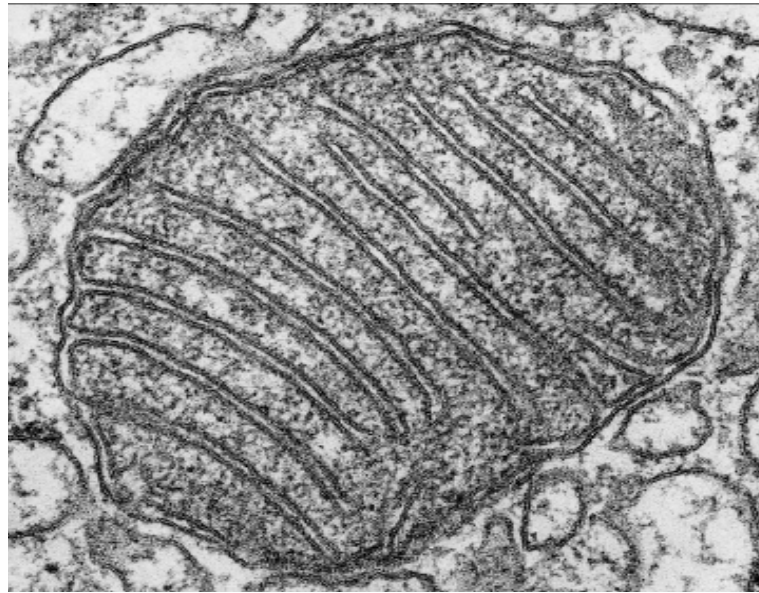
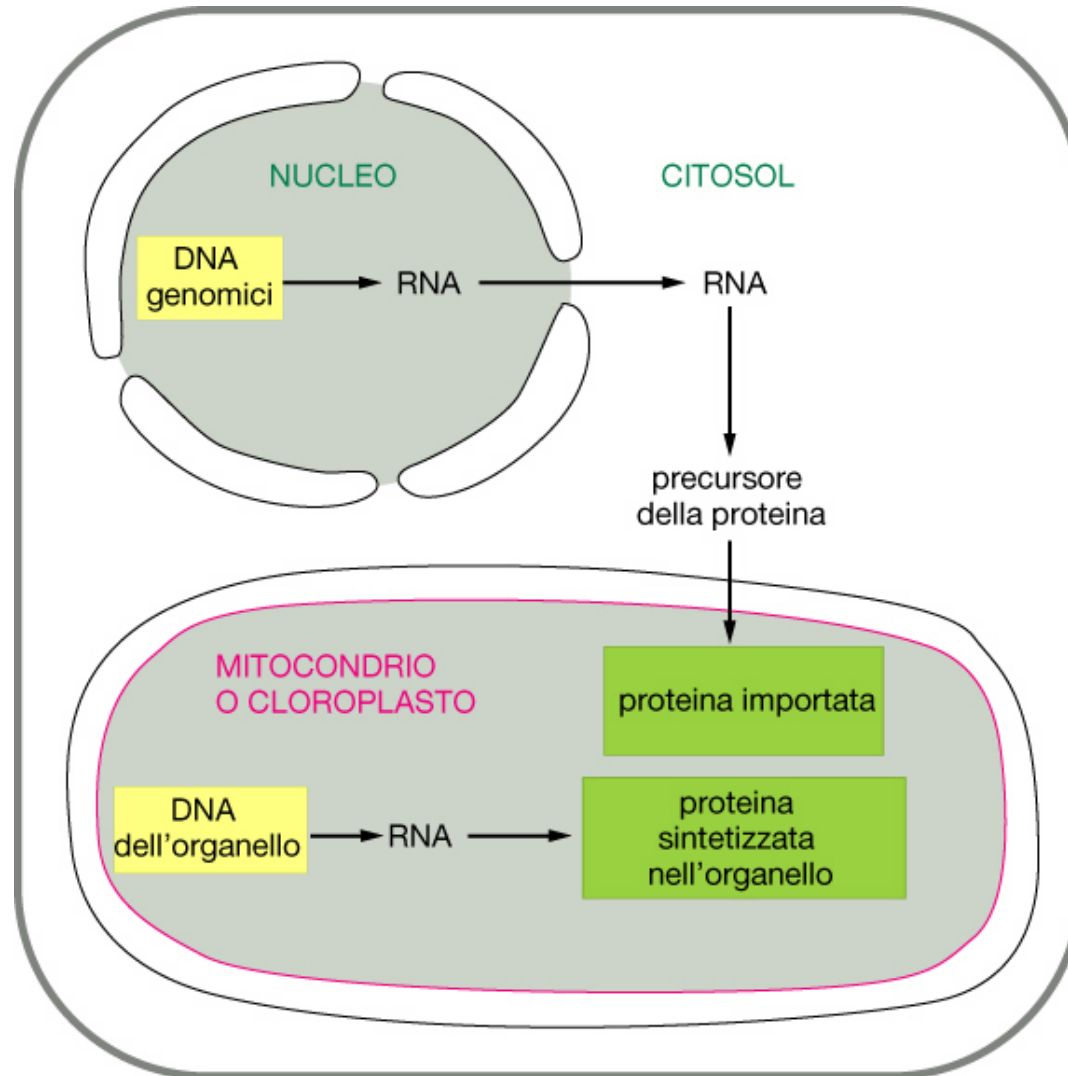


BIOGENESI DEI MITOCONDRI

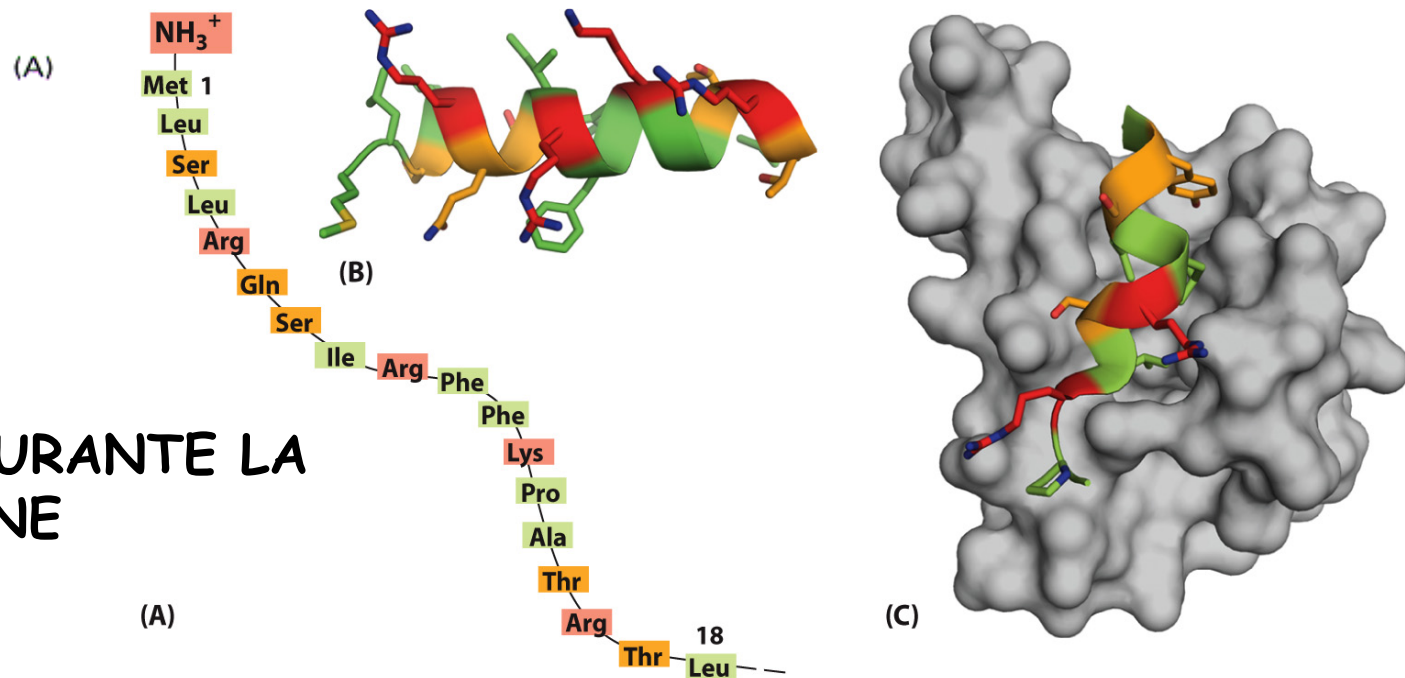


I MITOCONDRI IMPORTANO DAL CITOSOL QUASI TUTTE LE PROTEINE A TRAVERSO UN PROCESSO DI TRASLOCAZIONE POST-TRADUZIONALE



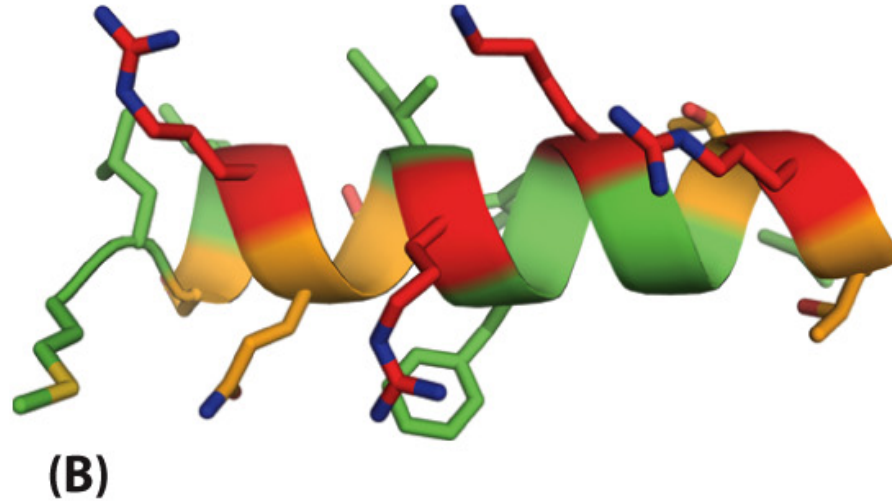
LE PROTEINE INDIRIZZATE AI MITOCONDRI HANNO UNA SEQUENZA SEGNALE

1. PRE-SEQUENZA DI 20-80 AMMINOACIDI
2. N-TERMINALE
3. ELICA ANFIPATICA CON CARICHE POSITIVE DA UN LATO



4. RIMOSSA DURANTE LA TRASLOCAZIONE

L'ALFA-ELICA ANFIPATICA È UN SEGNALE GENERALE DI IMPORTAZIONE NEL MITOCONDRIO



⌘ ULTERIORI SEGNALI: SEGNALI IDROFOBICI SECONDARI

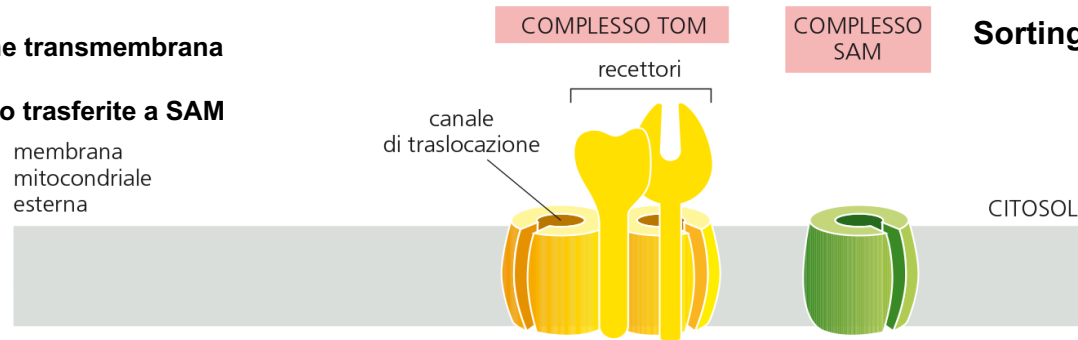
⌘ LE PROTEINE MITOCONDRIALI SI RIPIEGANO GRAZIE ALL'INTERAZIONE CON PROTEINE «CHAPERONE» DELLA FAMIGLIA HSP70

I PRECURSORI DELLE PROTEINE MITOCONDRIALI (CONTENENTI LA SEQUENZA SEGNALE) NON SI RIPIEGANO MA RESTANO NEL LORO STATO SVOLTO GRAZIE ALLA INTERAZIONE CON PROTEINE «CHAPERON» DEL CITOSOL DELLA FAMIGLIA Hsp70

LE PROTEINE ATTRAVERSANO LE MEMBRANE DEI MITOCONDRI GRAZIE A COMPLESSI TRASLOCATORI

Post-traduzionale

- Importazione di proteine codificate dal nucleo
- Aiuta ad inserire proteine transmembrana nella membrana ext
- Proteine barile-beta sono trasferite a SAM per ripiegarsi



Sorting and assembly



COMPLESSO
TIM22

COMPLESSO
TIM23

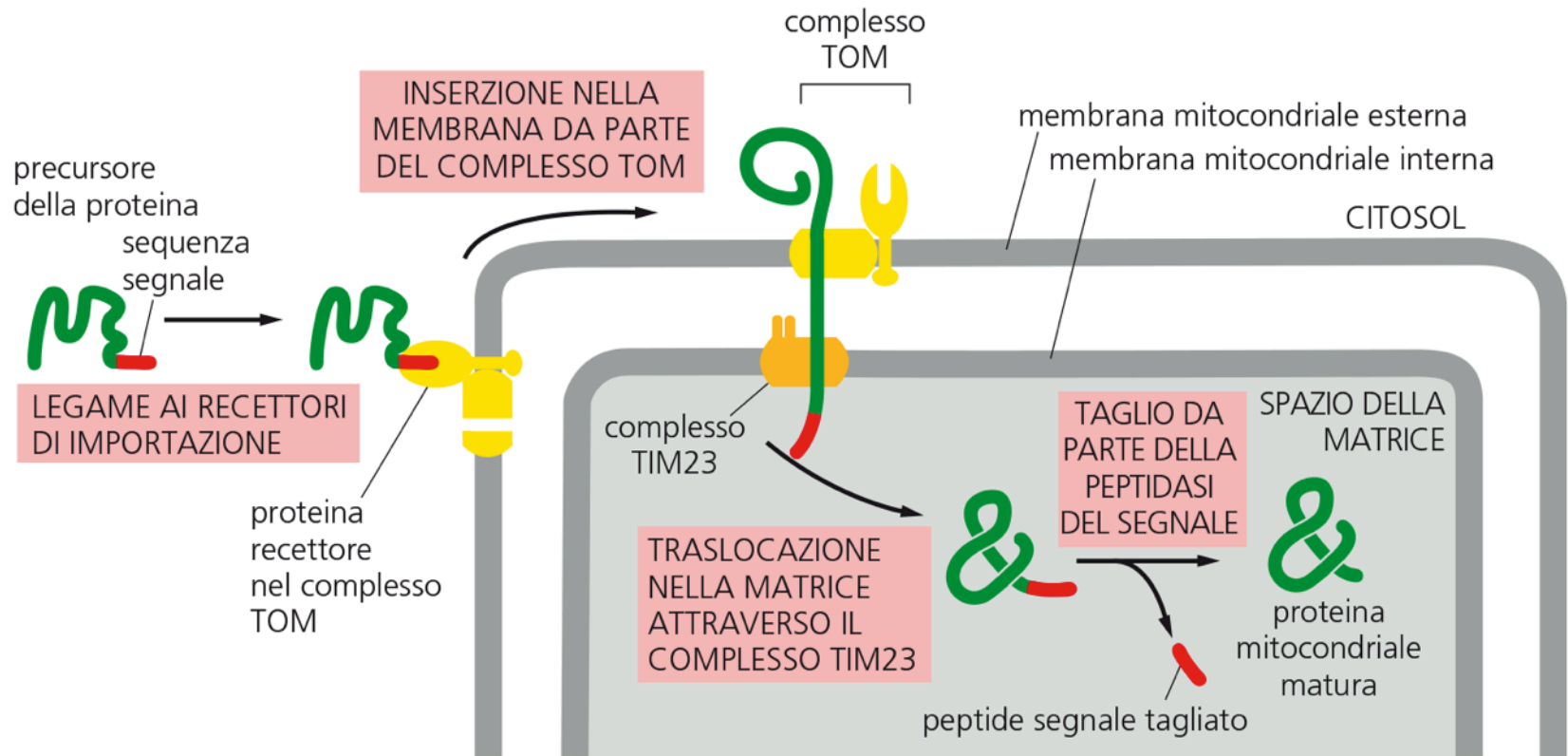
COMPLESSO
OXA

- Media inserzione di una sottoclasse di proteine nella membrana interna (proteina trasportatrice di ADP, ATP e fosfato)

- Trasporta proteine solubili nello spazio della matrice
- Aiuta ad inserire proteine transmembrana nella membrana int

- Media l'inserzione di proteine di membrana interna che sono sintetizzate nei mitocondri
- Inserzione di proteine della membrana interna, una volta importate, che sono prima trasportate nella matrice da altri complessi

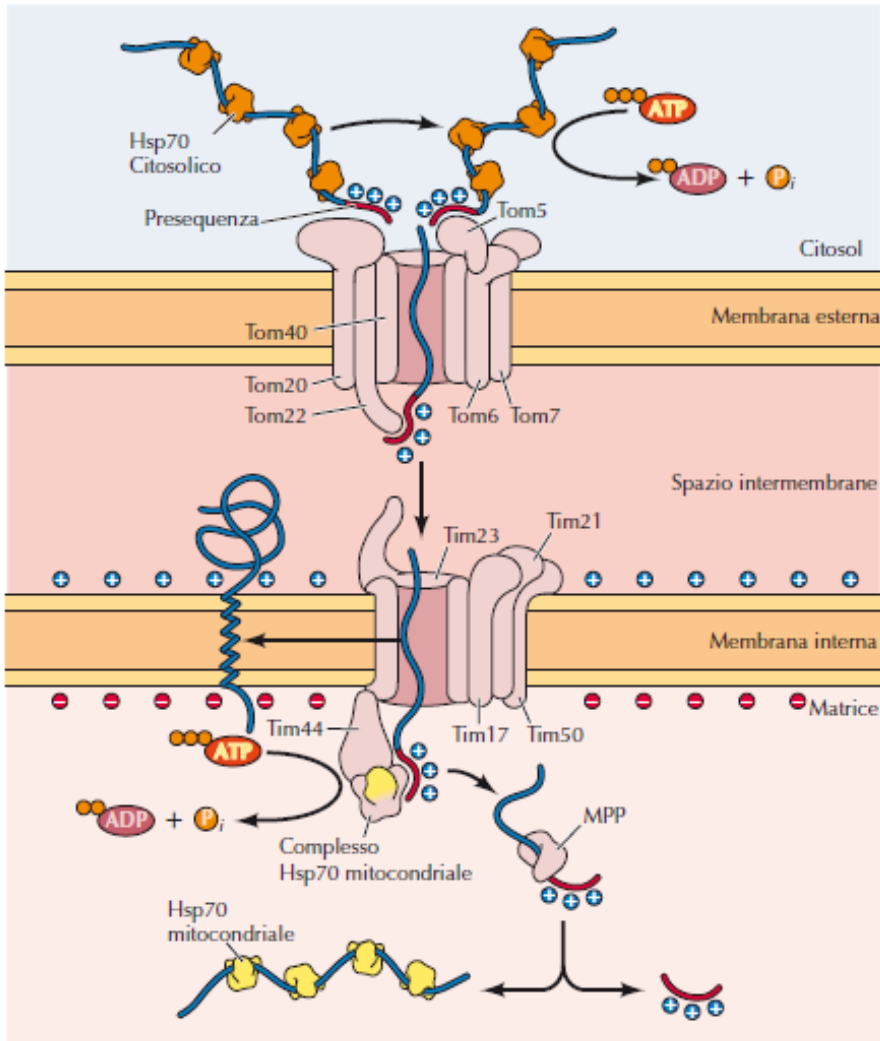
PROTEINE DELLA MATRICE ATTRAVERSANO LE DUE MEMBRANE DEL MITOCONDRIO



La sequenza di importazione è riconosciuta dal complesso TOM
Proteine della famiglia Hsp 70 impediscono che i precursori delle proteine mitocondriali si ripieghino o aggregino prima di interagire col complesso TOM

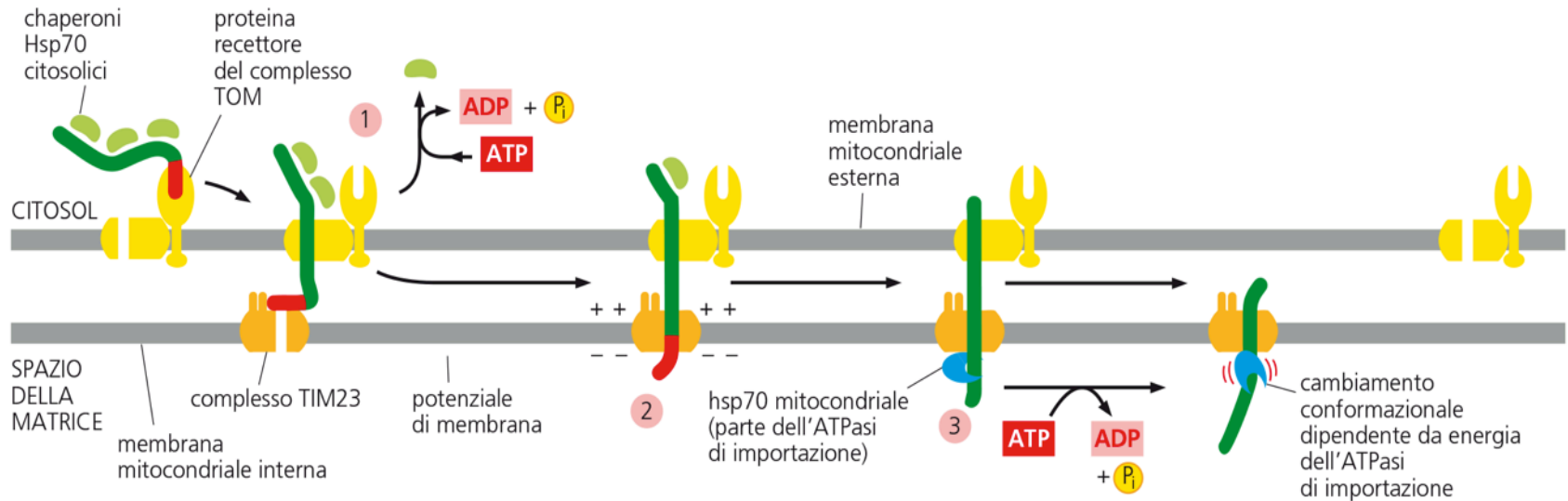
La sequenza segnale mitocondriale interna alle proteine non viene rimossa

TOM E TIM23 SONO COMPLESSI MULTIPROTEICI CHE FORMANO UN CANALE DI TRASPORTO ATTRAVERSO LE DUE MEMBRANE DEL MITOCONDRIO



TOM40= is β -barrel protein and form a dimer the conducting channel trough which the preproteins enter; The channel has an artichecture of a symmetrical dimer with two TOM40 pores.
Tom5,6,7= α -helices; stability the pore
Tom20, TOM22 and TOM7:= α -helices; recognition.

IDROLISI DI ATP E POTENZIALE DI MEMBRANA SONO NECESSARI PER L'IMPORTO DI PROTEINE NELLA MATRICE



Hsp 70 citosolico attaccato è rilasciato dalla proteina mediante idrolisi di ATP

Il gradiente elettrochimico che genera potenziale di membrana, è mantenuto dal pompaggio di H^+ dalla matrice nello spazio intermembrana, spinto dal processo di trasporto di e^- nella membrana interna.

L'energia del gradiente di H^+ viene usata per spingere la traslocazione delle sequenze segnale cariche positivamente attraverso i complessi TIM.

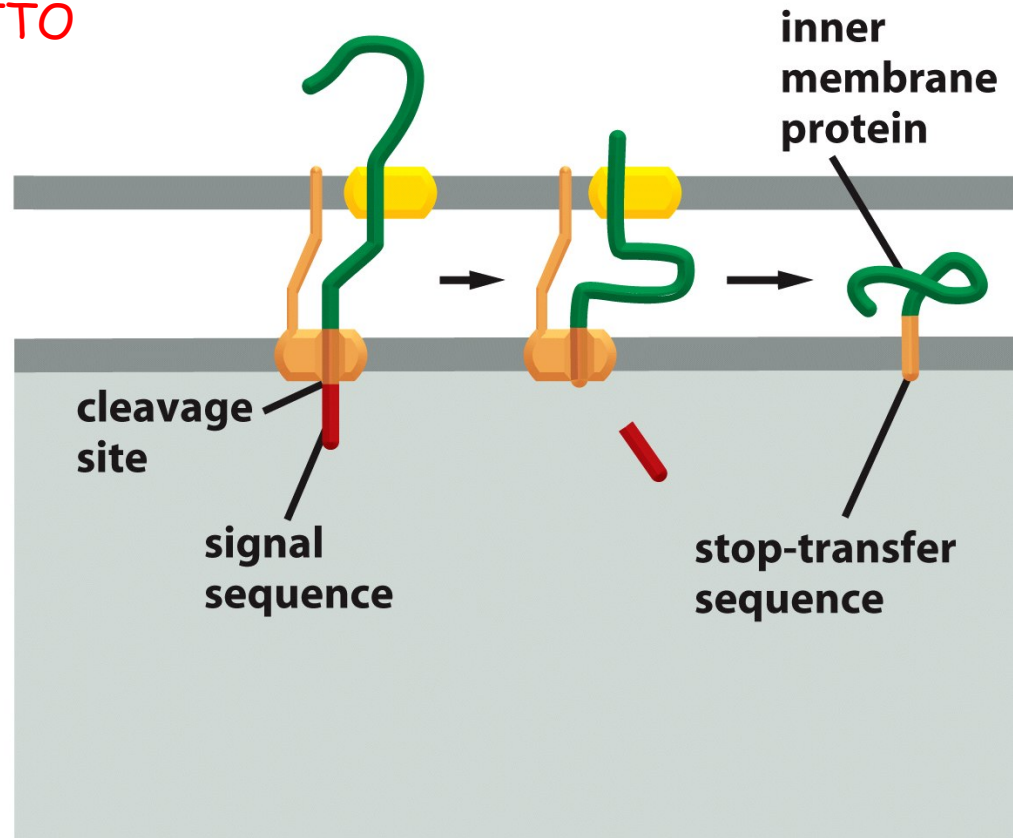
Hsp 70 mitocondriale ha un ruolo chiave nel processo di importazione. Legato al complesso TIM23 fa da motore che trascina il precursore della proteina nella matrice mitocondriale. Il cambiamento conformazionale della Hsp 70 permette il rilascio della proteina per mezzo di una forza di trazione

Il trasporto direzionale richiede energia!!!

IL TRASPORTO DELLE PROTEINE NELLA MEMBRANA MITOCONDRIALE INTERNA AVVIENE ATTRAVERSO DUE VIE

PROTEINE DELLA MEMBRANA INTERNA

TRASPORTO DIRETTO



IL TRASPORTO DELLE PROTEINE NELLA MEMBRANA MITOCONDRIALE INTERNA ATTRAVERSO DUE VIE

PROTEINE DELLA MEMBRANA INTERNA

TRASPORTO INDIRETTO: sono traslocate prima nella matrice

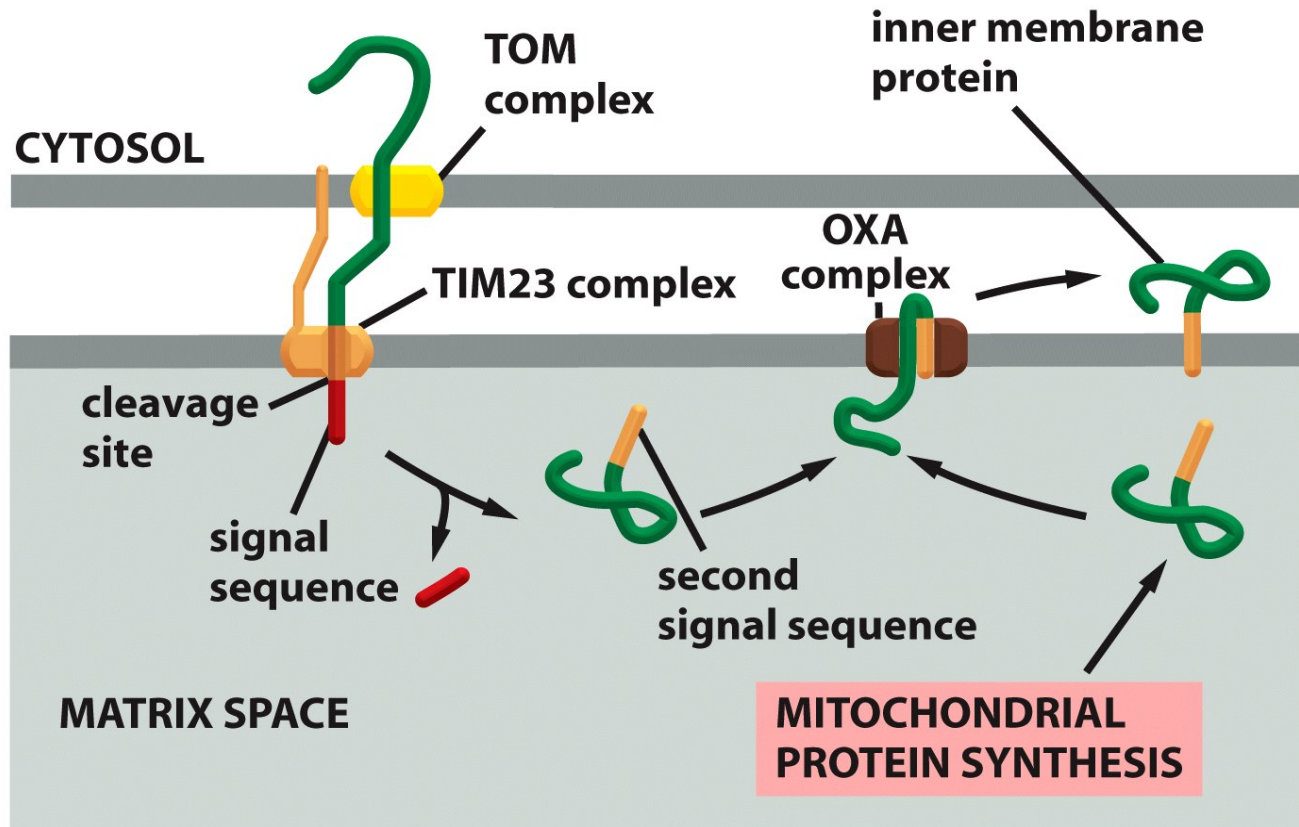
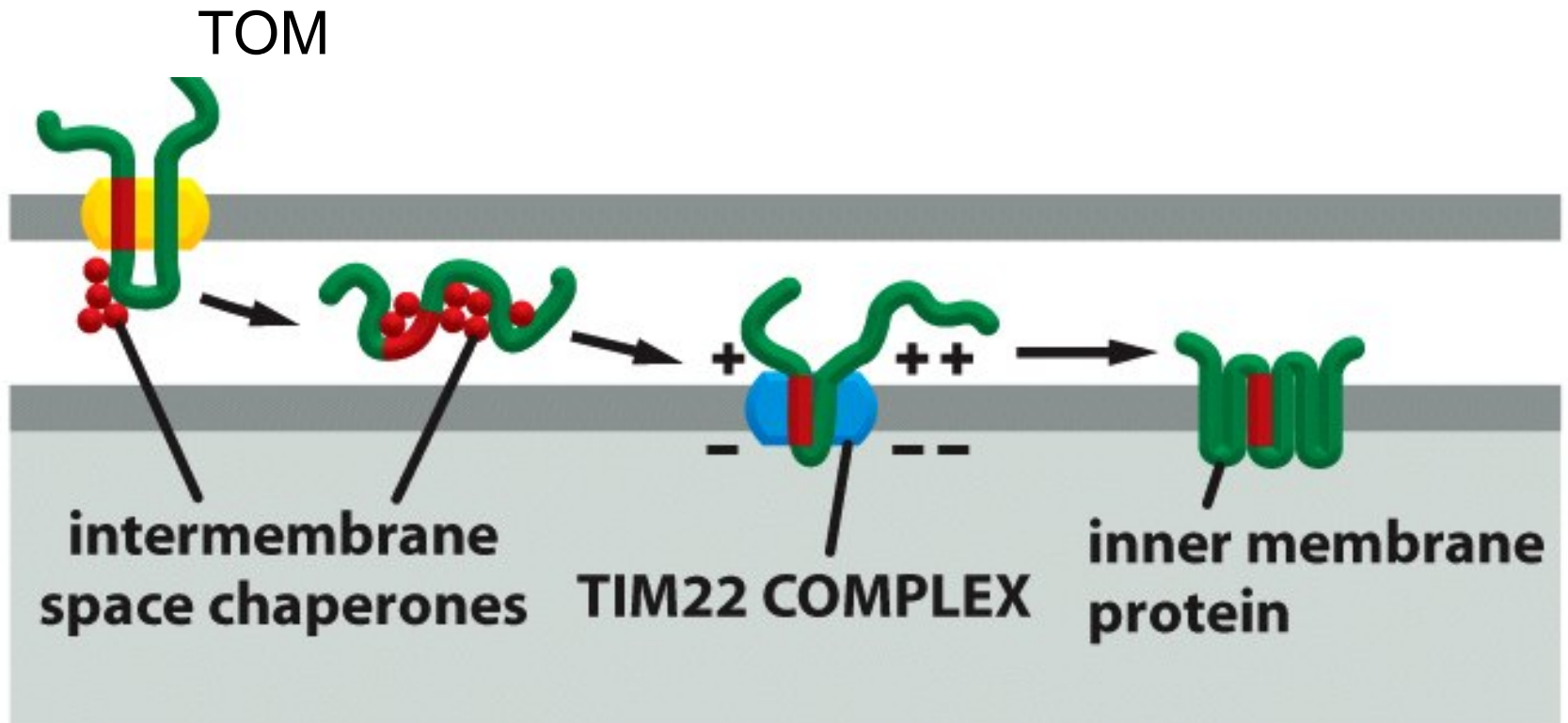


Figure 12-28b Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

I TRASPORTATORI DEI METABOLITI POSSONO RIPIEGARSI PIU' VOLTE NELLA MEMBRANA INTERNA ATTRAVERSO TIM22



PROTEINE SPAZIO INTERMEMBRANA

INSERITE PRIMA NELLA MEMBRANA INTERNA

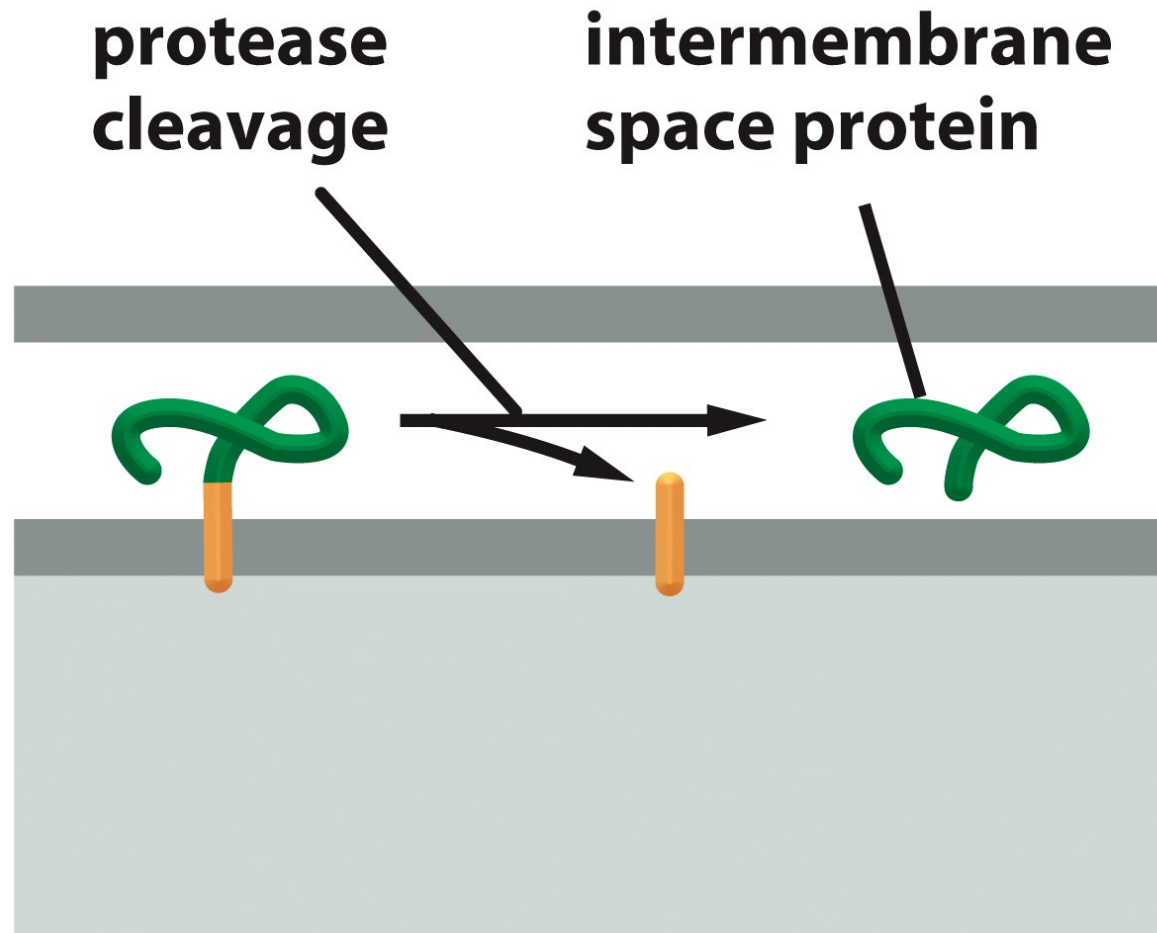
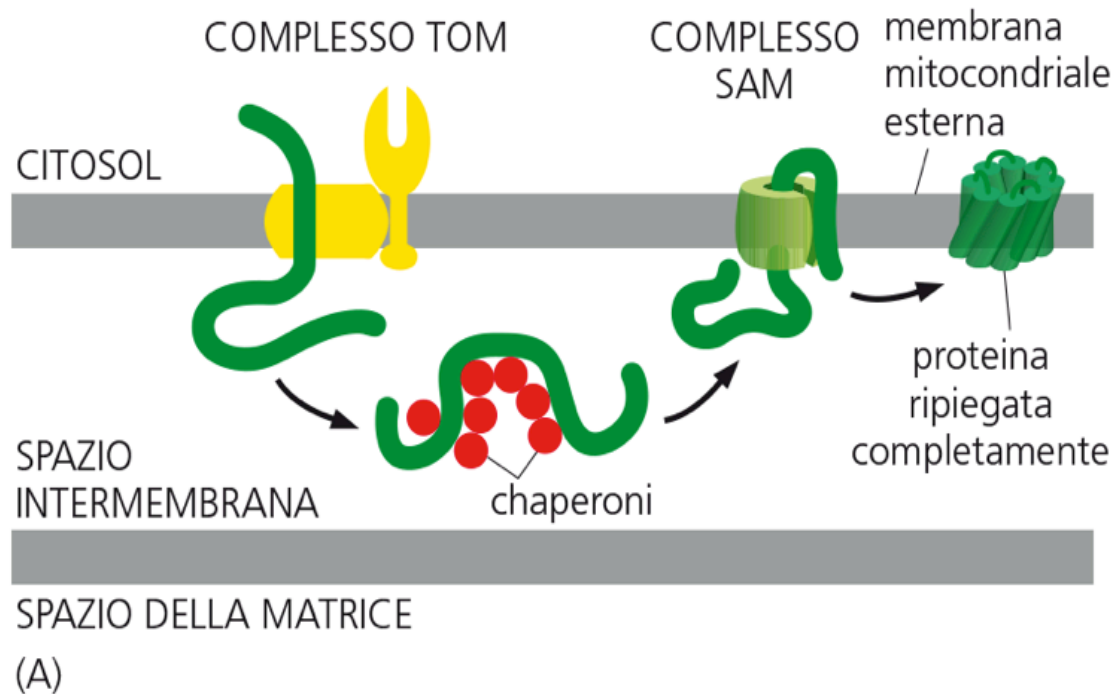


Figure 12-28c Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

TRASPORTO DELLE PORINE NELLA MEMBRANA MITOCONDRIALE ESTERNA RICHIEDE L'AZIONE DEL COMPLESSO SAM

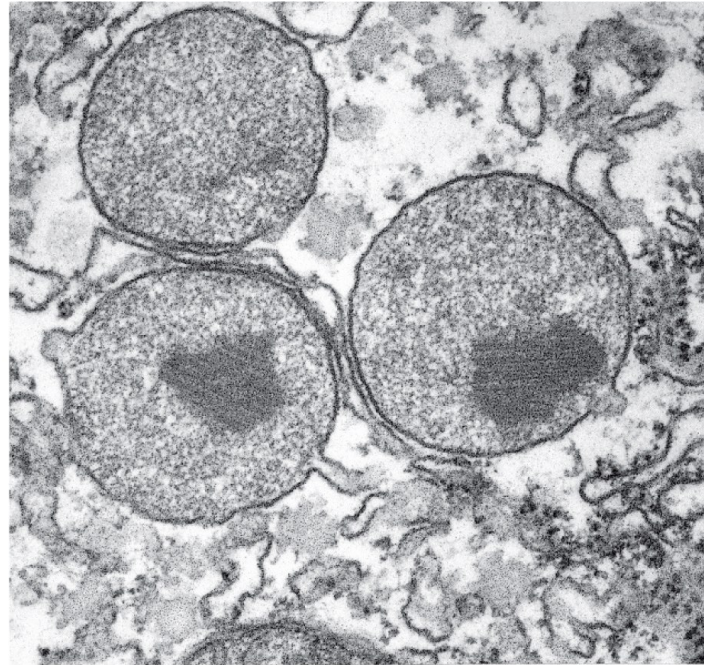


Chaperoni nello spazio intermembrana legano le proteine traslocate attraverso TOM.

SAM aiuta inserire la proteina nella membrana ext e ripiegare

I PEROSSISOMI E LORO BIOGENESI

I PEROSSISOMI SONO ORGANELLI PLASTICI



200 nm

Hanno **funzioni ossidative** svolte da enzimi presenti ad alte concentrazioni nella loro matrice

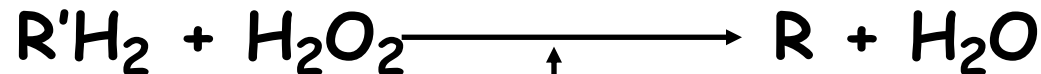
I perossisomi sono circondati da una singola membrana e non contengono DNA o ribosomi.

Si adattano alle condizioni ambientali. Si è visto in studi in lievito cambiando le condizioni di crescita: zuccheri perox piccoli, metanolo perox piu grandi e grandissimi acidi grassi

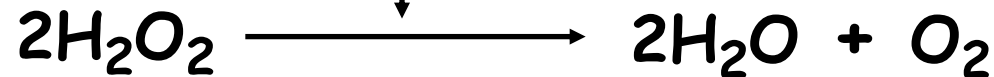
I PEROSSISOMI SVOLGONO REAZIONI OSSIDATIVE CATALIZZATE DA ENZIMI QUALI OSSIDASI E CATALASI



L' H_2O_2 è utilizzata dalla catalasi per ossidare diversi substrati



CATALASI



Questa reazione è cruciale nelle cellule epatiche per detossificare molecole tossiche nel sangue: ad es. etanolo ad acetaldeide

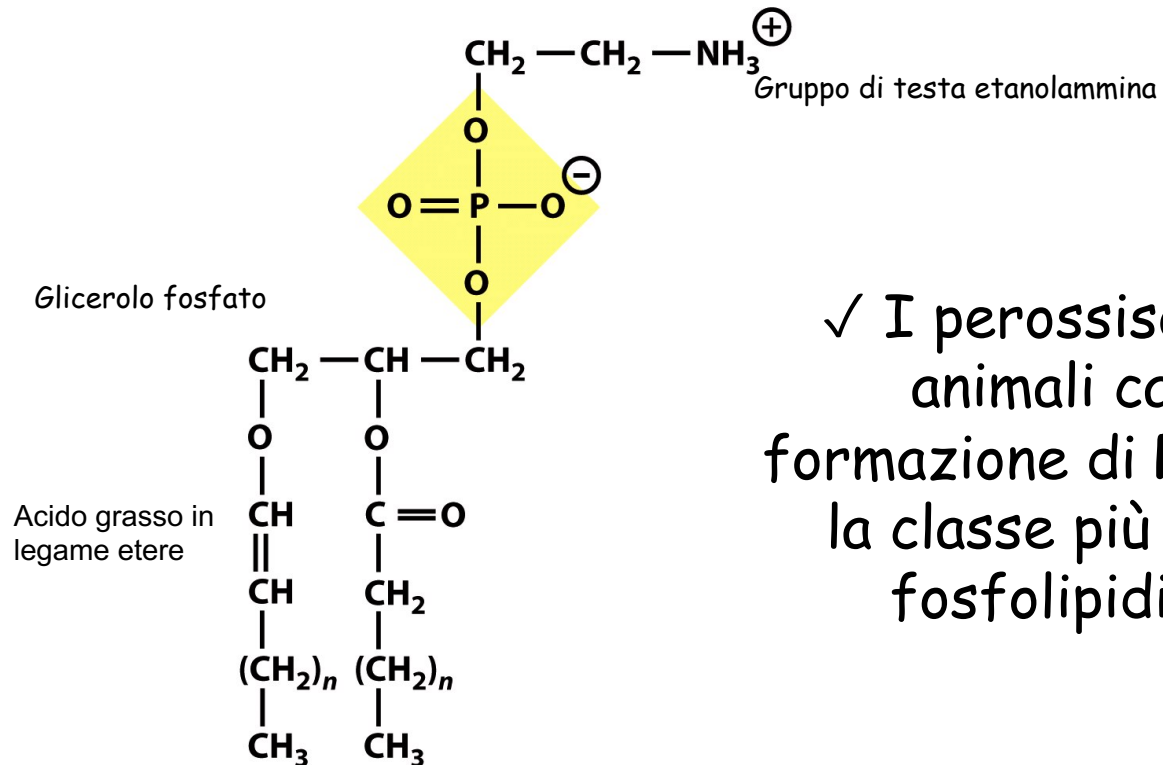
L' H_2O_2 è usata dalla catalasi per ossidare altri substrati, acido formico, formaldeide e alcol. Nelle cellule del fegato e del rene i perossisomi detossificano varie molecole tossiche che entrano nel sangue (es, metanolo ossidato acetaldeide).

Inoltre la catalasi converte l' H_2O_2 in eccesso $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$

Nei perossisomi avviene anche beta ossidazione degli acidi grassi \rightarrow acetil CoA che viene esportato nel citosol per reazioni biosintetiche

I PEROSSISOMI SVOLGONO ALTRE REAZIONE DI DEGRADAZIONE, MA ANCHE DI SINTESI

- ✓ Altra reazione importante è la β -ossidazione attraverso cui le catene di acidi grassi sono demolite a acetilCOA



- ✓ I perossisomi delle cellule animali catalizzano la formazione di **PLASMALOGENI**, la classe più abbondante dei fosfolipidi della mielina

LA MAGGIOR PARTE DELLE PROTEINE INDIRIZZATE AI PEROSSISOMI HANNO UNA SEQUENZA SEGNALE AL C-TERMINALE

Segnali tipo 1: **SKL** **Ser-Lys-Leu**-COOH

1 2 3

Segnali tipo 2: NH₂- **Ala-His**

NH₂- **Cys-Arg**

PROTEINE DI MEMBRANA: segnale non ancora ben definito

**IL TRASPORTO DI PROTEINE NEL PEROSSISOMA
COMPORTA L'ATTRAVERSAMENTO DELLA
MEMBRANA E IL CONSUMO DI ATP.**

23 PEROSSINE SONO COINVOLTE NEL PROCESSO

1 complesso di almeno 6
perossine forma un
Traslocatore di
membrana

Proteins involved in formation of peroxisomes and pre-peroxisomal vesicles from the ER	
Pex19p	PMP chaperone and transporter; farnesylated and mostly cytosolic [17]
Pex16p	PMP that traffics through the ER; membrane receptor for PMP recruitment in mammalian cells [25,26]
Pex5p	Traffics through the ER; membrane receptor for PMP recruitment in yeast [16]
Proteins involved in controlling peroxisome size and number [28]	
Pex11p	Intraperoxisomal PMP involved peroxisomal fission
Pex25p	Peripheral PMP; interacts with paralog Pex27p [66]; recruits Rho1p to peroxisomes [19]
Pex27p	interacts with paralog Pex25p [66]
DRPs	Dynamin-related proteins include Vps1p and Dnm1p in yeast and Dlp1p in mammalian cells
Fis1p/Mdv1p/Caf4p	DRP recruitment to peroxisomes [33]
Rho1p	Guanosine triphosphatase involved in actin assembly on peroxisomes; interacts with Pex25p and Pex30p [19]
Pex50p/Pex23p	PMP; known as Pex30p in <i>S. cerevisiae</i> and Pex23p in <i>Y. lipolytica</i> [61]; contains dysferlin domain; partially functionally redundant with Pex31p and Pex32p [67]
Pex51p	PMP; contains dysferlin domain [67]
Pex52p	PMP; contains dysferlin domain [67]
Pex24p/Pex28p	PMP known as Pex28p in <i>S. cerevisiae</i> and Pex24p in <i>Y. lipolytica</i> . [61]
Pex29p	PMP
Proteins involved in import of matrix proteins [39]	
Pex5p	PTS1 receptor; predominantly cytoplasmic
Pex7p	PTS2 receptor; predominantly cytoplasmic
Pex20p	Co-receptor required for Pex7p binding cargo; <i>S. cerevisiae</i> has functional homologs Pex21p/Pex18p instead [61]
Cytosolic chaperones	Chaperones including members of Hsp70 family and DnaJ-like proteins may be involved in import [39]
Pex13p	PMP; docking complex component
Pex14p	PMP; docking complex component
Pex17p	PMP; docking complex component
Pex8p	Intraperoxisomal PMP; links docking and RING finger complex [45]
Pex2p	PMP; RING finger protein
Pex12p	PMP; RING finger protein
Pex10p	PMP; RING finger protein; E3 ligase for Ubc4p dependent ubiquitination of Pex5p [51]
Pex4p	PMP anchored by Pex22p; ubiquitin-conjugating enzyme involved in receptor recycling [46,47]; interacts with Pex10p [68]
Pex22p	PMP that anchors Pex4p to the membrane
Pex15p/Pex26p	functional homologs in yeast and mammals, respectively; PMP involved in membrane anchor of Pex6p [69,70]
Pex6p	AAA ATPase; PMP
Pex1p	AAA ATPase; PMP
Proteins involved in peroxisome inheritance [63]	
Myo2p	Motor that propels peroxisomes along actin cables [12]
Inp1	PMP involved in retention of peroxisomes in mother and daughter cells by attaching peroxisomes to cell cortex [13]
Inp2	PMP involved in peroxisome movement through interaction with Myo2 [12]

PMP, peroxisomal membrane protein; peroxins in bold are known to have similar roles in yeast and in higher eukaryotes.

L'IMPORTO NEI PEROSSISOMI DI PROTEINE SOLUBILI RICHIEDE 4 STEP

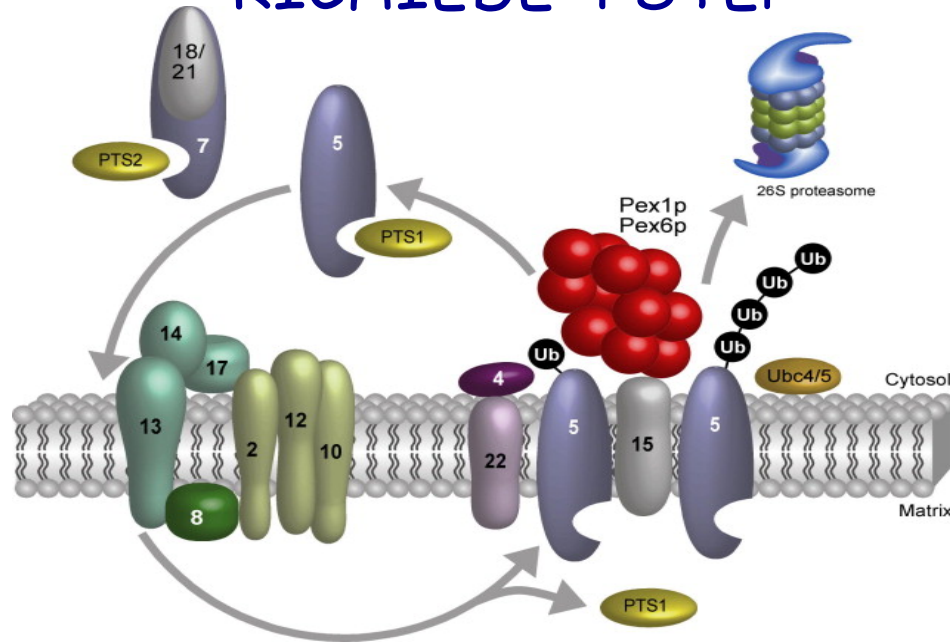


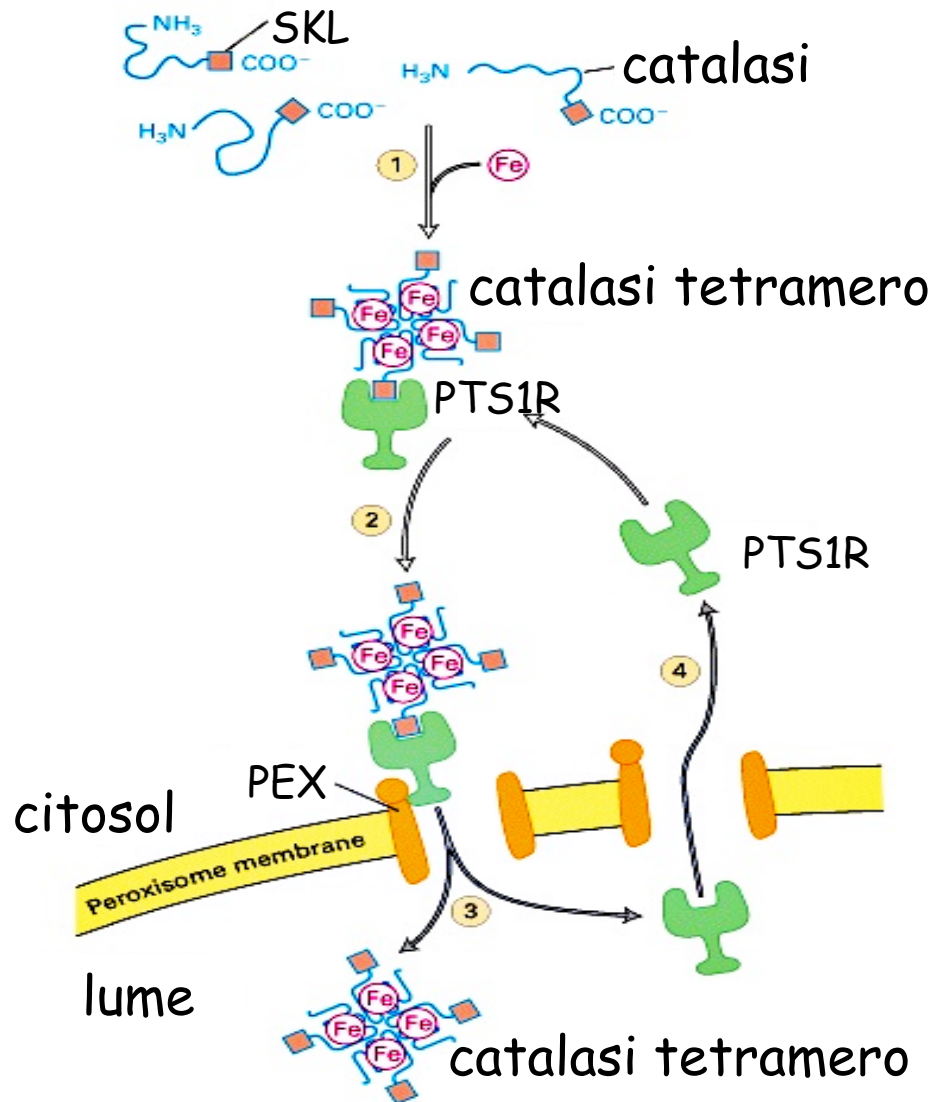
Fig. 3. Cascata di importazione di proteine della matrice perossisomiale. L'importazione della proteina perossisomiale può essere concettualmente suddivisa in quattro fasi: (i) riconoscimento del carico nel citosol e direzione dei complessi recettore-carico alla membrana perossisomiale. (ii) Traslocazione del complesso recettore-carico al sito luminale della membrana perossisomiale. (iii) Disassemblaggio del complesso recettore-carico nel lume perossisomiale e (iv) ritorno del recettore al citosol.

- 1) Le proteine che ospitano il segnale di targeting perossisomiale di tipo 1 (PTS1) sono riconosciute dal recettore solubile Pex5p. Le proteine PTS2 sono riconosciute da Pex7p, che coopera con Pex18p e Pex21p in *S. cerevisiae*, l'ortologo Pex20p in altri funghi o Pex5L in piante e mammiferi.
- 2) i complessi recettore-carico si associano alla membrana perossisomiale attraverso il complesso di docking perossisomiale, costituito da Pex14p, Pex13p e Pex17p.
- 3) Il dominio RING-finger contenente perossine Pex2p, Pex10p e Pex12p forma il complesso RING-finger, che è collegato al complesso docking tramite Pex8p.
- 4) Il complesso recettore-carico si dissocia nel sito luminale della membrana.

Il recettore PTS1 integrale è monoubiquitinato dall'enzima E2 Pex4p o poliubiquitinato da Ubc4p o Ubc5p. Le perossine AAA Pex1p e Pex6p, che sono ancorate alla membrana perossisomiale da Pex15p nel lievito o dal suo ortologo Pex26p nei mammiferi, dislocano il Pex5p ubiquitinato dalla membrana al citosol.

I recettori PTS1 poliubiquitinati vengono degradati dal proteasoma, mentre i recettori monoubiquitinati vengono riciclati per ulteriori cicli di importazione

LA CATALASI ENTRA NEI PEROSSISOMI IN FORMA TETRAMERICA



Il mantenimento della funzione del perossisoma dipende dalla formazione della membrana perossisomiale e dalla successiva importazione di proteine sia di membrana che di matrice. Senza eccezioni, le proteine della matrice perossisomiale sono codificate nucleare, sintetizzate su ribosomi liberi e successivamente importate post-traduzionali. In contrasto con altri sistemi di traslocazione che trasportano catene polipeptidiche spiegate, l'apparato di importazione perossisomiale può facilitare il trasporto di proteine ripiegate e oligomeriche attraverso la membrana perossisomiale. L'importazione della proteina perossisomiale è mediata dai recettori ciclici che fanno la spola tra il citosol e il lume perossisomiale e dipende dall'ATP e dall'ubiquitina.

L'IMPORTO NEI PEROSSISOMI DI PROTEINE DI MEMBRANA RICHIEDE ALMENO DUE PEROSSINE: 19 E 3

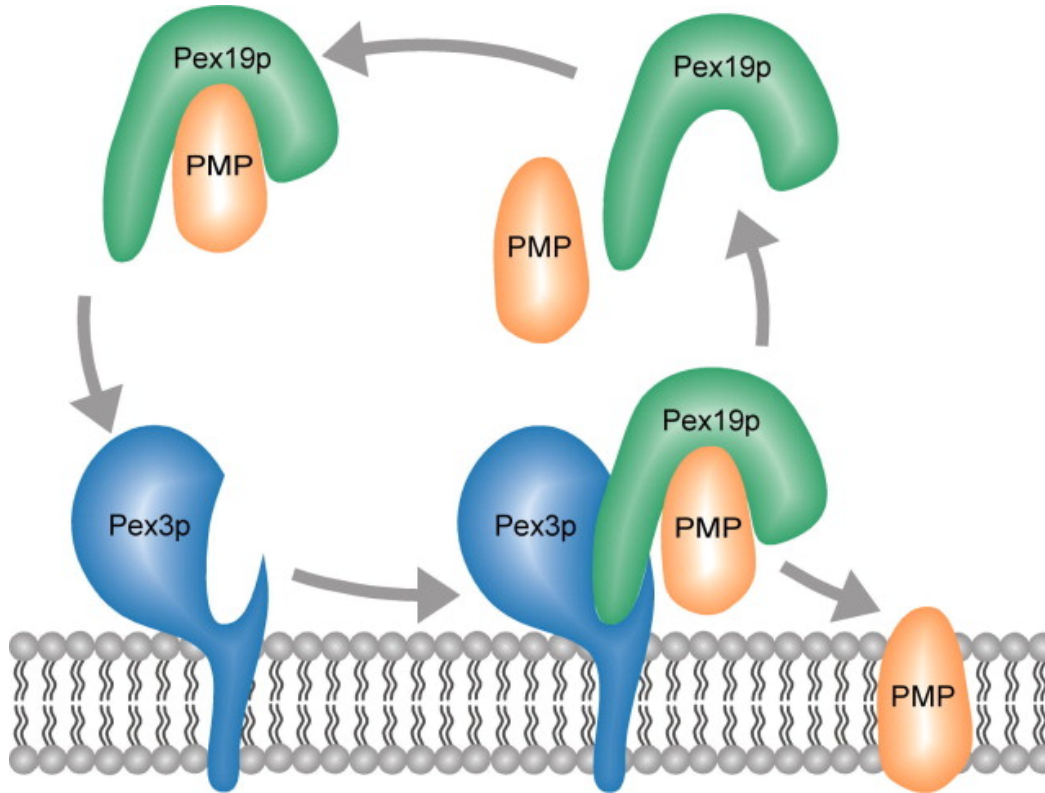


Fig. 2. Topogenesi delle proteine di membrana perossisomiale. La maggior parte delle proteine di membrana perossisomiale (PMP) contiene un segnale di targeting della membrana perossisomiale (mPTS) che è riconosciuto dal recettore di importazione e dal chaperon Pex19p che dirige il suo carico alla membrana perossisomiale o in alternativa all'ER durante la formazione de novo di perossisomi. Pex3p funziona come proteina di ancoraggio della membrana per i complessi Pex19p-PMP al RE e ai perossisomi.

BIOGENESI DEI PEROSSISOMI

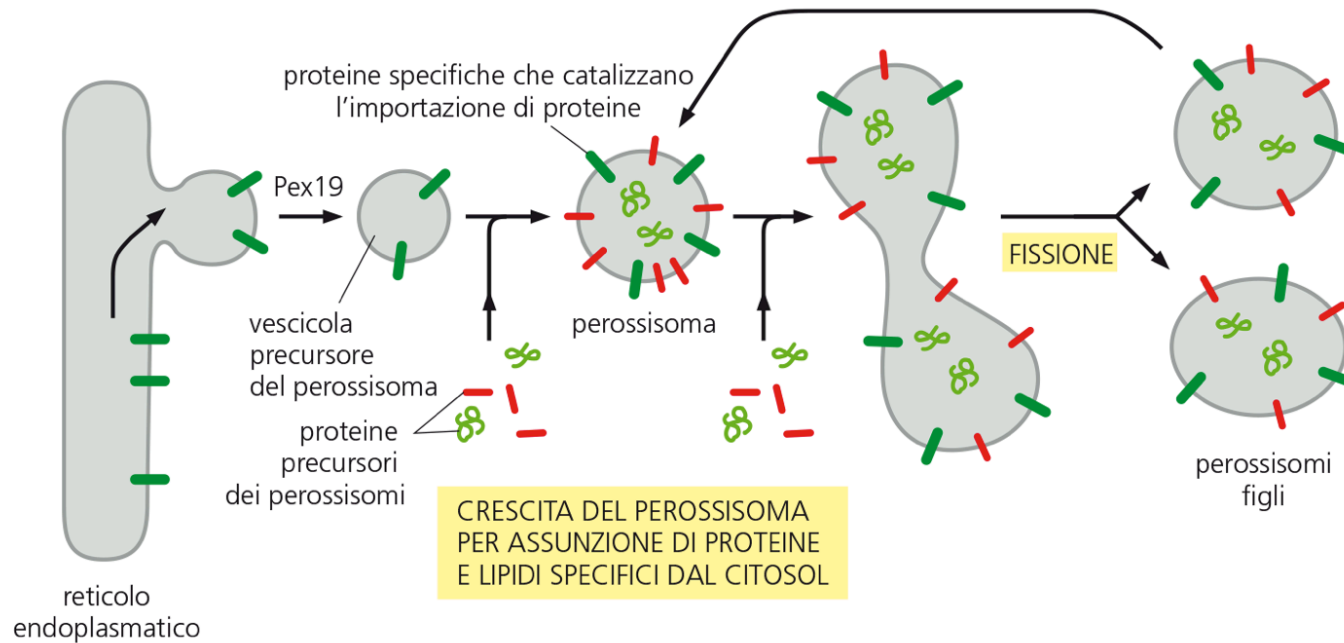
????

Derivano da organelli pre-esistenti
(replicazione autonoma) o da un
compartimento specializzato????

????

????

I PEROSSISOMI SONO GENERATI DA ALTRI PEROSSISOMI MEDIANTE CRESCITA E



Vescicole gemmano da RE. La proteina citosolica Pex19 regola la gemmazione e la selezione delle proteine specificamente perossisomali.

La membrana del perossisoma contiene recettori proteici di importazione e traslocatori di proteine che servono per l'importazione di proteine del perossisoma sintetizzate da ribosomi citosolici. Sono importati anche lipidi che servono per la crescita, anche se altri lipidi derivano dalle vescicole gemmate direttamente dal RE.

La maggior parte delle proteine di membrana del perossisoma è prodotta dal citosol e inserita nelle membrane di organelli preesistenti.

VARIE PATOLOGIE DEI PEROSSISOMI

1. SINDROME DI ZELLWEGER

- difetto genetico di importo di proteine nei perossisomi
- non funziona il recettore per il segnale di indirizzo ai perossisomi (Pex5, Pex7)
- non vi sono enzimi nei perossisomi (**perossisomi vuoti!**)
- anomalie a livello cerebrale, epatico, renale
- la morte sopravviene poco dopo la nascita