

148



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**COMUNICACIÓN BIOQUÍMICA ENTRE ORGANELOS EN
CÉLULAS VEGETALES**

**TRABAJO ESCRITO VÍA CURSOS DE EDUCACIÓN CONTINUA
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**



**EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA**

289019

**PRESENTA
GUADALUPE ROSALINDA TOVAR GALLEGOS**

MÉXICO, D.F.

FEBRERO DEL 2001



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente:

Dra. Mireya Rodríguez Penagos

Vocal:

M.C. Teresa de Jesús Olivera Flores.....

Secretario:

Q.F.B. Rosalinda Velázquez Salgado.....

1er Suplente:

Ing. Vladimir Estivil Riera.....

2do Suplente:

M.C. Zoila Nieto Villalobos.....

Este tema se desarrolló en la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México. Durante el programa de Educación Continua en el Diplomado Cultivo de Tejidos Vegetales



M.C. Teresa de Jesús Olivera Flores.
Asesor



Gpe Rosalinda Tovar Gallegos
Sustentante

DEDICATORIAS

En memoria de mi madre María Piedad Gallegos, quién con su fortaleza fue ejemplo de cómo vivir la vida con alegría.

A mi hija Rosa Angélica, por su presencia en mi vida, por la bendición de ser su madre.

AGRADECIMIENTOS

A mis hermanas, Guillermina y Socorro, por su apoyo, comprensión y cariño.

A mis amigas, todas ellas queridas hermanas que de una u otra manera han compartido conmigo grandes momentos en la vida, momentos de felicidad y momentos no tan felices pero llenos de riqueza espiritual, gracias por estar conmigo.

Andrea, Gloria, Lourdes, Samia, Evelia, Luz María, Pilar donde quiera que te encuentres.....

De manera especial deseo expresar mi agradecimiento a la M.C. Teresa de Jesús Olivera Flores por la revisión de este trabajo, por su apoyo y por su amistad.

A la Dra. Rodríguez Penagos y a la Q.F.B. Rosalinda Velazquez Salgado por la revisión de este trabajo.

INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
CAPITULO 1.- ANTECEDENTES	
1. La Célula vegetal y sus organelos	3
2. Organelos.....	3
2.1 Organelos con origen en Retículo Endoplásmico.....	4
a) Retículo Endoplásmico liso.....	4
b) Retículo Endoplásmico rugoso.....	4
c) Aparato de Golgi.....	7
d) Vacuolas.....	7
e) Membrana Citoplásmica.....	8
2.2. Organelos que no tienen origen en Retículo Endoplásmico.....	9
a) Núcleo.....	9
b) Mitocondria.....	10
d) Plastidios	10
e) Microcuerpos.....	11
f) Peroxisomas.....	11
CAPÍTULO 2.- MECANISMOS DE COMUNICACIÓN ENTRE ORGANELOS	
3.1 Mecanismo general de comunicación del RE con otros organelos..	12
3.2 Ruta de secreción.....	14
3.3 Transporte entre RE y AG.....	16
3.4 Vesículas cubiertas con Clatrina (CCV).....	17
3.5 Vesículas cubiertas sin Clatrina (COP)).....	18
3.6 Fusión de vesículas.....	18
3.7 Mecanismo específico de comunicación de Cloroplastos y Mitocondrias.....	19
3.8 Mecanismo específico de comunicación de peroxisomas.....	20
CAPITULO 3.- DISCUSIÓN	22
CAPITULO 4.- CONCLUSIONES	24
CAPITULO 5.-BIBLIOGRAFÍA	25.

Lista de abreviaturas.

ATP	Trifosfato de Adenosina.
AG	Aparato de Golgi.
AP	Proteína adaptadora.
Bip	Proteína de unión.
BP80	Receptor para la secuencia señal de proteínas vacuolares.
COP	Proteínas de cubierta.
CCV	Vesículas cubiertas con Clatrina.
ERD2	Receptor de la secuencia señal HDEL, KDEL.
HDEL KDEL RDEL KEEL	Secuencias señal de proteínas residentes en RE que corresponden a las secuencias X-Asp-Glu-Leu- según el código de una sola letra descrita para aminoácidos
NPIRL	Secuencia señal de proteínas vacuolares
PVC	Compartimento prevacuolar
PTS1	Secuencia señal de proteínas de peroxisomas 1
PTS2	Secuencia señal de proteínas de peroxisomas
Pex13p	Receptor de proteínas del peroxisomas
Pex14p	Receptor de proteínas del peroxisoma
Rab	Familia de proteínas que hidrolizan GTP
RE	Retículo Endoplásmico
SNARE t	Receptor SNAP

SNAP	Proteína soluble unida al factor sensible a NEM
NEM	N-etil maleimida.
TGN	Red del Trans Golgi
TIP	Proteínas Intrínsecas del Tonoplasto

RESUMEN

El funcionamiento integral de una célula depende de la organización interna de sus componentes, en este sentido los organelos que componen a todas las células manifiestan una sincronía en sus funciones, que es producto de una comunicación intracelular, esta llevada cabo por medio de una compleja red de señalizaciones que permite el transporte de moléculas de un organelo a otro, de la misma manera el proceso de secreción comprende el flujo de moléculas que son sintetizadas en el RE y posteriormente son transportadas por toda la ruta de secreción por medio de vesículas que se originan de una membrana donadora hasta llegar a la membrana receptora donde sufrirá transformaciones que le permitirán continuar su camino, este proceso también involucra una serie de señalizaciones que por medio de secuencias señal, completa el transporte de las moléculas y por lo tanto cumple con su papel de comunicar a través de la célula.

INTRODUCCIÓN.

El atributo más sobresaliente de todos los seres vivos es su complejidad, su alto grado de organización y su capacidad de reproducirse. Los organismos toman alimentos, los digieren, asimilan, y excretan los productos de deshecho; también toman oxígeno y liberan bióxido de carbono, son capaces de crecer, de reproducirse y moverse, responden a estímulos externos; consumen energía para efectuar sus funciones, heredan un programa genético que transmiten a su descendencia, y por último mueren. Estas son las funciones asociadas con la vida de un organismo y son las funciones que efectúan las células en forma individual (1). Los organismos superiores poseen estructuras internas cuya unidad básica es la célula, tanto en animales como en vegetales, éstas células se encuentran agrupadas formando tejidos, éstos a su vez forman órganos, sistemas y aparatos que realizan funciones fundamentales para la vida (1). Los tejidos están constituidos por grupos de células morfológica y funcionalmente iguales, las cuales tienen una especialización que depende de la actividad que desarrolle el órgano o tejido al que pertenece. Para saber cómo se lleva a cabo esta especialización celular es importante el conocimiento de las estructuras celulares internas y sus funciones. Actualmente se tiene un basto conocimiento sobre estas estructuras celulares conocidas como organelos y las funciones que desempeñan; sin embargo, la célula, como un todo que funciona en armonía, debe establecer mecanismos bioquímicos de comunicación entre ellos para que actúen coordinadamente.

Pero, ¿Cuáles son estos mecanismos?, ¿Todos los organelos se comunican a la vez?, ¿Hay algún organelo que tenga como función principal la comunicación?. Investigaciones recientes se han dado a la tarea de contestar a estas preguntas. Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo general realizar una revisión bibliográfica sobre:

- 1.- El mecanismo por el cual algunos de los organelos de las células vegetales establecen la comunicación entre ellos.
- 2.- Asimismo pretende identificar la ruta de comunicación que establece específicamente Reticulo Endoplásmico y Aparato de Golgi durante el desarrollo de sus funciones.
- 3.- Y, finalmente advertir algunas diferencias en dicho mecanismo de comunicación entre células animales y vegetales.

CAPÍTULO 1

ANTECEDENTES

1. La célula vegetal y sus organelos

El reconocimiento de la célula como unidad biológica estructural procede del siglo XVII, donde el trabajo de Neheman Grew (1640-1712), quien fuera contemporáneo de Leuwenhoek, al publicar una serie de diagramas usó por primera vez el término de célula (2).

La unidad estructural y funcional de todo ser vivo es la célula y tiene la capacidad de reproducirse en forma independiente; se encuentra constituida por citoplasma y rodeada por una membrana, asimismo tiene diferentes organelos que se encuentran aislados del citosol por una membrana lipídica. Los organelos constituyentes de la célula vegetal son: Núcleo, Reticulo Endoplásmico (RE), Aparato de golgi (AG), mitocondrias, vacuolas contractiles, plastidos en general y uniones celulares llamadas plasmodema (3).

A diferencia de las células animales, las cuales tienen diferentes tipos de uniones intercelulares, las células vegetales solo poseen una unión intercelular que es el plasmodema. El plasmodema, conecta directamente el citoplasma de células vegetales adyacentes, formando finos canales a través de las paredes celulares y creando una continuidad del citoplasma por medio de canales de aproximadamente de 40 nm de diametro (3). En el centro de algunos de éstos canales existen estructuras cilíndricas llamadas desmotúbulos los cuales tienen elementos del RE de las células interconectadas, gracias a la continuidad del citoplasma a través del canal, diferentes moléculas pueden pasar de célula a célula. Se piensa que estos canales sirven para efectuar el mismo tipo de comunicaciones que se atribuye a las células animales (1,3).

2. Organelos.

Los organelos son estructuras celulares con funciones específicas, todos los organelos celulares están aislados del citoplasma de la célula por membranas. Estas membranas están constituidas por lípidos y proteínas específicas para cada organelo. Los organelos, son unidades anatómicas y funcionales que están reguladas por el núcleo celular y muchos de los procesos bioquímicos que realizan se llevan a cabo sobre la superficie de su membrana, por ejemplo; el metabolismo lipídico es llevado a cabo por enzimas que se

encuentran unidas a la superficie de la membrana del RE, por esto, es importante que las membranas de cada organelo tengan características específicas que les permita llevar a cabo su función (4).

Por su origen, los organelos se clasifican en:

- 1.- Organelos con origen en Retículo Endoplásmico (RE) y son: Aparato de Golgi (AG), Vacuolas, Endosomas y Lisosomas,
- 2.- Organelos que no tienen origen en RE estos son: Núcleo, Mitocondrias, Plastidios y Microcuerpos.

2.1 *Organelos con origen en Retículo Endoplásmico.*(RE)

El RE es un organelo que está constituido por membranas que se encuentran formando sacos planos y ramificaciones de túbulos que están extendidos a través de todo el citoplasma, los túbulos y sacos planos se interconectan entre sí, el espacio interior del RE es llamado lumen o espacio cisternal. Casi la mitad de las membranas de una célula pertenecen al RE, esto depende en gran parte al tipo de célula de que se trate, morfológicamente existen dos tipos de membrana de RE:

- a) Retículo Endoplásmico liso.
- b) Retículo Endoplásmico rugoso.

a) *Retículo Endoplásmico liso.* El RE liso es escaso en la mayoría de las células y sólo existe en zonas llamadas elementos de transición entre RE y AG, sin embargo en células que sintetizan gran cantidad de lípidos, hormonas o bien cuando es necesario detoxificar el metabolismo entonces el RE liso es abundante. Las funciones del RE liso son:

- 1.-La síntesis de azúcares y lípidos complejos
- 2.-Genera las membranas lipídicas para los organelos de diferenciación continua como el Aparato de Golgi. (AG) (5).

La síntesis de lípidos se lleva a cabo en el RE liso (4) aquí se produce todos los lípidos que son necesarios para la formación de nuevas membranas. Entre otros sintetiza los fosfolípidos, glicolípidos y Colesterol (este último sólo en el caso de las células animales, pues en vegetales no existe Colesterol en membranas). La síntesis de fosfolípidos, por ejemplo, se lleva a cabo en el

lumen del RE y en la membrana de éste se encuentran las enzimas que catalizan cada paso. El transporte de vesículas a través de toda la ruta de secreción va precedida por la formación de dominios en la membrana que están constituidas por lípidos y proteínas específicas para cada región (5).

b) Retículo Endoplásmico rugoso

El RE rugoso se caracteriza por tener en su superficie ribosomas unidos que están sintetizando proteínas y que una vez que finaliza la síntesis, se separan los ribosomas de la membrana del RE. Algunas de las funciones principales del RE rugoso son:

- 1.- Fija los polirribosomas relacionados con la síntesis de proteínas
- 2.- Utiliza algunas de las proteínas sintetizadas para su almacenamiento y transporte
- 3.- Participa en el almacenamiento de calcio de la célula
- 4.- Sintetiza, modifica y distribuye las proteínas solubles e integrales (1).

La membrana del RE separa el lumen del citoplasma celular y es aquí donde se lleva a cabo la síntesis de proteínas. El RE rugoso se caracteriza por tener ribosomas unidos que están sintetizando proteínas las cuales pueden ser; Proteínas integrales de membrana y proteínas solubles o de secreción (1, 4).

Todas las proteínas tanto integrales como de secreción, inician su síntesis en los ribosomas que se encuentran en el citoplasma y lo primero que se transcribe en estos ribosomas es una partícula señal (4) que inmediatamente se une a una partícula reconocedora de la señal, en este momento se hace una pausa en la transcripción y la partícula señal se une a un receptor que se encuentra sobre la membrana del RE, simultáneamente se desprende la partícula reconocedora de la señal y continúa la transcripción de la proteína. Ésta atraviesa la membrana del RE y posteriormente tiene diferentes modificaciones que le permitirán continuar a su destino final.

Las proteínas transmembranales destinadas a formar la membrana de los diferentes organelos de la célula permanecen incluidas en la bicapa lipídica con una o más regiones hidrofóbicas de la cadena polipeptídica insertadas en esta bicapa. Las proteínas transmembranales al ser sintetizadas son incluidas en la membrana con una orientación determinada, es decir; algunas de ellas estarán con el lado amino terminal en la zona del lumen del RE y el lado

carboxilo terminal en el citoplasma de la célula, éstas se conocen como proteínas del grupo I, mientras que las proteínas que se encuentran con el lado amino terminal en la parte del citosol y el lado carboxilo terminal en el lumen del RE pertenecen al grupo II (6), esta orientación es conservada a través de toda la ruta de transporte. El RE es el único sitio de la célula donde se sintetizan las membranas para todos los organelos.

En cuanto a las proteínas solubles, éstas son transportadas de el lumen del RE a los diferentes organelos al AG, a lisosomas, a gránulos de secreción, vacuolas o serán secretadas a través de la membrana citoplasmica. Después de que son sintetizadas y de que atraviesan la membrana del RE sufren dos importantes cambios (6)

- a).- El plegamiento a su conformación apropiada y
- b).- Las modificaciones por glicosilación.

El plegamiento es llevado a cabo por proteínas accesorias como BiP (binding protein) miembro de la familia de las chaperonas Hsp70, y además también participa la disulfuro isomerasa en el reacomodo de las uniones disulfuro (4).

Otra de las funciones importantes del RE es el almacenamiento de calcio, éste es de gran importancia para la fisiología celular en la ruta secretora, la manera en que el RE mantiene el calcio en altas concentraciones es a través de proteínas que unen calcio como son: calreticulina, calnexina, calmodulina, disulfuro isomerasa etc.

Después de la síntesis de proteínas, la célula utiliza un sistema de control para identificar y retener las proteínas malformadas o incompletas que pueden ser producto de mutaciones, errores en la transcripción, efectos citotóxicos por calor o por compuestos químicos etc. La forma como lleva a cabo este control es por medio de proteínas chaperonas como son: la proteína BiP, la cual se une a las proteínas malformadas evitando que pasen al AG, la calnexina, la calreticulina, la enzima disulfuro isomerasa y otras proteasas dependientes de energía las cuales se encargan de retener y degradar las proteínas malformadas (14).

El control de calidad de las proteínas sintetizadas en el RE se lleva a efecto en dos niveles: Control de calidad primario el cual se aplica a todas las proteínas y mientras que el control de calidad secundario sólo se lleva a cabo con determinadas proteínas.

c) Aparato de Golgi. (AG)

El AG es especialmente abundante en células que son especializadas para la secreción, su función es el procesamiento de oligosacáridos y el procesamiento y selección de proteínas de secreción, de lisosomas, de vacuolas, y de membrana plasmática. Recibe a las proteínas y a los lípidos recién sintetizadas del RE y por medio de las proteínas residentes transforma y transporta a estos lípidos y proteínas hasta su destino final.

El AG está generalmente localizado cerca del núcleo de la célula, morfológicamente está constituido por una serie de compartimentos denominados: cis- medio- trans- y una red posterior al sitio trans denominado red del Trans Golgi (TGN). Cada compartimento es distinto funcional y bioquímicamente, las proteínas procesadas correctamente son transferidas del lumen o de la membrana del RE al compartimento cis del AG para ser modificadas durante su transporte a través del Golgi(6), hasta llegar al TGN donde son clasificadas a sus diferentes destinos.

El transporte por el cual se realiza todo el recorrido es por medio de vesículas (7), las cuales son formadas en la membrana de un compartimento y son fusionadas en el siguiente de la ruta. La composición bioquímica de la membrana de cada región del AG es diferente, por ejemplo en las células animales el contenido del Colesterol en la membrana del Golgi va disminuyendo en forma de gradiente del lado cis hasta el lado trans. El contenido de las enzimas glicosil-transferasas que llevan a cabo las reacciones de glicosilación en el AG es también muy variado y específico para cada región (7). Además de la clasificación de las proteínas sintetizadas en RE y que llegan al TGN, otras funciones importantes se llevan a cabo en esta zona; Como es la adición de glicosaminoglicanos para formar proteoglicanos y posteriormente estos proteoglicanos pueden ser sulfatados, posteriormente estas proteínas son secretadas para formar la matriz extracelular en células de mamíferos o bien participan como receptores en la membrana plasmática (4).

d) Vacuolas.

Las vacuolas son organelos que son formados en RE, son vesículas muy grandes, las cuales llegan a ocupar hasta el 90 % del volumen celular, las vacuolas están relacionadas con los lisosomas de las células animales en el

contenido y variedad de enzimas hidrolíticas pero sus funciones son completamente diferentes, las vacuolas de las plantas actúan como organelos de almacenamiento para nutrientes, como reguladores osmóticos, así como compartimentos de degradación para productos de deshecho, asimismo se utilizan como una forma de economía bioquímica para aumentar el tamaño de la célula (8). La membrana de la vacuola se llama tonoplasto. Las vacuolas ejercen diferentes funciones en una misma célula, frecuentemente los productos almacenados, que tienen una función metabólica, pueden ser conservados en las vacuolas por años, como es el caso de las semillas, que al germinar sus proteínas de almacenamiento son hidrolizadas para proveer alimento en el desarrollo del embrión. Las vacuolas pueden ser de dos tipos: vacuolas de almacenamiento o vacuolas líticas; En este sentido existen reportes contradictorios (8,9) pues se ha visto que en una misma célula, proteínas que son de almacenamiento, posteriormente son degradadas en la misma vacuola, esto implicaría que una sola vacuola realiza ambas funciones.

Al respecto Bassham y colaboradores (9) Han encontrado que existen dos tipos de vacuolas y que las vacuolas líticas pueden ser diferenciadas de las de almacenamiento por su contenido luminal y por la presencia de diferentes acuaporinas en sus membranas limitantes, por ejemplo las proteínas intrínsecas del tonoplasto conocidas como TIPs son características de las vacuolas de almacenamiento (10). Usando anticuerpos contra diferentes isoformas de TIP se ha demostrado que existen distintas combinaciones de TIPs en vacuolas con contenido diverso y por lo tanto con diferente función. En ápices de raíz se han reportado tres tipos de vacuolas cada una con distinta isoforma de TIP. Hasta el momento se desconoce cual es el mecanismo para mantener diversas vacuolas en una misma célula. En ocasiones los dos tipos de vacuolas se fusionan para formar una gran vacuola central que contiene ambas proteínas; de almacenamiento y líticas. Todo va a depender del tipo de célula de que se trate y de su función.

e) *Membrana Citoplásmica.*

La membrana citoplásmica es el límite externo en las células. Está constituida por una bicapa lipoprotéica la cuál funciona regulando el paso de sustancias hacia el interior o exterior de la célula por medio; Del transporte activo, osmosis, fagocitosis y pinocitosis. Las proteínas que la constituyen están en la bicapa lipídica como partículas discontinuas y pueden estar en forma de proteínas integrales o intrínsecas de membrana o bien como proteínas periféricas o extrínsecas. La diferencia entre las diversas membranas de loa

organelos de una célula es muy grande pues su composición variará dependiendo del organelo que se trate, así por ejemplo la membrana mitocondrial es extraordinariamente delgada, mientras que la membrana plasmática es más gruesa, de la misma manera la relación proteína/ lípido es muy variable, estas diferencias pueden correlacionarse con las funciones particulares que realizan cada una de las membranas (1.4). Puesto que la membrana celular rodea por completo a la célula, la comunicación entre ésta y el medio extracelular se encuentra regulada en su totalidad por esta estructura.

2.2 *Organelos que no tienen origen en Retículo Endoplásmico*

a) *Núcleo*

El núcleo ocupa aproximadamente el 10 % de la célula, contiene el genoma principal de ésta y es el sitio donde se lleva cabo la síntesis de ácido desoxiribonucleico (DNA) y ácido ribonucleico (RNA). La membrana nuclear está constituida por una bicapa lipídica que permite la comunicación del interior del núcleo con el citoplasma de la célula por medio de unas estructuras llamadas poros nucleares las cuales transportan selectivamente moléculas, todo el DNA cromosomal se encuentra empaquetado en fibras de cromatina por asociación con unas proteínas llamadas histonas. La membrana nuclear se encuentra directamente conectada a la membrana del RE y se encuentra sostenida por dos redes de filamentos intermedios, una llamada lamina nuclear, la cual forma una fina red dentro del núcleo y otra que se encuentra menos organizada rodeando la membrana externa del núcleo. El transporte de los RNAm del núcleo al citoplasma de la célula se lleva cabo por medio de receptores que se encuentran en el poro nuclear. Dentro del núcleo se encuentra una estructura diferente a los organelos citoplasmáticos llamada nucleólo, el cual no está rodeado de membrana y está constituido por finas redes de precursores ribosomales. En el ámbito de microscopía electrónica se pueden distinguir tres regiones parcialmente segregadas en este nucleólo. 1).- un centro fibrilar el cual contiene DNA que no está siendo transcrito, 2).- Un denso componente fibrilar el cual contiene moléculas de RNA que están siendo sintetizadas 3).- Un componente granular el cual contiene partículas precursoras ribosomales. El tamaño del nucleólo refleja su actividad. Es muy pequeño por ejemplo en algunas plantas que se encuentran en dormancia (4).

Existe un intercambio continuo de moléculas entre el citoplasma y el núcleo, pues muchas de las proteínas que funcionan en este último (como son las histonas, DNA y RNA polimerasas, proteínas reguladoras, proteínas ribosomales y proteínas procesadores de RNA), son sintetizadas en el citoplasma y posteriormente son selectivamente transportadas al núcleo. Al mismo tiempo el RNA mensajero y el RNA de transferencia son sintetizados en el núcleo y más tarde son exportadas al citoplasma. Cada uno de estos procesos involucra un transporte selectivo a través de la envoltura nuclear por medio de secuencias señal en las moléculas que son transportadas. El tamaño del núcleo varía de 6-7 μm , la composición química del núcleo de plantas y animales es muy similar y diferentes determinaciones sugieren que el peso seco del núcleo corresponde 70% a proteínas, 3% a lípidos, 10% a DNA y 2-3% a RNA. Las proteínas nucleares son básicas, lo cual les permite unirse a los grupos acídicos de los ácidos nucleicos y estabilizar complejos nucleoprotéicos en los cromosomas (1.4).

b) *Mitocondria.*

Las mitocondrias son organelos cuya función principal es la de generar energía para mantener la actividad celular mediante procesos de respiración aeróbica. Otras funciones importantes que realizan son: el ciclo de Krebs, la degradación de ácidos grasos, síntesis de algunas proteínas y en células animales producen el ATP de la célula. Están constituidas por dos membranas especializadas que forman dos compartimentos mitocondriales: la matriz interna y el espacio intermembranal. Tanto las membranas como los espacios mitocondriales tienen una composición química única y característica de estos organelos. La membrana interna tiene alto contenido de Cardiolipina un fosfolípido que la hace impermeable al paso de los iones, también contiene una variedad de proteínas de transporte que selectivamente permiten el paso de moléculas que son necesarias para las reacciones que llevan a cabo las enzimas que se encuentran en la matriz mitocondrial, las proteínas de la cadena respiratoria también se encuentran en la membrana interna para efectuar la fosforilación oxidativa, la cual genera la mayor parte del ATP en las células de origen animal (4).

d) *Plastidios*

Sólo se encuentran en células vegetales y una de las clases de plastidios son los cloroplastos (1). Los cloroplastos son organelos que tienen la forma de una lente, miden aproximadamente 2-4 μm de ancho por 5-10 μm de largo

y hay entre 20 y 40 en cada célula, están rodeados por una doble membrana que se especializan en la síntesis de trifosfato de adenosina (ATP) usando energía derivada del transporte de electrones proveniente de la fotofosforilación. Los cloroplastos aparecen en mayor cantidad en las células de las hojas, en ellas al parecer pueden orientarse hacia la luz. Los cloroplastos tienen en su interior el estroma, la cual está atravesada por una red compleja de discos conectados entre sí llamados lamelas. Muchas de las lamelas se encuentran apiladas como si fueran platillos; a estas pilas se les llama grana. Las moléculas de clorofila que absorben luz para llevar a cabo la fotosíntesis, están unidas a las lamelas. La energía luminosa capturada por la clorofila es convertida a ATP en mediante una serie de reacciones químicas que tienen lugar en los grana. Los cloroplastos contienen también gránulos pequeños de almidón donde se almacenan los productos de la fotosíntesis de forma temporal (1,4).

e) *Microcuerpos.*

Existen dos tipos de microcuerpos: Los peroxisomas y los glioxisomas, estos organelos están presentes en casi todas las células eucarióticas. Son vesículas con una membrana muy delgada caracterizada por contener la enzima catalasa, la cual actúa en la degradación del peróxido. Su funcionalidad es muy versátil y va a depender del organismo y de las condiciones del medio donde se encuentre la célula a la que pertenece (4).

f) *Peroxisomas*

Son organelos especializados en llevar a cabo reacciones de oxidación usando oxígeno molecular para generar peróxido de hidrógeno, el cual es usado en reacciones oxidativas, el exceso de peróxido es descompuesto por medio de la enzima catalasa que existe en estos peroxisomas. Como los cloroplastos y mitocondrias, los peroxisomas se pueden dividir de manera independiente en la célula, pero a diferencia de los primeros, no tienen DNA o ribosomas y tienen que importar todas sus proteínas del citoplasma (13).

CAPÍTULO 2

MECANISMO DE COMUNICACIÓN ENTRE ORGANELOS

3.1 *Mecanismo general de comunicación del RE con otros organelos.*

El transporte entre compartimentos intracelulares requiere de mecanismos especiales que aseguren la selectividad del movimiento de proteínas y de lípidos de un organelo donador a un organelo aceptor (9). La selección y concentración de moléculas específicas que serán transportadas se lleva a cabo en vesículas que son formadas en un compartimento y posteriormente se fusionarán con el organelo blanco.

EL primer organelo con el cuál el RE tiene una estrecha comunicación es el AG y es a través de éste que posteriormente realiza cualquier otra comunicación con otros organelos. ¿Como se lleva a cabo esta comunicación? De principio todas las proteínas y lípidos que son sintetizados en el RE son transportados a AG por medio de la fisión y fusión de vesículas que son generadas en el RE en una zona conocida como compartimento intermedio. Este compartimento intermedio esta conformado principalmente por RE liso en forma de túbulos y que se rompen en pequeñas vesículas, las cuales actúan como estructuras de transporte acarreando moléculas del RE rugoso hacia la región cis del Golgi, y como el AG es un organelo de transición entre el RE y la membrana plasmática, todas las moléculas que son transportadas a través de él recorren una serie de cisternas cada una de ellas con una composición química diferente., y además todas las moléculas que son transportadas conservan la orientación adecuada hasta llegar a su destino predeterminado. El flujo de las membranas y de las proteínas del lumen deben de tener la capacidad de sufrir cambios en su composición, incluyendo tanto la ganancia como la pérdida de sus componentes, de tal manera que puedan adaptarse a su nueva posición. De esta forma se encuentra que las proteínas integrales de la membrana que de manera característica se encuentran en el RE están presentes en la posición cis del Golgi pero no se encuentran en las cisternas del Trans Golgi (11).

En células de origen animal la zona en la cual se comunican el RE y el Golgi se llama compartimento intermedio y es denominado ERGIC, inicialmente este compartimento fue llamado "compartimento Salvaje" por

Pelham (1989) (14), morfológicamente corresponde a una zona tubovesicular cerca del AG y en la periferia de la célula (14), a nivel estructural son indistinguibles morfológicamente en cuanto a vesículas de transporte retrógrado o anterógrado, sin embargo las membranas que constituyen este compartimento intermedio tienen características que son diferentes de las membranas del RE y del cis- Golgi (17)

ERGIC - 53 es una proteína específica de este compartimento intermedio y que ha sido de gran utilidad en el estudio de la ruta de secreción. ERGIC -53 (16) es una proteína integral de membrana perteneciente al grupo I de proteínas que tiene un gran dominio del lado luminal y un residuo citosólico de 12 aminoácidos, tiene una vida media de 7 días y su función es la de ser receptor de glicoproteínas. En el dominio luminal muestra una homología de 200 residuos con el dominio de reconocimiento a carbohidratos de las lectinas de plantas leguminosas, esto le permite unirse a diferentes azúcares de una manera dependiente de Calcio. ERGIC-53 es una proteína de reciclamiento entre RE y AG (16), este reciclamiento puede ser bloqueado específicamente ya sea en RE, por disminución en la temperatura (10°C), por disminución en los niveles de ATP, con ácido Okadaico (inhibidor de la fosfatasa) etc. o bien el bloqueo puede llevarse a cabo en la zona ERGIC disminuyendo la temperatura a 15°C (16), en la presencia de Fluoruro de Aluminio (el cuál inhibe GTPasa trimérica), por Bafilomicina (inhibidor de la ATPasa vacuolar) y por el ionóforo Monesina, estos datos sugieren que la acidificación es un papel importante en el reciclamiento de las proteínas. Sin embargo en este punto la pregunta que permanece sin contestar es si ERGIC es un compartimento verdadero o sólo es una estructura de maduración (16,20).

El flujo de membranas y de proteínas solubles que son sintetizadas en RE y posteriormente son transportadas a través del AG hasta la membrana plasmática es conocida como ruta de secreción y las proteínas que cruzan esta ruta de secreción son importantes para numerosos aspectos del ciclo de vida celular; biogénesis de organelos, almacenamiento de proteínas o nutrientes, formación de paredes celulares, secreción de diferentes factores, como son factores de virulencia, respuesta a situaciones de estrés etc. En general son diversos los estímulos para la liberación de productos de la secreción y dependen del tipo de célula de que se trate (16).

Un ejemplo de la importancia en la selectividad del sitio a donde se dirigen las proteínas que son sintetizadas en RE lo constituye la ATPasa de Na/K en

células animales, esta proteína se encuentra en membrana plasmática de células animales (12), se trata de una proteína transmembranal tipo 1 con varios dominios hidrofóbicos incluidos en la membrana. Es sintetizada en RE, su función es mantener en equilibrio inverso las concentraciones de Na^+ y K^+ dentro y fuera de la célula, regula la toma de nutrientes por la formación de un gradiente de Na^+ en la membrana, lo cual es aprovechado por la célula para mantener su volumen, pH, toma de nutrientes, etc.

3.2 *Ruta de secreción*

Las proteínas que son transportadas a través de la ruta de secreción deben cruzar serie de cisternas constituidas por una compleja red de membranas internas hasta llegar a la membrana plasmática. En los últimos 10 años la ruta secretora en plantas ha sido objeto de grandes estudios, debido a la variedad de procesos donde participa (10).

El RE es el primer organelo de la ruta secretora de lípidos y proteínas en las plantas y es donde se lleva a cabo la síntesis, modificación y liberación de las proteínas perfectamente conformadas (5). Para lograr esto un gran número de proteínas residentes del RE aseguran que las proteínas inmaduras queden retenidas para posteriormente ser ensambladas correctamente. El RE y el aparato de Golgi colaboran para este propósito con una comunicación vesicular que se realiza en sentido anterógrado y retrógrado (17). En el sentido anterógrado membranas y proteínas del RE son transportadas hacia el Golgi donde serán posteriormente procesadas, sin embargo algunas de estas proteínas y lípidos serán seleccionados para transportarse de regreso a RE en sentido retrógrado, esta ruta de regreso es importante para la recuperación de proteínas que pudieran haber escapado de otros compartimentos y también para el reciclamiento del mecanismo involucrado en el transporte anterógrado. La selección de las proteínas que regresan en sentido retrógrado es por medio de una secuencia señal de aminoácidos en el lado carboxilo terminal Lys-Asp-Glu-Leu (KDEL) (estas letras corresponden al código de una simple letra para aminoácidos) (14). En levaduras y células animales estas secuencias señal son HDEL, KDEL (14, 18); en estas mismas células la zona donde se lleva a cabo la retención de estas proteínas residentes es conocida como compartimento intermedio, la retención de las proteínas que tienen la secuencia señal HDEL ó KDEL, se lleva a cabo por medio de un receptor transmembranal llamado ERD2 que reconoce estas secuencias señal (18, 19, 20). En la ruta de secreción de las plantas se ha identificado que las proteínas que son retenidas en RE tienen las secuencias señal tanto HDEL, KDEL, RDEL

y KEEL (18). Lo cual las hace un tanto diferentes con respecto a las células animales y a las levaduras pues mientras que en las levaduras se ha identificado la secuencia HDEL y en células de mamífero KDEL, en plantas existe mayor variedad en estas señales. En cuanto al receptor presente en las células animales responsable de reconocer estas señales (ERD2) se ha descrito un receptor semejante en *Arabidopsis thaliana* (8), sin embargo la especificidad en el reconocimiento tiene cierta variación, por ejemplo la secuencia KDEL es encontrada principalmente en proteínas transmembranales como en la proteína disulfuro isomerasa y endoplasmína, mientras que en proteínas solubles que se encuentran en el lumen del RE como son BiP (chaperona) y Calreticulina contienen HDEL (10,18).

En cuanto al compartimento intermedio descrito en célula animales (16) donde son retenidas las proteínas residentes del RE y donde se ha caracterizado la presencia de la proteína ERGIC- 53; En células vegetales se reportan resultados controversiales, algunos autores (18, 25), describen en protoplastos de hojas de tabaco la retención de proteínas residentes en el cis Golgi (18), mientras que en células BY2 se reporta que esto sucede en Golgi medio y trans (25). Por lo que hasta el momento no se ha identificado en forma clara este compartimento intermedio.

Otra controversia existe en relación con el transporte de proteínas no residentes del RE, pues mientras que algunos autores (18) reportan que este transporte se realiza en forma independiente sin mediar señal alguna, otros describen vesículas de transporte en las cuales no hay proteínas residentes pero sí el enriquecimiento de proteínas secretoras como por ejemplo el factor alfa, lo cual sugiere el transporte selectivo de esta proteína. Al respecto es posible que existan ambos tipos de transporte: un transporte directo y un transporte selectivo, y que el segundo sea requerido solo para moléculas que necesitan ser secretadas con alta eficiencia como en el caso del factor alfa.(18).

Si las proteínas no son retenidas por el transporte retrógrado, continúan a través del AG y son transportadas a la superficie celular para ser secretadas o bien son seleccionadas para compartimentos vacuolares u otros organelos. En células animales por ejemplo la selección de proteínas para ser transportadas a lisosomas se lleva a efecto en la red del Trans-Golgi (TGN) y esta selección se lleva a efecto por medio de la N-glicosilación de las proteínas cuyo destino son los lisosomas. Es decir: Las hidrolasas lisosomales contienen oligosacáridos que son modificados covalentemente en el cis-Golgi por la fosforilación de residuos de manosa en la posición 6 y que al

llegar a la red Trans Golgi (TGN) son reconocidos por un receptor específico para manosa -6- fosfato, lo cuál permite que todas las proteínas que tengan en su molécula manosa 6 fosfato sean retenidas en la membrana por este receptor y por medio de la formación de vesículas son separadas del TGN para formar endosomas y posteriormente lisosomas (+).

En plantas la selección de proteínas vacuolares se lleva a efecto por tres diferentes secuencias señal: (18). Estas secuencias señal son reconocidas en TGN para formar las vesículas que posteriormente se transformaran en vacuolas. Estas secuencias señal por su posición en la proteína son:

- 1.- Propéptido carboxilo terminal.
- 2.- Propéptido amino terminal
- 3.- Señales internas

A la fecha se han reportado dos receptores que reconocen estas secuencias señal (18). estos receptores son codificados por una familia de genes. Uno de estos receptores es BP80 el cuál fue identificado en cotiledón de chícharo, es una proteína de membrana del tipo I con un dominio transmembranal cercano al carboxilo terminal y con un dominio luminal el cual es responsable de la unión al ligando. En *A. thaliana* se han encontrado al menos en 6 isoformas de BP80. Este receptor se une a una secuencia señal denominado NPIRL. La familia BP80 representa el grupo de proteínas de plantas mejor caracterizado (18).

3.3 Transporte entre RE y AG

Como ya se ha visto, la comunicación entre el RE y AG es un proceso que lleva a cabo el transporte de proteínas y lípidos por medio de vesículas, esto se realiza por dos rutas diferentes: el transporte entre RE y AG llamado transporte anterógrado y el que se realiza de AG a RE llamado transporte retrógrado (21).

El transporte anterógrado comienza con la salida de membranas y proteínas fuera del RE en pequeñas vesículas y estructuras tubulares. En células de mamífero esta región está constituida morfológicamente por túbulo de RE liso continuos al RE rugoso, las vesículas de transporte que brotan de estas regiones tienen una composición de membrana definida que es distinta a la del RE, las vesículas de transporte son formadas por la unión a la membrana de la vesícula que se está formando de un complejo de proteínas llamadas

proteínas de cubierta (COP), las cuales inducen la deformación de la membrana para permitir la formación de la vesícula. Hasta el momento se han caracterizado tres complejos de proteínas de cubierta: COP-I, COP-II y Clatrina. (19, 20). Las cubiertas COP-I están asociadas con vesículas que circulan entre AG y RE en sentido retrógrado, en el tránsito interno de vesículas de AG, así como en la formación de endosomas tardíos. Las cubiertas COP -II están involucradas en el transporte anterógrado de RE a AG. Las cubiertas de Clatrina actúan básicamente cuando se involucra la unión de un ligando que será transportado y que se encuentra unido a su receptor, este proceso en particular se ha descrito a diferentes niveles dentro de la ruta secretora (20): En endocitosis mediada por receptor con la formación de endosomas tempranos, en el transporte de la red trans Golgi (TGN) con la formación de endosomas y gránulos secretorios inmaduros.

3.4 *Vesículas cubiertas con Clatrina (CCV)*

El transporte en vesículas cubiertas por Clatrina ha sido descrito principalmente en células de mamífero. La Clatrina es una proteína compuesta por 2 subunidades, una cadena pesada y una cadena ligera que forman una estructura llamada triskelión constituida por tres cadenas ligeras y tres cadenas pesadas (23). Uno de los procesos donde participa es en la selección de las hidrolasas lisosomales sintetizadas en RE en células animales (4). Esta selección se lleva a cabo en el TGN por medio de receptores a manosa -6- fosfato, para posteriormente dirigir estas proteínas a endosomas tardíos y lisosomas. El proceso que se efectúa es el siguiente: Clatrina es unida a la membrana donadora por medio de un complejo específico de proteínas llamado complejo adaptador (AP). En células eucariotas se han reportado dos diferentes tipos de adaptadores. El complejo adaptador AP-1 involucrado con la formación de CCV en TGN en el transporte anterógrado y el segundo complejo adaptador AP2 está relacionado en la formación de CCV en la membrana plasmática (23). Los complejos adaptadores AP interactúan con un péptido señal fosforilado en la parte citoplasmática del receptor a manosa 6 fosfato cuando éste tiene unido su ligando.

En plantas se ha visto que las hidrolasas que se encuentran en el lado luminal del TGN (22) y que son seleccionadas al compartimento prevacuolar (PVC), se unen a un receptor de la membrana del TGN, en la zona del receptor pero del lado citosólico, se une el complejo adaptador AP cuya función es la reunir en un solo dominio la mayor parte de los receptores unidos a su ligando,

posteriormente esta proteína adaptadora une la cubierta de Clatrina a la membrana, esto produce una curvatura en ésta para finalmente formar la vesícula. Una vez que esta vesícula se ha desprendido de la membrana pierde su cubierta (Clatrina) y se dirige a fusionarse a la membrana blanco (23).

3.5 *Vesículas cubiertas sin Clatrina (COP)*

La cubierta de estas vesículas está constituida por un complejo de proteínas llamado coatómero que comprende a 7 subunidades de proteínas de cubierta (llamadas COPs), estas son: α , β , β' , γ , δ , ϵ , ξ - COP (21). Una de estas subunidades muestra una homología en su secuencia a las adaptinas de las cubiertas de Clatrina pero el ensamble de toda la cubierta tiene grandes diferencias a la formación de las CCV. Una de las diferencias es que las COP necesitan ATP para incorporarse en la membrana blanco, además no se desensambla hasta que llega a la membrana donde se fusionará (21).

3.6 *Fusión de vesículas COP*

Las vesículas tienen una gran selectividad hacia las membranas blanco a las cuales se fusionarán, esto significa que tienen marcadores en su superficie de acuerdo a las moléculas que están transportando y sólo descargarán su transporte en las membranas blanco que tengan el receptor apropiado. En este sentido se han descrito dos proteínas involucradas en este evento: Las proteínas SNARE (receptor SNAP) (SNAP proteína soluble que se une al factor sensible a N-etil-maleimida) las cuales existen en la vesícula y son denominadas v-SNARE y en la membrana blanco t-SNARE. Cuando la vesícula que lleva la proteína v-SNARE encuentra su receptor complementario puede fusionarse. La fusión es regulada por otras proteínas entre ellas se encuentra una proteína denominada Rab (perteneciente a la familia de las GTPasas) la cual hidroliza GTP al iniciar la fusión de membranas. Existe un gran número de proteínas Rab, pues son específicas del sitio a donde se fusiona la vesícula COP (24).

En sistemas de células vegetales existe poca información en estos eventos, hasta el momento no se han descrito vesículas cubiertas COP (31). Mientras que las vesículas cubiertas con Clatrina se han encontrado que participan tanto en membrana plasmática en procesos de endocitosis (24) como en AG en la selección de hidrolasas para las vacuolas líticas. Como se ha visto, se

han descrito por lo menos dos tipos de vacuolas: vacuolas de almacenamiento y vacuolas líticas) (20). Hohl y col. (24) sugieren que las proteínas de almacenamiento usan un mecanismo de agregación, se separan del AG y se transportan en vesículas densas que aparentan tener una cubierta, pero la naturaleza molecular de esta cubierta no ha sido determinada. Mientras que en las vacuolas líticas, las hidrolasas ácidas se unen a receptores específicos y son transportadas por medio de vesículas cubiertas de Clatrina a un compartimento prevacuolar.

En plantas se han identificado diferentes miembros de la familia de proteínas SNARE (22,25,27) especialmente en *Arabidopsis thaliana*: donde la investigación en una base de datos de secuencias genómicas ha identificado 5 diferentes proteínas t-SNARE y dos v-SNARE similares en secuencia a las reportadas en levadura.

En cotiledones de chícharo (pea cotyledon) (11), donde son muy evidentes los dos tipos de vacuolas, se ha diseñado un sistema donde es posible estudiar el transporte diferencial de las vacuolas, pues considerando que las hidrolasas de las vacuolas líticas son transportadas del AG en vesículas cubiertas de Clatrina, mientras que las proteínas de almacenamiento son transportadas en vesículas densas, es posible la purificación de estos dos tipos de vesículas tomando en cuenta sus diferentes características y permitiendo así la comparación de marcadores de proteínas en ellas. Así se ha podido determinar que las proteínas de almacenamiento y las isoformas de TIP están relacionadas pues están enriquecidas en la fracción de vesículas densas. Mientras que el receptor BP80 específico para la selección de hidrolasas en vacuolas líticas se encontró en la fracción de vesículas cubiertas con Clatrina. Estos datos concuerdan con lo reportado en el sentido de que BP80 participa en la selección de propeptidos amino terminal destinadas a las vacuolas líticas (18).

3.7 Mecanismo específico de comunicación de Cloroplastos y Mitocondrias

Tanto Mitocondrias como Cloroplastos tienen un genoma propio que les permite sintetizar algunas de las proteínas que necesitan en su interior. Sin embargo estos organelos también requieren de otras proteínas que son codificadas en el núcleo de la célula e importadas del citoplasma. Por lo tanto las proteínas que constituyen a los cloroplastos están formadas por subunidades híbridas de polipéptidos, donde una subunidad es sintetizada en

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

el organelo y otra es importada del citoplasma. Las proteínas importadas deben llegar al subcompartimento en el cual llevan a cabo su función por lo cual la formación de estos complejos híbridos de proteínas requiere de una síntesis balanceada de los dos tipos de subunidades.

Casi todas las proteínas de la célula empiezan a ser sintetizadas en los ribosomas que se encuentran en el citoplasma de la célula, excepto como ya se mencionó, algunas cuya síntesis se realiza en mitocondrias o cloroplastos, el destino posterior a iniciada las síntesis de proteínas en el ribosoma, dependerá de una secuencia señal que puede estar presente en el lado carboxiterminal o bien en el lado aminoterminal de la secuencia peptídica que se está transcribiendo. Estos péptidos señal se encargan de dirigir a las proteínas sintetizadas a cloroplastos, mitocondrias, peroxisomas, RE o núcleo.

Esta señalización le permitirá a la proteína transportarse a través de las membranas del cloroplasto o de la mitocondria dependiendo del lugar final de su destino. Las proteínas codificadas en el interior del cloroplasto por ejemplo tendrán una secuencia señal única, mientras que las proteínas codificadas en el núcleo requerirán doble señal pues primero necesitaran transportarse a través de la membrana del cloroplasto y posteriormente la segunda señal dirigirá la proteína a los tilacoides. Las proteínas con doble señal son conocidas como preproteínas y la secuencia señal, aparece en lugares diferentes de la molécula, Además la secuencia señal es bipartita es decir; con los dos dominios de señalización separados; un dominio estromático localizado en la región aminoterminal y un dominio luminal tilacoide localizado en la región carboxiterminal de la proteína (28,29).

La contraparte es el reconocimiento de la secuencia señal en la membrana tanto del cloroplasto como del tilacoide donde la proteína necesita cruzar hacia su ruta final. En ese sentido se ha reportado por lo menos dos rutas homologas a sistemas de translocación que operan en RE y otras dos rutas con sistemas de translocación no identificados en otros sistemas celulares.

3.8 Mecanismo específico de comunicación de peroxisomas

Por medio de cepas mutantes, deficientes en la biogénesis de peroxisomas han sido aislados los genes que codifican para la transcripción de las proteínas que componen a estos peroxisomas y han sido denominados genes PEX así como sus productos protéicos son llamados peroxinas (13).

La biogénesis de estos organelos involucra una serie de eventos que va desde la formación de nuevas membranas en el RE, así como el transporte de éstas por medio de vesículas en la ruta secretora, todos estos eventos regulados genéticamente por el núcleo. De la misma manera las proteínas que componen la matriz de peroxisomas son sintetizadas en el citosol, son reconocidas por receptores solubles específicos, y este reconocimiento es efectuado por secuencias señal de las proteínas sintetizadas, ya sea del extremo carboxiterminal (PTS1, secuencia reconocida por el receptor citosólico Pex 5p) o bien la secuencia señal en el lado aminoterminal de la proteína (PTS2, secuencia reconocida por el receptor citosólico Pex 7p). La unión de las moléculas ligando- receptor promueve un cambio conformacional en la molécula receptora lo cual permite que sea reconocida por una proteína transportadora situada en la membrana del peroxisoma. Hasta el momento se han descrito dos proteínas transportadoras en la membrana del peroxisoma: Pex13p y Pex14p. Una vez que la proteína es puesta dentro de la matriz del peroxisoma, la molécula receptor es devuelta al citosol, en la levadura *Hansenula polymorpha*, el reciclamiento del receptor PTS1 esta en función de una reacción de ubiquitinación que se lleva a cabo en el peroxisoma (13).

CAPITULO 3

DISCUSIÓN

En la introducción de este trabajo se estableció la complejidad estructural y funcional de a la que está sujeta una planta, los organos y tejidos que la componen tienen como unidad básica estructural a la célula, y ésta a su vez está constituida por una serie de organelos que realizan actividades específicas, que en conjunto permiten la expresión funcional de la célula.

Una ruta muy importante la constituye la ruta secretora. El RE es el primer organelo de la ruta secretora de plantas y es el responsable de la síntesis, modificación y liberación de proteínas perfectamente conformadas, para lograr esto cuenta con un conjunto de proteína residentes que llevan a cabo un estricto control de la formación de proteínas. Un ejemplo de esta selectividad la encontramos en la secuencia señal de las proteínas residentes del RE donde en levaduras se ha identificado la secuencia HDEL y en células de mamífero KDEL en plantas encontramos tanto HDEL, KDEL, RDEL y KEEL para proteínas que son retenidas en el RE. Sin embargo hasta el momento no se ha identificado el compartimento intermedio descrito en células animales, en el cual son retenidas las proteínas residentes de RE.

La forma de comunicación entre los diferentes compartimentos tanto en células animales como en células vegetales también se lleva a cabo por medio de péptidos señal que se encuentran en proteínas con destinos específicos, estas señalizaciones pueden estar tanto en proteínas solubles sintetizadas en el citoplasma por ribosomas libres, como en vesículas que transportan las proteínas que se han sintetizado en RE, cruzan el AG sufriendo diferentes transformaciones y finalmente son transportadas a TGN para ser clasificadas a su destino final. En este tipo de transporte vesicular la señalización se efectúa por medio de complejos procesos que se realizan primero en la formación de las vesículas de las membranas donadoras y posteriormente en la fusión de la vesícula a la membrana receptora.

Durante este transporte se han descrito dos tipos de vesículas cubiertas, la vesícula cubierta por Clatrina; la cual esta involucrada en el transporte de moléculas que se encuentran unidas a su receptor y las vesículas cubiertas por coatomeros COP. Este transporte mediado por proteínas COP en sistemas de células de mamífero se conocen dos diferentes complejos de proteínas

COP: COPI y COPII ambas participan en el transporte vesicular RE a Golgi, COPII en sentido anterógrado y COPI en sentido retrógrado. En células de origen vegetal hasta el momento se ha descrito sólo el transporte mediado por Clatrina.. Los complejos de proteínas involucrados tanto en la fisión como en la fusión de las vesículas de transporte son muy semejantes pero tienen variaciones con respecto un sistema de otro (vesículas de Clatrina, COPI y COPII), algunas de estas proteínas son las proteínas SNARE las cuales participan en el reconocimiento de las membranas donadoras por las membranas receptoras durante el proceso de fusión de vesículas. Estas proteínas SNARE también se han encontrado en las células vegetales, especialmente en *A. Thaliana*.

Mientras que en los organelos que no tienen origen en RE encontramos que la selección del transporte de las moléculas que son codificadas por el núcleo está también regido por un conjunto de secuencias señal que se encargan de encontrar a sus receptores específicos que les permitira llegar a su destino final. Así por ejemplo, los peroxisomas son formados de peroxisomas preexistentes por un proceso de crecimiento y fisión para esto también se requiere la importación de lípidos y proteínas sintetizados en el citoplasma. Una secuencia señal de 3 aminoácidos cerca de la región carboxiterminal permite el transporte de estas proteínas sintetizadas en citoplasma para llegar a su destino

Todo el sistema de comunicación y transporte de moléculas en una misma célula y la existencia de los diferentes tipos de marcadores involucrados en el transporte se han estudiado ampliamente en las células vegetales en los últimos 10 años, sin embargo todavía existe mucho por conocer al respecto.

CAPITULO 4

CONCLUSIONES.

En primer lugar podemos decir que el mecanismo por medio del cual los diferentes organelos establecen una comunicación es a través de señalizaciones que se establecen en el momento que las proteínas son sintetizadas, estas señalizaciones determinan la ruta final a donde se dirigirá la proteína donde encontrará un receptor que reconocerá la secuencia señal.

En la ruta de secreción de las células vegetales, las secuencias señal descritas para proteínas residentes de RE son diferentes con relación a las encontradas en células de mamífero mientras en levaduras sólo se ha identificado la secuencia HDEL y en células de mamífero KDEL en plantas encontramos tanto HDEL, KDEL, RDEL y KEEL. Otra diferencia es que hasta el momento no se ha identificado el compartimento intermedio descrito en células animales, el cual se encuentra delimitado donde son retenidas las proteínas residentes de RE.

En plantas la selección de proteína vacuolares se llevan a efecto por tres diferentes secuencias señal.

- 1.- Propéptido carboxilo terminal.
- 2.- Propéptido amino terminal
- 3.- Señales internas

A la fecha se han reportado dos receptores que reconocen estas secuencias señal, ambos receptores codificados por una familia de genes. Uno de estos receptores es BP80 el cuál fue identificado en cotiledón de chícharo.

De las diferencias importantes entre las células animales y las células vegetales se encuentra la presencia de cloroplastos los cuales les permite a los vegetales transformar la energía luminosa del sol a energía química, la presencia de una pared celular que les permite tener una rigidez y a la vez permeabilidad para los diferentes iones que requiere en su metabolismo y finalmente la presencia de uniones celulares (plasmodema) lo que les confiere una continuidad citoplasmática intercelular.

CAPITULO 5

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Karp G.(1992). *Biología Celular*. 2d edición. Mc Graw Hill pp. 267-328
- 2.- Steward, FC. (1965). *Plant Physiology : A treatise*. Ed. Academic Press. New York and London. Vol. I. A Cellular Organization and Respiration.
- 3.- Ghoshroy S., Lartey R., Sheng J. And Citovsky Vitaly. (1997). Transport of proteins and nucleic acids trough plasmodesmata. *Annu. Rev. Plant Phisiol. Plant Mol. Biol.* 48: 27- 50
- 4.- Alberts B., Bray D., Lewis J., Raff M.,Roberts K., and Watson JD. (1994) *Molecular Biology of the Cell*. Third Ed.Garland Publishing, Inc. New York & London. Pp 551-647.
- 5.- Hoekstra, D. And Van Ijzendoorn, SCD. (2000). Lipid trafficking and sorting: how cholesterol is filling gaps. *Current Opinion in Cell Biol.* 12: 496-502.
- 6.- Chrispeels, M.J. and Herman,E.M. (2000), Endoplasmic Reticulum-Derived Compartments Function in Storage and as Mediators of Vacuolar Remodeling via a New Type of organelle, Precursor Protease Vesicles. *Plant Physiology*, vol.123, pp. 1227-1234.
- 7.- Glik BS. (2000) Organization of the Golgi apparatus. *Curr. Op. in Cell Biol.* 12:450-456.
- 8.- Griffing,LR. (1991) Comparison of Golgi structure and dynamics in plant and animals cells. *J electron Microsc. Tech.* 17: 179-199.
- 9.- Bassham, DC. And Raikhel, NV. (1996) Transport proteins in the plant membrane and the secretory sistem. *Trends Plant Sci. USA* 92: 7262-7266.
- 10.- Andreeva AV., Zheng, H., Saint-lore,CM., Kutuzov MA., Evans,DE. And Hawes, CR. (2000). Organization of transport from endoplasmic reticulum to Golgi in higher plants. *Biochem. Soc. Trans.* 28(4):505-512.

- 11.- Bassham, DC. And Raikhel, NV. (2000), Unique features of the plant vacuolar sorting machinery. *Curr. Op. in Cell. Biol.* 12: 491-495.
- 12.- Blumwald E. (2000) Sodium transport and salt tolerance in plants. *Curr. Op. in Cell. Biol.* 12: 431-434
- 13.- Baerends R, Faber K.N., Kiel J.A., van der Klei I.J., Harder W. And Veenhuis M. (2000). Sorting and function of peroxisomal membrane proteins. *FEMS Microbiology Reviews* vol.24: 3, pp 291-301.
- 14.- Pelham HR.(1989). Control of protein exit from the Endoplasmic Reticulum. *Annu. Rev. Cell.Biol.*5: 1-23.
- 15.- Klumperman J. (2000). Transport between RE and Golgi. *Curr. Op. in Cell. Biol.* 12: 445 – 449.
- 16.- Hauri PH., Kappeler F., Andersson H. And Appenzeller C. (2000). ERGIC-53 and traffic in the secretory pathway. *J. Cell Sci.* 113; 587-596.
- 17.- Rapac A, Falnes PO., Olsnes S. (1997). Retrograde transport of mutant ricin to the endoplasmic reticulum with subsequent translocation to cytosol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 3783- 3788.
- 18.- Hadlington JL. And Denecke J. (2000). Sorting of soluble proteins in the secretory pathway of plants. *Curr. Op. in Cell Biol.* 3: 461-468.
- 19.- Wieland F. and Harter C. (1999). Mechanisms of vesicle formation: insights from the COP system. *Curr.Op. in Cell. Biol.* 11: 440-446.
- 20.- Okita T.W. (1996). Compartmentation of Proteins in the Endomembrane System of Plant Cells. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 47: 3327-3350.
- 21.- Cosson P. And Letourneur F. (1997). Coatamer (COPI)-coated vesicles: role in intracellular transport. *Curr. Op. in Cell. Biol.* 9: 484-487.
- 22.- Sanderfoot AA. And Raikhel NV. (1999) The specificity of vesicle trafficking: coat proteins and SNAREs. *Plant Cell* 11: 629-641.
- 23.- Marsh, M and Mac Mahon. (1999). The structural era of endocytosis. *Science.* Vol 285. 215-220

- 24.- Hohl I., Robinson, DG., Chrispeels and Hinz G. (1996) Transport of storage proteins to the vacuole is mediated by vesicles without a Clathrin coat. *J. Of Cell Science* 109:2539-2550.
- 25.- Robinson DG., Hinz G., Holstein S.E. (1998) The Molecular Characterization of Transport vesicles. *Plant Molecular Biology* .Sep; 38 (1-2): 49- 76.
- 26.- Novick P. And Zerial M. (1997). The diversity of Rab Proteins in vesicle transport. *Curr. Op. Of Cell. Biol.* 9: 496-504.
- 27.- Zheng, H., Fisher von Mollard, G., Kovaleva, V., Stevens, TH. And Kaikhel NV. (1999) The plant vesicle-associated SNARE AtVt11a likely mediated vesicle transport from the Trans-Golgi network to the prevacuolar compartment. *Mol. Biol. Cell*: 10 (7): 2251-2264.
- 28.- Woolhead, C., Bolhuis A. And Robinson C. (2000), Novel Mechanisms for the targeting of proteins into and across Chloroplasts membranes. *Biochem. Soc. Trans.* 28, (491-494).
- 29.-Schnell, DJ. (1998). Protein targeting to the thylakoid membrane. *Annu Rev Plant physiol. Plant Mol. Biol.* 49 97- 126.