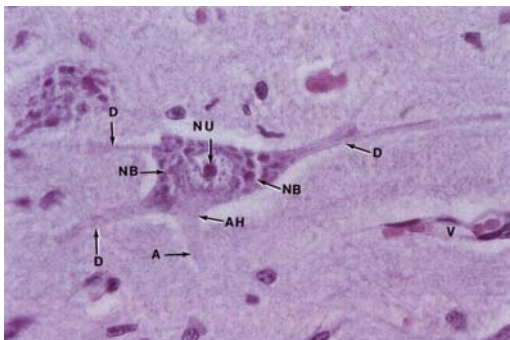
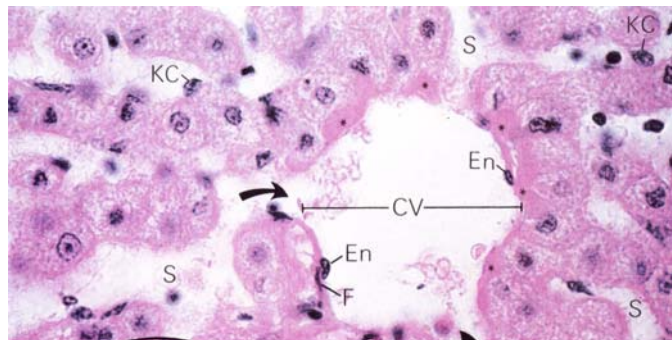


# Reticulul endoplasmic

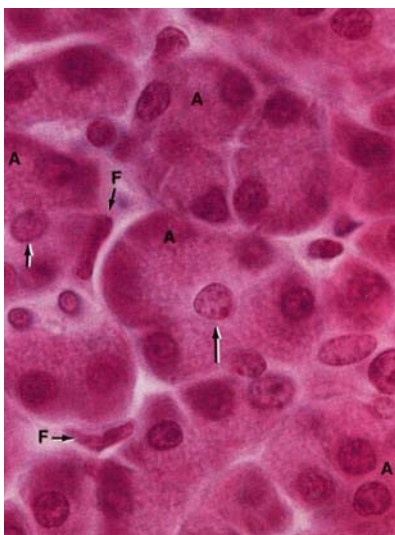
- Ce este? – definiția
- Cum este? – descrierea
- De ce este? – funcțiile



Corpi Nissl – neuroni

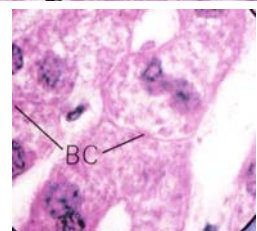


Corpusculi Berg - hepatocite

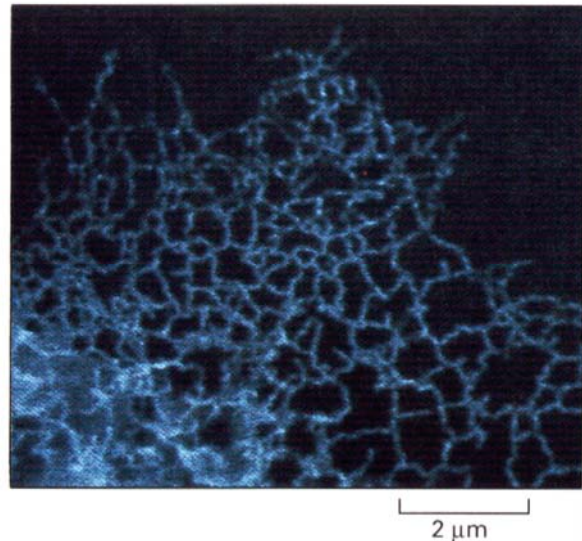
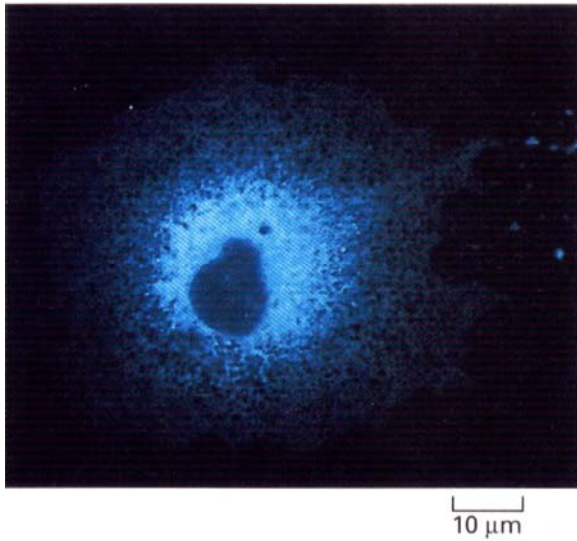


Ergastoplasmă – celule acinare pancreatice

## Evidențiere histochimică (structura)



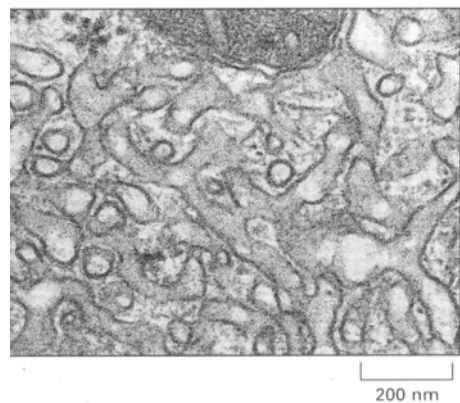
# Evidențiere imunocitochimică (structura)



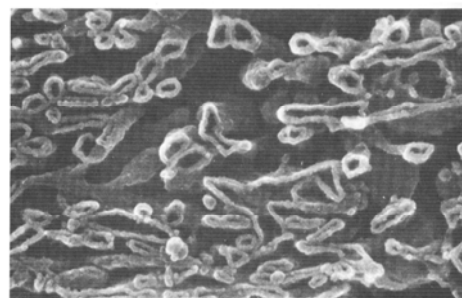
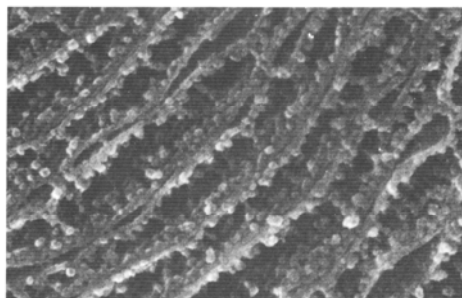
**N.B.** Considerații asupra etimologiei

# Evidențiere în microscopie electronică (untrastructura)

Microscopie electronică  
de transmisie



Microscopie electronică  
de baleiaj

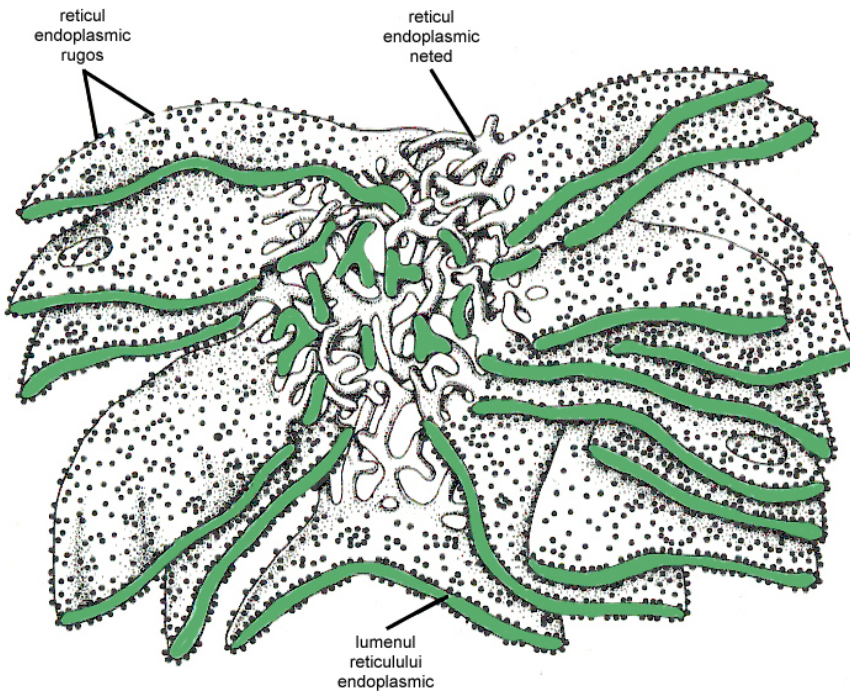


# Ultrastructura

## Reprezentare grafică spațială a reticulului endoplasmic

Elementele ultrastructurale ale RE:

- Membrană organizată în mozaic fluid (~7nm grosime)
- Cisterne delimitate de endomembrană cu (poli)ribosomi atașați (RER)

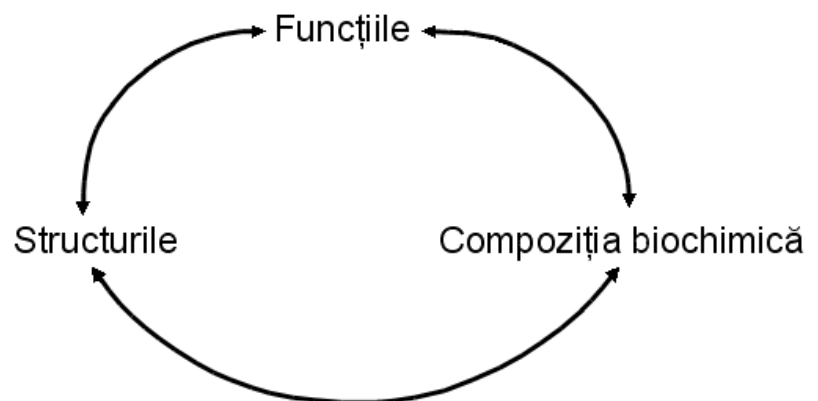


- Tubuli înrețelați (REN)
- Lumen (30 – 60 nm grosime/diametru)
- Numeroase anastomoze
- RE de tranziție (descrise către sfârșitul cursului)

## Abordarea experimentală în studiul RE

*Functions must be understood in terms of structures;  
structures must be understood in terms of chemistry.*

(George Emil PALADE)

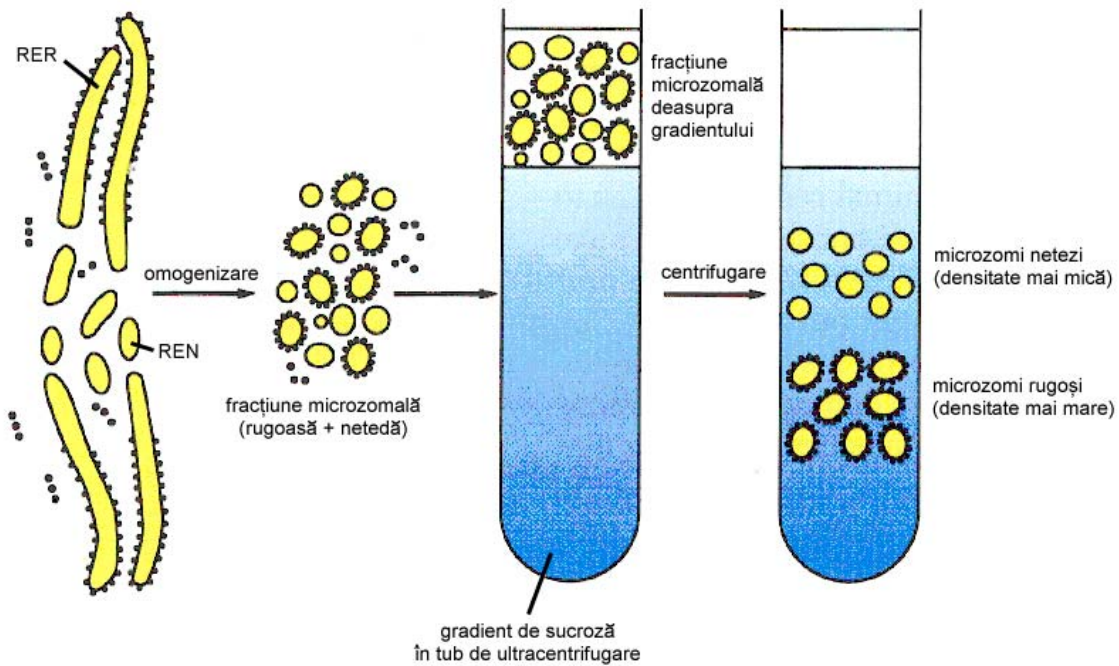


**George Emil Palade** (1912 – 2008)

Premiul Nobel pentru Fiziologie sau Medicină, în 1974  
Motivația juriului: "for their discoveries concerning the structural and functional organization of the cell"



# Metodologia de studiu a reticulului endoplasmic – principii

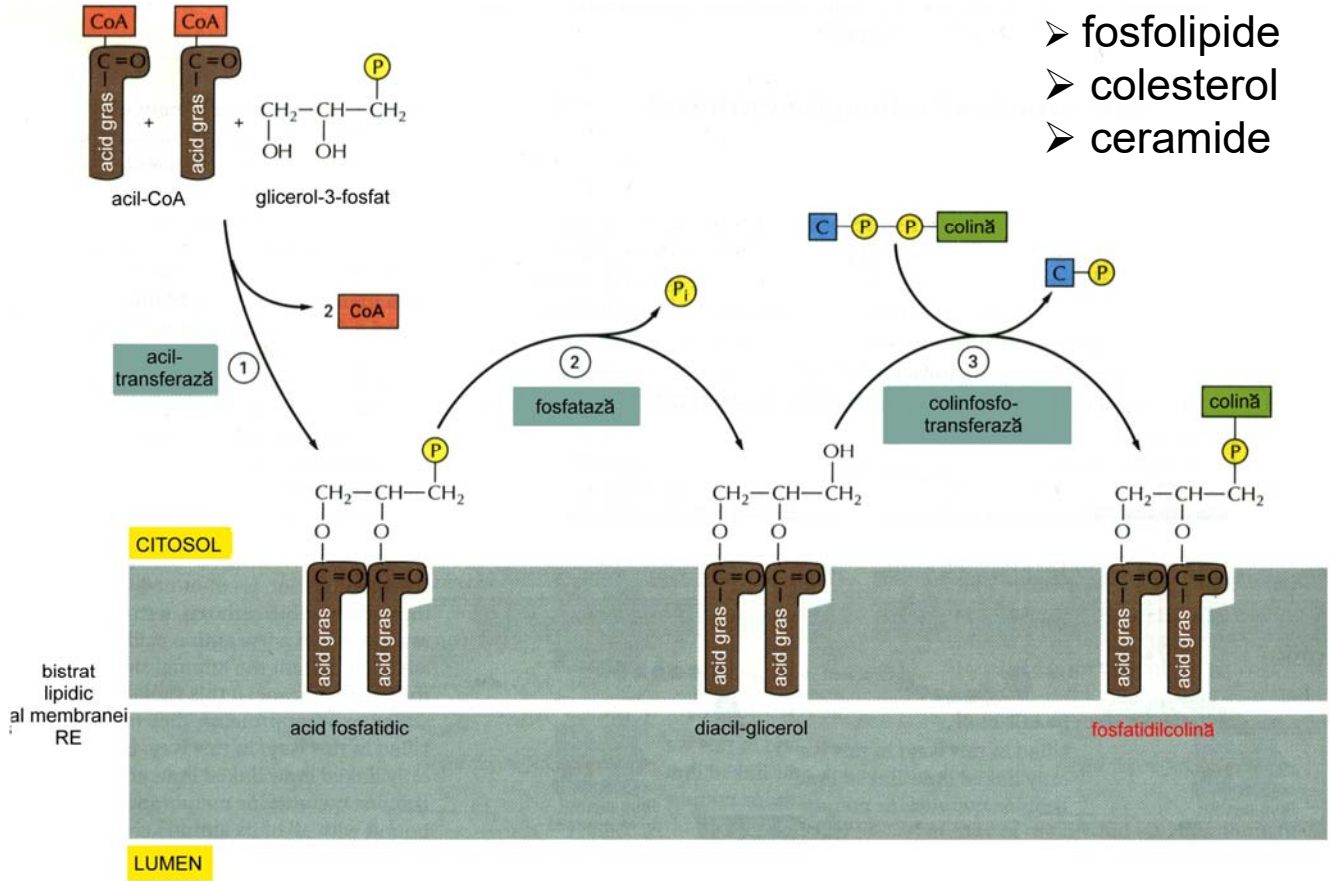


## Funcțiile reticulului endoplasmic neted

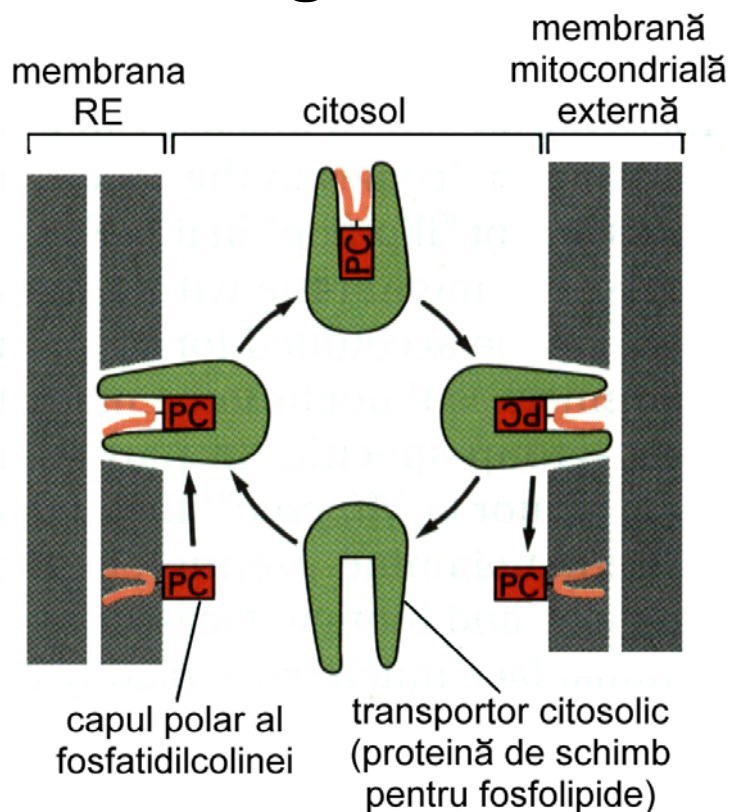
- Metabolismul lipidic;
- Metabolismul glucozei
- Detoxificare celulară;
- Funcții speciale.

# Biosinteza lipidelor membranare

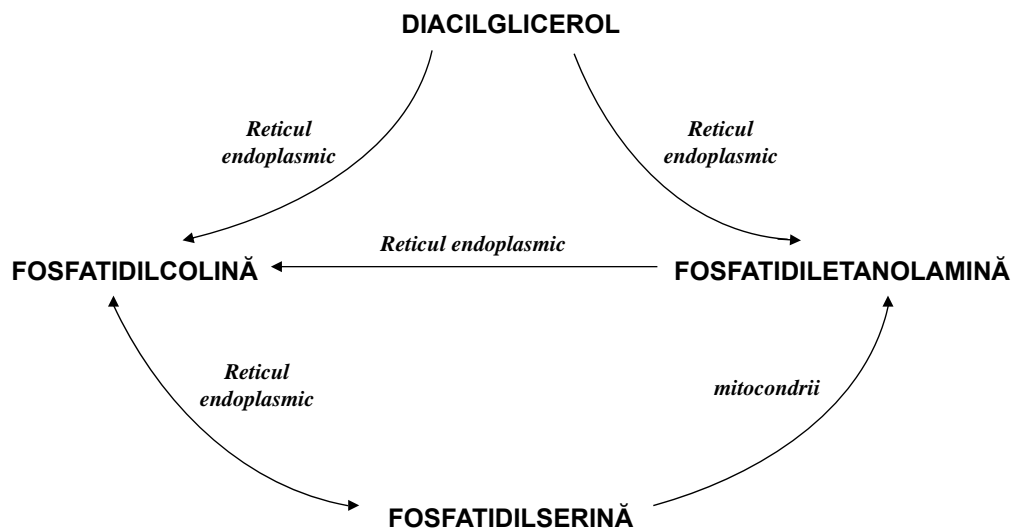
- fosfolipide
- colesterol
- ceramide



## Transportul fosfolipidelor nou sintetizate către organelle autonome

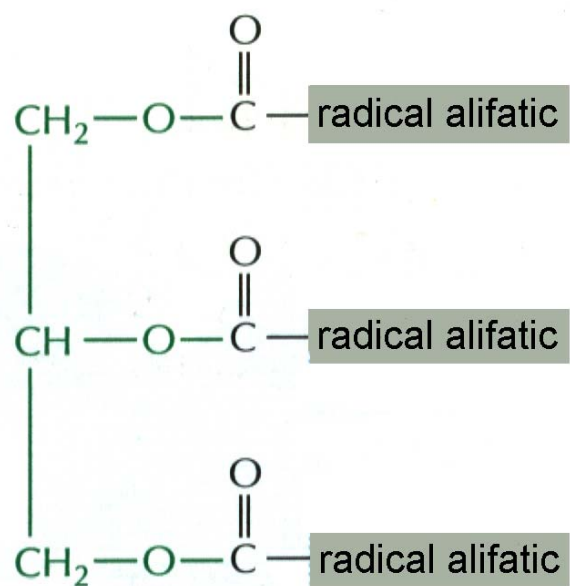
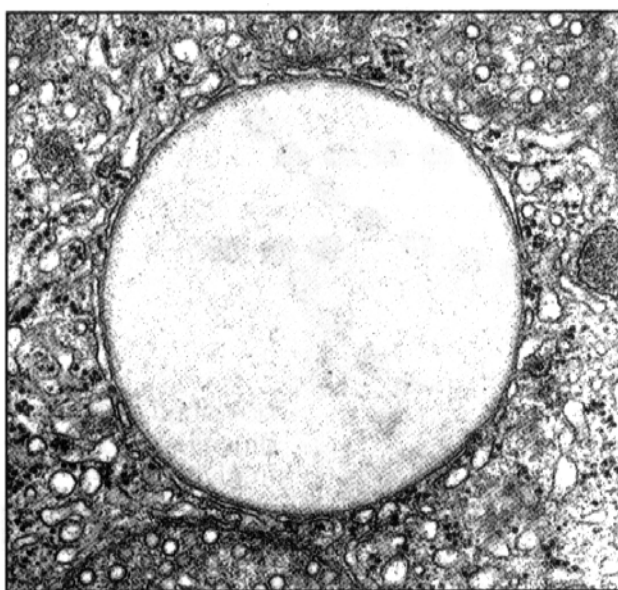


# Inter-relații între căile de biosinteză ale diferitelor tipurile de fosfolipide la mamifere



N.B. Alte noi căi de disproporționare între diferite tipuri de fosfolipide sunt în confirmare.

## Metabolismul trigliceridelor



## **Desaturarea acizilor grași**

### **Efactor:**

complexul enzimatic acid gras desaturază /  
citocrom b<sub>5</sub> / NADH-citocrom b<sub>5</sub> reductază

### **Efect:**

modularea fluidității membranare

## **Metabolismul glucozei**

Implicare în eliberarea glucozei din glicogen

### **Mecanism:**

1. Transport de glucozo-6-fosfat prin membrana RE
2. Defosforilarea în lumenul RE (glucozo-6-fosfataza)
3. Eliberarea glucozei în spațiul extracelular

### **Efectul:**

Echilibrarea homeostaziei sanguine a glucozei

## **Detoxificare celulară**

### **Efactor:**

compexul enzimatic citocrom P450 / NADPH-  
citocrom P450 reductază

### **Evidențiere:**

hiperplazia reversibilă a reticulului endoplasmic  
neted în hepatocite (reacție la tratamente cu  
barbiturice)

## **Funcții speciale ale REN**

- Depozit dinamic de ioni de calciu
- Reticulul sarcoplasmic (celula musculară striată)
- Proteine care leagă  $\text{Ca}^{2+}$  (în principal calsechestrina)
- Canale de calciu operate chimic
- Pompele de calciu



# **Funcțiile reticulului endoplasmic rugos**

## ***Funcția de bază***

- Implicare în biosinteza unor proteine (peste o treime din proteinele biosintetizate în celulă)

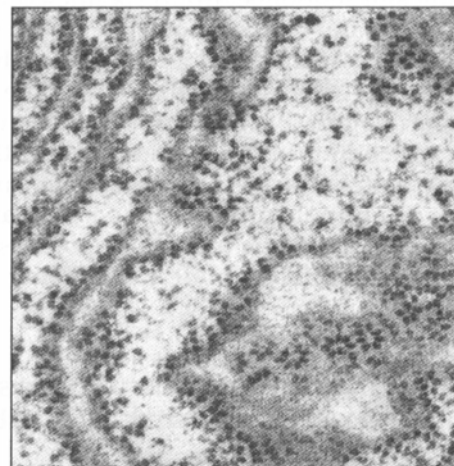
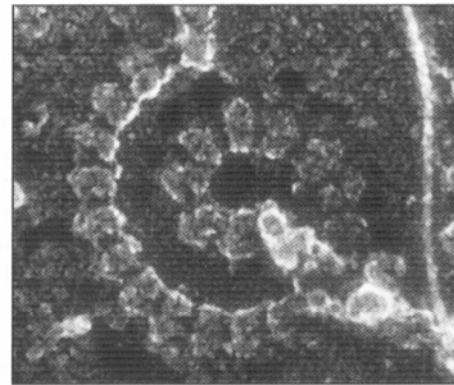
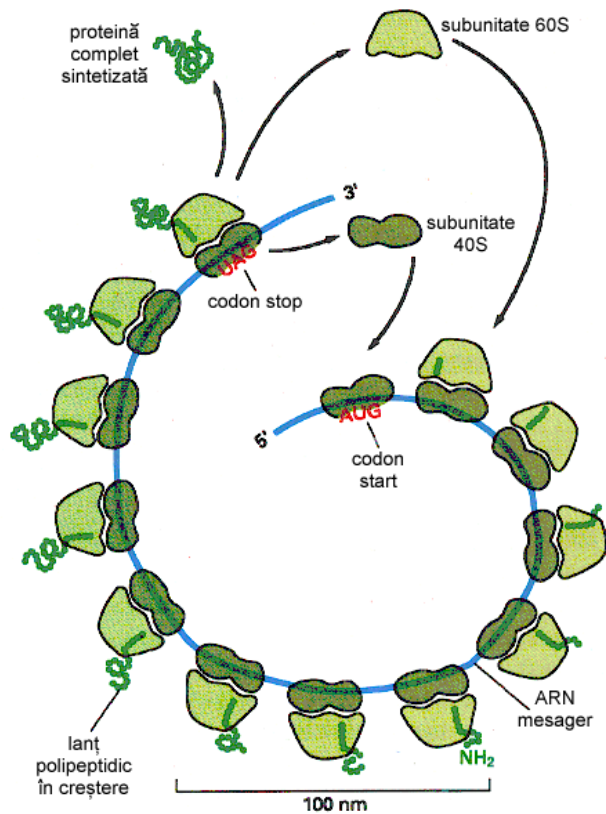
## ***Funcții asociate***

- Prelucrări ale proteinelor biosintetizate
  - Modificări co-/post-traducere
  - Împachetare și asamblare
- Retrotranslocarea sau dislocarea proteinelor (cele incorect împachetate)
- Sortarea și transportul de biomolecule spre complexul Golgi

## **Biosinteza unor proteine**

1. Proteine membranare (transmembranare și ectoproteine)
2. Proteine ale RE, complexului Golgi, lizozomilor, sistemului endozomal
3. Proteine destinate exportului (proteine secretorii)

# Poliribozomul



**N.B.** Eficiența biosintezei proteice în celulă

## Cum știe RE ce proteine trebuie preluate?

### Peptide (secvențe) semnal

FUNCȚIA SECVENȚEI SEMNAL	STRUCTURA SECVENȚEI
Import în nucleu	-Pro-Pro- <b>Lys-Lys-Lys-Arg-Lys</b> -Val-
Import în peroxisom	- <b>Ser-Lys-Leu</b> -COO <sup>-</sup> (PTS1)
Import în mitocondrie	<sup>+</sup> H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu- <b>Arg</b> -Gln-Ser-Ile- <b>Arg</b> -Phe-Phe- <b>Lys</b> -Pro-Ala-Thr- <b>Arg</b> -Thr-Leu-Cys-Ser-Ser- <b>Arg</b> -Tyr-Leu-Leu-
Import în reticul endoplasmic	<sup>+</sup> H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser- <b>Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala</b> -Thr- <b>Glu-Ala-Glu</b> -Gln-Leu-Thr- <b>Lys</b> -Cys- <b>Glu</b> -Val-Phe-Gln-



Günter Blobel (discipol al lui G.E. Palade), Premiul Nobel pentru Fiziologie sau Medicină, în 1999, "*for the discovery that proteins have intrinsic signals that govern their transport and localization in the cell*"

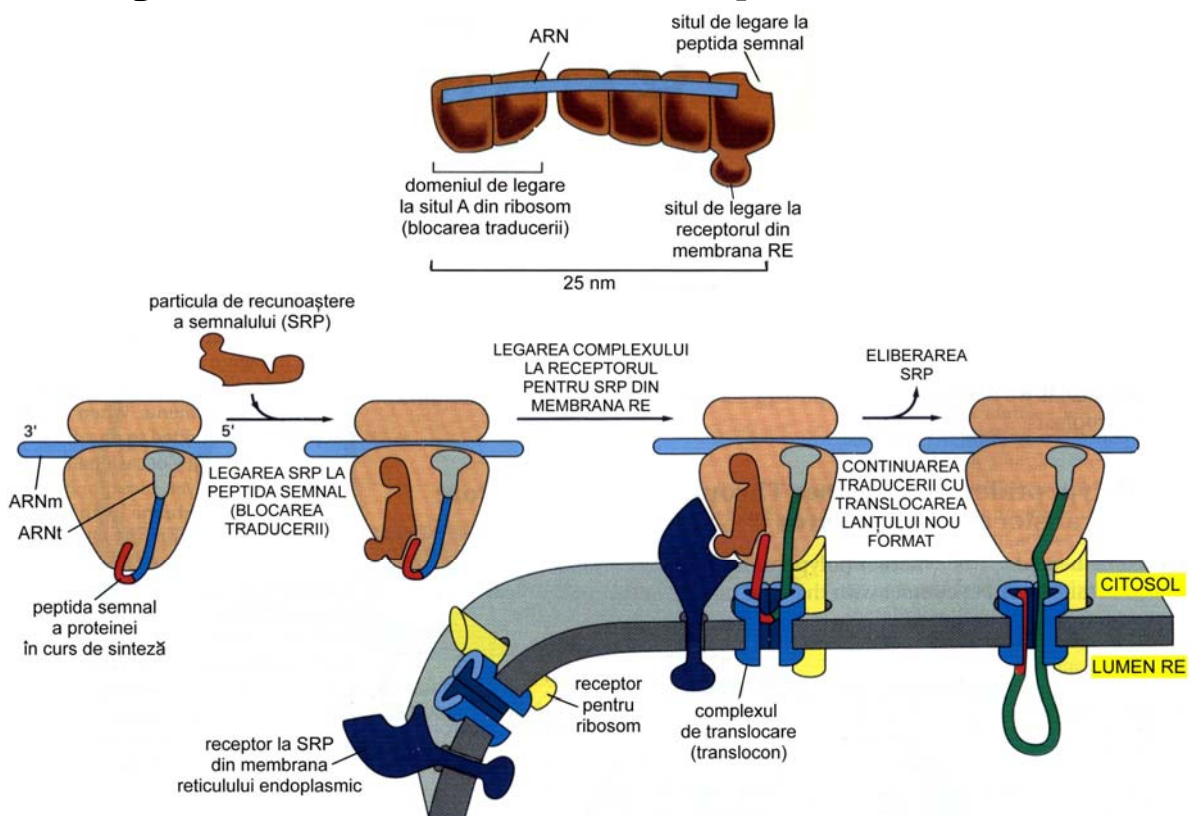
# Peptide (secvențe) semnal

- a. Semnal secvențial
- b. Semnal conformațional

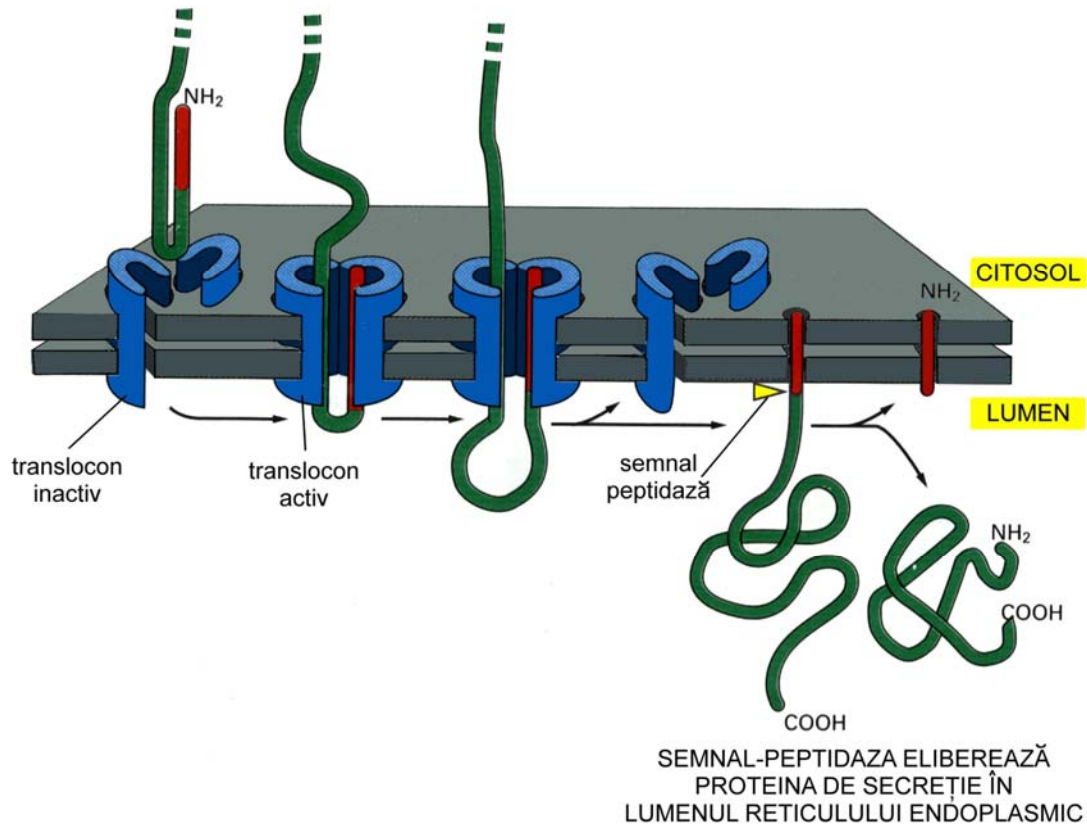


Günter Blobel, în timpul festivității de decernare a Premiului Nobel

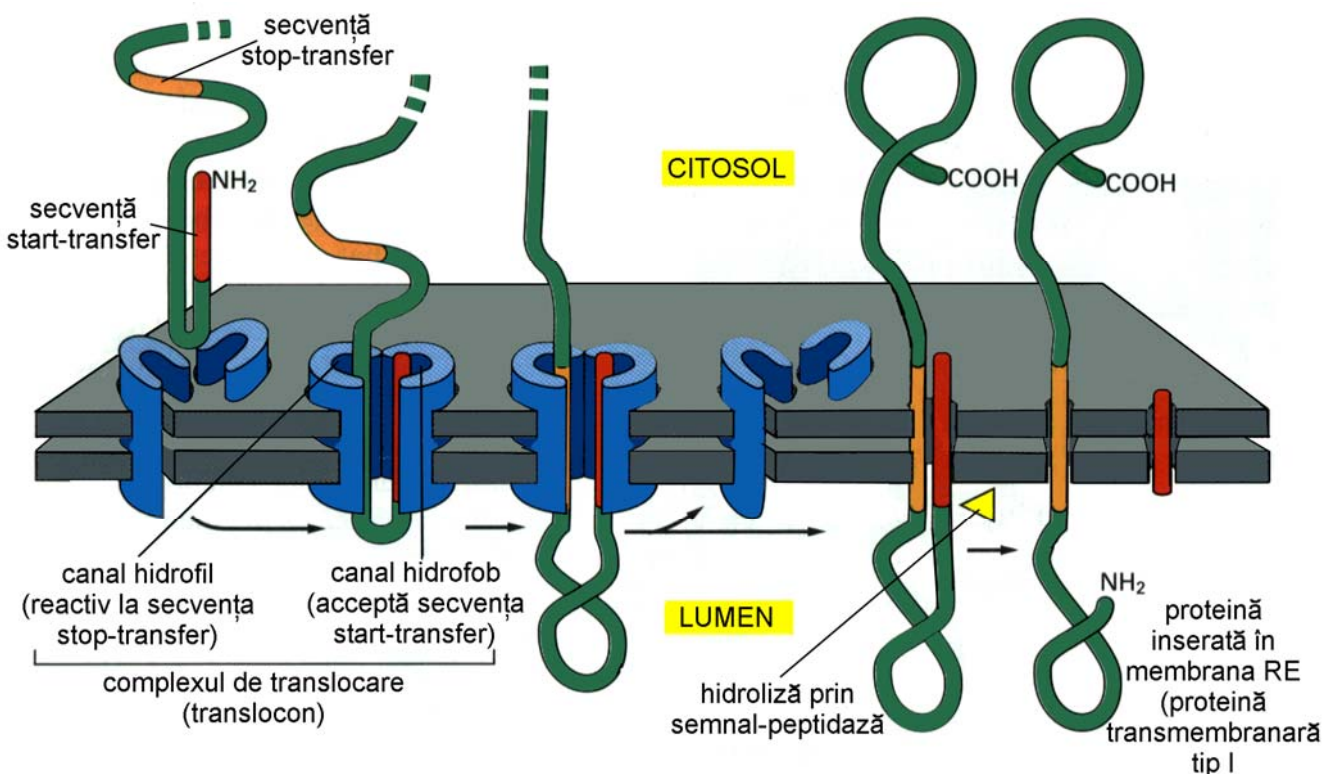
## Preluarea proteinelor de către RE și inițierea translocării prin membrană



# Biosinteza proteinelor secretorii



# Biosinteza proteinelor transmembranare unipas (i)



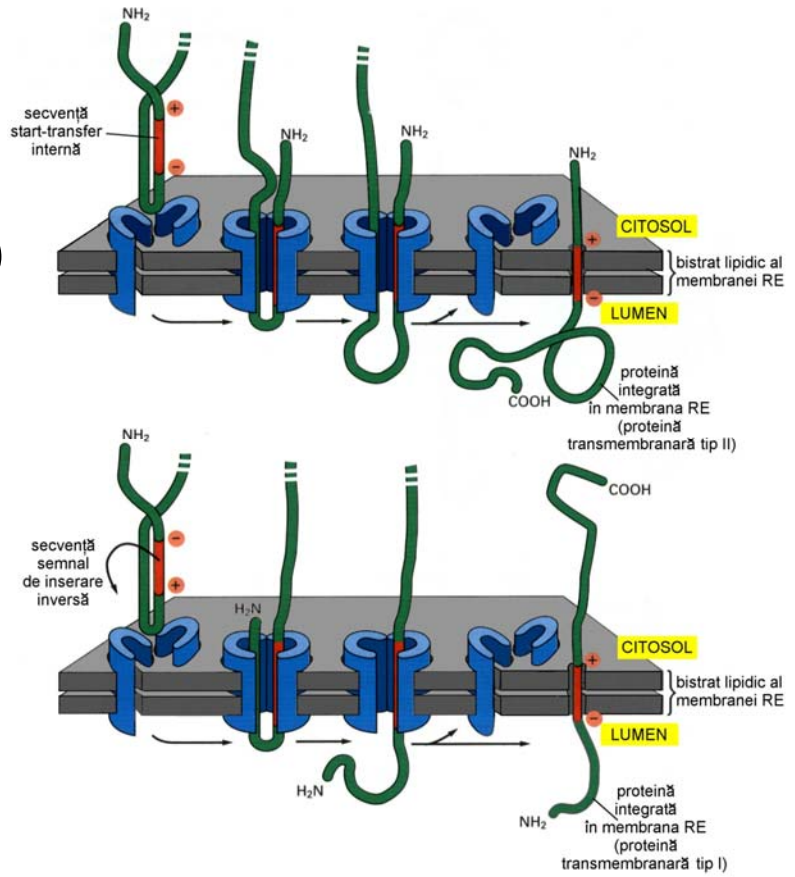


# Biosinteza proteinelor transmembrana-re unipas (ii)

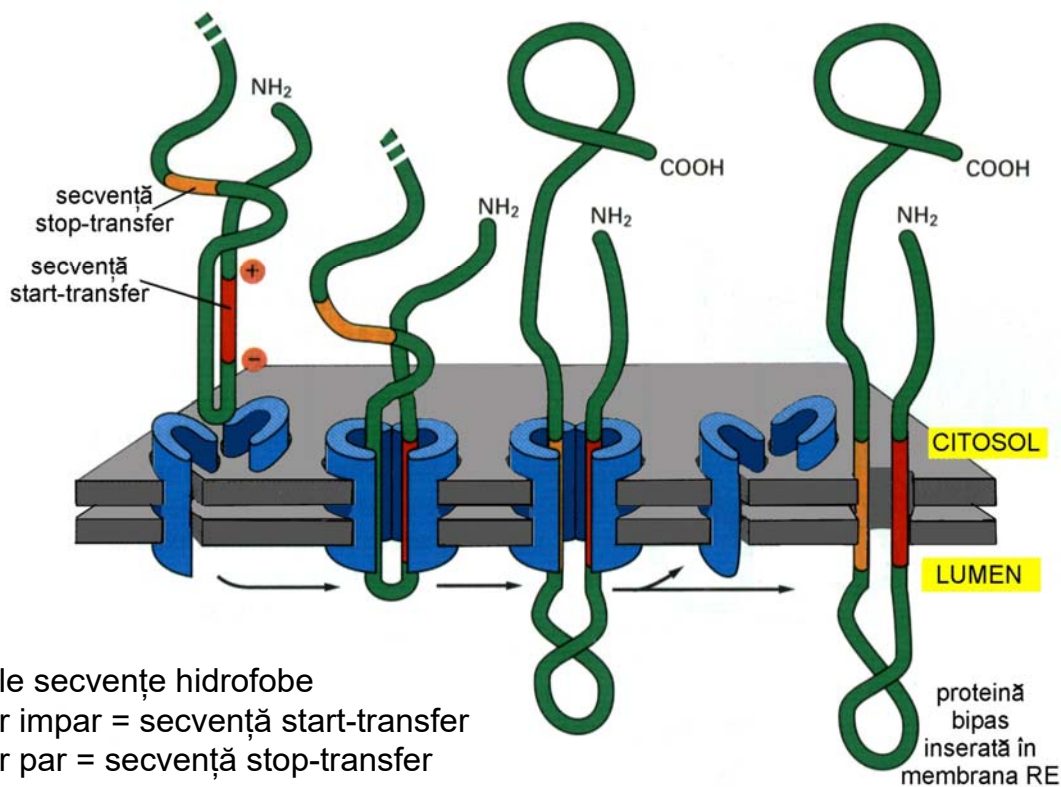
Inserarea în translocon depinde de proprietățile electrice ale lanțului polipeptidic din zona adiacentă a peptidei semnal: sarcina pozitivă netă rămâne către citosol

Sarcini pozitive către capătul amino-terminal = inserare directă

Sarcini pozitive către capătul carboxilic = inserare inversă



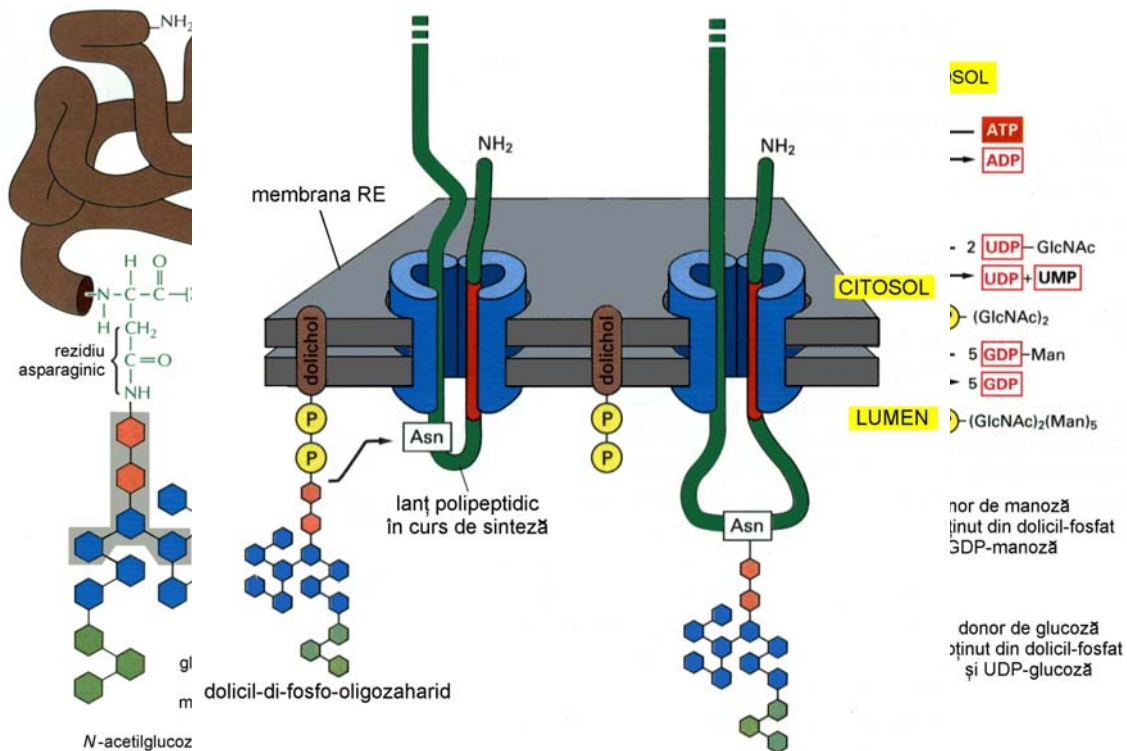
# Biosinteza proteinelor transmembrana-re multipas



Multiple secvențe hidrofobe  
 Număr impar = secvență start-transfer  
 Număr par = secvență stop-transfer

# Prelucrări ale proteinelor biosintetizate

Glicozilarea la asparagină (formarea structurilor *N*-glicozidice)



## Modificări ale lanțurilor polipeptidice

### ➤ Modificări co-traducere:\*

- (i) inițierea glicozilării proteinelor (structuri *N*-glicozidice);
- (ii) hidroxilarea prolinei (în poziția 4) și a lizinei (în poziția 5); enzima (prolil-4-hidroxilaza) este un heterotetramer  $\alpha_2\beta_2$ , în care subunitatea  $\beta$  este identică PDI;
- (iii) glicozilarea 5-hidroxilizinei cu formarea Gal-Hyl, respectiv Glc-Gal-Hyl (enzimele: hidroxilizil-galactoziltransferază, apoi galactozil-hidroxilizil-glucoziltransferază)
- (iv) carboxilarea restului glutamat în poziția  $\gamma$ ; enzima este proteină transmembranară cu situl activ spre lumen.

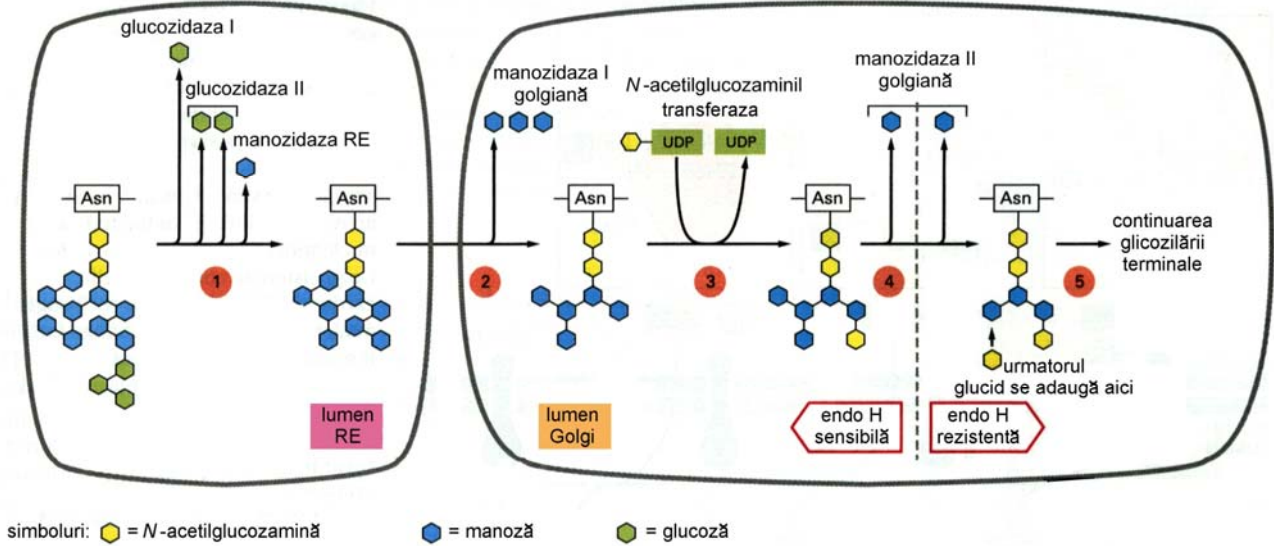
### ➤ Modificări post-traducere:

- (i) tunderea structurilor *N*-glicozidice;
- (ii) împachetarea corectă a proteinelor (activități șaperonice);
- (iii) glipierea (atașarea la glicofosfatidilinozitol, GPI).

\* **N.B.** Procesele biochimice de la (ii) la (iv) se pot petrece atât co-traducere, cât și (uneori) post-traducere

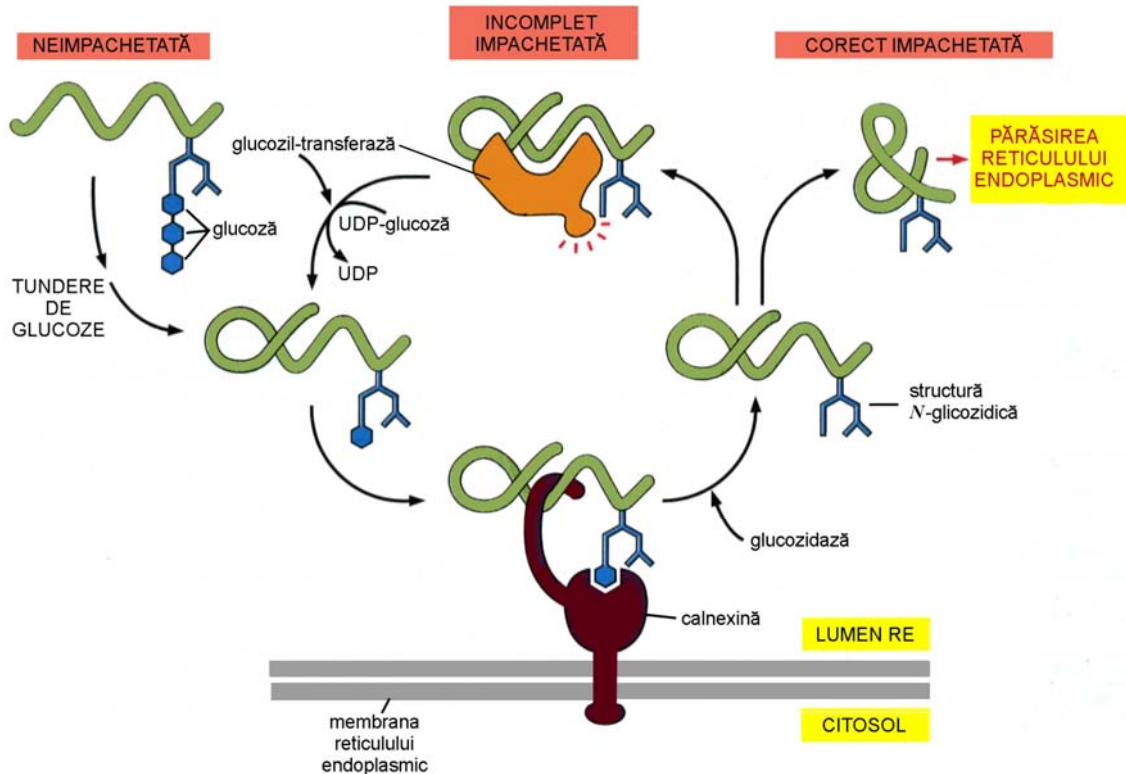
# Prelucrări ale proteinelor biosintetizate

## Tunderea structurilor N-glicozidice



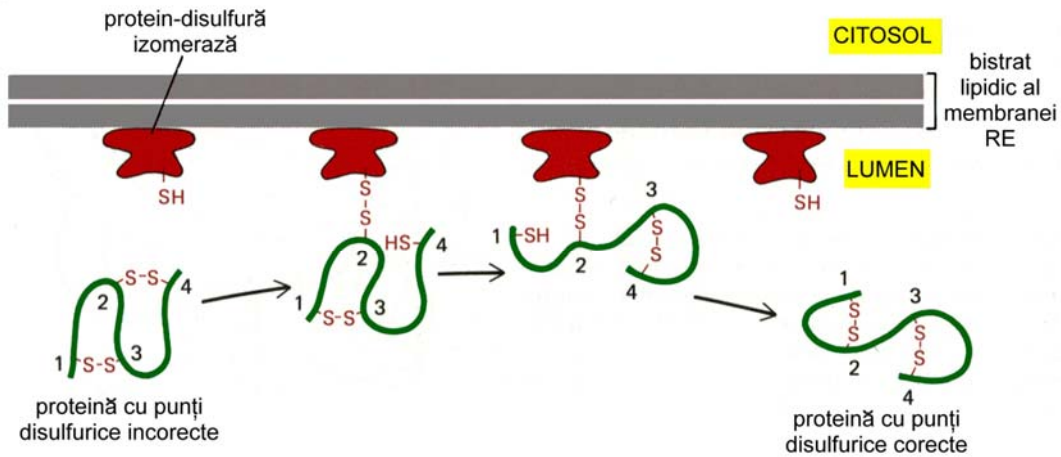
# Prelucrări ale proteinelor biosintetizate

## Asistarea împachetării glicoproteinelor



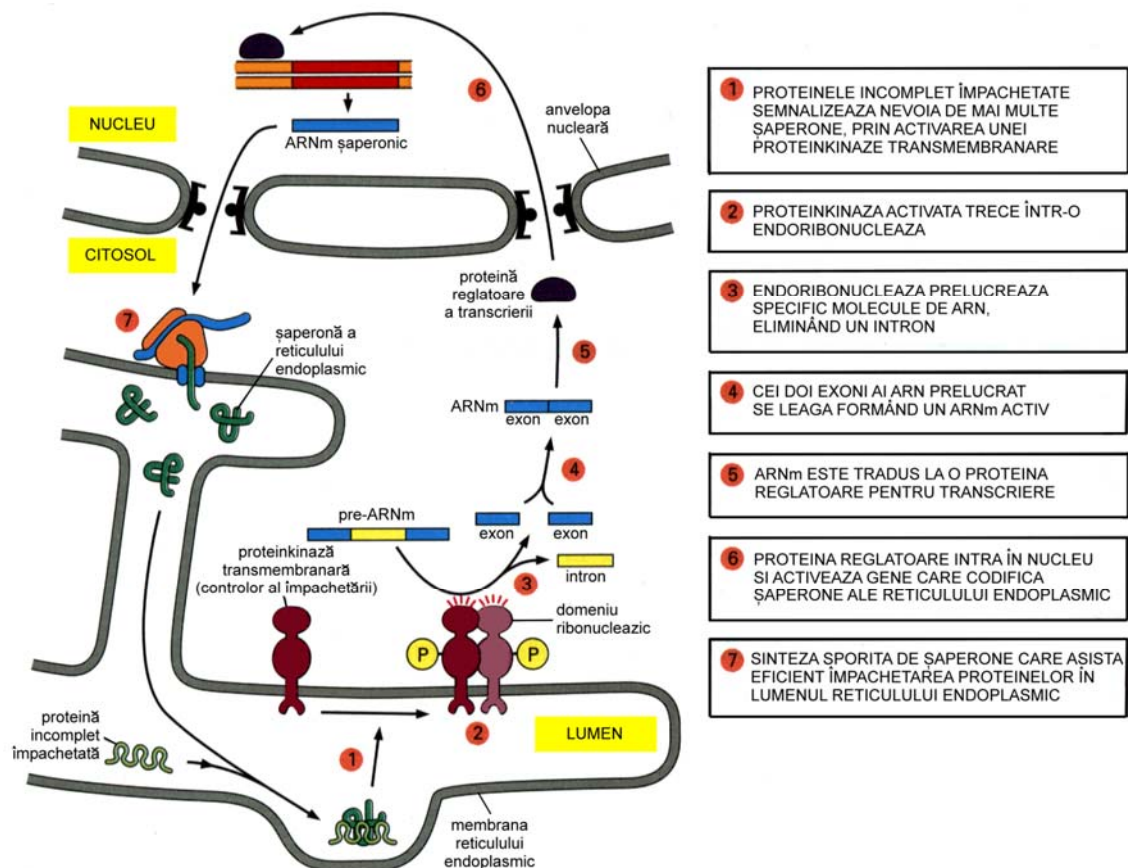
# Activități șaperonice în RE

- Calnexina – asistă prin mecanism de tip lectinic
- Protein disulfură izomeraza – asistă formarea punților disulfidice corecte (modificare co-/post-traducere)



- Proteina de legare (**binding protein, BiP**, sau GRP78) – familia HSP70

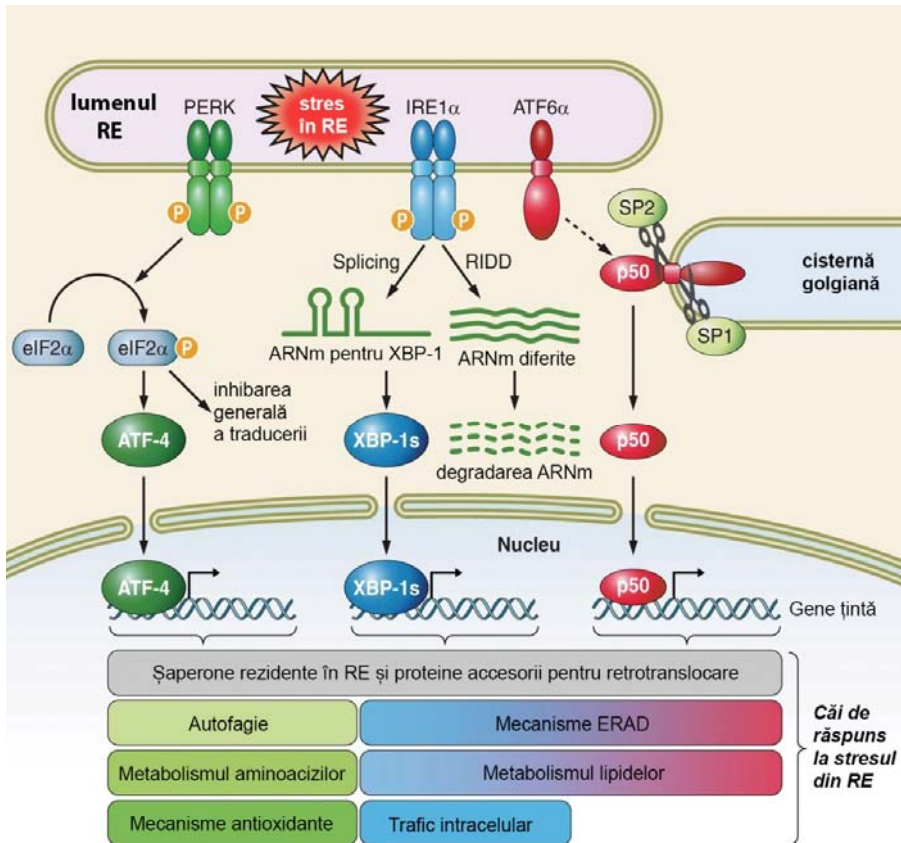
# Controlul nevoii de șaperone



1. PROTEINELE INCOMPLET ÎMPACHETATE SEMNALIZEAZA NEVOIA DE MAI MULTE ȘAPERONE, PRIN ACTIVAREA UNEI PROTEINKINAZE TRANSMEMBRANARE
2. PROTEINKINAZA ACTIVATA TRECE ÎNTR-O ENDORIBONUCLEAZA
3. ENDORIBONUCLEAZA PRELUCREAZA SPECIFIC MOLECULE DE ARN, ELIMINÂND UN INTRON
4. CEI DOI EXONI AI ARN PRELUCRAT SE LEAGA FORMÂND UN ARNm ACTIV
5. ARNm ESTE TRADUS LA O PROTEINA REGLATOARE PENTRU TRANSCRIERE
6. PROTEINA REGLATOARE INTRA ÎN NUCLEU SI ACTIVEAZA GENE CARE CODIFICA ȘAPERONE ALE RETICULULUI ENDOPLASMIC
7. SINTEZA SPORITA DE ȘAPERONE CARE ASISTA EFICIENT ÎMPACHETAREA PROTEINELOR ÎN LUMENUL RETICULULUI ENDOPLASMIC



# Stresul din RE



Legendă:

**PERK** – „*Pancreatic ER Kinase*”

**IRE1α** – „*Inositol-Requiring Enzyme 1α*”

**ATF6α** – „*Activation Transcription Factor 6α*”

**eIF2α** – „*eukaryotic Initiation Factor 2α*”

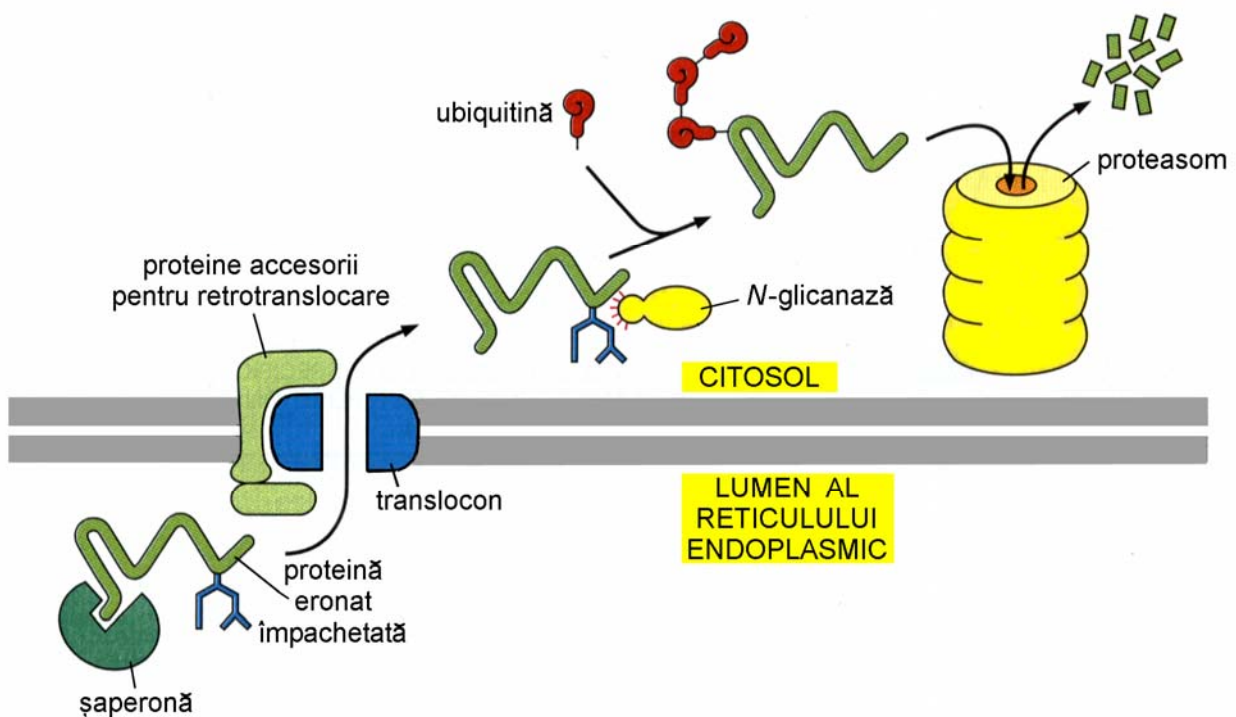
**RIDD** – „*Regulated IRE1-Dependent Degradation*”

**SP1(2)** – „*Site-1(2) Protease*”

**XBP-1** – „*X-Box Protein 1*”

Adaptat după: Pluquet O, Pourtier A, Abbadie C. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2015; 308(6): C415-25. doi: 10.1152/ajpcell.00334.2014.

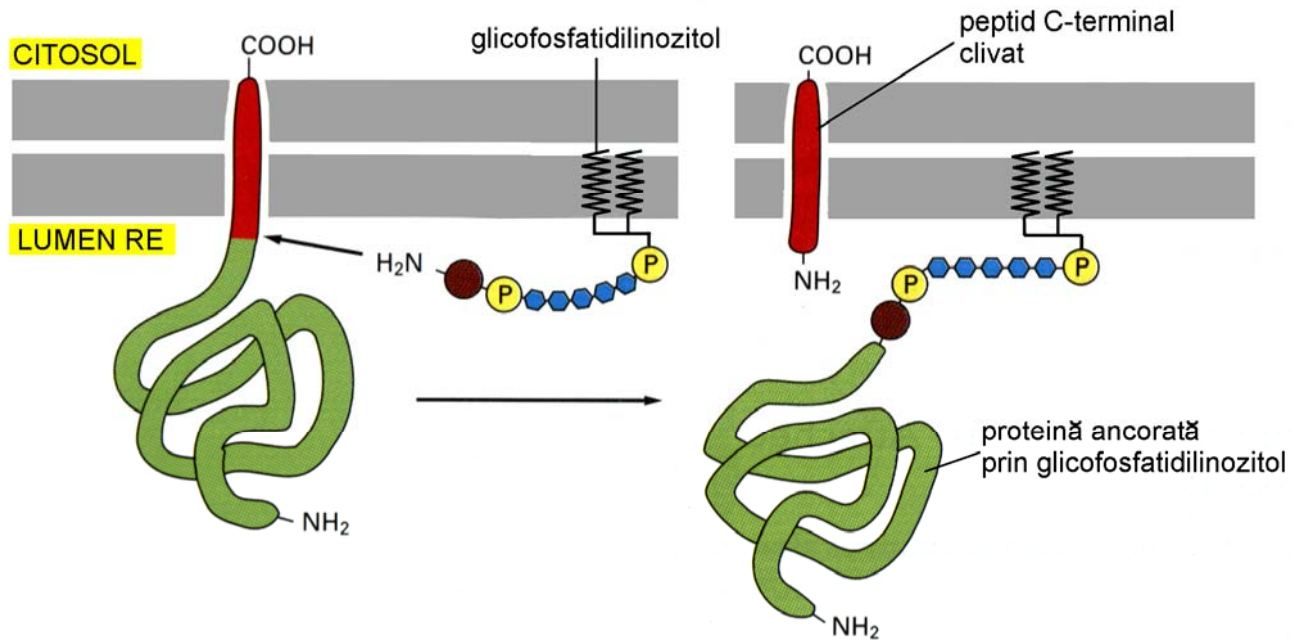
## Retrotranslocarea proteinelor a căror pliere corectă eșuează



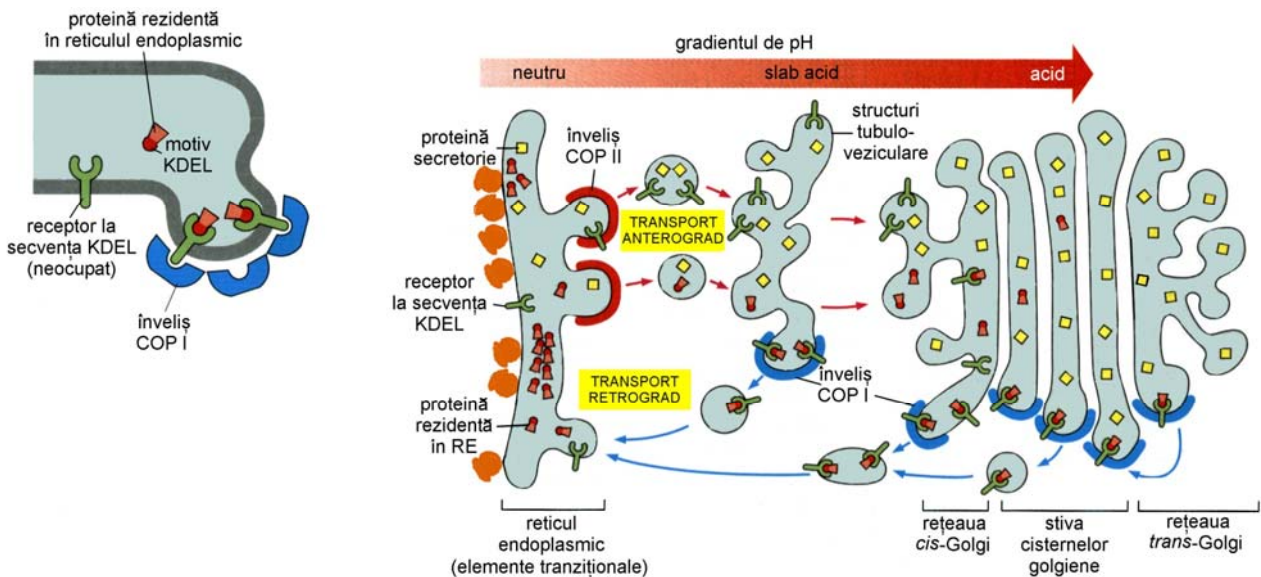
**N.B.** Dislocarea de proteine eronat împachetate prin alte mecanisme

# Prelucrări ale proteinelor biosintetizate

Glipierea (formarea ancorei glicofosfatidilinozitolice)



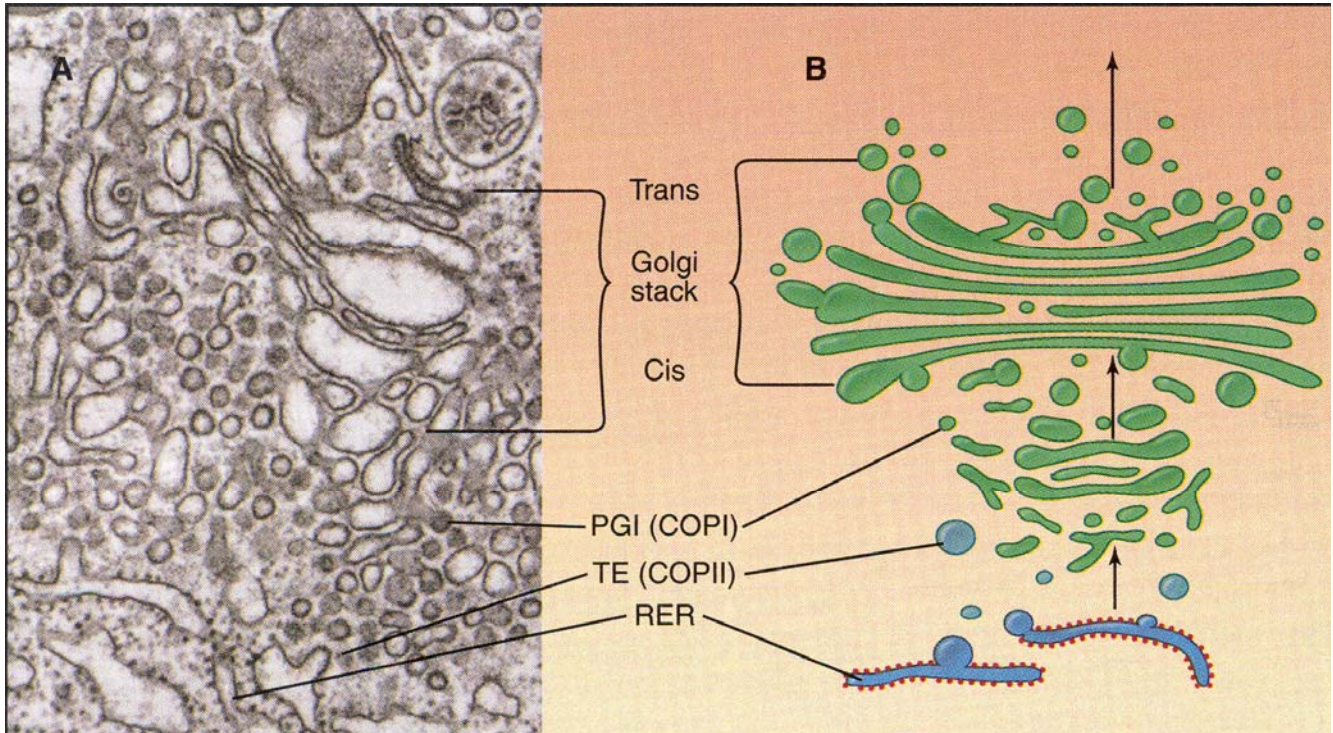
## Sortarea și traficul către aparatul Golgi



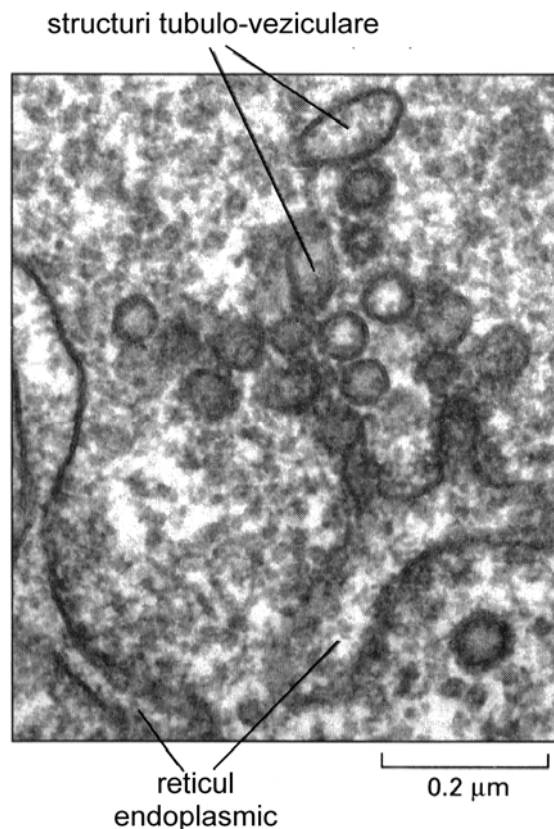
**N.B.** Element morfologic suplimentar al RE denumit reticul endoplasmatic tranzițional (de tranziție), orientat către aparatul Golgi



# Relația funcțională dintre RE și complexul Golgi



## Structurile tubulo-veziculare



## **Rezumat**

- RE este un organit implicat în biosinteza și traficul intracelular al membranelor;
  - Biosintetizează și assemblează lipidele bistratului membranelor; în general, asigură metabolismul lipidic în celulă
  - Biosintetizează o serie de proteine, inclusiv ale membranelor
- RE asistă proteinele pentru adoptarea conformației corecte, funcționale;
- RE cooperează atât cu ribozomii cât și cu complexul Golgi pentru desăvârșirea funcțiilor sale.