

Compartimientos intracelulares y clasificación de proteínas

12

- La compartimentación de las células superiores
- El transporte de moléculas hacia dentro y hacia fuera del núcleo
- El transporte de proteínas al interior de mitocondrias y de cloroplastos
- Peroxisomas
- El retículo endoplasmático

A diferencia de las bacterias, que generalmente constan de un único compartimiento rodeado por una membrana plasmática, la célula eucariota está subdividida en compartimientos rodeados por membrana, que son funcionalmente distintos. Cada compartimiento u **orgánulo** contiene su propia colección de enzimas, otras moléculas especializadas y un complejo sistema de distribución que transporta específicamente los compuestos de un compartimiento a otro. Para entender la célula eucariota es necesario conocer lo que sucede en cada uno de estos compartimientos, cómo se desplazan las moléculas entre ellos y cómo se generan los compartimientos a sí mismos y se conservan.

Las proteínas juegan un papel central en la compartimentación de una célula eucariota. Catalizan las reacciones que tienen lugar en cada orgánulo y transportan selectivamente pequeñas moléculas hacia dentro y hacia fuera de su interior o *lumen*. También actúan como marcadores específicos de superficie de los orgánulos que dirigen el destino de proteínas y de lípidos al orgánulo apropiado. Una célula de mamífero contiene aproximadamente 10 mil millones (10^{10}) de moléculas de proteína, de unos 10 000 tipos distintos. La síntesis de la mayoría de todas estas proteínas empieza en el citosol, el espacio común que engloba a los orgánulos. Una vez sintetizada, cada proteína es transportada específicamente al compartimiento celular que la necesita. Por ello el tema central de este capítulo y también del siguiente será el tráfico intracelular de proteínas. El conocimiento de este tráfico de proteínas desde un compartimiento a otro permite empezar a comprender el desconcertante laberinto de membranas intracelulares.

La compartimentación de las células superiores

En esta sección introductoria vamos a dar una visión general de los distintos compartimientos de la células y de las relaciones que existen entre ellos. Para poder hacerlo, hemos organizado los orgánulos conceptualmente en un pequeño número de familias, revisando cómo las proteínas se dirigen a orgánulos específicos y cómo atraviesan las membranas de los orgánulos.

Todas las células eucariotas tienen la misma colección básica de orgánulos rodeados de membrana¹

Muchos procesos bioquímicos vitales ocurren en o sobre superficies de membrana. Así, el metabolismo lipídico está catalizado mayoritariamente por enzi-

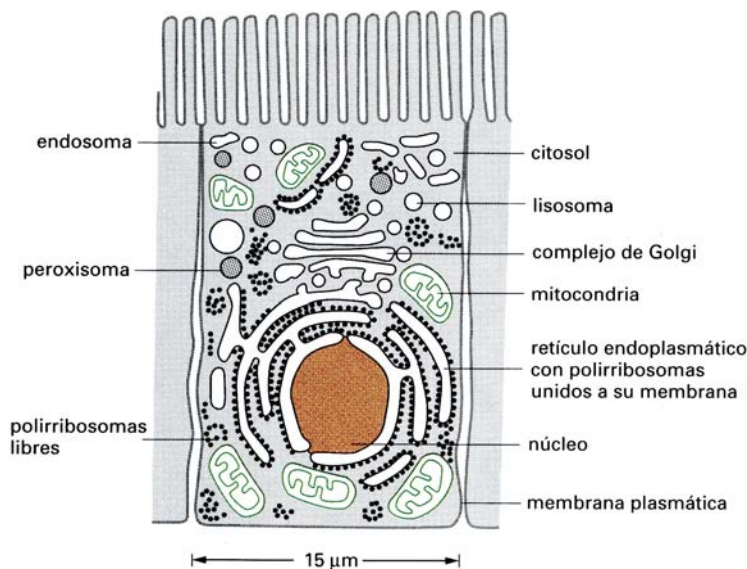


Figura 12-1 Los principales compartimientos intracelulares de una célula animal. El citosol (gris), el retículo endoplasmático, el complejo de Golgi, el núcleo, las mitocondrias, los endosomas, los lisosomas y los peroxisomas son diferentes compartimientos que se hallan aislados del resto de la célula mediante, al menos, una membrana dotada de permeabilidad selectiva.

mas unidas a membranas y la fosforilación oxidativa y la fotosíntesis requieren una membrana semipermeable para acoplar el transporte de H^+ con la síntesis de ATP. Además, los sistemas de membranas intracelulares no sólo proporcionan un área extra de membrana, sino que crean compartimientos que están separados del citosol, dando a la célula espacios acuosos funcionalmente especializados. Como la bicapa lipídica de los orgánulos de membrana es impermeable a la mayoría de las moléculas hidrofílicas, la membrana de cada orgánulo ha de disponer de proteínas transportadoras que son responsables de la importación o exportación de metabolitos específicos. Cada membrana de un orgánulo ha de tener también un mecanismo de importación y de incorporación al orgánulo de las proteínas específicas que hacen que dicho orgánulo sea único.

En la Figura 12-1 se ilustran los compartimientos más importantes comunes a todas las células eucariotas. El *núcleo* contiene el genoma principal y es el lugar más importante de síntesis de DNA y de RNA. El *citoplasma* que lo circunda consiste en el *citosol* y los *orgánulos* citoplasmáticos suspendidos en él. El citosol constituye un poco más de la mitad del volumen total de la célula y es el lugar donde no sólo tiene lugar la síntesis de proteínas sino también donde se desarrollan la mayoría de las reacciones del metabolismo intermediario celular –es decir, el elevado número de reacciones mediante las cuales algunas moléculas pequeñas son degradadas y otras son sintetizadas proporcionando los elementos para la construcción de las macromoléculas (se explica en el Capítulo 2).

Aproximadamente la mitad del área total de membrana de una célula se utiliza para englobar los espacios laberínticos del *retículo endoplasmático* (ER). El ER presenta muchos ribosomas unidos a su superficie citoplasmática, los cuales sintetizan proteínas integrales de membrana y proteínas solubles destinadas a ser segregadas o a ser transportadas a otros orgánulos. Veremos que existe una diferencia importante entre el sistema a través del cual las proteínas son dirigidas al ER o a otros orgánulos citoplasmáticos: mientras que las proteínas son translocadas a otros orgánulos solamente cuando su síntesis ha concluido, son translocadas al ER durante su síntesis, por lo que los ribosomas sobre los que se están produciendo están unidos a la membrana del ER. El ER también produce los lípidos del resto de la célula y también actúa como almacén de iones Ca^{2+} . El *complejo de Golgi* consiste en una serie de compartimientos organizados en forma de sacos discoidales llamados *cisternas del Golgi*; recibe lípidos y proteínas del ER y las distribuye hacia diferentes destinos intracelulares, generalmente modificándolas covalentemente durante el viaje.

Las *mitocondrias* y (en las plantas) los *cloroplastos*, generan la mayor parte del ATP que se utiliza para desplazar las reacciones biosintéticas que requieren un aporte de energía libre. Los *lisosomas* presentan enzimas digestivas que de-

Tabla 12-1 Volúmenes relativos ocupados por los principales compartimientos intracelulares en una célula hepática típica (hepatocito)

Compartimiento intracelular	Porcentaje del volumen celular total	Número aproximado por célula*
Citosol	54	1
Mitocondria	22	1700
Vesículas del ER rugoso	9	1
Vesículas del ER liso y de Golgi	6	
Núcleos	6	1
Peroxisomas	1	400
Lisosomas	1	300
Endosomas	1	200

* Se cree que todas las cisternas del retículo endoplasmático liso y rugoso están conectadas, formando un único gran compartimiento. En cada célula el complejo de Golgi está organizado en un número discreto de grupos de cisternas apiladas (dictiosomas) y todavía no se ha establecido claramente el grado de interconexión entre ellos.

gradan tanto orgánulos muertos como macromoléculas y partículas captadas del exterior de la célula por endocitosis. En su camino hacia los lisosomas, las macromoléculas y las partículas endocitadas primero han de pasar por una serie de compartimientos llamados *endosomas*. Los *peroxisomas* (también conocidos como *microcuerpos*) son pequeños compartimientos vesiculares que contienen enzimas que participan en diversas reacciones oxidativas. En general, cada orgánulo rodeado por membrana realiza el mismo tipo de funciones básicas en todos los tipos celulares pero varía en abundancia y puede tener propiedades adicionales que difieren de un tipo celular a otro de acuerdo con las funciones especializadas de las células diferenciadas.

En su conjunto, estos orgánulos ocupan casi la mitad del volumen celular (Tabla 12-1), y se requiere una gran cantidad de membranas intracelulares para fabricarlos todos. Así, en las dos células de mamífero que se analizan en la Tabla 12-2,

Tabla 12-2 Cantidades relativas de tipos de membrana en dos células eucariotas

Tipo de membrana	Porcentaje de membrana celular total	
	Hepatocito*	Célula exocrina pancreática*
Membrana plasmática	2	5
Membrana del ER rugoso	35	60
Membrana del ER liso	16	< 1
Membrana del complejo de Golgi	7	10
Mitocondrias		
Membrana externa	7	4
Membrana interna	32	17
Núcleo		
Membrana interna	0,2	0,7
Membrana de las vesículas secretoras	no determinado	3
Membrana de los lisosomas	0,4	no determinado
Membrana de los peroxisomas	0,4	no determinado
Membrana del endosoma	0,4	no determinado

* Estas dos células son de tamaño muy diferente, ya que el hepatocito tiene como promedio un volumen de $5000 \mu\text{m}^3$, en comparación a los $1000 \mu\text{m}^3$ de la célula exocrina pancreática. Las áreas totales de membrana celular se estiman en $110\,000 \mu\text{m}^2$ y $13\,000 \mu\text{m}^2$, respectivamente.

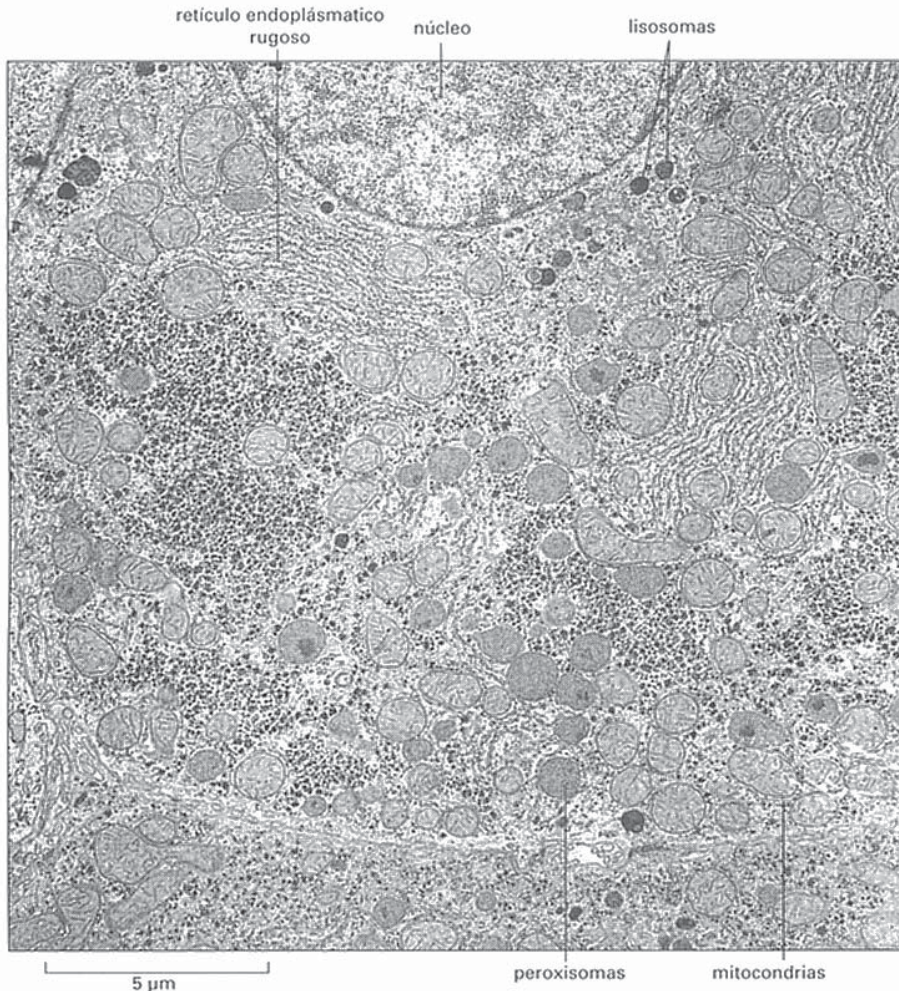


Figura 12-2 Electronmicrografía de una parte de una célula hepática vista en sección transversal. Se indican ejemplos de la mayoría de los principales compartimientos intracelulares. (Por cortesía de Daniel S. Friend.)

el retículo endoplasmático tiene una superficie de membrana total que es 25 y 12 veces mayor respectivamente que la membrana plasmática. En términos de superficie y de masa, pues, en la mayoría de la células eucariotas la membrana plasmática es sólo una membrana minoritaria (Figura 12-2).

Los orgánulos rodeados de membrana no se hallan distribuidos al azar en el citosol; por el contrario, a menudo ocupan posiciones características. Así, en la mayoría de células el complejo de Golgi está cerca del núcleo mientras que la red de túbulos del ER se extiende a partir del núcleo por todo el citosol. Estas distribuciones características parecen depender de las interacciones de los orgánulos con el citoesqueleto: por ejemplo, la localización del ER y del complejo de Golgi depende de la red de microtúbulos. Si se despolimerizan experimentalmente los microtúbulos con una droga, el complejo de Golgi se fragmenta y se dispersa por toda la célula y la red del ER se colapsa hacia el centro celular, o *centrosoma*, a partir del cual emerge la red de microtúbulos (véase Capítulo 16).

La relación topológica de los orgánulos rodeados de membrana puede ser interpretada en términos de sus orígenes evolutivos²

Para entender la relación que existe entre los compartimientos de la célula, resulta útil considerar cómo pueden haber evolucionado. Se cree que los precursores de las primeras células eucariotas fueron organismos parecidos a bacterias, los cuales generalmente tienen membrana plasmática pero no membranas internas. En estas células, por lo tanto, la membrana plasmática realiza todas las funciones dependientes de membrana, como el bombeo de protones, la síntesis de ATP, y la síntesis de lípidos. No obstante, las células eucariotas actuales tie-

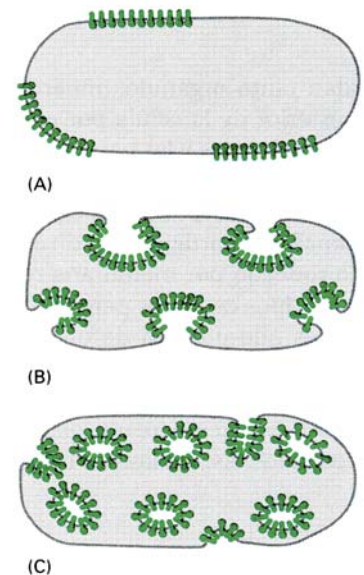


Figura 12-3 Organización de membranas especializadas en las bacterias. (A) Zonas (patches) de la superficie celular, consistentes en proteínas especializadas de membrana. (B) Zonas invaginadas de membrana plasmática que incrementan la cantidad de membrana disponible para funciones especializadas, como por ejemplo, para fotosíntesis. (C) Internalización de las zonas invaginadas de membrana, formando vesículas cuya cara interior es topológicamente equivalente a la cara exterior de la célula. En algunos tipos de bacterias fotosintéticas se presentan vesículas de membrana de este tipo; su relación topológica con la superficie de la célula es similar a la del ER, la del complejo de Golgi, la de los endosomas y la de los lisosomas en las células eucariotas.

nen una dimensión lineal entre 10 y 30 veces mayor y un volumen entre 1000 y 10 000 veces mayor que una bacteria típica como *E. coli*. Se puede proponer que la profusión de membranas internas responde en parte a una adaptación a este incremento en tamaño: las células eucariotas tienen una relación entre superficie y volumen mucho menor, de forma que probablemente el área de su membrana plasmática es demasiado pequeña para contener la gran cantidad de funciones vitales ligadas a membrana que presenta una célula.

Evidentemente, la evolución de las membranas internas ha sido paralela a la especialización de la función de las membranas. En algunas bacterias actuales existen zonas (patches) especializadas de la membrana plasmática en las que se presentan una colección determinada de proteínas de membrana que realizan una serie de funciones relacionadas (Figura 12-3A). Estas porciones especializadas de membrana, tales como la "membrana púrpura" en *Halobacterium* que contiene bacteriorrodopsina (se discute en el Capítulo 10) o los cromatóforos en las bacterias fotosintéticas (se discute en el Capítulo 14), representan orgánulos primitivos. En algunas bacterias fotosintéticas, estas zonas de membrana se han transformado en zonas más elaboradas concretándose en invaginaciones de la membrana plasmática (Figura 12-3B), mientras que en otras bacterias parece que estas invaginaciones se han separado completamente de la membrana plasmática formando vesículas cerradas intracelulares rodeadas de membrana, especializadas en la fotosíntesis (Figura 12-3C).

Puede esperarse que un orgánulo eucariota que se haya originado por el procedimiento que se ilustra en la Figura 12-3 tenga un interior topológicamente equivalente al exterior de la célula. Veremos que éste es el caso del ER, del complejo de Golgi, del endosoma y del lisosoma –así como del gran número de intermediarios vesiculares de las vías secretora y endocítica (*vesículas de transporte*). Podemos por tanto pensar que todos estos orgánulos son miembros de la misma familia y que, tal como veremos en detalle en el próximo capítulo, sus interiores se comunican intensamente entre sí y con el exterior de la célula vía vesículas de transporte que emergen por gemación de un orgánulo y se fusionan con otro (Figura 12-4). En bacterias los ribosomas se hallan unidos a la cara citosólica de la membrana plasmática por lo que el origen evolutivo de la membrana del ER a partir de la membrana plasmática puede explicar por qué en las células eucariotas los ribosomas se encuentran unidos a la membrana del ER.

Este esquema evolutivo también ofrece una explicación razonable para la arquitectura del núcleo, con su doble membrana. En las bacterias un único cromosoma está unido a puntos especiales del interior de la membrana plasmática. Es por lo tanto posible que la doble envoltura nuclear se originara como una invaginación profunda de la membrana plasmática, tal como se muestra en la Figura 12-5A. Este esquema podría explicar por qué el compartimiento nuclear es topológicamente equivalente al citosol. De hecho, en las células eucariotas superiores la envoltura nuclear se rompe durante la mitosis, permitiendo que el contenido nuclear se disperse por el citosol, una situación que nunca sucede con el contenido de ningún otro orgánulo delimitado por membrana. Tal y

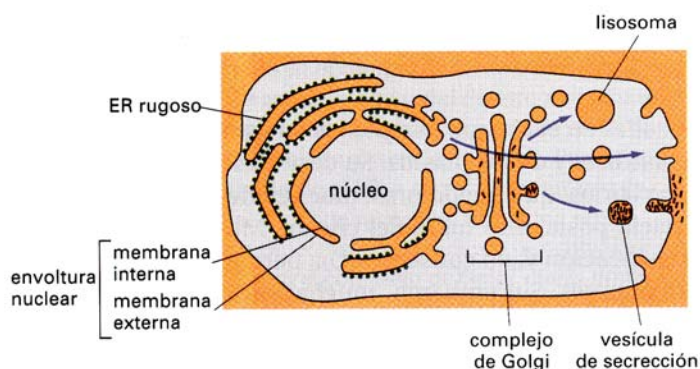
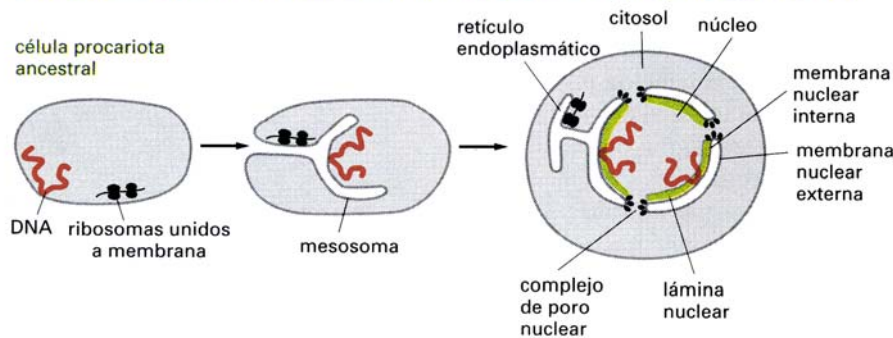
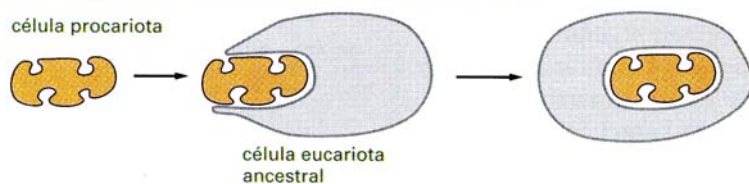


Figura 12-4 Relaciones topológicas entre los compartimientos de una célula eucariota. Los espacios topológicamente equivalentes se presentan en rojo. Los ciclos de gemación y fusión permiten en principio que cualquier lumen se comunique con cualquier otro y con el exterior celular. La flechas azules indican la dirección de salida del tráfico de vesículas desde el ER hasta el complejo de Golgi y la membrana plasmática (o los lisosomas) y los puntos negros representan proteínas que son segregadas por la célula. Algunos orgánulos sin embargo –de forma más notable las mitocondrias y (en plantas) los cloroplastos– no participan en esta comunicación vesicular por lo que están aislados del tráfico entre orgánulos que se muestra aquí.

(A) VÍA EVOLUTIVA PROPUESTA PARA EL NÚCLEO Y PARA EL RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO



(B) VÍA EVOLUTIVA PROPUESTA PARA LA MITOCONDRIA



como también predice el esquema de la Figura 12-5A, el espacio entre las dos membranas nucleares es topológicamente equivalente al exterior de la célula y es continuo con el lumen del ER.

Como se discute en el Capítulo 14, las mitocondrias y los cloroplastos difieren de los otros orgánulos rodeados de membrana en que presentan su propio genoma. La naturaleza de estos genomas y la estrecha similitud existente entre las proteínas de estos orgánulos y las de algunas bacterias actuales sugiere claramente que las mitocondrias y los cloroplastos evolucionaron a partir de bacterias que fueron “engullidas” por otras células con las que inicialmente vivieron en simbiosis (se explica en los Capítulos 1 y 14). De acuerdo con el esquema hipotético de la Figura 12-5B, la membrana interna de las mitocondrias y de los cloroplastos corresponde a la membrana plasmática original de las bacterias, mientras que el lumen de estos orgánulos evolucionó a partir del citoplasma bacteriano. Como podría esperarse de sus orígenes, estos orgánulos permanecen aislados del extenso tráfico de vesículas que conecta el interior de la mayoría de los orgánulos entre sí y con el exterior de la célula.

Este esquema evolutivo agrupa los principales compartimientos intracelulares de la células eucariotas en cinco grupos: (1) el núcleo y el citosol, que se comunican entre sí a través de los *poros nucleares*, por lo que son topológicamente continuos (a pesar de ser funcionalmente diferentes); (2) todos los orgánulos que actúan en las rutas de secreción y de endocitosis –incluyendo el ER, el complejo de Golgi, los endosomas, los lisosomas, y numerosas clases de vesículas de transporte; (3) las mitocondrias; (4) los plastos (sólo en plantas); y (5) los peroxisomas (cuyos orígenes evolutivos serán explicados más adelante).

Las proteínas pueden desplazarse entre compartimientos de diferentes maneras³

Todas las proteínas empiezan a ser sintetizadas en el citosol, excepto las que son sintetizadas en los ribosomas de las mitocondrias y de los plastos. Su destino siguiente depende de su secuencia de aminoácidos, que puede presentar **señales de clasificación** que dirigen su reparto hacia posiciones fuera del citosol. Muchas proteínas no presentan señales de clasificación y, en consecuencia, permanecen en el citosol como residentes permanentes. Sin embargo, muchas otras tienen señales de clasificación específicas que las dirigen desde el citosol hacia el núcleo, el ER, las mitocondrias, los plastos (en plantas), o los peroxisomas; las

Figura 12-5 Hipótesis sobre el origen evolutivo de algunos orgánulos rodeados de membrana.

Los orígenes de las mitocondrias, de los cloroplastos, del ER y del núcleo celular pueden explicar las relaciones topológicas existentes entre estos compartimientos intracelulares en células eucariotas. (A) Posible vía para la evolución del ER y del núcleo. En algunas bacterias el DNA se halla unido a una invaginación de la membrana plasmática llamada *mesosoma*. En células procariotas muy primitivas, una invaginación de este tipo pudo dar lugar a una envoltura alrededor del DNA permitiendo todavía el acceso del DNA al citosol celular (necesaria para permitir que el DNA pueda dirigir la síntesis de proteínas). Probablemente esta envoltura se generó completamente a partir de la membrana plasmática, produciendo un compartimiento limitado por una doble membrana. Tal como se ilustra, la envoltura nuclear está organizada mediante una capa fibrosa denominada *lámina nuclear*, que está atravesada por canales de comunicación denominados *complejos de poro nucleares*. Dado que el núcleo está rodeado por dos membranas que continúan donde son atravesadas por estos poros, el lumen del núcleo es topológicamente equivalente al citosol. El lumen del ER es continuo con el espacio que se halla entre las membranas nucleares interna y externa, y es topológicamente equivalente con el espacio extracelular. (B) Se cree que las mitocondrias (y los cloroplastos) se originaron mediante la incorporación de una bacteria a una célula eucariota. Estas bacterias retuvieron su autonomía. Esta hipótesis puede explicar por qué el lumen de estos orgánulos permanece aislado del extenso tráfico de vesículas que interconecta el lumen de muchos otros compartimientos intracelulares.

Figura 12-6 Durante el transporte de las vesículas se mantiene la “polaridad” de la membrana. Nótese que tanto para las proteínas como para los lípidos la orientación original del compartimiento dador se mantiene en la membrana del compartimiento diana y que los materiales solubles son transferidos de lumen a lumen.

señales de clasificación también pueden dirigir el transporte desde el ER hacia otros destinos celulares.

Para entender los principios generales por los que actúan las señales de clasificación, es importante distinguir tres sistemas fundamentales diferentes mediante los cuales las proteínas se desplazan desde un compartimiento a otro. (1) El tráfico de proteínas entre el citosol y el núcleo tiene lugar entre espacios topológicamente equivalentes, los cuales están en continuidad a través de los complejos de poro nucleares. Este proceso se llama **transporte regulado** porque el complejo de poro nuclear actúa como puertas selectivas que pueden transportar activamente macromoléculas específicas y ensamblajes macromoleculares, aunque también permiten difusión libre de moléculas pequeñas. (2) En el **transporte transmembrana**, *translocadores proteicos* unidos a la membrana dirigen el transporte específico de proteínas a través de la membrana desde el citosol hacia un espacio que es topológicamente distinto. Generalmente, la molécula de proteína transportada ha de desplegarse para poder deslizarse a través de la membrana. Por ejemplo el transporte inicial de determinadas proteínas desde el citosol hacia el lumen del ER o hacia el interior de las mitocondrias tiene lugar de este modo. (3) En el **transporte vesicular**, las *vesículas de transporte* cargan proteínas desde un compartimiento a otro. A medida que la membrana de un compartimiento va produciendo vesículas por gemación, estas vesículas capturan un cargamento de moléculas del lumen del compartimiento. Tras el transporte y la fusión con la membrana de otro compartimiento, estas vesículas descargan su cargamento en el interior de este otro compartimiento. Por ejemplo la transferencia de proteínas solubles desde el ER al complejo de Golgi tiene lugar por este mecanismo. Dado que las proteínas transportadas no atraviesan la membrana, sólo se desplazan entre compartimientos que son topológicamente equivalentes (Figura 12-6). En el Capítulo 13 explicaremos con más detalle el transporte vesicular. Los tres sistemas mediante los que se transportan las proteínas entre distintos compartimientos se resumen en la Figura 12-7.

Cada uno de los tres sistemas de transferencia proteica generalmente están guiados selectivamente por proteínas receptoras complementarias que se hallan

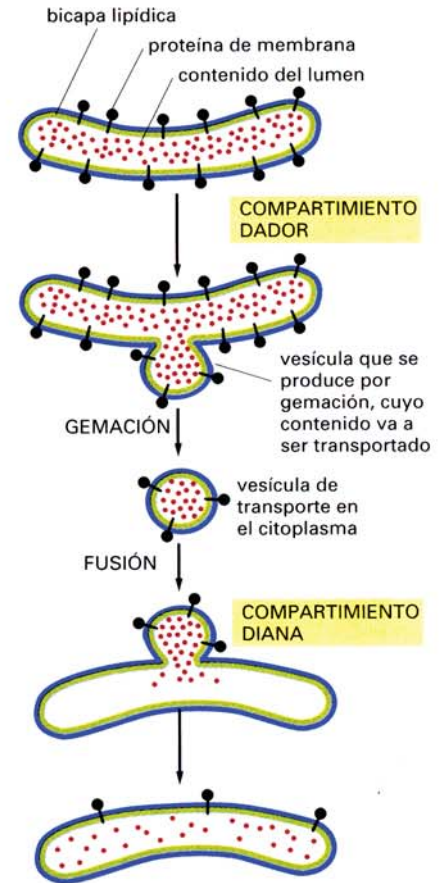
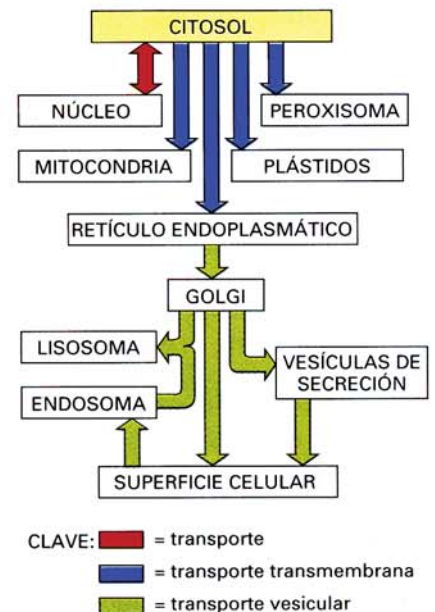


Figura 12-7 “Mapa de carreteras” simplificado del tráfico proteico. Las proteínas pueden desplazarse de un compartimiento a otro por medio de un transporte regulado (*en rojo*), por medio de transporte transmembrana (*azul*), o por medio de transporte vesicular (*verde*). Las señales que dirigen el camino de una proteína determinada a través del sistema, determinando su localización definitiva en la célula, están contenidas en la secuencia de aminoácidos de la proteína. El viaje comienza con la síntesis de una proteína sobre un ribosoma y termina cuando se ha alcanzado el destino final. En cada una de las estaciones intermedias (*recuadros*) se toma una decisión respecto a si la proteína será retenida en el compartimiento o bien continuará el viaje. En principio, se requiere una señal determinada tanto para retener la proteína en el compartimiento como para no retenerla. El destino alternativo es la *ruta por defecto* (en ausencia de señal). Por ejemplo, el transporte vesicular de proteínas desde el ER, a través del complejo de Golgi, hasta la superficie celular, parece que no necesita ninguna señal específica; las señales de retención específicas se requieren por consiguiente para retener las proteínas en el ER y en el complejo de Golgi, cuyas proteínas especializadas residen allí.

Utilizaremos repetidamente esta figura como guía a través de este capítulo y del siguiente, destacando la ruta particular que será explicada.



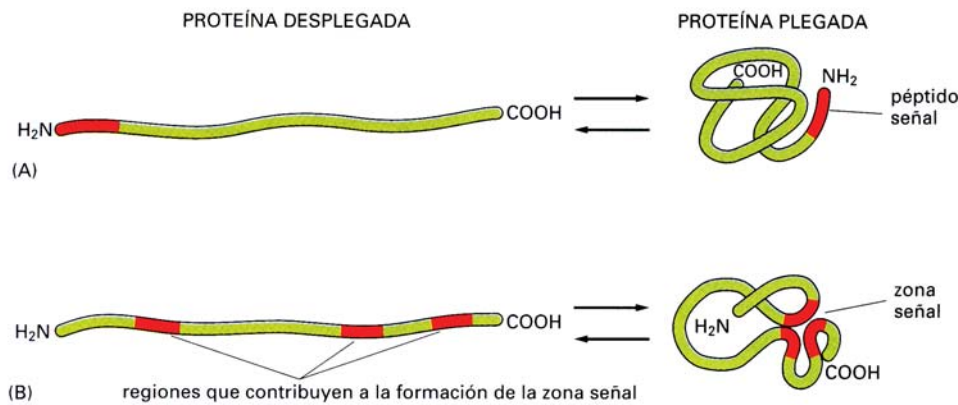


Figura 12-8 Los dos sistemas mediante los que se puede codificar una señal de transporte en una proteína. (A) La señal se halla en una secuencia sencilla y discreta de aminoácidos, llamada *péptido señal*, que se halla expuesta en la proteína plegada. A menudo los péptidos señal se presentan en uno de los extremos de la cadena polipeptídica (tal como se presenta en la figura), pero también se pueden localizar en cualquier otro lugar de la proteína. (B) Se puede formar una *región señal* mediante la yuxtaposición de aminoácidos procedentes de regiones que se hallaban físicamente separadas antes de que la proteína se plegara (como se muestra en la figura); alternatively, la señal puede estar formada por zonas separadas de la superficie de la proteína plegada que se hallan separadas entre sí por distancias fijas. En cualquier caso, la señal de transporte depende de la conformación tridimensional de la proteína. Por esta razón, este tipo de señal resulta difícil el localizar de forma precisa.

en el orgánulo de destino. Por ejemplo, si una proteína grande ha de ser importada hacia el núcleo, ha de tener una señal de clasificación que sea reconocida por proteínas receptoras asociadas con el complejo de poro nuclear. Si una proteína ha de ser transferida directamente a través de una membrana, ha de tener una señal de clasificación que sea reconocida por el translocador de la membrana que tiene que atravesar. Del mismo modo, si una proteína ha de ser incorporada en cierto tipo de vesículas de transporte o retenida en ciertos orgánulos, sus señales de clasificación han de ser reconocidas por un receptor complementario de la membrana apropiada.

Los péptidos señal y la región señal determinan el destino celular correcto de las proteínas⁴

Existen al menos dos tipos de señales de clasificación en las proteínas. Uno de ellos reside en una región continua de la secuencia de aminoácidos, típicamente de 15-60 residuos de largo. Este **péptido señal** es a menudo (pero no siempre) eliminado de la proteína por una **peptidasa de señal** especializada, una vez se ha ejecutado la decisión de clasificación. El otro tipo de señal consiste en una disposición tridimensional característica de los átomos de la superficie de la proteína, que se forma cuando se pliega la proteína. Los restos de aminoácidos que constituyen la **región señal** pueden ser bastante distantes el uno del otro en la secuencia lineal de aminoácidos, y generalmente permanecen en la proteína madura (Figura 12-8). Los péptidos señal son utilizados para dirigir las proteínas desde el citosol al ER, a las mitocondrias, a los cloroplastos, a los peroxisomas y al núcleo y también son utilizados para retener las proteínas en el ER. Las regiones señal identifican ciertas enzimas que han de ser marcadas con residuos de azúcar específicos que luego dirigen a las proteínas desde el complejo de Golgi a los lisosomas; las regiones señal también se utilizan en otros pasos de clasificación que están menos caracterizados.

Para especificar los diferentes destinos celulares se utilizan diferentes tipos de péptidos señal. En general, las proteínas que están destinadas a ser transferidas al ER tienen, en su extremo amino terminal, péptidos señal que en la parte central de su secuencia presentan entre 5 y 10 residuos de aminoácidos hidrofóbicos. La mayoría de estas proteínas pasarán después desde el ER al complejo de Golgi; no obstante, las proteínas que presentan en su extremo carboxilo terminal una secuencia determinada de cuatro aminoácidos son retenidas permanentemente en el ER. Las proteínas destinadas a las mitocondrias tienen péptidos señal en los que se alternan restos de aminoácidos cargados positivamente con restos de aminoácidos hidrofóbicos. Las proteínas destinadas a los peroxisomas tienen habitualmente una secuencia de tres aminoácidos en su extremo carboxilo. Muchas proteínas destinadas al núcleo tienen péptidos señal formados por una agrupación de residuos de aminoácidos cargados positivamente, la cual se

Tabla 12-3 Algunas secuencias típicas de péptidos señal

Función del péptido señal	Ejemplo de péptido señal
Importación al ER	⁺ H ₃ N-Met-Met-Ser-Phe-Val-Ser-Leu-Leu-Leu-Val Gly-Ile-Leu-Phe-Trp-Ala-Thr-Glu-Ala-Glu- Gln-Leu-Thr-Lys-Cys-Glu-Val-Phe-Gln-
Retención en el lumen del ER	-Lys-Asp-Glu-Leu-COO ⁻
Importación a la mitocondria	⁺ H ₃ N-Met-Leu-Ser-Leu-Arg-Gln-Ser-Ile-Arg-Phe- Phe-Lys-Pro-Ala-Thr-Arg-Thr-Leu-Cys-Ser- Ser-Arg-Tyr-Leu-Leu-
Importación al núcleo	-Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val-
Importación a los peroxisomas	-Ser-Lys-Leu-
Unión a membrana a través de la unión covalente del extremo amino terminal al ácido mirístico	⁺ H ₃ N-Gly-Ser-Ser-Lys-Ser-Lys-Pro-Lys-

Los residuos de aminoácidos cargados positivamente se muestran en *rojo* y los cargados negativamente en *verde*. En el recuadro *amarillo* se indica un gran bloque de aminoácidos hidrofóbicos. H₃N⁺ indica el extremo amino terminal de la proteína y COO⁻ el carboxilo terminal.

encuentra habitualmente en lugares internos de la cadena polipeptídica. En la Tabla 12-3 se muestran algunos péptidos señal típicos.

La importancia de cada uno de estos péptidos señal en el destino de las proteínas se ha visto en experimentos en los que el péptido ha sido transferido desde una proteína a otra mediante técnicas de ingeniería genética: por ejemplo, colocando el péptido señal amino terminal que especifica para el ER, al principio de una proteína citosólica, se consigue que ahora la proteína se dirija al ER. Todos los péptidos señal que se hallan unidos a proteínas que tienen el mismo destino son funcionalmente intercambiables aunque sus secuencias de aminoácidos puedan variar mucho. A menudo, parece que para los procesos de reconocimiento, las propiedades físicas de estos péptidos señal, tales como la hidrofobicidad, son más importantes que la secuencia exacta de aminoácidos.

Las regiones señal son mucho más difíciles de analizar que los péptidos señal; en consecuencia, se conoce mucho menos sobre su estructura. Debido a que resultan de un patrón complejo de plegamiento proteico tridimensional, no pueden simplemente transferirse de una proteína a otra.

En el Panel 12-1 (pág. 598) se ilustran los principales métodos para estudiar cómo se dirigen las proteínas desde el citosol a un compartimiento específico y cómo se translocan a través de las membranas.

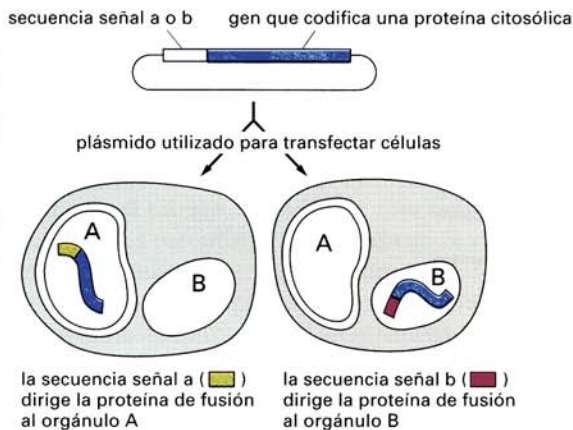
Las células no pueden construir *de novo* sus orgánulos rodeados de membrana: necesitan información del propio orgánulo⁵

Cuando una célula se reproduce y se divide, tiene que duplicar sus orgánulos rodeados de membrana. Normalmente las células realizan esta duplicación agrandando los orgánulos mediante la incorporación en ellos de nuevas moléculas, y la posterior división de estos orgánulos agrandados. Posteriormente, los orgánulos hijos son distribuidos entre las dos células hijas. Esta herencia es esencial ya que una célula no puede fabricar *de novo* estas membranas. Por ejemplo, si se elimina completamente el ER de la célula, ¿cómo puede reconstruirlo la célula? Las proteínas de membrana que definen el ER y realizan muchas de su funciones clave son productos del propio ER. No se puede fabricar un nuevo ER sin la existencia previa de un ER, o al menos de una membrana que contenga los translocadores necesarios para importar proteínas específicas hacia el ER (y que carezca de los translocadores de otros orgánulos, necesarios para importar proteínas).

Así, parece que la información necesaria para construir un orgánulo rodeado de membrana no reside sólo en el DNA que especifica las proteínas del orgánulo.

Aproximación por transfección para definir secuencias señal

Un sistema de mostrar que una secuencia señal es necesaria y suficiente para dirigir una proteína hacia un compartimiento intracelular determinado consiste en crear una proteína de fusión en la que la secuencia señal se halle unida, mediante técnicas de ingeniería genética, a una proteína que normalmente es residente en el citosol. Después de transfectar células con el cDNA que codifica esta proteína, se determina la localización de la proteína de fusión mediante inmunomarcaje o por fraccionamiento celular.

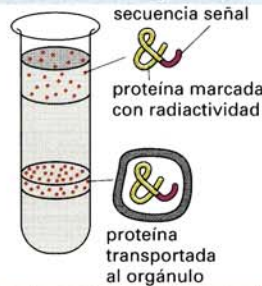


Alterando la secuencia señal utilizando mutagénesis dirigida puede determinarse qué características estructurales son importantes para su función.

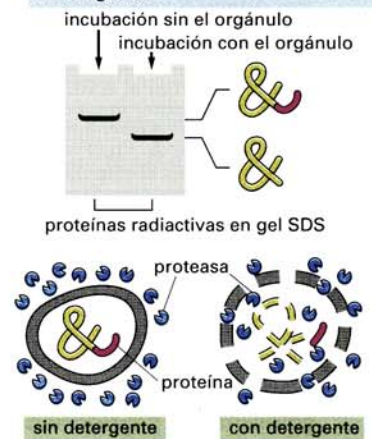
Aproximación bioquímica para estudiar el mecanismo de translocación de la proteína

En este caso, una proteína marcada que contiene una secuencia señal específica es transportada *in vitro* al interior de orgánulos aislados. Generalmente la proteína marcada es producida por traducción en un sistema libre de células de un mRNA que codifica la proteína; se utilizan aminoácidos radiactivos para marcar la proteína acabada de sintetizar de forma que pueda distinguirse de las muchas otras proteínas que se hallan presentes en el sistema de traducción *in vitro*. Habitualmente se utilizan tres métodos para determinar si la proteína marcada se ha translocado al orgánulo:

1. La proteína marcada cofracciona con el orgánulo en una centrifugación



2. La secuencia señal es eliminada mediante una proteasa específica que se halla presente en el interior del orgánulo

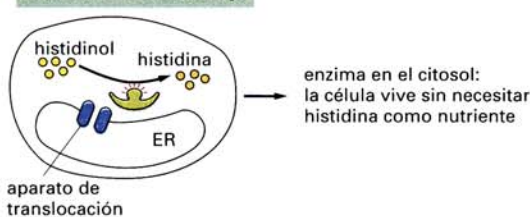


3. La proteína está protegida de la digestión cuando se añaden proteasas al medio de incubación, pero es susceptible a ella si primero se añaden detergentes que rompen la membrana del orgánulo

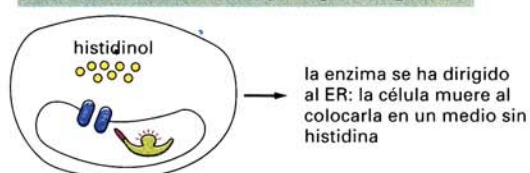
Utilizando estos ensayos *in vitro* puede determinarse qué componentes (proteínas, ATP, GTP, etc.) son necesarios para procesos de translocación.

Aproximación genética para el estudio del mecanismo de translocación de proteínas

célula de levadura salvaje



célula de levadura obtenida por ingeniería genética



célula sometida a ingeniería genética mutada



Para estudiar la translocación de proteínas habitualmente se utilizan células de levadura con mutaciones en genes que codifican componentes de la maquinaria de translocación. Debido a que las células mutantes que no pueden translocar proteínas a través de sus membranas morirán, el truco consiste en diseñar una estrategia que permita aislar las mutaciones que únicamente causan un defecto parcial en la translocación de proteínas.

Una vía consiste en utilizar la ingeniería genética para diseñar células especiales de levadura. Por ejemplo, la enzima histidinol deshidrogenasa reside normalmente en el citosol, donde es necesaria para producir el aminoácido esencial histidina a partir de su precursor histidinol. Se construye una cepa de levadura en la que el gen de la histidinol reductasa está substituido por un gen construido de forma que codifique una proteína de fusión con una secuencia señal extra que dirige la proteína al interior del retículo endoplasmático (ER). Cuando estas células se hacen crecer en ausencia de histidina, mueren debido a que toda la histidinol deshidrogenasa está secuestrada en el ER, donde no es funcional. Sin embargo, las células con mutaciones que inactivan parcialmente el mecanismo de translocación de proteínas desde el citosol al ER sobrevivirán debido a que habrá suficiente cantidad de deshidrogenasa retenida en el citosol para producir la histidina necesaria. A menudo se obtienen células en las que la proteína mutante todavía actúa parcialmente a temperatura normal pero que es completamente inactiva a temperaturas elevadas. Una célula que transporte una de estas mutaciones sensibles a la temperatura muere a temperaturas elevadas, tenga o no histidina, ya que no puede transportar ninguna proteína al ER. Ello permite identificar el gen normal que fue modificado por la mutación, mediante la transfección de la célula mutante con un vector plasmídico de levadura en el que se han clonado fragmentos al azar de DNA genómico: el fragmento específico de DNA que recupera la célula mutante cuando se hace crecer a una temperatura elevada será el que codifica la versión salvaje del gen mutante.

También se requiere la información *epigenética* en forma de al menos una proteína característica en la membrana del orgánulo, y esta información es transmitida desde la célula padre a las de la progenie en forma del propio orgánulo. Probablemente esta información es esencial para la propagación de la organización celular en compartimientos, al igual que la información en DNA es esencial para la propagación de las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos.

Resumen

Las células eucariotas contienen membranas intracelulares que encierran casi la mitad de su volumen total en compartimientos intracelulares individualizados llamados orgánulos. En todas las células eucariotas los principales tipos de orgánulos rodeados de membrana son el retículo endoplasmático, el complejo de Golgi, el núcleo, las mitocondrias, los lisosomas, los endosomas y los peroxisomas; las células vegetales contienen, además, plastos, como por ejemplo los cloroplastos. Cada orgánulo contiene proteínas características que desarrollan sus funciones características.

Cuando la proteína de un orgánulo acaba de ser sintetizada, encuentra el camino específico que ha de seguir desde el ribosoma donde ha sido sintetizada hasta el orgánulo donde actuará, guiada por una señal específica que se halla presente en su secuencia de aminoácidos y que actúa como un péptido señal o como una región señal. Los péptidos y las regiones señal son reconocidos por proteínas receptoras complementarias presentes en los orgánulos de destino. Las proteínas que actúan en el citosol no presentan péptidos o regiones señal y por lo tanto permanecen en el citosol después de ser sintetizados.

El transporte de moléculas hacia dentro y hacia fuera del núcleo⁶

La **envoltura nuclear** encierra el DNA y define el compartimiento nuclear. Está formada por dos membranas concéntricas que, tal como hemos visto, son continuas con el retículo endoplasmático. A pesar de que la membrana nuclear interna y la externa son continuas, las dos membranas presentan distinta composición proteica. La **membrana nuclear interna** contiene proteínas específicas que actúan como lugares de unión de la **lámina nuclear** que la soporta. Esta membrana está rodeada por la **membrana nuclear externa**, la cual se parece enormemente a la membrana del retículo endoplasmático, que forma un continuo con ella (Figura 12-9). Como la membrana del ER rugoso, esta membrana externa está generalmente tapizada por ribosomas que se hallan trabajando en la síntesis de proteínas. Las proteínas fabricadas en estos ribosomas son transportadas al espacio entre las membranas interna y externa (el *espacio perinuclear*), el cual a su vez es continuo con la luz del ER (véase Figura 12-9).

Existe un tráfico bidireccional continuo entre el citosol y el núcleo. La gran cantidad de proteínas que actúan en el núcleo –incluyendo las histonas, las DNA y RNA polimerasas, las proteínas reguladoras de genes y las proteínas de procesamiento del RNA– son importadas de forma selectiva desde el citosol hacia el *compartimiento nuclear*, donde son fabricadas. Al mismo tiempo, los tRNA y mRNA son sintetizados en el compartimiento nuclear y luego son exportados al citosol. Al igual que el proceso de importación, el proceso de exportación es selectivo; por ejemplo, los mRNA sólo son exportados si han sido modificados correctamente en el núcleo por reacciones de procesamiento de RNA. En algunos casos el proceso de transporte es complejo: por ejemplo, las proteínas ribosómicas son fabricadas en el citosol, importadas al núcleo –donde se ensamblan con RNA ribosómicos recién fabricados, formando partículas– y luego son exportadas de nuevo al citosol como parte de la subunidad ribosómica, cada uno de estos pasos implica transporte selectivo a través de la envoltura nuclear.

