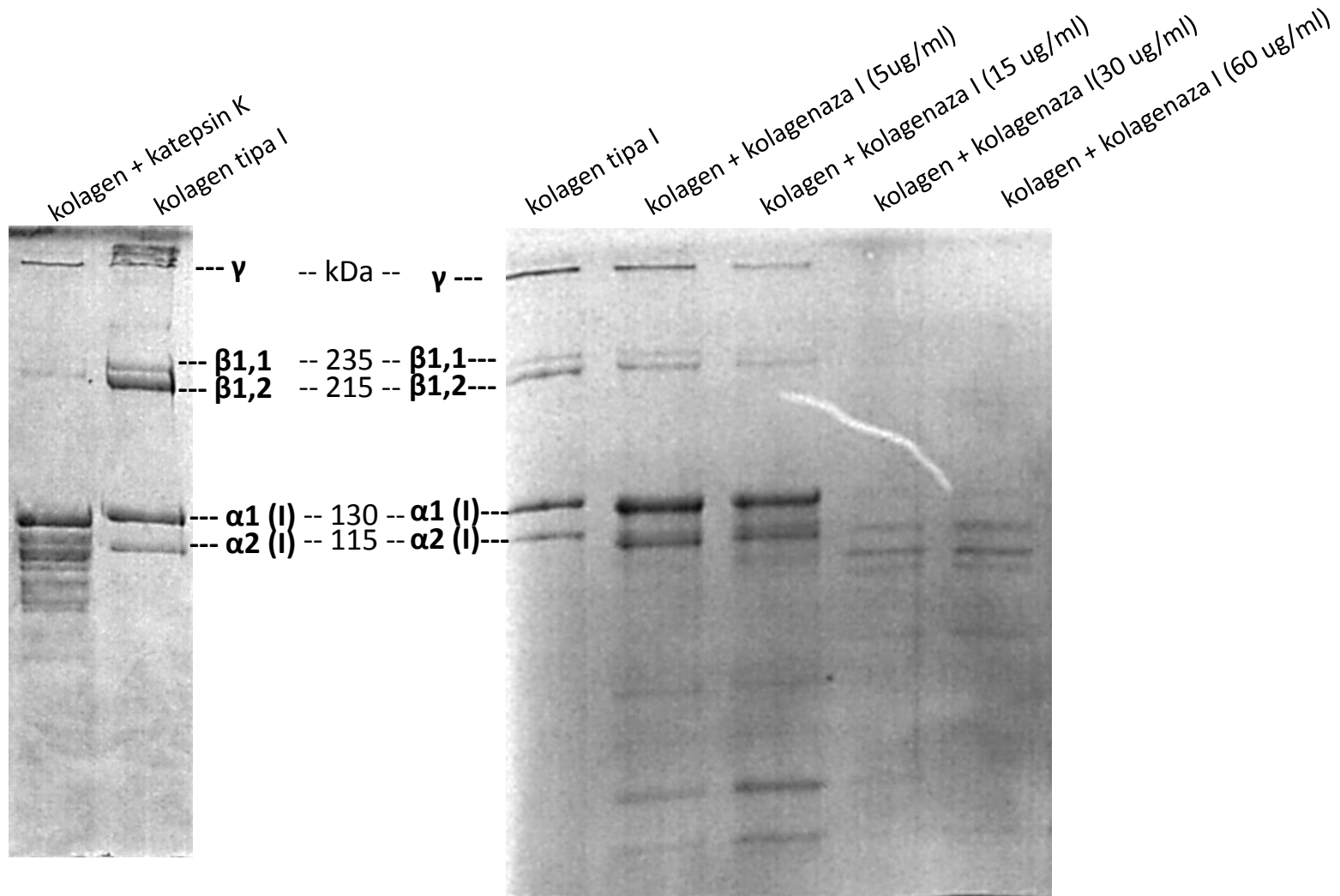
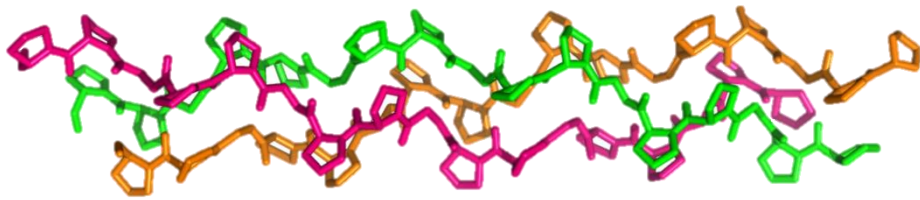


7% SDS-Poliakrilamidni
gel, barvan s Coomassie
Brilliant Blue



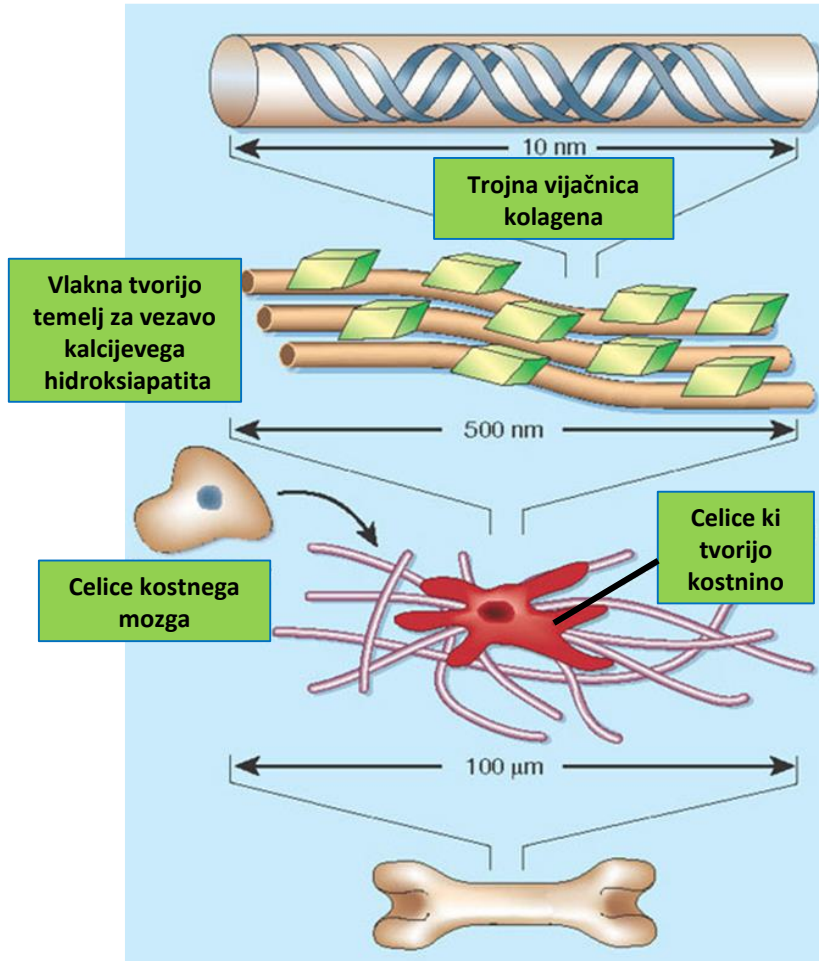
TU/e





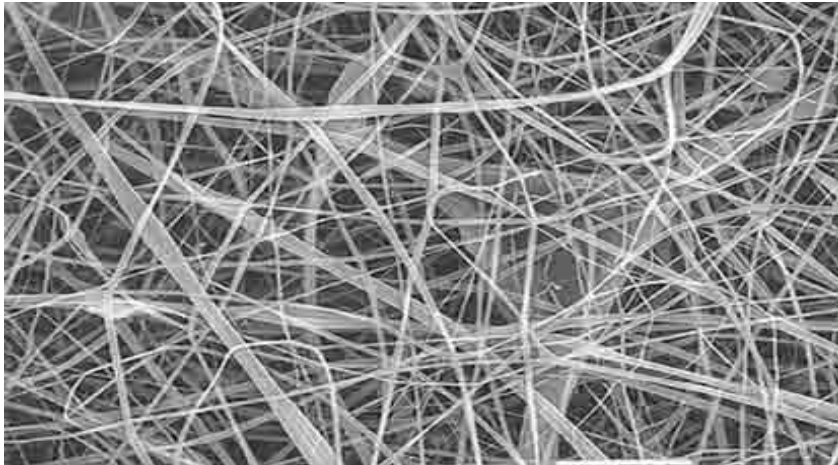
Trojna vijačnica kolagena z značilnim zaporedjem (Gly-Pro-Hyp)_n

Kolagen

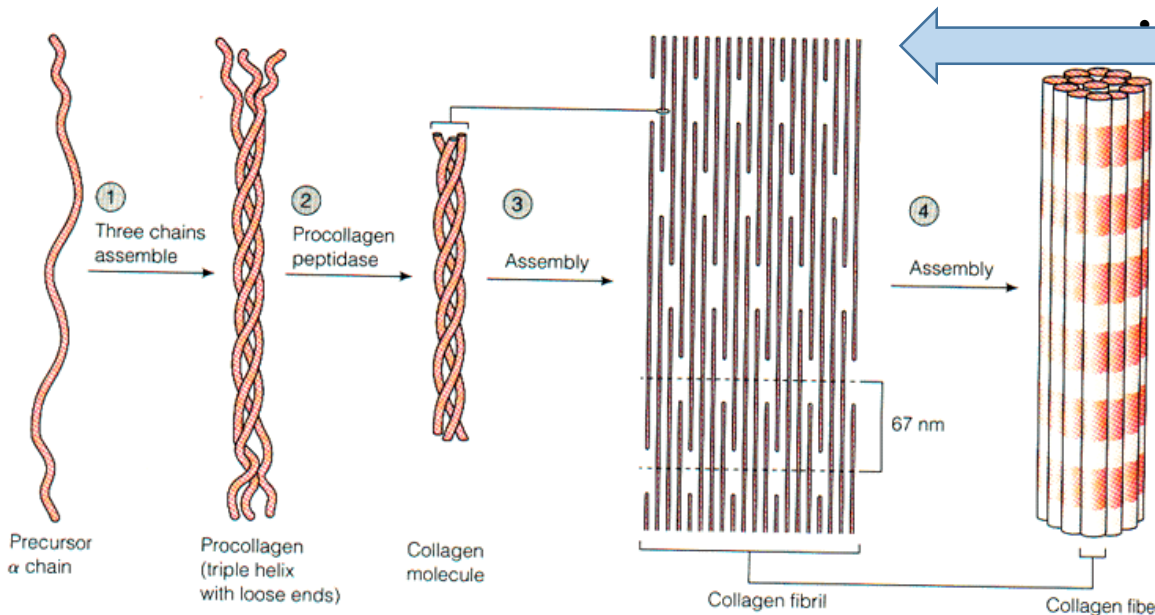


- Pri sesalcih najbolj zastopan protein, ki predstavlja ~30 % vse proteinske mase.
- Zaradi izjemne natezne trdnosti je kolagen večinski gradnik vezivnega tkiva, kosti, zob, hrustanca, ožilja in podkožja.
- Sestavljajo ga tri polipeptidne verige z značilnim aminokislinskim zaporedjem Gly-Pro-Hyp.
- Tvori fibrile.
- Pri sesalcih trenutno poznanih 30 različnih kolagenskih verig ki tvorijo 19 različnih kombinacij trojnih vijalnic.
- 90 % vse kolagenske mase predstavlja kolagen tipa I. Skupaj s kolagenom tipa II tvorita trpežno mrežo kostnine.

Kolagen tipa I in II

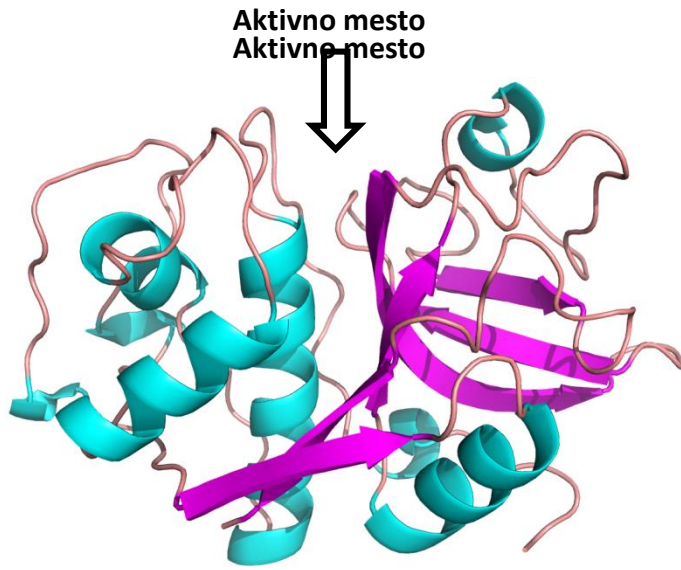


- Kolagen tipa I sestavljata dve α_1 in ena α_2 veriga, medtem ko kolagen tipa II sestavljajo tri identične α_1 verige. Vse verige so levosučne.
- Za predstavo: Posamezna trojna vijačnica kolagen tipa I ali II ima relativno molekulsko maso ~ 285 kDa in dolžino ~ 3000 Å. 30 % je glicina, 15-30% pa prolina in hidroksiprolina.
- Hidroksiprolin je naknadna modifikacija za katero skrbi encim prolil hidroksilaza.



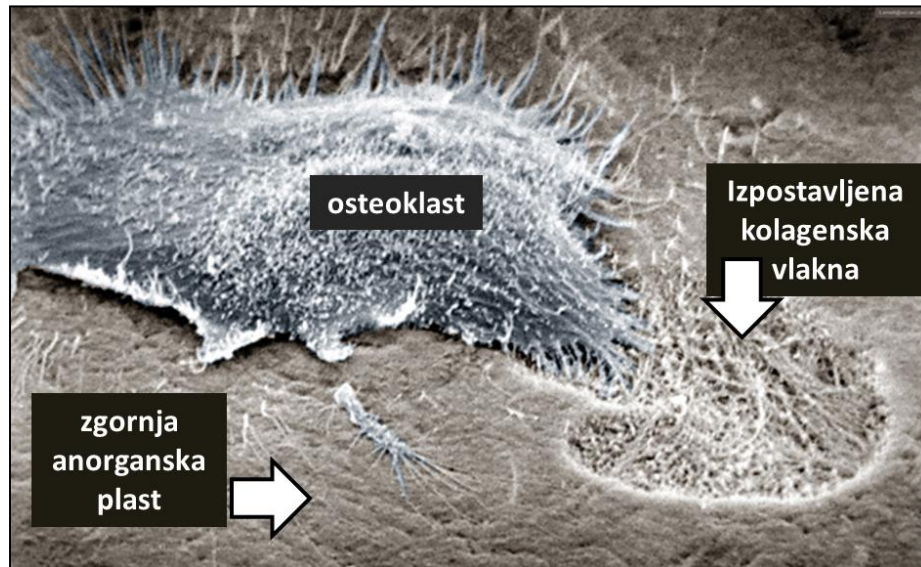
• Trojne vijačnice stabilizirane preko vodikovih vezi, v fibrilah pa kovalentno preko stranskih verig lizina in histidina. Te modifikacije se dogajajo blizu N oz. C konca

Katepsin K



Struktura katepsina K

- Cisteinska peptidaza, ki se izloča iz osteoklastov in sodeluje pri preoblikovanju zunajceličnega kostnega matriksa.
- Monomeren protein, 25 kDa z značilnim papainskim tipom zvitja.
- Preoblikovanje kostnine:
 - raztapljanje anorganskih snovi
 - cepitev kolagenskih vlaken
- Nenormalno delovanje katepsina K vodi do hudih kostnih obolenj.
 - Piknodisostoza je genetska bolezen, pri kateri osteoklasti delujejo normalno vendar zaradi mutacije na katepsinu K niso sposobni razgrajevati kolagenskih vlaken.
 - Osteoporoza pa je bolezensko stanje, kjer je razgradnja kostnine hitrejša kot obnavljanje.

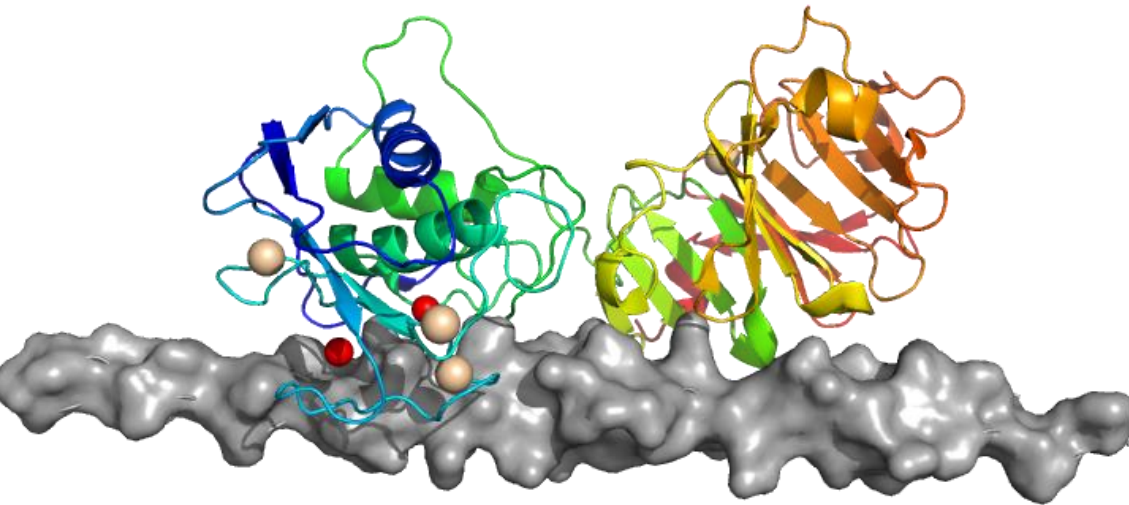


Osteoklast med razgrajevanjem kostnega matriksa

Obnavljanje kostnega matriksa



Kolagenaze



Struktura kolagenaze tipa I na trojni vijačnici kolagena

- Ali (MMP) spadajo v skupino metalo proteinaz ki so sposobne cepiti proteine v ekstracelularnem matriksu.
- So od Zn^{2+} odvisne endopeptidaze peptidaze.
- Najpogostejše kolagenaze iz patogena *Clostridium difficile*. Ti encimi so bistveno manj specifični od endogenih peptidaz.

Collagenases

MMP1
MMP8
MMP13

Matrilysin

MMP7
MMP26

Metalloelastase

MMP12

Gelatinases

MMP2
MMP9

Enamelysin

MMP20

Stromelysins

MMP3
MMP10
MMP11

Other

MMP19
MMP21
MMP23A
MMP23B
MMP27
MMP28

Membrane-type MMPs

MMP14
MMP15
MMP16
MMP17
MMP24
MMP25

Inhibitors

TIMP1
TIMP2
TIMP3
TIMP4

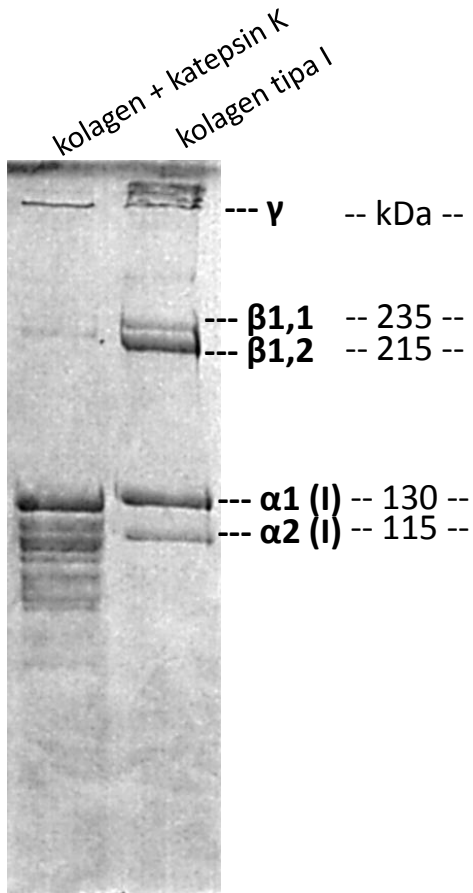
Potential Inducers of Transcription

BSG
TCF20
TNF

Kakšne rezultate pričakujemo

Pri cepitvi kolagena tipa I s katepsinom K v večini dobimo dva produkta na višini 90 in 120 kDa.

Po cepitvi s kolagenazo tipa I pa dobimo vzorec dveh lis na višini 90 in 30 kDa. To je zaradi tipične $\frac{3}{4}$ in $\frac{1}{4}$ dolge cepitve.



Tipičen vzorec necepljenega kolagena tipa I