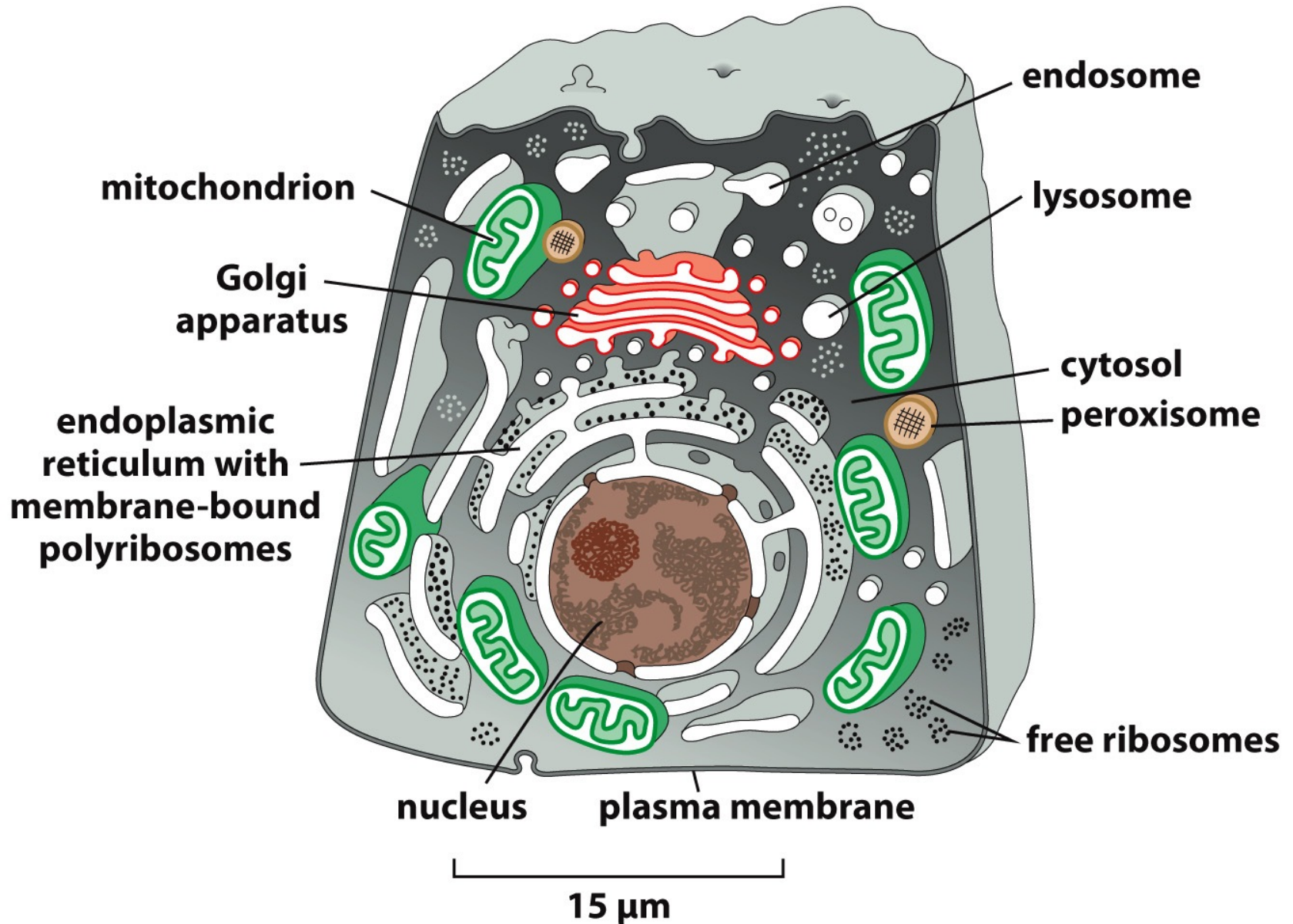


Compartimenti cellulari di una cellula animale



Micrografia elettronica di una cellula di fegato vista in sezione

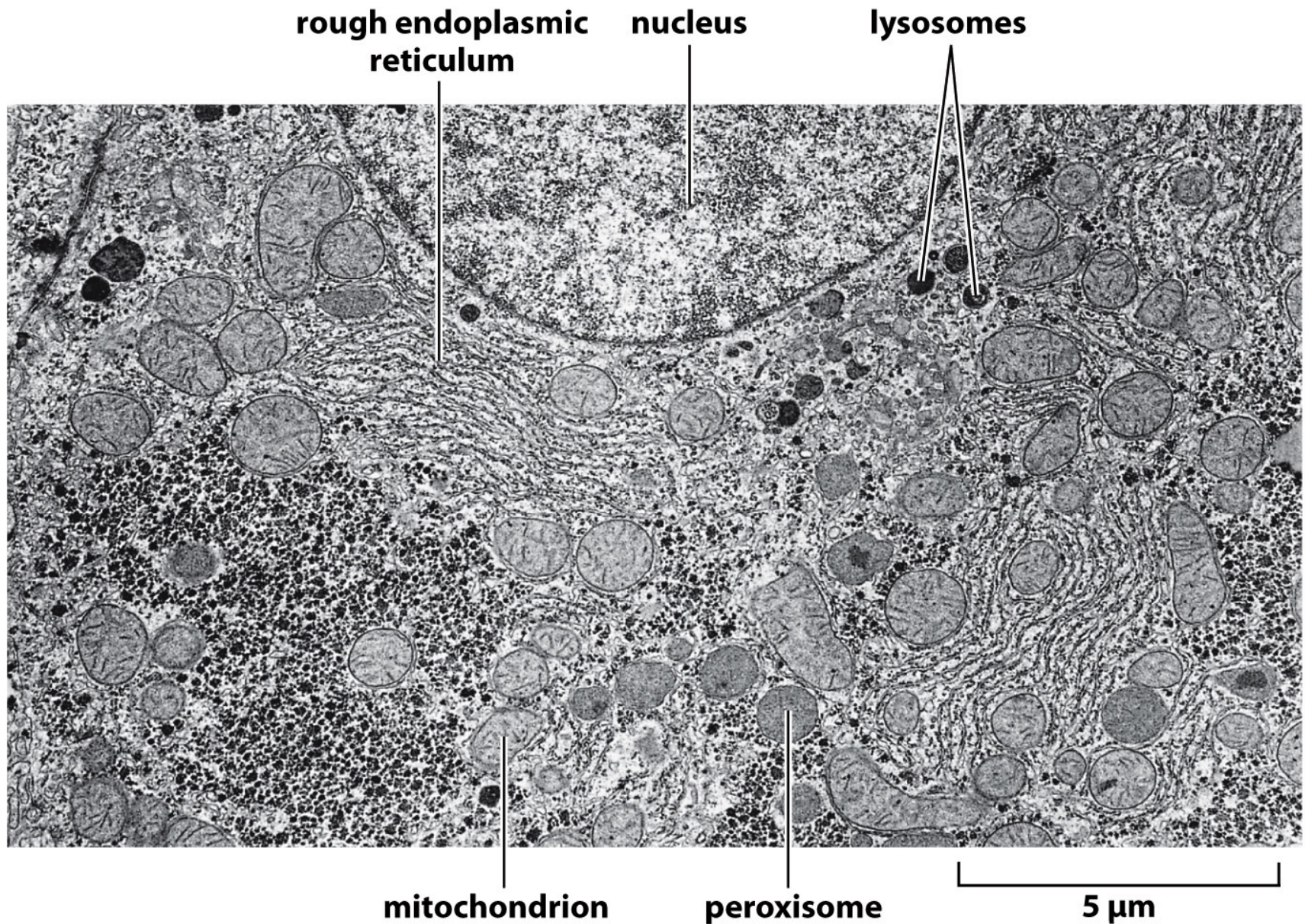


Figure 12-2 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

Mappa del traffico di proteine in una cellula eucariotica

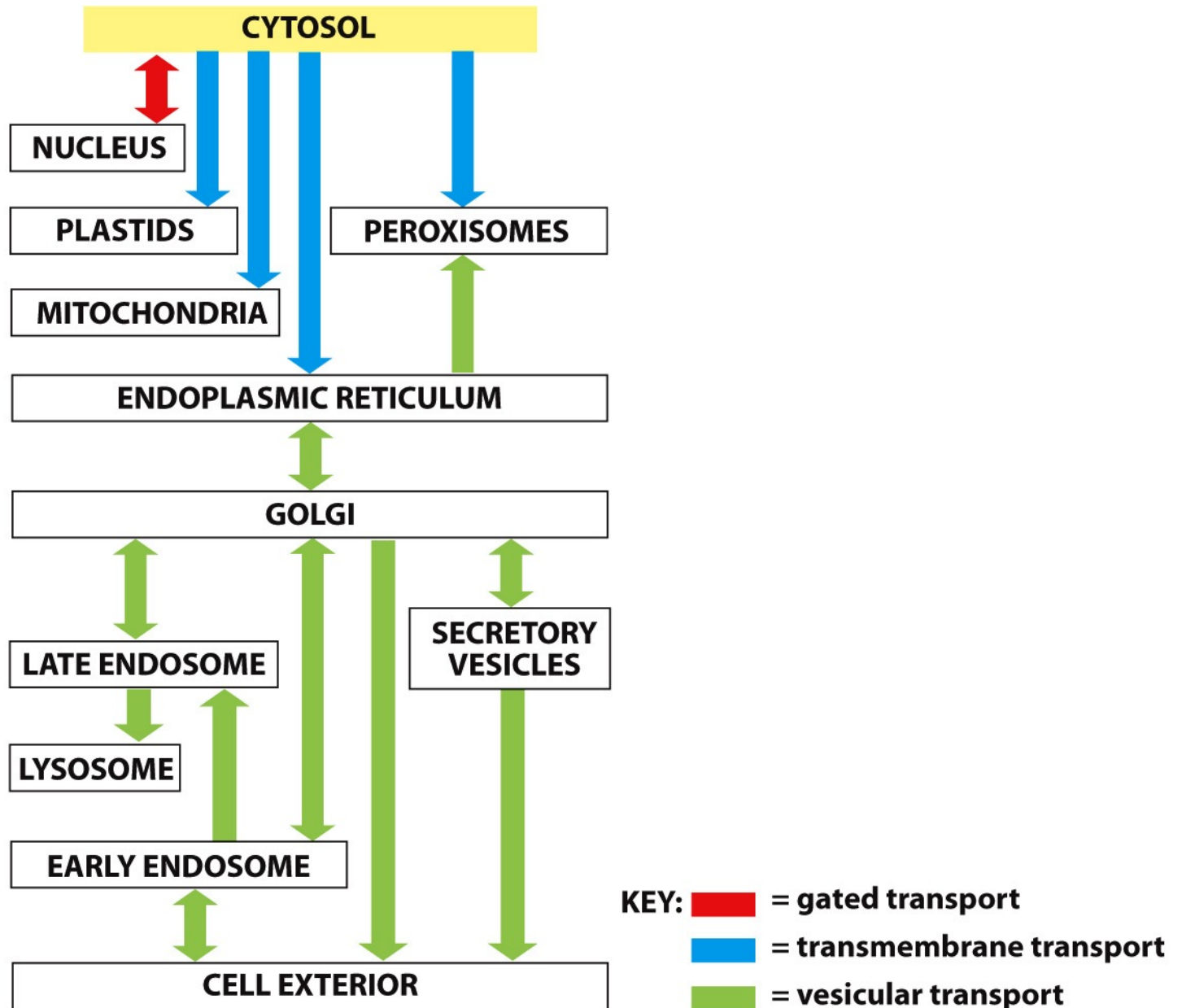
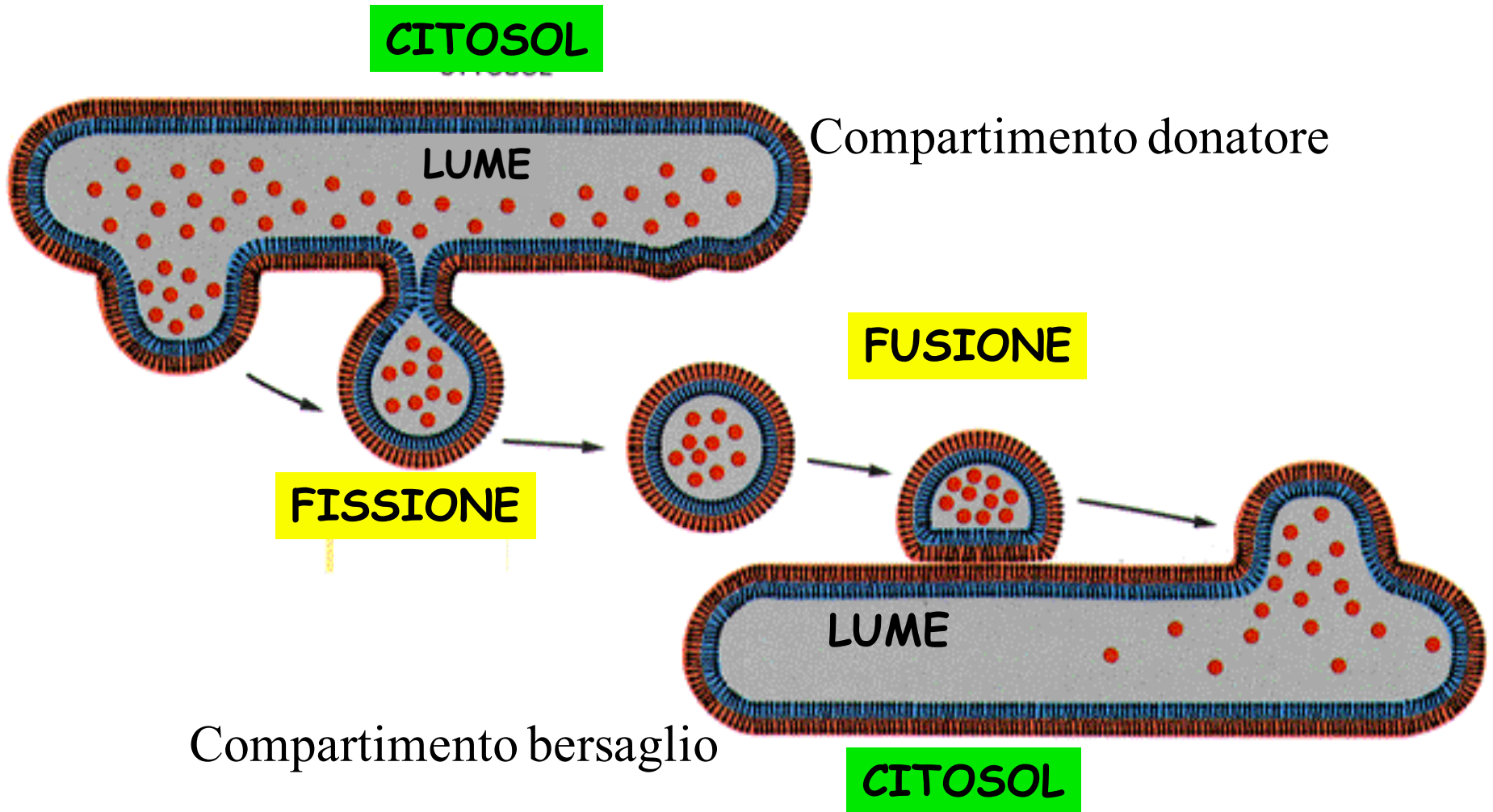
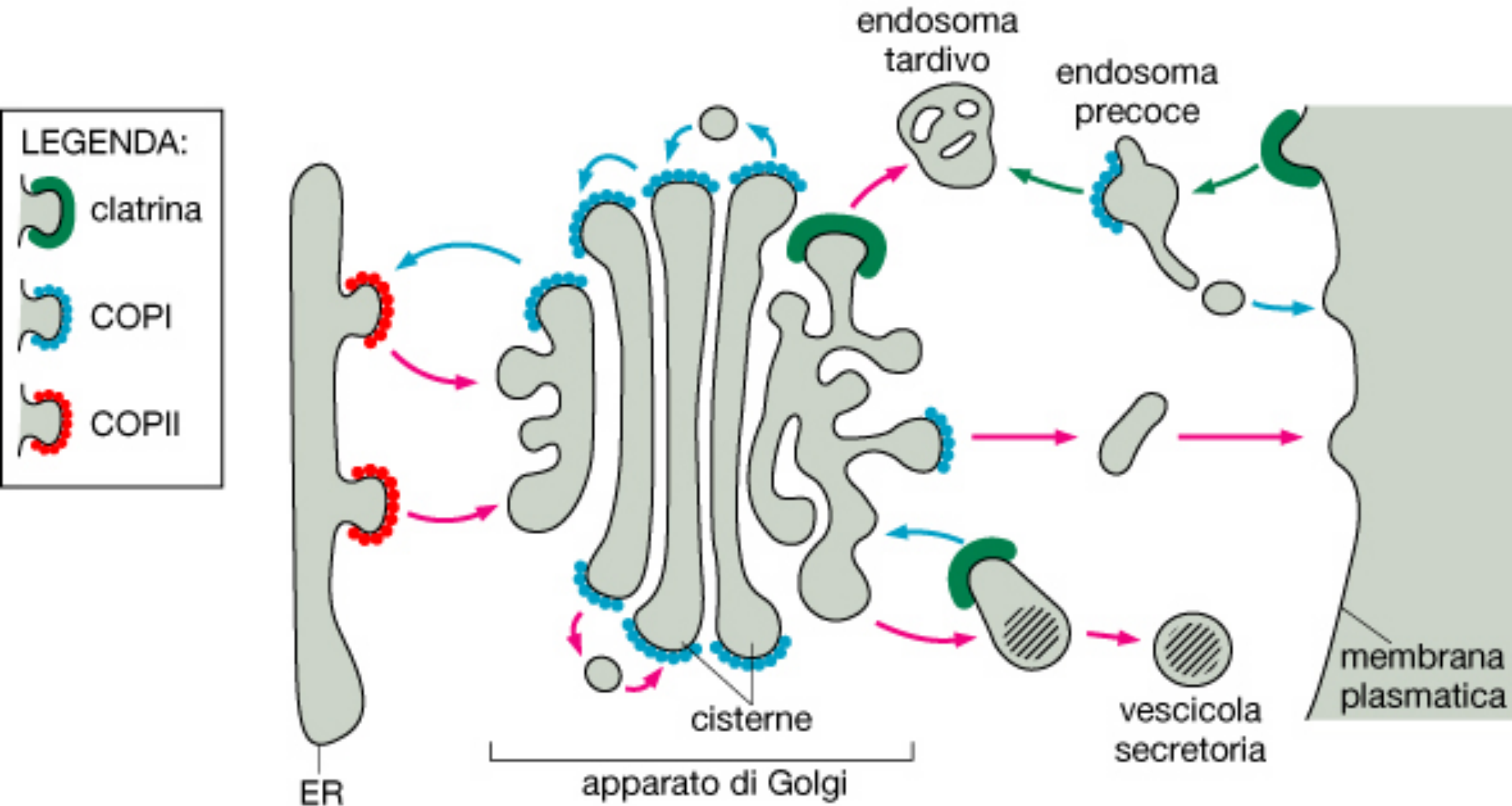


Figure 12-5 Molecular Biology of the Cell 6e (© Garland Science 2015)

IL TRAFFICO DI PROTEINE TRA DIFFERENTI COMPARTIMENTI DELLA VIA SECRETORIA AVVIENE MEDIANTE VESCICOLE

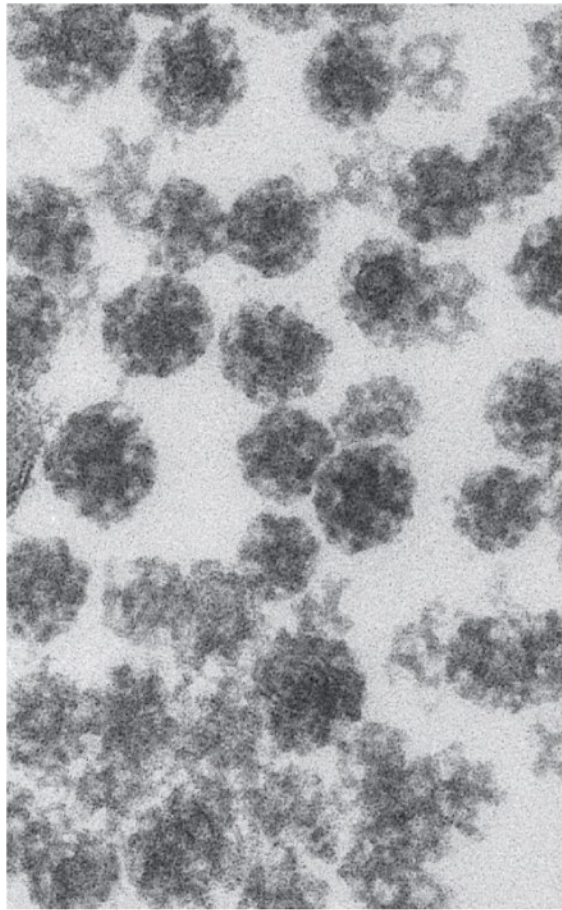


DIVERSI TIPI DI VESCICOLE, CON 3 TIPI DI PROTEINE DI RIVESTIMENTO, INTERVENGONO NEL TRAFFICO VESCICOLARE

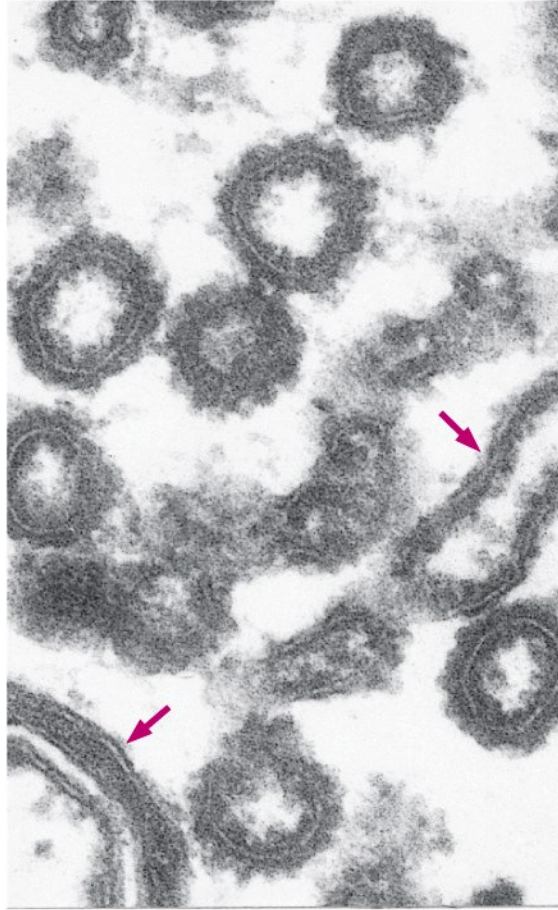


retromer

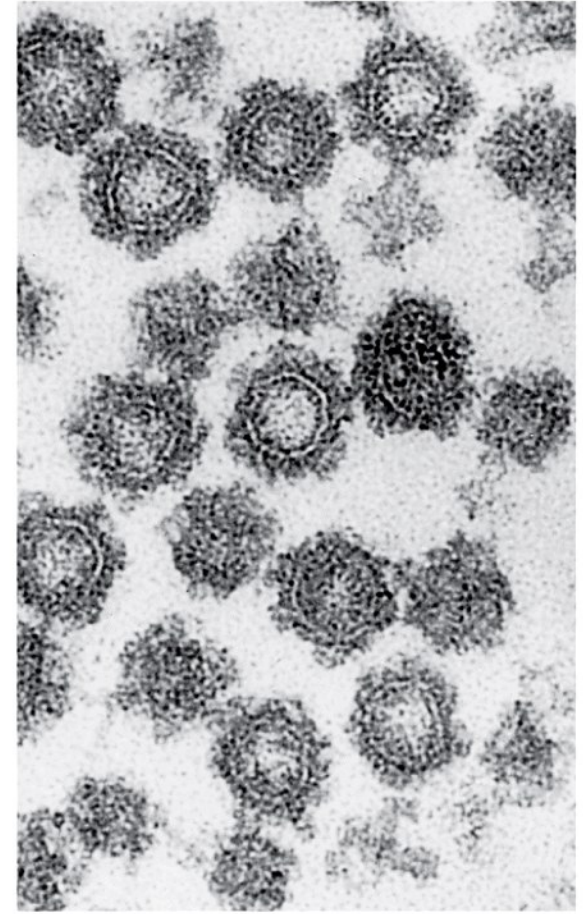
Esistono vari tipi di vescicole rivestite



(A) clathrin



(B) COPI



(C) COPII 100 nm

COME E' FATTA UNA VESCICOLA?

QUANTI TIPI DI VESCICOLE VI SONO?

COME SI FORMA UNA VESCICOLA?

COME SI DETERMINA SELETTIVITA' DEL CONTENUTO?

COME UNA VESCICOLA RICONOSCE IL BERSAGLIO?

COME AVVIENE LA FUSIONE?

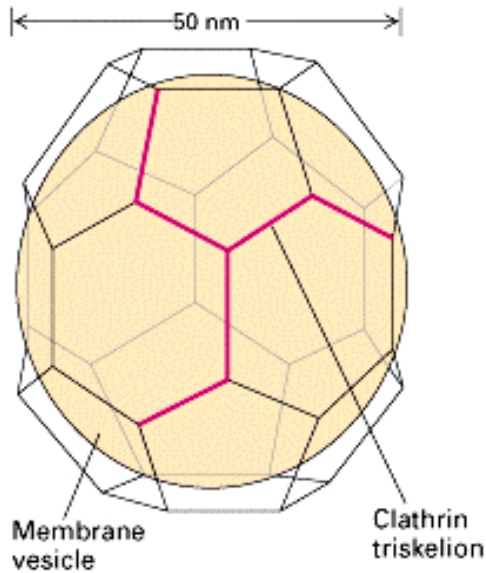
COME VIENE REGOLATO L'INTERO PROCESSO?

Vesicle	Coat and Adapter Proteins	Small GTP-Binding Protein	Transport Step
Clathrin	Clathrin heavy and light chains; AP2	ARF	Plasma membrane → endosome (endocytosis)
	Clathrin heavy and light chains; AP1	ARF	Golgi → endosome
	Clathrin heavy and light chains; AP3	ARF	Golgi → lysosome, vacuole, melanosome, or platelet vesicles
COPI	COP $\alpha, \beta, \beta', \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$	ARF	Golgi → ER Retrograde transport between Golgi cisternae
COPII	Sec23/Sec24 complex; Sec13/Sec31 complex; Sec16	Sar1	ER → Golgi

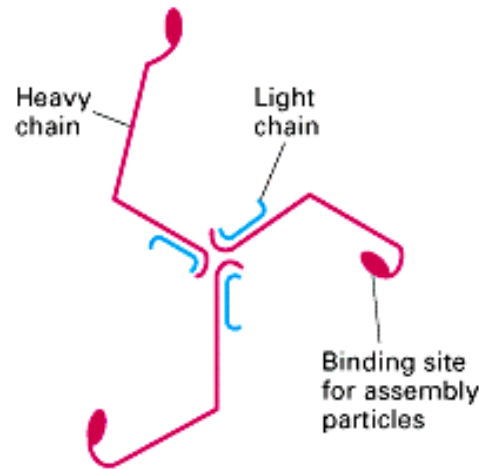
Vesicle	Coat and Adapter Proteins	Small GTP-Binding Protein	Transport Step
Clathrin	Clathrin heavy and light chains; AP2	ARF	Plasma membrane → endosome (endocytosis)
	Clathrin heavy and light chains; AP1	ARF	Golgi → endosome
	Clathrin heavy and light chains; AP3	ARF	Golgi → lysosome, vacuole, melanosome, or platelet vesicles
COPI	COP $\alpha, \beta, \beta', \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$	ARF	Golgi → ER Retrograde transport between Golgi cisternae
COPII	Sec23/Sec24 complex; Sec13/Sec31 complex; Sec16	Sar1	ER → Golgi

LA CLATRINA È ORGANIZZATA IN ESAGONI E PENTAGONI

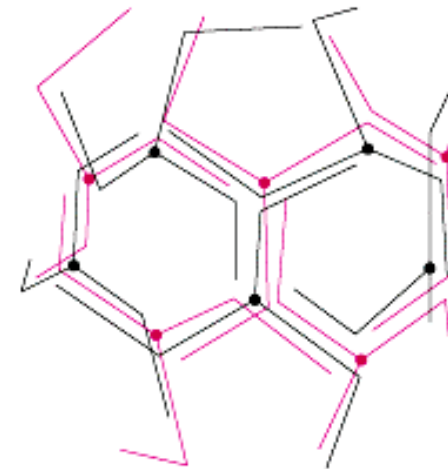
(a) Coated vesicle



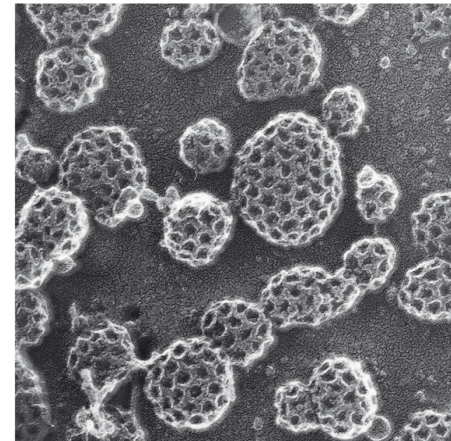
(b) Triskelion structure



(c) Assembly intermediate

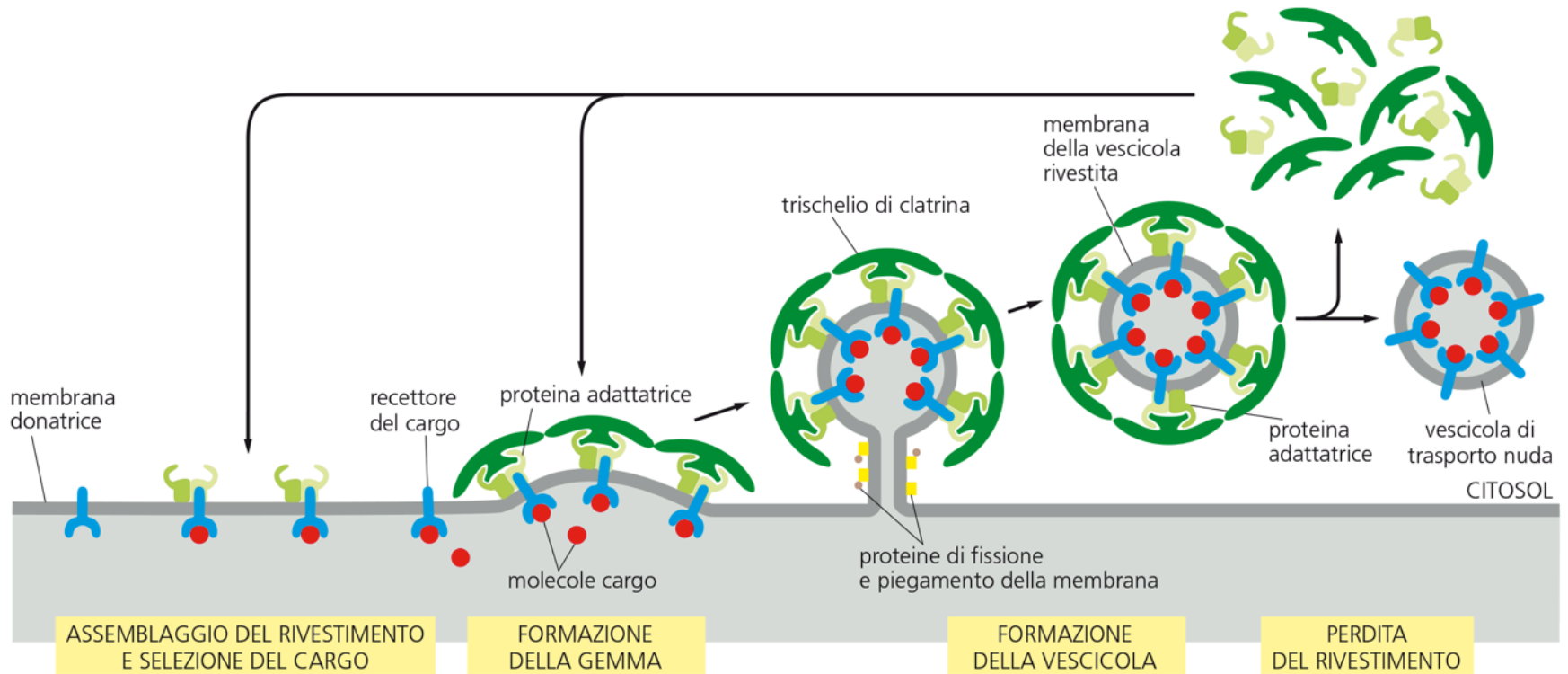


- Le catene leggere di clatrina legano il citoscheletro di actina necessario per generare la forza di gemmazione della membrana e movimento della vescicola.
- La fosforilazione delle catene leggere regola l'assemblaggio del rivestimento



0,2 μm

MOLTI COMPONENTI SONO NECESSARI PER LA FORMAZIONE DI UNA VESCICOLA

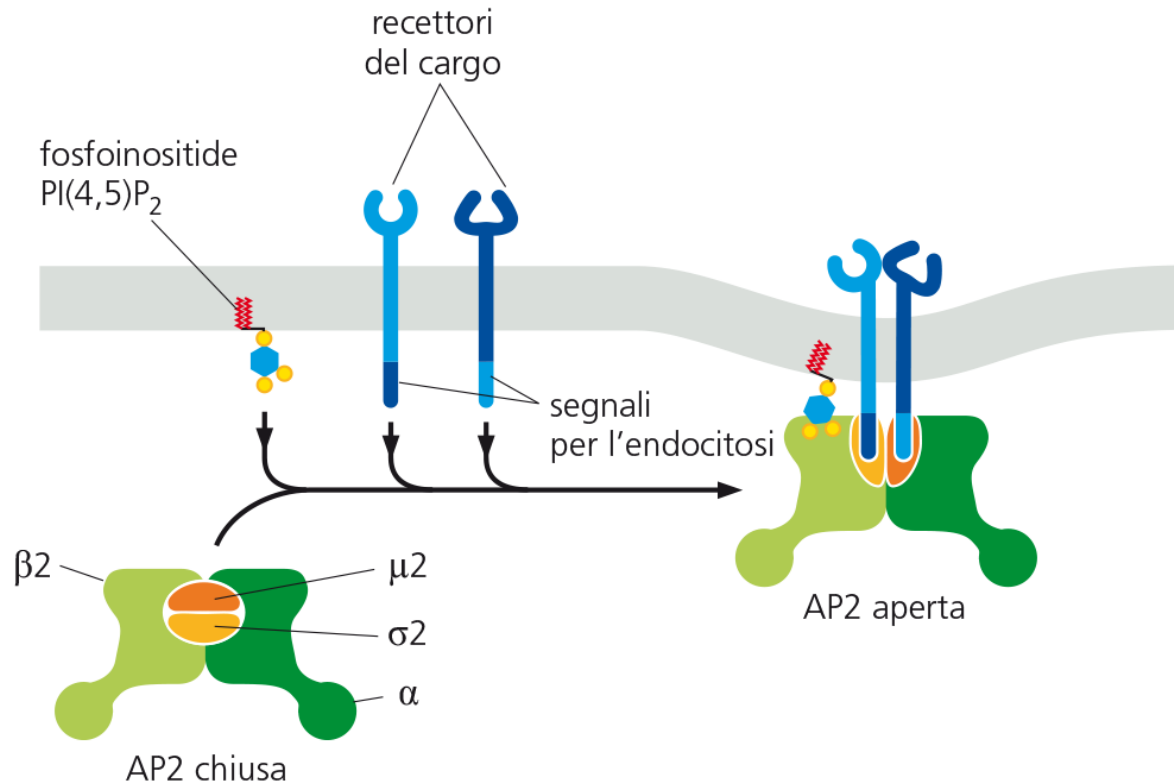


Esistono diversi tipi di proteine adattatrici, ciascuno specifico per una serie diversa di recettori del cargo

Una volta che le vescicole rivestite si staccano dalla membrana, una PI(5)P fosfatasi idrolizza PI(4,5)P₂; questo indebolisce il legame delle adattatrici favorendo la perdita del rivestimento

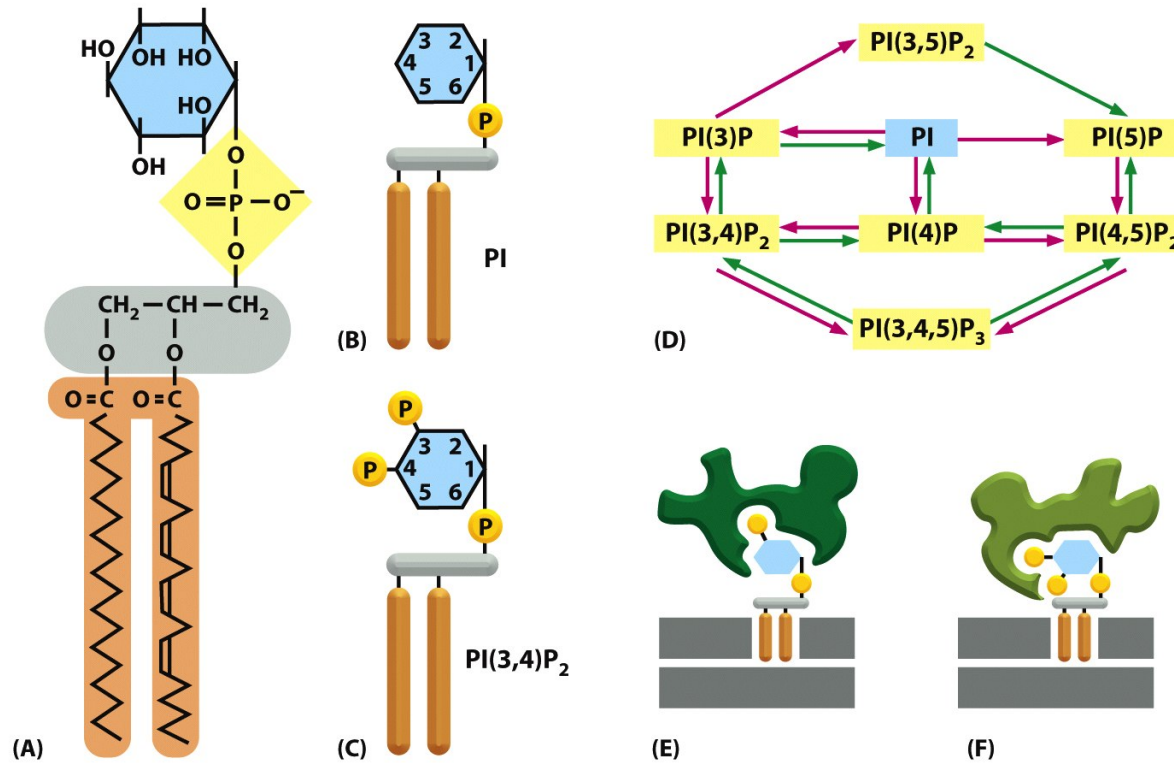
Il cambiamento di conformazione di AP2 indotto dai lipidi

L'assemblaggio delle proteine adattatrici è controllato



- In seguito alla interazione con PI(4,5)P₂ nel foglietto citosolico, AP2 si riarrangia ed espone i siti di legame per i recettori del cargo dotati di segnali per l'endocitosi
- Quando si lega alla membrana, AP2 induce una curvatura che favorisce il legame di altri complessi AP2 vicini

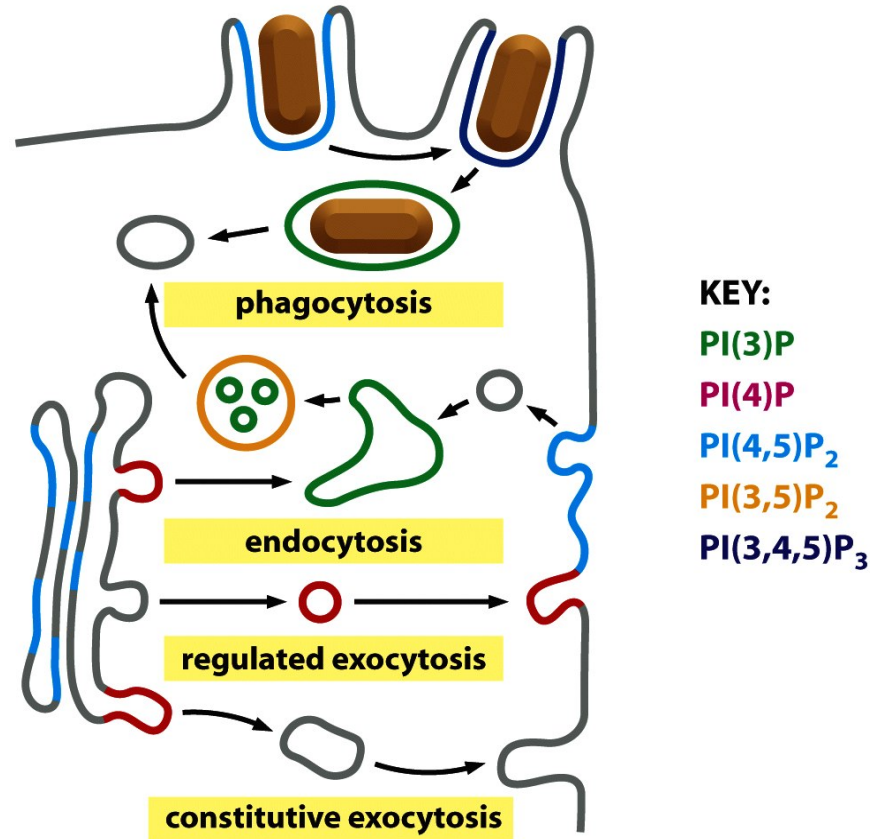
DIVERSI TIPI DI FOSFATIDIL-INOSITOLE FOSFATO SONO GENERATI SULLA MEMBRANA E SONO MARCATORI DI ORGANELLI



I gruppi di testa sono riconosciuti da domini proteici che distinguono tra le diverse forme. In questo modo gruppi selezionati di proteine con questi specifici domini sono reclutati in regioni di membrana contenenti questi fosfoinositidi.

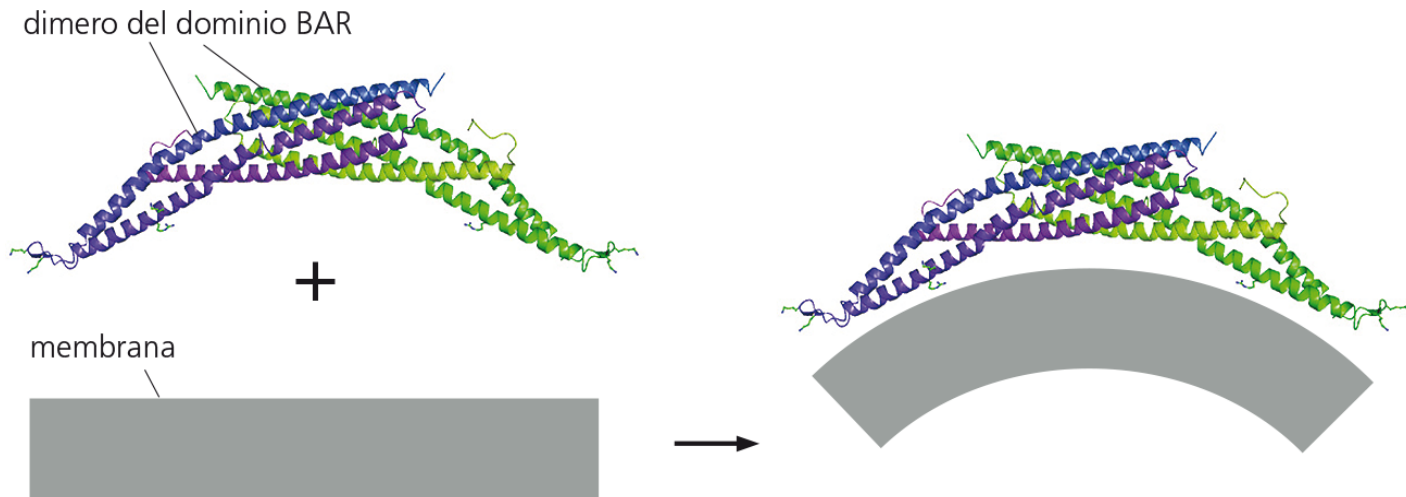
Le proteine che legano i PIP contribuiscono alla formazione delle vescicole

DIVERSI TIPI DI FOSFATIDIL-INOSITOLO FOSFATO SONO PRESENTI SU DIFFERENTI DOMINI DI MEMBRANA

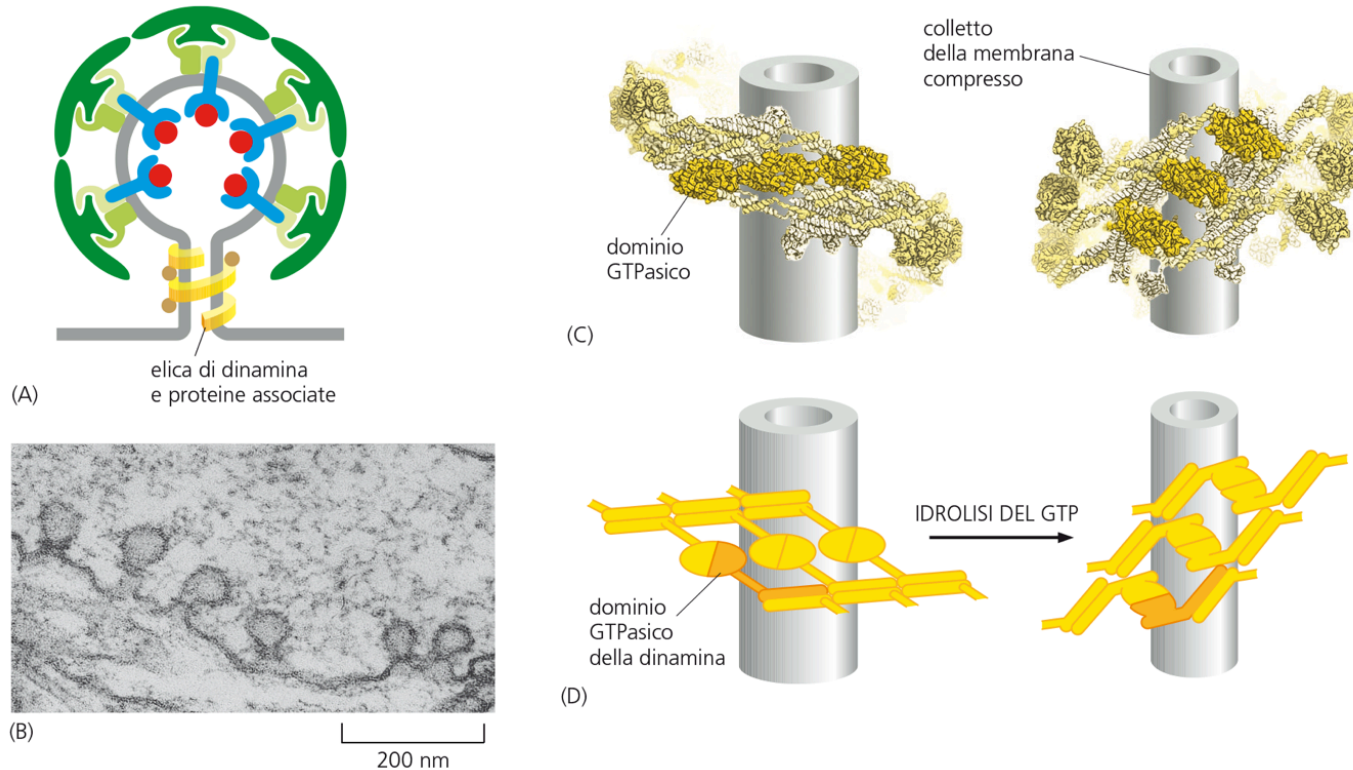


Una serie di chinasi e fosfatasi sono localizzate in diversi organelli dove sono regolate per catalizzare la produzione di PIP

STRUTTURA DEI DOMINI BAR: curvatura delle membrane

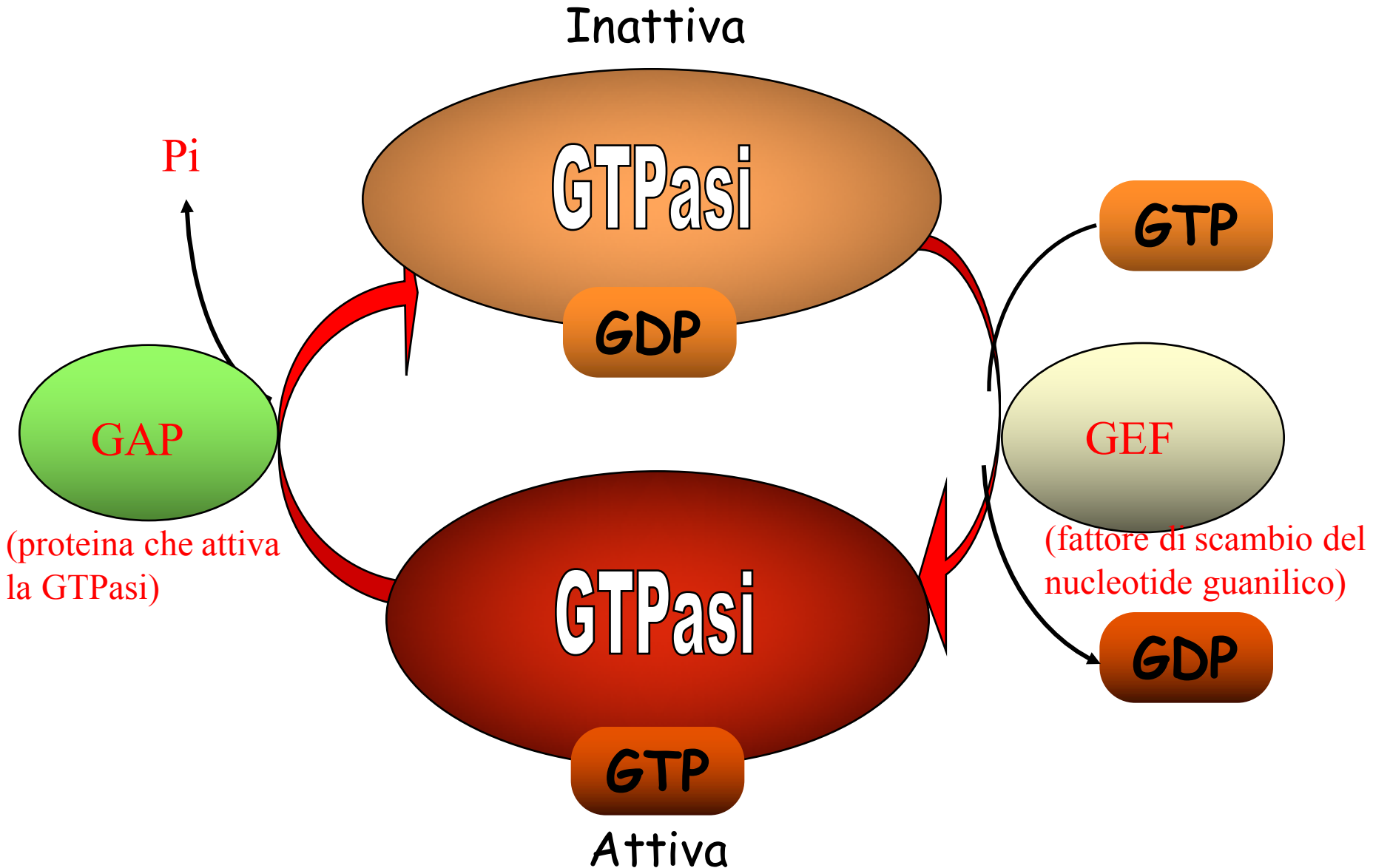


LA DINAMINA NEL DISTACCO DI VESCICOLE RIVESTITE DI CLATRINA



La dinamina contiene un dominio che lega PI(4,5)P₂: assicura la proteina alla membrana e uno con attività GTPasica: regola la velocità con cui le vescicole si staccano

Come viene attivata una GTPasi?

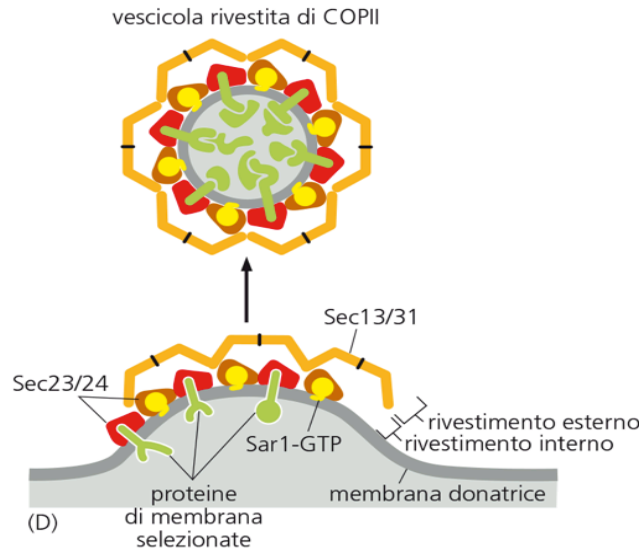
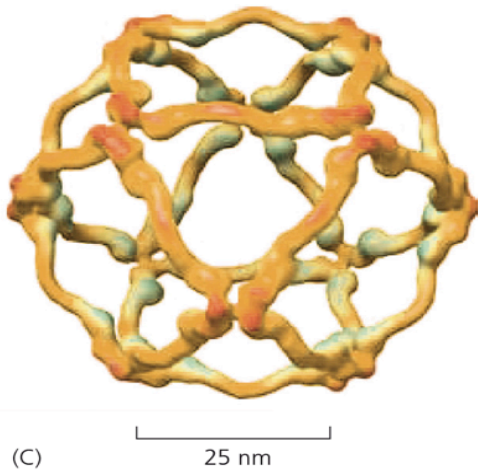
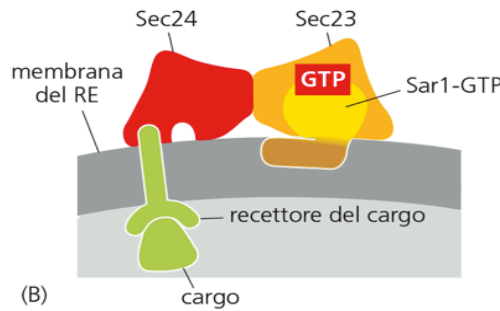
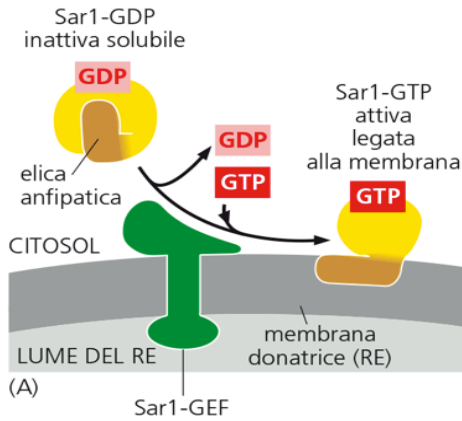


GTPasi DI RECLUTAMENTO DEL RIVESTIMENTO

Arf1, GTPasi monomeric
COPI e clatrina sulle membrane del Golgi

Sar1, GTPasi monomeric
COPII sul RE

Formazione di una vescicola rivestita di COPII



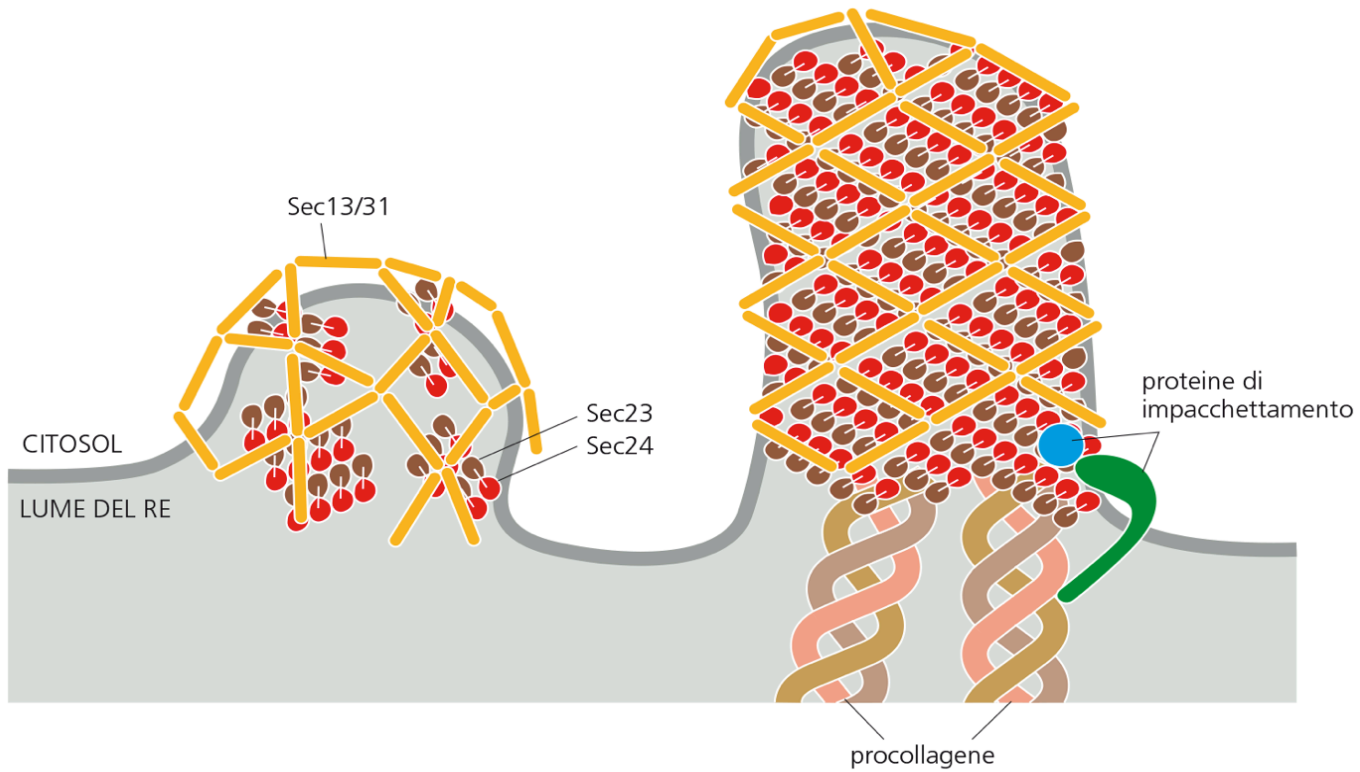
Sar1 è responsabile dell'assemblaggio di COPII

Sar1GTP si lega a un complesso di 2 proteine COPII che formano il rivestimento interno

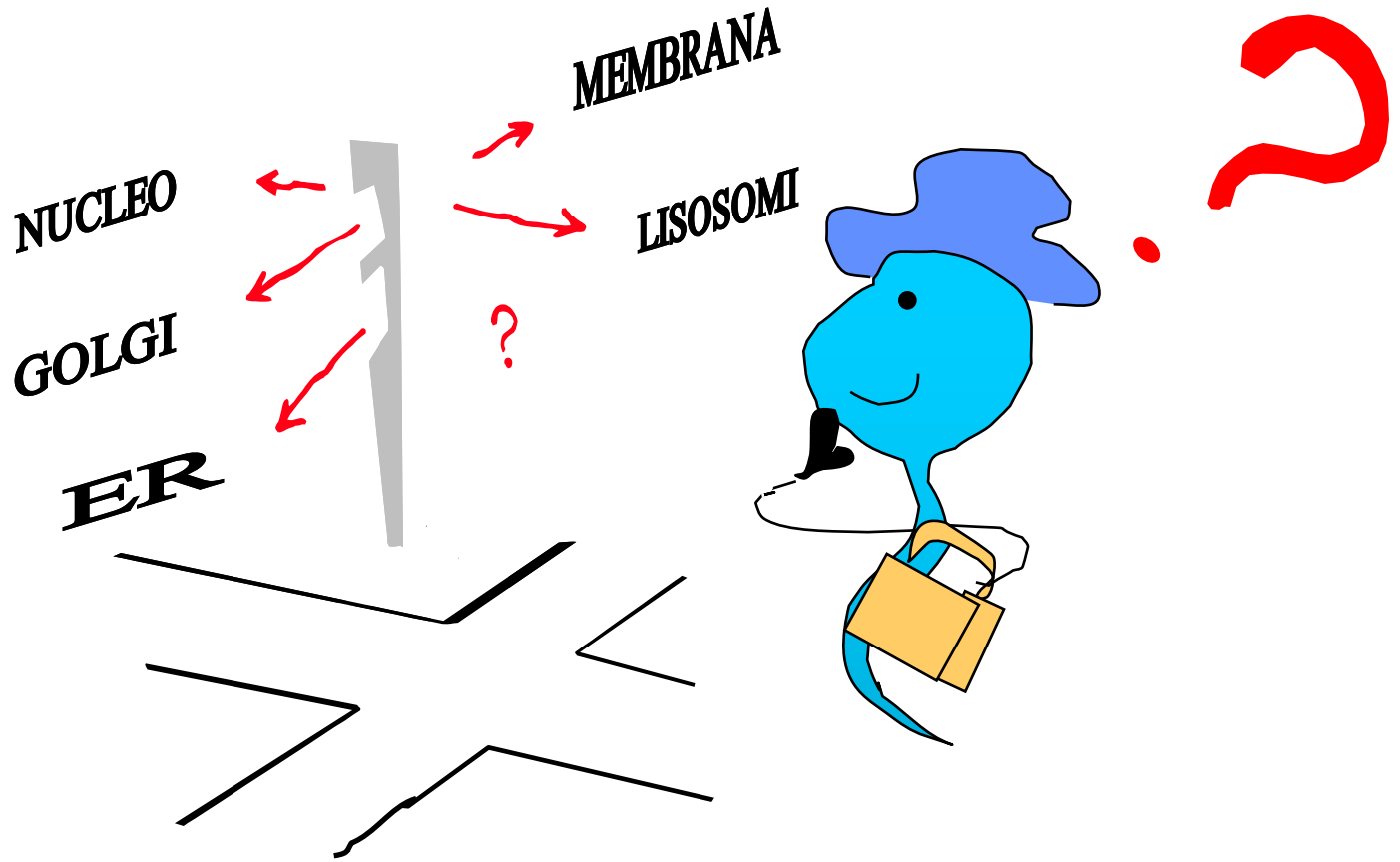
Sar1GTP attiva recluta proteine adattatrici di COPII nella membrana

Una chinasi fosforila le proteine di rivestimento: ciò completa il disassemblaggio del rivestimento e prepara la vescicola per la fusione

Non tutte le vescicole di trasporto sono sferiche



Dove vanno le vescicole ?

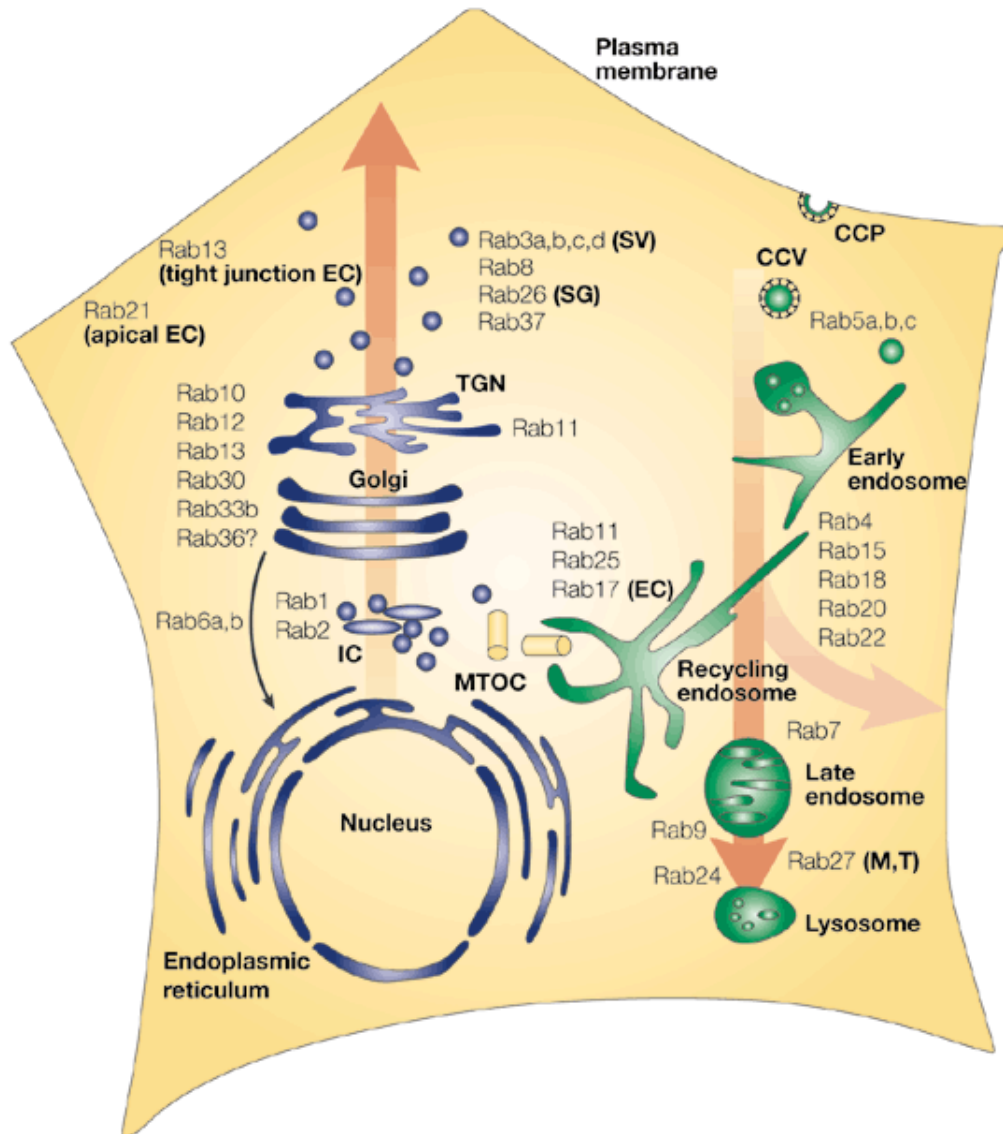


- RAB GTPases
- SNAREs

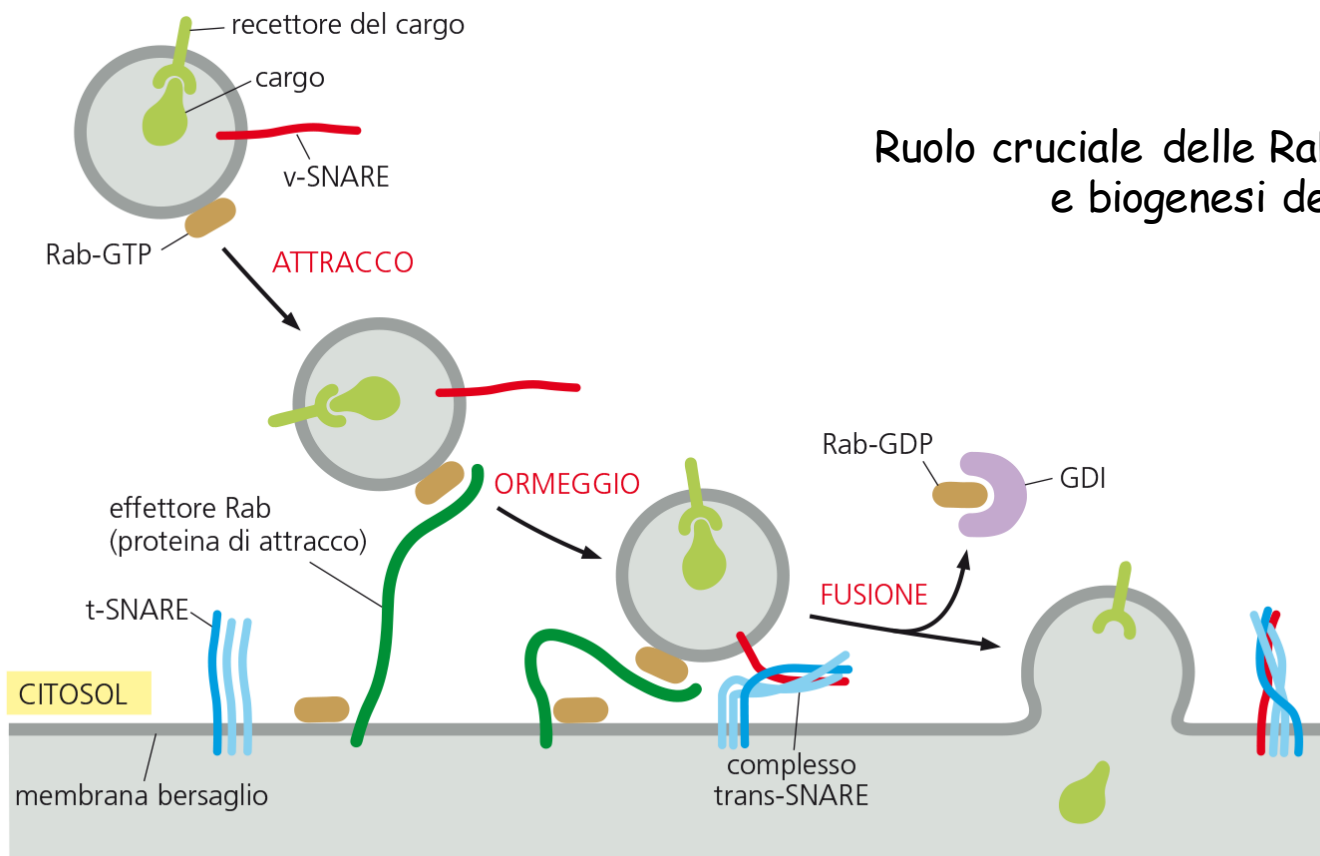
Table 13–1 Subcellular Locations of Some Rab Proteins

PROTEIN	ORGANELLE
Rab1	ER and Golgi complex
Rab2	<i>cis</i> Golgi network
Rab3A	synaptic vesicles, secretory granules
Rab4/Rab11	recycling endosomes
Rab5A	plasma membrane, clathrin-coated vesicles, early endosomes
Rab5C	early endosomes
Rab6	medial and <i>trans</i> Golgi cisternae
Rab7	late endosomes
Rab8	early endosomes
Rab9	late endosomes, <i>trans</i> Golgi network

Dove sono localizzate le Rab?



LE PROTEINE Rab DETERMINANO LA SPECIFICITA' DI INDIRIZZO DELLE VESCICOLE

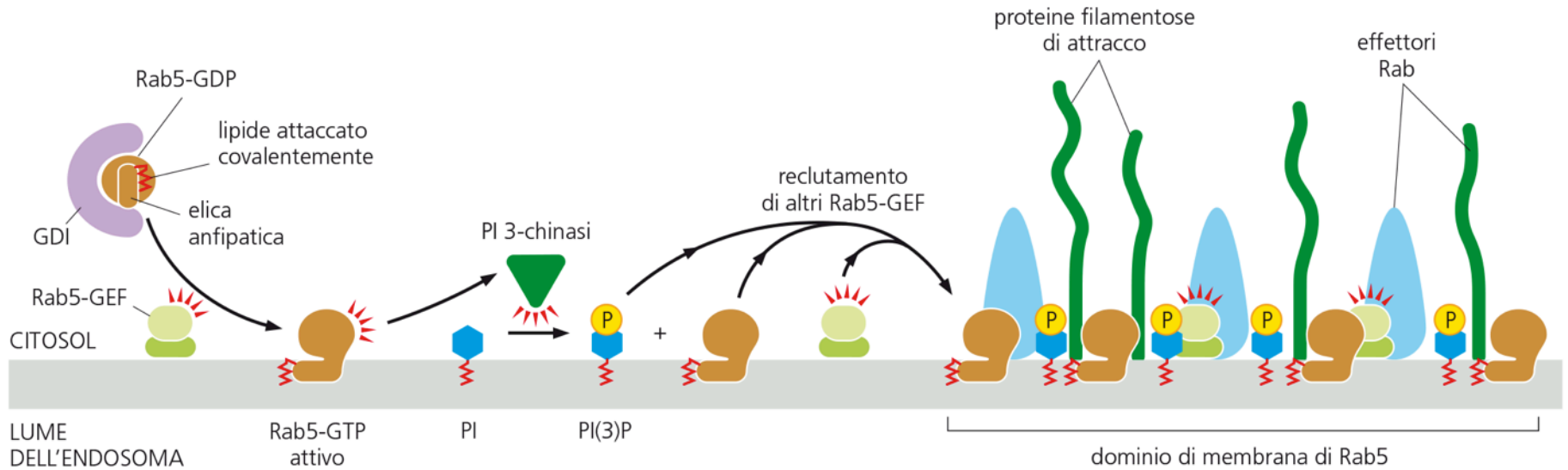


Ruolo cruciale delle Rab nel mantenimento e biogenesi degli organelli

Durante l'ormeggio e la fusione, una proteina Rab-GAP induce la Rab a idrolizzare GTP a GDP causando la dissociazione di Rab dalla membrana e il ritorno nel citosol come Rab-GDP dove viene legata da una GDI (inibitore della dissociazione) che mantiene Rab nella forma inattiva libera nel citosol

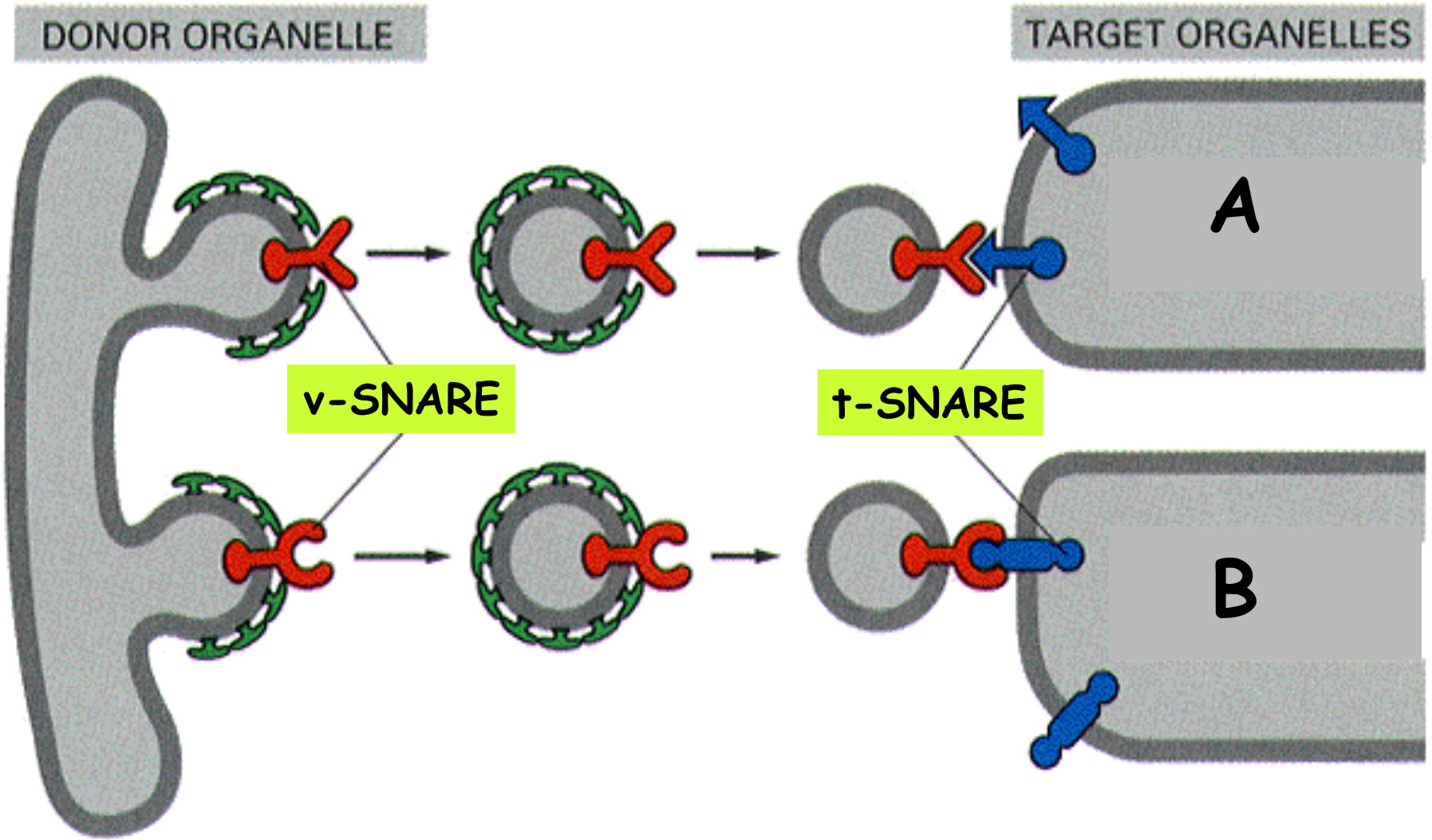
Formazione del dominio Rab5 sulla membrana dell'endosoma

L'assemblaggio delle proteine Rab e dei loro effettori è cooperativo e porta a formazione di zone specializzate di membrana



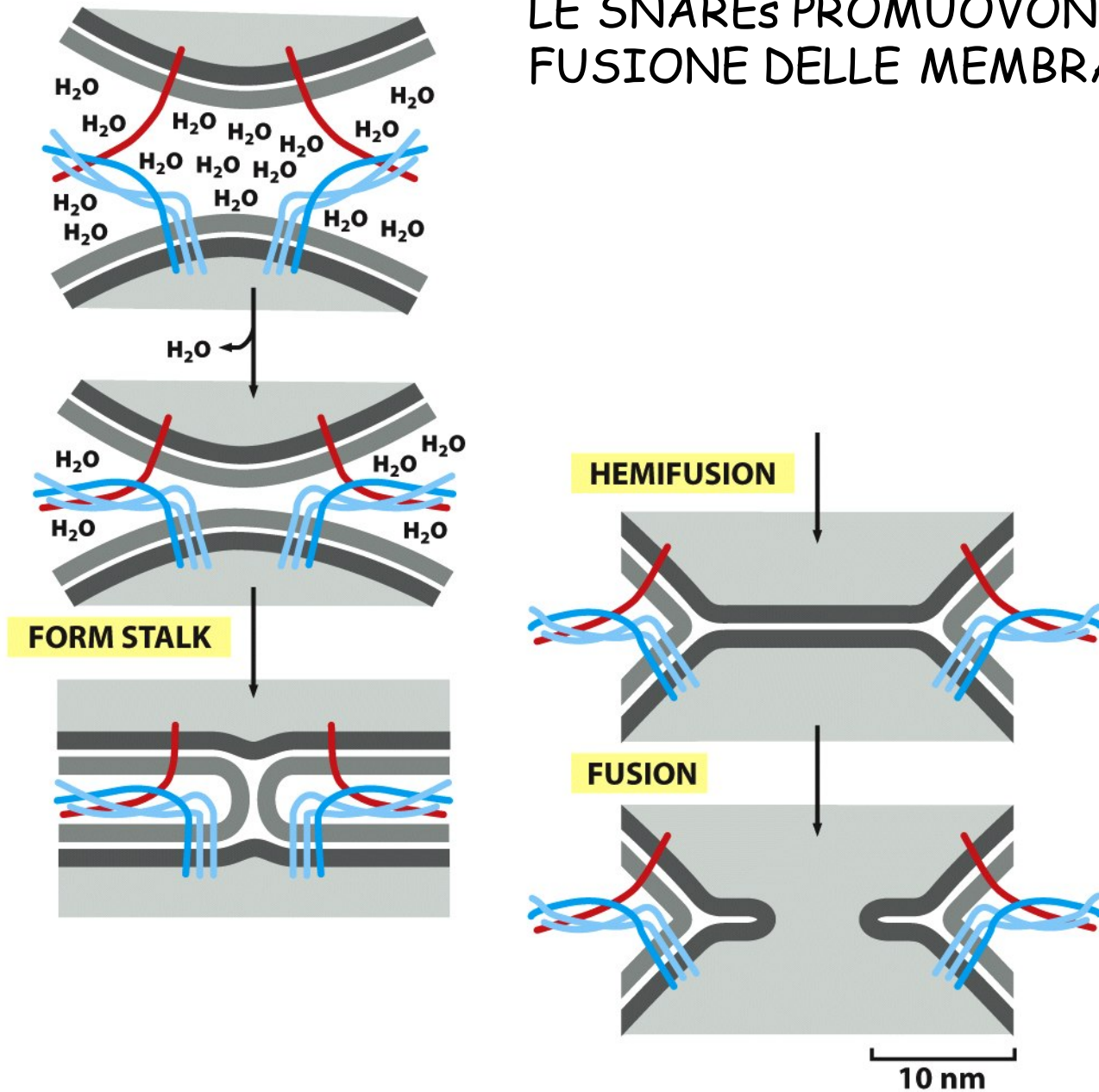
Mediano la cattura di vescicole endocitiche provenienti dalla membrana plasmatica

Le SNAREs SONO PRESENTI SUI COMPARTIMENTI DONATORE ED ACCETTORE

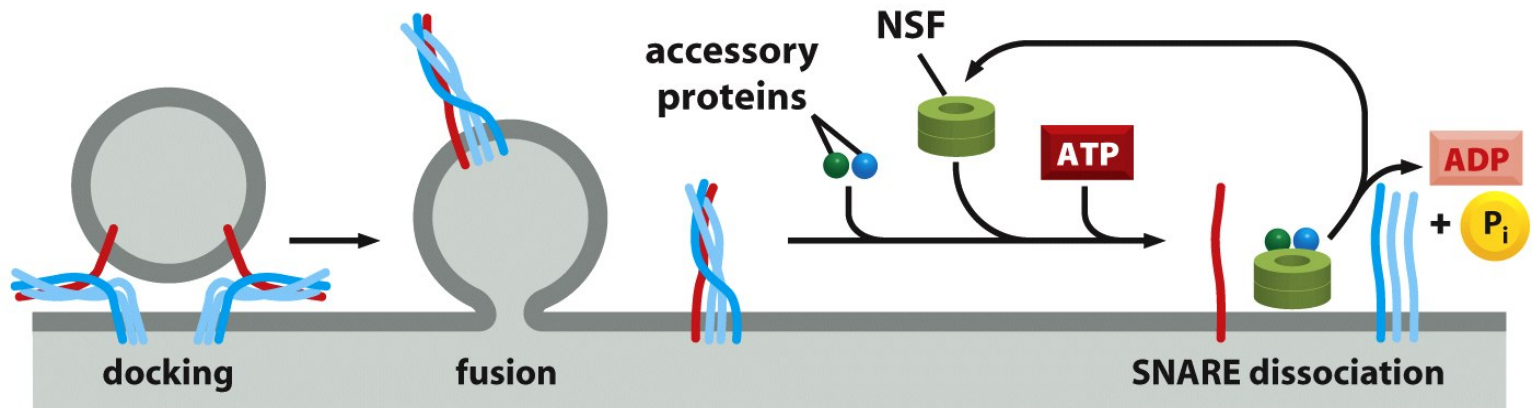


Le SNAREs mediano la fusione delle membrane. Forniscono specificità alla fusione!!!

LE SNAREs PROMUOVONO LA FUSIONE DELLE MEMBRANE



LE SNAREs VENGONO SEPARATE DOPO IL PROCESSO DI FUSIONE



SNARE: **SNAP** Receptor

SNAP: soluble NSF attachment protein

NSF: ATPasi, fattore sensibile all' N-etilmaleimide

Reclutamento di molecole cargo e di membrana nelle vescicole di trasporto del RE

