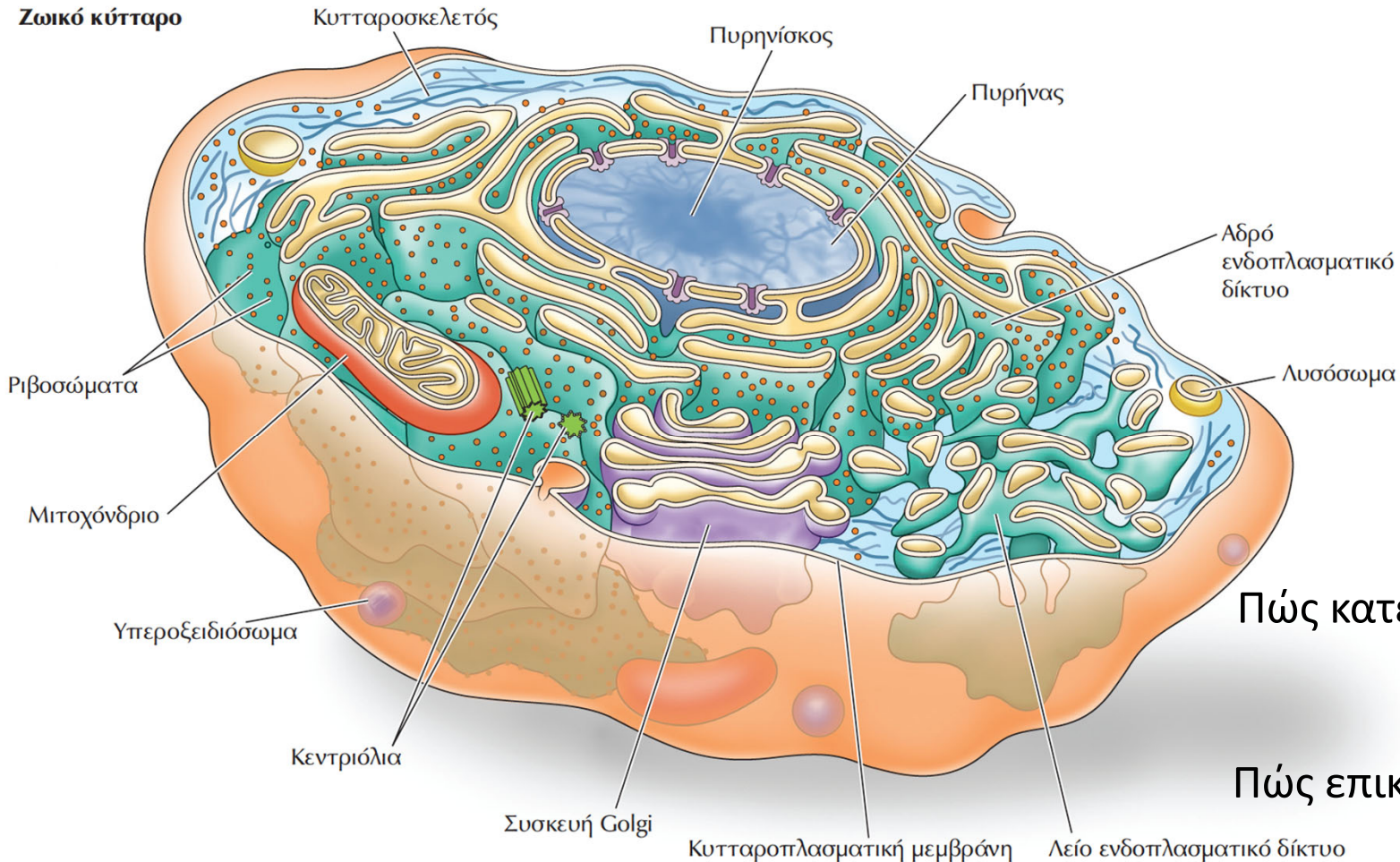


Ενδοκυττάρια διαμερίσματα και μεταφορά



Το ευκαρυωτικό κύτταρο διαθέτει πολλαπλά υποκυτταρικά διαμερίσματα (Διαμερισματοποίηση - Compartmentalization)

Ζωικό κύτταρο



Γιατί?

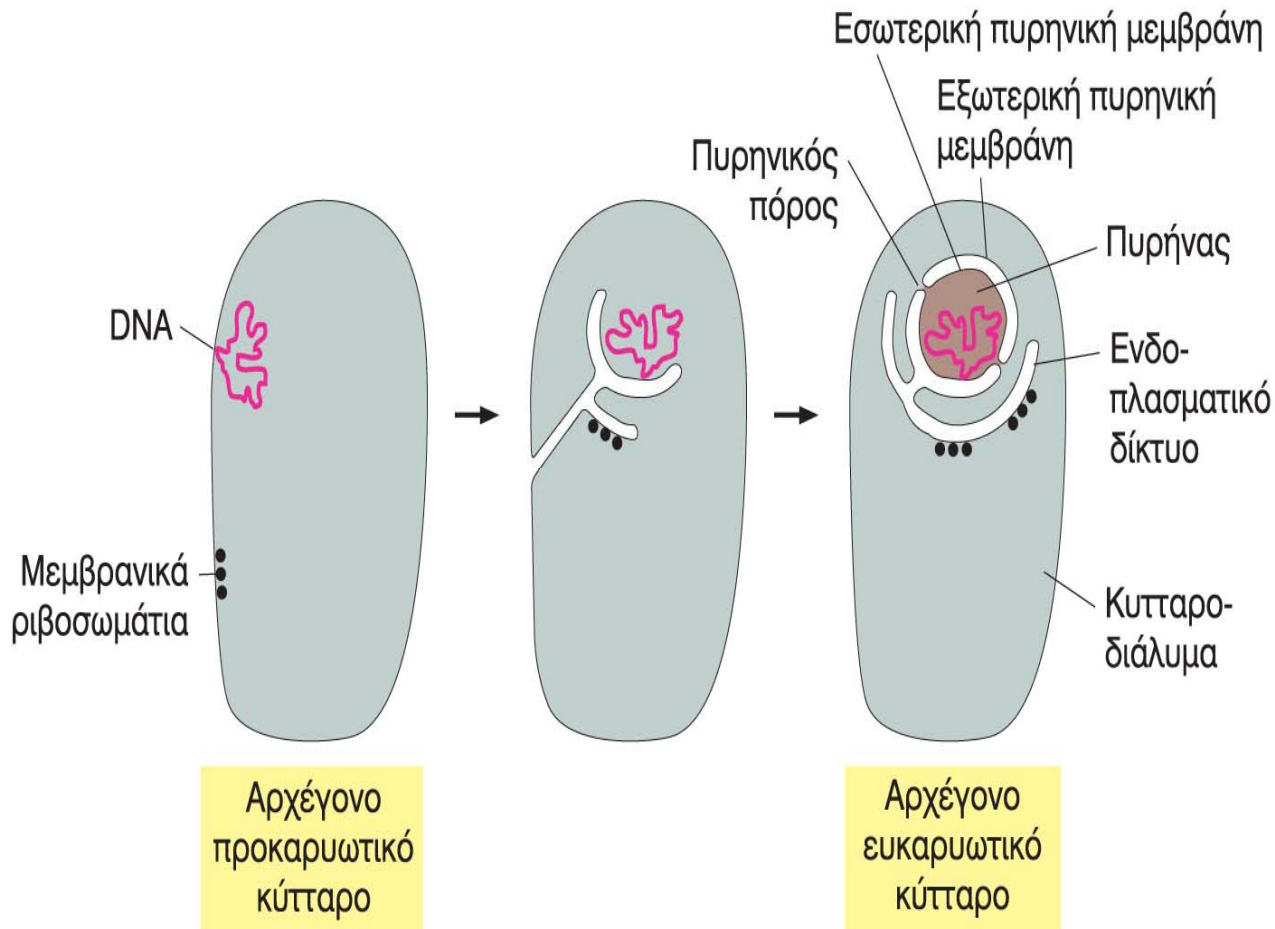
Πώς προέκυψαν εξελικτικά?

Πώς κατευθύνονται οι πρωτεΐνες στο
σωστό υποκυτταρικό
διαμέρισμα?

Πώς επικοινωνούν τα διαμερίσματα?

Εξελικτική προέλευση των υποκυτταρικών διαμερισμάτων I

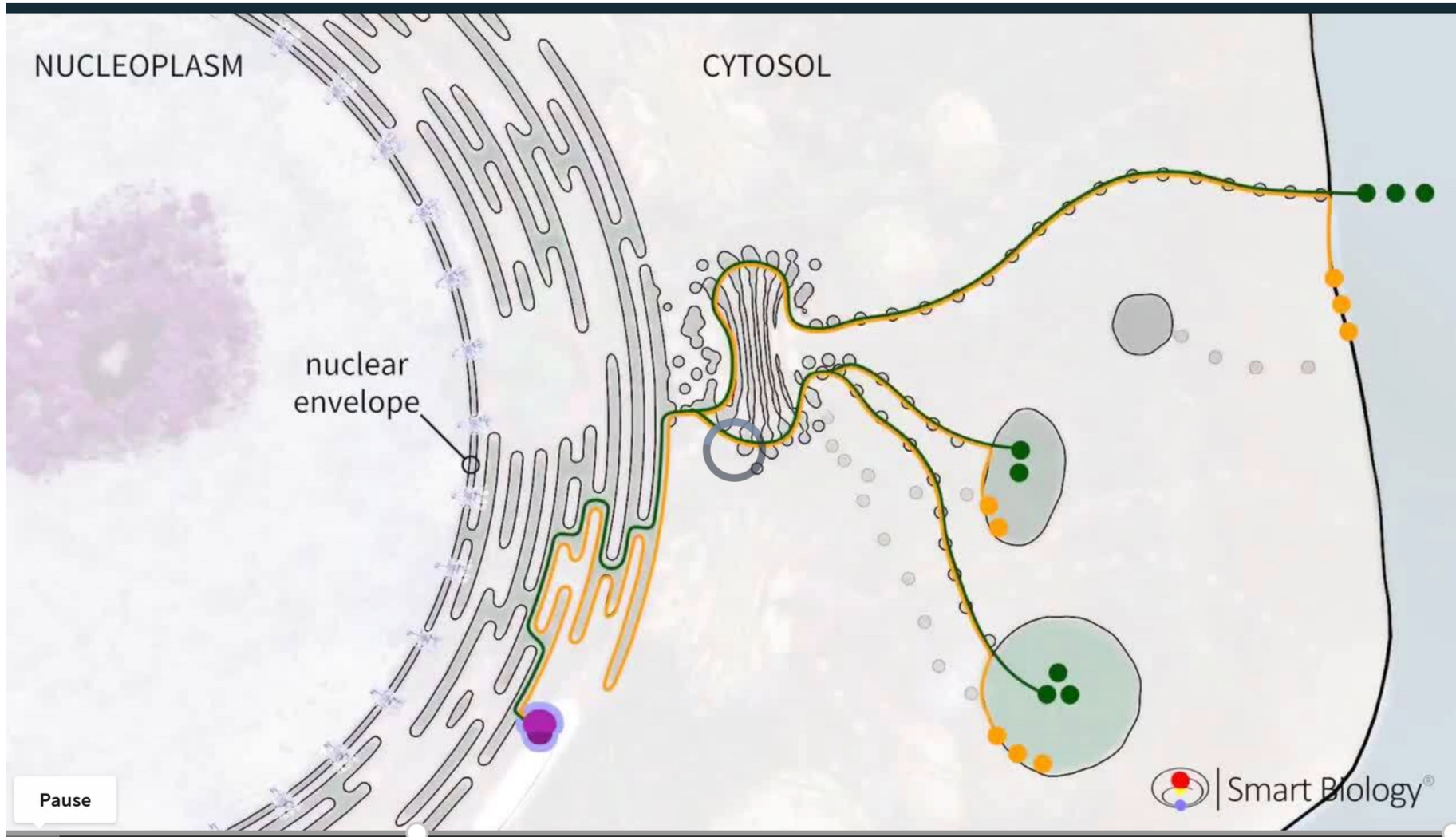
Ενδομεμβρανικό σύστημα



Η πυρηνική μεμβράνη, το ενδοπλασματικό δίκτυο, το σύμπλεγμα Golgi, τα ενδοκυτταρικά κυστίδια, τα ενδοσωμάτια και τα λυσοσωμάτια

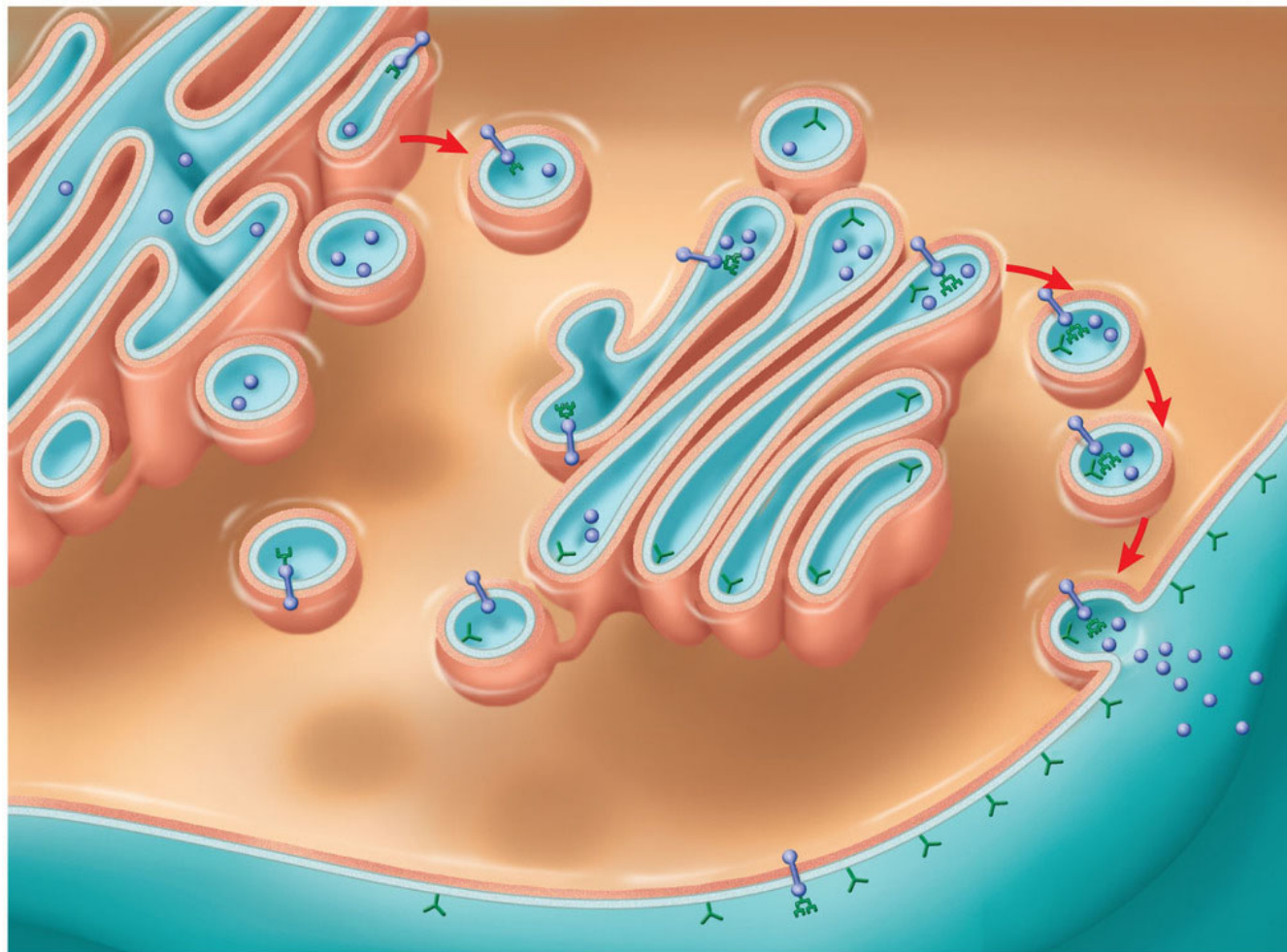
πιστεύεται ότι προέκυψαν από **εγκολπώσεις της κυτταρικής μεμβράνης**

Επικοινωνούν μεταξύ τους και με τον εξωκυττάριο χώρο με **κυστίδια** και αποτελούν ένα ενιαίο δίκτυο, το εσωτερικό του οποίου είναι αντίστοιχο του εξωκυττάριου χώρου



Ενδοκυττάριας μεμβράνης

Το ενδομεμβρανικό δίκτυο αποτελεί ένα ενιαίο δίκτυο, σε άμεση επικοινωνία με το εξωτερικό του κυττάρου



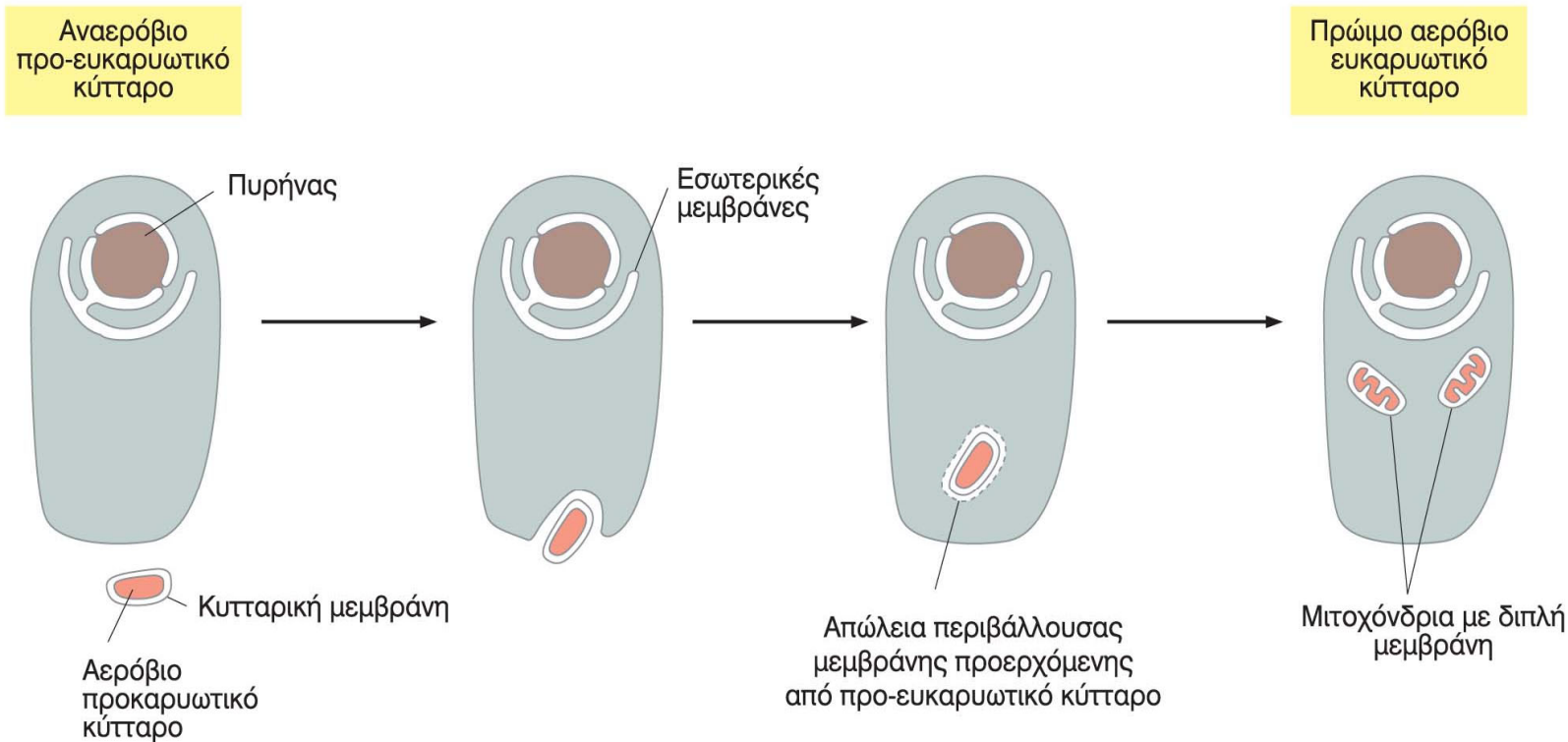
Το εσωτερικό του ενδοκυτταρικού μεμβρανικού δικτύου είναι αντίστοιχο του εξωκυττάρου χώρου

Το τμήμα μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης που βρίσκεται στο **εσωτερικό του ενδοπλασματικού δικτύου**, στο εσωτερικό του Golgi ή στο εσωτερικό των κυστιδίων μεταφοράς θα αποτελέσει το **εξωκυττάριο τμήμα** της πρωτεΐνης, όταν αυτή φτάσει στην κυτταρική μεμβράνη

Μια πρωτεΐνη που βρίσκεται ελεύθερη στο εσωτερικό του ενδοπλασματικού δικτύου (αυλός) θα εκκριθεί εκτός κυττάρου

Εξελικτική προέλευση των υποκυτταρικών διαμερισμάτων II

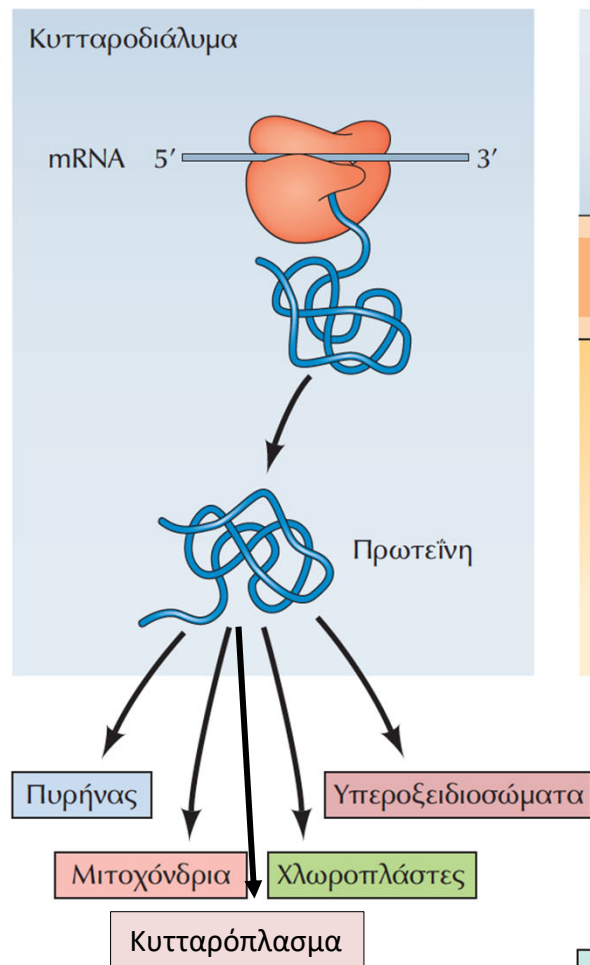
Μιτοχόνδρια



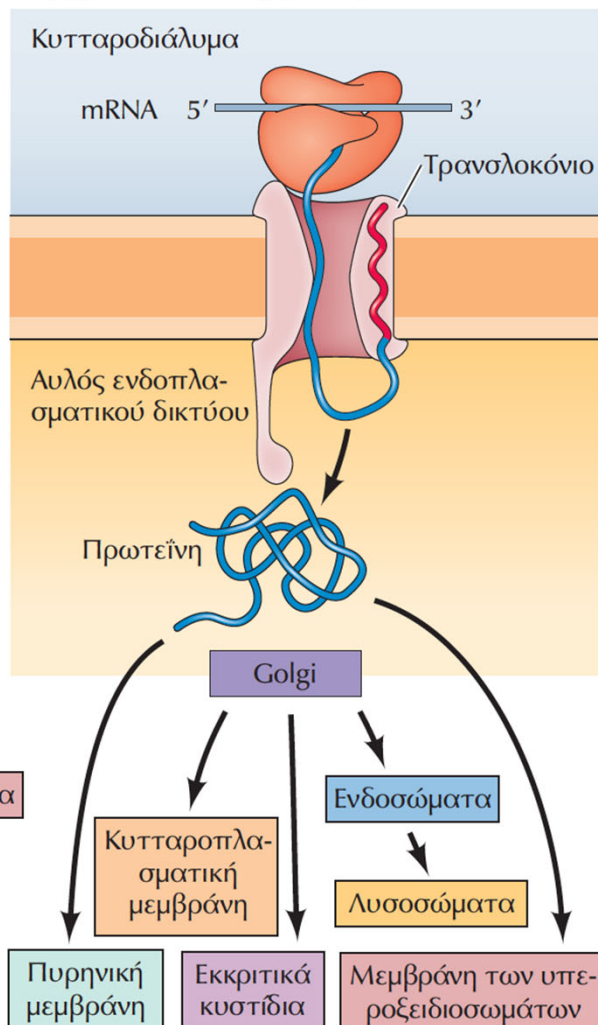
Τα μιτοχόνδρια πιστεύεται ότι προήλθαν από εγκόλπωση ενός αερόβιου προκαρυώτη
Δεν επικοινωνούν με κυστίδια με το ενδομεμβρανικό σύστημα

Πώς οι πρωτεΐνες καταλήγουν στο σωστό υποκυτταρικό διαμέρισμα (διαλογή πρωτεϊνών – protein sorting)

Ελεύθερα ριβοσώματα στο κυτταρόπλασμα



Μεμβρανοσύνδετα ριβοσώματα



Δύο βασικά μονοπάτια:

- Η πρωτεϊνοσύνθεση ολοκληρώνεται σε **ελεύθερα ριβοσώματα** στο κυτταρόπλασμα

- Η πρωτεϊνοσύνθεση ολοκληρώνεται σε **ριβοσώματα συνδεδεμένα** στο **ενδοπλασματικό δίκτυο**

Πώς γνωρίζουν οι πρωτεΐνες ποιό μονοπάτι να ακολουθήσουν; Οι πρωτεΐνες φέρουν συγκεκριμένες σηματοδοτικές αμινοξικές αλληλουχίες (σήματα) που τις οδηγούν στο σωστό υποκυτταρικό διαμέρισμα

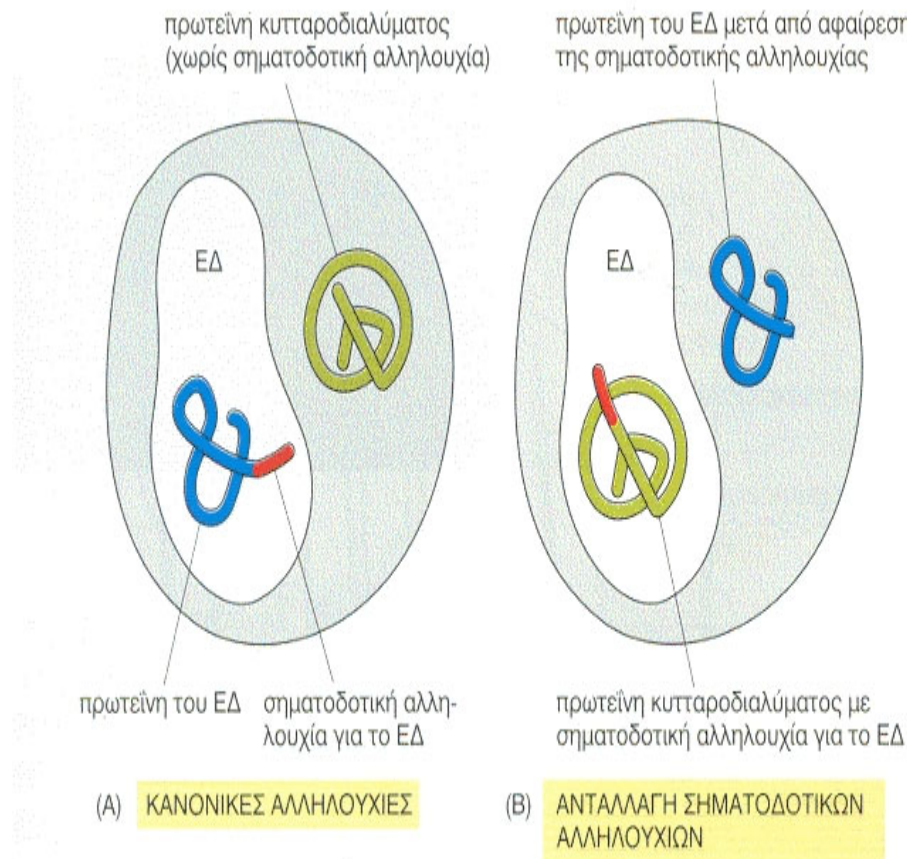
Λειτουργία του σήματος	Παράδειγμα σηματοδοτικής αλληλουχίας
Είσοδος στο ΕΔ	$^*\text{H}_3\text{N}$ -Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val- Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu- Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln- -Lys-Asp-Glu-Leu-COO $^-$
Συγκράτηση στον αυλό του ΕΔ	$^*\text{H}_3\text{N}$ -Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe- Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr- Leu-Leu-
Είσοδος στα μιτοχόνδρια	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Είσοδος στον πυρήνα	-Ser-Lys-Leu-

Τα θετικά φορτισμένα αμινοξέα φαίνονται κόκκινα και τα αρνητικά φορτισμένα αμινοξέα φαίνονται πράσινα. Ένα εκτεταμένο κομμάτι με υδρόφοβα αμινοξέα εσωκλείεται σε ένα κίτρινο κουτί. Το $^*\text{H}_3\text{N}$ υποδηλώνει το αμινοτελικό άκρο μιας πρωτεΐνης, το COO^- υποδηλώνει το καρβοξυτελικό άκρο.

Κάποια σήματα αποκόπτονται μετά την είσοδο της πρωτεΐνης στο διαμέρισμα (πχ σήμα εισόδου σε ΕΔ)

Τα περισσότερα παραμένουν στην πρωτεΐνη

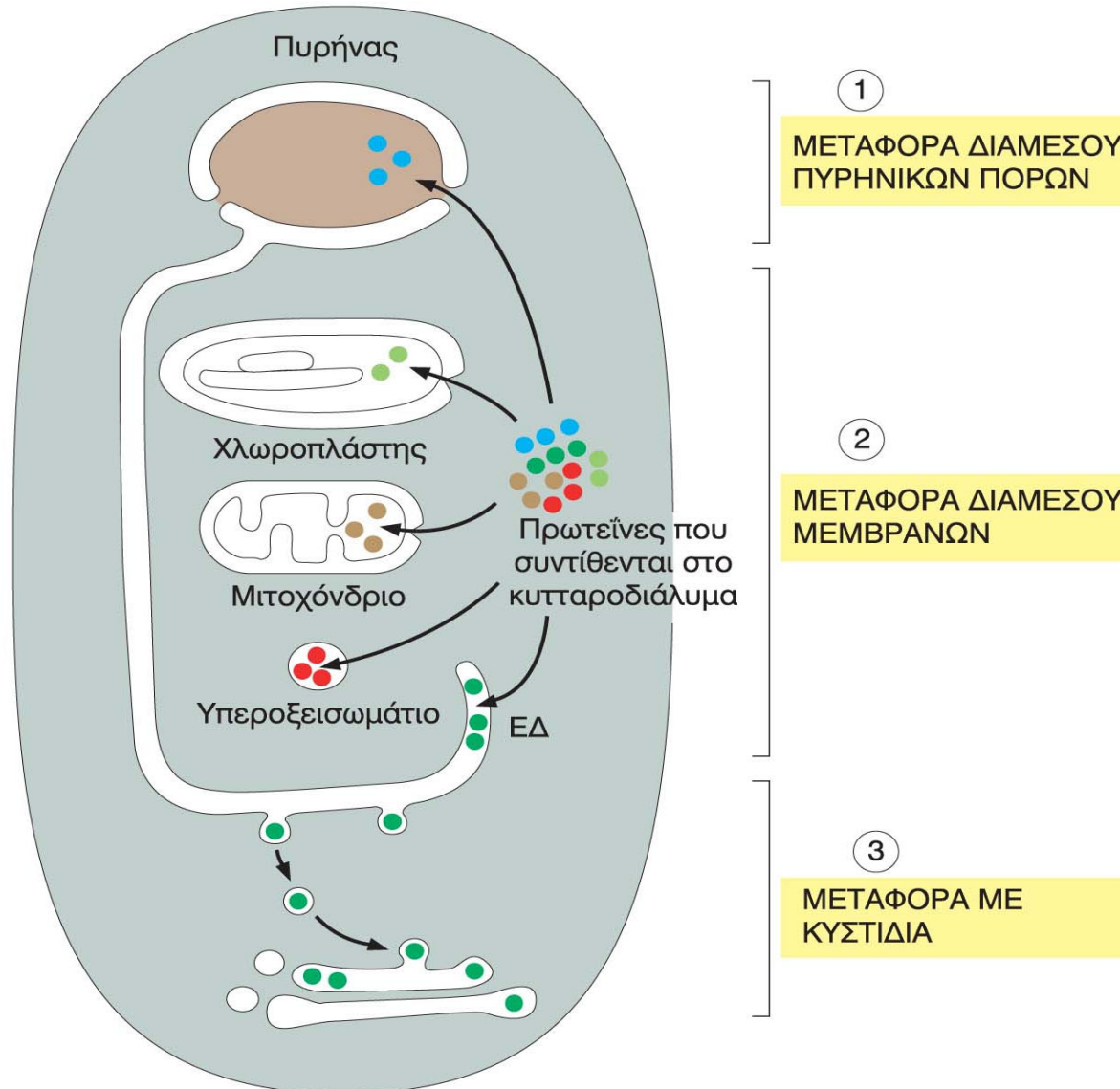
Οι πρωτεΐνες φέρουν συγκεκριμένες αμινοξικές ακολουθίες (σήματα) που τις οδηγούν στο σωστό υποκυτταρικό διαμέρισμα



Τα σήματα διαλογής είναι **απαραίτητα** και **ικανά** για να οδηγήσουν μια πρωτεΐνη σε ένα υποκυτταρικό διαμέρισμα

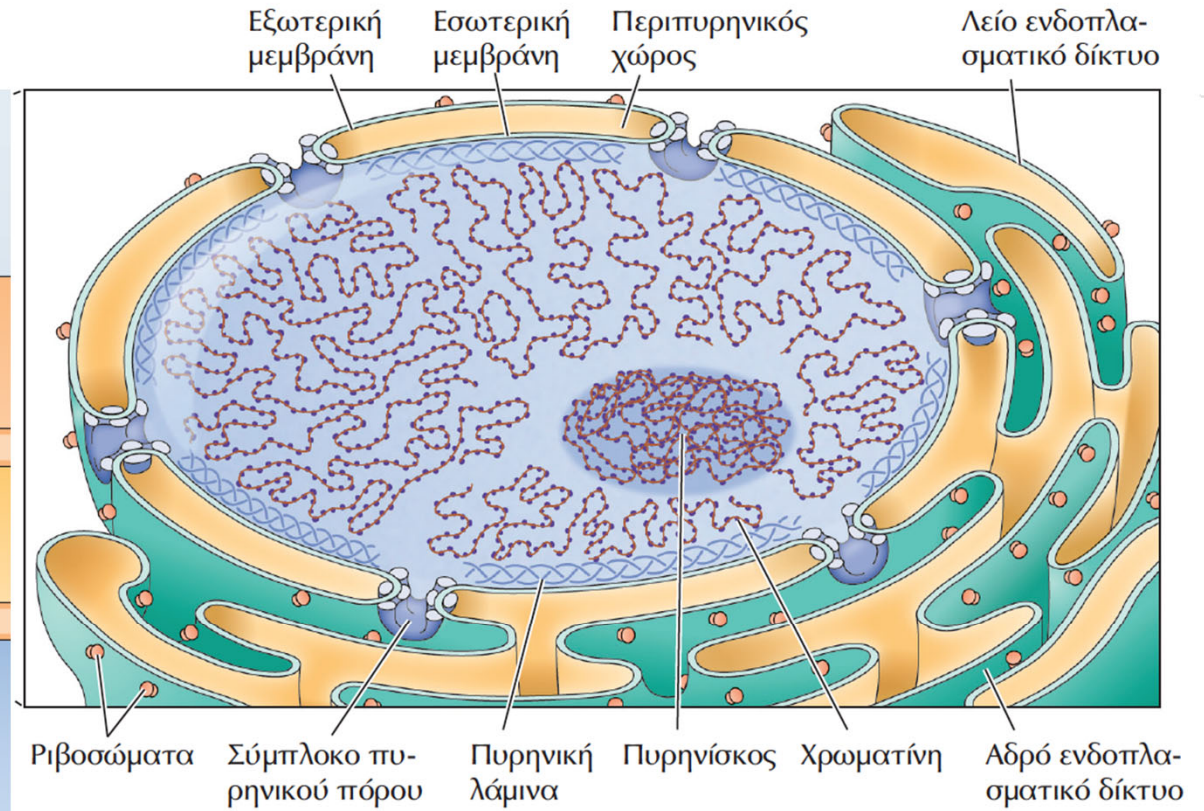
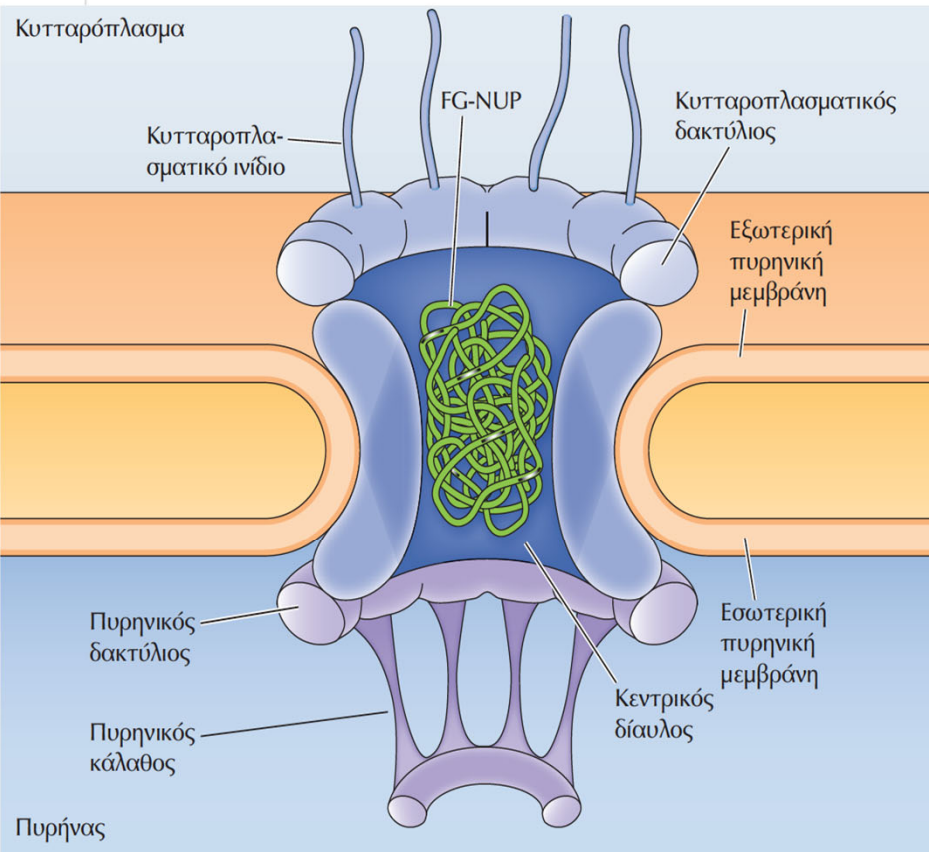
Διαλογή Πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κύτταρο προωθούνται προς το κυτταρικό διαμέρισμα για το οποίο προορίζονται.
Πώς περνάνε τις μεμβράνες?

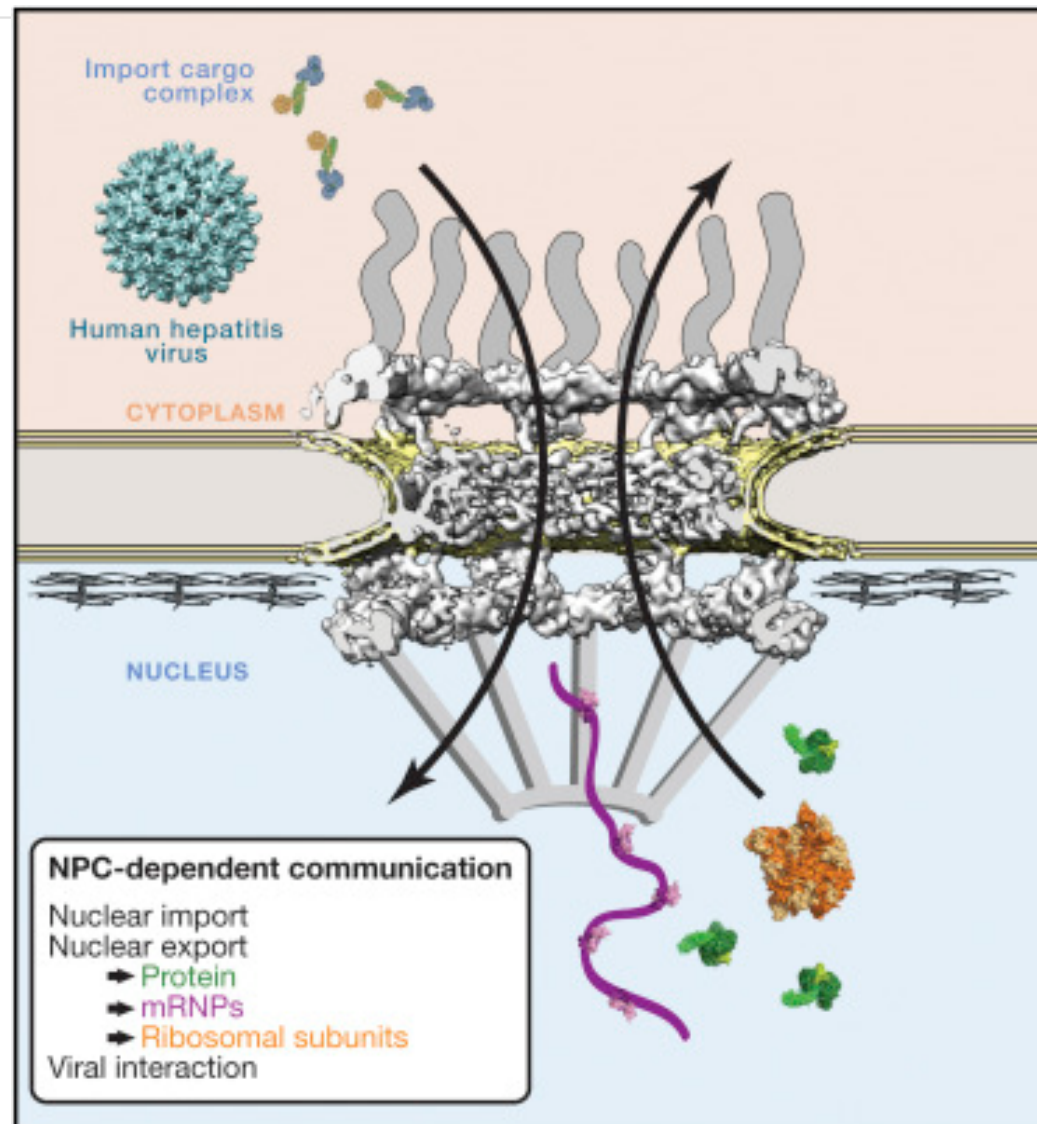


Η επικοινωνία με τον πυρήνα γίνεται μέσω πυρηνικών πόρων

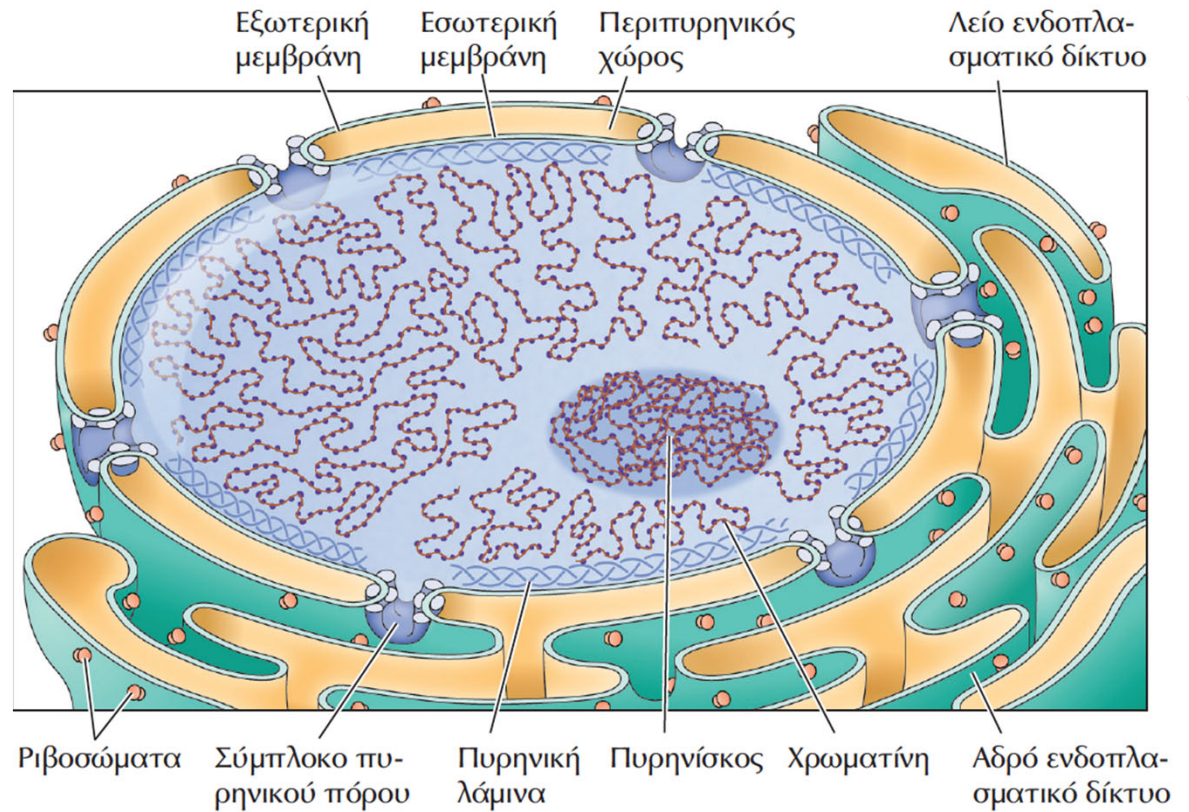
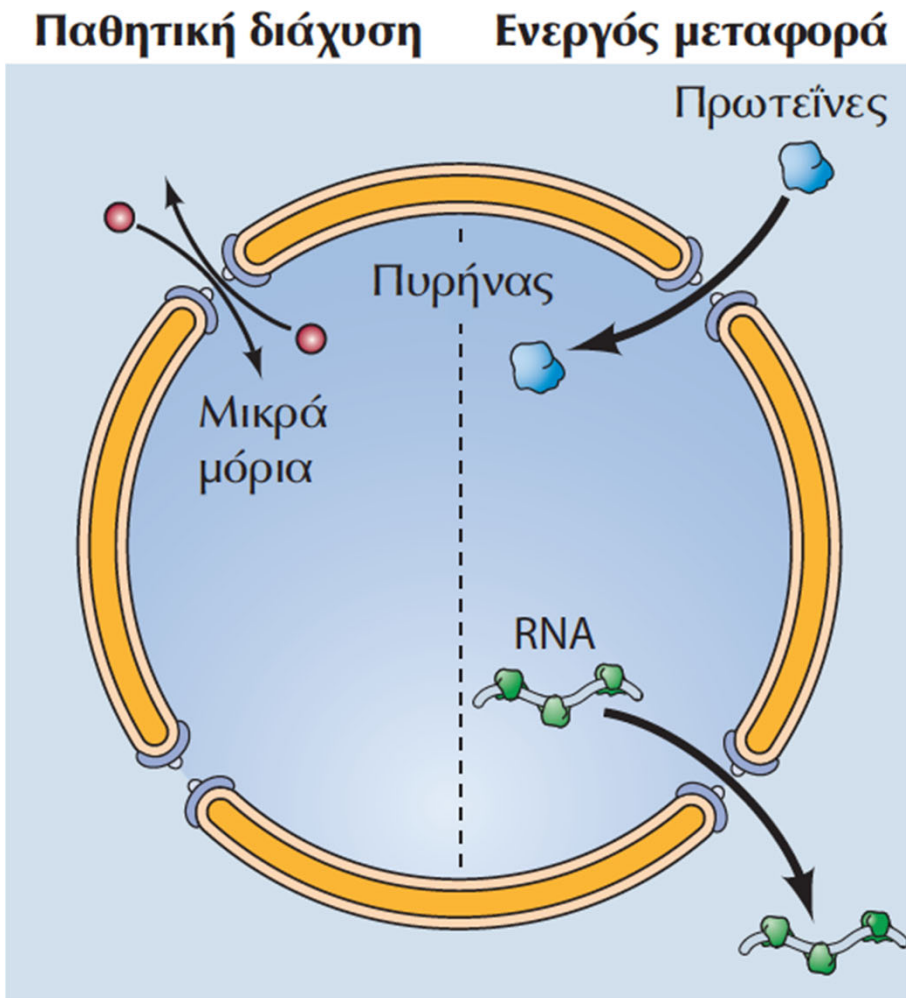
(Γ)



Οι πυρηνικοί πόροι είναι ιδιαίτερα μεγάλα πολυπρωτεϊνικά σύμπλοκα

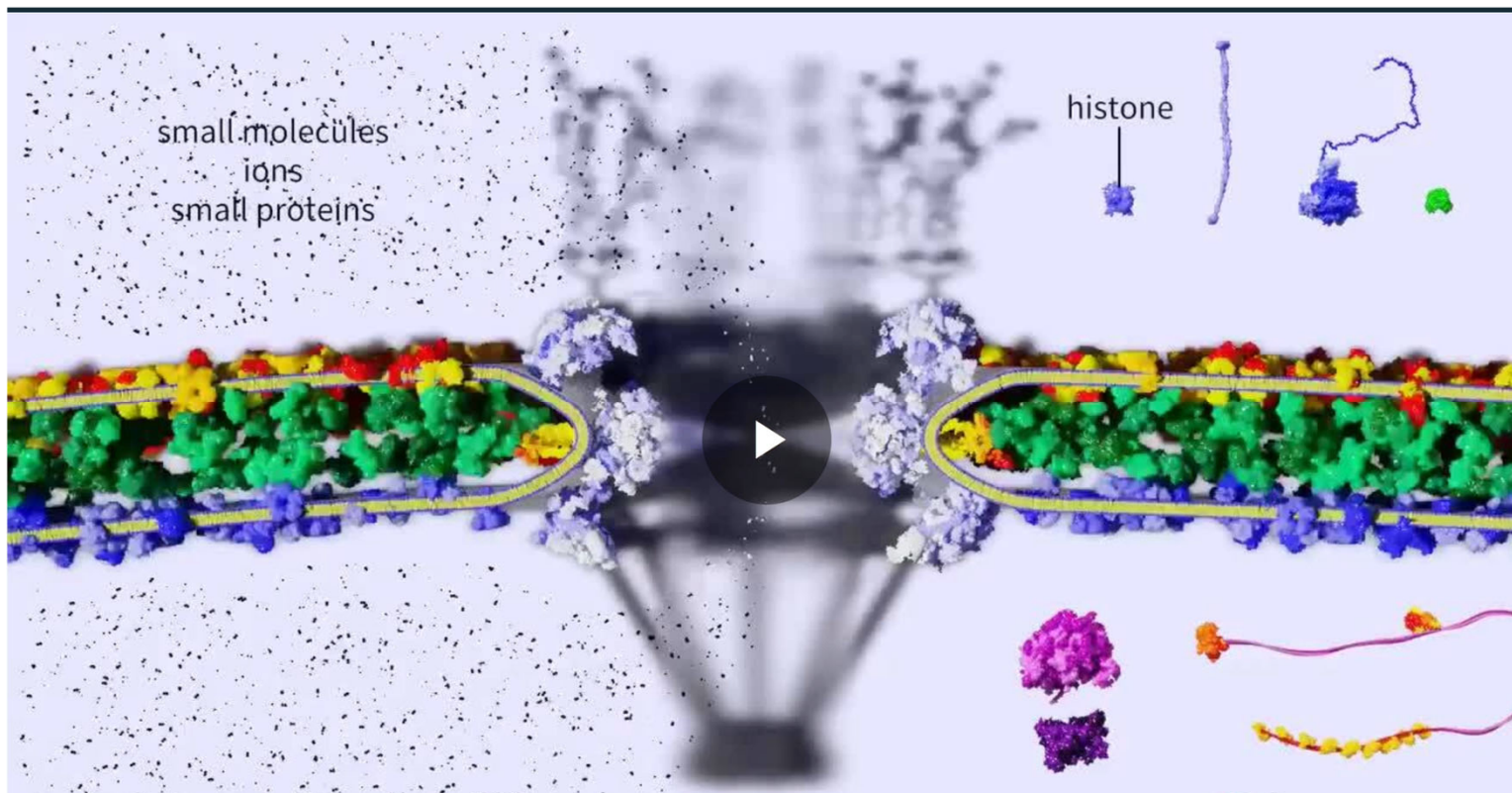


Εκλεκτική διέλευση μορίων μέσω των πυρηνικών πόρων



Είσοδος πρωτεϊνών – έξοδος mRNA,
ριβωσωμάτων, πρωτεϊνών
Απαιτείται κατανάλωση ενέργειας (ενεργητική
μεταφορά)

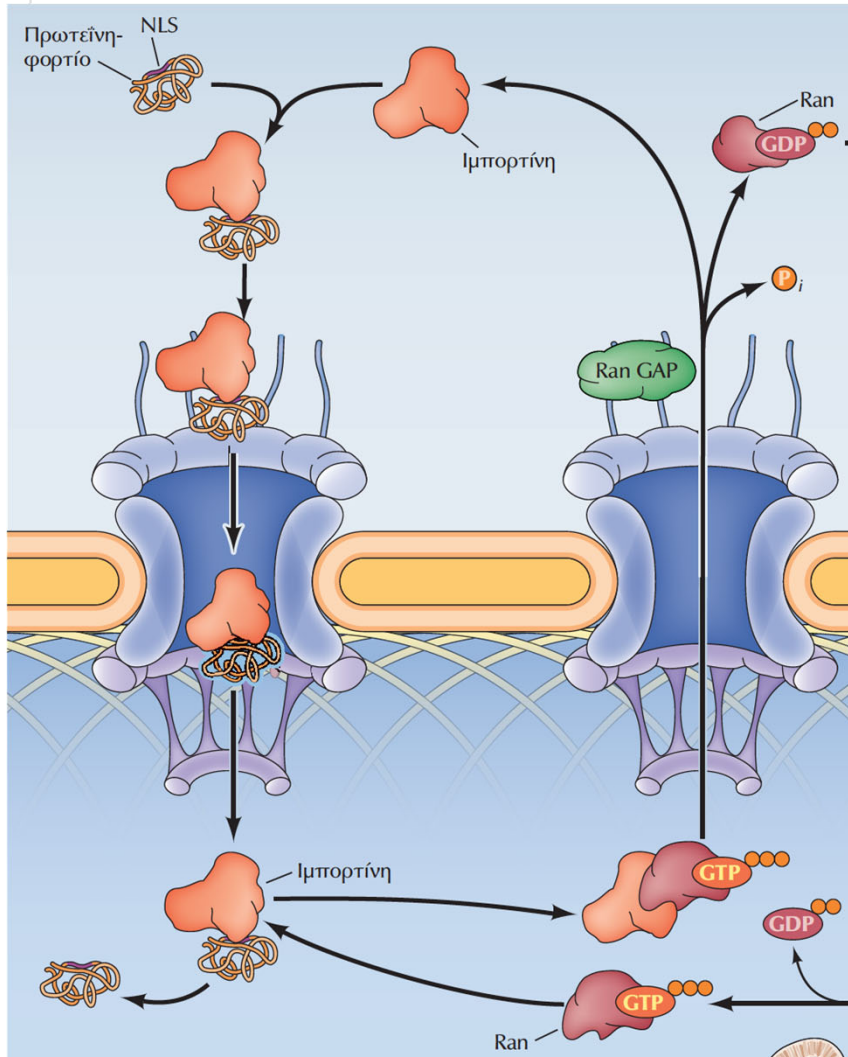
Είσοδος και έξοδος από τον πυρήνα συγκεκριμένων πρωτεϊνών που φέρουν τα σωστά σήματα



Σήμα πυρηνικού εντοπισμού
Nuclear localization signal **NLS**
Δέσμευση σε ειδικές
πρωτεΐνες = υποδοχείς
εισόδου στον πυρήνα -
μπορτίνες (importins)

Σήμα εξόδου από τον πυρήνα
Nuclear Export signal **NES**
Δέσμευση σε ειδικές
πρωτεΐνες = υποδοχείς εξόδου
από τον πυρήνα - εξπορτίνες
(exportins)

Η επικοινωνία με τον πυρήνα γίνεται μέσω πυρηνικών πόρων



Η πρωτεΐνη που φέρει **NLS** (η πρωτεΐνη προς μεταφορά καλείται και **φορτίο – cargo**) δεσμεύεται από έναν διαλυτό υποδοχέα στο κυτταρόπλασμα που καλείται ιμπορτίνη (importin, import=είσοδος)

Το σύμπλοκο πρωτεΐνης-φορτίου – ιμπορτίνης εισέρχεται από τους πυρηνικούς πόρους

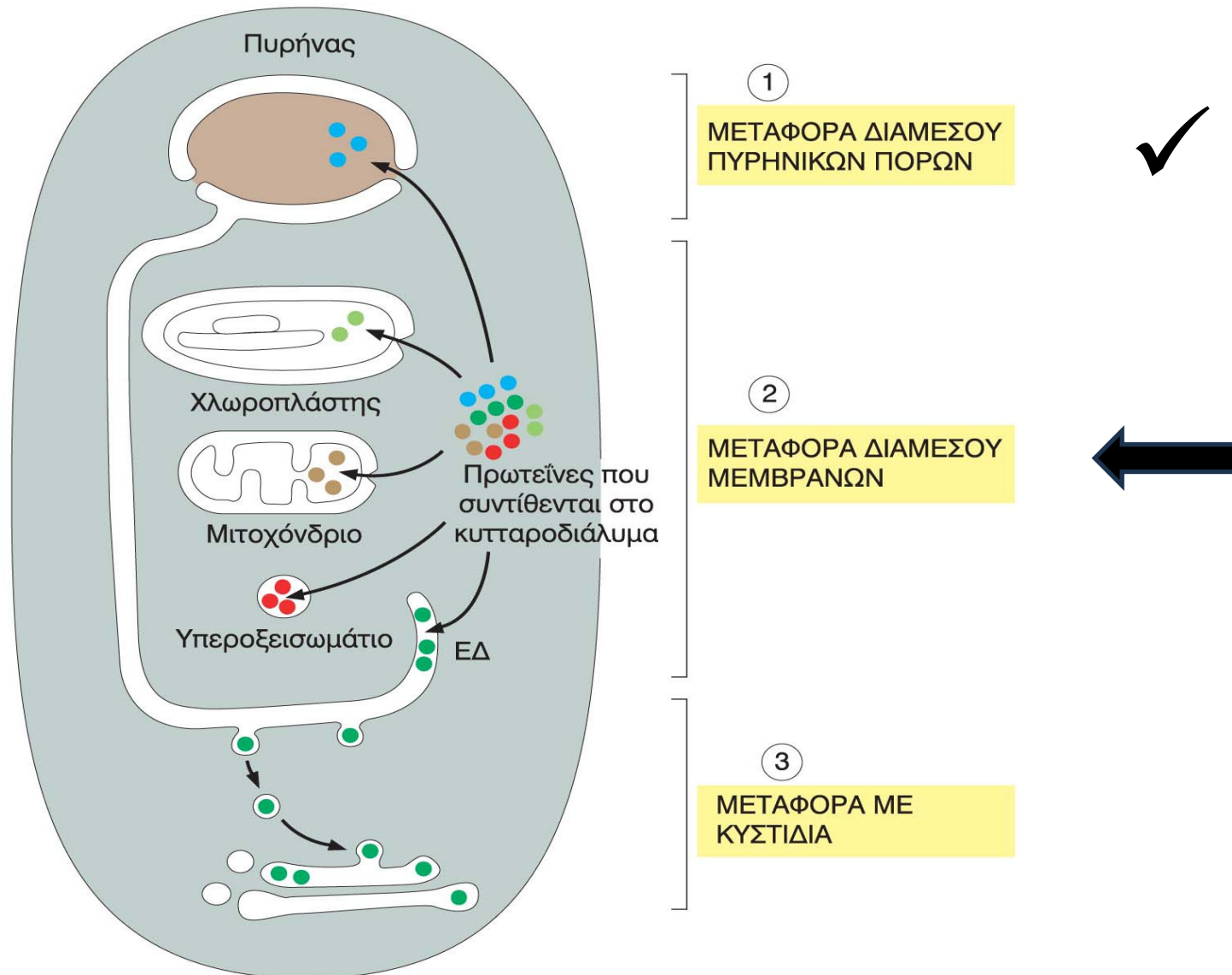
Η ιμπορτίνη επιστρέφει στο κυτταρόπλασμα

Στον κύκλο συμμετέχει μια μικρή GTPάση που λέγεται Ran

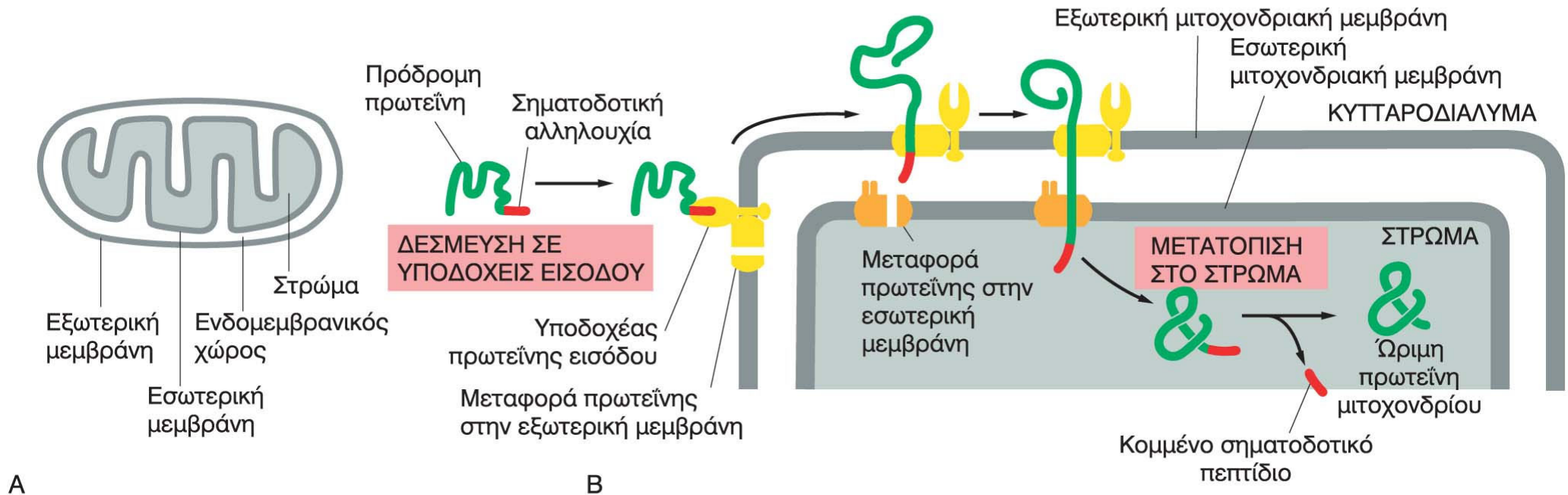
Η υδρόλυση του GTP από τη Ran παρέχει την ενέργεια για τη μεταφορά

Διαλογή Πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κύτταρο προωθούνται προς το κυτταρικό διαμέρισμα για το οποίο προορίζονται.
Πώς περνάνε τις μεμβράνες?



Είσοδος στα μιτοχόνδρια



- Μετάφραση σε ελεύθερα ριβοσώματα
- Δέσμευση σε υποδοχέα της μιτοχονδριακής μεμβράνης (λόγω ύπαρξης ειδικής αλληλουχίας σήματος στην προς μεταφορά πρωτεΐνη)
- Είσοδος μέσω πρωτεϊνών της μιτοχονδριακής μεμβράνης
- Η πρωτεΐνη-φορτίο ξεδιπλώνεται για να διέλθει της εξωτερικής και εσωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου

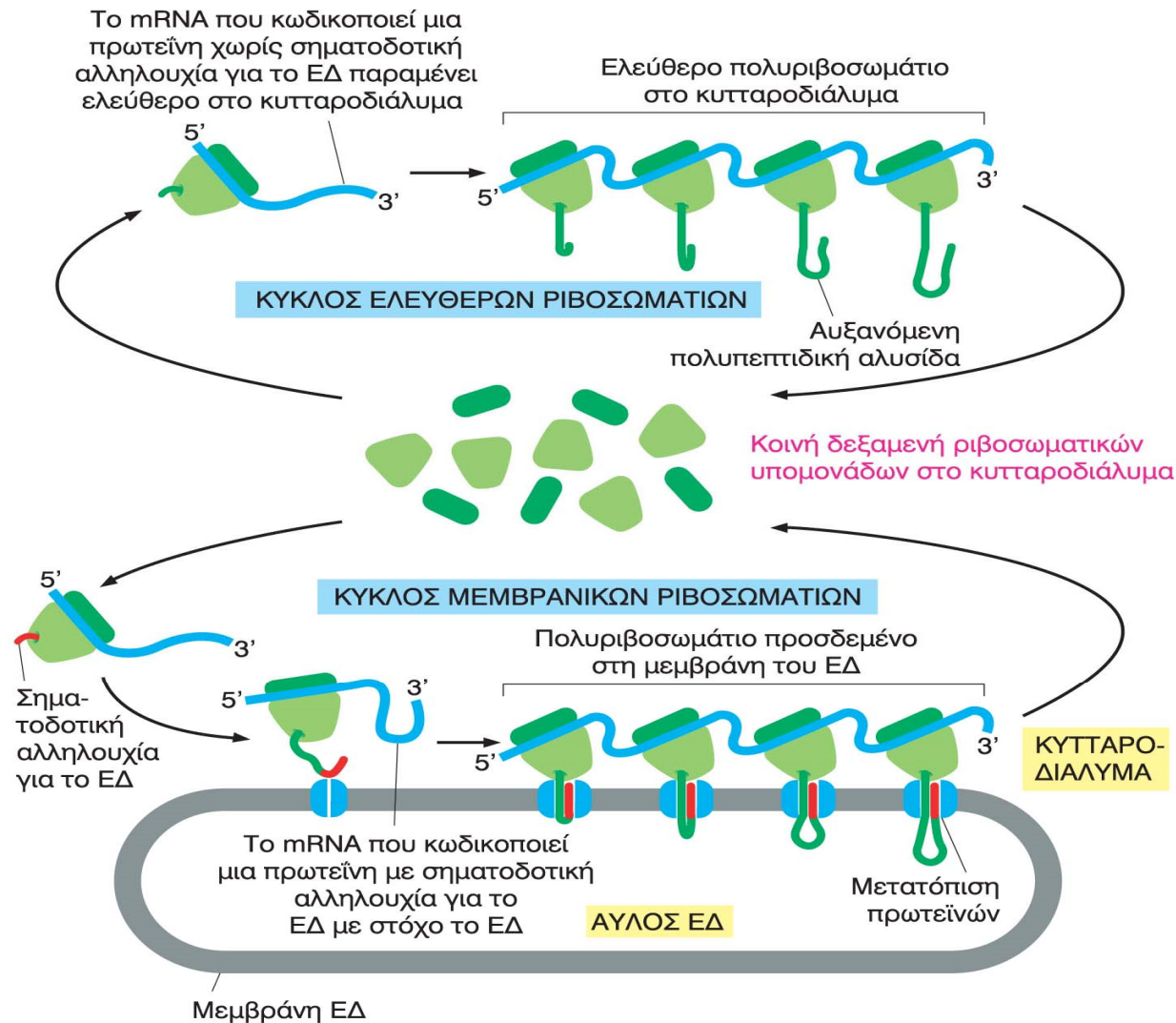
Είσοδος στα μιτοχόνδρια



Μετάφραση σε ελεύθερα
ριβოსώματα, είσοδος
μέσω πρωτεϊνών της
μιτοχονδριακής
μεμβράνης
Η προς μεταφορά
πρωτεΐνη ξεδιπλώνεται

Η πρωτεΐνες που προορίζονται για το ενδομεμβρανικό σύστημα ή για εξωκυττάρωση συντίθενται πάνω στο ενδοπλασματικό δίκτυο

Και μεταφέρονται στο εσωτερικό του ενδοπλασματικού δικτύου καθώς προχωράει η πρωτεΐνοσύνθεση – **συνμεταφραστική μεταφορά**

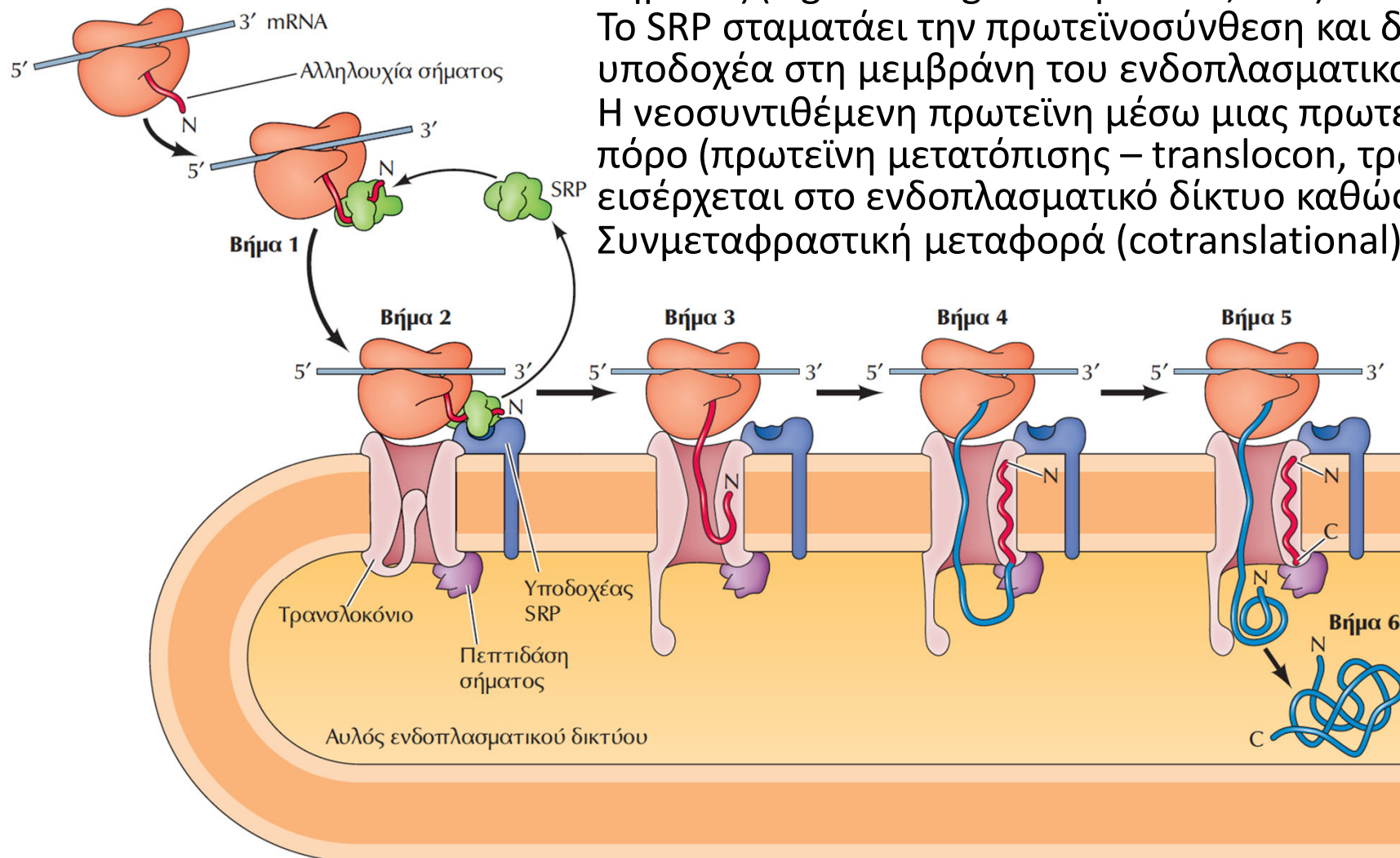


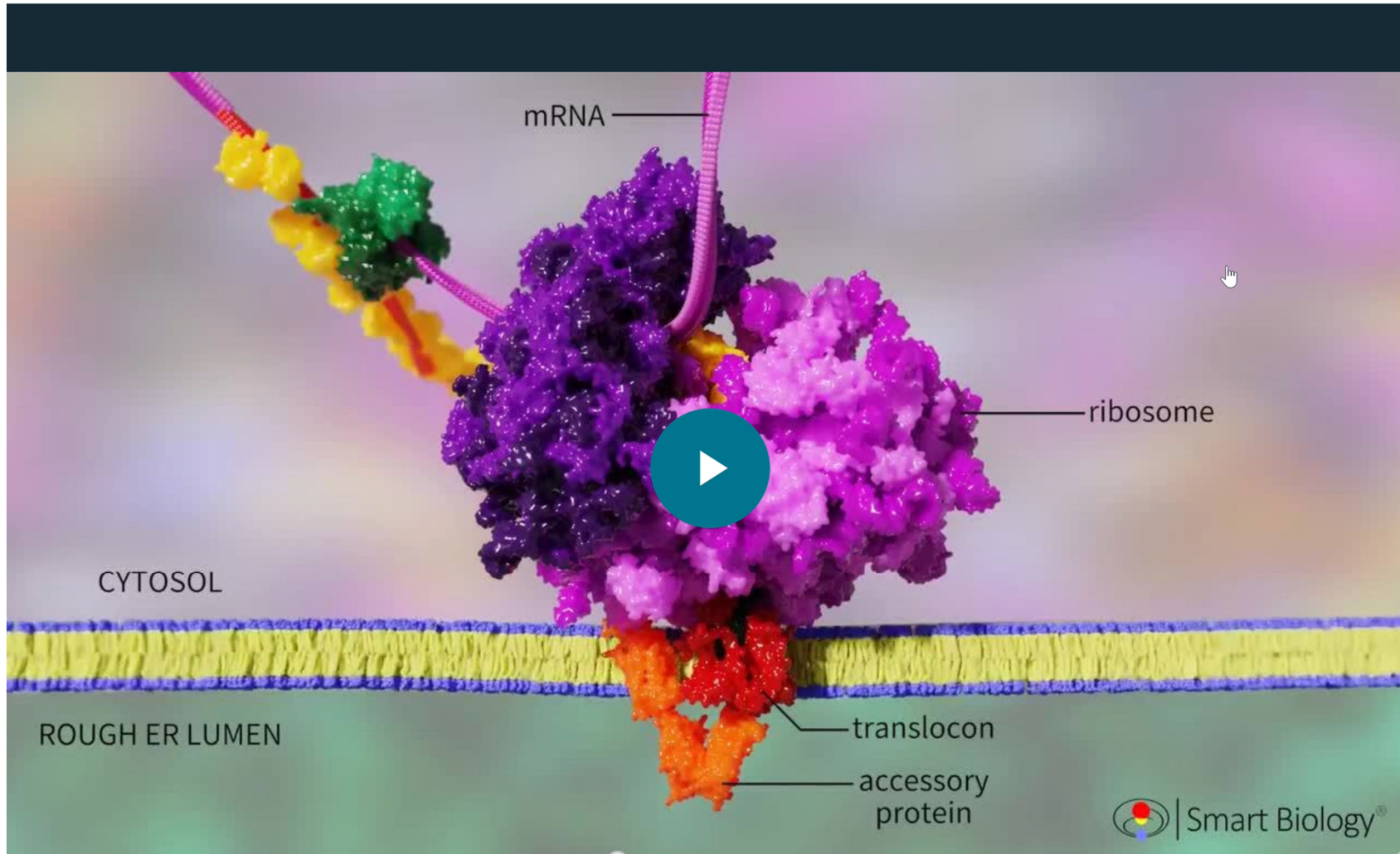
Μετά τη σύνθεση του αμινοτελικού άκρου, η συντιθέμενη πρωτεΐνη δεσμεύεται μέσω του Σωματιδίου Αναγνώρισης Σήματος (SRP) και του υποδοχέα του, στο ER, και εισέρχεται στον αυλό μέσω πρωτεΐνης μετάθεσης (τρανσλοκόνιο)

Η αλληλουχία σήματος δεσμεύεται από το σωματίο αναγνώρισης σήματος (Signal recognition particle, SRP)

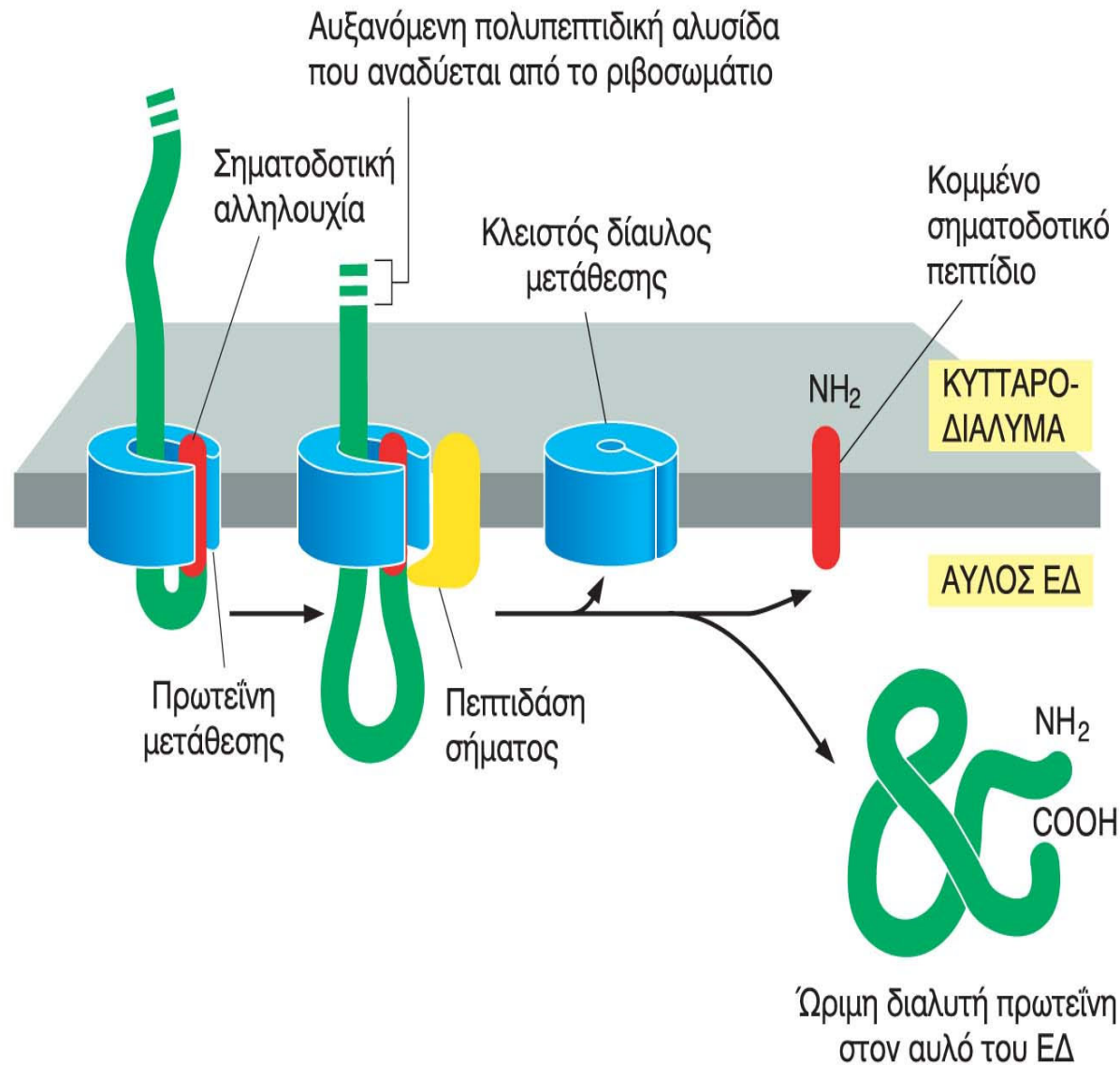
Το SRP σταματάει την πρωτεϊνοσύνθεση και δεσμεύεται σε έναν υποδοχέα στη μεμβράνη του ενδοπλασματικού.

Η νεοσυντιθέμενη πρωτεΐνη μέσω μιας πρωτεΐνης που σχηματίζει πόρο (πρωτεΐνη μετατόπισης – translocon, τρανσλοκόνιο) εισέρχεται στο ενδοπλασματικό δίκτυο καθώς μεταφράζεται Συνμεταφραστική μεταφορά (cotranslational)



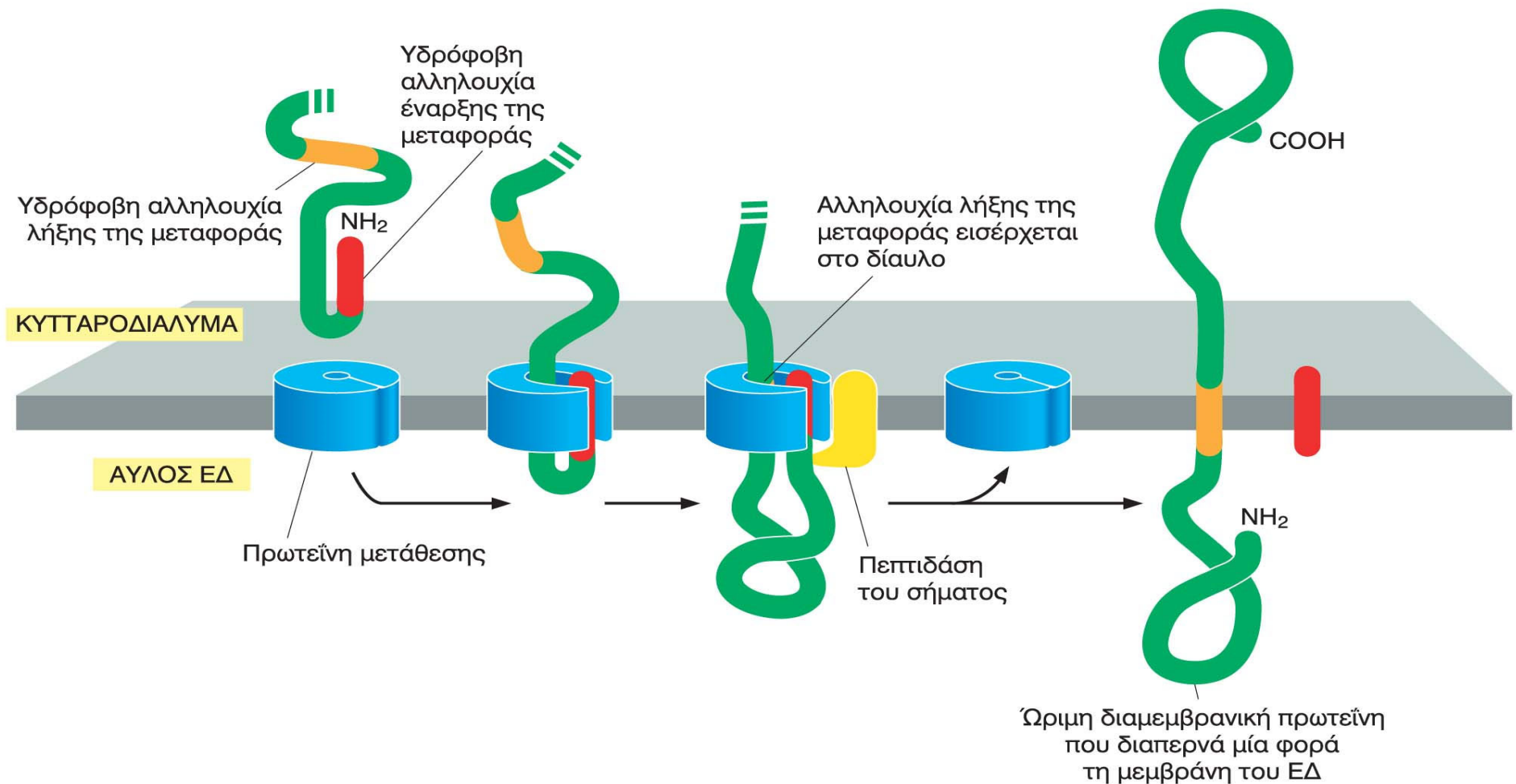


Μια πρωτεΐνη που φέρει μόνο μια N-τελική αλληλουχία σήματος θα διέλθει μέσω του τρανσλοκονίου τη μεμβράνη του ΕΔ και θα βρεθεί ως διαλυτή πρωτεΐνη στον αυλό του ΕΔ, ενώ η αλληλουχία σήματος θα αποκοπεί



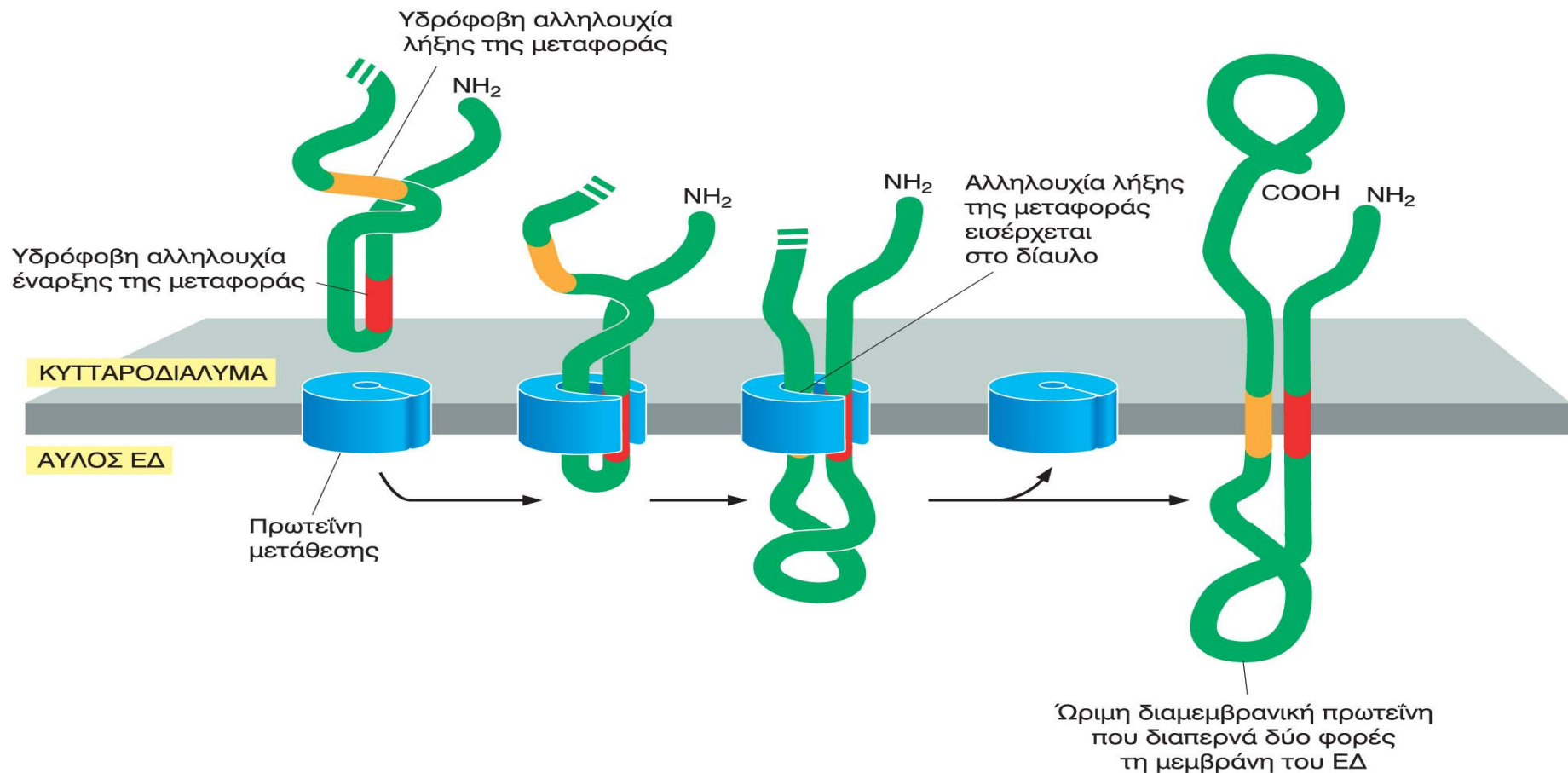
Εικόνα 15-15. Η μετατόπιση μιας διαλυτής πρωτεΐνης διαμέσου της μεμβράνης του ΕΔ μέσα στον αυλό. Μια πρωτεΐνη μετατόπισης πρωτεϊνών προσδένει τη σηματοδοτική αλληλουχία και μεταφέρει ενεργά το υπόλοιπο πολυπεπτίδιο διαμέσου της λιπιδικής διπλοστιβάδας σαν θηλιά. Σε κάποιο στάδιο της διεργασίας μεταφοράς, ο δίαυλος μετατόπισης ανοίγει στα πλάγια και απελευθερώνει την σηματοδοτική αλληλουχία μέσα στη διπλοστιβάδα, όπου αφαιρείται από ένα ένζυμο (μια πεπτιδάση σήματος). Το μεταφερόμενο πολυπεπτίδιο απελευθερώνεται μέσα στον αυλό του ΕΔ. Μόλις συμβεί αυτό, ο ανενεργός δίαυλος κλείνει. Για λόγους ευκρίνειας, το ριβοσωμάτιο που συνδέεται με τη μεμβράνη έχει παραλειφθεί από αυτήν και τις δύο επόμενες εικόνες.

Άλλες ειδικές αλληλουχίες (αλληλουχίες έναρξης και λήξης μεταφοράς) προσδιορίζουν τον προσανατολισμό μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης στη λιπιδική στοιβάδα

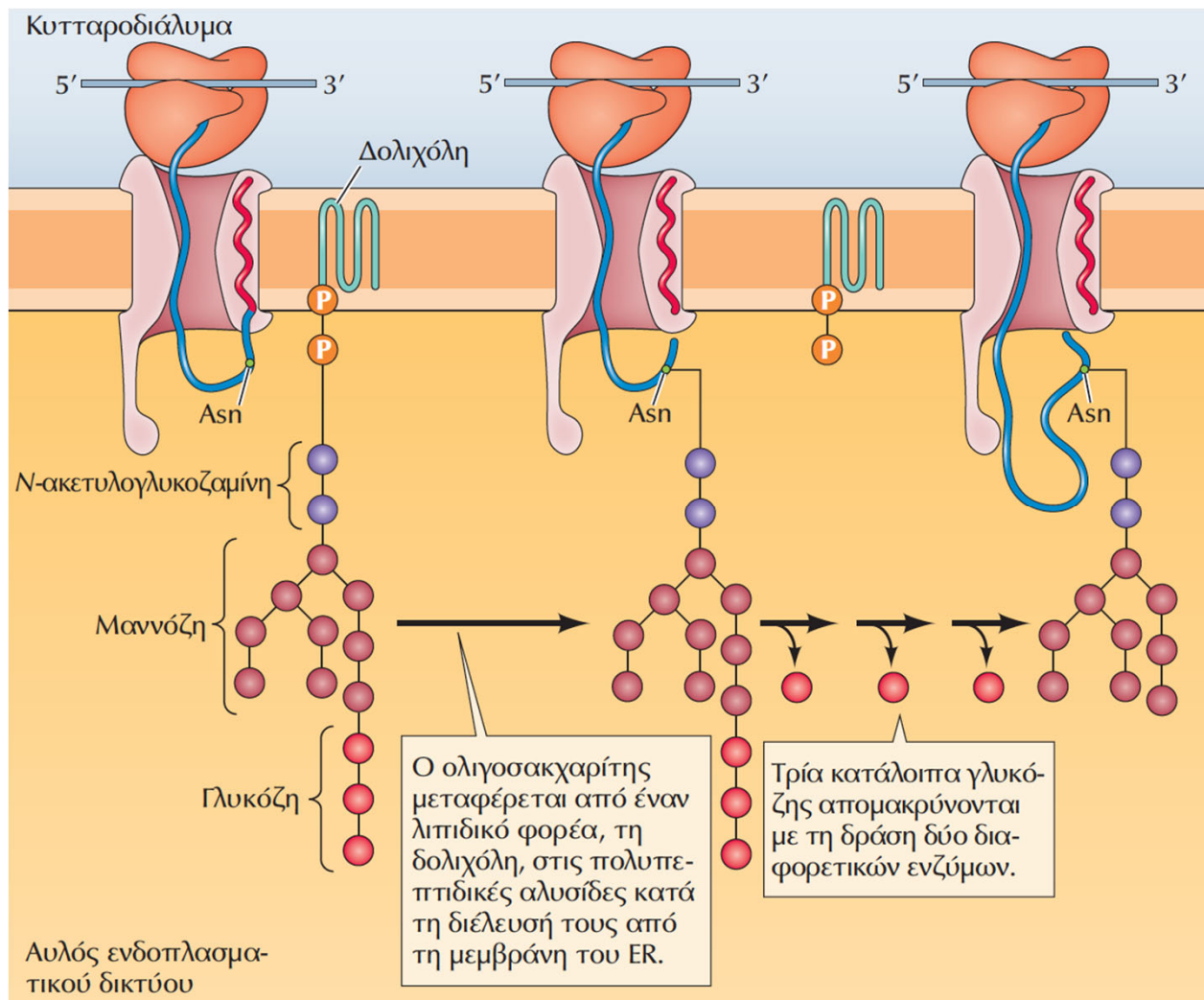


Ο συνδυασμός αλληλουχιών έναρξης και λήξης μεταφοράς καθορίζουν την τελική τοποθέτηση της διαμεμβρανικής πρωτεΐνης στη λιπιδική στοιβάδα

Μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη μπορεί να περνάει τη μεμβράνη πολλές φορές (πχ GPCRs, 7 διαμεμβρανικά τμήματα)

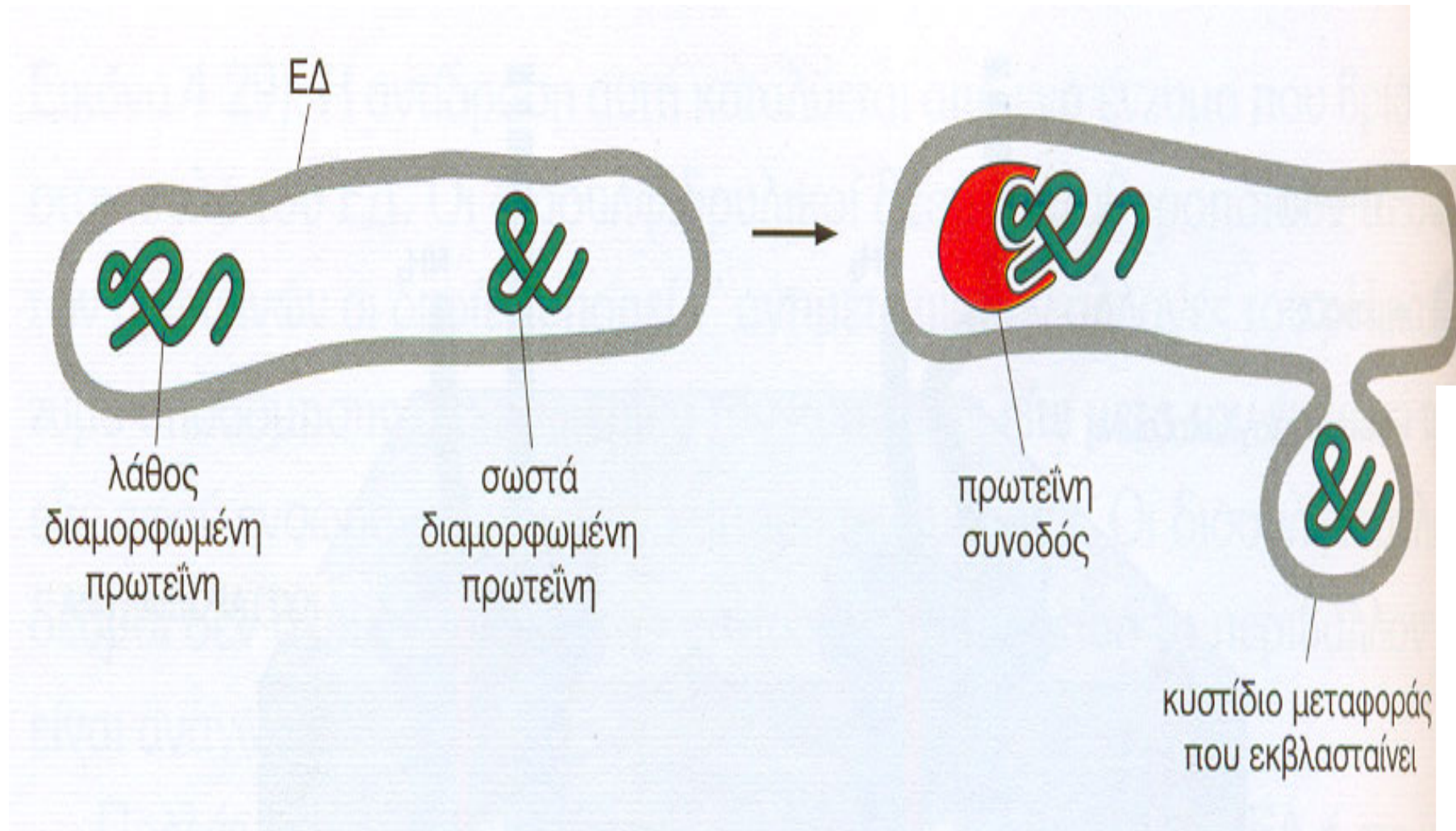


Στο ενδοπλασματικό δίκτυο οι πρωτεΐνες τροποποιούνται δισουλφιδικοί δεσμοί - γλυκοζυλίωση



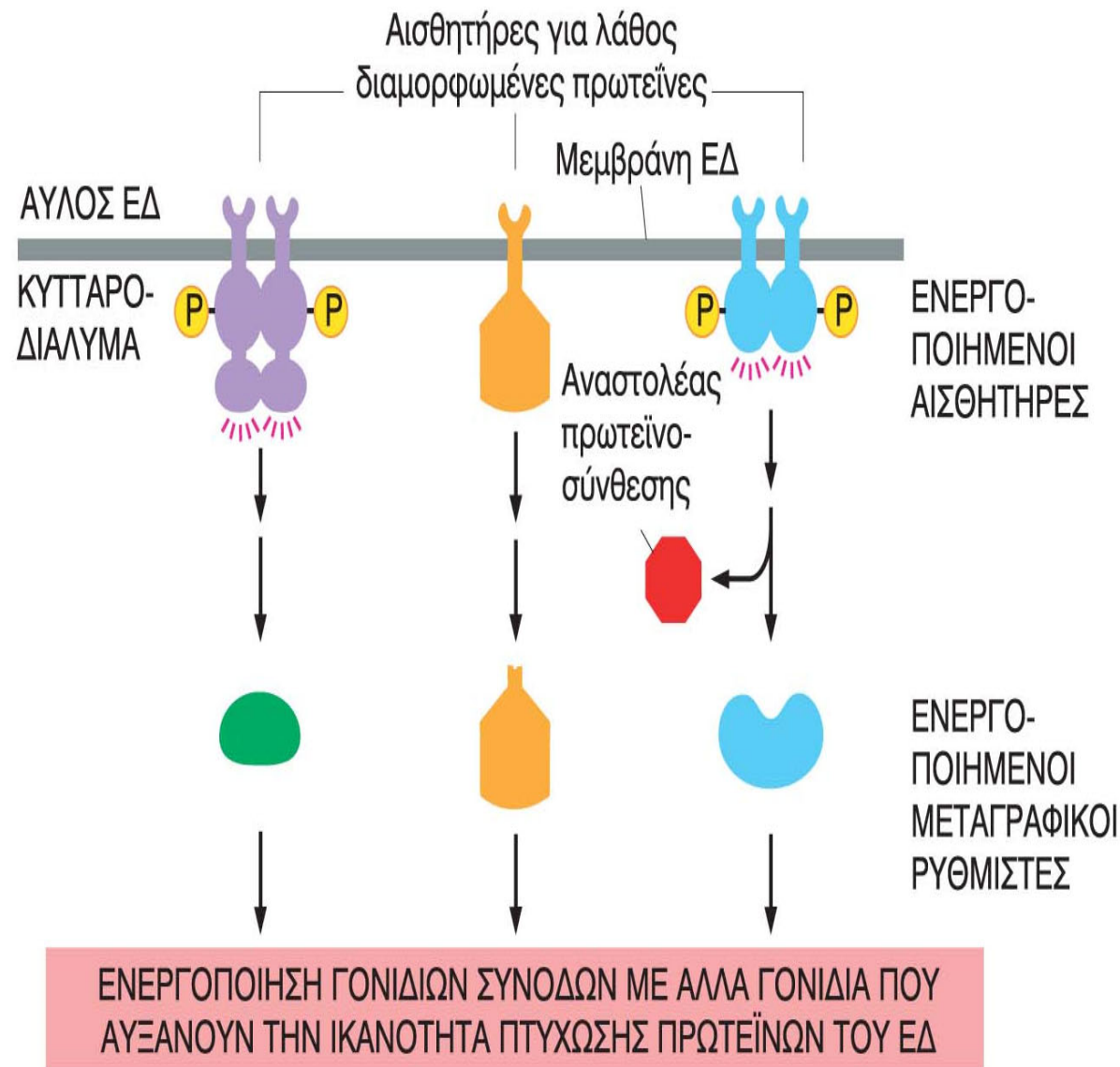
Αλυσίδες ολιγοσακχαρίτη μεταφέρονται από την εσωτερική μεμβράνη του ER σε κατάλοιπα ασπαραγίνης της νεοσυντιθέμενης αλυσίδας.

Στο Ενδοπλασματικό Δίκτυο γίνεται ο έλεγχος ποιότητας των πρωτεϊνών



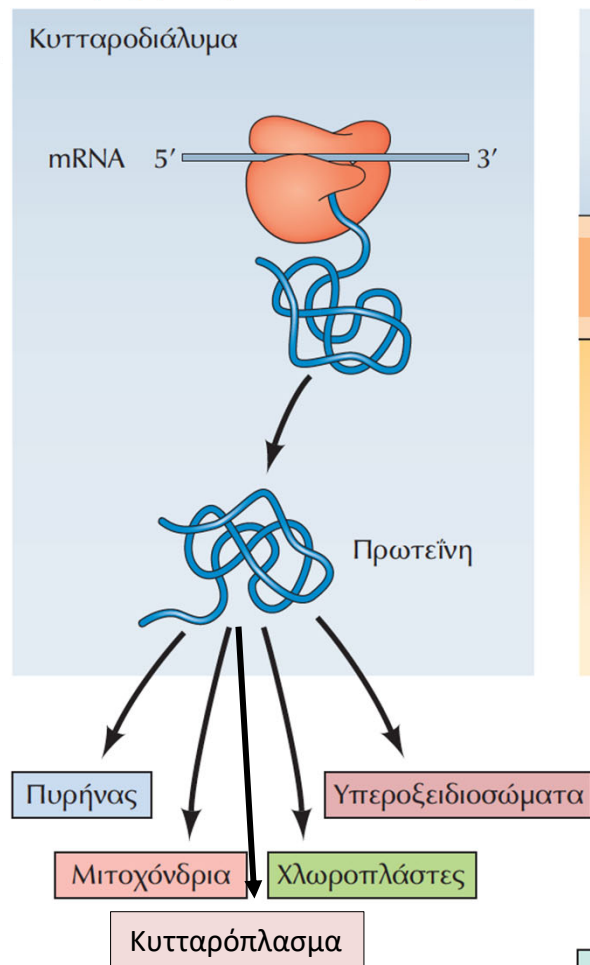
Έλεγχος ποιότητας πρωτεϊνών από συνοδούς πρωτεΐνες
Παραδείγματα: Μια μετάλλαξη Κυστικής Ύψωσης
Συγκρότηση των αντισωμάτων με 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες

Η συσσώρευση μη αναδιπλωμένων πρωτεϊνών εκκινεί μονοπάτια απόκρισης (Unfolded protein response, UPR) που σταματούν την πρωτεϊνοσύνθεση και επάγουν μεταγραφή γονιδίων του στρες

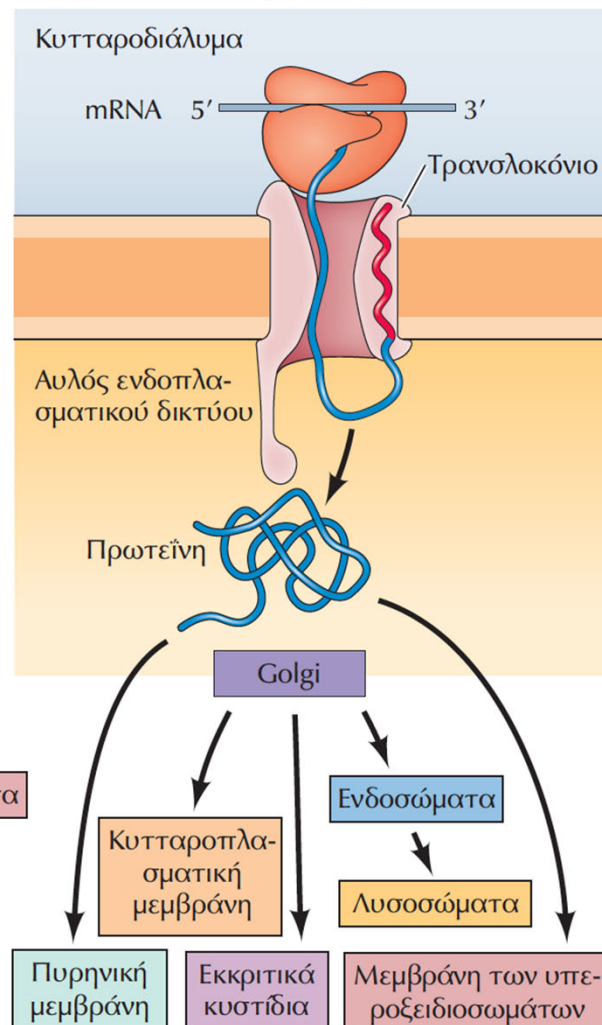


Πώς οι πρωτεΐνες καταλήγουν στο σωστό υποκυτταρικό διαμέρισμα (διαλογή πρωτεϊνών – protein sorting)

Ελεύθερα ριβοσώματα στο κυτταρόπλασμα



Μεμβρανosύνδετα ριβοσώματα



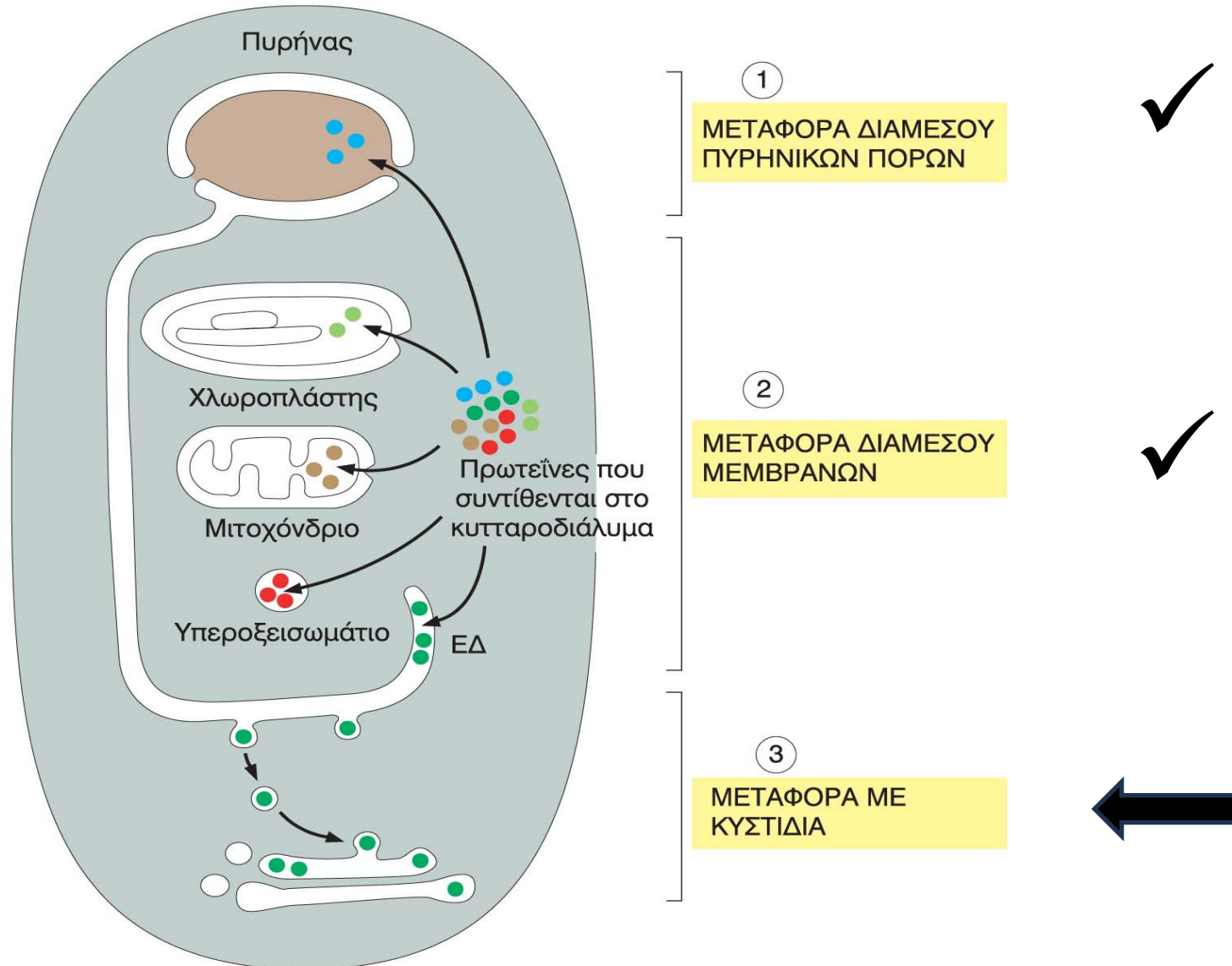
Δύο βασικά μονοπάτια:

- Η πρωτεϊνοσύνθεση ολοκληρώνεται σε **ελεύθερα ριβοσώματα** στο κυτταρόπλασμα

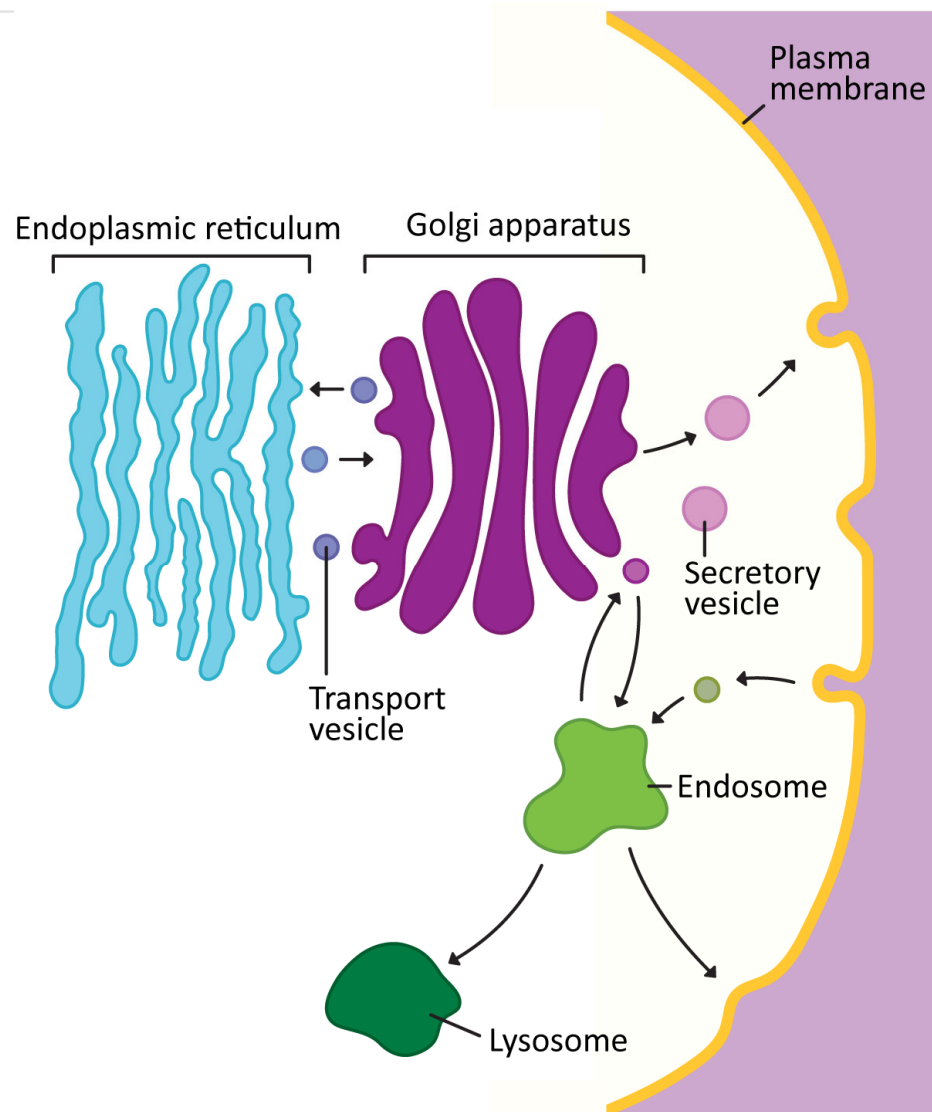
- Η πρωτεϊνοσύνθεση ολοκληρώνεται σε **ριβοσώματα συνδεδεμένα στο ενδοπλασματικό δίκτυο**

Διαλογή Πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κύτταρο προωθούνται προς το κυτταρικό διαμέρισμα για το οποίο προορίζονται.
Πώς περνάνε τις μεμβράνες?



Οι νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες μεταφέρονται από το ενδοπλασματικό δίκτυο, στο Golgi και από εκεί στην κυτταρική μεμβράνη (εκκριτική οδός) ή το λυσόσωμα



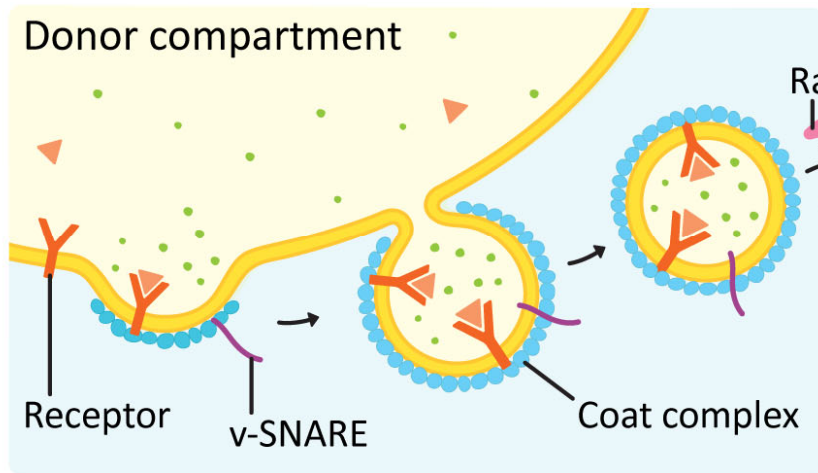
Η μεταφορά γίνεται με **κυστίδια** που αποκόπτονται από το ένα διαμέρισμα (εκβλάστηση, budding) και συντήκονται με τη μεμβράνη του επόμενου διαμερίσματος (σύντηξη, fusion)

Συσκευή Golgi: **σταθμός διαλογής πρωτεϊνών**

Η μεταφορά είναι **αμφίδρομη**

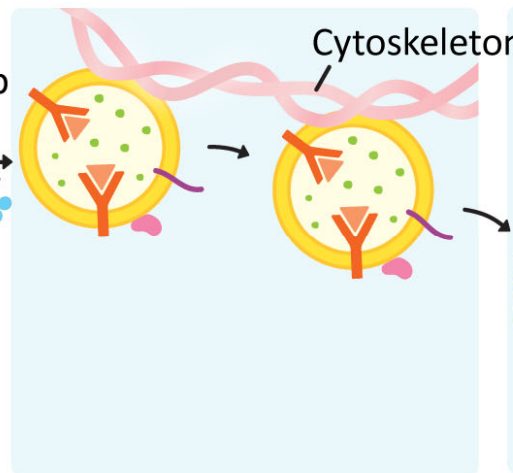
Τα βασικά βήματα της μεταφοράς με κυστίδια

1. Budding



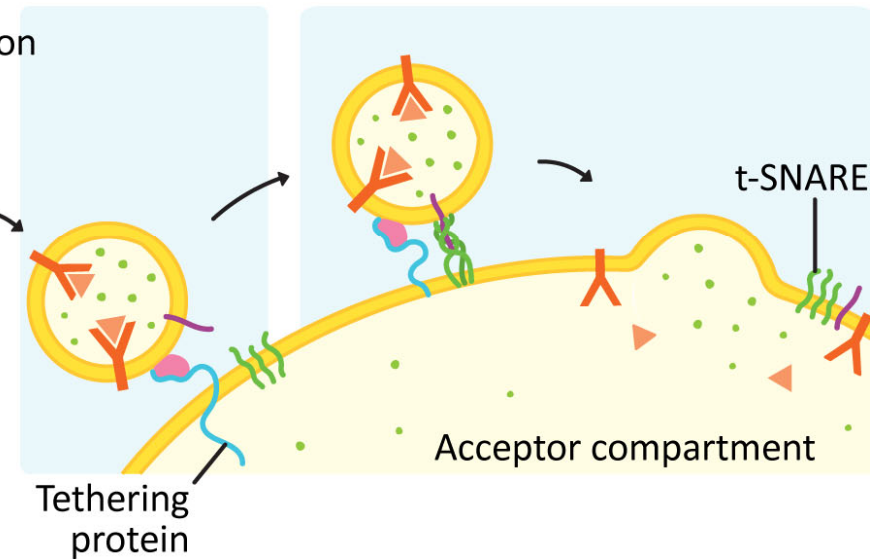
Εκβλάστηση

2. Transport



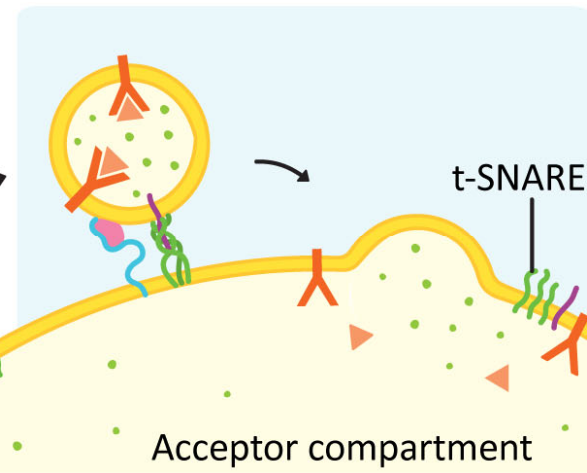
Μεταφορά

3. Docking



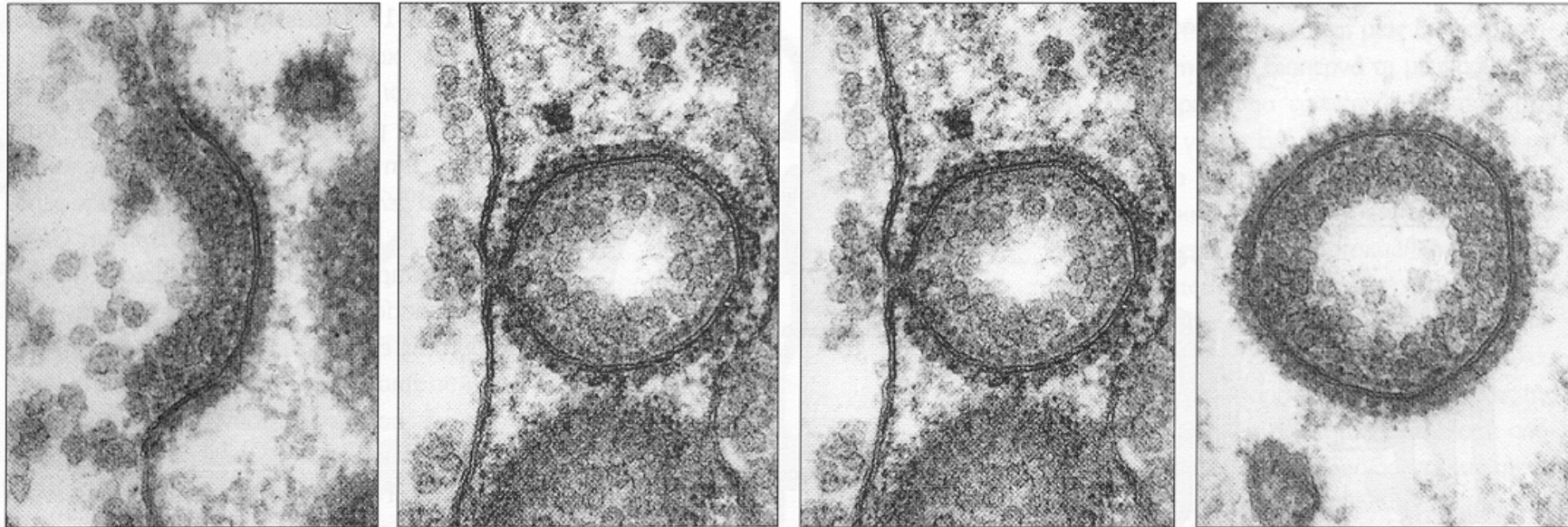
Προσάραξη

4. Fusion



Σύντηξη

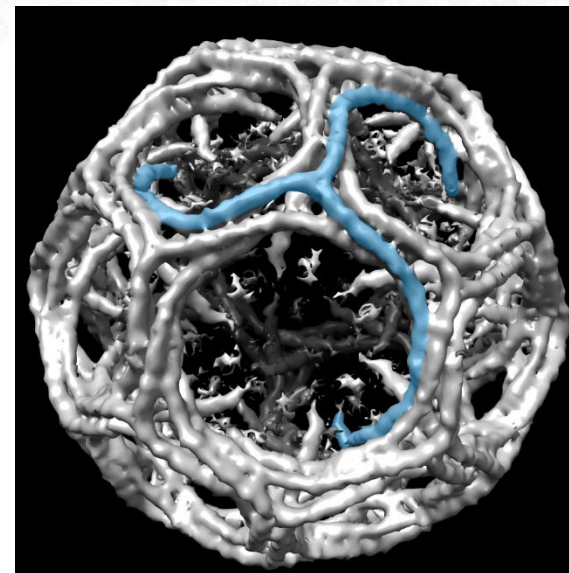
Ειδικές πρωτεΐνες που σχηματίζουν κάλυμα προωθούν την εκβλάστηση κυστιδίων



(A)

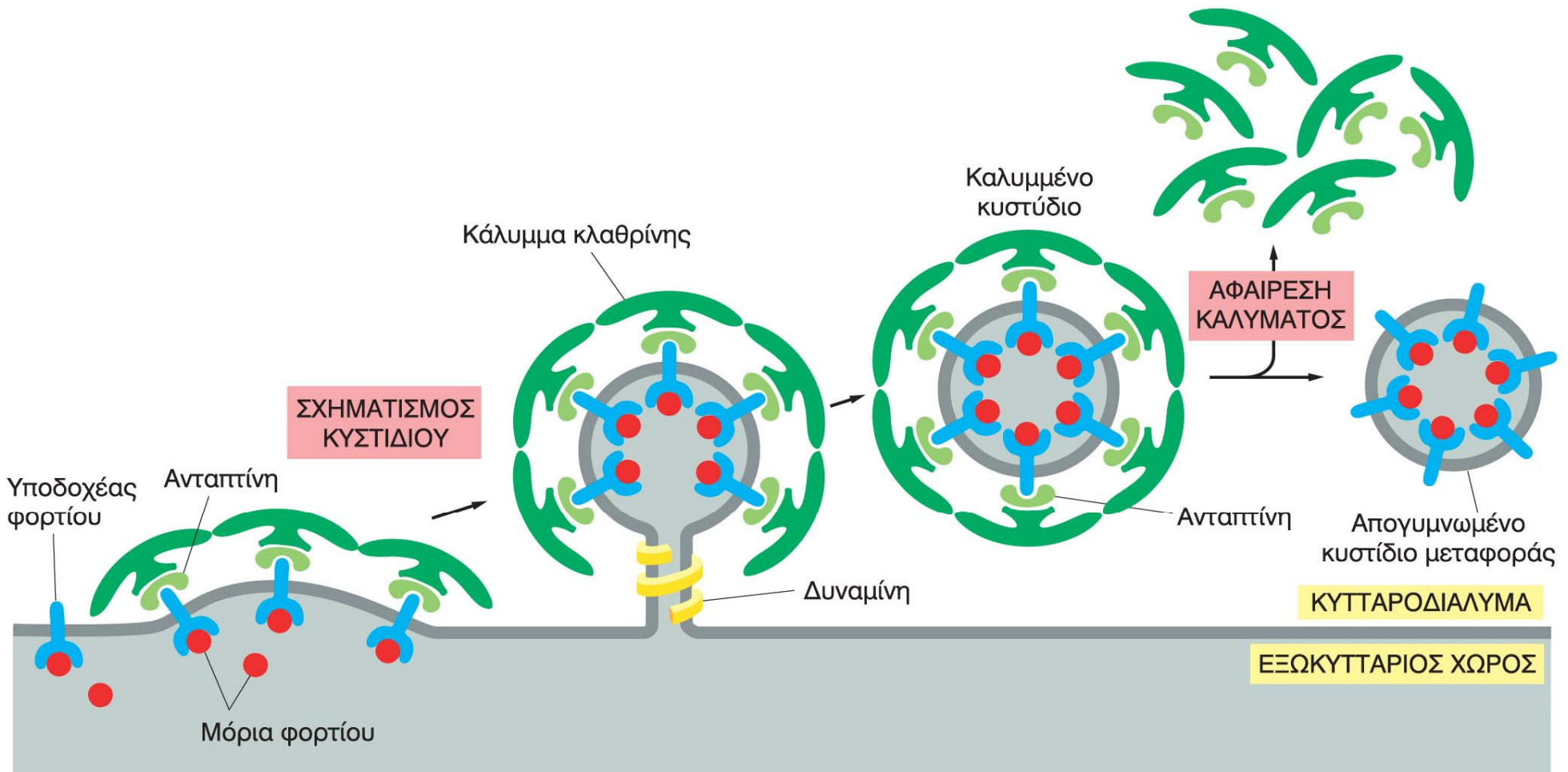
Συγκρότηση ενός πρωτεϊνικού
καλύμματος κλαθρίνης

Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου



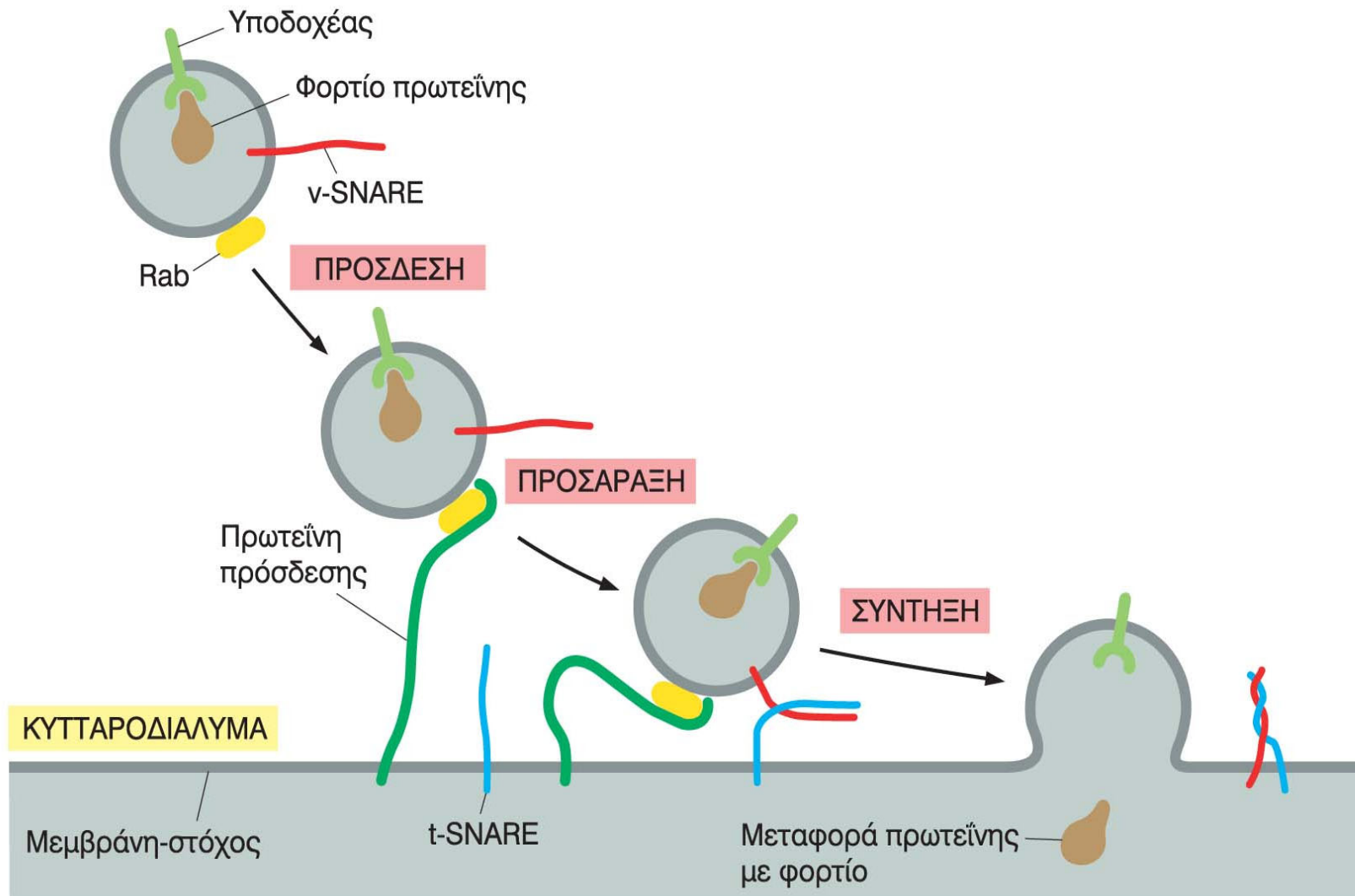
Πώς πακετάρονται συγκεκριμένες πρωτεΐνες σε συγκεκριμένα κυστίδια?

Ειδικό υποδοχείς προσδένουν συγκεκριμένα φορτία και προωθούν το επιλεκτικό πακετάρισμα πρωτεϊνών σε κυστίδια

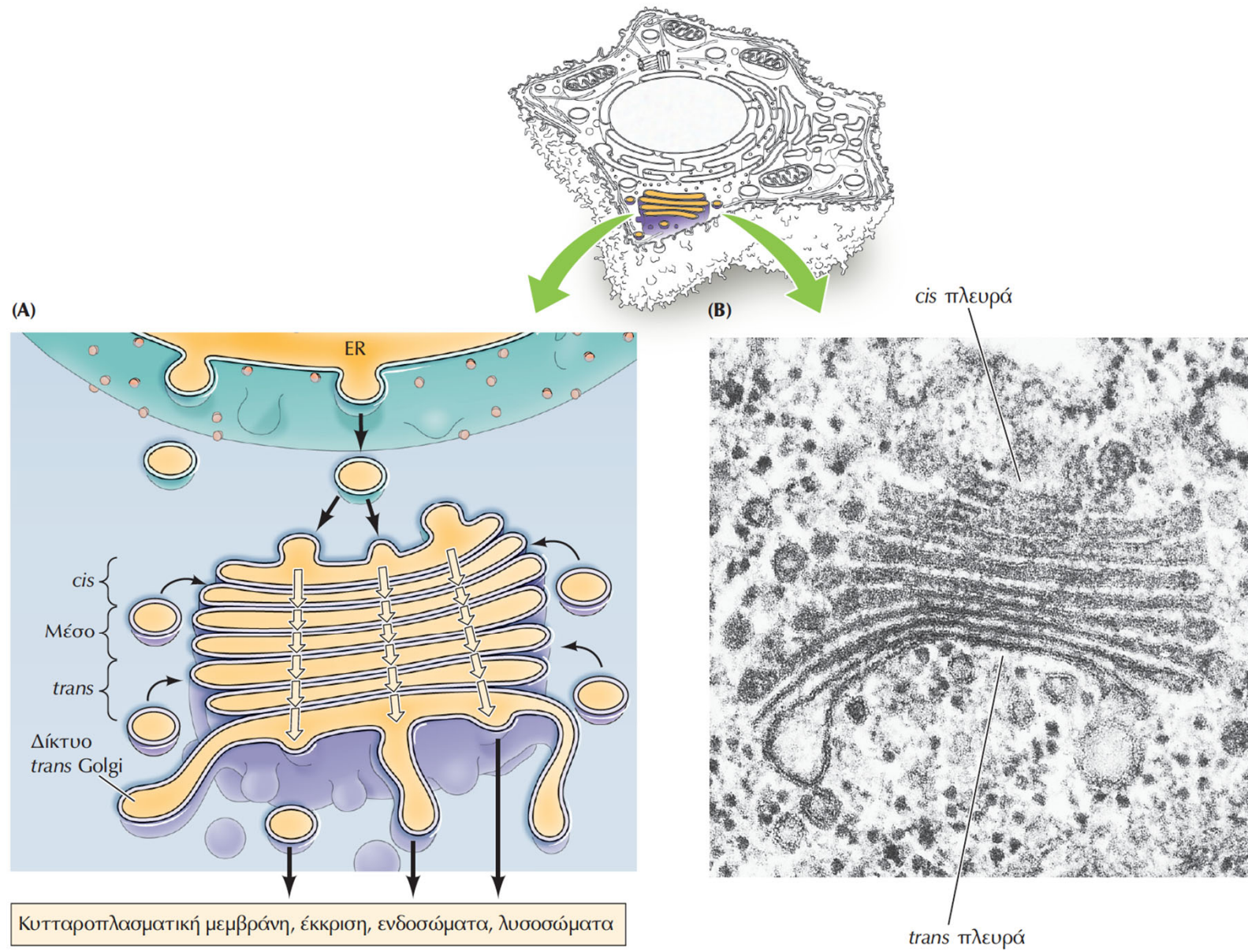


Γιατί συγκεκριμένα κυστίδια συντήκονται με συγκεκριμένες μεμβράνες στόχους?

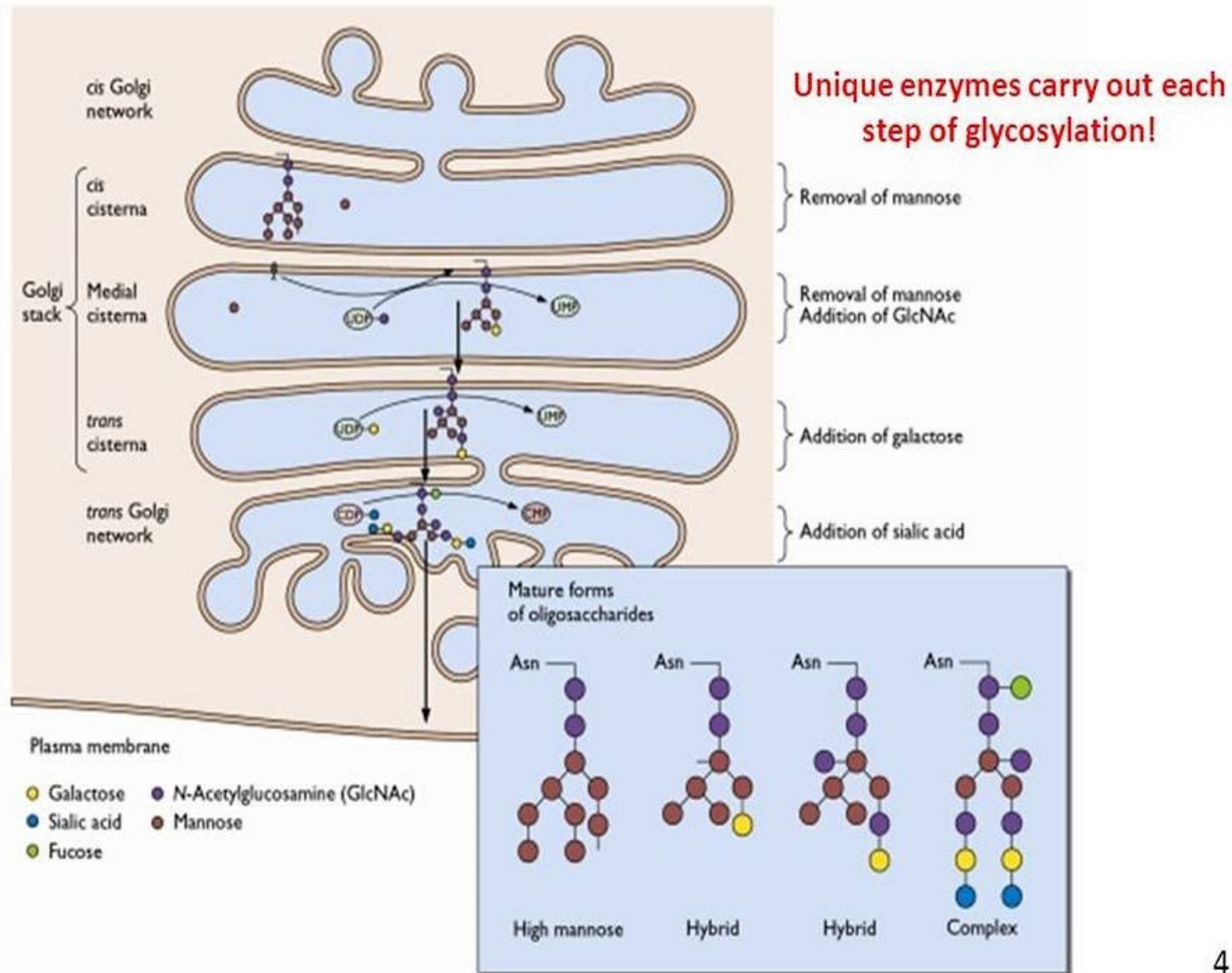
Πρωτεΐνες στη μεμβράνη των κυστιδίων καθορίζουν το
πού θα προσαράξει και εαν θα συντηχθεί ένα κυστίδιο



Οι πρωτεΐνες μεταφέρονται από το ER στο Golgi (cis -> trans)

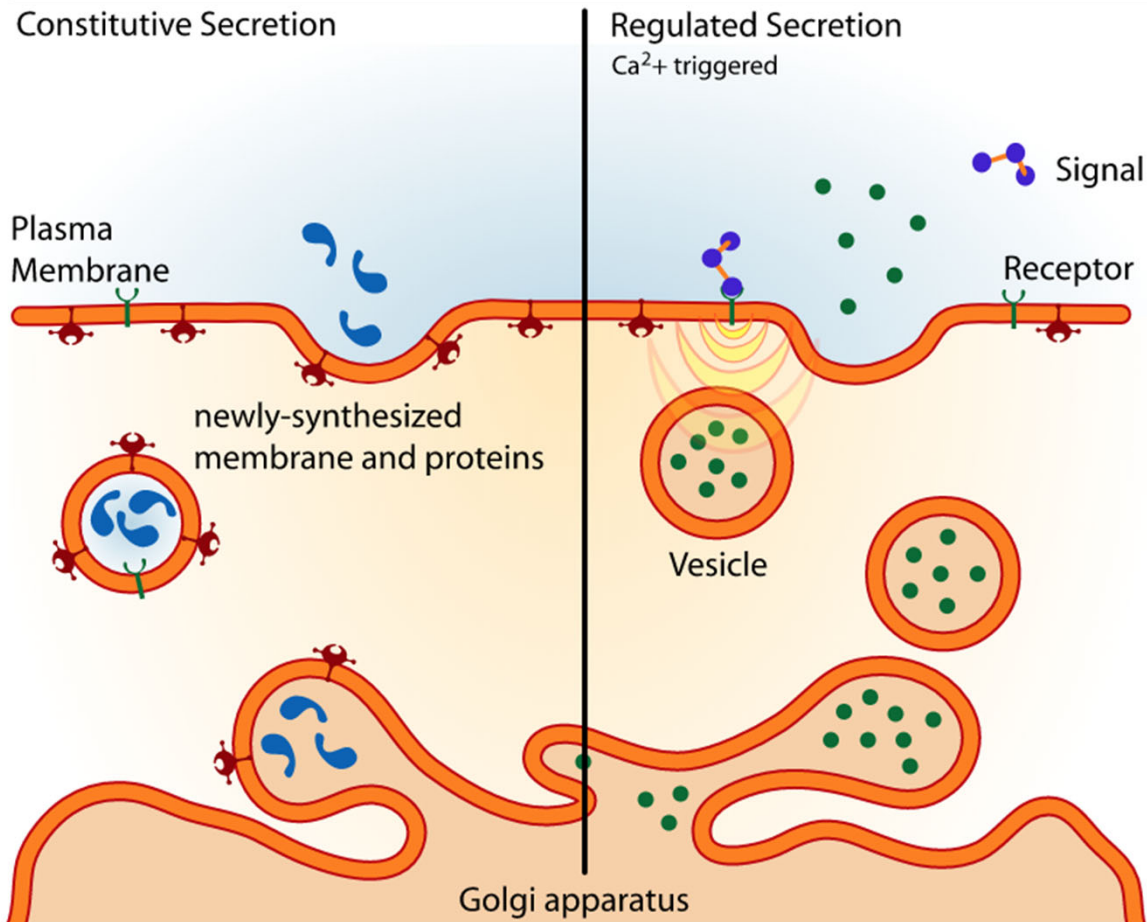


Οι πρωτεΐνες και λιπίδια γλυκοζυλιώνονται στο Golgi



Κάποιες πρωτεΐνες μεταφέρονται συνέχεια προς την κυτταρική μεμβράνη και το εξωτερικό του κυττάρου (**συνεχής έκκριση**)
Άλλες πρωτεΐνες αποθηκεύονται σε κυστίδια κοντά στη μεμβράνη, όπου αναμένουν σήμα για έκκριση (**ρυθμιζόμενη έκκριση**)

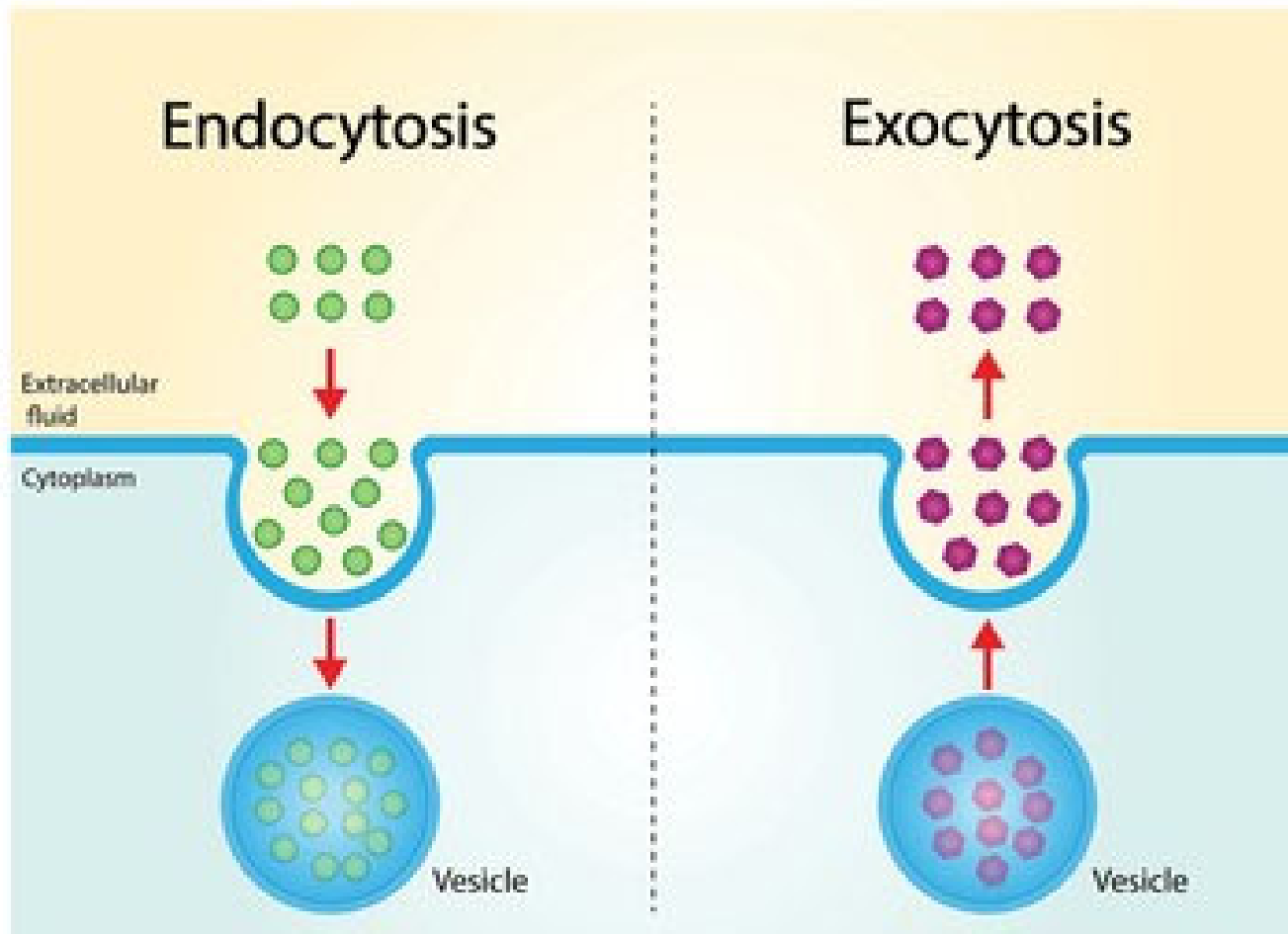
Exocytosis



Η μεταφορά με κυστίδια είναι αμφίδρομη – ενδοκυττάρωση

Κάθε χρονική στιγμή εκατοντάδες ενδοκυτταρικά κυστίδια σχηματίζονται από την κυτταρική μεμβράνη.

Το σύνολο της κυτταρικής μεμβράνης ενδοκυτταρώνεται μέσα σε ~1 ώρα



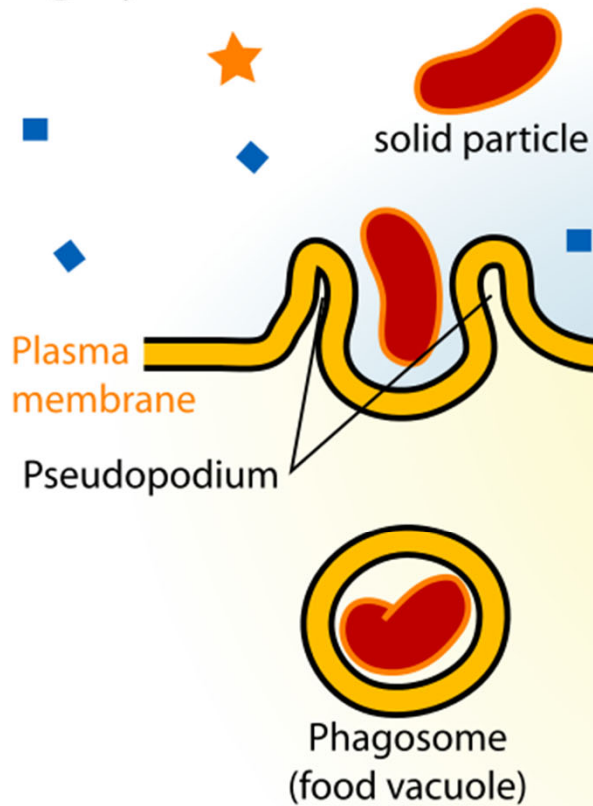
Ρόλος ενδοκυττάρωσης

- ανακύκλωση συστατικών κυτταρικής μεμβράνης
- μεταφορά λιπιδίων και πρωτεϊνών πίσω στο ενδομεμβρανικό σύστημα
- πρόσληψη τροφής/συστατικών/μικροοργανισμών από το εξωτερικό του κυττάρου
- Σηματοδότηση

Κύριοι μηχανισμοί ενδοκυττάρωσης

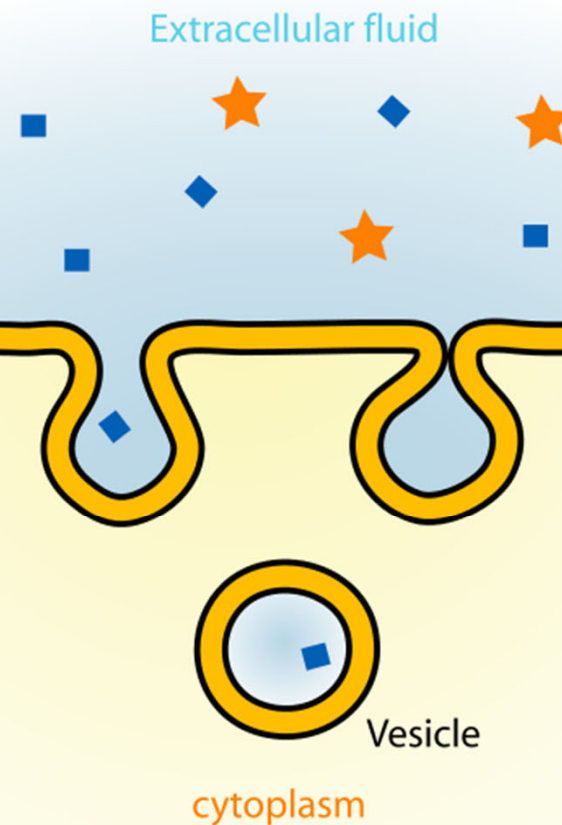
Endocytosis

Phagocytosis



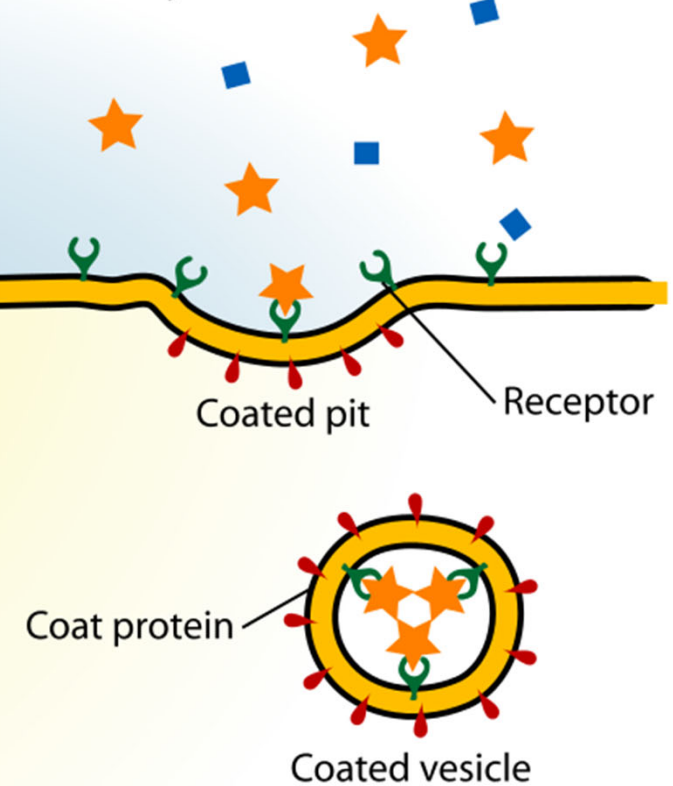
Φαγοκυττάρωση

Pinocytosis



Πινοκυττάρωση

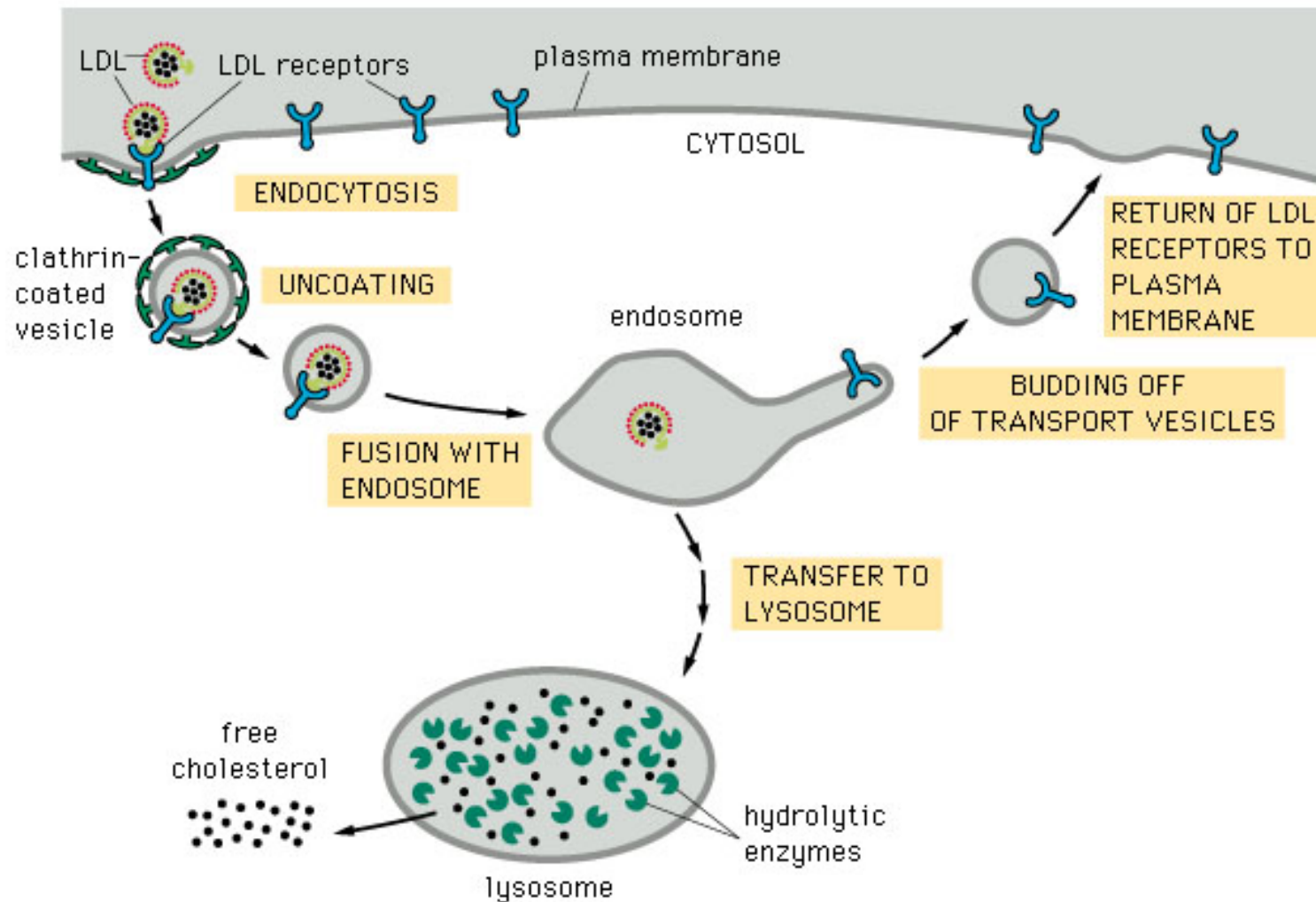
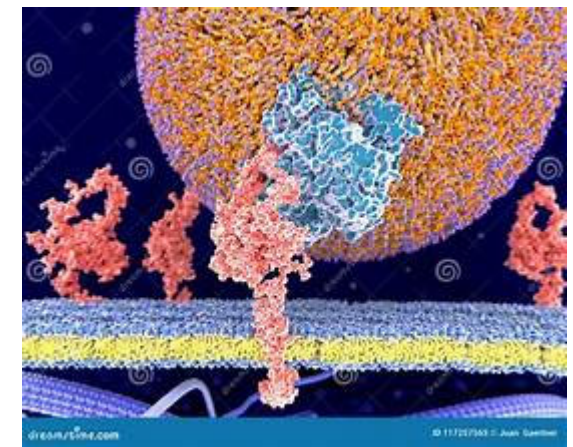
Receptor-mediated endocytosis



Ενδοκυττάρωση
διαμεσολαβούμενη από υποδοχείς

Ενδοκυττάρωση της LDL

(μεταφέρει χοληστερόλη από το ήπαρ στους ιστούς μέσω της κυκλοφορίας το αίματος)



Η χοληστερόλη μεταφέρεται στο αίμα σε σύμπλοκο με πρωτεΐνες (Low Density Lipoprotein - LDL)

Η LDL δεσμεύεται σε ειδικό υποδοχέα στα κύτταρα, προκειμένου να ενδοκυτταρωθεί

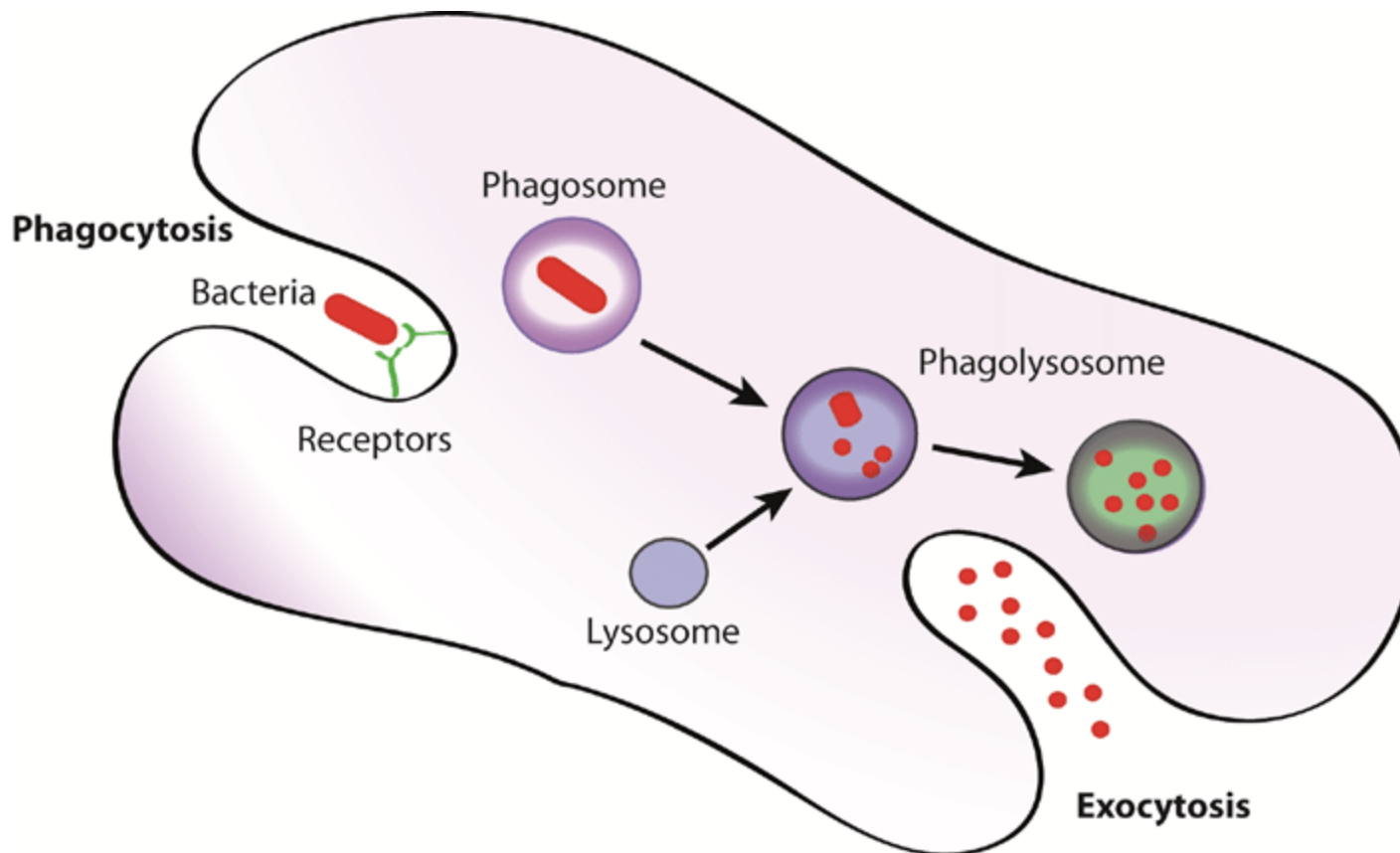
Στο ενδόσωμα ελευθερώνεται η LDL και ο υποδοχέας επιστρέφει στη μεμβράνη

Η LDL υδrolύεται στο λυσόσωμα

Μεταλλάξεις στο γονίδιο για τον μεμβρανικό υποδοχέα της LDL (LDLR) οδηγούν σε οικογενή υπερχοληστερολαιμία

Τα ενδοσώματα συντήκονται με λυσοσώματα, για την καταστροφή των υλικών που ενδοκυτταρώθηκαν

Υπολείμματα εξωκυτταρώνονται



Τα λυσοσώματα είναι απαραίτητα για την καταστροφή υλικών που ενδοκυτταρώνονται, και για την καταστροφή ενδοκυτταρικών συστατικών (αυτοφαγία)

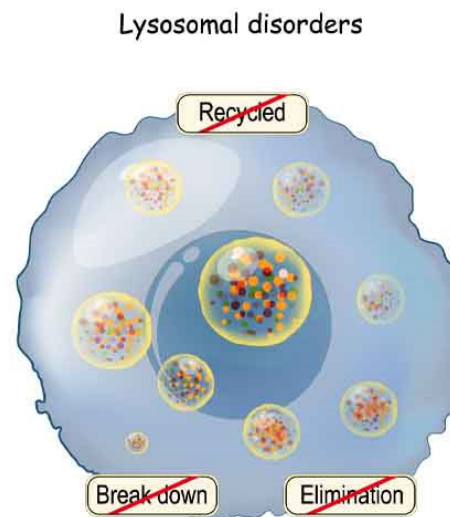
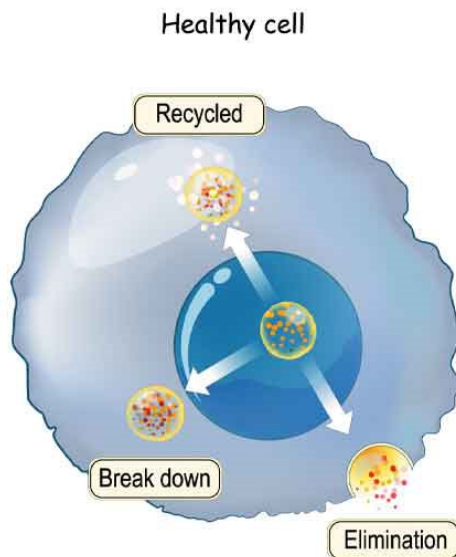
Βλάβες στα λυσοσώματα οδηγούν σε ασθένειες

Λυσοσωμικές ασθένειες αποθήκευσης

>50 γενετικά νοσήματα

Δεν παράγονται ή δεν λειτουργούν λυσοσωμικά ένζυμα

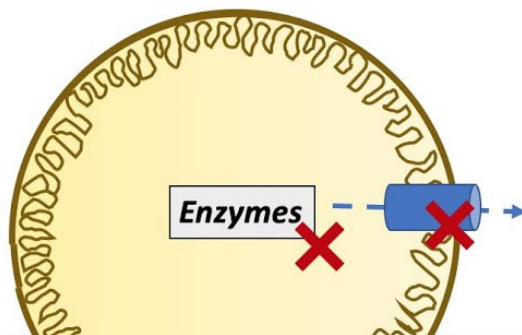
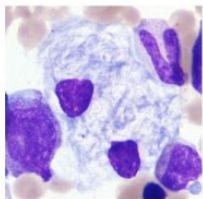
Συσώρευση βιομορίων που δεν διασπώνται -> κυτταρική δυσλειτουργία -> ασθένεια



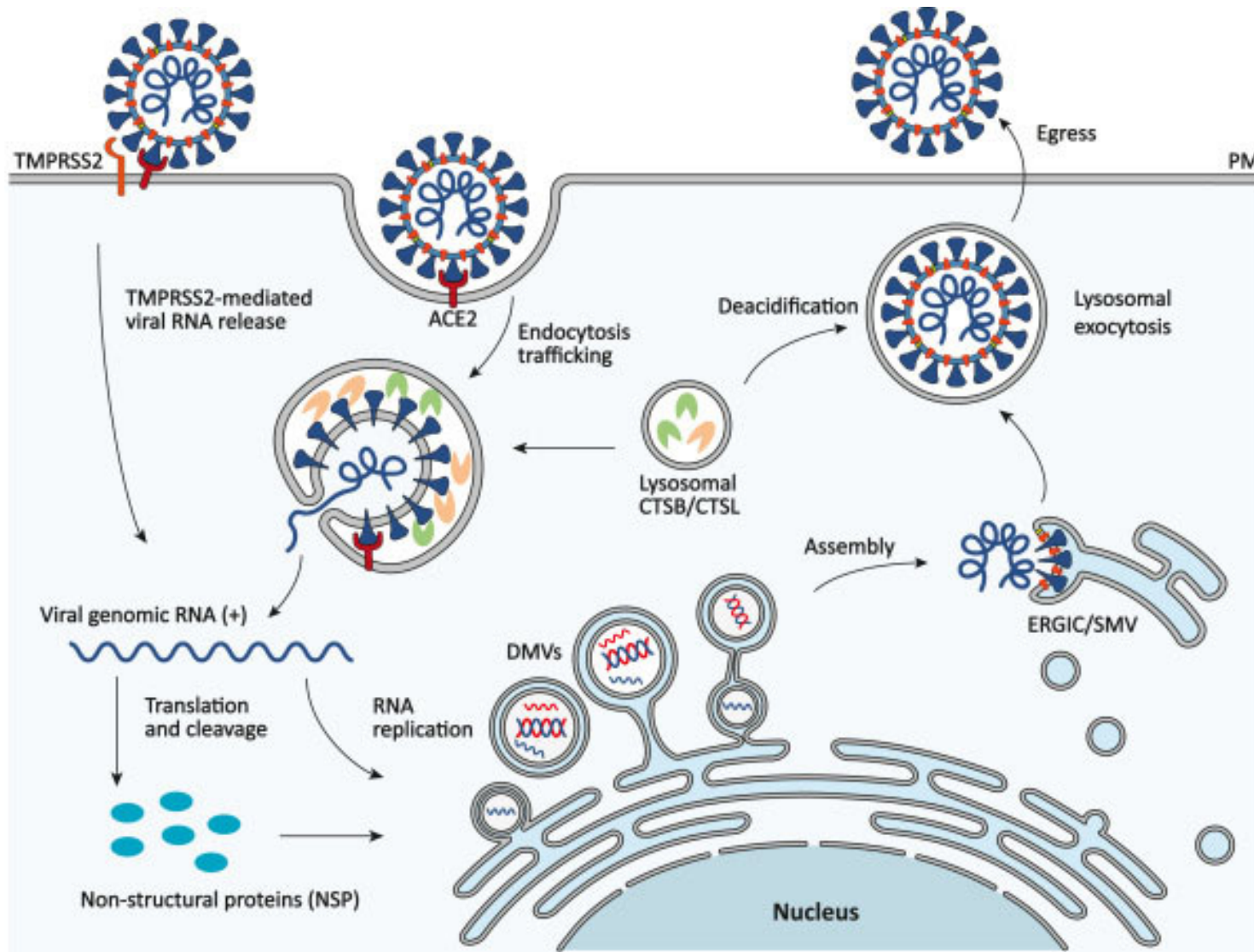
Παράδειγμα:
ασθένεια Gaucher



Lysosomal Storage Diseases



Τα μονοπάτια ενδοκυττάρωσης και εξωκυττάρωσης χρησιμοποιούνται από τους ιούς για τη μόλυνση των κυττάρων και την απελευθέρωση νέων ιών



Παράδειγμα: SARS Cov2