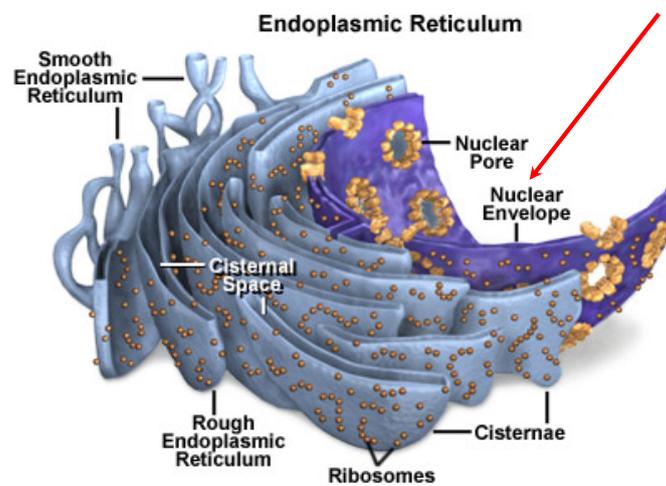


Sistema di Endomembrane

Biotechnologie

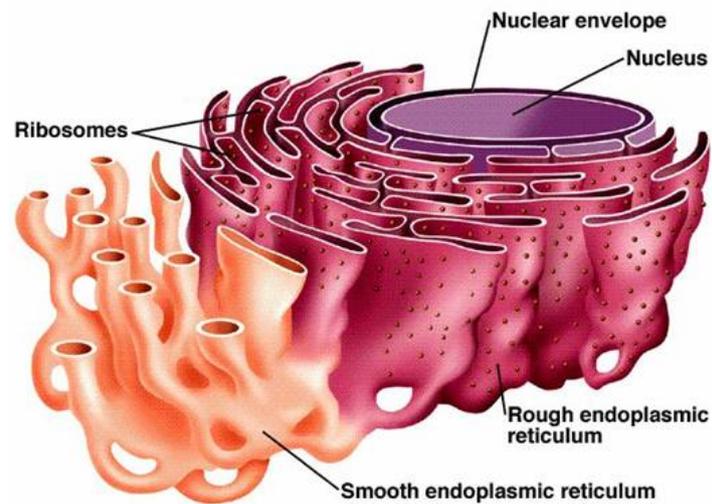
http://en.wikipedia.org/wiki/Endomembrane_system

RETICOLO ENDOPLASMICO & INVOLUCRO NUCLEARE



<http://www.microscopy.fsu.edu/cells/endoplasmicreticulum/endoplasmicreticulum.html>

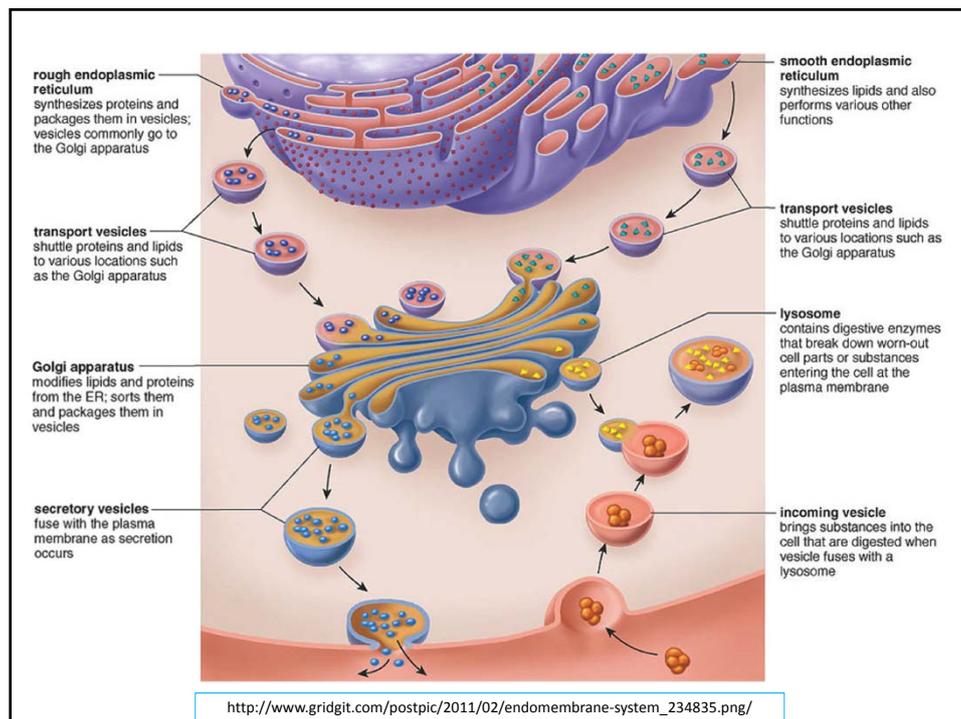
RETICOLO ENDOPLASMICO RUVIDO & LISCIO



<http://endoplasmicreticulum.net/>

SISTEMA DELLE ENDOMEMBRANE

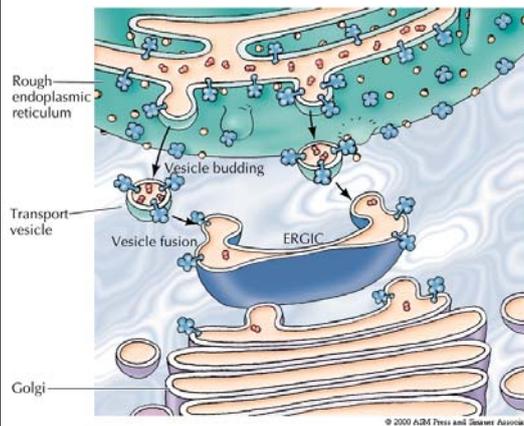
- ✚ Il **sistema delle endomembrane** è un insieme di strutture membranose coinvolto nel trasporto di sostanze all'interno della cellula.
- ✚ I principali componenti sono il **reticolo endoplasmatico (ruvido e liscio)**, **l'apparato di Golgi**, **vescicole**, la **membrana plasmatica** e **l'involucro nucleare**.
- ✚ I componenti del sistema di endomembrane **si scambiano materiali sia mediante contatto diretto che mediante l'uso di vescicole**.
- ✚ Tutte le componenti del sistema di endomembrane sono costituite da singole membrane.



Funzione del sistema delle endomembrane

- ✚ Il sistema delle endomembrane è il **sistema di trasporto** della cellula.
- ✚ I materiali sono passati lungo la cellula e si muovono verso la membrana plasmatica da dove possono venire scaricati dalla cellula.
- ✚ Le **vescicole** si formano sia nel **reticolo endoplasmatico** che nell'**apparato di Golgi**.
- ✚ I **lisosomi** sono prodotti a partire da vescicole che si distaccano dall'apparato di Golgi.
- ✚ Alcune vescicole immagazzinano i prodotti all'interno della cellula per uso in un secondo tempo.

Trasporto vescicolare dal ER al Golgi



✚ **Proteine** e **lipidi** neosintetizzati sono **trasportate** dal **ER** al **Golgi** in **vescicole di trasporto** che gemmano dalla membrana del ER e si fondono per formare vescicole e tubuli nel compartimento intermedio ER-Golgi («**ER-Golgi Intermediate compartment**»; **ERGIC**).

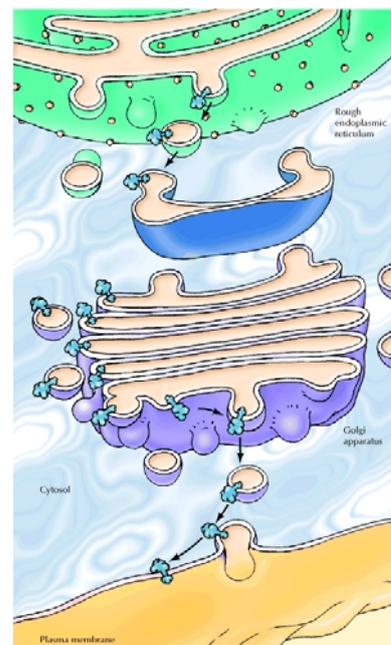
✚ Le proteine che si trovano nel **lume del ER** sono inglobate nel lume delle vescicole e rilasciate nel **lume del Golgi**. Le **proteine di membrana** mantengono lo stesso orientamento nel Golgi che avevano nel ER.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=cooper&part=A1466&rendertype=figure&id=A1492>

Topologia della via secretoria

✚ I **lumi** del reticolo endoplasmatico e dell'apparato di Golgi sono topologicamente equivalenti all'esterno della cellula.

✚ Perciò, quelle porzioni delle catene polipeptidiche che sono translocate verso l'interno dell'ER sono esposte sulla superficie cellulare in seguito al trasporto verso la membrana plasmatica.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1479/?report=objectonly>

Reticolo endoplasmatico – [1]

- ✚ Il reticolo endoplasmatico **fabbrica, processa** e **trasporta** una gran varietà di composti biochimici che verranno utilizzati **all'interno e all'esterno della cellula**.
- Molte delle proteine che si trovano nel lume del reticolo si trovano lì soltanto di passaggio.
- Altre proteine, tuttavia, sono **marcate per rimanere costantemente nel lume** e sono note come **proteine residenti del reticolo**.
- Queste proteine speciali, necessarie perchè il RE svolga le sue funzioni specializzate, contengono un **segnale di ritenzione specializzato** che consiste in una **sequenza specifica di amminoacidi che permette alla proteina di venire trattenuta nell'organello**.
 - Esempio: proteina “chaperone” BiP (chaperone immunoglobulin-binding protein), che identifica altre proteine che sono state sintetizzate o processate in modo inappropriato ed impedisce loro di venire spedite alle loro destinazioni finali.

RETICOLO ENDOPLASMATICO – [2]

- ✚ Gioca un ruolo fondamentale nella **biosintesi dei lipidi (liscio)** e **proteine (ruvido)**,
- ✚ La sua membrana é il sito di produzione di tutte le **proteine transmembrana** della maggior parte degli organelli cellulari, incluso:
 - ER stesso
 - apparato di Golgi
 - lisosomi
 - endosomi
 - vescicole di secrezione
 - membrana plasmatica
- ✚ Proteine solubili destinate alla secrezione

RETICOLO ENDOPLASMATICO – [3]

- ✚ La membrana dell'ER liscio é il sito di produzione della maggior parte dei **lipidi** per le membrane di **tutti** gli organelli, incluso:
 - Mitochondri
 - Perossisomi
 - Cloroplasti
- ✚ Sono inserite nella cavità (lume) del ER:
 - tutte le **proteine** che verranno **secrete verso l'esteriore** della cellula
 - le **proteine** (solubili in acqua) **destinate al lume dell'ER**, dell'**apparato di Golgi** o dei **lisosomi**.

- L'aspetto "**ruvido**" del **reticolo endoplasmico ruvido** ("Rough Endoplasmic Reticulum, RER) deriva dalla presenza di di ribosomi legati al versante citosolico della membrana del reticolo endoplasmatico. La presenza di ribosomi nel RER indica che esso è coinvolto nell' **sintesi proteica**.

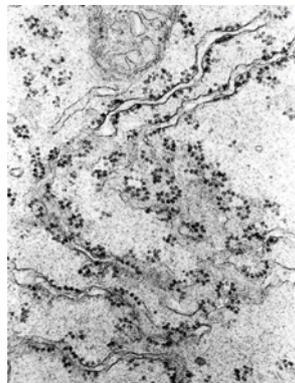
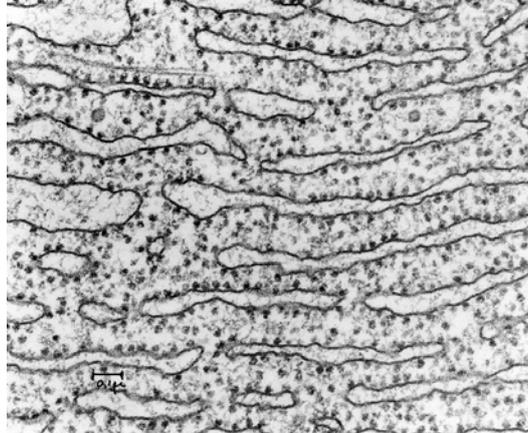


Immagine al microscopio elettronico che illustra parte del reticolo endoplasmatico ruvido di una cellula della radice del mais. I punti neri sono ribosomi.

<http://bscb.org/learning-resources/softcell-e-learning/endoplasmic-reticulum-rough-and-smooth/>

RER, Microscopio elettronico

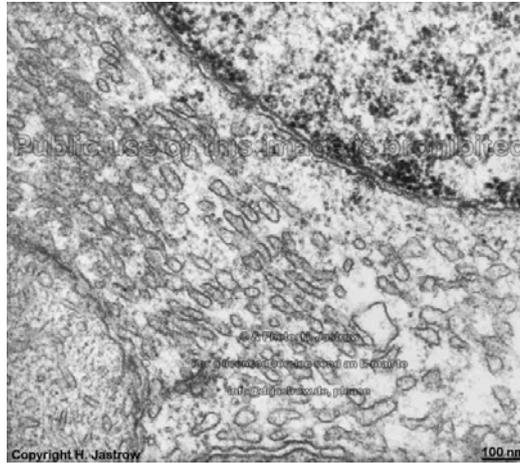


Fotografia al microscopio elettronico di una sezione sottile del reticolo endoplasmatico ruvido, costellato di ribosomi, di una cellula del pancreas di cavia.

http://bio.libretexts.org/Core/Microbiology/Unit_4%3A_Eukaryotic_Microorganisms_and_Viruses/07%3A_The_Eukaryotic_Cell/7.3%3A_The_Endomembrane_System/3.8%3A_The_Endoplasmic_Reticulum

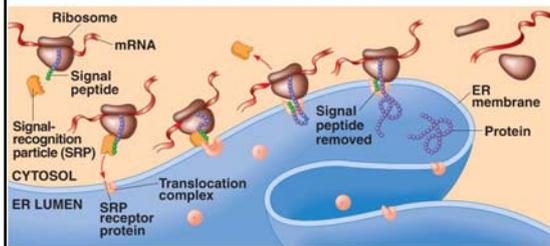
- Il **reticolo endoplasmatico liscio** (“Smooth endoplasmic Reticulum, SER) ***non*** ha ribosomi collegati. Invece è coinvolto:
 - Nel metabolismo del colesterolo e degli ormoni steroidei.
 - Nella sintesi dei fosfolipidi delle membrane.
 - Nella detossificazione di agenti esogeni (xenobiotici).
 - Nell’immagazzinamento del Ca^{2+} .
 - Nella sintesi e immagazzinamento del glicogeno

Reticolo Endoplasmatico Liscio, Microscopio elettronico

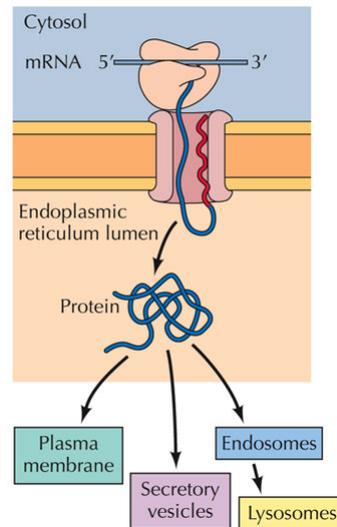


<https://www.uni-mainz.de/FB/Medizin/Anatomie/workshop/EM/EMSERE.html>

Sintesi proteica nei Ribosomi legati al Reticolo endoplasmatico



Membrane-bound ribosomes

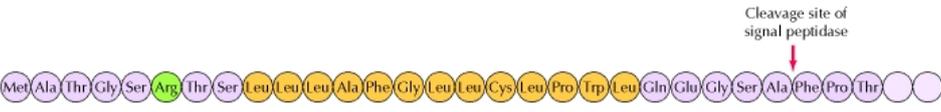


http://c5.quickcacr.fotos.sapo.pt/i/o2706d74c/12360314_f1fjp.jpeg
http://c5.quickcacr.fotos.sapo.pt/i/o2706d74c/12360314_f1fjp.jpeg
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1470/>

Sequenza segnale N-terminale di indirizzamento al RE

- La **sequenza segnale N-terminale per il RE** guida non solo qualsiasi proteina solubile che verrà secreta dalle cellule, ma anche i precursori di qualsiasi altra proteina sintetizzate dai ribosomi legati al RER, incluso le proteine di membrana.

Cleavage site of signal peptidase



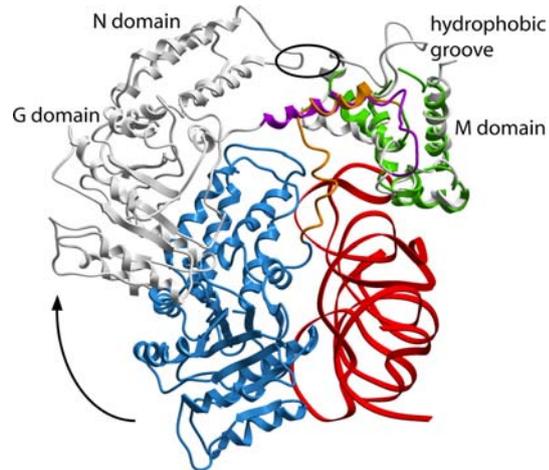
La sequenza segnale dell'ormone della crescita

La maggior parte delle sequenze segnale contengono una sequenza di **amminoacidi idrofobici** preceduta da residui basici (ad es. Arginina).

Sono illustrati i primi 31 AA dell'ormone della crescita non processato. Il polipeptide è sintetizzato dalle cellule della ipofisi, e la sequenza segnale N-terminale si lega a "Signal Recognition Proteins" sulla superficie cellulare, processo che facilita il trasporto del polipeptide fuori dalla cellula. Una volta fuori dalla cellula il polipeptide è scisso fra il 27° e il 28° AA, formando l'ormone della crescita maturo.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1474/>
<http://www.people.vcu.edu/~elhajj/genetics/Notes/Unit1/fig8287.html>

La particella che riconosce la sequenza segnale

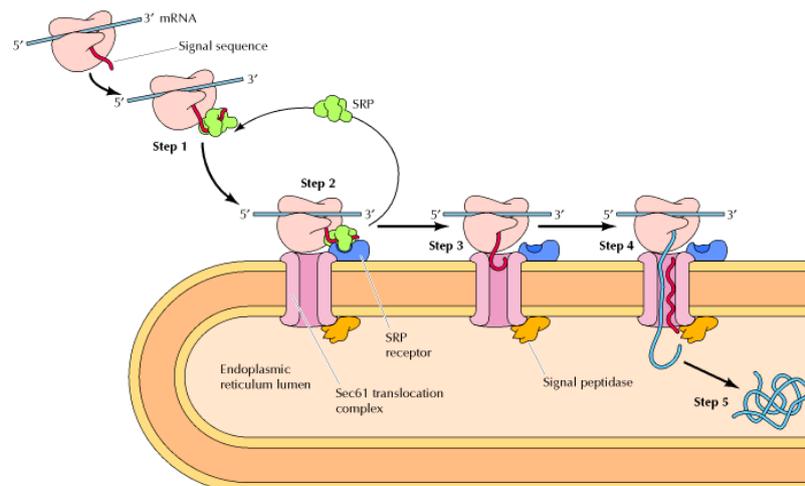


La **Signal Recognition Particle** è una particella complessa che comprende 6 diverse catene polipeptidiche legate ad una singola piccola molecola di RNA

Seminario

<http://www.pnas.org/content/104/38/14911/F5.expansion.html>

Indirizzamento co-traduzionale delle proteine di secrezione verso il reticolo endoplasmatico (ER)

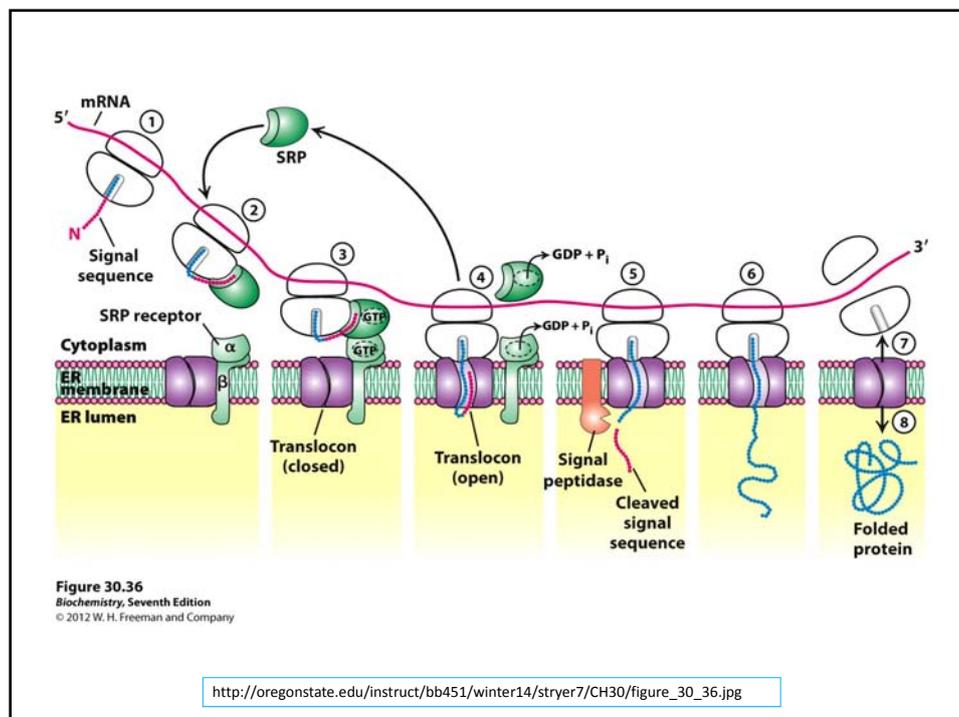


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1475/?report=objectonly>

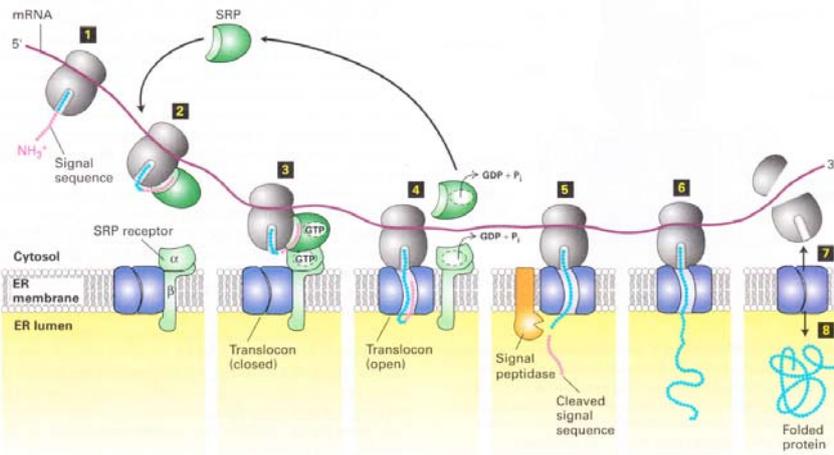
Indirizzamento co-traduzionale delle proteine di secrezione verso il reticolo endoplasmatico (ER).

- ✚ **Passo 1:** Man mano che la sequenza segnale emerge dal ribosoma, essa viene riconosciuta e legata alla particella di riconoscimento del segnale (SRP).
- ✚ **Passo 2:** La SRP scorta il complesso fino alla membrana dell'ER, dove esso si lega ad un recettore per la SRP.
- ✚ **Passo 3:** La SRP viene rilasciata, il ribosoma si lega ad un complesso di proteine Sec61 di traslocazione sulla membrana, e la sequenza segnale viene inserita in un canale di membrana.
- ✚ **Passo 4:** La traduzione riprende e la catena polipeptidica in crescita viene traslocata attraverso la membrana.
- ✚ **Passo 5:** La scissione delle sequenze segnale da parte di peptidasi del segnale rilascia il polipeptide nel lume dell'ER.

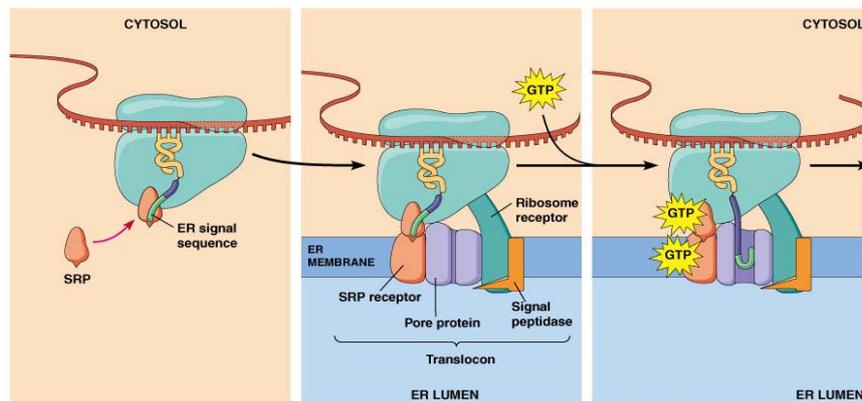
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1475/?report=objectonly>



Proteine solubili: di secrezione o destinate al lume del reticolo, del Golgi o dei lisosomi



Proteine solubili: di secrezione o destinate al lume del reticolo, del Golgi o dei lisosomi – [1]



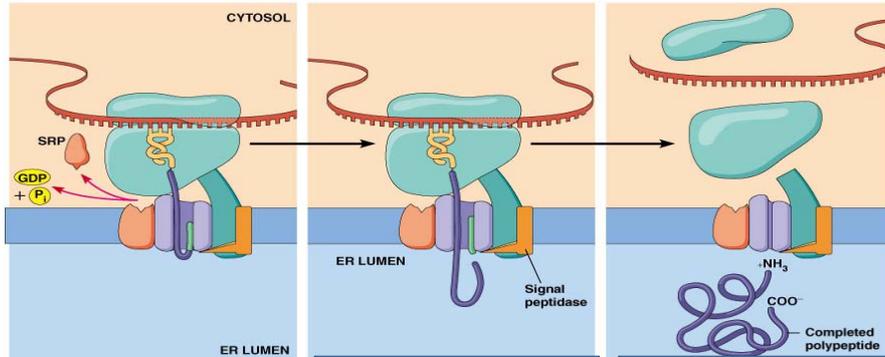
1. La SRP si lega alla sequenza di indirizzamento all'ER e blocca la traduzione.

2. La SRP si lega al recettore per la SRP; il ribosoma si lega alla membrana del ER.

3. Il GTP si lega alla SRP e al recettore per la SRP; il poro si apre e il polipeptide viene inserito.

http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-22/22_16.jpg

Proteine solubili: di secrezione o destinate al lume del reticolo, del Golgi o dei lisosomi – [2]



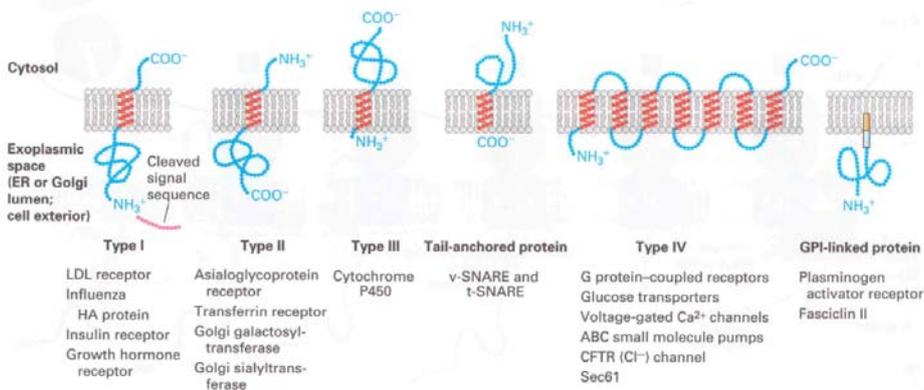
4. Il GTP è idrolizzato e la SRP è rilasciata

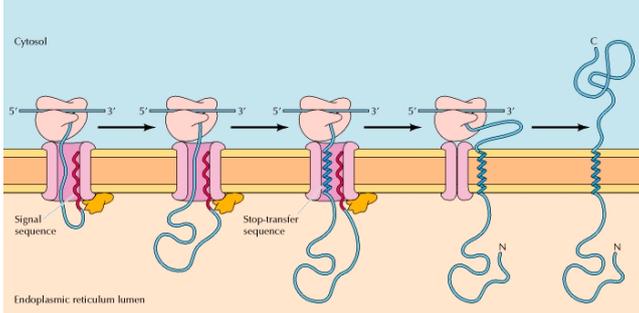
5. La sequenza segnale viene scissa dalla peptidasi del segnale mentre il polipeptide si allunga e trasloca nel lume del ER.

6. Il polipeptide completato è rilasciato nel lume del ER, il ribosoma è rilasciato e il poro del traslocone chiuso.

http://www.mun.ca/biology/desmid/brian/BIOL2060/BIOL2060-22/22_16.jpg

Tipi di proteine di membrana





Inserimento di una **proteina di membrana con una sequenza di segnale scindibile e una **singola sequenza di stop**.**

Le sequenza segnale viene scissa mentre la catena polipeptidica attraversa la membrana, e quindi il N-terminale della catena polipeptidica viene esposto nel lume dell'ER. Tuttavia, la traslocazione della catena polipeptidica viene interrotta dalla sequenza "stop trasferimento" che chiude il canale di traslocazione Sec61 ed esce dal canale lateralmente per ancorare la proteina alla membrana dell'ER. La traduzione continuata dà origine ad una proteina che attraversa la membrana con il suo terminale carbossilico nel versante citosolico.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1480/?report=objectonly>

Inserimento nella membrana del RE di una futura proteina di membrana

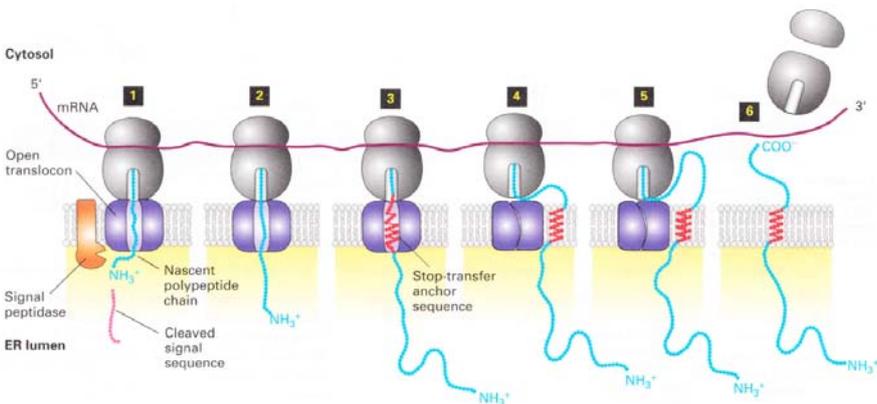
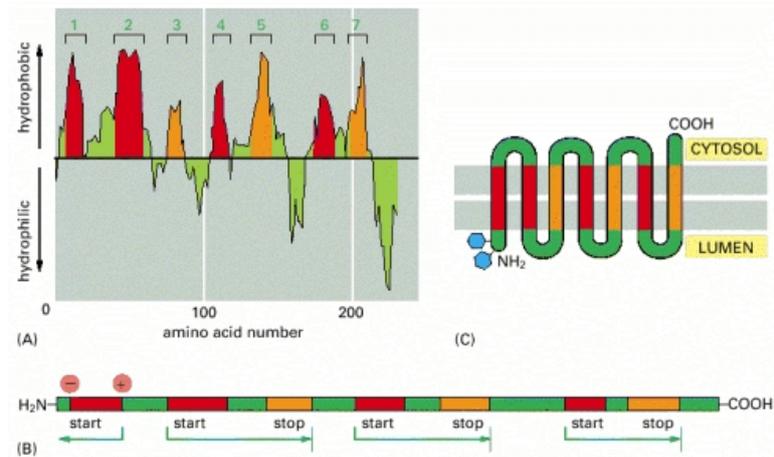


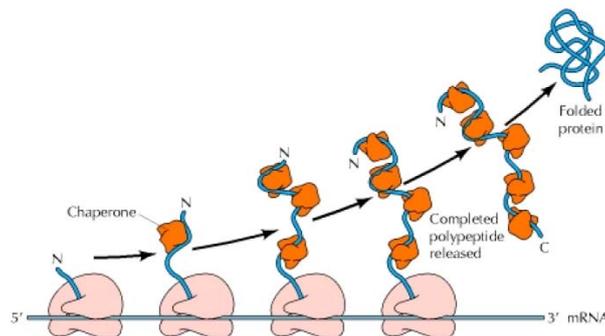
FIGURE 13-11 Positioning type I single-pass proteins. Step 1: transfer anchor sequence moves laterally between the translocon

Inserimento della rodopsina, una proteina di membrana multipasso, nella membrana del RE



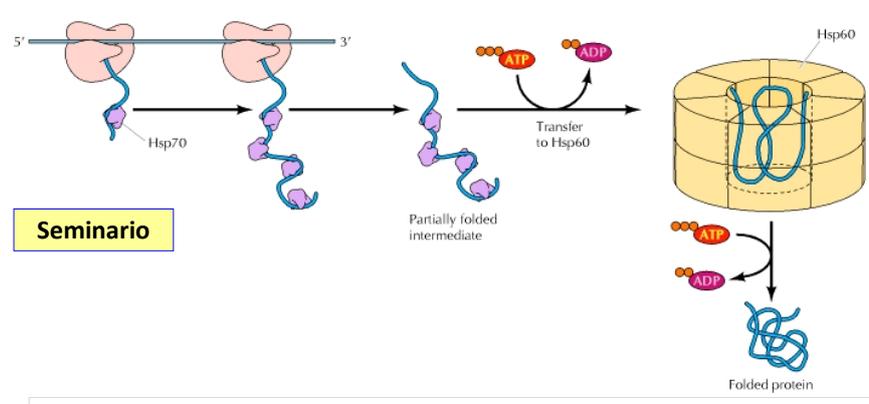
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26841/figure/A2228/?report=objectonly>

Azione delle proteine chaperones sulle proteine sintetizzate nei ribosomi liberi nel citosol e rilasciate nel citosol



Le chaperonine si legano al N-terminale della catena peptidica crescente, stabilizzandola in una configurazione non ripiegata finché la sintesi del polipeptide non è completata. La proteina completata viene allora rilasciata dal ribosoma ed è in grado di ripiegarsi nella sua conformazione tridimensionale corretta.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9843/figure/A1201/?report=objectonly>



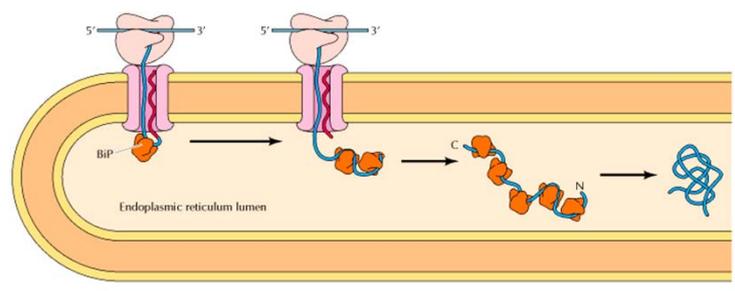
Seminario

Azione sequenziale delle chaperonine Hsp70 e Hsp60

Le chaperonine della famiglia Hsp70 si legano e stabilizzano le catene peptidiche non ripiegate durante la traduzione. Il polipeptide non ripiegato viene allora trasferito alle chaperonine della famiglia Hsp60, all'interno delle quali ha luogo il ripiegamento della proteina. E' richiesta **l'idrolisi dell'ATP** sia per rilasciare il polipeptide non ripiegato dalle Hsp70 che per il ripiegamento all'interno della Hsp60.

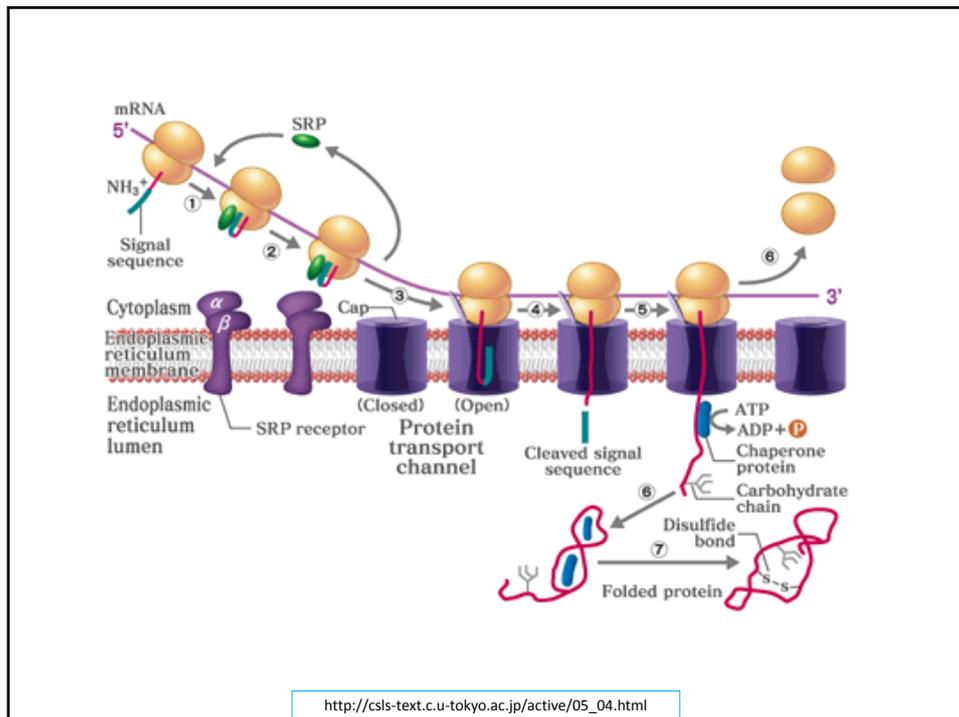
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9843/figure/A1205/?report=objectonly>

Ripiegamento delle proteine sintetizzate sui ribosomi che si legano al Reticolo Endoplasmatico (RE)

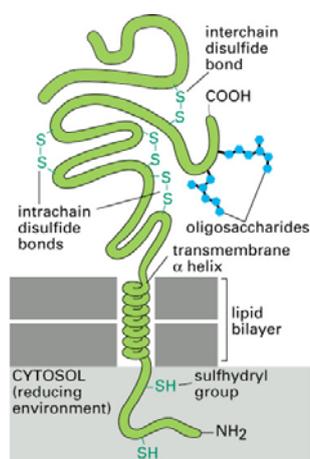


La proteina "chaperone" BiP si lega alle catene polipeptidiche mentre attraversano la membrana del RE e facilita il ripiegamento della proteina e l'assemblaggio all'interno dell'ER.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1484/?report=objectonly>

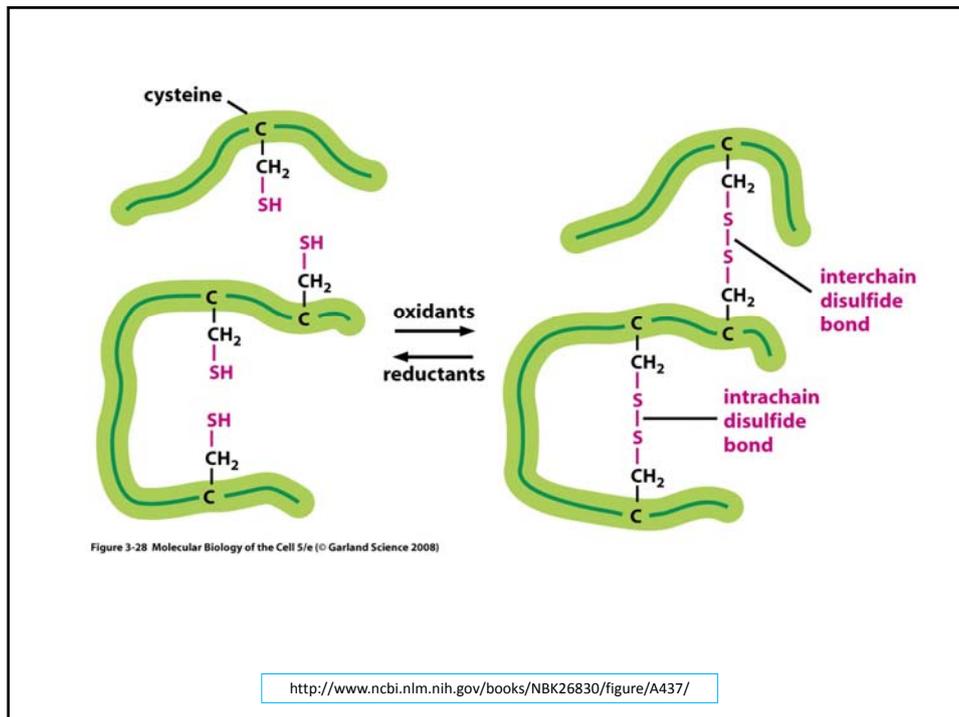


PONTI S-S DELLE PROTEINE FORMATI NEL RETICOLO ENDOPLASMATICO



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28291/figure/A2474/>

- La **formazione dei ponti disulfuro** fra le catene laterali dei residui di cisteina è un importante aspetto del ripiegamento e assemblaggio delle proteine all'interno del Reticolo Endoplasmatico.
- Questi legami non si formano nel **citofol**, che è caratterizzato da un **ambiente riducente** che mantiene i residui di cisteina nel loro stato ridotto (-SH). Tuttavia, all'interno del ER, **un ambiente ossidante promuove la formazione dei legami disulfuro (S-S)**, e i legami disulfuro che si formano nel ER giocano ruoli molto importanti nella struttura di proteine di secrezione o della superficie cellulare.
- La formazione dei ponti disulfuro è facilitata dall'enzima "**proteina disulfuro isomerasi**", che si trova nel lume dell'ER.



LEGAMI DISOLFURO (FORMATI NEL LUME DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO)

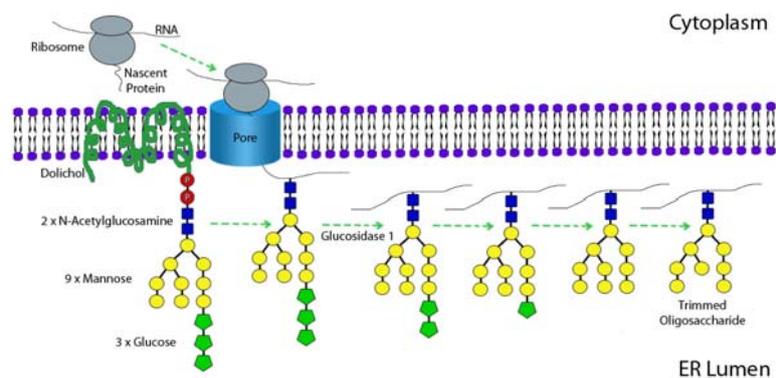
Importanza per le Biotecnologie – [1]

- ✚ La maggior parte delle proteine utilizzate a scopo terapeutico nell'uomo e negli animali è costituita da **proteine secretorie stabilizzate da legami disolfuro (S-S)**.
- ✚ Utilizzando la **tecnologia del DNA ricombinante** si possono **sintetizzare proteine secretorie di mammifero in cellule batteriche**, ma generalmente **queste proteine non vengono secrete** (anche quando la sequenza segnale batterica viene inserita al posto di quella normale).
 - Queste **tendono piuttosto ad accumularsi nel citosol del battere**, dove spesso si denaturano e precipitano a causa della mancata formazione di legami disolfuro.
 - Per permettere il ripiegamento di queste proteine fatte produrre dai batteri sono necessari metodi chimici molto sofisticati e pertanto molto costosi.

LEGAMI DISOLFURO (FORMATI NEL LUME DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO)

Importanza per le Biotecnologie – [2]

- ✚ Una volta appurato che **la formazione di legami disolfuro avviene spontaneamente soltanto nel nel lume del RE** (ambiente ossidante, mentre il citosol è un ambiente riducente) i biotecnologi si sono resi conto che **le cellule batteriche non costituiscono un sistema appropriato per la sintesi di proteine che sono normalmente stabilizzate tramite ponti disolfuro**.
- ✚ Infatti, oggi, si preferisce utilizzare le **culture di cellule animali** per la produzione su larga scala di proteine d'importanza terapeutica, come ad es.:
 - Anticorpi monoclonali
 - Attivatore tissutale del plasminogeno (un fattore anticoagulante)
 - Eritropoietina (ormone che stimola la formazione dei globuli rossi).



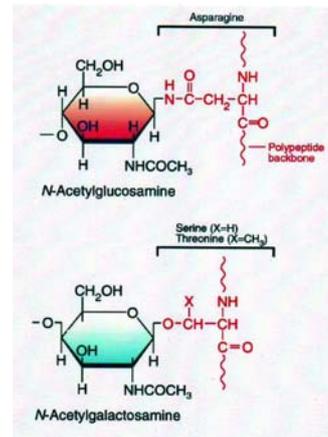
Reticolo Endoplasmatico Ruvido

INIZIO DELLA N-GLICOSILAZIONE

<https://antisensescienceblog.files.wordpress.com/2014/04/n-glycosylation-copy2.jpg>

Glicoproteine – [1]

- Le glicoproteine dei mammiferi si distinguono in glicoproteine con zuccheri legati all'Ossigeno («**O-linked**») o legati all'Azoto («**N-linked**»).
- Le glicoproteine **N-linked** contengono un residuo di **N-acetilglucosamina** legato ad un gruppo ammidico di un residuo di **asparagina** della proteina. Sono le più comuni.
- Il più comune **legame in O-** comporta il legame tra un residuo terminale di **N-acetilgalattosamina** dell'oligosaccaride e un residuo di **serina** o **treonina**.
- Gli zuccheri contenuti in questi oligosaccaridi sono il fucosio (Fuc), il galattosio (Gal), la N-acetilgalattosamina (GalNAc) e l'acido sialico (Sia).



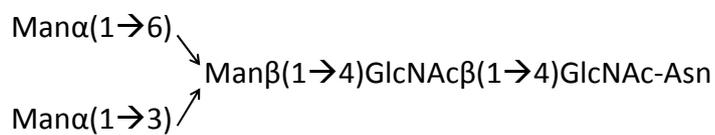
Mathews, Van Holde, Ahern: *Biochimica*, 3° ed., Casa editrice Ambrosiana, 2004

Glicoproteine N-linked – [1]

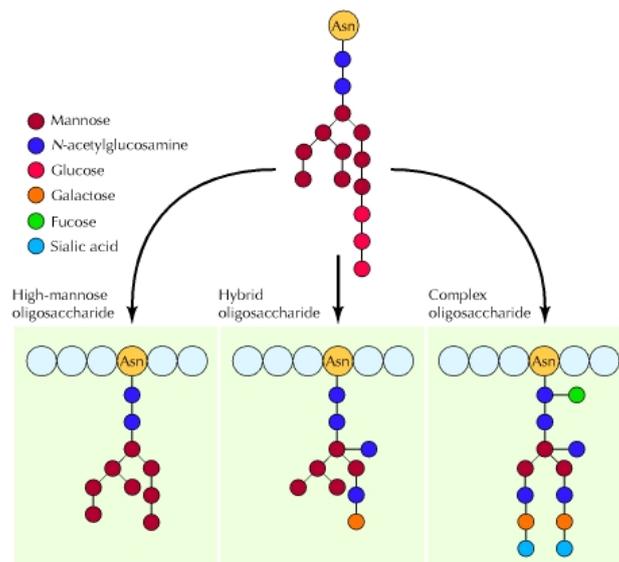
- L'assemblaggio della porzione oligosaccaridica non avviene sulla catena polipeptidica (come per le O-linked GP) ma su un **intermedio lipidico**.
- Il precursore oligosaccaridico viene poi trasferito ad una catena polipeptidica, mentre viene sintetizzata:
 - ➔ **Glicosilazione COTRADUZIONALE.**
- ➔ L'oligosaccaride trasferito viene sottoposto a vari passaggi di modificazione durante il passaggio dal reticolo endoplasmatico all'apparato di Golgi.

Glicoproteine N-linked – [2]

- Possono essere suddivise in categorie sulla base di tre strutture fondamentali della porzione oligosaccaridica: **proteine complesse**, **proteine ibride** e **proteine ad alto contenuto in mannosio**.
- Tutti gli **oligosaccaridi N-linked** hanno una **porzione interna pentasaccaridica in comune**:



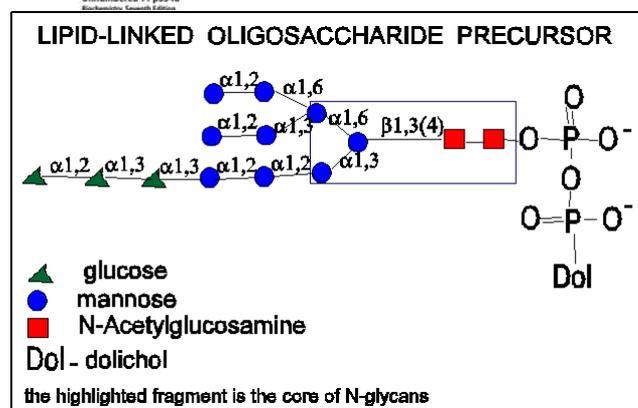
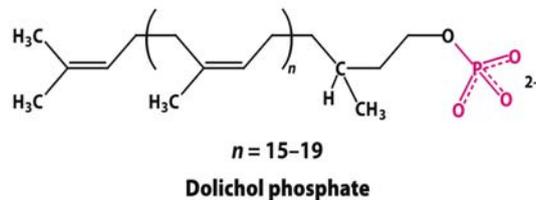
Esempi di oligosaccaridi N-linked



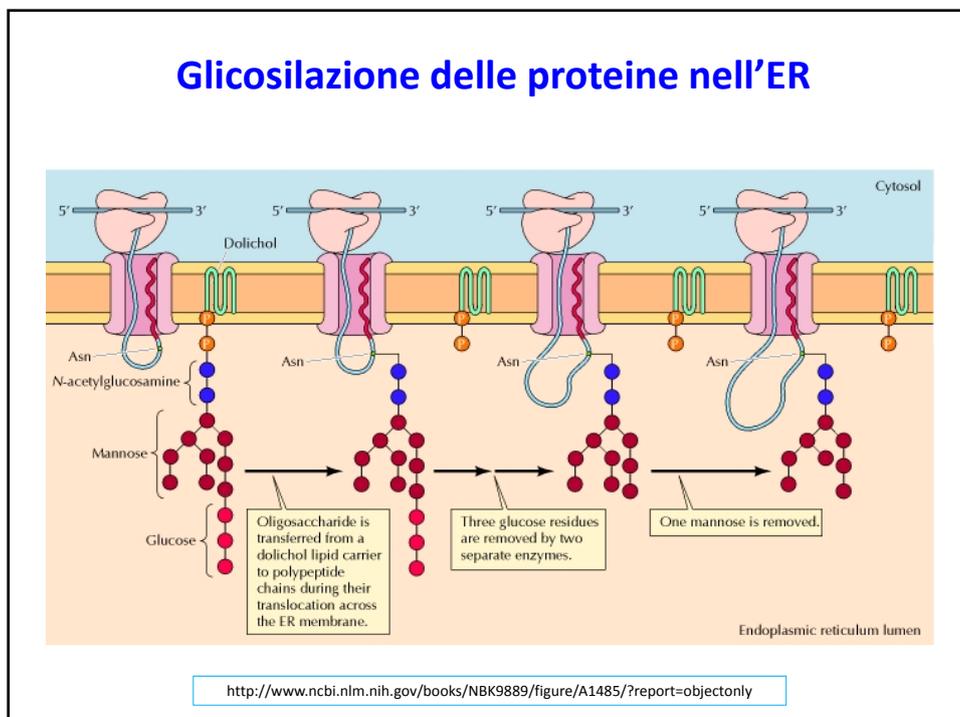
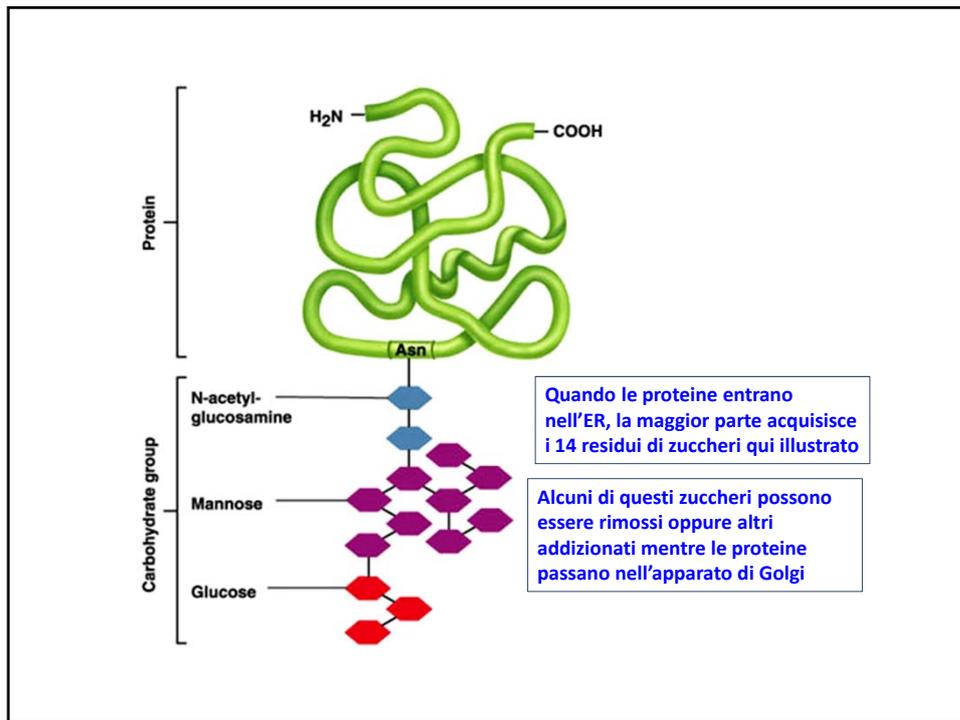
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9843/figure/A1215/?report=objectonly>

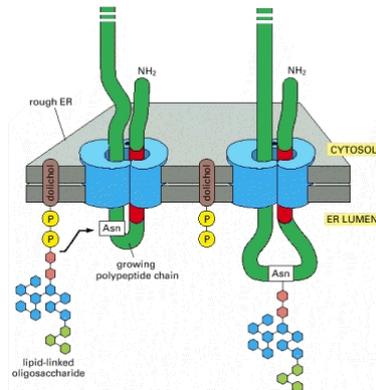
Glicoproteine N-linked – [3]

- La parte centrale viene assemblata come parte di un oligosaccaride intermedio di maggiori dimensioni, legato ad un complesso lipidico isoprenoide: **dolicolo fosfato**.
- Nei Vertebrati, il dolicolo contiene da 18 a 24 unità isoprenoidi con due doppi legami in trans e le rimanenti unità in configurazione cis, ad eccezione dell'ultima unità isoprenoide che è satura.



http://oregonstate.edu/instruct/bb450/450material/stryer7/11/unnumbered_11_p334b.jpg
<http://www.cryst.bbk.ac.uk/pp97/assignments/projects/emilia/oligd.gif>

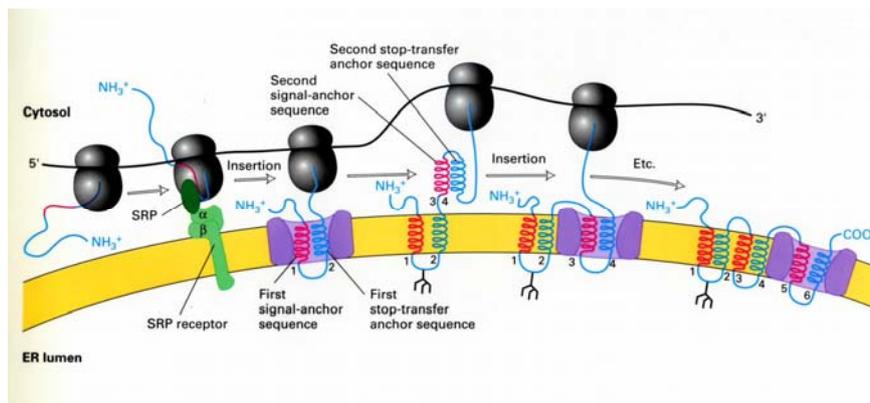




Glicosilazione delle proteine nel ER ruvido

Quasi nel momento in cui una catena polipeptidica entra nel lume dell'ER, viene glicosilata su amminoacidi di **asparagina** selezionati. L'oligosaccaride precursore viene trasferito all'asparagina sotto forma di un'unica entità in una reazione catalizzata da un enzima di membrana, la *oligosaccaril transferasi*. Così come avviene per il peptide segnale, ad ogni traslocatore sulla membrana dell'ER è associato una copia di questo enzima. (Il ribosoma non è illustrato per semplicità).

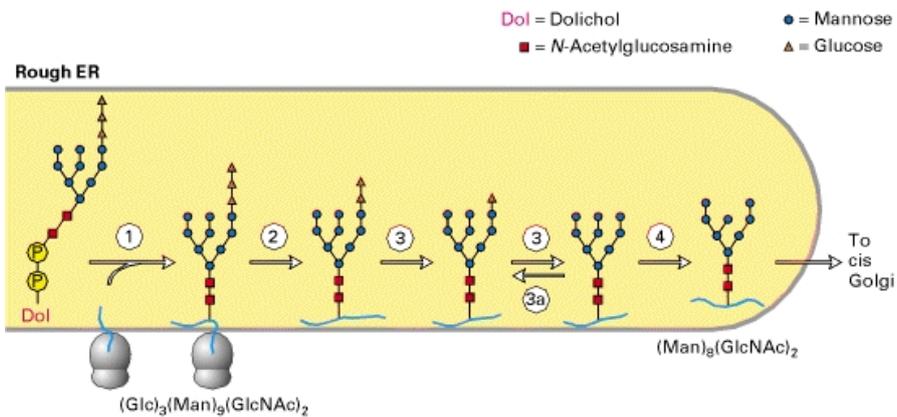
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26841/figure/A2232/?report=objectonly>



Sintesi e inserimento nella membrana dell'ER del trasportatore per il glucosio GLUT-1 e di altre proteine con molteplici segmenti transmembrana ad α -elica.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21731/figure/A4783/?report=objectonly>

Aggiunta e processamento iniziale degli oligosaccardi «N-linked»



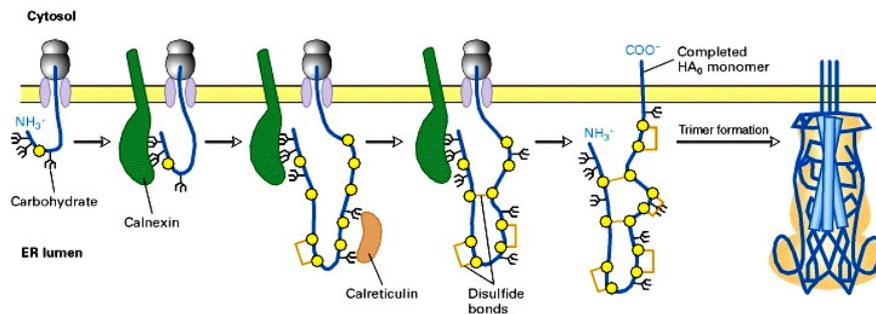
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21744/figure/A4828/?report=objectonly>

Didascalia della figura precedente

- ✚ Nel RE delle cellule dei vertebrati, il precursore $\text{Glu}_3\text{Man}_9(\text{GlcNAc})_2$ viene trasferito dal trasportatore dolicholo ad un residuo di asparagina specifico nella proteina nascente subito nel momento in cui quel residuo di asparagina compare nel versante luminale dell'ER [1].
- ✚ In tre passi successivi, vengono rimossi prima un residuo di glucosio [2], in seguito due residui di glucosio [3] e successivamente un residuo di mannosio [4].
- ✚ La ri-aggiunta di un residuo di glucosio [3°] gioca un ruolo importante nel corretto ripiegamento di molte proteine dell'ER.
- ✚ Qui è illustrato il processo di glicosilazione N-linked di una proteina di secrezione solubile, ma le porzioni luminali di una proteina integrale di membrana possono essere modificate su residui di asparagina mediante lo stesso meccanismo.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21744/figure/A4828/?report=objectonly>

Collaborazione di proteine del RER ai processi di glicosilazione e formazione di ponti disolfuro



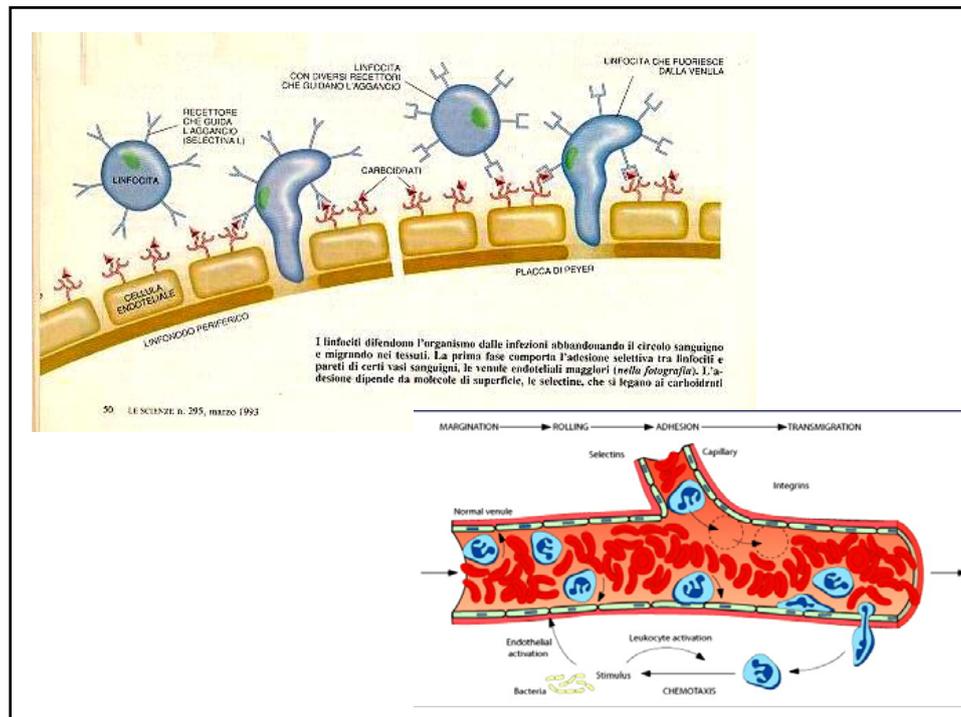
Lodish et al.: Molecular Cell Biology, 7^a ed.

Seminario

Le catene laterali di oligosaccaridi possono promuovere il ripiegamento e la stabilità delle glicoproteine – [1]

- ✦ Alcune proteine richiedono oligosaccaridi N-linked per **ripiegarsi adeguatamente** nell'ER.
- ✦ Gli oligosaccaridi N-linked possono anche conferire **stabilità** a molte glicoproteine che vengono secrete.
- ✦ Gli oligosaccaridi su certe glicoproteine sulla superficie cellulare giocano un ruolo **nell'adesione cellula-cellula**.
 - ◆ La membrana plasmatica dei leucociti contiene molecole di adesione cellula-cellula estesamente glicosilate.
 - ◆ Gli oligosaccaridi su queste molecole interagiscono con domini che riconoscono gli zuccheri (lectine) presenti su certe molecole di adesione cellulare nelle cellule endoteliali che rivestono i vasi sanguigni.
 - ◆ Questa interazione aggancia i leucociti all'endotelio e collabora al loro movimento verso i tessuti nelle risposte infiammatorie all'infezione.

Adattato da Lodish et al.: Molecular Cell Biology, 7^a ed.



Le catene laterali di oligosaccaridi possono promuovere il ripiegamento e la stabilità delle glicoproteine – [2]

✚ Altre glicoproteine presenti sulla superficie cellulare possiedono catene oligosaccaridiche laterali che possono **indurre una risposta immunitaria**.

- ✳ Un esempio comune sono gli antigeni dei gruppi sanguigni A, B, O, che sono oligosaccaridi O-linked legati a glicoproteine e glicolipidi sulla superficie degli eritrociti e di altri tipi cellulari. [N.B. Gli oligosaccaridi O-linked sono aggiunti a proteine o lipidi nell'apparato di Golgi]

Adattato da Lodish et al.: Molecular Cell Biology, 7° ed.

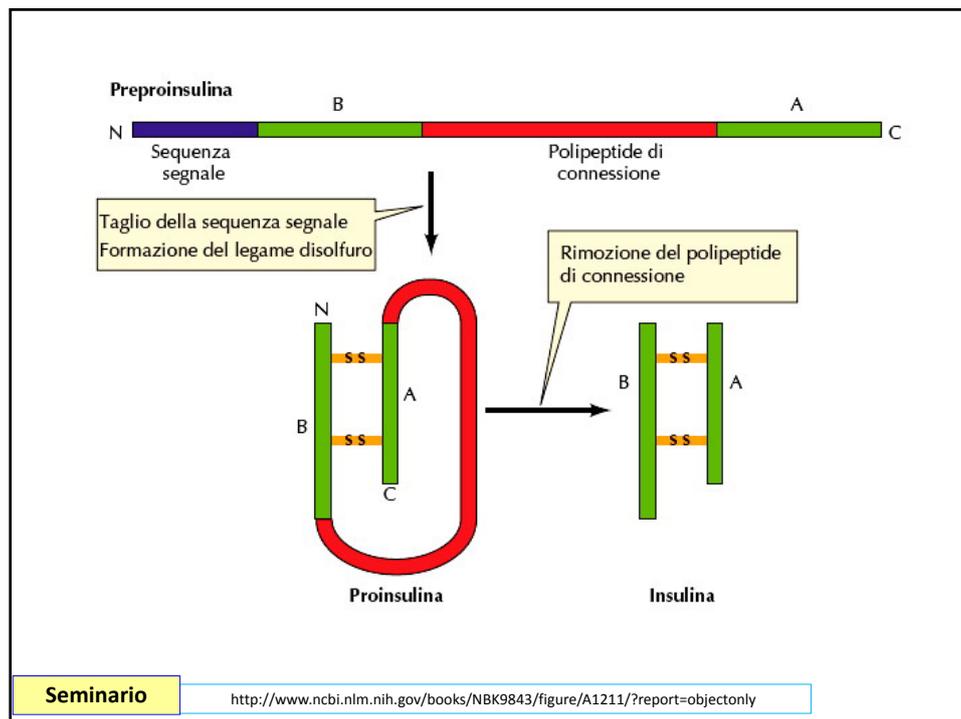
The ABO Blood System				
Blood Type (genotype)	Type A (AA, AO)	Type B (BB, BO)	Type AB (AB)	Type O (OO)
Red Blood Cell Surface Proteins (phenotype)	 A agglutinogens only	 B agglutinogens only	 A and B agglutinogens	 No agglutinogens
Plasma Antibodies (phenotype)	 b agglutinin only	 a agglutinin only	NONE. No agglutinin	 a and b agglutinin

Seminario

<http://learn.genetics.utah.edu/content/begin/traits/blood/images/ABObloodsystem.gif>

“MATURAZIONE” DELLE PROTEINE E ALTRE MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI - [1] (tutte le proteine, anche quelle rilasciate nel citosol)

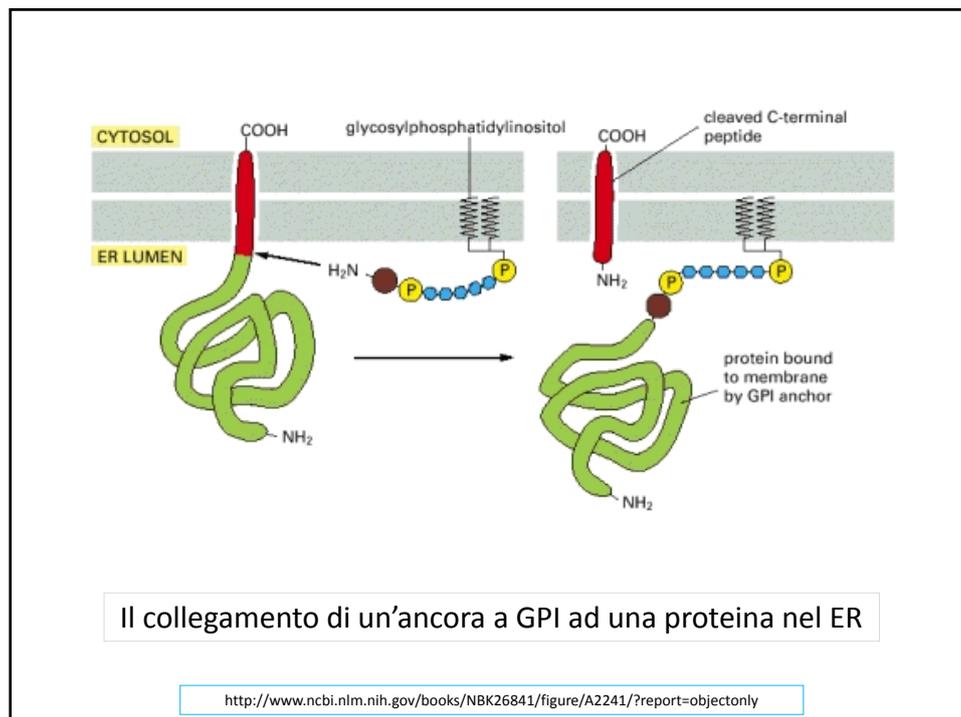
- ✚ **Ripiegamento tridimensionale corretto** (aiuto di chaperoni molecolari):
struttura terziaria.
- ✚ **Assemblaggio delle subunità peptidiche** di proteine con struttura quaternaria
- ✚ **Rimozione di amminoacidi:**
 - sequenze segnale di indirizzamento al reticolo endoplasmatico (RE)
 - metionina iniziale (RE)
 - sequenze presenti nei precursori di altre molecole (es. ormoni, nelle molecole delle proteine della cascata di coagulazione del sangue o del complemento [sistema per marcare una cellula per la distruzione da parte del sistema immunitario], monomeri di proteine destinate alla polimerizzazione extracellulare [es. collagene, elastina]) (fuori dalle cellule)



“MATURAZIONE” DELLE PROTEINE E ALTRE

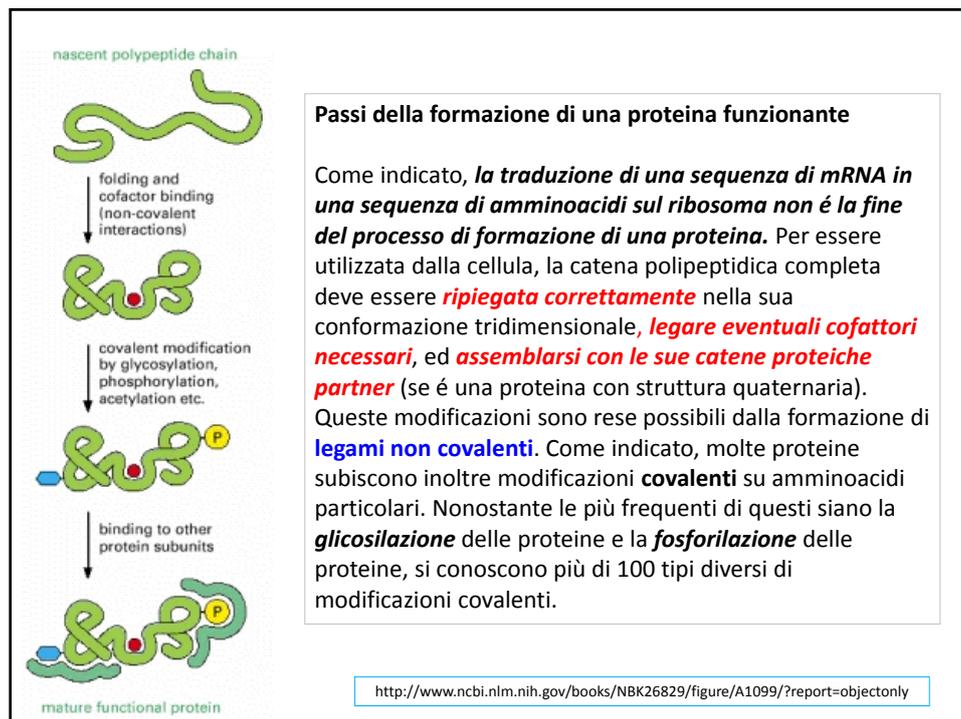
MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI – [2] (tutte le proteine, anche quelle rilasciate nel citosol)

- ✚ **Formazione di legami S-S fra gruppi laterali di cisteine**
(richiesto ambiente ossidante)
- ✚ **Aggiunta di carboidrati e successiva elaborazione**
(rimozione di residui e/o aggiunta di nuovi residui)
- ✚ **Aggiunta di code lipidiche** (acido grasso o gruppo farnesilico a proteine associate al foglietto citosolico della membrana plasmatica; coda di glicosil-inositol-fosfato [GPI] a proteine associate al versante extracellulare della membrana plasmatica).



**“MATURAZIONE” DELLE PROTEINE
E ALTRE
MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI – [3]
(tutte le proteine, anche quelle rilasciate nel citosol)**

- ✚ **Modificazioni covalenti** di amminoacidi: legame di un gruppo chimico ai gruppi carbossilici o aminici terminali o a gruppi reattivi nelle catene laterali dei residui interni. Es:
 - fosforilazione/defosforilazione [mediata da chinasi e fosfatasi rispettivamente] di residui OH di tirosina, serina o treonina)
 - acetilazione (ad es. degli istoni)
 - metilazione (id., importante per il silenziamento dei geni)
 - idrossilazione (importante per la formazione di ponti d'idrogeno fra proteine; es. collagene).



Controllo di qualità nell'ER – [1]

- ✚ Nel lume del RER le proteine vengono ripiegate in modo da raggiungere l'architettura biochimica che permette ad esse di contenere siti enzimatici, siti di legame, sito di riconoscimento tra cellule, ecc.
- ✚ Nel lume viene inoltre svolto un processo stupefacente di **controllo di qualità**.
- ✚ Quando viene riscontrato che esse sono sintetizzate in modo incorretto o ripiegate in modo incorretto, le proteine vengono rigettate).
- ✚ Questi prodotti rigettati sono immagazzinati nel lume oppure spediti nel citoplasma per una degradazione in AA che sono riciclati: **“Unfolded Protein Response”, UPR**.

<http://bscb.org/learning-resources/softcell-e-learning/endoplasmic-reticulum-rough-and-smooth/>

Controllo di qualità nell'ER – [2]

- ✚ Un tipo di **enfisema** (una patologia polmonare) è provocato dal fatto che il reparto dell'ER deputato al controllo di qualità rigetta continuamente una proteina male ripiegata
- ✚ La proteina è ripiegata in modo sbagliato dato che è il risultato di una mutazione.
- ✚ La proteina richiesta non viene mai esportata dal lume del RER.
- ✚ Ci sono diversi altri esempi di patologie (ad es. Collegate all'HIV) che vengono investigate focalizzando l'attenzione sull'ER.

<http://bscb.org/learning-resources/softcell-e-learning/endoplasmic-reticulum-rough-and-smooth/>

Controllo di qualità nell'ER – [3]

- ✚ Una forma di fibrosi cistica è provocata dalla carenza di un solo amminoacido, la fenilalanina, in una particolare posizione della struttura della proteina.
- ✚ La proteina potrebbe funzionare bene anche senza quel AA ma è proprio il reparto di controllo di qualità che individua l'errore e rigetta la proteina, trattenendola nel lume del RER.
- ✚ In questo caso il paziente non ha alternativa a causa dell'efficienza del sistema, quando in realtà, se esso funzionasse meno bene, un prodotto leggermente peggiore sarebbe meglio di nessun prodotto.

<http://bscb.org/learning-resources/softcell-e-learning/endoplasmic-reticulum-rough-and-smooth/>

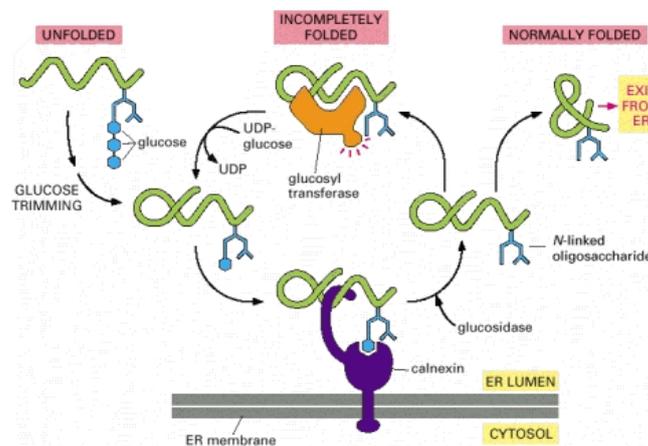
Fibrosi cistica

- La **fibrosi cistica** (abbreviata spesso come FC, detta anche **mucoviscidosi** o **malattia fibrocistica del pancreas**) è una **malattia genetica autosomica recessiva**. La patologia è causata da una mutazione nel gene CF (cromosoma 7), il quale codifica per una **proteina che funziona come canale per il cloro** detta **CFTR** (*Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator*). La fibrosi cistica è la malattia genetica ereditaria mortale più comune nella popolazione **caucasica**.^[1]
- La sintomatologia, che coinvolge differenti organi interni, è riconducibile **all'anomalia nell'escrezione del cloro**, normalmente mediata dalla **proteina** codificata dal gene CFTR. Tale alterazione porta alla **secrezione di muco molto denso e viscoso e quindi poco scorrevole**. La conseguente ostruzione dei dotti principali provoca i sintomi principali (comparsa di infezioni polmonari ricorrenti, insufficienza pancreatica, **steatorrea**, **cirrosi epatica**, ostruzione **intestinale** e **infertilità maschile**).

https://it.wikipedia.org/wiki/Fibrosi_cistica

Seminario

Ruolo della glicosilazione N-linked nel ripiegamento delle proteine nell'ER



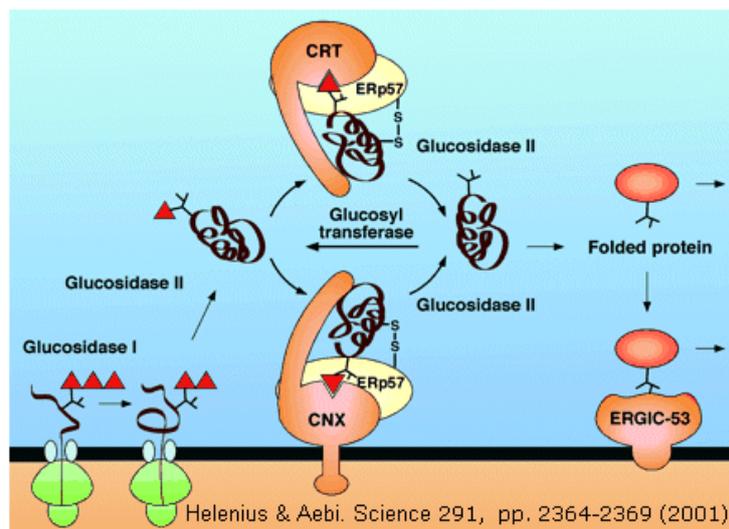
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26841/figure/A2235/?report=objectonly>

Seminario

Ruolo della glicosilazione N-linked nel ripiegamento delle proteine nell'ER

- La proteina chaperone legata alla membrana dell'ER calnexina si lega alle proteine ripiegate in modo incompleto contenenti un glucosio terminale negli oligosaccaridi N-linked, intrappolando le proteine nell'ER.
- La rimozione del N-terminale da parte di glicosidasi rilascia la proteina dalla calnexina.
- Una glucosil transferasi è l'enzima cruciale che determina se una proteina è ripiegata come si deve o no: se la proteina non è completamente ripiegata, l'enzima trasferisce un nuovo glucosio dall'UDP-glucosio all'oligosaccaride N-linked, rinnovando l'affinità della proteina per la calnexina e trattenendola nell'ER.
- Il ciclo si ripete finchè la proteina è ripiegata completamente.
- La calreticolina funziona in modo simile, tranne che è una proteina solubile residente nel lume dell'ER.
- Un altro chaperone, la ERp57 (not mostrato) collabora con la calnexina e con la calreticolina per trattenere le proteine incompletamente ripiegate nell'ER.

Seminario



Copyright (2001) American Association for the Advancement of Science

Reticoli

**ESEMPI DI CELLULE AD ATTIVA SINTESI
PROTEICA, RICONOSCIBILI DAL FATTO CHE IL
RETICOLO ENDOPLASMATICO RUVIDO È
MOLTO SVILUPPATO**

