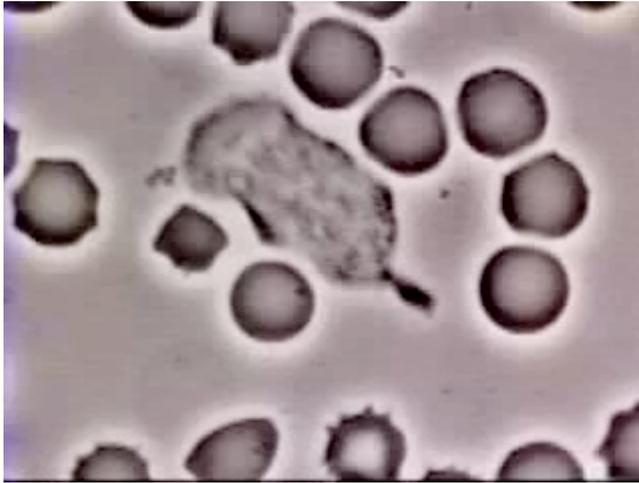
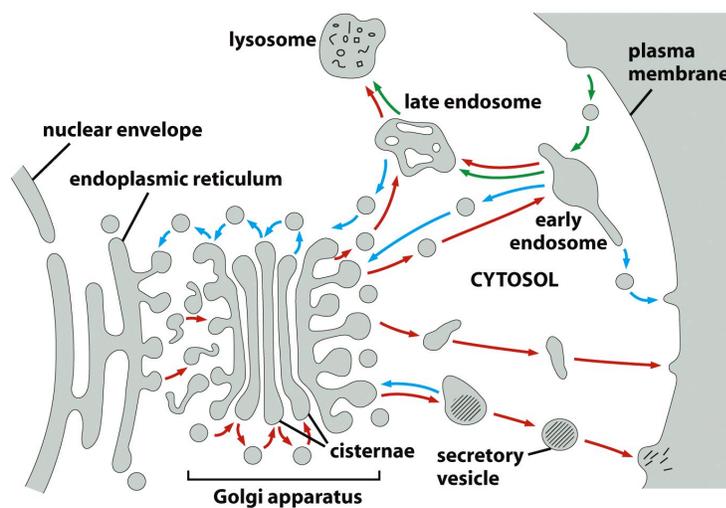


Entrada a la Célula: (endocitosis)



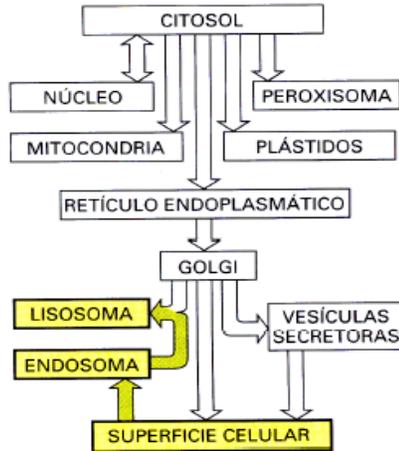
Alejandro D. Roth
2011

1



- 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)

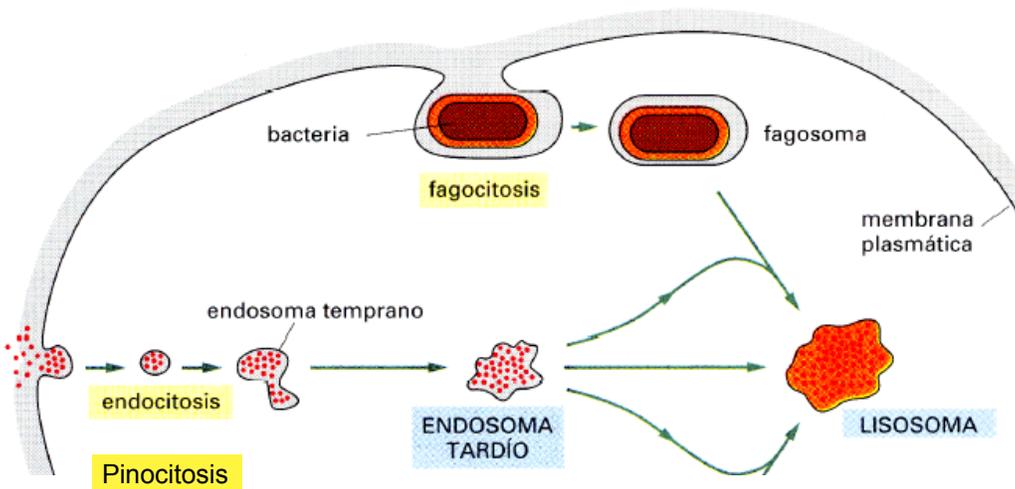
**Transporte desde la membrana Plasmática vía Endosomas:
Endocitosis**



ENDOCITOSIS: Proceso mediante el cual las células incorporan macromoléculas, sustancias particuladas e incluso otras células mediante un recubrimiento progresivo con una fracción de la membrana plasmática. Este recubrimiento da origen a una vesícula endocítica.

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

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



Fagocitosis:

Pinocitosis:

Endocitosis mediada por Receptores:



Fagocitosis:

- Mecanismo de ENDOCITOSIS activa que utiliza la formación de pseudopodos para la formación de una gran vesícula endocítica: el Fagosoma
- El diámetro del fagosoma está determinado por la partícula que ingresa.
- Realizado por células de vida libre (protozoos) o células fagocitadoras profesionales (macrófagos y neutrófilos)

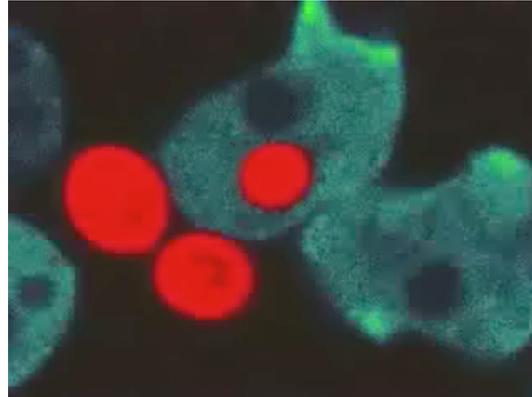
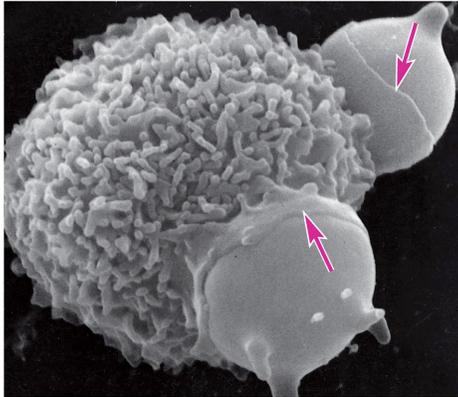


Figure 13-46 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

5 μm

5

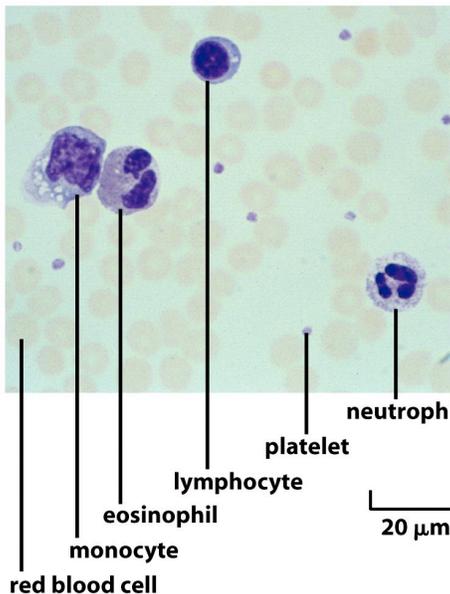
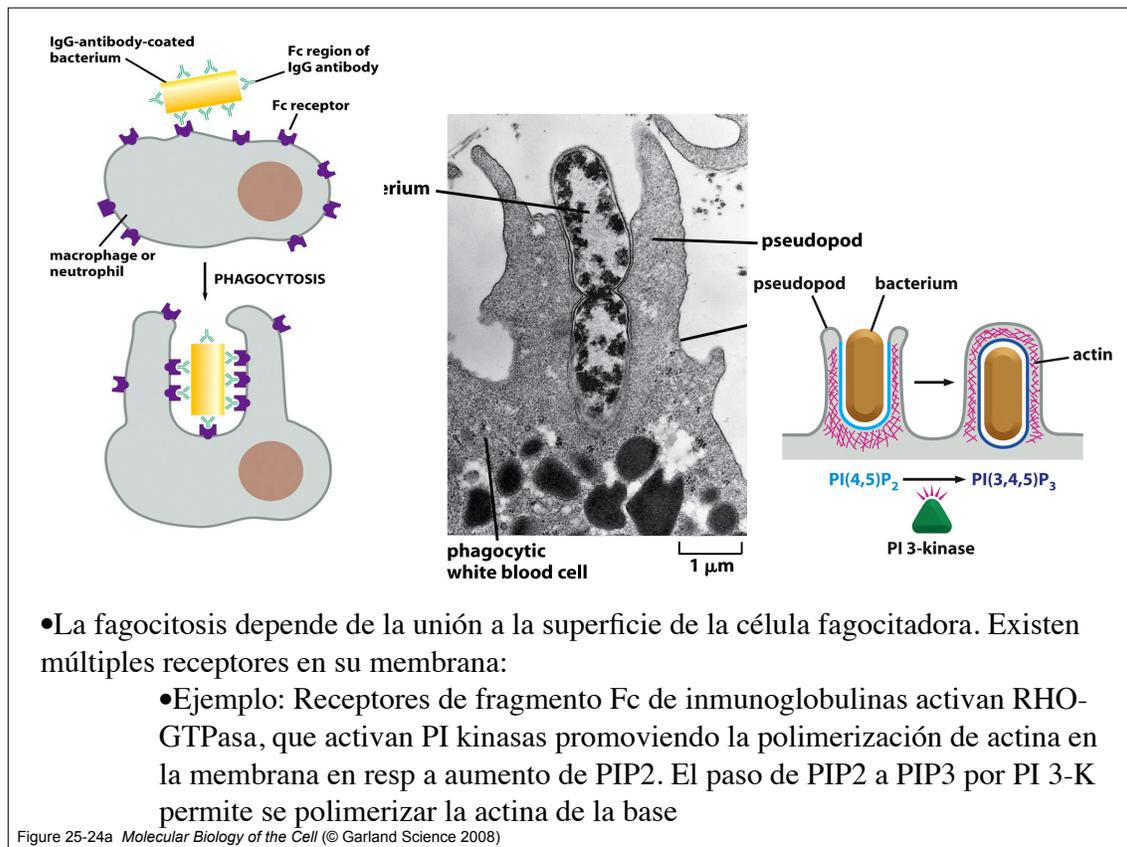
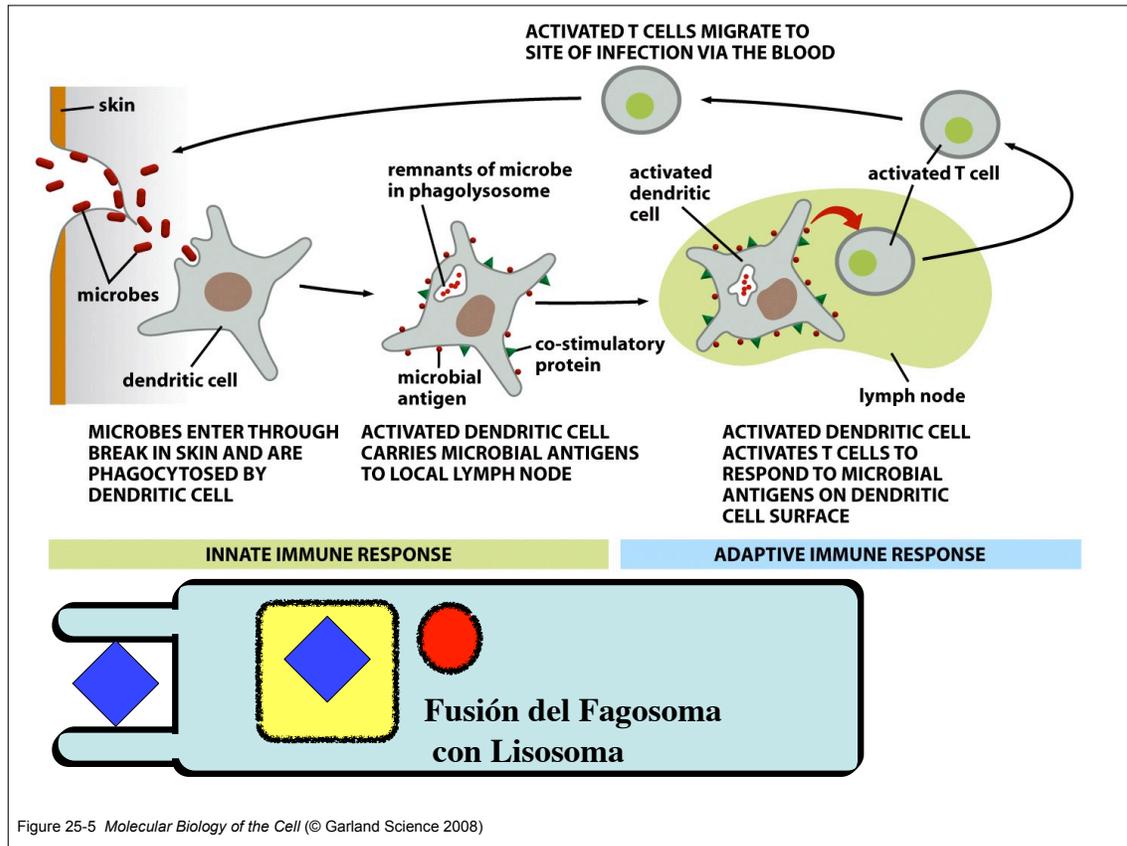


Table 23-1 Blood Cells

TYPE OF CELL	MAIN FUNCTIONS	TYPICAL CONCENTRATION IN HUMAN BLOOD (CELLS/LITER)
Red blood cells (erythrocytes)	transport O_2 and CO_2	5×10^{12}
White blood cells (leucocytes)		
<i>Granulocytes</i>		
Neutrophils (polymorphonuclear leucocytes)	phagocytose and destroy invading bacteria	5×10^9
Eosinophils	destroy larger parasites and modulate allergic inflammatory responses	2×10^8
Basophils	release histamine (and in some species serotonin) in certain immune reactions	4×10^7
<i>Monocytes</i>	become tissue macrophages, which phagocytose and digest invading microorganisms and foreign bodies as well as damaged senescent cells	4×10^8
<i>Lymphocytes</i>		
B cells	make antibodies	2×10^9
T cells	kill virus-infected cells and regulate activities of other leucocytes	1×10^9
Natural killer (NK) cells	kill virus-infected cells and some tumor cells	1×10^8
Platelets (cell fragments arising from megakaryocytes in bone marrow)	initiate blood clotting	3×10^{11}

Humans contain about 5 liters of blood, accounting for 7% of body weight. Red blood cells constitute about 45% of this volume and white blood cells about 1%, the rest being the liquid blood plasma.

Figure 23-37e *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



Endocitosis

- Pinocitosis constitutiva
 - Proceso constitutivo, en algunas células (macrófagos) constituye un recambio del 3% de la membrana por minuto.
 - Se origina de regiones denominadas “clatrin coated pits”, que dan origen a vesículas recubiertas de clatrina y en *caveolas* regiones de membrana con una composición lipídica diferente dada por Caveolina (proteína específica de caveolas)

9

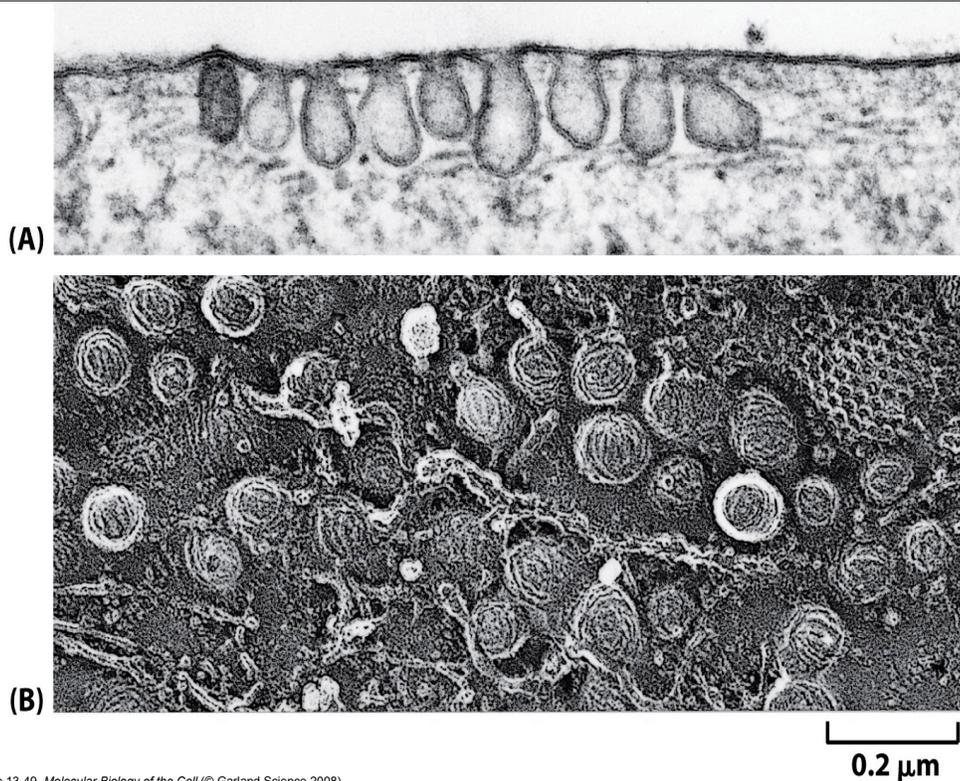
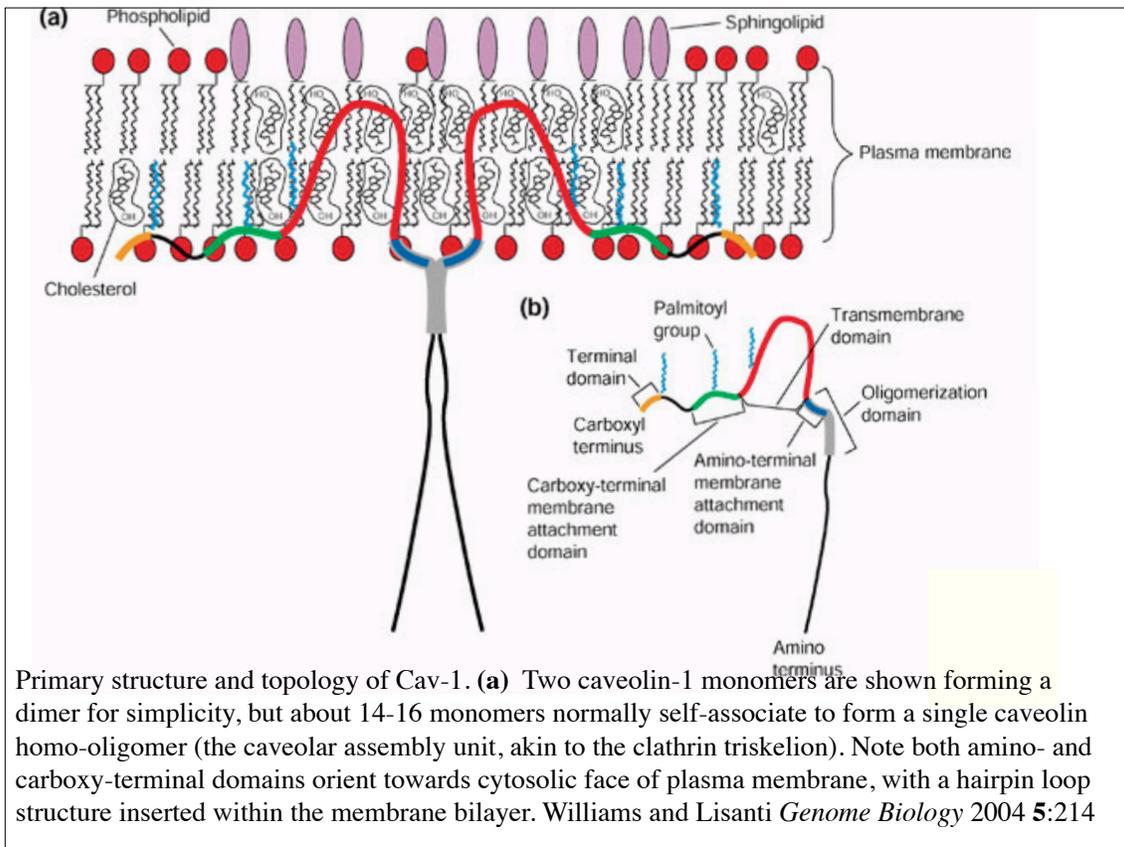
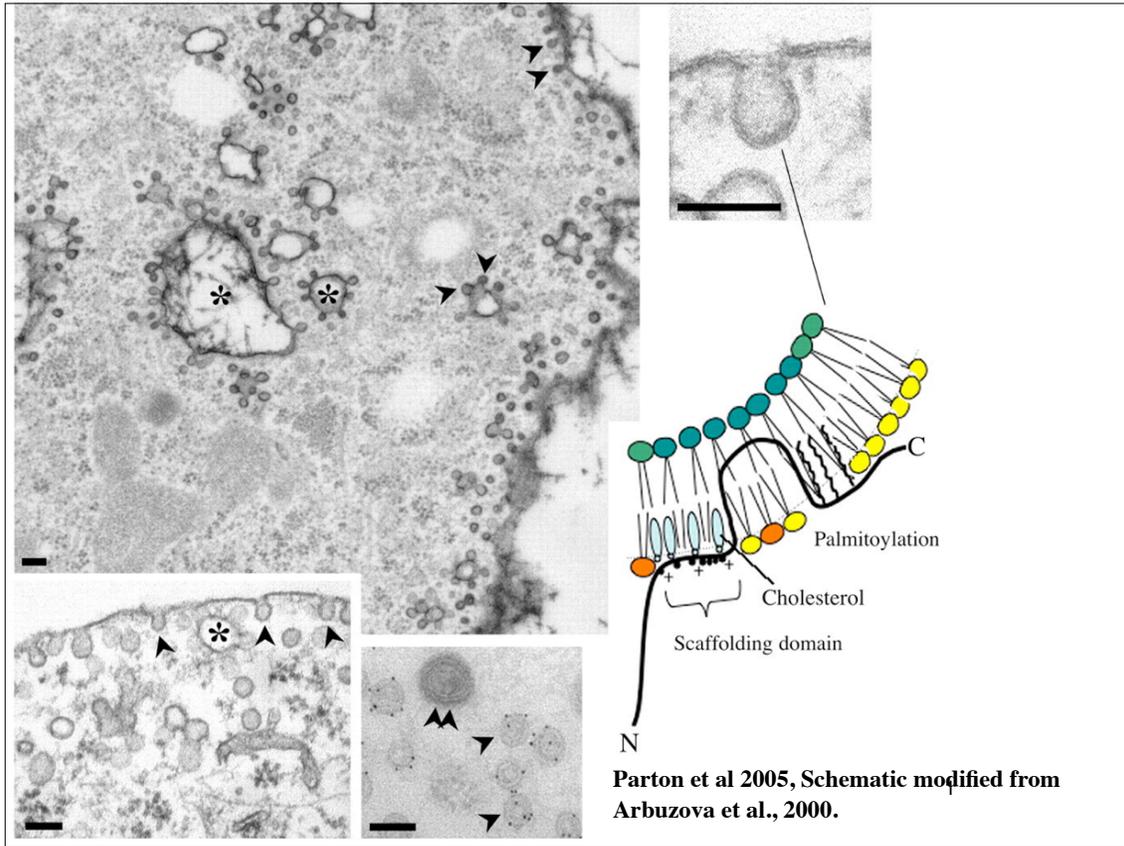


Figure 13-49 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)



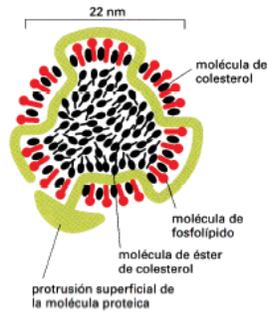


Figura 13-29 Lipoproteína de baja densidad (LDL). Cada partícula esférica tiene una masa de 3×10^6 daltons. En la región central contiene alrededor de 1500 moléculas de ésteres de colesterol esterificado con ácidos grasos de cadena larga. Esta región central está rodeada de una monocapa lipídica de unas 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)

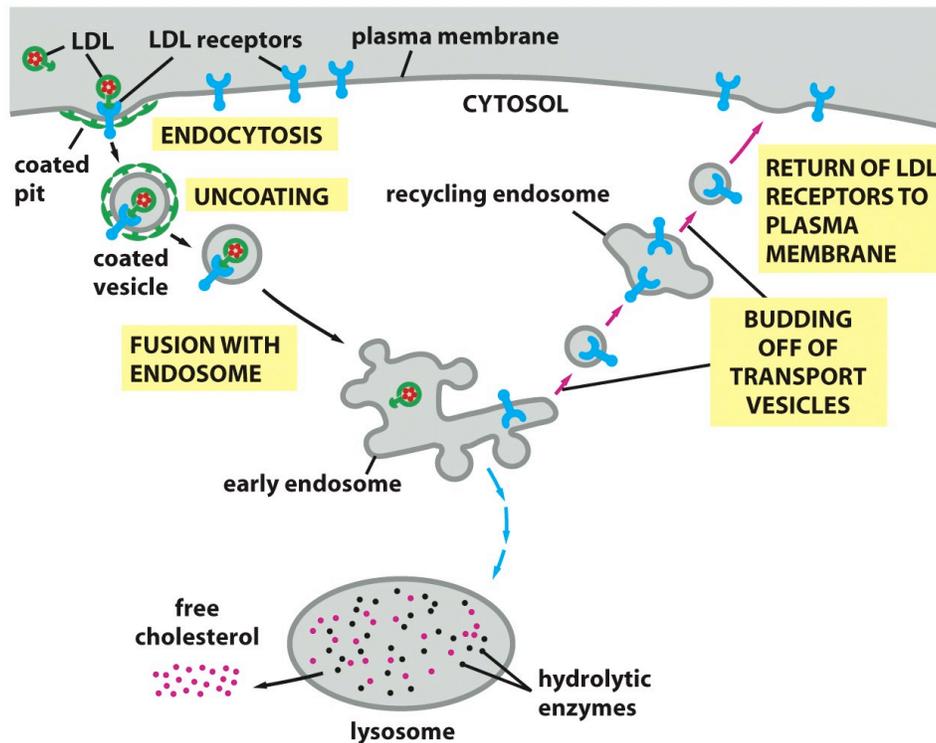
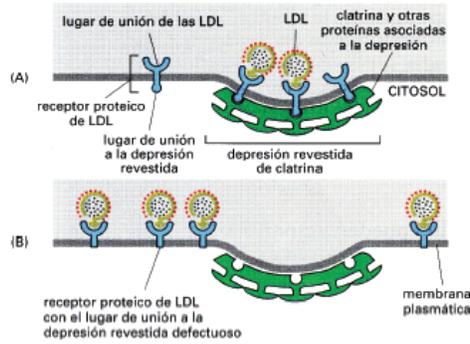
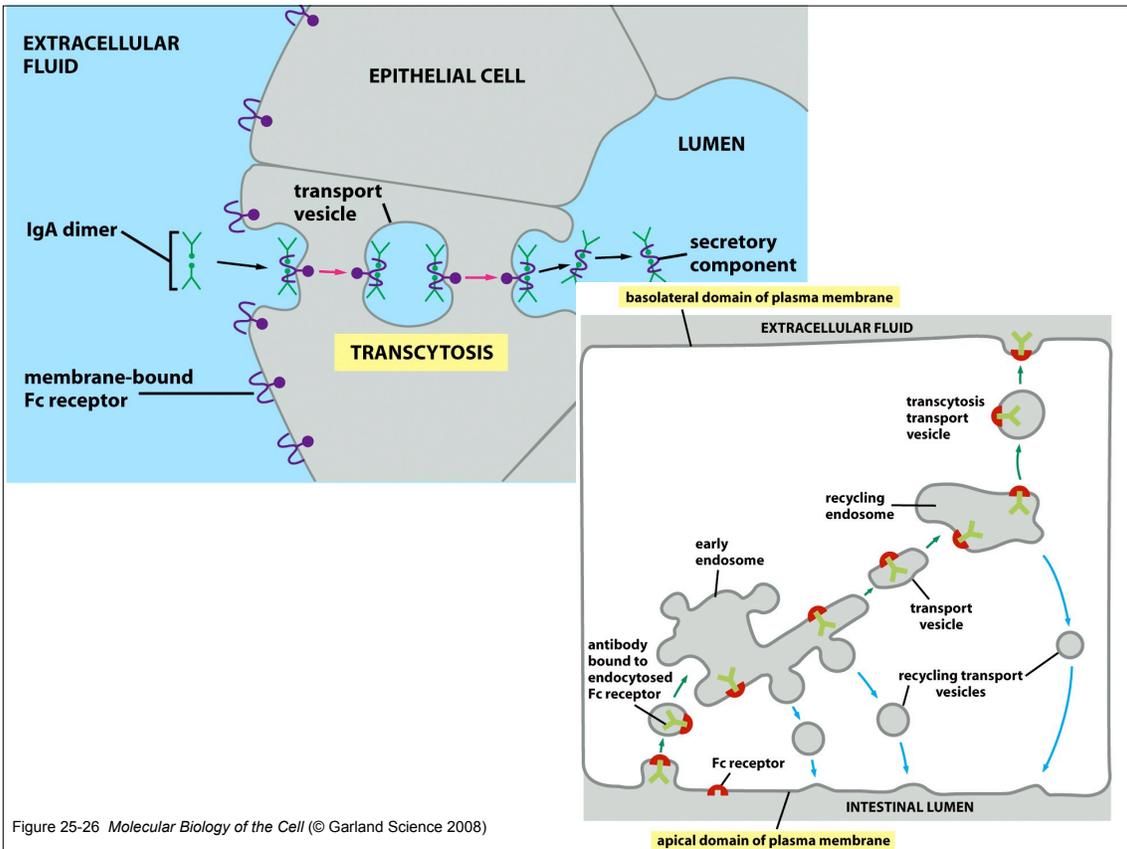
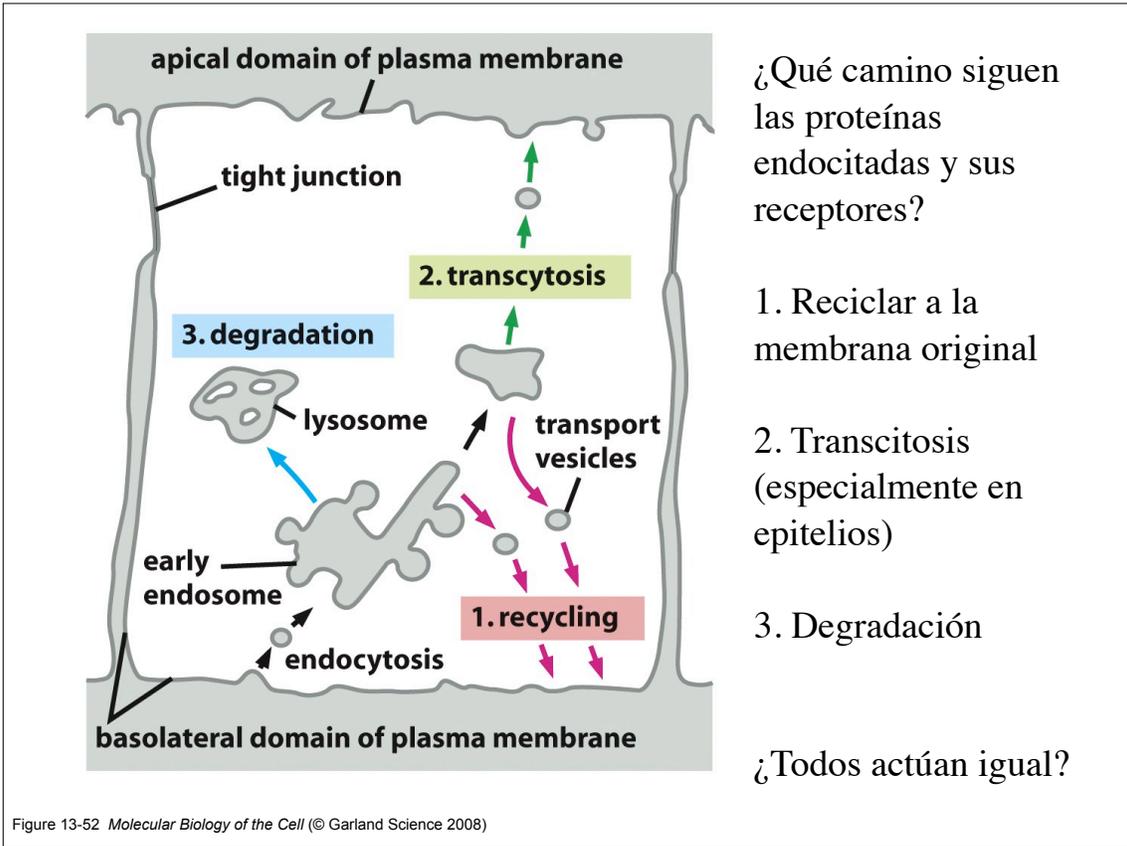
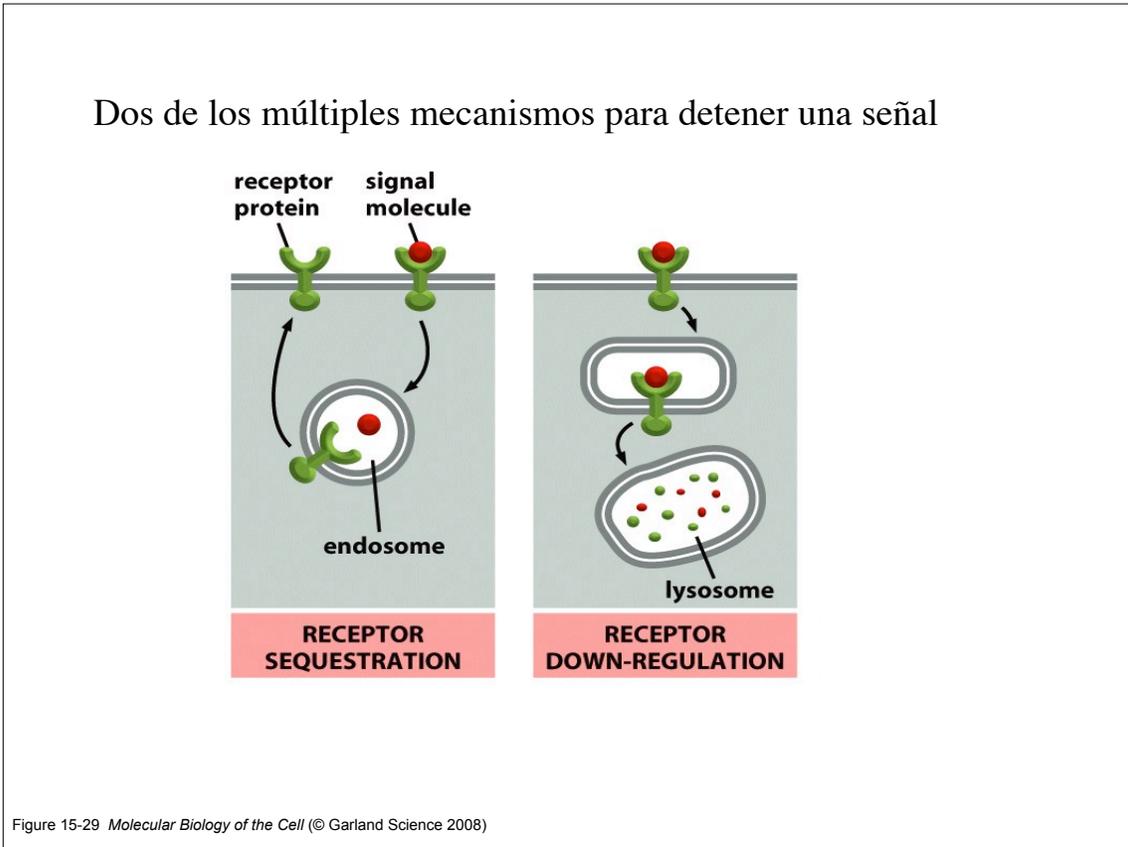
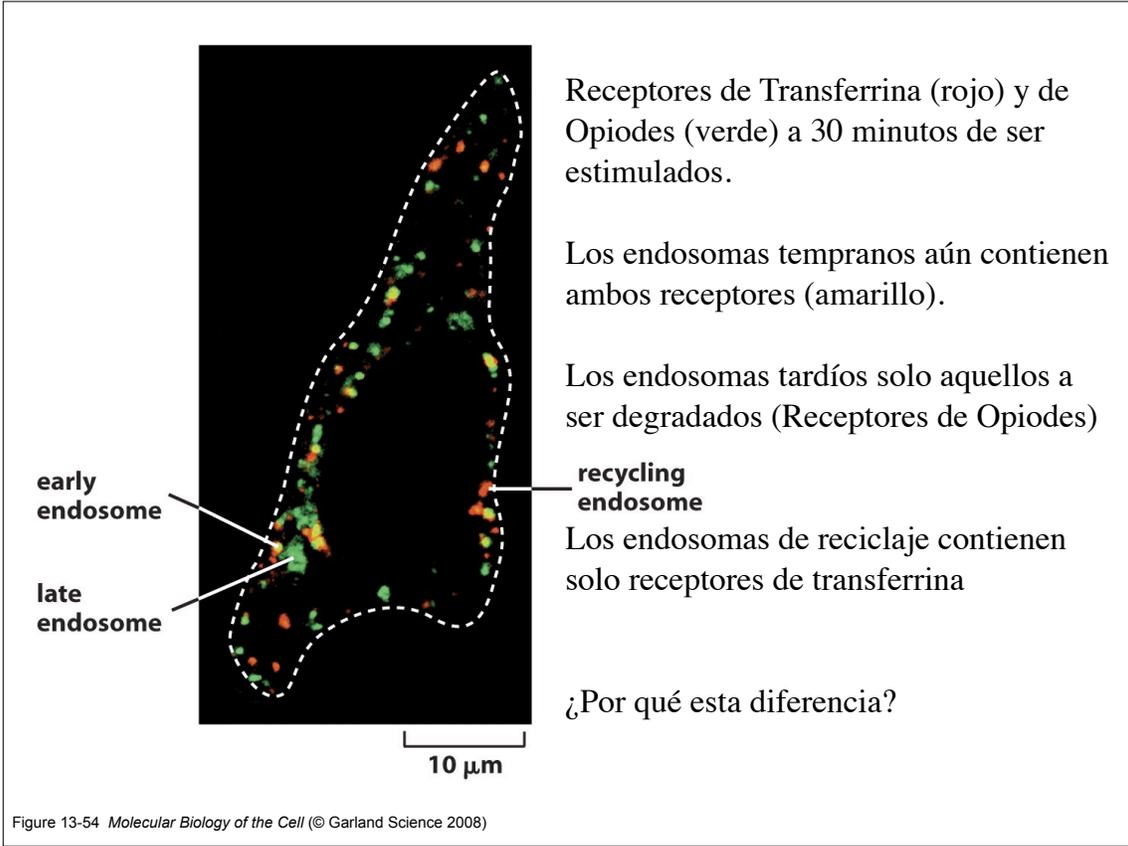
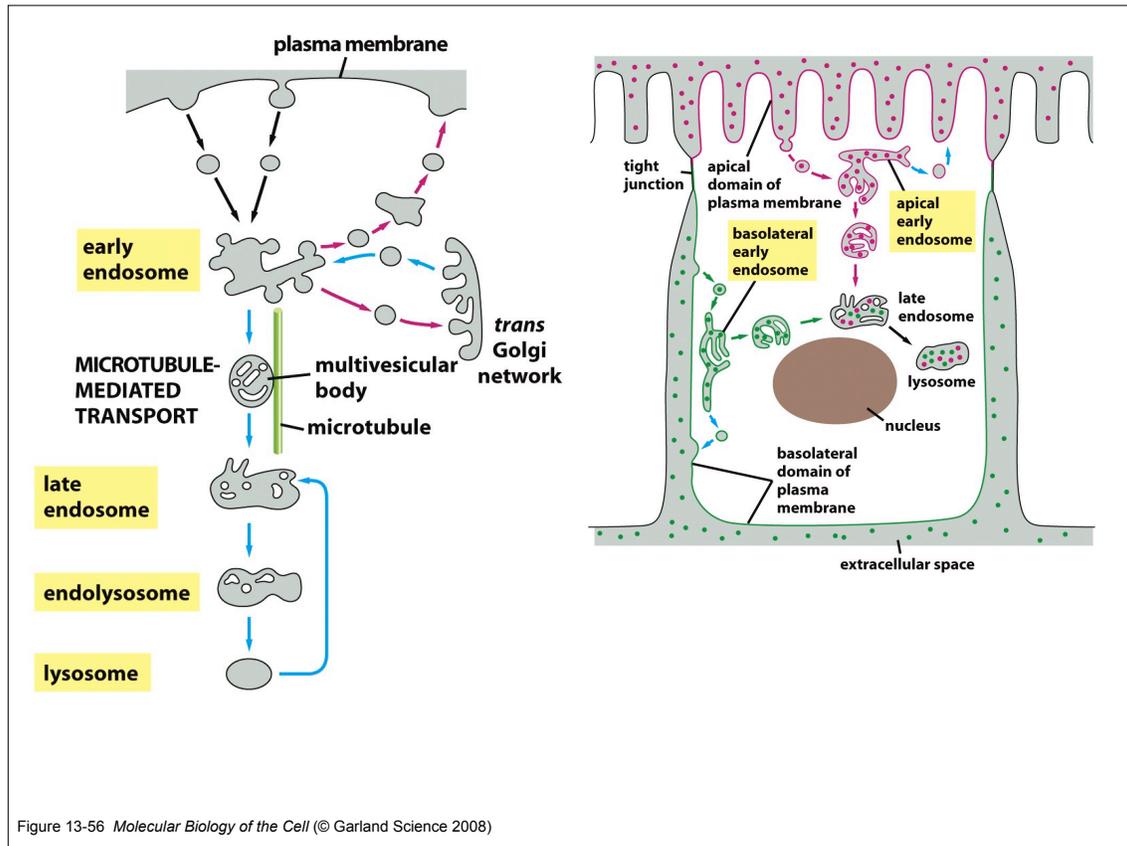


Figure 13-53 *Molecular Biology of the Cell* © Garland Science 2008)







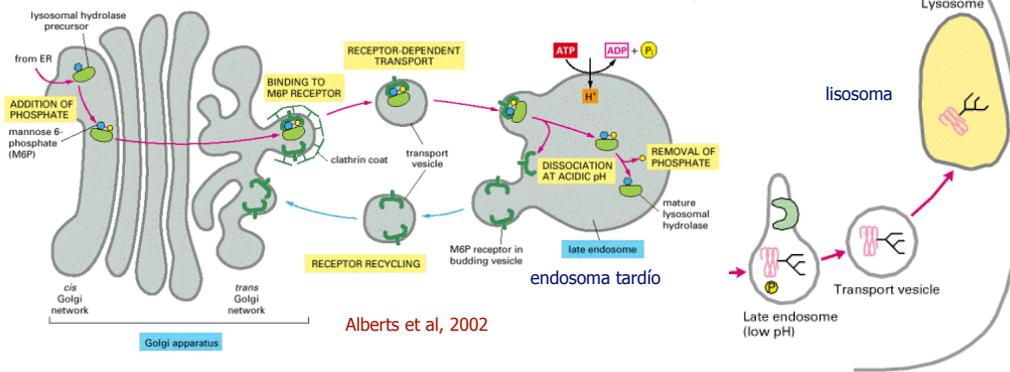
Lisosomas y Vacuolas

- Organelos con una sola membrana y con forma heterogénea
- Son el principal sistema de degradación de las células de:
 - Nutrientes incorporados por endocitosis
 - Componentes celulares para ser reciclados



- pH ácido generado mediante bomba de protones homóloga a F_0F_1 .
- 40 enzimas Hidrolasas: Hidrolasas ácidas (proteasas, lipasas, nucleasas, glicosidasas y sulfatasas)
- La actividad de estas enzimas a pH 7.2 es limitado. ¿Sistema de seguridad?
- Formadas a partir de la maduración del endosoma tardío
- Proteínas residentes tienen señal de destinamiento dependiente de glicosilación.

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.

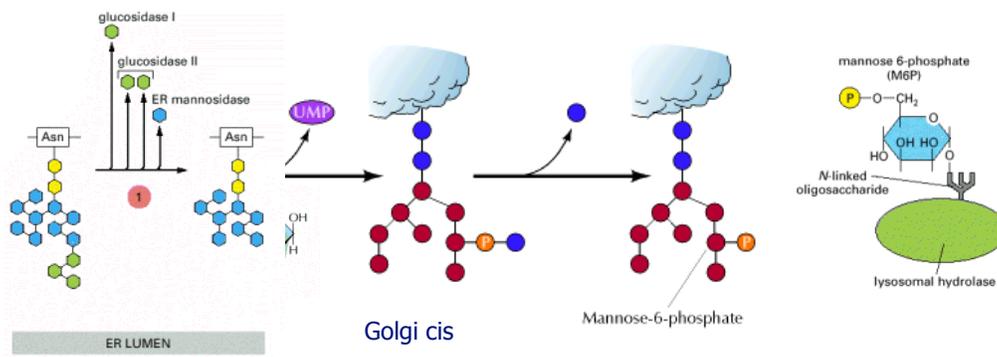
Modificación de proteínas destinadas a lisosomas

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**.

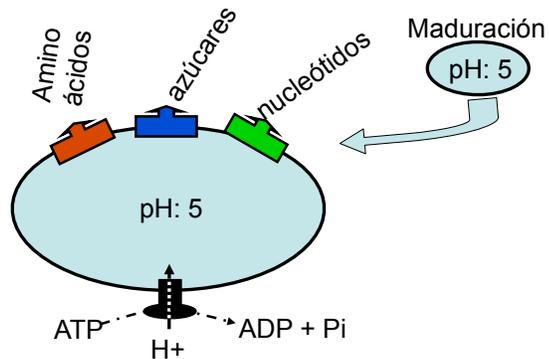
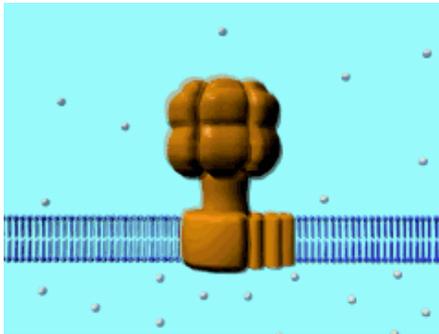
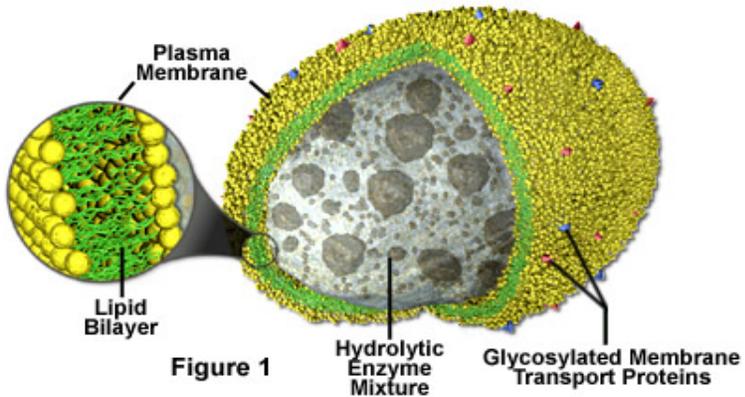
La enzima reconoce determinantes estructurales presentes en esas proteínas (i.e. hidrolasas lisosomales) no presentes en las proteínas secretadas o en las destinadas a membrana.

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.



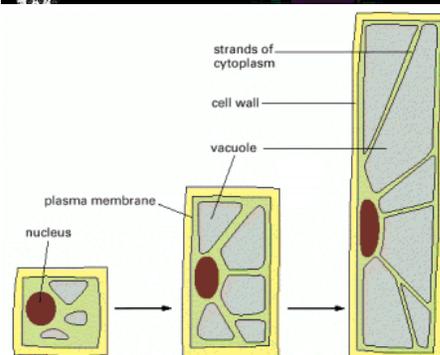
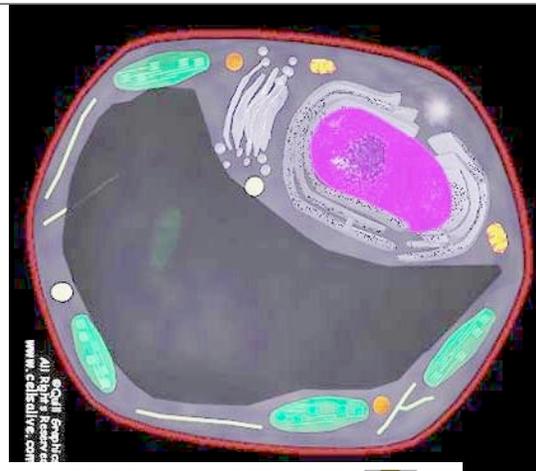
0.2 a 0.5 μm

Anatomy of the Lysosome

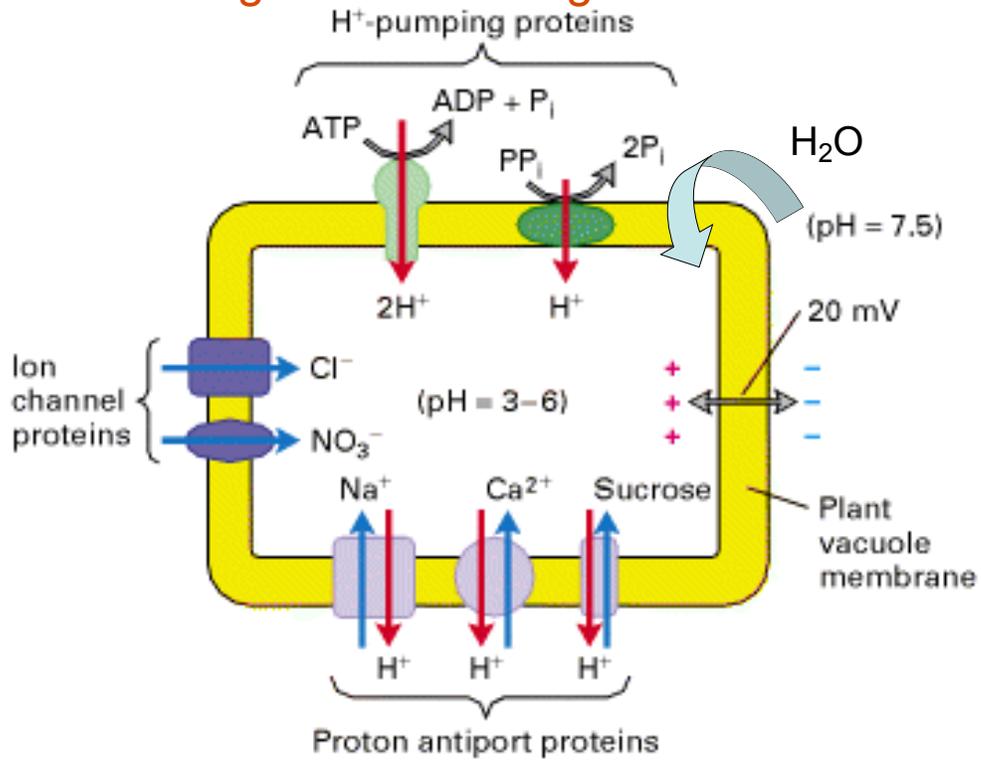


Vacuolas

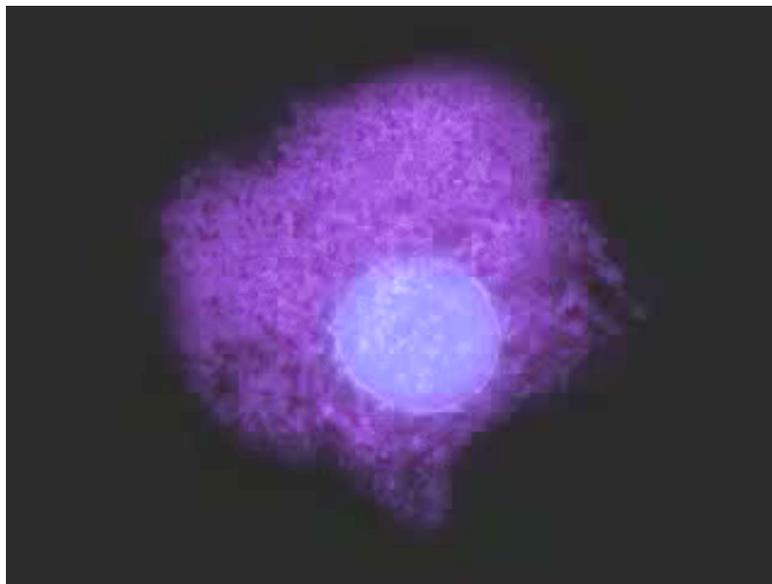
- Lisosomas multifuncionales
- Por convención, la membrana se denomina tonoplasto.
- Mantienen presión de turgor contra la pared celular. Pueden llegar a representar el 95% del volumen celular.
- Almacenaje de H₂O y diversos químicos. Puede almacenar desechos insolubles.
- Las células vegetales utilizan la presión de turgor para crecer:
 - Reblandecimiento localizado de la pared celular inducido por hormonas,
 - Expansión de la vacuola
 - Compresión del citoplasma.



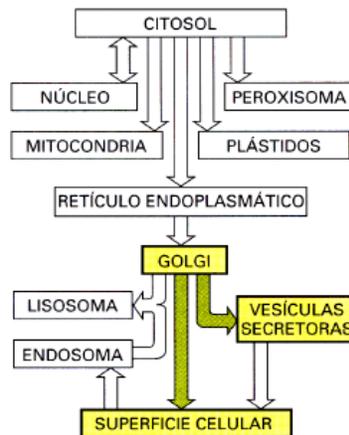
Vacuolas: regulación del turgor



Exocitosis

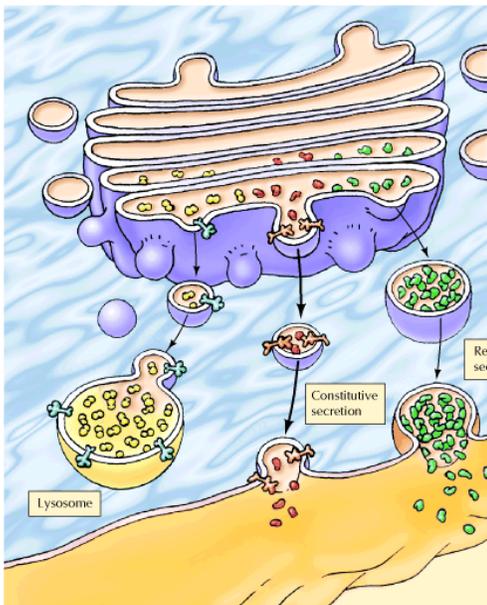


Transporte desde el Trans Golgi hacia la Superficie Celular: Exocitosis



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.



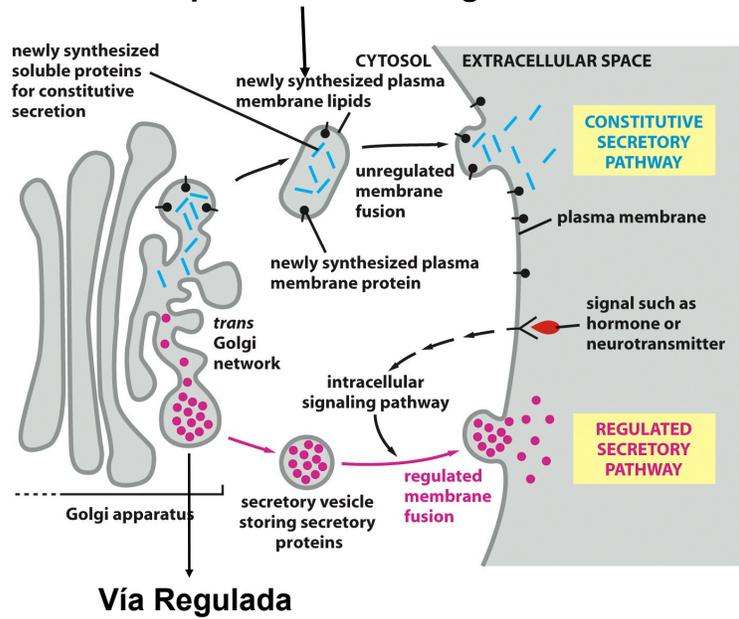
Transporte desde el aparato de Golgi

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

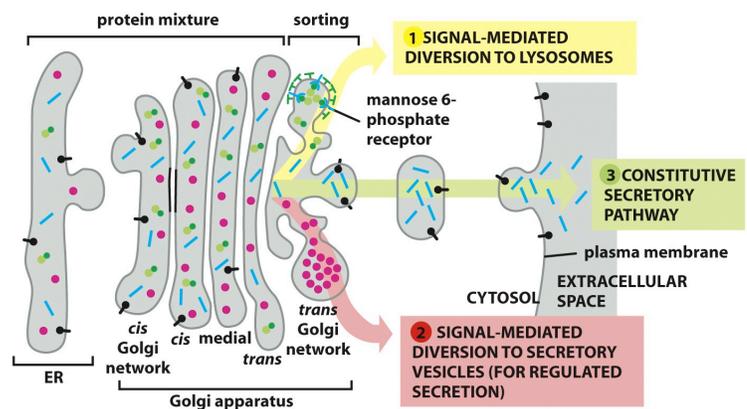
En ausencia de señales específicas de destinación, las proteínas son llevadas a la MP por secreción constitutiva (incorporación de proteínas y fosfolípidos a las membranas).

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.).

Ruta por defecto no regulada.



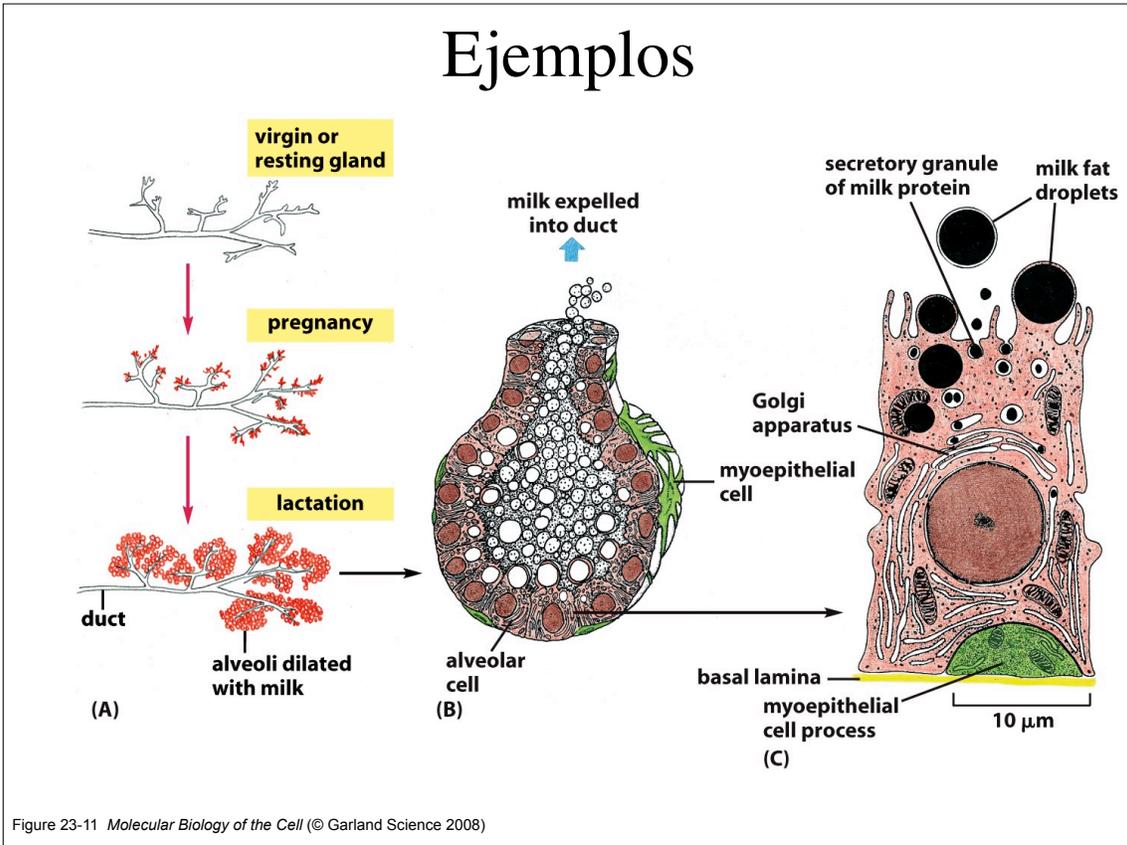
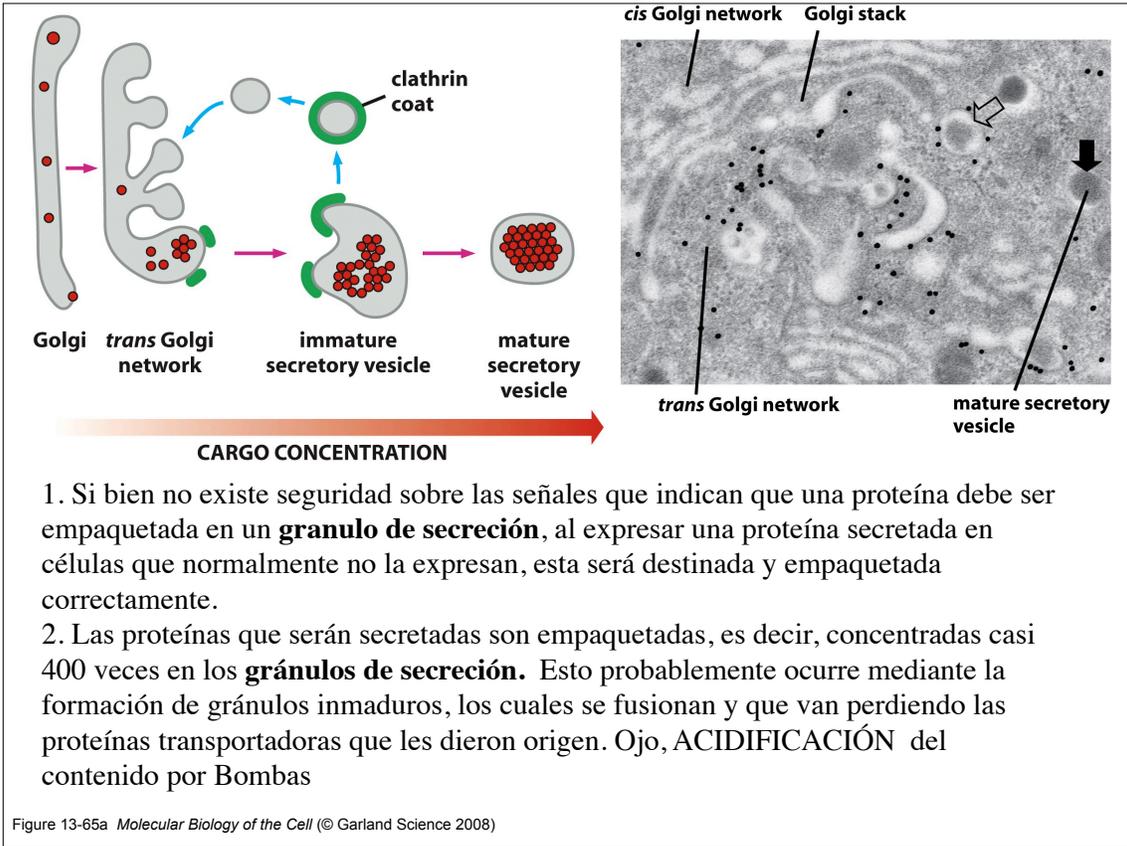
Vía Regulada

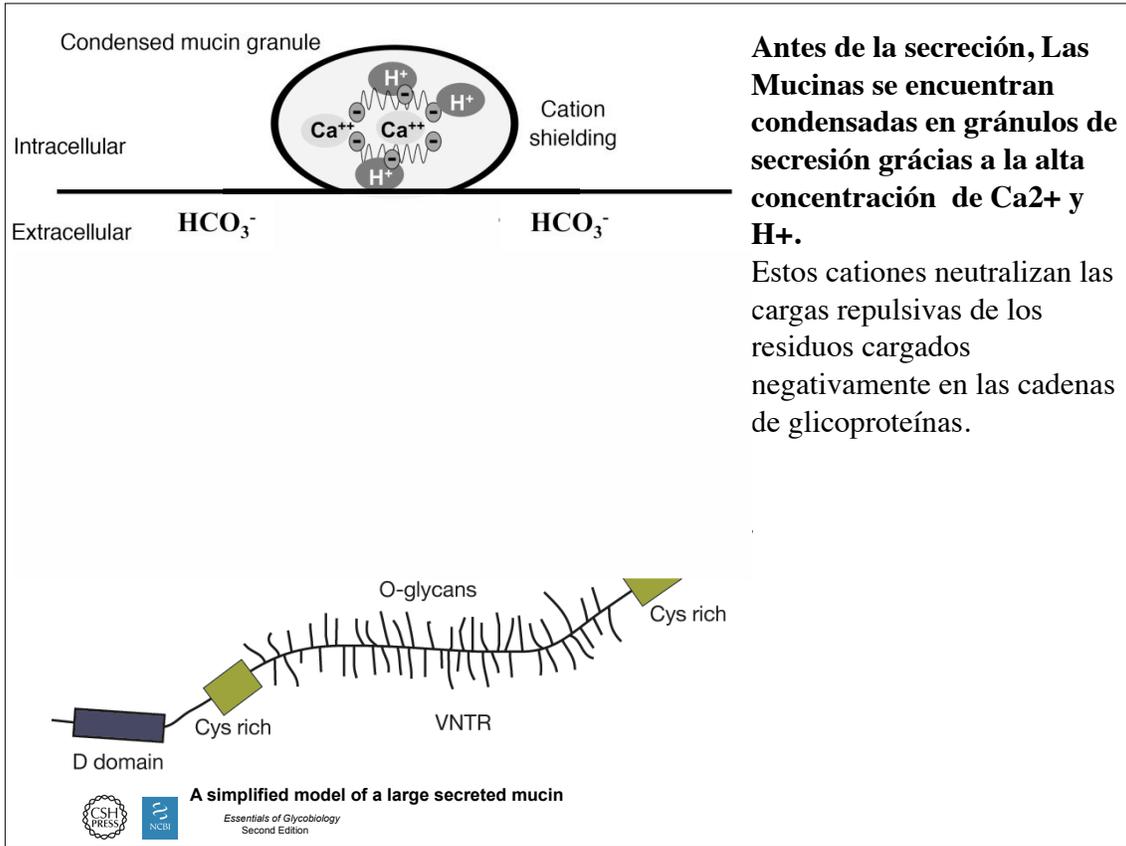


Liberación del producto por Exocitosis.
 Por señal, ejemplo, los neurotransmisores se liberan por un cambio en el potencial de acción (estímulo eléctrico).

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

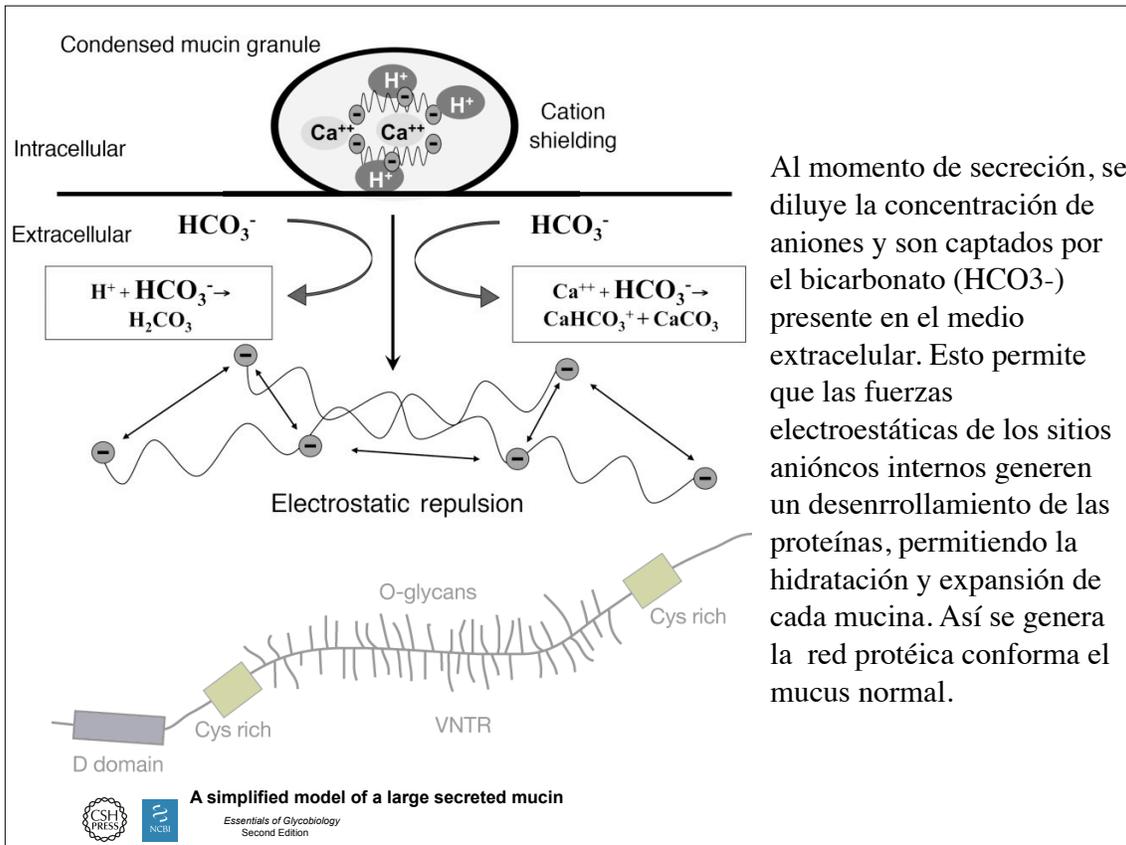
Endocitosis existe a la par de la Exocitosis





Antes de la secreción, Las Mucinas se encuentran condensadas en gránulos de secreción gracias a la alta concentración de Ca^{2+} y H^+ .

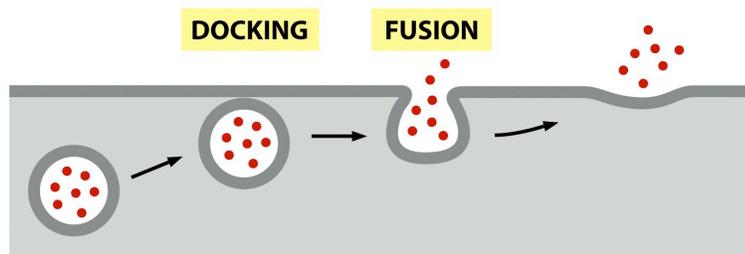
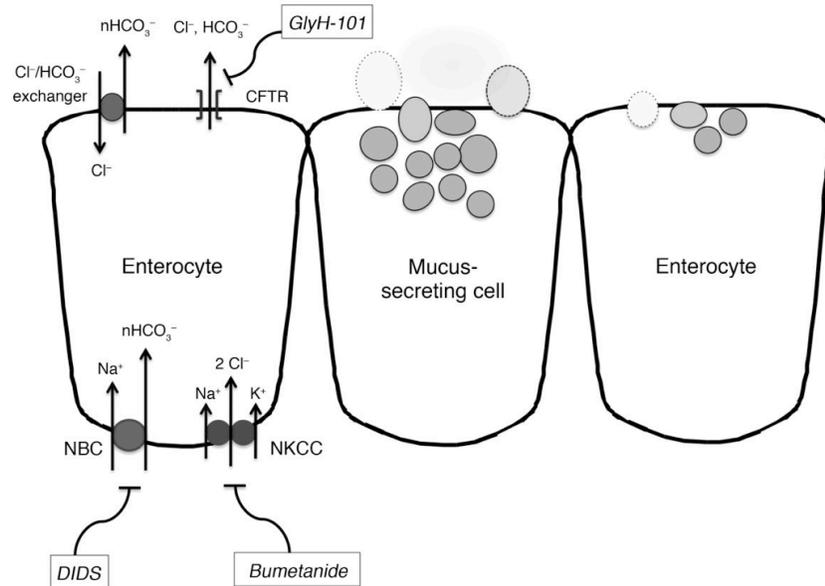
Estos cationes neutralizan las cargas repulsivas de los residuos cargados negativamente en las cadenas de glicoproteínas.



Al momento de secreción, se diluye la concentración de aniones y son captados por el bicarbonato (HCO_3^-) presente en el medio extracelular. Esto permite que las fuerzas electrostáticas de los sitios aniónicos internos generen un desenrollamiento de las proteínas, permitiendo la hidratación y expansión de cada mucina. Así se genera la red protéica conforma el mucus normal.

Hipótesis: La Fibrosis Quística se origina por la falla en la secreción de HCO_3^- a la zona luminal de la secreción.

Garcia, Yang y Quinton. UCSD J. Clin. Invest. 119(9): 2613-2622 (2009).



0.2 μm

Figure 13-66a *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Otros eventos que ocurren en los gránulos de secreción:
Procesamiento de precursores

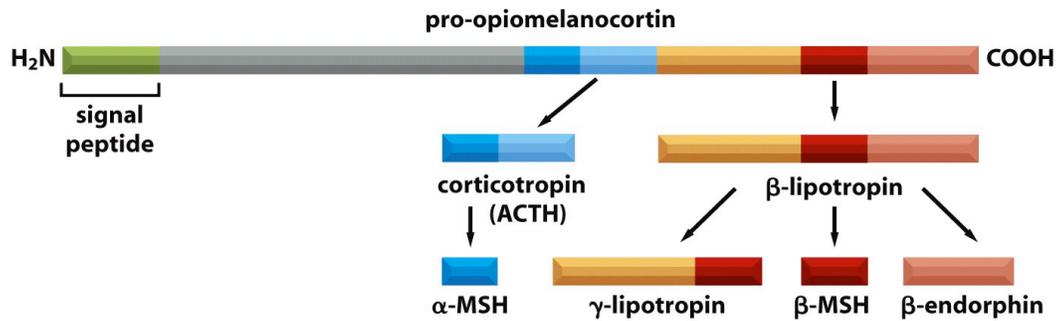
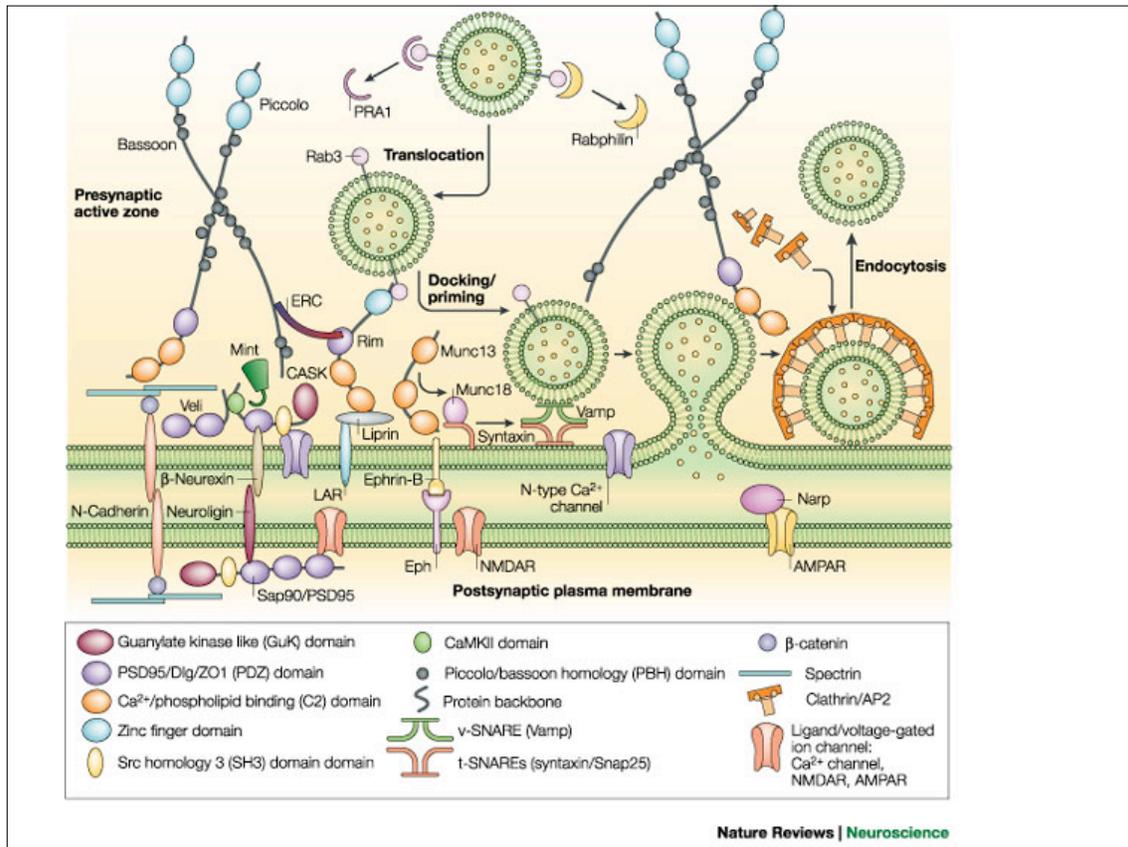
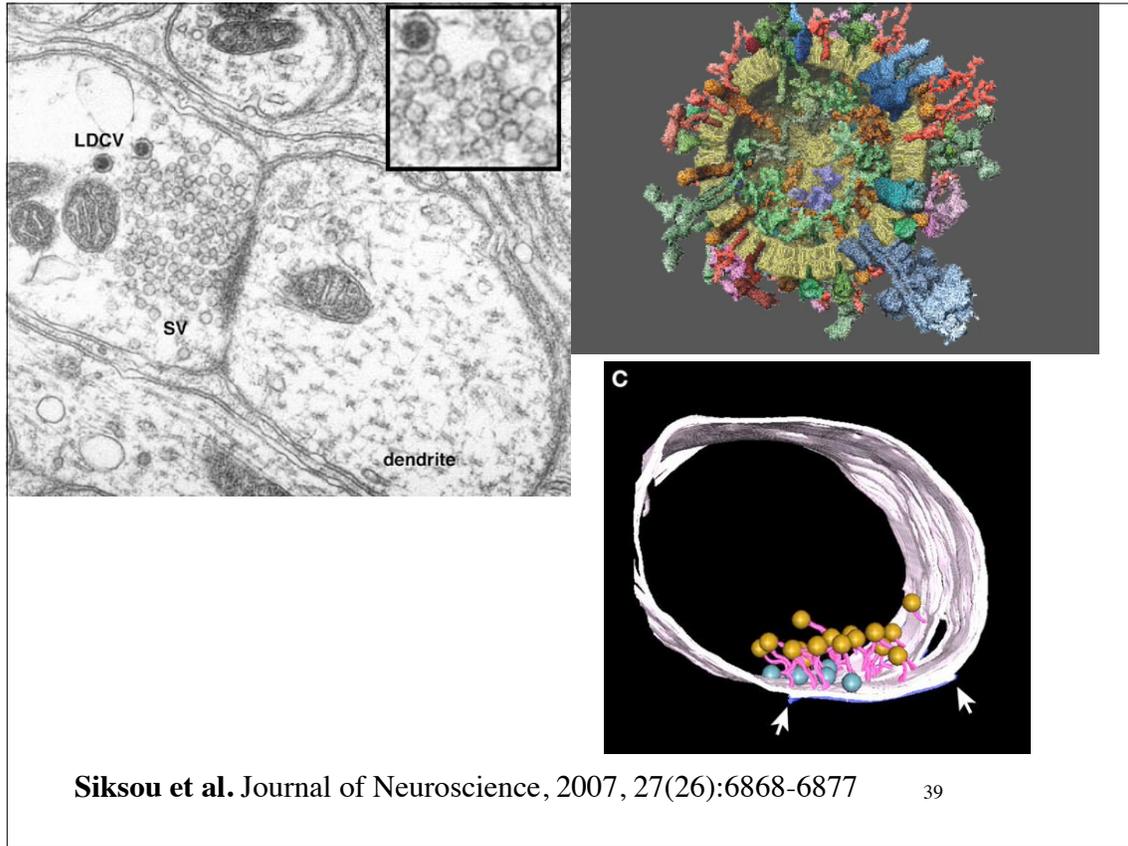


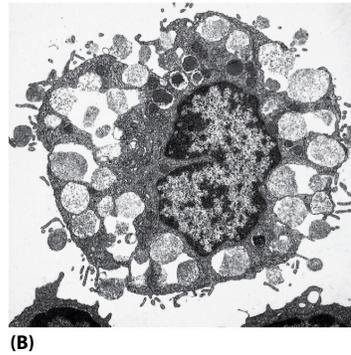
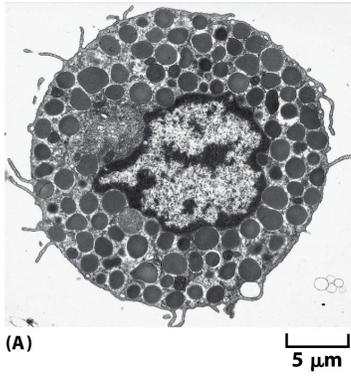
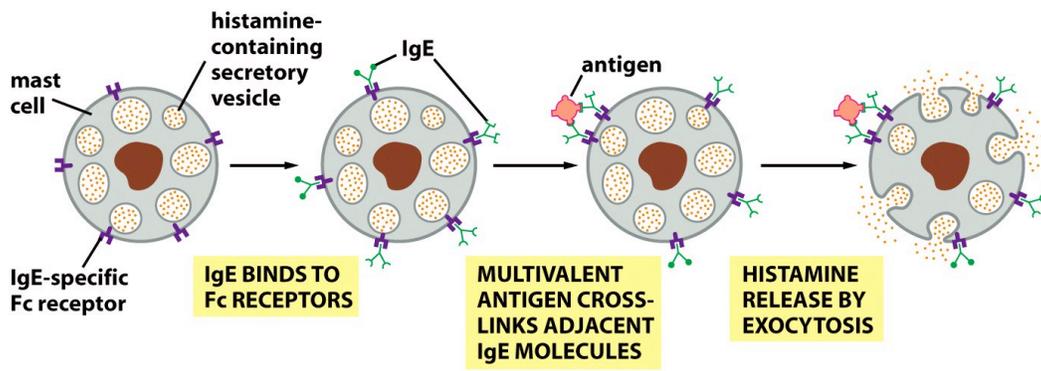
Figure 13-67 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Fusión a la membrana

- Una vez formadas las vesículas de secreción:
 - Migran hasta el punto de secreción y:
 - Se fusionan con la membrana (secreción constitutiva).
 - Esperan una señal



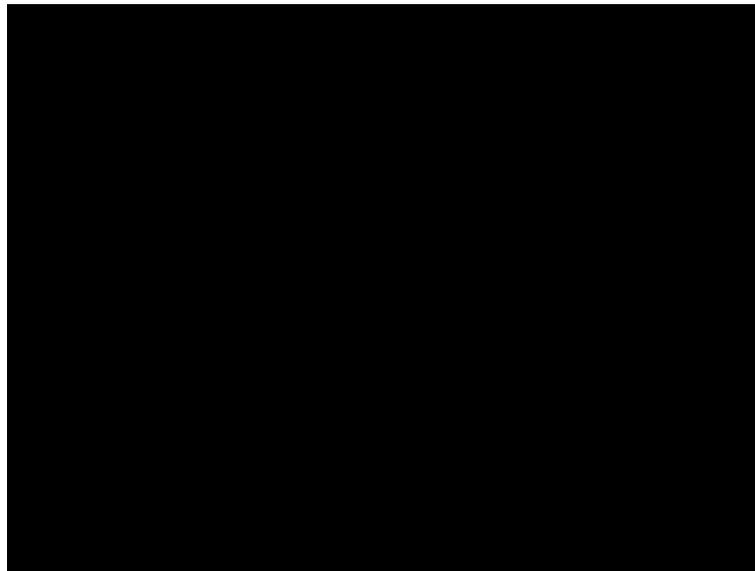


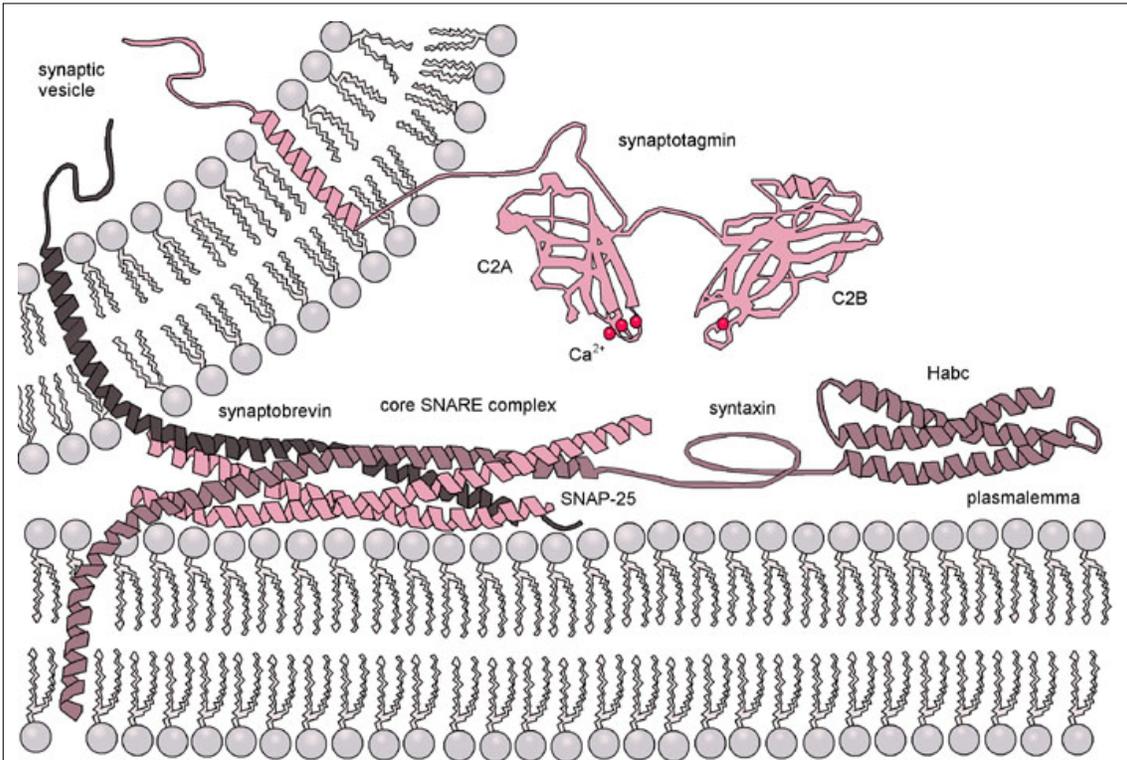


Quicktime
degranulación de
Mastocito

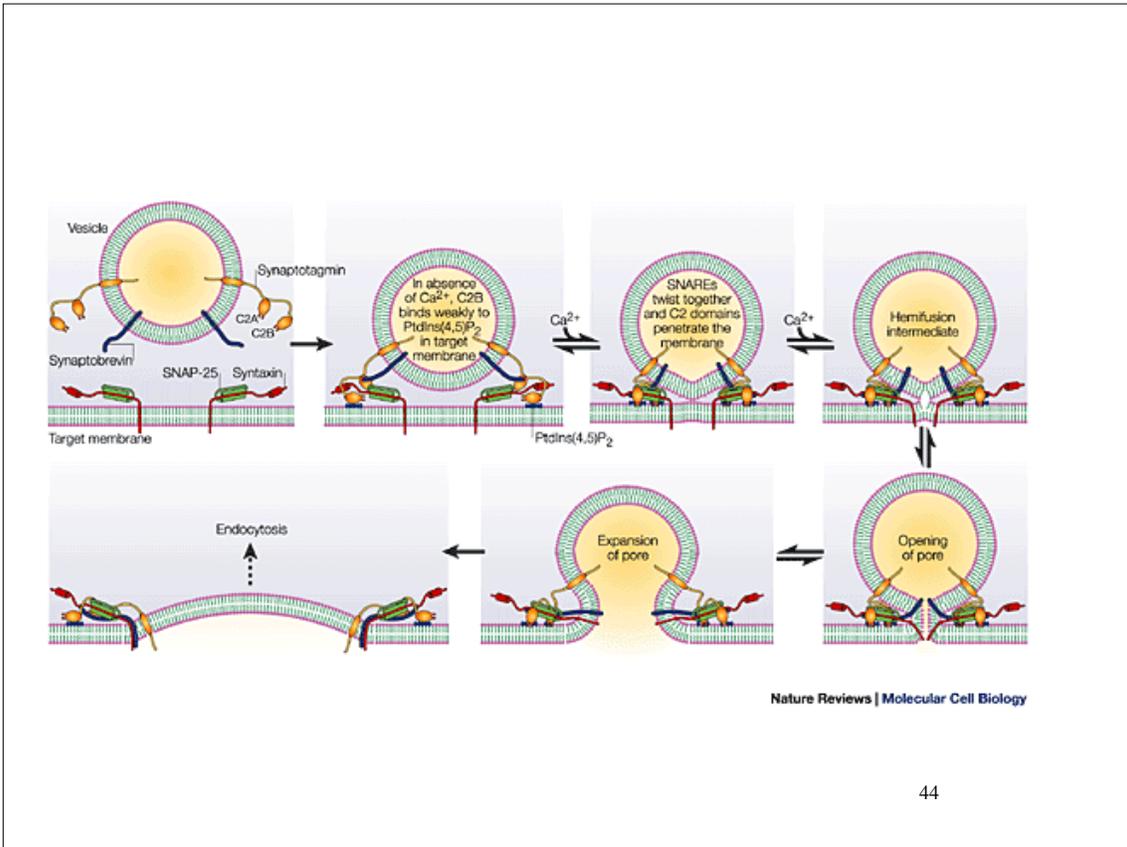


Figure 25-27 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

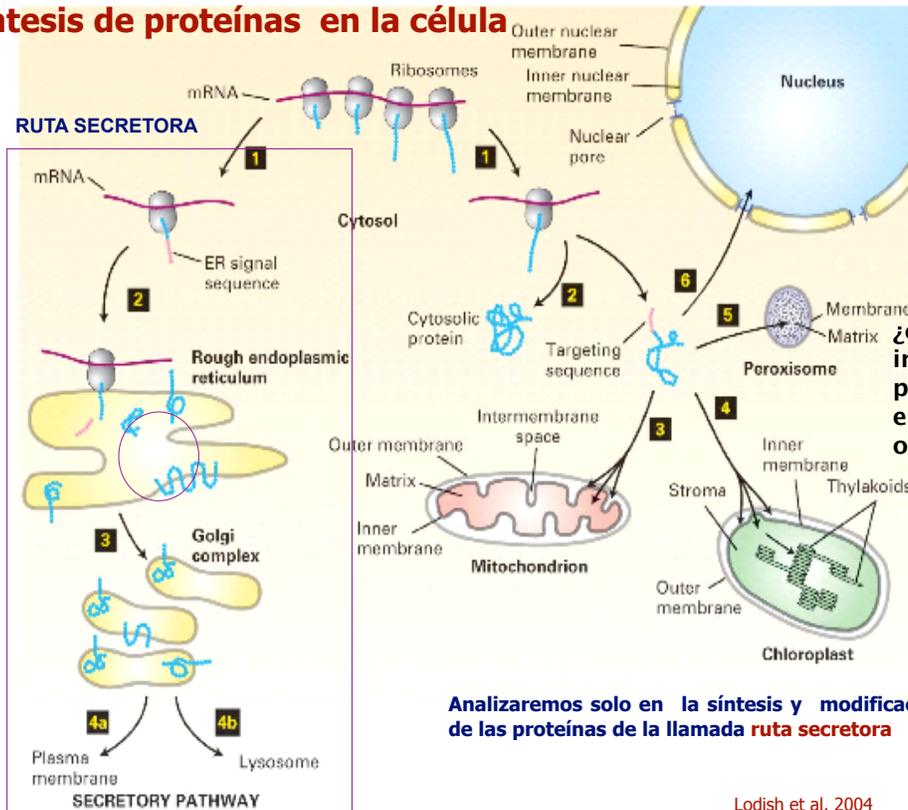




Littleton et al (2001) Synaptotagmin mutants reveal essential functions for the C2B domain in Ca²⁺-triggered fusion and recycling of synaptic vesicles in vivo. *J. Neurosci.* 21, 1421–143.



Síntesis de proteínas en la célula



Peroxisomas

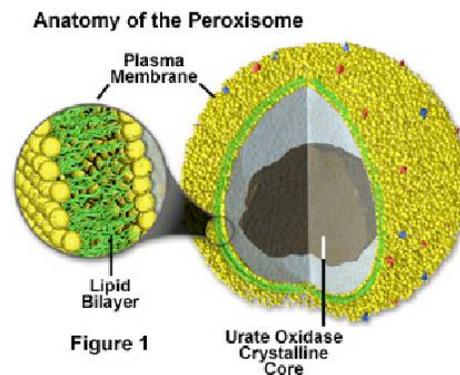
-Vida media; 1 día

-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.

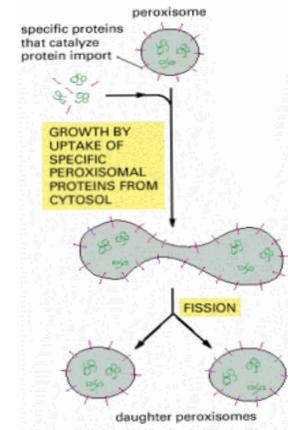
- Las proteínas de membrana poseen otras señales y algunas provienen del retículo endoplásmico.



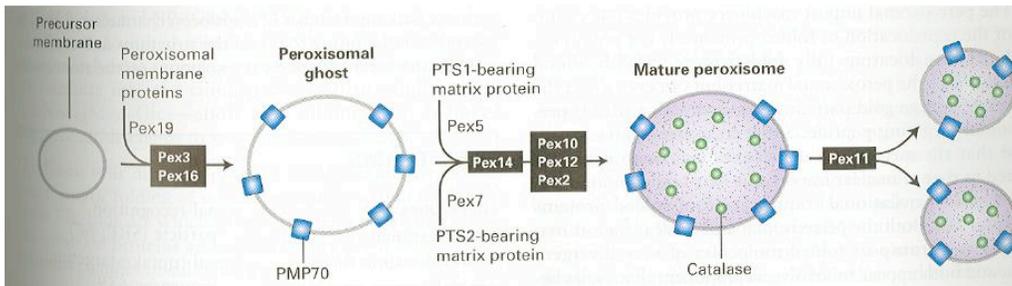
Biogénesis Peroxisomal

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

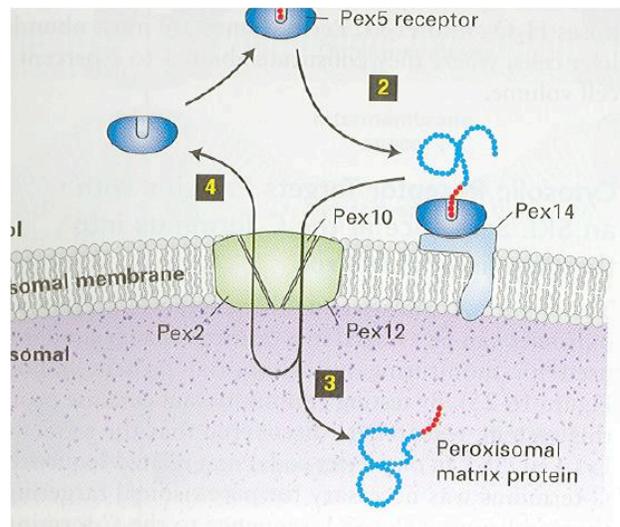
-PTS1, señal de proteínas de matriz peroxisomal (Ser-Lys-Leu) que es reconocida por receptores solubles que dirigen la proteína al peroxisoma.



Pex11 está involucrada en la proliferación de los peroxisomas



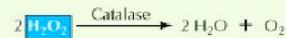
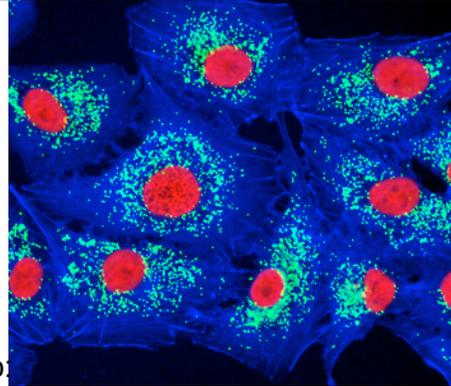
Biogénesis Peroxisomal



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

Funciones Peroxisomales

- 50 Enzimas diferentes
- Metabolismo Lipídico:
 - β -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 aminos y de ácidos biliares
- Catabolismo de Purinas (urato oxidasa)



or



Peroxisomas

Son pequeños organelos que contienen enzimas involucradas en una diversidad de reacciones metabólicas, incluyendo varios aspectos del metabolismo energético.

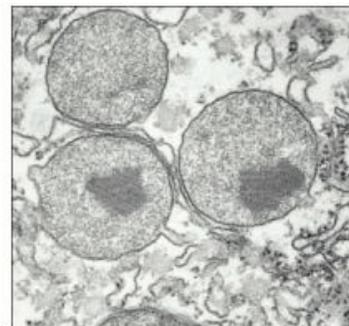
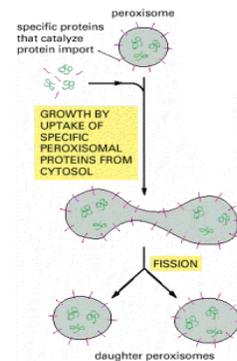
Carecen de DNA y sus proteínas son codificadas por genes nucleares. Se replican por división.

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

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

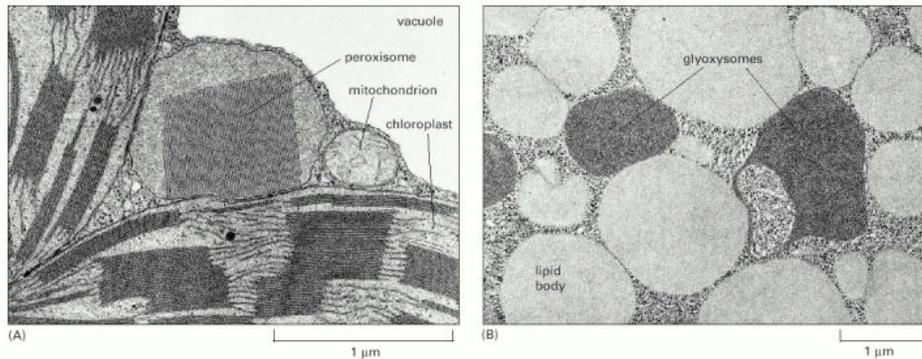
Junto a las mitocondrias, son los principales sitios de utilización de oxígeno.

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.



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

Microfotografías de dos tipos de peroxisomas encontrados en células vegetales



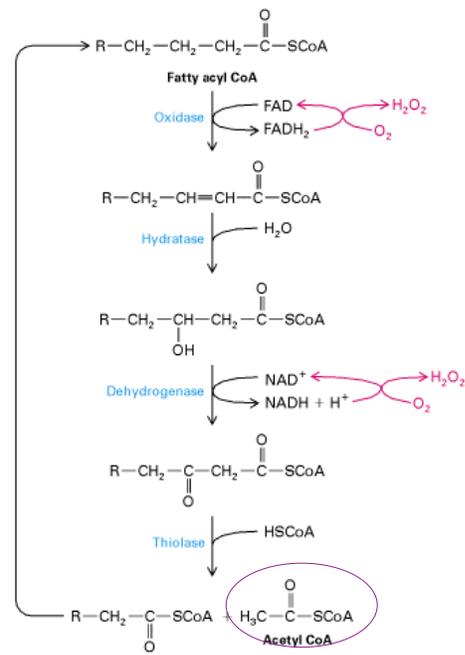
- A) Peroxisoma con un núcleo de estructura paracristalina en células de hoja de tabaco
- B) Peroxisomas (glioxisomas) en células almacenadoras de grasa en cotiledones de tomate .

Peroxisomas

En los peroxisomas, varios sustratos son degradados en las reacciones oxidativas, incluyendo aminoácidos y ácidos grasos. La oxidación de éstos últimos es particularmente importante ya que constituye la principal fuente de energía metabólica.

En las células animales, los ácidos grasos son oxidados en los peroxisomas y mitocondrias, pero en levaduras y plantas su oxidación está restringida a los peroxisomas.

Los ácidos grasos con más de 12 átomos de carbono se degradan en una serie de reacciones similares a las que ocurren en mitocondrias.



Acil CoA acortado en dos átomos de carbono

Peroxisomas

Durante la oxidación de los ácidos grasos en los peroxisomas, los electrones transferidos a FAD y NAD⁺ durante las reacciones de oxidación son posteriormente transferidos al O₂, formando H₂O₂.

El agua oxigenada es una sustancia tóxica para la célula (genera radicales libres, compuestos con electrones desapareados) que es convertida en agua y oxígeno por una catalasa, enzima presente en grandes cantidades en este organelo. Esta enzima cataliza la descomposición del H₂O₂ en H₂O y O₂.



En contraste con las mitocondrias, donde la oxidación de los ácidos grasos está acoplada a la formación de ATP, en los peroxisomas la energía liberada es convertida en calor.

Peroxisomas

Además de proporcionar un compartimiento para las reacciones de oxidación, los peroxisomas están involucrados en la biosíntesis de lípidos.

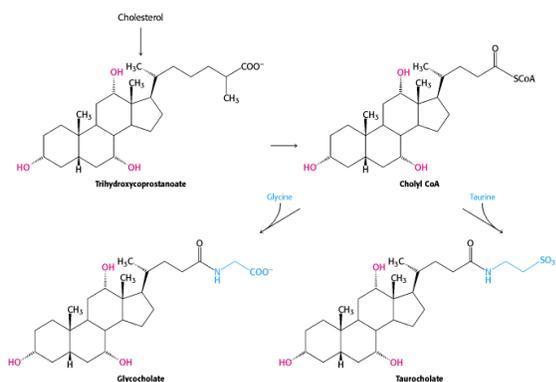
En células animales, el colesterol es sintetizado en estos organelos así como en el RE.

En el hígado los peroxisomas participan en la síntesis de ácidos biliares que derivan del colesterol.

En plantas los peroxisomas juegan dos papeles importantes :

En semillas participan en la conversión de ácidos grasos almacenados a hidratos de carbono, que es crítica para la germinación de la planta.

En las hojas metabolizan glicolato (CH₂OH-COO⁻), un producto lateral formado durante en ciclo de Calvin en la fotosíntesis.



Enfermedades Peroxisomales

Falla en la formación del Peroxisoma

Falla en una o más de las proteínas que incorporan proteínas al lumen o la la membrana peroxisomal

•Espectro Zellweger:

- Síndrome Zellweger: sin peroxisomas
- Adrenoleucodistrofia infantil
- Refsum's infantil

• Condrodisplasia punctata rizomélica: daños a la epífisis de los huesos.

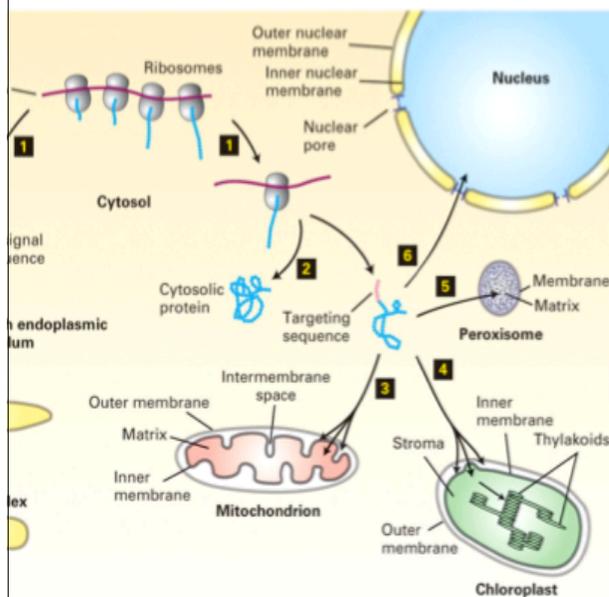
Fallas en la β -oxidación

• Adrenoleucodistrofia: Aparece entre los 5 y los 7 años. Desmielinización asociada con insuficiencia adrenal. Falla en la proteína de transporte de tipo ABC que lleva a una falla en el procesamiento de los ácidos grasos de cadena muy larga.

• Adrenomieloneuropatía: Aparece a los 27 años (media), de mecanismos similar a la adrenoleucodistrofia, el daño ocurre ppalmente en la médula espina y lleva a paraplejia.

• Enfermedad de Refsum's de Adultos: elevadas concentraciones de ácido fitánico, producto metilado de la clorofila. Comienza como ceguera nocturna y avanza a retinosis pigmentaria atípica y posteriores daños al SNC. Dieta libre de Clorofila libera de la enfermedad

Síntesis de proteínas en la célula



Lodish et al, 2004

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

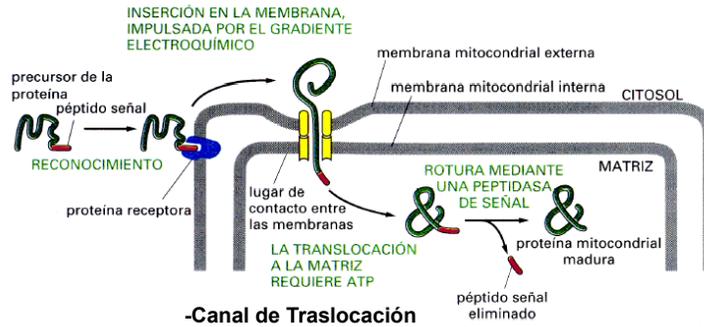
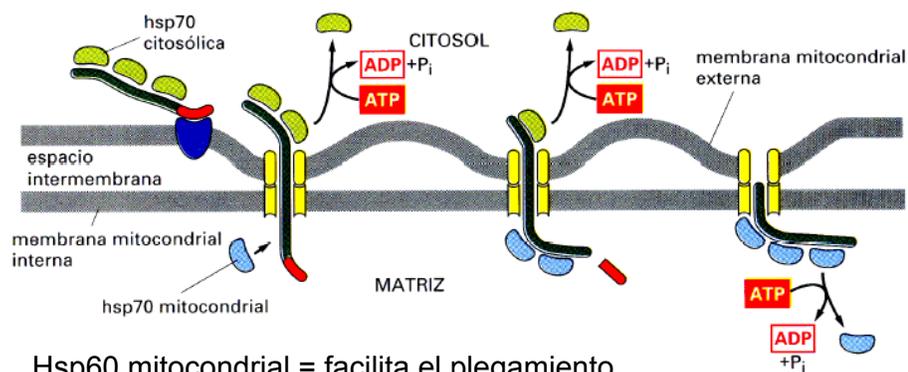


Figura 12-23 Importación de proteínas por la mitocondria. El péptido señal amino terminal del precursor proteico es reconocido por receptores que al parecer existen en la membrana externa de la mitocondria. Se cree que la proteína es translocada a través de ambas membranas mitocondriales, a través de 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



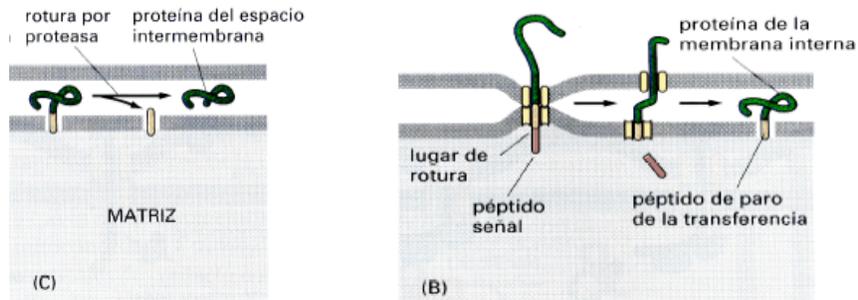
Hsp60 mitocondrial = facilita el plegamiento

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.



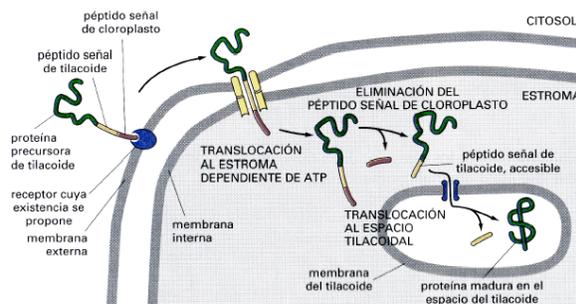
a EI

a MI

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

Transporte 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 tilacoidal hidrofóbica.

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

