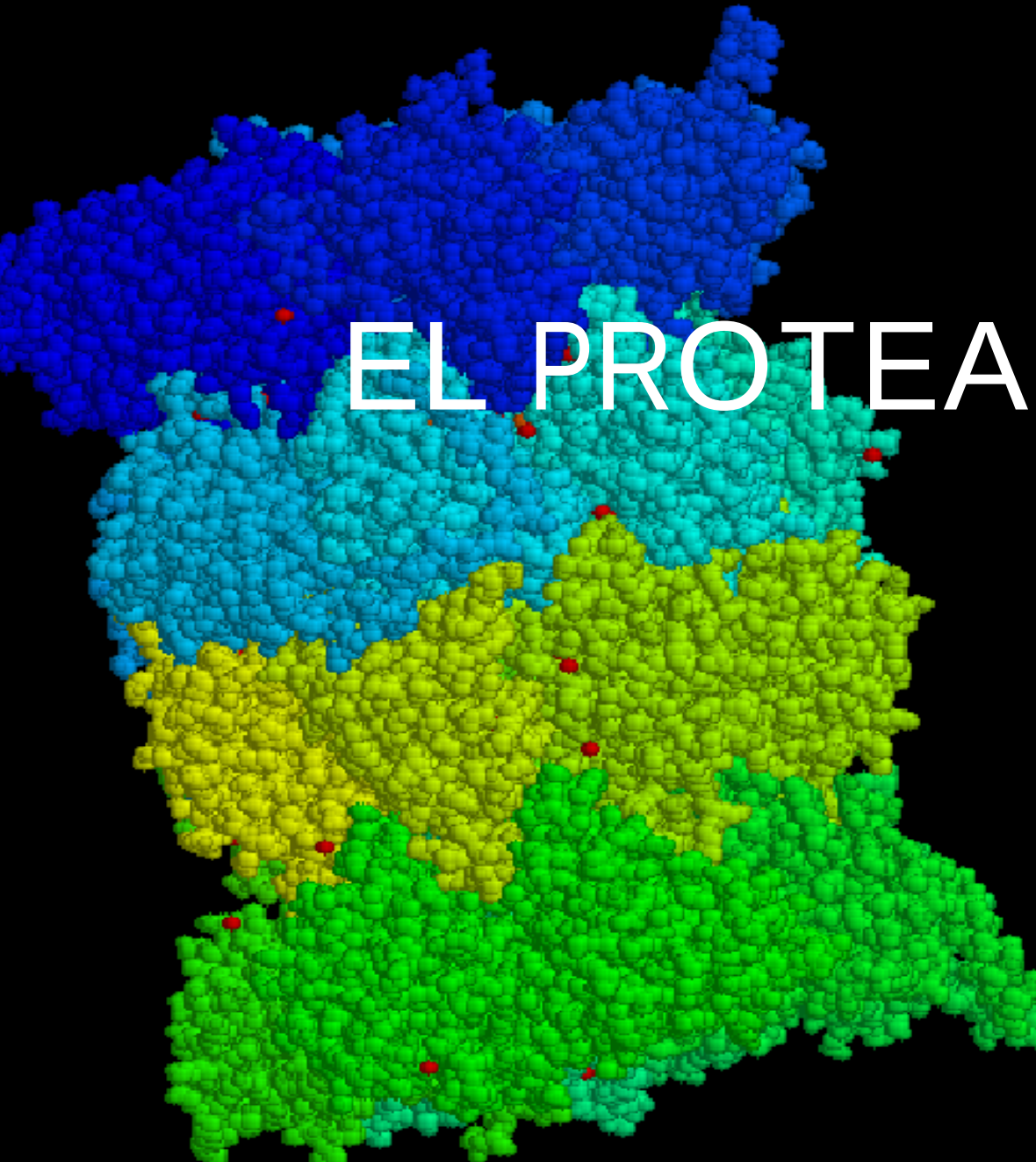


A 3D surface model of a proteasome complex, showing four distinct subunits colored blue, cyan, yellow, and green. The model is composed of numerous small spheres representing atoms, with several red spheres highlighting specific sites. The title 'EL PROTEASOMA' is overlaid in white text.

EL PROTEASOMA

Teresa Botta Orfila

Laura Rodón Ahnert

Laia Rosich Moya

Rosa M. Surià Albà

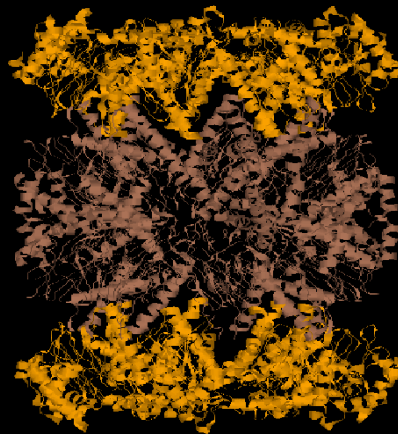
En cèl·lules eucariotes, la majoria de proteïnes del citosol i el nucli són degradades mitjançant la via de les ubiquitines - proteasoma

EL PROTEASOMA

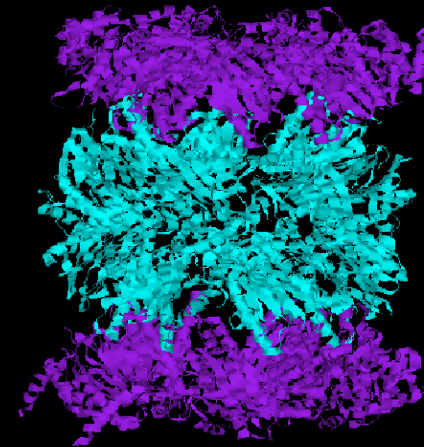
- Complex proteasa multicatalític
- Rol crucial en el *turnover* cel·lular proteic (**treonin-proteasa**)
- Present en tots els dominis de la vida



Escherichia coli



Thermoplasma acidophilum



Saccharomyces cerevisiae

EL PROTEASOMA EUCARIOTA

El proteasoma 26S és una màquina molecular cilíndrica de 2.5MDa

Core codificat per 14 gens diferents

45 nm de llargada i 20 nm d'amplada

Compost per:

- { Dos **activadors 19S** (subunitats reguladores)
- { Un **core 20S** (subunitats α –reguladores-, subunitats β –catalítiques-)

ACTIVADORS 19S

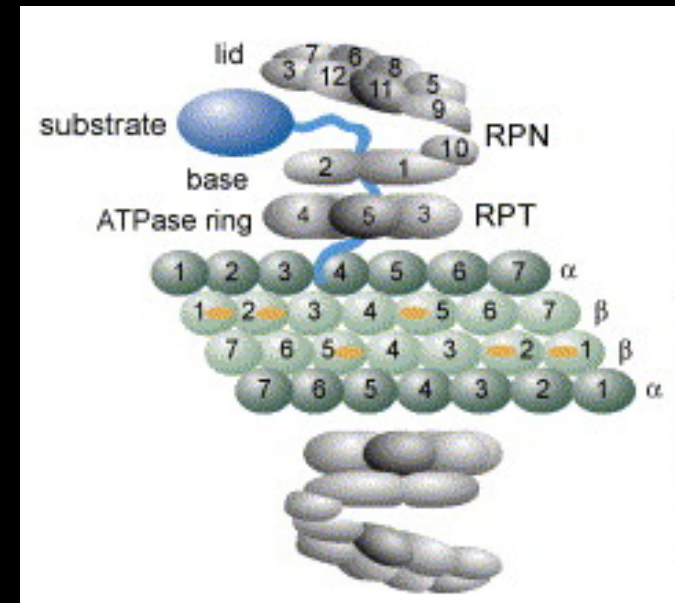
Parcialment desconeguts

N'hi ha 2, asimètrics, ATP- i ubiquitina-depenents

19S = 11/12 Rpn + 6 Rpt (ATPasa)

Funcions clau:

- 1.- Reconèixer i unir les proteïnes substrat;
- 2.- desplegar-les;
- 3.- dissociar les ubiquitines;
- 4.- encaminar el substrat cap al core catalític del proteasoma.

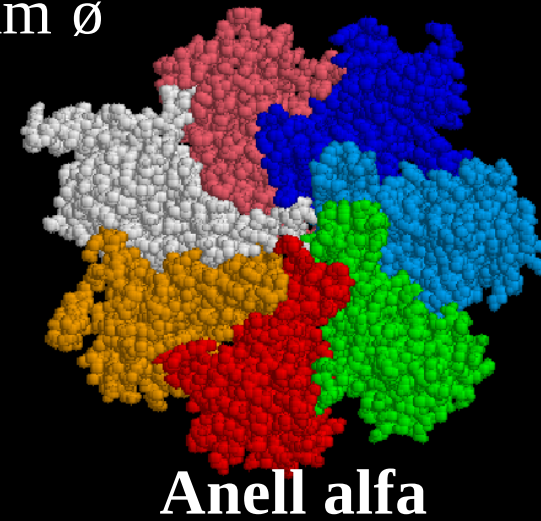
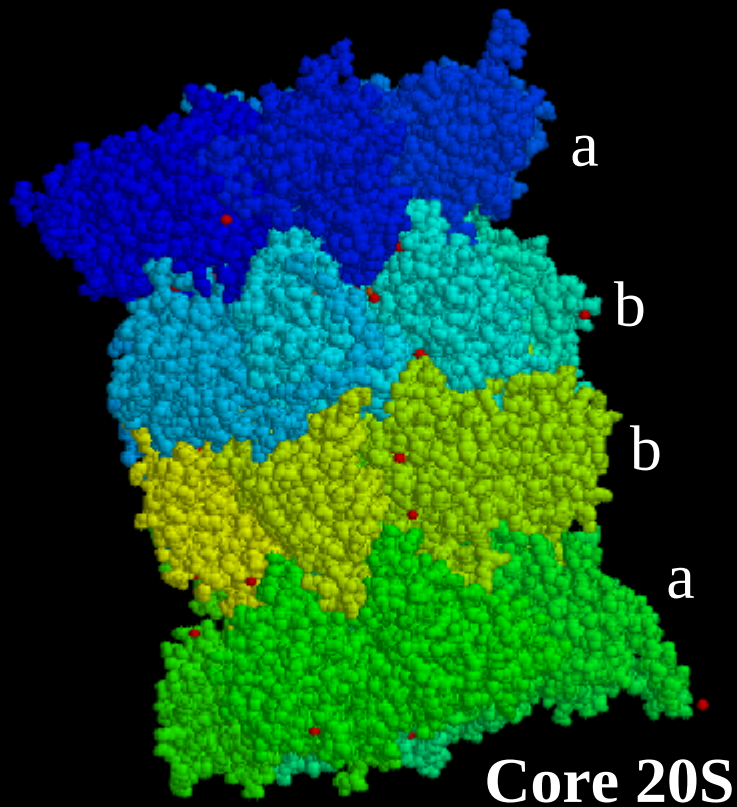


EL CORE

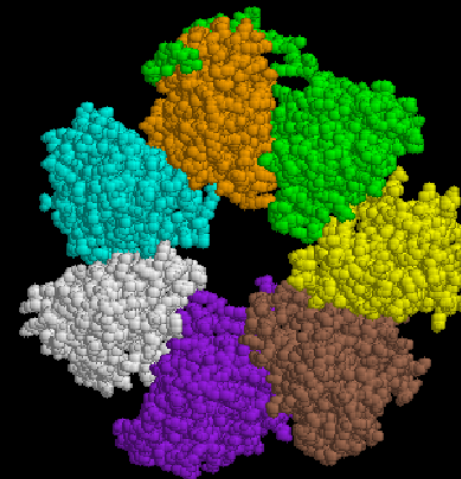
Tamany: 15 nm alçada i 11 nm ø

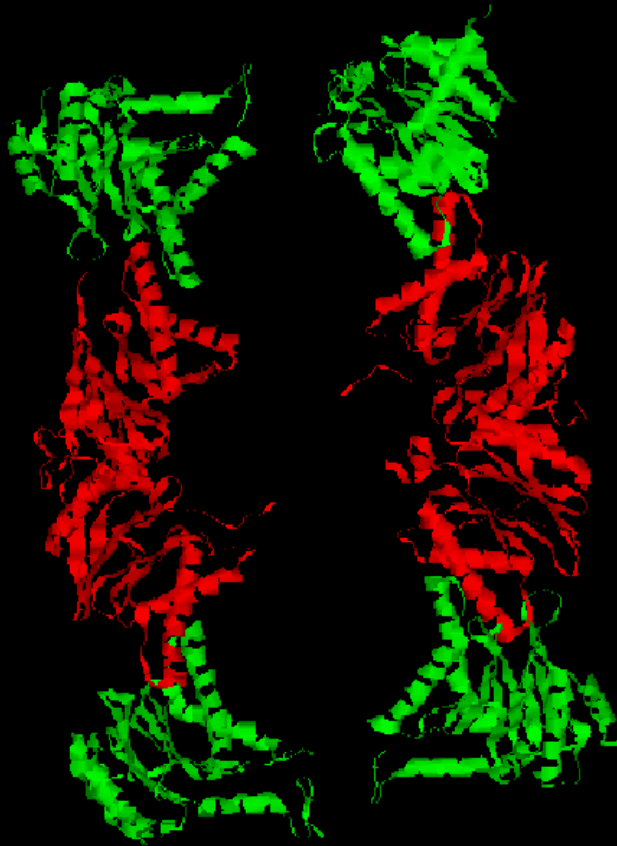
2 anells α (7 subunitats $\neq$)

2 anells β (7 subunitats $\neq$)



Anell beta





Al core es defineixen 3 cambres:

- 2 externes (**avantcambres** a-b) de $59\text{nm}^3 \rightarrow$ poden incorporar gran quantitat de substrats
- 1 interna (**catalítica**, b-b) de $84\text{nm}^3 \rightarrow$ però per arribar-hi cal travessar porus axials de $2\text{nm} \rightarrow$ només passaran proteïnes desplegadas

! Accés restringit per processament d' α s i pel 19S o l'activador

ENSAMBLATGE DEL CORE

Coneixement limitat -sobretot dels primers passos

Les diferents subunitats han de col·locar-se en un determinat ordre

propèptids

Anell alfa ($\alpha 7$) unit a 3 subunitats $\beta \rightarrow$ es van unint les altres $\beta \rightarrow$

$\alpha 7 \beta 7$: mig proteasoma $\rightarrow$ xaperona Ump1



$\alpha 7 \beta 7 + \alpha 7 \beta 7 \rightarrow$ AUTOCATÀLISI del propètid

ACTIU

(degradació de la Ump1)

CLASSIFICACIÓ SCOP

Classe: proteïnes alfa i beta (a+b)

Plegament: tipus Ntn hidrolasa

4 capes: alfa/beta/beta/alfa

Superfamília: aminohidrolases nucleòfil N-terminal

2 grups catalítics (donador de protons i nucleòfil als residus N-terminal)

Família: subunitats proteasòmiques

DOMINIS DEL PROTEASOMA:

Subunitat beta (catalítica)

Subunitat alfa (no-catalítica)

conté una extensió N-terminal

Homòleg procariota: HslV (ClpQ) proteasa

PLEGAMENT DE LES SUBUNITATS α

3 hèlixs α

2 làmines β antiparal·leles

Hèlix α N-term

2 hèlixs α



PLEGAMENT DE LES SUBUNITATS β

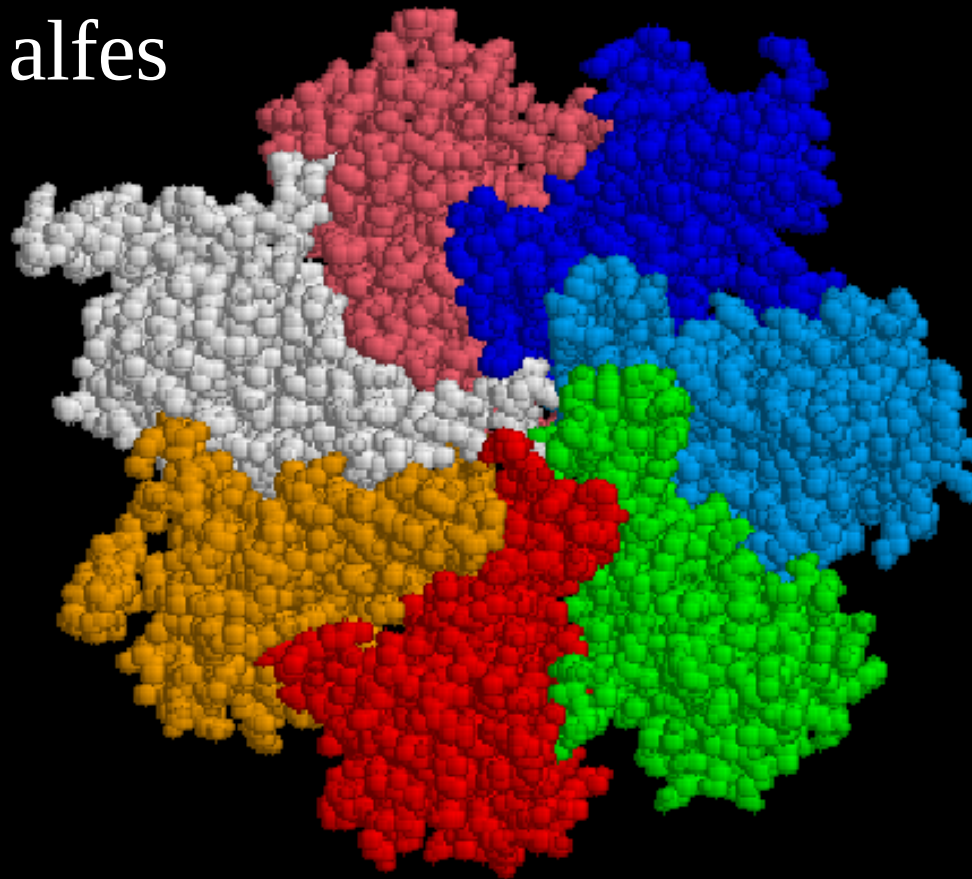
2 (o 3) hèlixs α

2 làmines β
antiparal·leles

2 hèlixs α



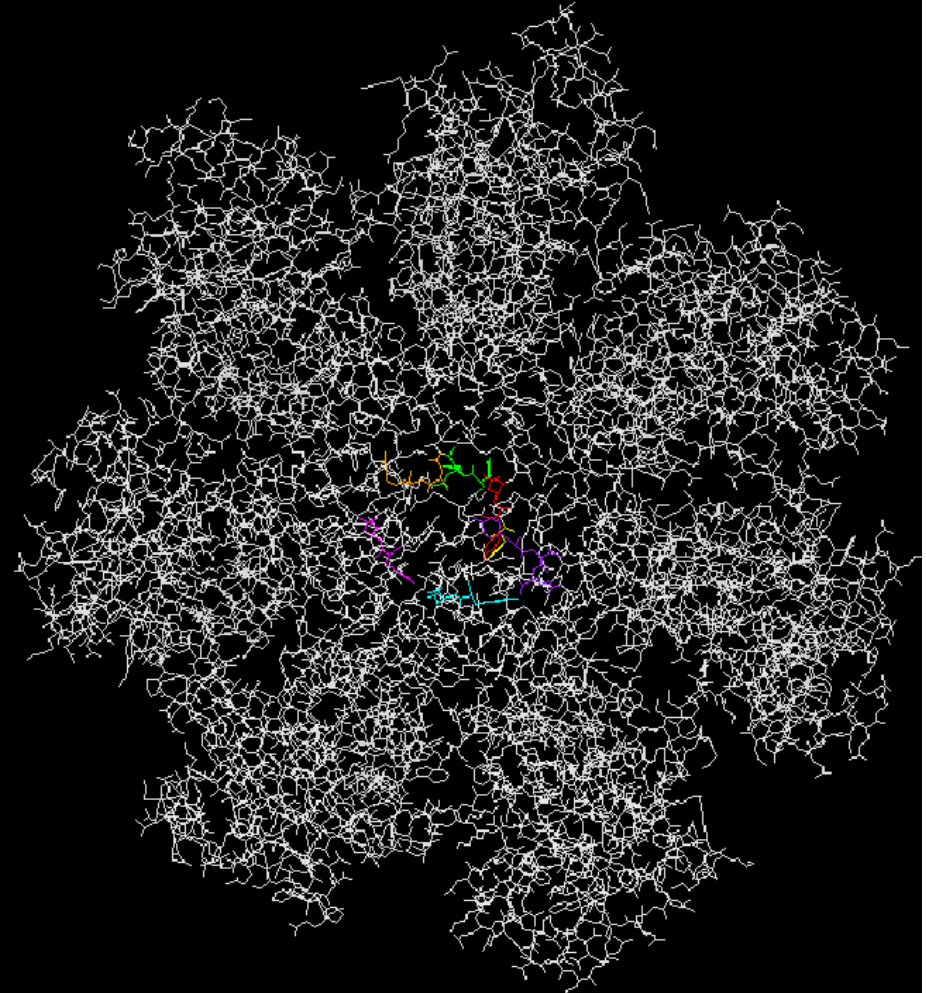
Subunitats alfes



Subunitats α

Regions N-terminals situades al centre del porus.

Important per la regulació de
l'opertura del canal



HMMER 2.2g

```

huma3a      .ssigtgydlsastfspdgrvfqveyamkavenssTAIGIRCKDGVVFGV
ratoli3a    .ssigtgydlsastfspdgrvfqveyamkavenssTAIGIRCKDGVVFGV
llevat3a    .tsigtgydlsnsvfspdgrnfqveyavkavengtTSIGIKCNDGVVFAV
bacteri3a   mqqgqmaydraitvfspdgrlfqveyareavkkgSTALGMKFANGVLLIS
Acanthamoeba . .sigtgydlssttfspdgrvfqveyaakavdnsgTALGLRVKDGVVLAV
Arabidopsis mssigtgydlsvttfspdgrvfqieyaakavdnsgTVVGIKCKDGIVMGV
Caenorhabditis .ssigtgydlaastfspdgrifqveyaqkavdnagTMIAIRGKNGVVVA
Dictyostelium mssvgsgydlyvstyspdgklfqvdyankavensgTLVAIKAKDGVVLGV
Drosophila  mstigtgydlsasqfspdgrvfqidyaskaveksgTVIGIRGKDAVVLAV
Oryza       mssigtgydlsvttfspdgrvfqveyatkavdnsgTVVGIKCKDGIVLGV
Spinacia    mssigtgydlsvttfspdgrvfqieyaakavdnsgTAVGIKCKDGIVLGV
#=GC RF     .....XXXXXXXXXXXXXXXXX

```

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```

Huma3a      -SSIGTG YDLSASTFSPDGRVFQVEYAMKAVENSSTAIGIRCKDGVVFGVEKLVLSKLYE
Ratoli3a    -SSIGTG YDLSASTFSPDGRVFQVEYAMKAVENSSTAIGIRCKDGVVFGVEKLVLSKLYE
Llevat3a    ---GSRFYDSRTTIFSPEGRLYQVEYALESHAGTAIGIMASDGIVLAAERKVTSTLLE
Bacteri3a   MQQGQMAYDRAITVFSPDGRLFQVEYAREAVKKGSTALGMKFANGVLLISDKKVRSLIE
Acanthamoe  --SIGTG YDLSSTTFSPDGRVFQVEYAAKAVDNSGTALGLRVKDGVVLAVEKLLVSKMLV
Arabidopsi  MSSIGTG YDLSVTTFSPDGRVFQIEYAAKAVDNSGTVVGIKCKDGIVMGVEKLIASKMML
Caenorhabd  -SSIGTG YDLAASTFSPDGRIFQVEYAQKAVDNAGTMIAIRGKNGVVVADKLISSKLYT
Dictyostel  MSSVGS GYDLYVSTYSPDGKLFQVDYANKAVENSGTLVAIKAKDGVVLGVEKLVPSKMLC
Drosophila  MSTIGTG YDLSASQFSPDGRVFQIDYASKAVEKSGTVIGIRGKDAVVLAVEKIITSKLYE
O.sativa    MSSIGTG YDLSVTTFSPDGRVFQVEYATKAVDNSGTVVGIKCKDGIVLGVEKLVTSKMML
Espinacs3a  MSSIGTG YDLSVTTFSPDGRVFQIEYAAKAVDNSGTAVGIKCKDGIVLGVEKLIQSKMML

```

**
** . * . . * . . *
* *

N-terminal

Hèlix H0

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```

alfa1_SC  --AGYDRHITIFSPEGRLYQVEYAFKATNQTNINSLAVRGKDCTVVISQKK
alfa2_SC  MTDRYSFSLTTFSPSGKLGQIDYALTAVKQG-VTSLGIKATNGVVIATEKK
alfa3_SC  GSRRYDSRTTIFSPEGRLYQVEYALEISHA-GTAIGIMASDGIVLAAERK
alfa4_SC  ---GYDRALSIFSPDGHIFQVEYALEAVKRG-TCAVGKKGKNCVVLGCERR
alfa5_SC  -----DRGVSTFSPEGRLFQVEYSLEAIKLG-STAIGIATKEGVVLGVEKR
alfa6_SC  FRNNYDGDVTFSPTGRLFQVEYALEAIKQG-SVTVGLRSNTHAVLVALKR
alfa7_SC  -GTGYDLSNSVFSPDGRNFQVEYAVKAVENG-TTSIGIKCNDGVVFAVEKL

```

*** * . * . * *

N-terminal

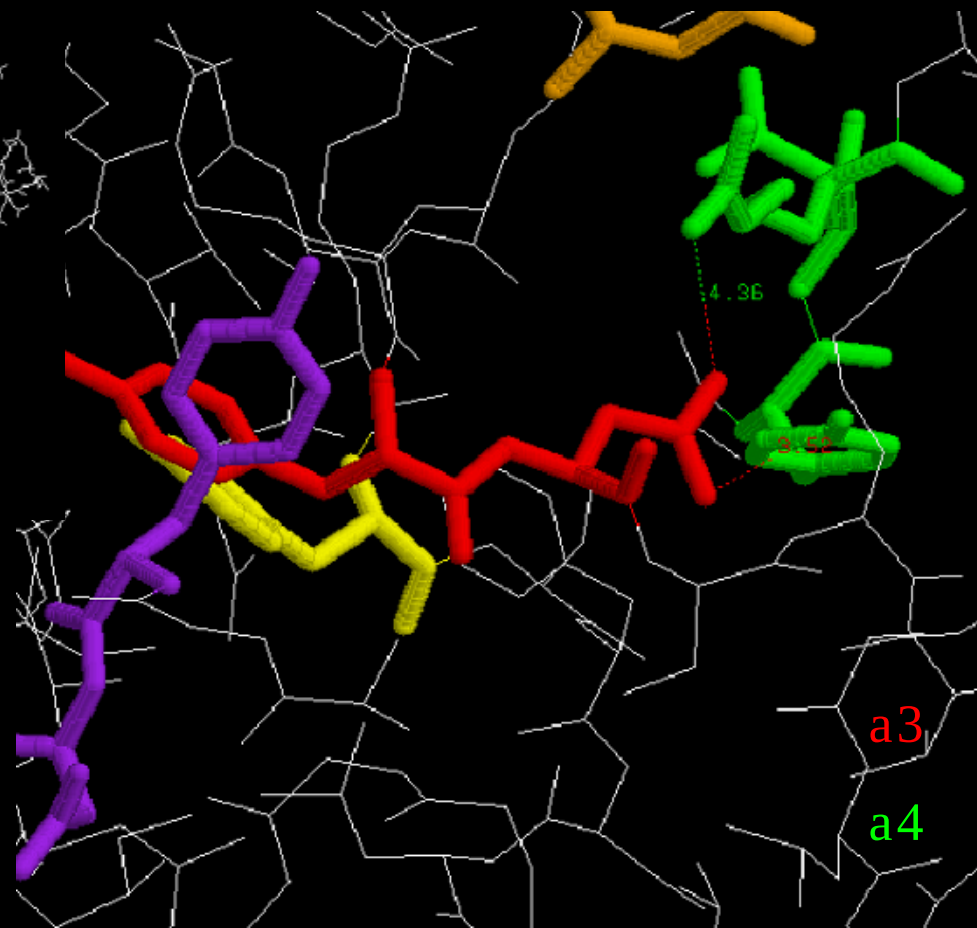
Hèlix H0

Motiu YDR

- És l'única seqüència conservada entre les regions N-terminals de les subunitats alfas
- Participaria en l'estabilització de la conformació tancada del canal

Interaccions entre YDR de a3 i a4

Aquesta interacció podria
jugar un rol únic i central
en mantenir la conformació
tancada del proteasoma

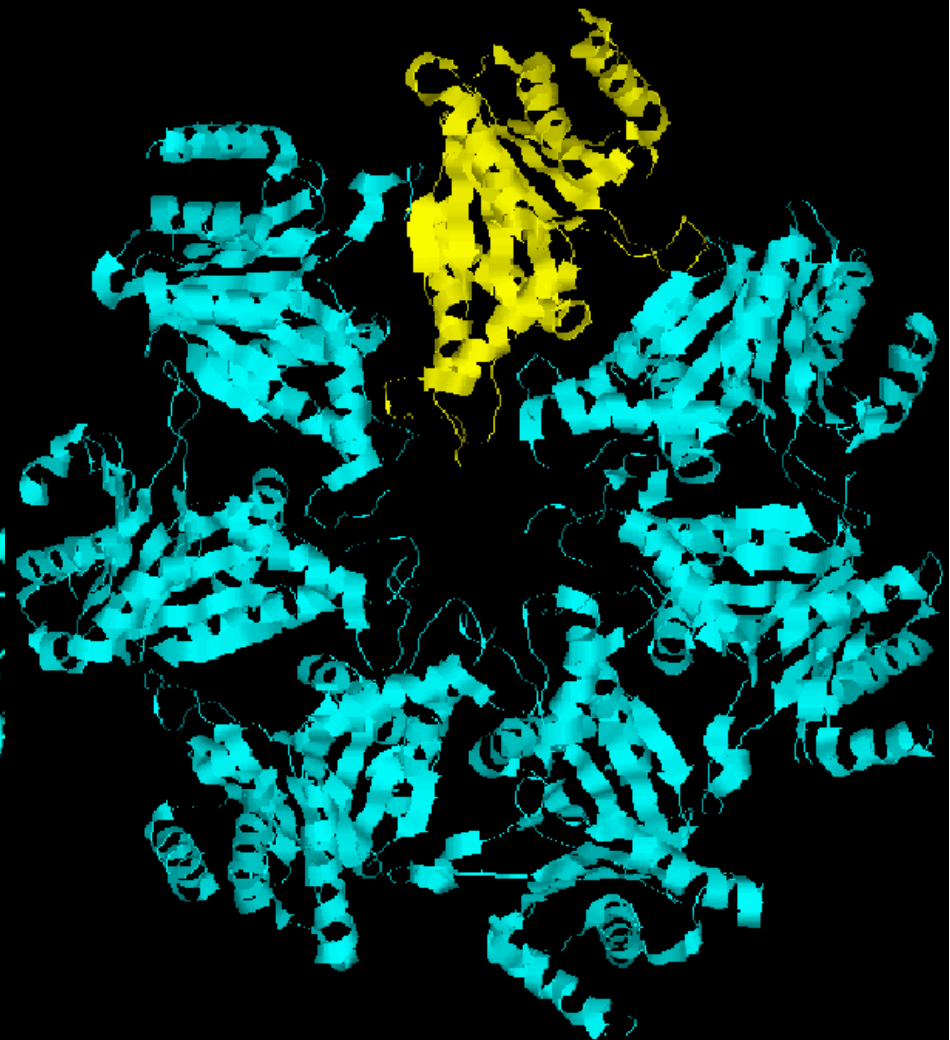


Interaccions $\alpha 3$

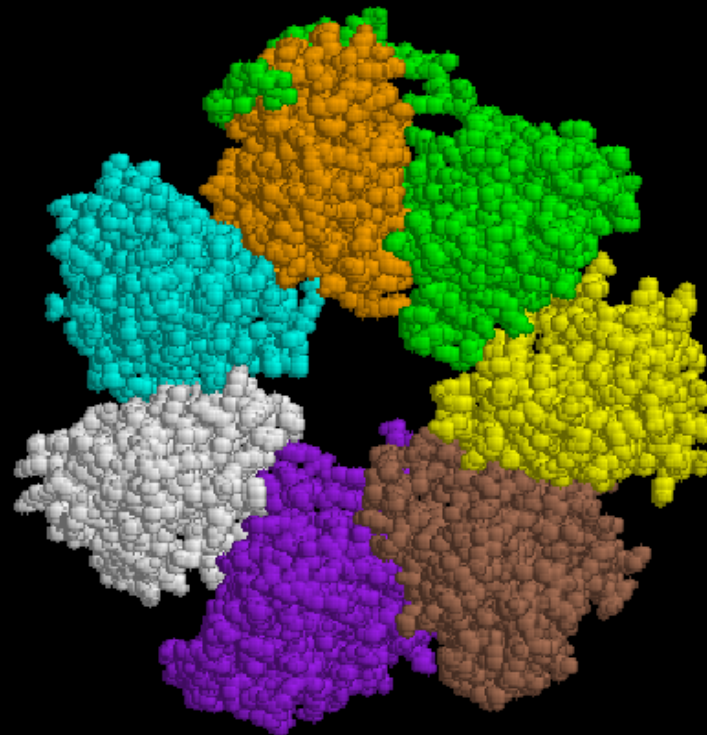
$\alpha 3$



$\alpha 3? N$



Subunitats betes

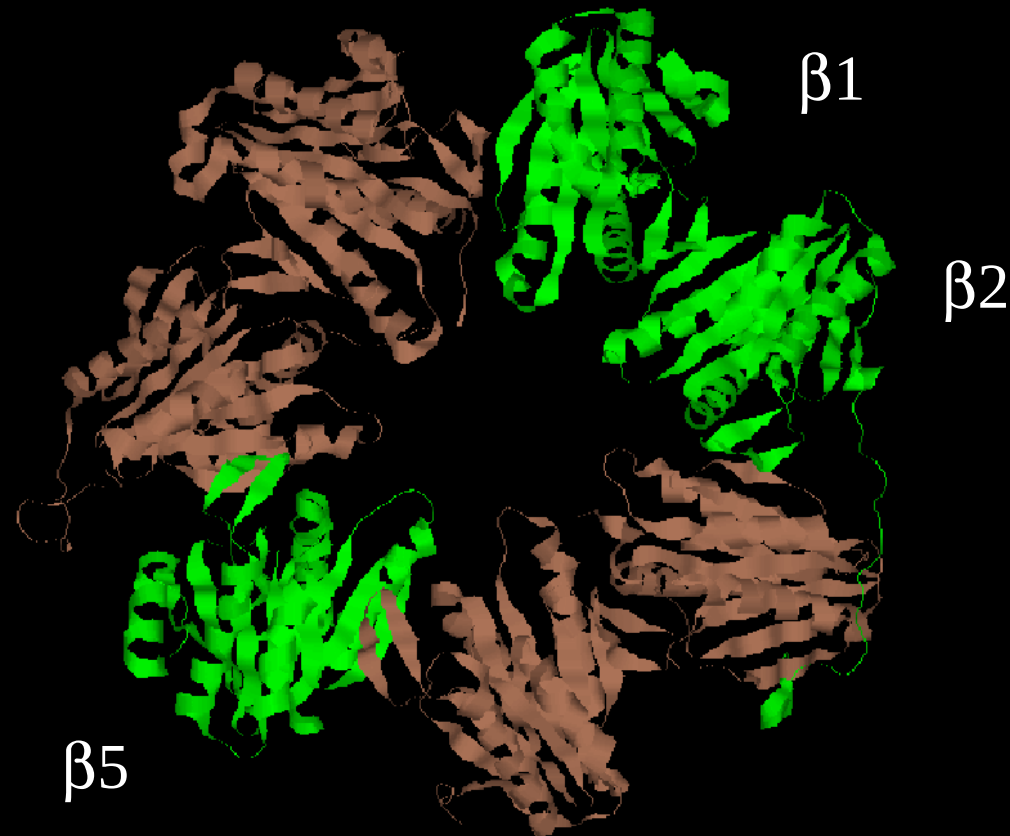


Subunitats β

Són les subunitats catalítiques del proteasoma.

Durant l'evolució dels eucariotes:

7 subunitats catalítiques $\rightarrow$ 3 subunitats catalítiques



CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```
TacidB      -MNQTLETGTTTVGITLKDAVIMATERVTMENFIMHKNKKLFQIDTYTGMTIAGLVGD
1RYPN      -TQQPIVTGTSVISMKYDNGVIIAADNLGSYGSLRLFNGVERLIPVGDNTVVGISGDISD
1RYPH      LKKGEVSLGASIMAVTFKDGVLIGADSRTTTGAYIANRVTDKLTRVHDKIWCCRSRSAAD
1RYPK      -----MDIILGIRVQDSVILASSKAVTRGISVLKDSDDKTRQLSPHTLMSFAGEAGD
```

```

          . .      ** . .      . .      . .      . *      *

```

```
TacidB      AQVLVRYMKAEELELYRLQRRVNMPIEAVA-TLLSNMLNQVKYMP-----YMVQLLVGGI
1RYPN      MQHIERLLKDLVTENAYDNPLADAEAELEPSYIFEYLATVMYQRRSKMNPLWNAIIVAGV
1RYPH      TQAIADIVQYHLELYTSQYGTSPS-TETAA-SVFKELCYENKDN-----LTAGIIVAGY
1RYPK      TVQFAEYIQANIQLYSIREDYELSPQAVS-SFVRQELAKSIRSRR----PYQVNVLIGGY
```

```

          . .      .      . .      .      . . .      *

```

```
TacidB      D--TAPHVFSIDAAGGSVEDIYASTGSGS----PFVYGVLESQ-YSEKMTVDEGVDLVI
1RYPN      QSN-GDQFLRYVNLLGVTYSSPTLATGFGAHMANPLLKVVVDRES DIPKTTVQVAEEAIV
1RYPH      DDK-NKGEVYTIPLGGSVHKLPHYAIAGSGS----TFIYGYCDKN-FRENMSKEETVDFIK
1RYPK      DKKKNKPELYQIDYLGTKVELPYGAHGYSG----FYTFSLLDHH-YRPDMTTEEGLDLLK
```

```

          . .      *      *      .      .      . .

```

```
TacidB      RAISAAKQRD-SASGGMIDVAVITRK--DGYVQLPTDQIESRIRKLGLIL-----
1RYPN      NAMRVLYYRDARSSRNFLAIIDKNT---GLTFKKNLQVENMKWDFAKDIKGYGTQKI
1RYPH      HSLSQAIKWD-GSSGGVIRMVVLTAAGVERLIFYP-DEYEQL-----
1RYPK      LCVQELEKRMPMDEKGVIVKIVDKDG-----IRQVDDFQAQ-----
```

```

          . .      .      .      .

```


Alineament d'estructura (STAMP) de les 7 betes del g0u.

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```
beta1      -----TSIMAVTFKDGVLGADSRTTTGAYIANRVTDKLT RVHDKIWCCRS G
beta2      -----TTIVGVKFNNGVVIAADTRSTQGPIVADKNCAKLHRISP KIW CAGAG
beta5      -----TTTLAFRFQGGIIVAVDSRATAGNWWASQTVKKVIEINP FLLGT MAG
beta7      --T-Q-Q-PIVTGTSVISMKYDNGVIAADNLGSYGSLLRFNGVERLIPVGDNTVVGIS G
beta6      QFNP-Y-G-D-NGGTILGIAGEDFAVLAGDTRNITDYSINSRYEPKV FDCGDNIVMSANG
beta4      -----MDIILGIRVQDSVILASSKAVTRGISVLKDSDDKTRQLSPHTLMSFAG
beta3      ----SDPSSI-NGGIVVAMTGKDCVAIACDLRLGSQSLGVS NKFEKIF-HYGHVFLGITG
```

```
beta1      SAADTQAIADIVQYHLELYTSQ-Y-----GTPSTETAASVFKELCYENK---DNLTAGI
beta2      TAADTEAVTQLIGSNIELHSL-YTS-----REPRVVSALQMLKQH LFKY---QGHIGAYL
beta5      GAADCQFWETWLGSQCRLHEL R-EK-----ERISVAAASKILSNLVYQYK--GAGLSMGT
beta7      DISDMQHIERLLKDLVTENAY-DNPLADAE EALEPSYIFEYLATVMYQRRSKMNPLWNAI
beta6      FAADGDALVKRFKNSVKWYHFDHND----KKLSINSAARNIQHLLYGK--RFFPYV VHT
beta4      EAGDTVQFAEYIQANIQLYSIR-ED-----YELSPQAVSSFVRQELAKSIRSRRPYQVNV
beta3      LATDVTTLNEMFRYKTNLYKLK-EE-----RAIEPETFTQLVSSSLYERR--FGPYFVGP
```

```
beta1      IVAGYDDK-NKGEVYTIPLGGSVHKL-PYAIAGSGSTFIYGYCDKNF-----
beta2      IVAGVDP--TGSHLFSIHAHGSTDV-GYYLSLGSGLAAMAVLESH-----
beta5      MICGYTRK-EGPTIYYVDS DGT RLKG-DIFCVGSGQTFAYGVLD SNY-----
beta7      IVAGVQS-NGDQFLRYVNLLGV TY-SSPTLATGFGAHMANPLL RKVV-----
beta6      IIAGL-DEDGKGAVYSFDPVGSYER-EQCRAGGAAASLIMPFLDNQVNFKNQYEPGTNGK
beta4      LIGGYDKKKNKPELYQIDYLGTKVE-LPYGAHGYSGFYTFSLLDH HY-----
beta3      VVAGINSKSGKPF IAGFDLIGCIDEAKDFIVSGTASDQLFGMCESLY-----
```

beta1	-----R--ENMSKEETVDFIKHSLSQAIKWDGSSGGVIRMVVL-T-AAGVER--LIFY--
beta2	--W---K-QDLTKEEAIKLASDAIQAGIWNDLGSGSNVDVCVMEI-GKDAEYLRNYLT-P
beta5	-----K--WDLSVEDALYLGKRSILAAAHRDAYSGGSVNLYHV-T-EDGWIYH-GNHDV-
beta7	--DRES DIPKTTVQVAEEAIVNAMRVLYYRDARSSRNFS LAI-IDKNTGLTF-KKNLQ--
beta6	VKK--PL-KYLSVEEVIKLV RDSFTSATERHIQVGDGLEILIV-T-KD GVR-K-EFYEL-
beta4	-----R--PDMTTEEGDLLKLCVQELEKRM PMDFKGVIVKIV-D-KDGIRQV-DDF---
beta3	-----E--PNLEPEDLFETISQALLNAADR DALSGWGAVVYII-K-KDEVV-K-RYLKMR

beta1	PDEYE--QL-----
beta2	--NVREEKQKSYKFPRGTTAVLKESIVNICD--
beta5	GE-LFWKVKEEEGSFNNVIG-----
beta7	V-EN---M-----KWDFAKDIKGYGTQKI
beta6	--KRD-----
beta4	QAQ-----
beta3	---QD-----

Score 7.35

RMS 1.49

STAMP de les 7 cadenes β

 β_1

 β_2

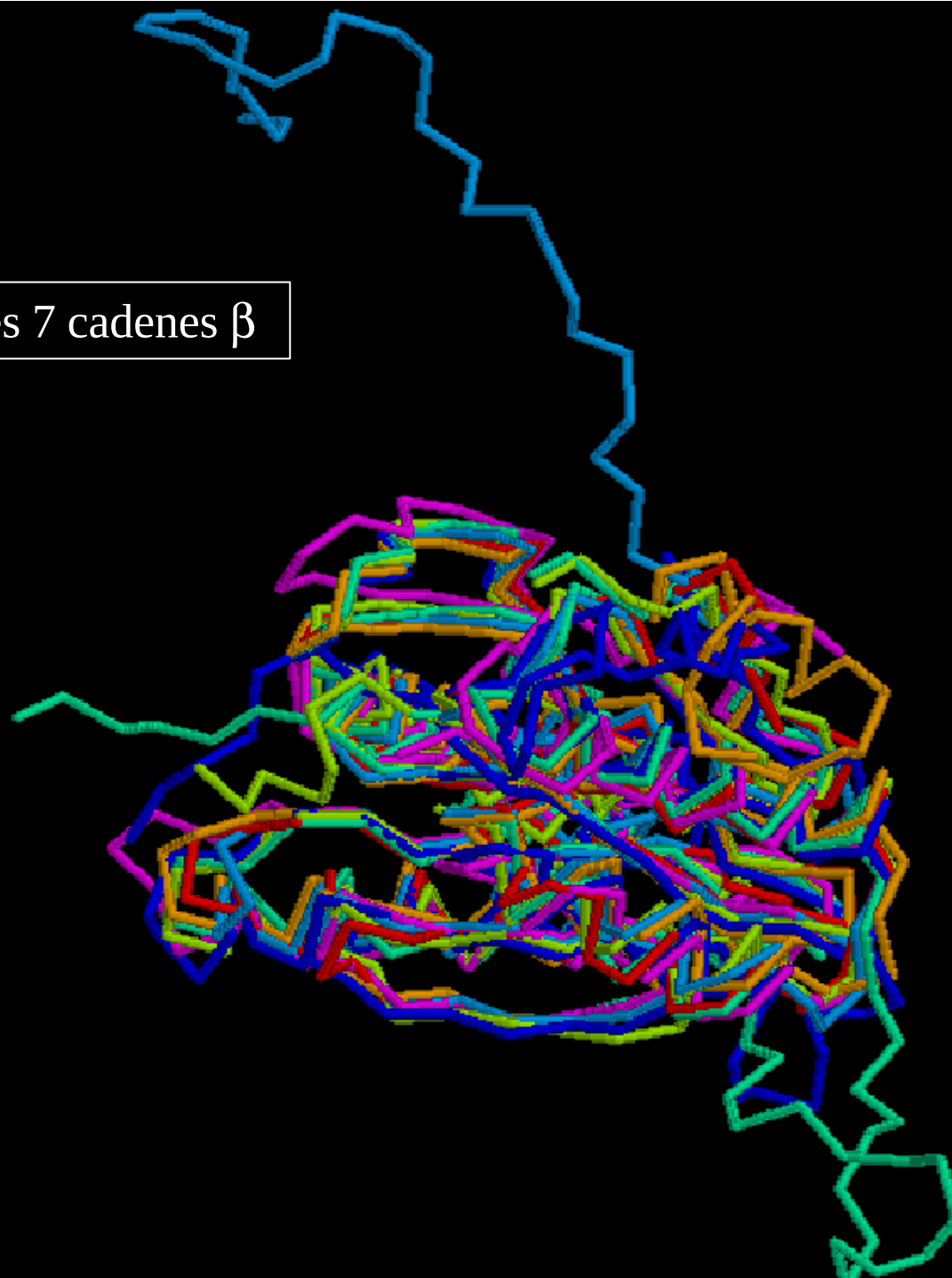
 β_3

 β_4

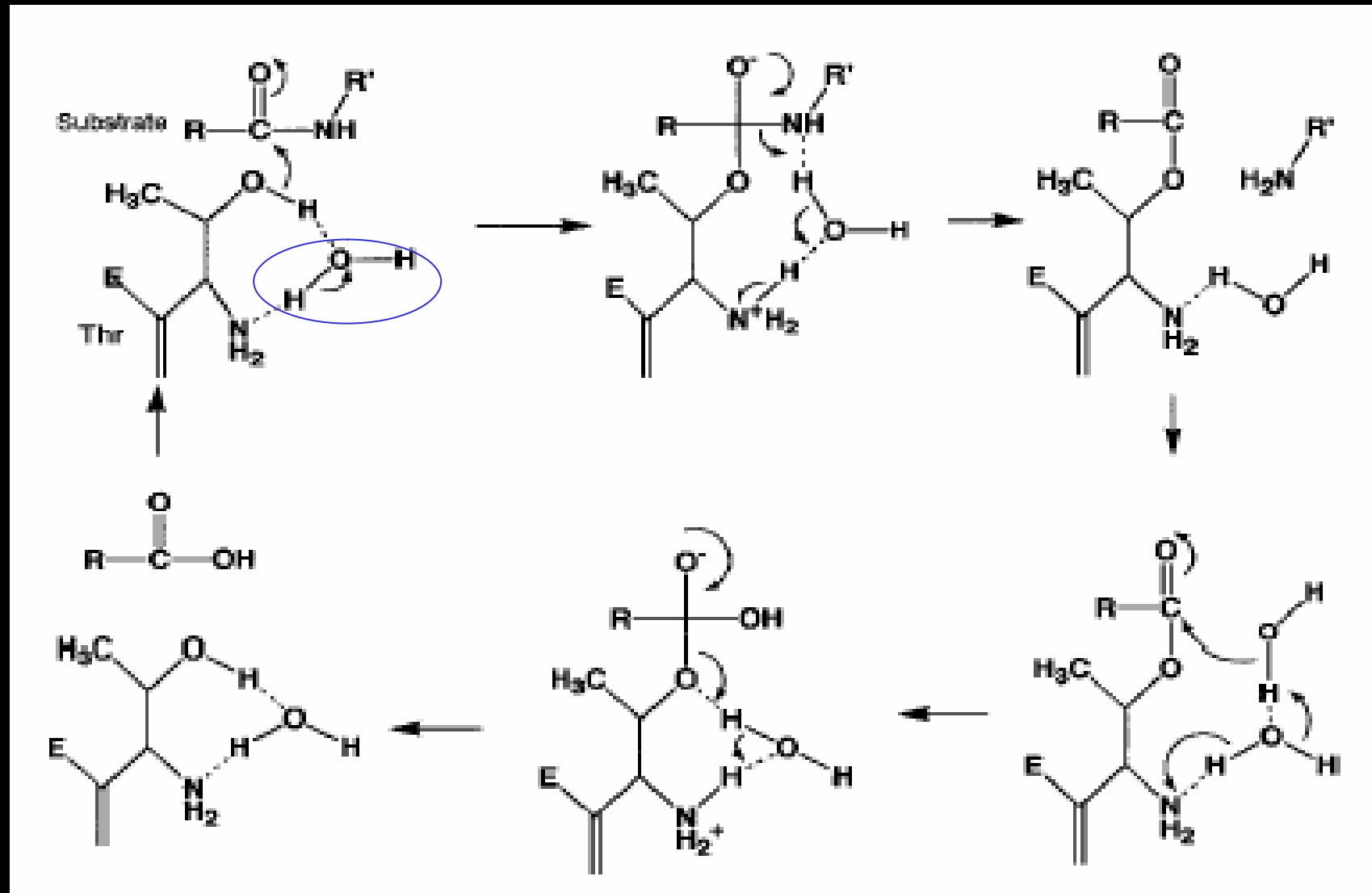
 β_5

 β_6

 β_7



EL PROTEASOMA – UNA TREONIN-PROTEASA



PRODUCTES DE DEGRADACIÓ DEL PROTEASOMA

- Degradació depèn del temps de residència als *sites* proteolítics



productes d'entre 3 i 25 aa (longitud mitja d'uns 7-8 aa)

- Diferents butxaques catalítiques en les subunitats actives del core → diferents **especificitats proteolítiques**

L'arquitectura de la cambra proteolítica determina l'especificitat

Alineament d'estructura (STAMP) de les betes catalítiques g0u.

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

```

b2g      TTIVGVKFNNGVVIAADTRSTQGPIVADKNCACLHRISPKIWCAGAGTAADTEAVTQLIG
b1g      TSIMAVTFKDGIVLGADSRSTTTGAYIANRVTDKLTRVHDKIWCCRSRSAADTQAIADIVQ
b5g      TTTLAFRFQGGIIVAVDSRATAGNWWASQTVKKVIEINPFLLGTMAGGAADCCFWETWLG

b2g      SNIELHSLYTSREPRVVSALQMLKQHLFKYQ-GHIGAYLIVAGVDP-TGSHLFSTIAHGS
b1g      YHLELYTSQ-YGTPSTETAASVFKELCYENKD-NLTAGIIVAGYDDKNKGEVYTIPLGGS
b5g      SQCRLHELREKERISVAAASKILSNLVYQYKGAGLSMGTMICGYTRKEGPTIYYVDSDGT

b2g      TDVGYYLSLGSGLAAMAVLESHWKQDLTKEEAIKLASDAIQAGIWNDLGSGSNVDVCVM
b1g      VHKLPYAIAGSGSTFIYGYCDKNFRENMSKEETVDFIKHSLSQAIKWDGSSGGVIRMVVL
b5g      RLKGDIFCVGSGQTFAYGVLDSDNYKWDLSVEDALYLGKRSILAAAHRDAYSGGSVNLYHV

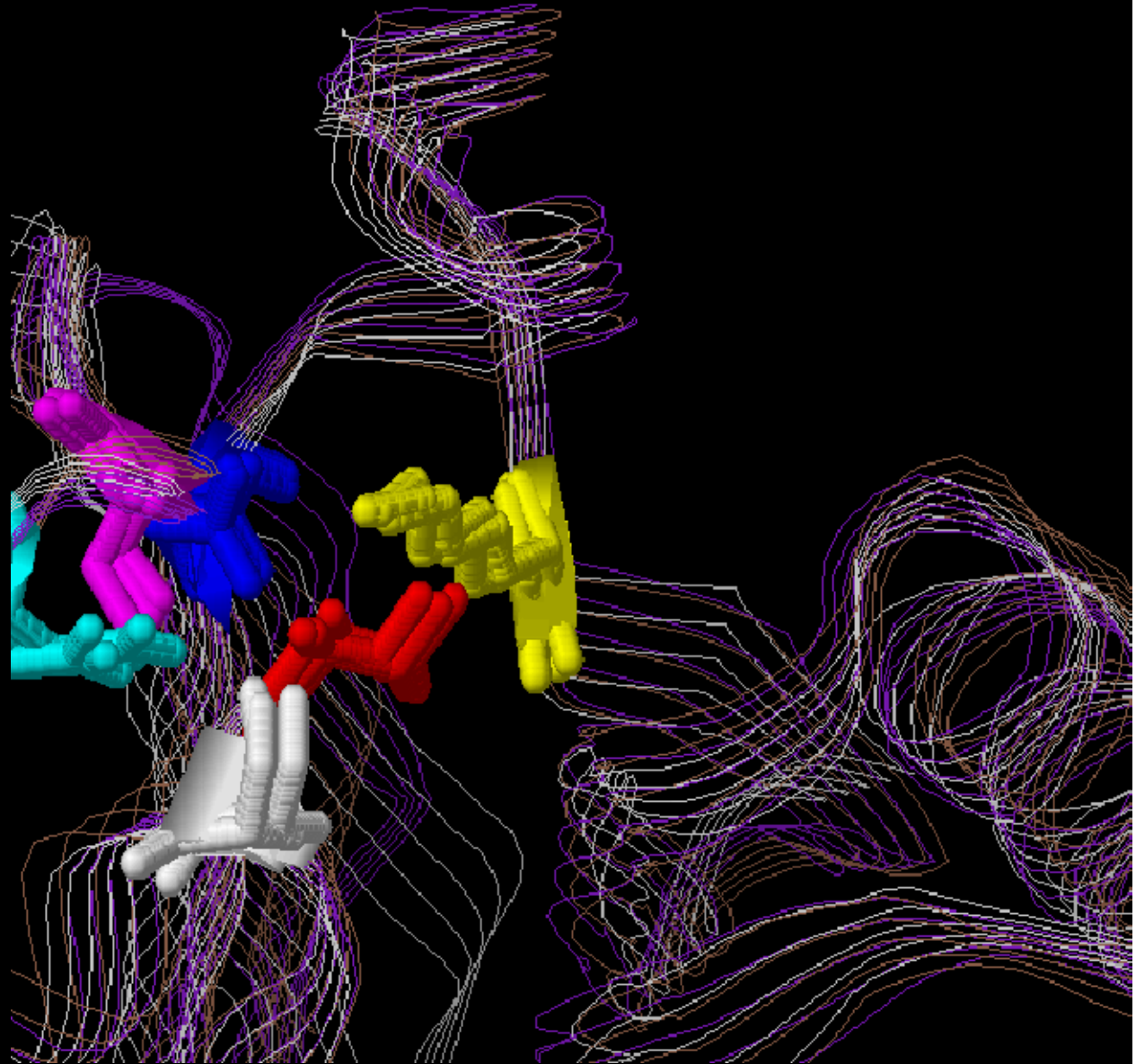
b2g      EIGKDAEYLRNYLTPNVREEKQKSYKFPRGTTAVLKESIVNICD
b1g      T-AAGVER--LIF-YPDEYEQL-----
b5g      T-EDGWIYH-GNHDVGELFWKVKEEEGSFNNVIG-----
    
```

Score 8.34

RMS 0.98

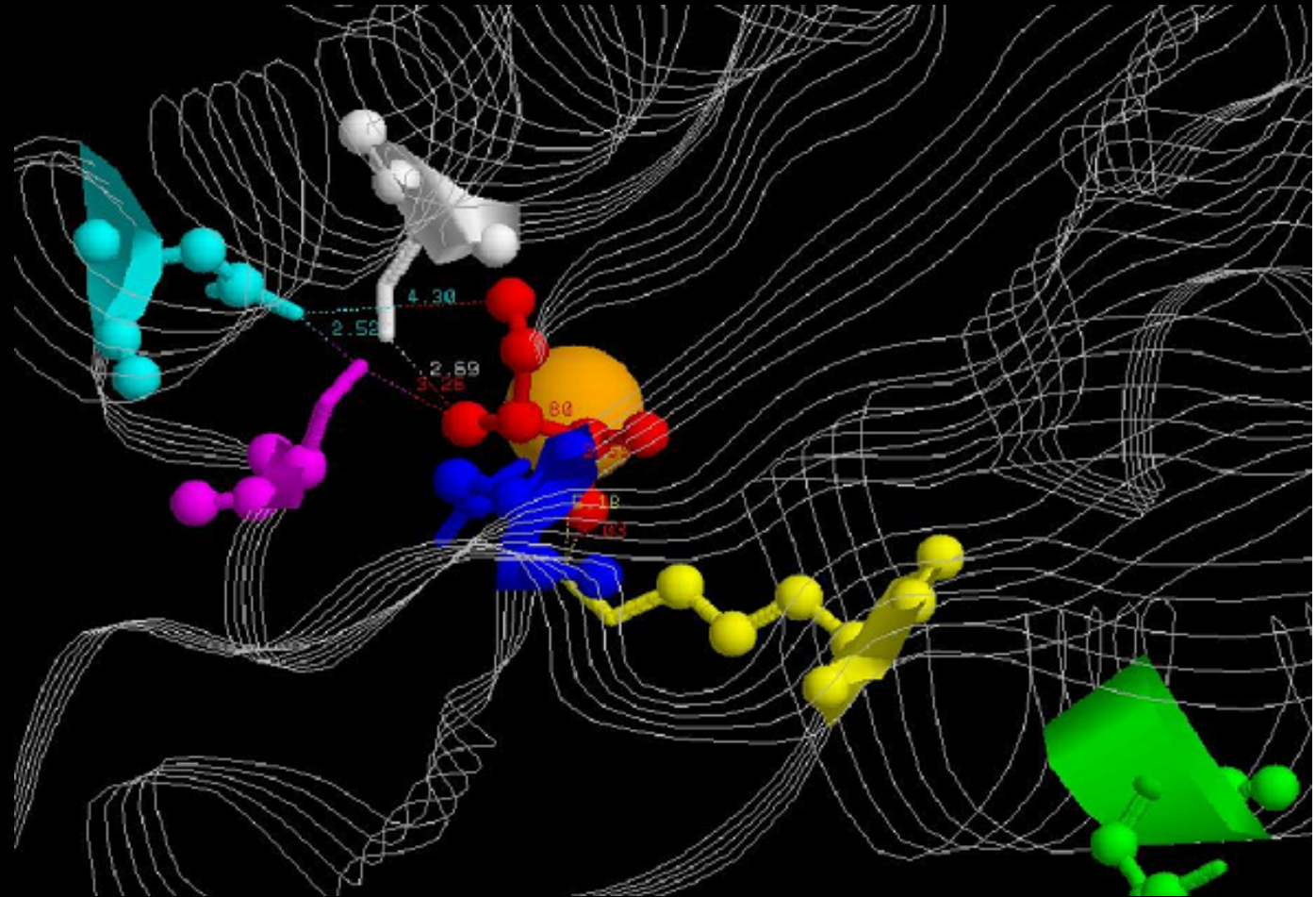
STAMP de les tres cadenes catalítiques

- Thr1
- Asp17
- Lys33
- Ser129
- Asp166
- Ser169



DIFERENT ESPECIFICITAT CATALÍTICA

- b2
- Thr1
 - Asp17
 - Lys33
 - Ser129
 - Asp166
 - Ser169
 - Glu53

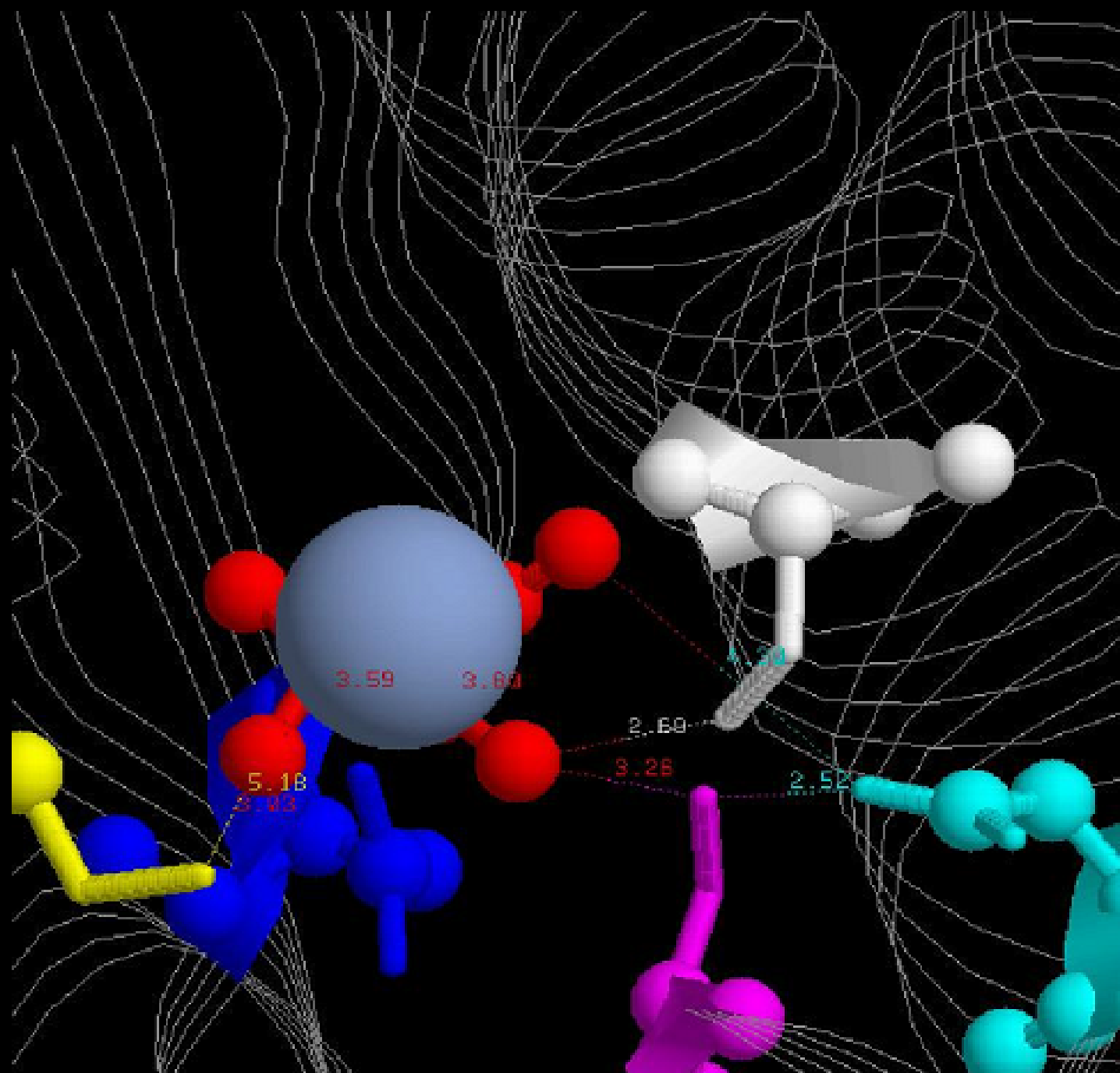


Activitat **TRIPSINA**-like (bàsic) → Glu 53 en la butxaca catalítica.

H₂O catalítica! A 3.598 Å de l'oxigen i a 3.811 Å del nitrogen de la thr1.

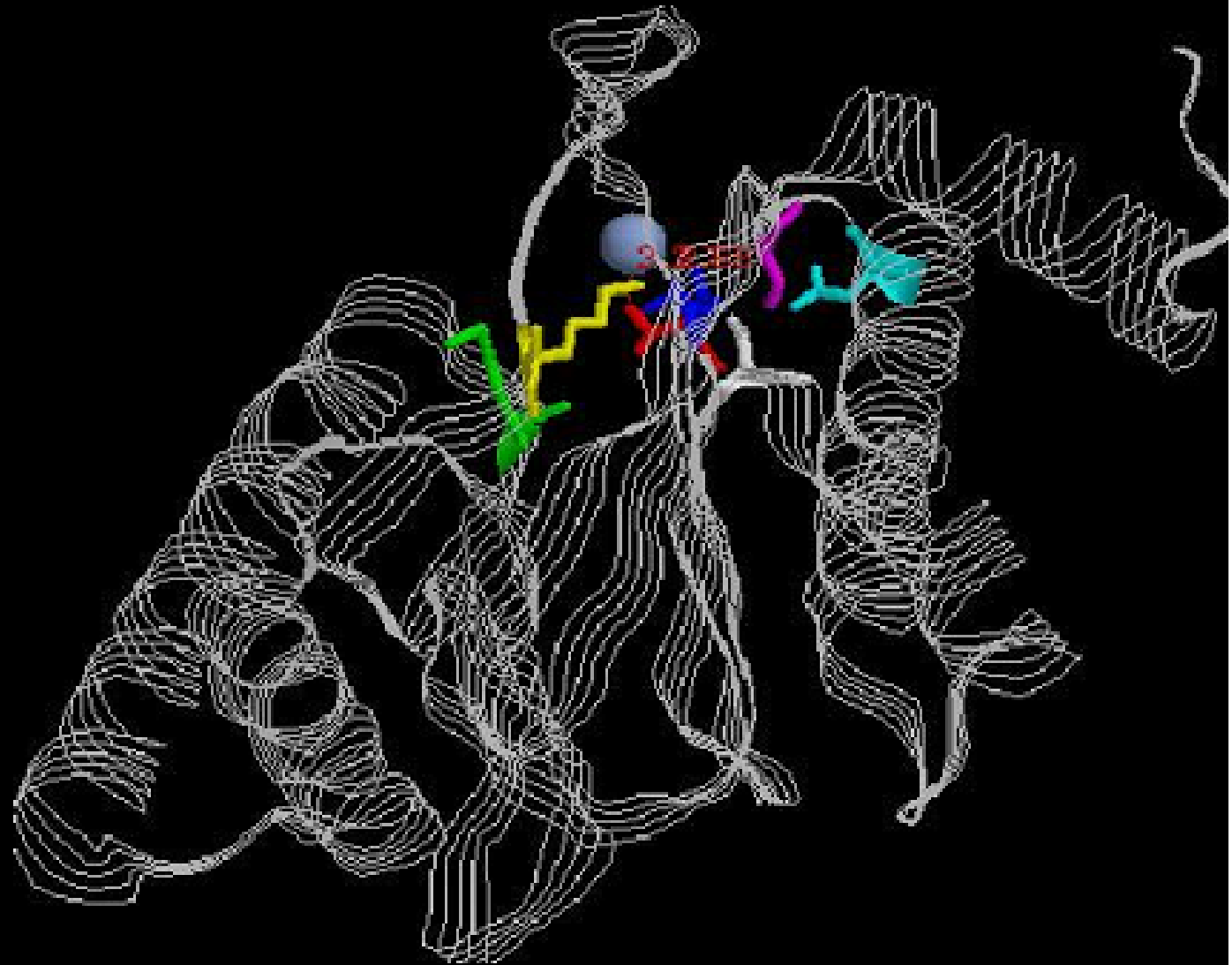
b2

- Thr1
- Asp17
- Lys33
- Ser129
- Asp166
- Ser169



b5

- Thr1
- Asp17
- Lys33
- Ser129
- Asp166
- Ser169
- Met45

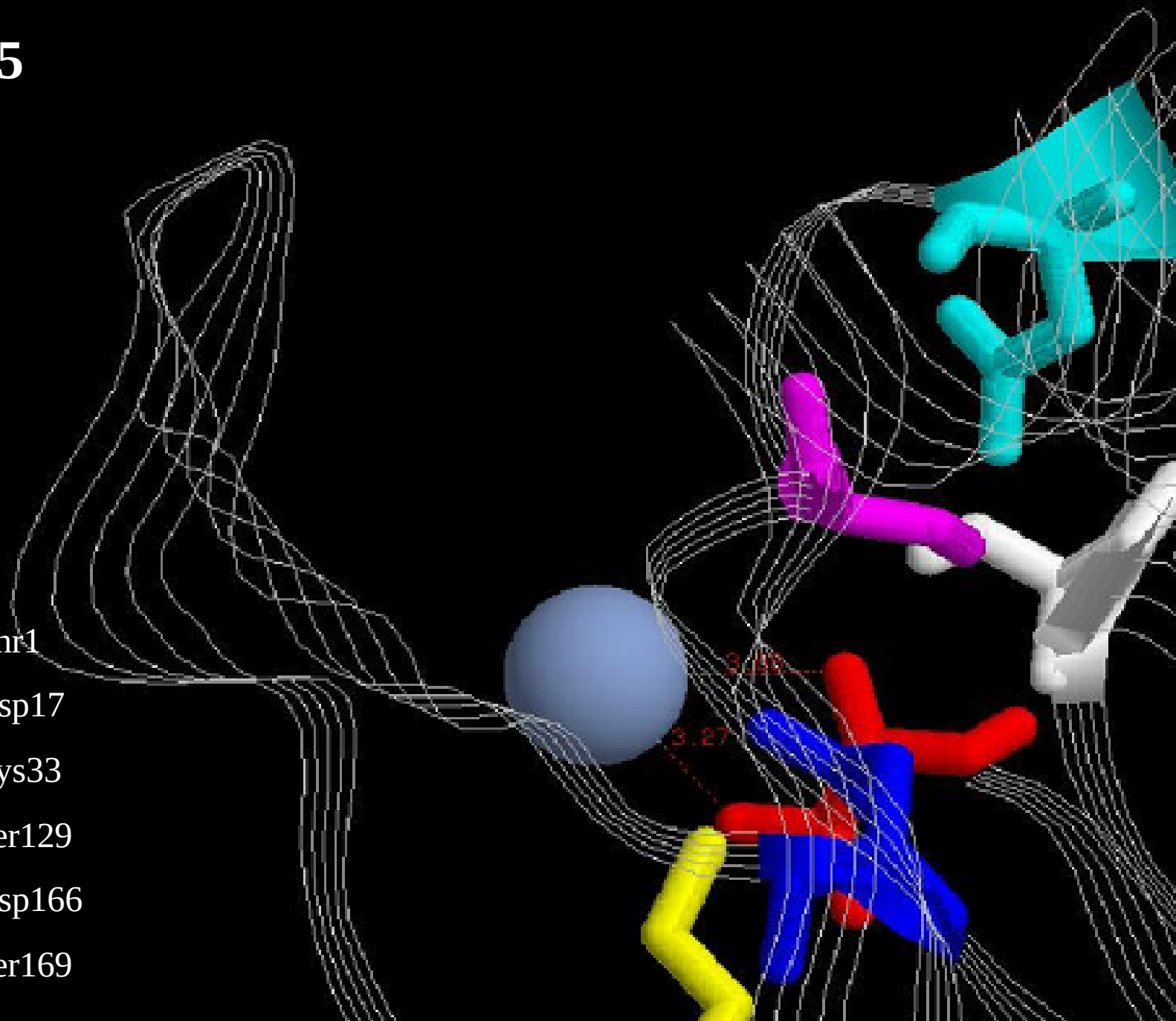


Activitat **QUIMIOTRIPSINA**-like (hidrofòbic) → Met 45 en la butxaca catalítica.

H₂O catalítica! A 3.277 Å de l'oxigen i a 3.892 Å del nitrogen de la thr1.

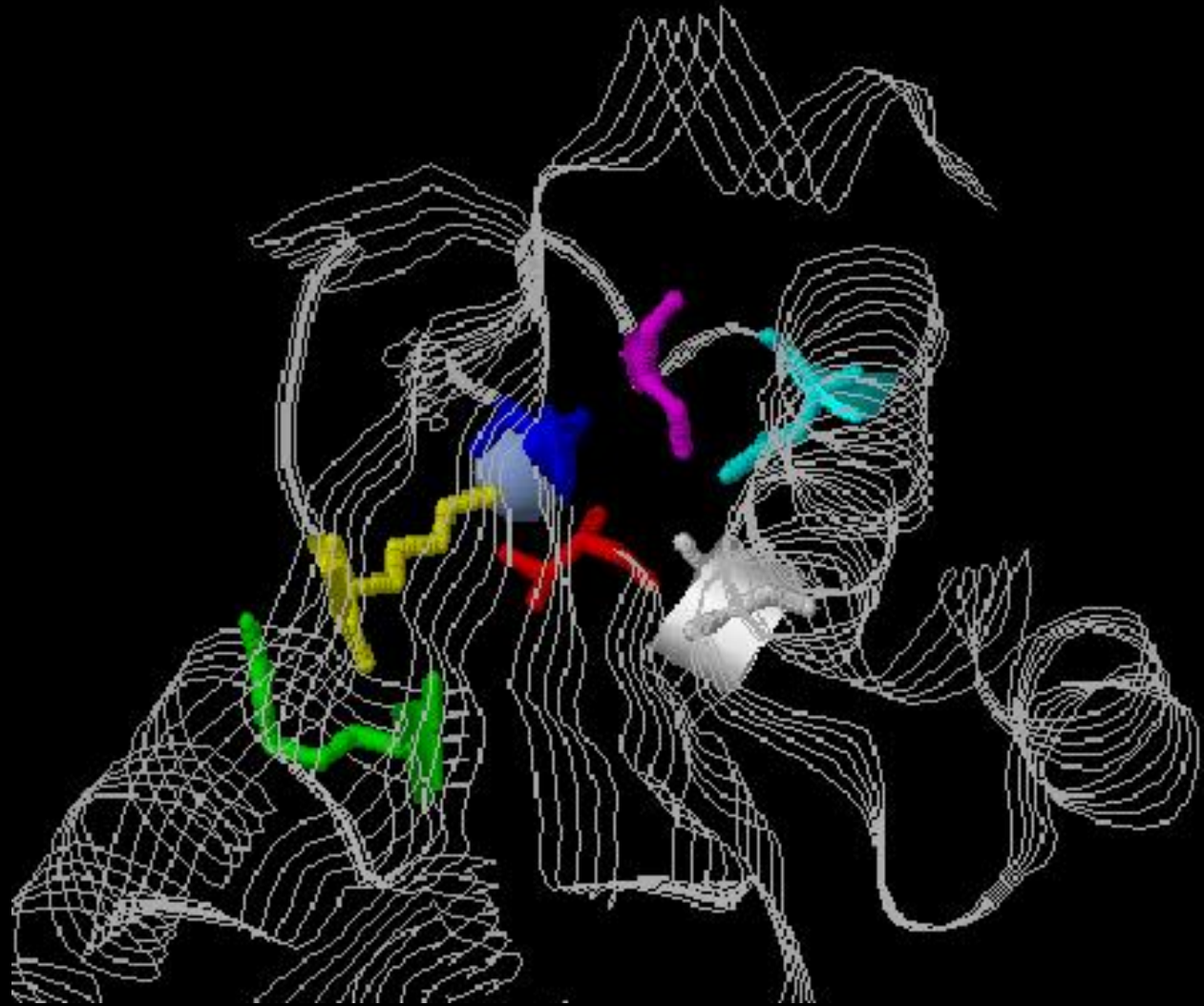
b5

- Thr1
- Asp17
- Lys33
- Ser129
- Asp166
- Ser169



b1

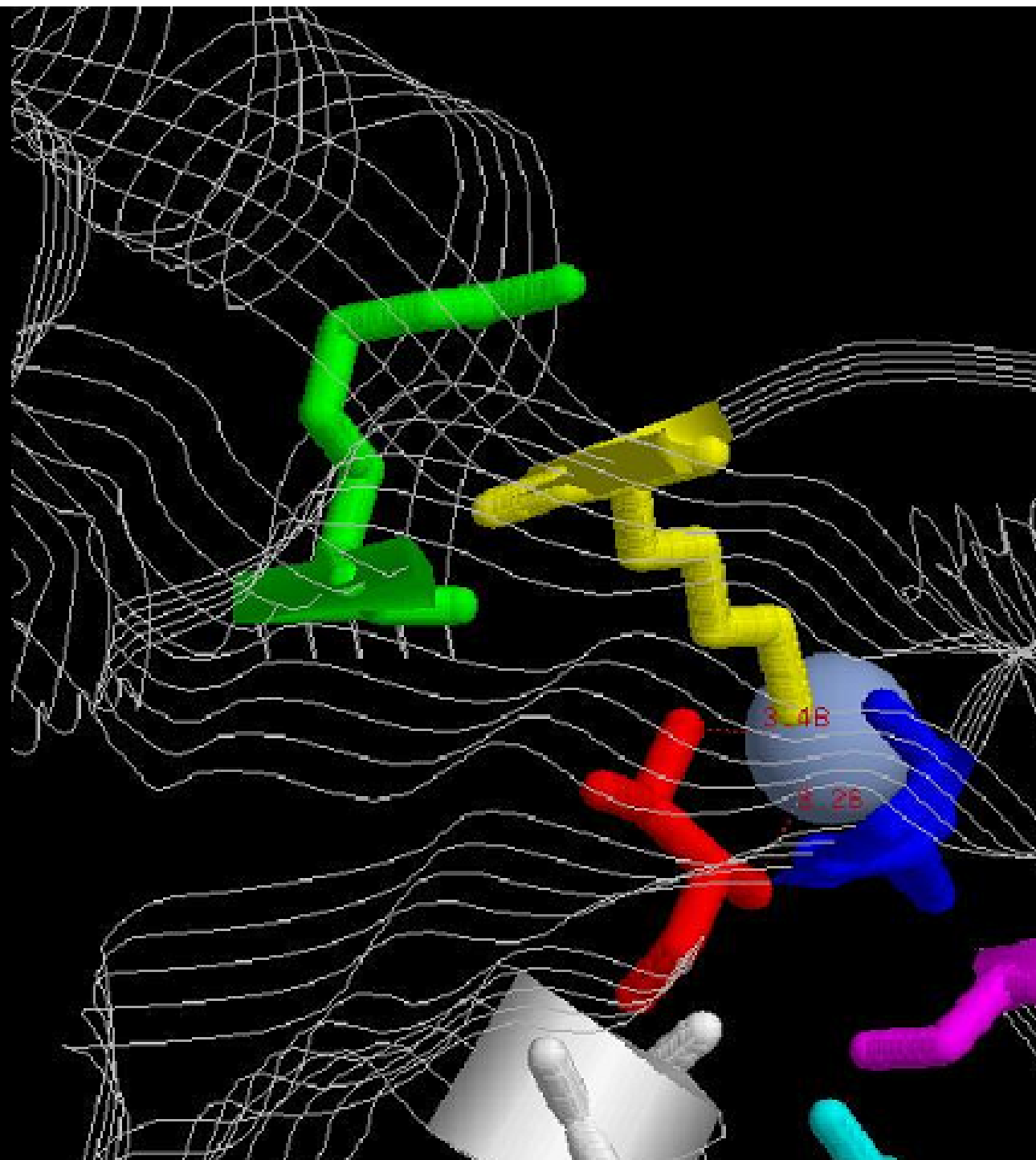
- Thr1
- Asp17
- Lys33
- Ser129
- Asp166
- Ser169
- Arg45



Activitat **PGPH**-like (acídic) → Arg 45 en la butxaca catalítica.

H₂O catalítica! A 3.490 Å de l'oxigen i a 3.272 Å del nitrogen de la thr1.

b1



Alineament HMM de les b-catalítiques en diferents espècies

```

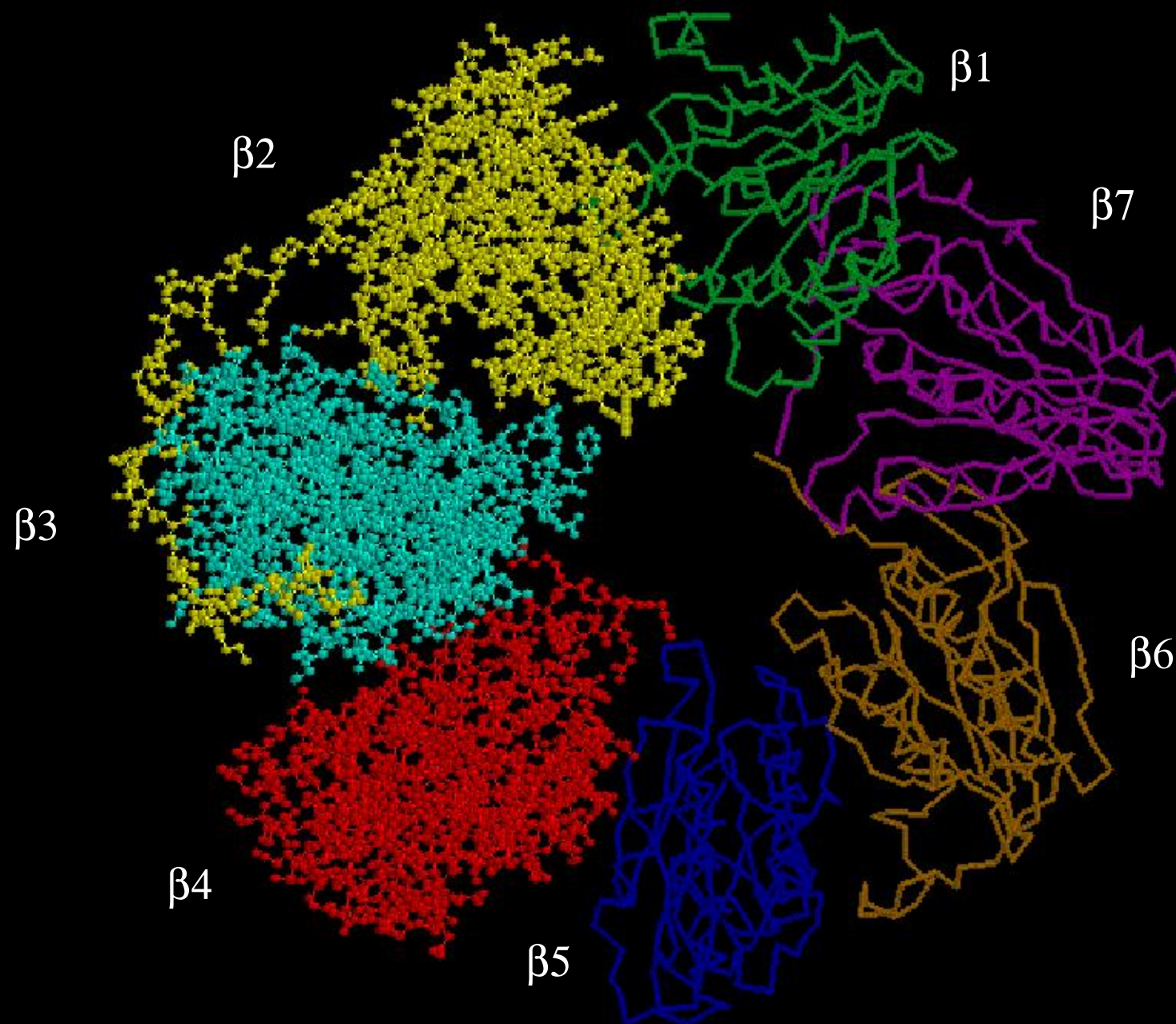
# STOCKHOLM 1.0
#=GF AU      HMMER 2.2g

Tacid_b      .....m
Scerev_b1    .....
Athal_b1     .....mtkqhan
huma_b1      .....mlsstamysapgrdlgmephraagplqlrf
Athal_b2     .....
huma_b2      .....
Scerev_b2    .....
Huma_b5pr    .....
Athal_b5pr   mkldtsgfetsmpmigfgsssdmldelssvpsfdlprtkefdgfgkkakd
Scerev_b5    .....
#=GC RF      .....

Tacid_b      nqtl.ETGTTVGITLKDAVIMATERRVTMENFIMHKNGKKLFQIDTYTG
Scerev_b1    ....-.-TSIMAVTFKDGVLGADSRTTTGAYIANRVTDKLTRVHDKIW
Athal_b1     wspyDnNGGTCVAIAGSDYCVIAADTRMSTGYSILSRDYSKIHKLADRAV
huma_b1      spyvF.NGGTILAIAGEDFAIVASDTRLSEGFSIHTRDSPKCYKLTDKTV
Athal_b2     ....-.-MECVFGLVGNGFAIVAADTSAVHSILLHKNNEDKIMVLDSHKL
huma_b2      ....-.-MEYLIGIQGPDYVLVASDRVAASNIVQMKDDHDKMFKMSEKIL
Scerev_b2    ....-.-TTIVGVKFNGGVVIAADTRSTQGPIVADKNCACLHRISPKIW
Huma_b5pr    ...mL.HGTTTLAFKFRHGVIVAADSRATAGAYIASQTVKKVIEINPYLL
Athal_b5pr   mlkhA.KGTTTLAFIFKGGVMVAADSRASMGYISSQSVKKIIEINPYML
Scerev_b5    ....-.-MDIILGIRVQDSVILASSKAVTRGISVLKDSDDKTRQLSPHTL
#=GC RF      ....X.XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

```

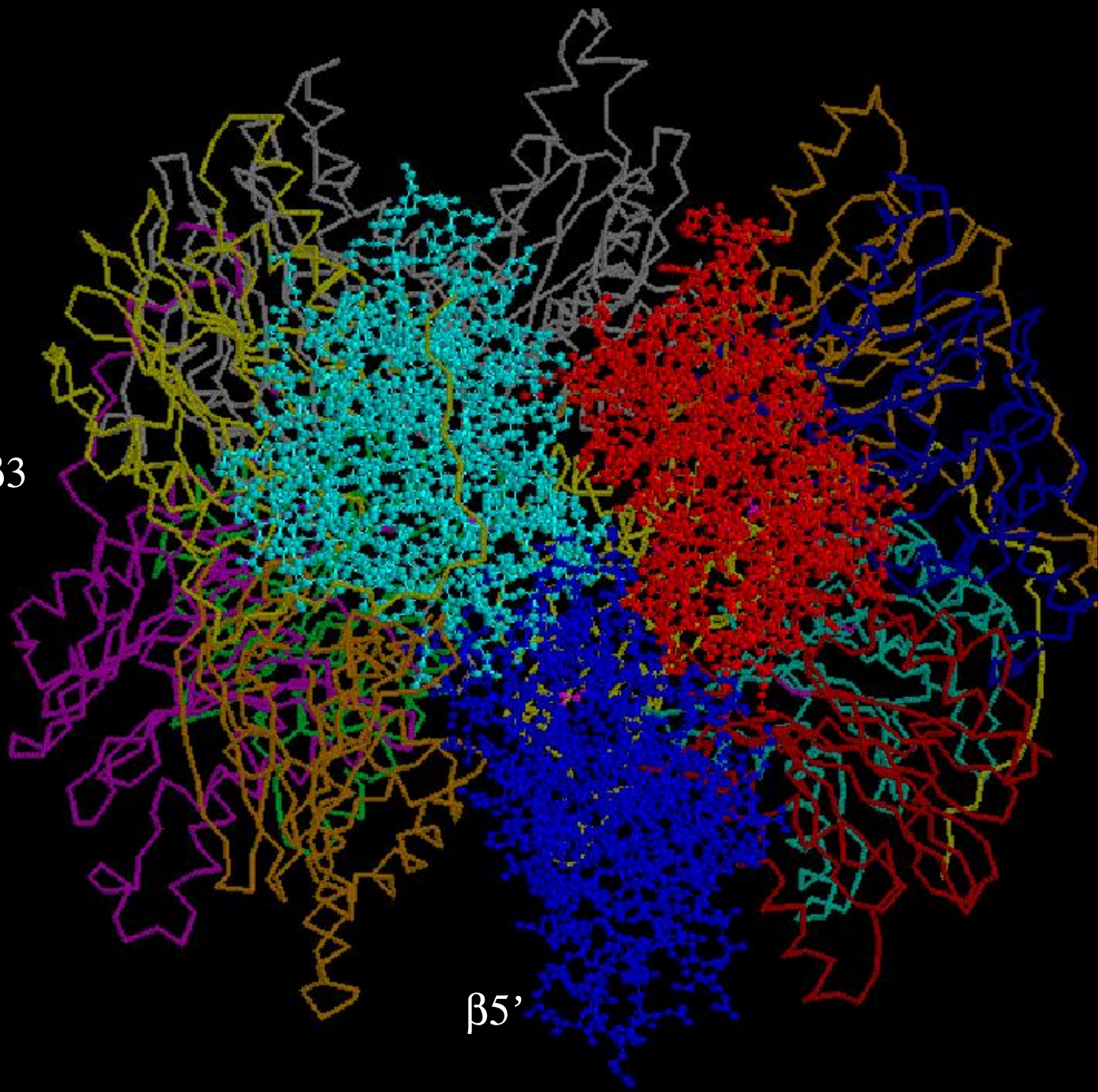

INTERACCIONES ENTRE CADENAS β



$\beta 3$

$\beta 4'$

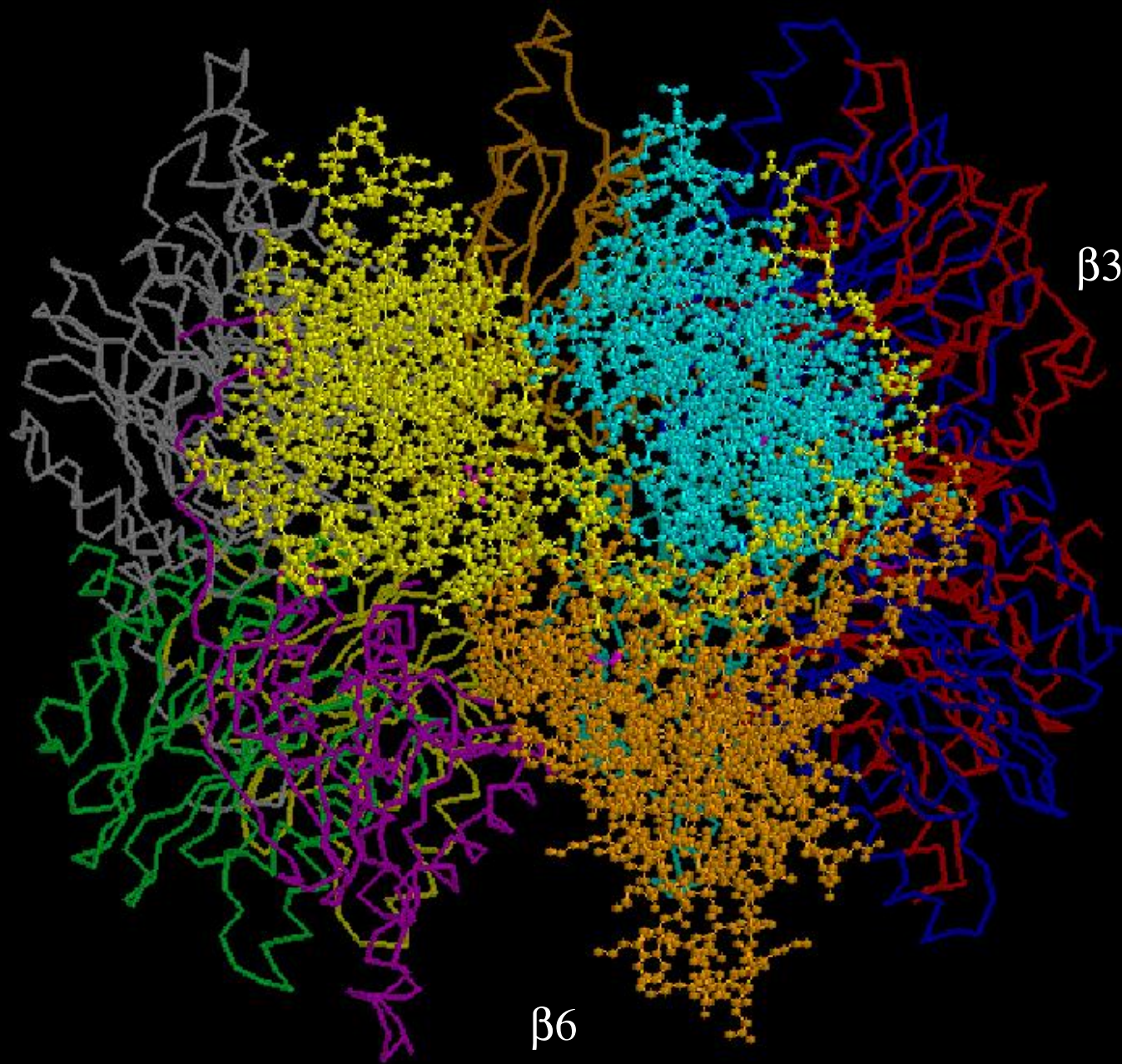
$\beta 5'$

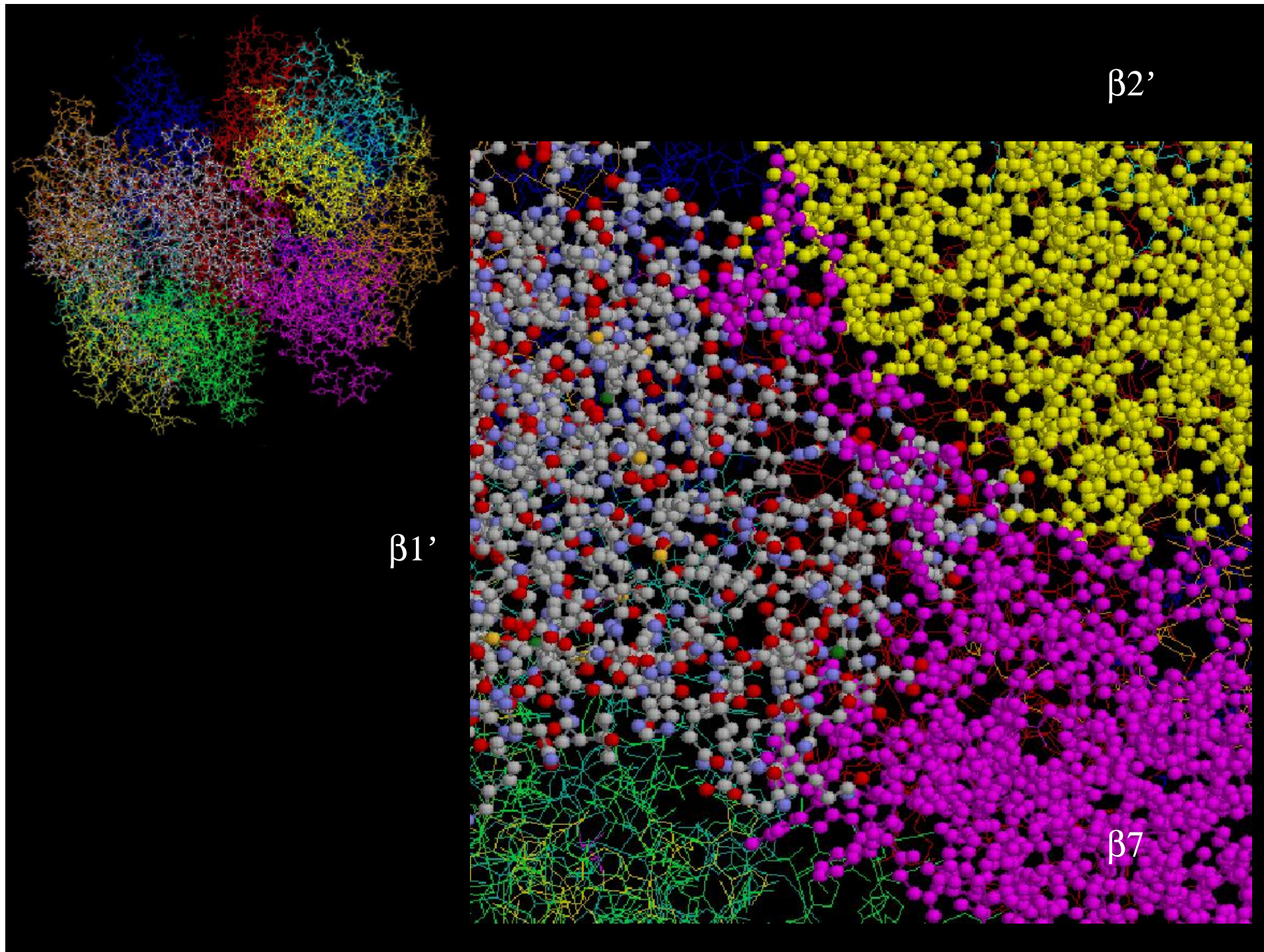


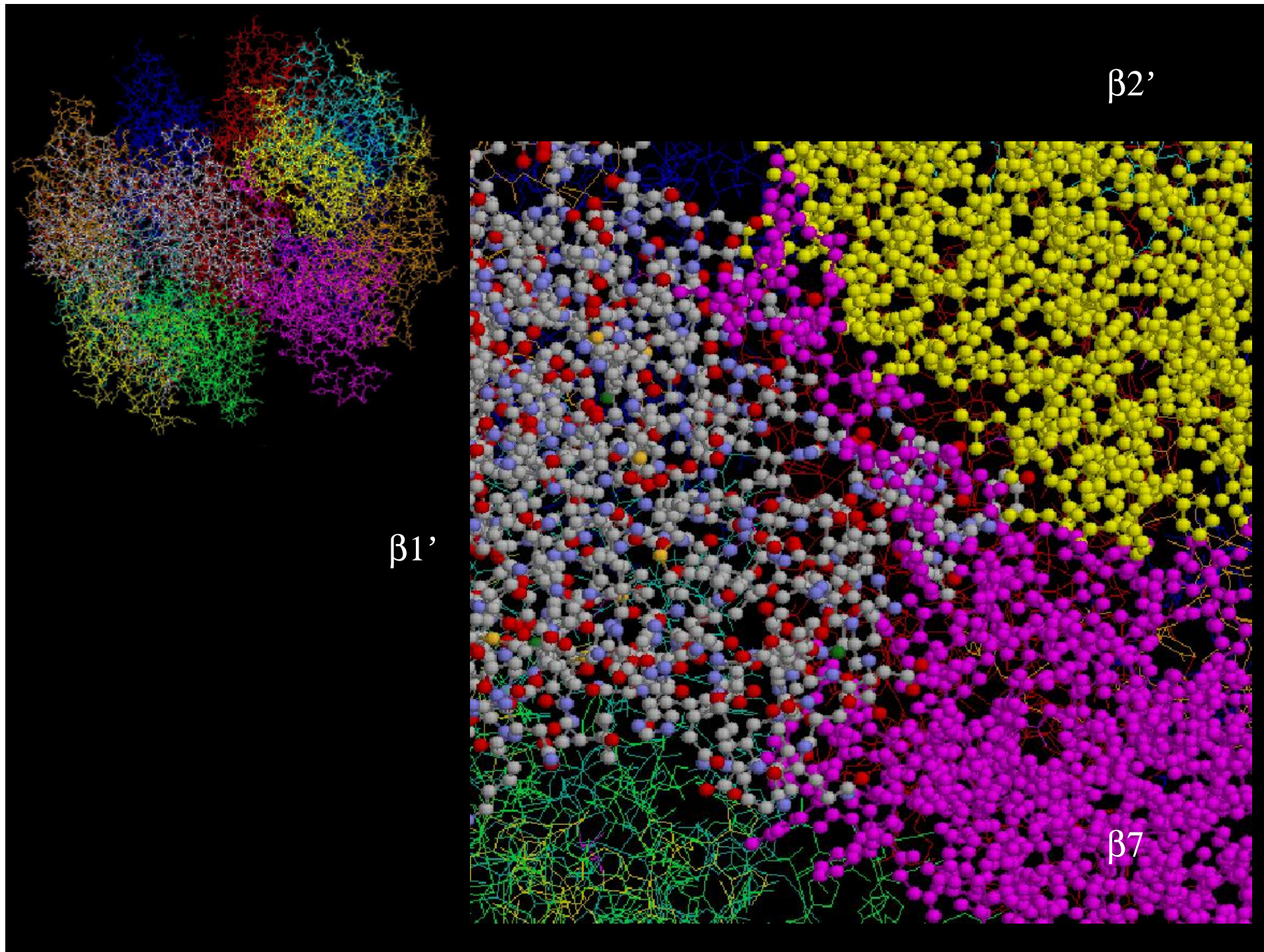
$\beta 2'$

$\beta 3'$

$\beta 6$



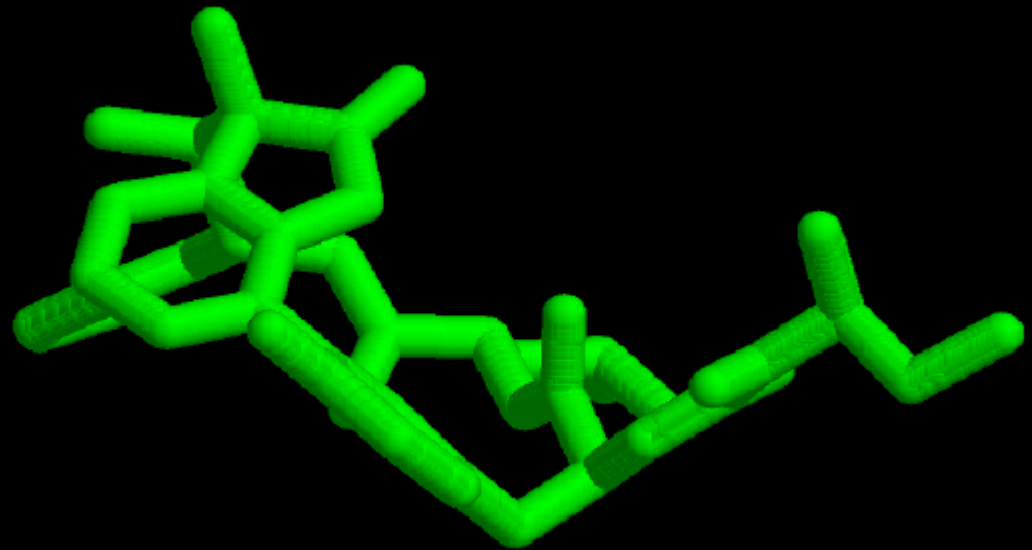




Inhibidor TMC-95a

Inhibidor TMC-95a

- Inhibidor natural provinent de *Apiospora montagnei*
- Sistema d'anells heterocíclics
- Bloqueja tots els active sites de forma no covalent
- Unió reversible i per tant, menys efectes citotòxics



Inhibidor TMC-95a

Thr 1

Ala 49

Lys 33

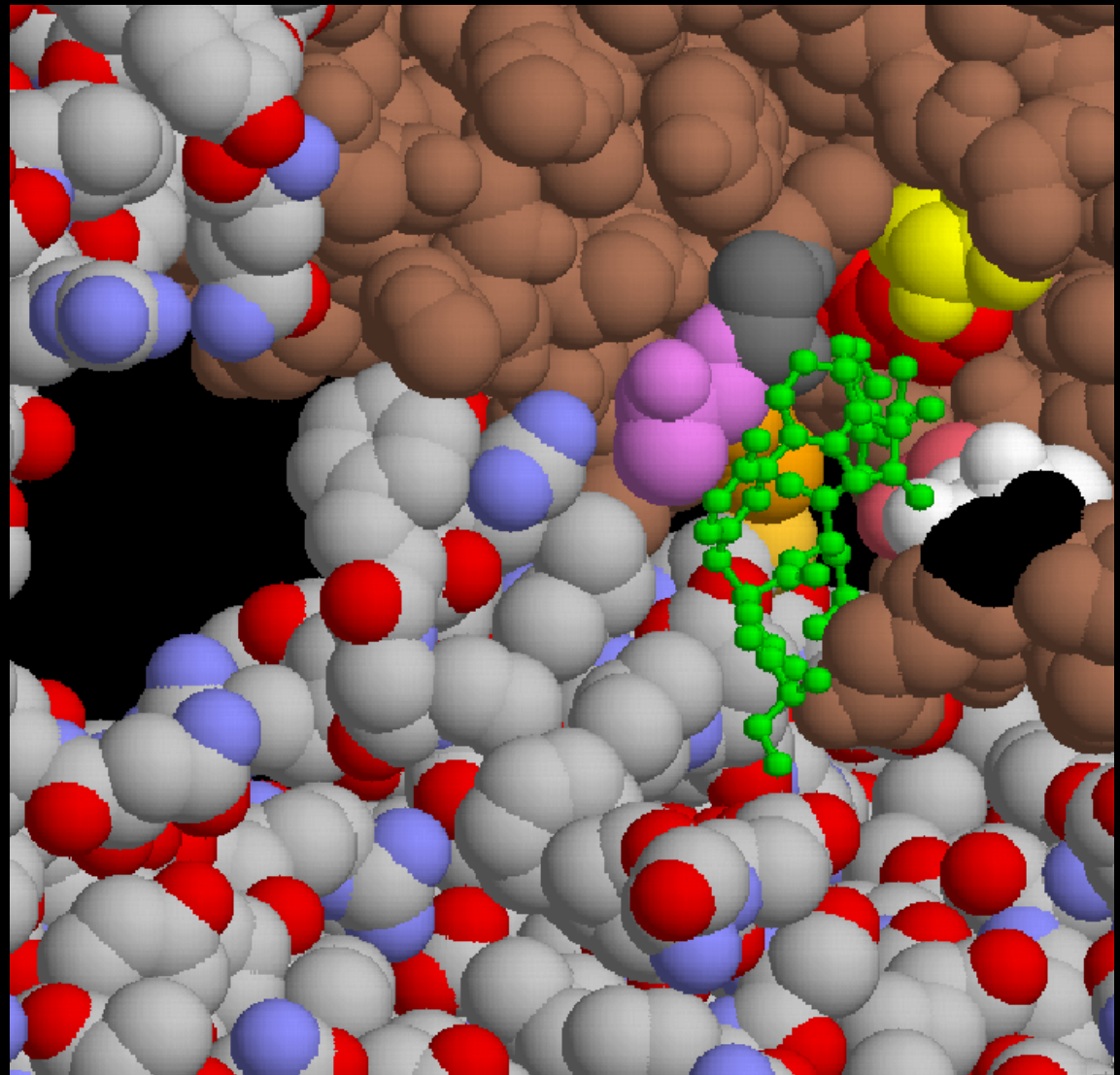
Ser 20

Gly 47

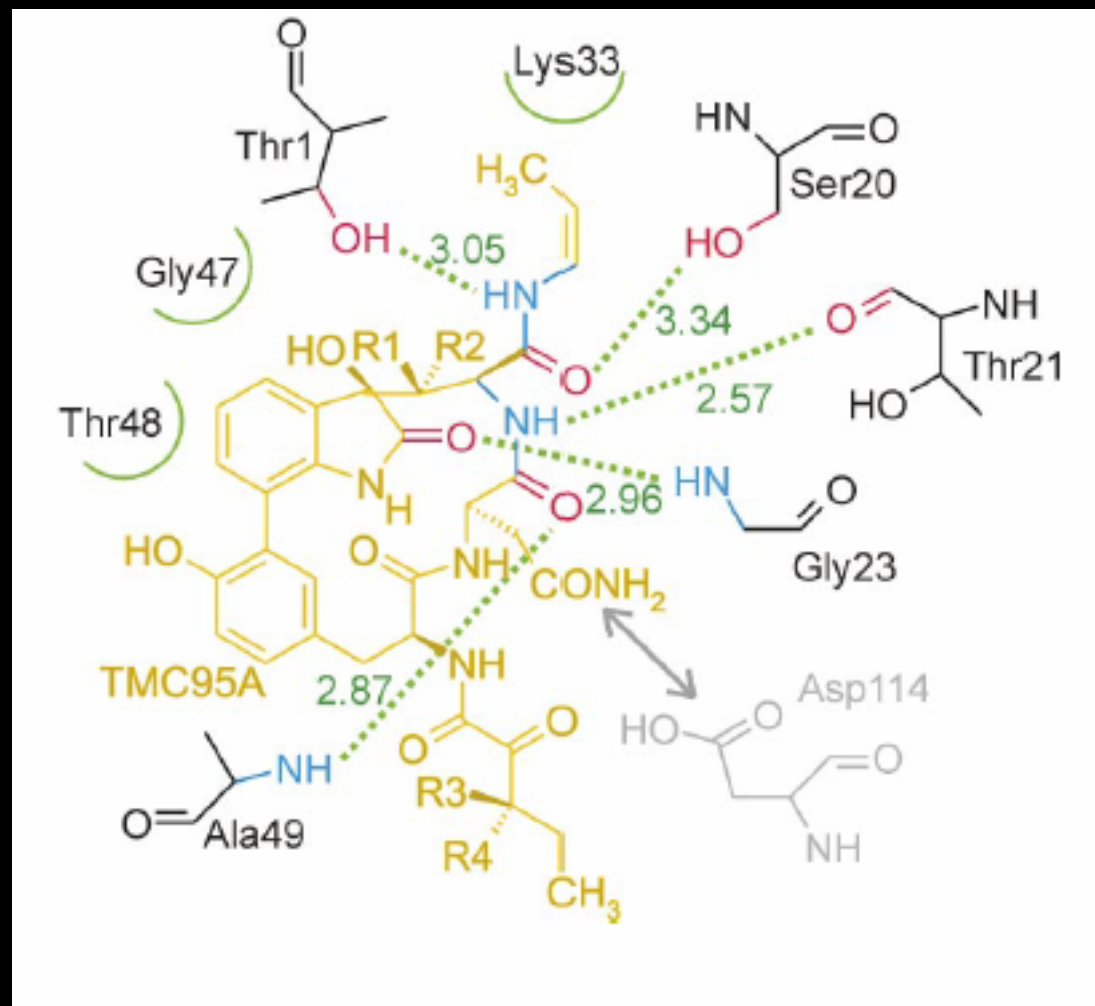
Thr 21

Thr 48

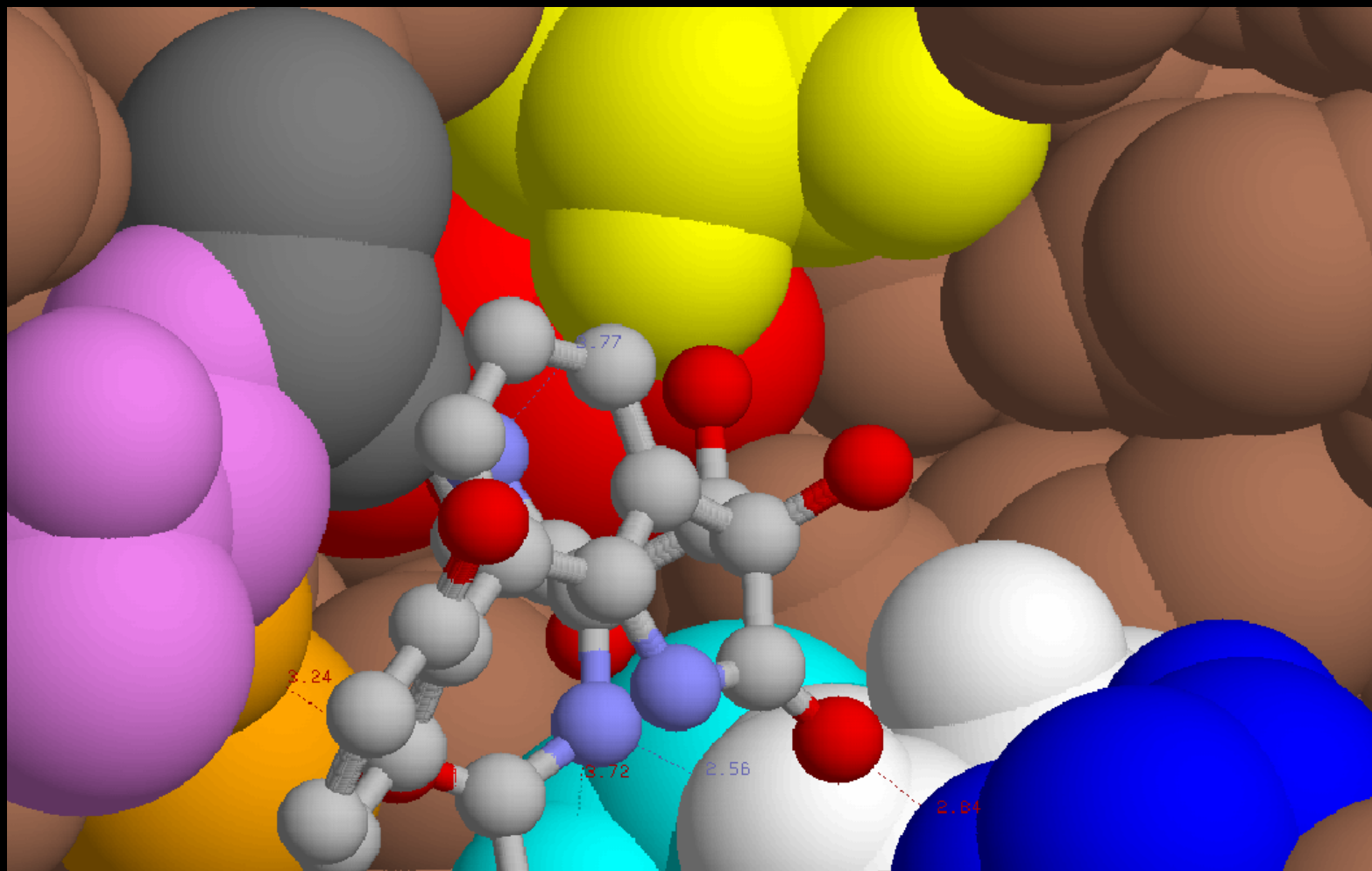
Gly 23



Inhibidor TMC-95a



Inhibitor TMC-95a



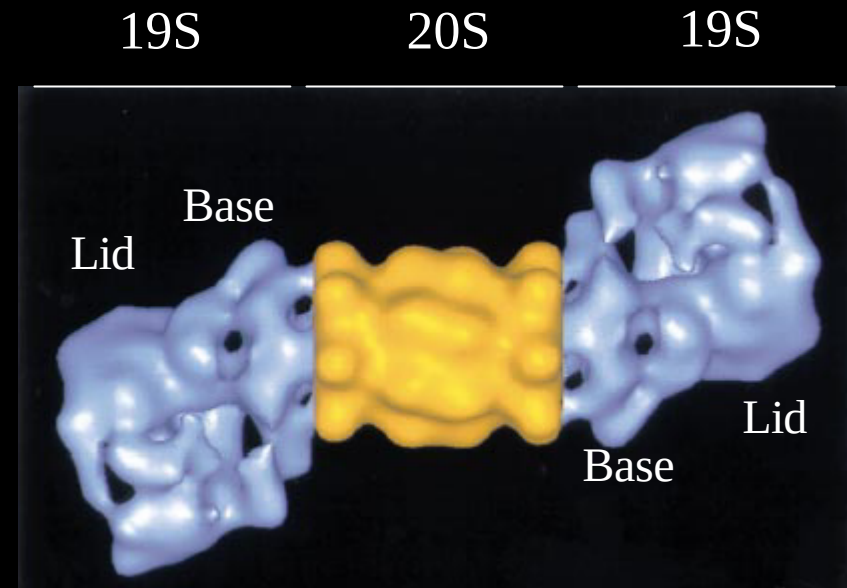
Thr 1 Lys 33 Gly 47 Thr 48

Ala 49 Ser 20 Thr 21 Gly 23

Subunitat reguladora 19 S (s5A)



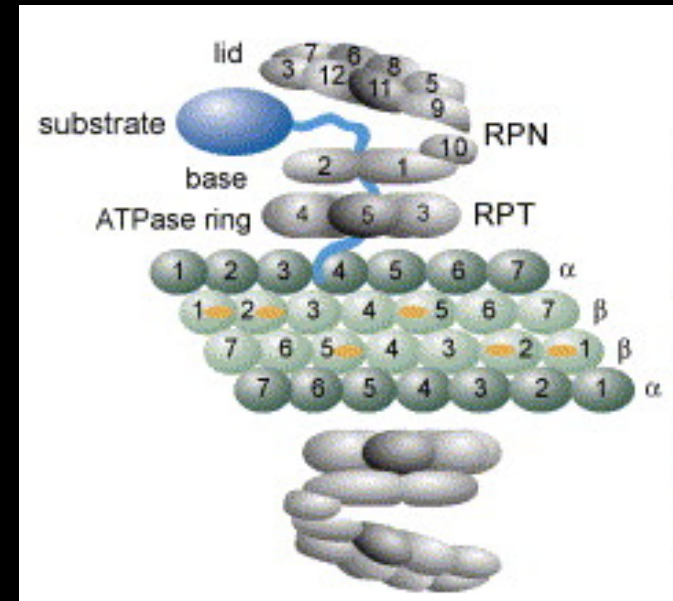
Microscopia electrònica
(26S *Drosophila melanogaster*)



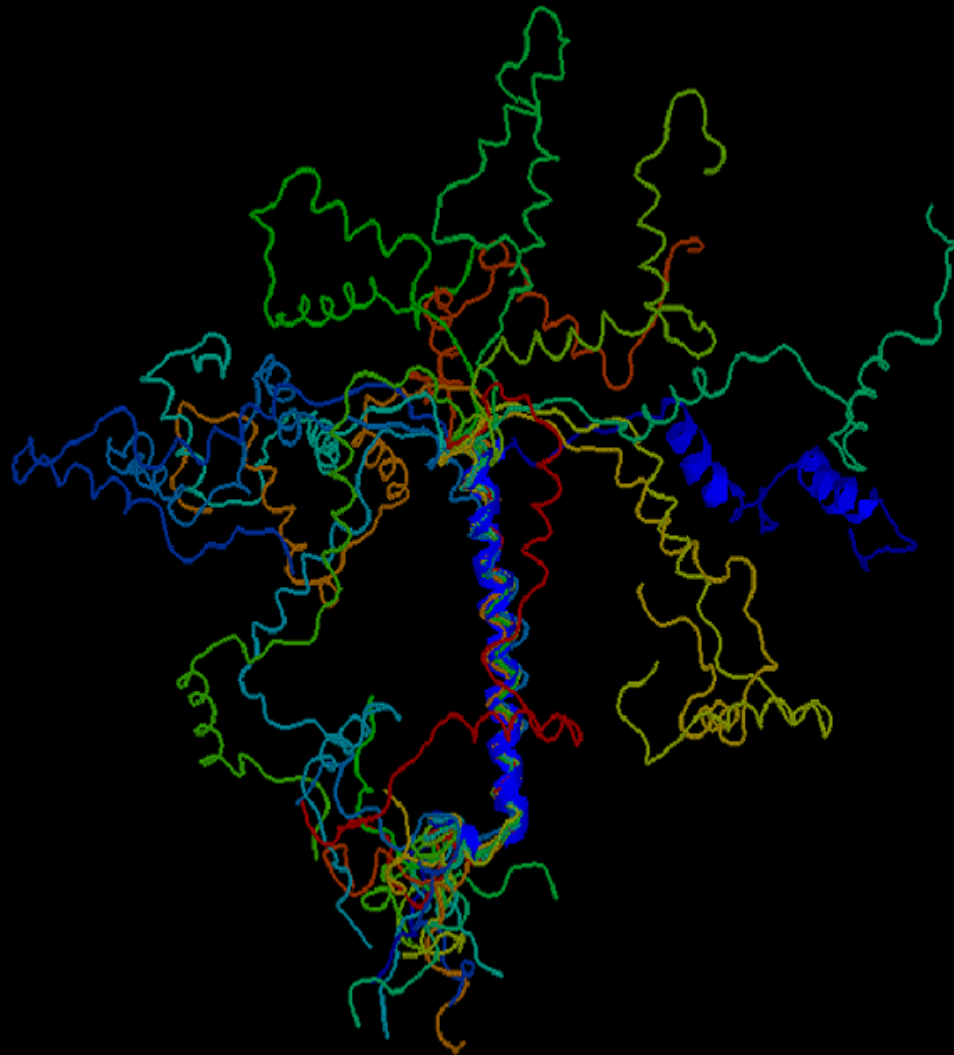
Model de les regions 19S
(*Drosophila melanogaster*)

S5a

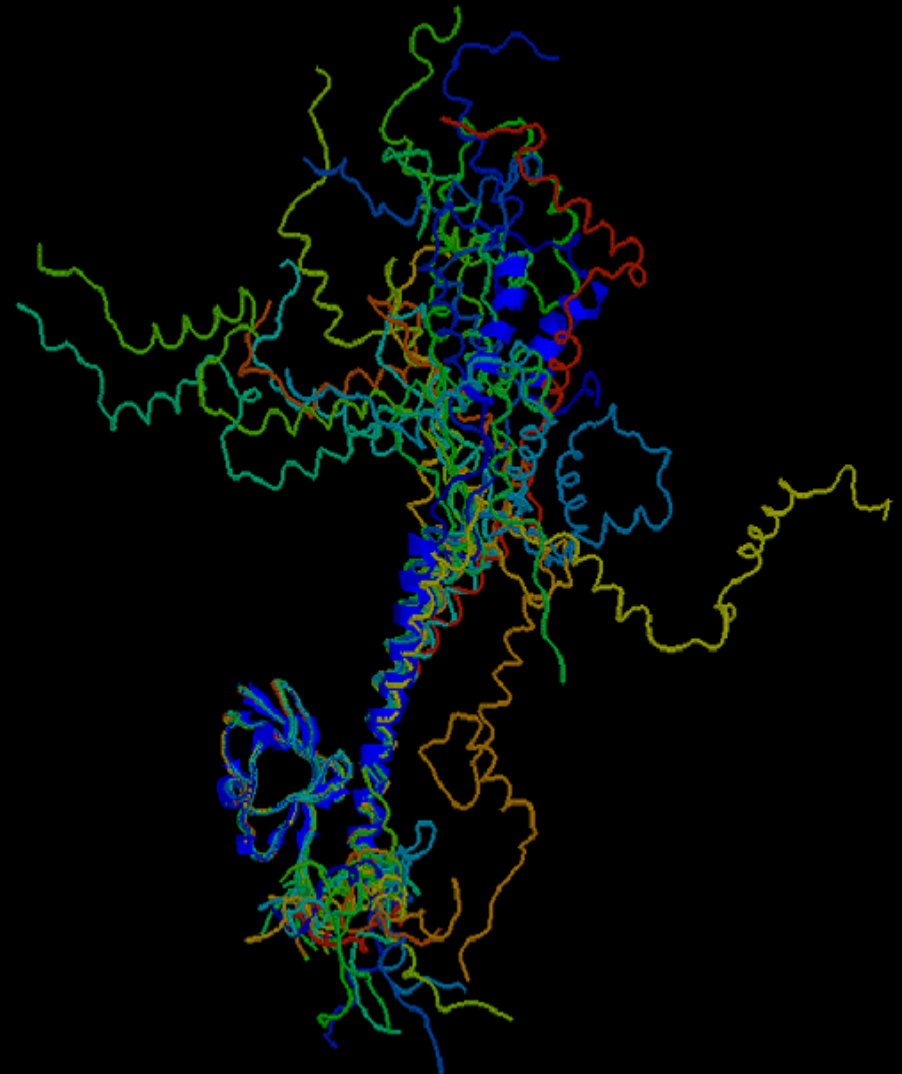
- 50 Kda
- l'homòleg en llevat és Rpn10
- té dos dominis d'unió a ubiquitina (UIM)
- possible rol en traslladar productes ubiquitinats cap al proteosoma
- no és essencial. Ha d'haver altres Rc implicats com S6'^c (Rpt5 en llevat)
- Encara es desconeix l'estructura exacta de S5a i la interacció amb ubiquitina.



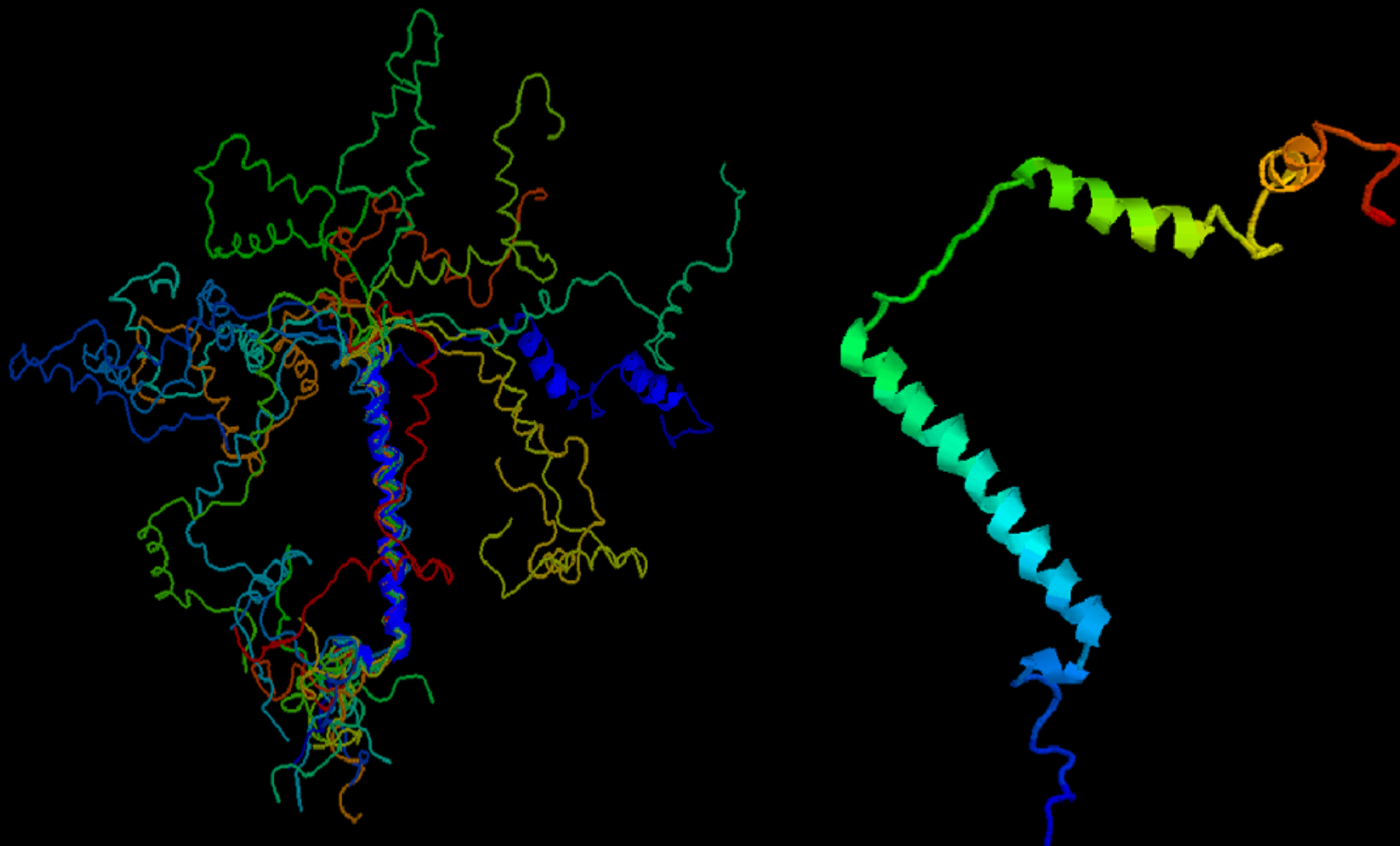
NMR S5a (196-306)



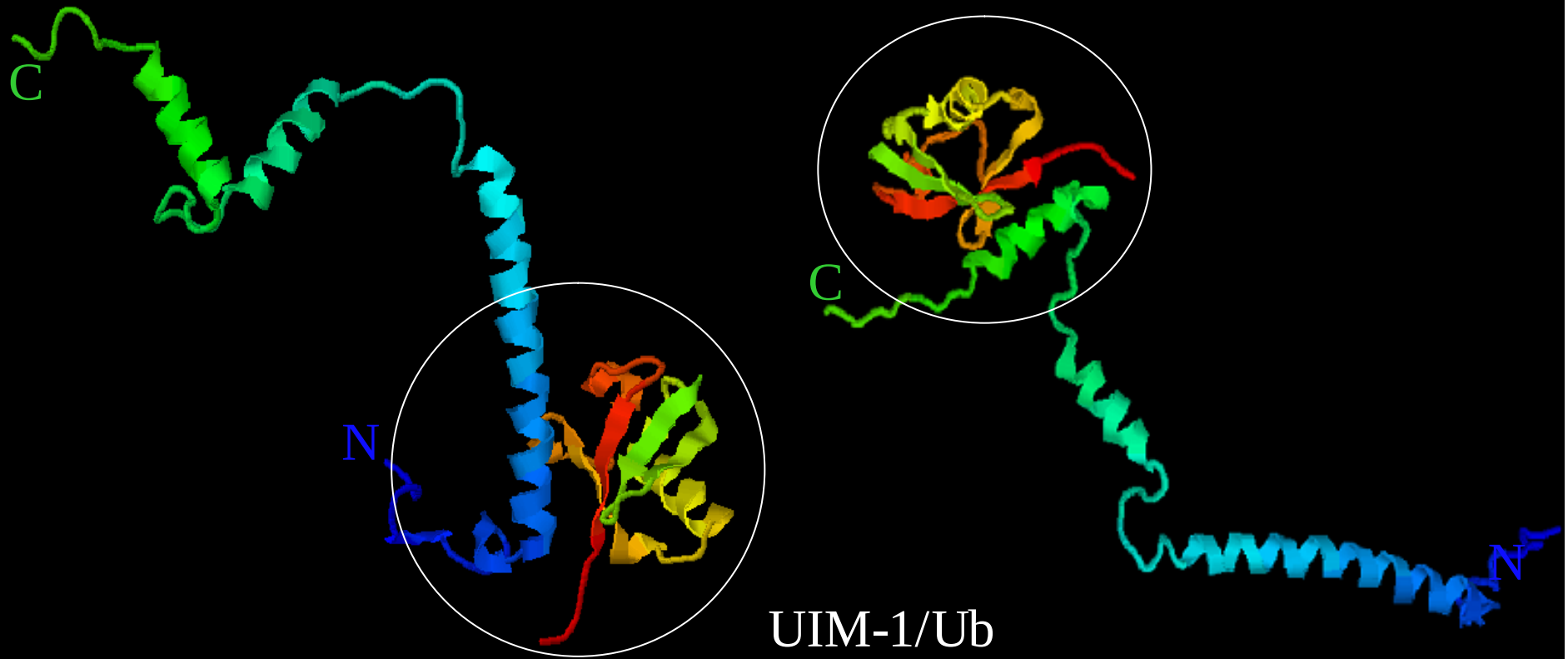
NMR S5a (196-306) + Ub



NMR S5a (196-306)



UIM-2/Ub



UIM-1/Ub

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

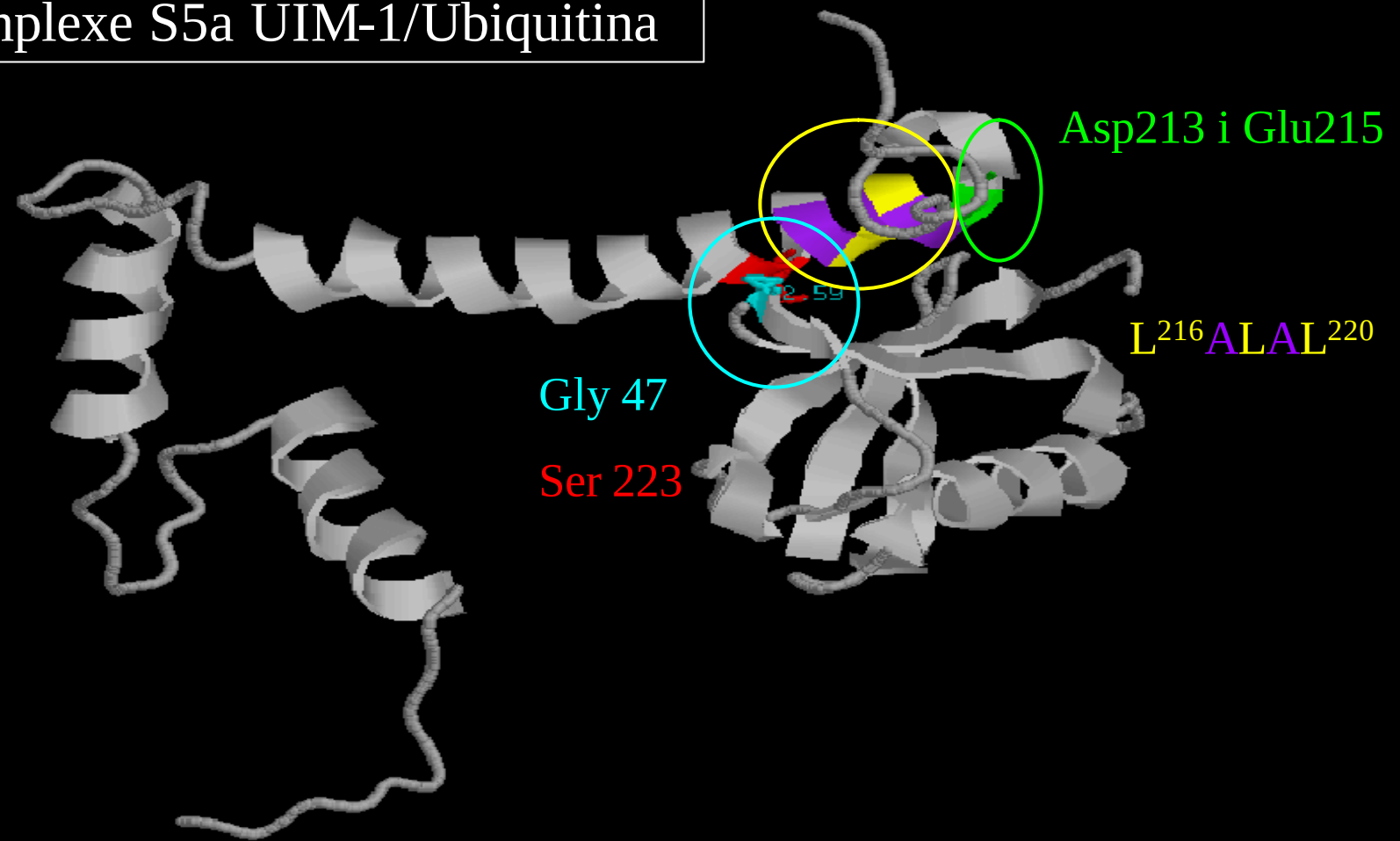
A.thaliana	AAAAAGGDFDFGVDPNIIDPE [*]	LALALRVSMEEER
Drosophila	GAGLGGNVFEFGVDPNEDPE [*]	LALALRVSMEEQR
Huma	MLGLGASDFEFGVDPSADPE [*]	LALALRVSMEEQR
Schistosom	MAGAGLG-LEFGLDGAEDPD ^{**}	LLYALRVSMEDQR
	. ** . * ** *	* * * * * . . *

A.thaliana	ARQEAAAKKAADEAGQKD---	KDG-----D--TASASQETVARTT
Drosophila	QRQESEQRRANPDGAPPTGGDAGGGGGVSGSGPGNEESAGAENEANTEEAMLQRALALST	
Huma	QRQEEEARRAAASAAEAGIATTGTE-----	D-SDDALLKMTISQ-Q
Schistosom	MRQEHEVNGDGSNTSVVATSLPAGSG-----	TSEEAMLQQALAMSM
	* * *	*

A.thaliana DKNAEPMDF-----EDSALLDQAI MSVG DVNMSEADEDQDLALALQMS-----
Drosophila ETPEDNLP-----DFANMTEEEQ AFAM QMSMQDAP-DDSVTQQAKRPK-----
Huma EFGRTGLP-----DLSSMTEEEQ AYAM QMSLQGAE-FGQAESADIDAS-----
Schistosom QMNTESSSLPMDIDLAAMSEEDQ AYAL RMSLQQMG-EETTQPTTTTLES DKTIVEPSG

Seqüència consens: •L•A•• S

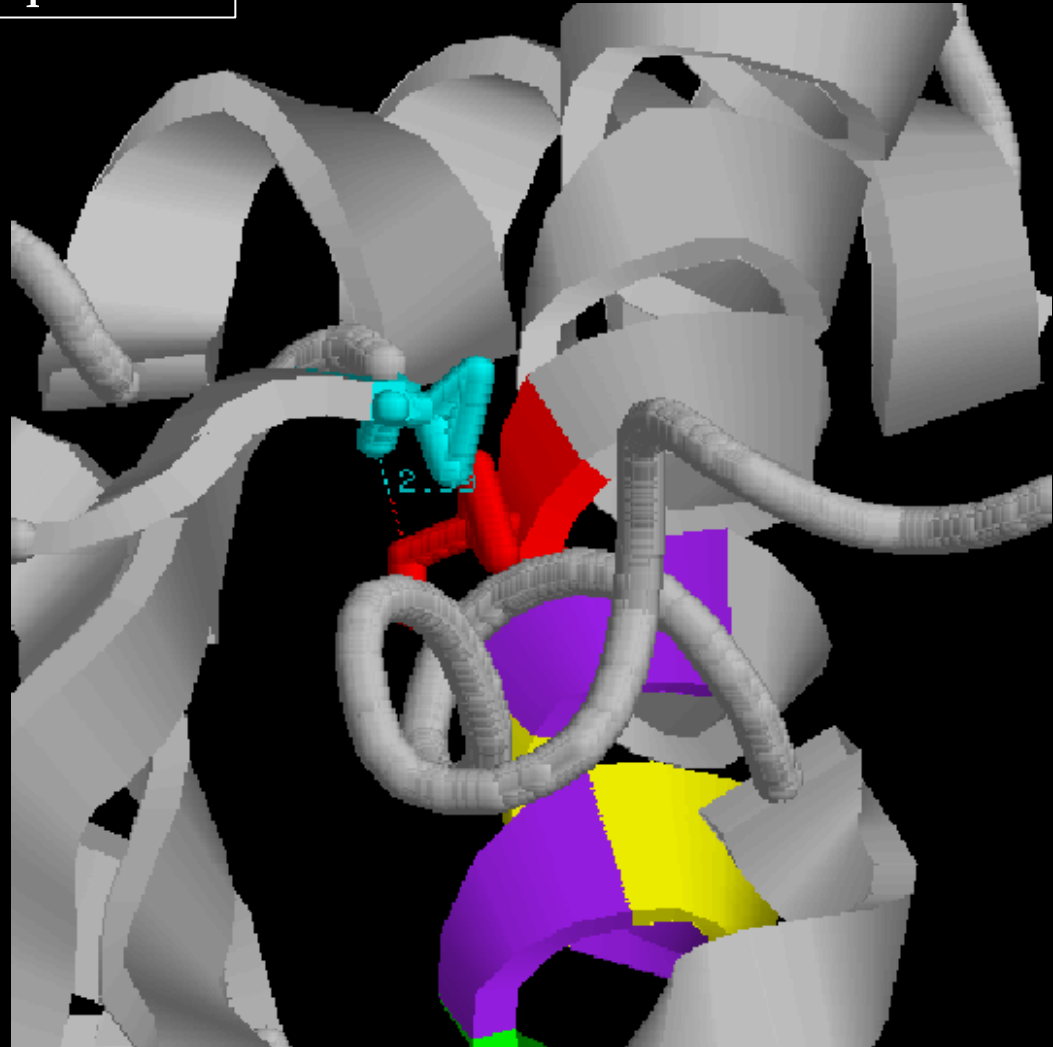
Complexe S5a UIM-1/Ubiquitina



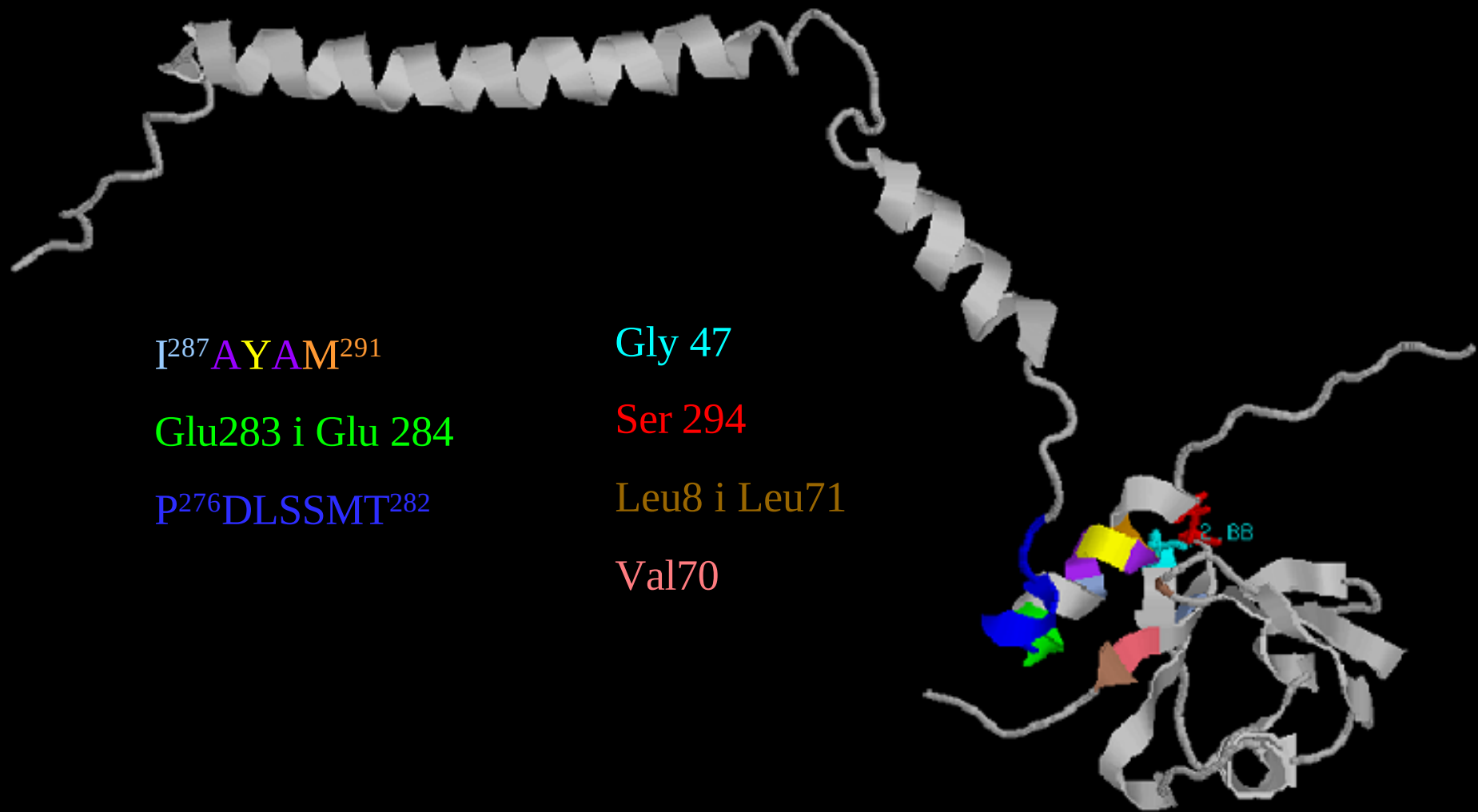
Complexe S5a UIM-1/Ubiquitina

Pont d'hydrògen:

Gly 47 - Ser 223



Complexe S5a UIM-2/Ubiquitina



Complexe S5a UIM-2/Ubiquitina

I²⁸⁷AYAM²⁹¹

Glu 283 i Glu
284

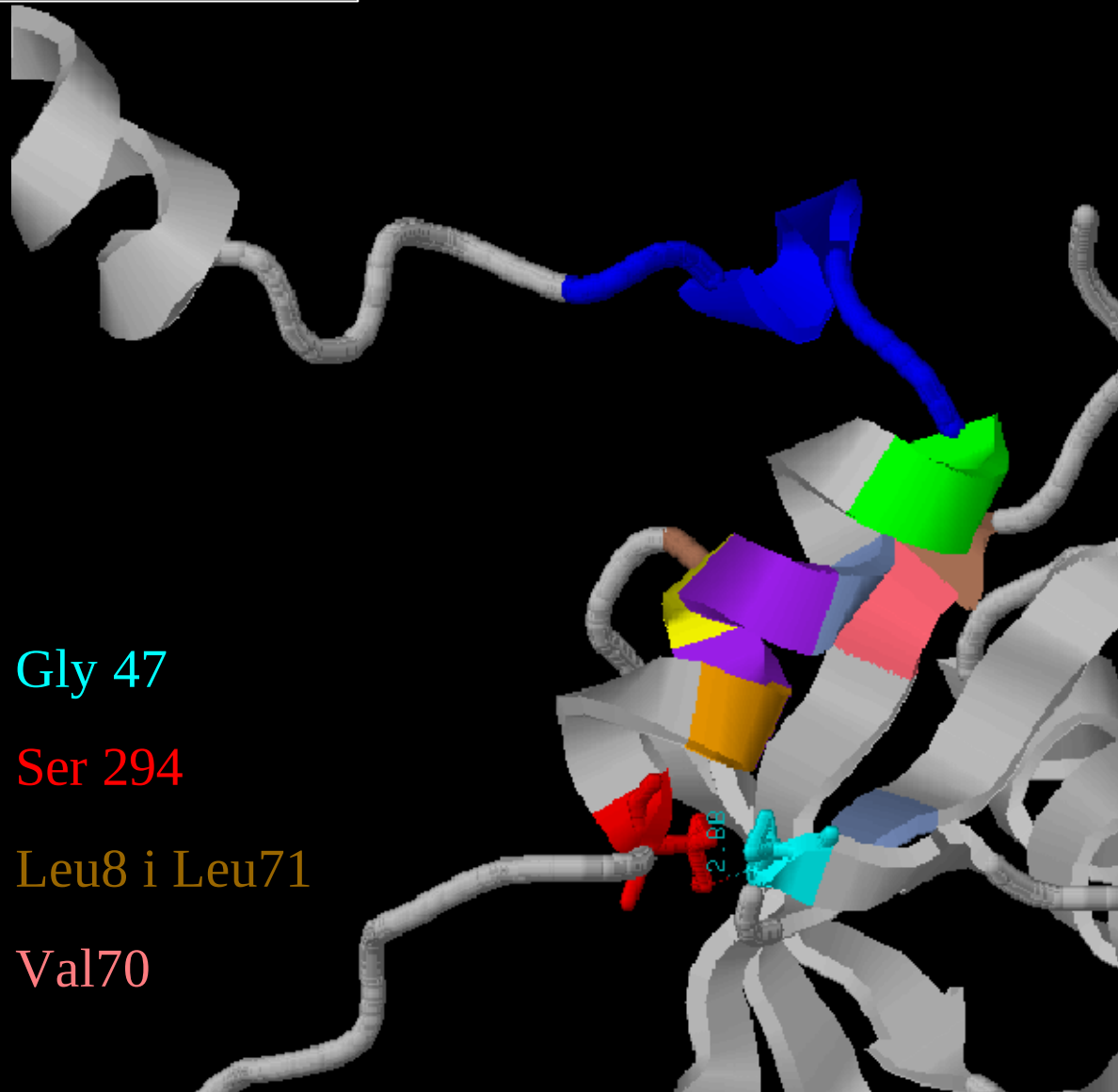
P²⁷⁶DLSSMT²⁸²

Gly 47

Ser 294

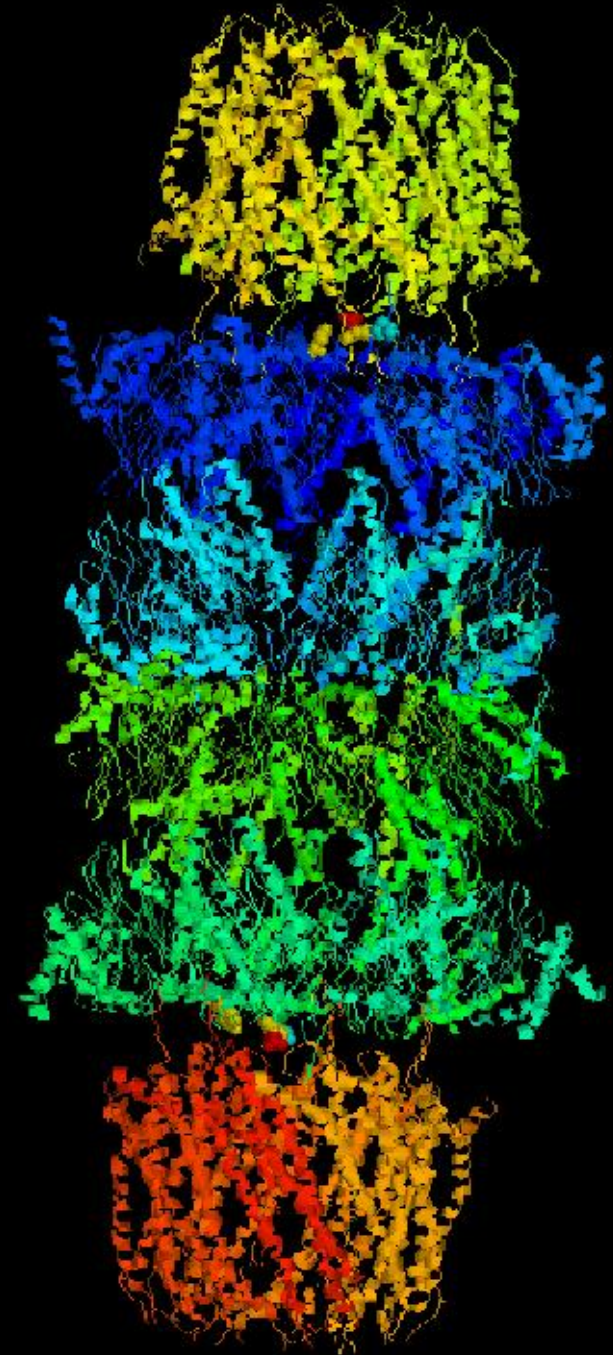
Leu8 i Leu71

Val70



Activador PA26

- La unió de PA26 indueix a les regions N-terminals de les set subunitats a adoptar una conformació ordenada responsable de l'obertura del porus.
- Cluster YD-P-Y implicat en l'obertura del canal.



Activador PA26

- Cluster YD-P-Y

CLUSTAL W(1.60) multiple sequence alignment

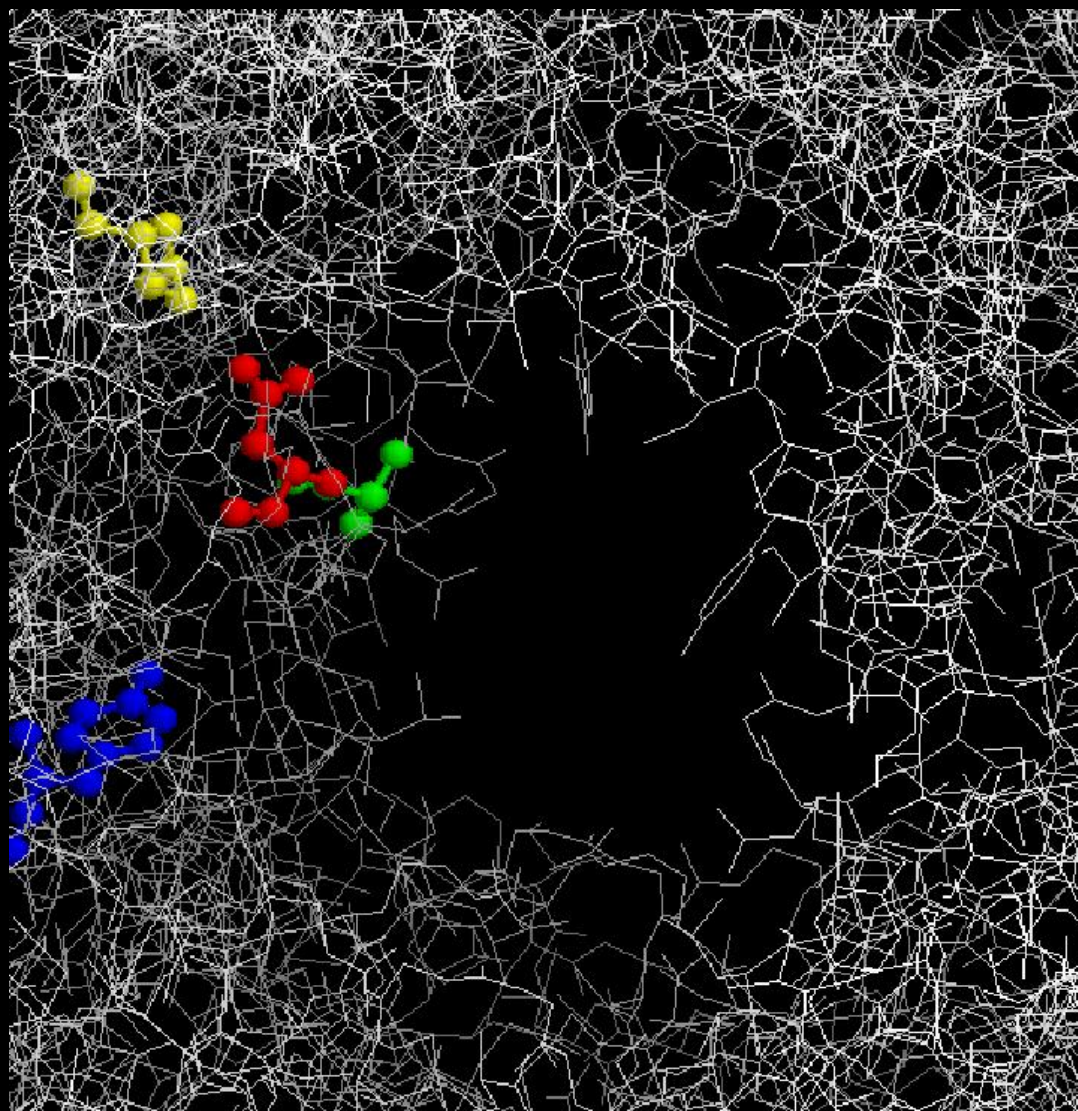
Sequence alignment of alpha1 to alpha7 SC domains. The alignment shows conserved regions highlighted in yellow, green, and red. The N-terminal region is labeled 'N-terminal' and the H0 region is labeled 'Hèlix H0'.

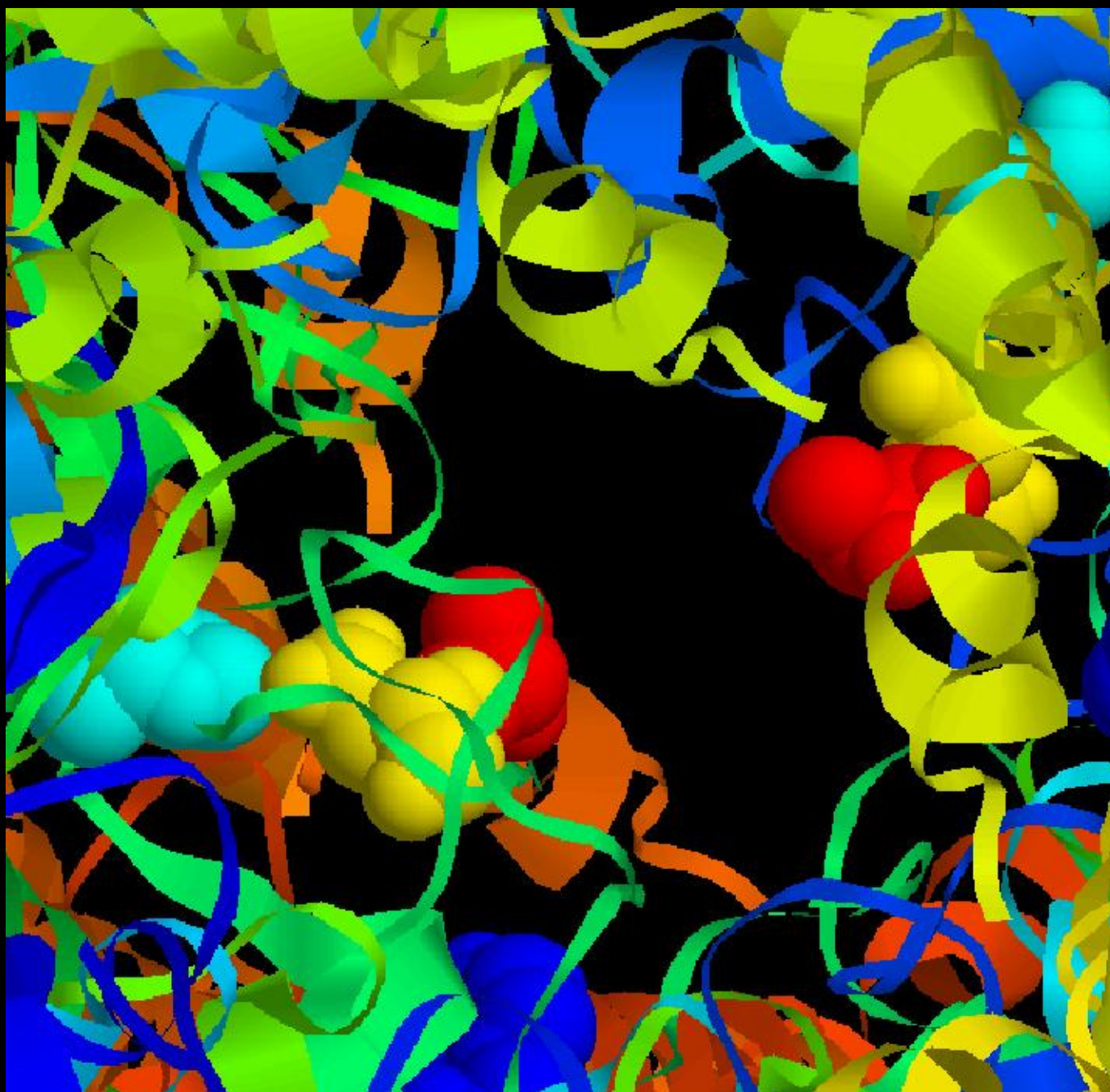
	8	9	17	26
alfa1_SC	--AGYDRHI	TIFS	PEGR	LYQVEY
alfa2_SC	MTDRYSFSL	TTFS	PSGK	LGQIDY
alfa3_SC	GSRRYDSRT	TIFS	PEGR	LYQVEY
alfa4_SC	---GYDRAL	SIFS	PDGH	IFQVEY
alfa5_SC	-----DRGV	STFS	PEGRL	FQVEY
alfa6_SC	FRNNYDGD	TVTF	SPTGR	LFQVEY
alfa7_SC	-GTGYDLSN	SVFS	PDGR	NFQVEY

N-terminal

Hèlix H0

ASP9
PRO17
TYR8
TYR26





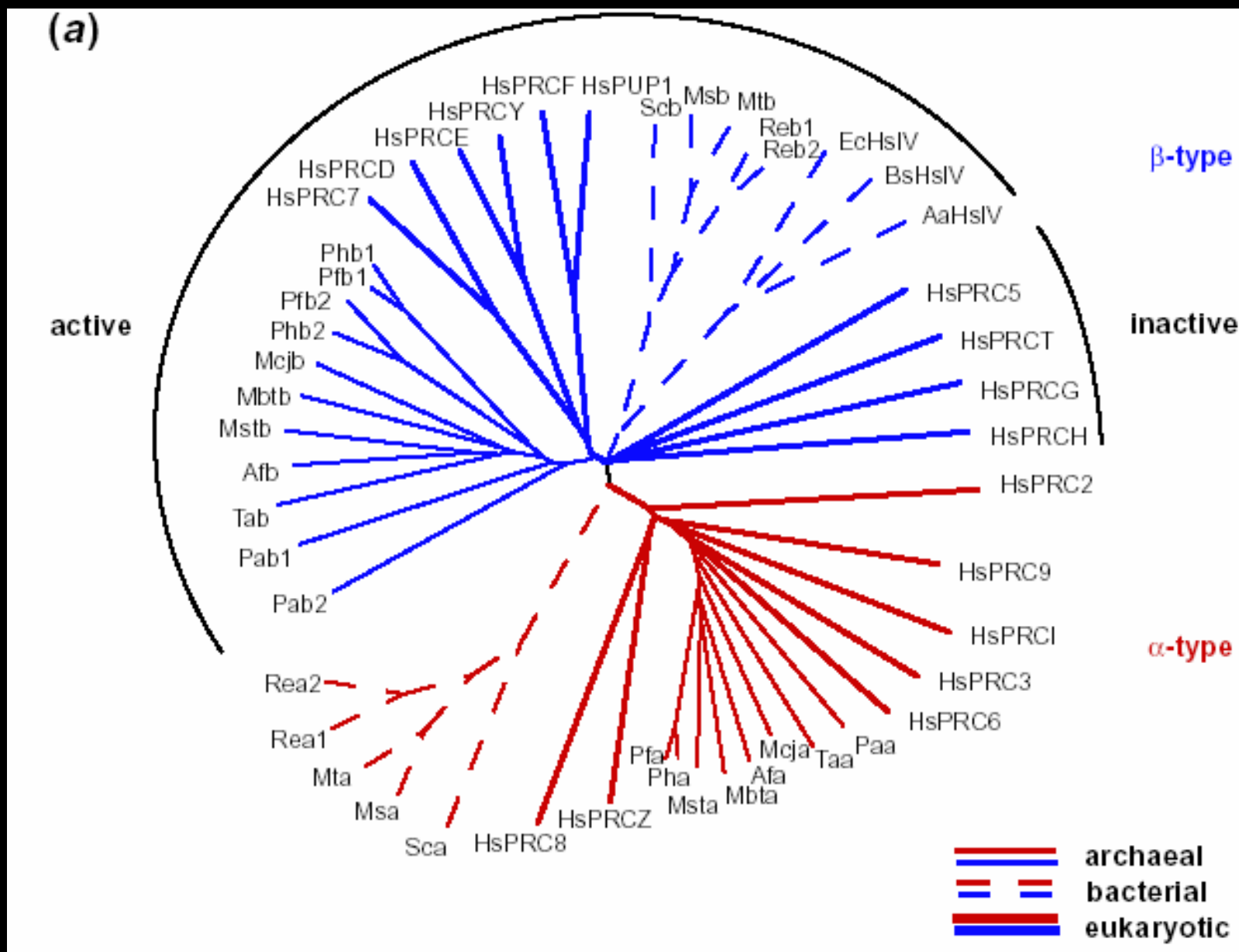
REFERÈNCIES

- Molecular shredders: how proteasomes fulfill their role.** Groll, Clausen. Current Opinion in Structural Biology. 2003, 13: 665-673
- Catalytic activities of the 20 S proteasome, a multicatalytic proteinase complex.** Orłowski, Wilk. Archives of Biochemistry and Biophysics. 2000, 383: 1-16
- The 26 S proteasome: a molecular machine designed for controlled proteolysis.** Voges, Zwickl, Baumeister. Annu.Rev.Biochem. 1999, 68: 1015-1068
- The active sites of the eukaryotic 20 S proteasome and their involvement in subunit precursor processing.** The journal of Biological Chemistry. 1997, 272: 25200-25209
- Structure of S5a bound to monoubiquitin provides a model for polyubiquitin recognition.** Quinghua Wang, Patrick Young and Kylie J.Walters. Journal of Molecular Biology. 2005, 348: 727-739
- A gated channel into the proteasome core particle.** Groll, Bajorek et al. Nature structural biology. 2000, 7: 1062-1067

- **The proteasome: a proteolytic nanomachine of cell regulation and waste disposal.** Wolf and Hilt. *Biochimica et Biophysica Acta* 1695.2004: 19-31
- **The structure of the mammalian 20s proteasome at 2.75 Å resolution.** Unno, Mizushima, Morimoto et al. *Structure*. 2002, 10:609-618
- **Keepers at the final gates: regulatoru complexes and gating of the proteasome channel.** Bajorek and Glickman. *Cellular and Molecular Life Sciences*.2004:1579-1588.
- **The pore of activated 20s proteasomes han an ordered 7-fold symmetric conformation.**Forster,Whitby and Hill.*The EMBO Journal*.2003,17: 4356-4364.
- **The ultimate nanoscale mincer:assembly, structure and active sites of the 20s proteasome core.** Heinemeyer,Ramos and Dohmen. *Cellular and Molecular Life Sciences*.2004,61:1562-1578.
- **26s proteasome structure revealed by three dimensional electron microscopy.**Walz,Erdmann et al.*Journal of Structural Biology*.1998,121: 19-29.

Gràcies per la
vostra atenció!

Per si pregunten per l'evolució



Preguntas PEM:

1.-Señala la respuesta correcta respecto al proteosoma:

- a) Es un orgánulo celular
- b) Es una única proteína
- c) Tiene función estructural
- d) Su función es degradar de forma específica proteínas
- e) No se observa en todos los dominios de la vida.

2.-El proteosoma 26s está formado por:

- a) 4 anillos beta
- b) 2 anillos alfa y dos betas
- c) una subunidad 20s formada por dos anillos betas y dos alfas y dos subunidades 19s
- d) una subunidad 20s y dos activadores PA26
- e) 3 anillos alfa y 2 betas

3.-¿Dónde subyace la actividad catalítica del proteasoma 26s?

- a) en las subunidades 19s
- b) En las subunidades beta1, beta2 y beta5
- c) en las subunidades alfas
- d) en las 7 subunidades beta
- e) ninguna de las anteriores es correcta

4.-Respecto a la región N terminal de las subunidades alfas:

- 1.- El motivo YDR está ampliamente conservado
- 2.- Se postula que el motivo YDR tiene importancia para estabilizar la conformación cerrada
- 3.-La región N- terminal de la subunidad alfa3 guarda especial importancia.
- 4.- No se observa conservación entre especies
- 5.- Las 7 son idénticas entre sí

- a)1,3
- b)1,2,3**
- c)2,4
- d)4
- e)1,2,3,4

5.-Respecto a las subunidades catalíticas betas:

- a) Son tirosin proteasas
- b) Son treonin proteasas**
- c) La catálisis se realiza mediante un ataque electrófilo
- d) No participa H₂O en el proceso catalítico
- e) la lisina del centro catalítico es la principal responsable del ataque nucleofílico sobre el sustrato.

6.-Respecto a posibles inhibidores del centro catalítico:

- a) Su investigación está en alza por su posible uso en terapia antitumoral**
- b) No existe ninguno en mercado
- c) TMC -95a es un inhibidor no específico del proteosoma
- d) TMC 95a se une de forma irreversible a las subunidades catalíticas
- e) TMC 95a está formado por un anillo alfa.

7.-Respecto al complejo 19s, señala la respuesta verdadera:

- a) Están cristalizadas y ampliamente conocidas
- b) No necesitan de ATP para realizar su función
- c) Están formadas de dos subunidades alfa y dos betas
- d) Despliegan la proteína para que pueda entrar en el core 20s
- e) Todas las anteriores son correctas

8.- En relación a la proteína s5a , ¿cuál de las siguientes es cierta?

- a) Tiene dos dominios de unión a ubiquitina
- b) Tiene una estructura muy flexible lo cual le permite una mejor unión a ubiquitina
- c) Las dos anteriores son ciertas
- d) Pertenece al core 20s
- e) Todas las anteriores son ciertas

9.-Respecto a las cámaras del proteosoma, señala la respuesta incorrecta:

- a) Hay tres en total
- b) Sólo una de ellas es catalítica
- c) Se encuentran situadas en el core 20s
- d) Permiten el paso de cualquier proteína
- e) Hay tres sites específicos catalíticos dentro de la misma cámara catalítica

10.-Respecto al PA26 del proteosoma, señala la respuesta correcta:

- a) Es un inhibidor
- b) Se une al core 20s por ambos extremos
- c) Las dos anteriores son ciertas
- d) Se une directamente a las subunidades betas
- e) Todas las anteriores son ciertas

Pregunta de ensayo:

PROTEASOMA: ¿Qué son las Ntn hidrolasas? ¿Cuál es el principal aminoácido responsable de la actividad catalítica del proteosoma? ¿Qué papel juega el H₂O?

Son proteasas que tienen en su extremo N-terminal el grupo que lleva a cabo el ataque nucleofílico sobre el sustrato. En el proteosoma el aminoácido nucleófilo es la treonina 1 de los extremos N- terminal de las subunidades beta catalíticas (beta1, beta2, beta5).

El H₂O contribuye en la catálisis al captar el protón del grupo hidroxilo de la treonina 1 y pasarlo al grupo amino de la cadena principal de esta, promoviendo así el ataque nucleofílico.