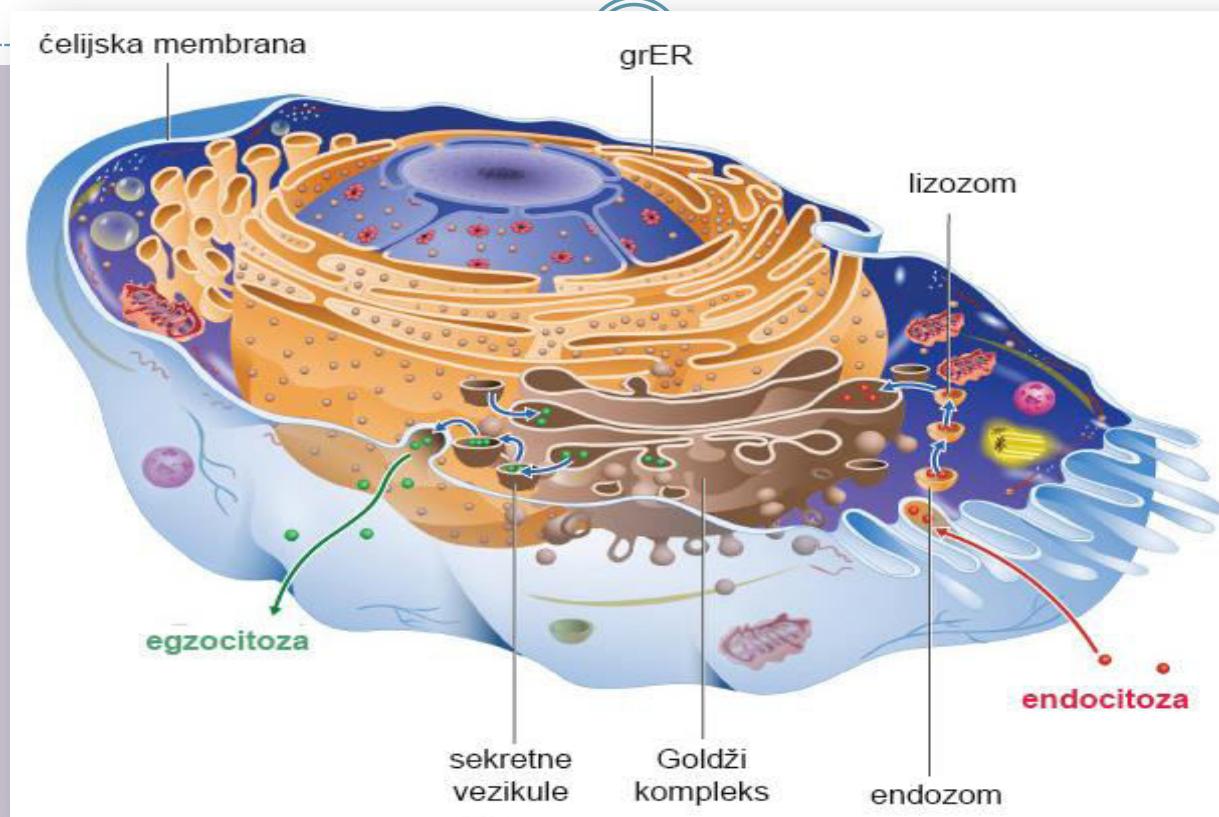
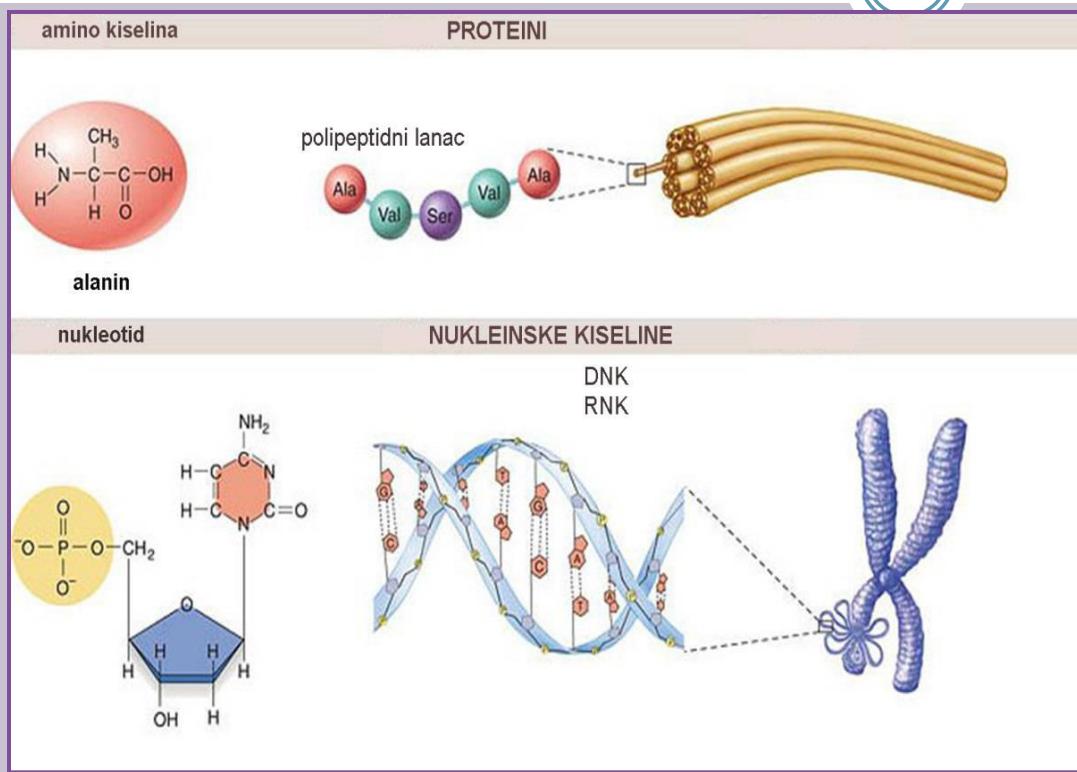


RIBOZOMI, ENDOPLAZMIN RETIKULUM I KOMPLEKS GOLDŽI



KOMPARTMENTI ĆELIJE UKLJUČENI U SINTEZU I OBRADU PROTEINA I LIPIDA

Od DNK do proteina



Osobine i funkcije proteina određeni sekvencom AK koja i određuje način uvijanja polipeptidnog lanca i time determiniše oblik i hemijske osobine

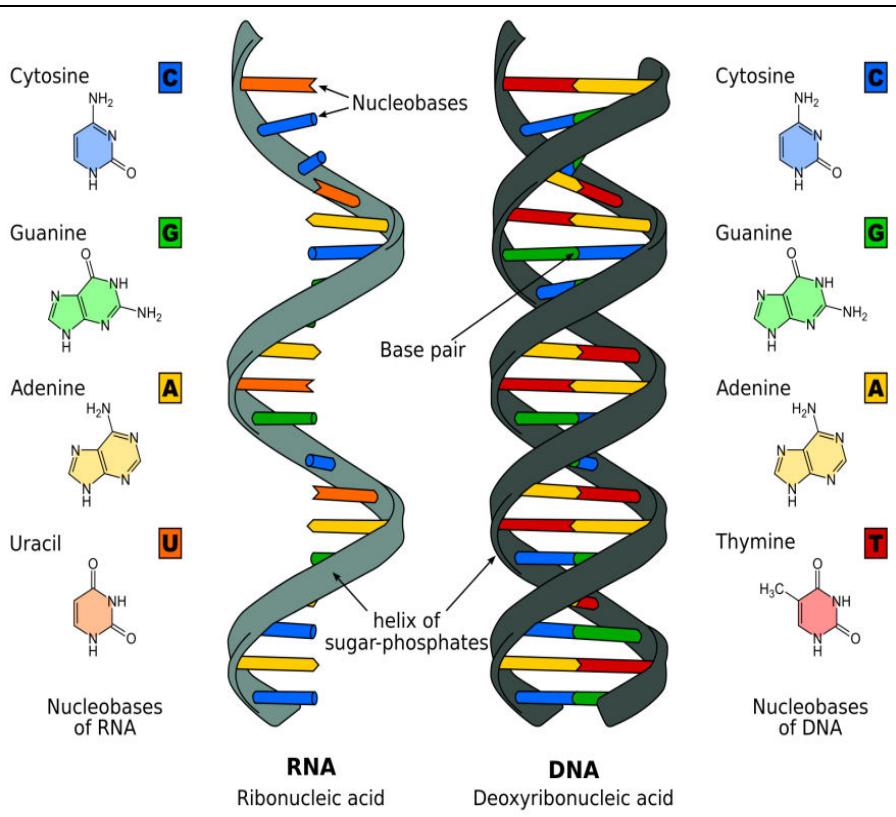
Alfabet od samo 4 slova
(A,T,G,C) = nukleotidi DNK
Raznovrsnost?!

Molekul DNK

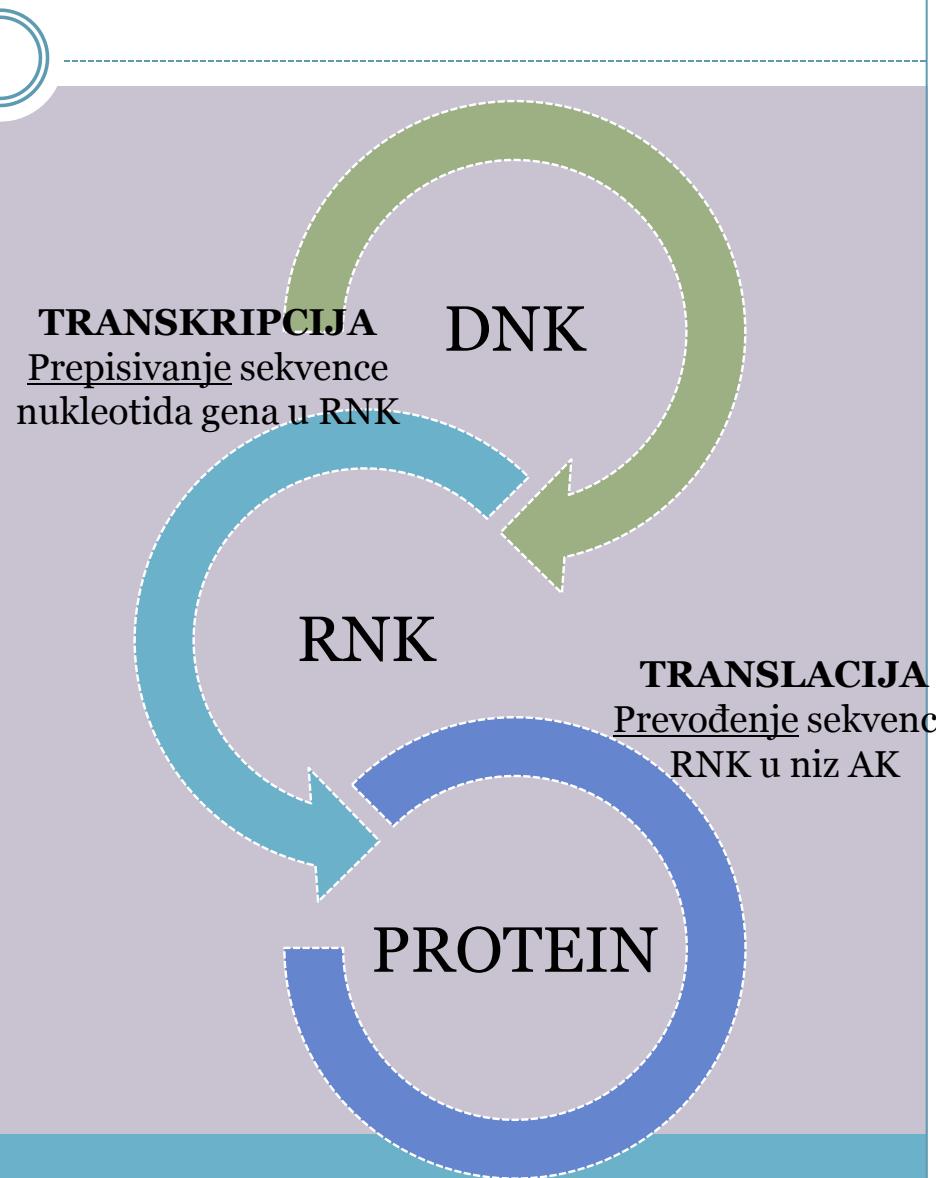
Molekul RNK

PROTEIN

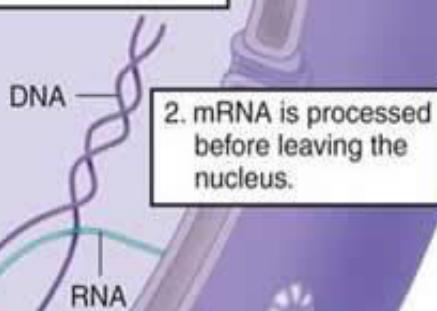
CENTRALNA DOGMA MOLEKULARNE BIOLOGIJE



- RIBOZA – DEZOKSIRIBOZA
- URACIL
- RNK – jedan lanac (mogućnost foldovanja i nošenja više funkcija, poput katalitičke funkcije)



1. DNA in nucleus serves as a template for RNA transcription.

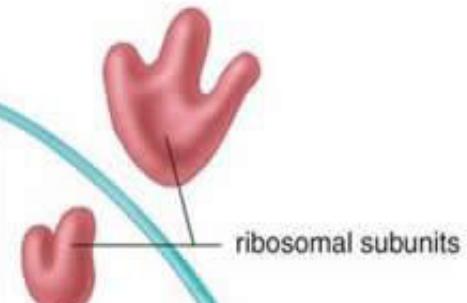


2. mRNA is processed before leaving the nucleus.

3. When mRNA is formed it has codons.

mRNA

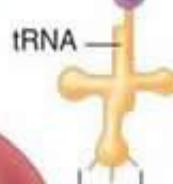
4. mRNA moves into cytoplasm and fits between ribosome subunits. Translation occurs at the ribosomes.



peptide chain

amino acids

7. Peptide chain is transferred from resident tRNA to incoming tRNA.



5. tRNA with anticodon carries amino acid to mRNA.



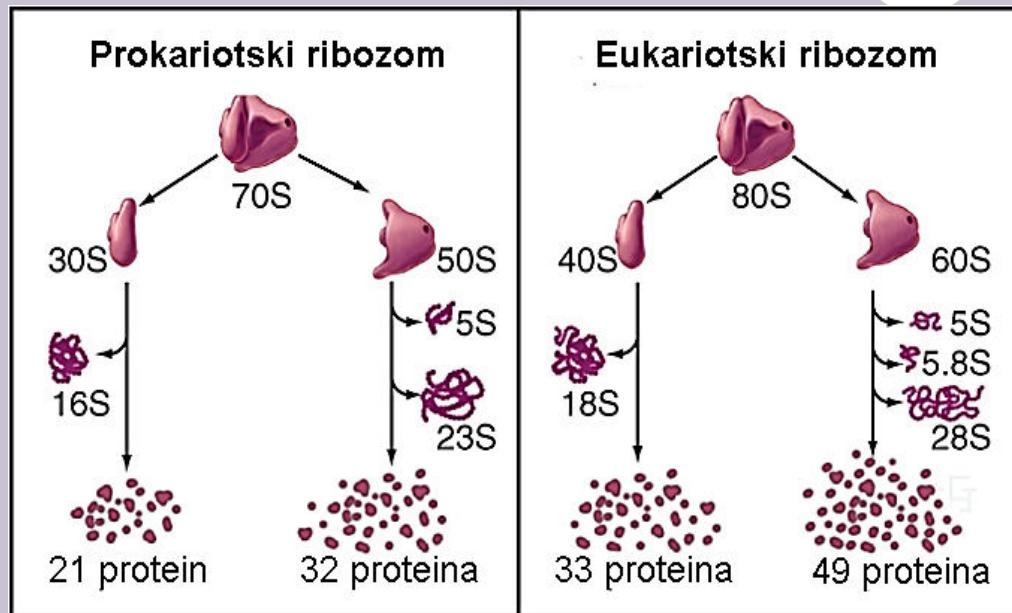
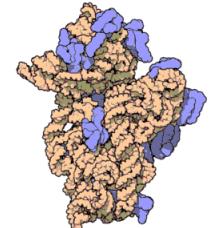
8. tRNA departs and will soon pick up another amino acid.

codon

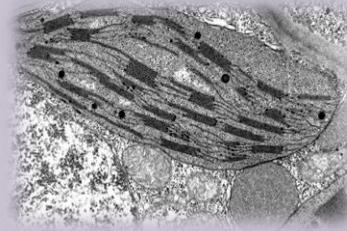
6. Anticodon-codon complementary base pairing occurs.

ribosome

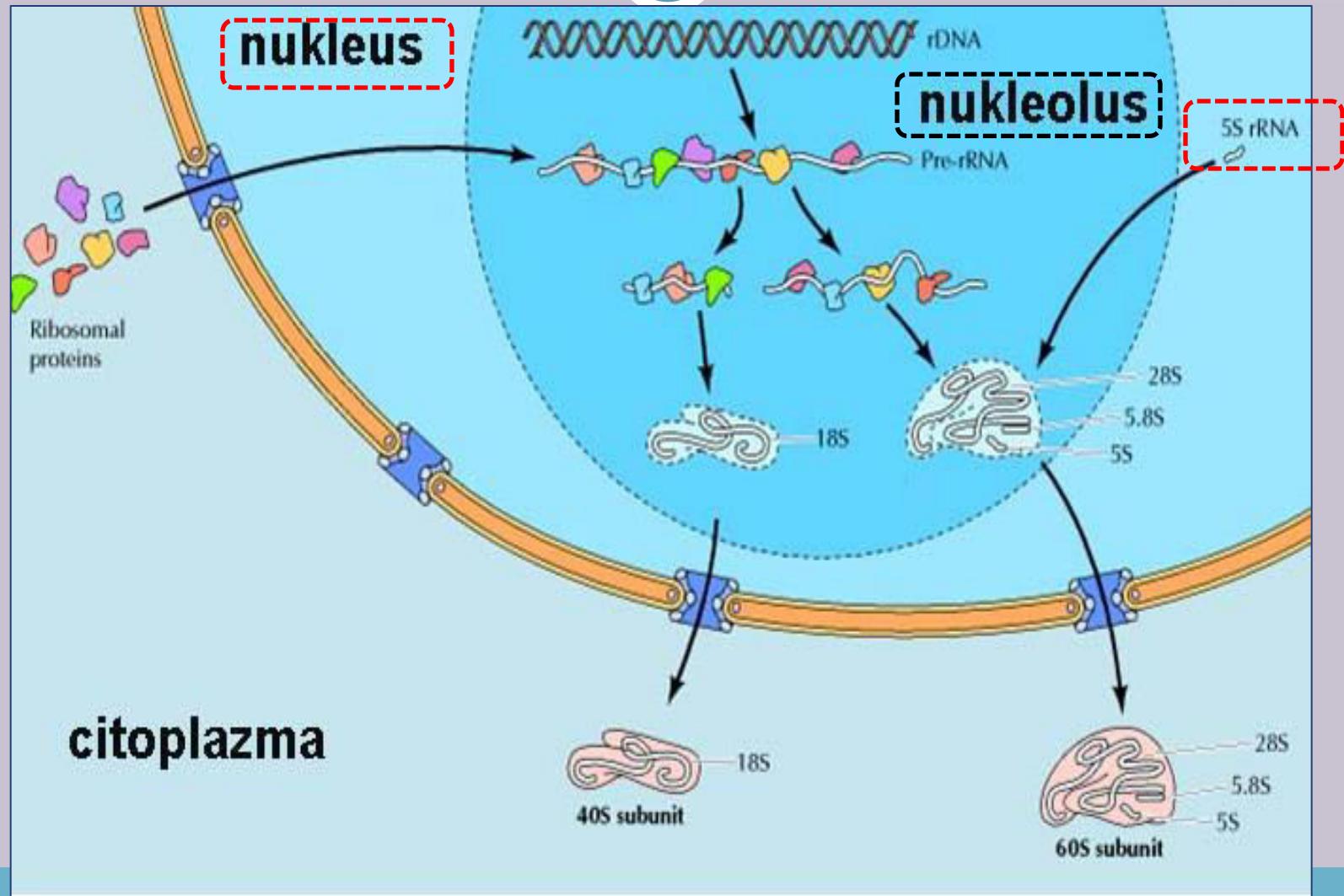
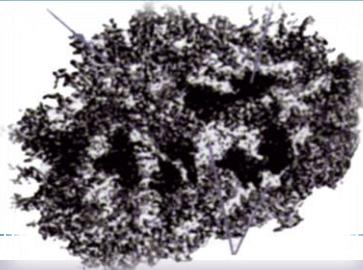
RIBOZOMI

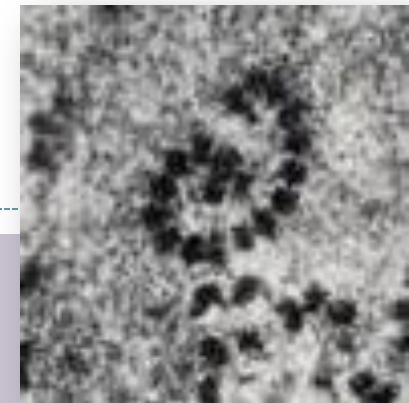
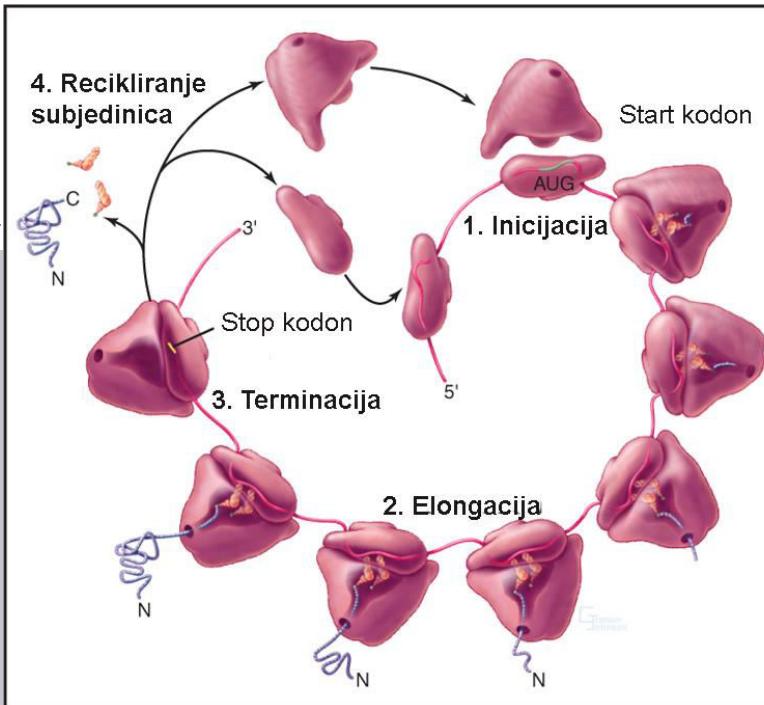
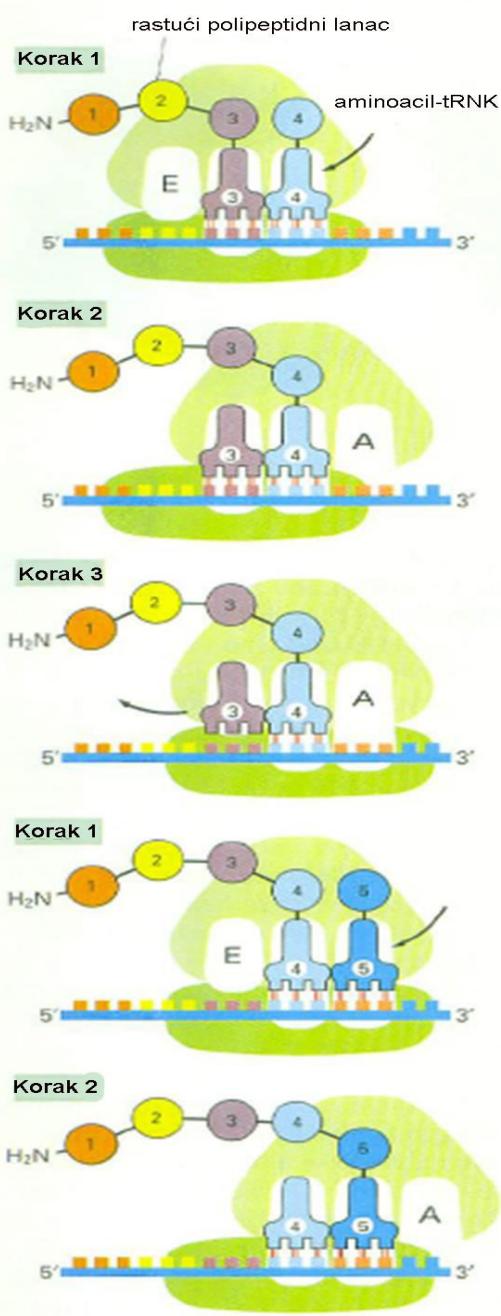


- Nemembranske organele
- Uloga u sintezi proteina
- Prisutni kod prokariota i eukariota
- Veličina – 25 nm, nevidljivi pod SM
- Blaga bazofilija u citoplazmi
- TEM – male, tamne, „slobodne“ (nisu vezane za membrane) partikule u citoplazmi, matriksu mitohondrija i stromi hloroplasta. Male, tamne partikule vezane za membranu ER i SMNO

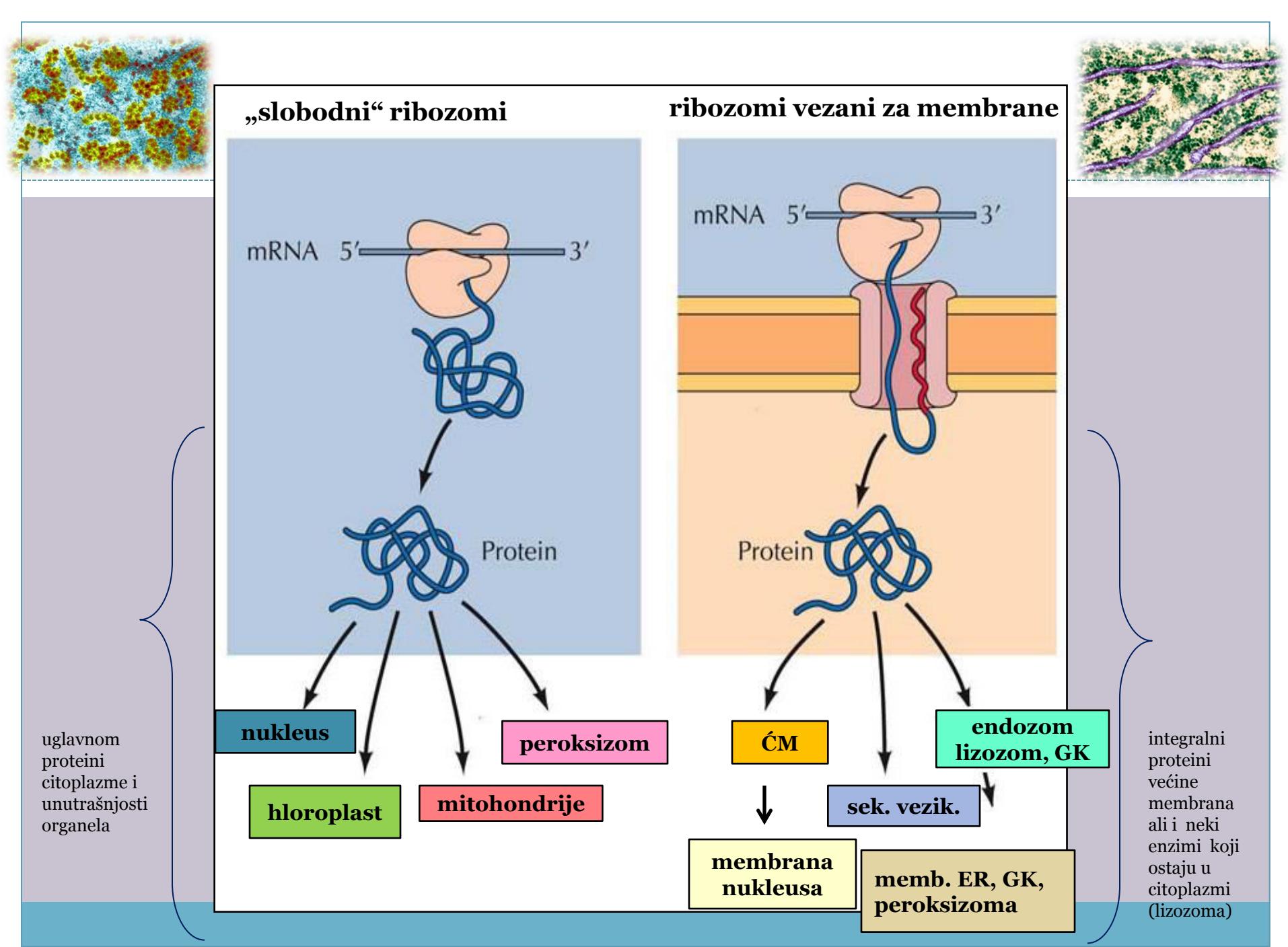


Biogeneza ribozoma



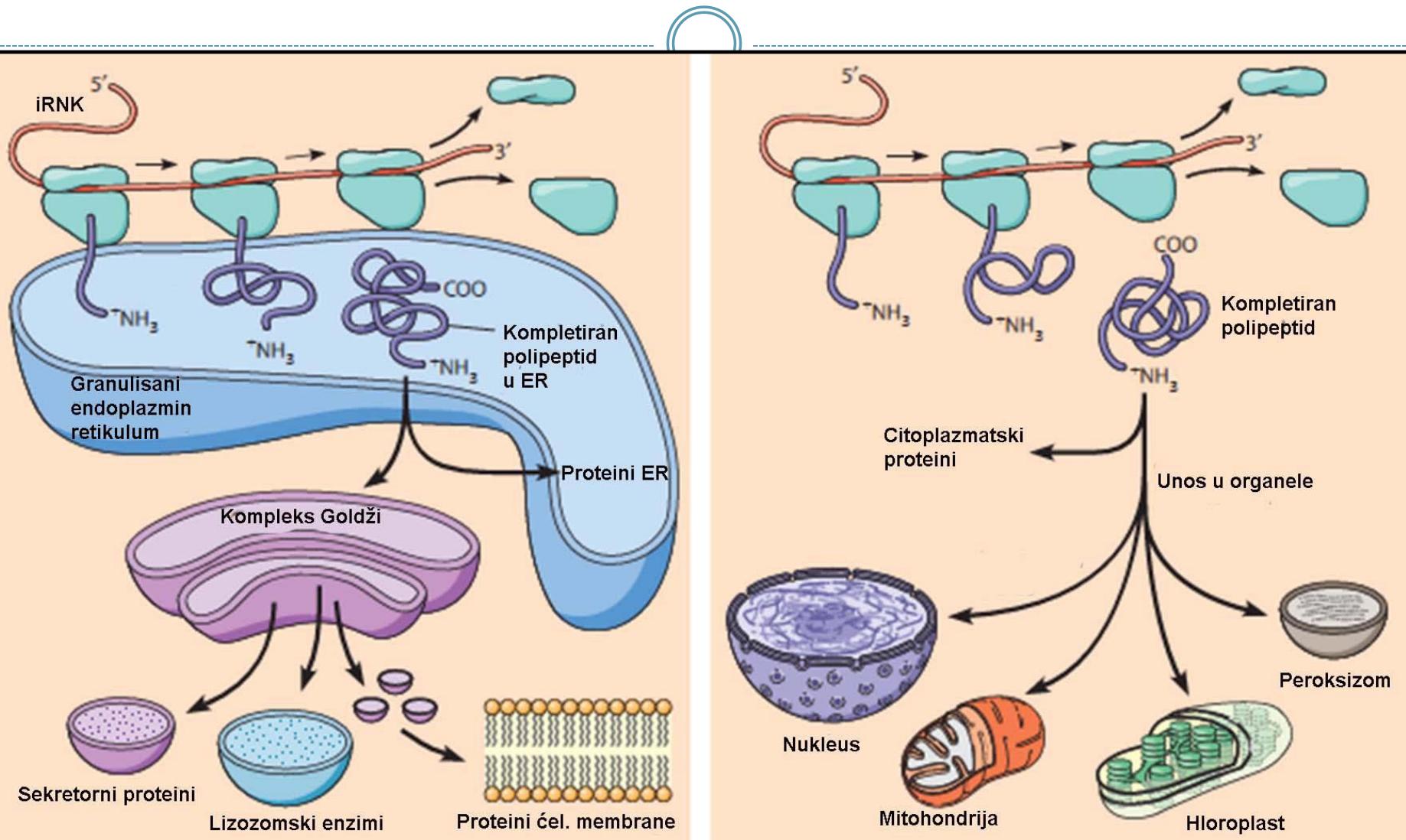


- Ribozomi se najčešće u ćeliji organizuju u *poliribozome*
- TEM – nit (iRNK) sa malom subjedinicom okrenutom ka unutrašnjosti
- Broj ribozoma u polizomu zavisi od dužine iRNK, dužine polu-života, potreba ćelije i drugih faktora
- Forma „kruga“ i „spirale“ čime se fizički približavaju krajevi iRNK
- Da li su poliribozomi „nasumično“ pozicionirani u citoplazmi ??

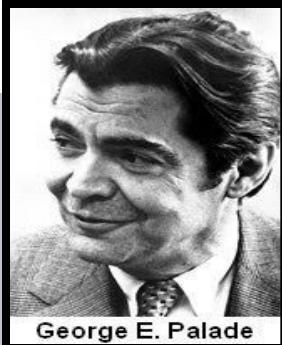


Membranski poliribozomi – KOTRANSLACIONI TRANSPORT

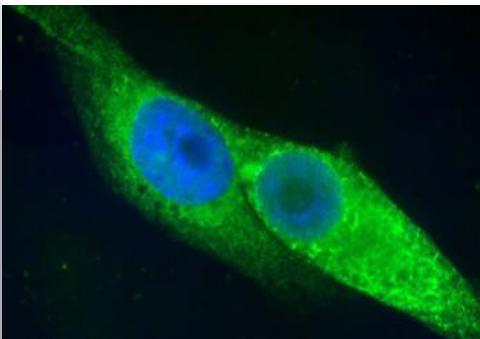
Slobodni poliribozomi - POSTTRANSLACIONI TRANSPORT



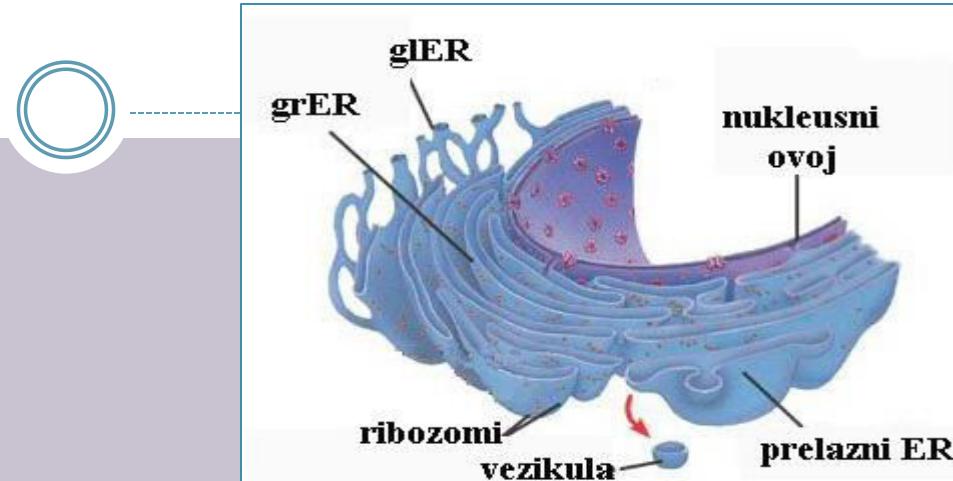
ENDOPLAZMIN RETIKULUM



George E. Palade

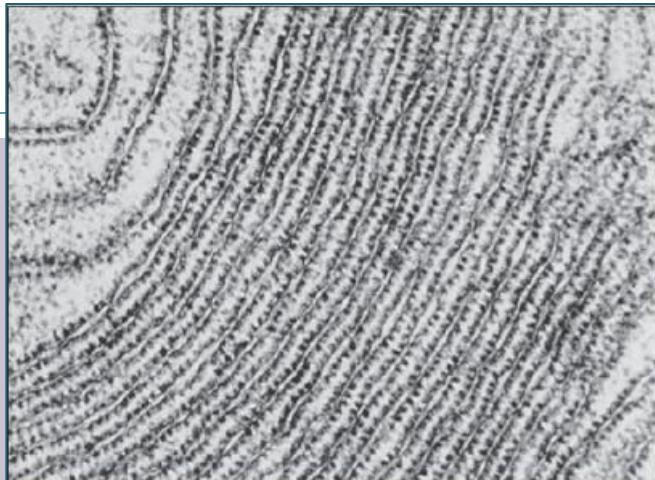


Endoplasmic - "unutar plazme"
Retikulum - mreža

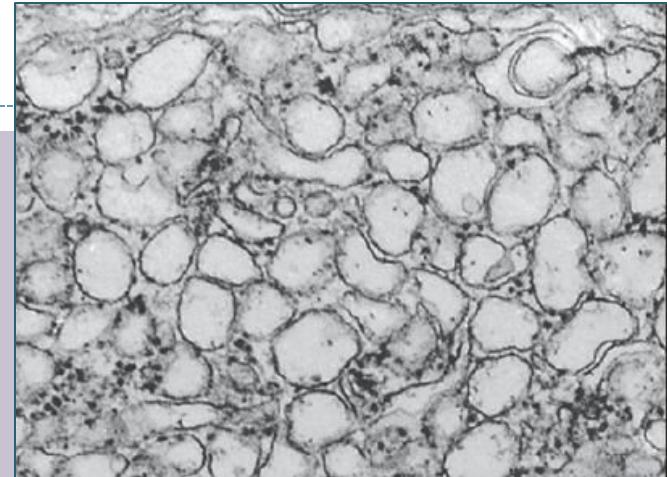


- Najveći membranski kompartiment
- Organizacija - labyrinrt povezanih tubula i spoljoštenih sakula (kesa)
- Jedna membrana i unutrašnjost koju zatvara (lumen, cisterna)
- Pozicioniranje ER – mikrotubule i njihovi molekulski motori
- Na nivou SM, ER se uočava samo pri specijalnim bojenjima
- Poreklo
- Centralna uloga u sintezi proteina i lipida
- Na nivou TEM – dve forme ER:
 - Glatki ER
 - Granulisani ER
- Prisutnost sve eukariotske ćelije (osim eritrocita)
- Više od 50% svih membrana u ćeliji - tip ćelija i potrebe ćelija

Granulisani ER – grER



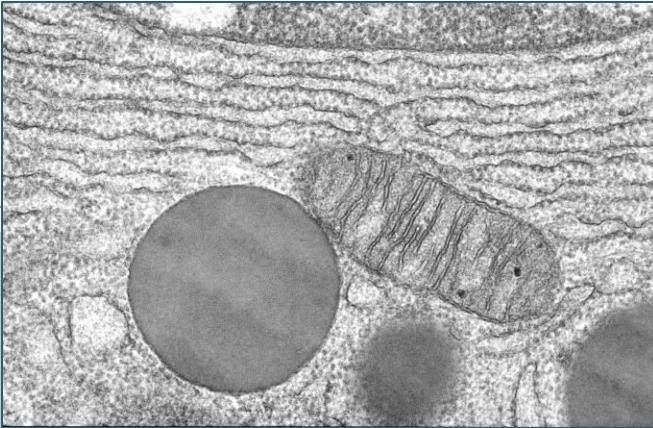
Glatki ER – glER



- Poseduje poliribozome na membrani
- U vidu spljoštenih, pločastih, paralelno naslaganih kesa (sakula)
- U kontinuitetu sa NO
- *ER-eksportni domen* (tranzicioni domen) tubulovezikularna forma, bez polizoma – na mestu odvajanja vezikula sa ER na kompleksu Goldži

- Ne poseduje poliribozome na membrani
- U vidu tubularnih, nepravilno raspoređenih kesa i vezikula

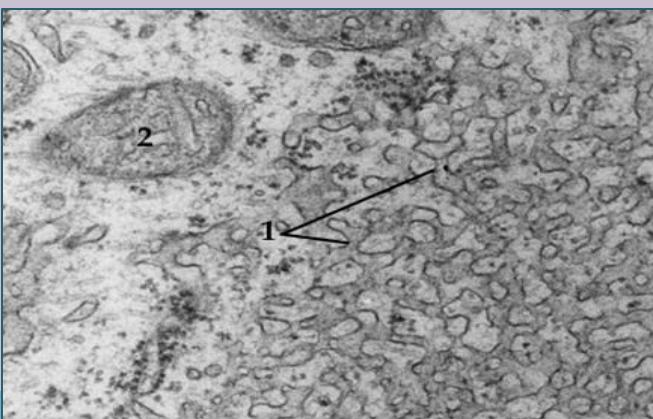
Sve ćelije poseduju oba tipa ER – različit odnos, zavisno od funkcije ćelije



pankreas



hepatocit

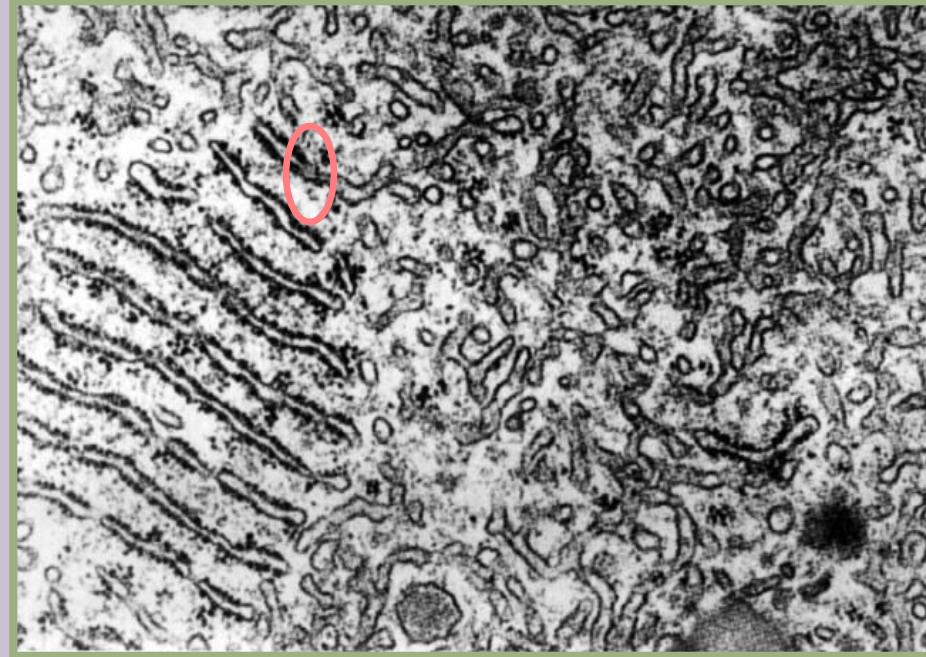


ć. ovarijuma

Količina
grER i
glER zavisi
od potreba
ćelije:

prelazak
jedne
forme u
druge
podrazu-
meva
ugradnju
specifičnih
proteina
kao i
strukturne
promene

grER i glER su u kontinuitetu



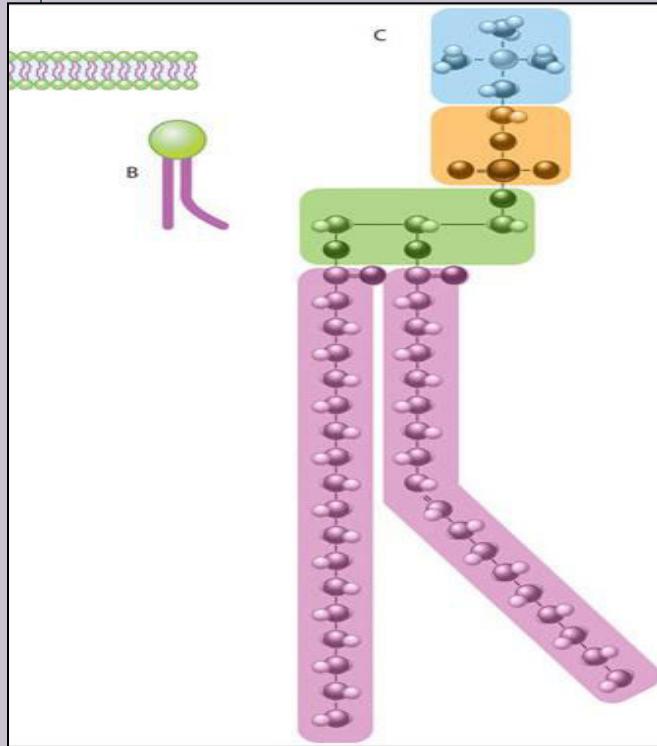
Funkcije glER:



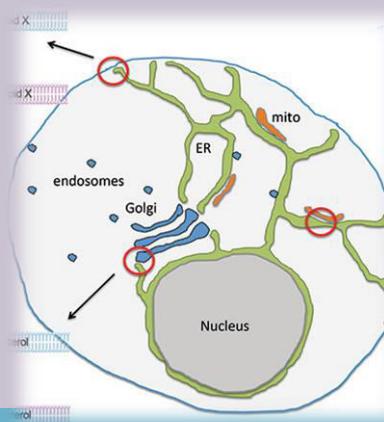
- Sinteza membranskih lipida
- Sinteza lipidnih tela
- Sinteza steroida – holesterol (jetra) i steroidni hormoni (steroidogene ćelije)
- Detoksikacija (u jetri) – barbiturati, policiklični ugljovodonici
- Metabolizam ugljenih hidrata – razgradnja glikogena (jetra, bubrezi, creva)
- Deponovanje jona kalcijuma – sarkoplazmin retikulum (mišićne ćelije)

Funkcije glER:

- Sinteza membranskih lipida
- Sinteza lipidnih tela



FOSFOLIPIDI
GLIKOLIPIDI
HOLESTEROL



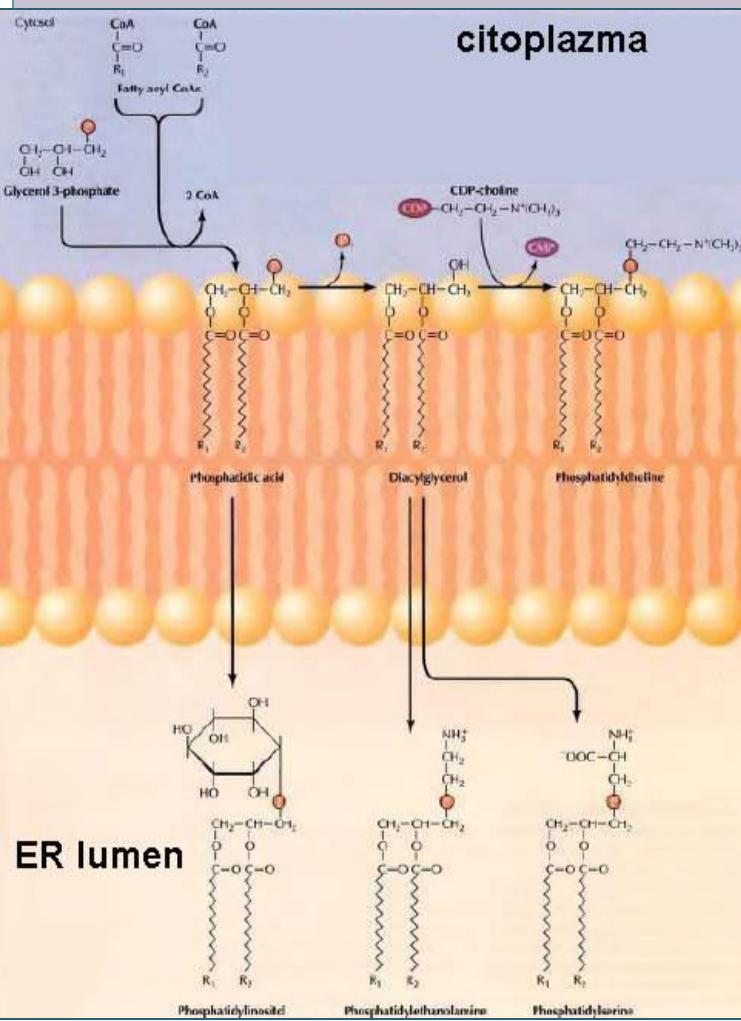
Imajući u vidu prirodu lipidnih molekula, u kom delu glER očekujete njihovu sintezu?

MEMBRANA

TRANSPORT
(vezkulama, kontakt membrana 2 organele ili proteinima nosaćima)

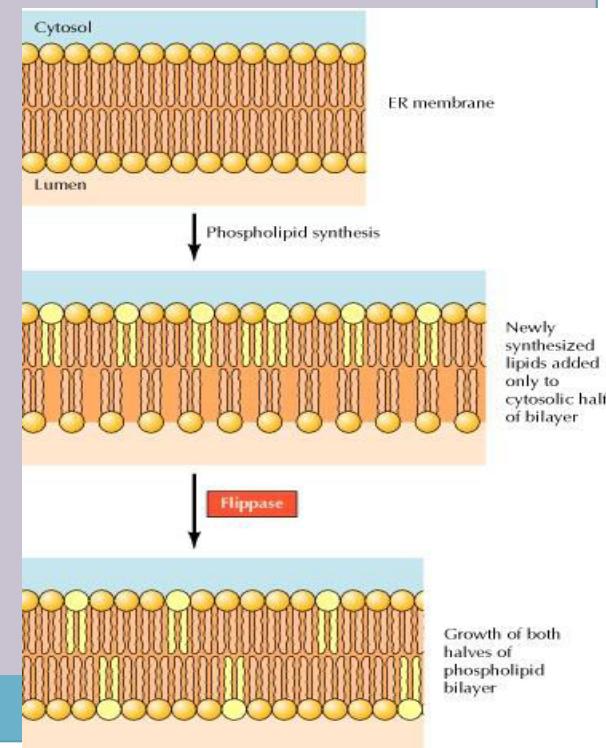
Funkcije glER:

- Sinteza membranskih lipida
- Sinteza lipidnih tela



- Sinteza od prekursora u citoplazmi
 - Transport MK omogućen je proteinima koji vezuju MK
 - Sinteza na citoplazmatskoj strani glER
 - Nastanak intermedijera i ugradnja u spoljašnji monosloj ER
 - Dodavanje polarnih grupa
- Uloga flipaza

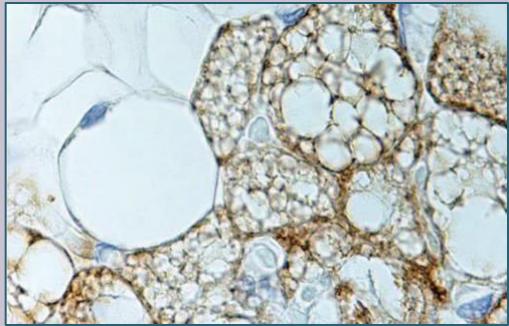
Sinteza holesterola i ceramida
(ceramidi u glikolipide i
sfingolipide u KG)



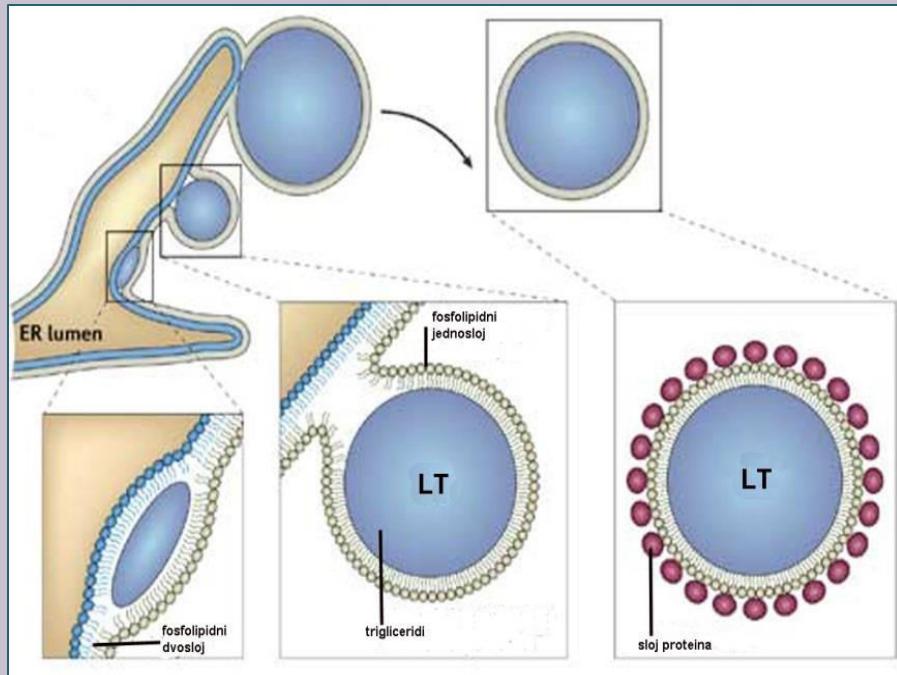
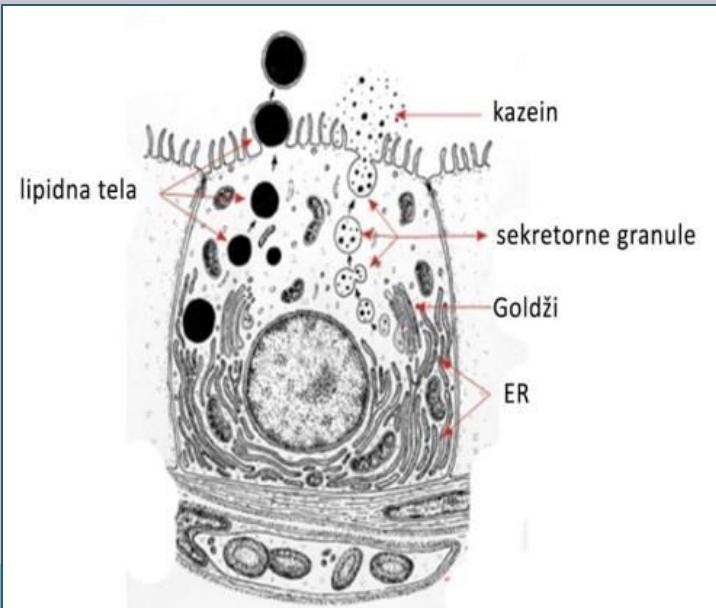
glER je zaslužan za
sintezu navećeg
 dela lipida u ćeliji

Funkcije glER:

- Sinteza membranskih lipida
- Sinteza lipidnih tela



LT mogu ostati u ćeliji (adipocit)
ili biti sekretovana (epitel ml. žlezde)

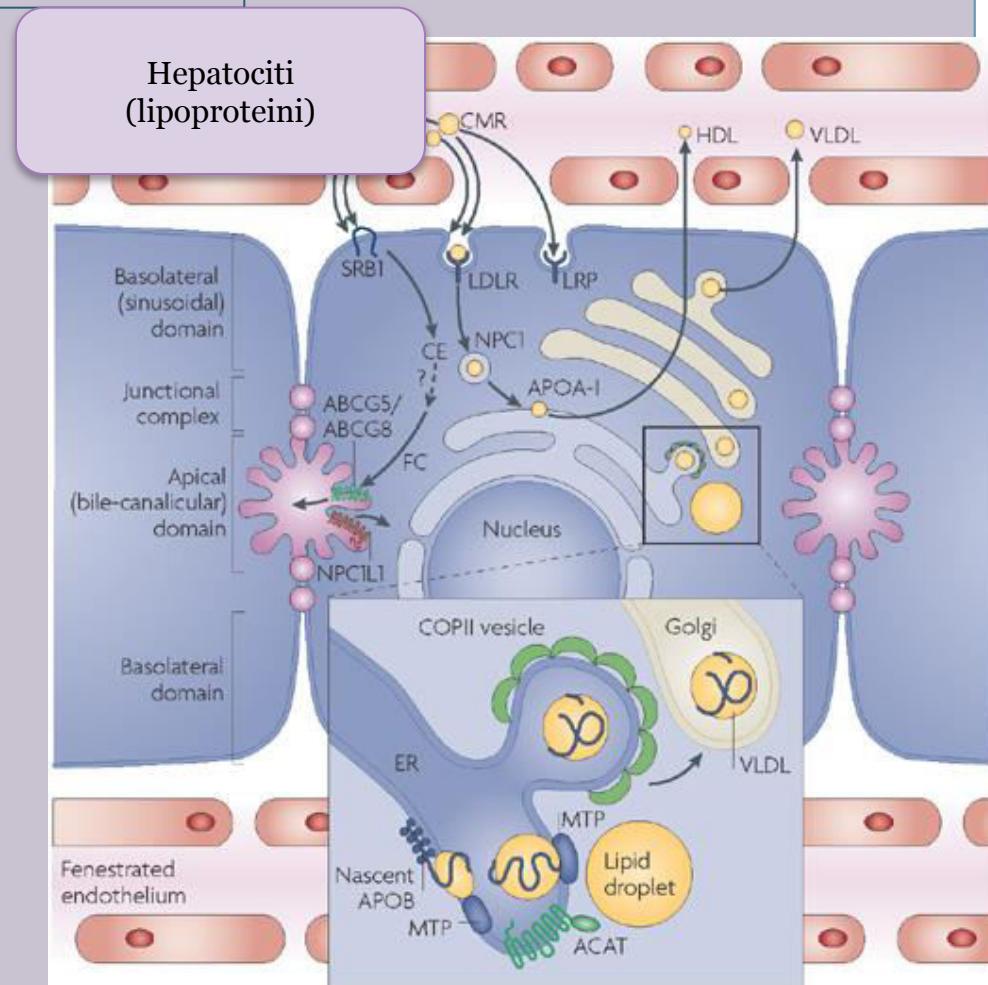
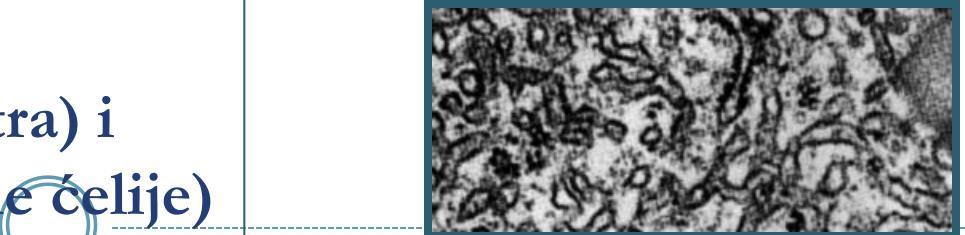


Funkcije glER:

Sinteza steroida – holesterol (jetra) i steroidni hormoni (steroidogene ćelije)

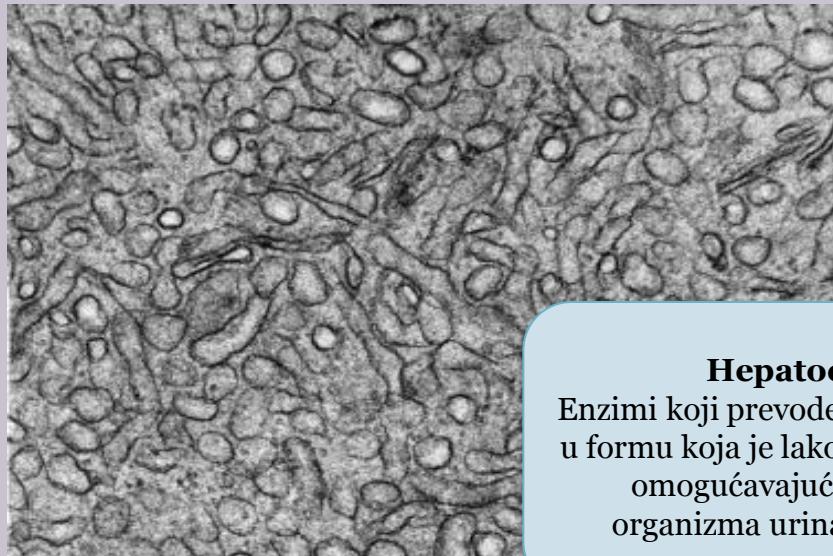


Ćelije ovarijuma i testisa koje sintetišu steroidne hormone (sinteza iz holesterola)



Funkcije glER:

- Detoksifikacija (u jetri) – barbiturati, policiklični ugljovodonici
- Metabolizam ugljenih hidrata – razgradnja glikogena (jetra, bubrezi, creva)

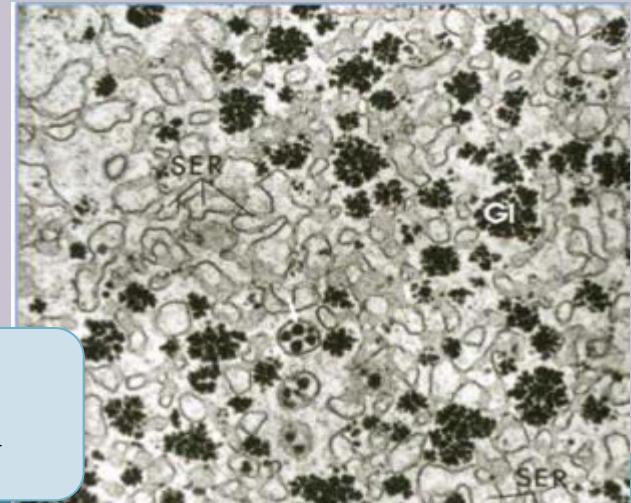


Hepatociti jetre

Enzimi koji prevode toksična jedinjenja u formu koja je lako rastvorljiva u vodi, omogućavajući eliminaciju iz organizma urinarnim sistemom

Hepatociti jetre

Razgradnja glikogena

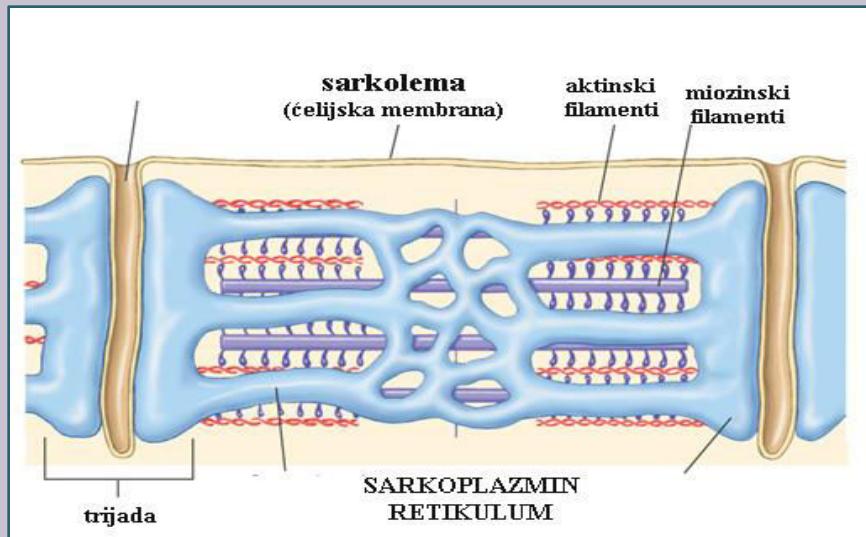


Funkcije glER:

Deponovanje jona kalcijuma

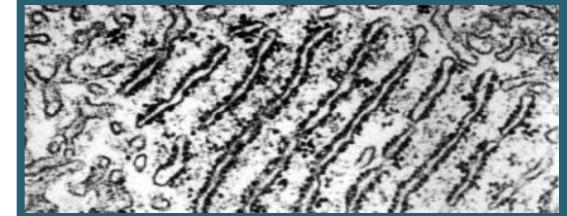


- Deponovanje jona kalcijuma za brojne signalne procese u ćelijama
Brojne membranske pumbe za kalcijum i kalcijum-vezujući proteini u lumenu ER

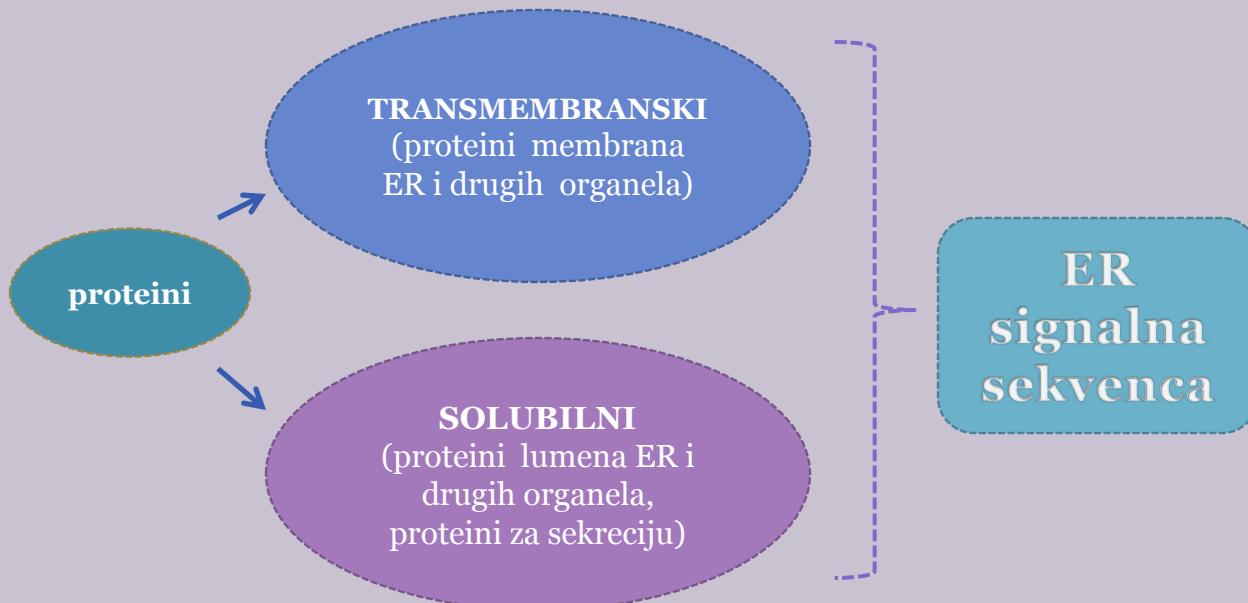


- **sarkoplazmin
retikulum
(mišićna ćelija)**

Funkcije grER - mesto sinteze i obrade proteina



- Sinteza membranskih i solubilnih proteina na membrani grER
- Obrada proteina - dodavanje i obrada oligosaharidnih grupa glikoproteina
savijanje polipeptida
sortiranje proteina
- Uklanjanje loše savijenih ili sklopljenih proteina
- Sklapanje multimernih proteina



Funkcije grER - mesto sinteze i obrade proteina

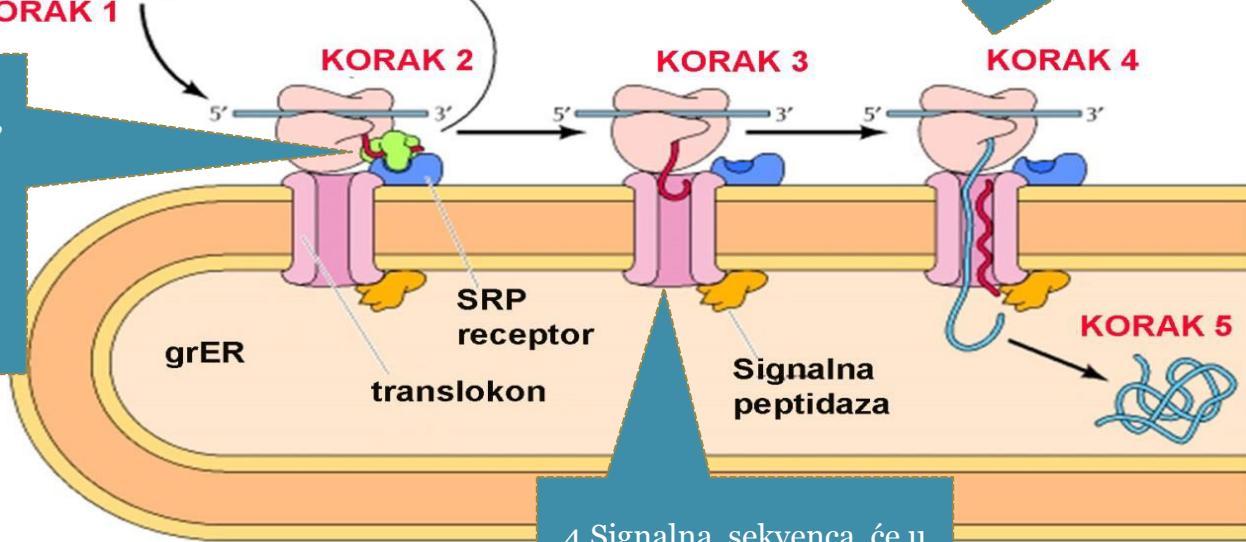


1. Sinteza svih proteina počinje na citoplazmatskim ribozomima. Ukoliko RNK kodira za protein koji će imati ER signalnu sekvencu, ribozom će se zakačiti za membranu ER.

2. Signalna sekvenca će u citoplazmi biti prepoznata od strane SRP partikule, što dovodi do trenutnog zastoja u sintezi proteina. Ćelija dobija vreme da privuče ribozom do membrane ali i sprečava nepoželjne interakcije.



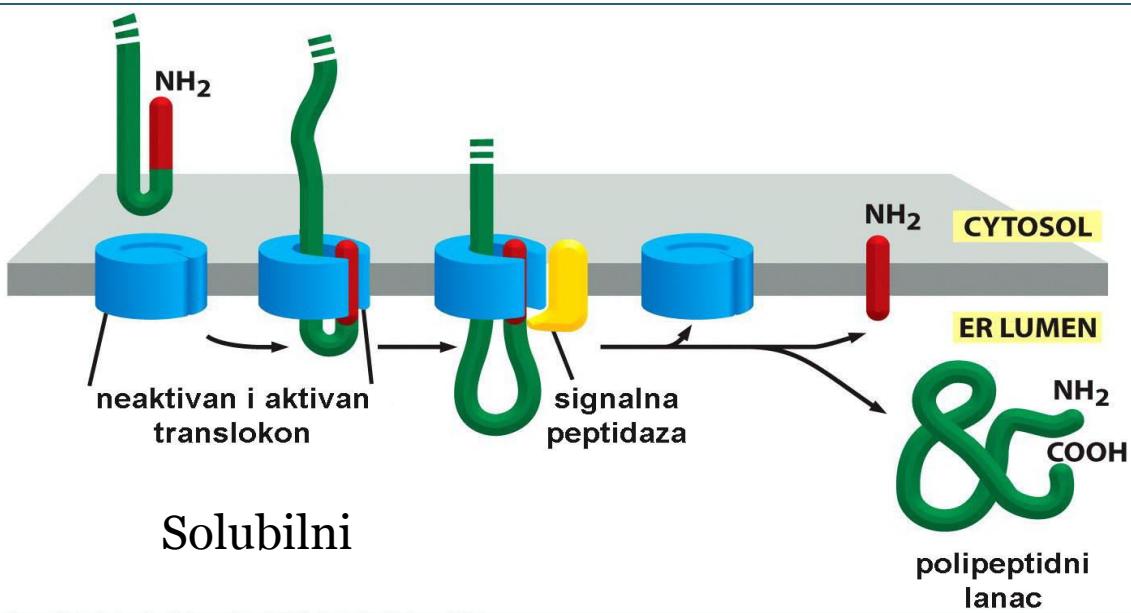
3. SRP partikula je prepoznata od SRP receptora, što dovodi do odvajanja SRP partikule i signalne sekvence. Signalna sekvenca je sada dostupna za novo prepoznavanje – sa translokonom



Da li je translokon stalno otvoren?

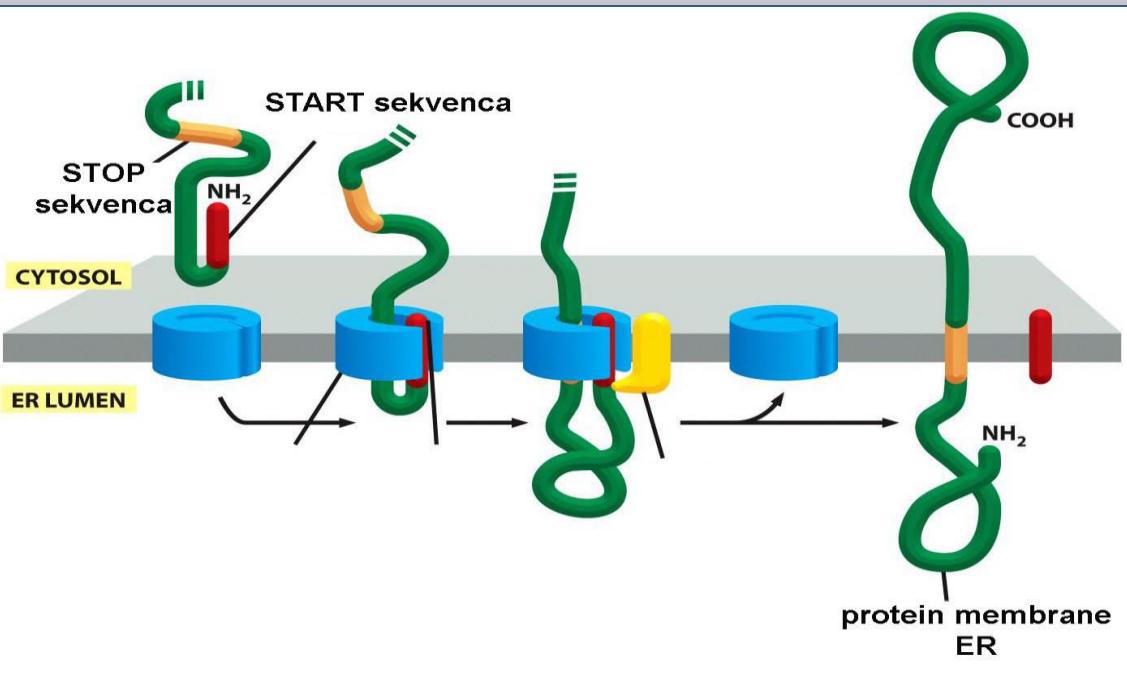
4. Signalna sekvenca će u kontaktu sa translokonom dovesti do otvaranja.

5. Signalna sekvenca će u lumenu biti isećena signalnom peptidazom a rastući polipeptid upada u lumen grER.

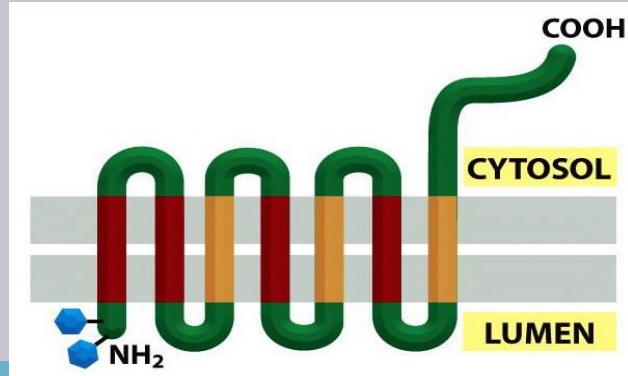


Postoji nekoliko načina prolaska proteina kroz translokon, u zavisnosti od toga da li je protein membranski ili solubilni, kao i da li će membranski protein prolaziti jednom, dva ili više puta kroz membranu.

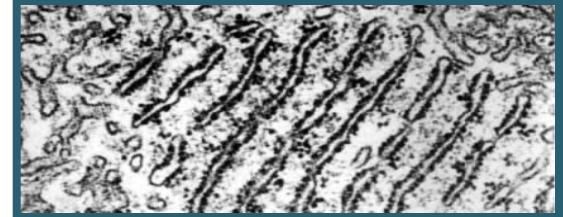
Translokon može da se otvara na dva mesta: formiranjem pore ka lumenu i lateralno u lipidni dvosloj („lateralni izlaz“ translokona).



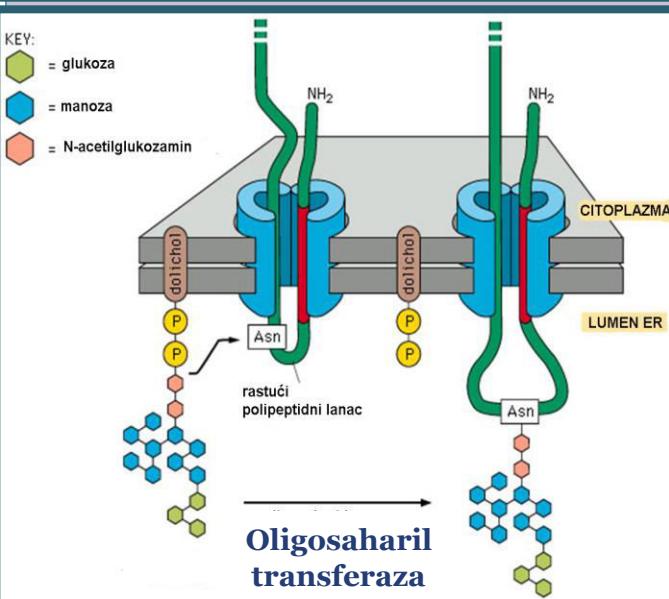
Sekvence kojima će protein biti ukotvljen u membranu.



Funkcije grER - mesto sinteze i obrade proteina



- Sinteza membranskih i solubilnih proteina na membrani grER
- Obrada proteina - dodavanje i obrada oligosaharidnih grupa glikoproteina
savijanje polipeptida i kontrola kvaliteta
sortiranje proteina
- Uklanjanje loše savijenih ili sklopljenih proteina
- Sklapanje multimernih proteina



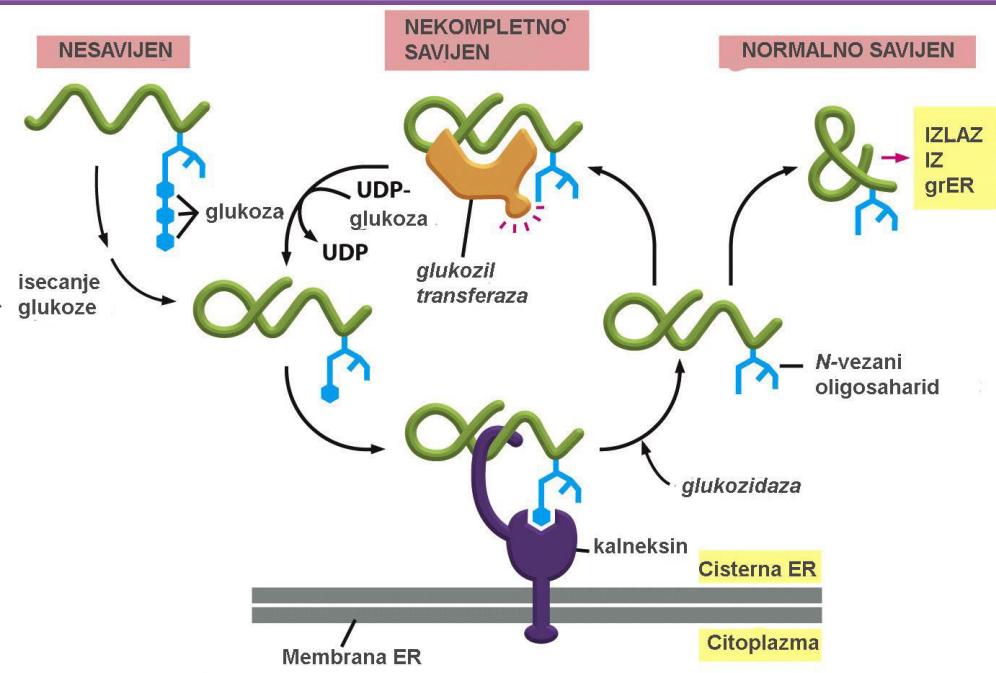
GLIKOZILACIJA PROTEINA
Sržni oligosaharid: 2NAG+9MAN+3GLU

Proteini sintetisani na citoplazmatskim ribozomima se takođe glikoziluju ali u mnogo manjoj meri i na drugi način (dodaje se samo N-acetilglukozamin, enzimima u citoplazmi).

- Uvijanje (foldovanje) polipeptidnog lanca u 3D konformaciju (funkcionalna konformacija)
- 3D konformacija je determinisana sekvencom AK (uglavnom)
- Proteini ŠAPERONI katalizuju foldovanje, vezuju se za polipeptidni lanac u toku sinteze, stabišu ga i ne dozvoljavaju formiranje agregata. Sintetisan polipeptidni lanac se oslobađa sa ribozoma i sklapa u 3D konformaciju
- Šaperoni učestvuju u stabilizaciji polipeptidnog lanca tokom transporta do drugog kompartimenta (npr citoplazma do mitohondrija)
- Veliki broj proteina (Hsp70, šaperonini i drugi)

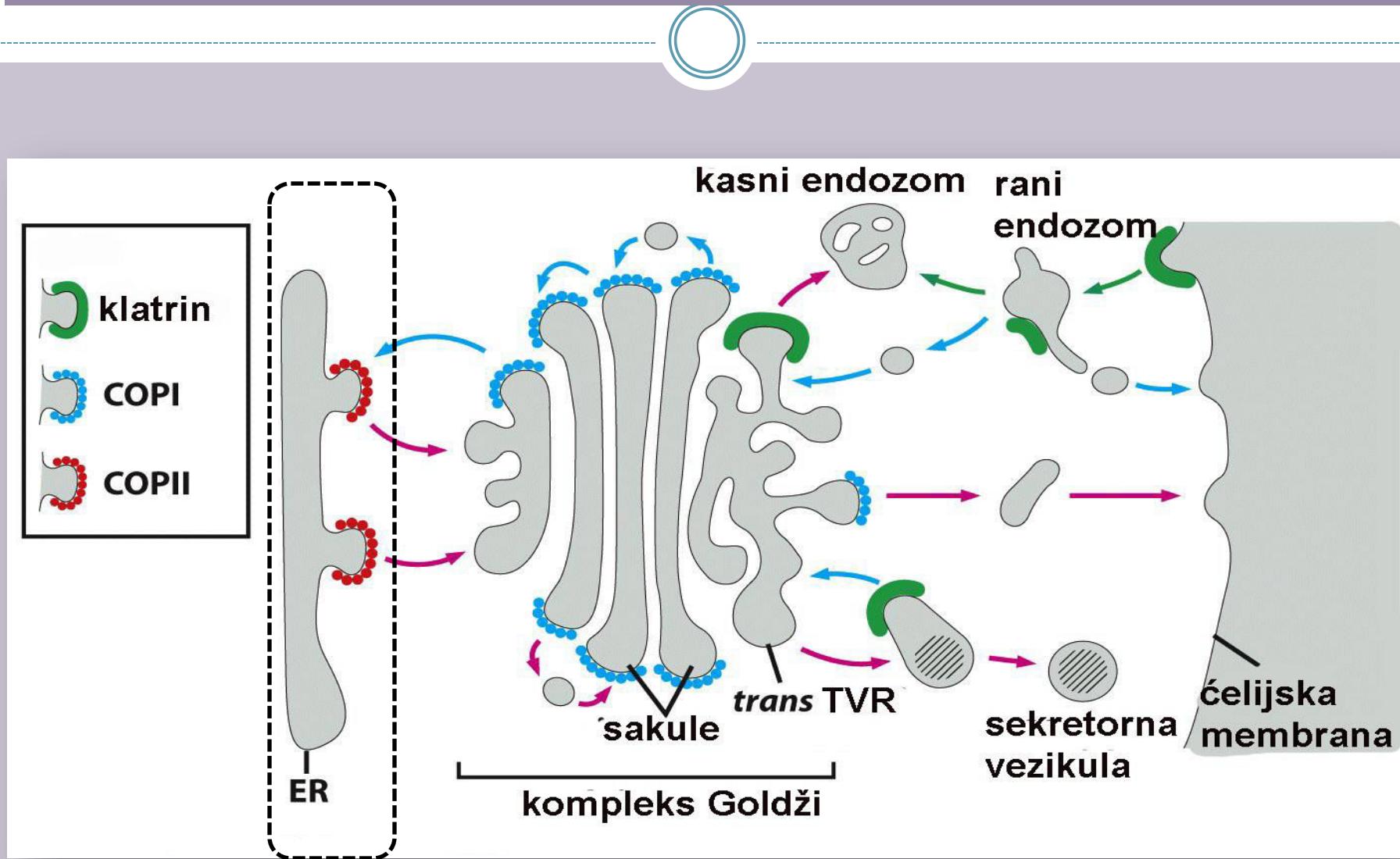
OBRADA POLIPEPTIDA u grER – kontrola kvaliteta

- Sinteza membranskih i solubilnih proteina na membrani grER
- Obrada proteina - dodavanje i obrada oligosaharidnih grupa glikoproteina
savijanje polipeptida i kontrola kvaliteta
sortiranje proteina
- Uklanjanje loše savijenih ili sklopljenih proteina
- Sklapanje multimernih proteina

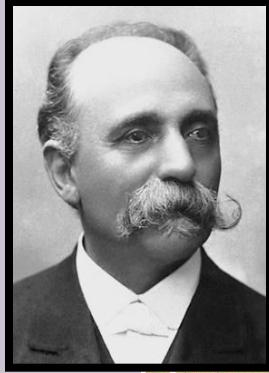


- U grER prisutni su šaperoni : kalneksin na membrani ER a u lumenu kalretikulin . Pored ovih, postoji još nekoliko proteina koji učestvuju u pravilnom savijanju novosintetisanih glikoproteina.
- Odcecanje glukoza i foldovanje i provera kvaliteta
- Ukoliko je loše savijen, protein će biti obeležen (1 glukoza), što omogućava specifično prepoznavanje proteina i kalneksina, odnosno kalretikulina. Ovako obeleženi protein će biti ponovo podvrgnuti foldovanju.
- Ukoliko je protein pravilno foldovan odseca se i treći molekul glukoze i protein se upućuje u kompleks Goldži. Ukoliko ne, dodaje se jedna glukoza . Na taj način nepravilo savijeni polipeptidni lanci podležu cikličnim promenama – odsecanje glukoze i dodavanje glukoze ,održavajući afinitet za kalneksin i kalretikulin. Ukoliko se ciklus završi povoljno, protein napušta ovaj ciklus.
- Odsecanje manzoa irreverzibilno dovodi do napuštanja ciklusa i ovo prepoznavanje vodi ka degradativnom putu (proteazomima).

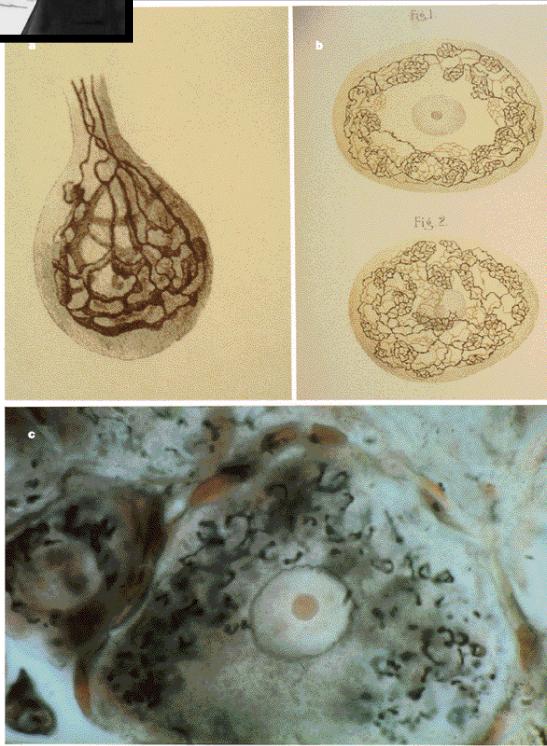
- Pravilno sintetisan i delimično obrađen protein se šalje u kompleks Goldži na finalnu obradu
- Deo ER sa kojeg polaze vezikule ka KG nema ribozome – prelazni ER
- Prelazne vezikule sa proteinima ogrtačima



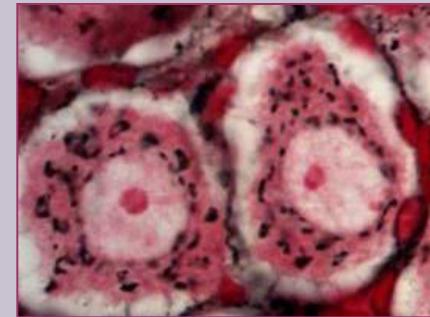
KOMPLEKS GOLDŽI



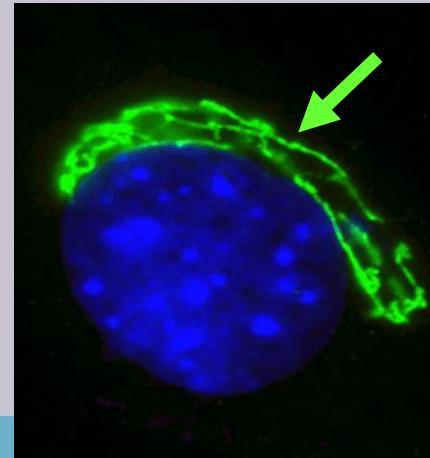
1898. Camillo Golgi
„unutrašnji mrežasti aparat“



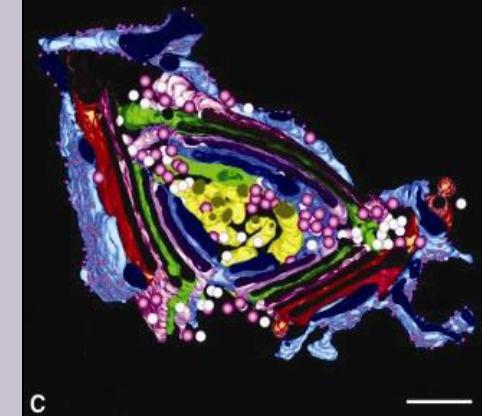
specifično "bojenje"
impregnacija solima srebra

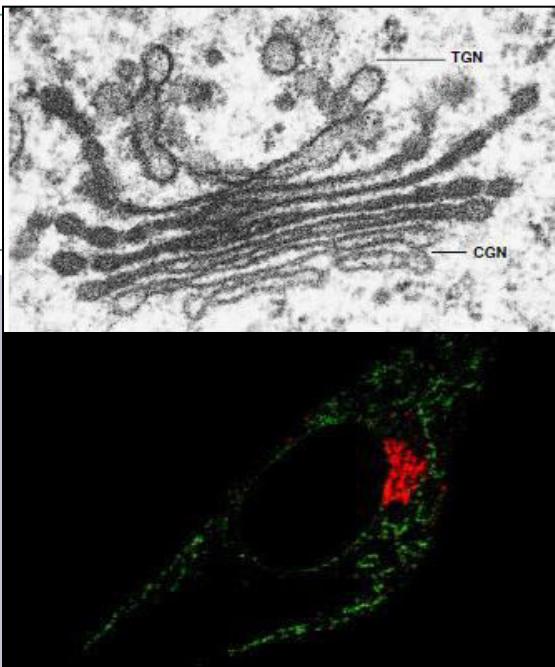


Fluorescentna
mikroskopija

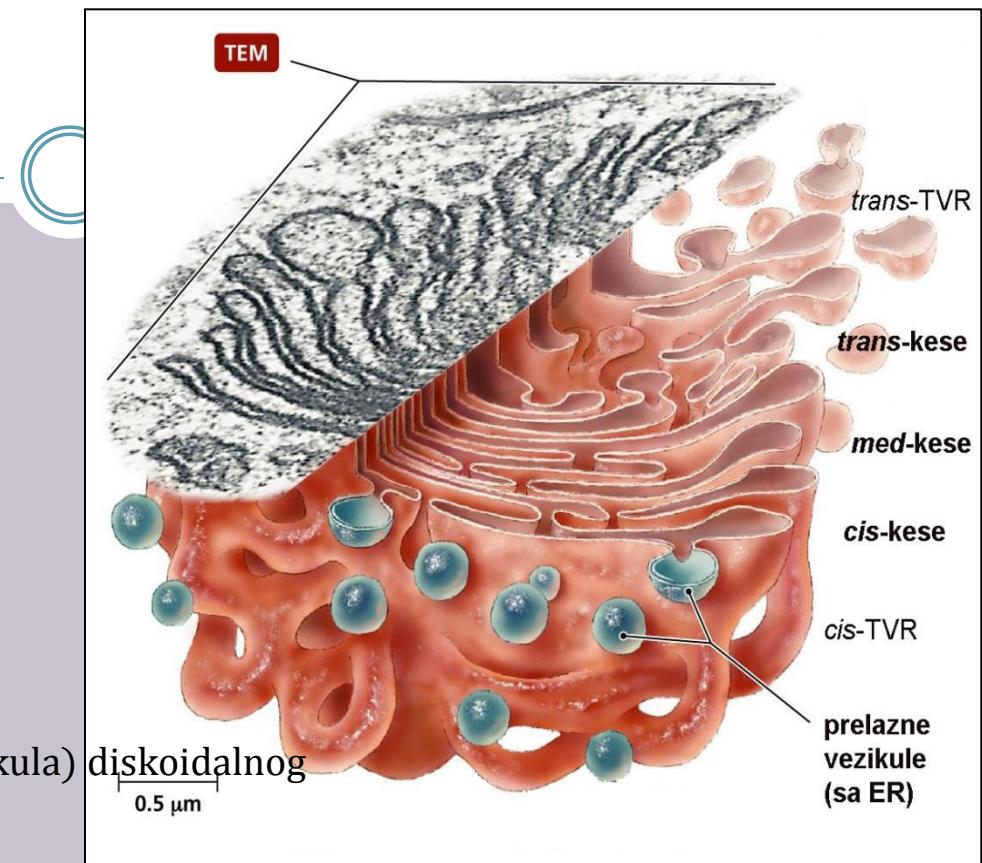


Elektronska mikroskopija

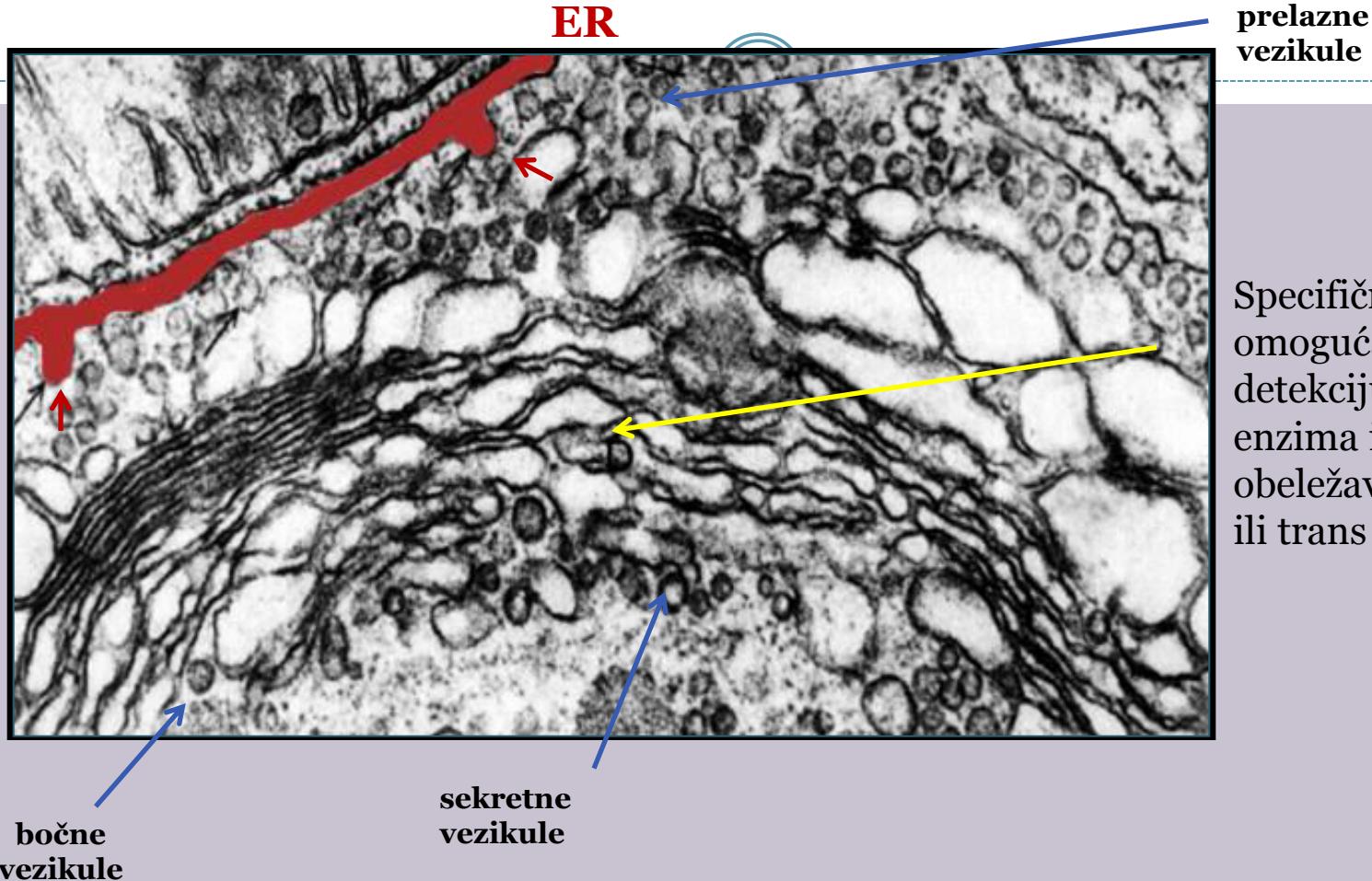




- Lokalizacija – perinukleusno
- Broj 3-5
- Serija paralelno naslaganih, spljoštenih kesa (sakula) **diskoidalnog** oblika
- Prosečno 3 – 8 sakula po KG
- Dinamična struktura okružena brojnim transportnim vezikulama
- Mikrotubule i citoplazmatski matriksni proteini - *goldžini*
- Dve strane u odnosu na položaj ER:
 - *Cis*-strana – bliže ER
 - *Trans*-strana
 - **STRUKTURNO** - tri vrste kesa (cis, med i trans kese), dve tubulo-vezikulo-retikularne oblasti (TVR cis i trans strane) kao i tri vrste vezikula (prelazne, bočne i sekretne vezikule).



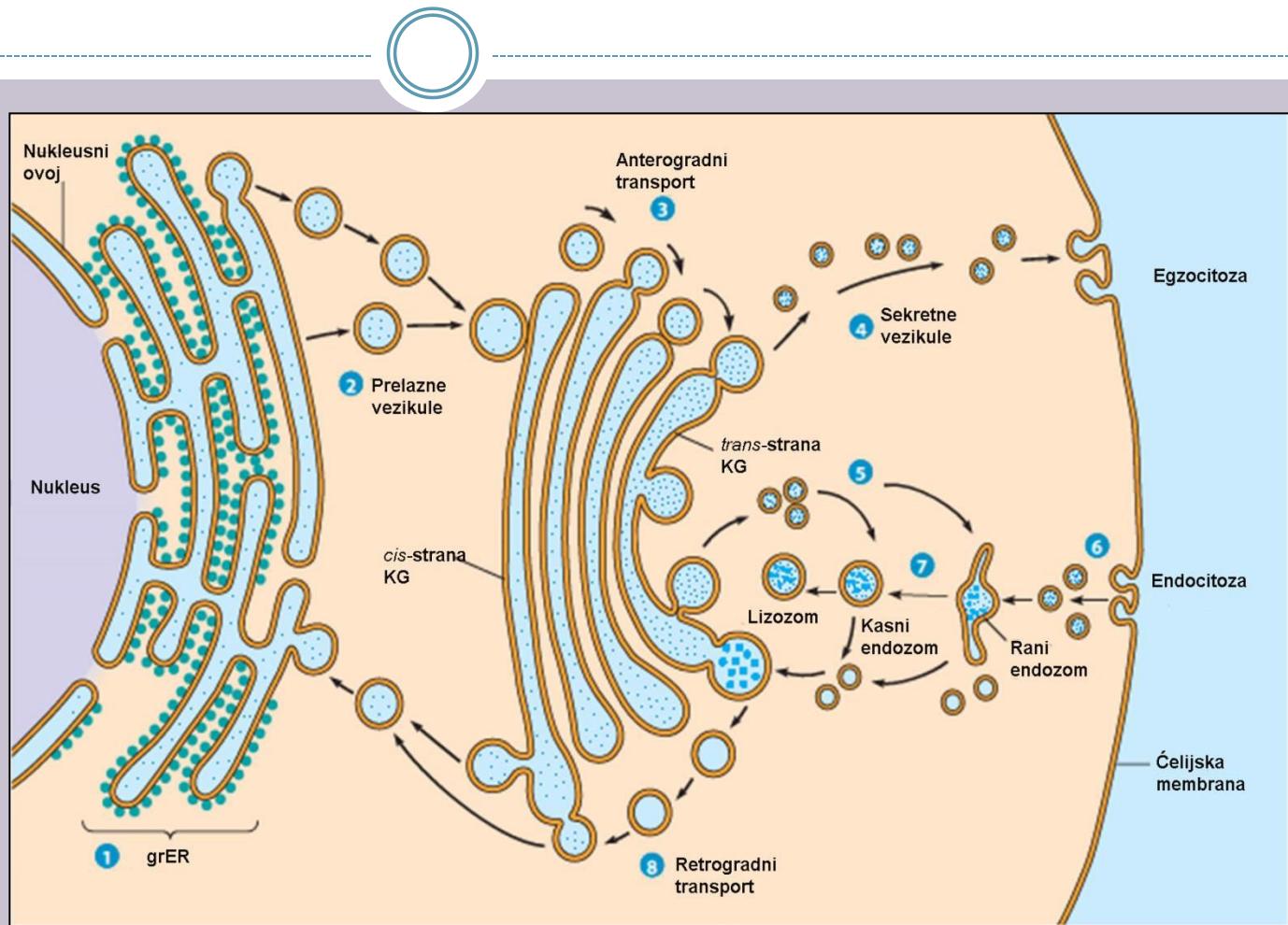
Funkcionalno-biohemijska polarnost KG



Specifične metode omogućavaju detekciju specifičnih enzima i na taj način, obeležavanje cis, med ili trans kese

Svaki kompartement – specifični receptori i enzimi

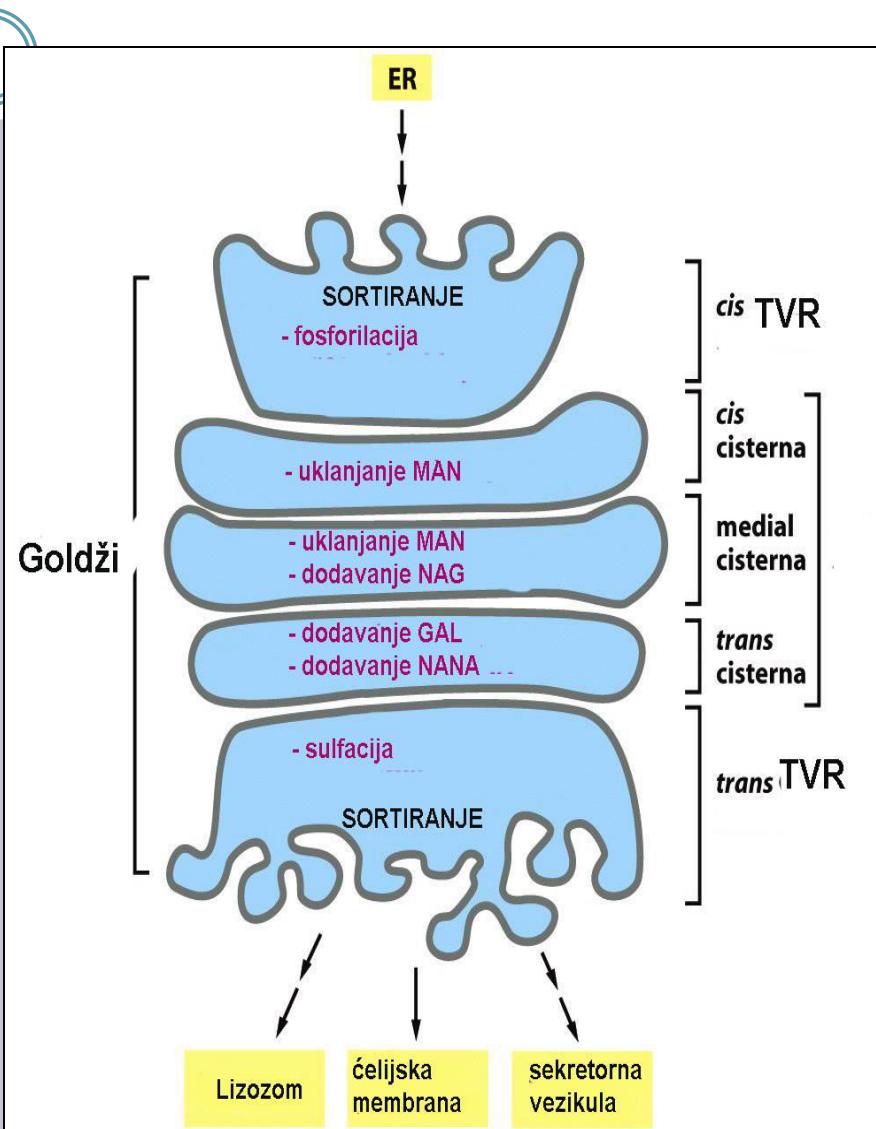
- Transport sa ER do Goldžijevog kompleksa ka ćelijskoj membrani se naziva **anterogradni transport**.
- Održavanje balansa omogućeno je **retrogradnim transportom**, odnosno vezikulama koje se „vraćaju“ sa Goldžijevog kompleksa ka ER, što je posebno važno sa aspekta proteina koji su specifični za ER



Najveći deo obrade GLIKOZILACIJA

- Početak u grER (sržni oligosaharid) – provera kvaliteta
- Nastavak i završetak glikozilacije zavisi od mnogo faktora, koji, sa druge strane determinišu koliko i kojih mono/disaharida će biti uklonjeno/dodato
- Mnoštvo enzima – stotine različitih enzima koji sintetišu oligosaharide od monosaharida i dodaju ugljene hidrate na proteine

- Vežikule - obrada proteina u sakulama u kojima se nalaze enzimi i odgovarajući receptori. Kada se završi obrada u jednoj sakuli, receptori membrane prepoznaju i specifično vezuju tako obrađen protein, i pomeraju se lateralno ka stranama sakula.
- Sa bočnih strana sakula pupe bočne vezikule koje će se sada pridružiti sledećoj sakuli u nizu na dalju obradu. Na taj način, neprestanim odvajanjem vezikula i njihovom fuzijom transportuju se proteini kroz odeljke KG i postepeno obrađuju.
- Svaki od ovih tipova vezikula poseduje specifičan koatomerni protein koji usmerava njihov transport do određene destinacije.

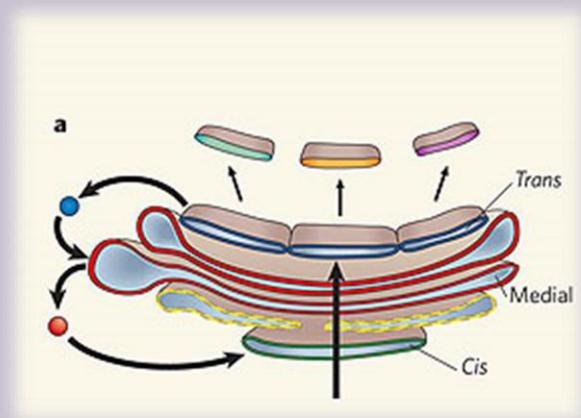


2 modela transporta materijala kroz KG:



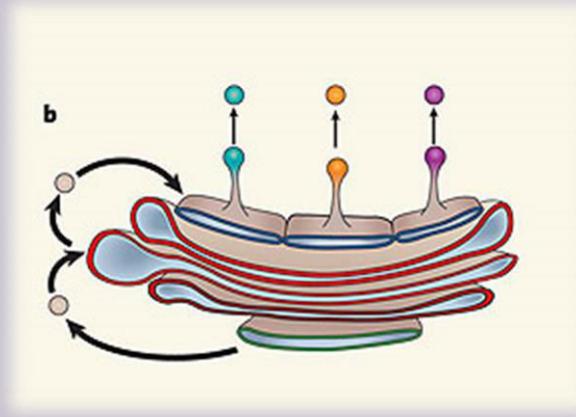
MODEL STACIONARNIH CISTERNI

- Svaki kompartment je stabilan
- Transport se vrši vezikulama



MODEL MATURACIJE CISTERNI

- Kese postepeno sazrevaju i prelaze iz *cis*- u *med*- pa u *trans*-kese
- Enzimi se vraćaju u kese u kojima su potrebni



Da li su ova dva modela isključiva?

FUNKCIJE GOLDŽI KOMPLEKSA

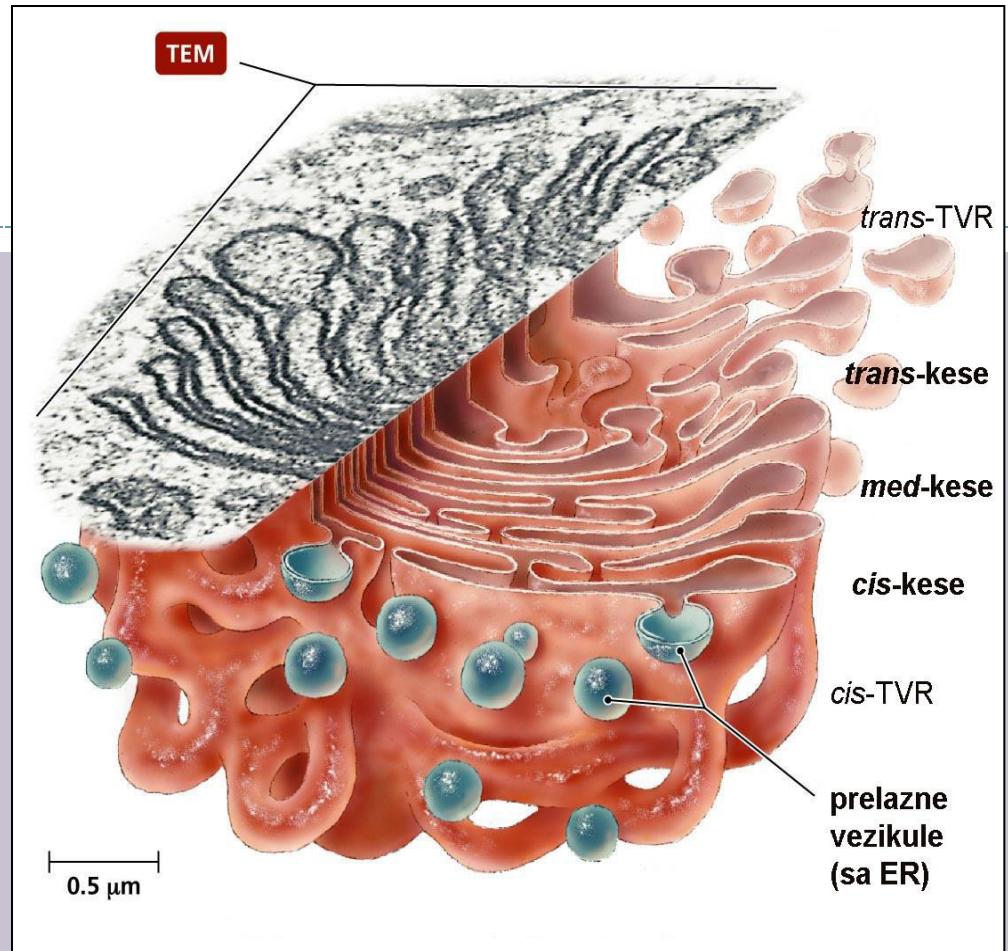
1. OBRADA PROTEINA I LIPIDA - glikozilacija

2. SORTIRANJE

3. UPUĆIVANJE KA FINALnim DESTINACIJAMA

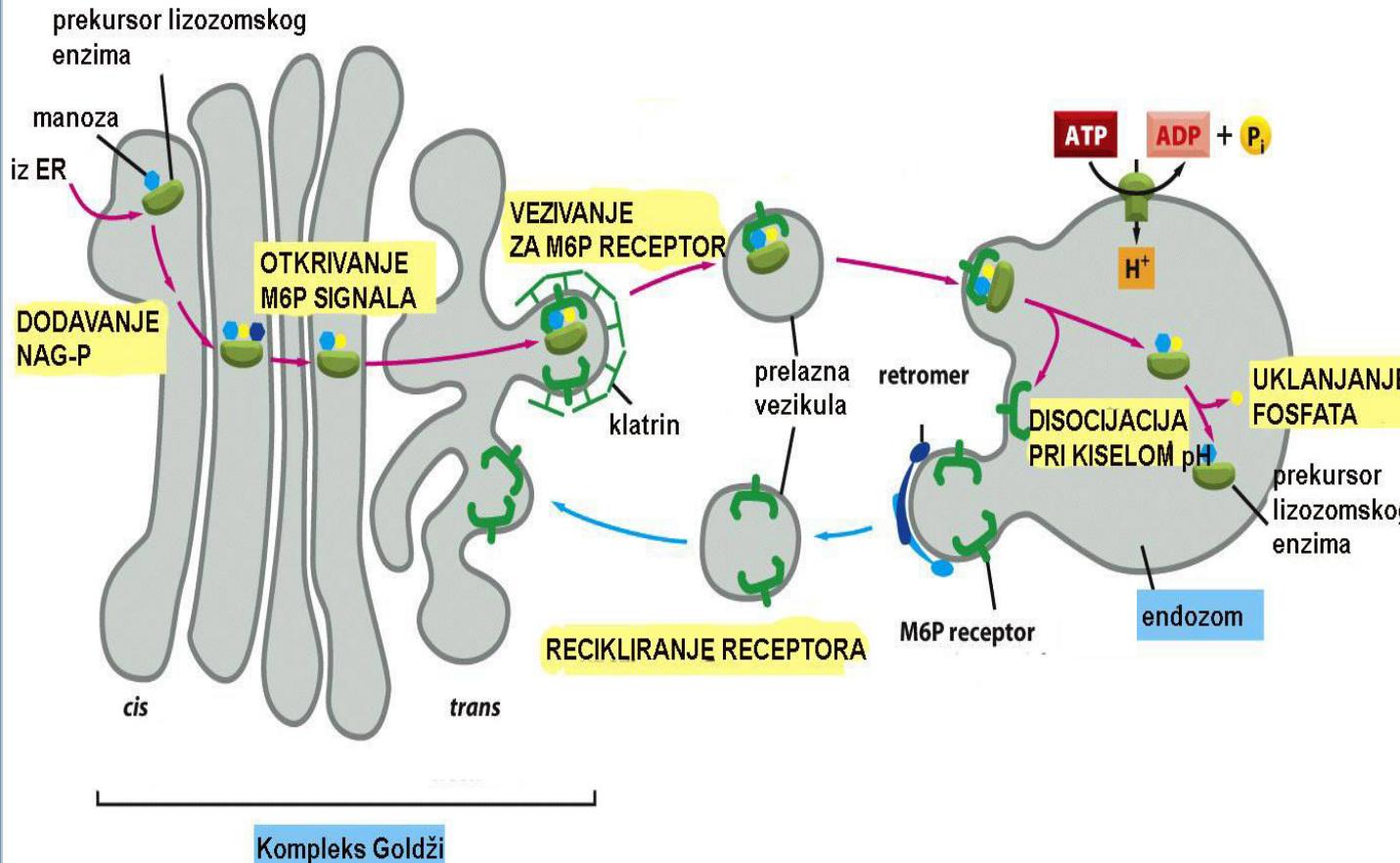
U zavisnosti od sudbine proteina, oni će se kroz sakule specifično obrađivati i zadobiti **marker grupe**, odnosno specifične grupe na osnovu kojih će se izvršiti sortiranje ka finalnim destinacijama. Neke od destinacija su:

- 1)Vraćanje ER-specifičnih proteina.
- 2)Specifični proteini Goldžijevog kompleksa imaju sekvene za zadržavanje.
- 3)Obrada lizozomskih enzima
- 4)Sekretorni proteini se pakuju u sekretorne vezikule.



FUNKCIJE GOLDŽI KOMPLEKSA

- Obrada lizozomskih enzima (primer finalnih destinacija)



- Prekursori lizozomskih enzima se konvalentno modifikuju dodavanjem **MANOZO-6-FOSFATA**
- Formiranje klatrinske rešetke sa M6P receptorom
- Kasni endozom – nizak pH, oslobođanje kiselih hidrolaza sa M6P receptora
- Recikliranje receptora

FUNKCIJE GOLDŽI KOMPLEKSA

1. OBRADA PROTEINA I LIPIDA - glikozilacija

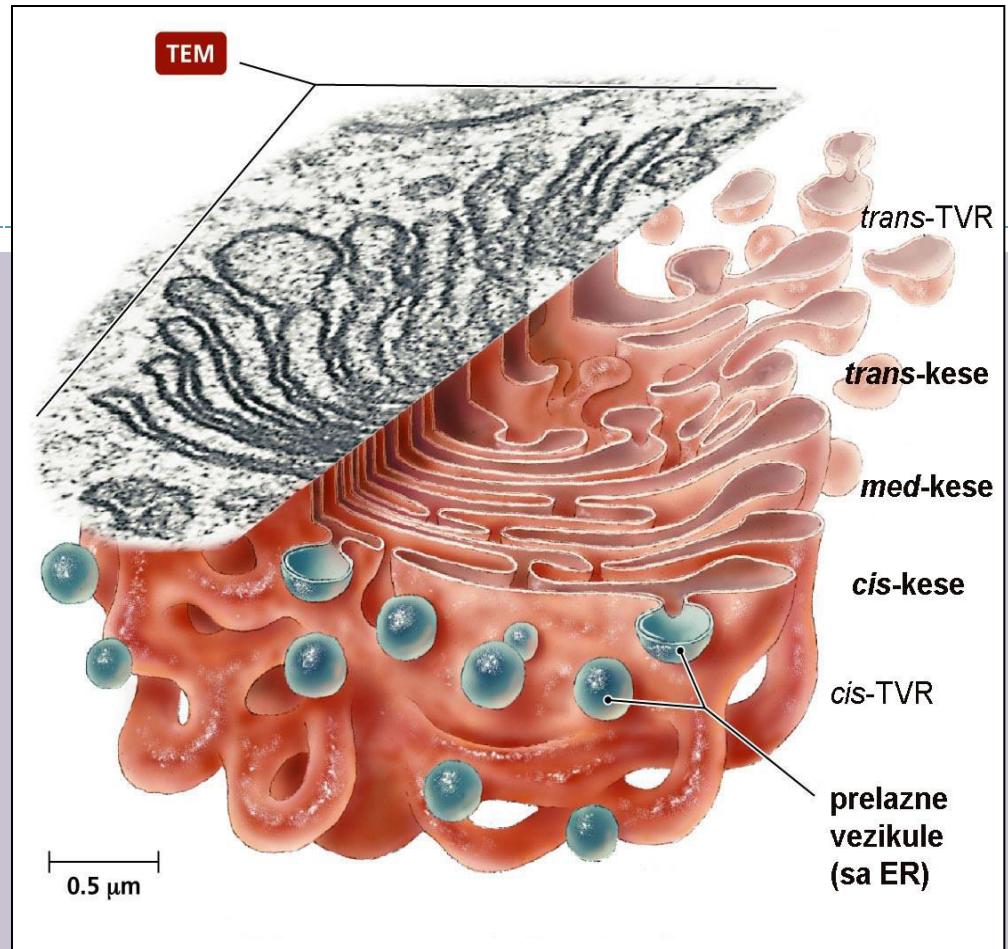
2. SORTIRANJE

3. UPUĆIVANJE KA FINALnim DESTINACIJAMA

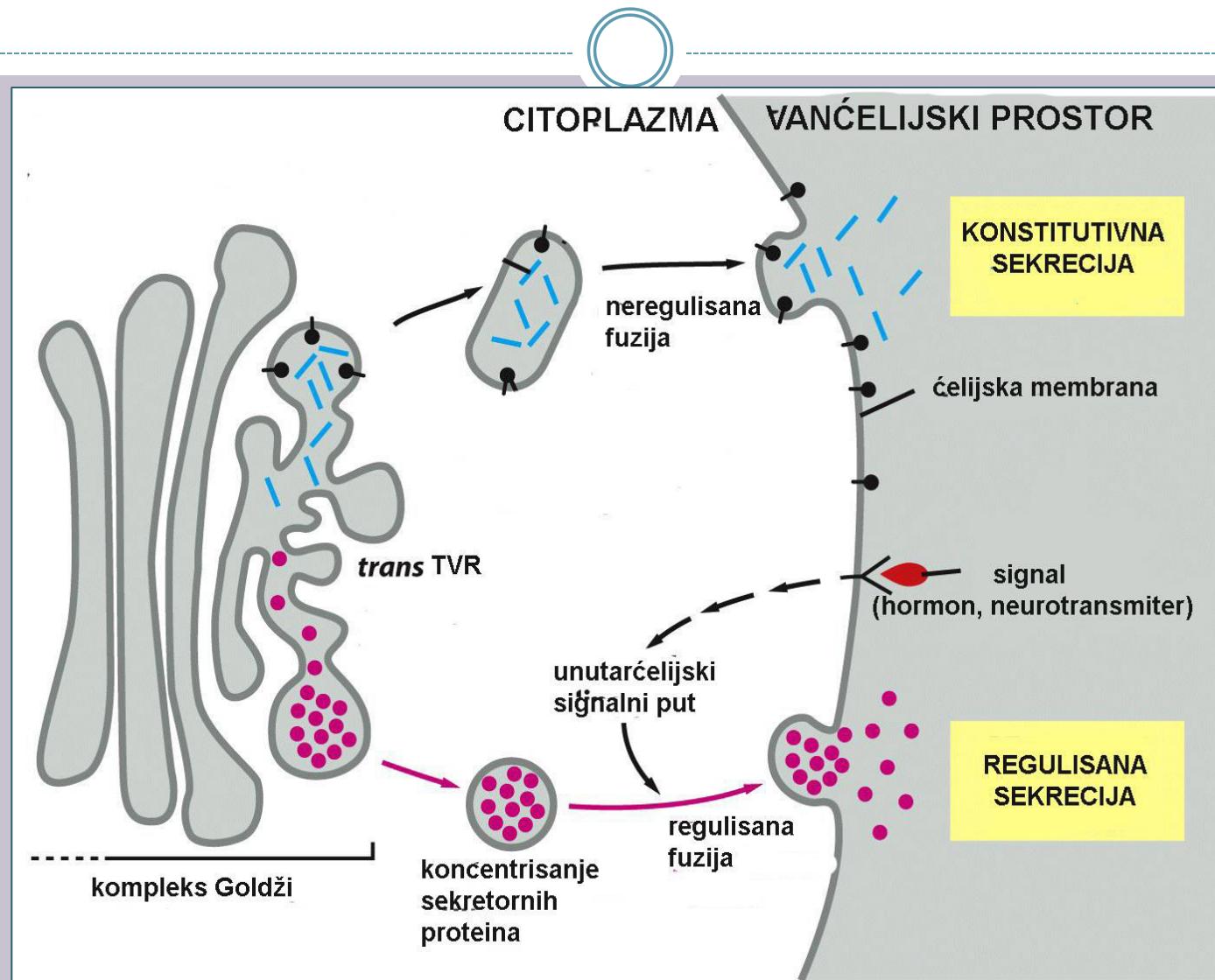
Goldžijev kompleks je takođe mesto sinteze kompleksnih polisaharida uključujući glikozaminoglikanske lance proteoglikana, a kod biljnih ćelija mesto sinteze pektina i hemiceluloze ćelijskog zida.

Pored uloge u obradi i sortiranju proteina, Goldžijev kompleks učestvuje u metabolizmu lipida - glikolipida i sfingomijelina koji, sa druge strane, nastaju u Goldžijevom kompleksu od ceramida.

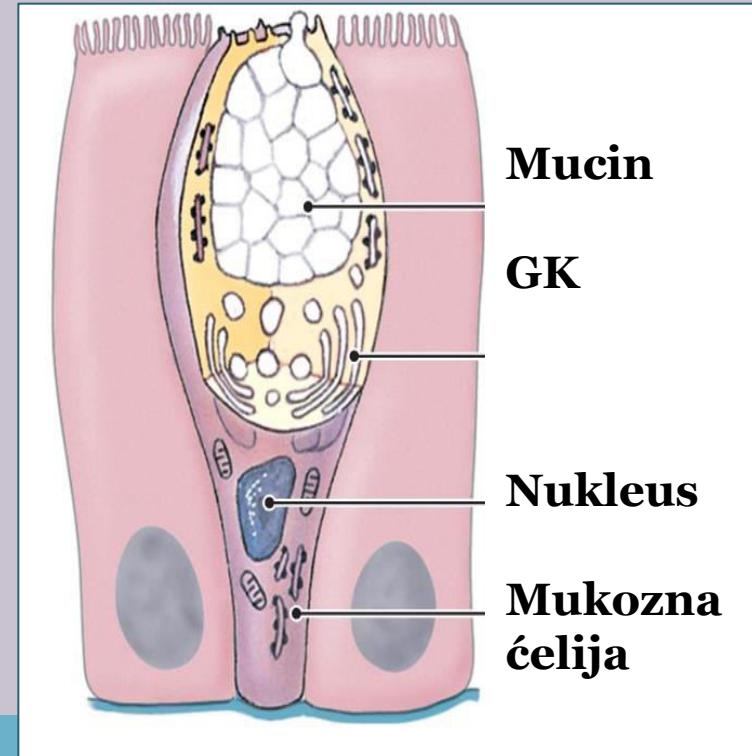
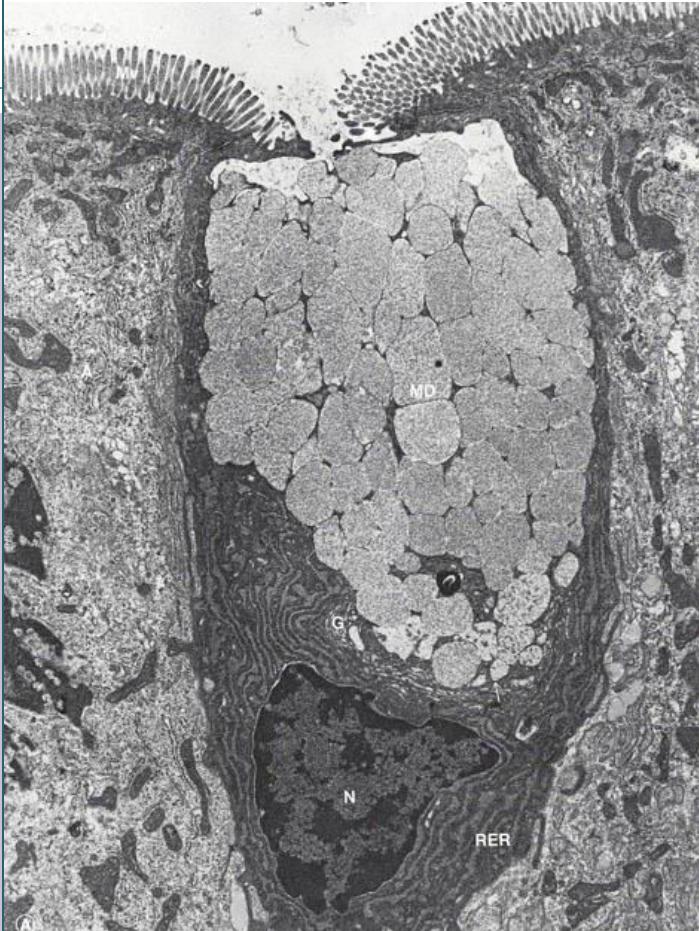
Ceramidi se, poput glicerofosfolipida i holesterola sintetišu na nivou ER.



Sortiranje i obrada sekretornih proteina

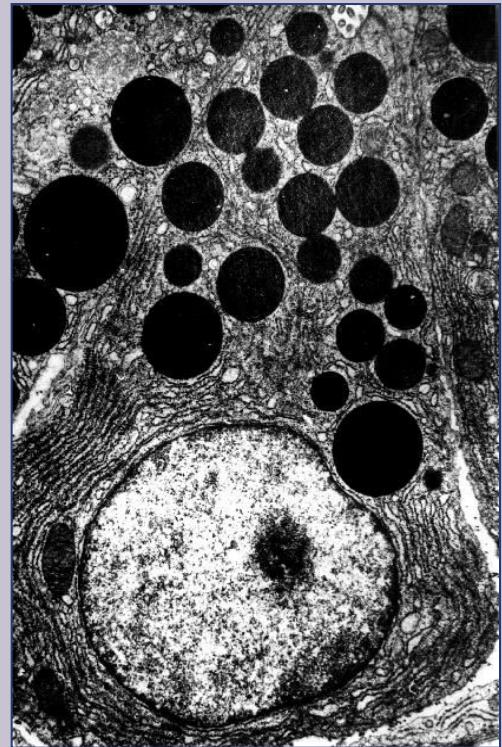
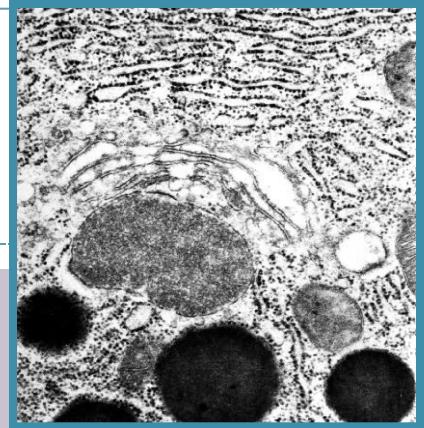
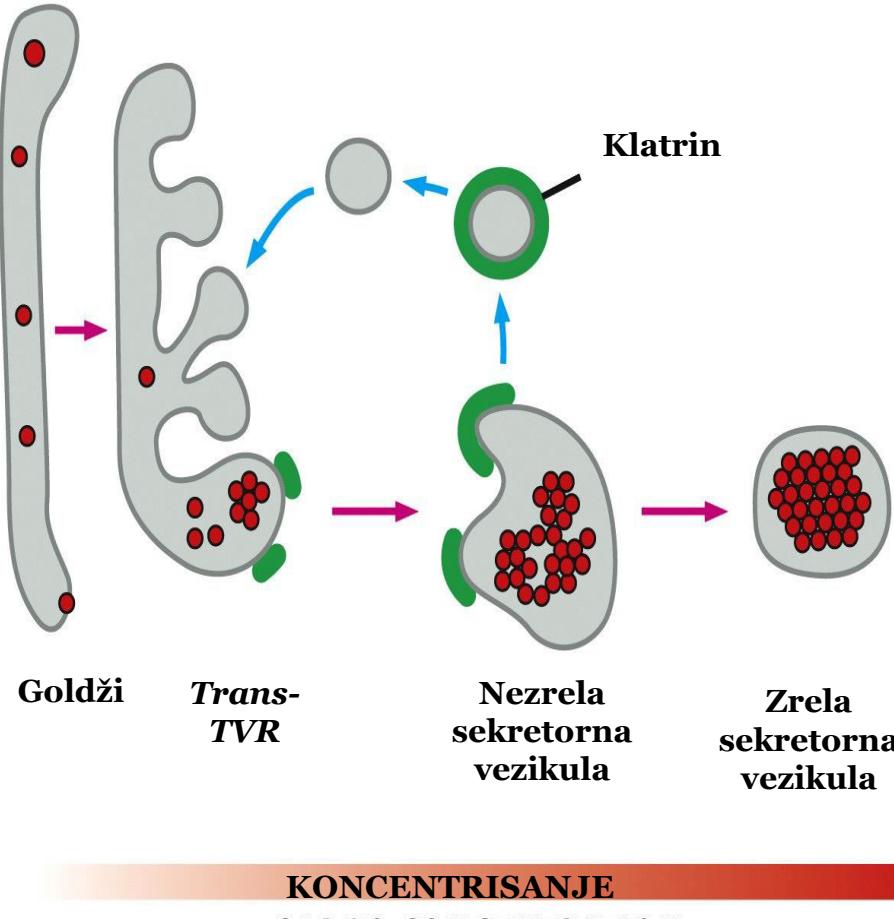


Konstitutuvna sekrecija



Nezavisna od specifičnih signalja:
npr, oslobođanje mukusa – epitel creva

Regulisana sekrecija



Fuzija vezikula sa ĆM nakon prijema signala (hormon ili nešto drugo)

