

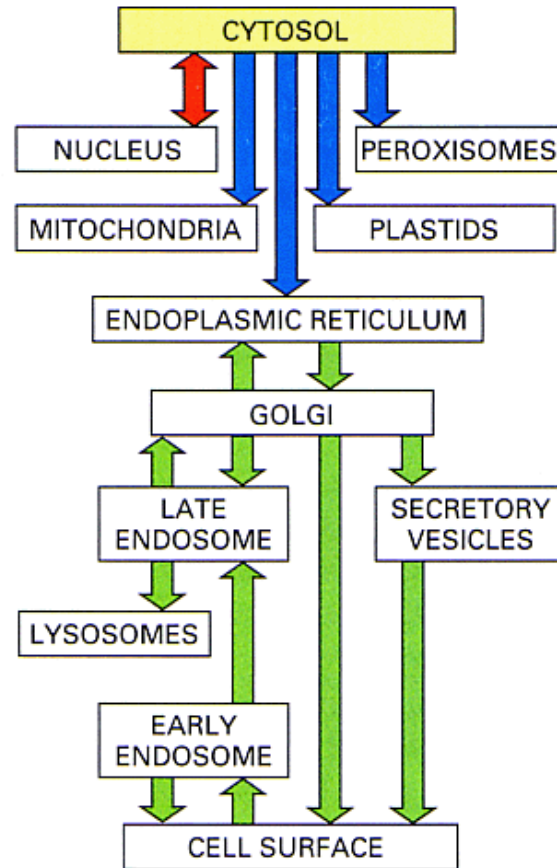
# Wege des Proteintransports, Proteinsortierung

3 Möglichkeiten:

Gated Transport

Transmembran  
transport

Vesikeltransport



KEY: █ = gated transport  
█ = transmembrane transport  
█ = vesicular transport

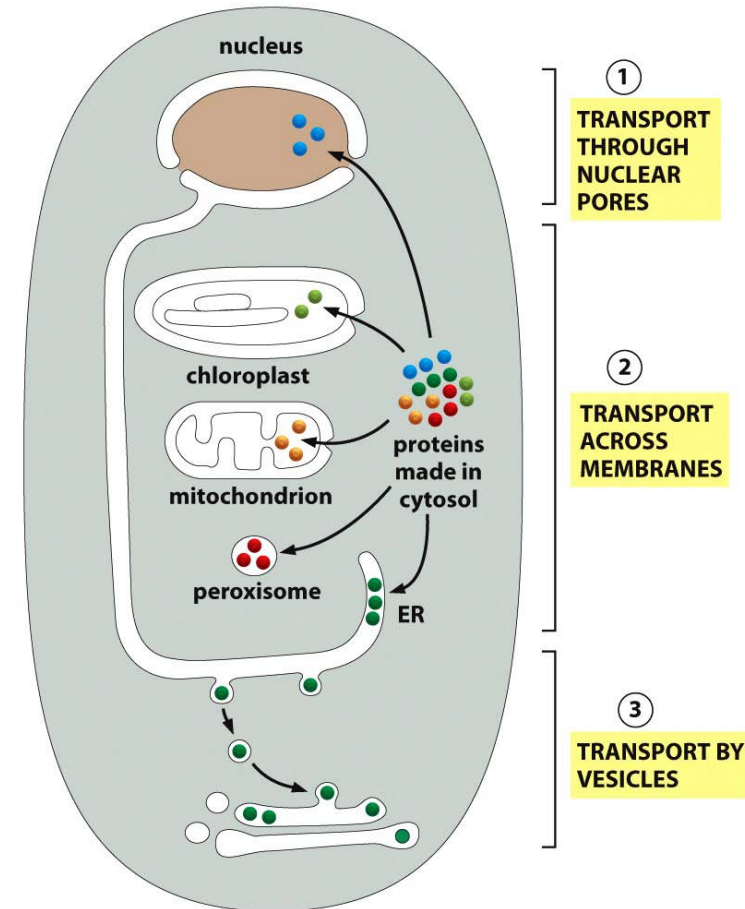


Figure 15-5 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

# Weitere Funktionen des ER: Proteinfaltung/reifung

Garantiert durch Foldasen und Molekulare Chaperones

## BiP (Binding immunoglobulin protein):

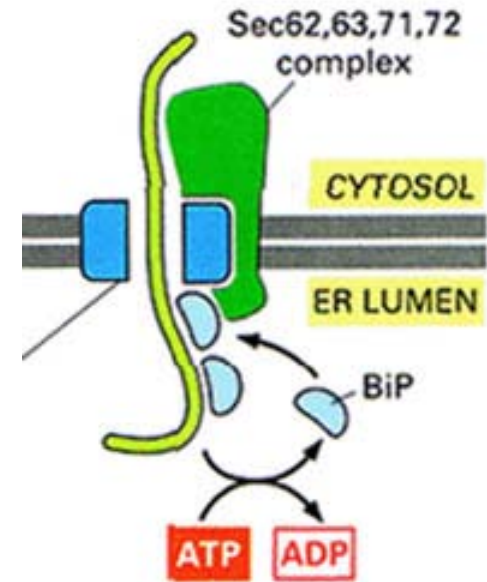
Hsp70 molekulares Chaperon, bleibt im Lumen des ER durch C-terminale Sequenz (HDEL, KDEL oder SDEL)

ATPase Aktivität, ER Translokation der Proteine, ziehen die Proteine hinein ins ER, durch den ER Translokator

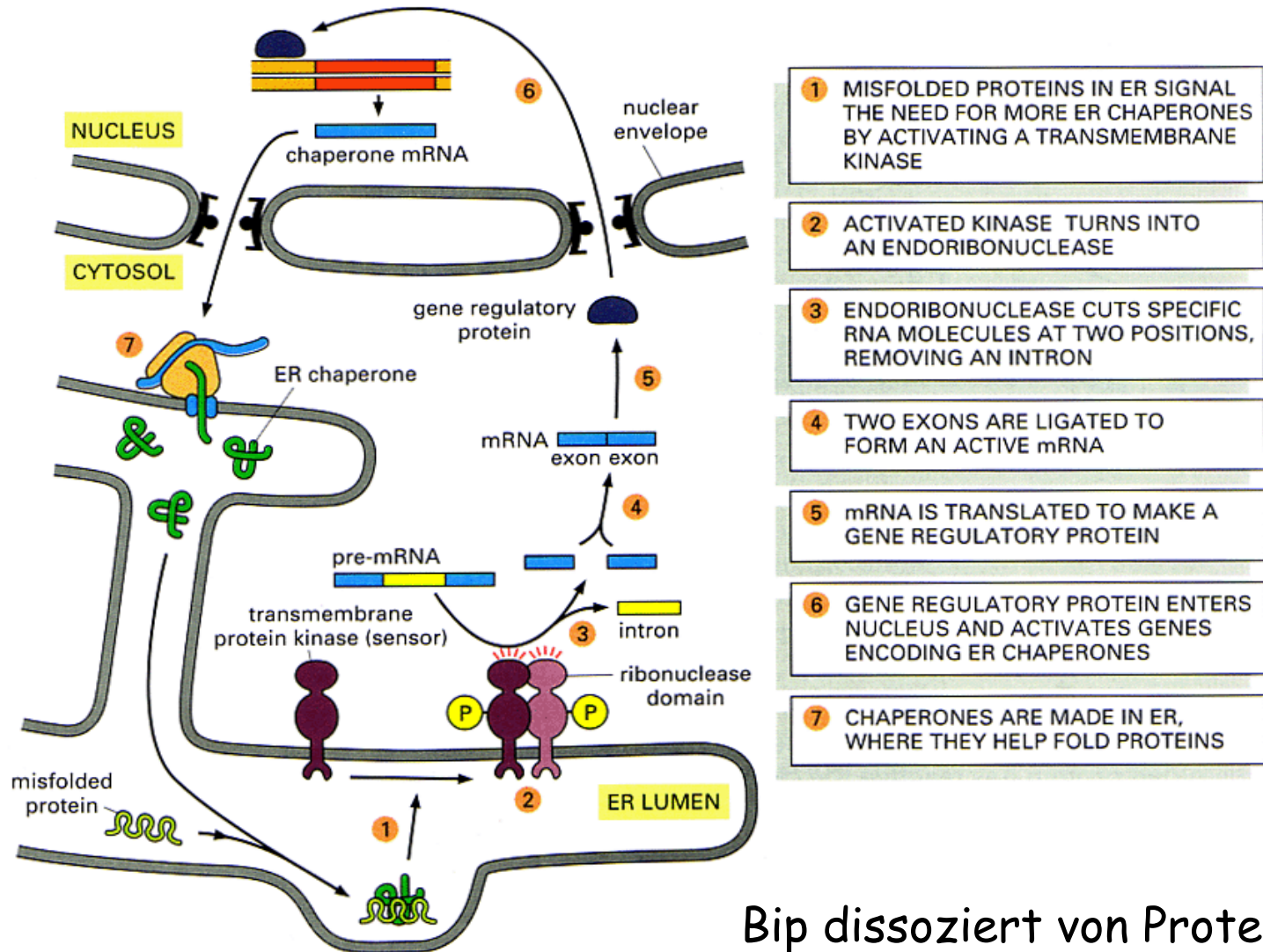
Protein Faltung und Zusammenfügung/Assembly im ER

beteiligt am Abbau der Proteine, die nicht ihre richtige Konformation erreichen

Schlüsselkomponente im Unfolded Protein Response



# Qualitätskontrolle: Unfolded Protein Response



Bip dissoziiert von Proteinkinase  
Dann erfolgt Aktivierung.

# Proteinfaltung/reifung

## **PDI (Proteindisulfid Isomerase)**

multifunktionelles Protein des ER, Faltung von Proteinen mit Disulfidbrücken im oxid. Umfeld des ER (Cytoplasma ist reduzierend).

Foldase: Oxidation freier SH Gruppen in Cysteinen um Disulfidbrücken auszubilden

Interaktion mit anderen ER residenten Chaperones und Foldasen

## **PPIase (Peptidyl prolyl cis/trans isomerase)**

PPIasen katalysieren die Isomersierung von trans zu cis Peptidbindungen auf der N-terminalen Seite der Prolinreste.

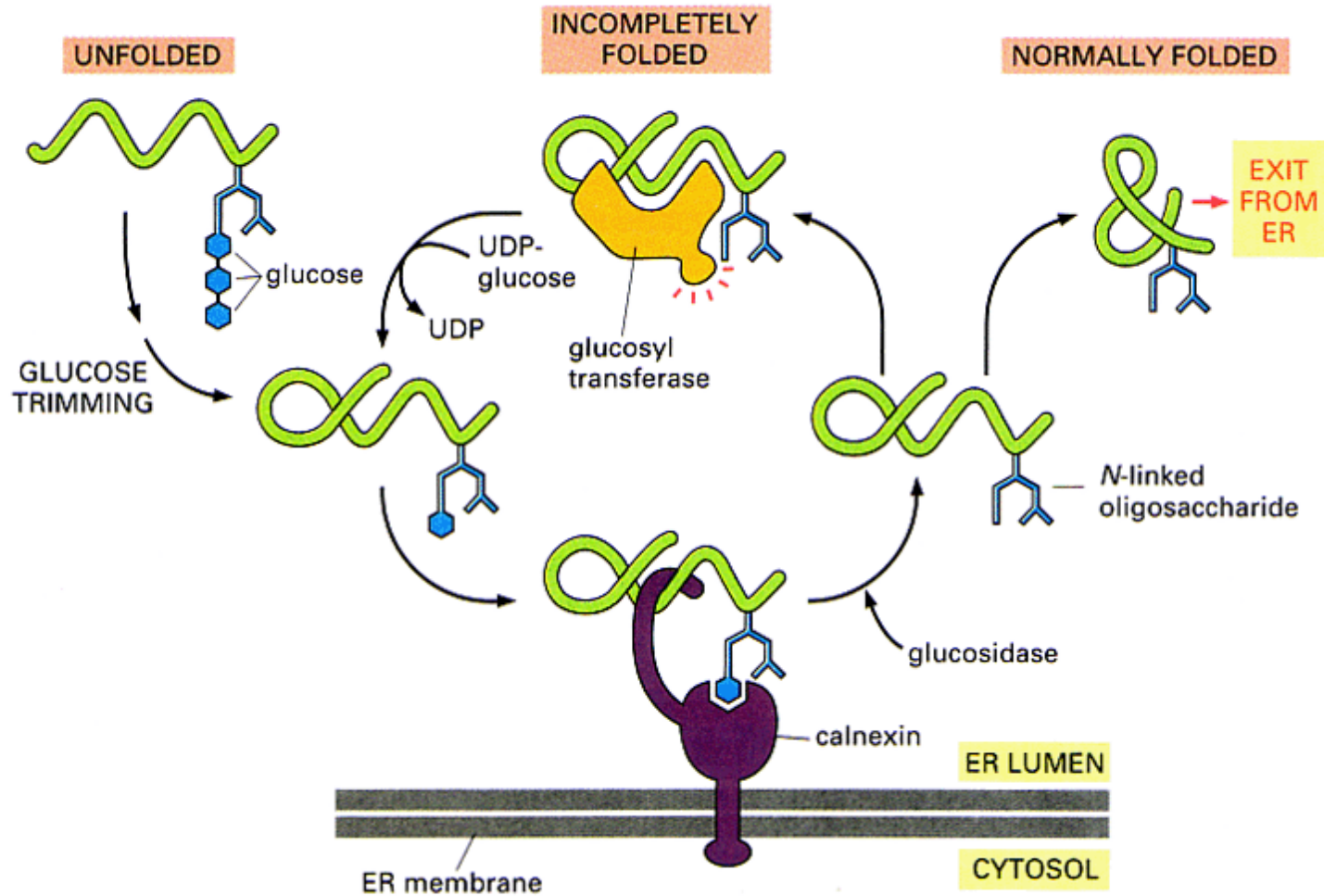
Beschleunigen Proteinfaltung *in vitro*; interagieren mit anderen Foldasen, Chaperones

Entdeckt durch ihre Eigenschaft Immundepressiva zu binden:

Cyclophiline: binden Cyclosporin A

FK bindende Proteine (FKBP): binden FK506.

# Qualitätskontrolle über Calnexin Cyclus



# Proteinfaltung/reifung

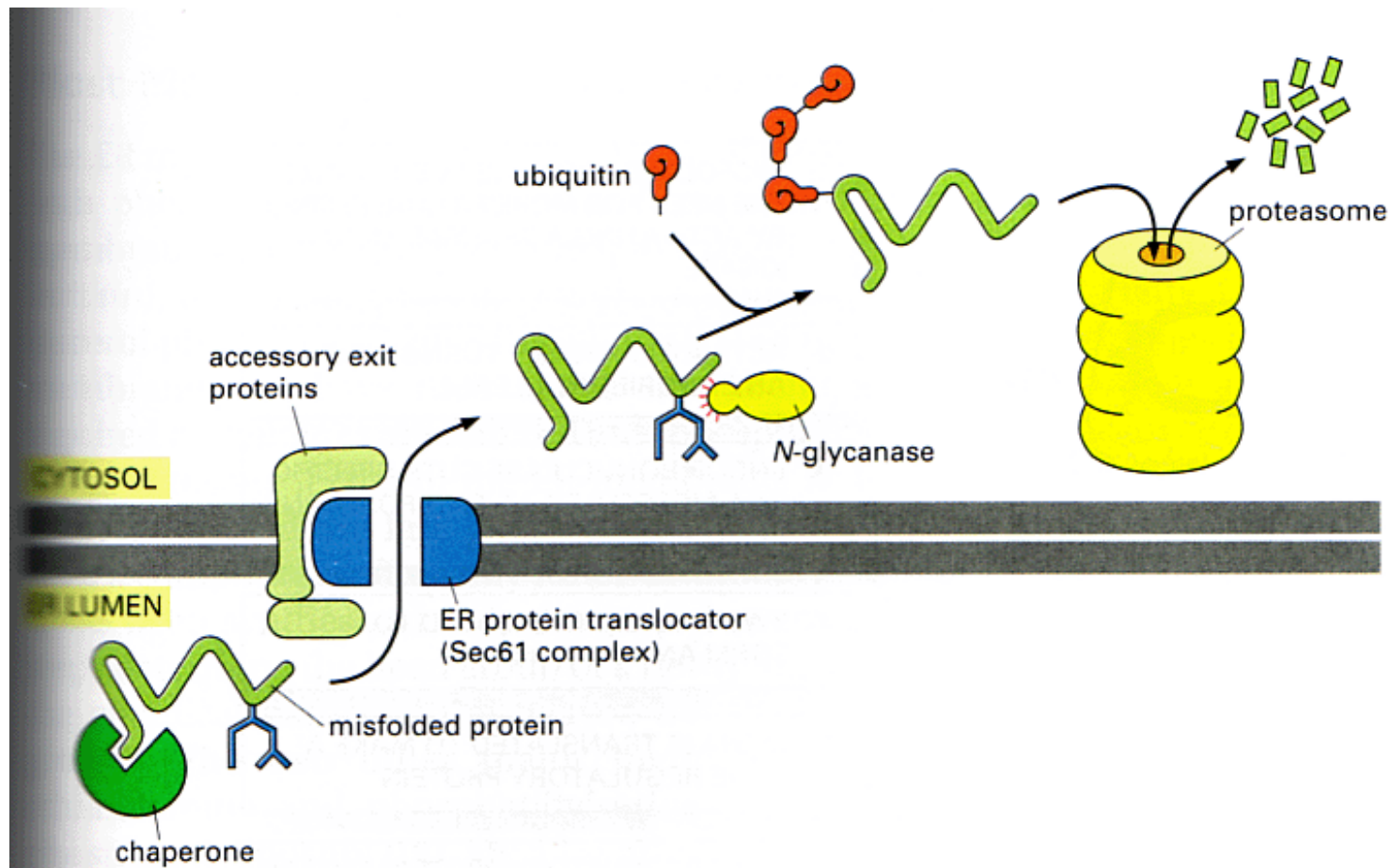
## Calnexin und Calreticulin

- Calnexin ist ER membrangebunden, lektinähnliches Chaperon.
- Calreticulin: lösliche Homolog von Calnexin, in Säugtierzellen vorhanden, nicht in Hefe
- $\text{Ca}^{2+}$  essentiell für Aktivität
- Interagieren mit partiell getrimmten monoglucosylierten Core der Oligossaccharide an ungefalteten Proteinen
- Zurückhaltung der Proteine im ER
- Essentieller Teil des Reifungsprozesses und der Qualitätskontrollmechanismen der Glykoproteine.



# ERAD System

Abbau durch das Ubiquitin/Proteasom-System erfordert die retrograde Translokation der falsch gefalteten Proteine aus dem ER in das Cytoplasma. Chaperon Bip (Kar2) daran wieder beteiligt.

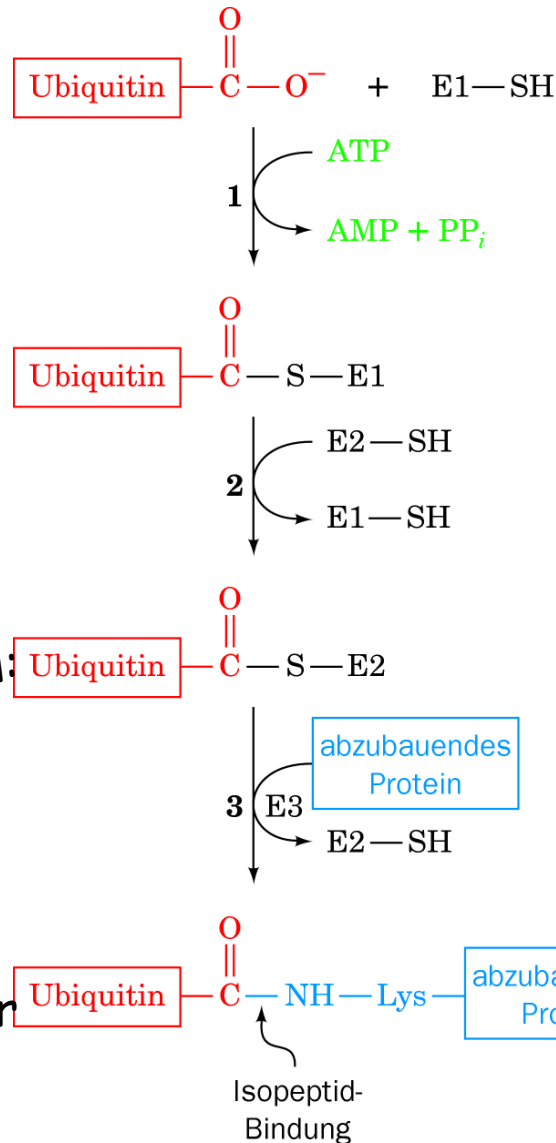


# Ubiquitin markiert Proteine für Abbau

Ubiquitin: 76 aa  
Eukaryonten.  
Hoch konserviert.  
E1: meist nur 1 Protein  
E2 und E3 sind 2  
grosse Proteinfamilien

Für Abbau durch Proteasom:  
Polyubiquitinketten  
Bis 50 (5 Minimum) über  
Lys48 am-C-Terminus  
des Ubiquitin

Auch noch andere Arten der  
Ubiquitinierung  
(Reg. Transkription  
u. Signaltransduktion)



E1 ubiquitinaktivierendes  
Enzym  
Aktivierung durch  
Anheftung an Cystein  
(Thioester)

E2 ubiquitinkonjugierendes  
Enzym  
Übertragung auf  
E2 Enzym (Cys, Thioester).

E3 Ubiquitin-Protein Ligase  
Aktiv. Ubiquitin  
auf  
Lysin des Zielproteins und  
C-terminale  
Glycin des Ubiquitins.

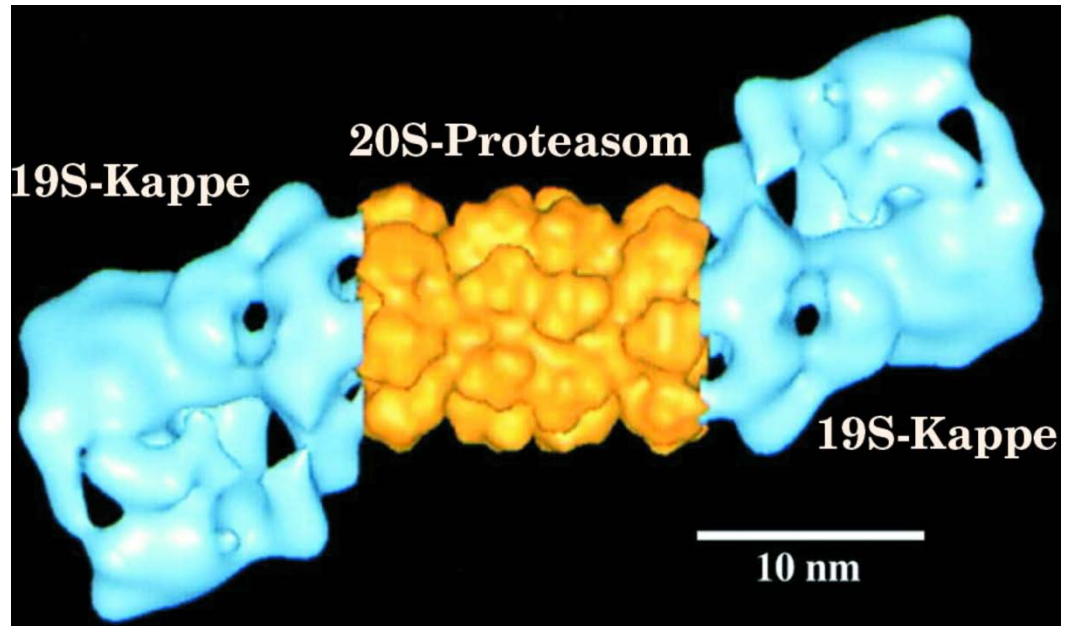


# Proteasom

Das Proteasom ist ein Proteinkomplex der im Cytoplasma und im Zellkern Proteine abbaut.

26S-Proteasom in Eukaryoten besteht aus einer 20S- und zwei 19S-Untereinheiten/Kappen.

Aktiven Zentren liegen innerhalb.



© 2010 Wiley-VCH, Weinheim  
Voet - Lehrbuch der Biochemie  
ISBN: 978-3-527-32667-9 Fig-21-03

# Die N-terminale AA bestimmt die Halbwertszeit eines Proteins

table 27–10

## Relationship between Protein Half-Life and Amino-Terminal Amino Acid Residue

Amino-terminal residue	Half-life*
<b>Stabilizing</b>	
Met, Gly, Ala, Ser, Thr, Val	>20 h
<b>Destabilizing</b>	
Ile, Gln	~30 min
Tyr, Glu	~10 min
Pro	~7 min
Leu, Phe, Asp, Lys	~3 min
Arg	~2 min

**Source:** Modified from Bachmair, A., Finley, D., & Varshavsky, A. (1986) In vivo half-life of a protein is a function of its amino-terminal residue. *Science* **234**, 179–186.

\*Half-lives were measured in yeast for a single protein modified so that in each experiment it had a different amino-terminal residue. (See Chapter 29 for a discussion of techniques used to engineer proteins with altered amino acid sequences.) Half-lives may vary for different proteins and in different organisms, but this general pattern appears to hold for all organisms: amino acids listed here as stabilizing when present at the amino terminus have a stabilizing effect on proteins in all cells.

# Vesikulärer Transport von ER zu Golgi etc

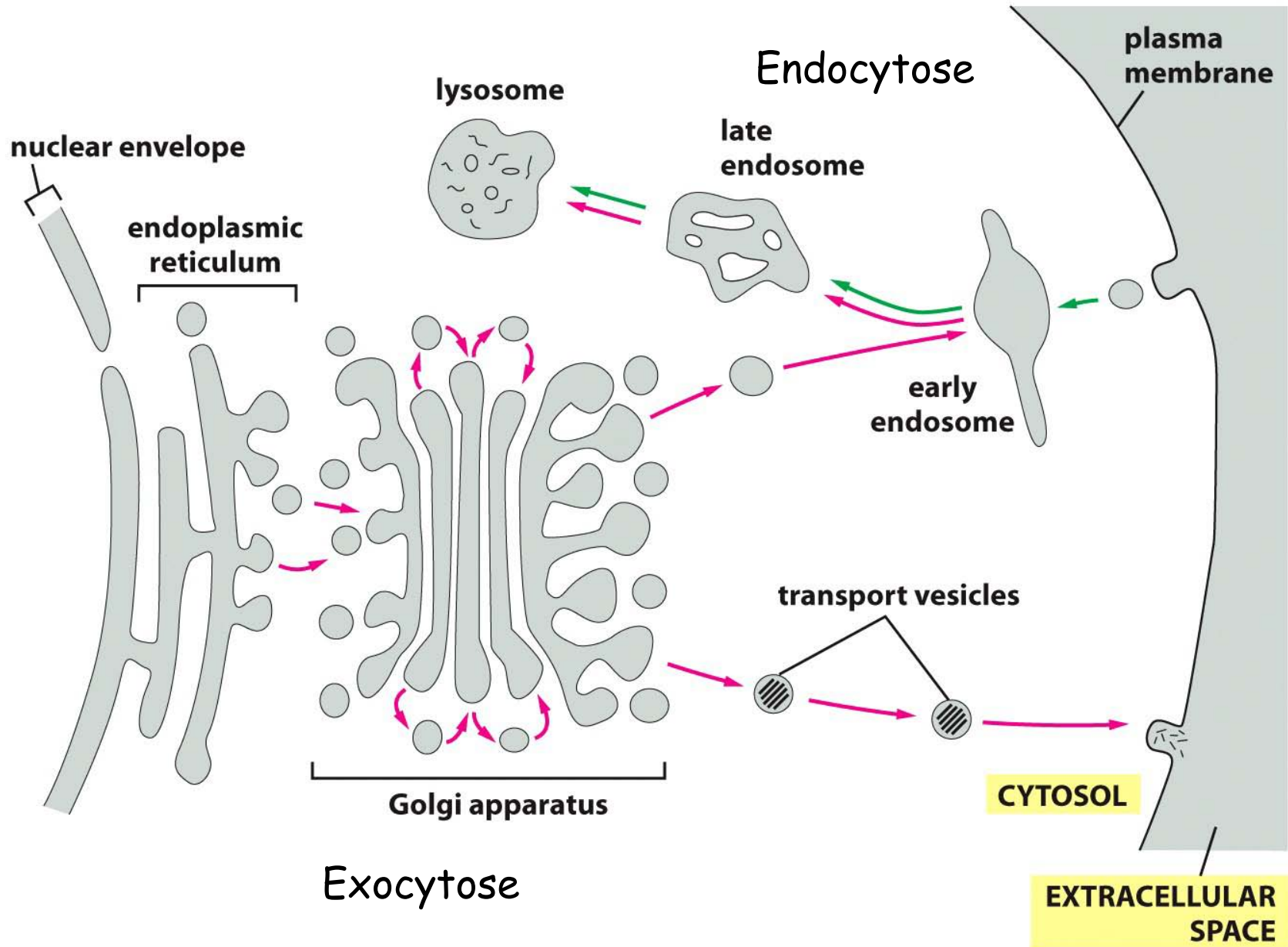


Figure 15-18 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

# Grundschemata des vesikulären Transports

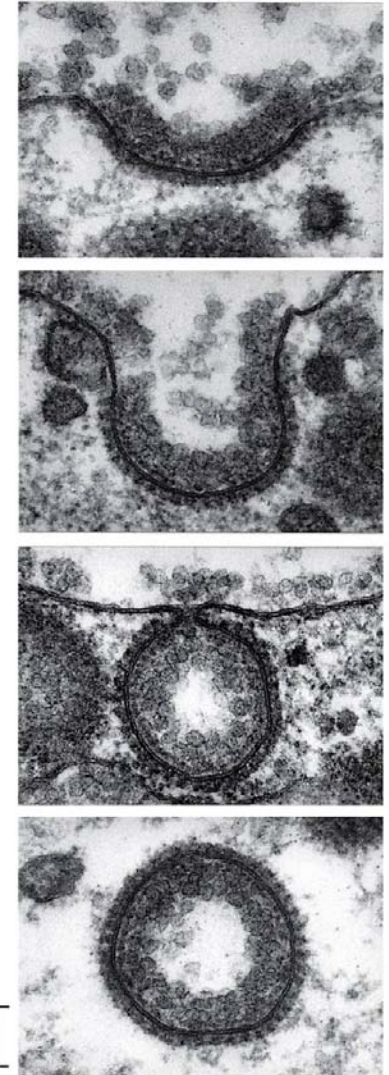
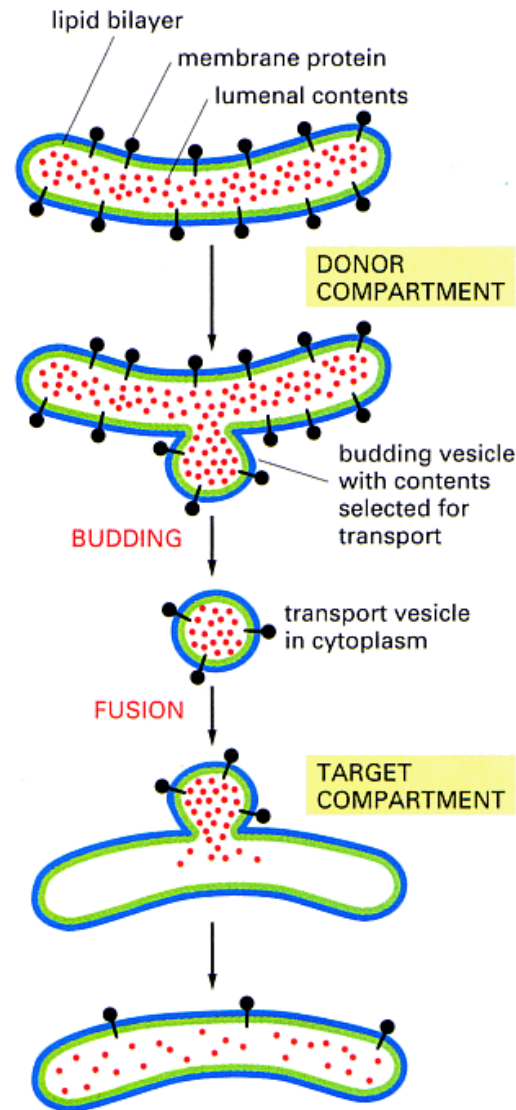
Knospung (Budding)

Zielfindung  
(Targeting)

Andocken (Docking)

Fusion

Es werden lösliche  
Proteine und  
Membransegmente  
transportiert.



# Einige Typen beschichteter Vesikel

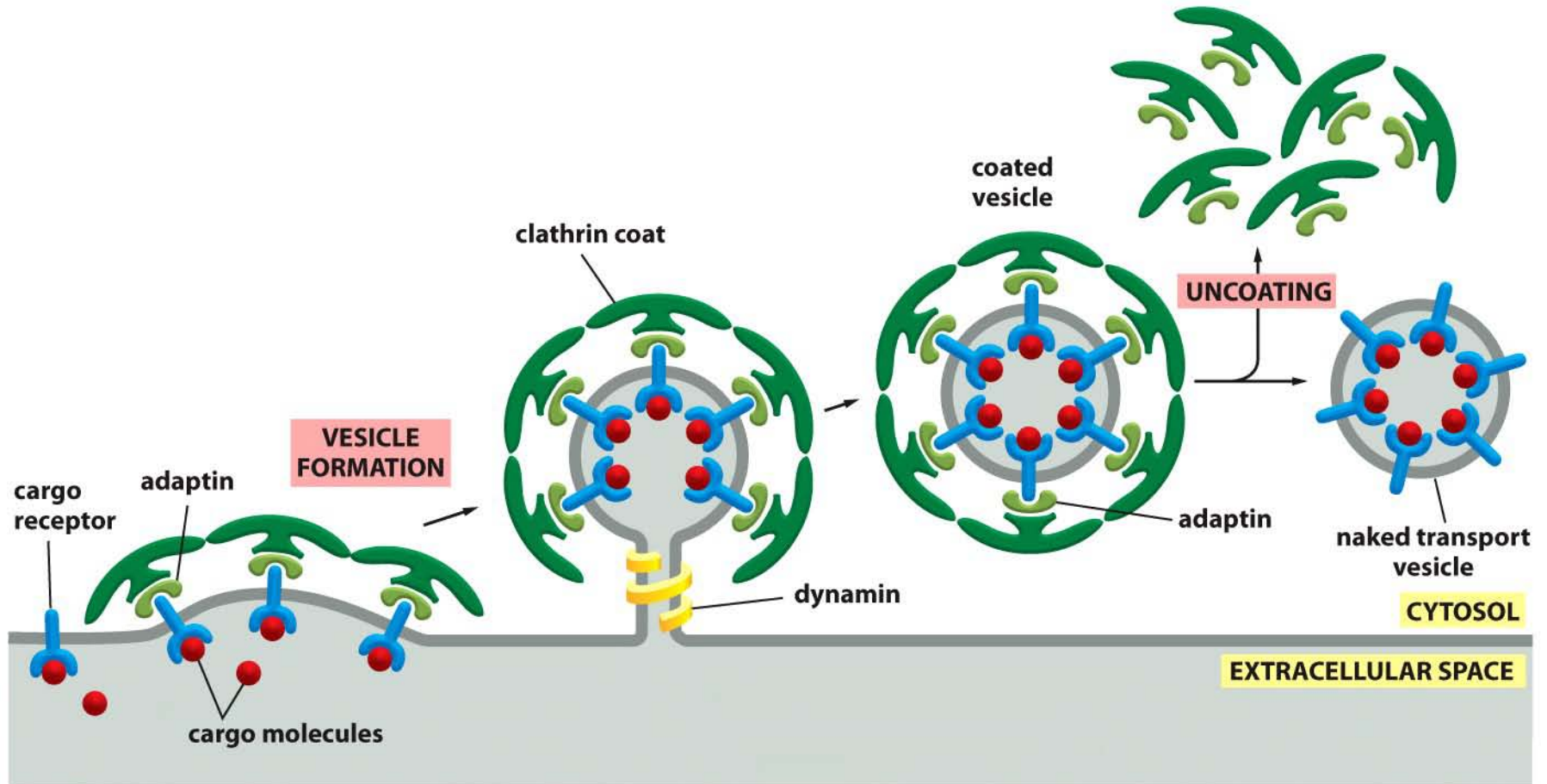
**TABLE 15-4 SOME TYPES OF COATED VESICLES**

<b>TYPE OF COATED VESICLE</b>	<b>COAT PROTEINS</b>	<b>ORIGIN</b>	<b>DESTINATION</b>
<b>Clathrin-coated</b>	<b>clathrin + adaptin 1</b>	<b>Golgi apparatus</b>	<b>lysosome (via endosomes)</b>
<b>Clathrin-coated</b>	<b>clathrin + adaptin 2</b>	<b>plasma membrane</b>	<b>endosomes</b>
<b>COP-coated</b>	<b>COP proteins</b>	<b>ER Golgi cisterna Golgi apparatus</b>	<b>Golgi apparatus Golgi cisterna ER</b>

COP ... coat protein (Hüllprotein)

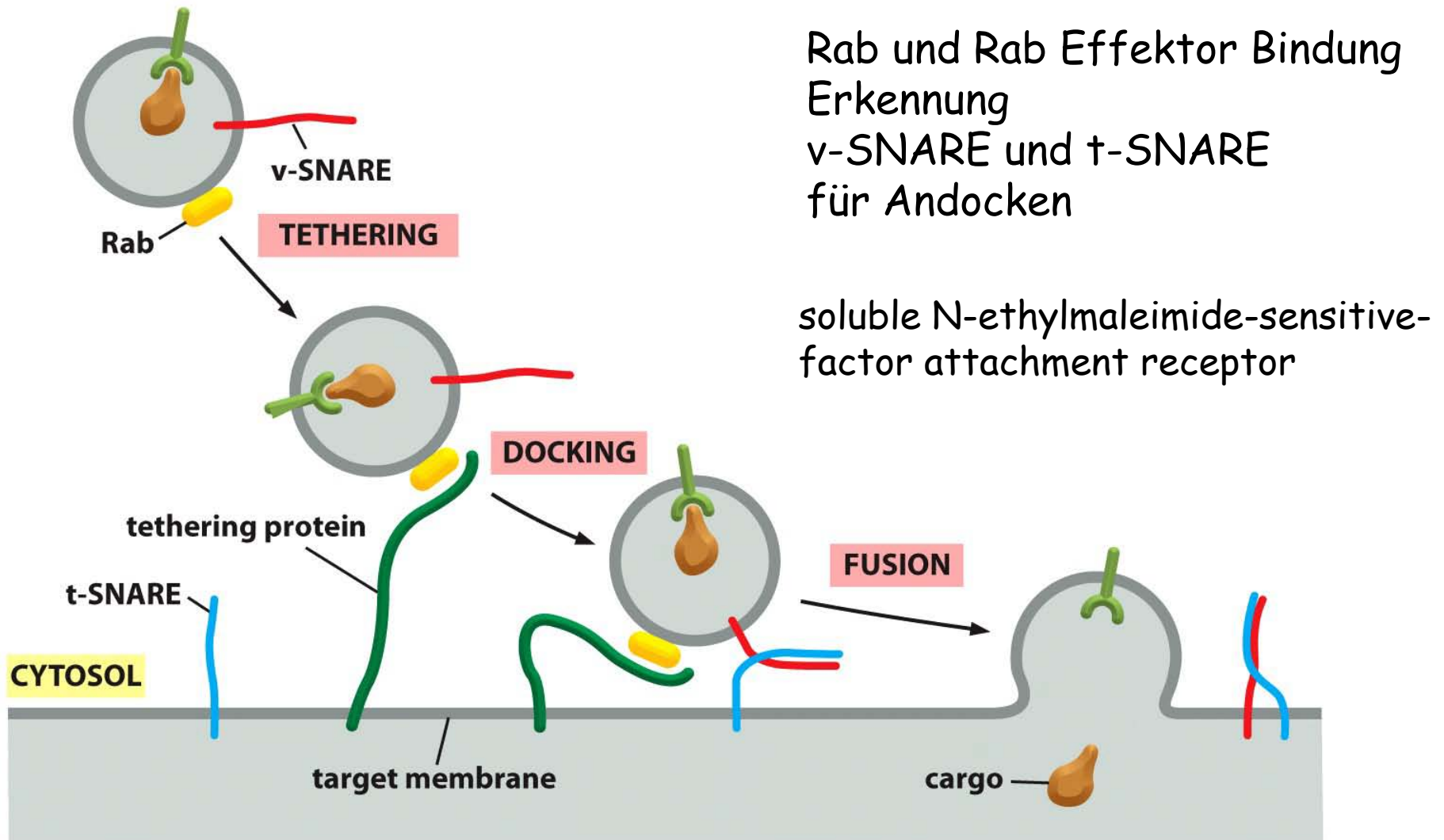


# Bsp Clathrinbeschichtetes Vesikel

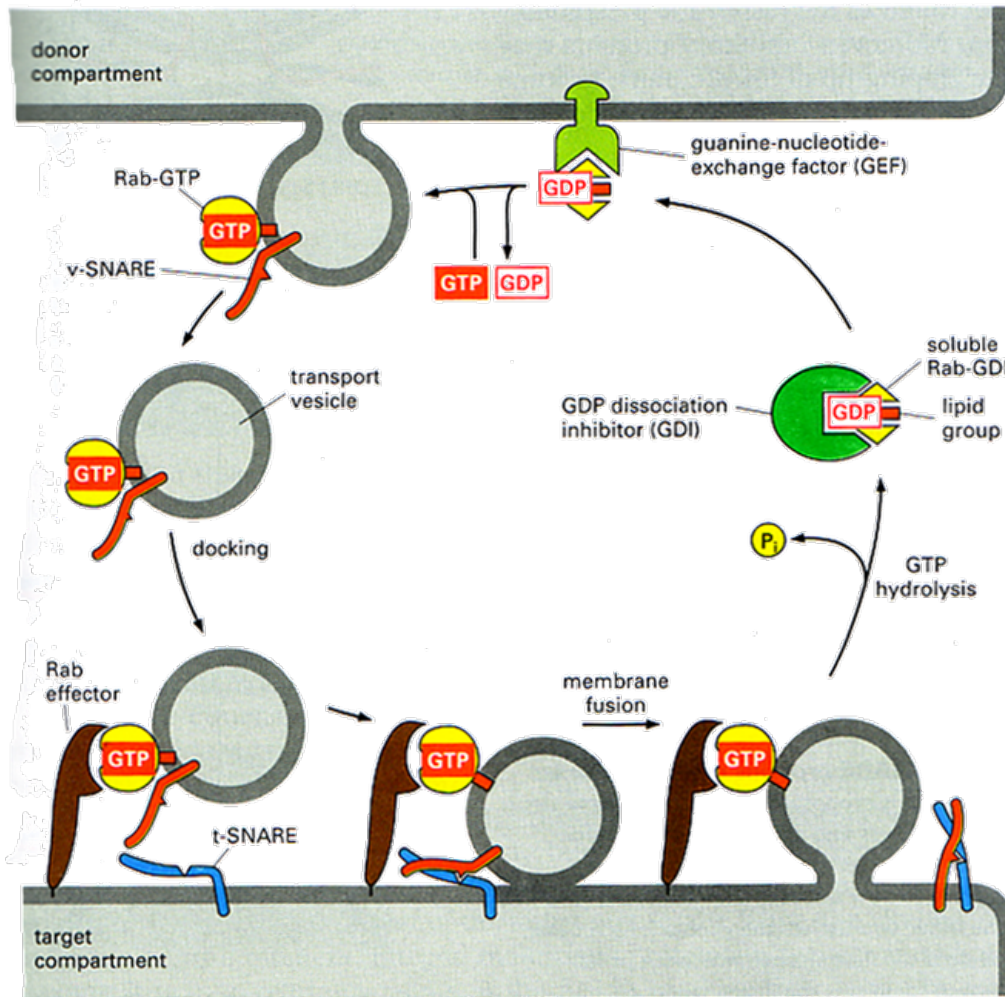




# Rab und SNARE Proteine unterstützen Zielfindung

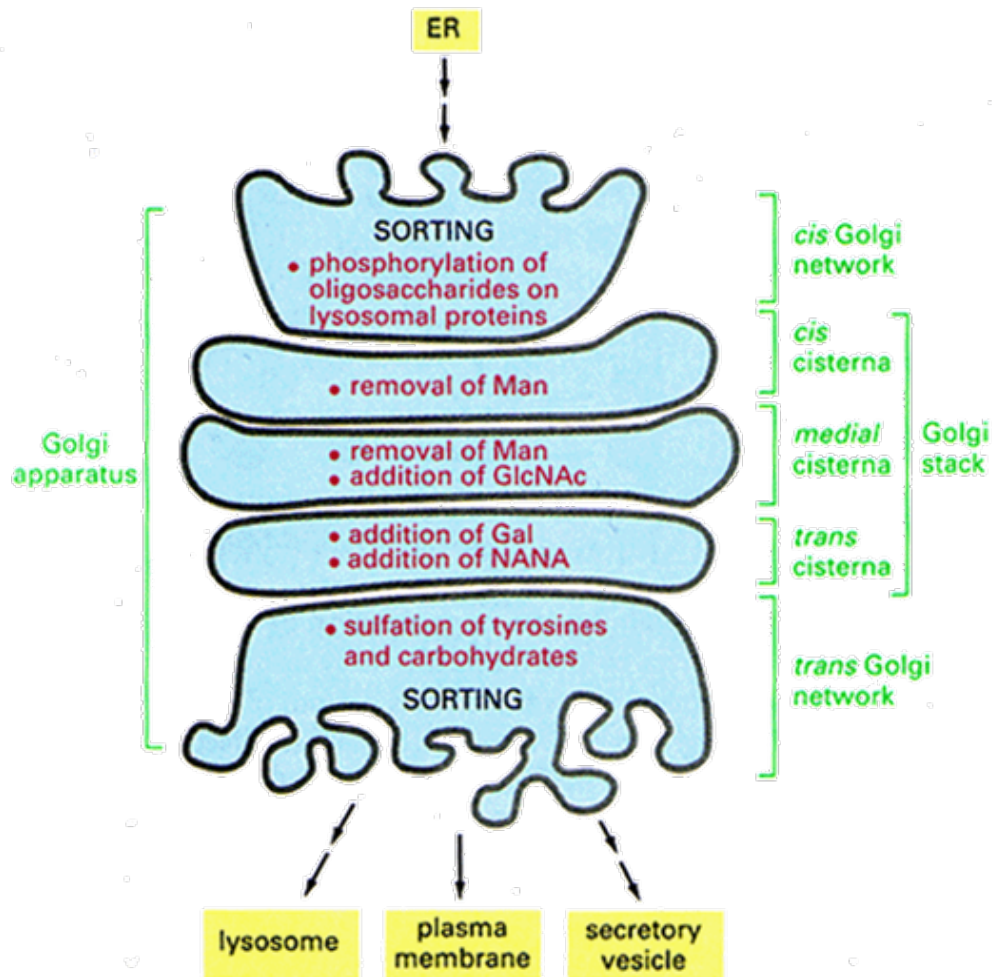


# Rolle der GTPasen, Rab Proteine im vesik. Transport



**Figure 13-14 A** postulated role of Rab proteins in facilitating the docking of transport vesicles. A GEF in the donor membrane recognizes a specific Rab protein and induces it to exchange GDP for GTP. GTP binding alters the conformation of the Rab protein, exposing a covalently attached lipid group, which helps anchor the protein in the membrane. Recall that an analogous mechanism helps to bind the coat-recruitment GTPases to these membranes, although a different GEF is involved (see Figure 13-10). The Rab-GTP remains bound to the surface of the transport vesicle after it pinches off from the donor membrane, and it then binds to varying Rab effector proteins on the target membrane. The Rab protein and its effectors help the vesicle dock and thereby facilitate the pairing of the appropriate v-SNAREs and t-SNAREs. After the vesicle has fused with the target membrane, the Rab protein hydrolyzes its bound GTP, releasing Rab-GDP into the cytosol, from where it can be reused in a new round of transport. As shown, Rab-GDP in the cytosol is bound to a GDP dissociation inhibitor (GDI), which prevents the Rab from releasing its bound GDP until it has interacted with appropriate proteins in the donor membrane. For clarity, we have omitted all of the proteins in the vesicle coats from this figure (see Figure 13-10).

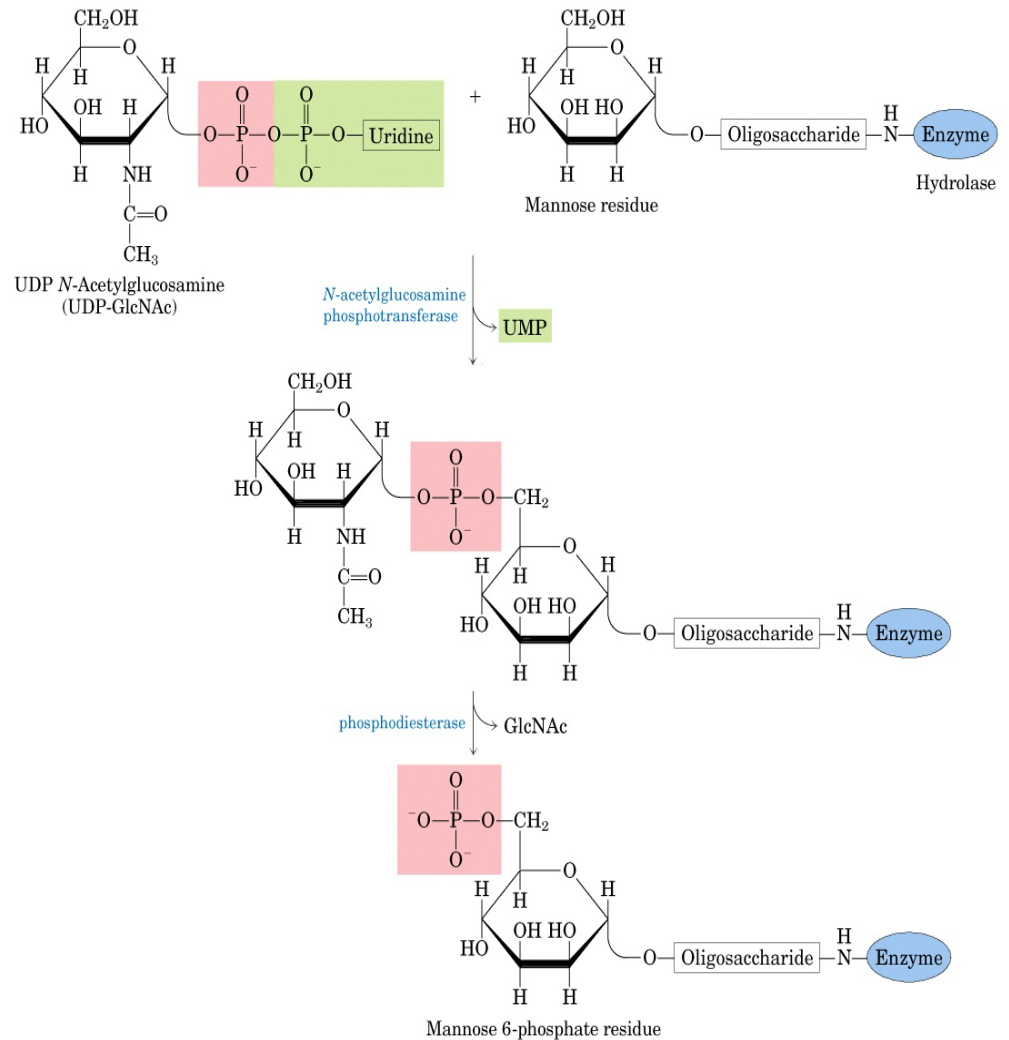
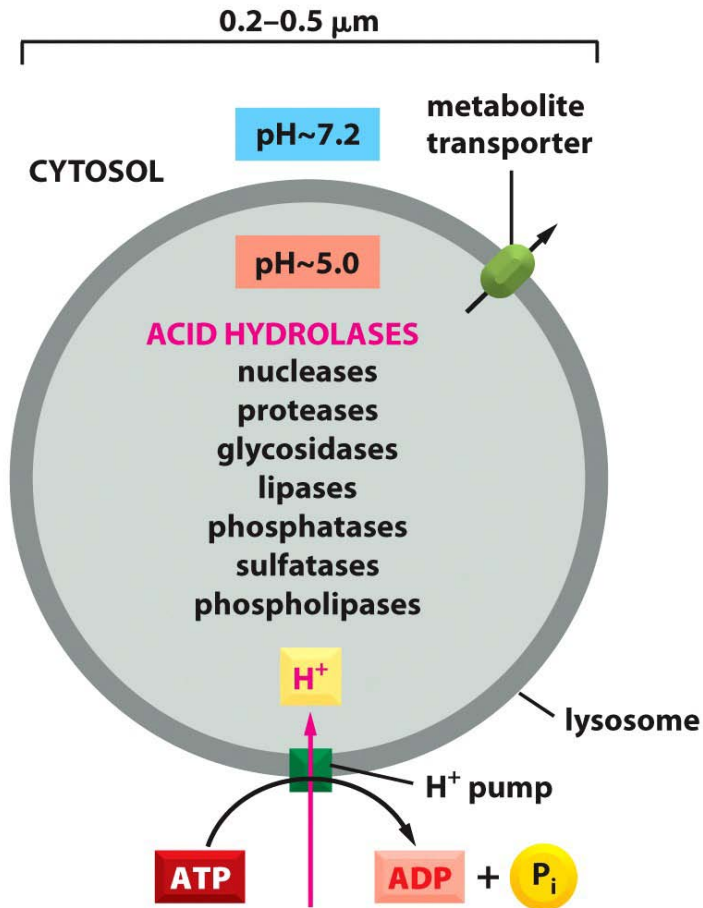
# Funktionelle Kompartimentierung des Golgi



**Figure 13–29 The functional compartmentalization of the Golgi apparatus.** The localization of each processing step shown was determined by a combination of techniques, including biochemical subfractionation of the Golgi apparatus membranes and electron microscopy after staining with antibodies specific for some of the processing enzymes. The locations of many other processing reactions have not been determined. Although only three distinguishable cisternal compartments have so far been demonstrated, each of these sometimes consists of a group of two or more cisternae in sequence. It is likely that each processing enzyme is not completely restricted to a particular cisterna but that its distribution is graded across the stack—such that early acting enzymes are present mostly in the *cis* Golgi cisternae and later acting enzymes are mostly in the *trans* Golgi cisternae.

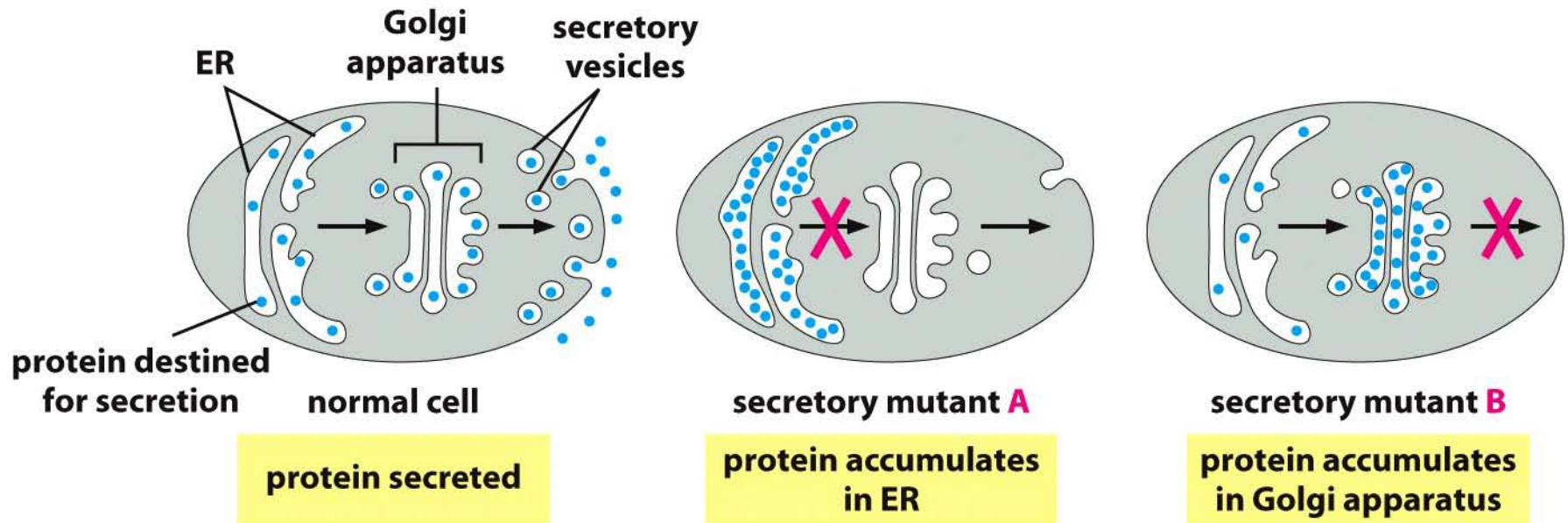


# Lysosom: Zelluläre Verdauungsvorgänge



Phosphorylierung der Mannose für  
lysosomale Enzyme

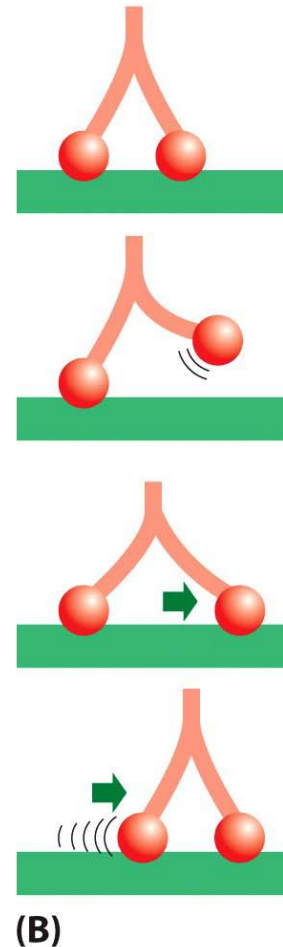
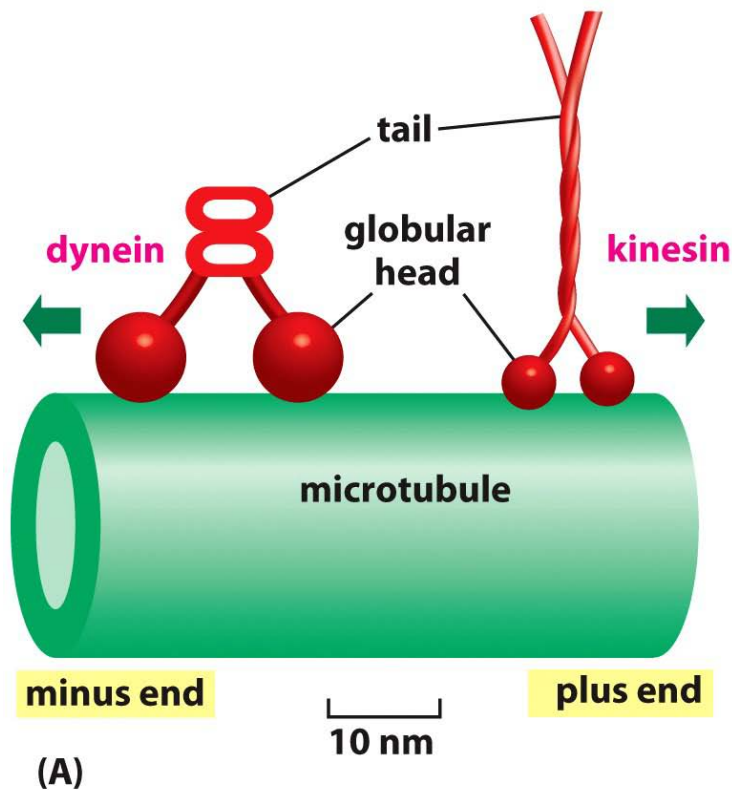
# Temperatursensitive Hefemutanten (*sec*): Sekretionswegaufklärung



Mutation von *S. cerevisiae*. Selektion auf sog. konditionelle Mutanten, da die meisten Mutationen im Sekretionsweg lethal sind. Herstellung von temperatursensitiven Hefemutanten, die bei der restriktiven Temperatur nicht wachsen und den Sekretionsweg blockieren.

Bei permissiven Temp. können sie wachsen und der Sekretionsweg ist aktiv. Blockade führt zu unterschiedlichen Dichte der Zelle: Isolierung der Mutanten über Zentrifugation. Klonierung der Gene: meisten *ts sec* Gene sind rezessiv, daher Klonierung durch Komplementation in Hefe mit einer Plasmidgenbank. Komplementierte *ts* Stämme können wieder bei restriktiven Temperatur wachsen.

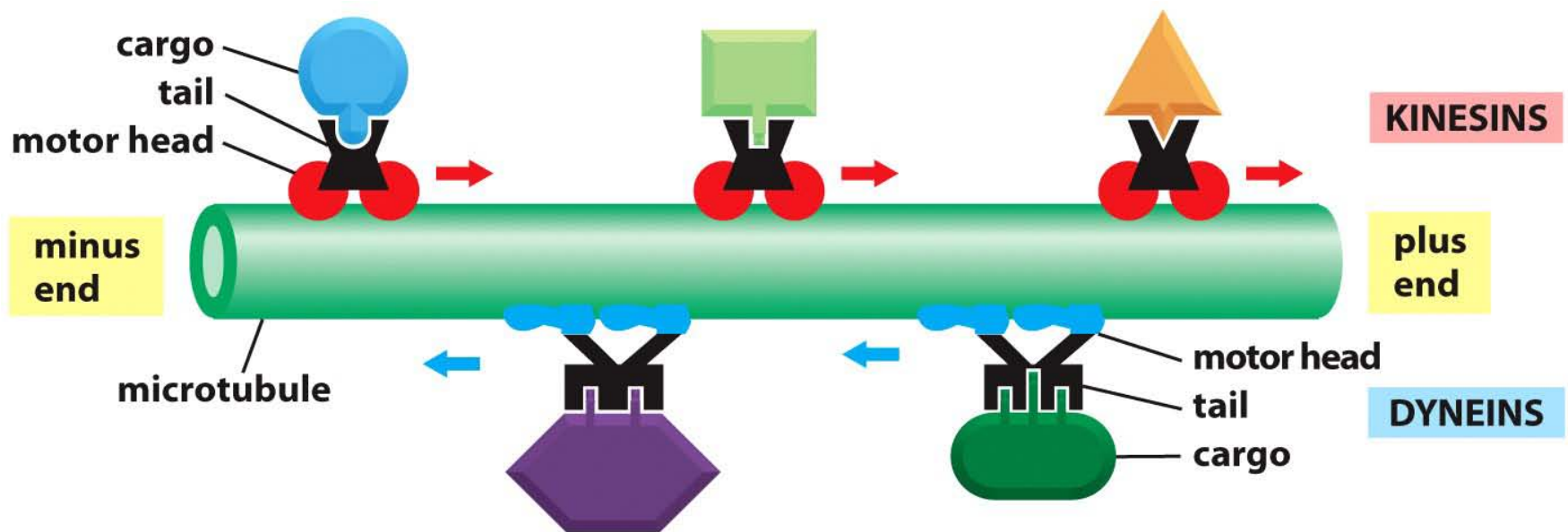
# Intrazellulärer Transport: Molekulare Motoren



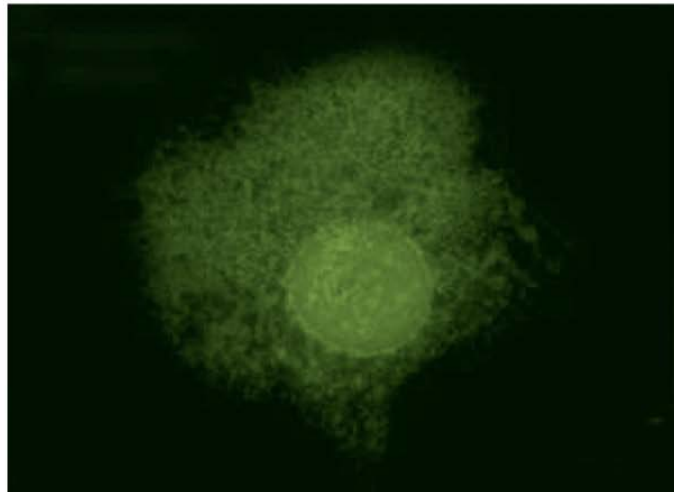
auch für  
Vesikel.  
Binden an  
Microtubuli  
des Zyto-  
skeletts.  
Bewegung  
durch ATP  
Verbrauch  
Führt zu  
Konformations-  
änderung



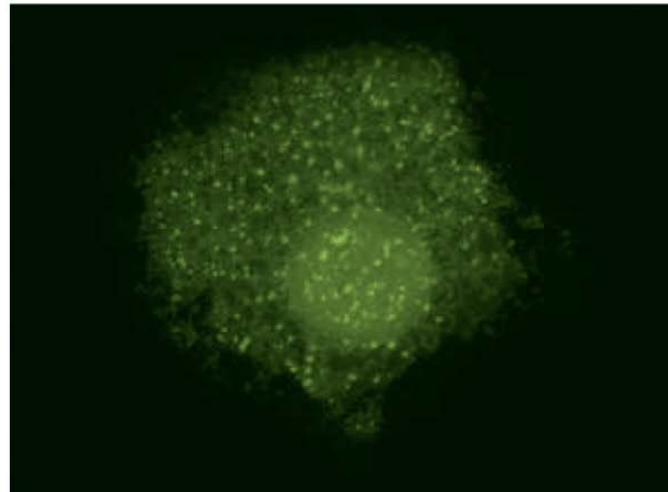
# Intrazellulärer Transport: Molekulare Motoren



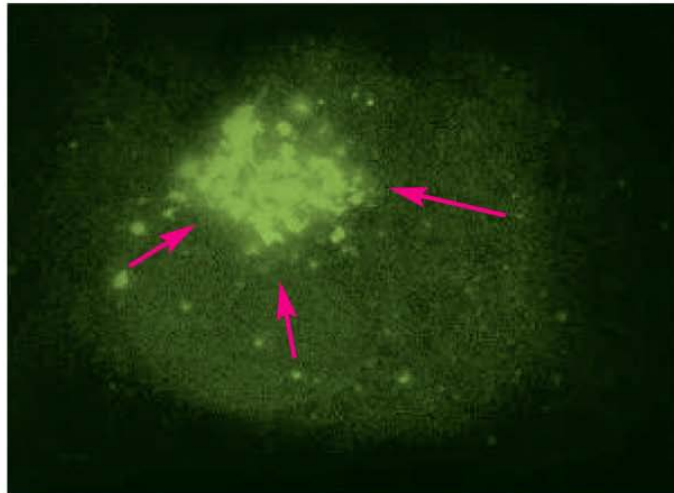
# Visualisierung sekretorischer Vorgänge: GFP Protein



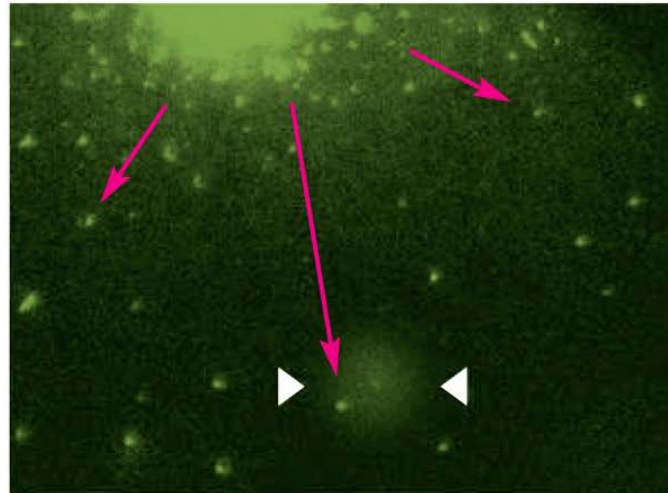
(A)



(B)



(C)



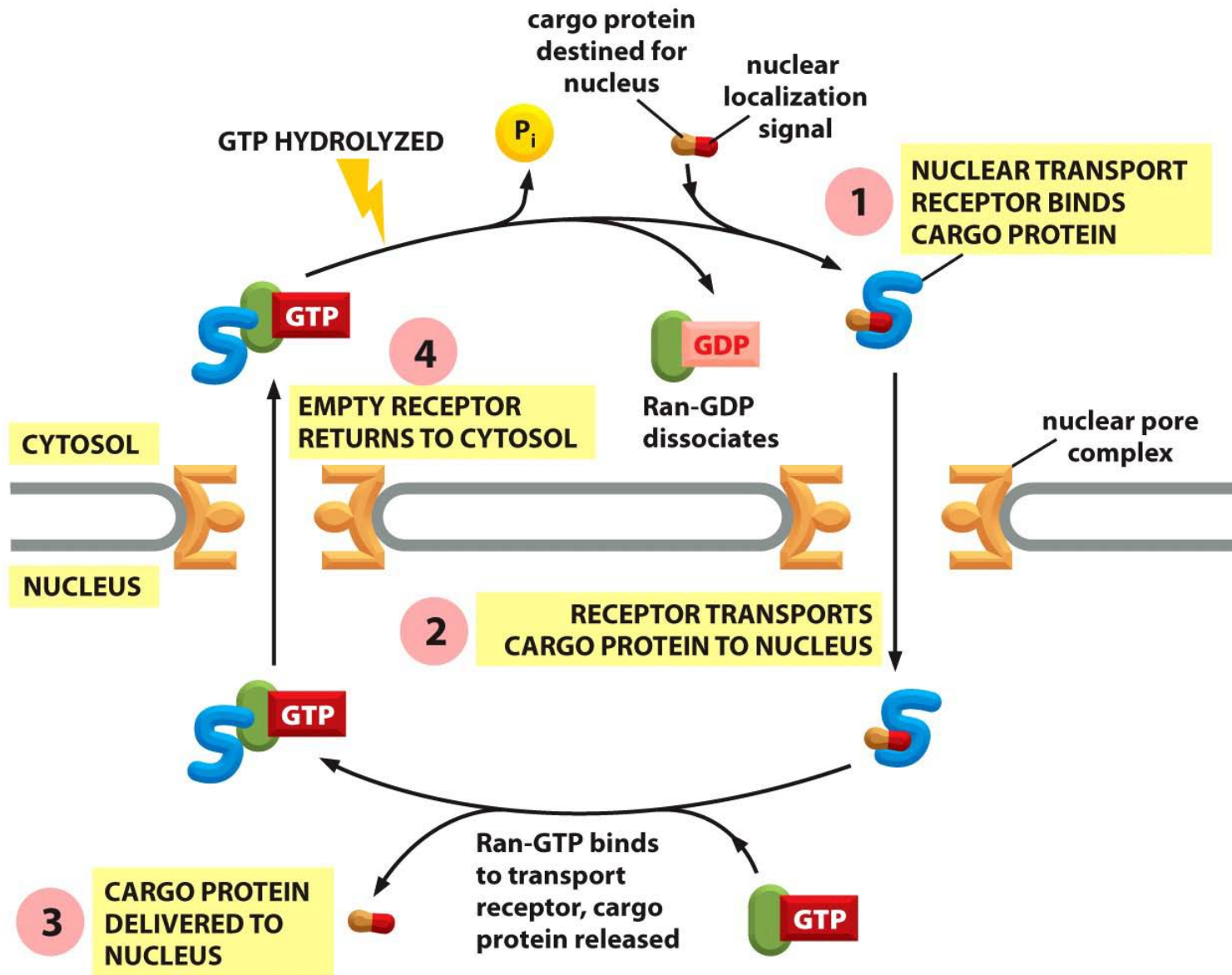
(D)

GFP-Protein  
Fusionen

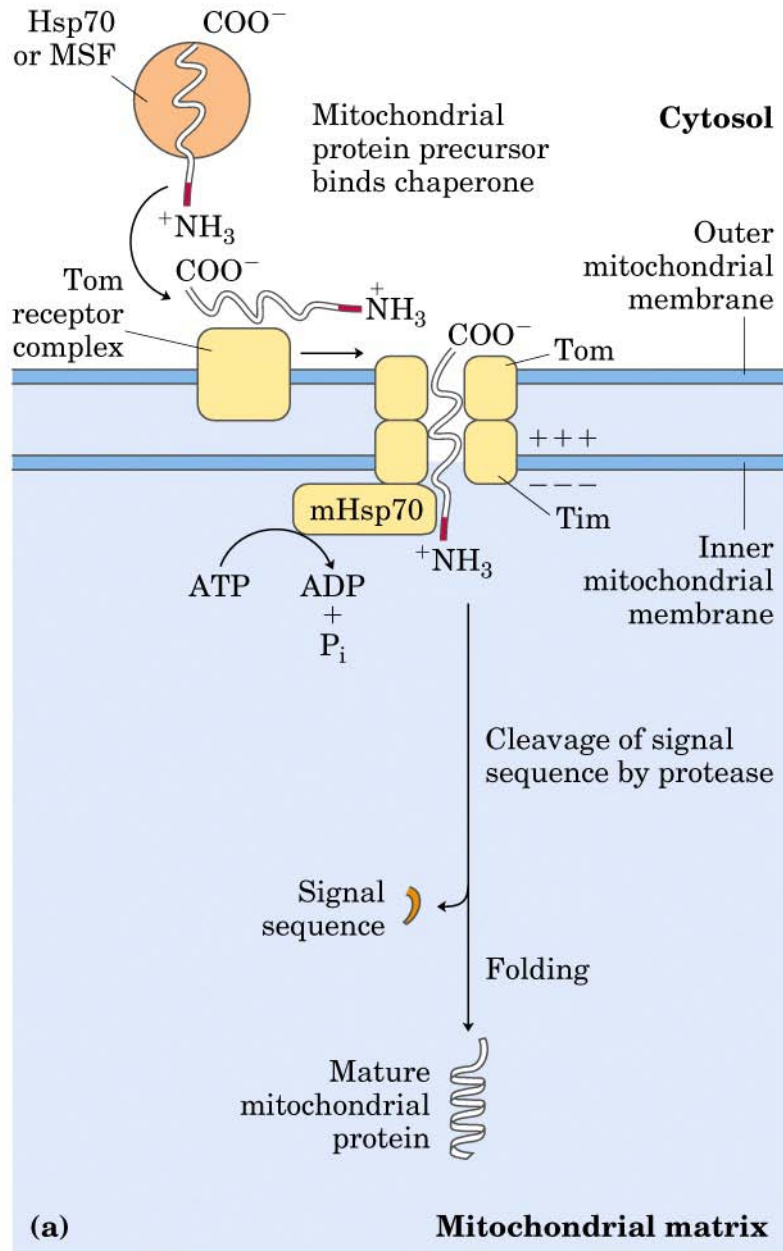
A im ER  
B Ausgang ER  
C Golgi  
D Plasma-  
Membran

GFP mit UV  
angeregt,  
emittiert  
grünes Licht  
bei 509 nm.

# Proteintransport durch Kernporen



# Proteintargeting zu Mitochondrien



Mitochondrien sind von einer inneren und äußeren Membran umgeben.

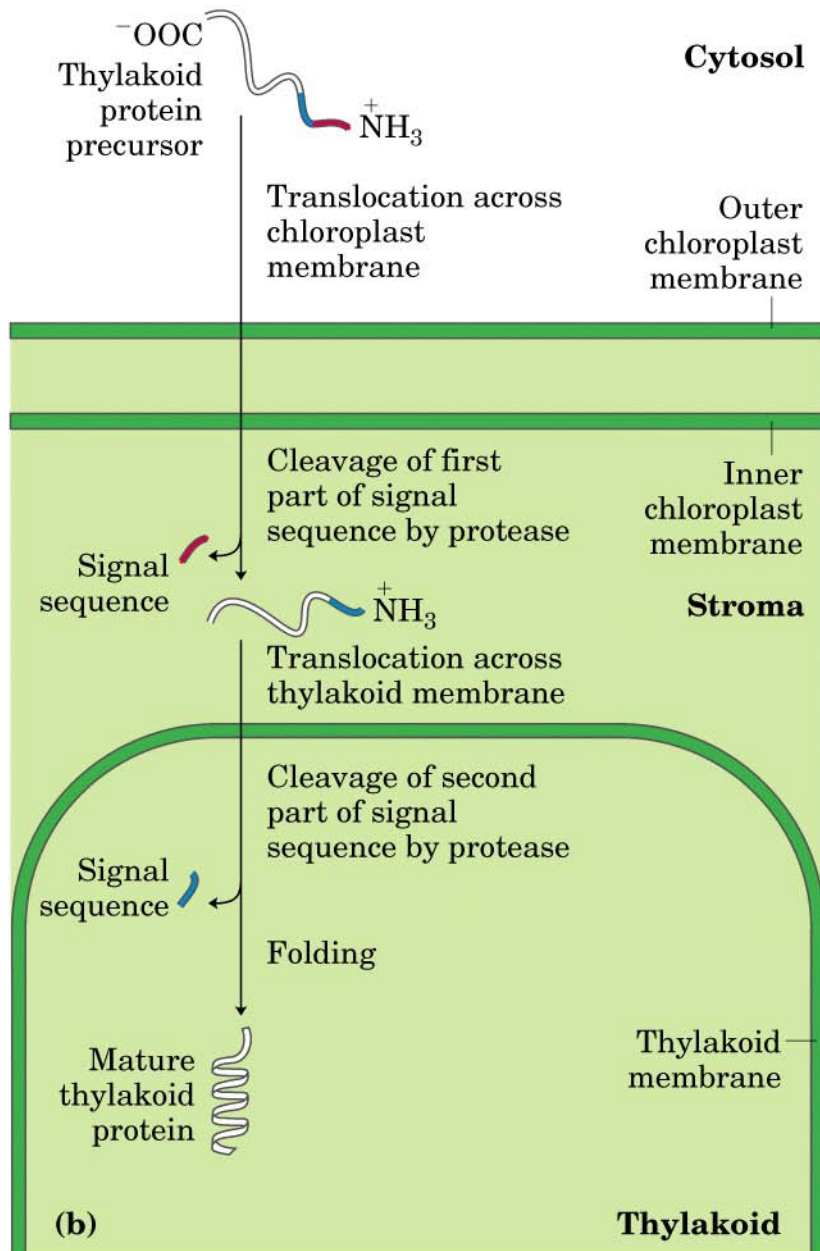
Eigenes Genom aber meisten Proteine werden im Zellkern kodiert.

Proteine tragen Signalsequenzen und werden im ungefalteten Zustand transportiert

translocase outer membrane (TOM) complex  
translocase inner membrane (TIM) complex

MSF: mitochondrial import stimulation factor

# Proteintargeting zu Chloroplasten



Proteinkomplexe  
TOC (Translocase of the outer chloroplast membrane)  
TIC (Translocase of the inner chloroplast membrane).