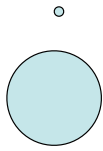
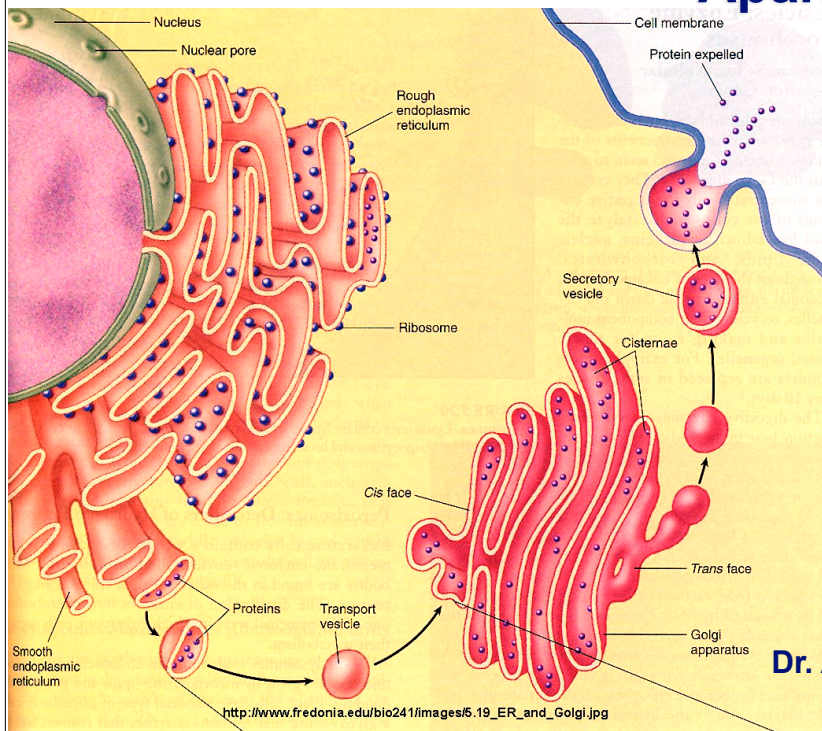


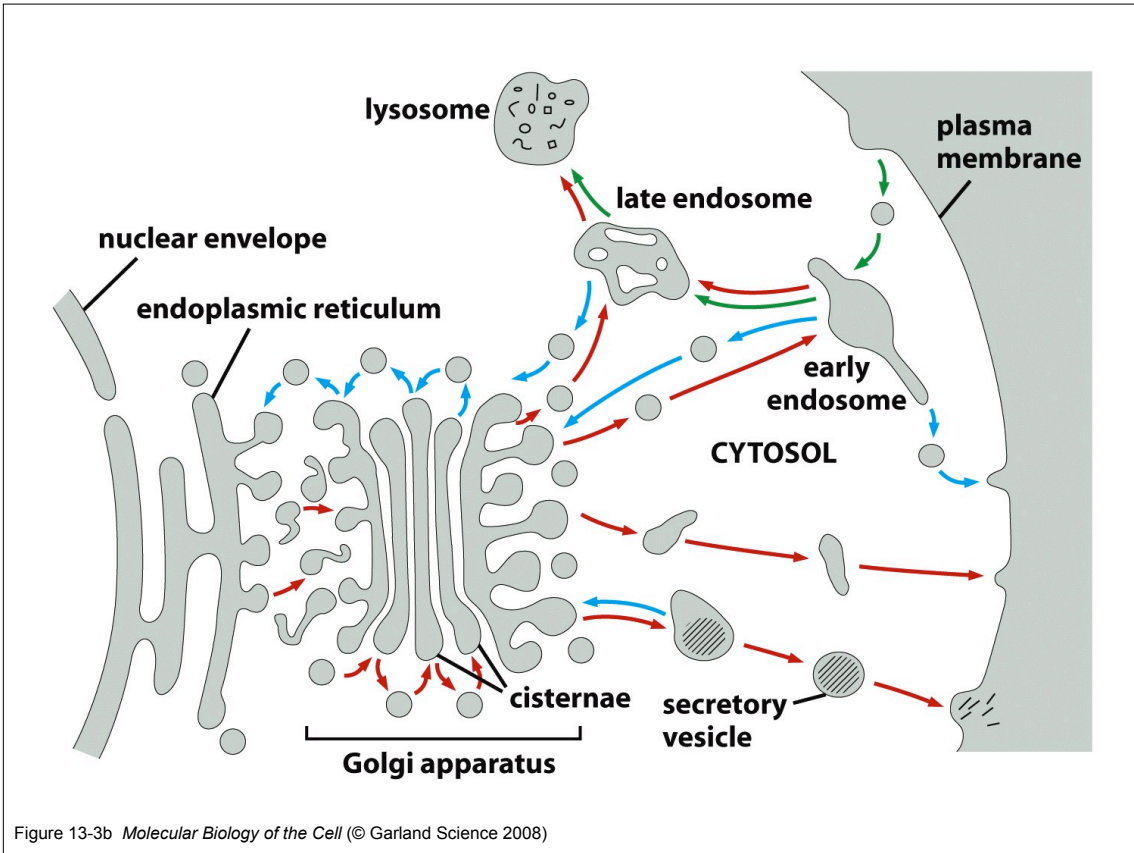
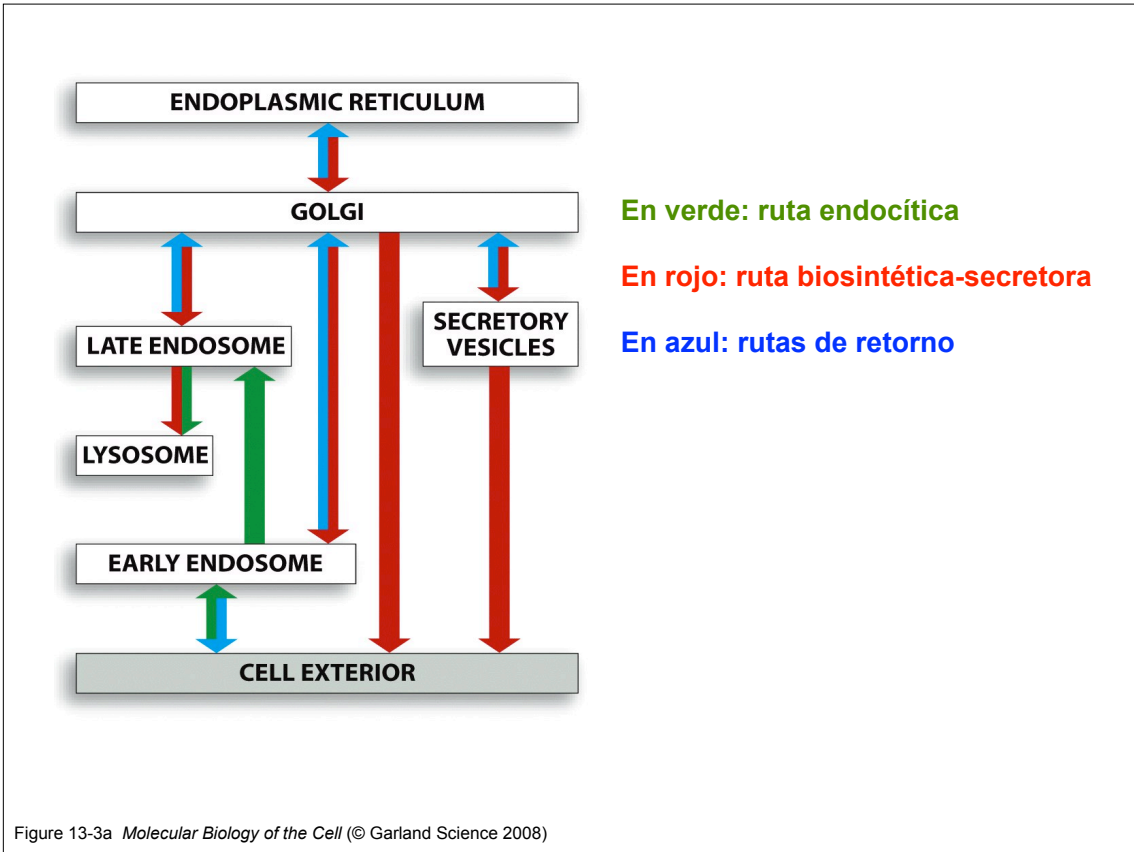
Diámetro (píxeles)	área de circunferencia ( $\pi r^2$ )	Superficie de una esfera ( $4\pi r^2$ )	Volumen ( $\frac{4}{3}\pi r^3$ )	Superficie/Volumen
6	28,27	113,1	113,1	1,0
60	2.827,433	11.309	113.097	0,1



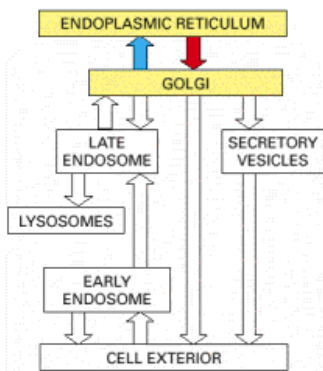
## Destinamiento de proteínas: Aparato de Golgi



Dr. Alejandro Roth, 2010



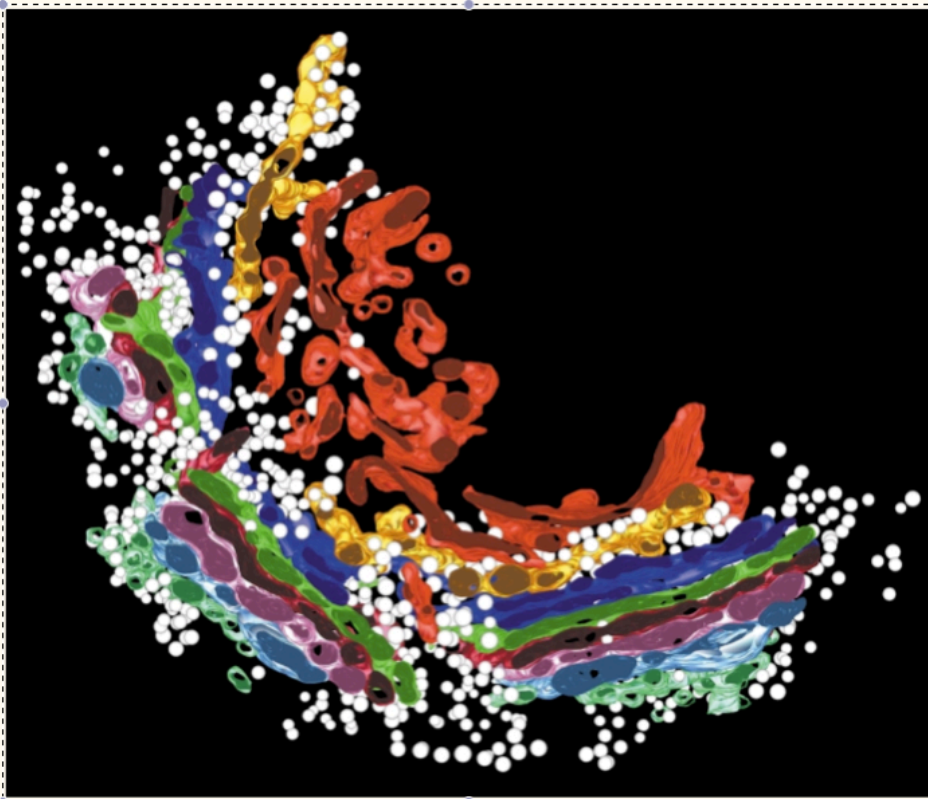
## Transporte desde RE a Golgi



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.

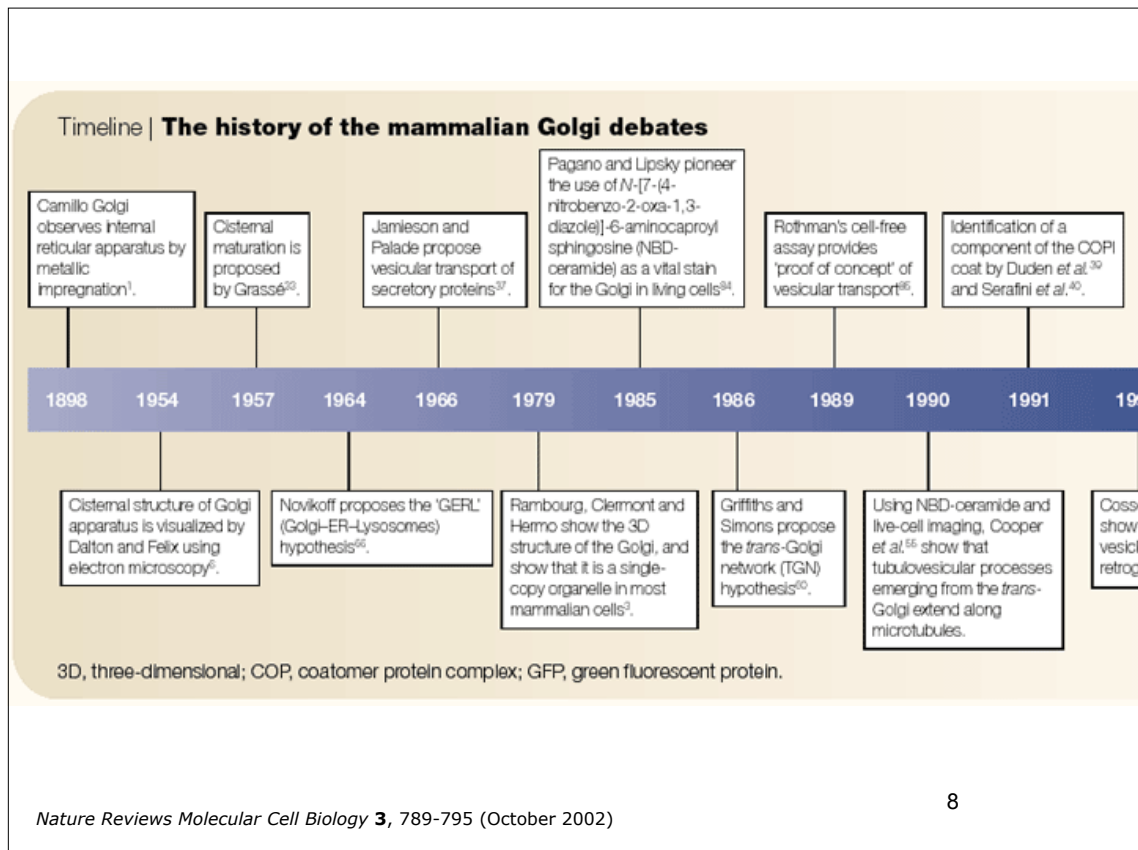


## Características Centrales del Aparato de Golgi:

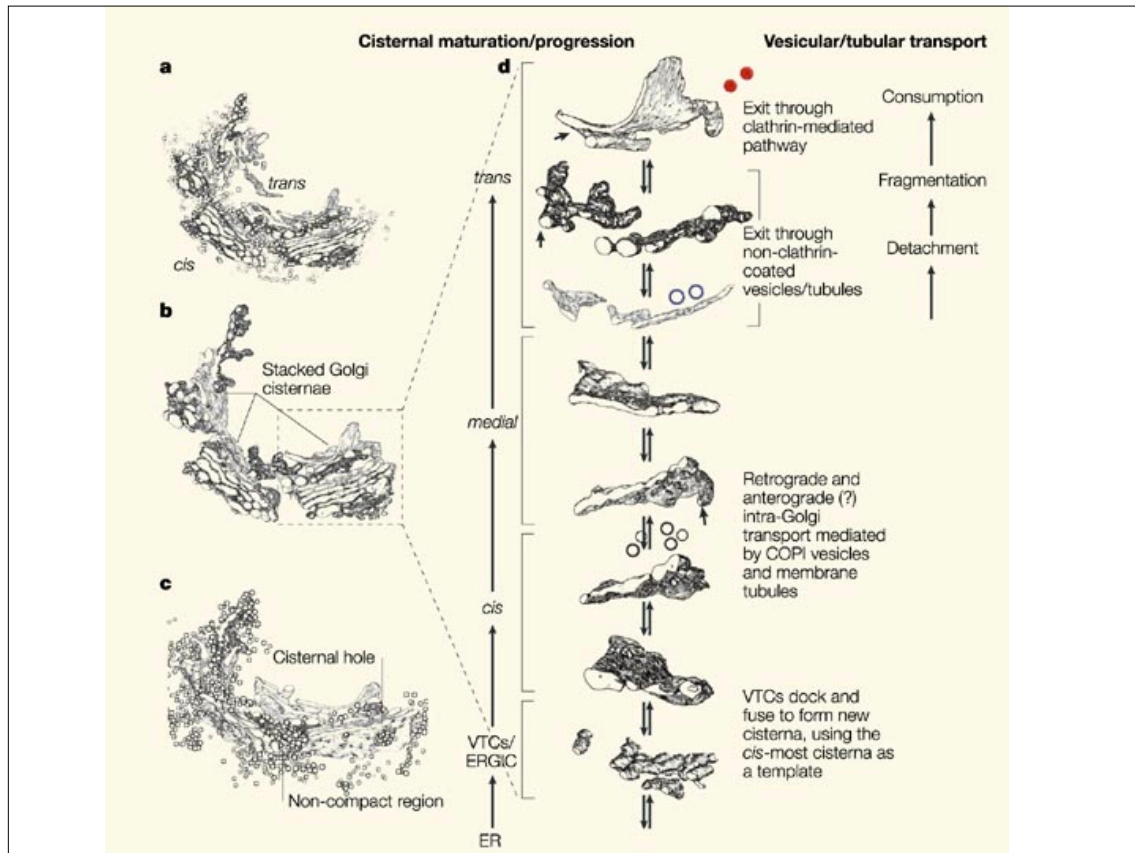
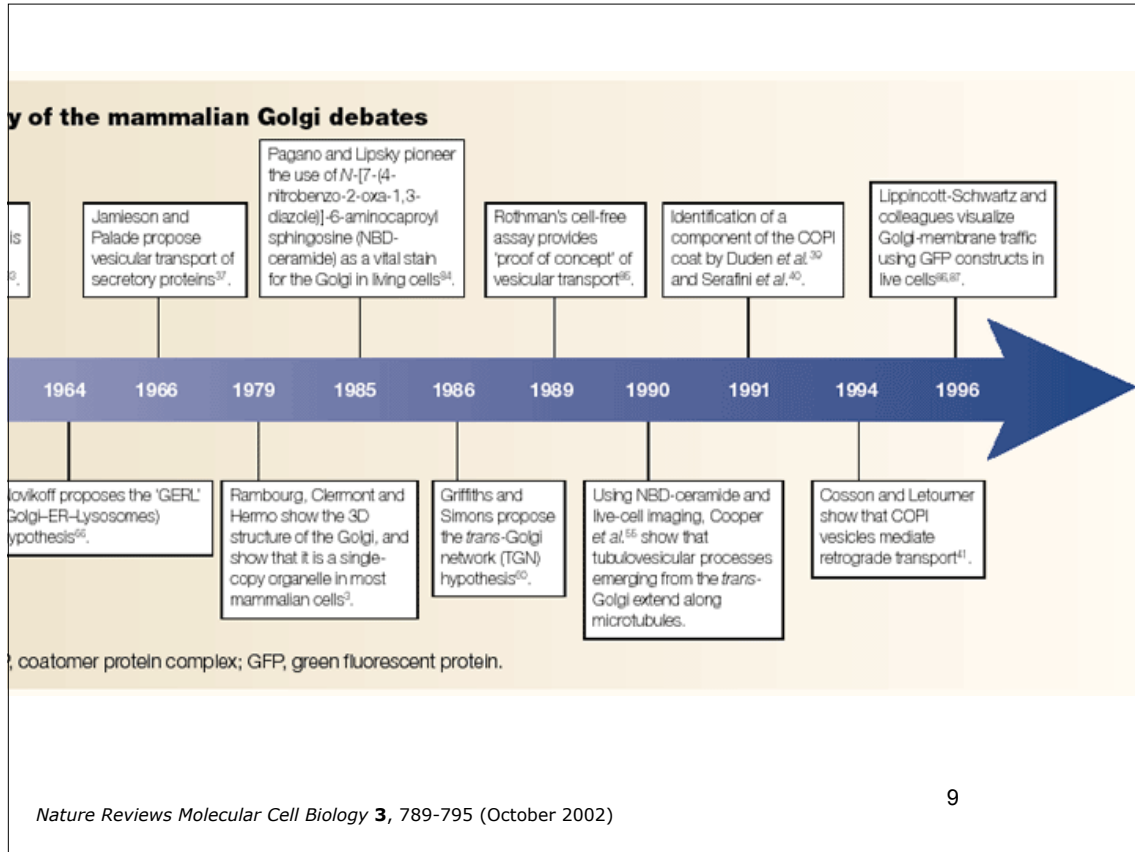
Funciona como el organelo central de las vías celulares de secreción e interactúa con el RE.

1. Está formado por una pila de cisternas aplanadas que se encuentran interconectadas (ya sea de manera continua o vesicular).
2. Su estructura parece mantenerse por interacción con una matriz protéica única.
3. Contiene enzimas que están involucradas en la modificación post-traduccional de proteínas y lípidos recientemente sintetizados (fosforilación, glicosilación, metilación sulphatación, etc.).
4. Contiene las enzimas requeridas para la síntesis de esfingolípidos y glicolípidos
5. Las enzimas "residentes" se encuentran en un movimiento constante entre los diferentes compartimentos (RE, diferentes niveles del Ap. Golgi, compartimentos endosomales, membrana plasmática).
6. Las cargas son direccionadas en la cara *trans*, desde donde son destinadas a diferentes regiones celulares o para su secreción.
7. Las moléculas que reciclan al Ap. Golgi desde la membrana plasmática lo hacen por la vía de los compartimentos endosomales.
8. Los movimientos de los compartimentos del Ap. Golgi ocurren mediante la interacción con los componentes del citoesqueleto (microtúbulos, microfilamentos, filamentos intermedios, ankirina, espectrina).
9. El Ap. de Golgi es una plataforma de transducción de señales que en sí regulan la función de este organelo.

*Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3, 789-795 (October 2002)







## Destino de las proteínas sintetizadas en RE

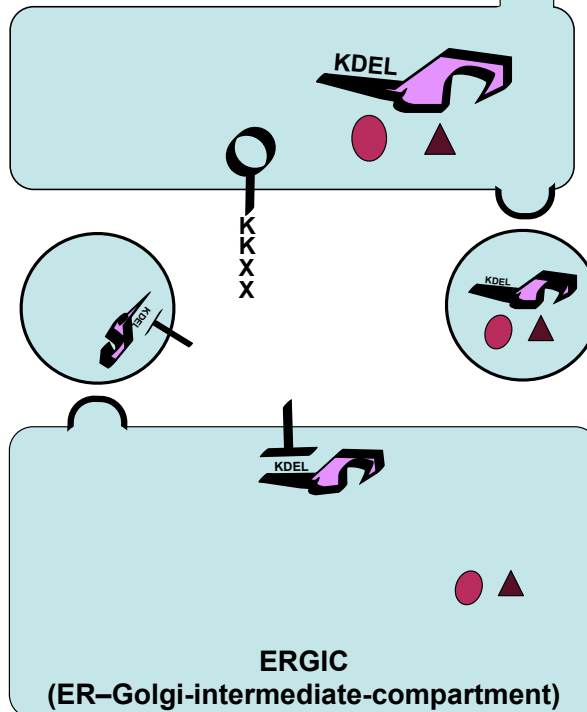
Algunas **proteínas de membrana retenidas en el RE** poseen secuencias cortas en el **C-terminal** con dos lisinas (**KKXX**).

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.

## Retículo endoplásmico



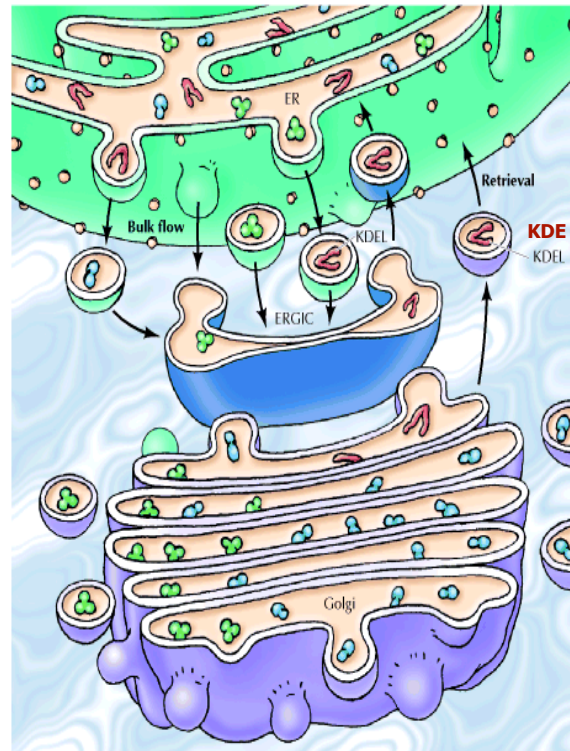
## Destino de las proteínas sintetizadas en RE

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.

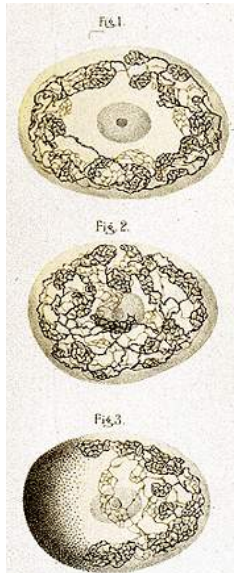
La mayoría de las proteínas son destinadas a otros lugares y son empacadas en vesículas que se fusionan con la membrana del Golgi.



# 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?

13

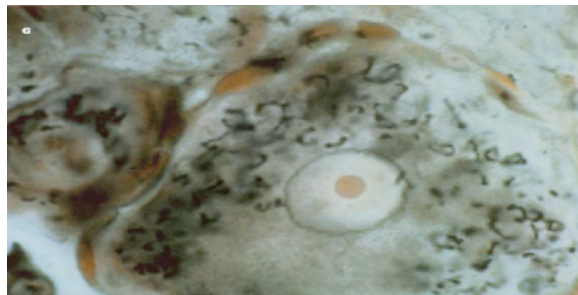


## Aparato de Golgi

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

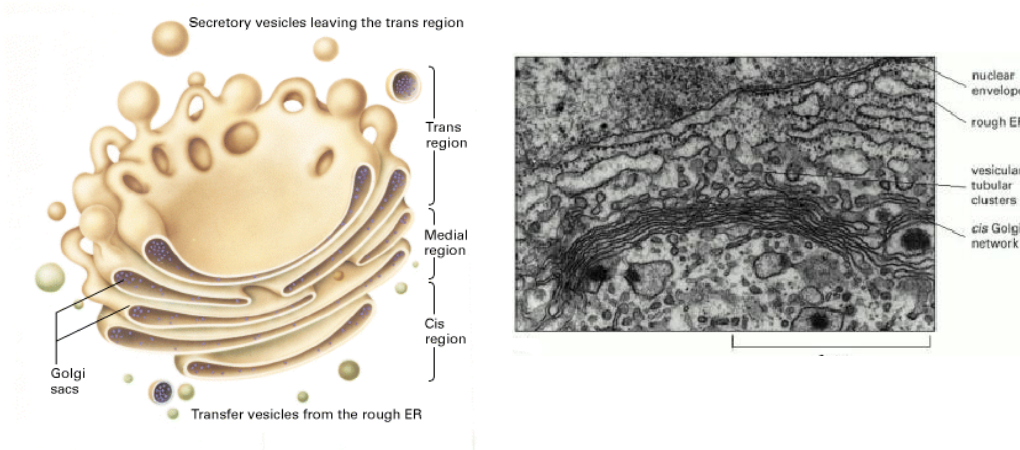
Dibujos realizados por Camillo Golgi del aparato reticular interno (aparato de Golgi) observado en neuronas de ganglios espinales.

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.



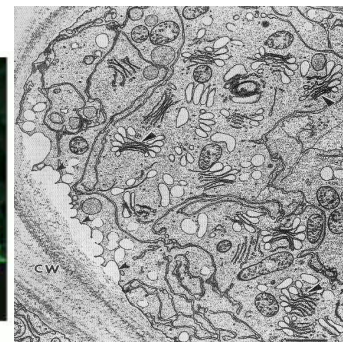
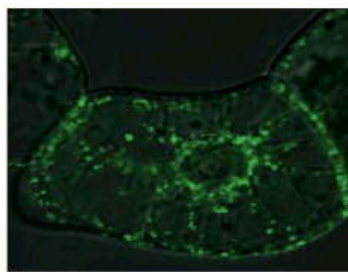
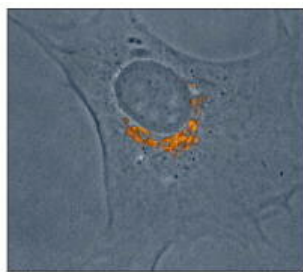
Alberts et al, 2002

## 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.

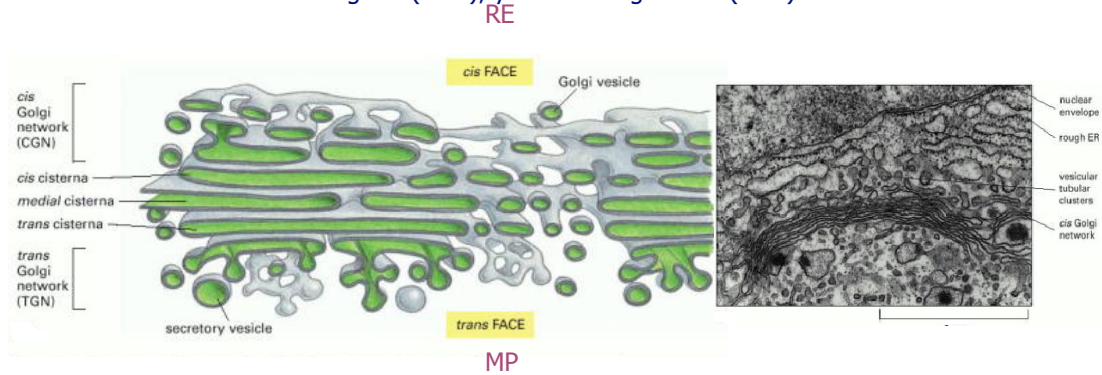




## Aparato de Golgi

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.

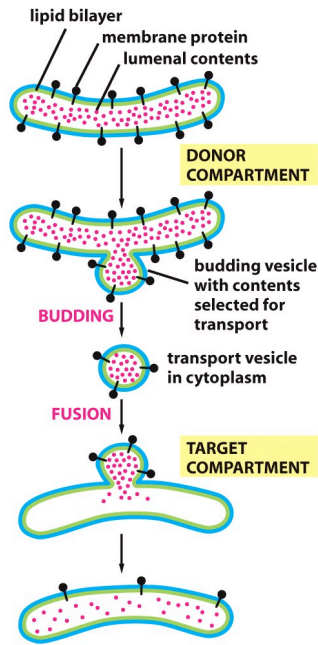
La cisterna más externa de cada cara esta comunicada a una red de túbulos y vesículas interconectados: la red Golgi cis (CGN), y la red Golgi trans (TGN).



Alberts et al, 2002

## 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?



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

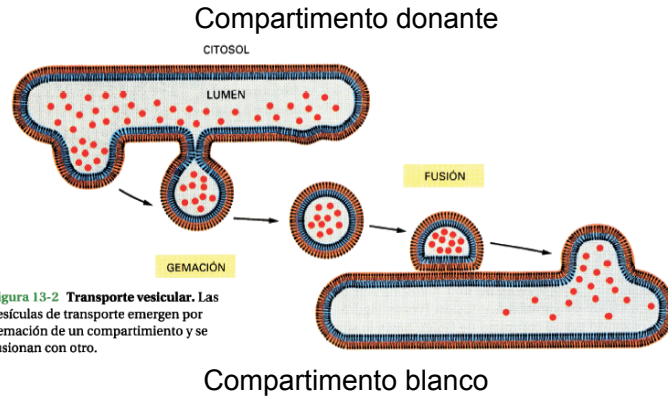
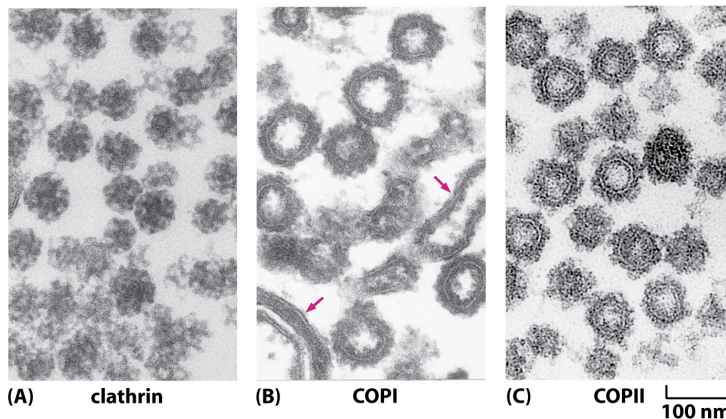


Figura 13-2 Transporte vesicular. Las vesículas de transporte emergen por gemación de un compartimiento y se fusionan con otro.

**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.

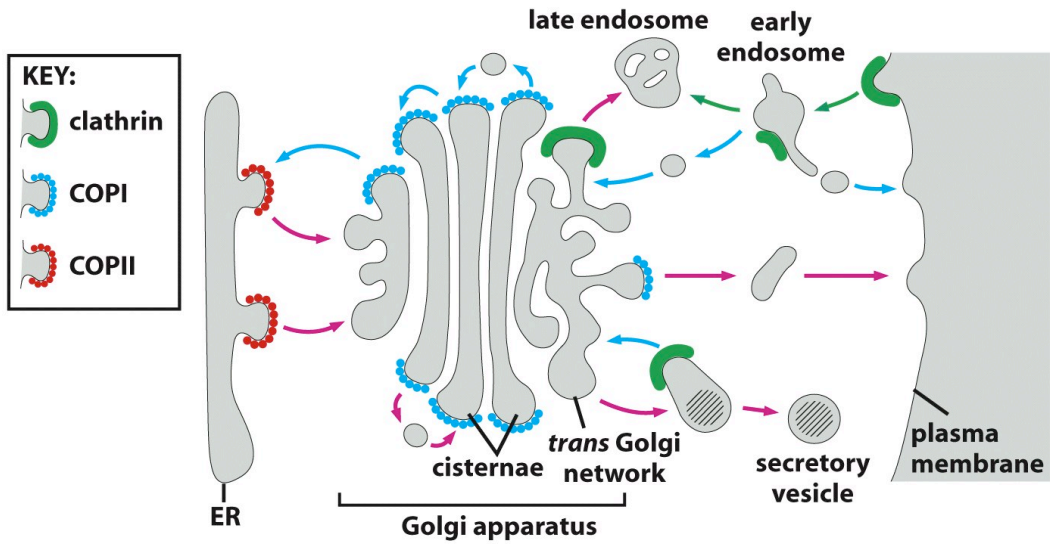
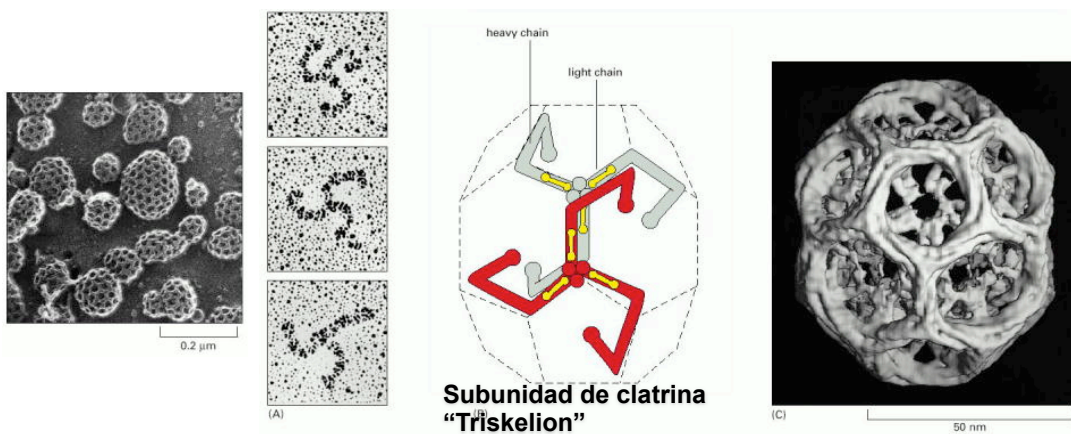
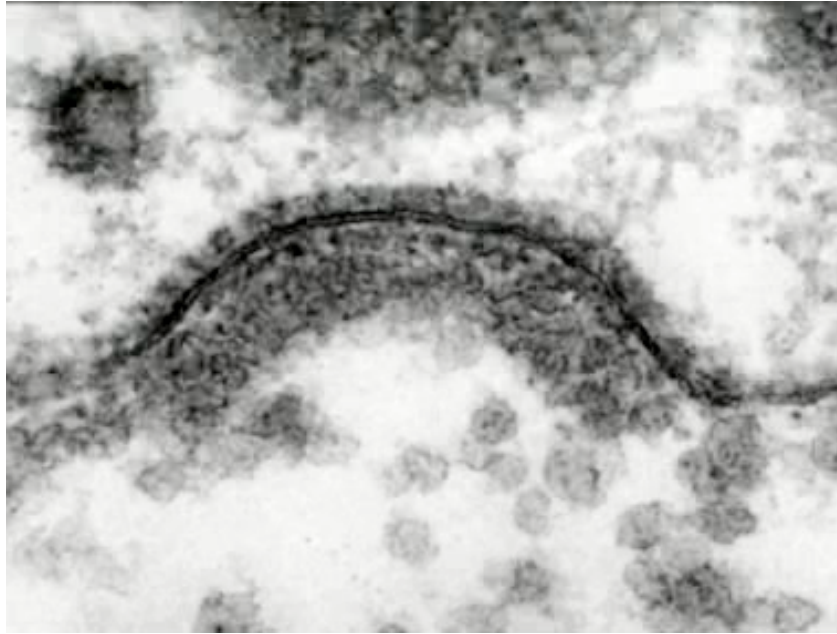


Figure 13-5 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

## Ensamblaje de las Vesículas recubiertas por Clatrina.

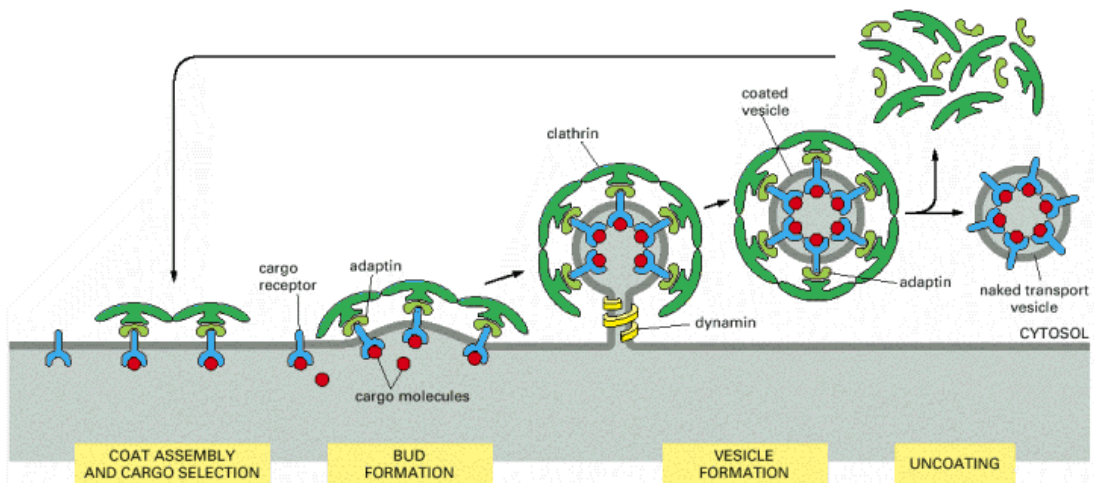


Proteínas Adaptadoras se unen a Proteínas de Transmembrana, que capturan moléculas solubles (carga)



23

### Ensamblaje y Desensamblaje de la Cubierta de Clatrina.



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



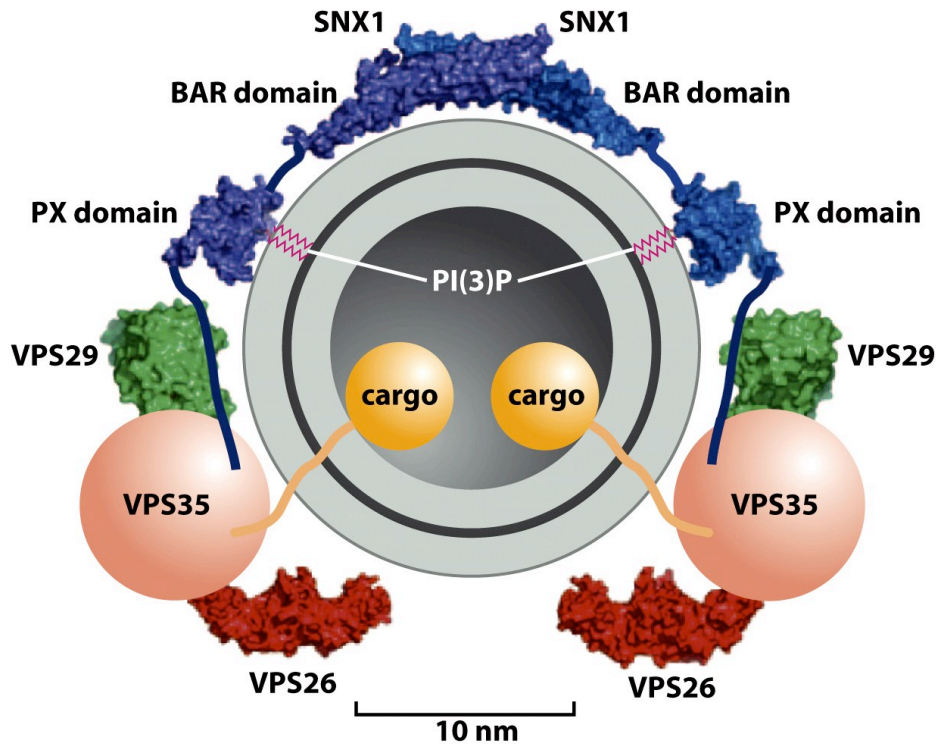
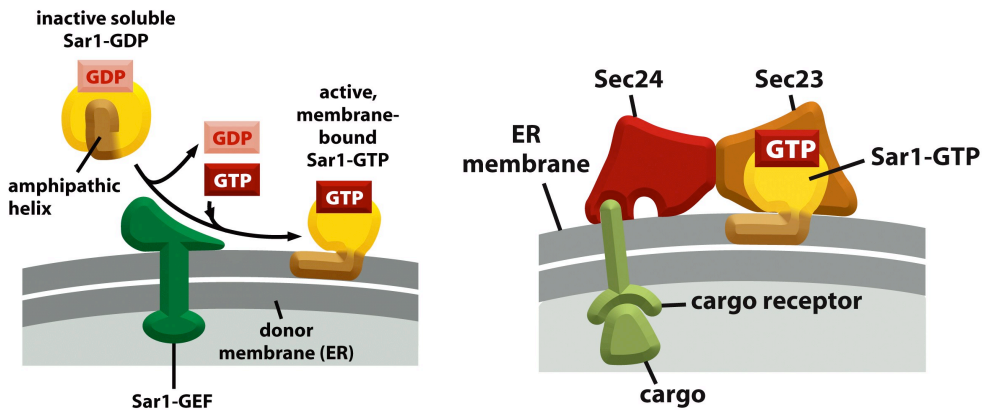


Figure 13-9 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

### Formación de una Vesícula recubierta por COPII



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

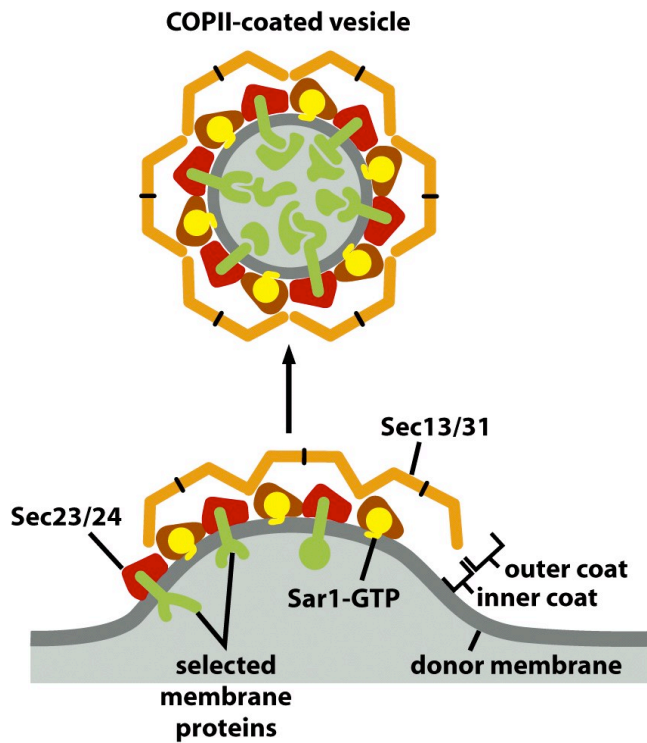
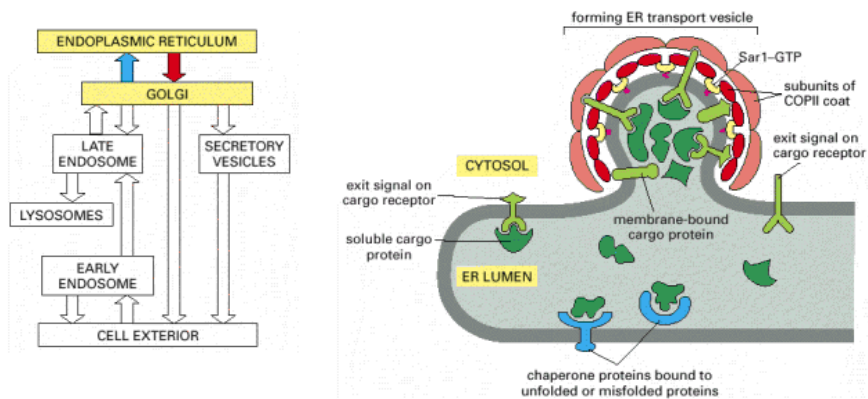
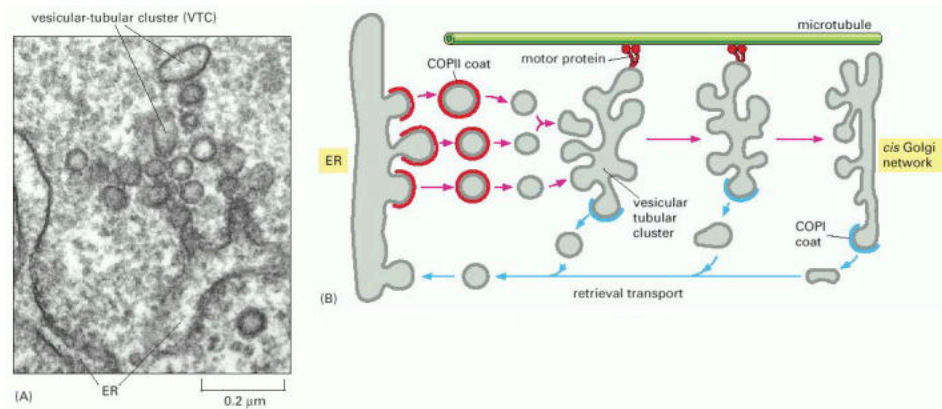


Figure 13-13d *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



Las proteínas que se mueven a través de **la ruta secretora**, son empaçadas en pequeñas vesículas de transporte **cubiertas de proteínas** (no clatrina): COPII. **Estas vesículas yeman desde regiones especializadas del RE: llamados sitios de salida, cuyas membranas carecen ribosomas adheridos.** En la mayoría de las células animales estos sitios están dispersos al azar en la red del RE.



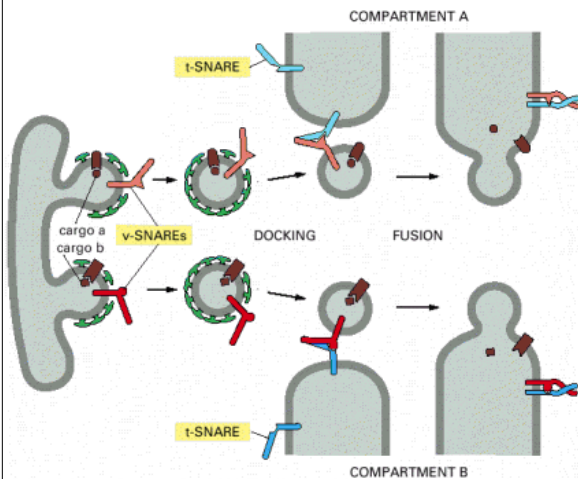
Las vesículas yemadas del RE se **funden formando estructuras llamadas agrupaciones túbulo vesiculares. Estas estructuras se movilizan hacia el Golgi cis** a través de microtúbulos y en su camino van yemando vesículas cubiertas de proteínas (no clatrina): COPII.

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

Problema:

**¿Cómo discriminar si una membrana es blanco para una vesícula?**



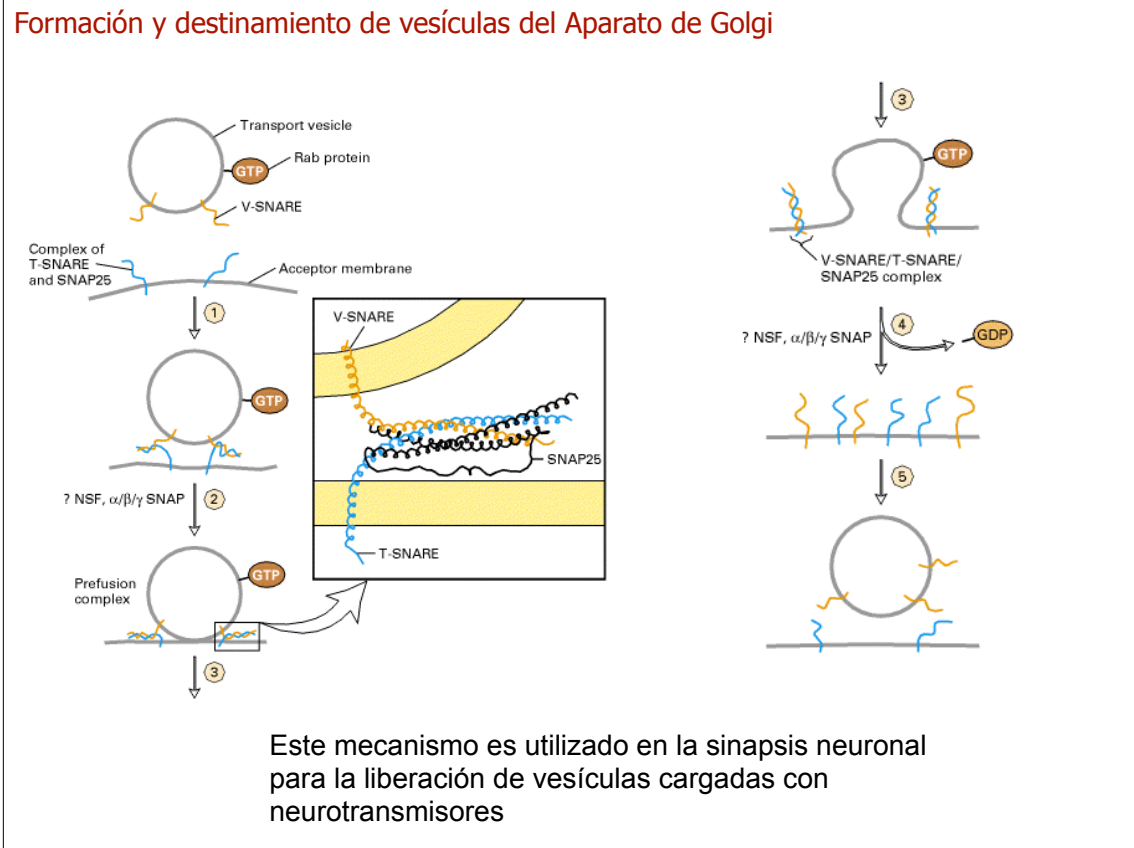
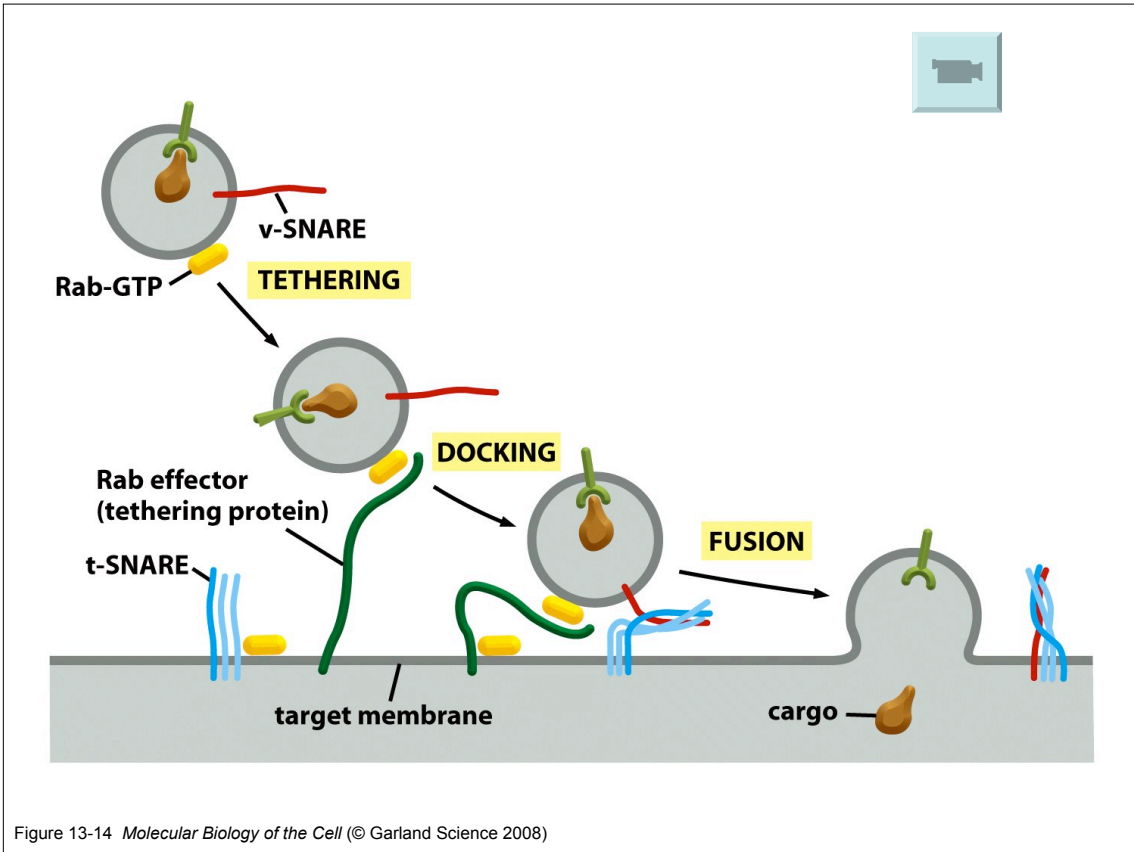
**Proteínas Rab:** GTPasas de destinación vesicular. Permiten la selección inicial de la membrana blanco al unirse a los Efectores-de-Rab, ayudando a controlar la fusión de v y t-SNAREs.

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

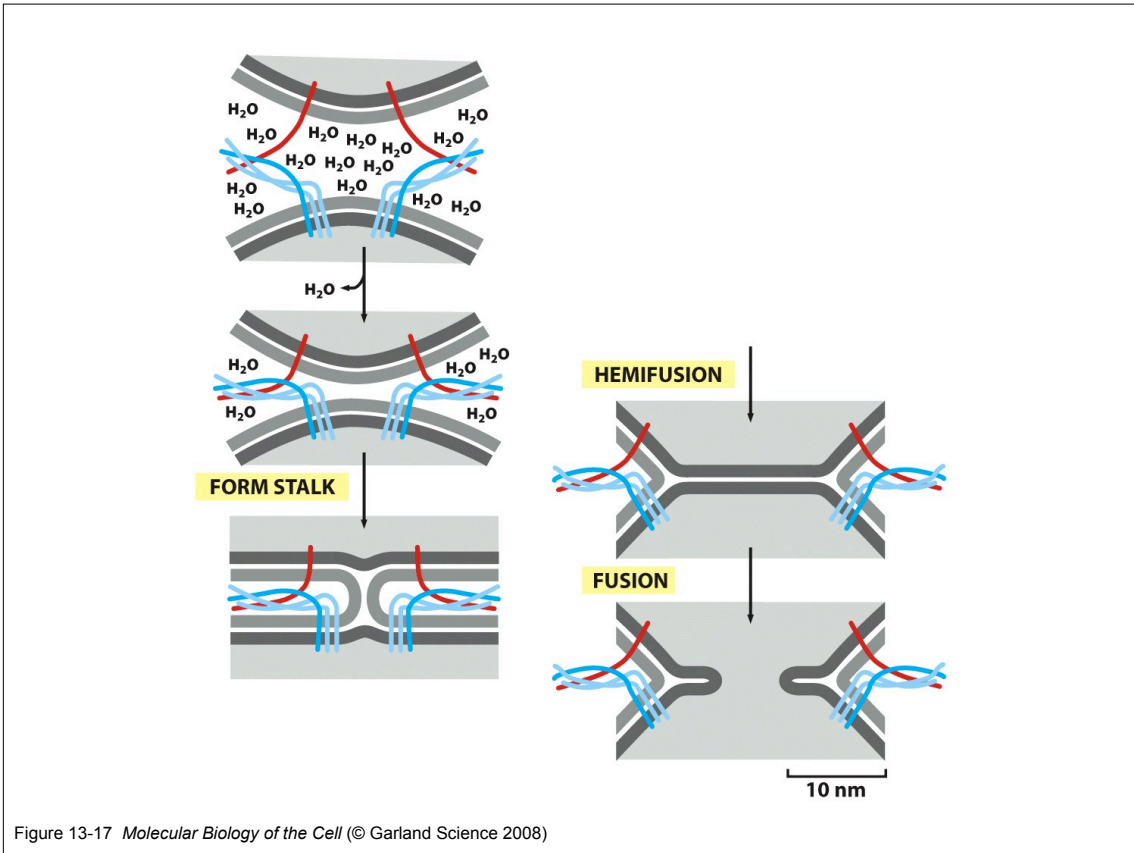
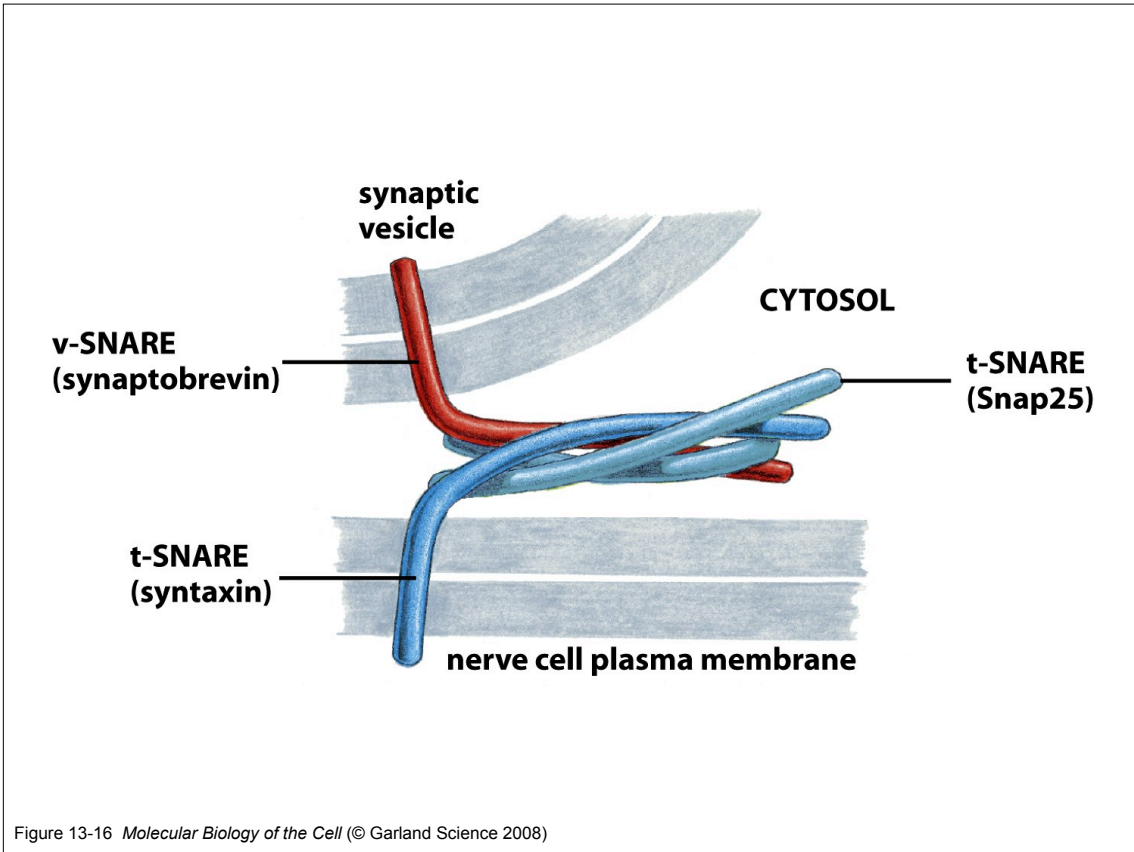
**v-SNAREs** son empacadas junto a las proteínas de cubierta durante la formación de la vesícula (membrana donante). Se unen a las **t-SNAREs** complementarias en la membrana blanco.

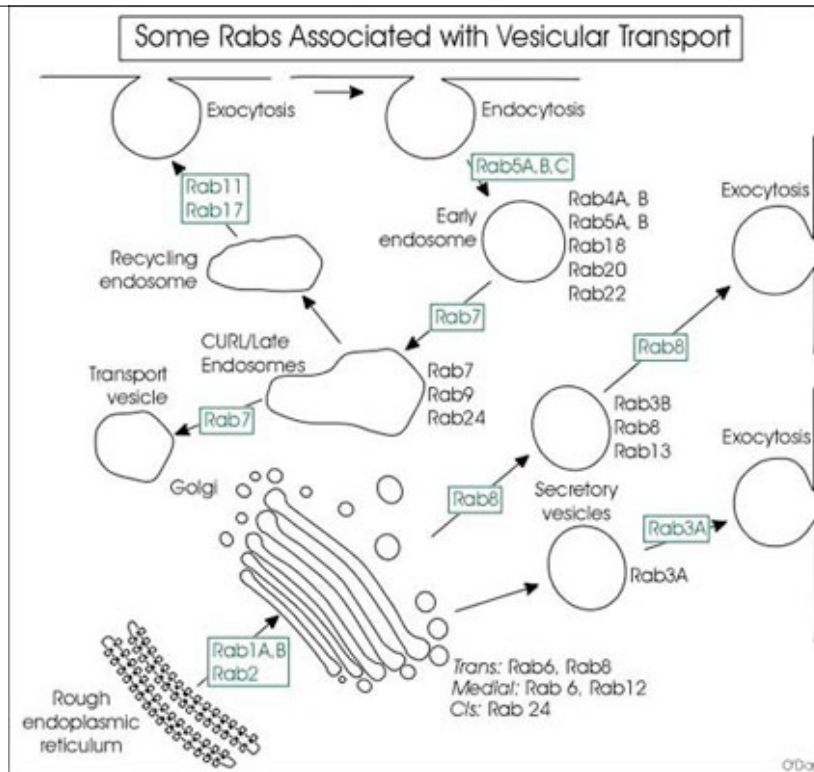
La conformación de **V y T SNAREs** permite la fusión de membranas.

SNAREs: SNAP (Soluble NSF Attachment Protein) REceptors



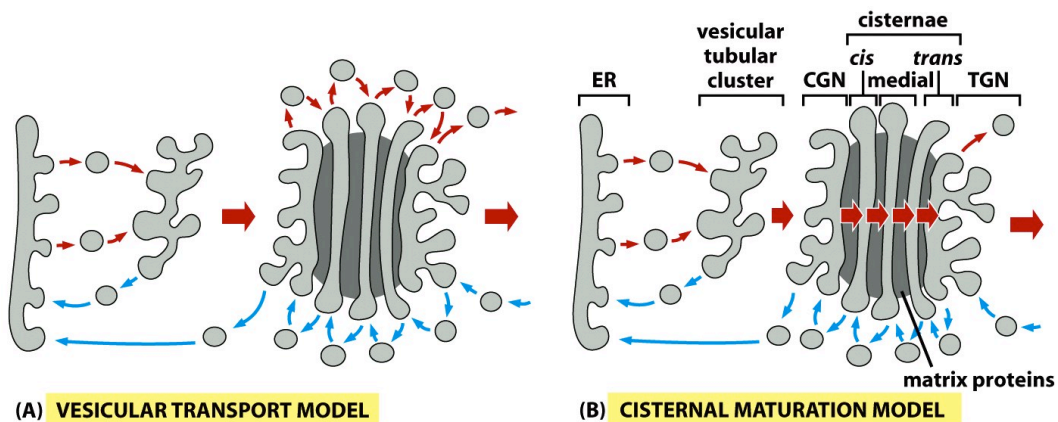






Danton H. O'Day  
University of Toronto. Mississauga

### 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 funden con el siguiente. El flujo retrógrado se haría también a través de vesículas COP-I.

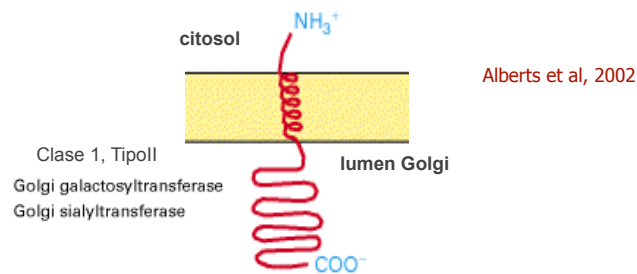
**Modelo de maduración de las cisternas:** Las cisternas son estructuras dinámicas que maduran a medida que se movilizan al través de la pila. La compartimentalización de las enzimas del Golgi se haría por flujo retrógrado en vesículas COP-I.

## 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.

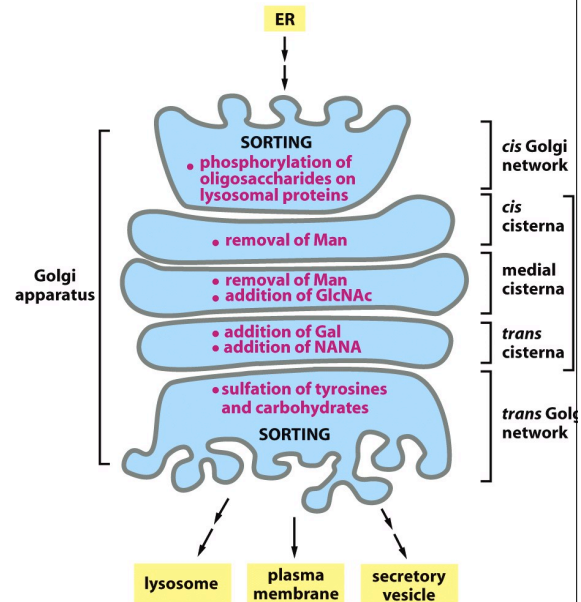


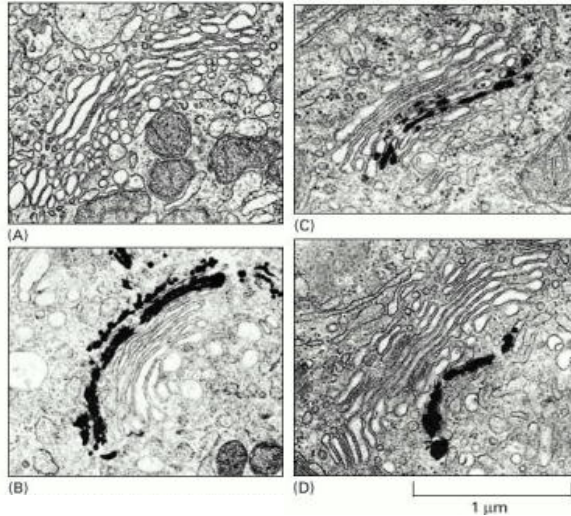
## Compartimentalización funcional del Aparato de Golgi .

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

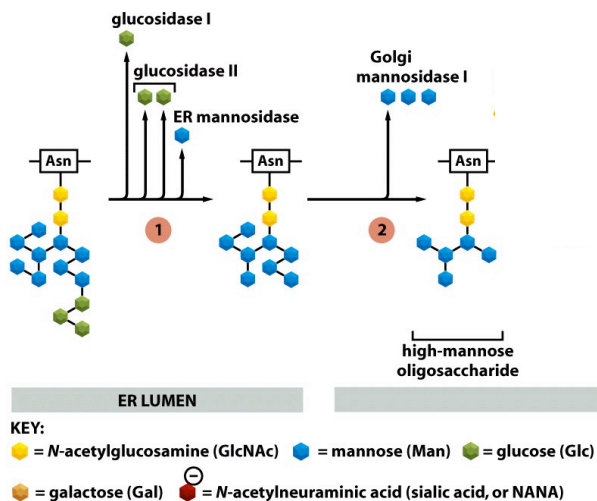
(A) No teñido, (B) teñido con  $\text{OsO}_4$ , reducido preferencialmente en el Golgi cis. (C) tinción de la nucleósido difosfatasa en el Golgi trans y (D) fosfatasa ácida en la red Golgi trans.

Alberts et al, 2002

### 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).





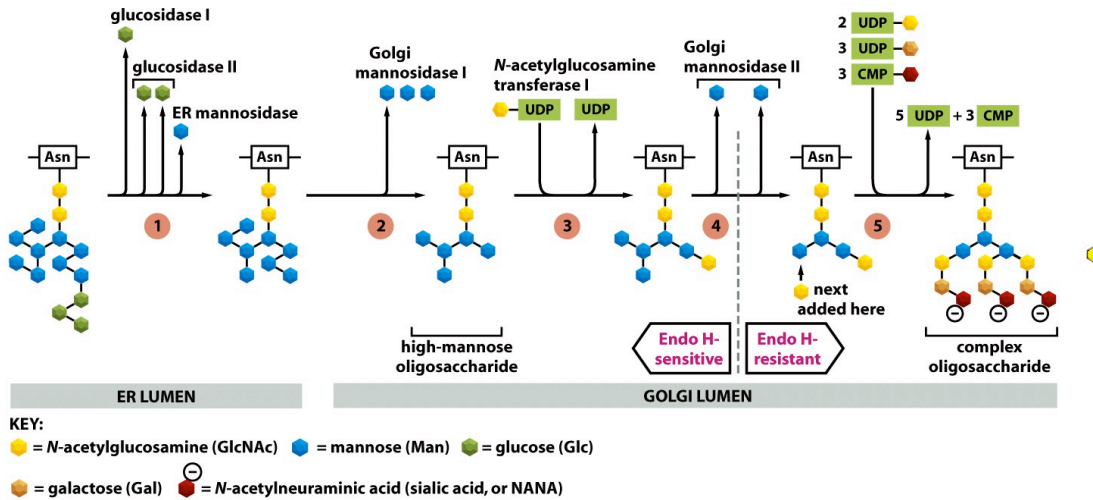
## Glicosilación de proteínas secretadas o destinadas a la membrana plasmática

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)

Finalmente se adicionan al **oligosacárido tres residuos galactosa** y **tres ácido siálico**.



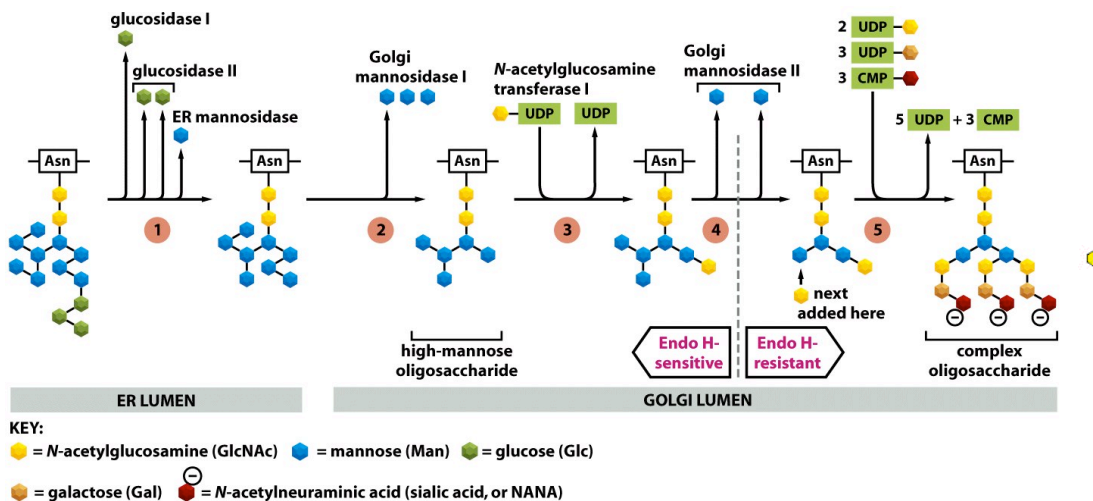
## Glicosilación de proteínas secretadas o destinadas a la membrana plasmática

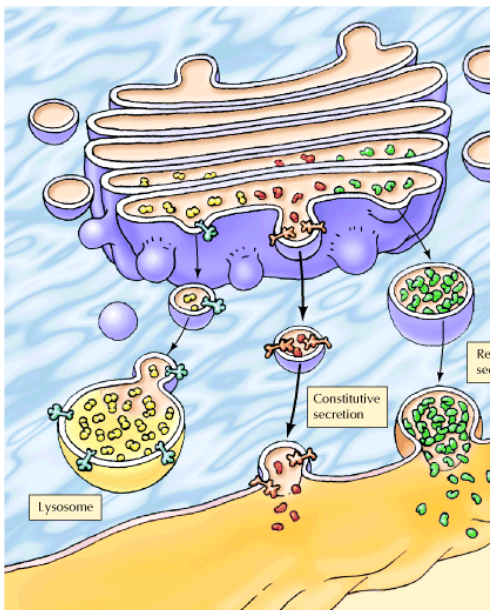
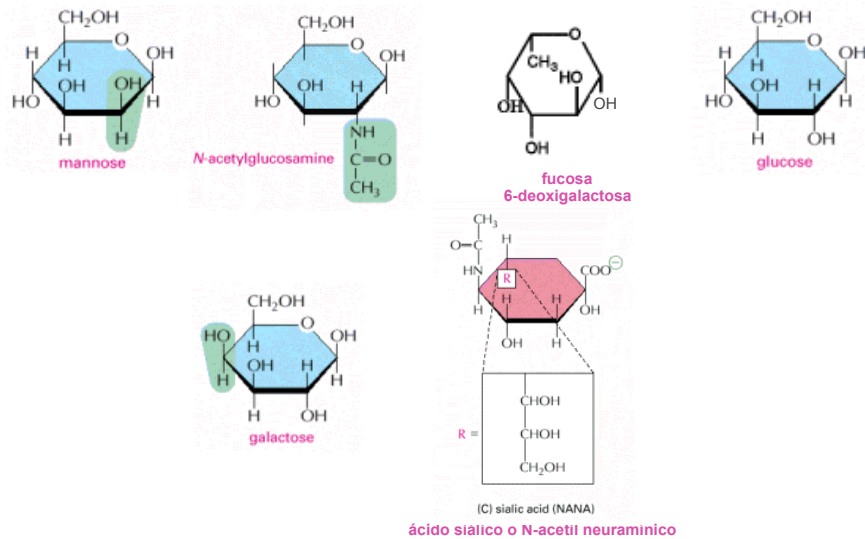
Los oligosacáridos de unión-N son procesados en una secuencia ordenada de reacciones.

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**.





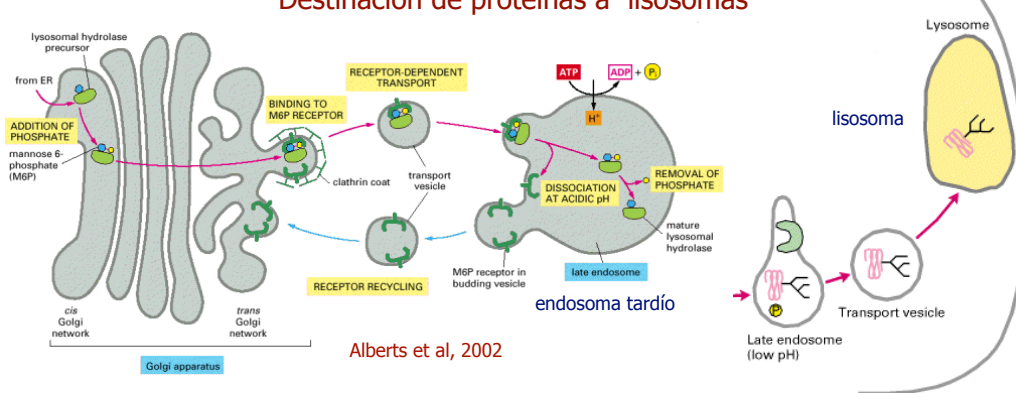
### Transporte desde el aparato de Golgi

Las proteínas que salen por la red Golgi trans en vesículas de transporte son destinadas a la superficie celular u a otro compartimiento.

En ausencia de señales específicas de destinación, las proteínas son llevadas a la MP por secreción constitutiva (incorporación de proteínas y fosfolípidos a las membranas).

Alternativamente, **las proteínas pueden** desviarse de la vía de secreción constitutiva y **ser destinadas a otros organelos (lisosomas)** y en ciertas células a una **secreción regulada** (i.e. hormonas, enzimas, etc.).

## Destinación de proteínas a lisosomas



Las proteínas con el marcador **manosa 6-fosfato (M6P)** son reconocidas por proteínas receptoras presentes en las membranas de la red trans Golgi y transportadas a lisosomas vía endosomas tardíos, en vesículas de transporte recubiertas de la proteína clatrina.

Las proteínas receptor M6P se unen a las proteínas (hidrolasas) lisosomales en el lado luminal de la membrana y a adaptinas de cubiertas de clatrina en formación por el lado citosólico. Esto ayuda a almacenar las hidrolasas en vesículas de clatrina que yeman de la red trans Golgi.

## Modificación de proteínas destinadas a lisosomas

Las proteínas destinadas a lisosomas son reconocidas y modificadas por la adición al oligosacárido de grupos fosfato en la posición C6 de residuos manosa.

Primero se adiciona **N-acetilglucosamina fosfato a residuos manosa en el Golgi cis**. La enzima reconoce determinantes estructurales presentes en esas proteínas (i.e. hidrolasas lisosomales) no presentes en las proteínas secretadas o en las destinadas a membrana.

Los grupos N-acetilglucosamina son luego removidos, dejando grupos **manosa-6-fosfato (M6P)** en el oligosacárido. Esta modificación impide la remoción de estos residuos durante el procesamiento posterior.

