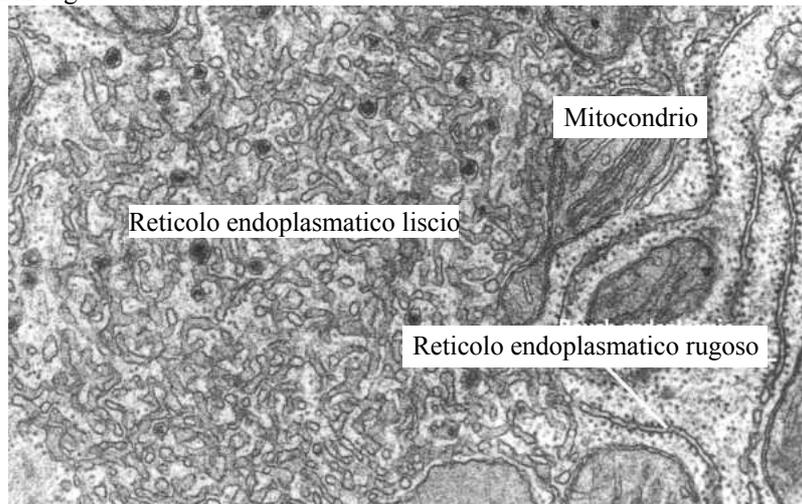


Citologia del Reticolo Endoplasmatico

1

In microscopia elettronica si distinguono due tipi di fondamentali di RE che svolgono funzioni diversi e differiscono per la loro composizione chimica: il RE rugoso e il Re liscio



2

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Il reticolo endoplasmatico (RE) è un insieme di cisterne e tubi membranosi che delimitano un complesso di cavità ampiamente intercomunicanti. Lo stesso involucro nucleare deve essere considerato come una specializzazione del RE

Randy Moore, Dennis Clark, and Darrell Vodopich, Botany Visual Resource Library © 1998 The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Three-Dimensional Endoplasmic Reticulum

Anche se strutturalmente e funzionalmente distinti, i due tipi di RE sono in continuità l'uno con l'altro

3

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Il RE svolge un ruolo centrale in numerosissime funzioni cellulari:

RE liscio (REL)	}	<ul style="list-style-type: none"> • Sintesi dei fosfolipidi (sul lato citoplasmatico del REL) e quindi biogenesi delle membrane • Glicosilazione dei fosfolipidi • Sintesi degli steroidi • Detossificazione • Immagazzinamento e rilascio di calcio intracellulare • Autofagocitosi
RE granuloso (RER)	}	<ul style="list-style-type: none"> • Sintesi (sul lato citoplasmatico del RER) e maturazione delle proteine di membrana, delle proteine secretorie e di quelle destinate al Golgi e ai lisosomi. • Modifiche post traduzionali delle proteine: <ul style="list-style-type: none"> • Taglio proteolitico del peptide segnale • Realizzazione di eventuali legami disolfuri • Eventuale inserimento di un'ancora lipidica (GPI), • Aggiunta di una struttura glucidica complessa (glicosilazione N-terminale)

4

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Funzioni del REL: Il REL svolge numerose funzioni grazie agli enzimi presenti e ai sistemi di trasporto e di permeabilità della sua membrana.

REL: produzione della maggior parte delle componenti lipidiche delle membrane

5

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Gran parte degli enzimi coinvolti nella sintesi dei fosfolipidi è localizzata sulla membrana del REL, con il sito attivo rivolto verso il citosol

6

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Comuni fosfolipidi di membrana

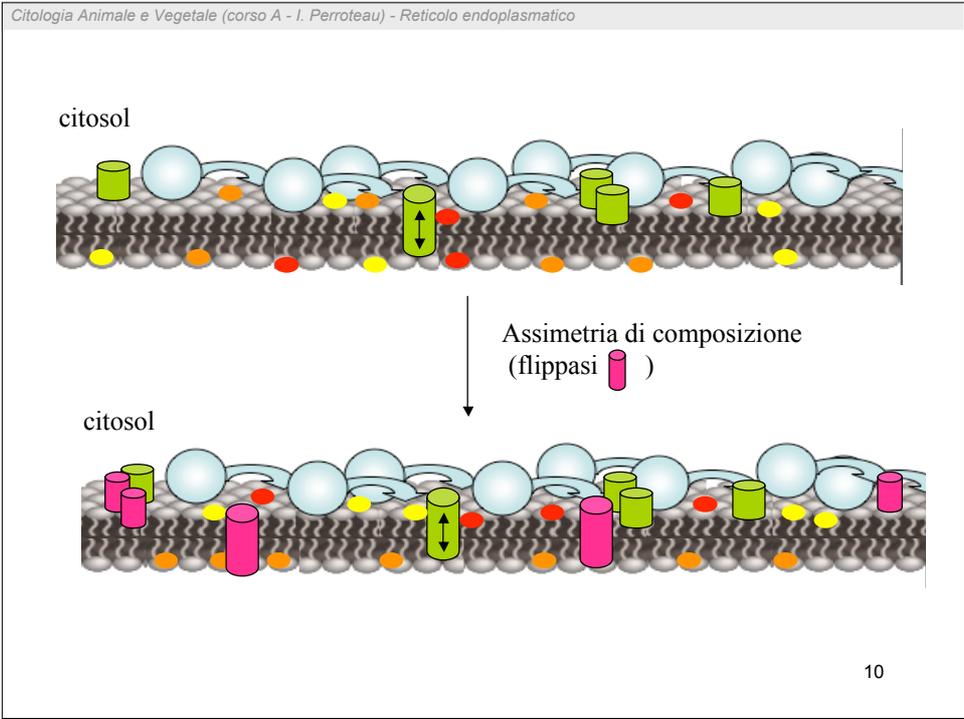
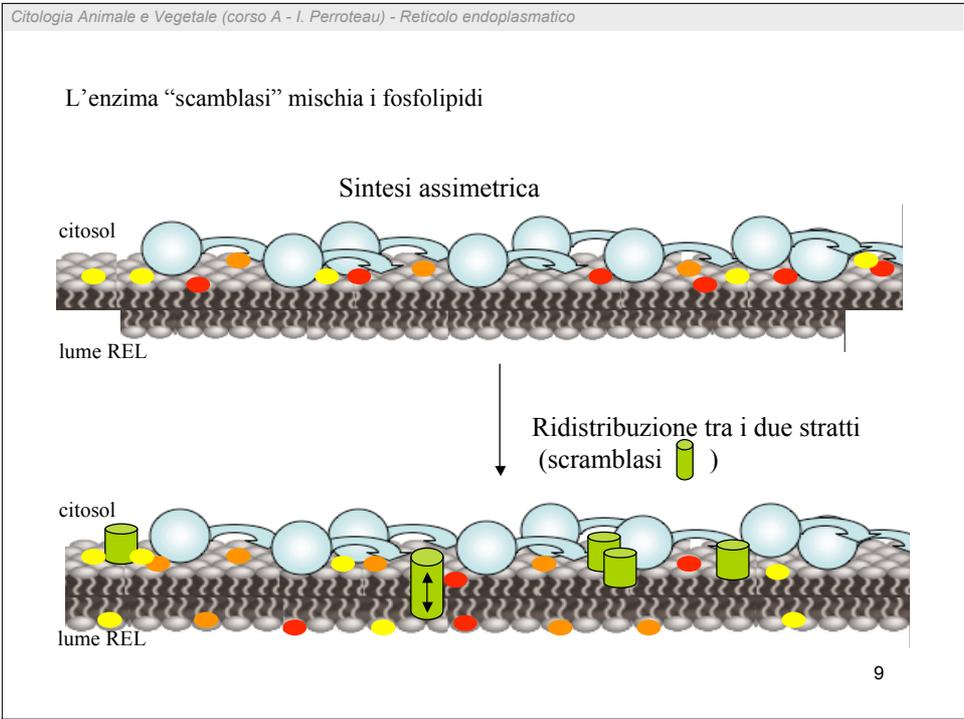
Struttura dei glicerofosfolipidi

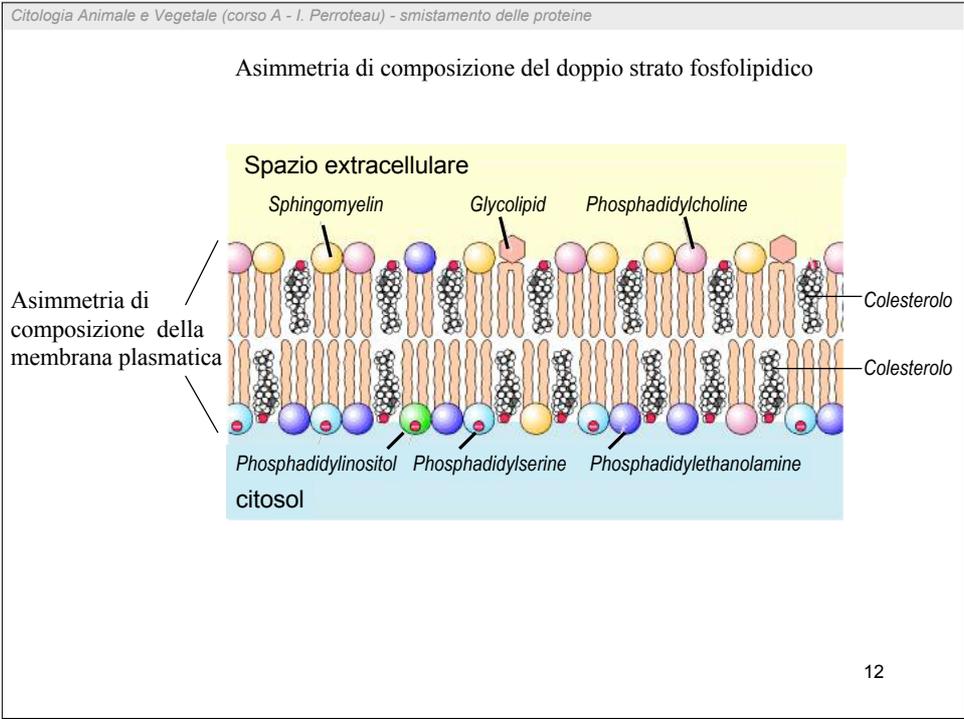
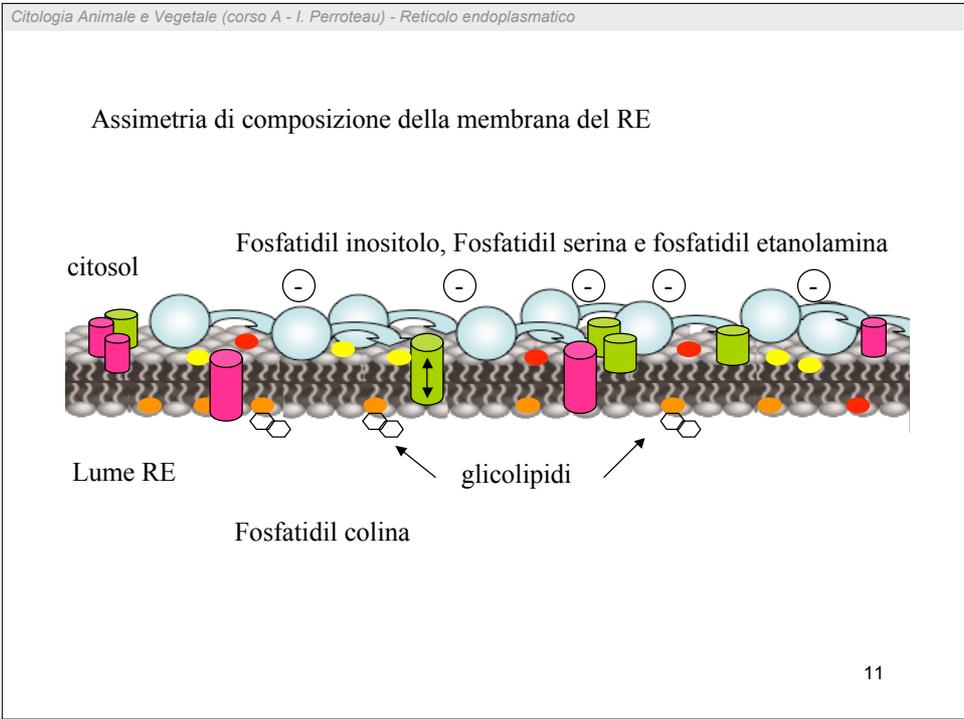
7

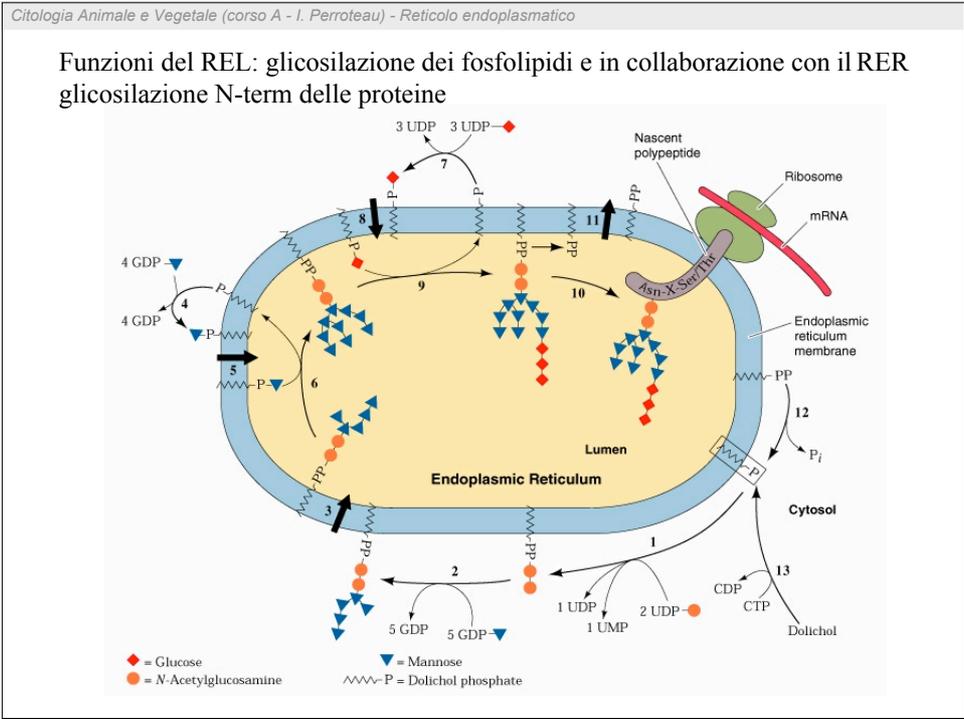
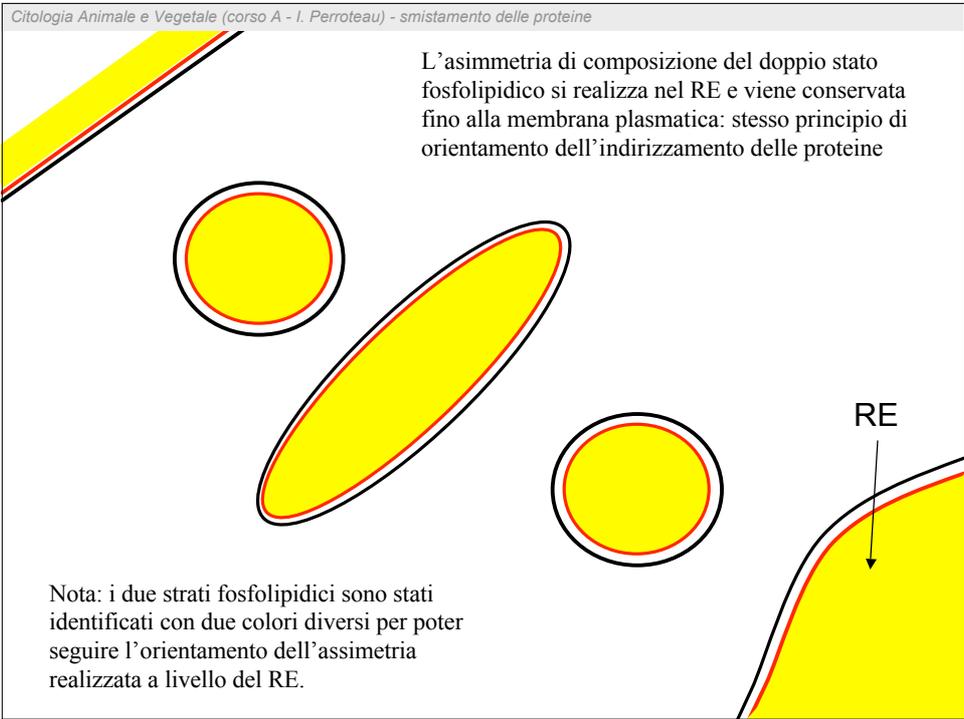
Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Sintesi e aggiunta di nuovo fosfolipi sul lato citosolico: accrescimento asimmetrico dei due strati fosfolipidici risolto dall'intervento di due famiglie di enzimi: scramblasi e flippasi

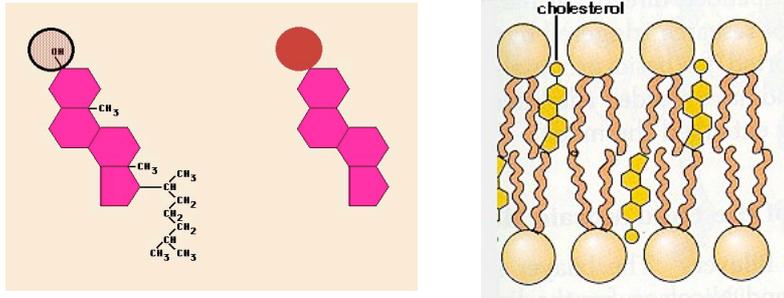
8







Funzioni del REL: 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.

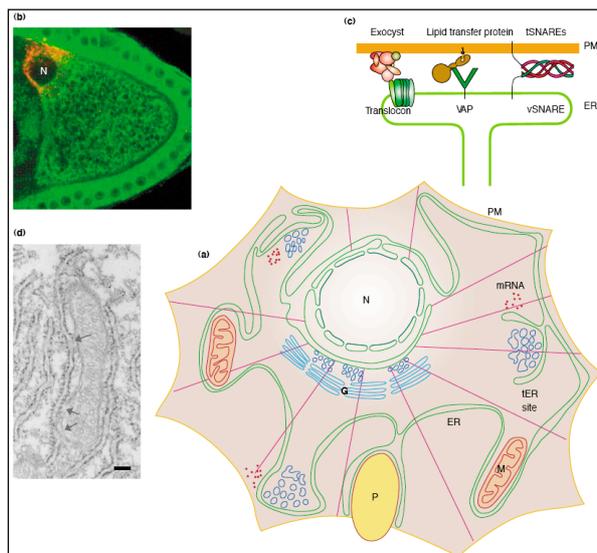
Endoplasmic reticulum: one continuous network compartmentalized by extrinsic cues

Tim Levine¹ and Catherine Rabouille²

Current Opinion in Cell Biology 2005, 17:362-368

ER heterogeneity is created by extrinsic cues.

(a) interactions between the ER (green) and different extrinsic cues including localized mRNAs near peripheral tER sites, the plasma membrane, mitochondria (M) and a phagosome (P). Microtubules are drawn in purple. G, Golgi apparatus. (b) A single stage-9 *Drosophila* oocyte surrounded by follicle cells. Within the oocyte, Gurken protein (red) is restricted to the dorsal/ anterior corner near the nucleus (N) in dots representing the tER-Golgi units. The ER in all cells is green. (c) Diagram of three protein complexes potentially involved in ER-plasma membrane contact. (d) Electron micrograph of a mitochondrion wrapped in ER showing zones of apposition (arrows), where ER depleted of ribosomes comes to within 30nm of the mitochondrion. Scale bar represents 200nm.



Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

A transport network based on the endoplasmic reticulum (ER).

Different membrane contact sites (MCSs) (green lines) can be categorized on the basis of the organelle that partners the ER, with each one forming a different type of ER junction (ERJ). Curved arrows indicate non-vesicular trafficking of small molecules at ERJs.

The universal involvement of the ER enables non-vesicular trafficking of molecules between two compartments that form ERJs. For example, phosphatidylethanolamine (PtdEtn) that is synthesized in the inner mitochondrial membrane efficiently accesses the plasma membrane by a non-vesicular route (broken arrows) that involves both mitochondrial ERJs [mitochondrial associated ER membrane (MAM)] and plasma membrane ERJs [plasma membrane-associated membrane (PAM)].

TRENDS in Cell Biology

17

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Autofagosoma

ER

Cytosol

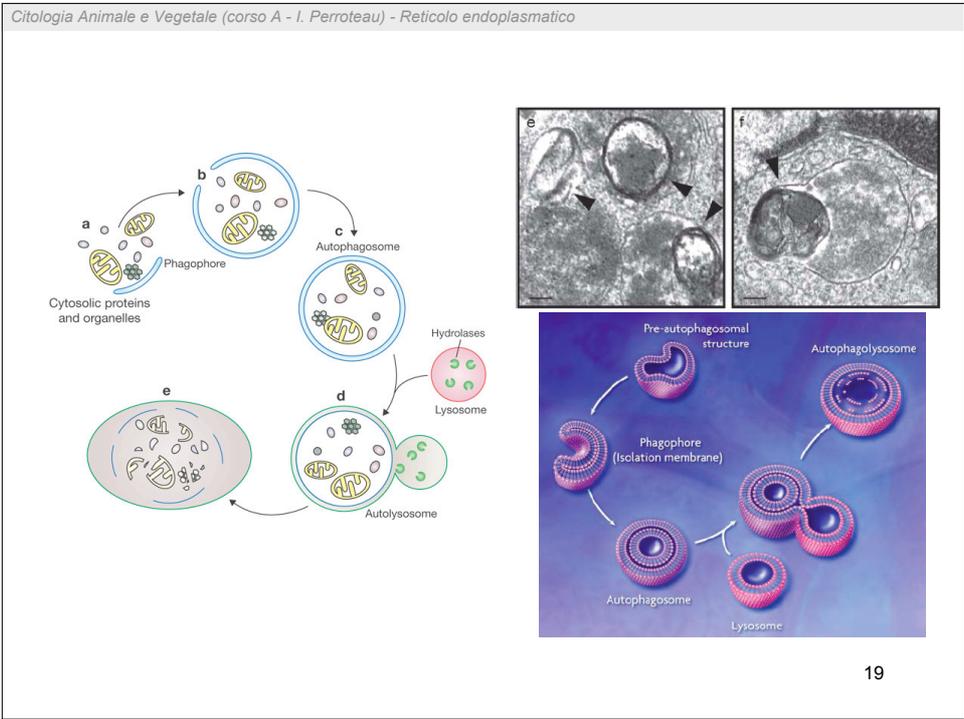
Atg8/LC3

Lumen

Cellule trasfettate con GFP-LC3

controllo	Induzione di autofagocitosi

18



Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

- Funzioni del REL: Detossificazione
Il REL dispone di enzimi che , catalizzando reazioni di idrossilazione, rendono molecole tossiche (compresi farmaci, inquinanti, droghe) più facilmente solubili nell'acqua e dunque più facilmente eliminabili (urine).
- Funzioni del REL: Immagazzinamento e rilascio di calcio intracellulare

20

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

RE granuloso (RER)

- Sintesi (sul lato citoplasmatico del RER) e maturazione delle proteine di membrana, delle proteine secretorie e di quelle destinate al Golgi e ai lisosomi.
- Modifiche post traduzionali delle proteine:
 1. Taglio proteolitico del peptide segnale*
 2. Struttura (Folding)
 3. Realizzazione di eventuali legami disolfuri
 4. Eventuale inserimento di un'ancora lipidica (GPI),
 5. Aggiunta di una struttura glucidica complessa (glicosilazione N-terminale)

1- Taglio proteolitico del peptide segnale
vedi diapo 13 e 15 del 11-12-08

21

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

2-Le molecole "chaperone" intervengono nel ripiegamento (folding) delle proteine appena traslocate.

Bip 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

Bip si lega alle porzioni idrofobiche esposte nella proteina nascente

22

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

3- Realizzazione di eventuali legami disolfuri

Durante il ripiegamento si possono formare legami disolfuro non corretti

CITOSOL
LUME DELL'RE
Residui di cisteina
POLIPEPTIDE NASCENTE

LEGAME NON CORRETTO
La proteina deve essere trattenuta all'interno dell'RE per essere nuovamente ripiegata

LEGAME CORRETTO
La proteina può proseguire verso l'apparato di Golgi

23

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

PDI= proteina disolfuro isomerasi

La PDI forma legami disolfuro nelle proteine nascenti

CITOSOL
LUME DELL'RE
N
Polipeptide nascente
Gruppo tiolo
PDI

① La proteina nascente rimuove un legame disolfuro

② Lo scambio di disolfuro...

③ ...forma un nuovo legame disolfuro nella proteina

24

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Capacità di correzione

La PDI catalizza il riarrangiamento dei legami disolfuro

CITOSOL

LUME DELL'RE

Polipeptide nascente

N

Gruppo tiolo

PDI

① La PDI sposta un legame disolfuro all'interno della proteina

② Lo scambio di disolfuro...

③ ...forma un nuovo legame disolfuro

25

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

4- inserimento di un'ancora lipidica. GPI:glicosilfosfatidilinositolo

Sintesi di GPI e modificazione delle proteine

CITOSOL

LUME DELL'RE

UDP

1 Aggiunta di GlcNAc

Acetile

2 Deacetilazione

PI

DOPPIO STRATO LIPIDICO

3 Flipping

Enzima che catalizza l'aggancio

Proteina di membrana

GPI

N

4 Aggiunta di mannosio

5 Aggiunta di fosfoetanolamina

6 Attacco alla proteina

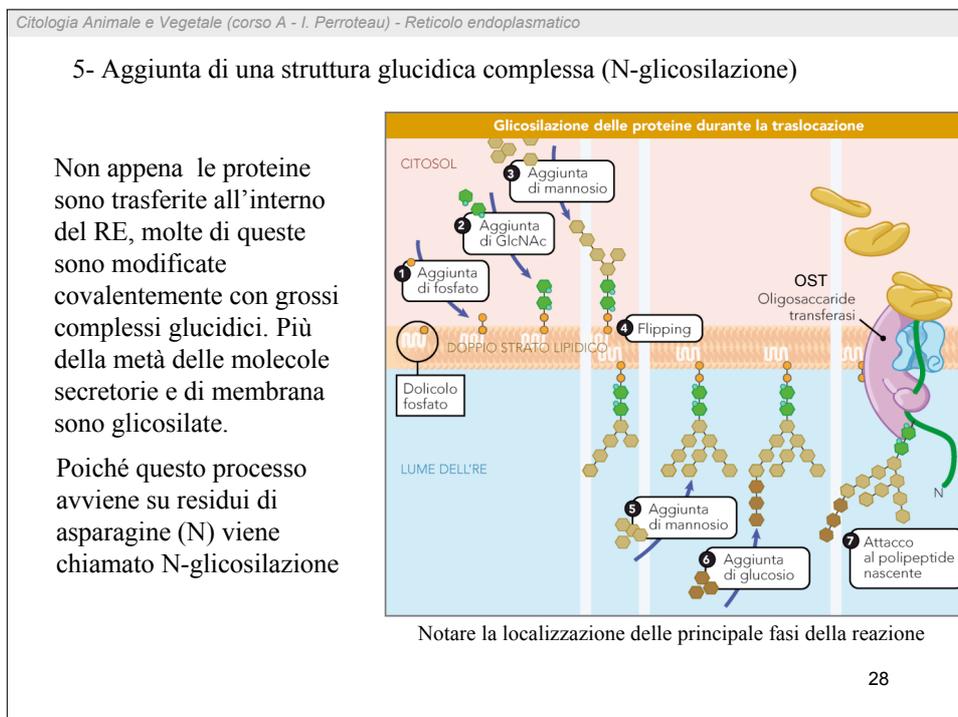
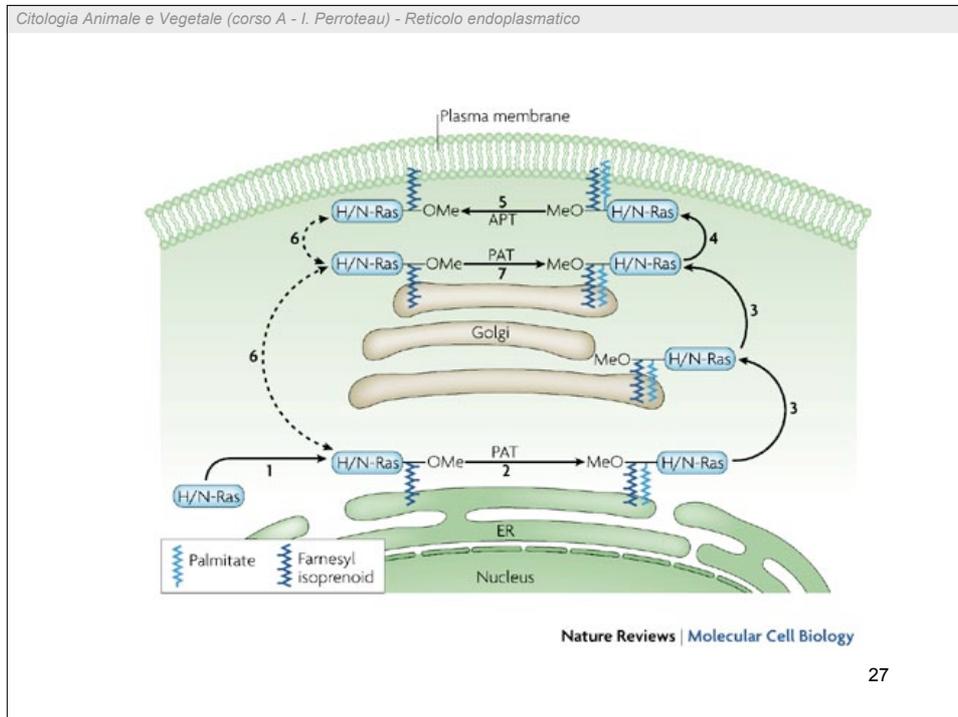
N

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

Notare la localizzazione delle principali fasi della reazione

Vedi anche diapo 26 del 11-12-08: proteine di membrana ancorate a GPI

26



Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

Dolichol-mediated glycosylation of a protein in the ER

Alberts et al. equivalent Fig. 14-22

Dolichols are very long lipids that hold oligosaccharides while they are being assembled. These preassembled oligosaccharides are then transferred intact to asparagine groups on the nascent protein.

STAEHELIN

29

Citologia Animale e Vegetale (corso A - I. Perroteau) - Reticolo endoplasmatico

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)

30

