



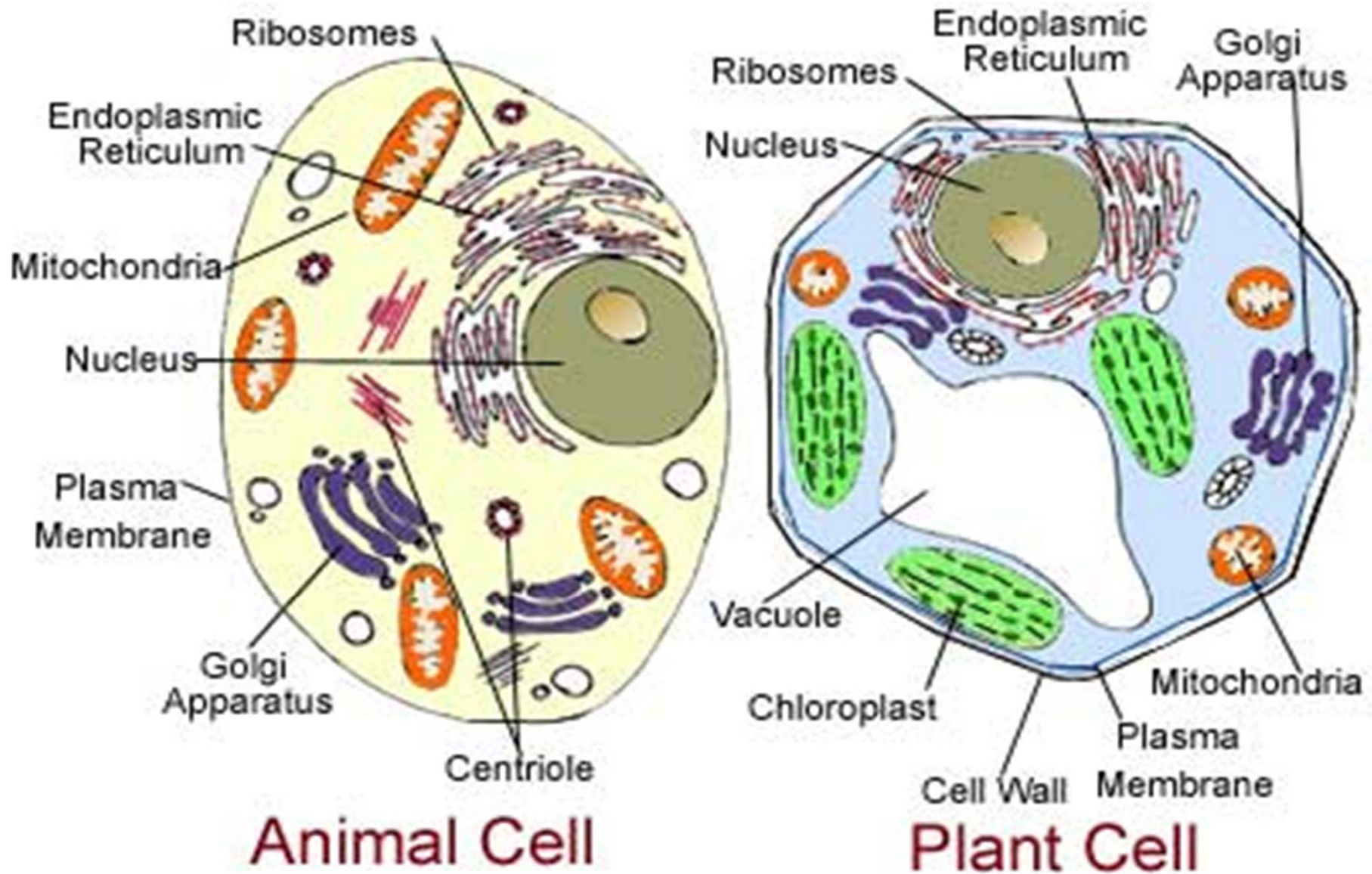
Βιολογία Ι
Ακαδημαϊκό έτος 2021-22
Ι.Ζαρκάδης

Κεφ.15
Ενδοκυττάρια Διαμερίσματα
και Μεταφορά

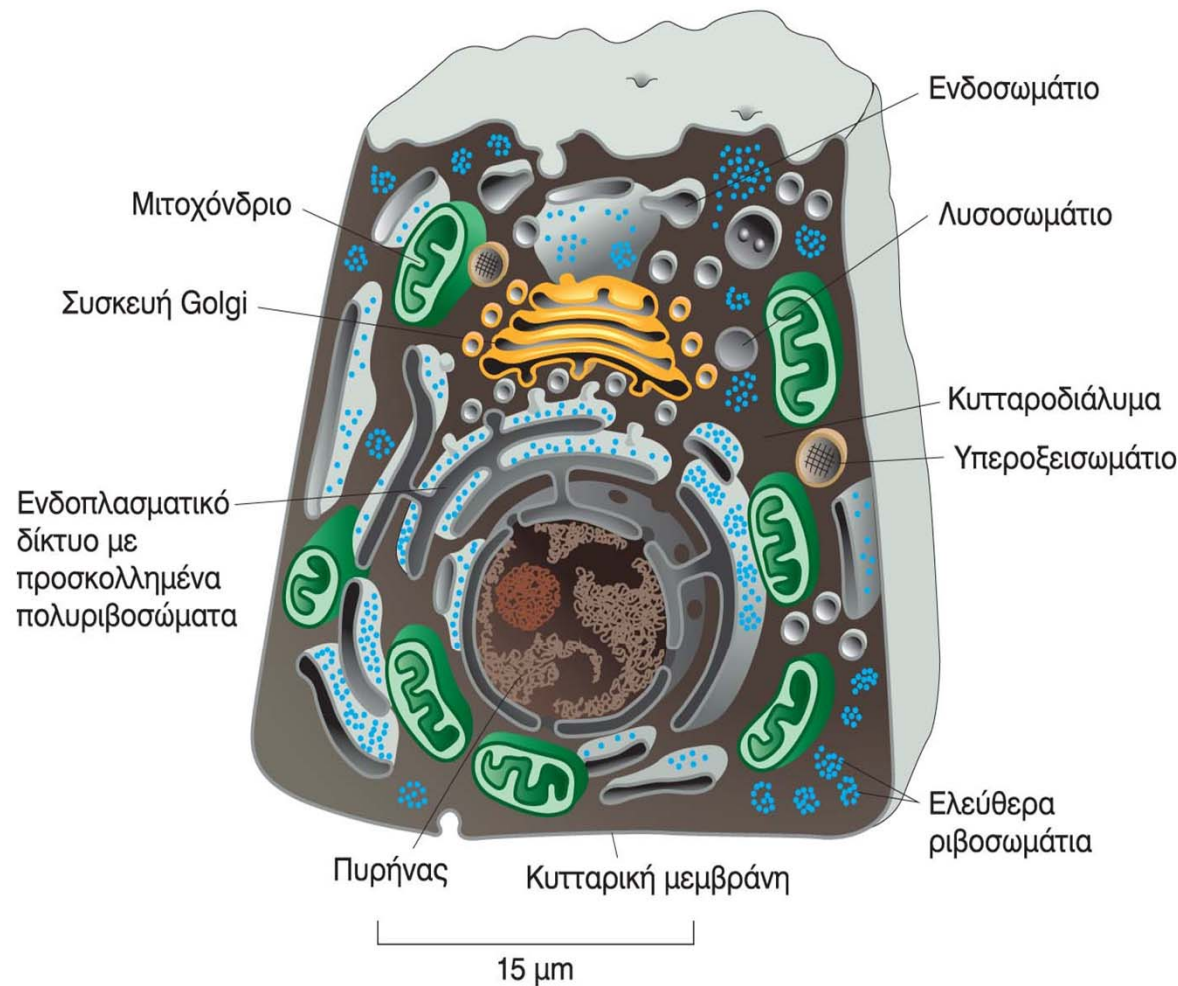
Πρέπει να γνωρίζετε ήδη

- Ποια είναι τα μεμβρανικά οργανίδια
- Ποιες είναι οι κύριες λειτουργίες τους
 - Με ποιους τρόπους εξελίχθηκαν

Κυτταρικά οργανίδια



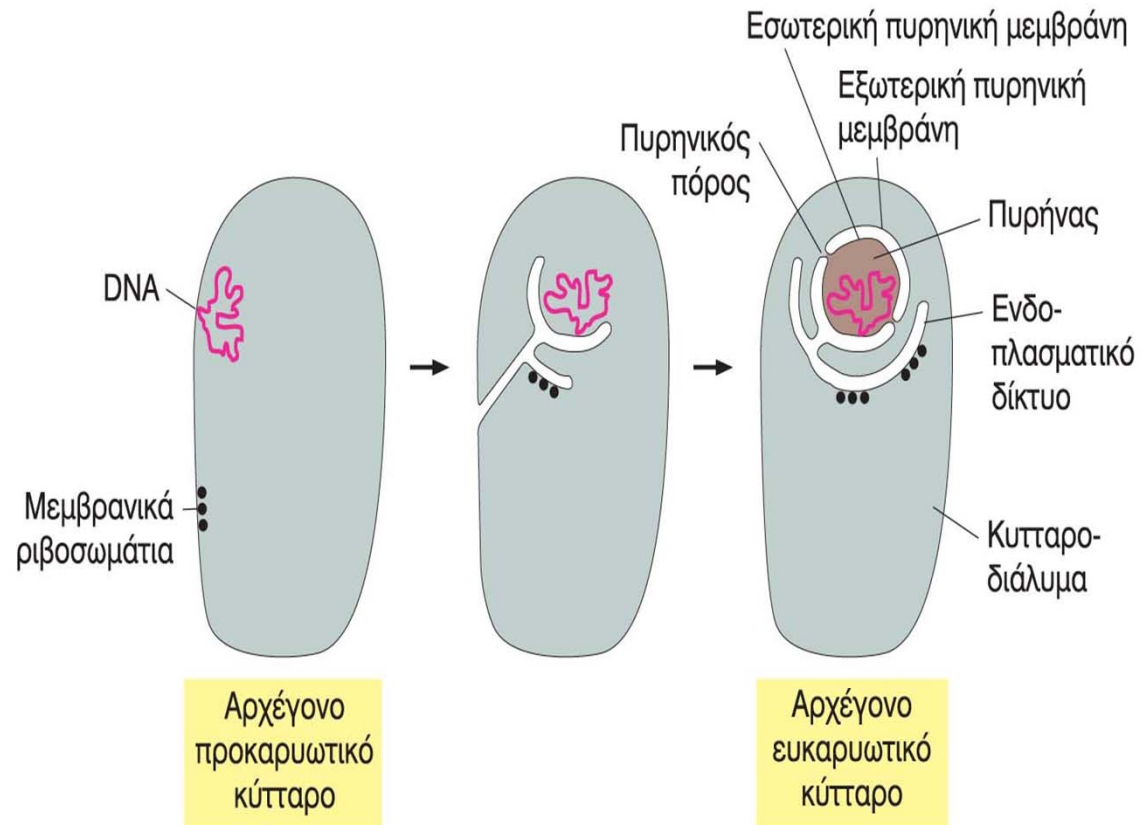
Κυτταρικά οργανίδια



Εικόνα 15-2. Τα κυριότερα μεμβρανικά οργανίδια ενός ζωικού κυττάρου. Το κύτταρο που απεικονίζεται προέρχεται από την εσωτερική επένδυση του εντέρου και περιέχει τη βασική ομάδα οργανιδίων που παρατηρείται στα περισσότερα ζωικά κύτταρα. Ο πυρήνας, το ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ), η συσκευή Golgi, τα λυσοσωμάτια, τα ενδοσώματα, τα μιτοχόνδρια και τα υπεροξεισωμάτια είναι διακριτά διαμερίσματα που διαχωρίζονται από το κυτταροδιάλυμα (γκρι) με μια τουλάχιστον, επιλεκτικά διαπερατή, μεμβράνη. Επίσης φαίνονται τα ριβωσώματα που συνδέονται στην κυτταροπλασματική επιφάνεια τμημάτων του ΕΔ, το οποίο καλείται αδρό ΕΔ. Το ΕΔ που στερείται ριβωσωμάτων καλείται λείο ΕΔ. Μερικά ριβωσώματα βρίσκονται ελεύθερα στο κυτταροδιάλυμα.

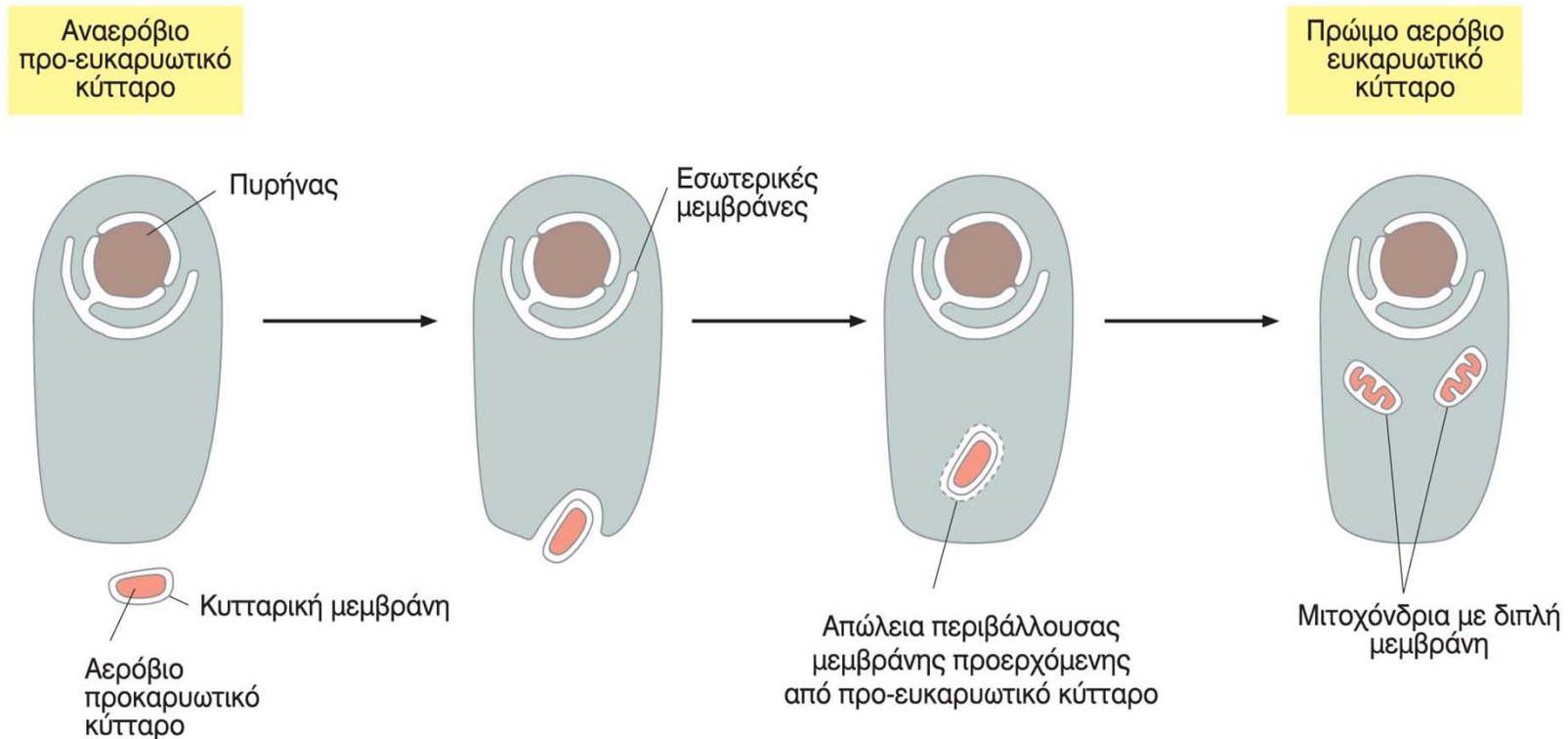
Εξέλιξη των οργανιδίων I

Εικόνα 15-3. Ένας πιθανός τρόπος για την εξέλιξη των πυρηνικών μεμβρανών και του ΕΔ. Στα βακτήρια, το μοναδικό μόριο του DNA συνήθως είναι προσκολλημένο στην κυτταρική μεμβράνη. Πιθανόν σ' ένα αρχέγονο προκαρυωτικό κύτταρο, η κυτταρική μεμβράνη μαζί με το προσκολλημένο DNA εγκοιλώθηκε και τελικά σχημάτισε ένα μεμβρανικό φάκελο με δύο σιβάδες, περικλείοντας όλο το DNA. Πιθανολογείται ότι ο φάκελος αποσπάστηκε από την κυτταρική μεμβράνη και δημιούργησε ένα πυρηνικό διαμέρισμα το οποίο διαπερνάται από διαύλους που καλούνται πυρηνικοί πόροι και παρέχουν τη δυνατότητα άμεσης επικοινωνίας με το κυτταρόπλασμα. Άλλα τμήματα της ίδιας μεμβράνης σχημάτισαν το ΕΔ, γεγονός που μπορεί να εξηγήσει γιατί ο χώρος ανάμεσα στην εσωτερική και την εξωτερική πυρηνική μεμβράνη είναι συνέχεια του αυλού του ΕΔ.



Άλλα τμήματα της ίδιας μεμβράνης σχημάτισαν το ΕΔ, γεγονός που μπορεί να εξηγήσει γιατί ο χώρος ανάμεσα στην εσωτερική και την εξωτερική πυρηνική μεμβράνη είναι συνέχεια του αυλού του ΕΔ.

Εξέλιξη των οργανιδίων II



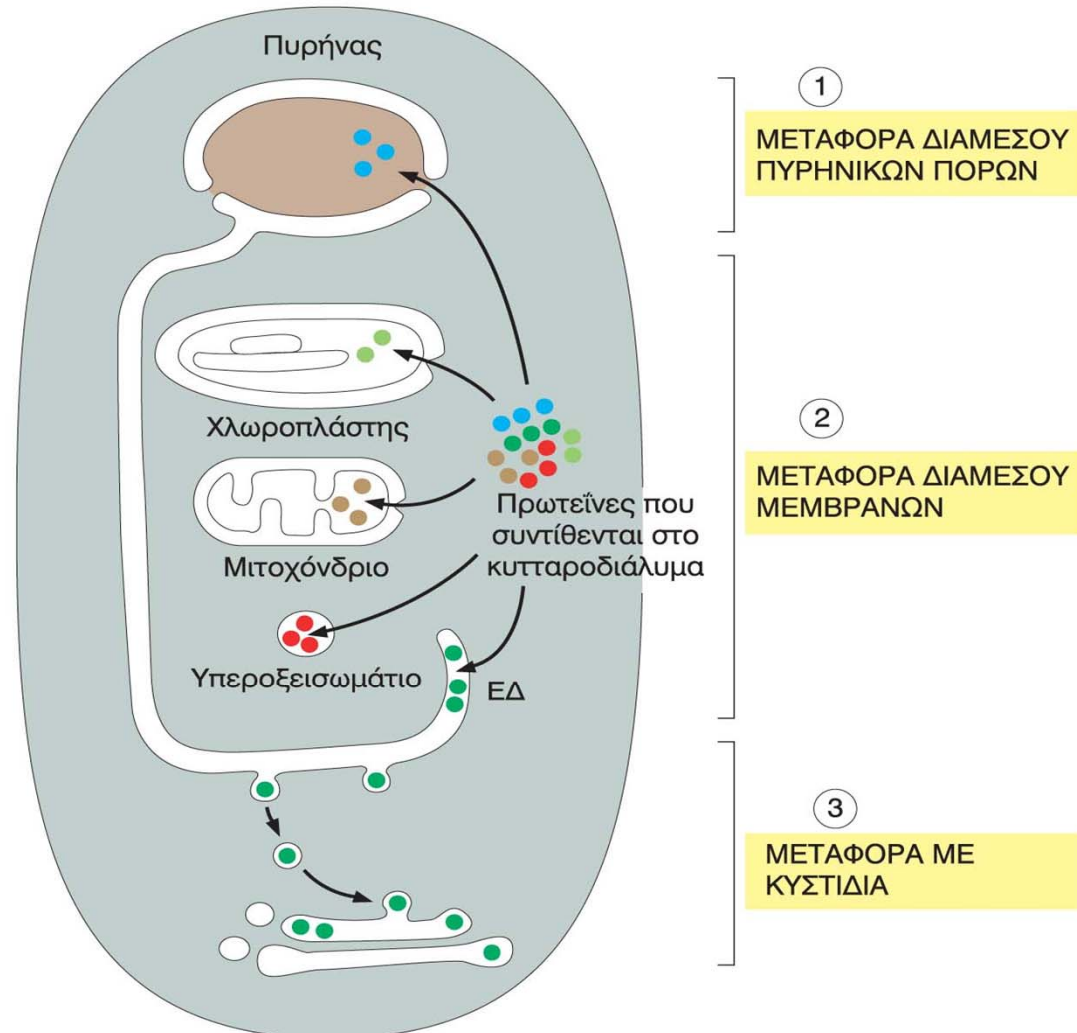
Εικόνα 15-4. Η πιθανολογούμενη εξελικτική προέλευση των μιτοχονδρίων. Πιστεύεται ότι τα μιτοχόνδρια προέκυψαν όταν ένα μεγαλύτερο αναερόβιο ευκαρυωτικό κύτταρο καταβρόχθισε έναν αερόβιο προκαρυώτη. Πιστεύεται ότι και οι χλωροπλάστες προέκυψαν με παρόμοιο τρόπο αργότερα, όταν ένα αερόβιο ευκαρυωτικό κύτταρο καταβρόχθισε έναν φωτοσυνθετικό προκαρυώτη. Αυτό μπορεί να εξηγήσει γιατί αυτά τα οργανίδια έχουν δύο μεμβράνες και γιατί δε συμμετέχουν στην μεταφορά με κυστίδια που συνδέει πολλά άλλα ενδοκυττάρια διαμερίσματα. Θα μπορούσε επίσης να εξηγήσει γιατί διαθέτουν τα δικά τους ξεχωριστά γονιδιώματα.

1. Διαλογή Πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κύτταρο προωθούνται προς το κυτταρικό διαμέρισμα για το οποίο προορίζονται.

Οι πρωτεΐνες εισάγονται στα οργανίδια με τρεις μηχανισμούς

Εικόνα 15-5. Τρεις κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους εισάγουν πρωτεΐνες τα οργανίδια που περιβάλλονται από μεμβράνη. Η πρωτεΐνη διατηρεί τη διαμόρφωσή της κατά τα στάδια μεταφοράς με τους μηχανισμούς 1 και 3, αλλά συνήθως αποδιατάσσεται στο μηχανισμό 2. Όλες αυτές οι διαδικασίες απαιτούν ενέργεια.



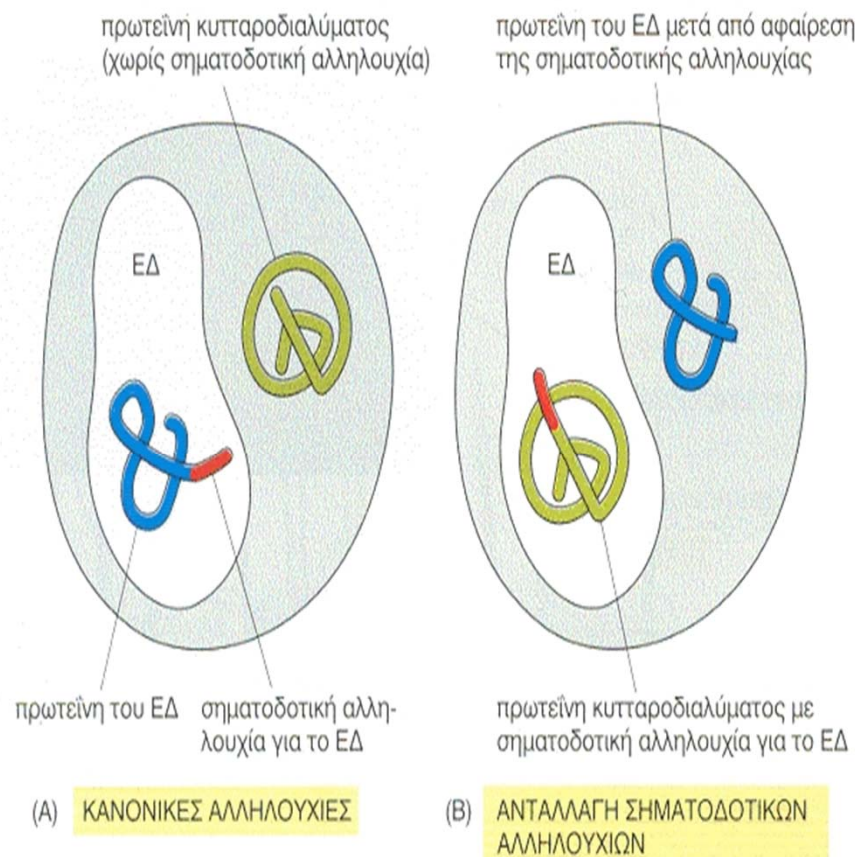
Με σηματοδοτικές αλληλουχίες

Συντίθενται στα ελεύθερα ριβοσωμάτια

Οι σηματοδοτικές αλληλουχίες κατευθύνουν τις πρωτεΐνες στο σωστό διαμέρισμα

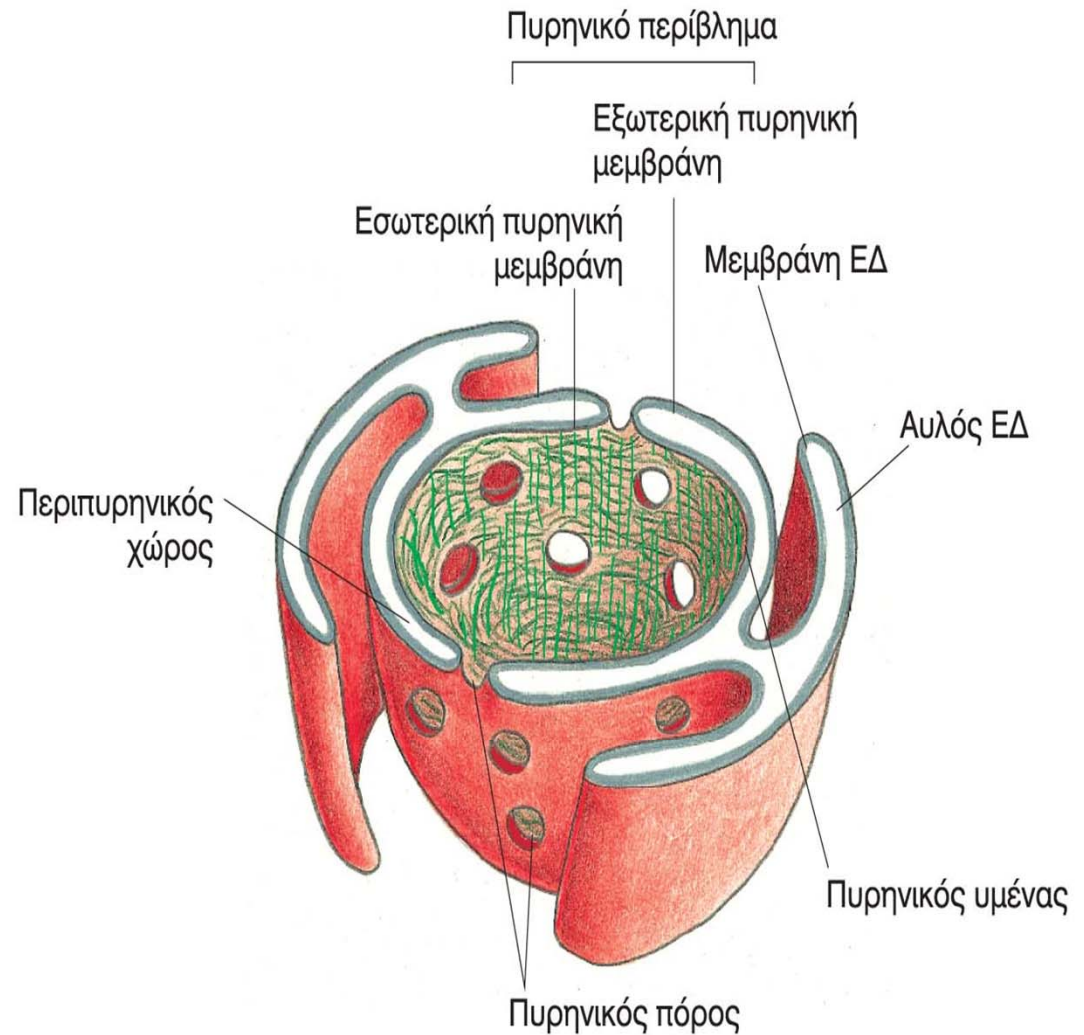
Λειτουργία του σήματος	Παράδειγμα σηματοδοτικής αλληλουχίας
Είσοδος στο ΕΔ	⁺ H ₃ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Συγκράτηση στον αυλό του ΕΔ	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO ⁻
Είσοδος στα μιτοχόνδρια	⁺ H ₃ N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Είσοδος στον πυρήνα	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Είσοδος στα υπεροξεισωμάτια	-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 ⁺H₃N υποδηλώνει το αμινοτελικό άκρο μιας πρωτεΐνης, το COO⁻ υποδηλώνει το καρβοξυτελικό άκρο.



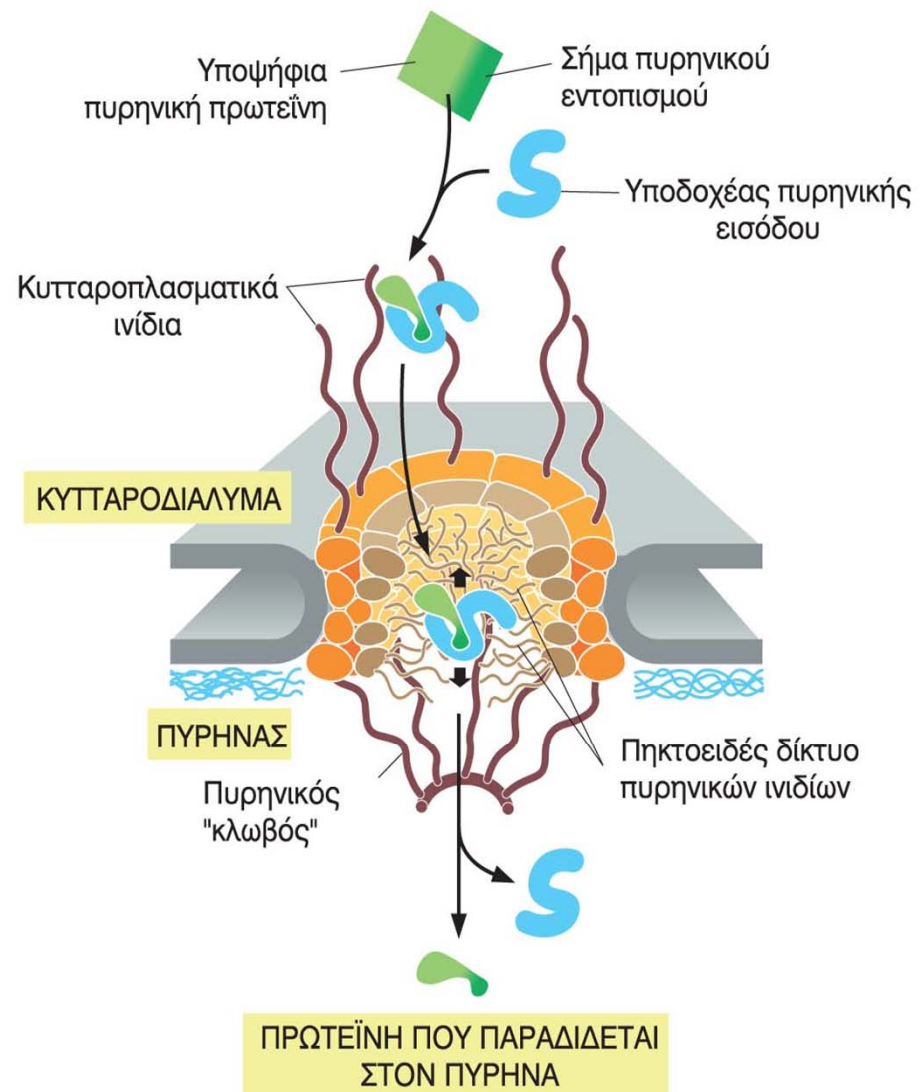
Πυρηνικό περίβλημα

Εικόνα 15-7. Το πυρηνικό περίβλημα. Το διπλό μεμβρανικό περίβλημα είναι διάτρητο από τους πυρηνικούς πόρους. Η εξωτερική μεμβράνη αποτελεί συνέχεια της μεμβράνης του ΕΔ. Τα ριβοσωμάτια, που κανονικά προσδένονται στην επιφάνεια του ΕΔ προς το κυτταρόπλασμα και στην εξωτερική πυρηνική μεμβράνη, δεν έχουν σχεδιαστεί.



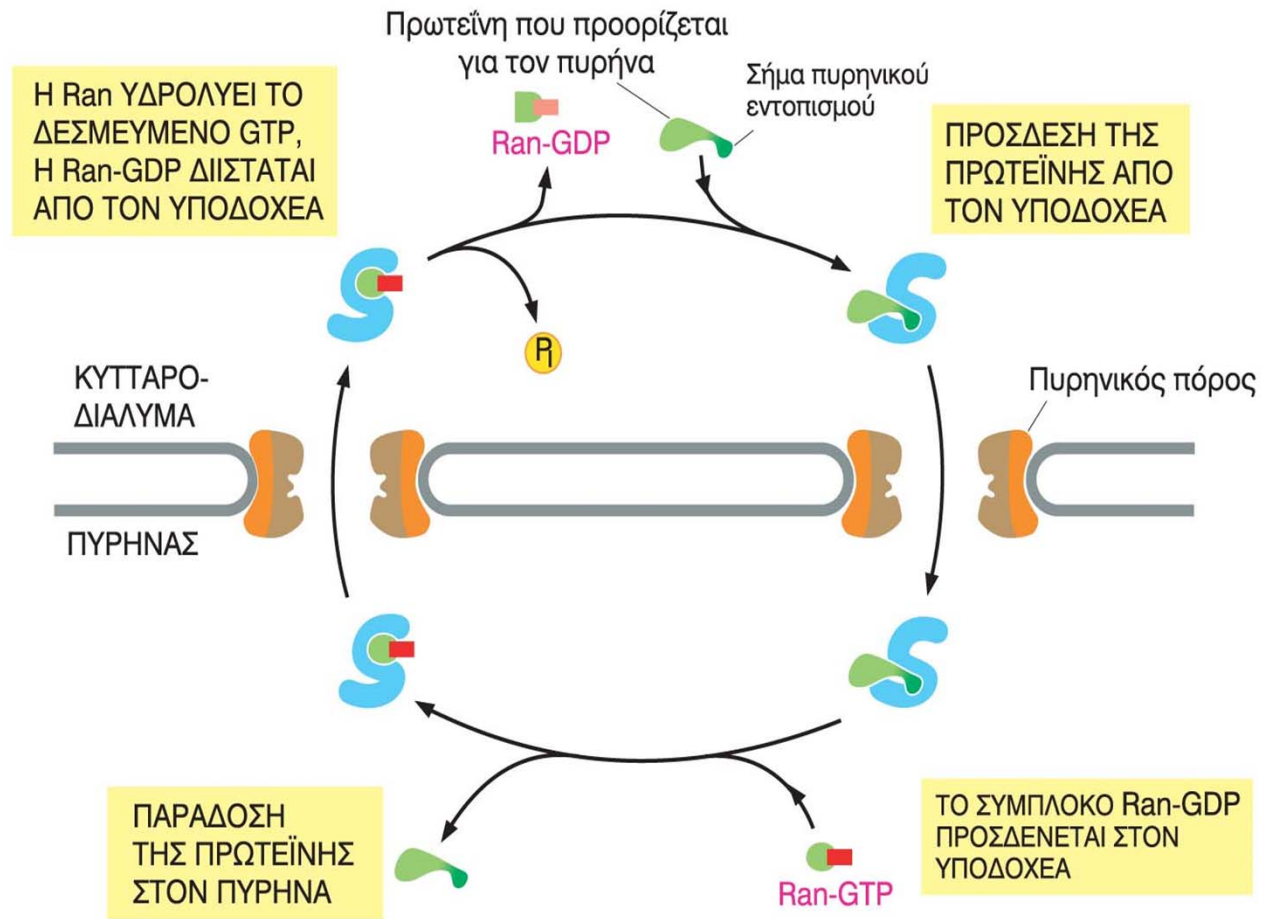
Η δομή των πυρηνικών πόρων

Εικόνα 15-9. Σχηματική αναπαράσταση του μηχανισμού της ενεργού μεταφοράς πρωτεϊνών από το κυτταροδιάλυμα διαμέσου πυρηνικών πόρων. Οι πρωτεΐνες περιέχουν ένα σήμα πυρηνικού εντοπισμού που αναγνωρίζεται από υποδοχείς πυρηνικής εισόδου, οι οποίοι αλληλεπιδρούν με τα κυτταροπλασματικά ινίδια που εκτείνονται από τις παρυφές του πόρου. Όπως υποδεικνύεται με τα μικρά μαύρα βέλη, μετά τη δέσμευσή τους, οι υποδοχείς μετακινούνται με τυχαίο τρόπο με το φορτίο τους μέσω του πηκτοειδούς δικτύου πυρηνικών ινιδίων, εωσότου η πυρηνική είσοδος πυροδοτήσει την απελευθέρωση του φορτίου. Μετά την παράδοση του φορτίου, οι υποδοχείς επιστρέφουν στο κυτταροδιάλυμα μέσω των πυρηνικών πόρων για επαναχρησιμοποίηση. Παρόμοιοι τύποι υποδοχέων μεταφοράς, οι οποίοι λειτουργούν προς την αντίθετη κατεύθυνση, εξάγουν mRNA από τον πυρήνα (βλ. Εικόνα 7-23). Αυτές οι ομάδες υποδοχέων εισόδου και εξόδου έχουν παρόμοια βασική δομή.



Ενεργός μεταφορά μέσω των πυρηνικών πόρων

Εικόνα 15-10. Η ενέργεια που απαιτείται για την πυρηνική μεταφορά προέρχεται από την υδρόλυση του GTP. Ένας υποδοχέας πυρηνικής μεταφοράς φορτώνεται την πρωτεΐνη του και εισέρχεται στον πυρήνα. Εκεί συναντά τη Ran, μια μικρή πρωτεΐνη που φέρει ένα μόριο GTP. Η σύνδεσή του με το σύμπλοκο Ran-GTP έχει ως αποτέλεσμα την απελευθέρωση της πυρηνικής πρωτεΐνης. Στη συνέχεια, ενώ ακόμη βρίσκεται συνδεδεμένος με το σύμπλοκο Ran-GTP, μεταφέρεται διαμέσου του πόρου πίσω στο κυτταροδιάλυμα. Εκεί, μια βοηθητική πρωτεΐνη (δεν εικονίζεται) ενεργοποιεί την Ran ώστε να υδρολύσει το GTP. Το Ran-GDP αποδεσμεύεται από τον υποδοχέα μεταφοράς που καθίσταται και πάλι έτοιμος να φορτώσει την επόμενη πρωτεΐνη για τον πυρήνα. Η εξαγωγή των μορίων mRNA και άλλων μακρομορίων από τον πυρήνα στο κυτταροδιάλυμα ακολουθεί έναν παρόμοιο κύκλο, χρησιμοποιώντας υποδοχείς πυρηνικής μεταφοράς που αναγνωρίζουν σήματα πυρηνικής εξόδου (βλ. Πίνακα 15-3).



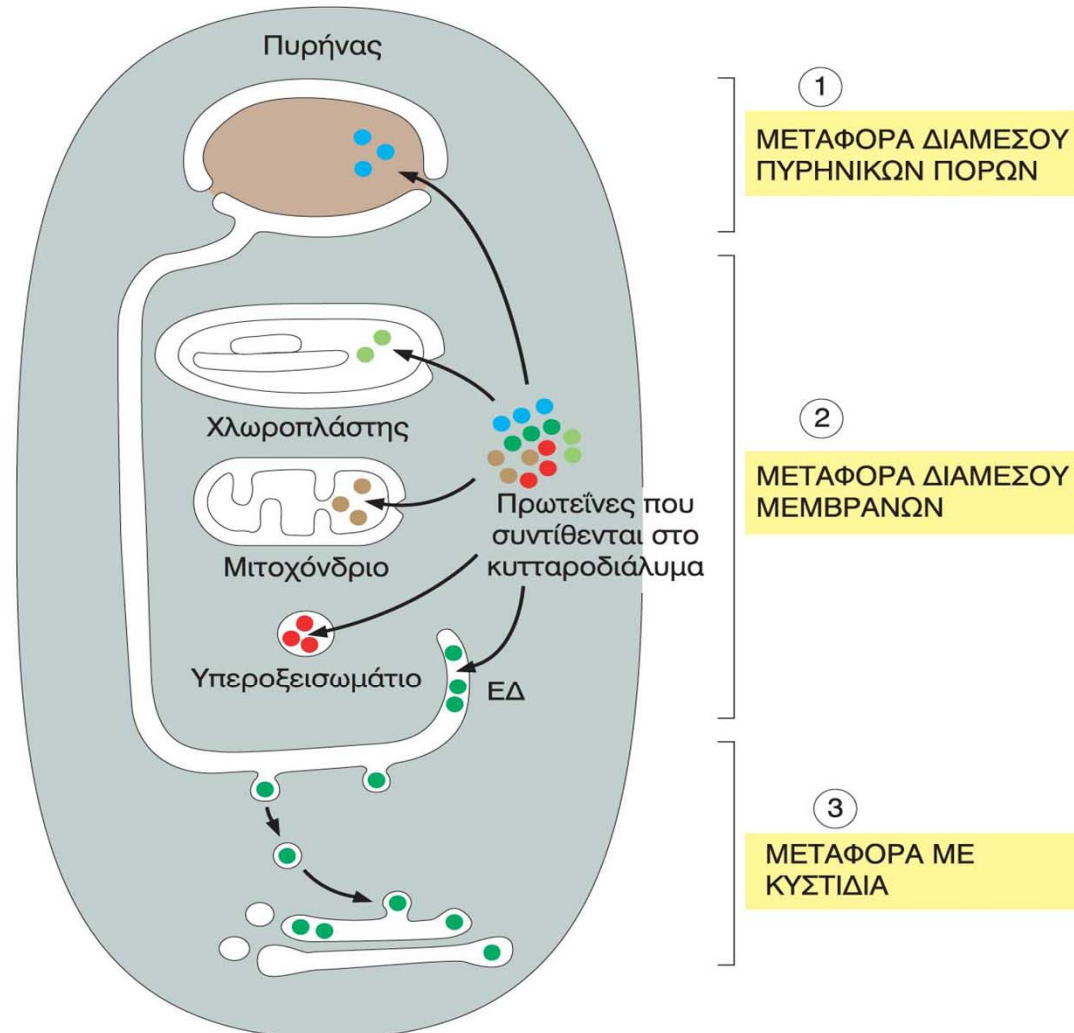
Η εξαγωγή των μορίων mRNA και άλλων μακρομορίων από τον πυρήνα στο κυτταροδιάλυμα ακολουθεί έναν παρόμοιο κύκλο, χρησιμοποιώντας υποδοχείς πυρηνικής μεταφοράς που αναγνωρίζουν σήματα πυρηνικής εξόδου (βλ. Πίνακα 15-3).

2. Διαλογή Πρωτεϊνών

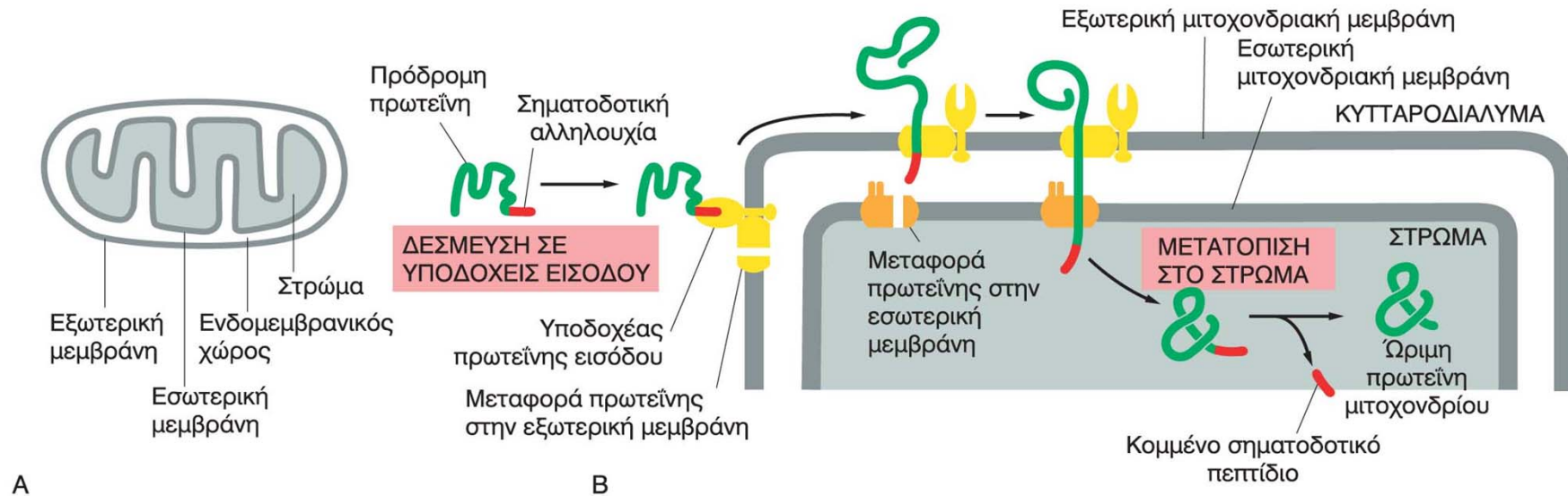
Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κύτταρο προωθούνται προς το κυτταρικό διαμέρισμα για το οποίο προορίζονται.

Οι πρωτεΐνες εισάγονται στα οργανίδια με τρεις μηχανισμούς

Εικόνα 15-5. Τρεις κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους εισάγουν πρωτεΐνες τα οργανίδια που περιβάλλονται από μεμβράνη. Η πρωτεΐνη διατηρεί τη διαμόρφωσή της κατά τα στάδια μεταφοράς με τους μηχανισμούς 1 και 3, αλλά συνήθως αποδιατάσσεται στο μηχανισμό 2. Όλες αυτές οι διαδικασίες απαιτούν ενέργεια.



2. Οι πρωτεΐνες μεταφέρονται στα μιτοχόνδρια και τους χλωροπλάστες αφού ξεδιπλωθούν



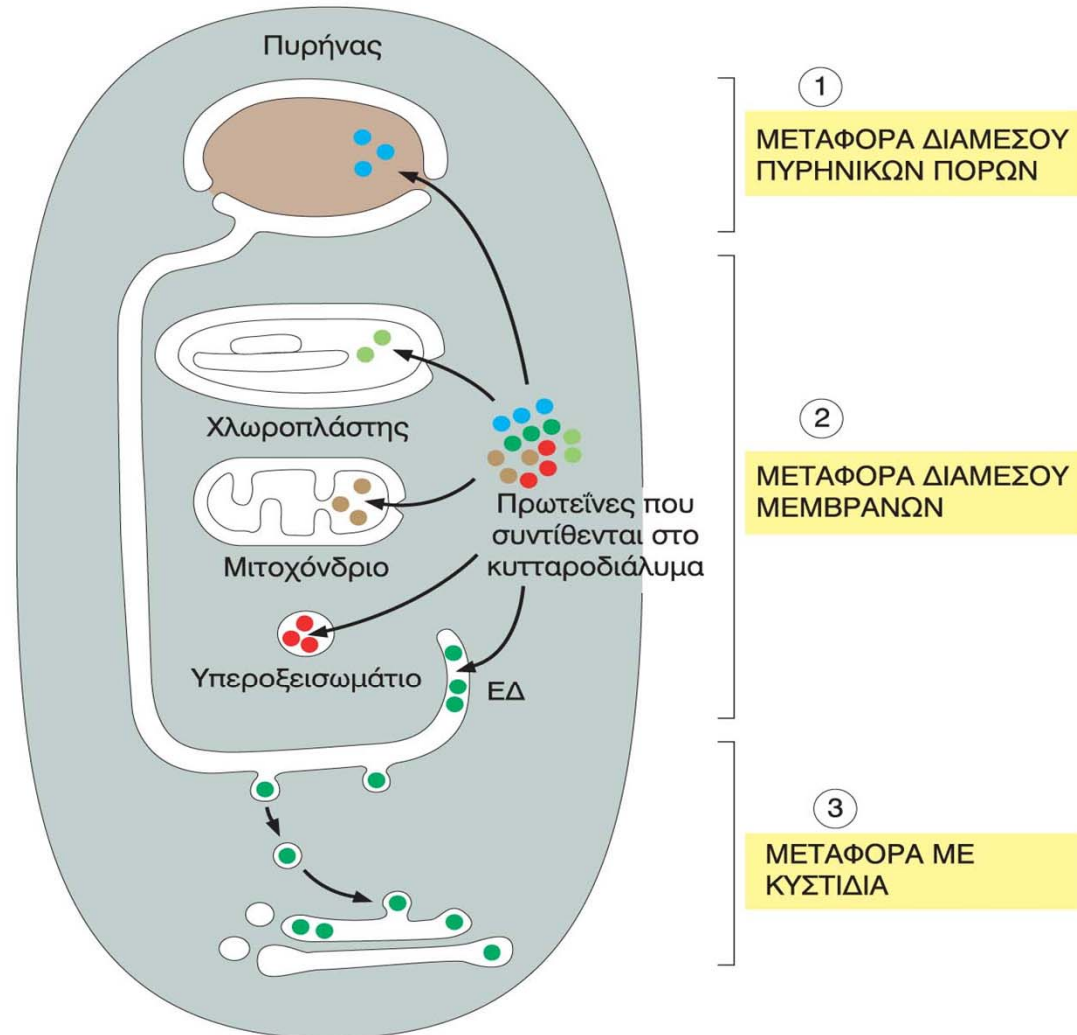
Εικόνα 15-11. Εισαγωγή πρόδρομων πρωτεϊνών στα μιτοχόνδρια σε μη διπλωμένη μορφή. (A) Ένα μιτοχόνδριο έχει μια εξωτερική και μια εσωτερική μεμβράνη. Μια μιτοχονδριακή πρόδρομη πρωτεΐνη πρέπει να διασχίσει αυτές τις δύο μεμβράνες για να εισέλθει στο οργανίδιο. (B) Για να ξεκινήσει η μεταφορά, η σηματοδοτική αλληλουχία στη μιτοχονδριακή πρόδρομη πρωτεΐνη αναγνωρίζεται από έναν υποδοχέα της εξωτερικής μεμβράνης του μιτοχονδρίου. Ο υποδοχέας συνδέεται με μια πρωτεΐνη μετατόπισης. Το σύμπλοκο του υποδοχέα με την πρόδρομη πρωτεΐνη και την πρωτεΐνη μετατόπισης διαχέεται εγκάρσια στην εξωτερική μεμβράνη μέχρι να συναντήσει μια δεύτερη πρωτεΐνη μετατόπισης στην εσωτερική μεμβράνη. Στη συνέχεια, οι δύο πρωτεΐνες μετατόπισης μεταφέρουν την πρωτεΐνη διαμέσου της εξωτερικής και της εσωτερικής μεμβράνης, ξετυλίγοντάς την. Η σηματοδοτική αλυσίδα αποκόπτεται μέσα στο μιτοχονδριακό στρώμα από μια πεπτιδάση του σήματος. Οι πρωτεΐνες εισάγονται στους χλωροπλάστες με παρόμοιο μηχανισμό. Οι πρωτεΐνες-συνοδοί που τραβούν την πρωτεΐνη από τις μεμβράνες και τη βοηθούν ν' ανακτήσει τη διαμόρφωσή της δε φαίνονται στην εικόνα.

3. Διαλογή Πρωτεϊνών

Οι πρωτεΐνες που παράγονται στο κύτταρο προωθούνται προς το κυτταρικό διαμέρισμα για το οποίο προορίζονται.

Οι πρωτεΐνες εισάγονται στα οργανίδια με τρεις μηχανισμούς

Εικόνα 15-5. Τρεις κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους εισάγουν πρωτεΐνες τα οργανίδια που περιβάλλονται από μεμβράνη. Η πρωτεΐνη διατηρεί τη διαμόρφωσή της κατά τα στάδια μεταφοράς με τους μηχανισμούς 1 και 3, αλλά συνήθως αποδιατάσσεται στο μηχανισμό 2. Όλες αυτές οι διαδικασίες απαιτούν ενέργεια.

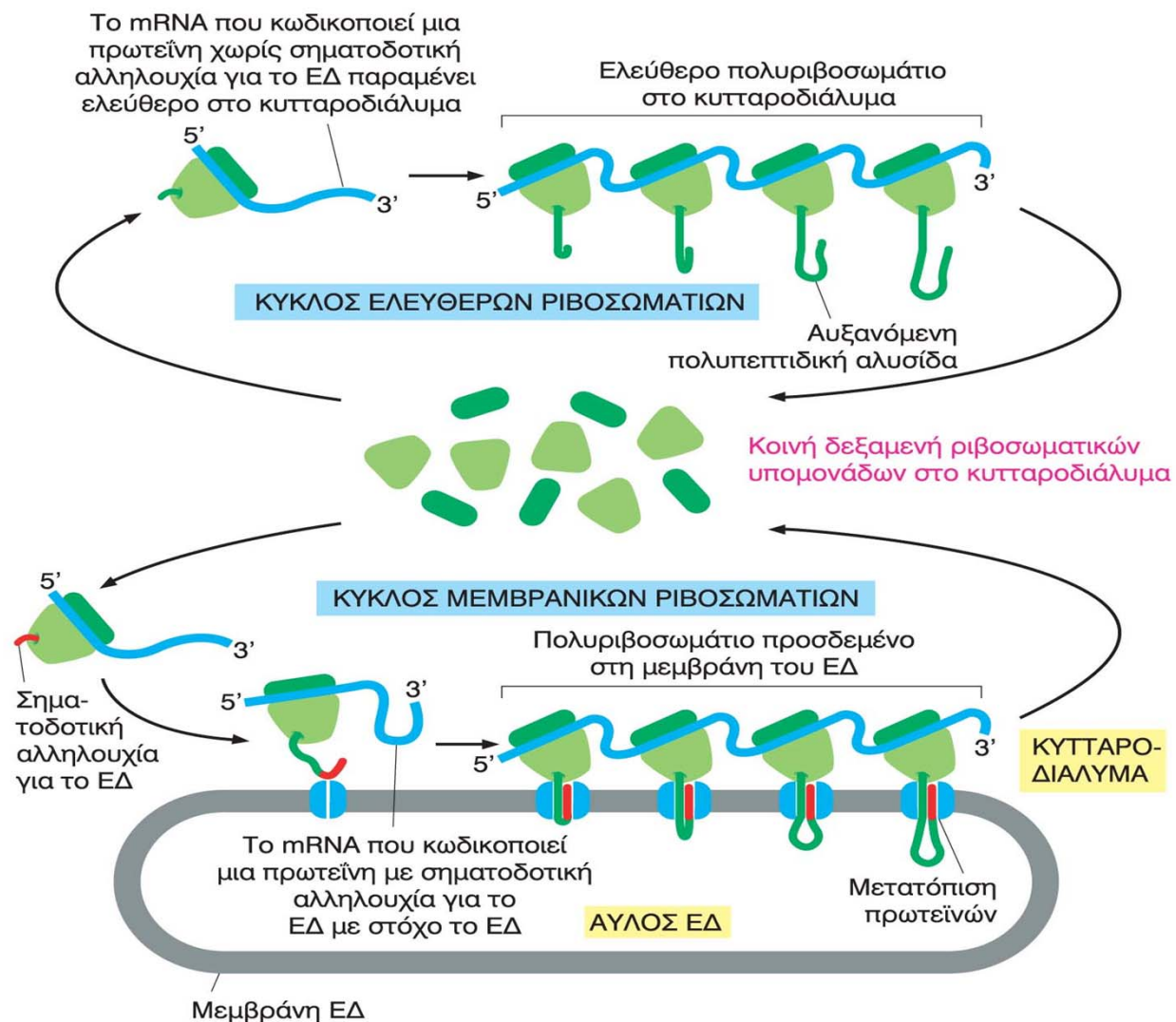


3. Οι πρωτεΐνες που προορίζονται για **μεταφορά με κυστίδια** εισέρχονται πρώτα στο Ενδοπλασματικό Δίκτυο (εκτός του Υπεροξεισωματίου)

Συντίθενται στα μεμβρανικά ριβοσωμάτια

Υπάρχουν δύο διαφορετικοί πληθυσμοί ριβοσωματίων

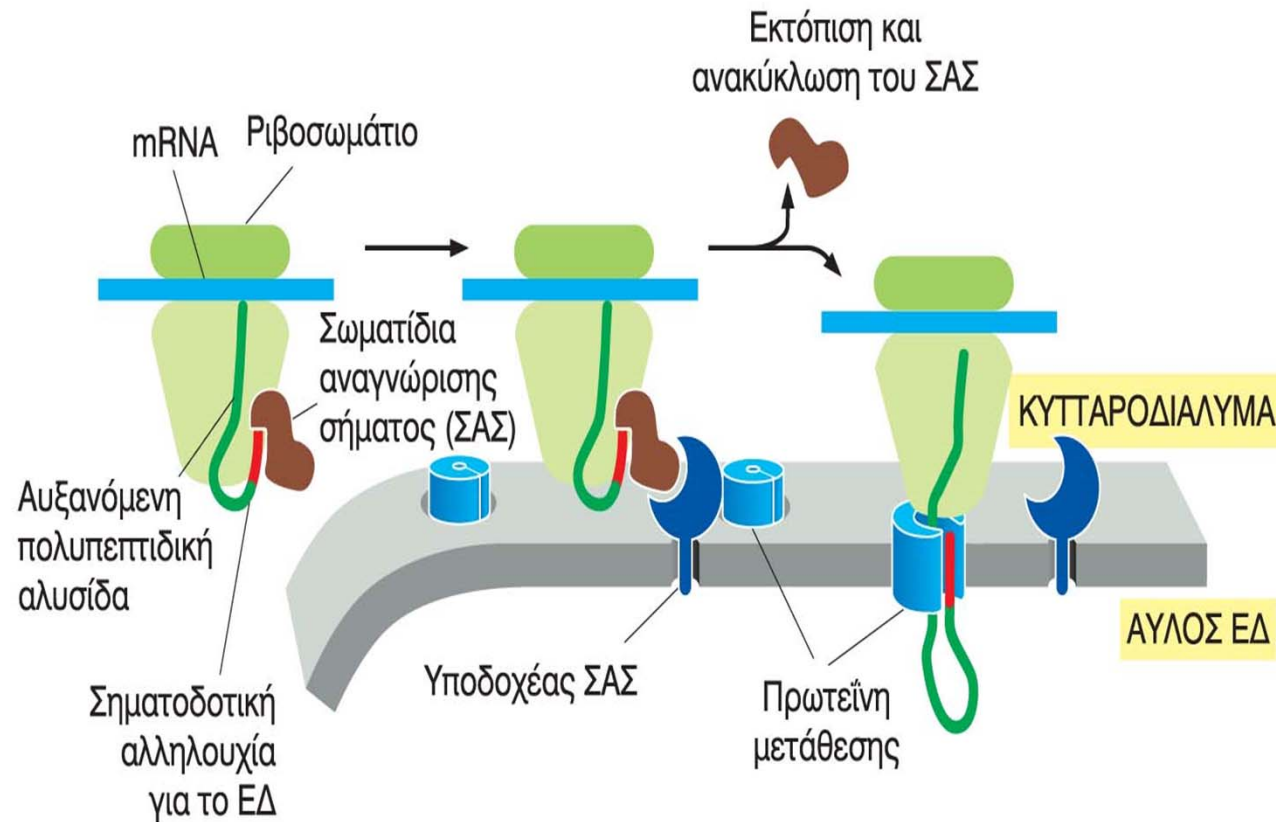
Εικόνα 15-13. Μια κοινή δεξαμενή ριβοσωματίων χρησιμοποιείται για τη σύνθεση όλων των πρωτεϊνών που κωδικοποιούνται από το γονιδίωμα του πυρήνα. Τα ριβοσωμάτια που μεταφράζουν πρωτεΐνες χωρίς σηματοδοτική αλληλουχία για το ΕΔ παραμένουν ελεύθερα στο κυτταροδιάλυμα. Τα ριβοσωμάτια που μεταφράζουν πρωτεΐνες που περιέχουν μια σηματοδοτική αλληλουχία για το ΕΔ (με κόκκινο χρώμα) στη συντιθέμενη πολυπεπτιδική αλυσίδα θα κατευθυνθούν στη μεμβράνη του ΕΔ. Σε κάθε μόριο mRNA προσδένονται πολλά ριβοσωμάτια, σχηματίζοντας ένα πολυριβωσωμάτιο. Στο τέλος κάθε κύκλου πρωτεϊνοσύνθεσης οι ριβοσωματικές υπομονάδες ελευθερώνονται και επιστρέφουν στην κοινή δεξαμενή, δηλαδή το κυτταροδιάλυμα. Όπως θα δούμε αργότερα, ο τρόπος δέσμευσης του ριβοσωματίου και της σηματοδοτικής αλληλουχίας στο ΕΔ και το διάλυο μετατόπισης είναι πιο πολύπλοκος απ' ό,τι περιγράφεται εδώ.



Ελεύθερα και μεμβρανικά ριβοσωμάτια

Πρόρχονται από κοινή δεξαμενή ριβοσωματικών υπομονάδων

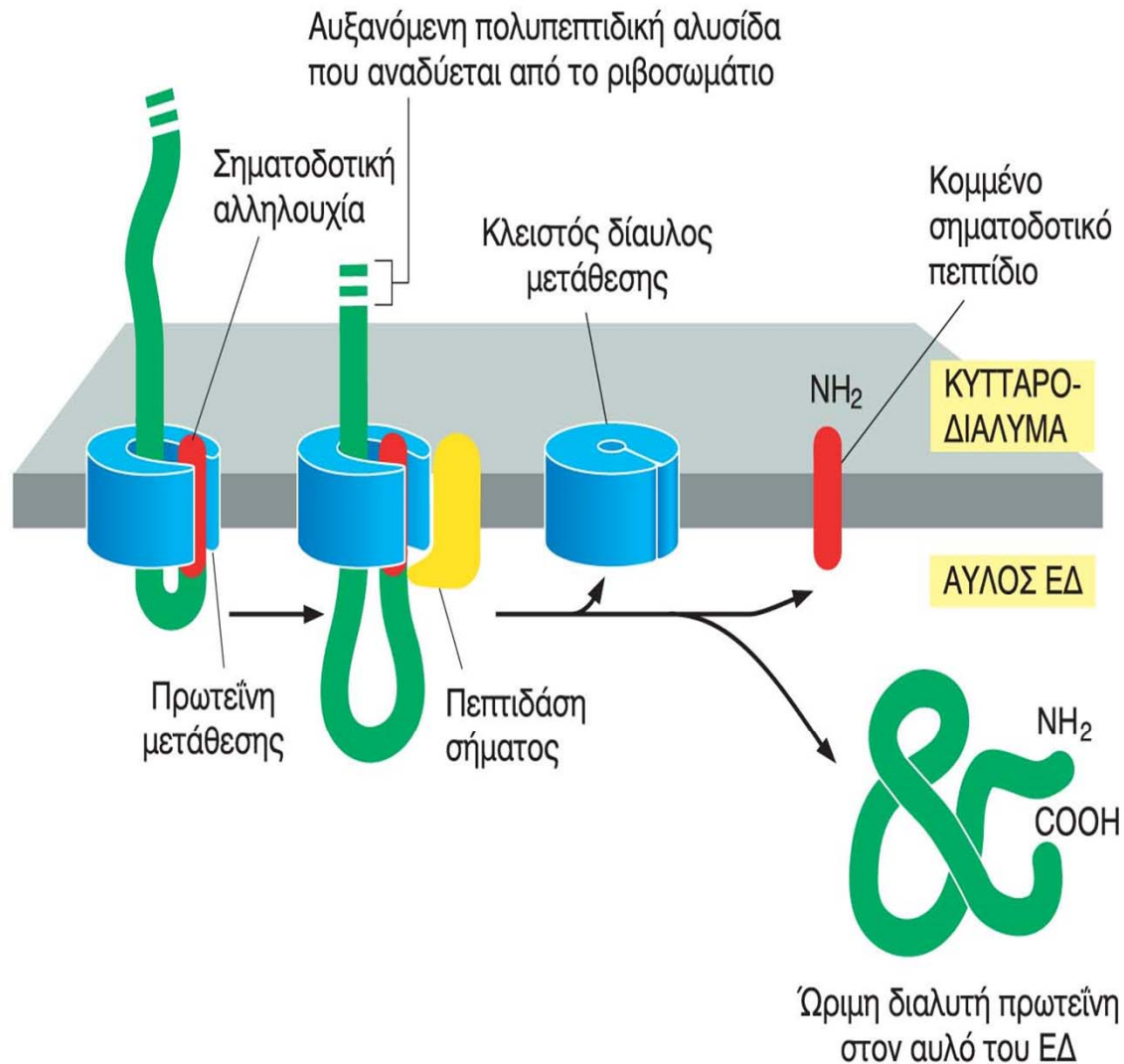
Ειδικοί υποδοχείς οδηγούν τα ριβοσωμάτια στο ΕΔ



Εικόνα 15-14. Μια σηματοδοτική αλληλουχία για το ΕΔ κι ένα σωματίδιο αναγνώρισης σήματος (ΣΑΣ) καθοδηγούν το ριβοσωμάτιο στη μεμβράνη του ΕΔ. Το σωματίδιο αναγνώρισης του σήματος (ΣΑΣ) προσδένεται τόσο στην εμφανιζόμενη σηματοδοτική αλληλουχία για το ΕΔ όσο και στο ριβοσωμάτιο, καθυστερώντας έτσι τη σύνθεση της πρωτεΐνης από το ριβοσωμάτιο. Στη συνέχεια, το σύμπλοκο ΣΑΣ-ριβοσωματίου προσδένεται στον υποδοχέα του ΣΑΣ που βρίσκεται στη μεμβράνη του ΕΔ. Το ΣΑΣ απελευθερώνεται εγκαταλείποντας το ριβοσωμάτιο στη μεμβράνη του ΕΔ. Η πρωτεϊνοσύνθεση συνεχίζεται και η πρωτεΐνη μετατόπισης αρχίζει να μεταφέρει το αυξανόμενο πολυπεπτίδιο διαμέσου της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

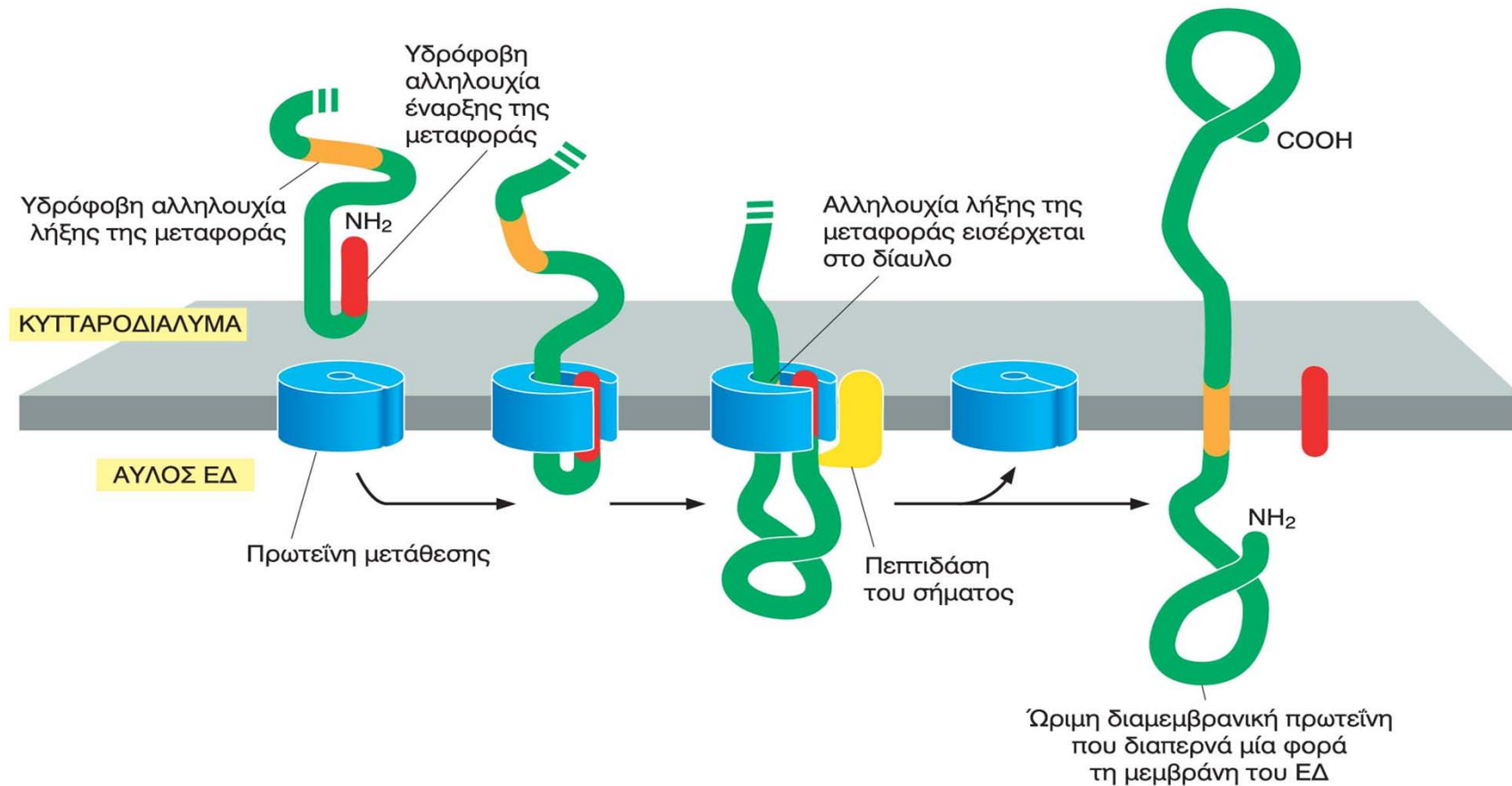
Η πρωτεϊνοσύνθεση συνεχίζεται και η πρωτεΐνη μετατόπισης αρχίζει να μεταφέρει το αυξανόμενο πολυπεπτίδιο διαμέσου της λιπιδικής διπλοστιβάδας.

Ειδικές αλληλουχίες μιας διαλυτής πρωτεΐνης είναι υπεύθυνες για την μετατόπιση της δια μέσου της μεμβράνης του ΕΔ



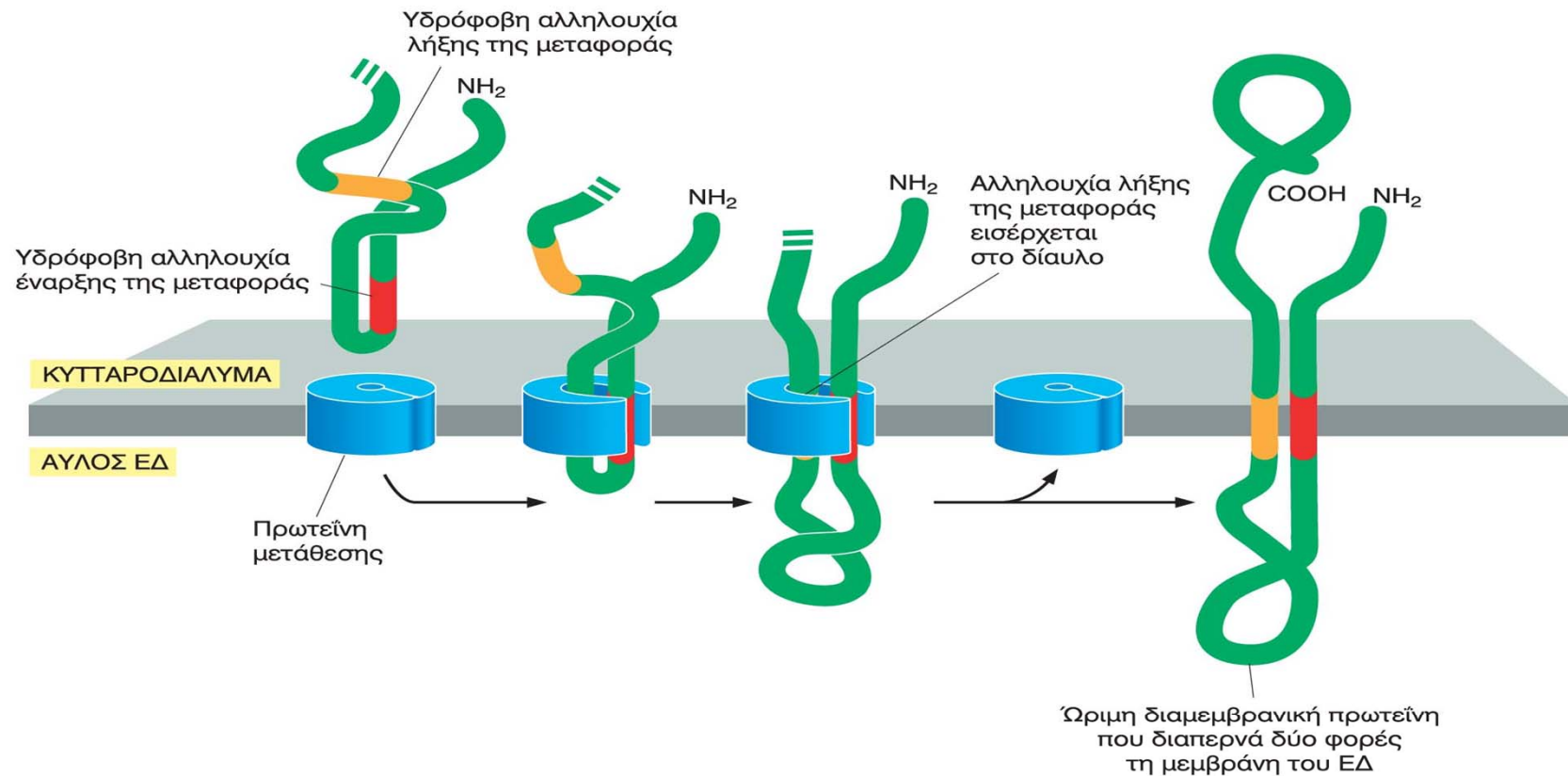
Εικόνα 15-15. Η μετατόπιση μιας διαλυτής πρωτεΐνης διαμέσου της μεμβράνης του ΕΔ μέσα στον αυλό. Μια πρωτεΐνη μετατόπισης προσδένει τη σηματοδοτική αλληλουχία και μεταφέρει ενεργά το υπόλοιπο πολυπεπτιδίδιο διαμέσου της λιπιδικής διπλοστιβάδας σαν θηλιά. Σε κάποιο στάδιο της διεργασίας μεταφοράς, ο διάυλος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

Άλλες ειδικές αλληλουχίες προσδιορίζουν τον προσανατολισμό μιας πρωτεΐνης στη λιπιδική στοιβάδα



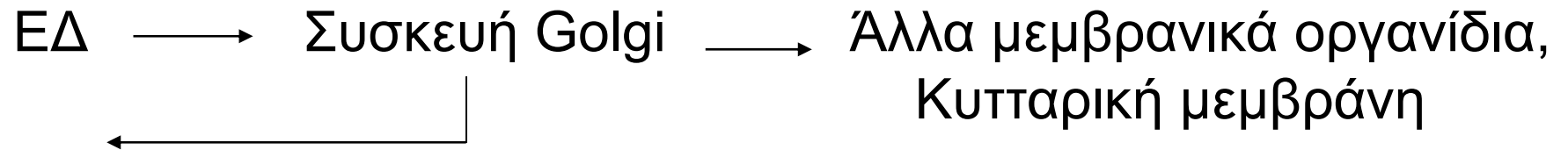
Εικόνα 15-16. Η διατήρηση μιας διαμεμβρανικής πρωτεΐνης στη λιπιδική διπλοστιβάδα. Μια αμινοτελική σηματοδοτική αλληλουχία για το ΕΔ (κόκκινη) αρχίζει τη μεταφορά όπως στην Εικόνα 15-14. Η πρωτεΐνη περιέχει επιπλέον μια δεύτερη υδρόφοβη αλληλουχία, μια αλληλουχία λήξης της μεταφοράς (πορτοκαλί). Όταν αυτή η αλληλουχία εισέλθει στο διάλυο μετατόπισης, ξεφορτώνει την πρωτεΐνη μέσα στη λιπιδική διπλοστιβάδα κι έπειτα η αμινοτελική σηματοδοτική αλληλουχία αποκόπτεται, αφήνοντας τη διαμεμβρανική πρωτεΐνη αγκυροβολημένη στη μεμβράνη. Η σύνθεση της πρωτεΐνης στην πλευρά του κυτταροδιαλύματος συνεχίζεται έως ότου ολοκληρωθεί.

Ειδικές αλληλουχίες μιας διαλυτής πρωτεΐνης είναι υπεύθυνες για την μετατόπιση της δια μέσου της μεμβράνης του ΕΔ



Εικόνα 15-17. Μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη που διαπερνά τη μεμβράνη δύο φορές έχει μια εσωτερική σηματοδοτική αλληλουχία για το ΕΔ. Αυτή η εσωτερική αλληλουχία (κόκκινη) λειτουργεί ως σήμα έναρξης της μεταφοράς, κι επίσης βοηθά στην αγκίστρωση της τελικής πρωτεΐνης στη μεμβράνη. Όπως και η αμινοτελική σηματοδοτική αλληλουχία για το ΕΔ, έτσι κι αυτή αναγνωρίζεται από ένα ΣΑΣ που φέρνει το ριβοσωμάτιο στη μεμβράνη του ΕΔ (δεν εικονίζεται). Όταν η αλληλουχία λήξης της μεταφοράς (πορτοκαλί) εισέλθει στο διάλυο μετατόπισης, ο διάλυος απελευθερώνει και τις δύο αλληλουχίες πλαγίως μέσα στη λιπιδική διπλοστιβάδα. Όμως, ούτε η αλληλουχία έναρξης ούτε η αλληλουχία λήξης της μεταφοράς αποκόπτονται, με αποτέλεσμα ολόκληρη η πολυπεπτιδική αλυσίδα να παραμένει αγκυροβολημένη στη μεμβράνη ως διαμεμβρανική πρωτεΐνη διπλής διέλευσης. Οι πρωτεΐνες που διαπερνούν τη μεμβράνη περισσότερες φορές περιέχουν επιπρόσθετα ζεύγη αλληλουχιών έναρξης και λήξης και για κάθε ζεύγος επαναλαμβάνεται η ίδια διεργασία.

II. Μεταφορά με κυστίδια



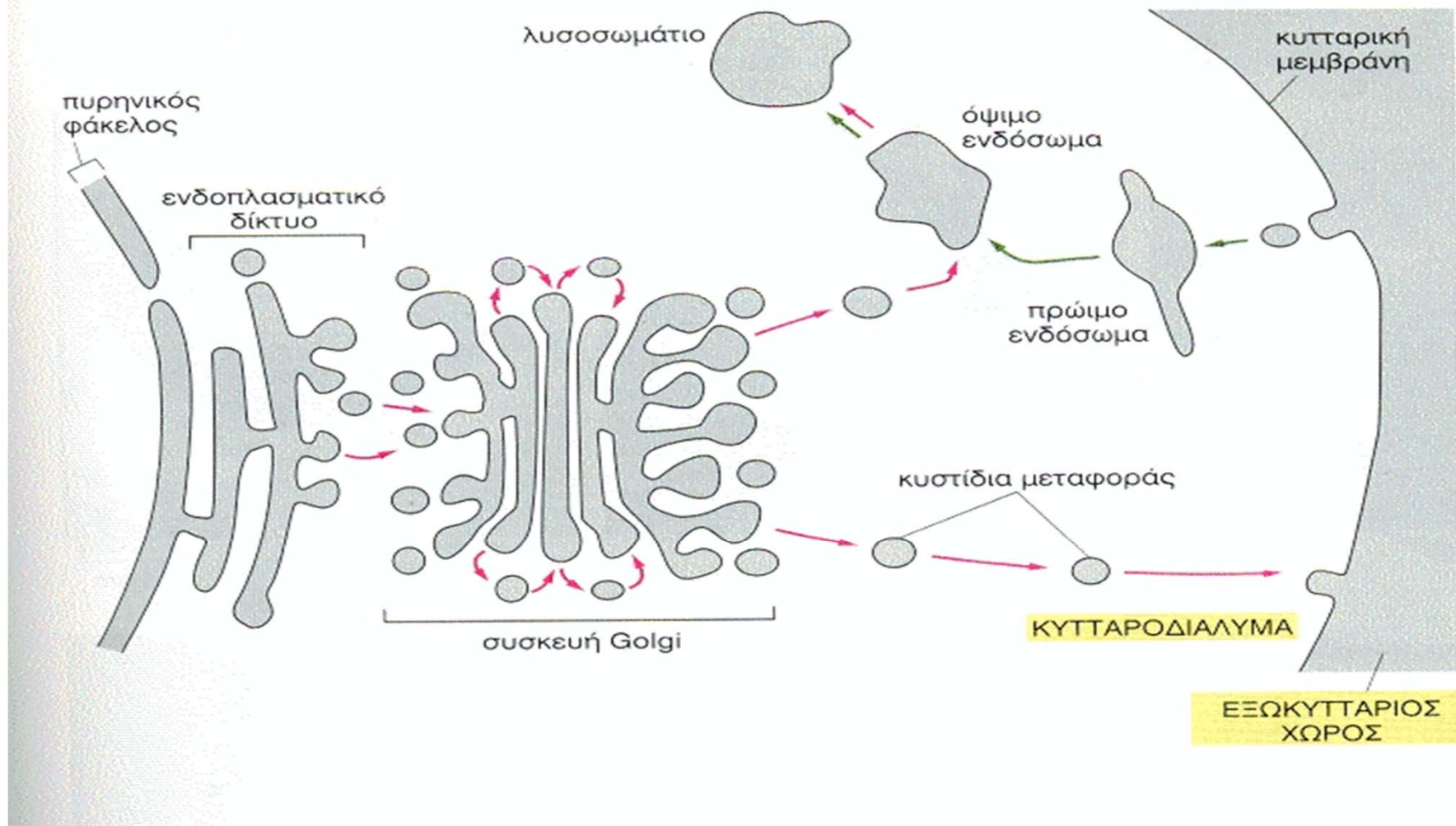
**με συνεχή
εκβλάστηση και σύντηξη κυστιδίων μεταφοράς**

Συσκευή Golgi: σταθμός διαλογής πρωτεϊνών

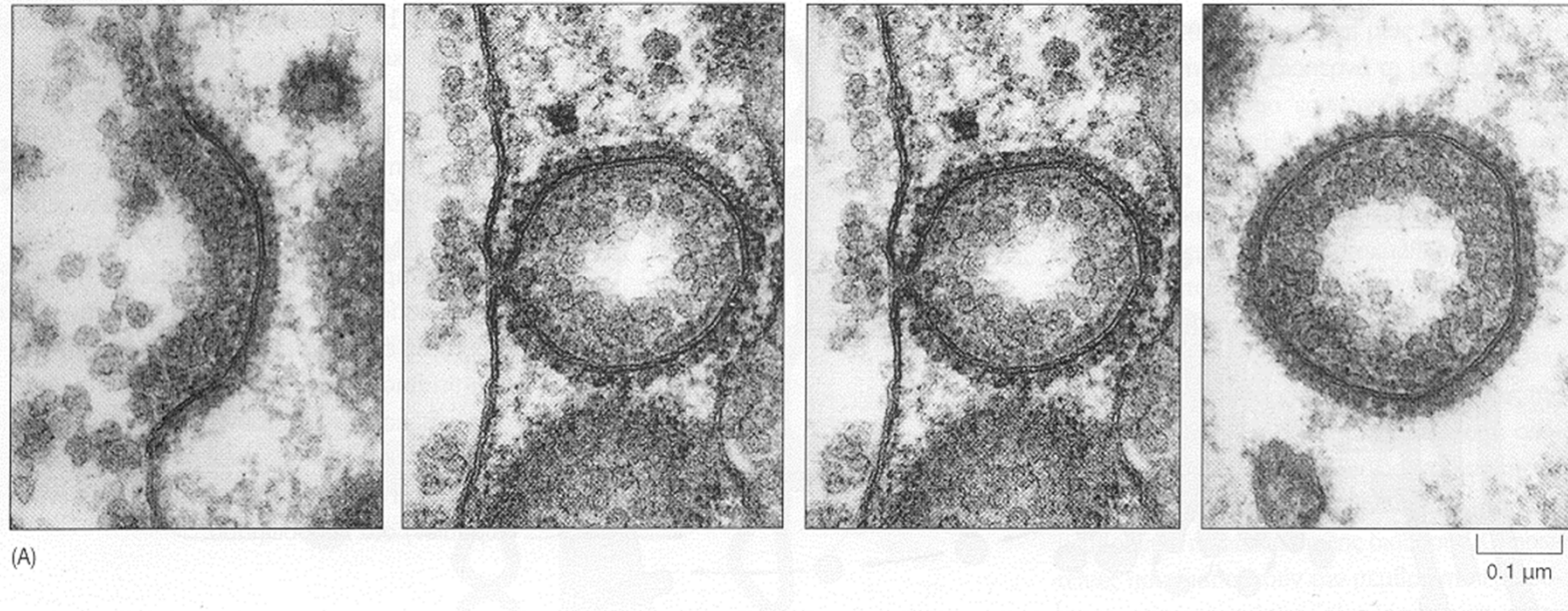
Εκβλάστηση και σύντηξη κυστιδίων μεταφοράς

Επικοινωνία εξωκυττάριου χώρου και μεμβρανικών διαμερισμάτων

Ένα μόριο περικλείεται σε διαδοχικά κυστιδία, τα οποία διαδοχικά συντήκονται και εκβλαστάνουν από τις διαδοχικές πεπλατισμένες μεμβράνες του στοιχείου Golgi



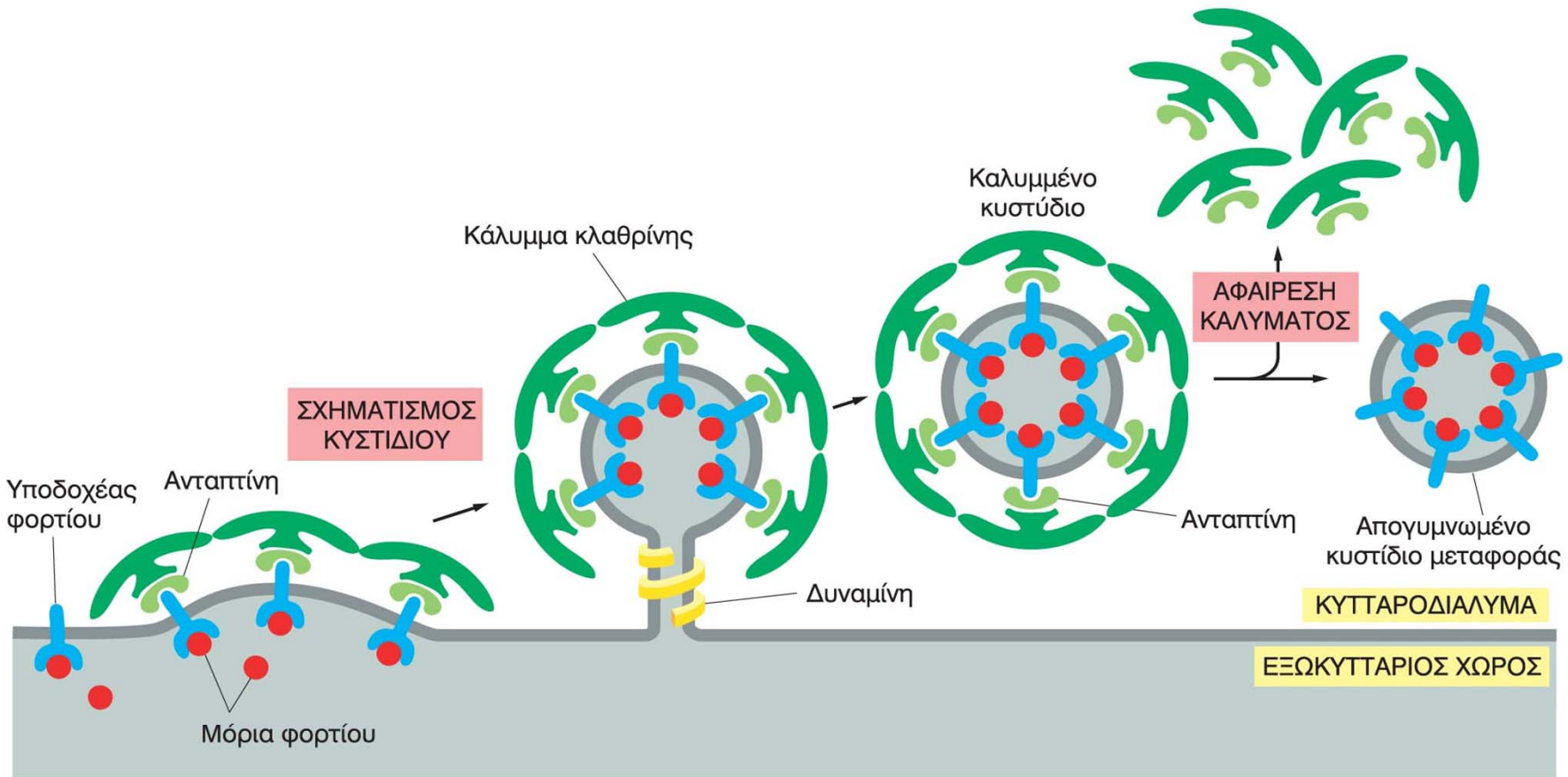
Ειδικές πρωτεΐνες προωθούν την εκβλάστηση κυστιδίων



Με την συγκρότηση ενός πρωτεϊνικού καλύμματος κλαθρίνης

Φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου

Ειδική υποδοχή πρωθών μέσω κυστιδίων

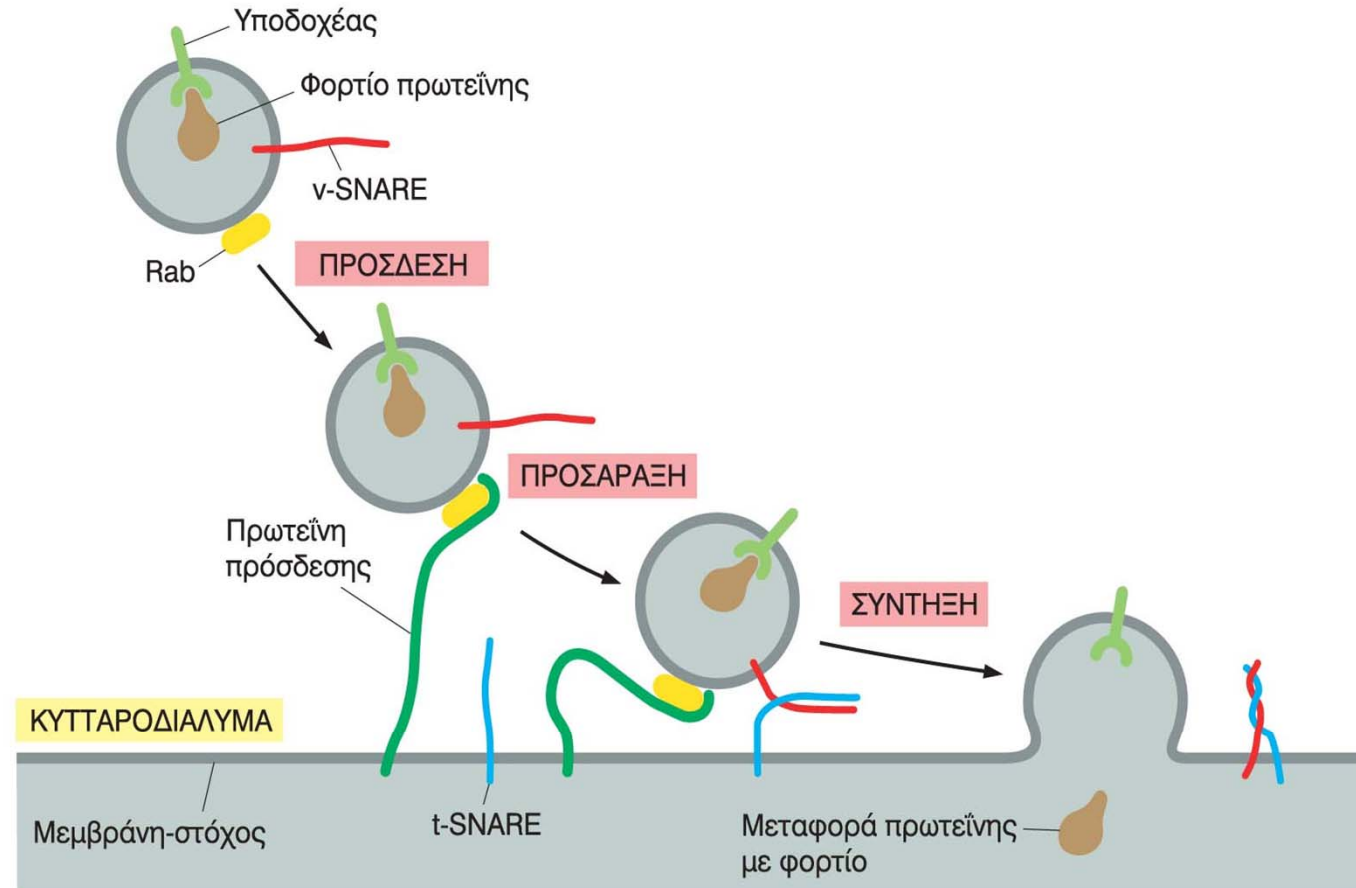


Εικόνα 15-20. Επιλεκτική μεταφορά μέσω κυστιδίων καλυμμένων με κλαθρίνη. Εδώ, όπως στην Εικόνα 15-19, εικονίζονται τα κυστίδια που σχηματίζονται από την κυτταρική μεμβράνη. Οι υποδοχείς φορτίου, μαζί με τα προσδεδεμένα μόρια του φορτίου, αιχμαλωτίζονται από ανταπίνες, οι οποίες επίσης προσδέονται με μόρια κλαθρίνης που βρίσκονται στην επιφάνεια του νεοσχηματιζόμενου κυστιδίου προς το κυτταροδιάλυμα. Οι δυναμίνες συναθροίζονται γύρω από το λαιμό των νεοσχηματιζόμενων κυστιδίων και, αφού συναρμολογηθούν υδρόλυσουν το προσδεδεμένο GTP και αποκόπτουν το κυστίδιο. Μόλις ολοκληρωθεί η εκβλάστηση, οι πρωτεΐνες του καλύμματος αφαιρούνται και το γυμνό πλέον κυστίδιο μπορεί να συντηχθεί με τη μεμβράνη-στόχο. Λειτουργικά παρόμοιες πρωτεΐνες επικάλυψης έχουν βρεθεί και σε άλλα είδη καλυμμένων κυστιδίων.

Μοντέλο προσάραξης κυστιδίων

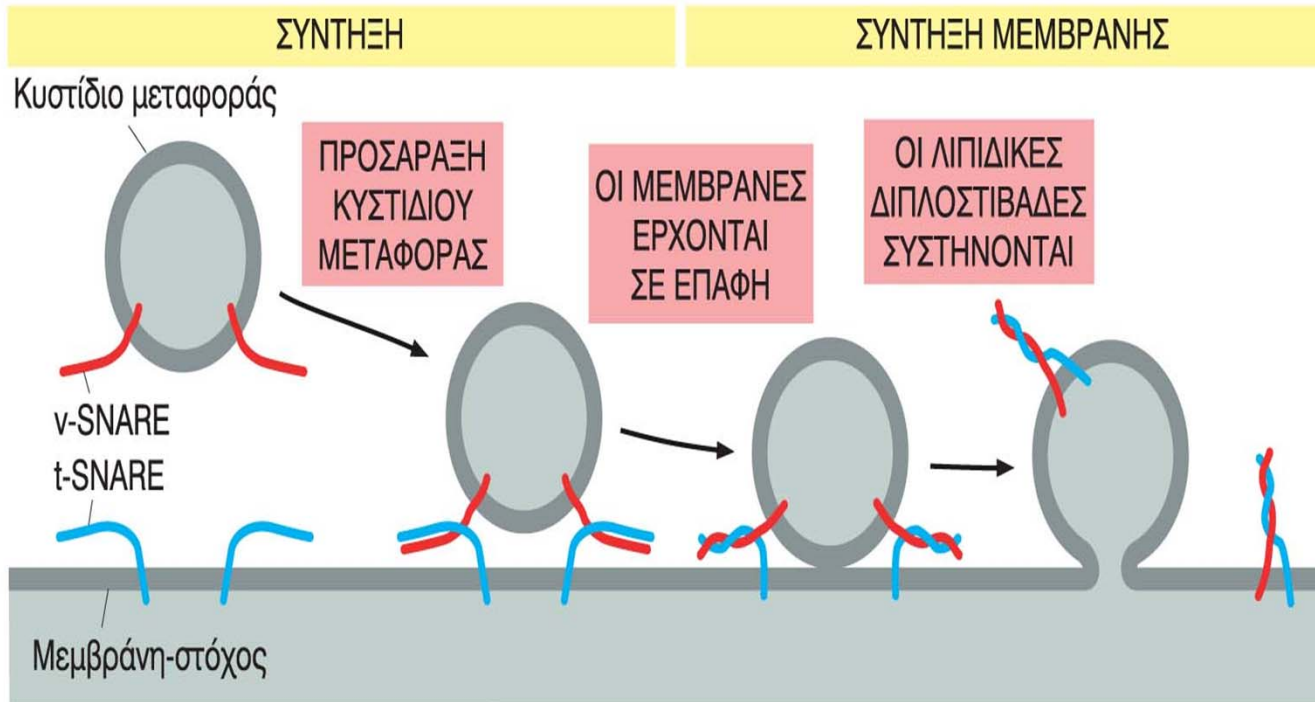
Εικόνα 15-21. Ένα μοντέλο προσάραξης των κυστιδίων μεταφοράς.

Μια πρωτεΐνη πρόσδεσης με μορφή ινιδίου που προεξέχει από τη μεμβράνη προσδένει μια πρωτεΐνη Rab που βρίσκεται στην επιφάνεια ενός κυστιδίου. Αυτή η αλληλεπίδραση επιτρέπει την προσάραξη του κυστιδίου στη μεμβράνη-στόχο. Τότε, μια πρωτεΐνη v-SNARE του κυστιδίου προσδένεται σε μια συμπληρωματική t-SNARE στη μεμβράνη-στόχο. Η σύνδεση



των πρωτεϊνών πρόσδεσης με τις πρωτεΐνες Rab λειτουργεί ως αρχικό στάδιο αναγνώρισης μεταξύ του κυστιδίου και της μεμβράνης-στόχου και η αλληλεπίδραση των συμπληρωματικών SNAREs παίζει υποβοηθητικό ρόλο. Αυτές οι SNAREs καταλύουν επίσης την τελική σύντηξη των δύο μεμβρανών (βλ. Εικόνα 15-22).

Μοντέλο προσάραξης κυστιδίων

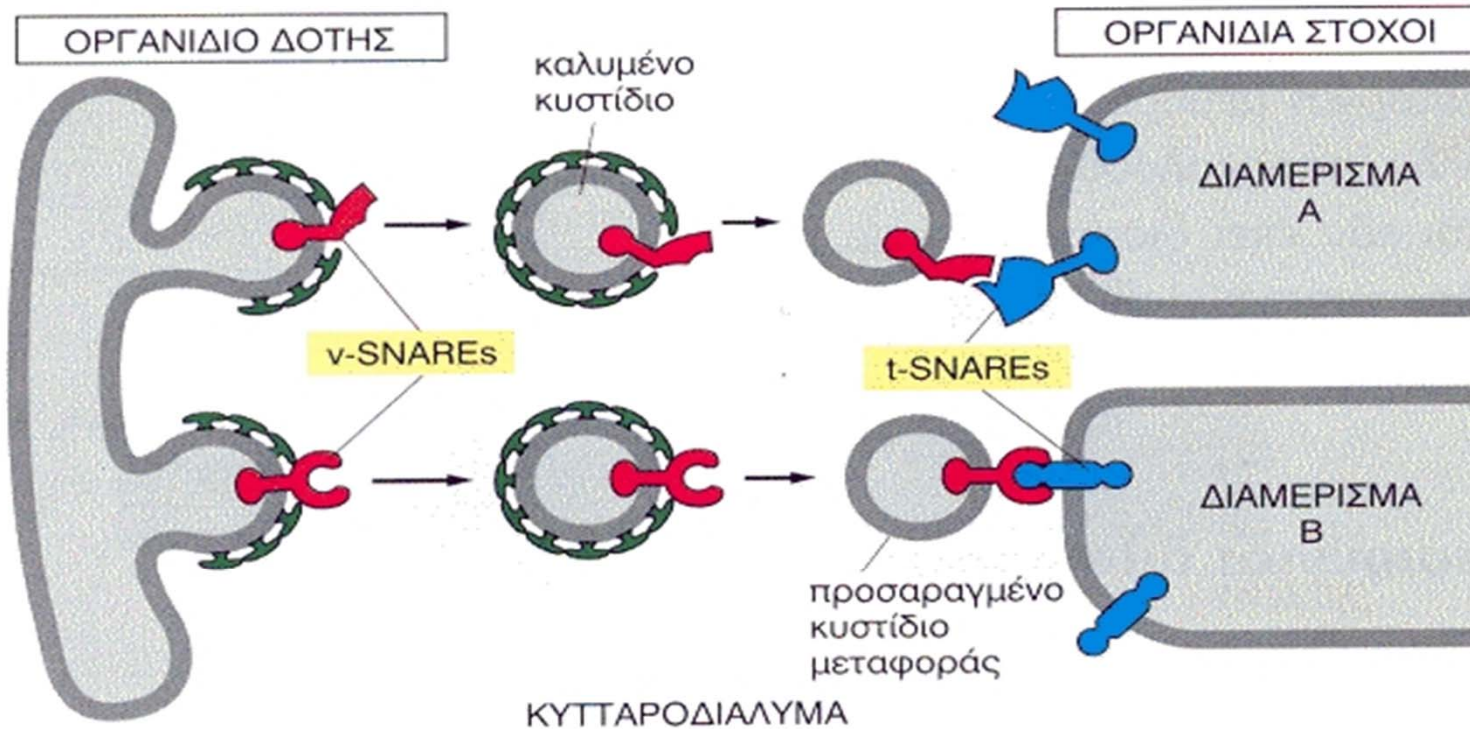


Εικόνα 15-22. Ύστερα από προσάραξη του κυστιδίου, οι πρωτεΐνες SNARE καταλύουν τη σύντηξη του κυστιδίου και των μεμβρανών-στόχων. Μετά από κατάλληλο ερέθισμα, το στενό ζευγάρι των v-SNARE με τις t-SNARE εξαναγκάζει τις δύο λιπιδικές στιβάδες να συμπλησιά-

σουν τόσο ώστε ν' απομακρυνθούν τυχόν μόρια νερού που έχουν παγιδευτεί μεταξύ τους. Στη συνέχεια πραγματοποιείται ανταλλαγή λιπιδίων και τελικά σύντηξη των δύο μεμβρανών. Σ' ένα κύτταρο, άλλες πρωτεΐνες που επιστρατεύονται στο σημείο της σύντηξης βοηθούν στην ολοκλήρωση της διεργασίας σύντηξης. Μετά τη σύντηξη, οι SNAREs αποσυνδέονται μεταξύ τους έτσι ώστε να ξαναχρησιμοποιηθούν.

Τα κυστίδια βρρίσκουν το **οργανίδιο –στόχο**

Με ειδικές πρωτεΐνες-δείκτες που προσδένονται σε συμπληρωματικές πρωτεΐνες στη μεμβράνη του στόχου



Μοντέλο προσάραξης κυστιδίου μεταφοράς

III. Οδοί έκκρισης- εξωκυττάρωση

Οι περισσότερες πρωτεΐνες τροποποιούνται ομοιοπολικά μέσα στο Ενδοπλασματικό Δίκτυο

•Δισουλφιδικοί δεσμοί

Δεν σχηματίζονται στο κυτταροδιάλυμα επειδή το περιβάλλον είναι αναγωγικό




•Γλυκοζυλίωση

**Λίγες πρωτεΐνες είναι γλυκοζυλιομένες στο κυτταροδιάλυμα
Προστασία από αποδόμηση, μέρος της υδατανθρακικής στιβάδας του κυττάρου**

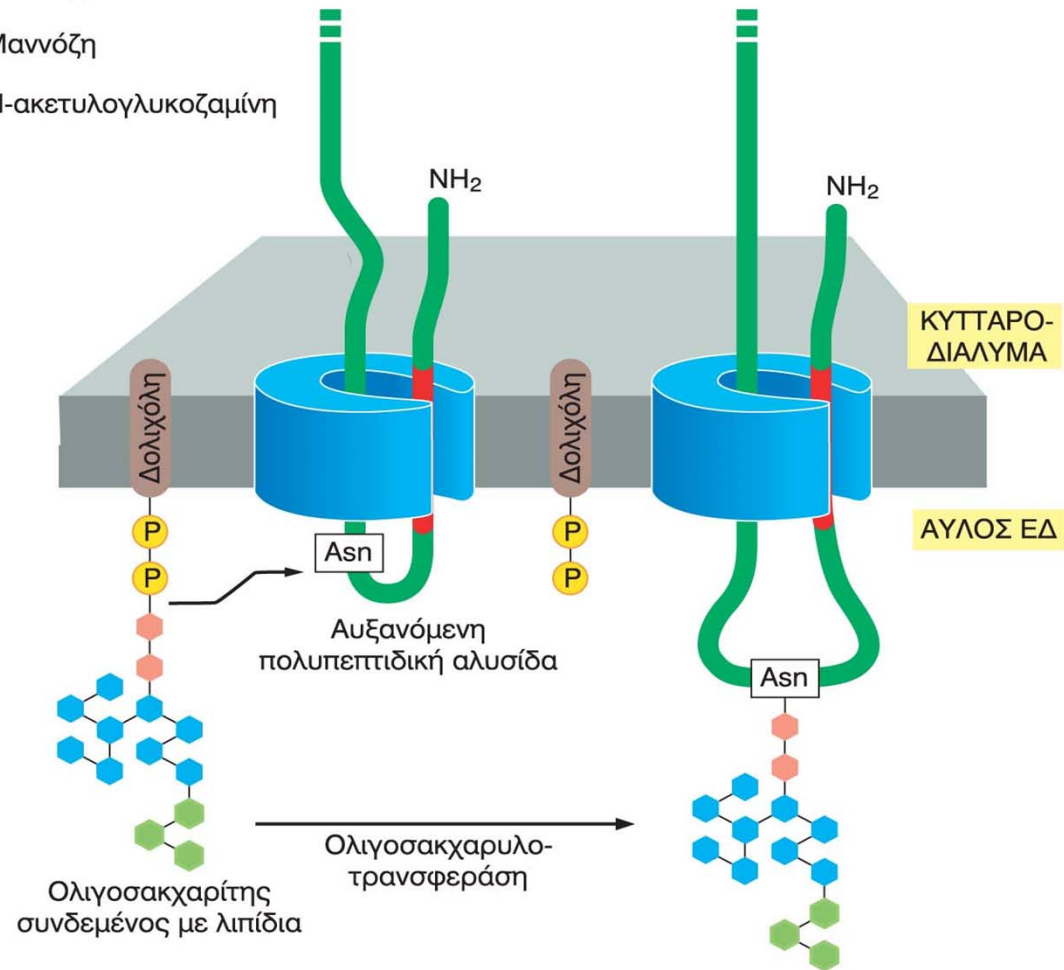
Ενδοπλασματικό Δίκτυο

Σχηματική παράσταση γλυκοζυλίωσης πρωτεϊνών Σήμα γλυκοζυλίωσης : Asn-X-Thr ή Ser

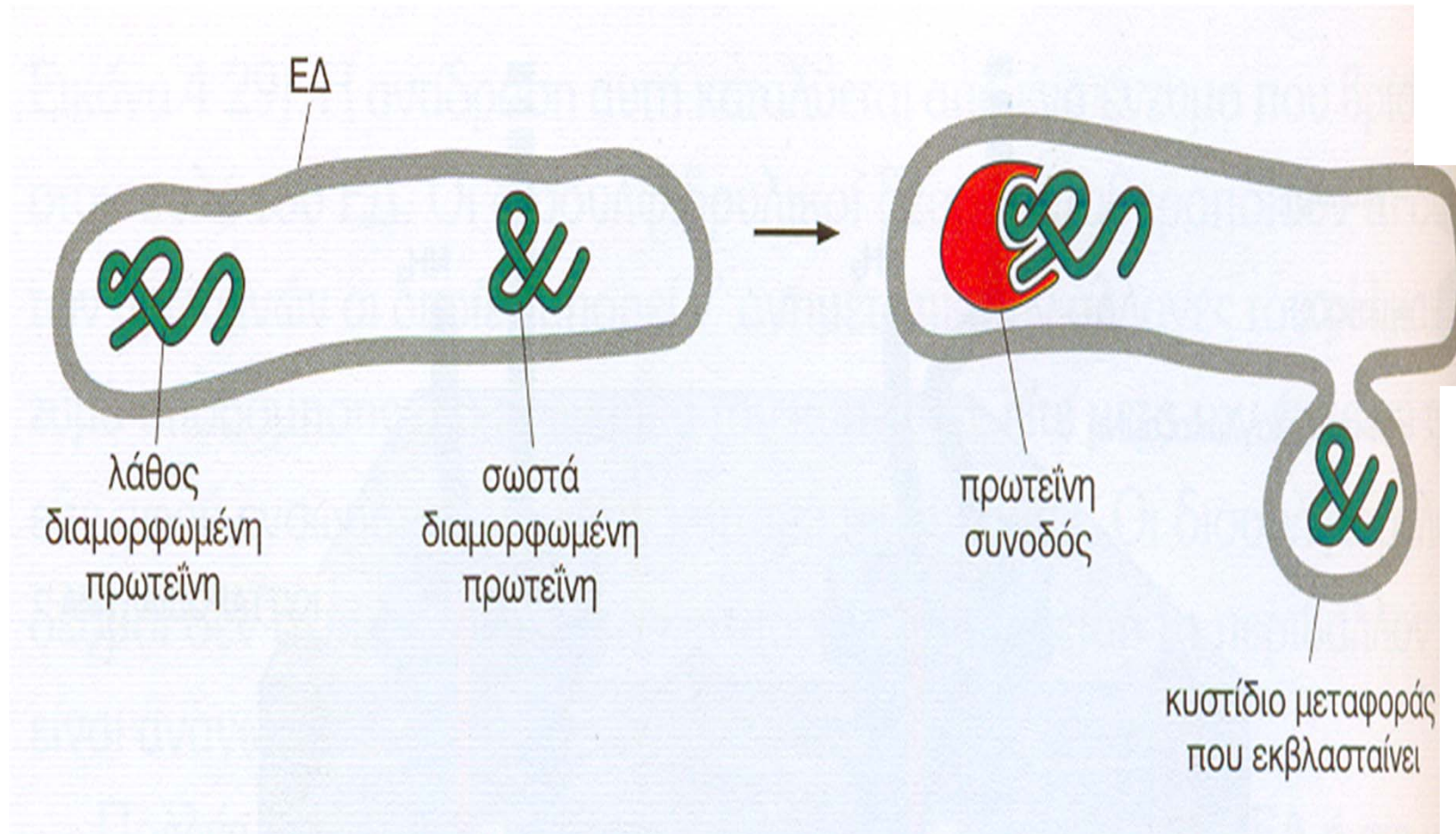
ΚΛΕΙΔΙ:

-  = Γλυκόζη
-  = Μαννόζη
-  = N-ακετυλογλυκοζαμίνη

Εικόνα 15-23. Η γλυκοζυλίωση των πρωτεϊνών σε ασπαραγίνες στο ΕΔ. Όταν η κατάλληλη ασπαραγίνη εισέλθει στον αυλό του ΕΔ, γλυκοζυλιώνεται με προσθήκη μιας διακλαδισμένης πλευρικής αλυσίδας ολιγοσακχαριτών. Κάθε αλυσίδα ολιγοσακχαριτών μεταφέρεται ως σύνολο στην ασπαραγίνη από ένα λιπίδιο που καλείται δολιχόλη, με τη βοήθεια του ενζύμου ολιγοσακχαρυλοτρανσφεράση (δεν εικονίζεται). Οι ασπαραγίνες που γλυκοζυλιώνονται βρίσκονται πάντα στο τριπεπτίδιο: ασπαραγίνη-Χ-σερίνη ή θρεονίνη (το Χ μπορεί να είναι οποιοδήποτε άλλο αμινοξύ).



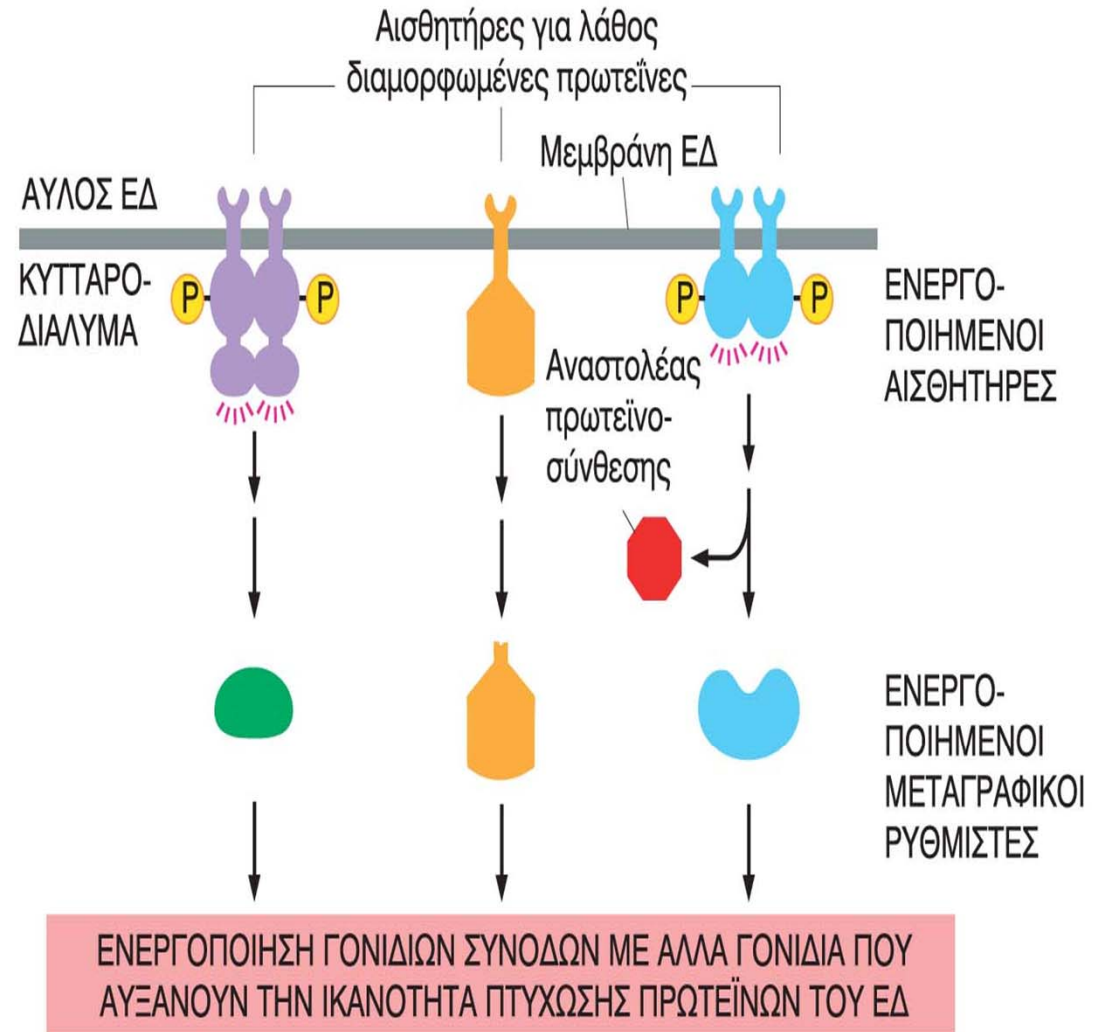
Στο Ενδοπλασματικό Δίκτυο γίνεται ο έλεγχος ποιότητας των πρωτεϊνών



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

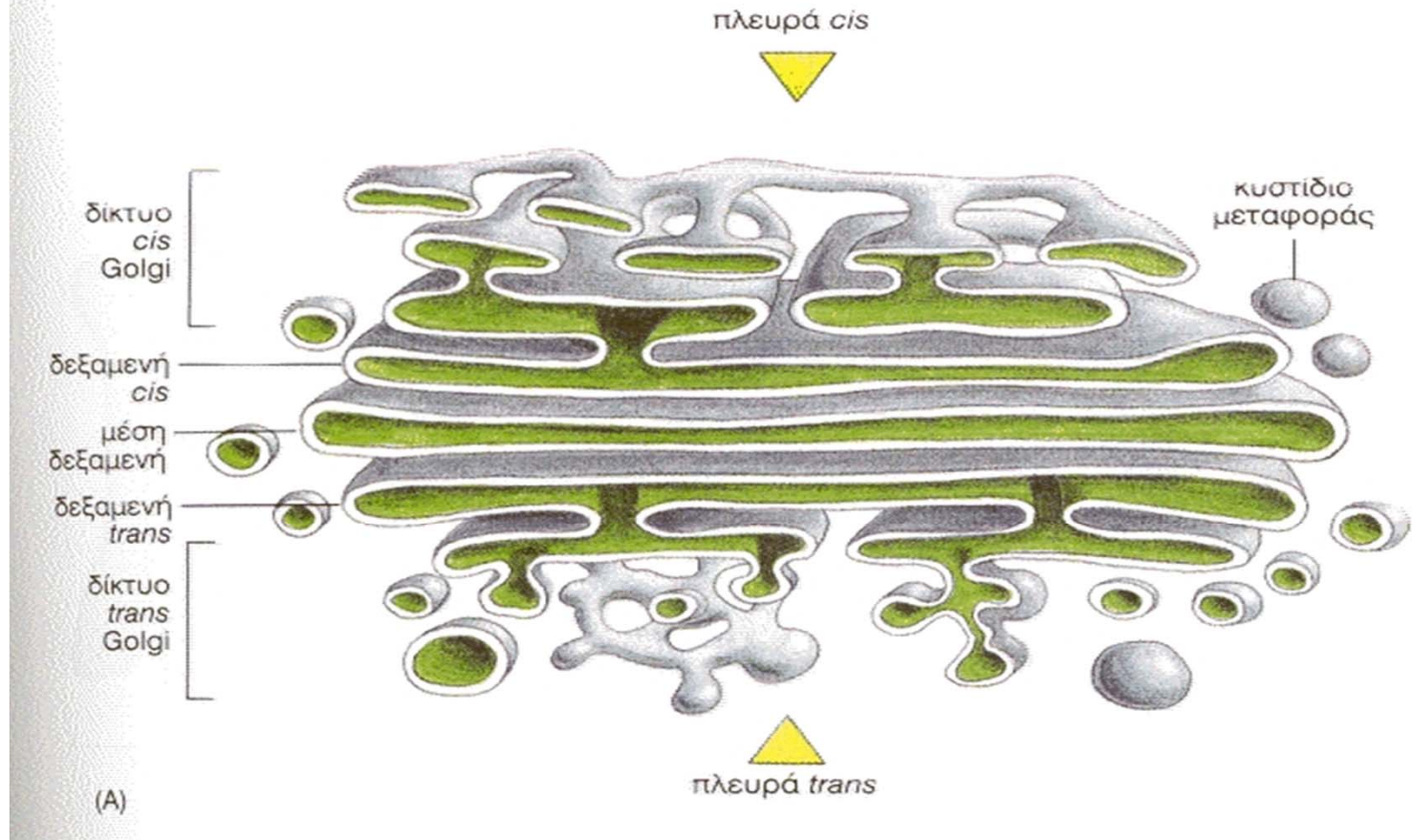
Στο Ενδοπλασματικό Δίκτυο γίνεται ο έλεγχος ποιότητας των πρωτεϊνών

Εικόνα 15-25. Η συσσώρευση κακοδιπλωμένων πρωτεϊνών στον αυλό του ΕΔ πυροδοτεί μια απάντηση σε μη διπλωμένες πρωτεΐνες (UPR). Οι κακοδιπλωμένες πρωτεΐνες αναγνωρίζονται από πολυάριθμους τύπους διαμεμβρανικών πρωτεϊνών αισθητήρων στη μεμβράνη του ΕΔ, καθεμία από τις οποίες ενεργοποιεί ένα διαφορετικό μέρος της UPR. Ορισμένοι αισθητήρες διεγείρουν την παραγωγή μεταγραφικών ρυθμιστών που ενεργοποιούν γονίδια τα οποία κωδικοποιούν συνοδούς και άλλες πρωτεΐνες του συστήματος ποιοτικού ελέγχου του ΕΔ. Ένας άλλος αισθητήρας αναστέλλει επίσης την πρωτεϊνοσύνθεση, ελαττώνοντας τη ροή πρωτεϊνών μέσω του ΕΔ.



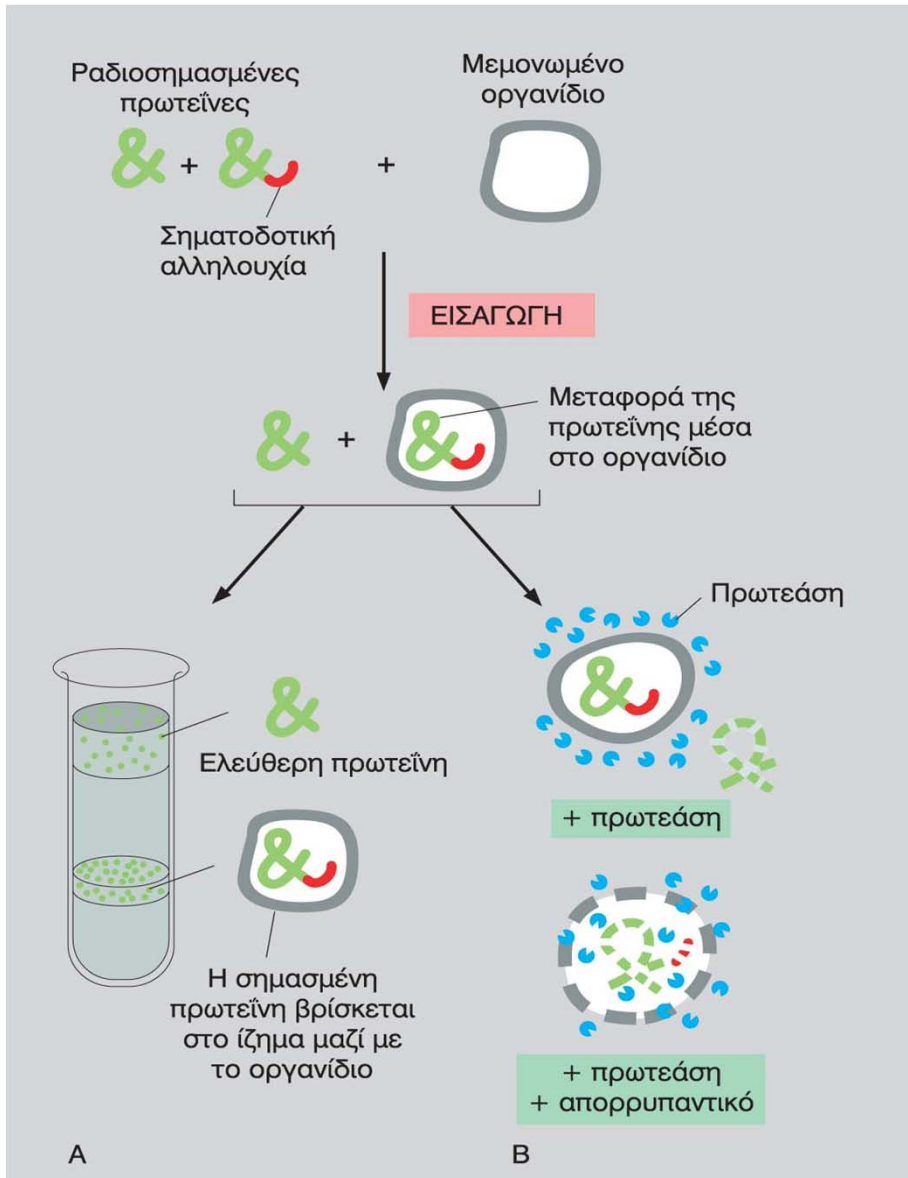
Οι πρωτεΐνες τροποποιούνται περισσότερο
και
υπόκεινται σε διαλογή στη Συσκευή Golgi
πριν προωθηθούν προς την κυτταρική μεμβράνη
για εξωκυττάρωση

Η Συσκευή Golgi: Πλευρά Cis > Ε.Δ., Πλευρά trans > Κυτταρική Μembrάνη



Κάθε κυστίδιο που δημιουργείται στην **πλευρά cis** συντήκεται με τη μεμβράνη της αμέσως επόμενης δεξαμενής, έως ότου φθάσει στην **πλευρά trans**. Κατά την πορεία αυτή η μεταφερόμενη πρωτεΐνη συναντά διάφορα ένζυμα (τα οποία έχουν συγκεκριμένες θέσεις) και υπόκειται σε διάφορες τροποποιήσεις

Καθορισμός τοπογραφίας μιας πρωτεΐνης



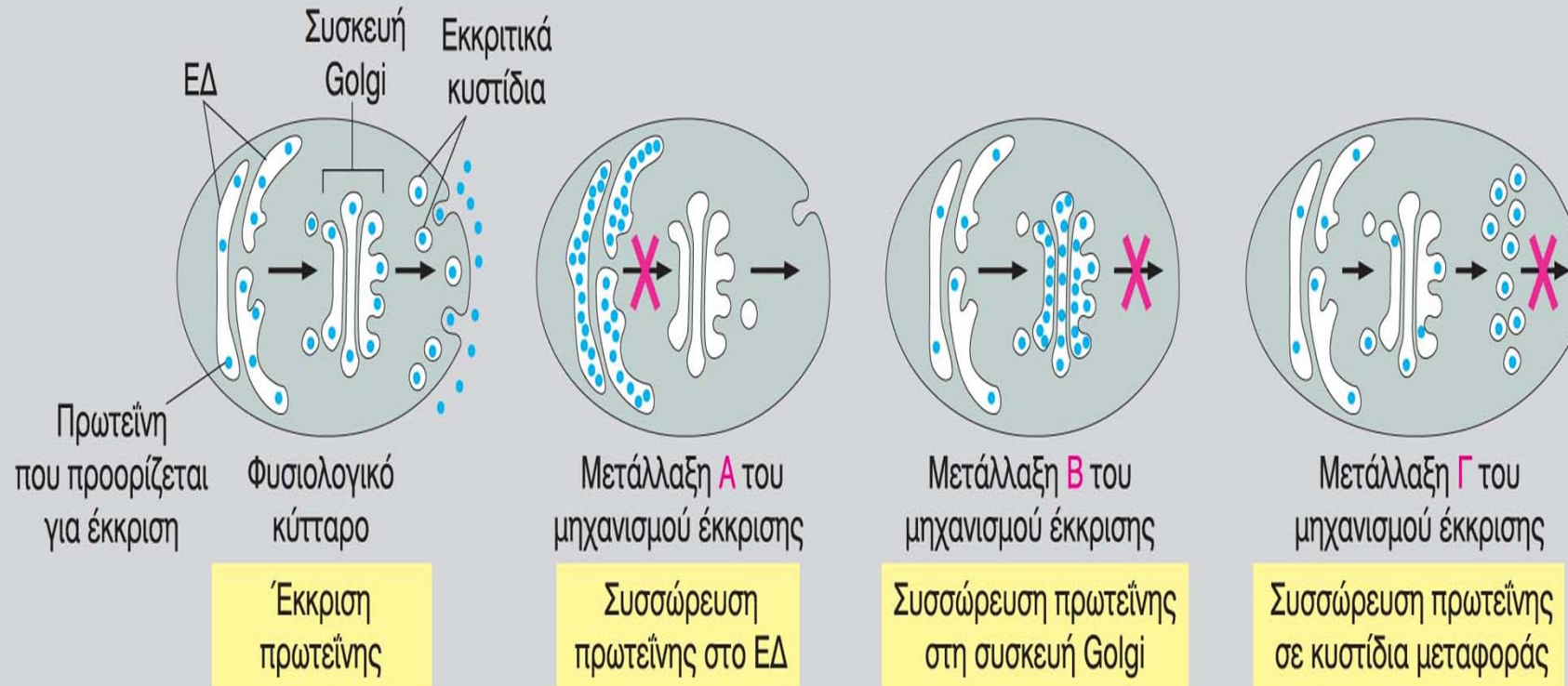
Εικόνα 15-27. Αρκετές μέθοδοι βοηθούν να καθορισθεί αν μια πρωτεΐνη που φέρει μια ορισμένη σηματοδοτική αλληλουχία μεταφέρεται μέσα σε μεμονωμένα οργανίδια. (Α) Η σημασμένη πρωτεΐνη με/χωρίς μια σηματοδοτική αλληλουχία επωάζεται με τα οργανίδια και μετά το παρασκεύασμα υποβάλλεται σε φυγοκέντρηση. Μόνο οι πρωτεΐνες που περιείχαν τη σηματοδοτική αλληλουχία εισήλθαν στα οργανίδια και άρα βρίσκονται στο ίζημα που αυτά σχημάτισαν. (Β) Οι σημασμένες πρωτεΐνες επωάζονται με τα οργανίδια και μετά στο παρασκεύασμα προστίθεται μια πρωτεάση. Αν μια πρωτεΐνη έχει εισαχθεί στο οργανίδιο θα προστατευτεί από την πρωτεάση. Η προσθήκη ενός απορρυπαντικού που παραβλάπτει τη μεμβράνη του οργανιδίου αίρει την προστασία, οπότε καταστρέφεται και η πρωτεΐνη που μεταφέρθηκε.

**Στη συσκευή Golgi γίνονται πρόσθετες τροποποιήσεις
στις πρωτεΐνες (γλυκοζυλίωση κλπ)**

**Μέσα στη Συσκευή Golgi, ορισμένες πρωτεΐνες
έχουν την δυνατότητα δημιουργίας συσσωματωμάτων
>>200 της κανονικής τους συγκέντρωσης**

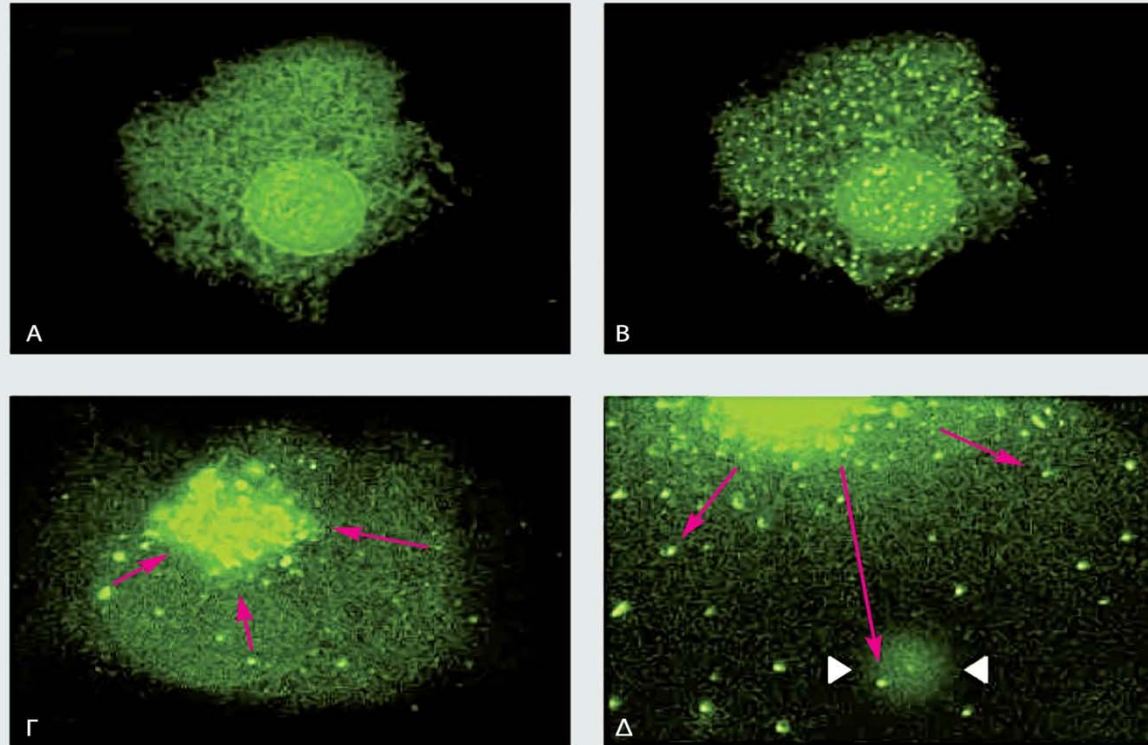
→ πολύ γρήγορη απελευθέρωση μεγάλων ποσοτήτων
πρωτεΐνης, μετά από διέγερση

Έκκριση πρωτεϊνών στον ζυμομύκητα



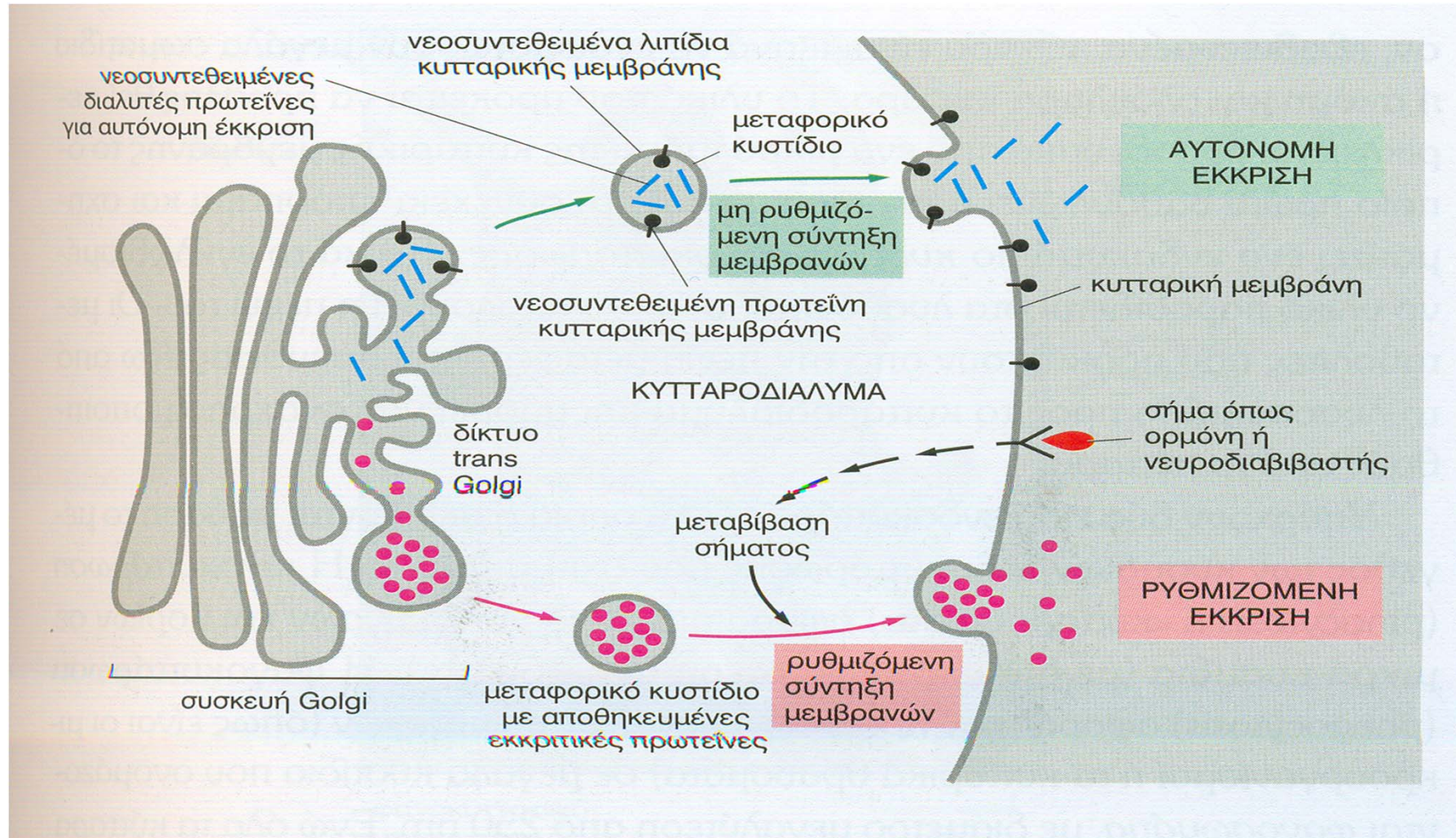
Εικόνα 15-28. Η οδός έκκρισης των πρωτεϊνών στο ζυμομύκητα διαλευκάνθηκε με τη μελέτη θερμοευαίσθητων μεταλλαγμένων στελεχών. Οι μεταλλάξεις σε γονίδια που εμπλέκονται σε διαφορετικά στάδια της διεργασίας μεταφοράς οδηγούν σε συσσώρευση πρωτεϊνών στο ΕΔ, τη συσκευή Golgi ή σε άλλα μεταφορικά κυστίδια.

Σήμανση της πορείας πρωτεϊνών με GFP



Εικόνα 15-29. Η σήμανση μιας πρωτεΐνης με GFP επιτρέπει την παρακολούθηση των πρωτεϊνών σε όλο το κύτταρο. Στο συγκεκριμένο πείραμα, η GFP έχει συντηχθεί με μια πρωτεΐνη του περιβλήματος ενός ιού κι έχει εκφραστεί σε κύτταρα σε καλλιέργεια. Σ' ένα μολυσμένο κύτταρο, η πρωτεΐνη του ιού μετακινείται μέσω της εκκριτικής οδού από το ΕΔ προς την επιφάνεια του κυττάρου, όπου συναρμολογούνται τα σωματίδια του ιού. Η ική πρωτεΐνη του συγκεκριμένου πειράματος περιέχει μια μετάλλαξη που επιτρέπει την εξαγωγή από το ΕΔ μόνο σε χαμηλή θερμοκρασία. (Α) Σε υψηλή θερμοκρασία, το προϊόν της σύντηξης (GFP + πρωτεΐνη του ιού) παραμένει στο ΕΔ. (Β) Καθώς μειώνεται η θερμοκρασία, η υβριδική πρωτεΐνη συσσωρεύεται γρήγορα στις «πύλες» εξόδου του ΕΔ. (Γ) Από εκεί περνά στη συσκευή Golgi. (Δ) Τέλος, αποδίδεται στην κυτταρική μεμβράνη. Η άλως ανάμεσα στις δύο αιχμές σημαδεύει το σημείο όπου ένα κυστίδιο συντήχθηκε με την κυτταρική μεμβράνη αποβάλλοντας την ική πρωτεΐνη στη μεμβράνη. (Α-Δ, με την άδεια της Jennifer Lippincott-Schwartz).

Οδοί Εξωκυττάρωσης: ρυθμιζόμενη / ιδιοσύστατη



πχ: αύξηση γλυκόζης στο αίμα σηματοδοτεί στα κύτταρα του παγκρέατος να εκκρίνουν την ορμόνη ινσουλίνη

IV. Ενδοκυττάρωση

Φαγοκυττάρωση

(πρόσληψη μεγάλων σωματιδίων/μικροοργανισμοί σε μεγάλα κυστίδια >250nm)

Πρωτόζωα > διατροφή

*Φαγοκύτταρα>άμυνα(βακτήριο>υποδοχείςφαγοκυττάρων>φαγοσώματα
>σύντηξη με λυσοσωμάτιο>πέψη βακτηρίου)*

Παράδειγμα: βακτήριο φυματίωσης αναστέλλει την σύντηξη και επιβιώνει

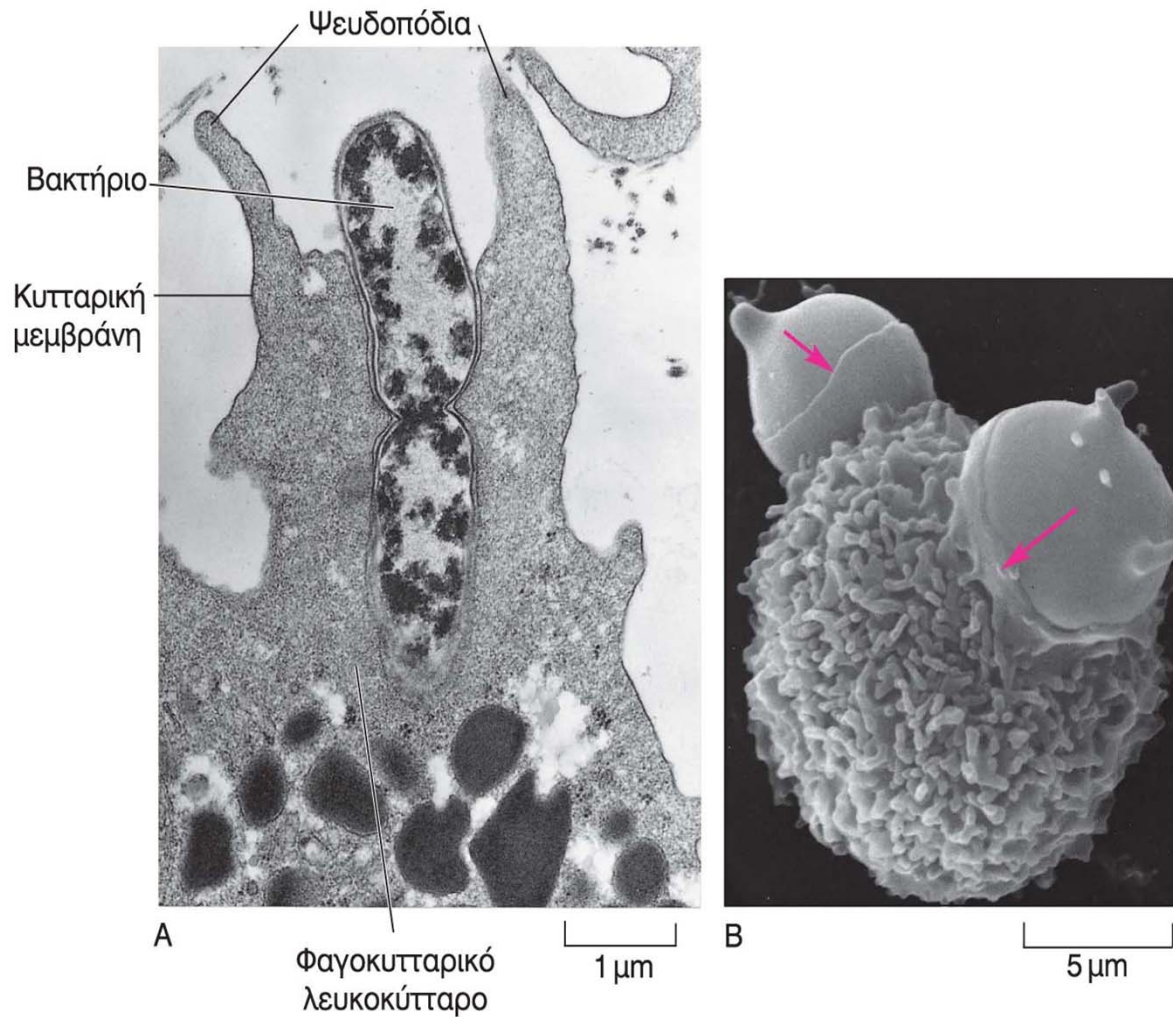
Πινοκυττάρωση

(πρόσληψη υγρών-μορίων σε μικρά κυστίδια <150nm)

εσοχές και κυστίδια κλαθρίνης συντήκονται με ενδοσωμάτια

Φαγοκυττάρωση ερυθροκυττάρων από μακροφάγο

Κάθε μέρα φαγοκυτταρόνονται πάνω από 10^{11} φθαρμένα ερυθρά



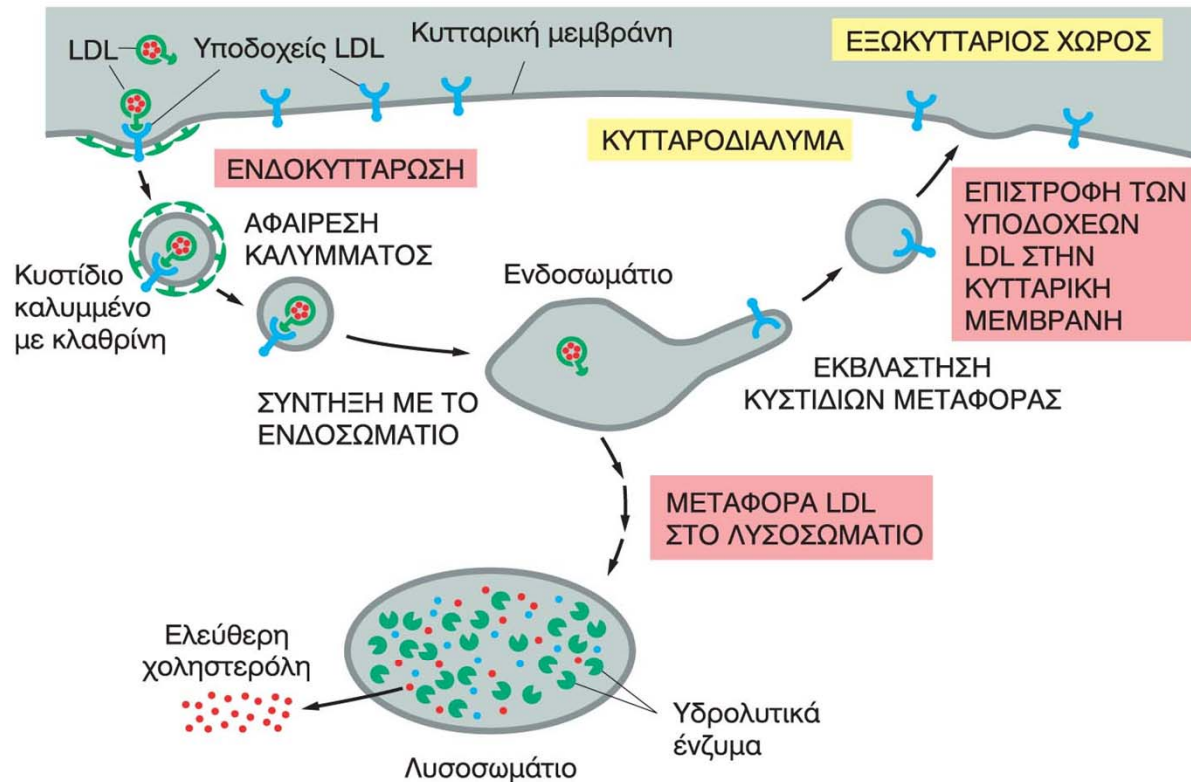
Εικόνα 15-32. Τα εξειδικευμένα φαγοκύτταρα εγκολπώνουν άλλα κύτταρα. **(A)** Ηλεκτρονιογραφία ενός φαγοκυτταρικού λευκοκυττάρου (ένα ουδετερόφιλο) κατά την πρόσληψη ενός βακτηρίου το οποίο βρίσκεται στη φάση της διαίρεσης. **(B)** Ηλεκτρονιογραφία σάρωσης ενός μακροφάγου που φαγοκυτταρώνει δύο ερυθρά αιμοσφαίρια. Τα κόκκινα βέλη υποδεικνύουν τις άκρες των ψευδοποδίων. Τα ψευδοπόδια προεκβάλλουν από τα φαγοκύτταρα σαν κολάρα για να καταβροχθίσουν τη λεία τους. (A, με την άδεια της Dorothy F. Bainton. B, με την άδεια του Jean Paul Revel.)

Ζωικά κύτταρα : Ενδοκυττάρωση μέσω υποδοχέων

Ενδοκυττάρωση της LDL

Εικόνα 15-33. Ενδοκυττάρωση της LDL μέσω υποδοχέων.

Οι LDL προσδένονται σε υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης κι ενσωματώνονται σε κυστίδια καλυμμένα με κλαθρίνη. Στη συνέχεια τα κυστίδια αποβάλλουν το κάλυμμα και συντήκονται μ' ενδοσωμάτια. Στο όξινο περιβάλλον των ενδοσωματίων, οι LDL διίστανται από τους υποδοχείς τους. Ενώ οι LDL καταλήγουν σε λυσοσωμάτια όπου αποδομούνται και αποδεσμεύουν ελεύθερη χοληστερόλη, οι υποδοχείς των LDL επιστρέφουν στην κυτταρική μεμβράνη μέσω κυστιδίων μεταφοράς για να ξαναχρησιμοποιηθούν. Για λόγους απλούστευσης έχει σχεδιαστεί η είσοδος και η επιστροφή στη μεμβράνη μόνο ενός υποδοχέα LDL. Ανεξάρτητα από το αν ένας υποδοχέας LDL είναι ελεύθερος ή έχει προσδέσει ένα μόριο LDL, συνήθως ολοκληρώνει τη διαδρομή του κυττάρου στο εσωτερικό και ξανά πίσω στη μεμβράνη κάθε 10 λεπτά, δηλαδή συνολικά πραγματοποιεί μερικές εκατοντάδες διαδρομές κατά την εικοσάωρη διάρκεια της ζωής του.

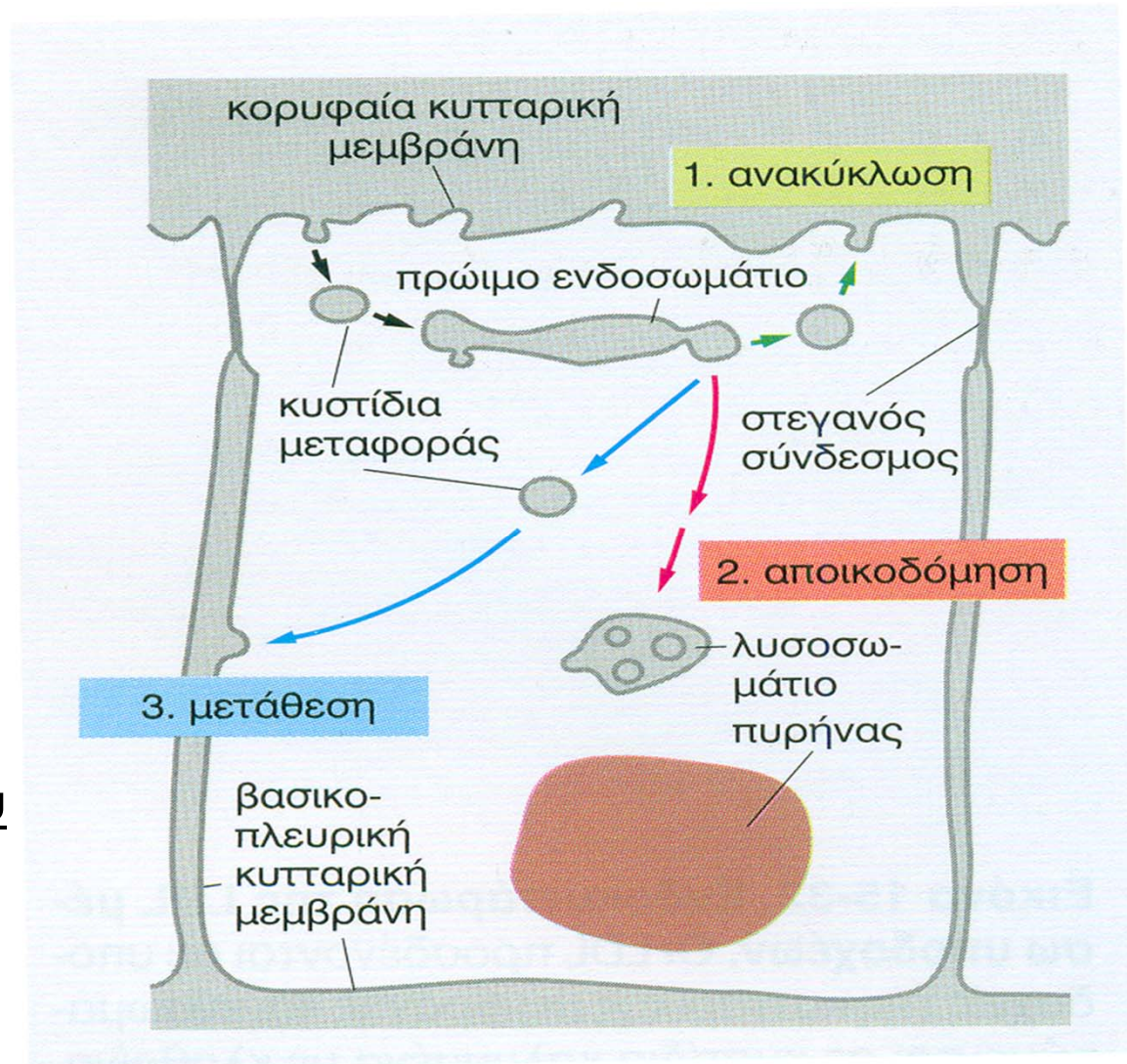


***Αθηροσκλήρυνση:** ελλατωματικό γονίδιο υποδοχέα LDL > συσσώρευση χοληστερόλης στο αίμα

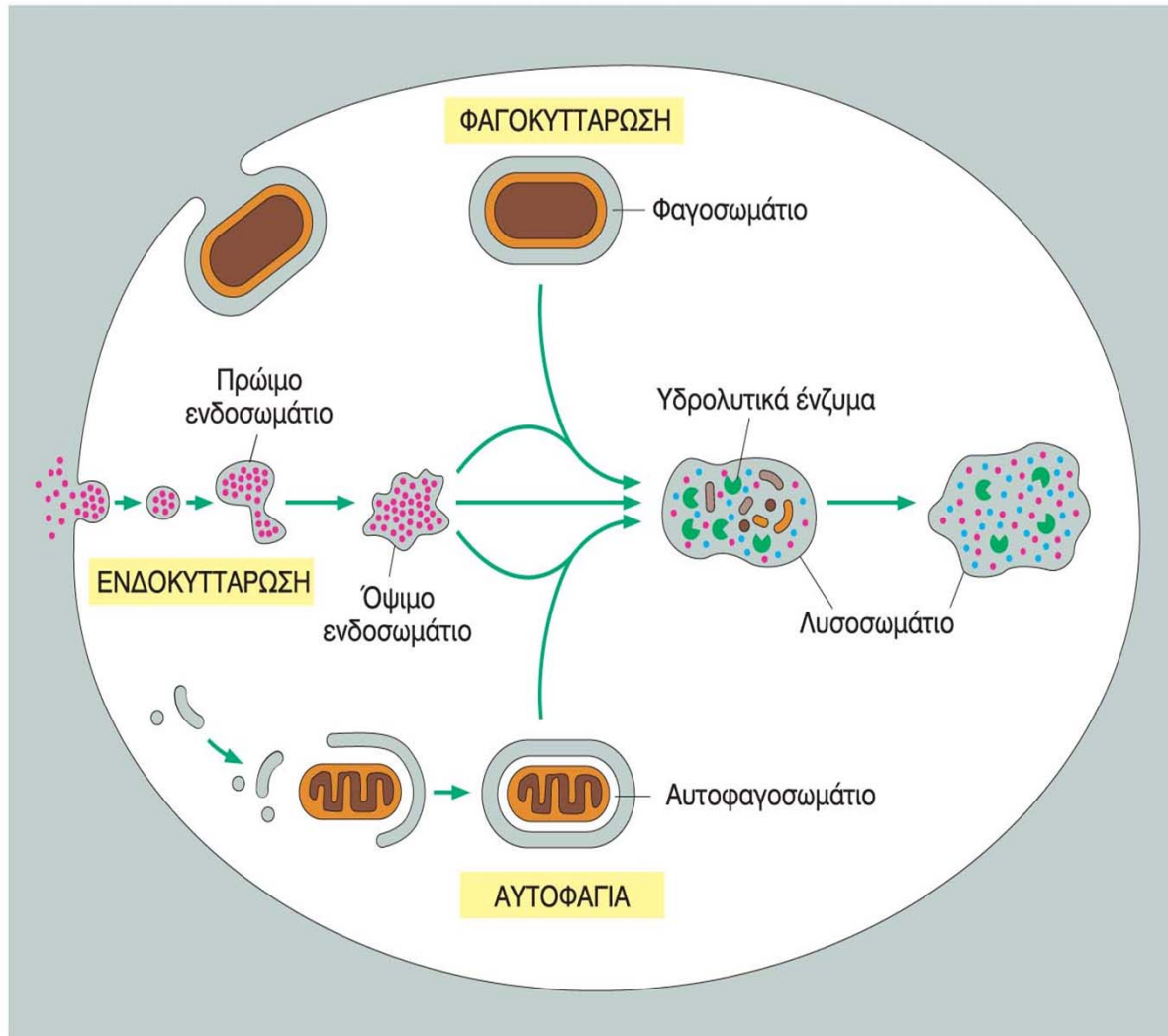
Ενδοσωμάτιο:

κύριος σταθμός διαλογής κατά την ενδοκυττάρωση
(όπως η Συσκευή Golgi κατά την εξωκυττάρωση)

Η πορεία (1,2,3) που ακολουθούν οι υποδοχείς μετά την είσοδο τους στο ενδοσωμάτιο εξαρτάται από τη φύση του υποδοχέα

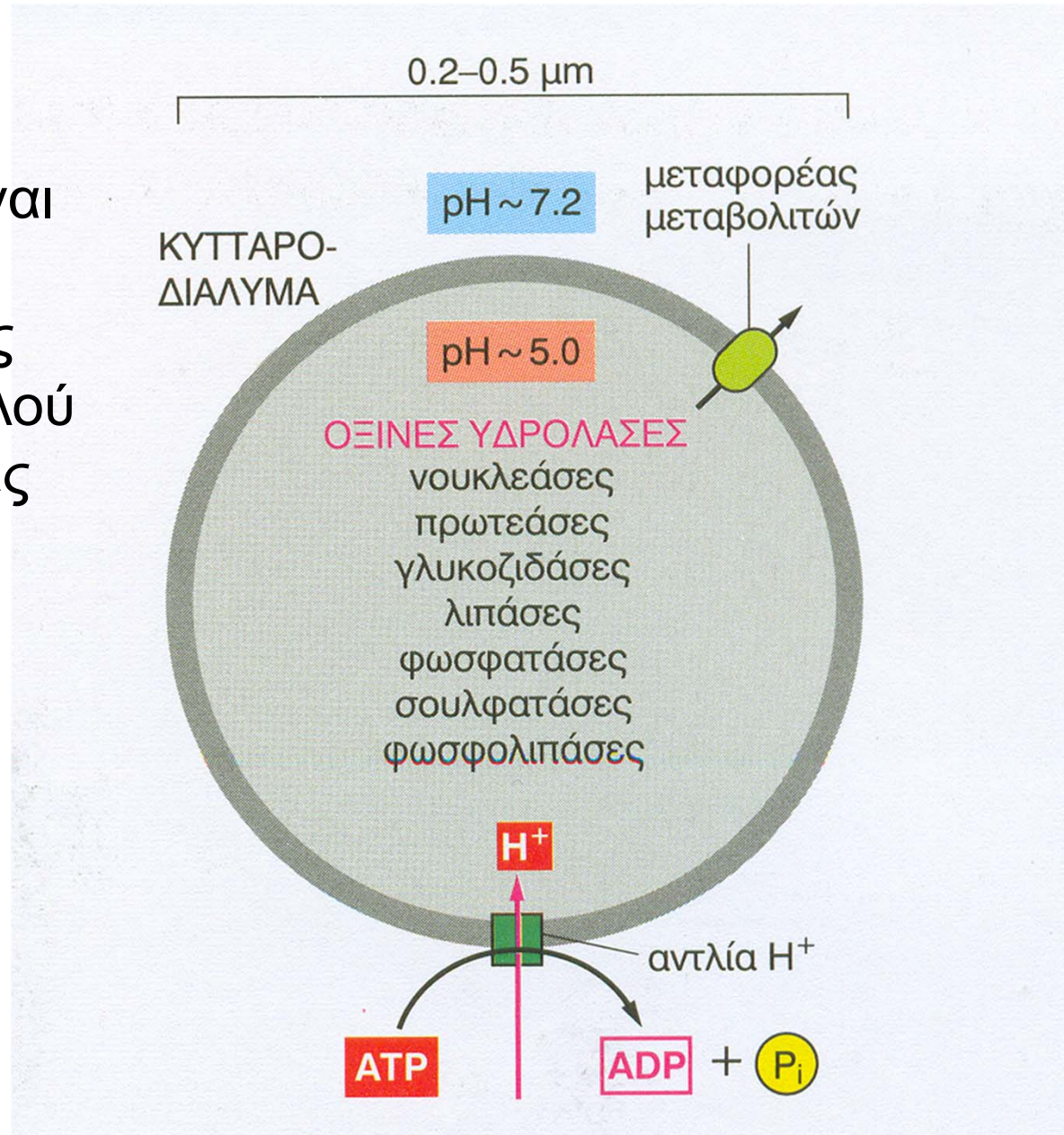


Στο λυσοσωμάτιο καταλήγουν τρεις διαδρομές αποδόμησης Φαγοκυττάρωση, Πινοκυττάρωση, Αυτοφαγία



Εικόνα 15-36. Τρεις διαδρομές προς αποδόμηση στα λυσοσωμάτια. Κάθε διαδρομή καταλήγει σ' ενδοκυττάρια πέψη υλικών που προέρχονται από διαφορετική πηγή. Τα πρώιμα ενδοσωμάτια, φαγοσωμάτια και αυτοφαγοσωμάτια μπορεί να συντηχθούν είτε με λυσοσωμάτια είτε με όψιμα ενδοσωμάτια, τα οποία περιέχουν οξεο-εξαρτώμενα υδρολυτικά ένζυμα.

Τα λυσοσωμάτια είναι
Τα κύρια οργανίδια
ενδοκυττάριας πέψης
Οι πρωτεΐνες του αυλού
είναι γλυκοζυλιωμένες
για προστασία



Η διακίνηση κυστιδίων
προς την κυτταρική μεμβράνη (εξωκυττάρωση)
και από την κυτταρική μεμβράνη (ενδοκυττάρωση)

είναι βασικός μηχανισμός
ανανέωσης και εξισορρόπησης μεμβρανών