

# Retículo

Organelo que transloca proteínas

Prof. Iván Rebolledo



## Introducción

Todas las células eucarióticas poseen retículo endoplásmico (RE), no así las procarióticas. Más de la mitad de las membranas de una célula corresponde al RE. Se organiza como un laberinto de túbulos y sacos aplanados que se interconectan y se extienden en el citosol. El espacio interno se llama lumen del RE, las membranas del RE separan el lumen del RE del citosol; así, la membrana participa en los procesos de transferencia entre estos dos compartimentos.

El RE es importante en los procesos de biosíntesis de lípidos y proteínas destinadas a los organelos celulares membranosos (RE, Golgi, etc) y para los productos que serán secretados al exterior de la célula.

En procariontes, la síntesis de fosfolípidos está asociada a la membrana plasmática, en cambio, en eucariontes, está asociada con la membrana de una variedad de RE : el liso (REL) (ver Figura 1). Por otro lado, las proteínas en los eucariontes son sintetizadas en el citosol y requerirán de la membrana de otra variedad de RE : el rugoso (RER) (ver Figura 2) para que puedan ser exportadas o quedar como residentes en cada organelo.

El término rugoso deriva de la presencia de ribosomas en el lado citosólico de la membrana del RER.

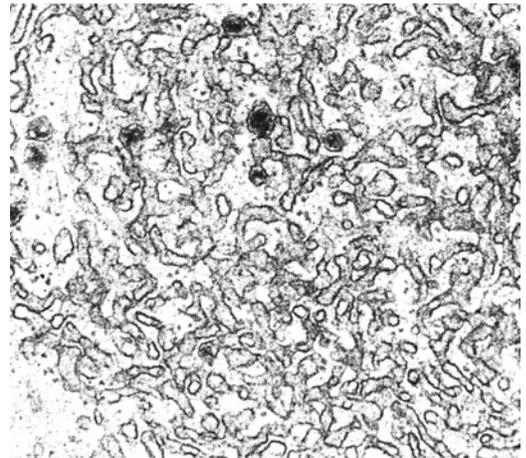


Figura 1. Micrografía electrónica que muestra un sector del citoplasma de una célula eucariótica en la que abunda el retículo endoplásmico liso

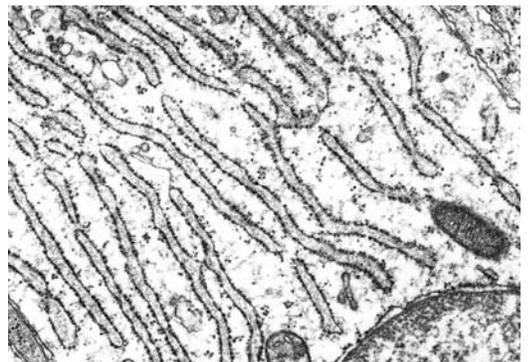


Figura 2. Micrografía electrónica que muestra un sector del citoplasma de una célula eucariótica en la que abunda el retículo endoplásmico rugoso.

Para estudiar las funciones del RE es necesario aislarlo desde una célula. Primero se homogeniza el tejido que contiene el RE y luego se centrifuga. En un primer momento, se obtiene una serie de vesículas llamadas **microsomas**, algunas con ribosomas (microsomas rugosos) y otros sin ellos (microsomas lisos) (ver Figuras 3 y 4). Luego, utilizando una gradiente creciente de sucrosa, se hace otra centrifugación quedando los microsomas con ribosomas en el fondo y los lisos cerca de la superficie. De esta forma se logra separar un microsoma de otro, observándose después al ME o aplicando diversas técnicas químicas para conocer su contenido molecular.

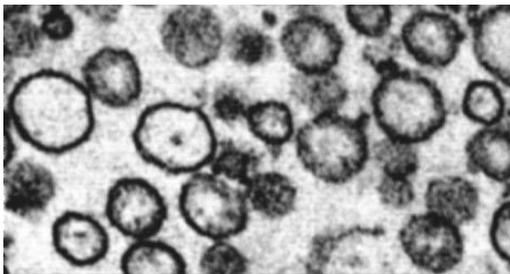


Figura 3. Micrografía electrónica que muestra microsomas lisos.

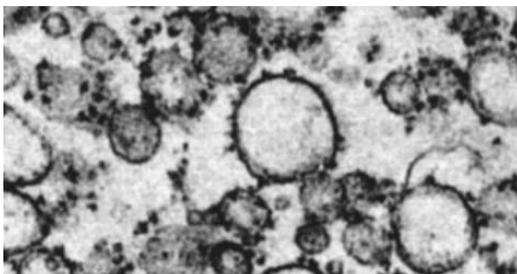
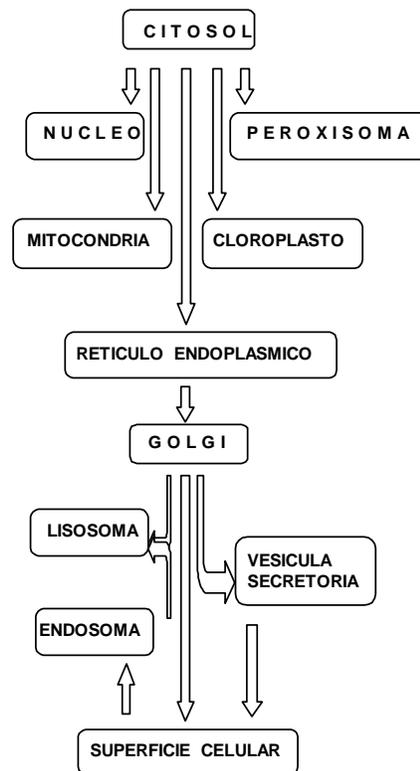


Figura 4. Micrografía electrónica que muestra microsomas rugosos.

Existen dos vías de movimiento de proteínas en la célula : transporte endocítico y el transporte biosintético. Ambos sistemas incluyen el transporte de proteínas entre compartimentos membranosos en forma de vesículas. El transporte endocítico de proteínas comienza en la membrana plasmática y generalmente termina en los lisosomas; no está directamente relacionado con el crecimiento de la membrana. El transporte biosintético de proteínas viene a ser la función principal del RER y del Golgi y está íntimamente relacionado con el crecimiento y renovación, tanto de la membrana plasmática como de los compartimentos membranosos de la célula.



## Retículo liso

Está conformado por elementos tubulares membranosos que se interconectan formando una trama irregular (ver Figura 1). La membrana del REL posee proteínas específicas que le permiten realizar las siguientes funciones:

1. Síntesis de lípidos para todas las membranas de la célula. Todos los fosfolípidos y otros lípidos de membrana, tales como la esfingomielina y glucolípidos, son moléculas anfipáticas sintetizadas en el REL. El proceso se inicia con la activación de una molécula de ácido graso que se une con acetil coenzima A (CoA). Al activarse se incorpora en la membrana.

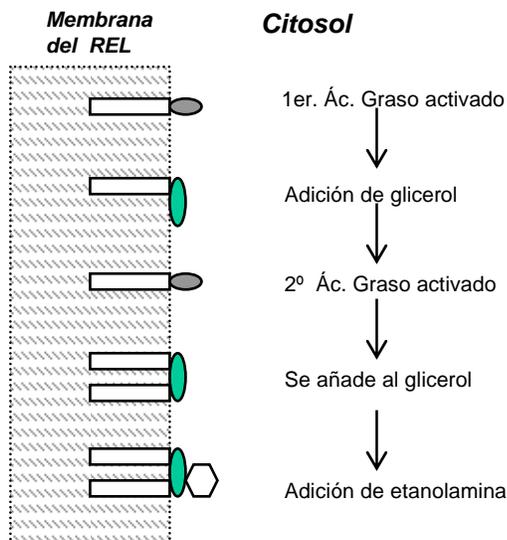


Figura 5. Esquema que muestra en forma muy resumida, la secuencia en la síntesis de lípidos de membrana en REL.

Una vez en la membrana se añade una molécula de glicerol-3-fosfato. Luego, se activa otra molécula de ácido graso que viene a unirse a un carbono del glicerol, quedando así dos moléculas de ácido graso unido a una molécula de glicerol. Por último, se añade la molécula de etanolamina para quedar conformado una molécula de fosfolípido, en este caso, fosfatidiletanolamina (ver Figura 5).

Gran parte de las enzimas que catalizan estas reacciones se encuentran incorporadas en la membrana del REL : un segmento de ellas se encuentra sumergida en la membrana y el otro (el sitio activo) protruye hacia el citosol.

2. Síntesis de hormonas esteroideas en células endocrinas de las gónadas y la corteza suprarrenal. Las células de Leydig ubicadas en los espacios que dejan los tubos seminíferos en los testículos, son las encargadas de sintetizar la testosterona : la hormona masculina. Las células foliculares que rodean los ovocitos en el ovario, son las encargadas de sintetizar el estradiol y la progesterona : hormonas femeninas. En las células de la zona fasciculada de la corteza suprarrenal el REL ocupa cerca del 45 % del volumen de la célula y se encarga de producir el cortisol : hormona del metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos.

3. Destoxicación de varios compuestos orgánicos. La membrana del REL en los hepatocitos contienen varias enzimas, entre las cuales destaca el llamado citocromo P<sub>450</sub>, que es una oxigenasa, es decir, que transfiere oxígeno. Entre los compuestos que pueden aceptar este oxígeno y descomponerse, se encuentran los barbitúricos y el etanol. Este proceso de destoxicación de barbitúricos y etanol por parte de los hepatocitos es adaptativo, es decir, a más drogas más cantidad de REL y/o enzimas. El límite lo establece la aparición de la cirrosis hepática.

4. La membrana del REL de los hepatocitos posee una enzima llamada glucosa-6-fosfatasa. Cuando el organismo requiere de energía, el glucógeno se desdobla por acción de la fosforilasa y forma glucosa-1-fosfato, que a continuación se convierte en glucosa-6-fosfato. La glucosa-6-fosfatasa de las membranas del REL elimina el grupo fosfato y genera glucosa que puede salir de la célula hacia el torrente sanguíneo.

5. La membrana del REL de las células musculares estriadas es la encargada de regular la entrada y salida de iones Ca<sup>+2</sup> hacia los microfilamentos de actina y miosina, de esta manera, es determinante en la contracción de células musculares esqueléticas.

## Retículo rugoso

Antes de explicar los detalles estructurales y funcionales del RER es necesario saber que las proteínas pueden dividirse en dos clases según el sitio en la célula donde se ensamblen :

(1) proteínas ensambladas en los ribosomas unidos a la superficie citosólica del RER. Incluyen :

- a. Proteínas secretadas por la célula
- b. Proteínas integrales de membrana
- c. Proteínas lisosomales

(2) proteínas ensambladas en ribosomas no asociados a membrana (ribosomas libres). Incluyen :

- a. Proteínas del citoesqueleto: actina, miosina, tubulina, etc.
- b. Proteínas de superficie citosólica de membrana plasmática: espectrina, anquirina, etc
- c. Proteínas citosólicas enzimáticas

## Papel del RER en la síntesis de proteínas

La síntesis de una proteína se inicia en el citosol, con la participación del ribosoma, ARNm, ARNt, factores de traducción y moléculas energéticas. El hecho que la proteína permanezca en el citosol o se asocie con membrana dependerá de la información contenida en su porción N terminal.

Las proteínas destinadas a los diferentes compartimentos son sintetizadas en el citosol por intervención de los ribosomas que “leen” el mensaje genético incorporado en el ARNm, por tanto, la información o “señal” que especifique el destino de cada proteína naciente debe residir en una secuencia particular.

Se denomina péptido señal o **secuencia señal**, al grupo continuo de unos 6–20 aminoácidos hidrófobos que contiene una información o “señal” de su localización definitiva. Las proteínas que contienen el péptido señal pueden ser llevadas desde el citosol hasta el sistema endo membranoso (REL, RER, Golgi) y mitocondrias dependiendo del tipo del péptido señal que contenga. Las proteínas que carecen del péptido señal quedarán en el citosol.

### TEORIA DE LA SEÑAL

Los ribosomas libres y los unidos a membrana se intercambian continuamente, de aquí que deba haber un mecanismo que obligue a unos ribosomas a unirse a membranas para completar la síntesis de proteínas exportables y proteínas de membrana. Este mecanismo se denomina la teoría de la señal, la cual explica la presencia en el ARNm de una serie de codones señal localizados inmediatamente después del codón de iniciación AUG.

Este codón–señal producirá una cadena polipeptídica especial en el extremo N–terminal que actúa como señal para la adherencia del ribosoma a la membrana del RE. Además, se considera que éste péptido señal es capaz de reconocer y unirse a un receptor específico en la membrana.

### Partícula de Reconocimiento Señal

Esta secuencia señal dispone en el citosol de una molécula capaz de reconocerla específicamente : es la partícula de reconocimiento señal (PRS). Esta PRS es una molécula compleja alargada compuesta de una cadena de ARNc con 300 nucleótidos y 6 proteínas. Dos de estas proteínas ( $P_9$  y  $P_{14}$ ) detienen el alargamiento de la cadena polipeptídica hasta que llegue a contactar con la membrana del RER; otra de ellas ( $P_{54}$ ) se une a la secuencia señal; dos ( $P_{68}$  y  $P_{72}$ ) son necesarias para la translocación de la cadena polipeptídica a través de la membrana; la última ( $P_{19}$ ) sirve de enlace entre  $P_{54}$  y un extremo de la cadena de ARNc. (ver Figura 5).

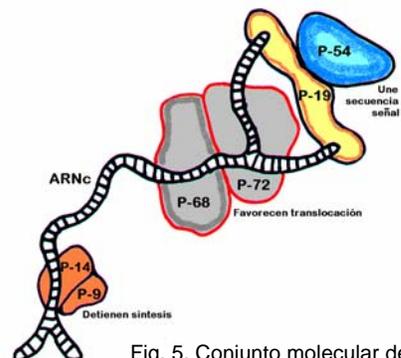


Fig. 5. Conjunto molecular del PRS

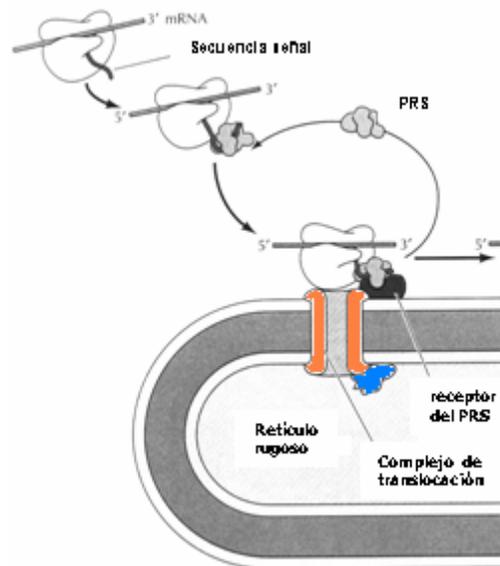
## Receptor de la PRS

En cuanto la PRS se une a la secuencia señal conforman un complejo que puede ser reconocido por una molécula ubicada en la membrana del RER : es el receptor de la PRS. Este receptor contiene 2 sub unidades : una grande llamada alfa (638 aminoácidos) y una pequeña llamada beta (300 aminoácidos). Ambas subunidades del receptor de PRS y la subunidad P<sub>54</sub> de la PRS contienen sitios de unión para GTP.

Experimentos con sitios mutados de unión para GTP en la subunidad alfa del receptor de PRS han demostrado que es capaz de bloquear el transporte de la proteína naciente antes de la inserción de la secuencia señal en el sitio de translocación y, además, impide la unión de la PRS con su receptor.

Este resultado sugiere que los ciclos de GTPasa en la subunidad alfa del receptor de PRS permite la formación de un complejo de alta afinidad entre la PRS y su receptor específico. Por otro lado, los ciclos de la GTPasa en la subunidad P<sub>54</sub> de la PRS permite la inserción de la secuencia señal en el canal de translocación. Se desconoce aún la acción de los ciclos de GTPasa en la subunidad beta del receptor de la PRS.

El contacto entre la PRS y su receptor específico resulta en una disociación de la PRS de la secuencia señal seguido por la inserción de la secuencia señal en el sitio de translocación. Con esto, la PRS liberada en el citosol, inicia otro ciclo de reconocimiento de una nueva secuencia señal, a la vez que el receptor de PRS, inicia otro ciclo de reconocimiento de otra PRS.

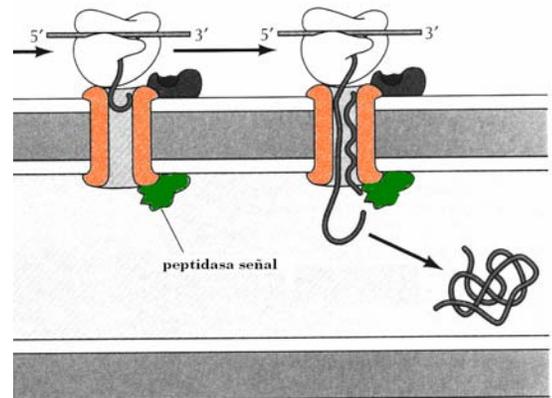


Además de la unión del complejo péptido-ribosoma con su receptor de PRS, se postula la existencia en la membrana del RER de un complejo de proteínas transmembrana capaces de : (a) unir la sub-unidad mayor del ribosoma y (b) permitir la translocación de la cadena polipeptídica a través de la bicapa fosfolipídica.

También se postula que la misma cadena polipeptídica colabora indirectamente con la unión del ribosoma con la membrana; además, la presencia del ión  $Mg^{+2}$  parece ser indispensable para mantener esta unión.

### Peptidasa señal

Normalmente, en los humanos, la secuencia señal NO se encuentra en las cadenas polipeptídicas de las proteínas definitivas, lo que implica que en algún momento del proceso translocacional debe desprenderse de la cadena polipeptídica. Para detectar la secuencia señal, el ARNm debe traducirse en un sistema experimental carente de membranas de RER, consistente en ribosomas, ARNt, ARNm, GTP y enzimas citosólicas. La cadena polipeptídica sintetizada en estas condiciones posee la secuencia señal; sin embargo, al agregar al sistema los microsomas (vesículas sin ribosomas provenientes del RE), la secuencia señal desaparece. Un análisis más detallado de las membranas de los microsomas ha evidenciado la existencia de una proteína denominada **peptidasa señal**, orientada hacia el lumen del RER y encargada de separar la secuencia señal de la cadena polipeptídica naciente en cuanto ésta asoma los primeros aminoácidos en el lumen del RER.



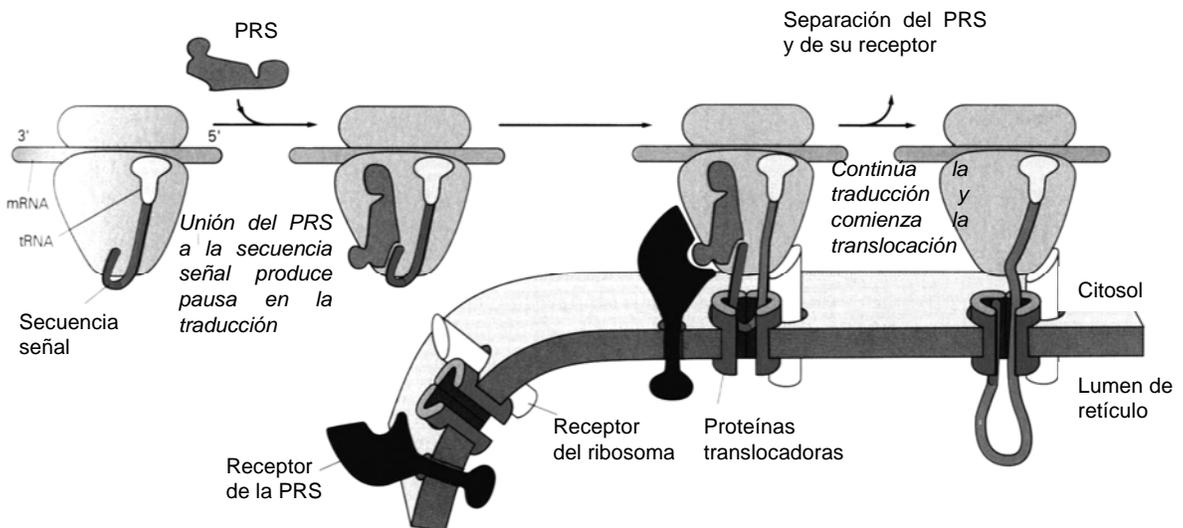
### Canal de translocación

Se han identificado en mamíferos varias proteínas glucosiladas y no glucosiladas que se postulan como integrantes del canal de translocación de proteínas a través de la membrana del RER, llamado en conjunto el **translocón**. De las proteínas no glucosiladas, la más importante es la hasta ahora llamada **Sec61** (nombre proveniente de estudios mutacionales en levadura). Considerando que la purificación del Sec61 de mamíferos se logró basado en su unión con ribosomas que estaban unidos a la membrana del RER, surgió la hipótesis que el Sec61 pudiera tener doble una función en el proceso de translocación : (a) actuar como núcleo central en el canal de translocación y (b) servir como receptor del ribosoma (aunque no se descarta la posibilidad de que otras proteínas también pudieran actuar).

### Translocación vectorial de proteínas

Entre las proteínas glucosiladas, se menciona a TRAMP (proteína traslocante de membrana asociada a la cadena), la cual se sugiere que contacta la región N-terminal de la cadena polipeptídica naciente en un estado temprano del proceso de transporte. Otras proteínas que actúan en este proceso son: el receptor de la PRS, la peptidasa señal y el complejo oligosacariltransferasa.

La translocación de los polipéptidos a través de la membrana del RER se lleva a cabo en una sola dirección, se dice que es un proceso vectorial. Este proceso ocurre a través del canal de translocación en el cual participan los componentes del translocón. Uno de ellos es la oligosacariltransferasa, cuya función es traspasar en bloque la cadena oligosacárida, de alto contenido en manosa, desde el dolicolfofato a una asparagina de la cadena polipeptídica dentro de la secuencia Asn-X-Ser-/Thr (donde X es cualquier aminoácido que no sea prolina).



Este evento de glucosilación obliga a la cadena polipeptídica a penetrar en el lumen del RE, con lo cual avanza en el canal de translocación. Es evidente que este proceso de glucosilación de la cadena polipeptídica ocurre al mismo tiempo que está ocurriendo la síntesis de la misma, por esta razón, se dice que la glucosilación es un proceso **cotraduccional**.

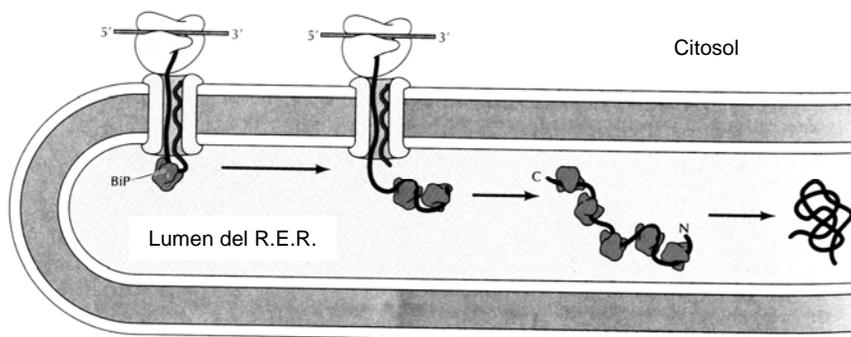
Además de esta glucosilación, las cadenas polipeptídicas inician una serie de plegamientos derivados de las interacciones de los radicales de los aminoácidos, todo lo cual impide que la cadena pueda retroceder, aún más, obliga a la cadena a seguir avanzando en una dirección determinada. De nuevo, este proceso de plegamiento de la cadena polipeptídica es cotraduccional.

En el lumen del RER existen varias proteínas libres (no unidas a membrana), una de las cuales es el **BiP** (proteína de unión a la cadena).

Posee dos dominios importantes: el de unión con el péptido y el de unión con una molécula de ATP. En cuanto el BiP se une al péptido naciente en el lado luminal de la membrana, el dominio del ATP capta una molécula de ATP la cual se hidroliza, obligando al BiP a disociarse del péptido.

Así, la salida del péptido del canal de translocación puede ser facilitada por ciclos de unión con el BiP y por disociación dependiente de hidrólisis de ATP. Entonces tenemos que la entrada del péptido al canal es un proceso dependiente de GTP y la salida del mismo es dependiente de ATP.

Por último, parece ser que el llamado codon de pare, que se ubica al final de la cadena polipeptídica, tiene como función cerrar el canal de translocación, asegurando una terminación sincronizada de la traducción y de la translocación. Posterior al cierre del canal de translocación ocurre la disociación del ribosoma del translocón.



## Proteínas residentes del RER

Ya se han mencionado varias proteínas que se encuentran y cumplen funciones específicas en la membrana del RE: son las llamadas **proteínas residentes** del RER (ejemplos: receptor de PRS, Sec61, peptidasa señal, PDI, etc.) Todas estas proteínas poseen una secuencia de aminoácidos muy específica en el C-terminal. Dicha secuencia es **KDEL** (Lys-Asn-Glu-Leu). Esta secuencia posee un receptor específico, no solo en la membrana del RER sino también en las vesículas que se originan desde el RER con destino al aparato de Golgi. La función del receptor en el RER es retener estas proteínas en la membrana del RER y la función del receptor en las vesículas es recuperar las proteínas residentes que pudieran haberse escapado por error desde el RER.

Si ocurriese una mutación en la secuencia antes mencionada, dichas proteínas no serían reconocidas por el receptor y continuarían su vía hacia el Golgi y de allí hacia el exterior de la célula. Por el contrario, si una proteína que va a ser secretada, sufriera una mutación en su C-terminal adquiriendo la secuencia propia de las proteínas residentes, dicha proteína quedaría dentro del RER y se produciría una carencia extracelular de la misma.

## Modificaciones postraduccionales

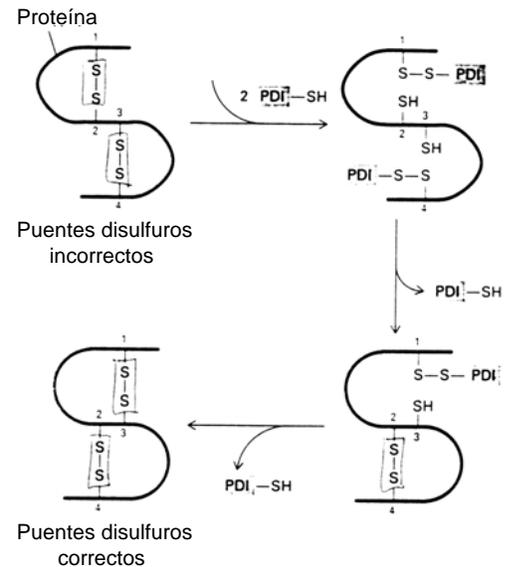
Una vez que se ha completado la síntesis, el polipéptido recién introducido en la membrana y en el lumen del RER, debe madurar, ser distribuido y ser transportado a su destino final. Muchas proteínas secretoras y de membrana sufren algunas de estas 4 principales modificaciones posteriores a su síntesis (**postraduccionales**): (1) formación de puentes disulfuros definitivos, (2) plegamiento apropiado, (3) modificación de la cadena de carbohidratos y (4) desprendimiento de sectores de la cadena. Las dos primeras ocurren en el lumen del RER, la tercera en las cisternas del Golgi y la cuarta ocurre en el estado final de maduración, en vesículas secretoras originadas en el retículo trans Golgi.

## Puentes disulfuros

Los puentes disulfuros entre las cisteínas es una de las fuerzas estabilizadoras más importantes en la estructura terciaria de las proteínas, por ende, para lograr la estructura y función normal de la proteína. Estos puentes disulfuros son comunes en las proteínas secretoras y ciertas proteínas de membrana los poseen, están ausentes de las proteínas citosólicas debido al gran poder reductor del azufre.

---

La formación de los puentes disulfuros ocurre en el lumen del RER. Muchos de ellos en la medida en que van apareciendo desde el canal de translocación. Sin embargo, en el ambiente oxidante del lumen del RER, los puentes disulfuros producidos cotraduccionalmente no son los definitivos en la proteína. Existe en el lumen del RER una enzima llamada **PDI** (isomerasa protein disulfuro) que cataliza el rompimiento y reformación de puentes disulfuros



El PDI contiene una cisteína con un grupo —SH activo, el cual reacciona con un puente disulfuro de la proteína recién sintetizada, formándose un puente disulfuro entre el PDI y la proteína. Este puente disulfuro reacciona con un —SH libre de la proteína para formar un nuevo puente. De esta manera, los puentes disulfuros se rearreglan hasta lograr la configuración termodinámica más estable.

Muchas proteínas secretoras y de membrana son **oligoméricas**, es decir, están constituidas por 2 o más cadenas polipeptídicas. Un ejemplo de esto es la molécula de la inmunoglobulina (Ig) que está conformada por 2 cadenas pesadas (H) y dos cadenas livianas (L) unidas por 3 puentes disulfuros.

Además de la participación de la PDI, está la acción de los BiP, que uniéndose a la cadena pesada permite el pliegue correcto de la misma para que pueda unirse a la cadena liviana. Así, las BiP retienen en el lumen del RER las proteínas incorrectamente plegadas.

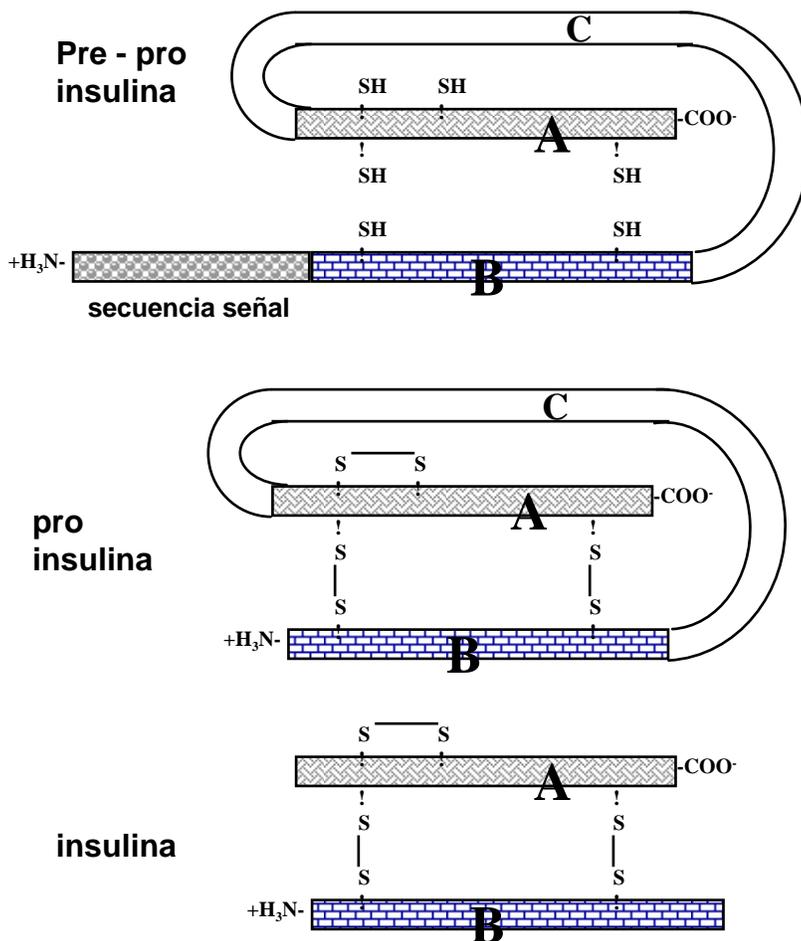
Otra de las modificaciones que ocurre a las glicoproteínas es el inicio, en el lumen del RER, de modificaciones en la cadena oligosacáridica. De hecho, en cuanto la oligosacaryltransferasa ha transferido en bloque la cadena oligosacáridica desde el dolicolfosfato hasta la cadena polipeptídica, tres glucosas y una molécula de manosa son removidas por 3 diferentes enzimas.

Se sugiere que la presencia de las 3 glucosas en la cadena oligosacáridica es la señal que dicha cadena puede ser transferida al polipéptido y que la ausencia de ellas es la señal para que la proteína pueda seguir su camino hacia el Golgi.

los islotes pancreáticos es una molécula formada por dos cadenas polipeptídicas : la cadena A con 21 aminoácidos y la cadena B con 30 aminoácidos. Ambas cadenas están unidas por dos puentes disulfuros y existe un tercer puente disulfuro en la cadena A. Con estos antecedentes podría considerarse que la insulina se produjo por síntesis de 2 cadenas independientes que se unieron en el lumen del RER; sin embargo, el proceso es muy distinto.

### Caso de la Insulina

Esta hormona hipoglucemiante sintetizada por las células beta de



---

La molécula original es una sola cadena de 108 aminoácidos en la cual se consideran 4 sectores secuenciales : secuencia señal (24 aminoácidos), sector B (30 aminoácidos), sector C (33 aminoácidos) y sector A (21 aminoácidos). Esta única cadena se denomina **proinsulina**.

Como se comprenderá, en cuanto esta cadena inicia su translocación a través del canal de translocación en la membrana del RER, se escinde la secuencia señal por acción de la peptidasa señal. La cadena que sufre ahora los plegamientos derivados de la presencia de las cisteínas pasa a llamarse **proinsulina**.

En la forma de proinsulina atraviesa las cisternas del Golgi hasta llegar al retículo trans del Golgi en donde se generan las vesículas para la secreción regulada (vesículas con una sustancia que será secretada solo ante un estímulo específico). A diferencia de las vesículas de secreción continua, las de secreción regulada poseen en su membrana una proteína tipo receptora que une solamente las proteínas destinadas a la secreción regulada, en este caso, la proinsulina.

Entonces, a medida que se alejan estas vesículas del retículo trans del Golgi, ocurren simultáneamente dos fenómenos importantes: (a) el desprendimiento del sector C de la cadena y (b) disminución del pH de las vesículas (pH=7 en retículo trans del Golgi, pH=5.5 en vesículas de secreción regulada). Al ocurrir el desprendimiento del sector C de la cadena, quedan los sectores A y B que conformarán las dos cadenas peptídicas típicas de la **insulina** madura y activa.

### Glucosilación

Ya se mencionó que la glucosilación es un proceso cotraduccional que ocurre al nivel de la membrana del RER. Consiste en la incorporación a la cadena polipeptídica de una serie organizada de carbohidratos (cadena oligosacáridica) conformando las glucoproteínas.

En eucariontes, la cadena oligosacáridica puede encontrarse unida a un O de la serina o treonina (**cadena oligosacáridica unida al O**) o al N de la asparagina (**cadena oligosacáridica unida al N**). Las cadenas unidas al O son cortas, ejemplo las glucoproteínas de los grupos sanguíneos. Las unidas al N son largas y ramificadas, propias de glucoproteínas de membrana plasmática, las que van hacia el Golgi o lisosomas.

---



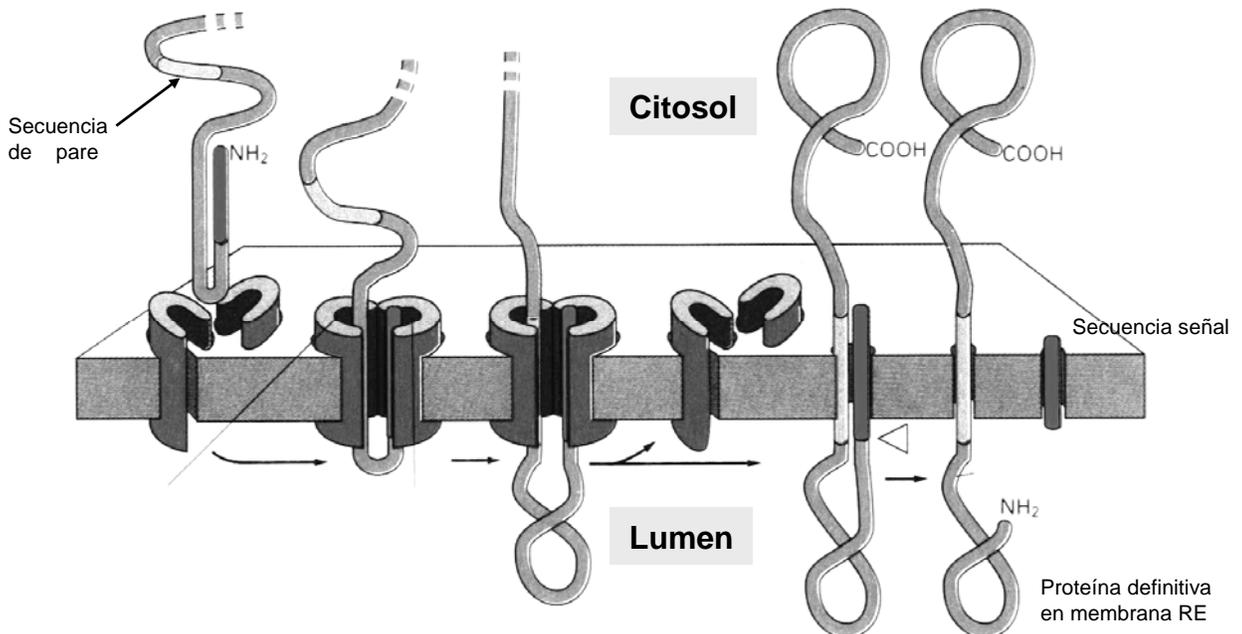
## Translocación de proteínas transmembrana

Las proteínas transmembrana muestran características de poseer, como mínimo, una región de la cadena que permanece anclada a la membrana, otra que se extiende hacia el citosol y otra hacia el lumen del retículo.

En el caso más simple, el péptido señal inicia la translocación, pero más adelante en la cadena existe una secuencia hidrofóbica llamada **secuencia de pare** de la transferencia, la cual al permanecer en el espesor de la membrana en forma de segmento  $\alpha$ -hélice, hace que la proteína quede fija en la membrana.

Luego, la secuencia señal se elimina por acción de la peptidasa señal y la proteína queda con su extremo amino hacia el lumen y el extremo carboxilo hacia el citosol.

Las cargas de los aminoácidos ubicados en los límites de la secuencia de pare determinarán si la proteína ubica su extremo amino hacia el citosol o hacia el lumen. Cuando hay más aminoácidos cargados positivamente antes de la secuencia de pare, el extremo amino se ubicará hacia el citosol; en cambio, cuando hay más aminoácidos cargados positivamente después de la secuencia de pare, el extremo amino se ubicará hacia el lumen del RER.



# Autoevaluación



1. ¿Cuál de las siguientes proteínas carece de secuencia señal?  
Márquelas con una **X**. Marque solo cuatro.
    - a) fosfatasa ácida
    - b) hemoglobina
    - c) proteína ribosomal
    - d) segmento beta ATPasa
    - e) clatrina
    - f) glucoforina
    - g) proteína banda 3
    - h) adaptina
  2. Mencione 3 procesos cotraduccionales que le puede ocurrir a una proteínas en el RE.
  3. Una mutación en la secuencia KDEL, ¿podría afectar la producción de enzimas?  
Justifique su respuesta.
  4. ¿Cuál es la función precisa de: dolicol fosfato, PRS, peptidasa señal, PDI, oligosacaryltransferasa, BiP?
-