RETICULUL ENDOPLASMIC

Organizarea cursului:

1. Definirea organitului;
2. Structura și ultrastructura reticulului endoplasmic; etimologia denumirii;
3. Abordarea experimentală a organitului;
4. Funcțiile reticulului endoplasmic;
    a. Funcțiile reticulului endoplasmic neted;
    b. Funcțiile reticulului endoplasmic rugos;
5. Considerații asupra biogenezei membranelor.

Definiția

Reticulul endoplasmic (RE) este un organit delimitat de endomembrană, structurat sub forma unor cisterne și/sau tubuli, cu numeroase anastomoze, a căror față citoplasmatică prezintă, sau nu, rugozități și a cărui funcție de bază este aceea de a produce molecule și macromolecule esențiale organizării și funcționării celulelor. RE face parte din grupul organitelor implicate în biogeneza și traficul intracelular al membranelor, alături de aparatul Golgi, lizosomi și sistemul endosomal, fiind primul din serie, adică cel care inițiază procesele celulare care se desfășoară în aceste organite. Reticulul endoplasmic reprezintă cea mai abundentă structură delimitată de endomembrane din celulă, conținând mai mult de jumătate din membranele acesteia.

Structura și ultrastructura RE

Prezența RE în celule a fost dovedită de către citologi datorită bazofilei sale, primind la început denumiri diferite în funcție de tipul celular în care a fost descris, ca și de numele celui care l-a evidențiat. Astfel, în neuroni, prin coloraţia Nissl, au fost descrise structuri granulare bazofile, care au fost denumite corpi Nissl; în hepatocite a fost descris ca o structură bazofilă cu aspec reticulo-granular care a primit denumirea de corpusculi Berg; în celulele acinare pancreatice, prezența RE se evidențiază în coloraţia hemalaun-eozină ca o zonă puternic bazofilă în treimea bazală a celulei, având uneori capacitatea de a estompa desenul nucleului; în aceste celule denumirea utilizată pentru structură a fost aceea de ergastoplasmă (plasmă lucrătoare). Timpul a dovedit că toate aceste structuri bazofile din citoplasmă reprezintă același organit: reticulul endoplasmic.

Denumirea de reticul endoplasmic are la bază caracteristicile morfologice evidențiate de citologi: aspectul de rețea (reticul) și localizarea preferențială în profunzimea citoplasmei (în endoplasmă) și nu în ectoplasmă, adică periplasmalemal, către periferia celulelor.

Dar detaliile structurale asupra organizării reticulului endoplasmic au fost obținute prin microscopie electronică. Preparatele standard de microscopie electronică de transmisie și examniarea de secțiuni seriate au dezvăluit ultrastructura RE. Informațiile astfel obținute au fost confirmate și prin microscopie electronică de baleiaj pe preparate de

înghețare/fracturare/sublimare. Organitul este structurat pe baza unor endomembrane sub formă de cisterne ce prezintă numeroare anastomoze și/sau tubuli înrețelați. Spațiul din interiorul membranelor (echivalent topologic exteriorului celular) este denumit lumen și are o grosime (diametru) de 30-60 nm, putând fi mai mare în stări de activitate crescută a organitului. Lumenul RE este continuu între cisterne și tubuli, iar la nivelul cisternelor se realizează anastomoze și cu anvelopa nucleară. Se realizează astfel o continuitate între lumenul RE și lumenul anvelopei nucleare. De regulă zonele structurate sub formă de cisterne prezintă ribosomi atașați pe fața citoplasmatică a membranei organitului, care dau aspectul rugos acestor arii; ele structurează ceea ce a fost denumit ***reticul endoplasmic rugos*** (RER). Ribosomii sunt prezenți și pe fața citoplasmatică a membranei externe a anvelopei nucleare. Zonele structurate sub formă de tubuli, care sunt ca niște prelungiri ale cisternelor RER, nu prezintă rugozități și au fost denumite ***reticul endoplasmic neted*** (REN). Facem specificarea că RER și REN nu reprezintă două organite independente ci sunt zone diferit organizate la nivel ultrastructural ale aceluiași organit: reticulul endoplasmic. În ceea ce privește raportul RER/REN, acesta este diferit la diverse tipuri celulare, corespunzând funcțiilor respectivelor celule (vezi la "Abundența și localizarea intracelulară a RE").

Abordarea experimentală în studiul RE

În deceniul nouă al secolului XX (să fi fost prin 1985-1986), la una dintre conferințele ținute la Institutul de Biologie și Patologie Celulară din București, profesorul George Emil Palade și-a început prelegerea făcând următoarea afirmație: "*Functions must be understood in terms of structures; structures must be understood in terms of chemistry*". Așa stând lucrurile, iar acest cerc voluptos al corespondențelor biunivoce între structuri, biochimie și funcții operând la nivelul oricăror structuri biologice, este de așteptat ca partea rugoasă a RE să aibă, cel puțin în parte, funcții diferite de partea sa netedă. Se pune problema: cum putem separa, pentru abordarea studiului funcțiilor lor, cele două zone de reticul endoplasmic?

Șansa (?) face ca la omogenizarea celulară reticulul endoplasmic să se dezintegreze în structuri veziculare (alături de membrana celulară și de complexul Golgi), formând ceea ce este cunoscut sub numele de fracțiune microsomală. Aceasta poate fi separată de celelalte fracțiuni celulare (nucleară, mitocondrial-lizosomală) prin centrifugare diferențială. Fracțiunea microsomală conține microsomi (vezicule) rugoși (cu ribosomi atașați), și netezi. Cele două tipuri de vezicule din fracțiunea microsomală pot fi, ulterior, separate prin centrifugare în gradient de densitate, cu un bun randament al purității. Ținând cont de faptul că, în funcție de tipul de reticul endoplasmic pe care dorim să-l studiem, putem alege celule bogate în unul dintre acestea, rezultă că putem obține un preparat biologic de puritate ridicată, astfel încât informațiile artefactuale să fie sub limitele de detecție ce caracterizează metodele și tehnicile biochimice de investigare a funcțiilor.

Rezolvată fiind problema obținerii eșantioanelor de material biologic în cantitate și de puritate corespunzătoare, se poate trece la studiul bagajului molecular al acestora, pentru a detecta și apoi dovedi funcțiile structurilor celulare de interes, în speță funcțiile

REN, respectiv RER, mai bine-zis funcțiile părții netede, respectiv rugoase ale organitului celular denumit reticul endoplasmic.

Funcţiile REN

În momentul de față sunt destul de bine descrise următoarele fincții pentru partea netedă a RE:

1. Metabolizarea lipidelor (biosinteza, degradarea și modelarea compoziției lipidelor; pentru a substanția afirmațiile din definiție, vom puncta cu anticipație că REN produce lipide membranare, sau precursori ai unora dintre ele);
2. Detoxificarea celulară;
3. Funcții speciale (depozit dinamic de ioni de calciu).

Biosinteza lipidelor membranare

RE participă practic la biosinteza tuturor lipidelor membranare direct în forma finală, sau prin precursori ce sunt apoi prelucrați în aparatul Golgi.

Colesterolul este produs în RE printr-un proces biologic complex, bine elaborat și atent reglat, format din multe etape. Materia primă este acetil-CoA (CoA – coenzima A), iar intermediarul de bază este acidul mevalonic, format prin activitatea **HMG CoA reductazei** (HMG – 3-hidroxi-3metilglutaril). În etapele următoare, prin intermediul farnezil-fosfatului se produce scualenul, sub acțiunea **scualen-sintazei**, care apoi suferă, sub acțiunea **scualen-oxidociclazei**, ciclizările ce duc la obținerea intermediarului conținând nucleul tetraciclic, lanosterolul. Transformarea lanosterolului la colesterol implică multe faze mai puțin elucidate. Enzimele menționate mai sus fac toate parte din bagajul molecular al RE.

Tot la nivelul RE sunt produse **ceramidele**, precursorii sfingomielinelor și glicolipidelor. Ceramidele se obțin prin amidarea sfinganinei, un aminodiol alifatic, precursor al sfingozinei obținut din L-serină și palmitil-CoA. Dihidro-ceramidele astfel obținute sunt dehidrogenate. Ceramidele sunt transformate în sfingomieline, sau glicolipide (cerebrozide) la nivelul complexului Golgi.

Componenta lipidică membranară este formată însă în principal din glicerofosfatide (~70%). Acestea sunt produse tot la nivelul RE. Vom exemplifica biosinteza glicerofosfatidelor alegând producerea fosfatidilcolinelor (PC), caz care ne va permite să punctăm diversitatea de fenomene legate de producerea bistratului lipidic cu caracteristicile sale (vezi la “Lipidele membranare”).

Fosfatidilcolinele sunt biosintetizate în foița internă a membranei RE (lucru valabil și pentru celelalte glicerofosfatide) din acil-CoA și glicerol-3-fosfat, printr-o secvență de 3 reacții:

1. Primul pas îl constituie obținerea acidului fosfatidic din precursorii amintiți sub acțiunea **acil-tansferazelor**. Acidul fosfatidic astfel format rămâne inserat în foița internă a bistratului.

2. Pasul al doilea îl constituie eliminarea fosfatului din acidul fosfatidic sub acțiunea **fosfatidil-fosfatazei**, cu formarea diacilglicerolului, la nivelul foiței interne a bistratului.
3. Ultimul pas îl reprezintă adăugarea fosfo-colinei la hidroxilul diacilglicerolului, prin acțiunea **colinfosfo-transferazei**, ce folosește citidil-difosfo-colina ca substrat.

Procesul descris mai sus ar trebui să ne stârnească cel puțin două întrebări: ***(i)*** De ce este nevoie de scoaterea fosfatului de pe acidul fosfatidic, dacă tot apare în final în structura PC? și ***(ii)*** de ce este produsă fosfatidilcolina în foița internă a bistratului lipidic, atâta timp cât trebuie să ajungă acolo unde se află preferențial, adică în foița externă? Altfel spus: dacă PC este produsă *de novo* în foița internă a bistratului lipidic, cum ajunge ea eficient în foița externă, știut fiind că pentru aceasta trebuie să sufere mișcare de "flip-flop", a cărei frecvență este aproape nulă?

Răspunsul la prima întrebare implică aspecte concrete, dar ne permite să facem și afirmații de principiu referitor la importanța complexității proceselor celulare.

În primul rând, întrucât unul din precursorii primei reacții din procesul de obținere a fosfatidilcolinei este glicerol-3-fosfatul, este firesc să se obțină ca produs de reacție acidul fosfatidic. Folosirea ca precursori a acil-CoA și glicerinei fosforilate este motivată atât de considerente energetice (este favorizată reacția enzimatică), cât și de aspecte legate de eficiența fenomenelor anterioare etapelor descrise: atât acizii grași cât și glicerina sunt molecule care în formă nativă pot difuza prin membrană și pot fi pierdute de celulă. Pentru a contracara acest lucru, și pentru a păstra moleculele eliberate din depozitele de trigliceride, sau produse prin consum energetic în celulă, acestea trebuie să fie menținute în complexe moleculare care le modifică proprietățile fizico-chimice. Atât CoA, cât și fosfatul transformă moleculele în discuție în compuși pentru care membrana celulară nu este permeabilă.

Pe de altă parte, trebuie menționat că o regulă de eficientizare a proceselor celulare este aceea că ele cu cât sunt mai complicate (cu cât au mai multe etape biochimice) cu atât pot fi mai riguros controlate. Mai mult, adesea un evantai de procese celulare au căi inițiale comune, astfel încât aceste etape inițiale să se petreacă frecvent, iar celula să poată decide pe parcurs încotro le direcționează. Decizia ține de nevoile în permanentă schimbare ale celulei, ca răspuns la semnale interne sau externe, semnale receptate, analizate și procesate prin fenomene complicate numite procese de semnalizare. În felul acesta, procese deja declanșate din anumite considerente, nu vor rămâne suspendate sau anulate, ci conduse în direcțiile în care apar noi nevoi celulare. Astfel, celula va evita risipa de energie și mijloace.

Cât privește cel de-al doilea aspect referitor la corecta distribuție a fosfatidilcolinei în membrană, redistribuirea ei se face prin complexe macromoleculare de translocare numite generic **flipaze**, care măresc de ~100.000 de ori frecvența mișcării de flip-flop la nivelul membranei RE. Flipazele se caracterizează prin specificitate pentru structura capului hidrofil al fosfolipidelor.

Există, în membrane, trei categorii de flipaze: ***(i)*** **flopaze**, care transferă fosfolipidele din foița internă în cea externă, ***(ii)*** **flipaze**, care translochează fosfolipidele din foița externă în cea intenă și ***(iii)*** **scramblaze**, care transferă lipidele membranare în

ambele sensuri. Astfel, pentru fosfatidilcolină există în membrana RE o flopază care o translochează preferențial din foița internă a bistratului lipidic în cea externă, asigurând asimetria corectă a distribuției sale între cele două foițe ale bistratului.

Flipazele și flopazele sunt principalele responsabile de crearea și asigurarea menținerii eficiente a asimetriei de distribuție a lipidelor membranare. Acestea acționează cu consum de energie. Scramblazele, din câte cunoaștem până în prezent, sunt lipsite de specificitate și operează fără consum energetic.

Cum este reglată activitatea acestei diversități de translocaze pentru lipidele membranare, translocaze care se întâlnesc la nivelul tuturor membranelor, dar acționează diferit de la o membrană la alta, este o problemă în studiu. Se cunosc mai multe lucruri legate de procesele în care ele se activează. Spre exemplu, scramblazele de la nivelul membranei celulare sunt cele care duc la fliparea fosfatidilserinelor (PS) și apariția lor în foița externă a bistratului lipidic în apoptoză, ca și în palchetele sanguine activate. Acest fenomen este însoțit de sporirea adeziunii celulare, a tendinței de agregare (inducerea proprietăților procoagulante la plachete), ca și de recunoașterea de către celulele fagocitare (fagocitarea corpilor apoptotici). Fliparea PS a fost evidențiată și în situații patologice cu risc crescut cardiovascular, cum ar fi în diabet.

Un aspect interesant, care merită punctat este faptul că celula nu este nevoită să sintetizeze fosfolipidele *de novo*, atunci când proporția dintre diferitele tipuri trebuie să se schimbe la nivelul bistratului. Fosfopilidele pot suferi reacții de disproporționare, adică acele reacții prin care ele pot trece dintr-una în alta. Posibilitățile de disproporționare nu sunt nici universale (adică oricare dintre ele să poată trece în oricare dintre celelalte), nici întotdeauna bidirecționale. Astfel sunt cunoscute următoarele posibilități de disproporționare:

a) La nivelul RE:

1. fosfatidiletanolamina poate trece în fosfatidilcolină (conversia implică reacții de metilare pentru care există enzima adecvată: **fosfatidiletanolamin-N-metil-transferaza**);
2. există posibilități de conversie în ambele sensuri între fosfatidilcolină, respectiv fosfatidiletanolamină și fosfatidilserină (prin reacții de schimb la nivelul capului hidrofil: colina, sau etanolamina sunt schimbate cu serină, sub acțiunea unor **PS sintaze**); de menționat că PS se produce numai prin acest mecanism de schimb în celulele de mamifere.

b) La nivelul mitocondriei

1. fosfatidilserina poate trece în fosfatidiletanolamină (prin decarboxilare sub acțiunea **fosfatidilserin-decarboxilazei**)

Distribuirea lipidelor nou sintetizate către celelalte membrane din celulă este considerată a se face prin difuzie laterală pentru anvelopa nucleară, sau constitutiv (adică de la sine) pentru organitele implicate în traficul intracelular al membranelor (aparat Golgi, lizosomi, endosomi, membrană celulară). Pentru organitele dinafara acestui trafic, așa-numitele organite autonome (mitocondrie, peroxisomi) există părerea că distribuția se face prin transportori de schimb fosfolipidic. Acești transportori ar avea specificitate pentru structura capului hidrofil și ar extrage fosfolipidele din membrana RE, le-ar

transporta prin citosol, ascunzând coada hidrofobă a acestora, cedându-le membranelor ţintă. Obiecţiunile referitor la acest model sunt legate de eficienţă. În ceea ce priveşte peroxisomul însă, studii recente, legate de biogeneza organitului, dovedesc elegant prezenţa unor structuri microveziculare care fac transport de la RE către acesta [lipide şi câteva (puţine) proteine, care la peroxisom se numesc peroxine]. Probabil curând vom cunoaşte dacă aceste observaţii se vor confirma şi dacă peroxisomul trece de la categoria de organit autonom, la organit semiautonom. De menţionat că cea mai mare parte a peroxinelor este preluată de peroxisom din citosol prin mecanisme dovedite, dar în curs de descifrare.

Alte aspecte legate de metabolismul lipidelor

Aspectele legate de rolul RE în metabolismul lipidic nu se rezumă însă doar la biosinteza lipidelor membranare. Examinarea preparatelor de microscopie electronică pentru celule care prezintă incluziuni lipidice, ne arată că acestea din urmă sunt în strânsă corelaţie cu structuri ale REN, ceea ce sugerează rolul organitului în **producerea trigliceridelor**. Acest lucru este confirmat şi de prezenţa enzimelor corespunzătoare în fracţiunea microzomală. Acelaşi lucru este valabil şi pentru enzimele de degradare a trigliceridelor.

Un alt proces care implică metabolismul lipidic, cu importanţă în capacitatea celulelor de a modula proprietăţile fizico-chimice ale membranelor, este **desaturarea acizilor graşi**. Aceasta se face prin acţiunea unui complex enzimatic ce conţine **citocrom b_5**, **NADH-citocrom b_5-reductază** şi **acid gras desaturaze**. Procesul are loc adesea cu alungirea lanţului alifatic. Nu există dovezi că aceste procese s-ar petrece direct pe fosfolipide, ci doar pe acizii graşi esterificaţi, ca tioesteri, cu CoA. Modularea cantităţii de acizi graşi nesaturaţi în fosfolipidele membranare permite celulelor să-şi regleze fluiditatea membranelor, în conformitate cu nevoile de moment. Faptul că desaturarea se face pe acizi graşi înafara lipidelor membranare ar însemna că modularea fluidităţii se face prin sinteza *de novo* a fosfolipidelor. O problemă care se ridică este legată de eficienţa răspunsurilor în modularea fluidităţii pe această cale.

Detoxificarea celulară

Procesele care rezolvă această problemă implică metabolizarea, pentru eliminarea din celulă, a compuşilor liposolubili, care s-ar putea acumula în bistratul lipidic, afectându-i fluiditatea într-un mod necontrolat de celulă. Aceşti produşi pot fi fiziologici, patologici, sau farmacologici. La nivelul RE aceşti produşi hidrofobi sunt mai întâi hidroxilaţi prin acţiunea unui complex enzimatic bazat pe **citocrom P_{450}/NADPH-citocrom P_{450}-reductază**. Ei sunt astfel transformaţi în structuri hidrofile, uşor de eliminat din celulă. Dacă este cazul, aceste prime modificări sunt urmate de grefarea, la grupările hidroxil astfel obţinute, a unor structuri glucidice sau grupări sulfat, care măresc hidrofilicitatea produşilor rezultaţi.

Rolul în detoxificarea celulară este spectaculos sugerat şi de fenomenul de hiperplazie (creşterea cantităţii, sau numărului de structuri) a REN în hepatocitele indivizilor medicaţi, pentru o perioadă mai îndelungată, cu barbiturice. La scurt timp după începerea perioadei de tratament, creşte semnificativ cantitatea de REN în celulele ficatului. Hiperplazia este reversibilă, cantitatea de REN revenind la normal la scurt timp

după încetarea medicației. De remarcat faptul că, în hepatocitele normale, structurile de RE prezintă o proporție de echilibru (~1:1) între RER și REN, astfel încât modificările acestui raport sunt ușor de observat.

Reticulul endoplasmic – depozit dinamic de Ca^{2+}

Această funcție este pregnant manifestă la celulele musculare striate. La aceste celule, la care reticulul endoplasmic este denumit reticul sarcoplasmic (RS), funcția și dinamica ei sunt realizate prin cooperarea mai multor componente moleculare. O primă componentă este **calsechestrina**, proteină cu mare afinitate pentru ionii de calciu, aflată în cantitate mare în lumenul organitului. Prezența calsechestrinei contribuie la controlul cantității de Ca^{2+} liber din lumen (conform constantei sale de afinitate), în condițiile unei concentrații totale de Ca^{2+} crescute. La stimularea celulelor, se deschid în membrana RS **canale de calciu controlate chimic** (prin inozitol tris-fosfat – IP_3, vezi la "Transport membranar" și la "Semanlizarea celulară"), prin care ionii de calciu, aflați liberi în lumen, pătrund în citosol și declanșază contracția. Trecerea Ca^{2+} din lumenul RS în citosol are loc atâta timp cât canalele sunt deschise, pe baza deplasării echilibrului dinspre calciul legat pe calsechestrină, spre calciul liber. Ciclul se închide prin acțiunea unor **pompe de calciu** din membrana RS, care reintroduc Ca^{2+} în lumenul RS, unde calsechestrina îl complexează, pentru a păstra constantă concentrația de ioni liberi. Detalii asupra fenomenelor veți studia la cursul de "Țesut muscular" de la disciplina "Histologie generală".

Funcțiile RER

Funcțiile părții rugoase a RE au stârnit mai mare interes pentru comunitatea biologilor celulari, astfel încăt multe dintre ele sunt cunoscute în detaliu, chiar dacă nu pe deplin. Vom căuta, în cele ce urmează, să le prezentăm în atâtea detalii câte să ne ajute să le înțelegem corect și să ne permită să realizăm complexitatea lor și importanța acestei părți a organitului pentru organizarea și funcționarea celulei ca sistem integrat. Iată despre ce vom discuta:

1. Biosinteza unor proteine: ***(i)*** proteine membranare, ***(ii)*** proteine destinate a funcționa în RE, în aparatul Golgi, sau lizosomi, ***(iii)*** proteine destinate exportului;
2. Prelucrarea proteinelor sintetizate în RE;
3. Sortarea și transportul către aparatul Golgi.

Biosinteza proteică al nivelul RE

Biosinteza tuturor proteinelor într-o celulă se inițiază în citosol. Excepție fac proteinele codificate de ADN-ul mitocondrial (puține; nu mai mult de 10% dintre proteinele necesare funcționării mitocondriei). Așa stând lucrurile, se pune problema: cum știe RE care dintre complexele de biosinteză proteică (polisomi) trebuie să fie preluate la nivelul membranei sale?

Ei bine, informația prin care se face selecția se află în însuși lanțul polipeptidic în formare. Ea este o secvență compactă de 15-30 aminoacizi hidrofobi (sau preponderent

hidrofobi) denumită **peptidă semnal**, sau **secvenţă semnal**. De regulă peptida semnal este localizată foarte aproape de capătul amino-terminal al proteinelor în cauză, sau se identifică cu acesta. Prezența peptidei semnal deși este necesară, nu este suficientă. Peptida semnal nu are un receptor corespunzător în membrana RE. În procesul de recrutare a poliribosomilor, care au produs peptida semnal în proteina a cărei sinteză o desfășoară, intervine un alt complex macromolecular ribonucleoproteic, care a fost denumit **particulă de recunoaştere a semnalului** (prescurtat SRP – de la "**S**ignal **R**ecognition **P**article"). Particula de recunoaștere a semnalului conține o moleculă mică de ARN (7S constantă de sedimentare), complexată cu 6 subunități polipeptidice, adoptând forma unui bastonaș cu lungimea de ~25nm și grosimea de ~5nm. Acest complex structurează la un capăt un sit de interacțiune cu peptida semnal din lanțul polipeptidic în curs de sinteză, iar la celălalt capăt un domeniu de legare la situl A al ribosomului. Adiacent sitului de interacțiune cu peptida semnal, după această interacțiune și legarea pe ribosom, SRP expune un sit de legare la un receptor specific din membrana RE, **receptorul la SRP** (SRPR). În această conjunctură poliribosomul (la nivelul căruia alungirea lanțului este blocată prin legarea domeniului specific al SRP la situl A) este recrutat de membrana RE. După legarea complexului ribosom operațional, lanț polipeptidic în sinteză, particulă de recunoaștere a semnalului, receptorul predă întreaga mașinărie unui alt complex macromolecular transmembranar din membrana RE, constituit din mai multe proteine, care rezolvă translocarea lanțului polipeptidic pe măsura alungirii. Acest complex de translocare este denumit **translocon**. Transloconul este astfel organizat încât structurează pe de o parte un sit de acomodare a peptidei semnal hidrofobe, iar pe de altă parte, un canal hidrofil (mai bine-zis un por hidrofil, deoarece diametrul său în conformație deschisă, activă în translocare este de 4-6 nm; diametrul său în stare neocupată este de 0,9-1,5 nm). Prin acest por hidrofil este translocat lanțul polipeptidic în lumenul RE, pe măsura alungirii sale. Din momentul în care transloconul preia ribosomul, SRP este eliberată în citosol, iar sinteza poate continua, deoarece situl A devine disponibil ocupării cu ARNt, corespunzător codonului care urmează. Acestea sunt fenomemnele ce se petrec pentru selecția poliribosomilor corespunzători la membrana RE și inițierea translocării prin aceasta. Pe scurt, etapele descrise ar fi:

1. Inițierea sintezei proteice în citosol;
2. Apariția peptidei semnal;
3. Recunoașterea peptidei semnal de SRP (aflat întotdeauna în exces în citosol), interacțiunea dintre ele, blocarea sintezei prin ocuparea sitului A;
4. Legarea complexului macromolecular astfel format la SRPR din membrana RE;
5. Interacțiunea dintre SRPR și translocon cu transferul complexului, legarea ribosomului și deblocarea sintezei proteice prin eliberarea SRP în citosol;
6. Translocarea lanțului polipeptidic, pe măsură ce se alungește, prin membrana RE.

Ceea ce se întâmplă mai departe depinde de tipul de proteină care este sintetizată. Proteinele destinate exportului (proteinele de secreție), sau cele care trebuie să funcționeze ca proteine solubile în lumenul RE, al cisternelor golgiene, sau al lizosomilor, conțin adiacent peptidei semnal (către capătul carboxi-terminal) o secvență

consens recunoscută de o hidrolază, numită **semnal-peptidază**, care elimină peptida semnal hidrofobă (ce ar ține altfel proteina inserată în bistratul lipidic, ca proteină transmembranară unipas de tip II) și eliberează proteina în lumenul RE.

Pentru proteinele transmembranare procesele se nuanțează semnificativ. O serie de proteine transmembranare unipas conțin peptide semnal dispuse mult mai profound în lungimea lanțului polipeptidic, nu către capătul extrem amino-terminal. În această situație, deși etapele de inițiere a translocării sunt aceleași, caracteristicile fizico-chimice ale lanțului polipeptidic, în zonele adiacente peptidei semnal, influențează sensul în care are loc inserarea și translocarea. Să specificăm mai întâi că întotdeauna (din câte cunoaștem până în prezent) inserarea în translocon se face cu sarcinile pozitive din lanțul polipeptidic către versantul citoplasmatic al membranei RE. Asta înseamnă că, atunci când porțiunea dinspre peptida semnal către capătul amino-terminal conține aminoacizi cu sarcini pozitive (lizină, arginină), inserarea în translocon se face în sens direct, capătul aminoterminal al proteinei rămâne în citosol (în endodomeniu), iar proteina rezultată va fi transmembranară, unipas, tip II. Dacă însă porțiunea dinspre peptida semnal către capătul carboxi-terminal al proteinei conține aminoacizi pozitivi, atunci inserarea în translocon se face în sens invers, capătul amino-terminal deja format al lanțului polipeptidic va fi translocat în lumenul RE, iar sinteza va continua cu eliberarea capătul carboxi-terminal în citosol. Proteina integrală rezultată va fi transmembranară, unipas, de tip I (capătul amino-terminal în ectodomeniu).

Proteinele transmembranare multipas conțin mai multe secvențe cu aminoacizi hidrofobi (sau preponderent hidrofobi) care vor rămâne inserate în bistratul lipidic străbătându-l. Selectarea și inițierea translocării urmează aceleași etape descrise mai sus. Pentru înțelegerea secvenței de etape ce urmează în sinteza și inserarea în membrană a proteinelor în aceste cazuri, vom defini noțiunile de **secvență start transfer**, respectiv **secvență stop transfer**. Astfel, secvențele hidrofobe, care în ordinea apariției în cusul sintezei proteinei au număr fără soț, vor opera ca secvențe start transfer. Apariția acestora inițiază procesul de translocare a lanțului ce se formează către lumenul RE și de aceea sunt denumite secvențe start transfer. Secvențele hidrofobe care au număr cu soț (în funcție de ordinea în care apar în cursul biosintezei) acționează ca secvențe stop transfer. Iată cum trebuie înțelese fenomenele în această situație, deși ele nu sunt elucidate în toate detaliile:

1. Pe măsură ce secvențele stop transfer (hidrofobe) se formează și pătrund în porul hidrofil al transloconului, este determinată închiderea acestuia, lanțul polipeptidic se deplasează lateral, etanșeitatea interacțiunii ribosom-translocon dispare, iar lanțul polipeptidic în curs de alungire iese în citosol. Închiderea și deschiderea porului se face la capătul luminal al transloconului, iar interacțiunea ribosom-translocon asigură etanșeitatea canalului față de citosol, în cursul translocări.

2. Următoarea secvență hidrofobă (număr impar, secvență start transfer) restabilește etanșeitatea interacțiunii ribosom-translocon, redeschide porul, iar lanțul polipeptidic ce rezultă din etapa de alungire a biosintezei este translocat din nou către lumenul RE.

Aceste fenomene se repetă de câte ori apare o nouă secvență hidrofobă, până proteina este sintetizată în toată lungimea ei.

Dintre cele ce nu se cunosc cu certitudine în momentul de față referitor la aceste procese amintim: ***(i)*** cum este reglată închiderea și deschiderea porului transloconului, ***(ii)***

cum are loc migrarea laterală a secvenţelor hidrofobe şi dacă ele părăsesc transloconul inserându-se chiar atunci în bistratul lipidic, ***(iii)*** cum se modulează interacţiunea dintre ribosom şi translocon, sau dacă ribosomul se desprinde de translocon sub acţiunea secvenţei stop transfer, ***(iv)*** ce se întâmplă concret la reluarea translocării.

Numărul de treceri prin planul membranei, care formează domeniul transmembranar al proteinelor multipas astfel formate, depinde de numărul de secvenţe hidrofobe codificate de ARNm, dar şi de prezenţa sau absenţa, după prima secvenţă start transfer a secvenţei consens hidrolizată de semnal-peptidază. Dacă proteinele transmembranare multipas care rezultă vor fi de tip I, sau tip II depinde de mai multe aspecte, printre care modul direct, sau invers de inserare a primei secvenţe start transfer (vezi mai sus importanţa proprietăţilor electrice ale porţiunilor adiacente primei scevenţe start transfer), sau prezenţa, respectiv absenţa secvenţei de clivare prin semnal-peptidază.

Prelucrarea proteinelor sintetizate în RE

Preocuparea RE pentru proteinele care fac interesul său nu se rezumă doar la biosinteza lanţului polipeptidic şi eliberarea sa în lumen, sau inserarea în membrană. RE îşi asumă mai departe şi prelucrarea lanţurilor polipeptidice, prelucrare care înseamnă pe de o parte modificarea chimică la unele resturi ale aminoacizilor, iar pe de altă parte asistarea proteinelor pentru o crectă împachetare, adică pentru adoptarea unei conformaţii corecte, funcţionale. La nivelul RE se petrec o serie de transformări asupra proteinelor care au loc concomitent cu traducerea (**modificări co-traducere**), sau după terminarea acesteia (**modificări post-traducere**). O modificare co-traducere despre care am vorbit deja este acţiunea semnal-peptidazei şi clivarea peptidei semnal în cazurile specificate. Modificările constituie etape în ceea ce numim **maturarea proteinelor**, pentru aducerea lor la starea funcţională şi pentru a asigura sortarea şi direcţionarea lor către locurile din celulă cărora le sunt destinate. Procesele de maturare, care încep la nivelul RE, vor fi continuate şi finalizate în complexul golgian. În cele ce urmează, vom prezenta o parte dintre modificările co-, respectiv post-traducere, a căror semnificaţie este mai bine cunoscută. De menţionat că repartizarea proceselor în una sau alta dintre cele două categorii nu este pentru toate complet justificată, dovezile fiind uneori echivoce, astfel încât autorul acceptă riscul ca viitorul să impună revizuirea clasificărilor. Mai mult, sunt unele procese (cum ar fi formarea punţilor disulfurice corecte) care se pot petrece atât simultan cu traducerea, cât şi după terminarea acesteia.

Modificări co-traducere ale lanţului polipeptidic

Modificările co-traducere sunt realizate, după cum este uşor de intuit, la nivelul transloconului, de regulă prin proteine accesorii. Rămâne de stabilit în ce măsură aceste proteine sunt doar accesorii, sau participă la însăşi structurarea transloconului. Dintre modificările co-traducere prima detaliată în cele ce urmează este una dintre cele mai frecvente, care presupune o pregătire laborioasă şi are efecte majore asupra proprietăţilor şi comportamentului produsului final.

Iniţierea glicozilării proteinelor. În RE este iniţiată formarea structurilor *N*-glicozidice, adică acele structuri glucidice purtate de azotul amidic al asparaginei. Acest

lucru se petrece numai atunci când asparagina se află într-o secvență consens cu structura …-Asn-X-Ser(Thr)-… (considerată dinspre capătul amino), unde X poate fi oricare dintre aminoacizii uzuali, cu excepția prolinei. Glicozilarea este realizată de o **oligozaharid-transferază,** care citește lanțul polipeptidic în curs de formare pe măsură ce acesta iese din porul transloconului și când află o asparagină în ambianța menționată, îi grefează la azotul amidic un oligozaharid cu structura globală -$(Glc\mathit{N}Ac)_2Man_9Glc_3$, și cu o geometrie triantenară, două dintre antene fiind terminate cu manoze, cea de a treia cu cele trei glucoze legate una de alta. Substratul de pe care enzima transferă acest oligozaharid complex este **dolicil-difosfo-oligozaharidul** (dol-P-P-oligozaharid), inserat prin dolicil în bistratul lipidic. Dacă asparagina nu se află într-o secvență consens, oligozaharid-transferaza rămâne indiferentă. Trebuie menționat că dol-P-P-oligozaharidul este sintetizat de celulă la nivelul membranei RE cu mare consum energetic, prin adăugarea pas cu pas a glucidelor, unul după altul, începând cu Glc*N*Ac. Acest lucru justifică afirmația facută mai sus și anume ca acest proces de glicozilare este unul cu o pregătire laborioasă. Inițial glucidele se adaugă la dolicil-difosfat pe fața citoplasmatică a membranei, până la primele cinci manoze, după care compusul intermediar este flipat, iar sinteza continuă secvențial pe versantul luminal al membranei RE, unde are loc apoi și transferul oligozaharidului la asparagină. Spun că trebuie menționat acest lucru deoarece, în ciuda efortului depus în producerea structurii oligozaharidice, celula pare a se deda la risipă, începând să tundă parte din glucide, după ce aceste ajung pe proteină, eliminându-se în RE cele trei glucoze și o manoză. Tunderea va continua ulterior în complexul Golgi, unde vor avea loc și glicozilările finale ale structurilor *N*-glicozidice, acelea care se termină de regulă cu acizi sialici. Nu se cunoaște, în momentul de față, cu certitudine câte dintre aceste procese de tundere reprezintă modificări co-traducere și câte post-traducere. Dar astăzi cunoaștem că această paradoxală risipă are o însemnătate funcțională (vezi mai jos la "Asistarea proteinelor pentru împachetarea corectă").

Hidroxilări la nivelul lanțului polipeptidic. Au fost evidențiate, la unele proteine, hidroxilări în poziția 4 a unor proline, sau în poziția 5 a unor lizine. **Prolil-4-hidroxilaza** este este un heterotetramer $\alpha_2\beta_2$, în care sunbunitatea β este identică cu **protein disulfură izomeraza** (vezi mai jos la "Asistarea proteinelor pentru împachetarea corectă"). Hidroxilările prolinei și lizinei se petrec în proteine ale matricei extracelulare (de exemplu în colagen, sau elastină), aceste modificări asigurând asamblarea lor sub formă fibrilară și în fascicule de fibre pentru corecta structurare a țesuturilor conjunctive. Există controverse referitor la caracterul co-, sau post-traducere al acestor hidroxilări.

Carboxilarea acidului glutamic în poziția γ. Aceasta modificare este operată de o proteină transmembranară (**carboxilază**) al cărei sit de activitate este expus pe versantul luminal. Modificarea a fost evidențiată la proteine ce participă la coagularea sângelui (de exemplu la protombină, fatorii VII, IX și X) și, se pare, în unele proteine ale matricei osoase, ajutînd la mineralizare.

<u>Modificări post-traducere ale proteinelor</u>

Glipiarea este procesul prin care unele ectoproteine sunt atașate mai ferm la bistratul lipidic prin ceea ce se numește **ancoră glicofosfatidilinozitolică**. Procesul

implică o clivare a peptidei semnal din unele proteine a căror inserare în traslocon a fost în sens invers, cu atașarea concomitentă a capătului carboxil nou format la gruparea amino a unei etanolamine aflate în capătul lanțului oligozaharidic din glicozil-fosfatidilinozitol. Așadar, ancorarea se face printr-o legatură amidică. A fost evidențiat un mare număr de proteine membranare (ectoproteine) modificate astfel și faptul că distribuirea lor se face preferențial la nivelul plutelor lipidice. Deși nu se cunoaște semnificația funcțională a acestor modificări, ancorarea prin glicofosfolipid ar putea permite eliberarea acestor proteine prin activarea de fosfolipaze, ca răspuns la diverse semnale.

Asistarea proteinelor pentru împachetarea corectă

Ca și tunderea structurilor oligozaharidice, apartenența acestor procese de asistare la prelucrările co-, sau post-traducere este în dezbatere, având cel mai probabil loc și concomitent cu și după terminarea traducerii. Asistarea este realizată de proteine numite **șaperone** (chaperone). Așadar, șaperonele sunt molecule specializate în a asista proteinele nou sintetizate pentru adoptarea conformației corecte, acea conformație care asigură funcționalitatea macromoleculelor. Deși mecanismele lor de acțiune sunt departe de a ne fi cunoscute, pentru unele modul de principiu al operării este cvasi-unanim recunoscut. O primă șaperonă pe care o discutăm este **calnexina**. Dovedirea activității ei șaperonice ne-a făcut să înțelegem de ce tunderea parțială a glucidelor de pe structurile inserate pe asparagină iese de sub spectrul risipei. Calnexina, prin ativitatea ei de tip lectinic, leagă structurile *N*-glicozidice rămase, prin tundere, cu o singură glucoză și menține precursorul de glicoproteină legat, asistându-l în adoptarea unei conformații corecte pentru stadiul în care se află. Desprinderea din interacțiunea cu calnexina nu se face decât după realizarea acestui scop, prin acțiunea unei glucozidaze aflate în lumenul RE. Mai mult, în cazul în care accidental glucoza este clivată înainte de terminarea rolului calnexinei, macromolecula nu poate părăsi RE către complexul Golgi, ci este reglucozilată de o glucozil-transferază, care transferă glucoza de pe substratul uridil-difosfo-glucoză și asigură reatașarea glicoproteinei la calnexină pentru definitivarea procesului de asistare. Nu ne sunt cunoscute încă mecanismele prin care celula (în speță RE) controlează calitatea împachetării, lucru valabil și pentru celelalte activități șaperonice evidențiate în lumenul RE.

Am menționat, când am descries ultrastructura RE, că lumenul organitului este echivalentul spațiului extracelular. Asta înseamnă că în lumenul RE sunt condiții oxidante, ceea ce favorizează realizarea de punți disulfurice. Întrucât în structura cuaternară a proteinelor punțile disulfurice nu se stabilesc neapărat între două cisteine în succesiunea în care ele apar în secvența primară (uneori, dimpotrivă, ele trebuie să se formeze între cisteine din zonele amino-terminale și cisteine din zonele carboxi-terminale), realizarea acestor legături trebuie bine controlată. Acest lucru se face prin asistarea printr-o enzimă numită **protein disulfură izomerază**. Această enzimă leagă tranzitoriu cisteinele din proteina născândă, sau desface punțile incorecte din proteinele a căror traducere s-a terminat și ajută la realizarea punților -S-S- corecte.

Paradoxal este faptul că pentru șaperona cu cea mai largă sferă de acțiune nu cunoaștem aproape nimic din detaliile acțiunii sale (sau poate această situație se datorează tocmai sferei prea largi de acțiune). Este vorba de șaperona numită **proteină**

de legare (prescurtare **BiP**, de la "**Bi**nding **P**rotein"). Această proteină, care se pare că este responsabilă și pentru controlul deschiderii și închiderii porului transloconului, complexează noile proteinele translocate și nu le eliberează decât atunci când împachetarea lor este corect definitivată. Mai mult, dacă proteina eșuează în adoptarea conformației corecte, BiP o "conduce" la translocon, care, prin asocierea cu proteine accesorii diferite de cele de internalizare, expulzează lanțul polipeptidic "ratat" în citosol, unde este **poliubiquitinilat** și intră în process de degradare proteolitică în **proteasom**, organit de degradare a proteinelor citosolice.

Deoarece procesele de asistare a împachetării corecte a proteinelor sunt esențiale pentru producerea de macromolecule funcționale (cu structură cuaternară corectă), celula și-a creat mecanismele de control necesare desfășurării eficiente a acestora. În ciuda faptului că mecanismele de asistare pentru adoptarea conformației corecte și de control a realizării acesteia nu sunt deplin elucidate, în momentul de față cunoaștem că necesarul de șaperone este asigurat prin mecanisme de semnalizare inițiate în lumenul RE, care declanșază formarea de ARNm ce pemite formarea de proteine de reglare a exprimării genice. Aceste mecanisme implică activarea unor proteine transmembranare cu rol în controlul împachetării. Prin ectodomeniu (domeniul luminal) aceste proteine semnalizează și induc fosforilarea endodomeniului, care își activează un sit enzimatic endonucleazic. Activitatea endonucleazică astfel indusă prelucrează un pre-ARNm existent în citoplasmă și, prin eliminarea intronului, produce un ARNm funcțional. Acest ARNm este tradus în proteine de activare a genelor specifice șaperonelor ce funcționează în lumenul RE. Genele sunt transcrise la ARNm corespunzător, care va fi folosit pentru producerea de șaperone, prin mecanismele descrise mai sus (biosinteza proteinelor la nivelul RE). Noile șaperone astfel sintetizate, asigură nevoia crescută de molecule de asistare în lumenul RE, eficientizând procesele.

Sortarea și transportul către aparatul Golgi

Procesele prin care proteinele nou formate sunt prelucrate fac parte din fenomenul denumit **maturare**. Maturarea începe la nivelul RE, dar este continuată și, eventual, definitivată la nivelul complexului Golgi. Spun eventual, deoarece în unele cazuri, pentru anumite proteine de secreție, completa maturare se realizează în momentul secreției, sau chiar după aceea în spațiul extracelular, de regulă prin clivări proteolitice. Procese de maturare se petrec și pentru sfingolipide; transformarea ceramidelor în sfingomielină, sau glicolipide are loc tot în aparatul Golgi. Pentru realizarea acestor procese, este necesar un trafic de (macro)molecule între RE și complexul golgian. Acest trafic se face prin vezicule și prin intermedierea unor **structuri veziculo-tubulare** (prescurtat **VTC**, de la "**V**esicular **T**ubular **C**lusters"), cunoscute și sub numele **ERGIC** (de la "**E**ndoplasmic **R**eticulum-**G**olgi **I**ntermediate **C**ompartment") a căror prezență a fost evidențiată în preparatele de microscopie electronică. În acest paragraf vom descrie ceea ce se cunoaște referitor la acest proces de transport.

Transportul între RE și Golgi respectă un mecanism tip suveică. Prin acest mecanism se rezolvă pe de o parte exportul de substanță destinată a ajunge în alte locații din celulă (calea anterogradă), iar pe de altă parte reciclarea componentelor necesare reluării procesului, ca și returnarea componentelor rezidente în RE (calea

retrogradă), adică a acelor componente care scapă accidental în microveziculele de transport în timpul selectării și segregării materialului exportat, înmuguririi și desprinderii structurilor de transport din membrana RE. Acest mecanism a fost elegant evidențiat prin tratamenul celulelor cu metabolitul fungic **brefeldină A**. Brefeldina A are ca efect disiparea aparatului Golgi în celulă. Explicația constă în capacitatea acestei substanțe de a inhiba specific transportul anterograd dintre RE și Golgi, în timp ce transportul retrograd este neafectat. Acest lucru conduce la "vărsarea" cisternelor golgiene în RE, ceea ce nu s-ar putea întâmpla, dacă nu ar exista transportul retrograd dinspre Golgi, înspre RE.

Selectarea și segregarea materialului destinat exportului către aparatul Golgi se face la nivelul unor cisterne ale RE cu o structură specifică. Aceste cisterne sunt denumite **elemente de tranziţie,** sau **reticul endoplasmic tranziţional** și se caracterizează prin faptul că, de regulă, pe unul din versante prezintă ribozomi atașați, iar pe celălalt vezicule ce înmuguresc. Acești muguri veziculari prezintă pe fața citoplasmatică a membranelor lor un înveliș proteic format din **proteine de înveliş II**, sau **coatomeri II** (prescurtare **COP II**, COP de la "**CO**at **P**roteins"; II de la faptul că au fost identificate după COP I, alte specii proteice ce structurează învelișuri la membrane, despre care vom vorbi puțin mai jos). COP II operează atât în selecția și segregarea componentelor de transportat în zonele supuse înmuguririi, cât și în procesele de desprindere a veziculelor de transport. Procesele de transport anterograd, facilitate de COP II, sunt reglate de **Sar1** proteină cu rol de comutator molecular din clasa proteinelor G mici, denumite și **proteine G monomerice** (vezi la "Semnalizare celulară"). Proteinele G mici sunt cele care controlează și țintirea corectă a membranelor de destinație de către veziculele de transport. Veziculele odată desprinse își pierd învelișul și fuzionează unele cu altele, sau cu VTC (sistemul veziculo-tubular) adiacent. Fuzionarea este mediată de proteine numite **SNARE** (de la "**S**oluble **N**-ethylmaleimide-sensitive **A**ttachment protein **RE**ceptor"): **v-SNARE** (v de la "**v**esicle") din membrana viziculelor, respectiv partenerul de interacțiune din membrana de destinație **t-SNARE** (t de la "**t**arget"=țintă). Aceste două forme de proteină SNARE sunt esențiale în asamblarea aparatului de fuziune a microveziculelor cu membranele țintă.

Procesele de selecție și segregare sunt continuate în VTC unde se formează și mugurii înveliți în COP I, care prin desprindere dau naștere veziculelor de transport retrograd. Acest transport este reglat de **Arf1**, altă proteină G monomerică. Tehnicile de imunocitochimie ultrastructurală au evidențiat că în mugurii înveliți în COP I sunt selectate proteinele care trebuie reciclate la RE, în timp ce proteinele solubile ce trebuie direcționate către Golgi sunt absente. Mecanismele prin care se face sortarea în VTC nu ne sunt deocamdată cunoscute. Cât privește selecția proteinelor ce trebuie returnate la RE, aceasta are la bază **motive de aminoacizi** cu rol de semnal. Au fost, până în momentul de față, descoperite următorele motive semnal de reținere, sau returnare în RE: ***(i)*** -Lys-Asp-Glu-Leu-COO^-, deci **KDEL** (evident în capătul carboxi-terminal, după cum rezultă din descriere) pentru proteinele solubile în lumen, ***(ii)*** motivul **di-lizină** (KK) pentru proteinele transmembranare tip I (aflat în endodomeniul carboxi-terminal) și ***(iii)*** motivul **di-arginină** (RR) pentru proteinele transmembranare tip II (aflat în endodomeniul amino-terminal de această dată). Aceste motive operează pe de o parte în menținerea în RE a proteinelor rezidente, neimplicate în transportul către Golgi, dar și, pe de altă

parte, în returnarea proteinelor ce asigură selecția, segregarea și transportul în cauză, sau a celor care pot scăpa accidental în microveziculele de transport.

Mai departe, modul în care se face transportul între VTC și rețeaua *cis*-golgiană nu este elucidat. Dacă acesta se face prin vezicule ce se desprind din VTC, sau dacă acest sistem însuși se transformă în rețeaua *cis*-golgiană și, apoi în prima cisternă a feței *cis*-Golgi, râmâne o problemă în studiu.

La nivelul cisternelor Golgi au fost evidențiate structuri învelite în COP I a căror mișcare este reglată de **Rab6**, o altă proteină G monomerică. Aceste structuri pot fi o a doua cale de transport retrograd Golgi-RE, sau o cale de transport între cisternele acestui organit. Aceasta este însă o problemă ce trebuie abordată la discuția de acolo.

Considerații asupra biogenezei membranelor

Am afirmat, când am definit RE, că principala lui menire este aceea de a biosintetiza molecule și macromolecule esențiale pentru organizarea și funcționarea celulei. Este acum momentul să justificăm, în mai mare cunoștință de cauză, această afirmație.

Am văzut că RE sintetizează lipide membranare și are mecanismele de a le distribui într-un bistrat asimetric și heterogen. Am văzut, deasemenea, că RE produce, între alte proteine, pe cele transmembranare, în toată diversitatea lor (vezi la "Proteinele membranare"). Asta înseamnă, de fapt, că la nivelul RE se pun bazele structurării unor noi suprafețe de membrană. Din parcurgerea aspectelor pe care le cunoaștem despre RE, am remarcat că nu la toate componentele noilor membrane, astfel pornite, structurile sunt definitivate la nivelul RE. Maturarea acestora continuă în aparatul Golgi (definitivarea glicozilării structurilor *N*-glicozidice, formarea structurilor *O*-glicozidice, transformarea ceramidelor în sfingomieline, sau glicolipide, producerea glicozaminoglicanilor din structura proteoglicanilor membranari și altele), astfel încât traficul dintre RE și complexul Golgi este parte componentă din procesul de biogeneză a membranelor. Însă membranele trebuie să ajungă acolo unde sunt menite să funcționeze (adică la diversele organite, sau în membrana celulară. Ei bine, pentru aceasta este nevoie de continuarea "aventurii turistice" a noilor membrane într-un mod direcționat și riguros controlat de celulă, ceea ce se și întâmplă. Numai după ce membranele produse *de novo* ajung la destinație procesul biogenezei lor se poate considera încheiat, începând un altul, acela de reciclare.

Așadar, prin biogeneza membranelor trebuie să înțelegem totalitatea proceselor de biosinteză și maturare a componentelor acestora, de asamblare corectă a lor în noua structură și de transportare a lor în locurile corespunzătoare din celulă. Aceste procese nu se petrec neapărat secvențial ci amalgamat, astfel încăt ultimile "retușuri" se pot petrece chiar la ajungerea noilor structuri la destinație.

Abundența și distribuția intracelulară a RE

Reticulul endoplasmic este un organit ubicuitar. Rolul său în biogeneza membranelor îl face indispensabil organizării și funcționării celulelor. Chiar și în cazul eritrocitului (lipsit de organite), reticulul endoplasmic a fost prezent și a activat în timpul diferențierii precursorilor, până în momentul maturării elementului circulant. Dacă, de

regulă, RE conține cel puțin jumătate din membranele dintr-o celulă, raportul dintre componenta rugoasă și cea netedă variază în funcție de tipul de celulă. Există celule în care RER este preponderent (celule specializate în sinteza și secreția de proteine; exemplul tipic îl formează celulele acinare pancreatice), sau celule în care REN este preponderant (celule specializate în sinteza și secreția de hormoni steroidici; de exemplu celulele zonei corticale a glandei suprarenale, sau celulele Leydig din testicul). Un alt caz (reprezentat prin hepatocite de exemplu) este acela al celulelor în care raportul RER/REN este echilibrat. Cât privește distribuția intracelulară a RE aceasta poate fi difuză, cum ar fi în hepatocite, enterocite, sau polarizată, cum este în cazul celulelor acinare pancreatice, unde RER este localizat în jumatatea bazală a celulelor, polul apical al acestora fiind ocupat de vacuolele de secreție.

Rezumat

Reticulul endoplasmic este un organit delimitat de endomembrane cu o dublă structurare de reticul endoplasmic rugos, respectiv reticul endoplasmic neted. El este implicat în biosinteza propriilor componente, a componentelor membranare (lipide, proteine, componenta glucidică), dar și a componentelor celorlalte organite neautonome (aparat Golgi, lizosomi, sistem endosomal) și a componentelor destinate exportului din celulă. În îndeplinirea funcțiilor sale cooperează cu ribosomul (în amonte) și complexul Golgi (în aval) într-un mod eficient, prin mecanisme bine elaborate și controlate. În colaborarea din aval este necesar un permanent schimb de substanță, ce se face printr-un transport vesicular despre care multe detalii așteaptă să fie elucidate. Dealtfel în fiecare din procesele în care reticulul endoplasmic este implicat mai există și pete albe, care așteaptă să fie eboșate, sau crochiuri care așteaptă să fie finalizate (mecanismul de integrare a proteinelor transmembranare în bistratul lipidic la nivelul transloconului, mecanismele de selectare și segregare a componentelor de transportat către Golgi, pentru a le denumi doar pe cele mai actuale sub aspectul interesului comunității stiințifice).

Bibliografie

Vance JE, Vance DE (2004) Phospholipid biosynthesis in mammalian cells. *Biochem Cell Biol* **82**, 113-128.

Daleke DL (2003) Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J lipid Res* **44**, 233-242.

Johnson AE, van Waes MA (1999) The translocon: a dynamic gateway at the ER membrane. *Annu Rev Cell Dev Biol* **15**, 799-842.

Nikonov AV, Kreibich G (2003) Organization of translocon complexes in ER membranes. *Biochem Soc Trans* **31**, 1253-1256.