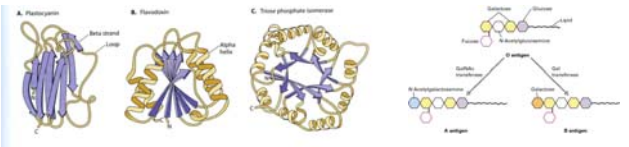


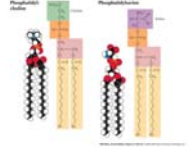
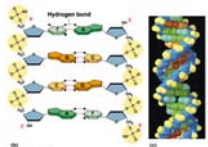
Biologia della cellula animale Biotecnologie

RIPASSO PRIMA PARTE DEL PROGRAMMA

Dott.ssa Gloria Milanesi



Macromolecole biologiche



Molecole biologiche

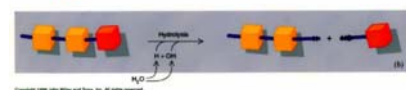
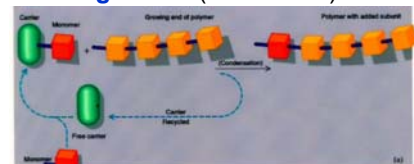
MACROMOLECOLE

- Di grandi dimensioni e molto organizzate.
- Contengono da decine a milioni di atomi di Carbonio.
- Assemblate in strutture sopramolecolari, costituiscono gli organelli e strutture subcellulari fino ad arrivare alla stessa cellula.

1. **PROTEINE**
2. **ACIDI NUCLEICI**
3. **POLISACCARIDI**
4. **Certi LIPIDI**

Molecole biologiche

- Proteine, acidi nucleici e polisaccaridi sono **generati dalla polimerizzazione** di **piccole molecole organiche (monomeri)**.



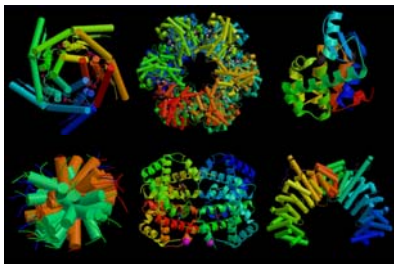
Copyright 1996 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.

Molecole biologiche

- **Amminoacidi** : monomeri delle proteine
- **Monosaccaridi** : monomeri dei polisaccaridi
- **Nucleotidi** : monomeri degli acidi nucleici

Molecole biologiche

- **Lipidi**: costituiscono una categoria di molecole piuttosto eterogenee con caratteristiche strutturali e funzionali simili che non si formano da processi di polimerizzazione come le altre macromolecole. Hanno come unico punto comune quello di essere insolubili in acqua.
- Si raggruppano mediante interazioni di van der Waals e idrofobiche.



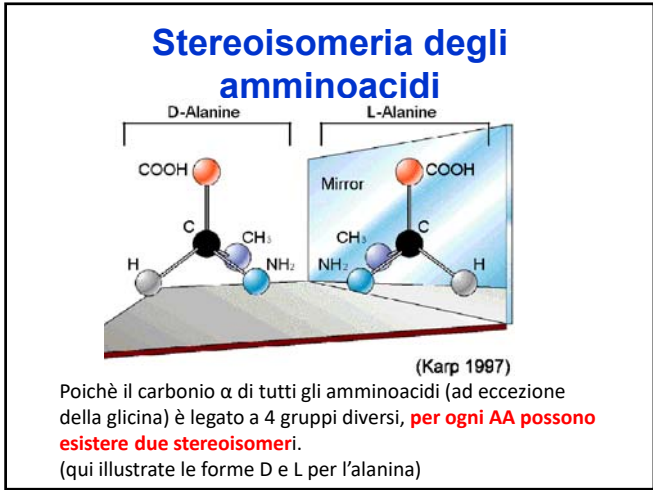
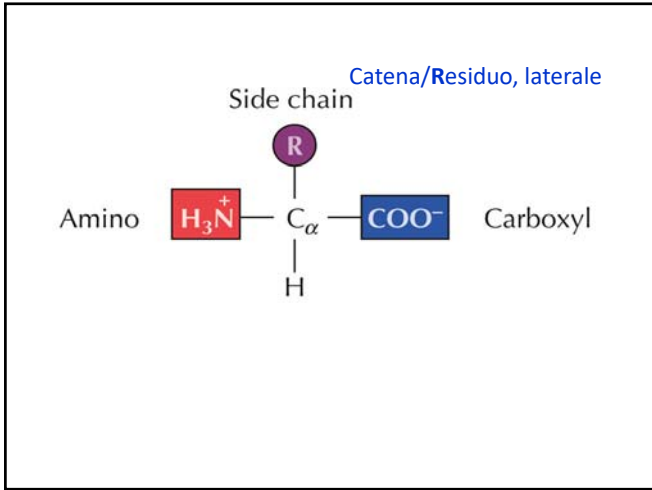
Macromolecole biologiche

PROTEINE

<http://martin-protean.com/protein-structure.html>

MOLECOLE BIOLOGICHE

- Le proteine sono polimeri lineari di amminoacidi
- Nella cellula sono presenti più di 60 tipi di aa diversi
- Solo 20 vengono utilizzati per la sintesi delle proteine



Stereoisomeri degli aminoacidi

L-alanine

D-alanine

$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COO}^-$

$\text{NH}_2-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COO}^-$

- ✚ Gli AA usati per la sintesi delle proteine sia degli eucarioti che dei procarioti sono sempre **L-aminoacidi**.
- ✚ Tuttavia, i microorganismi (procarioti) usano **D-aminoacidi** nella sintesi di alcuni piccoli peptidi, incluso quelli della parete cellulare

Peptidoglycan Monomer

NAM NAG

Peptide cross-links (the peptide moieties)

Polysaccharide chains (the glycan portions)

Peptidoglycan

Peptide cross-links (the peptide moieties)

http://www.biologie.uni-hamburg.de/b-online/library/micro229/terry/229sp00/lectures/cell52.html

http://www.detectingdesign.com/mages/Antibiotics_Viruses/antibi13.jpg

Aminoacidi: unità basilari delle proteine

R

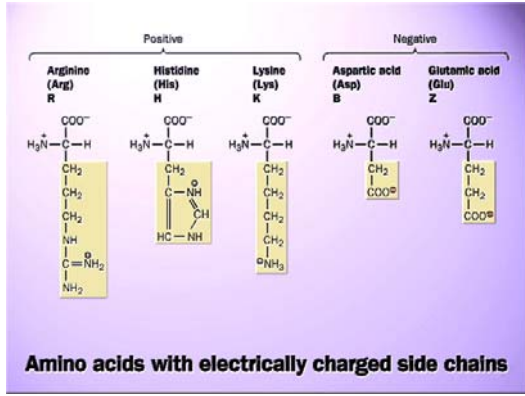
NH₃⁺ — C — COO⁻

Amino group Carboxylic acid group

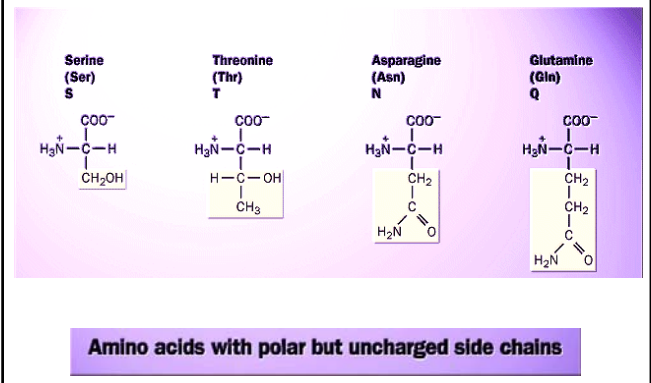
H

I diversi gruppi (residui) laterali, **R**, determinano le proprietà chimiche e fisiche degli aminoacidi

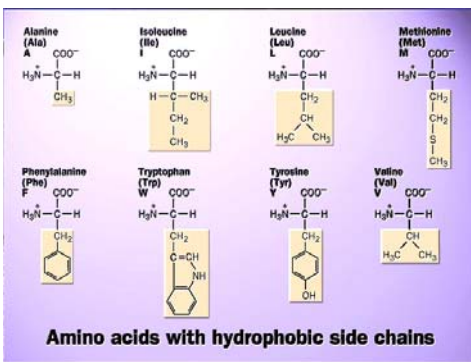
AA polari carichi (potranno essere coinvolti in legami ionici)



AA polari ma privi di carica (potranno essere coinvolti in legami di idrogeno)

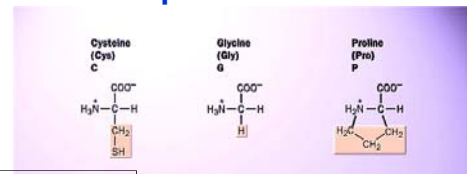


Non Polari (Idrofobici) – (potranno essere coinvolti in legami di van der Waals e interazioni idrofobiche)



Quanto maggiori sono le dimensioni dei gruppi laterali tanto più idrofobico sarà l'amminoacido

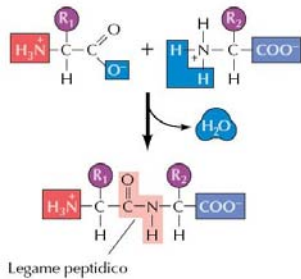
Catene laterali con proprietà particolari



CISTEINA: Sebbene la catena laterale abbia un carattere polare non carico, ha la particolarità di *costituire un legame covalente con un'altra cisteina*, per formare ponti disolfuro (S-S), che irrigidiscono la catena.

GLICINA: la catena laterale è formata solo da un atomo di H e *può adattarsi sia ad un ambiente idrofilo che idrofobo*. Spesso si trova in siti dove due polipeptidi sono a stretto contatto

PROLINA: Sebbene la catena laterale abbia carattere polare non carico, ha la particolarità di creare *snodi* nelle catene polipeptidiche ed interrompere la struttura secondaria ordinata



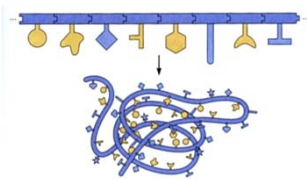
GLi aminoacidi si uniscono tra loro mediante una reazione di disidratazione che porta alla formazione di un legame C-N detto legame peptidico. È un legame covalente polare

Amminoacidi

La catena di amminoacidi si allunga crescendo di un amminoacido alla volta

Ha una **direzionalità intrinseca** : termina con un gruppo amminico ad una estremità e un gruppo carbossilico all'altra

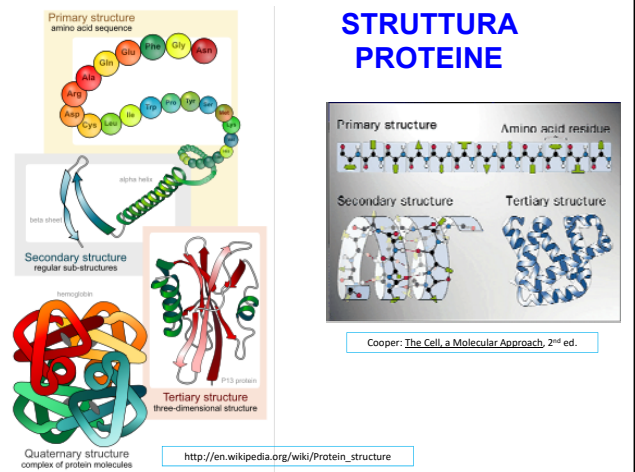
Il prodotto finale del processo di polimerizzazione è un **polipeptide**



Una **proteina** è una catena di amminoacidi che si ripiega assumendo una conformazione tridimensionale stabile e di conseguenza biologicamente attiva

H. Kreuzer & A. Massey: *Biology and Biotechnology: Science, Applications and Issues* ASM Press, Washington, D.C., 2005.

STRUTTURA PROTEINE



STRUTTURA PRIMARIA DELLE PROTEINE

Primary Structure

- E' la **sequenza lineare specifica degli AA** che compongono la catena.
- E' determinata dalla sequenza di codoni nel mRNA.
- Determina da sola il ripiegamento della proteina.
- Con 20 diversi AA, il n° di differenti polipeptidi che si possono formare è di 20ⁿ dove n è il n° di AA della catena.

http://w3.hwdsb.on.ca/hillpark/Departments/Science/Watts/SBI3U/Class_Summary/class_summary_spring_2009_sbi3u.html

Struttura secondaria α-elica & foglietto β

- La struttura secondaria rappresenta la **conformazione ordinata** che **alcune regioni della proteina possono assumere, sulla base della struttura primaria**, cioè della sequenza amminoacidica.
- La struttura secondaria è caratterizzata dalla **presenza di ponti idrogeno fra gli atomi del legame peptidico tra residui non adiacenti**, mentre **non sono direttamente coinvolte le catene laterali degli amminoacidi**.
- Le principali forme di strutture secondarie presenti nelle proteine sono l'**α-elica** e le strutture a **β foglietto**.

<http://www.unisr.it/biotechbook/view.asp?id=250>

Peptide Bond

Gli atomi del legame peptidico sono donatori e accettori di H. Infatti, l'**ossigeno del gruppo carbonilico (-C=O)** funge da accettore in un legame di idrogeno, mentre l'**azoto del gruppo amminico (-N-H)** funge da donatore per un legame di idrogeno.

Il **legame peptidico** è **POLARE** e quindi idrofilico.

Un modo per **diminuire la sua polarità**, è quindi di permettere formazione di **zone relativamente idrofobiche**, è di coinvolgere i suoi atomi in un **LEGAME DI IDROGENO**.

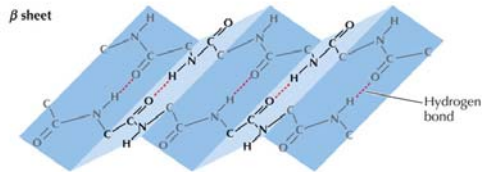
[http://virtuallaboratory.colorado.edu/biofundamentals/lectureNotes/Topic3-4_Peptide%20bonds.htm](https://virtuallaboratory.colorado.edu/biofundamentals/lectureNotes/Topic3-4_Peptide%20bonds.htm)

α-elica

- Assomiglia al filo del telefono che si avvolge a spirale. Ogni giro dell'elica è stabilizzato da ponti idrogeno tra i gruppi CO e NH dei vari legami peptidici. Questi legami idrogeno sono paralleli all'asse del polipeptide.
- I **legami peptidici** coinvolti nella formazione di un legame di idrogeno, **diventano molto meno polari**.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9879/figure/A272/>

β-foglietto



- In questo caso i legami di idrogeno **tra atomi coinvolti nel legame peptidico** sono orientati perpendicolarmente all'asse del foglietto.
- Anche in questo caso i legami peptidici coinvolti nei legami di idrogeno diventano **meno polari**.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9879/figure/A272/>

Levels of Protein Structure—Tertiary Structure



Struttura terziaria delle proteine

- Descrive la **conformazione tridimensionale dell'intero polipeptide**, ossia, la disposizione tridimensionale di **tutti** i suoi residui amminoacidici
- dipende dalle interazioni dei gruppi R : legami idrogeno, legami di van der Waals, legami ionici, interazioni idrofobiche, ponti disolfuro

<https://ilovebiochem1362.files.wordpress.com/2013/02/3structure.jpg>

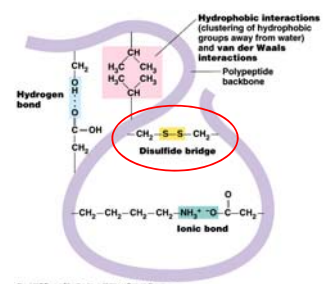
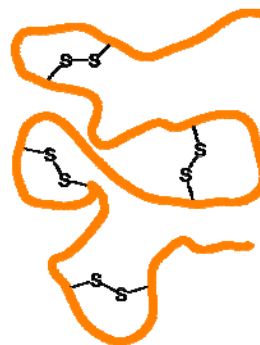
Struttura terziaria

- Gli aminoacidi si dispongono nello spazio in modo da assumere la conformazione di minore energia, ossia la più **stabile**.
- Per ottenere ciò, si ripiega in modo da **massimizzare interazioni attrattive** e **ostacolare interazioni repulsive** tra i **gruppi laterali**.
- Una regola basilare che determina la **struttura delle proteine in ambiente acquoso** è, per quanto possibile, il **ripiegamento della catena in modo da concentrare i gruppi laterali idrofobici all'interno della proteina, così da creare un ambiente idrofobico privo di acqua**.

Le catene laterali idrofiliche sono invece stabili quando esposte al citoplasma sulla superficie della proteina.

Si dice perciò che una proteina in un ambiente acquoso contiene una **zona centrale** ("core"; nocciolo) **idrofobica e stabile**

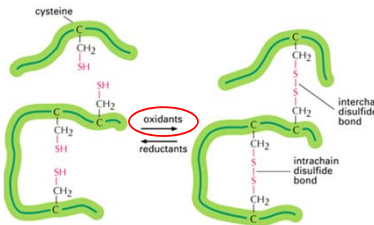
Interazioni tra i gruppi laterali (R)



<https://en.wikipedia.org/wiki/Disulfide>

<http://image.slidesharecdn.com/05lecturepresentation-101003130501-phapp02/95/ap-biology-chapter-5-presentation-85-728.jpg?cb=1286111274>

Ponti disolfuro (S-S) tra residui di cisteina



Il legame disolfuro si forma soltanto in un ambiente **ossidante** (lume del reticolo endoplasmatico).

Quando la proteina viene inserita nella membrana plasmatica il legame si trova nell'ambiente extracellulare, anche esso ossidante

Figure 3-29. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Questi legami incrociati possono **collegare sia due parti della stessa catena polipeptidica che due catene polipeptidiche diverse**. Poiché l'energia necessaria per rompere un legame covalente è molto superiore all'energia necessaria per rompere persino un intero insieme di legami **non-covalenti**, **un legame disolfuro può avere un notevole effetto stabilizzante in una proteina**.



Fibrous Protein



Globular Protein

Proteine fibrose e globulari

	Fibrous	Globular
Shape	Long and narrow	Round / spherical
Purpose	Structural	Functional
Acid Sequence	Repetitive amino acid sequence	Irregular amino acid sequence
Durability	Less sensitive to changes in pH, temperature, etc.	More sensitive to changes in pH, temperature, etc.
Examples	Collagen, myosin, fibrin, actin, keratin, elastin	Enzymes, haemoglobin, insulin, immunoglobulin
Solubility	(Generally) insoluble in water	(Generally) soluble in water

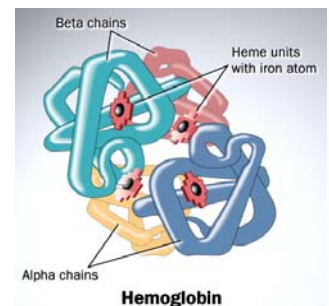
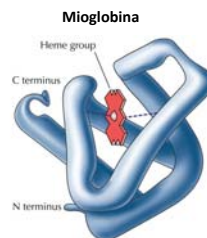
<http://ib.bioninja.com.au/stand-ard-level/topic-2-molecular-biology/24-proteins/fibrous-vs-globular-protein.html>

Struttura quaternaria

- E' presente solo nelle **proteine con due o più catene polipeptidiche** (subunità)
- Descrive l'associazione nello spazio delle diverse subunità che interagiscono formando la forma finale e funzionale della proteina
- Le interazioni sono esattamente le stesse che determinano la struttura terziaria (**ponti S-S**, **legami di idrogeno**, **interazioni ioniche** e **interazioni idrofobiche**) solo con l'eccezione che hanno luogo fra le diverse subunità

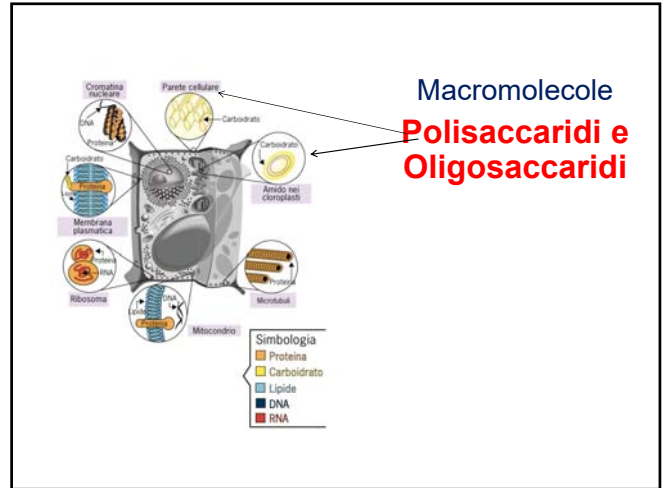
D. Whitford: «Proteins: Structure and Function». Wiley, 2005.

Mioglobina e emoglobina



FUNZIONI BIOLOGICHE DELLE PROTEINE

Strutturale
Crescita e differenziamento.
Sostegno meccanico
Trasporto e immagazzinamento
Trasporto di membrana
Catalisi enzimatica
Funzione immunologica
Trasferimento di informazione
Recettori e trasduzione del segnale
Motilità



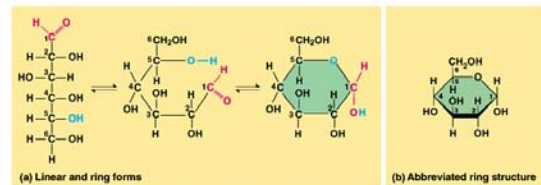
Carboidrati

Polisaccaridi: polimeri lunghi, sono costituiti da catene molto lunghe di monosaccaridi

Oligosaccaridi: polimeri corti, sono costituiti da catene di poche molecole di zuccheri semplici (monosaccaridi)

Monosaccaridi

- Queste molecole consistono di forme a catena aperta o ad anello con 3-8 atomi di carbonio. Il più comune tipo di monosaccaride è lo zucchero semplice "glucosio".
- Il glucosio è un'importante sorgente energetica nelle cellule metabolicamente attive.

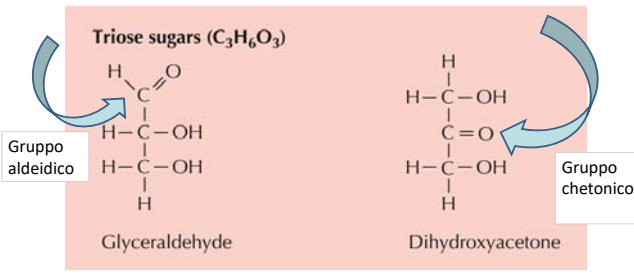


Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

<http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/cm1504/carbohydrates.htm>

Carboidrati

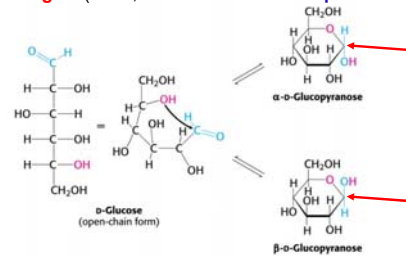
- Nella forma a catena aperta gli zuccheri contengono **diversi gruppi idrossilici (-OH)** oltre ad un **gruppo aldeidico ($\text{H}-\text{C}=\text{O}$)** oppure ad un **gruppo chetonico ($>\text{C}=\text{O}$)**.



Carboidrati (glicani)

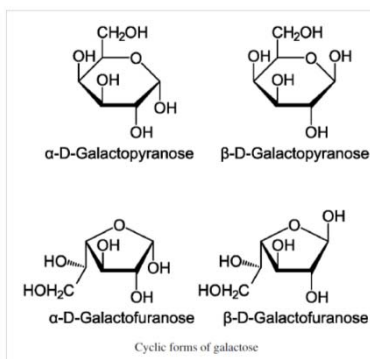
- Il gruppo aldeidico o chetonico gioca un ruolo speciale:

- Può **reagire con un gruppo idrossilico sulla stessa molecola** per convertirla in un **anello**. Nell'anello, il carbonio del gruppo aldeidico o chetonico originario può essere riconosciuto come **l'unico atomo di carbonio che è legato a due ossigeni** (ossia, è **l'atomo di carbonio più ossidato**).



<http://oregonstate.edu/instruction/bb450/stryer/ch11/Slide19.jpg>

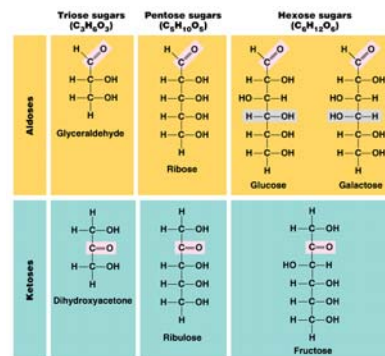
Isomero α : gruppo OH legato al carbonio 1 sotto piano dell'anello



Isomero β : gruppo OH legato al carbonio 1 sopra piano dell'anello

<http://en.wikipedia.org/wiki/Galactose>

monosaccaridi comuni



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

<http://kentsimmons.uwinnipeg.ca/cm1504/carbohydrates.htm>

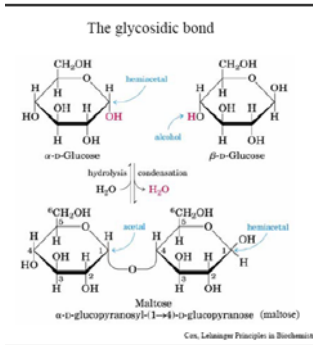
- Il **fruttosio** è uno zucchero comune nella frutta e il **galattosio** è lo zucchero che si trova nel latte.

- Gli zuccheri con 6 carboni sono chiamati "**esosi**". Gli zuccheri con 5 atomi di carbonio sono "**pentosi**" mentre quelli con 7 sono chiamati "**eptosi**".

- Due "pentosi" molto importanti sono il **Ribosio** che si trova nell'**acido Ribonucleico, RNA**, e il **Desossiribosio**, che si trova nell'**Acido Desossiribonucleico, DNA**.

Carboidrati

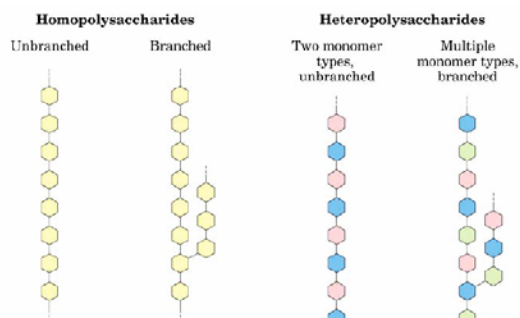
- Una volta formato l'anello, quest'atomo di carbonio può **legarsi ulteriormente**, mediante un **legame glicosidico**, ad uno degli atomi di carbonio che porta un gruppo idrossilico su di un'altra molecola di zucchero, creando un **disaccaride**.



Carboidrati

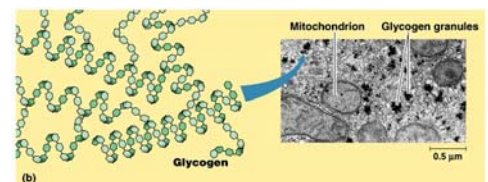
- L'aggiunta di ulteriori unità di monosaccaridi dà origine ad **oligosaccaridi** di dimensioni crescenti fino ai **polisaccaridi**, molecole con **migliaia** di unità monosaccaridiche.
- Poiché ogni monosaccaride ha diversi gruppi idrossilici che possono formare legami con altri monosaccaridi (o con un altro composto), **il numero di strutture polisaccaridiche possibile è estremamente grande**. Persino un semplice disaccaride con due unità di glucosio può avere 11 diverse varianti, mentre tre diversi esosi (C₆H₁₂O₆) possono combinarsi in modo da formare diverse migliaia di trisaccaridi diversi.

Schematic arrangement of sugar units in polysaccharides



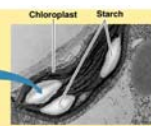
Glicogeno:

forma di accumulo di **α-glucosio** nelle cellule animali
Struttura ramificata



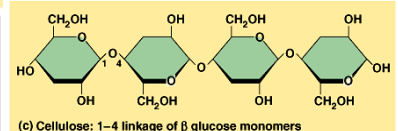
Amylose
Amylopectin

(a) Starch



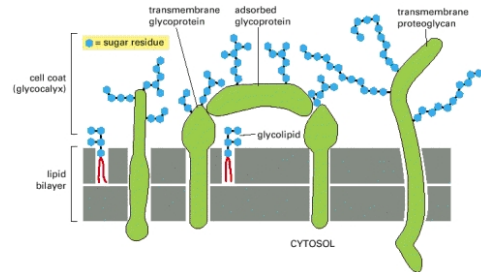
Amido: forma di accumulo di **α-glucosio** nelle cellule vegetali

Cellulosa: polimero lineare di **β-glucosio**, maggiore costituente della parete cellulare delle cellule vegetali



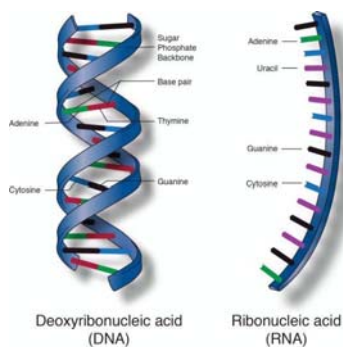
Carboidrati

- I polisaccaridi semplici, composti soltanto di residui di glucosio – principalmente il **glicogeno** nelle cellule animali e l'**amido** nelle cellule vegetali – vengono usati per **immagazzinare energia da utilizzare in caso di necessità**.
- Gli zuccheri sono coinvolti in varie altre funzioni, oltre che nella produzione ed immagazzinamento di energia:
 - Importanti **materiali strutturali** extracellulari come la **cellulosa** sono composti di polisaccaridi semplici.
 - Catene più piccole ma più complesse di molecole di **zuccheri** sono spesso **legate covalentemente a proteine**, formando **glicoproteine** e **proteoglicani** e a **lipidi**, formando **glicolipidi**.



Il **glicocalice** ("cell coat") è costituito da **catene laterali oligosaccaridiche** dei **glicolipidi** e delle **glicoproteine** integrali di membrana e dalle **catene saccaridiche di proteoglicani** integrali di membrana. Notare che **tutti i carboidrati si trovano sul versante della membrana plasmatica rivolto verso l'esterno della cellula**.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26878/figure/A1933/>



ACIDI NUCLEICI

<http://www.genome.gov/dmd/img.cfm?mode=Photos/Graphics&id=85209>

ACIDI NUCLEICI

Macromolecole molto importanti per il loro ruolo di immagazzinamento, trasmissione ed espressione dell'informazione genetica

Due tipi principali : **DNA** (acido **deossiribonucleico**) e **RNA** (acido **ribonucleico**)

DNA e **RNA** differiscono per la struttura chimica e per il ruolo nella cellula

ACIDI NUCLEICI

DNA è la molecola che contiene l'informazione genetica. E' costituito da geni

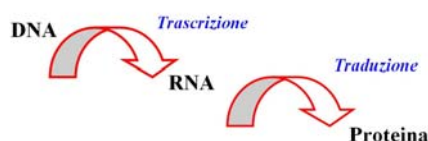
GENE

Sequenza di nucleotidi che fornisce alle cellule le istruzioni per sintetizzare una specifica proteina o un particolare tipo di RNA.

(Thieman & Palladino, Introduction to Biotechnology, 3rd ed

✚ I geni vengono copiati e trasferiti mediante un processo di trascrizione all'RNA e poi tradotti in proteine tramite processo di traduzione

- **Trascrizione ("transcription")**: sintesi del RNA sotto la direzione del DNA
- **Traduzione ("translation")**: sintesi delle proteine sotto la direzione del RNA.



Dogma centrale della biologia molecolare

Il **dogma centrale della biologia molecolare**, o più semplicemente **dogma centrale**, è un principio formulato negli anni cinquanta del XX secolo, secondo il quale in **biologia molecolare il flusso dell'informazione genetica è monodirezionale: parte dagli acidi nucleici per arrivare alle proteine, senza considerare un percorso inverso.**^{[2][3]}

Il termine «dogma» non era inteso in senso assoluto, ma derivava da una personale interpretazione dell'ideatore della teoria, Francis Crick.

(EN)

« since I thought that all religious beliefs were without foundation. I used the word the way I myself thought about it, not as most of the world does, and simply applied it to a grand hypothesis that, however plausible, had little direct experimental support. »

(Francis Crick, *What Mad Pursuit: A Personal View of Scientific Discovery*)

http://it.wikipedia.org/wiki/Dogma_centrale_della_biologia_molecolare

Nuove scoperte ed eccezioni alla regola

(risultato da recenti studi genomici)

I **retrovirus** non ubidiscono al “dogma centrale” in quanto il loro RNA codifica per il DNA:

trascrizione inversa («reverse transcription»).

I **prioni** sono proteine capaci di replicarsi influenzando la struttura di altre proteine dello stesso tipo, senza prendere in considerazione alcun tipo di informazione genetica.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Class/MLACourse/Modules/MolBioReview/central_dogma.html

ACIDI NUCLEICI

DNA e **RNA** sono polimeri di unità monomeriche non identiche dette **nucleotidi**

I **nucleotidi** sono costituiti da: uno zucchero pentoso legato ad un gruppo fosfato ed a una base aromatica contenente azoto

ACIDI NUCLEICI

IL CARBOIDRATO A 5 ATOMI DI C (IL PENTOSIO) PUO' ESSERE



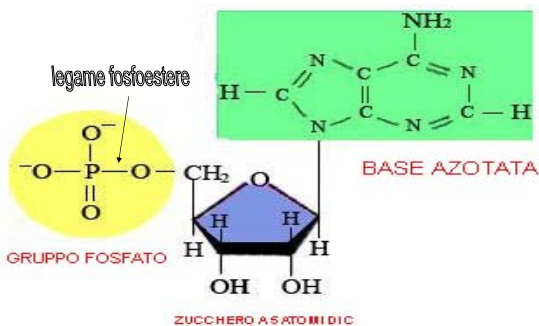
IL **RIBOSIO** E' NELL'RNA

ATTENZIONE ALLA DIFFERENZA!

IL **DEOSSIRIBOSIO** E' NEL DNA

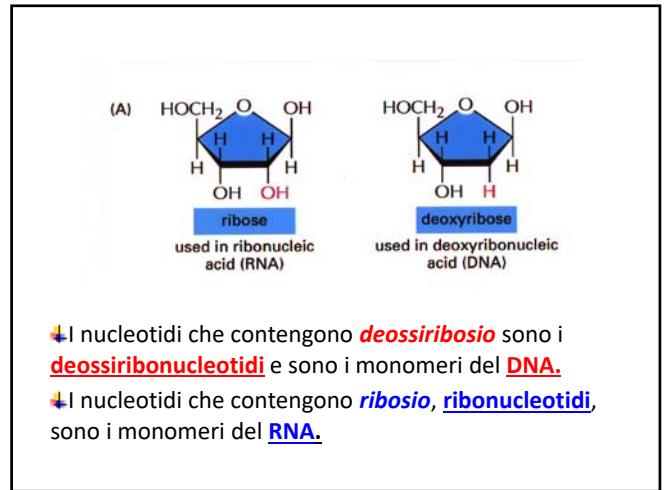
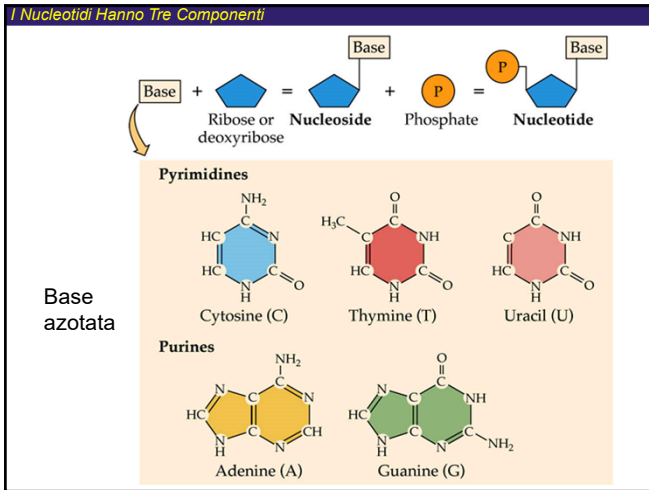
5

ACIDI NUCLEICI



ACIDI NUCLEICI

- La base azotata può essere una **purina** o una **pirimidina**
- **DNA** : contiene le purine **adenina (A)** e **guanina (G)** e le pirimidine **citocina (C)** e **timina (T)**
- **RNA** : contiene le stesse purine del DNA ma, per quanto riguarda le pirimidine, al posto della **timina** è presente **l'uracile (U)**



ACIDI NUCLEICI

Se dal **nucleotide** viene rimosso il gruppo fosfato, l'unità base azotata più zucchero che ne deriva è detta **nucleoside**

Quindi un **nucleotide** può essere considerato come un **nucleoside monofosfato**

✚ Tutti i nucleotidi possono esistere in composti in cui vi è più di un gruppo fosfato legato alla posizione 5'.

✚ I legami fra il primo (α) e il secondo (β), e fra il secondo (β) e il terzo (γ) gruppi fosfato sono **ricchi di energia** e sono usati per **fornire energia per numerose attività cellulari**. **Legame ricco di energia**

Legame chimico che **rilascia una grande quantità di energia** quando viene idrolizzato.

Figure 4.9 A nucleoside-5'-triphosphate has energy-rich phosphate bonds.

γ	β	α	(Purine)-5'-triphosphate

Lewin, Genes

I nucleosidi e i loro mono-, di- e tri-fosfati

	Base	Nucleoside	Nucleotidi		
DNA	Adenina (A)	Deossiadenosina	dAMP	dADP	dATP
	Guanina (G)	Deossiguanosina	dGMP	dGDP	dGTP
	Citosina (C)	Deossicitidina	dCMP	dCDP	dCTP
	Timina (T)	Deossitimidina	dTMP	dTDP	dTTP
RNA	Adenina (A)	Adenosina	AMP	ADP	ATP
	Guanina (G)	Guanosina	GMP	GDP	GTP
	Citosina (C)	Citidina	CMP	CDP	CTP
	Uracile (U)	Uridina	UMP	UDP	UTP

Nucleotidi

Oltre ad essere componenti degli acidi nucleici (DNA e RNA) i nucleotidi possono svolgere **altre** importanti funzioni. Es.

La maggior parte dell'**energia** utilizzata dagli esseri viventi deriva dall'**adenosina trifosfato (ATP)**

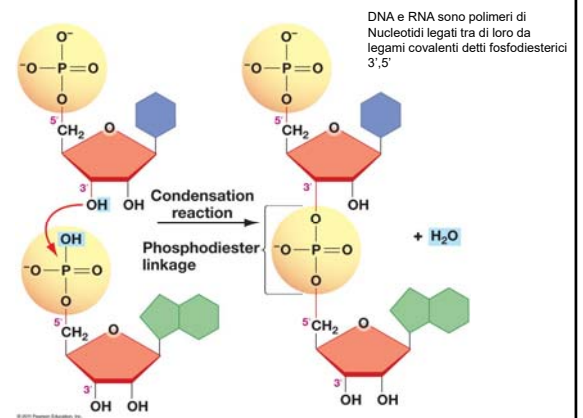
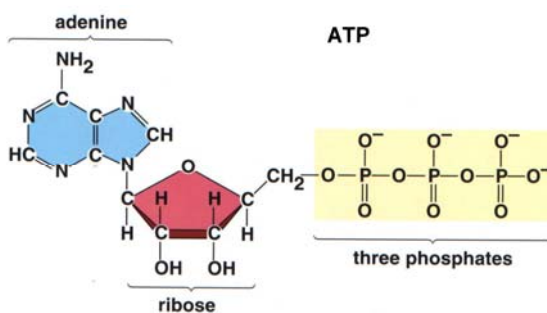
La **guanosina trifosfato (GTP)** è un nucleotide che, oltre a fornire energia per la sintesi proteica, si lega a un gran numero di proteine ("proteine G") e agisce da **interruttore** per attivarle.

Proteine G monomeriche

Proteine G trimeriche.

L'AMP ciclico (cAMP) è un ribonucleotide speciale che è essenziale per l'azione ormonale e per il trasferimento di informazione nel sistema nervoso.

ATP



Il polinucleotide che si forma mediante questo processo avrà una direzionalità intrinseca, con un gruppo fosfato in 5' ad una estremità e un gruppo -OH 3' all'altra.

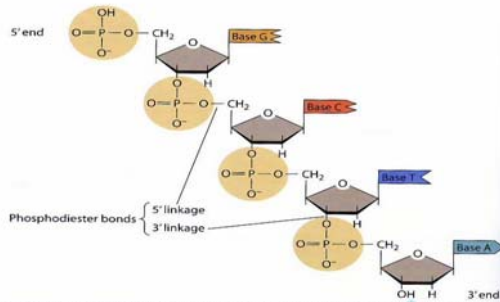


Figure 3.17 Nucleotides form chains through phosphodiester bonds between the phosphate group of the number 5 carbon of one nucleotide and the OH group on the number 3 carbon of another.

Kreuzer & Massey, Biology and Biotechnology

DNA

1953 Watson e Crick postulano per il DNA una struttura elicoidale a doppio filamento (**doppia elica**)

Questa è costituita da due catene di deossinucleotidi complementari avvolte intorno ad un asse comune per formare elica destrorsa

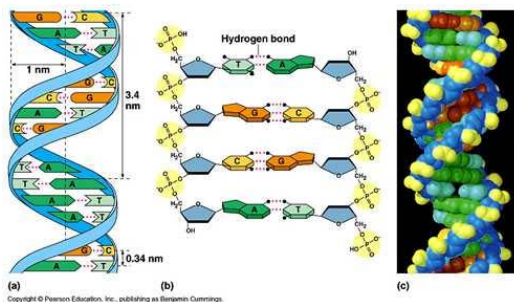
Le due catene sono orientate in direzioni opposte (**antiparallele**) una in direzione 5'-3', l'altra in direzione 3'-5'.

Le impalcature di **zucchero-fosfato** rimangono all'esterno della struttura.

Le **basi azotate** sono all'interno della struttura e perpendicolari all'asse dell'elica e separate da 3.4 angstroms.

La struttura elicoidale si ripete ogni 34 angstroms, e quindi ci sono 10 basi per giro dell'elica.

DNA



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

<http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/molecular%20biology/dna-structure.html>

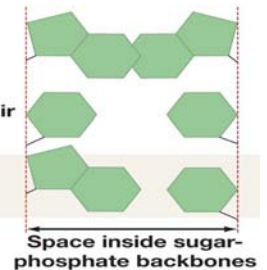
Soltanto le coppie purina-pirimidina trovano posto all'interno della doppia elica.

(a) Only purine-pyrimidine pairs fit inside the double helix.

**Purine-purine pair
NOT ENOUGH SPACE**

**Pyrimidine-pyrimidine pair
TOO MUCH SPACE**

**Purine-pyrimidine pair
JUST RIGHT**



© 2011 Pearson Education, Inc.

<http://www.uic.edu/classes/bios/bios100/lectures/dna.htm>

Copie di basi complementari nella doppia elica del DNA

La forma e la struttura chimica delle basi permettono che si formino legami di idrogeno efficacemente soltanto fra A e T e fra G e C, dove gli atomi in grado di formare legami di idrogeno possono essere portati sufficientemente vicini senza distorcere la doppia elica. Come indicato, **fra A e T si formano due ponti di idrogeno** mentre **fra G e C se ne formano tre**. Le basi si possono appaiare in questo modo soltanto se le catene polinucleotidiche che le contengono sono antiparallele **una all'altra**.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26821/figure/A599/>

- I solchi maggiore e minore si trovano in posizioni opposte uno rispetto all'altro e ciascuno scorre in modo continuo lungo la molecola di DNA.
- Derivano dalla disposizione antiparallela dei due filamenti.
- Sono importanti per il collegamento di "DNA Binding Proteins" coinvolte nella replicazione e trascrizione.

http://www.mun.ca/biology/scarr/MGA2_02-07.html

SINTESI del DNA : replicazione semiconservativa

- I due filamenti parentali del DNA si separano e ognuno serve come stampo per la sintesi di un nuovo filamento "figlio" mediante accoppiamento di basi complementari. Ogni molecola di DNA neofornata contiene un filamento parentale e l'altro sintetizzato ex novo.
- La sintesi del DNA è catalizzata dall'enzima DNA polimerasi

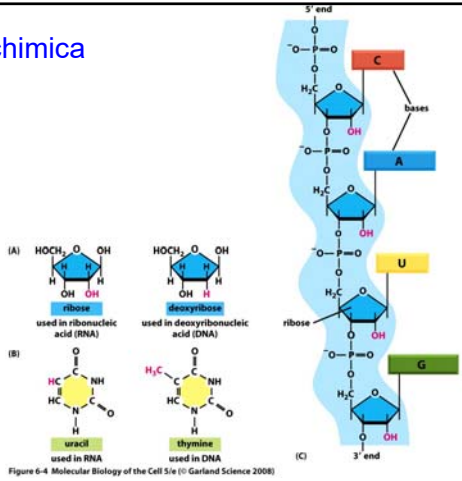
RNA

Dal punto di vista chimico **RNA** è simile al **DNA** ; tuttavia ci sono alcune differenze:

- L'RNA contiene il **ribosio** al posto del **deossiribosio** nel suo scheletro
- L'RNA usa la base **Uracile** al posto della **Timina**
- L'RNA tende ad essere a **singolo filamento** anche se alcune regioni possono ripiegarsi in zone a doppio filamento

Differenze funzionali : DNA ha una sola funzione, RNA ne ha molteplici (**strutturale, adattatore informazionale, trasferimento di informazione, catalitico**)

Struttura chimica del RNA



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26887/figure/A978/?report=objectonly>

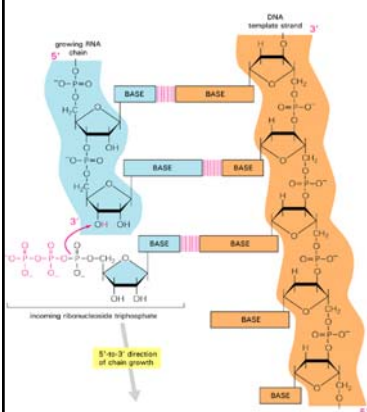
Figure 6-4 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

SINTESI del RNA

Trascrizione: Sintesi dell'RNA a partire dal DNA. **I due filamenti di DNA si svolgono ed uno (5'-3') è usato come stampo ("template") per la sintesi di un filamento complementare di RNA.**



Trascrizione: Sintesi del RNA



La reazione di sintesi del RNA è catalizzata dall'enzima **RNA polimerasi**. Ad ogni passo viene selezionato un **ribonucleotide trifosfato** dalla sua capacità di accoppiarsi con il filamento della doppia elica del DNA esposto che funge da "stampo" ("template"); viene quindi aggiunto un **ribonucleotide monofosfato** all'estremità 3'-OH della catena di RNA (freccia rossa), e viene rilasciato il pirofosfato (Pi-Pi; atomi rossi). Quindi, **la nuova catena di RNA cresce un nucleotide alla volta, in direzione 5'-3', ed è complementare alla sequenza del filamento stampo del DNA**. La reazione è resa energeticamente favorevole dai cambiamenti di energia libera che accompagnano il rilascio di pirofosfato e dall'ulteriore idrolisi del pirofosfato a fosfato inorganico.

TIPI PRINCIPALI DI RNA

Tipo di RNA	Funzione
mRNA	RNA messaggeri , codificano per proteine
rRNA	RNA ribosomiali , formano la struttura di base dei ribosomi e catalizzano la sintesi proteica
tRNA	RNA transfer , fondamentali per la sintesi proteica come adattatori fra mRNA e aminoacidi
snRNA	piccoli RNA nucleari , agiscono in una varietà di processi nucleari, compreso lo splicing del pre-mRNA
snoRNA	piccoli RNA nucleolari , usati per processare e modificare chimicamente gli rRNA
Altri RNA non codificanti	Agiscono in diversi processi cellulari, compreso sintesi dei telomeri, disattivazione del cromosoma X, trasporto di proteine nell'ER, regolazione genica (microRNA)* .

mRNA

Il **RNA messaggero** o **mRNA** è una **copia dell'informazione contenuta in un gene del DNA**.

Il ruolo del mRNA è quello di **trasportare l'informazione contenuta nel DNA fino all'apparato di traduzione**. (ribosomi)

Il mRNA è **eterogeneo** in dimensioni e sequenza.

mRNA

Il mRNA non viene sintetizzato direttamente nella cellula eucariotica.

Esso è trascritto nel nucleo sotto forma di RNA nucleare eterogeneo ("**heterogeneous nuclear**" RNA, **hnRNA**).

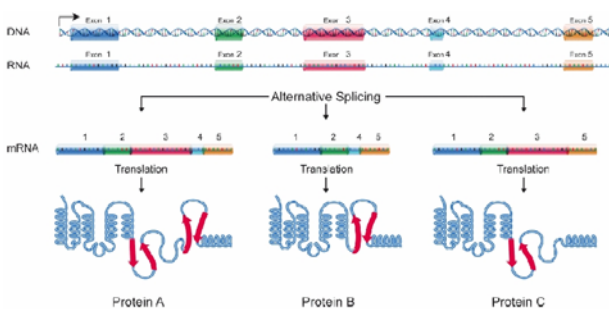
Il hnRNA contiene **introni** ed **esoni**.

Gli introni sono rimossi mediante "**splicing**" del RNA, lasciando gli esoni, che contengono l'informazione, riuniti fra di loro.

In alcuni casi, singoli nucleotidi possono venire aggiunti nel mezzo di una sequenza di mRNA mediante un processo detto di "editing" del RNA.

Rappresentazione schematica di "splicing" alternativo

(processo mediante il quale un dato gene viene "spliced" in più di uno tipo di molecole di mRNA)









<http://www.nature.com/scitable/topicpage/rna-splicing-introns-exons-and-spliceosome-12375#>

RNA ribosomiali

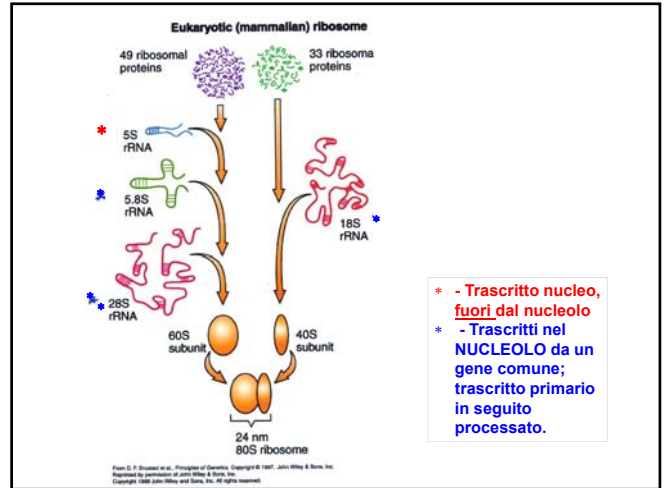
Ribosomal RNAs

■ Function as components of ribosomes

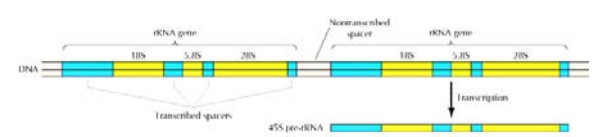


Ribosomes	Subunits	rRNAs	Proteins
Bacterial  70S mass: 2.5×10^6 D 66% RNA	50S  30S 	23S = 2904 bases 5S = 120 bases 16S = 1542 bases	31 21
Mammalian  80S mass: 4.2×10^6 D 60% RNA	60S  40S 	28S = 4718 bases 5.8S = 160 bases 5S = 120 bases 18S = 1874 bases	49 33

Lewis, Genes



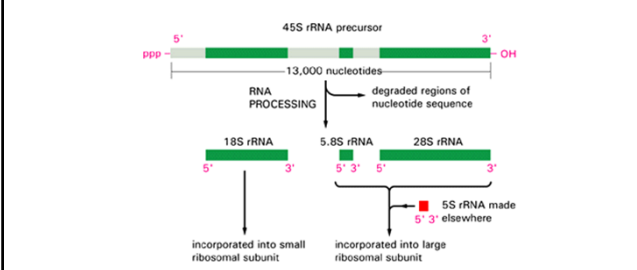
Geni dell' RNA ribosomale



- ⚡ I geni sono presenti in coppie multiple nel nucleolo (nucleolar organizer regions NOR). Sono multiple per costruire le tantissime particelle ribosomiali di cui la cellula ha bisogno
- ⚡ Ogni **gene dell' rRNA** è una **singola unità di trascrizione** contenente gli rRNAs 18S, 5.8S, e 28S e sequenze spaziatriche trascritte
- ⚡ I geni degli rRNA sono organizzati in serie in tandem, separate da DNA spaziatore non trascritto.

Cooper: The Cell III. Cell Structure and Function 8. The Nucleus The Nucleolus

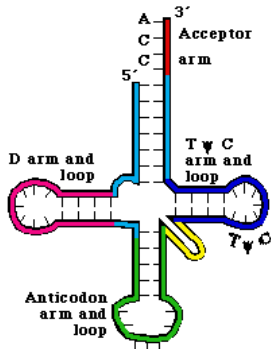
Processamento della molecola del precursore rRNA 45S in tre separati RNA ribosomiali



45S rRNA precursor (13,000 nucleotides), 5' PPP, 3' OH, RNA PROCESSING, degraded regions of nucleotide sequence, 18S rRNA, 5.8S rRNA, 28S rRNA, 5' 3', 5' 3', 5' 3', incorporated into small ribosomal subunit, incorporated into large ribosomal subunit, 5S rRNA made elsewhere.

Quasi la metà delle sequenze di nucleotidi dell'RNA trascritto primario sono degradate nel nucleolo.

Molecular Biology of the Cell 3rd ed. Alberts, Bruce; Johnson, Alexander; Lewis, Julian; Raff, Martin; Roberts, Keith; Walter, Peter. New York.



RNA TRANSFER (tRNA)

funzione di adattatore , traduce le sequenze di basi del mRNA e trasporta gli aa corrispondenti al ribosoma

RNA transfer (tRNA)

Il tRNA é la molecola portatrice di informazione con funzione di **adattatore**.

Rappresenta l'interfaccia diretta fra la sequenza di aminoacidi di una proteina e l'informazione sul DNA. Perciò essa **decodifica l'informazione sul DNA**.

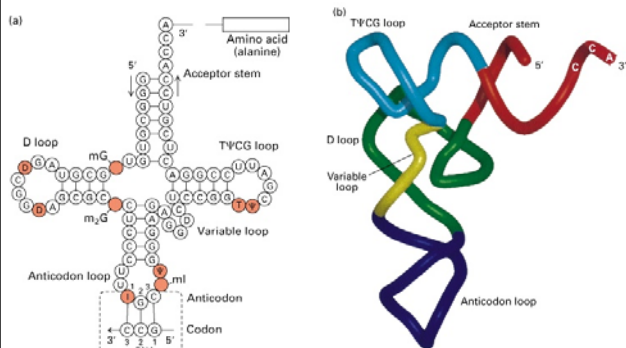
Ci sono più di **20 diverse molecole di tRNA**. Tutte hanno da 75 a 95 nucleotidi.

Tutti i tRNA di tutti gli organismi hanno una struttura simile: in verità, un tRNA umano può funzionare in un lievito.

Nelle molecole di tRNA ci sono 4 braccia (accettore, braccio D, braccio T pseudouridina C, braccio anticodone) e 3 "loops." (loop D, loop T e loop anticodone).

Talvolta le molecole di tRNA hanno un loop extra o variabile (uno é illustrato in giallo nella figura).

La struttura tridimensionale dell'RNA evidenzia la sua funzione decodificante



CODICE GENETICO

Codice mediante il quale la sequenza nucleotidica di una molecola di DNA, tramite un mRNA, specifica la sequenza amminoacidica di un polipeptide.

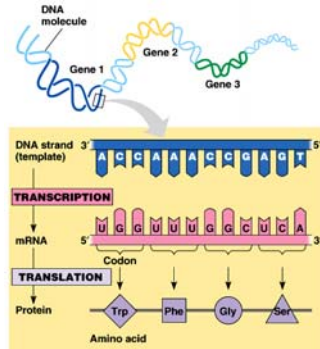
Consiste di **codoni a tre nucleotidi** che **specificano un particolare amminoacido** oppure dicono al ribosoma di **fermare la traduzione e rilasciare il polipeptide**.

Con poche eccezioni, tutti gli organismi viventi utilizzano lo stesso codice.

Codice Genetico

- Codice a triplette**

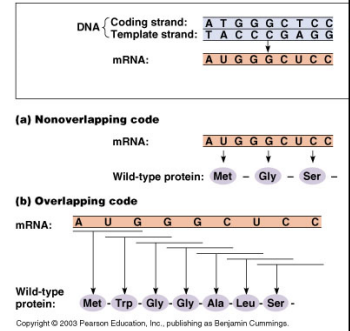
Tre nucleotidi specificano per un amino acido = codone



Codice Genetico

Codice non sovrapponibile

Ogni nucleotide è parte di una sola tripletta.



Codice "degenerato" o ridondante

Un singolo amminoacido può essere specificato da più di una tripletta di nucleotidi: aumenta l'adattabilità del sistema di codificazione.

61 codoni codificano per 20 amino acidi

AUG = Met = start

UAG

UAA } Stop

UGA }

First position	Second position				Third position
	U	C	A	G	
U	UUU } Phe	UCU } Ser	UAU } Tyr	UGU } Cys	U
	UUC } Phe	UCC } Ser	UAC } Tyr	UGC } Cys	C
	UUA } Leu	UCA } Leu	UAA Stop	UGA Stop	A
	UUG } Leu	UCG } Ser	UAG Stop	UGG } Trp	G
C	CUU } Leu	CCU } Pro	CAU } His	CGU } Arg	U
	CUC } Leu	CCC } Pro	CAC } His	CGC } Arg	C
	CUA } Leu	CCA } Pro	CAA } Gln	CGA } Arg	A
	CUG } Leu	CCG } Pro	CAG } Gln	CGG } Arg	G
A	AUU } Ile	ACU } Thr	AAU } Asn	AGU } Ser	U
	AUC } Ile	ACC } Thr	AAC } Asn	AGC } Ser	C
	AUA } Ile	ACA } Thr	AAA } Lys	AGA } Arg	A
	AUG Met/start	ACG } Thr	AAG } Lys	AGG } Arg	G
G	GUU } Val	GCU } Ala	GAU } Asp	GGU } Gly	U
	GUC } Val	GCC } Ala	GAC } Asp	GGC } Gly	C
	GUA } Val	GCA } Ala	GAA } Asp	GGA } Gly	A
	GUG } Val	GCG } Ala	GAG } Asp	GGG } Gly	G

Copyright © 2003 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Degenerazione

Ci sono **61 codoni** nel codice genetico e **20 amminoacidi**. Tuttavia, ci sono **meno di 61 tRNAs** e **molto più di 20 tRNAs**.

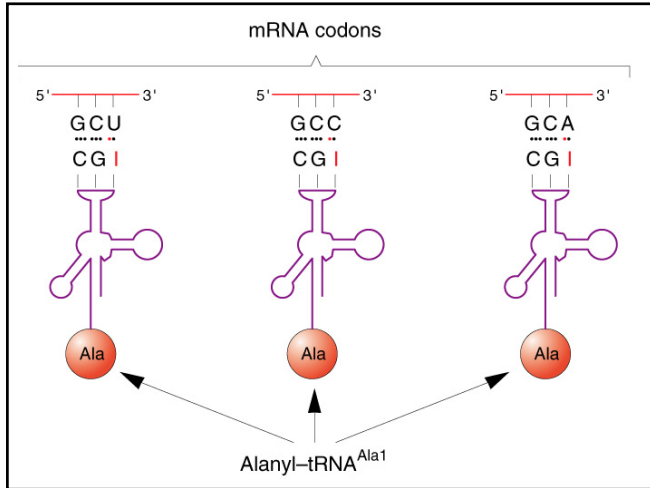
Ciò si spiega mediante **appaiamento tra basi non standard** – “wobble pairs” (coppie tentennanti) – fra i codoni nel mRNA e gli anticodoni nel tRNA.

Le prime due basi del codone di solito si appaiono esattamente, ma la terza base può partecipare ad appaiamento di tipo “wobbling”.

L'**inosina** è particolarmente utile a questo proposito, dato che **si può appaiare con A, C o U**, nella terza posizione del codone.

Perciò **l'inosina si trova spesso negli anticodoni del tRNA che si appaiono con codoni ridondanti nel mRNA**

Inoltre, era già stato riconosciuto precedentemente che G oltre ad appaiarsi con C poteva anche appaiarsi abbastanza bene con U.



«Macromolecole»
Lipidi
Biotecnologie

LIPIDI

Miscellanea di molecole biologiche che condividono la proprietà di **non essere solubili in acqua**.

Molecole idrofobiche.

Grassi

Oli (grasso liquido a temperatura ambiente)

Colesterolo

Molecole derivate dalle precedenti

Lipidi: Molecola insolubili in acqua

I grassi (animali) e gli oli (vegetali) immagazzinano energia.

I grassi e gli oli sono **trigliceridi**, composti da **tre** molecole di **acidi grassi** esterificate con una molecola di **glicerolo**:

Il Glicerolo è una molecola con tre atomi di carbonio e **tre gruppi idrossilici** (—OH), uno per ogni atomo di carbonio.

Gli **acidi grassi** sono lunghe catene idrocarburiche con un gruppo carbossilico (—COOH) ad una estremità.

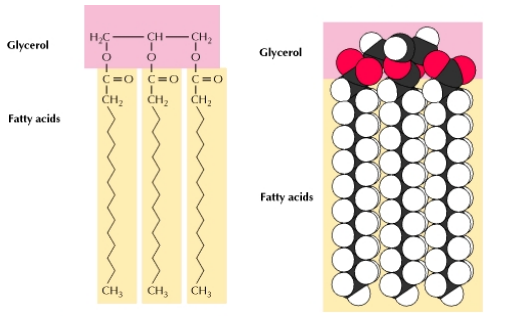
Glycerol

Carboxyl group

Hydrocarbon chain

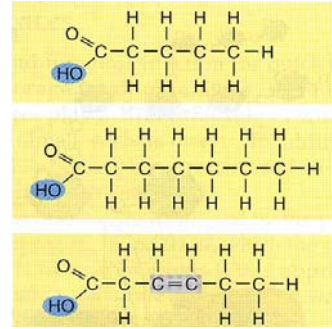
(a) (b)

Trigliceridi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9879/figure/A257/>

- Gli acidi grassi sono **lunghe catene idrocarburiche** che hanno all'estremità un gruppo carbossilico (acido) (-COOH)
- Gli acidi grassi possono essere **saturi** o **insaturi**.

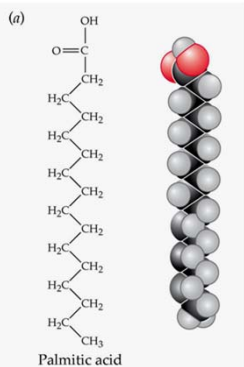


Lipidi: Acidi Grassi Saturi

Gli acidi grassi saturi hanno soltanto legami carbonio-carbonio singoli (sono saturi di **idrogeni**).

Sono **dritti** a temperatura ambiente.

La maggior parte dei grassi animali sono saturi.



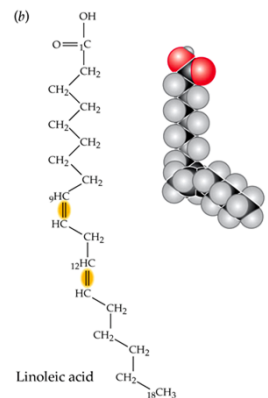
Lipidi: Molecole insolubili in acqua

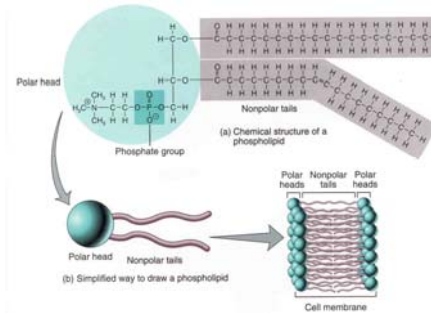
Gli acidi grassi insaturi hanno almeno un carbonio coinvolto in un **legame doppio** nella catena: la catena **non** è totalmente satura di atomi di idrogeno.

I doppi legami provocano "gomiti" che **impediscono un facile impacchettamento**, che richiede avvicinamento delle catene per potere stabilire legami di van der Waals.

Sono **liquidi** a temperatura ambiente.

Le **piante** e i pesci di solito hanno acidi grassi insaturi.





FOSFOLIPIDI

http://homepage.smc.edu/wissmann_paul/anatomy2textbook/phospholipid.jpg

Lipidi: Molecole insolubili in acqua

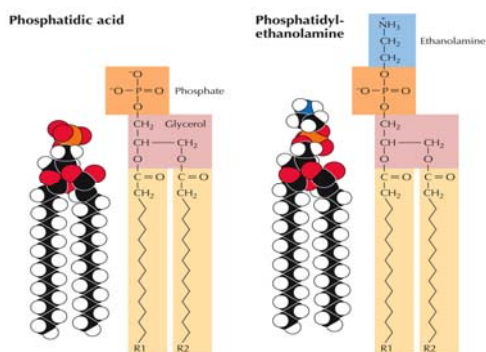
I **fosfolipidi** hanno **due code** di acidi grassi idrofobici e **un gruppo idrofilico** legati al glicerolo.

Come conseguenza, in ambiente acquoso i fosfolipidi si orientano in modo tale che i gruppi fosfato (e i gruppi polari ad esso legati) si affacciano sull'acqua e le code si rivolgono dal lato opposto.

In ambiente acquoso questi lipidi formano **doppi strati** ("bilayers") con le teste rivolte all'esterno e le code rivolte verso l'interno.

Le membrane cellulari sono così strutturate

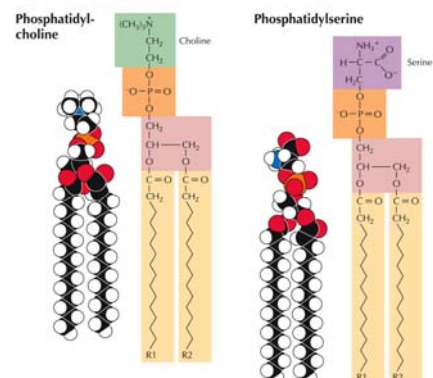
Struttura dei fosfolipidi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9879/figure/A258/>

Struttura dei fosfolipidi

ATTENZIONE ALLE TESTE POLARI: GRUPPI LEGATI AL FOSFATO



⚡ I Lipidi derivati dall'aminoalcol **singosina**

⚡ Un **acido grasso (R)** è legato al gruppo aminico dellaingosina(**ceramide**)

⚡ Il gruppo alcolico -OH terminale è esterificato da una fosforilcolina:

sfingomielina

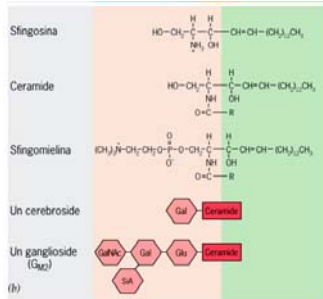
⚡ Il gruppo alcolico -OH terminale è esterificato da un carboidrato:

glicolipide

cerebrosidi

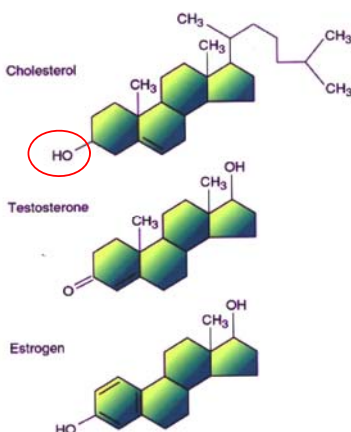
gangliosidi

Sfingolipidi



STERIDI

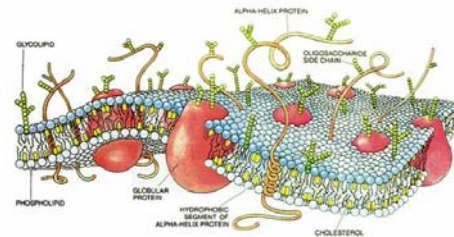
- Sono strutturalmente diversi dagli altri lipidi ma sono anch'essi relativamente apolari e quindi idrofobi
- Sono dei derivati di uno scheletro idrocarburico a quattro anelli condensati



Colesterolo

Ormoni steroidei

Membrana plasmatica



Struttura delle membrane

Membrane cellulari

Membrana plasmatica : racchiude il contenuto delle cellule e le separa dall'ambiente esterno

Membrane interne (solo negli eucarioti) : delimitano differenti spazi intracellulari formando compartimenti con attività specializzate ed indipendenti

Barriere con permeabilità selettiva

Trasporto di soluti

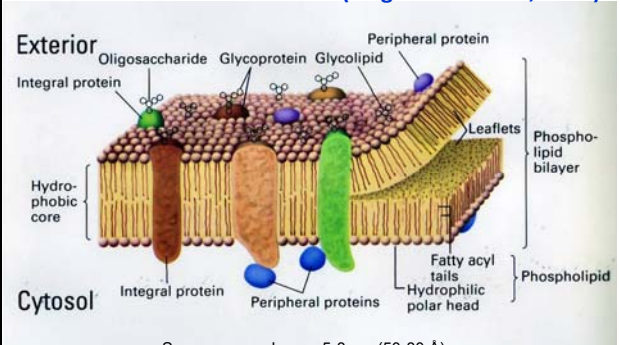
Risposta a segnali esterni (trasduzione del segnale)

Interazioni intercellulari

Supporto fisico per attività biochimiche

Trasferimento di energia

Modello del mosaico fluido (Singer e Nicolson, 1972)

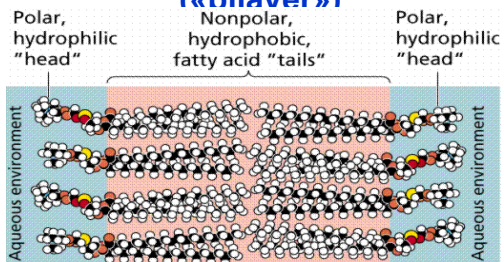


Spessore membrana: 5-8 nm (50-80 Å)

La membrana è costituita da un mosaico di proteine incluse o almeno associate in un doppio strato lipidico fluido.

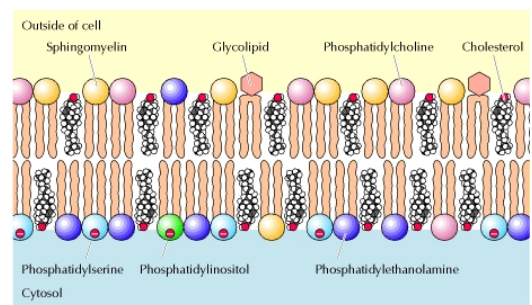
I lipidi presenti nelle membrane sono : fosfolipidi, sfingolipidi, glicolipidi, colesterolo

Doppio strato lipidico («bilayer»)



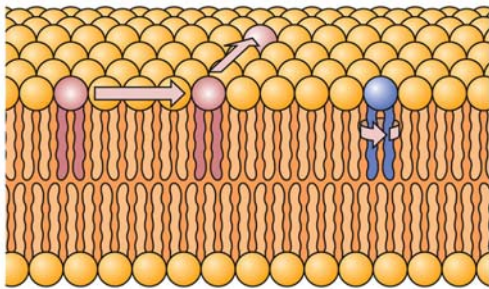
Impedisce che i due ambienti acquosi, CON COMPOSIZIONE CHIMICA DIFFERENTE, si mescolino

Asimmetria della membrana : i vari lipidi sono distribuiti in modo ineguale tra i due monostrati: i glicolipidi si trovano sempre nel monostrato rivolto verso l'ambiente extracellulare; anche la distribuzione dei vari fosfolipidi è diversa tra i due foglietti

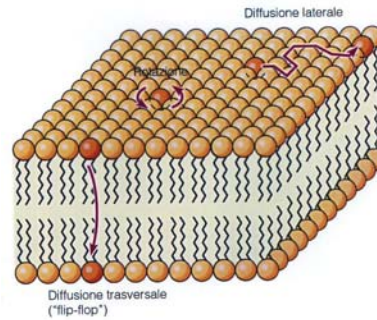


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9898/figure/A1970/?report=objectonly>

L'asimmetria della membrana è determinata durante la sua biogenesi, poi tende a essere mantenuta poiché i fosfolipidi si possono muovere liberamente intorno al proprio asse e lateralmente nel monostrato



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9928/figure/A327/>



- Il movimento da un foglietto all'altro («flip-flop») è **difficoltoso dal carattere anfipatico dei lipidi** e quindi ha bassa probabilità di avvenire.
- Può essere facilitato da appositi enzimi («flippasi», «scramblasi»)

Importanza dell'asimmetria

L'asimmetria dei lipidi è funzionalmente importante.

Molte proteine del citosol si legano a specifici gruppi di testa di lipidi presenti sul monostrato citosolico del bilayer lipidico:

Ad es., l'enzima proteina chinasi C (PKC) viene attivata in risposta a diversi segnali extracellulari. **La PKC si lega alla faccia citosolica della membrana plasmatica, dove è concentrata la fosfatidilserina, e richiede questo fosfolipide carico negativamente per la sua attività.**

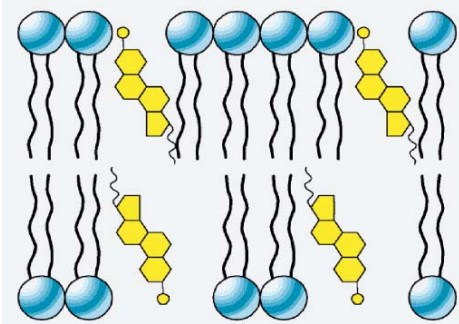
Importanza dell'assimmetria

Gli animali sfruttano l'asimmetria dei fosfolipidi delle membrane plasmatiche per **distinguere fra cellule vive e cellule morte**. Quando una cellula animale subisce la morte cellulare programmata, o **apoptosi**, **la fosfatidilserina, che normalmente è confinata nel monostrato citosolico della membrana plasmatica, viene rapidamente traslocata al monostrato extracellulare. La fosfatidilserina esposta sulla superficie cellulare serve di segnale per indurre le cellule vicine, come ad esempio i macrofagi, a fagocitare la cellula morta e a digerirla.** La traslocazione della fosfatidilserina nelle cellule apoptotiche ha luogo mediante due meccanismi:

Il traslocatore di fosfolipidi che normalmente trasporta i lipidi dal monostrato non citosolico al monostrato citosolico viene **inattivato**.

Una "scramblase" che trasferisce i fosfolipidi non specificamente in entrambe le direzioni fra i due monostrati viene **attivata**.

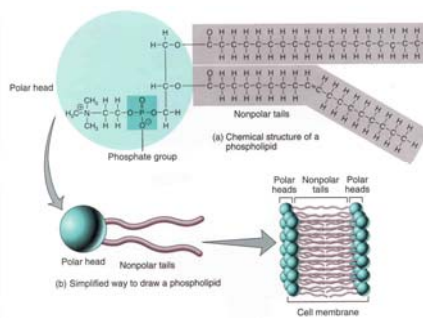
Oltre ai fosfolipidi le membrane contengono **colesterolo**



Fluidità delle membrane

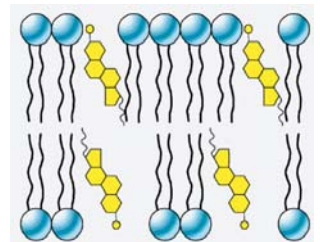
- I vari tipi di lipidi sono responsabili della fluidità
- La fluidità cambia con la temperatura : diminuisce quando si abbassa e aumenta quando si innalza
- Le cellule riescono a regolare la fluidità della membrane variando la composizione lipidica (lunghezza e grado di insaturazione degli acidi grassi; concentrazione di colesterolo)

La fluidità è regolata dalla lunghezza degli acidi grassi e dal loro grado di insaturazione



http://homepage.smc.edu/wissmann_paul/anatomy2textbook/phospholipid.jpg

- La fluidità delle membrane è regolata anche dal **colesterolo**: esso agisce come un tampone infatti ha l'effetto di **diminuire** la fluidità a temperature elevate ed al contrario di **aumentare** la fluidità a temperature molto basse



Membrane

PROTEINE DI MEMBRANA

Modello del mosaico fluido

Le **proteine di membrana** sono la parte a mosaico del modello

Le **proteine integrali di membrana** sono inserite nella membrana, di solito tramite regioni ad α -elica con 20-25 aminoacidi idrofobici :

proteine monopasso : attraversano la membrana una sola volta

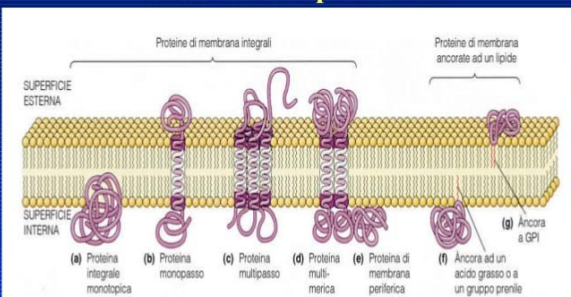
proteine multipasso: attraversano la membrana diverse volte

Le **proteine periferiche** non penetrano all'interno del doppio strato, si associano con le teste polari dei lipidi e le porzioni idrofile delle proteine integrali mediante **interazioni non covalenti** .

Le **proteine ancorate ai lipidi** si collocano su una delle superfici del doppio strato e si legano con **interazioni covalenti** a molecole lipidiche inserite nel doppio strato (acidi grassi miristico e palmitico, gruppo prenile e GPI)

Proteine di membrana

- Intrinseche o integrali
- Estrinseche o periferiche



FUNZIONI DELLE PROTEINE DI MEMBRANA

ENZIMI

TRASPORTO DI ELETTRONI

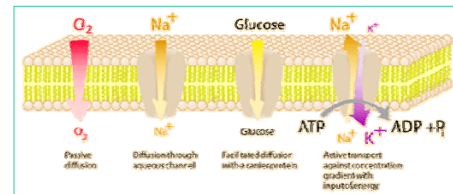
TRASPORTO

- o Trasportatori facilitati
- o Canali ionici
- o ATPasi di trasporto

RECETTORI per:

- o Ormoni (tranne queglii steroidei)
- o Neurotrasmettitori
- o Fattori di crescita e differenziamento

- **Comunicazione cellula-cellula** : giunzioni gap
- **Adesione cellula-cellula e cellula matrice extracellulare** : desmosomi, contatti focali, emidesmosomi, giunzioni strette
- **Sostegno e modellamento della membrana plasmatica**
- **Trasduzione del segnale**



Membrane

Trasporto di sostanze organiche ed ioni

<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/biology/imgbio/lipbitran.gif>

Trasporto di soluti attraverso le membrane

- ✦ Il **trasporto** è un aspetto principale delle funzioni cellulari : esprime la capacità di ioni e piccole molecole organiche di spostarsi attraverso le membrane in maniera selettiva.
- ✦ Le **forze motrici** che determinano il trasporto sono il **gradiente di concentrazione** e il **gradiente elettrochimico (ioni)**

Energetica del trasporto

Gradiente di concentrazione - influisce sia sulle molecole cariche che non cariche.

Il movimento da una zona ad elevata concentrazione ad una a bassa concentrazione ha una variazione di energia libera negativa.

Gradiente elettrochimico (ioni)

Combinazione del gradiente di concentrazione e del gradiente di carica ai due lati della membrana

Trasporto di membrana

Due tipi di trasporto :

Passivo : secondo gradiente di concentrazione (soluto diffonde spontaneamente da una zona dove è più concentrato ad una zona dove è meno concentrato fino all'equilibrio), non richiede apporto di energia.

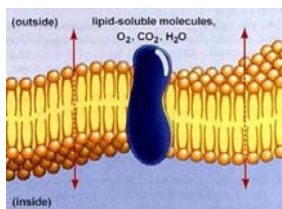
Attivo: contro gradiente di concentrazione, richiede apporto di energia

Trasporto passivo : diffusione semplice e diffusione facilitata

Trasporto attivo : **diretto** con accoppiamento all'idrolisi esoergonica dell'ATP; **indiretto** accoppiato ad un trasporto esoergonico, di un altro soluto secondo gradiente .

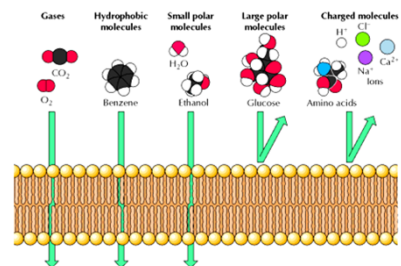
Tipi di trasporto

Diffusione semplice: passaggio attraverso il doppio strato lipidico, **non** mediato da proteine ad es. O_2 , N_2 , CO_2 , H_2O , molecole apolari



<http://home.comcast.net/~mjmahew42/Biology%20notes/transport%20notes.htm>

Permeabilità dei doppi strati fosfolipidici



⚡ I **gas**, le **molecole idrofobiche** e le **molecole polari di dimensioni molto piccole ma non cariche** possono diffondere attraverso i doppi strati fosfolipidici.

⚡ Le **molecole polari di maggiori dimensioni**, le **molecole cariche** e gli **ioni non** possono.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6156/figure/A76034/>

DIFFUSIONE FACILITATA

Trasporto passivo: I soluti a cui la membrana è impermeabile vengono trasportati mediante una **proteina canale** oppure da una **proteina trasportatrice ("carrier")**

Se la molecola non è carica (es. glucosio), il movimento avviene tramite **proteine carrier**

Se la molecola è carica (ioni), il trasporto avviene tramite **proteine canale**

Proteine di trasporto della membrana

Esistono due classi di proteine di trasporto sulle membrane:

Trasportatori ("carriers")

si legano a molecole specifiche

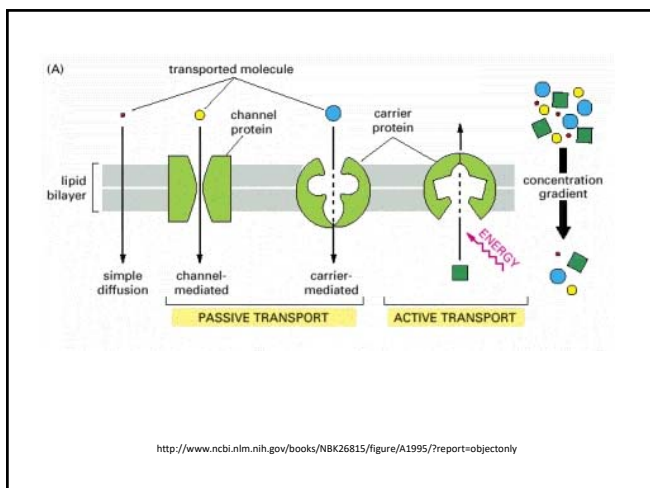
subiscono alterazioni conformazionali per trasportare la molecola

Canali ionici

Formano aperture piene di acqua attraverso la membrana

possono esibire specificità

non è necessaria alcuna modificazione strutturale per muovere la molecola attraverso il doppio strato (tuttavia, possono essere necessarie modificazioni strutturali per aprire il canale (ad es. canali del K^+ a controllo di voltaggio)



Acqua, osmosi, cellule -

La **membrana plasmatica** è **permeabile all'acqua**: quando la concentrazione totale di **sostanze sciolte in acqua (soluti)** da un lato è alta e dall'altro è bassa, indipendentemente dalla loro natura, l'acqua tende a passare per pareggiarla.

Il **movimento dell'acqua da una zona in cui un soluto è poco concentrato** (ossia, la concentrazione di **acqua** è elevata) **verso una zona in cui è molto concentrato** (concentrazione bassa di acqua) viene chiamato **osmosi**.

In assenza di una pressione contrastante, l'acqua entra nella cellula per **osmosi** e la fa **rigonfiare**.

Questo effetto è un grave problema per le cellule animali, prive di parete esterna rigida con funzione di contenimento, ed esse generalmente si gonfiano fino a scoppiare se immerse in acqua pura.

Adattato da: *L'Essenziale di Biologia Molecolare della cellula*, Alberts et al., Zanichelli

Acqua, osmosi, cellule -

Nei tessuti animali le cellule sono immerse in un **fluido extracellulare ricco di soluti**, specialmente Sodio e Cloro (Na^+ e Cl^-), che bilancia la concentrazione intracellulare dei soluti organici e inorganici, evitando la catastrofe osmotica.

Tuttavia, questo equilibrio rischia sempre di essere alterato, a causa di tutti i soluti che continuamente penetrano nella cellula seguendo ciascuno il proprio gradiente elettrochimico.

La cellula deve compiere un lavoro costante per estromettere i soluti indesiderati e mantenere così l'equilibrio osmotico.

Questa funzione viene assolta principalmente dalla **pompa Na^+, K^+ -ATPasi**, che pompa fuori il Sodio filtrato verso l'interno e, nello stesso tempo, contribuisce a mantenere un potenziale di membrana che impedisce l'ingresso del Cl^- , che ha carica negativa.

Adattato da: L'Essenziale di Biologia Molecolare della cellula, Alberts et al., Zanichelli

Acqua, osmosi, cellule -

Nei tessuti animali le cellule sono immerse in un **fluido extracellulare ricco di soluti**, specialmente Sodio e Cloro (Na^+ e Cl^-), che bilancia la concentrazione intracellulare dei soluti organici e inorganici, evitando la catastrofe osmotica.

Tuttavia, questo equilibrio rischia sempre di essere alterato, a causa di tutti i soluti che continuamente penetrano nella cellula seguendo ciascuno il proprio gradiente elettrochimico.

La cellula deve compiere un lavoro costante per estromettere i soluti indesiderati e mantenere così l'equilibrio osmotico.

Questa funzione viene assolta principalmente dalla **pompa Na^+, K^+ -ATPasi**, che pompa fuori il Sodio filtrato verso l'interno e, nello stesso tempo, contribuisce a mantenere un potenziale di membrana che impedisce l'ingresso del Cl^- , che ha carica negativa.

Adattato da: L'Essenziale di Biologia Molecolare della cellula, Alberts et al., Zanichelli

Trasporto attivo

Nel trasporto attivo, i soluti ai quali le membrane sono impermeabili vengono trasportati **contro il gradiente di concentrazione o elettrochimico**

Coinvolge sempre **proteine trasportatrici** dette **pompe proteiche**, inserite nella membrana plasmatica.

Richiede energia

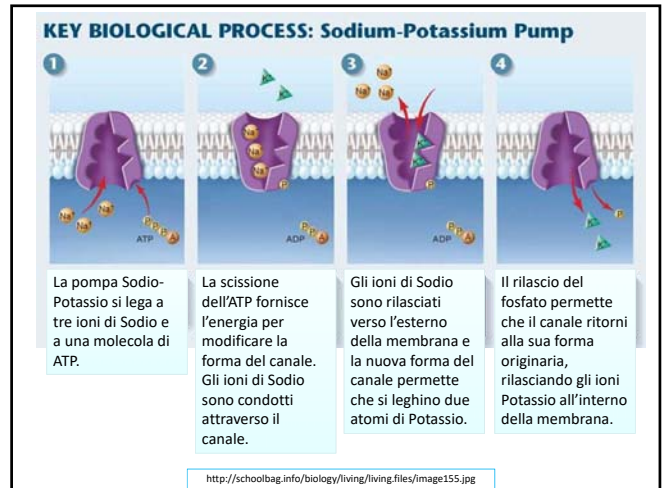
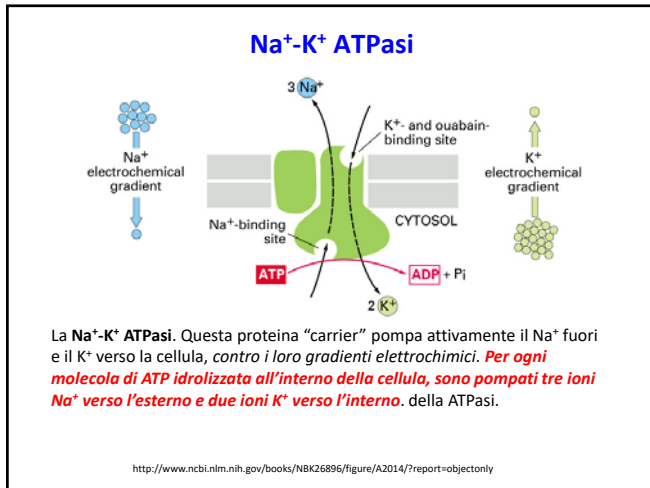
Trasporto Attivo Diretto

Accoppiamento con una reazione chimica esergonica come l'idrolisi dell'ATP che fornisce energia

L'idrolisi dell'ATP permette il cambio conformazionale della pompa necessario per trasportare la sostanza

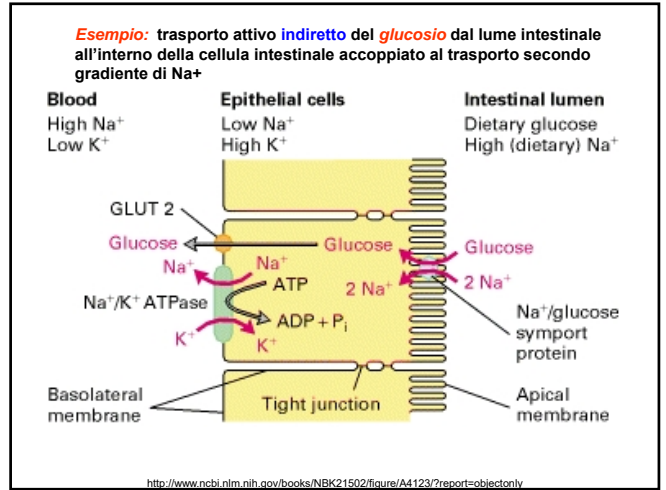
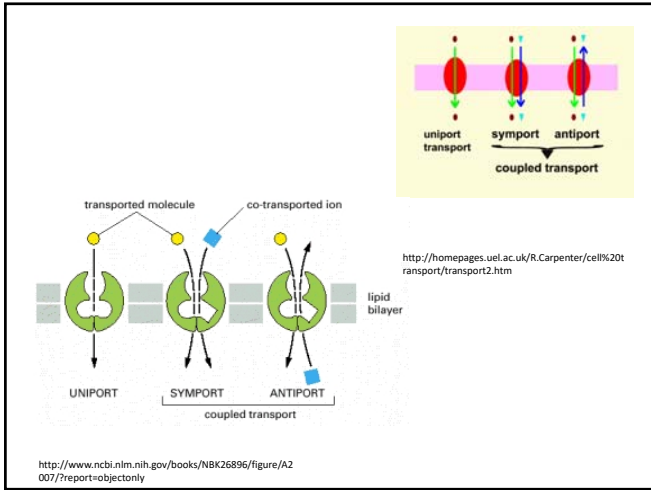
Le proteine di trasporto attivate direttamente dall'idrolisi di ATP sono dette pompe ATPasi

<http://home.comcast.net/~mjmayhew42/Biology%20notes/transport%20notes.htm>



- ### RUOLI IMPORTANTI DELLA Na⁺-K⁺ ATPasi
- Mantenere i gradienti di Na⁺ e di K⁺ necessari per la propagazione dei segnali elettrici nel nervo e nel muscolo
 - Mantenere *l'equilibrio osmotico* e il *volume cellulare*.

- ### Trasporto attivo indiretto
- Trasporto simultaneo di due soluti (**co-trasporto**)
 - Il trasporto **attivo** di un soluto è accoppiato al trasporto **passivo (esoergonico)** di un altro soluto di cui utilizza l'energia liberata.
 - Se entrambi i soluti sono trasportati nello stesso senso è detto **simporto** se sono trasportati in senso opposto è detto **antiporto**



Trasporto del glucosio attraverso l'intestino tenue verso il sangue

Il co-trasportatore Na, Glucosio utilizza l'energia rilasciata dal trasporto a favore di gradiente del Na per trascinare, contro gradiente, il glucosio, dal lume dell'intestino verso la cellula intestinale.

Un **trasportatore del glucosio** permette al glucosio di uscire dalla cellula intestinale, a favore di gradiente.

Il glucosio diffonde nel tessuto connettivo verso i capillari che lo portano alla circolazione sanguigna.

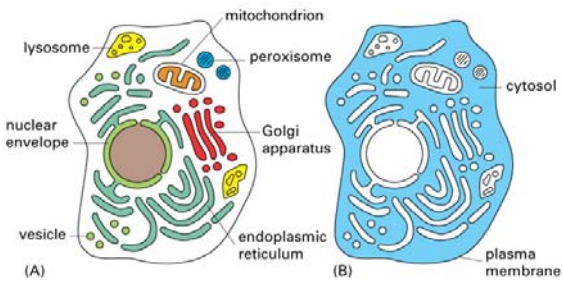
Kreuzer H., Massey A: *Biotechnology and Biology Science, Applications and Uses*. ASM Press, 2005

Ribosomes are the cell's protein factories.

Citosol Ribosomi Sintesi delle proteine nei ribosomi

http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/biology/ribosome.html

CITOSOL



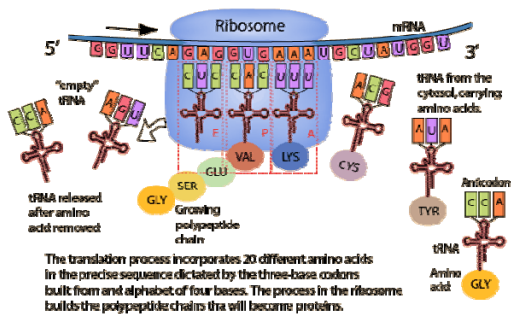
http://www.access Excellence.org/RC/VL/GG/ecb/ecb_images/01_24_organelles.jpg

CITOSOL

Tutta la porzione non strutturata che costituisce la **parte liquida del citoplasma**. In essa si trovano in soluzione tutte le molecole polari necessarie per il metabolismo cellulare.

E' una **soluzione acquosa concentrata** che occupa gli spazi tra gli organuli e il citoscheletro. Di fatto è un **gel** di base acquosa che contiene grandi quantità di molecole sia di grandi che di piccole dimensioni; nella maggior parte delle cellule è di solito il compartimento più voluminoso, in misura variabile da cellula a cellula.

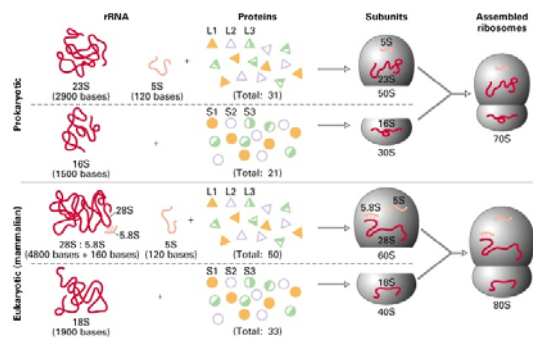
Nei **procarioti** è l'unico compartimento intracellulare.



RIBOSOMI E SINTESI PROTEICA

<http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbase/organic/translation.html>

La struttura dei ribosomi nei procarioti e negli eucarioti



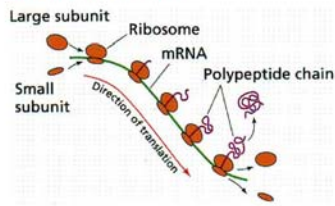
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21603/figure/A888/>

TIPO E LOCALIZZAZIONE DEI RIBOSOMI

I ribosomi si trovano nelle cellule i due modi: **liberi** o **legati**.

Ribosomi liberi

- ◆ Si trovano nel **citiosol**
- ◆ Possono trovarsi o come ribosomi singoli o in gruppi noti come **poliribosomi** o **polisomi**



Ribosomi liberi

- ◆ Si trovano in numero maggiore rispetto ai ribosomi legati in quelle cellule che trattengono la maggior parte delle proteine che fabbricano.
- ◆ Sono responsabili delle **proteine che non funzioneranno nel sistema delle endomembrane o saranno secrete**, ma invece di quelle che vanno in **soluzione**, o formano **strutture citoplasmatiche** di grandi dimensioni o elementi mobili (ad es. il citoscheletro), oppure vanno nel **nucleo** o nei **mitocondri**, **cloroplasti** o **perossisomi**.

Ribosomi legati

Si trovano adesi alla membrana del **reticolo endoplasmatico (RE)** costituendo il **reticolo endoplasmatico ruvido/rugoso (RER)**.

Sono coinvolti nella sintesi di proteine di secrezione o che lavorano entro il sistema delle endomembrane.

Sono presenti in numero maggiore a quello dei ribosomi liberi nelle cellule che secernono le proteine sintetizzate (ad es. nelle cellule pancreatiche che producono enzimi digestivi).

Altre localizzazioni dei ribosomi

Si trovano inoltre nei mitocondri e nei cloroplasti delle cellule eucariotiche.

Questi ribosomi hanno sempre minori dimensioni rispetto ai ribosomi citoplasmatici e sono paragonabili ai ribosomi dei procarioti sia in dimensioni che in sensibilità agli antibiotici.

I ribosomi sono le «macchine» per sintetizzare le proteine

Se i principali componenti necessari per la traduzione del mRNA dovessero interagire in soluzione nel citosol, la **probabilità delle collisioni simultanee** necessarie sarebbe così **bassa** che la velocità di polimerizzazione degli amminoacidi sarebbe bassissima.

L'**efficienza di traduzione** viene **enormemente aumentata** dal legame del mRNA con ogni singolo amminoacil-tRNA all'interno di un **ribosoma**.

Il ribosoma pilota l'elongazione di un polipeptide ad una velocità di 3-5 AA aggiunti al secondo.

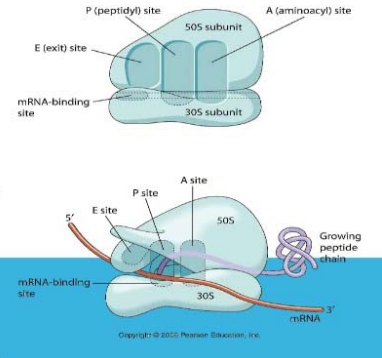
Piccole proteine di 100-200 AA: sintetizzate in 1 min o meno.

La proteina nota di maggiori dimensioni, la **titina**, che si trova nel muscolo e ha circa 30000 AA richiede 2-3 h.

Sites of Ribosome

The ribosome has three sites for binding tRNA

- The Peptidyl or Donor site (the P site)
- The Aminoacyl or Acceptor Site (the A site)
- The Exit Site (the E site)



<http://image.slidesharecdn.com/ribosome-150806100101-1v1-app6891/95/ribosome-19-638.jpg?ct=1438855331>

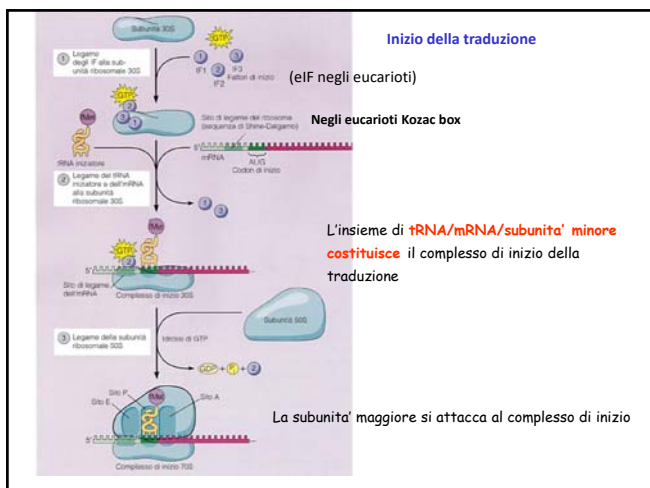
Inizio della traduzione

(eIF negli eucarioti)

Negli eucarioti Kozac box

L'insieme di tRNA/mRNA/subunita' minore costituisce il complesso di inizio della traduzione

La subunita' maggiore si attacca al complesso di inizio

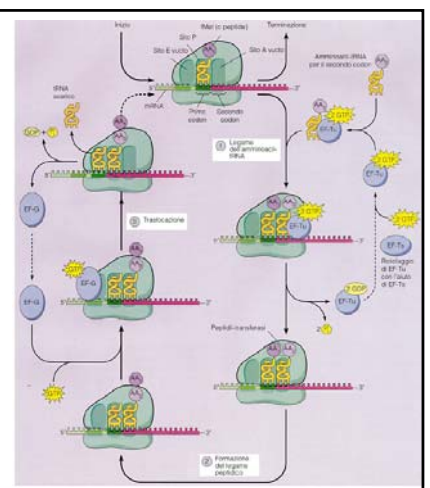


Allungamento

-Il legame di un amminoacil-tRNA al sito A nel ribosoma (mediato dai fattori di allungamento EF-Tu e EF-Ts)

-La formazione del **legame peptidico** tra l'AA presente nel sito A e nel sito P

-La **traslocazione** del tRNA scarico dal sito P al sito di rilascio E e del tRNA dal sito A al sito P

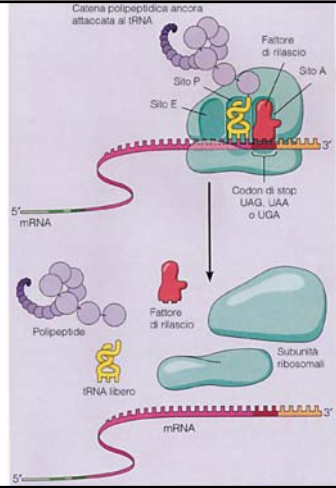


Termine della sintesi

Il **codone di stop** nel sito A viene **ricosciuto da fattori di rilascio** che terminano la traduzione inducendo il rilascio dal peptidil-tRNA

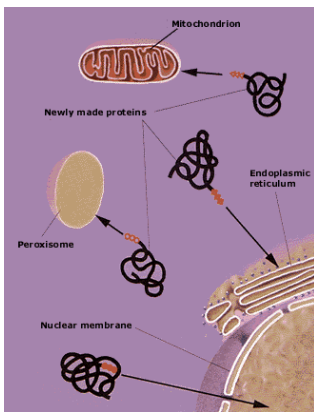
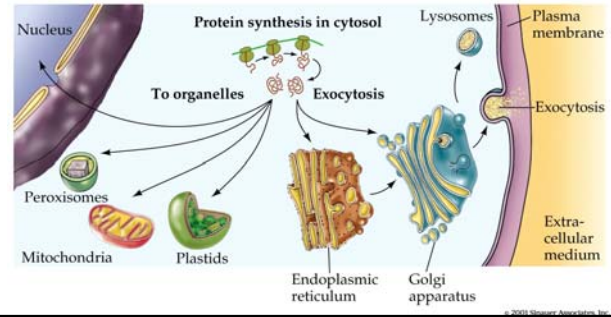
Il taglio è idrolitico e produce la formazione di un gruppo carbossilico (COO⁻) all'estremità C-terminale della catena polipeptidica

La catena polipeptidica assume una **struttura tridimensionale** determinata dalla sequenza degli AA

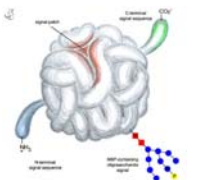


Eventi post-traduzionali

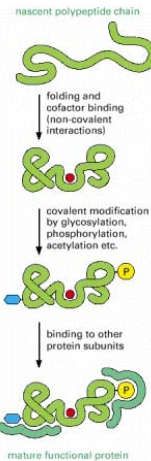
Specifici segnali, contenuti nella sequenza amminoacidica delle proteine, le dirigono alle loro destinazioni cellulari finali



- In 1980 Blobel propose che le **proteine di nuova sintesi** siano **indirizzate** ("targeted") verso e importate nei vari organelli all'interno della cellula mediante **sequenze segnale incorporate**.
- I segnali sono corte sequenze di aminoacidi** codificate dal gene che specifica la proteina. Esse possono essere localizzate in qualsiasi delle estremità (N-terminale o C-terminale) della proteina o da qualche parte al suo interno.



http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1989/blobel/Signal.html



Passi della creazione di una proteina funzionale.

Come indicato, **la traduzione di una sequenza di mRNA in una sequenza di aminoacidi sul ribosoma non è la fine del processo di formazione di una proteina**. Per essere utilizzata dalla cellula, la catena polipeptidica completa deve essere **ripiegata correttamente** nella sua conformazione tridimensionale, **legare eventuali cofattori necessari**, ed **assemblarsi con le sue catene proteiche partner** (se è una proteina con struttura quaternaria). Queste modificazioni sono rese possibili dalla formazione di **legami non covalenti**.

Modificazioni covalenti di aminoacidi: legame di un gruppo chimico ai gruppi carbossilici o amminici 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**

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26829/figure/A1099/?report=objectonly>

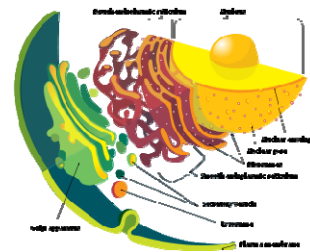
“MATURAZIONE” DELLE PROTEINE E ALTRE

MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI (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-inositil-fosfato [GPI] a proteine associate al versante extracellulare della membrana plasmatica).



Sistema di Endomembrane

Biotechnologie

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

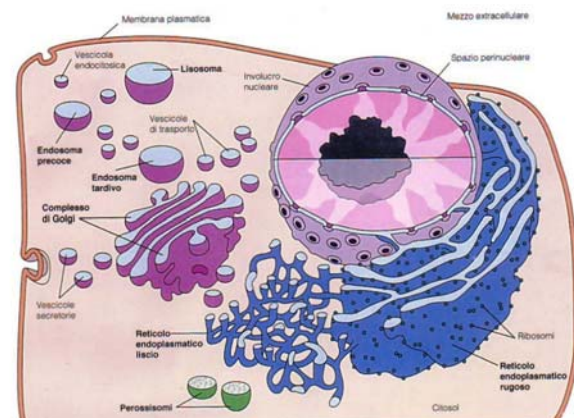
SISTEMA DELLE ENDOMEMBRANE

Il **sistema delle endomembrane** è un insieme di strutture membranose coinvolto nel trasporto di sostanze all'interno della cellula.

I principali componenti del sistema delle endomembrane sono il **reticolo endoplasmatico**, l'**apparato di Golgi**, **vescicole**, **endosomi** e **lisosomi**. Esso è associato alla **membrana plasmatica** e l'**inviluppo nucleare**.

I componenti del sistema di endomembrane **si scambiano materiali sia mediante contatto diretto che mediante l'uso di vescicole**.

Tutte i componenti del sistema di endomembrane sono costituiti da singole membrane.



Adattato da
<http://academic.brooklyn.cuny.edu/biology/bio4fv/page/rougher.htm>
<http://cellbio.utmb.edu/cellbio/rer1.htm>

RETICOLO ENDOPLASMATICO RUVIDO E LISCIO

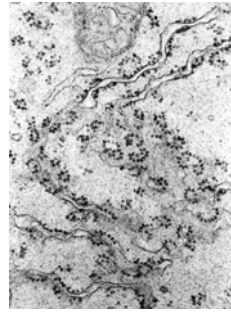
- Il termine “endo” si riferisce al fatto che si trova “all’interno del citoplasma” e “reticolo” significa che costituisce una rete.
- Quindi, il reticolo endoplasmatico è una serie di cisterne delimitate da membrana, interconnesse nel citoplasma.

RER (Rough Endoplasmic Reticulum)

L'aspetto ruvido del RER è dato dalla presenza di ribosomi adesi alla membrana sul versante citosolico

Il RER è coinvolto nella biosintesi, maturazione e controllo qualità delle proteine.

Sui ribosomi del RER vengono sintetizzate le proteine di secrezione, le proteine di membrana e solubili del sistema di endomembrane, gli enzimi dei lisosomi

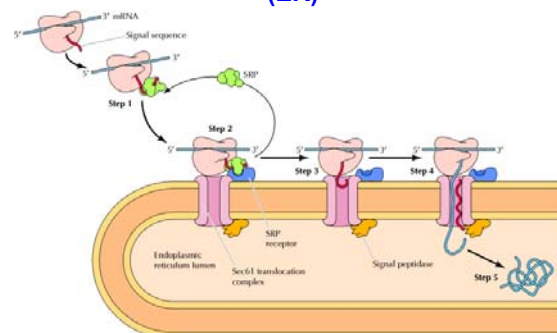


<http://bscb.org/learning-resources/softcell-e-learning/endoplasmic-reticulum-rough-and-smooth/>

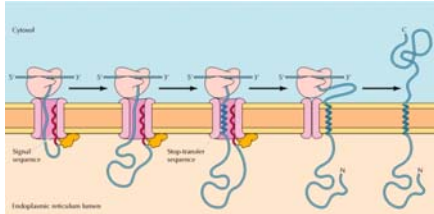
Indirizzamento co-traduzionale delle proteine di secrezione verso il reticolo endoplasmatico (ER).

- Passo 1:** La sintesi di un polipeptide inizia su un ribosoma libero, quando la sequenza segnale emerge dal ribosoma, essa viene riconosciuta e legata alla particella di riconoscimento del segnale (SRP) che blocca la traduzione.
- Passo 2:** La SRP scorta il complesso fino alla membrana del ER, dove esso si lega al recettore 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.

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



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



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

Le sequenze segnale vengono scisse 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 transfer" 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>

"MATURAZIONE" DELLE PROTEINE E ALTRE MODIFICAZIONI POST-TRADUZIONALI - (tutte le proteine, anche quelle rilasciate nel citosol)

Ripiegamento tridimensionale corretto (aiuto di chaperoni molecolari): struttura terziaria.

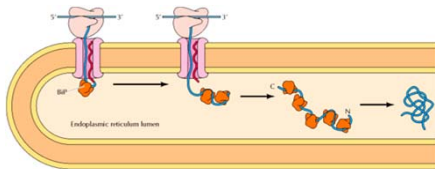
Assemblaggio delle subunità peptidiche di proteine con struttura quaternaria

Rimozione di amminoacidi:

sequenze segnale di indirizzamento al reticolo endoplasmatico (RE)

metionina iniziale (RE)

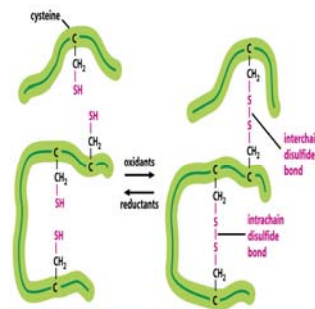
**Maturazione delle proteine
Ripiegamento delle catene**



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>

**Maturazione delle proteine
Formazione ponti S-S**



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 **citosol**, che è caratterizzato da un **ambiente riducente** che mantiene i residui di cisteina nel loro stato ridotto (-SH).

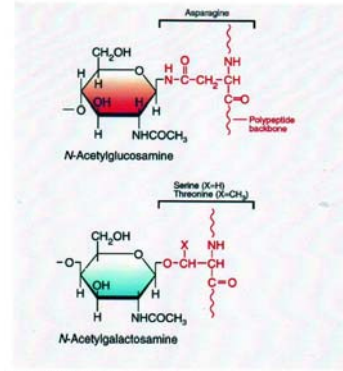
Tuttavia, all'interno del ER, un **ambiente ossidante promuove la formazione dei legami disulfuro (S-S)**, e i legami disulfuro che si formano nel ER giocano ruoli molto importanti nella struttura di proteine di secrezione o della superficie cellulare.

La formazione dei ponti disulfuro è facilitata dall'enzima "**proteina disulfuro isomerasi**", che si trova nel lume dell'ER.

Figure 18 Molecular Biology of the Cell 11 © Garland Science 2008

Maturazione delle proteine Glicosilazione

- Nel lume del RER inizia il processo di **N-glicosilazione**
- **Glicosilazione** comporta l'aggiunta di catene laterali di zuccheri a specifici residui amminoacidici delle proteine a formare **glicoproteine**.
- Due tipi di glicosilazione : **N-glicosilazione** implica l'aggiunta di un oligosaccaride all'atomo di azoto del gruppo amminico di residui di asparagina
- O-glicosilazione** implica l'aggiunta di un oligosaccaride all'atomo di ossigeno dei gruppi -OH dei residui di serina o treonina (svolta nel Golgi)



Zuccheri «N-linked»

Zuccheri «O-linked»

Copyright 1989 John Wiley and Sons, Inc. All rights reserved.
Figure 4.10 Two types of linkages that join sugars to a polypeptide chain. The N-glycosidic linkage between asparagine and N-acetylglucosamine is more common than the O-glycosidic linkage between serine or threonine and N-acetylgalactosamine.

N-linked Glicoproteine

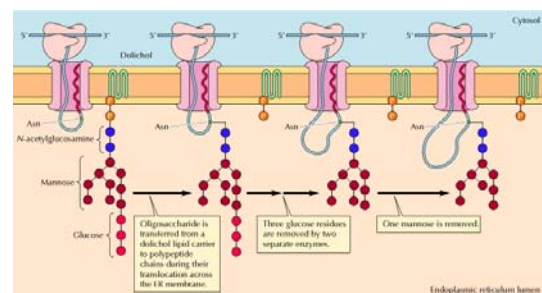
- ✚ L'assemblaggio della porzione oligosaccaridica non avviene sulla catena polipeptidica (come per le O-linked GP) ma su un **intermedio lipidico (dolicofo fosfato)**
- ✚ Un precursore oligosaccaridico viene poi trasferito ad una catena polipeptidica, che a sua volta non è ancora completamente sintetizzata:

➡ Glicosilazione CONTRADUZIONALE.

L'oligosaccaride trasferito viene sottoposto a vari passaggi di modificazione durante il passaggio dal reticolo endoplasmatico all'apparato di Golgi.

- Meccanismo di **glicosilazione contraduzionale** promuove il corretto ripiegamento e la stabilità delle proteine

Glicosilazione delle proteine nell'ER



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9889/figure/A1485/?report=objectonly>

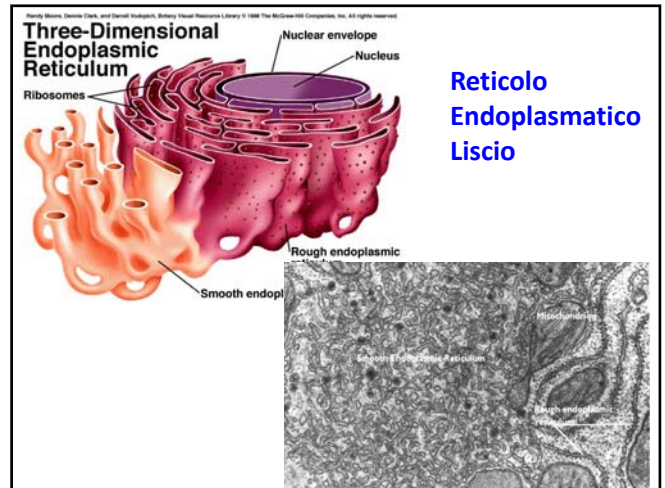
Controllo di qualità nel RER

Nel lume viene inoltre svolto un efficiente processo 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 nei **proteasomi** per essere degradati in AA che sono riciclati: **“Unfolded Protein Response”, UPR**.

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



Reticolo Endoplasmatico Liscio, REL

E' più tubulare del RER e forma un sub-compartimento reticolare interconnesso del RER

E' distribuito in un modo abbastanza omogeneo nel citoplasma.

Non è costellato di ribosomi

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

Funzioni: Non solo generali, ma anche dipendenti dal tipo cellulare

- o Il **reticolo endoplasmatico liscio** ("Smooth endoplasmic Reticulum, SER) **non** ha ribosomi collegati. Invece è coinvolto:
 - o Nel metabolismo del colesterolo e degli ormoni steroidei. **Fegato, gonadi, corteccia del surrene**
 - o Nella sintesi dei fosfolipidi delle membrane.
 - o Nella detossificazione di agenti esogeni (xenobiotici). **fegato**
 - o Nell'immagazzinamento del Ca^{2+} . **Tutte le cellule, ma in particolare muscolo**
 - o Nel metabolismo del glicogeno – **fegato, muscolo**

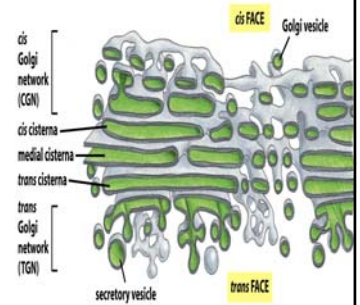


Apparato di Golgi

Componente del sistema di endomembrane strettamente associato sia fisicamente che funzionalmente al RE

Complesso di Golgi

- E' costituito da una serie di cisterne appiattite delimitate da membrana impilate le une sulle altre
- Ogni pila ha due lati distinti o **facce**: **cis** orientata verso il RE, rete di tubuli membranosi o **rete del cis-Golgi (CGN)**; **trans** orientata in senso opposto verso la membrana, **rete del trans-Golgi (TNG)**
- Le cisterne centrali tra il CNG e il TNG costituiscono le **cisterne mediali**



Apparato di Golgi

Funziona come una «**fabbrica di carboidrati**» in quanto le **glicoproteine** e i **proteoglicani** ricevuti dall'ER sono ulteriormente processati.

Sito di sintesi di sfingomielina e glicosfingolipidi

Funziona come **stazione di smistamento** e **indirizzamento** di proteine a diverse destinazioni nella cellula:

Membrana plasmatica, proteine secrete verso l'esterno della cellula, sistema di endosomi/lisosomi, oppure **riconegna in dietro all'ER**.

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: Cell Biology, 2^a ed.,

Apparato di Golgi

L'apparato di Golgi è un organello costantemente rinnovato, non una struttura cellulare permanente, dato che sia le sue proteine che i suoi lipidi si muovono continuamente lungo diverse vie.

Nessun tipo di proteina del Golgi è stabilmente associata all'organello.

Le proteine integrali di membrana associate al Golgi, incluso gli enzimi di processamento di proteine e lipidi, e le proteine SNAREs, che permettono il **riconoscimento specifico delle sostanze da trasportare** («cargo»), entrano ed escono costantemente mediante vie di traffico di membrana che portano o partono dall'ER.

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: Cell Biology, 2^a ed.,
<http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>

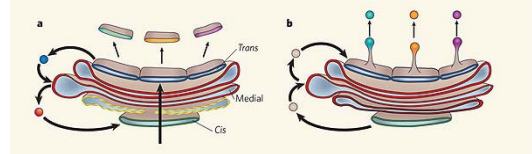
Apparato di Golgi - [

Le **proteine periferiche di membrana**, incluso quelle di rivestimento delle vescicole di trasporto e le proteine di ancoraggio, vengono costantemente scambiate fra le membrane del Golgi e con le riserve («pools») citoplasmatiche.

Le proteine di nuova sintesi trasportate e destinate alla secrezione che provengono dall'ER entrano nel Golgi a livello della faccia **cis**, attraversano la catasta e successivamente la lasciano dalla faccia **trans**.

Thomas D. Pollard, William C. Earnshaw, & Jennifer Lippincott-Schwartz: Cell Biology, 2^a ed., <http://users.rcn.com/jkimball.ma.ultranet/BiologyPages/G/Golgi.html>

Modelli per il traffico di proteine attraverso il Golgi



(A) **Modello della maturazione delle cisterne**. Mentre una nuova cisterna *cis* si forma, essa attraversa la catasta del Golgi, modificandosi mentre matura accumulando enzimi della zona *mediana* e in seguito della zona *trans*, mediante vescicole che si muovono dalle cisterne tardive fino a quelle precoci (**movimento retrogrado**).

(B) **Modello del trasporto mediante vescicole** in cui ogni vescicola rimane stazionaria con enzimi che non cambiano, e le proteine si muovono in avanti lungo la catasta mediante vescicole che si muovono dalle cisterne precoci verso quelle tardive (**traffico anterograde**).

<http://www.nature.com/scitable/content/two-models-of-protein-trafficking-through-the-14456074>

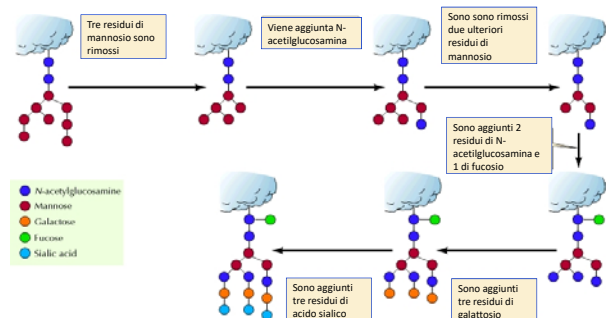
Processamento delle proteine e dei lipidi Glicosilazione

Le **glicoproteine** con oligosaccaridi N-linked provenienti dal RE arrivate nel Golgi subiscono varie modificazioni man mano che attraversano le diverse cisterne del complesso ad opera di enzimi specifici (**glicosiltransferasi**, **glicosidasi**):

- Rimozione di residui di mannosio
- Aggiunta sequenziale di N-acetilglucosamina
- Ulteriore rimozione di mannosio (enzimi glicosidasi)
- Aggiunta di fucosio e altri residui di N-acetilglucosamina
- Aggiunta finale di residui di galattosio e di acido sialico.

Altri enzimi aggiungono sostituenti quali gruppi fosfato, solfato, acetato o metile

Processamento degli oligosaccaridi N-linked nell'apparato di Golgi



Gli oligosaccaridi N-linked delle glicoproteine trasportate dal RE sono ulteriormente modificati mediante una sequenza ordinata di reazioni nelle varie cisterne del Golgi.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9838/figure/A1503/?report=objectonly>

Processamento oligosaccaridi nel Golgi

Gli enzimi del Golgi aggiungono inoltre oligosaccaridi ai gruppi idrossilici di residui di **serina** e **treonina** di proteine che costituiscono l'asse centrale («core») dei **proteoglicani** (PGs), proteine altamente glicosilate di granuli di secrezione e della matrice extracellulare.

Questo processo, detto glicosilazione «**O-linked**», inizia con l'aggiunta di un innesco di tre corti oligosaccaridi a residui selezionati di serina e treonina del «core» dei PGs.

Delle glicosiltrasferasi nel Golgi aggiungono **molte copie della stessa unità disaccaridica** al polisaccaride crescente.

Altri enzimi ancora aggiungono **gruppi solfato** ad alcuni residui di zuccheri prima che la molecola esca dal sistema.

Metabolismo dei lipidi nel Golgi

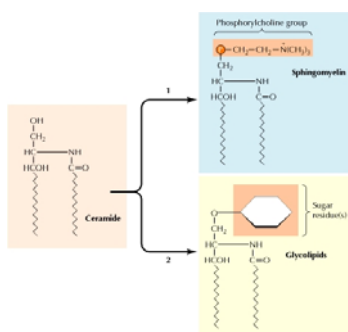
Oltre alle sue attività nel processamento e smistamento delle glicoproteine e dei proteoglicani, il Golgi funziona nel **metabolismo lipidico**, in particolare, nella **sintesi dei glicolipidi** e della **sfingomielina**.

I glicerofosfolipidi, il colesterolo e il ceramide sono sintetizzati nell'ER. La sfingomielina e i glicolipidi sono sintetizzati a partire dal ceramide nel Golgi.

La **sfingomielina** (l'unico fosfolipide delle membrane cellulari non derivato dal glicerolo) è sintetizzata mediante trasferimento di un gruppo di fosforilcolina della fosfatidilcolina al ceramide.

In alternativa, l'aggiunta di carboidrati al ceramide può dare origine alla grande diversità dei **glicolipidi**.

Cooper



Sintesi della sfingomielina e dei glicolipidi

La ceramide, sintetizzata nell'ER, viene convertita sia in sfingomielina (fosfolipide) oppure in glicolipidi nell'apparato di Golgi. Nel primo caso un gruppo di fosforilcolina è trasferito al ceramide. In alternativa, una grande diversità di glicolipidi può essere sintetizzata mediante aggiunta di uno o più zuccheri (ad es. Glucosio).

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9838/figure/A1506/?report=objectonly>

Smistamento

Funziona come **stazione di smistamento**, per la consegna di proteine a diverse destinazioni nella cellula:

Membrana plasmatica, secrezione verso l'esterno della cellula, smistamento al sistema di endosomi/lisosomi, oppure riconsegna indietro all'ER (trasporto retrogrado)

Le catene oligosaccaridiche aiutano a indirizzare le glicoproteine alle loro destinazioni intracellulari finali.

Un esempio classico consiste nella generazione di **residui di mannosio-6-fosfato** durante il processamento delle glicoproteine note come **idrolasi lisosomiali**.

Tutti gli enzimi noti di questo tipo contengono da uno a cinque unità di **mannosio-6-fosfato**, che ovviamente aiutano ad **indirizzare le proteine alla, e attraverso, la membrana lisosomiale**.