

I ribosomi liberi nel citoplasma sintetizzano le proteine destinate alla **via citoplasmatica**, cioè quelle destinate a:

filmato

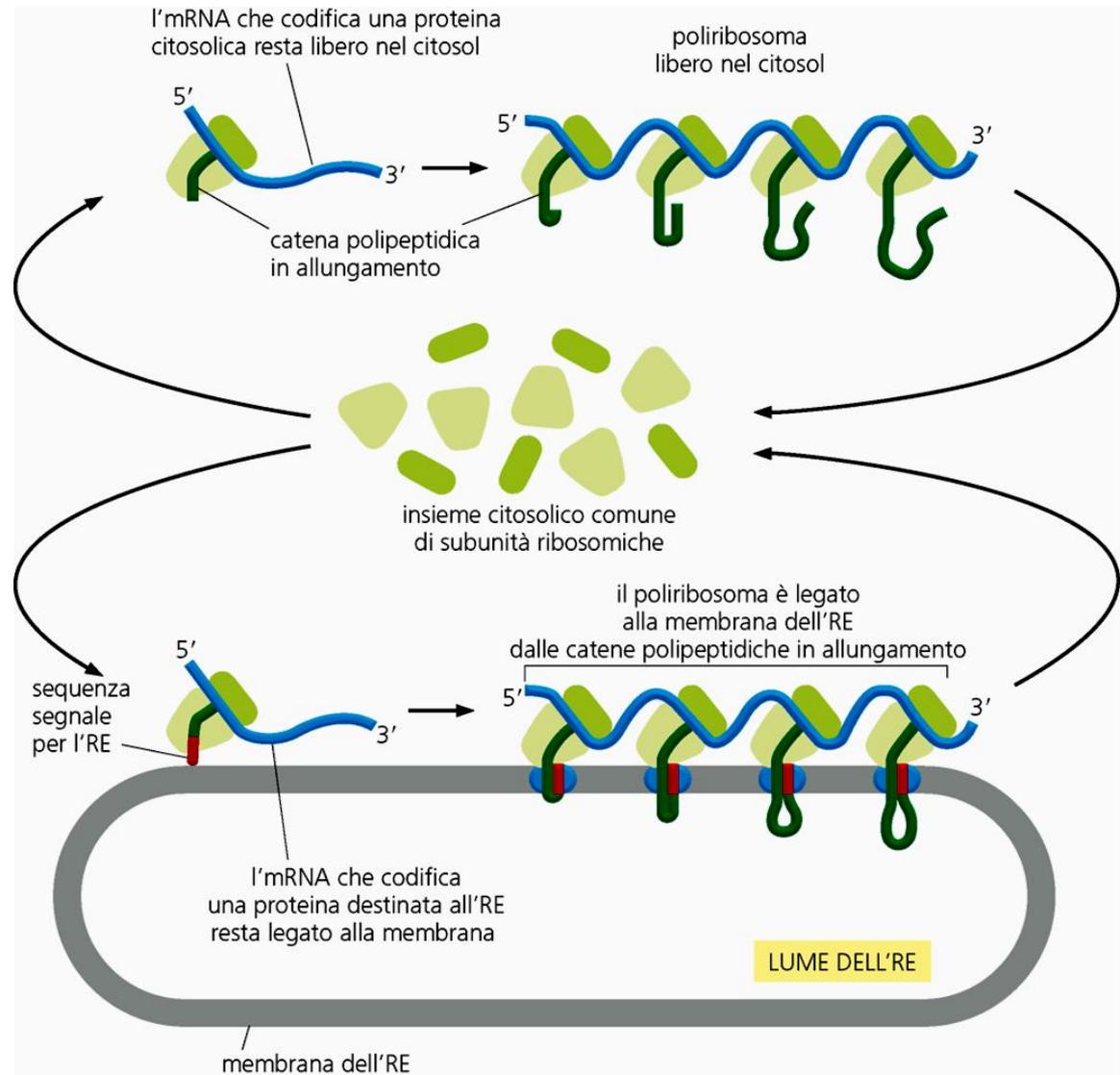
- Rimanere nel citoplasma
- Essere trasportate dal citoplasma al nucleo
- Essere trasportate dal citoplasma ai mitocondri
- Essere trasportate dal citoplasma ai cloroplasti
- Essere trasportate dal citoplasma ai perossisomi

I ribosomi associati alle membrane del RER sintetizzano le proteine destinate alla **via secretoria**:

filmato

- Reticolo endoplasmatico
- Apparato di Golgi
- Lisosomi
- Secrezione
- Membrane
- Perossisomi

Le cellule utilizzano un unico pool di ribosomi per sintetizzare sia le proteine del citosol, sia quelle destinate agli organelli delimitati da membrana, incluso il RER (via secretoria)

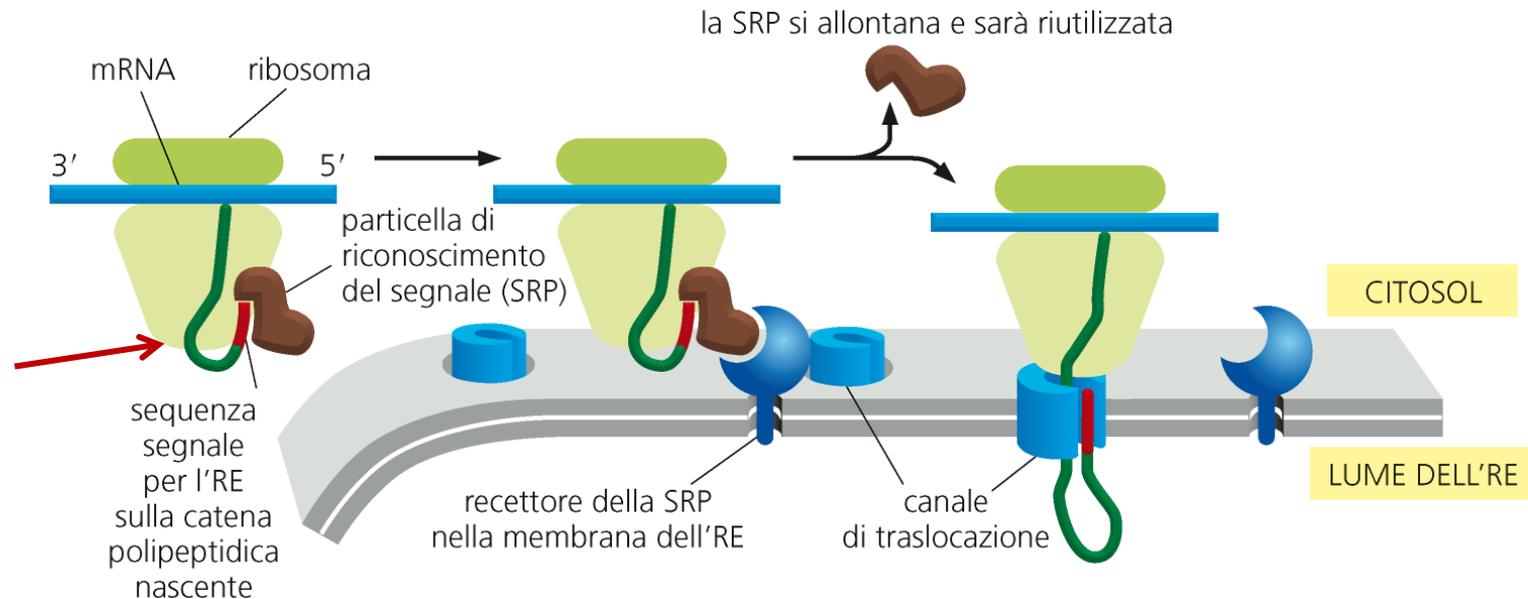


La sintesi di un polipeptide inizia su un ribosoma libero, poi....



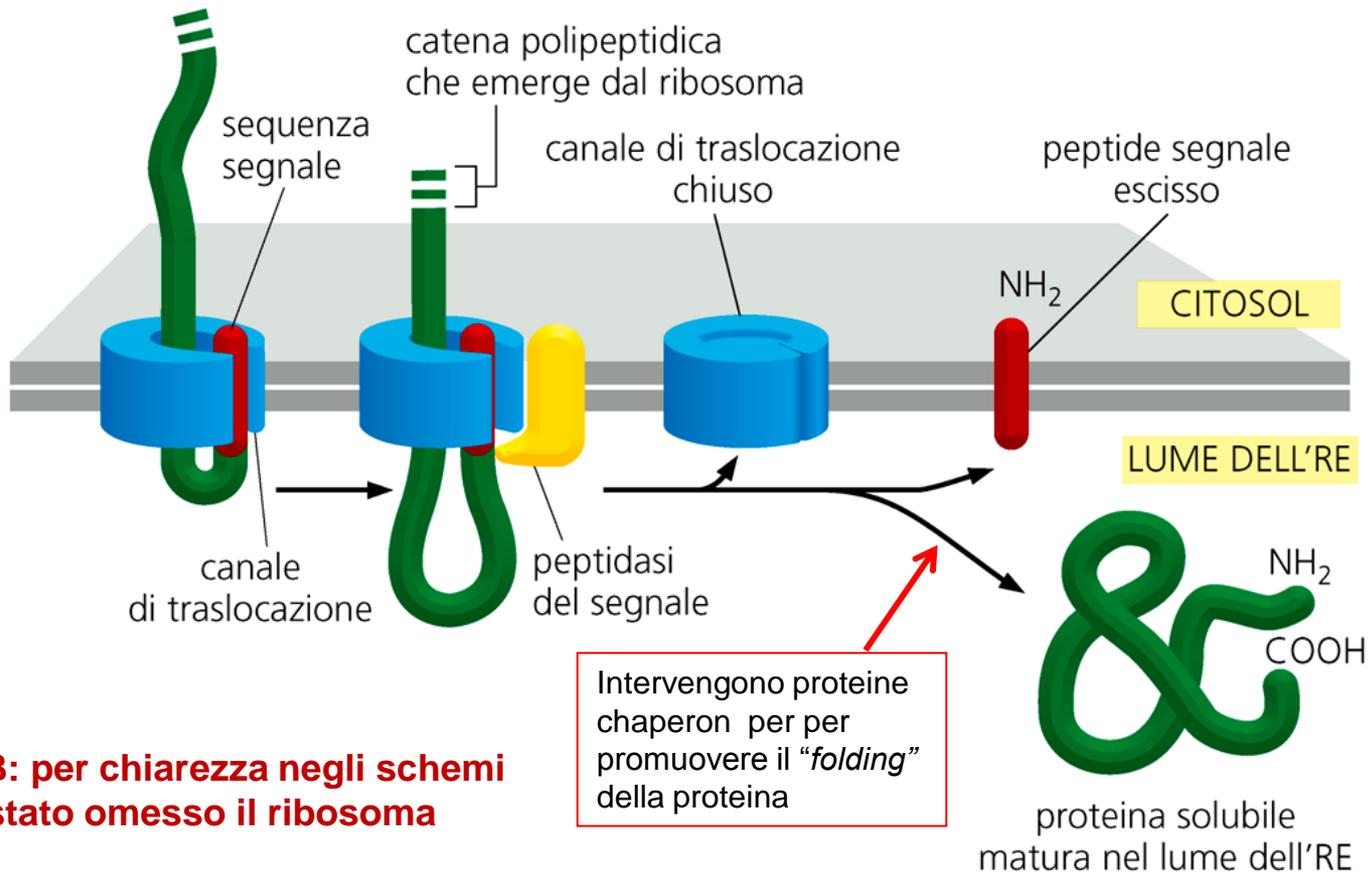
la **sequenza segnale** viene riconosciuta da una **SRP** (= **Signal Recognition Particle**), che legandosi indirizza il ribosoma ad un recettore sulla membrana del RER. Dopo il legame, SRP si stacca e il ribosoma si associa ad un **canale di traslocazione**, attraverso il quale si allunga la proteina nascente

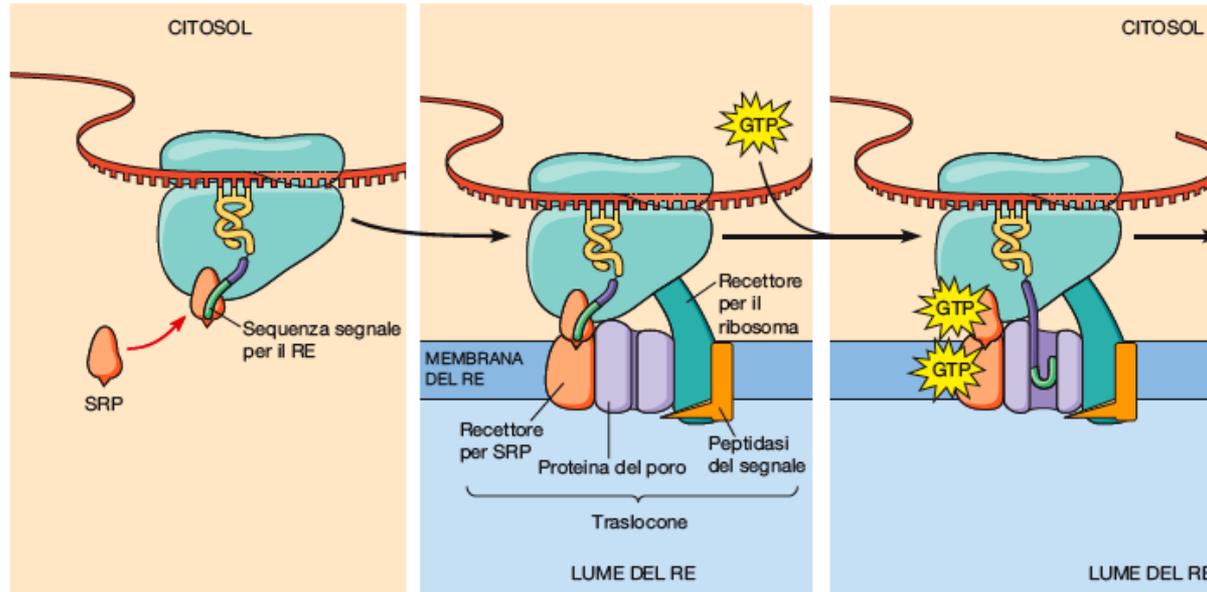
Quando una **SRP** si lega alla **sequenza segnale**, **arresta la traduzione**, che riprende dopo il suo **distacco**



Una proteina destinata alla secrezione attraversa la membrana del RER ed entra nel lume

filmato

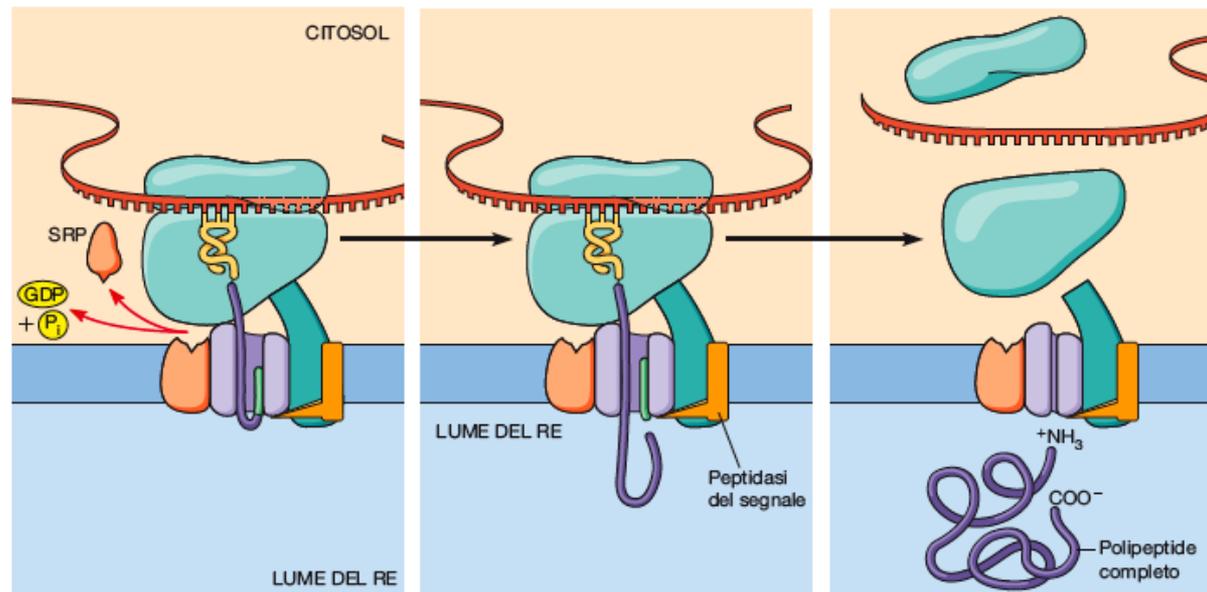




1 La SRP si lega a una sequenza segnale per il RE e blocca la traduzione.

2 La SRP si lega al suo recettore; il ribosoma si arresta sulla membrana.

3 Il GTP si lega alla SRP e al suo recettore; il poro si apre e il polipeptide vi si inserisce.

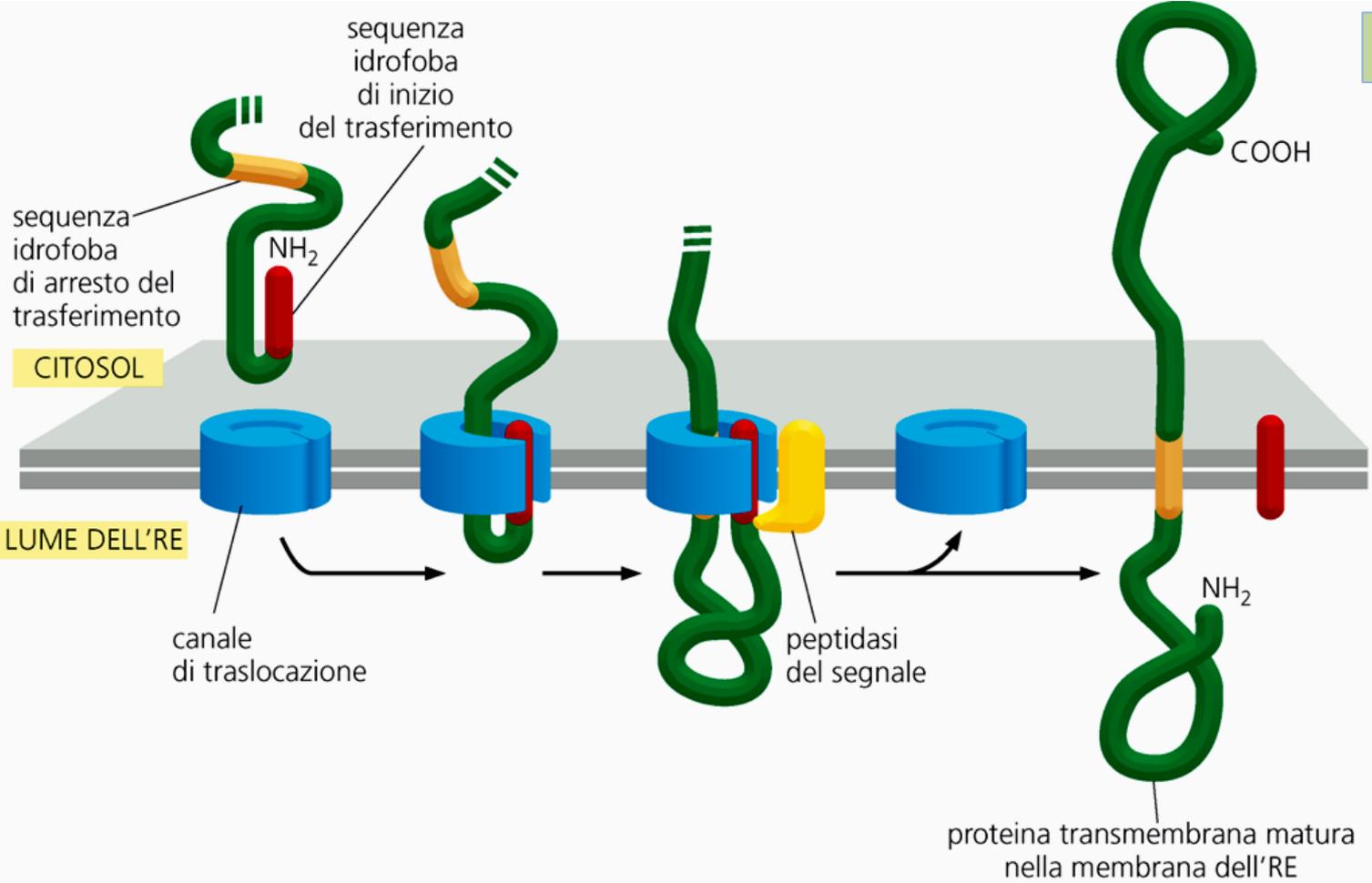


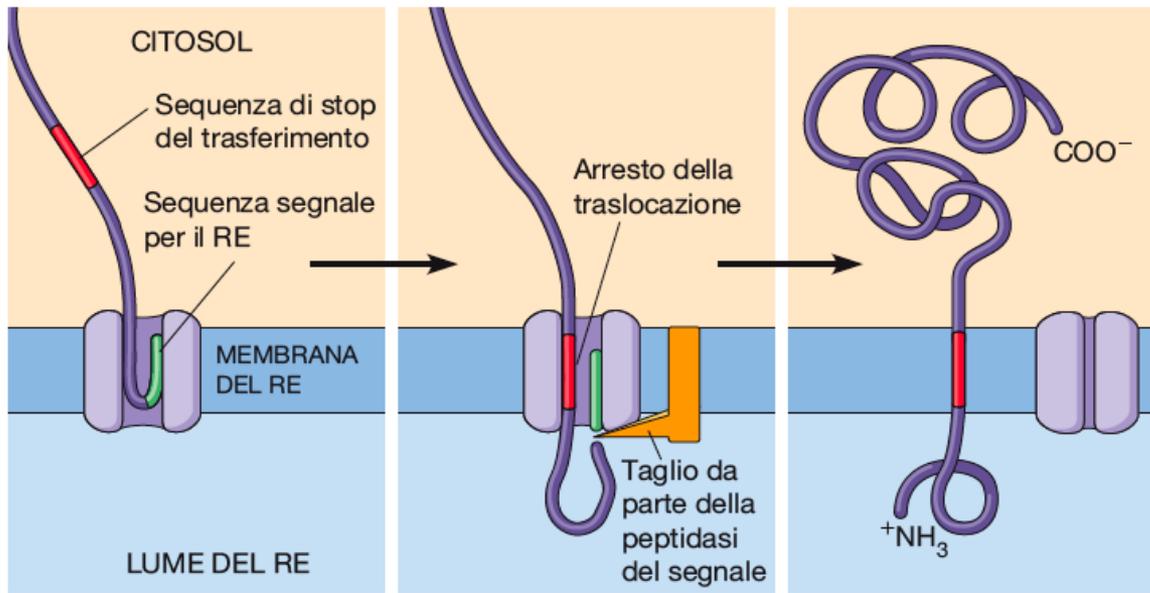
4 Il GTP è idrolizzato e viene rilasciata SRP.

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

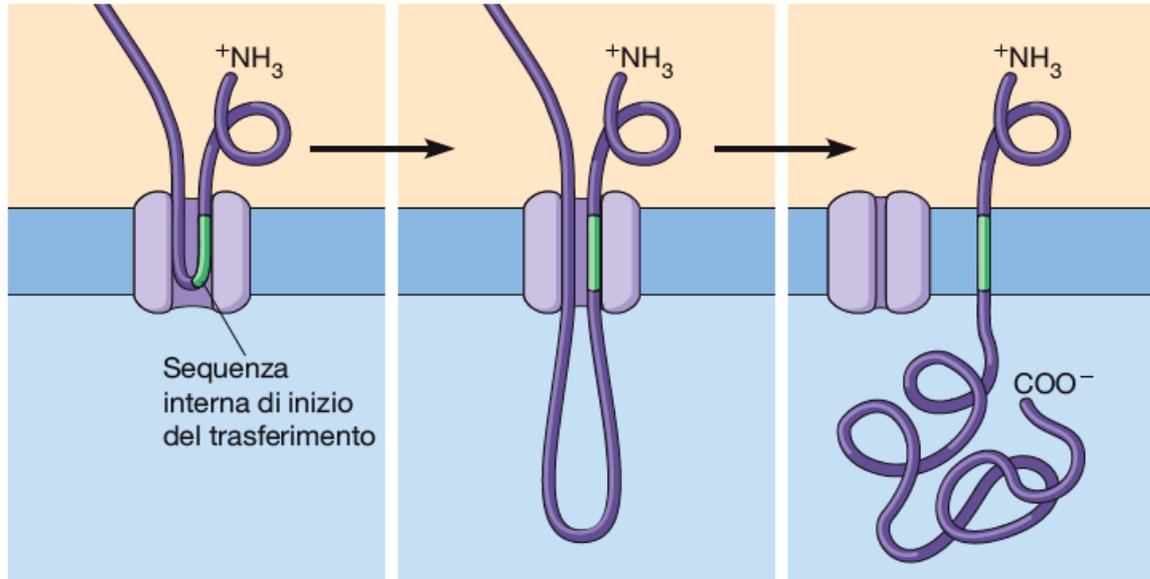
6 Il polipeptide completo è rilasciato nel lume del RE, il ribosoma si dissocia e il poro del traslocone si chiude.

Integrazione nella membrana del RER di una proteina con un unico passaggio transmembrana



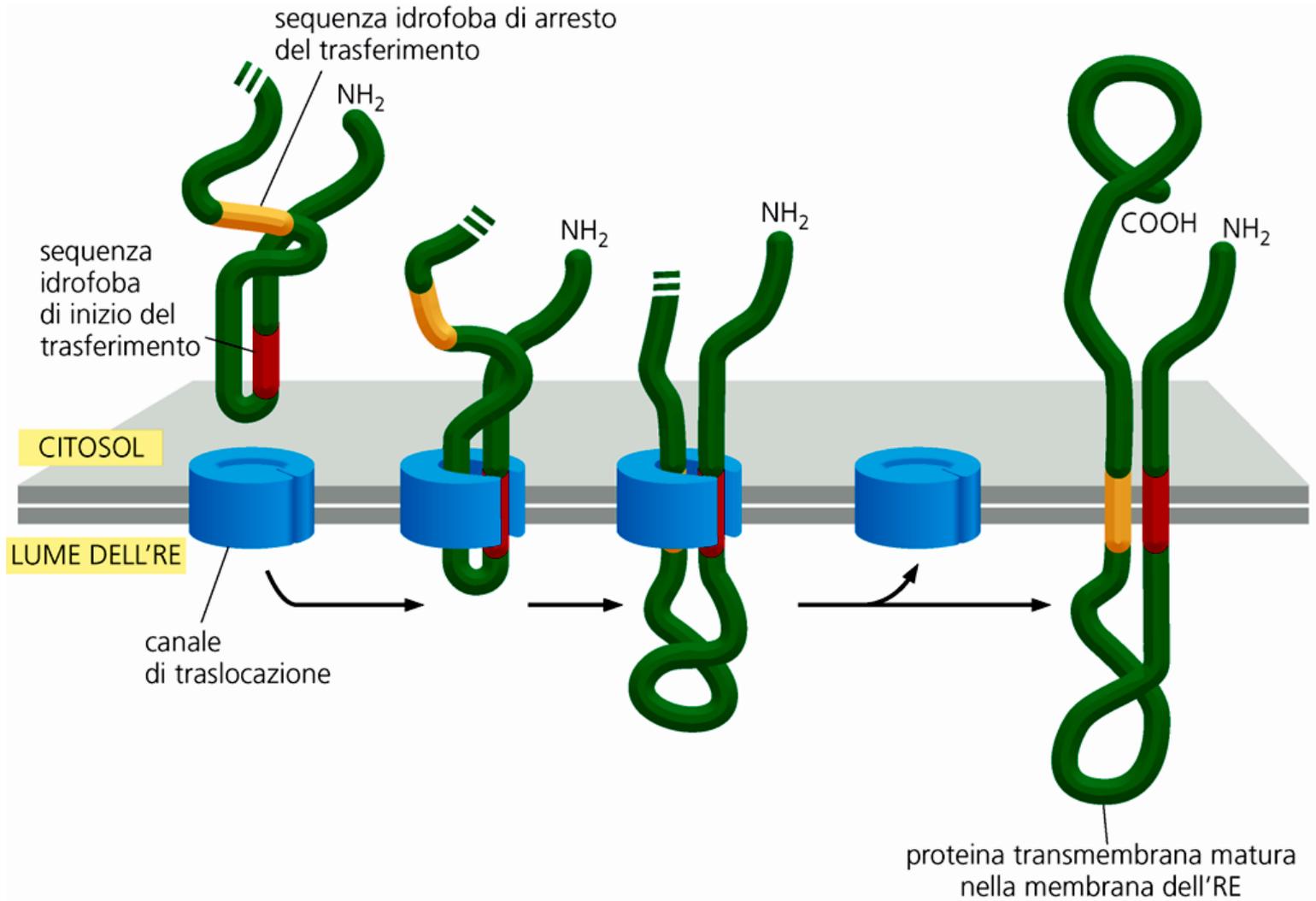


(a) Polipeptide con una sequenza segnale terminale per il RE e con una sequenza interna di stop del trasferimento. La sequenza di stop del trasferimento arresta la traslocazione e ancora il polipeptide alla membrana, dando origine a una proteina transmembranaria con l'N-terminale nel lume del RE e il C-terminale nel citosol.



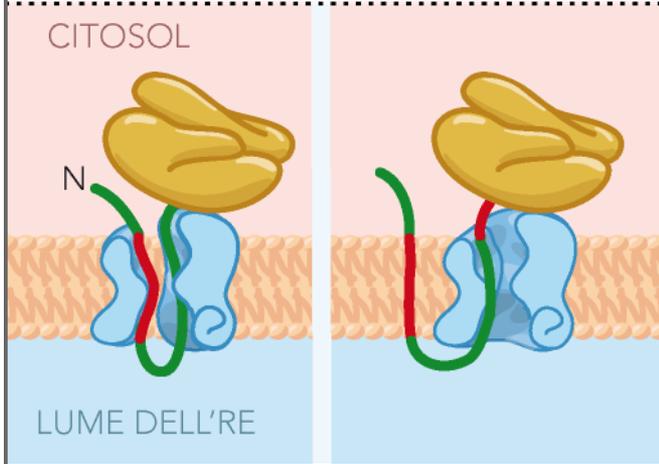
(b) Polipeptide con una singola sequenza interna di inizio del trasferimento. Questa singola sequenza di inizio del trasferimento avvia il trasferimento del polipeptide e quindi si muove attraverso un lato aperto nel traslocone per ancorarsi alla membrana. (Se il polipeptide illustrato possedesse anche una sequenza di stop del trasferimento che ne impedisse il trasferimento completo attraverso il traslocone, ne risulterebbe una proteina transmembranaria con entrambe le estremità, N-terminale e C-terminale, nel citosol.)

Non sempre il segnale di inizio del trasferimento si trova all'estremità e non sempre viene rimosso: in questo caso lo stesso segnale funziona come inizio e arresto del trasferimento

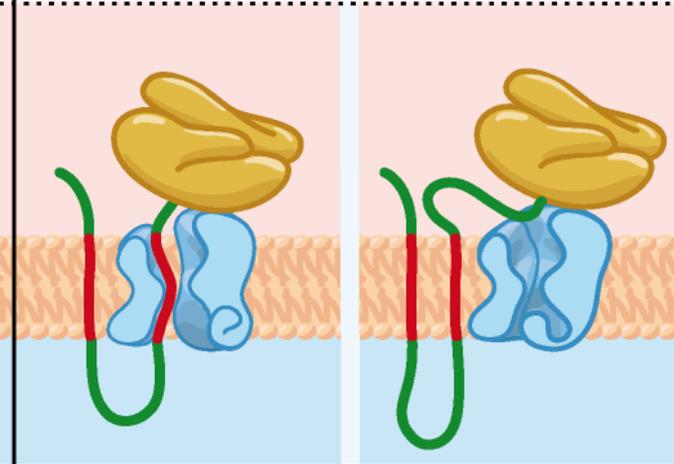


Modello di integrazione di proteine di membrana ad attraversamento multiplo

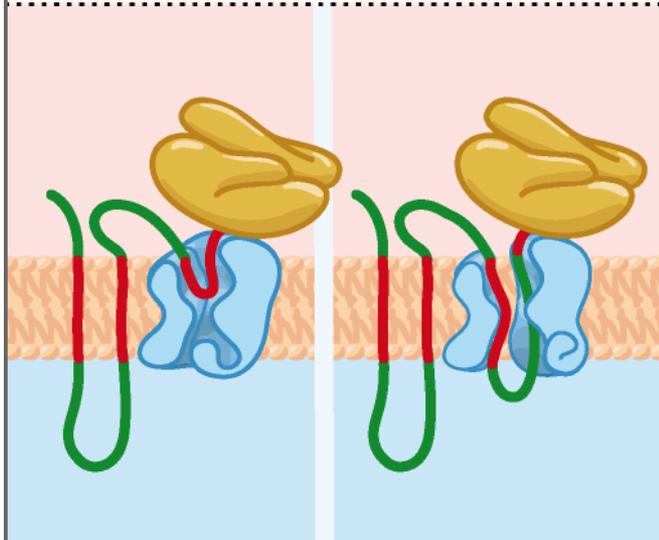
Il primo dominio transmembrana (TMD) è riconosciuto e lascia il canale



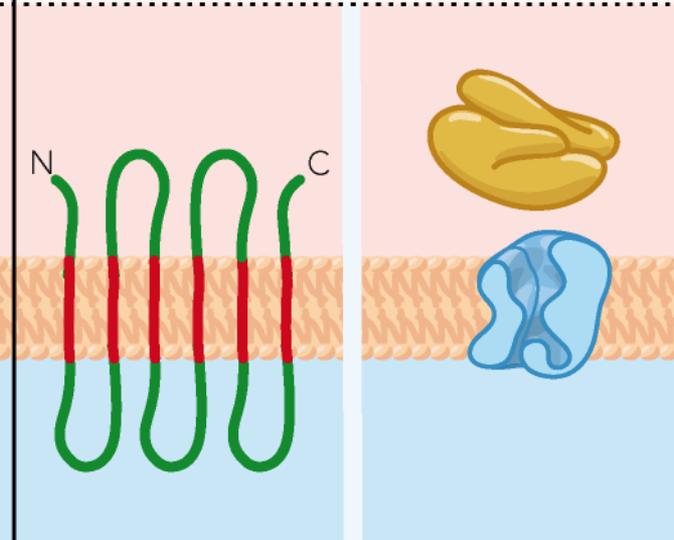
Il secondo TMD è riconosciuto e il canale si chiude dopo la sua integrazione



La traduzione continua fino alla comparsa del terzo TMD e il canale si riapre



L'apertura e la chiusura del canale continuano in presenza di altri TMD



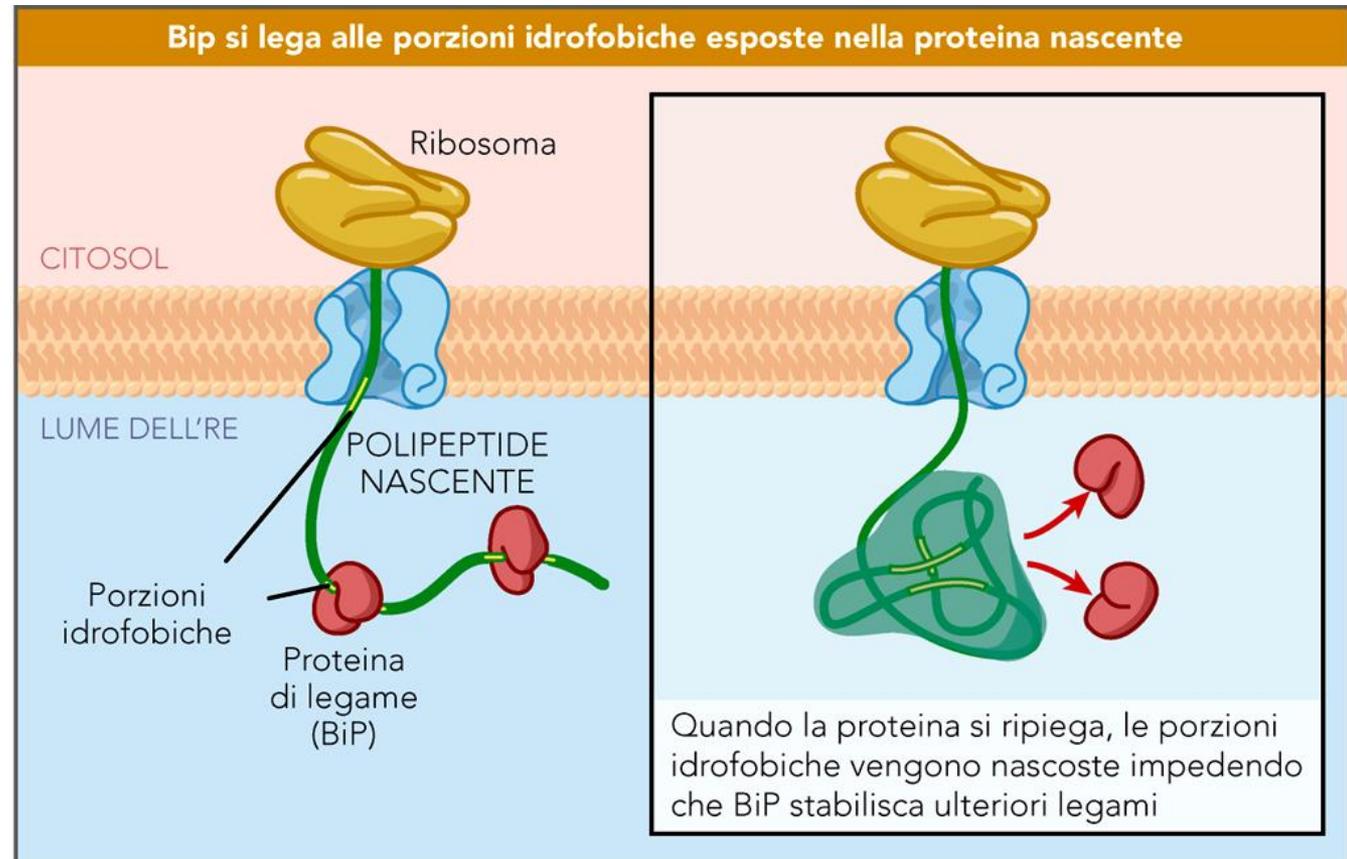
QUALI SONO LE MODIFICHE POST-TRADUZIONALI CHE AVVENGONO SULLE PROTEINE ALL'INTERNO DEL RER?

- Taglio proteolitico del peptide segnale
- Ripiegamento (*folding*)
- Modifiche covalenti a carico di aminoacidi
- Realizzazione di eventuali legami disolfuro
- Eventuale inserimento di un'àncora lipidica (GPI),
- Aggiunta di una struttura glucidica complessa (glicosilazione N-terminale)



Le molecole “chaperone” intervengono nel ripiegamento (*folding*) delle proteine appena traslocate.

Bip (una molecola chaperone) interagisce con i primi domini idrofobici del polipeptide nascente e l'interazione termina quando le porzioni idrofobiche interagiscono fra di loro e sono coperte dalle porzioni idrofiliche della proteina terminata



Modifiche covalenti a carico di aminoacidi: idrossilazioni

Prolina e **lisina** possono essere idrossilate nel RER, diventando:

- idrossiprolina**
- idrossilisina**

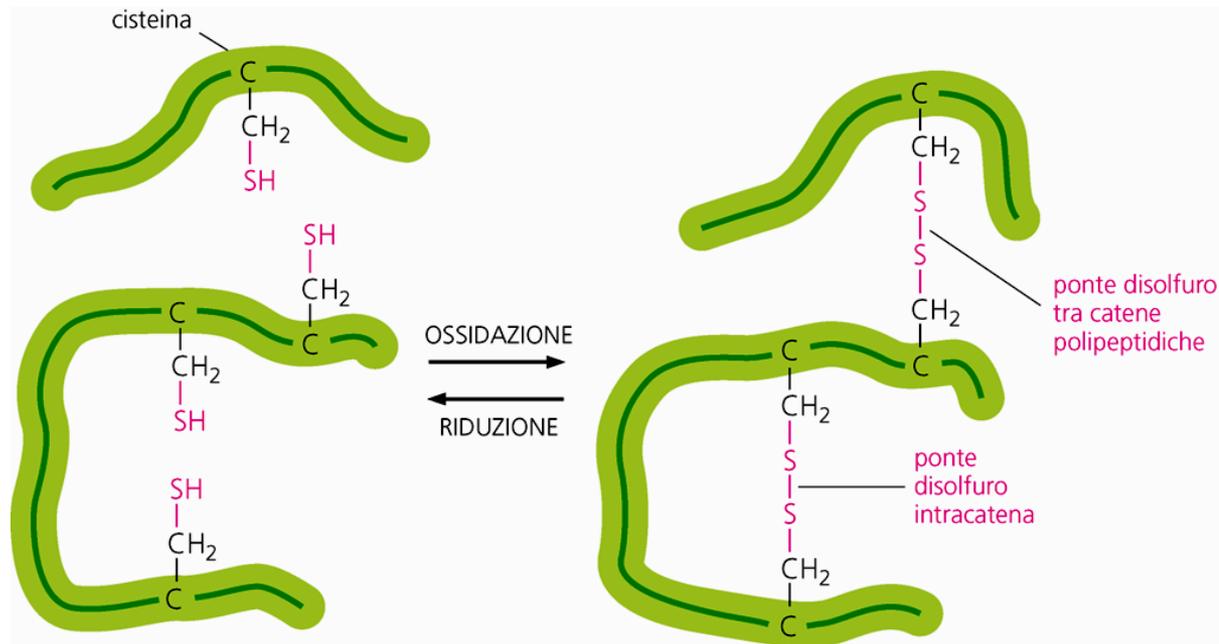
Questi aminoacidi particolarmente abbondanti nel collagene dei tessuti connettivi umani, non fanno parte dei venti tipi compresi nel codice genetico, ma risultano da una modifica post-traduzionale della prolina e della lisina già inserite in catene polipeptidiche.

L'idrossilazione si verifica nel RER, grazie all'intervento di **idrossilasi** per la cui attività è indispensabile la presenza **dell'acido ascorbico (vitamina C)**.

In carenza di vitamina C l'idrossilazione della lisina non si verifica e il **collagene non viene glicosilato**.

La mancata glicosilazione del collagene è causa dello **SCORBUTO**, una grave patologia del tessuto connettivo.

Modifiche covalenti a carico di aminoacidi: ponti di solfuro



La formazione dei **ponti disolfuro (S-S) nel RER** avviene tra due residui di CISTEINA ed è importante per il ripiegamento di molte proteine

Nel Citosol la formazione dei ponti S-S non si verifica, per la presenza di elevate concentrazioni del tripeptide **GSH**, sostanza riducente che previene la ossidazione dei gruppi SH della cisteina

Glu-Cys-Gly = GSH

Inserimento di un'ancora lipidica: legame con GPI (glicosilfosfatidilinositolo)

Un piccolo ma significativo gruppo di proteine traslocate all'interno del RE viene modificato per formazione di un legame covalente con un fosfolipide.

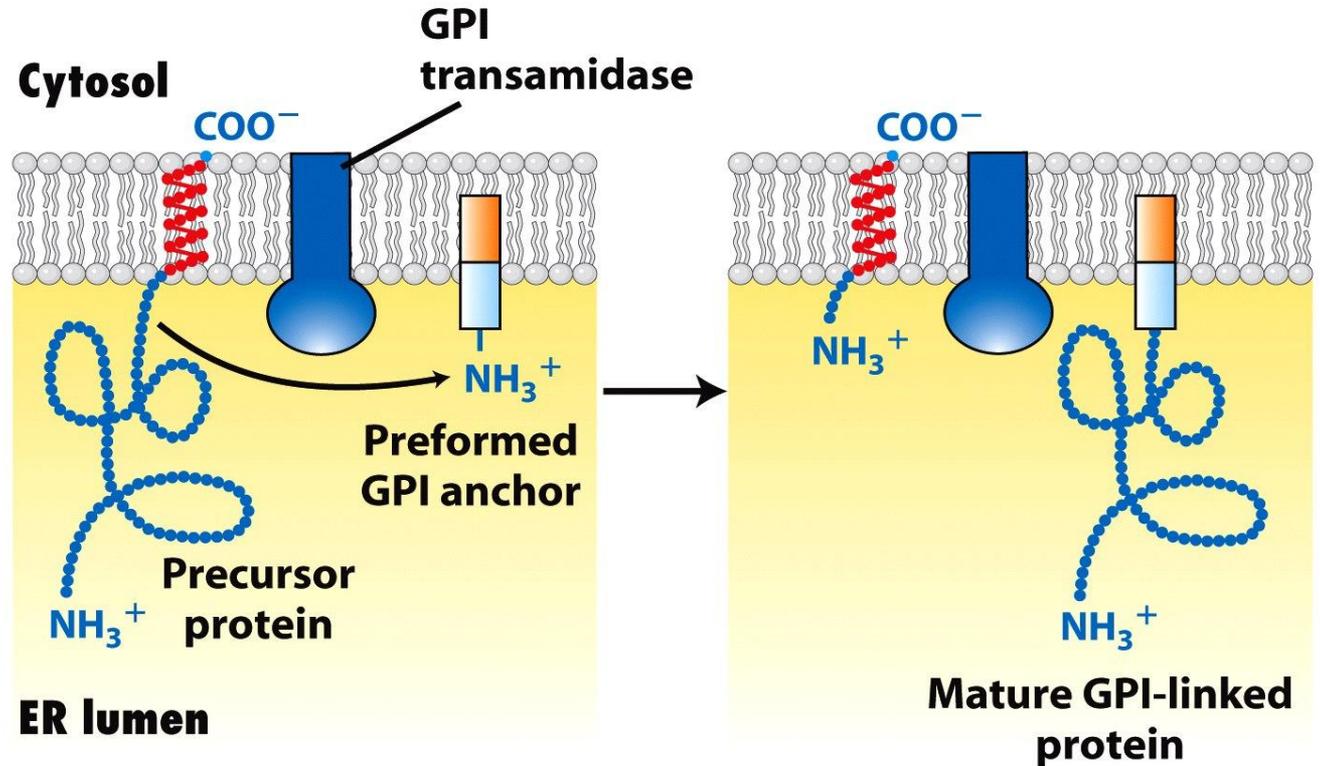
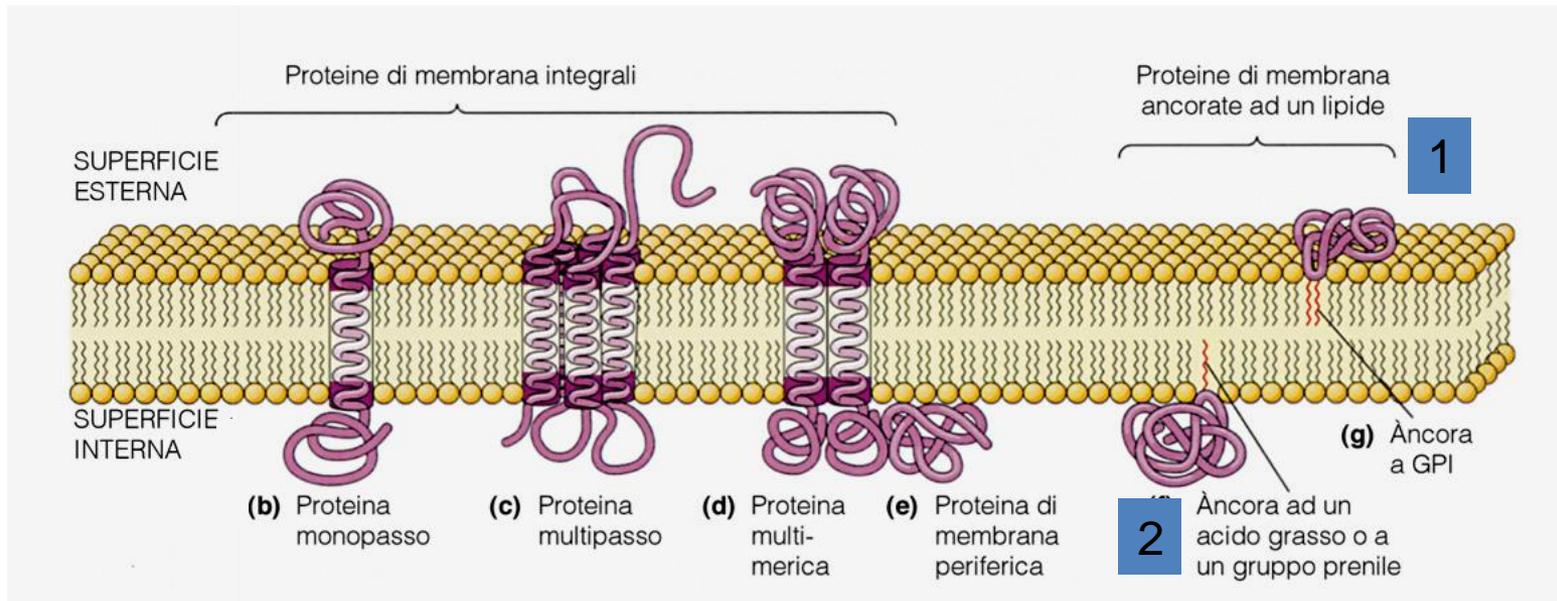


Figure 13-14b
Molecular Cell Biology, Sixth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Proteine di membrana ancorate a lipidi

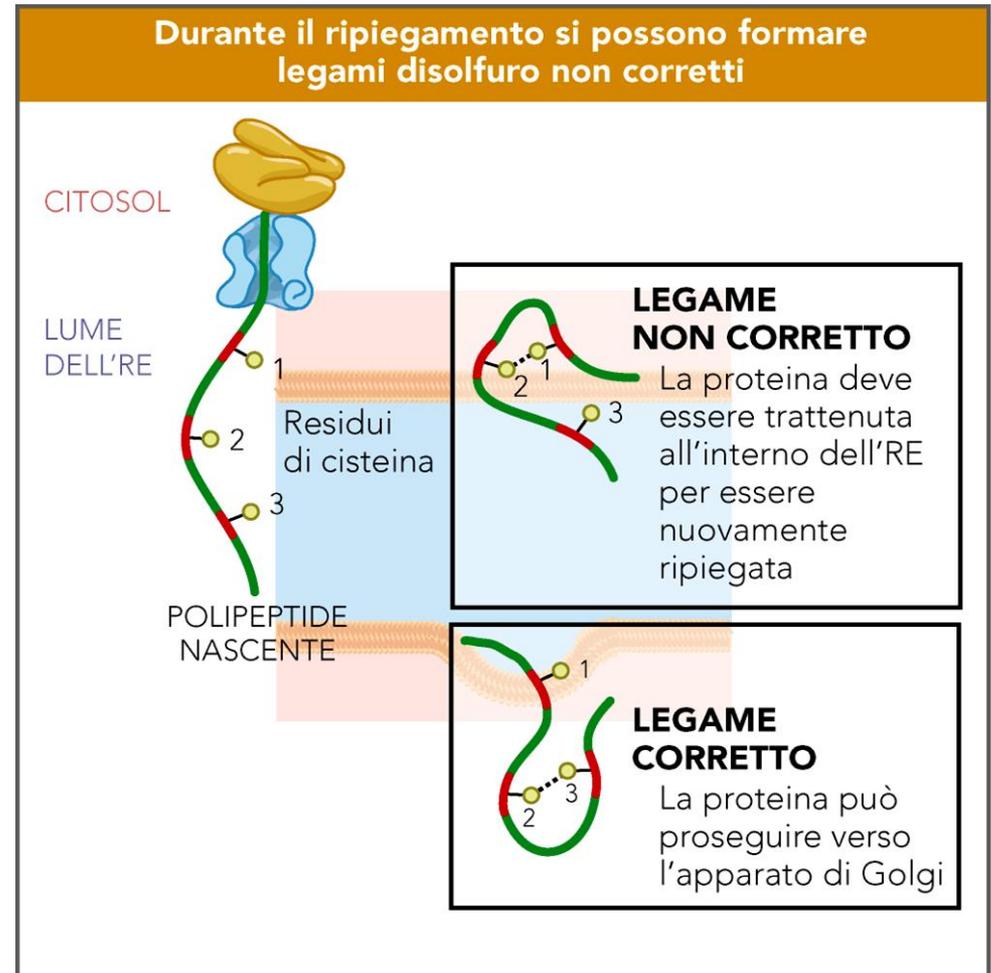
- 1 Le **proteine extracellulari ancorate a lipidi** sono sintetizzate da ribosomi associati al RE, traslocate in modo co-traduzionale nel lume del RER, agganciate a GPI, trasportate da vescicole attraverso il Golgi fino alla membrana plasmatica



- 2 Le **proteine intracellulari (citoplasmatiche) ancorate a lipidi** sono sintetizzate da ribosomi liberi, ancorate alla membrana del RE sul lato citoplasmatico e trasportate fino alla membrana plasmatica associate esternamente a vescicole.

La corretta struttura tridimensionale delle proteine è monitorata dall'interazione con proteine residenti nel RER.

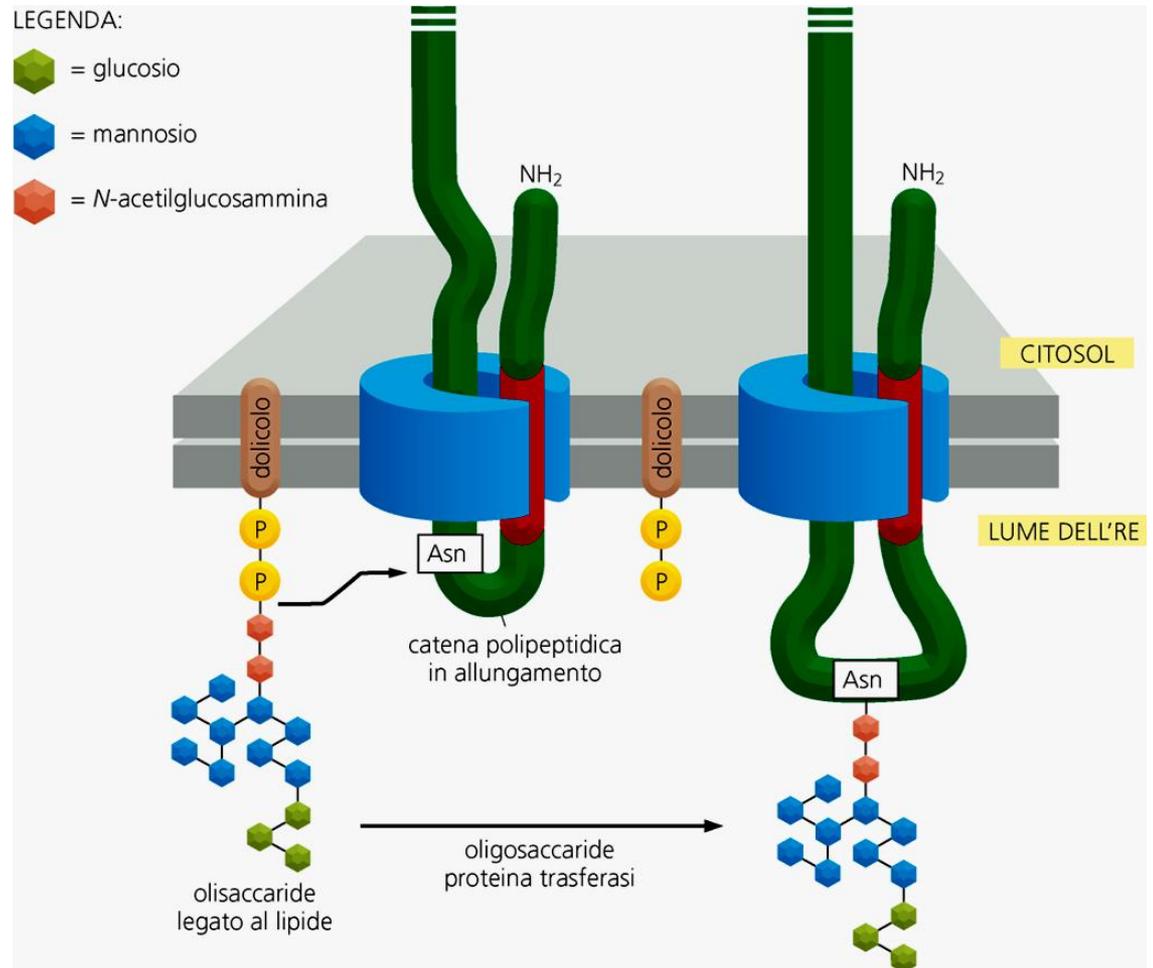
Soltanto proteine correttamente ripiegate e con legami disolfuri corretti possono essere convogliate verso l'apparato di Golgi.



UNA DELLE MODIFICAZIONI PIÙ IMPORTANTI È L'AGGIUNTA DI OLIGOSACCARIDI SU PARTICOLARI AMINOACIDI (**GLICOSILAZIONE**), PER PRODURRE DELLE GLICOPROTEINE

Uno dei sistemi di glicosilazione:

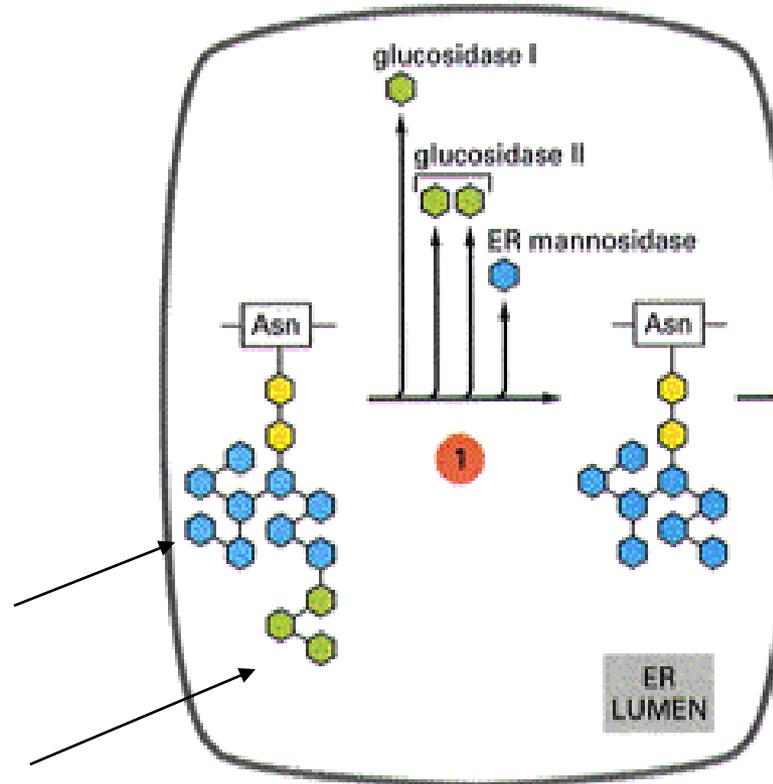
un oligosaccaride, preformato su un lipide di membrana (DOLICOLO), viene trasferito alla proteina durante il suo inserimento nel RER. Il legame avviene su un AZOTO dell'aminoacido ASPARAGINA (**glicosilazione in N**). L'oligosaccaride verrà ulteriormente modificato.



Dopo che una proteina è stata glicosilata, subisce varie modificazioni nella struttura oligosaccaridica, inclusa la rimozione di alcuni residui glucidici.

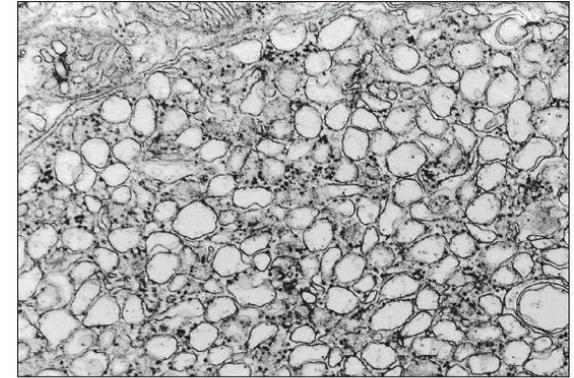
Rimozione di un mannosio

Rimozione di 3 molecole di glucosio



KEY: ● = N-acetylglucosamine (GlcNAc) ● = mannose (Man) ● = glucose (Glc)

Quali sono le principali funzioni del REL?



(b) Reticolo endoplasmatico liscio

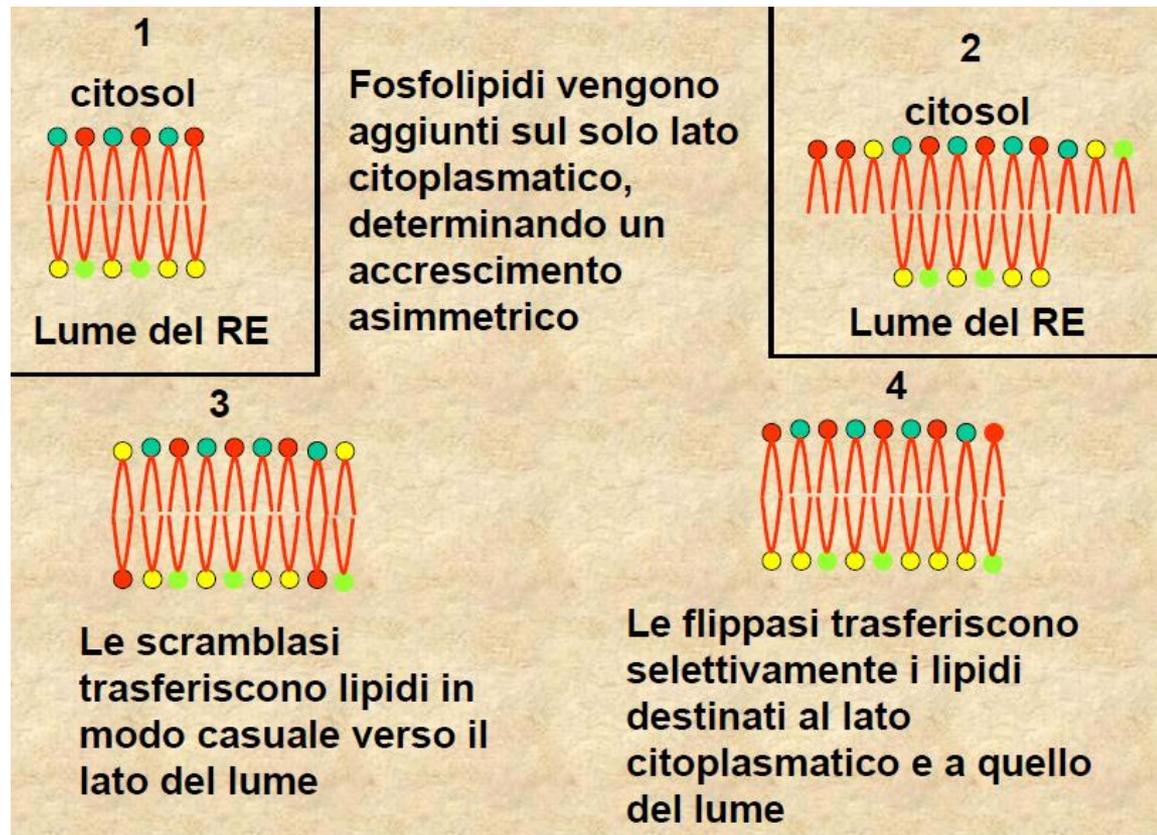
0,5 μm

- Sintesi dei fosfolipidi (sul lato citoplasmatico del RE) e quindi biogenesi delle membrane
- Glicosilazione dei fosfolipidi
- Sintesi degli steroidi
- Detossificazione
- Immagazzinamento e rilascio di calcio intracellulare

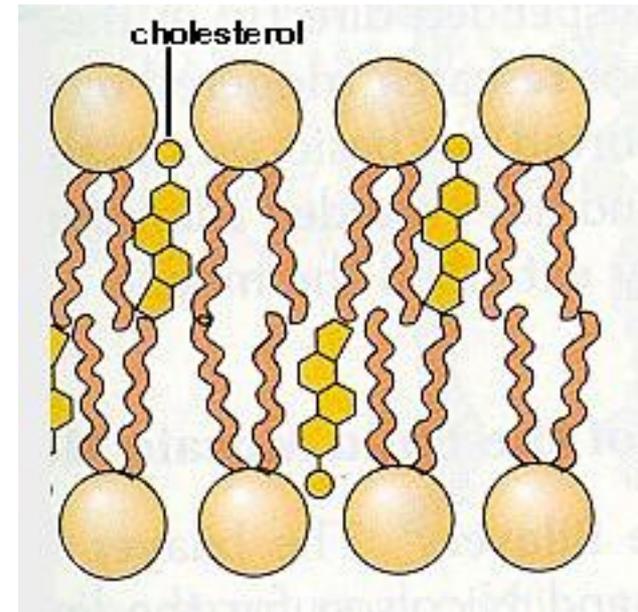
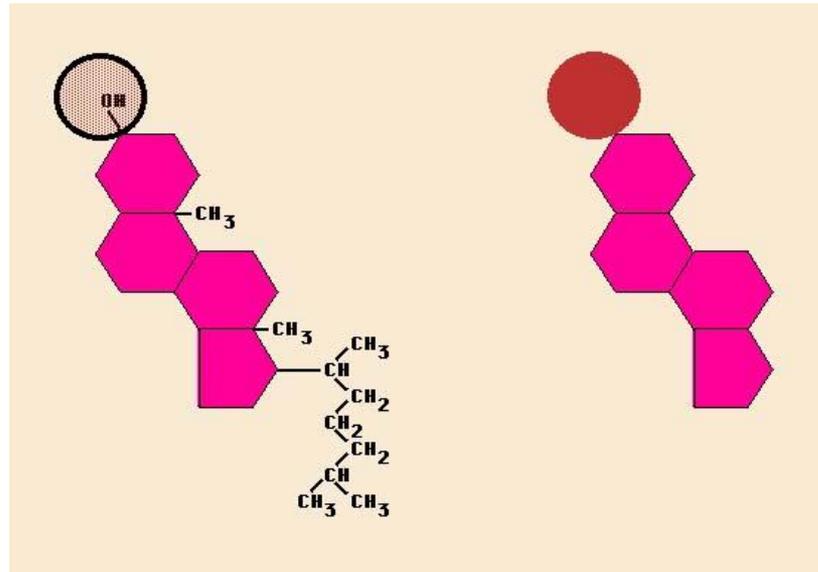
Sintesi dei lipidi di membrana

I fosfolipidi di membrana vengono sintetizzati da enzimi localizzati nelle membrane del reticolo, con il sito attivo sulla faccia citoplasmatica.

Le molecole neo-sintetizzate vengono quindi inserite nel foglietto citoplasmatico



Oltre alla produzione dei fosfolipidi, il REL svolge un ruolo essenziale nella **sintesi del colesterolo** e degli ormoni steroidei



Il REL è particolarmente sviluppato in cellule che producono gli ormoni steroidei (ghiandola surrenale, gonadi) ed è in **stretto contatto con i mitocondri** perché gli enzimi della sintesi degli ormoni steroidei sono suddivisi tra questi due organelli. La prima e l'ultima parte della sintesi degli ormoni steroidei avviene nella membrana dei mitocondri, mentre modifiche intermedie sono svolte da enzimi appartenenti alla membrana del REL.

REL E DETOSSIFICAZIONE

Sostanze tossiche poco solubili in acqua sono difficilmente eliminabili (come ad esempio insetticidi, idrocarburi aromatici o barbiturici) e tendono ad accumularsi nei tessuti.

Queste sostanze vengono modificate nel REL da enzimi (**idrossilasi**) che legano alla sostanza gruppi OH, polari, rendendo quindi la sostanza più solubile in acqua e più facilmente eliminabile.

Altri enzimi (**glucuronidasi**), possono aggiungere una molecola di acido glucuronico che rende ancor più solubile la molecola estranea

Funzioni del REL: immagazzinamento e rilascio di calcio intracellulare

