio	N-terminal	Hélice	12-30
Cloroplasto	N-terminal	Carregada	> 25
Núcleo	Interna	Básico ou bipartido	7-9
Peroxisoma	C-terminal	SKL	3

# A Via Secretora em Eucariotas

