

kinetika encimske pretvorbe

pretvorba encimov sledi kinetiki prvega reda $v = k[E]$

sinteza encimov sledi kinetiki nultega reda

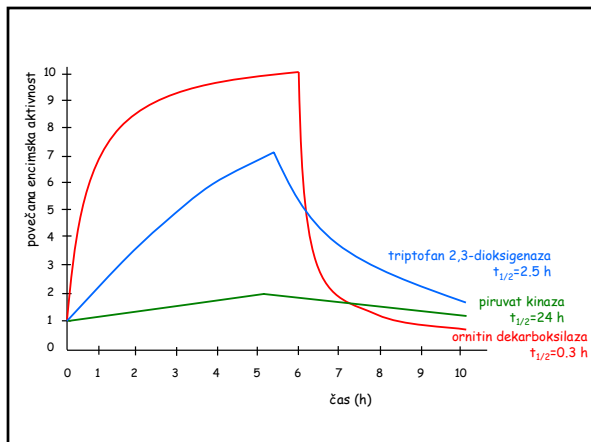
v ravnotežju

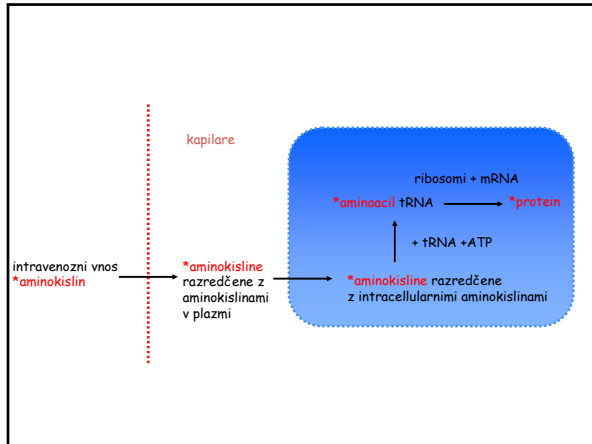
$$\frac{dE}{dt} = k_s - k_d[E] \quad \frac{dE}{dt} = 0 \quad k_s = k_d[E]$$

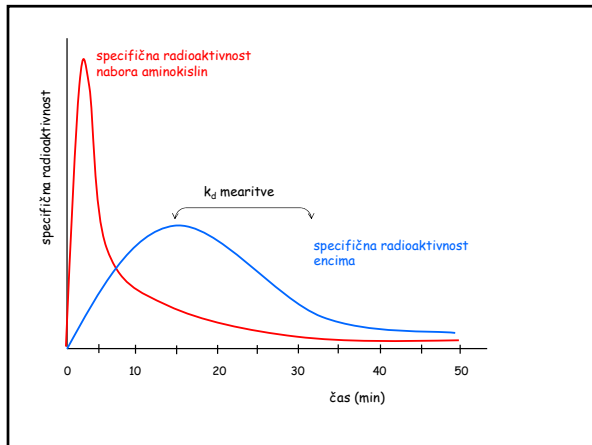
$$\frac{[E_t]}{[E_0]} = \frac{k_s}{k_d[E_0]} - \left(\frac{k_s}{k_d[E_0]} - 1 \right) e^{-k_d t}$$

razpolovni čas

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d} = \frac{0.69}{k_d}$$







	encim	Razpolovni čas (h)
razpolovni čas encimov v jetrih podgan	ornitin-dekarboksilaza	0,3
	5-aminolevulinat sintaza	1,2
	RNA-polimeraza I	1,3
	tirozin -aminotransferaza	1,5
	triptofan 2,3-dioksigenaza	2,0
	timidin-kinaza	2,6
	hidroksimetilglutaril-CoA reduktaza	4,0
	serin dehidrataza	5,2
	fosfoenolpiruvat-karboksikinaza	8,0
	RNA-polimeraza II	13,0
	glukoza-6-fosfat-dehidrogenaza	24
	glukokinaza	30
	katalaza	33
	acetil CoA-karboksilaza	50
	gliceraldehid-3-fosfat-dehidrogenaza	74
	piruvat -kinaza	84
arginaza	108	
fruktoza-bifosfat-aldolaza	117	
laktat-dehidrogenaza	144	
6-fosfofruktokinaza	168	

razpolovni čas (v dnevih) encimov v različnih tkivih podgan

encim	jetra	srce	skeletne mišice	ledvice	možgani
piruvat-kinaza	3.5	4.2	21.6	-	-
laktat-dehidrogenaza	1.8-3.8	3.7-9.9	3.0-8.5	3.0-5.0	3.0-7.2
ornitin-aminotransferaza	0.95	-	-	4.0	-
maščobne kisline -sintaza	6.4	-	-	-	2.8

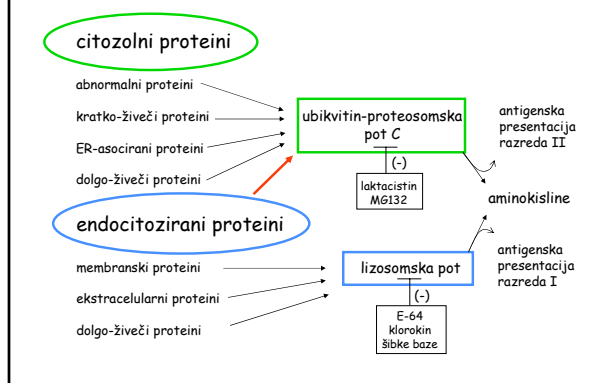
signali za degradacijo

- **PEST elementi**
 - območja bogata z Pro (P), Glu (E), Ser (S), Thr (T)
 - pogosto vsebujejo tudi fosforilacijsko mesto potrebno pri razgradnji
 - začetne stopnje se odvijajo preko protein kinaze, temu pa sledi prepoznavanje E3 ubikvitin ligaze
- **N-zaporedje**
 - proteini s kratko življensko dobo (< 3min) posedujejo najverjetneje Arg, Lys, Phe, Leu ali Trp
 - proteini z dolgo življensko dobo (>30 ur) posedujejo najpogosteje Cys, Ala, Ser, Thr, Gly, Val ali Met
- **D-predel razgradnje** (D=destruction)
 - R-(A/T)-(A)-L-(G)-X(D)-(I/V)-(G/T)-(N) (R in L sta ednina nespremenljiva ak preostanka)
 - prisotni pri ciklinih
- **KFERQ**
 - za vnos v lizosom
- **SSSTDSTP**
 - prisotni pri transkripcijskih faktorjih

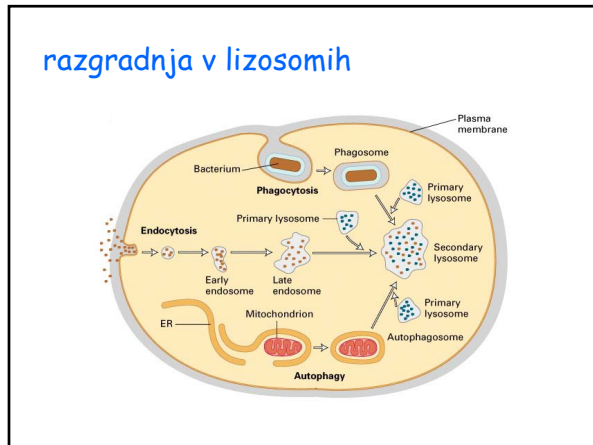
mehanizem proteinske razgradnje

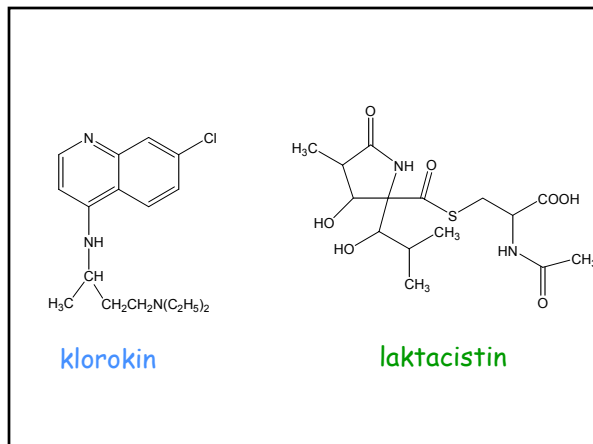
- 1980 Avram Hershko
konjugacija proteinov z ubikvitinom
(selektivna razgradnja)
- 1980 Sherwin Wilk, Robert Orlowski
proteosom (neselektivna razgradnja)

mehanizem proteinske razgradnje



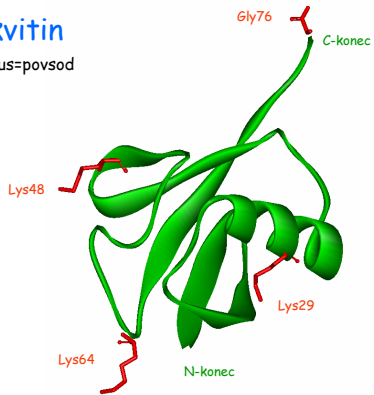
razgradnja v lizosomih



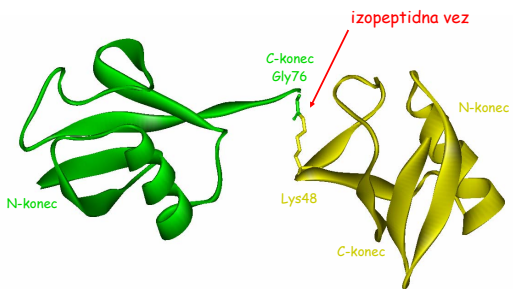


ubikvitin

ubiquitus=povsod



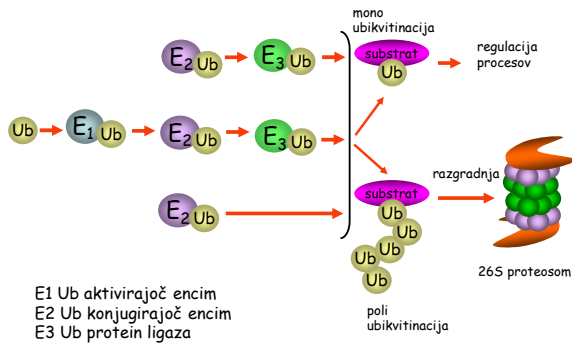
diubikvitin

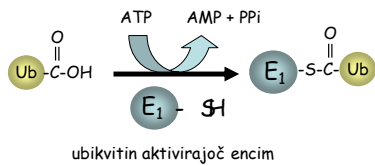


vloga ubikvitina

- kontrola celičnega cikla
- razgradnja onkoproteinov
- apoptoza
- regulacija transkripcije
- odgovor na stres
- vzdrževanje strukture kromatina
- popravljanje DNA
- Ag prezentacija

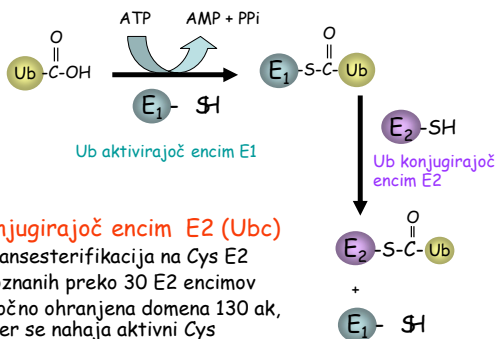
ubikvitin-proteosomska pot





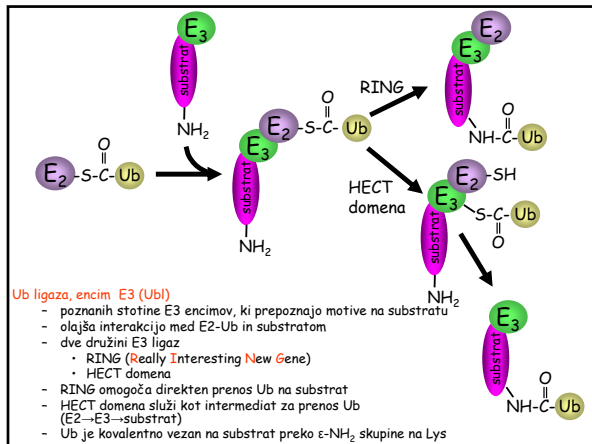
aktivacija ubikvitina z encimom E1 (Uba)

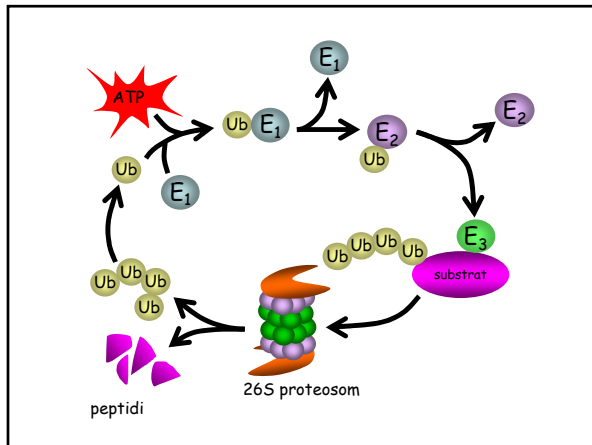
- Ub se aktivira za konjugacijo s tarčnim proteinom
- Gly s C-konca Ub tvori **tioestersko vez** s Cys encima E1
- samo en E1 encim obstoja, ki katalizira aktivacijo Ub

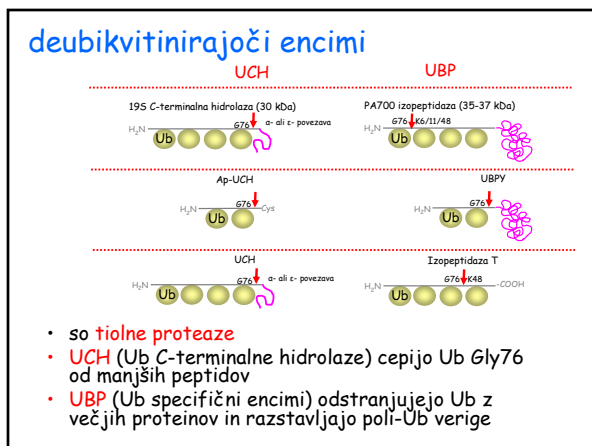


Ub konjugirajoč encim E2 (Ubc)

- transesterifikacija na Cys E2
- poznanih preko 30 E2 encimov
- močno ohranjena domena 130 ak, kjer se nahaja aktivni Cys
- edinstven N- in C-konec, ki izkazujejo specifičnost

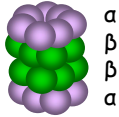






proteosom

- osrednji del je cilindrične oblike (CP)
 - štirje heptamerni obroči
 - zunanja obroča sta neaktivna (α-podenote)
 - notranja obroča sta proteolizno aktivna (β-podenote)



- proteosom arhej
 - ena vrsta α-podenot
 - ena vrsta β-podenot

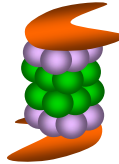
} 20S

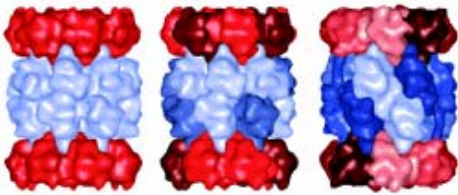
- eukariotski proteosom
 - sedem vrst α-podenot
 - sedem vrst β-podenot
 - regulatorna enota (vsaj 17 podenot)

} 20S

} 19S

} 26S

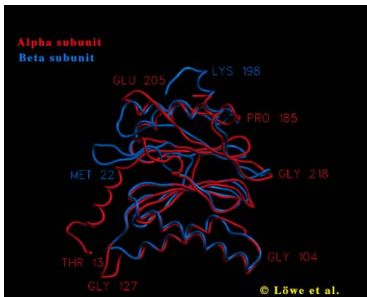


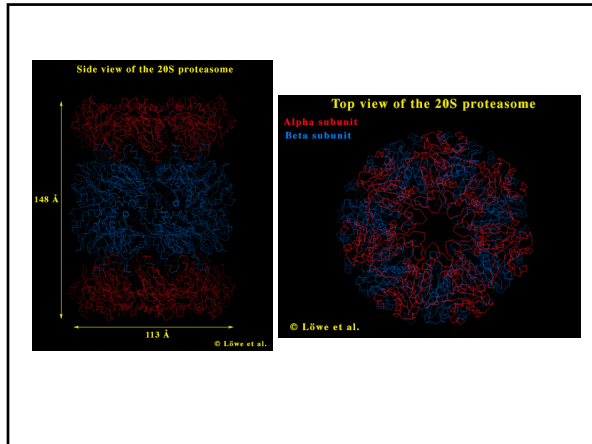


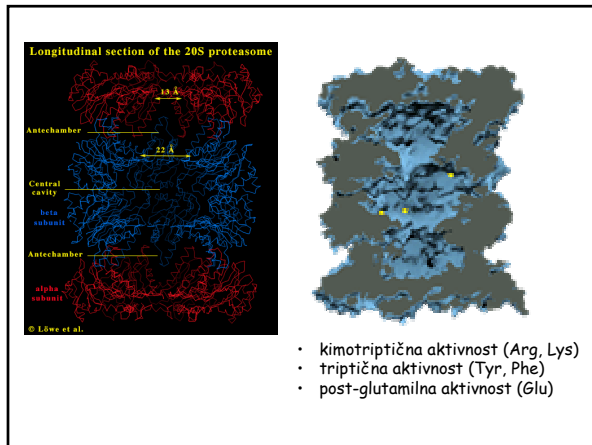
Thermoplasma proteosom

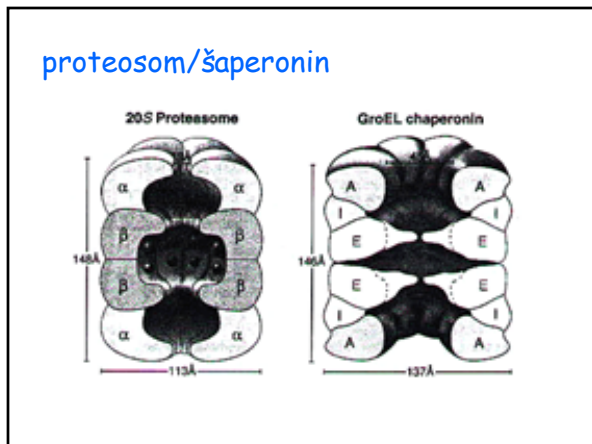
Rhodococcus proteosom

Sacharomyces proteosom

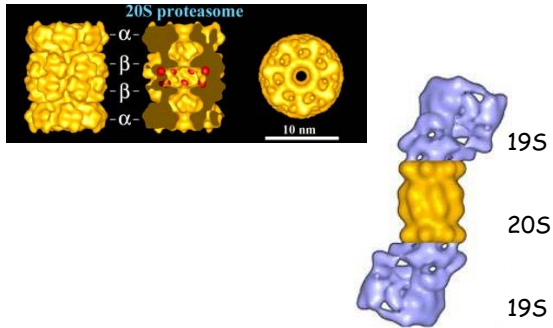




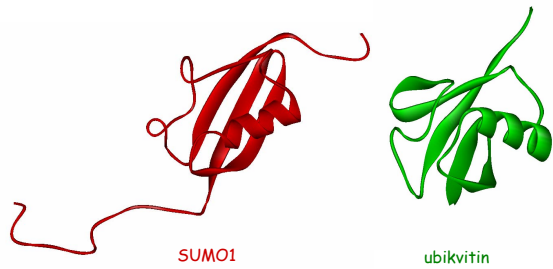




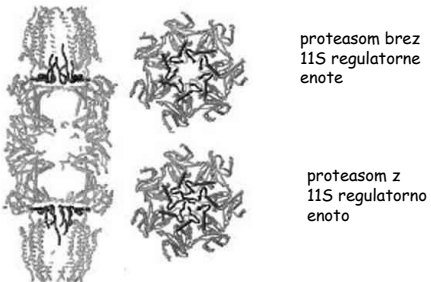
PA700 regulatorna enota



SUMO1

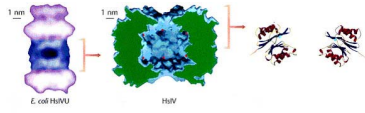


11S regulatorna enota



bakterijski proteasom?

HsIUUV (HsIV + HsIU)



Lon FtsH

ClpAP, ClpXP

