



UNIVERSITA' POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

CORSO DI LAUREA:
SCIENZE BIOLOGICHE

CHAPERONI MOLECOLARI E CONTROLLO QUALITA' DELLE PROTEINE
MOLECULAR CHAPERONES AND PROTEIN QUALITY CONTROL

Tesi di laurea di

Carol Maria Tiberi

Docente referente

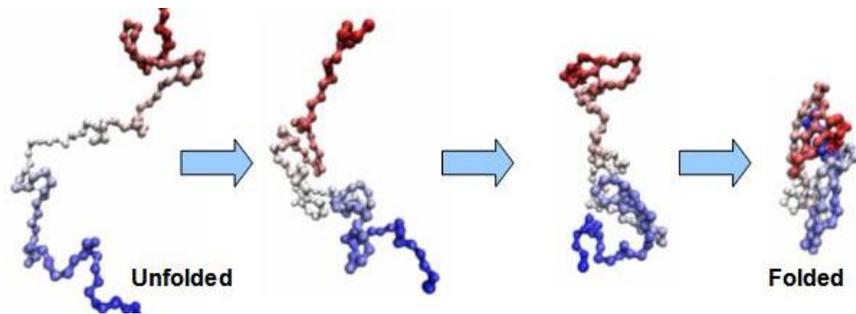
Chiar.ma Prof.ssa Tiziana Cacciamani

Sessione : AUTUNNALE

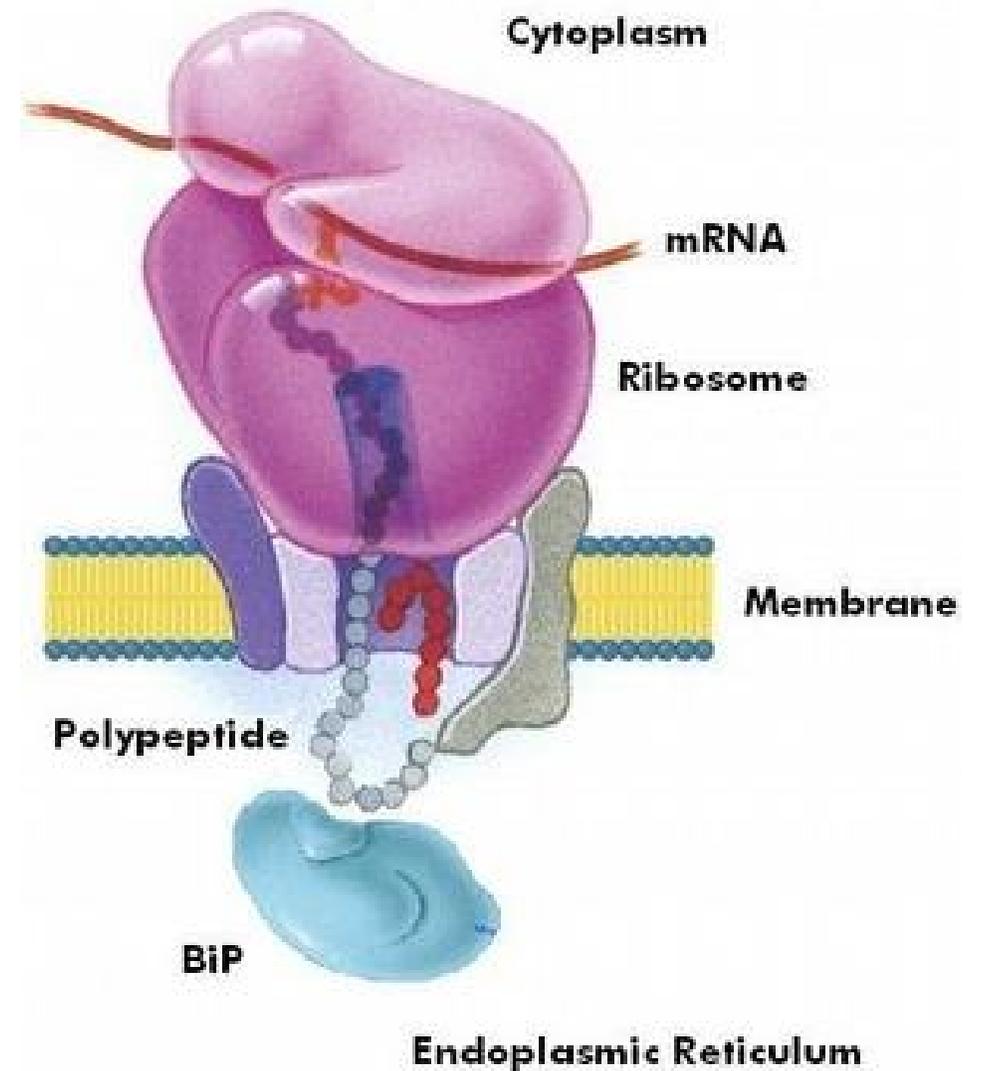
Anno accademico : 2021/2022

INTRODUZIONE

- La sintesi delle proteine è un processo che avviene nel citoplasma della cellula grazie ai ribosomi che possono essere liberi nel citoplasma o associati alla membrana del reticolo endoplasmatico definito appunto rugoso.
- Una proteina neosintetizzata, per poter essere funzionale, deve subire modifiche post – traduzionali e un processo di Folding ad opera di Chaperoni molecolari.

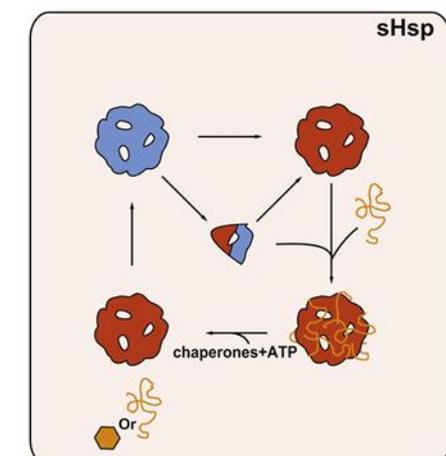
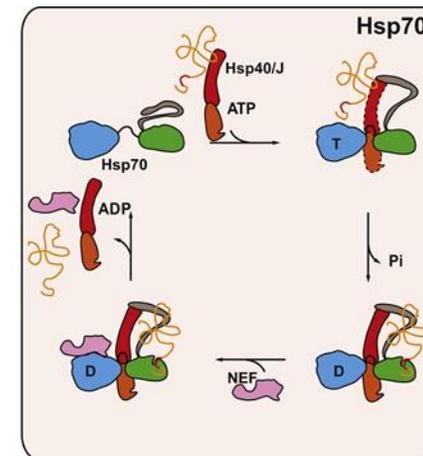
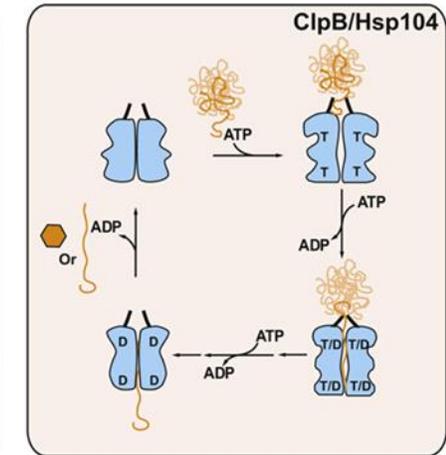
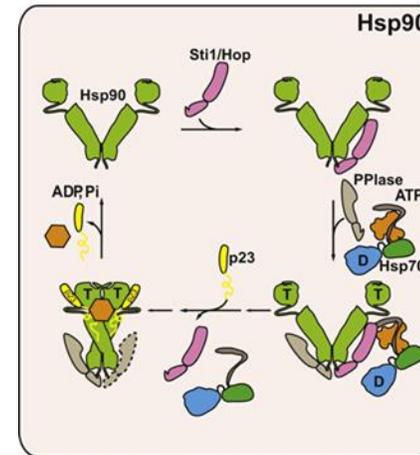


- Per evitare che proteine mal ripiegate si accumulino nella cellula compromettendo l'omeostasi cellulare, esiste un sistema di controllo di qualità delle proteine che prevede due meccanismi principali: ERAD e UPR.



CHAPERONI

Molecular chaperones	Function
<i>Heat-shock proteins</i>	
Hsp110/SSE family (Hsp105 α,β ; Ssc1-2)	Hsp105 interacts with BIP; nucleotide exchange factor for Ssa1 and Ssb1
Hsp104/ClpB (Hsp104, ClpB)	Stress response, thermotolerance
Hsp90	Protein folding, cell signalling, tumour repression
Hsp70 (e.g. Ssa1p, Kar2p, BIP/Grp78)	mRNA translation, translocation, folding, degradation
Hsp60 (CCT)	<i>De novo</i> folding, regulation of cytoskeletal, and cell cycle network
Hsp40 (Ydj1, Hdj1)	Co-chaperones of Hsp70s
Small Hsps (e.g. Hsp26, Hsp27, Hsp42)	Stabilise unfolded proteins in an ATP-independent manner and prevent their aggregation until the proteins are refolded by ATP-dependent chaperones
Grp170/Lhs1	Protein import in ER, nucleotide exchange factor
<i>Oxidoreductases</i>	
PDI, PDIp, ERp44, ERp57, ERp72	Catalyse disulphide bond formation, breakdown, and isomerisation
<i>Lectin chaperones</i>	
Calnexin, calreticulin	Calcium-binding proteins, glycoprotein maturation in the ER



Richter K, Haslbeck M, Buchner J. The heat shock response: life on the verge of death. Mol Cell. 2010 Oct 22;40(2):253-66. doi: 10.1016/j.molcel.2010.10.006. PMID: 20965420.

ERAD (Endoplasmic reticulum associated protein degradation)

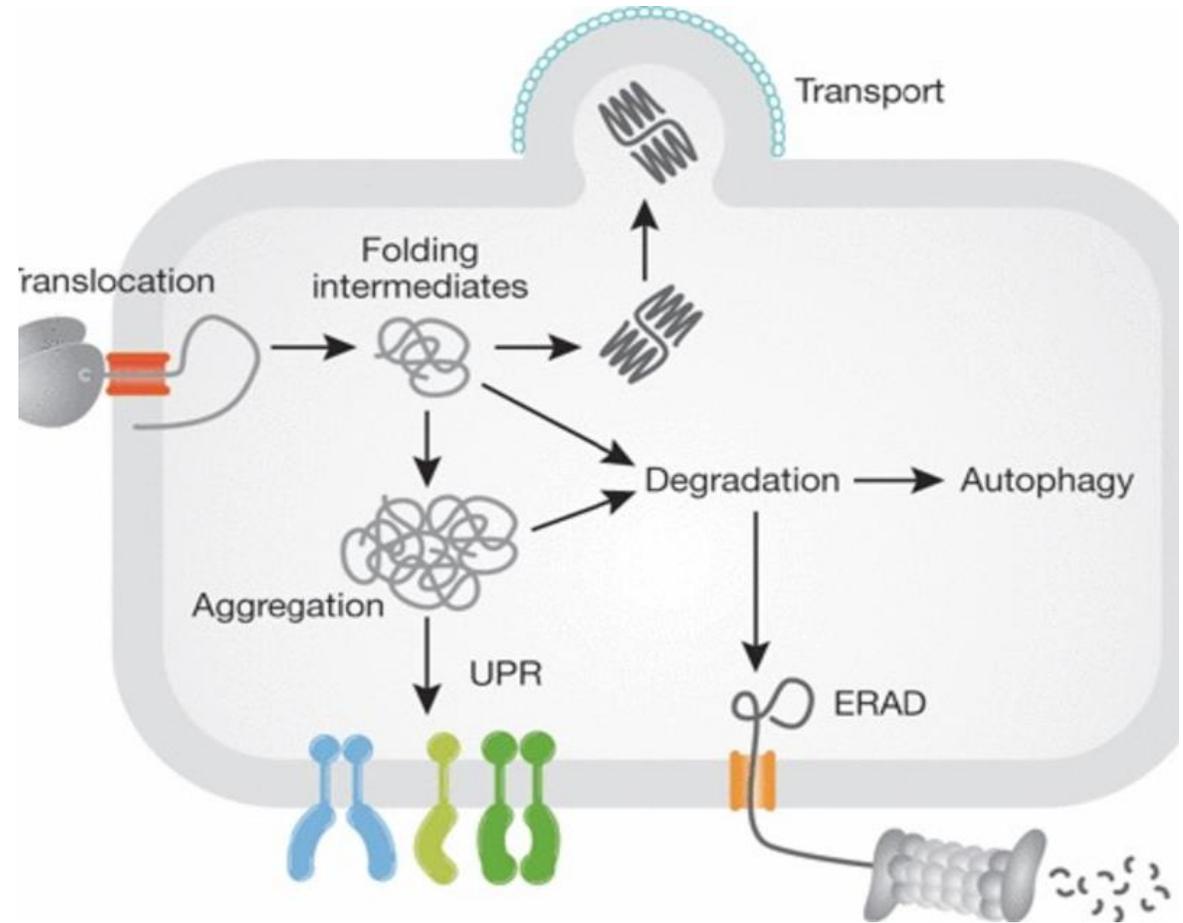
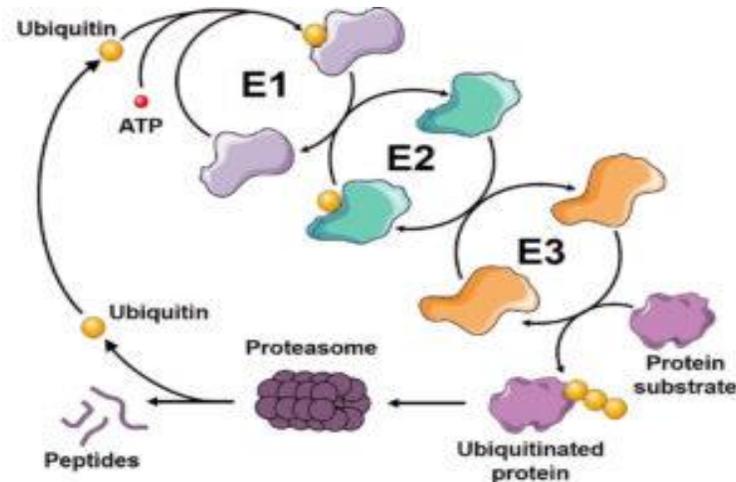
Gli chaperoni molecolari promuovono l'ERAD delle proteine mal ripiegate nel reticolo endoplasmatico (ER)

3 step :

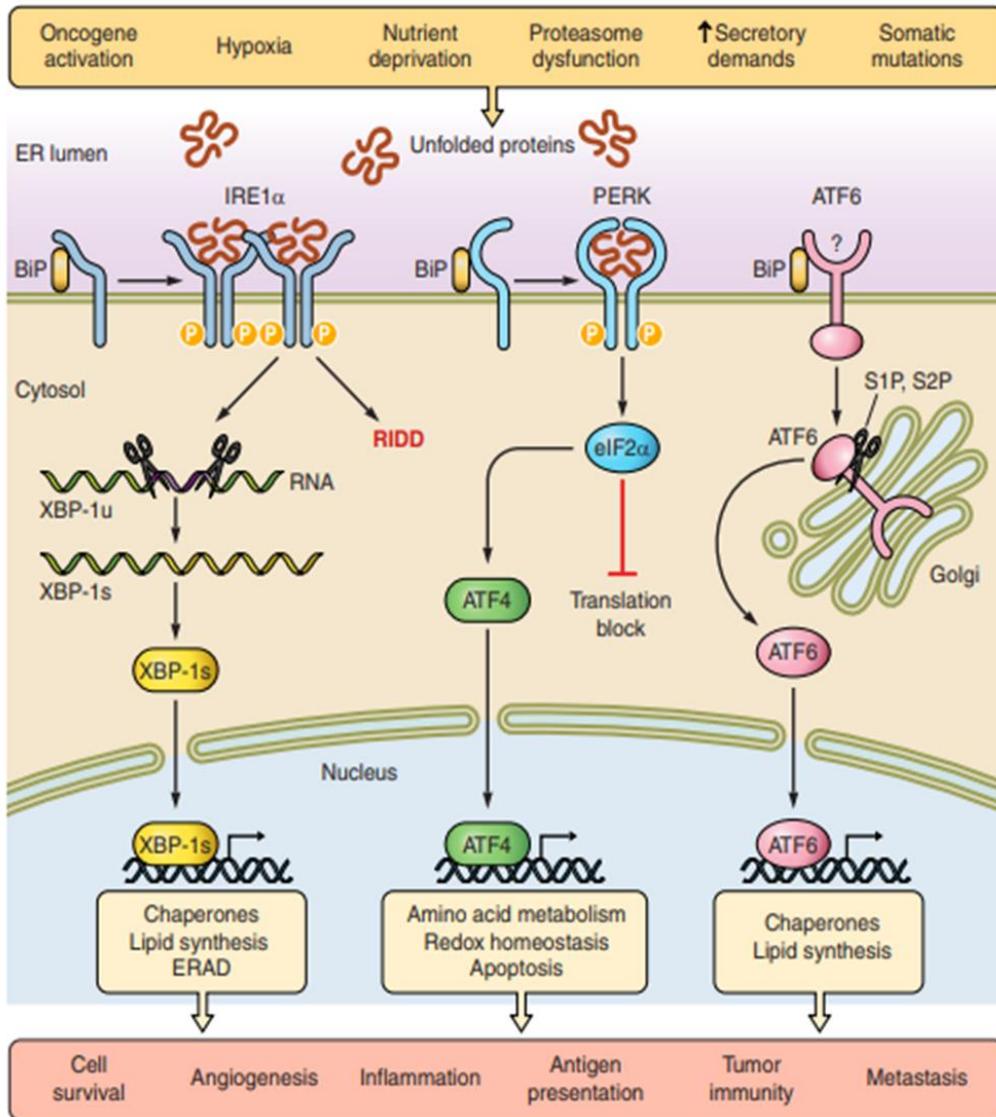
1) RICONOSCIMENTO DELLA PROTEINA MAL RIPIEGATA NEL ER

2) TRASLOCAZIONE NEL CITOSOL

3) DEGRADAZIONE PER MEZZO DEL PROTEASOMA



UBIQUITINAZIONE della proteina target per la DEGRADAZIONE da parte del proteasoma



UPR (Unfolded protein response)

RECETTORI UPR:

- PERK (protein ER kinase)
- IRE1 (inositol requiring enzyme-1)
- ATF6 (activating transcription factor 6)

OBIETTIVI UPR:

- RIDUZIONE DELLA TRADUZIONE
- INCREMENTO SINTESI CHAPERONI

Se gli obiettivi non vengono raggiunti e il ER si trova in **STRESS** persistente , la cellula va incontro ad **APOPTOSI** .

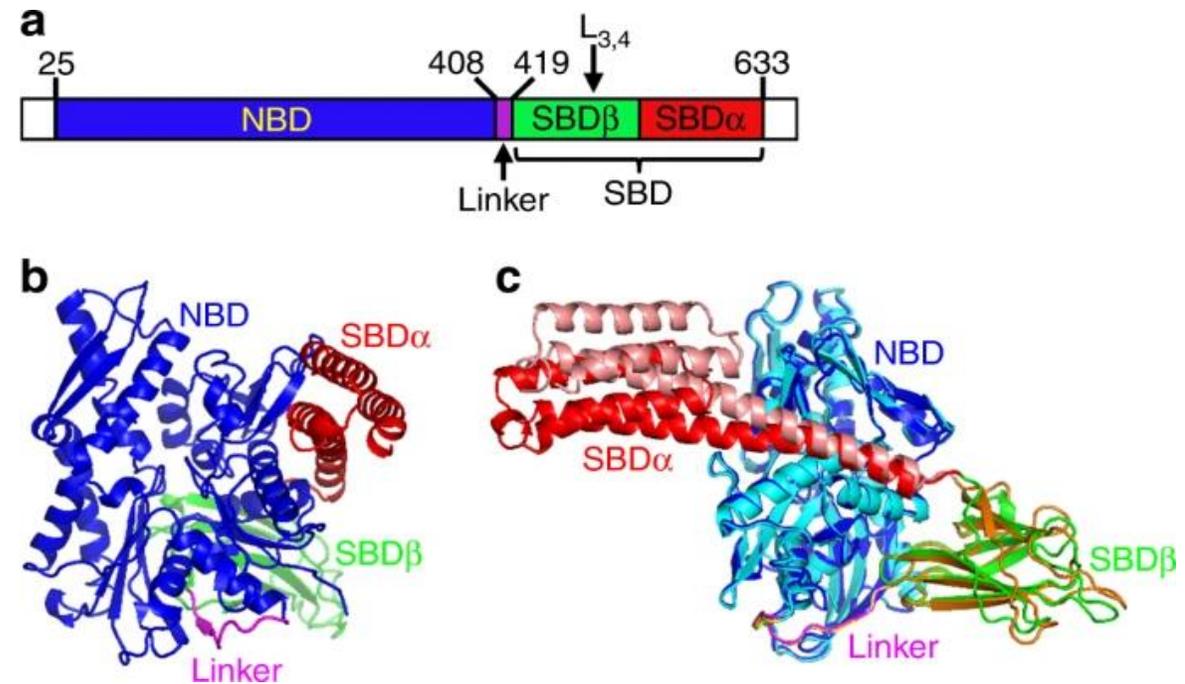
CHAPERONE MOLECOLARE BIP (Binding Immunoglobulin Protein)

- Il Folding delle proteine è un processo di ripiegamento molecolare effettuato da Chaperoni molecolari come BIP.
- Bip è uno chaperone ATP dipendente della famiglia della proteina HSP70 .
- Bip rileva la presenza di proteine mal ripiegate riconoscendo regioni idrofobiche esposte che normalmente si trovano nel nucleo proteico.

NBD : dominio N-terminale legante i nucleotidi a forma di V con due lobi che racchiudono il sito di legame di ATP.

SBD : dominio C-terminale legante il substrato formato da SBD β che consiste di 8 filamenti β (base) e da SBD α (Lid).

Tra i due domini è presente un LINKER che controlla le interazioni allosteriche tra NBD e SBD .

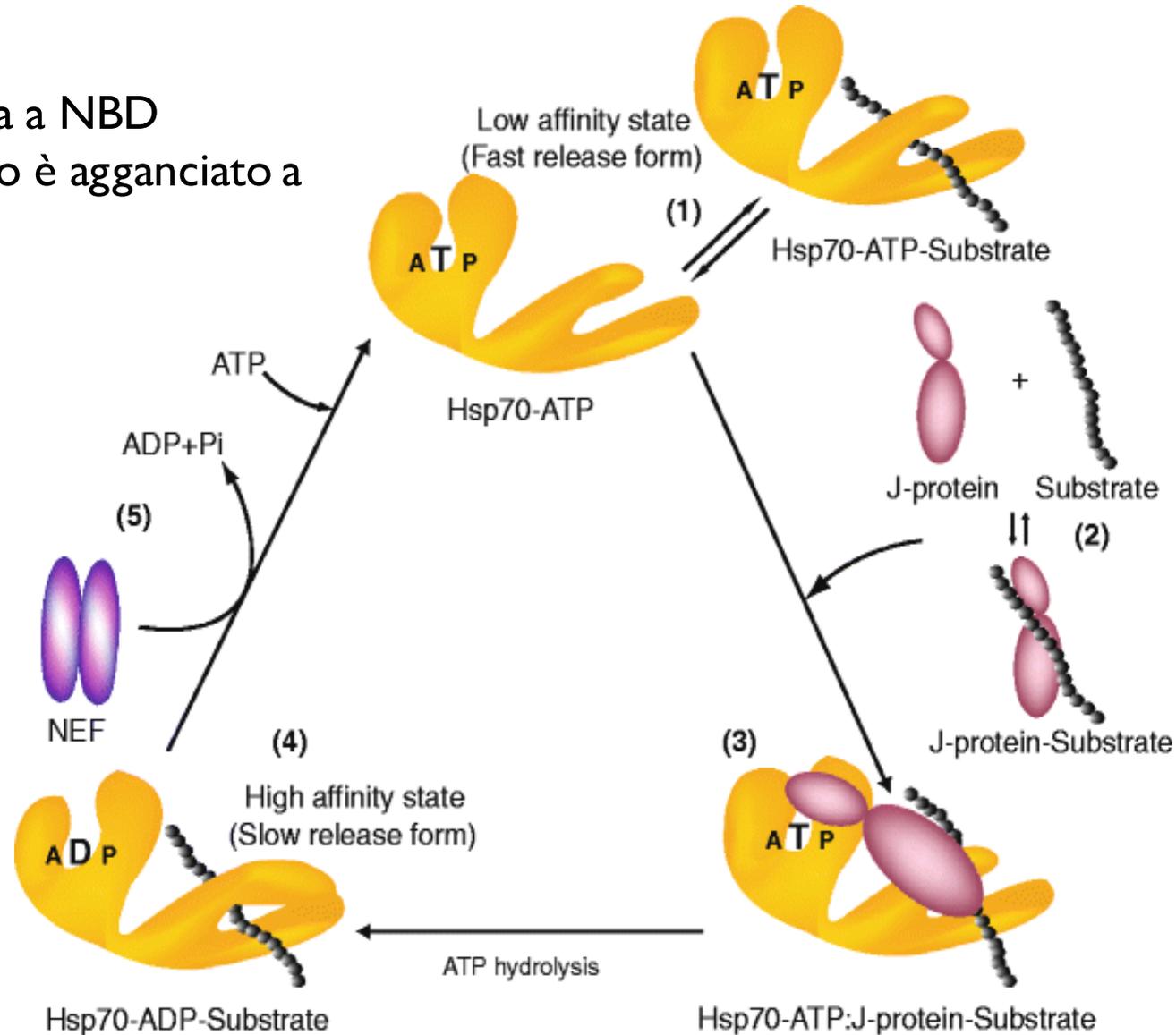


CICLO FUNZIONALE DI BIP

BIP – ATP : ATP si lega a NBD
SBD col suo Lid aperto è agganciato a NBD

NEFs promuovono il rilascio di ADP

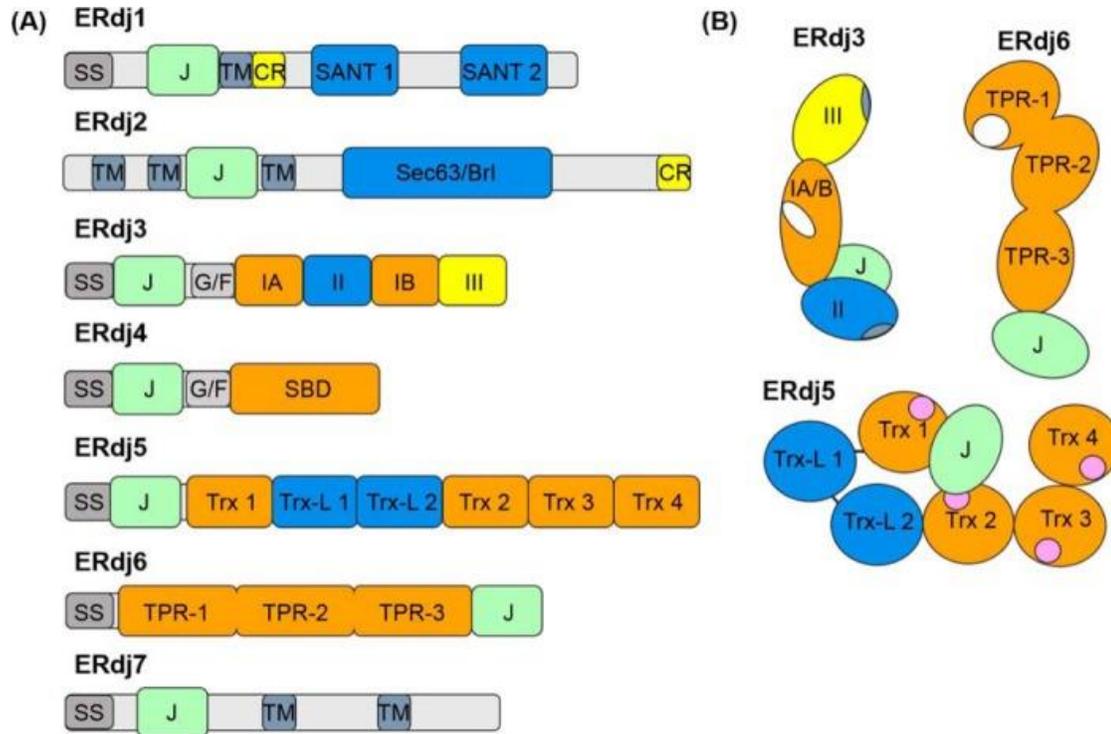
BIP – ADP
NBD e SBD sono divisi
Il Lid di SBD si chiude sul substrato



J-protein (Erdjs) lega il substrato e lo indirizza a BIP-ATP
Allo stesso tempo provoca idrolisi di ATP

STRUTTURA DEL DOMINIO DEI MEMBRI DELLA FAMIGLIA ERDJ

Proprietà strutturali, funzionali e di interazione con il substrato della famiglia ERDJ
 Abbreviazioni usate: M, membrana; L, lume; NB, non legante il substrato; NA, non applicato.



	ER posizione	Dominio legante il substrato	Profilo di legame della sequenza in vivo	Ruolo nel processo delle proteine secretorie
ERdj1	M	NB	NA	Regolatore di traduzione
ERdj2	M	NB	NA	Regolatore di traslocazione
ERdj3	L	Dominio I	Diverse sequenze	Pro-folding o ERAD?
ERdj4	L	Trx 1-4	Incline alla aggregazione	ERAD, UPR regolatore
ERdj5	L	SBD	Incline alla aggregazione	Disolfuro reductasi, pro-folding, ERAD
ERdj6	L	TPR-1	Non testato	Pro-folding?
ERdj7	M	NB	NA	Sconosciuto

CONCLUSIONI

Il Folding delle proteine e il controllo di qualità delle proteine sono eventi complessi che incidono fortemente sull'omeostasi cellulare .

Errori durante il folding possono portare all'insorgenza di note patologie , le cosiddette " malattie da misfolding " : malattia di Alzheimer , morbo di Parkinson , fibrosi cistica , cataratta , amiloidosi...

Nonostante alcuni meccanismi molecolari siano ancora da chiarire, gli chaperoni molecolari e Bip sono già considerati targets per possibili terapie o marcatori diagnostici, non solo nelle malattie sopracitate ma anche nel cancro.

La capacità di GRP78 di rispondere allo stress del reticolo endoplasmatico determina se le cellule tumorali sopravvivono e se i cambiamenti nel livello di espressione di GRP78 regolato dal reticolo endoplasmatico in condizioni di stress (es: chemioterapia) influenzeranno direttamente o indirettamente la proliferazione cellulare e l'apoptosi, o riducono la capacità di difesa dell'organismo, o hanno effetti protettivi su vari organi.

BIBLIOGRAFIA

Qi L, Tsai B, Arvan P. New Insights into the Physiological Role of Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation.

Trends in Cell Biology. 2017 Jun;27(6):430-440.

Richter K, Haslb eck M, Buchner J. The heat shock response: life on the verge of death. *Mol Cell.* 2010 Oct 22;40(2):253-66. doi: 10.1016/j.molcel.2010.10.006. PMID: 20965420.

Lu G, Luo H and Zhu X (2020) Targeting the GRP78 Pathway for Cancer Therapy. *Front. Med.* 7:351. doi: 10.3389/fmed.2020.00351

RIASSUNTO ESTESO

Le proteine vengono sintetizzate dai ribosomi e per poter essere funzionali subiscono modifiche post-traduzionali . Acquisiscono una struttura tridimensionale attraverso il FOLDING effettuato dagli CHAPERONI MOLECOLARI . Affinchè proteine danneggiate e/o mal ripiegate non si accumulino nella cellula , esiste un sistema di controllo di qualità che prevede due meccanismi : ERAD e UPR . UPR rileva proteine mal ripiegate nel RE tramite tre recettori : PERK , IRE1 , ATF6 innescando una serie di segnali che porteranno all'aumento di sintesi di chaperoni molecolari e alla riduzione della traduzione; ERAD prevede la degradazione della proteina nel citoplasma tramite il proteasoma . In caso di stress prolungato del reticolo endoplasmatico verrà indotta l'apoptosi della cellula.

Lo chaperone molecolare BIP ha un ruolo importante nell'omeostasi proteica ; è formato da due domini principali: NBD e SBD e da un LINKER posto tra i due domini . Il ciclo funzionale di BIP dipende dalla sua attività ATPasica e dalla sua capacità di legare il substrato . La forma di BIP-ATP è a bassa affinità per il substrato , poi con l'idrolisi di ATP , passa alla forma BIP-ADP ad alta affinità per il substrato ; BIP nella sua attività viene aiutato da due tipi di co-chaperoni : ERDJs e NEFs . ERDJs favoriscono l'interazione della proteina mal ripiegata a BIP-ATP e avviano l'idrolisi di ATP promuovendo la conformazione chiusa di SBD mentre gli NEFs favoriscono lo scambio ADP/ATP promuovendo la conformazione aperta di SBD .

Il ruolo di BIP e degli altri chaperoni esistenti è importante per la sopravvivenza cellulare, infatti un ostacolo nella loro attività può portare allo sviluppo di patologie degenerative per cui ancora non c'è cura.

Comprendere i meccanismi molecolari che regolano le funzioni degli chaperoni è molto importante per lo sviluppo di nuove terapie e/o per facilitare la diagnosi sia nelle malattie degenerative sia nel cancro.