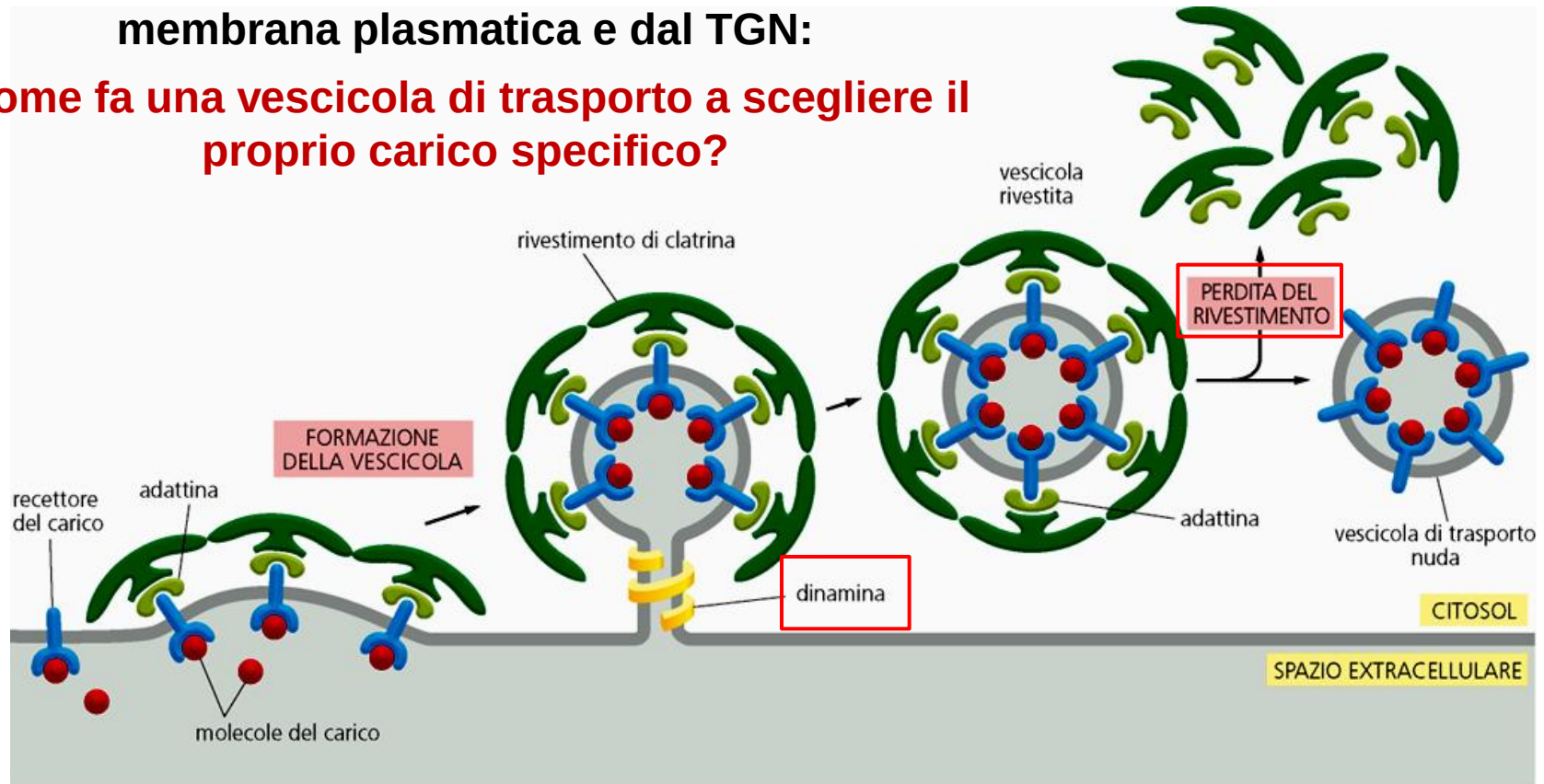


Il traffico vescicolare

Gemmazione di vescicole rivestite di clatrina dalla membrana plasmatica e dal TGN:

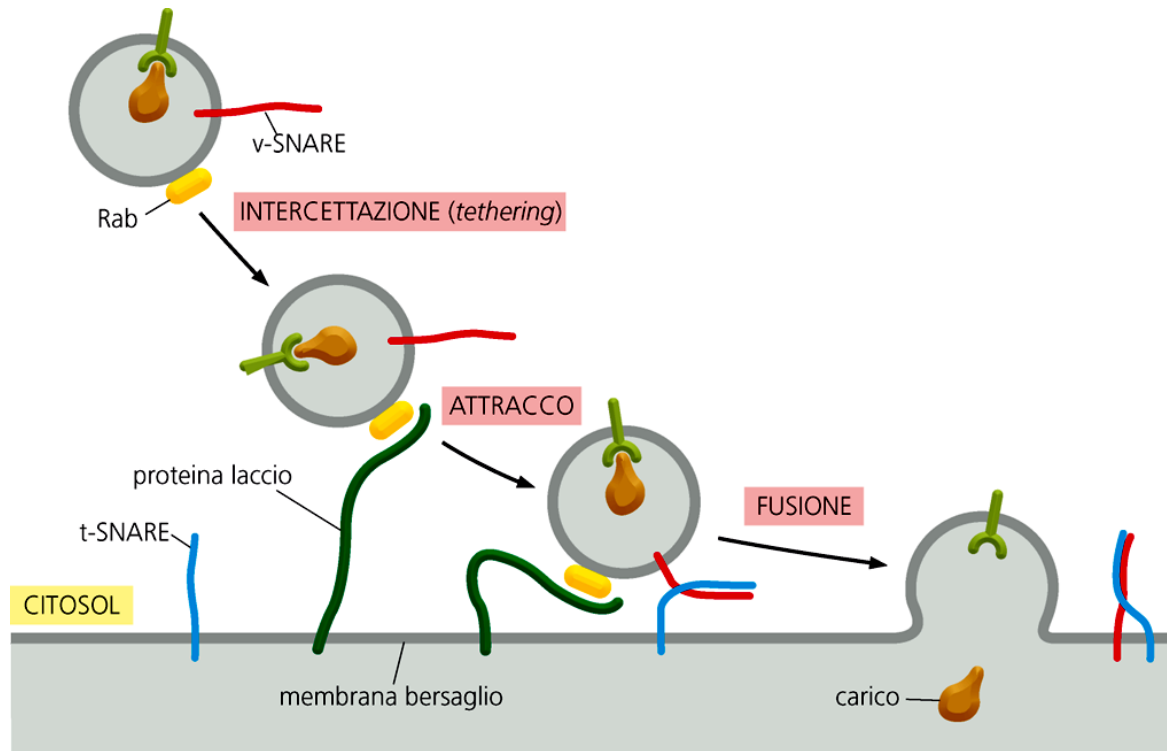
Come fa una vescicola di trasporto a scegliere il proprio carico specifico?



... ci riesce grazie alle “**adattine**” (*proteine AP*). Esse da un lato legano il rivestimento di clatrina e dall'altro i **recettori di carico** (che riconoscono le molecole che devono essere trasportate).

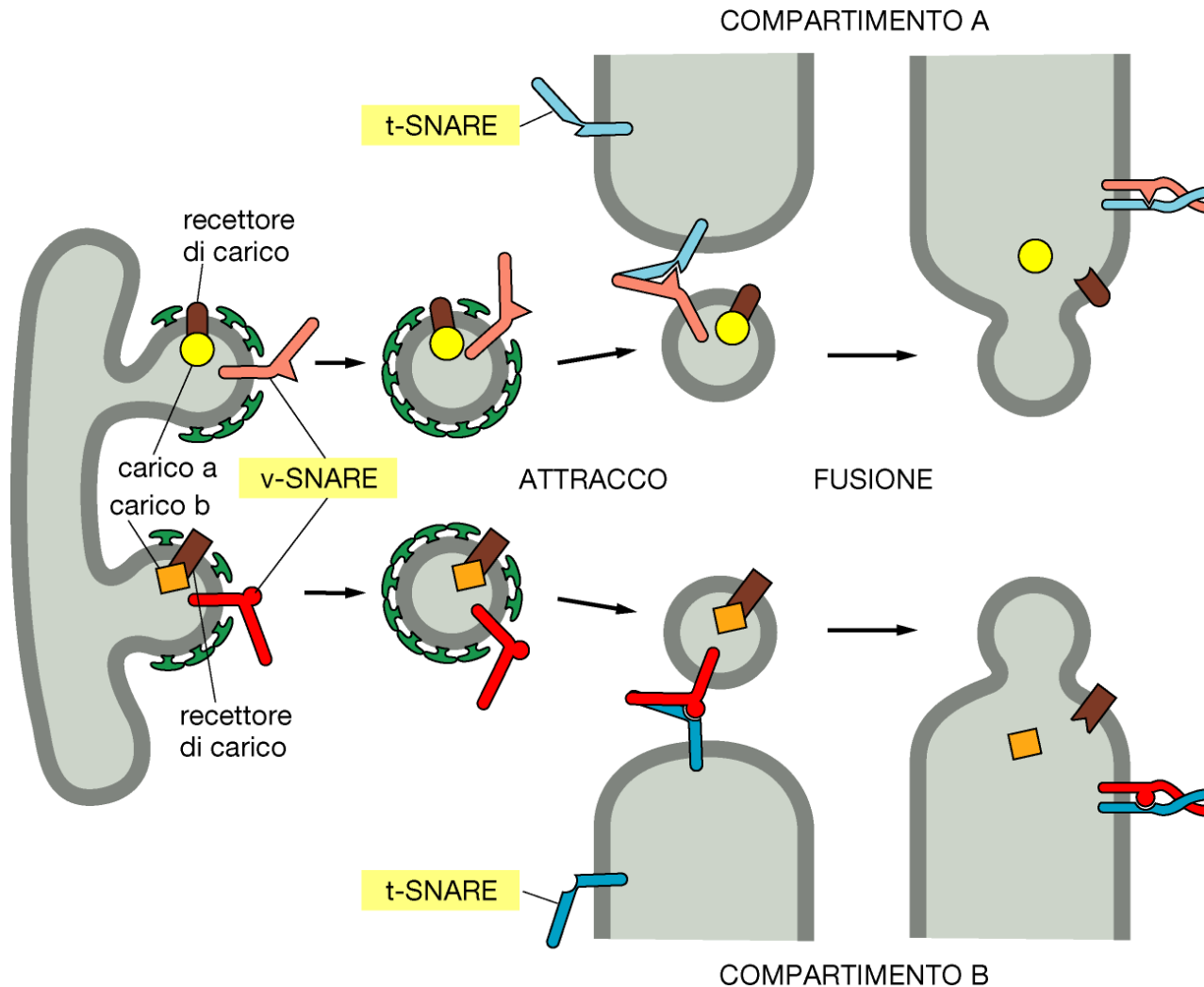
Come fa una vescicola a fondersi con la membrana target corretta?

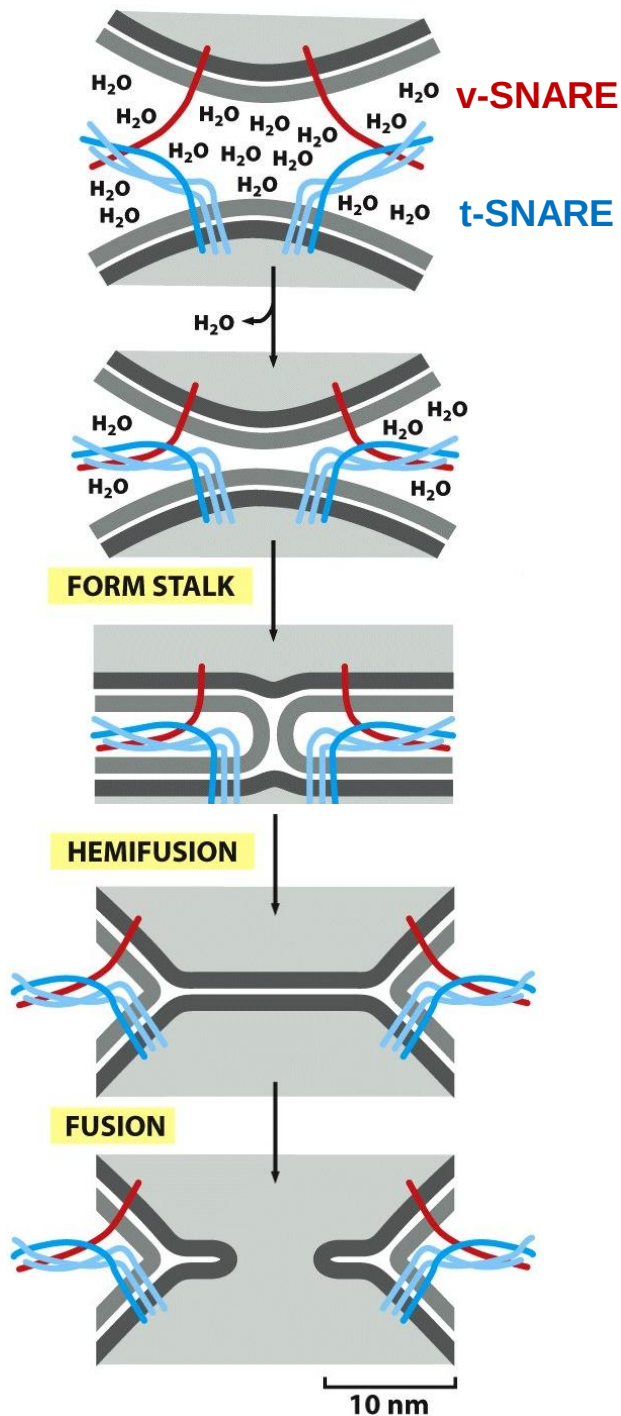
L'intercettazione e l'attracco delle vescicole sulla membrana dell'organello target sono mediate da interazioni specifiche:



- Il legame tra le proteine **Rab** e le **proteine laccio** realizza un riconoscimento specifico (**INTERCETTAZIONE**) tra una vescicola e la sua membrana bersaglio.
- Inoltre proteine **SNARE** della membrana della vescicola si legano a proteine SNARE complementari presenti sulla membrana target, promuovendo l'**ATTRACCO** della vescicola

Una specifica **v-SNARE** (sulla superficie della vescicola) si lega ad una **t-SNARE** complementare della membrana bersaglio, provocando l'assemblaggio del **complesso di fusione**





Le proteine SNARE svolgono un ruolo fondamentale nella fusione tra membrane

L'appaiamento delle t-SNARE con le v-SNARE porta i due doppi strati lipidici a stretto contatto, espellendo tutte le molecole d'acqua interposte. In questo modo i lipidi riescono a confluire in un unico doppio strato. Altre proteine non mostrate in figura cooperano alla fusione.

Modalità di secrezione cellulare

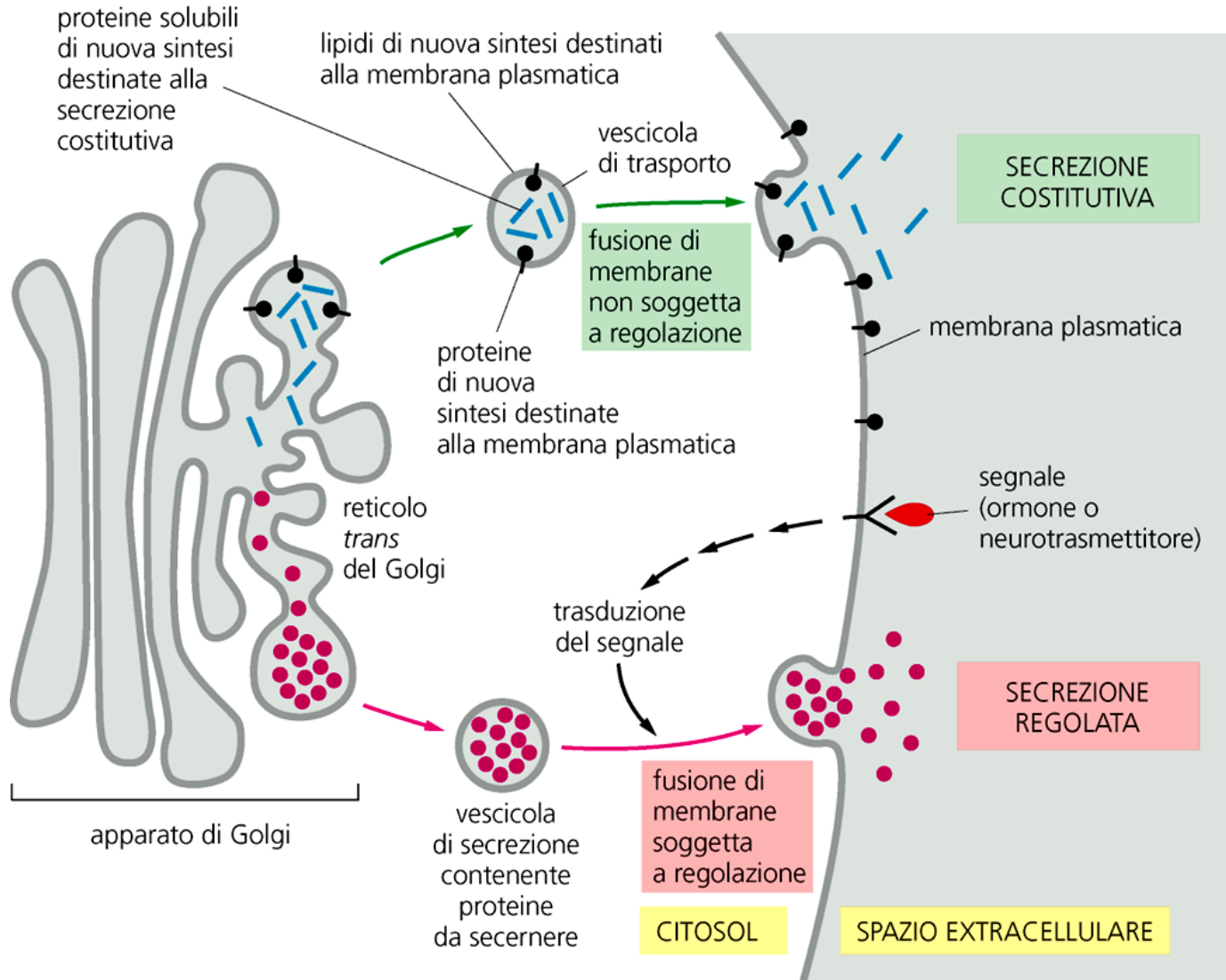
Dalle cisterne trans del Golgi gemmano vescicole per le diverse destinazioni, tra cui le vescicole di secrezione e quelle lisosomiali.

La secrezione può essere **costitutiva**, oppure **regolata**.

La **secrezione costitutiva**, continua e senza necessità di stimoli, riguarda ad esempio la produzione della matrice extracellulare o di nuova membrana.

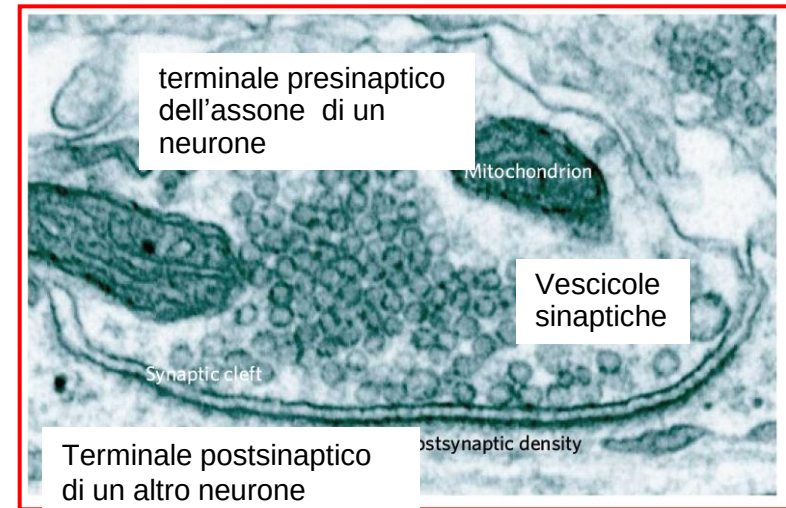
La **secrezione regolata**, tipica ad esempio delle vescicole sinaptiche o del secreto ghiandolare, prevede l'accumulo delle vescicole in attesa di esocitosi che si verifica in risposta a stimoli specifici

Nelle cellule secernenti, l'esocitosi costitutiva e regolata divergono a livello del TGN (reticolo del *trans*-Golgi)

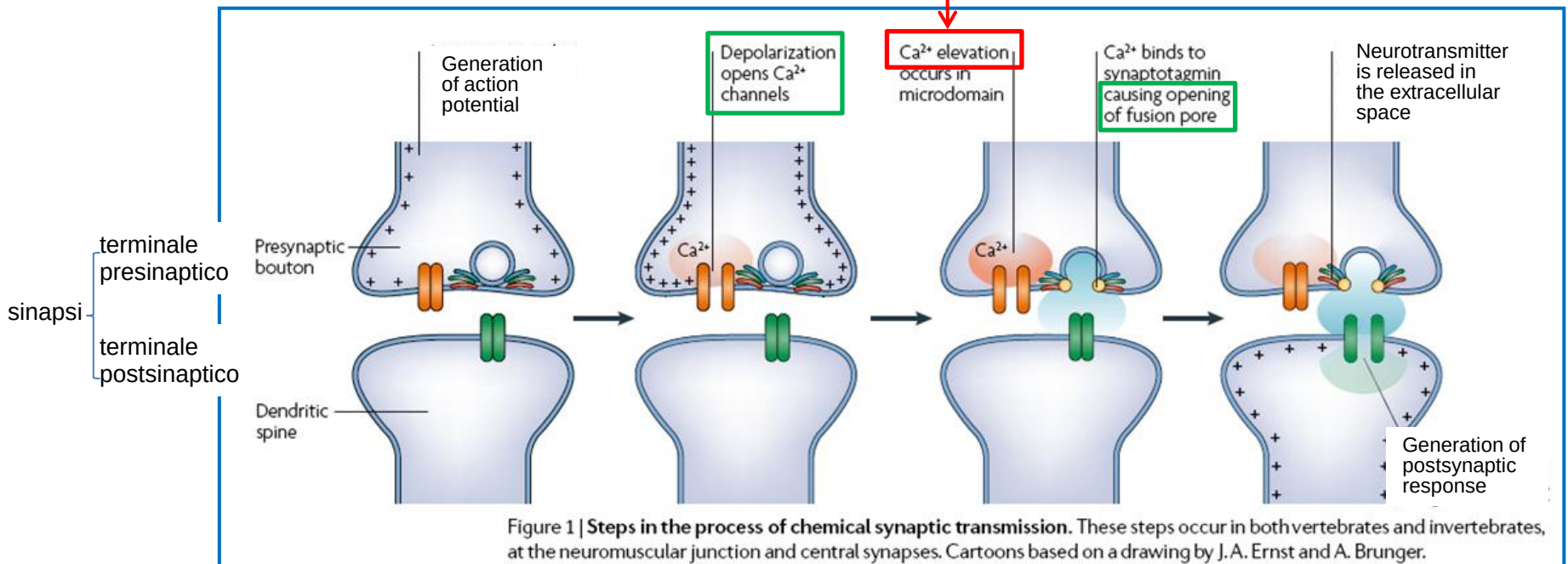


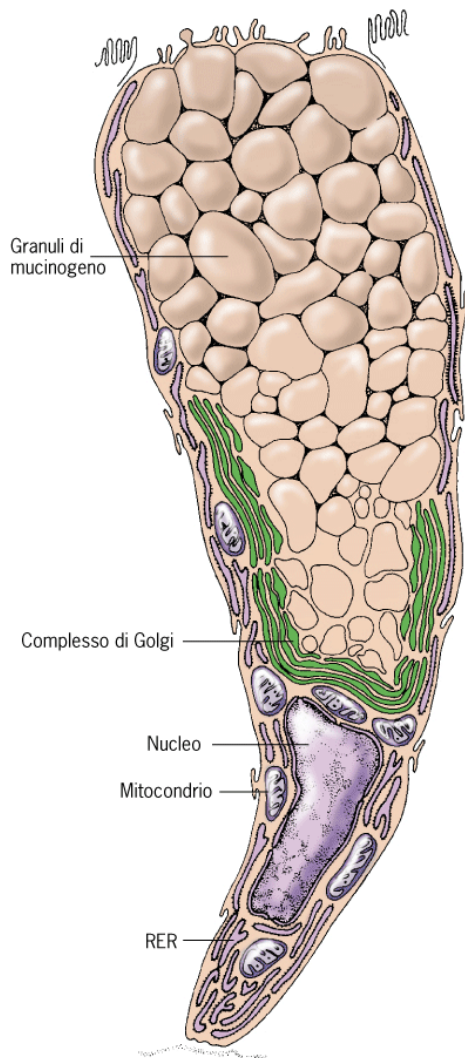
SECREZIONE REGOLATA – es.: neurone

Le vescicole secretorie (vescicole sinaptiche) contenenti il materiale che deve essere secreto (neurotrasmettitore) si accumulano nel citoplasma. Il loro contenuto verrà esocitato in seguito a uno **stimolo**, rappresentato da un **aumento della concentrazione di CALCIO** (es.: prodotto dalla depolarizzazione della membrana presinaptica e apertura dei canali del calcio regolati dal voltaggio)

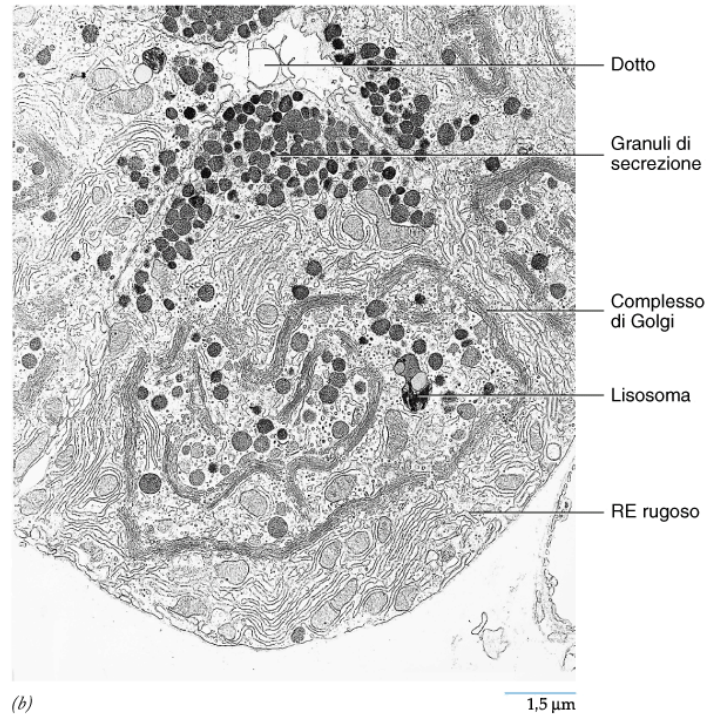


STIMOLO





(a)



(b)

FIGURA 8.11 La struttura polarizzata di una cellula secernente. (a) Disegno di una cellula caliciforme del colon di ratto secernente muco. (b) Fotografia al microscopio elettronico a bassa risoluzione di una cellula secernente muco della ghiandola di Brunner dell'intestino di topo. Entrambi i tipi di cellule mostrano una chiara polarizzazione degli organelli che riflette il loro ruolo nella secrezione di grandi quantità di mucoproteine. Le estremità basali della cellula contengono il nucleo e il RE rugoso. Le proteine sintetizzate nel RE rugoso sono trasportate nel vicino complesso di Golgi e da lì nelle vescicole in cui il prodotto finale di secrezione viene concentrato. Le regioni apicali delle cellule sono riempite con granuli di secrezione contenenti le mucoproteine pronte per il rilascio. (A: DA MARIAN NEUTRA E C. P. LEBLOND, J. CELL BIOL. 30:119, 1966, PER GENT. CONC. DELLA ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS; B: DA ALAIN RAMBOURG E YVES CLERMONT, EUR. J. CELL BIOL. 51:196, 1990).

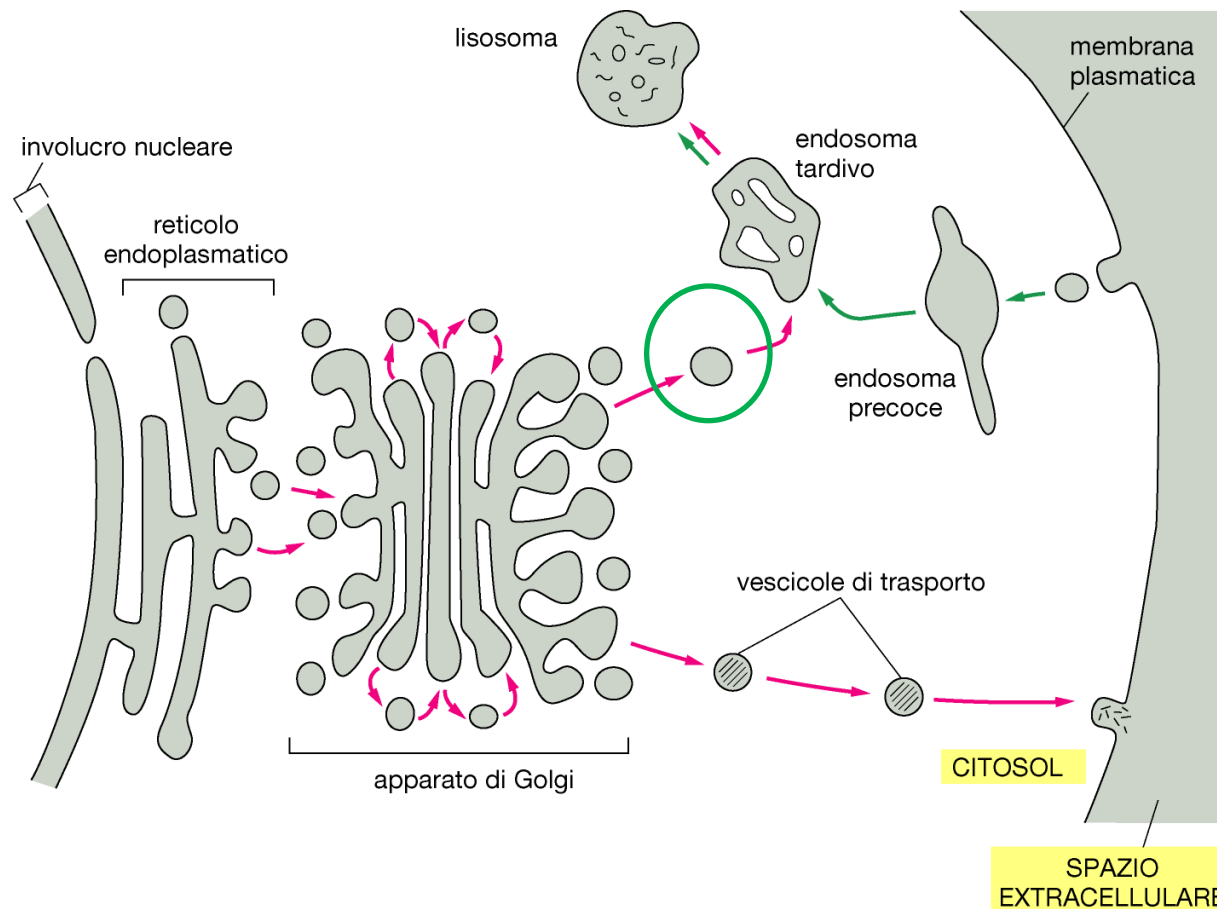
SECREZIONE REGOLATA

Cromatogranina e secretogranina

All'interno del Golgi e delle vescicole secretorie sono presenti proteine come la cromatogranina e secretogranina che provocano la **aggregazione delle proteine secretorie.**

Le vie di secrezione contribuiscono alla formazione dei lisosomi

Oltre alle vescicole di secrezione dal TGN si originano le vescicole **precursori dei lisosomi**: queste vescicole contengono specificamente gli enzimi lisosomiali e sono rivestite da clatrina



I lisosomi

I lisosomi costituiscono il “sistema digestivo” della cellula.

Degradano sia materiale che è stato importato dall'esterno della cellula per endocitosi, sia componenti intracellulari che vanno eliminate (autofagocitosi).

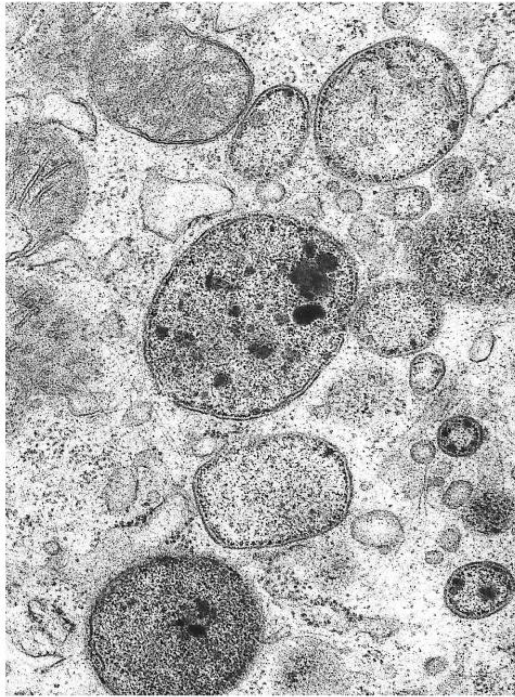


FIGURA 8.33 I lisosomi. Parte di una cellula fagocitica di Kupffer del fegato che mostra almeno 10 lisosomi di dimensioni altamente variabili. (DA HANS GLAUMANN, ET AL., J. CELL BIOL. 67:887, 1975, PER GENT. CONC. DELLA ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS).



Gerald Karp - IV Edizione
Biologia Cellulare e Molecolare
EdiSES

I lisosomi sono organelli delimitati da membrana che contengono numerosi enzimi idrolitici (circa 40 diversi) in grado di degradare tutti i polimeri biologici:

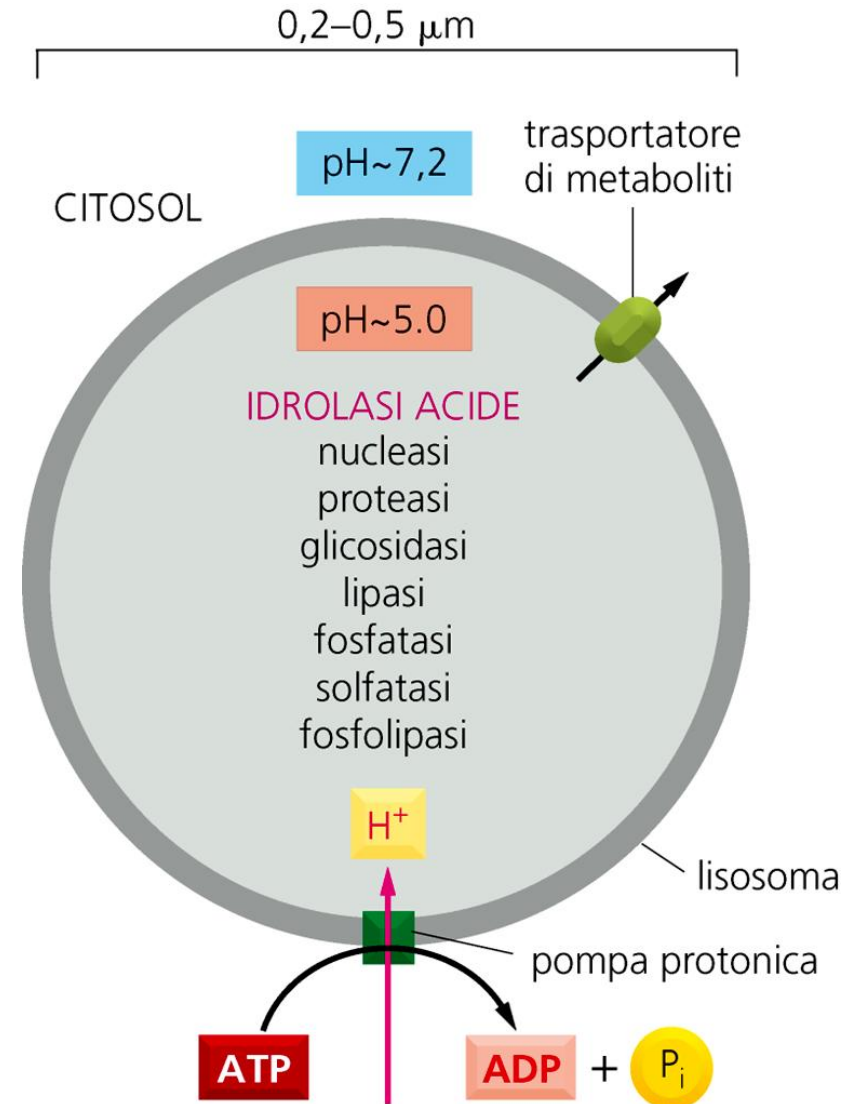
- **NUCLEASI**
- **PROTEASI**
- **POLISACCARIDASI**
- **OLIGOSACCARIDASI**
- **LIPASI**
- **FOSFATASI**

L'azione di questi enzimi permette di ottenere molecole semplici che potranno essere trasportate nel citosol da specifici trasportatori di membrana.

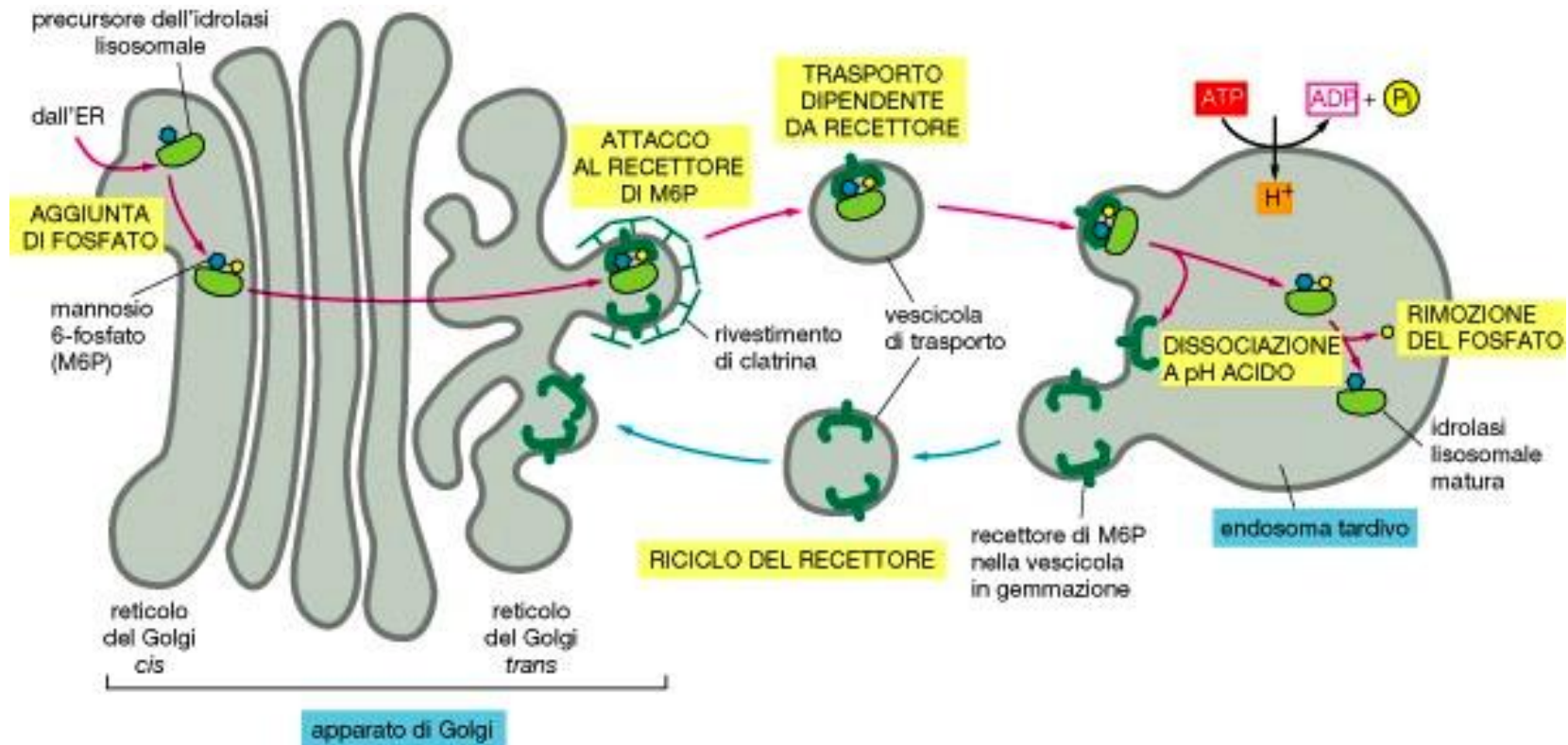
Gli enzimi lisosomiali diventano attivi soltanto a pH acido e per questo motivo sono anche chiamati **IDROLASI ACIDE**.

L'abbassamento del pH all'interno delle vescicole lisosomiali è dovuto alla presenza di pompe protoniche che trasferiscono, contro-gradiente, H^+ dal citosol al lume della vescicole

Il set degli enzimi lisosomiali può variare a seconda del tipo di cellula e dell'organismo considerato, in tutti i casi, però, è sempre presente la **fosfatasi acida**, che è quindi l'**enzima marcatore** dei lisosomi.



Genesi dei Lisosomi



Le **proteine lisosomiali** vengono sintetizzati dal RER, in cui avviene la glicosilazione a livello delle asparagine. Nella cisterna Cis dell'apparato del Golgi i residui **di mannosio delle proteine lisosomiali vengono fosforilati (M-6-P)**.

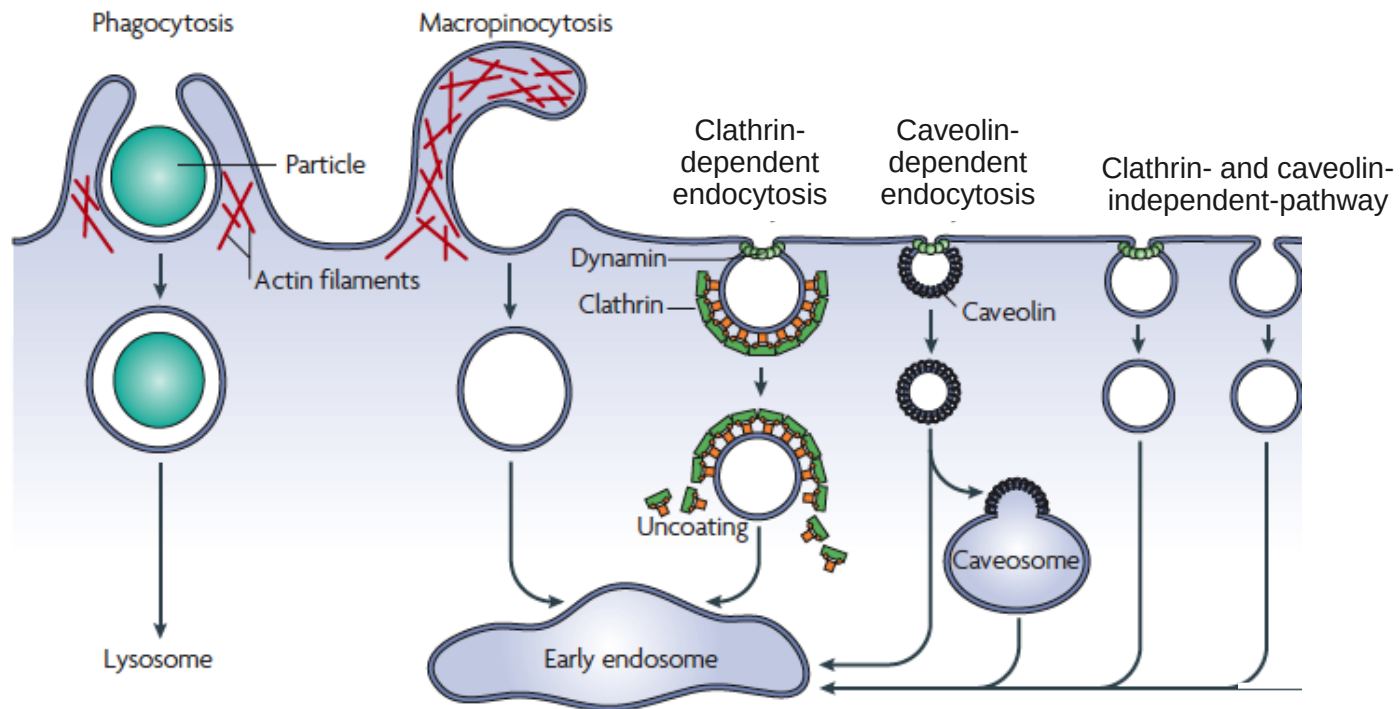
Le proteine lisosomiali così marcate nel TGN vengono riconosciute dal recettore del M-6-P ed incluse in vescicole rivestite da clatrina.

Le vescicole che si staccano dal TGN costituiscono i **lisosomi primari**. Tali organelli sono fortemente elettrondensi. Quando i **lisosomi primari** si fondono con gli **endosomi tardivi** diventano **lisosomi maturi (o secondari)**. Qui avviene il riciclaggio dei recettori del M-6-P mentre le idrolasi lisosomiali trovano le condizioni ottimali per la loro azione (l'acqua e il pH tra 3 e 5).

ENDOCITOSI e FAGOCITOSI

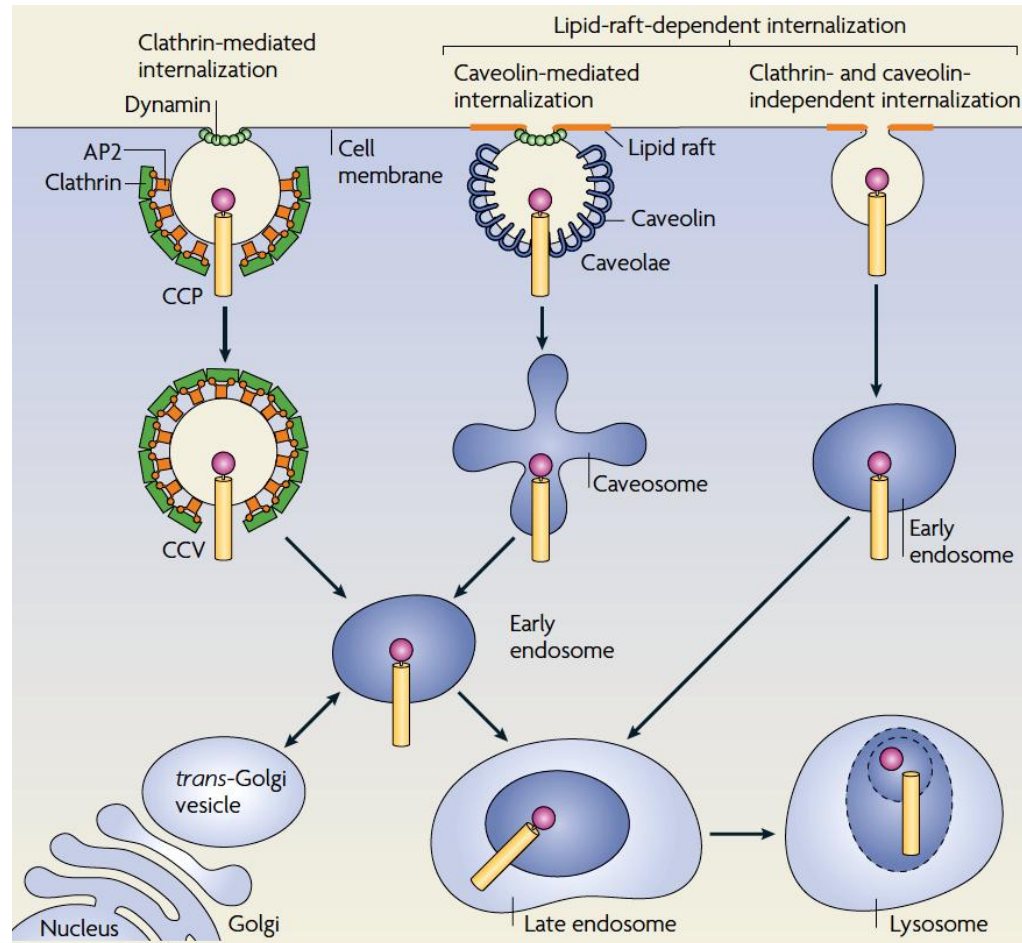
Meccanismi di entrata di materiale nelle cellule tramite strutture vescicolari

Particelle di grandi dimensioni entrano per **fagocitosi** mentre fluidi e molecole solubili entrano per **macropinocitosi**. Entrambi i processi sono dipendenti dai filamenti di actina che sostengono un ampio rimodellamento della membrana plasmatica. Le vescicole di fagocitosi e macropinocitosi sono molto più grandi delle vescicole di endocitosi. Le vescicole di **endocitosi mediata da recettori** sono formate da meccanismi dipendenti da clatrina, da caveolina oppure indipendenti da entrambi.



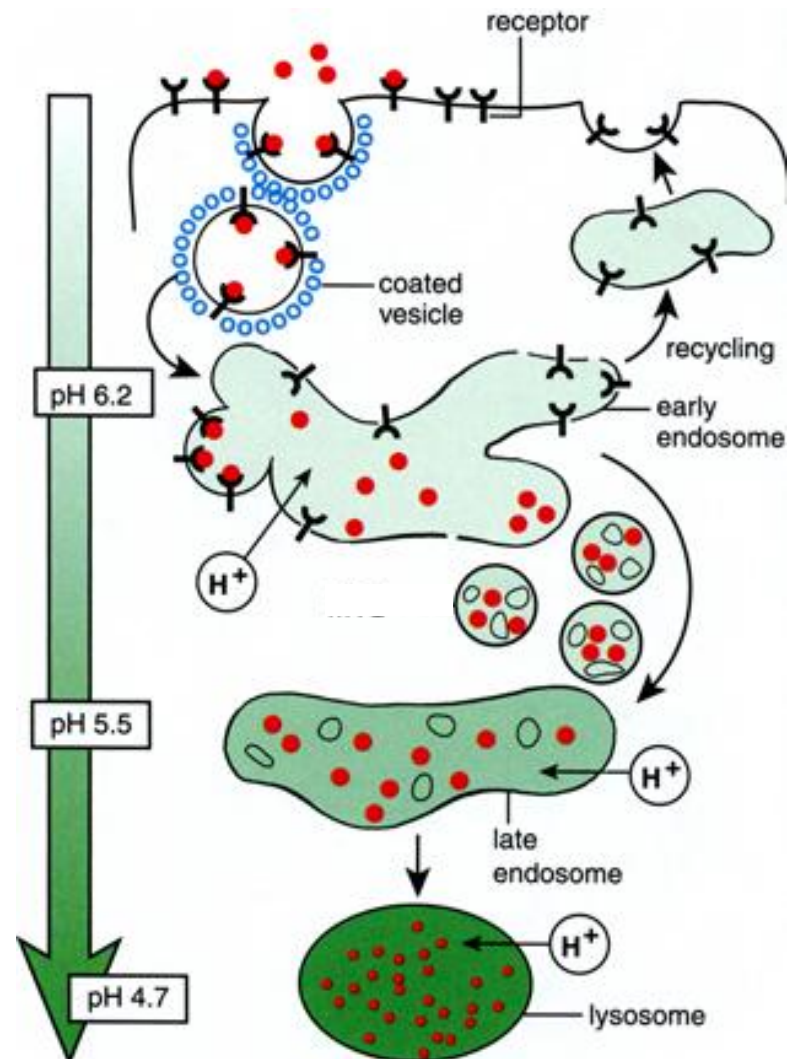
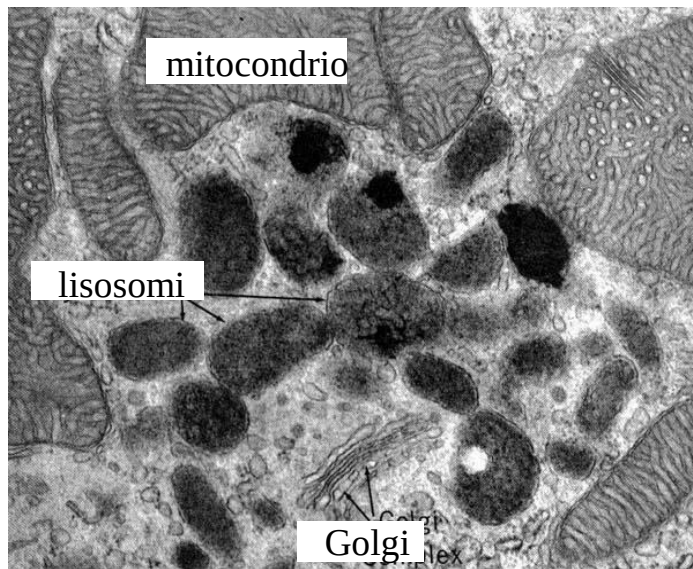
Endocitosi mediata da recettori

Recettori e ligandi possono essere internalizzati dalla superficie della cellula in diversi modi: internalizzazione mediata da **rivestimento di clatrina**, da **caveolina** oppure in modo indipendente sia da clatrina che da caveolina. In questi ultimi due casi, l'internalizzazione avviene in corrispondenza delle “**zattere lipidiche**” (lipid raft).



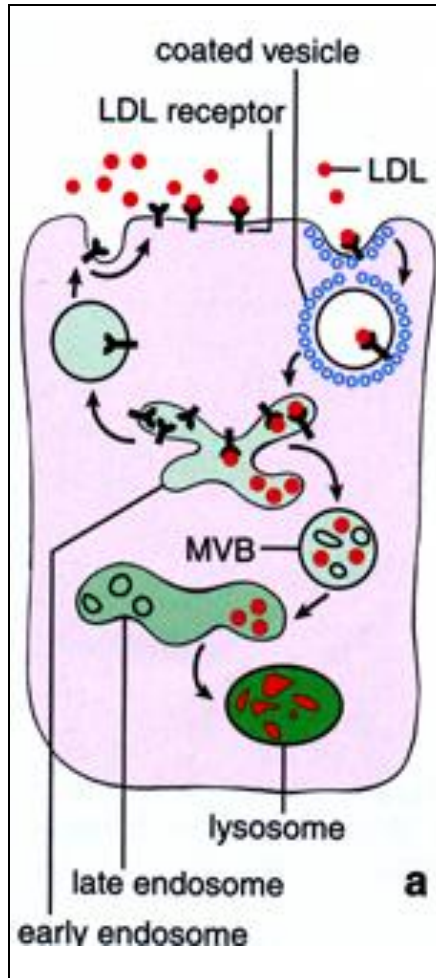
Vescicola di endocitosi---->endosoma precoce--->endosoma tardivo---->lisosoma

I lisosomi si formano dalla fusione di vescicole lisosomiali primarie con **endosomi precoci** (vescicole endocitotiche che hanno perso il rivestimento clatrinico), fagosomi, autofagosomi.... La fusione dell'endosoma con vescicole lisosomiali porta al progressivo aumento del numero di pompe protoniche e al conseguente **abbassamento del pH**. L'abbassamento del pH favorisce il distacco tra ligando e recettore, la denaturazione delle molecole e infine la loro degradazione quando il pH raggiunge il valore di circa 5.0 (nei lisosomi maturi), al quale sono attive le idrolasi acide.

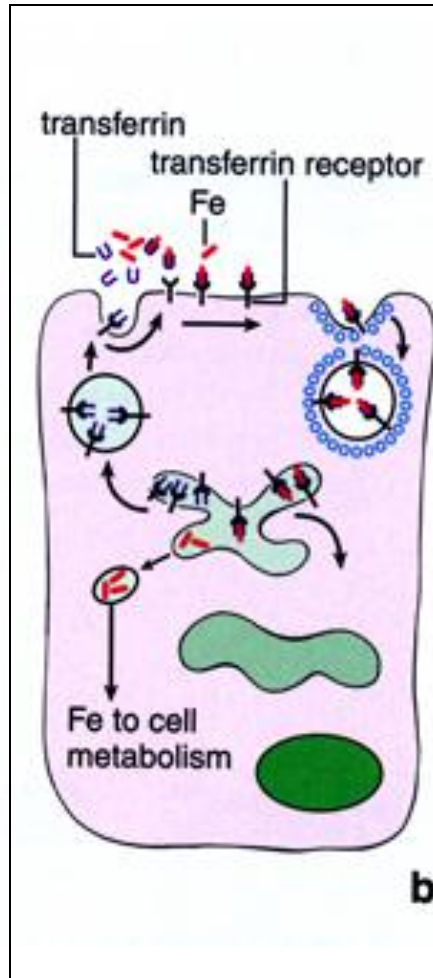


L'endocitosi di nutrienti e fattori di crescita può seguire destini diversi:

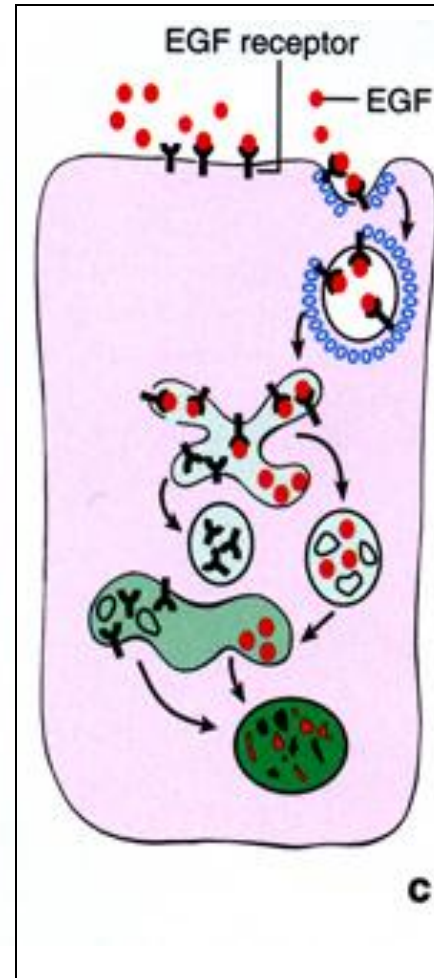
Recettore riciclato e
ligando degradato



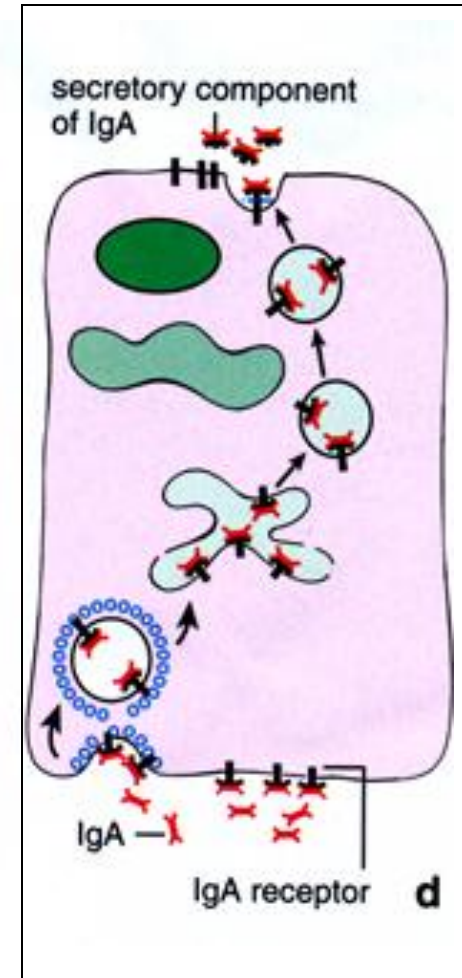
Recettore e ligando
riciclati



Recettore e ligando
degradati



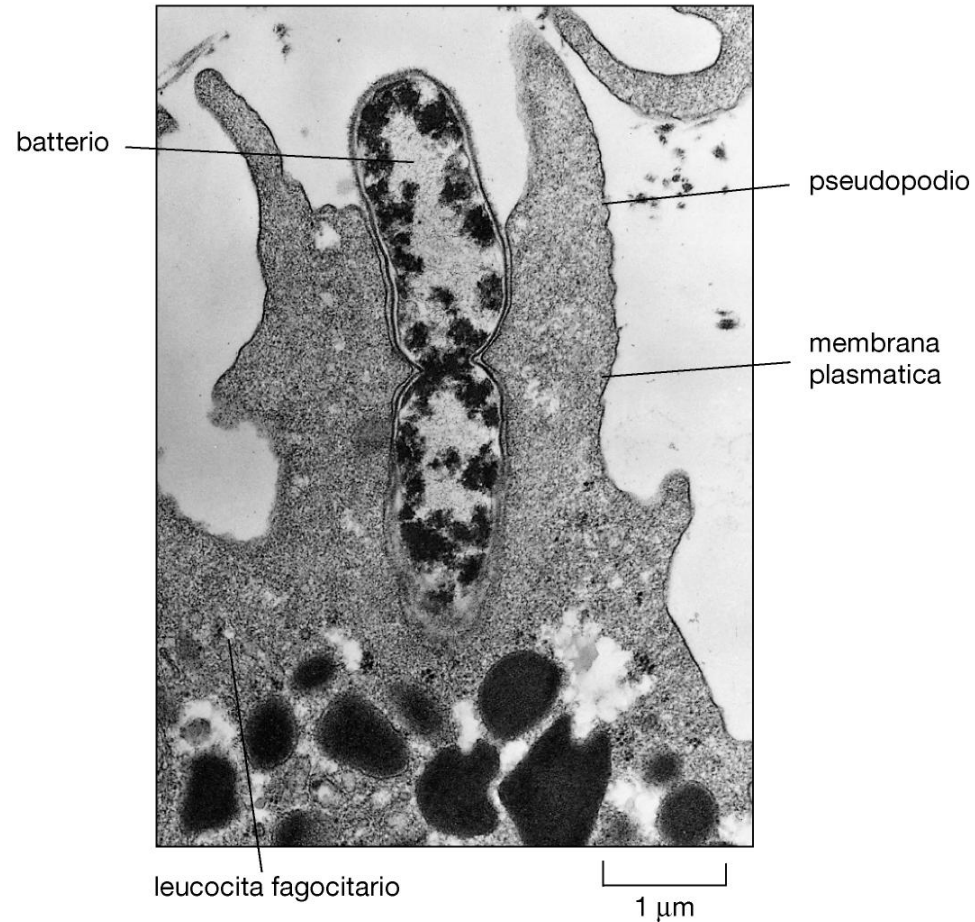
Recettore e ligando
trasportati (transcitosi)



Fagocitosi

La fagocitosi è un'attività presente soprattutto in cellule specializzate, come per esempio i leucociti fagocitari (**macrofagi**, **granulociti**) dei vertebrati ed è mirata all'**ingestione** a scopo di difesa di oggetti come batteri, cellule o frammenti cellulari.

Dopo il riconoscimento della particella da fagocitare (spesso attraverso specifici recettori di membrana), la membrana della cellula si solleva in pseudopodi che svolgono un'azione avvolgente, mentre la porzione di membrana sottostante alla particella si introflette, trascinando infine la "preda" verso l'interno contenuta in un **fagosoma**



Nota : la membrana del fagosoma è singola mentre quella dell'autofagosoma è doppia.

L'**autofagia** è un meccanismo, evolutivamente conservato, che ha l'importante funzione di **eliminare gli organelli superflui o danneggiati** (ad esempio mitocondri, parte di RER o REL, perossisomi) o proteine enzimatiche e strutturali danneggiate.

L'autofagia è un processo **regolato**; è attivato da specifici segnali ormonali o dalla carenza di aminoacidi nella cellula.

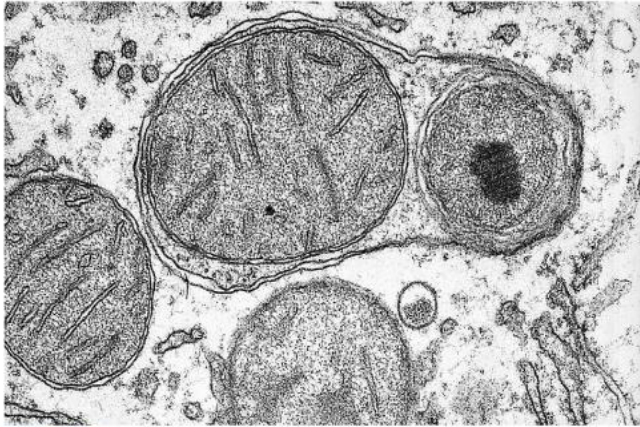
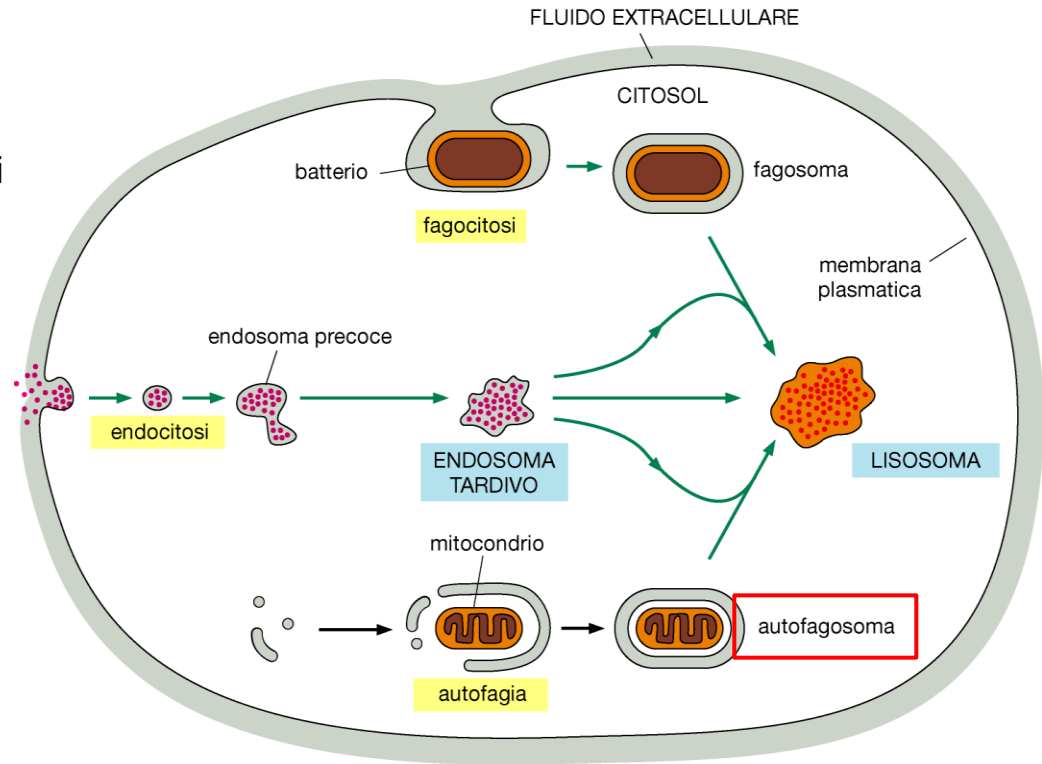


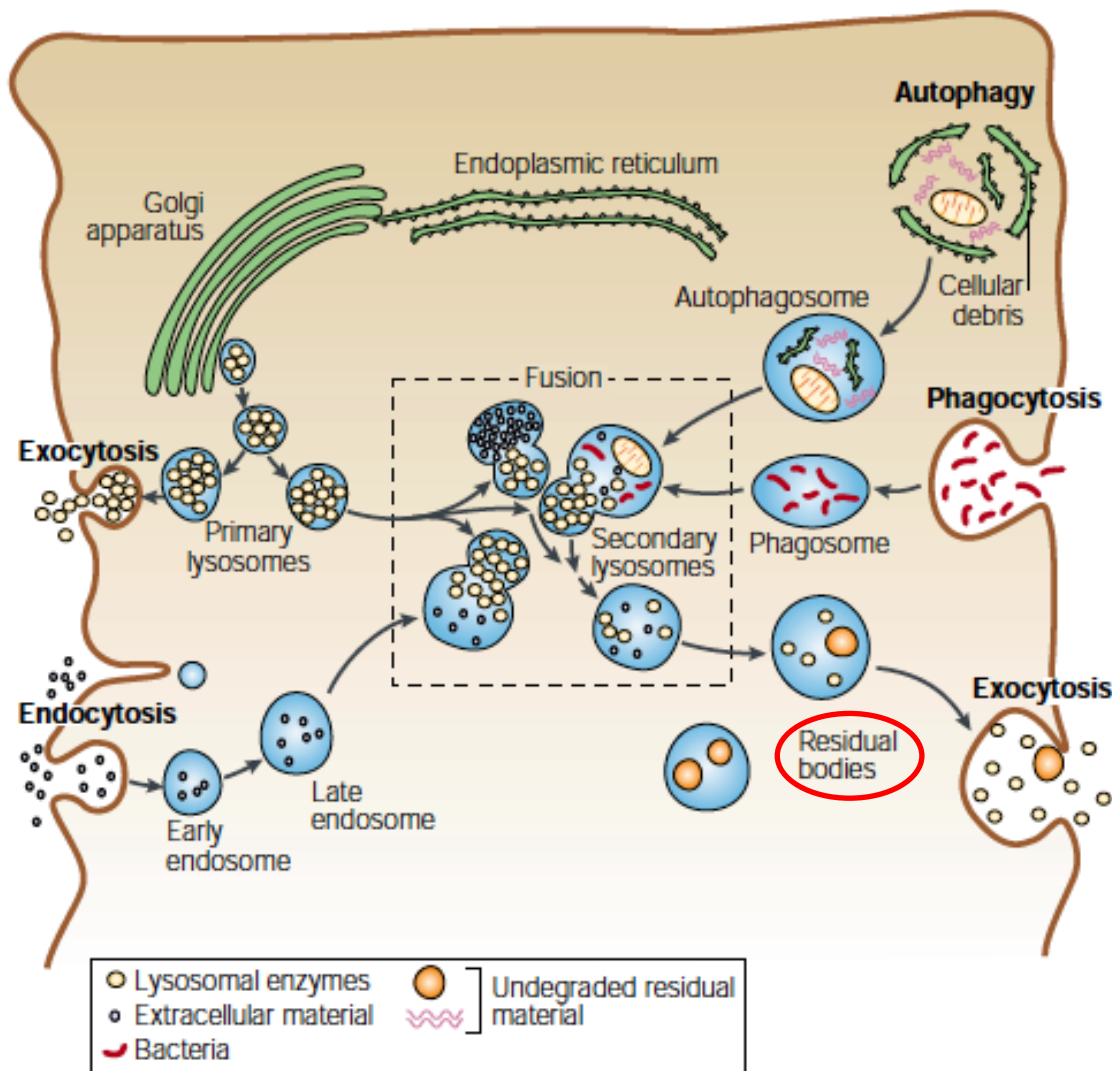
FIGURA 8.34 Autofagia. Questa fotografia al microscopio elettronico mostra un mitocondrio e un perossisoma racchiusi in un involucro a doppia membrana derivato dal RE. Questo vacuolo autofagico (o autofagosoma) deve fondersi con un lisosoma e il suo contenuto essere digerito. (DA DON FAWCETT E DANIEL FRIEND/FOTO RESEARCHERS).

Autofagia



Il processo autofagico inizia con:

1) il segnale che induce la formazione della **membrana di isolamento** (una doppia membrana in crescita). 2) La membrana di isolamento avvolge una regione citoplasmatica, formando una vescicola circondata da una doppia membrana, denominata **autofagosoma o vacuolo autofagico**, che poi fonde con i lisosomi primari e forma l'**autolisosoma**, dove il materiale è degradato.



I corpi residui

Il materiale residuo della degradazione idrolitica che avviene nei lisosomi è concentrato in “**corpi residui**” ed eliminato dalla cellula per esocitosi. Con l’avanzare dell’età, i corpi residui si accumulano nelle cellule di alcuni tessuti e appaiono come granuli scuri di lipofuscina