#### <u>Glicosilacion de proteínas en el RE: síntesis de precursor</u> <u>ligado a dolichol y transferencia a proteína blanco.</u>



Las glucosas terminales son importantes para permitir el plegamiento de una glicoproteína, gracias a su interacción con Clanexin/calreticulin.

Los Oligosacáridos se utilizan como etiquetas para marcar el estado de plegamiento de una glicoproteína.



Las proteínas plegadas incorrectamente se exportan desde el RE al citoplasma donde son degradadas



A pesar de toda la ayuda de chaperones, muchas moléculas de ciertas proteínas (más del de 80% para algunas proteínas) translocadas hacia el RER no consiguen alcanzar su estado correctamente plegado u oligomérico.



(A) ER MEMBRANE CYTOSOL Ipid bilayer of endoplasmic reticulum ER LUMEN PHOSPHOLIPID SYNTHESIS ADDS TO CYTOSOLIC HALF OF THE BILAYER asymmetric growth of bilayer SCRAMBLASE CATALYZES ELIPPING OF PHOSPHOLIPID

FLIPPING OF PHOSPHOLIPID MOLECULES FROM CYTOSOLIC , TO LUMENAL LEAFLET



CYTOSOL DELIVERY OF NEW MEMBRANE BY EXOCYTOSIS

(B) PLASMA MEMBRANE

CELL EXTERIOR

FLIPPASE CATALYZES FLIPPING OF SPECIFIC

FLIPPING OF SPECIFIC PHOSPHOLIPIDS TO CYTOSOLIC MONOLAYER

asymmetric lipid

bilayer of plasma

membrane

La membrana ER es el sitio de síntesis de casi todas las clases principales de lípidos de la célula, incluyendo fosfolípidos y colesterol, necesarios para la producción de nuevas membranas celulares.

### Las cadenas polipeptídicas translocadas se pliegan y se ensamblan en el lumen del RE rugoso

Muchas proteínas están en ruta hacia otros destino, pero otras son RESIDENTES y contienen señales de retención para el RE: 4 aminoacidos en el C terminal.

Entre las funciones de las Residentes encontramos la catálisis del plegamiento y ensamblado correcto así como glicosilacion y síntesis de lípidos de membrana

PDI (protein disulphide isomerase): cataliza la formación de puentes disulfuro.

BiP: chaperona que previene agregación de proteínas mal plegadas y las retiene en el ER, en forma cíclica, ATP dependiente.

Calnexin y Calreticulin, chaperonas del ER que colaboran en el plegado de glicoproteinas, impidiendo el agregado prematuro de proteínas durante su plegamiento.

La mayoría de las proteínas sintetizadas en el RER son glicosilados por la adición de un oligosacárido N-Linked (ligado a asparagine): son glicoproteinas.

#### LOS MECANISMOS MOLECULARES DE TRANSPORTE DE MEMBRANA Y EL MANTENIMIENTO DE DIFERENTES COMPARTIMENTOS

El transporte de una proteína fluorescente a través de la via secretoria: https:// www.youtube.com/watch?v=UcQE\_YOrTjA



# RE, Golgi y Microtúbulos

https://www.youtube.com/watch?v=E-g42U1tTqg



Las células ajustan continuamente la composición de su membrana

#### plasmática y compartimentos internos.





#### LOS MECANISMOS MOLECULARES DE TRANSPORTE DE MEMBRANA Y EL MANTENIMIENTO DE COMPARTIMENTOS DIVERSOS

Cómo es que cada compartimiento puede mantener su identidad especial?

Marcadores moleculares en la superficie citosólica de la membrana sirven de guía para el tráfico entrante y aseguran que las vesículas de transporte sólo se fundan con el compartimiento correcto

Combinación específica de moléculas marcadoras = dirección molecular

¿Cómo se mantienen estos marcadores de membrana en alta concentración en un compartimiento y en baja concentración en otro?

Cómo se forma o brota una vesícula en una zona en particular? Como se fusiona?

#### Hojas de ruta del tráfico vesicular

MBOC6 13.02/13.02



#### Existen varios tipos de vesículas recubiertas.

#### Clatrina

#### COPI

#### COPII



Cubierta: Jaula o Caja citoplásmica de proteínas. Antes de funsionarse con la membrane blanco la cubierta se pierde, dado que se requiere que la dichas membranas interacciones directamente para lograr la fusión.

# Cada tipo de vesícula se involucra en el tráfico entre ciertos compartimentos.



### El ensamblado de la caja de clatrina dirige la formación de las vesículas.





En condiciones apropiadas, triskelions aislados se autoensamblan espontáneamente en jaulas poliédricas típicas, incluso en ausencia de las vesículas de membrana que estos paneles envuelven normalmente

0.2 um

#### Las proteínas adaptadoras seleccionan la carga para ser tomada por las vesículas recubiertas de catrina.



#### Adaptadores diferentes para diferentes cargas

#### La unión simultánea a los receptores de carga y la cabeza lipídica del fosfatidil inositol aumenta en gran medida la unión de AP2 a la membrana



### Detector de coincidencias!!!

#### Fosfoinositoles fosfatos (PIPs) son marcadores de organelos y dominios de membrana



#### Fosfoinositoles fosfatos (PIPs) son marcadores de organelos y dominios de membrana



KEY: PI(3)P PI(4)P PI(4,5)P<sub>2</sub> PI(3,5)P<sub>2</sub> PI(3,4,5)P<sub>3</sub>

Las proteínas que son capaces de doblar la membrana ayudan a deformar la membrana durante formación vesicular.



### Proteínas citoplasmáticas regulan el pellizco (pinching off) y la perdida de recubrimiento de las vesículas: dynamin.



<u>PIP fosfatasa que se empaqueta en las vesículas revestidas con clatrina elimina PI (4,5)</u> <u>P2 de la membrana, debilitando la unión de las proteínas adaptadoras, facilitando la</u> <u>liberación del revestimiento.</u>

# Tráfico RE - Golgi

#### https://www.youtube.com/watch?v=XXsAf\_3MZNk



# Cada tipo de vesícula se involucra en el tráfico entre ciertos compartimentos.



#### <u>GTPasas monoméricas reclutan COPI y COPII, participando</u> en el ensamblado y desensamblado.



# Modelo animado COPII

https://www.youtube.com/watch?v=ABGID1vQG3s



Las proteínas de Rab (GTPasas monoméricas) guían a las vesículas de transporte a su membrana blanco, las SNARE median la fusión.



# De las GTPasas monoméricas, la subfamilia Rab, es el conjunto mas numeroso con más de 60 miembros.

TABLE 13–1 Subcellular Locations of Some Rab Proteins	
Protein	Organelle
Rab1	ER and Golgi complex
Rab2	<i>ci</i> s Golgi network
Rab3A	Synaptic vesicles, secretory vesicles
Rab4/Rab11	Recycling endosomes
Rab5	Early endosomes, plasma membrane, clathrin-coated vesicles
Rab6	Medial and trans Golgi
Rab7	Late endosomes
Rab8	Cilia
Rab9	Late endosomes, <i>trans</i> Golgi

### Las proteinas SNARE median la fusion de membranas. Aproximan membranas a una distancia de 1.5 nm



#### Las SNAREs que han interactuado necesitan ser separados antes de que puedan funcionar de nuevo





La célula produce muchos polisacáridos en el aparato de Golgi, incluyendo la pectina y hemicelulosa de la pared celular en plantas y la mayoría de los glicosaminoglicanos de la matriz extracelular en animales







### (c) Nucleoside diphosphatase



<sup>1 μm</sup> acid phosphatase

#### <u>Agrupaciones o custers vesiculo-tubulares se forman entre el</u> <u>RE y el aparato de Golgi</u>





Separado del RE y carece de muchas de las proteínas que funcionan en el RE

# KKXX (retención de proteínas transmembrana) y KDEL (retención de proteínas solubles)



Las proteínas residentes solubles en ER, tales como BiP, también contienen una señal de recuperación de ER corta en su extremo C-terminal, LysAsp-Glu-Leu o una secuencia similar. Si esta señal (llamada secuencia KDEL) se elimina de BiP por ingeniería genética, la proteína se secreta lentamente de la célula.

Si la señal se transfiere a una proteína que normalmente se secreta, la proteína es ahora eficientemente devuelta al ER, donde se acumula.





Redistribución de proteínas residentes por bloqueo de función



Man, mannose; GlcNAc, N-acetylglucosamine; Gal, galactose; NANA, N-acetylneuraminic acid (sialic acid)



Los carbohidratos complejos requieren una enzima diferente en cada paso, siendo cada producto reconocido como sustrato exclusivo para la siguiente enzima de la serie



### ¿Cuál es el propósito de la glicosilación?

La gran abundancia de las glicoproteínas y las vías complicadas que han evolucionado para sintetizarlos enfatizan que los oligosacáridos en glicoproteínas y glicosfingolípidos tienen funciones muy importantes.

Papel en la fabricación de productos intermedios plegables más solubles

"Glyco-code" que marca la progresión del plegamiento

Limitar la aproximación de otras macromoléculas a la superficie de la proteína

La capa mucosa de las células pulmonares y intestinales, por ejemplo, protege de muchos patógenos

El reconocimiento de las cadenas de azúcar por lectinas en el espacio extracelular es importante en muchos procesos de desarrollo y en el reconocimiento de célula a célula



golgins

cytoskeletal interactor domain

### Electron microscopy tomography



#### Tomografía electrónica 3D del complejo de Golgi







Golgi, light blue (C1), pink (C2), rose (C3), green (C4), dark blue (C5), amber (C6) and red (C7).

#### insulin vesicles, bright blue

endoplasmic reticulum (yellow), mitochondria (green) endocytic compartments (purple) and clathrin-bearing post-Golgi compartments (red)











200 nm

### <u>Vías Múltiples Entregan Materiales a los</u> <u>Lisosomas</u>



#### La autofagia degrada las proteínas y organelos no deseadas



agregados de proteínas así como las proteínas anormales, contribuyendo así a enfermedades que van desde enfermedades infecciosas hasta neurodegeneración y cáncer.





CYTOSOL

early late endolysosome endosome endosome



early endosome. The endosome is labeled





#### Las vías secretoras constitutivas y reguladas



#### La formación de vesículas secretoras



#### Exocitosis regulada: el botón pre-sináptico



#### Los Peroxisomas Usan Oxígeno Molecular Y Peróxido De Hidrógeno Para realizar reacciones de oxidación



Una función principal de las reacciones de oxidación realizadas en los peroxisomas es la descomposición de moléculas de ácidos grasos.



Figure 12–27 An electron micrograph of three peroxisomes in a rat liver



### sotelojos@gmail.com