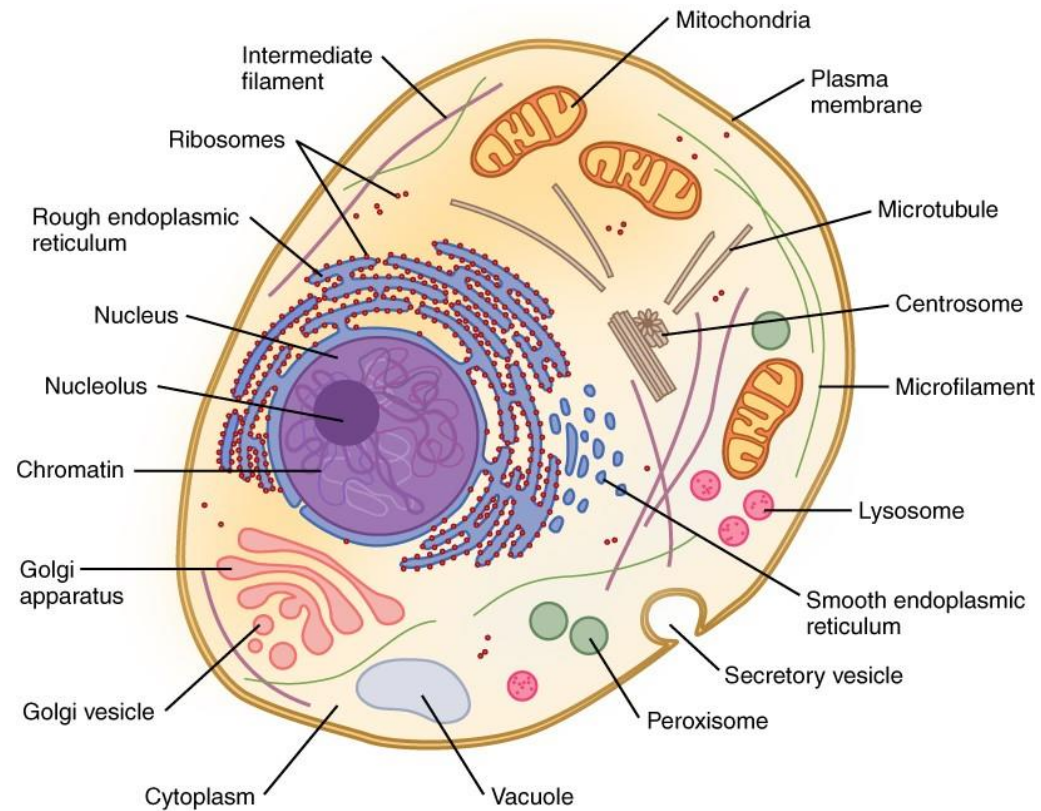


Ενδοκυττάρια κυστίδια, Λυσοσώματα, Μιτοχόνδρια



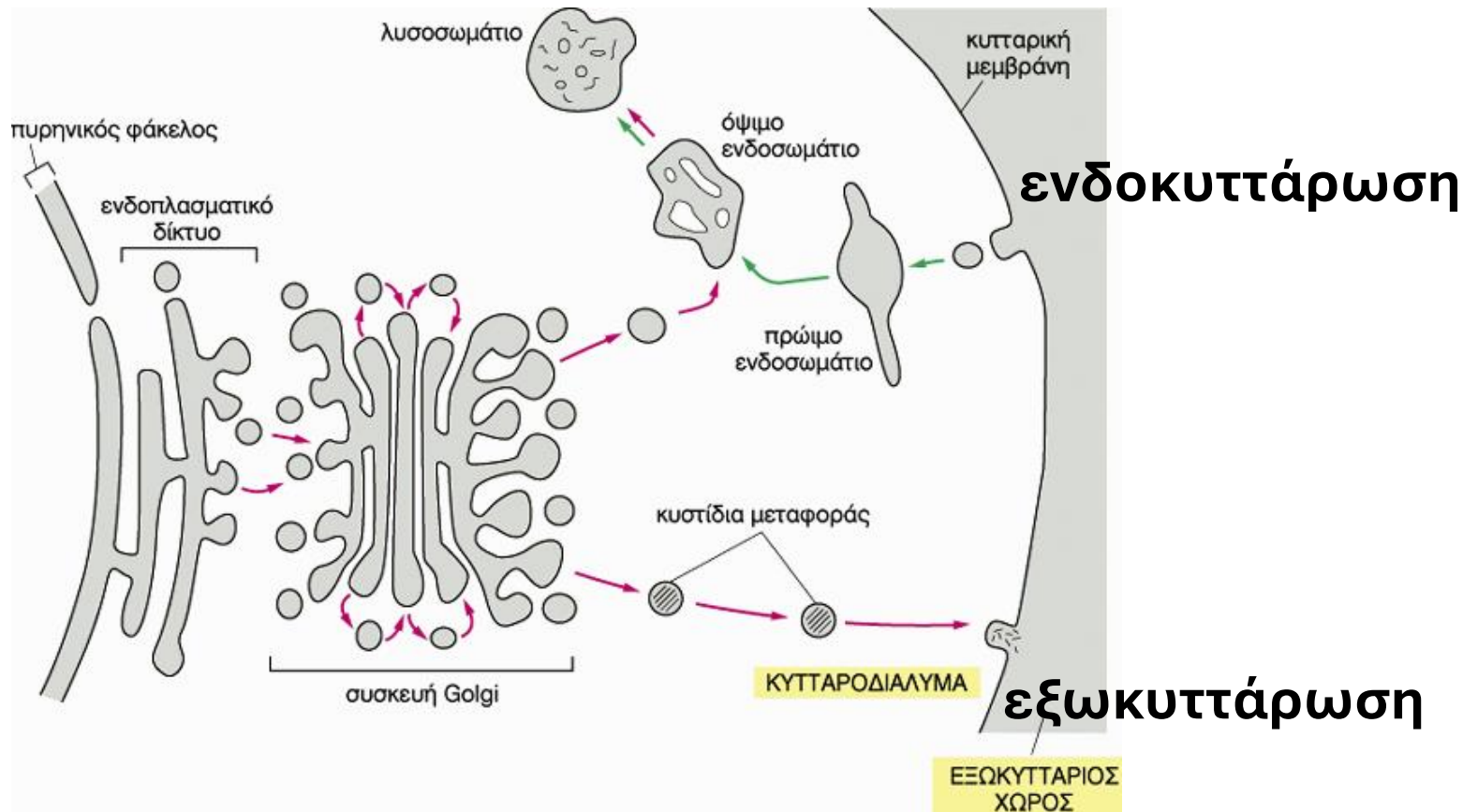
Εκπαιδευτικοί στόχοι:

ΘΕΜΑ: Ενδοκυττάρια κυστίδια , Λυσοσώματα, Μιτοχόνδρια

- Διαδρομή μιας πρωτεΐνης από το Golgi προς τα λυσοσώματα.
- Ρόλος 6-φωσφορικής μαννόζης, ανταπτινης, κλαθρίνης και δυναμίνης
- Τι καθορίζει την εξειδίκευση της μεταφοράς (μόρια αναγνώρισης SNAREs)
- Διαδρομή μιας εκκρινόμενης πρωτεΐνης προς την κυτταρική μεμβράνη . Ρυθμιζόμενη και μη-ρυθμιζόμενη έκκριση
- Διαφορές φαγοκυττάρωσης, πινοκυττάρωσης και ειδικής ενδοκυττάρωσης
- Ενδοκυττάρωση μέσω Υποδοχέων. Πρόσληψη χοληστερόλης από τα κύτταρα.
- Τόποι αποικοδόμησης των πρωτεϊνών του κυττάρου
- Λειτουργία των λυσοσωμάτων
- Ρόλος πρωτεασώματος και ουβικιτίνης.
- Δομή μιτοχονδρίου (εξωτερική και εσωτερική μεμβράνη, μιτοχονδριακό DNA). Δομή και λειτουργία της ATP-συνθετάσης

ΚΥΣΤΙΔΙΑ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

- Αποτελούνται από τμήματα μεμβράνης
 - Μεταφέρουν μόρια (πρωτεΐνες κ.ά βιομόρια) :
- α) από το ΕΔ στο Golgi, και από Golgi προς λυσosώματα, ή κυτ. μεμβράνη ή εξωκυττάρια
- β) αντίστροφα, από το εξωτερικό του κυττάρου προς το εσωτερικό



Για την εκβλάστησή τους
τα κυστίδια καλύπτονται
από πρωτεΐνες, όπως η
κλαθρίνη

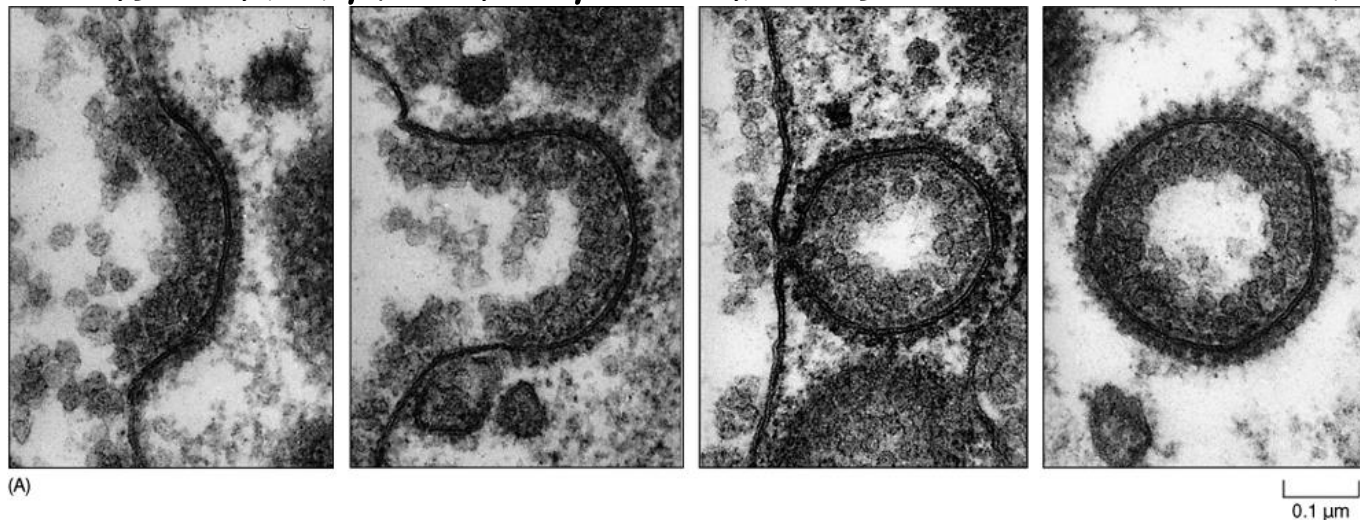


Δομή κλαθρίνης, σχηματισμός καλαθοειδούς πλέγματος & κυστιδίου

3 πρωτεϊνικές
αλυσίδες



Σχηματισμός εσοχής στη μεμβράνη, εκβλαστήματος και κυστιδίου καλυμμένου με κλαθρίνη



κυστίδιο κλαθρίνης

Στάδια σχηματισμού κυστιδίου μεταφοράς

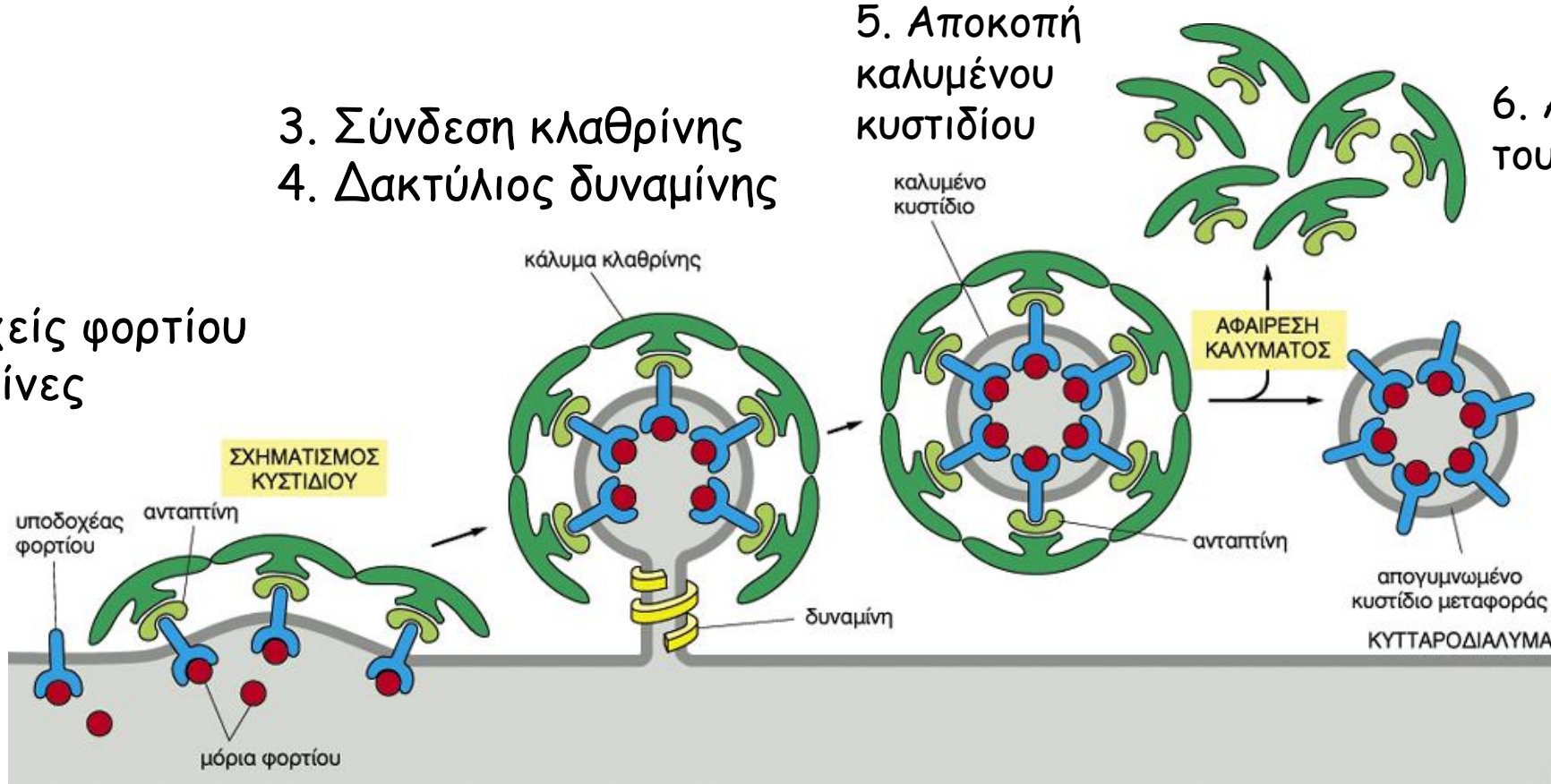
- 1. Υποδοχείς φορτίου
- 2. Ανταπίνες

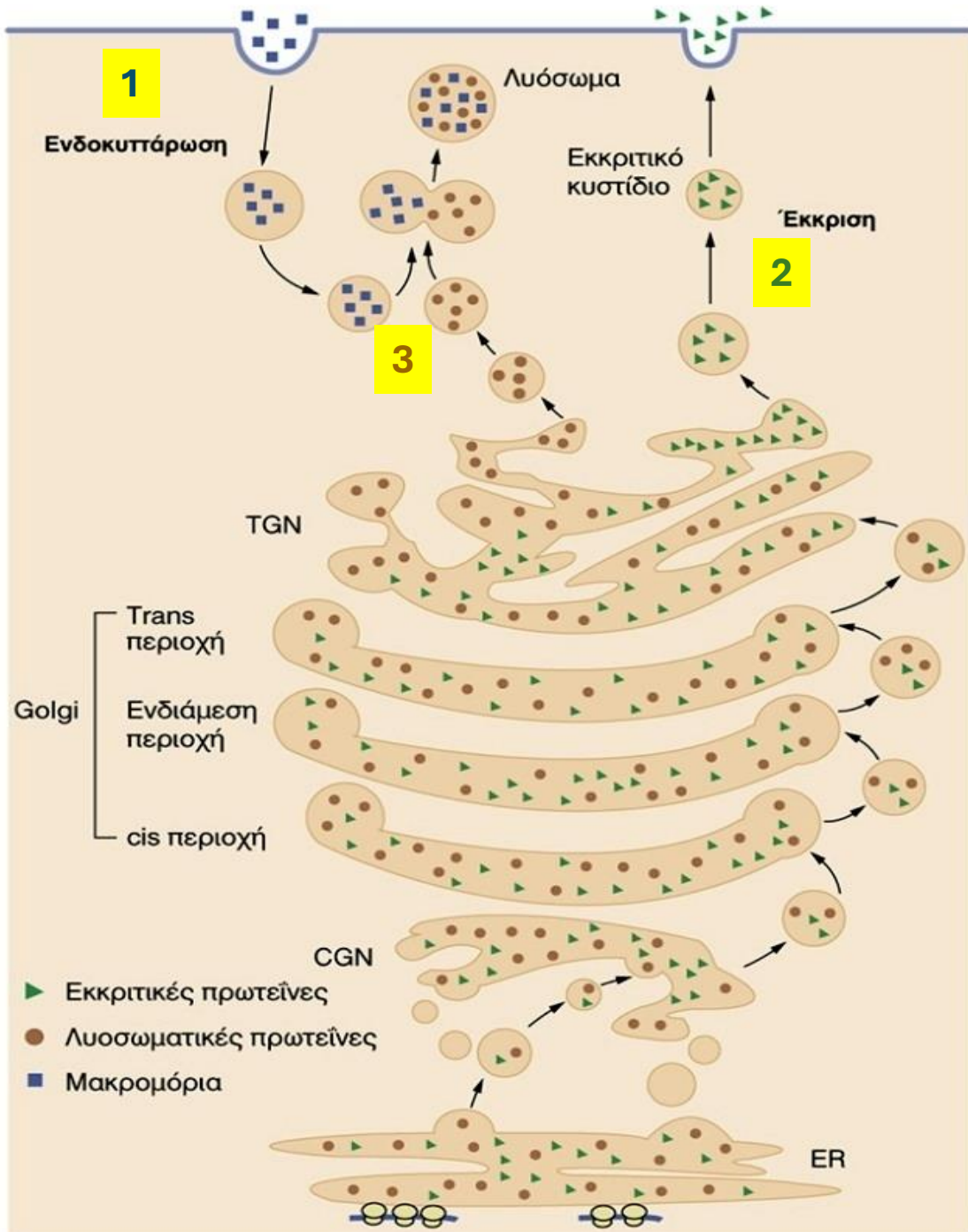
- 3. Σύνδεση κλαθρίνης
- 4. Δακτύλιος δυναμίνης

- 5. Αποκοπή καλυμένου κυστιδίου

- 6. Απομάκρυνση του καλύματος

- 7. Απογυμνωμένο κυστίδιο μεταφοράς





Κυστίδια καλυμμένα με Κλαθρίνη συναντάμε για μεταφορά:

ΑΠΟ

ΠΡΟΣ

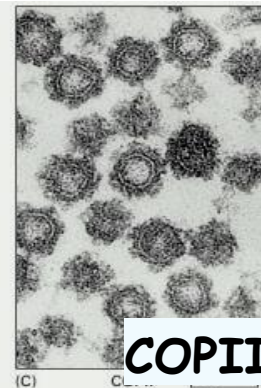
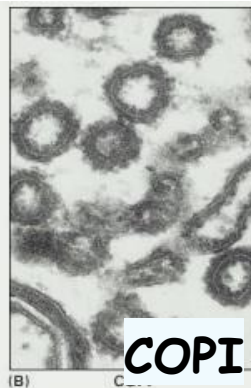
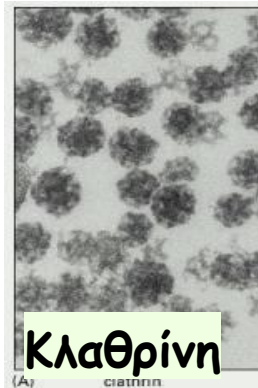
1. Κυτ.Μεμβάνη → Ενδοσώματα

2. Trans Golgi → Κυτ.Μεμβράνη

3. Trans Golgi → Λυσοσώματα

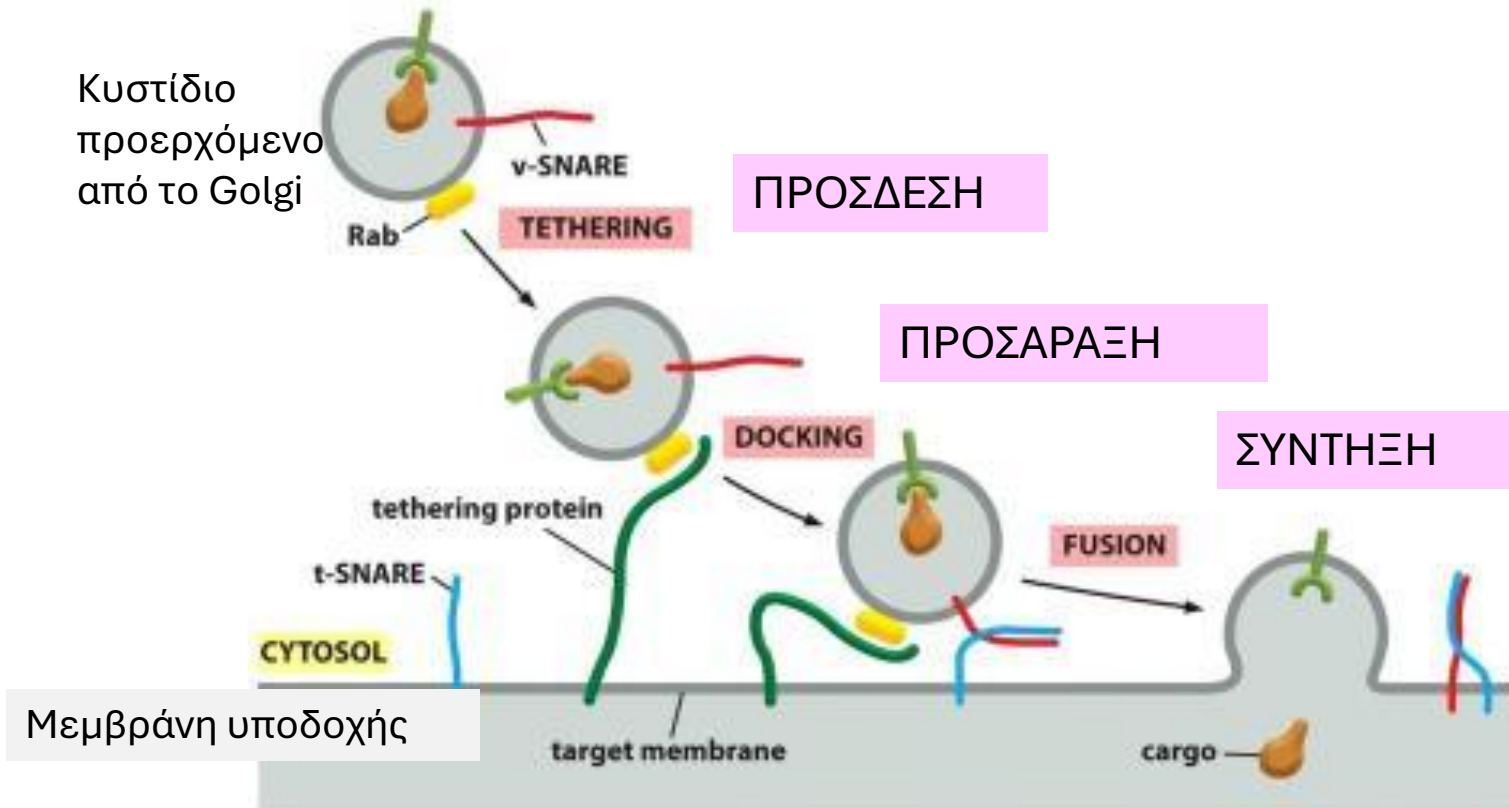
Μερικά είδη καλυμμένων κυστιδίων

ΕΙΔΟΣ ΚΥΣΤΙΔΙΟΥ	ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΚΑΛΥΨΗΣ	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ	ΠΡΟΟΡΙΣΜΟΣ
ΚΛΑΘΡΙΝΗΣ	Κλαθρίνη & Ανταπτίνη 1	Golgi	Λυσοσώματα, μέσω ενδοσωμάτων
ΚΛΑΘΡΙΝΗΣ	Κλαθρίνη & Ανταπτίνη 2	Κυτταρική μεμβράνη	Ενδοσώματα
COP I για ανάδρομη μετακίνηση από το Golgi πίσω στο ΕΔ	Coat Protein I	Golgi	ΕΔ
COP II για μετακίνηση πρωτεϊνών από το ΕΔ στο Golgi	Coat Protein II	ΕΔ	Golgi

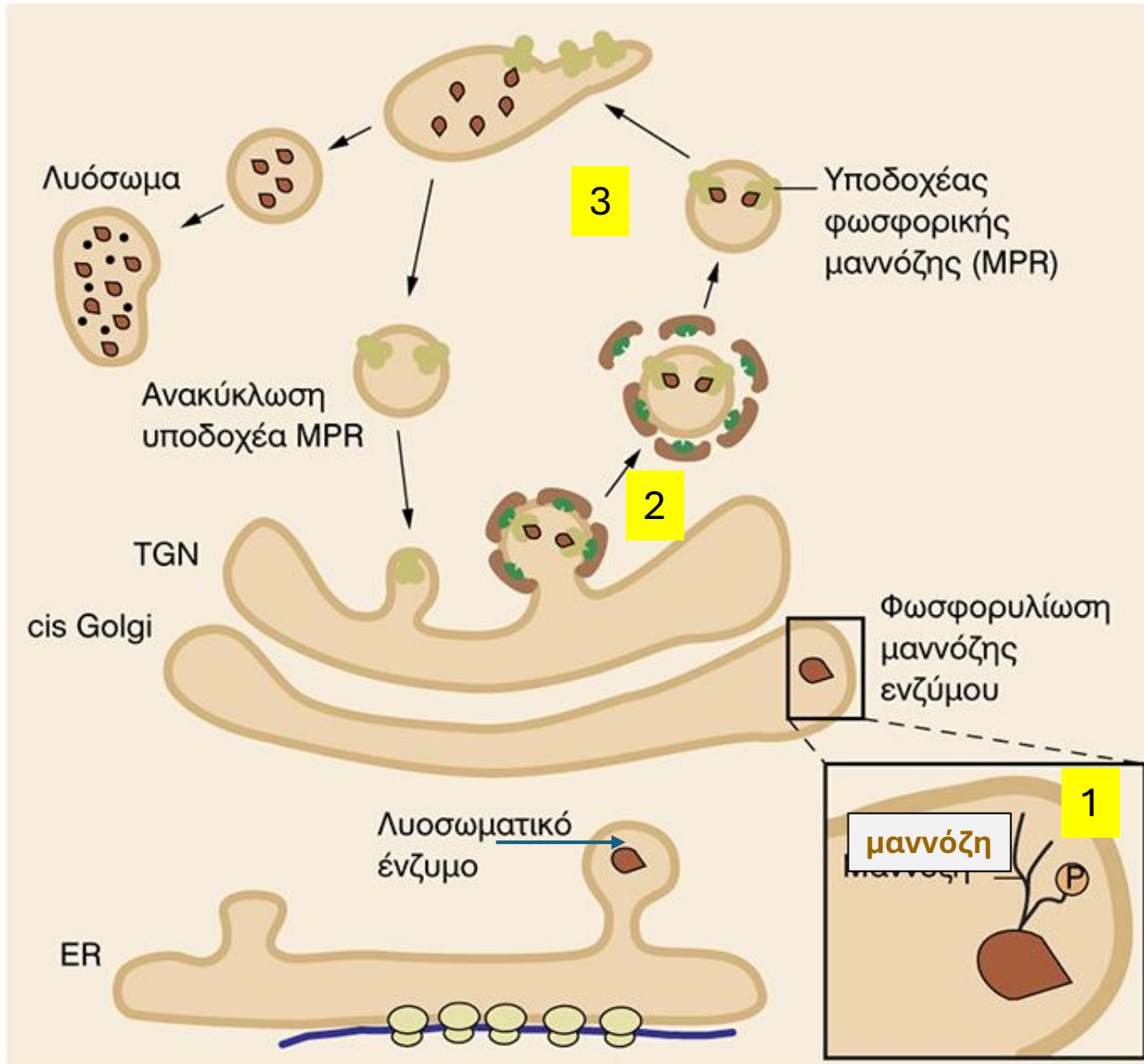


Τι καθορίζει την εξειδίκευση της μεταφοράς ?

- 1) Βοηθητικές πρωτεΐνες κυστιδίου (Rab) και στόχου (Tethering protein)
- 2) Διαφορετικά μόρια αναγνώρισης SNAREs (Soluble NSF Attachment Protein Receptor) ΣΤΙΣ επιφάνειες του κυστιδίου (v-SNARE) και της μεμβράνης-στόχου (t-SNARE).



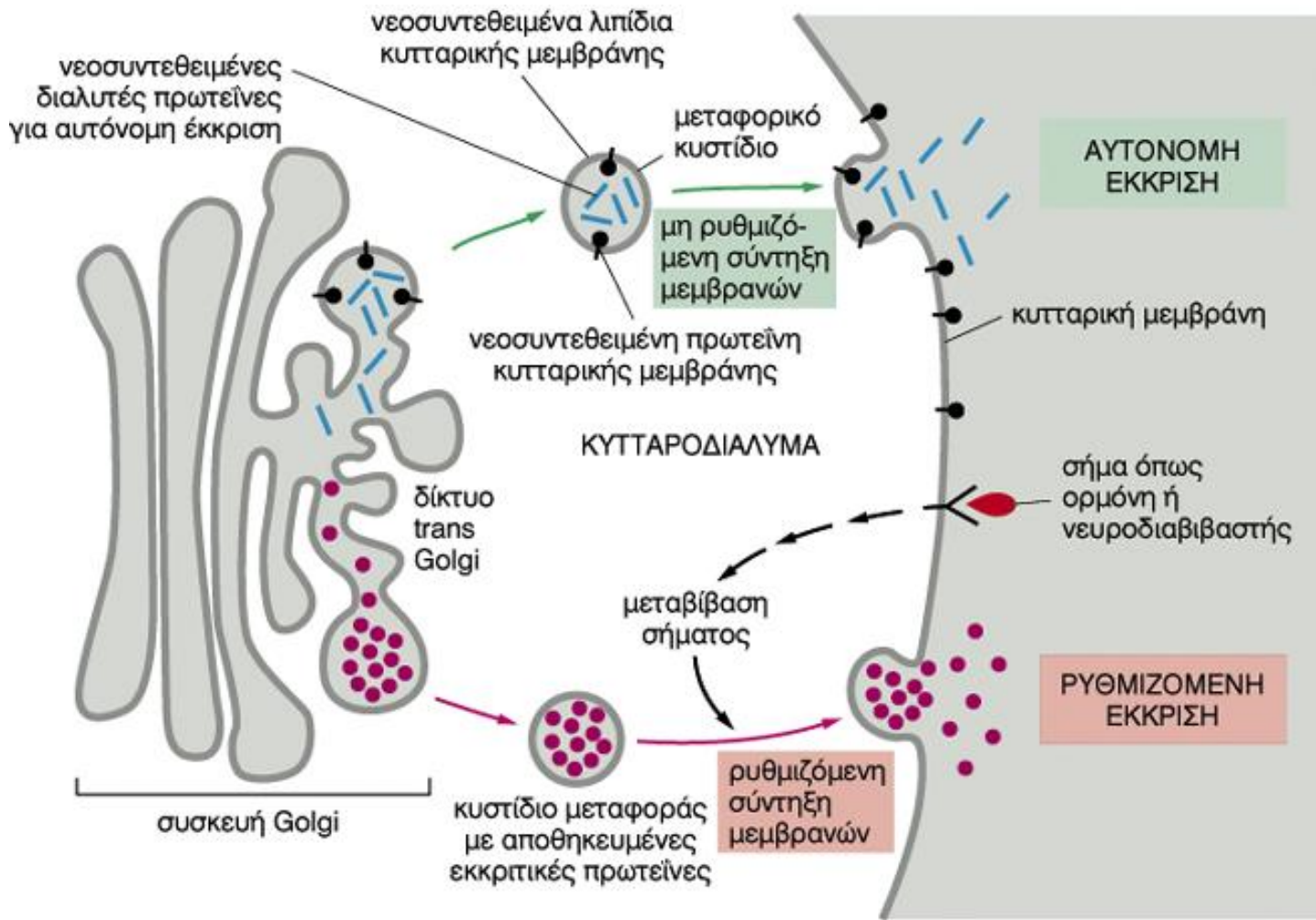
• Διαδρομή μιας πρωτεΐνης από το Golgi προς τα λυσοσώματα



Τα βήματα

1. Προσθήκη στην πρωτεΐνη /λυσοσωμικό ένζυμο, του σακχάρου **μαννόζη** και φωσφορυλίωσή της σε **6-φωσφορική μαννόζη**
2. Οι υποδοχείς MPR διαπερνούν τη μεμβράνη της συσκευής Golgi και χρησιμεύουν ως θέσεις πρόσδεσης για πρωτεΐνες-προσαρμοστές (**ανταπτίνες**) στο κυτταροδιάλυμα, οι οποίες με τη σειρά τους προσδένουν **κλαθρίνη**
3. Το κυστίδιο καλυμμένο με κλαθρίνη αποκόπτεται και συντήκεται με το **λυσόσωμα**

• Διαδρομή προς την κυτταρική μεμβράνη μιας εκκρινόμενης πρωτεΐνης:



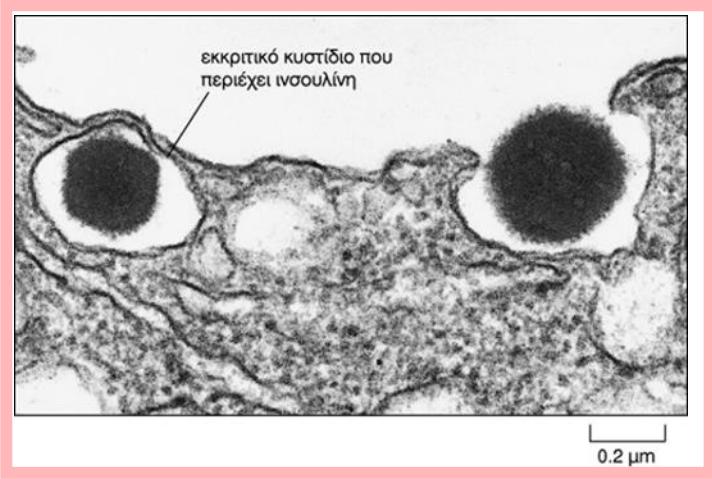
trans Golgi
κυστίδιο μεταφοράς με κλαθρίνη



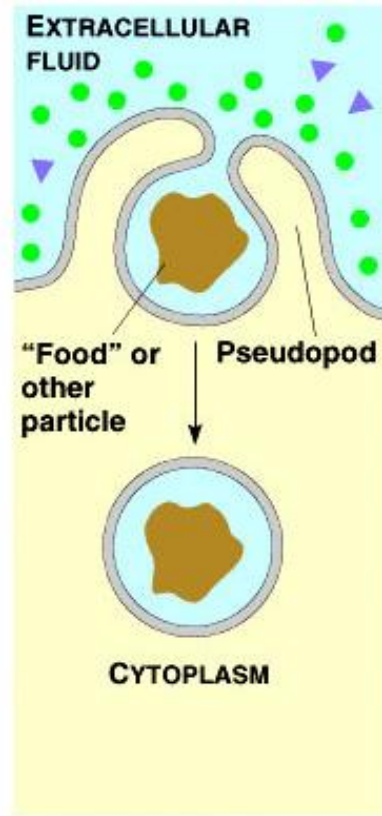
Αυτόνομη, μη-
ρυθμιζόμενη έκκριση

Ρυθμιζόμενη
έκκριση*

*Απαιτείται
σηματοδότηση!

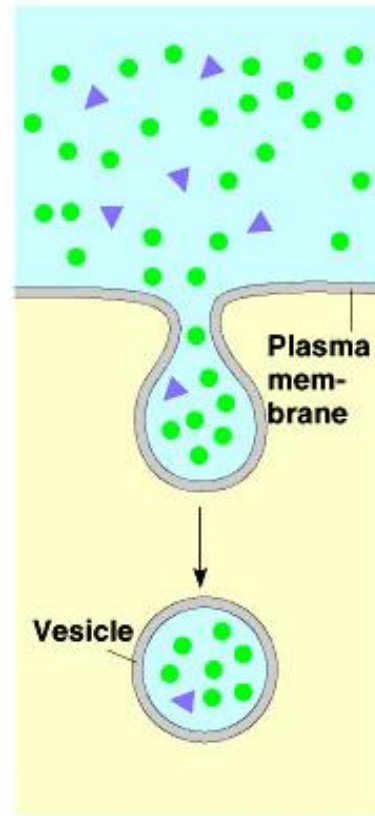


Πρόσληψη Ουσιών μέσω Κυστιδίων



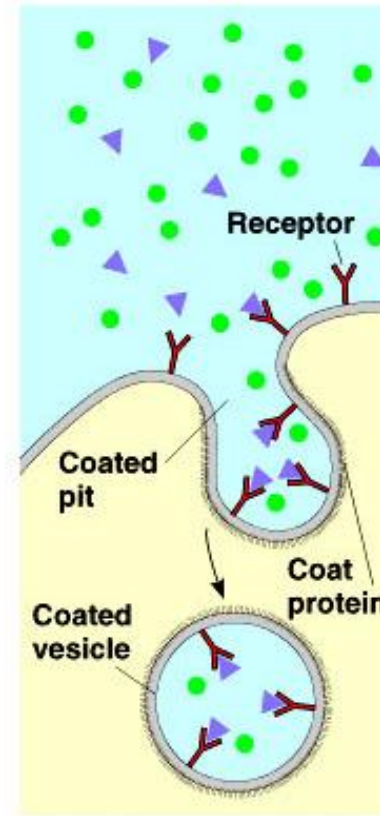
Φαγοκυττάρωση

Κυτταροφαγία



Πινοκυττάρωση

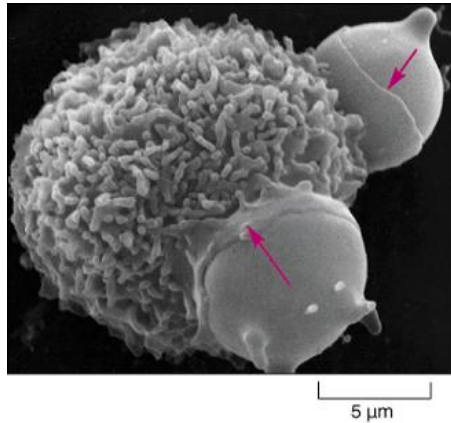
Μη ειδική
Ενδοκυττάρωση



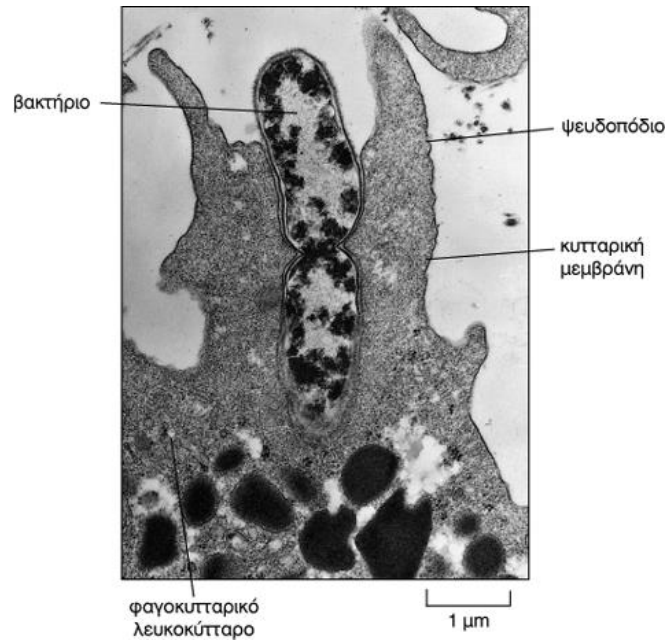
Ενδοκυττάρωση
μέσω υποδοχέων

Ειδική
Ενδοκυττάρωση

- **Φαγοκυττάρωση:** Κυτταροφαγία που διενεργείται από ουδετερόφιλα & μακροφάγα μέσω μεμβρανικών ψευδοπόδιων.
- Αφορά βακτήρια ή δυσλειτουργικά κύτταρα/οργανίδια.
- Το φαγοσωμάτιο συντήκεται κατόπιν με λυσόσωμα.

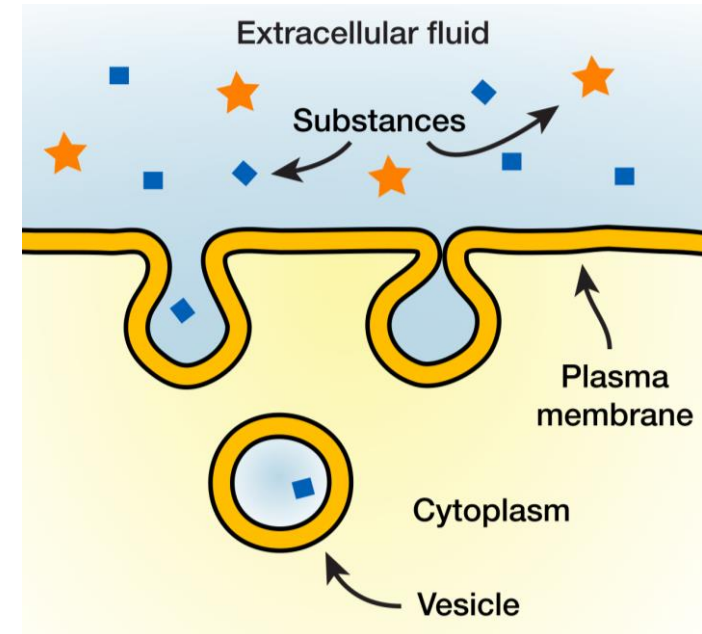


Μακροφάγο φαγοκυτταρώνει δύο ερυθρά αιμοσφαίρια



Ουδετερόφιλο φαγοκυτταρώνει βακτήριο σε διαίρεση

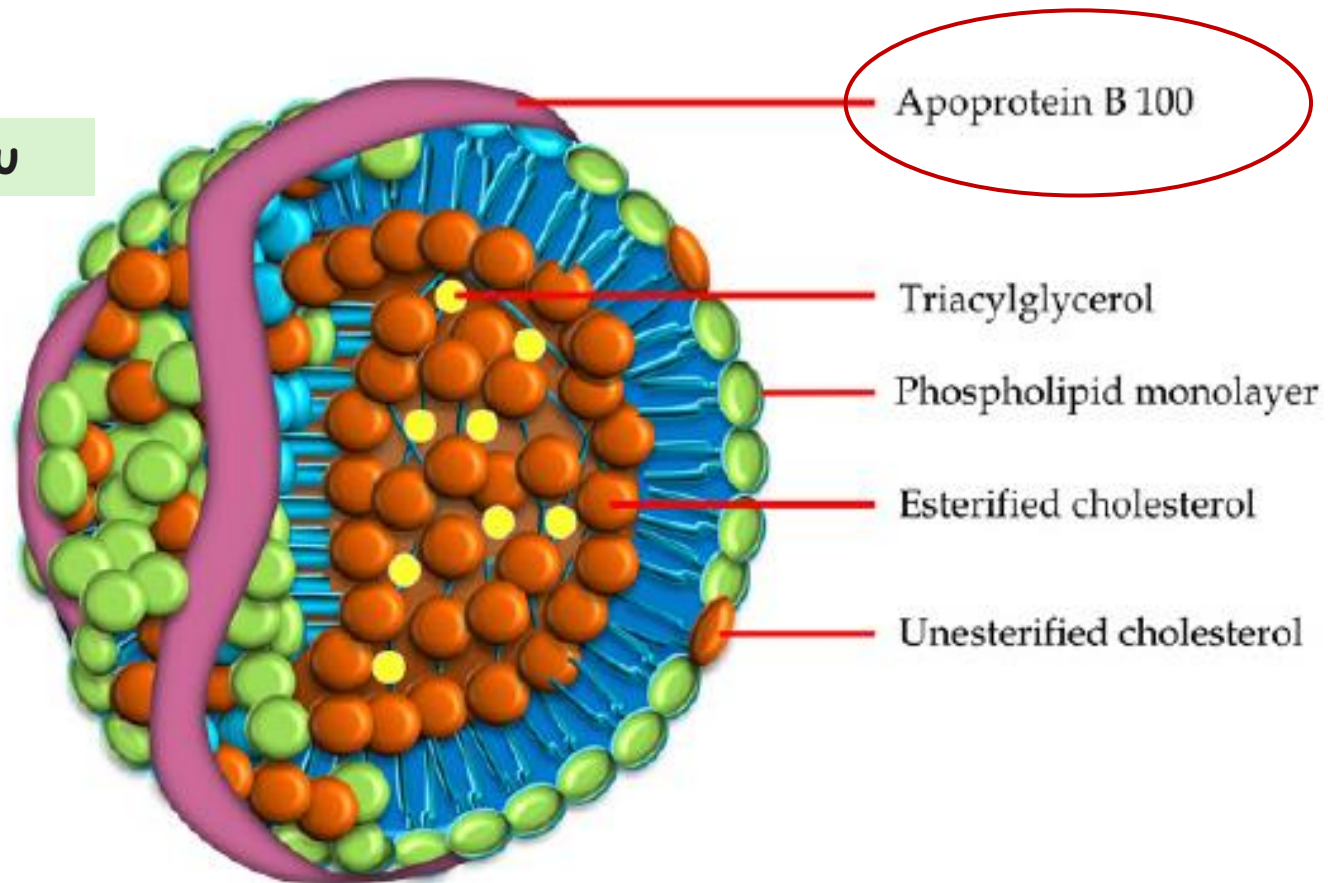
Πινοκυττάρωση: πρόσληψη μικρομορίων διαλελυμένων σε εξωκυττάριο υγρό, με εγκόλπωση της κυτταρικής μεμβράνης



- **Ειδική Ενδοκυττάρωση:** διαμεσολαβείται από Υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης (πχ με τον τρόπο αυτό μεταφέρεται μέσω της κυκλοφορίας η χοληστερόλη στα κύτταρα)

- Η χοληστερόλη μεταφέρεται από το ήπαρ μέσω της κυκλοφορίας στους ιστούς
- Μεταφέρεται εστεροποιημένη σε λιποπρωτεϊνικά κυστίδια χαμηλής πυκνότητας (LDL) .

ΔΟΜΗ LDL κυστιδίου



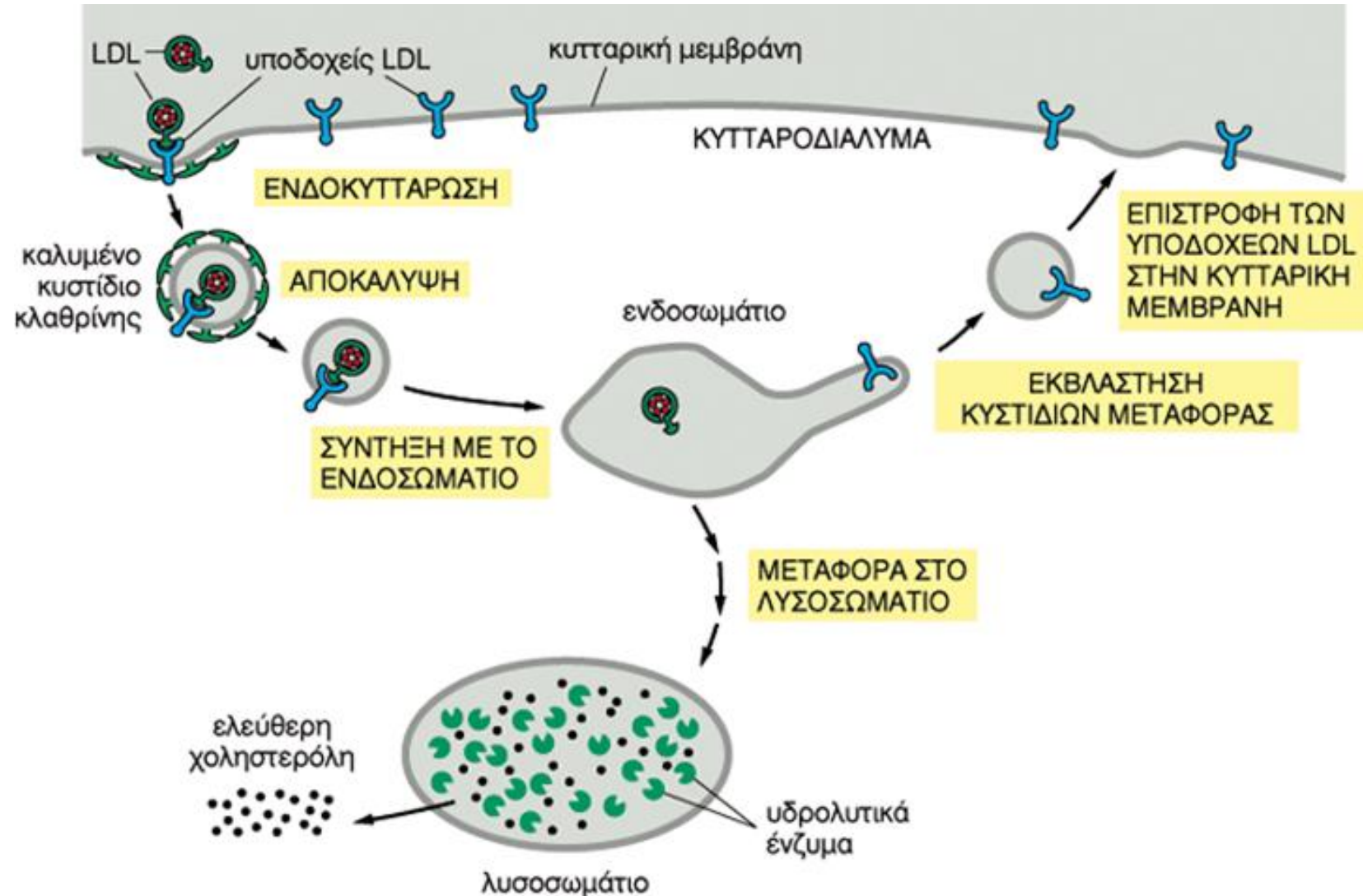
- Ειδική Ενδοκυττάρωση: διαμεσολαβείται από Υποδοχείς της κυτταρικής μεμβράνης

Ενδοκυττάρωση κυστιδίων LDL μέσω ειδικών Υποδοχέων

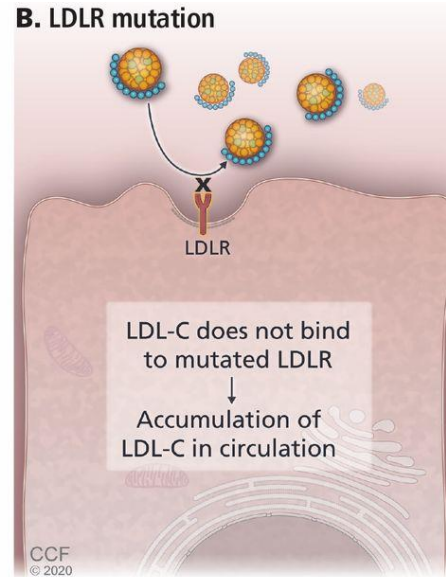
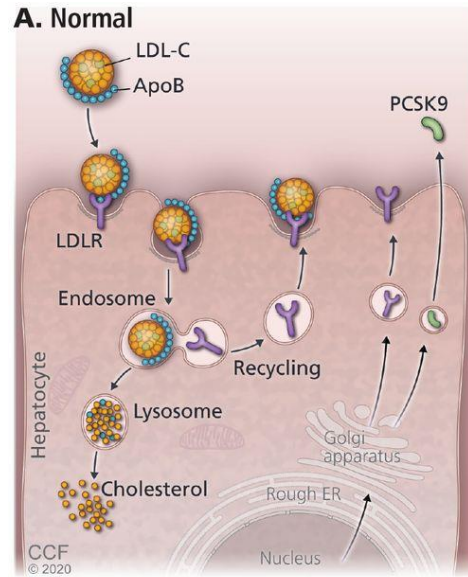
Τι αναγνωρίζει ο LDL-υποδοχέας?

?

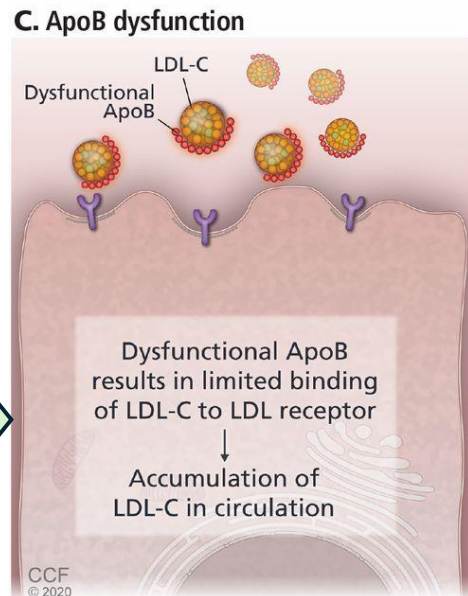
αναγνωρίζει και συνδέει την πρωτεΐνη **apo B-100**, που βρίσκεται στη μεμβράνη του LDL κυστιδίου



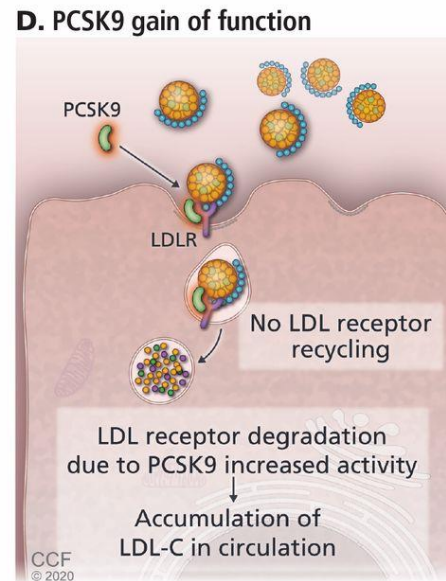
Αναποτελεσματική μεταφορά των LDL σωματιδίων εντός του κυττάρου οδηγεί σε συσσώρευση χοληστερόλης στο αίμα (υπερχοληστερολαιμία)--- (3 σενάρια)



Μεταλλαγμένος Υποδοχέας LDLR

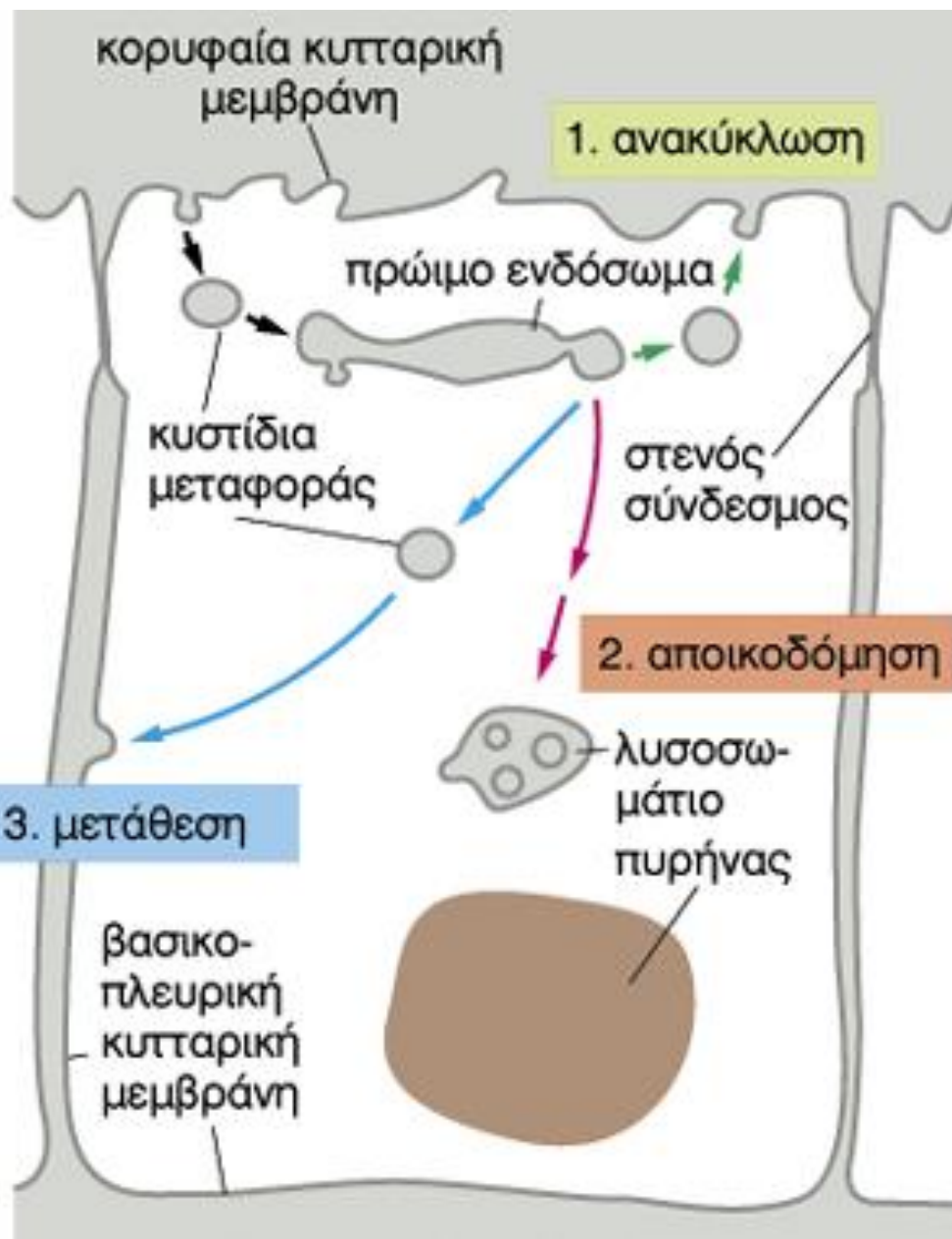


Μεταλλαγμένη ΑΡΟΒ



Φυσιολογικός Υποδοχέας LDLR, που δεν ανακυκλώνεται

Σενάρια για την Τύχη των υποδοχέων που συμμετέχουν στην ενδοκυττάρωση (μέσω υποδοχέων)

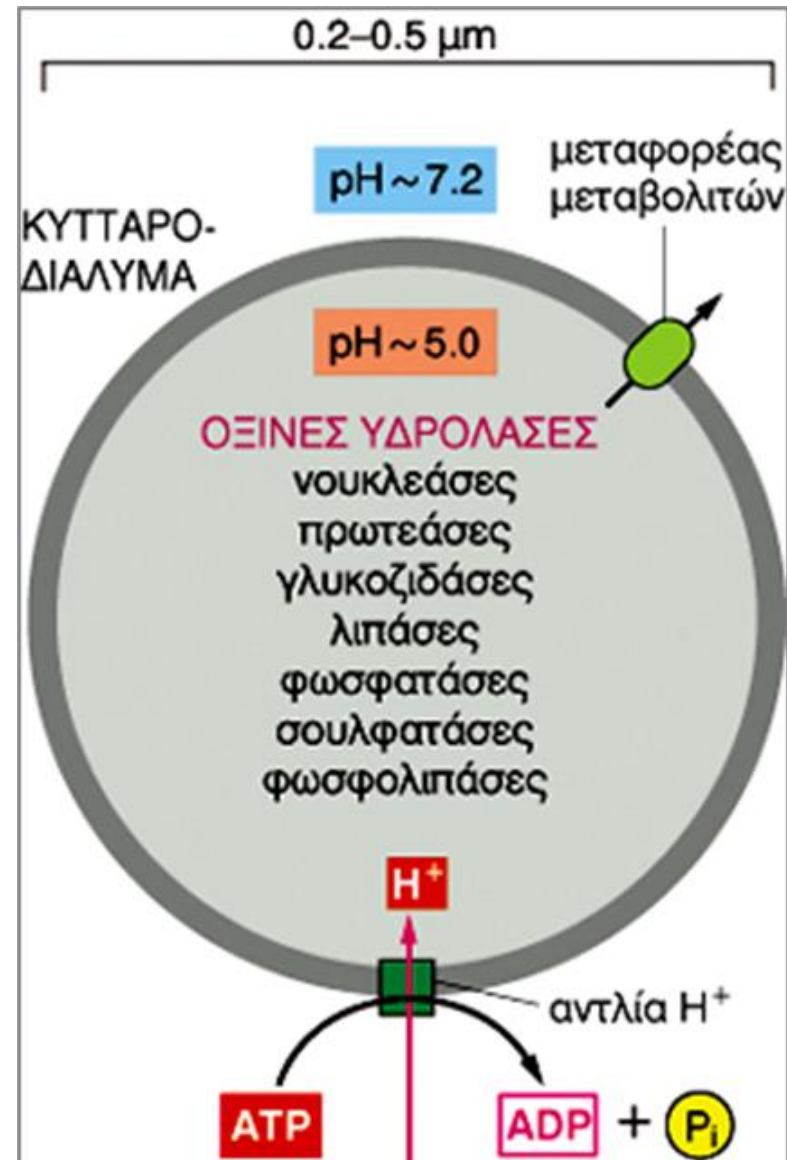
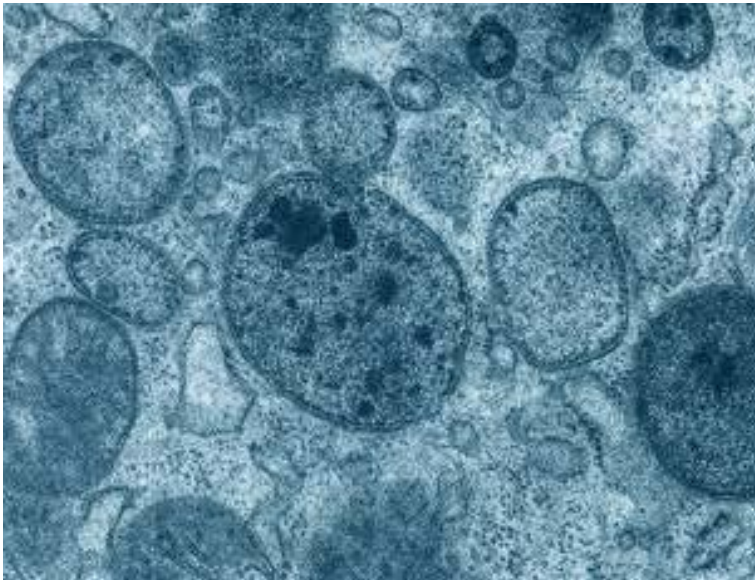


Ανακυκλώνονται προς την κορυφαία πλευρά της μεμβράνης

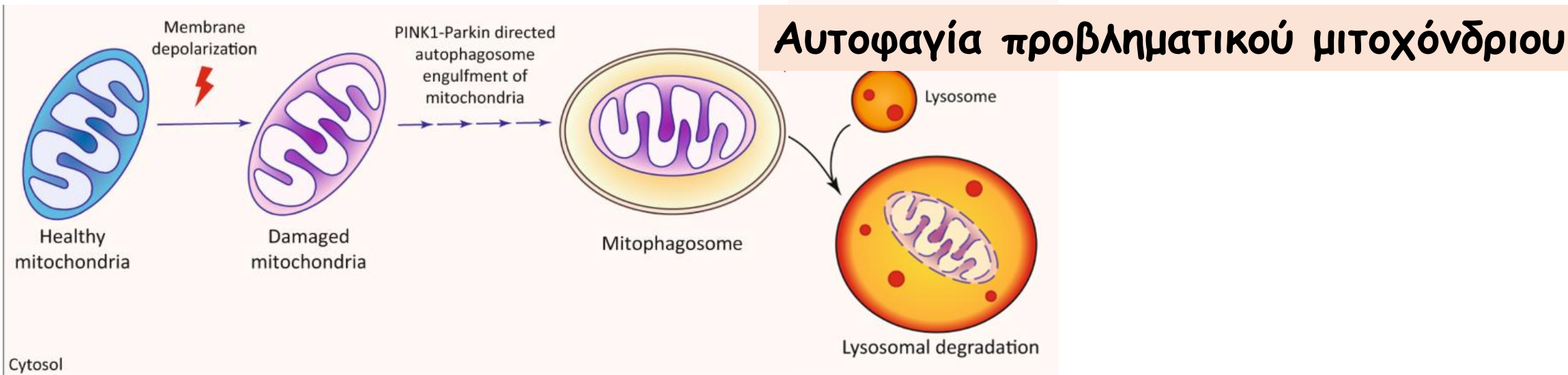
Ανακυκλώνονται και μετατίθενται σε άλλη πλευρά της μεμβράνης

Δεν ανακυκλώνονται. Αποστέλλονται στα λυσοσώματα για αποικοδόμηση

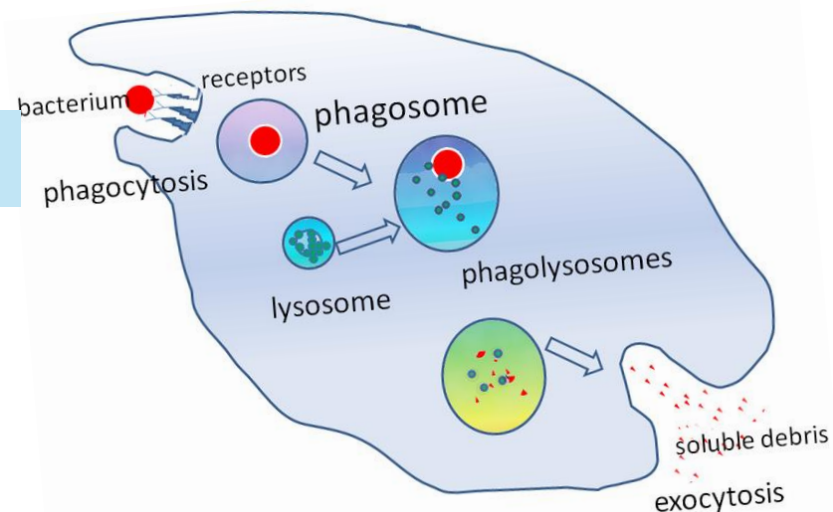
Λυσοσώματα: τόπος αποικοδόμησης για βιομόρια, οργανίδια, βακτήρια



Λυσοσώματα



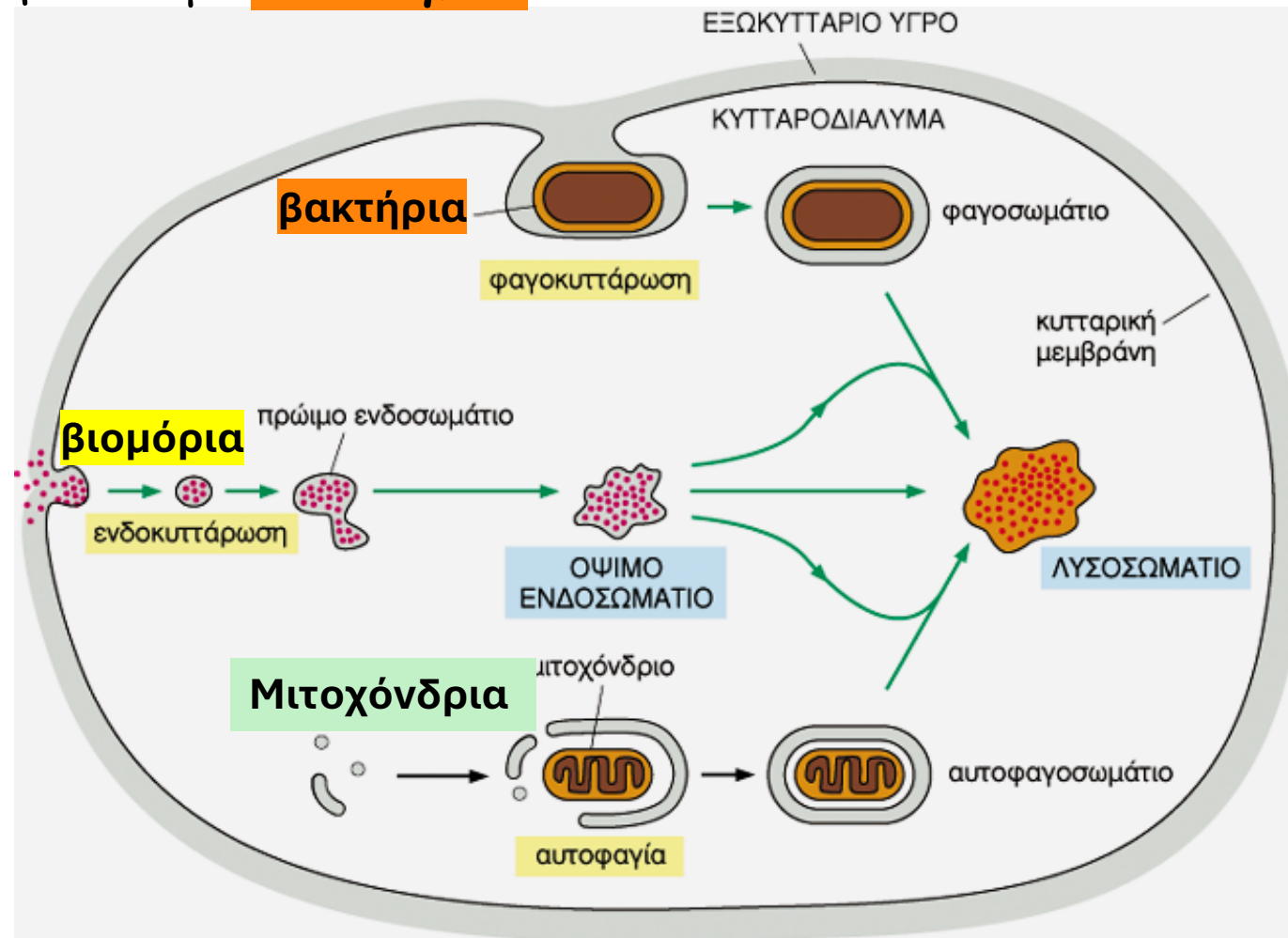
Αυτοφαγία βακτηρίου



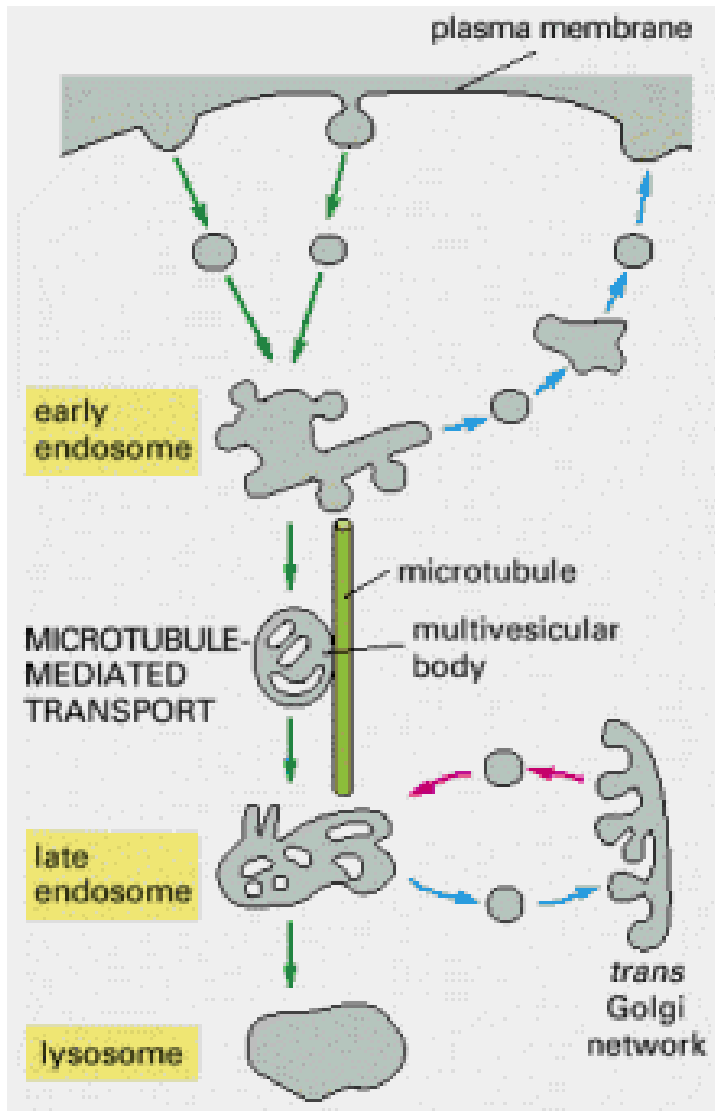
Λυσοσώματα: τόπος αποικοδόμησης για βιομόρια, οργανίδια, βακτήρια

Τα **εξωκυττάρια σωματίδια** (βακτήρια) παραλαμβάνονται από **φαγοσώματα** που συντήκονται με **λυσοσώματα**

Μικρά **βιομόρια** από ενδοκυττάρωση συντήκονται με **πρώιμα ενδοσώματα**, που συντήκονται **όψιμα ενδοσώματα**, και μετά με **λυσοσώματα**

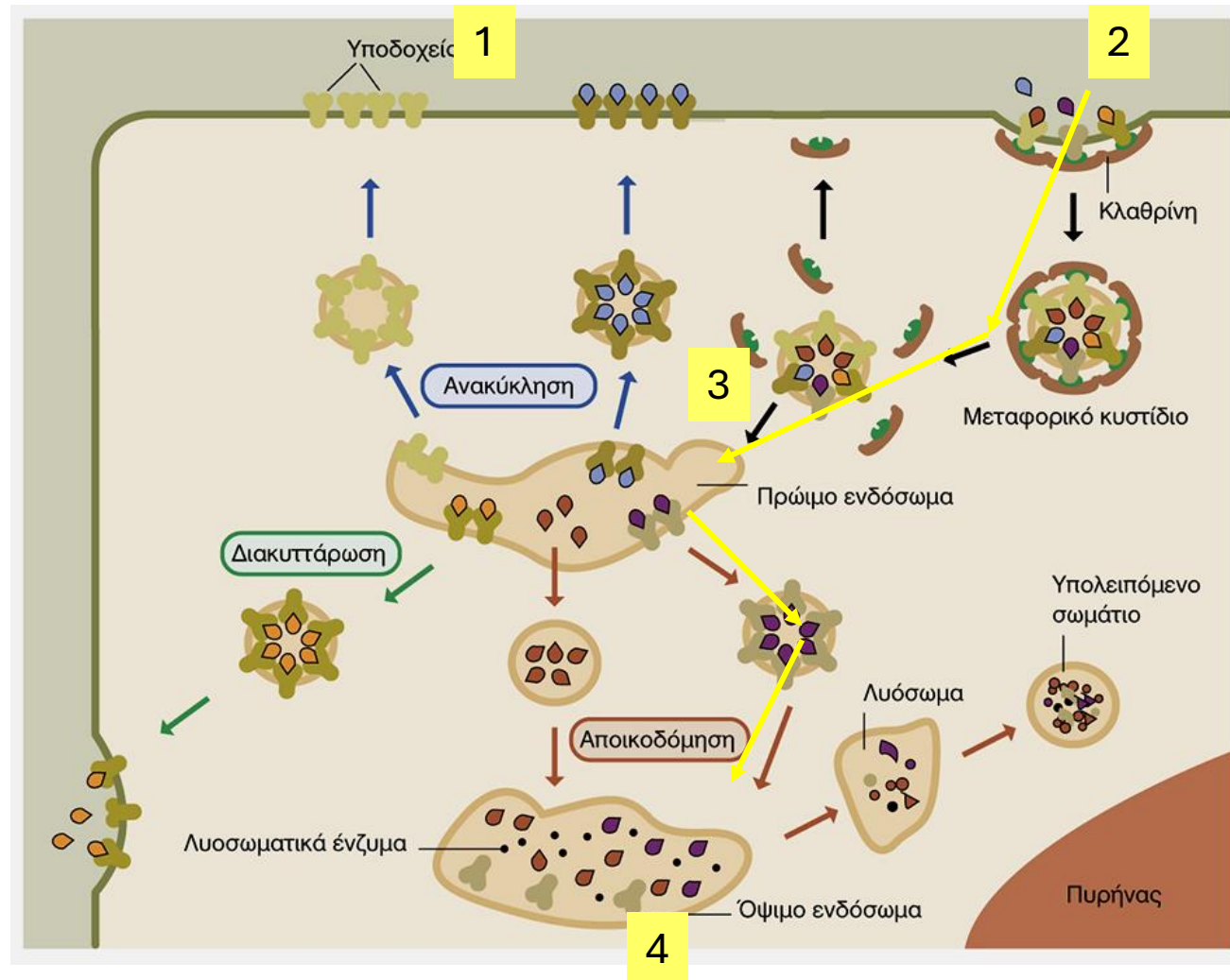


Ενδοσώματα- Πρώιμα vs. Όψιμα



- Τα πρώιμα ενδοσώματα δεν περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα, αλλά το όξινο pH τους επιτρέπει αποσυναρμολόγηση επίμερους μορίων (πχ υποδοχέων).
- Τα όψιμα ενδοσώματα περιέχουν υδρολυτικά ένζυμα
- Το όψιμο ενδοσώμα συντήκεται με λυσόσωμα

Λυσοσώματα: Αποικοδόμηση για τα εισαγόμενα βιομόρια



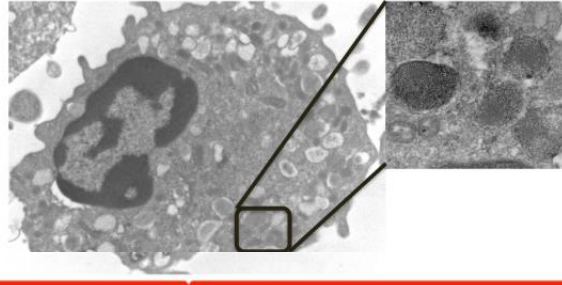
Λυσοσωμικές ασθένειες (~60 διαφορετικές)

Lysosomal Storage Diseases

Normal Cell



Lysosomal Storage Disease Cell

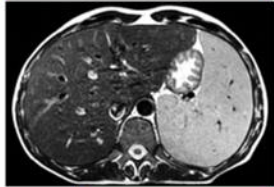


Enzyme Deficiency



Συσσώρευση μορίων
προς αποικοδόμηση
λόγω έλλειψης
λυσοσωμικών ενζύμων

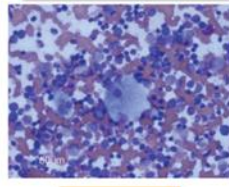
Liver and spleen



Bone



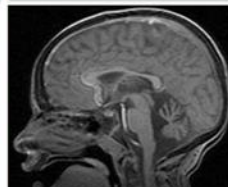
Bone marrow



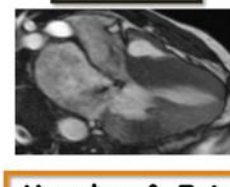
Kidneys



Brain and nerves



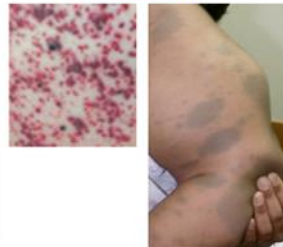
Heart



Facies/eyes



Skin



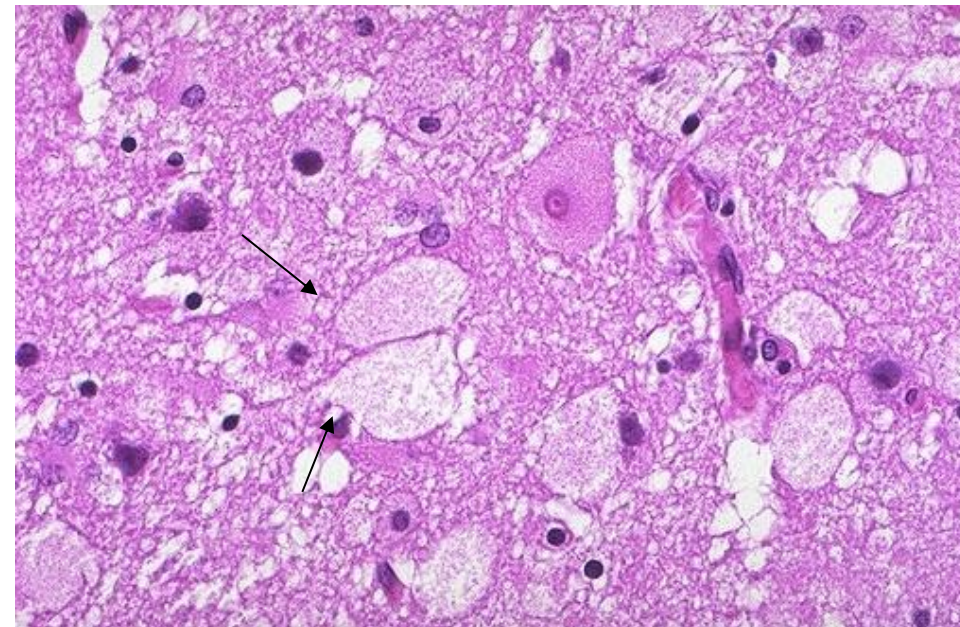
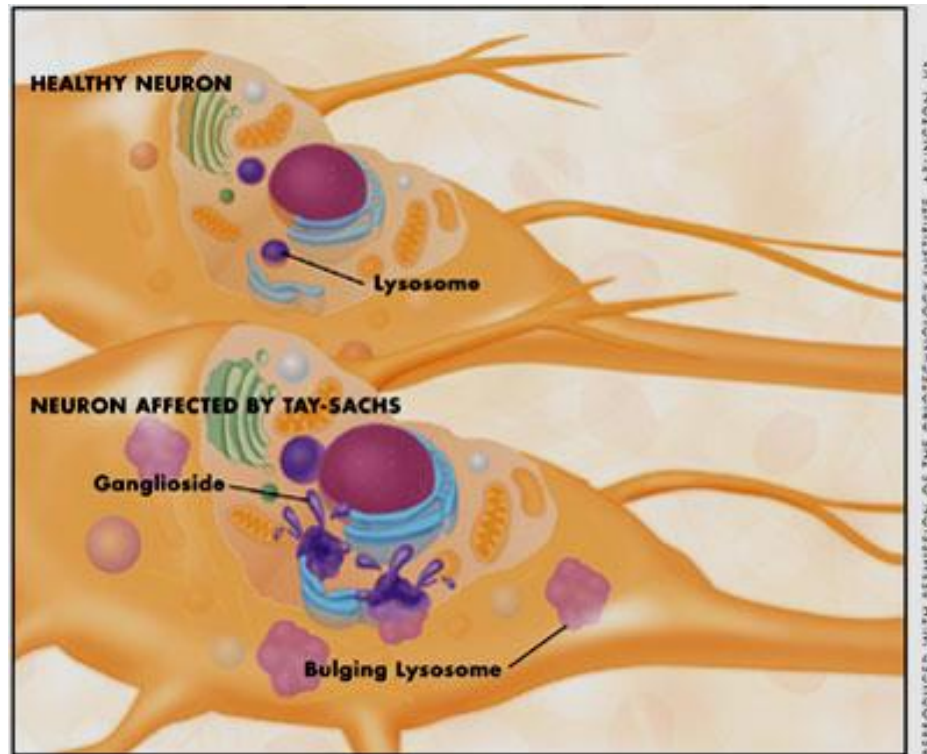
Muscles & Joints



Λυσοσωμικές ασθένειες - Νόσος Tay - Sachs

Αυτοσωμική υπολειπόμενη νόσος. Οφείλεται σε ανεπάρκεια της α -υπομονάδας του ενζύμου εξοζαμινιδάση Α, που διασπά τα GM2-γαγγλιοσίδια, με αποτέλεσμα συσσώρευση γαγγλιοσιδίων (ιδιαίτερα στα λυσοσώματα των νευρικών κυττάρων).

Αυτό οδηγεί σε έκπτωση νοητικών και κινητικών ικανοτήτων

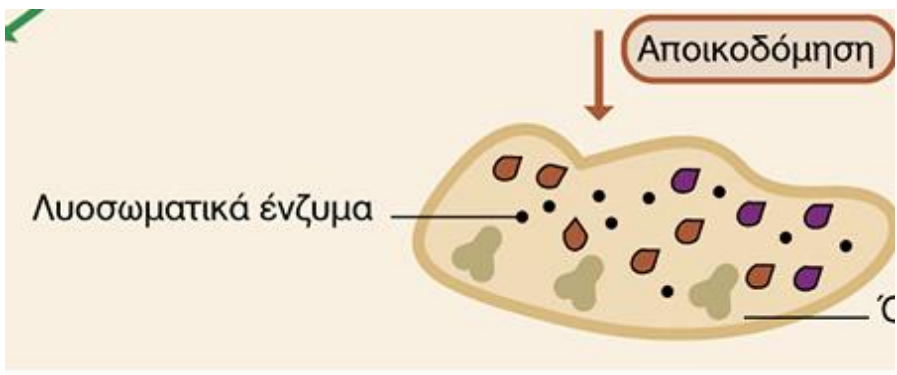


Διογκωμένα νευρικά κύτταρα νεογνού με Tay-Sachs

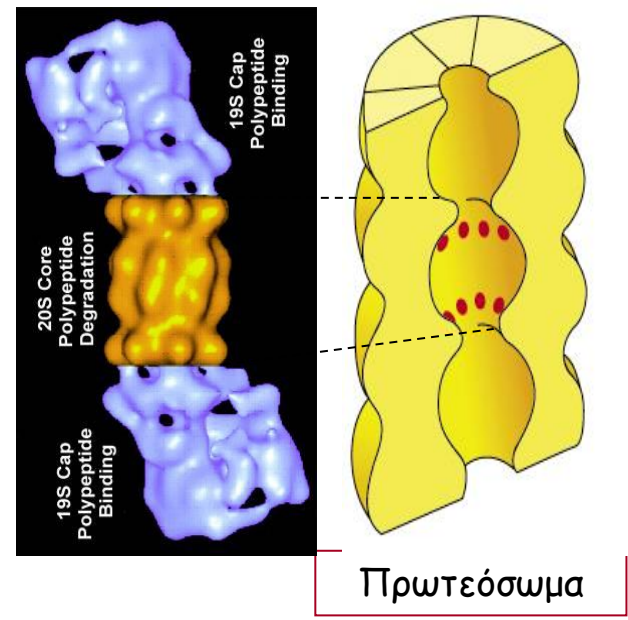
Αποικοδόμηση των πρωτεϊνών

Η Αποικοδόμηση (πρωτεόλυση) γίνεται από πρωτεολυτικά ένζυμα: τις πρωτεάσες

I) στα Λυσοσώματα:
Χώροι αποικοδόμησης κυρίως
εισαγόμενων πρωτεϊνών



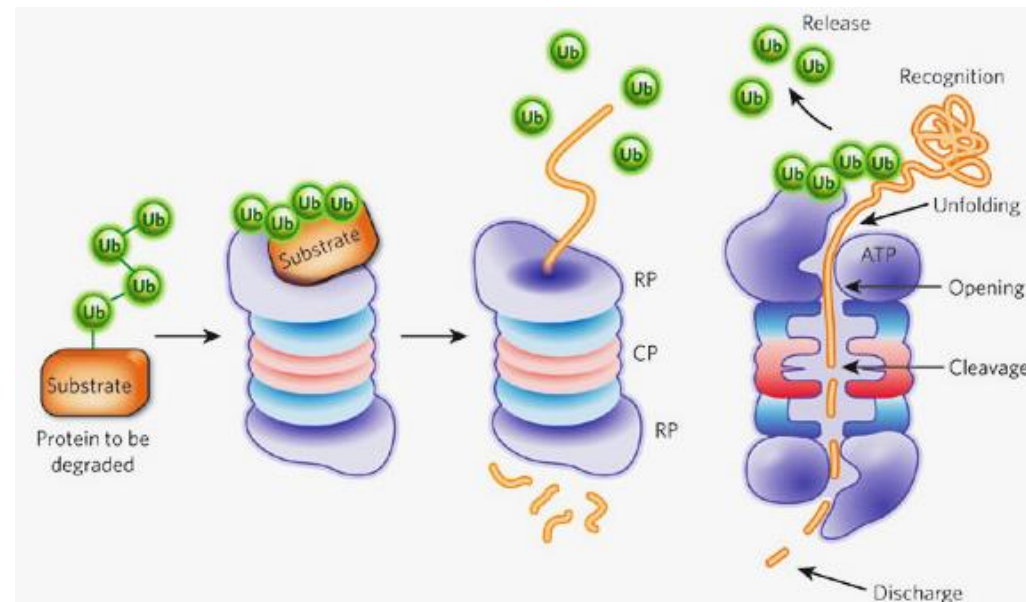
II) στα Πρωτεοσώματα:
Χώροι αποικοδόμησης
πρωτεϊνών του **ΚΥΤΤΑΡΟΠΛΑΣΜΑΤΟΣ**



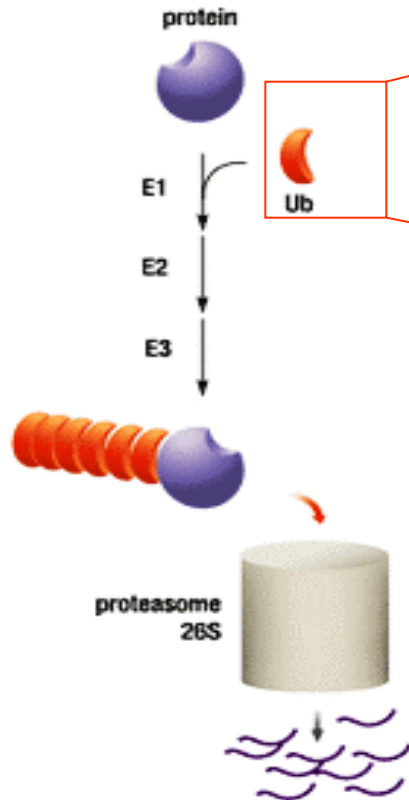
Ποιες πρωτεΐνες αποικοδομούνται στα Πρωτεοσώματα?

Πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος που:

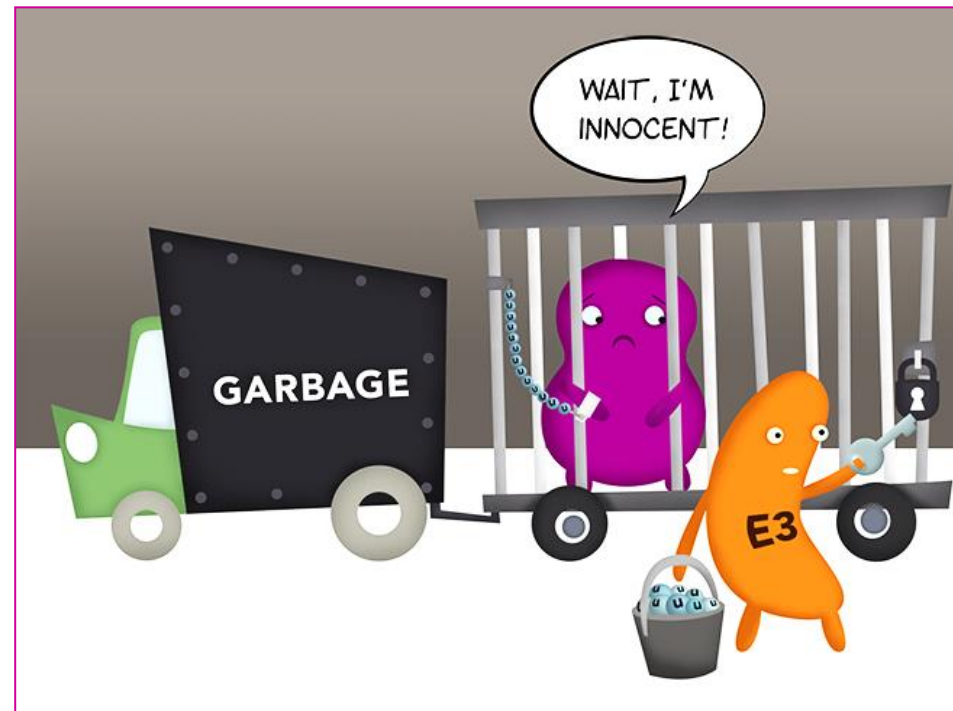
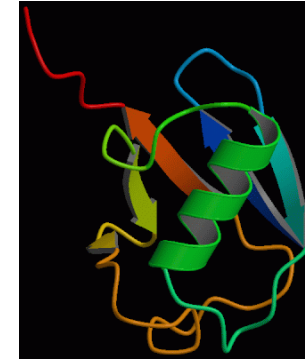
1. Είναι κακοδιπλωμένες (λανθασμένη πτύχωση στο ΕΔ)
2. Έχουν αμινοξέα με βλάβη (π.χ οξειδωση)
3. Είναι εκ φύσεως βραχύβιες



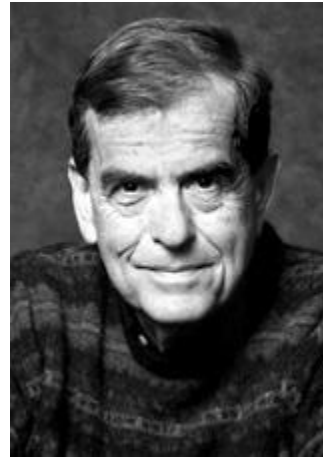
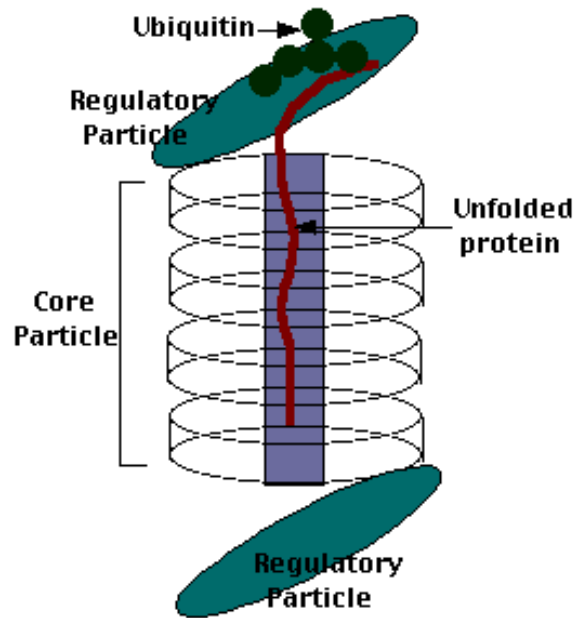
Για την αποικοδόμηση στα πρωτεοσώματα, οι πρωτεΐνες πρέπει να συνδεθούν- επισημανθούν με την πρωτεΐνη ουμπικιτίνη



Ουμπικιτίνη:
ένα σήμα 'θανάτου'
για ελεγχόμενη
πρωτεόλυση



E3 λιγκάση:
συνδέει τα μόρια
ουμπικιτίνης
στις πρωτεΐνες που
προορίζονται για
αποικοδόμηση στα
πρωτεοσώματα



Aaron Ciechanover



Avram Hershko

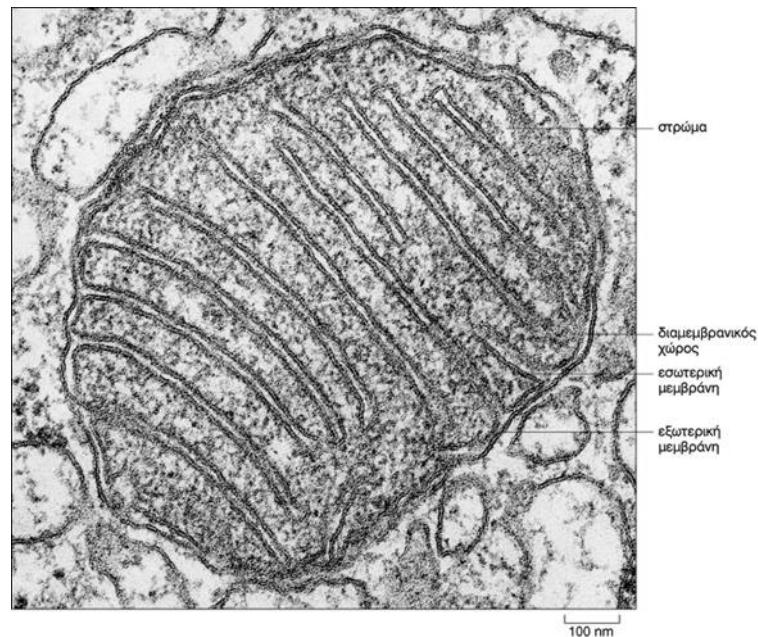
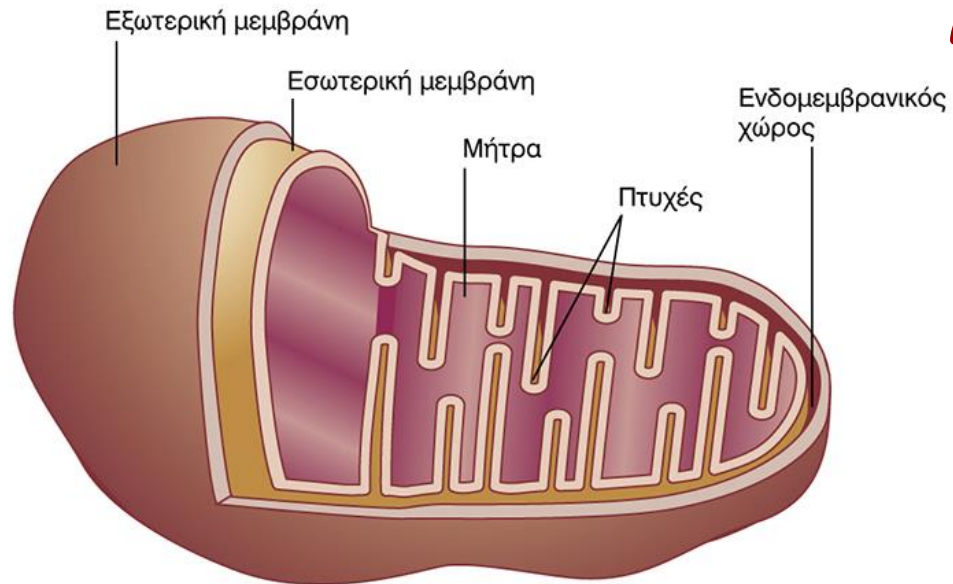


Irwin Rose

Nobel prize in Chemistry, 2004

Για την ανακάλυψη του μηχανισμού πρωτεϊνικής αποικοδόμησης μέσω του συστήματος της ουμπικιτίνης (διευκρινίσθηκε το 1980)

Μιτοχόνδρια



Εξωτερική μεμβράνη: Διαπερατή από μεγάλο μέγεθος μόρια, σχηματίζει **πόρους**, περιέχει ένζυμα βιοσύνθεσης λιπιδίων, καναλια ρύθμισης του ασβεστίου. Ενσωματώνει και πρωτεΐνες που συμμετέχουν στην απόπτωση.

Εσωτερική μεμβράνη: Με πολυάριθμες πτυχές/ακρολοφίες. Χώρος οξειδωτικών αντιδράσεων της αλυσίδας μεταφοράς ηλεκτρονίων, της ATP-συνθετάσης & χώρος πρωτεϊνών που συμμετέχουν στη μιτοχονδριακή διαίρεση και σύντηξη.

Στρώμα (μήτρα): Ο εσωτερικός χώρος. Περιέχει τα ένζυμα του κύκλου του Krebs, της οξειδωτικής φωσφορυλίωσης, το παραγόμενο ATP, tRNAs, mitDNA, τα ριβοσωμάτια, κ.ά. απαραίτητα ένζυμα/βιομόρια.

Διαμεμβρανικός χώρος: Περιέχει ένζυμα που χρησιμοποιούν το εξερχόμενο από το στρώμα ATP για να φωσφορυλιώσουν άλλα μόρια.

Το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA)

- Το ανθρώπινο mtDNA είναι κυκλικό & αποτελείται από 16.569 ζεύγη βάσεων

Εξωτερική αλυσίδα: πλούσια σε Γουανίνες ('Heavy strand', H-strand)

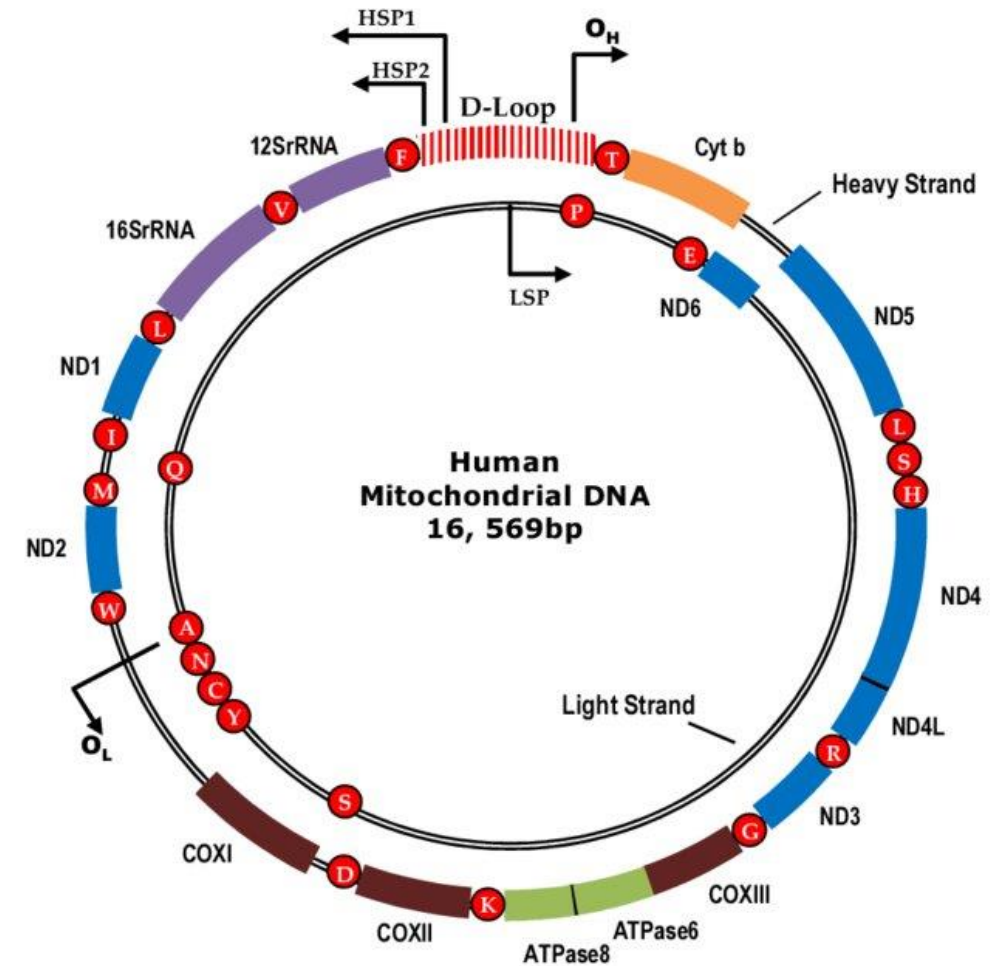
Εσωτερική αλυσίδα: πλούσια σε Κυτοσίνες ('Light strand', L-strand)

- Διαθέτει μια μη-κωδικοποιητική ρυθμιστική περιοχή **D-Loop** (~1.1 kb) που περιέχει ρυθμιστικά στοιχεία για την αντιγραφή και μεταγραφή των H και L αλυσίδων

- Περιέχει **37** γονίδια →
 - 13** για ένζυμα οξειδωτικής φωσφορυλίωσης
 - 22** για mt tRNA
 - 2** για mt rRNA

- Το mtDNA αντιγράφεται μέσα στο μιτοχόνδριο από την **DNA pol γ**

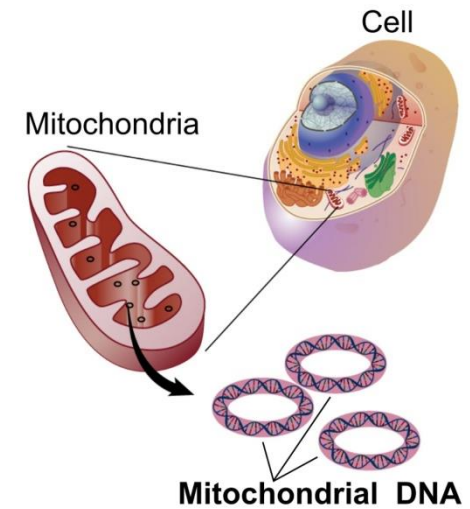
- Τα **μετάγραφα** του mtDNA είναι **πολυσιστρονικά**, όπως στα βακτήρια



Το μιτοχονδριακό DNA (mtDNA)

- Κάθε μιτοχόνδριο περιέχει 5-10 αντίγραφα κυκλικού mtDNA
- Το ανθρώπινο κύτταρο διαθέτει ~ 100 μιτοχόνδρια

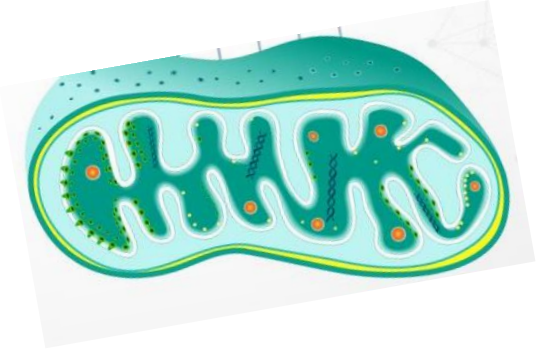
Τα περισσότερα* κύτταρα διαθέτουν ~1000 μόρια mtDNA



* κατ' εξαίρεση :

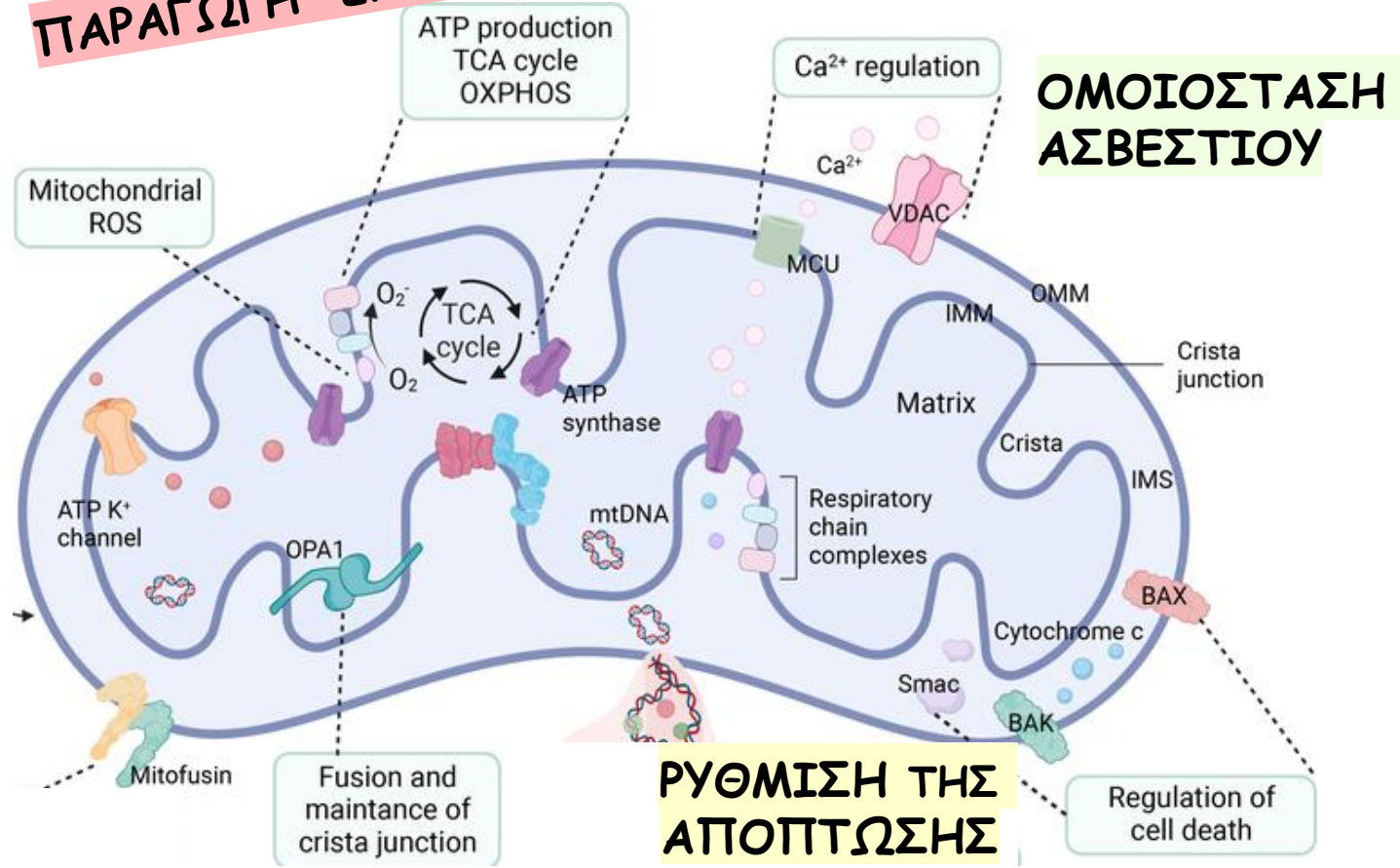
τα ώριμα ωοκύτταρα διαθέτουν 100.000 μόρια mtDNA, ενώ
τα ώριμα σπερματοζωάρια λίγα μόρια mtDNA

➤ Τα μιτοχόνδρια του νέου οργανισμού είναι μητρικής προέλευσης
(τα μιτοχονδριακά νοσήματα έχουν μητρική κληρονομηση)



Βασικές λειτουργίες των μιτοχονδρίων

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑΣ

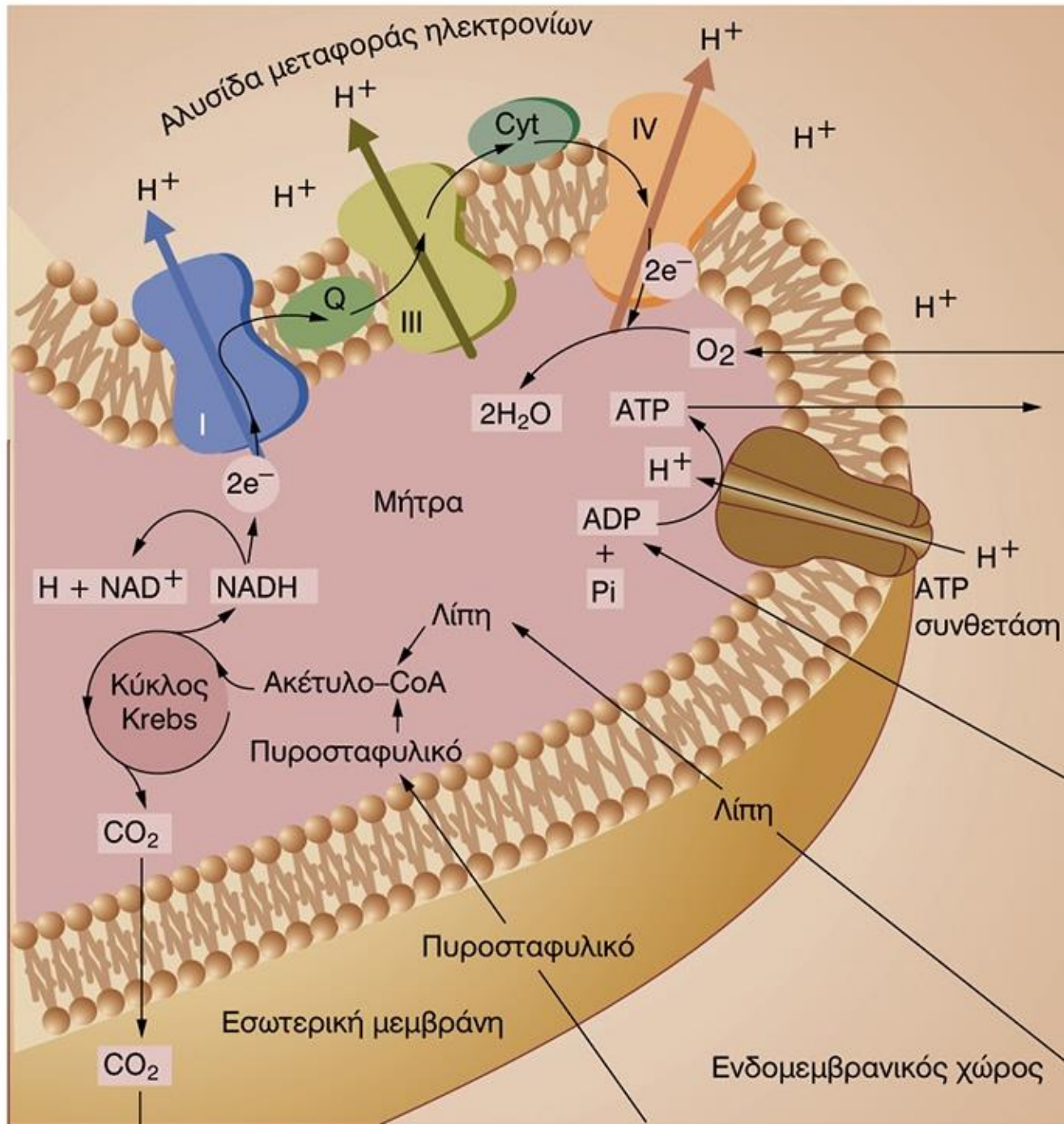


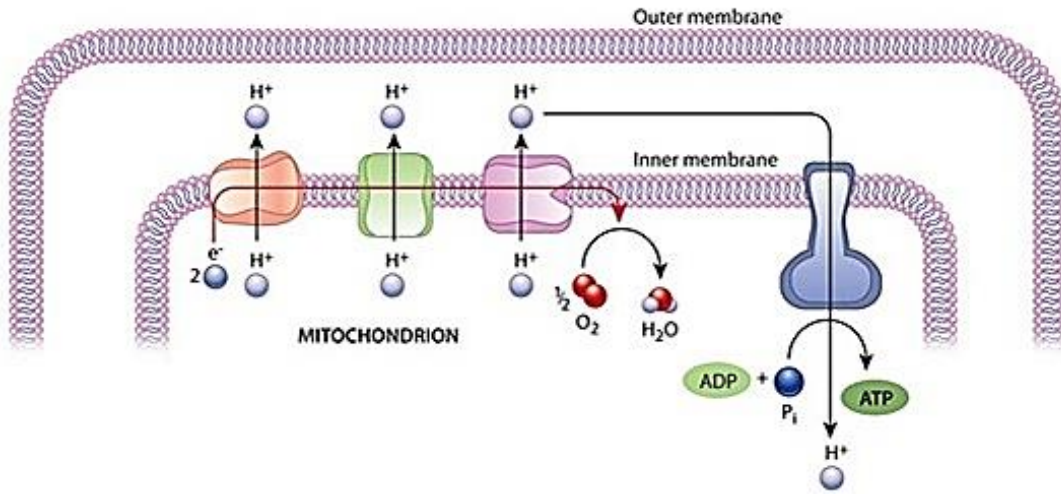
Παραγωγή ενέργειας (ATP)

Στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, τα υψηλής ενέργειας ηλεκτρόνια που προκύπτουν από τις αναγωγικές αντιδράσεις στο στρώμα (ως επακόλουθο του κύκλου του Krebs), μεταφέρονται-μέσω της αλυσίδας μεταφοράς τους.

Η ενέργεια που προκύπτει ωθεί τη μεταφορά των H^+ από το στρώμα (μήτρα) στον ενδομεμβρανικό χώρο.

Η υψηλή συγκέντρωση των H^+ στον ενδομεμβρανικό χώρο, οδηγεί την αυθόρμητη κίνηση τους προς το στρώμα μέσω της **μιτοχονδριακής ATP-Συνθετάσης**, που εκμεταλεύεται την κίνηση αυτή για να συνθέσει ATP

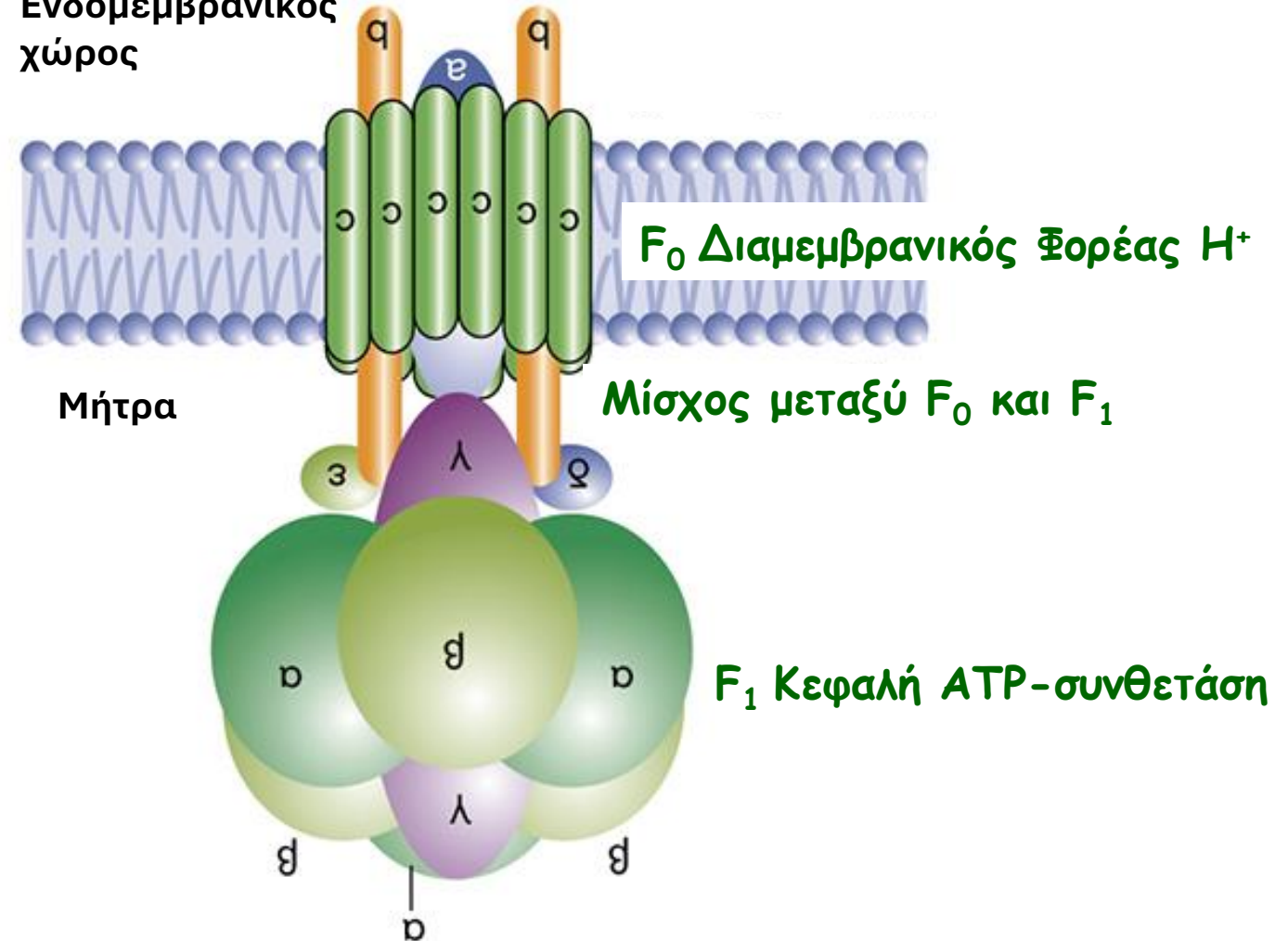




Η υψηλή συγκέντρωση των H^+ στον ενδομεμβρανικό χώρο, οδηγεί την **αυθόρμητη** κίνηση τους προς το στρώμα μέσω της **μιτοχονδριακής ATP-Συνθετάσης**, που εκμεταλεύεται την ενέργεια της κίνησης αυτής για να συνθέσει ATP

ATP - Συνθετάση

Ενδομεμβρανικός χώρος



Μιτοχόνδρια-συμμετοχή στη ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΠΤΩΣΗΣ

- Δημιουργία πόρων από τις αποπτωτικές πρωτεΐνες BAX & BAK στην εξωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, για απελευθέρωση κυτοχρώματος c.
- Το κυτόχρωμα c ενεργοποιεί τη δημιουργία του αποπτωσωματίου

