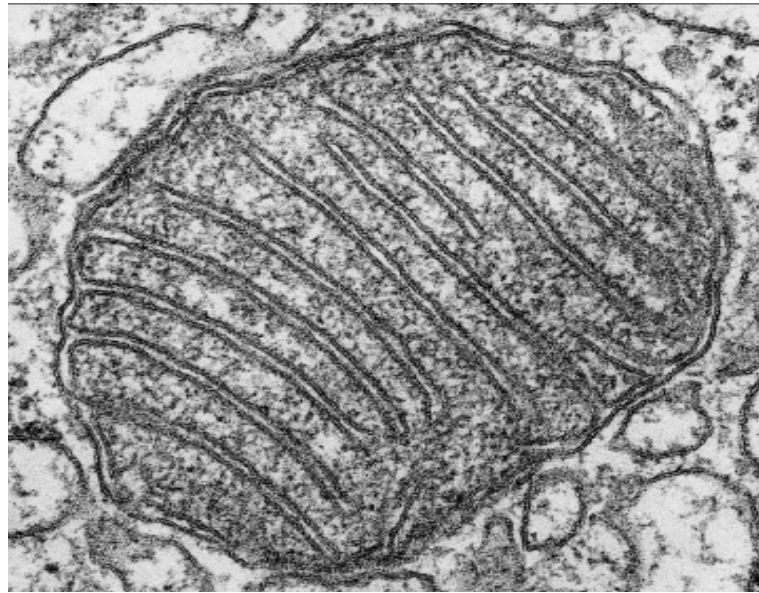
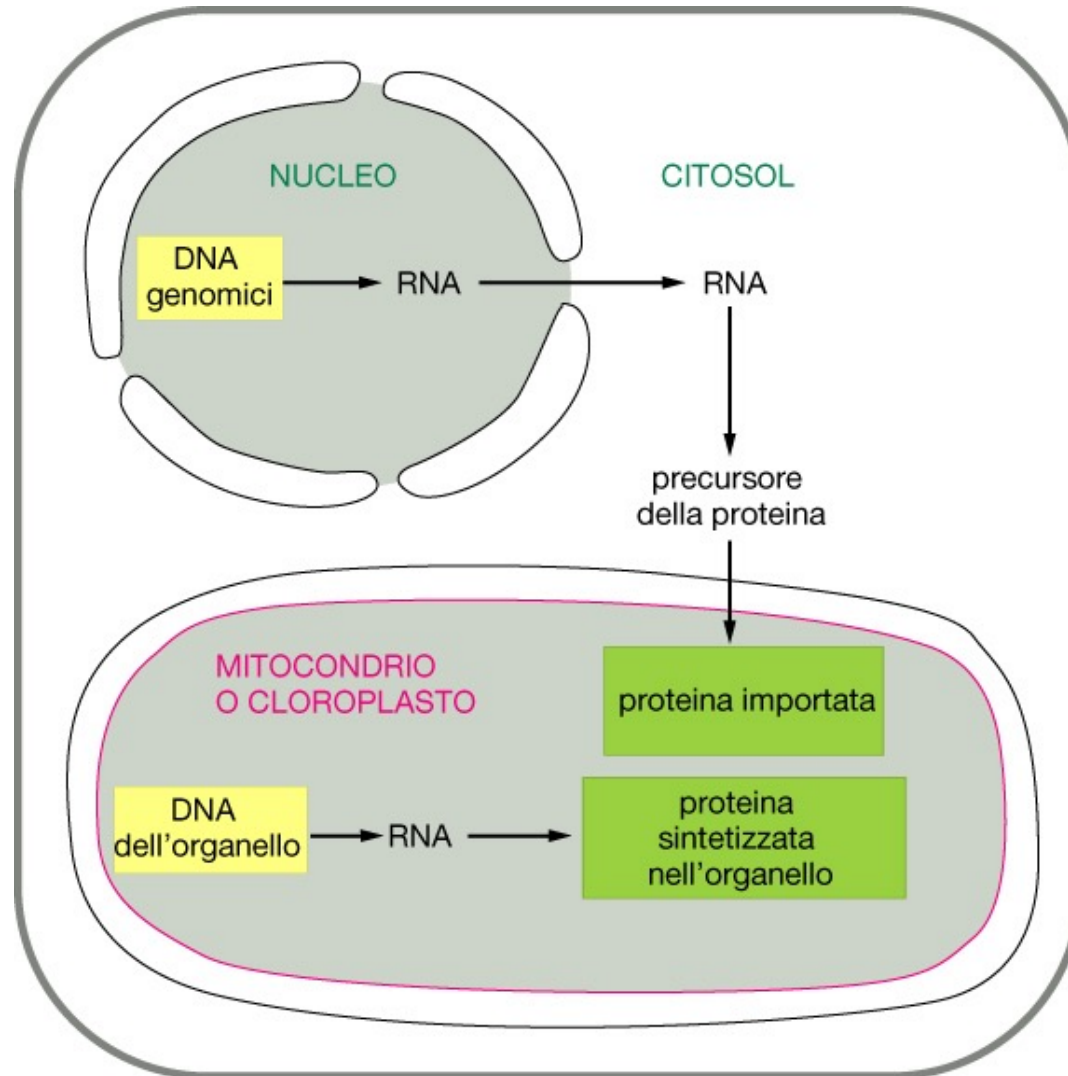


BIOGENESI DEI MITOCONDRI

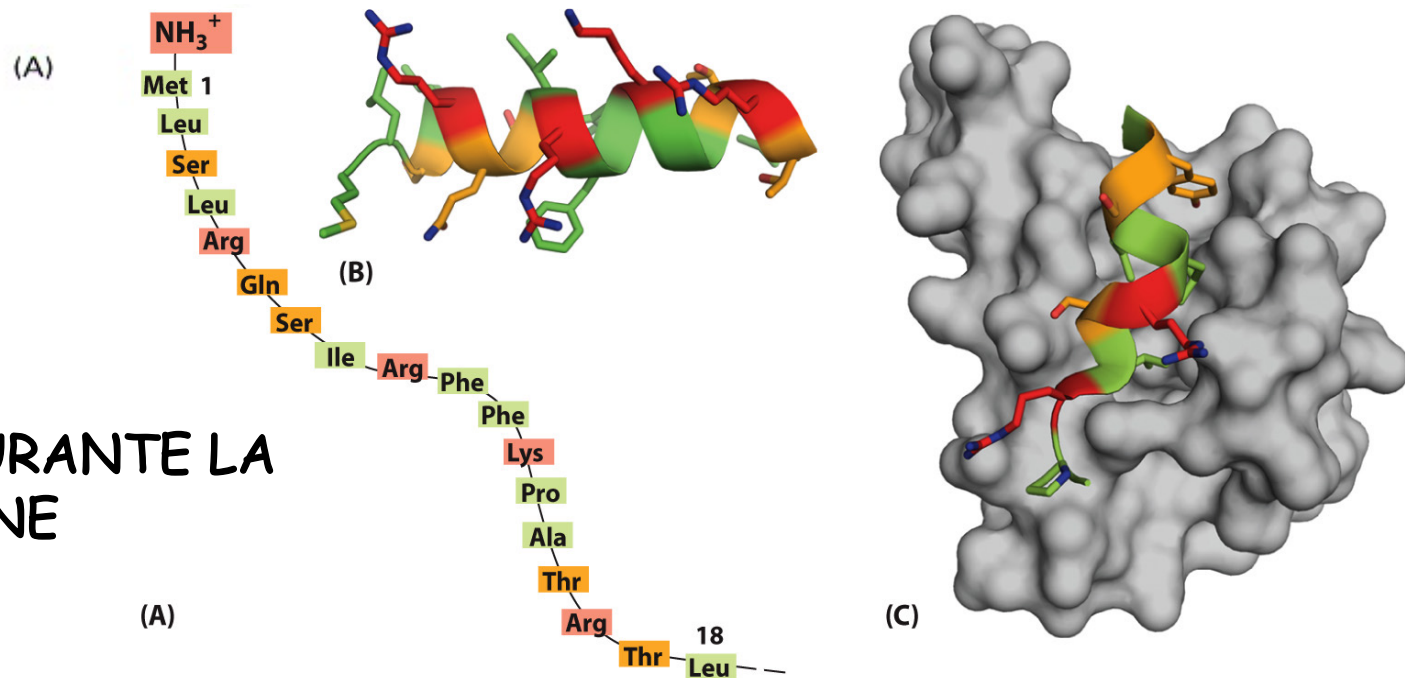


I MITOCONDRI IMPORTANO DAL CITOSOL QUASI TUTTE LE PROTEINE A TRAVERSO UN PROCESSO DI TRASLOCAZIONE POST-TRADUZIONALE



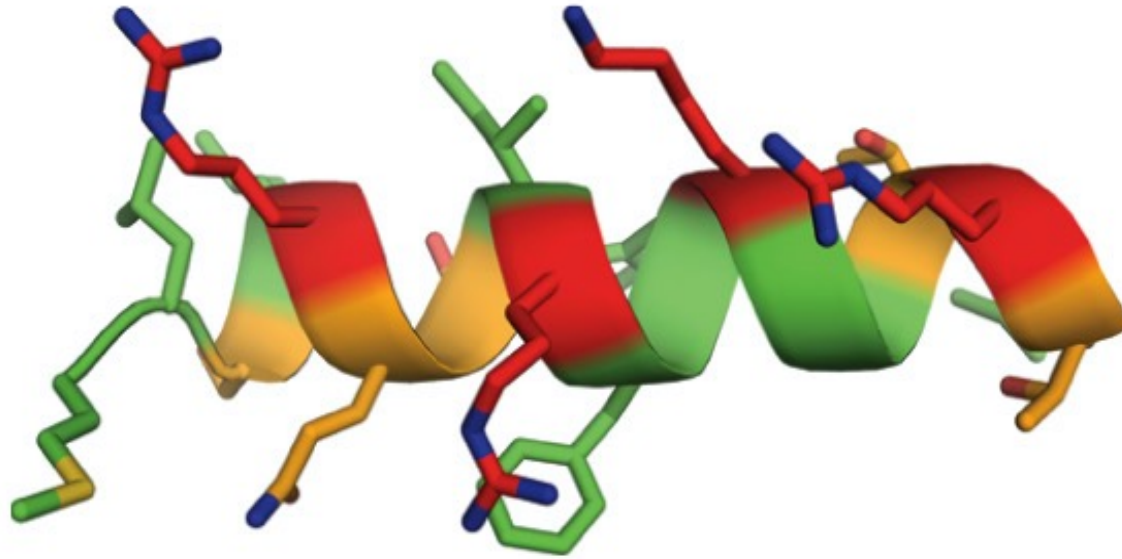
LE PROTEINE INDIRIZZATE AI MITOCONDRI HANNO UNA SEQUENZA SEGNALE

1. PRE-SEQUENZA DI 20-80 AMMINOACIDI
2. N-TERMINALE
3. ELICA ANFIPATICA CON CARICHE POSITIVE DA UN LATO



4. RIMOSSA DURANTE LA TRASLOCAZIONE

L'ALFA-ELICA ANFIPATICA È UN SEGNALE GENERALE DI IMPORTAZIONE NEL MITOCONDRIO

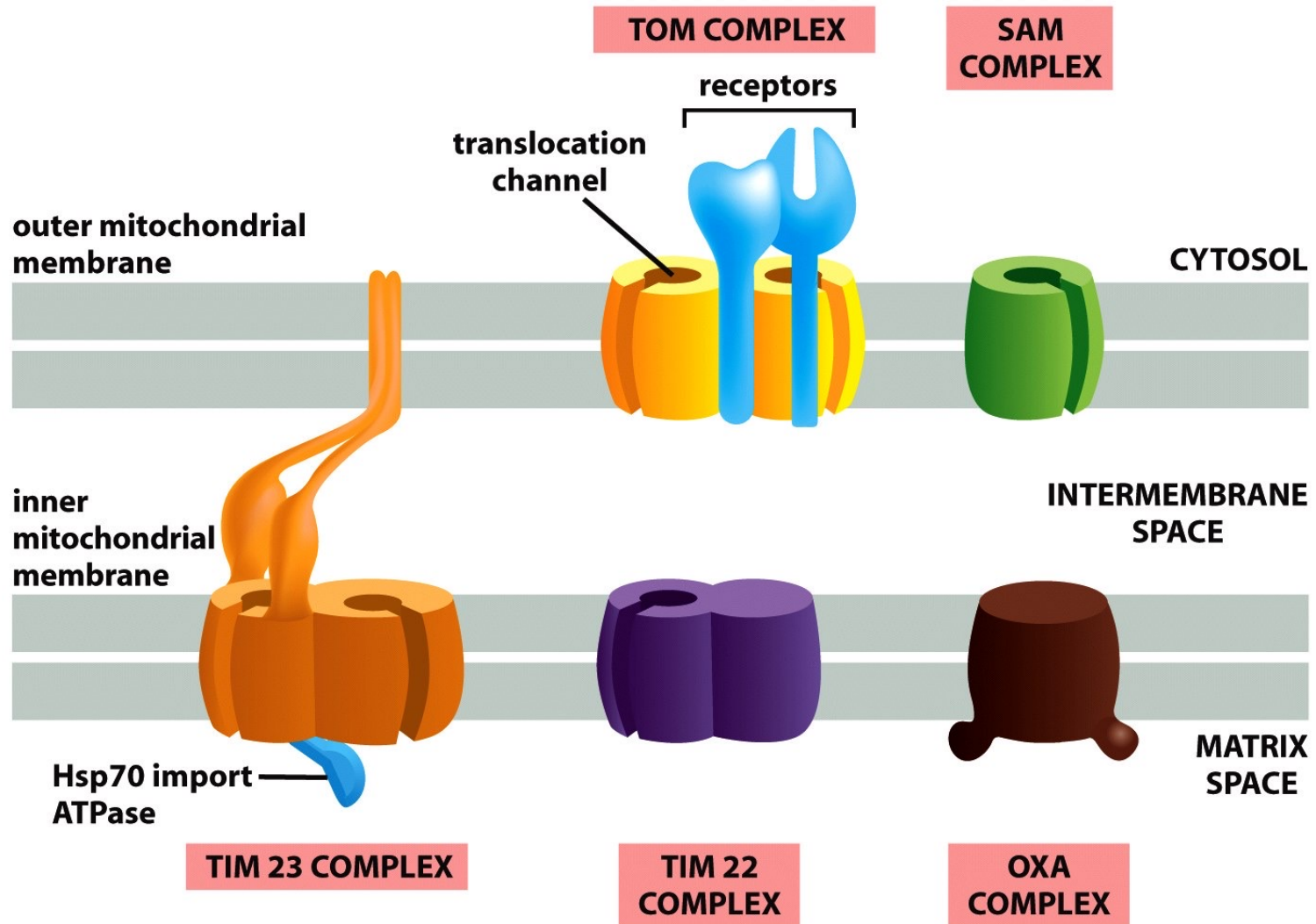


(B)

⌘ ULTERIORI SEGNALI: SEGNALI IDROFOBICI SECONDARI

⌘ LE PROTEINE MITOCONDRIALI SI RIPIEGANO GRAZIE ALL'INTERAZIONE CON PROTEINE «CHAPERONE» DELLA FAMIGLIA HSP70

LE PROTEINE ATTRAVERSANO LE MEMBRANE DEI MITOCONDRI GRAZIE A COMPLESSI TRASLOCATORI



PROTEINE DELLA MATRICE ATTRAVERSANO LE DUE MEMBRANE DEL MITOCONDRIO

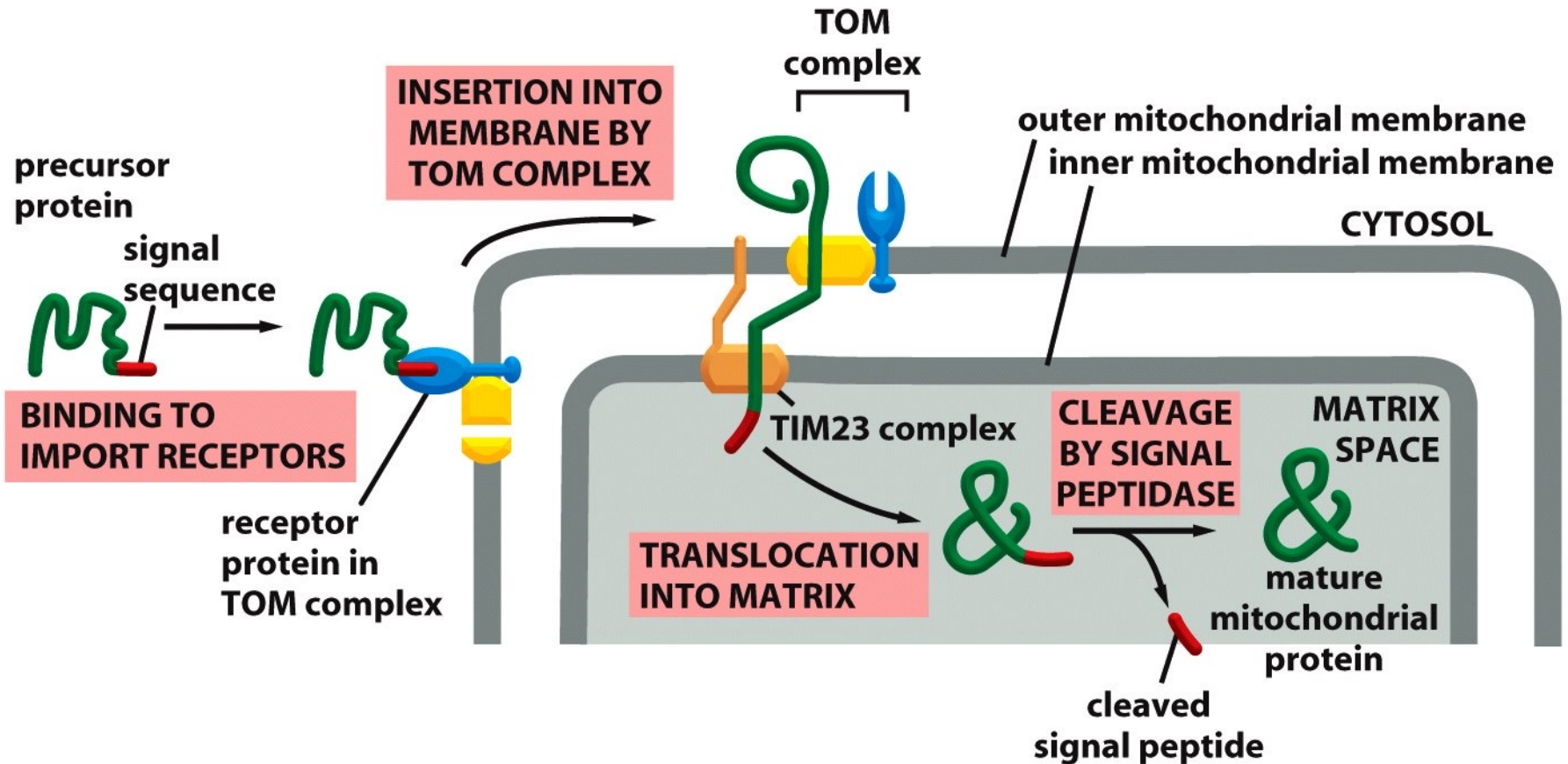
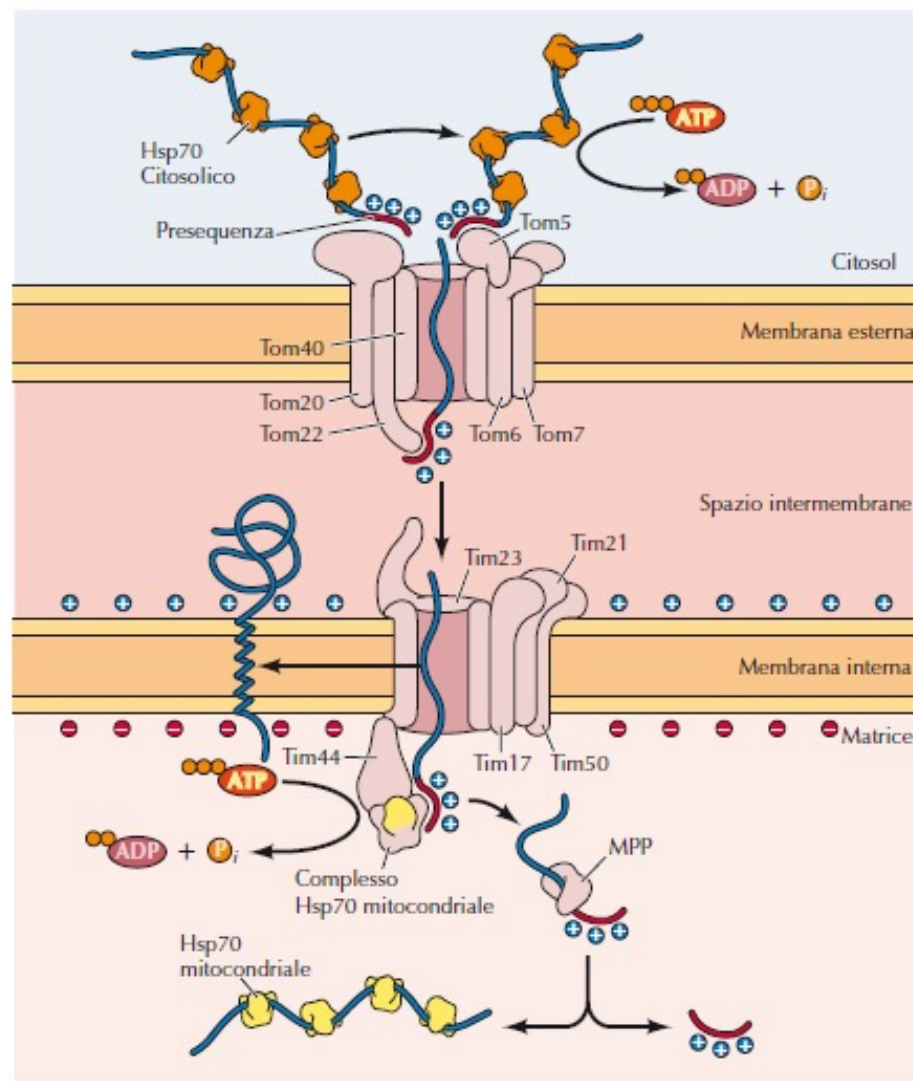


Figure 12-25 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

TOM E TIM23 SONO COMPLESSI MULTIPROTEICI CHE FORMANO UN CANALE DI TRASPORTO ATTRAVERSO LE DUE MEMBRANE DEL MITOCONDRIO



IDROLISI DI ATP E POTENZIALE DI MEMBRANA SONO NECESSARI PER L'IMPORTO DI PROTEINE NELLA MATRICE

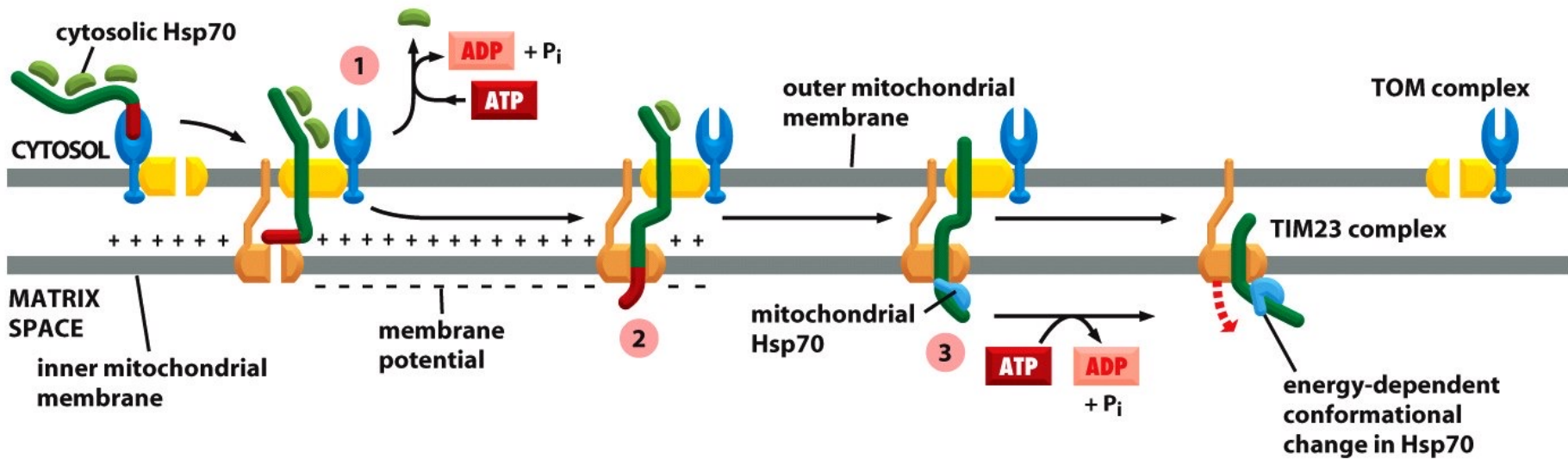


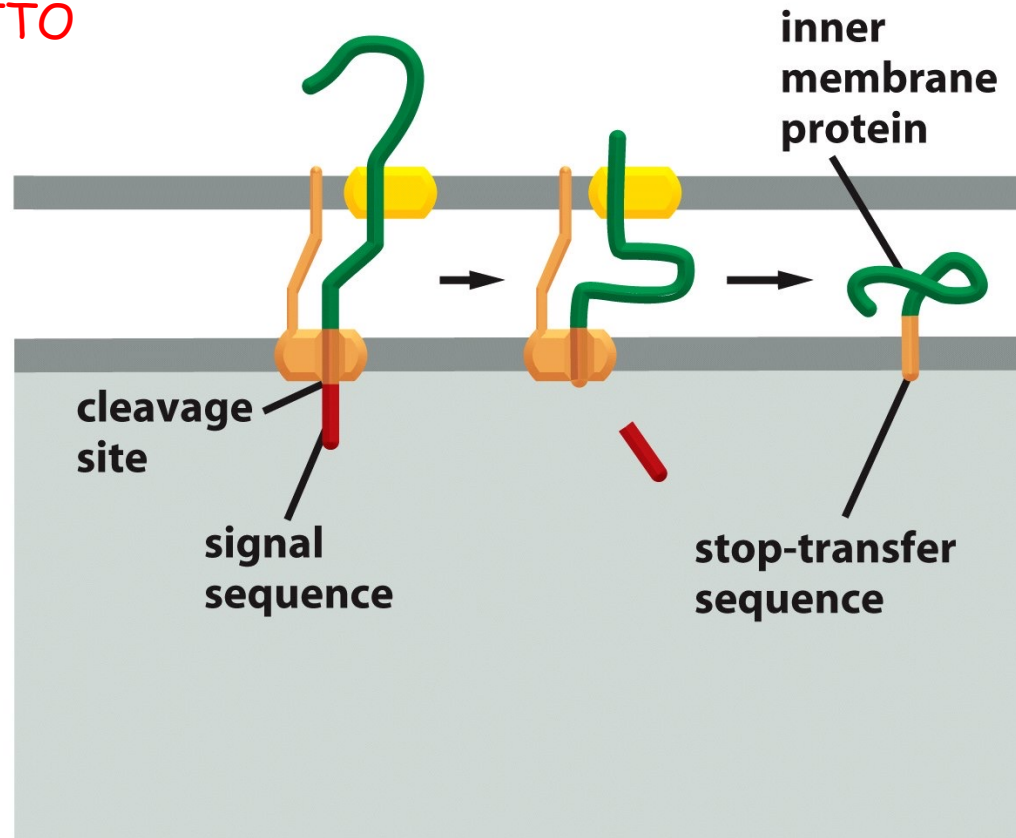
Figure 12-26 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Il trasporto direzionale richiede energia!!!

IL TRASPORTO DELLE PROTEINE NELLA MEMBRANA MITOCONDRIALE INTERNA AVVIENE ATTRAVERSO DUE VIE

✓ PROTEINE DELLA MEMBRANA INTERNA

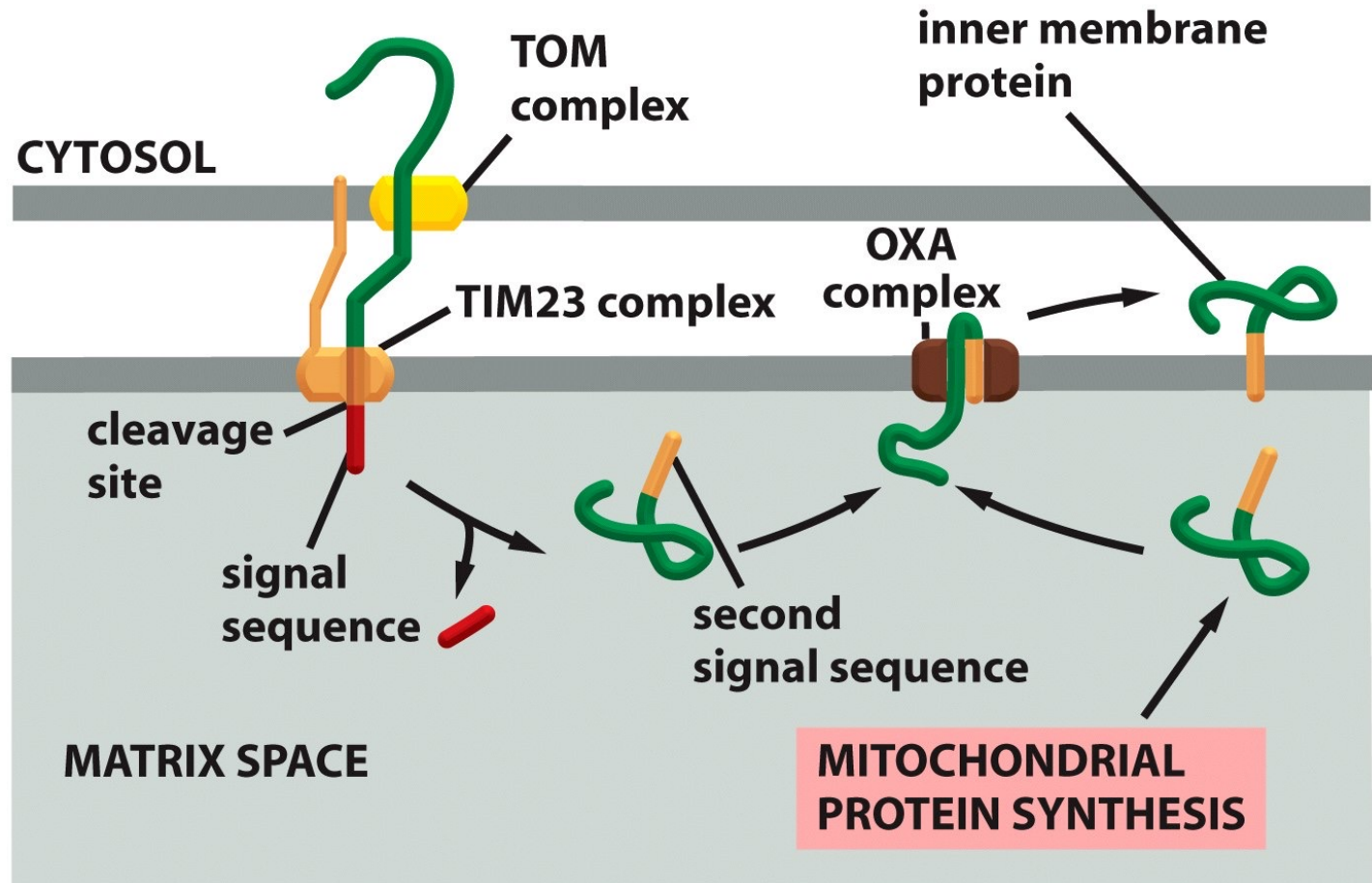
TRASPORTO DIRETTO



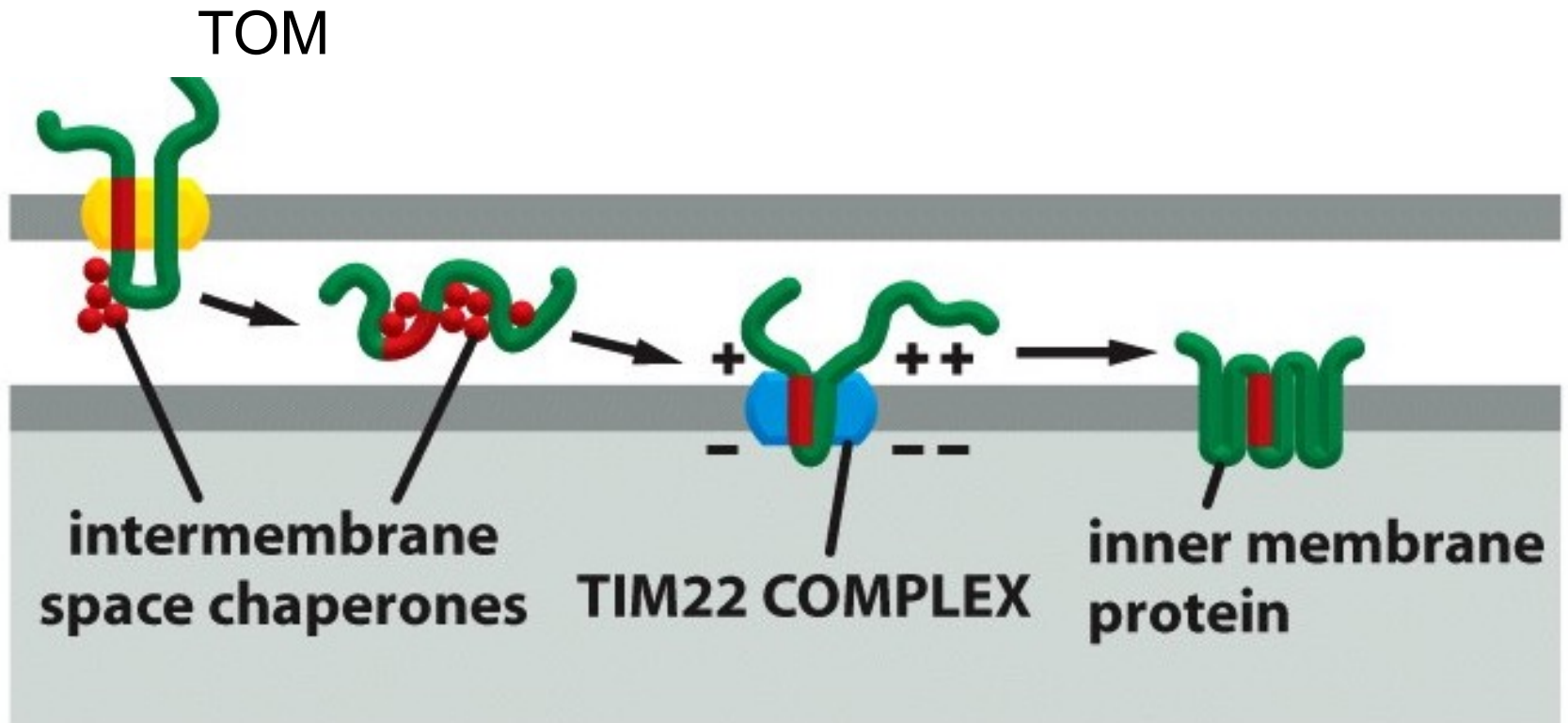
IL TRASPORTO DELLE PROTEINE NELLA MEMBRANA MITOCONDRIALE INTERNA ATTRAVERSO DUE VIE

✓ PROTEINE DELLA MEMBRANA INTERNA

TRASPORTO INDIRETTO: sono traslocate prima nella matrice



I TRASPORTATORI DEI METABOLITI POSSONO RIPIEGARSI PIU' VOLTE NELLA MEMBRANA INTERNA ATTRAVERSO TIM22



✓ PROTEINE SPAZIO INTERMEMBRANA

INSERITE PRIMA NELLA MEMBRANA INTERNA

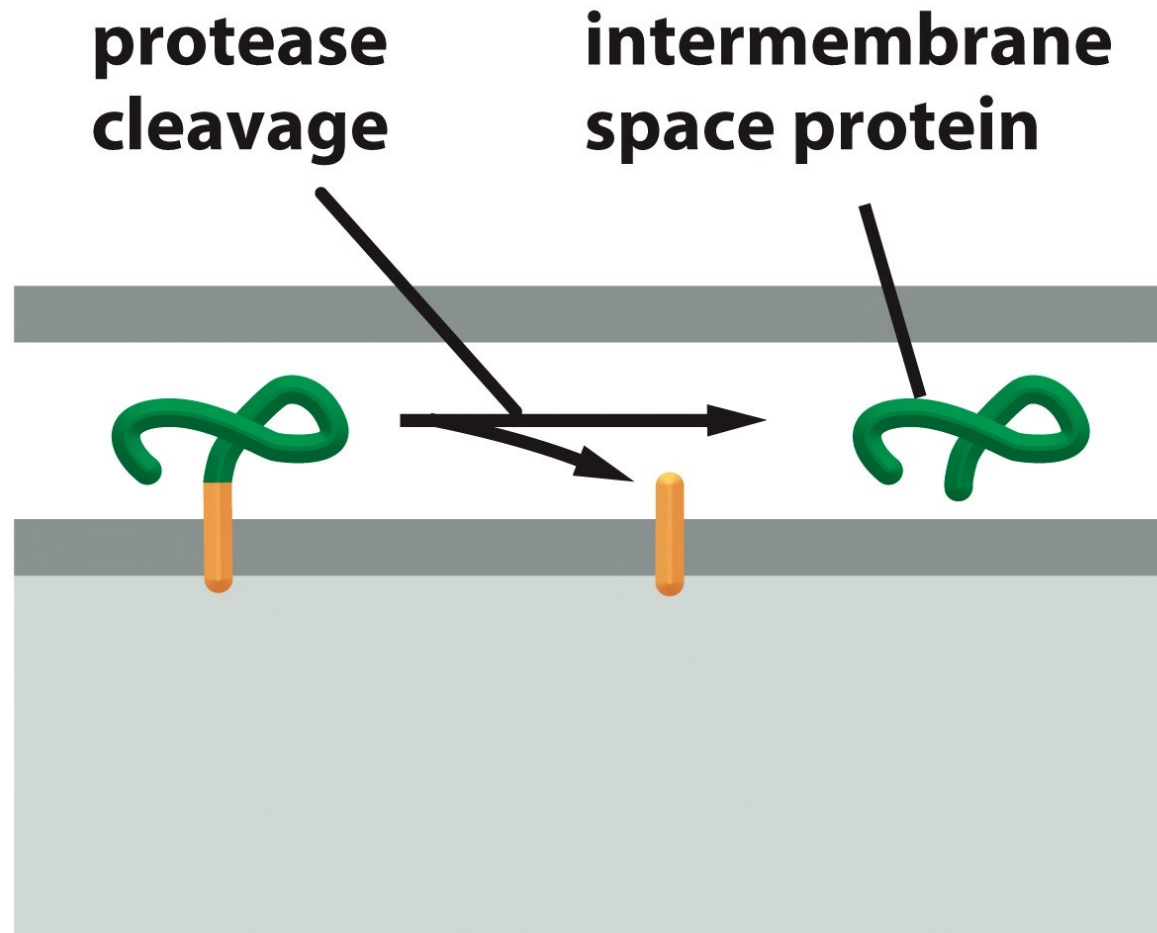
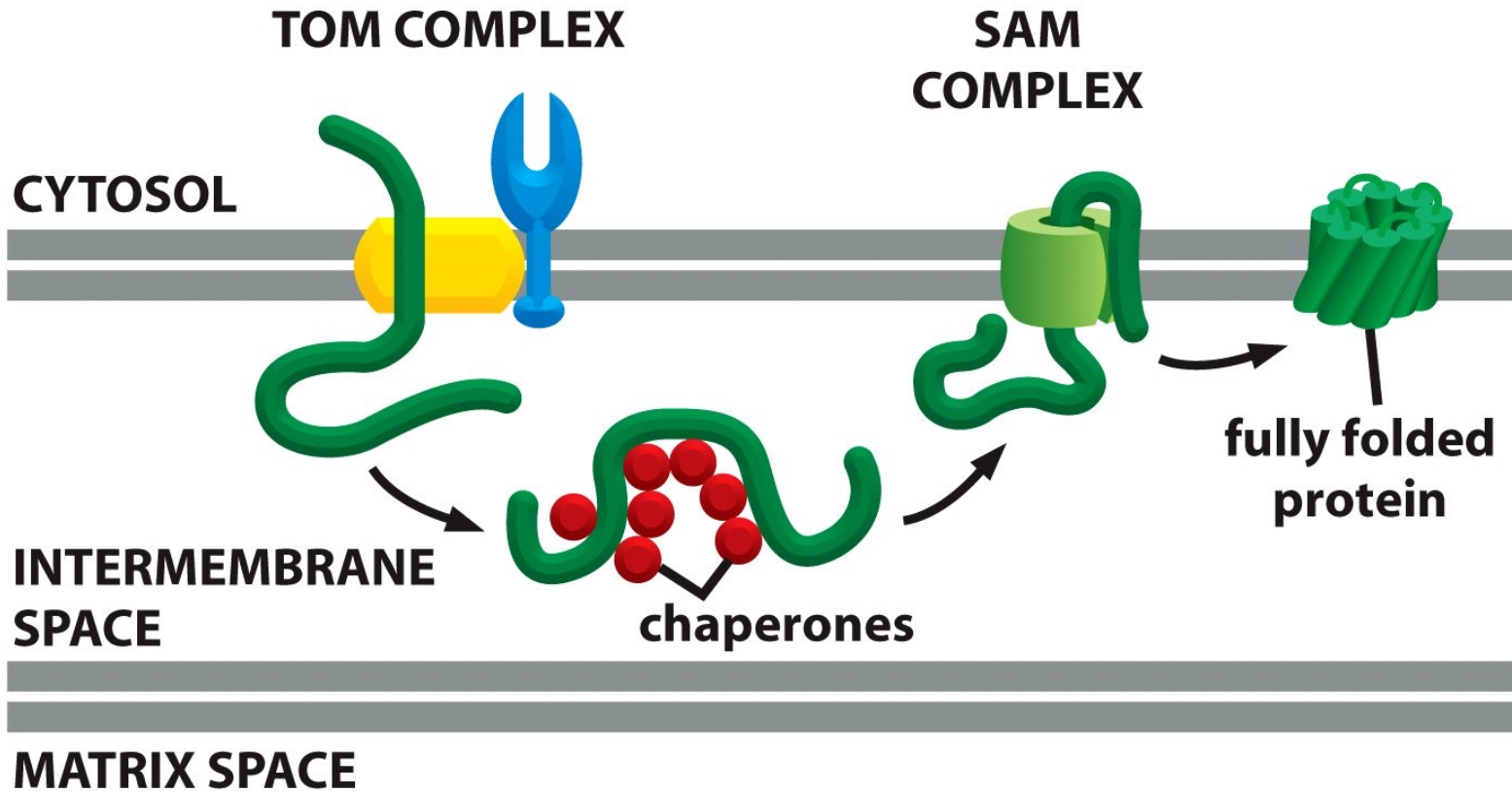


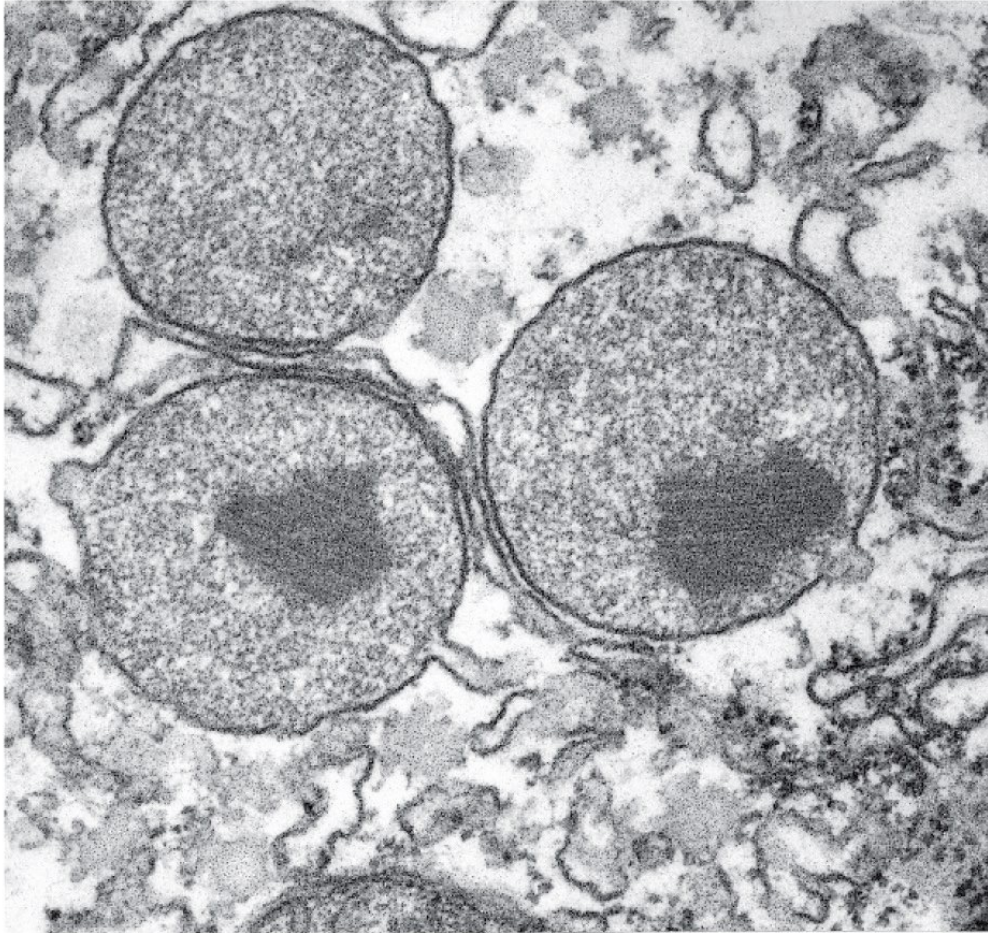
Figure 12-28c Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

TRASPORTO DELLE PORINE NELLA MEMBRANA MITOCONDRIALE ESTERNA RICHIEDE L'AZIONE DEL COMPLESSO SAM



I PEROSSISOMI E LORO BIOGENESI

I PEROSSISOMI SONO ORGANELLI PLASTICI



200 nm

Possono contenere fino a 50 enzimi che sono cruciali per:

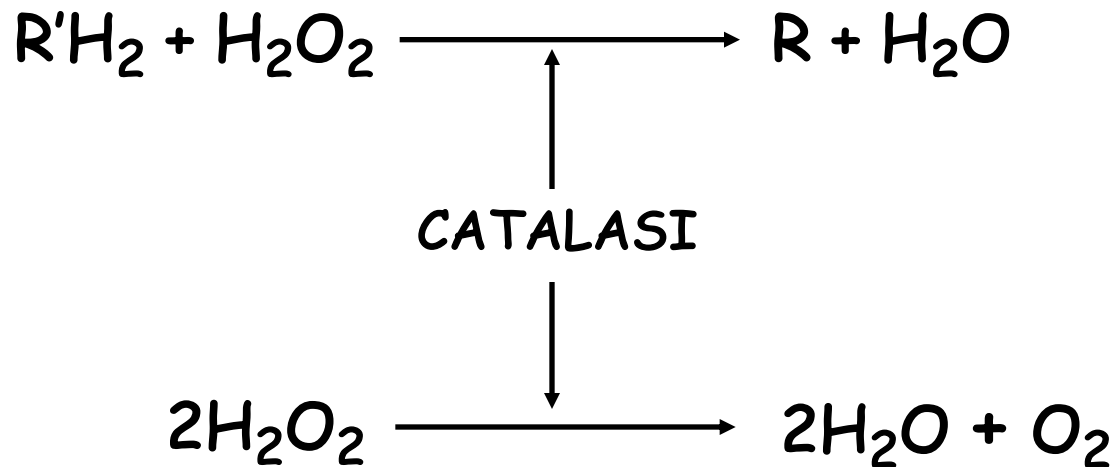
- **la rottura degli acidi grassi**
- **per lo smaltimento del perossido di idrogeno**
- **la generazione di plasmalogeni (fosfolipidi) che sono una componente importante della mielina del cervello.**

Hanno funzioni ossidative svolte da enzimi presenti ad alte concentrazioni nella loro matrice

I PEROSSISOMI SVOLGONO REAZIONI OSSIDATIVE CATALIZZATE DA ENZIMI QUALI OSSIDASI E CATALASI



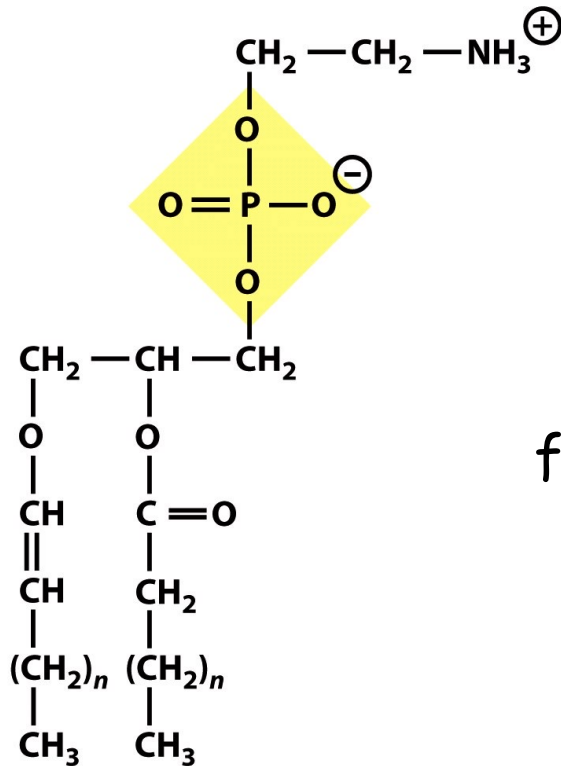
L' H_2O_2 è utilizzata dalla catalasi per ossidare diversi substrati



Questa reazione è cruciale nelle cellule epatiche per detossificare molecole tossiche nel sangue: ad es. etanolo ad acetaldeide

I PEROSSISOMI SVOLGONO ALTRE REAZIONE DI DEGRADAZIONE, MA ANCHE DI SINTESI

- ✓ Altra reazione importante è la β -ossidazione attraverso cui le catene di acidi grassi sono demolite a acetilCOA



- ✓ I perossisomi delle cellule animali catalizzano la formazione di **PLASMALOGENI**, la classe più abbondante dei fosfolipidi della mielina

**IL TRASPORTO DI PROTEINE NEL PEROSSISOMA
COMPORTA L'ATTRAVERSAMENTO DELLA
MEMBRANA E IL CONSUMO DI ATP.**

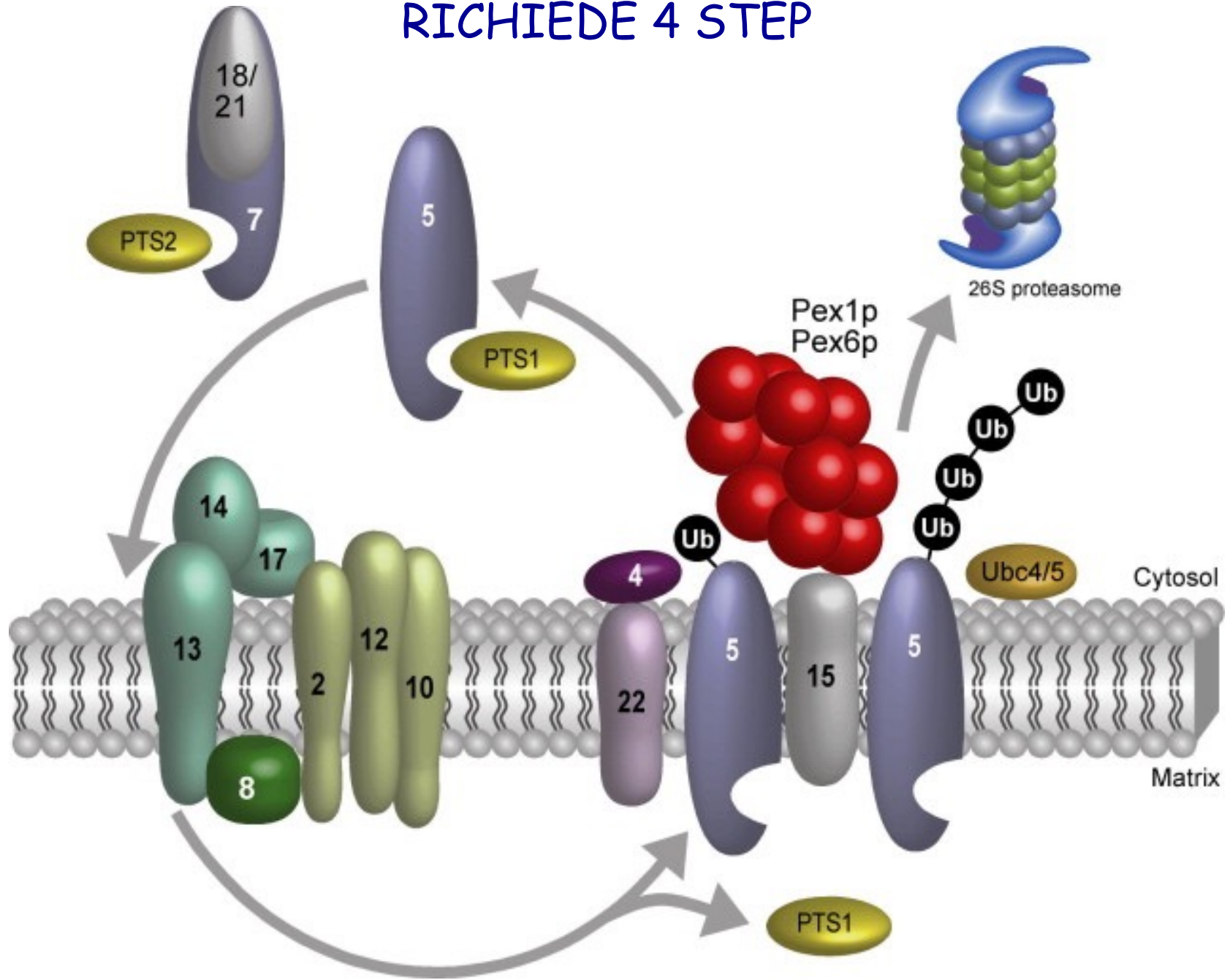
23 PEROSSINE SONO COINVOLTE NEL PROCESSO

1 complesso di almeno 6 perossine forma un Traslocatore di membrana

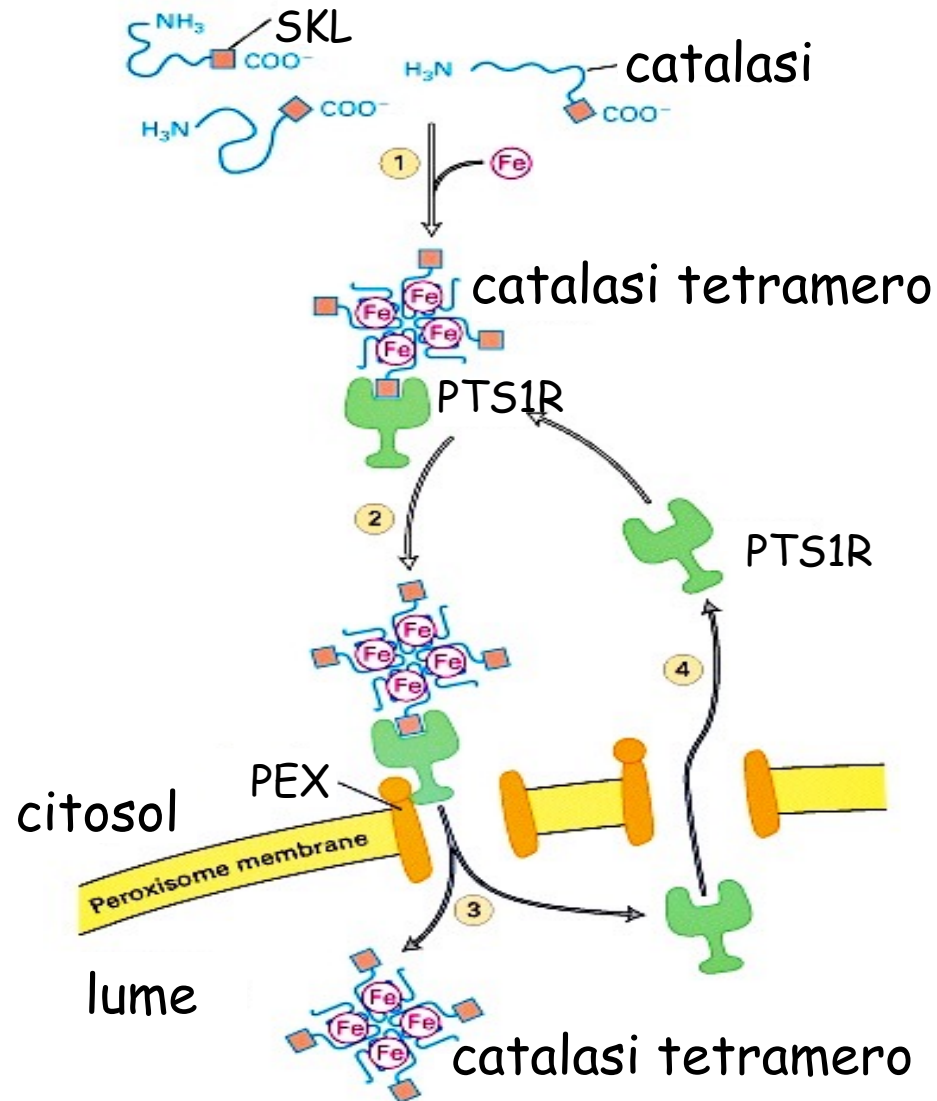
Proteins involved in formation of peroxisomes and pre-peroxisomal vesicles from the ER	
Pex19p	PMP chaperone and transporter; farnesylated and mostly cytosolic [17]
Pex16p	PMP that traffics through the ER; membrane receptor for PMP recruitment in mammalian cells [25,26]
Pex3p	Traffics through the ER; membrane receptor for PMP recruitment in yeast [16]
Proteins involved in controlling peroxisome size and number [28]	
Pex11p	Intraperoxisomal PMP involved peroxisomal fission
Pex25p	Peripheral PMP; interacts with paralog Pex27p [66]; recruits Rho1p to peroxisomes [19]
Pex27p	interacts with paralog Pex25p [66]
DRPs	Dynamin-related proteins include Vps1p and Dnm1p in yeast and Dlp1p in mammalian cells
Fis1p/Mdv1p/Caf4p	DRP recruitment to peroxisomes [33]
Rho1p	Guanosine triphosphatase involved in actin assembly on peroxisomes; interacts with Pex25p and Pex30p [19]
Pex50p/Pex23p	PMP; known as Pex30p in <i>S. cerevisiae</i> and Pex23p in <i>Y. lipolytica</i> [61]; contains dysferlin domain; partially functionally redundant with Pex31p and Pex32p [67]
Pex51p	PMP; contains dysferlin domain [67]
Pex52p	PMP; contains dysferlin domain [67]
Pex24p/Pex28p	PMP known as Pex28p in <i>S. cerevisiae</i> and Pex24p in <i>Y. lipolytica</i> . [61]
Pex29p	PMP
Proteins involved in import of matrix proteins [39]	
Pex5p	PTS1 receptor; predominantly cytoplasmic
Pex7p	PTS2 receptor; predominantly cytoplasmic
Pex20p	Co-receptor required for Pex7p binding cargo; <i>S. cerevisiae</i> has functional homologs Pex21p/Pex18p instead [61]
Cytosolic chaperones	Chaperones including members of Hsp70 family and DnaJ-like proteins may be involved in import [39]
Pex13p	PMP; docking complex component
Pex14p	PMP; docking complex component
Pex17p	PMP; docking complex component
Pex8p	Intraperoxisomal PMP; links docking and RING finger complex [45]
Pex2p	PMP; RING finger protein
Pex12p	PMP; RING finger protein
Pex10p	PMP; RING finger protein; E3 ligase for Ubc4p dependent ubiquitination of Pex5p [51]
Pex4p	PMP anchored by Pex22p; ubiquitin-conjugating enzyme involved in receptor recycling [46,47]; interacts with Pex10p [68]
Pex22p	PMP that anchors Pex4p to the membrane
Pex15p/Pex26p	functional homologs in yeast and mammals, respectively; PMP involved in membrane anchor of Pex6p [69,70]
Pex6p	AAA ATPase; PMP
Pex1p	AAA ATPase; PMP
Proteins involved in peroxisome inheritance [63]	
Myo2p	Motor that propels peroxisomes along actin cables [12]
Inp1	PMP involved in retention of peroxisomes in mother and daughter cells by attaching peroxisomes to cell cortex [13]
Inp2	PMP involved in peroxisome movement through interaction with Myo2 [12]

PMP, peroxisomal membrane protein; peroxins in bold are known to have similar roles in yeast and in higher eukaryotes.

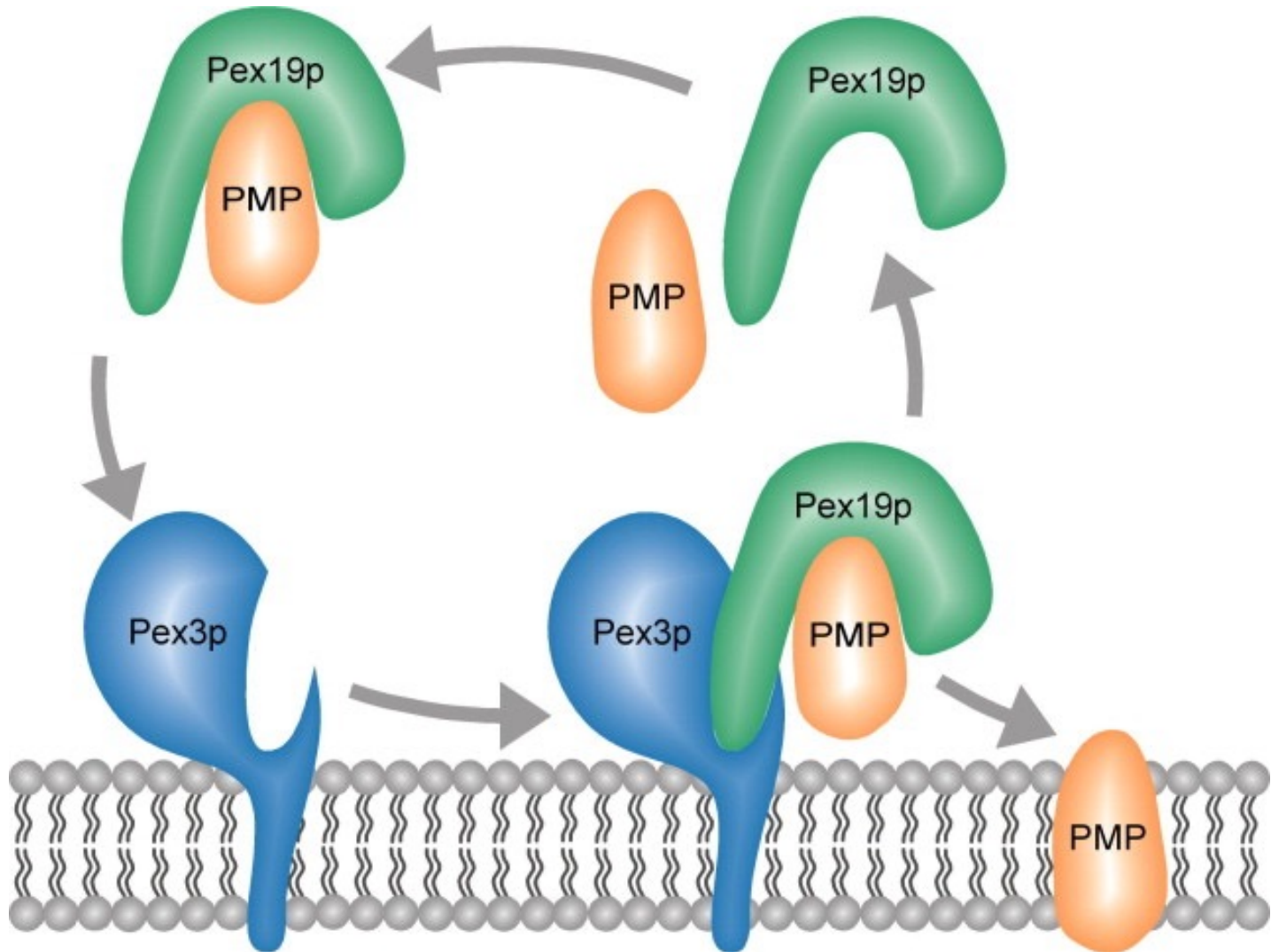
L'IMPORTO NEI PEROSSISOMI DI PROTEINE SOLUBILI RICHIEDE 4 STEP



LA CATALASI ENTRA NEI PEROSSISOMI IN FORMA TETRAMERICA



L'IMPORTO NEI PEROSSISOMI DI PROTEINE DI MEMBRANA RICHIEDE ALMENO DUE PEROSSINE: 19 E 3



BIOGENESI DEI PEROSSISOMI

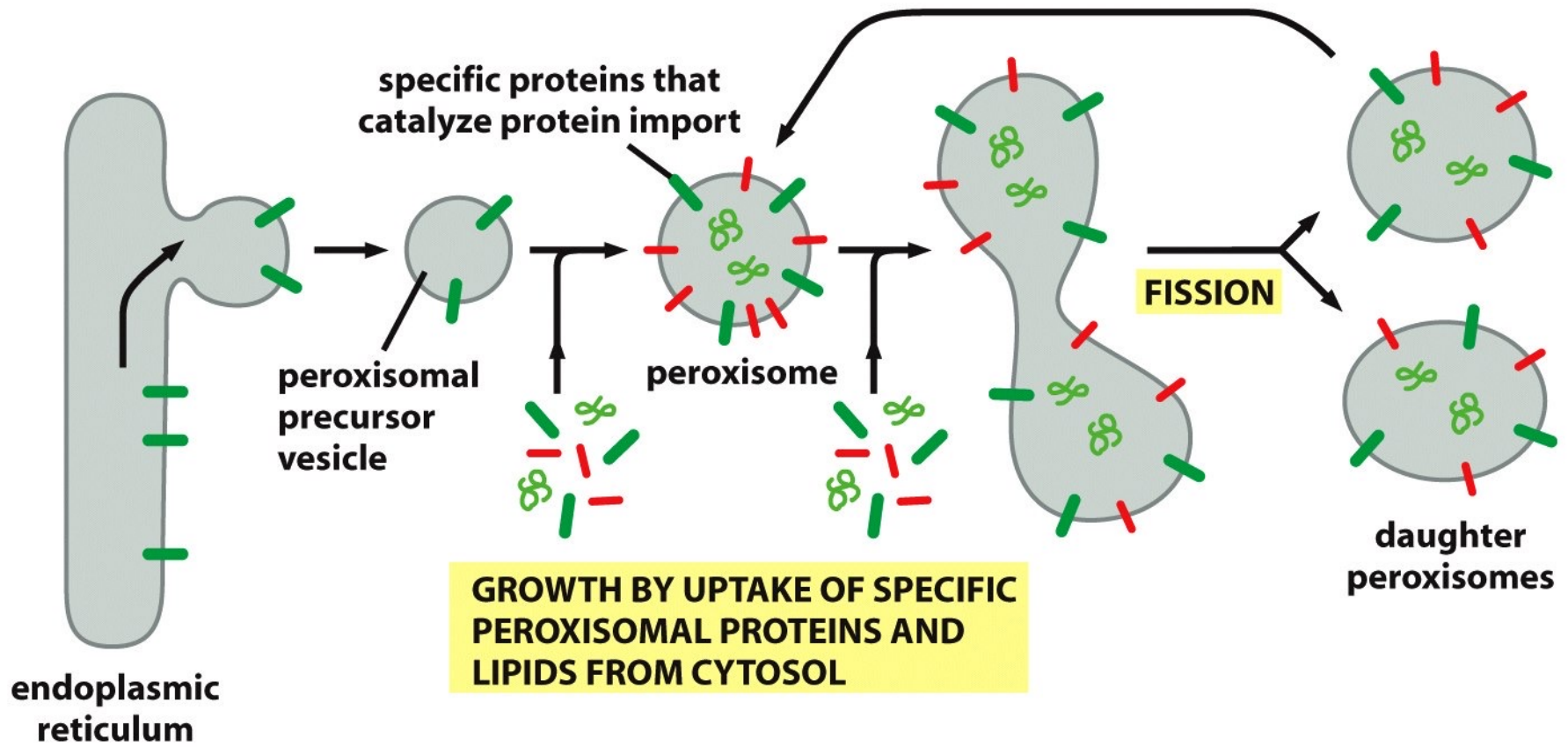
????

Derivano da organelli pre-esistenti
(replicazione autonoma) o da un
compartimento specializzato????

????

????

I PEROSSISOMI SONO GENERATI DA ALTRI PEROSSISOMI MEDIANTE CRESCITA E DIVISIONE



VARIE PATOLOGIE DEI PEROSSISOMI

1. SINDROME DI ZELLWEGER

- difetto genetico di importo di proteine nei perossisomi
- non funziona il recettore per il segnale di indirizzo ai perossisomi (Pex5, Pex7)
- non vi sono enzimi nei perossisomi (perossisomi vuoti!)
- anomalie a livello cerebrale, epatico, renale
- la morte sopravviene poco dopo la nascita

GLI ORGANELLI DELLA VIA SECRETORIA E LORO BIOGENESI

GLI ORGANELLI DELLA VIA SECRETORIA SONO STRETTAMENTE COLLEGATI ATTRAVERSO VESCICOLE

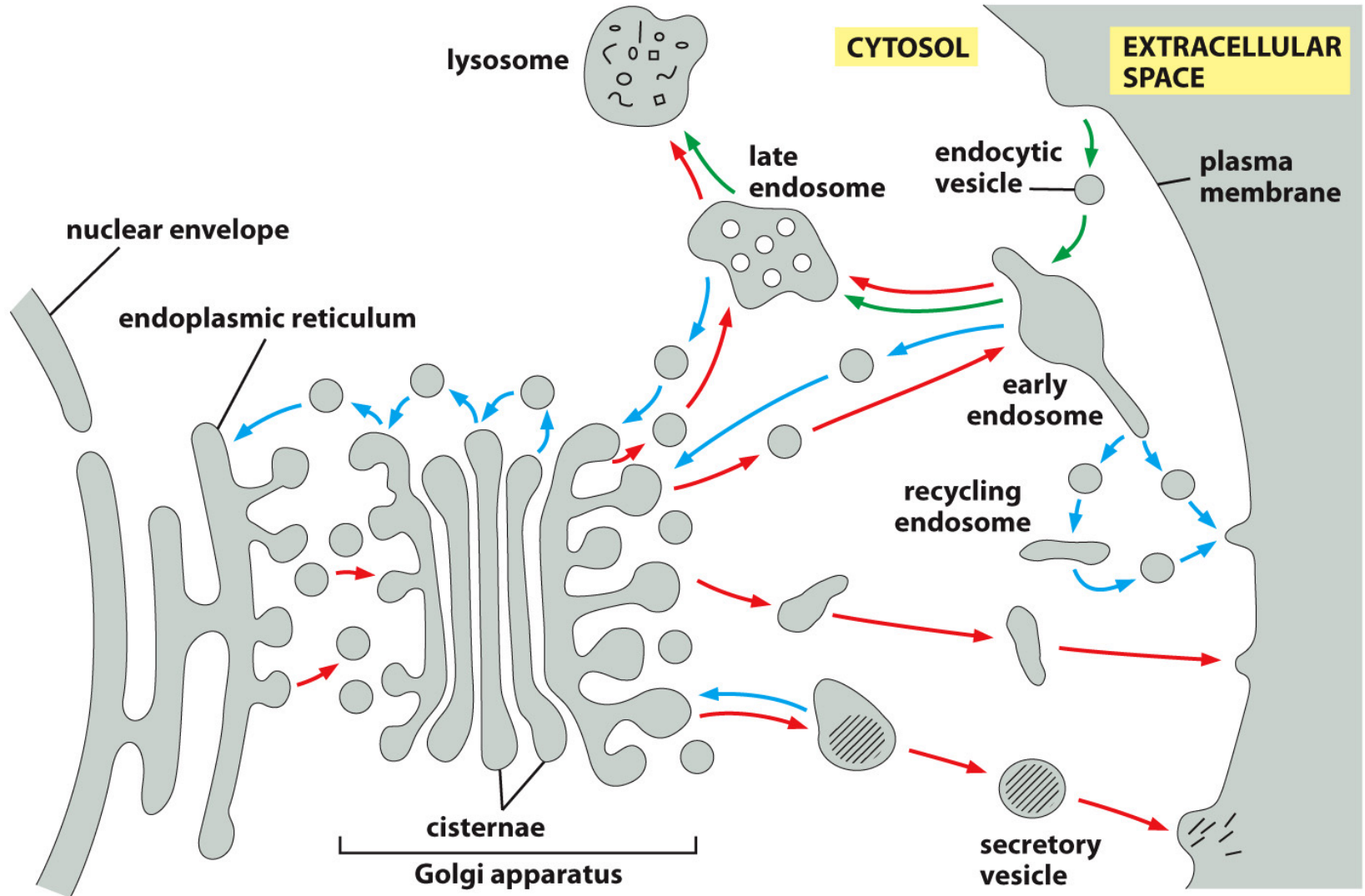
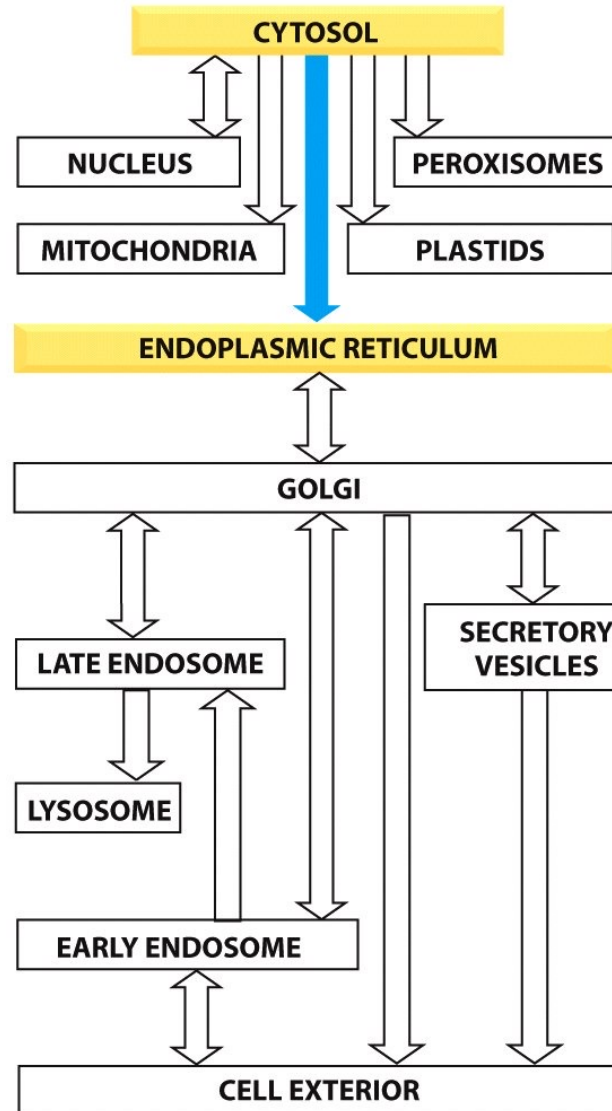


Figure 13-3b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

✓ traffico del cargo: proteine

✓ traffico di membrane: lipidi

L'IMPORTAZIONE NEL RETICOLO ENDOPLASMATICO È UNO STEP CHIAVE PER LA BIOGENESI DEGLI ORGANELLI DELLA VIA SECRETORIA



IL RETICOLO ENDOPLASMATICO APPARE COME UN LABIRINTO DI TUBULI E SACCHI APPIATTITI

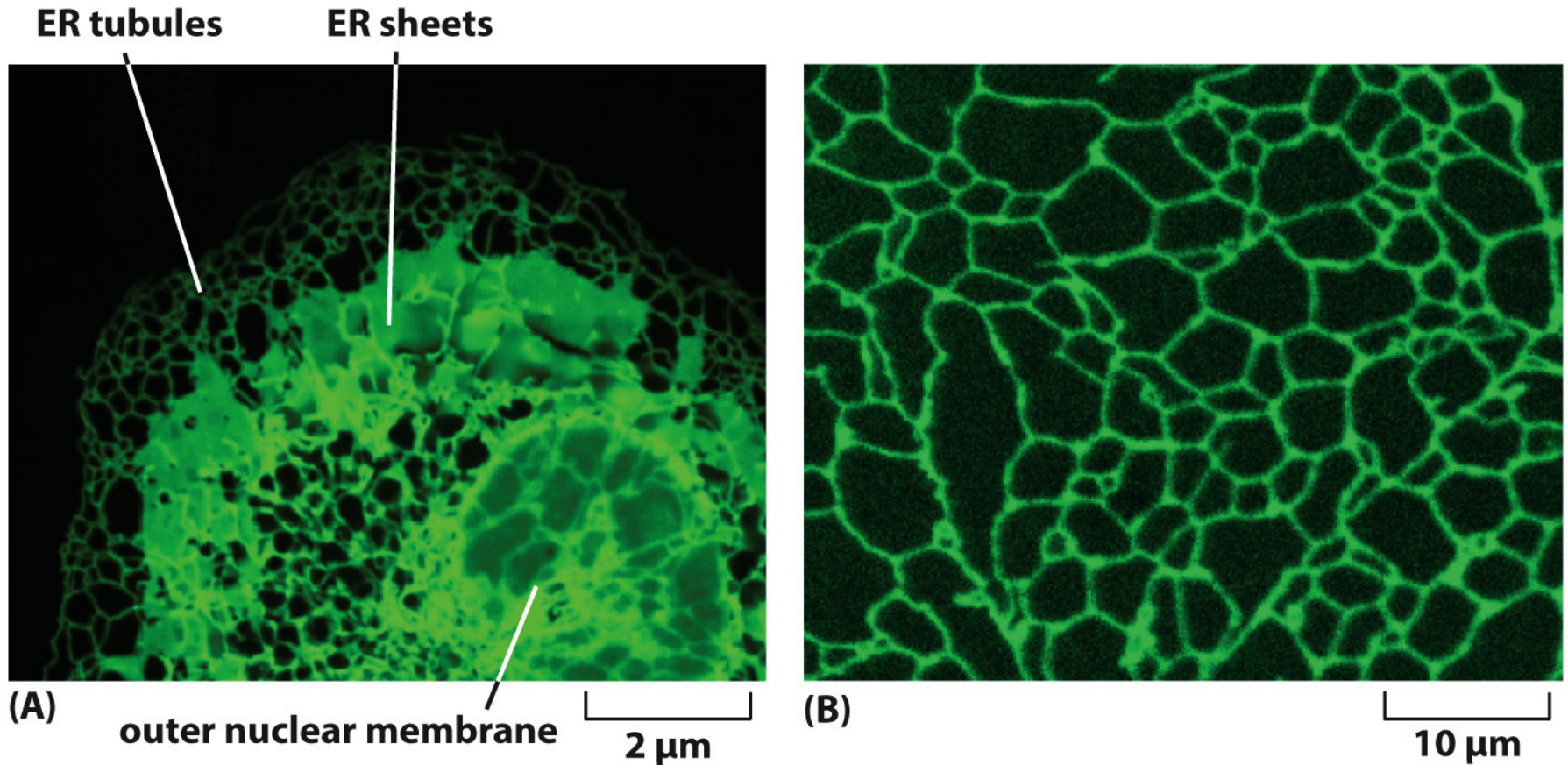
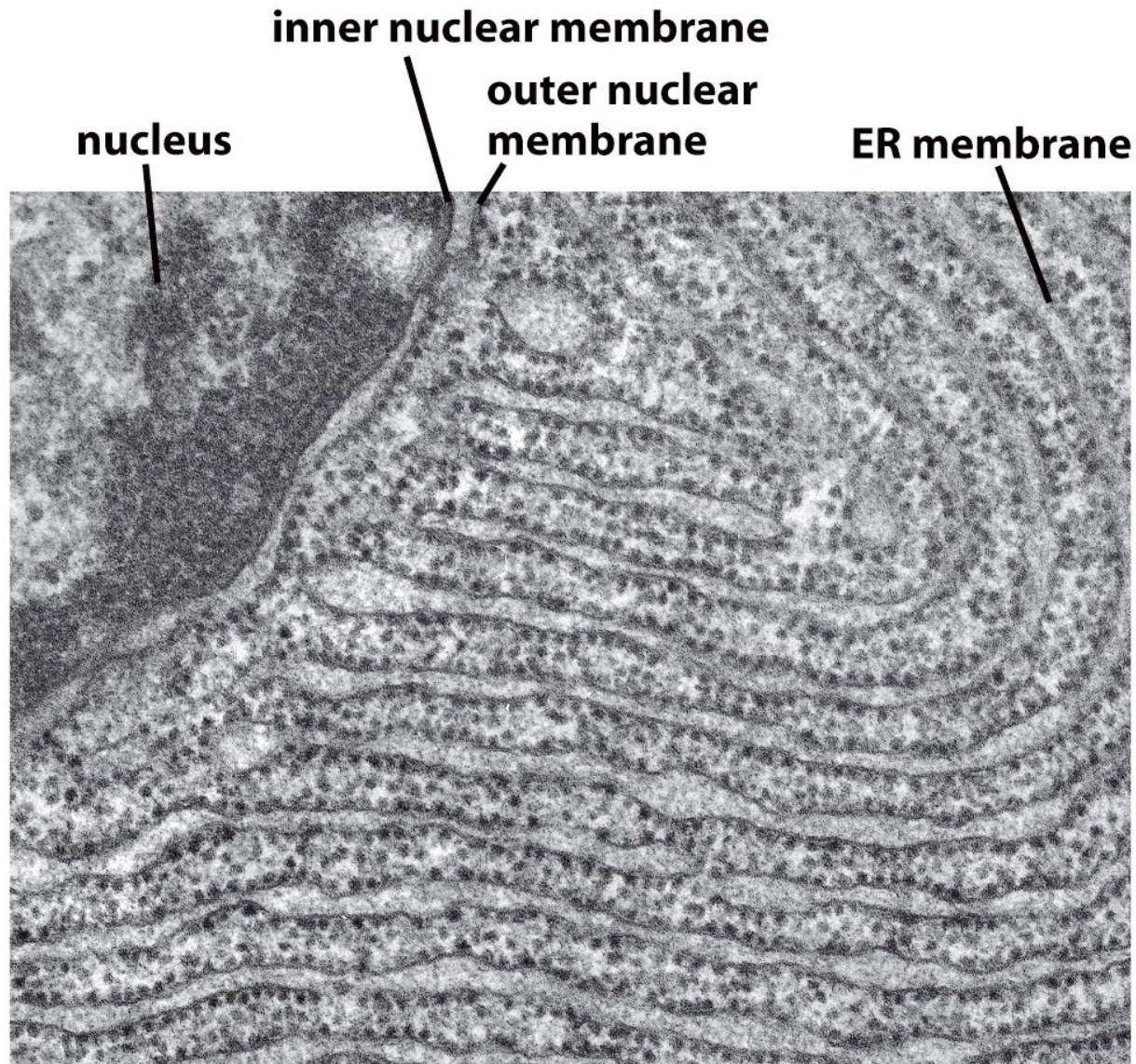


Figure 12-31 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

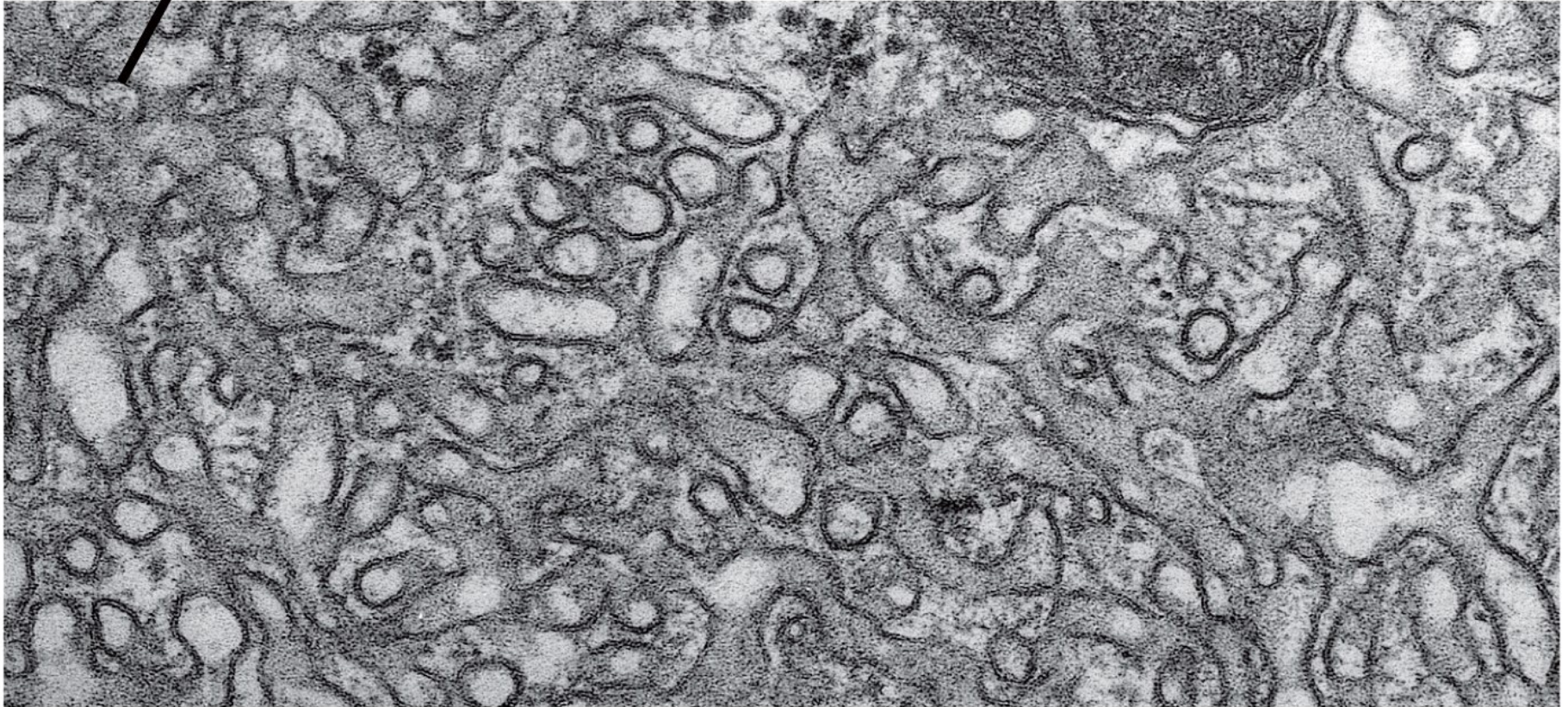
II RETICOLO ENDOPLASMATICO RUGOSO APPARE COME CISTERNE DI ASPETTO RUGOSO



200 nm

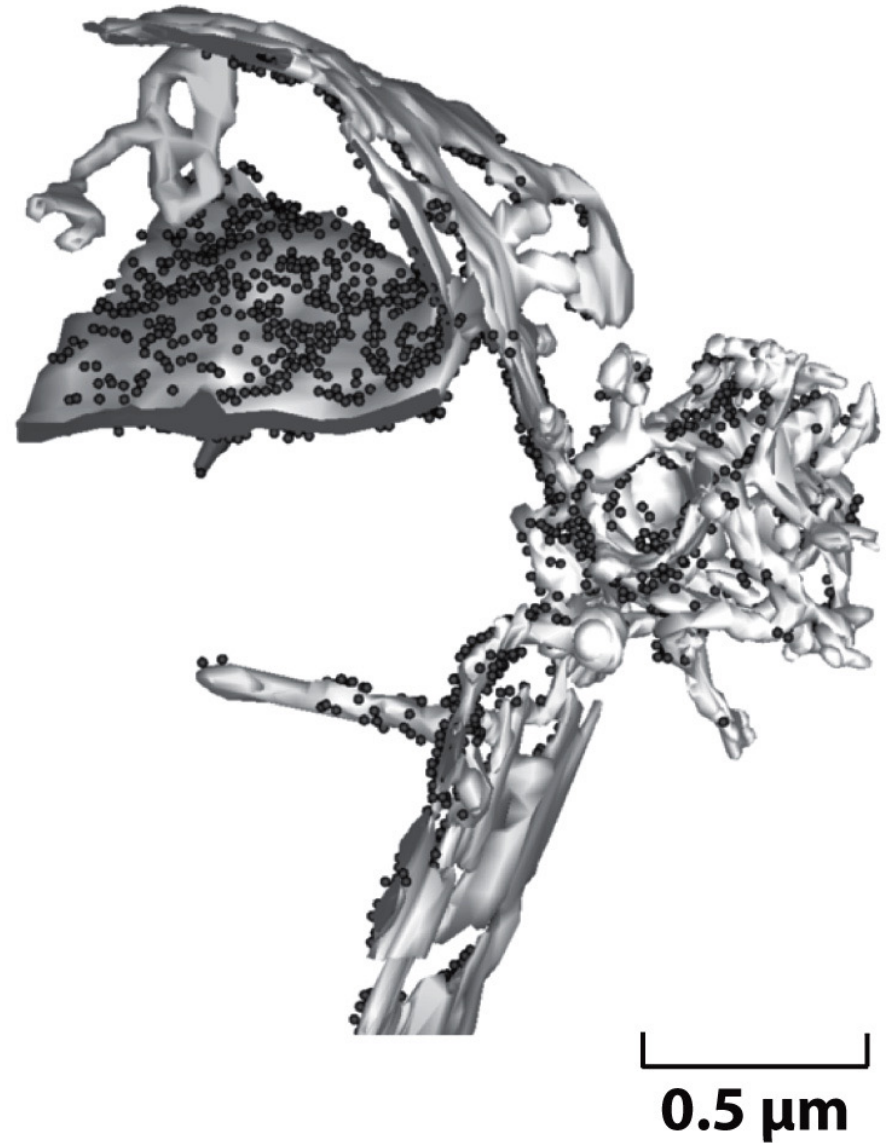
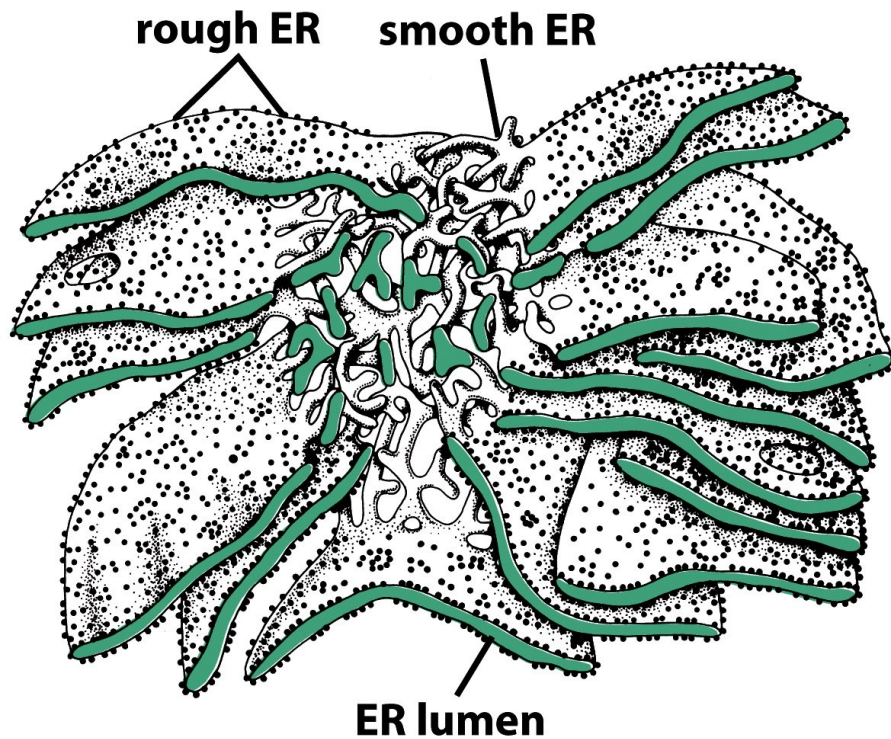
II RETICOLO ENDOPLASMATICO LISCIO APPARE COME TUBULI MEMBRANOSI DI ASPETTO LISCIO

ER membrane



200 nm

RER E REL SONO INTERCONNESSI E FUNZIONALMENTE DIVERSI



II RETICOLO ENDOPLASMATICO RUGOSO E LISCIO POSSONO ESSERE ISOLATI L'UNO DALL'ALTRO

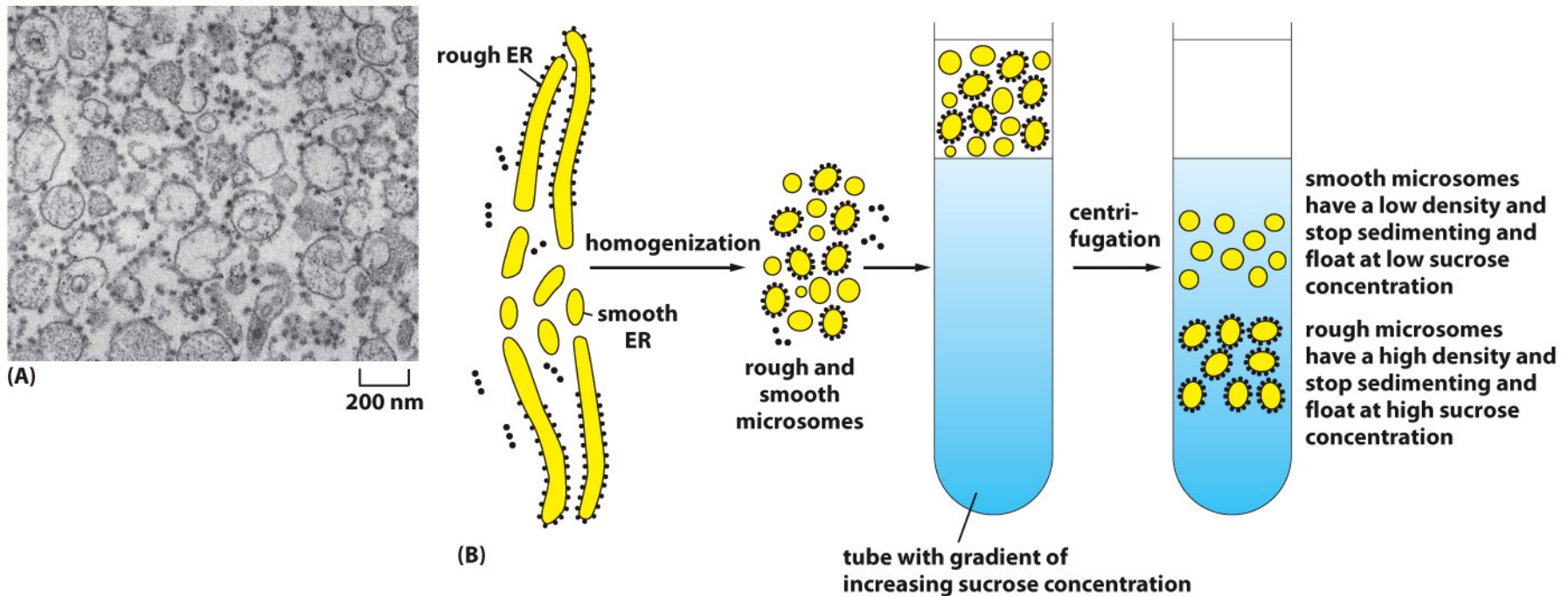


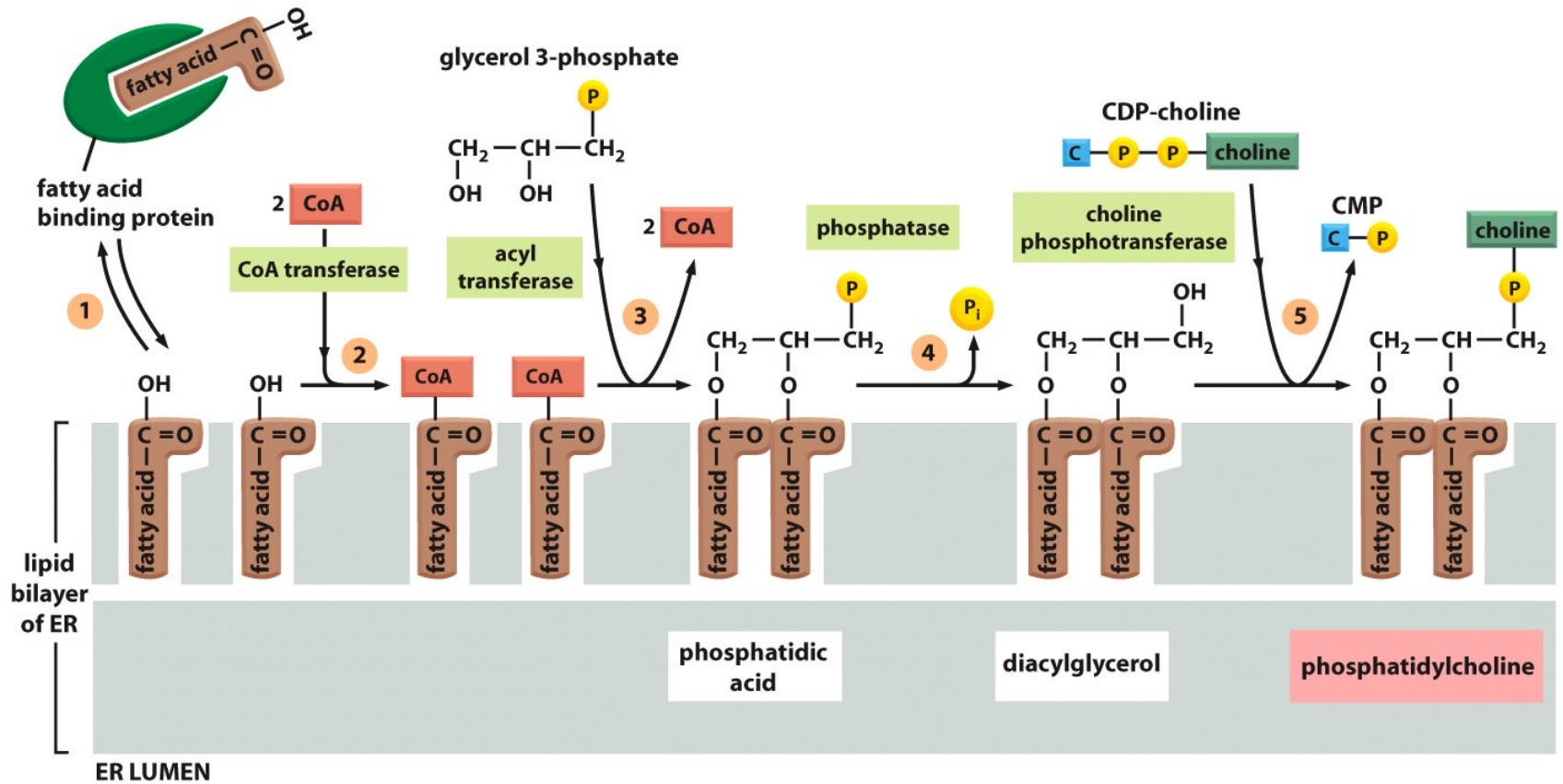
Figure 12-34 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

✓ Il reticolo endoplasmatico si frammenta in piccole vesciole (100-200 nm) chiamate **microsomi**

FUNZIONI DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO LISCIO

1. SINTESI LIPIDI
2. SINTESI ORMONI STEROIDEI
3. METABOLISMO DEL GLICOGENO
4. DEPOSITO DI CALCIO
5. REAZIONI DI DETOSSIFICAZIONE

LA SINTESI DEI LIPIDI DI MEMBRANA AVVIENE SUL RE

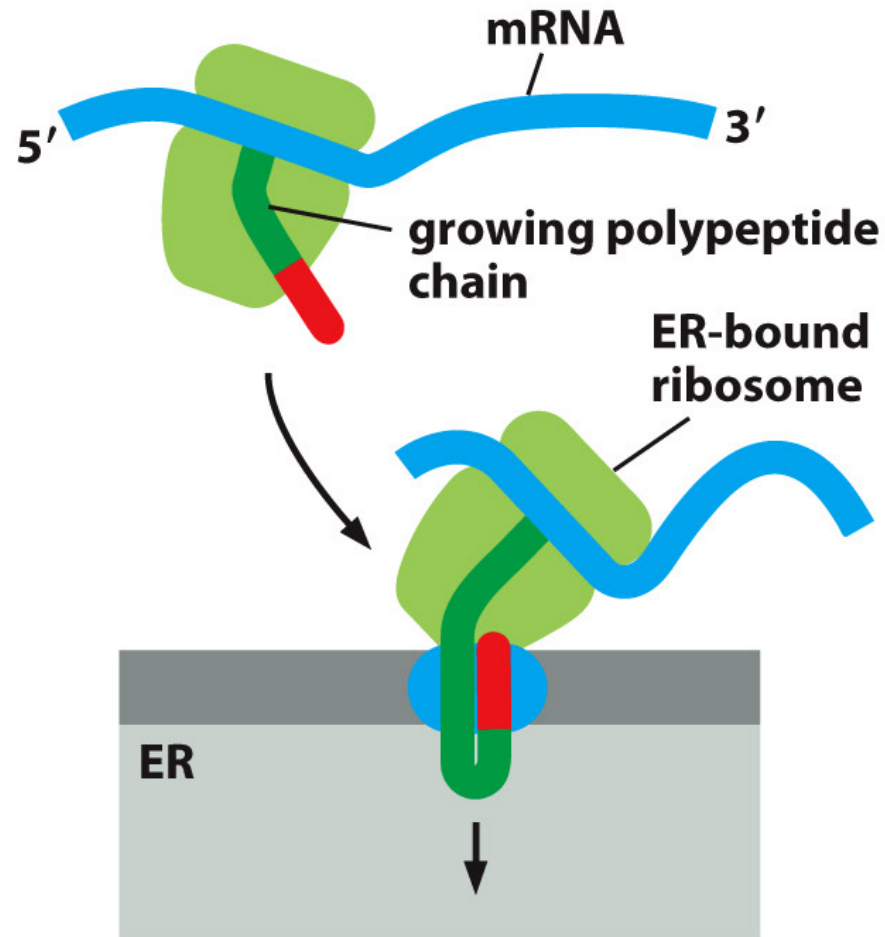


FUNZIONI DEL RETICOLO ENDOPLASMATICO RUVIDO

SINTESI PROTEINE DELLA VIA SECRETORIA E LORO MODIFICAZIONI:

- 1. RIPIEGAMENTO**
- 2. FORMAZIONE DI PONTI DISOLFURO**
- 3. OLIGOMERIZZAZIONE**
- 4. GLICOSILAZIONE (asparagine)**
- 5. RIMODELLAMENTO DELLE CATENE
OLIGOSACCARIDICHE**
- 5. CONTROLLO DI QUALITA'**

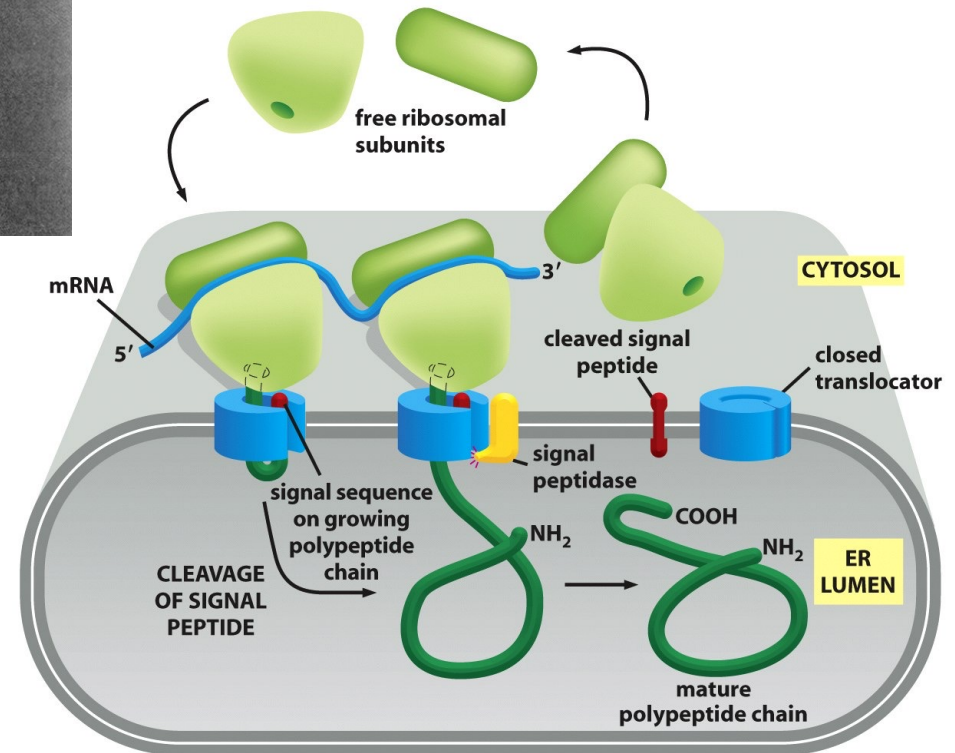
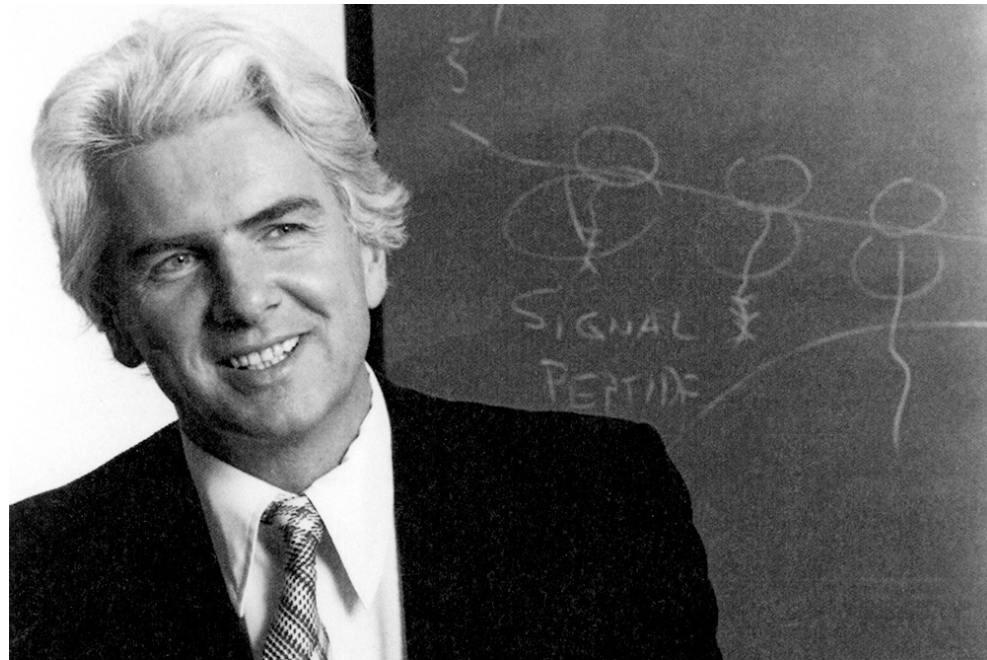
L'IMPORATZIONE DI PROTEINE NEL RETICOLO ENDOPLASMATICO AVVIENE CO-TRADUZIONALMENTE



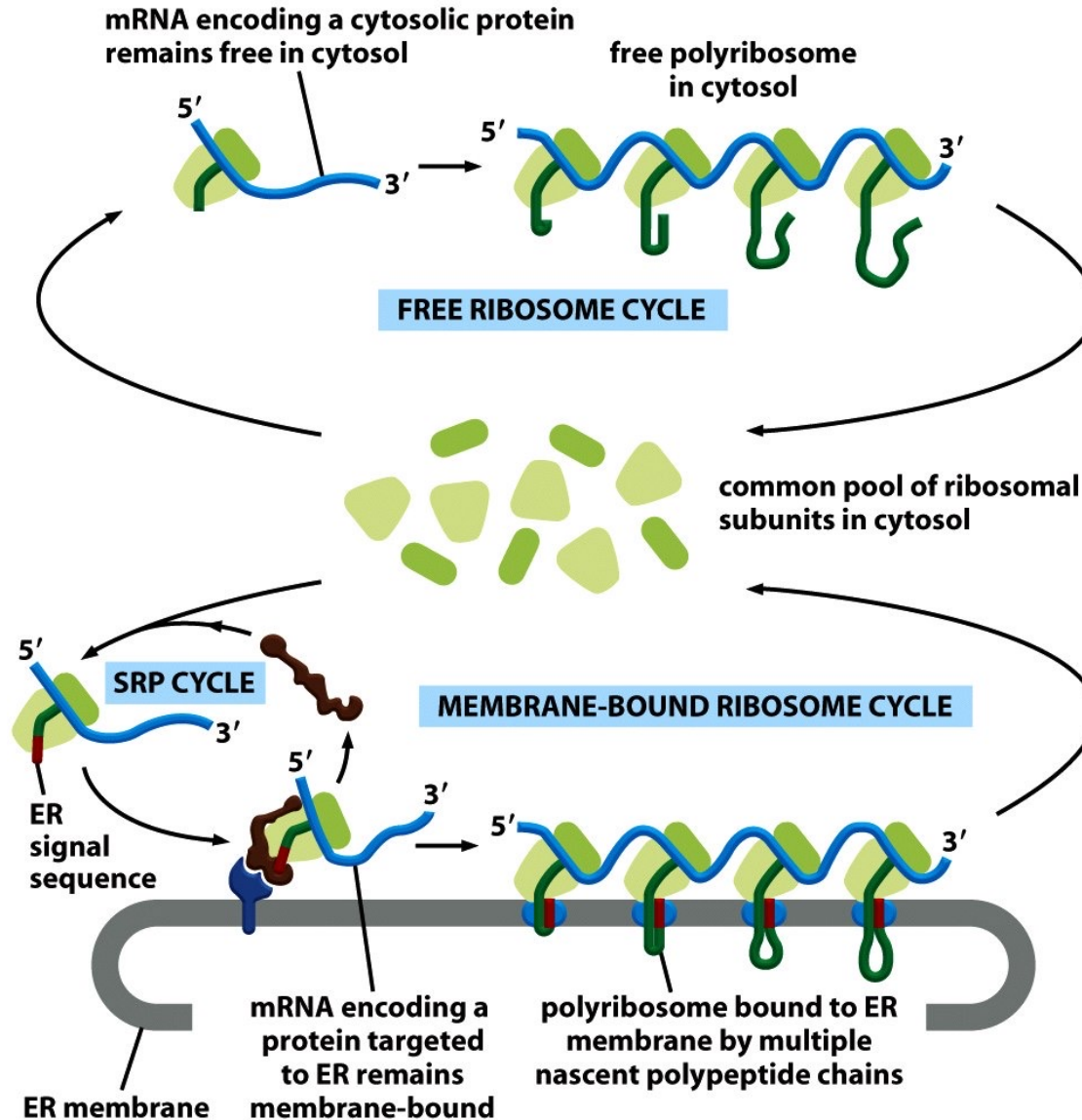
(A)

**CO-TRANSLATIONAL
TRANSLOCATION**

G. BLOBEL IPOTIZZÒ E SCOPRÌ IL PEPTIDE SEGNALE



NELLA TRASLOCAZIONE CO-TRADUZIONALE, IL PROCESSO DI TRADUZIONE SI BLOCCA TEMPORANEAMENTE E POI RICONTINUA SULLE MEMBRANE DEL RE



NUMEROSI ELEMENTI SONO COINVOLTI NELLA TRASLOCAZIONE CO-TRADUZIONALE

1. PEPTIDE SEGNALE

2. PARTICELLA SRP

3. RECETTORE DI SRP

4. TRASLOCONE

5. PEPTIDASI DEL SEGNALE

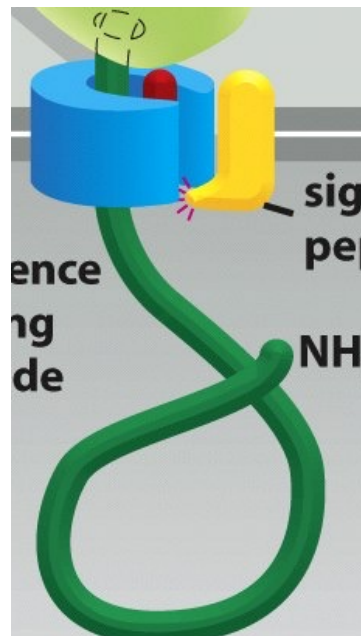
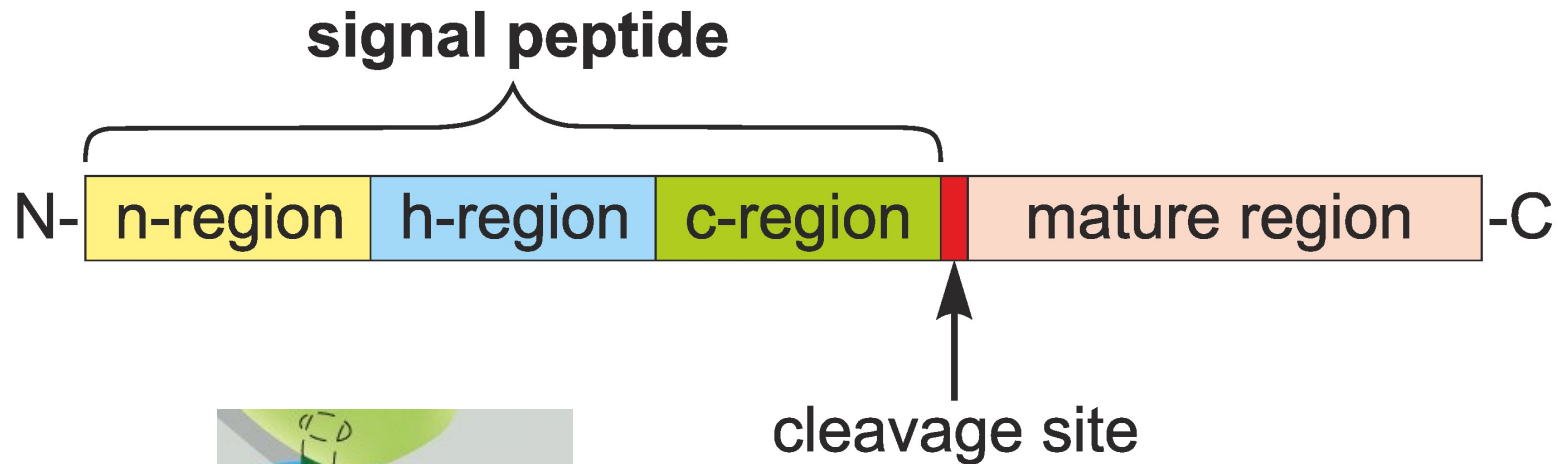
IL PEPTIDE SEGNALE E' UNA SEQUENZA IDROFOBICA

- 1. 15-45 AMMINOACIDI**
- 2. ALL'AMMINO TERMINALE**
- 3. IDROFOBICA**
- 4. IN GENERE RIMOSSA**
- 5. SEQUENZA VARIABILE**

ESEMPIO:

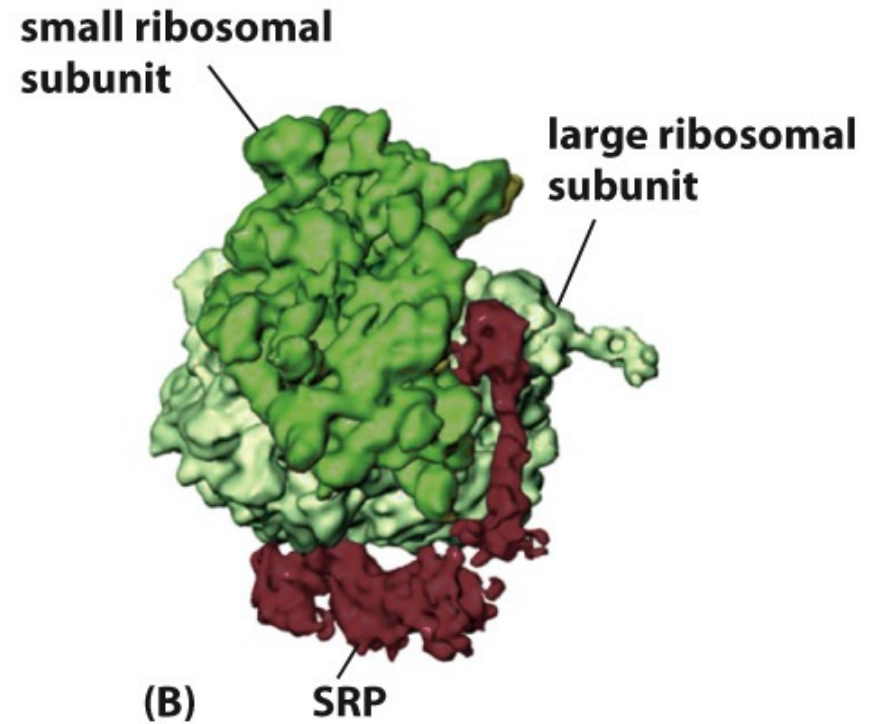
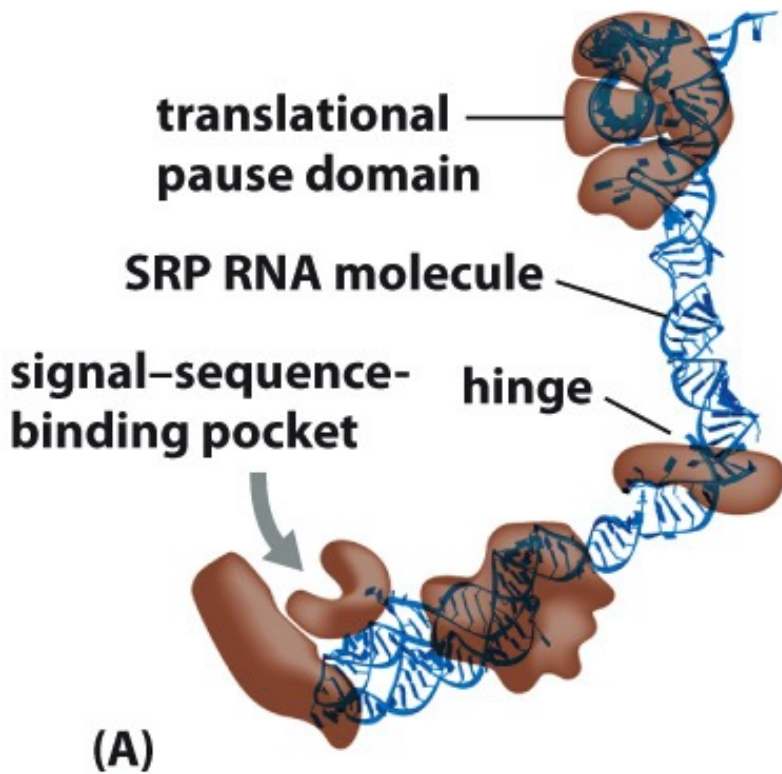
NH₂-MMSFVSLLLVGILFWATEAEQLTKCEVFQ

IL PEPTIDE SEGNALE AMMINO-TERMINALE DI UNA PROTEINA SOLUBILE DEL RER HA DUE FUNZIONI

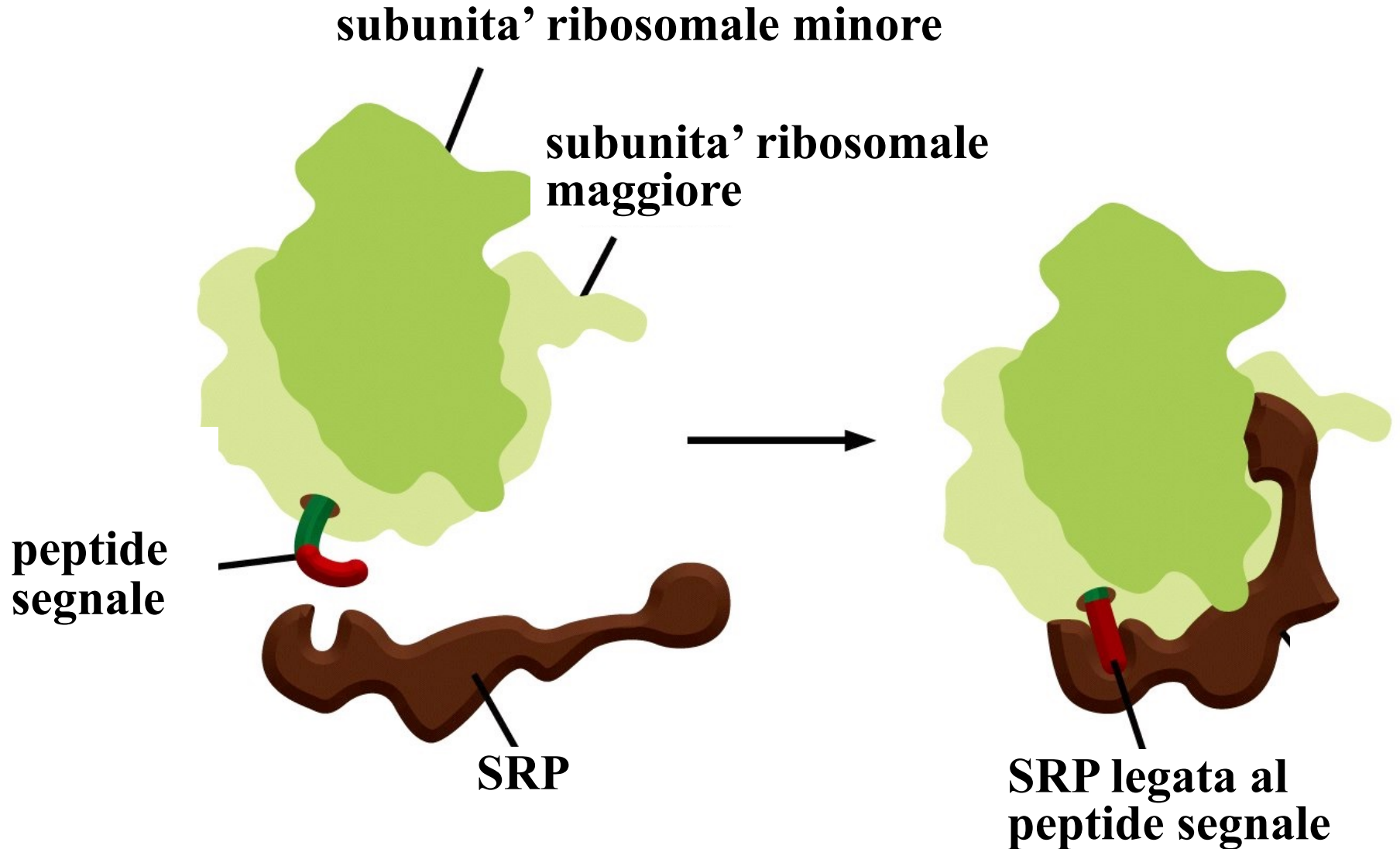


Oltre a indirizzare le proteine alle membrane dell'RE, la sequenza segnale serve ad aprire il canale di traslocazione

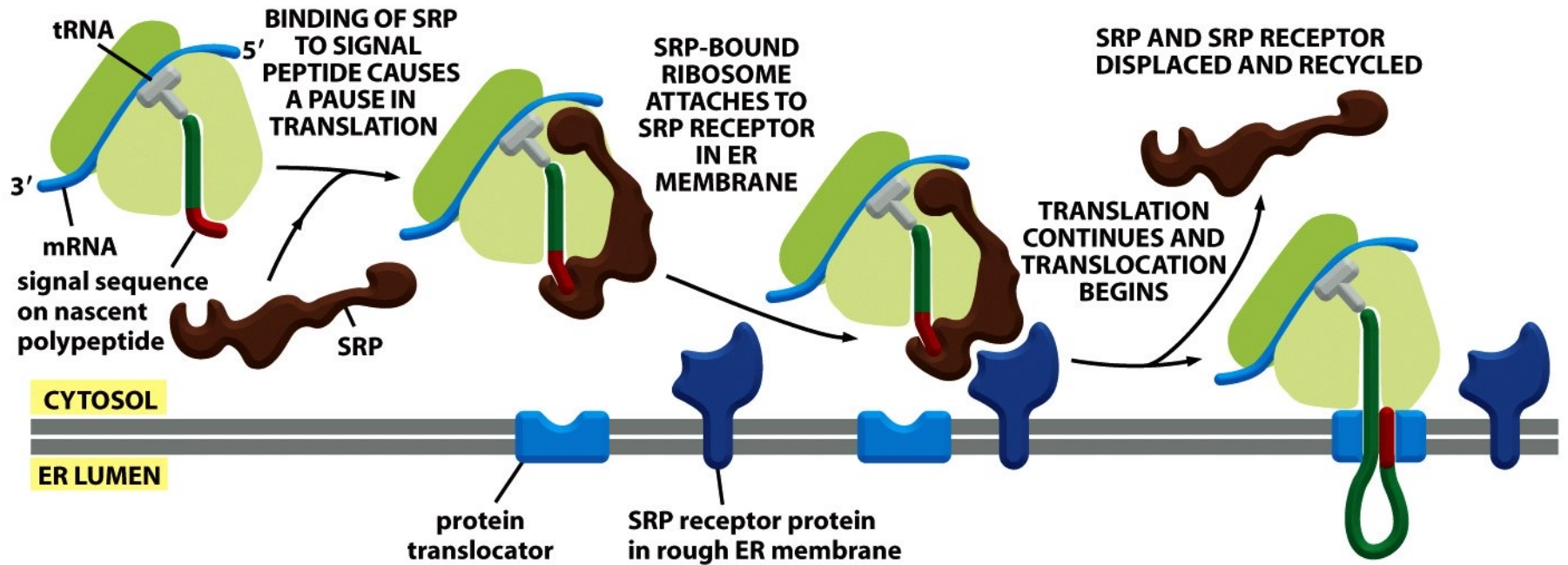
SRP È COSTITUITA DA 1 RNA E 6 PROTEINE



SRP INTERAGISCE COL RIBOSOMA E BLOCCA LA TRADUZIONE



SRP GUIDA L'INTERO COMPLESSO TRADUZIONALE SUL RER



SRP SVOLGE 3 FUNZIONI

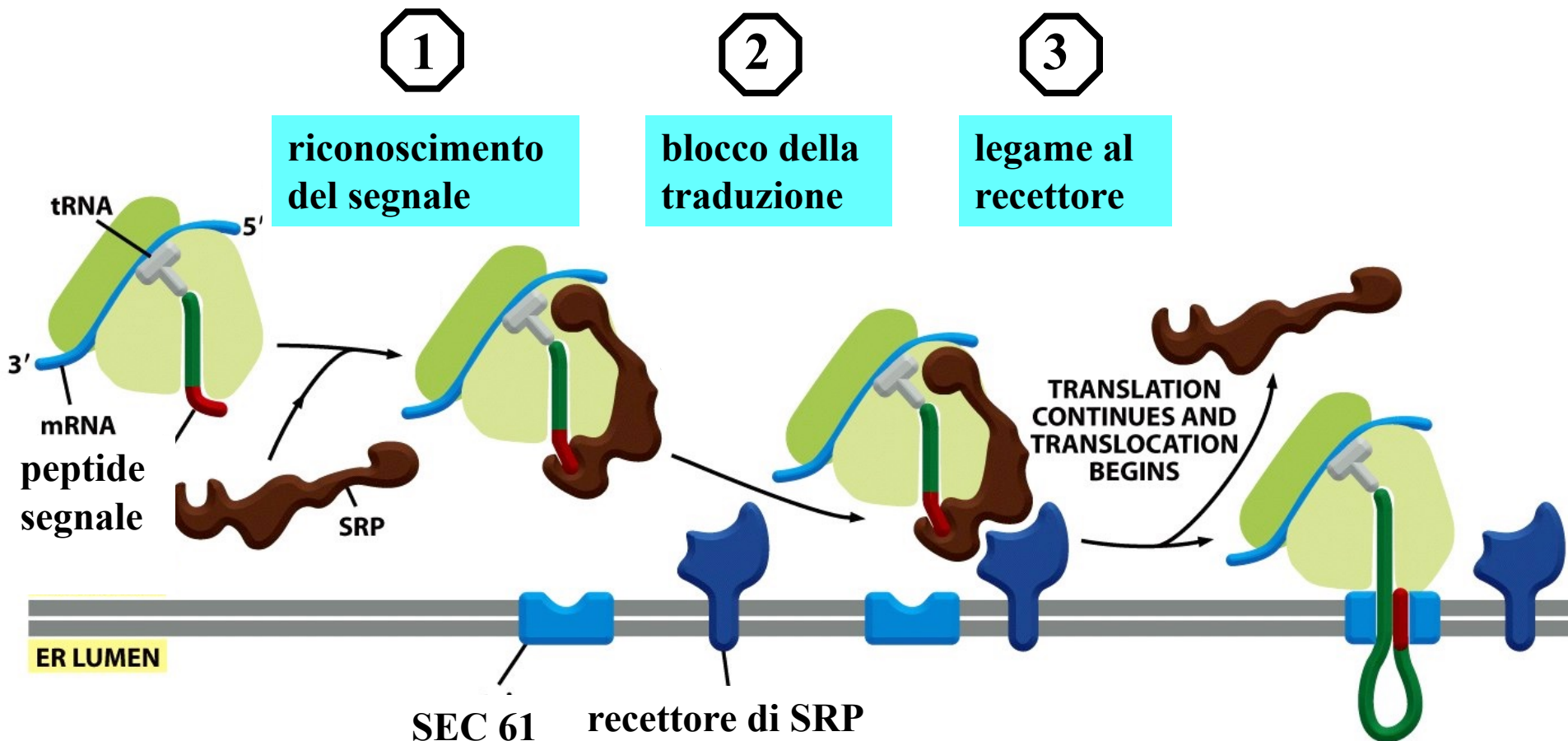


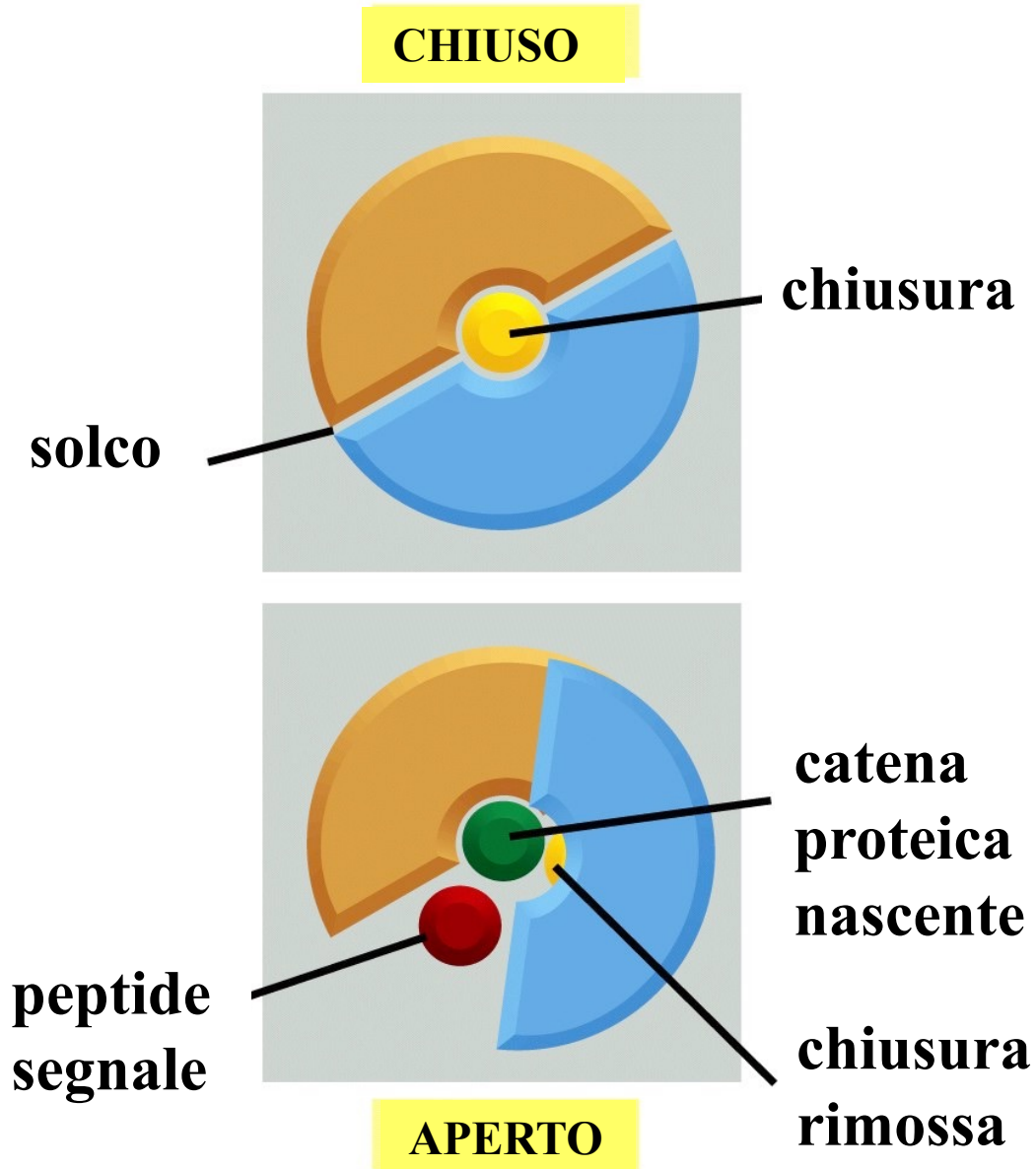
Figure 12-40 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Il recettore di SRP dirige il complesso verso il traslocone che resta chiuso fino a che non si lega correttamente al ribosoma!

IL RECETTORE DI SRP E' LOCALIZZATO SUL RER

- 1. PROTEINA TRANSMEMBRANA DEL RER**
- 2. COSTITUITO DA 2 SUBUNITA' (SR α ed SR β)**
- 3. SI DISTACCA DA SRP CON IDROLISI DI GTP**

IL TRASLOCONE SEC61 PUO' TROVARSI IN UNA CONFIGURAZIONE CHIUSA O APERTA



L'ORIENTAMENTO SPAZIALE DI UN'ALFA-ELICA DETERMINA L'APERTURA E CHIUSURA DEL CANALE

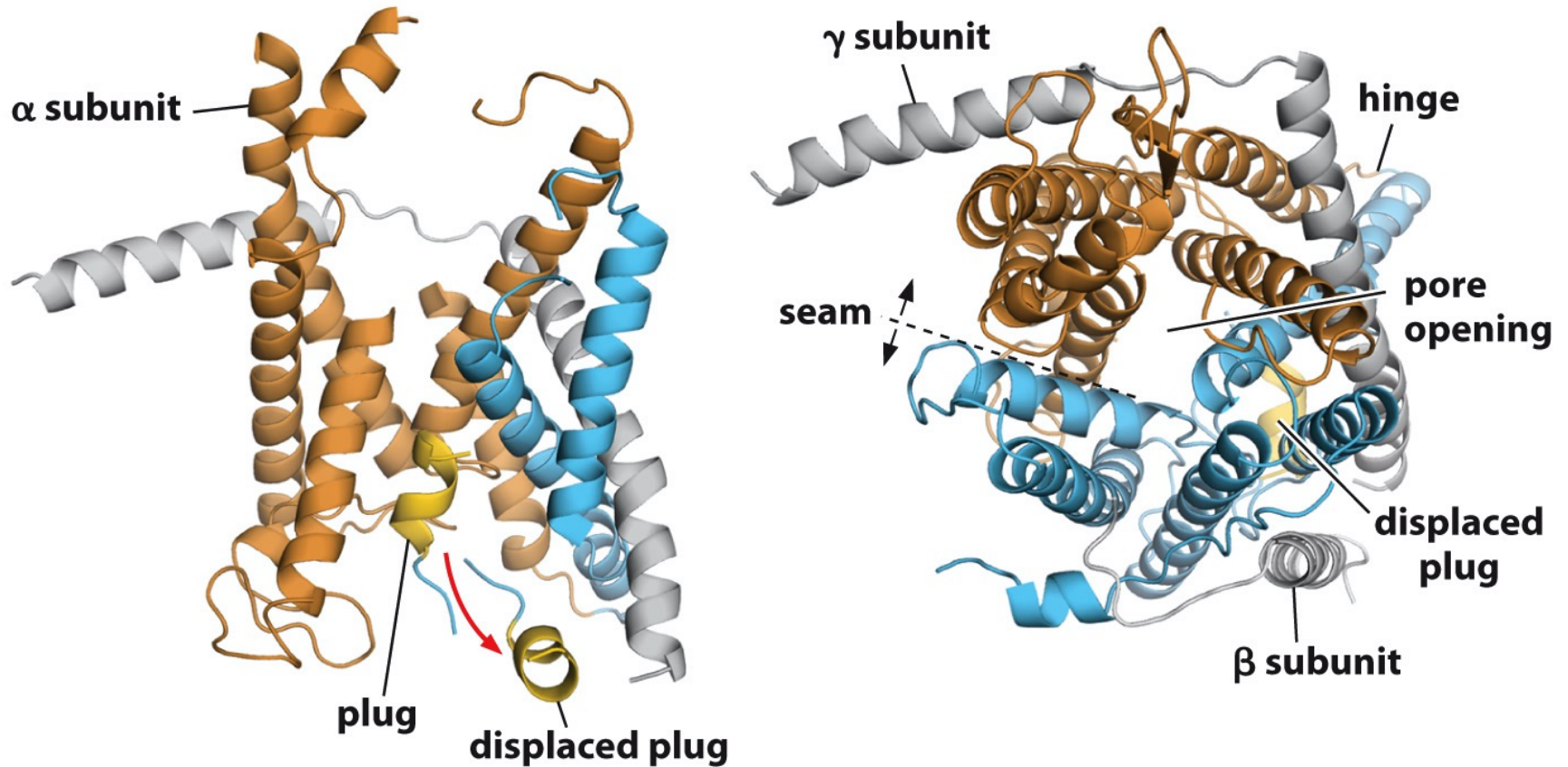
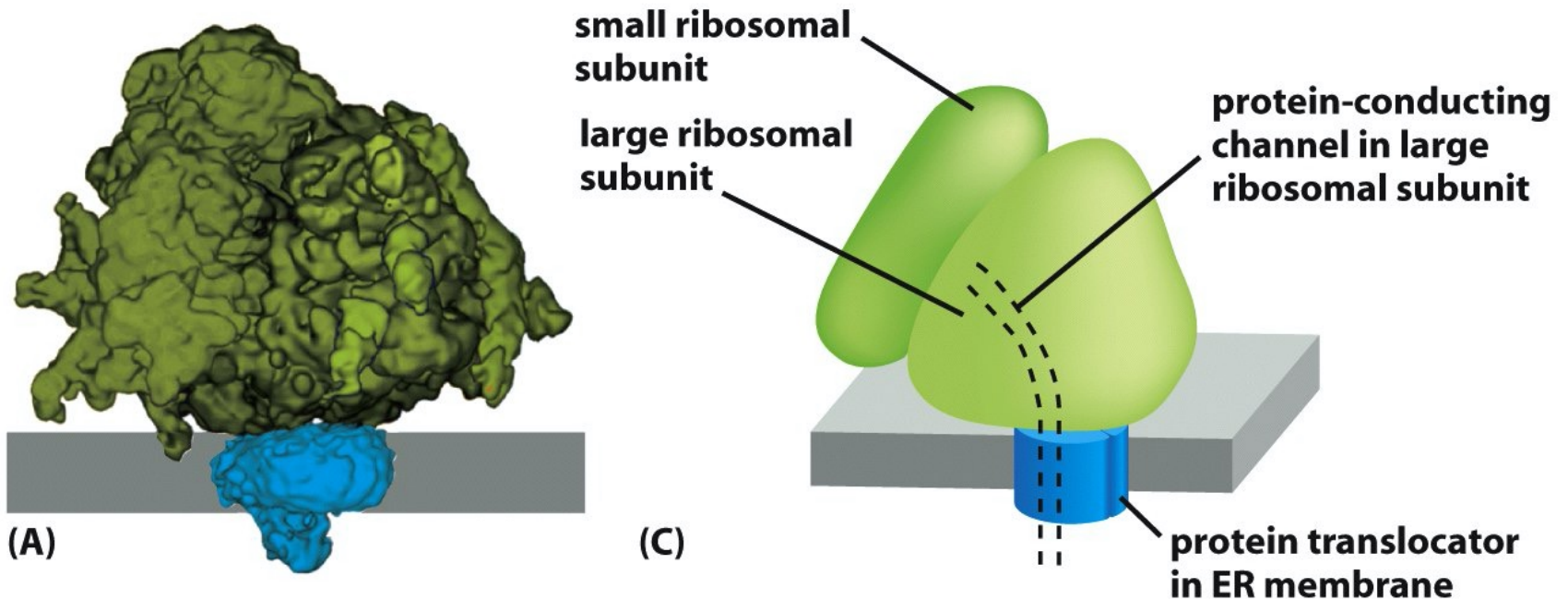


Figure 12-39a Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

IL RIBOSOMA INTERAGISCE CON LE SUBUNITA' DEL SEC61



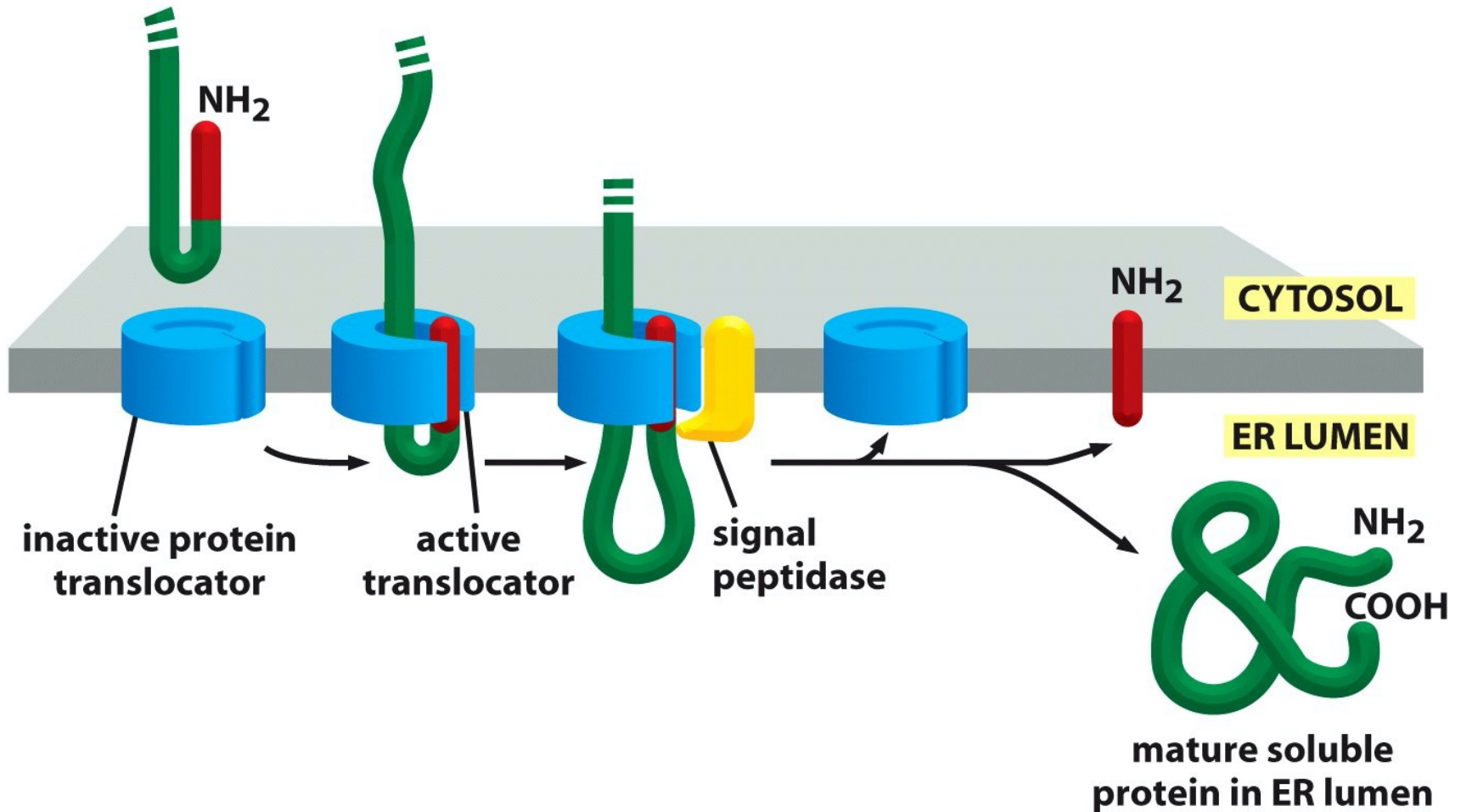
LA PEPTIDASI DEL SEGNALE E' UN ENZIMA CRITICO

- 1. ENZIMA LUMINALE DEL RER**
- 2. VARIE SUBUNITA'**
- 3. RICONOSCE UN SITO ADIACENTE AL PEPTIDE SEGNALE**

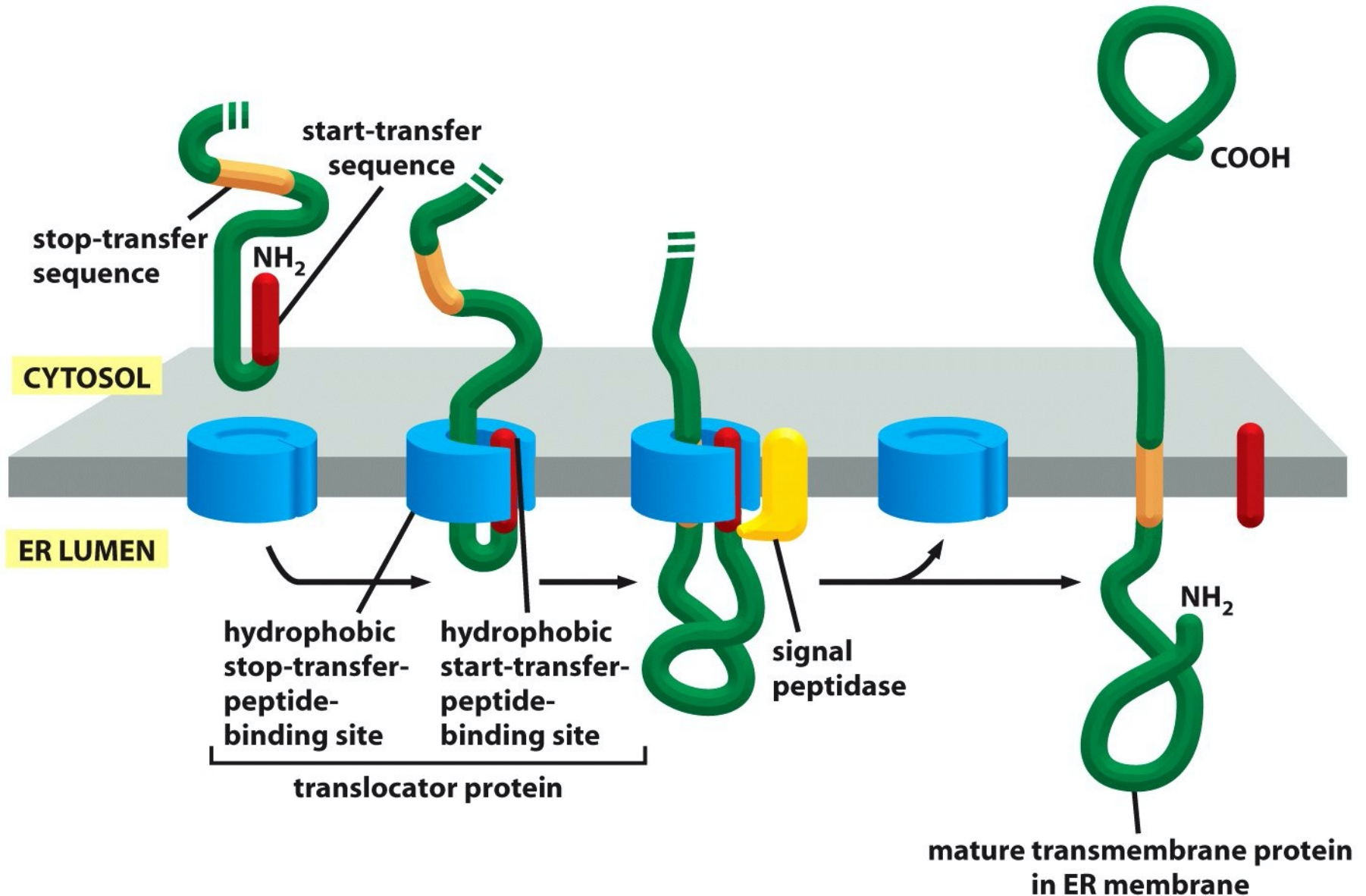
**UNA VOLTA TRASFERITA
SULL'ER, COSA SUCCEDDE
ALLA PROTEINA?**



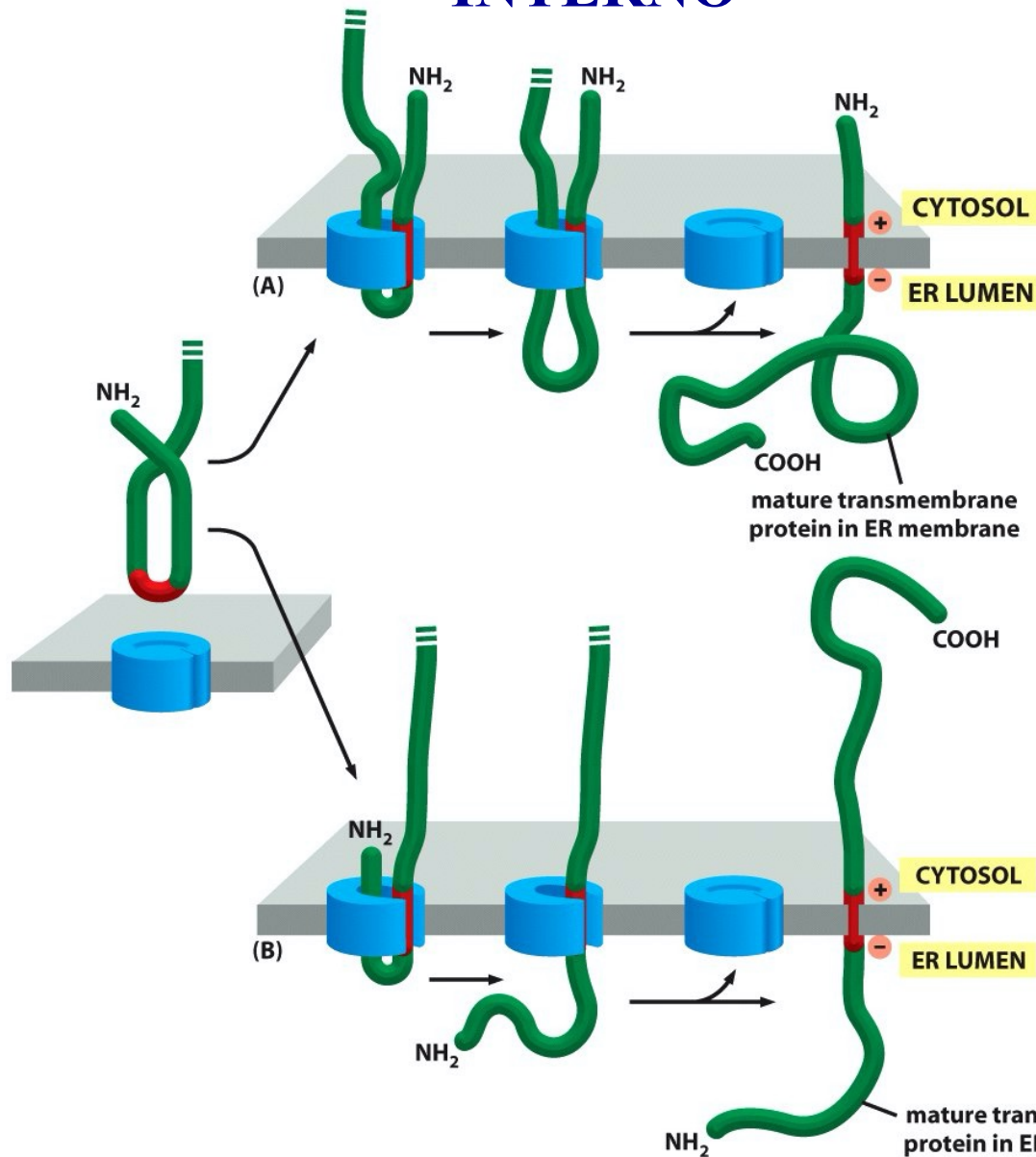
NELLA TRASLOCAZIONE DI UNA PROTEINA SOLUBILE IL PEPTIDE SEGNALE VERRA' RIMOSSO



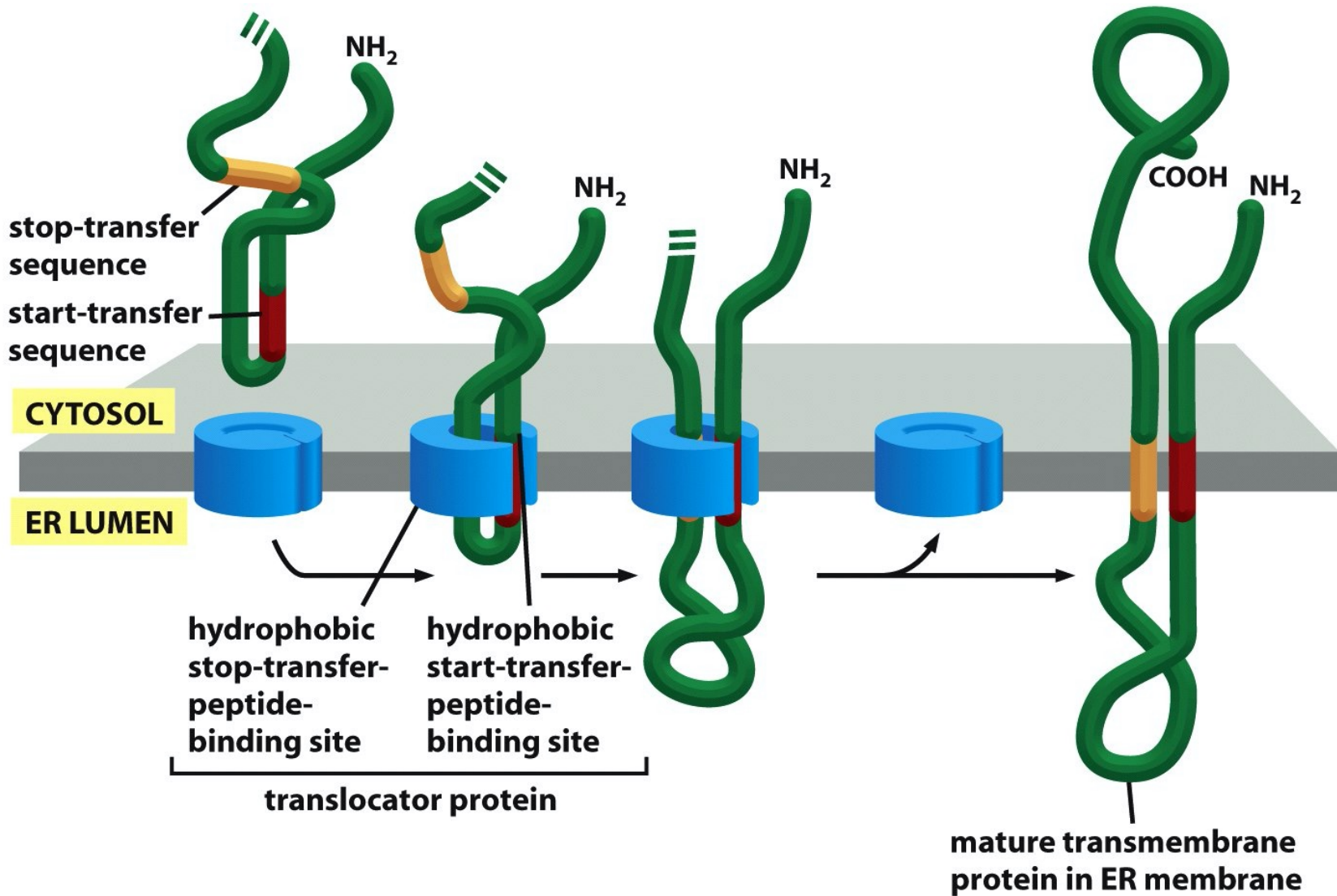
NELLA TRASLOCAZIONE DI PROTEINA DI MEMBRANA SEQUENZE IDROFOBICHE ADDIZIONALI SONO CRUCIALI



TRASLOCAZIONE DI UNA PROTEINA PROTEINA DI MEMBRANA A SINGOLO PASSAGGIO CON SEGNALE INTERNO



TRASLOCAZIONE DI UNA PROTEINA DI MEMBRANA A DOPPIO PASSAGGIO



TRASLOCAZIONE DI UNA PROTEINA DI MEMBRANA A PASSAGGI MULTIPLI

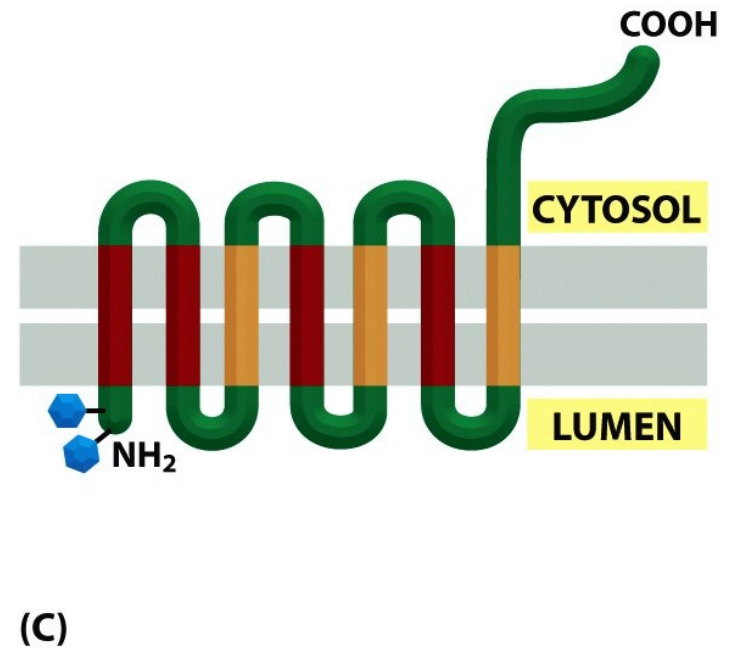
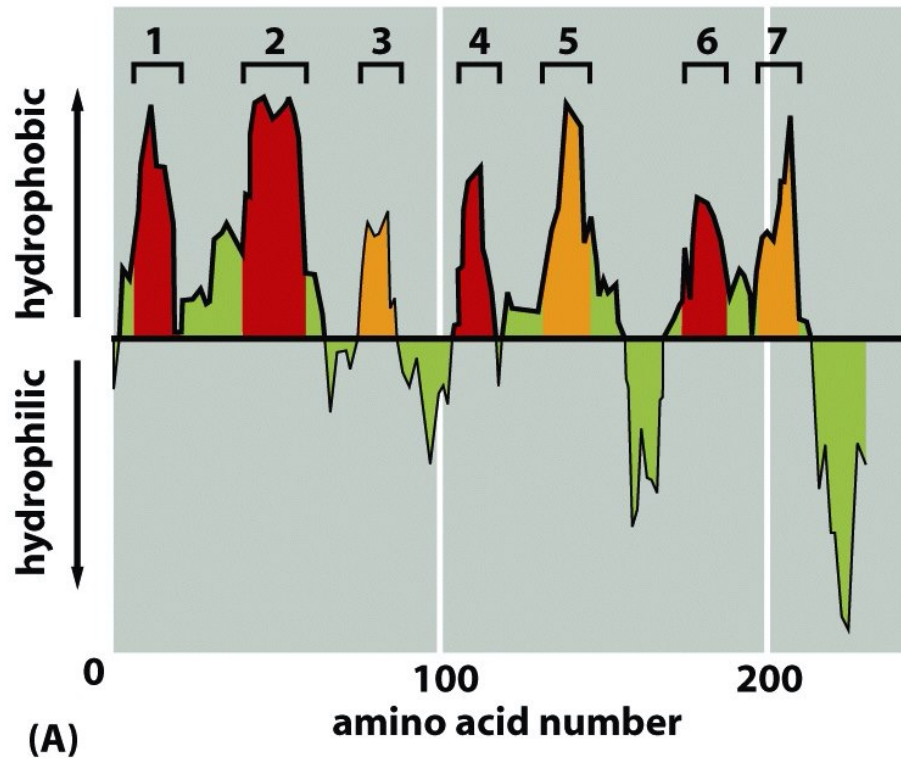
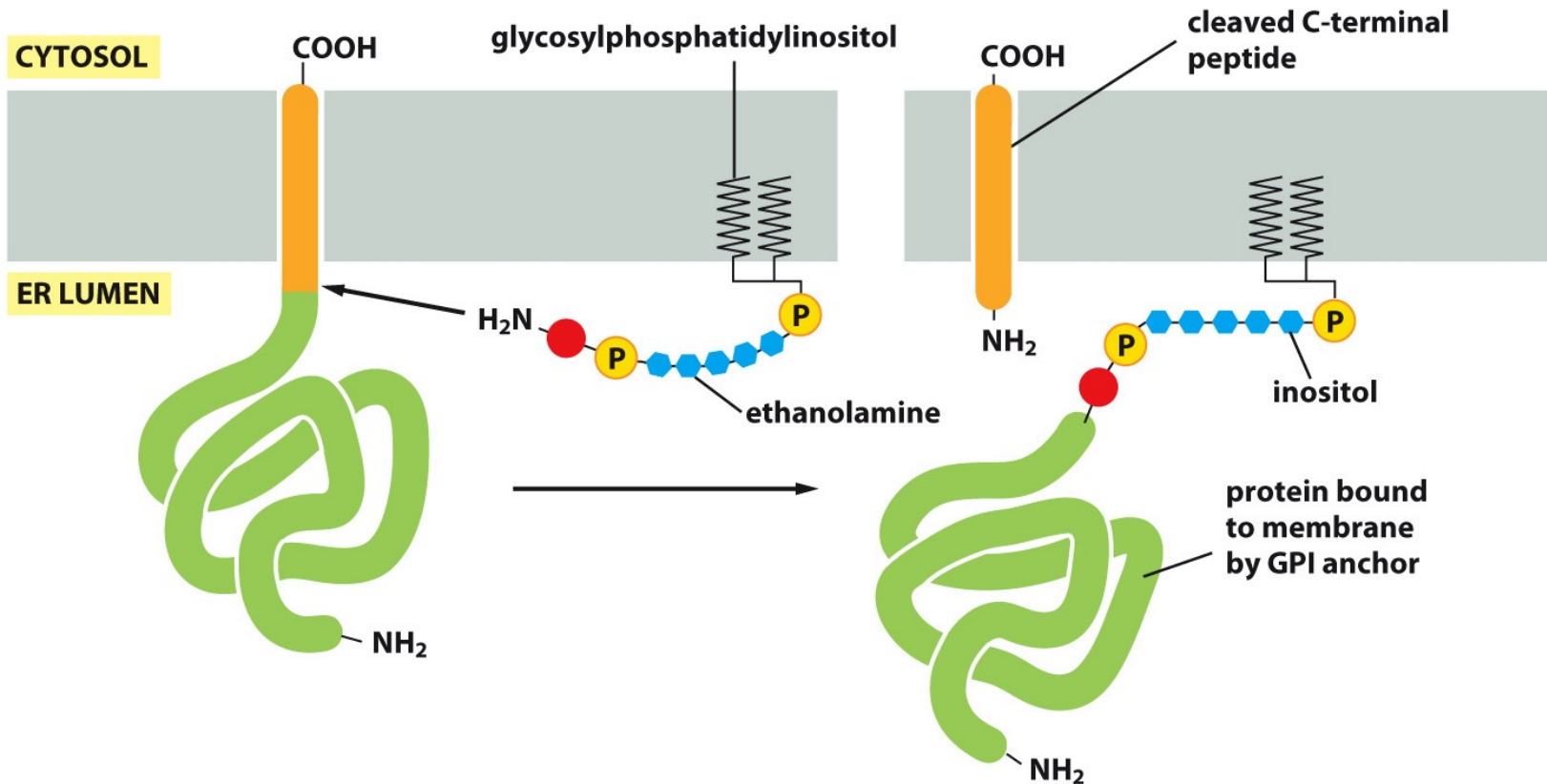


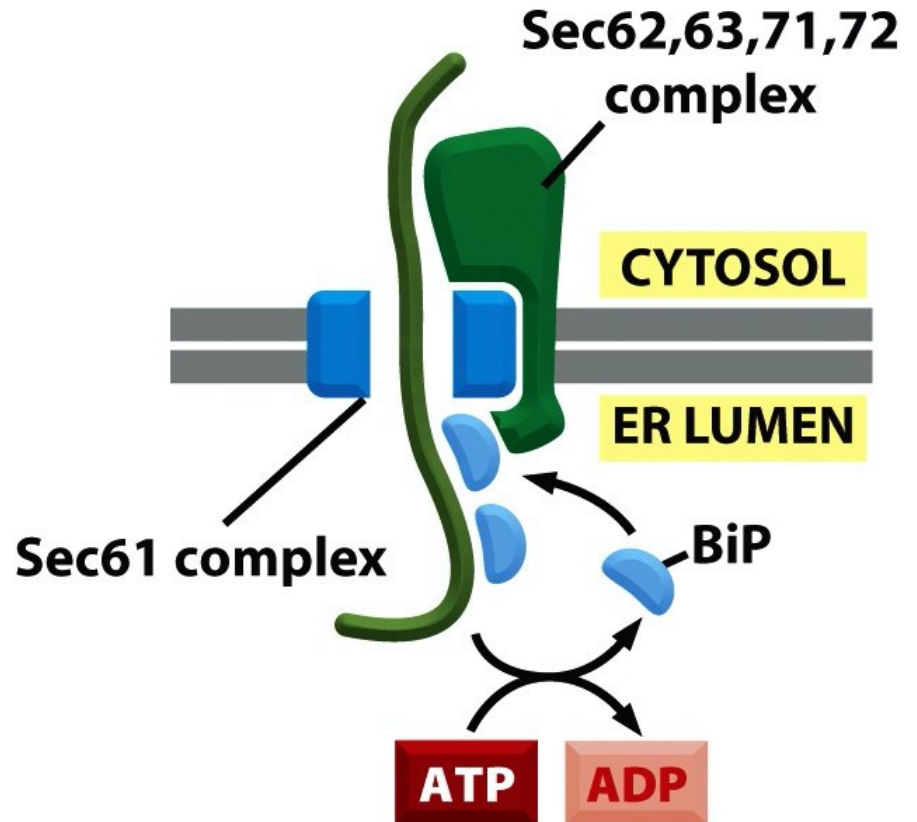
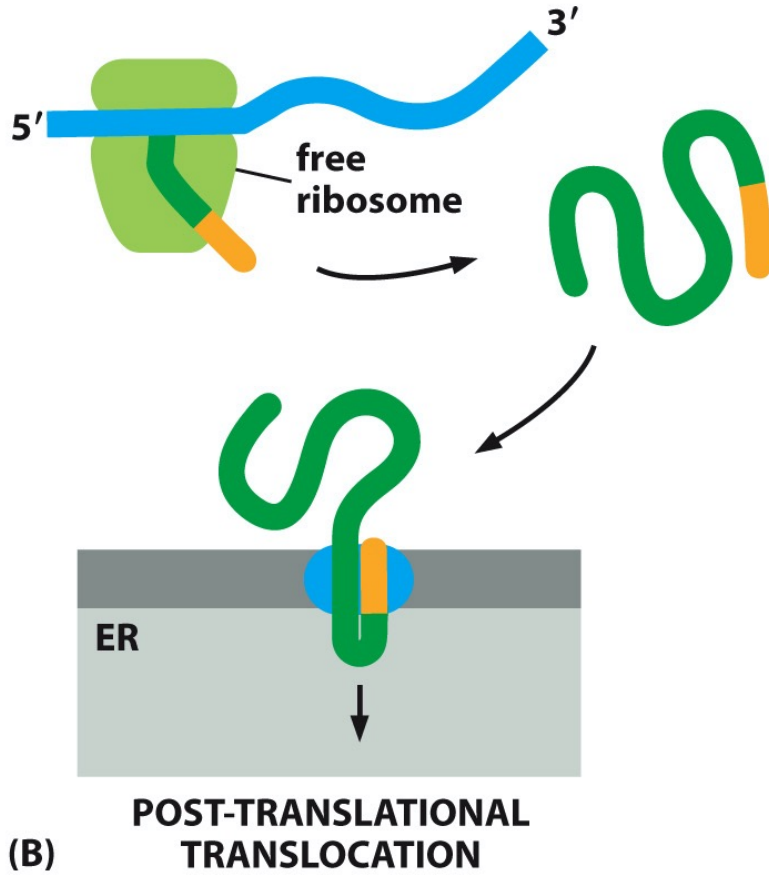
Figure 12-49 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

TRASLOCAZIONE DI UNA PROTEINA GPI

Glycosylated (GPI-anchored) proteins contain a signal sequence, thus directing them to the endoplasmic reticulum (ER). The protein is co-translationally inserted in the ER membrane via a translocon and is attached to the ER membrane by its hydrophobic C terminus; the majority of the protein extends into the ER lumen. The hydrophobic C-terminal sequence is then cleaved off and replaced by the GPI-anchor. As the protein processes through the secretory pathway, it is transferred via vesicles to the Golgi apparatus and finally to the plasma membrane where it remains attached to a leaflet of the cell membrane



ALCUNE PROTEINE ENTRANO NEL RER CON UN MECCANISMO DI TRASLOCAZIONE POST-TRADUZIONALE

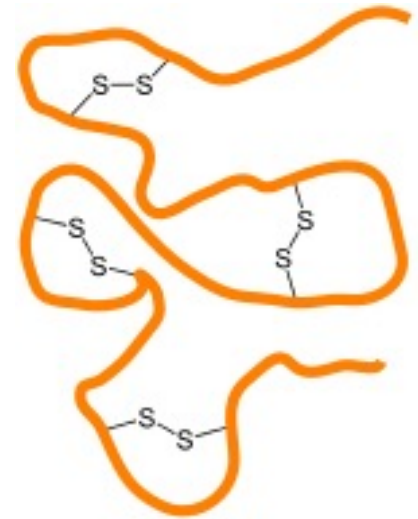
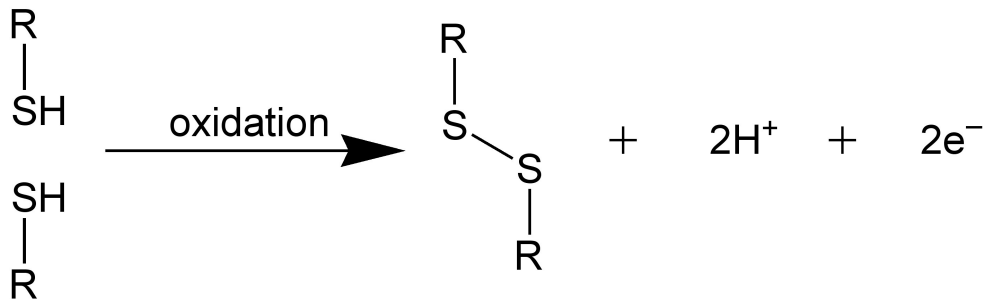


**UNA VOLTA TRASLOCATA,
COSA SUCCEDDE ALLA
PROTEINA?**



2. FORMAZIONE DI PONTI DISOLFURO

- PDI (PROTEINA DISOLFURO ISOMERASI)
- AMBIENTE NON RIDUCENTE
- IDROLISI DI ATP

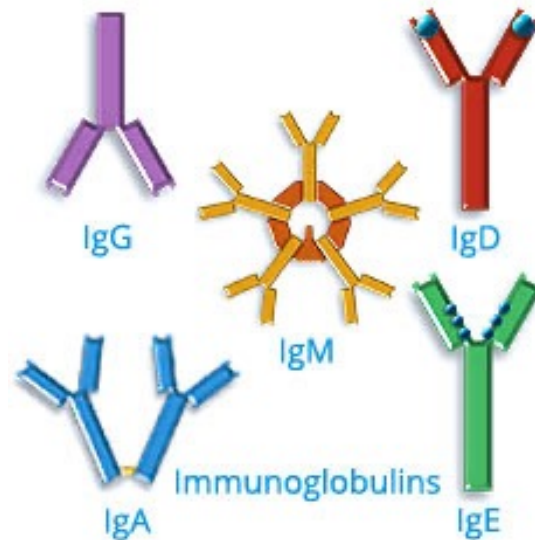


3. OLIGOMERIZZAZIONE

ALCUNE PROTEINE SONO COSTITUITE DA PIÙ SUBUNITÀ

LE SUBUNITÀ SI ASSOCIANO NEL RER

L'OLIGOMERIZZAZIONE È SPESSO INDISPENSABILE PER USCIRE DAL RER



Glycosylation

- **The process by which a carbohydrate is covalently attached to an organic molecule, creating structures such as glycoproteins and glycolipids.**
- **N-linked glycosylation promotes protein folding in two ways. First, it has a direct role in making folding intermediates more soluble, thereby preventing their aggregation. Second, the sequential modifications of the N-linked oligosaccharide establish a “glyco-code” that marks the progression of protein folding and mediates the binding of the protein to chaperones for example, in guiding ER-to-Golgi transport)**

N-Linked Glycosylation

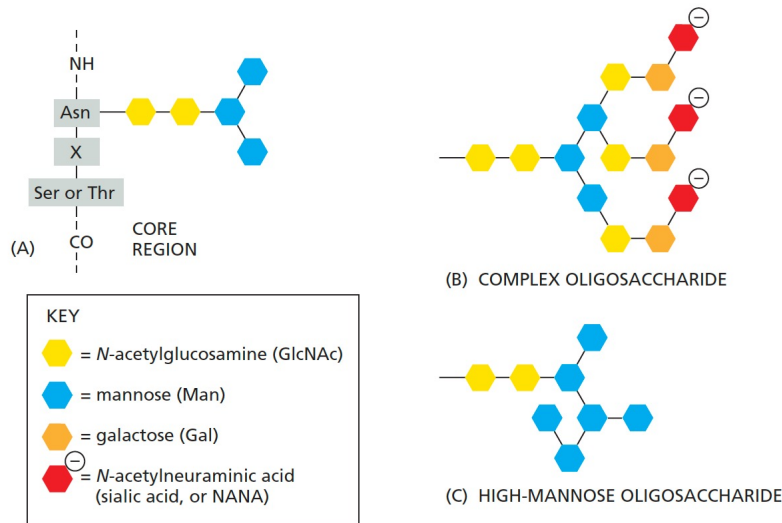


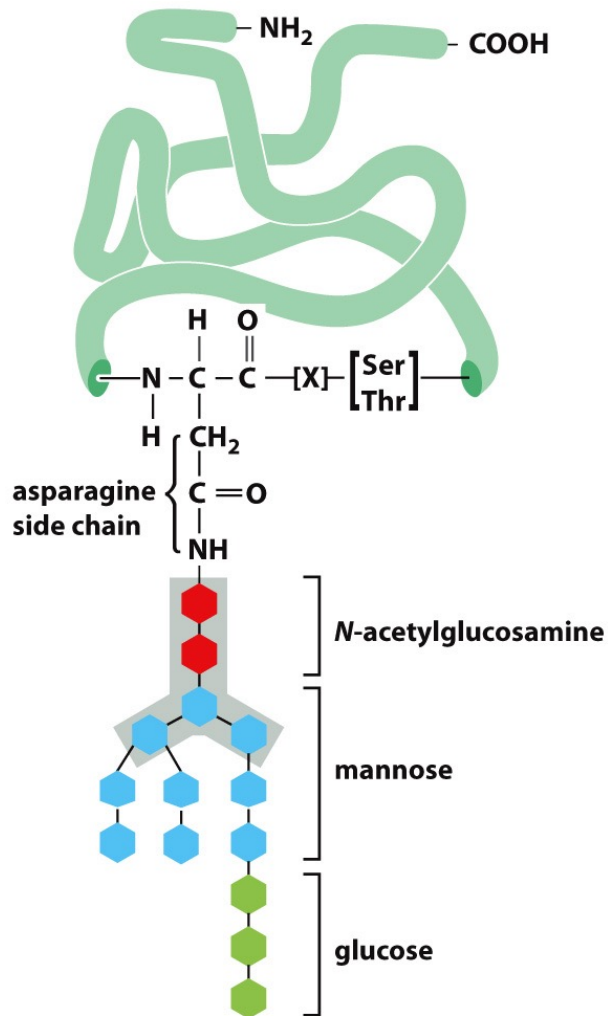
Figure 13–30 The two main classes of asparagine-linked (*N*-linked) oligosaccharides found in mature mammalian glycoproteins. (A) Both complex oligosaccharides and high-mannose oligosaccharides share a common *core region* derived from the original *N*-linked oligosaccharide added in the ER (see Figure 12–50) and typically containing two *N*-acetylglucosamines (GlcNAc) and three mannoses (Man). (B) Each complex oligosaccharide consists of a *core region*, together with a *terminal region* that contains a variable number of copies of a special trisaccharide unit (*N*-acetylglucosamine–galactose–sialic acid) linked to the core mannoses. Frequently, the terminal region is truncated and contains only GlcNAc and galactose (Gal) or just GlcNAc. In addition, a fucose may be added, usually to the core GlcNAc attached to the asparagine (Asn). Thus, although the steps of processing and subsequent sugar addition are rigidly ordered, complex oligosaccharides can be heterogeneous. Moreover, although the complex oligosaccharide shown has three terminal branches, two and four branches are also common, depending on the glycoprotein and the cell in which it is made. (C) High-mannose oligosaccharides are not trimmed back all the way to the core region and contain additional mannoses. Hybrid oligosaccharides with one Man branch and one GlcNAc and Gal branch are also found (not shown).

The three amino acids indicated in (A) constitute the sequence recognized by the oligosaccharyl transferase enzyme that adds the initial oligosaccharide to the protein. Ser, serine; Thr, threonine; X, any amino acid, except proline.

- N-Linked glycosylation involves oligosaccharide attachment to asparagine via a beta linkage to the amine nitrogen of the side chain. Since it is added co-translationally, it is believed that N-linked glycosylation helps **determine the folding of polypeptides due to the hydrophilic nature of sugars.** All N-linked oligosaccharides are pentasaccharides: five monosaccharides long. In eukaryotes occur at the ER membrane

4. N-GLICOSILAZIONE

NEL RER LE PROTEINE POSSONO ESSERE N-GLICOSILATE



ASN-X-SER

ASN-X-THR

⌘ OLIGOSACCARIL TRANSFERASI

RIBOFORINA I

RIBOFORINA II

L'ENZIMA OLIGOSACCARILTRANSFERASI CATALIZZA IL TRASFERIMENTO DEL GLICOLIPIDE PREFORMATO

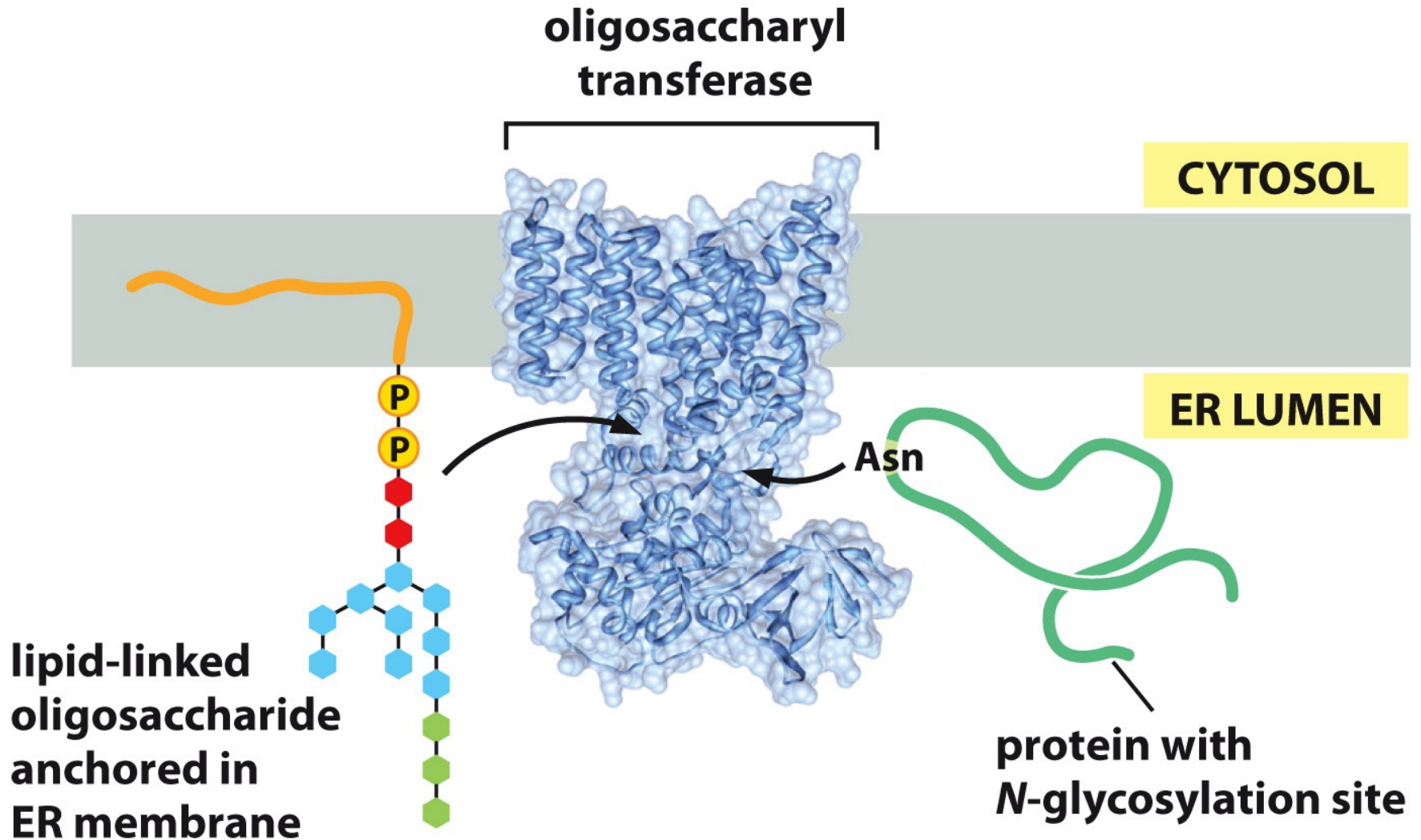


Figure 12-47b Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

IL PRECURSORE OLIGOSACCARIDICO E' FORMATO SULLE MEMBRANE DEL RER ATTARVERSO REAZIONI SEQUENZIALI

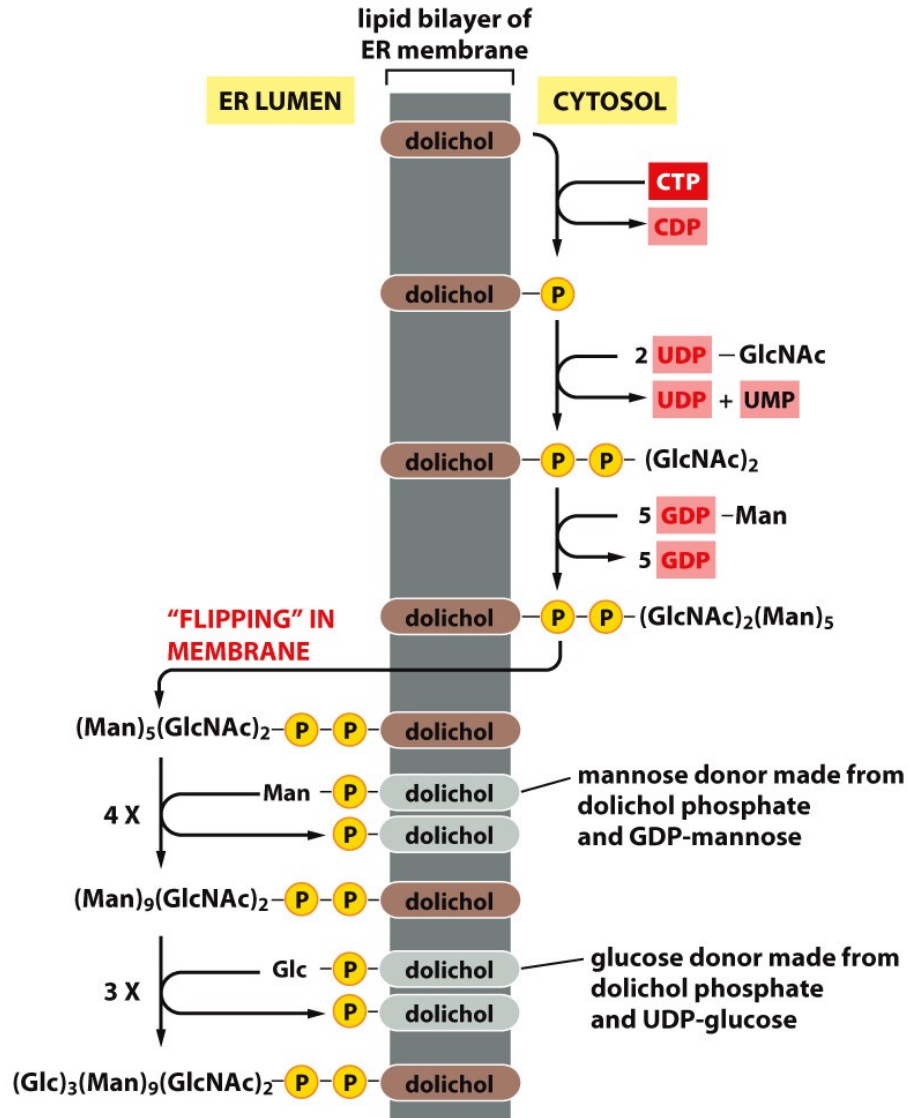
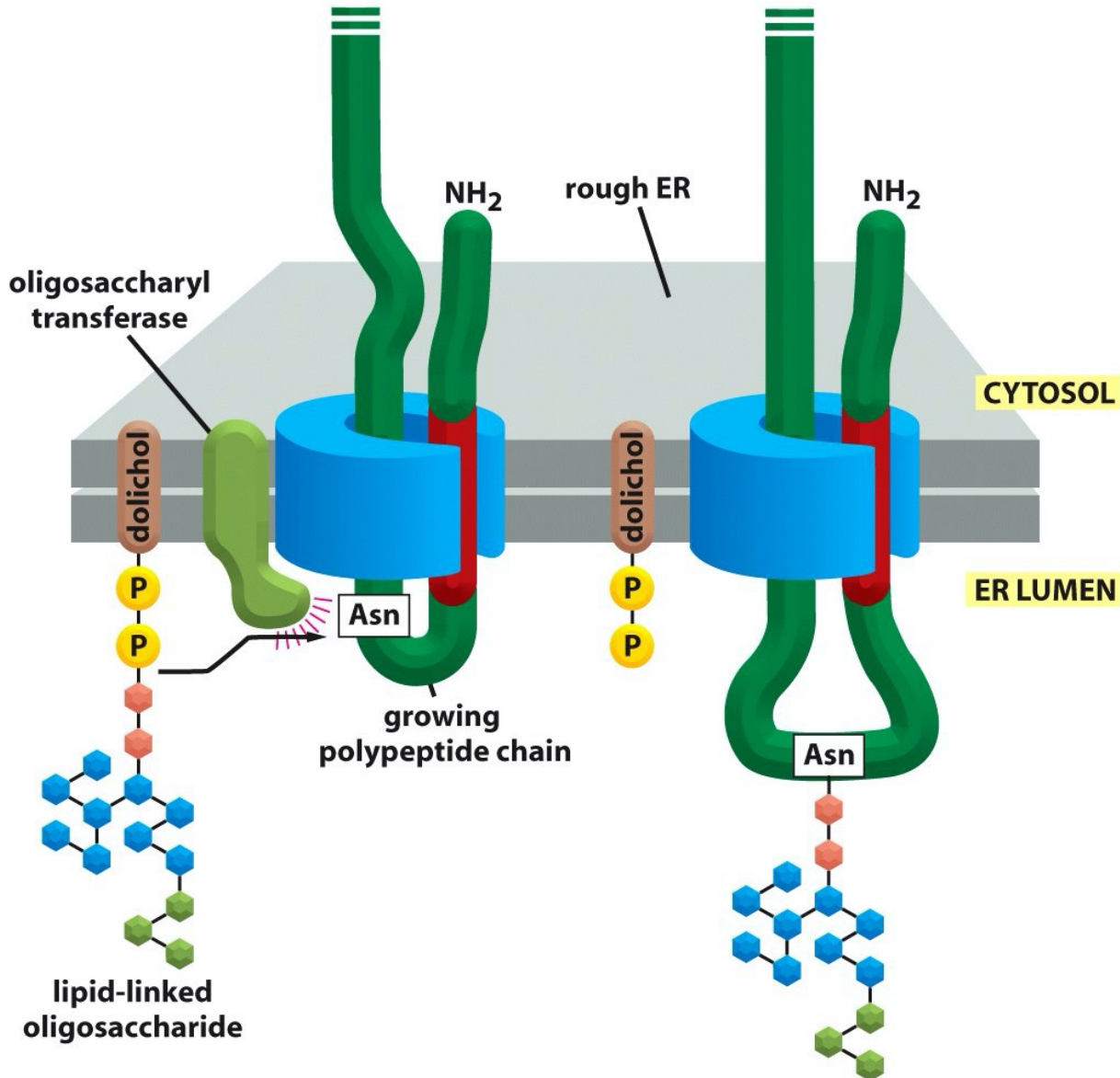
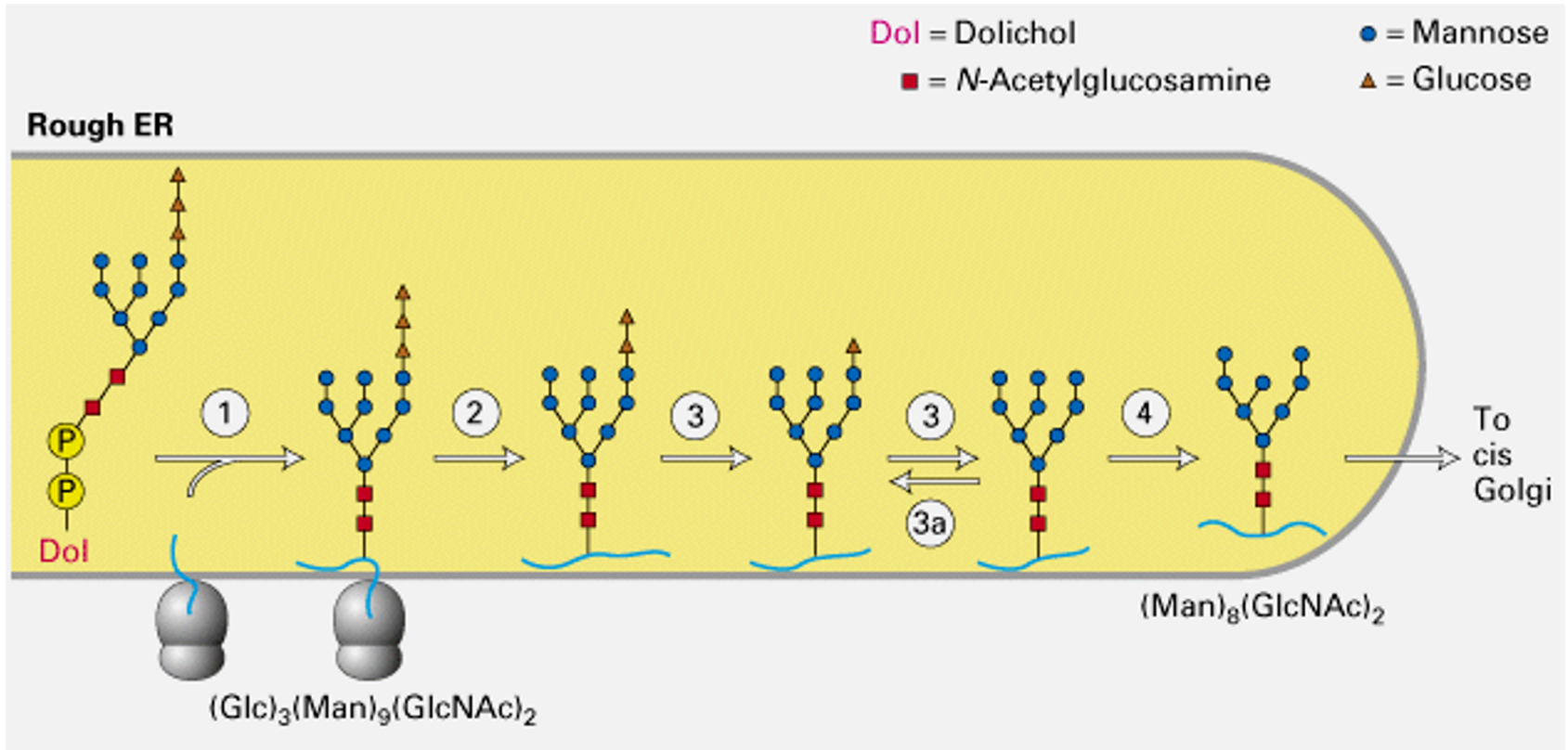


Figure 12-48 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

LA N-GLICOSILAZIONE AVVIENE CO-TRADUZIONALMENTE



5. RIMODELLAMENTO DELLE CATENE OLIGOSACCARIDICHE



LE 3 MOLECOLE DI GLUCOSIO VENGONO RIMOSSE DALL'OLIGOSACCARIDE PRIMA CHE LA PROTEINA ESCA DAL RER.

L' N- GLICOSILAZIONE HA UN RUOLO CRUCIALE NEL CONTROLLO DI QUALITÀ

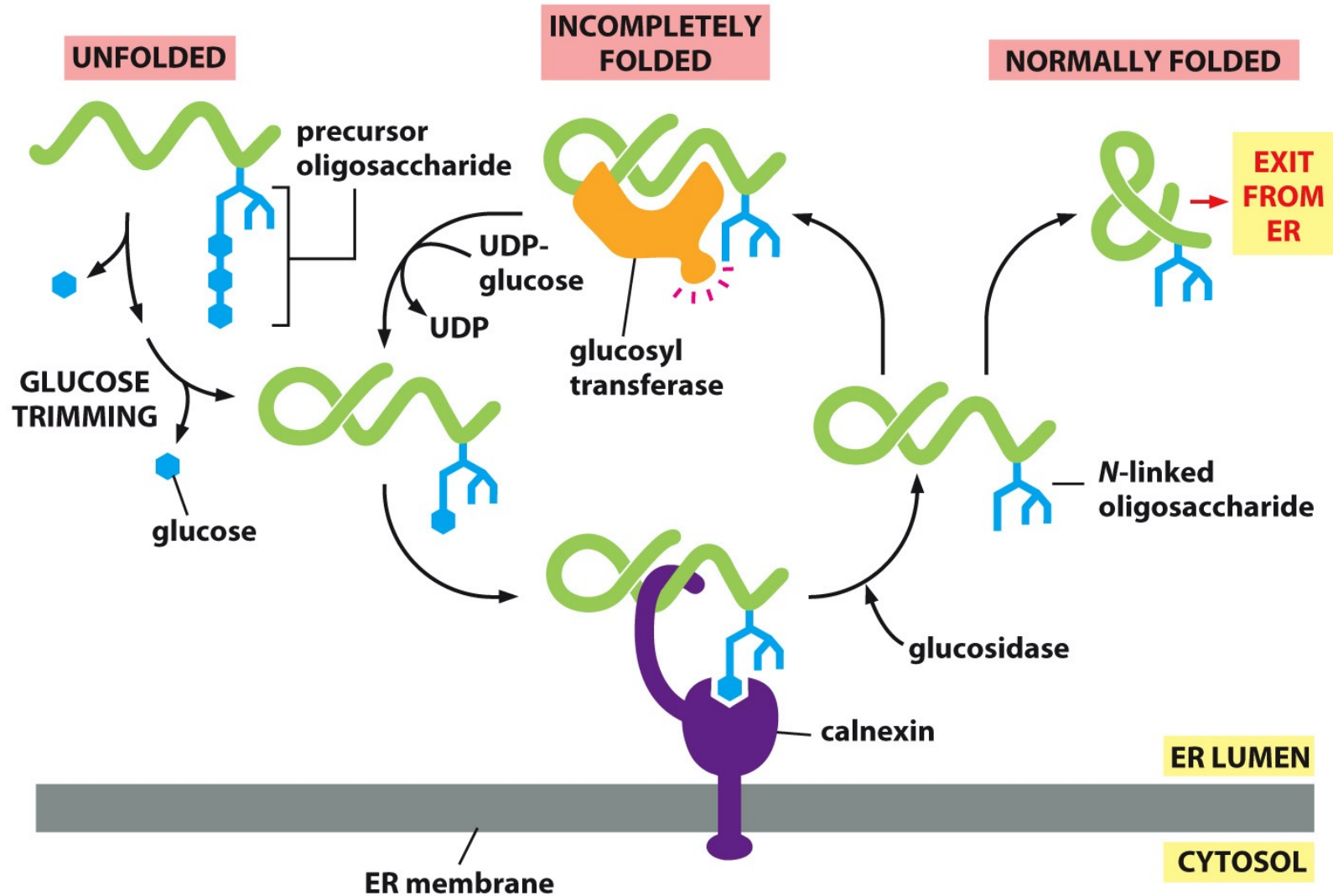


Figure 12-49 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

PROTEINE MAL RIPIEGATE SONO RETROSLOCATE NEL CITOSOL E DEGRADATE

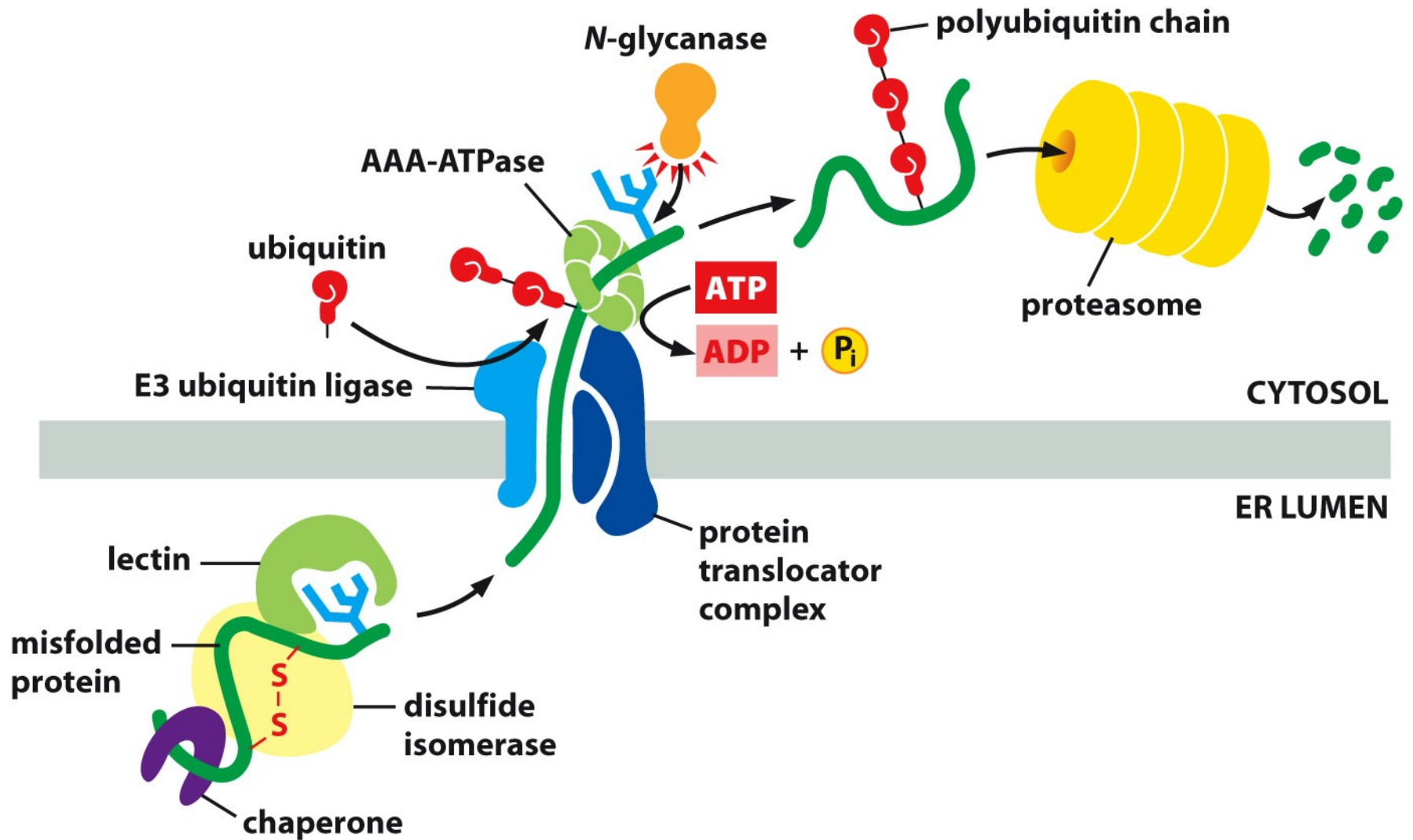


Figure 12-50 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

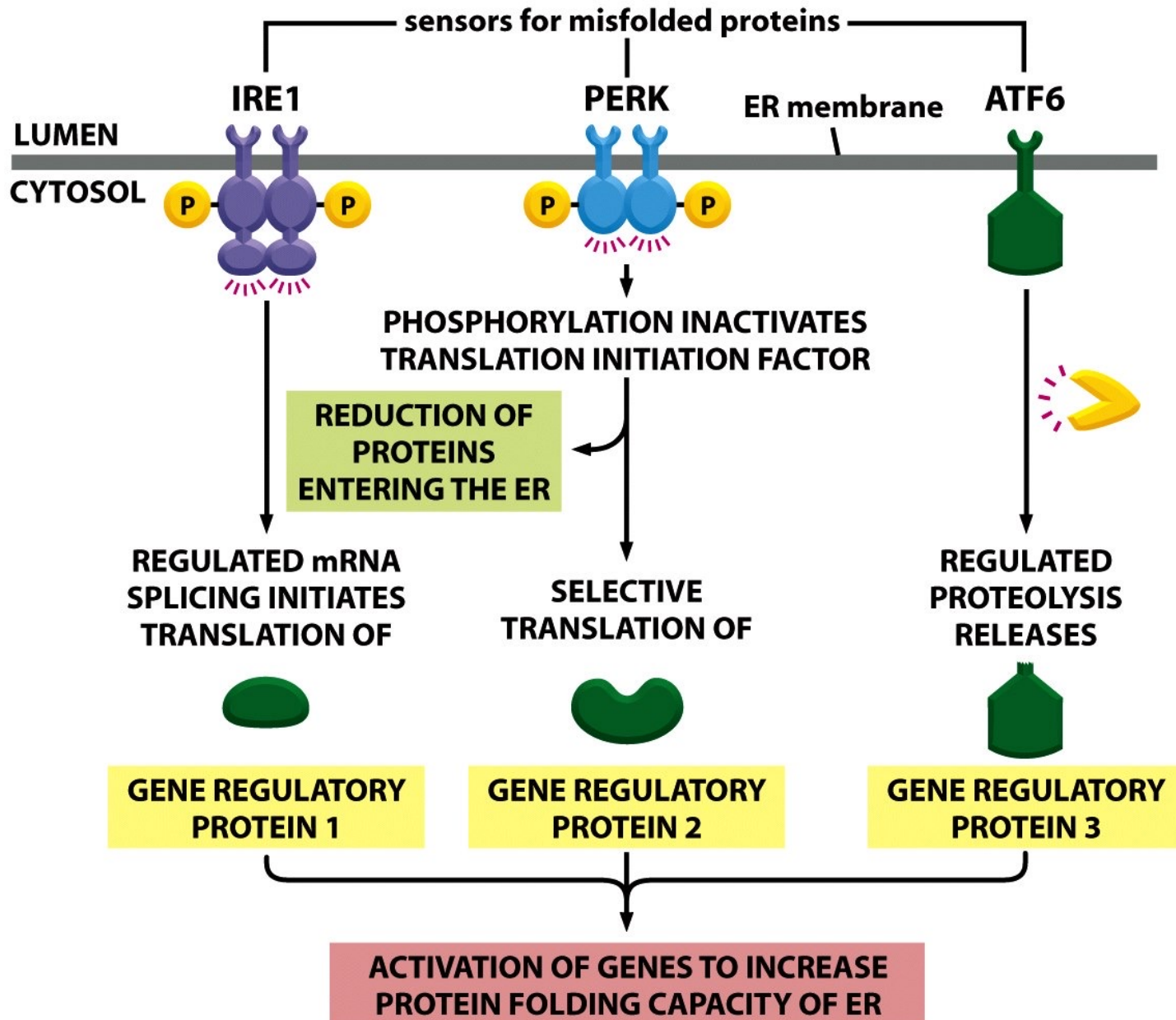
6. ARCHITECTURAL EDITING QUALITY CONTROL

NEL RETICOLO ENDOPLASMATICO SONO PRESENTI NUMEROSE PROTEINE CHE SVOLGONO FUNZIONI DI CHAPERONI O CHAPERONINE. QUESTE PROTEINE:

1. INTERVENGONO NEL RIPIEGAMENTO DELLE PROTEINE IN TRANSITO
2. IMPEDISCONO CHE PROTEINE NON CORRETTAMENTE RIPIEGATE ESCANO DAL RER

ESEMPI: BiP - CALNEXINA - CALRETICULINA - HSP70

UNFOLDED PROTEIN RESPONSE



IL LUME DEGLI ORGANELLI CORRISPONDE TOPOLOGICAMENTE ALLO SPAZIO EXTRACELLULARE

