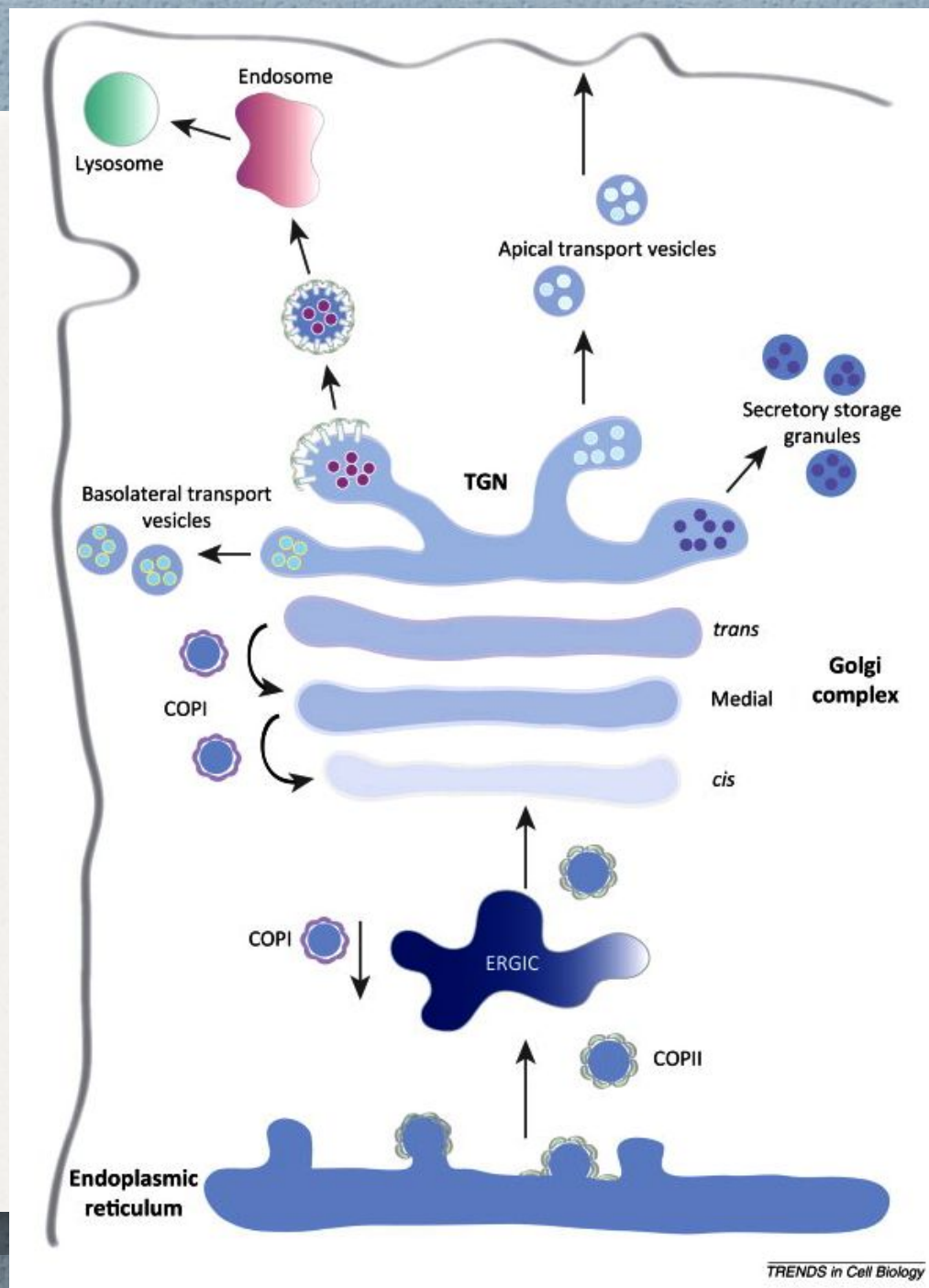


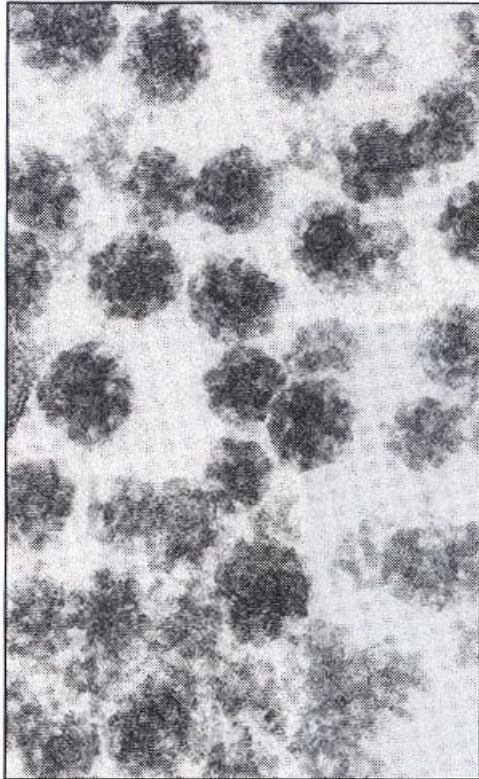
Лекция 9

АГ, лизосомы, пероксисомы

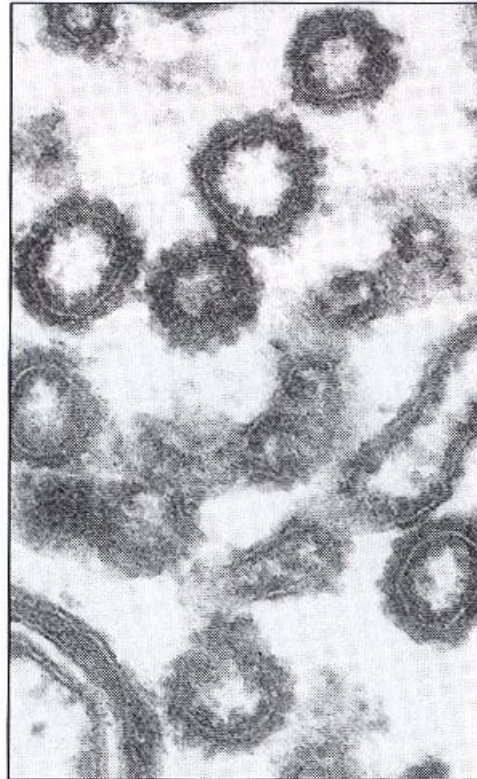
Общая схема
взаимодействия
ЭПР и аппарата
Гольджи, 2014



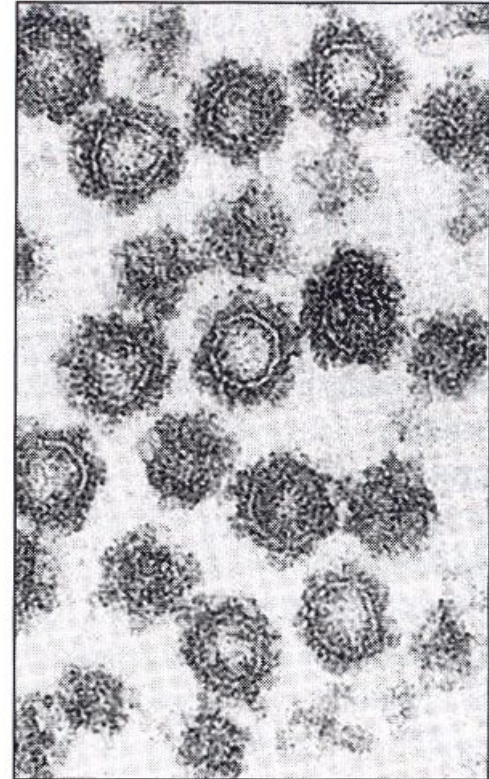
Три основных типа окаймленных пузырьков



clathrin



COPI

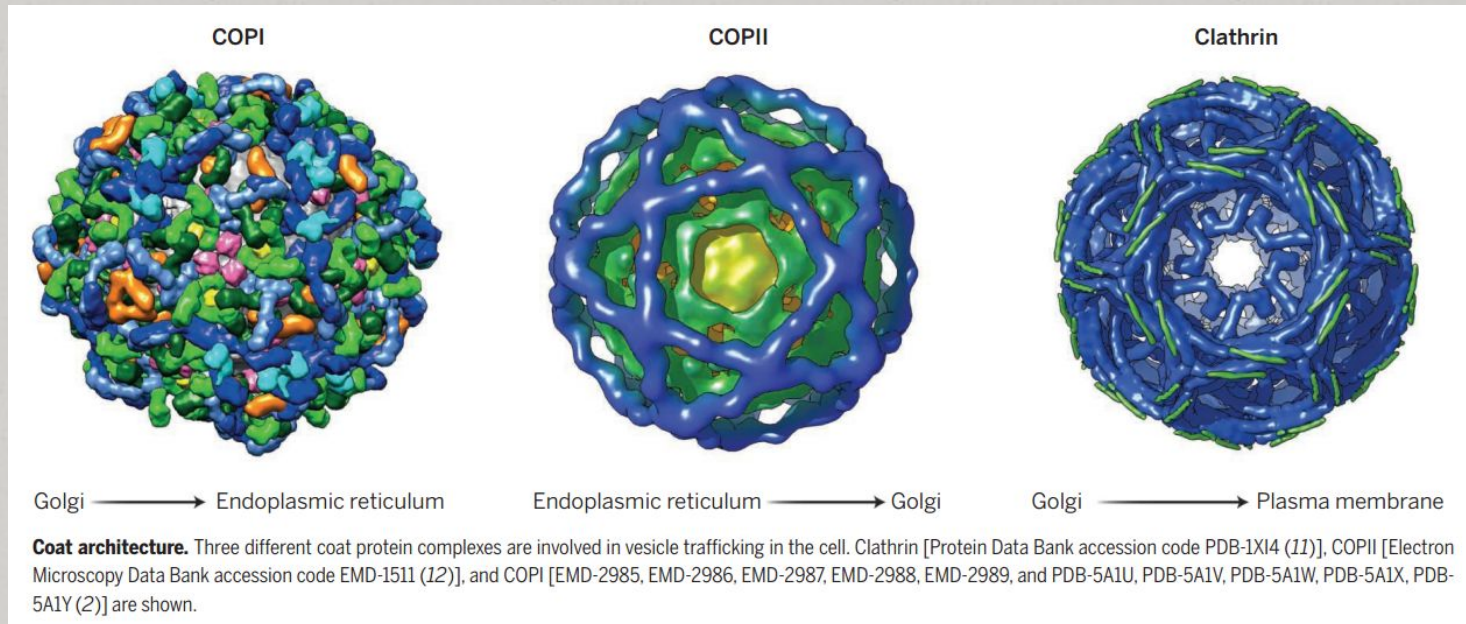


COPII

100 nm

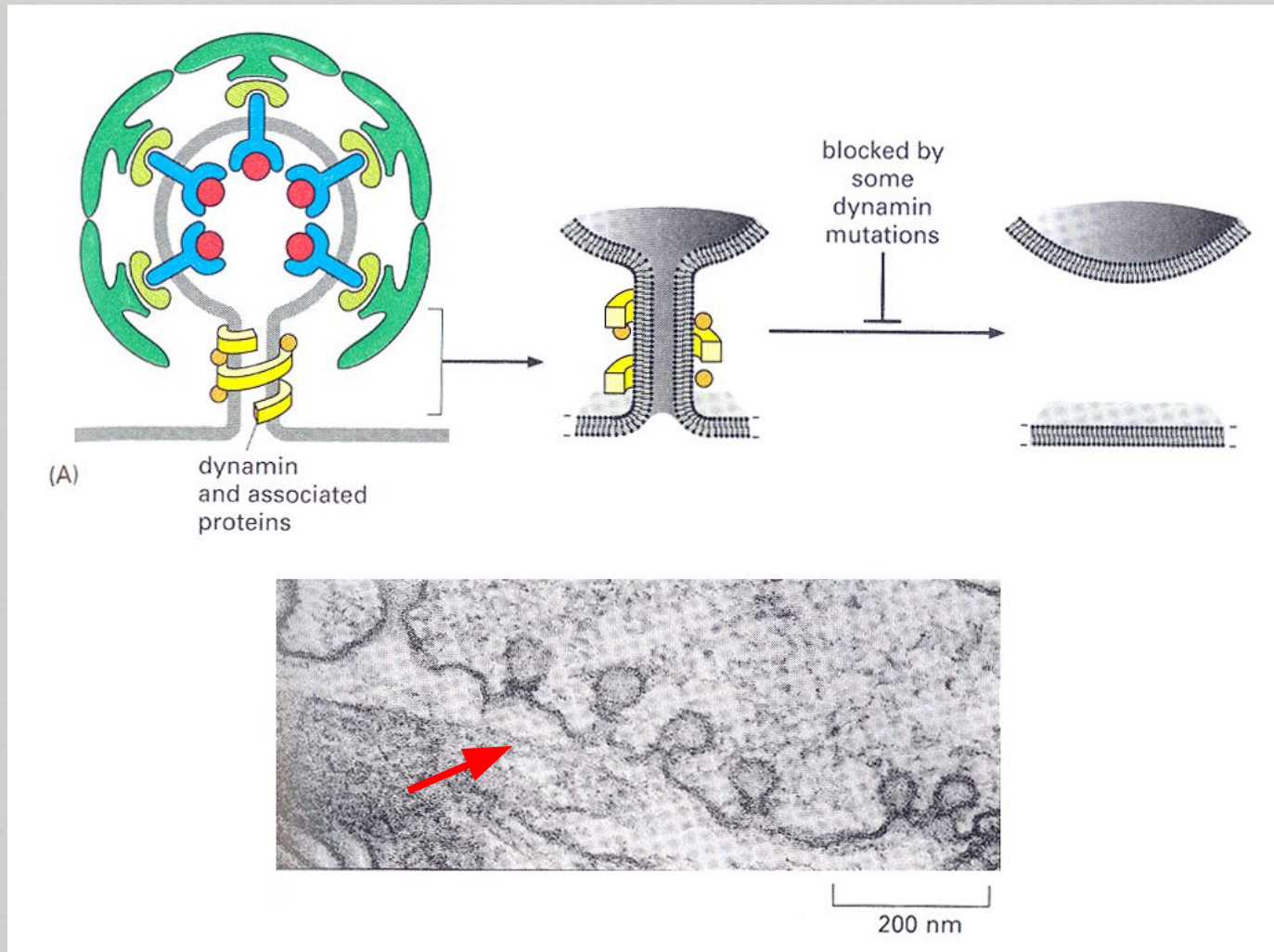
Для формирования мембранных пузырьков малого диаметра необходимы специальные белки, сворачивающие мембрану.

Три основных типа окаймляющих белков



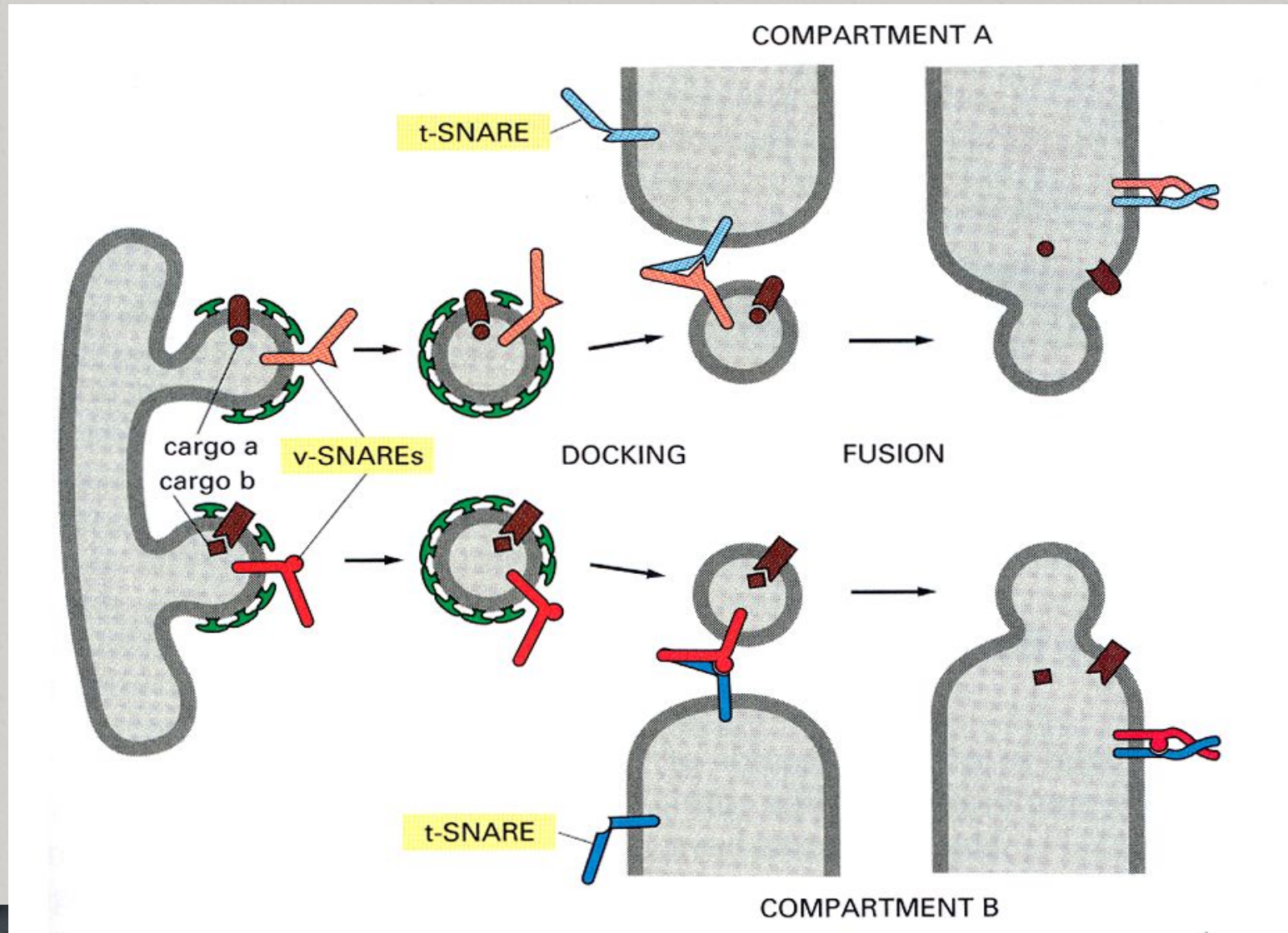
Все белки являются отдаленными «родственниками». Разница состоит в том, что COP I встраивается большими кластерами, а COP II и клатрин – одиночными молекулами. Сворачивание мембраны достигается за счет встраивания части молекулы в наружный липидный монослой. Science, 349:142-143 (2015)

Формирование пузырьков

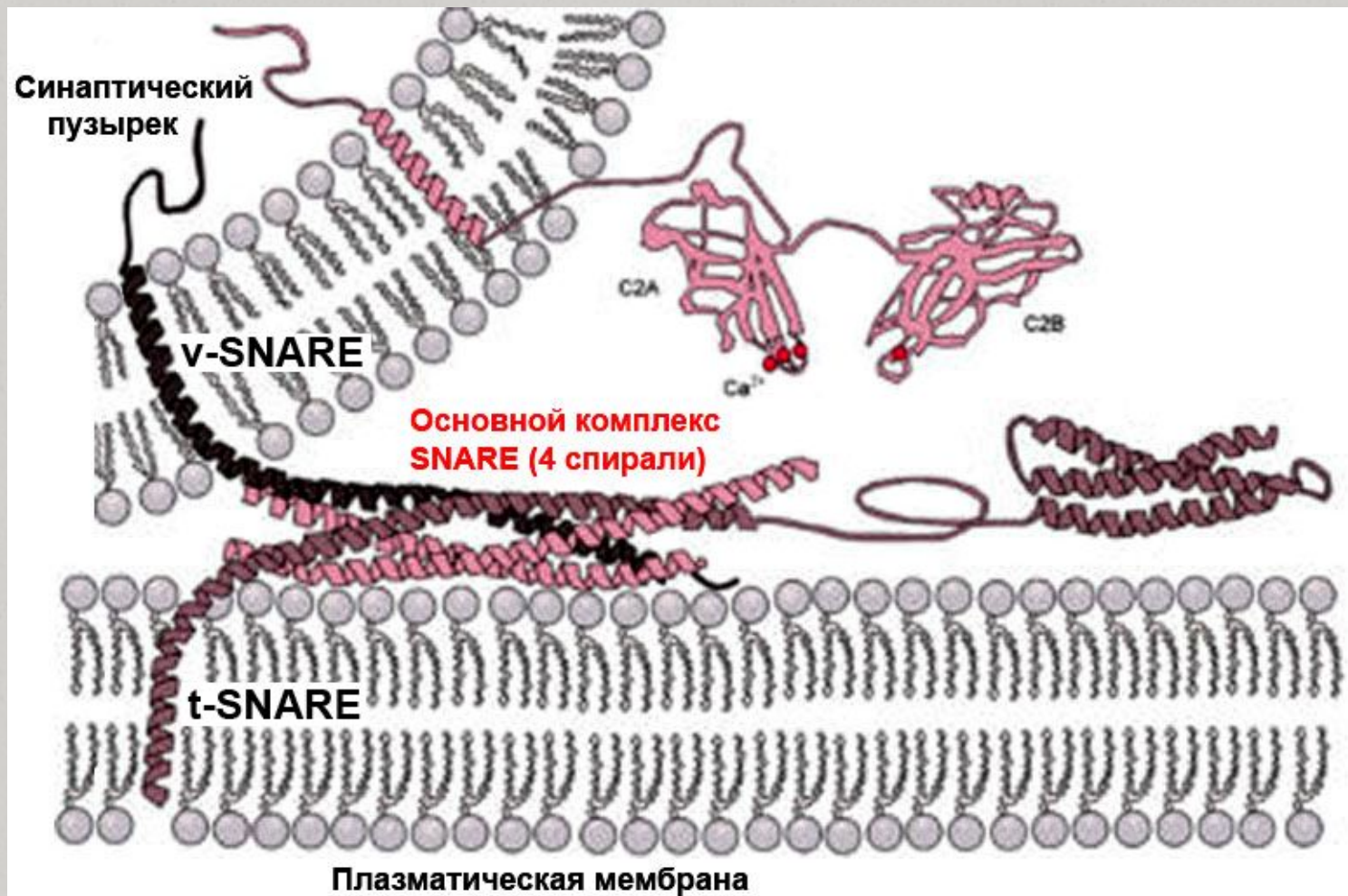


При формировании мембранных пузырьков сначала образуется «почка», которая потом отшнуровывается с помощью динамина.

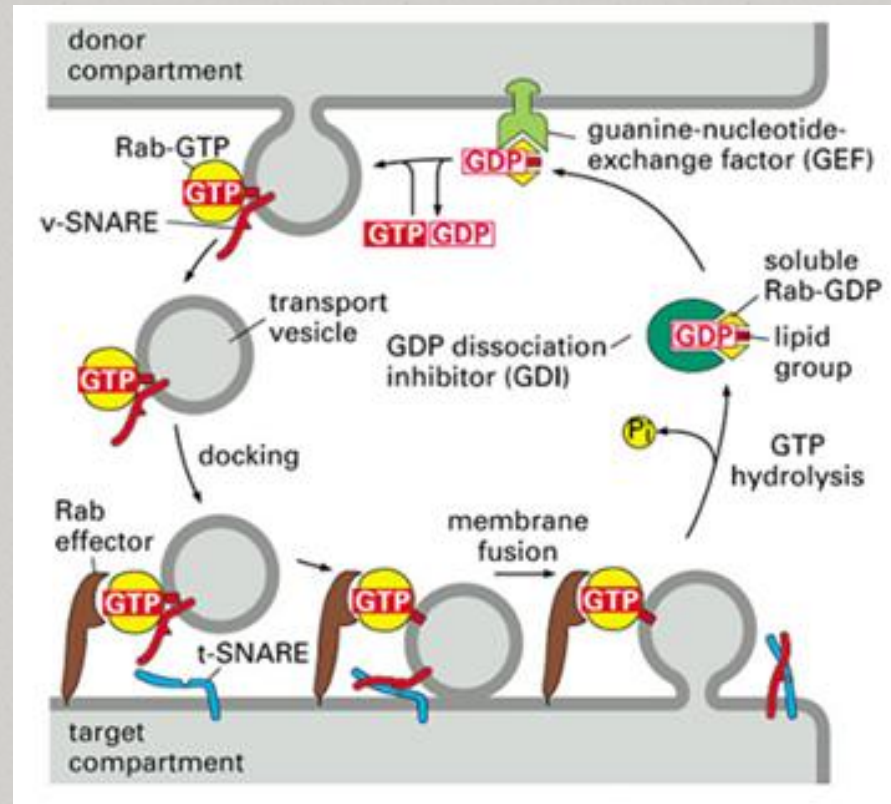
Докование пузырьков



Слияние мембран с помощью SNARE-комплекса



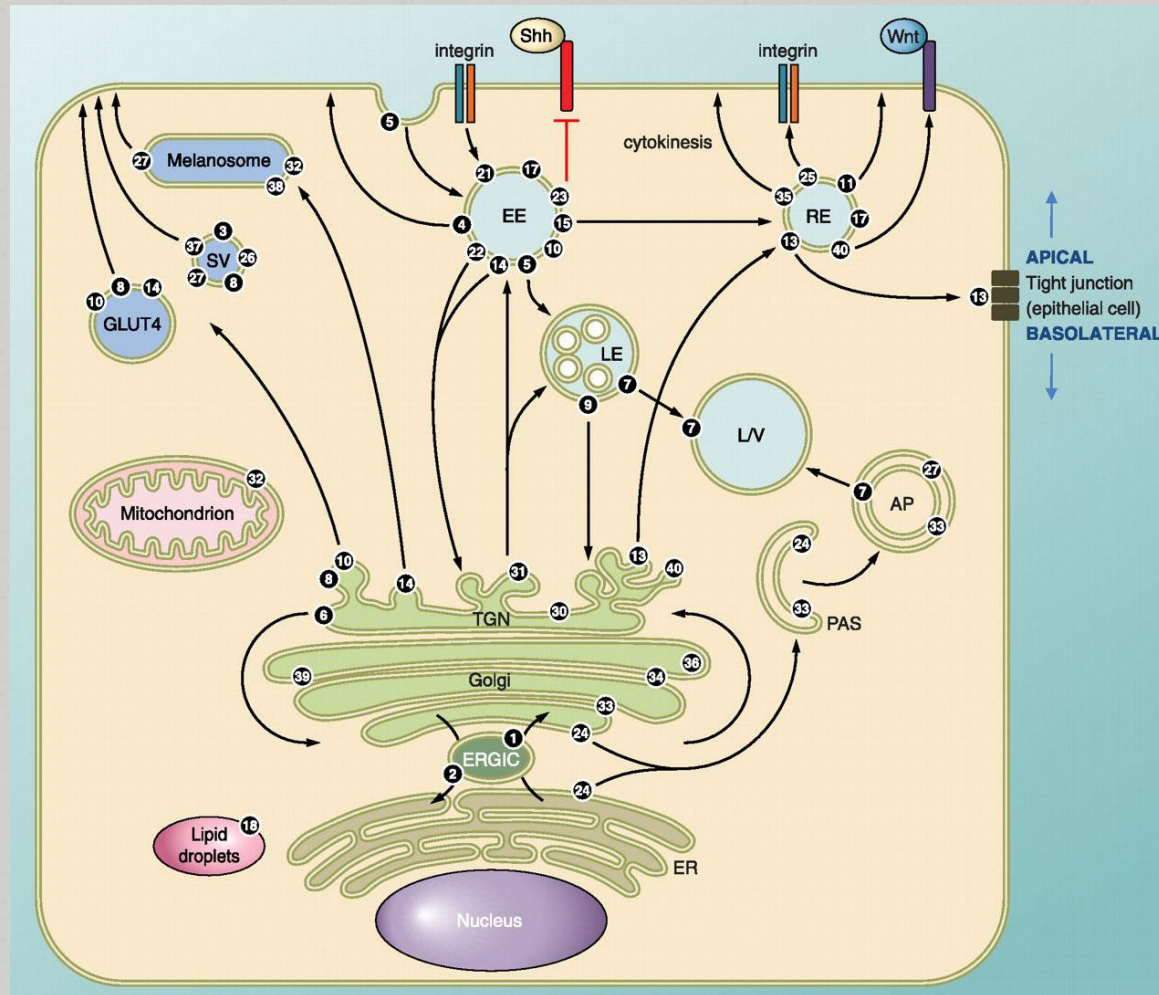
Rab-белки



Низкомолекулярные (20-25 кД) мономерные ГТФ-азы. Закрепляются в мембране с помощью липидной группы (полуинтегральные белки). Существуют в двух конформациях – GTP-Rab (активная, связанная с мембраной) и GDP-Rab (неактивная).

Обеспечивают специфическое узнавание пузырьков, их транспорт, узнавание SNARE белков и, таким образом, сортировку пузырьков. После слияния пузырьков Rab-белки рециклируются.

Rab-белки - разнообразие



Специфические Rab-белки присутствуют в каждом компартменте цитоплазмы. При переносе пузырьков происходит смена Rab-белков на их поверхности. У человека – около 70 Rab-белков.

Транспорт пузырьков

5 этапов переноса – почкование; транспорт пузырька в другой отсек; причаливание; докование; слияние с акцепторной мембраной

Транспорт начинается в эндоплазматической сети (почкование – COPII) или от плазматической мембраны (впячивание – клатрин)

Переход из ЭР в цис-компаратмент АГ – тубуло-везикулярный комплекс.

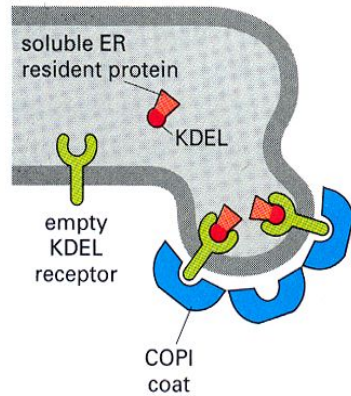
Перенос пузырьков между цистернами АГ происходит с помощью COPI.

Сортировка модифицированных белков происходит в транс-компаратменте АГ.

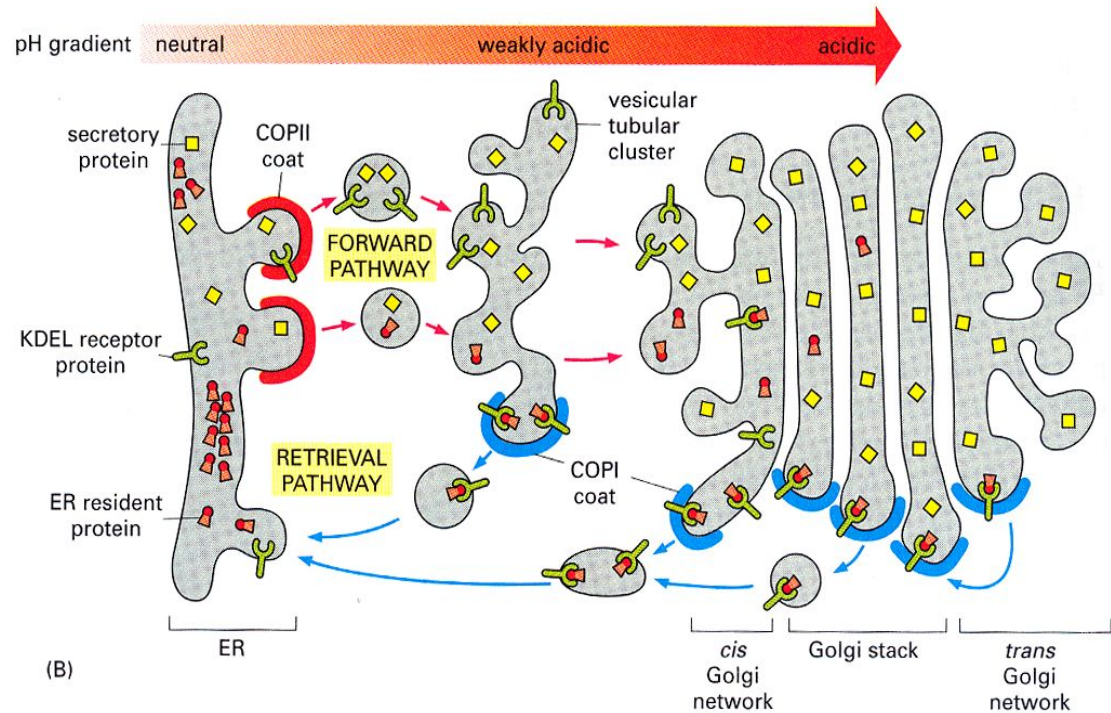
Отщепление пузырьков от транс-компаратмента АГ – участвуют COPI и клатрин

Секреция и формирование эндосом – клатрин.

Обмен белков между ЭПР и АГ



(A)



(B)

Обратный путь – для белков-переносчиков, включая COP I и COP II

Перенос материала между ЭПР и АГ

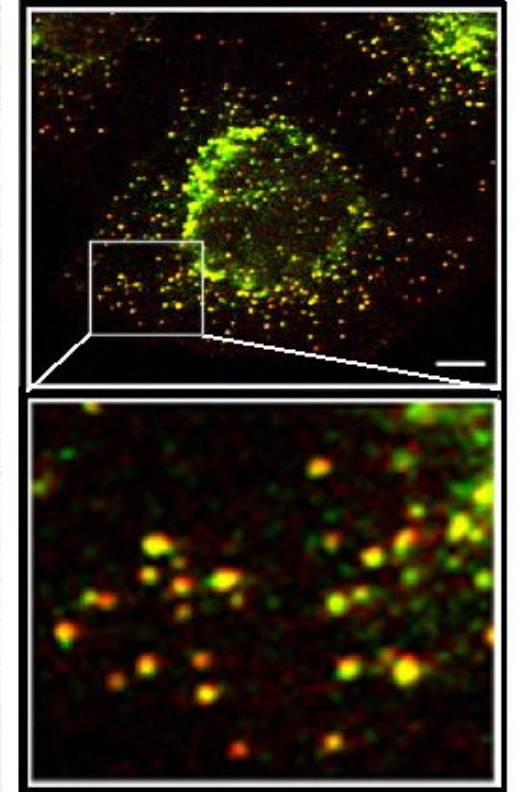
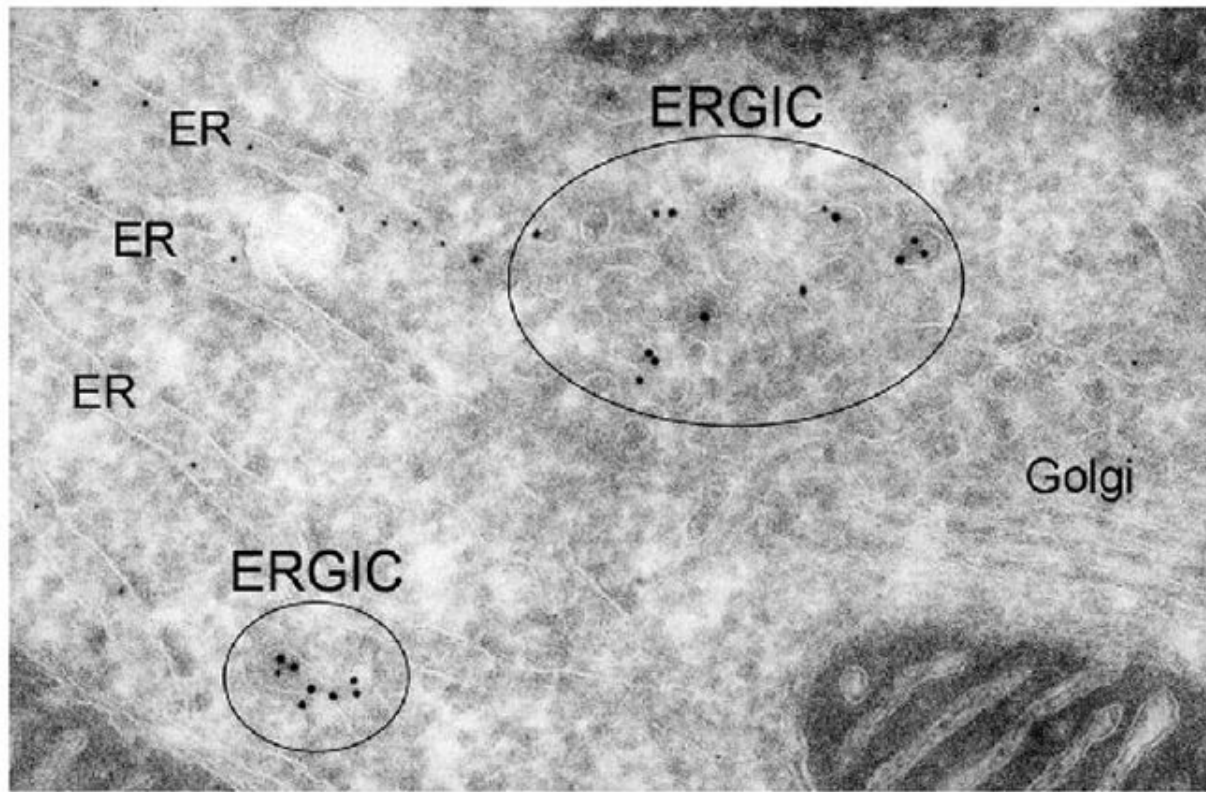
Перенос белков между ЭПР и АГ осуществляется с помощью замкнутых пузырьков (животные) или через тубулярные выросты мембран (растения).

Этапы переноса пузырьков – почкование, антероградный транспорт пузырька в другой отсек, причаливание, слияние с акцепторной мембраной, разделение содержимого, ретроградный транспорт переносчиков.

Участники процесса: coat protein complexes (COPI, COPII), SNAREs (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment receptor proteins), Rab белки.

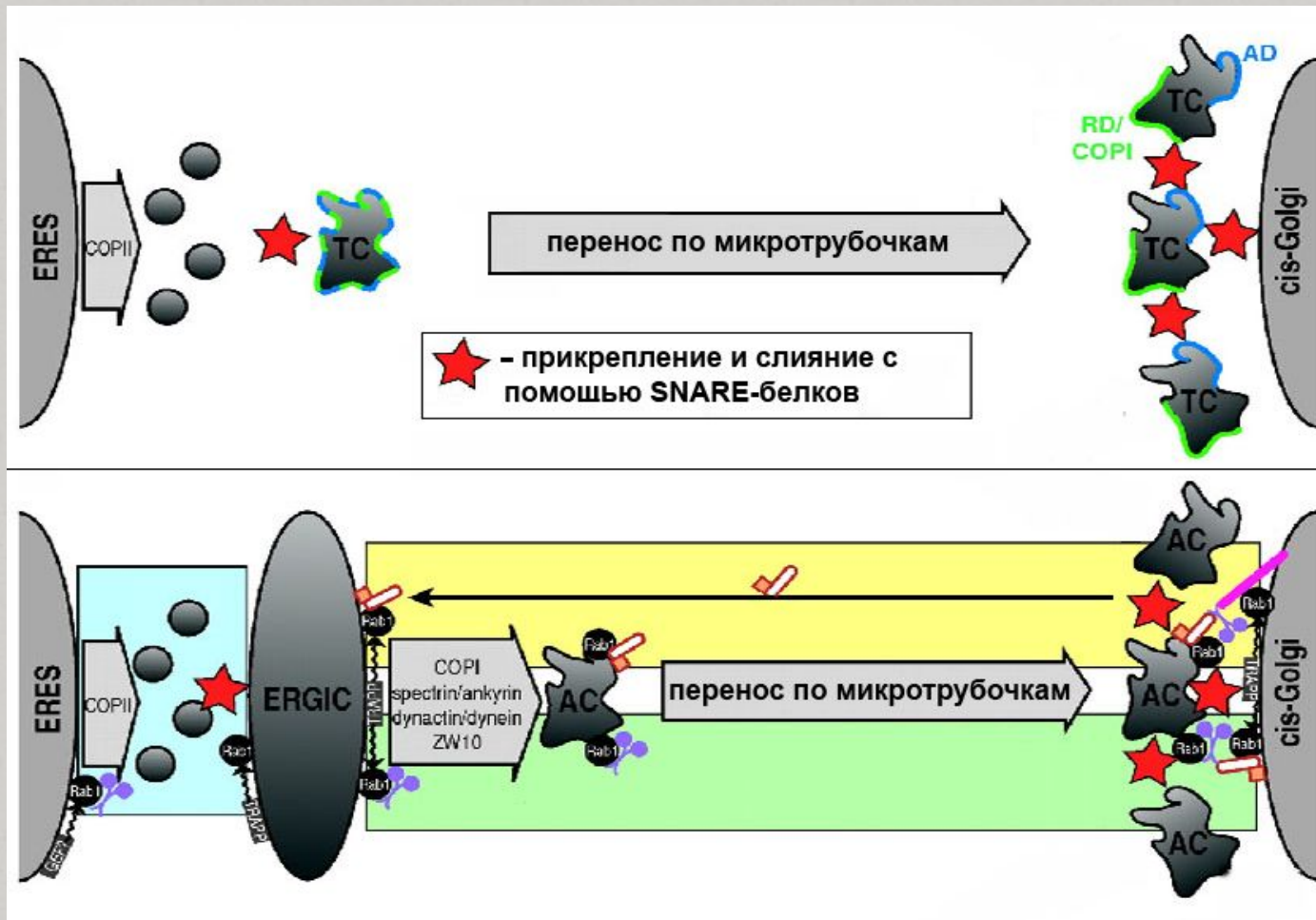
Транспорт начинается в эндоплазматической сети в специальных местах – областях выхода (ERES), где на мембране собирается комплекс COPII. Транспорт продолжается через промежуточную систему перестройки пузырьков между ЭПР и АГ (ERGIG), где COPII заменяется на COPI.

ERGIG – промежуточный комплекс между ЭПР и АГ



Места выхода из ЭПР и кластеры ERGIC (промежуточный компартмент) расположены вблизи друг друга (наложение сигналов в световом микроскопе). Транспорт многих белков через ERGIC контролируется лектинами.

Переход белков от ЭПР к АГ



ERES – участки выхода пузырьков из ЭПР; ERGIC – промежуточный компартмент; cis-Golgi – цис-компаратмент АГ.

В переносе пузырьков участвует несколько специальных белков.

ЭНДОЦИТОЗ И ЭКЗОЦИТОЗ

Экзоцитоз – выброс секреторных пузырьков из клетки и выделение их содержимого во внешнюю среду.

Содержимое экзоцитозных пузырьков, в основном, формируется в аппарате Гольджи.

Эндоцитоз – поглощение (абсорбция) белков и макрочастиц плазматической мембраной и их транспорт внутрь клетки в составе окаймленных пузырьков.

Экзо- и эндоцитоз необходимы для постоянного обновления плазматической мембраны.

Эндоцитозные пузырьки сливаются в цитоплазме друг с другом и с лизосомами. Материал эндоцитозных пузырьков претерпевает различные превращения внутри клетки.

Экзоцитоз

Секреция (каноническая) – выделение веществ из клетки с помощью мембранных пузырьков.

Секреция – конститутивная (постоянная) и кальций зависимая (регулируемая).

Механизм экзоцитоза: высокоспецифическое взаимодействие адапторных молекул, встроенных в мембраны (с расходом энергии АТФ).

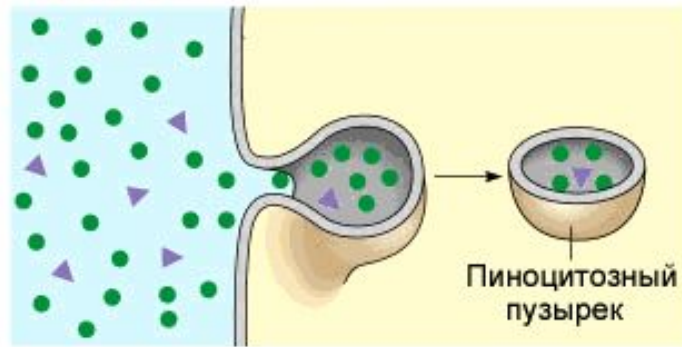
Стадии экзоцитоза: транспорт пузырьков; начальное прикрепление (слабое); прочное прикрепление (докование); слияние мембран.

При регулируемой секреции прочное прикрепление и модификацию мембран пузырьков стимулирует входом кальция в цитозоль (через кальциевые каналы).

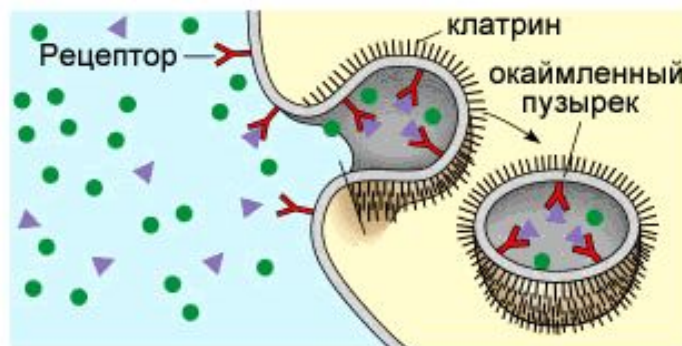
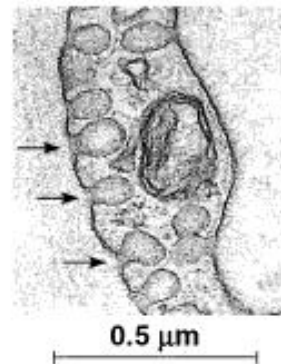
Эндоцитоз – основные типы



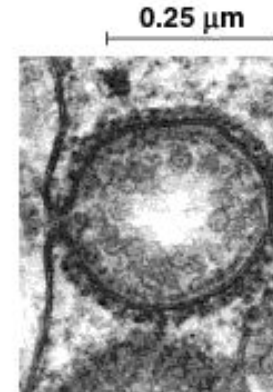
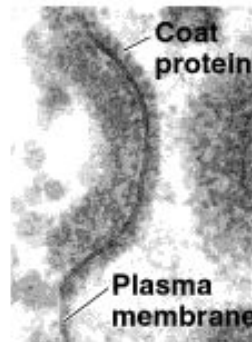
Фагоцитоз



Пиноцитоз



Рецептор-опосредованный эндоцитоз



Эндоцитоз

Макропиноцитоз – захват больших объемов ($\sim 1 \text{ мкм}^3$) за счет слияния выдвигающихся мембранных выростов (раффлов).

Фагоцитоз – захват твердых частиц размером более $0,5 \text{ мкм}$.

Микроэндоцитоз (объем $\sim 0,001 \text{ мкм}^3$):

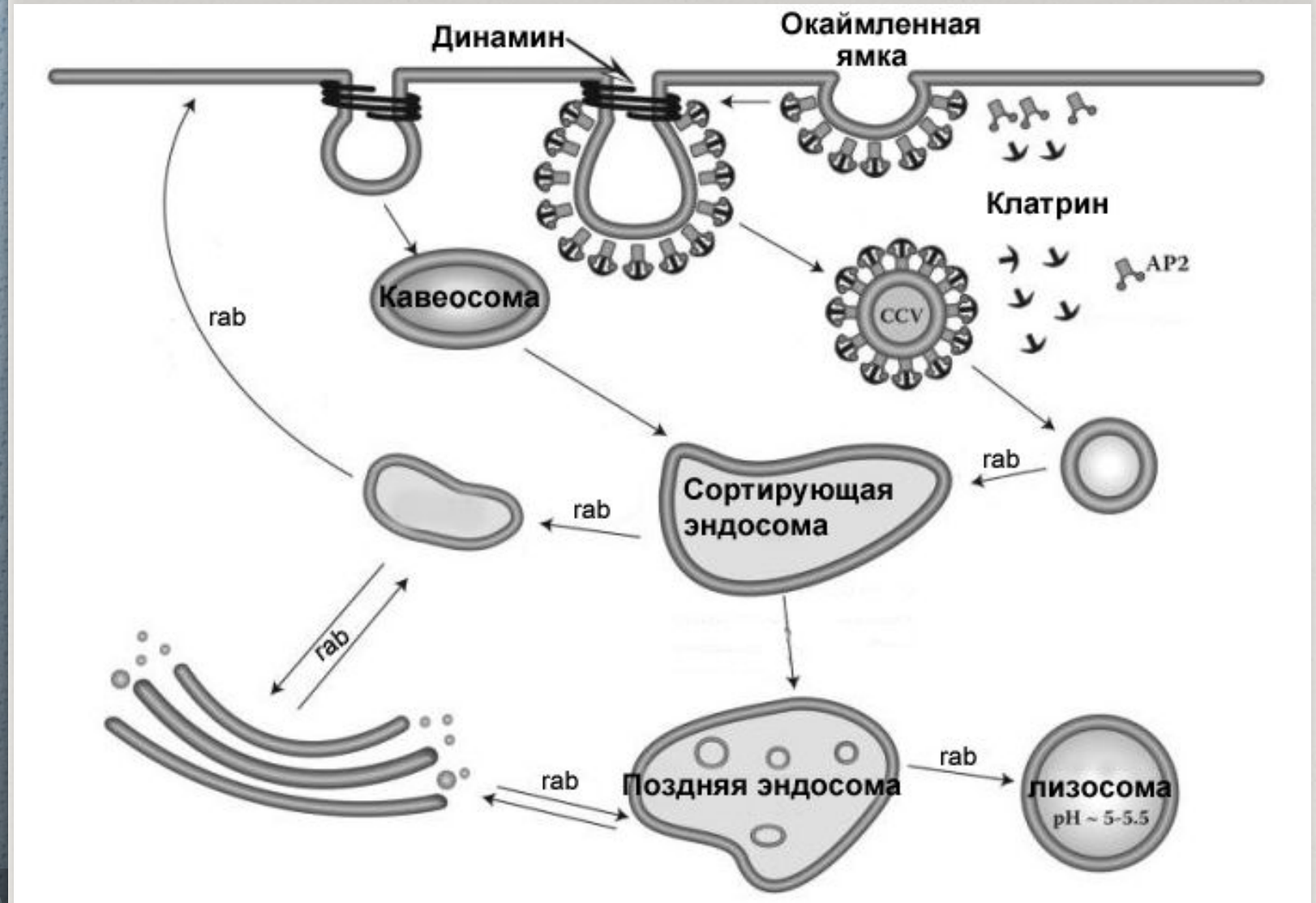
Клатрин-зависимый путь – интернализация белков, связавшихся с рецепторами мембраны. Предшественники – окаймленные ямки (coated pits). Основной белок оболочки пузырьков – клатрин. Диаметр пузырьков – около 100 нм .

Кавеолы – независимый от клатрина путь интернализации (основной белок оболочки пузырьков – кавеолин).

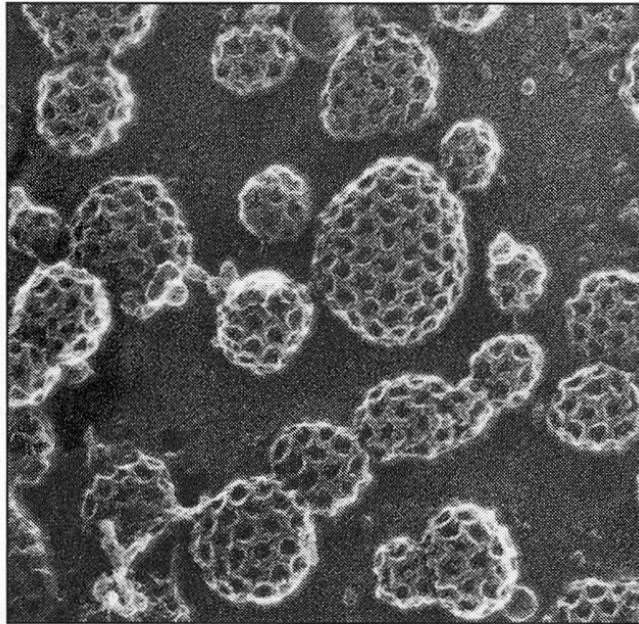
Предшественники – вогнутые участки мембраны, обогащенные холестерином. Диаметр впячиваний и пузырьков – около 50 нм .

Эндоцитоз часто активируется ионами кальция.

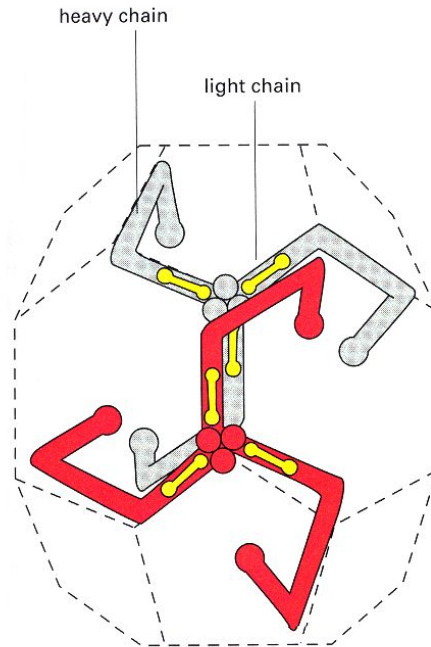
Микроэндоцитоз и эндосомы



Клатрин в окаймленных пузырьках



0.2 μm



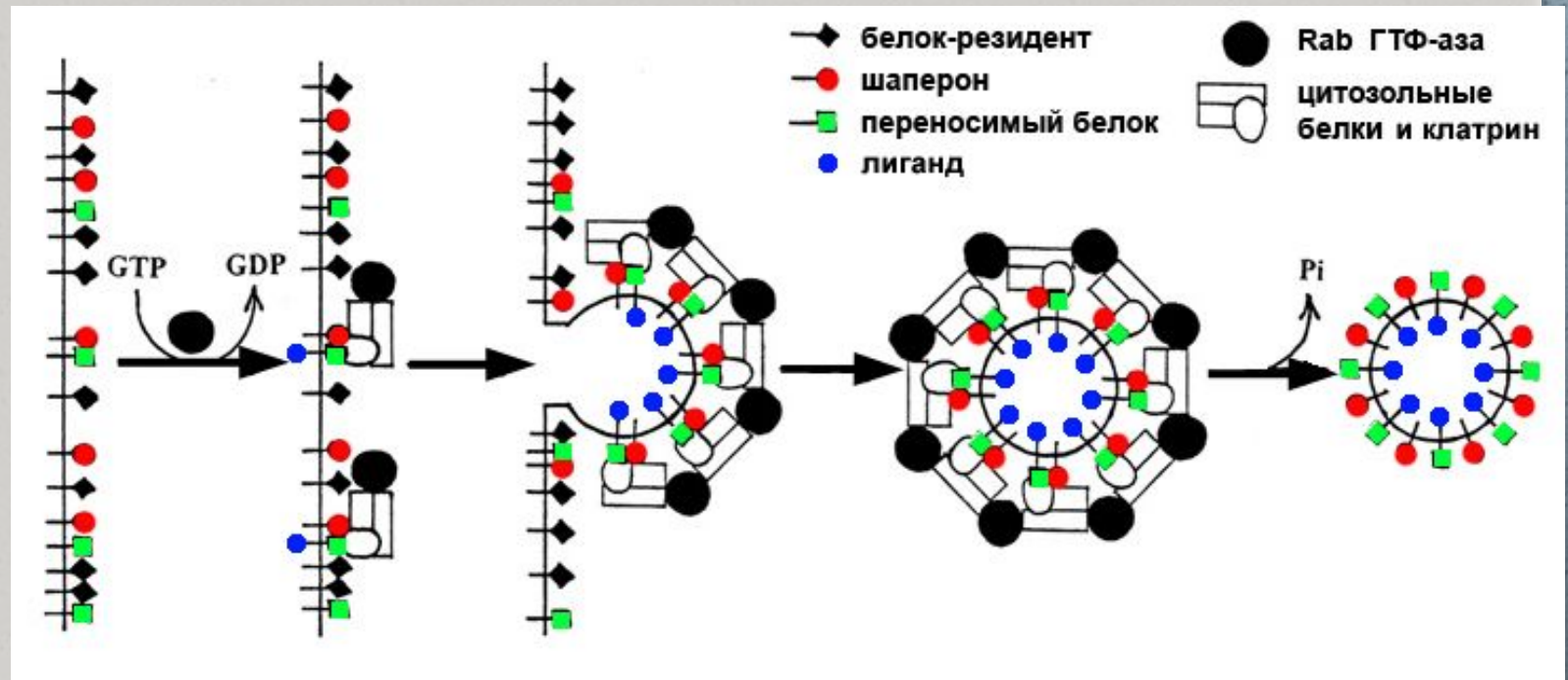
(B)



(C)

50 nm

Формирование эндоцитозного пузырька



Формирование эндоцитозного пузырька – сложный процесс разделения мембранных белков, в котором участвуют клатриновый/кавеолиновый комплекс (цитозольные белки), Rab-белки (ГТФ-азы) и шапероны.

Клатрин-зависимый эндоцитоз

Окаймленные ямки все время находятся на плазматической мембране. Они содержат мало холестерина, и потому эластичны.

Клатрин – белок, который декорирует окаймленные ямки. Клатрин обратимо связывается с мембраной со стороны цитозоля через адапторные белки. После взаимодействия участка мембраны с лигандом постепенно формируется гексагональный клатриновый каркас, и ямка превращается в колбовидную структуру диаметром около 100 нм.

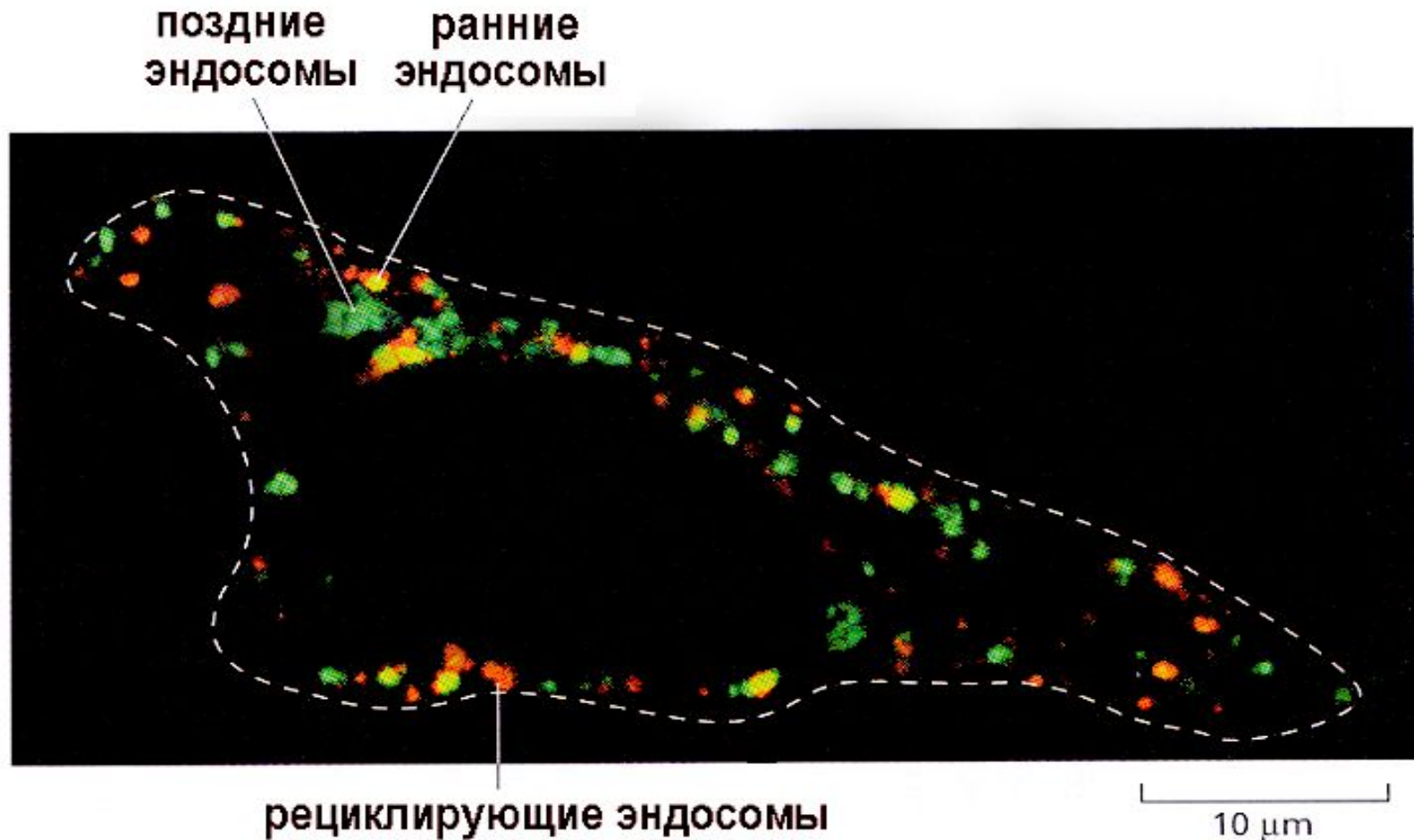
После образования колбы она окончательно отшнуровывается с помощью динамина (ГТФ-аза) от плазматической мембраны и замыкается в окаймленный пузырек, содержащий на поверхности клатрин и Rab-белки.

Время формирования окаймленного пузырька из ямки составляет около 30-60 с. Диаметр сформированного пузырька – около 100 нм.

Цикл эндосом

1. Окаймленные пузырьки частично освобождаются от клатрина и сливаются в ранние эндосомы диаметром 200-500 нм.
2. Ранние эндосомы располагаются вблизи поверхности клетки, имеют слегка кислый pH (около 6,5). В них расщепляется большинство комплексов лиганд-рецептор.
3. Когда в эндосомах активируется протонная помпа, они превращаются в поздние эндосомы, которые имеют более кислый pH (5,5), за счет чего в них активируются кислые гидролазы. Поздние эндосомы представляют собой промежуточное звено на пути к вторичным лизосомам.
4. Лизосомы (вторичные) – конечная стадия внутриклеточного транспорта, связанного с расщеплением поглощенного клеткой содержимого. Имеют сильно кислый pH (~ 4,5) и активные гидролитические ферменты – гидролазы (протеазы и проч.).

Цикл эндосом в живой клетке



рН эндосом меняется в зависимости от фазы их цикла

Лизосомы

Открытие – де Дюв, 1960-е г.г. Фракция пузырьков, обогащенная кислой фосфатазой.

Размер – 100-1500 нм. Окружены одинарной мембраной.

Маркеры – маннозо-6-фосфат, который присоединен ко многим лизосомным белкам и кислая фосфатаза.

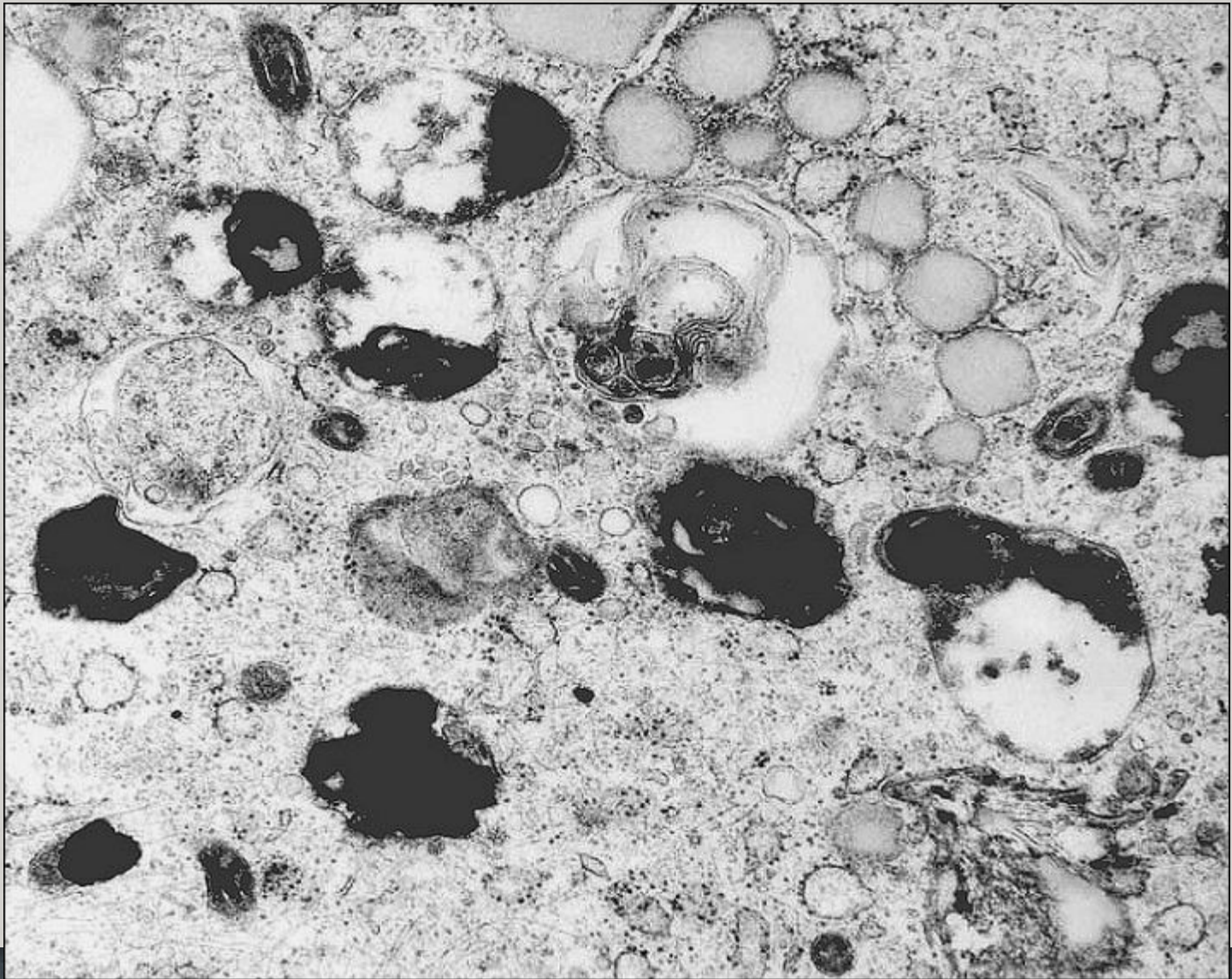
Ферменты лизосом: свыше 30 гидролаз (кислых) – протеазы, липазы, нуклеотидазы, полисахаридазы.

Функции: конечные стадии фагоцитоза и эндоцитоза, опосредованного рецепторами; аутофагоцитоз.

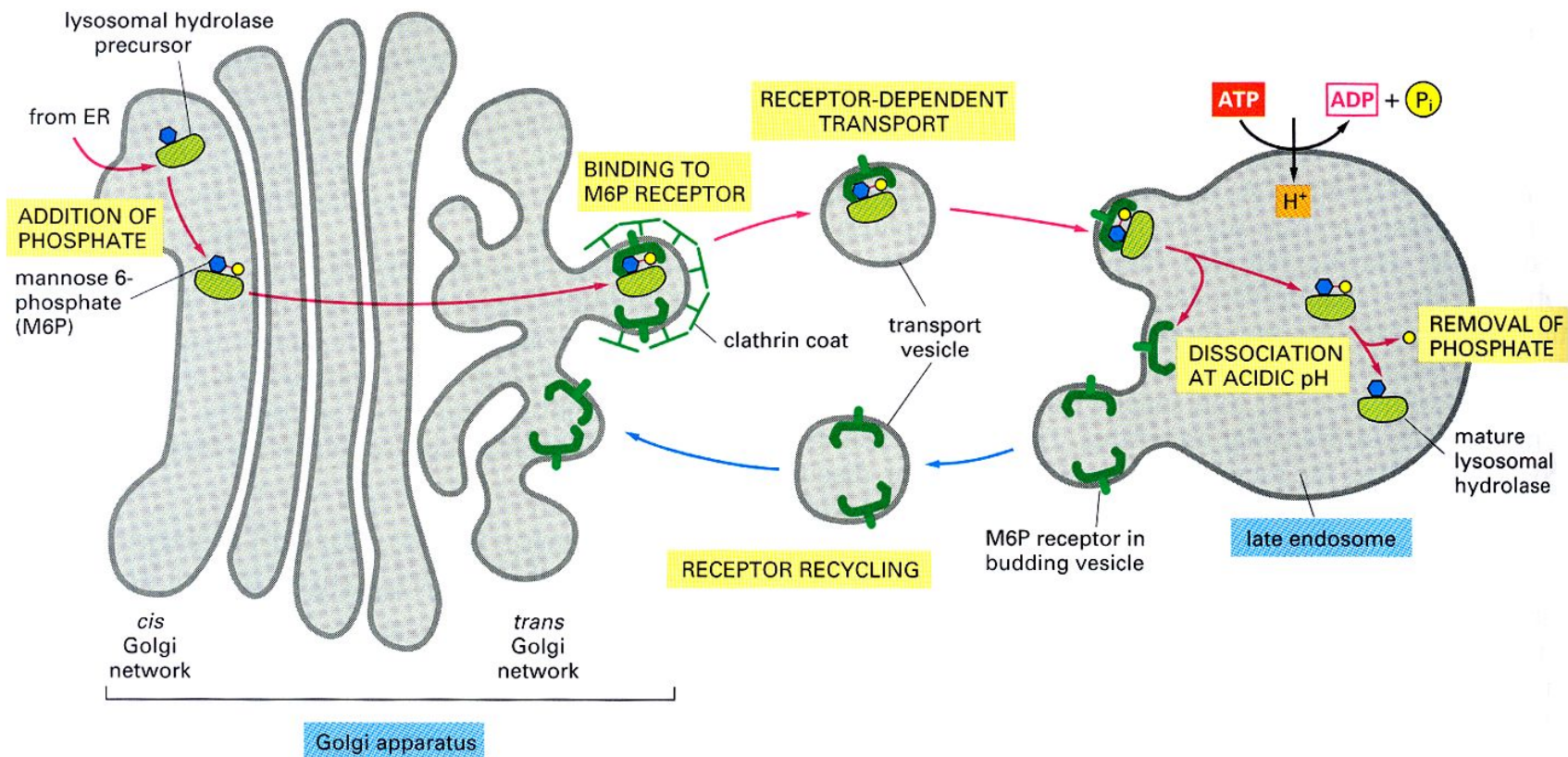
Цикл: поздняя эндосома + первичная лизосома – вторичная лизосома – остаточное тельце

Патология, связанная с лизосомами: дефекты лизосомных ферментов – болезни накопления (болезнь Гоше); асбестоз и силикоз – накопление в лизосомах нерастворимых волокон и утечка ферментов.

Лизосомы, ЭМ



Формирование лизосомы



Предшественники лизосом – пузырьки, отщепляющиеся от транс-Гольджи, которые обогащены маннозо-6-фосфатом.

Формирование вторичных ЛИЗОСОМ

Начальные этапы формирования вторичных лизосом изучены слабо. Известно несколько путей:

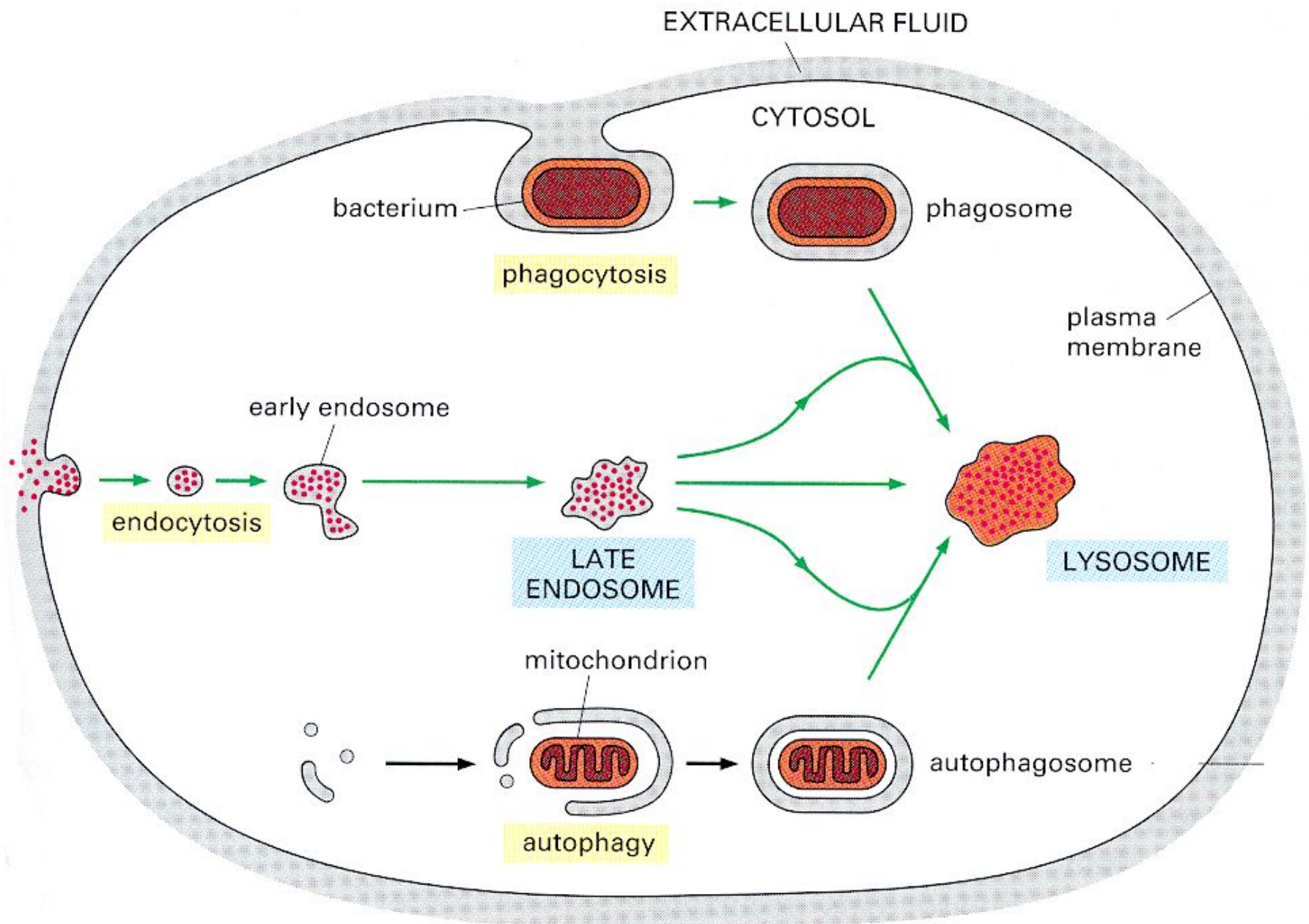
- слияние поздних эндосом, возникших в результате эндоцитоза
- формирование аутофагосом
- результат фагоцитоза (в основном – в специализированных клетках).

Формирование вторичной лизосомы происходит при понижении pH (pH~5) за счет активации протонной помпы в ее мембране, что приводит к активации находящихся в ней гидролаз.

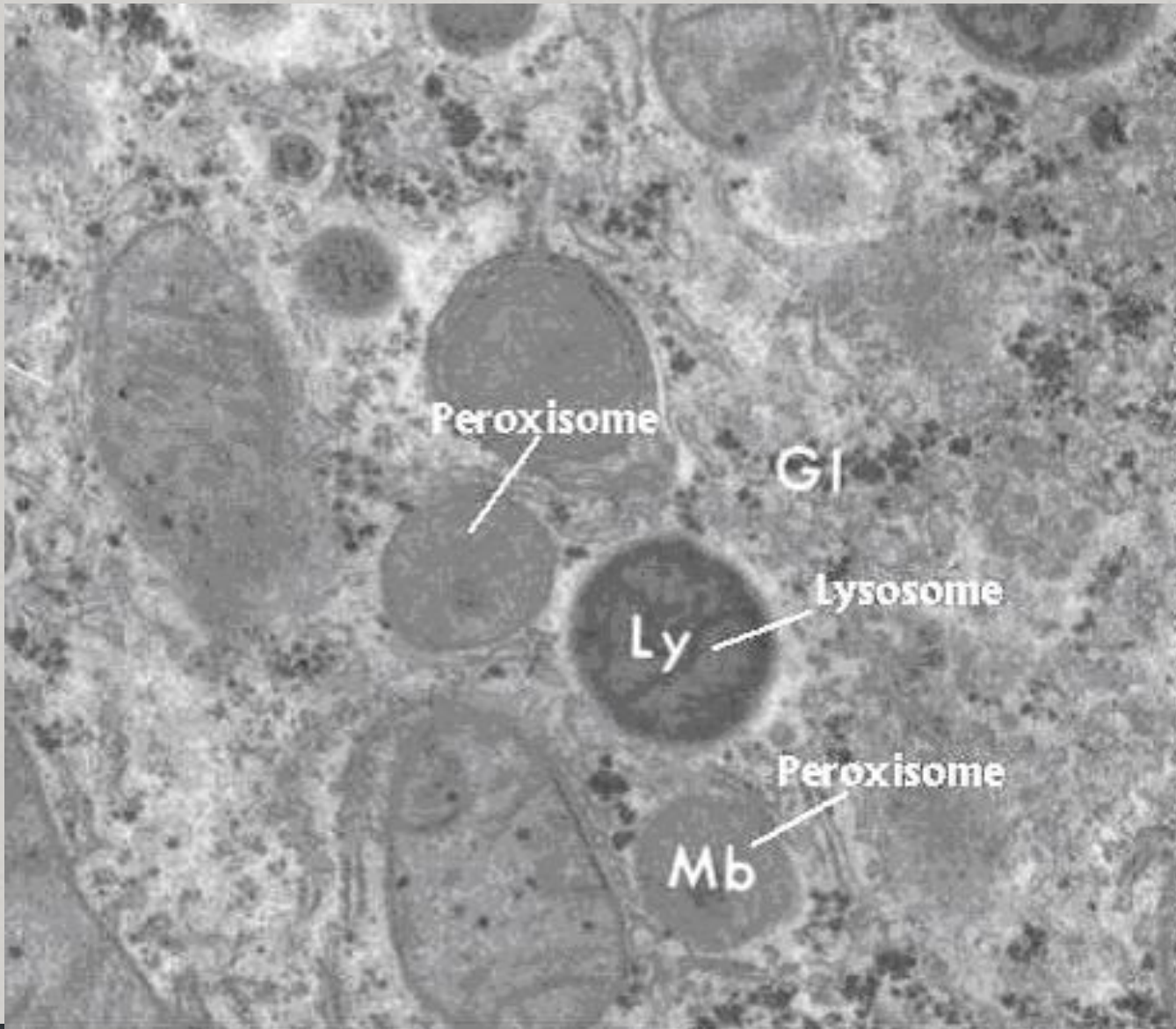
В лизосомах расщепляются белки, НК, гликопротеины, некоторые фосфолипиды (сфингомиелины).

Непереваренные вещества в составе вторичных лизосом накапливаются в виде остаточных телец, и иногда могут выделяться в результате экзоцитоза.

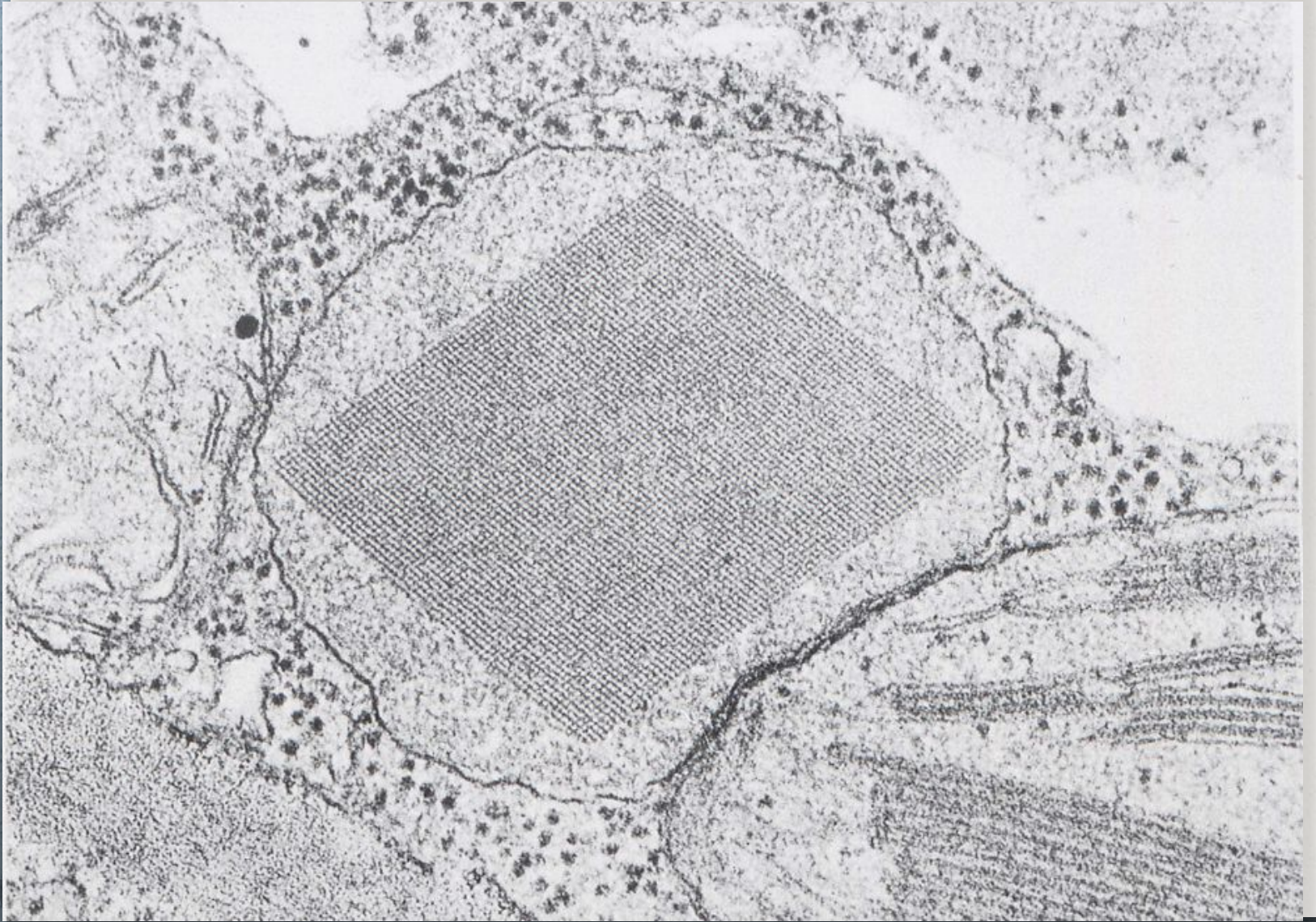
Внутриклеточное «пищеварение»



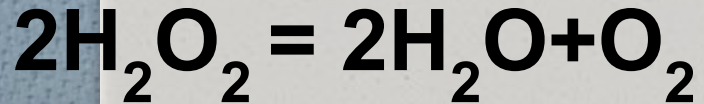
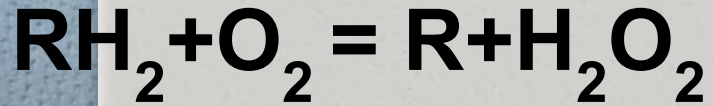
Пероксисомы в животной клетке



Пероксисома в растительной клетке



Пероксисомы



Ферменты:

Каталаза

Уратоксидаза

Оксидазы аминокислот

Функции:

β-Окисление жирных кислот

Детоксикация (у животных)

Фотодыхание (у растений)

Формирование:

непосредственно от ЭПР (почкование) или путем расщепления; имеют собственные сигналы локализации для белков и машину импорта (пероксины).

