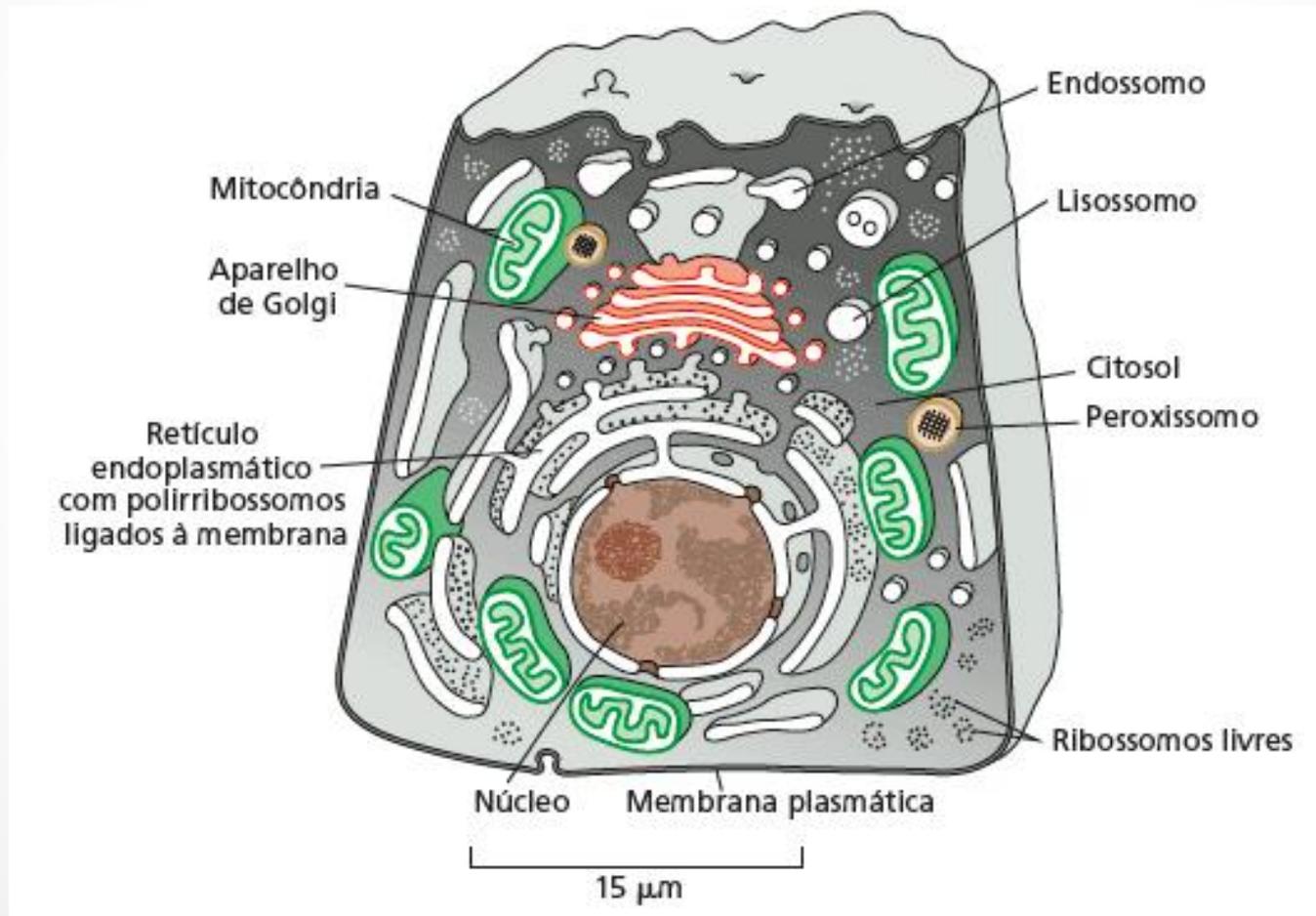




Biologia Celular

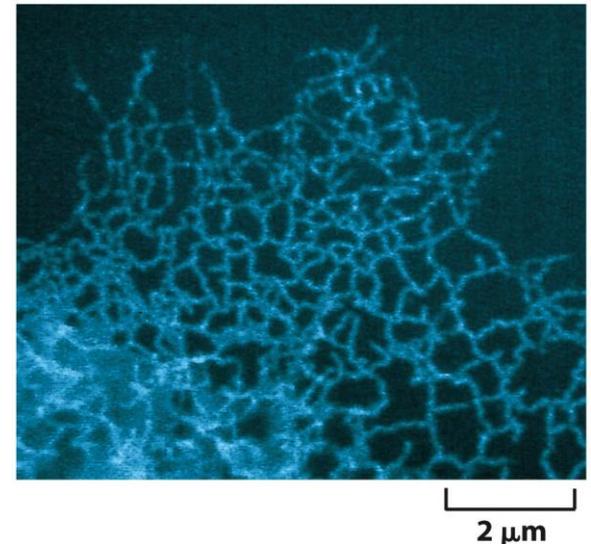
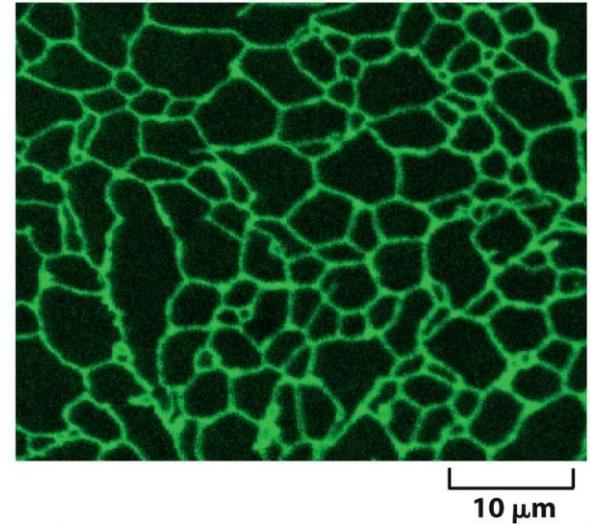
Retículo Endoplasmático

Sistema de Endomembranas



Retículo Endoplasmático

- Compreendem mais de metade das membranas totais de uma célula animal típica
- Emaranhado de tubos e sacos ramificados
- Contínuo com a membrana externa do envoltório nuclear
- A luz do Retículo Endoplasmático ocupa 10% do volume total da célula



Retículo Endoplasmático

Funções

Biossíntese de proteínas e lipídeos

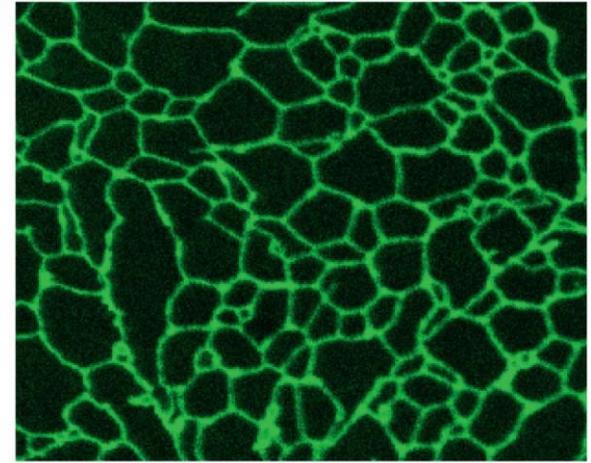
- Local de síntese de todas as proteínas transmembrana e proteínas para exportação;
- Síntese de lípidos da maioria das organelas celulares

Reservatório de Ca^{2+} intracelular

Utilizado em muitos processos de sinalização celular

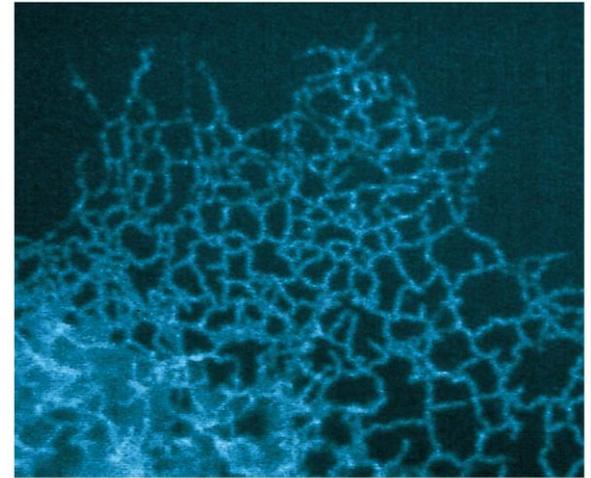
Destoxificação Celular

Enzimas da família do citocromo P450 catalizam diversas reações de solubilização de compostos tóxicos



vegetal

10 μm



animal

2 μm

Retículo Endoplasmático

Composição Química - Membranas

Lipídios - 30%
Proteínas – 70%

Proteínas Oxidativas:
Preferencialmente na
face citoplasmática

Glicoproteínas, proteínas para
modificação de produtos, hidrolases,
peptidases: Face luminal

Citocromo P450: destoxificação celular e síntese de hormônios esteróides

Citocromo b5: dessaturação de ácidos graxos

Retículo Endoplasmático

Composição Química - Luz

Composição aquosa

Produtos de secreção de cada tipo celular

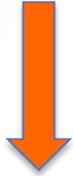
Proteínas residentes do RE

Diversidade Estrutural do RE

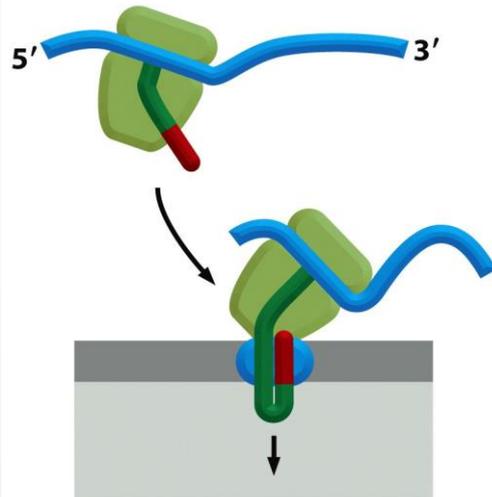
**Para executar tarefas tão diversas,
existem regiões especializadas do RE...**

Diversidade Estrutural do RE

Proteínas do RE, proteínas de exportação, proteínas de membrana

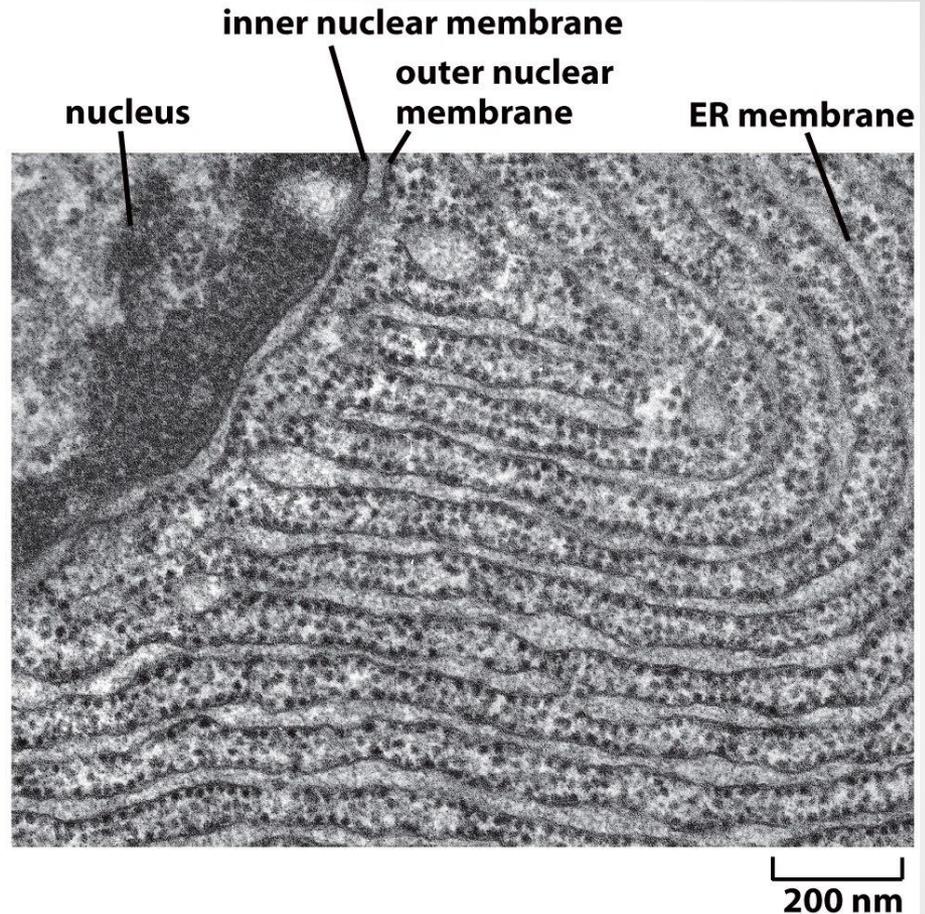


Transporte co-traducional



CO-TRANSLATIONAL
TRANSLOCATION

Retículo Endoplasmático Rugoso

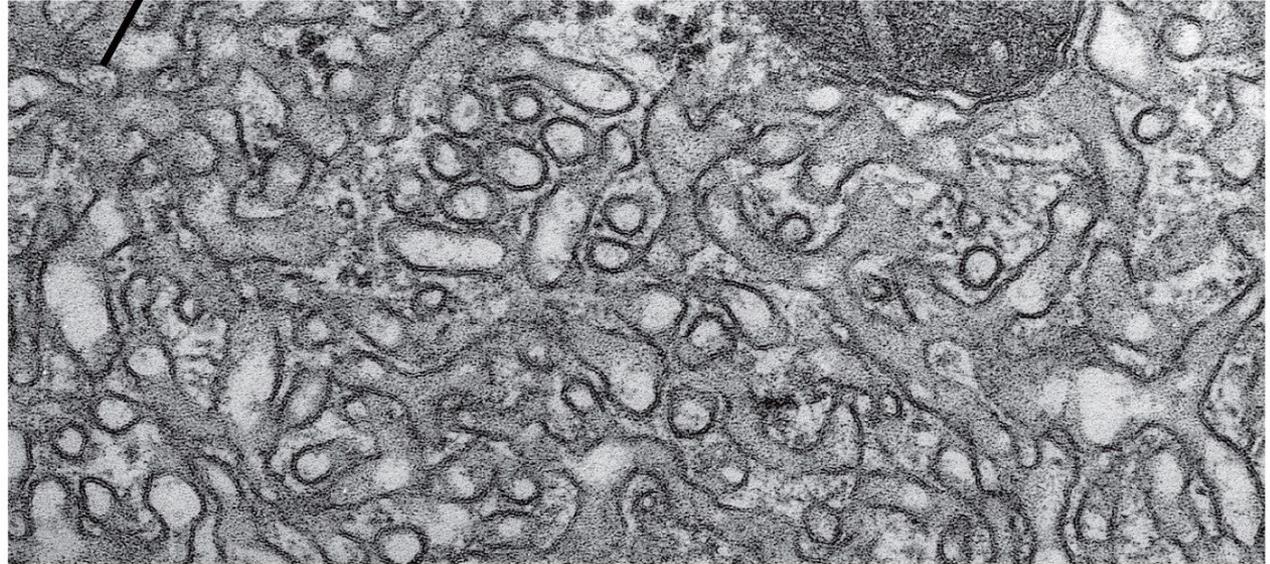


Células secretoras possuem o RE rugoso bastante desenvolvido

Diversidade Estrutural do RE

Retículo Endoplasmático Liso

ER membrane



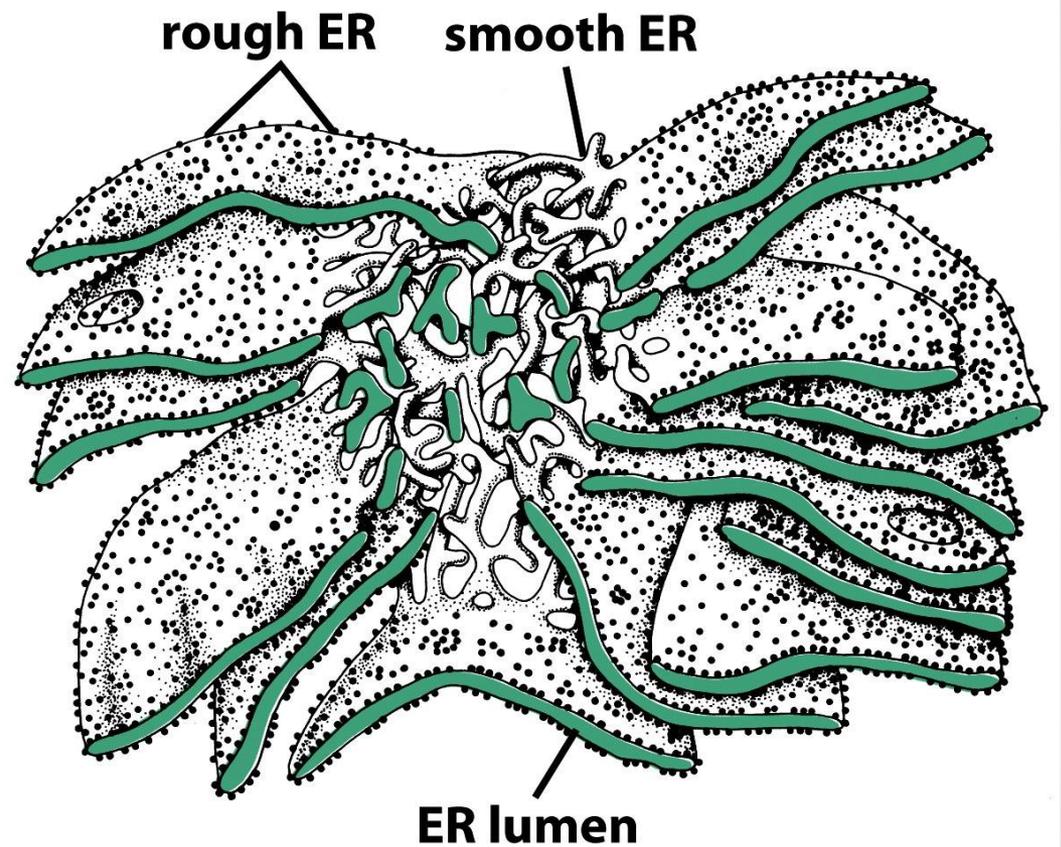
200 nm

Células do fígado e células produtoras de hormônios esteroides são ricas em RE liso

Fibras musculares são ricas em Retículo Sarcoplasmático

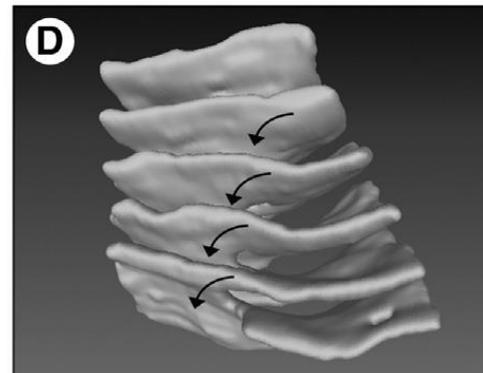
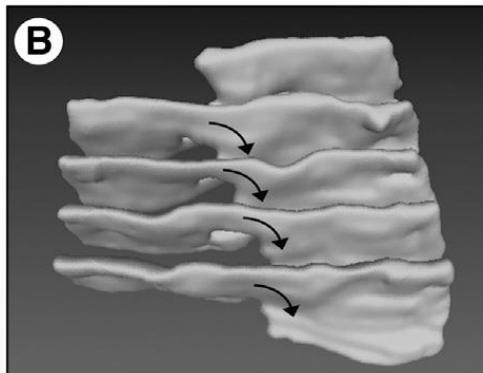
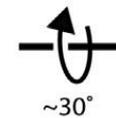
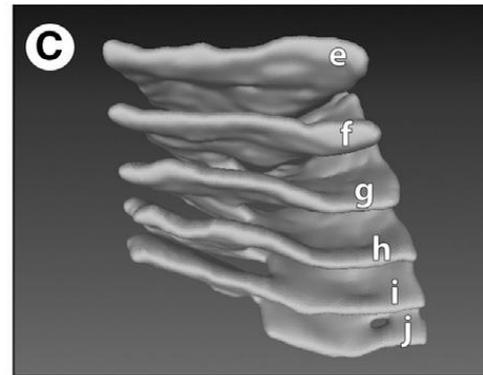
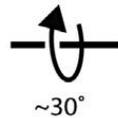
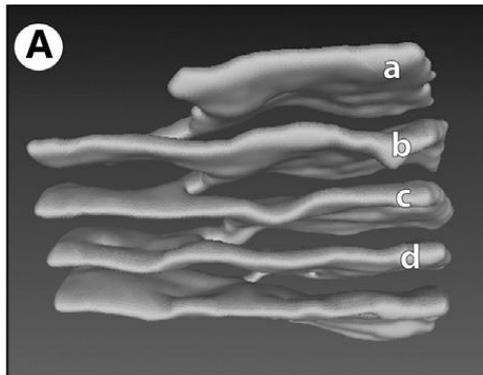
Diversidade Estrutural do RE

Retículo Endoplasmático Liso ou Rugoso são apenas estados funcionais diferentes de uma mesma organela



Retículo Endoplasmático

O RE possui uma conformação morfológica complexa e apresenta-se espalhado no meio das outras organelas celulares

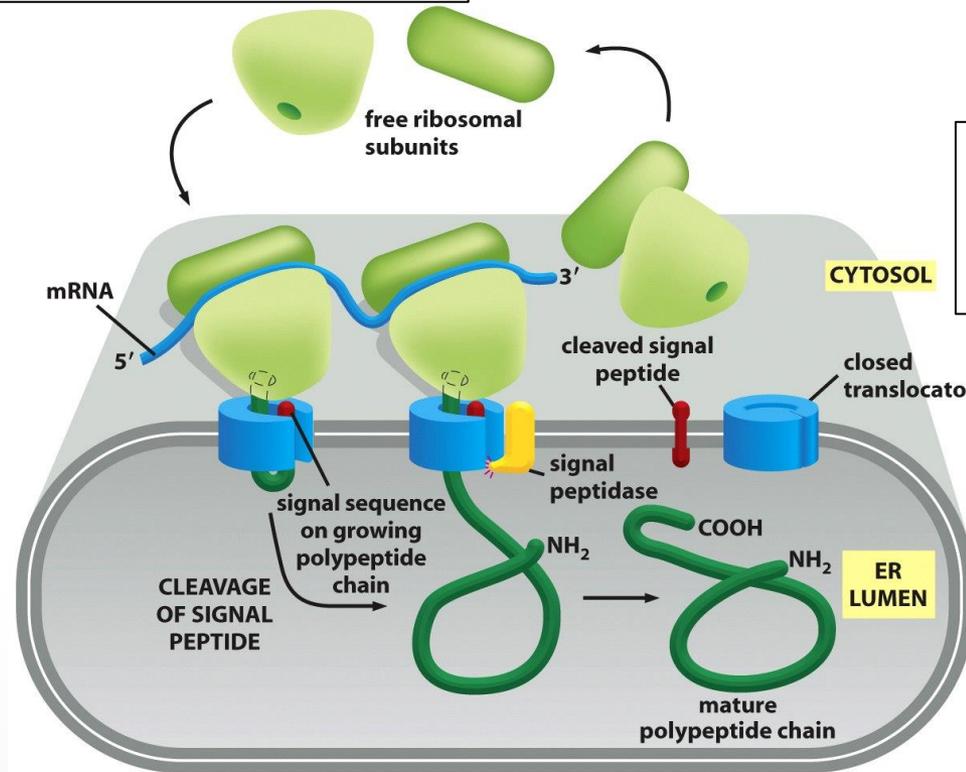


Terasaki *et al.*, 2013

Microssomos e a Hipótese do Sinal

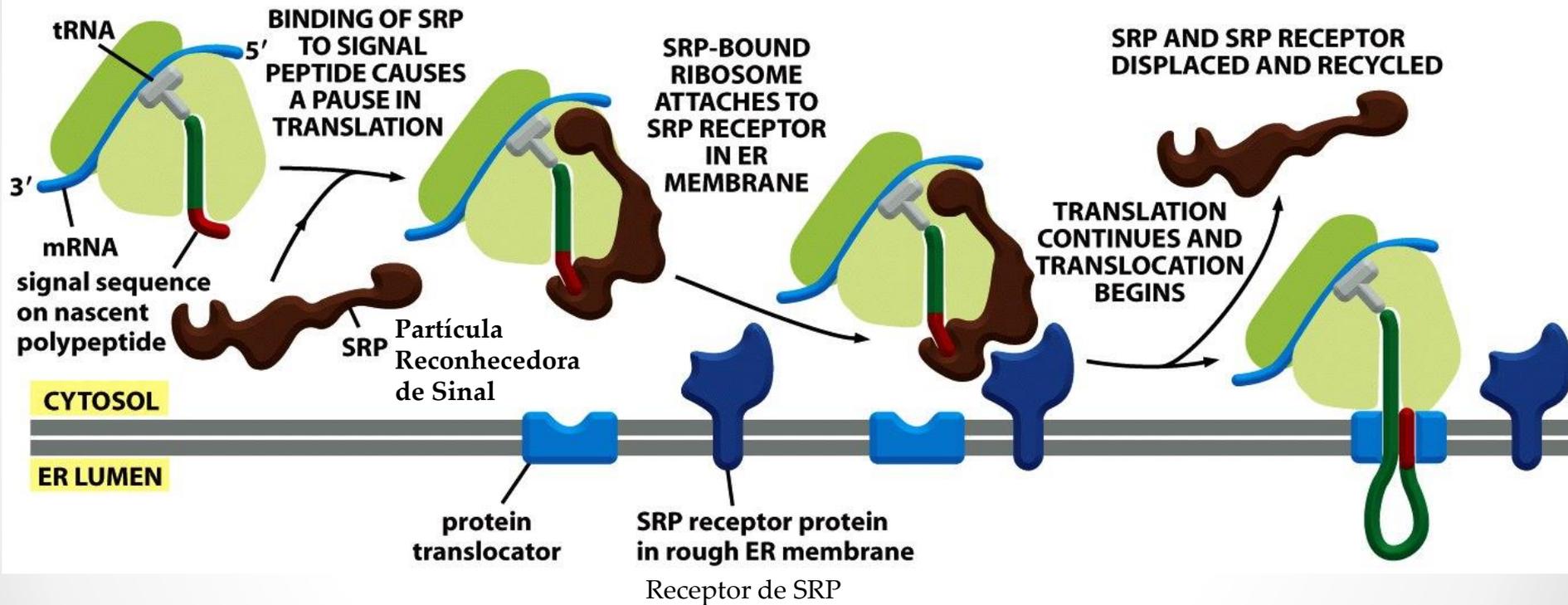
Como são selecionadas e capturadas as proteínas que devem ser translocadas para o RE?

Uma sequência líder N-terminal direciona a proteína nascente para o RE

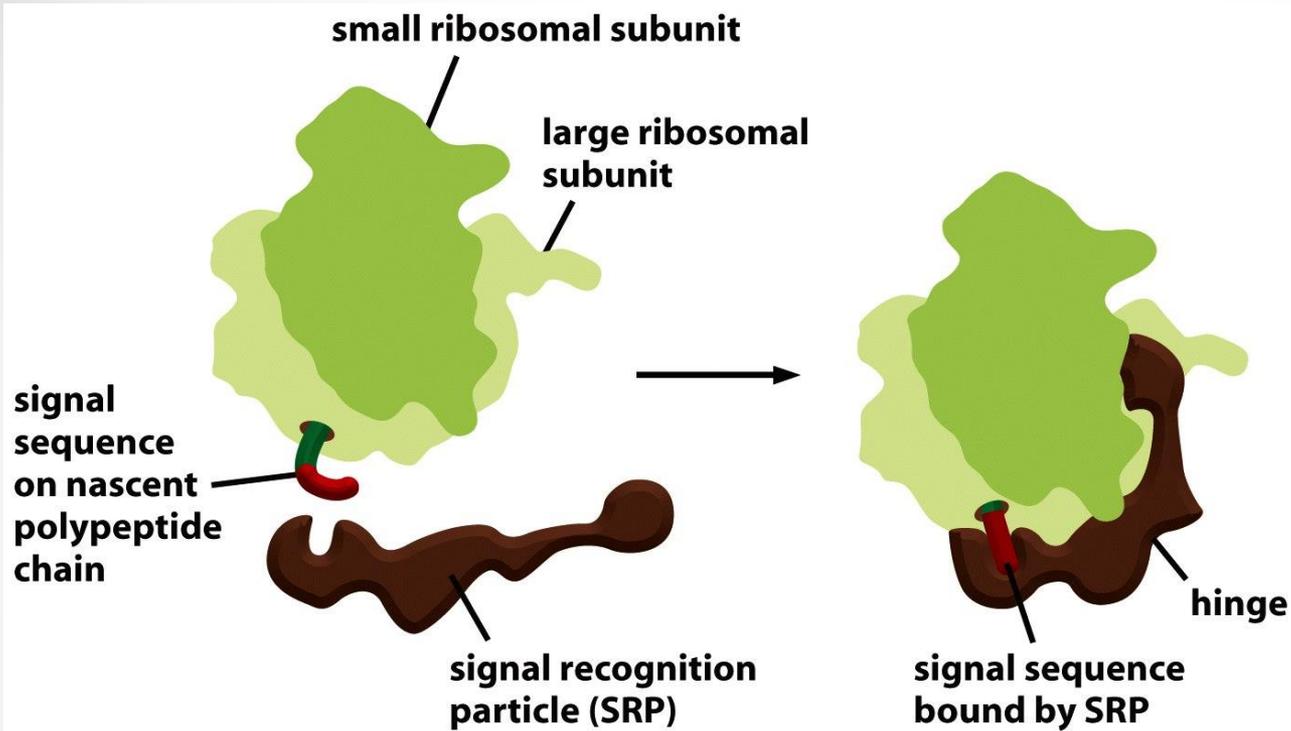


Posteriormente essa sequência é clivada da proteína final

Como a sequência sinal é reconhecida?



Partícula Reconhecedora de Sinal



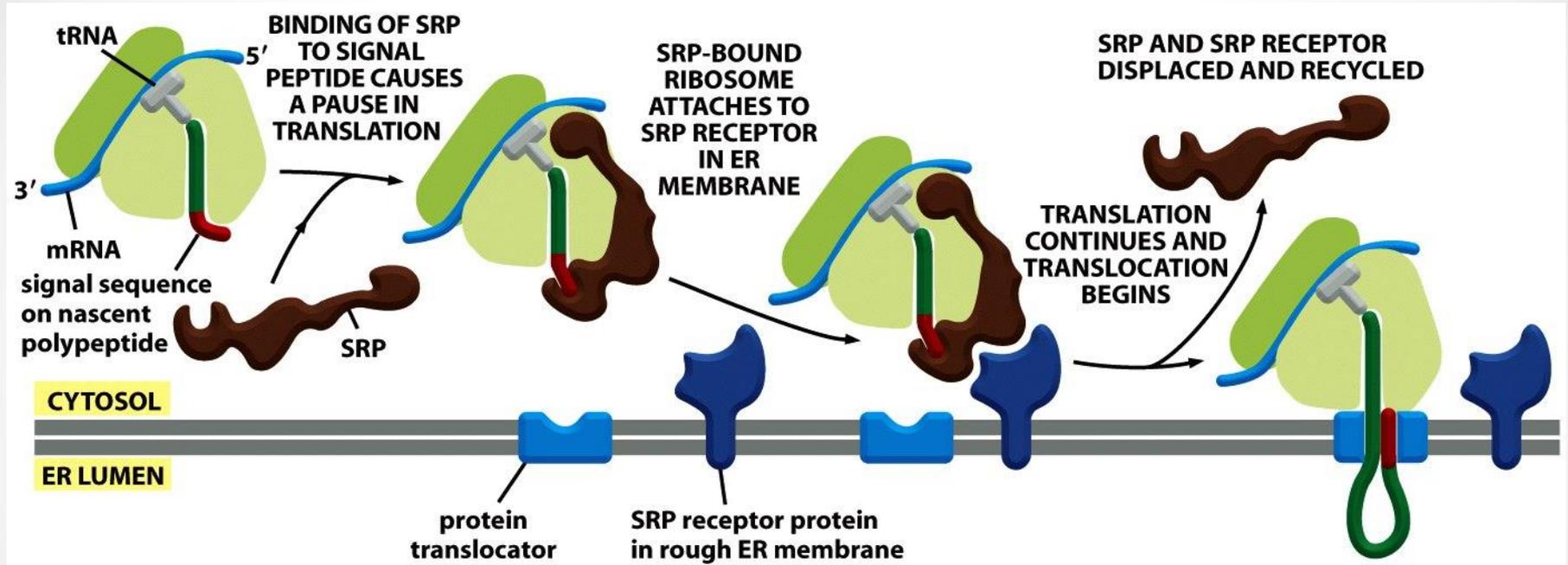
Outro sítio se liga às subunidades maior e menor impedindo sua ligação com os fatores de elongação

A SRP possui um sítio que se liga ao sinal assim que esse emerge do Ribossomo

Importância da interrupção da síntese?

Proteína Receptora de SRP

A proteína receptora de SRP é uma proteína de membrana do RE e direciona o complexo SRP-ribossomo para o translocador

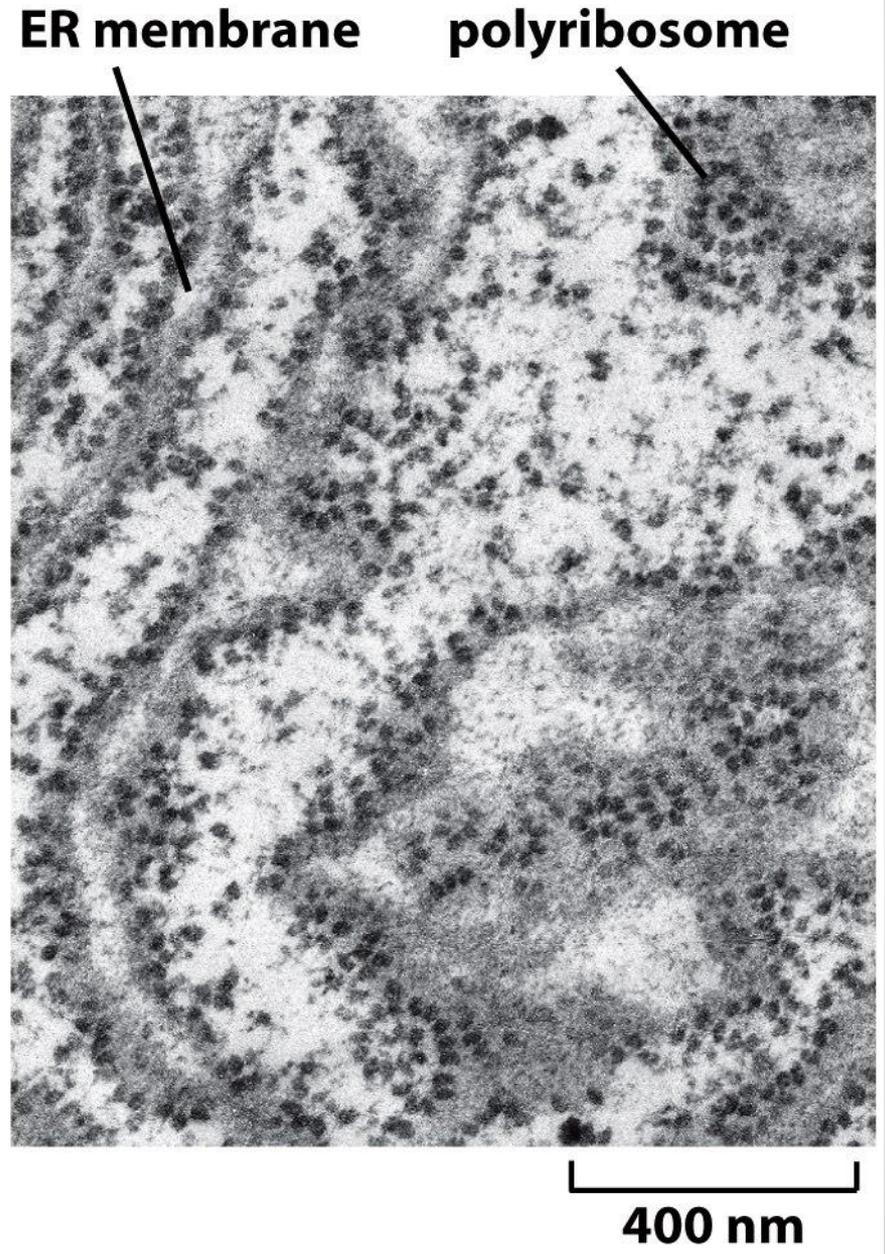


Quando o ribossomo já se associou ao translocador, a SRP e o Receptor de SRP se dissociam do ribossomo

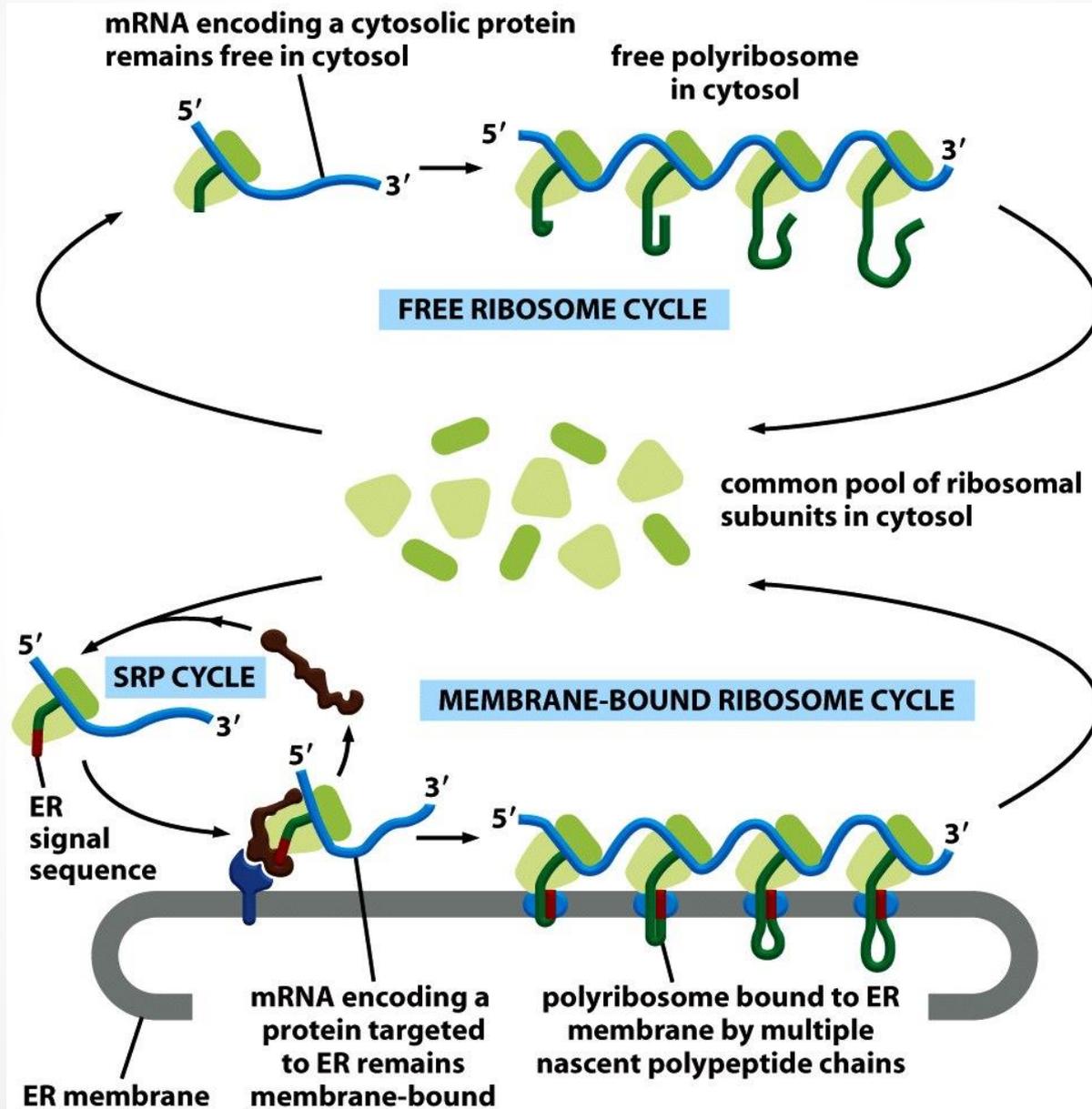
Poliribossomos e RE

O que determina se um ribossomo vai ser livre ou permanecer aderido ao RE?

Qual a diferença entre esses ribossomos?

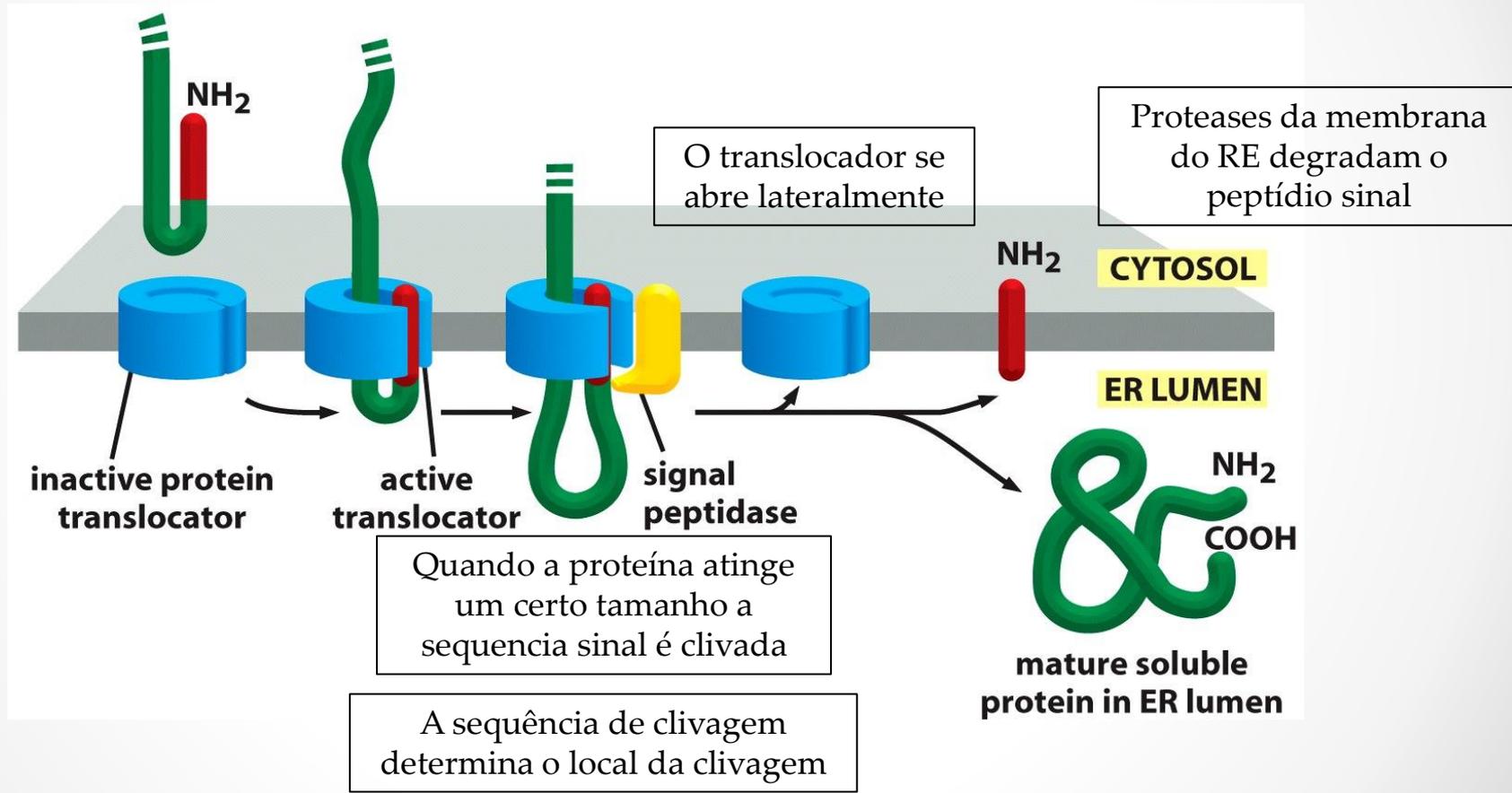


Poliribossomos e RE



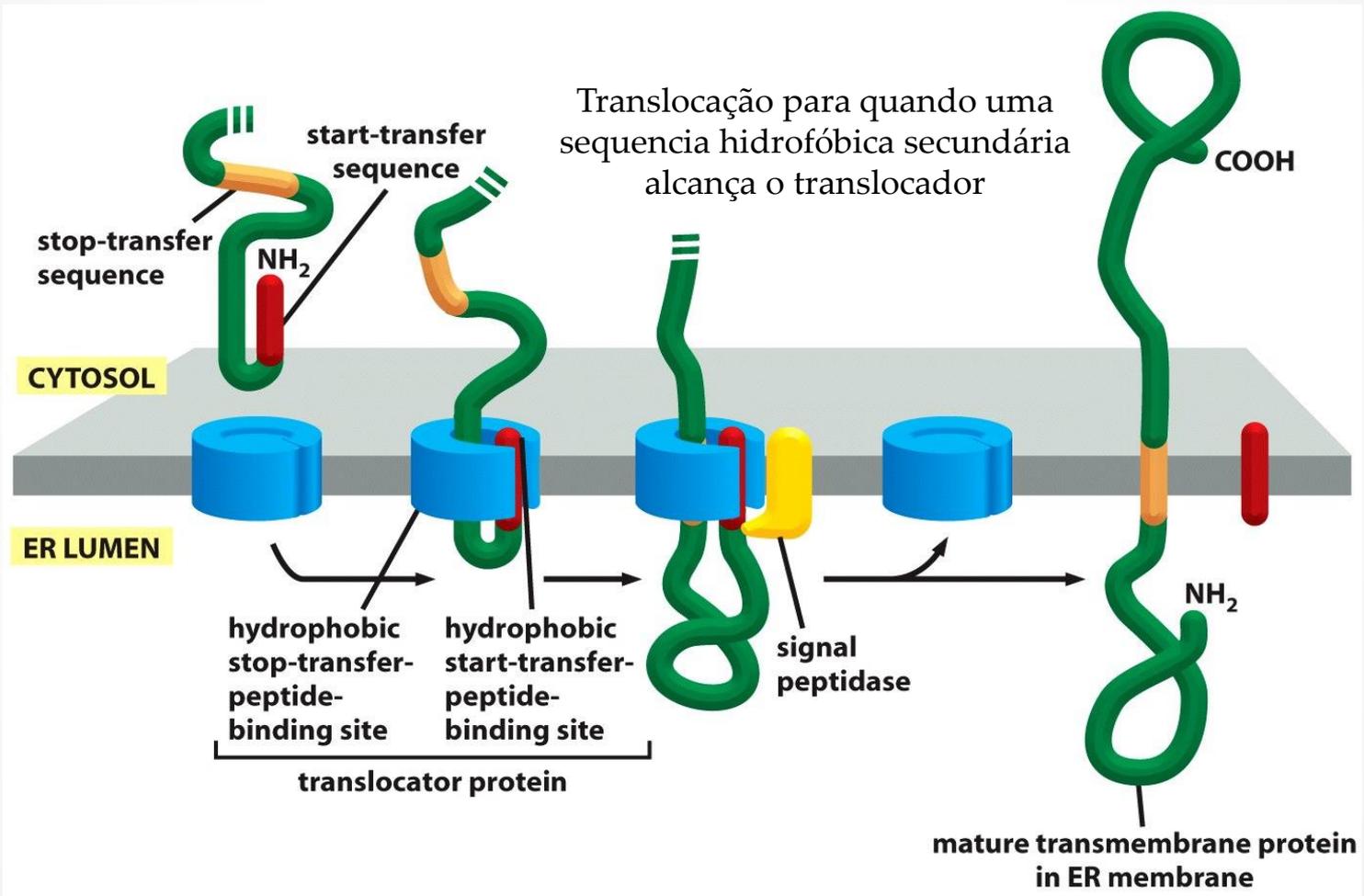
Clivagem da Sequência Sinal

Proteínas solúveis no lúmen do RE



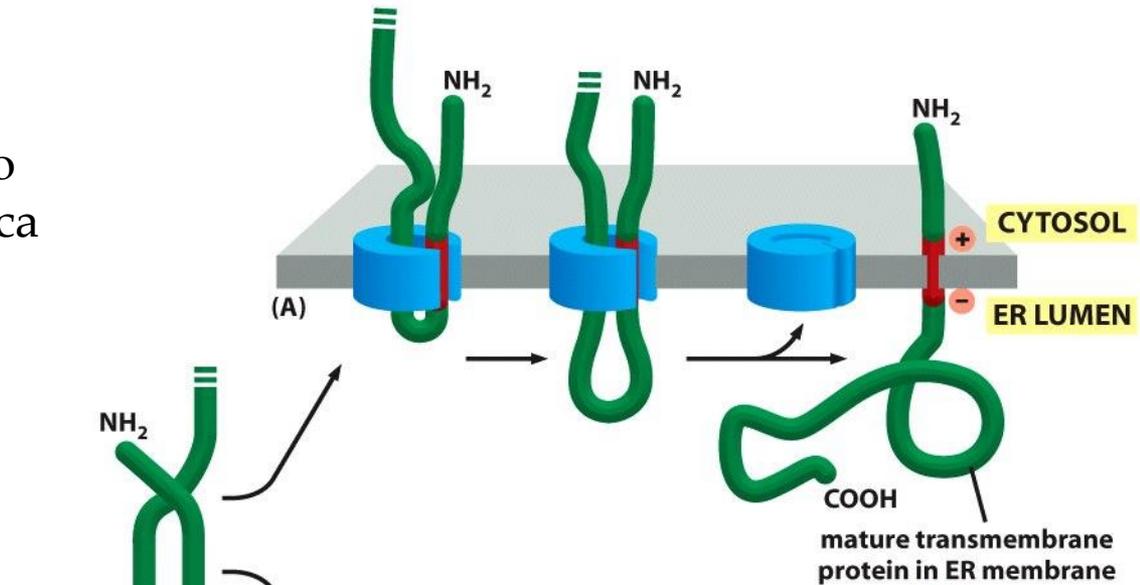
Proteínas de membrana Unipasso

Sequência de **parada** no meio da cadeia peptídica

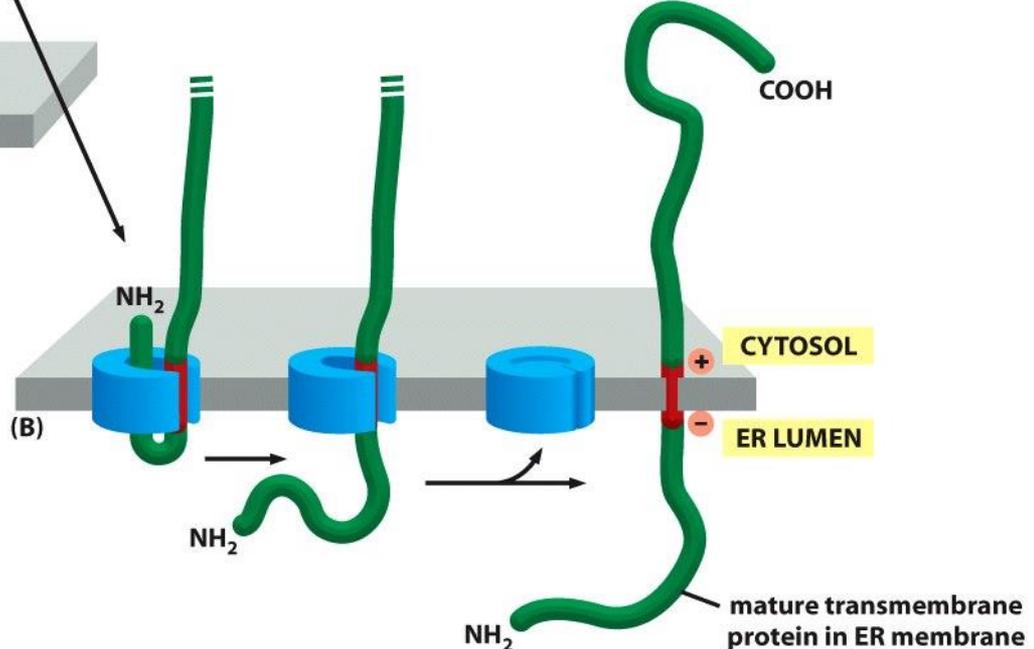


Proteínas de membrana Unipasso

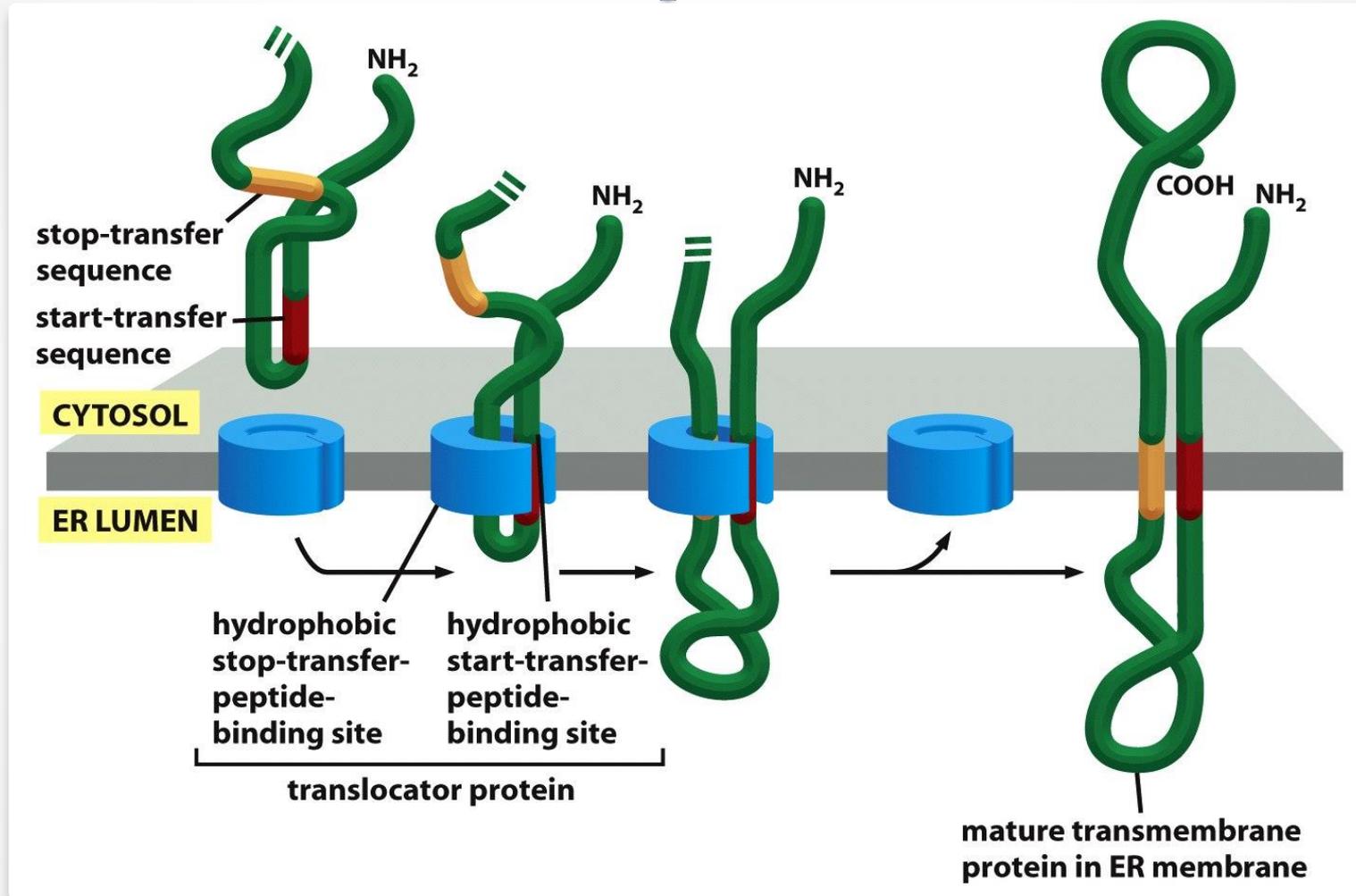
Sequência de **início** no meio da cadeia peptídica



A distribuição de cargas dos aminoácidos vizinhos à sequência sinal determinam qual extremidade da proteína será translocada



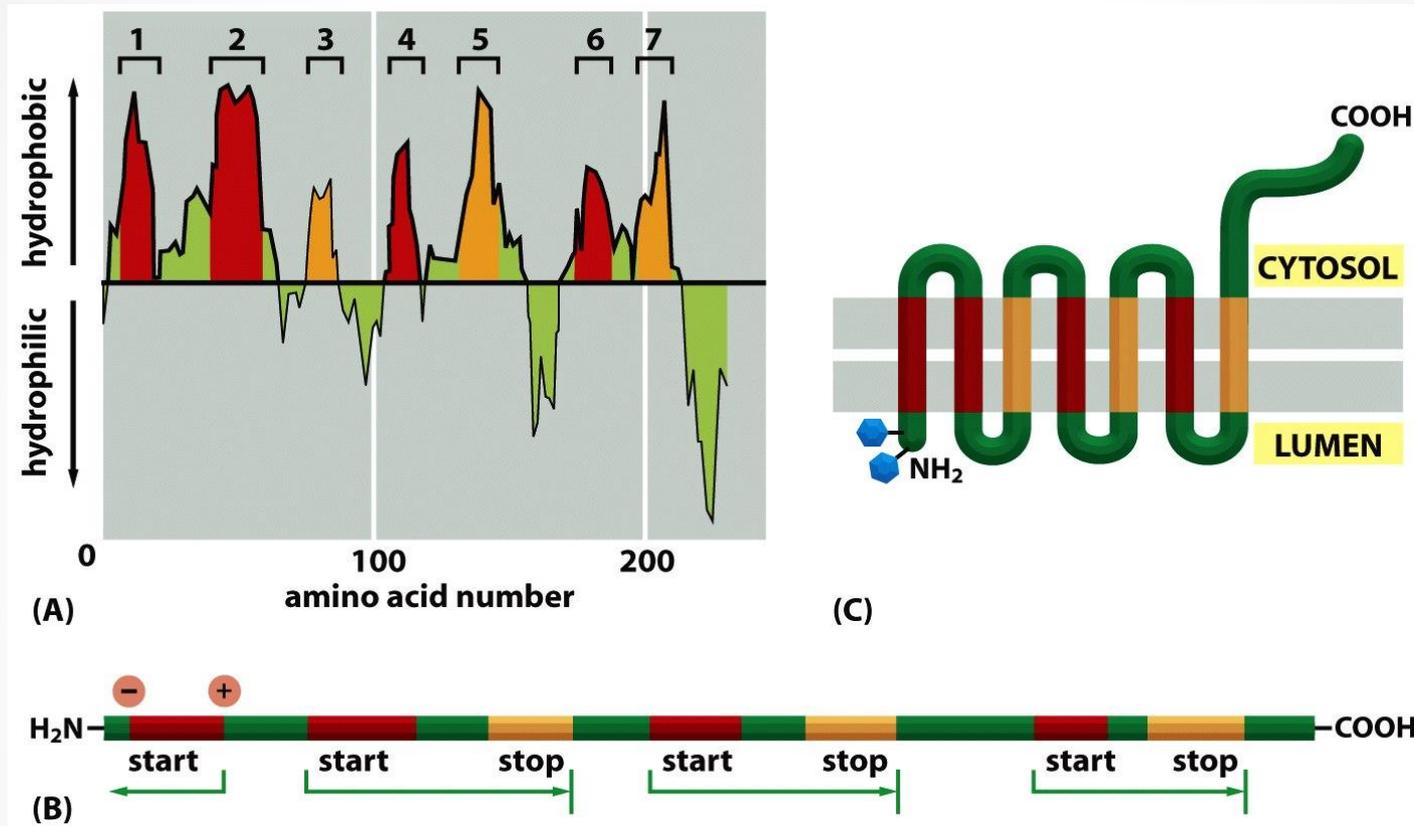
Proteínas de Membrana Multipasso



Proteínas com duas Passagens pela Membrana

Proteínas de Membrana Multipasso

Proteínas com **múltiplas** Passagens pela Membrana

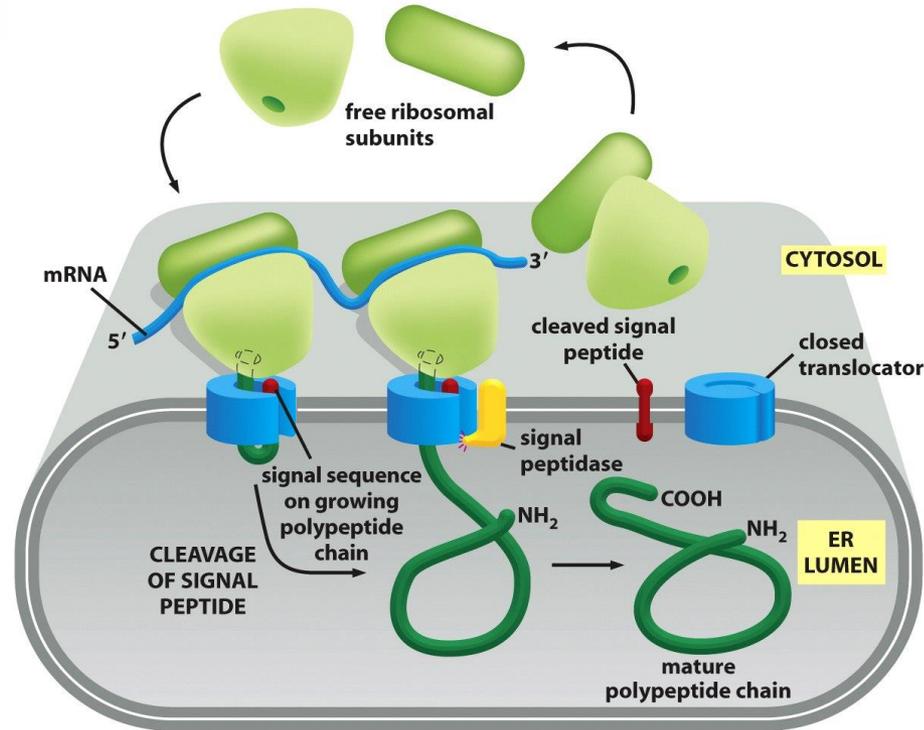


O que determina se uma sequência será de início ou parada de translocação?

Dessa forma é determinado qual será o lado citoplasmático de uma proteína e qual será o extracelular

Proteínas Residentes do RE

Algumas proteínas são residentes do RE e não estão “em trânsito” para nenhuma outra organela



Um sinal de retenção com 4 aminoácidos na extremidade C terminal

KDEL – lisina, asparagina, ácido glutâmico e leucina

Proteínas Residentes do RE

PDI – Proteína Dissulfeto Isomerase

Catalisa a formação de pontes dissulfeto (S-S) entre cisteínas

- Praticamente todas as cisteínas dos domínios não-citoplasmáticos estão formando pontes dissulfeto;
- Raramente uma ponte dissulfeto ocorre no domínio citoplasmático das proteínas.

Proteínas Residentes do RE

BiP

Proteína Chaperona

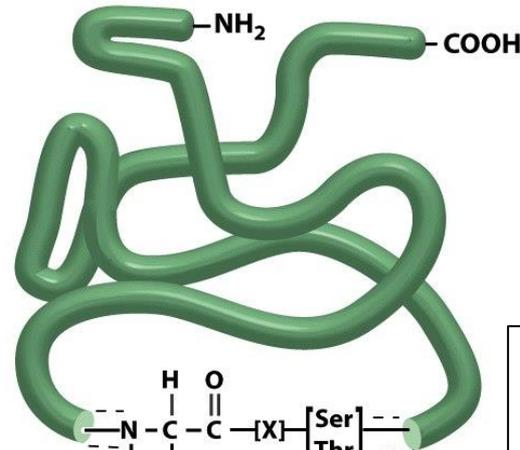
- Participa da translocação pós-traducional de proteínas;
- Reconhece proteínas dobradas incorretamente;
- Reconhece subunidades que ainda não se juntaram;
- Impede que proteínas defeituosas deixem o RE.

Reconhece domínios
hidrofóbicos expostos

Reconhece segmentos
polares e apolares alternados
Folha β

Glicosilação

A maioria das proteínas que passam pelo RE são Glicoproteínas

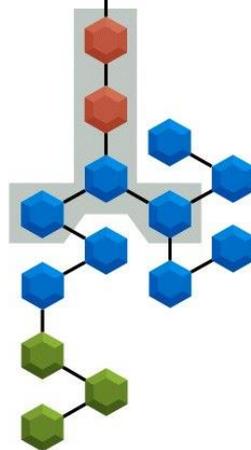


Asn-X-Ser ou Asn-X-Thr

X= qualquer aa exceto prolina

Existem menos Asn na face luminal do que na face citosólica

Um oligossacarídeo com 14 açúcares é transferido em bloco para a cadeia lateral de uma asparagina



glucose = 

mannose = 

N-acetylglucosamine = 

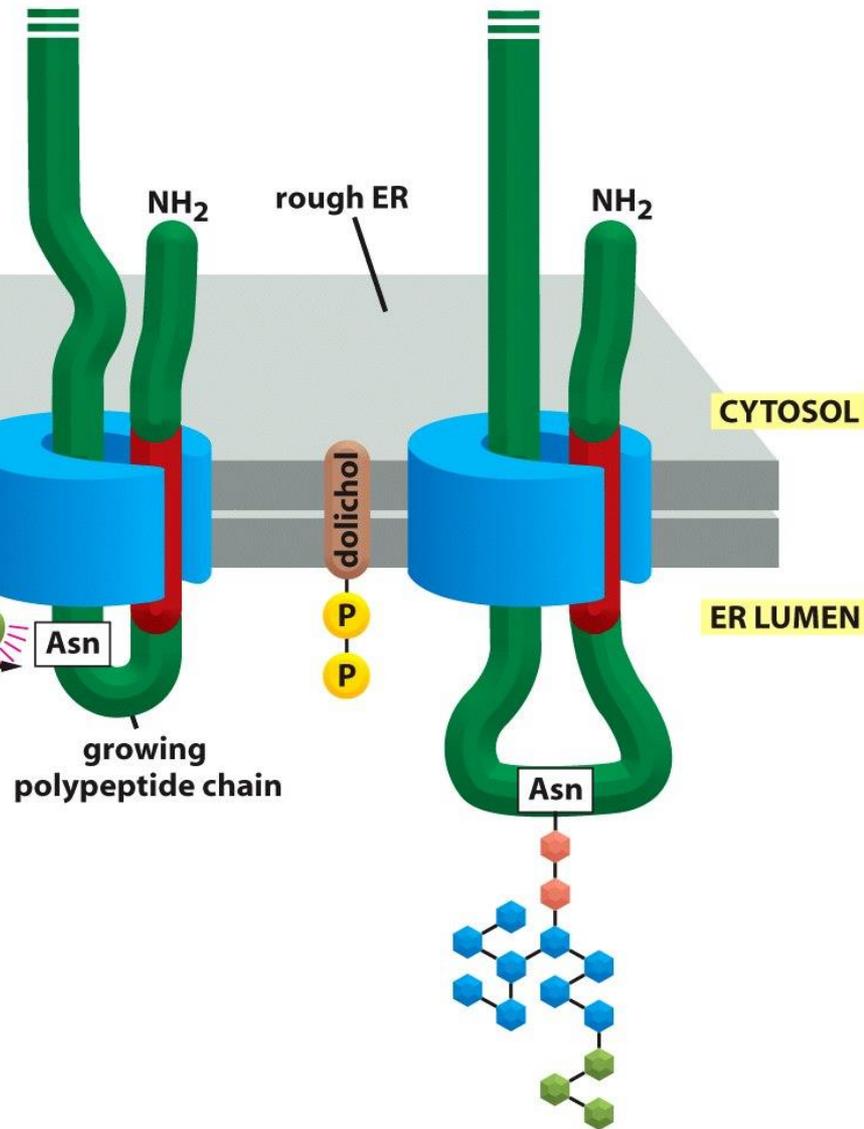
Glicosilação

Cada translocador possui uma oligossacaril transferase associada

oligosaccharyl transferase

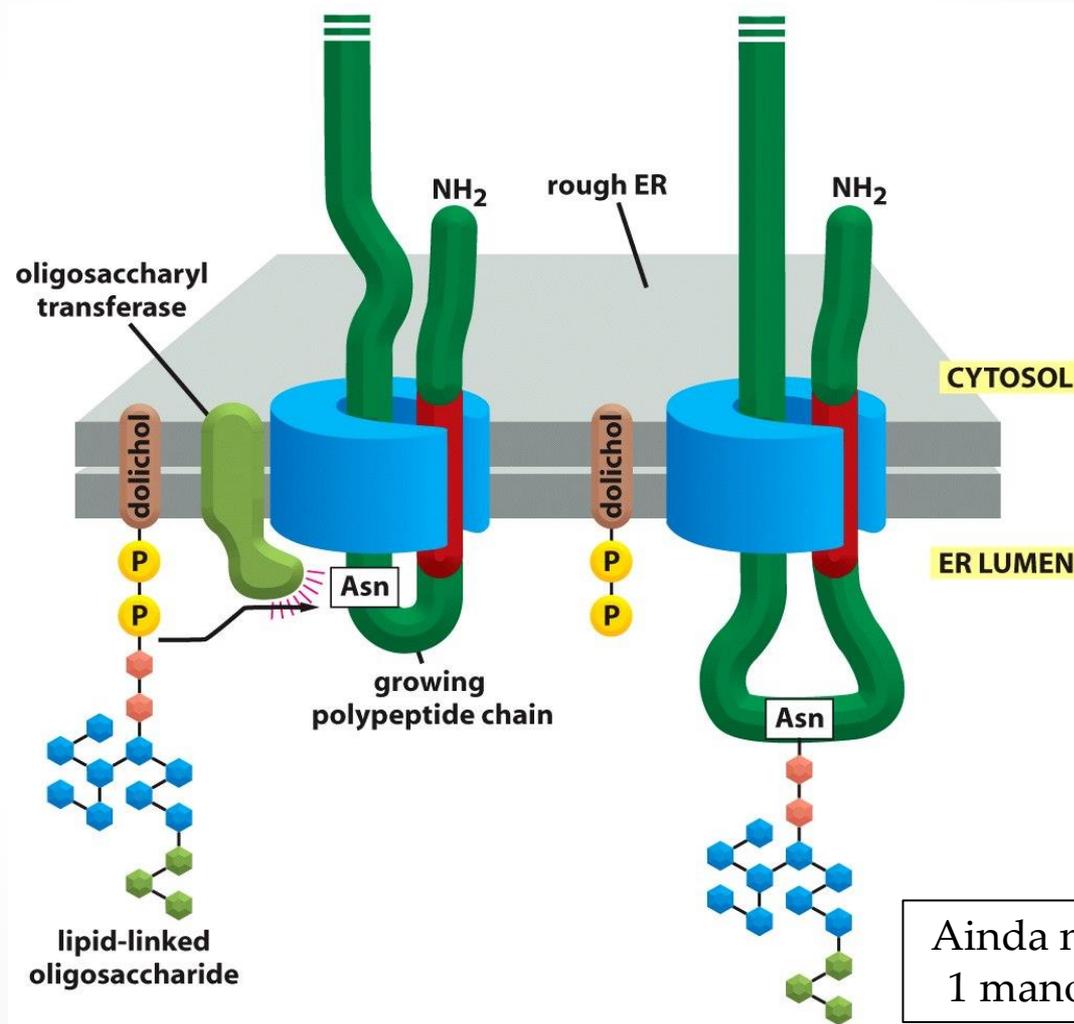
Ligação de alta energia

lipid-linked oligosaccharide



Processamento do Oligossacarídeo

Uma grande diversidade de oligossacarídeos é produzida a partir do processamento do oligossacarídeo precursor



Importância da Glicosilação

A glicosilação parece ser importante para que as proteínas se dobrem corretamente

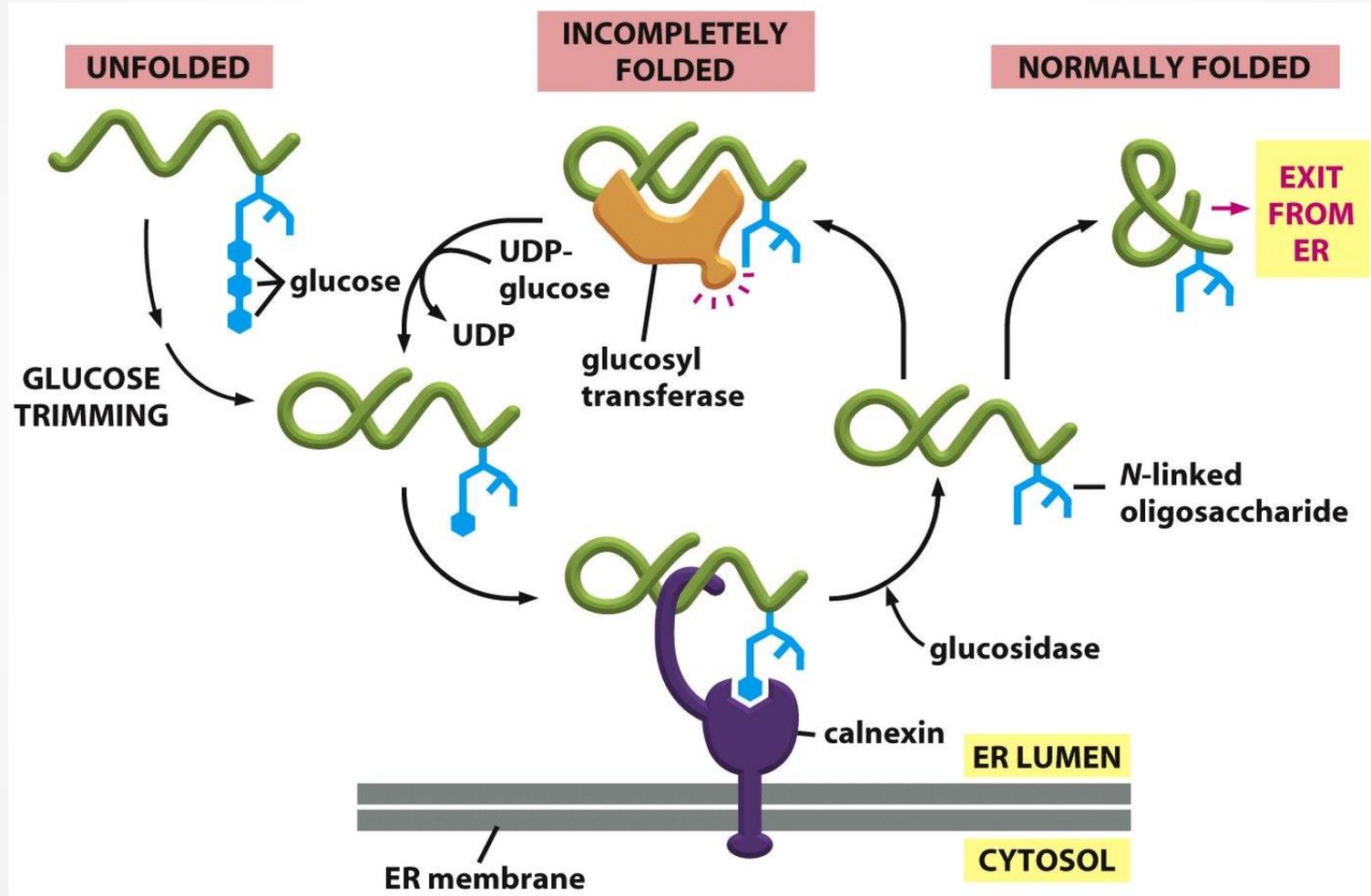
Como se o local da glicosilação parece não importar?

Calnexina e Calreticulina

- Chaperonas (Lectinas);
- Ligam-se aos oligossacarídeos e mantêm as proteínas no RE;
- Impedem que proteínas não dobradas corretamente se agreguem;

Ligam-se apenas a oligossacarídeos que contém apenas *uma* glicose

Importância da Glicosilação



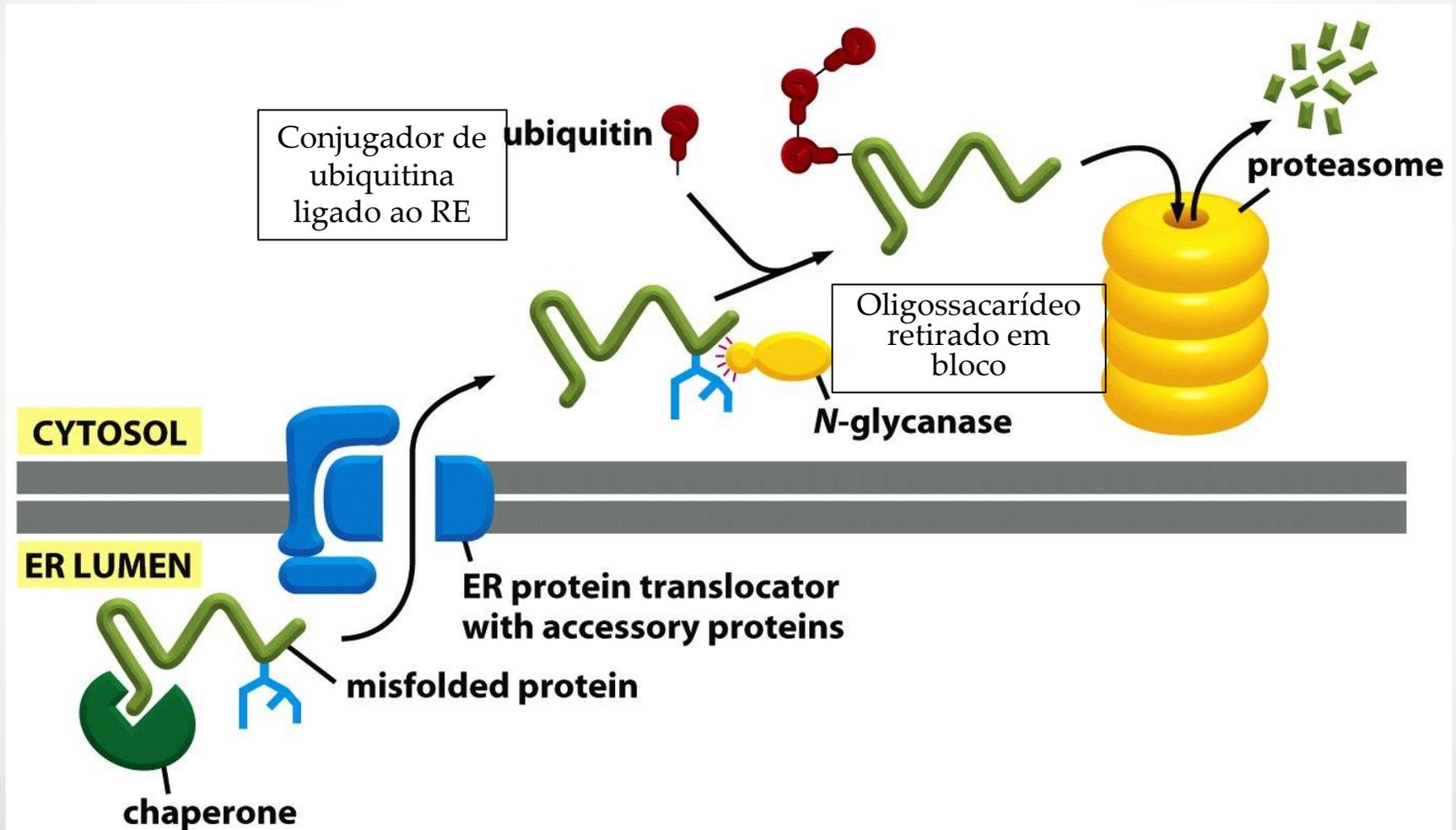
Muitas proteínas não alcançam sua forma final correta e precisam ser degradadas no citosol

Proteínas Dobradas
Incorretamente

Como essas proteínas
são translocadas
(deslocadas)?

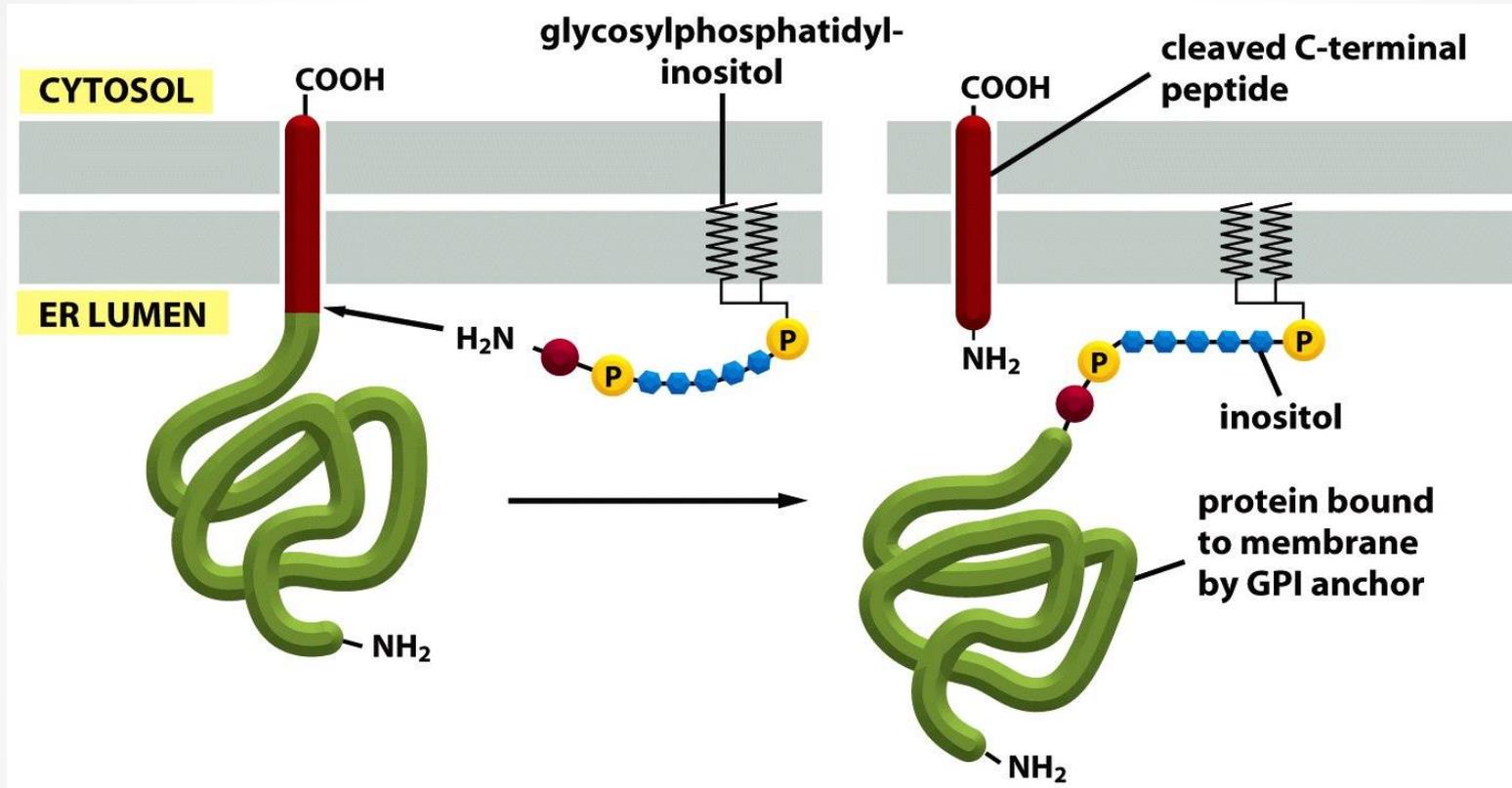
Proteínas Dobradas Incorretamente

Uma manose retirada por uma manosidase lenta funciona como *timer*



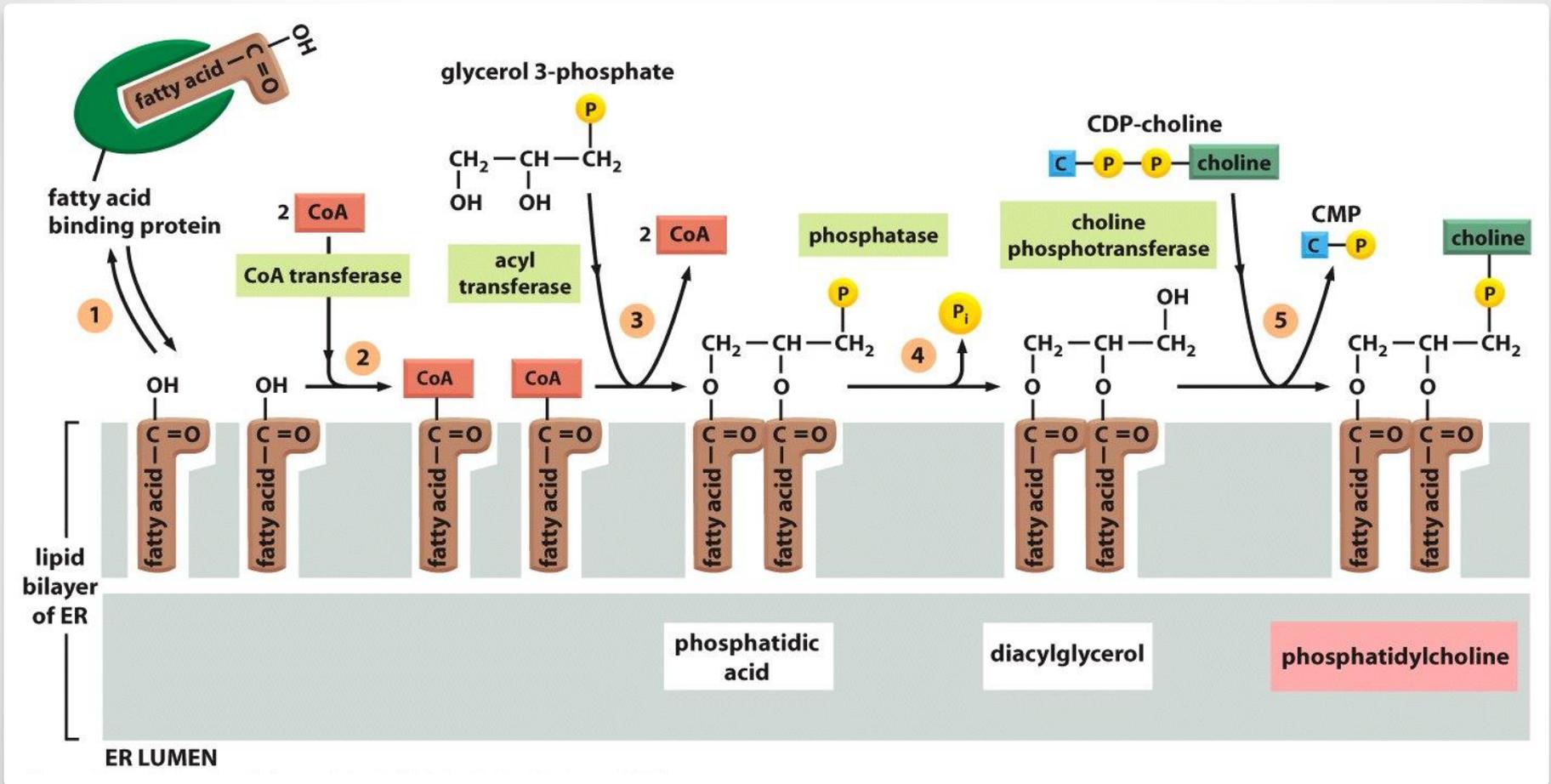
Proteínas Ligadas ao GPI

A sequência C-terminal sinaliza para a ligação com o GPI



As proteínas ligadas ao GPI podem ser rapidamente removidas e liberadas da membrana plasmática

Síntese de Lipídeos de Membrana

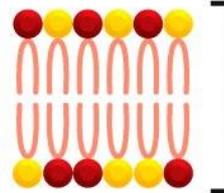


A maioria dos lipídeos de membrana são produzidos no RE

Distribuição de Lipídeos no RE

(A) ER MEMBRANE

CYTOSOL

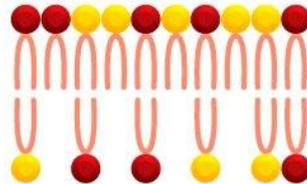


lipid bilayer of
endoplasmic
reticulum

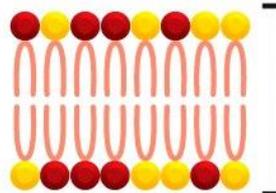
ER LUMEN



PHOSPHOLIPID SYNTHESIS
ADDS TO CYTOSOLIC HALF
OF THE BILAYER



SCRAMBLASE CATALYZES
FLIPPING OF PHOSPHOLIPID
MOLECULES

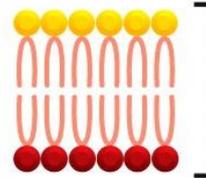


symmetric growth
of both halves
of bilayer

Distribuição de Lipídeos na Membrana Plasmática

(B) PLASMA MEMBRANE

CELL EXTERIOR

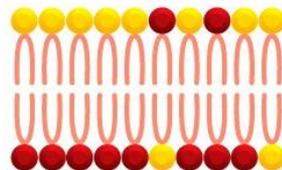


asymmetric lipid bilayer of plasma membrane

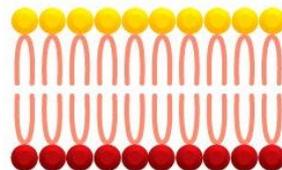
CYTOSOL



DELIVERY OF NEW MEMBRANE BY EXOCYTOSIS

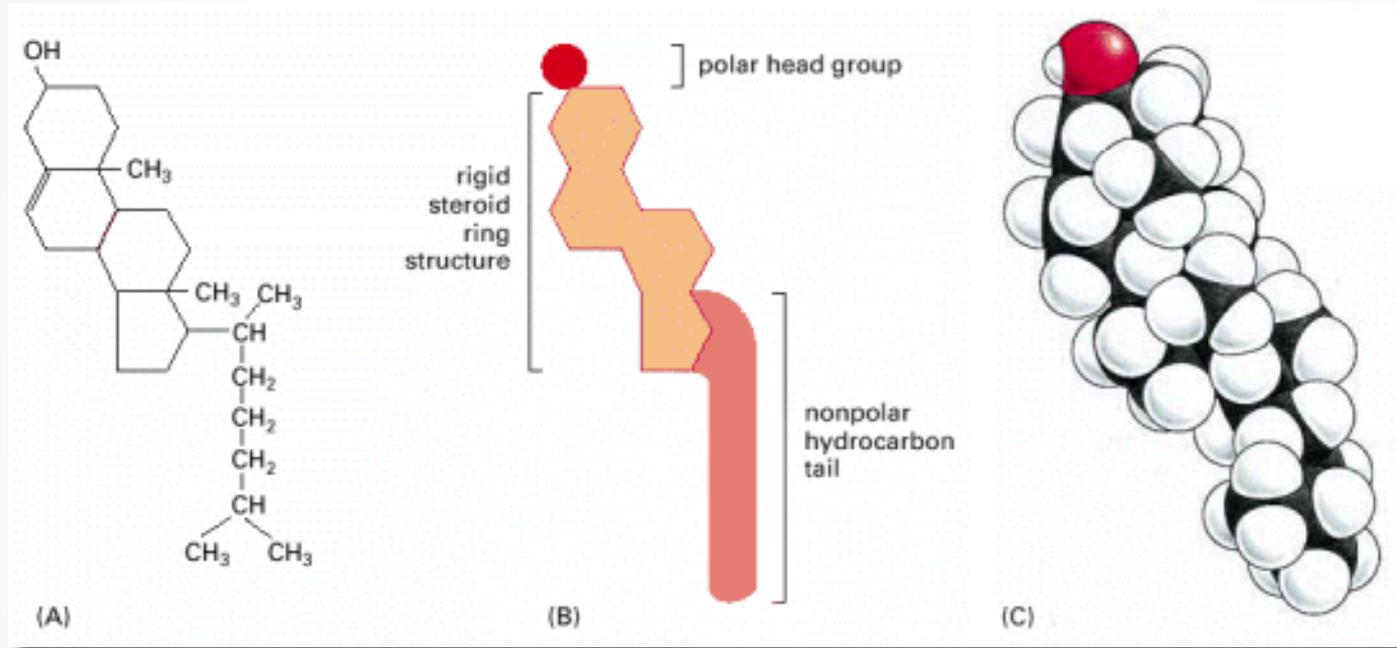


FLIPPASE CATALYSES FLIPPING OF SPECIFIC PHOSPHOLIPIDS TO CYTOPLASMIC MONOLAYER



Síntese de Colesterol

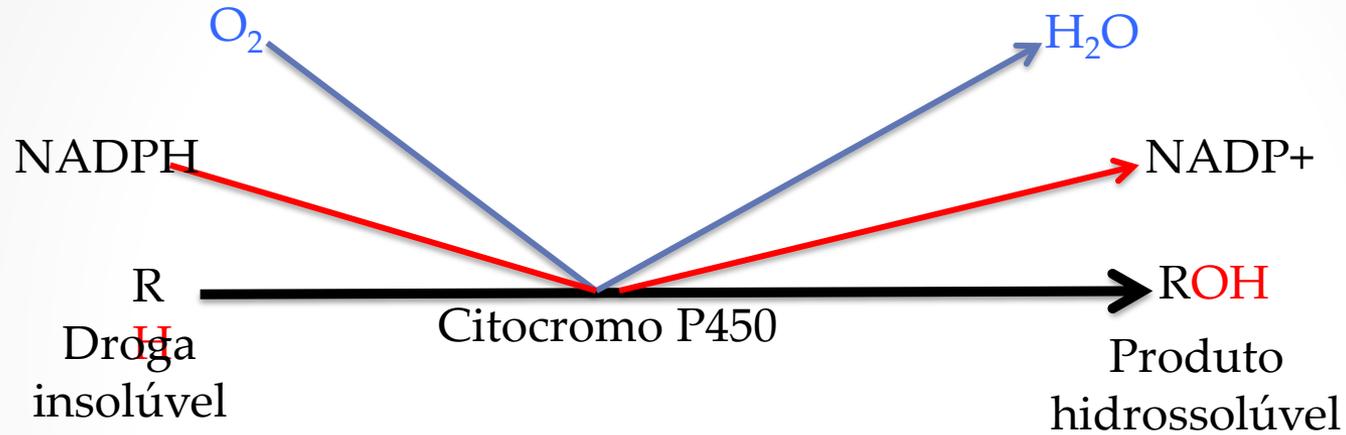
Ocorre no RE a partir do acetil Co-A, formando o Ciclopentanoperidrofenantreno



Produção de ácidos biliares e hormônios esteroides

Destoxificação

Retículo Endoplasmático Liso



Glicogenólise

Degradação do glicogênio

