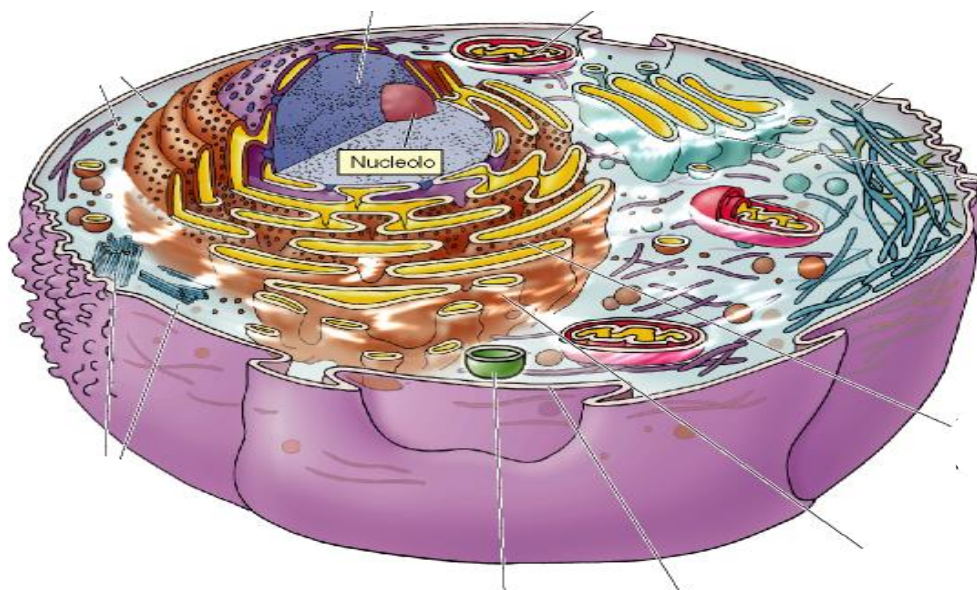


Traffico di membrana

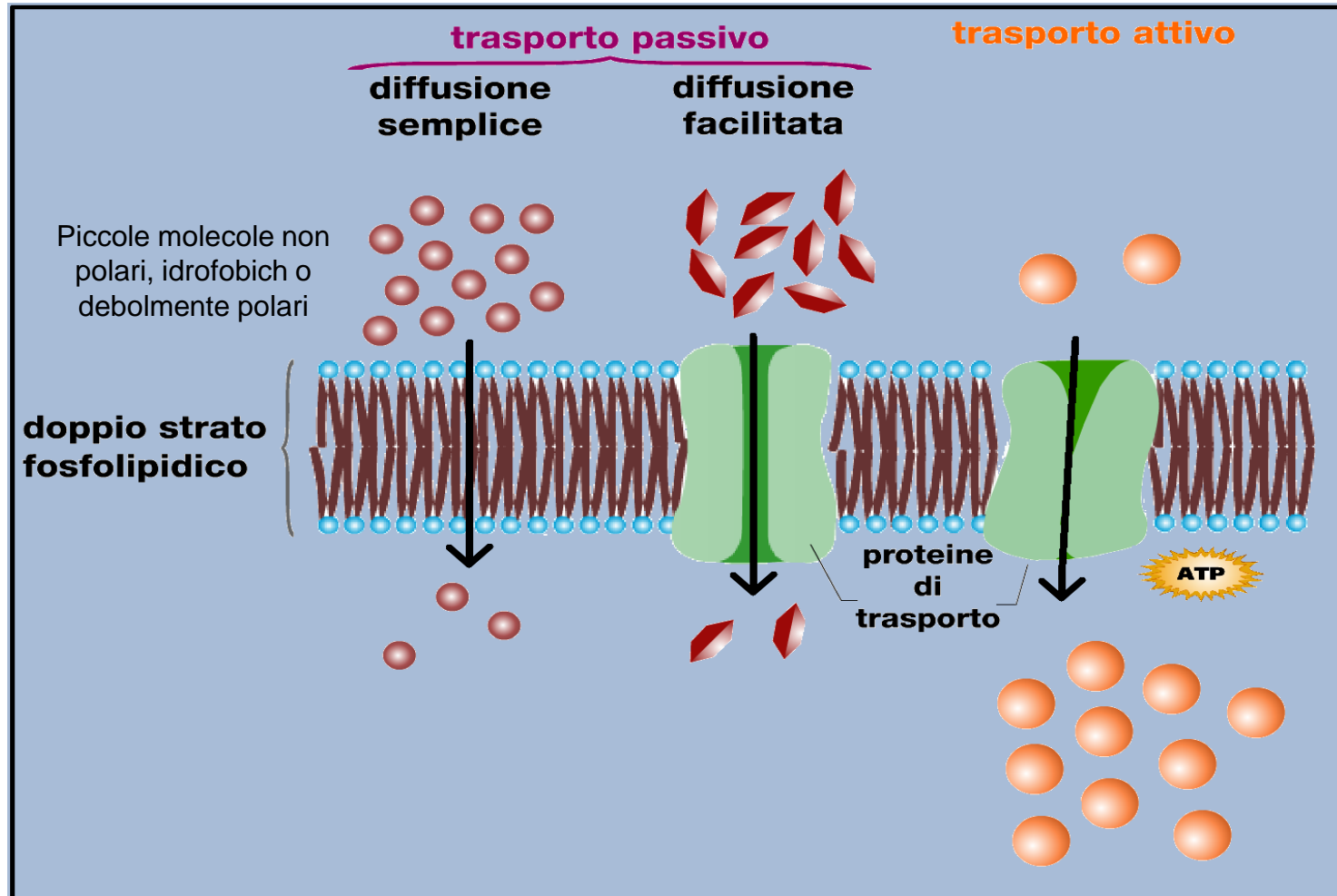
Formazione di vescicole che originandosi da un compartimento e fondendosi con un altro trasportano materiale da un compartimento all'altro della cellula

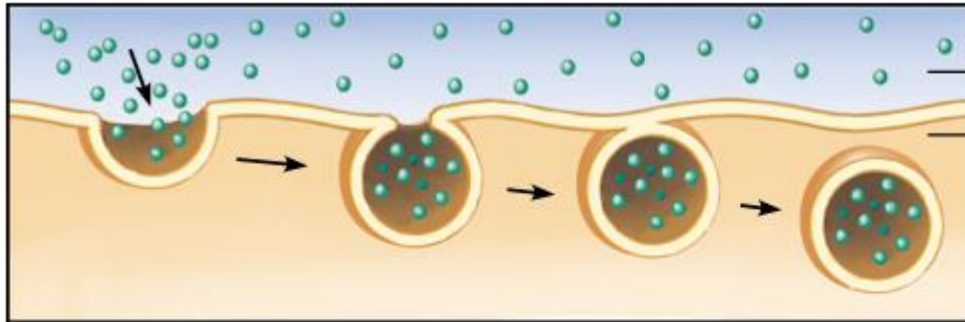
La membrana plasmatica è una struttura dinamica che separa il citoplasma dall'ambiente extracellulare, regolando l'entrata e l'uscita di molecole



Piccole molecole, come aminoacidi, zuccheri o ioni, possono attraversare la membrana con l'aiuto di **pompe** o **canali proteici**

La diffusione avviene a favore di un gradiente di concentrazione



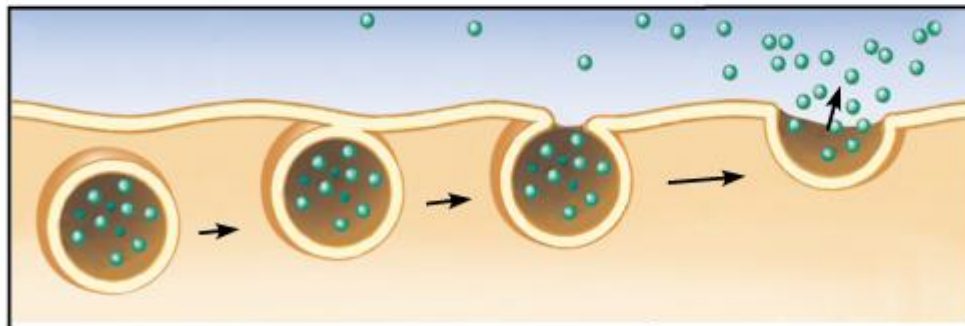


Extracellular environment

Cytoplasm

Endocitosi processo che consente alla cellula di internalizzare materiale dall'esterno

(a) Endocytosis



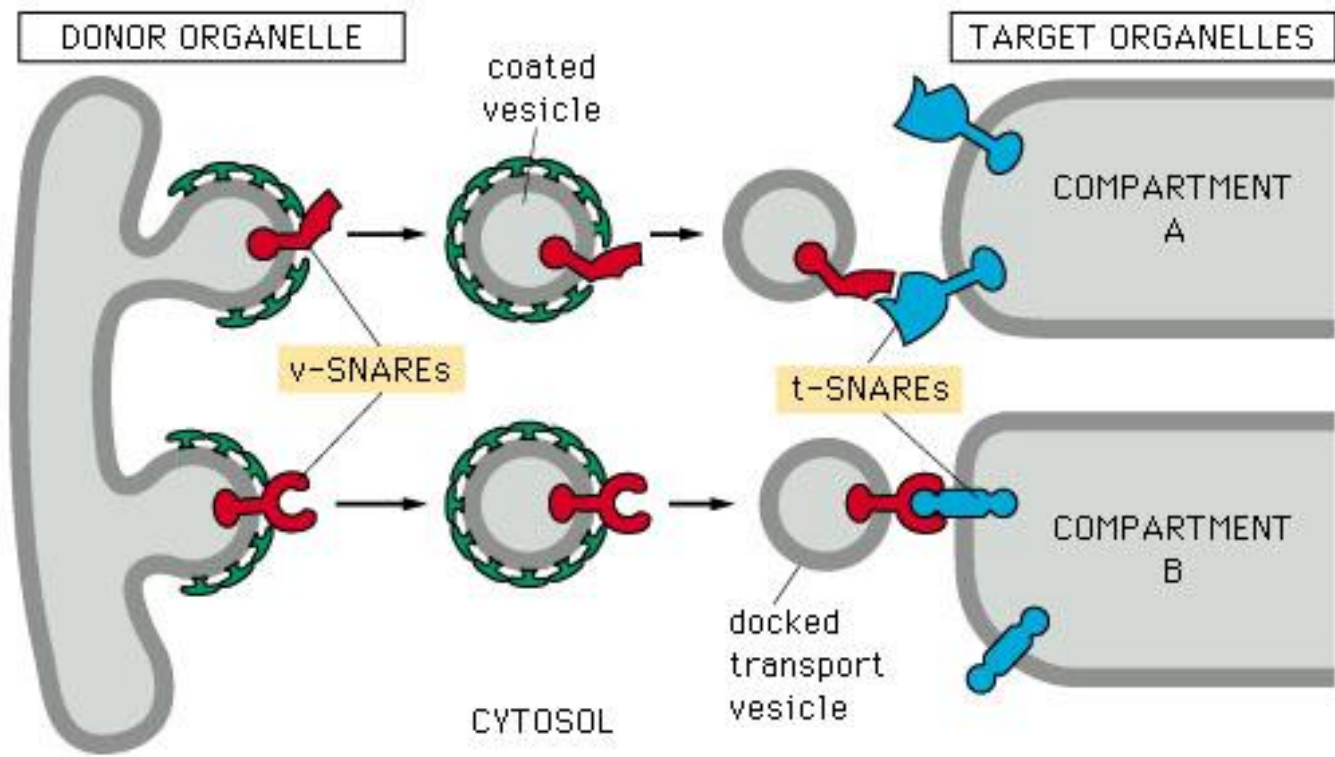
Esocitosi, via che dal reticolo endoplasmatico porta alla superficie della cellula

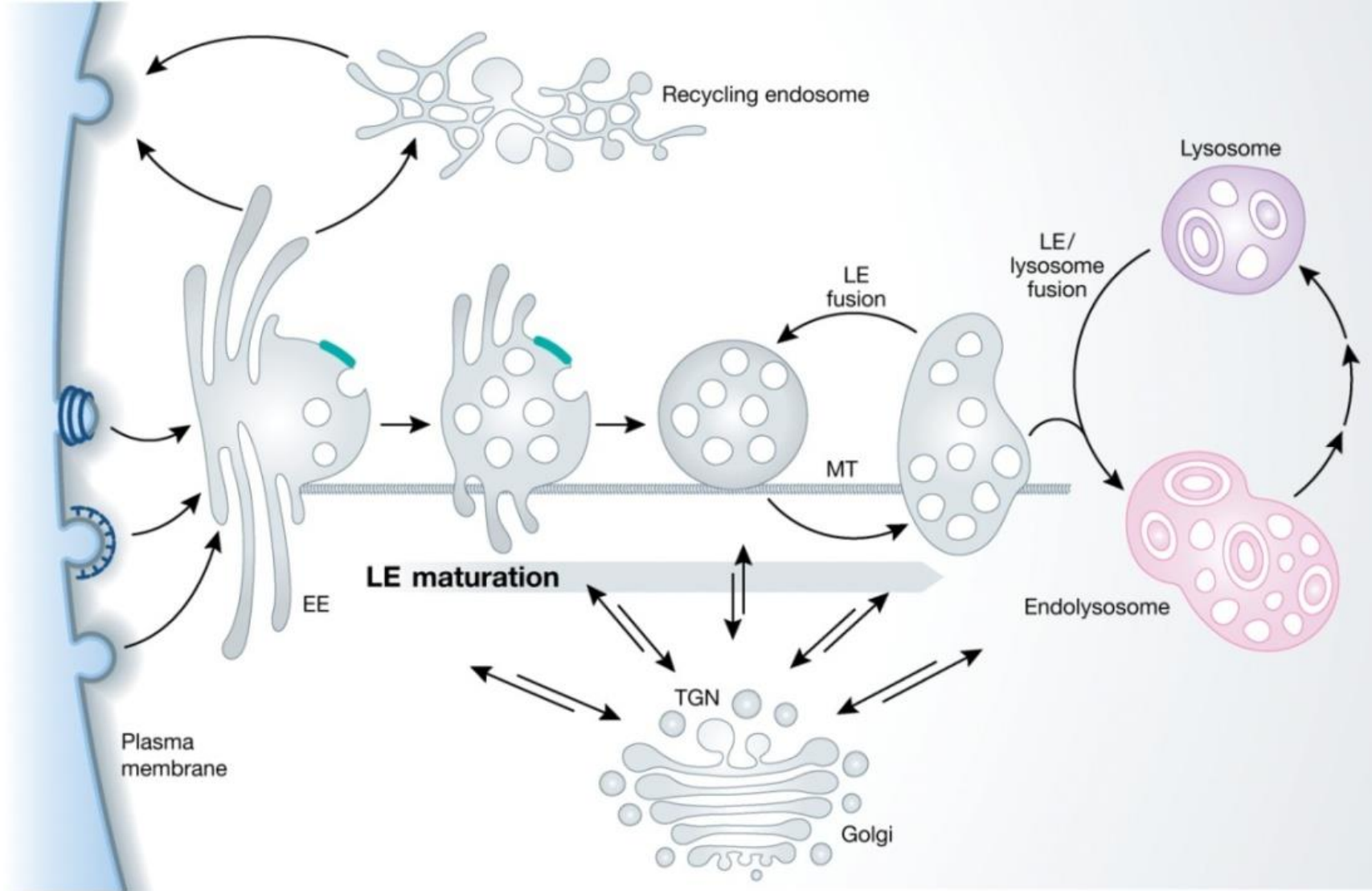
(b) Exocytosis

Macromolecole o materiale particolato possono essere internalizzati dalla cellula attraverso un processo chiamato **endocitosi**.

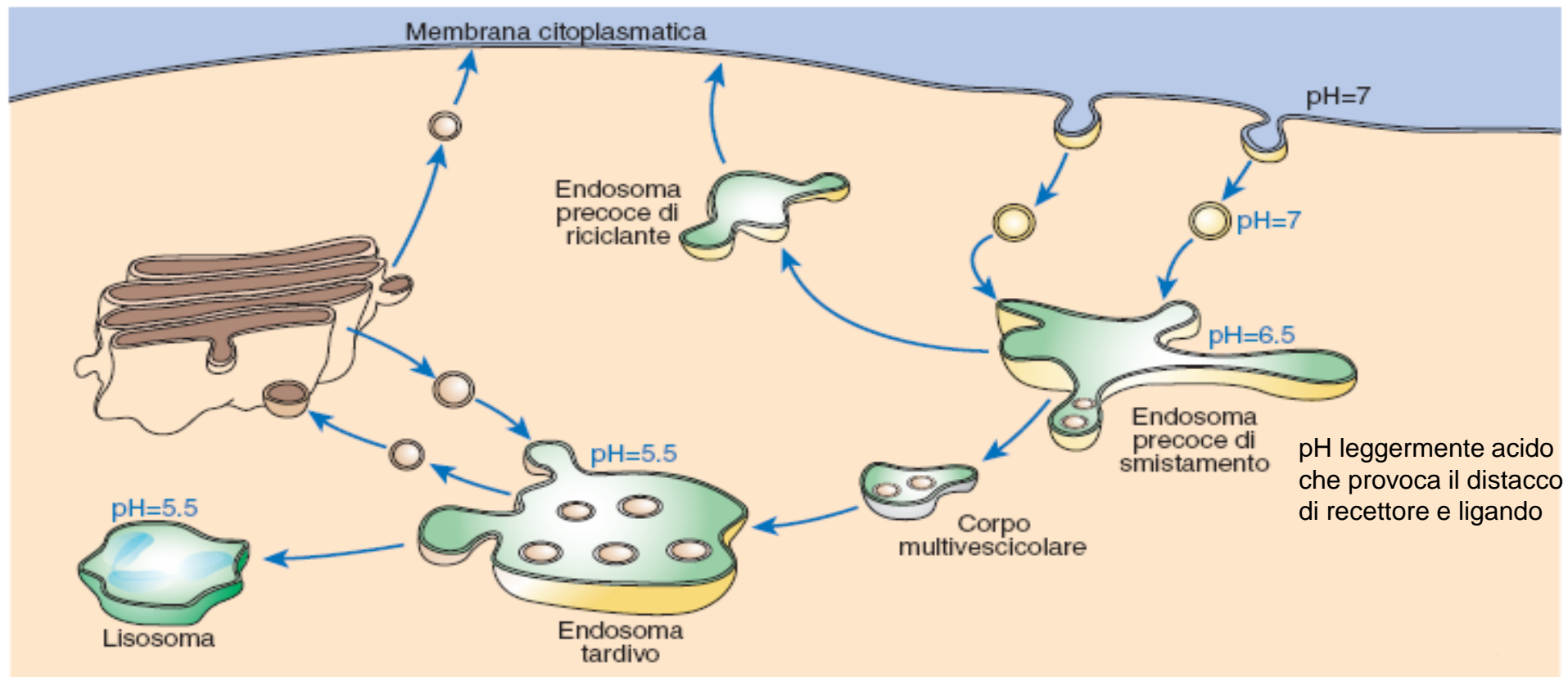
L'**endocitosi** è un processo di internalizzazione di materiale presente nello spazio extracellulare, mediato dall'invaginazione della membrana cellulare che determina la formazione di vescicole.

Un flusso continuo di vescicole di trasporto connette tutti i compartimenti della via endocitica e secretoria nelle cellule eucariotiche



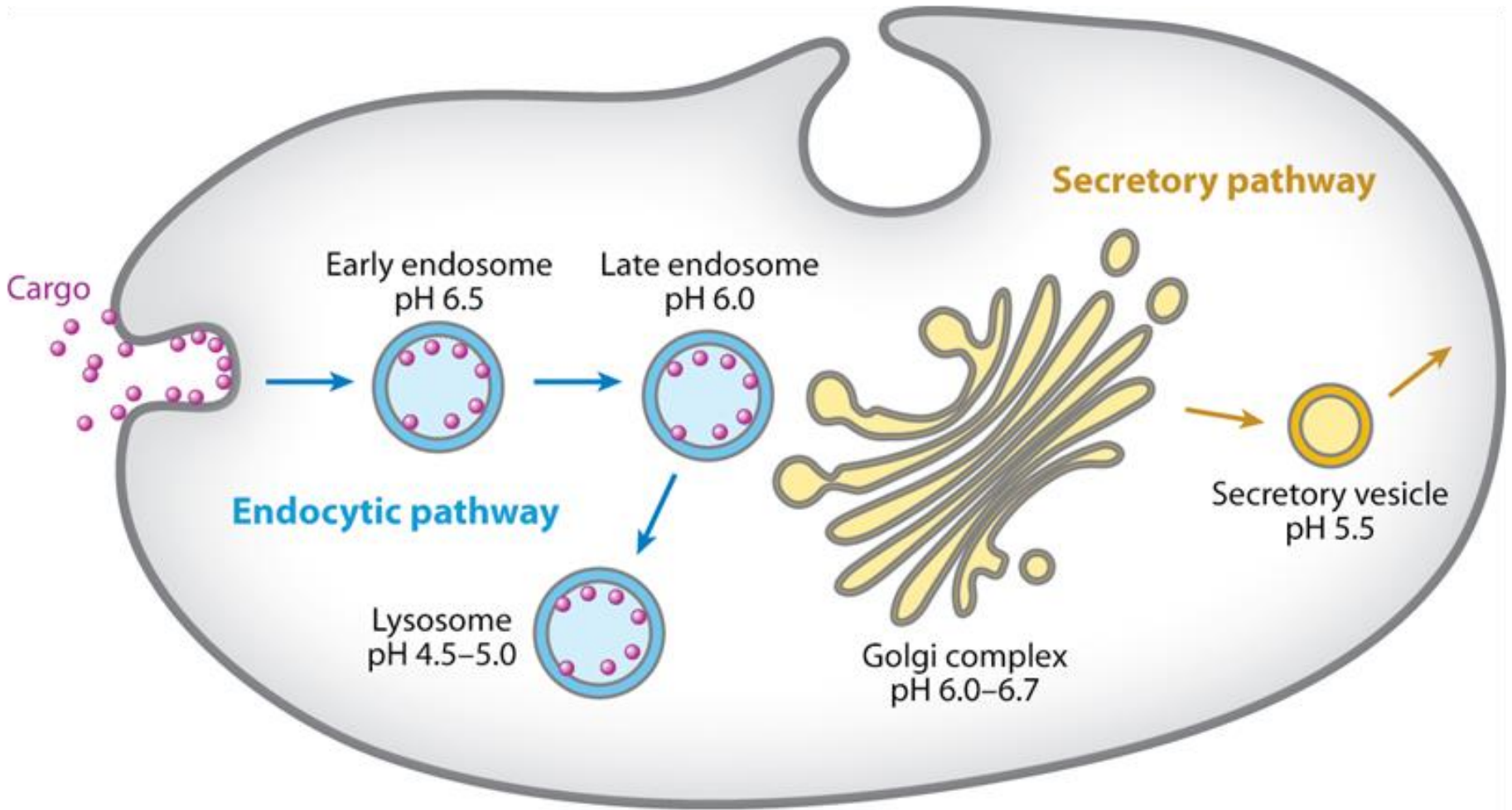


Il sistema endo-lisosomale. Le vescicole generate dalla membrana plasmatica traggono il loro contenuto e le loro membrane verso gli endosomi precoci che si trovano alla periferia della cellula. Dopo circa 8-15 minuti periodo durante il quale gli endosomi precoci accumulano cargo e promuovono il riciclo di specifiche molecole endocitate, avviene la conversione da endosoma precoce a tardivo. L'endosoma maturo, generato dai domini vacuolari degli endosomi precoci, si muove lungo i microtubuli verso la regione perinucleare. Lungo il percorso gli endosomi maturi si fondono con vescicole che provengono dalla via secretoria che contengono idrolasi acide appena sintetizzate e componenti di membrana. Fondendosi con altri endosomi tardivi le vescicole prodotte dagli endosomi precoci, crescono di dimensioni e acquisiscono molte più vescicole intra-luminali (ILVs). La fusione con i lisosomi consente il rilascio del materiale internalizzato e il trasporto di idrolasi acide nei lisosomi, dove il pH acido determina la degradazione del materiale internalizzato (Huotari e Helenius, 2011).



◆ **FIGURA 12.3**

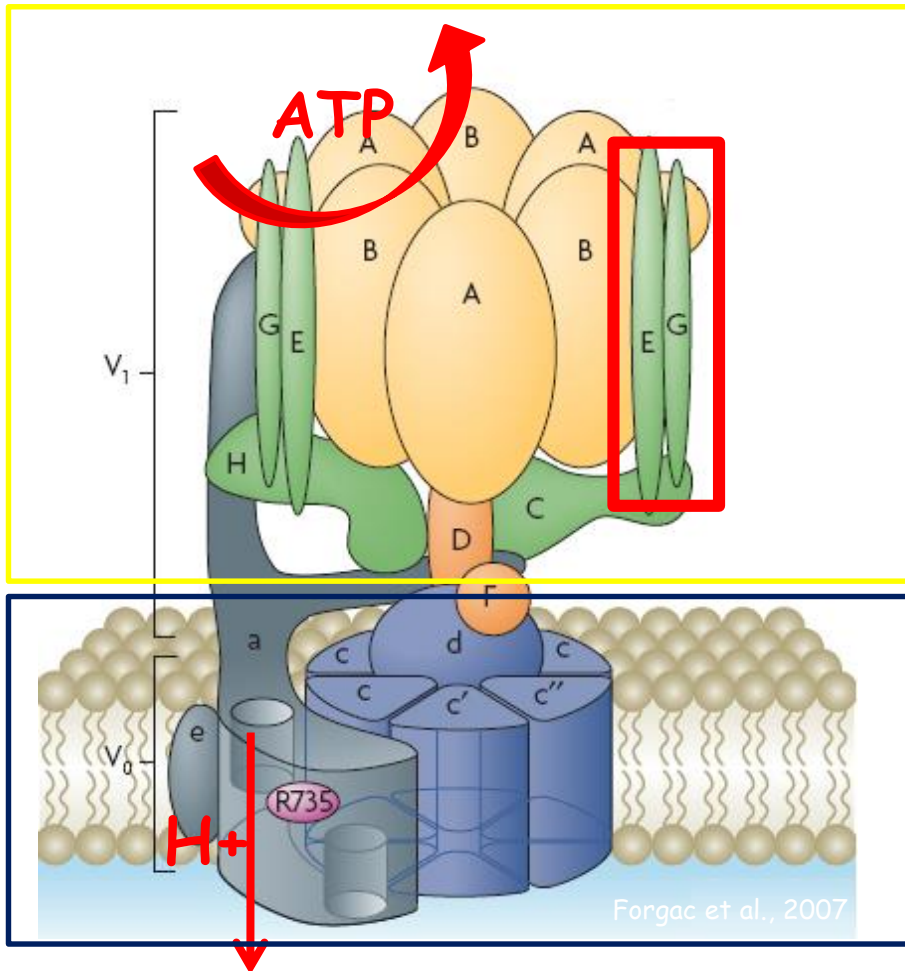
Compartimenti della via endocitica. Lungo la via endocitica troviamo i seguenti compartimenti: gli endosomi precoci di smistamento dove arriva tutto il materiale che proviene dalle vescicole che si sono formate dalla membrana plasmatica; gli endosomi precoci riciclatori dove si concentrano tutte le molecole che devono ritornare indietro alla membrana plasmatica; i corpi multivescicolari che trasportano agli endosomi tardivi tutte le molecole destinate alla degradazione nei lisosomi. Endosomi tardivi e lisosomi sono i compartimenti degradativi. La degradazione, infatti, inizia negli endosomi tardivi per completarsi nei lisosomi. Gli endosomi tardivi ricevono continuamente materiale (ad esempio idrolasi acide) dal TGN e mandano materiale (ad esempio recettori per M6P) al TGN.



Rappresentazione del pH degli organelli intracellulari. Il pH gradualmente diminuisce lungo il percorso endocitico dagli endosomi precoci ai tardivi ai lisosomi, mentre il pH della via secretoria aumenta (Mindell, 2012).

Vacuolar (V)-ATPase

A large multi-subunit complex that function as ATP-driven proton pump



Peripheral domain

Transmembrane domain

endocitosi

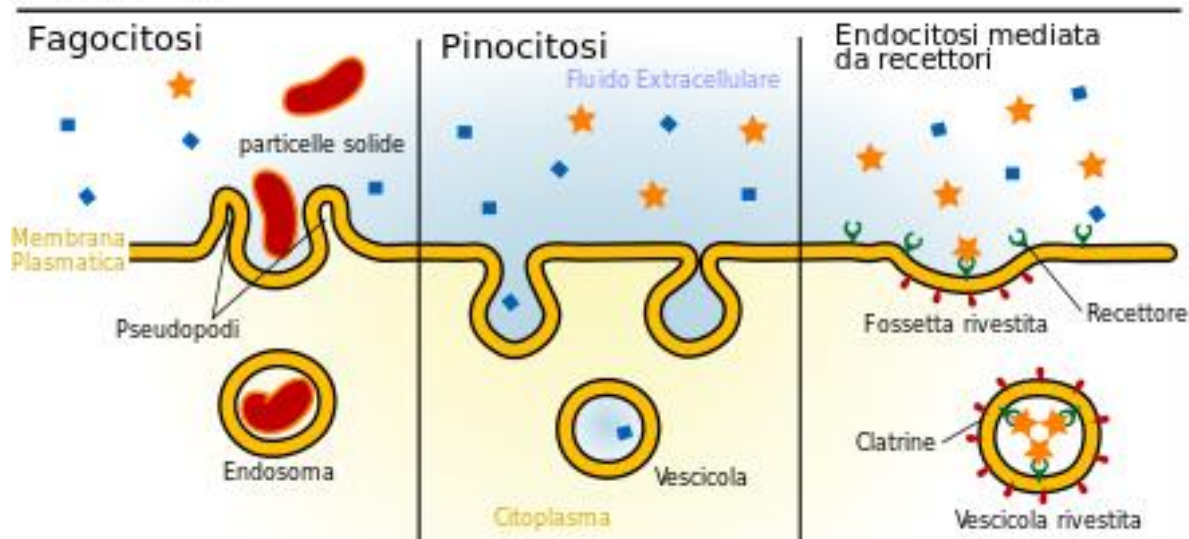
pinocitosi

Internalizzazione di fluidi e soluti

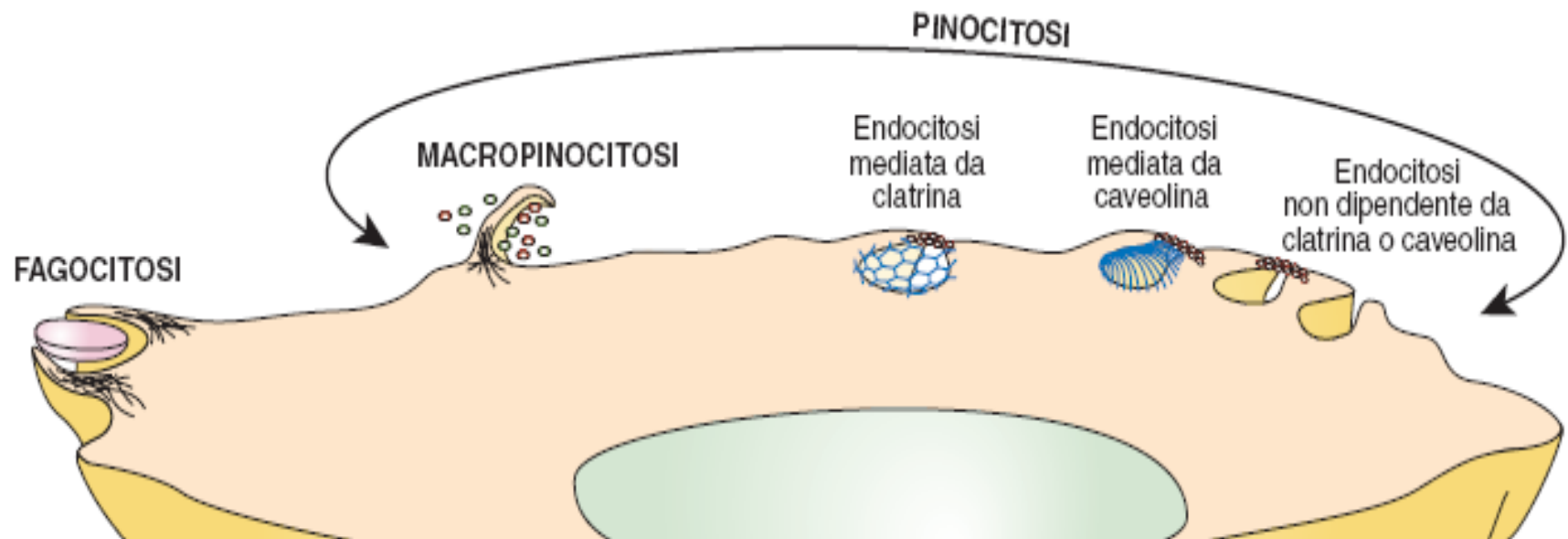
fagocitosi

Internalizzazione di materiale particolato ingombrante

Endocitosi



Portali di entrata nelle cellule eucariotiche



◆ FIGURA 12.2

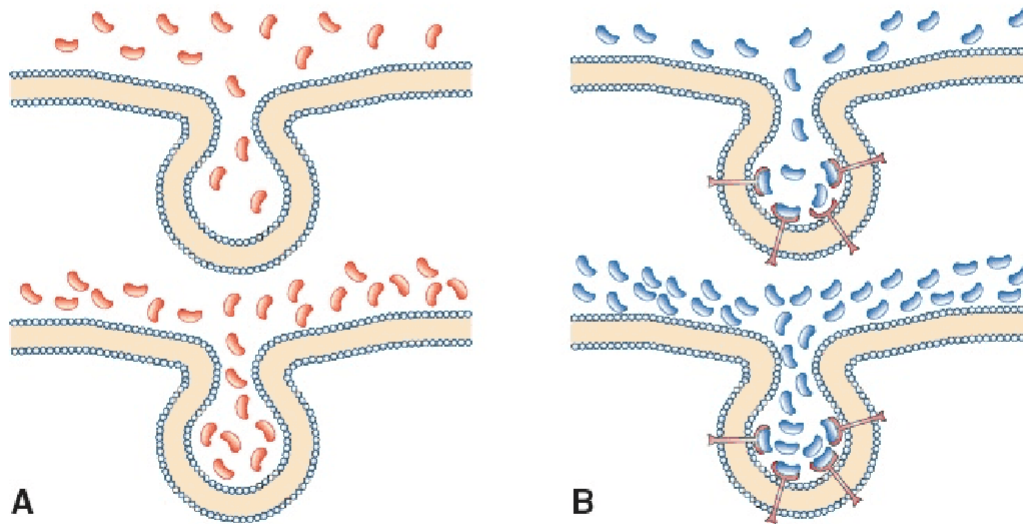
Vari modalità di endocitosi. La pinocitosi o endocitosi propriamente detta comprende la macropinocitosi (che è indipendente da dinamina), l'endocitosi mediata da clatrina o caveolina (che dipende dalla dinamina) e l'endocitosi che non è mediata né da clatrina né da caveolina (e che può servirsi o meno della dinamina). La fagocitosi è responsabile dell'internalizzazione di materiale particolato tra cui batteri, cellule apoptotiche e detriti cellulari.

LA PINOCITOSI

Differenze fra endocitosi in fase fluida ed endocitosi mediata da recettore

Endocitosi mediata da recettore, le molecole entrano in quanto riconosciute da particolari recettori presenti sulla membrana plasmatica

Endocitosi in fase fluida per molecole che entrano insieme ai fluidi extracellulari senza essere in alcun modo selezionate.

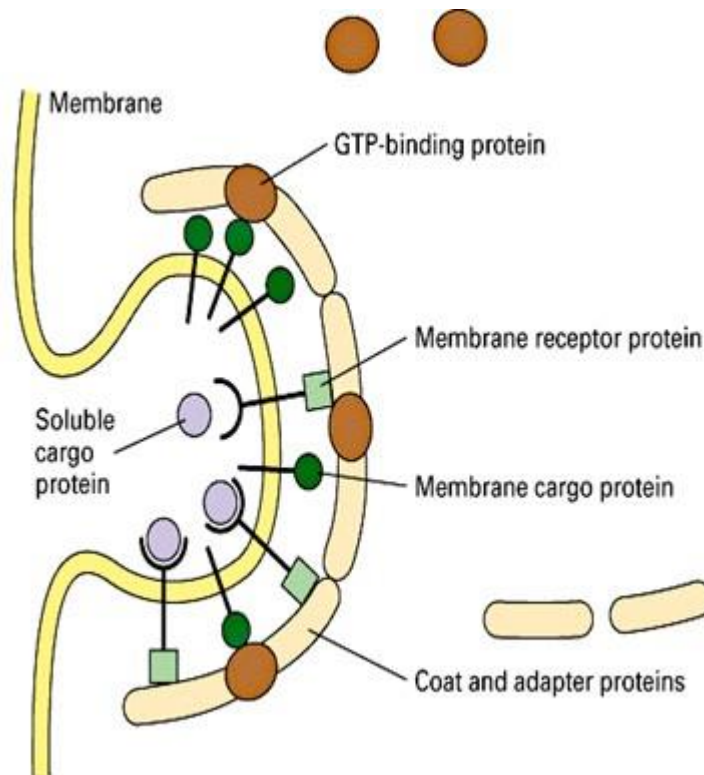


◆ FIGURA 12.1

Differenza tra endocitosi in fase fluida ed endocitosi mediata da recettore. Nell'endocitosi in fase fluida l'internalizzazione di una molecola è direttamente correlata alla sua concentrazione nel mezzo extracellulare (A). Nell'endocitosi mediata da recettore, recettori ad alta affinità concentrano nella vescicola le molecole a cui si legano (B). In questo caso quindi l'internalizzazione è molto efficiente anche in presenza di basse concentrazioni delle molecole da internalizzare (B).

Formazione delle vescicole di trasporto

1. Curvatura della membrana



Formazione di una gemma sul compartimento donatore, una piccola zona dove la membrana acquisisce un grado crescente di curvatura

Tre tipi di rivestimento proteico:

-**clatrina**, vescicole che originano dalla membrana plasmatica, dai compartimenti della via endocitica e dall'ultima cisterna della apparato di Golgi

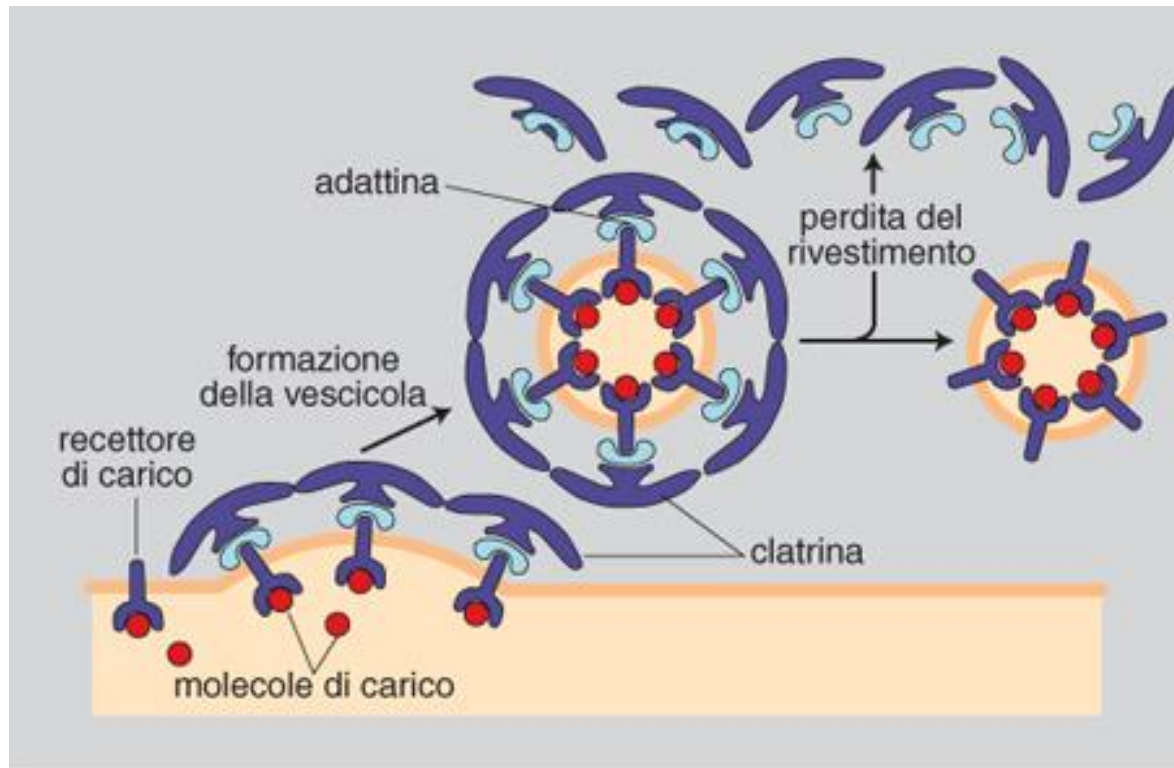
-**COPI** riveste vescicole che originano da tutte le cisterne dell'apparato di Golgi

-**COPII** riveste vescicole che originano dal reticolo endoplasmatico

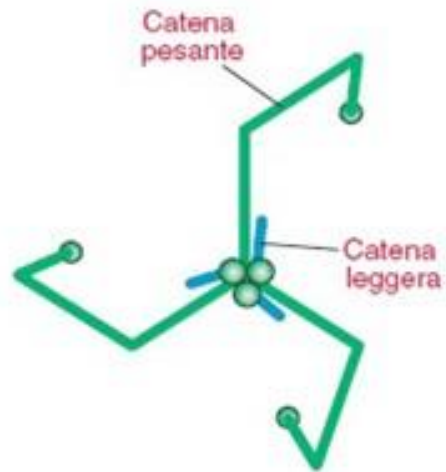
-altri tipi di rivestimenti ancora da studiare

La clatrina

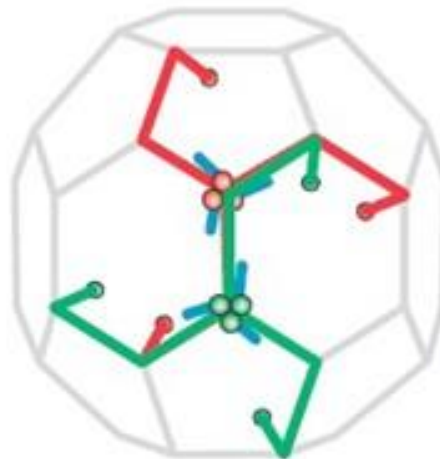
varie molecole di clatrina formano una struttura curva intorno alla vescicola che distorce la membrana causando una curvatura che induce la formazione e la gemmazione delle vescicole.



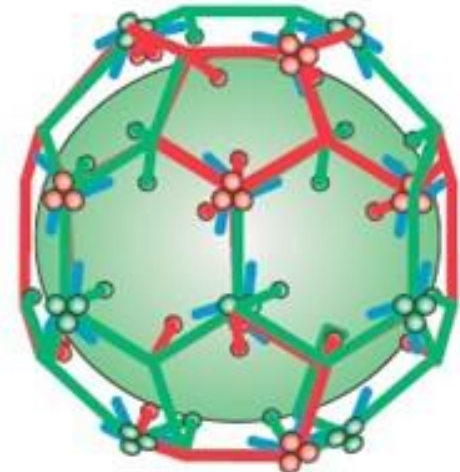
ADATTINE proteine accessorie che interagiscono da una parte con proteine di rivestimento e dall'altra con proteine della membrana (recettori)



CLATRINA LIBERA



ASSEMBLAGGIO DEL TRISCHELION

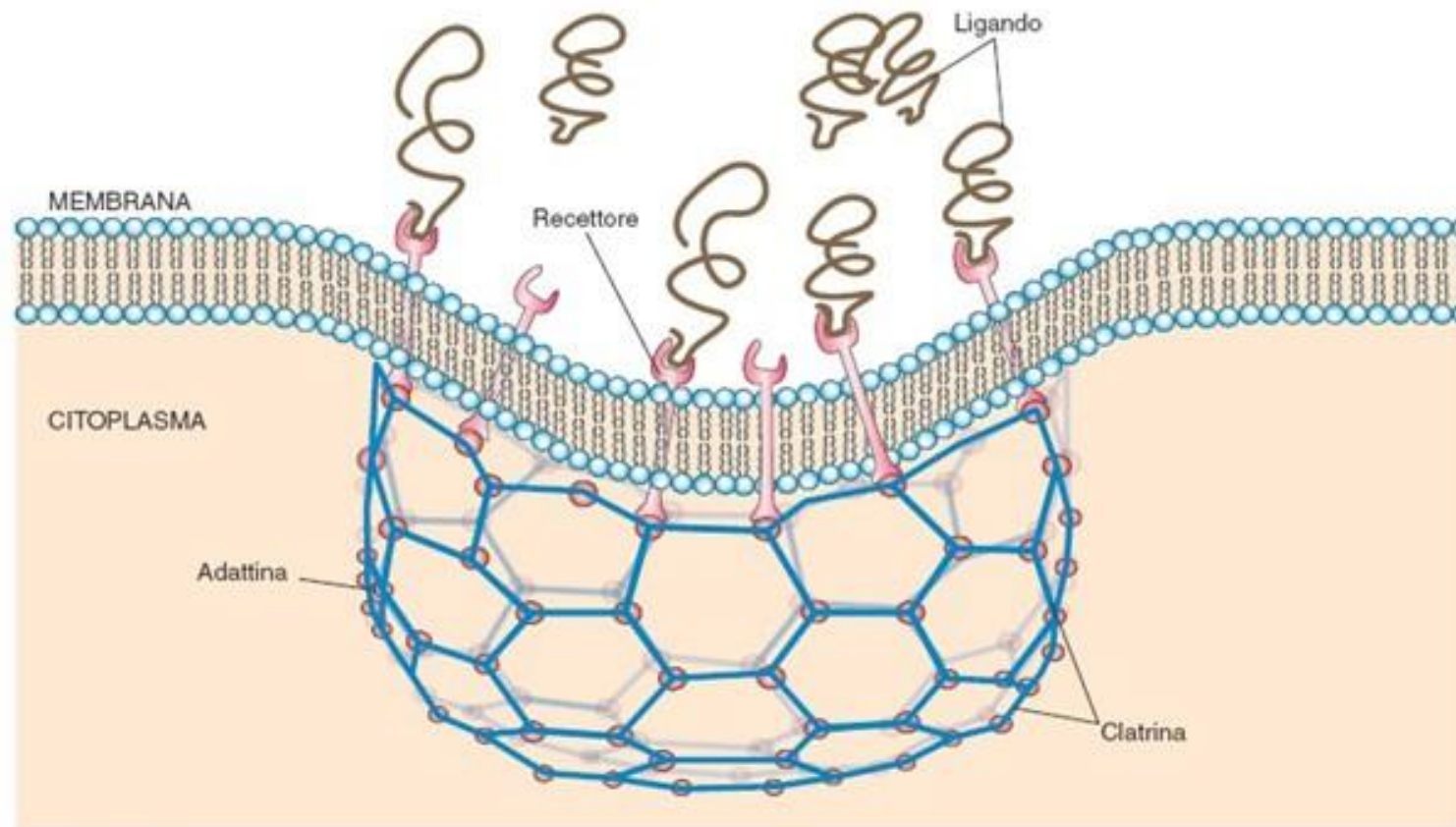


VESCICOLA RIVESTITA

◆ FIGURA 11.27

Struttura della clatrina. A) La clatrina ha una struttura a trischelio formata da tre catene pesanti e tre catene leggere. B) I trischeli di clatrina si assemblano formando una struttura a canestro formata da esagoni e pentagoni. C) Struttura di una vescicola rivestita da clatrina.

Endocitosi mediata da clatrina funziona costitutivamente in tutte le cellule ed è deputata all'internalizzazione di nutrienti e molecole regolatorie



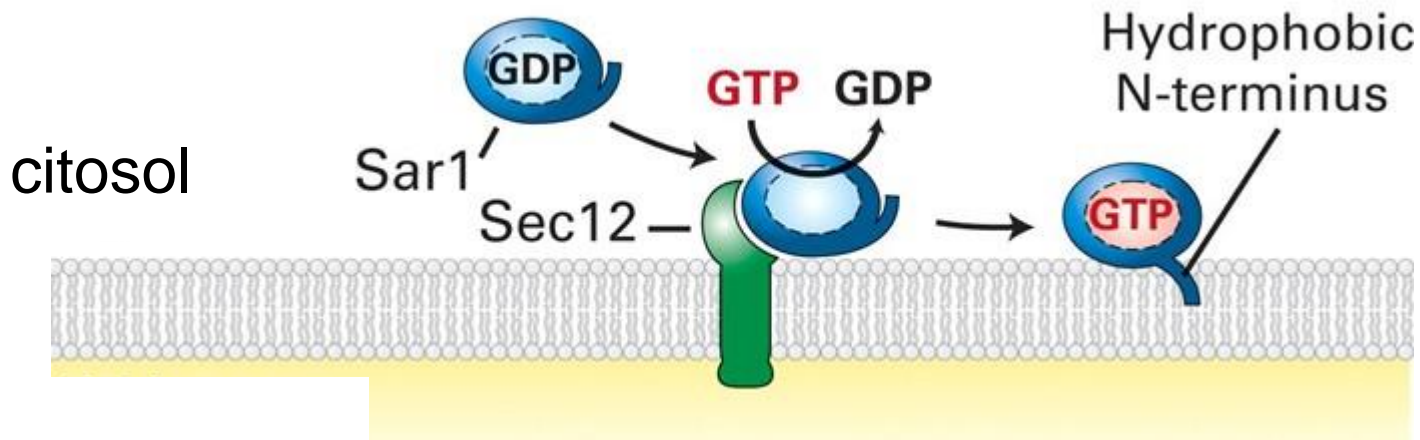
◆ **FIGURA 11.28**

Funzione del rivestimento proteico nel selezionare il carico della vescicola. Il rivestimento non è costituito solo da proteine del rivestimento ma anche da proteine chiamate adattine che formano i complessi adattatori. Queste proteine si legano da una parte alla proteina di rivestimento (in questo caso la clatrina) e dall'altra a proteine della membrana. Le proteine di membrana possono essere recettori per molecole solubili. In questo modo il rivestimento seleziona il carico della vescicola sia come proteine di membrana sia come molecole solubili.

Ma come, quando e dove viene reclutato il rivestimento?

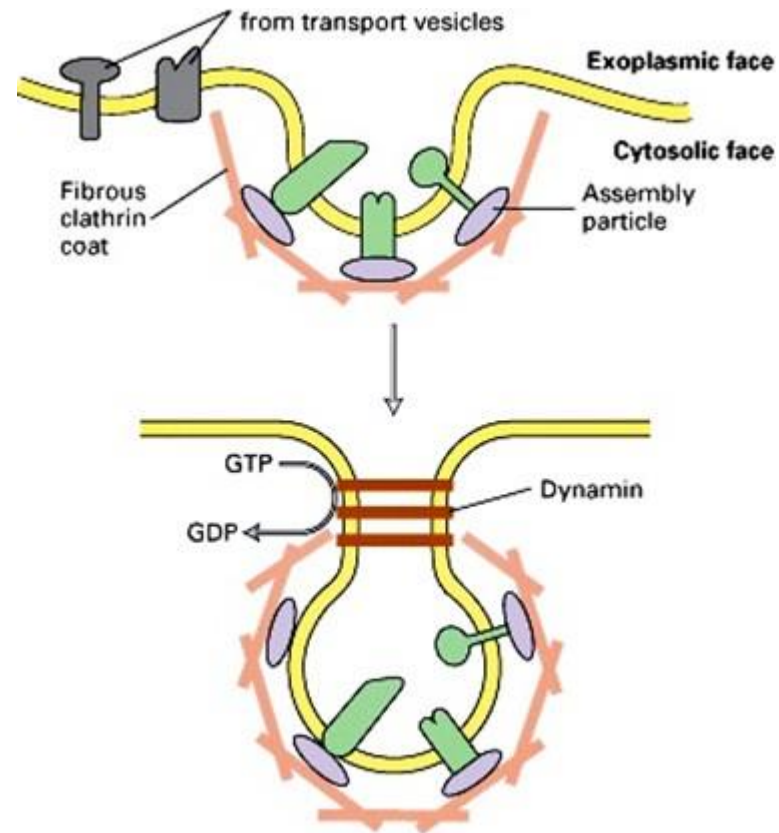
Sono coinvolte proteine G monomeriche che vengono chiamate proteine G di reclutamento del rivestimento

GTP \longleftrightarrow GDP
attiva inattiva



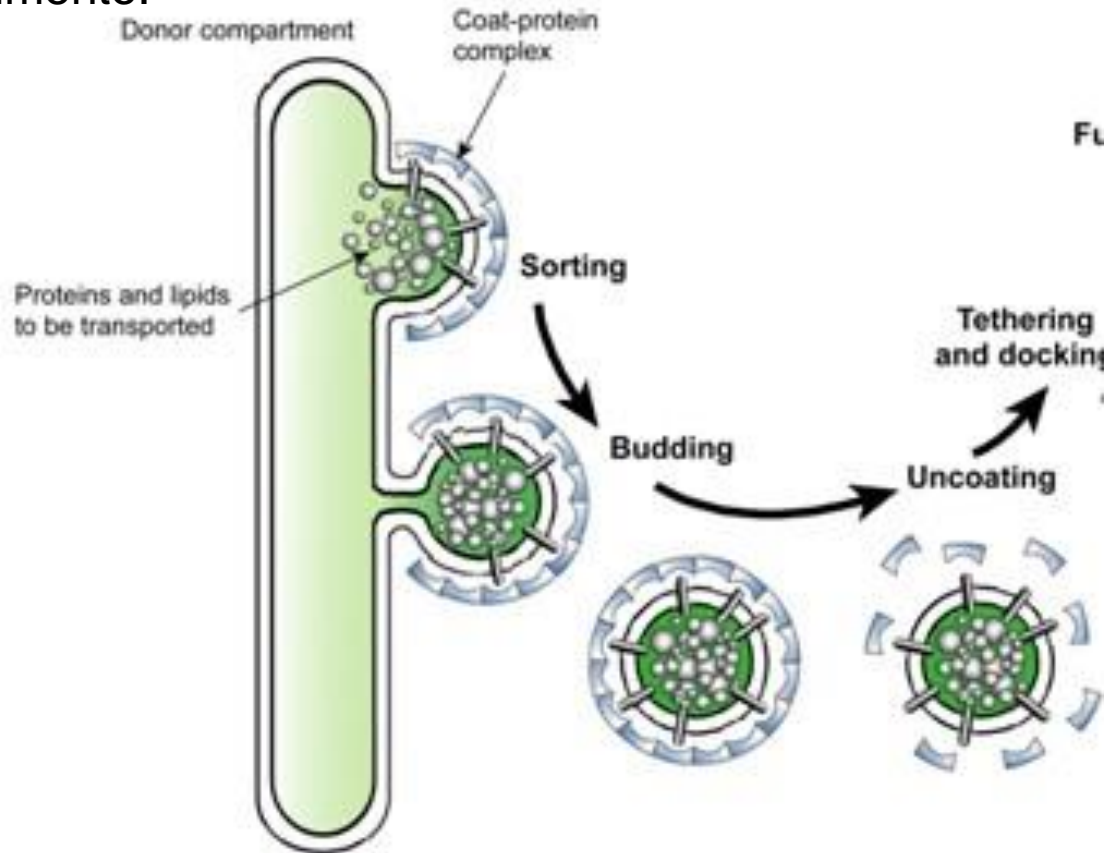
Distacco della vescicola dal compartimento donatore

Dinamina: proteina G che si assembla alla base del collo della vescicola nascente ed opera in modo da liberare la vescicola rivestita dalla membrana donatrice



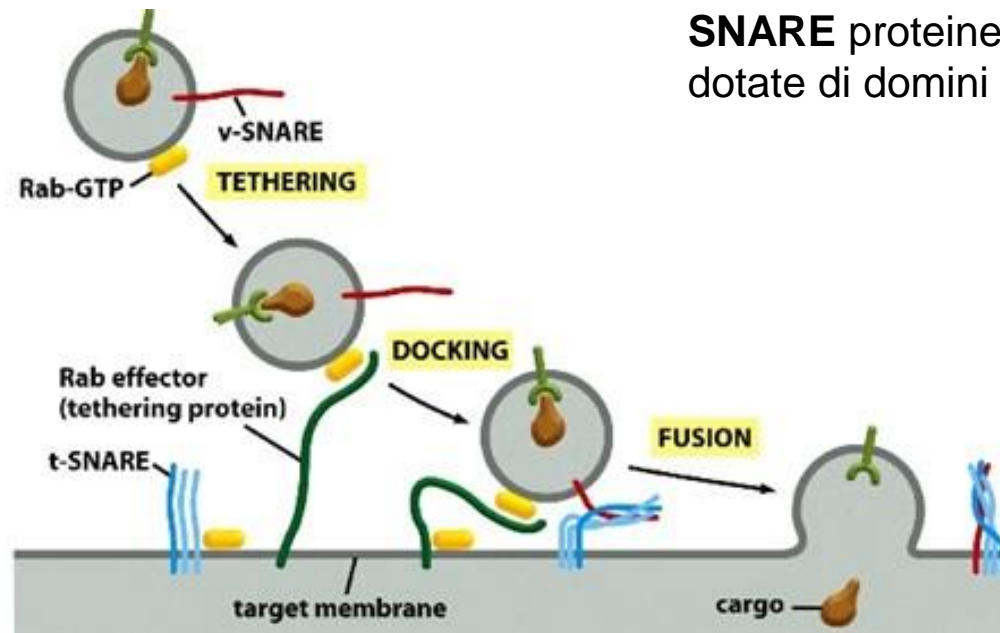
Processo di fusione tra vescicole e compartimento accettore

1. La vescicola perde il suo rivestimento tramite l'idrolisi del GTP della proteina G di reclutamento del rivestimento indotta da una proteina GAP. Il ritorno della proteina G di reclutamento del rivestimento alla forma inattiva (legata al GDP) provoca, quindi, il disassemblaggio del rivestimento.

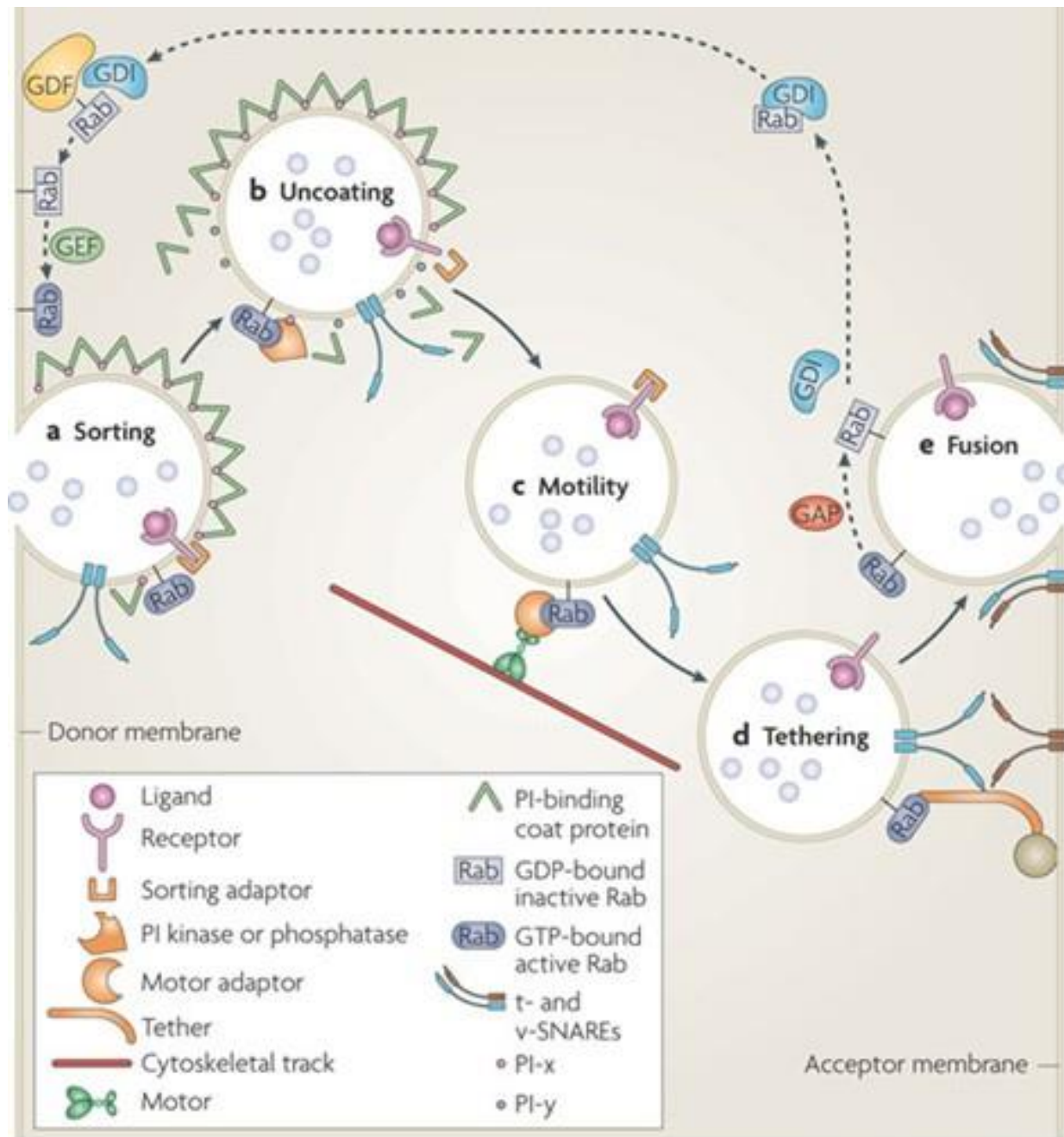


Processo di fusione tra vescicole e compartimento accettore

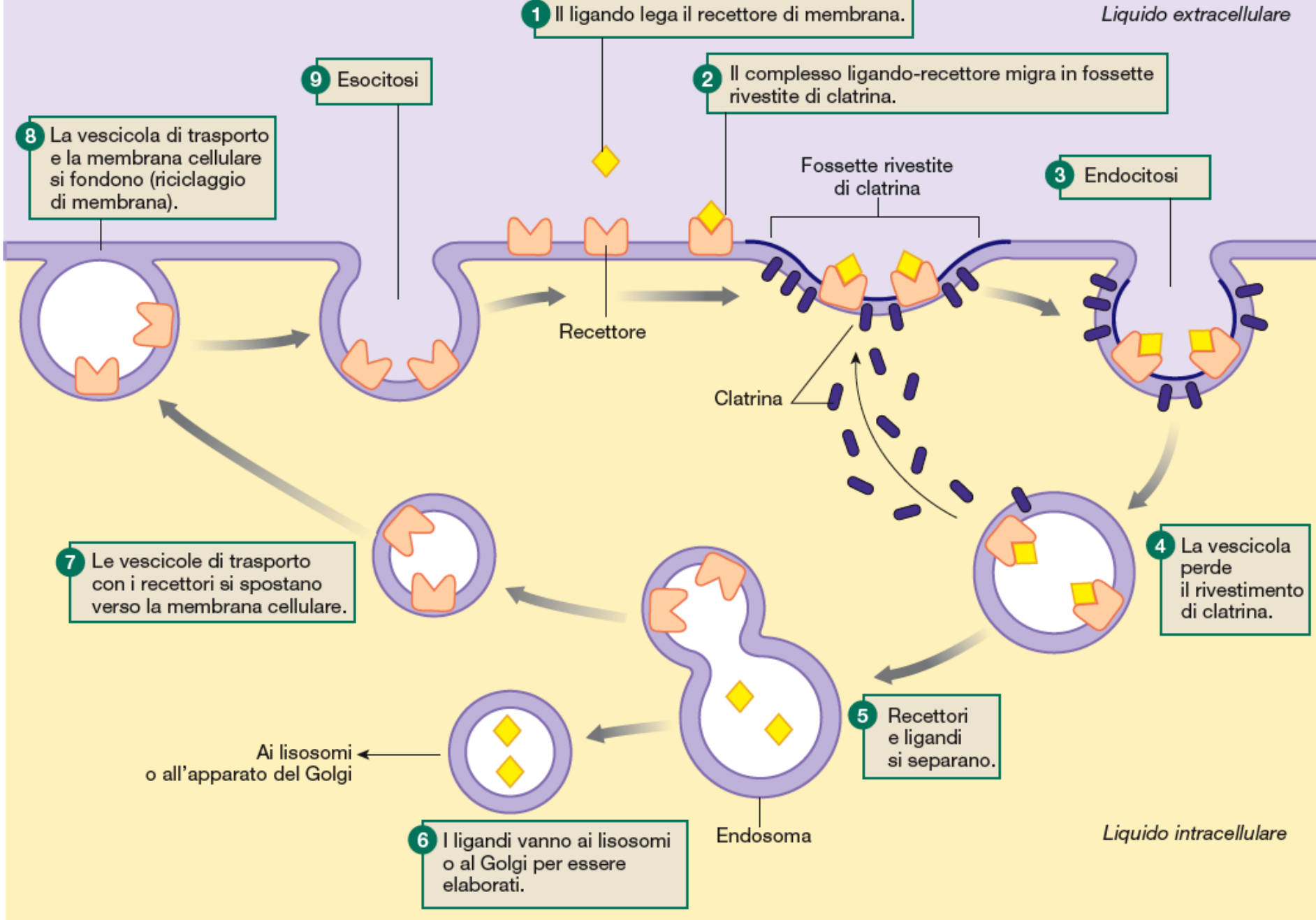
1. La vescicola raggiunge il compartimento bersaglio utilizzando i microtubuli per muoversi
2. La vescicola viene catturata da grossi complessi molecolari regolati dalle proteine Rab
3. Il processo di fusione, che avviene tra le membrane della vescicola e il compartimento accettore è mediato da una particolare famiglia di proteine, SNARE.



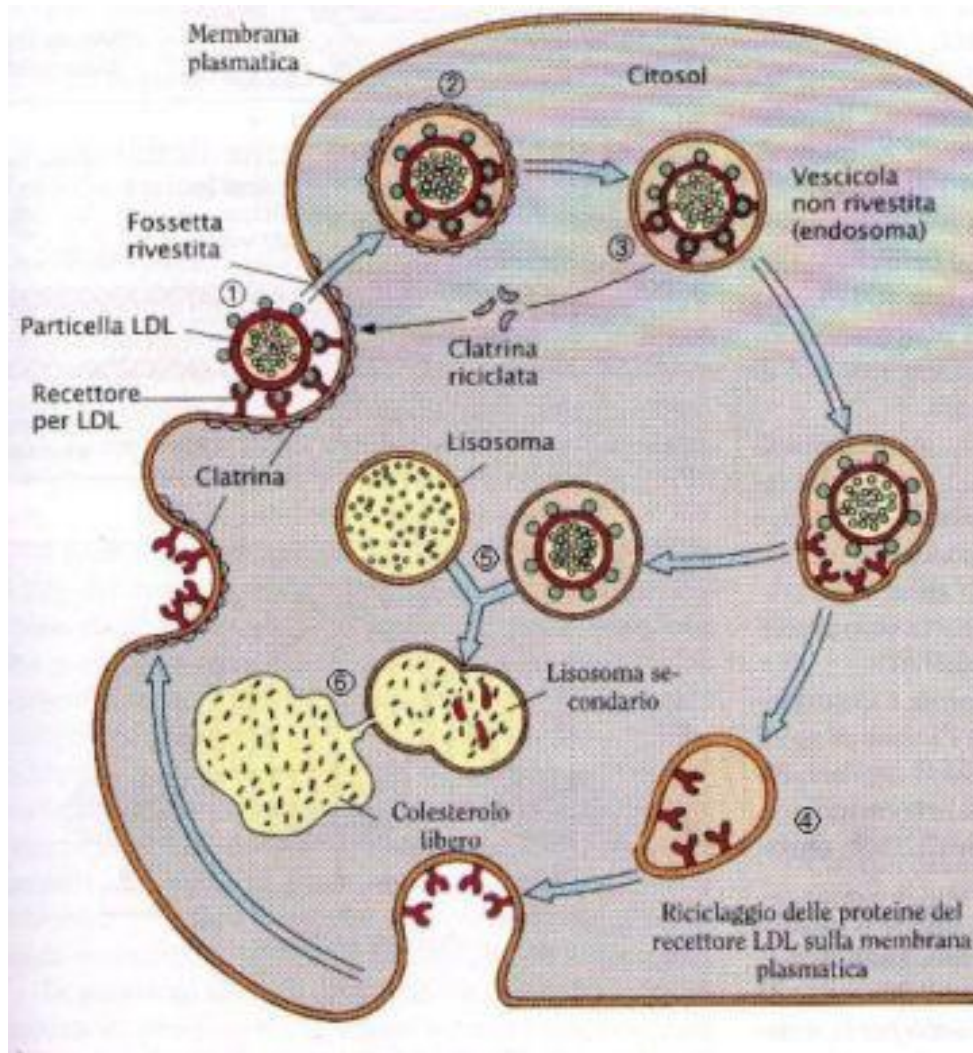
SNARE proteine transmembrana dotate di domini citosolici



Liquido extracellulare

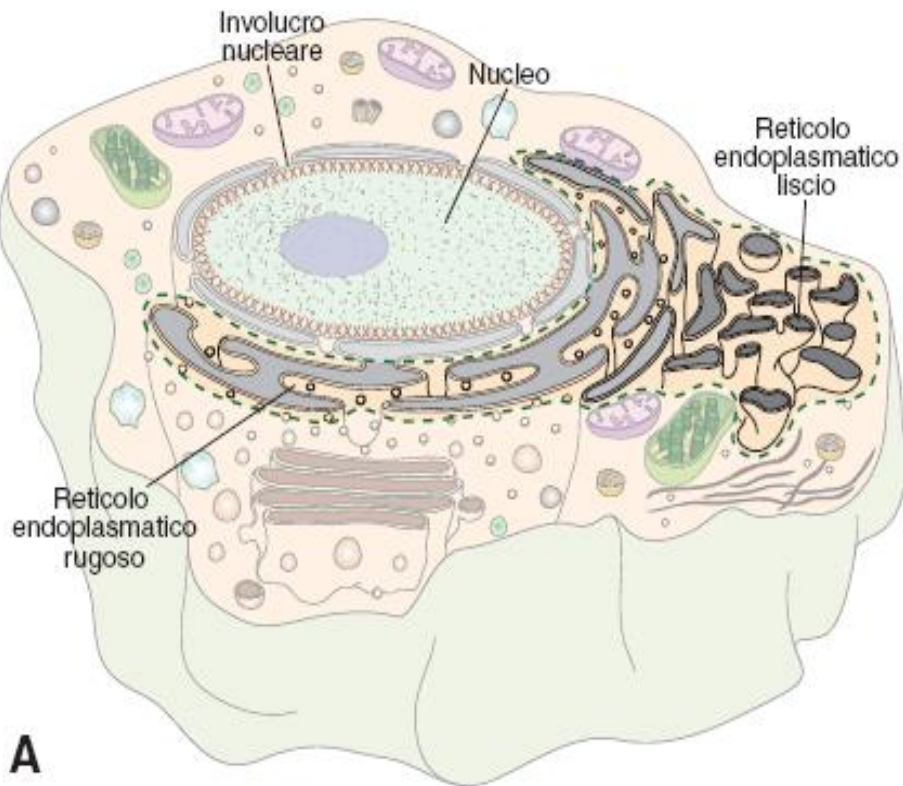


Endocitosi LDL



Il reticolo endoplasmatico

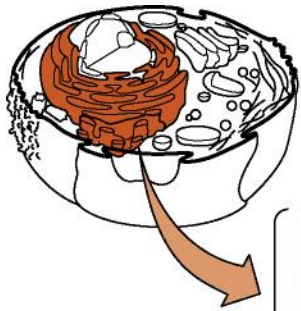
è un reticolo di tubuli e sacchi racchiusi da membrane che si estende dalla membrana nucleare, con cui è in continuità, a tutto il citoplasma



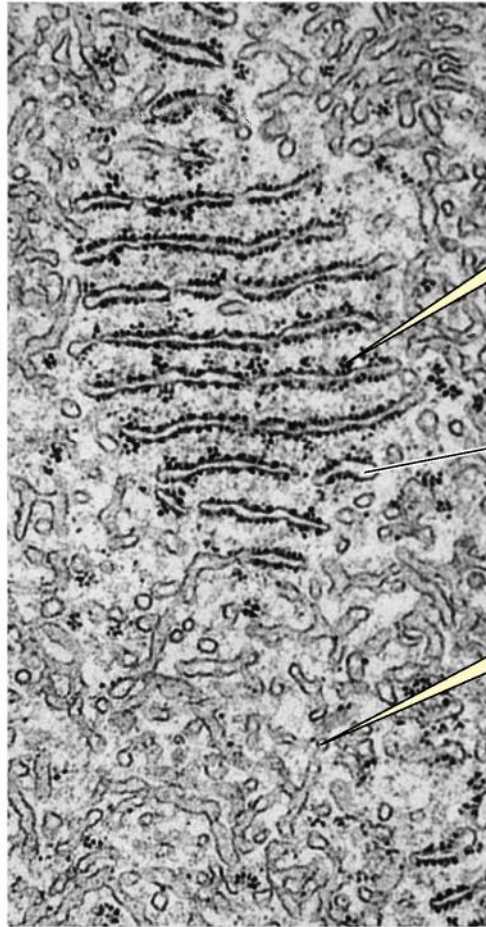
◆ FIGURA 3.20

Il reticolo endoplasmatico (RE). A) Rappresentazione schematica del complesso reticolo membranoso che forma l'RE che si estende a partire dall'involucro nucleare con cui è in continuità. Fotografie al microscopio elettronico a scansione di RE rugoso (B) e liscio (C). Rer: reticolo endoplasmatico; N: nucleo; L: inclusi lipidici. Le frecce in B indicano la continuità tra il sistema membranoso del citoplasma e la membrana nucleare (B e C da P. Motta, Anatomia microscopica, Piccin Nuova Libreria, 1984).

Reticolo endoplasmatico



RE ruvido



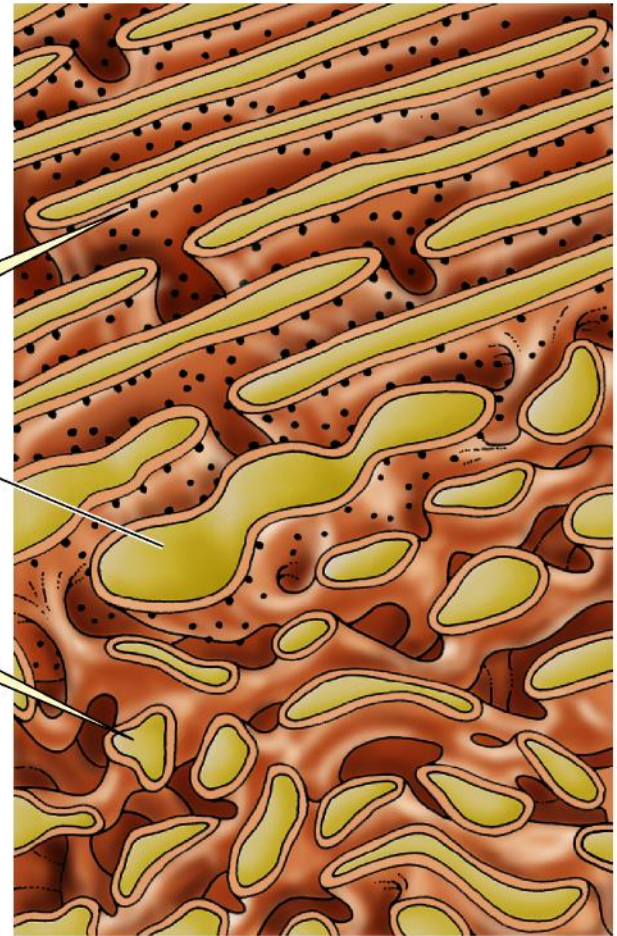
RE liscio

I ribosomi del reticolo endoplasmatico ruvido rappresentano i siti della sintesi proteica e sono responsabili dell'aspetto punteggiato che il reticolo assume al microscopio elettronico.

Lume

Nel reticolo endoplasmatico liscio avvengono la sintesi lipidica e le modifiche dei prodotti proteici cellulari.

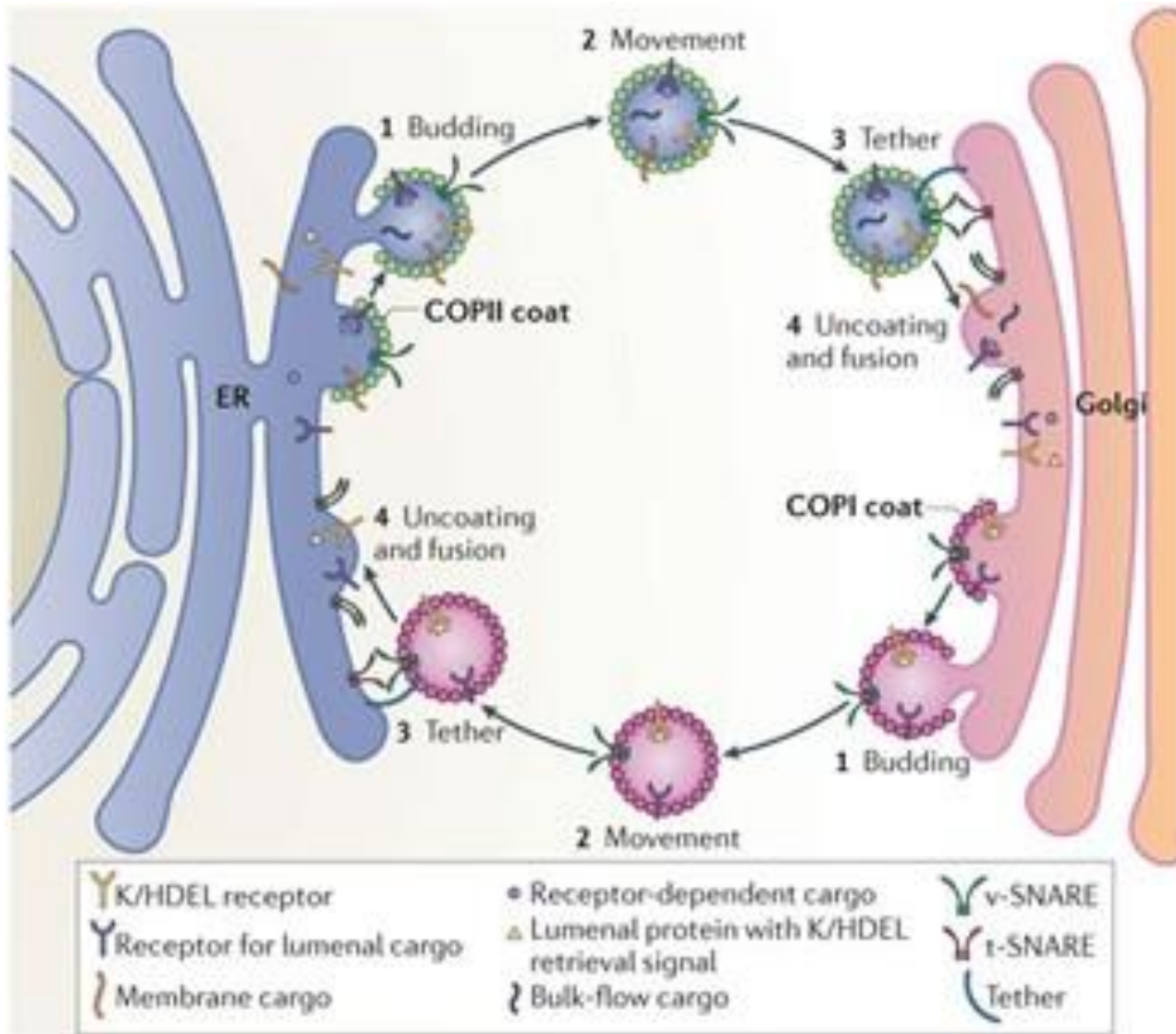
0,5 μm



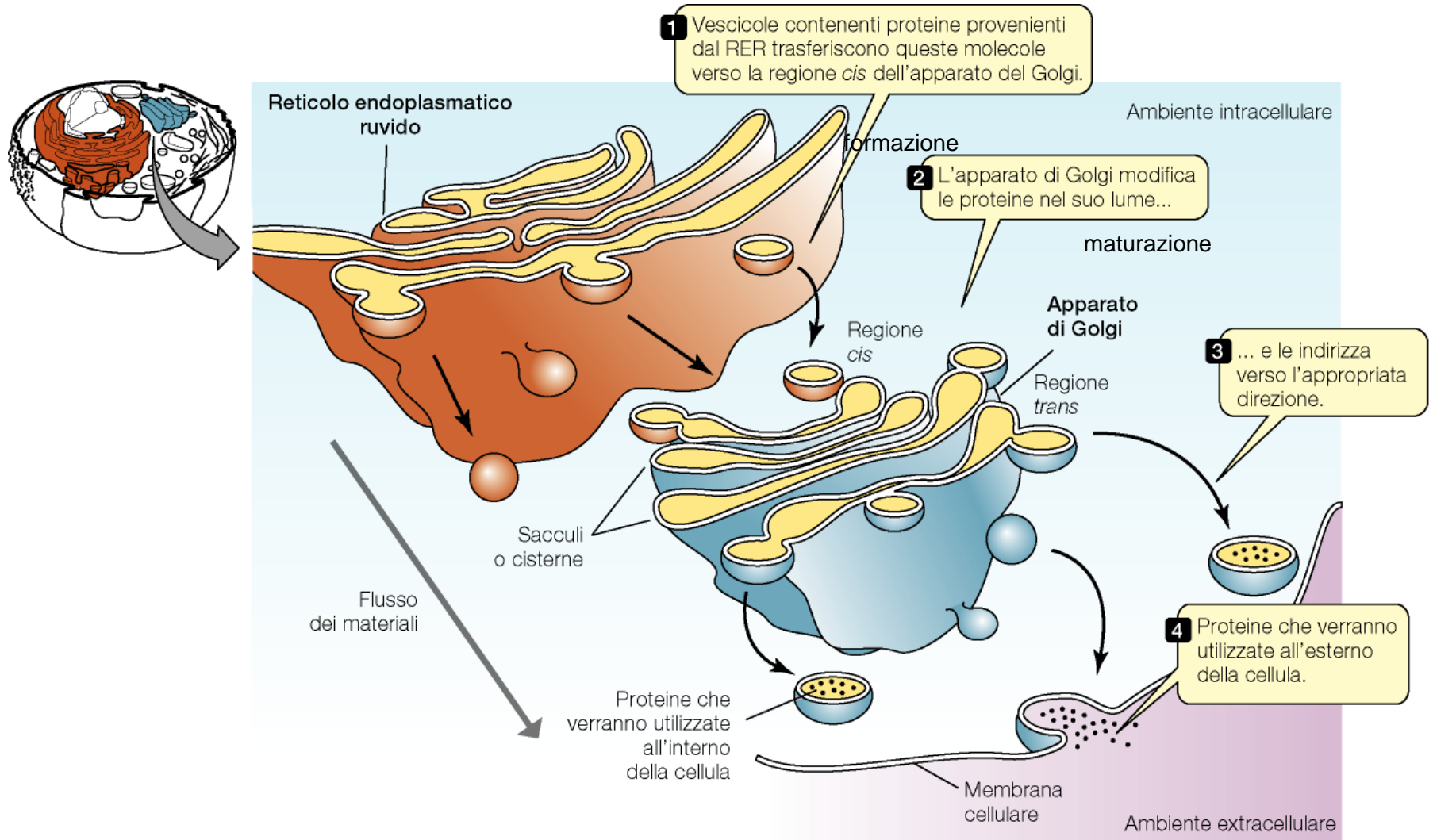
RE ruvido

RE liscio

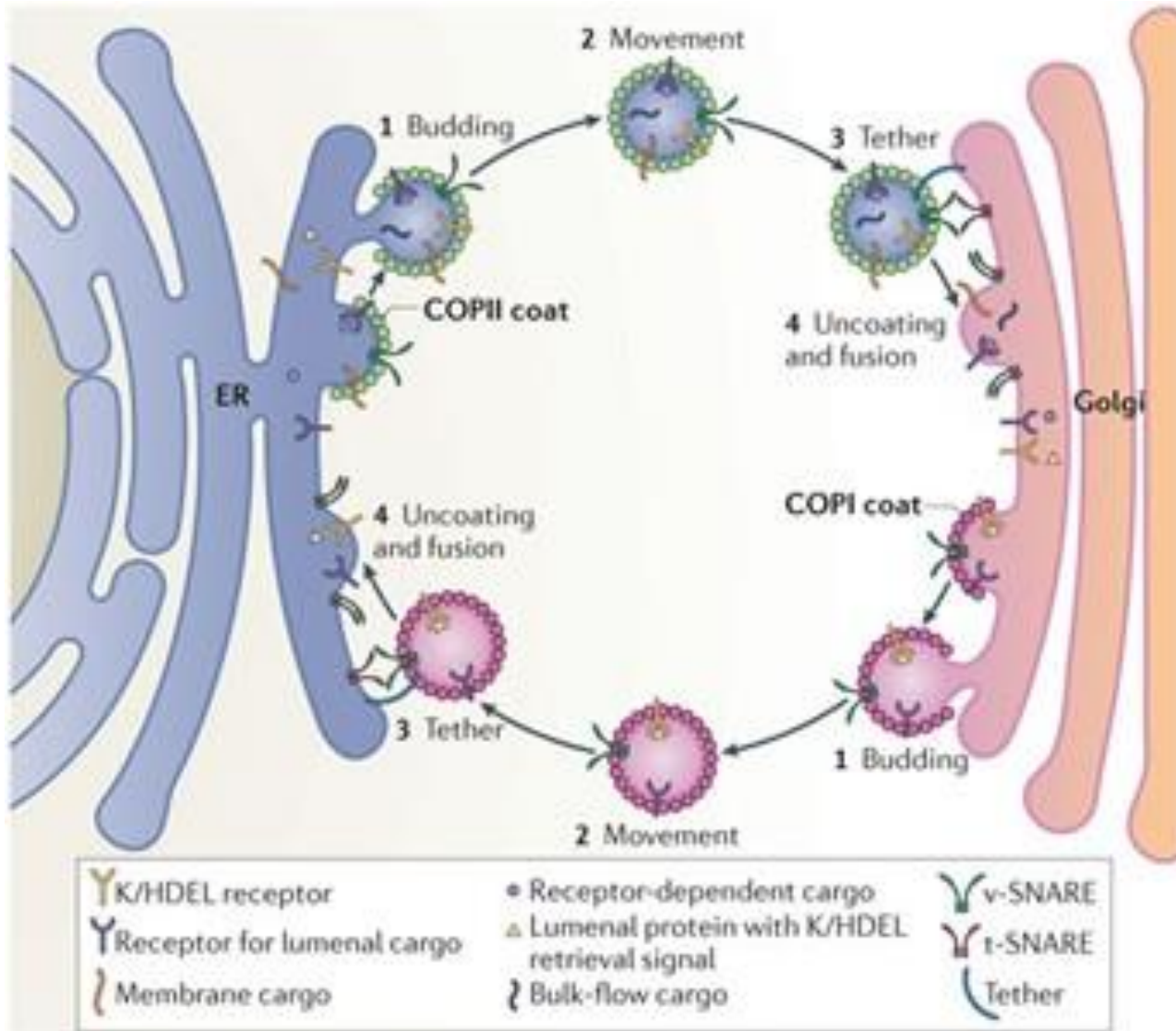
COPII riveste vescicole che originano dal reticolo endoplasmatico



Il Golgi è il deposito della cellula. Qui le proteine ricevute dall'RE vengono smistate alle loro destinazioni finali: lisosomi, membrana plasmatica o secrete nell'ambiente extracellulare



COPI riveste vescicole che originano da tutte le cisterne dell'apparato di Golgi



MACROPINOCITOSI

formazione di protrusioni della membrana plasmatica causate dal rimodellamento del citoscheletro di actina ad opera delle proteine G della famiglia Rho. Queste protrusioni si fondono poi con la membrana plasmatica stessa, generando grosse vescicole endocitiche che inglobano materiale extracellulare che vengono chiamate **macropinosomi**

Endocitosi mediata da caveole

L'endocitosi mediata da caveole è l'internalizzazione di materiale tramite invaginazioni della membrana plasmatica a forma di fiasca dette caveole.

-Si formano in corrispondenza di microdomini lipidici di membrana, ricchi di colesterolo e sfingolipidi, chiamati *rafts*

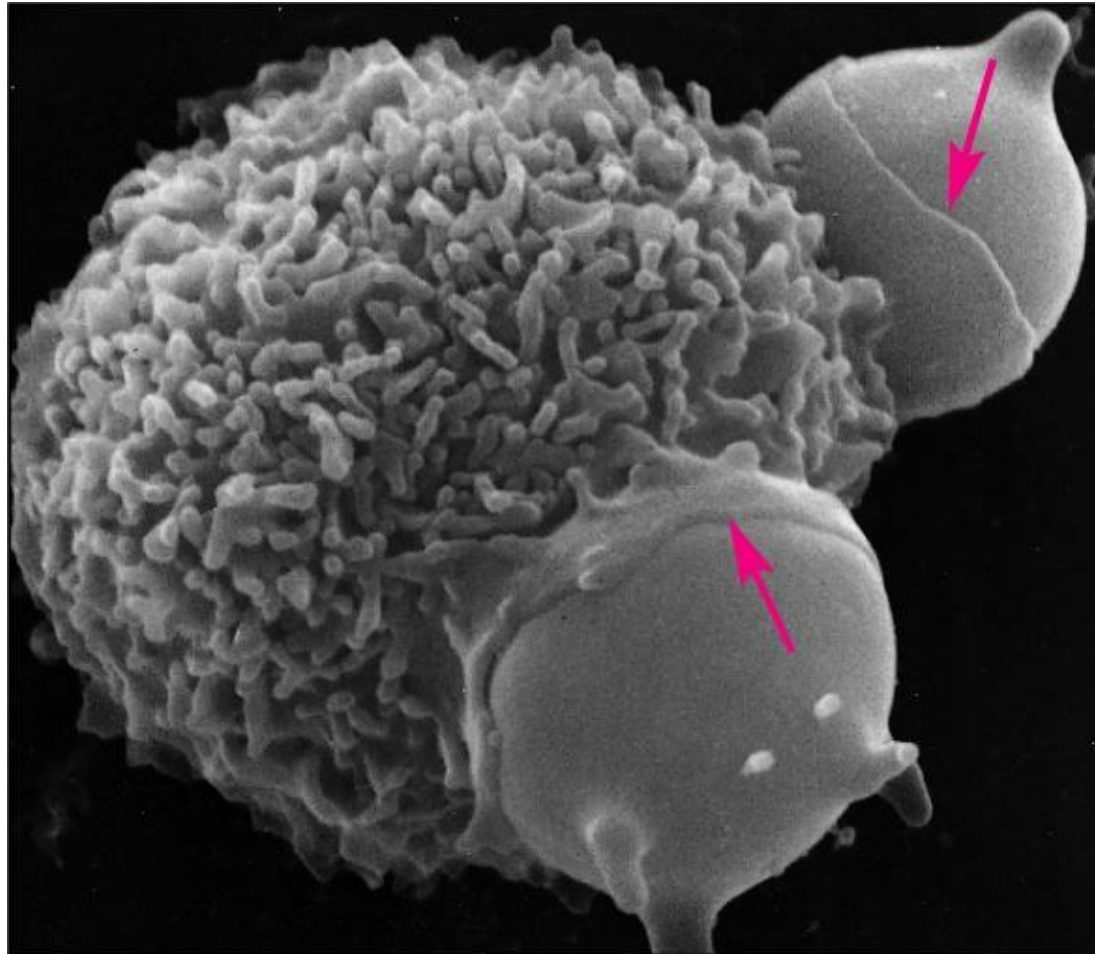
-Sono rivestite da caveolina, una proteina dimerica che lega il colesterolo e si inserisce nella membrana

-Le vescicole raggiungono gli endosomi o più spesso il **caveosoma** per poi raggiungere il reticolo endoplasmatico o direttamente il Golgi.

Endocitosi indipendente da clatrina e caveole

Processo identificato in neuroni e cellule neuroendocrine i cui meccanismi molecolari sono ancora completamente sconosciuti

La fagocitosi meccanismo specializzato per l'ingestione e distruzione intracellulare regolata di microorganismi, cellule apoptotiche e detriti cellulari.



5 μm

Macrofago che sta fagocitando due globuli rossi

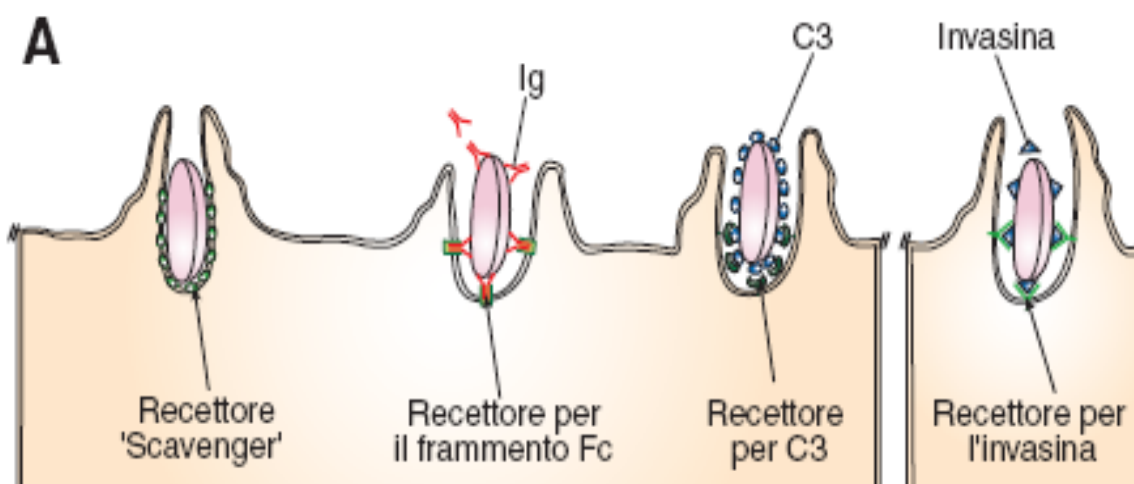
La fagocitosi

- La fagocitosi è un processo utilizzato da macrofagi e neutrofili per internalizzare ed eliminare materiale particolato ($>0.5 \mu\text{m}$) tra cui agenti infettivi, cellule senescenti e detriti cellulari
- Negli eucarioti unicellulari (Amebe, Protozoi ciliati) rappresenta un modo abituale di acquisire cibo.
- Anche in alcuni animali inferiori (Platelminti, Celenterati, Spugne) è un mezzo per acquisire sostanze nutritive.
- In organismi più complessi è ristretta a cellule specializzate (fagociti: macrofagi e neutrofili) ed è utilizzata per difesa; vengono inglobati e digeriti materiali estranei o microrganismi invasivi presenti nel flusso sanguigno. I macrofagi ingeriscono anche detriti cellulari e cellule intere danneggiate o apoptotiche.

La fagocitosi

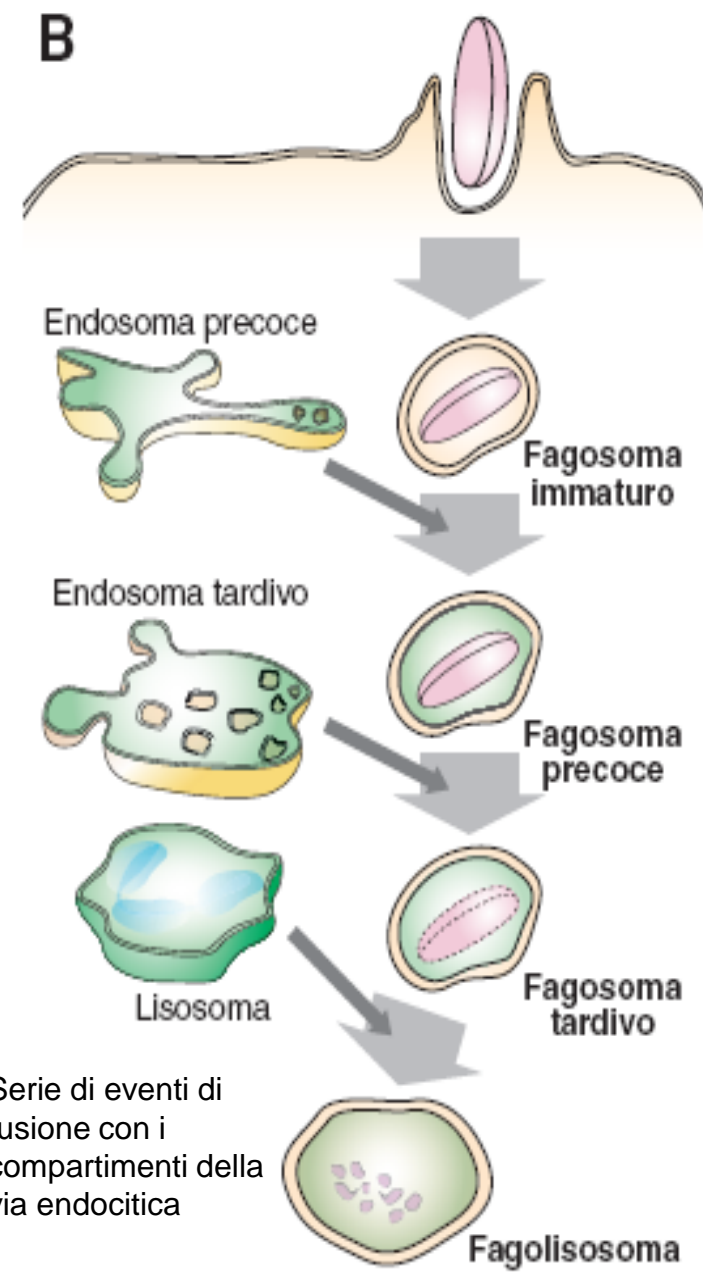


Neutrofilo che fagocita Leishmania

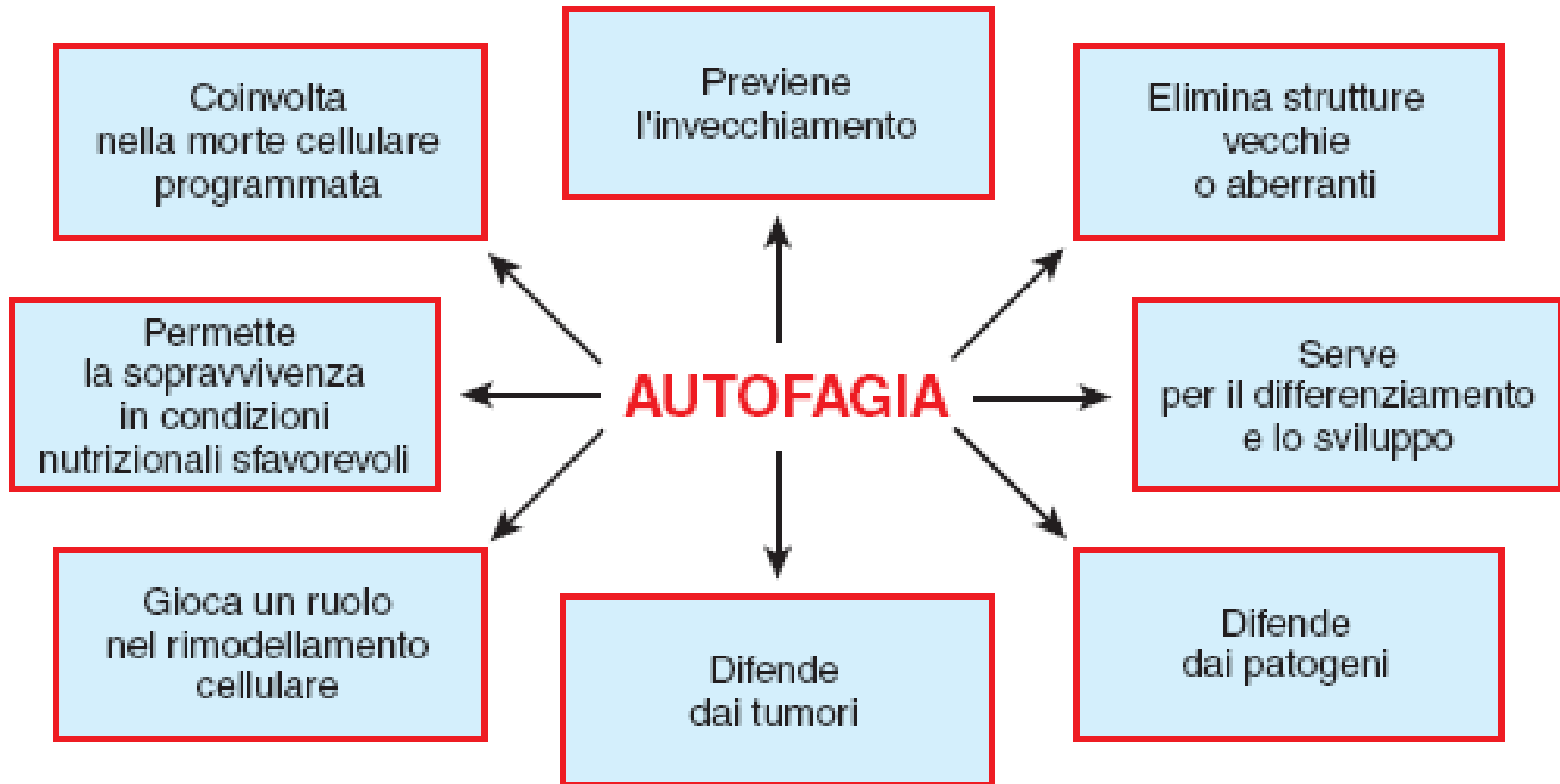


◆ **FIGURA 12.10**

La fagocitosi. A) Nelle cellule fagocitiche esistono recettori diversi per riconoscere microrganismi di vario tipo. Il recettore scavenger che riconosce molecole fondamentali presenti in batteri e funghi; il recettore Fc che riconosce il dominio costante delle immunoglobuline che a loro volta hanno ricoperto un microrganismo; il recettore del complemento che riconosce elementi del complemento che si sono depositati sul microrganismo. Nelle cellule normalmente non fagocitiche i microrganismi inducono la loro internalizzazione (e si parla di fagocitosi indotta) legandosi con delle proteine chiamate invasine a recettori cellulari. B) Dopo il contatto tra il materiale da fagocitare ed il recettore avviene una riorganizzazione del citoscheletro di actina che porta alla formazione del fagosoma. Successivamente avviene il riciclo di molecole alla membrana plasmatica e molteplici interazioni con compartimenti della via endocitica come endosomi precoci, endosomi tardivi e lisosomi. Alla fine di questa complessa serie di eventi il fagosoma matura in un organello in grado di uccidere efficientemente microrganismi, il fagolisosoma.



Autofagia processo con il quale viene degradato, all'interno dei lisosomi, materiale presente nel citosol

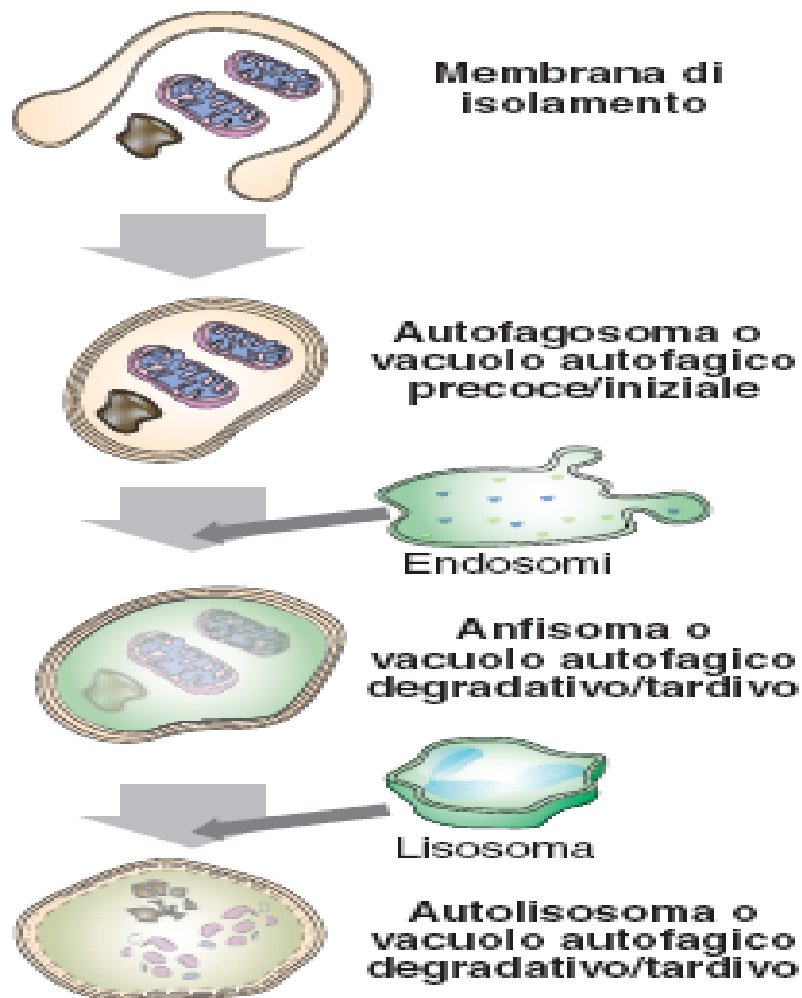


◆ **FIGURA 12.11**

Ruoli dell'autofagia nelle cellule di mammifero.

Autofagia selettiva, autofagia indotta da uno stimolo che deriva da specifici componenti cellulari che vengono quindi selettivamente distrutti

Autofagia non selettiva viene attivata da stimoli extracellulari come la deprivazione di nutrienti o la segnalazione da parte di citochine o ormoni, che danno luogo all'autofagia di compartimenti diversi per generare nutrienti



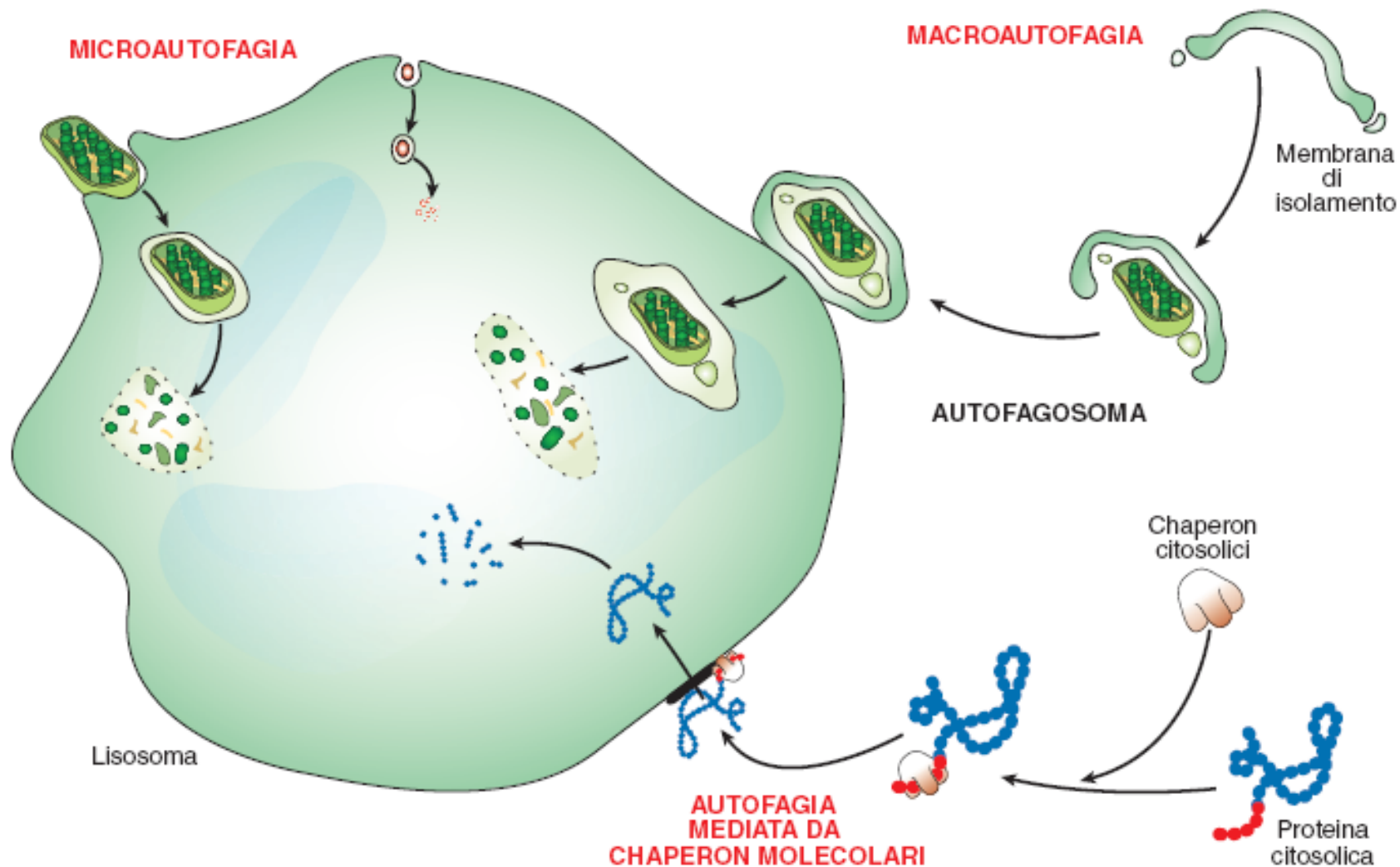
1. inglobamento di porzioni di citoplasma

2. ingrandimento della vescicola tramite l'aggiunta di membrane

3. fusione con compartimenti della via endocitica fino a costituire gli autolisosomi

◆ FIGURA 12.12

Formazione dell'autofagosoma. La membrana di isolamento, che probabilmente deriva dal reticolo endoplasmatico, si espande utilizzando vescicole o piccole cisterne per inglobare porzioni di citoplasma contenenti organelli formando l'autofagosoma. L'autofagosoma, con il contributo prima degli endosomi precoci e tardivi e poi dei lisosomi, diventa autolisosoma cioè un organello in grado di digerire il materiale che è contenuto al suo interno.



◆ **FIGURA 12.13**

Modalità diverse di autofagia. La macroautofagia consiste nella degradazione di porzioni di citoplasma e organelli in un organello specifico chiamato autolisosoma. La microautofagia consiste nell'inglobamento diretto da parte dei lisosomi di organelli che saranno poi degradati. Nell'autofagia mediata da chaperon molecolari proteine citosoliche, normalmente non indispensabili, vengono indirizzate, con l'aiuto di chaperon molecolari, ai lisosomi per essere degradate in caso di deprivazione da nutrienti.

Degradazione delle proteine

La composizione delle proteine in una cellula (proteoma) non è fissa, ma varia; nuove proteine vengono continuamente sintetizzate, mentre altre proteine vengono distrutte. E' l'equilibrio fra questi due eventi, sintesi e degradazione, che determina la vita media di una proteina

Una proteina può essere degradata per vari motivi:

- Può non essere tradotta correttamente
- Può aver subito danni che ne impediscono il funzionamento
- Può aver assunto una struttura tridimensionale errata o essersi denaturata
- Può non essere più necessaria alla cellula in quel momento

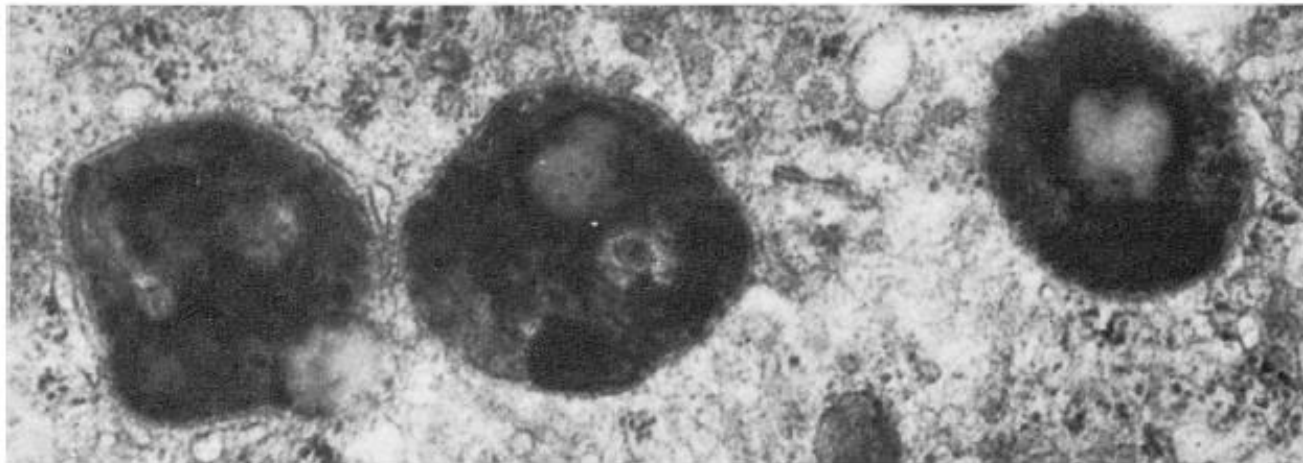
Degradazione delle proteine

- Le vie intracellulari sono almeno due:

- *Lisosomale*

- *Proteasomica ubiquitina-dipendente*
(UPS)

I lisosomi vescicole presenti in tutte le cellule ma abbondanti in quelle provviste di attività fagocitica



Dimensioni
tra 0,05 e 0,5 μm

pH compreso fra 5/4

Presenza di trasportatori
di protoni

◆ **FIGURA 3.26**

Microfotografie elettroniche di lisosomi (22.500 \times) (da S. Idelman).

Nei lisosomi sono presenti enzimi idrolitici in grado di aggredire e scindere macromolecole (proteine, acidi nucleici, polisaccaridi e grassi)

Sistema ubiquitina/proteasoma permette alle cellule di riconoscere le proteine da degradare.

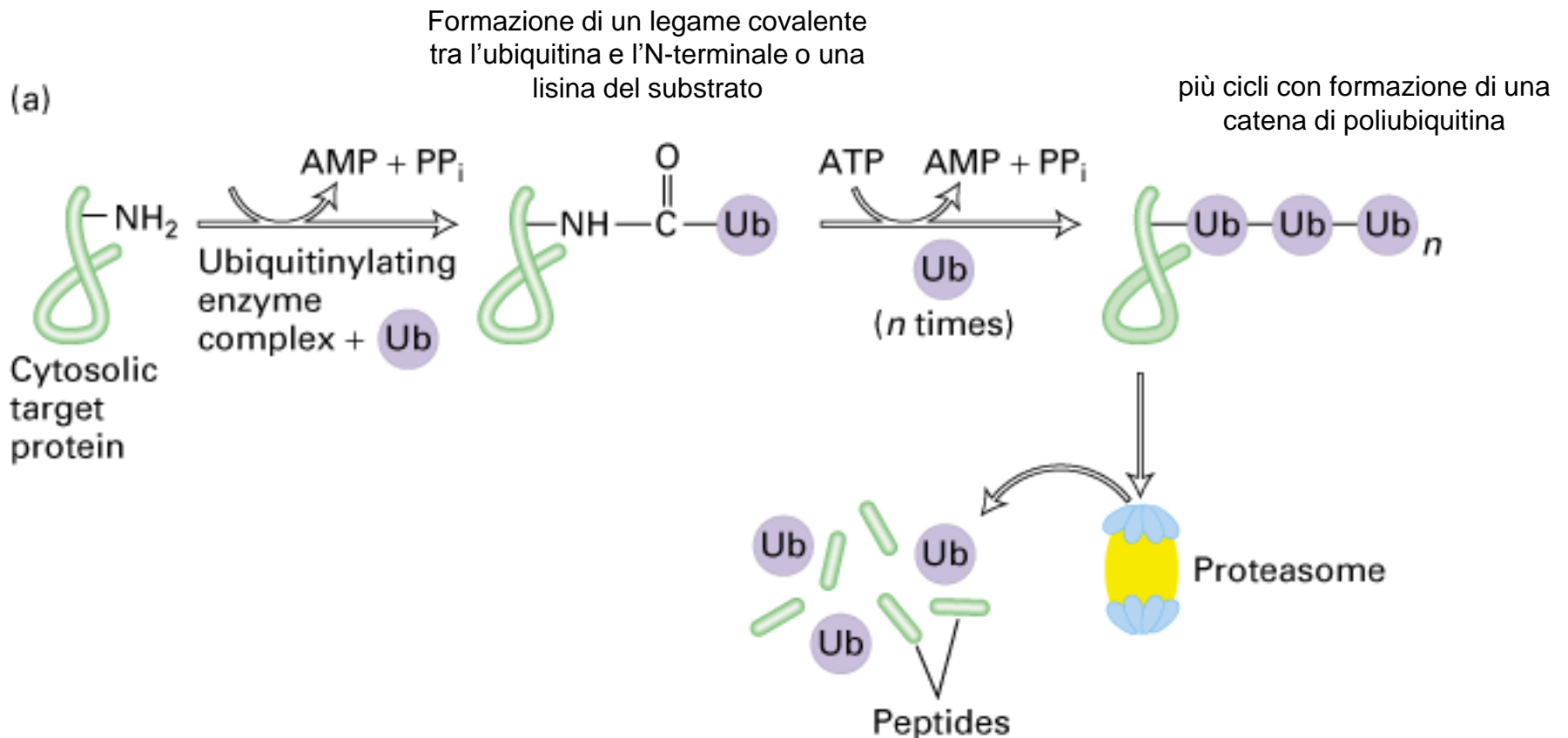
Si divide in due eventi:

-Aggiunta di una catena di molecole di ubiquitina su una catena laterale di lisine della proteina bersaglio

-Proteolisi della proteina ubiquitinata mediata dal proteasoma

Degradazione delle proteine

Aggiunta di una molecola di ubiquitina (piccola proteina ubiquitaria di circa 70 amminoacidi)

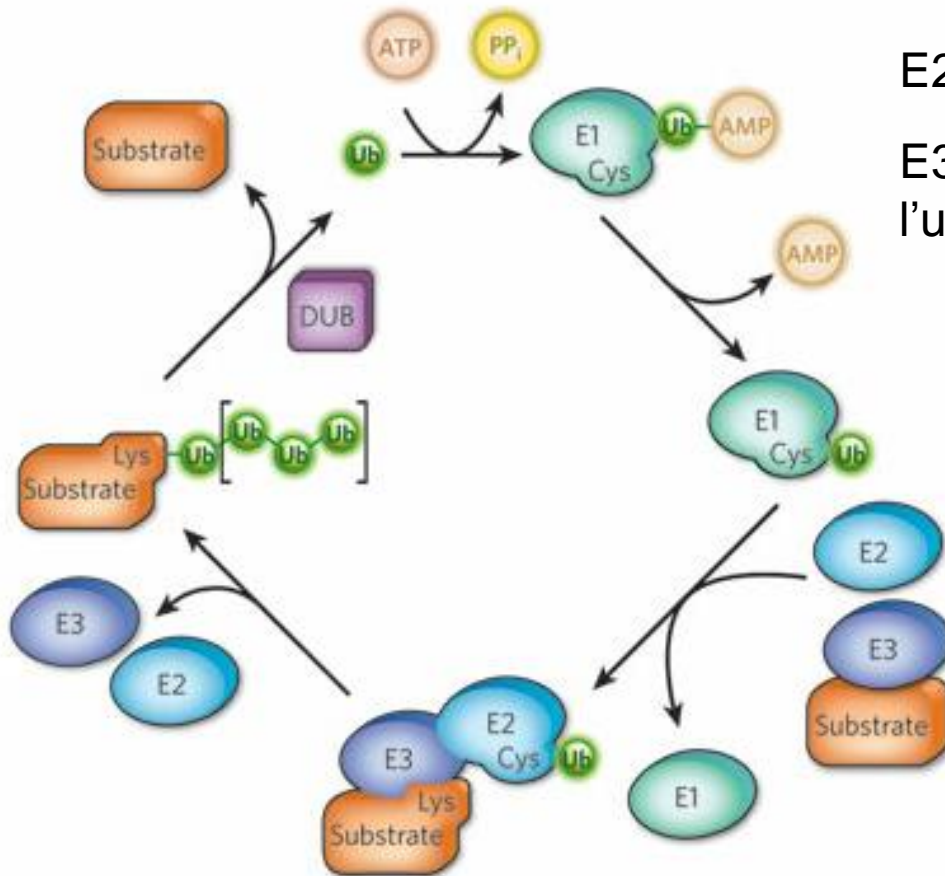


Processo di ubiquitinazione delle proteine

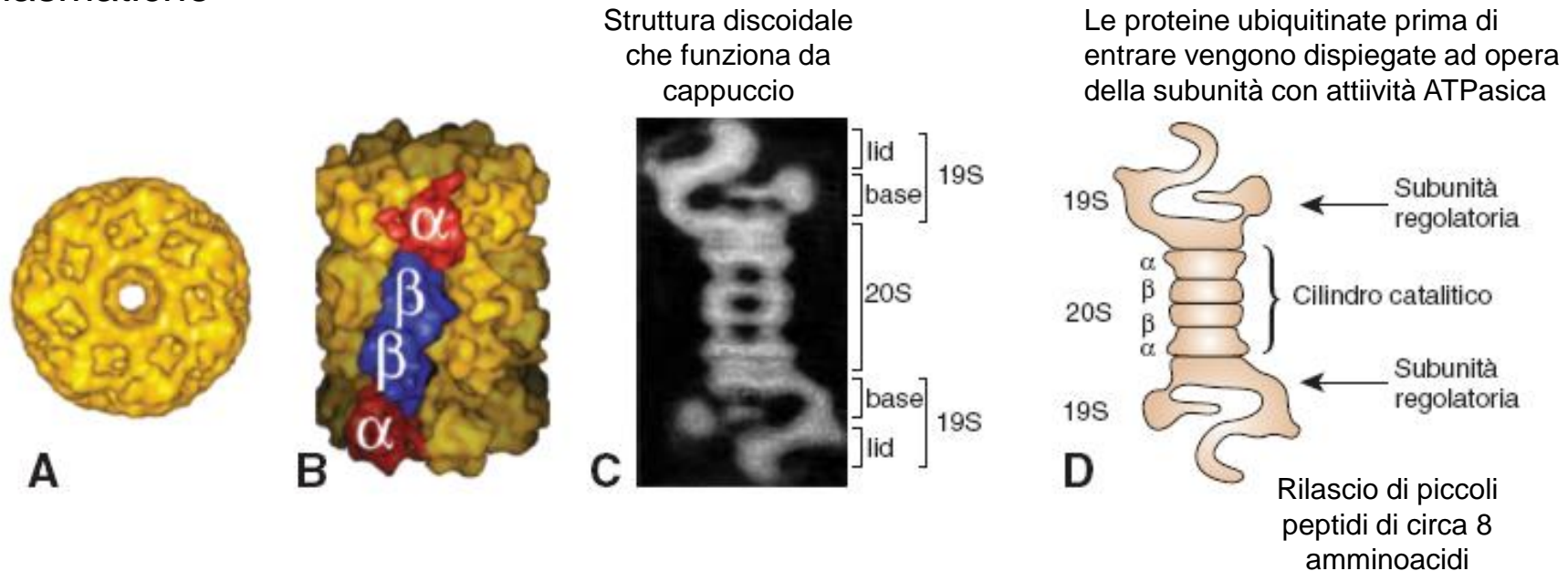
E1 enzima attivatore dell'ubiquitina

E2 enzima di coniugazione dell'ubiquitina

E3 (ubiquitina ligasi) enzima che trasferisce l'ubiquitina al substrato finale



Il proteasoma complesso multiproteico di enormi dimensioni che degrada le proteine prodotte dalla cellula in piccoli peptidi che verranno idrolizzati da esopeptidasi citoplasmatiche



◆ **FIGURA 3.27**

Struttura di un proteasoma. Il proteasoma è una struttura cilindrica cava che degrada le proteine indesiderate nella cellula eucariota. È composto da un cilindro cavo costituito da quattro anelli ciascuno composto da sette subunità denominate β nei due anelli centrali e α in quelli esterni. Alle due estremità ci sono due strutture che hanno una funzione regolatoria nei confronti delle molecole che entrano ed escono dal lume del proteasoma. A) Proteasoma visto dall'alto e B) di lato. C) Immagine al microscopio elettronico del proteasoma del ratto. Si riconoscono il cilindro catalitico (20S) ed i complessi regolativi alle due estremità (19S). Ogni complesso regolativo è formato a sua volta da un "coperchio" (lid) e da una base. Il "lid" è responsabile del riconoscimento, e del legame, con la proteina poliubiquitinata. La base contiene delle ATPasi che sfruttano l'energia fornita dall'ATP per svolgere la struttura terziaria della proteina e per dirigerla verso la cavità centrale del complesso 20S, dove avverrà la proteolisi. Con il 19S sono anche associati degli enzimi detti deubiquitinanti perché rimuovono la catena di poliubiquitine dal substrato prima che questo venga idrolizzato. D) Rappresentazione schematica di una proteasoma. (C da Coux O, Tanaka K, Goldberg AL. Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes. Annu Rev Biochem 1996;65:801-847. Riprodotta con il permesso, © by Annual Reviews, www.annualreviews.org.)