



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Maduración de proteínas

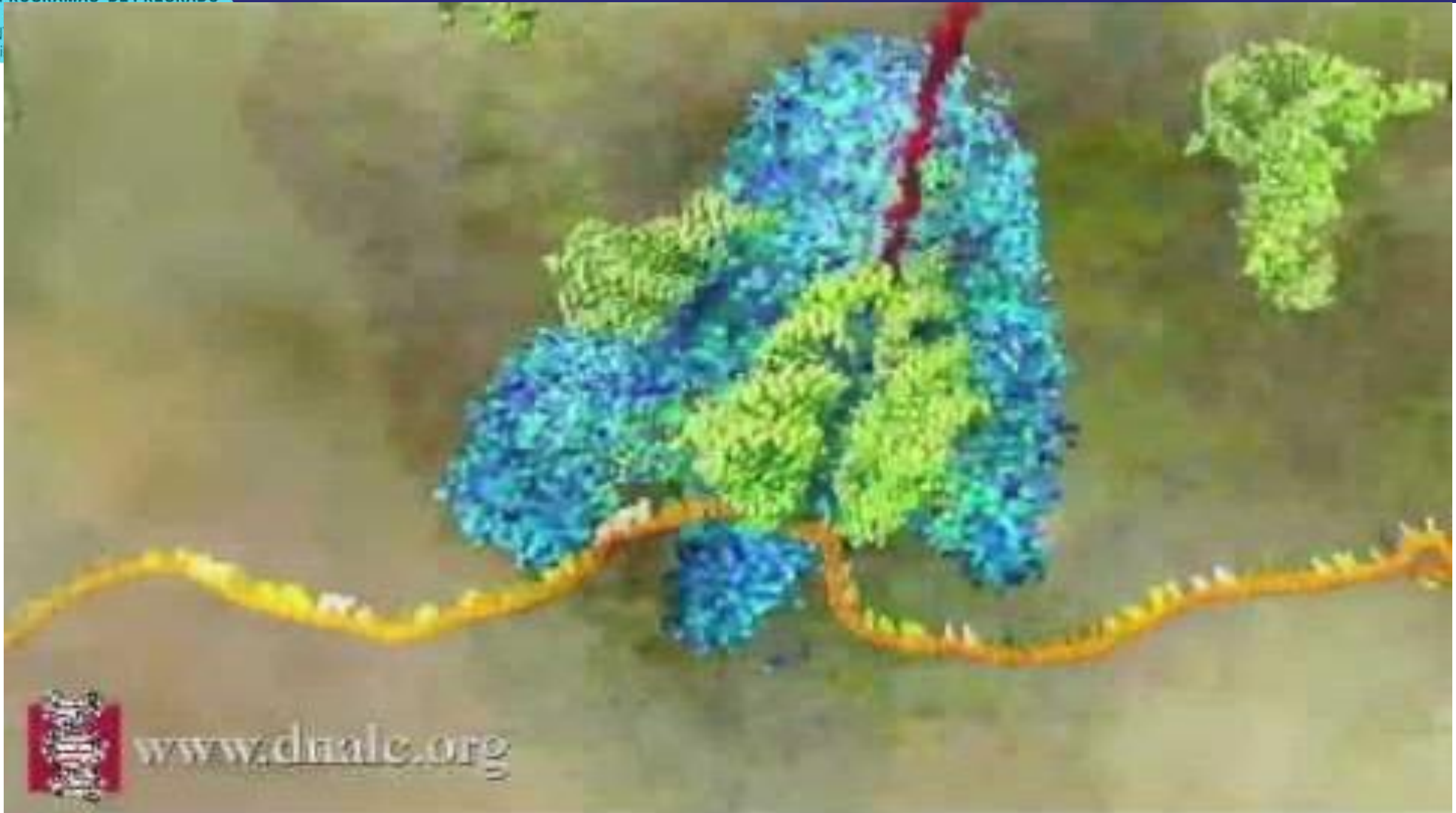
Plegamiento y modificaciones postraduccionales

Carlos Javier Alméciga Díaz, QF, Ph.D.

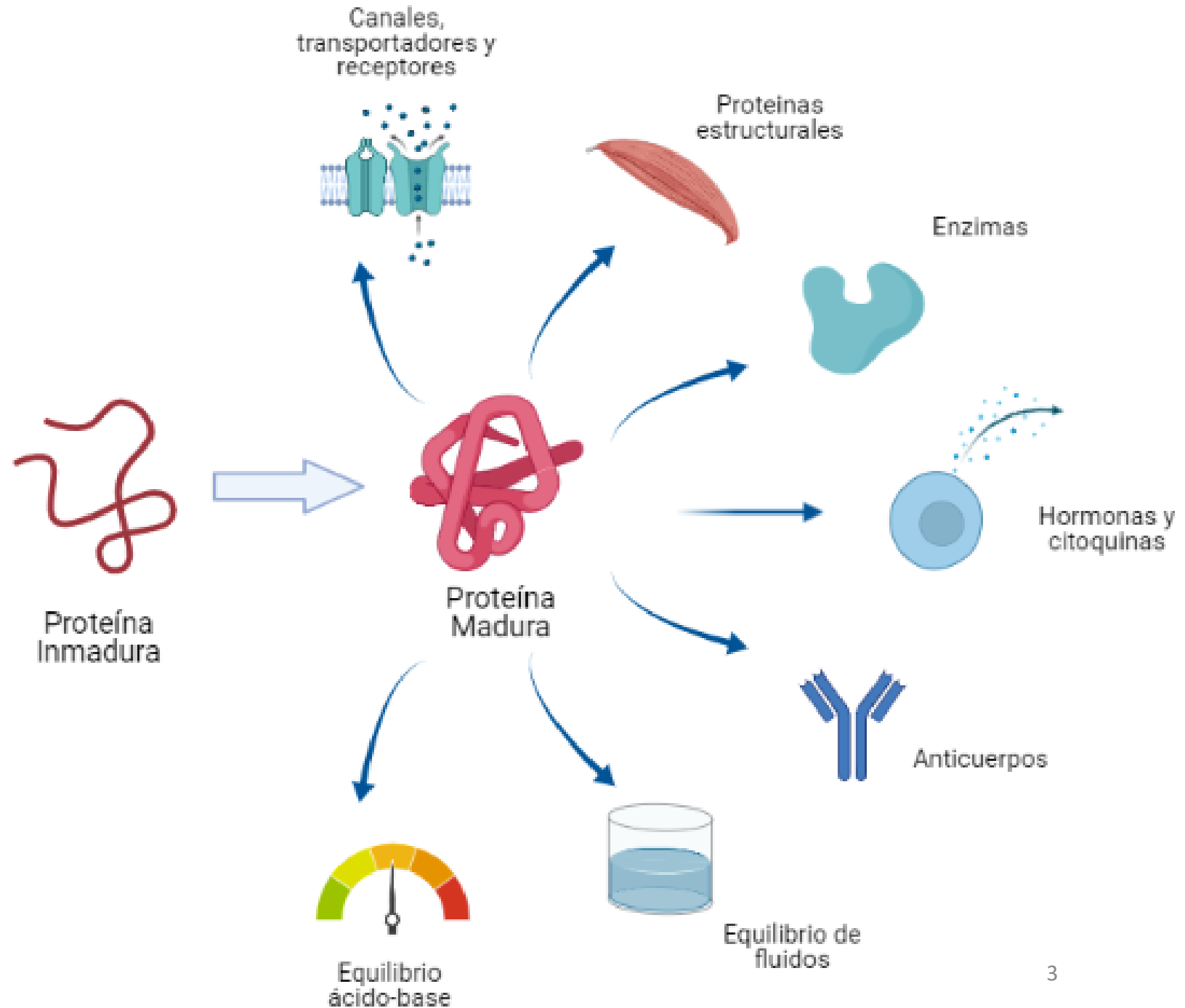


PROGRAMAS DE PREGRADO

PON
Vigi



Los procesos de maduración de una proteína son necesarios para desempeñar su función biológica





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Maduración de proteínas



Niveles estructurales de las proteínas

Estructura primaria

Secuencia de aminoácidos

Información:

Plegamiento

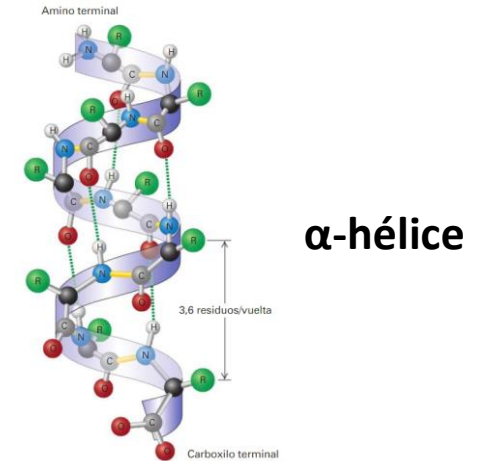
Localización celular



Estructura secundaria

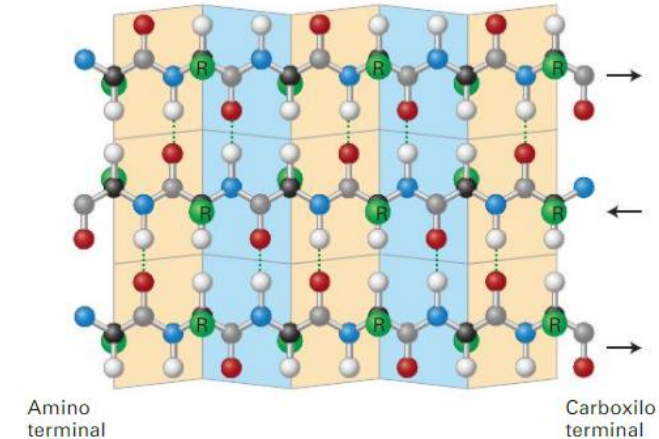
Interacciones entre aminoácidos cercanos

Formación de puentes de hidrógeno entre las cadenas laterales de aminoácidos



α -hélice

(a) Vista superior



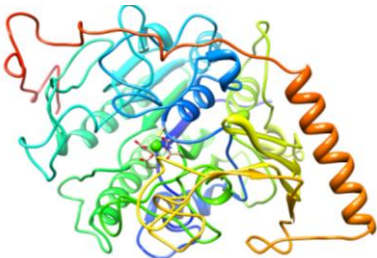
Hoja β -plegada



Niveles estructurales de las proteínas

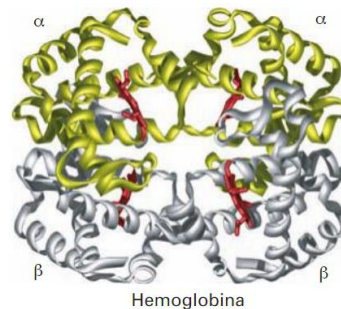
Estructura terciaria

Organización de las estructuras secundarias para formar una estructura tridimensional



Estructura cuaternaria

Disposición espacial de cadenas peptídicas de una proteína compuesta por varios péptidos

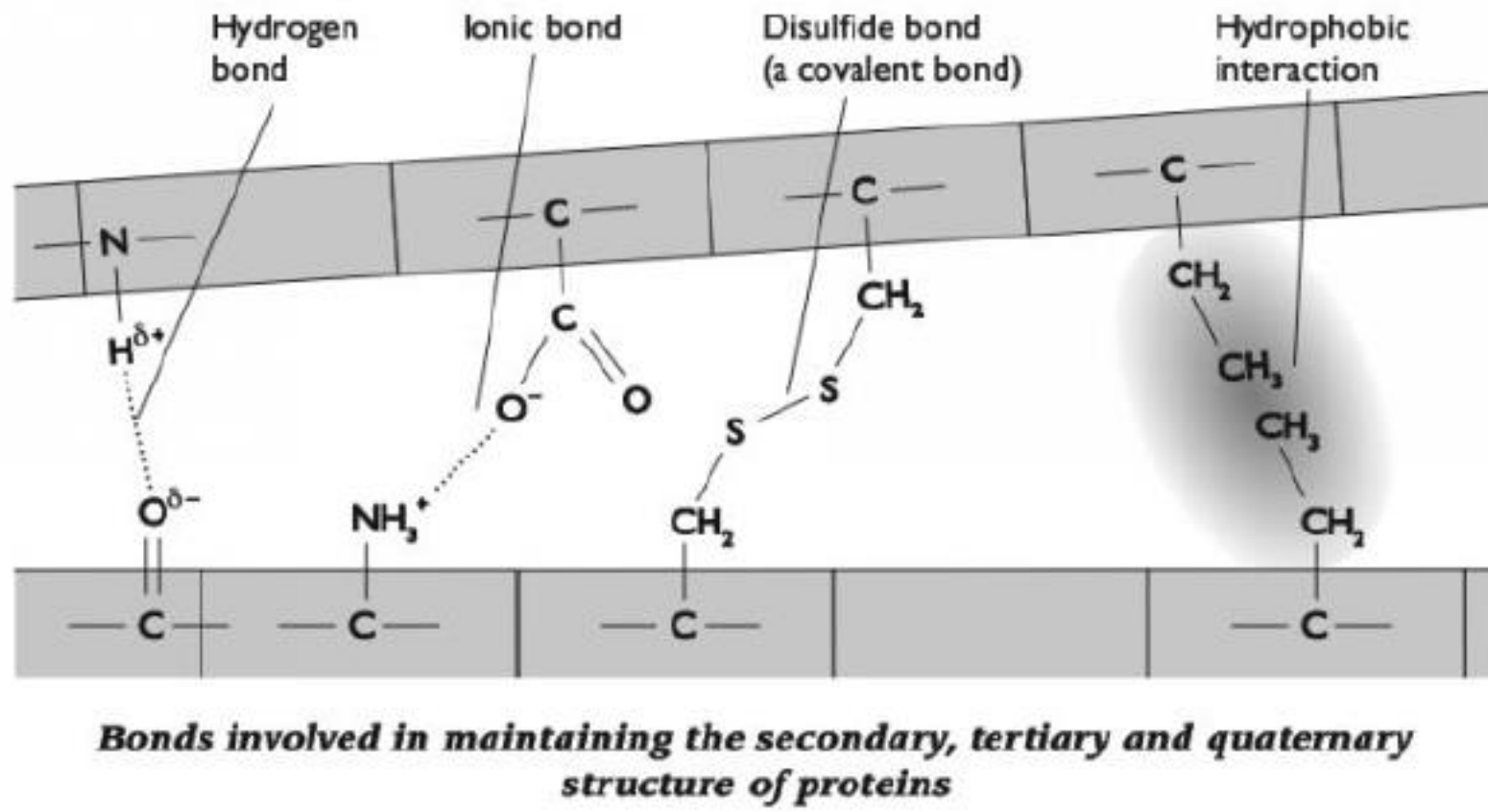


- **Homopoliméricas:**
Formadas por varias unidades de un mismo péptido
- **Heteropoliméricas:**
Formadas por unidades de péptidos diferentes



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Enlaces involucrados en plegamiento

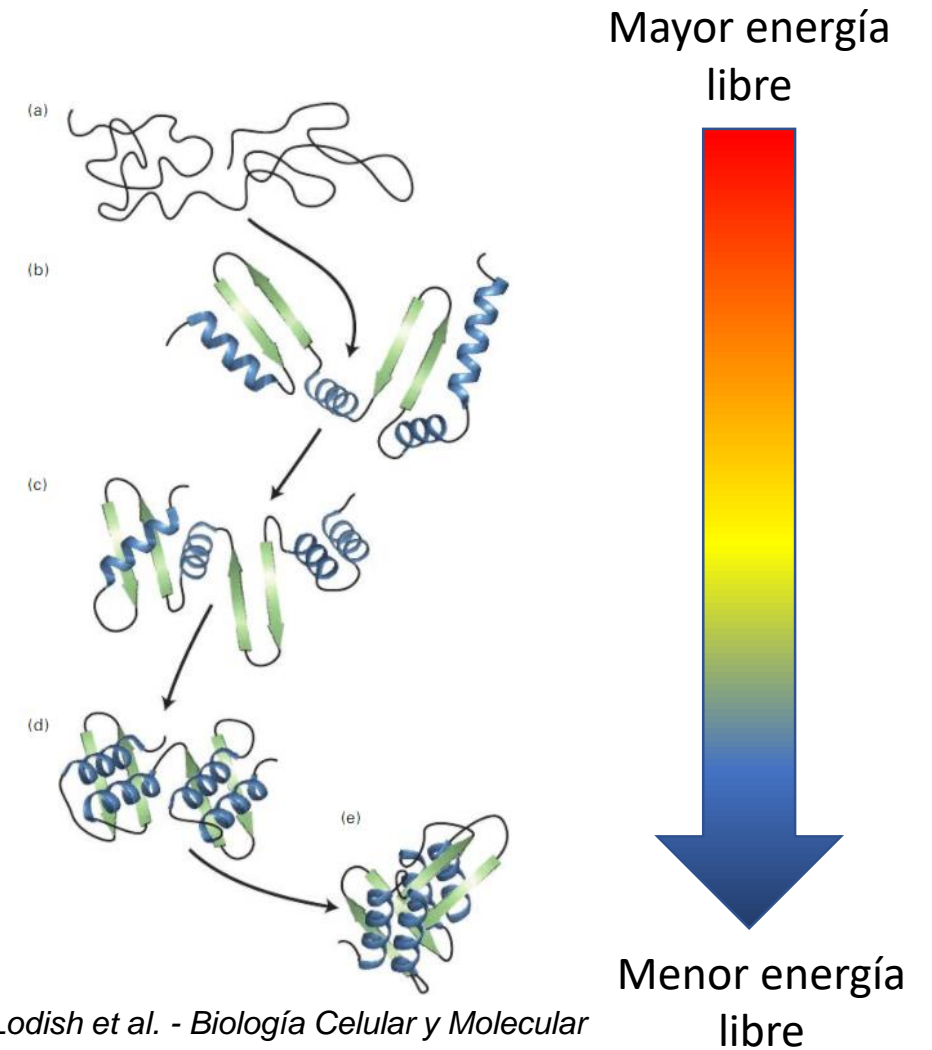


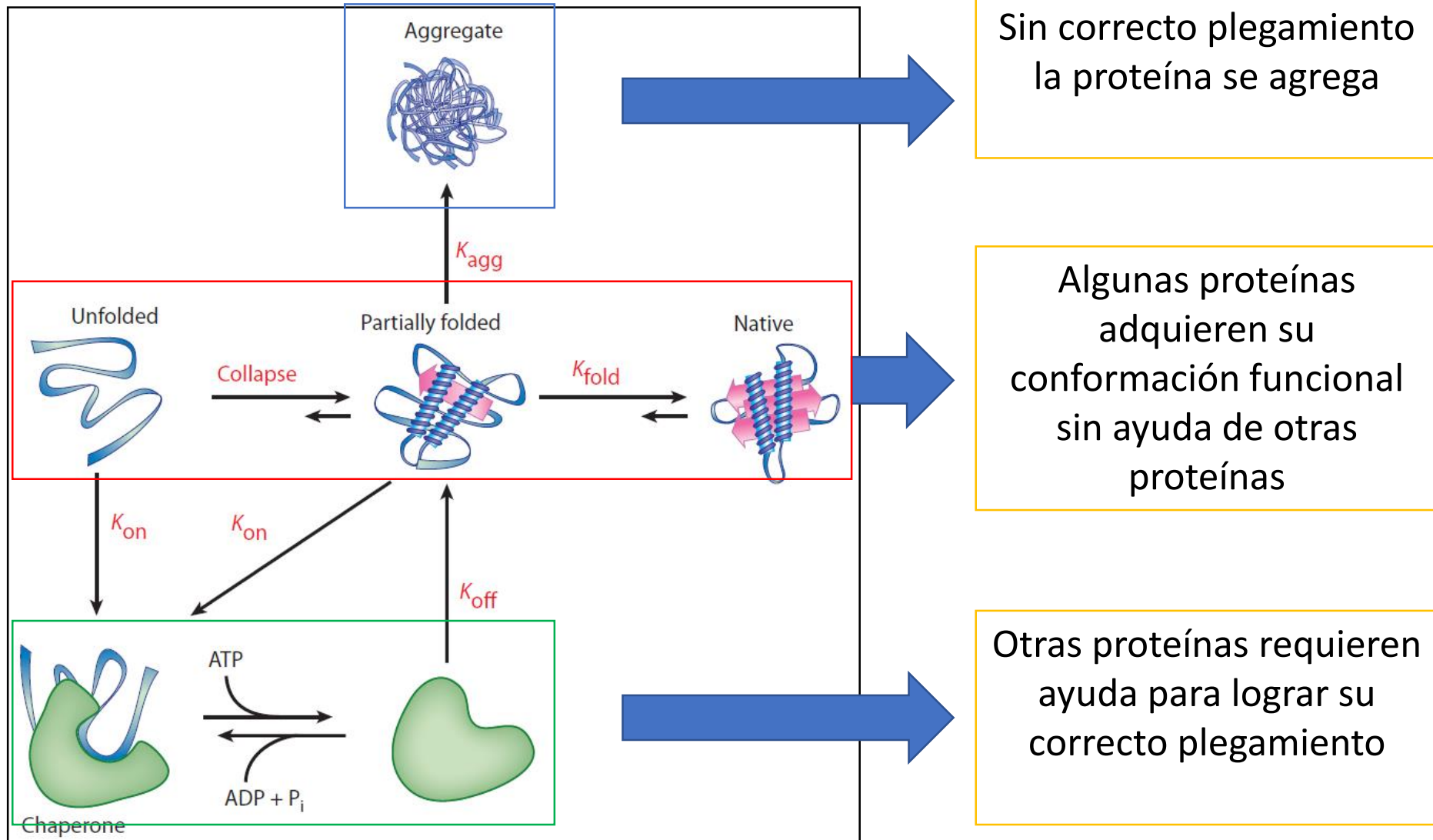


PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Proceso de plegamiento

- Interacciones entre aminoácidos
- Reducción energía libre
- Interacciones débiles y no covalentes
- Regiones hidrofóbicas en interior de la proteína
- micro a milisegundos







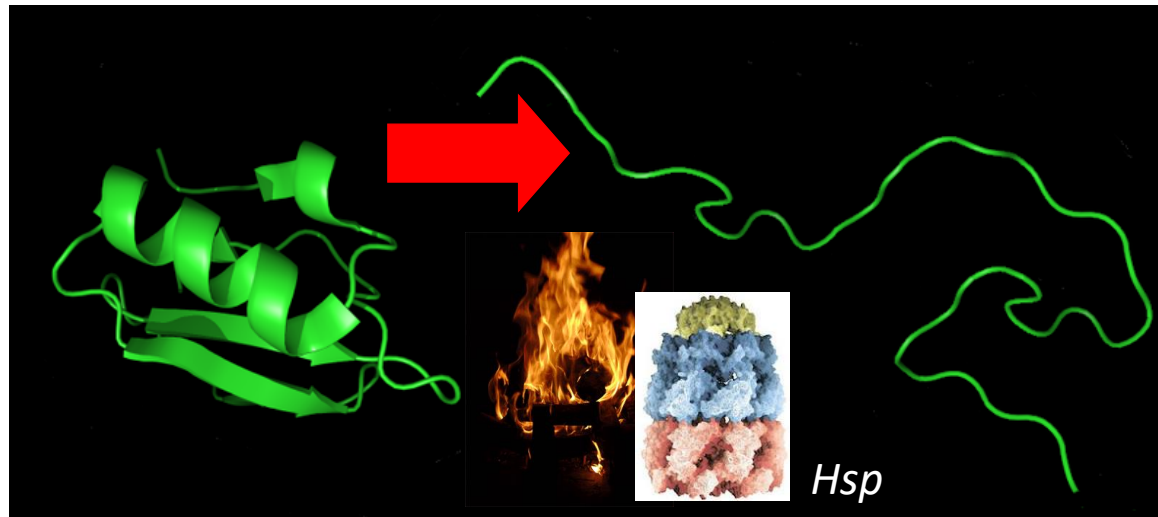
PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Chaperonas Moleculares

- Proteínas que **facilitan el correcto plegamiento y tráfico** de otras proteínas
- Funciones
 - **Plegamiento** de proteínas nacientes
 - **Estabilización** de proteínas no plegadas
 - **Prevención** de plegamiento erróneo
 - **Prevención** de interacciones incorrectas entre proteínas
 - **Prevención** de agregación
 - **Desplegamiento** de proteínas para su translocación a través de membranas
 - **Colaboración** en sistemas de calidad para degradación de proteínas mal plegadas

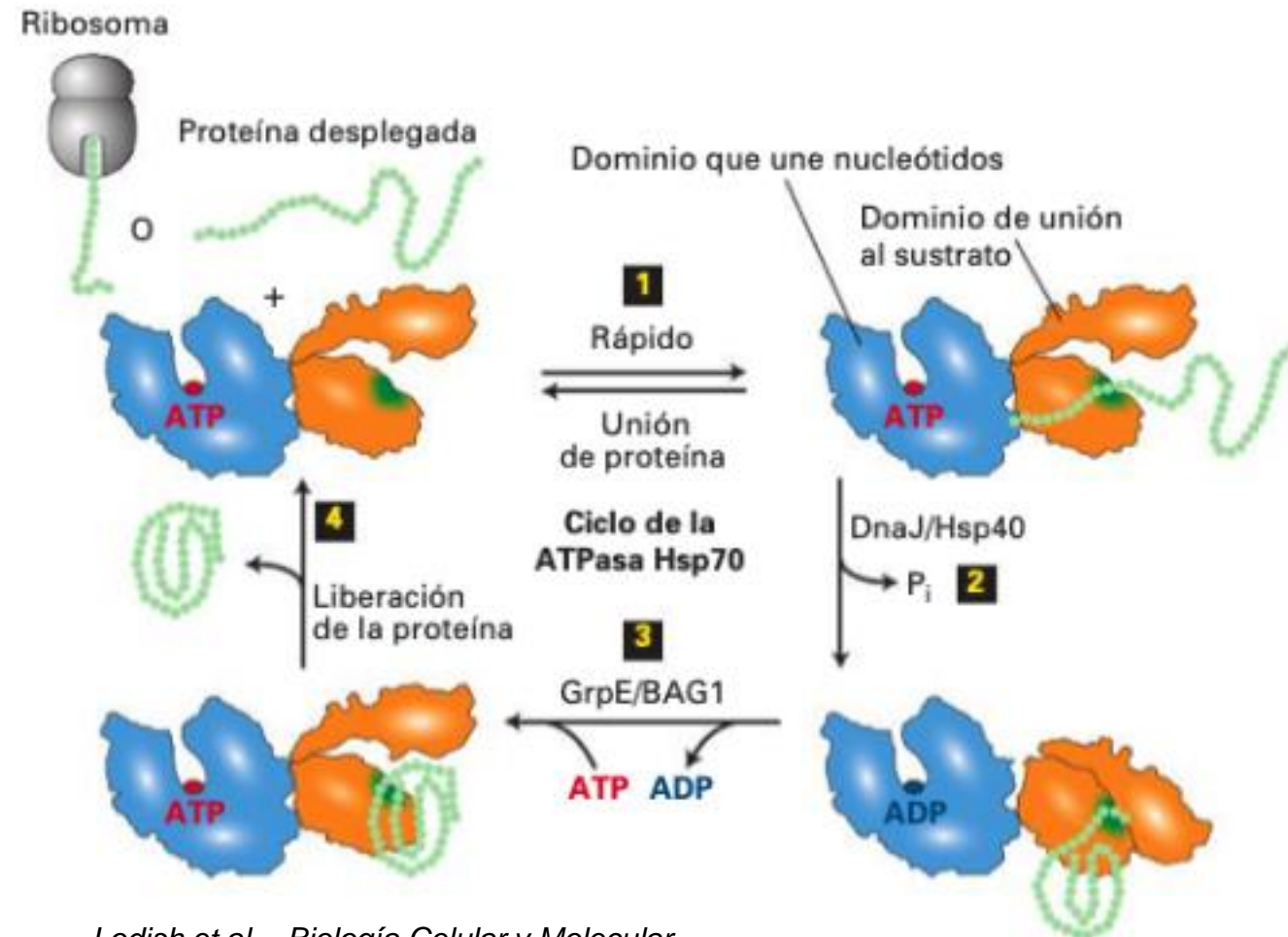
Chaperonas Moleculares

- Proteínas similares a proteínas de choque térmico - *heat-shock proteins* (HSP)
- HSP **aumentan** su expresión/función en condiciones de **altas temperaturas**



HSP – Familia HSP 70

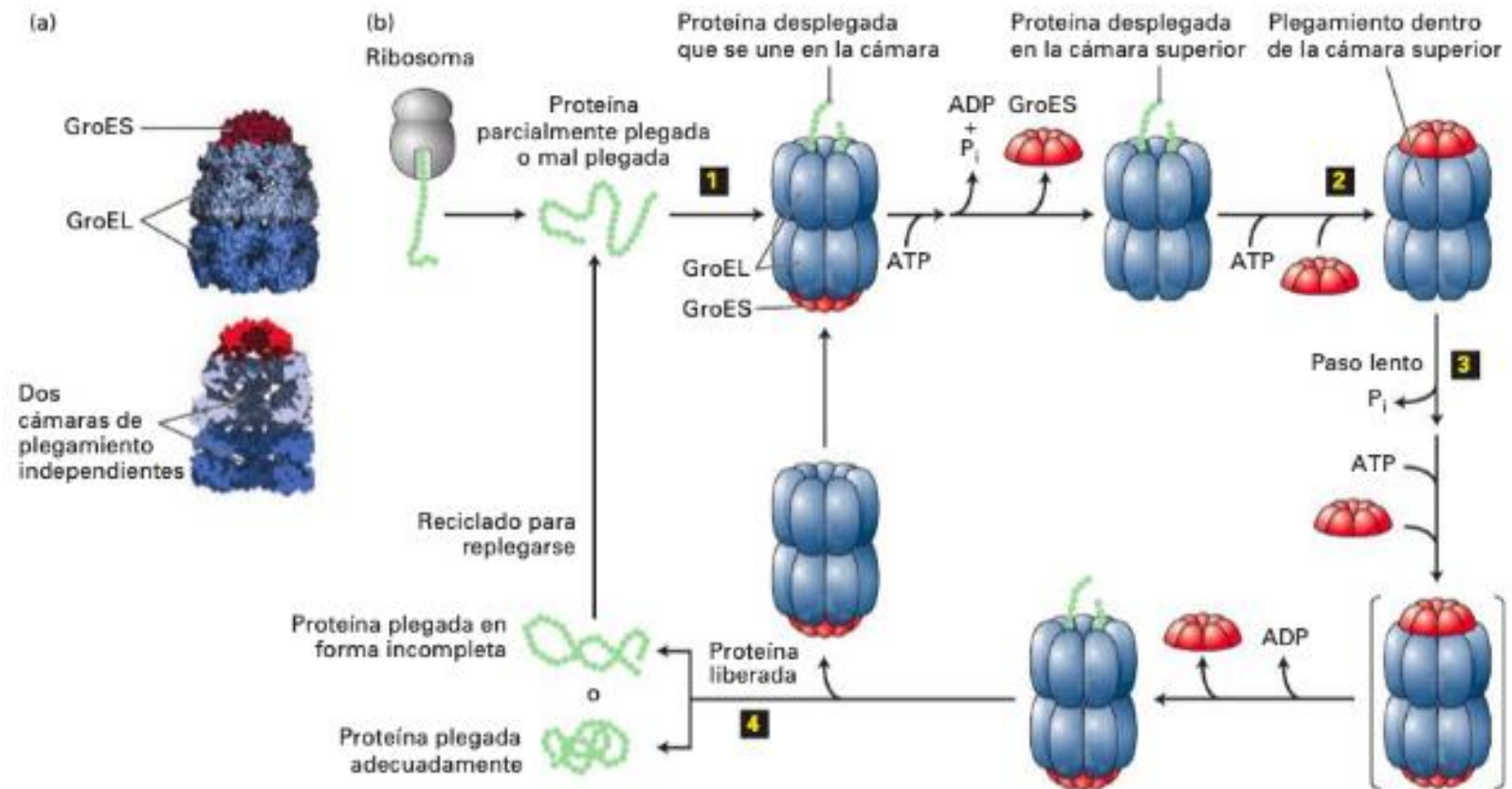
- Actúa **durante** síntesis de la proteína.
- Estabiliza proteínas no plegadas
- Mantiene proteína en forma extendida.
- Impiden **agregación** o interacciones **inespecíficas**
- Participa en procesos de tráfico de la proteína



Lodish et al. - Biología Celular y Molecular

HSP – Familia HSP 60 (chaperoninas)

- Terminan plegamiento de **nuevas proteínas**
- Facilitan plegamiento de **proteínas mal plegadas**
- **Resultado:** Proteína correctamente plegada.





PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Alteraciones en el
sistema de
plegamiento



Consecuencias del
mal plegamiento



Mutaciones en
la proteína

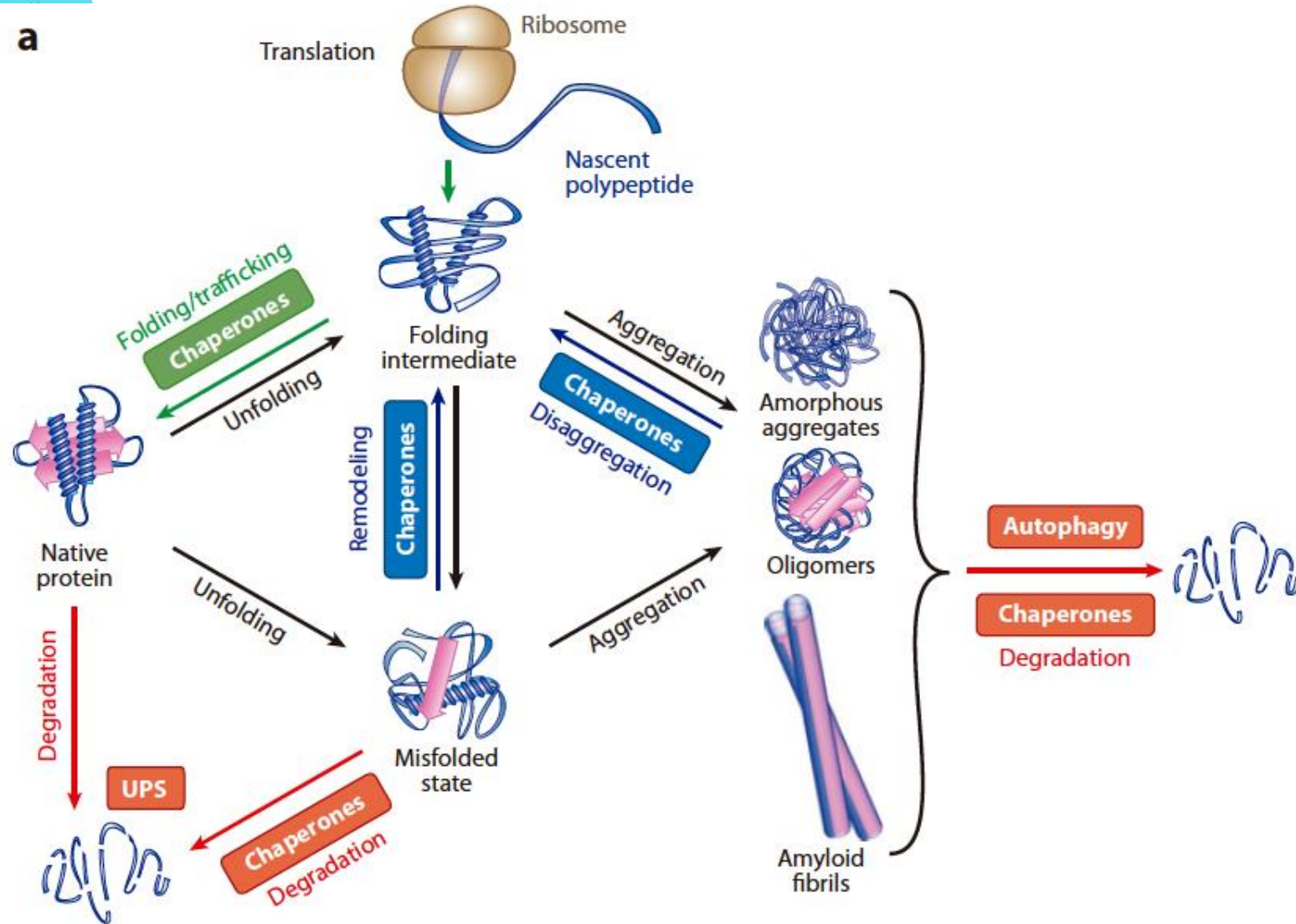
Pérdida de
función

Agregación

- Cuerpos de inclusión
- Proteína inactiva
- Parkinson – Alzheimer
- Enfermedades autoinmunes



a



Kim et al. Annu. Rev. Biochem. 2013. 82:323–55



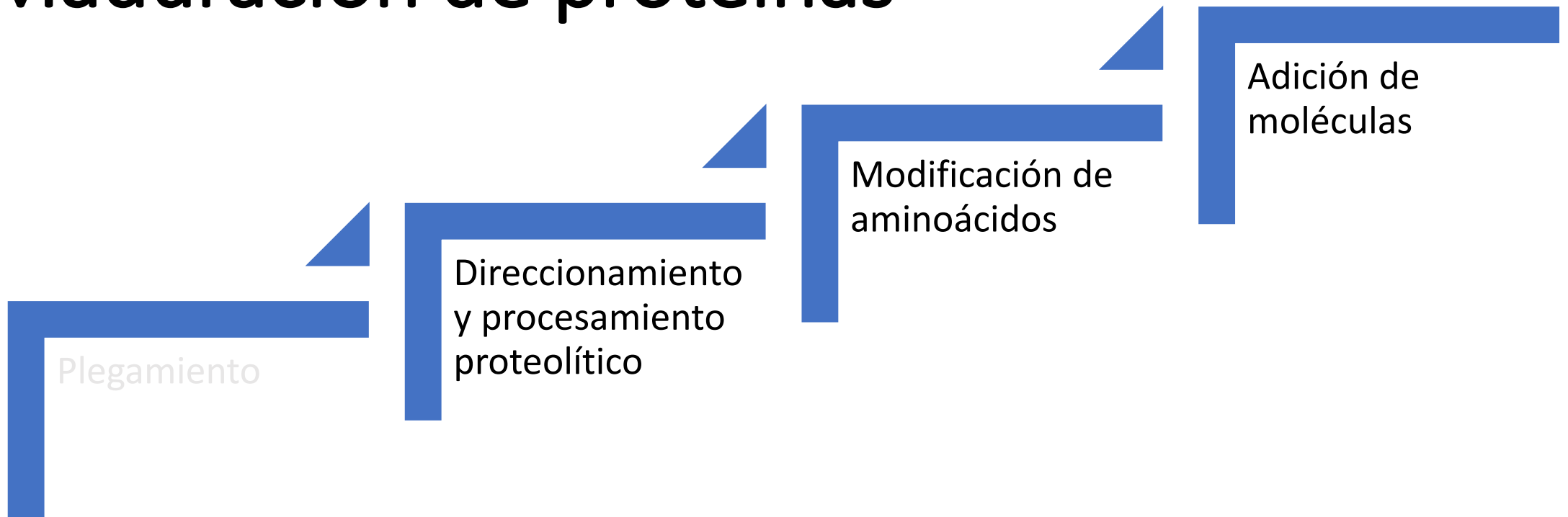
Maduración de proteínas

Procesamiento, tráfico y modificaciones postraduccionales de proteínas

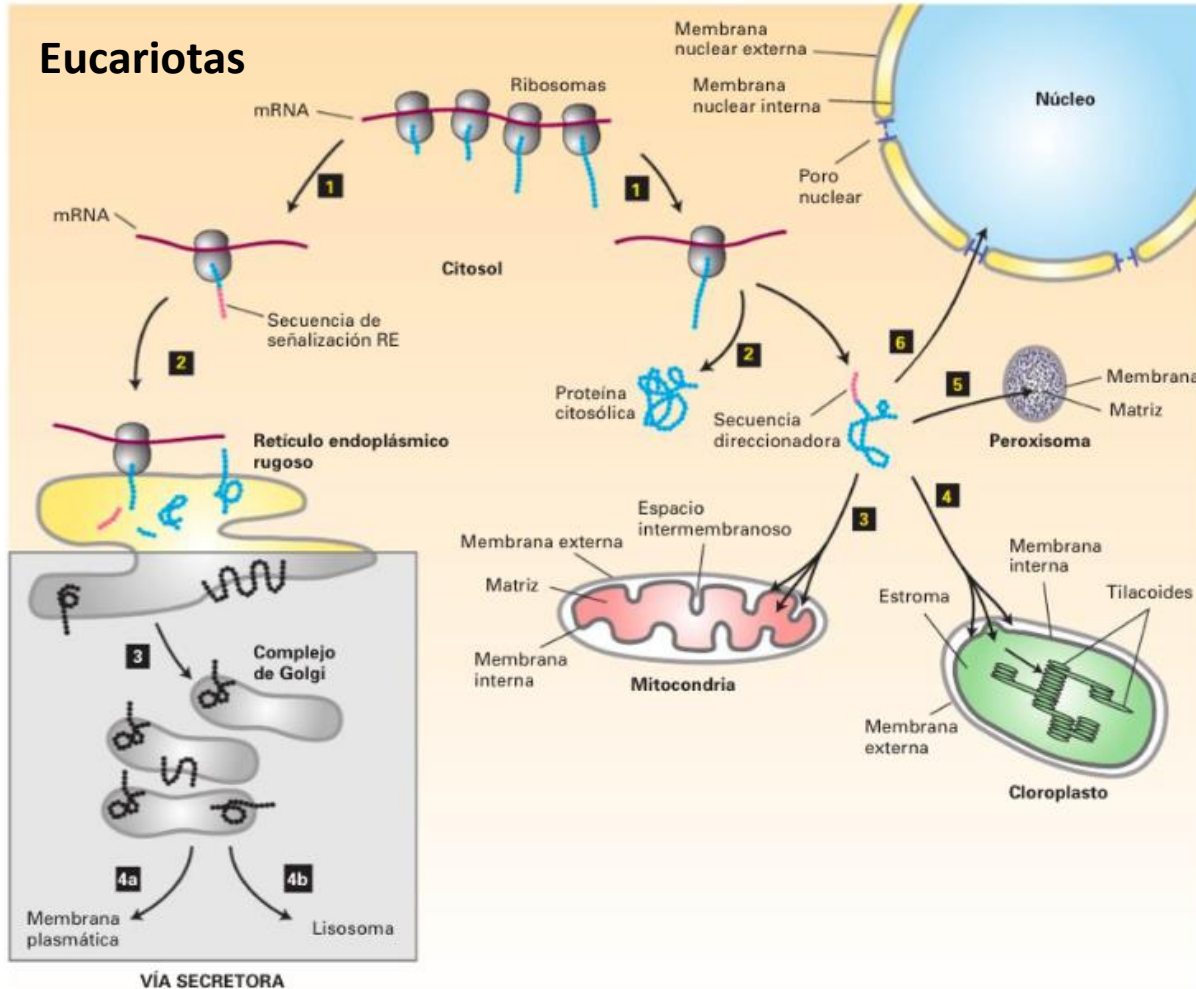


PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

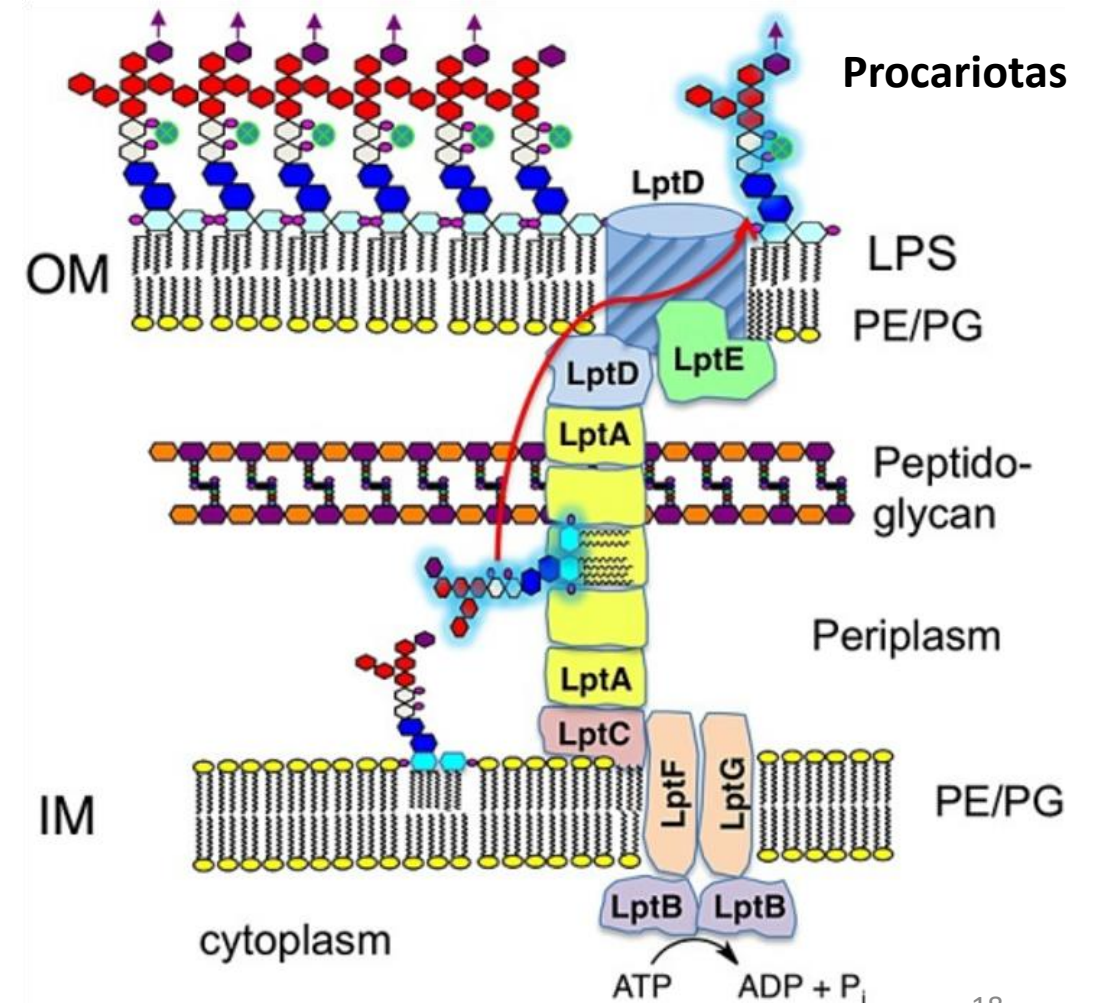
Maduración de proteínas



Direccinamiento celular



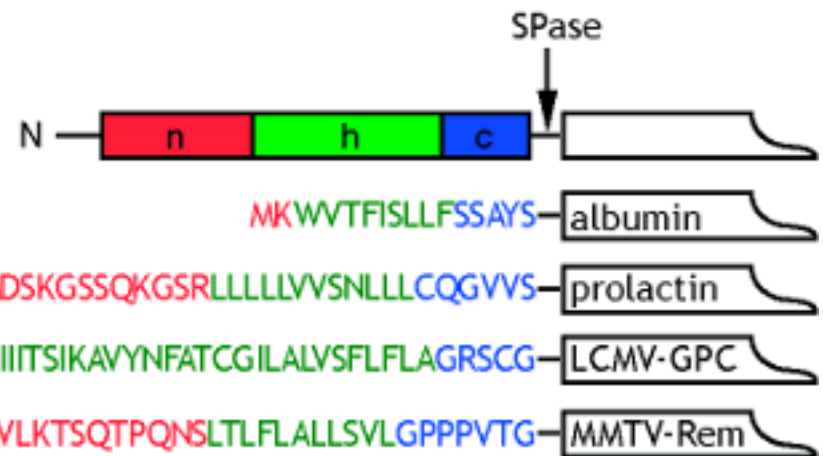
Lodish et al. - Biología Celular y Molecular



Moehle et al. 2016

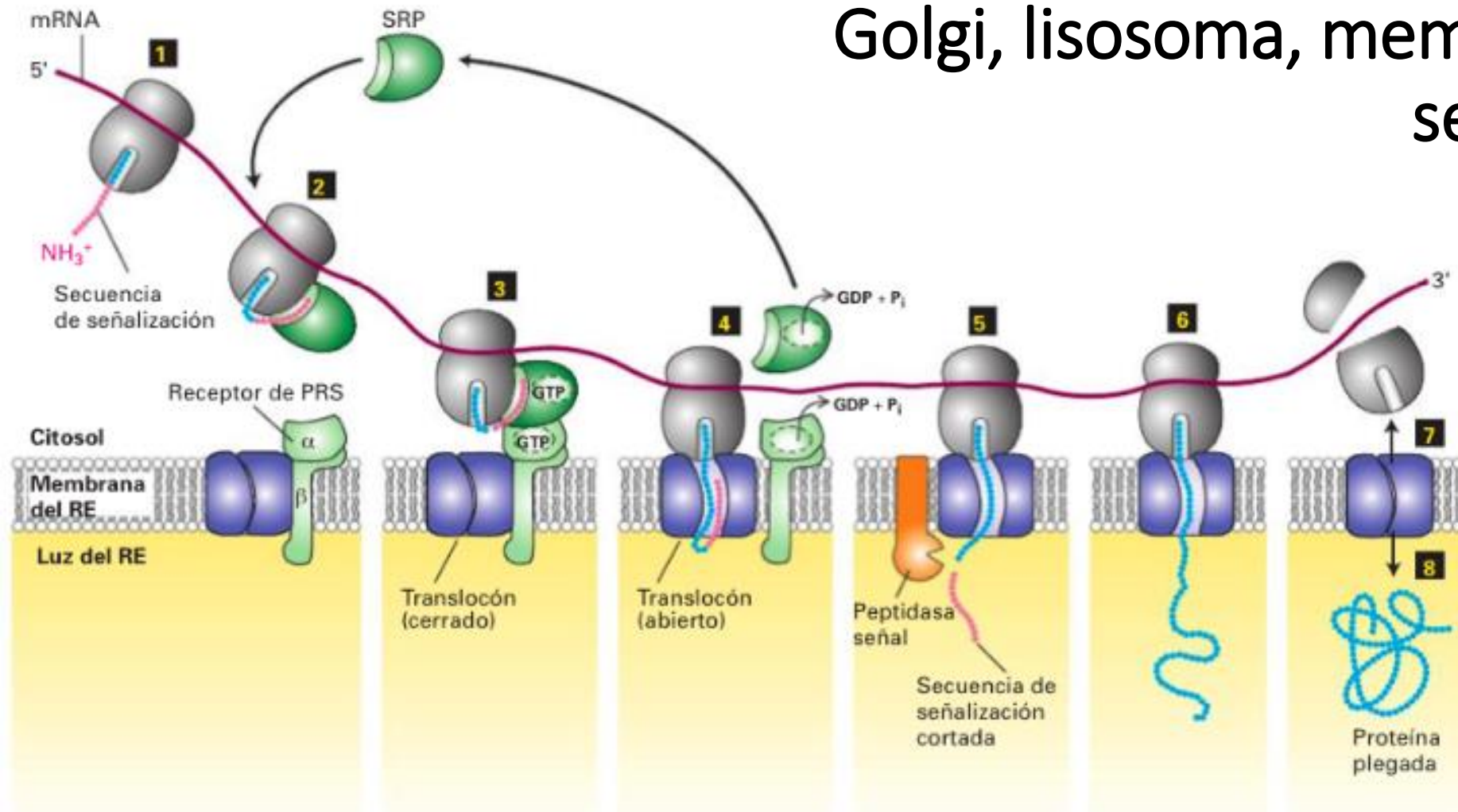
- Secuencia corta de aminoácidos (20 – 30)
- Presente en extremo **N-terminal**
- Secuencia **hidrofóbica**
- Direcciona proteínas en procariotas y eucariotas
- Remoción **antes** o **después** de alcanzar destino

El péptido señal



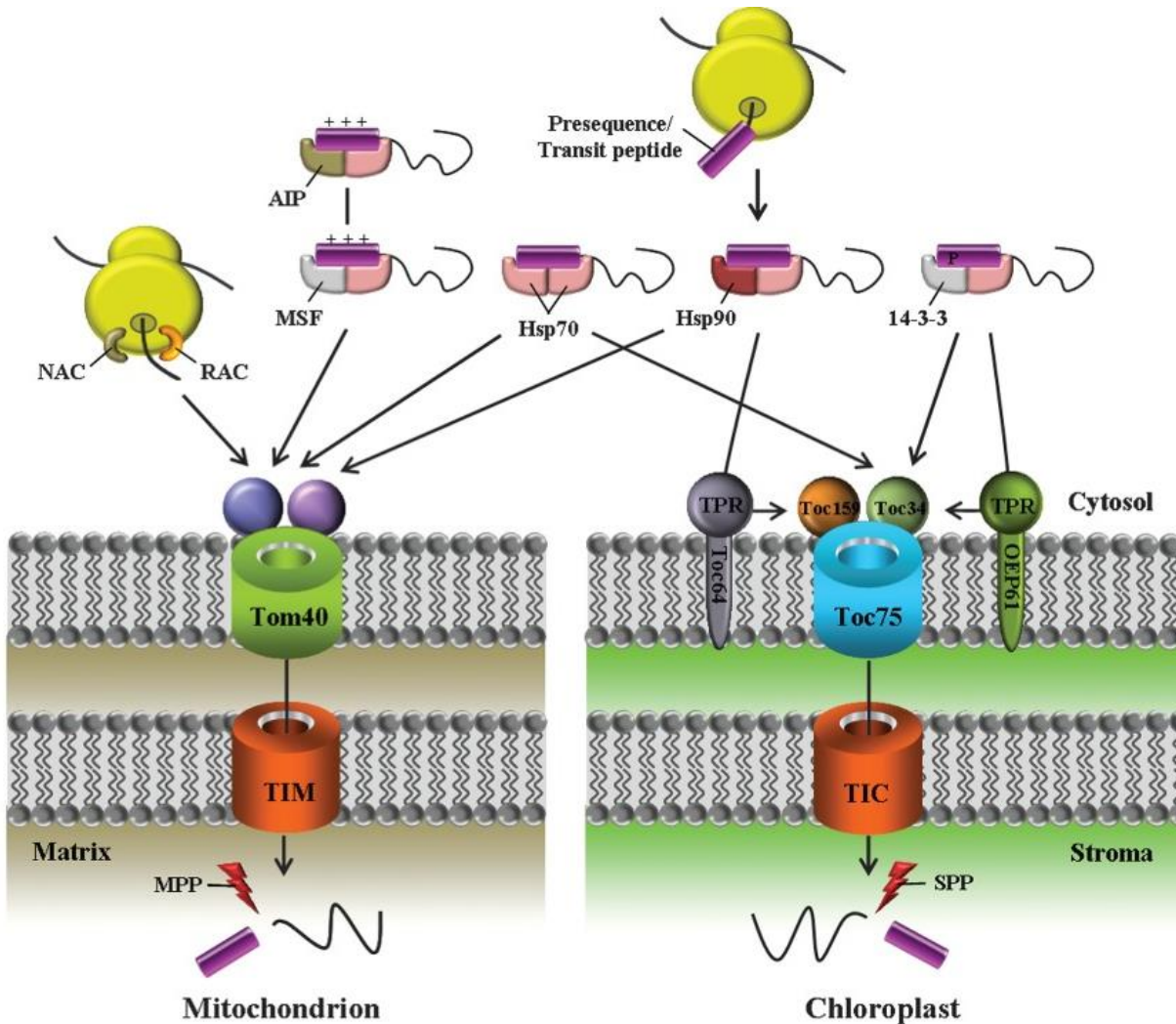
Signal Peptide Website. <http://www.signalpeptide.de>

Retículo endoplasmático, aparato de Golgi, lisosoma, membrana y secreción



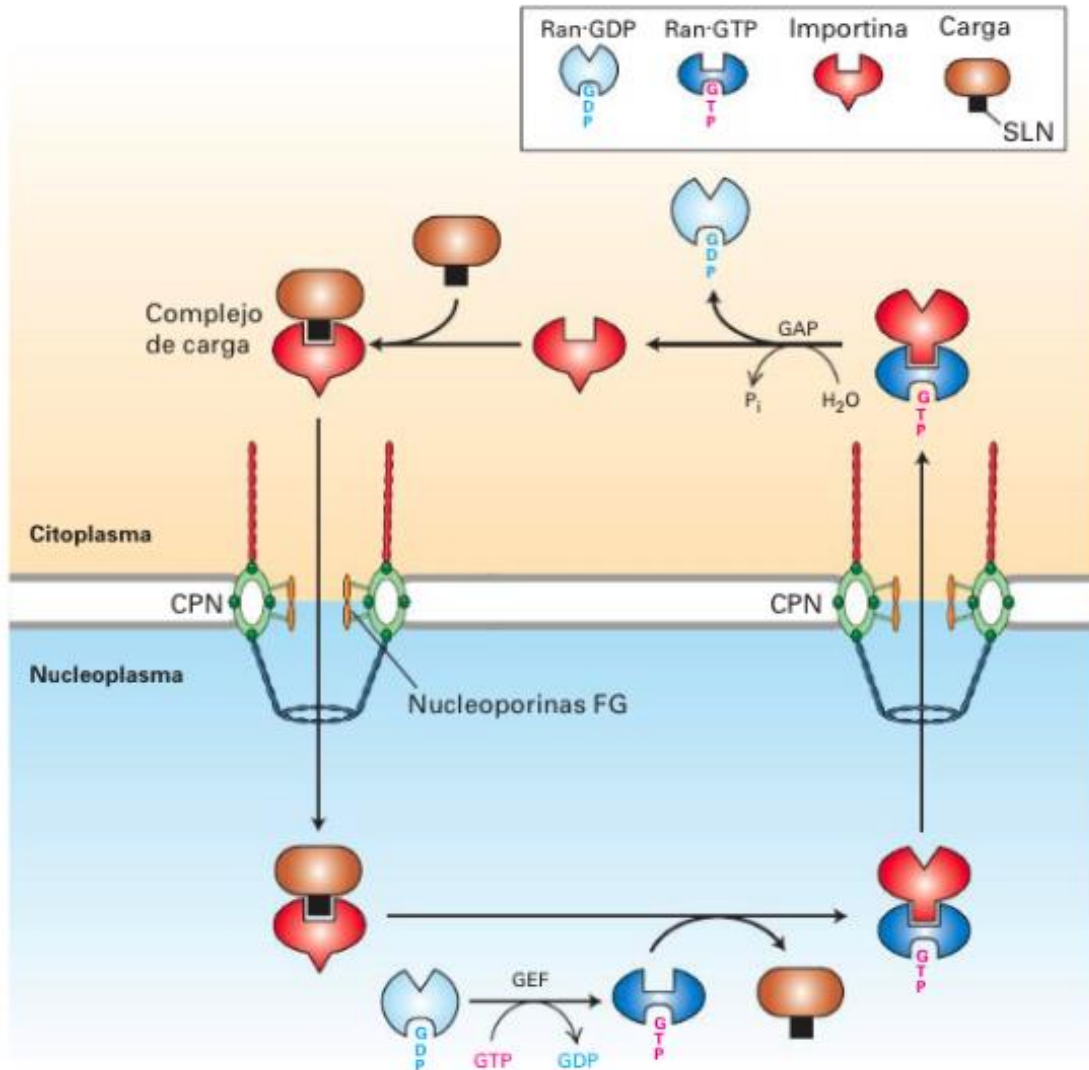
Lodish et al. - Biología Celular y Molecular

Mitocondr a y cloroplastos



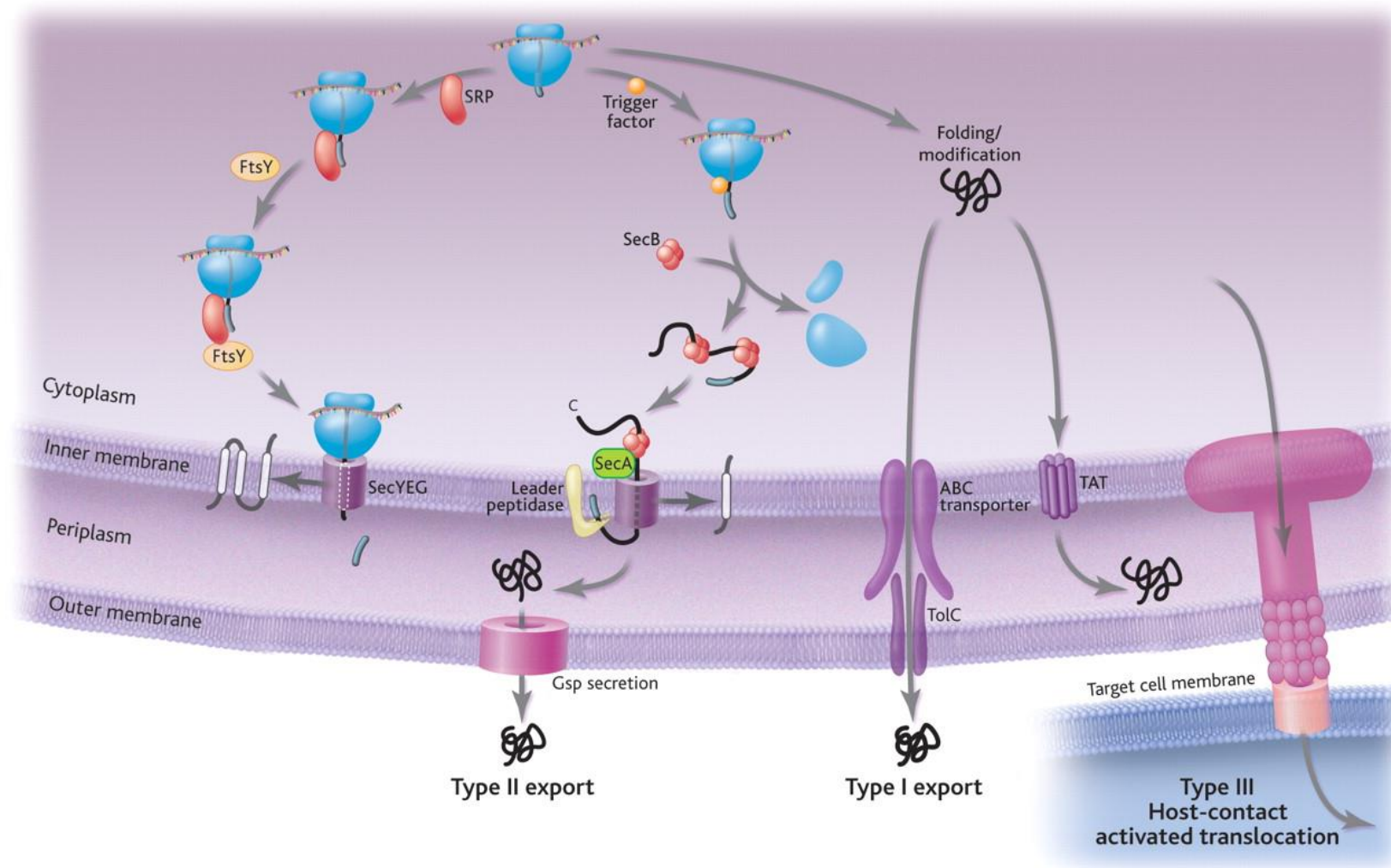
1. Unión a **chaperona** a péptido señal.
2. Complejo proteína-chaperona **direccionado al organelo**
3. Translocación de la proteína
4. **Plegamiento** de la proteína
5. **Remoción** del péptido señal

Núcleo



1. NLS = **señal de localización nuclear**
2. No se elimina
3. NLS localizada en **cualquier posición** de la proteína.
4. Movimiento depende de hidrólisis de GTP

Direccionamiento en bacterias



Wickner & Schekman 10.1126/science.1113752



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Adición de moléculas



Adición de cadenas de **carbohidratos**
Direcccionamiento, estabilidad, interacción célula-celula, sistema inmune

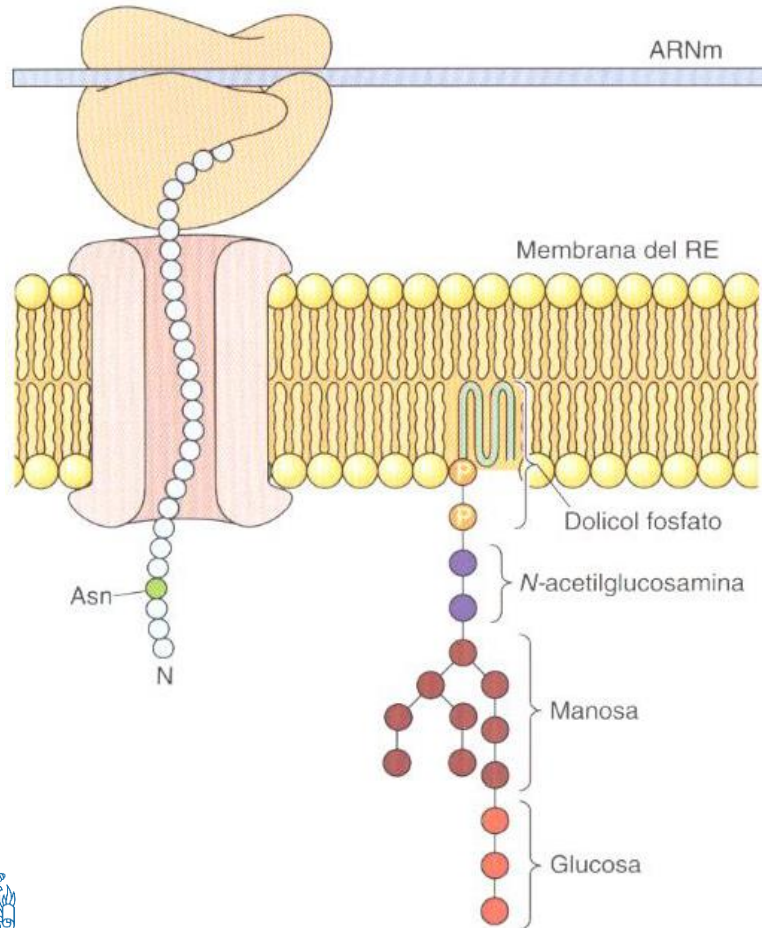
Adición de grupos **fosfatos**
Cambios en **conformación** de la proteína
Modulan **actividad** de la proteína

Adición de grupo **acetilo**
Alteración de la distribución de cargas

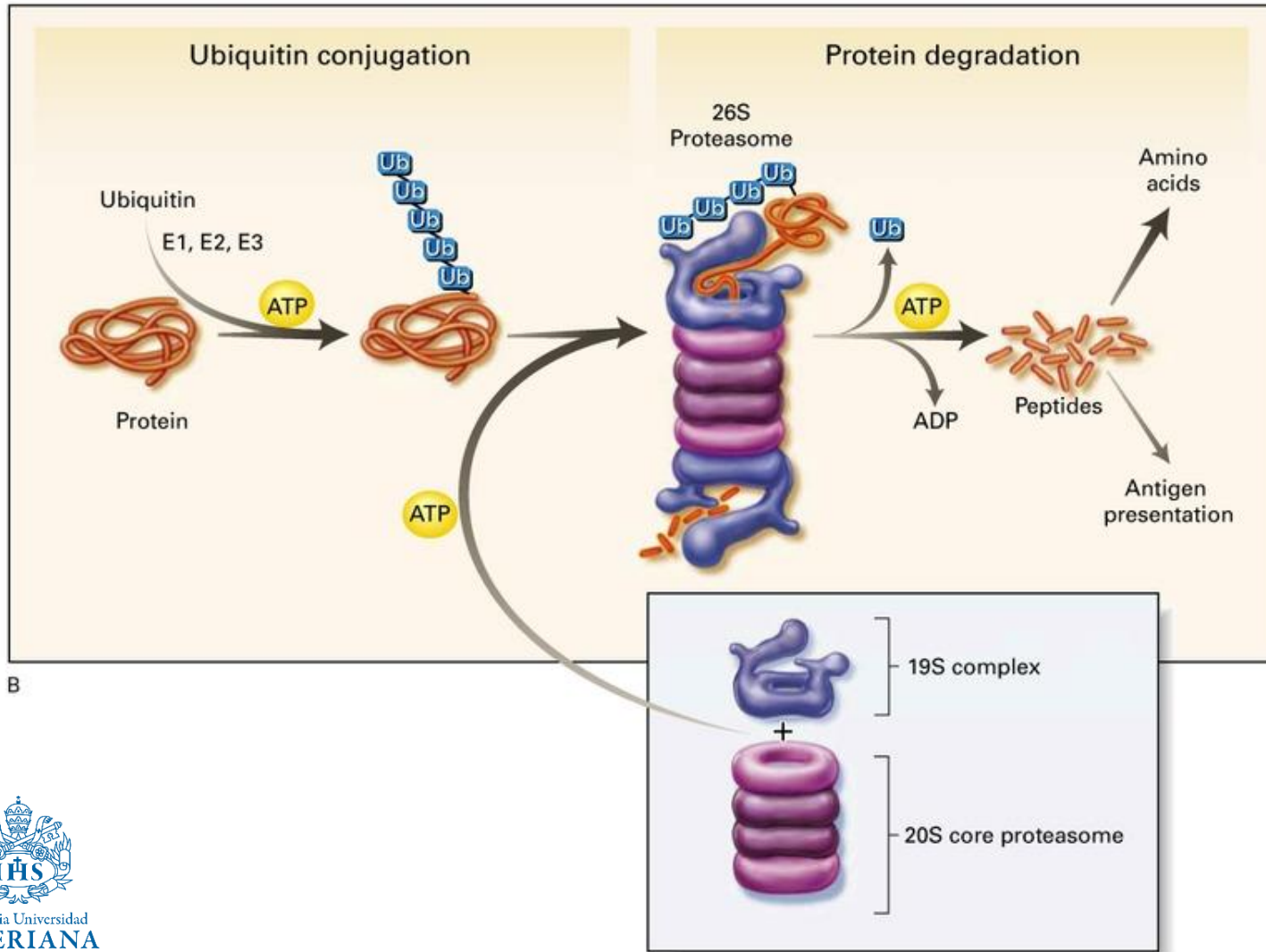
Adición de **cadena de carbonos** entre C14-C20
Direcccionamiento a **membranas**

Adición de péptido **ubiquitina**
Control de expresión génica postraduccional

Adición de moléculas Glicosilación



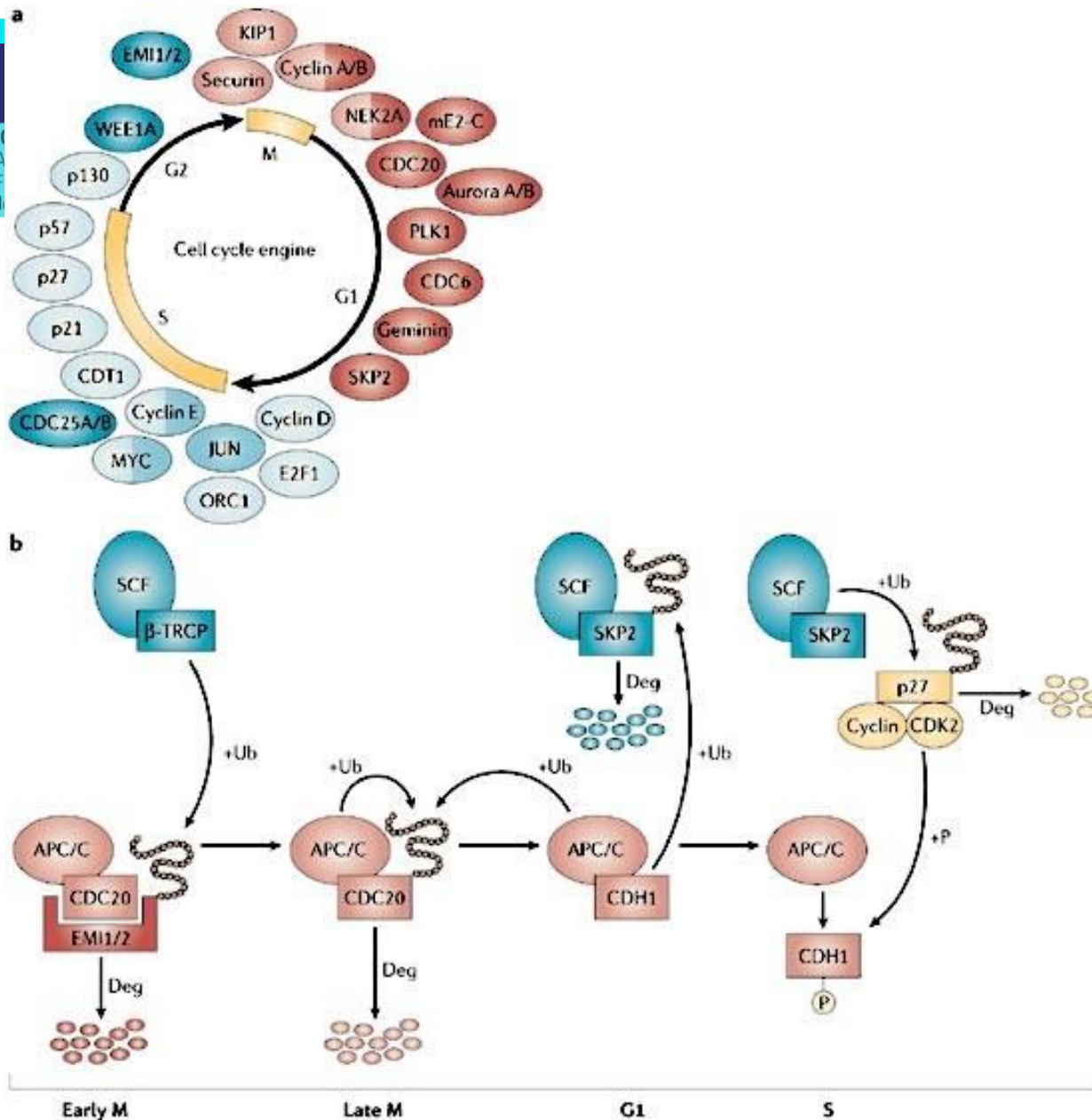
- Adición de cadenas de **carbohidratos**
- Principalmente en células eucariotas
- Dos tipos de glicosilaciones:
 - **N-glicosilación**: carbohidrato se une al nitrógeno de la asparagina.
 - **O-glicosilación**: carbohidrato se une al oxígeno de serina o treonina
- **Función:**
 - Direccionamiento – Estabilidad – interacción célula-celula – sistema inmune



Ubiquitinación

Genera patrones de modificación que son reconocidos por proteínas que controlan **degradación** y **direccionamiento**

Regulación **postraduccional**



Modificaciones postraduccionales y Regulación postraducciona



THE PROTEIN SLAYERS

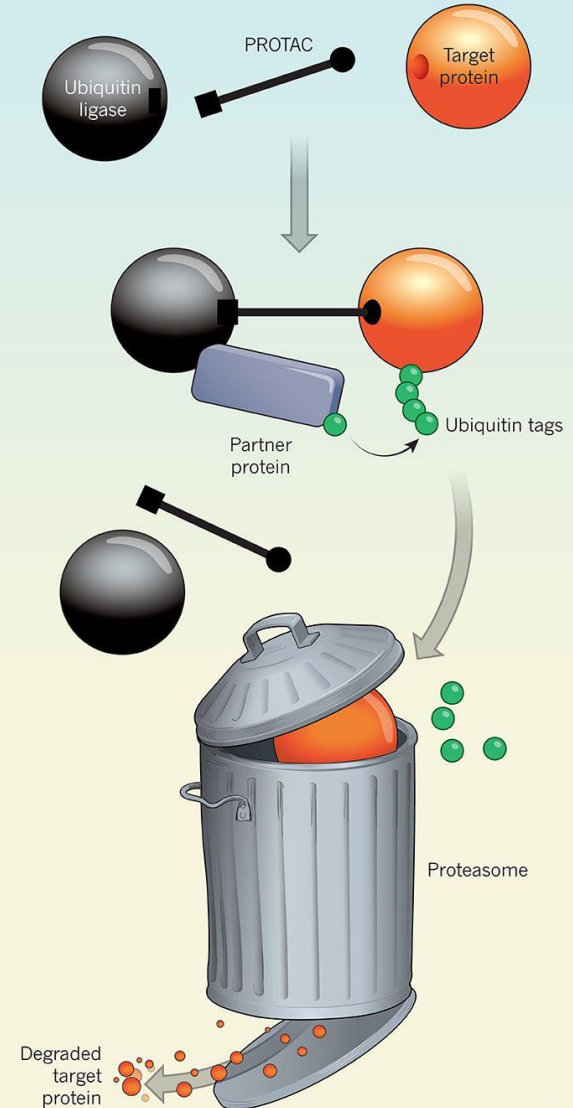
An emerging class of drug could send some of medicine's most troublesome protein targets to the cellular rubbish bin.

BY MEGAN SCUDELLARI



MARKED FOR DESTRUCTION

Targeted protein degradation uses a drug such as a proteolysis-targeting chimaera (PROTAC) to bring together a ubiquitin ligase — and its associated proteins — with a target protein. After this tethering occurs, the ligase attaches ubiquitin tags to the target protein, marking it for degradation.





Control de calidad

- Proceso de plegamiento y modificaciones postraduccionales no es 100% eficiente
- **Mecanismos de control de calidad**
 - Reconocimiento de plegamientos incorrectos
 - Errores en enlaces disulfuro (Cys-Cys)
 - Exposición de regiones hidrofóbicas
- **En caso de errores:**
 - Detener proceso de traducción
 - Aumento de chaperonas
 - Degradación de proteínas mal plegadas



Efecto de las mutaciones sobre la maduración

- **Efectos sobre el plegamiento**
 - Pérdida de puentes de hidrógeno
 - Pérdida de enlaces disulfuro
 - Reducen actividad o estabilidad
- **Efectos sobre aminoácidos involucrados en modificación postraducionales**
 - Pérdida de sitios de glicosilación, acilación/aquilación o afecta direccionamiento



La técnica de la semana

Electroforesis de proteínas y western-blot

Electroforesis

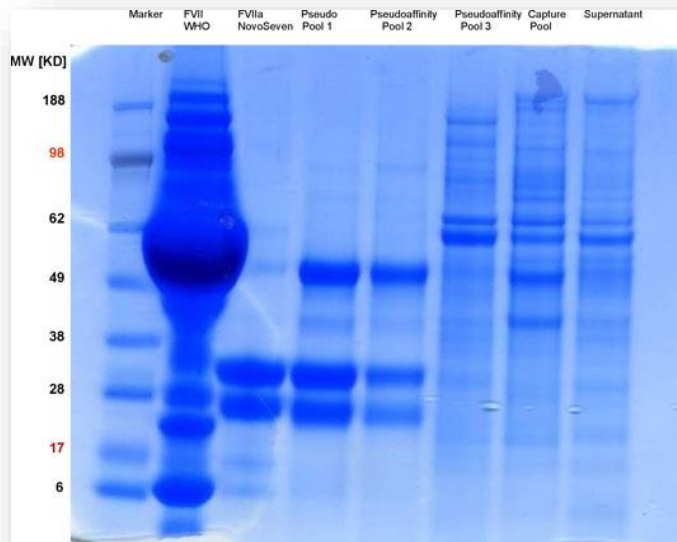


Gel Agarosa

Ácidos Nucleicos

Carga (-)

Pocas conformaciones



Gel Poliacrilamida (PAGE)

Proteínas

Carga (-), (+), neutra

Múltiples conformaciones



PROGRAMAS DE PREGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS
PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
Vigilado por el Ministerio de educación

Dodecilsulfato de sodio - PAGE (SDS-PAGE)

SDS (dodecilsulfato de sodio)

Denatura las proteínas (estructura primaria/secundaria)

Se une fuertemente a proteínas

Proteína asume carga negativa

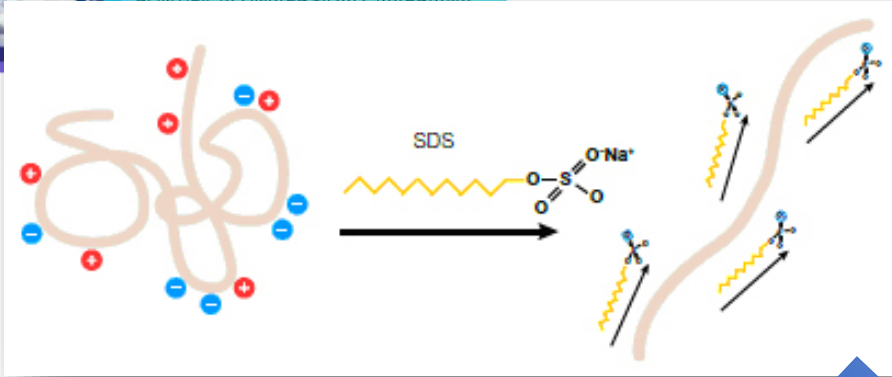
Permite separación de las proteínas exclusivamente en función del tamaño

Ventajas del SDS

Alta densidad de cargas negativas permite una mayor movilidad electroforética

Todas las proteínas migran en el mismo sentido

Las proteínas se unen con mayor facilidad a colorantes



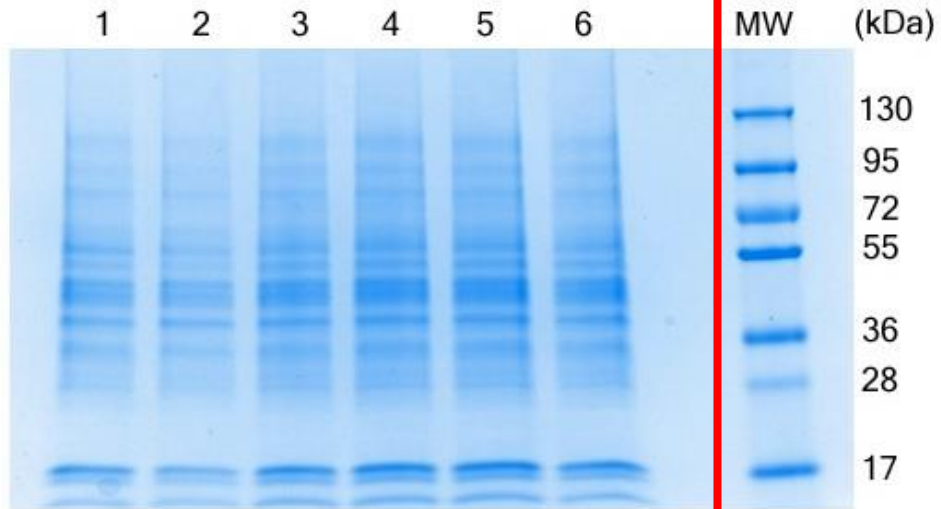
SDS-PAGE

**Separación en función
del tamaño**

Mayor masa molecular

Menor masa molecular

Cátodo (-)

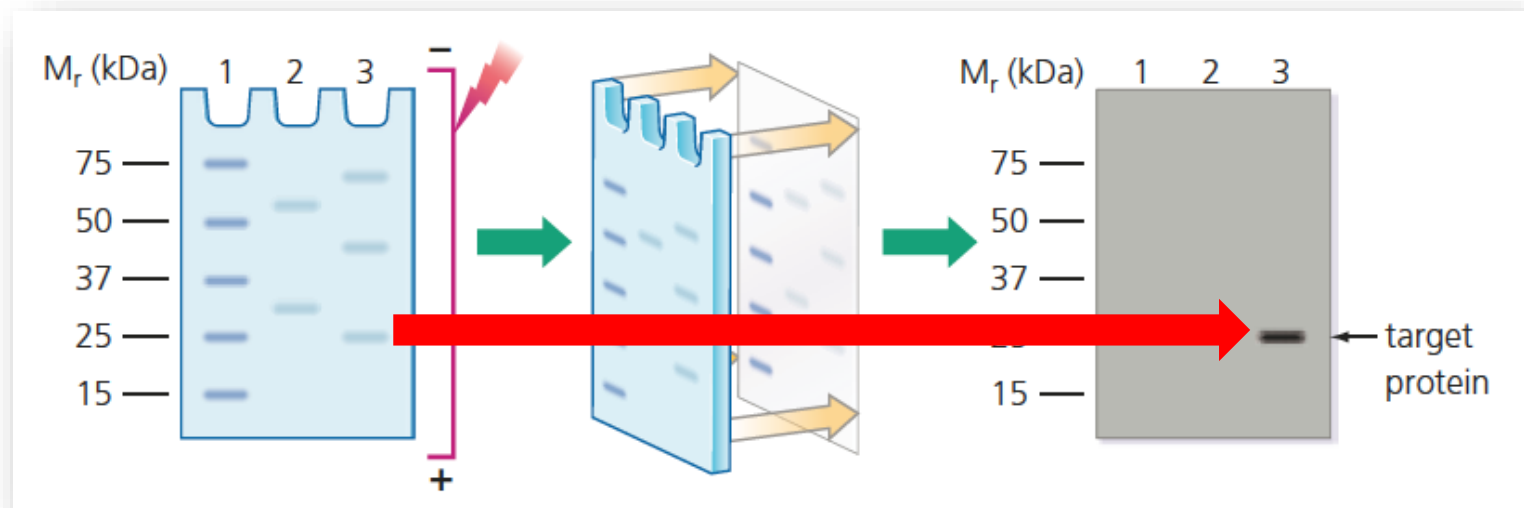


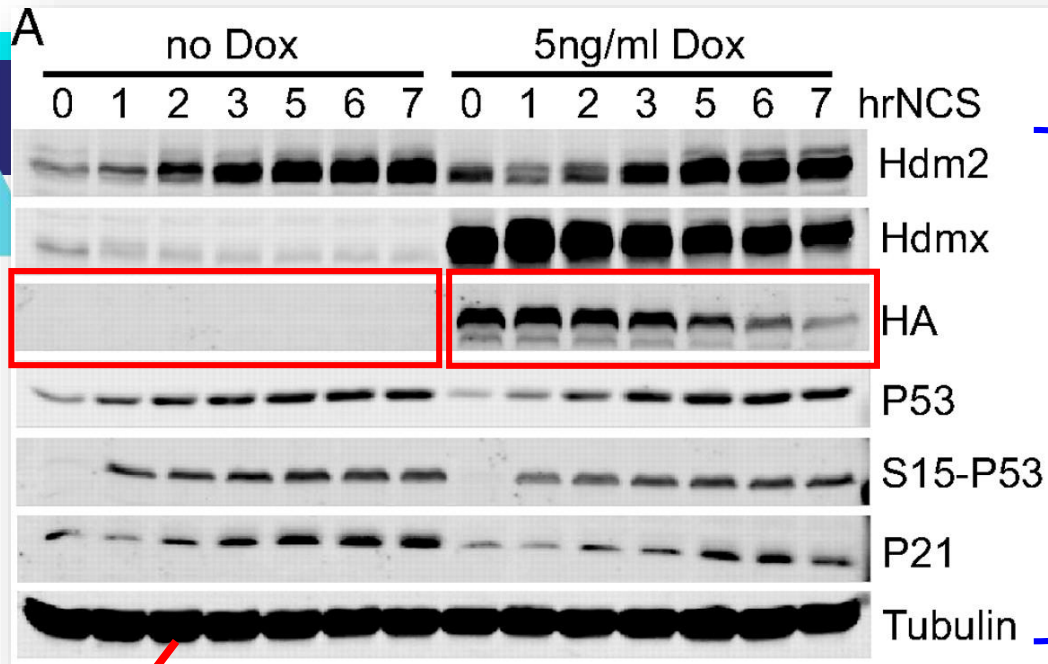
Marcador de
peso

Ánodo (+)

Western-blot

- Técnica para **detectar** la presencia de una **proteína específica** en una muestra con base en su interacción con un **anticuerpo**
- Tres pasos básicos:
 1. **Separación** de la muestra por electroforesis
 2. **Transferencia** a soporte sólido (membrana)
 3. **Detección** con anticuerpo





Cada una
reconocida
por un
anticuerpo
diferente

β -tubulina – β -actina
Control de expresión

Proteínas constitutivas =
proteínas cuya expresión
no cambia (se mantiene
relativamente constante)

