

DIFFUSIONE DEL MATERIALE DIDATTICO

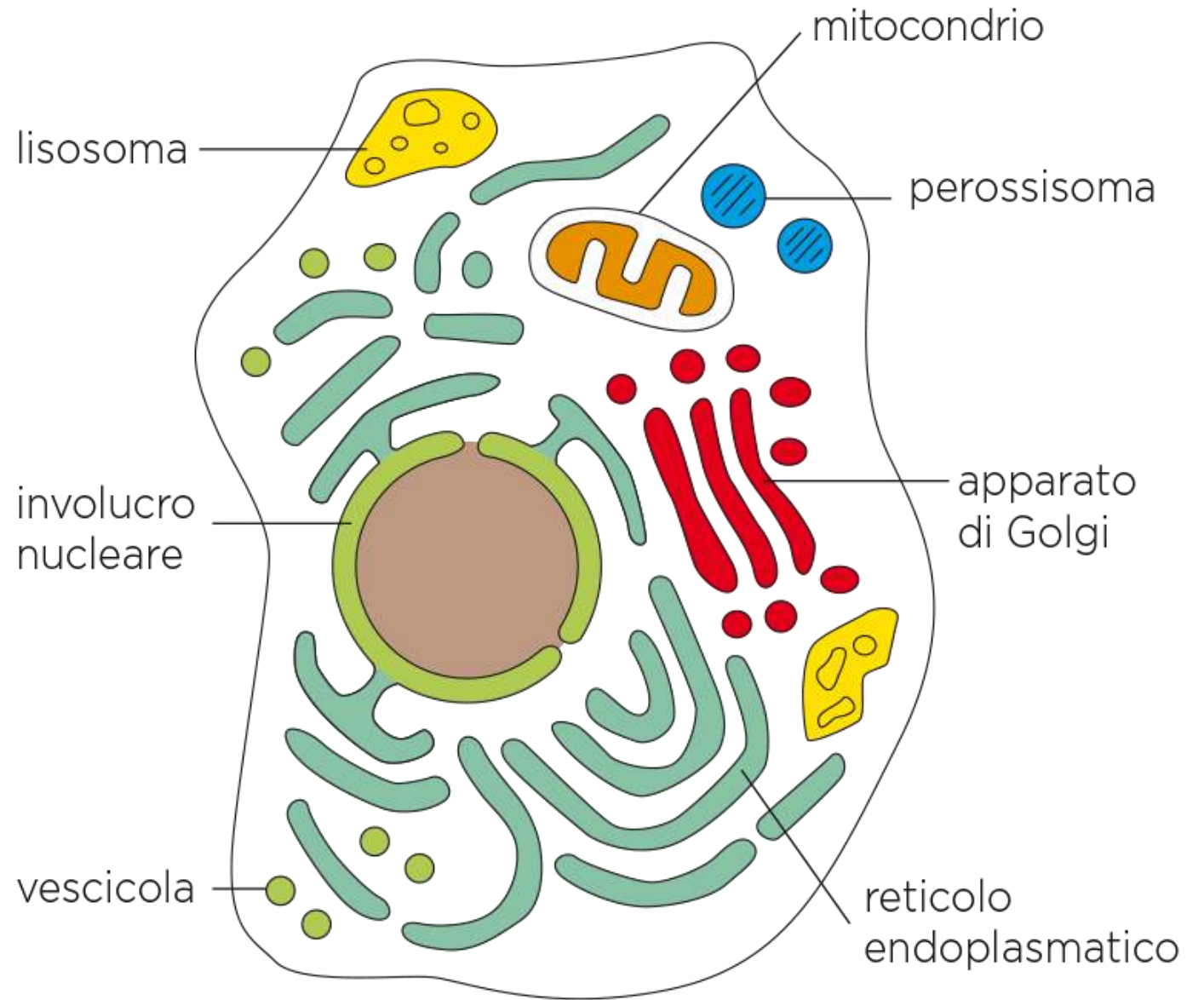
Queste immagini sono fornite agli studenti che hanno frequentato il corso di “Biologia Fisiologia Anatomia” tenuto dalla Prof.ssa Giovanna Pontarin nel Corso di Laurea triennale in Ingegneria Biomedica dell’Università di Padova nell’anno accademico 2024-2025.

Nel rispetto dei diritti di proprietà, non ne è consentito l’uso per altri scopi o la diffusione su Internet o ad altre persone.

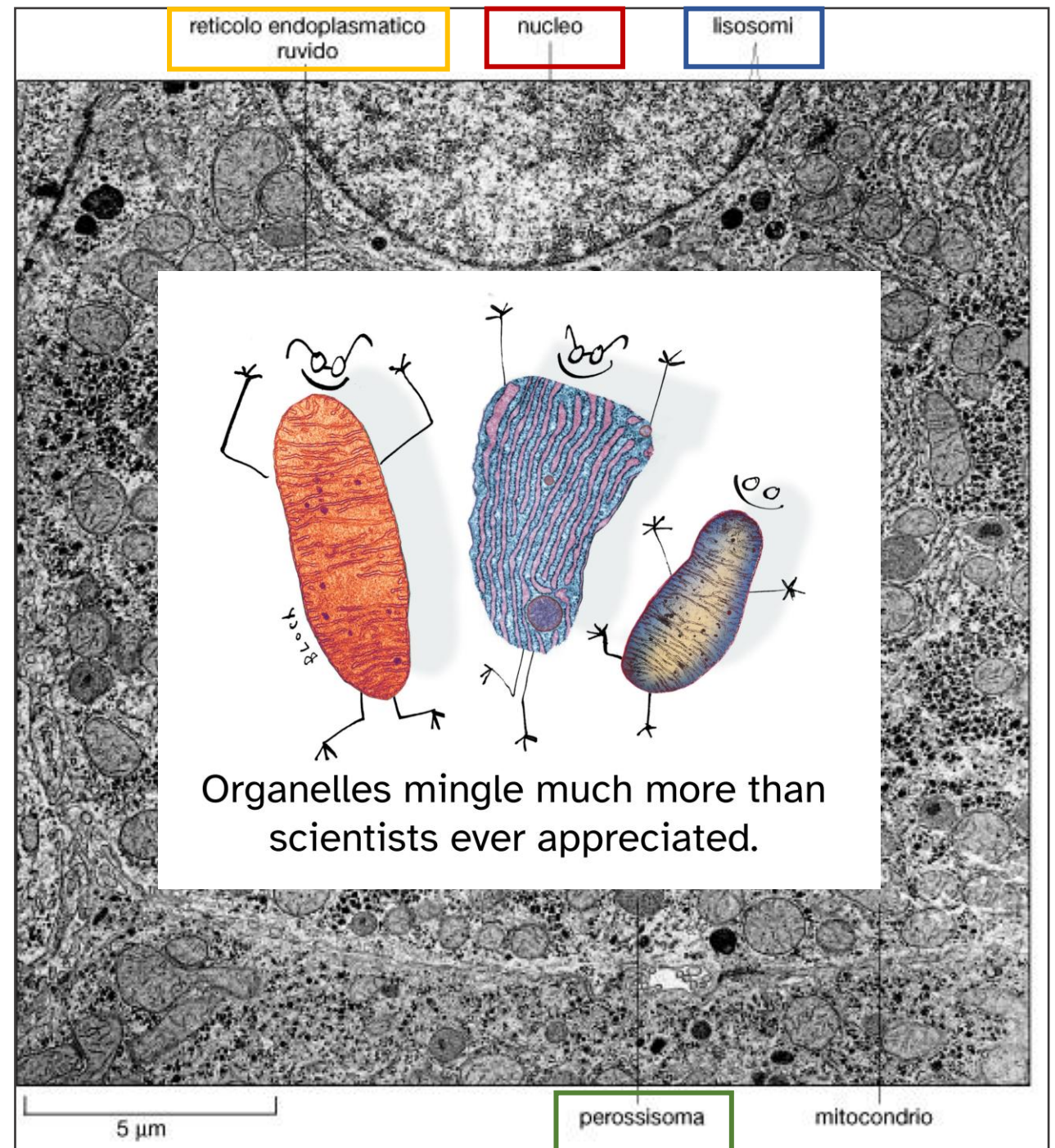
E’ inoltre vietata la diffusione di video, foto, registrazioni, dispense delle lezioni e del materiale delle esercitazioni.

COMPARTIMENTI SUBCELLULARI

Nelle cellule eucariotiche le membrane interne definiscono compartimenti chiusi entro i quali vengono confinati diversi processi metabolici.



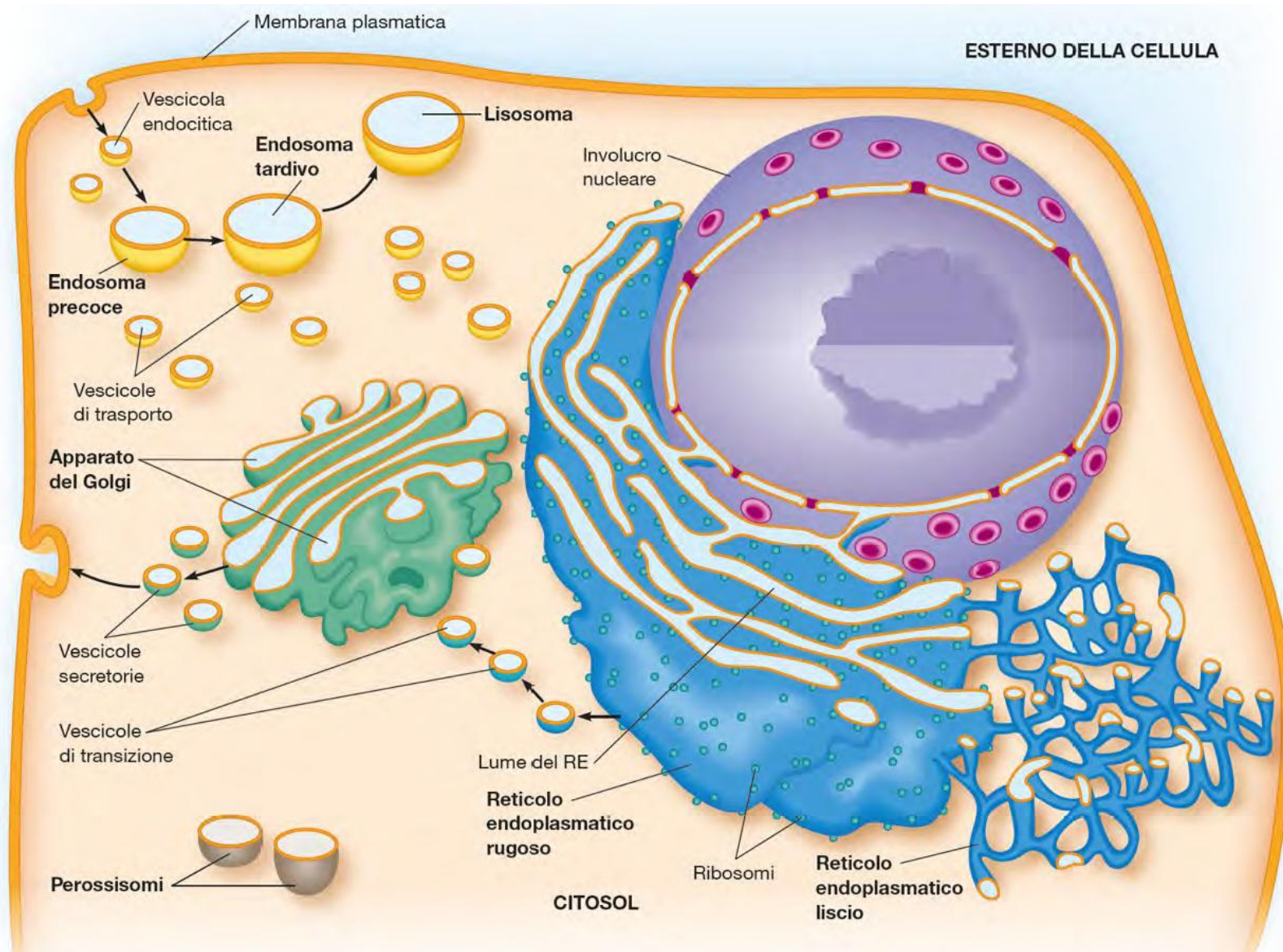
Nelle cellule eucariotiche le membrane interne definiscono compartimenti chiusi entro i quali vengono confinati diversi processi metabolici.



The secret conversations inside cells

162 | NATURE | VOL 567 | 14 MARCH 2019

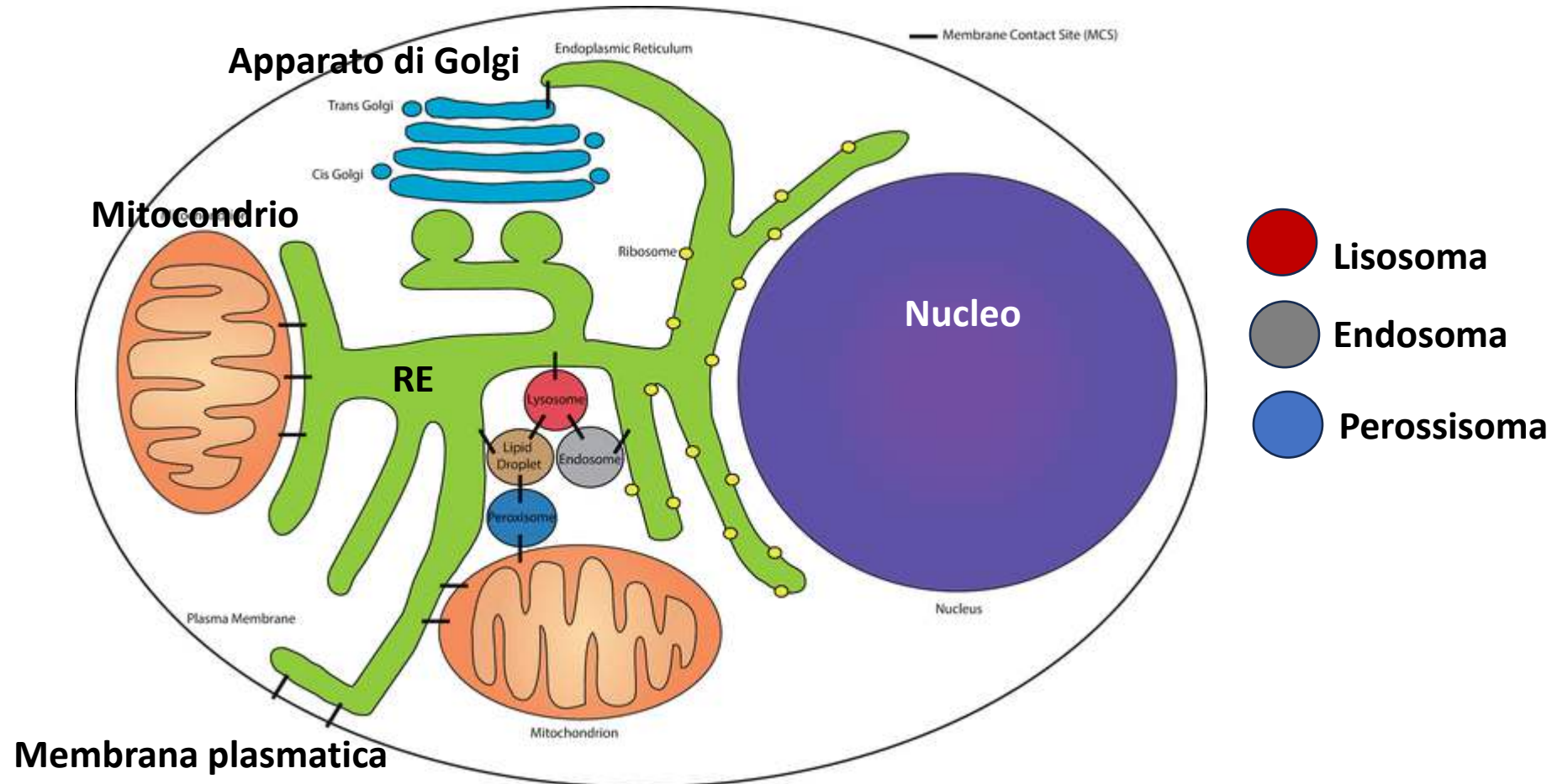
Il reticolo endoplasmatico, l'apparato di Golgi, endosomi e lisosomi (organelli coinvolti nella via secretoria e in quella endocitica) comunicano tra loro e con l'esterno della cellula mediante **vescicole di trasporto**.



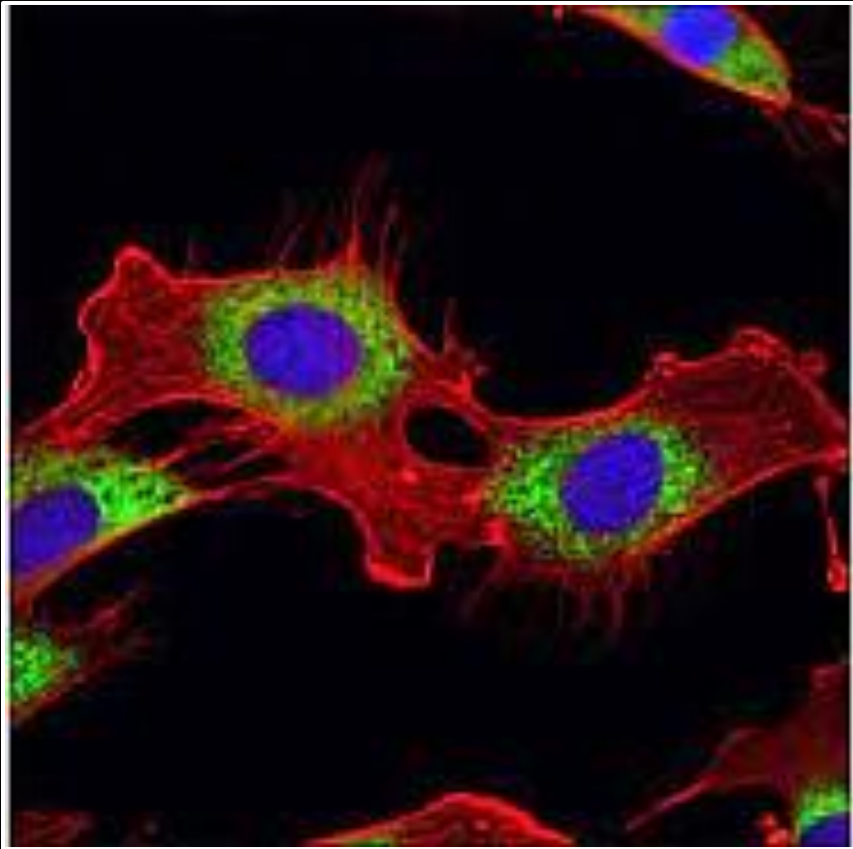
Gli organelli formano una densa rete con multipli contatti (**MCS, *multiple contact sites***) tramite le **proteine *tether***.

A livello dei MCS avviene lo scambio di sostanze come lipidi (colesterolo), Ca^{++} e perossido di idrogeno.

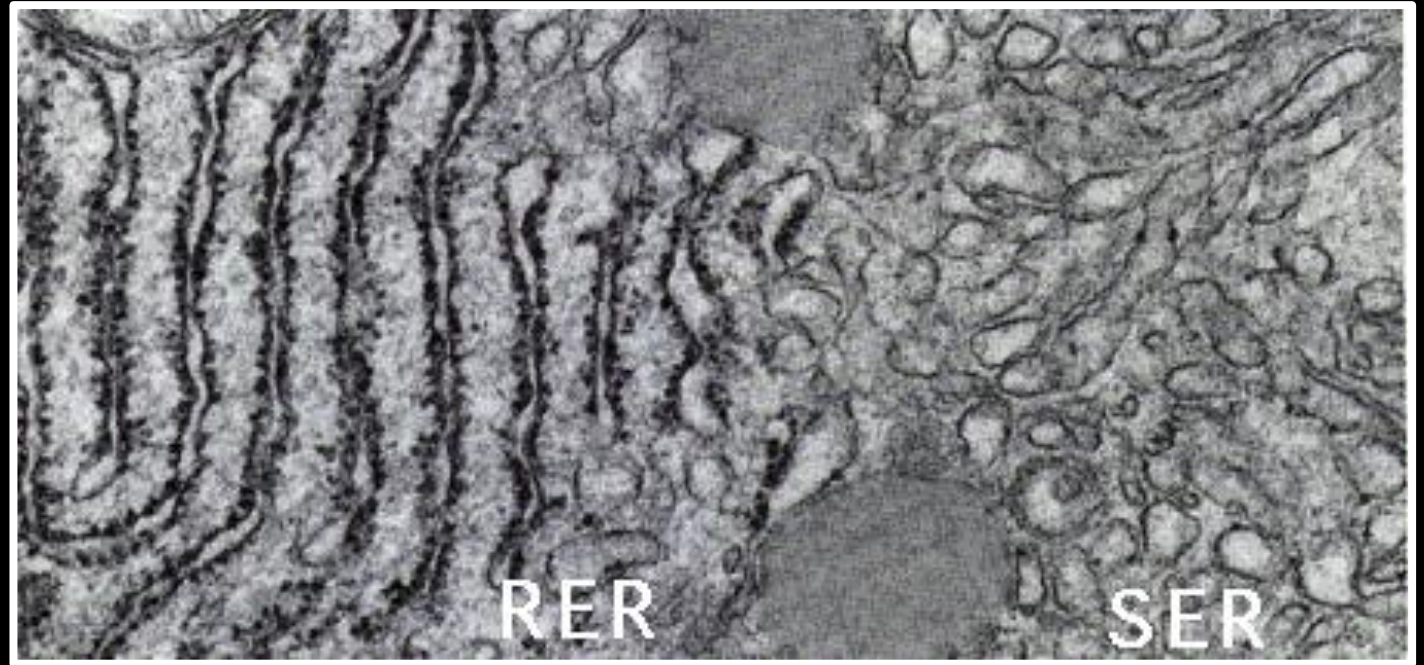
Alcuni sono coinvolti nei processi di divisione degli organelli.



Reticolo endoplasmatico (RE)

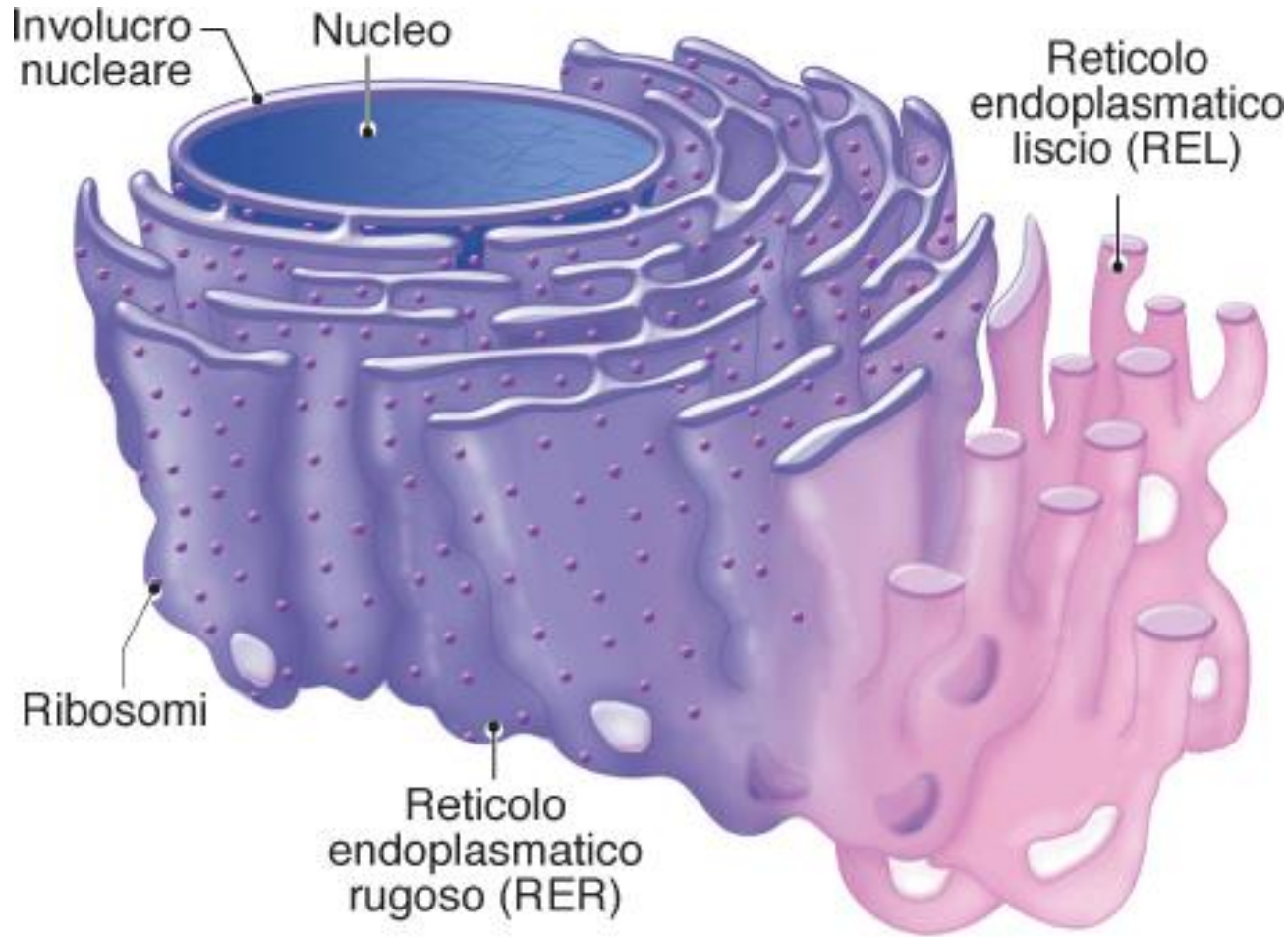


Nucleo = blu
Verde = reticolo endoplasmatico
Rosso = forma della cellula



R= rugoso
S= liscio

Il reticolo endoplasmatico è costituito da membrane tubolari e da sacche appiattite (cisterne) interconnesse tra loro.



Il reticolo endoplasmatico liscio (**SER**) e rugoso (**RER**) differiscono nella struttura e nella funzione.

Il SER è attivo nel metabolismo dei lipidi mentre sulla superficie esterna del RER sono associati i ribosomi.

Il rapporto tra i due tipi di reticolo dipende dallo specifico tipo cellulare.

(1) Le molecole fosfolipidiche vengono sintetizzate sulla membrana del RE utilizzando precursori di origine citosolica. (2) Vengono quindi aggiunte tutte allo strato citosolico della membrana del RE.

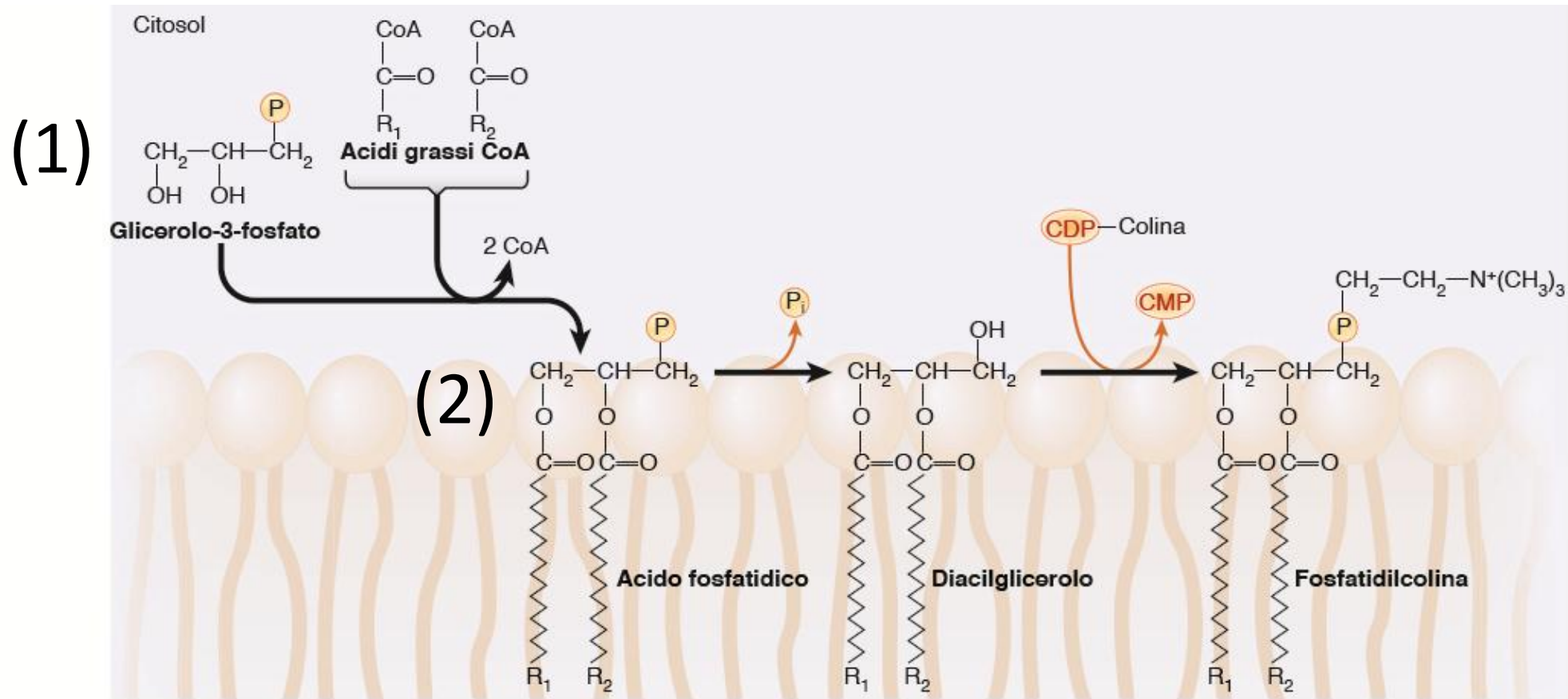
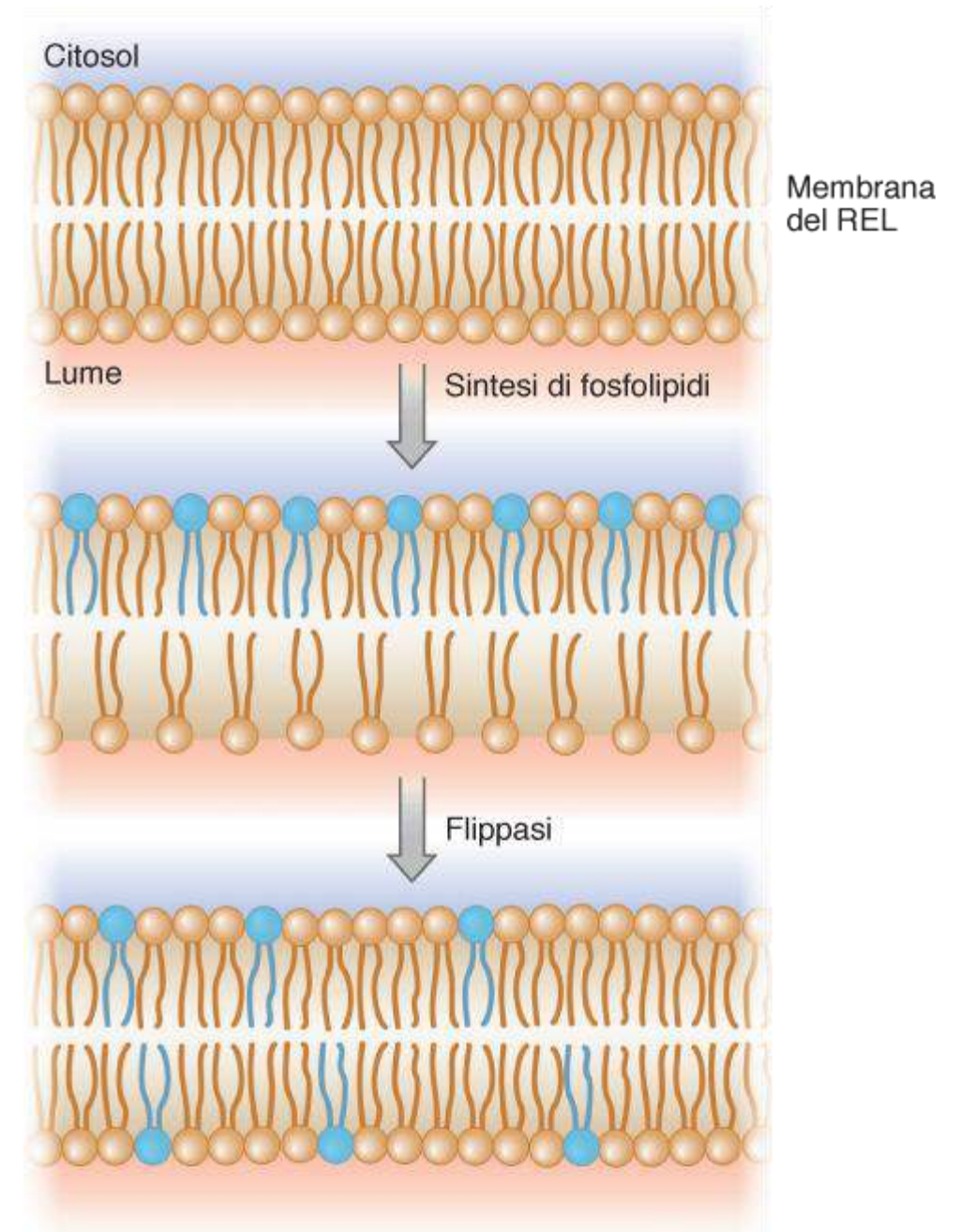
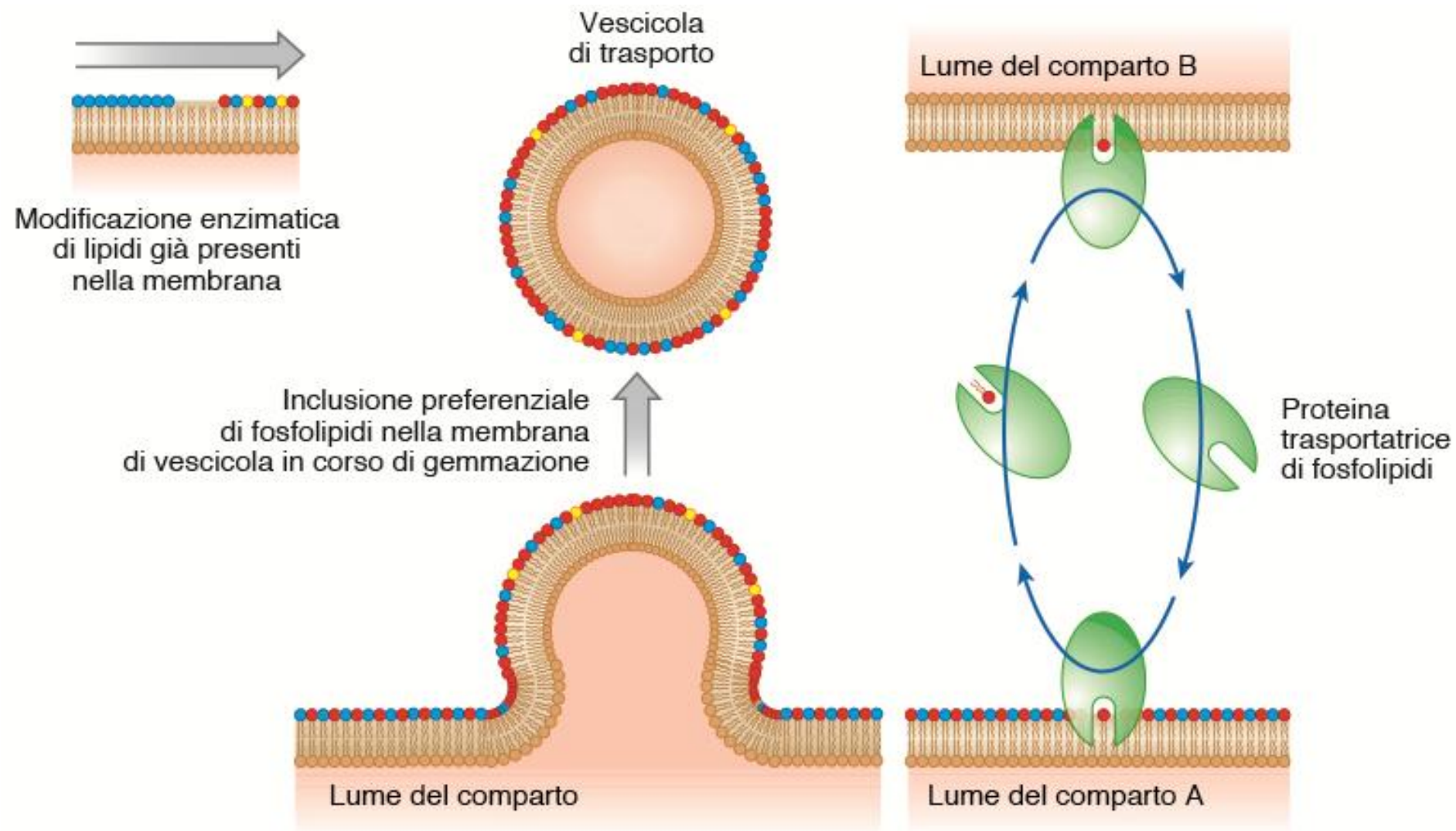


Figura 5.64 ▲ Sintesi dei fosfolipidi. I fosfolipidi sono sintetizzati sulla membrana del REL utilizzando precursori citosolici. Due catene di acidi grassi legate al coenzima A (CoA) sono unite al glicerolo-3-fosfato, con la formazione di acido fosfatidico, che contemporaneamente alla sua sintesi è inserito nella membrana. L'acido fosfatidico è poi convertito in diacilglicerolo da una fosfatasi. Il successivo attacco di diversi gruppi polari porta alla formazione di fosfatidilcolina (mostrata nello schema), fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina o fosfatidilinositolo (non mostrati).


I lipidi neosintetizzati sono inseriti solo nella metà citosolica del doppio strato della membrana del RE.

La crescita avviene in entrambe le membrane per l'azione delle flippasi.

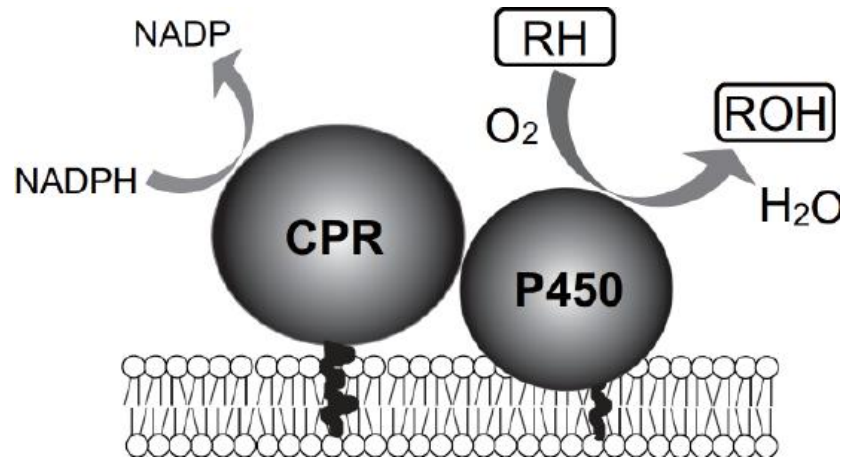




Funzioni tessuto specifiche del Reticolo endoplasmatico liscio (SER)


- ✓ Sintesi degli ormoni steroidei (testosterone , estrogeni, cortisolo) nelle cellule endocrine delle gonadi e corteccia surrenale
- ✓ Sintesi del colesterolo negli epatociti
-  ✓ Detossificazione da sostanze nocive negli epatociti
- ✓ Metabolismo dei carboidrati negli epatociti
- ✓ Accumulo di calcio (reticolo sarcoplasmatico) nella cellula del muscolo scheletrico

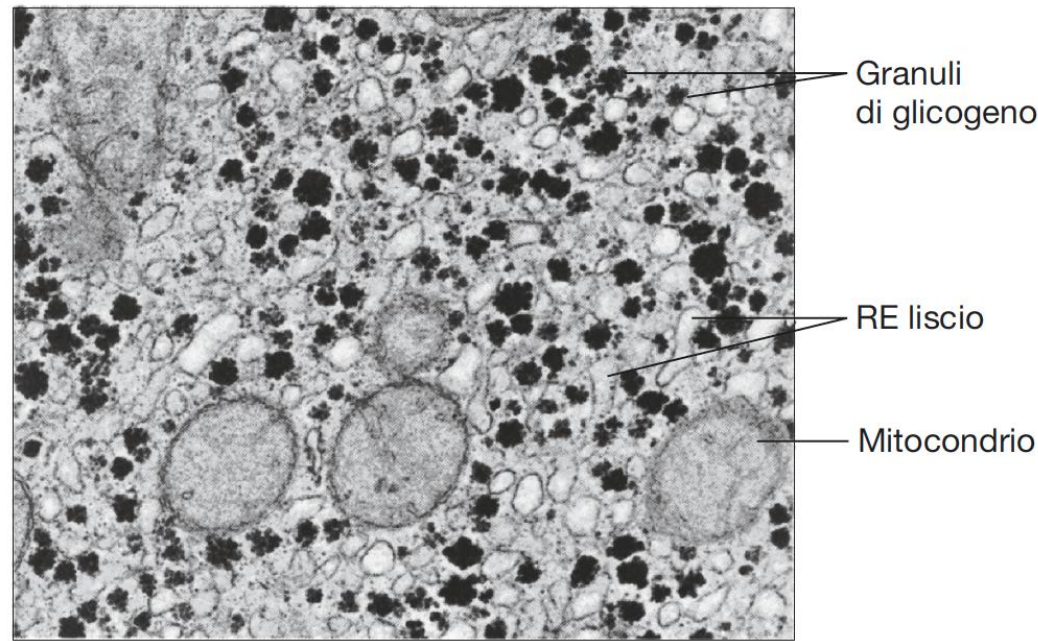
Nel RE la detossificazione di farmaci e composti organici dannosi implica l'*idrossilazione* per rendere tali sostanze più idrosolubili per poter essere escreti nelle urine.



La famiglia di citocromo P450 sono capaci di ossidare diversi composti idrofobici.

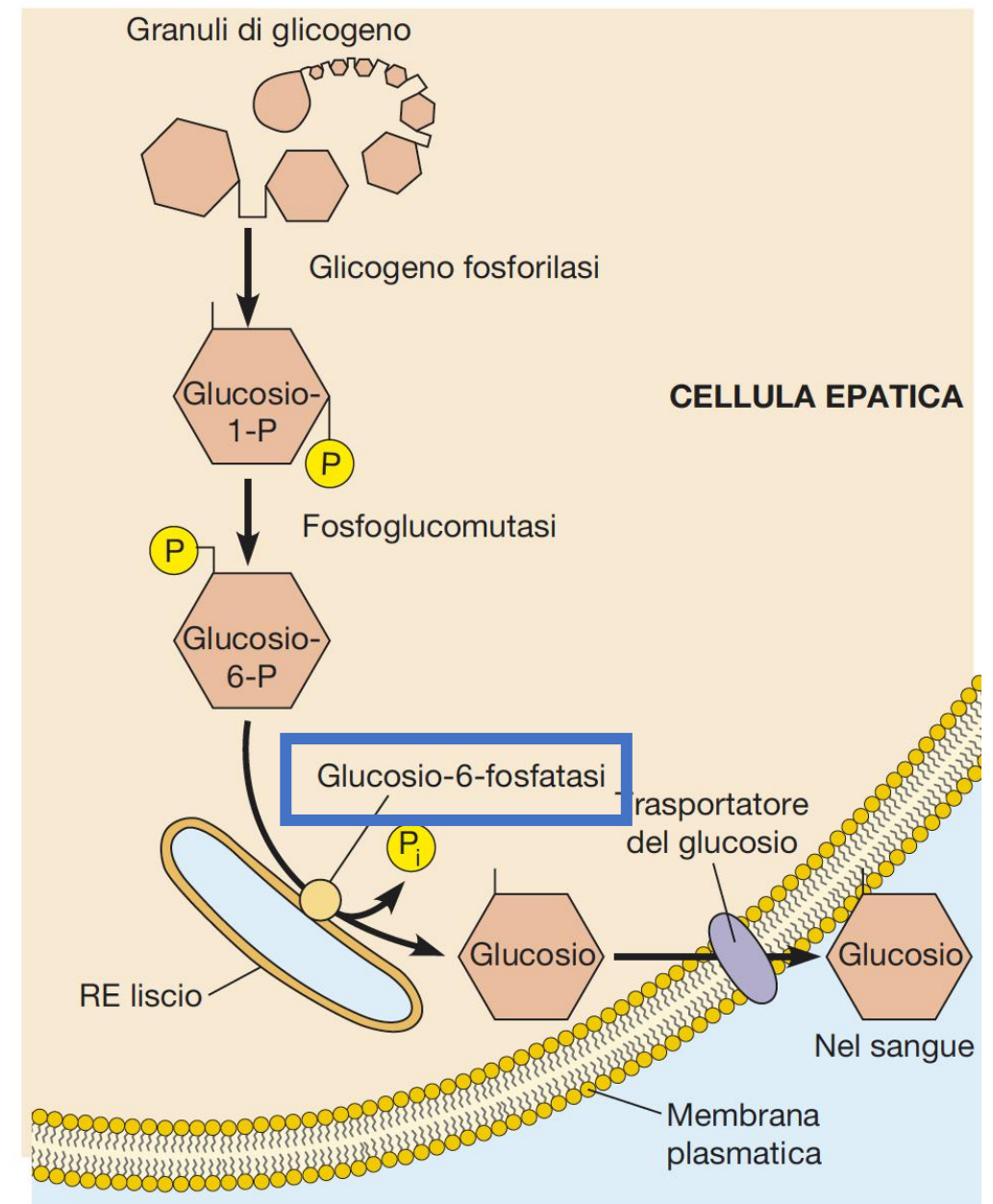
Funzioni tessuto specifiche del Reticolo endoplasmatico liscio (SER)

- ✓ Sintesi degli ormoni steroidei (testosterone , estrogeni, cortisolo) nelle cellule endocrine delle gonadi e corteccia surrenale
- ✓ Sintesi del colesterolo negli epatociti
- ✓ Detossificazione da scorie e sostanze nocive negli epatociti
-  ✓ Metabolismo dei carboidrati negli epatociti
- ✓ Accumulo di calcio (reticolo sarcoplasmatico) nella cellula del muscolo scheletrico




(a) Vicinanza del glicogeno al RE liscio

FIGURA 12.3 Ruolo del RE liscio nel catabolismo del glicogeno epatico. (a) Questa micrografia elettronica di una cellula epatica di scimmia mostra numerosi granuli di glicogeno strettamente associati al RE liscio (TEM). (b) La degradazione del glicogeno epatico comporta la liberazione graduale delle unità di glucosio sotto forma di glucosio-1-fosfato, seguita dalla conversione del glucosio-1-fosfato in glucosio-6-fosfato da parte di enzimi del citosol. L'eliminazione del gruppo fosfato avviene a opera della glucosio-6-fosfatasi, un enzima associato alla membrana del RE liscio. Il glucosio libero viene poi trasportato fuori dalla cellula epatica, nel sangue, da un trasportatore del glucosio presente nella membrana plasmatica.



(b) Processo di degradazione del glicogeno nel fegato

Funzioni tessuto specifiche del Reticolo endoplasmatico liscio (SER)

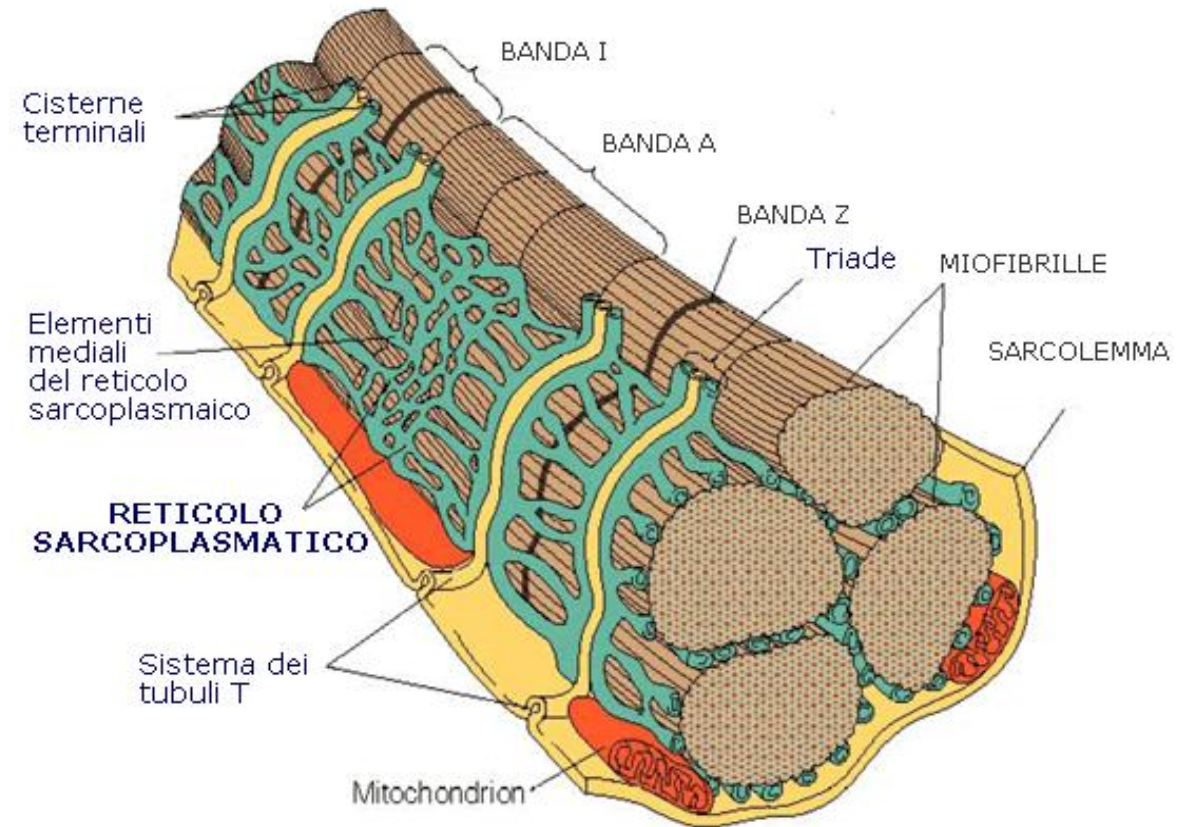
- ✓ Sintesi degli ormoni steroidei (testosterone , estrogeni, cortisolo) nelle cellule endocrine delle gonadi e corteccia surrenale
- ✓ Sintesi del colesterolo negli epatociti
- ✓ Detossificazione da scorie e sostanze nocive negli epatociti
-  ✓ Metabolismo dei carboidrati negli epatociti
- ✓ Accumulo di calcio (reticolo sarcoplasmatico) nella cellula del muscolo scheletrico

Reticolo sarcoplasmatico nella fibra muscolare

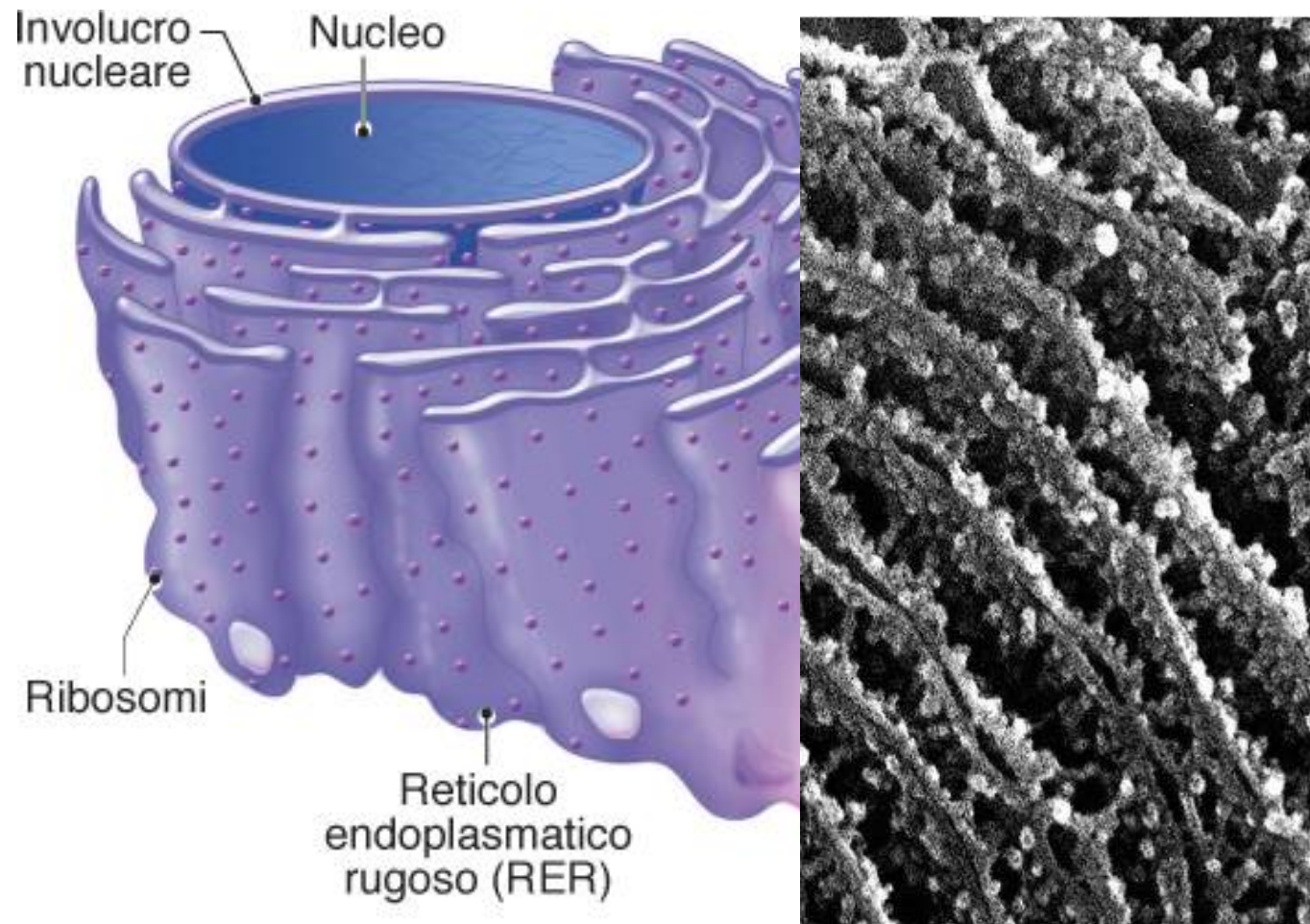
Nelle cellule muscolari striate il reticolo endoplasmatico liscio circonda le miofibrille e svolge una funzione specifica alla contrazione muscolare.

Immagazzina ioni calcio che in seguito ad uno stimolo vengono rilasciati nel citoplasma per indurre la contrazione della fibra muscolare.

Presenta numerosi canali e pompe per il calcio.



Il reticolo endoplasmatico rugoso è coinvolto nella **sintesi delle proteine** (incluse modificazioni post-traduzionali) e nel trasporto verso altri distretti cellulari



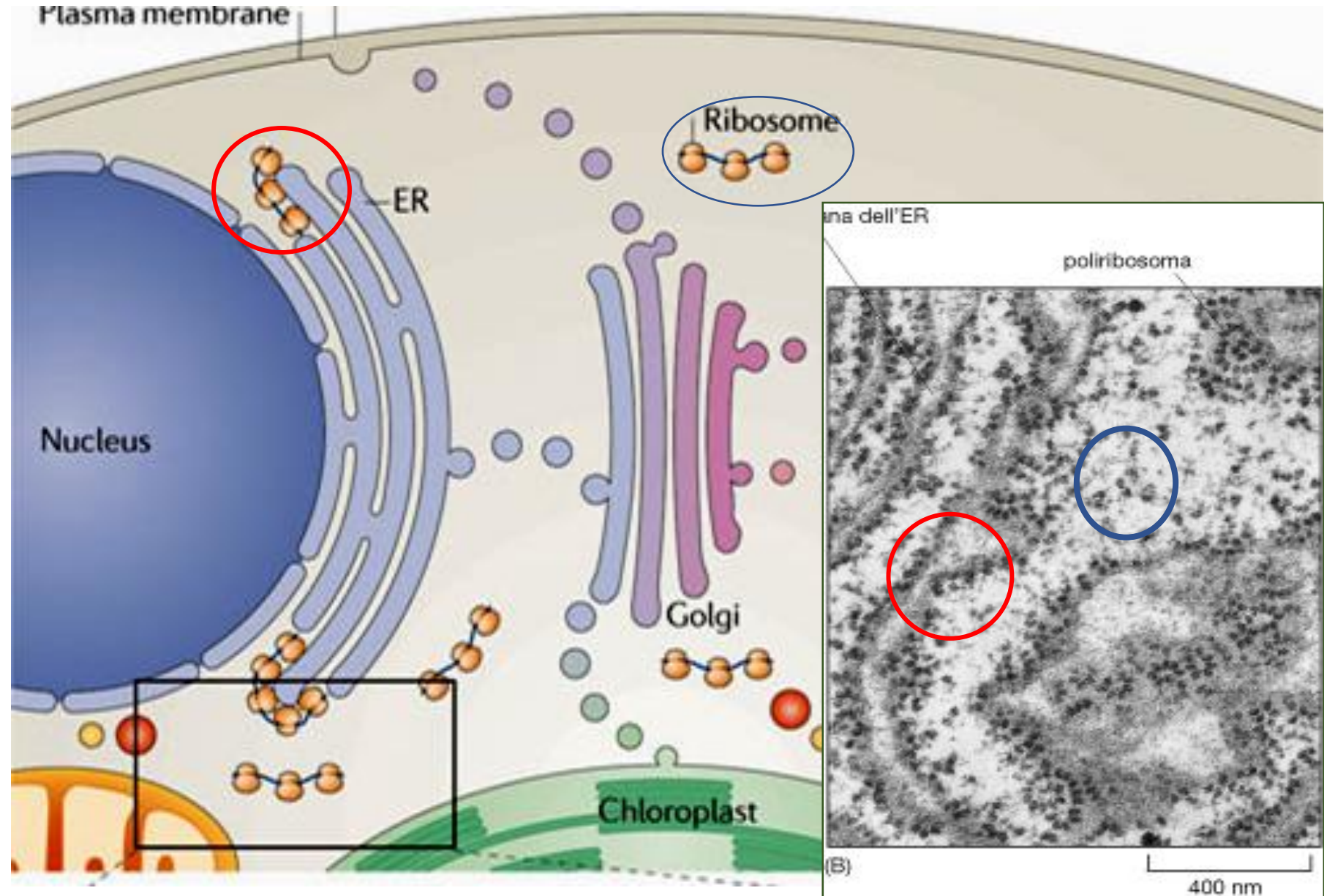
Nel lume del RER le proteine vengono **maturate**:

- assumono la corretta conformazione (chaperon molecolari) e vengono eliminate se non ripiegate correttamente
- modificazioni post-traduzionali (glicosilazione, formazione di ponti disolfuro , ecc.)

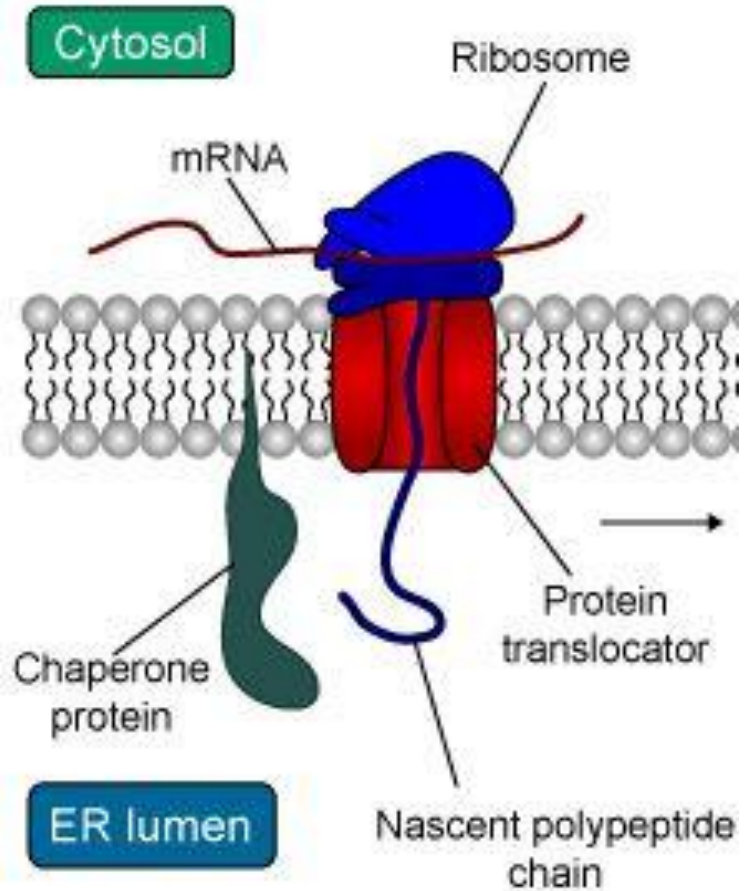
La sintesi delle proteine inizia sempre sui ribosomi liberi nel citosol.

Alcuni proseguono e completano la sintesi

- a) Liberi nel citoplasma
- b) Legati alle membrane del reticolo endoplasmatico

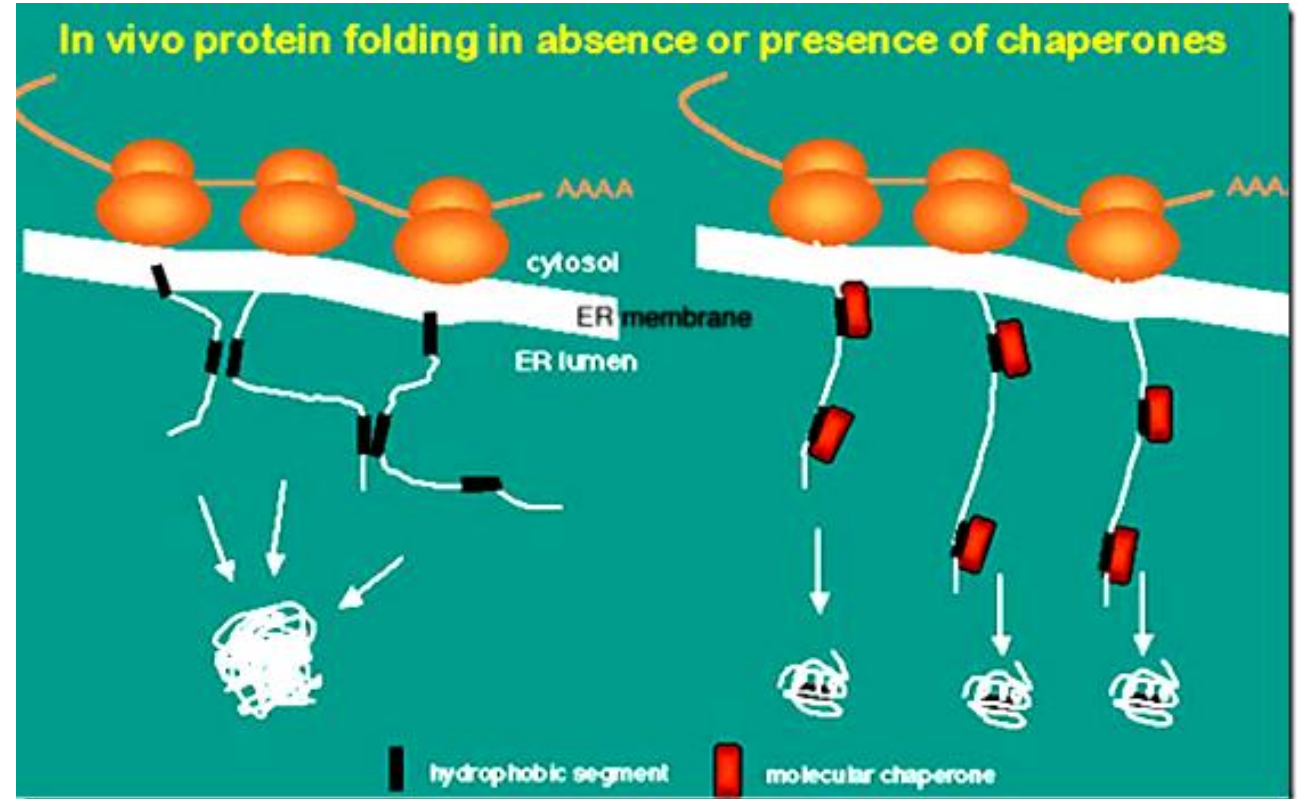
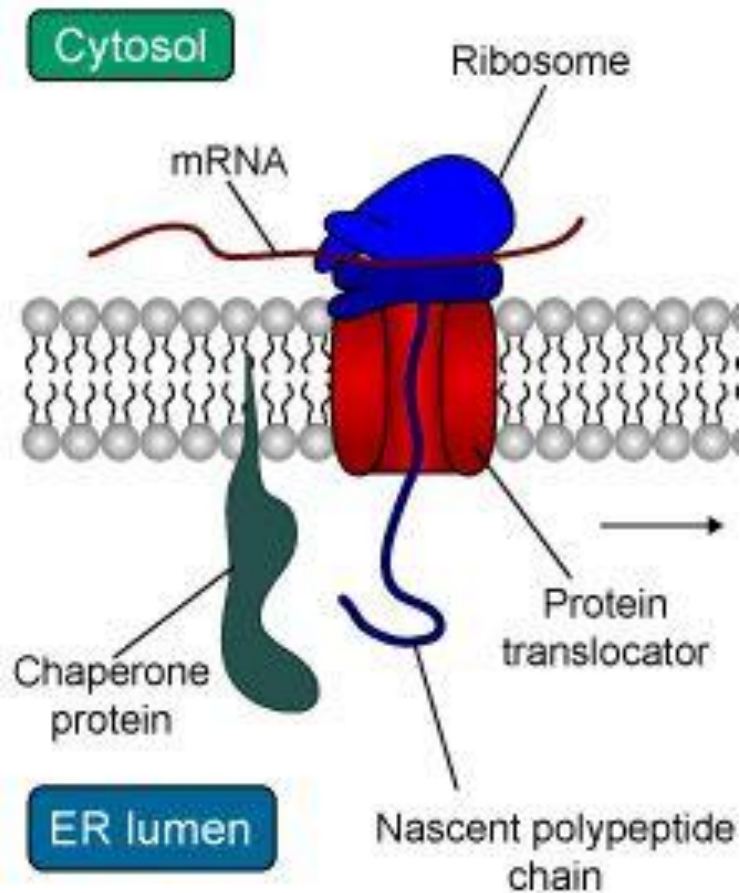


IMPORTO CO-TRADUZIONALE



La catena polipeptidica in via di formazione viene trasferita nel RE man mano che la traduzione procede (***importo co-traduzionale***).

INTERVENTO DELLE PROTEINE CHAPERON



Le Bip impediscono che durante la sintesi delle proteine le regioni idrofobiche sulla stessa proteina stessa o su più proteine si aggregino tra di loro formando degli aggregati.

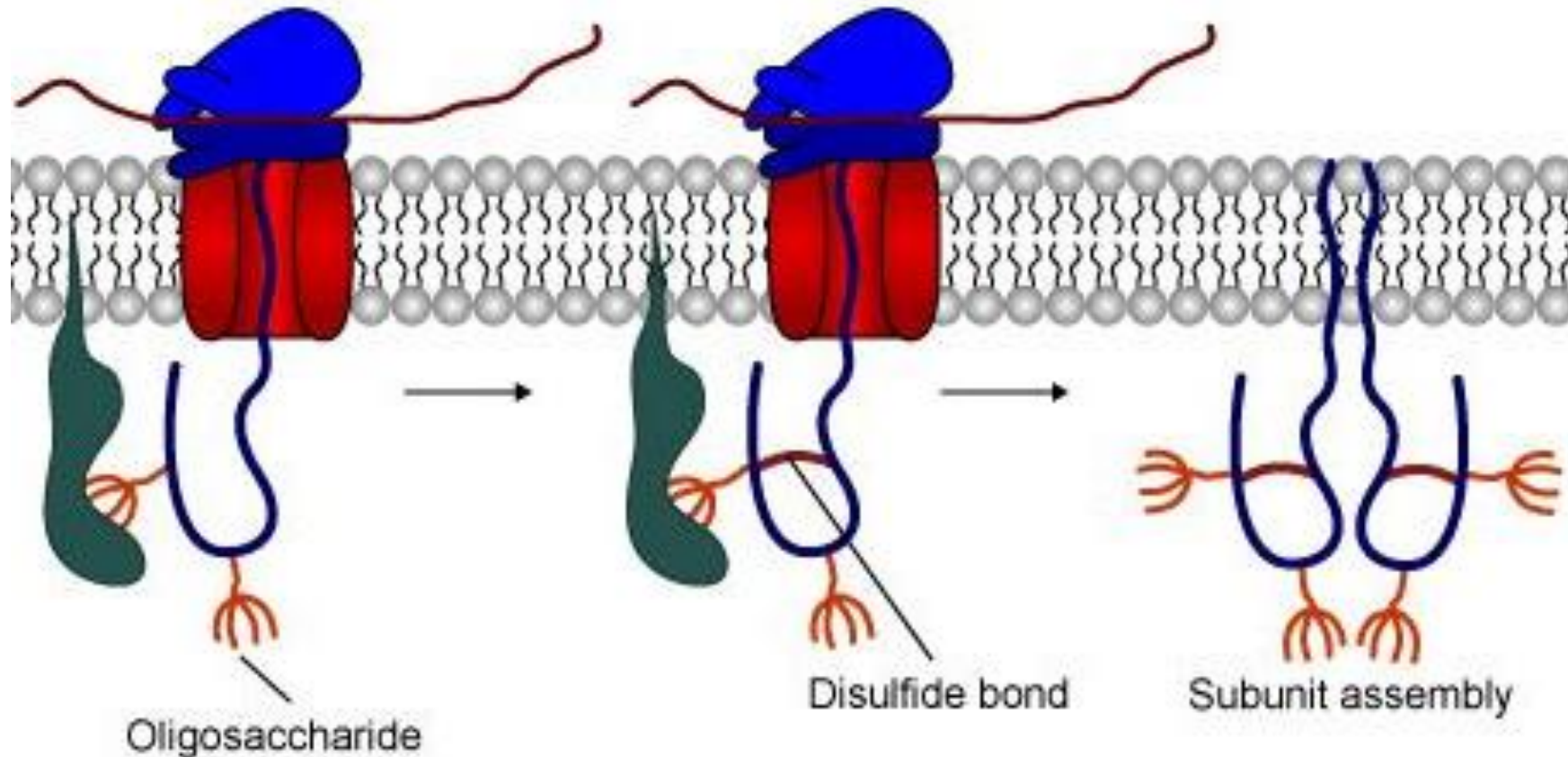
Man mano che la sintesi procede le chaperon BiP facilitano l'acquisizione della struttura tridimensionale della nuova proteina.
Le proteine correttamente ripiegate sono poi rilasciate dalle Bip.

MATURAZIONE DELLE PROTEINE IMPORTATE NEL RE (modificazioni della proteina)

Protein Synthesis and Processing in the Rough ER

GLICOSILAZIONE

FORMAZIONE DEI PONTI DISOLFURO





N-Glicosilazione

Nel RE molte proteine vengono glicosilate sull'asparagina.

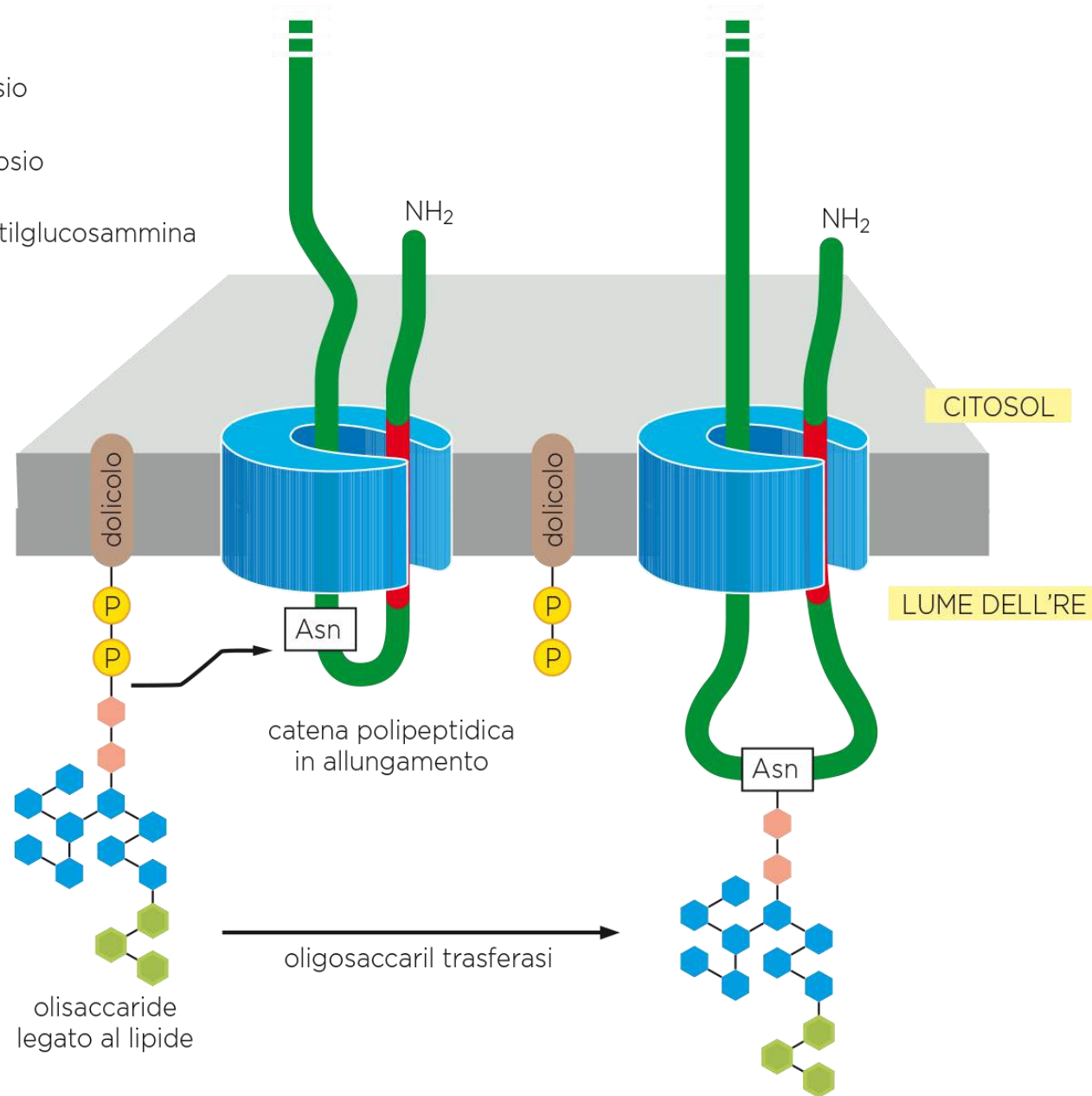
Ogni catena oligosaccaridica è già formata e portata dal lipide dolicoico. L'enzima *oligosaccaril transferasi* catalizza la reazione di trasferimento dell'intero oligosaccaride.

LEGENDA:

 = glucosio

 = mannosio

 = N-acetilglucosammina





N-Glicosilazione

Nel RE molte proteine vengono glicosilate sull'asparagina.

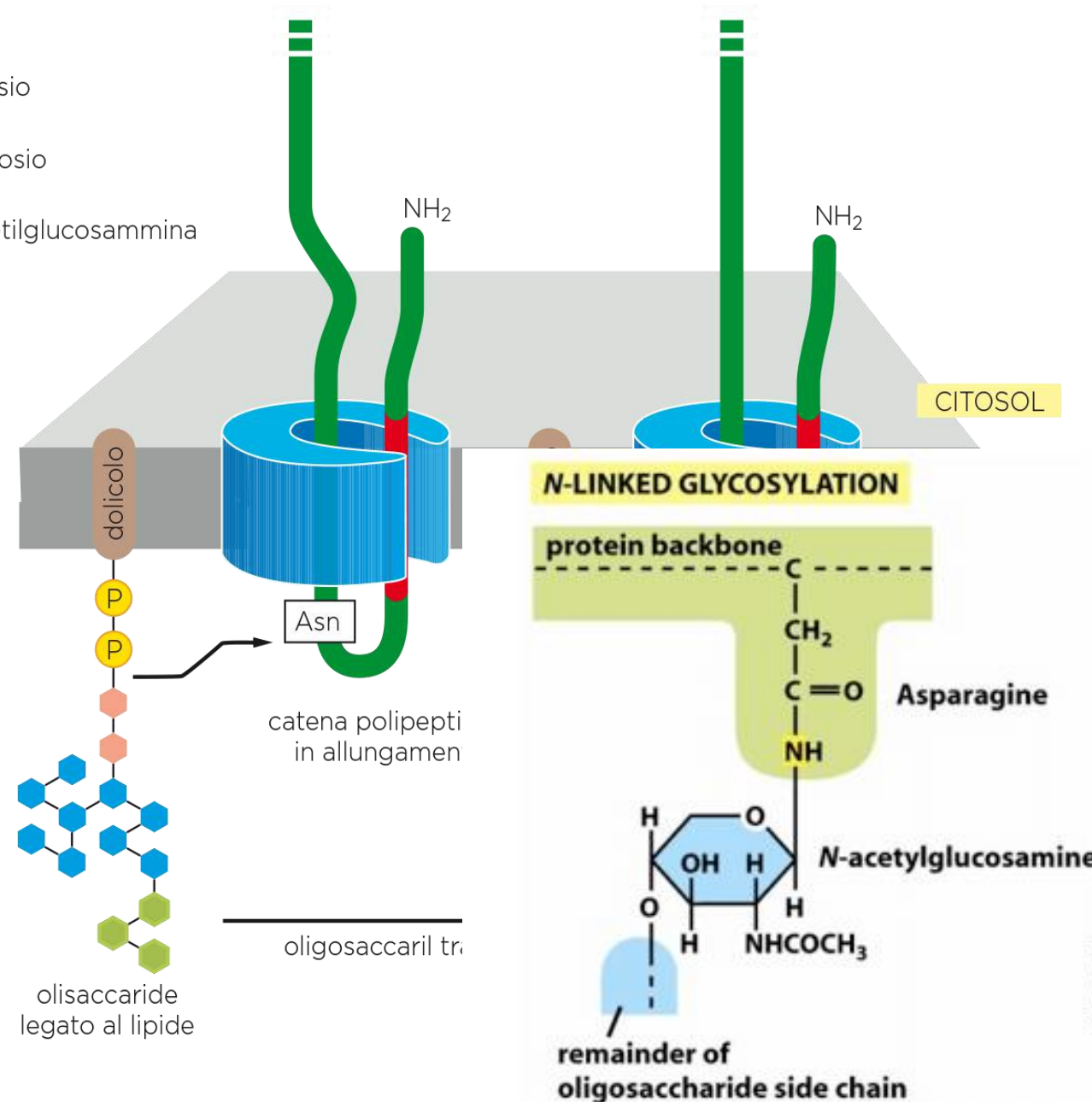
Ogni catena oligosaccaridica è già formata e portata dal lipide dolicoico. L'enzima *oligosaccaril transferasi* catalizza la reazione di trasferimento dell'intero oligosaccaride.

LEGENDA:

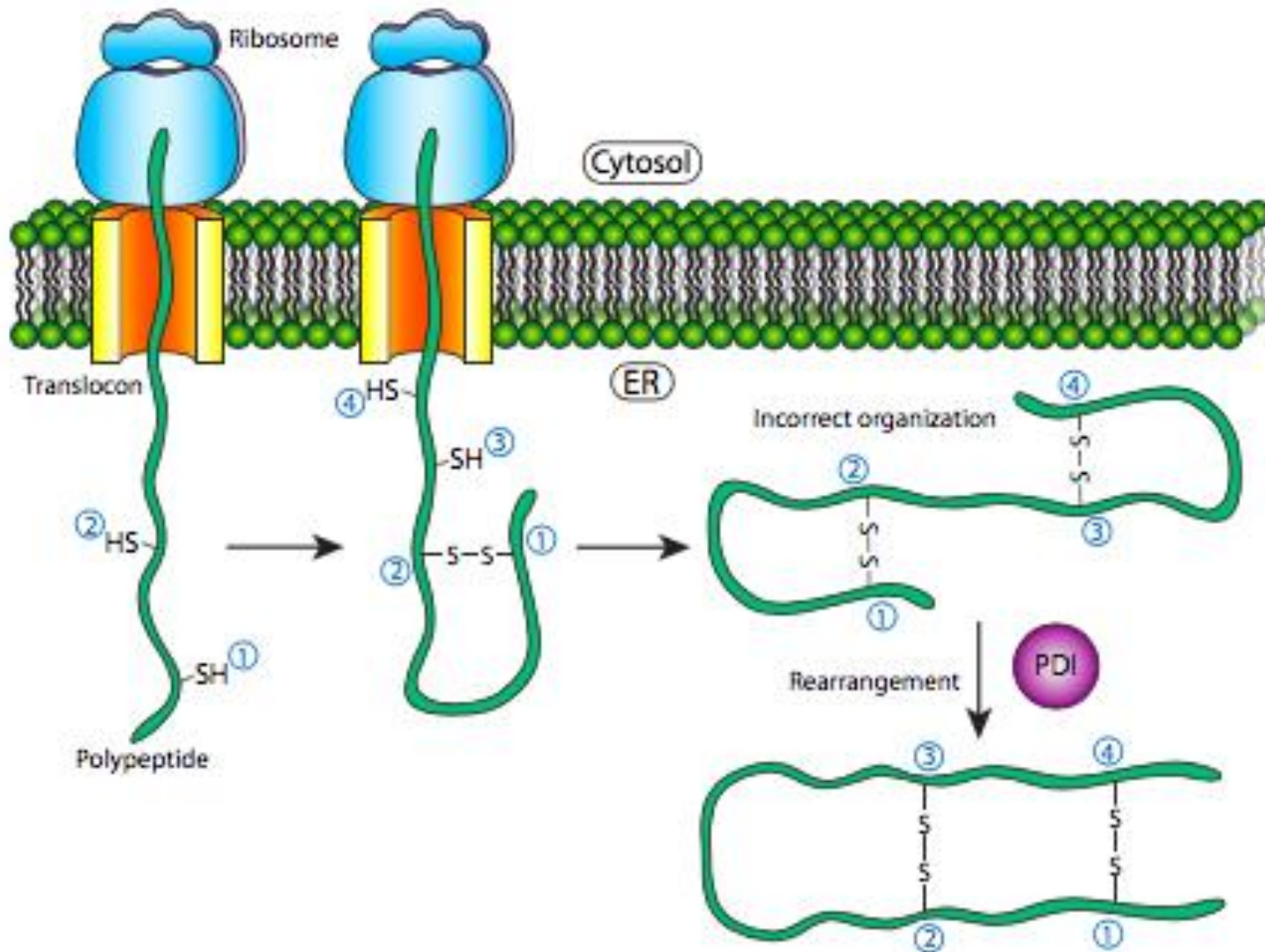
 = glucosio

 = mannosio

 = N-acetilglucosammina



Formazione di ponti di solfuro

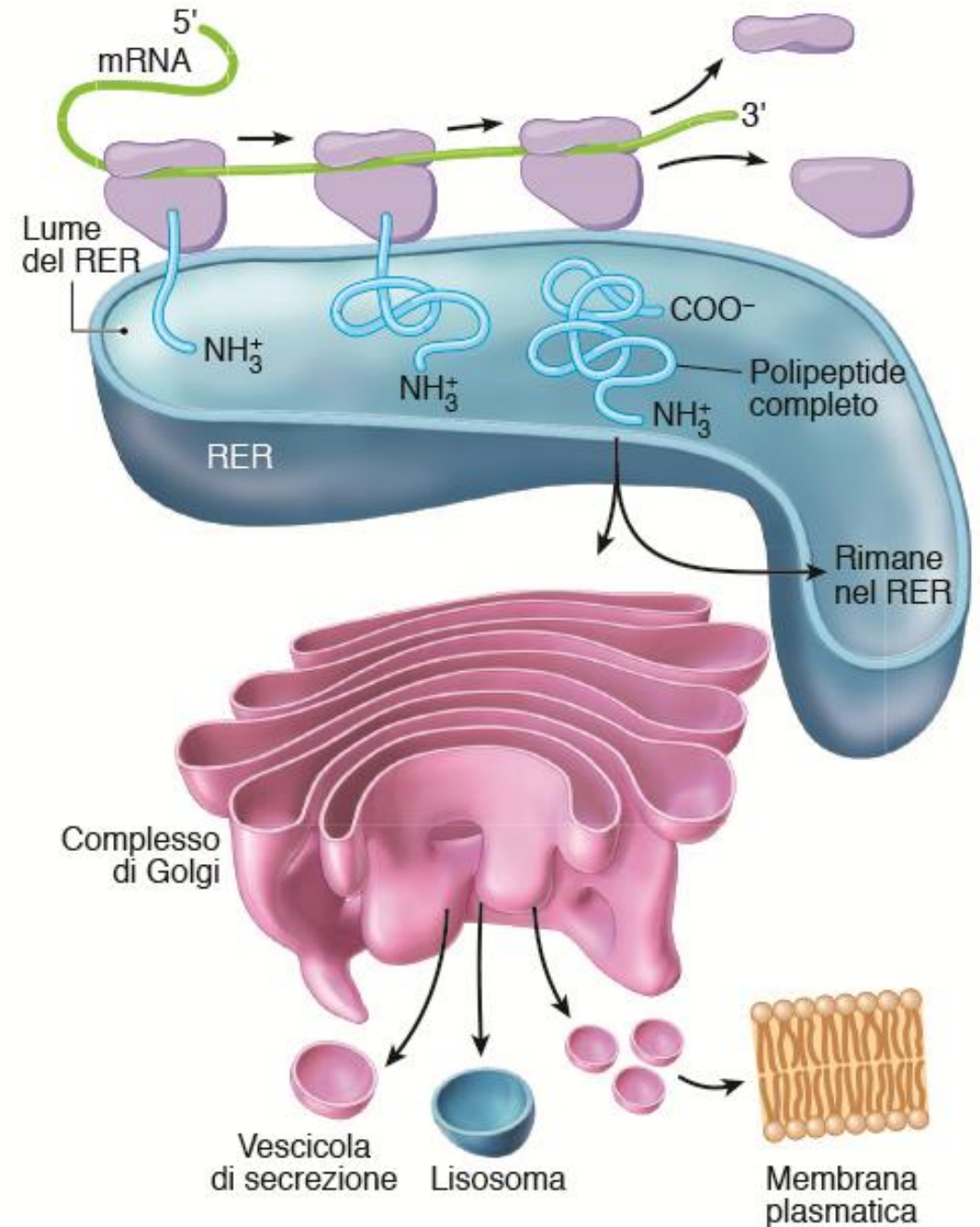


Durante la sintesi di una proteina generalmente i legami si formano in successione e solo quando la proteina ha raggiunto la conformazione definitiva vengono corretti se necessario. In questo caso intervengono le **disolfuro isomerasi (PDI)**.

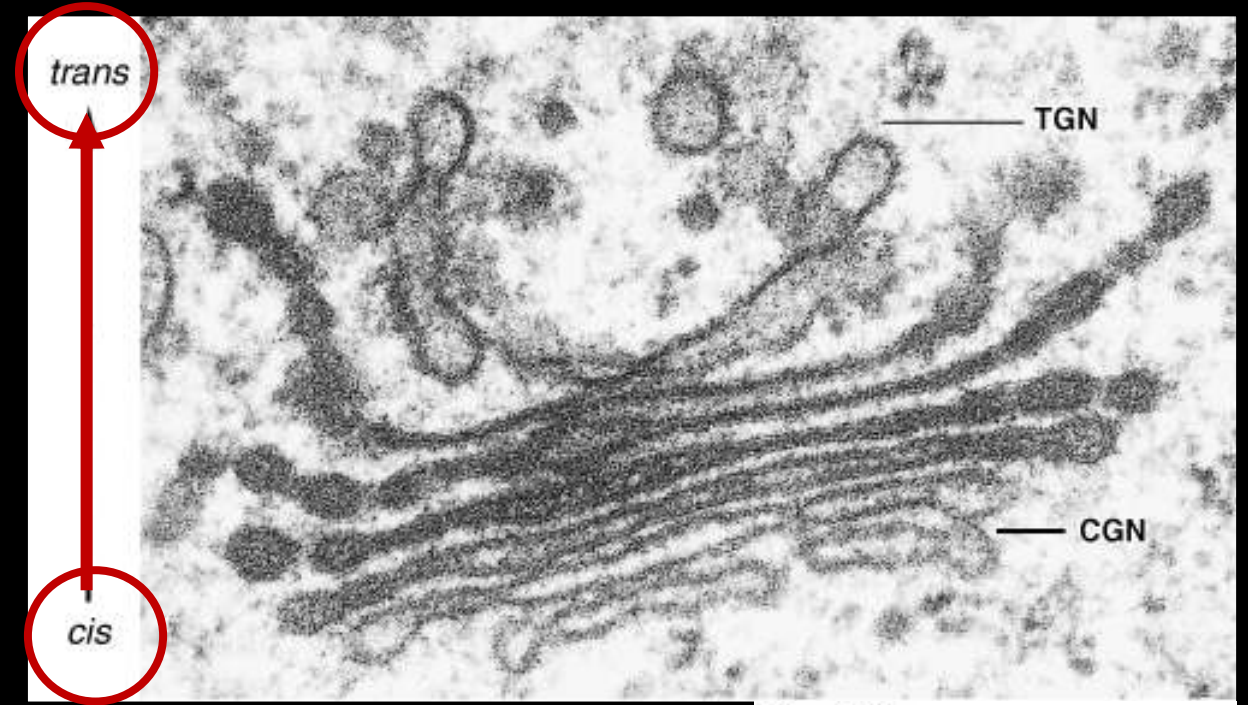
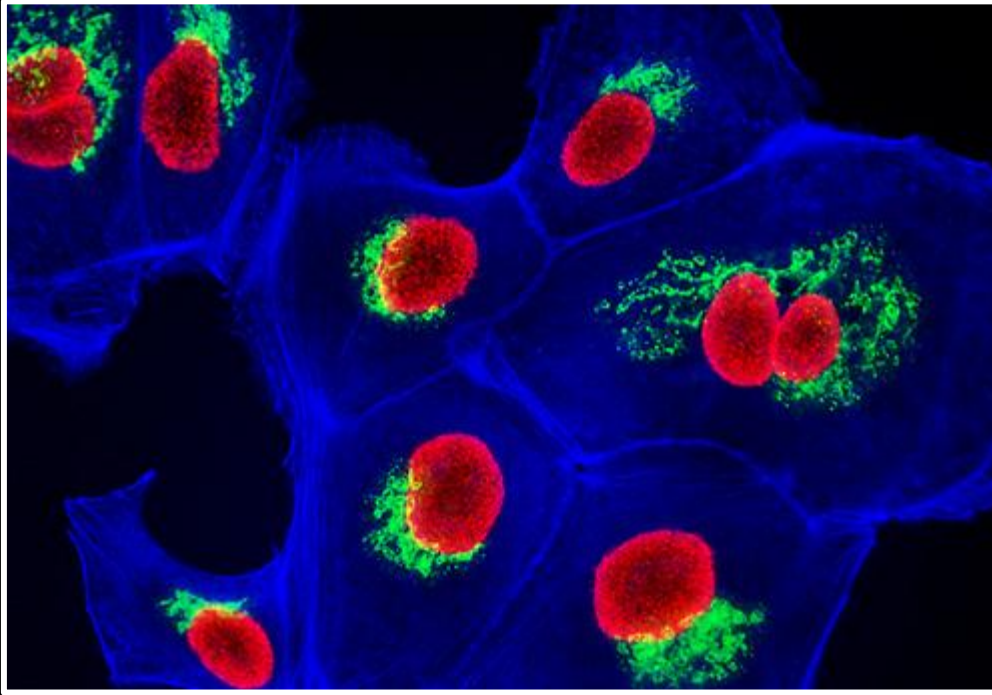
Le disolfuro isomerasi (**PDI**) sono enzimi contenenti anch'essi delle cisteine che in forma ridotta e poi ossidata rompono e facilitano la formazione dei legami disolfuro della proteina di nuova sintesi

Dove vengono veicolate le proteine le proteine prodotte nel RE?

1. Alcune rimangono nel RE
2. Altre veicolate al Complesso di Golgi
3. Se mal ripiegate vengono espulse nel citoplasma, poliubiquitinate e degradate



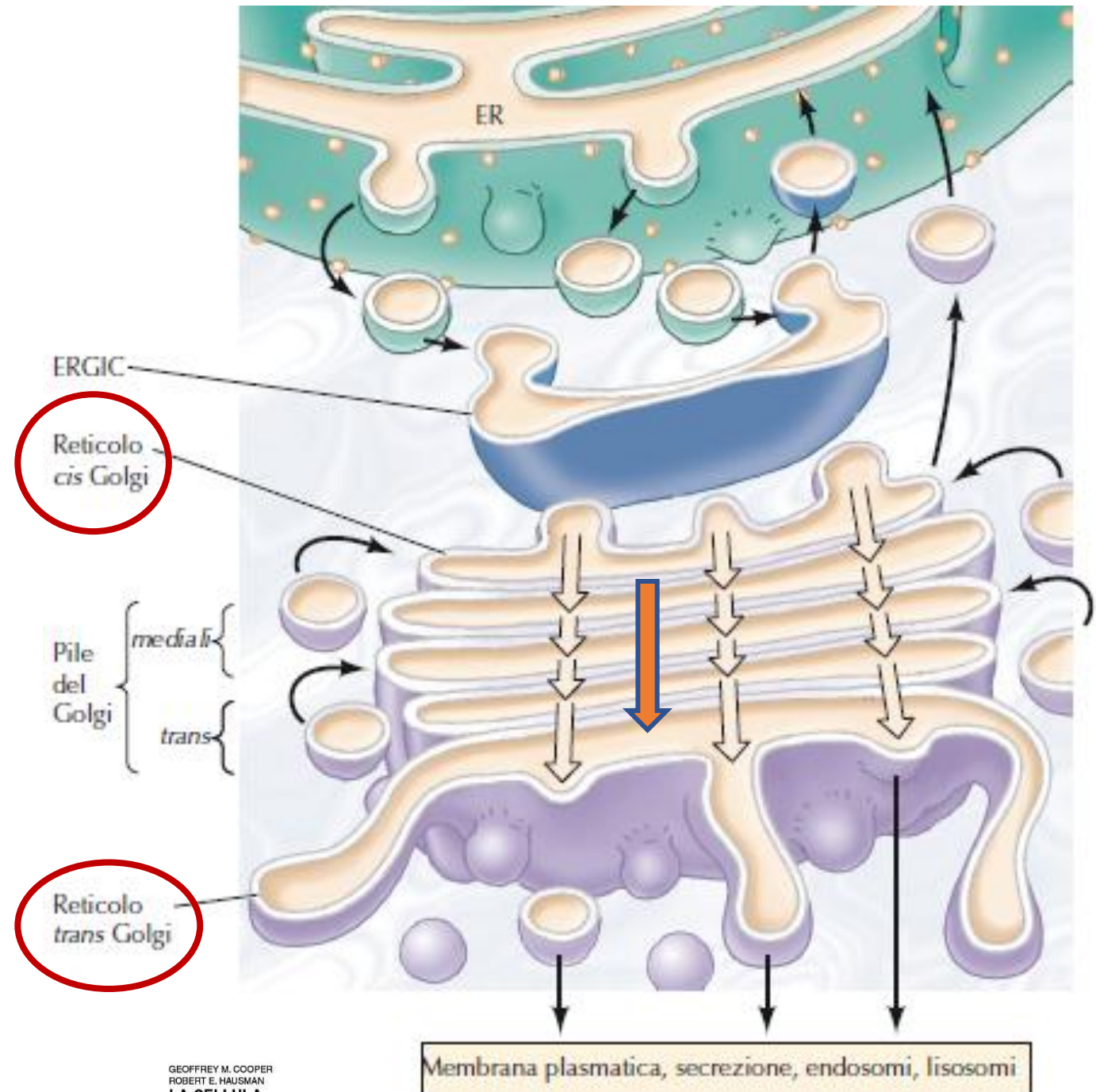
Apparato di Golgi



Gerald Karp
Biologia cellulare e molecolare
EdiSES

Il complesso di Golgi riceve le proteine sintetizzate nel RE nel lato *cis* e le veicola progressivamente fino al lato *trans*.

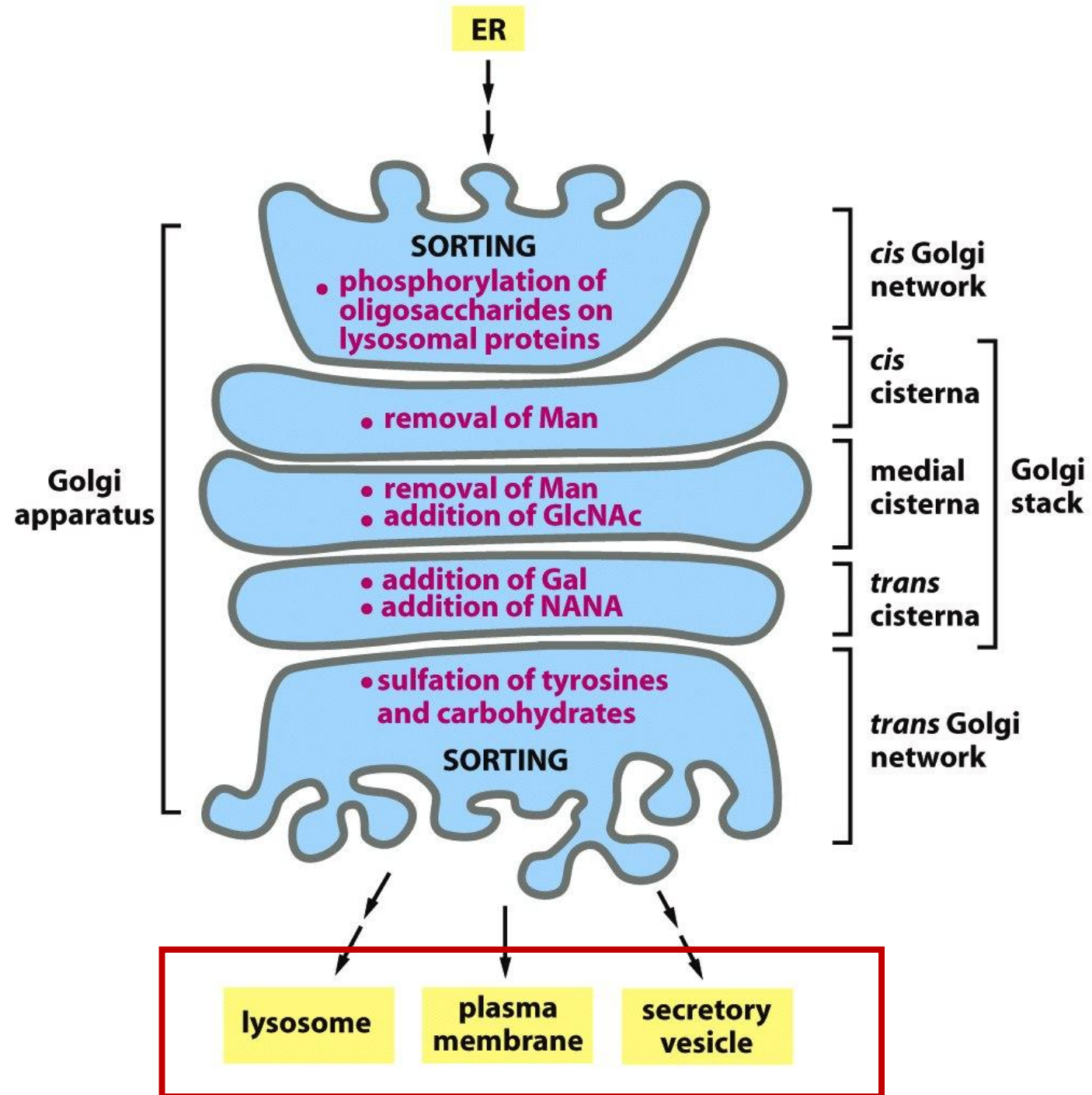
Il trasporto delle proteine avviene tramite vescicole.



La funzione principale dell'apparato di Golgi è quella di ricevere e spedire vescicole di trasporto elaborandone il contenuto.

Ogni cisterna del Golgi è dotata di uno specifico pool di enzimi per una modificazione ben precisa.

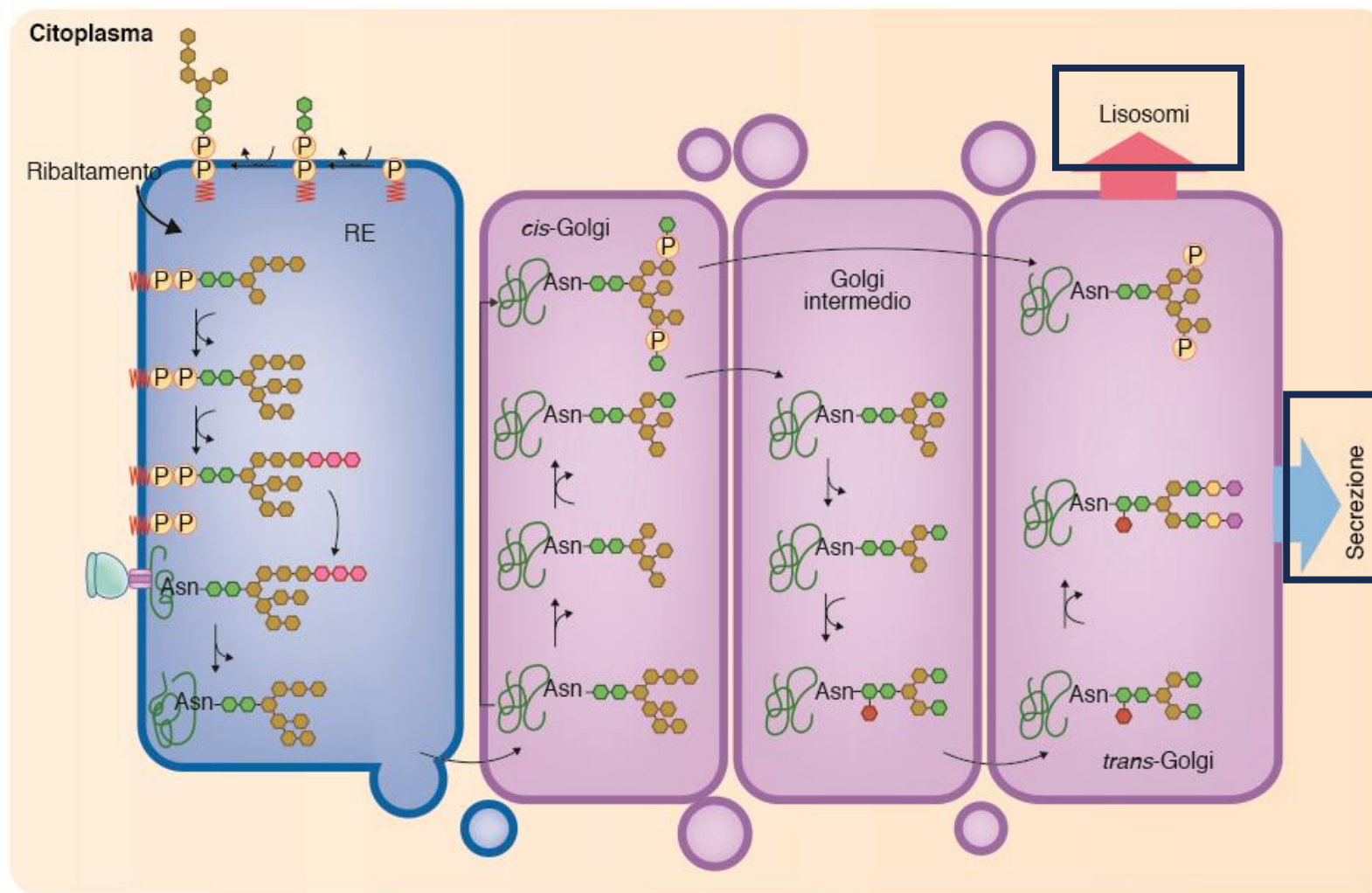
Nel Golgi vengono aggiunte catene oligosaccaridiche e modificate quelle già presenti (aggiunta di gruppi solfato o fosfato, modificazioni della catena con altri zuccheri).



Riassumendo



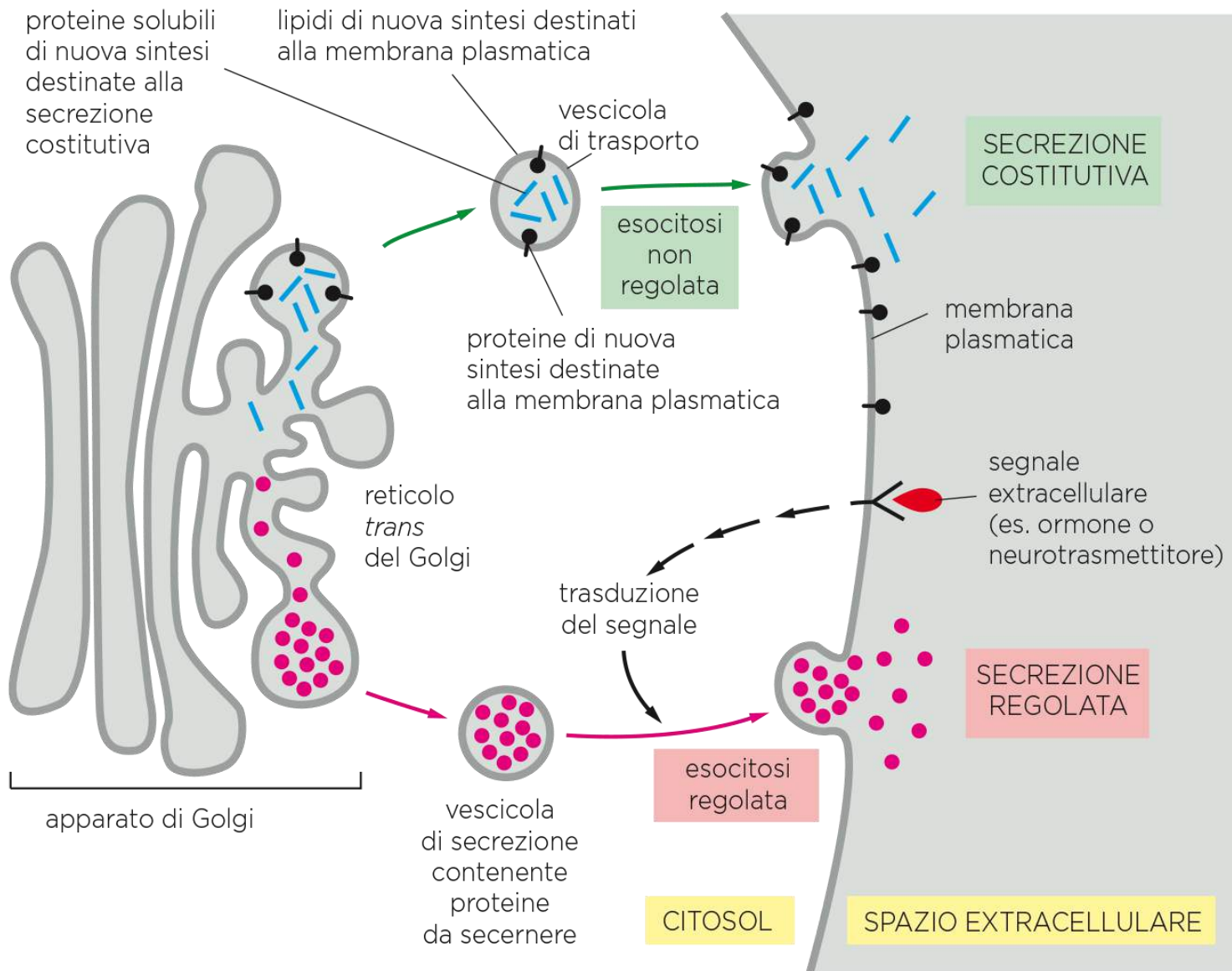
Figura 5.81 ◀ Nel RER la catena oligosaccaridica aggiunta durante la *N*-glicosilazione si forma ancorata alla membrana e subisce delle modificazioni che prevedono la perdita di tre molecole di glucosio a opera di glicosidasi I e II, oltre alla rimozione di un mannosio a opera di una mannosidasi.



SECREZIONE

<https://app.jove.com/embed/player?id=11891&access=622abf17d1&t=1&s=1&fpv=1>

L'esocitosi è il processo di fusione di una vescicola con la membrana plasmatica.



Secrezione costitutiva:

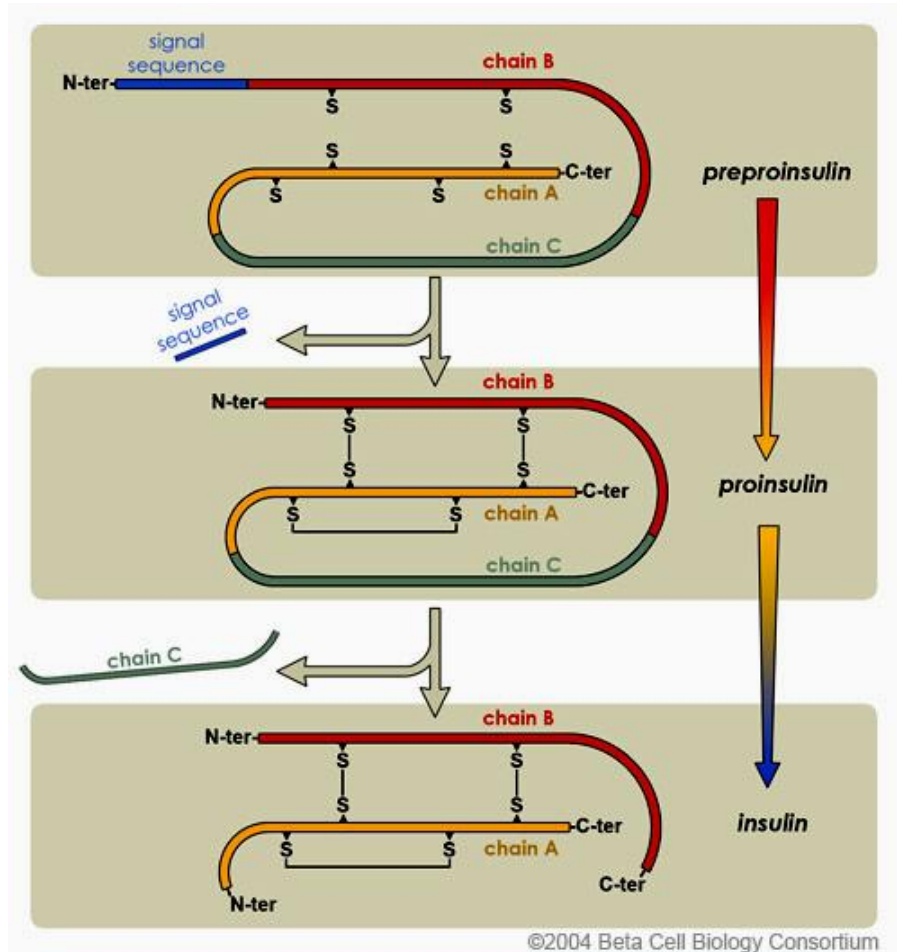
fusione non specifica delle vescicole e del loro contenuto con la membrana plasmatica.

Fornisce proteine di nuova sintesi alla membrana plasmatica e rilascia all'esterno componenti della matrice extracellulare, enzimi, ecc. **«Via di default».**

Secrezione regolata:

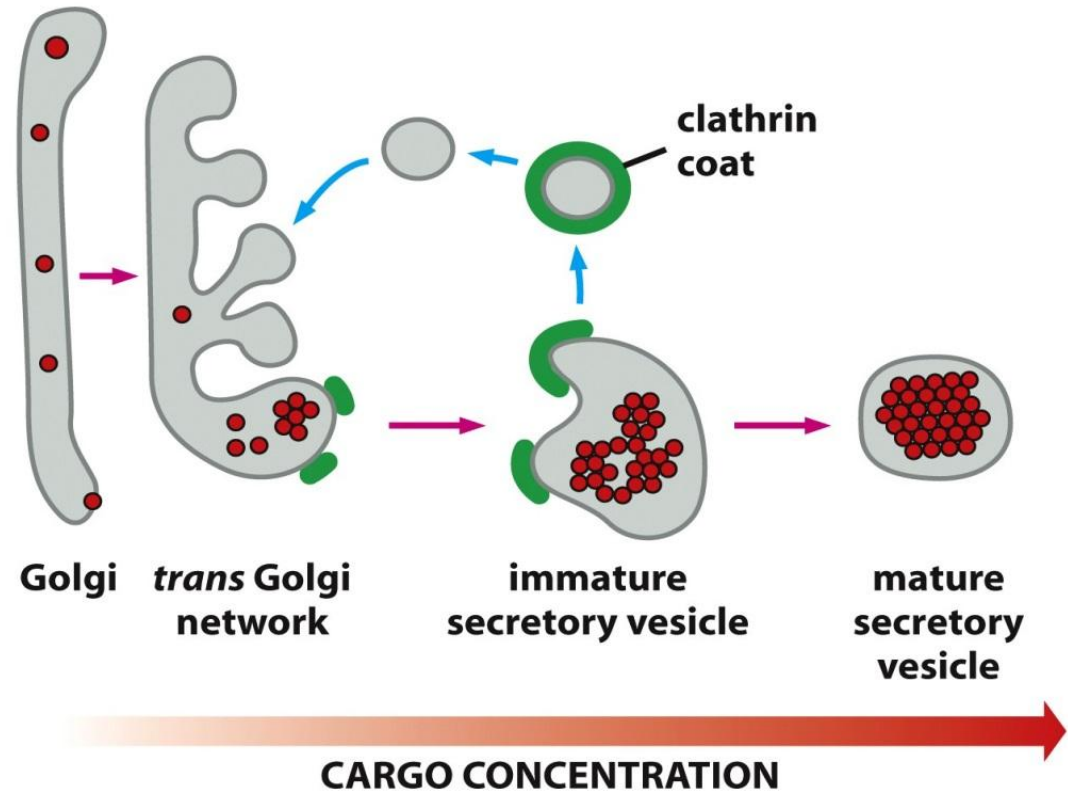
le proteine vengono conservate nelle vescicole di secrezione. La secrezione segue uno specifico stimolo. Richiede un recettore sulla membrana per la molecola segnale. Attiva solo in cellule specializzate.

Esempio di secrezione regolata: INSULINA

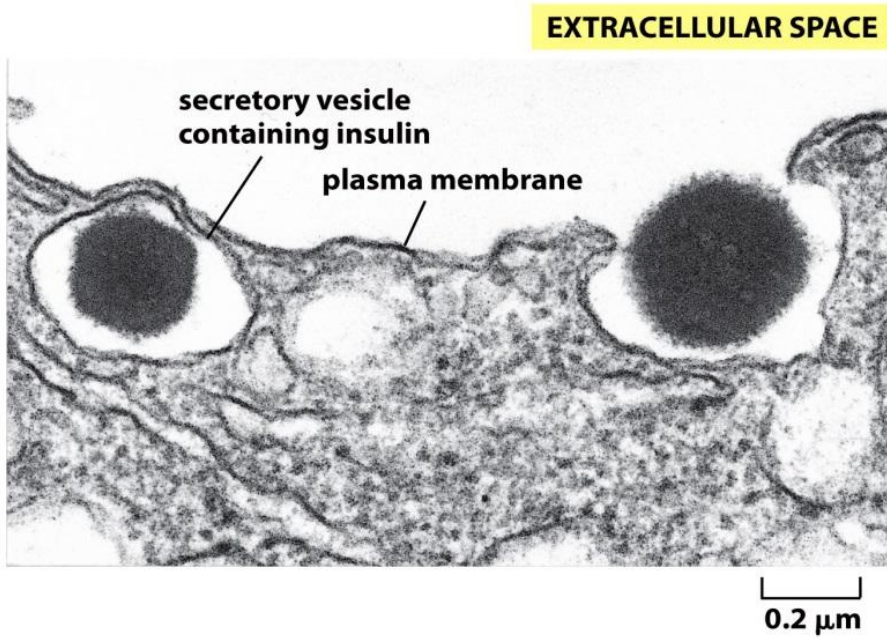


Maturazione dell'insulina:

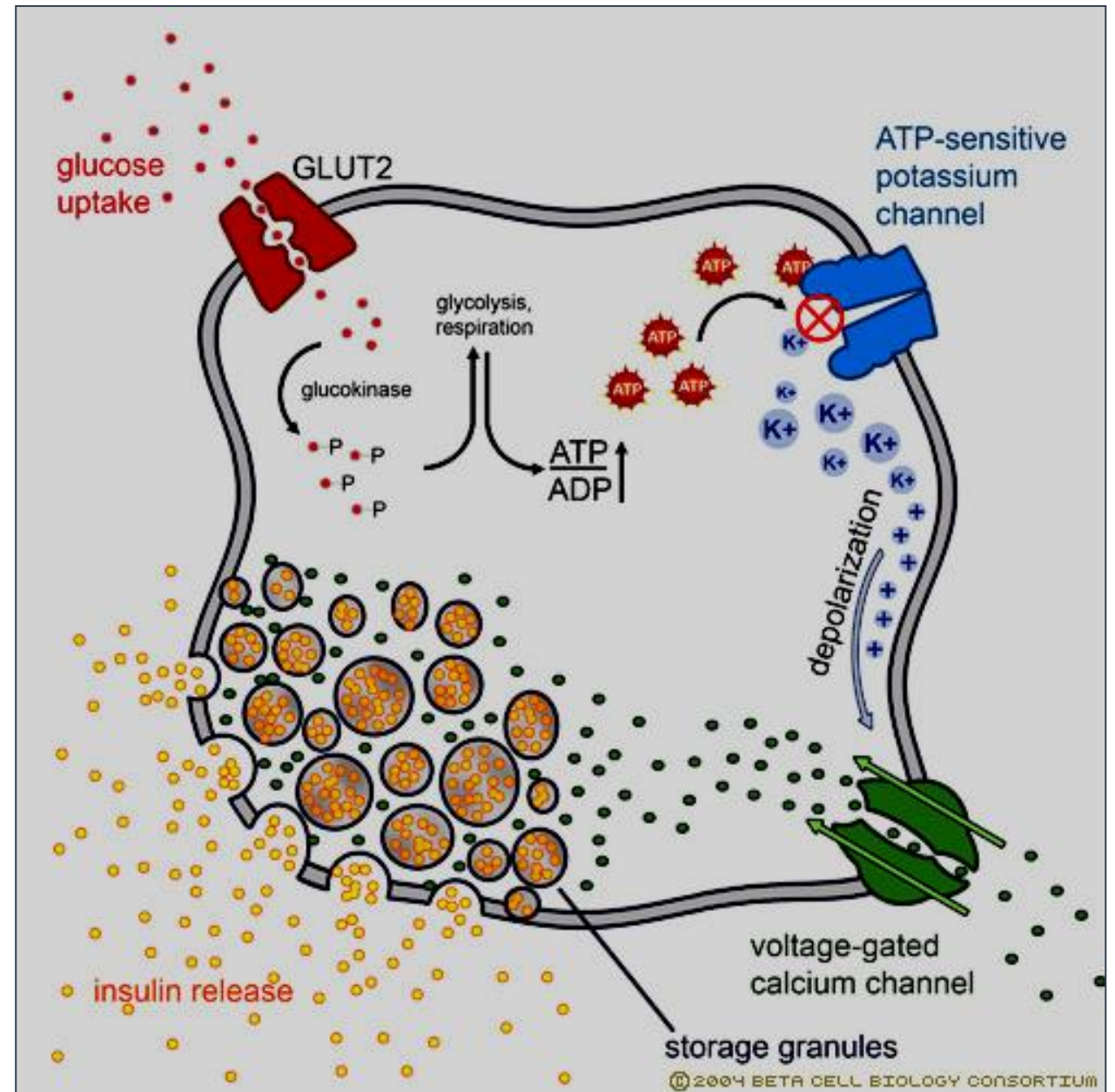
- nel reticolo endoplasmatico
- nel Golgi
- nelle vescicole di secrezione



Le proteine vengono concentrate (200-400 volte) nelle vescicole che si formano nel Golgi trans.
La membrana in eccesso viene recuperata in vescicole rivestite di clatrina.



La secrezione di insulina avviene dopo l'apertura dei canali del Ca^{++} , in risposta alla chiusura dei canali del potassio sensibili all'ATP.

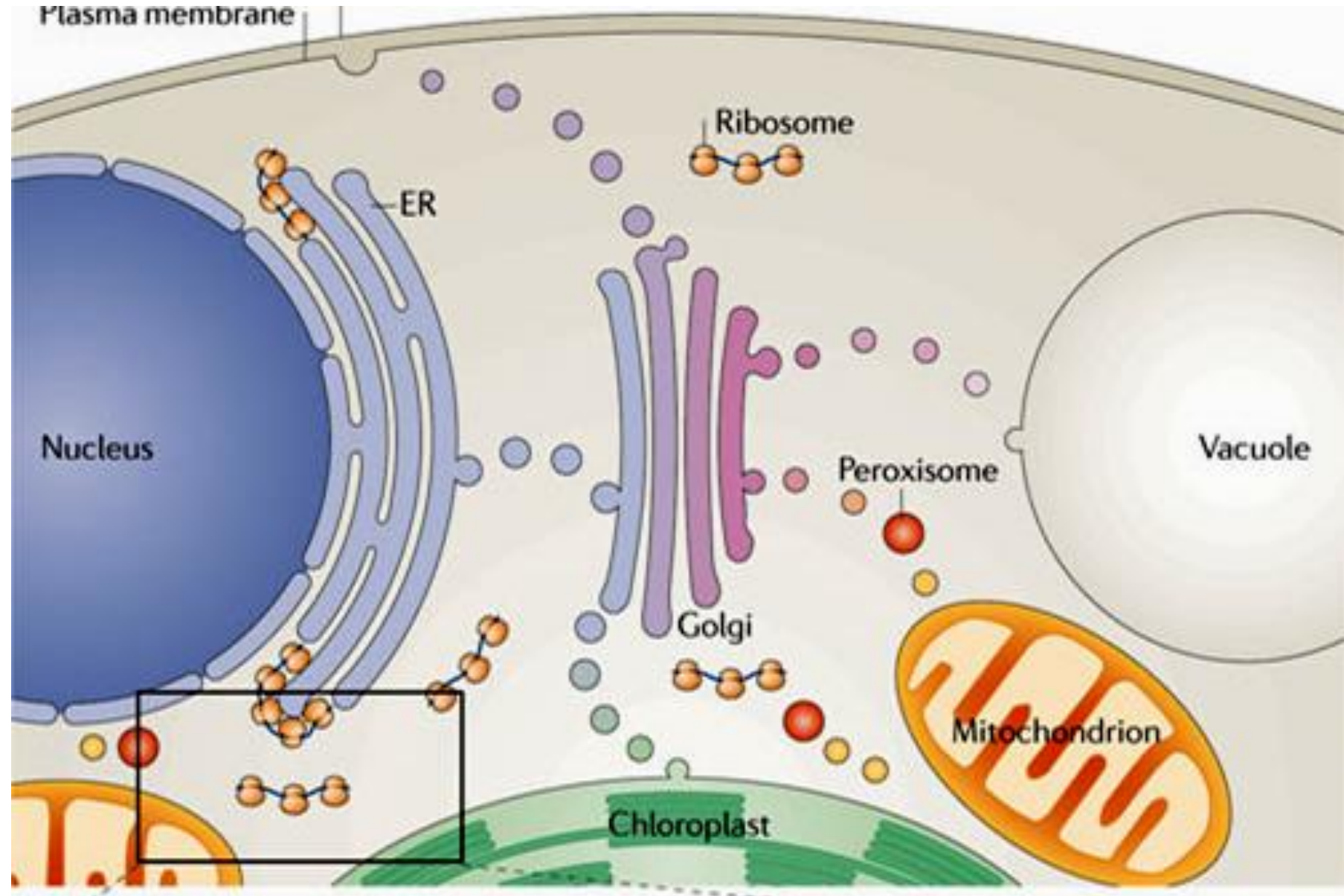


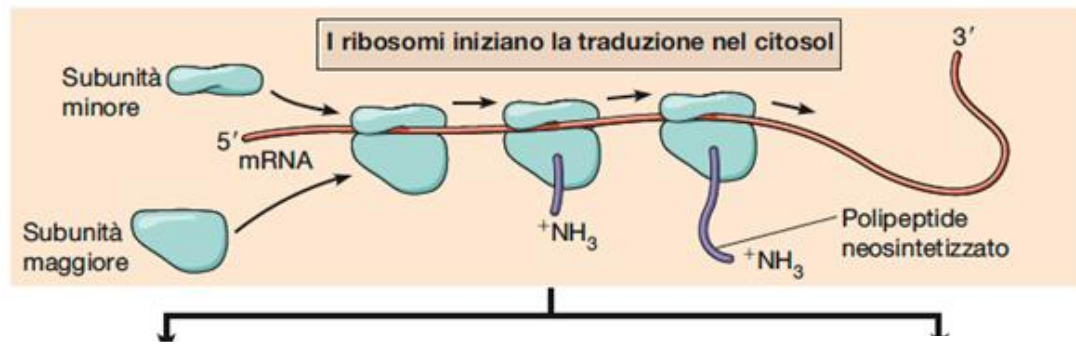
**COME VENGONO VEICOLATE LE PROTEINE
NELLA CORRETTA DESTINAZIONE
SUBCELLULARE?**

Sorting di proteine

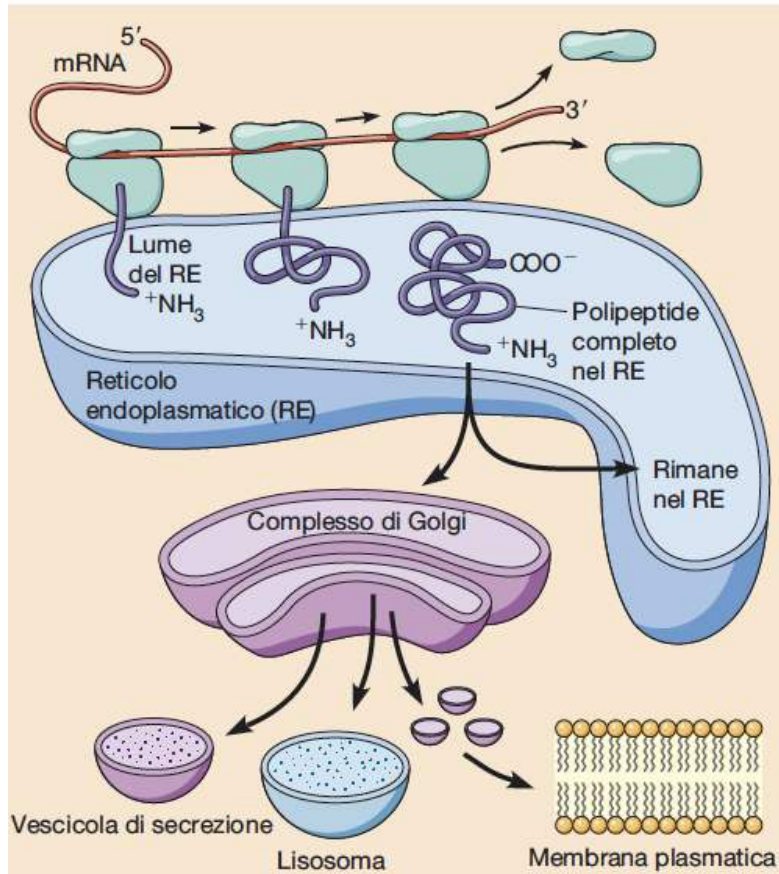
La sintesi delle proteine inizia sempre sui ribosomi liberi nel citosol.

1. Cosa determina la prosecuzione della traduzione sui ribosomi liberi o il loro trasferimento sul reticolo endoplasmatico?

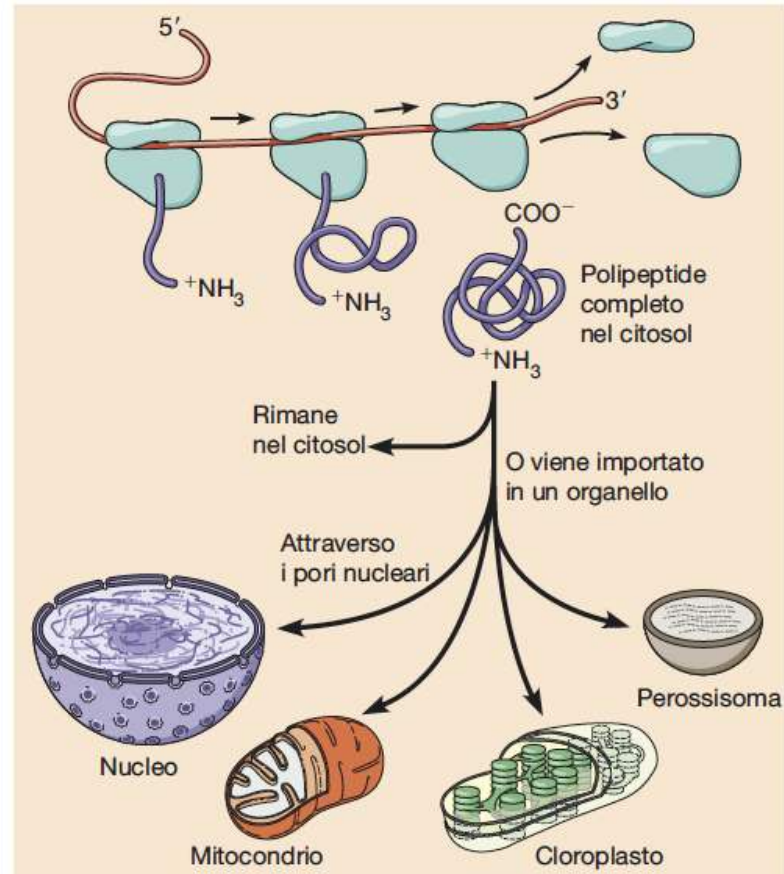




Destinazione delle proteine sintetizzate nel RE



Destinazione delle proteine sintetizzate nel citoplasma

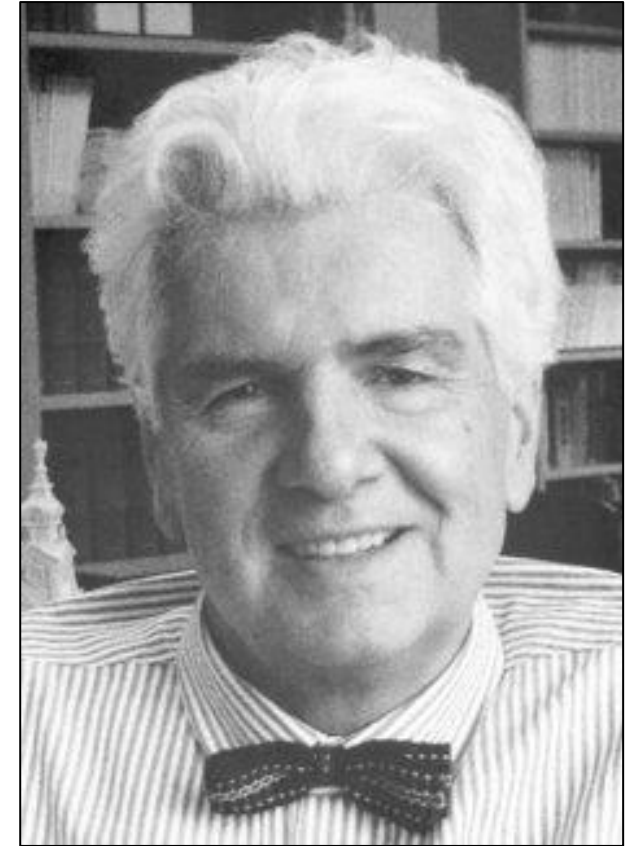


2. Cosa determina la localizzazione finale di una proteina?

Nella proteina specifiche sequenze amminoacidiche funzionano come segnale e determinano il destino finale della proteina.

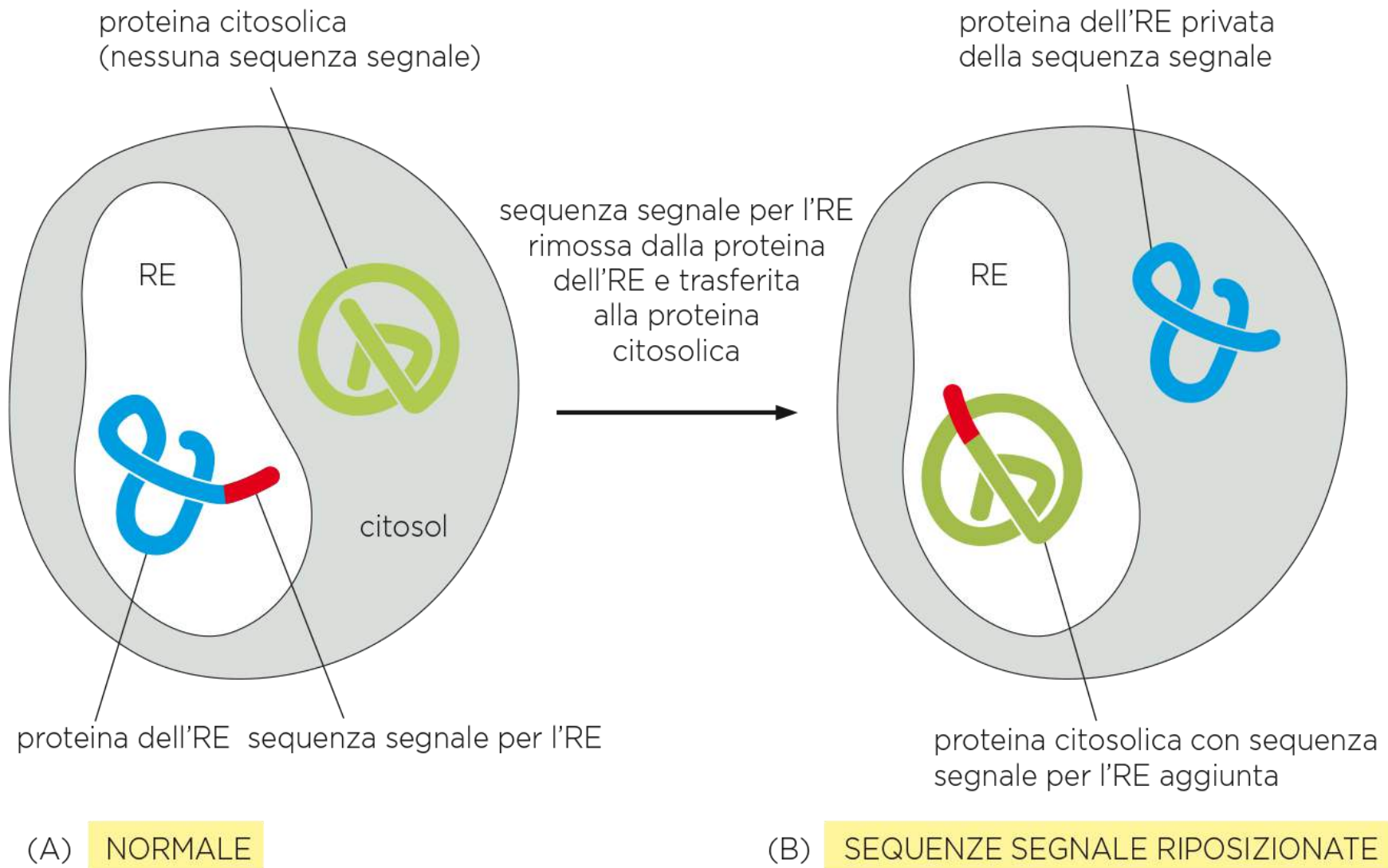
Günter Blobel showed that in certain cases amino acids in a protein serve as an address label that determines where a protein is to be delivered.

Amino acid sequences determine whether a protein is to be passed through the membrane out of the cell or into an organelle or is to be built in the membrane.



Günter Blobel

The Nobel Prize in Physiology or Medicine
1999



La sequenza segnale è necessaria e sufficiente a dirigere una proteina verso il RE.

Sequenze segnale: destinazione delle proteine di nuova sintesi

Nella proteina specifiche sequenze amminoacidiche funzionano come segnale e determinano il destino finale della proteina.

TABLE 17-1 Properties of Uptake-Targeting Signal Sequences That Direct Proteins from the Cytosol to Organelles

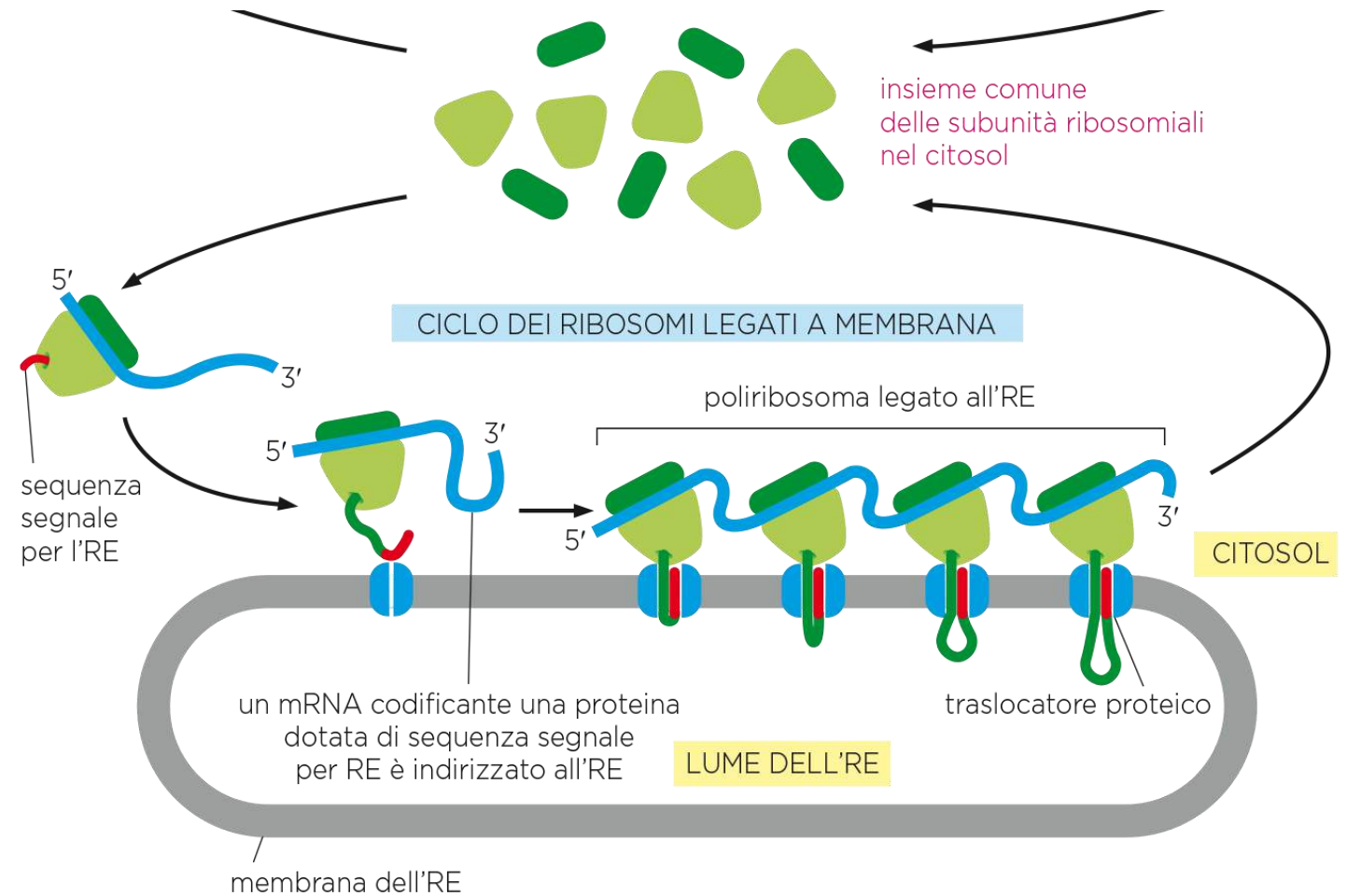
Target Organelle	Usual Signal Location within Protein	Signal Removal*	Nature of Signal
Endoplasmic reticulum	N-terminal	(+)	"Core" of 6–12 mostly hydrophobic amino acids, often preceded by one or more basic amino acids
Mitochondrion†	N-terminal	(+)	3–5 nonconsecutive Arg or Lys residues, often with Ser and Thr; no Glu or Asp residues
Chloroplast†	N-terminal	(+)	No common sequence motifs; generally rich in Ser, Thr, and small hydrophobic amino acid residues and poor in Glu and Asp residues
Peroxisome	C-terminal	(–)	Usually Ser-Lys-Leu at extreme C-terminus
Nucleus	Internal	(–)	One cluster of 5 basic amino acids, or two smaller clusters of basic residues separated by ≈10 amino acids

*Indicates whether signal sequence usually is (+) or is not (–) removed after a protein enters its target organelle.

†These signals direct the protein from the cytosol into the matrix space of the mitochondrion or the corresponding stroma of the chloroplast; other signals discussed in the text redirect proteins into other subcompartments of these organelles.

Le proteine destinate al RE possiedono all'estremità N-terminale una sequenza che le indirizza all'organello.

La sequenza segnale viene inserita nei trasloconi della membrana del RE e la catena polipeptidica viene trasferita nel RE man mano che la traduzione procede (**importo co-traduzionale**).



Sequenze segnale: destinazione delle proteine di nuova sintesi

Nella proteina specifiche sequenze amminoacidiche funzionano come segnale e determinano il destino finale della proteina.

TABLE 17-1 Properties of Uptake-Targeting Signal Sequences That Direct Proteins from the Cytosol to Organelles

Target Organelle	Usual Signal Location within Protein	Signal Removal*	Nature of Signal
Endoplasmic reticulum	N-terminal	(+)	"Core" of 6–12 mostly hydrophobic amino acids, often preceded by one or more basic amino acids
Mitochondrion†	N-terminal	(+)	3–5 nonconsecutive Arg or Lys residues, often with Ser and Thr; no Glu or Asp residues
Chloroplast†	N-terminal	(+)	No common sequence motifs; generally rich in Ser, Thr, and small hydrophobic amino acid residues and poor in Glu and Asp residues
Peroxisome	C-terminal	(–)	Usually Ser-Lys-Leu at extreme C-terminus
Nucleus	Internal	(–)	One cluster of 5 basic amino acids, or two smaller clusters of basic residues separated by ≈10 amino acids

*Indicates whether signal sequence usually is (+) or is not (–) removed after a protein enters its target organelle.

†These signals direct the protein from the cytosol into the matrix space of the mitochondrion or the corresponding stroma of the chloroplast; other signals discussed in the text redirect proteins into other subcompartments of these organelles.