



Κυτταρική Βιολογία

Ενότητα 09 : Η εκκριτική οδός, μεταφορά με κυστίδια,
λυσosώματα

Παναγιωτίδης Χρήστος
Τμήμα Φαρμακευτικής ΑΠΘ



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





Η εκκριτική οδός, μεταφορά με κυστίδια, λυσοσώματα



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



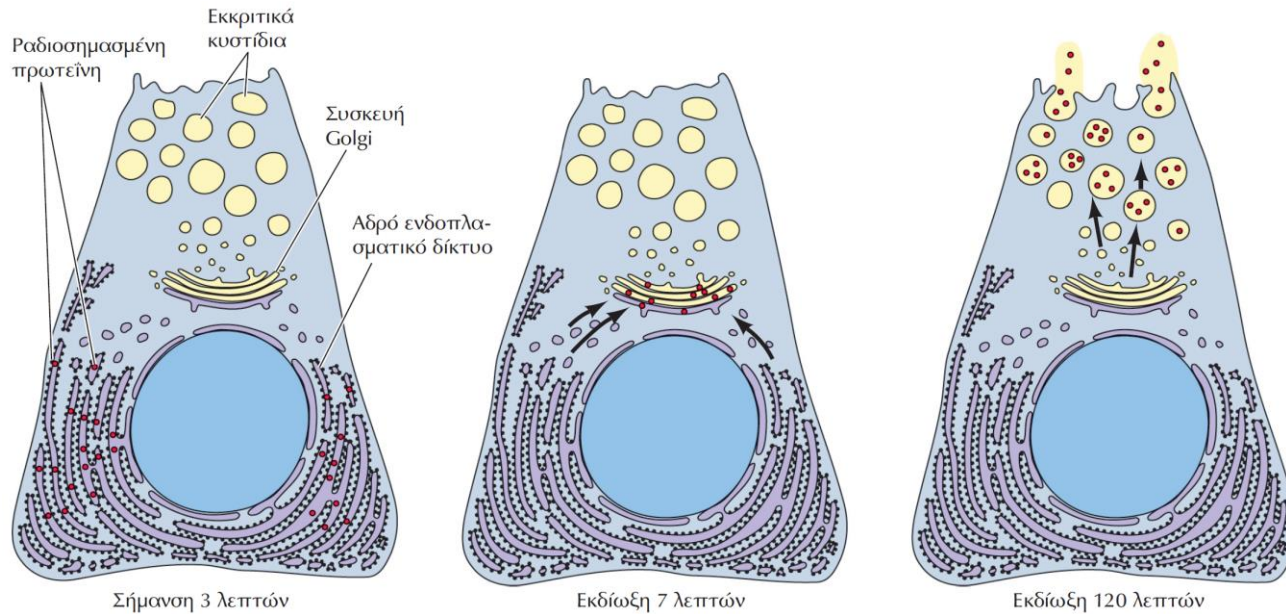
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Σκοποί ενότητας

- Να περιγραφεί η μεταφορά πρωτεϊνών με κυστίδια.
- Να γίνει κατανοητό τι είναι η διαλογή των πρωτεϊνών και πως πραγματοποιείται.
- Να περιγραφεί ο ρόλος των λυσοσωμάτων στις ενδοκυτταρικές πέψεις.



Η εκκριτική οδός



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

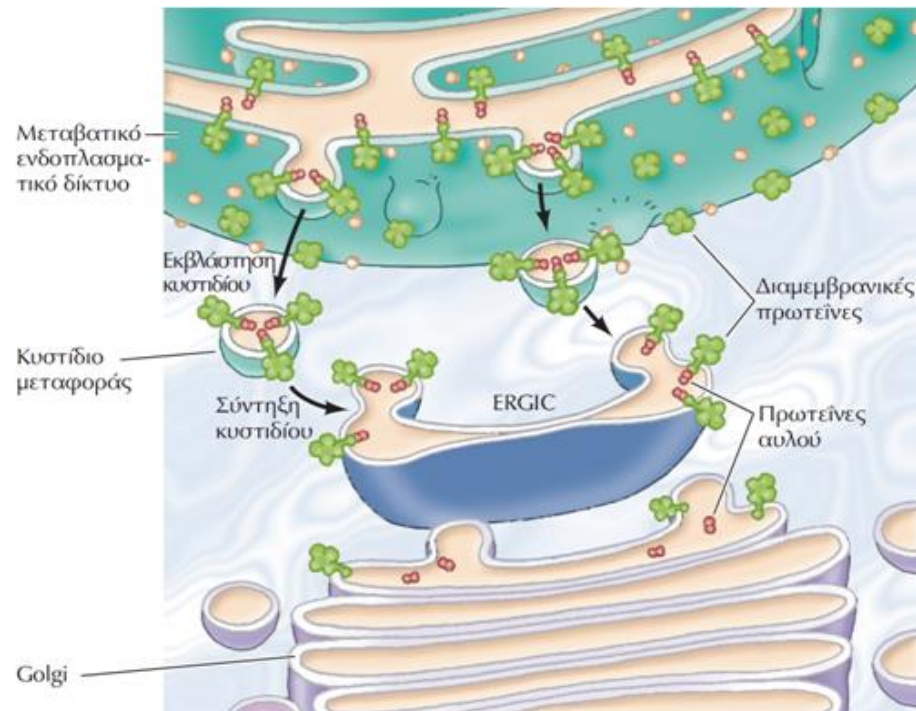
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

- Κυψελιδικά κύτταρα παγκρέατος, τα οποία εκκρίνουν το μεγαλύτερο μέρος των νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών τους στον πεπτικό σωλήνα, σημάνθηκαν με ραδιενεργά αμινοξέα προκειμένου να μελετηθεί το ενδοκυτταρικό μονοπάτι που ακολουθούν οι εκκρινόμενες πρωτεΐνες.
- Έπειτα από βραχεία επώαση με ραδιενεργά αμινοξέα (σήμανση 3 λεπτών ή «παλμός» - [pulse]), η αυτοραδιογραφία αποκάλυψε ότι οι νεοσυντιθέμενες πρωτεΐνες εντοπίζονταν στο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο (ΕΔ).
- Η συνέχιση της επώασης με μη ραδιενεργά αμινοξέα («εκδίωξη» - [chase]) έδειξε ότι οι πρωτεΐνες μετακινούνται από το ΕΔ στη συσκευή Golgi και στη συνέχεια, μέσα σε εκκριτικά κυστίδια, προωθούνται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και στο εξωτερικό του κυττάρου.



Κυστιδιακή μεταφορά πρωτεϊνών από το ΕΔ στη συσκευή Golgi

- Οι πρωτεΐνες και τα λιπίδια μεταφέρονται από το ΕΔ στη συσκευή Golgi μέσα σε κυστίδια μεταφοράς, τα οποία εκβλαστάνουν από τη μεμβράνη του μεταβατικού ΕΔ, συντήκονται σχηματίζοντας τα κυστίδια και τους σωληνίσκους του ενδιάμεσου διαμερίσματος ER-Golgi (ERGIC, ER-Golgi Intermediate Compartment) και στη συνέχεια μεταφέρονται στη συσκευή Golgi.
- Οι πρωτεΐνες του αυλού του ΕΔ προσλαμβάνονται από τα κυστίδια και απελευθερώνονται στον αυλό της συσκευής Golgi. Οι μεμβρανικές πρωτεΐνες διατηρούν στη συσκευή Golgi τον ίδιο προσανατολισμό με αυτόν που έχουν στο ΕΔ (δηλαδή το κυτταροπλασματικό τμήμα της πρωτεΐνης θα παραμείνει στο κυτταρόπλασμα κλπ).

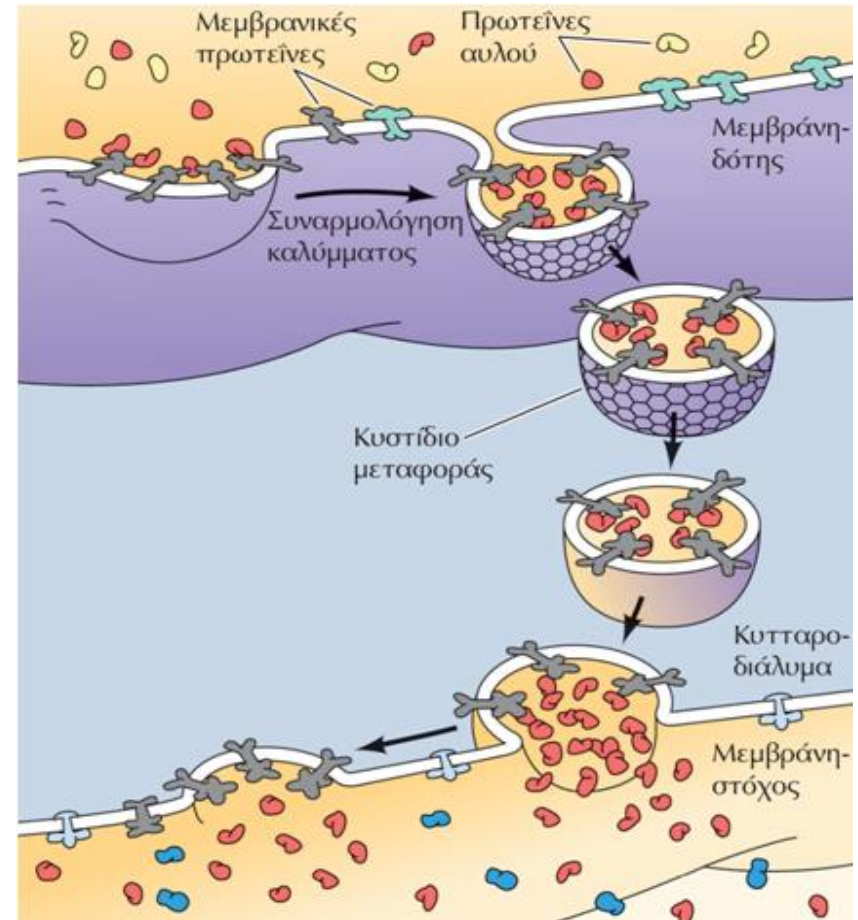


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Επιλογή κυστιδιακού φορτίου & σύντηξη των μεταφορικών κυστιδίων

- Μembranικές πρωτεΐνες και εκκριτικές πρωτεΐνες του αυλού του ΕΔ μαζί με τους υποδοχείς τους συλλέγονται σε επιλεγμένες περιοχές της μεμβράνης-δότη, όπου ο σχηματισμός ενός καλύμματος από πρωτεΐνες του κυτταροδιαλύματος οδηγεί στην εκβλάστηση ενός κυστιδίου μεταφοράς.
- Κατά τη μεταφορά, το πρωτεϊνικό κάλυμμα του κυστιδίου αποσυναρμολογείται και το κυστίδιο μεταφοράς προσδένεται (ελλιμενίζεται) στη μεμβράνη-στόχο, με την οποία και συντήκεται.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

Είδη κυστιδίων

**Διαφορετικά είδη κυστιδίων
χρησιμοποιούνται σε διαφορετικά μονοπάτια
κυστιδιακής μεταφοράς.**



Κυστίδια κλαθρίνης

- Η κλαθρίνη, είναι μία πρωτεΐνη, που εμπλέκεται στην εκβλάστηση των κυστιδίων σχηματίζοντας ένα πολυεδρικό κάλυμμα.
- Το κάλυμμα της κλαθρίνης υποβοηθεί την εκβλάστηση των κυστιδίων σχηματίζοντας μια πρωτεϊνική «βεντούζα» που εφαρμόζει πάνω στην μεμβράνη από την οποία εκβλαστάνει το κυστίδιο.
- Τα καλυμμένα με κλαθρίνη κυστίδια απελευθερώνονται από την πλευρά *trans* της συσκευής Golgi.
- Η διάμετρος ενός κυστιδίου κλαθρίνης είναι περίπου 70 nm.



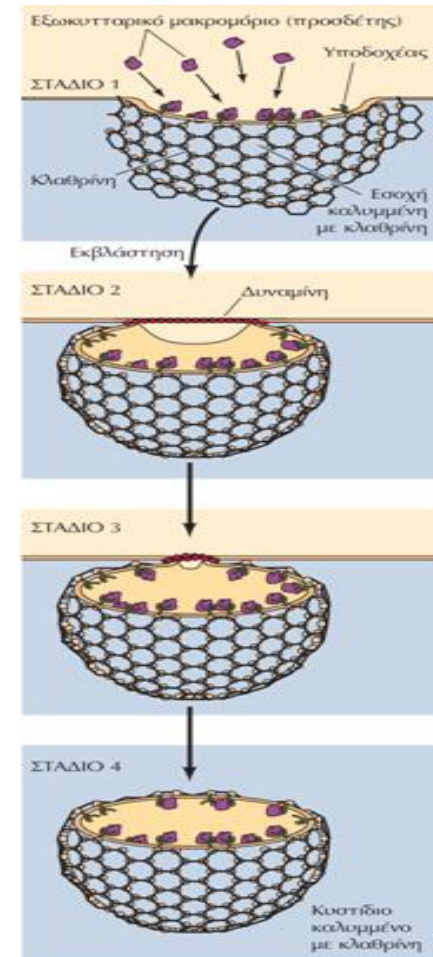
Εξειδικευμένη πρόσληψη φορτίου από τα κυστίδια κλαθρίνης

- Η εξειδικευμένη πρόσληψη φορτίου από τα κυστίδια κλαθρίνης εξασφαλίζεται με την ύπαρξη ειδικών υποδοχέων.
- Οι υποδοχείς φορτίου είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες οι οποίες αλληλεπιδρούν με τα «φορτία» τους με τα τμήματα τους που βρίσκονται στον αυλό του ΕΔ.
- Τα κυτταροπλασματικά τμήματα των υποδοχέων φορτίου αλληλεπιδρούν με τις ανταπτίνες.
- Οι ανταπτίνες είναι πρωτεΐνες-προσαρμογείς που προσδένουν τον υποδοχέα φορτίου στην κλαθρίνη.



Ενδοκυττάρωση μέσω κυστιδίων κλαθρίνης

- Εξωκυτταρικά μακρομόρια (προσδέτες) δεσμεύονται σε επιφανειακούς υποδοχείς φορτίου.
- Οι υποδοχείς φορτίου συγκεντρώνονται σε εσοχές καλυμμένες με κλαθρίνη.
- Με τη βοήθεια της δυναμίνης, μιας πρωτεΐνης που προσδένει και υδρολύει GTP, αυτές οι εσοχές εκβλαστάνουν και αποκόπτονται από την κυτταροπλασματική μεμβράνη, σχηματίζοντας ενδοκυτταρικά κυστίδια καλυμμένα με κλαθρίνη.
- Η κλαθρίνη τελικά απομακρύνεται και το κυστίδιο (χωρίς κλαθρίνη πλέον) μετακινείται προς την μεμβράνη στόχο στην οποία και θα προσαράξει (το στάδιο αυτό δεν φαίνεται στην διπλανή εικόνα).



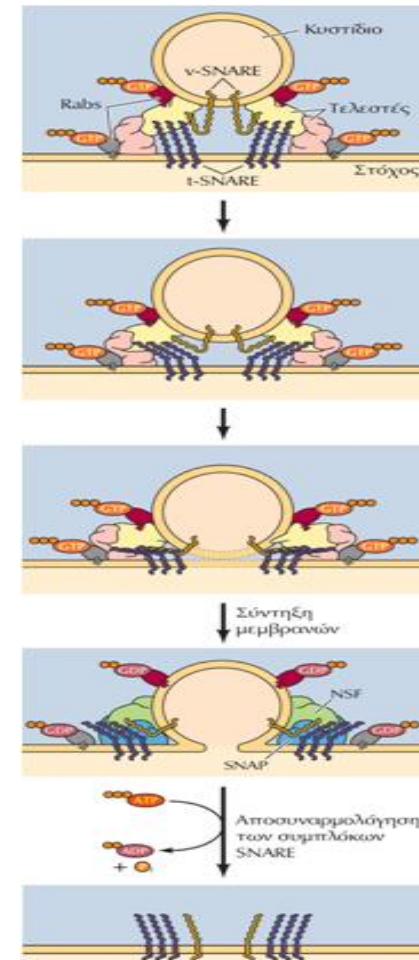
Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Τα κυστίδια προσαράζουν σε μεμβράνες- Εκλεκτική σύνδεση των SNARE

- Το κάθε κυστίδιο περιέχει στην επιφάνεια του εξειδικευμένες πρωτεΐνες που εμπλέκονται στην εκλεκτική προσάραξη του κυστιδίου στη μεμβράνη - στόχο.
- Οι πρωτεΐνες αυτές ονομάζονται vSNARE (vesicle SNARE, δηλ. κυστιδιακό SNARE).
- Η εξειδίκευση της προσάραξης εξασφαλίζεται από την επιλεκτική πρόσδεση της κάθε vSNARE σε μία πρωτεΐνη tSNARE του οργανιδίου-στόχου (target SNARE).
- **Συνοψίζοντας, η εκλεκτική σύνδεση των SNARE εξασφαλίζει την εξειδικευμένη κυστιδιακή προσάραξη.**



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

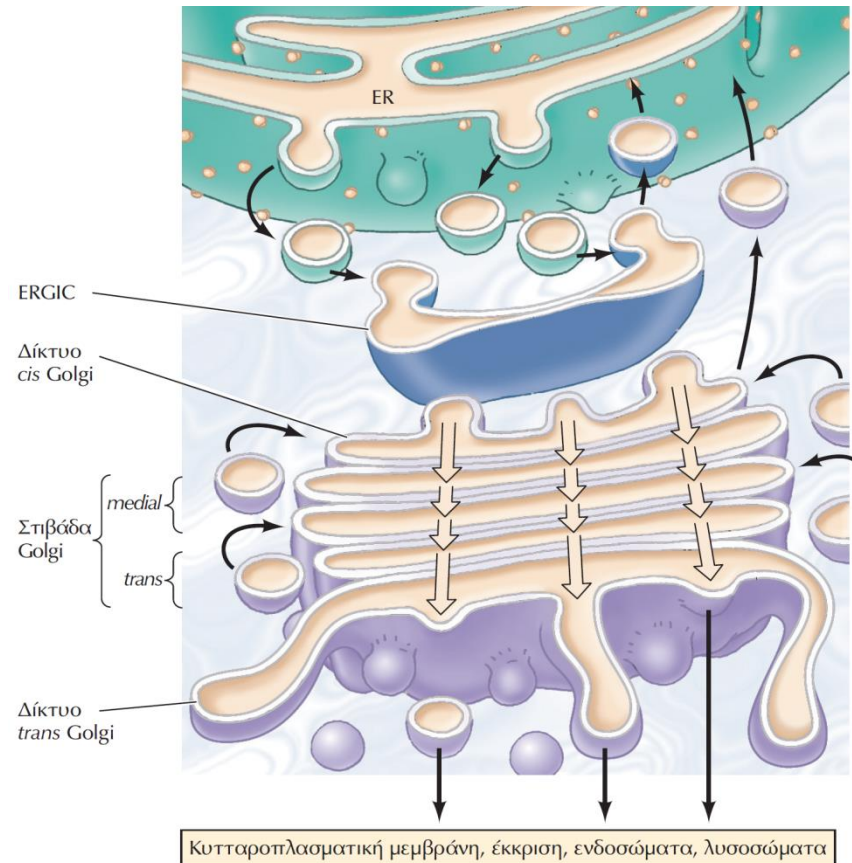


Η συσκευή Golgi έχει θεμελιώδη ρόλο στη μεταφορά με κυστίδια (1)

- Κυστίδια που έρχονται από το ER συντήκονται σχηματίζοντας το ενδιάμεσο διαμέρισμα ER-Golgi (ERGIC) και στη συνέχεια πρωτεΐνες που έρχονται από το ER μεταφέρονται στο *cis* δίκτυο Golgi. Οι μόνιμες πρωτεΐνες του ER επαναφέρονται από το ενδιάμεσο διαμέρισμα ER-Golgi και το δίκτυο *cis* Golgi στο ER μέσω του μονοπατιού ανακύκλωσης. Τα διαμερίσματα *medial* και *trans* της στιβάδας Golgi αντιστοιχούν στις δεξαμενές που βρίσκονται στο μέσο του συμπλέγματος Golgi και είναι οι θέσεις όπου λαμβάνουν χώρα οι περισσότερες τροποποιήσεις πρωτεϊνών. Κατόπιν, οι πρωτεΐνες μεταφέρονται στο δίκτυο *trans* Golgi, όπου γίνεται η διαλογή τους για μεταφορά στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, στα ενδοσώματα, στα λυσοσώματα ή για έκκριση από το κύτταρο. Οι πρωτεΐνες διασχίζουν το Golgi με κατεύθυνση *cis* προς *trans*, περνώντας μέσα από τις δεξαμενές του Golgi, ενώ τα κυστίδια μεταφοράς επαναφέρουν τις μόνιμες πρωτεΐνες του Golgi σε προηγούμενα διαμερίσματα ώστε να χρησιμοποιηθούν εκ νέου.



Η συσκευή Golgi έχει θεμελιώδη ρόλο στη μεταφορά με κυστίδια (2)

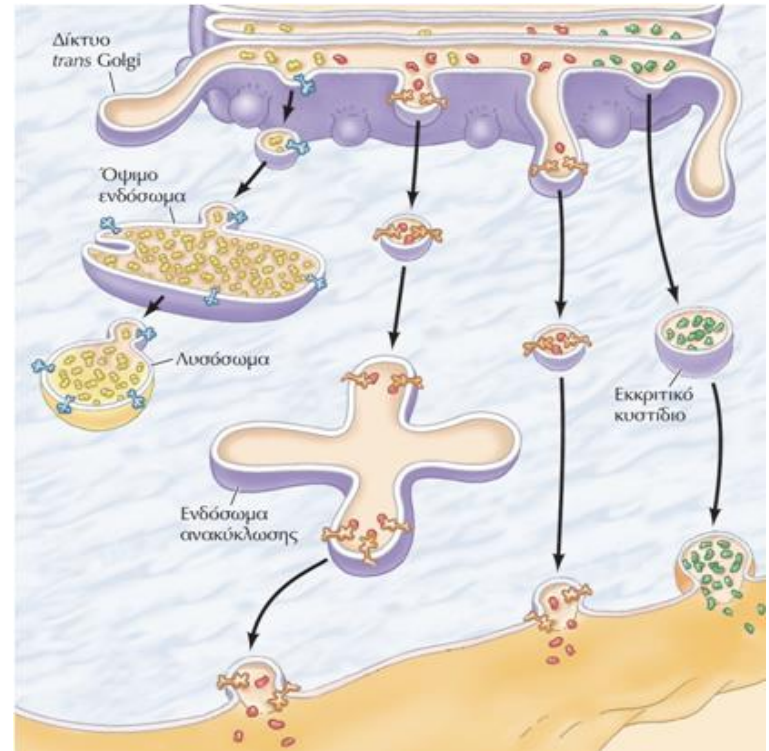


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Μεταφορά διαμέσου της συσκευής Golgi

- Στο δίκτυο *trans* Golgi γίνεται η διαλογή των πρωτεϊνών που πρόκειται να μεταφερθούν σε διαφορετικούς προορισμούς με κυστίδια.
- Οι πρωτεΐνες «πακετάρονται» εκλεκτικά στα σωστά κυστίδια μεταφοράς τα οποία και τις μεταφέρουν προς τους τελικούς τους προορισμούς.
- Οι πρωτεΐνες που πρόκειται να μεταφερθούν στην κυτταροπλασματική μεμβράνη, μεταφέρονται είτε άμεσα με κυστίδια που προσαράζουν στην μεμβράνη, είτε μέσω ενδοσωμάτων ανακύκλωσης.
- Επίσης, μπορεί να διανεμηθούν σε διακριτά εκκριτικά κυστίδια για ρυθμιζόμενη έκκριση ή να οδηγηθούν σε όψιμα ενδοσώματα, από την ωρίμανση των οποίων θα προκύψουν λυσοσώματα.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



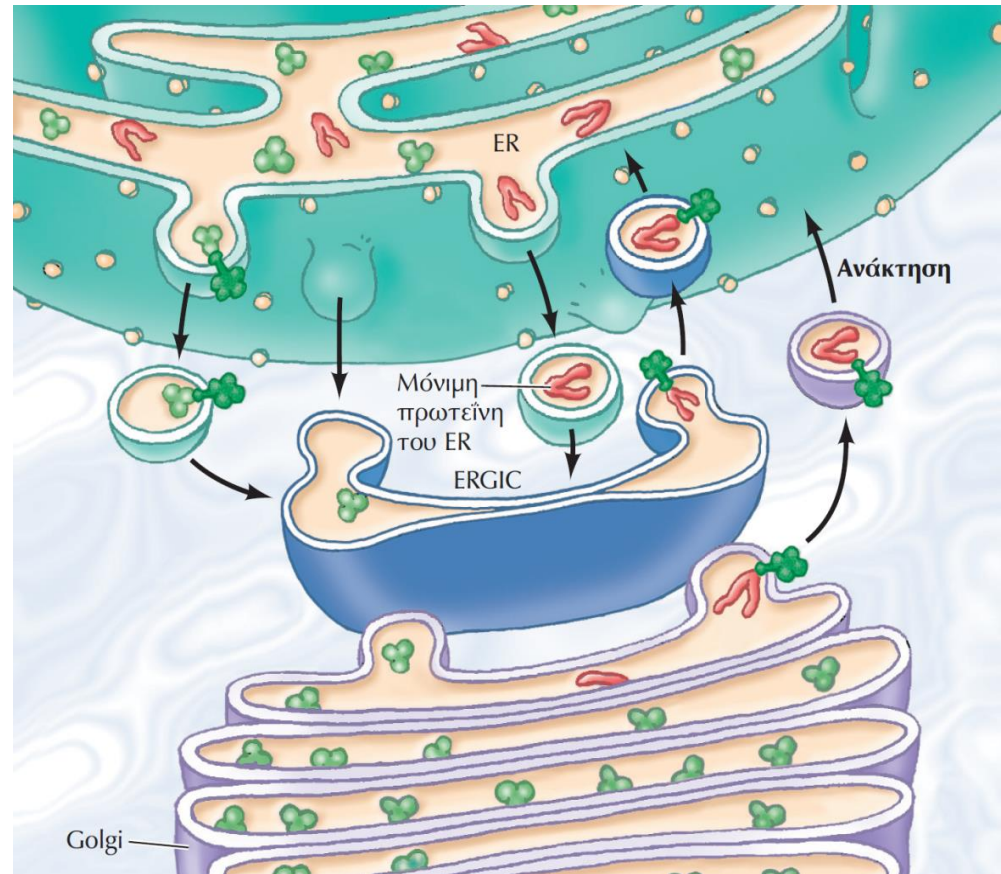
Οδοί εξωκυττάρωσης (ιδιοστατικής ή ρυθμιζόμενης)

- Η εξωκυττάρωση συμβάλλει στην ανανέωση των πρωτεϊνών του κυττάρου και στην αύξηση μεγέθους των μεμβρανών.
- Η **ιδιοστατική** έκκριση μπορεί να συμβαίνει συνέχεια ενώ η **ρυθμιζόμενη** έκκριση λαμβάνει χώρα μόνο μετά τη μεταγωγή κατάλληλου σήματος.



Επανάκτηση των πρωτεϊνών του ΕΔ

- Οι πρωτεΐνες που προορίζονται για παραμονή στον αυλό του ΕΔ είναι σημασμένες με αλληλουχίες ανάκτησης στο καρβοξυτελικό άκρο τους. Σε περίπτωση εξαγωγής τους από το ΕΔ στη συσκευή Golgi, αναγνωρίζονται από έναν υποδοχέα στο ERGIC ή στη συσκευή Golgi, ο οποίος τις επιλέγει και τις επαναφέρει πίσω στο ΕΔ.
- Με την παραπάνω διαδικασία αποφεύγεται η «διαρροή» των πρωτεϊνών του ΕΔ.
- **Σήματα επανάκτησης για:**
Διαλυτές πρωτεΐνες
KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu)
&
Μεμβρανικές πρωτεΐνες
KKXX (Lys-Lys-X-X)

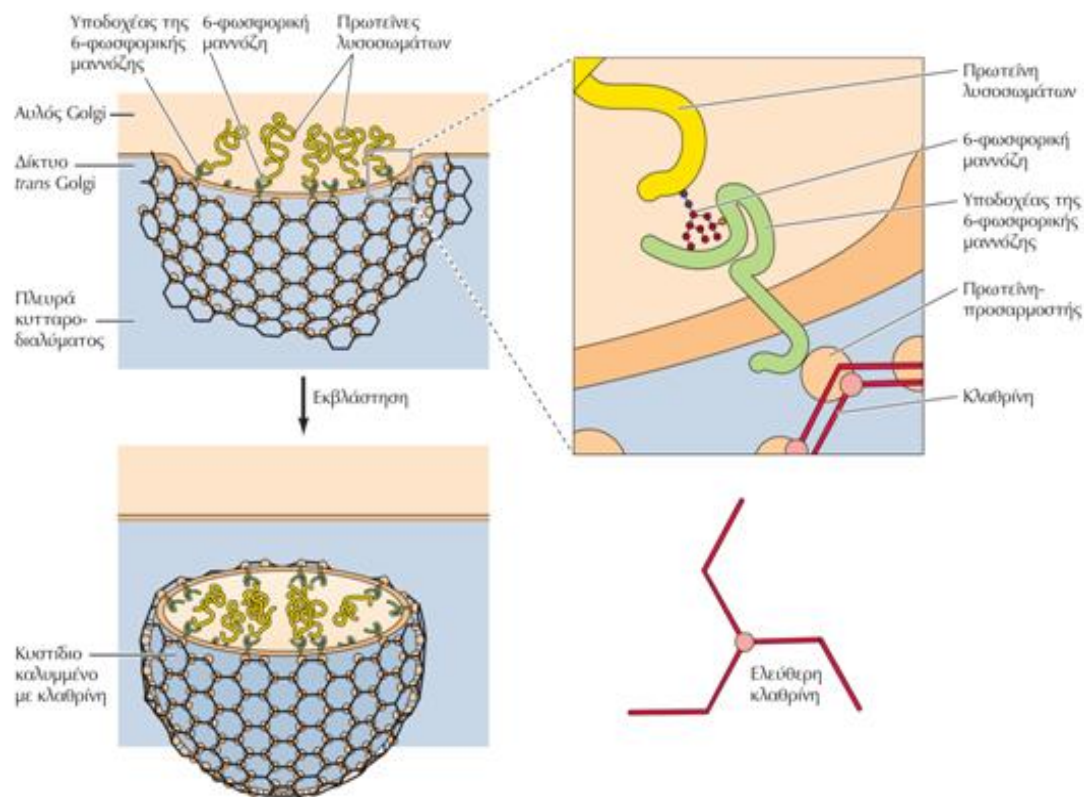


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Μεταφορά στα λυσοσωμάτια & ανακύκλωση μεμβρανικών υποδοχέων

- Οι πρωτεΐνες που προορίζονται για τα λυσοσώματα είναι σημασμένες με κατάλοιπα 6-φωσφορικής μαννόζης, τα οποία προσδένονται σε υποδοχείς-φορτίου που απαντώνται στο δίκτυο *trans* Golgi.
- Οι υποδοχείς αυτοί διαπερνούν τη μεμβράνη της συσκευής Golgi και χρησιμεύουν ως θέσεις πρόσδεσης για πρωτεΐνες-προσαρμοστές του κυτταροδιαλύματος, οι οποίες με τη σειρά τους προσδένουν κλαθρίνη.
- Οι κλαθρίνες αποτελούνται από τρεις πρωτεϊνικές αλυσίδες που συνδέονται μεταξύ τους σχηματίζοντας ένα καλαθοειδές πλέγμα, το οποίο σαν «βεντούζα», προκαλεί παραμόρφωση της μεμβράνης και σχηματισμό του εκβλαστήματος από το οποίο προκύπτει το κυστίδιο, όπως αναφέρθηκε και στη διαφάνεια 10.

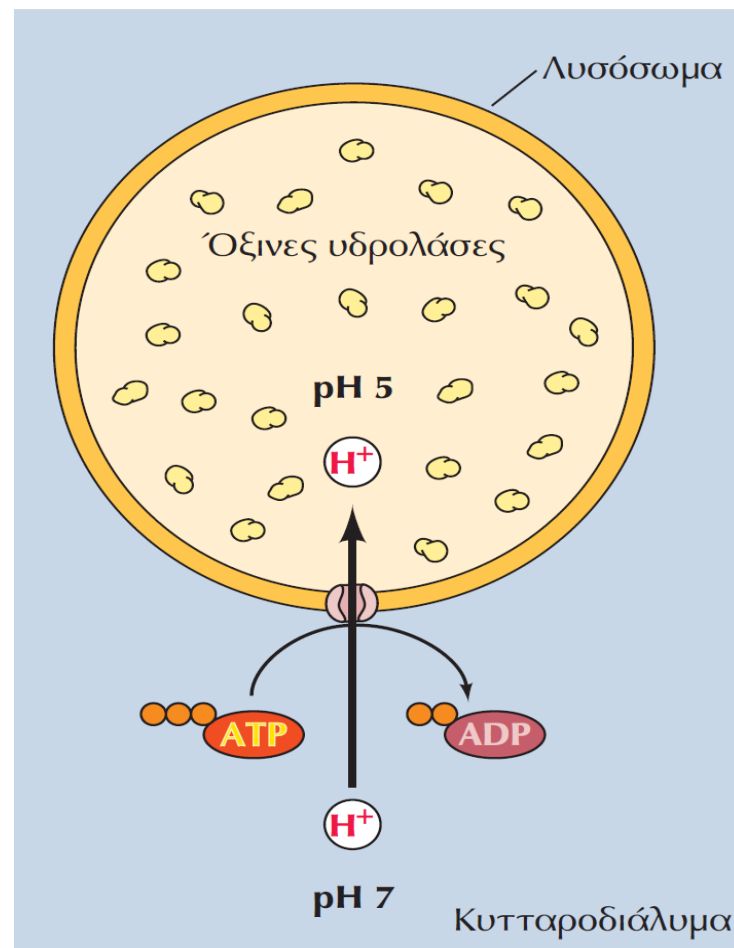


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Η πέψη ουσιών στα λυσοσώματα επιτελείται από όξινες υδρολάσες

- Τα λυσοσώματα περιέχουν πολλές διαφορετικές όξινες υδρολάσες (νουκλεάσες, πρωτεάσες, λιπάσες, κλπ), οι οποίες είναι ενεργές στο όξινο pH που διατηρείται στο εσωτερικό του λυσοσώματος, αλλά όχι και στο ουδέτερο pH του κυτταροδιαλύματος.
- Το όξινο εσωτερικό pH των λυσοσωμάτων οφείλεται σε μια μεμβρανική πρωτεΐνη του λυσοσώματος που λειτουργεί ως αντλία πρωτονίων, η οποία εισάγει πρωτόνια από το κυτταροδιάλυμα χρησιμοποιώντας ενέργεια που προέρχεται από την υδρόλυση του ATP.

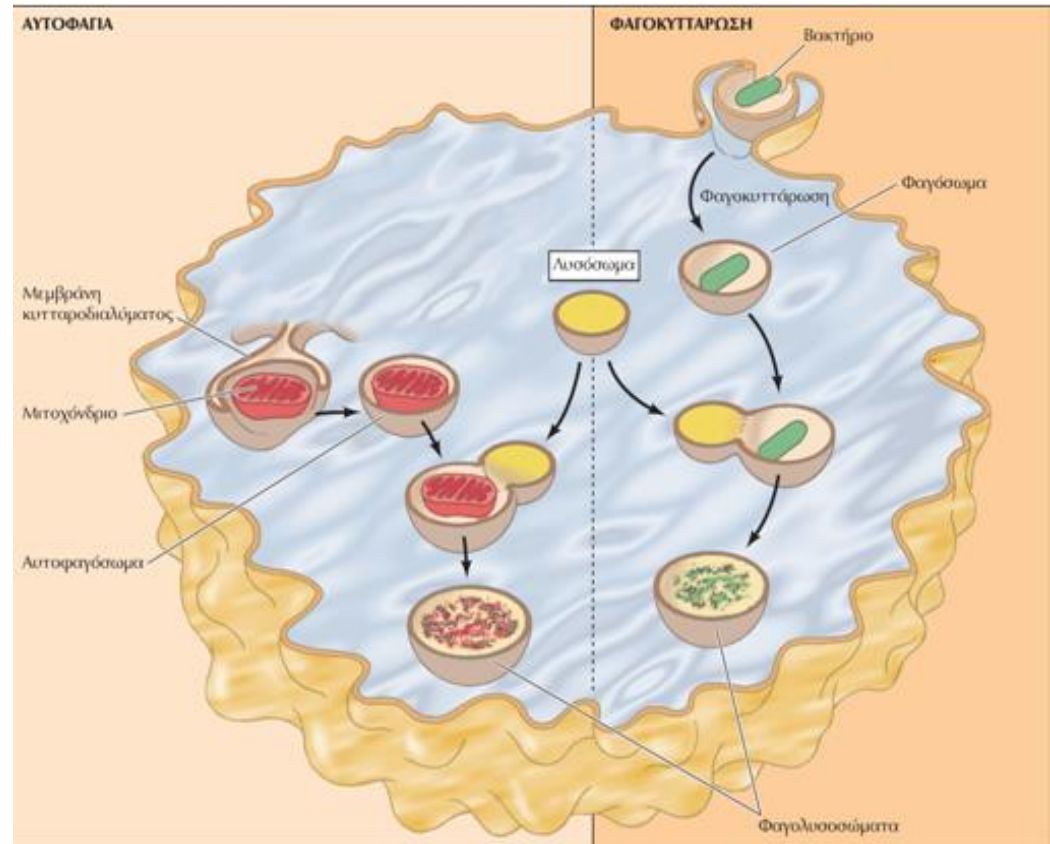


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.

Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση

Φαγοκυττάρωση & λυσοσώματα

- Κατά τη φαγοκυττάρωση, σωματίδια μεγάλου μεγέθους (π.χ. βακτήρια) προσλαμβάνονται από κενοτόπια φαγοκυττάρωσης ή φαγοσώματα.
- Κατά την αυτοφαγία, περιοχές του κυτταροπλάσματος ή «φθαρμένα» εσωτερικά οργανίδια (όπως μιτοχόνδρια) περικλείονται από κυτταροπλασματικές μεμβράνες, προερχόμενες από το ΕΔ, σχηματίζοντας τα αυτοφαγοσώματα.
- Τόσο τα φαγοσώματα όσο και τα αυτοφαγοσώματα συντήκονται με τα λυσοσώματα (τα οποία είναι εξαιρετικά πλούσια σε όξινες υδρολάσες) και σχηματίζουν μεγάλα φαγολυσοσώματα στα οποία γίνεται η πέψη των περιεχομένων τους.

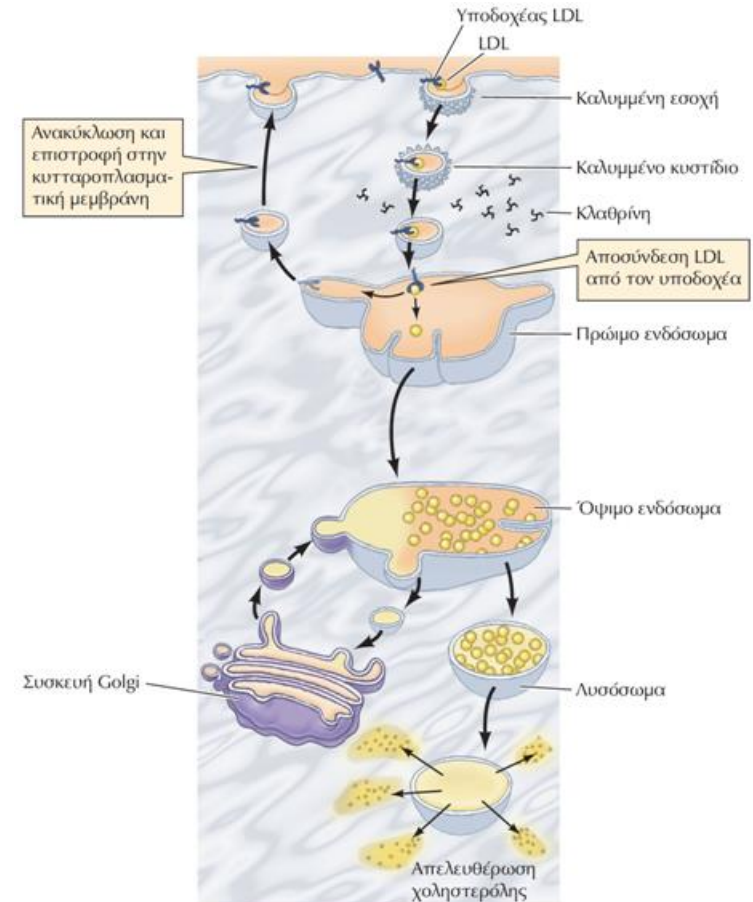


Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση



Εξειδικευμένη ενδοκυττάρωση μέσω υποδοχέων

- Η χοληστερόλη του πλάσματος απαντάται ως σύμπλοκο με την LDL (Low Density Lipoprotein). Η ενδοκυττάρωση του συμπλόκου γίνεται μετά από πρόσδεση σε εξειδικευμένο υποδοχέα φορτίου της κυτταρικής μεμβράνης.
- Μετά την σύνδεση στον υποδοχέα, το σύμπλοκο χοληστερόλης-LDL εσωτερικεύεται μέσα σε κυστίδια καλυμμένα με κλαθρίνη. Τα κυστίδια αυτά αποβάλλουν το περίβλημά τους και συντήκονται με πρώιμα ενδοσώματα.
- Στο όξινο pH των πρώιμων ενδοσωμάτων, η LDL αποσυνδέεται από τον υποδοχέα της και ακολουθεί διαλογή των ενδοκυτταρωμένων υλικών είτε για αποικοδόμηση στα λυσοσώματα είτε για ανακύκλωση και επιστροφή στην κυτταροπλασματική μεμβράνη.
- Τα κυστίδια μεταφοράς που φέρουν λυσοσωμικές υδρολάσες από τη συσκευή Golgi συντήκονται με όψιμα ενδοσώματα, τα οποία ωριμάζουν προς λυσοσώματα, όπου γίνεται αποικοδόμηση της LDL και απελευθέρωση της χοληστερόλης.
- Αντίθετα, ο υποδοχέας LDL ανακυκλώνεται από τα πρώιμα ενδοσώματα και επιστρέφει στην κυτταροπλασματική μεμβράνη.



Ακαδημαϊκές Εκδόσεις 2011.
Το Κύτταρο-Μία Μοριακή Προσέγγιση





Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Τσαχουρίδου Βασιλική
Θεσσαλονίκη, Εαρινό Εξάμηνο 2013-2014



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ