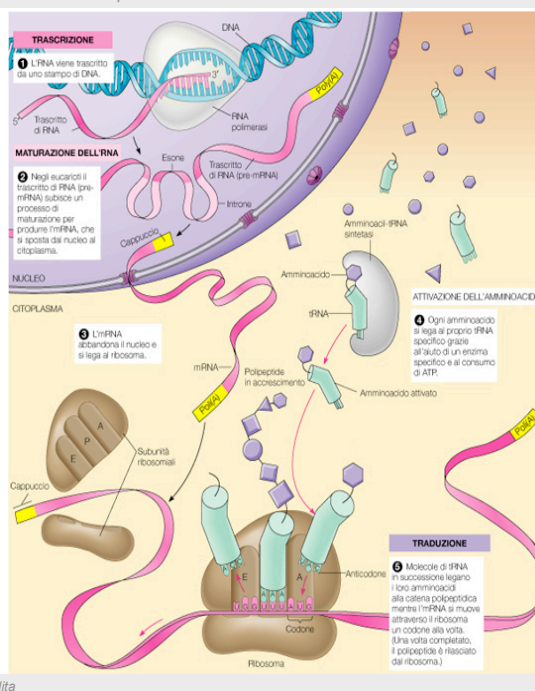


Sintesi e smistamento delle proteine

1

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

La sintesi proteica inizia sempre nello stesso modo:
 aggancio della piccola subunità ribosomiale all'estremità 5' dell'mRNA.
 si aggancia la grande subunità ribosomiale in corrispondenza del codone di inizio "AUG".
 Il primo a.a. al N-terminale è dunque una metionina (Met)
 La sintesi proteica inizia con la lettura dell'mRNA nella direzione 5' → 3'.
 A questo punto, se i primi a.a. sintetizzati corrispondono al "peptide segnale" allora la sintesi potrà proseguire soltanto in corrispondenza della membrana del RER.
 Negli altri casi il ribosoma rimane "libero" e la sintesi prosegue fino allo stop codon.



Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

E' la proteina nascente a determinare se il ribosoma che catalizza la sua sintesi deve rimanere libero oppure essere associato alla membrana del RER.

Proteine che hanno destinazione finale in un compartimento dell'elenco 1 sono sintetizzate da ribosomi liberi mentre proteine che hanno destinazione finale in un compartimento dell'elenco 2 guidano il ribosoma che le traduce verso il RER.

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

La sequenza delle proteine determina non soltanto le loro regolazioni e funzioni ma anche la loro localizzazione.

4

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

L'informazione sulla localizzazione finale delle proteine è contenuta nella loro sequenza amminoacidica

Esempi di sequenze di localizzazione:

Importazione nel nucleo (NLS)	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Exportazione dal nucleo (NES)	-Ieu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu_Asp_Ile-
Importazione nel RER (peptide segnale):	H2N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu- Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe- Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln- Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Ritorno al RER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COOH
Importazione nella matrice del mitocondrio	H2N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser- Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala- Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser- Arg-Tyr-Leu-Leu-
Importazione nei perossisomi (PTS1)	-Ser-Lys-Leu-COOH

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Assenza di peptide segnale (traslocazione post-traduzionale)

Peptide segnale ---> RER (traslocazione co-traduzionale)

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Proteine con sequenze di localizzazione nucleare oppure sequenze di localizzazione mitocondriali oppure sequenze di localizzazione perossisomiali oppure sequenze di localizzazione cloroplastica (cellule vegetali).

7

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Sequenza di localizzazione nucleare (NLS):
 Proteine di trasporto tipo "importine" accompagnano le proteine che possiedono una sequenza "NLS" nel passaggio dal citoplasma al nucleoplasma attraverso i pori nucleari.

8

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

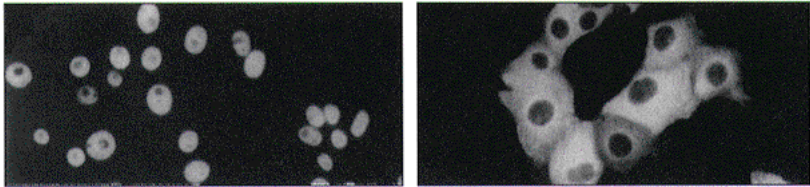
Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Se la sequenza NLS è mutata, la proteina non viene più trasportata dal citoplasma al nucleoplasma.

(A): sequenza NLS corretta: la proteina ha una localizzazione nucleare
 (B): stessa proteina messa in evidenza in (A) ma con una mutazione puntiforme nella sequenza NLS (a.a. treonina in sostituzione della seconda lisina della sequenza NLS): la localizzazione è chiaramente citoplasmatica e non più nucleare perché la proteina mutata non è più riconosciuta dall'importina.

(A) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING WILD-TYPE NUCLEAR IMPORT SIGNAL
 Pro — Pro — Lys — Lys — Lys — Arg — Lys — Val —

(B) LOCALIZATION OF T-ANTIGEN CONTAINING A MUTATED NUCLEAR IMPORT SIGNAL
 Pro — Pro — Lys — Thr — Lys — Arg — Lys — Val —



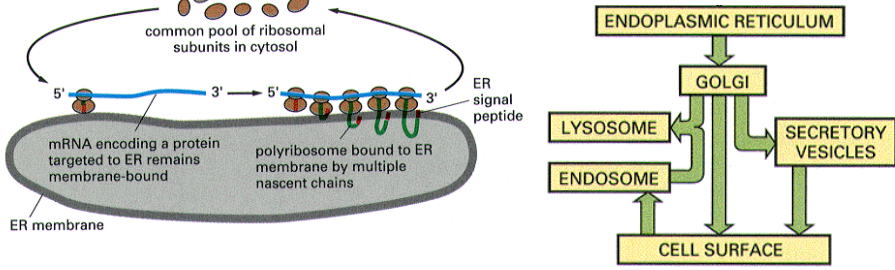
9

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Smistamento delle proteine della via secretoria

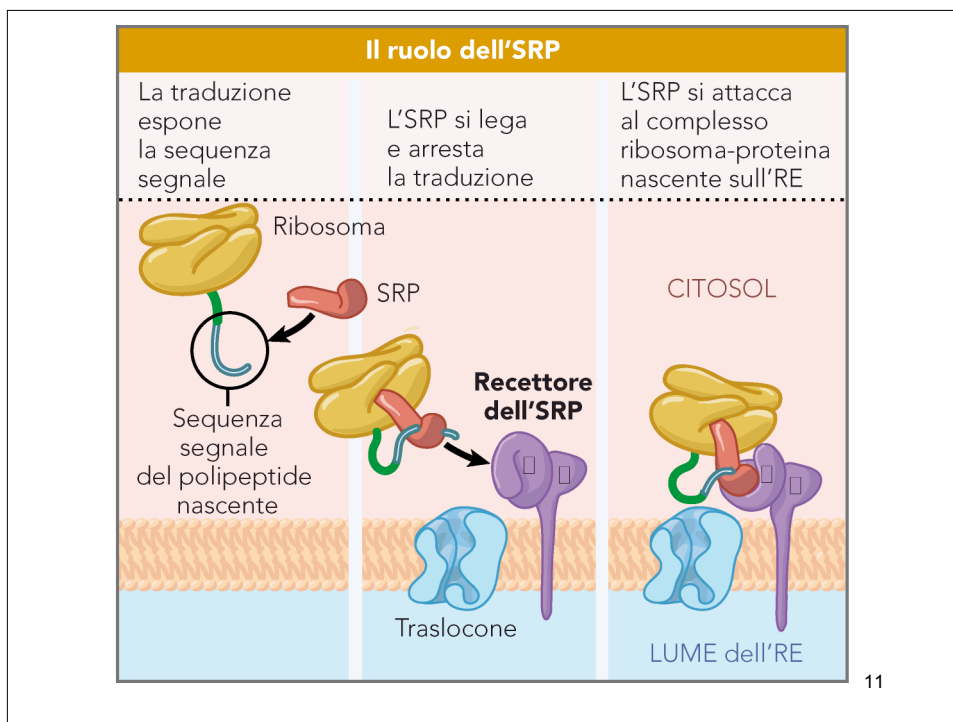
Con alcune eccezioni, le sequenze delle proteine della via “secretoria” iniziano con al N-terminale il peptide segnale



Nota: anche se chiamata genericamente via “secretoria”, proteine di questa via possono avere come localizzazione finale uno qualsiasi dei compartimenti elencati ed essere solubili, associate a membrane oppure transmembrana.

10

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita



Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Function of Signal Peptide	Example of Signal Peptide
Import into ER	$^{\text{H}}$ ³ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser- Leu-Leu-Leu-Val Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu- Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
1- La sintesi del polipeptide inizia su di un ribosoma libero nel citosol	4- SRP abbandona il complesso, la sintesi proteica riprende. La proteina nascente attraversa contemporaneamente
2- la proteina SRP si lega al peptide segnale e blocca temporaneamente la sintesi proteica	5- un enzima idrolitico rimuove il peptide segnale della proteina
3- SRP si lega ad un recettore posto sulla membrana del RE. Tale recettore fa parte del complesso di trasferimento o traslocone che forma un poro sulla membrana del RE e lega il peptide segnale	6- In assenza di altro segnale, raggiunto il codone di stop, il ribosoma si sgancia dall'mRNA e la proteina è localizzata nel lume del RER

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Le proteine SRP sono riciclate

Il traslocone è un poro proteico tappato sul versante del lume del RE che si apre soltanto dopo interazione con un ribosoma.

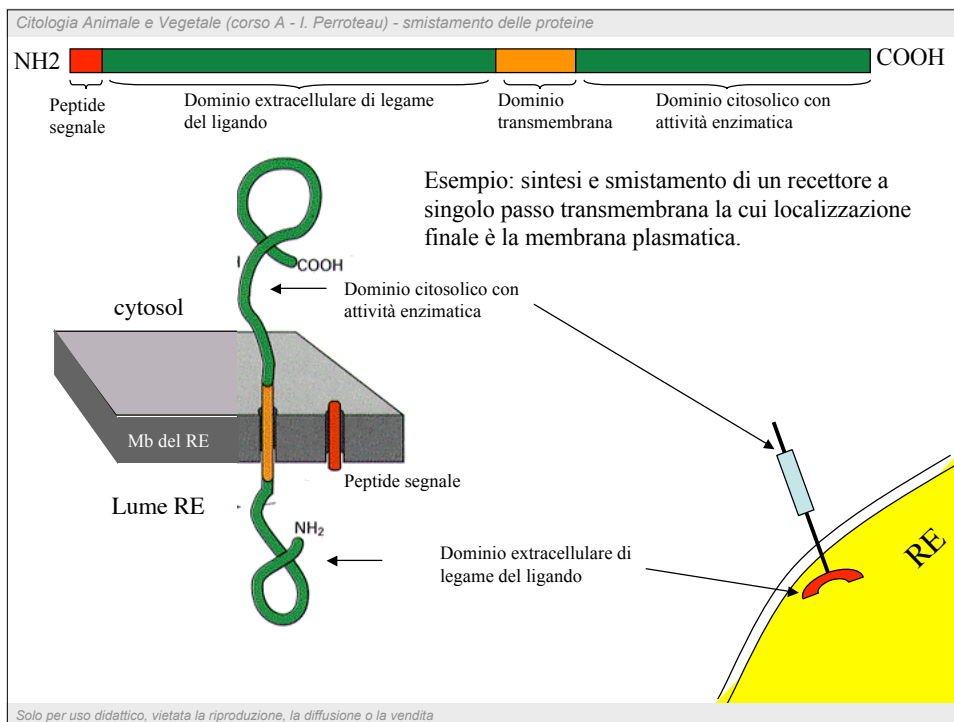
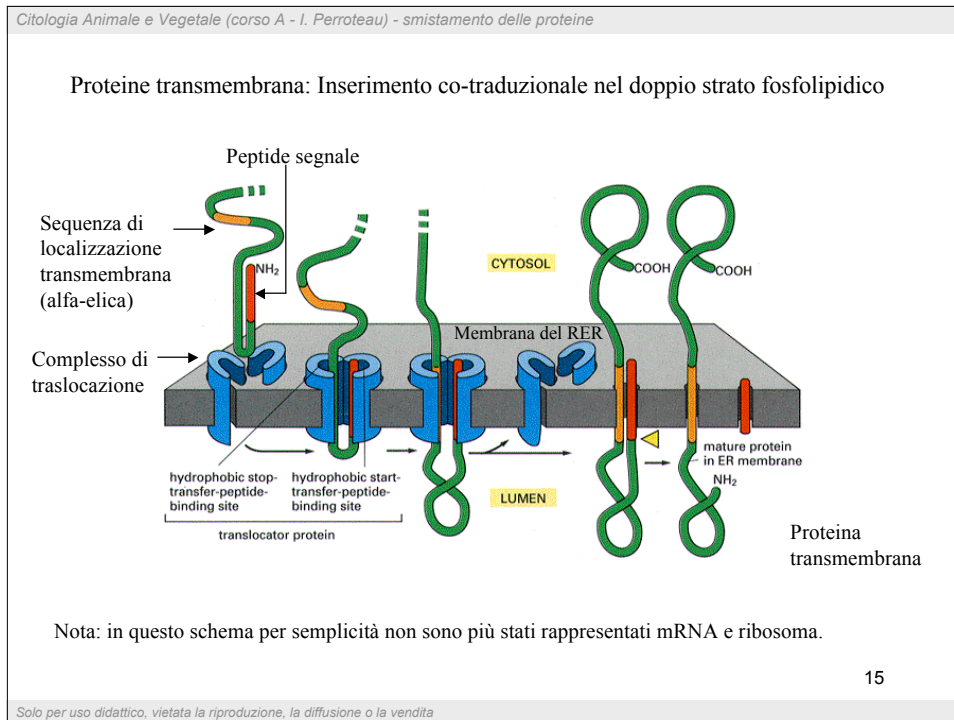
13

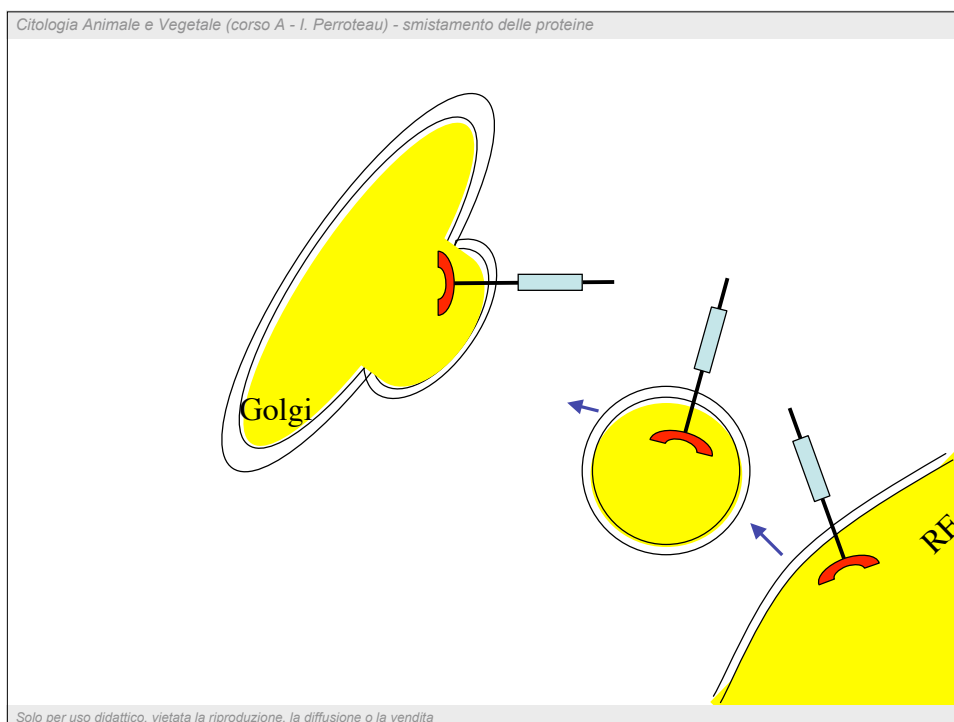
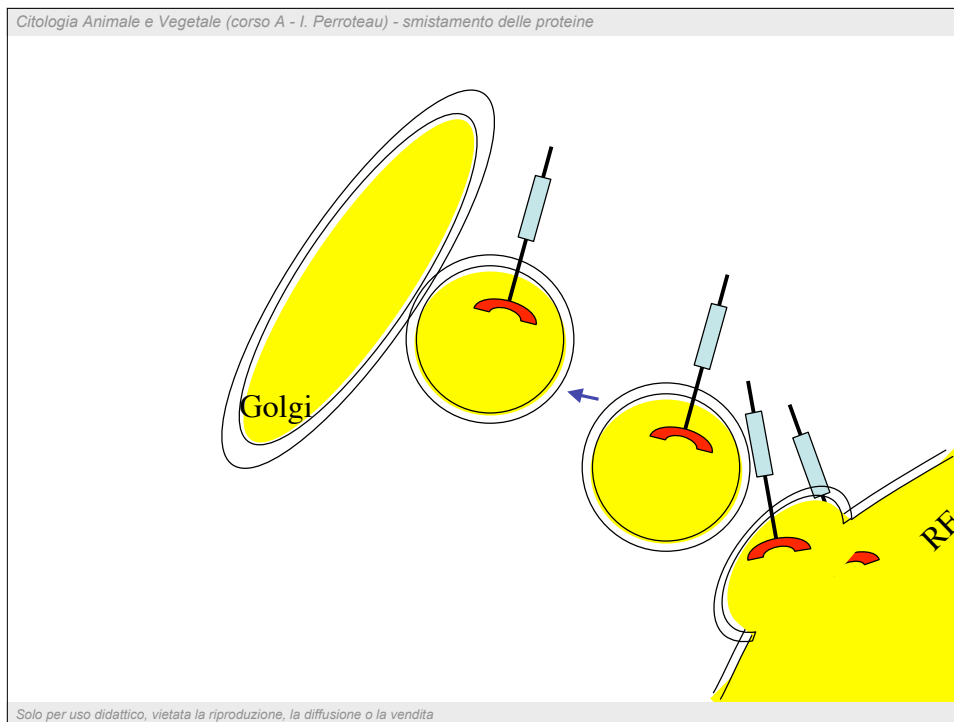
Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

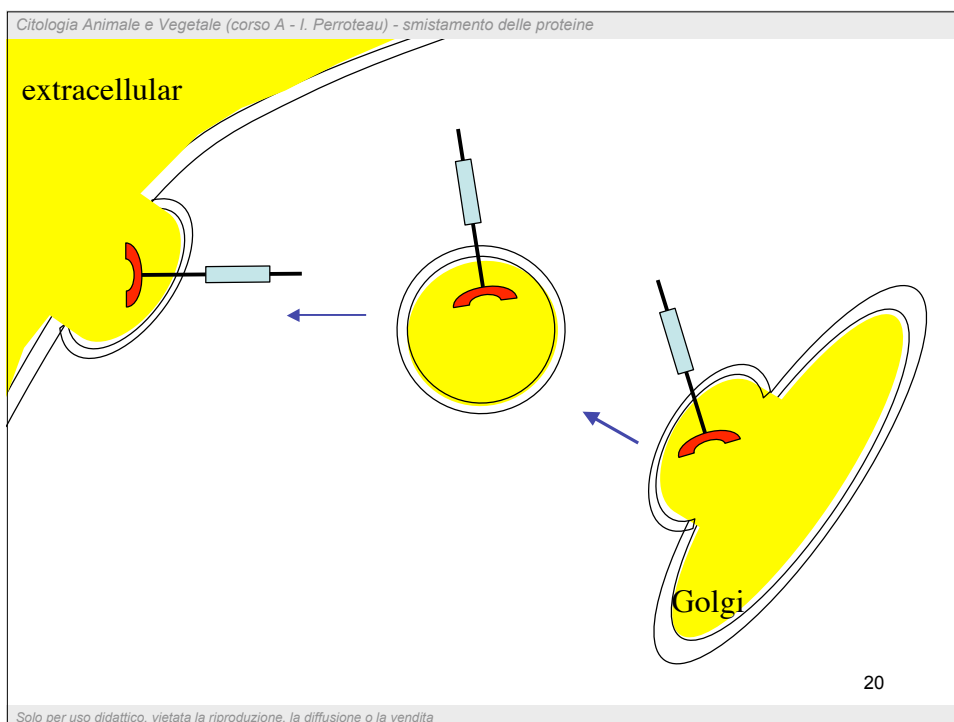
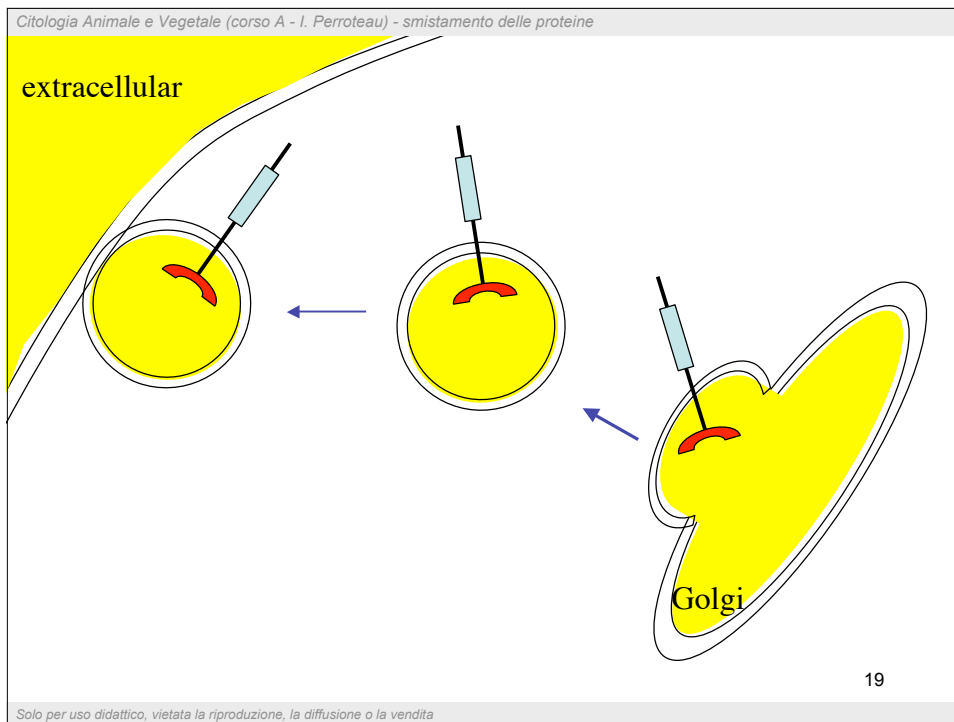
Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

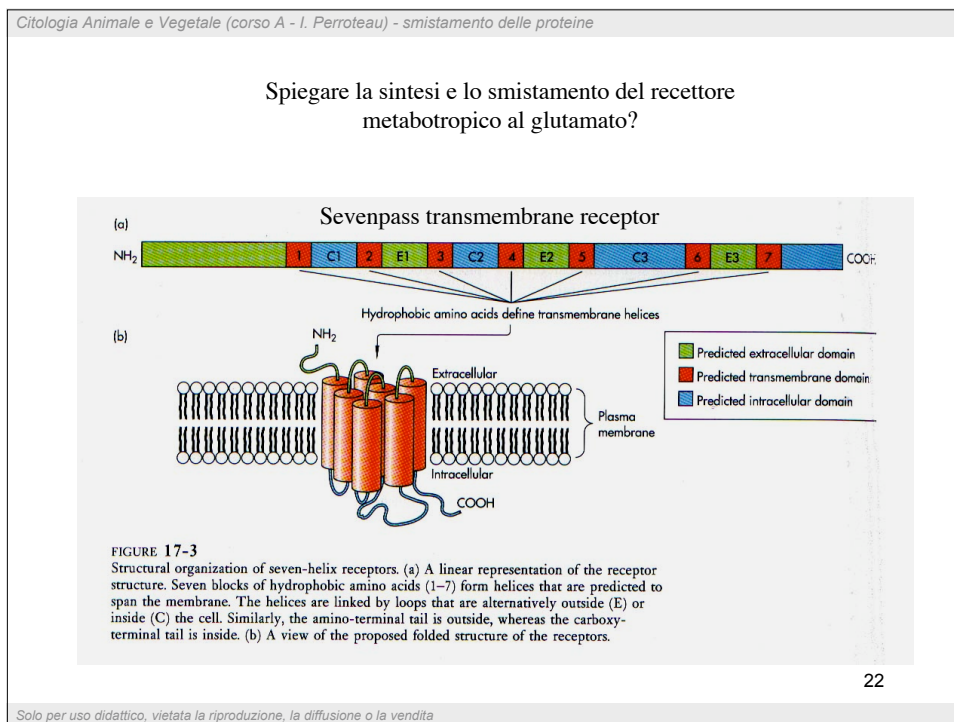
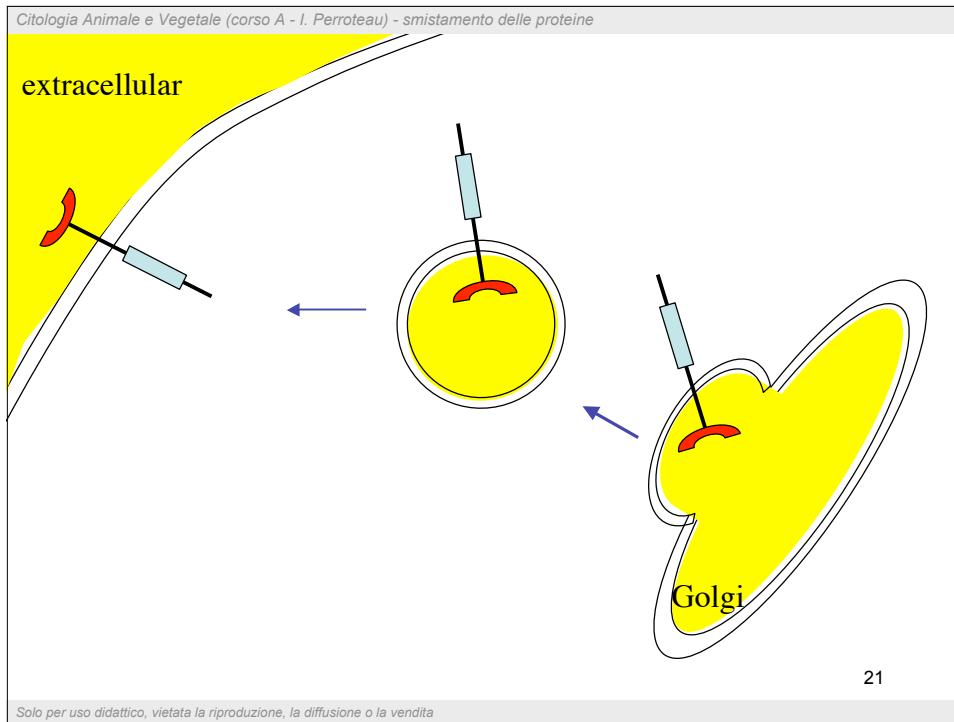
Smistamento di una proteina di secrezione: RE --> Golgi --> vescicola di secrezione --> spazio extracellulare

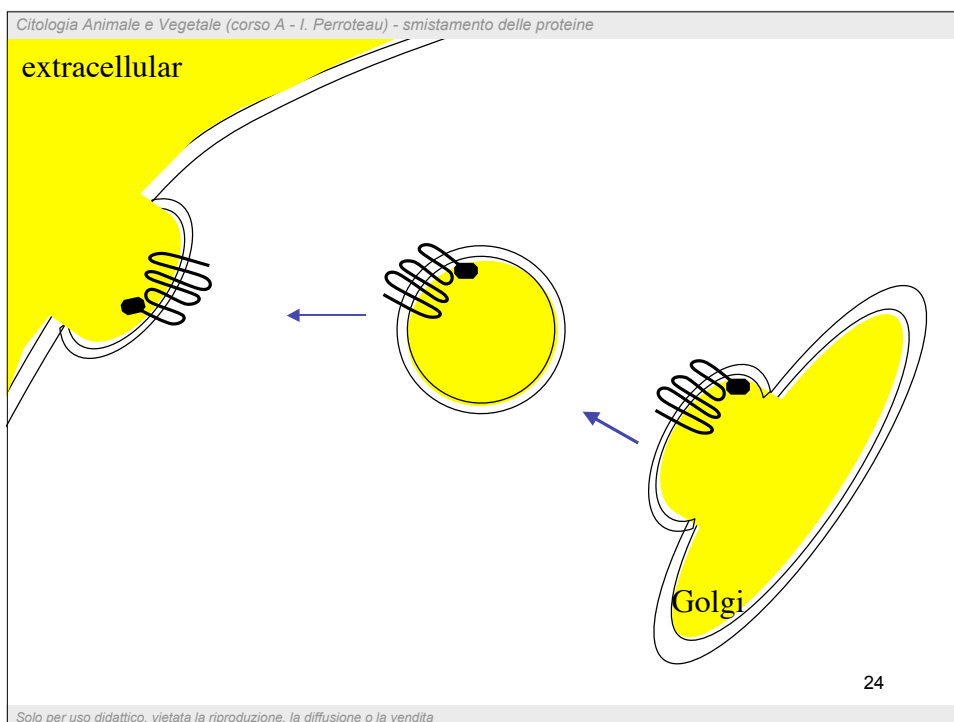
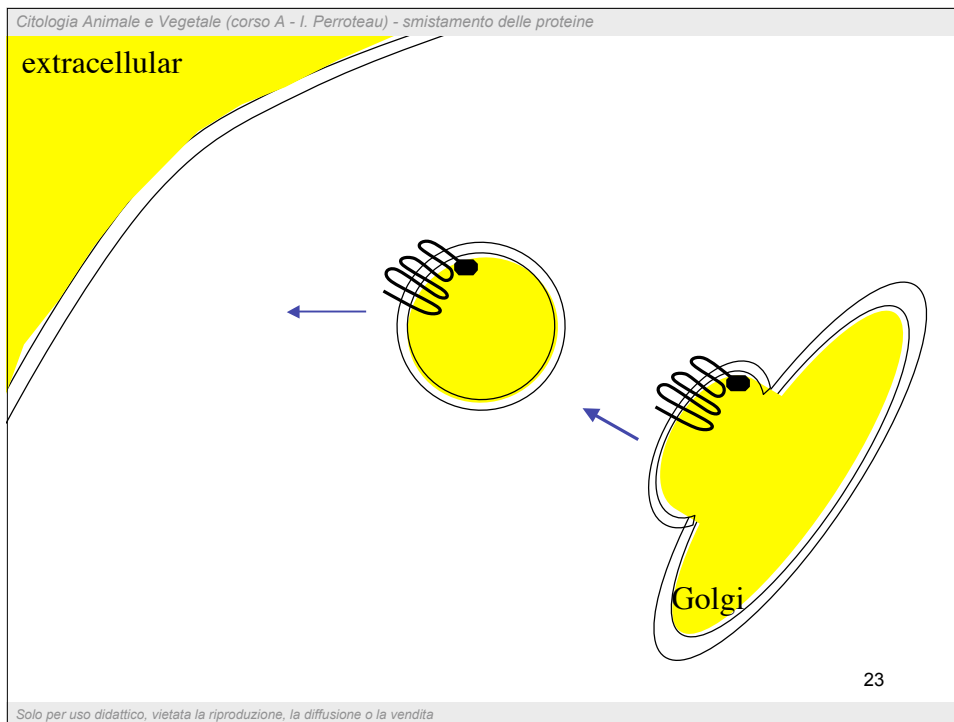
Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita

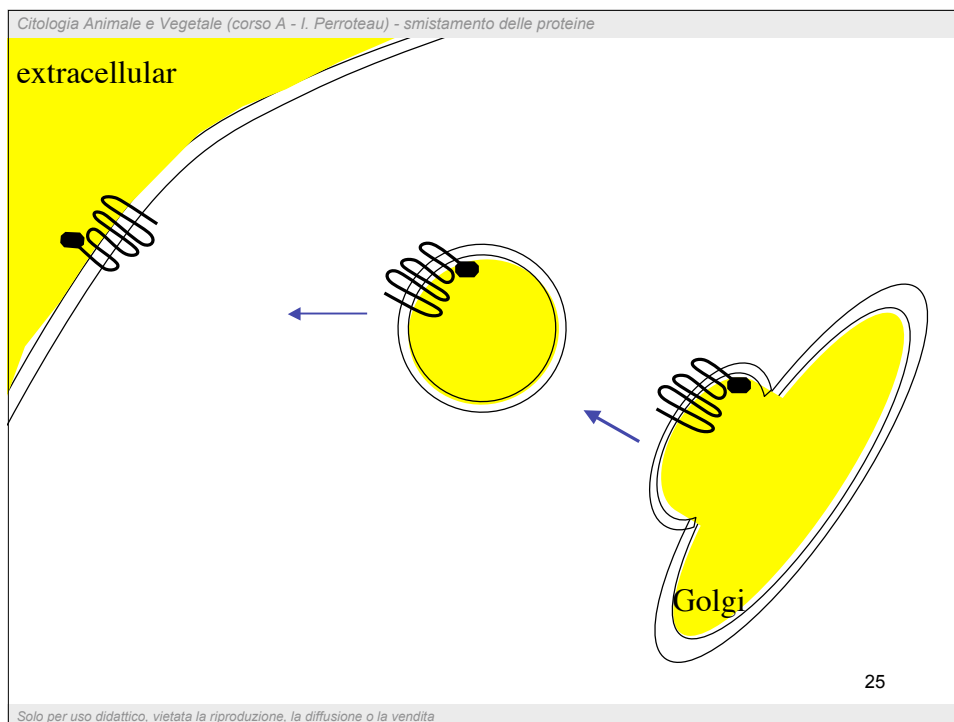












Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Proteine di membrana (ma non transmembrana) ancorate a lipidi

- 1 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

Proteine di membrana integrali

Proteine di membrana ancorate ad un lipide

SUPERFICIE ESTERNA

SUPERFICIE INTERNA

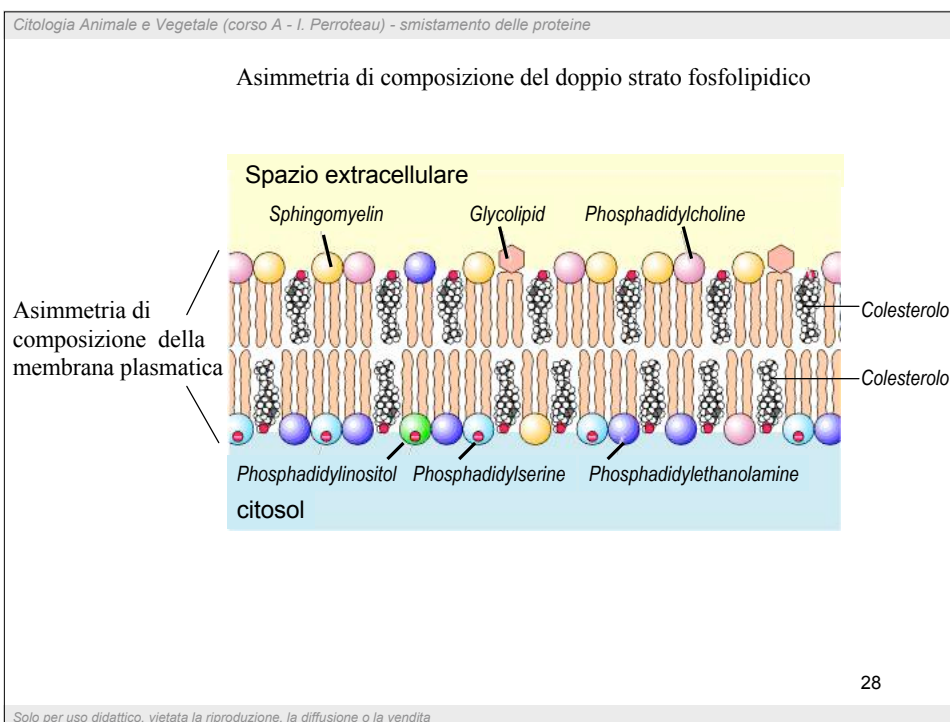
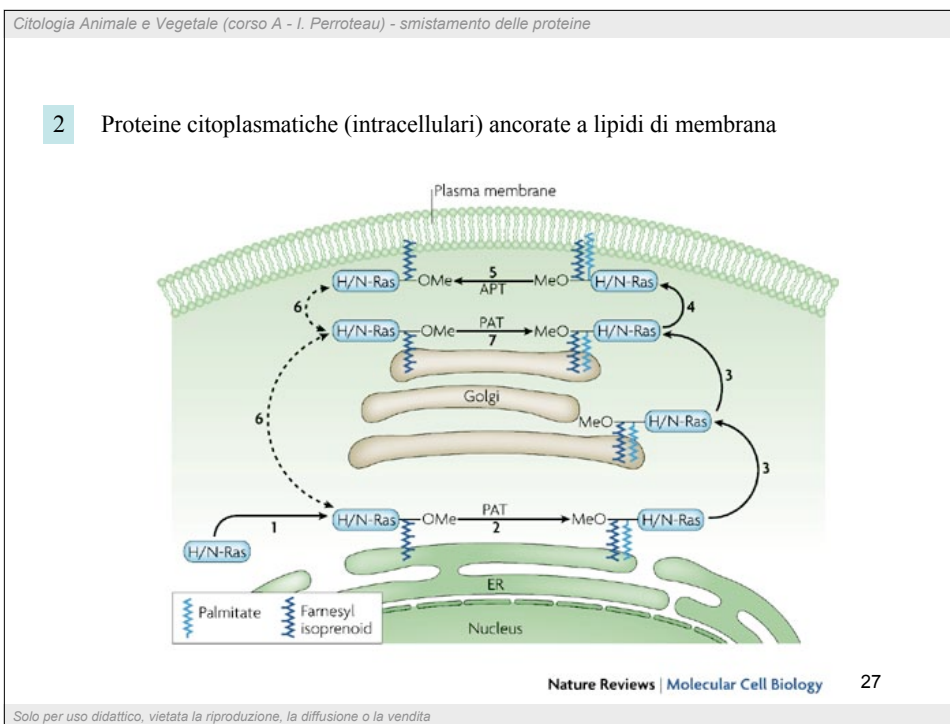
(b) Proteina monopasso (c) Proteina multipasso (d) Proteina multi-merica (e) Proteina di membrana periferica (g) Ancora a GPI

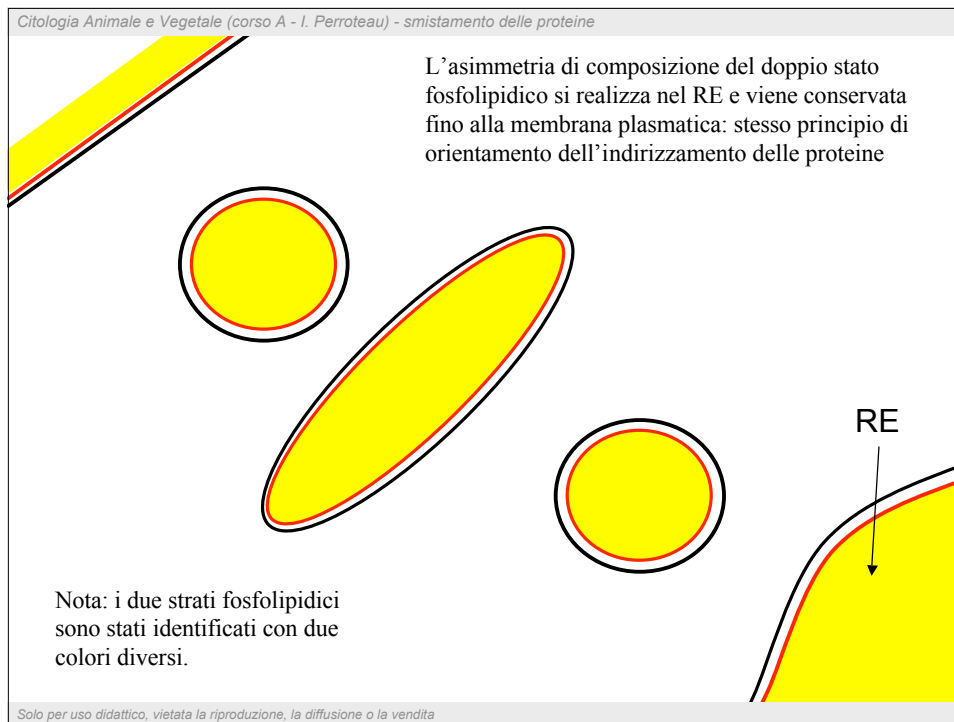
1 Ancora ad un acido grasso o a un gruppo prenile

- 2 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 a vescicole (vedi diapo successiva)

26

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita





Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - smistamento delle proteine

Per rivedere i concetti di questa lezione e preparare le prossime:

Reticolo endoplasmatico, Golgi, Lisosomi, vescicole
(Colombo Cap.5, pp97-141)

Strutture e funzioni del RE (liscio e rugoso), modifiche post-traduzionali delle proteine, glicoproteine

Strutture e funzioni dell'apparato di Golgi: cisterne con funzioni differenziate, smistamento delle proteine dall'apparato di Golgi, indirizzamento delle proteine ai lisosomi

Struttura e funzione dei lisosomi

Formazione e fusione delle vescicole.

30

Solo per uso didattico, vietata la riproduzione, la diffusione o la vendita