

Figure 12-41a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

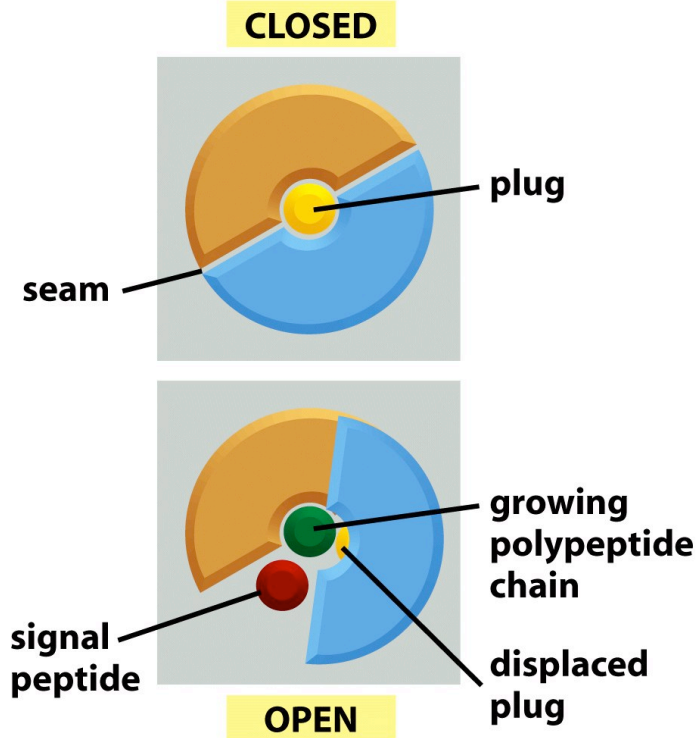


Figure 12-42b *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

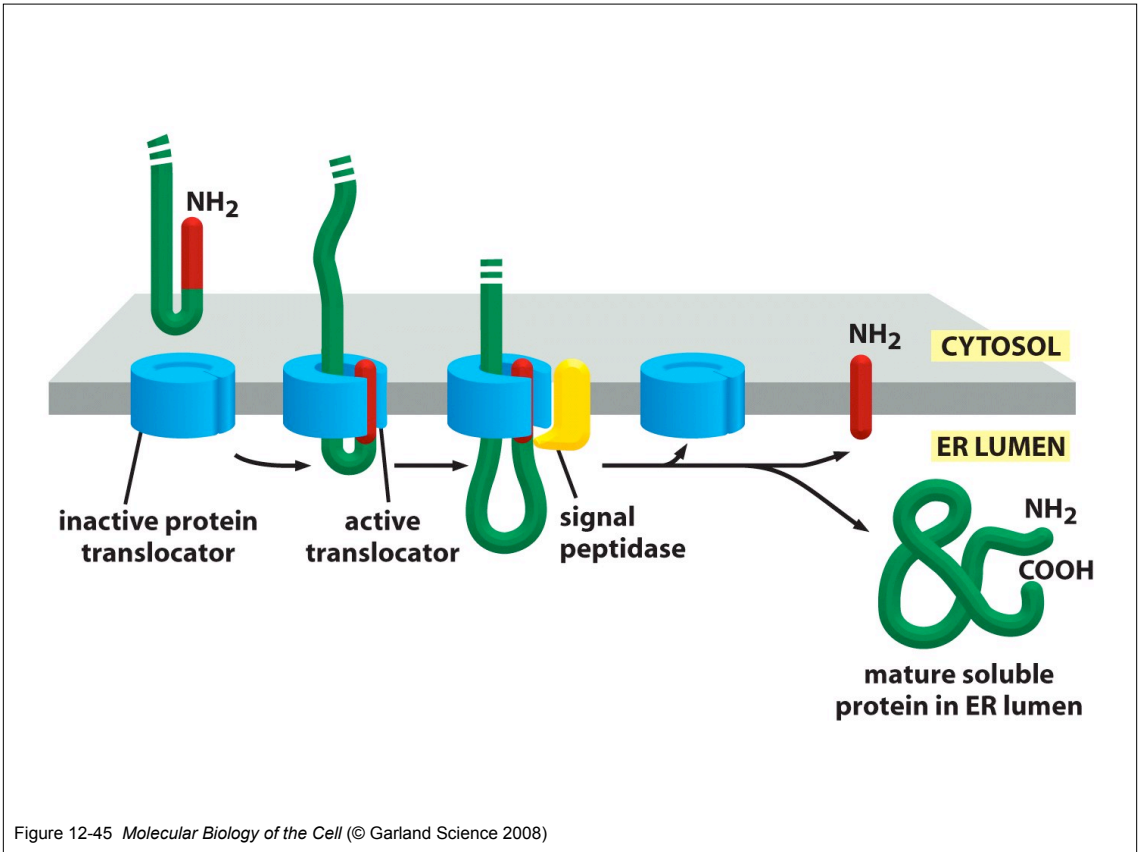


Figure 12-45 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

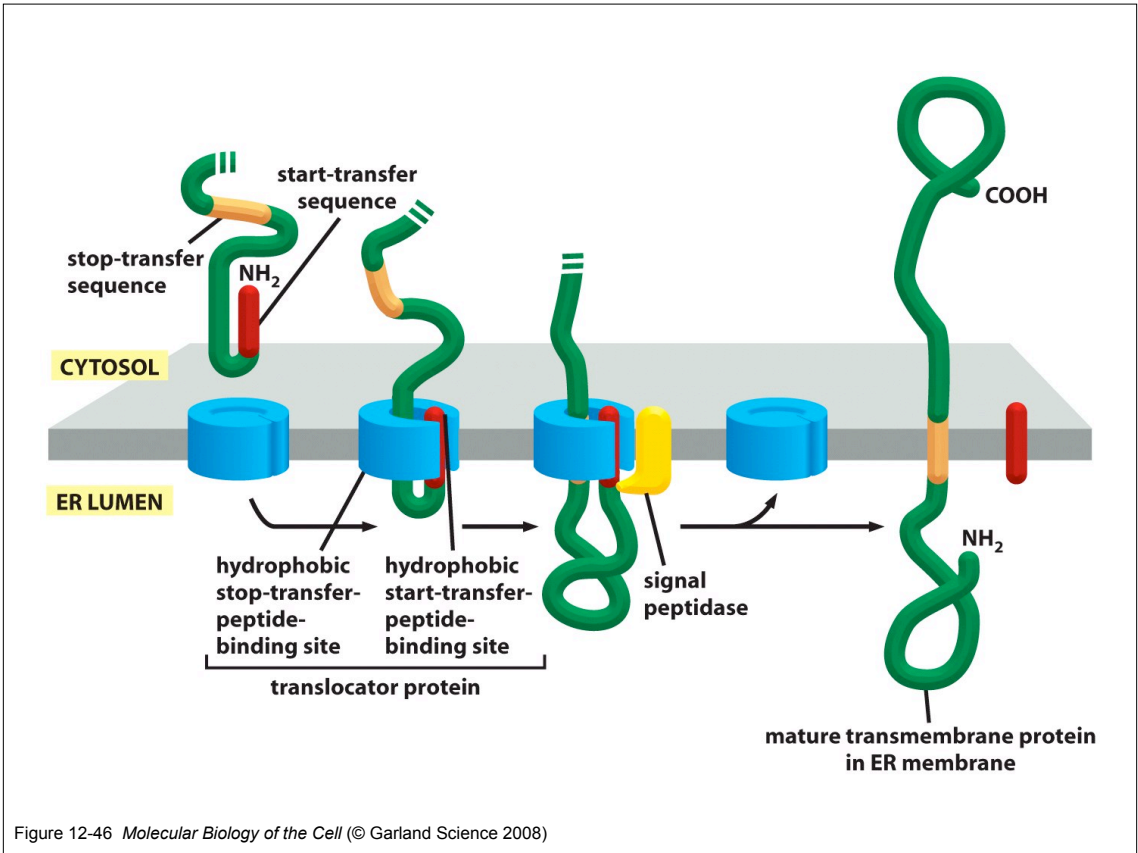


Figure 12-46 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

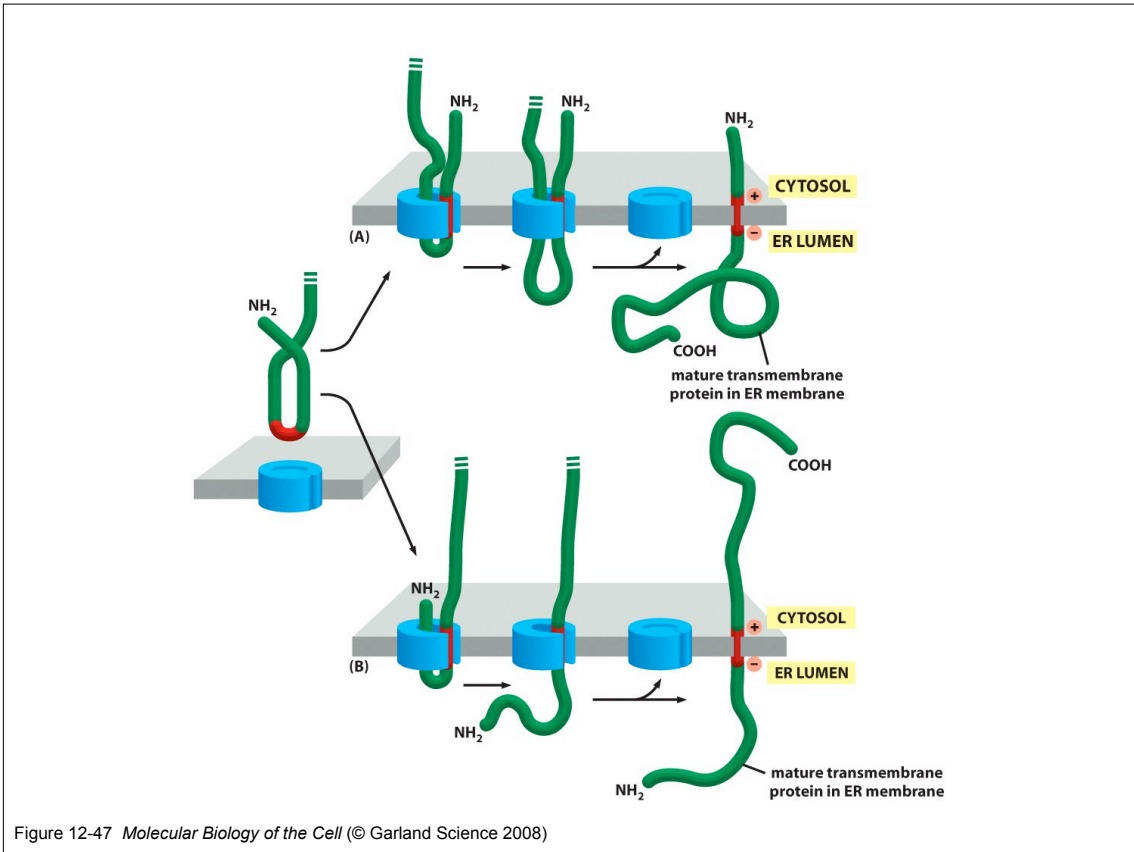


Figure 12-47 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

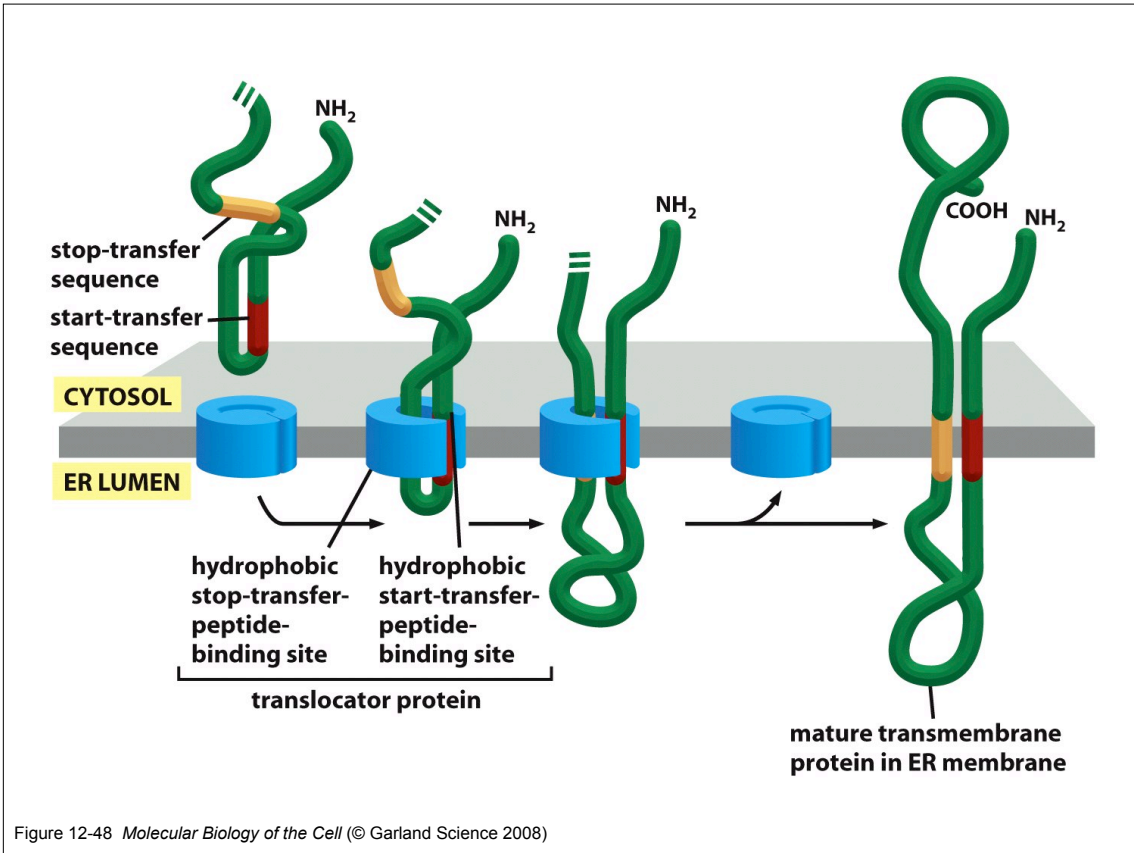
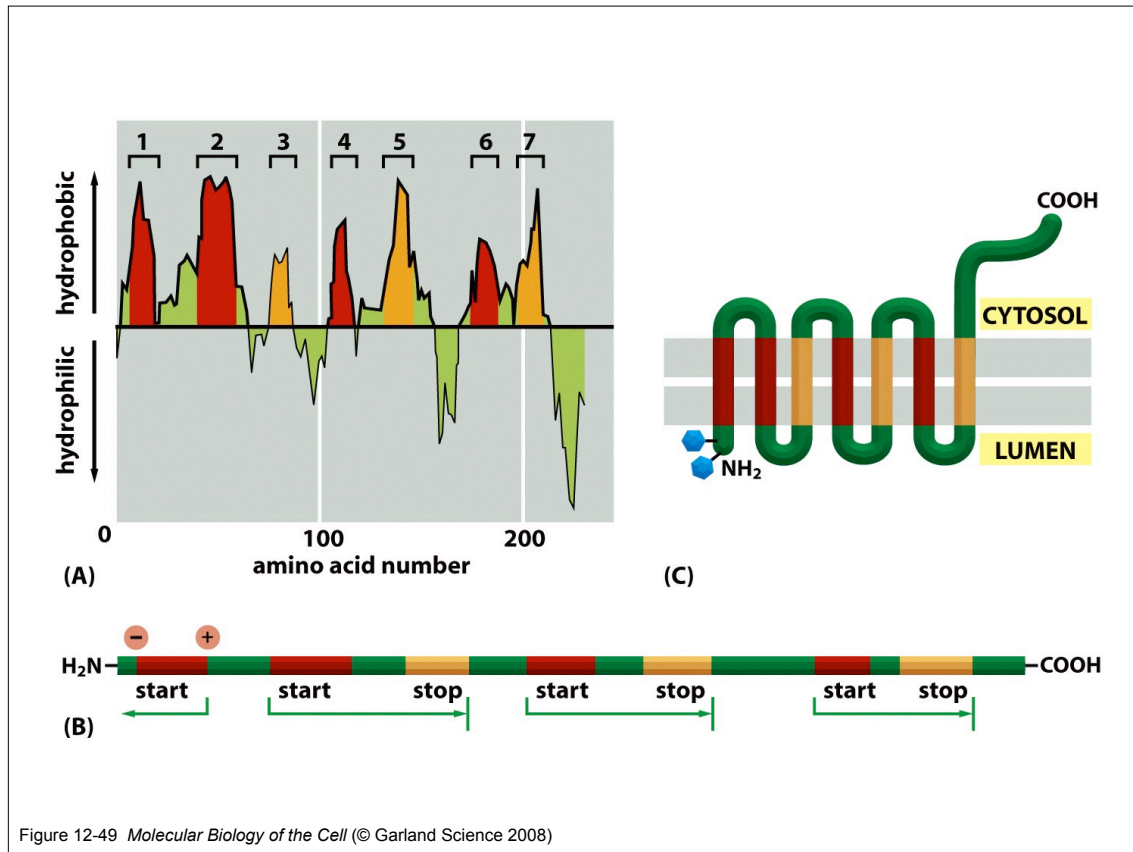
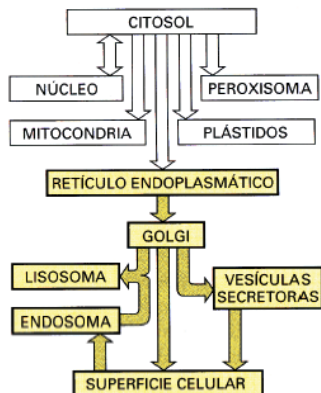


Figure 12-48 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



# Sesión 10

## Endomembranas: Tráfico Vesicular e Incorporación a Organelos



**Figura 13-1 Las rutas secretora y endocítica.** En este "mapa de carreteras" sobre el tráfico de las proteínas biosintetizadas, que fue introducido en el Capítulo 12, aparecen coloreadas tanto la ruta secretora como la endocítica.

Table 12-3 Some Typical Signal Sequences

FUNCTION OF SIGNAL SEQUENCE	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Export from nucleus	-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu-Asp-Ile-
Import into mitochondria	+H <sub>3</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into plastid	+H <sub>3</sub> N-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala-Ser-Leu-Gln-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Leu-Ser-Leu-Ser-Ser-Asn-Ser-Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu-Ser-Pro-Ile-Thr-Leu-Ser-Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into ER	+H <sub>3</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Return to ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>

Some characteristic features of the different classes of signal sequences are highlighted in color. Where they are known to be important for the function of the signal sequence, positively charged amino acids are shown in red and negatively charged amino acids are shown in green. Similarly, important hydrophobic amino acids are shown in white and hydroxylated amino acids are shown in blue. +H<sub>3</sub>N indicates the N-terminus of a protein; COO<sup>-</sup> indicates the C-terminus.

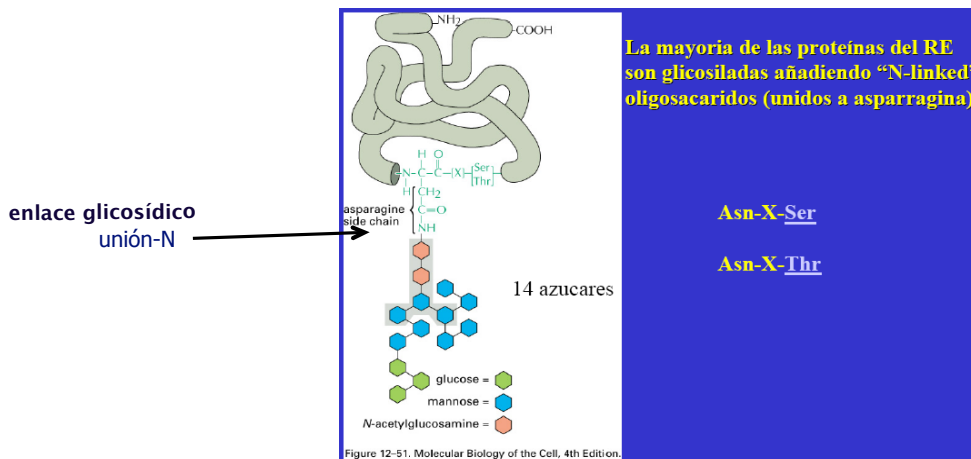
Table 12-3 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

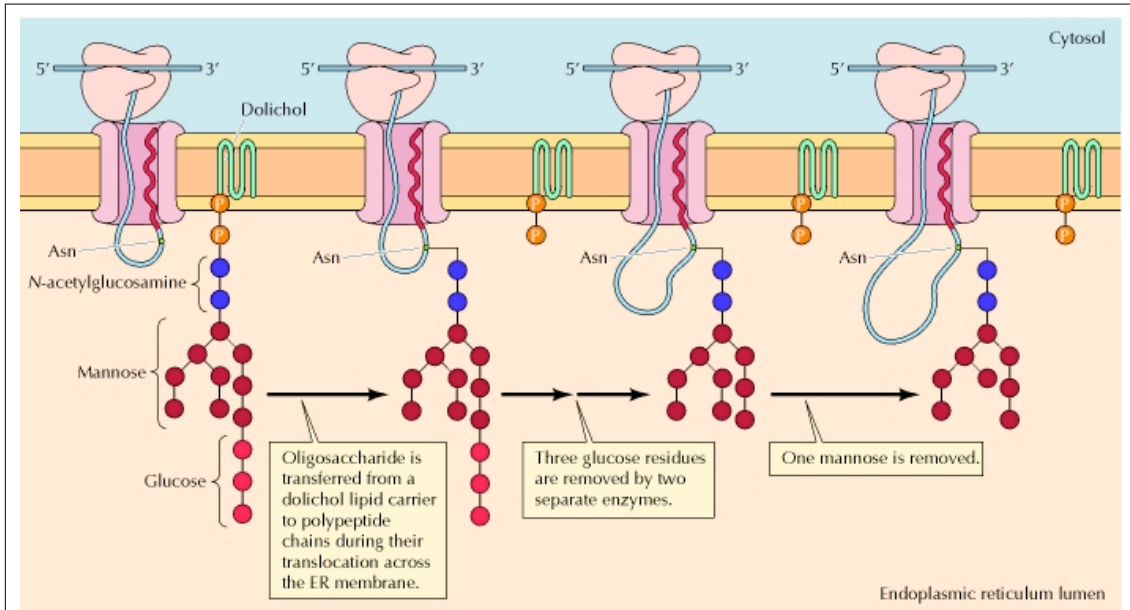
### Glicosilación de unión-N

Las proteínas del retículo son modificadas por la adición de azúcares (glicosilación) a la cadena lateral de residuos Asparagina dentro de una secuencia específica de Asn-X-Ser/Thr. Debido a que la glicosilación ocurre en el grupo NH<sub>2</sub> esto se llama glicosilación de unión-N o N-Glicosilación.

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).





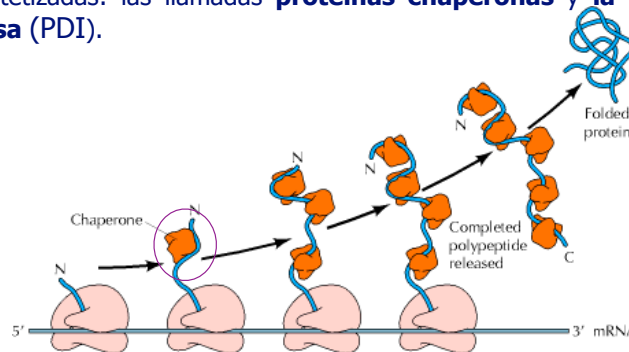
No es cualquier Asparagina (Asn) si no una secuencia consenso de Asn-X-Ser/Thr

Si no se remueven las 3 moléculas de glucosa y una manosa, la proteína no puede ser exportada hacia el aparato de Golgi

### Plegamiento de las proteínas en el lumen del RE

En la célula, el plegamiento adecuado de las proteínas, para lograr su conformación tridimensional es asistido por la actividad de otras proteínas.

El RE contiene en el lumen varias proteínas que catalizan el plegamiento de las proteínas recién sintetizadas: las llamadas **proteínas chaperonas** y la **proteína disulfuro isomerasa (PDI)**.



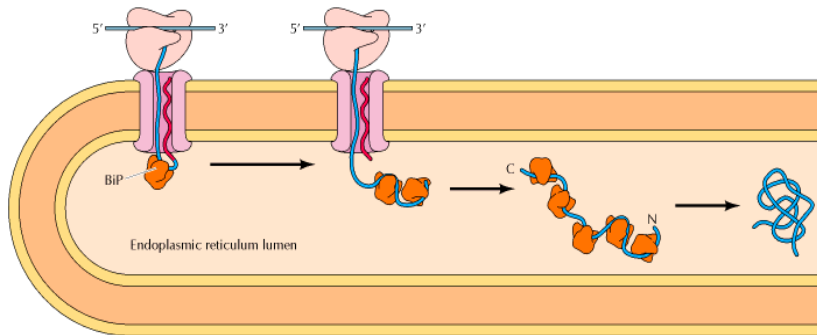
Durante la traducción de proteínas citosólicas, las chaperonas se unen al amino (N) terminal del polipéptido creciente, estabilizándolo en una configuración no plegada hasta que la síntesis se ha completado. Completada la síntesis, la proteína se libera del ribosoma y adquiere su correcta conformación tridimensional.

## Plegamiento de las proteínas en el lumen del RE

Una de las más importantes proteínas chaperonas del RE de la familia de las Hsc 70 (**heat shock proteins**) es **BiP**.

**BiP** se une a la proteína no plegada apenas ésta cruza la membrana y luego media el plegamiento y ensamblaje de las proteínas formadas por múltiples subunidades dentro del RE.

**BiP** presenta afinidad por regiones hidrofóbicas expuestas e hidroliza ATP uniendo y liberando la proteína en cada ciclo de hidrólisis.



## Primera importancia de la Glicosilación: Control de Calidad

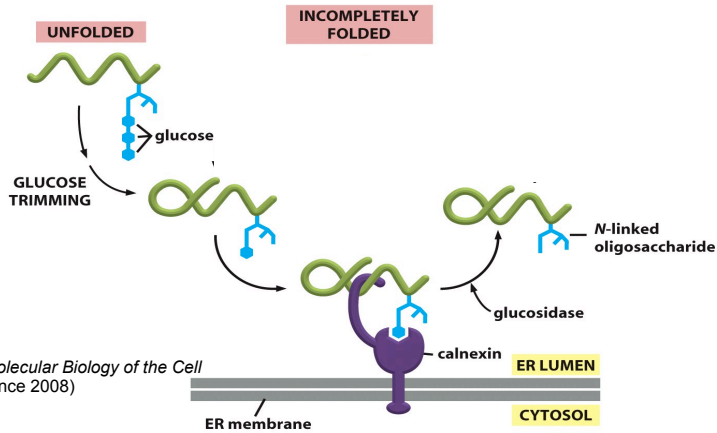


Figure 12-53 *Molecular Biology of the Cell*  
(© Garland Science 2008)

## Primera importancia de la Glicosilación: Control de Calidad

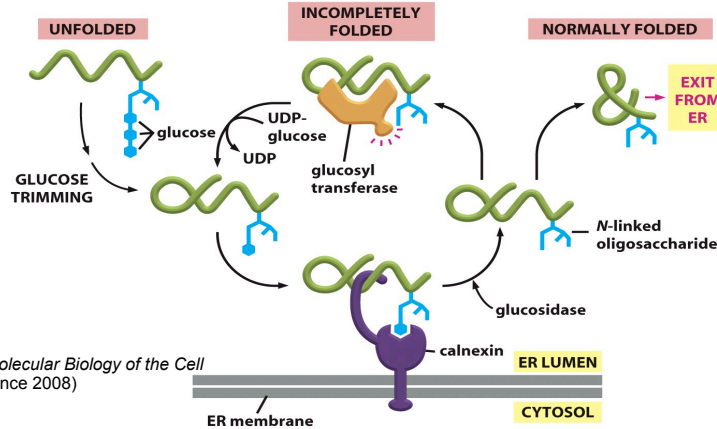


Figure 12-53 *Molecular Biology of the Cell*  
© Garland Science 2008

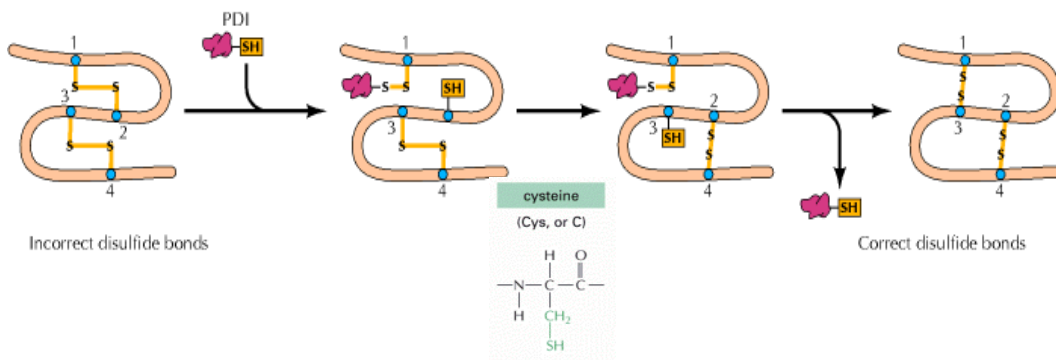
- No todos los dominios de las proteínas adquieren su estructura correcta de manera autónoma. Muchos necesitan apoyo de proteínas chaperonas.
- La unión de Calnexina y Calreticulina (chaperonas) permite que las proteínas adquieran su conformación correcta.
- La glucosil-transferasa evalúa la condición de las proteínas y, si están desestructuradas, le adiciona una glucosa a su árbol de glicosilaciones, devolviéndole la afinidad por las chaperonas.
- Pese a esto, hasta un 80% de los polipéptidos de algunas proteínas terminan mal estructurados (por ejemplo: hoja  $\beta$  en lugar de  $\alpha$  helix). Estas proteínas son *dislocadas* al citoplasma, ubiquinadas y degradadas por el proteosoma.

### Formación de enlaces disulfuro.

La formación de los enlaces disulfuro, S-S, entre las cadenas laterales de los residuos cisteína es un importante aspecto del plegamiento de proteínas en el RE.

Estos enlaces **no se forman en el citosol** que posee un ambiente reductor que mantiene los residuos cisteína en su estado reducido (R-SH). En el RE el ambiente es más oxidante lo que facilita la formación de estos enlaces.

La formación de enlaces disulfuro es catalizada por la enzima proteína **disulfuro isomerasa (PDI)** localizada en el lumen del RE.

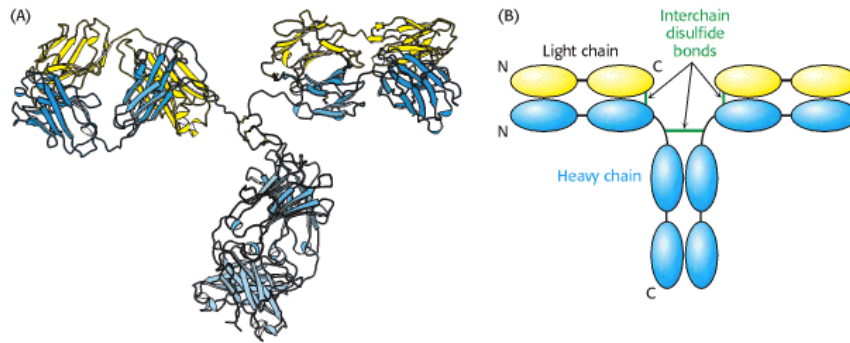




## El ensamblaje de subunidades en proteínas multiméricas ocurre en el RE.

Muchas proteínas de membrana y secretadas están constituidas de dos o más cadenas polipeptídicas (o subunidades). En todos los casos son ensambladas en el RE.

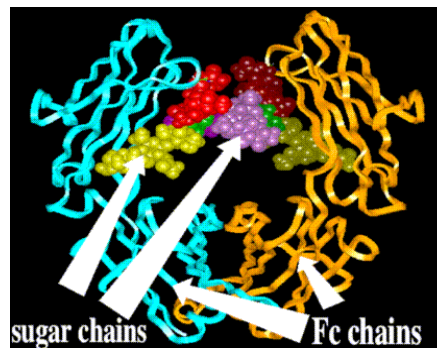
Ejemplos: inmunoglobulinas, que contienen dos cadenas pesadas y dos livianas todas unidas por puentes S - S.



## Papel de la glicosilación en las proteínas

Los oligosacáridos pueden jugar variadas funciones según la proteína.

- 1.- Pueden hacer a la proteína más resistente a la digestión por proteasas
- 2.- Ayudar en el proceso de plegamiento en el ER.
- 3.- Guiar la proteína al organelo de destino, sirviendo de señal para el empacamiento de la proteína en la vesícula apropiada.
- 4.- Muchos oligosacáridos se exponen en la superficie celular formando la capa de carbohidratos y pueden funcionar en el reconocimiento entre las células.



Thy-1: precursor de glicoproteína de membrana

## Destino de las proteínas sintetizadas en RE

Algunas **proteínas de membrana retenidas en el RE** poseen secuencias cortas en el **C-terminal** con dos lisinas (**KKXX**).

Las **proteínas solubles residentes en el lumen del RE** (i.e. BiP) poseen una secuencia de retención en el C-terminal: **Lis-Asp-Glu-Leu (KDEL)**.

Las **proteínas solubles con la secuencia KDEL** son exportadas al aparato de Golgi en vesículas (**COP-II**), reconocidas por un receptor de membrana en el compartimiento intermedio RE-Golgi (**ERGIC**) o en el Golgi cis y **devueltas selectivamente al RE en vesículas (COP-I)** por la llamada vía de recuperación.

La mayoría de las proteínas son destinadas a otros lugares y son empacadas en vesículas que se fusionan con la membrana del Golgi.

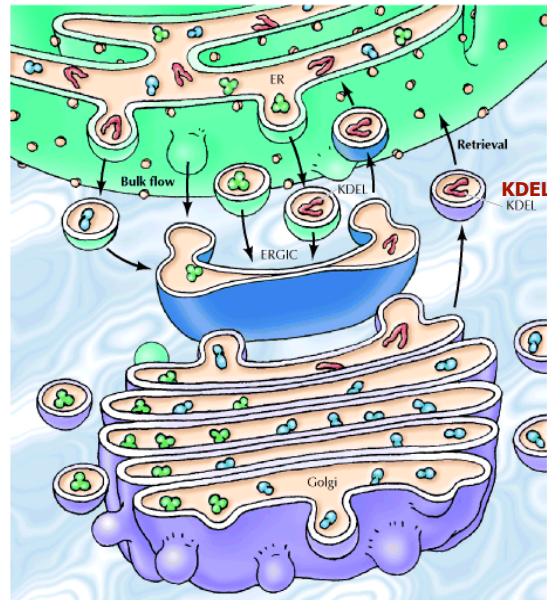


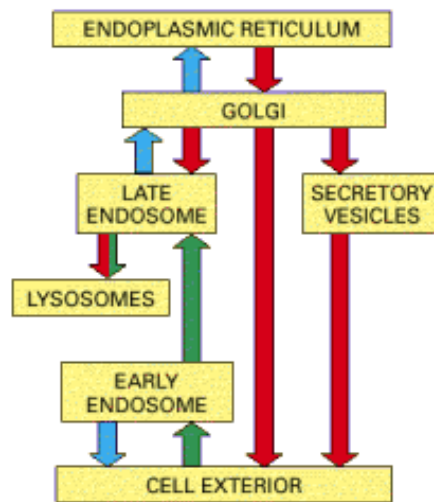
Table 12-3 Some Typical Signal Sequences

FUNCTION OF SIGNAL SEQUENCE	EXAMPLE OF SIGNAL SEQUENCE
Import into nucleus	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Export from nucleus	-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu-Asp-Ile-
Import into mitochondria	*H <sub>2</sub> N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe-Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser-Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Import into plastid	*H <sub>2</sub> N-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala-Ser-Leu-Gln-Ser-Ser-Met-Ser-Ser-Leu-Ser-Ser-Asn-Ser-Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu-Ser-Pro-Ile-Thr-Leu-Ser-Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Import into peroxisomes	-Ser-Lys-Leu-COO <sup>-</sup>
Import into ER	*H <sub>2</sub> N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val-Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu-Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Return to ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO <sup>-</sup>

Some characteristic features of the different classes of signal sequences are highlighted in color. Where they are known to be important for the function of the signal sequence, positively charged amino acids are shown in red and negatively charged amino acids are shown in green. Similarly, important hydrophobic amino acids are shown in white and hydroxylated amino acids are shown in blue. \*H<sub>2</sub>N indicates the N-terminus of a protein; COO<sup>-</sup> indicates the C-terminus.

KDEL

### Tráfico Vesicular

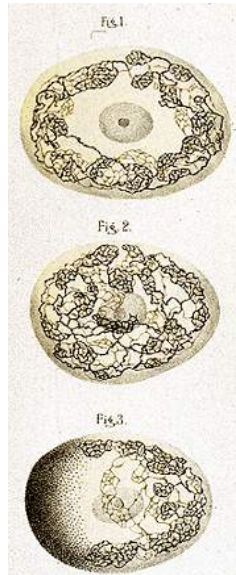


En verde: ruta endocítica  
En rojo: ruta biosintética-secretora  
En azul: rutas de retorno

## Ok, pero, ¿cómo llegan al aparato de Golgi?

- ¿Qué es el aparato de Golgi?
- ¿Cuál es su función?
- ¿Dónde está?
- ¿Cómo llegan a él las proteínas del RE?

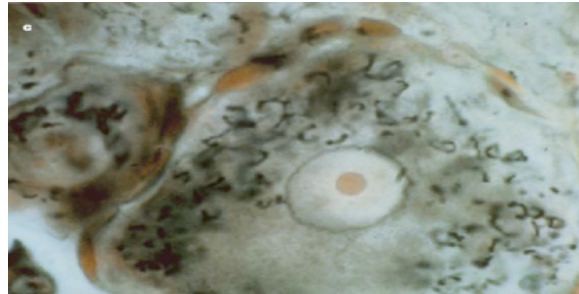
## Aparato de Golgi



Organelo fue descubierto por el médico e histólogo Camillo Golgi en 1898.

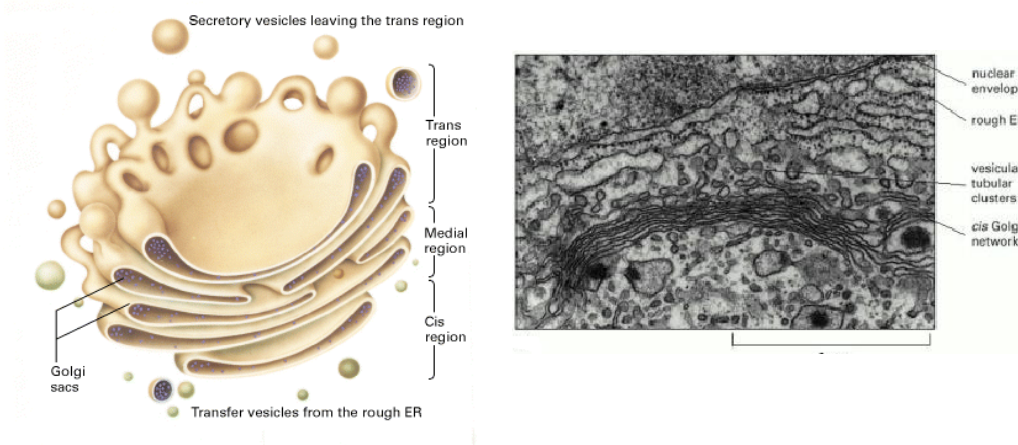
Dibujos realizados por Camillo Golgi del aparato reticular interno (aparato de Golgi) observado en neuronas de ganglios espinales.

Los diferentes dibujos ilustran la variedad de características que Golgi observó con su impregnación metálica con nitrato de plata.



## Aparato de Golgi

Consiste en una serie de sacos aplanados o cisternas formando pilas. Cada pila consiste de 3 a 6 cisternas y su número depende del tipo de célula. Está compartimentalizado en tres regiones: cis, medial y trans.

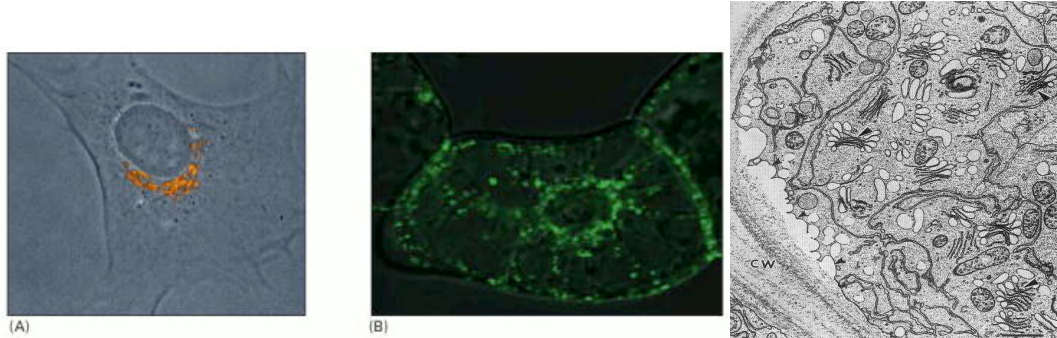


## Aparato de Golgi

En células animales muchas pilas están unidas por conexiones tubulares entre ellas formando un solo complejo.

El aparato de Golgi se ubica cerca del núcleo y en células animales vecino al centrosoma.

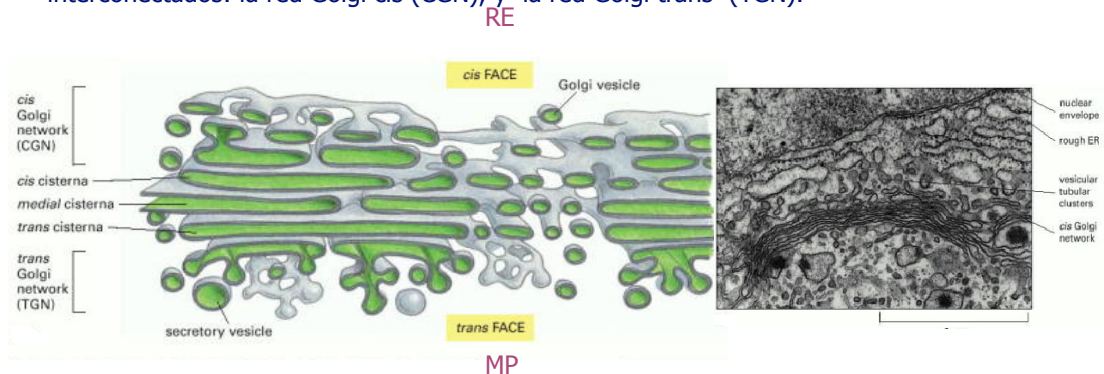
En las células vegetales pueden existir hasta cientos de estos apilamientos normalmente dispersos en el citoplasma.



## Aparato de Golgi

Cada pila de Golgi tiene dos caras: una de entrada o cis, adyacente al RE y una de salida o trans, dirigida hacia la MP.

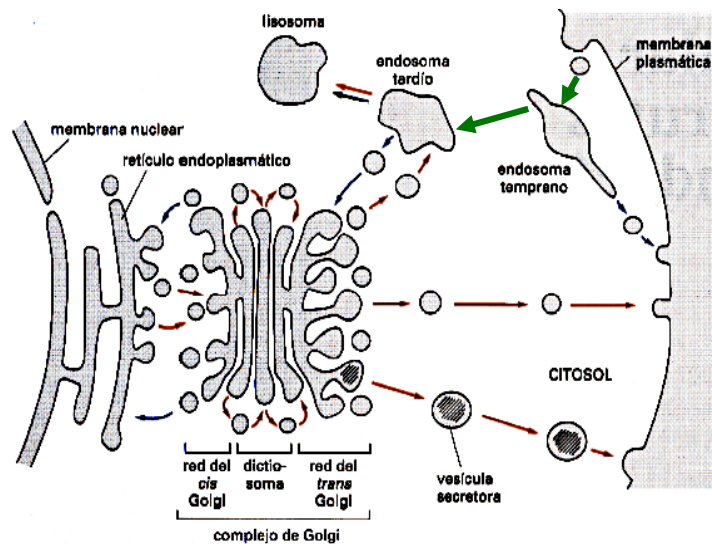
La cisterna más externa de cada cara está comunicada a una red de túbulos y vesículas interconectados: la red Golgi cis (CGN), y la red Golgi trans (TGN).



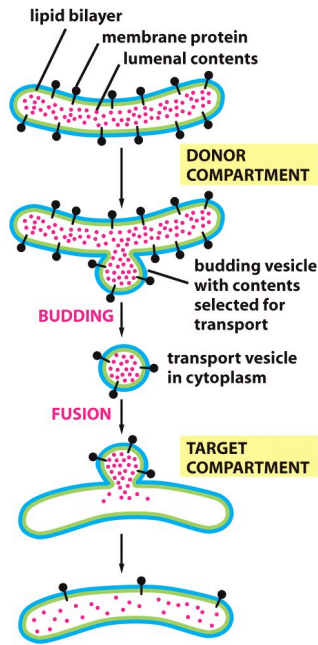
# Ok, pero, ¿cómo llegan al aparato de Golgi?

- ¿Qué es el aparato de Golgi?
- ¿Dónde está?
- ¿Cómo llegan a él las proteínas del RE?
- ¿Cuál es su función?

27



- ➔ Ruta Biosintética secretora: proteínas van desde RE a membrana plasmática, o mediante endosomas tardíos a los lisosomas.
- ➔ Ruta Endocítica, las moléculas son ingeridas y trasladadas a endosomas tempranos y vía endosomas tardíos van a los lisosomas
- ➔ Rutas de Recuperación (de retorno)



**Transporte Vesicular:** transporte mediado por vesículas recubiertas con proteínas específicas (cubierta citosólica).

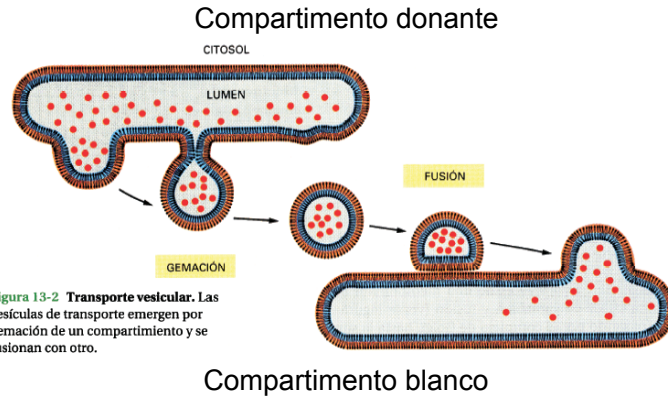
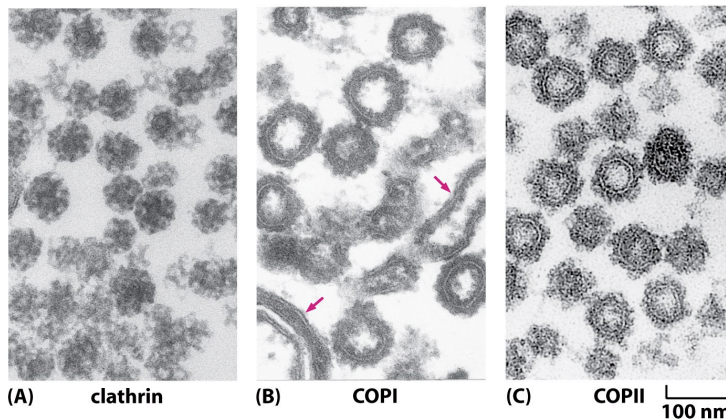


Figura 13-2 Transporte vesicular. Las vesículas de transporte emergen por gemación de un compartimiento y se fusionan con otro.

**Función:** seleccionar las moléculas adecuadas para transporte.  
Le otorga la forma a la vesícula en formación.

**Existen 3 tipos de vesículas recubiertas:**

- a. Vesículas recubiertas por clatrina
- b. Vesículas recubiertas por COPI (coatómero)
- c. Vesículas recubiertas por COPII (coatómero)



**Donde:**

- a. Transporte desde A. de Golgi y M. Plasmática
- b. y c. Transporte desde RE y desde cisternas del A. de Golgi

## Vesículas recubiertas y Transporte Vesicular.

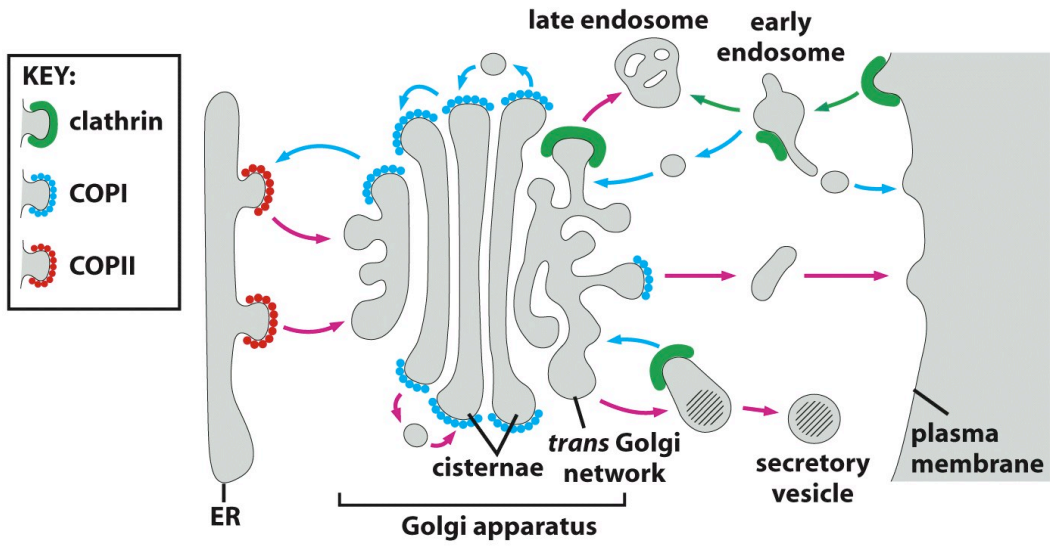
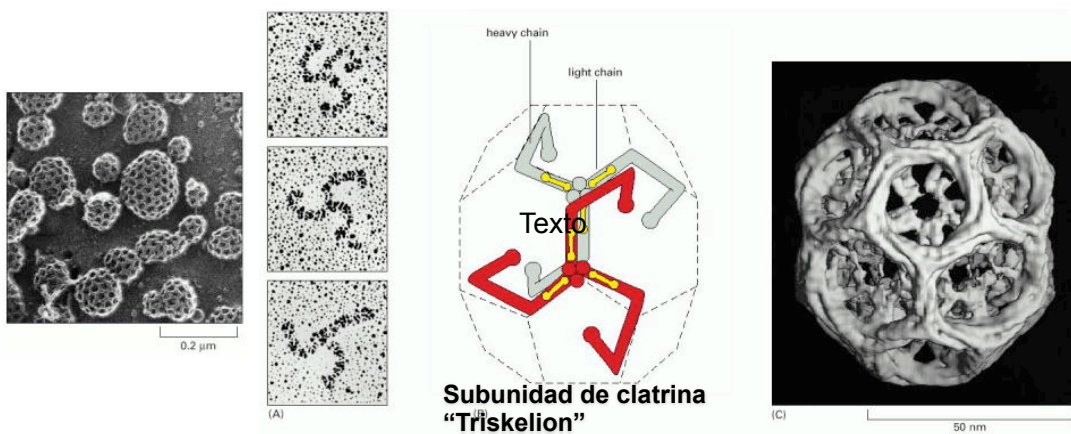


Figure 13-5 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

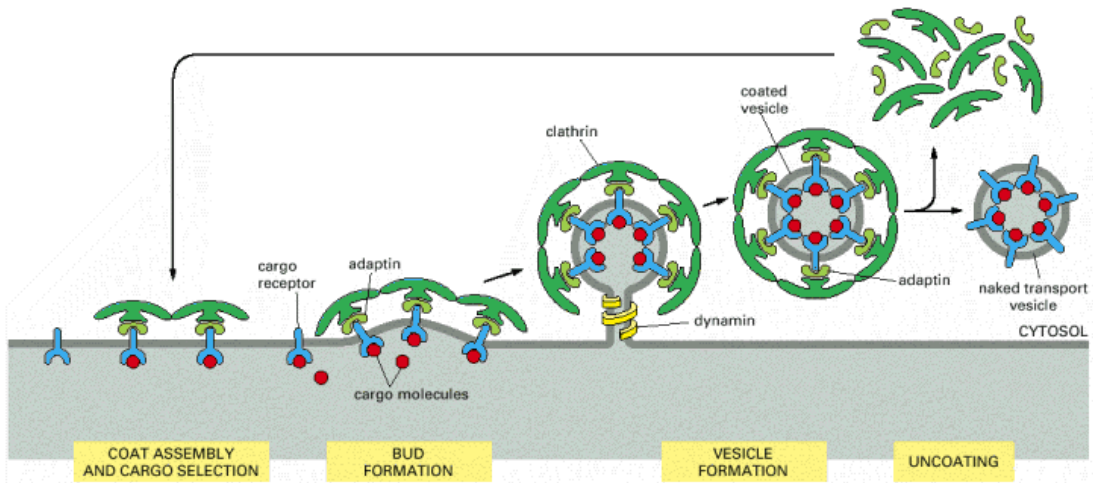
## Ensamblaje de las Vesículas recubiertas por Clatrina.



Proteínas Adaptadoras se unen a Proteínas de Transmembrana, que capturan moléculas solubles (carga)



## Ensamblaje y Desensamblaje de la Cubierta de Clatrina.



Una vez que la vesícula se ha formado se pierde la cubierta de clatrina.

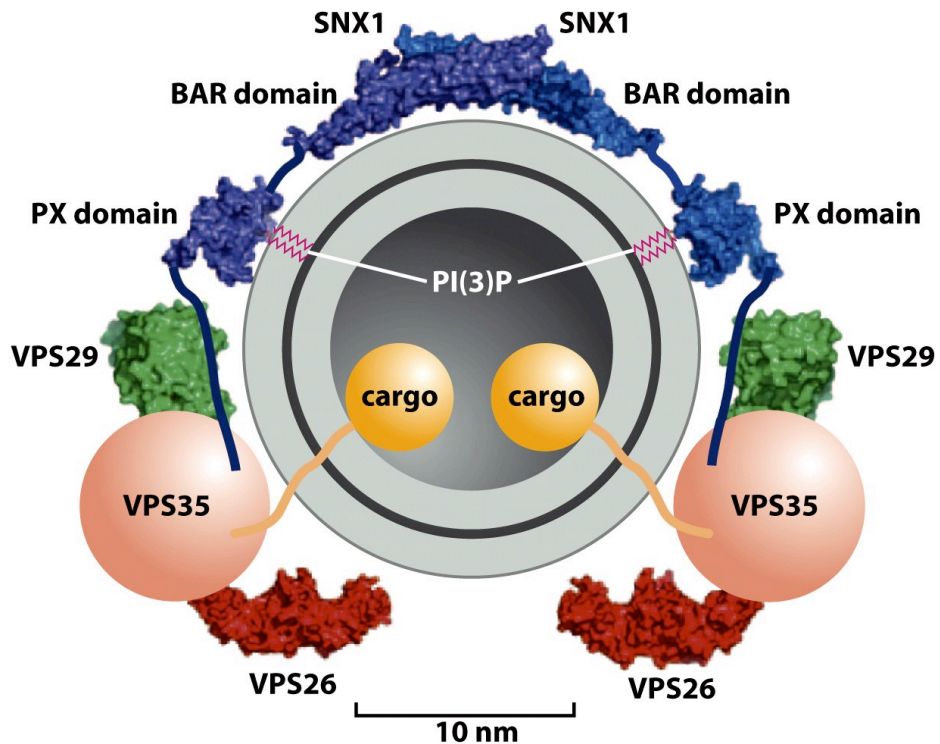
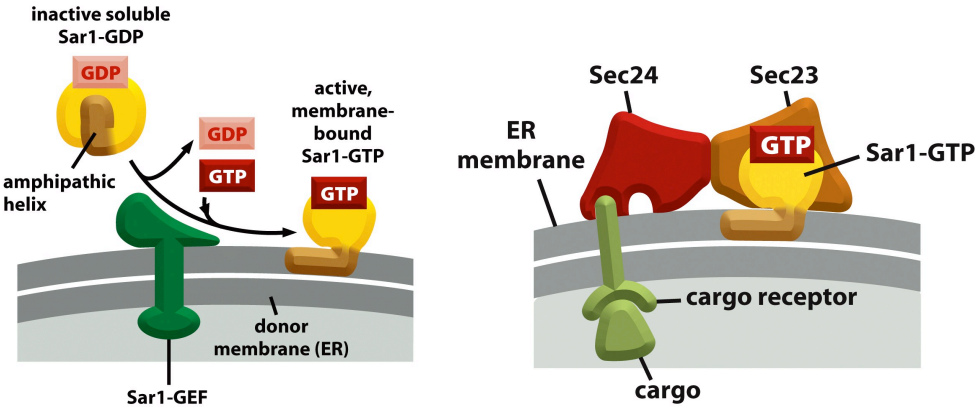


Figure 13-9 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

### Formación de una Vesícula recubierta por COPII



Proteína Sar-GTP: se une a membrana y recluta a las proteínas de cubierta.

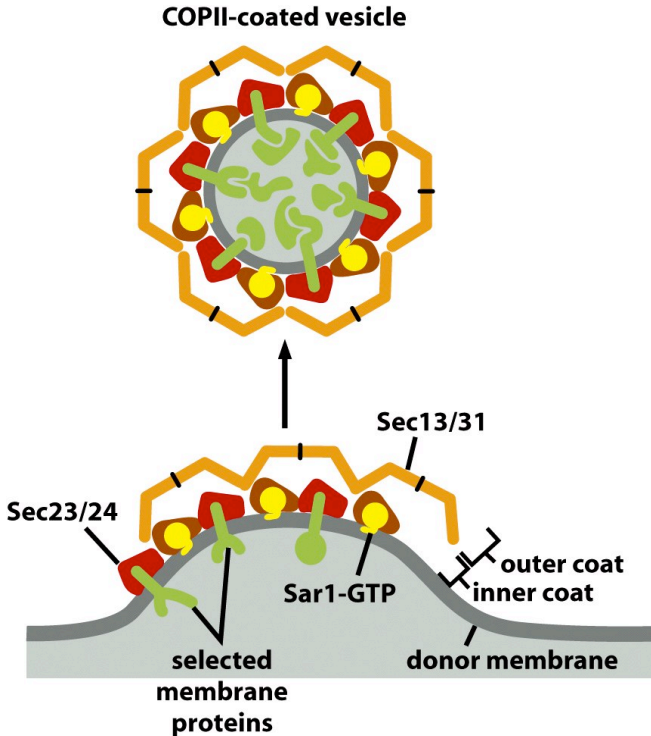
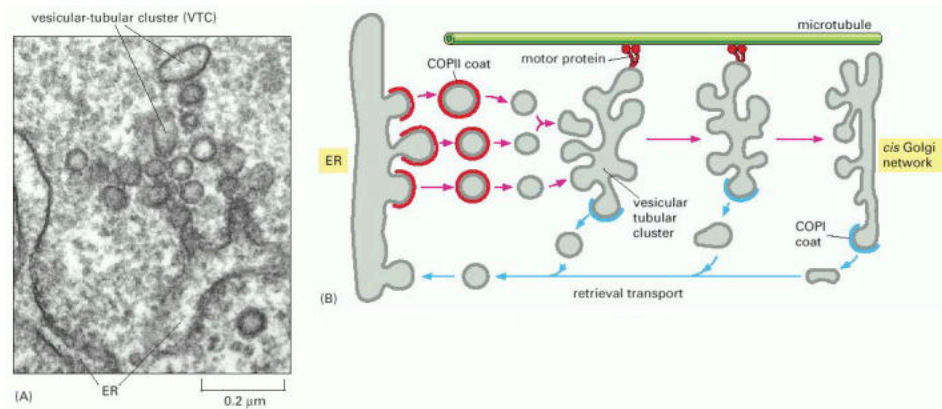


Figure 13-13d Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

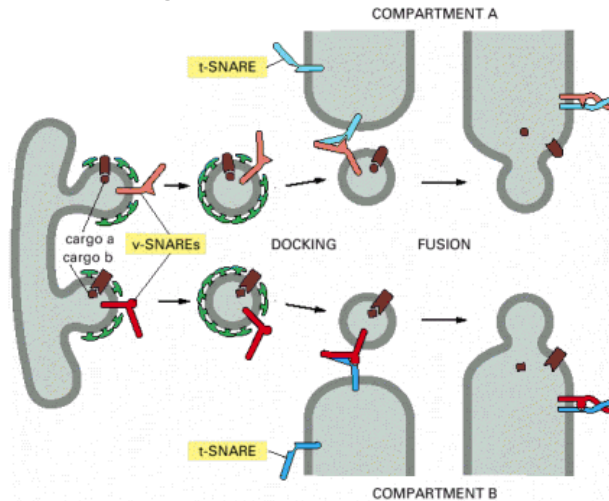


Las vesículas yemadas del RE se **funden formando estructuras llamadas agrupaciones túbulo vesiculares. Estas estructuras se movilizan hacia el Golgi cis** a través de microtúbulos y en su camino van yemando vesículas cubiertas de proteínas (no clatrina): COPI.

Estas vesículas regresan al RE proteínas residentes en el RE (i.e. BiP) que han escapado y otras que participan en la yemación del organelo.

Alberts et al, 2002

### SNAREs: guían el Transporte Vesicular.

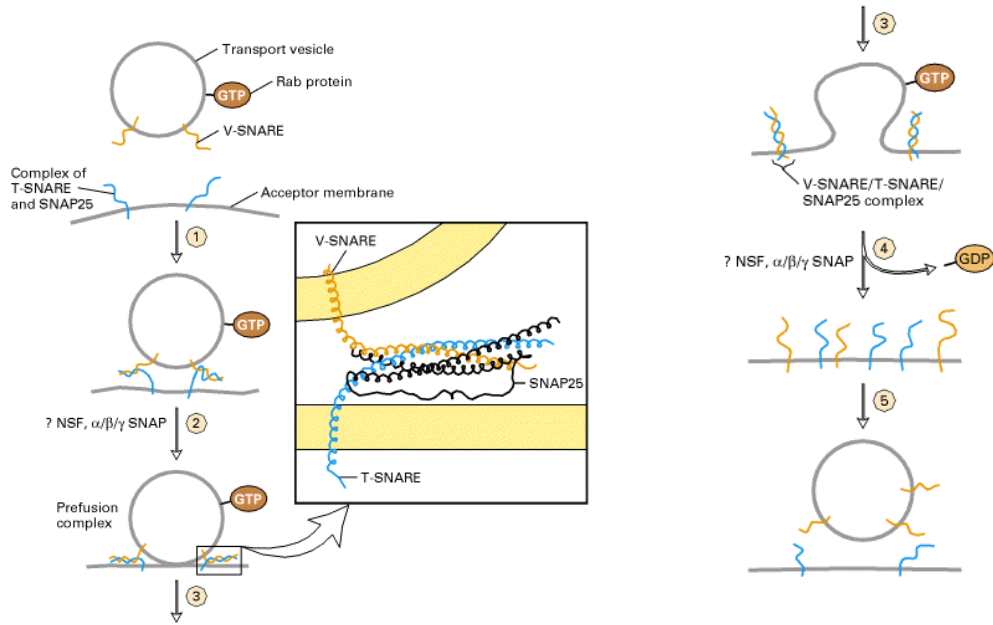


**V-SNAREs y t-SNAREs:** permiten un acoplamiento y fusión selectivos.

**v-SNAREs** son empacadas junto a las proteínas de cubierta durante la formación de la vesícula (membrana donante). Se unen a las **t-SNAREs** complementarias en la membrana blanco.

**Proteínas Rab:** GTPasas de destinación vesicular, ayudan a controlar la fusión de v y t-SNAREs.

## Formación y destinamiento de vesículas del Aparato de Golgi



Este mecanismo es utilizado en la sinapsis neuronal para la liberación de vesículas cargadas con neurotransmisores

Las GTPasas Rab son de gran importancia en el reconocimiento inicial de la membrana blanco, de manera similar a v-snare y las t-snare determinan la especificidad de la dirección de la vesícula.

Table 13-1 Subcellular Locations of Some Rab Proteins

PROTEIN	ORGANELLE
Rab1	ER and Golgi complex
Rab2	<i>cis</i> Golgi network
Rab3A	synaptic vesicles, secretory granules
Rab4/Rab11	recycling endosomes
Rab5A	plasma membrane, clathrin-coated vesicles, early endosomes
Rab5C	early endosomes
Rab6	medial and <i>trans</i> Golgi cisternae
Rab7	late endosomes
Rab8	early endosomes
Rab9	late endosomes, <i>trans</i> Golgi network

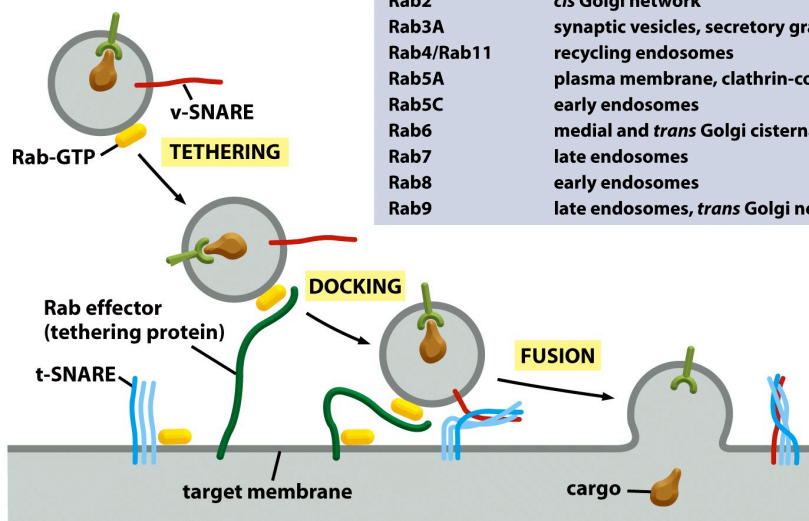
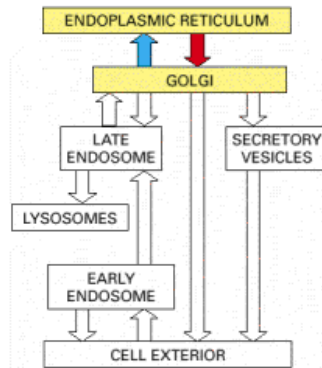


Figure 13-14 Molecular Biology of the Cell (© Garland Science 2008)

REPASO!!!

### Transporte desde RE a Golgi

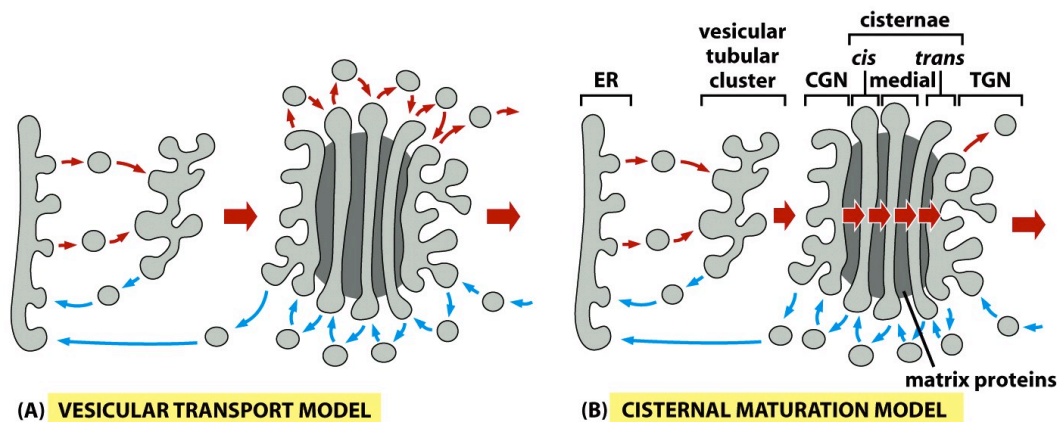


Todo el transporte posterior a RE ocurre mediante vesículas (ocurren ciclos de gemación y fusión).

Las proteínas abandonan el RE en vesículas recubiertas por COPII.

-> Sólo las proteínas plegadas correctamente abandonan el RE.

### Organización y transporte de proteínas en las cisternas del Golgi



(A) VESICULAR TRANSPORT MODEL

(B) CISTERNAL MATURATION MODEL

Modelos para explicar la mantención de la estructura polarizada del Golgi y la movilización de las proteínas de un compartimento a otro.

**Modelo de transporte vesicular:** las cisternas son estructuras estáticas y las proteínas en tránsito se transportan en vesículas COP-I que yeman de un compartimento y se fusionan con el siguiente. El flujo retrógrado se haría también a través de vesículas COP-I.

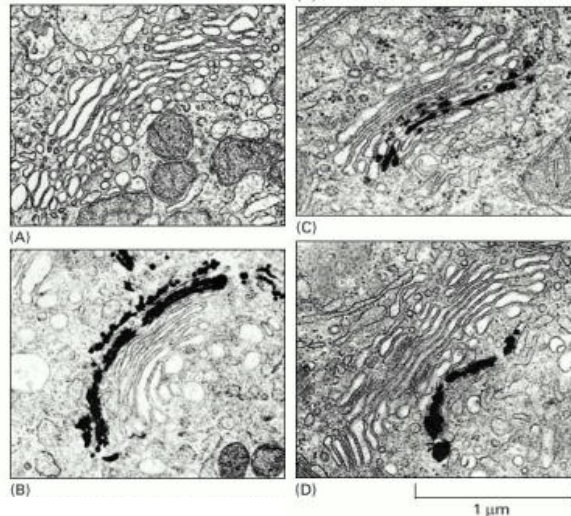
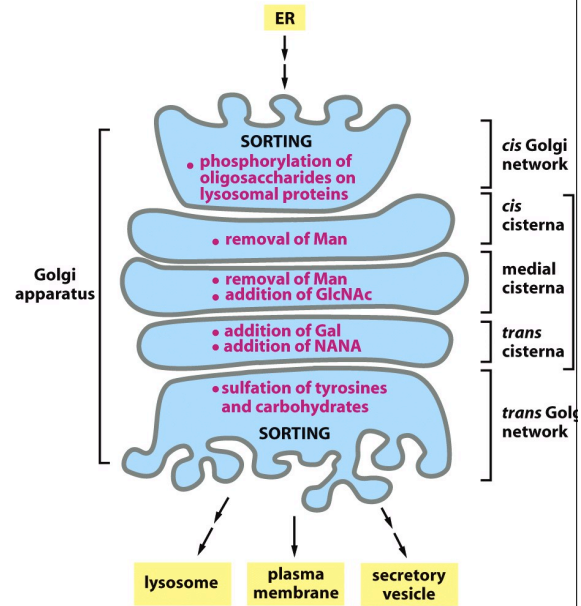
**Modelo de maduración de las cisternas:** Las cisternas son estructuras dinámicas que maduran a medida que se movilizan al través de la pila. La compartimentalización de las enzimas del Golgi se haría por flujo retrógrado en vesículas COP-I.

## Compartimentalización funcional del Aparato de Golgi .

Las cisternas del Golgi están organizadas en una serie de compartimentos de procesamiento: red **Golgi cis**, **cisternas cis**, **cisternas mediales**, **cisternas trans**, red **Golgi trans**.

**Durante su paso a través del Golgi las proteínas sufren posteriores modificaciones covalentes de las cadenas de oligosacáridos en estos compartimentos.**

En las células vegetales el aparato de Golgi además está involucrado en la síntesis de los polisacáridos complejos de la pared celular.



## Compartimentalización bioquímica del aparato de Golgi

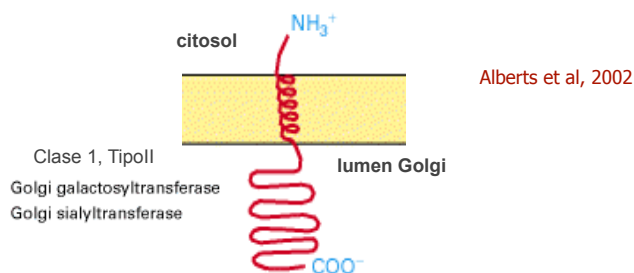
(A) No teñido, (B) teñido con  $\text{OsO}_4$ , reducido preferencialmente en el Golgi cis. (C) tinción de la nucleósido difosfatasa en el Golgi trans y (D) fosfatasa ácida en la red Golgi trans.

## Proteínas del aparato de Golgi

Las proteínas que funcionan dentro del aparato de Golgi son retenidas como proteínas de membrana más que como proteínas solubles en el lumen.

Las señales de retención de varias proteínas del Golgi están localizadas en sus dominios de transmembrana, lo que previene que sean empacadas en vesículas que abandonan la red Golgi trans. Sin embargo, no hay una secuencia común y es posible que la señal sea la estructura secundaria o la terciaria.

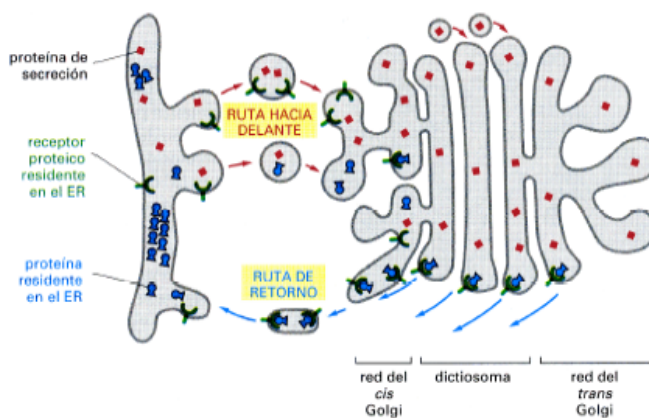
Varias enzimas localizadas en la membrana del Golgi como galactosiltransferasa y sialiltransferasa, tienen una estructura similar: un solo dominio de transmembrana con un corto N-terminal hacia el citosol y un largo dominio C-terminal, que contiene el sitio catalítico hacia el lumen.



## REPASO!!!

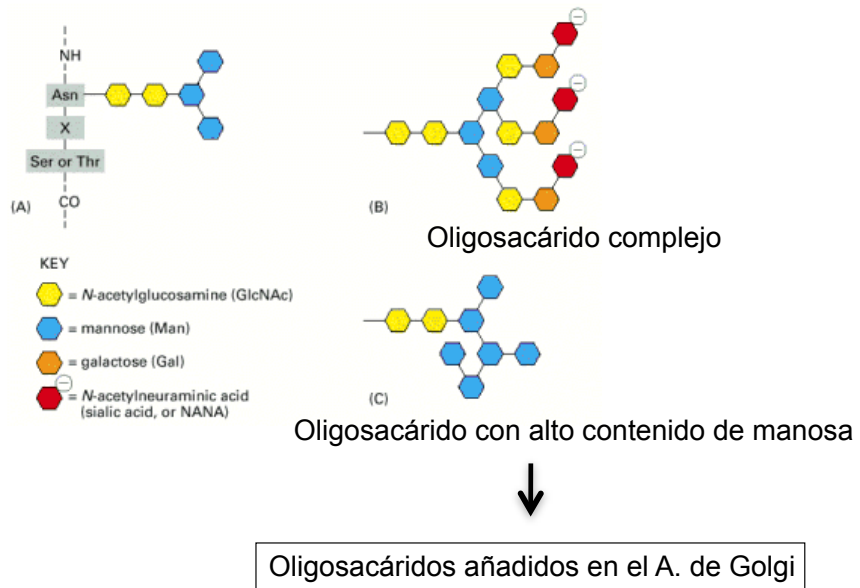
Proteínas que son residentes del RE y se escapan al cis Golgi son devueltas por transporte vesicular.

Un R de membrana del cis Golgi las captura y regresa (**reconocen la señal de retención de RE**).



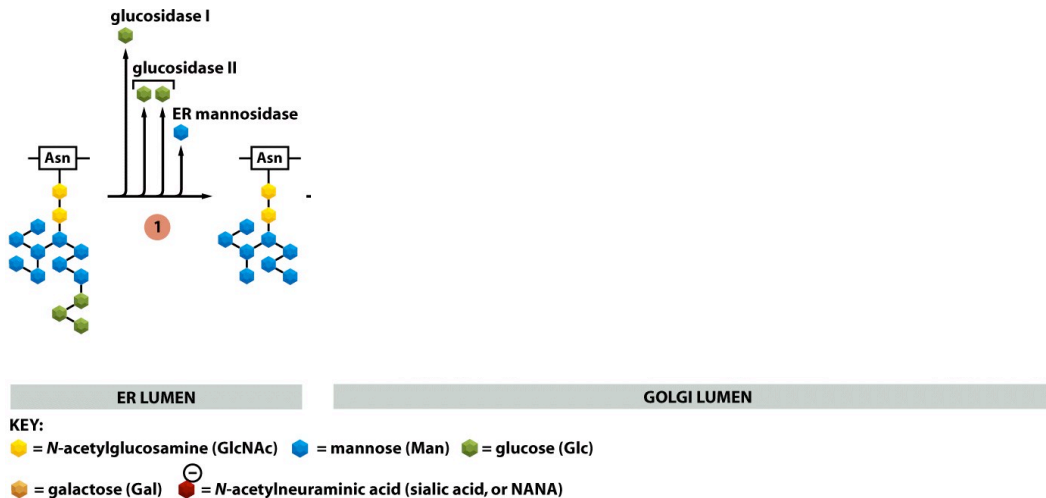
Si se elimina la señal la proteína es secretada (y a la inversa).

Recordemos:  
 Modificación de los Oligosacáridos unidos a Proteínas (“N-linked”) ocurre en el Ap. Golgi



### Glicosilación de proteínas secretadas o destinadas a la membrana plasmática

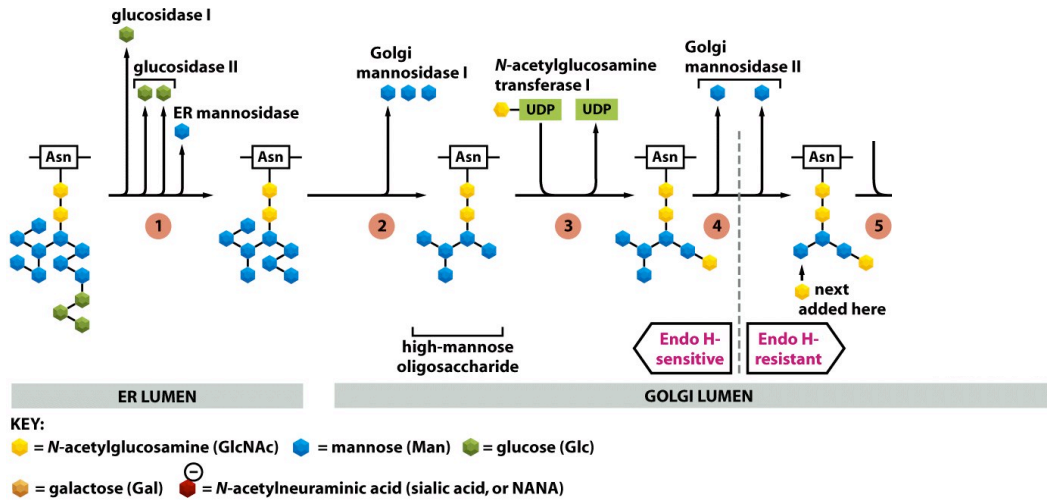
Los oligosacáridos de unión-N son procesados en una secuencia ordenada de reacciones. La primera modificación de las proteínas destinadas a la membrana plasmática, o a ser secretadas es la **remoción de tres residuos manosa** (Golgi cis).





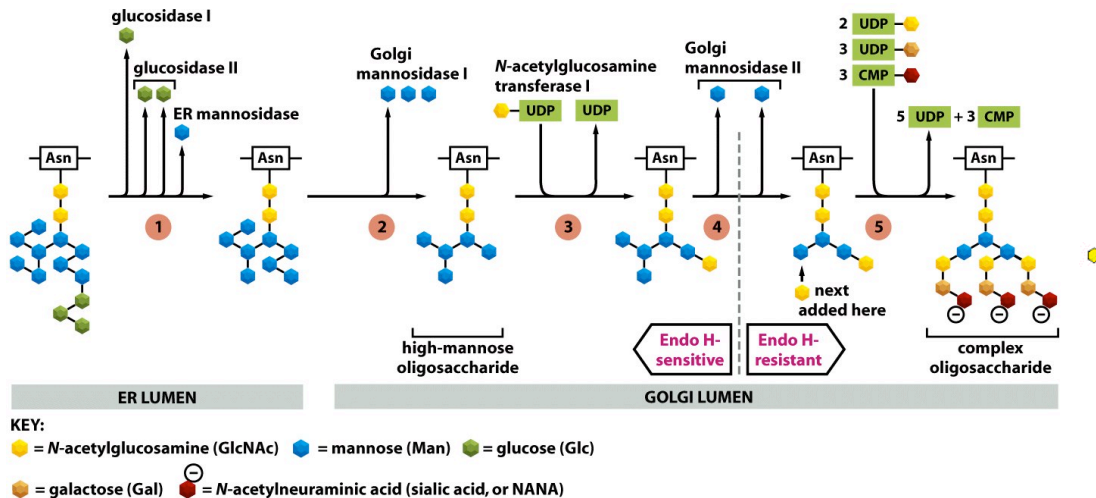
## Glicosilación de proteínas secretadas o destinadas a la membrana plasmática

Los oligosacáridos de unión-N son procesados en una secuencia ordenada de reacciones. La primera modificación de las proteínas destinadas a la membrana plasmática, o a ser secretadas es la **remoción de tres residuos manosa** (Golgi cis). Esto es seguido por la adición secuencial de una **N-acetilglucosamina** la remoción de otras dos manosas y la adición de dos N-acetilglucosaminas más. En esta etapa las proteínas se hacen resistentes a endoglicosidasas específicas (Endo H-resistant)

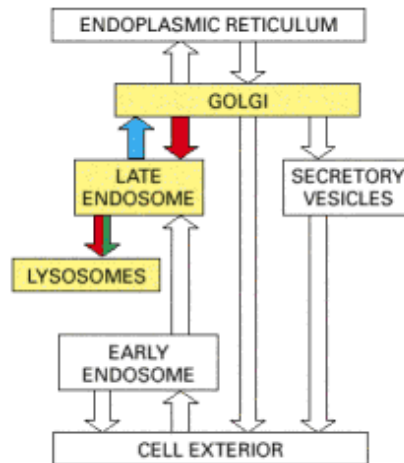


## Glicosilación de proteínas secretadas o destinadas a la membrana plasmática

Los oligosacáridos de unión-N son procesados en una secuencia ordenada de reacciones. La primera modificación de las proteínas destinadas a la membrana plasmática, o a ser secretadas es la **remoción de tres residuos manosa** (Golgi cis). Esto es seguido por la adición secuencial de una **N-acetilglucosamina** la remoción de otras dos manosas y la adición de dos N-acetilglucosaminas más. En esta etapa las proteínas se hacen resistentes a endoglicosidasas específicas (Endo H-resistant). Finalmente se adicionan al **oligosacárido tres residuos galactosa** y **tres ácido siálico**.



## Transporte desde la Red Trans Golgi hacia los Lisosomas



Todas las proteínas llegan hasta la zona trans para ser destinadas (con excepción de las proteínas residentes permanentes del A. de Golgi)

## Lisosomas: organelo donde ocurre digestión intracelular

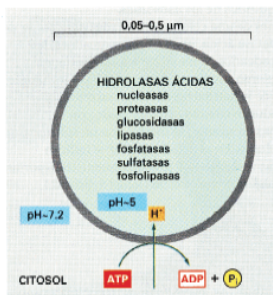


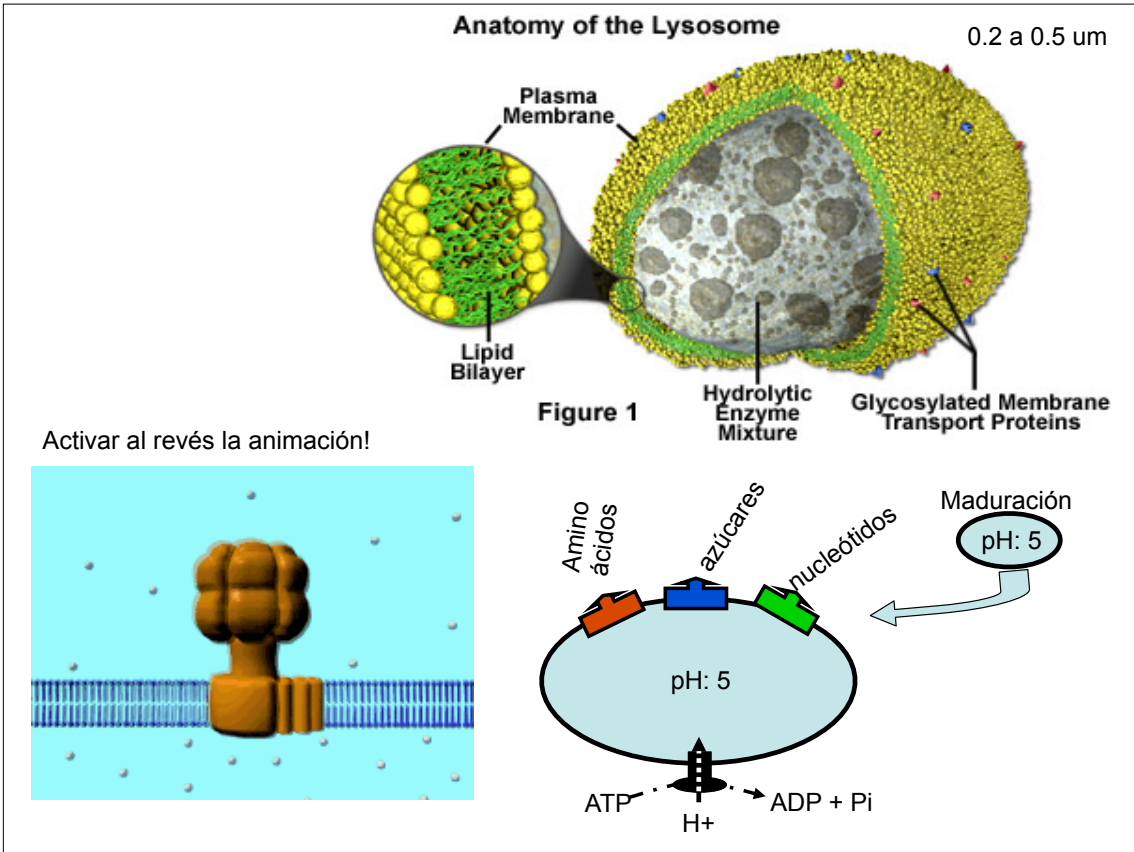
Figura 13-17 **Lisosomas.** Las hidrolasas ácidas son enzimas hidrolíticas que están activas en condiciones ácidas. El lumen se mantiene a un pH ácido mediante la acción de una bomba de H<sup>+</sup> situada en la membrana, la cual utiliza la energía de hidrólisis del ATP para bombear H<sup>+</sup> al interior del lisosoma.

Los lisosomas contienen hidrolasas ácidas o enzimas hidrolíticas (digieren desechos intra y extracelulares, microorganismos fagocitados, entre otros).

En su membrana hay proteínas de transporte para que salgan: azúcares, nucleótidos, aminoácidos (para excreción o re-utilización).

Además están las bombas de H<sup>+</sup> (mantienen el pH ácido del lisosoma).

**Los lisosomas no son formados directamente, son el producto de la maduración de los Endosomas tardíos que van recibiendo enzimas y transportadores desde el Ap. Golgi**



**¿Cómo se destinan las proteínas que van desde el A. de Golgi hasta el Lisosoma?**  
**La manosa de los N-oligosacáridos de la proteínas de los lisosomas se fosforilan.**

Las enzimas lisosomales se clasifican en la red trans Golgi por un receptor proteico que reconoce al marcador manosa 6-fosfato.

Se dirigen a ---- a Endosomas Tardíos - Lisosomas

The diagram shows the Golgi complex, consisting of the cis and trans networks. A precursor of a lysosomal hydrolase is synthesized in the ER and moves through the cis network. In the trans network, a phosphate group (M6P) is added to the mannose residue. This M6P-tagged enzyme then binds to an M6P receptor, which is part of a clathrin-coated vesicle. The vesicle then undergoes receptor-dependent transport to the late endosome/lysosome.

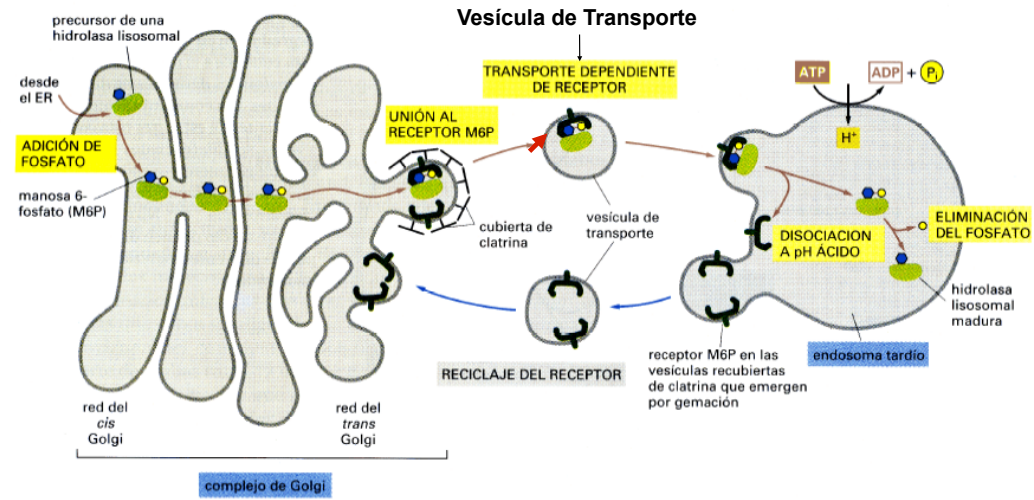
**complejo de Golgi**

## ¿Cómo se destinan las proteínas que van desde el A. de Golgi hasta el Lisosoma?

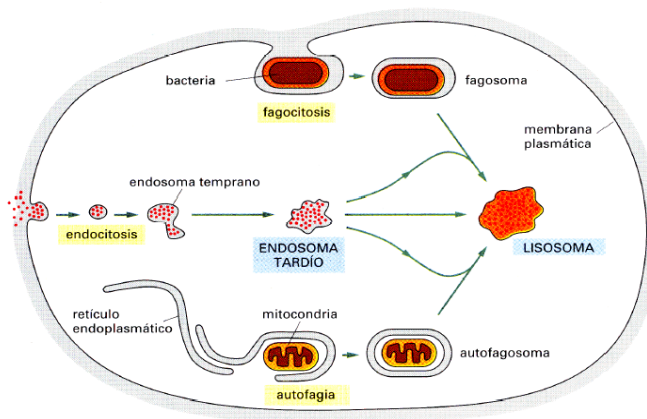
**La manosa de los N-oligosacáridos de las proteínas de los lisosomas se fosforilan.**

Las enzimas lisosomales se clasifican en la red trans Golgi por un receptor proteico que reconoce al marcador manosa 6-fosfato.

Se dirigen a ---- a Endosomas Tardíos - Lisosomas



## Las Tres Rutas de Degradación en los Lisosomas



### 1º Endocitosis:

-El material se descarga en los Endosomas Tempranos donde:

Parte del material se recicla a la membrana plasmática

Parte se descarga en los Endosomas Tardíos, organelos que vienen del RE con hidrolasas ácidas (pH del organelo = 6)

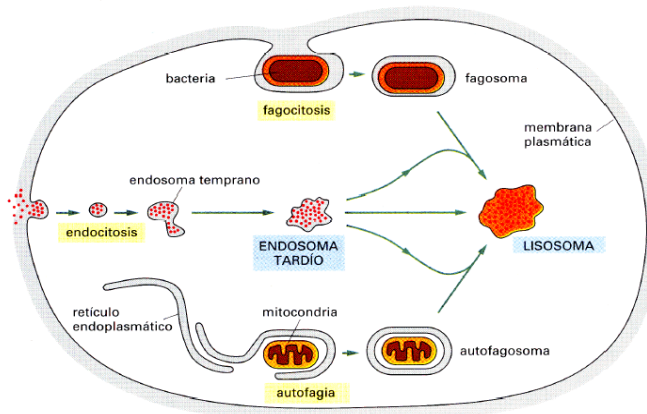
A partir de los Endosomas Tardíos se generan los **Lisosomas**.

## Las Tres Rutas de Degradación en los Lisosomas

### 2º Ruta de Degradación en Lisosomas

Degradación de partes de la propia célula. Ejemplo: organelos como la mitocondria.

Membranas del RE engloban a la mitocondria formándose un Autofagosoma, el que posteriormente se unirá a un Lisosoma.

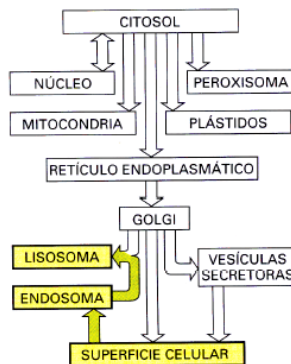


### 3º Ruta de Degradación en Lisosomas

Ocurre en células especializadas en fagocitar microorganismos (macrófagos y neutrófilos).

Se forman fagosomas los que formarán más tarde Lisosomas.

## Transporte desde la membrana Plasmática vía Endosomas: Endocitosis

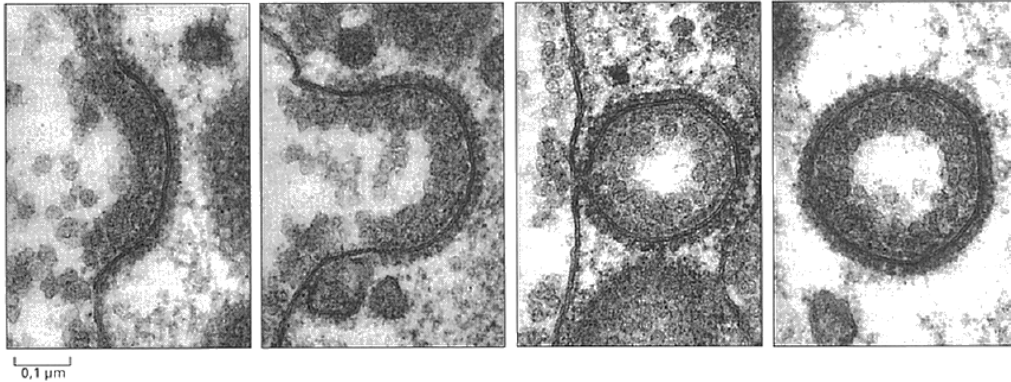


Pinocitosis: fluidos y solutos pequeños (<150 nm diámetro)

Fagocitosis: grandes partículas como microorganismos (>250 nm diámetro)

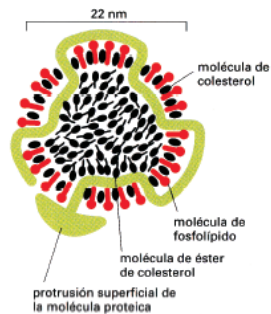
Para que haya Endocitosis deben formarse las vesículas recubiertas por clatrina

Formación de Vesículas recubiertas por clatrina en la membrana plasmática (M.P.)



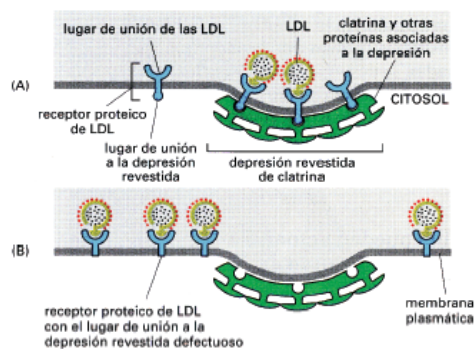
Las vesículas se forman a partir de depresiones de la M.P. recubiertas en su parte citosólica por clatrina (“pits”).

En la mayoría de las células animales estas vesículas se utilizan para captar macromoléculas específicas – **Endocitosis mediada por Receptor**.



**Figura 13-29 Lipoproteína de baja densidad (LDL).** Cada partícula esférica tiene una masa de  $3 \times 10^6$  daltons. En la región central contiene alrededor de 1500 moléculas de ésteres de colesterol esterificado con ácidos grasos de cadena larga. Esta región central está rodeada de una monocapa lipídica de unas 800 moléculas de fosfolípido y unas 500 de colesterol no esterificado. Además presenta una única molécula de proteína, de unos 500 000 daltons, que organiza la partícula y que es la responsable de la unión específica de las LDL a las proteínas receptoras de la superficie de las células.

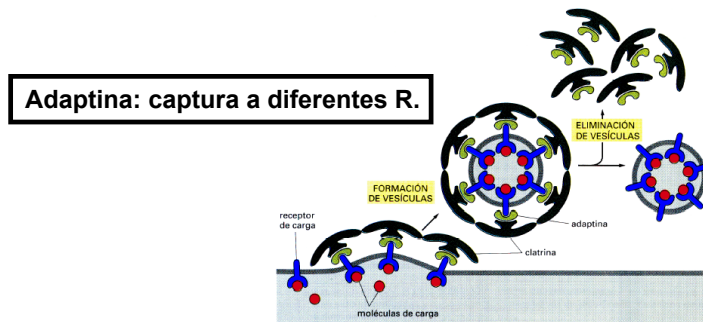
Las células captan colesterol (proceso de endocitosis mediada por receptor)



## Vesículas de Transporte:

Se forman en regiones revestidas de la membrana (revestidas de clatrina o coatómero).

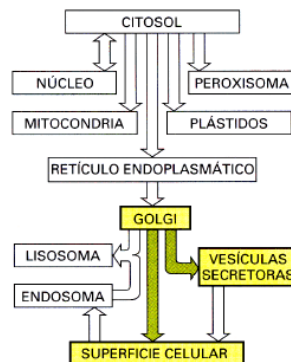
Este recubrimiento se elimina antes de la fusión con la vesícula receptora.



Clatrina: media el transporte de los R de transmembrana de LDL y de manosa 6P.

Coatómero (Proteínas COP): media el transporte vesicular en la ruta por defecto (RE-Golgi-Mb. Plasmática)

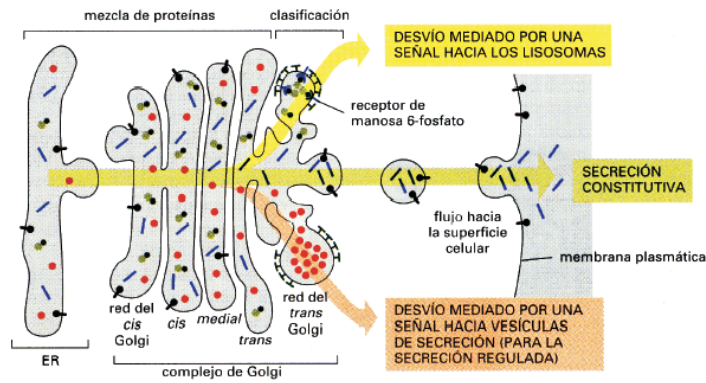
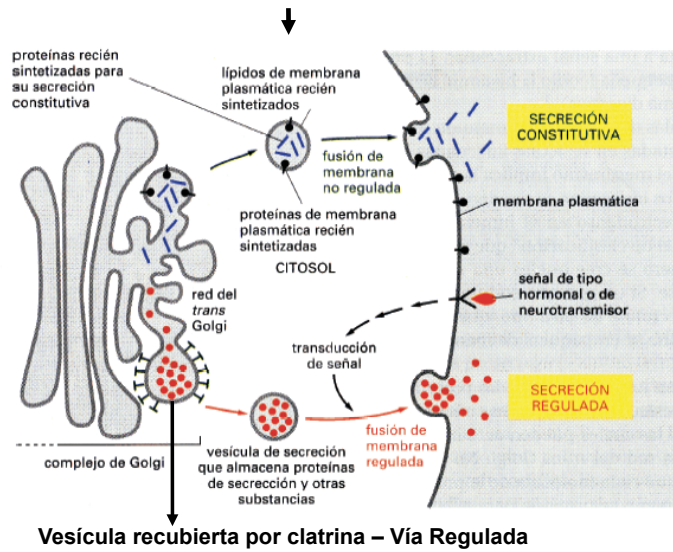
## Transporte desde el Trans Golgi hacia la Superficie Celular: Exocitosis



**Ruta de Secreción Constitutiva:** vesículas con flujo constante. La membrana plasmática obtiene así sus proteínas y lípidos. Las proteínas solubles son destinadas a la matriz extracelular (proteoglicanos y glicoproteínas).

**Ruta de Secreción Regulada:** Las proteínas se almacenan en vesículas de secreción las que se liberan cuando son necesarias. Ejemplo: neurotransmisores, hormonas.

**Ruta por defecto no regulada.**



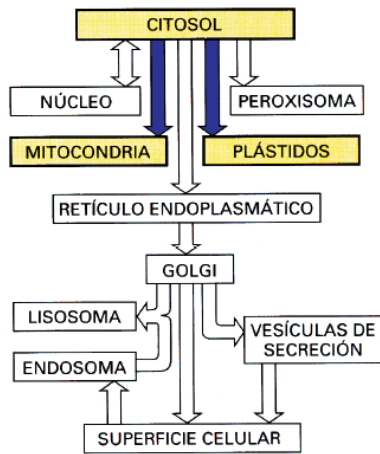
**Liberación del producto por Exocitosis.**  
 Por señal, ejemplo, los neurotransmisores se liberan por un cambio en el potencial de acción (estímulo eléctrico).

Entra calcio a la célula y la vesícula se fusiona con la M.P.

**Endocitosis existe a la par de la Exocitosis**



## Transporte al interior de Mitochondrias y Cloroplastos



La mayoría de sus proteínas son sintetizadas en el citosol (información en genes del núcleo).

### Mitocondria:

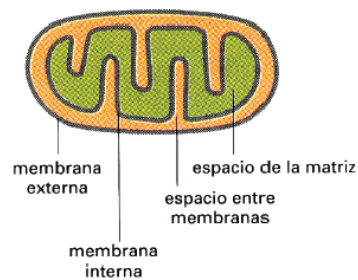
- Espacio intermembrana
- Matriz Mitocondrial
- Membrana externa
- Membrana interna (genoma de la mitocondria)

### Cloroplasto:

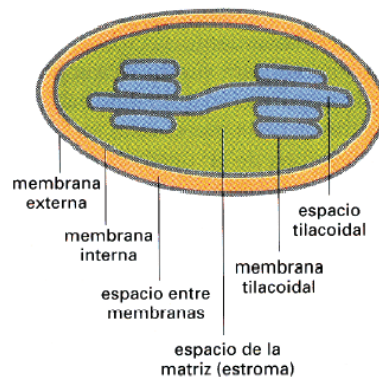
- Espacio y membrana tilacoidal (genoma del cloroplasto)

Por ende, las proteínas se translocan hasta llegar al lugar de destino.

(A) MITOCONDRIA



(B) CLOROPLASTO



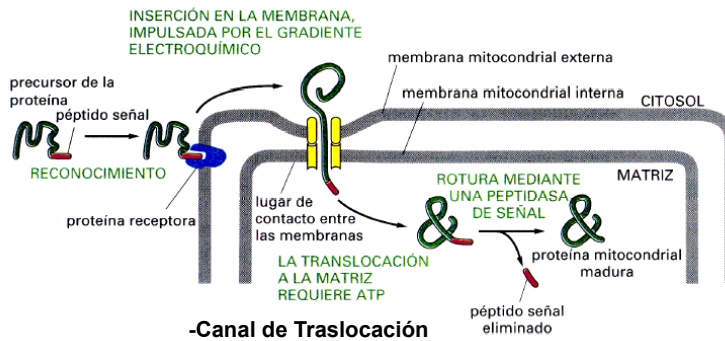
## Transporte hacia la Matriz Mitocondrial

Hay un péptido señal de entre 20 a 80 residuos de aminoácidos en el extremo amino terminal (con carga + y apolares) ->hélice anfifílica.

Las proteínas cruzan ambas membranas mitocondriales a la vez (a través de **proteínas transportadoras, o complejos proteicos**, se le denomina también “lugar de contacto”).

Cuando se ha producido la importación el péptido señal es degradado en la matriz (por enzimas conocidas como peptidasas).

## Transporte de Proteínas hasta la Matriz de la Mitocondria

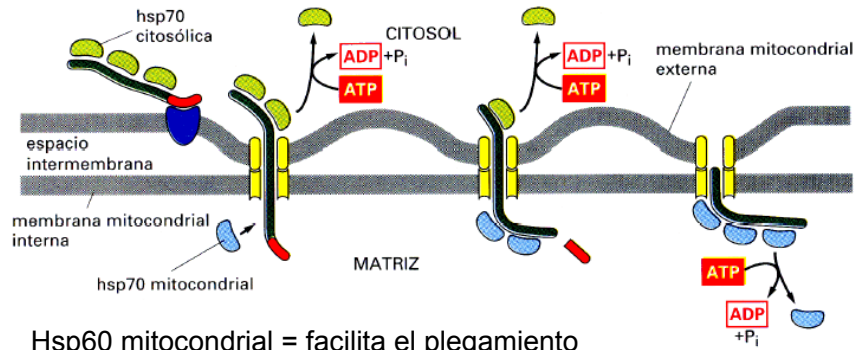


**Figura 12-23 Importación de proteínas por la mitocondria.** El péptido señal amino terminal del precursor proteico es reconocido por receptores que al parecer existen en la membrana externa de la mitocondria. Se cree que la proteína es translocada a través de ambas membranas mitocondriales, a través de lugares especiales de contacto o muy cerca de ellos. Este transporte está impulsado inicialmente por el gradiente electroquímico existente a través de la membrana interna, y después por la hidrólisis de ATP. En la matriz mitocondrial, el péptido señal es eliminado por una peptidasa de señal, formándose la proteína madura. El péptido señal libre es rápidamente degradado.

El transporte requiere ATP y un gradiente electroquímico de la membrana interna.

Chaperonas: proteínas que ayudan al cruce de la proteína en su estado desplegado y ayudan a su posterior plegamiento.

### Chaperonas hsp70 se requieren para Translocación a Matriz



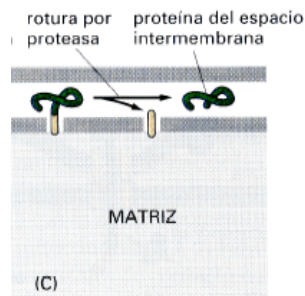
Hsp60 mitocondrial = facilita el plegamiento

Las proteínas cruzan en estado desplegado.

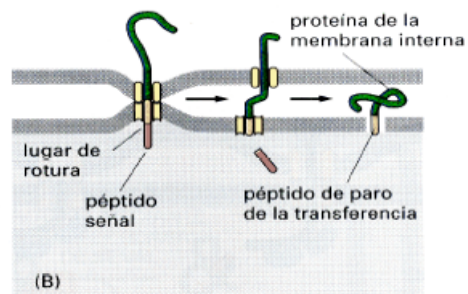
### Transporte hacia el Espacio Intermembrana (EI) o hacia la Membrana Interna (MI).

El traslocador reconoce una señal hidrofóbica e impide que la proteína viaje hasta la matriz (señal de detención de la transferencia).

Los traslocadores se desacoplan y la proteína queda en el EI.



a EI



a MI

La señal hidrofóbica hace que la proteína se inserte en la membrana.

## Transporte hacia Cloroplastos

### Semejanzas con Transporte a Mitocondrias:

1. Es post-traduccional
2. Requieren energía
3. Requieren señales hidrofóbicas en su extremo amino terminal que luego serán eliminadas.

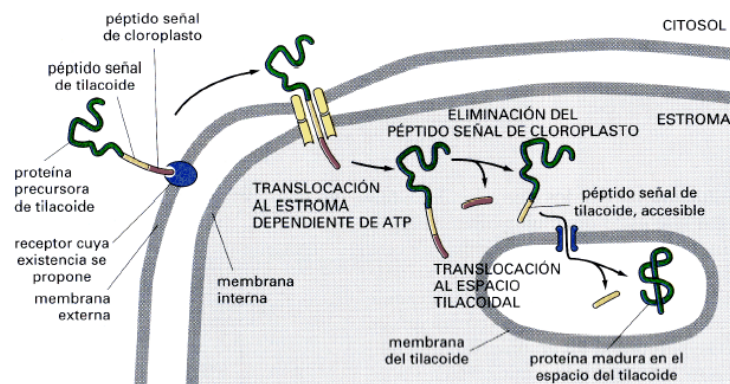
### Diferencia:

En los cloroplastos no se usa la energía del gradiente electroquímico para el transporte.

Se requiere ATP y GTP.

## Transporte a luz del Tilacoide (Cloroplasto)

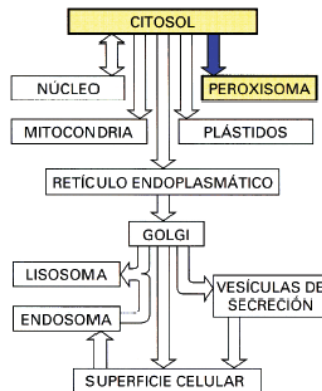
Se requieren dos señales



1º Señal contiene Ser y Thr, además de aa hidrofóbicos y se halla en el extremo N terminal.

2º Señal tilacoide hidrofóbica.

## Transporte a Peroxisomas



Organelos delimitados por una sola membrana.

**Péptido Señal:** 3 aminoácidos ubicados en el extremo carboxilo terminal

Importación a los peroxisomas -Ser-Lys-Leu-

## Peroxisomas

Son pequeños organelos que contienen enzimas involucradas en una diversidad de reacciones metabólicas, incluyendo varios aspectos del metabolismo energético. Carecen de DNA y sus proteínas son codificadas por genes nucleares. Se replican por división.

Contienen enzimas que oxidan varios sustratos orgánicos, generando peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

La oxidación de los ácidos grasos en peroxisomas produce grupos acetilo ( $CH_3-CO-$ ), usados en reacciones biosintéticas, pero no ATP.

Junto a las mitocondrias, son los principales sitios de utilización de oxígeno.

Una hipótesis es que los peroxisomas son un vestigio de un antiguo organelo que llevaba a cabo todo el metabolismo de oxígeno en células eucarióticas ancestrales.

### Anatomy of the Peroxisome

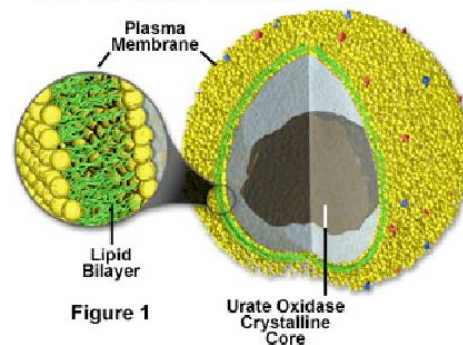
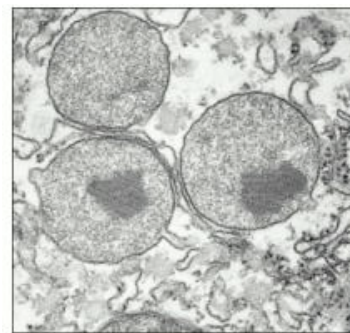


Figure 1



Las inclusiones paracrísticas electro-densas están compuestas de la enzima urato oxidasa.

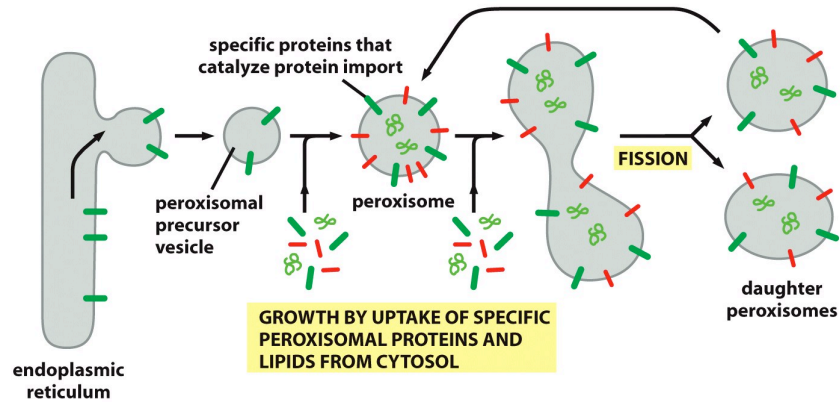
## Peroxisomas

En su interior presentan **catalasa**.

Las enzimas usan el  $O_2$  para eliminar átomos de hidrógenos de compuestos orgánicos formando el  $H_2O_2$ .

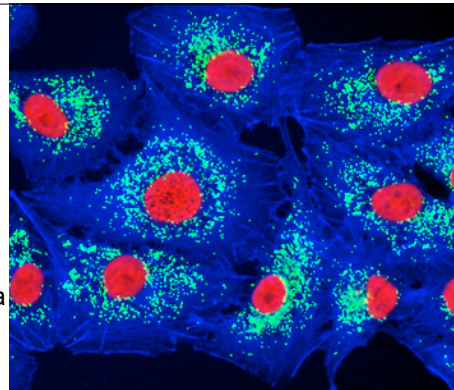
La catalasa usa el  $H_2O_2$  para oxidar fenoles, alcoholes (ejemplo: etanol a acetaldehído), entre otros compuestos, formando Agua.

**Organelo detoxificador (hígado y riñón).**



## Funciones Peroxisomales

- 50 Enzimas diferentes
- Metabolismo Lipídico:
  - $\beta$ -oxidación de ácidos grasos de Cadena muy larga
  - Very Long Chain Fatty Acids (VLCFA)*
  - Corresponde a una importante fuente de energía celular
- Formación y ruptura de Peróxido de Hidrógeno: catalasa
- Biosíntesis Lipídica (colesterol y plasmalógenos)
  - Síntesis de aminas y de ácidos biliares
- Catabolismo de Purinas (urato oxidasa)



or



## Peroxisomas

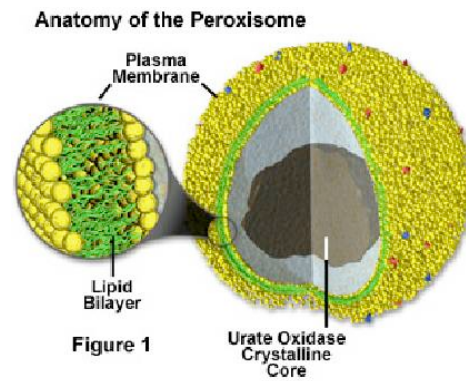
-Vida media; 1 día

-Posiblemente su función primordial fue la defensa contra el oxígeno.

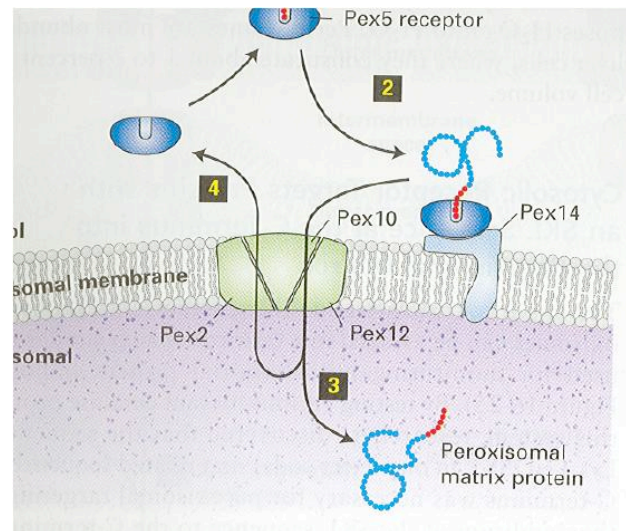
-Sus proteínas son traducidas en el citoplasma y luego son dirigidas al organelo mediante señales carboxilo-terminales de su secuencia.

-PTS1, señal de proteínas de matriz peroxisomal (Ser-Lys-Leu) que es reconocida por receptores solubles que dirigen la proteína al peroxisoma.

- Las proteínas de membrana poseen otras señales y algunas provienen del retículo endoplásmico.

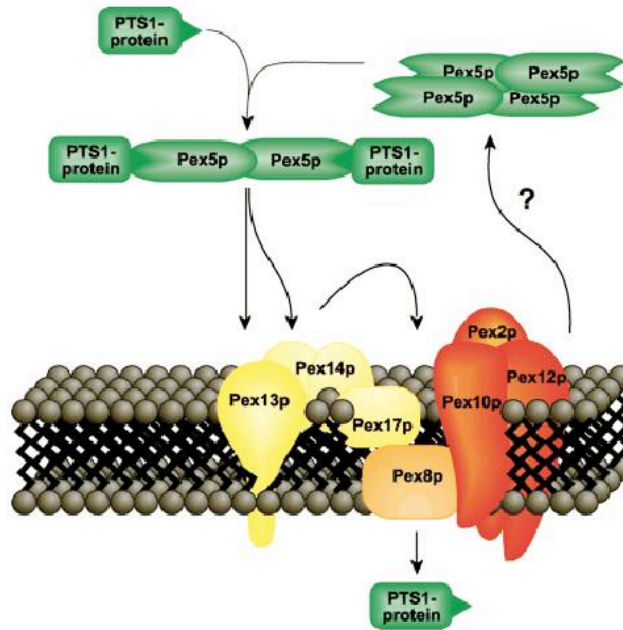


## Biogénesis Peroxisomal



-Las proteínas integrales de membrana PEX10/12/2 forma un sistema de canal y receptor

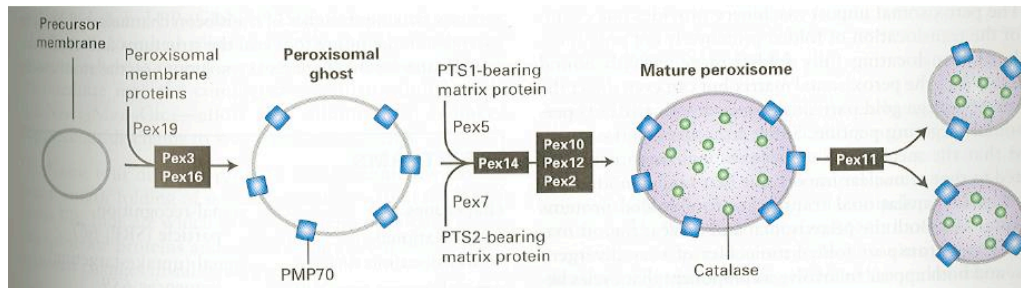
## Biogénesis Peroxisomal



-tetramero -> dímero de Pex5

Ines Heiland and Ralf Erdmann

## Biogénesis Peroxisomal



Pex11 está involucrada en la proliferación de los peroxisomas

