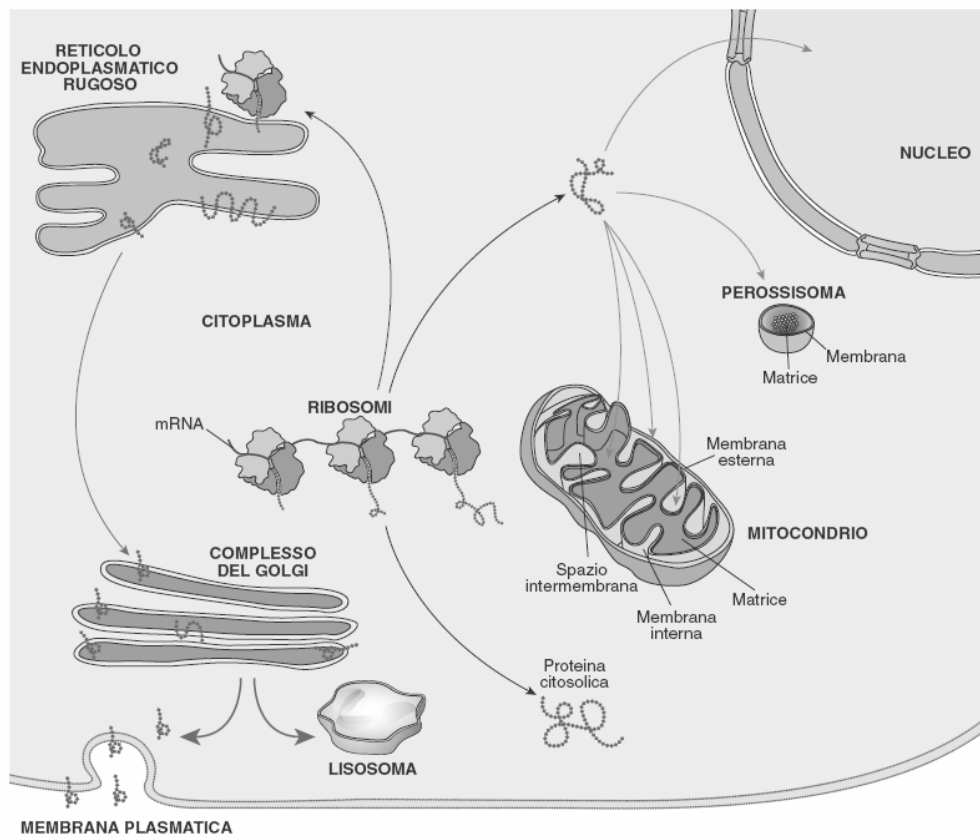


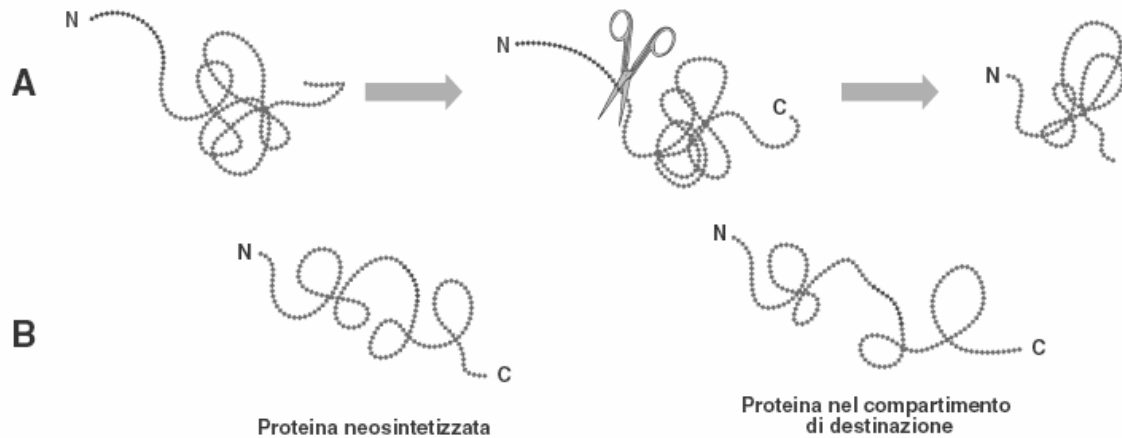
Smistamento delle proteine cellulari

Le proteine sintetizzate sui ribosomi citoplasmatici si spostano verso vari compartimenti cellulari → traffico proteico



Le proteine sono indirizzate grazie a corte seq AA : seq segnale

**La seq segnale può essere N- o C-terminale oppure interna
Può essere rimossa (o meno) una volta raggiunta destinazione**



◆ FIGURA 11.2

Diverse localizzazioni delle sequenze segnale nelle proteine. In (A) è mostrata una sequenza segnale (rosso) all'estremità N-terminale di un polipeptide e in (B) un segnale interno. Sequenze segnale possono anche trovarsi all'estremità carbossi-terminale del polipeptide (non mostrato in figura). Frequentemente la sequenza segnale all'estremità N-terminale viene enzimaticamente rimossa (la forbice indica l'enzima proteolitico) una volta che la proteina ha raggiunto il compartimento di destinazione (A).

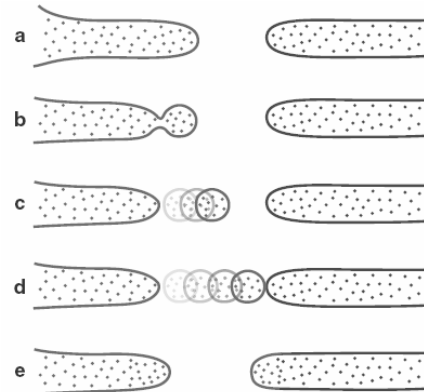
La seq AA di indirizzamento è riconosciuta da specifici recettori/trasportatori

ingresso/scambio di proteine:

•Da/per RE, mitocondri, cloroplasti, perossisomi avviene grazie a traslocatori proteici inglobati nella membrana di questi organelli

•Da/per nucleo grazie a pori nucleari

•Da/per RE \leftrightarrow Golgi \leftrightarrow lisosomi \leftrightarrow membrana plasmatica e spazio extracellulare grazie a sistema del traffico vescicolare

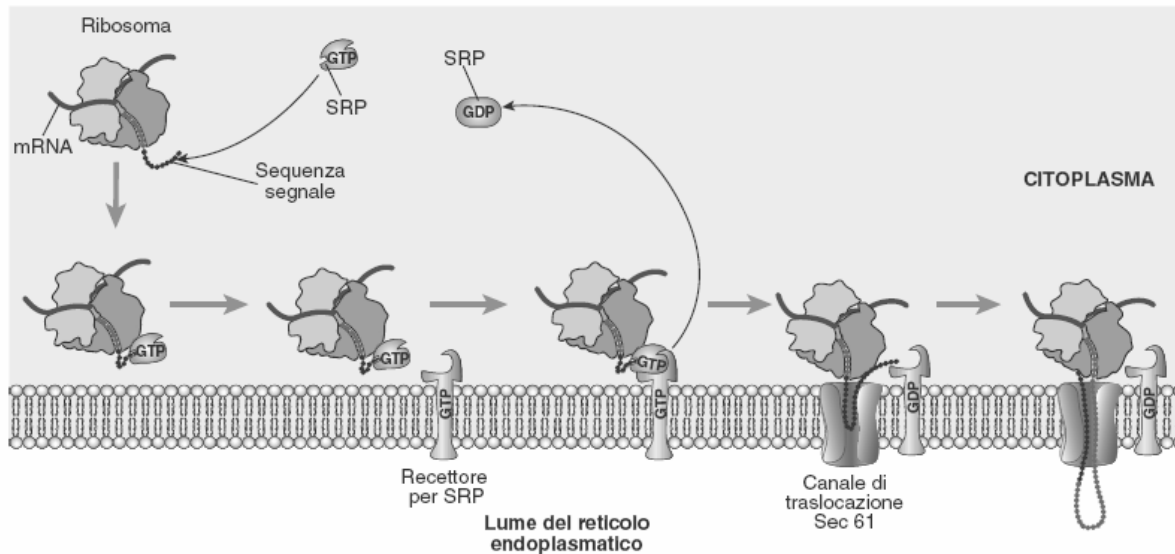


◆ FIGURA 11.3

Schema generale del trasporto tramite vescicole. Da (a) a (c) è schematizzato il processo di distacco di una vescicola di trasporto da un compartimento donatore (in blu). La vescicola distaccata è rivestita da una membrana proveniente dal compartimento donatore e nel suo lume contiene proteine solubili della stessa origine. In (d) ed (e) è schematizzato il processo di fusione della vescicola con il compartimento accettore (in rosso). Dopo la fusione la membrana e il contenuto del lume della vescicola sono diventati tutt'uno con quelli del compartimento accettore.

dal citosol al RE

Mentre la proteina è in traduzione, la seq segnale (7-25 aa N terminali con tratto idrofobico) è riconosciuta da una SRP (RNA catalitico+proteine) → rallenta traduzione e consente attracco su recettore per SRP sul RE → distacco della SRP → sintesi riprende e catena inizia ad inserirsi nel canale traslocatore



◆ FIGURA 11.10

(Blobel, Nobel medicina 1999)

Ruolo di SRP nell'indirizzamento del polipeptide nascente alla membrana del RE. La sequenza segnale delle proteine indirizzate al RE è al N-terminale (in rosso) e viene riconosciuta da SRP-GTP (in grigio) appena emerge dal ribosoma. Si forma così un complesso tra ribosoma, peptide nascente e SRP, il quale si lega al suo recettore (rosa) localizzato sulla membrana del RE. Anche il recettore di SRP è legato a GTP. Tuttavia, l'interazione tra SRP e il recettore provoca l'idrolisi di GTP su ambedue, di modo che il complesso si dissocia e il ribosoma con il polipeptide nascente è consegnato al canale di traslocazione (ciambella marrone), mentre SRP è rilasciato al citoplasma dove può legarsi a un altro peptide nascente portatore di sequenza segnale.

Il polipeptide nascente indirizza il ribosoma vs RE se contiene seq segnale

- Ribosomi liberi → sintesi di proteine destinate a nucleo, perossisomi, mt,..
- Ribosomi associati al RE → proteine con seq segnale, destinate a Golgi, secrezione, membrana plasmatica, lisosomi,...

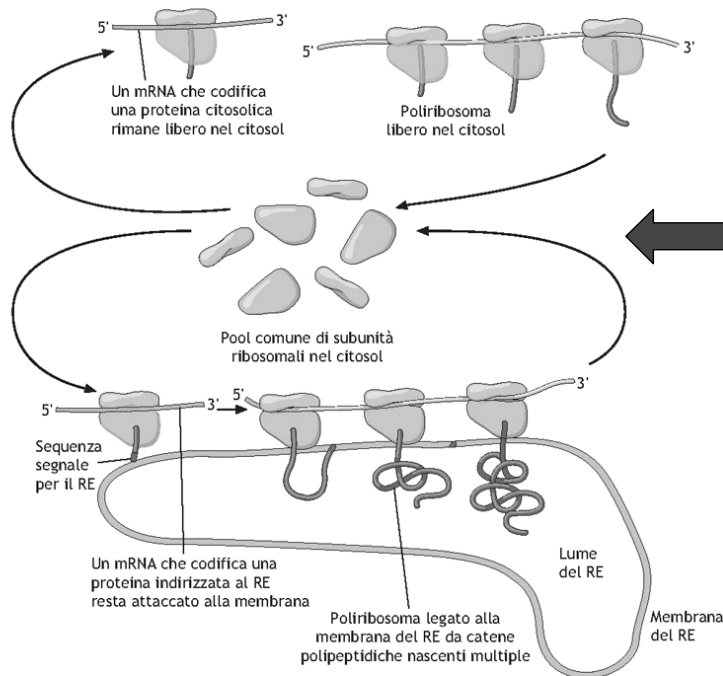
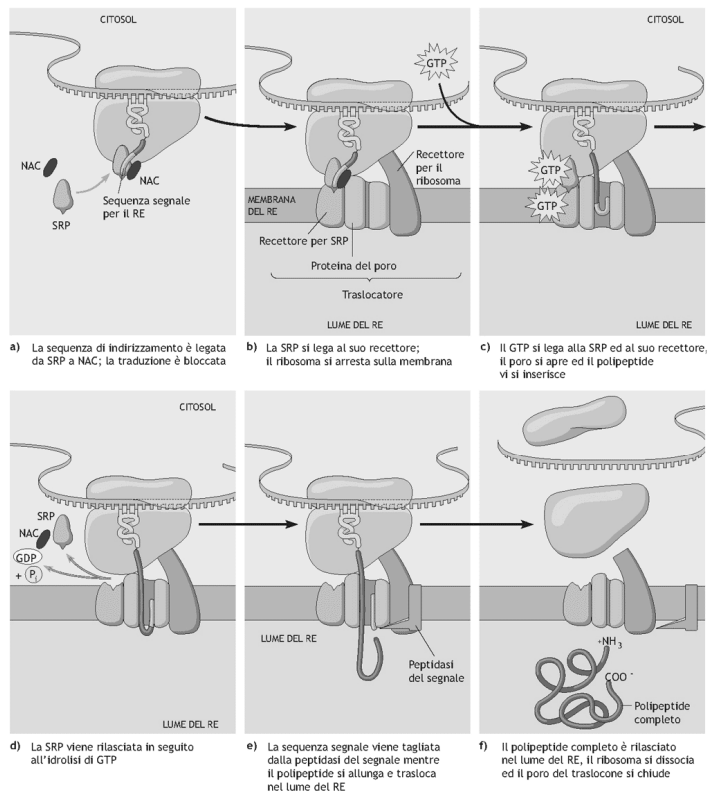


Figura 5.69 **Ribosomi liberi e ribosomi legati alle membrane del reticolo.** È il polipeptide nascente che, grazie ad un segnale, indirizza il complesso macchinario della biosintesi verso la superficie del reticolo.

Nel citosol *pool* comune di subunità ribosomali usati per sintesi di proteine destinate sia al RE che ad altri organuli



La dissociazione tra SRP e recettore guidata da idrolisi di GTP (energia)
La seq segnale si inserisce ad ansa nel canale trasolcatore, ed è poi tagliata da enzima peptidasi segnale- il polipeptide si allunga ed è rilasciato nel lume del RE
NB: Sia SRP che recettore per SRP legano e dirolizzano GTP (sono G protein)

Una volta entrata nel lume del RE, la proteina assume struttura 3D corretta grazie a chaperon

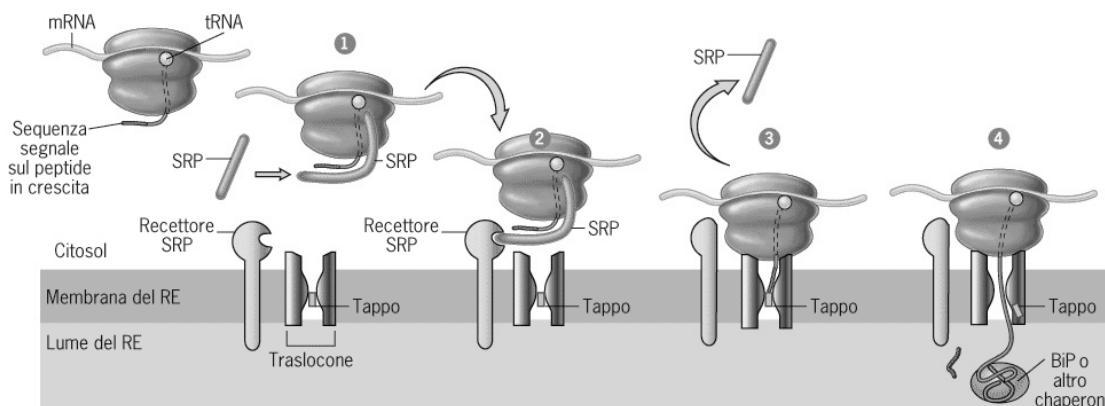
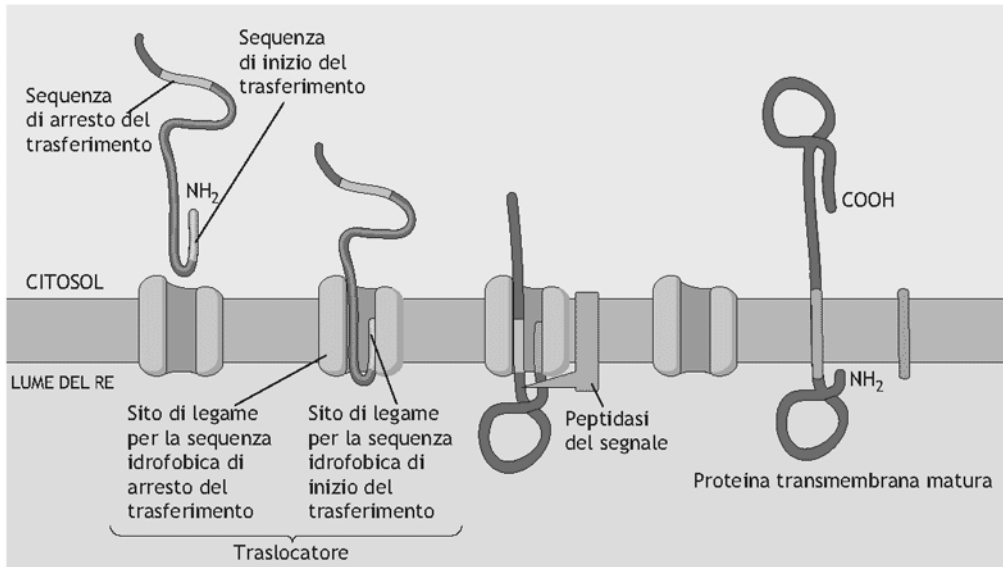


FIGURA 8.12 Un modello per la sintesi di una proteina di secrezione (o di un enzima lisosomale) su un ribosoma legato alla membrana del RE rugoso. La sintesi di un polipeptide inizia su un ribosoma libero. Quando la sequenza segnale (indicata in rosso) emerge dal ribosoma, si lega all'SRP (tappa 1) che blocca un'ulteriore traduzione fino a che il complesso catena nascente-ribosoma-SRP prende contatto con la membrana del RE. L'attacco di questo complesso al recettore per l'SRP e dall'associazione del ribosoma con un traslocone della membrana del RE (fase 3). Questi ultimi

eventi sono realizzati grazie all'idrolisi reciproca di molecole di GTP (non mostrato) legata sia all'SRP che al suo recettore. Nel modello qui illustrato, il peptide segnale si lega poi all'interno del traslocone, spostando il tappo del canale e permettendo alla parte restante del polipeptide di attraversare la membrana co-traduzionalmente (fase 4). Dopo che il polipeptide nascente è passato nel lume dell'RE, il peptide segnale è tagliato da una proteina di membrana (la peptidasi del segnale, non mostrata) e la proteina si ripiega con l'aiuto di chaperoni del RE, come BiP.

Le proteine integrali di membrana oltre alla seq segnale hanno una seq (idrofobica) che blocca il trasferimento e si sposta nel *core* lipidico di membrana → resta inglobata

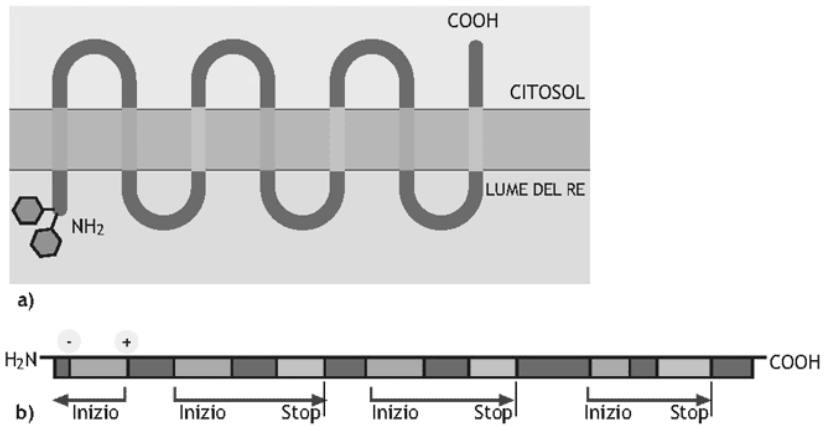
→ Proteina di membrana (monopasso) con porzioni N terminale nel lume C-terminale nel citosol



■ **Figura 5.72 Sintesi di una proteina transmembrana.** La presenza di una sequenza di arresto del trasferimento (in arancione) permette alla proteina di restare inglobata nella membrana.

nelle proteine multipasso vari segmenti di arresto si alternano con seq.segnale che non sono tagliate da peptidasi

Figura 5.73 Esempio di posizionamento di una proteina transmembrana.



Il canale traslocatore orienta la catena polipeptidica

Estremità N verso lume

Estremità N verso citosol

Traslocatore è capace di riconoscere segmento basico (+) della proteina ruotandolo verso interno

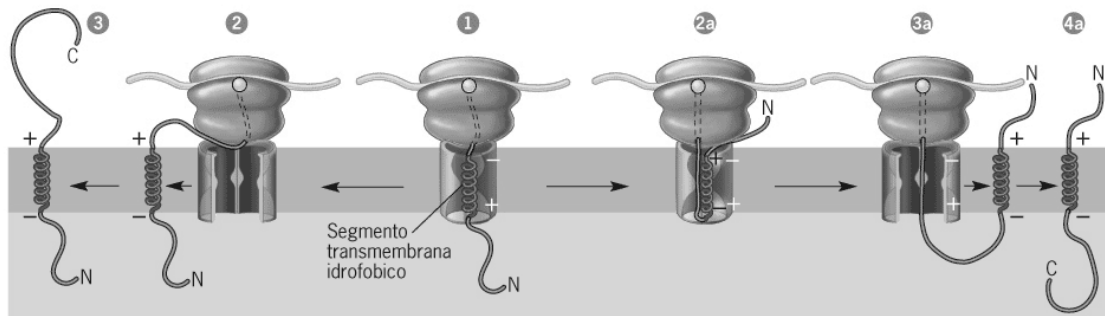


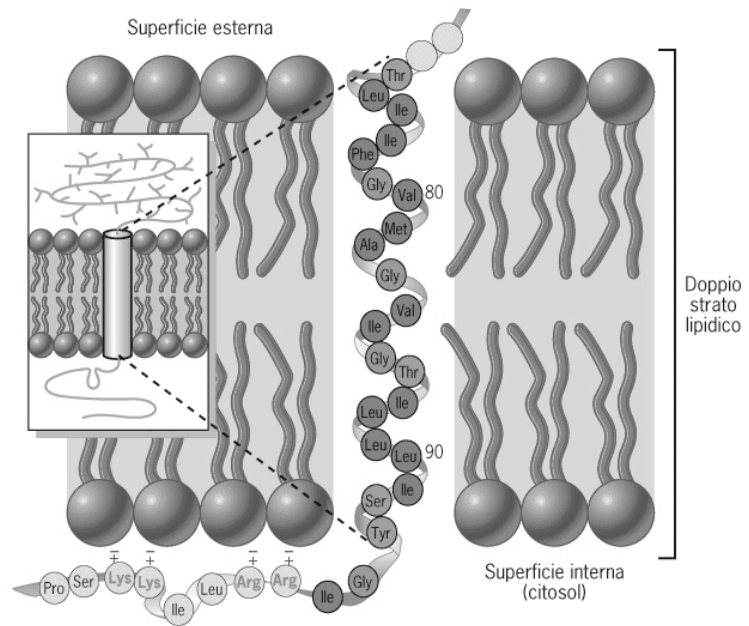
FIGURA 8.13 Un modello per la sintesi di una proteina integrale di membrana che contiene un singolo segmento transmembrana vicino all'estremità N-terminale del polipeptide nascente. L'SRP e i vari componenti della membrana mostrati nella Figura 8.12 sono coinvolti nella sintesi delle proteine integrali, ma sono stati omessi per semplicità. Il polipeptide nascente entra nel traslocatore proprio come se fosse una proteina di secrezione (tappa 1). Tuttavia, l'entrata della sequenza idrofobica nel poro blocca l'ulteriore traslocazione del polipeptide nascente attraverso il canale. Le tappe 2 e 3 mostrano la sintesi di una proteina transmembrana con l'estremità

N-terminale nel lume del RE e l'estremità C-terminale nel citosol. Nella tappa 2 il traslocatore, aprendosi lateralmente, ha espulso il segmento transmembrana nel bilayer. La tappa 3 mostra la disposizione finale della proteina. Le tappe 2a-4a mostrano la sintesi di una proteina transmembrana con l'estremità C-terminale nel lume e l'estremità N-terminale nel citosol. Nella tappa 2a il traslocatore ha riorientato il segmento transmembrana. Nella fase 3a il traslocatore si è aperto lateralmente ed ha espulso il segmento transmembrana nel bilayer. La tappa 4 mostra la disposizione finale della proteina.

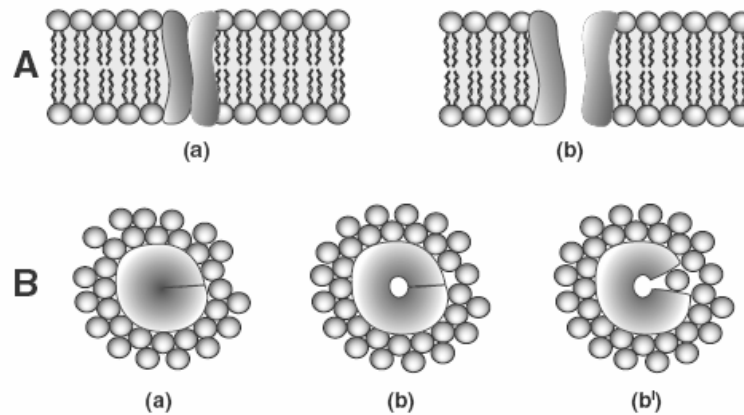
In generale infatti segmento basico verso lato citosolico: interagisce con teste polari fosfolipidiche

Gerald Karp
Biologia cellulare e molecolare
EdiSES

FIGURA 4.17 La glicoforina A, una proteina integrale con un unico dominio transmembrana. La singola α -elica che attraversa la membrana è costituita prevalentemente da residui idrofobici. I quattro residui aminoacidici con carica positiva del dominio citoplasmatico della proteina formano legami ionici con i gruppi con carica negativa delle teste dei lipidi. Ad un certo numero di residui aminoacidici sulla superficie esterna della proteina sono legati carboidrati (mostrati nel riquadro). Tutti i 16 oligosaccaridi, salvo uno, sono legati con legame *O*-glicosidico (l'eccezione è rappresentata dall'oligosaccaride più grande legato al residuo di asparagina in posizione 26). Il ruolo della glicoforina nella membrana degli eritrociti è discusso in seguito.



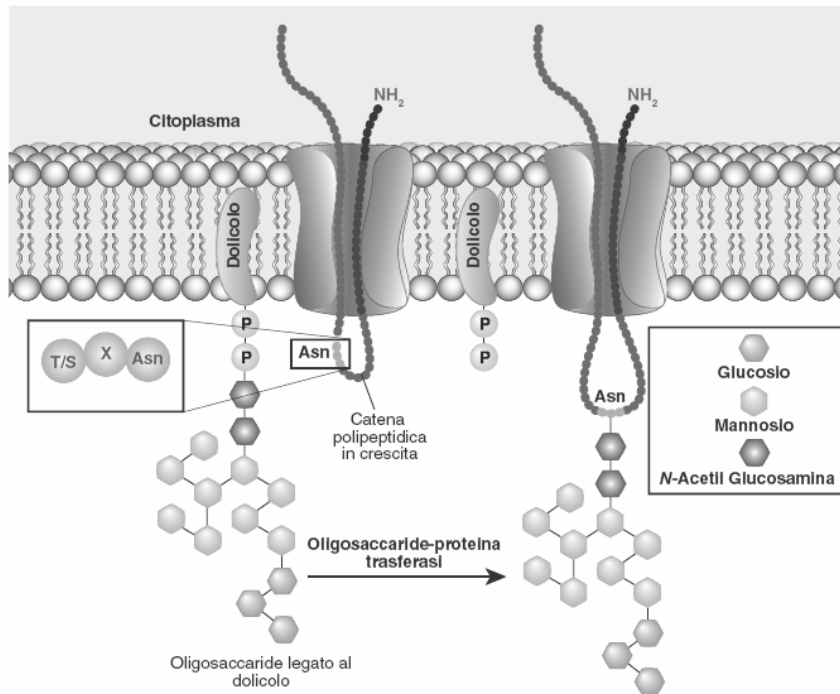
Il canale traslocatore (Sec61) si apre lateralmente permettendo al tratto polipeptidico idrofobico (tratto di arresto trasferimento) di entrare/integrarsi nel *core* di membrana



◆ FIGURA 11.11

Diversi stati funzionali del traslocatore Sec61. Il traslocatore (in marrone) è mostrato nel doppio strato fosfolipidico (fosfolipidi in blu) in sezione verticale (A) oppure visto dal citosol (B). In questa ultima rappresentazione sono visibili soltanto le teste polari (piccoli cerchi) dei fosfolipidi di membrana. Il canale può essere chiuso, come mostrato in (a) in A e B, oppure aperto, per permettere il passaggio della catena polipeptidica dal citosol a lume del RE (b in A e B). In questo stato aperto può inoltre aprirsi lateralmente, condizione mostrata in B (b'), per permettere l'inserimento di sequenze transmembrana nel doppio strato fosfolipidico.

All'interno del RE le proteine vengono modificate e rimodellate
Es N-glicosilazione: albero saccaridico sintetizzato su fosfolipide dolicolo e poi trasferito su proteina a livello di Asn (oligosaccaride sarà successivamente rimaneggiato nel Golgi)



◆ FIGURA 11.20

La reazione di N-glicosilazione. L'oligosaccaride ricco di mannosio è trasferito dal dolicolo all'azoto amidico della catena laterale dell'aminoacido asparagina. Il canale di traslocazione è in marrone, il polipeptide nascente in blu, con la sequenza segnale in rosso e la sequenza riconosciuta dall'enzima oligosaccaride-proteina trasferasi in violetto. Per semplicità non è mostrato il ribosoma.

Nel RE le proteine si ripiegano per assumere strutt 3D funzionale

Processo controllato e favorito da appositi *chaperon* molecolari →
CONTROLLO QUALITA' delle proteine

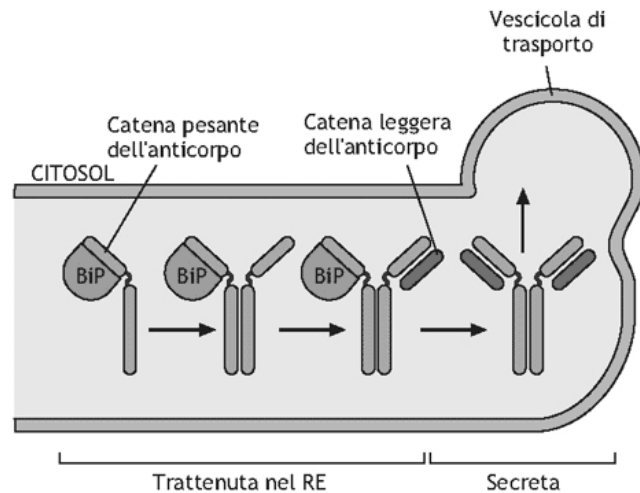
Nel RE possono assemblarsi + catene per dare complesse strutture
quaternarie (es anticorpi)

I principali chaperon del RE
sono:

- **BiP** → lega porzioni idrofobiche dando tempo a proteina affinché si ripieghi

- **Sistema calnexina/calreticolina** → ripiega specificamente proteine glicosilate

- **PDI** → ripiega proteine mediante formazione/rottura di ponti disolfuro



■ **Figura 5.75 Sintesi di anticorpi.** Alcuni sono trattenuti all'interno del reticolo, altri sono secreti. È la proteina BiP che lega le molecole non correttamente assemblate in modo che non siano secrete perché non funzionanti.

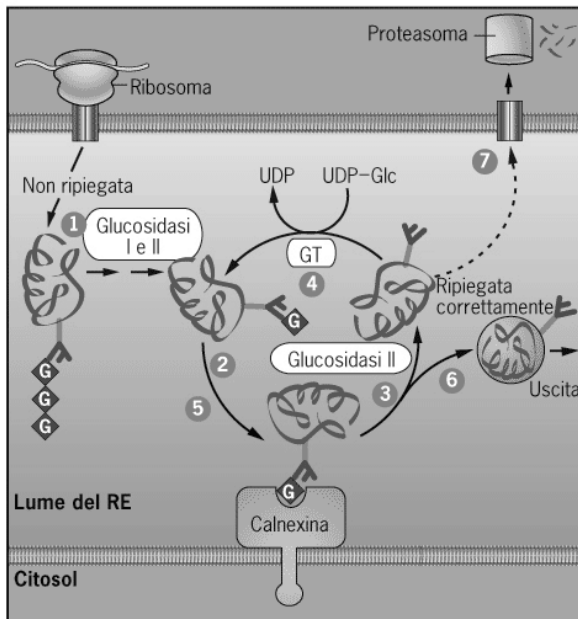


FIGURA 8.17 Controllo di qualità: la sicurezza che le proteine ripiegate non correttamente non lascino il RE. In base a questo meccanismo proposto, le proteine ripiegate non correttamente vengono riconosciute da una glicosiltrasferasi (GT) che aggiunge un glucosio all'estremità delle catene oligosaccaridiche. Le glicoproteine contenenti oligosaccaridi monoglucosilati vengono riconosciute dalla proteina chaperon calnexina e viene loro data un'opportunità di assumere il loro corretto ripiegamento (stato nativo). Se, dopo ripetuti tentativi, questo non avviene, la proteina viene trasferita nel citosol e distrutta. Tutte le tappe sono descritte nel testo. (DA: ELLGAARD ET AL., SCIENCE 286:1884, 1999. COPYRIGHT 1999 AMERICAN ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF SCIENCE.)

Controllo qualità nel RE

Le proteine mal ripiegate sono etichettate con un "Glu"!

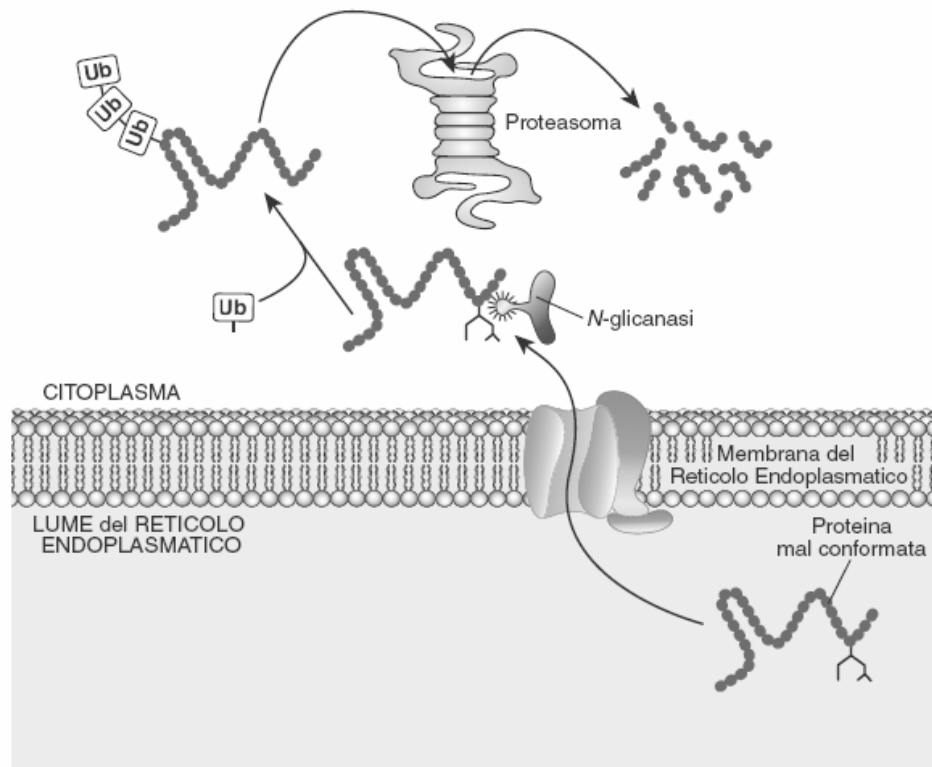
Proteine mal ripiegate sono riconosciute (esposizione residui idrofobici) e quindi mono glicosilate (1 Glu) da enzima GT

Le proteine così monoglucosilate sono riconosciute da chaperon che ne aiutano folding

→Chaperon calnexina→Agevola ripiegamento→ deglicosilata→ controllo da GT→ uscita dal circuito o riglicosilazione....

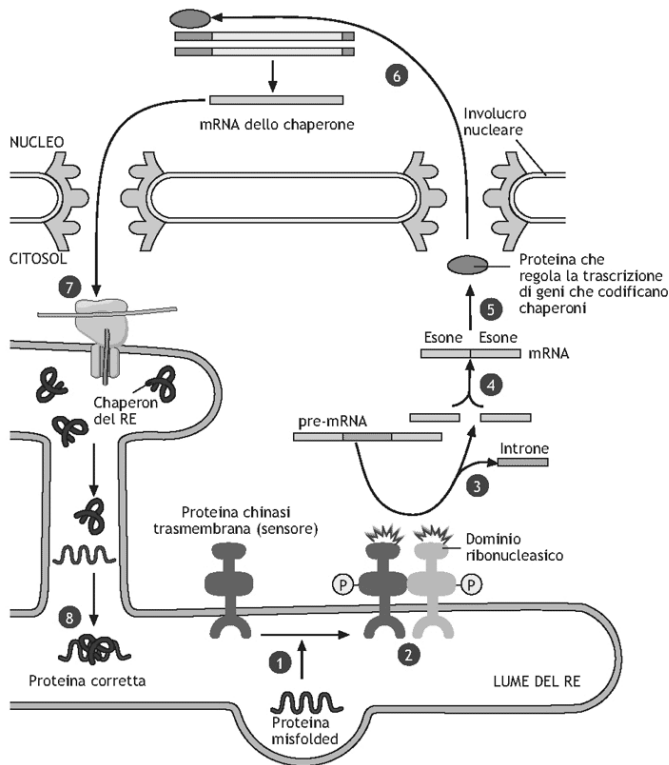
Le proteine malripiegate sono riconosciute (forse grazie a loro porzione oligosaccaridica?) e ritraslocate nel citosol dove saranno degradate: ubiquitinate e poi degradate da proteasomi

◆ FIGURA 11.23
Il processo ERAD (degradazione associata al RE). Proteine nel lume del RE che non siano riuscite a conformarsi correttamente in un certo lasso di tempo sono riconosciute dal sistema ERAD e retrotraslocate al citosol attraverso un canale la cui natura è tuttora discussa. Nel caso di glicoproteine, una *N*-glicanasi citosolica rimuove l'oligosaccaride (o gli oligosaccaridi) intanto che la proteina viene ubiquitinata e consegnata al proteasoma per la degradazione.



STRESS del RE →

Eccessivo accumulo di proteine malripiegate stimola la UPR (*unfolded protein response*) via segnalazione che parte dal RE e attiva la trascrizione di geni per *chaperon*



■ Figura 5.76 Le proteine non correttamente ripiegate devono essere "corrette" o eliminate. 1) Le proteine "misfolded" attivano una chinasi transmembrana; 2) la chinasi attivata si comporta come endoribonucleasi; 3) l'endoribonucleasi opera uno splicing con rimozione di un introne; 4) gli esoni riuniti formano un mRNA funzionale; 5) il messaggero è tradotto in proteina; 6) questa, entrata nel nucleo, favorisce l'espressione di geni che codificano chaperoni; 7) nel reticolo sono prodotti gli chaperoni che (8) sono in grado di legare le proteine "misfolded" modificandole.

Proteine chinasi/sensore inglobate nella membrana del RE avvertono presenza di proteine malripiegate

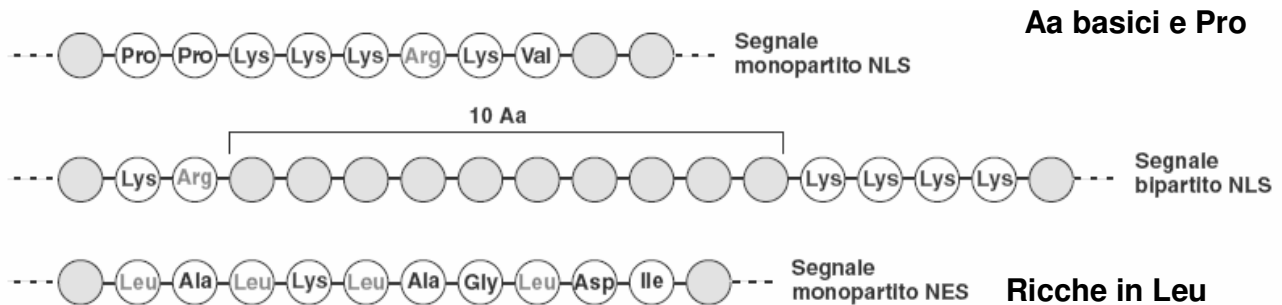
→ si attivano

→ Con trasduzione e meccanismi vari (es splicing che favorisce sintesi di fattore trascrizionale specifico) attivano la trascrizione di geni per *chaperon*, enzimi del sistema di controllo qualità, etc.

Citosol \leftrightarrow nucleo

Passaggio obbligato attraverso nucleoporo
libero per molecole piccole
controllato per molecole e proteine con dimensioni maggiori

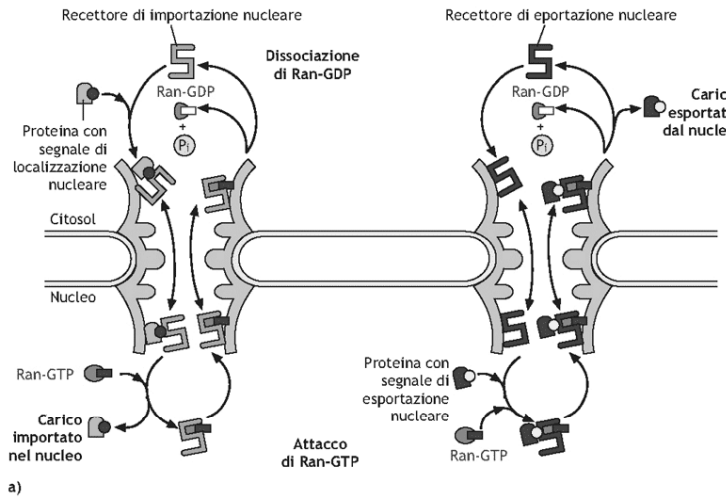
Sequenze di indirizzamento *NLS* (*nuclear localization signal*) e *NES* (*nuclear export signal*) guidano le proteine dentro e fuori dal nucleo
Mono- o bi-partite



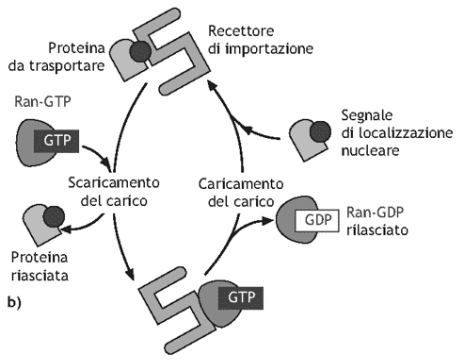
◆ FIGURA 11.4

Esempi di segnali di localizzazione ed esportazione nucleare NLS e NES. I segnali monopartiti sono singole sequenze di aminoacidi contigui; nei segnali bipartiti la sequenza segnale è separata in due parti intervallate da aminoacidi che non fanno parte del segnale.

NLS e NES interagiscono con importine ed esportine : recettori che ne favoriscono passaggio attraverso poro nucleare interagendo con nucleoporine



a)



b)

L'attività di importine ed esportine è regolata da proteine RanGTP (le proteine G funzionano come "interruttori" molecolari)

-Importine: associazione con RanGTP nel nucleo fa rilasciare cargo, mentre l'idrolisi a GDP la fa riassociare a cargo nel citoplasma;

- Esportine: idrolisi del GTP nel citoplasma fa rilasciare cargo Associazione con Ran GTP nel nucleo fa legare la proteina cargo

Figura 5.65 **Trasporto citoplasmatico di proteine destinate al nucleo.** Le proteine destinate al nucleo, riconoscono i recettori di importazione nucleare che a loro volta legano un tipo di proteina G monomericamente detta Ran. Ran nel citoplasma è legata a GDP, nel nucleo a GTP. Questa diversa localizzazione fornisce la direzionalità sia dell'importazione che dell'esportazione (a). Schema di un modello di rilascio del carico da recettori di importazione nucleare (b).

Per molte proteine il passaggio da/per nucleo può essere regolato

Il transito di fattori trascrizionali può essere inibito/favorito da fosforilazione/defosforilazione (o associazione con inibitori di trasporto)

Es NFAT di cellule T
nello stato P → esportato

Stato deP → importato (lo stato P dipende dalla [Ca²⁺])

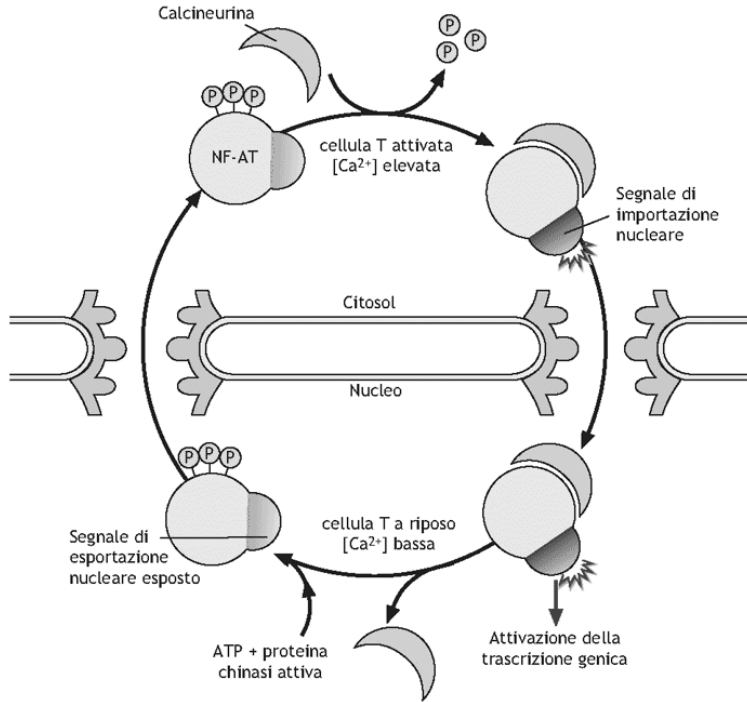
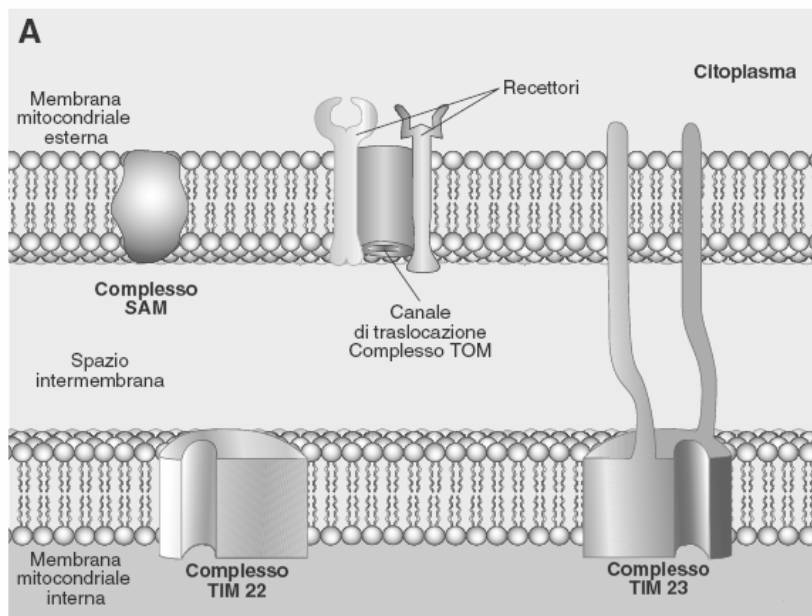


Figura 5.66 **Attivazione delle cellule T: controllo del traffico citoplasma-nucleo.** Il fattore nucleare delle cellule T attivate (NF-AT), che è fosforilato nelle cellule a riposo, in seguito a defosforilazione si attiva, espone un segnale di importazione nucleare e passa nel nucleo dove svolge il suo "lavoro". Lo spegnimento della risposta si ha quando i livelli di calcio diminuiscono ed il complesso NF-AT viene rifosforilato e ritorna nel citosol.

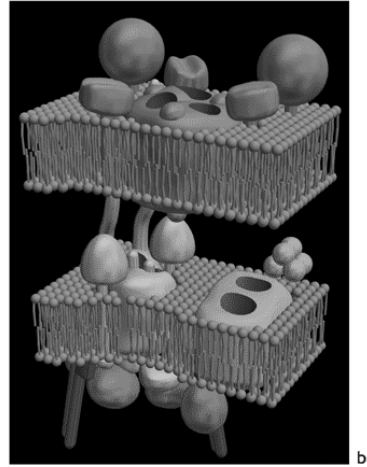
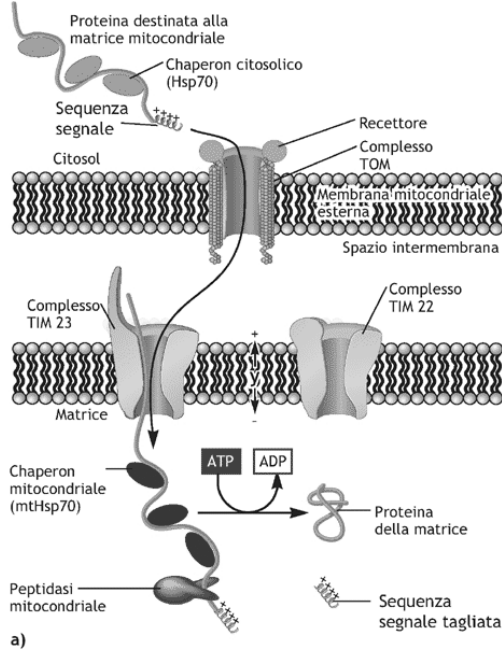
Citosol ↔ mitocondrio

Importazione di proteine nella matrice mitocondriale richiede presenza di segnale di indirizzamento (α -elica anfipatica) e dei complessi traslocatori TOM (m. est) e TIM (m. interna)

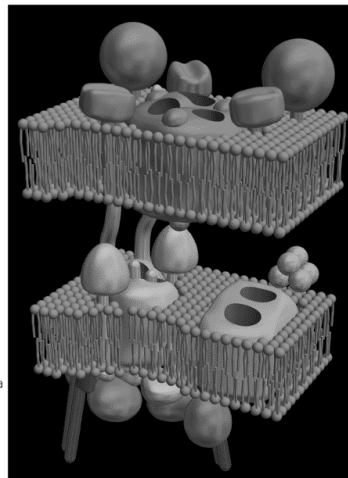
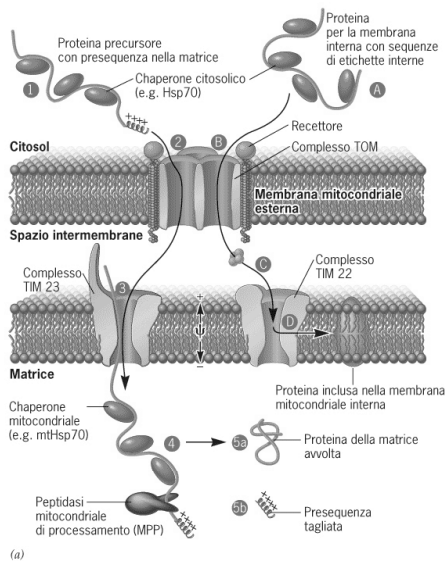


◆ FIGURA 11.14
Importazione di proteine mitocondriali. A) I principali complessi di traslocazione della membrana esterna ed interna dei mitocondri. B) Caratteristiche della sequenza segnale (pre-sequenza) per l'importazione di proteine dal citosol alla matrice mitocondriale. La pre-sequenza è un' α -elica anfipatica: una faccia ha caratteristiche polari, essendo ricca di aminoacidi carichi positivamente (in rosso) o comunque polari (in blu); la faccia opposta è invece ricca di aminoacidi idrofobici (in giallo).

- La proteina è sintetizzata su ribosomi liberi
- La proteina è mantenuta parzialmente non ripiegata e trasportata verso TOM da chaperon citosolici (hsp70)
- La seq segnale riconosce TOM ed inizia traslocazione
- L'interazione del segnale con TIM fa traslocare attraverso m. interna
- Proteina "tirata" dentro matrice grazie a *ddp* a cavallo di membrana mt int (interno negativo) e ripiegamento assistito da *chaperon* mitocondriali (con consumo di ATP)
- Taglio della seq segnale da parte di peptidasi mitocondriale



■ **Figura 5.67 Trasferimento di proteine all'interno di un mitocondrio.** Coinvolgimento dei complessi TOM e TIM. Le sequenze N-terminali della proteina (sequenze segnale) riconoscono il complesso TOM, inglobato nella membrana esterna. La proteina attraversa la prima membrana e poi, grazie ai complessi TIM, anche la seconda. Il peptide segnale è tagliato nella matrice da una peptidasi. Questo processo richiede l'intervento di molecole chaperon quali Hsp70. **(a)** Processo di importazione di proteine nel mitocondrio. **(b)** Modello del macchinario deputato all'importazione di proteine nel mitocondrio.



Tim 22 → inserimento di proteine integrali di IMM

Tim 23 → traslocazione verso matrice

FIGURA 8.47 Importazione delle proteine nel mitocondrio. (a) Tappe proposte per l'importazione post-traduzionale di proteine sia nella matrice mitocondriale che nella membrana mitocondriale interna. Il polipeptide è indirizzato ad un mitocondrio da una sequenza, posta all'N-terminale nel caso di una proteina localizzata nella matrice mitocondriale (tappa 1) ed internamente alla sequenza nel caso di una proteina localizzata nella membrana interna (tappa A). Le molecole di Hsp70 del citosol dispiegano il polipeptide prima che questo entri nel mitocondrio. Le proteine sono riconosciute da recettori di membrana (le proteine transmembrana in rosso) e sono trasportate attraverso i pori presenti nel complesso TOM della OMM (tappa 2 o B). Le proteine integrali della IMM sono dirette al complesso TIM23 della IMM (tappa C), che le guida nel doppio strato lipidico della IMM (tappa D). Le proteine della matrice mitocondriale sono traslocate attraverso il complesso TIM22 della IMM (tappa 3). Una volta che la proteina è entrata

nella matrice, essa viene agganciata da uno chaperon mitocondriale (tappa 4), che può o portare il polipeptide nella matrice mitocondriale o agire come una valvola Browniana per assicurare che esso diffonda nella matrice (questi meccanismi alternativi degli chaperon sono discussi nel testo). Una volta raggiunta la matrice, la proteina non ripiegata assume la sua conformazione nativa (tappa 5) con l'aiuto degli chaperon Hsp60 (non mostrati). La pre-sequenza è rimossa enzimaticamente (tappa 5b). (b) Un modello del macchinario mitocondriale d'importazione delle proteine che mostra la quantità, la grandezza relativa e la topologia delle diverse proteine coinvolte in questa attività. Il complesso TOM è in colore rossastro, il complesso TIM23 è in giallo-verde, il complesso TIM 22 è in verde e gli chaperon cooperanti sono in blu. (B: FROM TOSHIYA ENDO, HAYASHI YAMAMOTO, AND MASATOSHI ESAKI, J. CELL SCIENCE, COVER OF VOL. 116, # 16, 2003; PER GENT. CONC. DI COMPANY OF BIOLOGISTS, LTD.)

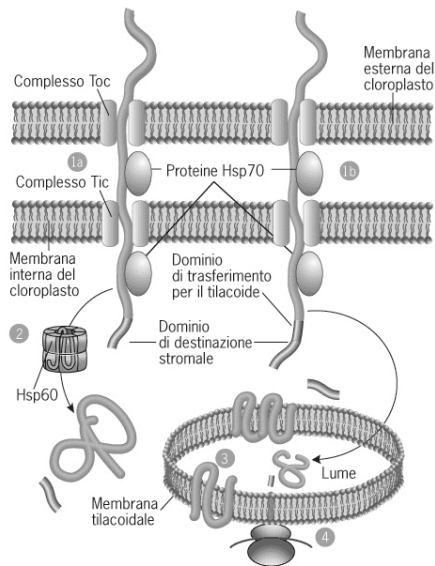


FIGURA 8.48 Importazione delle proteine nel cloroplasto. Le proteine codificate dai geni nucleari vengono sintetizzate nel citosol ed importate attraverso pori delimitati da proteine presenti in entrambe le membrane del rivestimento esterno del cloroplasto (fase 1). Le proteine destinate allo stroma (fase 1a) contengono un dominio specifico per lo stroma all'estremità N, mentre le proteine destinate ai tilacoide (fase 1b) contengono sia domini per lo stroma che domini per il trasporto al tilacoide alla loro estremità N. Le proteine stromali restano nello stroma (fase 2) poiché dopo l'attraversamento dell'involucro esterno viene rimossa la loro unica sequenza-indirizzo. La presenza del dominio per il trasporto al tilacoide fa sì che le proteine tilacoideali siano trasferite sia all'interno che completamente al di là della membrana tilacoideale (fase 3). Molte delle proteine della membrana tilacoideale sono codificate dai geni del cloroplasto e sintetizzate dai ribosomi cloroplastici che sono legati alla superficie esterna della membrana tilacoideale (fase 4).

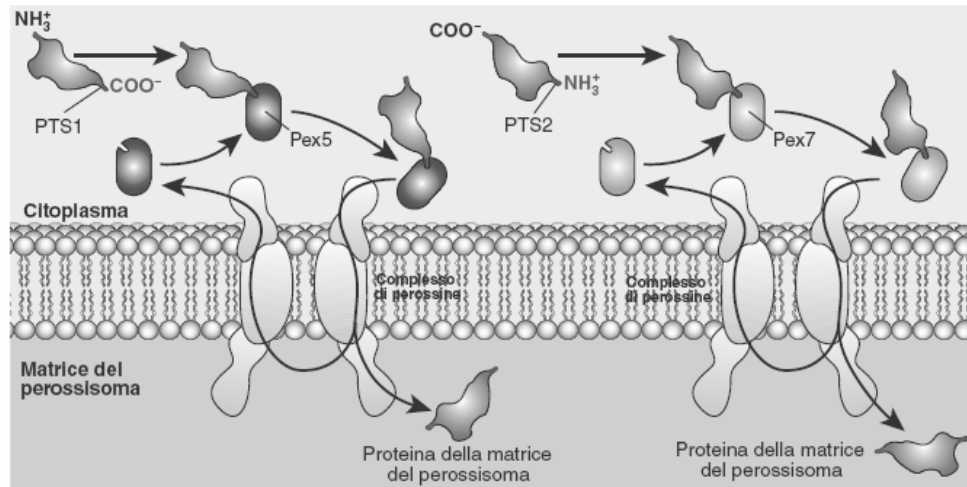
Proteine destinate al cloroplasto

Seq segnale N-terminale per stroma (→stroma) + seq N-terminale per tilacoide (→tilacoide)

Alcune proteine tilacoideali codificate da geni cloroplastici sintetizzate su ribosomi cloroplastici associati alla membrana tilacoide

Citosol \leftrightarrow perossisomi

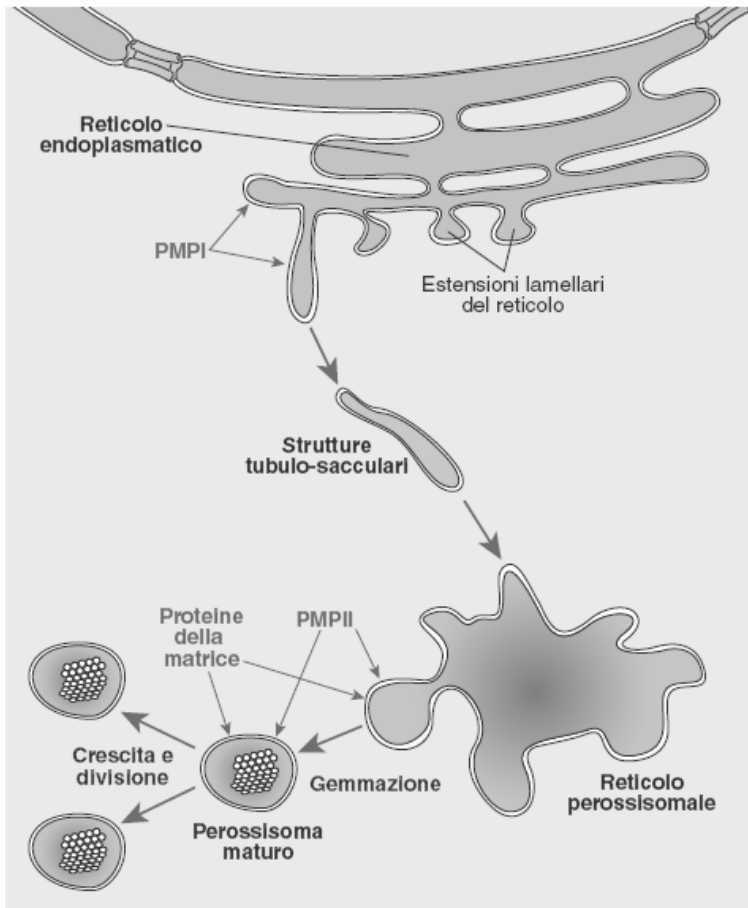
- Proteine sintetizzate su ribosomi liberi
 - Possiedono segnali di indirizzamento (PTS1 e 2)
 - Interazione con trasportatori Pex 5-7 che le fanno passare attraverso complesso di perossine transmembrana fino a matrice
 - Nella matrice dissociazione da trasportatore
- NB trasporto richiede energia e riguarda proteine già ripiegate (es catalasi)**



◆ FIGURA 11.18

Modello di importazione di proteine nei perossisomi. Proteine sintetizzate nel citosol con un segnale PTS1 sono riconosciute e legate dalla perossina Pex5, mentre proteine che hanno un segnale PTS2 sono legate dalla perossina Pex7. I complessi vengono trasportati a livello della membrana del perossisoma dove diverse perossine di membrana sono fondamentali per il trasporto. All'interno della matrice dei perossisomi i recettori Pex5 e Pex7 rilasciano le proteine trasportate e ritornano successivamente nel citoplasma utilizzando altre perossine di membrana.

Biogenesi dei perossisomi



Recenti studi indicano che

oltre che per fissione di perossisomi maturi

i perossisomi originano anche da gemmazione del RE/Golgi dove si accumulano specifiche proteine perossisomiali (PMPI)

Sistema ubiquitina-proteasoma regolatore di attività e emivita delle proteine

Degradazione delle proteine: perchè?

- errori di traduzione/sintesi
- danni (es denaturazione)
- ripiegamento scorretto
- meccanismo di regolazione temporale dell'attività di quella proteina
- normale *turnover*

Degradazione mediata

1. da lisosomi
2. da sistema **UPS (ubiquitina-proteasoma)**: riconoscimento proteina da degradare → aggiunta di molecole di ubiquitina → proteolisi nel proteasoma (complesso macromolecolare formato da diverse proteasi)

Nobel per la Chimica, 2004

sistema UPS ubiquitina-proteasoma

3 diversi enzimi partecipano alla poli-ubiquitinazione della proteina target
(Esistono diverse forma di enzimi E3 specifici per il substrato e/o classe di molecole:
l'E3 seleziona il substrato da degradare)

Ubiquitina: piccola proteina molto conservata tra eucarioti

Le ubiquitine sono aggiunte una dopo l'altra a formare una "catenella" →
marcatura



De Leo, Ginelli, Fasano
Biologia e Genetica
EdISES

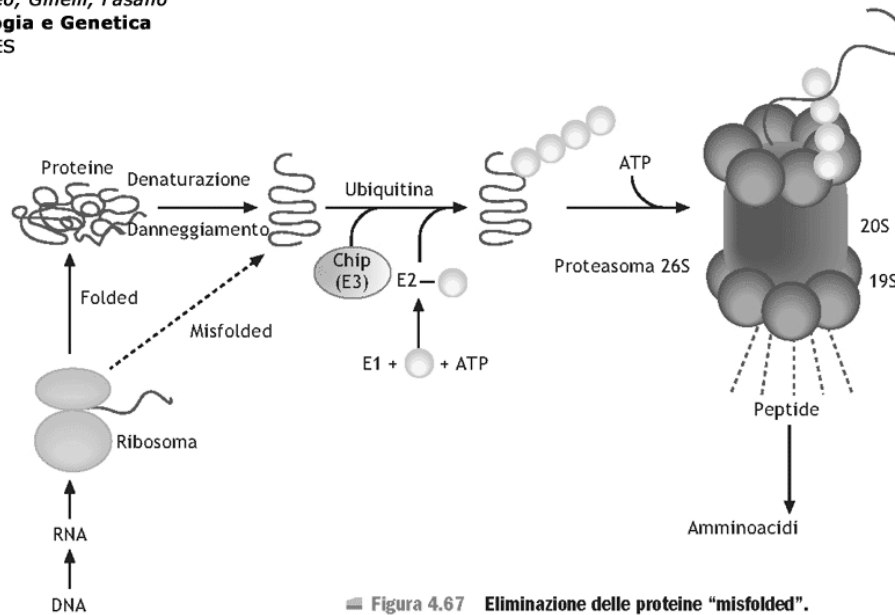


Figura 4.67 Eliminazione delle proteine "misfolded".

**La proteina poliU è riconosciuta dal “cappuccio” del proteasoma, che
 -rimuove ubiquitina
 -e denatura/svolge proteina consumando ATP → proteina linearizzata entra
 nella struttura da anello e viene degradata in corti peptidi rilasciati nel citosol
 Proteasoma: struttura multipolipeptidica a barile; presenti in citoplasma e
 nucleo**

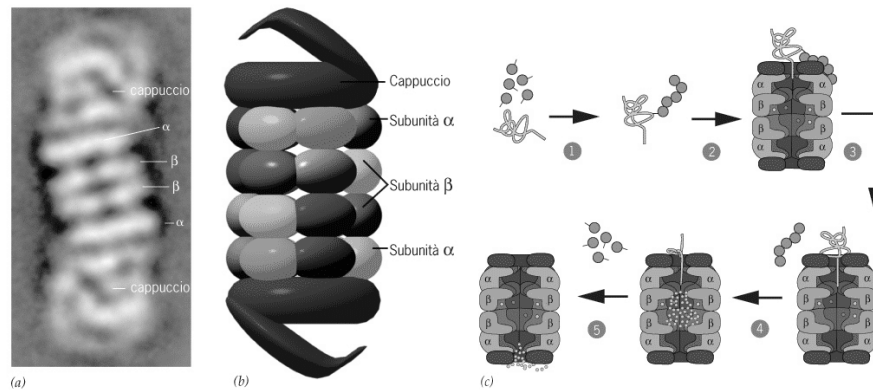
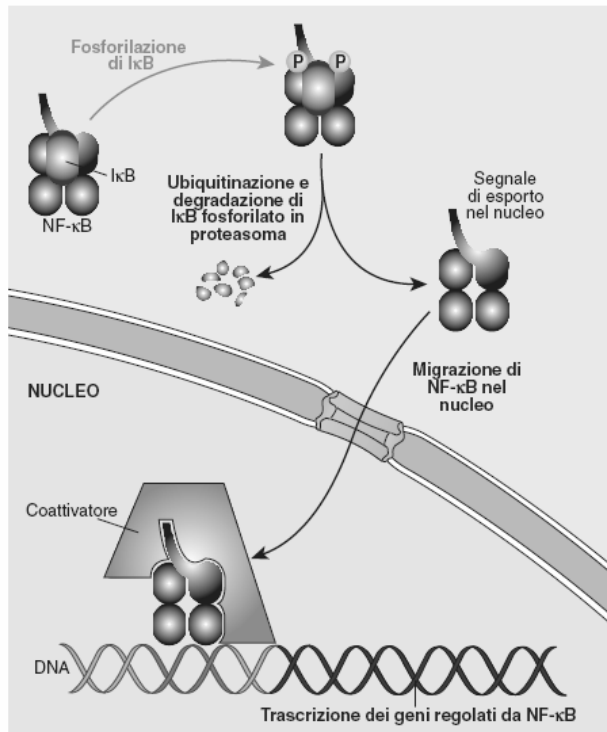


FIGURA 12.58 **Struttura e funzione del proteasoma.** (a) Immagine al microscopio elettronico ad alta risoluzione di un proteasoma di *Drosophila*. (b) Modello del proteasoma basato sulla microscopia elettronica ad alta risoluzione e sulla cristallografia ai raggi X. Ciascun proteasoma consiste di due grandi cappucci alle due estremità e di una porzione centrale a forma di imbuto costituita da quattro anelli sovrapposti. Ciascun anello consiste di sette subunità suddivise in due classi: tipo α e tipo β . I due anelli centrali sono formati da subunità β che circondano una camera centrale; nello schema, le subunità sono indicate con colori diversi, in quanto esse sono polipeptidi simili ma non identici. Tre delle 7 subunità β in ciascun anello possiedono attività proteolitica, le altre quattro sono inattive nelle cellule eucariotiche. (Anche i procarioti possiedono proteasomi, ma essi hanno una struttura più semplice e tutte le subunità β sono attive). I due anelli più periferici sono formati da subunità α enzimati-

camente inattive; queste formano una stretta apertura (circa 13 Å) attraverso la quale vengono infilati i substrati polipeptidici denaturati, in modo da raggiungere la camera centrale dove sono degradati. (c) I passaggi nella degradazione delle proteine mediante il proteasoma. Nel passaggio 1, la proteina che deve essere degradata viene legata covalentemente ad una serie di molecole di ubiquitina. L'attacco della catena di ubiquitina richiede la partecipazione di tre enzimi distinti (E1, E2 ed E3) con un processo che non viene qui descritto. Nel passaggio 2, la proteina poli-ubiquitinata si lega al cappuccio del proteasoma. La catena di ubiquitina viene quindi rimossa ed il polipeptide denaturato viene infilato nella camera centrale del proteasoma (passaggio 3), dove viene degradato grazie all'attività catalitica delle subunità β (passaggi 4 e 5). (A: DA H. HÖLZL ET AL., PER GENT. CONC. DI WOLFGANG BAUMEISTER, J. CELL BIOL. 150:126, 2000; COPYRIGHT DI ROCKEFELLER UNIVERSITY PRESS).



◆ FIGURA 9.17

Il sistema UPS nella regolazione dell'attività del fattore di trascrizione NF-κB. In mancanza dello stimolo infiammatorio, NFκB si trova nel citoplasma, in complesso con l'inibitore IκB. Durante la risposta infiammatoria IκB viene fosforilato su due serine. La forma fosforilata di IκB è riconosciuta da un'ubiquitina ligasi che ne catalizza il legame ad una catena di poliubiquitina. IκB poliubiquitinato è riconosciuto e degradato dal proteasoma. La degradazione di IκB porta alla liberazione di NFκB. Il segnale di localizzazione nucleare (NLS, Nuclear Localization Signal) di NFκB ne determina la traslocazione nel nucleo.

Il sistema UPS regola varie funzioni biologiche (es fattori di controllo esp genica, controllori ciclo cellulare, recettori di membrana, ecc.)

Es controllo del fattore trascrizionale NF-kb

Attiva geni di risposta infiammatoria

Condizioni normali: mantenuto nel citoplasma da inibitore Ikb (che maschera seq NLS)

Stimolo: fosforilazione di I → poliU e degradazione proteasoma guidata → NF-kb entra nel nucleo grazie and NLS esposte → trascrizione genica

Funzione regolatrice dell'ubiquitina

L'ubiquitina e altre proteine ubiquitina-simili (UBL) legandosi a proteine ne modulano attività regolano varie funzioni cellulari

Es SUMO regola biogenesi mitocondri, funzione canali ionici, attività trasportatori Glu, organizzazione cromatina e trascrizione genica,

