

Сворачивание белков в ходе биосинтеза гликопротеинов

ВОПРОС

Скажите пожалуйста, в каком случае неправильно свернутый белок отправляется на повторное сворачивание при участии кальнексина и ERp57, а в каком случае на утилизацию в протеасому? Какую роль играет белок Htm1p/Mnl1p?

КРАТКИЙ ОТВЕТ

Прежде всего, напомню, что в рамках нашего курса для сдачи экзамена с избытком достаточно информации, изложенной в книге "Essentials of glycobiology", A. Varki, R. D. Cummings, J. D. Esko, H. H. Freeze, P. Stanley, C. R. Bertozzi, G. W. Hart, M. E. Etzler (Eds.), 2nd edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2008. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1958/>. См. главу 36: *Chapter 36. "Glycans in Glycoprotein Quality Control"*. В файле лекции 3 эта информация кратко изображено на слайдах 51–53.

> В каком случае неправильно свернутый белок отправляется на повторное сворачивание при участии кальнексина и ERp57, а в каком случае на утилизацию в протеасому? Какую роль играет белок Htm1p/Mnl1p?

Ваш вопрос интересует многих, и на самом деле однозначный ответ не известен (см. указанную книгу и текст далее).

Для получения быстрого ответа на все вопросы советую посмотреть Википедию (там все очень ясно и коротко изложено):

https://en.wikipedia.org/wiki/Endoplasmic-reticulum-associated_protein_degradation

На эту тему есть свободно доступная обзорная статья:

Caramelo J.J., Parodi J. Getting in and out from calnexin/calreticulin cycles. *J. Biol. Chem.* **2008**; 283: 10221–10225.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2447651>

> Какую роль играет белок Htm1p/Mnl1p?

Белок Htm1p/Mnl1p – это лектин (третье название – EDEM, см. Википедию), участвующий деградации неправильно свернутых гликопротеинов в ЭПР (ER-associated degradation pathway = ERAD). Считается, что он распознает на гликопротеинах некоторые вполне определенные углеводные структуры (Man₈GlcNAc₂) наряду с некими пептидными детерминантами, присутствующих в неправильно свернутых гликопротеинах. И затем отбирает такие гликопротеины для деградации.

Подробнее см.:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3651033/>

https://openi.nlm.nih.gov/detailedresult.php?img=PMC2172089_200309132f6&req=4

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2171888>

ПОДРОБНЫЙ ОТВЕТ

Попробую ответить несколько шире.

Насколько я понимаю, калнексин (CNX – мембранный белок) и растворимый калретикулин (CRT)) обратимо связываются с гликопротеинами, имеющими только один остаток глюкозы в маннозной N-цепи (структура додекасахарида $\text{Glc}_1\text{Man}_9\text{-GlcNAc}_2$ изображена на схеме, слайд 51). По сути он является лектином, распознающим именно фрагмент глюкозы (представленный на конкретном олигосахариде) и образующим с ним комплекс. Стадия собственно сворачивания пептидной цепи гликопротеина происходит только при активном участии белка ERp57, который сам связан с калнексином.

Важный момент состоит в том, что связывание калнексина с моноглюкозилированным олигосахаридным фрагментом гликопротеина происходит одинаково эффективно и в случае правильно свернутой полипептидной цепи (успешного "фолдинга") и в случае неправильно свернутой полипептидной цепи (неудачного "фолдинга"). Существенно, что константа этого связывания невелика, и гликопротеин просто периодически находится или в связанном (с калнексином) состоянии или в "свободном" состоянии (динамическое равновесие). Как только гликопротеин "отщепляется" от калнексина (независимо от результата "фолдинга"), он становится доступен для действия фермента, отщепляющего единственный остаток глюкозы (глюкозидаза II) и превращающего углеводную цепь в ундекасахарид $\text{Man}_9\text{-GlcNAc}_2$. Этот процесс идет для гликопротеинов и с правильно свернутой полипептидной цепью и для неправильно свернутых гликопротеинов (первичная последовательность аминокислот тоже не важна). Главное, чтобы структура олигосахида была такой, как изображена на рисунке. Это хорошо изображено на слайде 51.

Гликопротеин с такой ундекасахаридной углеводной цепью ($\text{Man}_9\text{-GlcNAc}_2$) способен связываться с ферментом глюкозилтрансферазой (UGGT). Дальше – самое важное. UGGT связывается ТОЛЬКО с НЕПРАВИЛЬНО свернутыми гликопротеинами и переносит остаток глюкозы ТОЛЬКО на углеводные цепи НЕПРАВИЛЬНО свернутых гликопротеинов. Как только на конце углеводной цепи появляется остаток глюкозы, соответствующая олигосахаридная цепь снова может образовать комплекс с калнексином, и гликопротеин снова связывается с комплексом CNX/ERp57, что начинает новую попытку осуществить правильный "фолдинг". Т.е. гликопротеин "бежит по кругу". Этот цикл ("CNX/CRT/UGGT cycle", упрощенно – "калнексиновый цикл") хорошо изображен на слайдах 52 и 53. И кажется, что из этого цикла нет выхода. На самом деле выхода два.

Первый выход.

Правильно свернутые гликопротеины НЕ являются субстратами UGGT. Поэтому у них появляется реальный шанс выйти из этого "калнексинового цикла" и перейти в следующие компартменты (в Гольджи), где расположены другие ферменты процессинга гликопротеинов.

Второй выход.

Неправильно свернутые гликопротеины могли бы "бесконечно" крутиться в "калнексиновом цикле", если бы ПАРАЛЛЕЛЬНО не шел другой процесс отщепления одного или двух остатков маннозы с образованием нонасахаридной цепи ($\text{Man}_7\text{-GlcNAc}_2$), в котором важную роль играют "endoplasmic reticulum degradation enhancing α -mannosidase-like proteins" (EDEMs, один из них – Htm1p/Mnl1p), которые явно являются лектинами (т.е. селективно связываются с определенными углеводными структурами) и судя по всему способны отщеплять остатки маннозы. В процессе отщепления участвуют и "настоящая" маннозидаза I. Есть также упоминания про "лимит времени" пребывания в ЭПР неправильно свернутых белков. Но это не слишком понятно.

Гликопротеины с такими укороченными углеводными цепями переносятся через мембрану ЭПР в цитоплазму. После этого фермент N-гликаназа (PNGase) отщепляет всю олигосахаридную цепь от полипептидной цепи, и последняя подвергается расщеплению в протеасоме, а углеводная цепь в цитоплазме и лизосоме. Этот процесс идет одновременно с процессом "сворачивания"

гликопротеинов. Важно, что PNGase узнает ТОЛЬКО неправильно свернутые или денатурированные полипептидные цепи.

Т.е. ЧАСТЬ (на самом деле – до 80%) вновь образованных гликопротеинов неизбежно идет на деградацию и утилизацию. А другая часть "крутится" в "калкесиновом цикле", и если "фолдинг" пройдет успешно, то может "ускользнуть" от системы деградации. Здесь большую роль играет относительная активность всех ферментов, участвующих в этом процессе, и их локализация в ЭПР. Т.е. баланс очень тонкий. Нарушение этого баланса приводит к различным патологическим состояниям (см. раздел "QUALITY CONTROL AND DISEASE" той же главы 36). Накопление в ЭПР неправильно свернутых/денатурированных белков вызывает "unfolded protein response (UPR)", о чем можно прочитать в книге.

Там же можно прочитать про то, что контроль качества "фолдинга" в ЭПР несовершенен и часть неправильно свернутых гликопротеинов все-таки выходит из ЭПР в Гольджи.