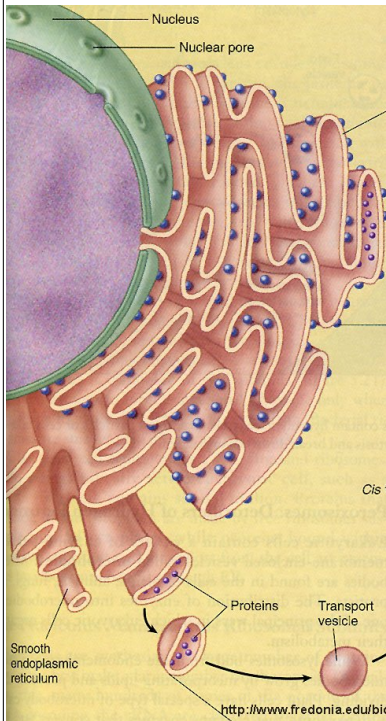
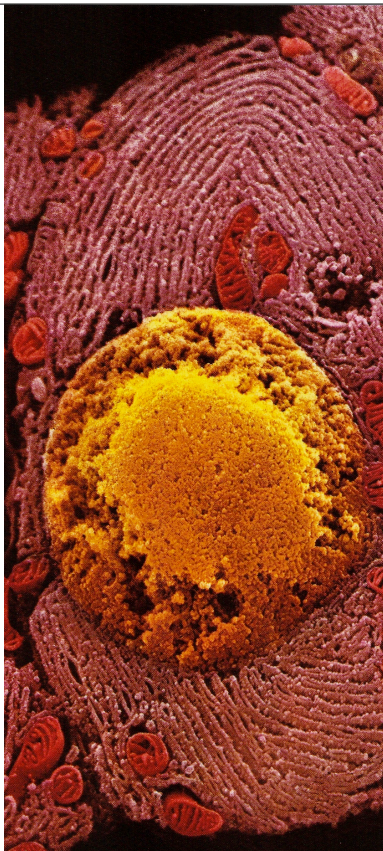


Síntesis de Proteínas: Retículo Endoplásmico.

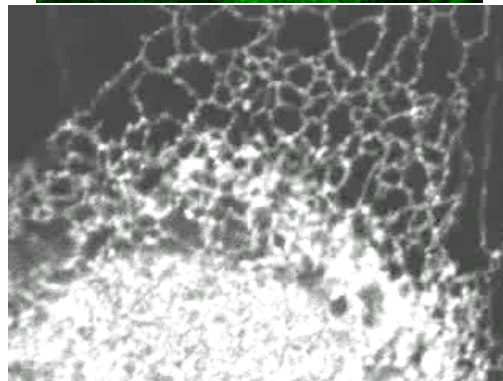
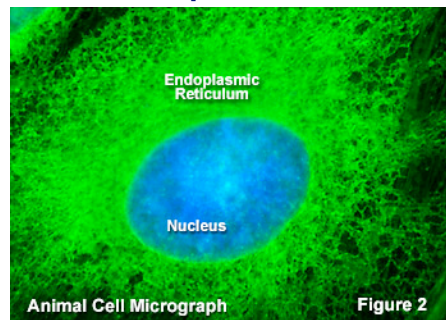
Sesión 9



Dr. Alejandro Roth, 2011



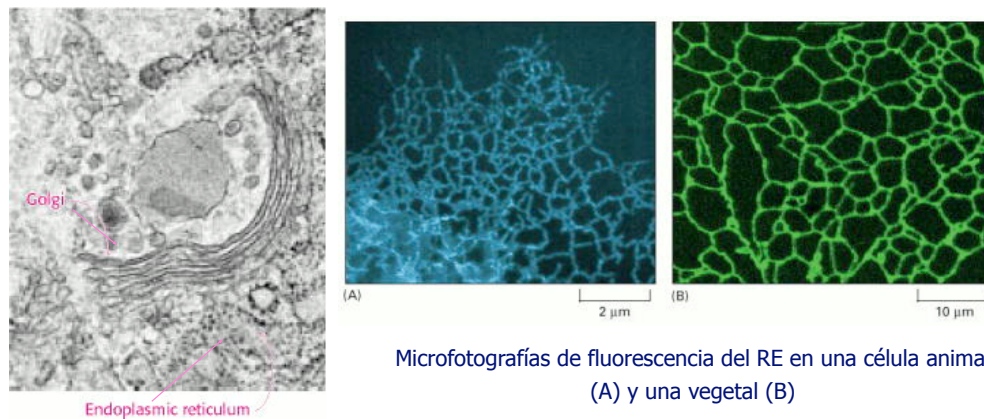
- Existe una continuidad entre en la membrana del retículo endoplásmico y la membrana externa nuclear.
- Secreción al lumen equivale a sacar de la célula!



El Retículo Endoplásmico

El RE es un organelo típico de las **células eucarióticas** y en células animales está organizado en **un red de tubos ramificados y sacos aplanados e interconectados** que se extiende a través de citoplasma. Constituye más de la mitad de la membrana total y representa alrededor del 10% de volumen celular.

La membrana del RE separa su lumen del citosol y media el transporte selectivo de una serie de compuestos entre ambos compartimentos.



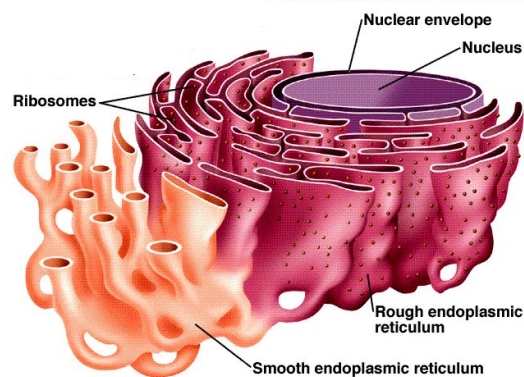
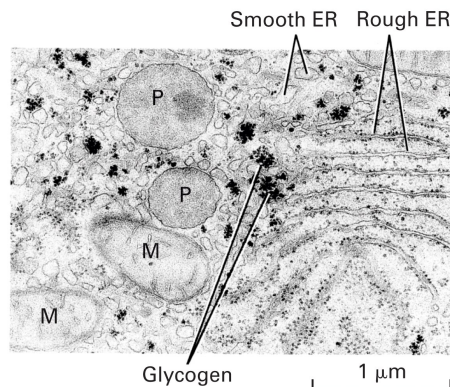
Microfotografías de fluorescencia del RE en una célula animal (A) y una vegetal (B)

Alberts et al, 2002

El Retículo Endoplásmico

El RE tiene un rol importante en una serie de funciones celulares, particularmente en la síntesis de numerosos lípidos y proteínas secretadas y de membrana. También es un **reservorio de Ca^{2+}** (ppal% retículo sarcoplásmico de los músculos).

Se distinguen dos zonas en el organelo : el RE liso y el RE rugoso

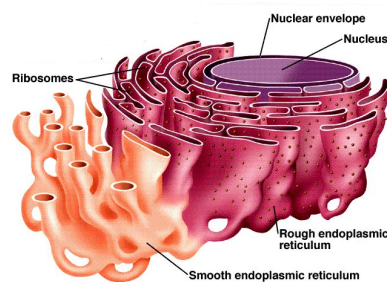
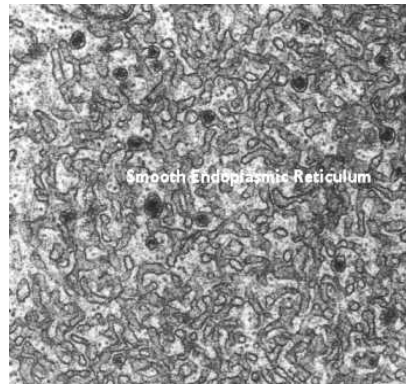


Retículo endoplásmico liso

En esta región ocurre la **síntesis** de **triglicéridos y fosfolípidos**.

Es **particularmente abundante en hepatocitos**: enzimas del RE liso modifican o detoxifican compuestos hidrofóbicos como pesticidas, drogas y carcinógenos, convirtiéndolos en productos conjugados más hidrosolubles que pueden ser excretados (complejos de citocromos P450).

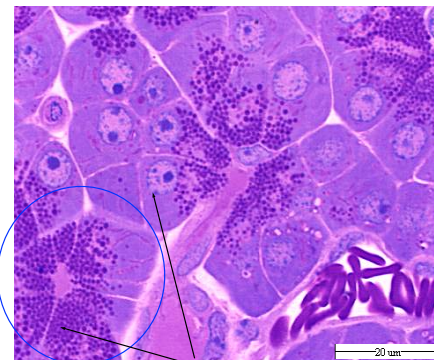
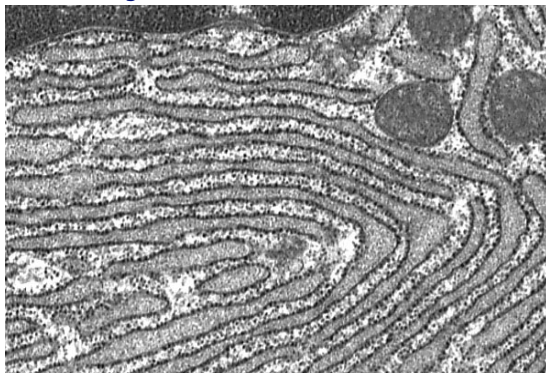
De ciertas regiones del RE liso yeman vesículas de transporte destinadas al aparato de Golgi.



Retículo endoplásmico rugoso

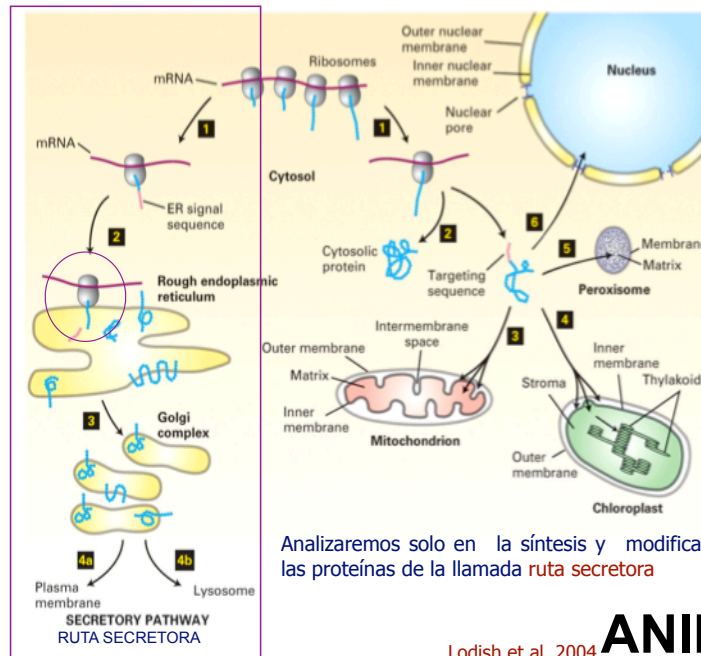
Denominado así por su aspecto debido a que **presenta regiones tapizadas de ribosomas**, donde se sintetizan proteínas de membrana (de organelos y de la MP) y proteínas solubles a ser secretadas por la célula y las destinadas al lumen del RE, del A. de Golgi y de lisosomas.

El RE rugoso es particularmente abundante en células secretoras de proteínas como linfocitos que secretan anticuerpos o células de los acinos pancreáticos que secretan enzimas digestivas.



células acinares de páncreas

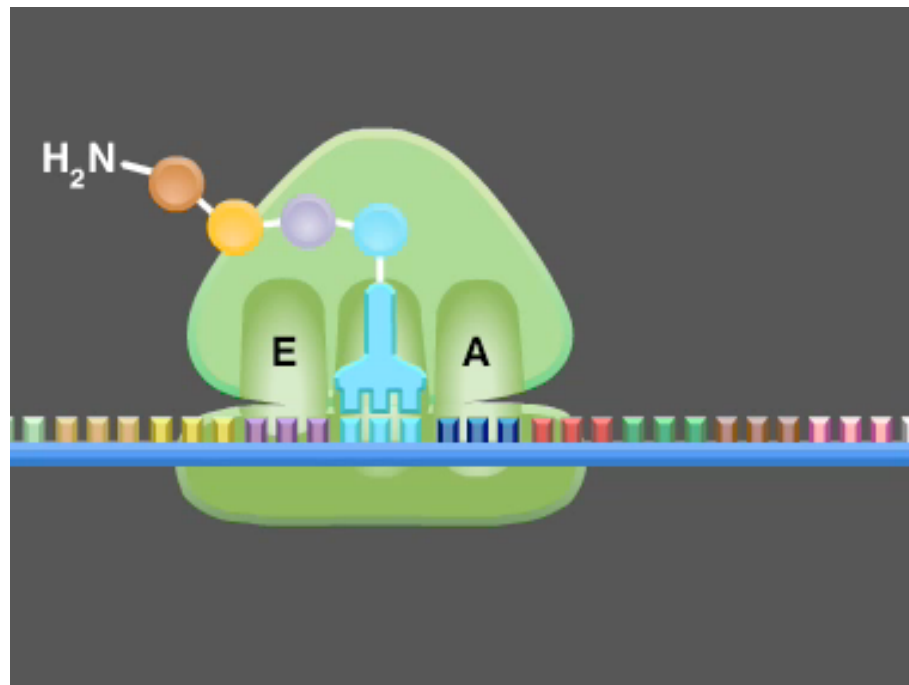
Síntesis de proteínas en la célula



¿cómo se incorporan proteínas a estos organelos?

Analizaremos solo en la síntesis y modificaciones de las proteínas de la llamada **ruta secretora**

Lodish et al, 2004 **ANIMACIÓN**



Síntesis de proteínas en el RE

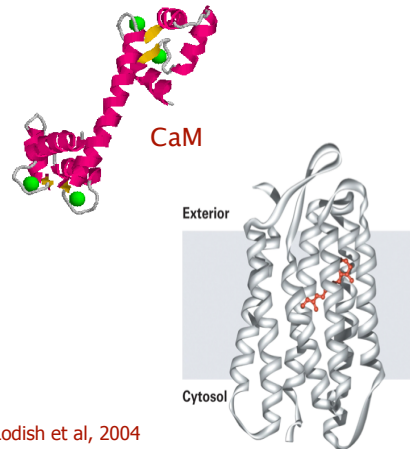
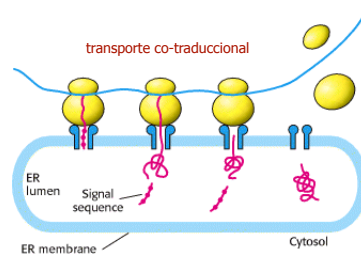
El RE internaliza selectivamente las proteínas a medida que éstas son sintetizadas (**transporte co-traducciona**) en los ribosomas asociados al RE rugoso mediante la cadena polipeptídica naciente. Una vez en el RE las proteínas son transportadas sin reentrar al citosol

Proteínas solubles

Son totalmente transportadas y almacenadas en el lumen del RE antes de ser destinadas al lumen del organelo de destino (RE, A. de Golgi o lisosomas) o para secreción.

Proteínas de transmembrana

Son parcialmente translocadas y quedan embebidas en su membrana. Algunas de estas proteínas tienen funciones en el RE y otras en la membrana de otros organelos o en la MP.



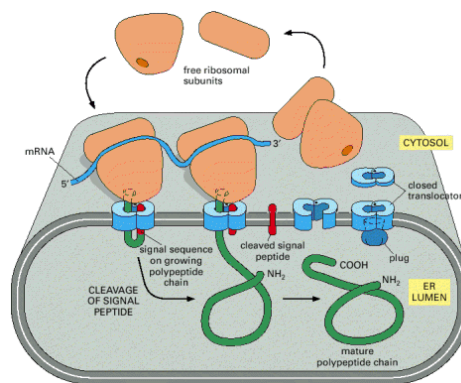
Lodish et al, 2004

Síntesis de proteínas en el RE

A medida que las proteínas solubles o de membrana son sintetizadas en el ribosoma, una **secuencia señal** hidrofóbica específica ubicada en el extremo N-terminal (16-30 AA's) de la cadena naciente lo dirige a la membrana del RE.

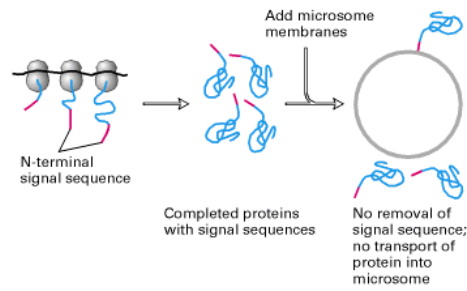
Mientras el polipéptido creciente emerge del ribosoma, atraviesa la membrana del RE vía proteínas específicas.

Las **secuencias señal** al RE fueron descubiertas a comienzo de los 1970's en proteínas secretadas que son internalizadas en el RE antes de ser descargadas fuera de la célula.

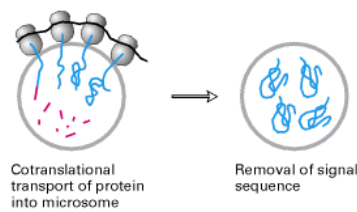


Alberts et al, 2002

(a) Cell-free protein synthesis; no microsomes present



(b) Cell-free protein synthesis; microsomes present



Lodish et al, 2000

Experimentos con microsomas de RE que demuestran la presencia de las secuencias señal en el polipéptido sintetizado.

a) La síntesis se hace en un medio que contiene ribosomas, tRNA, ATP, GTP y enzimas citosólicas y al cual se le agrega posteriormente microsomas. No se demuestra internalización del péptido en las vesículas.

b) La síntesis del polipéptido se hace en presencia de ribosomas adheridos a los microsomas, se demuestra la presencia de un péptido, y la secuencia señal en las vesículas de RE.

Table 17-4. Amino Acid Sequences of ER Signal Peptides in Three Eukaryotic Proteins

Protein	Amino Acid Sequence*
Preproalbumin	Met-Lys-Trp-Val-Thr- Phe-Leu-Leu-Leu-Leu-Phe-Ile-Ser-Gly-Ser-Ala-Phe-Ser
Pre-IgG light chain	Met-Asp-Met-Arg-Ala-Pro-Ala-Gln- Ile-Phe-Gly-Phe-Leu-Leu-Leu-Phe -Pro-Gly-Thr-Arg-Cys-Asp...
Prelysozyme	Met-Arg-Ser- Leu-Leu-Ile-Leu-Val-Leu-Cys-Phe-Leu -Pro-Leu-Ala-Ala-Leu-Gly-Lys...

Cleavage site of signal peptidase

Met-Ala-Thr-Gly-Ser-Arg-Thr-Ser-Leu-Leu-Leu-Ala-Phe-Gly-Leu-Leu-Cys-Leu-Pro-Trp-Leu-Gln-Gly-Gly-Ser-Ala-Phe-Pro-Thr

arginine
(Arg, or R)

NC(CCCNC)C(=O)N

lysine
(Lys, or K)

NC(CCCCN)C(=O)N

phenylalanine
(Phe, or F)

NC(Cc1ccccc1)C(=O)N

leucine
(Leu, or L)

CC(C)C(C)C(=O)N

isoleucine
(Ile, or I)

CC(C)C(C)C(C)C(=O)N

serine
(Ser, or S)

NC(CO)C(=O)N

glycine
(Gly, or G)

NC(C)C(=O)N

alanine
(Ala, or A)

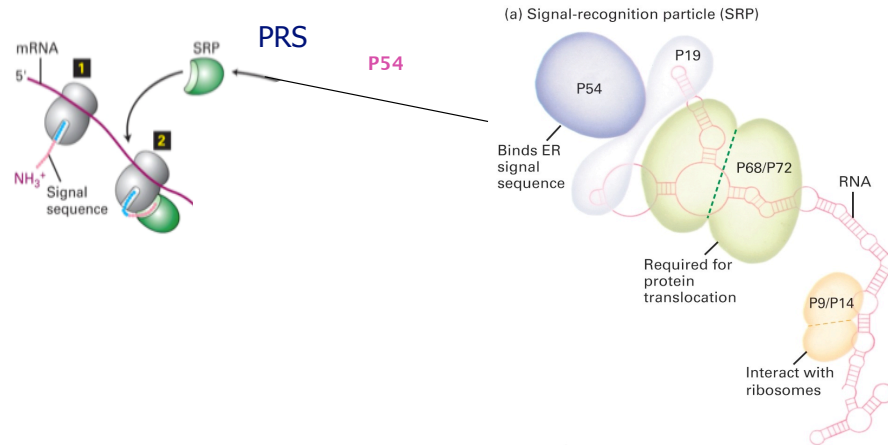
NC(C)C(=O)N

Las secuencias señal contienen uno o más AAs(+) (Arg, Lys) seguidos de 6 a 12 residuos hidrofóbicos.

Síntesis de proteínas solubles en el RE

La **secuencia señal del RE (1)** es guiada a la membrana del organelo mediante la **partícula de reconocimiento de señal (PRS o SRP)**, que se liga a ella en el complejo cadena naciente/ribosoma.

La PRS está compuesta de 6 diferentes cadenas polipeptídicas, unidas a una pequeña molécula de RNA.

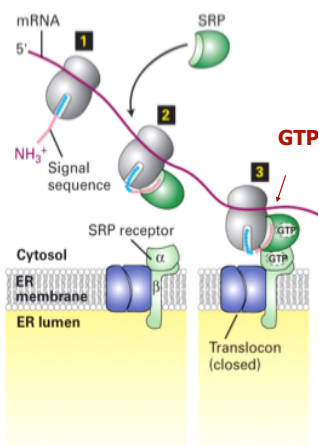


Lodish et al, 2004

Síntesis de proteínas solubles en el RE

Tan pronto como la **secuencia señal del RE comienza a emerger del ribosoma se une a la PRS**, produciéndose una **pausa en la síntesis (2)**.

La PRS dirige al complejo cadena naciente/ribosoma un **receptor de PRS (RPRS)** ubicado en la membrana del RE. Esta interacción es inducida por la **unión de GTP a la subunidad P54 de PRS y a la subunidad α del receptor de PRS (3)**.



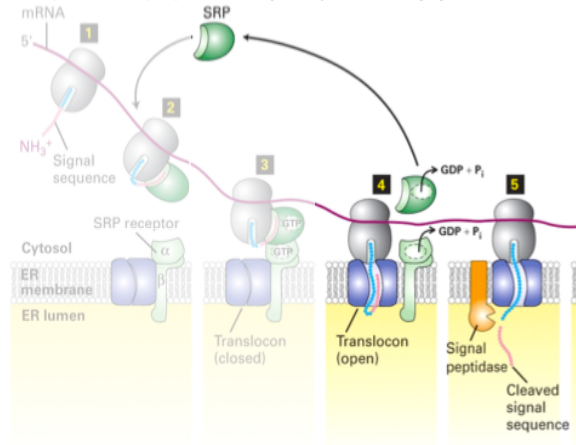
Lodish et al, 2004

Síntesis de proteínas solubles en el RE

El complejo se transfiere a una proteína-canal, el **translocador** (o **translocón**), asociado al RPRS, que se abre produciéndose la inserción de la secuencia señal y del segmento adyacente del polipéptido en el poro.

El receptor de PRS y la PRS se separan del translocador, hidrolizan sus GTPs y quedan listos para iniciar otro ciclo de inserción (4).

A medida que la cadena polipeptídica se elonga, pasa al lumen del RE donde la secuencia señal es cortada por una peptidasa y degradada (5).



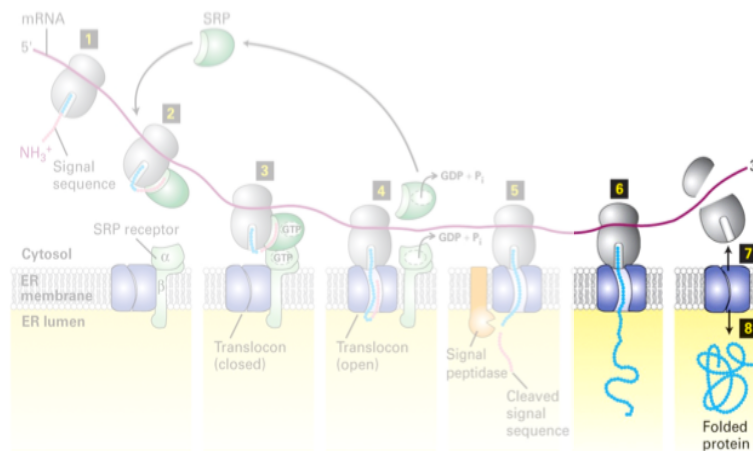
Lodish et al, 2004

Síntesis de proteínas solubles en el RE

El péptido termina de sintetizarse mientras el ribosoma permanece unido al poro (6).

Al terminar la síntesis se libera el ribosoma y el translocador se cierra (7).

La proteína pasa al lumen donde asume su conformación plegada (8).



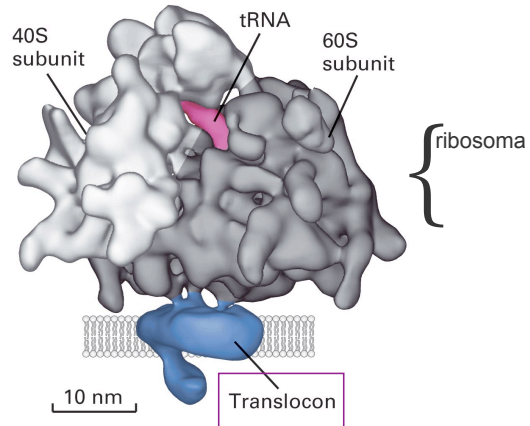
Lodish et al, 2004

Translocador o translocón

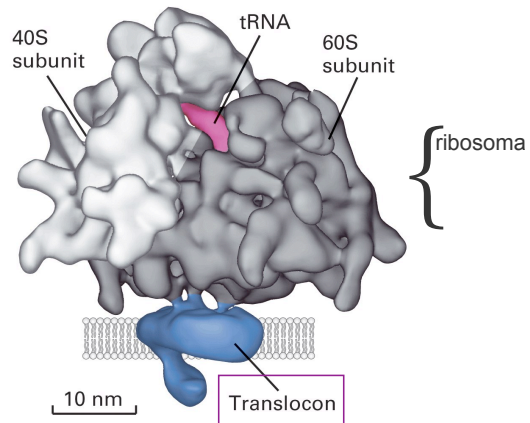
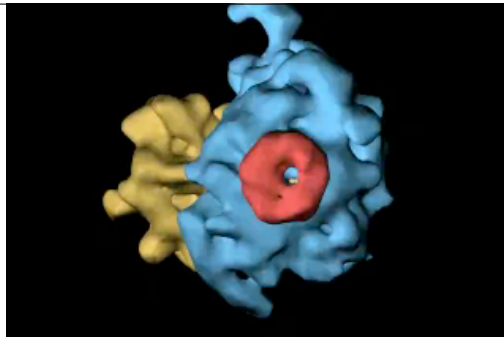
La cadena polipeptídica cruza la membrana del RE a través del **translocador** o **translocón**, una proteína de membrana, que forma un poro acuoso.

El translocador o complejo **Sec61** está formado por cuatro complejos, c/u formado de tres proteínas de transmembrana que se ensamblan formando una estructura de picarón.

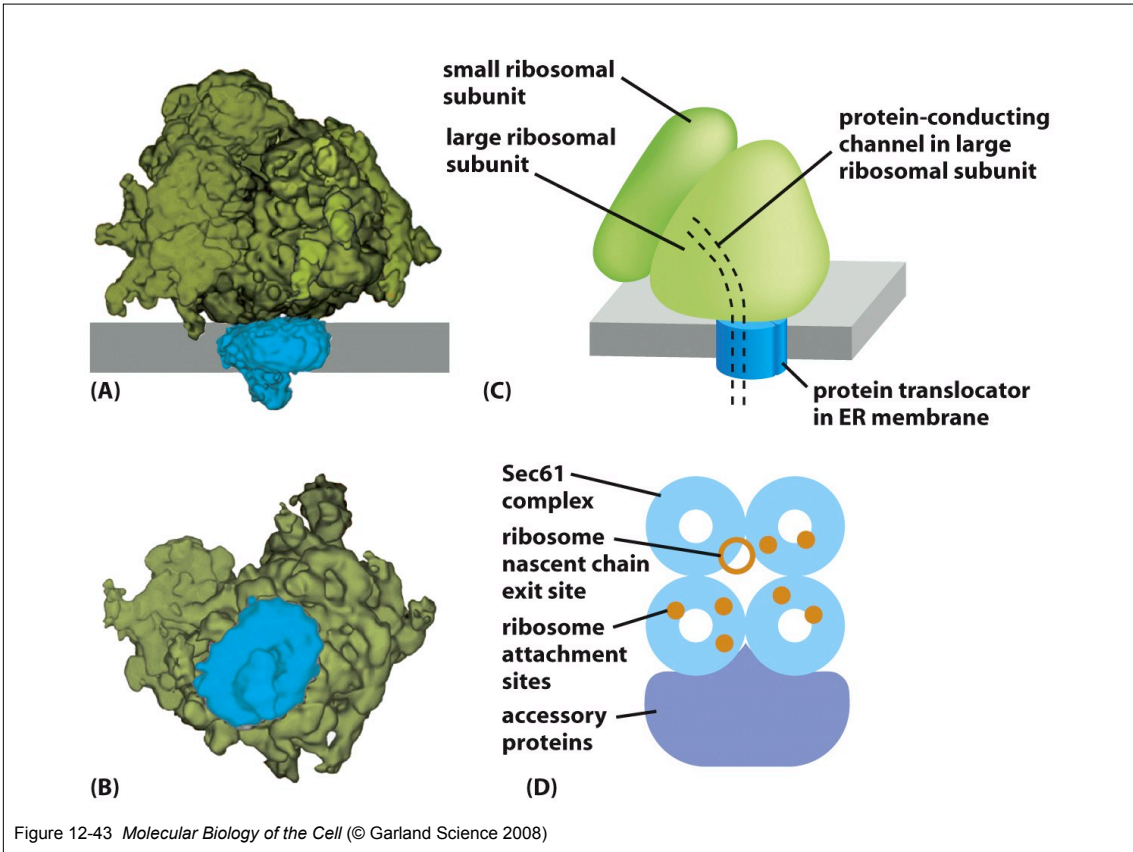
Se postula que la secuencia señal en la cadena polipeptídica creciente gatilla la apertura del este poro.



Lodish et al, 2004



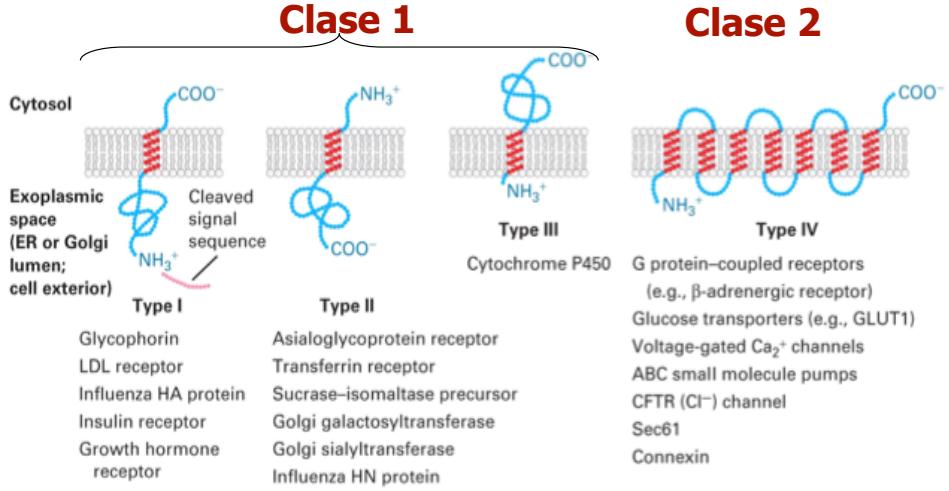
Lodish et al, 2004



Síntesis e inserción de proteínas de membrana en el RE

Las proteínas de membrana presentes en la MP, Golgi, o lisosomas tienen una particular orientación o topología respecto de la bicapa lipídica.

Estas proteínas son sintetizadas en el RE y permanecen embebidas en la membrana a medida que se mueven a sus destinos finales a lo largo de la ruta secretora.



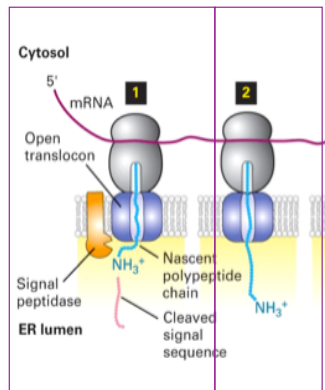
Lodish et al, 2004

Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con un segmento hélice α de transmembrana.

Las proteínas Tipo I poseen una **secuencia señal** y una **secuencia hidrofóbica interna** que constituirá el segmento hélice α de transmembrana.

Al igual que en las proteínas solubles la translocación co-traduccional se inicia a través de la actividad de la PRS y del receptor de PRS.

Una vez que el extremo N-terminal entra al lumen la secuencia señal es cortada por una peptidasa (1), mientras la cadena sigue creciendo (2).

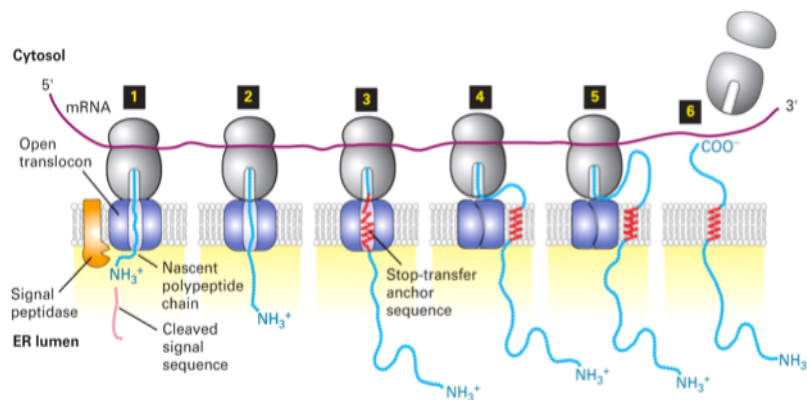


Lodish et al, 2004

Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con un segmento hélice α de transmembrana

Cuando se sintetiza una secuencia de aprox. ~22 AA's hidrofóbicos (**secuencia de detención de transferencia y anclaje**) se detiene la translocación (3).

La secuencia hidrofóbica se mueve lateralmente entre las subunidades del translocador y se ancla en la membrana (4). La traducción continúa hasta que el extremo C terminal se desliza fuera del ribosoma todavía anclado al translocador cerrado (5). Al terminar la síntesis se libera el ribosoma (6).



Lodish et al, 2004

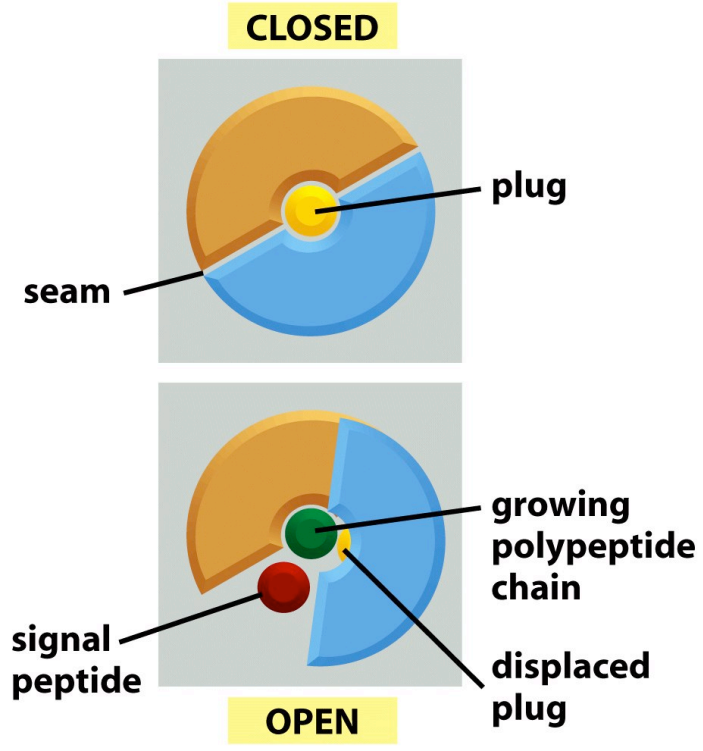


Figure 12-42b *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

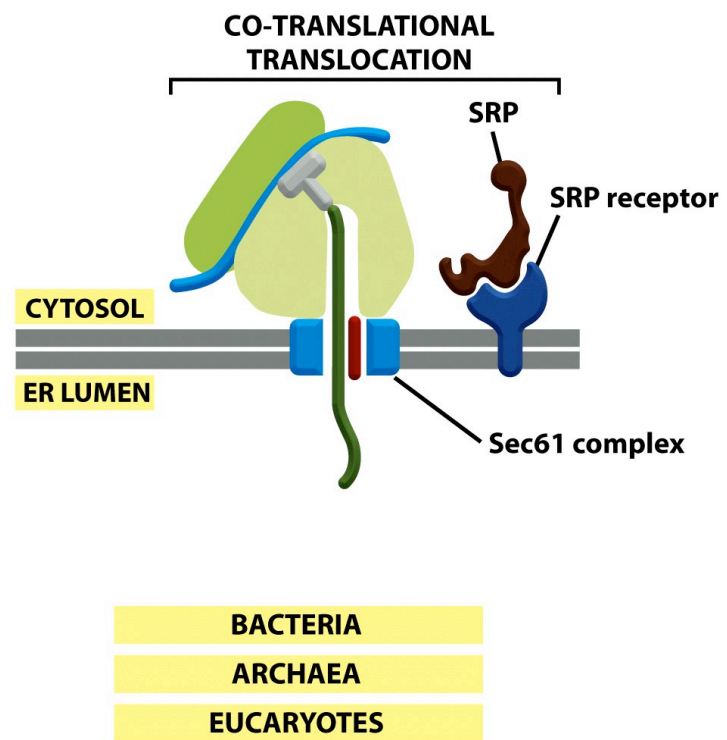
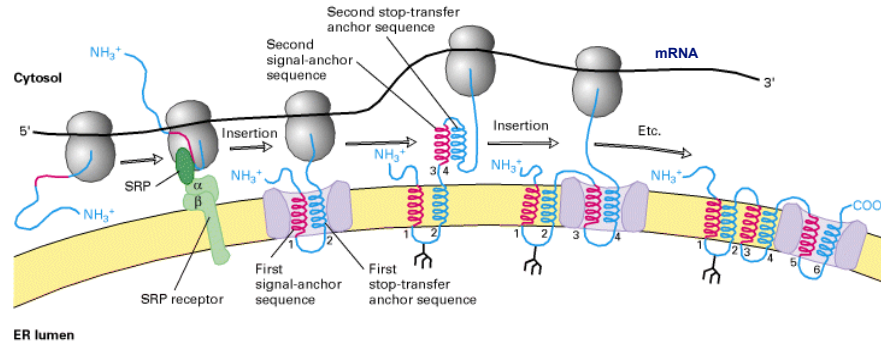


Figure 12-44a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con múltiples segmentos hélices α de transmembrana

En las proteínas de transmembrana de **múltiples hélices** α el segmento N-terminal funciona como secuencia señal de anclaje que dirige la unión de la cadena polipeptídica naciente a través del poro del translocador. El plegamiento en hélice α aparentemente se realiza en el poro.

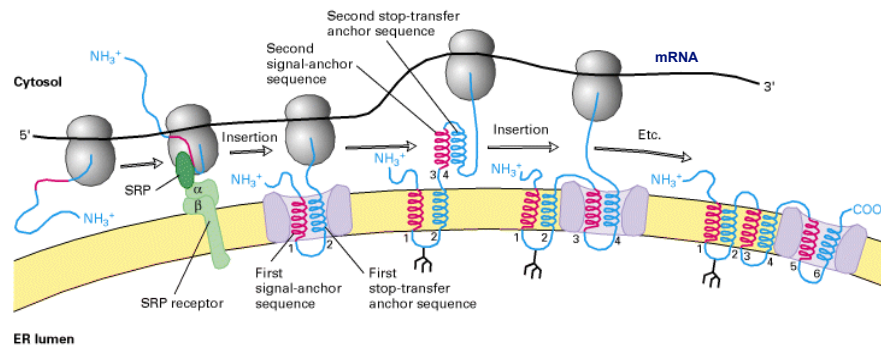
A medida que la cadena naciente que sigue al primer hélice α se elonga, se transporta a través del translocador hasta que se forma el segundo hélice α . Esta hélice actúa como una secuencia de detención de transferencia, previniendo mayor extrusión de la cadena a través del poro al lumen del RE.



Lodish et al, 2004

Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con múltiples segmentos hélices α de transmembrana

Al sintetizarse el segundo hélice α cesa la extrusión de la cadena a través del translocon al lumen del RE. Las dos cadenas salen del translocon lateralmente hacia la membrana anclándose como una horquilla hélice α . El C-terminal de la cadena naciente continúa creciendo en el citosol. Las horquillas hélice α posteriores (3 y 4) de insertan de manera similar, sin la participación de SRP ni del receptor SRP.



Lodish et al, 2004

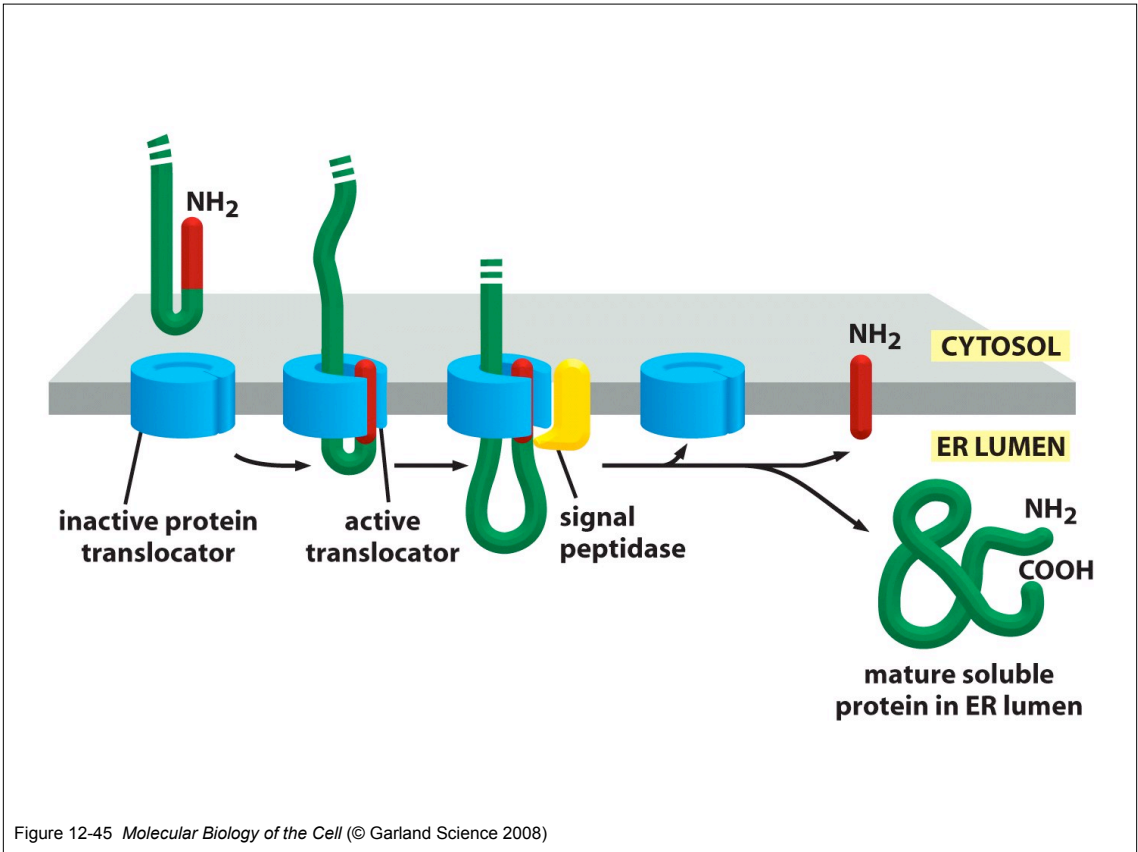


Figure 12-45 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

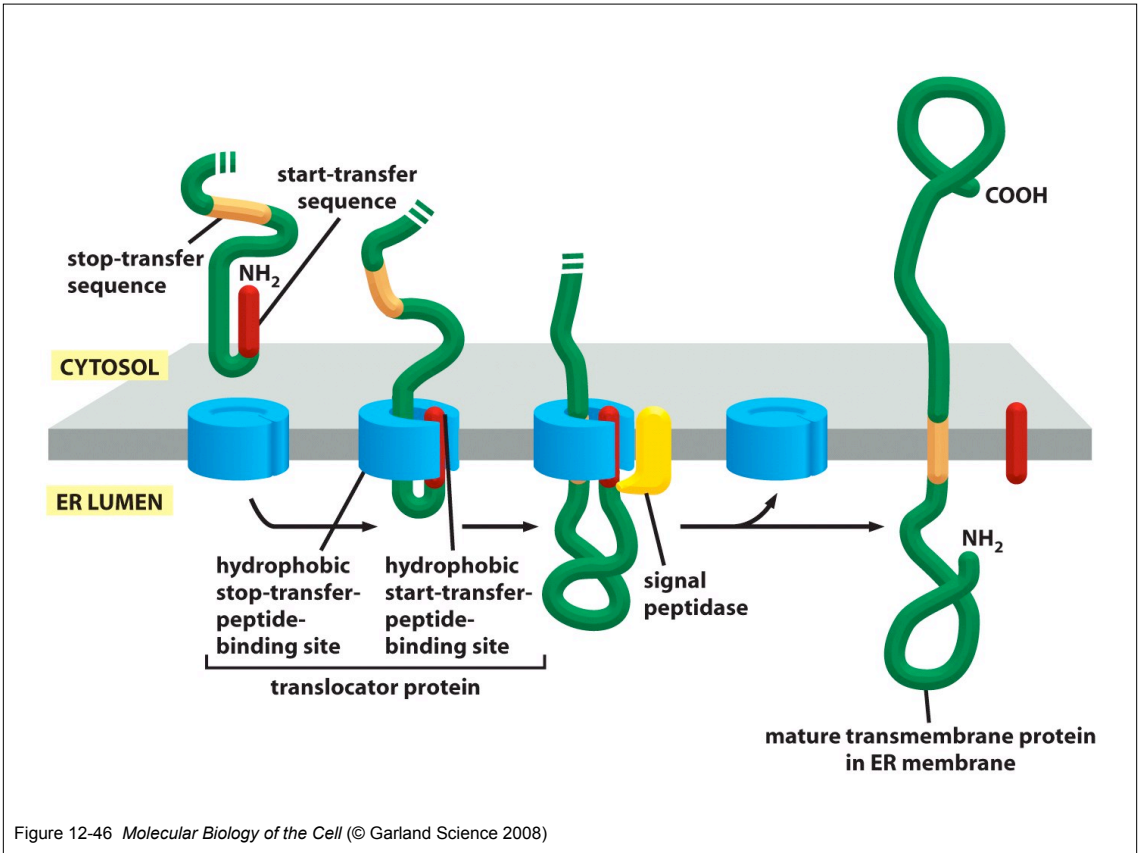


Figure 12-46 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

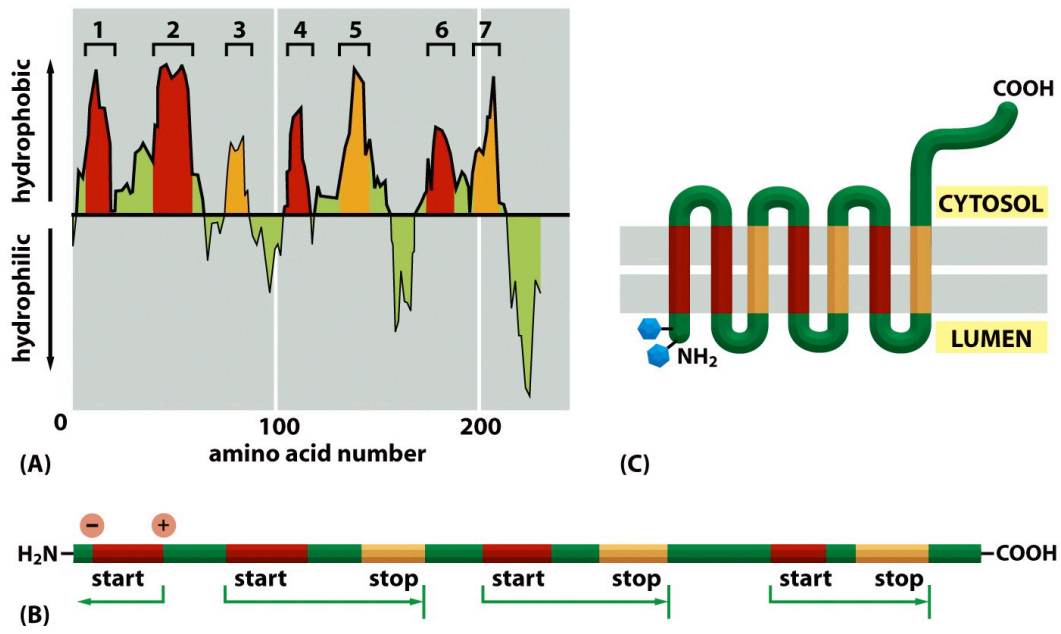
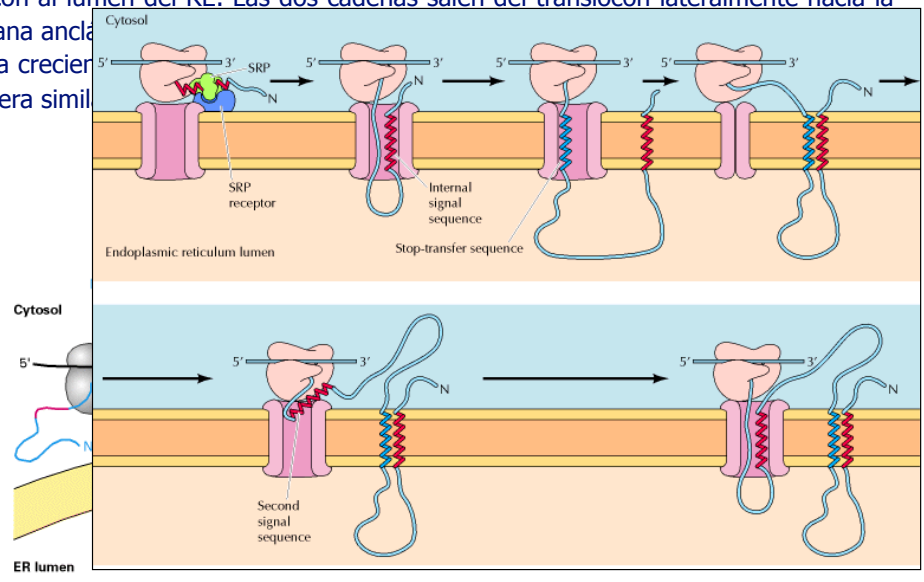


Figure 12-49 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Síntesis e inserción en la membrana del RE de proteínas con múltiples segmentos hélices α de transmembrana

Al sintetizarse el segundo hélice α cesa la extrusión de la cadena a través del translocon al lumen del RE. Las dos cadenas salen del translocon lateralmente hacia la membrana anclada. La síntesis continúa creciendo de manera similar.



Lodish et al, 2004

Glicosilación de unión-O

Las proteínas también pueden ser modificadas por adición de azúcares a las cadenas laterales de residuos **serina** o **treonina** dentro de secuencias específicas de AAs. A esto se le llama **glicosilación de unión-O**.

Generalmente serina y treonina unen directamente **N-acetilgalactosamina** a la que se pueden agregar otros azúcares, de uno a la vez, y son catalizada por diferentes glicosiltransferasas. El proceso comienza en el Golgi cis y finaliza en el trans.

Los oligosacáridos de unión-O son generalmente cortos (1 a 4 residuos de azúcares).

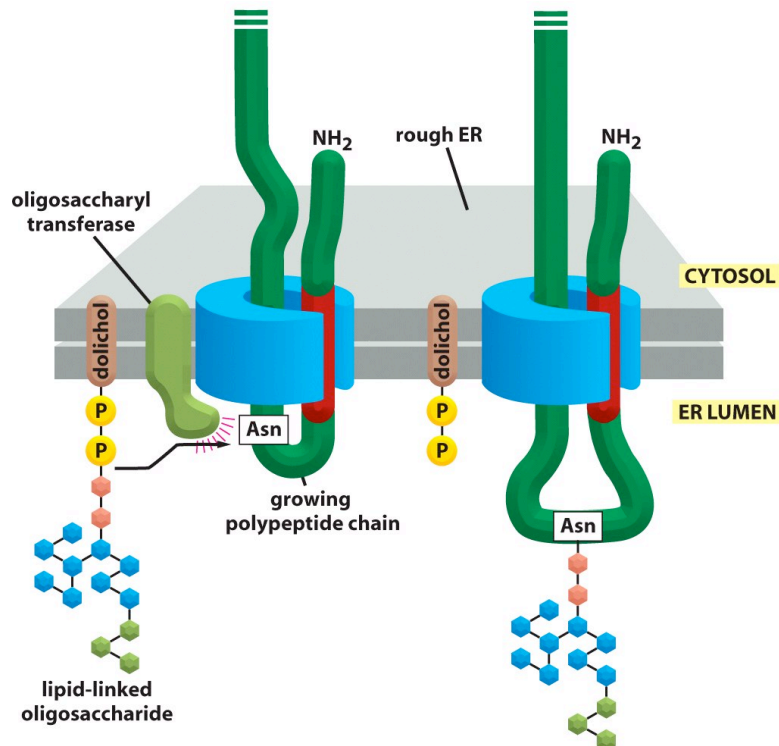
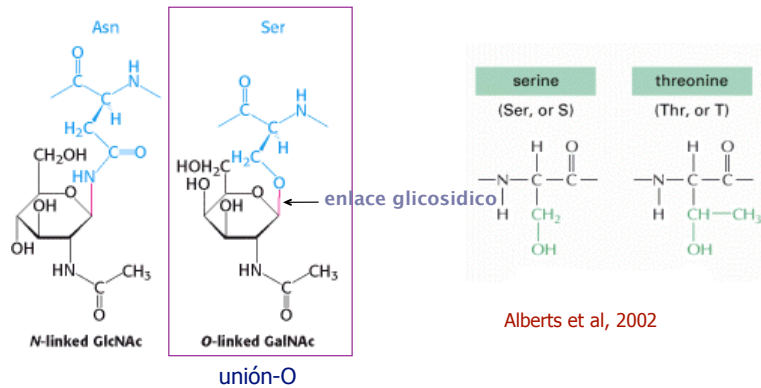


Figure 12-51 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)