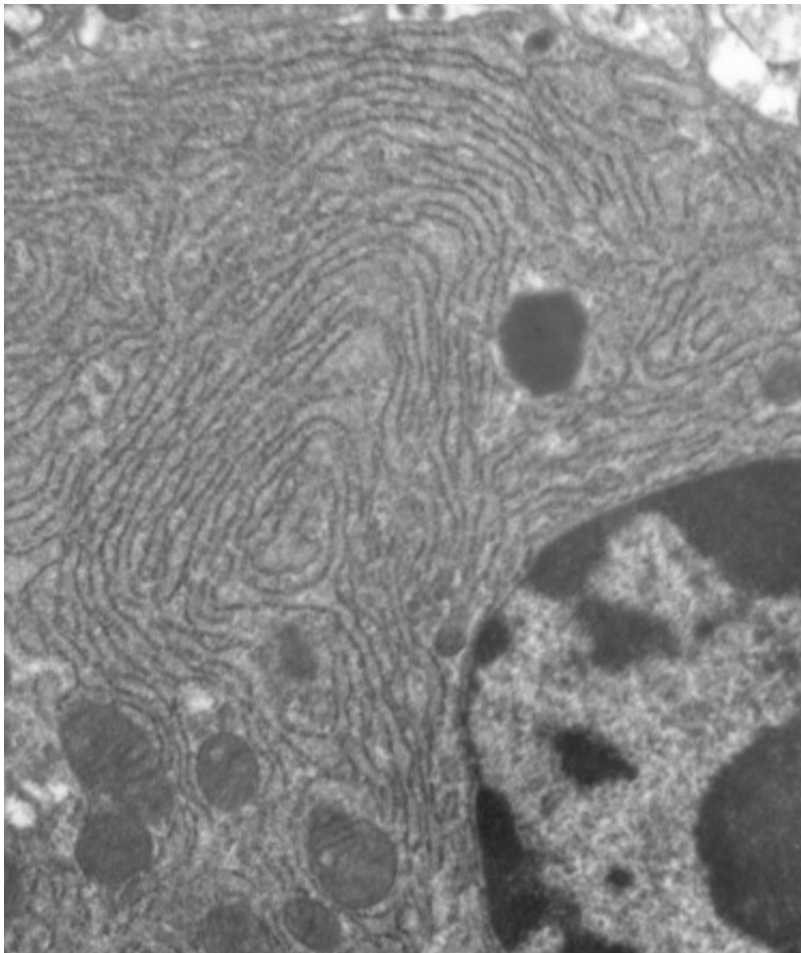


**Reticolo endoplasmatico:** cisterne delimitate da una singola membrana che si estendono dall'involucro nucleare (con cui sono in continuità) a tutto il resto del citoplasma. Lo spazio interno ha pH 7. Si distingue un **Reticolo Endoplasmatico Rugoso (RER)**, a cui sono associati dei ribosomi sul lato citosolico della membrana, e il Reticolo endoplasmatico liscio (REL), privo di ribosomi.

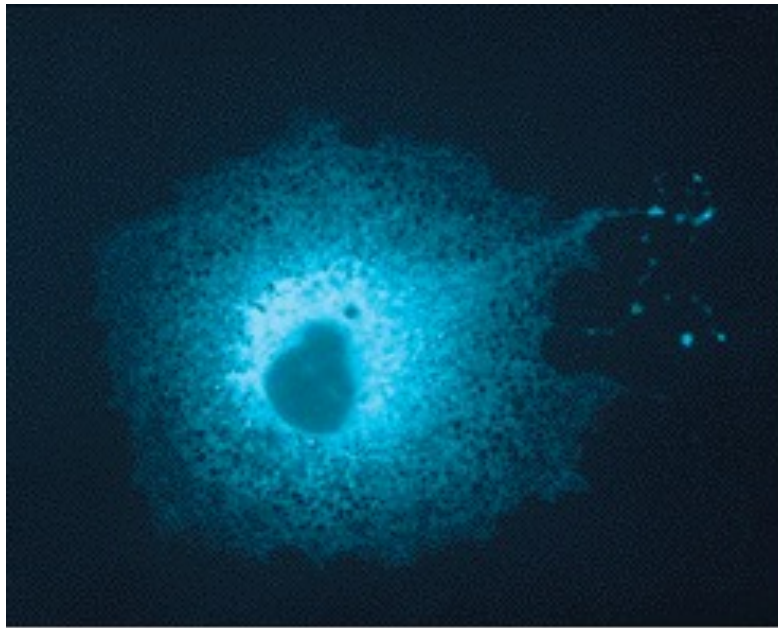


### **Funzioni del RER:**

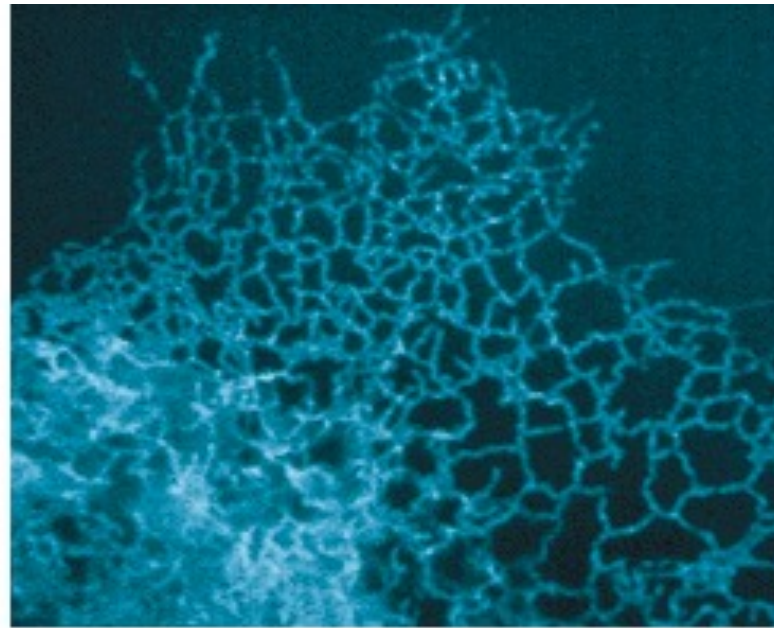
- Produzione e prima glicosilazione delle proteine destinate al Golgi, ai Lisosomi, alle vescicole di secrezione e alla membrana plasmatica
- Reazione di stress del RER

### **Funzioni del REL:**

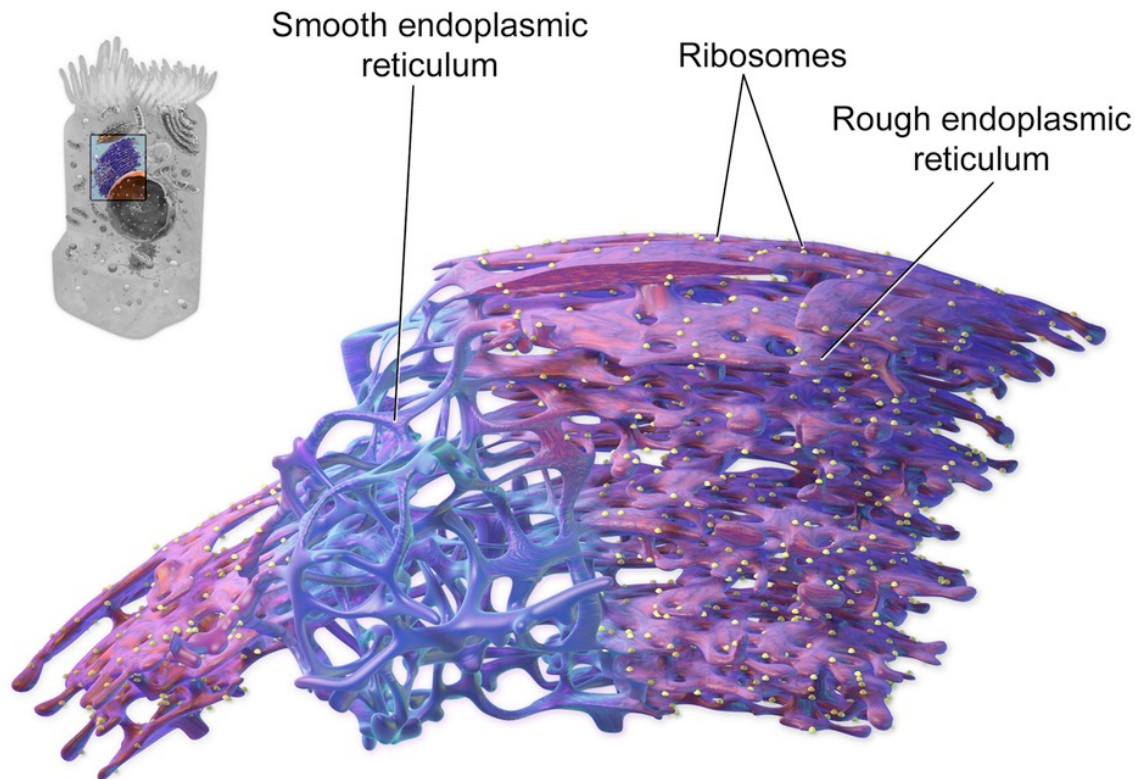
- Deposito di ioni  $\text{Ca}^{2+}$
- Sintesi di lipidi e di fosfolipidi, e loro distribuzione negli altri organelli citoplasmici
- Sintesi degli steroidi
- Rimozione di composti tossici dalla cellula



10 μm



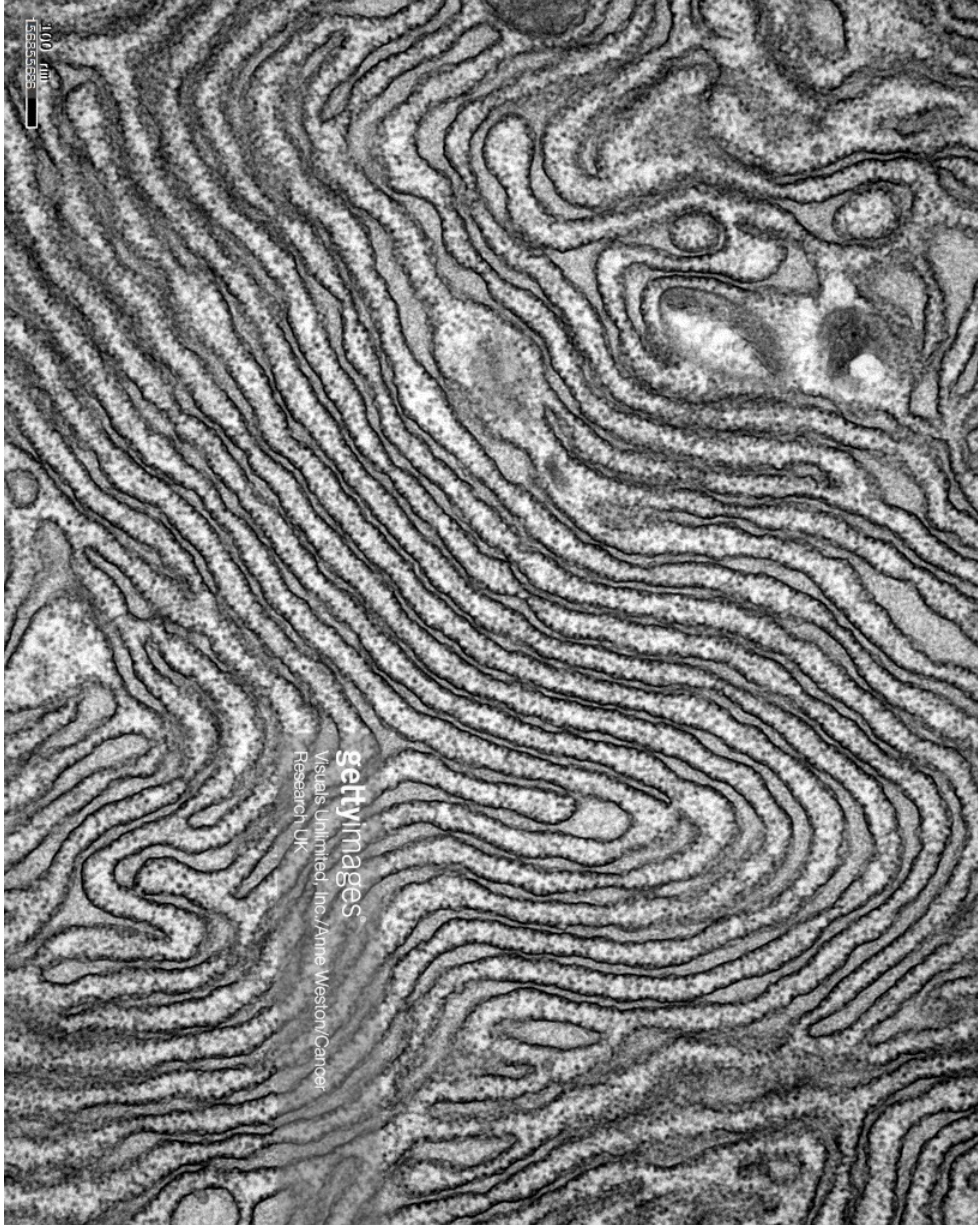
2 μm



Il reticolo endoplasmatico è diffuso in tutto il citoplasma.

RER e REL sono in continuità tra loro.





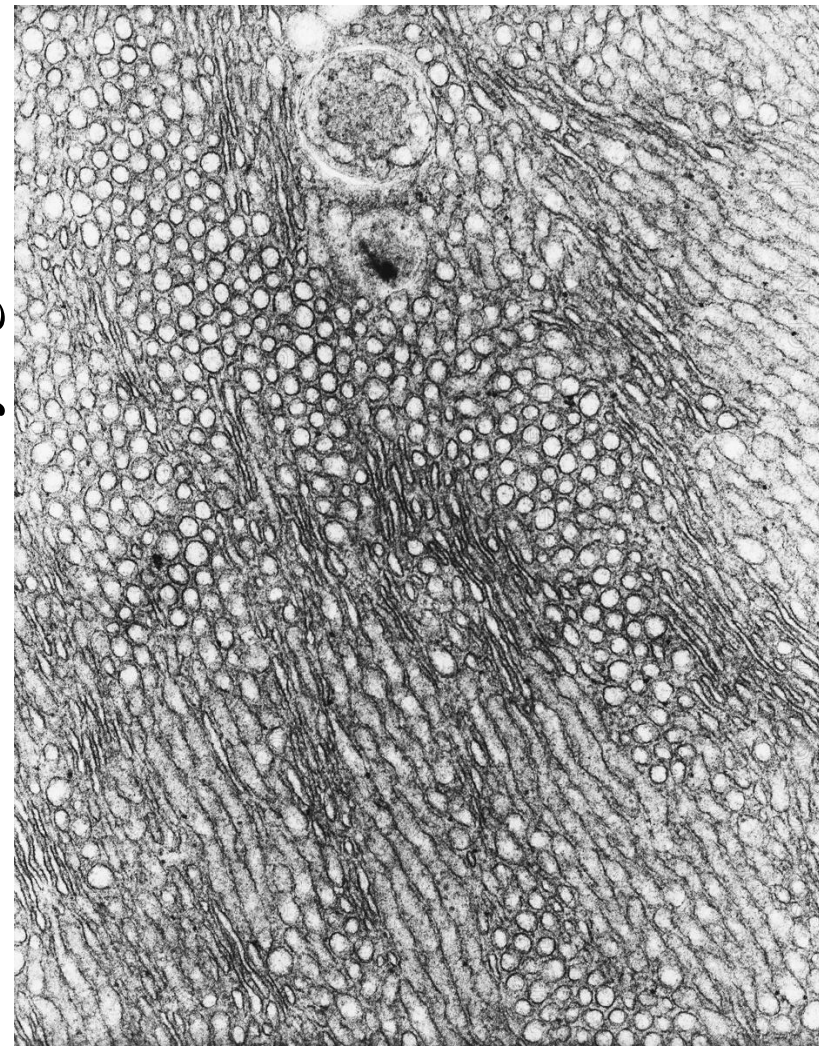
RUGOSO



cellula corticale del surrene



cellula di Leydig



## Funzioni

Sintesi dei **fosfolipidi e metabolismo lipidico**

Sintesi degli **steroidi**

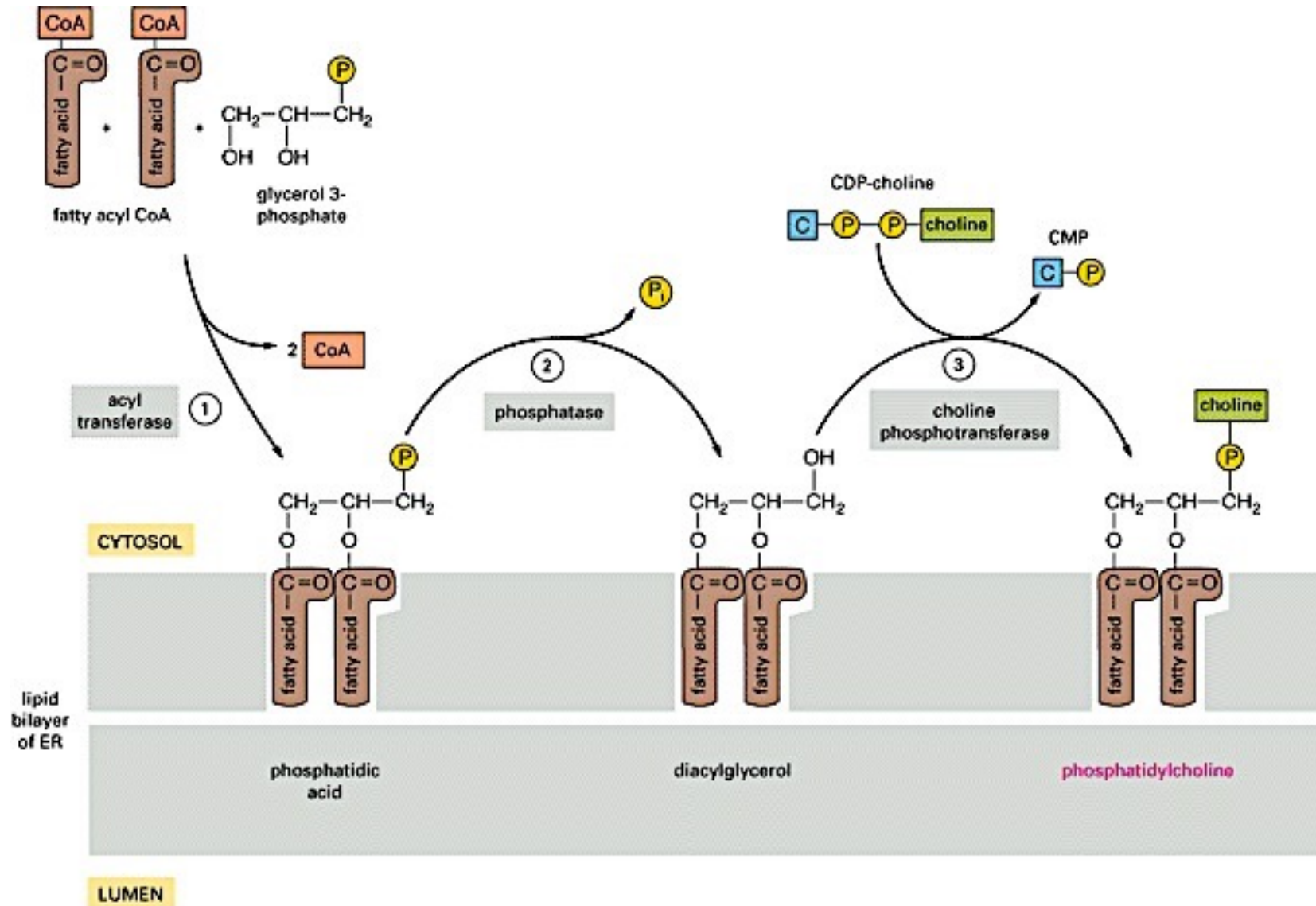
Metabolismo del **glicogeno**

Detossificazione di sostanze chimiche

Regolazione della concentrazione del **Ca<sup>2+</sup>** citosolico



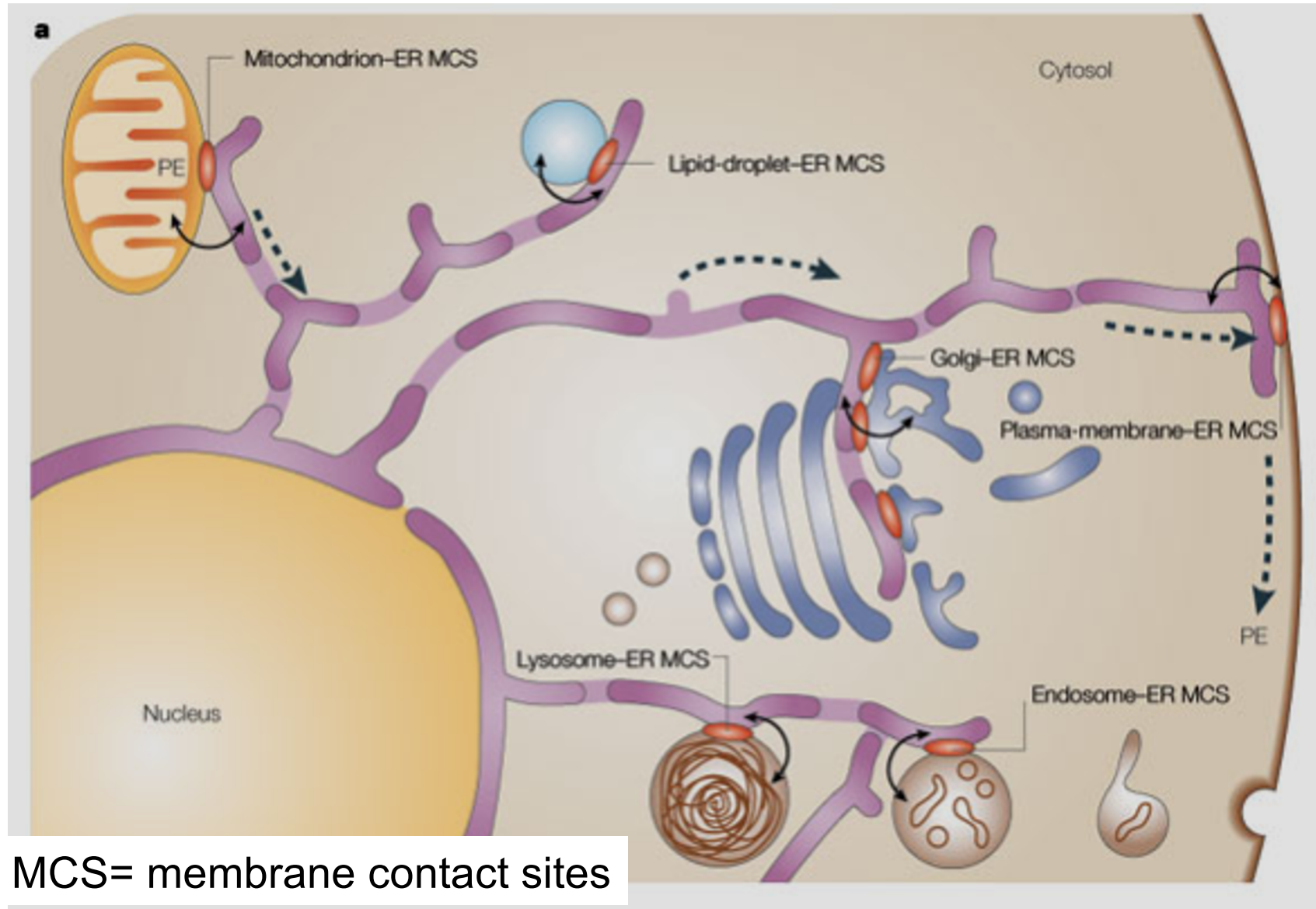
# RE LISCIO: SINTESI DI FOSFOLIPIDI



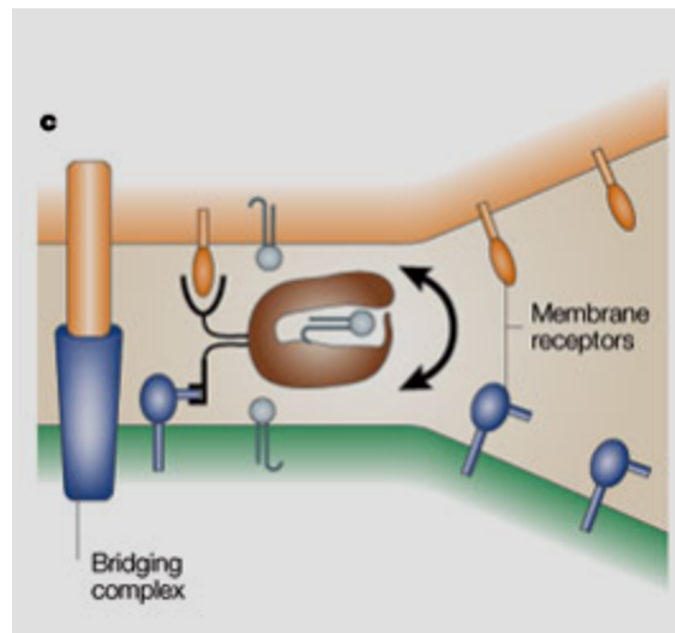
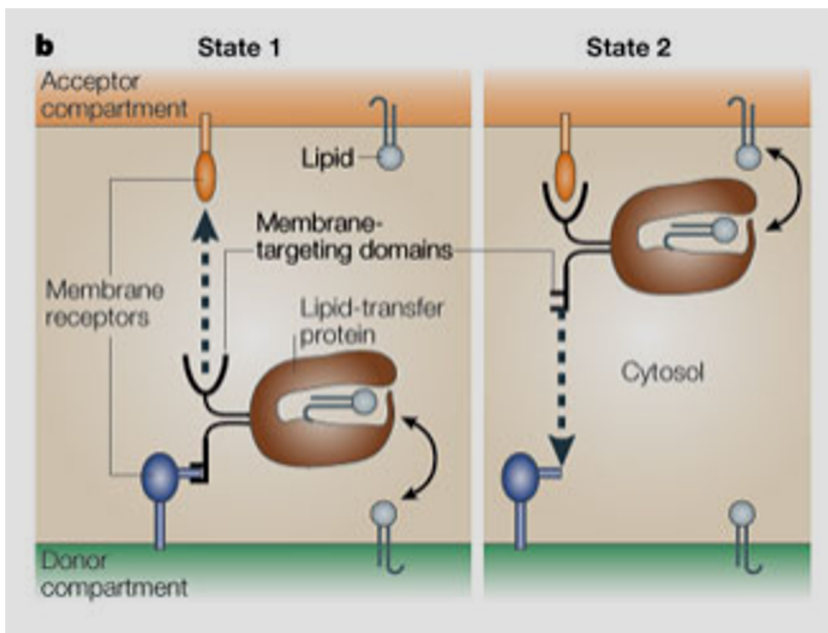
**I Fosfolipidi vengono sintetizzati sul versante citosolico della membrana del REL**



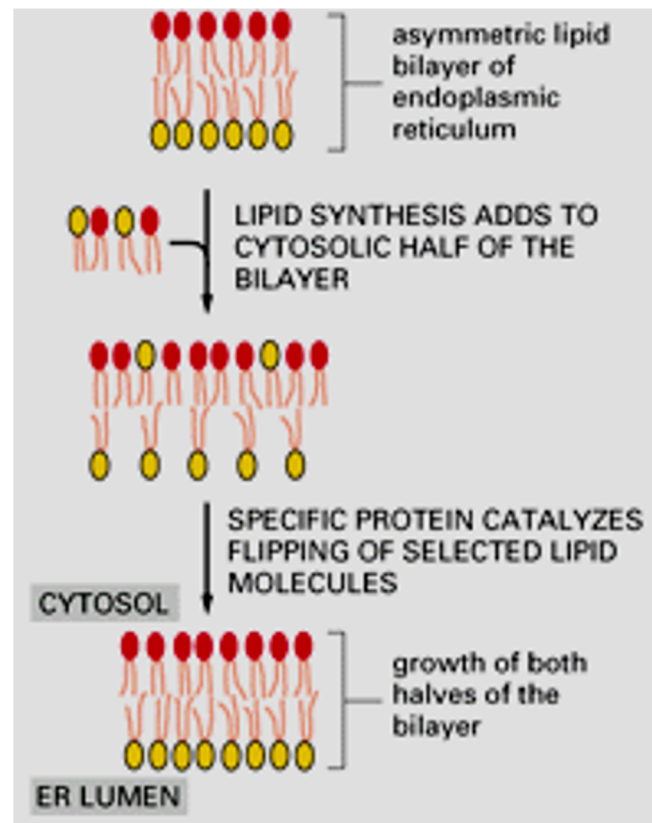
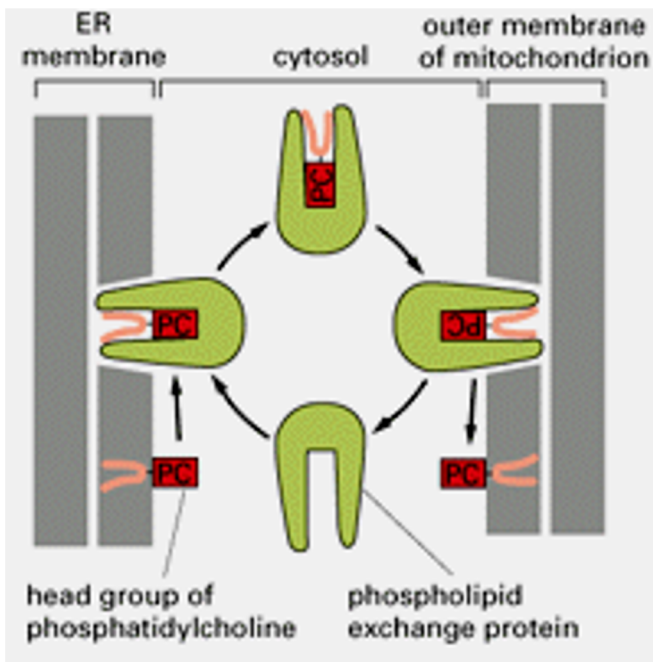
# RE LISCIO: RIDISTRIBUZIONE DEI LIPIDI TRA ORGANULI MEMBRANOSI



I lipidi vengono portati agli altri organelli o alla membrana plasmatica 1) tramite il traffico vesciolare e 2) direttamente dal REL, utilizzando delle zone in cui la membrana del REL e quella degli organelli sono in stretta vicinanza

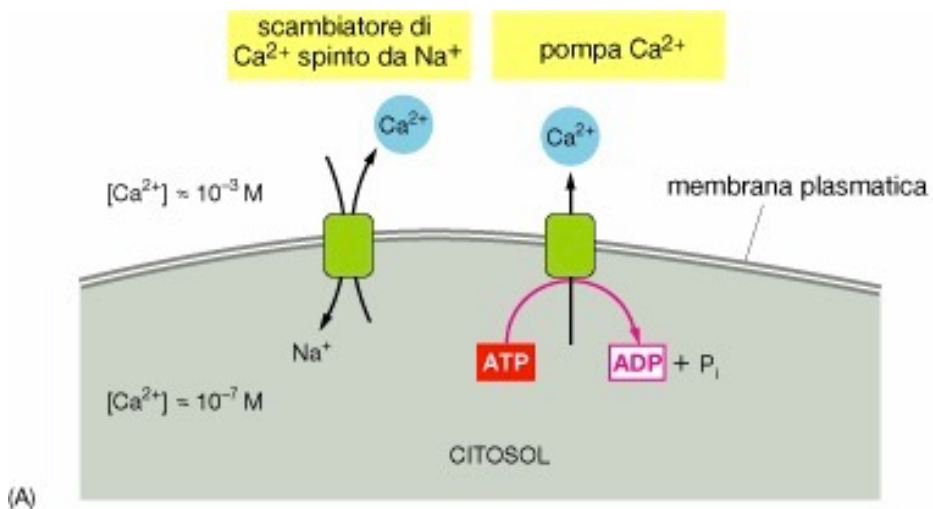


Proteine che trasferiscono i lipidi nei MCSs



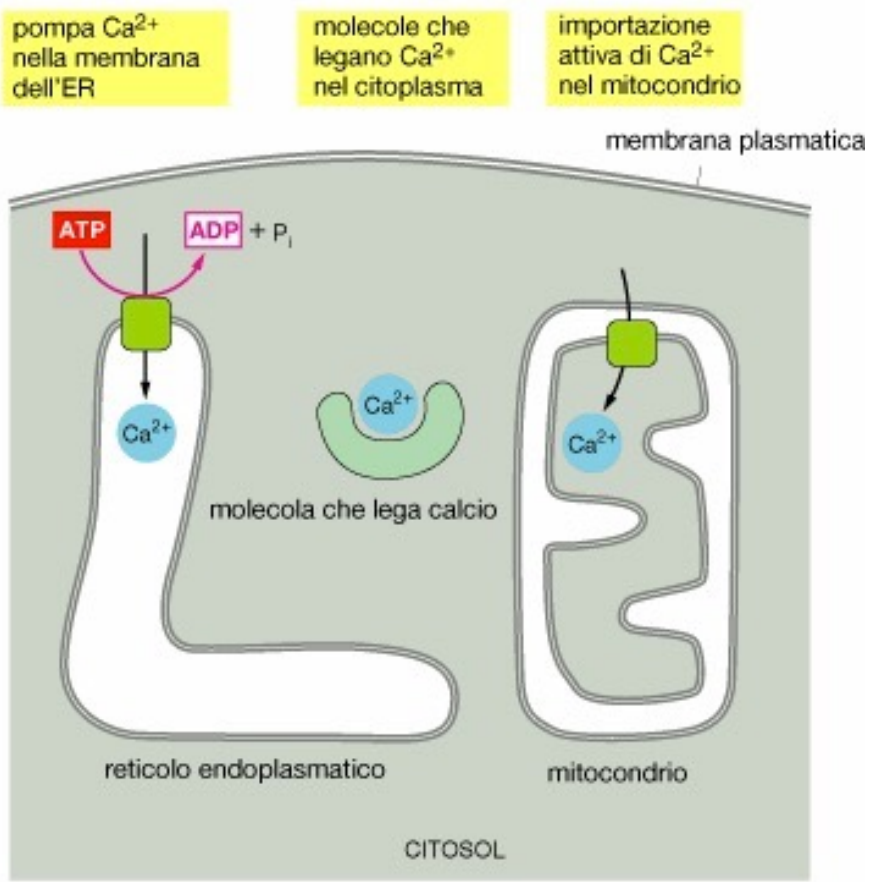
Il trasferimento dei lipidi dal REL agli altri organelli avviene anche tramite delle proteine trasportatrici.

Lo scambio dei lipidi tramite flip-flop poi determina l'asimmetria dei due strati delle membrane



(A)

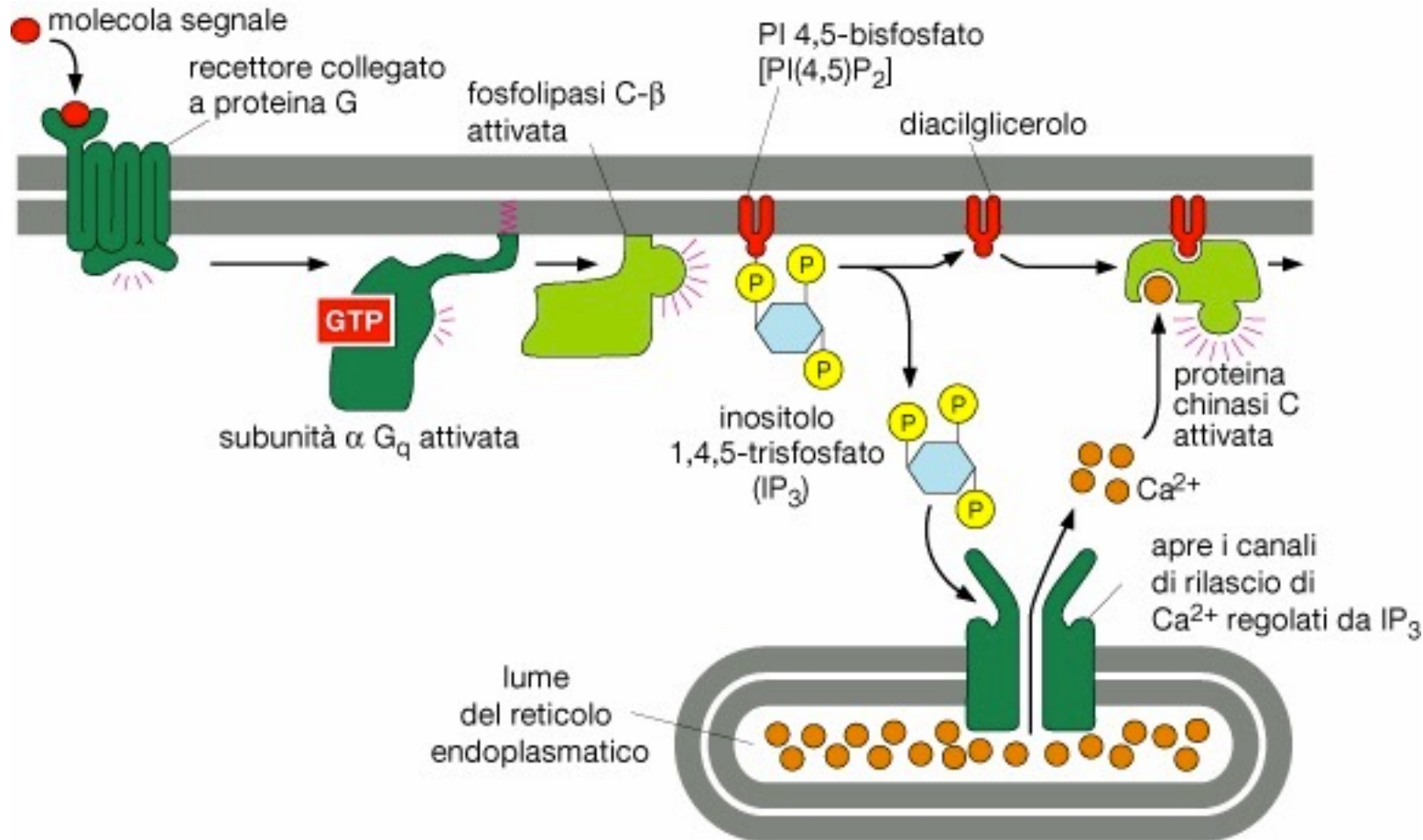
Il RE e la matrice mitocondriale sono depositi intracellulari dello ione  $\text{Ca}^{2+}$



(B)



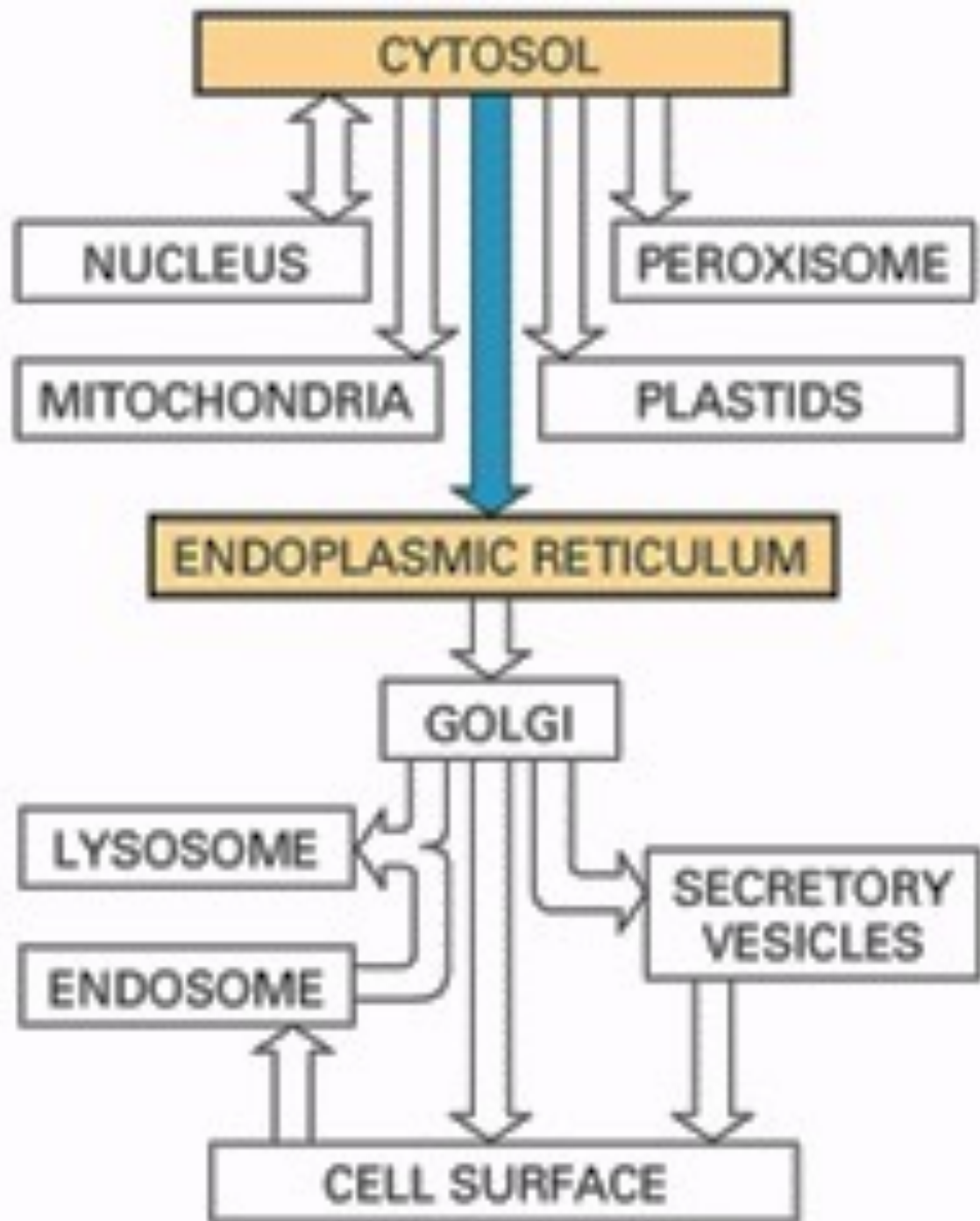
# RE LISCIO E REGOLAZIONE DEL CALCIO CITOSOLICO



Il Ca<sup>2+</sup> può essere rilasciato dal REL tramite dei canali regolati da ligando. Il ligando è l'inositolo trifosfato (IP<sub>3</sub>), che viene generato a partire da uno specifico lipide situato sulla membrana plasmatica.

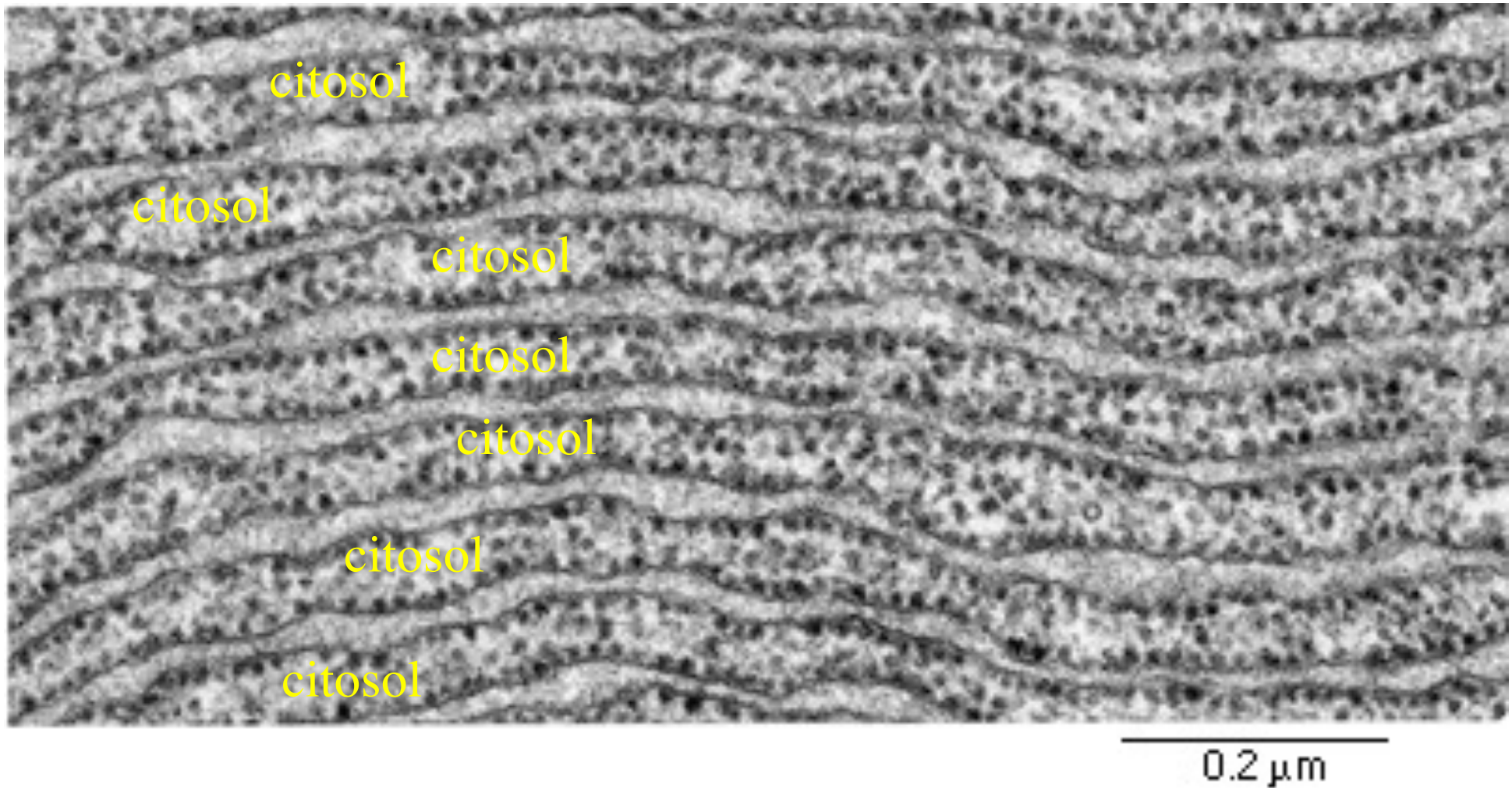
Questo avviene a sua volta in seguito all'azione di una proteina integrale della membrana plasmatica che funge da recettore per un segnale extracellulare.

L'entrata del Ca<sup>2+</sup> nel citoplasma scatena tutta una serie di eventi che possono essere differenti da cellula a cellula.



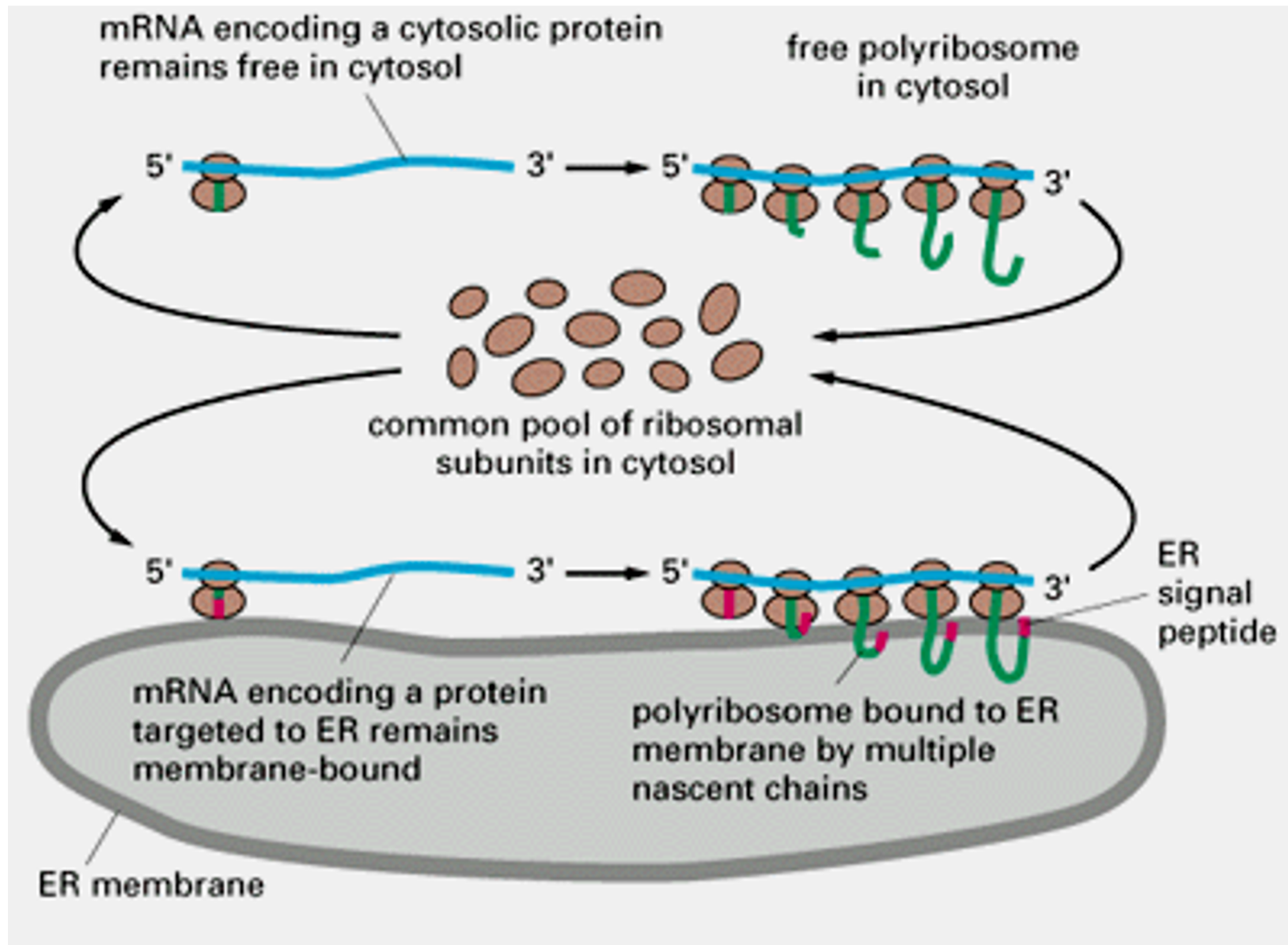
Il RER è sede della produzione di proteine destinate a vari organelli membranosi.

Si parla, in generale, di **via secretoria**, anche se molte proteine prodotte lungo questa via non verranno secrete dalla cellula



La membrana del RER è costellata di ribosomi sul lato citosolico





I ribosomi si associano al RER provenendo dal citosol.  
 La ragione di questa associazione è che la traslocazione delle proteine avviene cotraduzionalmente

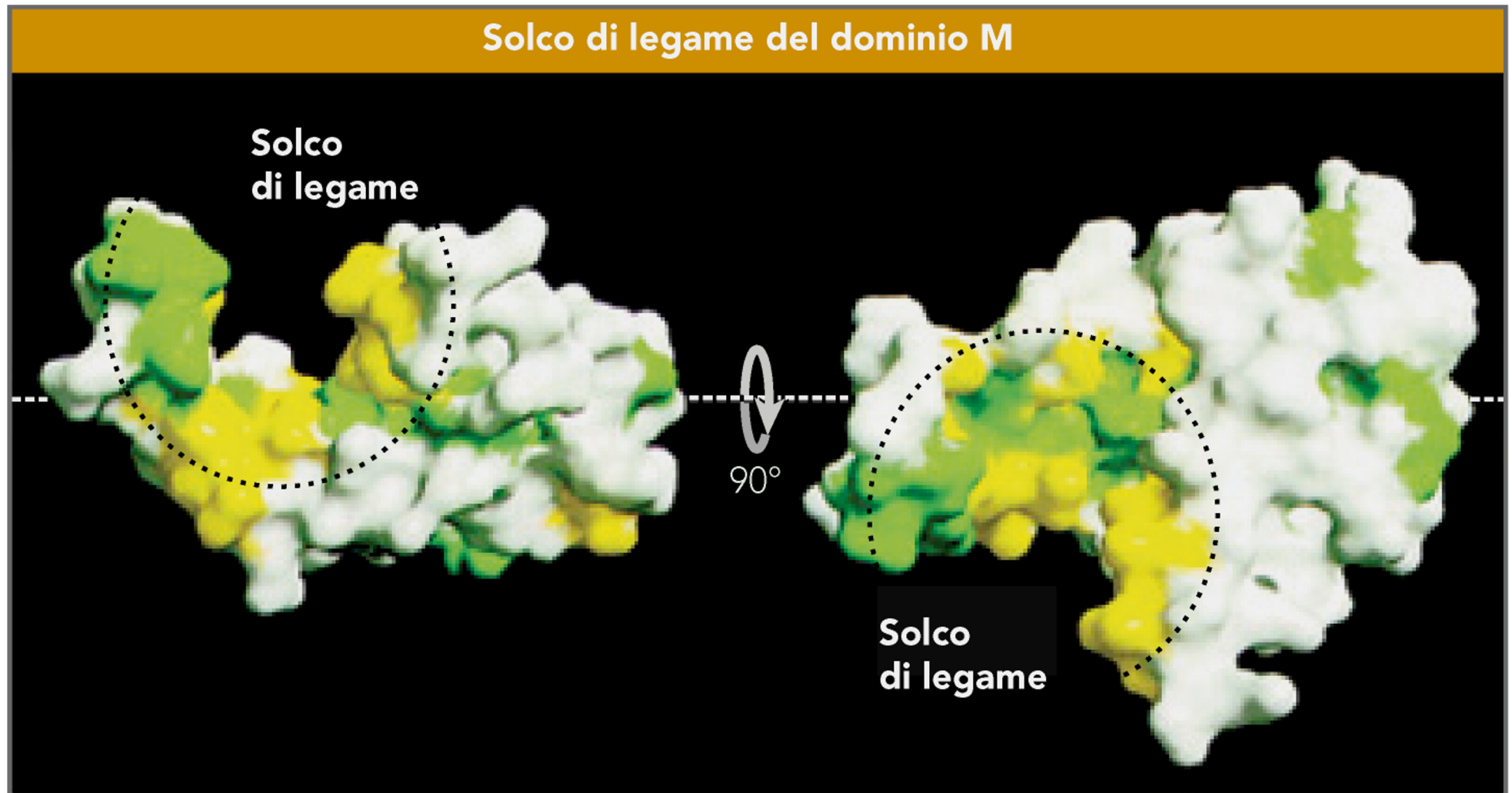
**Table 17-4. Amino Acid Sequences of ER Signal Peptides in Three Eukaryotic Proteins**

Protein	Amino Acid Sequence*
Preproalbumin	Met-Lys-Trp-Val-Thr- <b>Phe-Leu-Leu-Leu-Phe-Ile-Ser-Gly-Ser-Ala-Phe-Ser</b> ↓ Arg . . .
Pre-IgG light chain	Met-Asp-Met-Arg-Ala-Pro-Ala-Gln- <b>Ile-Phe-Gly-Phe-Leu-Leu-Leu-Phe</b> -Pro-Gly- Thr-Arg-Cys ↓ Asp . . .
Prelysozyme	Met-Arg-Ser- <b>Leu-Leu-Ile-Leu-Val-Leu-Cys-Phe-Leu</b> -Pro-Leu-Ala-Ala-Leu-Gly ↓ Lys . . .

\* *Hydrophobic residues are in boldface; arrows (↓) indicate the site of cleavage by signal peptidase.*  
SOURCE: D. P. Leader, 1979, *Trends Biochem. Sci.* 4:205 and T. A. Rapoport, 1985, *Curr. Topics Membrane Transport* 24:1.

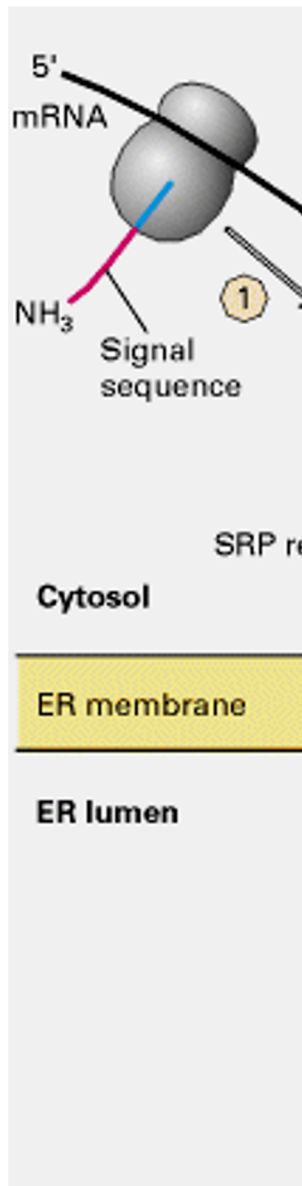
I peptidi segnale richiesti per l'entrata nel RE sono corte sequenze di aminoacidi idrofobici posti all'N-terminale della proteina. Sono quindi le prime parti delle proteine destinate alla via secretoria ad essere tradotte dal ribosoma

# Il recettore della sequenza segnale



Il recettore della sequenza segnale per l'ingresso nel RER è chiamata SRP (Signal Recognition Particle) Essa è composta da una molecola di RNA e da 6 proteine. Una di queste (SRP54) contiene il sito di legame (detto dominio M) per il peptide segnale. Il sito contiene un gran numero di residui di metionina, che gli conferiscono un carattere altamente idrofobico. L'SRP è una G-protein.

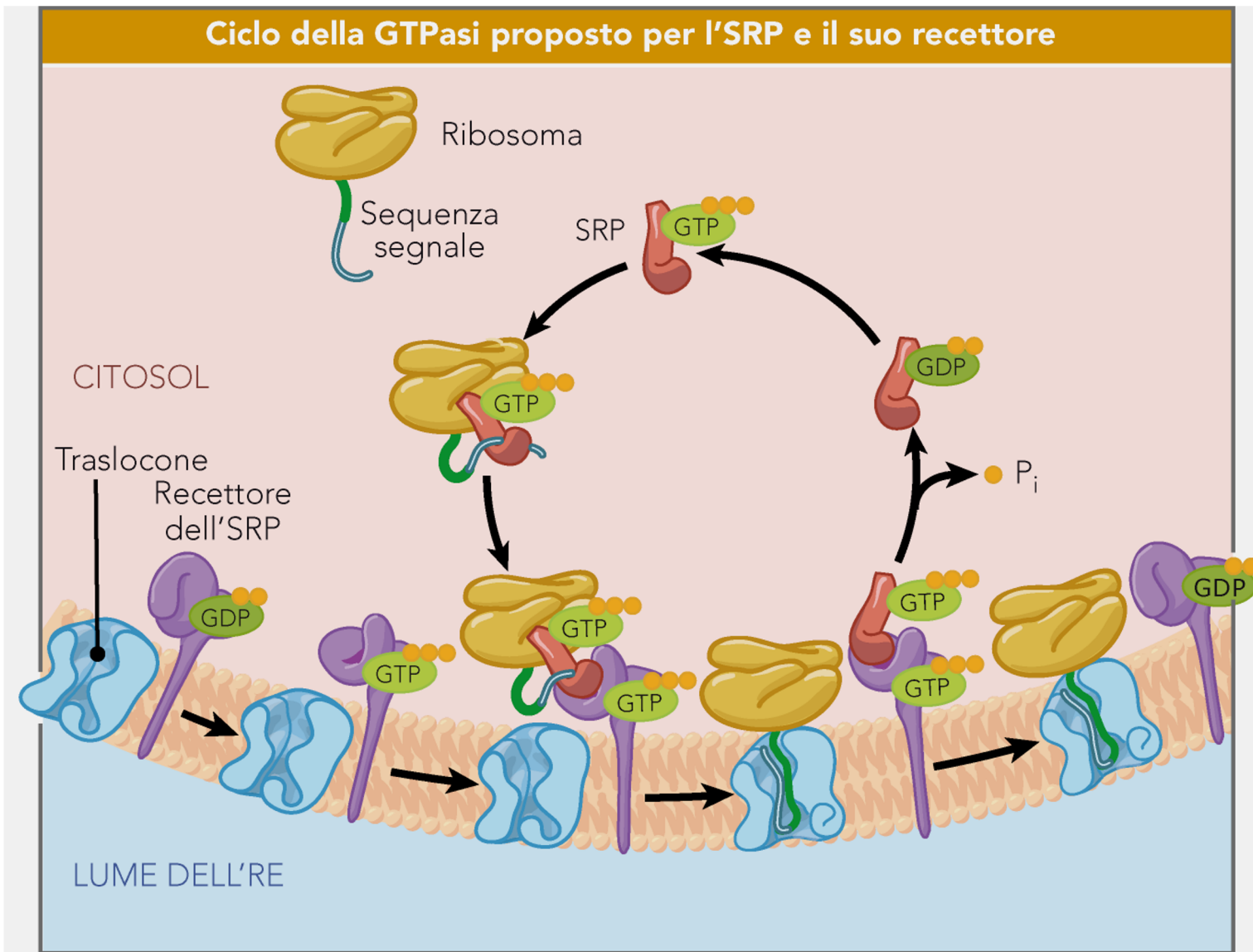




Comincia la traduzione della proteina.

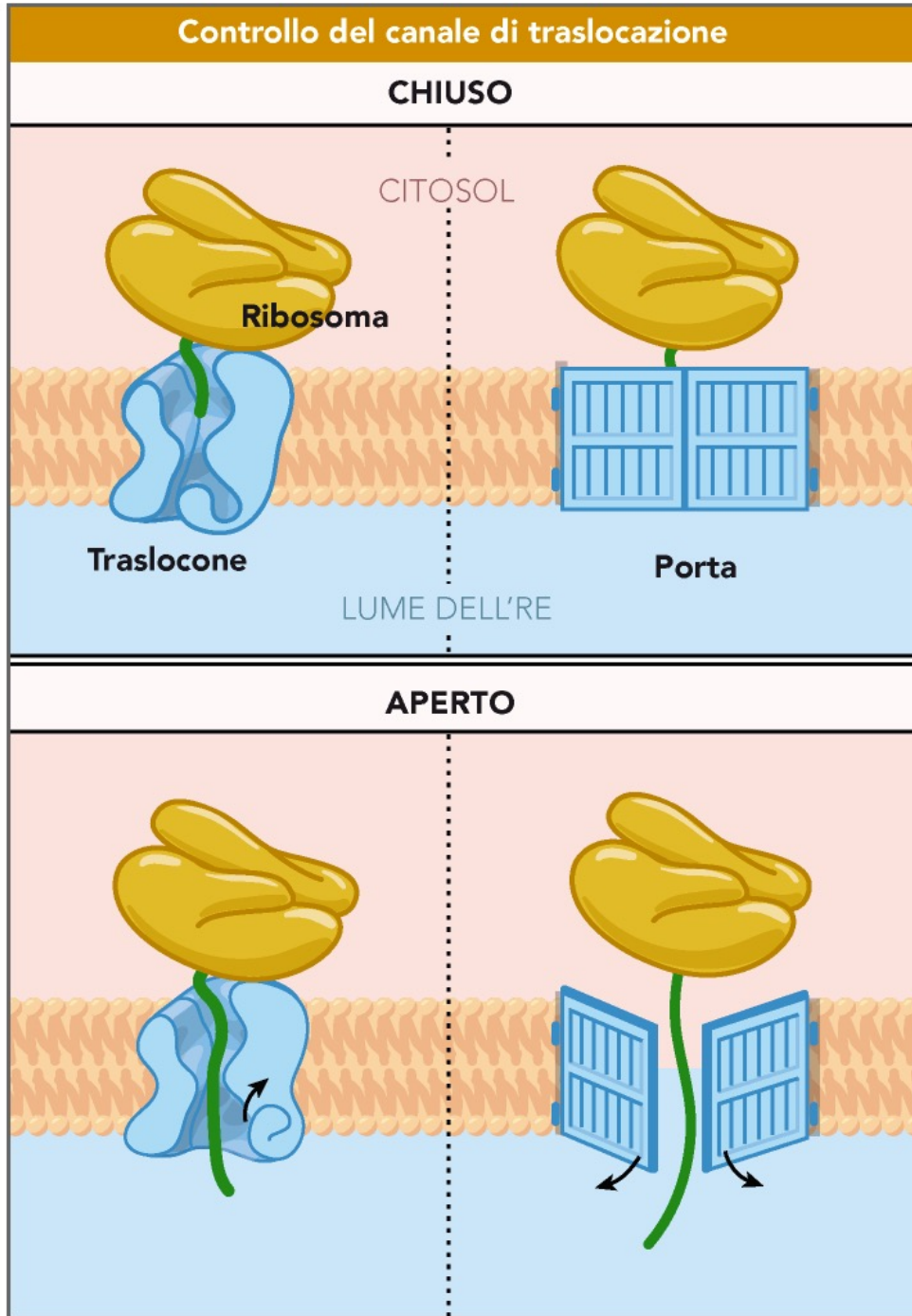
La prima parte ad essere tradotta è il peptide segnale.

La catena proteica viene legata nel lume del RER da chaperonine di tipo HSP70 aventi il compito di impedire il ripiegamento della proteina prima che questa venga interamente traslocata.



Sia l'SRP che il suo recettore sono proteine G: legano, rispettivamente, il peptide segnale o l'SRP solo se legate al GTP. Quando il ribosma si associa al traslocone, l'SRP e il suo recettore idrolizzano il GTP. Questo permette il rilascio dell'SRP dal recettore, e impedisce all'SRP di riassociarsi al peptide segnale, bloccando l'entrata delle proteine nel RER.

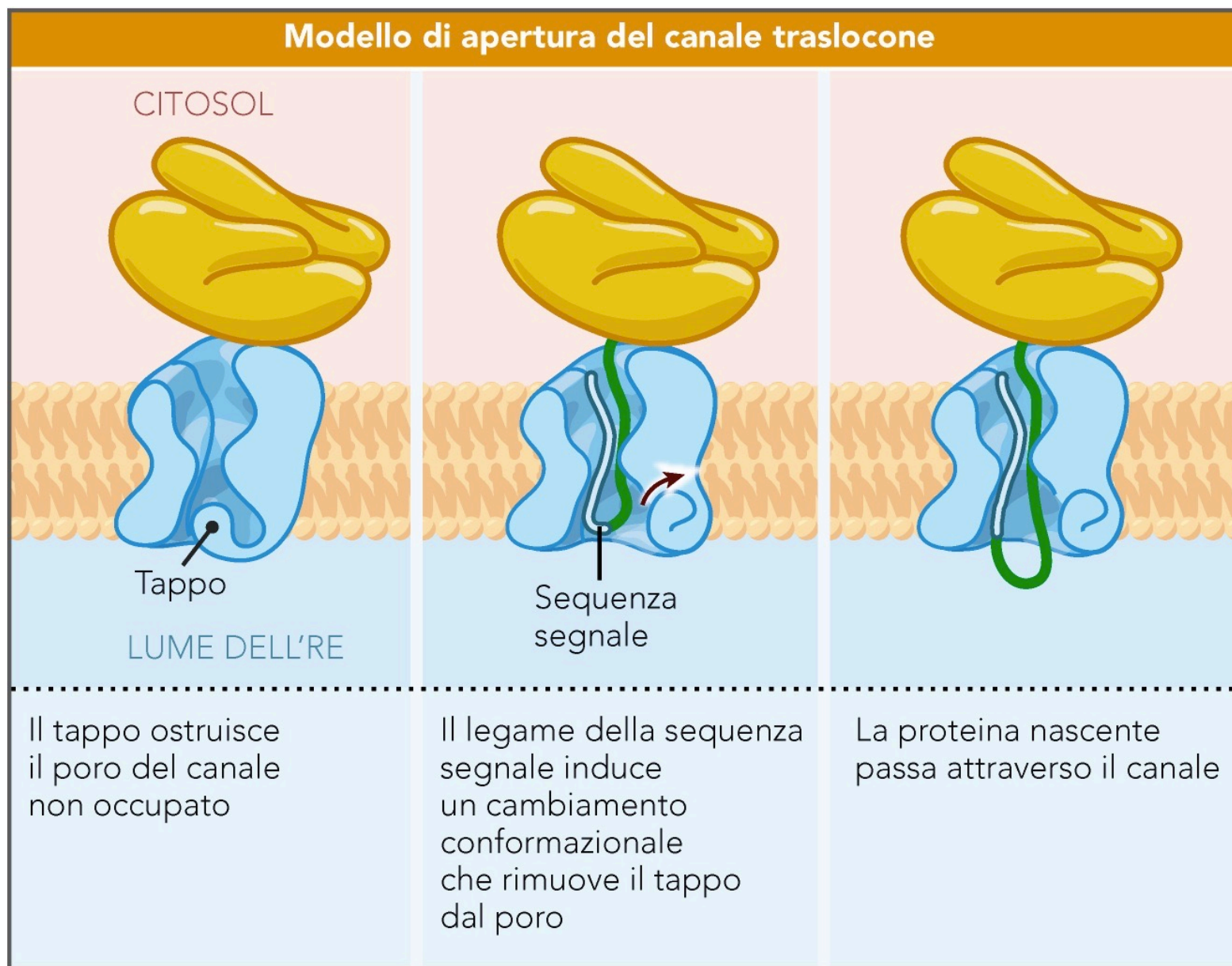
# Il traslocone (sec61)



Il traslocone è un canale specifico per le proteine.

Può esistere in uno stato aperto o chiuso





Il traslocone si apre quando entra in contatto con il peptide segnale  
rilasciato dal SRP

## La traslocazione è un processo a più tappe

Ribosoma

SRP

Recettore dell'SRP

Sequenza segnale

CITOSOL

LUME DELL'RE

Canale

① Dopo lo smistamento favorito dall'SRP il ribosoma interagisce debolmente con il traslocone

② L'interazione tra la sequenza segnale e il canale stabilizza il ribosoma

③ Il canale si apre e inizia la traslocazione

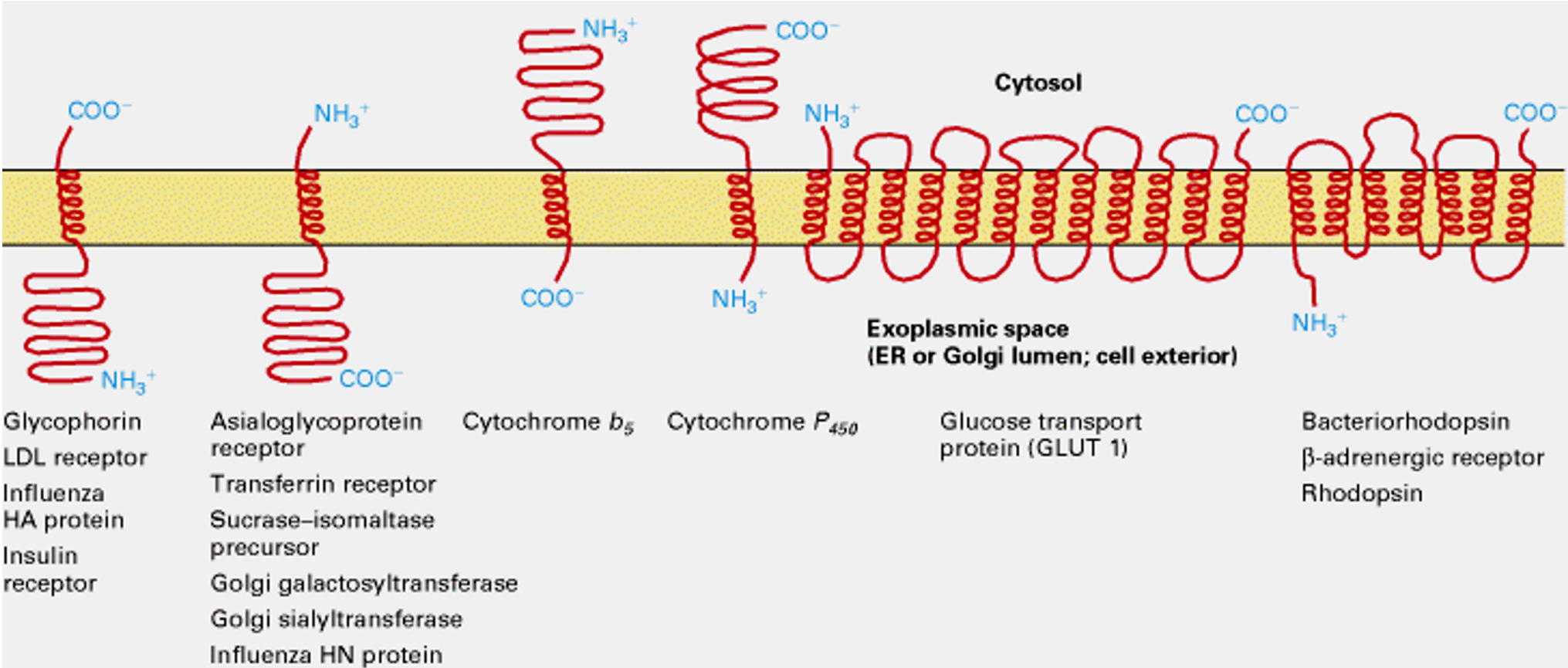
④ La proteina nascente viene modificata e ripiegata

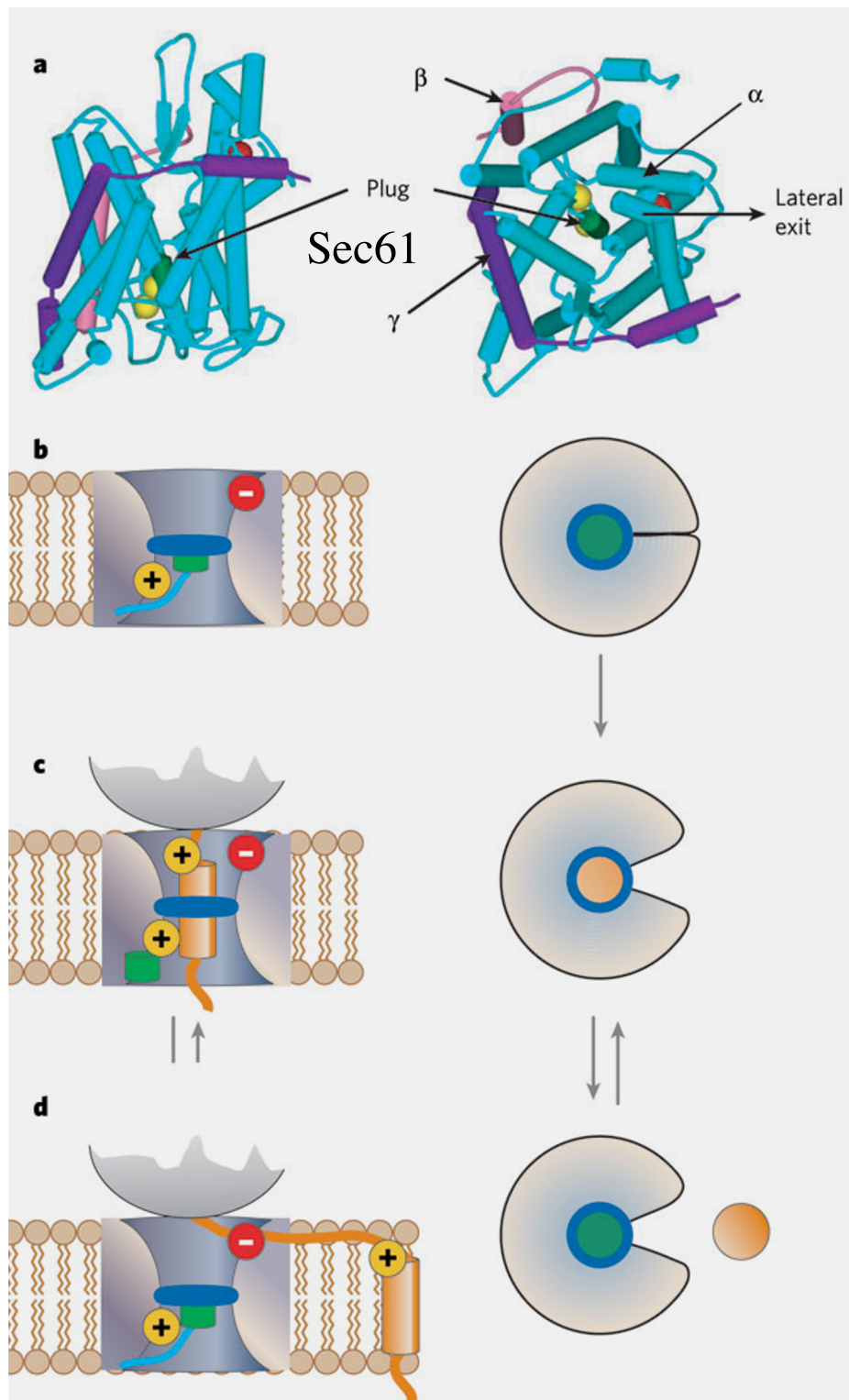
⑤ La traduzione termina, il canale si chiude e il ribosoma si dissocia

I ribosomi si sganciano dal traslocone solo quando la traduzione è terminata.



# L'inserimento delle proteine nella membrana





**Il traslocone** crea non solo un passaggio attraverso la membrana del RER, **ma ha anche un'uscita laterale verso il doppio strato lipidico.**

Quando un dominio proteico altamente idrofobico attraversa il traslocone, questo si apre lateralmente, e quella parte della proteina non viene traslocata nel lume del RER, ma finisce nel doppio strato lipidico, diventando un dominio transmembrana.

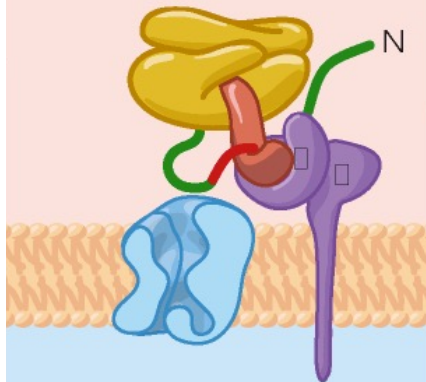
*NOTA: un meccanismo simile vale anche per i complessi TIM al mitocondrio*



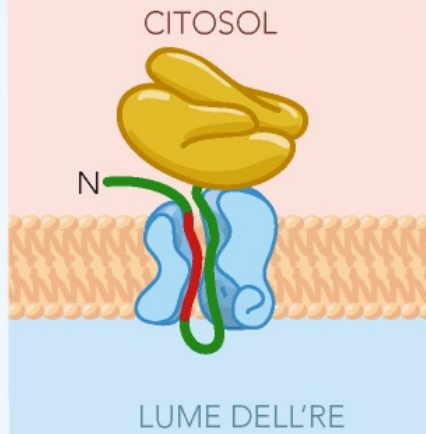
## Due modi di inserimento del dominio transmembrana

### SEGNALE DI ANCORAGGIO

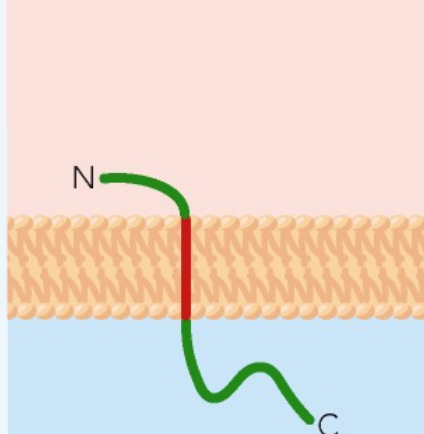
Il segnale di ancoraggio indirizza la proteina verso il canale



...e causa l'apertura del canale

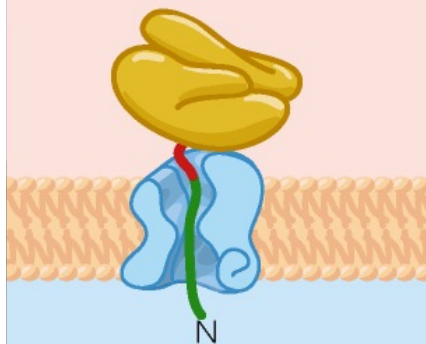


La sequenza si integra nella membrana e diventa un dominio transmembrana

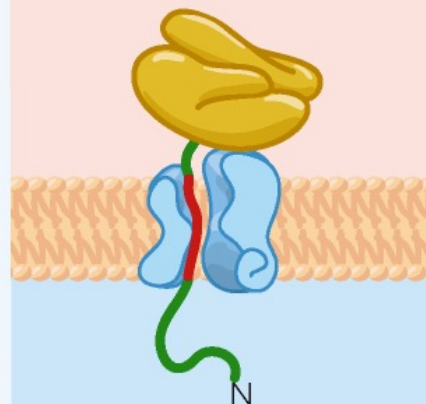


### RICONOSCIMENTO

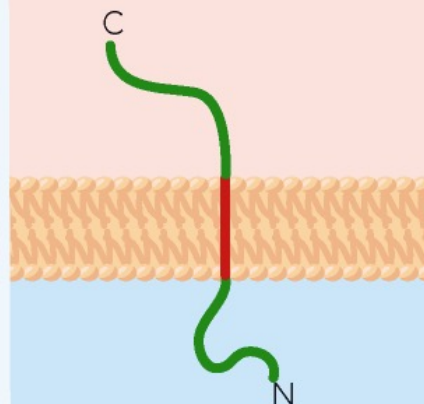
Un dominio transmembrana entra in un canale aperto



Il dominio transmembrana è riconosciuto dal canale



...e lo abbandona per integrarsi all'interno della membrana



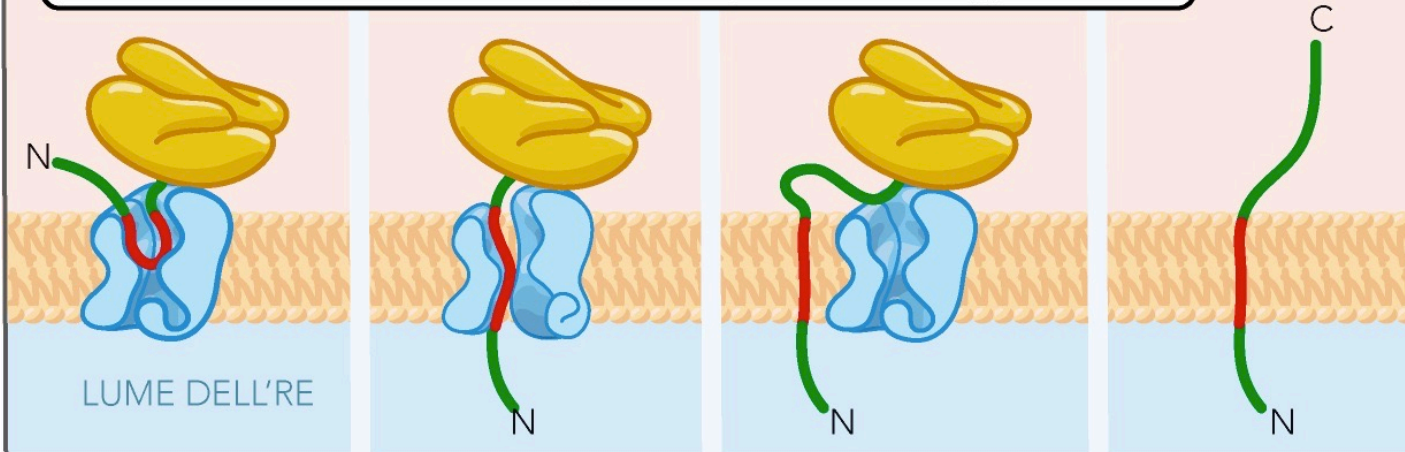
Due possibili conformazioni:

1. Il peptide segnale è vicino ma non è esattamente N-terminale: il peptide segnale diventerà il dominio transmembrana, l'N-terminale della proteina rimarrà sul lato citosolico, mentre la parte restante (C-terminale) verrà traslocata nel lume.

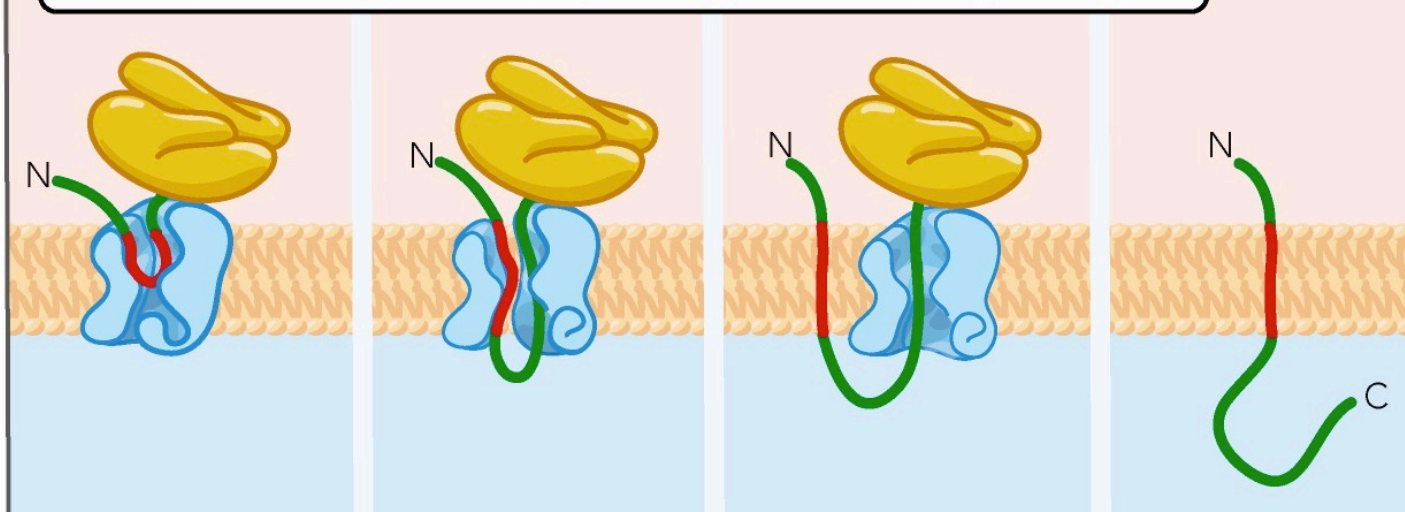
1. Il peptide segnale viene rimosso e la proteina incomincia ad essere traslocata dall'N-terminale. Durante la traslocazione un dominio transmembrana viene inserito nel doppio strato lipidico. La traslocazione cessa, ma non la traduzione: l'estremità C-terminale della proteina rimane sul lato citosolico

## Integrazione delle proteine di membrana con sequenze segnale di ancoraggio

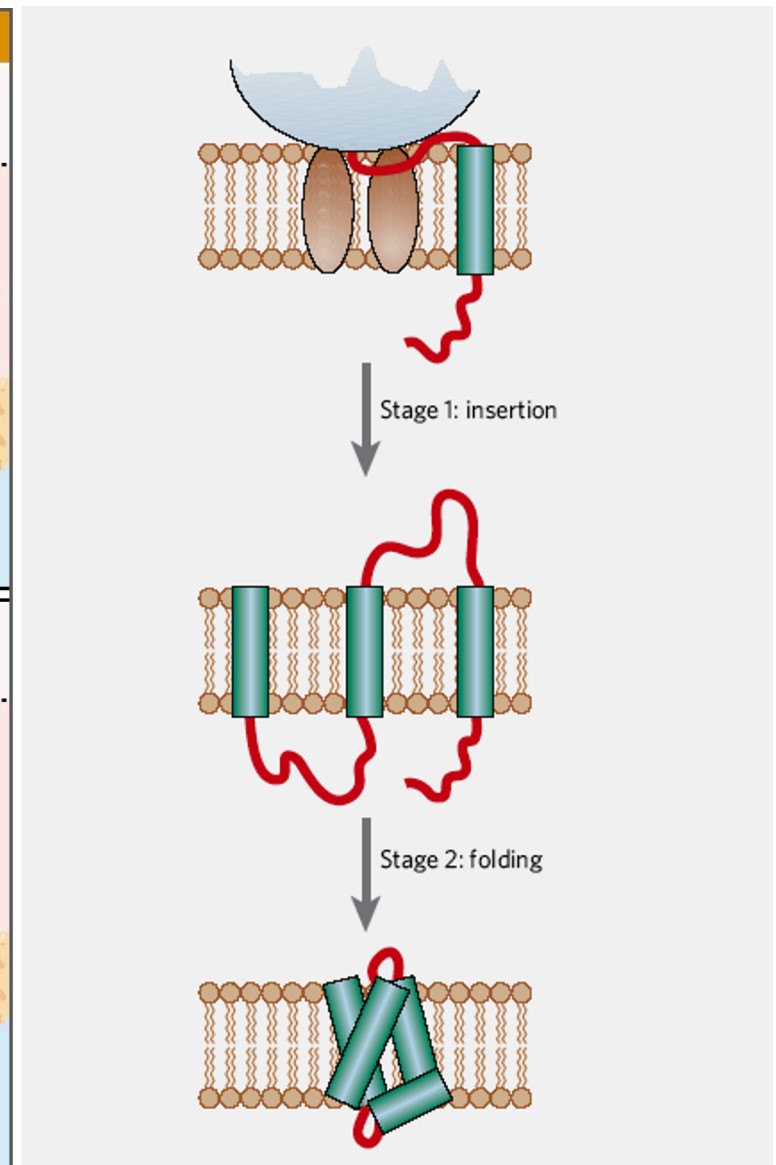
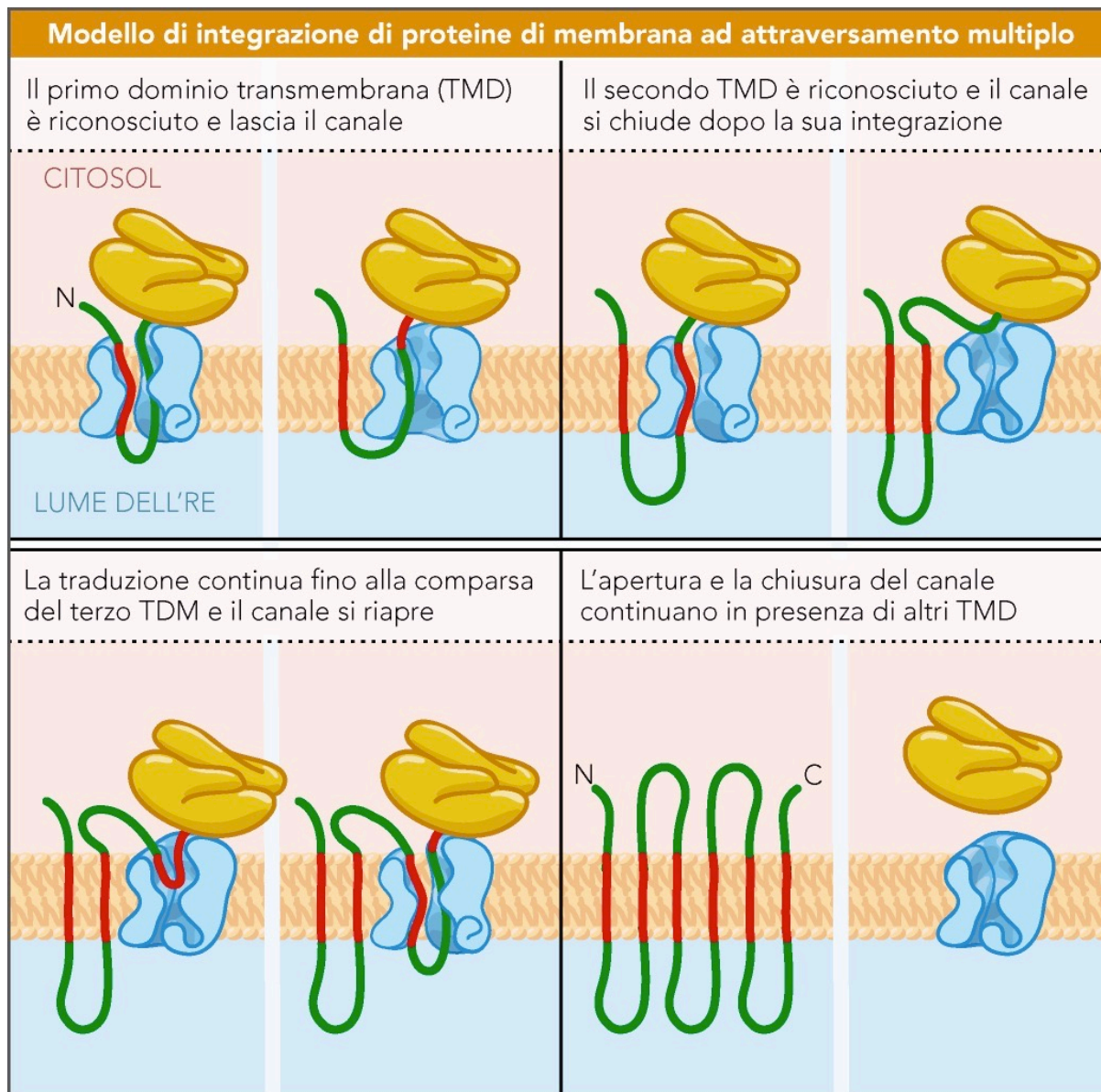
L'estremità N-terminale della sequenza segnale di ancoraggio trasloca



L'estremità C-terminale della sequenza segnale di ancoraggio trasloca

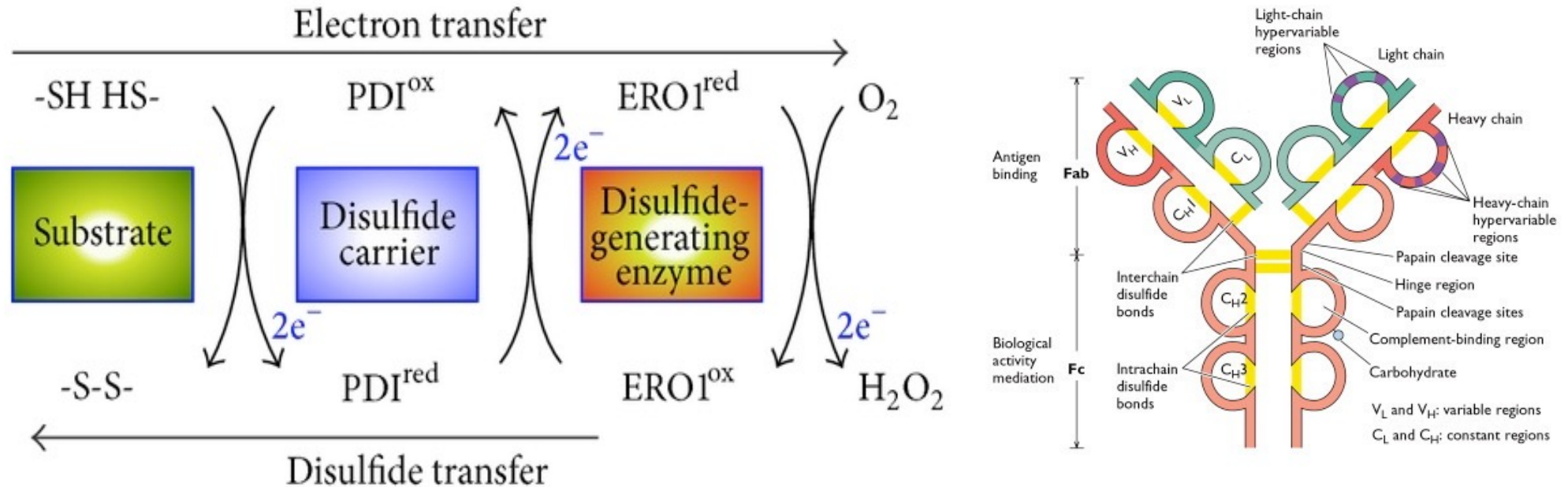






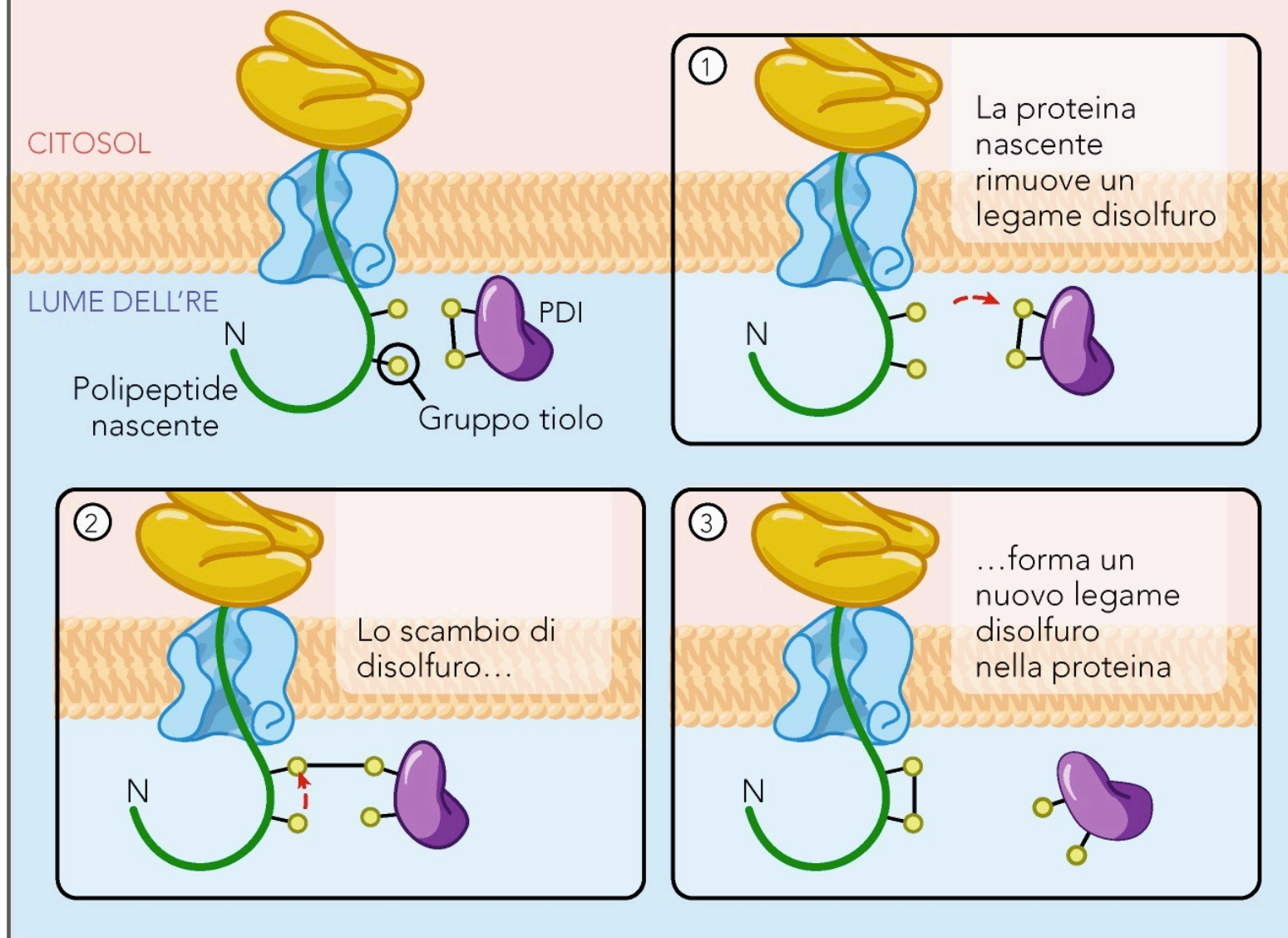
La traslocazione di proteine che hanno molteplici domini transmembrana è discontinua, intervallata dall'apertura laterale del traslocone in corrispondenza dei domini transmembrana. Una volta completato l'inserimento della proteina nella membrana, avviene un ripiegamento all'interno del doppio strato lipidico.

# La creazione dei ponti disolfuro



Nel lume del RER, le cisteine (aminoacidi con gruppo funzionale -SH) vengono ossidate, perdendo due ioni idrogeno e due elettroni che vengono alla fine ceduto all'ossigeno per creare una molecola di H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Si forma così formando **un legame o ponte disolfuro (-S-S-)**, che unisce parti diverse della stessa proteina o proteine diverse con legami covalenti. Questo non solo garantisce il corretto ripiegamento delle proteine, ma contribuisce anche a rendere irreversibile la traslocazione delle proteine nel RER

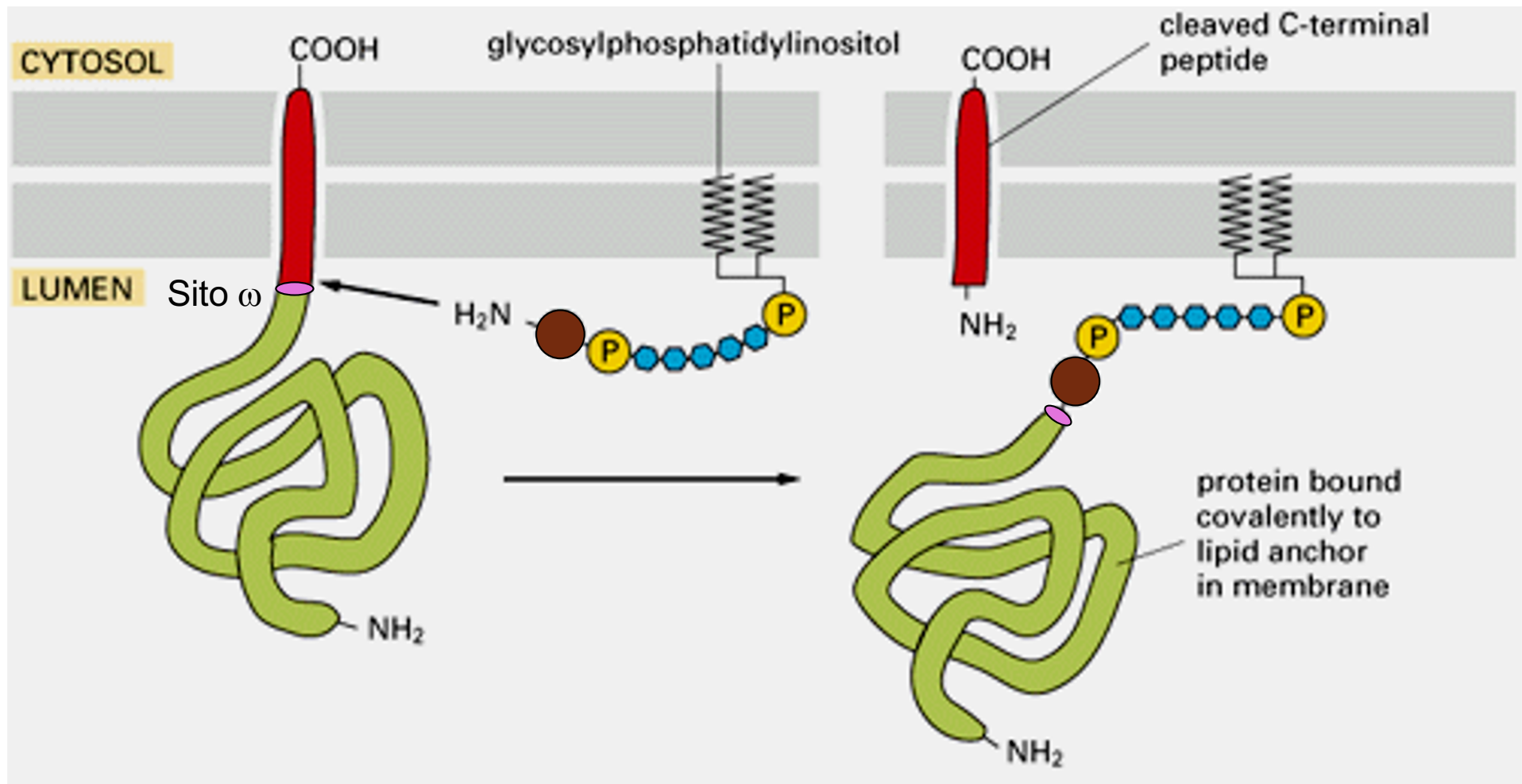
## La PDI forma legami disolfuro nelle proteine nascenti



La proteina disolfuro isomerasi (PDI), un enzima presente nel lume del RER, catalizza il riarrangiamento dei legami disolfuro, dando alle proteine la possibilità di ripiegarsi senza essere vincolate da legami disolfuro non corretti.



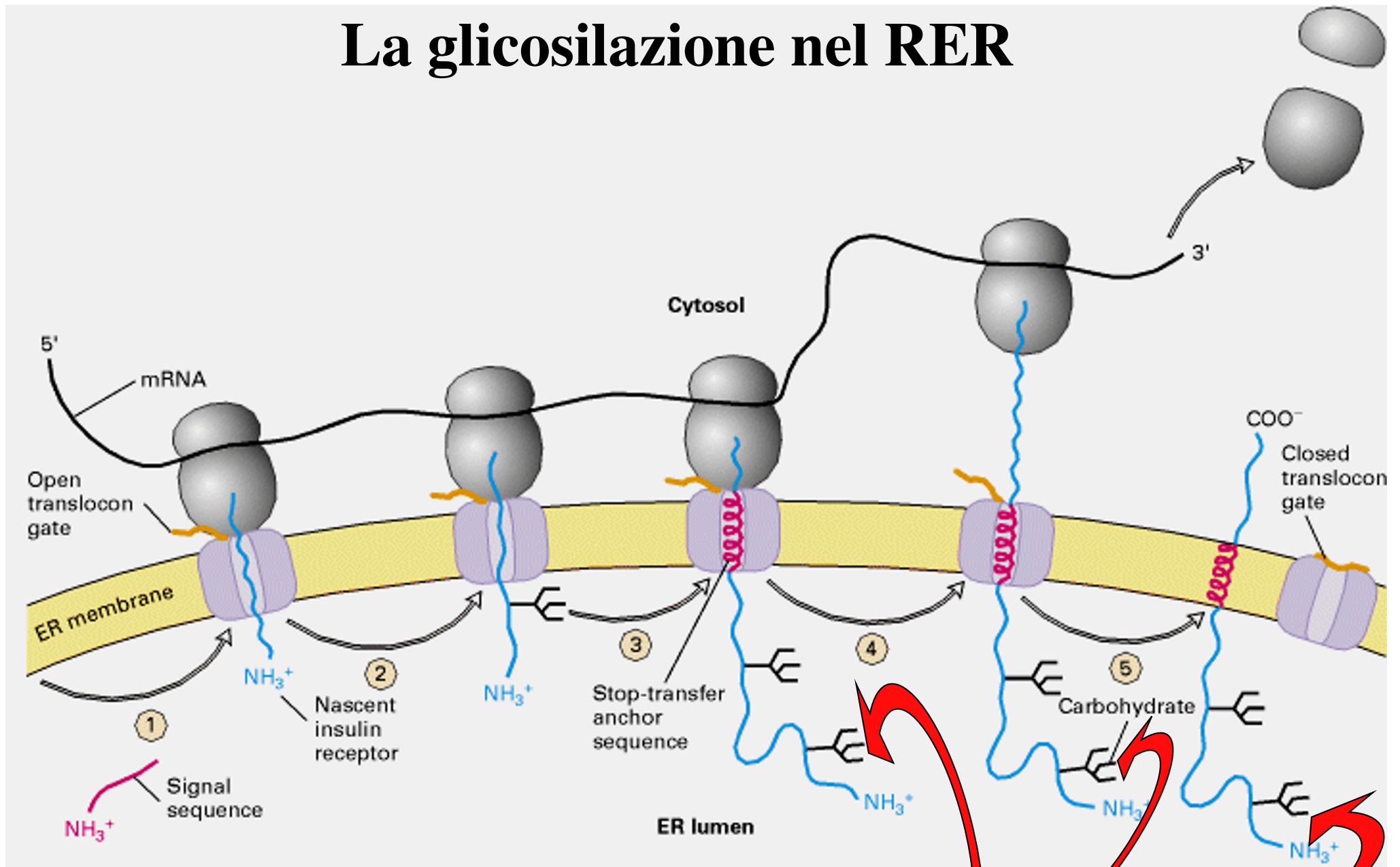
L'ancoraggio di proteine alla membrana plasmatica mediante GPI avviene nel RER, partendo da proteine dotate di un dominio transmembrana C-terminale



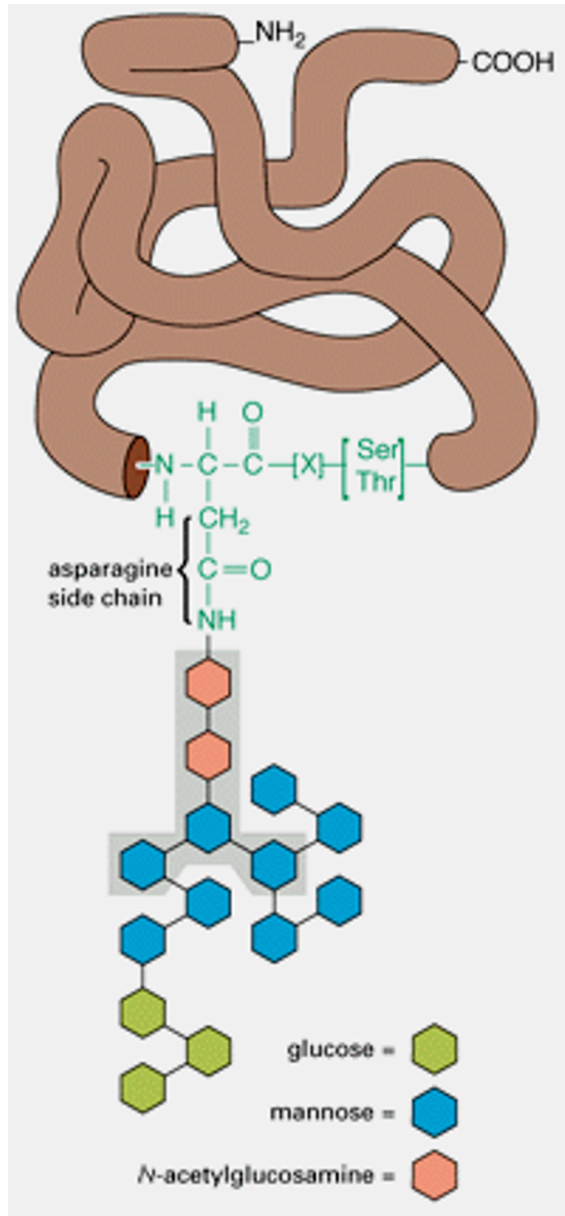
● = fosfo-etanolamina

*reazione di transamidazione*

# La glicosilazione nel RER



glycosylation



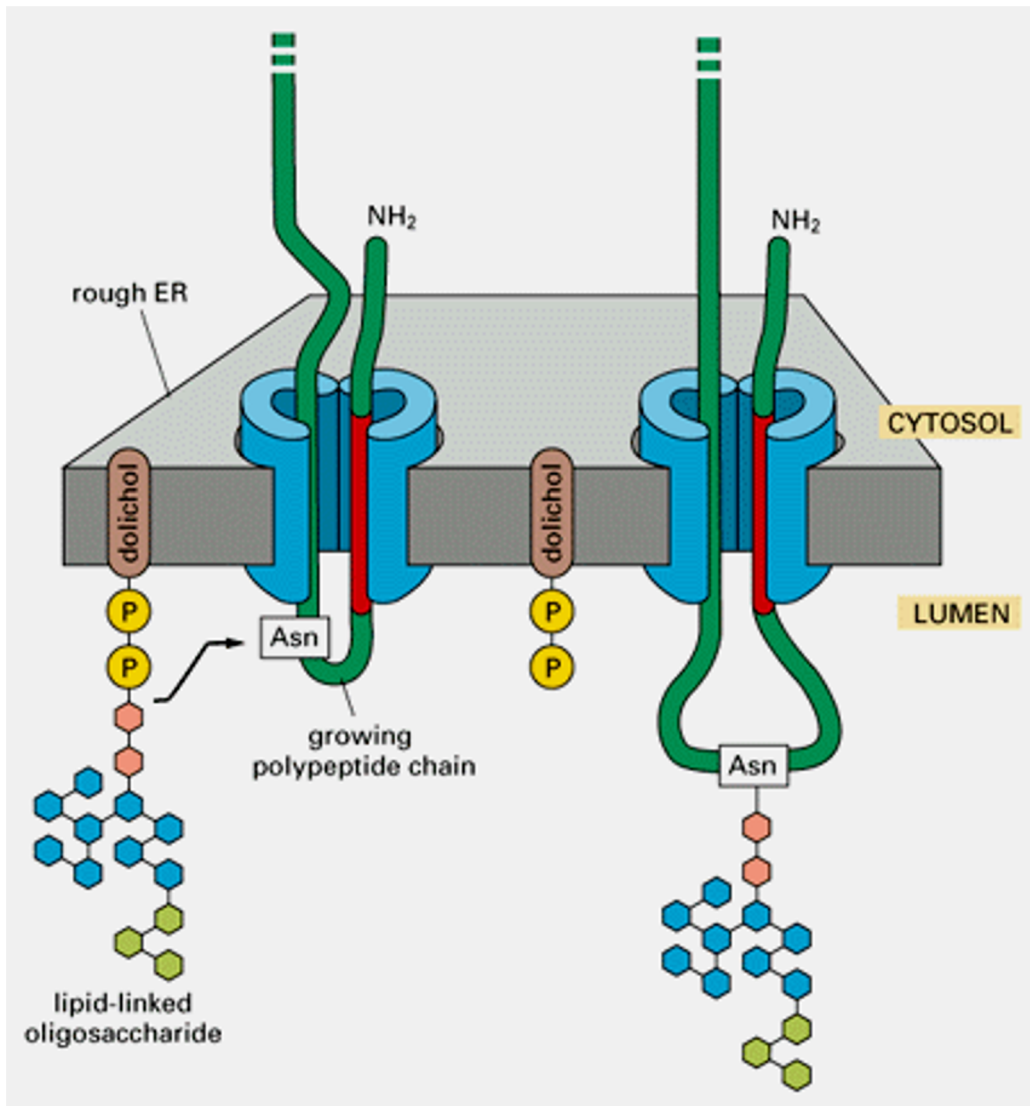
La glicosilazione nel RER avviene esclusivamente per modificazione di specifici residui di asparagina (Asn), mediante legame di una catena ramificata di carboidrati all'azoto del gruppo funzionale dell'Asn. Per questo è chiamata **glicosilazione in N**

solo i residui **Asn-X-Ser/Thr**

La glicosilazione in N è fondamentale :

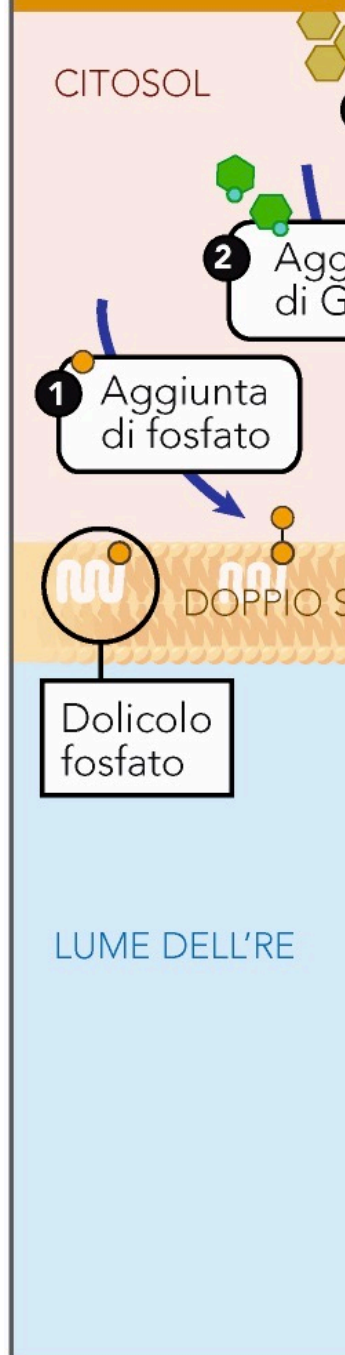
- Per verificare il corretto ripiegamento delle proteine nel RER
- Per la creazione del segnale per indirizzare le proteine dei lisosomi ai loro organelli
- Alla funzionalità di molte proteine di membrana o secrete





La glicosilazione in N avviene durante la traslocazione delle proteine nel RER, e consiste nel trasferimento dell'intera catena ramificata di zuccheri da un lipide, il **dolicolo** fosfatato, al residuo di asparagina.

## Glicosilazione delle proteine durante la tras

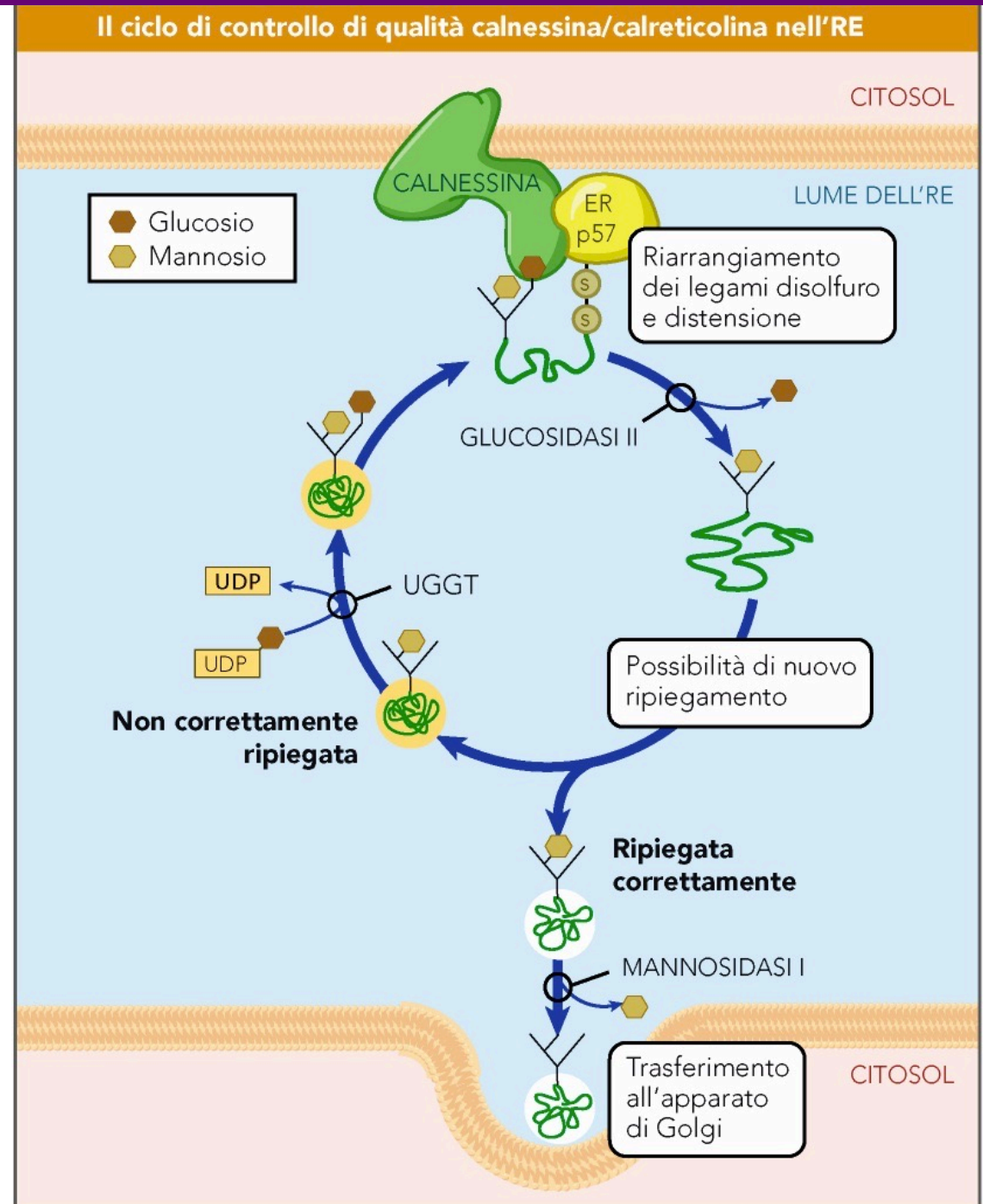


**Il dolicolo fosfato, presente sul lato citosolico della membrana del RER, viene ulteriormente fosforilato**

# CONTROLLO DEL CORRETTO RIPIEGAMENTO DELLE PROTEINE NEL RE

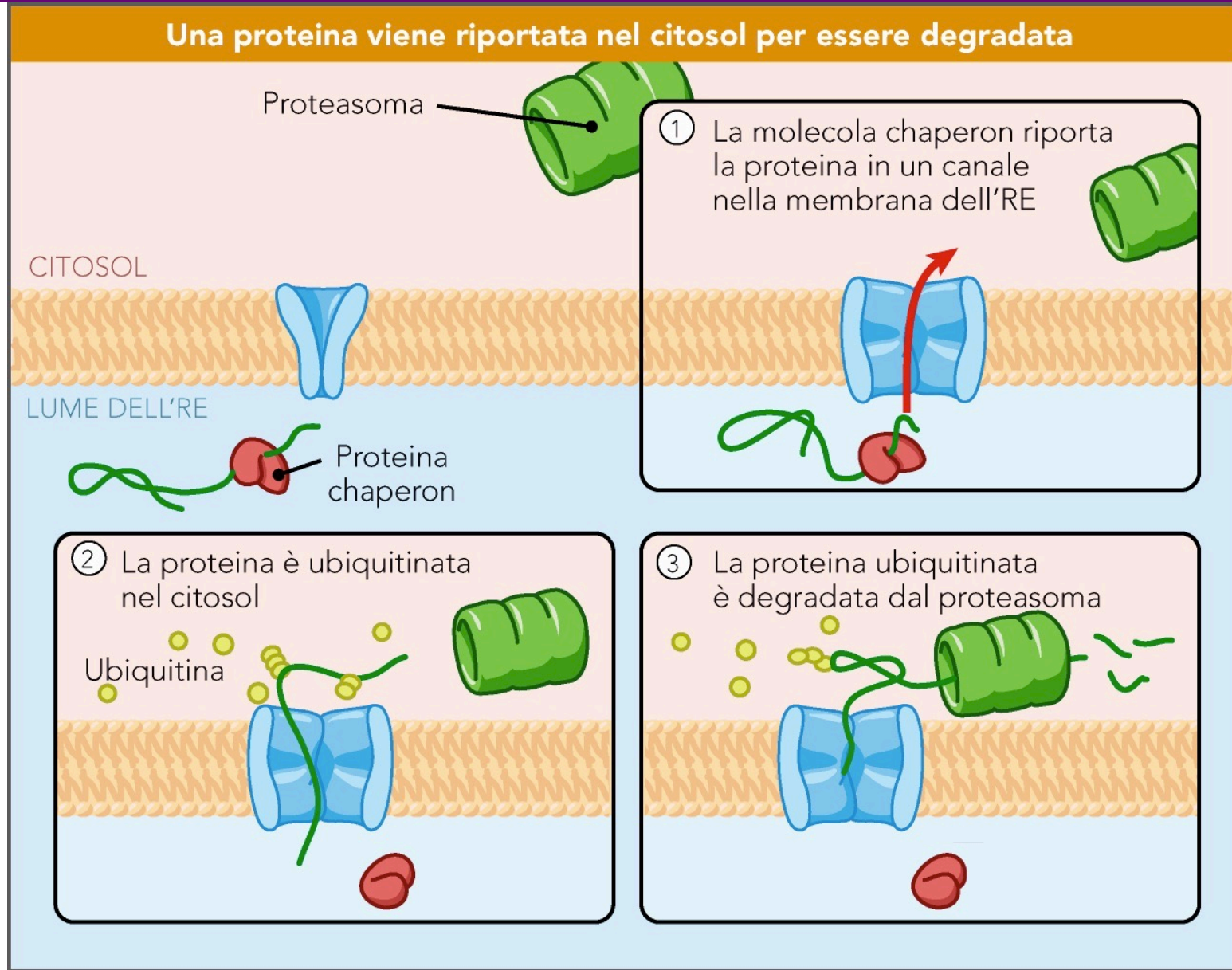
Per uscire dal RER, le proteine devono modificare la propria glicosilazione in N: vengono persi i tre residui di glucosio e un residuo di mannosio. Quest'ultimo evento è possibile solo se le proteine si ripiegano correttamente (= aminoacidi idrofobici non esposti verso l'ambiente acquoso). Se questo non avviene, le proteine riacquisiscono il glucosio e vengono riconosciute dalla calnexina e dalla calreticolina. Queste sono lectine (proteine che riconoscono zuccheri) presenti sulla membrana del RER, e permettono alle proteine di riarrangiare il proprio ripiegamento.

A questo partecipa anche la PDI, che garantisce il riarrangiamento dei legami disolfuro.





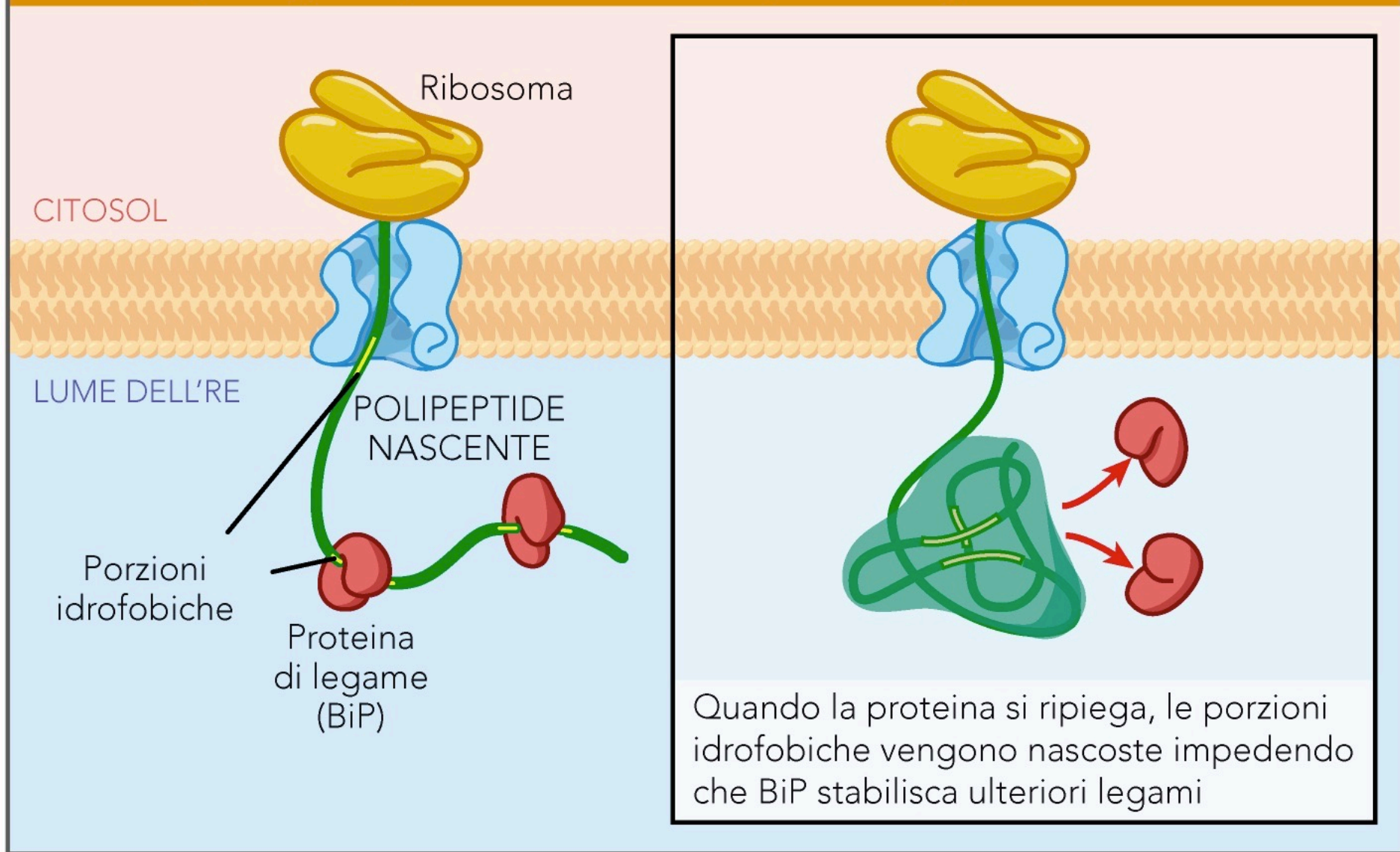
# CONTROLLO DEL CORRETTO RIPIEGAMENTO DELLE PROTEINE NEL RE



Le proteine mal ripiegate vengono traslocate nel citosol e degradate

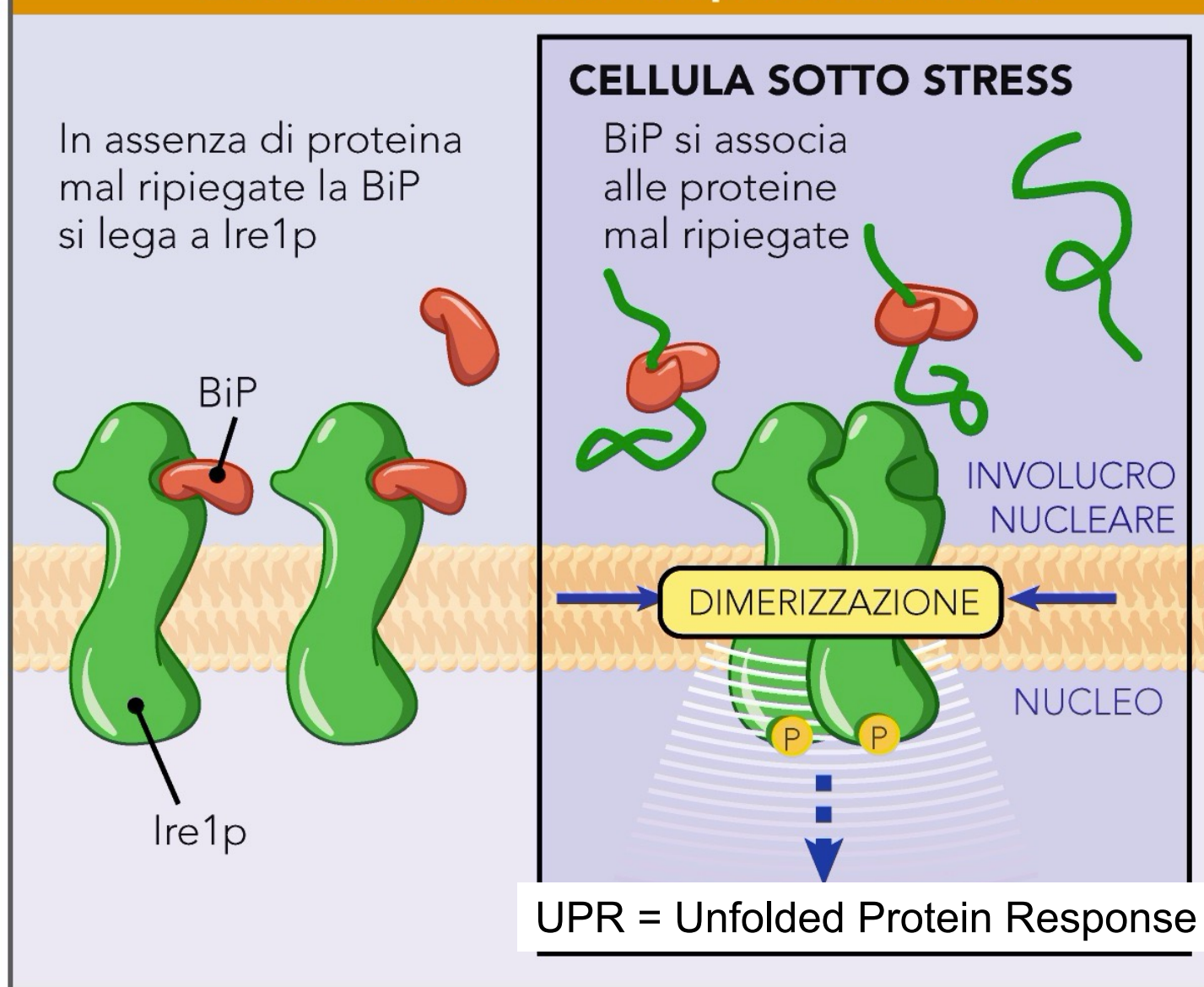
# CONTROLLO DEL CORRETTO RIPIEGAMENTO DELLE PROTEINE NEL RE

Bip si lega alle porzioni idrofobiche esposte nella proteina nascente



Le proteine mal ripiegate non possono essere trasferite dal RER al Golgi e, inoltre, sono tossiche per la cellula. BiP è una proteina CHAPERON, membro della famiglia Hp70, abbondante nel lume del RER. La sua attività richiede ATP.

## La dimerizzazione di Ire1p innesca la UPR



La presenza di una grande quantità di proteine non ripiegate nel lume del RER porta alla de-repressione della proteina transmembrana Ire1p, che causa la UPR. Questa può comportare il temporaneo blocco della via secretoria oppure la morte cellulare per apoptosi