

## CAPÍTULO 5.

# ELABORACIÓN Y DISTRIBUCIÓN DE SUSTANCIAS

La célula sintetiza numerosas moléculas que ella misma necesita o vierte al medio extracelular. Por ejemplo, los elementos de la matriz extracelular son sintetizados y secretados bajo la forma de precursores solubles; y la mayoría de las proteínas del plasma sanguíneo son también elaboradas y secretadas por células. De otra parte, las células pueden sintetizar también la mayoría de las proteínas, lípidos y carbohidratos que necesita para mantener o reformar sus estructuras o para su metabolismo.

En este capítulo se describe principalmente la elaboración y distribución de las proteínas por la célula hacia sus compartimentos intracelulares o hacia el medio extracelular; también se describen brevemente la biosíntesis de las membranas y la biogénesis de los lisosomas.

### 5.1. SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

#### 5.1.1. Introducción

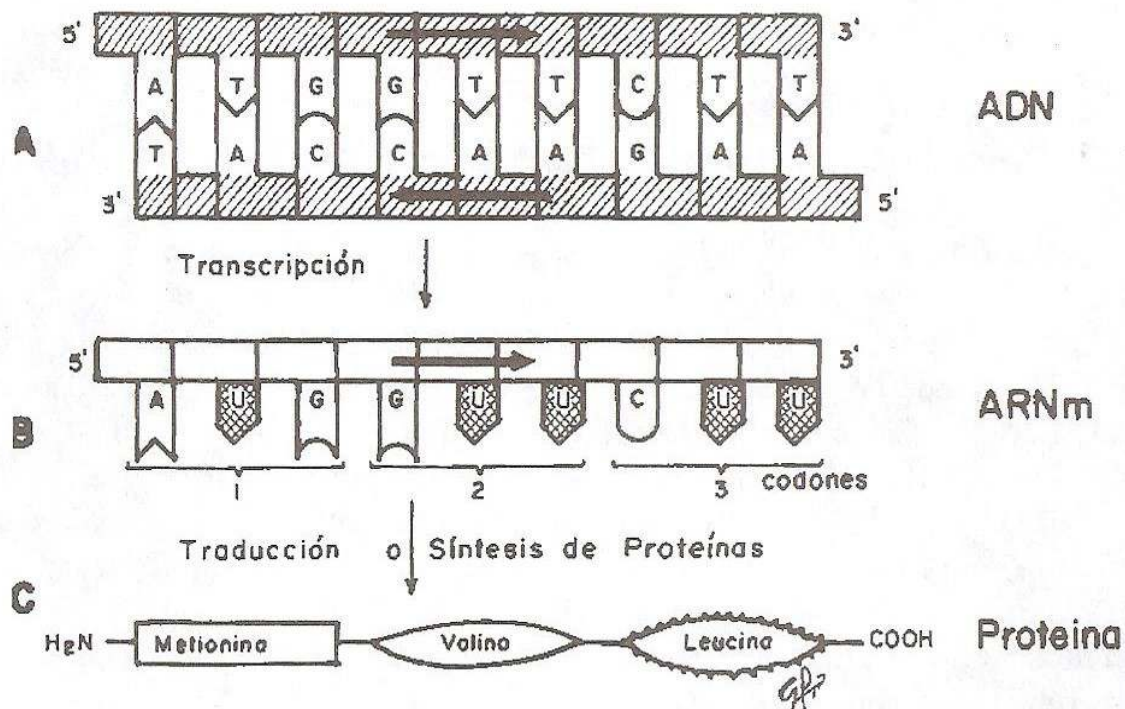
Una proteína es una macromolécula compuesta por una o más cadenas polipeptídicas; y cada una de ellas, a su vez, está conformada por **aminoácidos** (aas) ligados por uniones peptídicas. Existen 20 aas diferentes que conforman las proteínas (Ver Lista de Aminoácidos al final del libro). Las diferentes combinaciones de esos 20 aas dan origen a miles de proteínas diferentes. La secuencia de aas conforma una estructura lineal denominada péptido o cadena peptídica, pero se repliega formando una estructura tridimensional que determina su actividad biológica. La estructura tridimensional y la característica funcional de una proteína son determinadas por su secuencia específica de aas. En la célula, la información para un orden específico de aas de las proteínas está determinada (codificada) por

los ácidos nucleicos, específicamente el **ácido desoxiribonucleico** (ADN) (Ver 8.2). El ADN forma una fibra de doble hélice de nucleótidos, siendo una antiparalela a la otra. El ADN está conformado por las combinaciones diferentes de cuatro nucleótidos: los pirimidínicos: timina (T) y citosina (C); y los purínicos: adenina (A) y guanina (G). La A de una hélice se une a la T de la antiparalela, del mismo modo la G con la C a lo largo de toda la fibra del ADN (Fig. 5.1 A). La información del ADN es transcrita a otro ácido nucleico, el **ácido ribonucleico** (ARN), que difiere del ADN en tres aspectos: primero, el azúcar cambia de una desoxirribosa del ADN por una ribosa en el ARN; segundo, el nucleótido pirimidínico uracilo (U) se encuentra sólo en los ARN en vez de la T del ADN; y tercero, el ARN está conformado por una sola hebra o hélice, denominado monocatenario (Fig. 5.1 B).

Un gen es una secuencia de nucleótidos del ADN que transcribe para un ARN funcional. En la síntesis de proteínas intervienen principalmente tres tipos de ARN: el ARN **mensajero** (ARNm), los 60 diferentes ARN de **transferencia** (ARNt) y los 4 ARN que hacen parte de las subunidades **ribosomales** (ARNr). La información genética para sintetizar una proteína está determinada por la secuencia de nucleótidos del ADN transcrito al ARNm. Tripletes de nucleótidos contiguos del ARNm codifican la información para los diferentes aminoácidos. Cada triplete de nucleótidos es una letra del código genético llamada **codón**. El diccionario completo del código genético tiene  $4^3 = 64$  diferentes posibles combinaciones de codones (letras del código genético), 61 codones de los ARNm codifican para los 20 aas (Ver Código Genético al final del libro) y el orden de estos codones en el ARNm determina el orden de los aas dentro de la cadena peptídica (Fig. 5.1 B y C). El primer aa de las cadenas peptídicas deja libre el extremo amino terminal y el último aa el extremo carboxi terminal, que corresponden respectivamente al primer codón en posición 5' y al último codón en posición 3' del ARNm. El código genético tiene características comunes en todas las células: primero, tiene un codón, el AUG, que especifica el inicio de la síntesis proteica; segundo, tiene tres codones, UAA, UAG y UGA que determinan la finalización de la síntesis peptídica o traducción del ARNm, denominados codones *stop*; tercero, el código genético es universal, es decir que son los mismos codones que codifican para los mismos aminoácidos en todos los seres vivos. Sólo se han encontrado unas excepciones en la síntesis de proteínas codificadas por el ADN mitocondrial y en algunas células procarióticas, donde el codón AUA codifica para una metionina y no para la isoleucina, y los codones *stop* UGA y UAA codifican para el triptófano y la glutamina respectivamente y no son codones de finalización.

Las proteínas son los constituyentes principales de todos los organismos. En un animal, hay probablemente más de cinco mil familias diferentes de proteínas y cada una ejerce una función específica. Por ejemplo, permiten el reconocimiento entre las células, realizan reacciones químicas o dan características específicas a las

células. Las proteínas se clasifican según sus funciones, por ejemplo: enzimas que catalizan reacciones bioquímicas (nucleasa, tripsina, etc); proteínas de transporte (hemoglobina, albúmina, etc); de almacenamiento o de nutrientes (caseína, ovoalbúmina, etc); de contracción o de movimiento (actina, miosina, etc); estructurales (queratina, colágeno, etc); anticuerpos (inmunoglobulinas); reguladoras (hormonas, neurotransmisores, factores de crecimiento, etc), etc. Las proteínas también se clasifican según su forma en **globular** cuya cadena (o cadenas) polipeptídica que la conforma está fuertemente replegada dentro de una forma esférica compacta y **fibrosa** cuya cadena (o cadenas) polipeptídica se extiende a lo largo de un eje sin replegarse.



**Figura 5.1. Esquema del código genético y su expresión .**

La fibra del ADN (A) es una doble hélice antiparalela, transcribe su información a un ARNm (B) que contiene los codones (números arábigos 1, 2 y 3) que codifican para aminoácidos específicos (metionina, valina y leucina) de una proteína (C).

El primer codón en posición 5' del ARNm codifica para el primer aminoácido que deja libre el extremo amino terminal (NH<sub>2</sub>) y el último codón en posición 3' del ARNm corresponde al último aminoácido de la proteína que deja el extremo carboxi terminal libre (COOH). Las flechas gruesas indican la dirección de los ácidos nucleicos de 5' a 3'.

ADN: ácido desoxirribonucleico; ARNm ácido ribonucleico mensajero; A: adenina; T: timina; G: guanina; C: citosina; U: uracilo; 5': extremo 5' del ADN o ARNm; 3': extremo 3' del ADN o ARNm.

La estructura **primaria** de una proteína está determinada por la secuencia específica de los aas en la cadena polipeptídica; la estructura **secundaria** es el replegamiento característico de la cadena polipeptídica (en forma de hélices, lámi-

nas o bucles *loops*) determinada también por los aas que la constituyen; la estructura **terciaria** es la organización interna de las hélices y de las láminas que determinan la estructura globular; y la estructura **cuaternaria** de una proteína se forma cuando varias cadenas, polipeptídicas o no, entran en su constitución.

Para que un gen determinado de una célula eucariótica se exprese en forma de una proteína funcional necesita varias etapas: primero, el gen que codifica la proteína tiene que ser activado o encendido para que se pueda transcribir la información del ADN al ARN (Ver 8.3); segundo, el ARN sufre una maduración para formar el ARNm; tercero, el ARNm es exportado del núcleo al citosol; cuarto, la información del ARNm es traducido en cadena polipeptídica o la etapa que se denomina síntesis de proteínas; y la última etapa es la maduración de las cadenas polipeptídicas que sufren para conformar la proteína funcional. Enseguida se describen las etapas de la síntesis de proteínas en las células eucarióticas animales.

### 5.1.2. Proceso general de la síntesis de proteínas

La unidad fundamental de la síntesis peptídica es el **ribosoma** conformado por dos subunidades y cada subunidad a su vez está compuesta por proteínas y ARN ribosomales (ARNr), o sea que cada subunidad es una ribonucleoproteína (Fig. 5.2). Cuando no participa en la síntesis de proteínas, sus dos subunidades se encuentran disociados en el citosol. La gran subunidad está constituida por 49 proteínas y tres ARNr (28 S, 5, 8 S y 5 S) y la pequeña por 33 proteínas y un ARNr de 18 S. Las subunidades se denominan de acuerdo a su coeficiente de sedimentación, expresado en unidad Svedberg (S). El coeficiente de sedimentación depende al mismo tiempo del peso molecular, de la forma y de la densidad de la partícula o de la molécula. La figura 5.2 resume las principales propiedades de los ribosomas de las células eucarióticas y procarióticas.

Al microscopio electrónico (ME), la gran subunidad tiene un aspecto más o menos hemisférico y es recorrida por una ranura de 4 nm de longitud sobre su superficie plana. La pequeña subunidad tiene un surco que se dispone en frente de la ranura de la gran subunidad cuando se forma el ribosoma. Para que las dos subunidades ribosomales se ensamblen y puedan realizar la síntesis peptídica se requiere de: un ARNm y los diferentes ARNt unidos a sus respectivos aminoácidos. Un ARNt unido a su respectivo aa se denomina **ARNt-aminoacil** (ARNt-aa). El ARNt tiene en su estructura al anticodón que reconoce el codón correspondiente sobre el ARNm y el sitio aminoacil donde se le une el aminoácido específico codificado por el codón.

Se dice que el código genético es “degenerado” porque existen diferentes codones para un mismo aa, por ejemplo, 6 codones diferentes codifican para la leucina y 4 para la alanina. En las células eucarióticas se encuentran 20 aas, 60

ARNt y 20 aminoacil-ARNt-sintetasas diferentes. Existe una sola enzima aminoacil-ARNt-sintetasa para un aa determinado que reconoce los diferentes ARNt para ese aa específico, entonces el código genético no es degenerado porque la especificidad de unión de un aa a sus respectivos ARNt lo realiza la aminoacil-ARNt-sintetasa específica, por ejemplo, la alanina-ARNt-sintetasa une la alanina a los cuatro diferentes ARNt que tiene el anticodón para unirse a los codones que codifican para la alanina, o la leucina-ARNt-sintetasa une la leucina a los 6 diferentes ARNt que llevan el anticodón para el codón que codifica la leucina. Los ARNt son llamados también los “traductores” porque son los que permiten la “traducción” del lenguaje de ácidos nucleicos al lenguaje de los aas que conforman las proteínas.

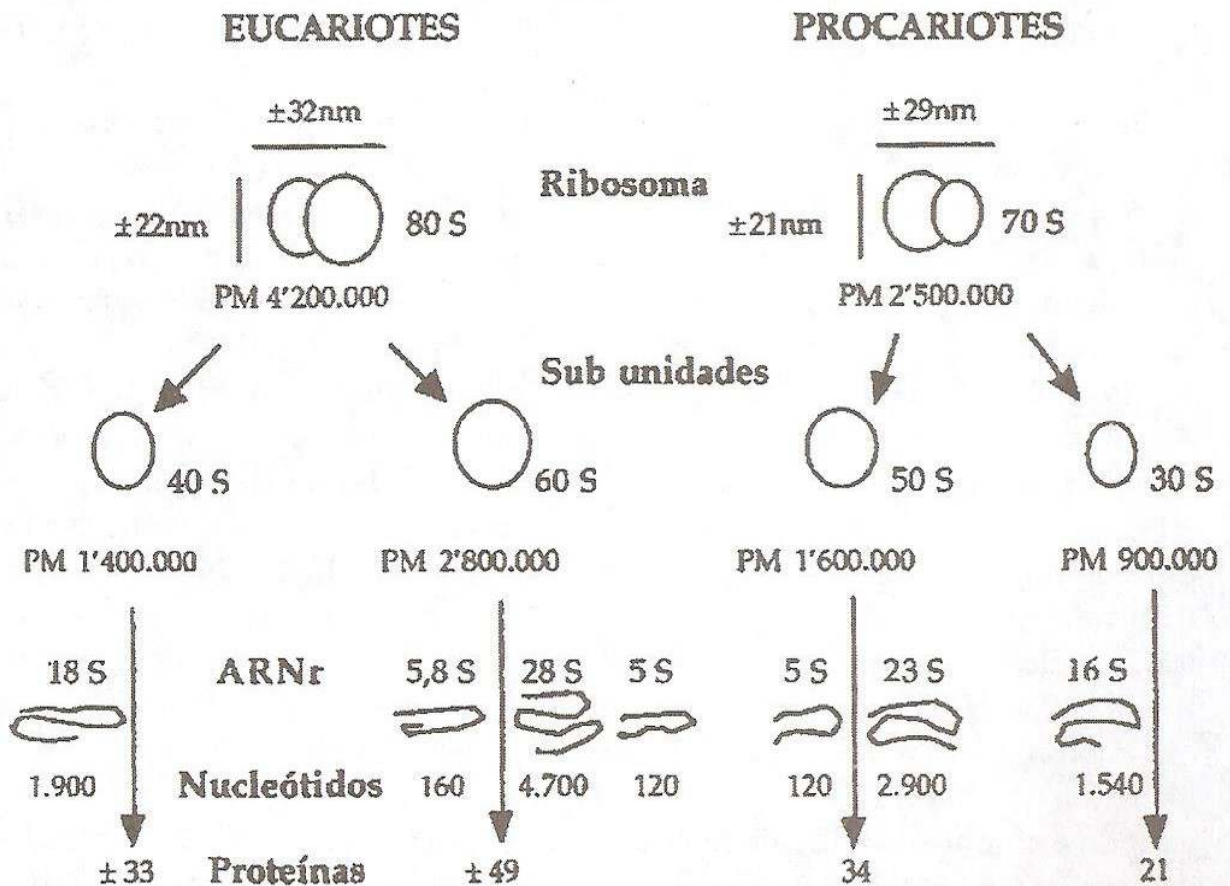


Figura 5.2. Composición de los ribosomas en las células eucarióticas y procarióticas.

PM: peso molecular en Daltons; ARNr: ácido ribonucleico ribosomal; S: coeficiente de sedimentación, expresado en unidades Svedberg.

A continuación se describen las tres etapas necesarias para la traducción de un ARNm en proteína dentro del ribosoma. Estas etapas son: 1. la reacción de iniciación, 2. la elongación de la cadena peptídica y 3. la finalización de la síntesis proteica.

### 5.1.2.1. Reacción de iniciación

Las subunidades ribosomales se ensamblan sobre el codón de iniciación AUG del ARNm, luego se incorporan rápidamente aas por uniones peptídicas en la cadena nascente. De 10 a 20 uniones peptídicas se forman por segundo, o sea que 20 a 60 segundos dura la síntesis de una proteína.

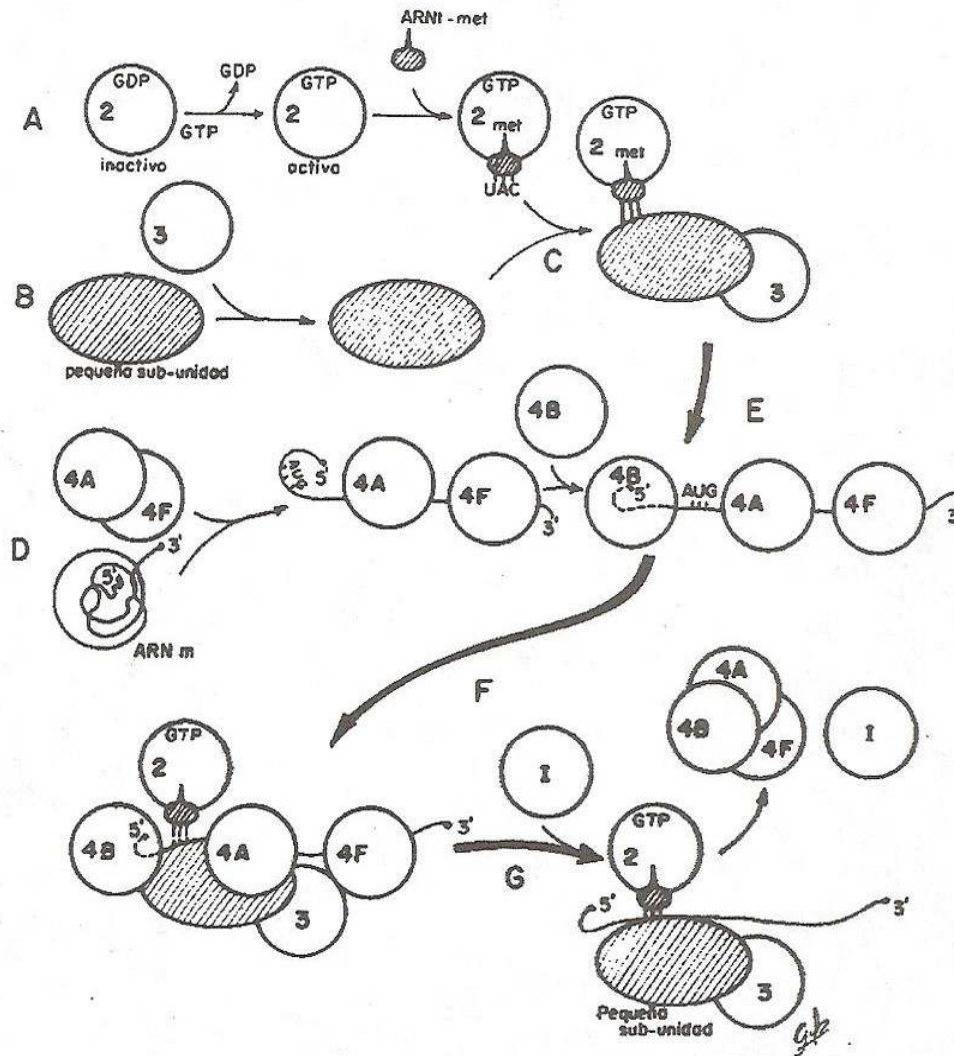
La reacción de iniciación es el ensamblaje de las dos subunidades ribosomales sobre el codón de iniciación AUG del ARNm unido al primer ARNt-aa para formar el ribosoma (Figs. 5.3.1 y 5.3.2). Este primer ARNt-aa es un ARNt-metionina (ARNt-met) en eucariotes, mientras que es ARNt-formilmetionina (ARNt-fmet) en procariotes. Todo este proceso de reacción de iniciación está bajo el control de 9 **factores de iniciación** de la traducción, que se designan **eIF** (*eucariotic Initiation Factor*).

El eIF-2 es la clave en la reacción de iniciación porque es una proteína G que se activa al unirse al GTP y se inactiva al hidrolizarlo. Además, el eIF-2 está bajo el control de señales que le llegan a la célula: cuando la célula no requiere de síntesis proteica el eIF-2 es fosforilado por una proteína quinasa y es inactivado; cuando llega alguna señal de síntesis de proteínas el eIF2 es desfosforilado por una proteína fosfatasa y se activa intercambiando su GDP por GTP (Fig. 5.3.1 A).

El eIF-2-GTP activo se une al primer ARNt-met que determina el inicio de la síntesis de la cadena polipeptídica (Fig. 5.3.1 A), y al mismo tiempo otro factor de iniciación, el eIF-3 se une a una pequeña subunidad ribosomal (Fig. 5.3.1 B). El eIF-2-GTP-ARNt-met se une al complejo formado por el eIF-3-pequeña subunidad ribosomal (Fig. 5.3.1 C). Por otro lado, en el citosol, al ARNm que va a ser traducido en proteína tiene que eliminársele las proteínas que lo mantienen en forma replegada, entonces el ARNm es alineado por otros factores de iniciación los eIF-4F y eIF-4A que inician la alineación del ARNm liberando las proteínas que cubren el ARNm (Fig. 5.3.1 D) dejando el extremo 5' y el primer codón de iniciación AUG libre. Luego, el eIF-4B reconoce y cubre el extremo 5' del ARNm dejando expuesto el codón de iniciación AUG (Fig. 5.3.1 D). El ARNm queda desplegado y acompañado por los tres complejos de iniciación 4A, 4B y 4F que se acercan al complejo eIF-2-GTP-ARNt-met-eIF-3-pequeña subunidad (Fig. 5.3.1 E) para que el codón de iniciación AUG se una al anticodón CAU del ARNt-met (Fig. 5.3.1 F). En seguida, otro factor de iniciación, el eIF-I, libera los factores de iniciación 4F, 4A y 4B del ARNm (Fig. 5.3.1 G).

Mientras tanto, la gran subunidad inactivada por el factor eIF-6 es activada por la unión del eIF-4C y el eIF-6 es liberado (Fig. 5.3.2 H). Al mismo tiempo, el factor de iniciación eIF-5 libera los factores eIF-3 y eIF-2 del ARNt-met-ARNm-pequeña subunidad y el eIF-2 hidroliza su GTP en GDP + Pi. El ARNt-met, el ARNm y la pequeña subunidad ribosomal unidos constituyen el **complejo de**

**iniciación** (Fig. 5.3.2 J). El eIF-4C unido a la gran subunidad ribosomal se une al complejo de iniciación (Fig. 5.3.2 K) formando el **ribosoma**. El factor eIF-4C se libera de la gran subunidad antes de la formación del ribosoma (Fig. 5.3.2 K). A partir de este momento la cadena peptídica codificada por el ARNm puede ser sintetizada.

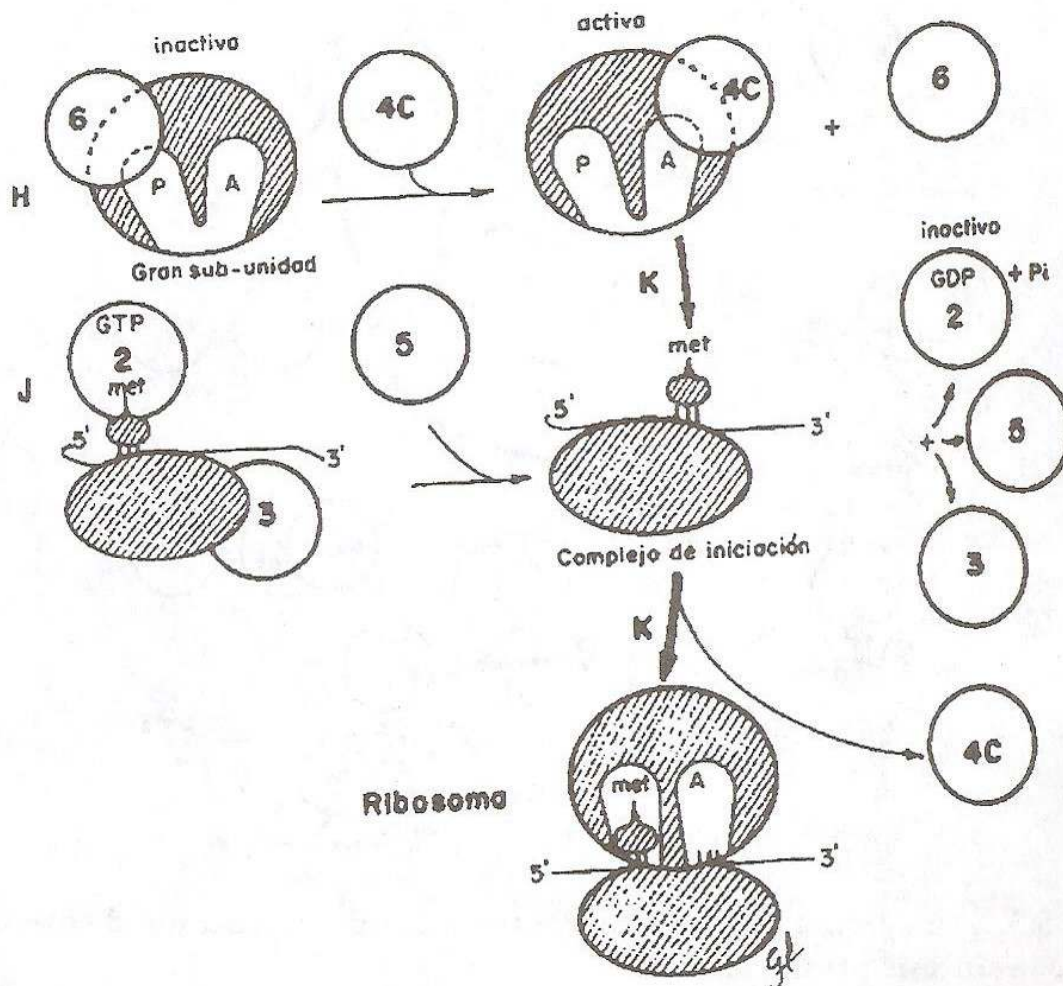


**Figura 5.3.1. Esquema de los primeros procesos de la reacción de iniciación de la síntesis proteica.**

Los Factores de Iniciación eucarióticos (eIF) están representados por círculos y en su interior el número o letras con que se designan. A. Activación del eIF-2 y su unión al primer ARNt-met. B. Unión del eIF-3 a la pequeña subunidad ribosomal. C. Unión del ARNt-met y la pequeña subunidad acompañados por sus respectivos eIF. D. El ARNm se encuentra replegado por proteínas en el citosol, aquí sólo se esquematiza al ARNm replegado, los factores eIF-4A y eIF-4F inician la liberación de las proteínas del ARNm y lo despliegan, luego el factor eIF-4B reconoce el extremo 5' del ARNm uniéndosele y dejando libre el codón de iniciación (AUG). E. Los productos de las reacciones C y D se acercan. F. El codón AUG del ARNm se acopla al anticodón CAU del ARNt-met acompañados por los 5 eIF que han intervenido en las diferentes reacciones. G. El factor eIF-I libera los factores eIF-4A, 4B y 4F.

ARNt-met: ácido ribonucleico de transferencia metionina; GTP: guanósín trifosfato; GDP: guanósín difosfato; Pi: fosfato inorgánico; ARNm: ácido ribonucleico mensajero; 5': extremo 5' del ARNm; 3': extremo 3' del ARNm.

La gran subunidad tiene en su interior dos regiones o sitios muy importantes, el sitio peptidil o sitio P (Fig. 5.3.2 H, P) donde se localiza el último ARNt unido a la cadena peptídica que se sintetiza o ARNt-peptidil, mientras que el otro sitio aminoacil o sitio A (Fig. 5.3.2 H, A) es donde llegan los diferentes ARNt-aas que reconocen al codón del ARNm expuesto en este sitio. Para que los ARNt-aas se ubiquen en el sitio A, el sitio P debe estar ocupado por un ARNt-peptidil, es por ésto que el primer ARNt-met se ubica en el sitio P para que se pueda iniciar la síntesis proteica (Fig. 5.3.2 Ribosoma).



**Figura 5.3.2 Final de la reacción de iniciación y formación del ribosoma.**

Los Factores de Iniciación eucarióticos (eIF) están representados por círculos y en su interior el número o letras con que se designan. H. Cuando no se realiza síntesis proteica la gran subunidad ribosómica se encuentra unida al eIF-6, el eIF-4C se une a la gran subunidad y libera el eIF-6. J. El eIF-5 libera a los factores eIF-3 y eIF-2 que hidroliza el GTP, quedando libre de factores el **complejo de iniciación** constituido por el ARNt-met, la pequeña subunidad ribosómica y el ARNm. K. La gran subunidad unida al eIF-4C se une al complejo de iniciación y se forma el **ribosoma** con el sitio P ocupado por el ARNt-met y el sitio A libre.

P: sitio peptidil de la gran subunidad ribosómica; A: sitio aminoacil de la gran subunidad ribosómica; GTP: guanosín trifosfato; GDP: guanosín difosfato; Pi: fosfato inorgánico; 5': extremo 5' del ARNm; 3': extremo 3' del ARNm.



Si el sitio P del ribosoma no es ocupado por el ARNt-met de iniciación o por un ARNt-peptidil no puede acoplarse en el sitio A el siguiente ARNt-aa y la síntesis proteica se para.

### 5.1.2.2. Elongación de la cadena peptídica

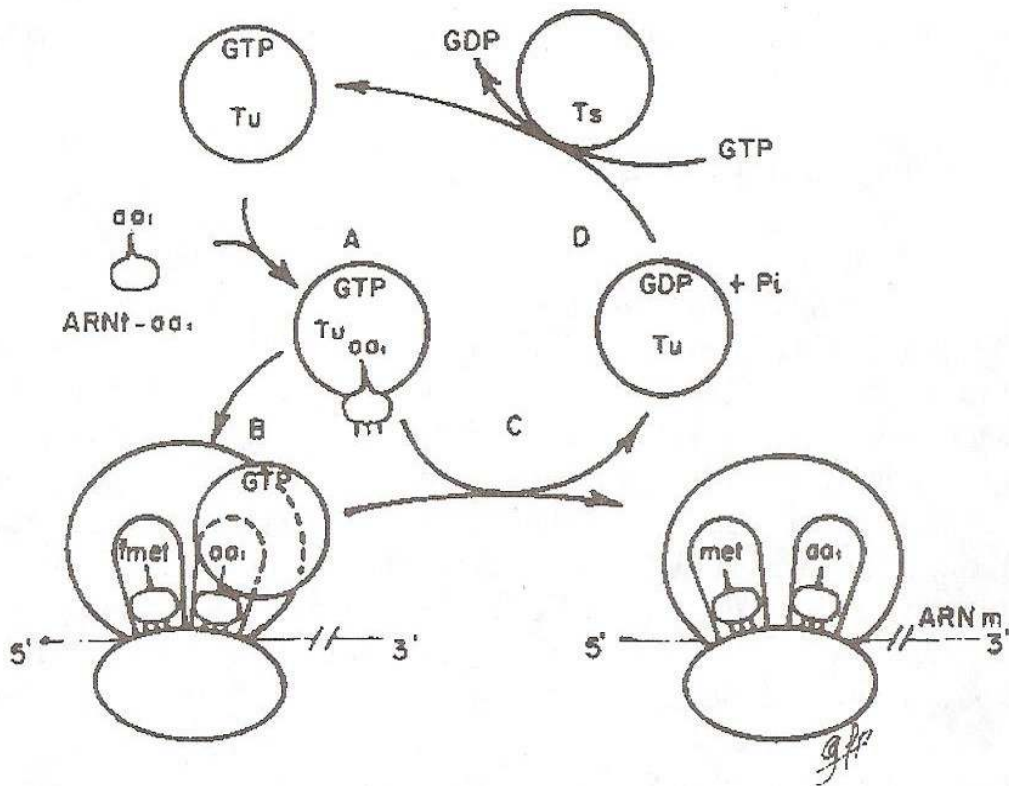
Cuando se forma el ribosoma se inicia la elongación de la cadena peptídica, es decir que se añadirán aas uno detrás del otro, constituyendo una cadena peptídica o polipeptídica. Los ARNt-aas se colocan de acuerdo a la secuencia de codones del ARNm. La fase de elongación prosigue hasta que se encuentre en el sitio A un codón *stop* o de finalización (UAA, AAG y UGA) de la síntesis proteica.

La elongación de la cadena peptídica va acompañada de la translocación del ribosoma y del ARNm. Para estos procesos también se encuentran otros factores que colaboran para que se pueda realizar la síntesis proteica.

En eucariotes se han encontrado dos **factores de elongación** (EF), el EF-1 y el EF-2, pero no se conocen sus mecanismos de acción. Se piensa que sean similar a los procarióticos donde actúan 3 factores de elongación: el EF-Tu, el EF-Ts y el EF-G.

Cuando se forma el ribosoma en los procariotes, el sitio P es ocupado por el ARNt-fmet. El factor de elongación EF-Tu, que es una proteína G, se activa al unirse al GTP y luego toma el ARNt-aa (Fig. 5.4 A) para colocarlo en el sitio A del ribosoma (Fig. 5.4 B). El EF-Tu tiene como función “transportar” los diferentes ARNt-aas al sitio A del ribosoma. Cuando el codón del ARNm que codifica para el aa1 se ha complementado con el anticodón del ARNt-aa1 correcto, el EF-Tu hidroliza el GTP en GDP + Pi y se libera el ARNt-aa1 del EF-Tu (Fig. 5.4 C). El factor de elongación Ts actúa como un GNRF (factor de intercambio de nucleótido de guanina) (Fig. 3.11) y realiza el intercambio del GDP por GTP del factor Tu (Fig. 5.4 D).

La elongación de la cadena peptídica y la translocación del ARNm y del ribosoma se hacen al mismo tiempo. La peptidil transferasa, enzima de la gran subunidad, cataliza la unión peptídica entre el extremo carboxilo de la formilmetionina con el extremo amino del aa1 (Fig. 5.5 A, PT); al mismo tiempo el EF-G permite la translocación del ribosoma y del ARNm hidrolizando su GTP (Fig. 5.5 A). Durante la translocación se libera el ARNt de la formilmetionina, el sitio A del ribosoma queda de nuevo libre para recibir el ARNt-aa<sub>2</sub> y la cadena peptídica naciente queda unida al ARNt-aa<sub>1</sub> ocupando el sitio P (Fig. 5.5 B). Luego se repite el ciclo del factor EF-Tu, es decir el EF-Tu-GTP unido al ARNt-aa<sub>2</sub> lo ubica en el sitio A e hidroliza su GTP (Fig. 5.5 B). El factor EF-Ts intercambia el GDP por GTP del EF-Tu activándolo de nuevo. El factor EF-G y la peptid transferasa del ribosoma actúan de nuevo (Fig. 5.5 C) alargando la cadena peptídica en un aminoácido (Fig. 5.5D).

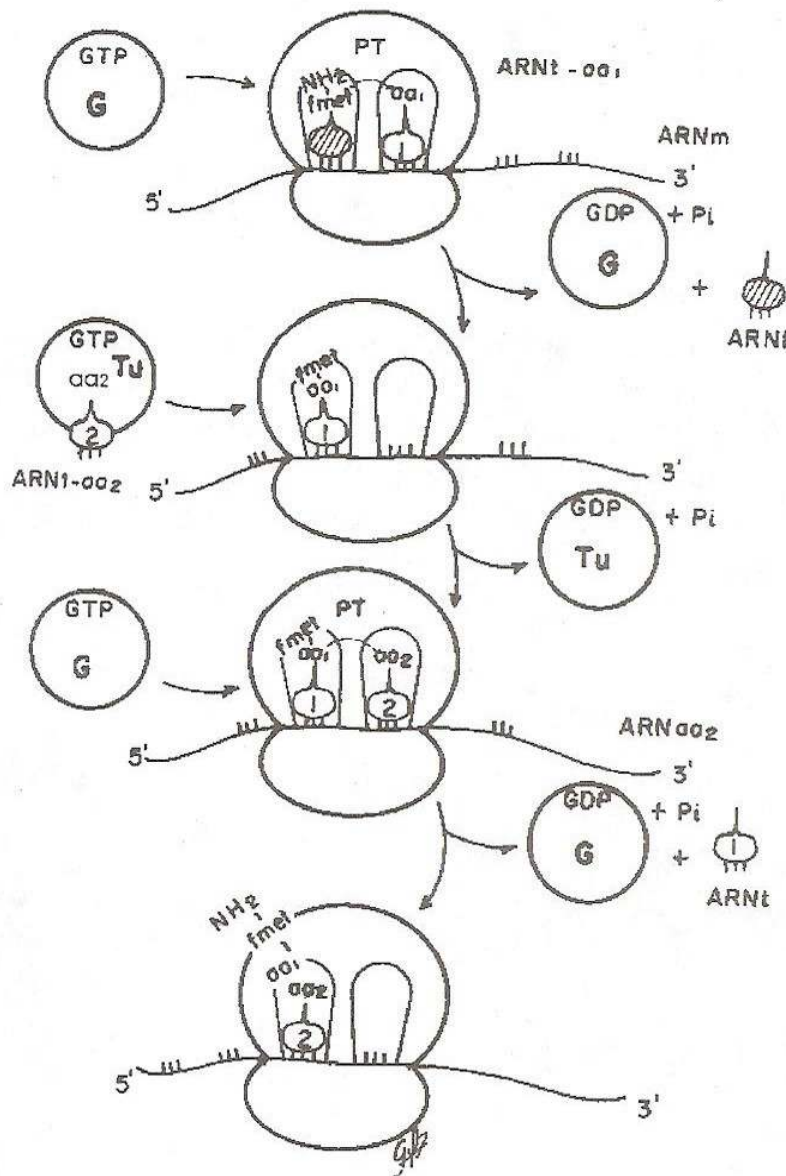


**Figura 5.4. Esquema del inicio de la elongación de la cadena peptídica.**

Los factores de elongación procarióticos (EF) están representados por círculos y en su interior las letras con que se designan. A. Unión del EF-Tu activo al ARNt-aa<sub>1</sub>. B. El EF-Tu lleva al ARNt-aa<sub>1</sub> al sitio A del ribosoma. C. El EF-Tu se libera del EF-Tu y al mismo tiempo se inactiva por la hidrólisis de su GTP. El codón del ARNm queda unido al anticodón del ARNt-aa<sub>1</sub>. D. El EF-Ts intercambia el GDP por GTP del EF-Tu y así es activado y puede unirse a otro ARNt-aa. fmet: formilmetionina; ARNt-aa: ácido ribonucleico de transferencia aminoacil; ARNm: ácido ribonucleico mensajero; GTP: guanósín trifosfato; GDP: guanósín difosfato; Pi: fosfato inorgánico; 5': extremo 5' del ARNm; 3': extremo 3' del ARNm.

Estos procesos de elongación y translocación para cada aminoácido se realizan sucesivamente acompañados por los ciclos de los factores de elongación formando la cadena peptídica.

Los procesos de elongación de la cadena peptídica dejan libre el codón de iniciación para la formación de un segundo ribosoma que sintetizará la misma cadena peptídica. Esto ocurre sucesivamente hasta que se organicen aproximadamente unos 10 a 13 ribosomas sobre el mismo ARNm, formándose el organelo polirribosoma o polisoma. La distancia entre dos ribosomas sucesivos del polirribosoma o polisoma es aproximadamente 80 nucleótidos del ARNm. El ARNm forma un ángulo de 160° dentro de cada ribosoma, cuando se forman varios ribosomas sobre el mismo ARNm se encuentran a distancias equidistantes, lo que produce su aspecto en espiral o caracol en las observaciones al ME (Fig. 1.1 P).



**Figura 5.5. Esquema de la continuación de la elongación de la cadena peptídica y translocación del ribosoma y del ARNm.**

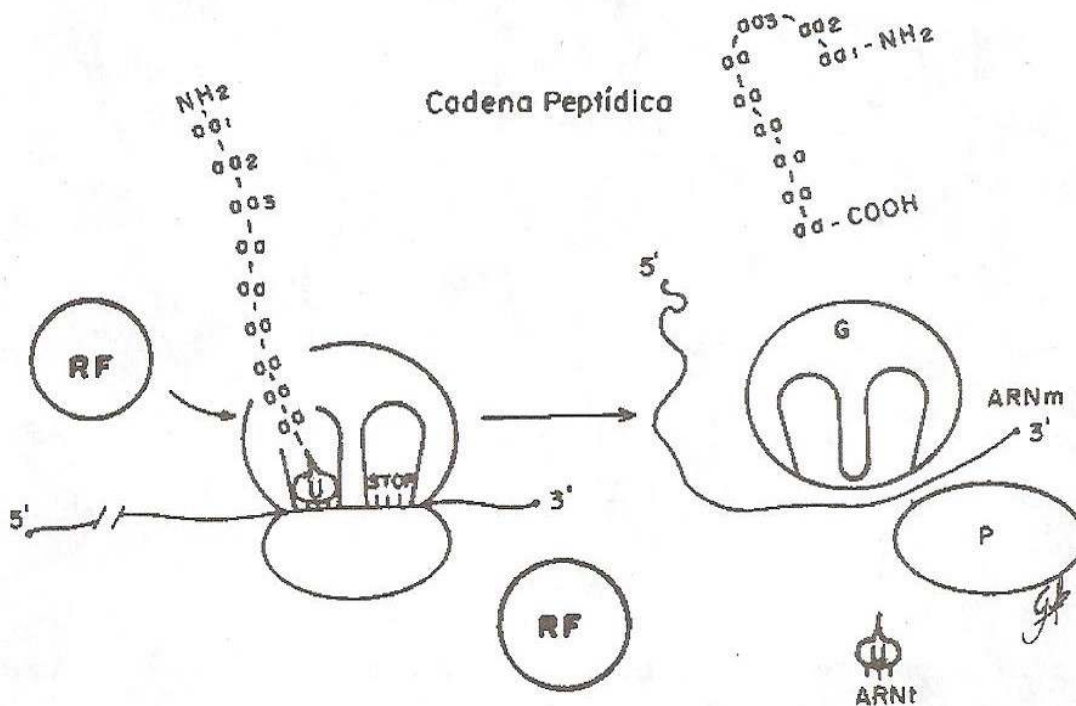
Los factores de elongación procarióticos (EF) están representados por círculos y en su interior las letras con que se designan. A. La peptidil transferasa (PT) de la gran subunidad ribosomal cataliza la unión peptídica entre el extremo carboxilo de la formilmetionina (fmet) y el extremo amino del aa1, al mismo tiempo interviene el EF-G activo e interviene en la translocación del siguiente codón del ARNm sobre el ribosoma. El sitio aminoacil del ribosoma queda libre, en el sitio peptidil se ubica el ARNt-aa1 unido a la fmet y se libera el primer ARNt que llevaba la fmet. B. El EF-Tu lleva el segundo ARNt-aa2 al sitio A libre. C. Se añade un nuevo aa2 y de nuevo el ribosoma es translocado sobre el ARNm. D. La cadena peptídica nacida (aa2-aa1-fmet) está al ARNt del aa2 y ocupa el sitio P del ribosoma, de nuevo queda libre el sitio A para que se continúe la elongación de la cadena peptídica.

PT: peptidil transferasa; NH<sub>2</sub>: extremo amino terminal de la proteína; fmet: formilmetionina; ARNt-aa: ácido ribonucleico de transferencia aminoacil; ARNm: ácido ribonucleico mensajero; ARNt: ácido ribonucleico de transferencia; GTP: guanósín trifosfato; GDP: guanósín difosfato; Pi: fosfato inorgánico; 5': extremo 5' del ARNm; 3': extremo 3' del ARNm.

Cuando el ARNm presenta en el sitio A el codón *stop* o de finalización de la síntesis proteica, no es reconocido por ningún anticodón de los ARNt-aas y determina la culminación de la síntesis proteica.

### 5.1.2.3. Finalización de la síntesis proteica

Durante la finalización de la síntesis de la proteína, los **factores de liberación** o finalización (RF) permiten la liberación de la cadena peptídica neo-sintetizada, de las dos subunidades del ribosoma, del último ARNt y del ARNm (Fig. 5.6). En las células eucarióticas se ha identificado un sólo factor de liberación: el eRF y en las células procarióticas dos: el pRF-1 y el pRF-2, que reconocerían los 3 codones *stop* de síntesis, pero no se conocen sus mecanismos moleculares.



**Figura 5.6. Esquema hipotético de la finalización de la síntesis peptídica.**

El factor de finalización o liberación (RF) reconocería el codón *stop* del sitio aminoacil y liberaría la cadena peptídica neosintetizada del último ARNt (u) y del ARNm. Al mismo tiempo, el ribosoma se disocia en sus dos subunidades.

RF: factor de liberación o finalización de la síntesis proteica; aa: aminoácido; NH<sub>2</sub>: extremo amino terminal de la cadena peptídica; COOH: extremo carboxi terminal de la cadena peptídica; ARNt: ácido ribonucleico de transferencia; ARNm: ácido ribonucleico mensajero.

## 5.2. LUGARES DE LA SÍNTESIS PROTEICA

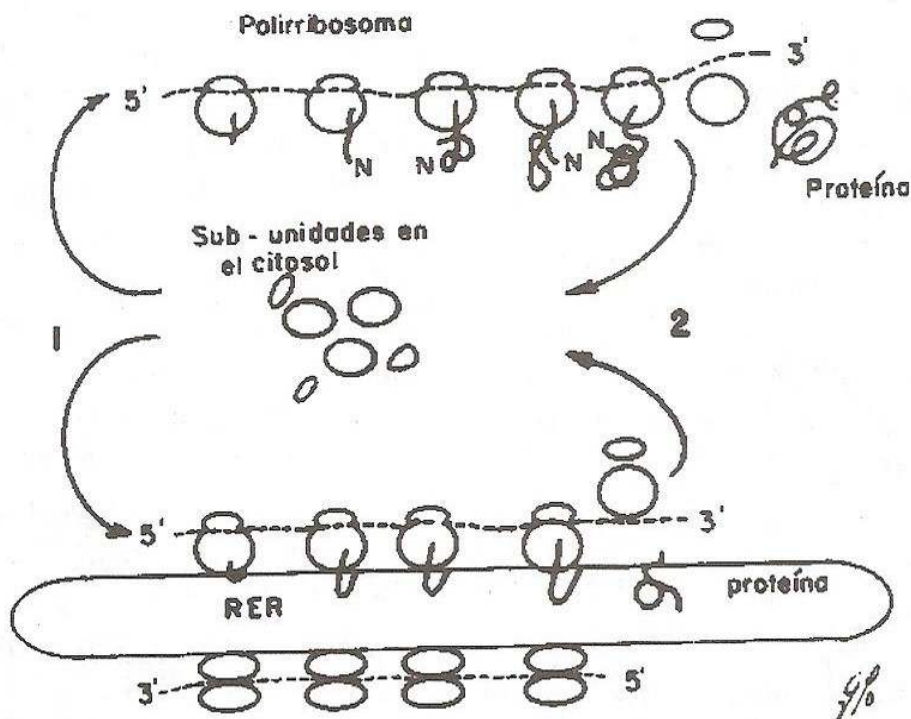
Los tres procesos que se acaban de describir (iniciación, elongación y finalización) son comunes para la síntesis de todas las proteínas en la célula, ya sea en el

citósol realizados por los **polirribosomas** (polisomas o ribosomas libres), o ya sea por los ribosomas del Retículo Endoplásmico denominado **Retículo Endoplásmico Rugoso (RER)**. El término rugoso indica la presencia de ribosomas sobre su membrana al contrario del Retículo Endoplásmico Liso (REL) que no los contiene. Los términos de RER y de REL se establecieron inicialmente de acuerdo a la observación de las células en el ME, antes de conocer sus funciones. Generalmente, el RER se presenta como un conjunto de cisternas delgadas unas sobre las otras, de 40 a 70 nm de espesor, decoradas por los ribosomas en el lado citosólico de sus membranas. La localización de este organelo es a menudo perinuclear (Fig. 1.1 RER). Mientras que el REL es una estructura tubular desordenada y un conjunto de vesículas redondeadas, ovoides y alargadas (Fig. 1.1 REL). Cuando la función de una célula es secretar proteínas tiene un RER muy abundante, pero si es la de secretar lípidos contiene un abundante REL.

La célula eucariótica tiene dos regiones determinadas por la presencia de la membrana plasmática y de organelos con membrana. Por un lado, como en todas las células, la membrana plasmática delimita el medio intracelular (región citoplásmica o citosólica) del medio extracelular (región exoplásmica) (Fig. 1.1 M). Por otro lado, únicamente en las células eucarióticas, las membranas de los organelos delimitan las regiones interiores de los organelos consideradas como equivalentes, pero no iguales, a la región exoplásmica. La presencia de los polirribosomas y del RER como lugares diferentes de la síntesis proteica permite a la célula seleccionar las proteínas que irán a las regiones exoplásmicas y a las membranas, de las que son destinadas a la región citosólica. La célula puede controlar así los procesos de síntesis, de maduración y los destinos finales adecuados de las proteínas. Más adelante veremos cómo se realiza esta distribución.

Las mitocondrias y los cloroplastos representan el tercer lugar de síntesis de proteínas. Efectivamente, el ADN mitocondrial humano codifica para trece proteínas y su síntesis se realiza en la matriz mitocondrial por sus ribosomas y los ARNt y aa transportados del citósol. En los cloroplastos también se realiza síntesis de proteínas a nivel de su membrana tilacoidea y de su matriz.

Los ribosomas que intervienen en la síntesis de proteínas en el RER y en los polirribosomas son idénticos. Sus dos subunidades se encuentran disociadas en el citósol cuando no están sintetizando proteínas y se unen en el citósol para formar el ribosoma de los polirribosomas o del RER (Fig. 5.7). Al observar al ME las subunidades ribosomales se pueden confundir con elementos del citoesqueleto u otras ribonucleoproteínas, pero se pueden diferenciar con técnicas inmunocitoquímicas.

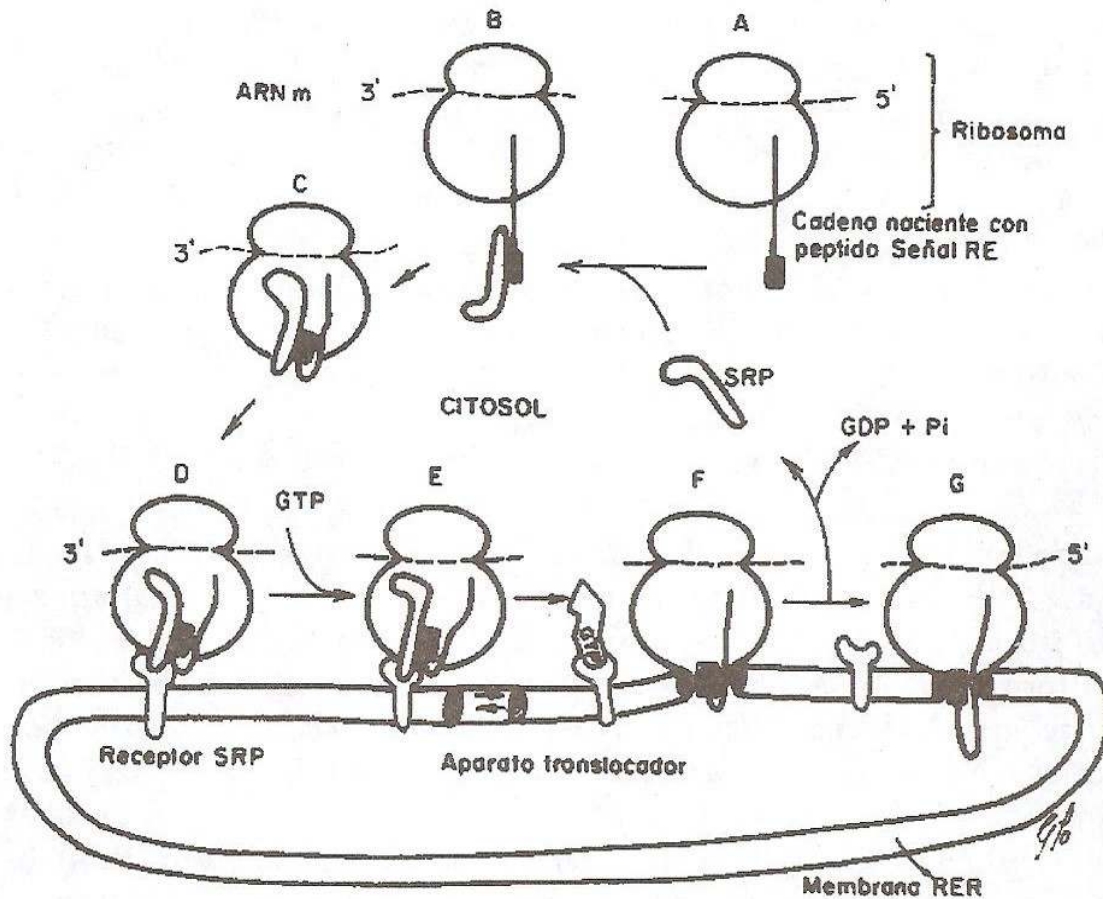


**Figura 5.7. Ciclo de las subunidades ribosomales.**

Las subunidades ribosomales se encuentran disociadas en el citosol. Cuando participan en la síntesis proteica se unen para formar los ribosomas (1) de los polirribosomas o del Retículo Endoplásmico Rugoso (RER). Al finalizar la síntesis de la cadena polipeptídica, el ribosoma se disocia de nuevo y sus subunidades liberadas al citosol (2).

### 5.2.1. Péptido señal RE

El mecanismo que utiliza la célula para realizar la síntesis de unas proteínas en el citosol y otras proteínas sobre el RER se encuentra en los genes mismos que codifican a las proteínas. En efecto, la síntesis de todas las proteínas empiezan en el citosol. Pero las proteínas que deben seguir su síntesis sobre RER tienen una señal molecular bajo la forma de una secuencia peptídica sintetizada al inicio del extremo amino terminal. Cuando existe esta secuencia peptídica de señal del Retículo Endoplásmico, llamado **péptido señal RE** (denominada antes Secuencia de Señal), la síntesis proteica en el citosol se interrumpe, y no prosigue sino hasta encontrar el RER (Fig. 5.8). Si la cadena peptídica nascente no tiene el péptido señal RE, se continúa la síntesis proteica en el citosol. Los ribosomas siguen ensamblándose sobre el ARNm, formando así un polirribosoma, y la síntesis de la proteína se realiza totalmente en el citosol (Fig. 5.7 Polirribosoma). Las proteínas sintetizadas por los polirribosomas tienen señales en sus extremos amino terminal o pequeñas secuencias de aas intercaladas en la cadena peptídica que determinan e intervienen en su transporte al sitio exacto de su destino final, ya sea la mitocondria, el cloroplasto o el núcleo (Ver 5.2.2).



**Figura 5.8. Ciclo de la partícula de reconocimiento de señal (SRP).**

- A. Exposición del péptido señal RE en la cadena peptídica naciente.  
 B. La SRP se une al péptido señal RE e interrumpe la síntesis proteica en el citosol.  
 C. Translocación del ribosoma sobre la membrana del RER.  
 D. Un receptor específico de la membrana de RER reconoce la SRP asociado al complejo de síntesis proteica.  
 E. Se organiza el aparato translocador en la membrana del RER y permite el paso de la cadena peptídica naciente y la SRP se une a un GTP.  
 F. La SRP se libera en el citosol por la hidrólisis del GTP.  
 G. La síntesis de la proteína continúa.  
 SRP: partícula de reconocimiento del péptido señal RE; GTP: guanósín trifosfato; GDP: guanósín difosfato; Pi: fosfato inorgánico.

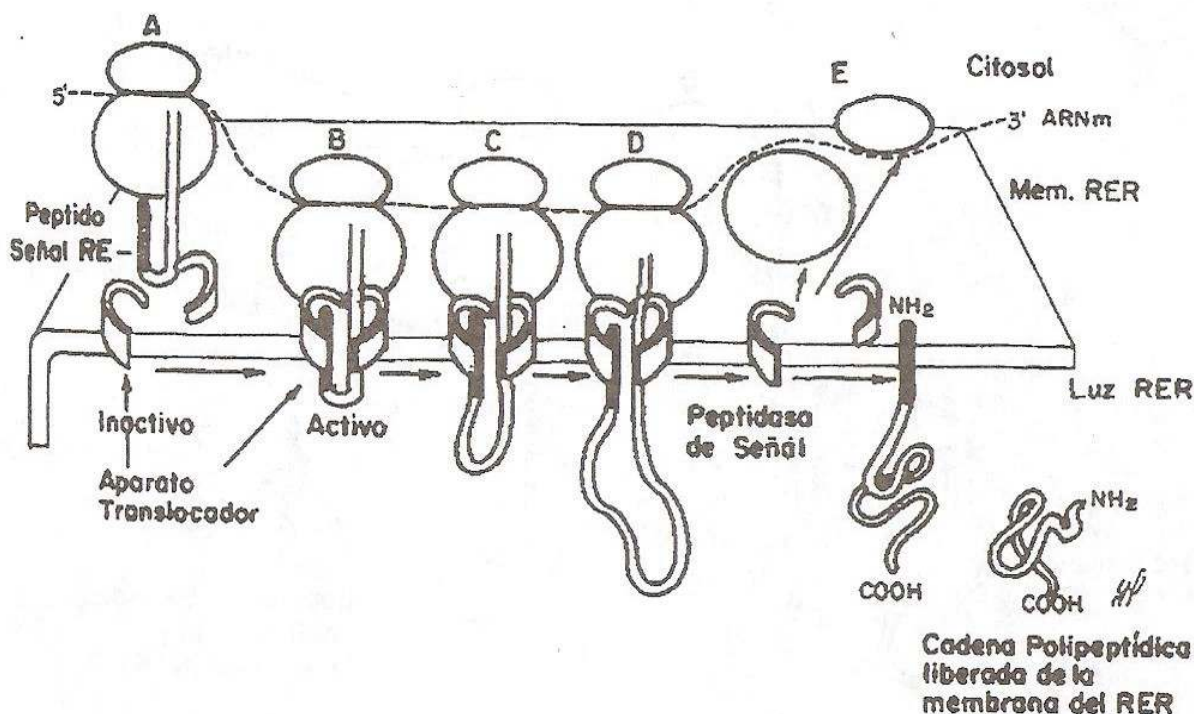
El péptido señal RE está constituido por los primeros 20 a 30 aminoácidos del péptido naciente y tiene 10 a 12 aminoácidos hidrofóbicos en su centro (Fig. 5.8 A). Este péptido señal RE es reconocido por una ribonucleoproteína translocadora, llamada **Partícula de Reconocimiento de Señal (SRP)** que se encuentra en el citosol. La SRP se une al péptido señal RE (Fig. 5.8 B) e inmediatamente ocupa el sitio aminoacil del ribosoma (Fig. 5.8 C) interrumpiendo la síntesis proteica y luego lleva todo el complejo de síntesis proteica sobre el RER. La membrana del RER contiene un **receptor de la SRP** (denominada antes proteína de anclaje)

que se une a la SRP asociada al complejo de síntesis proteica (Fig. 5.8 D). En esta etapa ocurren dos procesos simultáneos: uno es la separación del ribosoma de la SRP-receptor, que libera al mismo tiempo la cadena peptídica naciente; y el otro es la translocación del péptido naciente a través de la membrana del RER por la formación del aparato translocador de esta membrana (Fig. 5.8 E y F). La separación del SRP-receptor del ribosoma se realiza gracias a la unión de un GTP a una proteína de 54 kD de la SRP (homóloga a una proteína G), que cambia su conformación. Luego la SRP hidroliza el GTP liberándose del receptor y adquiriendo de nuevo su conformación inicial para volver a realizar el proceso con otro ribosoma que presente el péptido señal RE (Fig. 5.8 flecha entre F y G). En el ribosoma sobre la membrana del RER se continúa la síntesis de la proteína (Fig. 5.8 G).

La cadena peptídica naciente liberada de la SRP entra en contacto con la membrana del RER (Fig. 5.9 A). Esta interacción activa los elementos del **aparato translocador** (antes llamado riboforinas), es decir que las proteínas que lo constituyen forman un “poro acuoso” en la membrana del RER, permitiendo la translocación de la cadena naciente a través de ella (Fig. 5.9 B). La cadena peptídica sigue creciendo y atravesando en forma de bucle, porque el péptido señal RE, por ser hidrofóbico, se queda anclado en el aparato translocador durante la síntesis proteica (Fig. 5.9 B, C y D). El aparato translocador es una estructura dinámica y está constituido por muchas subunidades proteicas; se forma por el contacto del bucle de la cadena peptídica naciente con la membrana del RER (Fig. 5.8 E). El aparato translocador se mantiene abierto durante el resto de la fase de elongación de la cadena peptídica y se desorganiza cuando el ribosoma se libera después de haber finalizado la síntesis proteica (Fig. 5.9 E). Cuando culmina la síntesis proteica el péptido señal RE es separado de la cadena peptídica recién sintetizada por la **peptidasa de señal del RER** (Fig. 5.9 E). La proteólisis del péptido señal RE puede dejar la proteína sintetizada en dos posiciones diferentes. Primero, cuando la translocación es total, es decir que el último aa de la proteína entra a la luz del RER, la proteína se libera en la luz del RER (Fig. 5.9 E). En el segundo caso la translocación no es completa, es decir que las proteínas no atraviesan totalmente la membrana del RER y quedan insertadas o ancladas en la membrana del RER y conforman las proteínas de las diferentes membranas de la célula, excepto las membranas de las mitocondrias y de los cloroplastos. Las proteínas liberadas en el interior del RER pueden tener dos destinos: hacia el exterior de la célula como producto de secreción o al interior de otros organelos con membrana, excepto mitocondrias y cloroplastos.

Cuando se sintetizan las proteínas de membranas, para impedir una translocación completa, las proteínas tienen, además del péptido señal RE, otro péptido señal denominado de **pare de transferencia peptídica** (*stop-transferpeptide*) (Fig. 5.10 A). El péptido de pare de transferencia no deja pasar más la cadena peptídica a través del aparato translocador, porque es una secuencia de





**Figura 5.9.** Esquema del mecanismo de la penetración de la cadena nascente a través de la membrana del RER por el aparato translocador y culminación de la síntesis en el RER.

A Formación del aparato translocador.

B. Paso de la cadena peptídica nascente a través del aparato translocador.

C. y D. Continuación de la síntesis peptídica en el RER.

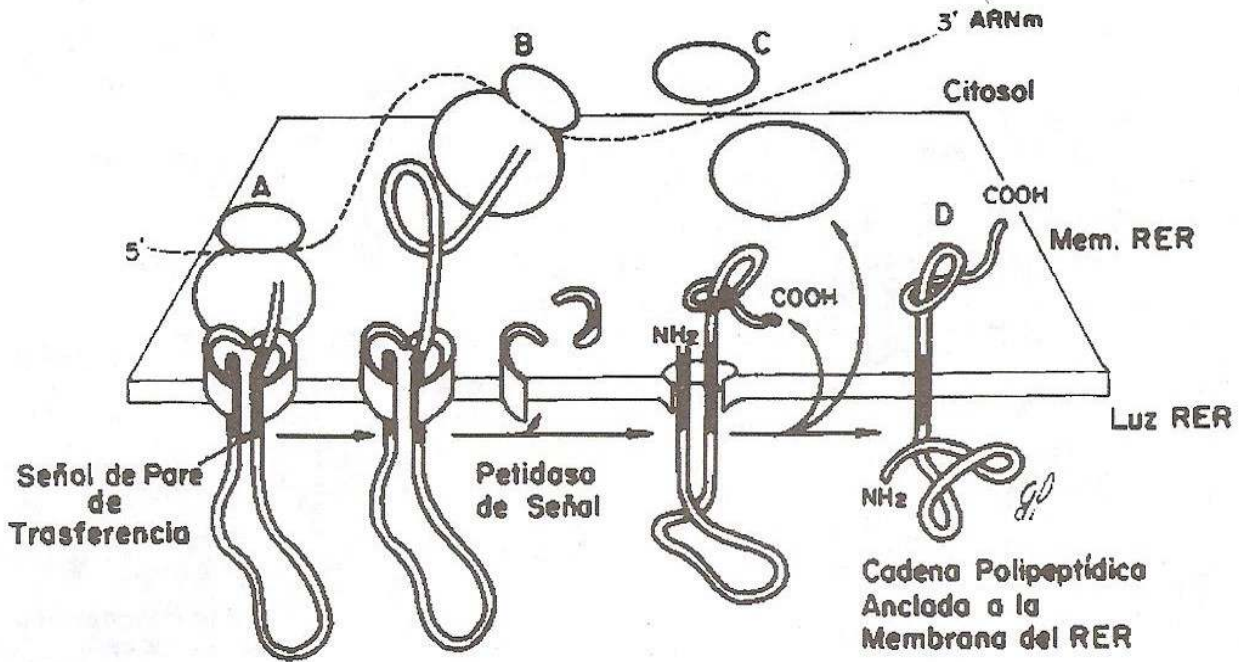
E. Separación del péptido señal RE y liberación de la proteína en la luz del RER.

ARNm: ácido ribonucleico mensajero; RER: retículo endoplásmico rugoso; Mem. RER: membrana del RER; NH<sub>2</sub>: extremo amino terminal de la proteína; COOH: extremo carboxil terminal de la proteína.

25 a 30 aas hidrofóbicos en una estructura de  $\alpha$ -hélice (Fig. 2.4). En este caso, la parte del polipéptido que se continúa sintetizando inmediatamente después del péptido señal pare de transferencia queda en el lado citosólico de la membrana del RER (Fig. 5.10 B). Cuando se acaba la síntesis proteica de la proteína de membrana (Fig. 5.10 C), la peptidasa de señal separa el péptido señal RE, y la proteína queda insertada en la membrana del RER por el péptido señal pare de transferencia (Fig. 5.10 D). Estas proteínas insertadas en la membrana del RER son destinadas a la membrana plasmática y a las membranas de todos los otros organelos, excepto de nuevo las membranas de las mitocondrias y de los cloroplastos.

### 5.2.2. Señales de direccionamiento

Además del péptido señal RE, que determina el paso a través de la membrana del RER, existe otro mecanismo por el cual proteínas sintetizadas en los polirribosomas atraviesan la membrana del RER. Este mecanismo de transporte



**Figura 5.10. Esquema de inserción de las proteínas en la membrana del RER.**

A. El péptido de señal de pare de transferencia se queda en la membrana del RER.

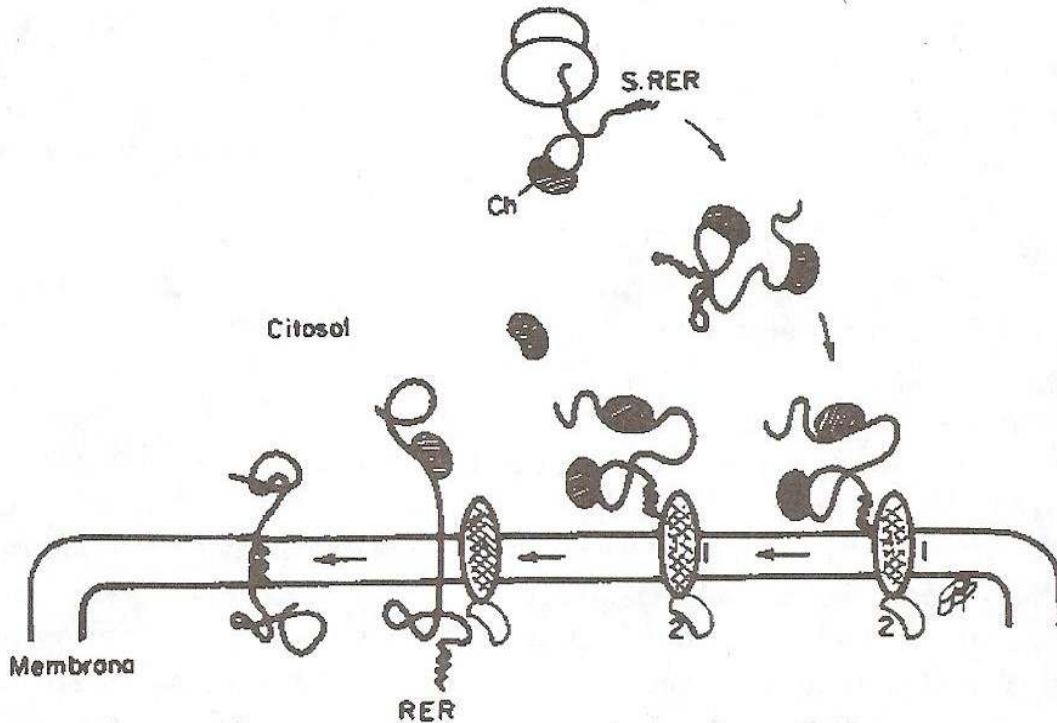
B. Continuación de la síntesis proteica.

C. Culminación de la síntesis proteica y la separación del péptido señal RE.

D. La proteína queda insertada en la membrana.

ARNm: ácido ribonucleico mensajero; RER: retículo endoplásmico rugoso; Mem. RER: membrana del RER; NH<sub>2</sub>: extremo amino terminal de la proteína; COOH: extremo carboxil terminal de la proteína.

citoplasmático o direccionamiento de proteínas en el citosol hacia el RER es excepcional pero se presenta. Existen proteínas citoplasmáticas que reconocen proteínas específicas sintetizadas en el citosol que tienen una secuencia llamada señal de direccionamiento para el RER (Fig. 5.11 S.RER) y las transportan al RER. Dos familias diferentes de proteínas reconocen las señales peptídicas diferentes al péptido señal RE: las proteínas chaperonas y las proteínas de choque térmico 70 (hsp70). Las hsp70 ejercen también la función de chaperonas pero se diferencian de ellas porque cumplen otras funciones en las células. Aparentemente las proteínas chaperonas y las hsp-70 intervienen en el desplegamiento de las proteínas sintetizadas por los polirribosomas, y las acompañan hasta su destino final incluyendo la translocación a través de la membrana blanco, como en las membranas de las mitocondrias y de los cloroplastos. El mismo mecanismo puede intervenir para la inserción (o anclaje) en la membrana del RER de proteínas sintetizadas en el citosol con señal de direccionamiento para el RER. En la membrana del RER existen dos proteínas que intervienen en la translocación de las proteínas con señal de direccionamiento RER sintetizadas por los polirribosomas y transportadas por las hsp70 (Fig. 5.11 S.RER). Estas dos proteínas de la membrana del RER



**Figura 5.11. Anclaje en la membrana del RER de una proteína sintetizada en el citosol.**

S.RER: señal de direccionamiento para el RER; Ch: proteína chaperona; RER: Retículo Endoplásmico Rugoso; 1 y 2: proteínas que permiten el paso y la inserción de la proteína en la membrana del RER.

actuarían como el aparato translocador (Fig. 5.11 1 y 2). Existen también translocaciones a través de la membrana del RER de proteínas sin señales en sus extremos amino terminal, pero sus mecanismo no se conocen. Este direccionamiento sugiere la existencia de otras señales, diferentes al péptido señal RE, que determinan el destino final de una proteína, no solamente para el RER sino para otros organelos como las mitocondrias, los cloroplastos, los peroxisomas y el núcleo.

Efectivamente se han encontrado señales denominadas **señales de parche** o **internas**, porque están constituidas por pequeñas secuencias de 3 a 4 aas repartidas en la cadena peptídica de la proteína que se orientan en una misma región de la proteína cuando se repliega. La señal de parche de algunas proteínas destinadas al núcleo interactúa con el complejo del poro nuclear para poder atravesarlo. Se piensa que estas señales determinan su reconocimiento por las proteínas chaperonas o de choque térmico que las transportan a través del citosol para que lleguen al organelo blanco.

Las proteínas destinadas a las mitocondrias presentan una señal en el extremo amino de la proteína y se caracteriza por tener 15 aas hidrofóbicos básicos (principalmente arginina y lisina) intercalados entre los primeros 30 aas, denominado **péptido señal Mit** (antes se llamaba secuencia líder). Algunas tienen señales par-

che de aas no cargados. Se ha encontrado receptores en las dos membranas de la mitocondria que interactúan con las señales y los aparatos translocadores de proteínas por donde atraviesan las proteínas a la mitocondria (Ver 6.1.4.2). En las proteínas destinadas a los cloroplastos se presenta también un **péptido señal Clo**, similar al de la mitocondria. Las proteínas de la tercera membrana del cloroplasto, la tilacoidea, tienen un **péptido señal Til** localizado inmediatamente después del péptido señal Clo. En la matriz de los dos organelos se encuentra la peptidasa de señal que elimina los péptidos de señal cuando la proteína entra a esos organelos.

Por último, se han encontrado péptidos de señales de “estancia” o “permanencia” en un compartimento preciso de la célula. Como la que se encuentra en las proteínas que se quedan en la luz del RER, denominada **señal de retención del RER**. Las señales de retención del RER son motivos en la secuencia peptídica que son reconocidos en la luz del organelo y hacen que se queden en el organelo. Entre estos motivos se encuentran el dilisina en el extremo carboxi terminal y el diarginina en el extremo amino terminal. Ya se han descrito y caracterizado alrededor de 50 proteínas que se quedan en el RER por estas señales de retención.

Como se ha mencionado, todas las proteínas empiezan su síntesis en el citosol (salvo algunas proteínas dentro de la mitocondria y de los plastidios). Su destino ulterior depende de la secuencia de sus aas, que puede contener cualquiera de las señales anteriormente mencionadas. Estas señales se denominan en conjunto las **señales de direccionamiento** (*sorting signals*), por ser diferentes al tan conocido péptido señal RE. Las señales de direccionamiento orientan la localización de la proteína fuera del citosol. La mayoría de las proteínas sintetizadas por los polirribosomas no tienen una señal de direccionamiento y en consecuencia se quedan en el citosol. Muchas otras, sin embargo, tienen señales de direccionamiento específicas que orientan su transporte a través del citosol hacia el núcleo, o al RE, o a las mitocondrias, o a los plastidios, o a los peroxisomas. Las señales de direccionamiento pueden también orientar el transporte de las proteínas del RER hacia otros destinos dentro de la célula.

Las proteínas sintetizadas en el RER viajan dentro de vesículas, en algunos casos recubiertas, hasta el complejo de Golgi (CG). En otros casos se forman túbulos tapizados que se liberan del RER con las proteínas en su interior y se fusionan con la membrana del complejo de Golgi (Fig. 5.13).

### 5.3. MADURACIÓN DE LAS PROTEÍNAS

Muchas proteínas sufren modificaciones después de su síntesis en el citosol o en el RER para poder llegar a ser maduras, es decir funcionales.

### 5.3.1. Maduración en el RER

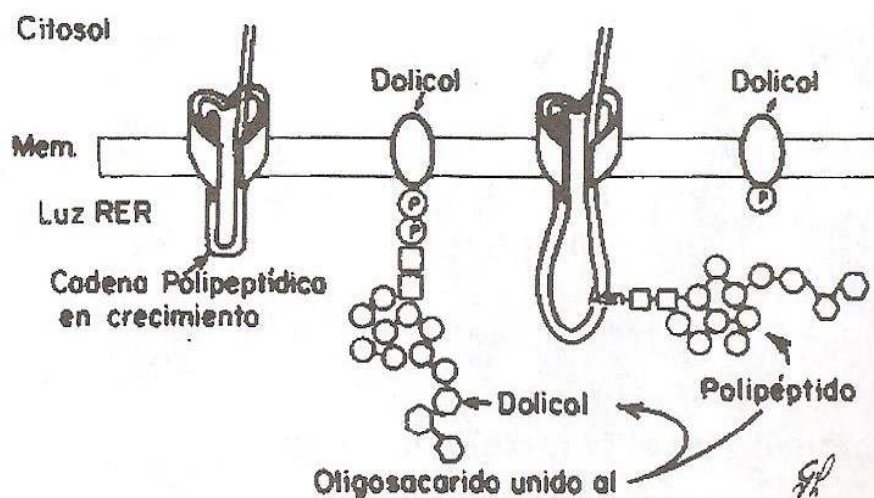
Para las proteínas sintetizadas en el RER, algunas modificaciones se inician en él y se culminan en el CG o en las vesículas de secreción o en el exterior de la célula, otras se realizan totalmente en el RER o en el CG.

La proteína disulfida isomerasa cataliza la oxidación del grupo sulfhidril libre de las cisteínas para formar las uniones disulfido o **puentes disulfuro**, que permiten a la cadena polipeptídica replegarse y formar la estructura terciaria de las proteínas.

Una proteína chaperona llamada *binding protein* de la luz del RER impide el repliegue incorrecto de la cadena peptídica y también inhibe que se formen agregados de las proteínas recién sintetizadas que entran totalmente a la luz del RER.

Muchas de las proteínas sintetizadas en el RER son **glicosiladas** en este organelo dando origen a las glicoproteínas. El proceso de glicosilación proteica mejor conocido, es el de la transferencia en bloque de un oligosacárido compuesto por 2 *N*-acetilglucosaminas (GlcNac), 9 manosas (Man) y 3 glucosas (Glc) al grupo amino de la asparagina en la proteína naciente que comienza su translocación a la luz del RER (modificación cotraduccional). Esta unión se denomina ***N*-osídica** o **unión a la asparagina**.

La transferencia de este oligosacárido sobre la asparagina hace intervenir una molécula lipídica anclada en la membrana del RER, llamado dolicol que es un poliisoprenol, sobre el cual la cadena oligosacarídica está fijada por medio de un pirofosfato (Fig. 5.12). El dolicol fosfato traspa en bloque la cadena oligosacárida a la cadena peptídica naciente.

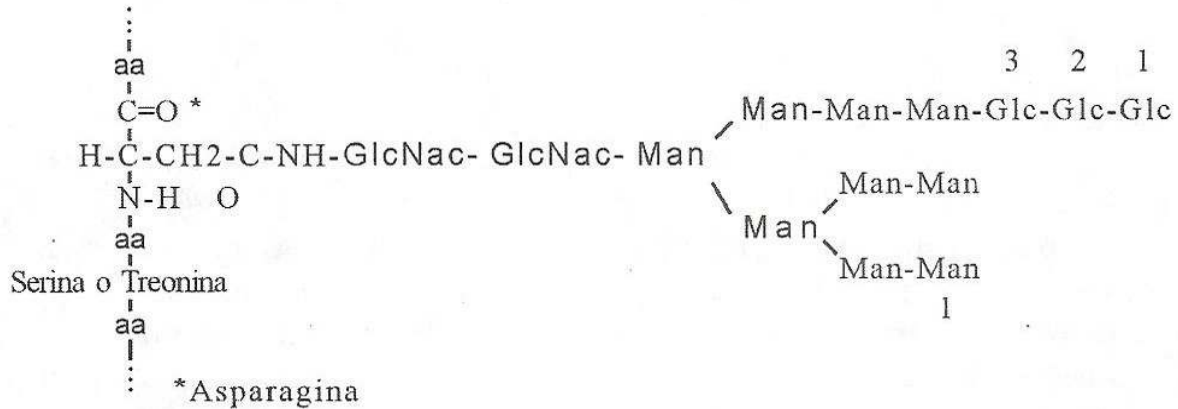


**Figura 5.12. Iniciación de la glicosilación *N*-osídica de las proteínas en el RER.** El dolicol fosfato traspa en bloque la cadena oligosacárida a la cadena peptídica naciente en la luz del RER.

Mem: membrana del RER; Asn: asparagina; P: fosfato; □: *N*-acetilglucosamina; ○: Manosa; ◊: Glucosa.

A todas las glicoproteínas *N*-osídicas se les une inicialmente este oligosacárido, aunque sufran otras modificaciones durante su maduración final. Efectivamente, 4 azúcares se eliminan en el RER y 5 otros en el CG, para dejar un **núcleo pentasacárido común** a todas las glicoproteínas *N*-osídicas, que están indicadas en el siguiente esquema:

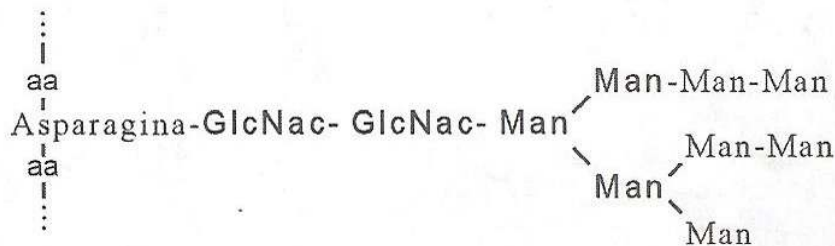
### Núcleo común



Luego de su traslado en bloque del oligosacárido y de culminada la síntesis peptídica, se eliminan azúcares en el RER: la glucosidasa I elimina la glucosa 1 del esquema anterior; la glucosidasa II elimina las glucosas 2 y 3; y la manosidasa del RER la manosa 1. Estas modificaciones, denominadas postraduccionales, son cambios posteriores a la síntesis peptídica.

La modificación postraduccionales da como resultado el siguiente glicopéptido, que viaja del RER al CG por medio de vesículas.

### Núcleo común

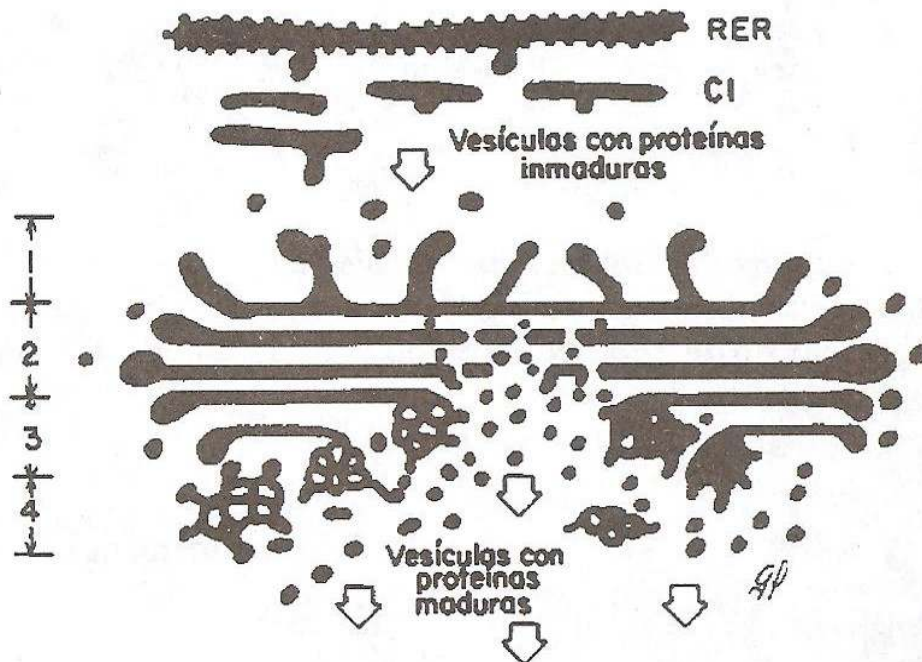


### 5.3.2. Maduración en el complejo de Golgi

El complejo de Golgi (CG) se localiza generalmente cerca del núcleo y en las células animales rodea el centrosoma. En el ME se ve como un conjunto de cisternas empiladas, delgadas, con dilataciones en los bordes rodeadas de muchas vesículas. Entre el RER y el CG se encuentran unas cisternas dilatadas en forma de túbulos denominado compartimento intermedio (CI) que es continuación del

RER pero no presenta ribosomas. El CG se agrupa en tres regiones denominadas *cis*, *medial* y *trans* (Fig. 5.13). La región *cis* está constituida por redes tubulares orientadas hacia el RER, por eso se le llama red-*cis*-Golgi y no por cisternas como se creía. La red-*cis*-Golgi se continúa con la región *medial* constituida por cisternas delgadas en el centro y dilatadas en la periferia del organelo, pero periódicamente son discontinuas por una zona tubular. La región *trans* se subdivide en dos: la primera consiste en cisternas discontinuas en el centro del organelo que se dilata hacia la periferia y hacia al centro formando una red tubular; la segunda, son redes tubulares asociadas en forma de esfera, denominada red-*trans*-Golgi. Esta red varía en su estructura en diferentes tipos celulares y su tamaño depende de la cantidad de tráfico de proteínas a través de ella.

Hay que añadir que se encuentran muchas vesículas dentro y alrededor del CG que transportan moléculas. Estas vesículas pueden provenir del RER, del mismo CG o de la membrana plasmática.



**Figura 5.13. Esquema del complejo de Golgi.**

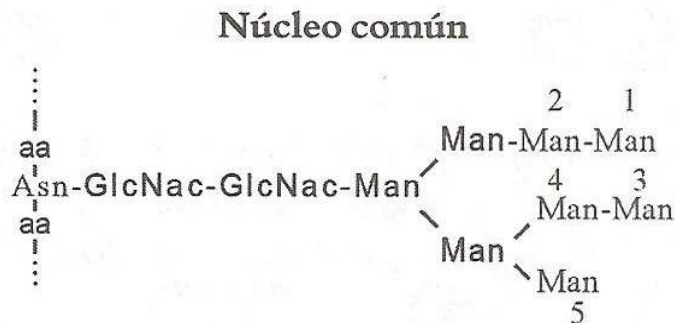
1: red-*cis*-Golgi; 2: cisternas *medial*; 3: cisternas *trans*; 4: red-*trans*-Golgi; RER: retículo endoplásmico rugoso; CI: compartimento intermedio.

El CG tiene doble polaridad: una morfológica y otra funcional. Las proteínas recién sintetizadas en el RER viajan en vesículas y entran al CG por la red-*cis*-Golgi, pasan a través del empilamiento de cisternas *medial* y *trans* y a través de la red-*trans*-Golgi para dirigirse hacia su destino. El destino final de estas proteínas se determina durante este viaje donde las proteínas sufren modificaciones (maduración). Las vesículas con una dirección ya determinada dejan el CG a nivel de la red-*trans*-Golgi.

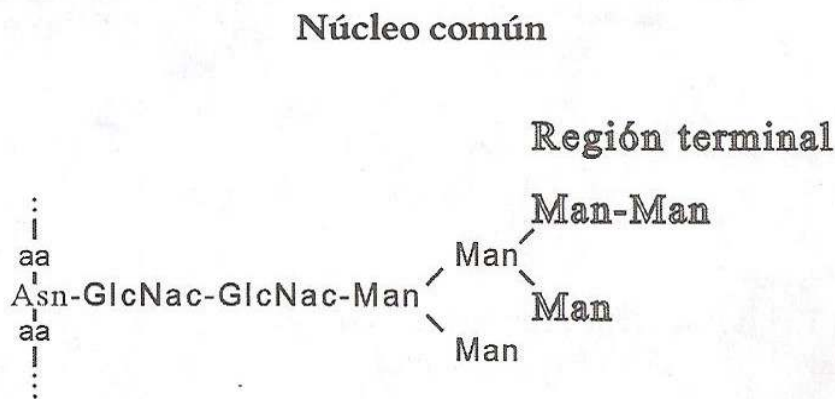
Al CG se le designa también la fábrica de carbohidratos, porque sintetiza y añade la porción oligosacárida de las glicoproteínas, de los proteoglicanos y de los glicolípidos.

### 5.3.2.1. Glicosilación

El oligosacárido de la glicoproteína que proviene del RER sigue perdiendo azúcares al inicio de su travesía en el CG. En el siguiente esquema se indica la eliminación de más azúcares por enzimas de la red-*cis*-Golgi: la manosidasa I elimina las manosas 1 y 2; y la manosidasa II las manosas 3, 4 y 5, dejando sólo el **núcleo pentasacárido común**.



En algunas glicoproteínas sólo se eliminan dos moléculas de manosa, dejando solamente tres de ellas, formándose una glicoproteína cuya ramificación glucosídica se llama **oligosacárido de tipo rico en manosa**, como se ilustra a continuación:

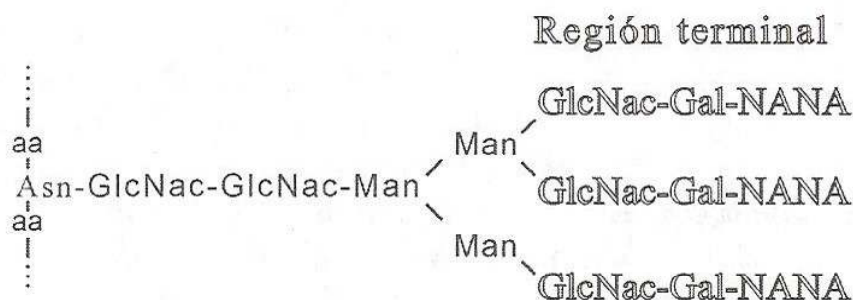


#### Oligosacárido de tipo rico en manosa

Las cadenas oligosacáridicas cuyas cinco manosas se eliminan quedan sólo con el núcleo pentasacárido común. Sobre las dos manosas libres se añaden primero el *N*-acetilglucosamina (GlcNac) en las cisternas *medial*, en seguida la galactosa (Gal) y por último el ácido *N*-acetilneuramínico (ácido siálico o NANA) en la cisternas *trans*. Así se forman las glicoproteínas más abundantes y cuya ramificación glucosídica se llama **oligosacárido de tipo complejo**.



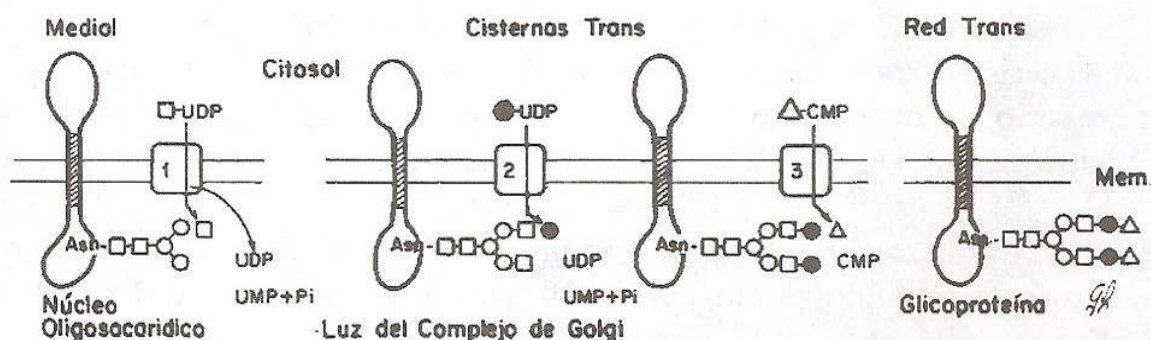
### Núcleo común



### Oligosacárido de tipo complejo

En el anterior esquema se muestra el oligosacárido complejo de las glicoproteínas más común, el triantenario o de tres ramas, pero pueden ser también dos o cuatro ramificaciones. Además, se pueden encontrar ramificaciones a nivel de las galactosas. La fucosa puede adicionarse sobre el GlcNac del núcleo común. Frecuentemente la región terminal puede ser truncada y contener sólo GlcNac y Gal, o solamente GlcNac.

La formación de la región terminal sobre el núcleo pentasacárido es realizada por tres enzimas glicosiltransferasas que se encuentran en la membrana de las diferentes regiones del CG. Estas enzimas actúan rigurosamente en forma secuencial, para que el orden de adición sea de uno en uno. Los azúcares son activados en el citosol por la unión de un nucleótido (Fig. 5.14) y atraviesan la membrana del CG a través de las glicosiltransferasas que se encuentran en la membrana de las regiones del CG. Las mismas enzimas añaden el azúcar al núcleo común de oligosacáridos en la luz del organelo.

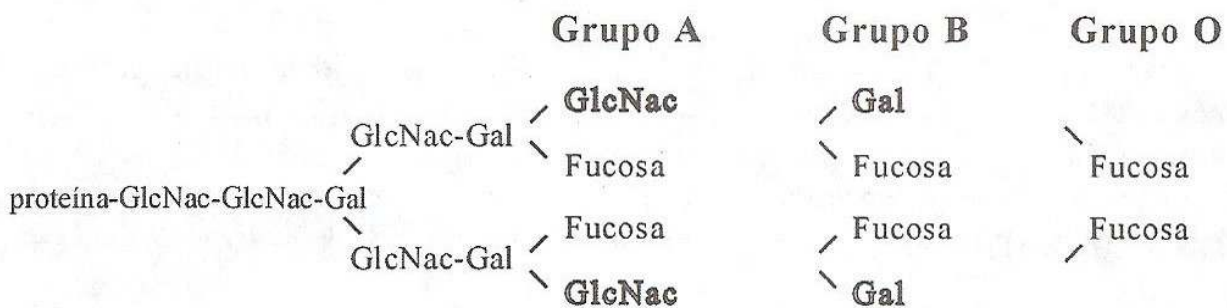


**Figura 5.14. Síntesis en el CG de la región terminal de oligosacáridos complejos sobre una glicoproteína de membrana.**

La región terminal se forma por la adición secuencial de *N*-acetilglucosamina ( □ ) por la *N*-acetilglucosamin-transferasa (1) en las cisternas *medial*, la galactosa ( ● ) por la galactosil-transferasa (2) y el *N*-acetilneuramínico o ácido siálico ( △ ) por la *N*-acetilneuramin-transferasa (3) en las cisternas *trans*. La glicoproteína formada sale de la red-*trans*-Golgi anclada en la membrana de una vesícula.

UDP: uridín difosfato; UMP: uridín monofosfato; Pi: fosfato inorgánico; CMP: Citidín monofosfato.  
O: manosa.

Los motivos oligosacáridos de las glicoproteínas tienen muchas funciones: pueden intervenir en los fenómenos de reconocimiento entre las células o el direccionamiento hacia un tipo celular específico. Por ejemplo, los hepatocitos de mamíferos poseen un receptor para la galactosa, que captan las glicoproteínas con oligosacárido complejo cuando pierden su ácido siálico (NANA) terminal por acción de una neuroaminidasa en el plasma. Así los hepatocitos sacan estas proteínas desactivadas de la circulación en pocos minutos. Otro ejemplo, es el sistema ABO de los grupos sanguíneos que están determinados por los azúcares externos de la región terminal como se muestra en el siguiente esquema:



El grupo A está determinado por dos GlcNac terminales; en el grupo B los GlcNac son reemplazados por la Gal; y el grupo O no contiene azúcares en estas posiciones, sino se termina por las dos fucosas comunes de los tres grupos sanguíneos. El grupo AB se caracteriza por terminar con un GlcNac y una Gal en estas posiciones.

En el CG, además de la glicosilación *N*-osídica, también se realiza la *O*-osídica sobre la serina o la treonina o la hidroxilisina, pero son menos frecuentes y su mecanismo es muy poco conocido. Generalmente comienza con *N*-acetilglucosamina, seguido de unos 10 o más azúcares.

Los proteoglicanos, componentes abundantes de la matriz extracelular y del *mucus*, están constituidos por un eje central proteico y por muchas cadenas largas de azúcares que se unen al eje proteico. La glicosilación de los proteoglicanos se hace inicialmente sobre las serinas donde se forma un tetrasacárido constituido por la xilosa seguida de dos galactosas y un ácido glucurónico. Sobre el ácido glucurónico se adicionan disacáridos repetidos en un gran número conformando la región de glicosaminoglicanos de los proteoglicanos. Estos disacáridos son *N*-acetilglucosamina unido a otro azúcar, que pueden ser el ácido glucurónico, el heparán sulfato, el queratán sulfato o la galactosa. Existen proteoglicanos que quedan anclados a la membrana y conforman los proteoglicanos de la membrana, importantes en el reconocimiento y unión entre las células de un mismo tejido.

En algunos casos también se sulfata la tirosina del eje central luego de la glicosilación. Los glicosaminoglicanos son ensamblados en el CG e inmediatamente después son sulfatados en el mismo organelo.

Se encuentran también en el CG, las enzimas necesarias para la glicosilación de los lípidos y la elongación de las cadenas oligosacáridicas de los glicolípidos, pero su mecanismo aún no se conoce.

Dado que la glicosilación es un mecanismo muy complejo en el que están involucrados los oligosacáridos de las glicoproteínas y de los glicolípidos, cuyas funciones son muy importantes, pero la mayoría de éstas son aún desconocidas. Entonces, ¿cuál es el propósito de la glicosilación?

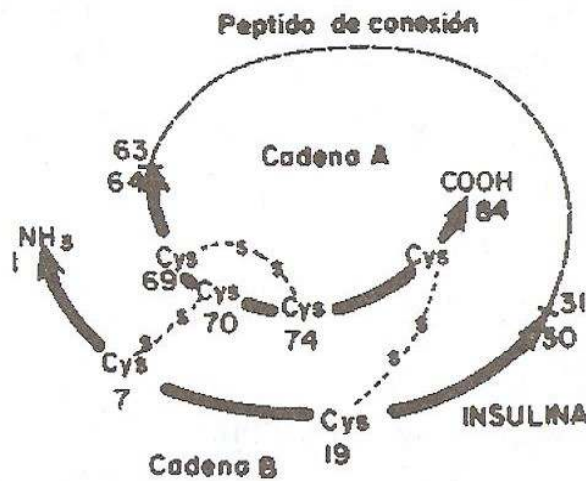
La glicosilación *N*-osídica es predominante en todas las células eucariótica incluyendo las levaduras, y ausente en las procarióticas. Este tipo de glicosilación se encuentra en la gran mayoría de las glicoproteínas (90%) transportadas a través del RER y del CG, se ha pensado que sus funciones deben ser ayudar a este proceso de transporte. Porque cuando se bloquea la glicosilación de las proteínas no se pliegan correctamente precipitándose en el RER y no son transportadas; pero la mayoría de las proteínas conservan su función aunque no sean glicosiladas si ésta no depende de la región glicosilada. El 10% de las glicoproteínas sintetizadas por las células son glicosiladas en el CG por medio de una unión *O*-osídica.

A causa de que los azúcares, las glicoproteínas tienen una flexibilidad limitada. Porque, aunque sea pequeño un oligosacárido sobresale de la superficie de una proteína y en consecuencia limita el acercamiento de otras macromoléculas a su superficie. De este manera, por ejemplo, la presencia de los oligosacáridos tiende a hacer relativamente más resistente una glicoproteína a la digestión por proteasas.

Otro ejemplo es la función de adhesión intercelular ejercida por la porción glucídica de las glicoproteínas y de los glicosaminoglicanos de la membrana plasmática como las selectinas, caderinas o integrinas.

### 5.3.2.2. Separación proteolítica

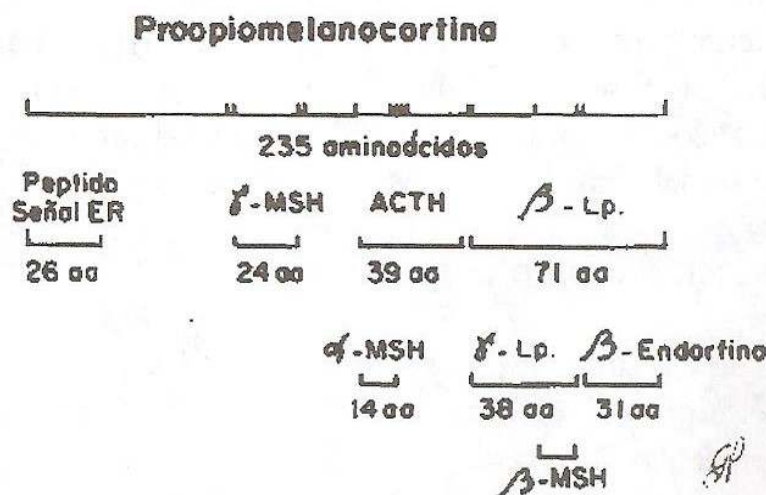
Las proteínas sintetizadas en el RER que van a ser secretadas, generalmente sufren separación proteolítica (*clivage*). Esta es otra modificación que permite la maduración de proteínas. Las reacciones de separación proteolítica se realizan en el tránsito de las proteínas a través del CG, y se continúan hasta la exocitosis del producto de secreción. Un ejemplo típico es la conversión de la proinsulina en insulina (Fig. 5.15), que se realiza por medio de la separación del péptido de conexión de la proinsulina. La precisión de esta proteólisis implica la acción de peptidasas específicas.



**Figura 5.15. Esquema de la separación proteolítica de la proinsulina en insulina.**

La proinsulina está compuesta por un polipéptido de 84 aas, para volverse insulina es separado en el aa 30 y 63, dejando las cadenas A y B unidas por dos puentes disulfuros.

La separación proteolítica puede dar diferentes productos a partir de una cadena peptídica, llamada **poliproteína**, porque da origen a diferentes proteínas de actividad biológica a veces completamente diferente. El caso mas demostrativo es el de un péptido de 3.100 dalton, la proopiomelanocortina (Fig. 5.16), llamada así porque es el precursor de una sustancia cuya acción recuerda aquella del opio ( $\beta$ -endorfina), de 3 tipos de hormonas estimulantes de melanocitos (MSH  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ ), y de la adrenocorticotropina (ACTH).



**Figura 5.16. Separación proteolítica de la proopiomelanocortina.**

En la cadena polipeptídica del precursor, las argininas y las lisinas que sirven de referencia para la separación por acción de las proteasas están indicadas por las líneas verticales (Shepherd, 1988). MSH: hormona estimulante de melanocitos; ACTH: adrenocorticotropina; Lp: lipotropina.

El precursor de cada una de estas moléculas está dotado de un par de aminoácidos básicos, arginina o lisina que son el sitio de reconocimiento de las proteasas específicas. Este mismo mecanismo se encuentra para otros precursores, como el de la proinsulina. Parece que la manera en que el precursor es separado puede modificarse ya sea de acuerdo al tipo celular o ya sea según las circunstancias fisiológicas dentro de un mismo tipo celular.

Hay que anotar también la separación proteolítica extracelular que se presenta en un gran número de productos de secreción como las enzimas digestivas el quimiotripsinógeno y el tripsinógeno. La secreción de estas moléculas como precursores no activos es un mecanismo de protección de la célula, para luego ser activadas en el tubo digestivo. Este mismo mecanismo se encuentra en numerosas proteínas del plasma como las responsables de la coagulación.

Además de las anteriores modificaciones que maduran las proteínas y los lípidos, el CG adiciona también metales, grupos sulfatos y fosfatos, y lípidos a las proteínas.

### **5.3.2.3. Otras adiciones**

La unión por puentes disulfuro entre diferentes cadenas peptídicas se realiza en el CG como el ensamblaje de los anticuerpos que están constituidos por cuatro moléculas peptídicas.

A algunas proteínas de secreción se añaden también ácidos grasos, se piensa que por una unión covalente sobre una cisteína o una serina de la proteína. Esta reacción se denomina acilación.

El zinc, los grupos sulfatos o fosfatos, o los proteoglicanos facilitan la concentración de moléculas en las vesículas de secreción. Por ejemplo, la adrenalina se puede concentrar 100.000 veces más en las vesículas de secreción que la del citosol por la adición de grupos sulfatos.

Hay que recordar que en la red-*trans*-Golgi se hace el empaquetamiento selectivo en vesículas de las proteínas y de otras moléculas antes de su transporte hacia sus destinos finales.

### **5.3.3. Maduración en el citosol**

Las proteínas sintetizadas en los polirribosomas sufren también algunas modificaciones, no se han encontrado glicosiladas o aciladas, pero tiene que replegarse adecuadamente o unirse varias cadenas peptídicas para formar la proteína madura y funcional. La proteínas chaperonas de choque térmico 70 y 60 reciben a las

moléculas sintetizadas por los polirribosomas, intervienen en el repliegamiento adecuado de las cadenas peptídicas y sus uniones cuando sea necesario. El mecanismo molecular por el cual realizan esta función no se conoce.

## 5.4. TRANSPORTE INTRACELULAR DE PROTEÍNAS

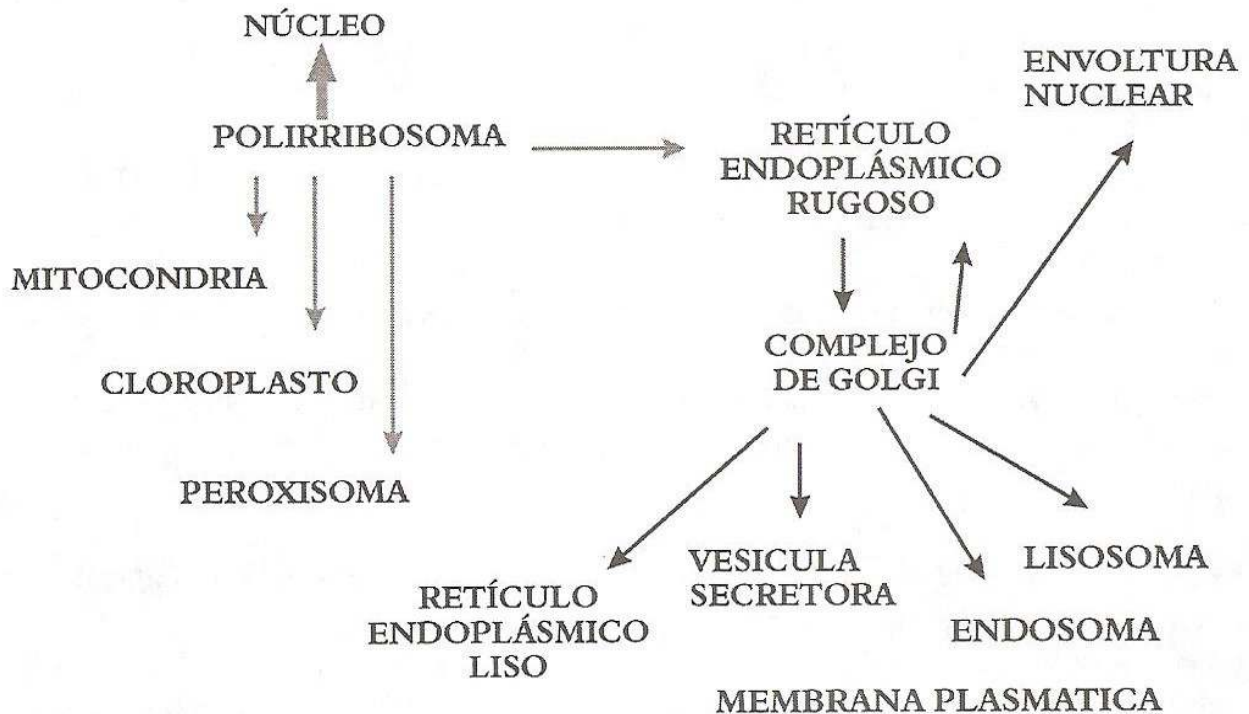
### 5.4.1. Características del proceso de transporte

Las proteínas sintetizadas necesitan un medio de transporte que las lleve sin equivocación a sus destinos específicos. Este transporte específico es necesario para todas las proteínas que tienen un destino determinado, que sean sintetizadas por las polirribosomas o por el RER.

Las proteínas pueden moverse principalmente por tres modos diferentes de un compartimento a otro:

1. El tráfico de proteínas entre el citosol y el núcleo ocurre entre espacios equivalentes topológicamente, que están en continuidad a través de los complejos del poro nuclear. Este proceso se llama *gated transport* porque los complejos del poro nuclear funcionan como una compuerta selectiva que puede activamente transportar macromoléculas específicas, aunque permitan la difusión libre de moléculas más pequeñas (Ver 8.1).
2. En el transporte transmembranoso, los aparatos translocadores de proteínas unidos a las membranas, transportan directamente del citosol proteínas específicas a través de una membrana de un organelo hacia su interior o sea entre espacios que son topológicamente distintos. Por ejemplo, el transporte inicial de proteínas seleccionadas del citosol adentro de la luz del RER, o adentro de las mitocondrias ocurren de esta manera.
3. En el transporte vesicular, las vesículas de transporte llevan proteínas de un compartimento a otro. El transporte de proteínas solubles del RER al CG, por ejemplo, ocurre de esta manera. Como las proteínas transportadas no atraviesan las membranas, en general, las proteínas se mueven únicamente entre compartimentos que son equivalentes topológicamente.

Los tres modos en que las proteínas son transportadas entre compartimentos diferentes para su destino final, están resumidos en la figura 5.17. Cada uno de los tres modos de transporte de proteínas es guiado selectivamente por las señales de direccionamiento en la proteína transportada que son reconocidos por una proteína “receptor” complementaria en el organelo blanco.



**Figura 5.17. Esquema de los destinos de las proteínas sintetizadas en una célula eucariótica.**

El destino de las proteínas está indicado por la orientación de las flechas. La flecha gruesa indica el paso de las proteínas por el complejo del poro nuclear. Las flechas grises indican el paso de las proteínas a través de una membrana. Las flechas negras indican el transporte de proteínas por medio de vesículas.

La vía de transporte de las proteínas hacia la superficie celular es mencionada frecuentemente como una vía “defectuosa” o “por defecto”, porque las proteínas parecen no requerir señales especiales para seguir este camino. Cualquier proteína de secreción que entra a la luz del RER será transportada automáticamente a través del CG a la superficie celular por vesículas de transporte al menos que tenga una señal que la detiene en el CG para ser dirigida a otro compartimento.

El transporte intracelular de proteínas es un fenómeno activo y requiere una fuente de energía. Este transporte es abolido por los inhibidores de la cadena de transporte de electrones (cianuro), por la anaerobiosis, o por agentes que desdoblan las fosforilaciones oxidativas mitocondriales (dinitrofenol).

Aunque no se conozcan con precisión los mecanismos de transporte intracelular de proteínas, se sabe que las proteínas chaperonas transportan proteínas, y las proteínas motoras (miosinas, dineínas y quinesinas) transportan proteínas y vesículas utilizando los elementos del citoesqueleto (filamentos de actina y microtúbulos) como carriles.

## 5.4.2. Transporte por vesículas

El mecanismo de transporte intracelular de proteínas mejor conocido es el que interviene en el transporte de proteínas hacia el medio extracelular o sea la **secreción**.

Como ya hemos visto, estas proteínas entran totalmente a la luz del RER durante su síntesis y son transportadas por vesículas del compartimento intermedio del RER al CG donde sufren los procesos de maduración (Fig. 5.13). El proceso de maduración determina con más precisión si una proteína se destina hacia el medio extracelular o hacia otros medios equivalentes o sea dentro de los organelos con membrana. Finalmente, la última selección y el empaquetamiento de las proteínas se hacen en la región *red-trans*-Golgi antes de su transporte hacia sus destinos finales.

Las vesículas que contienen las proteínas de secreción son transportadas hacia una región específica de la membrana plasmática para fusionarse con ella y verter su contenido en el medio extracelular. Este proceso de secreción se denomina **exocitosis** y las vesículas que intervienen en este proceso son llamadas vesículas de exocitosis o de secreción (Fig. 4.6 B). Las células pueden secretar moléculas al medio extracelular por otros mecanismos como la difusión a través de la membrana plasmática que interviene en la secreción de hormonas esteroides y tiroideas, entre otras.

El mecanismo de transporte por vesículas y de secreción por exocitosis se adaptan a procesos de estimulación y de respuestas agudas o masivas. Primero, la célula puede sintetizar una proteína de secreción y almacenarla en las vesículas en gran cantidad durante los períodos de no estimulación. Es por esto que, en general, las células cuya función esencial es secretar proteínas tienen muy abundante el RER. Un segundo mecanismo de adaptación de la respuesta a un estímulo es la formación de gránulos de secreción más grandes que las pequeñas vesículas, por la fusión de vesículas que salen del CG. Otro mecanismo que puede añadirse a los anteriores es la concentración muy alta del producto a secretar dentro de las vesículas. Recordemos el ejemplo de la concentración 100.000 veces más de adrenalina dentro de las vesículas de secreción en la médula suprarrenal.

El mecanismo de secreción masivo como respuesta a una estimulación implica un movimiento importante de membranas. La fusión de las vesículas o de los gránulos de secreción con la membrana plasmática representan un aporte considerable de superficie de membrana. Este aumento de superficie es reducido por la interiorización de membrana por las vesículas de endocitosis. Existe una reutilización de la membrana aportada por los gránulos o vesículas de secreción e incorporada a la membrana plasmática. Esas membranas retornarían al CG por vesículas de reciclaje.



Hay otro mecanismo de transporte intracelular de proteínas muy similar al descrito para las vesículas de secreción. En este caso, las vesículas informadas de su destino que salen de la región red-*trans*-Golgi, en lugar de dirigirse hacia la membrana plasmática, se desplazan hacia los organelos para fusionarse con sus membranas y verter su contenido dentro de la luz del organelo. Este mecanismo interviene en el transporte de enzimas lisosomiales, las proteínas de la envoltura nuclear, del RER, del CG, y del REL. Las proteínas de las mitocondrias y de los cloroplastos no utilizan este mecanismo.

Todas las enzimas de los lisosomas adquieren tempranamente en la red-*cis*-Golgi un motivo de manosa-6-fosfato que se une a los receptores de la membrana de la región red-*trans*-Golgi para ser concentradas en vesículas que se fusionarán con los lisosomas. Se ha postulado el mismo mecanismo de selección de proteínas por receptores para la determinación del destino final de proteínas para los organelos citados.

Las proteínas de las membranas, plasmática o de los organelos mencionados anteriormente, son transportadas también por las vesículas, pero, en este caso, las proteínas viajan ancladas en la membrana de las vesículas. La inserción de estas proteínas en la membrana blanco se realiza por la fusión de la membrana de las vesículas de exocitosis o de transporte intracelular con la membrana plasmática o la membrana del organelo respectivamente.

#### 5.4.2.1. Mecanismos moleculares del transporte vesicular

La mayoría de las vesículas de transporte se forman a partir de regiones especializadas y tapizadas de las membranas, y así brotan como vesículas tapizadas con unas proteínas distintivas que cubren la superficie citosólica de la membrana. Existen dos tipos de vesículas tapizadas bien caracterizadas: un tipo con clatrina formado por trisqueliones y otros denominados COPI y COPII formados por 7 proteínas denominadas coatómeros (*coatomers*). Las vesículas tapizadas con clatrina, como ya hemos visto, median el transporte selectivo de receptores transmembranosos unidos a sus ligandos, tales como el receptor de LDL de la membrana plasmática (Ver 4.1.3) y el receptor de la manosa-6-fosfato en región red-*trans*-Golgi. Las vesículas tapizadas por COPI y COPII intervienen en el transporte no selectivo entre el RER y el CG, y entre diferentes regiones del CG. Podría existir un tercer tipo de vesículas tapizadas por calveolina, pero todavía no se conoce bien su estructura ni su función. La calveolina es una molécula de direccionamiento de proteínas citosólicas.

La cubierta de clatrina se disocia rápidamente cuando se forma la vesícula. Se pensaba que las otras cubiertas de las vesículas debían también ser eliminada para

que las dos membranas interactúen directamente, pero esto no ocurre con las cubiertas COPI y COPII.

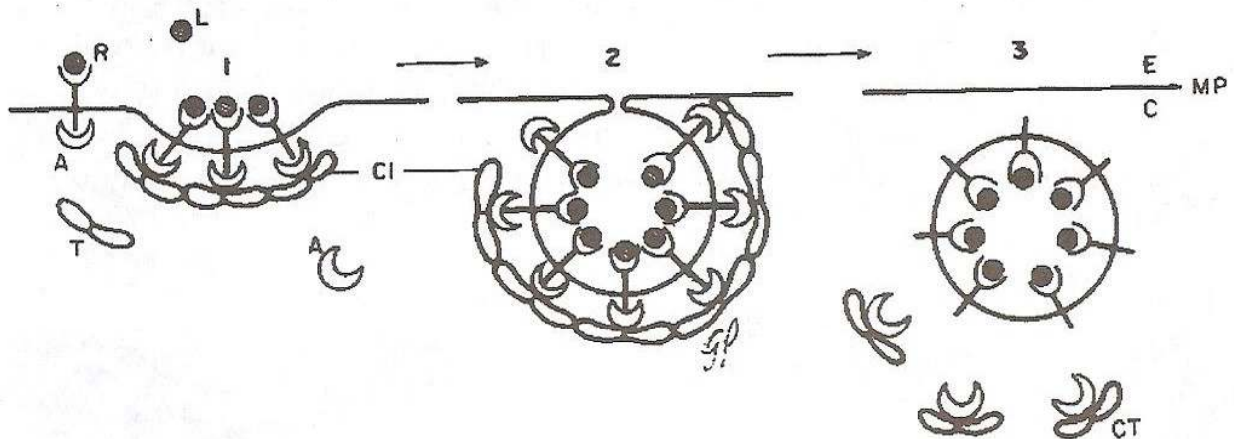
Las vesículas tapizadas parecen mediar la transferencia direccional de tipos específicos de membrana. Esta transferencia es balanceada generalmente por un contra flujo de membranas en la dirección opuesta, o sea en forma de tipos de vesículas menos bien caracterizadas o por medio de bolsas elongadas o vesículas tubulares de membrana que son transportadas sobre los microtúbulos. La estructura y distribución de los organelos con membrana está “orientada” o “soportada” por los microtúbulos, porque cuando se impide la organización de los microtúbulos, los organelos se vesiculan y se para el movimiento vesicular.

Los fosfolípidos de la membrana intervienen también en la concentración de proteínas en la membrana de las vesículas que salen de la red-*trans*-Golgi. En las células polarizadas la acumulación de algunos glicoesfingolípidos en la hemicapa citoplásmica de la región *trans*-Golgi interviene en el reclutamiento de proteínas de la membrana plasmática. También una acumulación de glicofosfatidilcolina interviene en el reclutamiento de receptores y proteínas transmembranas de la membrana plasmática en los hepatocitos humanos en cultivo. En estas mismas células, *in vivo*, cuando las vesículas se cargan de fosfatidilcolina aniónica y de ácidos grasos de cadena larga favorecen el reclutamiento de proteínas sanguíneas para secretarlas luego en el canalículo biliar. No se conoce exactamente el mecanismo molecular que favorece el agrupamiento específico de los fosfolípidos en las membranas de las vesículas que salen de la región red-*trans*-Golgi y cómo controlan el reclutamiento específico de proteínas en las membrana de las vesículas.

#### 5.4.2.2. Ensamblaje de la cubierta de clatrina dirige la formación de la vesícula

La clatrina cubre no solamente las vesículas de endocitosis, interviene también en la formación de vesículas más grandes, incluyendo las vesículas de secreción que contienen grandes agregados de proteínas y los fagosomas que contienen grandes partículas. En estos casos la clatrina forma parches en lugar de cubrir completamente la vesícula en formación.

Muchos receptores que son endocitados por las vesículas recubiertas por clatrina tienen en la región citosólica un péptido señal de endocitosis, y está constituida por la siguiente secuencia de aas: Phe, Arg, X y Tyr. Este péptido señal es reconocido por una proteína denominada **adaptina** (Fig. 5.18).



**Figura 5.18. Esquema de la intervención de las adaptinas en la formación de una vesícula tapizada por la clatrina.**

1. Las adaptinas se unen a los receptores y a los trisqueliones permitiendo la organización de la clatrina. 2. Las adaptinas intervienen en el aumento de la invaginación de la fosilla tapizada por su interacción con la clatrina. 3. Se desorganiza la cubierta de clatrina después de formación de la vesícula.

R: receptor; L: ligando; A: adaptina; Cl: clatrina; E: exterior; MP: membrana plasmática; C: citosol; CT: complejo adaptina-trisquelión.

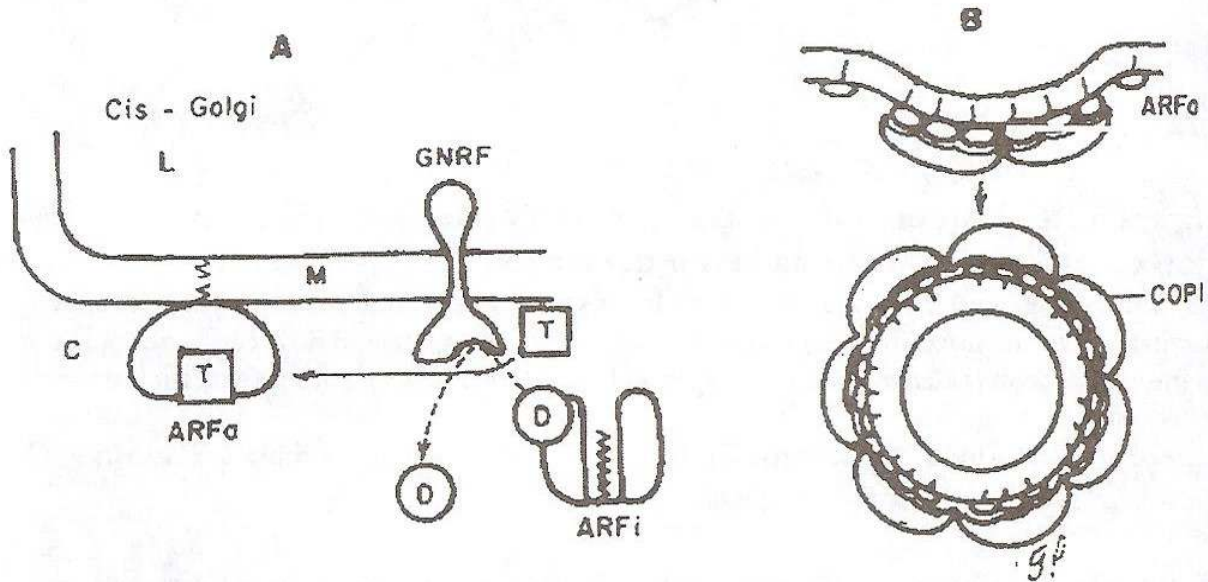
Existen diferentes adaptinas y median la captura de varios tipos de receptores. La adaptina cumple una triple función: primero, se unen a varios tipos de receptores transmembranosos, segundo, intervienen en la organización de los trisqueliones en clatrina, y tercero, unen la clatrina con la membrana e intervienen en el aumento de la invaginación de la fosilla tapizada.

#### 5.4.2.3. Transporte no selectivo de vesículas tapizadas por COP

El transporte de moléculas en vesículas del RER al CG, de una cisterna de Golgi a la otra, de la red-*trans*-Golgi a la membrana plasmática se conoce como la vía de "omisión o descuido", porque ninguna de estas etapas de transporte requieren la captura de una molécula específica en la luz de la vesícula en formación. Estas vesículas están cubiertas por un un complejo grande de 7 proteínas llamadas coatómeros  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\beta'$ ,  $\sigma$ ,  $\tau$ ,  $\epsilon$ ,  $\xi$ . Esta cubierta que cubre el lado citosólico de las vesículas se denomina COPI (Fig. 5.19 B). A diferencia de la cubierta por la clatrina, la cubierta COPI no se auto-ensambla, requiere ATP para su formación, y en lugar de desorganizarse tan pronto se forme la vesícula, es mantenida hasta que la vesícula llega a la membrana blanco y persiste aún en la membrana después de la fusión de la vesícula con otra membrana.

El ensamblaje y la desorganización de la cubierta COPI depende de una proteína G llamada *ADP-ribosylation factor* (ARF), que tiene un ácido graso (Fig.

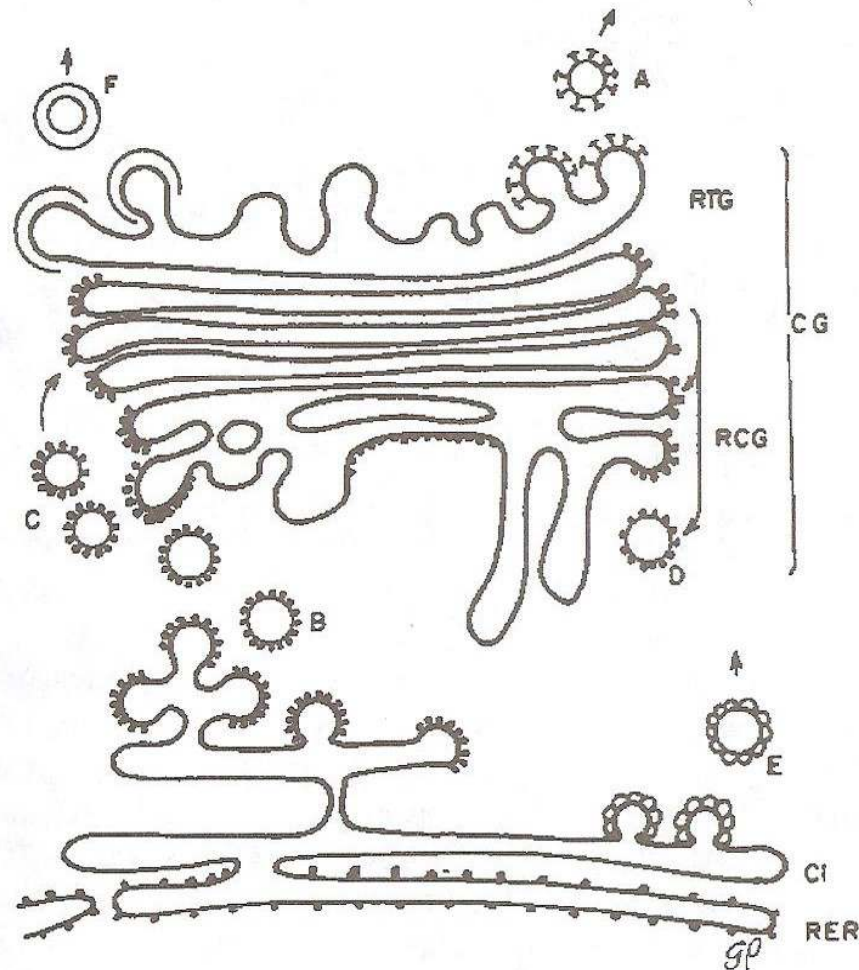
5.19A). La forma inactiva ARF-GDP es muy concentrada en el citosol y su ácido graso es cubierto por la región proteica para poder permanecer en el citosol. La activación de la ARF se hace por una proteína transmembranosa GNRF (*Guanosil Nucleotid Releasing Factor*) (Fig. 5.19 A), que intercambia el GDP por GTP. La ARF activada cambia de configuración y se ancla a la membrana por el ácido graso.



**Figura 5.19. Esquema de la formación de la cubierta COPI.**

A La activación del ARFi por la GNRF transmembranosa y su anclaje a la membrana (ARFa).  
 B. Formación de la cubierta COPI por los coatómeros que se unen a los ARFa anclados en la membrana que está formando la vesícula.  
 L: luz de la región *cis*-Golgi; M: membrana del Golgi donde se formará la vesícula; C: citosol; GNRF: *Guanosil Nucleotid Releasing Factor*; ARFa: *ADP-ribosylation factor* activado; ARFi: *ADP-ribosylation factor* inactivo; T: GTP; D: GDP.

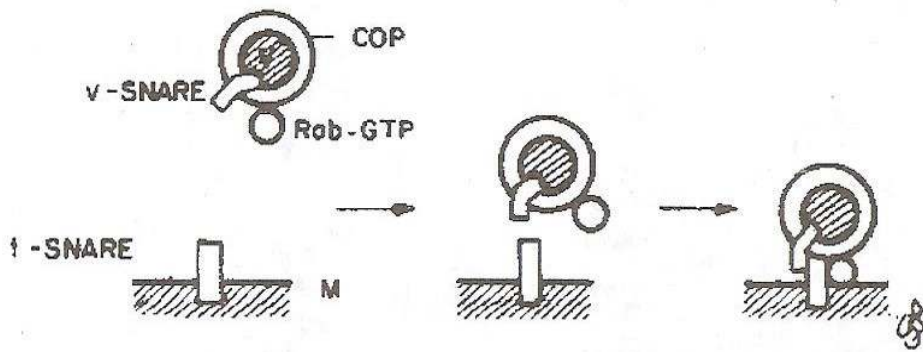
Las cubiertas citosólicas dirigen el tráfico de las vesículas en las células eucarióticas. Las tres clases de cubiertas proteicas de vesículas bien identificadas son: la primera, la clatrina y sus adaptadores que son específicos de receptores unidos a sus ligandos que se interiorizan en la vesícula (Fig. 5.20 A); la segunda clase son los coatómeros que forman la cubierta COPI con las ARF, que intervienen en el transporte entre el compartimento intermedio del RER y la red-*cis*-Golgi (Fig. 5.20 B), y entre las diferentes regiones del CG (Fig. 5.20 C). Este tipo de cubierta es también esencial en el retorno de vesículas entre el CG y del CG al RER (Fig. 5.20 D). La tercera clase de cubierta de vesículas se realiza por las proteínas COPII que intervienen en el transporte por vesículas del compartimento intermedio del RER al CG (Fig. 5.20 E).



**Figura 5.20. Esquema del transporte de vesículas con cubiertas.**

A. Transporte entre la región red-*trans*-Golgi y los lisosomas por vesículas cubiertas con clatrina.  
 B. Vesículas cubiertas con COPI que van del compartimento intermedio del RER a la red-*cis*-Golgi.  
 C. Vesículas cubiertas con COPI que viajan entre las diferentes regiones del complejo de Golgi.  
 D. Vesículas cubiertas con COPI que hacen el viaje retrogrado dentro del CG y del CG al RER.  
 E. Vesículas cubiertas con COPII que viajan del compartimento intermedio del RER al CG.  
 F. Hipótesis de la posible existencia de vesículas cubiertas por otras proteínas que podrían intervenir en el transporte a la membrana plasmática (Kreis y col., 1995).  
 RER: retículo endoplásmico rugoso; CI: compartimento intermedio del RER; CG: complejo de Golgi; RCG: región red-*cis*-Golgi; RTG: región red-*trans*-Golgi.

Existen proteínas, denominadas genéricamente SNARE, que aseguran que las vesículas lleguen a la membrana blanco adecuada. Existen SNARE específicas de las membranas de los organelos que se denomina t-SNARE (*target*-SNARE) y también se encuentran SNARE en las vesículas (v-SNARE) que reconocen y se complementan con las t-SNARE específicas de los organelos (Fig. 5.21). Las v-SNARE se unen a las COPI o a las COPII y determinan el direccionamiento de las vesículas. Una v-SNARE específica se une a la t-SNARE complementaria y forma el eje del anclaje de la vesícula a la membrana blanco antes que se fusionen.



**Figura 5.21. Modelo de reconocimiento y anclaje de la v-SNARE de una vesícula con t-SNARE de una membrana.**

El reconocimiento y la unión entre el v-SNARE y el t-SNARE son controlados y asegurados por una proteína Rab (Pfeffer, 1996).

V: vesícula; COP: recubierta de la vesícula; Rab-GTP: proteína Rab activa; M: membrana diana.

Muchas proteínas han sido caracterizadas como SNARE, entre las v-SNARE se encuentra la proteína de la sinapsis vesicular (VAMP); y entre las t-SNARE, la syntaxina y los tres tipos de proteínas solubles de adhesión (SNAP). Otras proteínas intervienen en el ensamblaje y la desorganización de las SNARE, la más conocida es el factor sensitivo NEM o NSF que tiene actividad ATPásica. Por ejemplo, si se impide la acción de la SNAP y la NSF o si no se provee ATP, no se organiza el t-SNARE en la membrana correspondiente.

Como existen diferentes sistemas de membrana en la célula, el proceso de anclaje debe ser altamente selectivo. Aparentemente, una vesícula inspecciona muchas membranas que pueden ser su potencial blanco antes que su v-SNARE encuentre un t-SNARE complementario. Este reconocimiento crucial está controlado por miembros de una familia de proteínas G transmembranosas, llamadas **proteínas Rab**, que controlan si es correcta la unión entre un v-SNARE y un t-SNARE, y luego hacen de intermedio entre la v-SNARE y la t-SNARE preparando la fusión de las membranas. Las proteínas *Rab* aseguran entonces la especificidad del anclaje correcto de la vesícula a su membrana blanco (Fig. 5.21). Posteriormente el complejo v/t-SNARE favorece el acercamiento de las membranas y la fusión de ellas.

Las células eucarióticas tienen muchos tipos de proteínas *Rab*. Cada tipo de estas proteínas está asociada con la membrana de un organelo particular involucrado en las vías de secreción y de endocitosis. Cada uno de estos organelos tiene al menos un tipo específico de proteínas *Rab* sobre la superficie citosólica (Tabla 5.1)

Varias proteínas G monoméricas como el ARF y las proteínas Rab regulan la formación, el transporte, el anclaje y la fusión de las vesículas con las membranas

blanco. Las proteínas ARF, Rab, y v-SNARE son incorporadas en las vesículas durante su formación y aseguran que las vesículas viertan su contenido únicamente al compartimento apropiado. Los ARF median el ensamblaje de la cubierta COPI (y probablemente de la clatrina) y su desorganización, mientras que las proteínas Rab aseguran la especificidad del anclaje de las vesículas en la membrana blanco. La fusión de la membrana es catalizada por ciertas proteínas citosólicas incluyendo la SNAP y el NSF, que se ensamblan dentro del complejo de fusión en el lugar del anclaje.

**Tabla 5.1. Localización de algunas proteínas Rab en la célula.**

Proteína Rab	Organelo
Rab1 (YTP1)	RER y CG
Rab2	Compartimento intermedio entre el RER y la región red- <i>cis</i> -Golgi
Rab3A	Vesículas de secreción
Rab4	Endosomas tempranos
Rab5	Endosomas tempranos, membrana plasmática
Rab6	Cisternas <i>medial</i> y <i>trans</i> del CG
Rab7	Endosomas tardíos
Rab9	Endosomas tardíos, red- <i>trans</i> -Golgi
Sec4	Vesículas de secreción

Todas las proteínas han sido encontradas en todas las células de mamíferos, excepto las YTP1 y la Sec4, que se han encontrado en la levadura (Alberts, 1994; Pfeffer, 1996).

El mecanismo preciso de fusión de membranas en las células eucarióticas aún no se conoce, pero se ha encontrado una “máquina fusionadora de membranas” fabricada por los virus que entran a la célula por endocitosis específica. Se ha caracterizado la proteína viral que induce la fusión de la envoltura viral con la membrana plasmática.

### 5.4.3. Transporte sin vesículas

Las proteínas sintetizadas por los polirribosomas quedan en el citosol o van al núcleo, a las mitocondrias o a los cloroplastos. Las proteínas destinadas al citosol no tienen ningún péptido de señal ni señal de direccionamiento, y no se conoce un mecanismo de transporte específico.

Existen moléculas transportadoras citosólicas, las chaperonas y las proteínas de choque térmico 70 y 60 (hsp70 y hsp60), que reconocen los péptidos señales e intervienen en el direccionamiento correcto de las proteínas para que lleguen adecuadamente a sus destinos finales. Unas reconocen los péptidos señales Mit (mitocondrias) y Clo (cloroplastos) de la región amino terminal de la proteína y

las llevan hasta las mitocondrias y los cloroplastos respectivamente. Las proteínas nucleares son transportadas por las hsp70 que reconocen el péptido señal nuclear ya sea de parche o amino terminal. Se ha descrito al menos para el transporte de una proteína sintetizada en el citosol que va al RER y no tiene el péptido señal RE. En este caso, una proteína transportadora citosólica reconoce la señal de direccionamiento para el RER en el extremo amino terminal y la lleva al RER.

No se conoce bien el mecanismo de transporte y distribución de las proteínas sintetizadas por los polirribosomas. Las proteínas hsp70 y hsp 60 reconocen las señales amino terminales o de parche de las proteínas y las transportan utilizando los microtúbulos como carriles. Estas proteínas hsp también intervienen en la translocación de las proteínas a través de la membrana de los organelos.

#### **5.4.4. La vía de exocitosis**

Las vesículas de transporte destinadas para la membrana plasmática normalmente dejan la red-*trans*-Golgi como un arroyo constante. Las proteínas y los lípidos de la membrana de las vesículas proveen nuevos componentes para la membrana plasmática de la célula, mientras que las proteínas solubles dentro de las vesículas son secretadas en el espacio extracelular. La fusión de las vesículas con la membrana plasmática se llama exocitosis. De esta manera, por ejemplo, las células producen y secretan la mayoría de proteoglicanos y glicoproteínas de la matriz extracelular.

Todas las células realizan exocitosis denominada **vía de secreción constitutiva**, pero existen células especializadas en la secreción que tienen una segunda vía en la cual proteínas solubles y otras sustancias son inicialmente almacenadas en las vesículas de secreción (o gránulos de secreción) para después secretarlas. Esta es la **vía de secreción regulada**, que se encuentra principalmente en células especializadas en secreción rápida y masiva de productos cuando sean necesarios tales como hormonas, neurotransmisores, o enzimas digestivas. La secreción se produce cuando la célula es estimulada por una señal extracelular. Las dos vías de secreción por exocitosis, la constitutiva y la regulada, se denominan también la vía "defectuosa" o "por defecto" porque no se ha encontrado cubierta o moléculas específicas para la orientación de las vesículas hacia la membrana plasmática.

Muchas hormonas polipeptídicas, neuropéptidos y enzimas hidrolíticas secretadas completan su maduración por proteólisis dentro de las vesículas de secreción y a veces en el espacio extracelular cuando ya han sido secretadas.

Las vesículas de secreción se acumulan cerca de la membrana plasmática hasta que la célula recibe la señal de su exocitosis. En las neuronas, en general, el sitio de secreción es bien lejos del lugar de síntesis. El transporte de las vesículas de secreción se hacen a lo largo del axón gracias a la intervención de proteínas motoras pegadas a la superficie de las vesículas para moverlas sobre los microtúbulos del axón. Los microtúbulos intervienen en el transporte de las vesículas de secreción a la región apropiada de la membrana plasmática en las células polarizadas. Pero,



el mecanismo preciso de direccionamiento de las vesículas de secreción en una región específica de la membrana plasmática no se conoce (Fig. 4.6).

La señal de secreción por exocitosis, es, en general, una señal química, como una hormona, que se une a su receptor en la superficie de la célula. El resultado de esta unión, como ha visto en el capítulo tres, es la activación de otras señales intracelulares, y a menudo incluye un aumento transitorio de la concentración del ion calcio libre en el citosol. Por un mecanismo desconocido, el aumento brusco de  $\text{Ca}^{++}$ , o alguna otra señal intracelular desencadena la exocitosis, causando la fusión de las vesículas de secreción con la membrana plasmática.

## 5.5. ALMACENAMIENTO INTRACELULAR

Las secreciones se pueden clasificar en dos grandes tipos, según se trate de secreciones continuas o intermitentes. Para el segundo tipo se necesita una estimulación que desencadene su secreción. La secreción continua se encuentra, por ejemplo, en las fibroblastos que secretan los precursores de colágeno. En estas células, la secreción es limitada aparentemente por la velocidad de la producción de macromoléculas. En los plasmocitos la secreción es también continua y la célula no tiene organelo especializado para el almacenamiento de su producto de secreción, sino se acumula en el RER y lo dilata de manera importante. Este mecanismo de acumulación es una excepción al almacenamiento de secreción en gránulos o vesículas de exocitosis.

La secreción intermitente, tal como se encuentra en las secreciones digestivas o de hormonas, implica una concentración importante del producto de secreción, eventualmente en un gránulo de secreción. Las interacciones iónicas forman agregados de moléculas disminuyendo la presión osmótica dentro del gránulo de secreción.

Las proteínas destinadas a las vesículas de secreción son empaquetadas en una vesícula apropiada en la región *red-trans*-Golgi por mecanismos que comienzan a elucidarse para la agregación selectiva de estas proteínas. Las señales de direccionamiento que orientan a las proteínas de secreción dentro de la vesícula es desconocido, pero se piensa que puede ser una señal de parche que sería común a estas proteínas. Es muy poco claro también, cómo las proteínas acumuladas son seleccionadas dentro de las vesículas de secreción.

Después que las vesículas de secreción inmaduras dejan la *red-trans*-Golgi, su contenido se condensa mucho, hasta 200 veces comparando con el CG. La condensación ocurre rápidamente, probablemente debido a la acidificación de las vesículas de secreción.

Las vesículas de secreción que almacenan la noradrenalina y la adrenalina son un caso particular. Estas vesículas se encuentran a nivel de ciertas terminaciones

nerviosas, llamadas adrenérgicas, pero son sobre todo abundantes en las células de la medula suprarrenal donde son liberadas masivamente cuando el sujeto se siente ante un peligro (o tiene un susto), para combatirlo o huirle. La concentración de la adrenalina en estas vesículas es extremadamente importante: 0,6 M, o sea 100.000 veces superior a la concentración existente en el citosol. Las vesículas, alrededor de 30.000 por célula, contienen entre otros ATP en grandes cantidades. Aquí también existen interacciones iónicas entre los grupos fosfatos del ATP, el grupo aminado de la adrenalina o de la noradrenalina y los iones de  $\text{Ca}^{++}$ . Estas interacciones disminuyen la concentración en moléculas e iones en estado libre y la presión osmótica es por lo tanto reducida. La matriz de las vesículas contiene una serie de proteínas: la más importante en masa es la cromogranina A, que representa el 40% de proteínas de la vesícula y su función no está bien establecida. Se encuentra también la dopamina- $\beta$ -hidroxilasa que transforma la dopamina en noradrenalina, también la proencefalina A. En la membrana de los gránulos se encuentran una dopamina- $\beta$ -hidroxilasa transmembranosa, una bomba a protones y un transportador de catecolaminas (adrenalina, noradrenalina, dopamina), entre otros.

Durante la biogénesis de las vesículas de secreción, las proteínas, el ATP y las catecolaminas no aparecen simultáneamente. En primer lugar, los componentes macromoleculares (cromograninas, dopamina- $\beta$ -hidroxilasa, proencefalina A) son empaquetados en las vesículas que dejan el CG. Estos gránulos se cargan progresivamente de catecolaminas, de ATP y de  $\text{Ca}^{++}$ . Las primeras etapas de la síntesis de catecolaminas ocurren en el citosol. La dopamina- $\beta$ -hidroxilasa capta entonces la dopamina y produce la noradrenalina, que será transformada por metilación en adrenalina. La bomba a protones permite la concentración de la adrenalina y de la noradrenalina favoreciendo la ionización de estas moléculas por el pH ácido; la entrada de catecolaminas es acoplada a la salida de protones del interior de los gránulos hacia el exterior. Mientras que los gránulos se cargan de catecolaminas, la proencefalina sufre proteólisis que libera 6 moléculas de met-enkefalina y una molécula de leuencefalina. Con la exocitosis, una secreción analgésica de encefalinas se añade a la descarga de adrenalina ante un peligro o durante un "estrés".

## 5.6. BIOSÍNTESIS DE MEMBRANAS

El Retículo Endoplásmico Liso (REL) es el sitio de síntesis de lípidos y de fosfolípidos. La elaboración de membranas celulares es un fenómeno que presenta las tres características siguientes:

1. La síntesis de membranas no se realiza por la formación de nuevas membranas en el sentido propio del término, pero por inserción de elementos nuevos en el seno de una membrana preexistente. Es por esto que las células no pueden

construir *de novo* sus organelos con membrana y necesitan la información dentro del organelo. Esta información no estaría dentro del ADN, o sea es un fenómeno epigenético. Las células heredan sus organelos y sobre éstos se desarrollan, crecen y eventualmente se dividen los organelos en las células hijas.

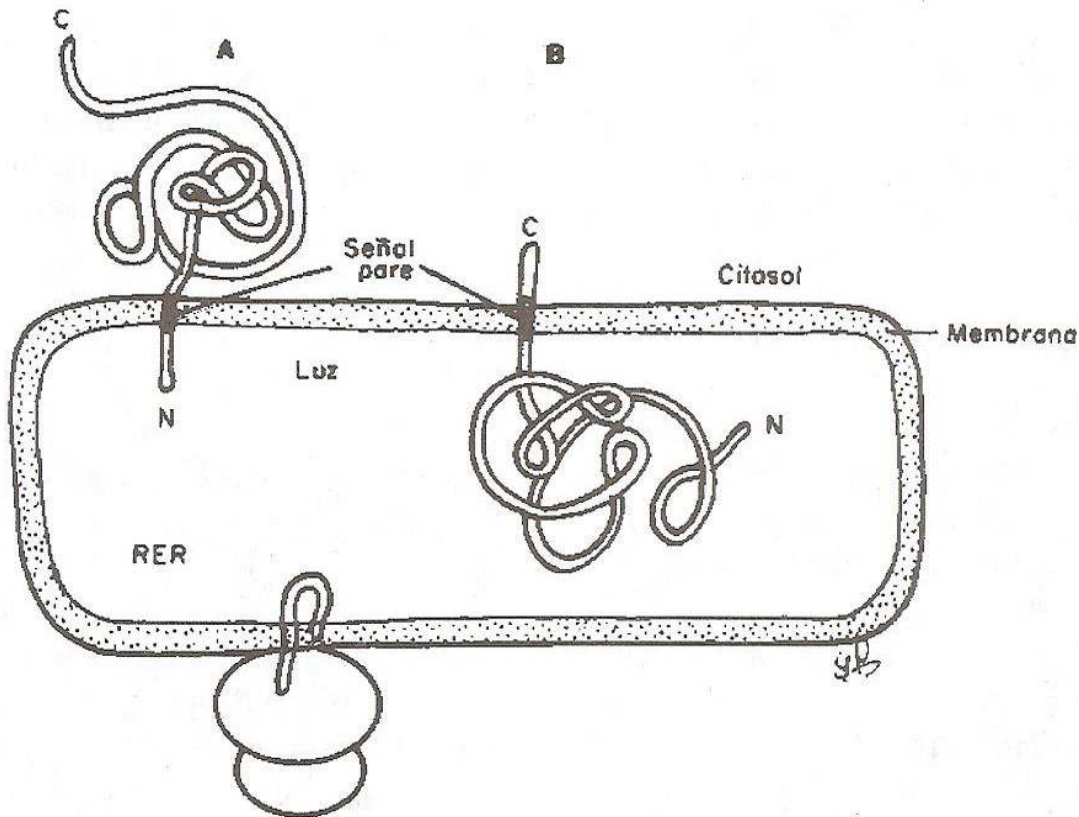
2. Los componentes de las membranas son sintetizados y ensamblados en sitios distantes de su destino final.
3. La asimetría de los fosfolípidos en las membranas se crea desde la síntesis de los diferentes componentes.

Como se verá en el capítulo 6, ciertos componentes de las membranas mitocondriales constituyen sin embargo una excepción a estas características.

### 5.6.1. Proteínas de las membranas

La síntesis de proteínas integradas a las membranas se inicia de la misma manera que las proteínas de secreción, contienen el péptido señal RE y son sintetizadas por el RER. La transferencia de la proteína naciente a través de la membrana no se sigue hasta al final de la síntesis de la cadena peptídica, la información que causa el bloqueo de la transferencia está contenida en la cadena peptídica, pues la **señal de pare de transferencia** ancla la proteína naciente en la membrana del RER, el resto de la síntesis se continúa en el lado citosólico del RER (Fig. 5.10). Si la señal de pare de transferencia aparece muy temprano, en el extremo amino terminal, la proteína integrada a la membrana se quedará principalmente en la faz citosólica (Fig. 5.22 A). Si, por el contrario, la señal de pare se encuentra hacia el final de la síntesis, en el extremo carboxi terminal, entonces la proteína quedará principalmente en el lado exoplásmico de la membrana (Fig. 5.22 B). La mayoría de las proteínas transmembranosas o proteínas integradas de la faz exoplásmica del RER son glicosiladas. Las nuevas proteínas de la membrana pueden entonces llegar a su destino por la fusión de la membrana de vesículas de transporte con la membrana del organelo o la membrana plasmática, y luego se ubican en el sitio definitivo de la membrana por la difusión lateral. Ciertas proteínas quedan en el lugar de síntesis porque son constituyentes del RER. Un ejemplo típico es la glucosa-6-fosfatasa, enzima de referencia del RER en el hígado y en los riñones y cuyo centro activo está orientado hacia el lado luminal o exoplásmico del organelo.

Las proteínas de las membranas pueden sufrir todas las modificaciones descritas para las proteínas de secreción. Las características de la síntesis de proteínas integradas a las membranas explican la polaridad de las proteínas transmembranosas a nivel de la membrana plasmática. En efecto, el hecho de que la proteína atraviesa la membrana del RER con su extremidad amino terminal en la cabeza y la localización del sistema de glicosilación en el lado luminal hacen que la extremidad amino terminal glicosilada se encuentre generalmente en el lado exoplásmico de



**Figura 5.22. Ubicación de las proteínas dentro de una membrana según la localización de la señal de transferencia de pares.**

A. Cuando la señal de transferencia de pares está en el extremo amino terminal, la proteína se localiza principalmente en el citosol;

B. Cuando la señal de transferencia de pares está en el extremo carboxi terminal, la proteína se localiza principalmente en la región extracelular o extracelular.

C: extremo carboxi terminal de la proteína; N: extremo amino terminal de la proteína; RER: retículo endoplásmico rugoso.

la membrana y hacia el medio extracelular. Finalmente, multiplicando las secuencias de señal de transferencia de pares o de transferencia de pares en una misma cadena peptídica, se puede explicar la disposición de proteínas cuya cadena atraviesa varias veces una membrana, por ejemplo, el receptor de la hormona tireotrópica atraviesa 13 veces la membrana plasmática.

Algunas proteínas pueden encontrarse en la célula bajo su forma soluble y asociada a una membrana. Este es el caso de la IgM de los linfocitos, o de la  $\beta$ -dopamina hidroxilasa en los gránulos de catecolaminas. En estos casos, las dos formas de proteínas difieren por el hecho que la forma de la proteína transmembranosa posee una secuencia hidrofóbica cerca de la extremidad carboxi terminal para la IgM, mientras que en la forma soluble ese segmento hidrofóbico, que sirve de señal de transferencia de pares, es remplazado por una secuencia hidrofílica. Desde el punto de vista genético, el pasaje de una forma a la otra se

hace, por lo menos para la IgM, por una maduración diferencial del ARN transcrito primario en diferentes momentos de la vida de la misma célula o del mismo gen en diferentes células (Ver 8.5.2).

Las proteínas periféricas citoplásmicas de las membranas son sintetizadas por los polirribosomas y las proteínas periféricas exoplásmicas son sintetizadas en el RER (Fig. 2.4).

### 5.6.2. Lípidos de las membranas

El **Retículo Endoplásmico Liso (REL)** se denomina así, porque en el ME se observa que su membrana no tiene ribosomas, es decir no es rugoso. Tiene una organización tubular desorganizada, por ésto aparece como un conjunto de vesículas alargadas, redondeadas y ovoides (Fig. 1.1 REL). En el músculo esquelético, el REL sigue las miofibrillas formando una red alrededor de ellas denominada **sarcolema**. El sarcolema facilita el intercambio de iones durante la despolarización y la repolarización de la célula muscular.

Las funciones principales del REL son la síntesis de esteroides (colesterol y hormonas esteroides), el ensamblaje de los fosfolípidos de membranas (Fig. 2.1) y la intervención, con las mitocondrias y enzimas del citosol, en el metabolismo de los lípidos. Las células especializadas en la secreción de hormonas esteroides presentan un REL muy abundante. En efecto, el REL es el sitio de síntesis de todos los lípidos de la célula, con la excepción de los ácidos grasos y de dos fosfolípidos mitocondriales. La síntesis de los elementos de las capas bimoleculares de las membranas es un proceso fundamentalmente asimétrico: las nuevas moléculas de fosfolípidos (fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y fosfatidilinositol) son insertadas exclusivamente en la capa citoplásmica de la membrana del REL. Como el pasaje espontáneo de un fosfolípido de una hemicapa a la otra (*flip-flop*) en las membranas es prácticamente inexistente, debe existir un mecanismo que equilibre la cantidad de moléculas de fosfolípidos nuevamente formadas en las dos hemicapas. Este equilibrio es realizado por translocadores de fosfolípidos. Se ha encontrado al menos una flipasa asociada específicamente a las membranas del REL que transloca preferencialmente las fosfatidilcolinas a la hemicapa exoplásmica.

El REL produce también la ceramida, que se forma por la condensación de la serina con un ácido graso para formar un amino alcohol, la esfingosina; la adición de un segundo ácido graso forma la ceramida. La ceramida se exporta al CG donde sirve como un precursor para la síntesis de dos tipos de lípidos: los glicoesfingolípidos (glicolípidos), por adición de cadenas de oligosacáridos a la ceramida; y la esfingomiélin por la adición de la fosfocolina. Como estos dos

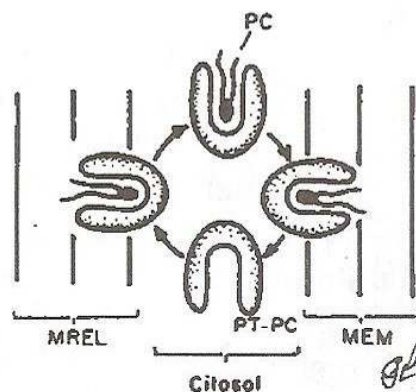
glicolípidos son sintetizados por enzimas expuestas en la luz del CG, ellos se encuentran únicamente en la hemicapa exoplasmática de la membrana plasmática y la de los organelos con membrana.

### 5.6.2.1. Transporte de fosfolípidos por vesículas

La membrana plasmática y las membranas del CG, lisosomas y endosomas hacen parte de un sistema de membranas que se interconectan con el RER y el REL por medio de las vesículas de transporte que transfieren las proteínas y los lípidos en sus membranas. Las mitocondrias, los plastidios y los peroxisomas no hacen parte de este sistema y necesitan otros mecanismos para la importación de lípidos y de proteínas para su mantenimiento y crecimiento. La gran mayoría de proteínas de las mitocondrias o de los plastidios y todas las proteínas de los peroxisomas son importadas a partir del citosol. Sus lípidos deben ser transportados a partir del REL por una vía directa o indirecta a partir de otras membranas celulares a través de mecanismos especiales.

### 5.6.2.2. Transporte de fosfolípidos sin vesículas

Se han encontrado, *in vivo*, al menos dos proteínas hidrosolubles de transferencia de fosfolípidos. Estas proteínas intercambian fosfolípidos de una membrana a otra sin intervención de vesículas, y se denominan según el fosfolípido que transportan: proteína transportadora de fosfatidilcolina (PT-PC) y proteína transportadora de fosfatidilinositol (PT-PI). La PT-PC es la encargada de transferir la fosfatidilcolina desde el REL hasta la membrana externa de la mitocondria (Fig. 5.23). El paso de los fosfolípidos de la membrana externa a la interna de la mitocondria se haría por una difusión lateral en las regiones especiales donde se fusionan las dos membranas. Efectivamente, en las mitocondrias y los cloroplastos se observan uniones de las dos membranas al ME.



**Figura 5.23. Translocación de fosfolípidos por proteínas transportadoras de fosfolípidos.**

La proteína transportadora de fosfatidilcolina (PT-PC) transporta la fosfatidilcolina (PC) desde la membrana del REL, a través del citosol, hasta la membrana externa de la mitocondria.

MREL: membrana del retículo endoplásmico liso; MEM: membrana externa de la mitocondria.

La PT-PI se localiza preferencialmente alrededor del CG en las células en división, y en el citosol y en el núcleo en las células quiescentes. La activación de la PT-PI se debe a su fosforilación por una proteína quinasa C, pero no se conoce con exactitud cómo transporta el fosfatidilinositol.

Las translocadoras PT-PC y PT-PI serían las responsables de la asimetría en la distribución de los fosfolípidos entre las dos hemicapas de las membranas.

Se ha encontrado *in vitro*, otra proteína de transferencia inespecífica de lípidos. Esta proteína transfiere fosfolípidos y colesterol entre las membranas. Se desconoce cómo es su mecanismo de acción, pero ella sería la responsable de la transferencia entre las membranas del colesterol sintetizado en el REL y de los otros fosfolípidos ensamblados en la hemicapa citoplásmica del REL.

Los metabolitos necesarios para la síntesis de los fosfolípidos se encuentran en el citosol y las enzimas que intervienen en esta síntesis tienen entonces sus sitios activos dirigidos hacia el citosol. El transporte de nuevos fosfolípidos para su destino final se hace por el transporte vesicular, excepto mitocondrias, plastidios y peroxisomas. En estos últimos casos, el transporte de fosfolípidos se realiza por proteínas transportadoras de fosfolípidos. Excepcionalmente, se ha encontrado, un transporte sin vesículas para fosfolípidos de las membranas del RER y una PT-PI para la membrana plasmática.

### 5.6.3. Envoltura viral

La envoltura viral es un fragmento modificado de la membrana plasmática de la célula huésped. Esta membrana modificada se une a las nucleoproteínas asociadas al ácido nucléico viral y ella se despega enseguida de la célula en forma de un brote (*bourgeonnement*).

Las proteínas de los virus con envoltura son sintetizadas por la “maquinaria” de la célula huésped; sus nucleoproteínas son sintetizadas por polirribosomas, mientras que sus proteínas integradas en su envoltura son sintetizadas por el RER de la célula huésped, glicosiladas y llevadas a la membrana plasmática por vesículas originadas en el CG. Las proteínas periféricas de la faz citoplásmica de la membrana plasmática, y probablemente de otras membranas, son sintetizadas por los polirribosomas como ocurre con las proteínas periféricas de la envoltura de los virus o cápside.

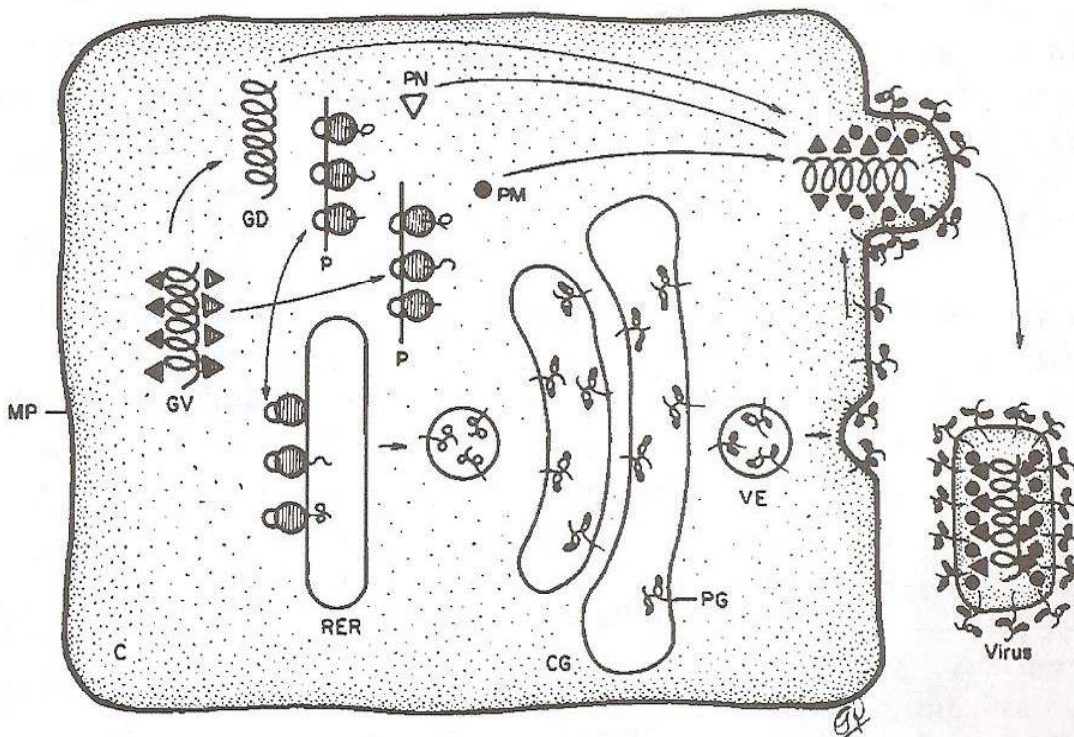
Se ha realizado el estudio detallado de la formación del virus de la estomatitis del ganado en la células intestinales (Fig. 5.24). El genoma del virus codifica solamente para cinco proteínas. Tres están asociadas a los ácidos nucléicos, entre ellas la proteína N (Fig. 5.24 PN) es la más abundante y es sintetizada por los polirribosomas de la célula huésped. La cuarta proteína, denominada M (Fig. 5.24 PM) es una proteína asociada a la faz interna de la envoltura viral, lo que corresponde a la hemicapa citoplásmica de la membrana plasmática de la célula huésped. Esta proteína M es también sintetizada por los polirribosomas. La quinta es la

proteína G (Fig. 5.24 PG), una glicoproteína transmembranosa de la envoltura viral, su parte glucídica se encuentra en el exterior del virus. Esta proteína G es sintetizada por el RER y glicosilada en el CG. El ensamblaje final del virus tiene lugar a nivel de la membrana plasmática de la célula huésped que ha sido modificada por la incorporación de la proteína G viral.

## 5.7. LISOSOMAS Y SECRECIÓN

### 5.7.1. Biogénesis de los lisosomas

Las enzimas lisosomiales son sintetizadas en el RER y enseguida transportadas en vesículas al CG, de este último se forman vesículas que contienen las hidrolasas ácidas y al fusionarse entre ellas constituyen los lisosomas primarios. En el caso de



**Figura 5.24. Esquema de la formación del virus de la estomatitis del ganado.**

El genoma viral es duplicado en el núcleo y codifica para cinco proteínas. Tres proteínas se asocian al ADN viral, donde la más abundante es la proteína N (PN), la cuarta proteína se asocia a la membrana viral (PM) y la quinta es una glicoproteína de la envoltura viral (PG). El virus se forma cerca de la membrana de la célula por ensamblaje de las proteínas virales con el genoma viral y brota de la célula cubierto por la membrana celular que corresponde a la cápside viral. MP: membrana plasmática; C: citosol de la célula huésped; P: polirribosomas; RER: retículo endoplásmico rugoso; CG: complejo de Golgi; VE: vesícula de exocitosis; GV: genoma viral; GD: genoma viral duplicado; PN: proteínas asociadas al genoma viral; PM: proteínas asociadas a la envoltura viral; PG: glicoproteínas transmembranosas de la envoltura viral.



los polimorfonucleares neutrófilos las vesículas formadas a partir de la red-*trans*-Golgi se transforman en granulaciones densas típicas de estas células. En los fibroblastos en cultivo, la fusión de lisosomas primarios con vesículas de endocitosis ha sido observada ocasionalmente. En la mayoría de las células, los lisosomas primarios irán a fusionarse con un lisosoma secundario o con un endosoma tardío.

Desde el punto de vista funcional, los lisosomas son una prolongación del espacio extracelular. Porque, de una parte, sus enzimas son elaboradas y distribuidas como las proteínas destinadas a la secreción; de otra parte, el contenido de las vesículas de endocitosis es un material del medio extracelular interiorizado y cuando esas vesículas se fusionan con lisosomas, su contenido queda aislado en todo momento del resto de la célula. Además, muchas células en cultivo secretan pequeñas cantidades de enzimas lisosomiales al medio, y en ciertas células especializadas, las hidrolasas lisosomiales son secretadas, permitiendo así la disolución de obstáculos en el medio extracelular como los osteoclastos responsables de la reabsorción ósea o la secreción de hidrolasas por el espermatozoide en el momento de la fecundación.

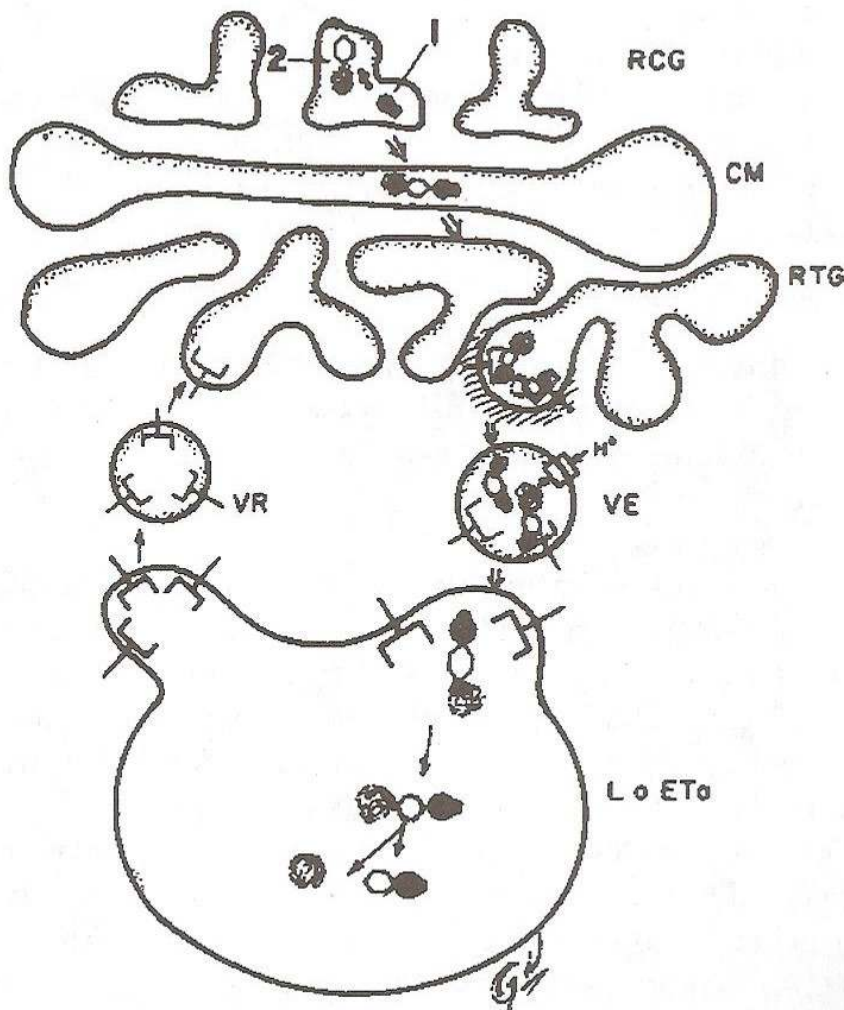
Todas las enzimas lisosomiales son glicoproteínas, sintetizadas en el RER, y en la red-*cis*-Golgi se les añade un grupo fosfato a la manosa del extremo de la parte glucídica formando el motivo manosa-6-fosfato que sirve de señal para su transporte hacia los lisosomas.

Las enzimas lisosomiales ya modificadas viajan a través del CG. El grupo manosa-6-fosfato se une a receptores de la red-*trans*-Golgi que son agrupados por la clatrina y se forma una fosilla tapizada de clatrina hasta que la vesícula se forme y se libere del CG (Fig. 5.25). Estas vesículas con las enzimas lisosomiales concentradas tienen bomba a protones que inician la acidificación de la vesícula, aproximadamente cuando el pH llega a 6 se inicia la liberación de las enzimas de sus receptores. Dos posibilidades existen entonces: en la primera, denominada la vía directa, estas vesículas se fusionan con un lisosoma primario o un endosoma tardío, en la luz del organelo se eliminan los grupos manosa-6-fosfato madurando las enzimas. Los receptores de los enzimas lisosomiales retornan a la red-*trans*-Golgi por intermedio de vesículas de transporte para ser reutilizados. Este reciclaje de membranas y de receptores es común a los procesos de selección y transporte intracelular por vesículas.

La segunda posibilidad se denomina la vía indirecta, a veces llamada también la vía de secreción-recaptura. En este caso, las vesículas con las enzimas lisosomiales son exocitadas, y la mayoría de complejos enzima-receptor son endocitados por vesículas tapizadas por clatrina. La acidificación del compartimento endocitario haría pasar las enzimas lisosomiales en solución, lo que les permitiría encontrarse

en los lisosomas. El receptor de las enzimas lisosomiales retornarían por vesículas al CG. Hay que anotar que, en esta vía también, el grupo manosa-6-fosfato de las hidrolasas lisosomiales es eliminado en los lisosomas.

En los fibroblastos humanos la vía directa es de lejos la más importante; sin embargo la vía indirecta no debe ser abandonada como lo muestra la existencia frecuente de una secreción de una pequeña proporción de enzimas lisosomiales, también los casos de secreción de ciertas células especializadas mencionadas más arriba.



**Figura 5.25. Esquema de la biogénesis de los lisosomas.**

Las enzimas lisosomiales cuando entran en la red-*cis*-Golgi se les adiciona un fosfato (1) a una manosa de la región glucídica de las moléculas. En la red-*trans*-Golgi los receptores de la manosa-6-fosfato se unen a las enzimas y son agrupados por la cubierta de clatrina. Finalmente se forma una vesícula (VE) que se fusionará con un lisosoma primario o un endosoma tardío. La acidificación de las vesículas por una bomba a protones ( $H^+$ ) libera las enzimas de sus receptores. Los receptores de las enzimas lisosomiales retornan al CG por vesículas de reciclaje (VR).

RCG: red-*cis*-Golgi; CM: cisternas *medial* del Golgi; RTG: red-*trans*-Golgi; L: lisosoma primario; ETa: endosoma tardío; 1: fosfato; 2: manosa terminal de la región glucídica de la enzima.

### 5.7.2. Secreción tiroidea

Las células tiroideas pueden servir como un buen ejemplo para resumir lo expuesto en los capítulos 2, 3, 4 y 5. La ultraestructura de los tirocitos refleja sus funciones. Las células de la tiroidea forman una estructura esférica especial denominada folículo que es una capa de células cúbicas que limitan una luz que contiene un material llamado coloide. Un folículo es similar a un balón lleno de líquido, y está rodeado por capilares sanguíneos (Fig. 5.26 A). Las células presentan una polarización y están unidas en la región apical por complejos de unión celulares como los descritos en el capítulo 2. Las células utilizan yoduro en la síntesis de las hormonas tiroideas. El yoduro es captado de la sangre activamente por una bomba en la región basal de la membrana plasmática (Fig. 5.26 I<sup>-</sup>).

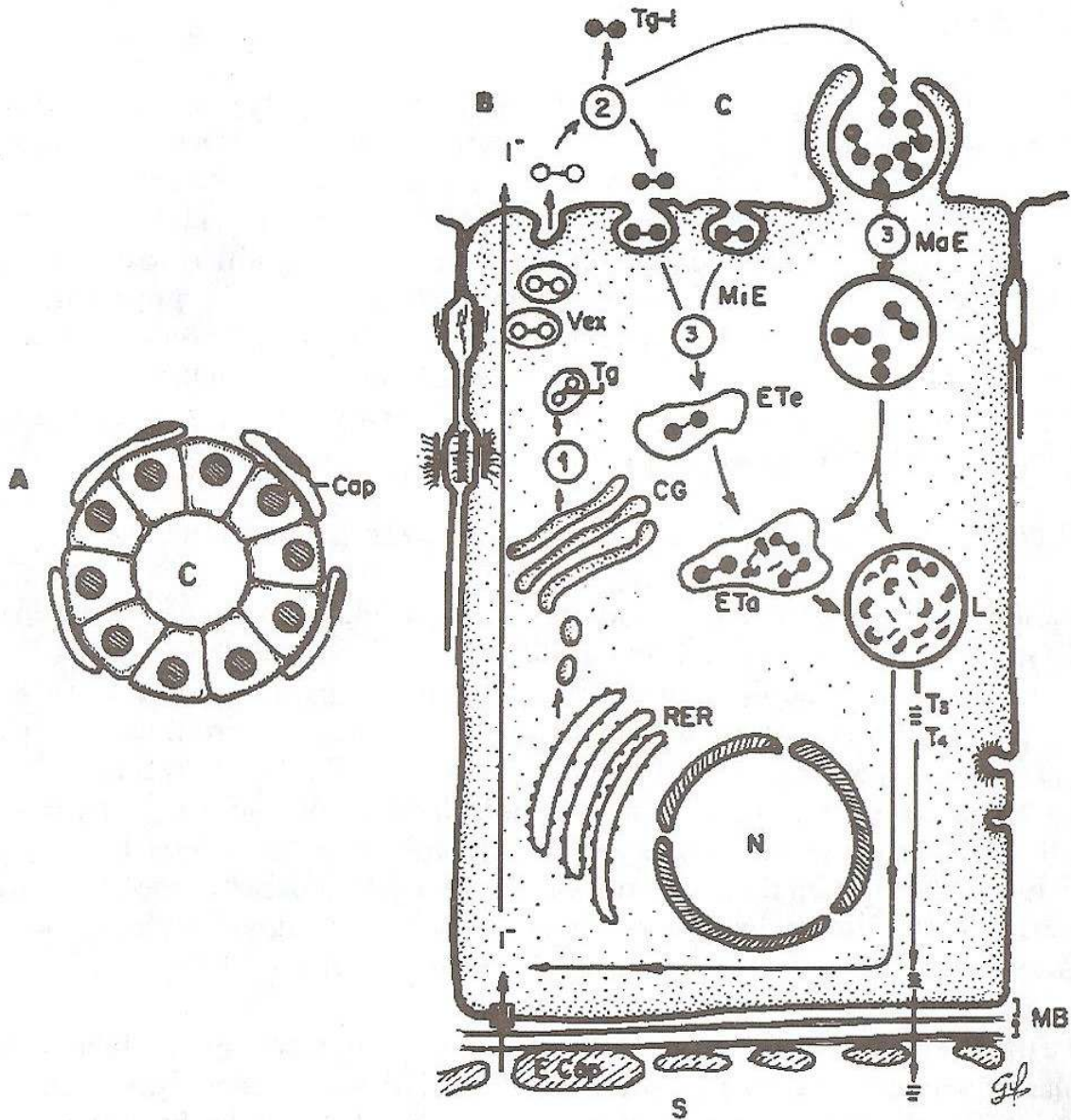
La formación de las hormonas tiroideas se puede dividir en tres etapas:

1. La síntesis en el RER de la tiroglobulina (Tg), su glicosilación *N*-osídica en el CG, y su exocitosis al coloide extracelular (Fig. 5.26 B 1, Vex).
2. La captación del yoduro y su organificación en los aas tirosina de la Tg y el acople de estas yodotirosinas que forman la 3,5,3'-triyodotironinas (T<sub>3</sub>) y la 3,5,3',5'-tetrayodotironinas (T<sub>4</sub>) unidas todavía a la Tg (Fig. 5.26 B 2).
3. La endocitosis de la Tg yodada y su hidrólisis en los endosomas tardíos o prelisosomas y lisosomas seguida de la liberación de las hormonas T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> en el lisosoma (Fig. 5.26 B 3). Las hormonas T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub> difunden al citosol y de allí al espacio extracelular y luego a los capilares que rodean a los folículos tiroideos (modo de secreción por simple difusión) (Fig. 5.26 B T<sub>3</sub> y T<sub>4</sub>).

La primera y tercera etapa son intracelulares y la segunda es extracelular. Estas células presentan varias características muy especiales: conservan una secreción exocrina inicialmente, el coloide se secreta en la luz del folículo. Efectivamente, filogenéticamente esta glándula es exocrina, en peces y se vuelve endocrina en los vertebrados.

Aunque las hormonas tiroideas no son de naturaleza lipídica, se estudian como tales, pues atraviesan por difusión las membranas plasmáticas de las células diana y se unen a los receptores intracelulares.

Otra peculiaridad de las células de la tiroidea, es que son capaces de formar pseudópodos e interiorizar grandes cantidades de coloide, en vesículas grandes de endocitosis cuando son estimuladas por la hormona tireotrópica (TSH), proceso denominado macroendocitosis. La macroendocitosis se diferencia de la endocitosis por vesículas pequeñas denominada la microendocitosis, que ocurre también en las células tiroideas, únicas células epiteliales de nuestro organismo en realizar estos dos procesos. Los macrófagos y los polimorfonucleares neutrófilos realizan también la macroendocitosis, pero el proceso es más conocido como fagocitosis (Ver 4.2).



**Figura 5.26. Secreción tiroidea.**

A. Esquema de un folículo tiroideo en un corte histológico.

B. Esquema de una célula tiroidea. En la célula de la tiroides se muestran las diferentes etapas de la síntesis, formación y de secreción de las hormonas tiroideas  $T_3$  y  $T_4$ .

1. Síntesis de la Tg en el RER, glicosilación en el CG y exocitosis al coloide. Captación del  $I^-$  en la membrana de la región basal y su transporte hasta el coloide.

2. Unión del  $I^-$  a la Tg (Tg-I) para formar  $T_3$  y  $T_4$ .

3. Micro- (MiE) y macroendocitosis (MaE) en la membrana apical. Hidrólisis de la Tg en los prelisosomas (ETa) y en los lisosomas (L) liberando las  $T_3$  y  $T_4$  que son secretadas por simple difusión.

Cap: capilares; C: coloide folicular;  $I^-$ : yoduro; RER: retículo endoplásmico rugoso; CG: complejo de Golgi; Tg: tiroglobulina; Vex: vesículas de exocitosis; Tg-I: tiroglobulina yodada; ETe: endosoma temprano; ETa: endosoma tardío o prelisosomas; L: lisosoma;  $T_3$ : 3,5,3'-triyodotironina;  $T_4$ : 3,5,3',5'-tetrayodotironina; N: núcleo; Ecap; Endotelio del capilar; MB: membranas basales; S: sangre.

### 5.7.3. Crinofagia

La crinofagia se define como la destrucción de las vesículas de secreción por los lisosomas. Ella interviene cuando cesa la estimulación de secreción y las vesículas de secreción se vuelven inútiles. La secreción de la prolactina por la hipófisis anterior es un ejemplo de este proceso. La prolactina es una hormona peptídica que estimula la glándula mamaria. Cuando cesa la lactación, las células responsables de la secreción de la prolactina disminuyen de tamaño, la zona del CG ya no muestra la acumulación de producto de secreción y las vesículas de secreción disminuyen de volumen. Quedan en el citoplasma algunas vesículas de secreción que no fueron exocitadas por la célula. Se observa entonces la fusión de estos gránulos con los lisosomas. El producto de secreción es entonces destruido por las hidrolasas lisosomiales.

## 5.8. PATOLOGÍA

La biosíntesis de proteínas se fundamenta al fin y al cabo en el análisis sobre un mecanismo complejo de traducción del ADN en proteína, cuya calidad depende en primera instancia de la calidad del texto original, es decir del mensaje genético. Las mutaciones que inducen una modificación del ARNm no serán descritas aquí, sólo serán tratados los casos donde la patología provoca un efecto primario sobre el transporte intracelular del producto de la biosíntesis.

### 5.8.1. Deficiencia en $\alpha$ -1-antitripsina

La  $\alpha$ -1-antitripsina es una glicoproteína de 54 kD, formada por una sola cadena polipeptídica con 4 cadenas glucídicas unidas a la asparagina. La  $\alpha$ -1-antitripsina hace parte de las antiproteasas del plasma como la  $\alpha$ -2-macroglobulina,  $\beta$ -1-anticolagenasa y  $\alpha$ -1-antiquimotripsina. La deficiencia en esta proteína está asociada a una insuficiencia hepática y a la cirrosis en el niño, así también a una enfisema pulmonar en el adulto joven. La  $\alpha$ -1-antitripsina es sintetizada por los hepatocitos y su vida media en el plasma es alrededor de 8 días. La  $\alpha$ -1-antitripsina del plasma aumenta rápidamente y hasta tres veces durante las inflamaciones agudas y las infecciones graves.

En la deficiencia en  $\alpha$ -1-antitripsina, la concentración de esta proteína en el plasma es reducida a menos del 40% de lo normal. En MO, se nota en los hepatocitos la presencia de inclusiones globulares. En ME, las acumulaciones se observan a nivel del Retículo Endoplásmico. El material acumulado en el Retículo Endoplásmico es la antitripsina pero su peso molecular es inferior a aquella de la antitripsina del plasma. El análisis químico muestra una deficiencia en ácidos siálicos terminales. La deficiencia se encontraría en la modificación de algunos aas

de la cadena peptídica de la antitripsina en la vecindad del sitio de unión de una cadena polisacáridica impidiendo su unión. Esto impediría el transporte de la molécula a nivel de Retículo Endoplásmico. La adición de ácidos siálicos terminales no podría efectuarse, porque la antitripsina ya no pasa por el CG. La ausencia del transporte podría estar asociada a la tendencia particular de la antitripsina modificada a formar agregados. Hay que notar que la glicosilación no es indispensable para el transporte intracelular, como lo muestra la existencia de algunas proteínas de secreción no glicosiladas, cuyo ejemplo más típico es la albumina.

### 5.8.2. Anomalía de hidrolasas lisosomiales

Se conocen varias enfermedades en el hombre donde la mutación de uno de los genes de las hidrolasas lisosomiales induce la acumulación del substrato específico en los lisosomas.

Dentro de las enfermedades lisosomiales de acumulación, una categoría de mucopolisacaridosis (acumulación de glicoaminoglicanos o mucopolisacaridos y de glicolípidos), la mucopolisacaridosis II (*I-cell disease*), se caracteriza por anomalías del conjunto de hidrolasas lisosomiales. Esto es paradójico, porque la probabilidad de mutaciones que afectarían todas las hidrolasas lisosomiales es casi nula. El análisis de fibroblastos en cultivo de pacientes homocigotos que sufren de esta mucopolisacaridosis muestra que los lisosomas son deficientes del conjunto de hidrolasas ácidas, mientras que esas hidrolasas están presentes en el líquido extracelular. Además, si se cultivan juntos los fibroblastos de sujetos normales y los de pacientes que sufren de la mucopolisacaridosis II, se constata que la presencia de los primeros corrige la anomalía de los segundos, que adquieren las hidrolasas y eliminan las sustancias acumuladas en los lisosomas. La acumulación se explica aquí por una mutación única que afecta una enzima necesaria a la adición del marcador de hidrolasas lisosomiales, la manosa-6-fosfato. En consecuencia, las hidrolasas lisosomiales no son retenidas en las células por la vía directa de transferencia de hidrolasas y cuando son secretadas por la vía defectuosa, no son recuperadas tampoco por la vía indirecta. Se comprende igualmente que si estas células se colocan en presencia de hidrolasas secretadas por células normales, la situación se corrige, pues el receptor normal para la manosa-6-fosfato existe en las células afectadas.

En los enfermos de mucopolisacaridosis II, los lisosomas en algunos tipos de células, como los hepatocitos, contienen normalmente sus hidrolasas, implicando que existe otro mecanismo que orienta y transporta las enzimas lisosomiales en algunos tipos de células pero no en otros. La naturaleza de esta vía independiente de manosa-6-fosfato es desconocida. De manera similar, las proteínas de la membrana de los lisosomas son también transportadas a los endosomas tardíos a partir de la región *red-trans*-Golgi por una vía (o vías) independiente de la manosa-6-fosfato.

## 5.9. CARÁCTER EXHAUSTIVO DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA

Los ribosomas aseguran una traducción fiel de la secuencia nucleotídica del ARNm en secuencia peptídica. Esta secuencia constituye la estructura primaria de la proteína. La cadena peptídica enseguida adopta una configuración particular y única para una proteína dada. Esta configuración implica lo que se llama la estructura secundaria (puentes de hidrógeno a nivel de uniones peptídicas) y la estructura terciaria (uniones de caracteres diversos a nivel de cadenas laterales de aas). Para ciertas proteínas existe igualmente una estructura cuaternaria, resultado de la asociación de dos o más cadenas peptídicas. La pregunta que se hace es ¿cuál es el origen de la información genética que determina una configuración particular de la proteína?. Se podría imaginar que se trata de un repliegue progresivo *au fur et à mesure* de la síntesis, que persiste luego. La posibilidad, la más simple es sin embargo que la configuración adoptada sea termodinámicamente la más estable, lo que significa que el conjunto de estructuras de orden superior es determinada enteramente por la estructura primaria, es decir por la secuencia de aas. Varios tipos de observaciones sugieren que la segunda hipótesis es la correcta. Lo más demostrativo es cuando se desnaturaliza una proteína, donde se muestra que la destrucción de las estructuras secundarias, terciarias y cuaternaria, es un fenómeno reversible.

Las modificaciones producidas después de la síntesis de las proteínas son igualmente inscritas en la secuencia peptídica y en consecuencia en el mensaje genético. Si por ejemplo, una proteína recibe la cadena oligosacáridica del dolicolfosfato, es porque ella presenta en cierto momento la secuencia asparagina-X-treonina o asparagina-X-serina. Como las modificaciones después de la síntesis implican a menudo una destinación particular para el producto de secreción, así el mensaje genético especificando la secuencia de aas, específica también el destino de la proteína. Hay que anotar aquí, que los azúcares o regiones glucídicas intervienen con frecuencia en los fenómenos de reconocimiento: los casos de proteínas que exponen la galactosa reconocida por los hepatocitos y el del receptor para la manosa-6-fosfato fueron ya citados más arriba; hay también receptores de manosa sobre los macrófagos y un receptor para la fucosa.

Hay que subrayar sin embargo, que el carácter exhaustivo del mensaje genético implica la organización específica de la maquinaria de la síntesis de proteínas de las células eucarióticas. En efecto, el mismo mensaje genético a nivel de una bacteria no podrá ser interpretado completamente: las modificaciones después de la síntesis que implican enzimas específicas no podrán ser efectuadas. Esta anotación es importante porque, desde el punto de vista práctico, ella fija un límite a las posibilidades de obtener por manipulación genética proteínas que implican modificaciones después de síntesis. La incorporación del gen de una proteína eucariótica en un genoma bacteriano (transfección) reproducirá la secuencia de aas, pero, por ejemplo, las glicosilaciones eventualmente necesarias no podrán ser

introducidas. Aunque actualmente se están haciendo este tipo de estudios en células eucarióticas en cultivo, pero sigue siendo muy difícil el estudio y la comprensión de las modificaciones postraduccionales de las proteínas eucarióticas sintetizadas en el RER y maduras en el CG. El problema es que estas células han sido adaptadas para el cultivo y presenta las limitaciones de que no reproducen fielmente todas las etapas necesarias y las regiones glucídicas de genes transfectados en estas células, producen glicoproteínas no funcionales.

NOTA: Parte de este capítulo fue publicado en: Spinel, C. Memorias del curso de extensión: Biología celular y molecular. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá. 1995.

## 5.10. BIBLIOGRAFÍA

- Bannykh, S.I. & W.E. Balch. *Membrane dynamics at the Endoplasmic Reticulum-Golgi interface*. Science, 272 (5258): 12 - 15, 1997.
- Berstein, D.H., M.A. Poritz, K. Strub, P.J. Hoben, S. Brenner & P. Walter. *Model for signal sequence recognition from amino-acid sequence of 54k subunit of signal recognition particle*. Nature 340: 482 - 486, 1989.
- Bourne, H.R., D.A. Sanders & F. McCormick. *The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism*. Nature 349: 117 - 126, 1997
- Cleves, A.E., T.P. McGee, E.A. Whitters, K.M. Champion, J.R. Aitken, W. Dowhan, M. Goebel & V.A. Bankaitis. *Mutations in the CDP-choline pathway for phospholipid biosynthesis bypass the requirement for an essential phospholipid transfer protein*. Cell 64: 789 - 800, 1991.
- Connolly, T., P.J. Rapiejko & R. Gilmore. *Requirement of GTP hydrolysis for dissociation of the signal recognition particle from its receptor*. Science 252 : 1171 - 1173, 1991.
- Dubois, B., M. Couvreur, C. Spinel, J-F. Deneff & M-F. van den Hove. *Thyroglobulin (Tg) hydrolysis starts in prelisosomes*. 10th International Thyroid Conferences, The Netherlands, 188A, 1991.
- Hernandez, L.D., L.R. Hoffman & T.G. Wolfsberg. *Virus-cell and cell-cell fusion*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 12: 627 - 661, 1996.
- Hershey, J.W.B. *Translational control in mammalian cells*. Annu. Rev. Biochem. 60: 717 - 755, 1991.
- High, S. & B. Dobberstein. *The signal sequence interacts with the methionine-rich domain of the 54-kD of signal recognition particle*. J. Cell Biol. 113: 229 - 233, 1991.
- Kreis, T.E., M. Lowe & R. Pepperkok. *COPs regulating membrane traffic*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 11: 677 - 706, 1995.
- Mellman, I. & K. Simons. *The Golgi Complex: in vitro veritas?*. Cell 68 (3): 829 - 840, 1992.



- Miller, D.J., H. Wilhelm, L. Gierasch, R. Gilmore & O.P. Walter. *GTP binding and hidrolisis by the signal reconition particle during initiation of protein translocation*. Nature 366 : 349 - 353, 1993.
- Parks, G.D. & R.A. Lamb. *Topology of eukariyotic Type II membrane proteins: importance of N-terminal positively charged residues flanking the hydrophobic domain*. Cell 64: 777 - 787, 1991.
- Persson, R. & R.F. Pettersson. *Formation and intracellular transport of a heterodimeric viral spike protein complex*. J. Cell. Biol. 112 (2): 257 - 266, 1991.
- Pfeffer, S.R. *Transport vesicle docking: SNAREs and associated*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 12: 441 - 461, 1996.
- Rapiejko, P.J. & R. Gilmore. *Protein translocation across the ER requires a functional GTP binding site in the a subunit of the signal recognition particle receptor*. J. Cell Biol. 117: 493 - 503, 1992.
- Rapoport, T. A. *Extensions of the signal hypothesis - sequential insertion model versus amphipathic tunnel hypothesis*. The FEBS LETTERS, 187 (1): 1 - 10, 1985.
- Rapoport, T. A. *Tansport of protein across the endoplasmic reticulum membrane*. Science, 258: 938 - 935, 1992.
- Rapoport, T. A. *Proteins transport across the endoplasmic reticulum membrane: facts, models, mysteries*. FASEB J. 5: 2792 - 2798, 1991.
- Sabatini, D.D., G. Kreibich, T. Morimoto & M. Adesnik. *Mechanisms for the incorporation of proteins in membranes and organelles*. J. Cell. Biol. 92 : 1 - 22, 1982.
- Sossin, W.S., J.M. Fisher & R.H. Scheller. *Sorting within the regulated secretory pathway occurs in the trans-Golgi Network*. J. Cell. Biol. 110: 1 - 12, 1990.
- Spinel, C. *Aspects morphologiques et fonctionnels des follicles thyroïdiens en culture*. Tesis de Doctorado en Ciencias Médicas, Facultad de Medicina, Universidad Católica de Lovaina, Bruselas, Septiembre, 1987.
- Spinel, C. *Memorias del curso de extensión: Biología celular y molecular*. Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia. Santafé de Bogotá. 1995.
- Spinel-Gómez, C., I. Colin, M-F. van den Hove & J-F. Deneff. *Correlated morphological and functional study of isolated rat thyroid follicles in culture*. Mol. Cell. Endocrinol., 71 (2): 141 - 153, 1990.
- Horazdovsky & S.D. Emr. *Receptor-mediated protein sorting to the vacuole in yeast: Roles for a protein kinase, a lipid kinase and GTP-binding proteins*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 11: 1 - 33, 1995.
- Sztul, E., A. Kaplin, L. Saucan & G. Palade. *Protein traffic between distinct plasma membrane domains: isolation and characterization of vesicular carriers involved in transcytosis*. Cell 64: 81 - 89, 1991.
- Teasdale, R.D. & M.R. Jackson. *Signal-mediated sorting of membrane proteins between the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus*. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., 12: 27 - 54, 1996.
- Todorov Igor, N. *How cells maintain stability*. Sci. Ame., diciembre, 1990.