



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
SETOR DE GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR**

Organelas Membranosas (Aulas – 4 e 5)

Profa. Dra. Nívea Macedo

Todas as células eucarióticas têm o mesmo conjunto básico de organelas

- Muitos processos bioquímicos vitais ocorrem dentro das membranas ou em sua superfície;
- Cerca de metade da área total de membrana em uma célula eucariótica envolve os espaços labirínticos do **retículo endoplasmático (RE)**;
- O **aparelho de Golgi** consiste em pilhas organizadas de compartimentos discóides chamados de cisternas de Golgi;
- As **mitocôndrias** e **cloroplastos** (plantas) geram a maior parte do ATP utilizado pela células;
- O material endocitado deve passar primeiramente por uma série de organelas chamadas de **endossomos**;
- **Peroxisomos** são pequenos compartimentos vesiculares envolvidos em reação oxidativas;
- Os compartimentos envoltos por membranas ocupam quase metade do volume celular;

Todas as células eucarióticas têm o mesmo conjunto básico de organelas

Tabela 12-2 Quantidades relativas de tipos de membranas em dois tipos de células eucarióticas

Tipo de membrana	Percentual da membrana celular total	
	Hepatócito do fígado*	Celula exócrina pancreática*
Membrana plasmática	2	5
Membrana do RE rugoso	35	60
Membrana do RE liso	16	<1
Membrana do aparelho de Golgi	7	10
Mitocôndria		
Membrana externa	7	4
Membrana interna	32	17
Núcleo		
Membrana interna	0,2	0,7
Membrana das vesículas secretoras	Não-determinado	3
Membrana do lisossomo	0,4	Não-determinado
Membrana do peroxissomo	0,4	Não-determinado
Membrana do endossomo	0,4	Não-determinado

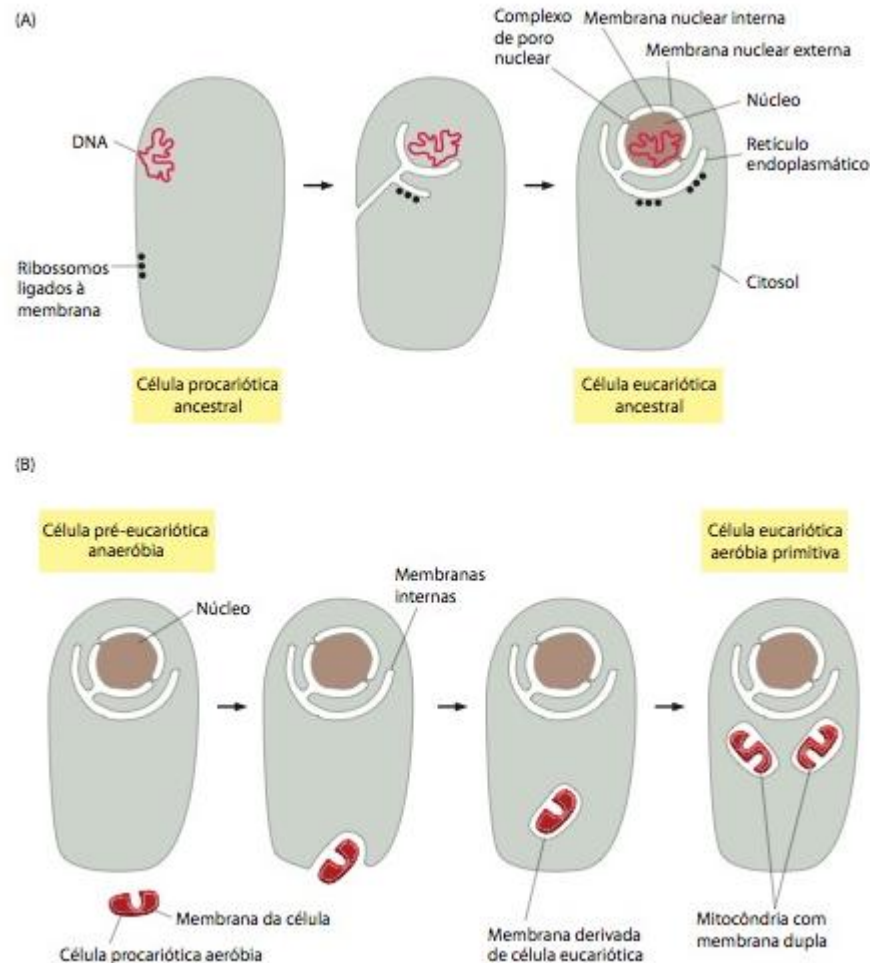
*Essas duas células são de tamanhos muito diferentes: um hepatócito médio tem volume de cerca de 5.000 μm^3 em comparação com 1.000 μm^3 da célula pancreática exócrina. As áreas de membrana celular total são estimadas em aproximadamente 110.000 μm^2 e 13.000 μm^2 , respectivamente.

A origem evolutiva explica a relação topológica das organelas

- Os **precursores das primeiras células eucarióticas** eram **organismos simples semelhantes a bactérias**, que possuem membrana plasmática, mas não possuem membranas internas;
- As células atuais típicas são de **10 a 30 vezes maiores em dimensão linear** e de **1000 a 10.000 vezes maiores** em volume do que uma bactéria típica, como a *E.coli*.
- A célula eucariótica tem uma razão muito menor de área de superfície membranar em relação ao volume, portanto, a MP é pequena para sustentar as muitas funções vitais para as quais as membranas são necessárias;
- Assim, a protusão de membranas internas pode ser vista como uma adaptação a esse aumento de tamanho;
- **A invaginação da MP gerou organelas envolvidas em vias secretoras e endocíticas (RE, aparelho de Golgi, endossomos e lisossomos)** com o interior que é topologicamente equivalente ao exterior da célula e que se comunicam umas com as outras e com o exterior da célula;

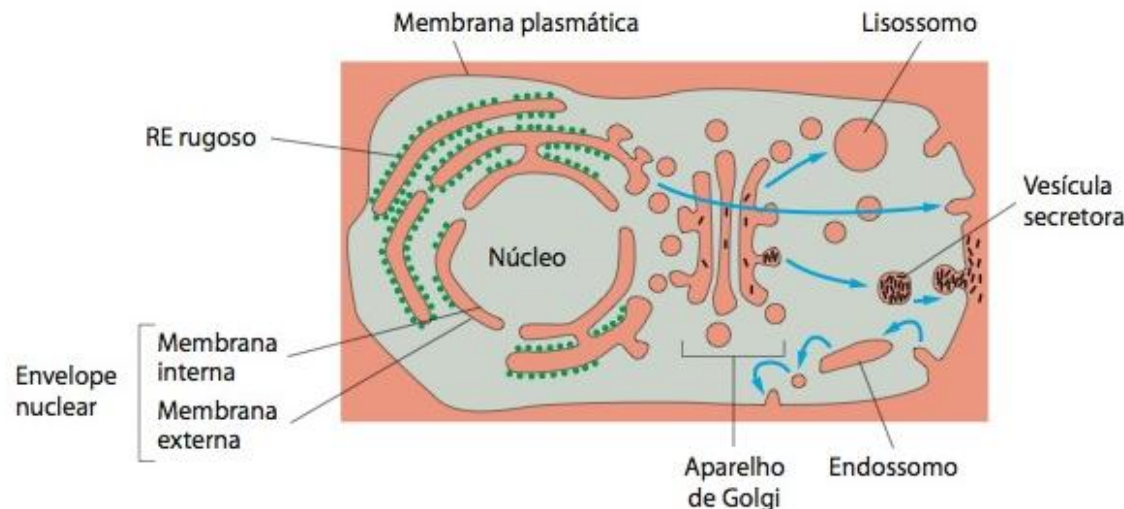
A origem evolutiva explica a relação topológica das organelas

- Mitocôndrias e plastídeos evoluíram a partir de bactérias que foram engolfadas por outras células com as quais inicialmente viviam em simbiose;

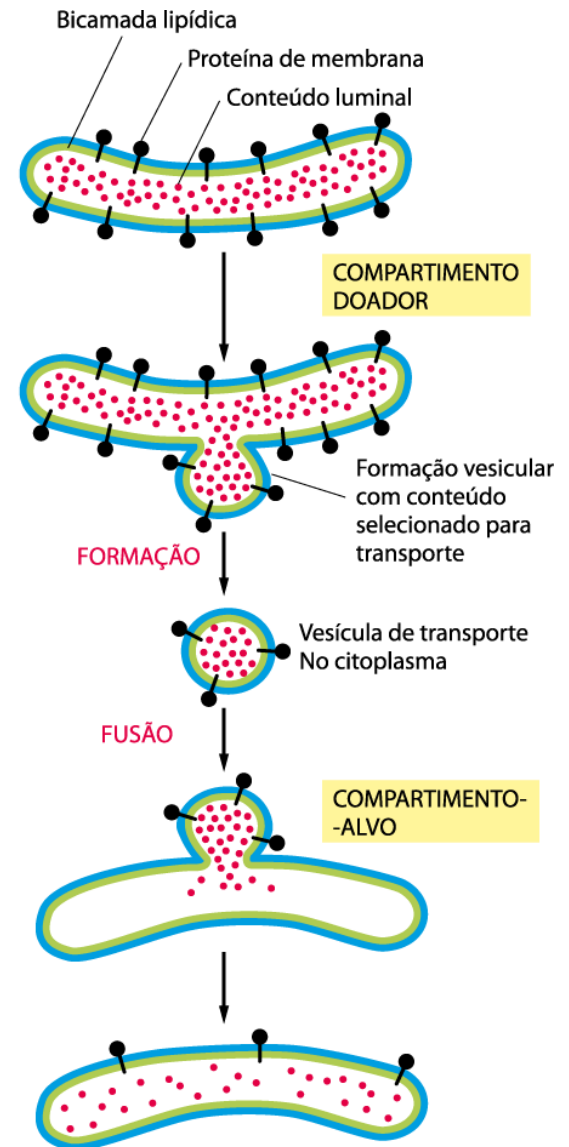
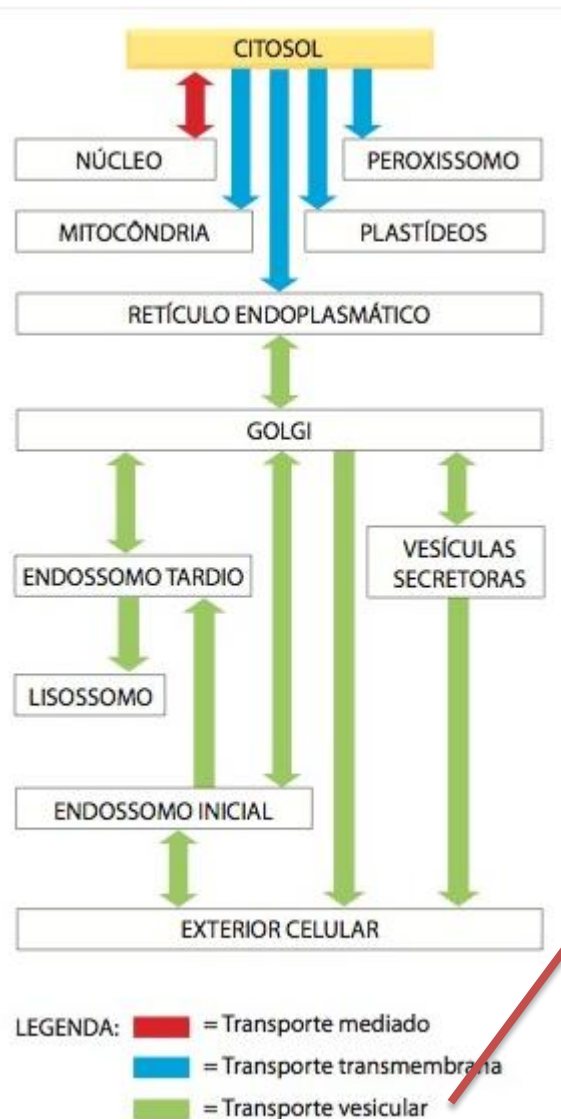


A origem evolutiva explica a relação topológica das organelas

- Esse esquema evolutivo agrupa compartimentos intracelulares das células eucarióticas em 4 famílias distintas:
1. **Núcleo e citosol:** São topologicamente contínuos e comunicam-se através dos *complexos de poro nuclear (NPC)*;
 2. **RE, aparelho de Golgi, endossomos, lisossomos, vesículas de transporte e, possivelmente, os peroxissomos** (organelas envolvidas em vias secretoras e endocíticas)
 3. **Mitocôndrias;**
 4. **Plastídeos** (somente em plantas);



As proteínas podem mover-se entre compartimentos de diferentes maneiras



As proteínas podem mover-se entre compartimentos de diferentes maneiras

- Com exceção das poucas proteínas sintetizadas por ribossomos das mitocôndrias e dos plastídeos, a síntese de todas as proteínas celulares começa no citosol;
- O destino das proteínas produzidas no citosol vai depender da sua sequência de aminoácidos, que pode conter **sinais de endereçamento** que as direcionam para locais fora do citosol;
- Proteínas que não possuem sinal de endereçamento permanecem no citosol como **residentes permanentes**;
- Muitas proteínas apresentam sinais de endereçamento específicos que direcionam seu transporte do citosol ao **núcleo**, ao **RE**, às **mitocôndrias**, aos **plastídeos** e aos **peroxissomos**;
- Sinais de endereçamento também podem orientar o transporte de proteínas do RE a outros destinos;

As proteínas podem mover-se entre compartimentos de diferentes maneiras

- Os 3 caminhos diferentes pelos quais as proteínas se movem de um compartimento a outro:
 1. **Transporte mediado:** as proteínas se movem entre o **citossol** e o **núcleo** (topologicamente equivalentes) por meio dos **NPCs**;
 2. **Transporte transmembrana:** *proteínas translocadoras* transmembrana transporte diretamente proteínas específicas a partir do **citossol para um compartimento topologicamente distinto**;
 3. **Transporte vesicular:** Vesículas esféricas pequenas e fragmentos organelares maiores transportam proteínas de um compartimento a outro topologicamente equivalentes;
- Cada maneira de transporte de proteínas normalmente é guiada por sinais de endereçamento na proteína transportada que são reconhecidos pelas *proteínas receptoras* complementares;

As sequências-sinal direcionam proteínas aos destinos celulares corretos

- Muitos **sinais de endereçamento** em proteínas residem em uma sequência de aminoácidos, **tipicamente com 15- 60 resíduos** de comprimento;
- Essas **sequências-sinal** frequentemente são encontradas na região **N-terminal**;
- **Peptidases-sinal** removem a sequência-sinal após a finalização do processo de endereçamento;
- **Sequências-sinal** também podem ser **extensões internas de aminoácidos** e permanecem como parte da proteína;
- Em alguns casos, **sinais de endereçamento** são compostas de múltiplas sequências de aminoácidos que formam um arranjo tridimensional de átomos na superfície proteica, chamado de **região-sinal**;

As sequências-sinal direcionam proteínas aos destinos celulares corretos

- **Proteínas destinadas ao RE:** possuem uma **sequência-sinal** composta por **5 – 10** aminoácidos hidrofóbicos no **N-terminal**;
- **Proteínas residentes no RE:** sequência-sinal específica de **4** aminoácidos no **C-terminal**;
- **Proteínas destinadas às mitocôndrias:** sequências-sinal compostas por aminoácidos carregados positivamente alternados a aminoácidos hidrofóbicos;
- **Proteínas destinadas aos peroxissomos:** sequência-sinal de **3** aminoácidos característicos na região **C-terminal**;

As sequências-sinal direcionam proteínas aos destinos celulares corretos

Tabela 12-3 Algumas sequências-sinal típicas

Função da sequência-sinal	Exemplo de sequência-sinal
Importar para o núcleo	-Pro-Pro- Lys-Lys-Lys-Arg-Lys -Val-
Exportar do núcleo	-Leu-Ala-Leu-Lys-Leu-Ala-Gly-Leu-Asp-Ile-
Importar para a mitocôndria	⁺ 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-
Importar para o plastídeo	⁺ H ₃ N-Met-Val-Ala-Met-Ala-Met-Ala- Ser -Leu-Gln- Ser-Ser -Met- Ser-Ser -Leu- Ser -Leu- Ser-Ser -Asn- Ser -Phe-Leu-Gly-Gln-Pro-Leu- Ser -Pro-Ile- Thr -Leu- Ser -Pro-Phe-Leu-Gln-Gly-
Importar para os peroxissomos	- Ser-Lys -Leu-COO ⁻
Importar para o RE	⁺ 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-
Retornar ao RE	- Lys-Asp - Glu -Leu-COO ⁻

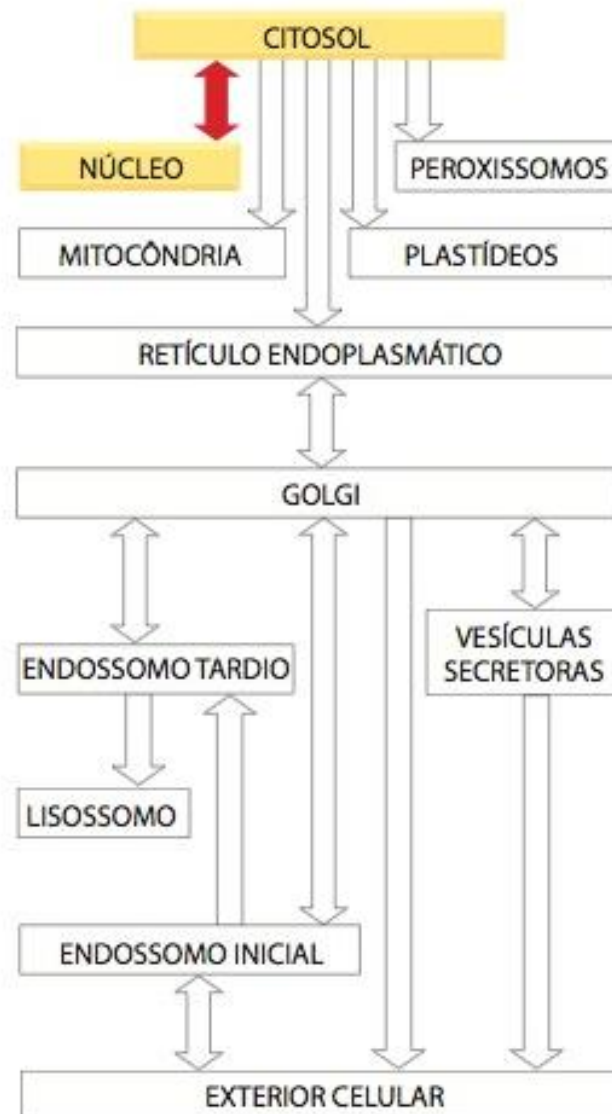
Alguns aspectos característicos das diferentes classes de sequências-sinal estão destacados em cor. Quando sua importância para a função da sequência-sinal é conhecida, os aminoácidos carregados positivamente são mostrados em *vermelho*, e os carregados negativamente, em *verde*. Do mesmo modo, os aminoácidos hidrofóbicos importantes são mostrados em *branco*, e os aminoácidos hidroxilados, em *azul*. ⁺H₃N indica a região N-terminal de uma proteína; COO⁻ indica a região C-terminal.

- As **sequências-sinal** são **necessárias e suficientes** para o **endereçamento de proteínas** e suas propriedades físicas são mais importantes que a sequência exata de aminoácidos para o reconhecimento do sinal;
- Sequências-sinal são reconhecidas por receptores de endereçamento complementares, os quais guiam as proteínas para os seus destinos apropriados;

A maioria das organelas não pode ser construída *de novo*: elas necessitam informação da própria organela

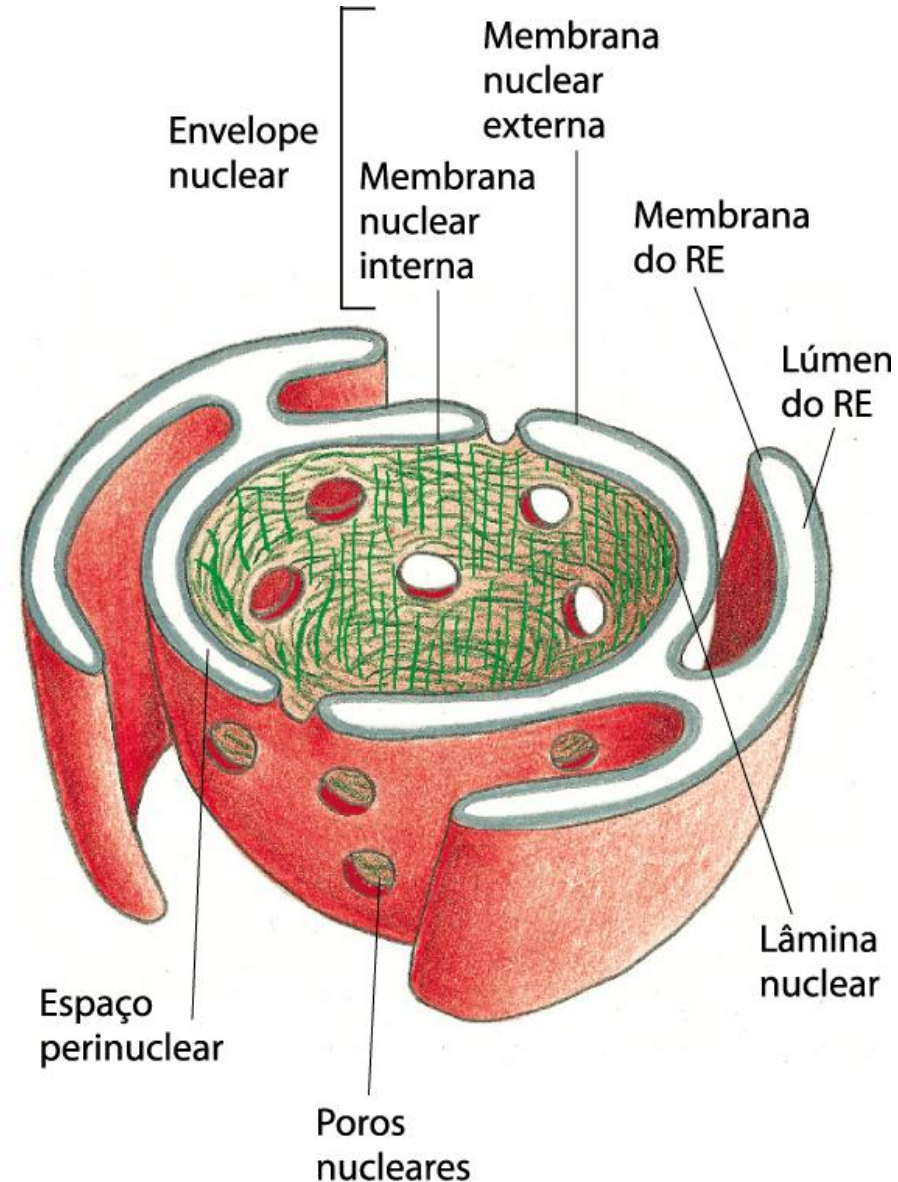
- Quando uma célula se reproduz por divisão, ela tem que duplicar suas organelas;
- Em geral, elas aumentam as organelas existentes, por incorporação de novas moléculas e, então aumentadas, dividem-se e são distribuídas às duas células-filhas;
- Algumas organelas podem se formar a partir de outras organelas e, portanto, não precisam ser herdadas no processo de divisão celular (vesículas e endossomos);

Transporte de moléculas entre o núcleo e o citosol



Transporte de moléculas entre o núcleo e o citosol

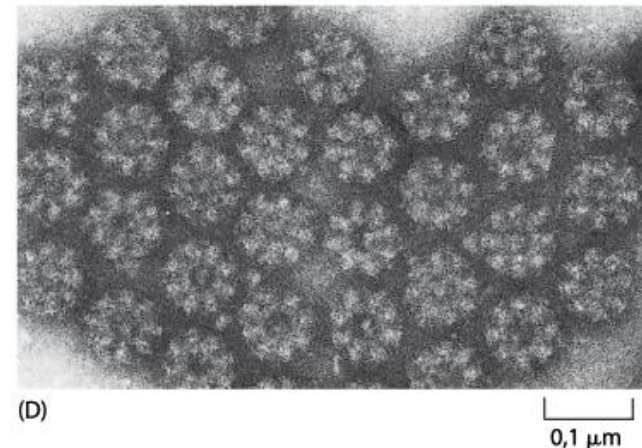
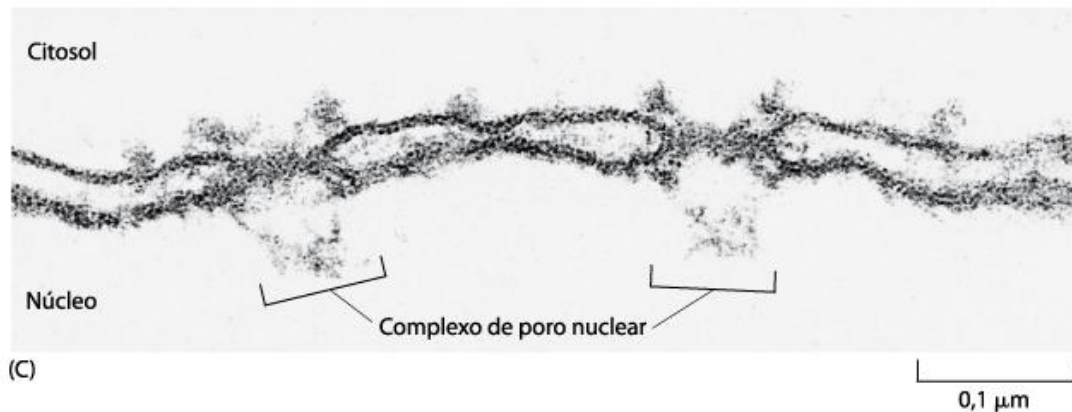
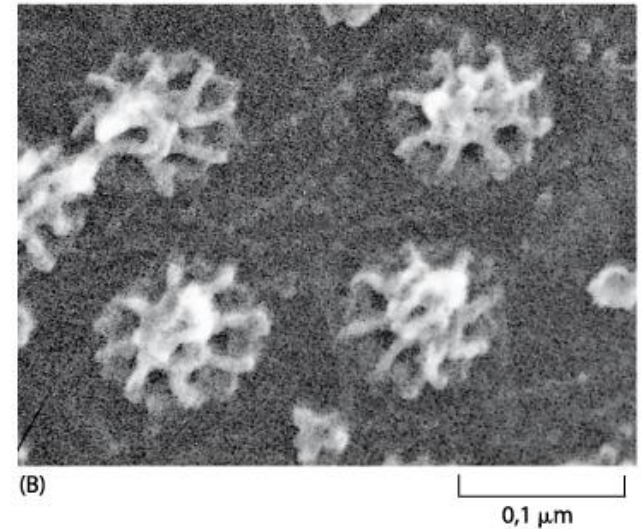
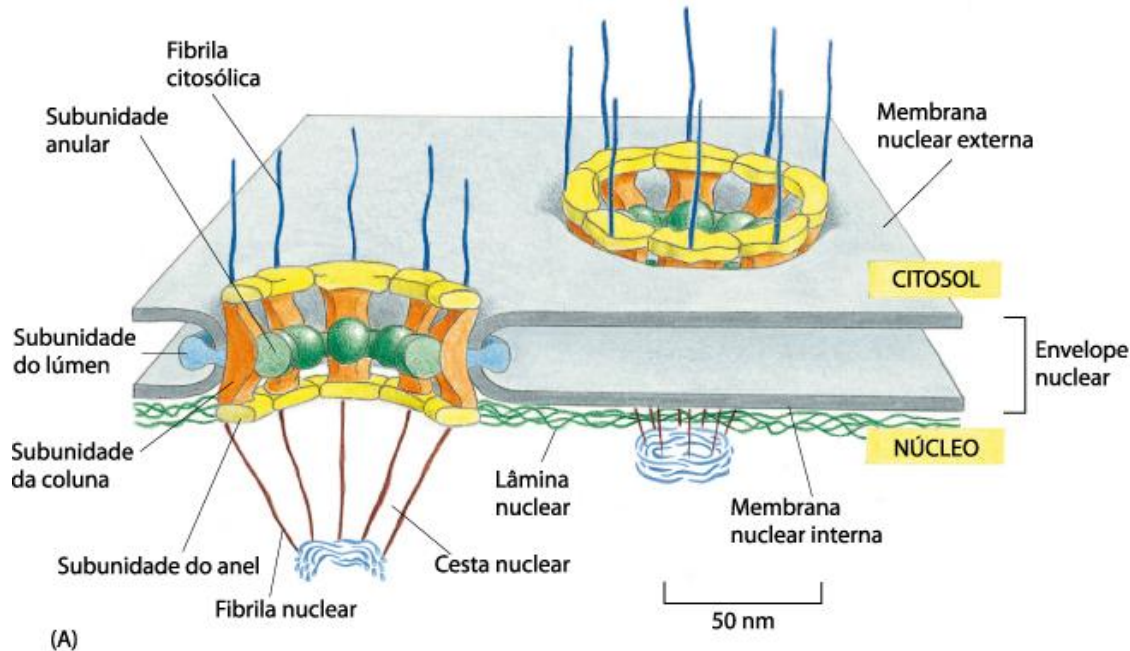
- Envelope nuclear: **membrana interna** (proteínas de ancoramento da cromatina e da lâmina nuclear), **membrana externa** (ribossomos na superfície) e **espaço perinuclear**;
- Tráfego bidirecional entre o citosol e o núcleo;
- **Citosol → Núcleo:** Histonas, DNA e RNA polimerases, proteínas reguladoras de genes e proteínas de processamento do RNA;
- **Núcleo → Citosol:** RNAs e subunidades ribossomais;



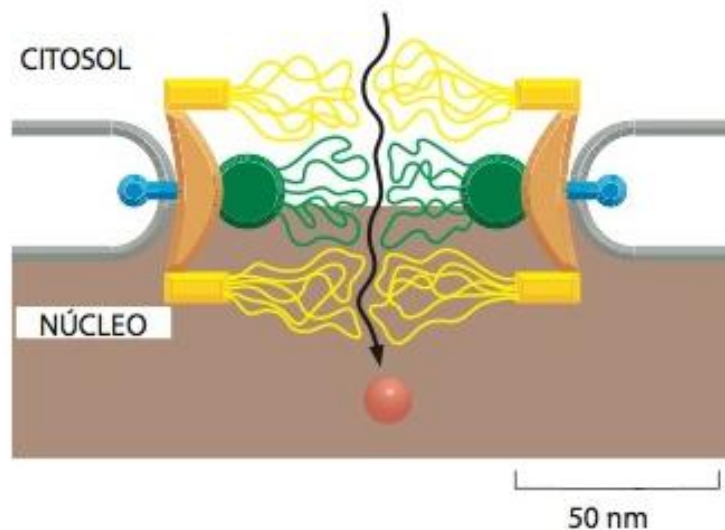
Os Complexos de poro nuclear perfuram o envelope nuclear

- **Complexos de poro nuclear (NPCs)** perfuram o envelope nuclear de todos os eucariotos;
- Em células animais, cada NPC é composto por aproximadamente 30 proteínas NPC diferentes (nucleoporinas) que estão presentes em múltiplas cópias (muitas estão presentes em 16 cópias ou são múltiplos de 16) e em arranjo octogonal;
- O envelope nuclear de uma célula de mamífero contém de 3 a 4 mil NPCs e cada NPC pode transportar até 500 macromoléculas por segundo em ambas as direções ao mesmo tempo;
- Cada NPC contém um ou mais canais aquosos, através dos quais pequenas moléculas (até 5 kDa) hidrossolúveis podem difundir-se passivamente;
- Moléculas grandes precisam ligar-se a proteínas receptoras específicas que transportam grandes moléculas através dos NPCs em suas conformações tridimensionais;

Os Complexos de poro nuclear perfuram o envelope nuclear



Os Complexos de poro nuclear perfuram o envelope nuclear



Tamanho de moléculas
que entram no núcleo
por difusão livre



Tamanho de macromoléculas
que entram no núcleo por
transporte ativo

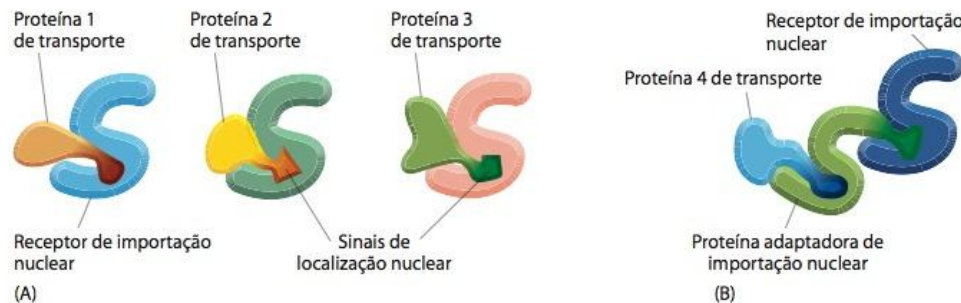
Partículas de até 39 nm podem passar pelos NPCs por transporte ativo!

Sinais de localização nuclear direcionam as proteínas nucleares ao núcleo

- **Sinais de localização nuclear** são responsáveis pela seletividade do processo de importação nuclear;
- **Sinais de localização nuclear**, em muitas proteínas, consistem em **uma ou duas sequências curtas ricas em aminoácidos carregados positivamente (lisina e arginina)**, porém algumas proteínas nucleares possuem sinais diferentes ainda não caracterizados;
- **Sinais de localização nuclear** podem estar **localizados praticamente em qualquer lugar na sequência de aminoácidos** e podem formar alças ou regiões na superfície da proteína, inclusive podem ser peptídeos curtos ligados a cadeias laterais de lisinas na superfície proteica;

Os receptores de importação nuclear ligam-se tanto a sinais de localização nuclear como a proteínas NPC

- Receptores de importação nuclear são responsáveis pelo transporte de um grupo de proteínas que possui sinais de localização nuclear ao qual o receptor pode se ligar;
- Receptores de importação nuclear se ligam:
 1. Sinais de localização nuclear em proteínas a serem transportadas;
 2. Repetições FG (pequenas repetições de aminoácidos que contêm fenilalanina e glicina) em proteínas de fibrilas e no centro dos NPCs;
- Proteínas adaptadoras, algumas vezes, formam pontes entre os receptores de importação e os sinais de localização nuclear nas proteínas a serem transportadas;

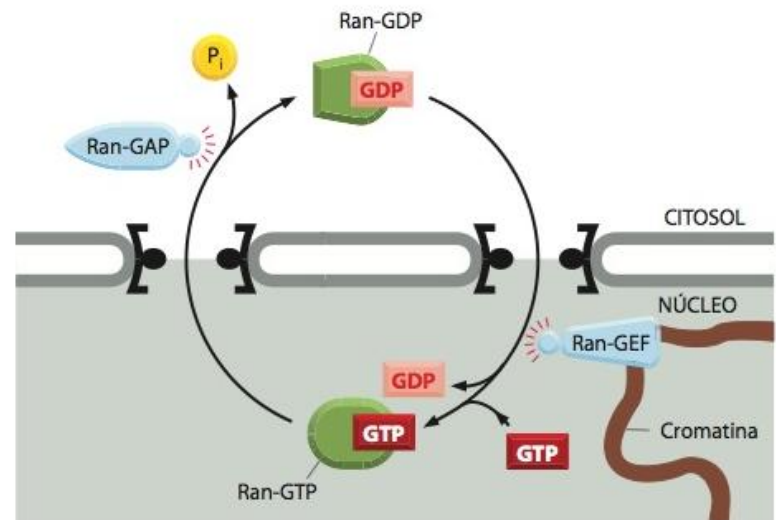


A exportação nuclear funciona como a importação nuclear, mas de modo inverso

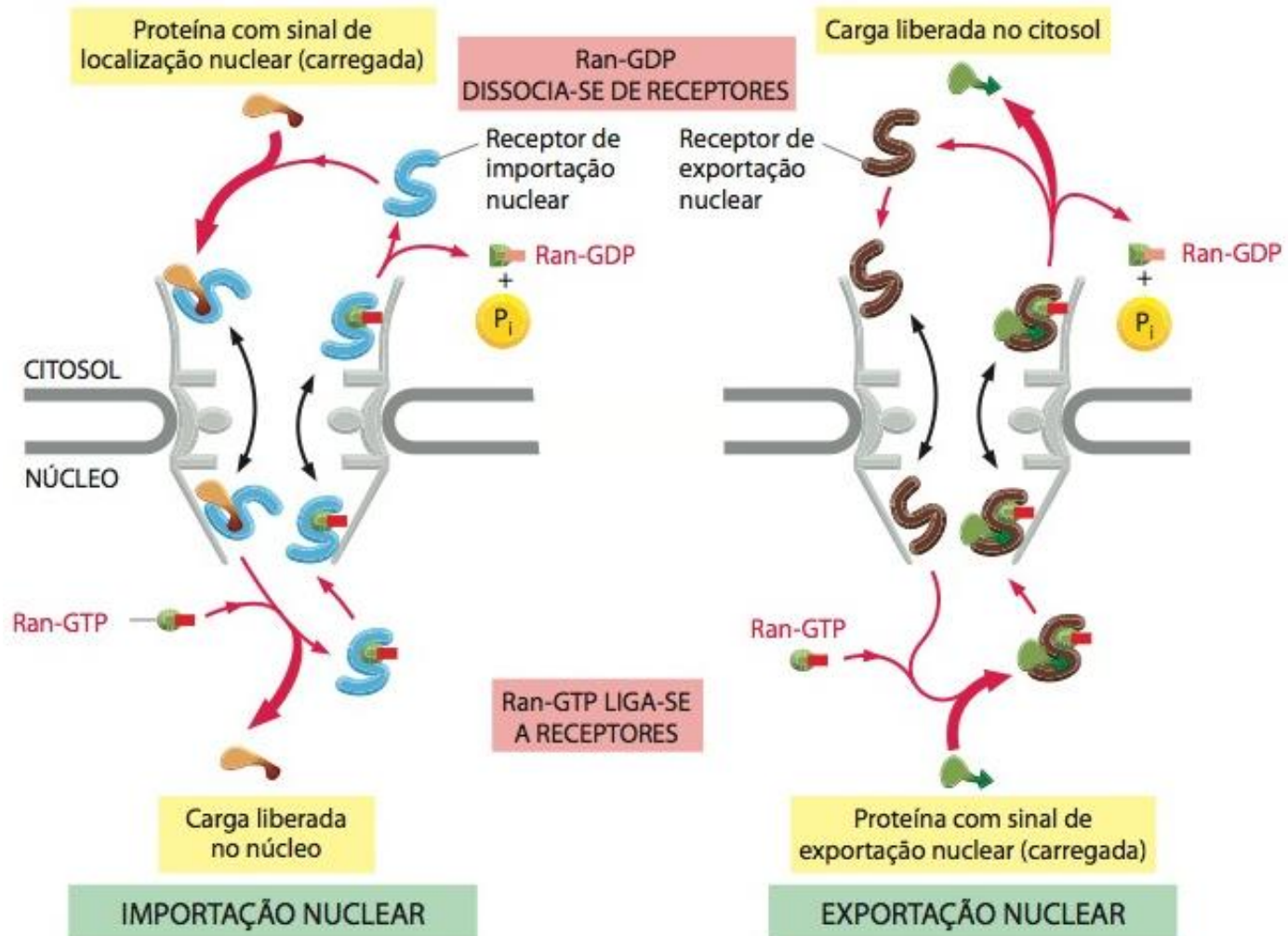
- Receptores de exportação nuclear se ligam a sinais de exportação nuclear e a proteínas NPC para guiar o transporte para o citosol;

A GTPase Ran impõe a direcionalidade no transporte através dos NPCs

- A importação de proteínas nucleares concentra proteínas específicas no núcleo, aumentando, portanto, a ordem na célula;
- A energia para realização desse processo vem da hidrólise do GTP pela GTPase **Ran** monomérica, essa proteína encontra-se no núcleo e no citoplasma e é necessária para os sistemas de importação e exportação;
- Ran pode estar ligada a duas outras proteínas reguladoras (**GAP** – *proteína ativadora de GTPase* e **GEF** – *fator de troca de guanina*);
- **Ran-GAP** está localizada no citosol – contêm mais Ran-GDP, a qual não se liga a receptores de transporte);
- **Ran-GEF** está localizada no núcleo – contêm mais Ran-GTP, a qual se liga a receptores de importação;



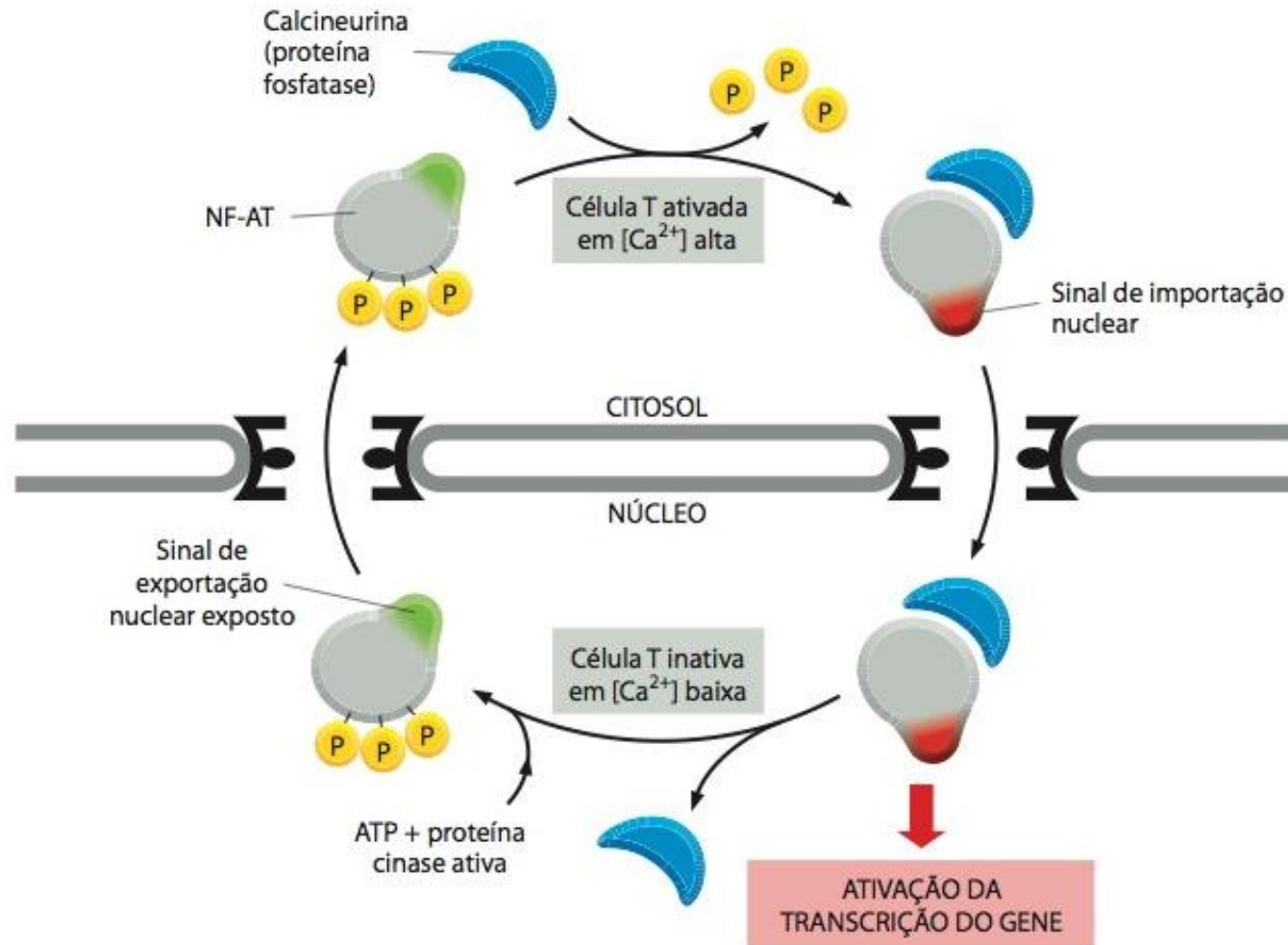
A GTPase Ran impõe a direcionalidade no transporte através dos NPCs



O transporte através de NPCs pode ser regulado pelo controle do acesso à maquinaria de transporte

- Algumas proteínas, como aquelas que se ligam a mRNAs recém-sintetizados no núcleo, contêm tanto sinais de localização nuclear quanto sinais de exportação nuclear e movem-se continuamente entre citosol e núcleo;
- As velocidades relativas de importação e exportação determinam a localização de equilíbrio dinâmico dessas proteínas transportadoras;
- Algumas proteínas reguladoras de genes têm suas atividades controladas por meio de sua retenção fora do núcleo, sendo liberadas quando a célula recebe um estímulo apropriado;
- Sinais de localização nuclear e sinais de exportação podem ser ligados ou desligados, geralmente, por **fosforilação de aminoácidos adjacentes à sequência-sinal**;
- Algumas proteínas reguladoras estão **ligadas a proteínas citosólicas inibitórias que as ancoram no citosol** (por meio de interações com o citoesqueleto ou organelas específicas) ou **mascam seus sinais de localização nuclear**;

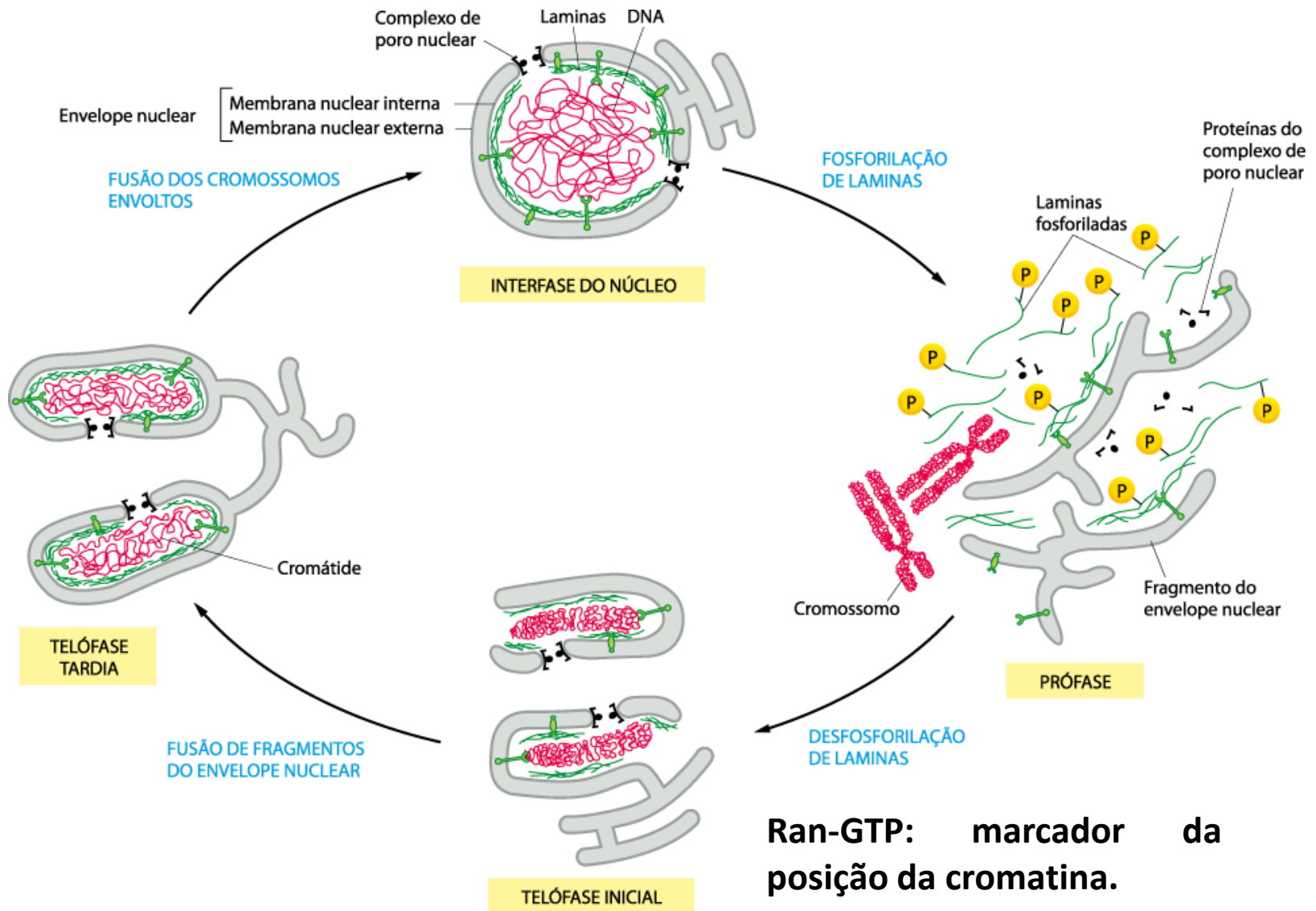
O transporte através de NPCs pode ser regulado pelo controle do acesso à maquinaria de transporte



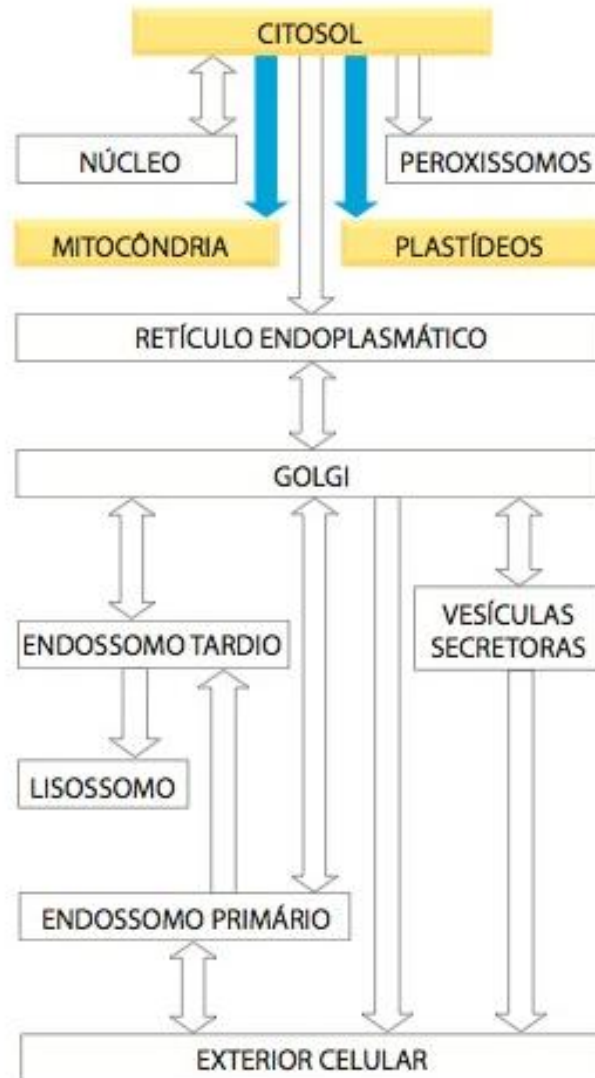
Durante a mitose, o envelope nuclear é desmontado

- A lâmina nuclear, que dá forma e estabilidade ao envelope nuclear, está ancorada por adesão aos NPCs e a proteínas integrais na membrana nuclear interna;
- A lâmina interage com a cromatina;
- Durante a mitose, a lâmina nuclear é fosforilada e despolimeriza-se, os NPCs desmontam-se e dispersam no citosol e o núcleo desagrega-se;
- No final desse processo, algumas proteínas NPC encontram-se ligadas a receptores de importação nuclear;
- As proteínas de membrana do envelope nuclear, não mais ligadas aos NPCs, lâmina ou cromatina, difundem-se pela membrana do RE;

Durante a mitose, o envelope nuclear é desmontado



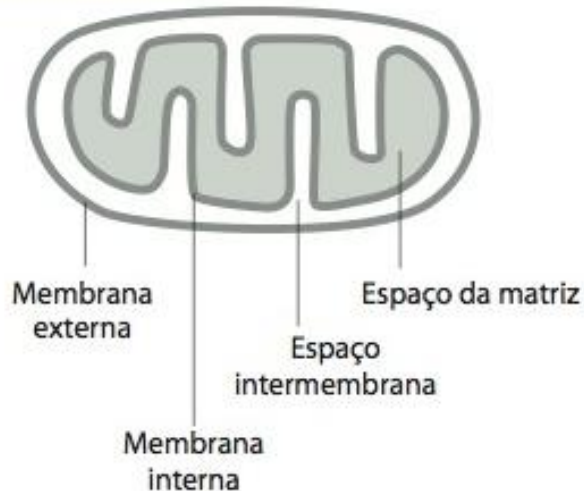
Transporte de proteínas para mitocôndrias e cloroplastos



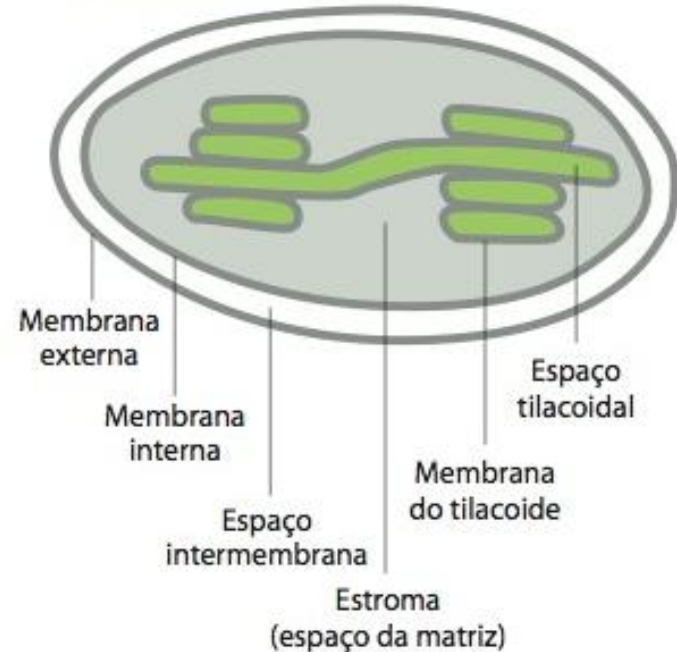
Transporte de proteínas para mitocôndrias e cloroplastos

- Novas mitocôndrias e cloroplastos são produzidos pelo crescimento de organelas preexistentes, seguido de fissão;

(A) MITOCÔNDRIA



(B) CLOROPLASTO

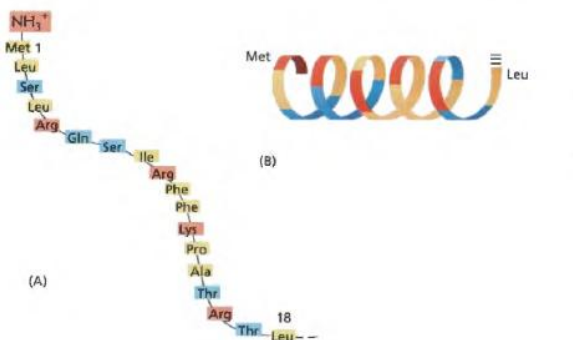


Evidências da origem das mitocôndrias e cloroplastos

- Possuem DNA circular;
- Formam-se por fissão binária, como nas bactérias;
- A inibição da síntese proteica ocorre pelos mesmos antibióticos bacterianos;
- O aminoácido iniciador da síntese proteica é a f-metionina, o mesmo das bactérias;
- São delimitados por dupla membrana, sendo a interna semelhante a das bactérias;
- O coeficiente de sedimentação dos ribossomos é semelhante ao de bactérias;
- Nas mitocôndrias, a presença da proteína *porina* na membrana interna, também encontrada em bactérias;

Transporte de proteínas para mitocôndrias e cloroplastos

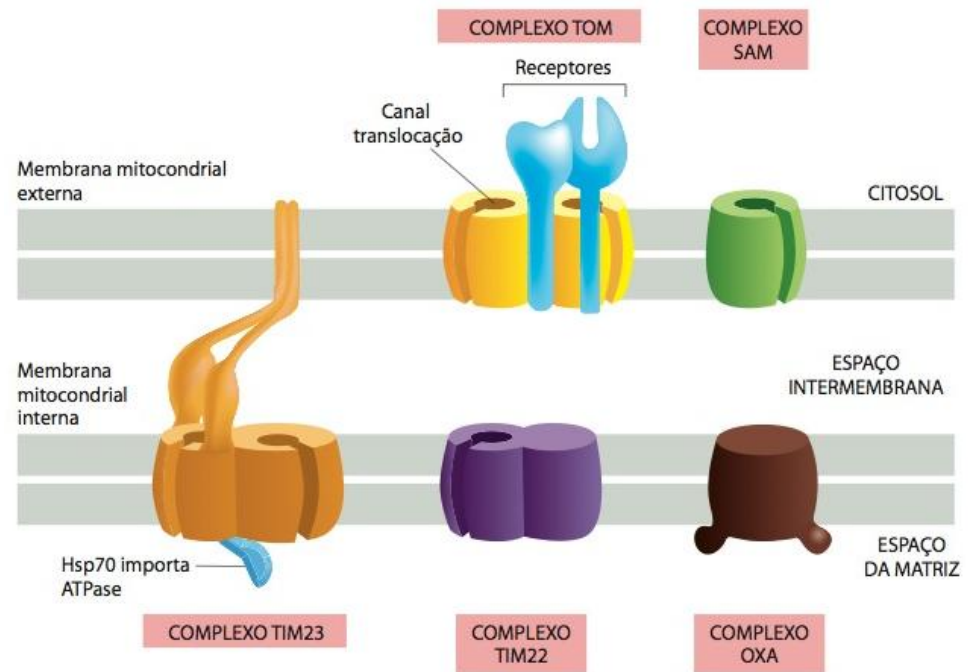
- Proteínas destinadas ao espaço da matriz possuem uma sequência-sinal no N-terminal que é removida por uma peptidase após importação;



- Resíduos carregados positivamente
 - Resíduos apolares
 - Resíduos polares
- Proteínas destinadas às membranas interna e externa e ao espaço intermembrana têm uma sequência-sinal interna que não é removida;
 - Complexos translocadores de proteínas nas membranas externa e interna das mitocôndrias;

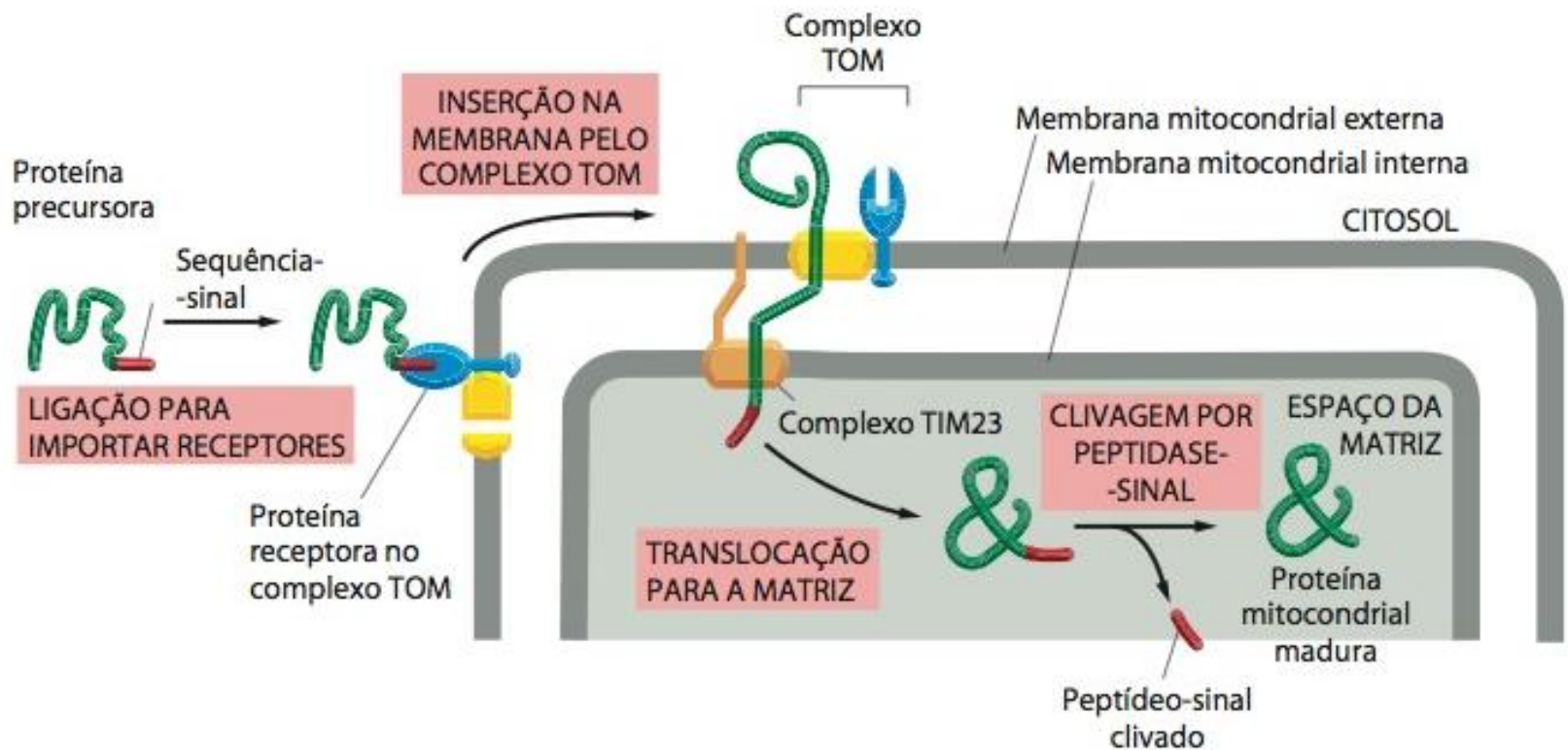
Transporte de proteínas para mitocôndrias e cloroplastos

- **Complexo TOM:** importação de proteínas para as mitocôndrias e inserção de proteínas transmembranas na membrana externa;
- **Complexo SAM:** auxilia no dobramento correto de proteínas barril β na membrana externa;
- **Complexo TIM23:** transporta algumas proteínas para o espaço da matriz e auxilia a inserção de outras na membrana interna;
- **Complexo TIM22:** medeia a inserção de uma subclasse de proteínas (multipassos) na membrana interna, incluindo aquelas que transportam ADP, ATP e fosfato para dentro e fora da mitocôndria;
- **Complexo OXA:** medeia a inserção, na membrana interna, de proteínas que são sintetizadas no interior das mitocôndrias e de algumas que são importadas e que, inicialmente, para o espaço da matriz;



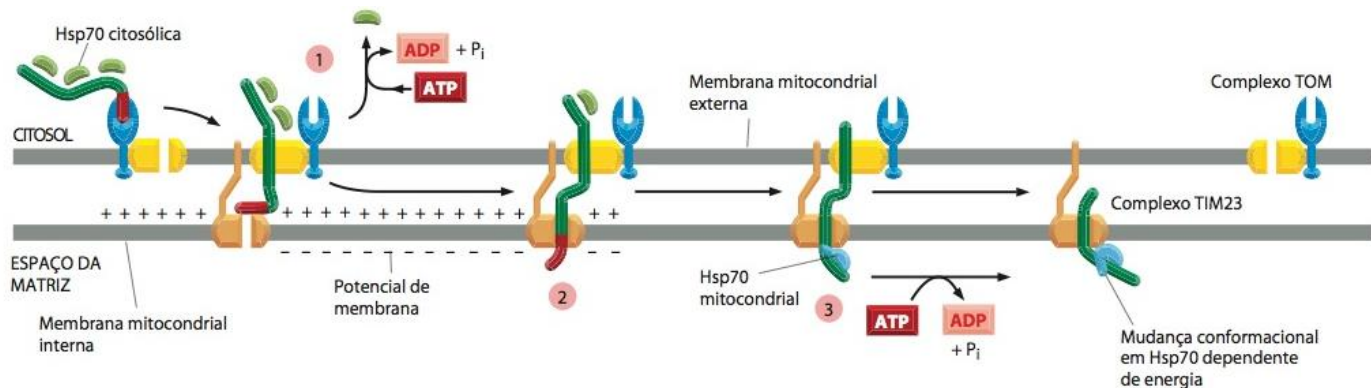
As proteínas precursoras mitocondriais são importadas como cadeias desenoveladas

- Proteínas precursoras mitocondriais encontram-se no citosol na forma desenovelada e, para sua estabilização (evitar agregação e enovelamento espontâneo), estão ligadas a proteínas, principalmente chaperonas da *família Hsp 70*;



A hidrólise de ATP e um potencial de membrana dirigem a importação de proteínas para o espaço da matriz

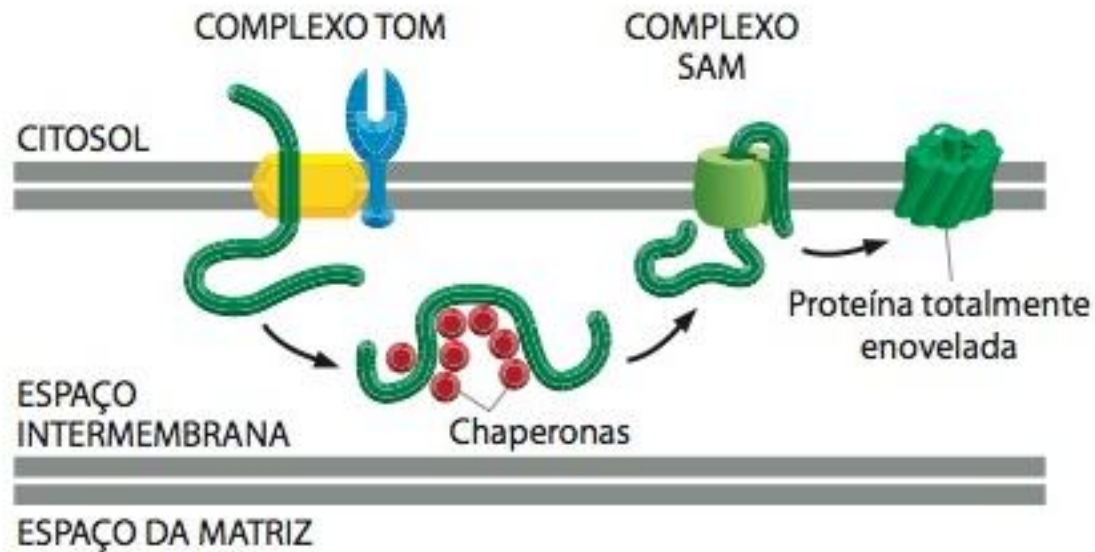
- Energia para importação de proteínas precursoras – hidrólise de ATP e potencial de membrana:
 1. Liberação das proteínas precursoras das *chaperonas Hsp 70* e ligação ao complexo TOM;
 2. Uma vez ligadas ao complexo TIM, a continuidade do transporte depende de um potencial de membrana (gradiente H^+ através da membrana interna);
 3. Uma vez ligadas às proteínas *Hsp 70 mitocondriais* a liberação das proteínas no espaço da matriz é dependente da hidrólise de ATP;
- Essas proteínas importadas são enoveladas por *chaperonas Hsp 60*, por meio de ligação e liberação através de ciclos de hidrólise de ATP;



hsp_70.swf

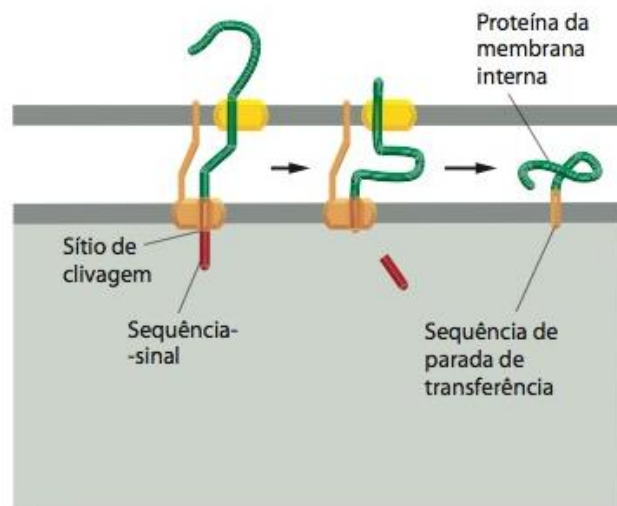
Bactérias e mitocôndrias usam mecanismos similares para inserir porinas em suas membranas externas

- O complexo TOM não pode integrar porinas (barril β) na membrana externa, isso é feito pelo complexo SAM (bactérias têm uma proteína homóloga);

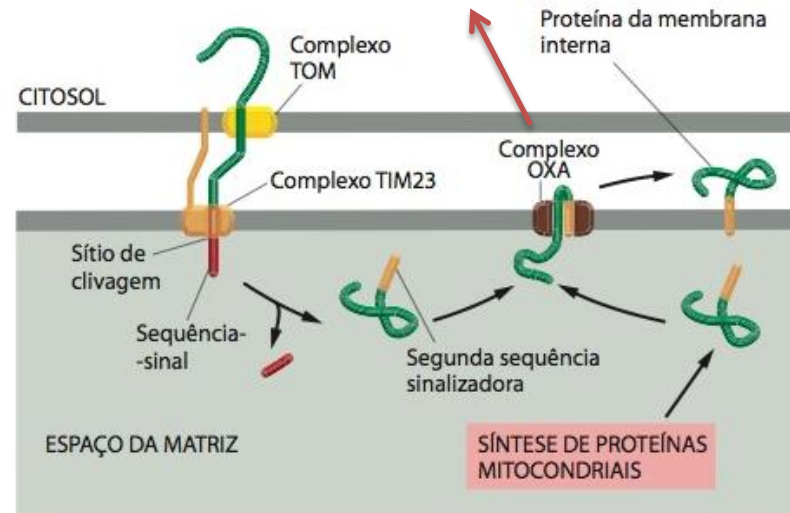


O transporte para a membrana mitocondrial interna e o espaço intermembrana ocorre por meio de algumas vias

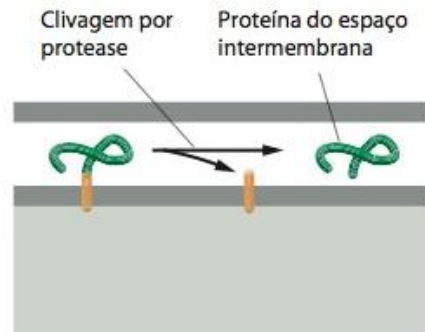
Proteínas relacionadas em bactérias e tilacóides.



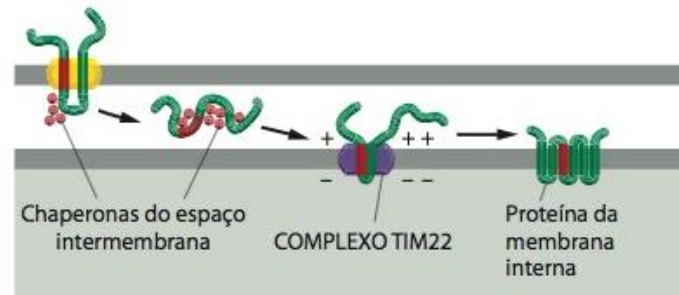
(A)



(B)



(C)



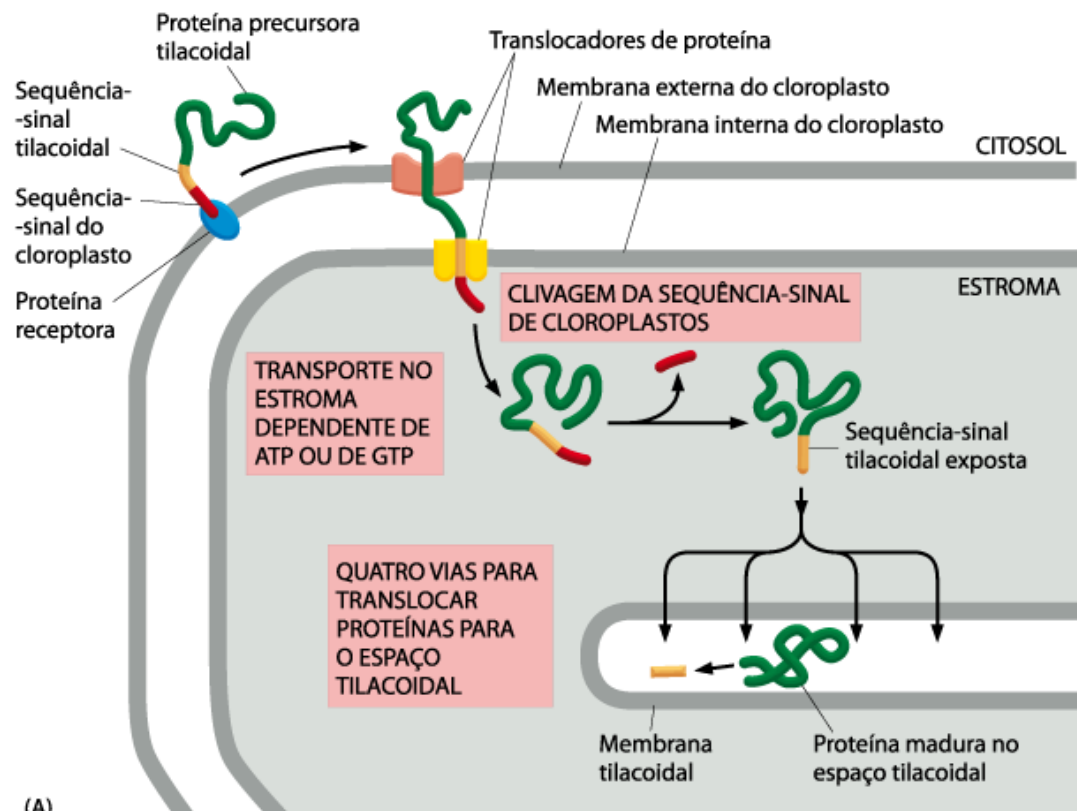
(D)

O transporte para a membrana mitocondrial interna e o espaço intermembrana ocorre por meio de algumas vias

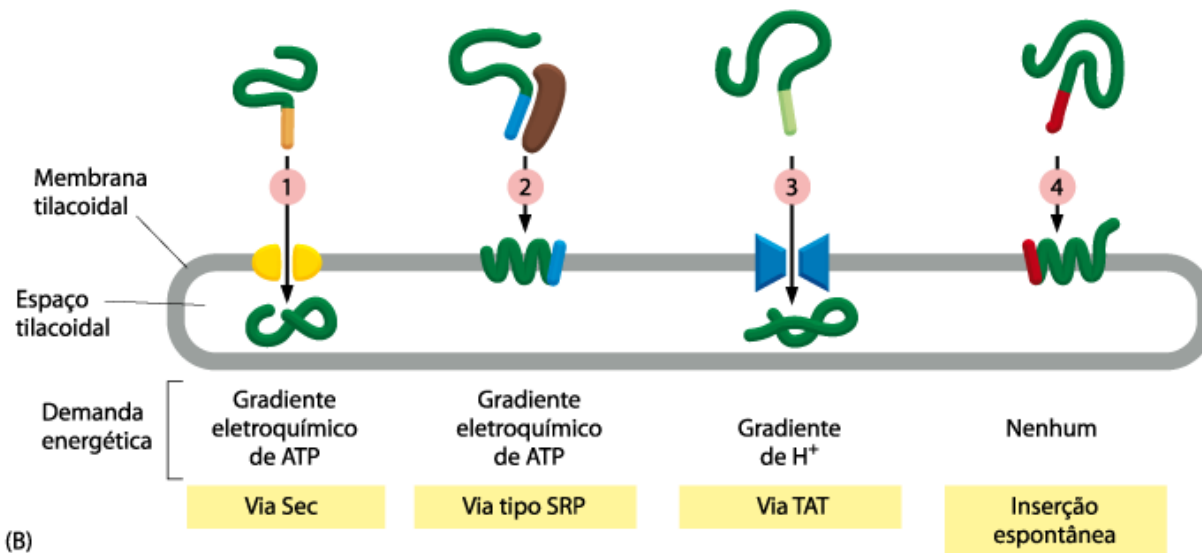
- Transporte de pequenas moléculas através das membranas mitocondriais:
 1. **Membrana externa:** as porinas são livremente permeáveis a pequenas moléculas;
 2. **Membrana interna:** uma família de proteínas transportadoras metabólitos-específica;

Duas sequências-sinal direcionam proteínas para a membrana tilacoidal em cloroplastos

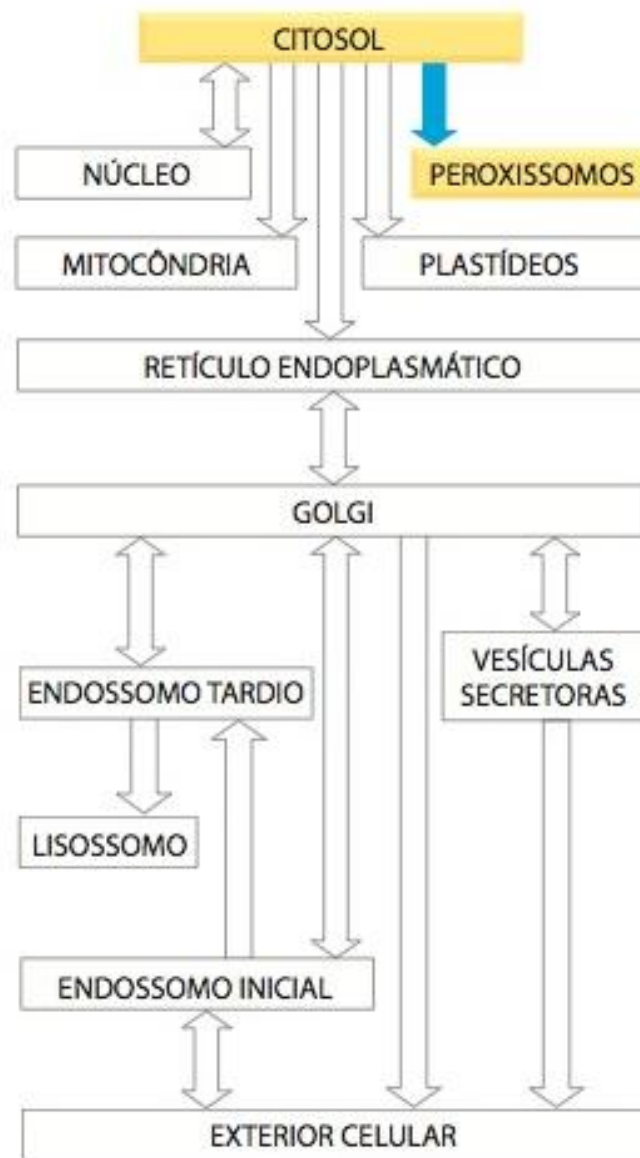
- Transporte de proteínas em cloroplastos:
 1. Apresentam os mesmo complexos proteicos de translocação (diferentes sequências-sinal, de proteínas mitocondriais e plastidiais, podem ser reconhecidas);
 2. Apresentam diferentes chaperonas;
 3. Gradiente eletroquímico de H^+ através dos tilacóides;
 4. Utilizam GTP e ATP para importação através da sua membrana dupla;
- Subunidades de proteínas envolvidas no processo fotossintético e da ATP-sintase estão localizadas nos tilacóides de cloroplastos. Transporte em duas etapas:
 1. Para o estroma;
 2. Para a membrana tilacoidal (sequência tilacoidal) ou para dentro do espaço do tilacóide;



(A)

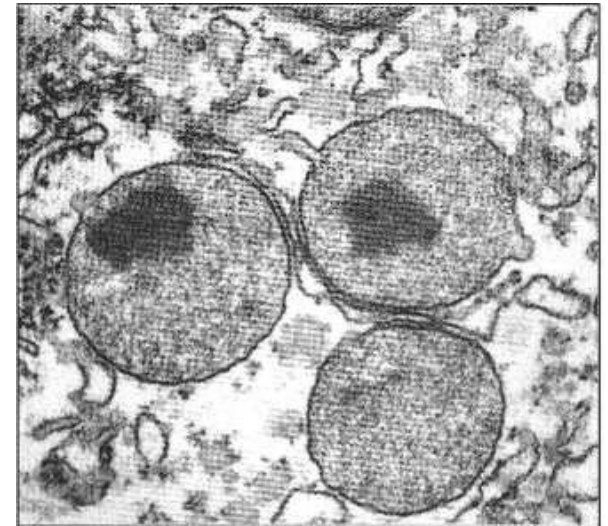


(B)



Peroxisomos

- Todas as células eucarióticas possuem peroxissomos;
- Apresentam altas concentrações de enzimas oxidativas, como catalase e urato-oxidase que levam a formação de núcleo cristalóide;
- Peroxisomos e mitocôndrias são os principais sítios de utilização de oxigênio;
- Acredita-se que peroxissomos sejam um vestígio de uma organela ancestral que realizava todo o metabolismo de oxigênio nos ancestrais primitivos das células eucarióticas;
- Os peroxissomos podem ter servido para reduzir a concentração de O_2 intracelular, enquanto também utilizavam sua reatividade química para fazer reações oxidativas úteis;
- O desenvolvimento posterior das mitocôndrias tornou os peroxissomos bastante obsoletos, pois a maioria das reações oxidativas passaram a ocorrer nas mitocôndrias acopladas com a formação de ATP;

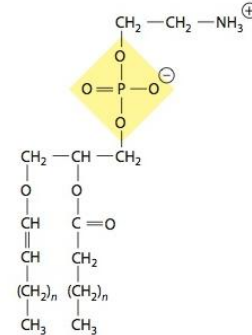


Peroxisomos

- Enzimas oxidativas: $\text{RH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{R} + \text{H}_2\text{O}_2$
- A catalase utiliza o H_2O_2 gerado por outras enzimas na organela para oxidar uma variedade de outros substratos incluindo fenóis, ácido fórmico, formaldeído e álcool pela reação peroxidativa: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{R}'\text{H}_2 \rightarrow \text{R}' + 2\text{H}_2\text{O}$
- Esse tipo de reação oxidativa é particularmente importante nas células do fígado e dos rins, onde ocorre a destoxificação da maioria das moléculas que entram na corrente sanguínea;
- O excesso de H_2O_2 na célula é convertido em H_2O pela catalase: $2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$
- Oxidação dos ácidos graxos (oxidação β) à acetil-coenzima A (acetil-coA);
- Em células de mamíferos a oxidação β ocorre nos peroxissomos e nas mitocôndrias;
- Em levedura e em células vegetais a oxidação β ocorre somente nos peroxissomos;

Peroxisomos

- Primeiras reações de síntese de plasmalogênios (fosfoglicerídeos) ocorre nos peroxissomos;
- Peroxisomos em plantas:
 1. **Nas folhas:** participam da fotorrespiração;
 2. **Nas sementes em germinação:** participam do ciclo do glioxilato (glioxissomos);

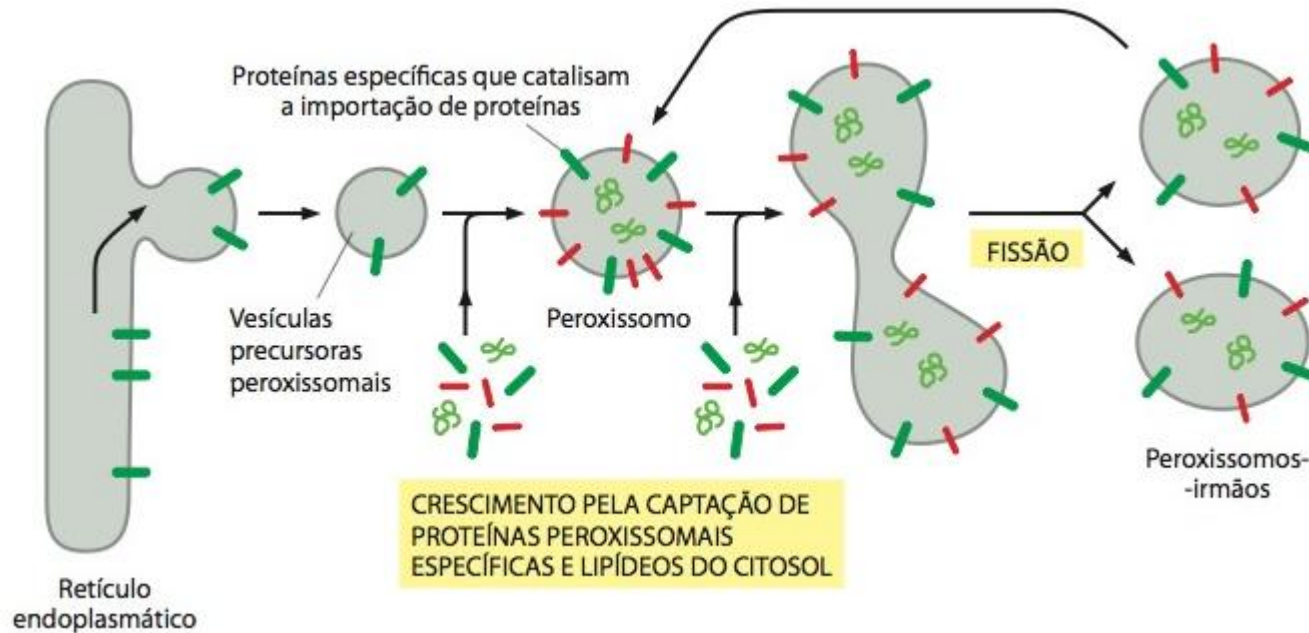


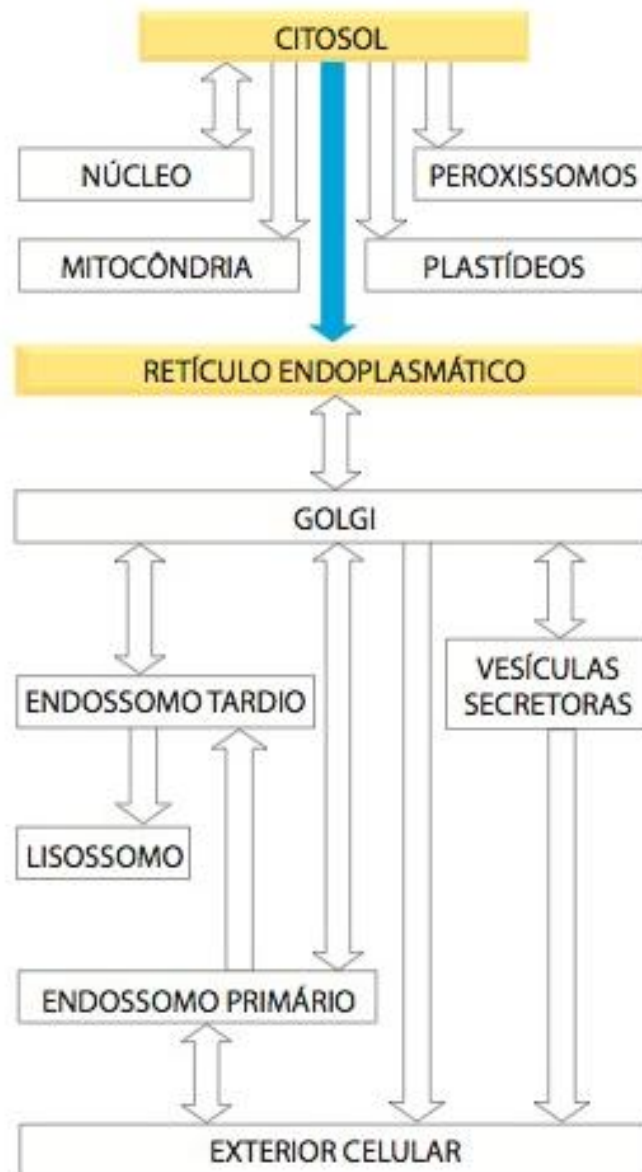
Acetil-coA → Ácido succínico → Glicose

- Sequência de endereçamento: Em muitas proteínas uma sequência específica de 3 aminoácidos encontra-se no **C-terminal (Ser, Lys, Leu)**, em outras o sinal encontra-se no N-terminal;
- Endereçamento: proteínas receptoras no citosol e proteínas de acoplamento na superfície dos peroxissomos, chamadas de **peroxinas**;
- Complexo de pelo menos 6 peroxinas diferentes (proteínas translocadoras);
- Pelo menos uma peroxina (Pex5) acompanha sua carga até o interior dos peroxissomos;

Peroxisomos

- Peroxisomos originam-se como vesículas precursoras do RE e a maioria das suas proteínas é importada a partir do citosol;
- Vesículas precursoras podem fundir-se umas as outras, importar proteínas adicionais e tornar-se um peroxissomo maduro que podem entrar no ciclo de crescimento e fissão;



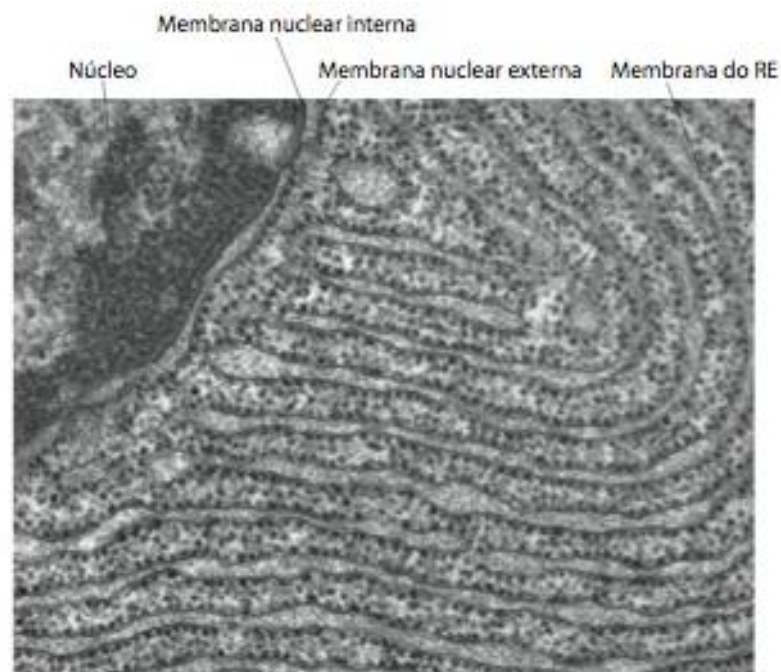


Retículo endoplasmático

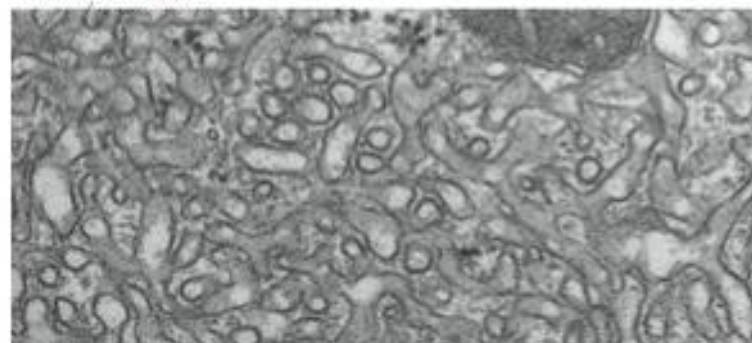
- Todas as células eucarióticas possuem um reticulo endoplasmático (RE);
- Labirinto de túbulos ramificados e de vesículas achatadas que se estendem através do citosol;
- **Retículo endoplasmático rugoso (RER) e Retículo endoplasmático liso (REL);**
- **RE transicional:** áreas do RE liso a partir das quais vesículas carregando proteínas recém-sintetizadas e lipídeos se desprendem para transporte até o aparelho de Golgi;

Retículo endoplasmático

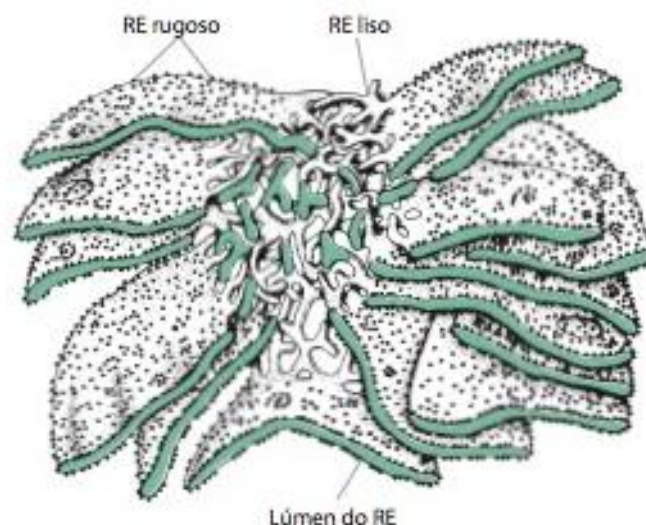
- A membrana do RE é o sítio de produção para:
 1. **Síntese de todas as proteínas transmembrana e lipídeos para a maioria das organelas celulares (RE, aparelho de Golgi, lisossomos, endossomos, vesículas secretoras) e membrana plasmática;**
 2. **Síntese da maioria dos lipídeos para membranas mitocondriais e peroxissomais;**
 3. **Quase todas as proteínas que serão secretadas para o exterior celular acompanhadas daquelas destinadas ao lúmen do RE, ao aparelho de Golgi ou aos lisossomos;**



(A)
Membrana do RE



(B)
200 nm

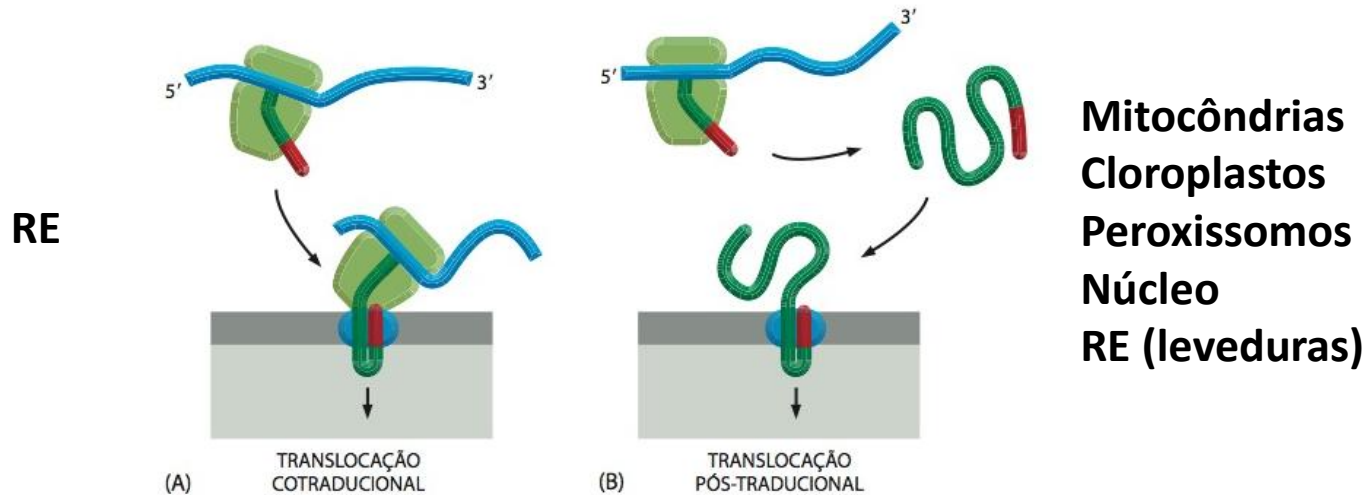


(C)

Figura 12-36 RE rugoso e liso. (A) Uma micrografia eletrônica de um RE rugoso em uma célula pancreática exócrina que diariamente produz e secreta grandes quantidades de enzimas digestivas. O citosol está preenchido com camadas empacotadas de membranas de RE ornadas com ribossomos. Em cima e à esquerda está mostrada uma porção do núcleo e seu envelope nuclear; note que a membrana nuclear externa, que é contínua com o RE, também está ornada com ribossomos. (B) RE liso abundante em uma célula secretora de hormônio esteroide. Esta micrografia eletrônica é de uma célula de Leydig secretora de testosterona em testículo humano. (C) Uma reconstrução tridimensional de uma região do RE liso e RE rugoso em uma célula de fígado. O RE rugoso forma pilhas orientadas de cisternas achatadas, cada uma possuindo um espaço luminal de 20 a 30 nm. A membrana do RE liso está conectada a estas cisternas e forma uma fina rede de túbulos de 30 a 60 nm de diâmetro. (A, cortesia de Lelio Orci; B, cortesia de Daniel S. Friend; C, de R. V. Krsti, *Ultraestrutura da Célula de Mamífero*. New York: Springer-Verlag, 1979.)

Retículo endoplasmático

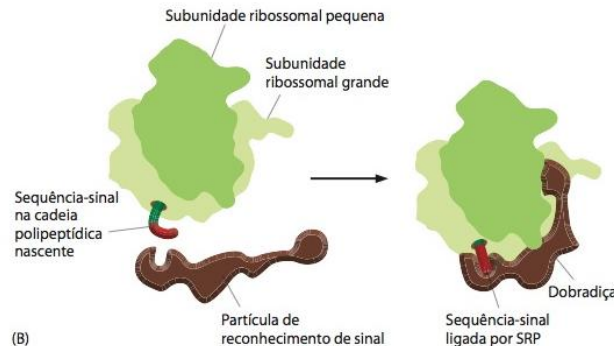
- A importação de proteínas para o RE é um processo cotraducional;



- RE liso (hepatócitos) - síntese de lipoproteínas e reações para destoxificar substâncias lipossolúveis e compostos danosos produzidos pelo metabolismo) do organismo;
- A família de enzimas *citocromo P450* transforma substâncias lipossolúveis em substâncias hidrossolúveis, que deixam as células e são excretadas na urina;
- Quando células são rompidas, o RE fragmenta-se e recompõe-se em pequenas vesículas chamadas **microsossomos**;

Retículo endoplasmático

- O endereçamento de proteínas desenvolveu-se cedo durante a evolução e tem sido conservado.
- As **sequências-sinal do RE** variam na sequência de aminoácidos (16- 30) , mas cada uma possui 8 ou mais aminoácidos apolares no seu centro;
- **Partícula de endereçamento de sinal (SRP)**: ribonucleoproteínas – 6 cadeias polipeptídicas e RNA de 300 nucleotídeos;

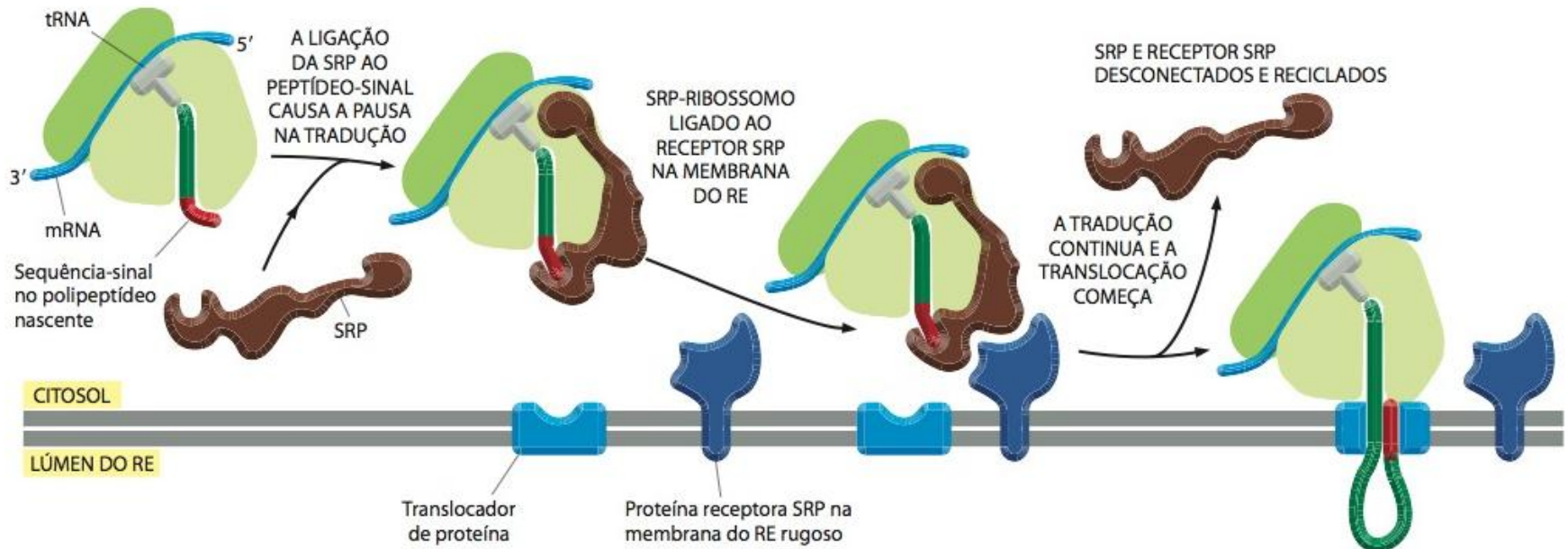
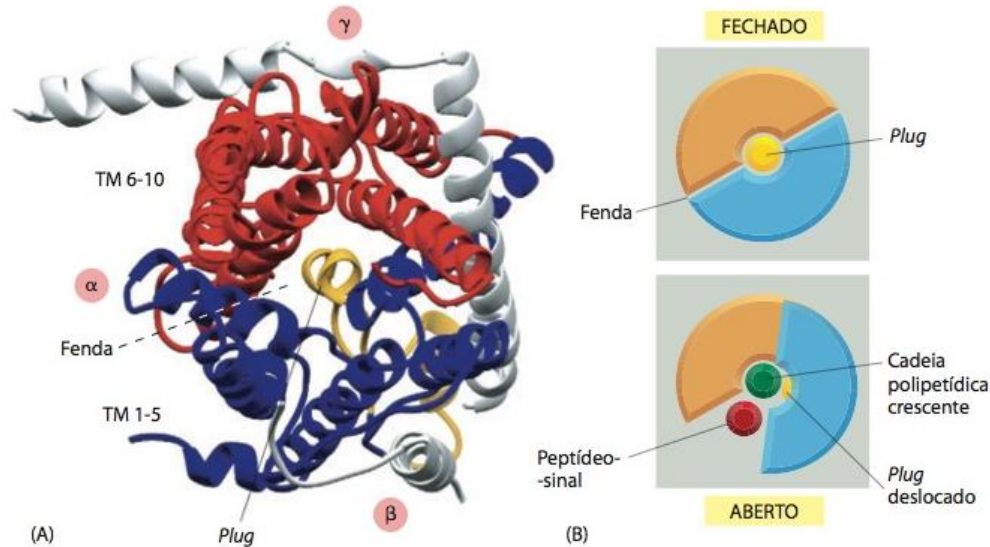


bbc1_16_rer_sintese_proteinas_soluveis.swf

- Receptor de SRP: membrana do RE (face citosólica);
- Translocador: centro do translocador – 3 subunidades protéicas (Sec61);
- Peptidase-sinal: membrana do RE, associada ao translocador;

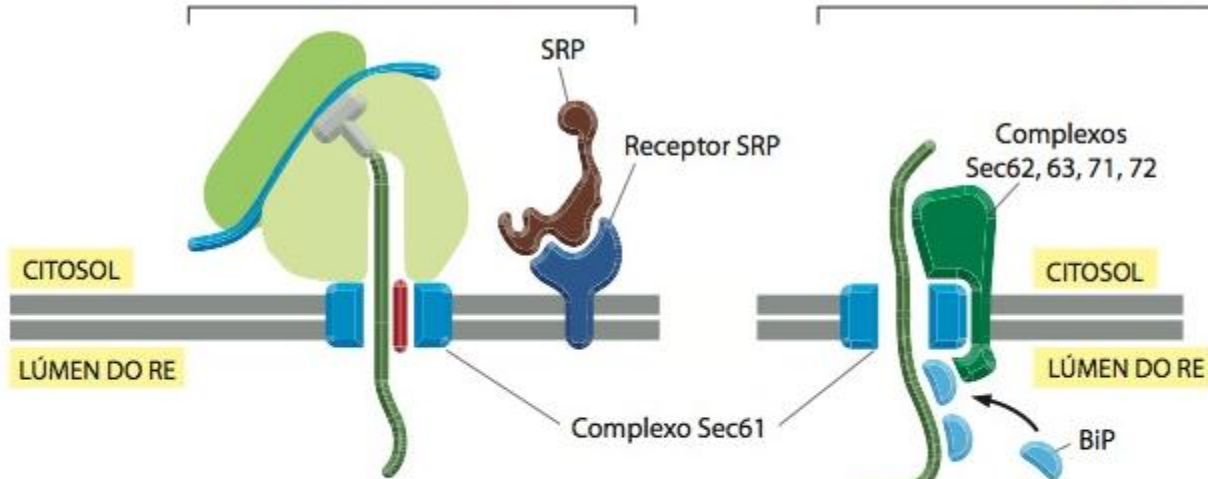
Retículo endoplasmático

Sec61 - centro do translocador da membrana do RE



Retículo endoplasmático

TRANSLOCAÇÃO COTRADUCIONAL



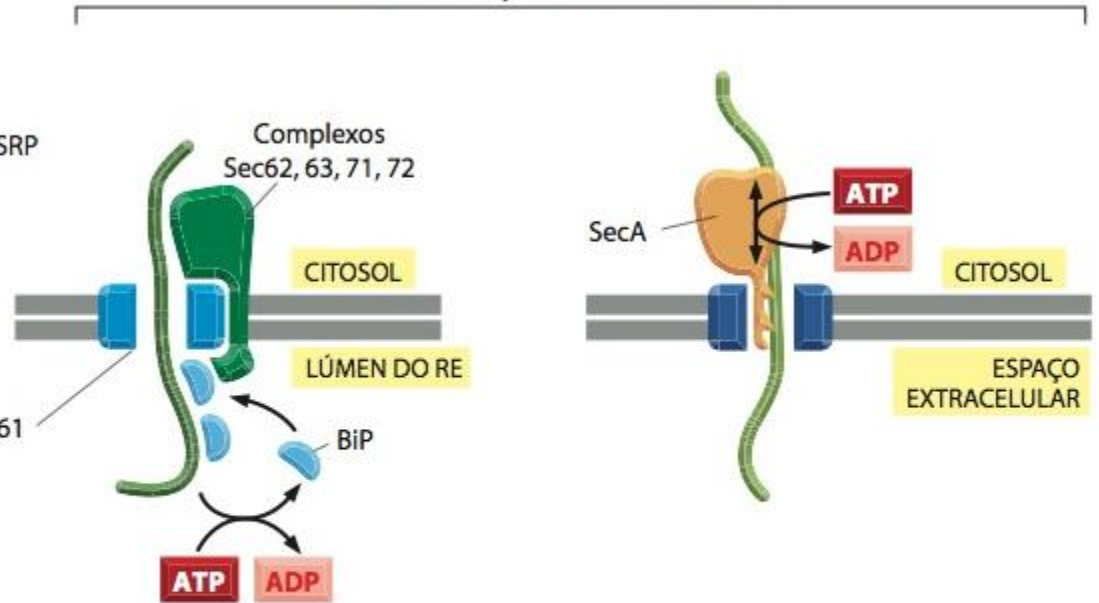
BACTÉRIA

ARQUEBACTÉRIA

EUCARIOTOS

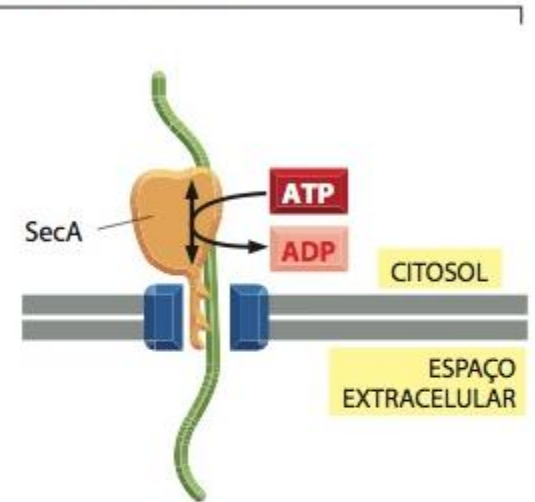
(A)

TRANSLOCAÇÃO PÓS-TRADUCIONAL



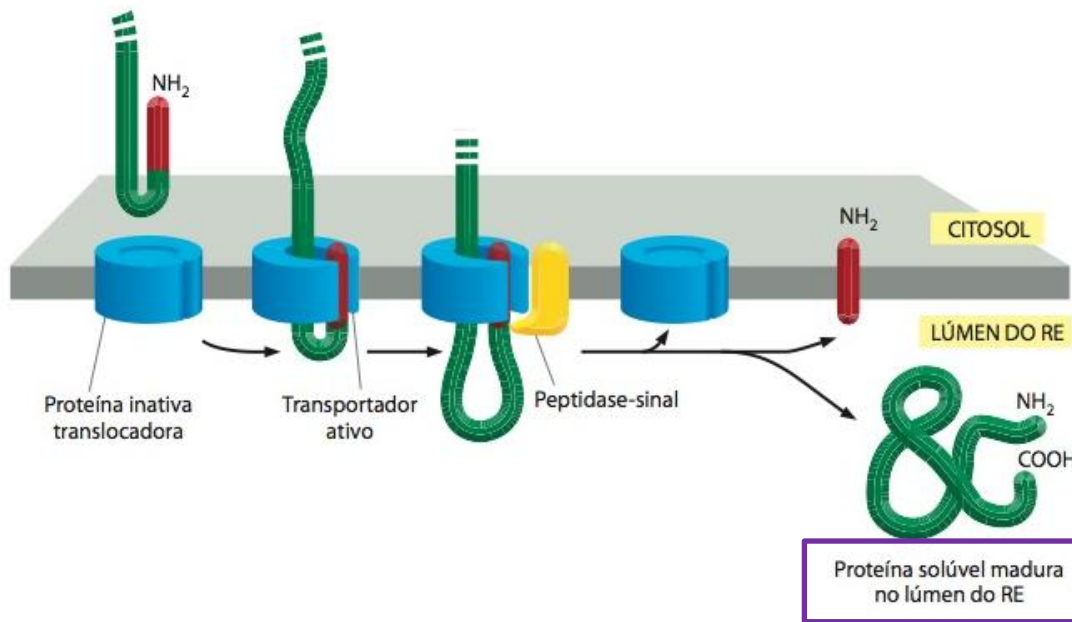
EUCARIOTOS

(B)



BACTÉRIA

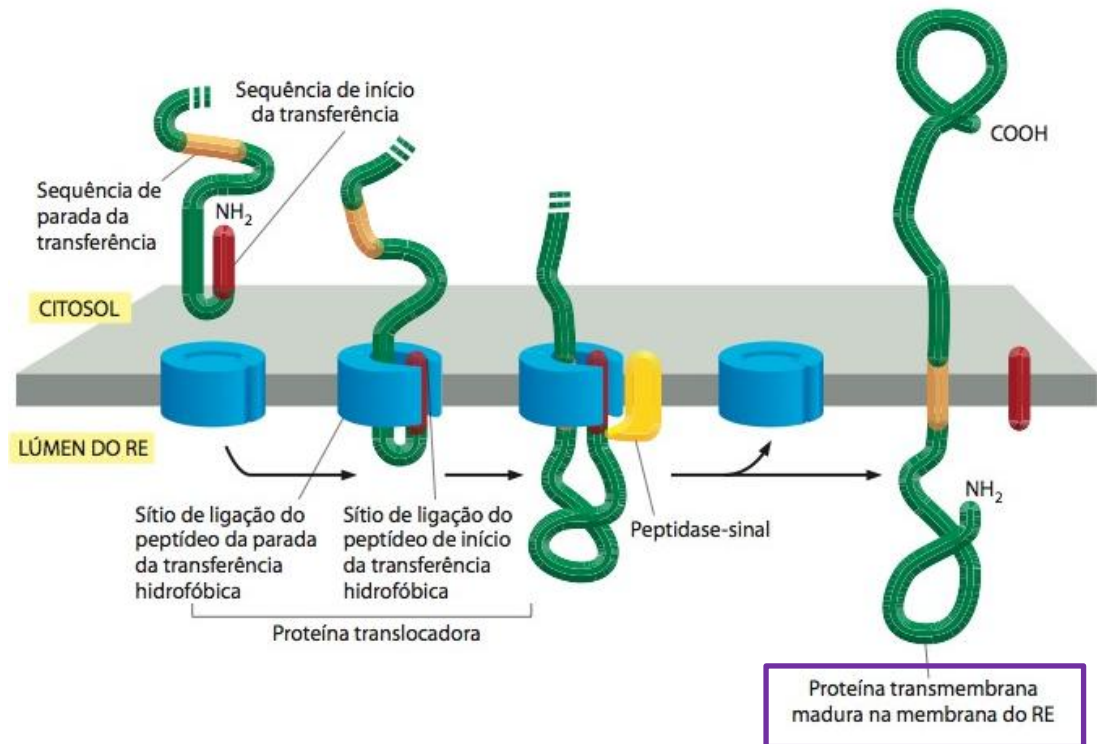
(C)



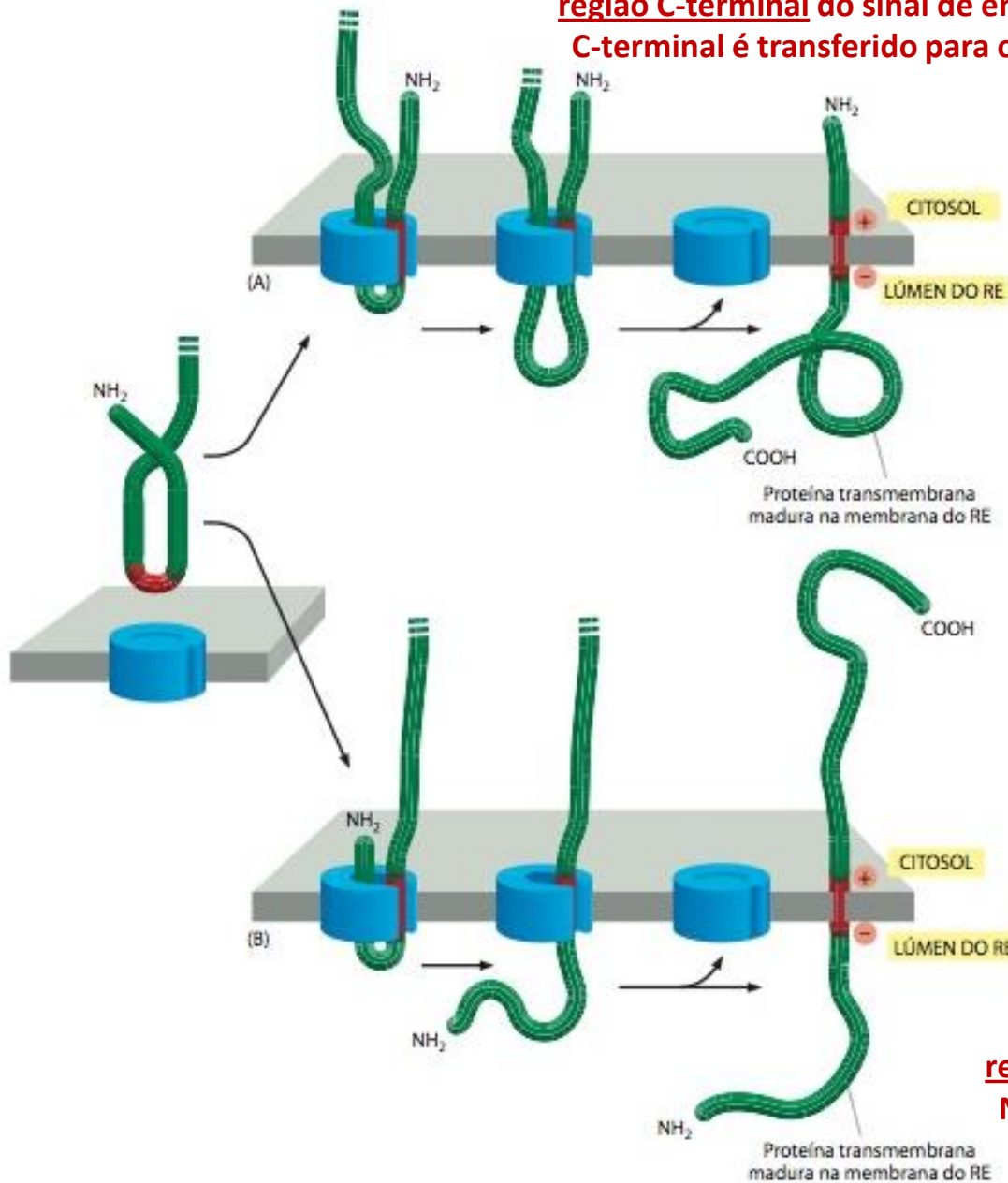
Translocação de proteínas hidrosolúveis através da membrana do RE

Translocação parcial de proteínas de membrana através da membrana do RE

A) Proteína *unipasso* com sinal de endereçamento no N-terminal



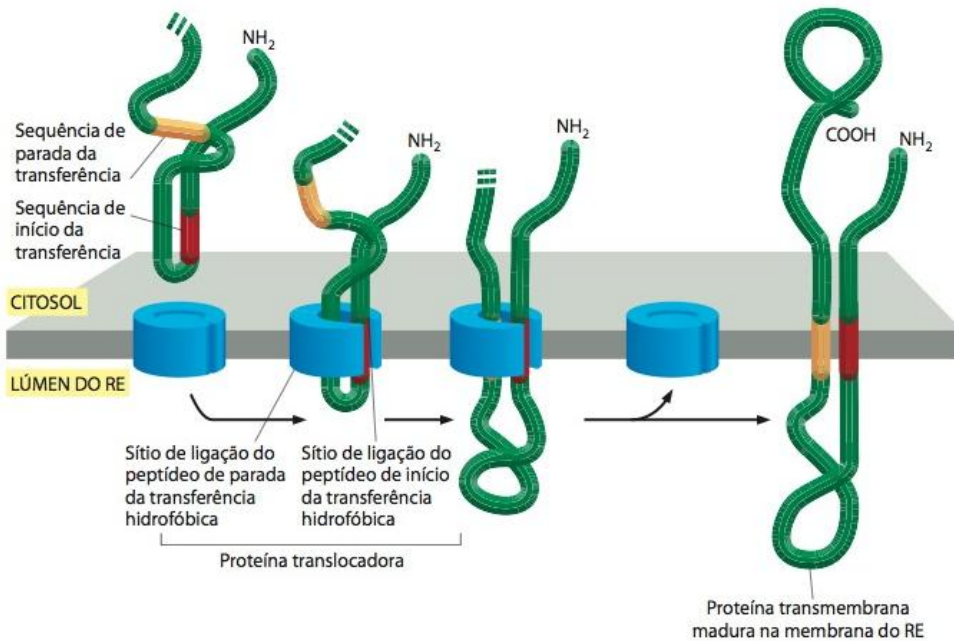
Aminoácidos carregados positivamente na região C-terminal do sinal de endereçamento:
C-terminal é transferido para o lúmen do RE



Translocação parcial de proteínas de membrana através da membrana do RE

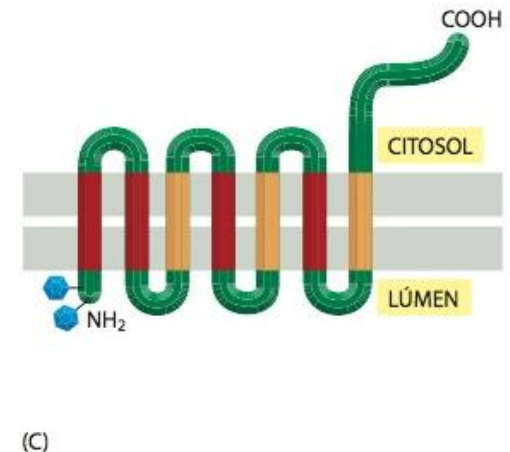
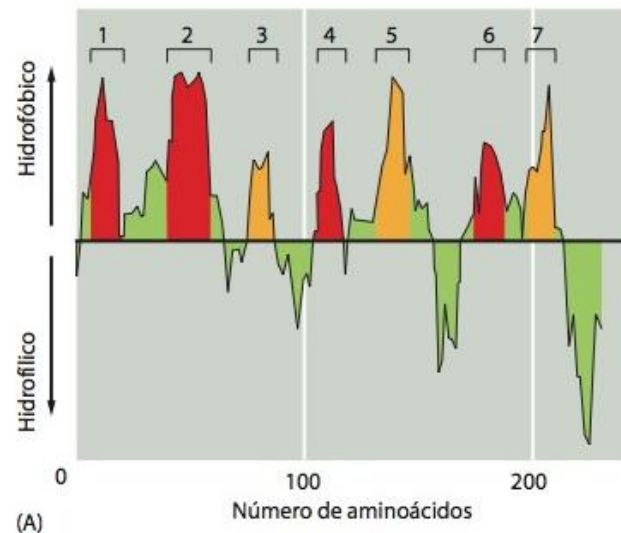
B) Proteína *unipasso* com sinal de endereçamento interno

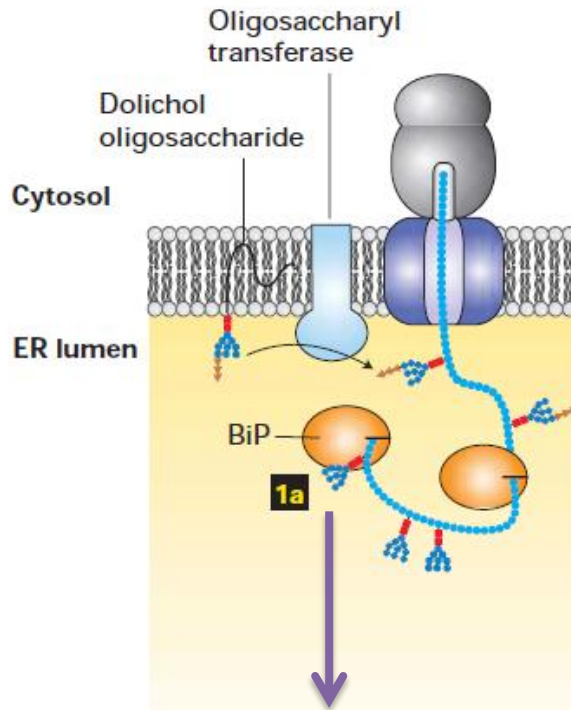
Aminoácidos carregados positivamente na região N-terminal do sinal de endereçamento:
N-terminal é transferido para o lúmen do RE



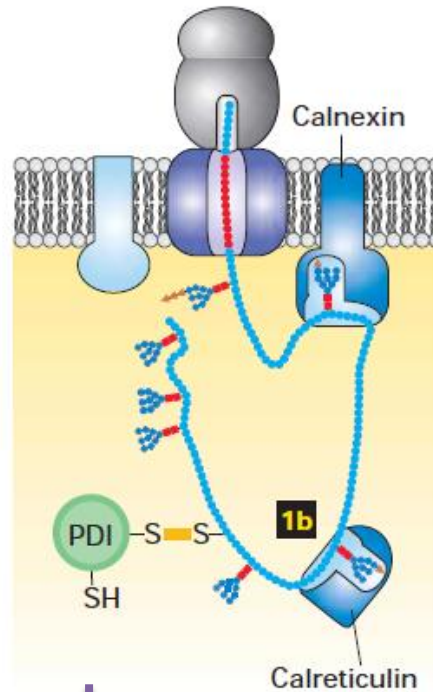
Translocação parcial de proteína *multipasso* de membrana através da membrana do RE

OBS.: A maneira como uma proteína recém-sintetizada é inserida na membrana do RE determina como será sua orientação em outras membranas



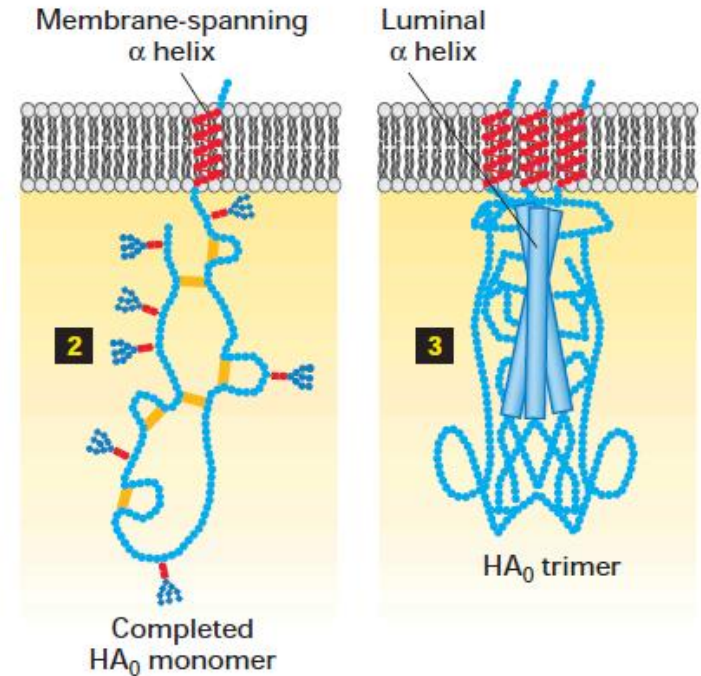


Chaperona da família Hsp 70:
 Importação de proteínas no RE,
 enovelamento e formação de
 complexos oligoméricos



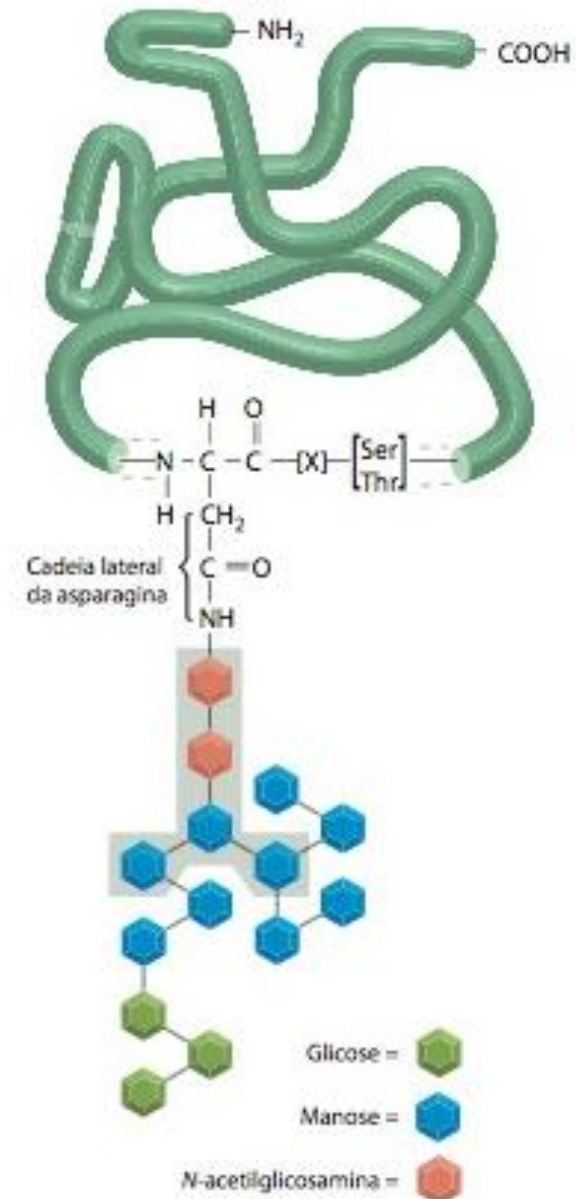
Proteína dissulfeto isomerase (organelas
 envolvidas em vias secretoras e espaço
 extracelular)

**Calnexina e calreticulina são chaperonas que se
 ligam a carboidratos em proteínas
 incompletamente enoveladas**

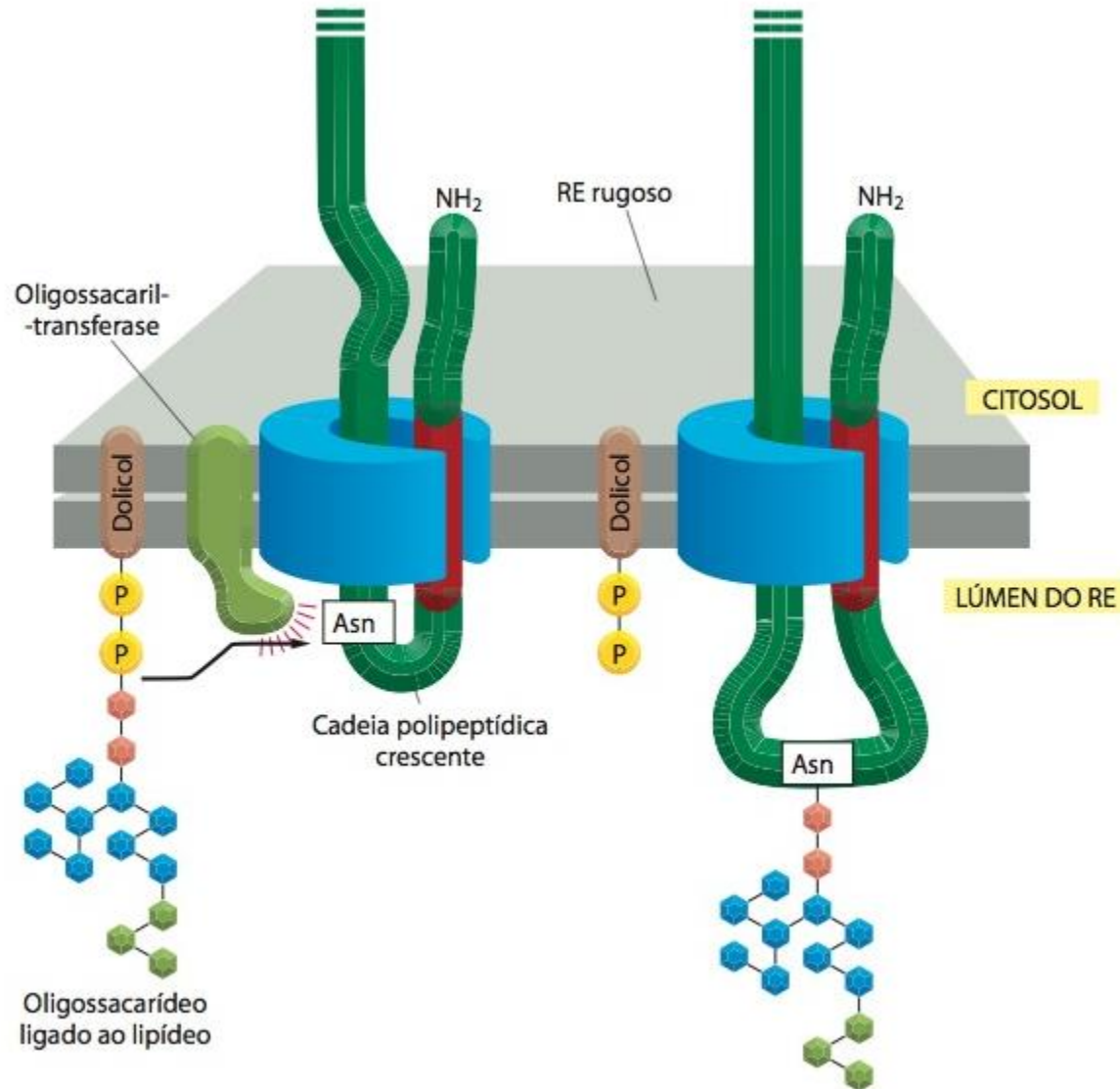


Retículo endoplasmático

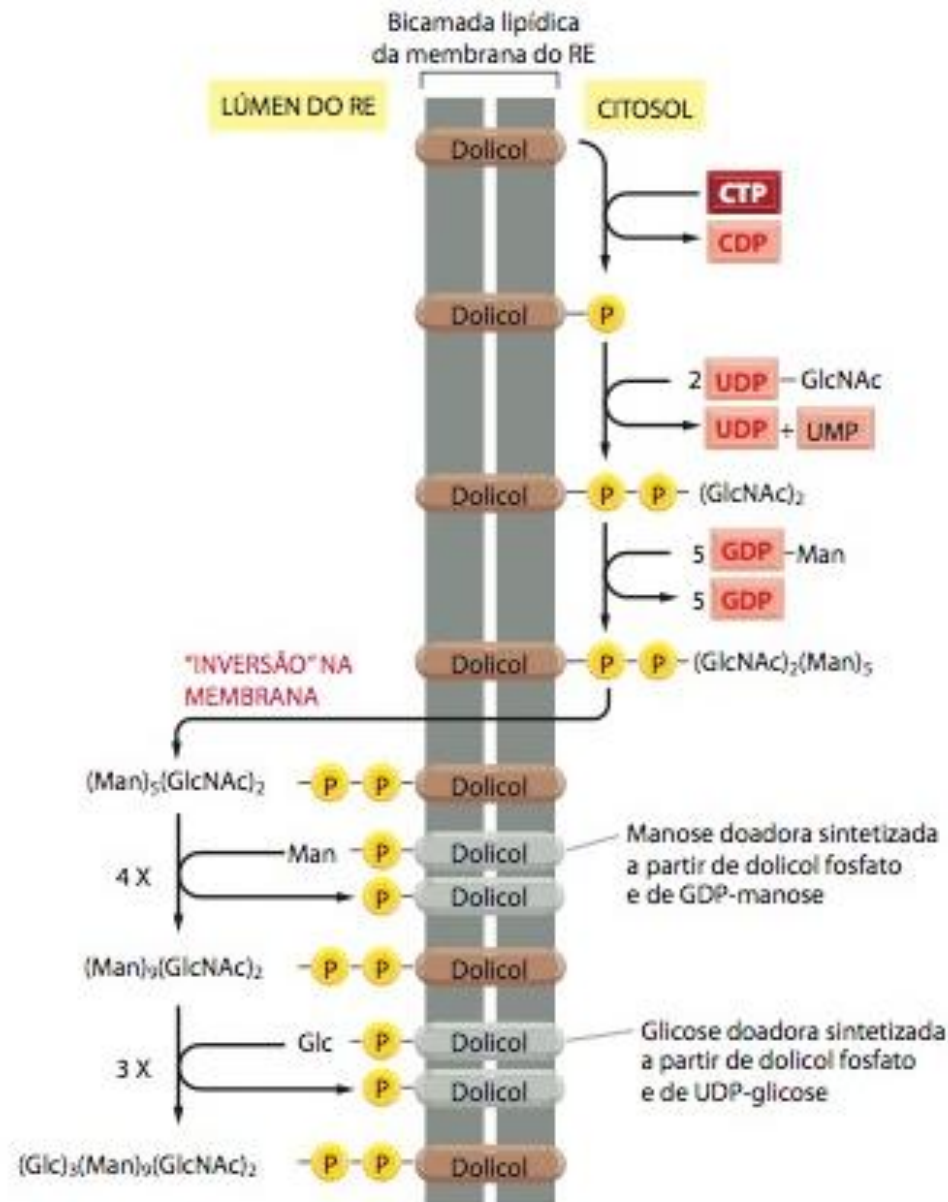
- RER adiciona covalentemente cadeias de açúcares a proteínas;
- Cerca de metade das proteínas eucarióticas é glicosilada;
- A maioria das proteínas (hidrossolúveis e de membrana) sintetizadas no RER é **glicosilada**;
- A maioria das proteínas citosólicas não é glicosilada ou apresenta uma glicosilação simples, adição de uma *N*-acetilglicosamina a um resíduo de Ser ou Thr de uma cadeia polipeptídica – **O-GlcNAc**;
- ***N*-glicosilação** no lúmen do RER: transferência de um **oligossacarídeo precursor** pela enzima **oligossacaril-transferase** do lípido **dolicol** para a cadeia lateral de um **resíduo de Asn** de uma cadeia polipeptídica nascente;



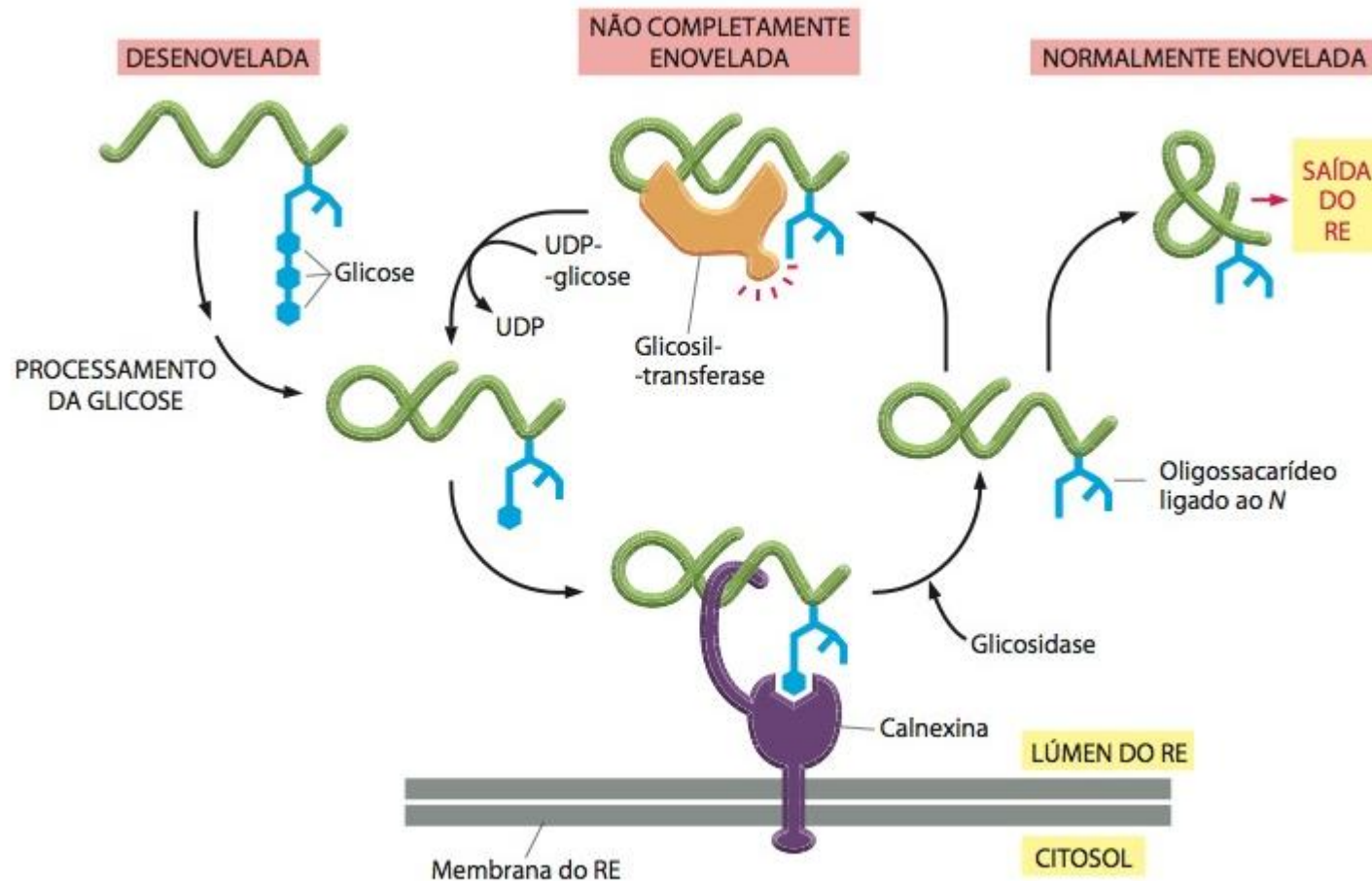
Glicosilação proteica no retículo endoplasmático



Glicosilação proteica no retículo endoplasmático



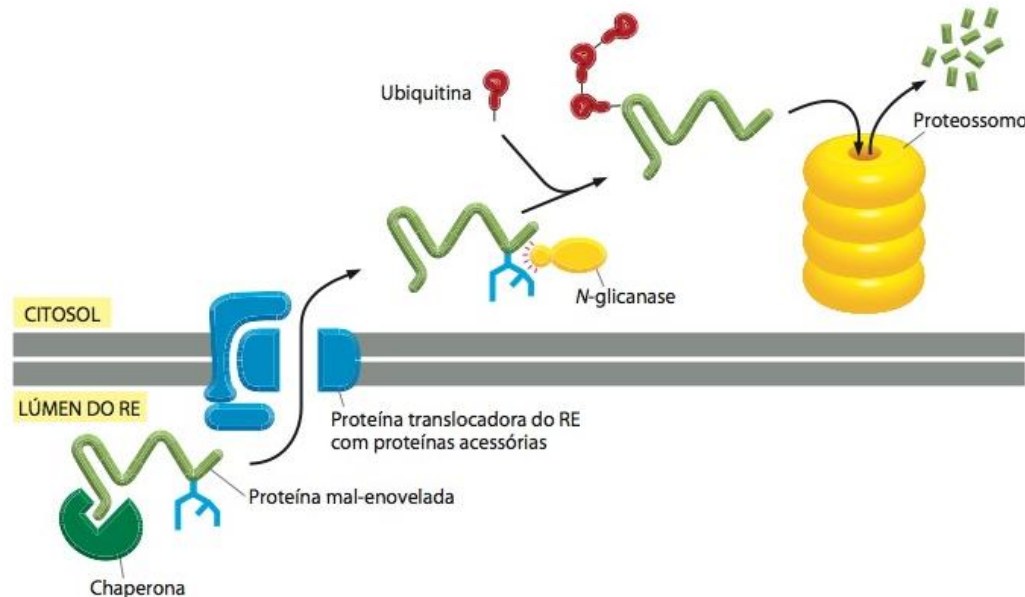
Glicosilação proteica no retículo endoplasmático



Calnexina e calreticulina são chaperonas que se ligam a carboidratos em proteínas incompletamente enoveladas

Glicosilação proteica no retículo endoplasmático

- Muitas transportadas para o RE falham na tentativa de alcançar seu enovelamento ou estado oligomérico adequado;
- Tais proteínas são exportadas de volta para o citosol, onde serão degradadas, por um mecanismo de *retranslocação*, também chamado de *deslocamento*;
- Oligossacarídeos *N*-ligados ajudam a diferenciar proteínas mal-enoveladas, que devem ser degradadas, de proteínas enoveladas corretamente;
- Esses glicanos funcionam como um cronômetro de quanto tempo uma proteína deve permanecer no RE;



Retículo endoplasmático

- Acúmulo de proteínas desenoveladas no citosol e no RE desencadeia um **resposta ao choque térmico** (*heat-shock response*) que aumenta a transcrição de genes que codificam para cheperonas, que auxiliam no renovelamento de proteínas;

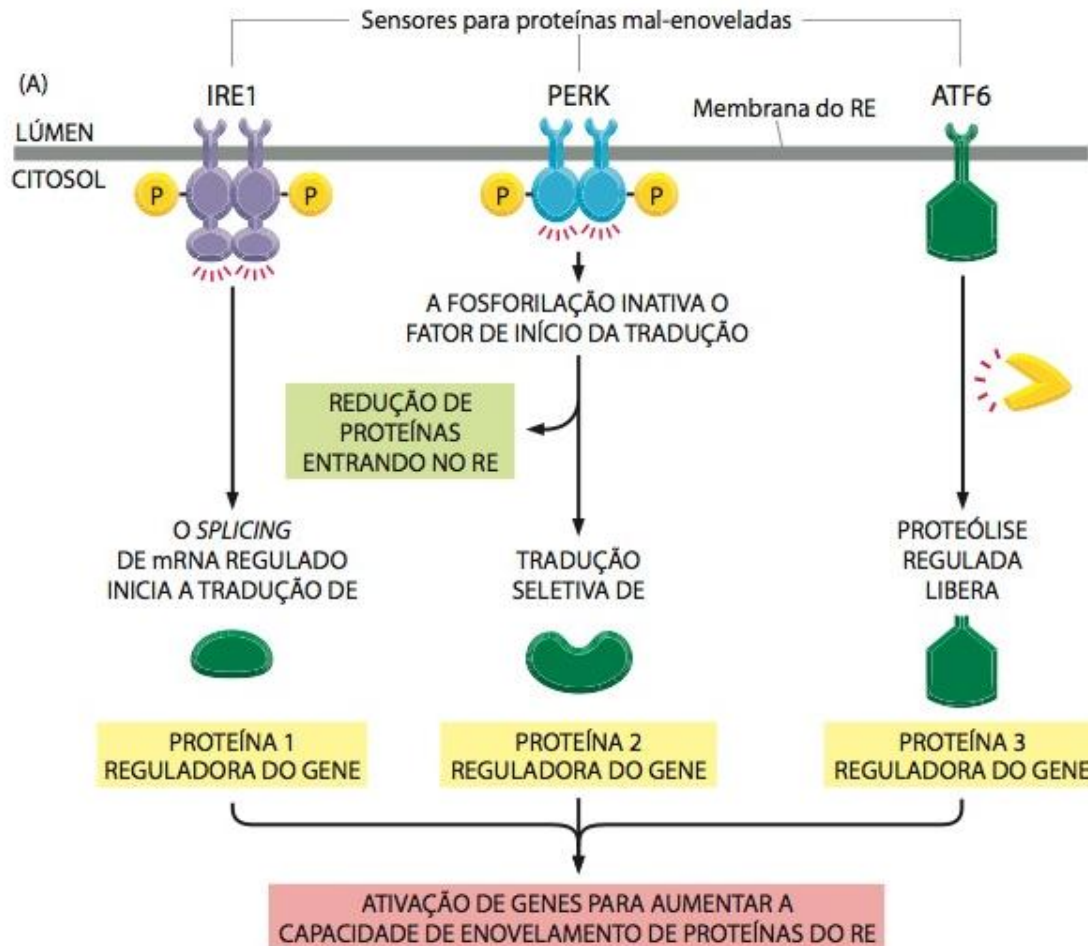
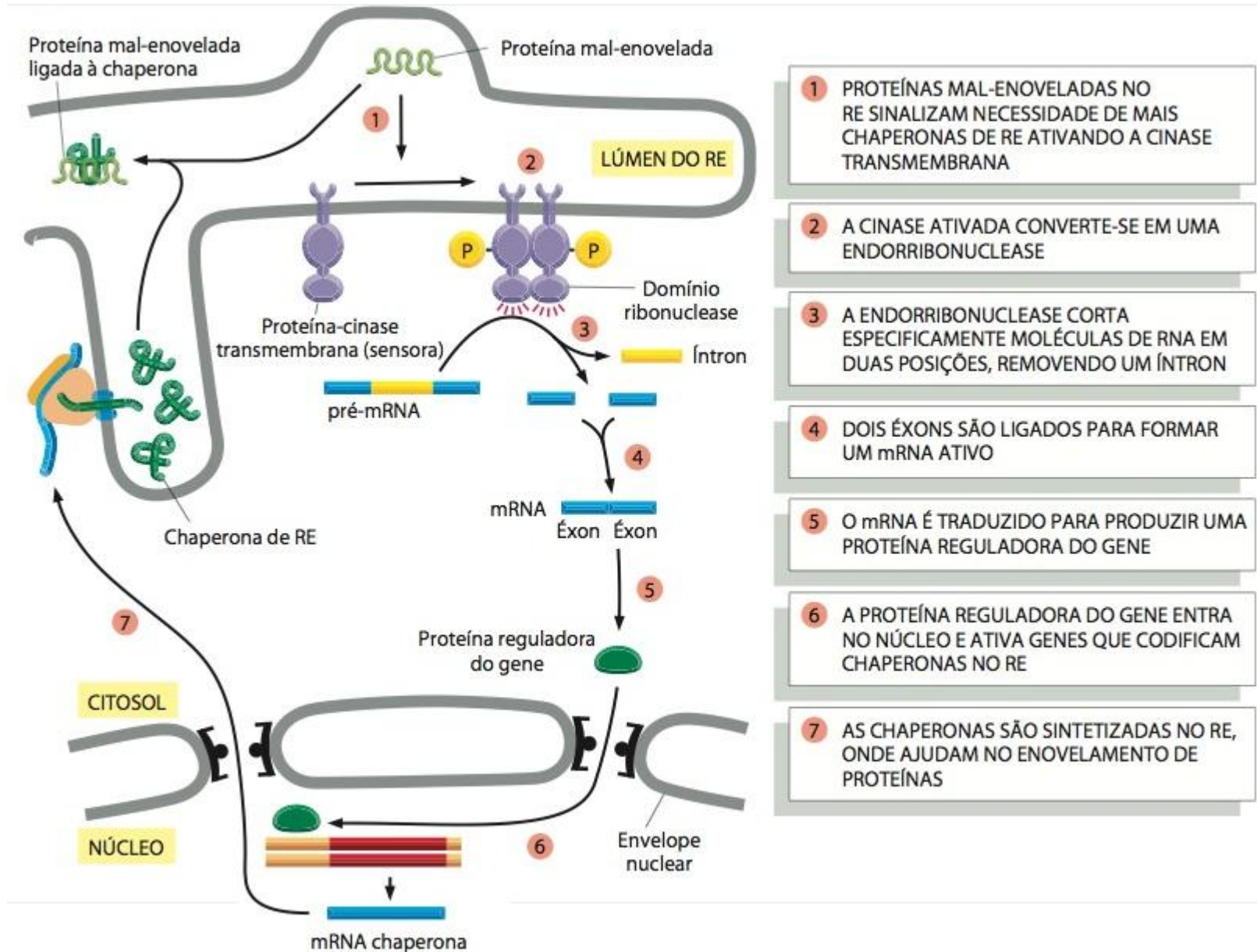


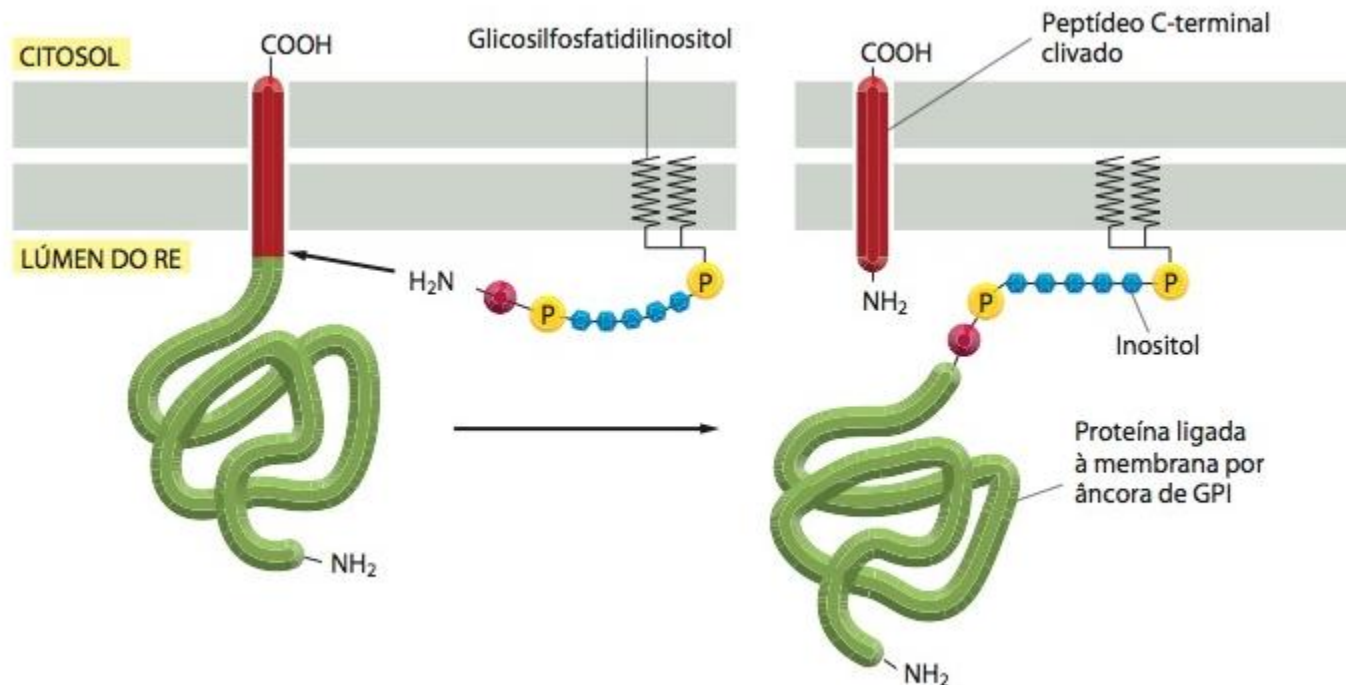
Figura 12-55 A resposta de proteína desenovelada. (A) Por três vias de sinalização intracelular, o acúmulo de proteínas mal-enoveladas no lúmen do RE sinaliza ao núcleo para ativar a transcrição de genes que codificam para proteínas que auxiliam a célula a conter a abundância de proteínas mal-enoveladas no RE. (B) O *splicing* do mRNA regulado é a chave reguladora na Via 1 de resposta de proteína desenovelada.

Glicosilação proteica no retículo endoplasmático



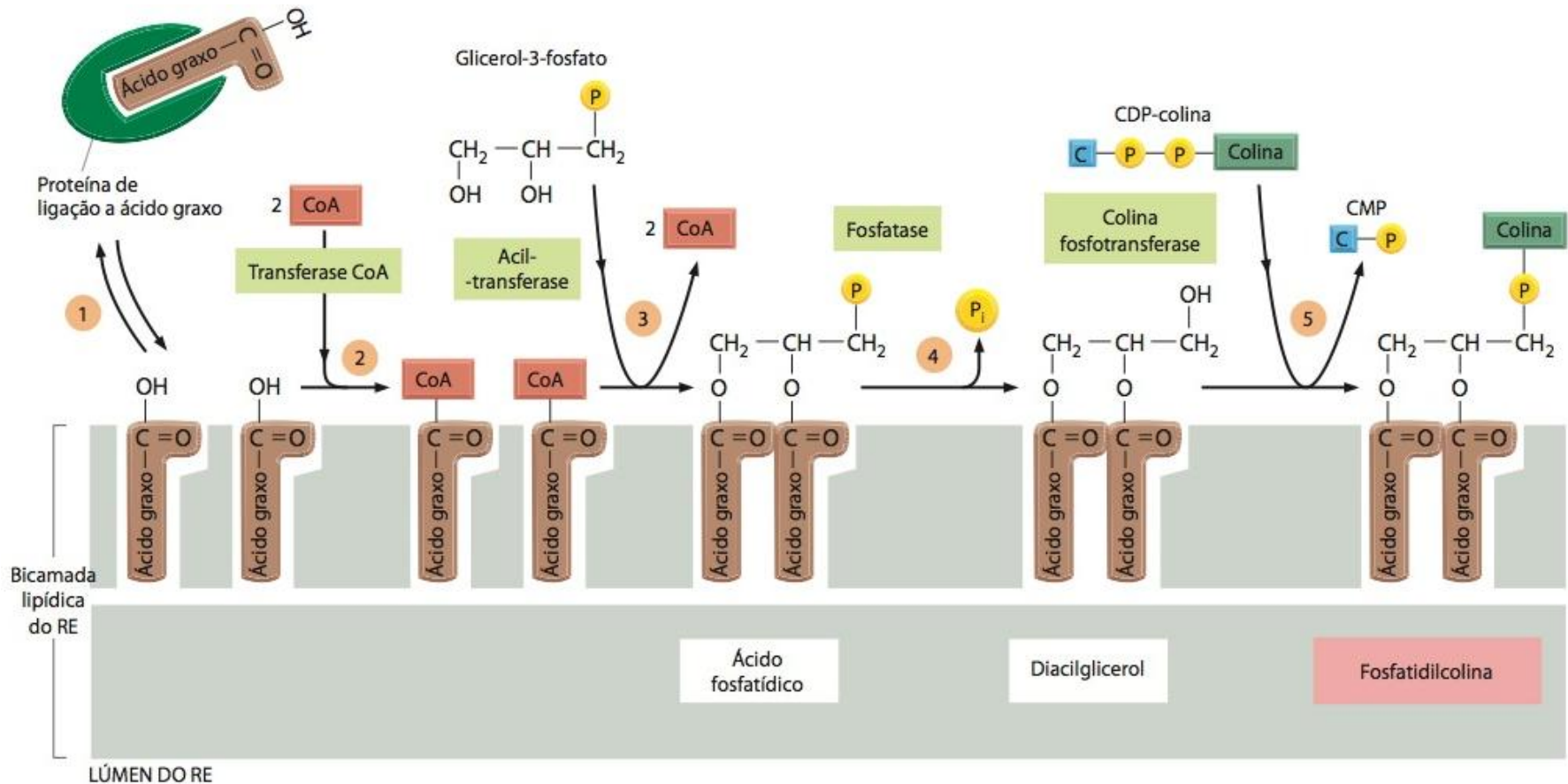
Retículo endoplasmático

- Proteínas aderidas ao exterior da MP somente pelas suas âncoras de GPI podem ser liberadas das células na forma solúvel, em resposta a sinais que ativam uma fosfolipase específica na MP.
- Os tripanossomos parasitas, por exemplo, utilizam esse mecanismo para liberar seu revestimento de proteínas de superfície GPI-âncoradas, se atacados pelo sistema imune.

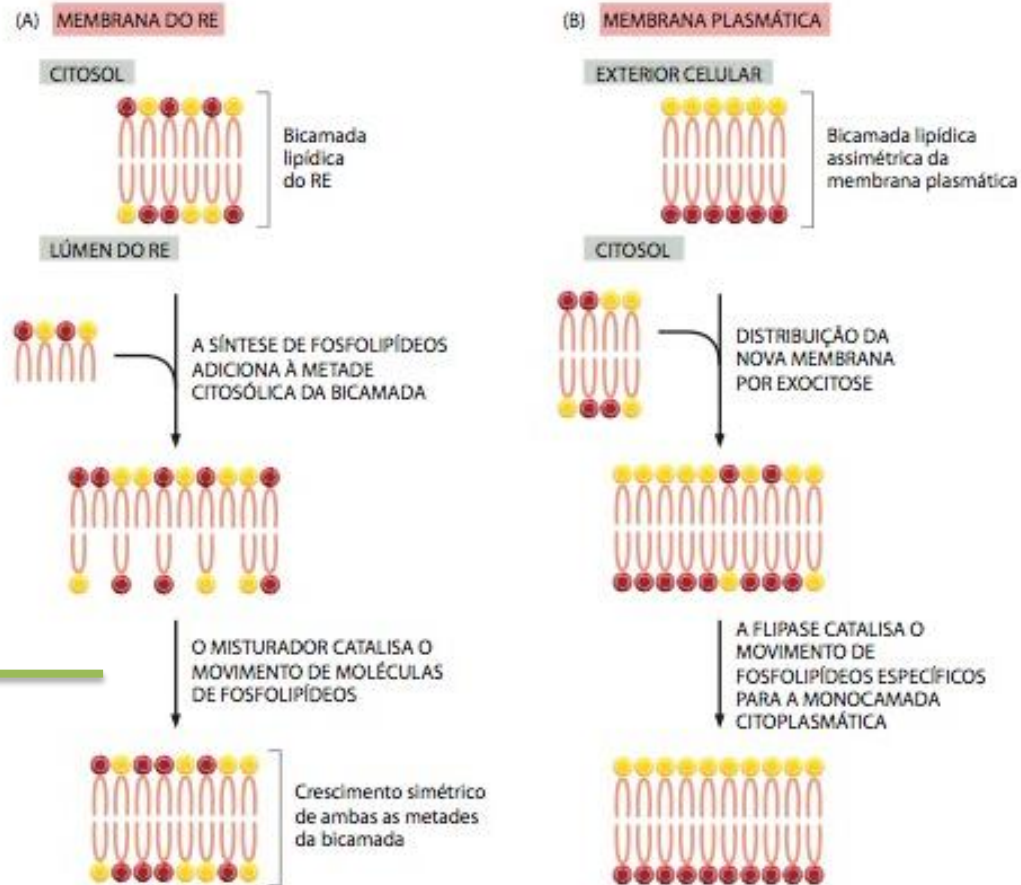


Retículo endoplasmático

- A membrana do RE (monocamada citosólica) sintetiza quase todas as principais classes de lipídeos, incluindo fosfolipídeos e colesterol necessários para produção de novas membranas celulares;



Retículo endoplasmático



Retículo endoplasmático

- O RE também produz colesterol e ceramida (serina + ácido graxo = amino álcool esfingosina + ácido graxo = ceramida);
- A ceramida é exportada ao aparelho de Golgi, onde serve como um precursor para a síntese de dois tipos de lipídeos: **glicolipídeos** e **esfingomielina** no lúmen do aparelho de Golgi;
- Assim, **glicolipídeos** e **esfingomielina** são encontrados exclusivamente na monocamada não-citosólica das membranas celulares;
- Mitocôndrias e cloroplastos importam seus lipídeos a partir do RE, direta- ou indiretamente, por meio de outras membranas celulares;
- *Proteínas de troca de fosfolipídeos* transferem moléculas individuais de fosfolipídeos entre membranas;

Transporte vesicular

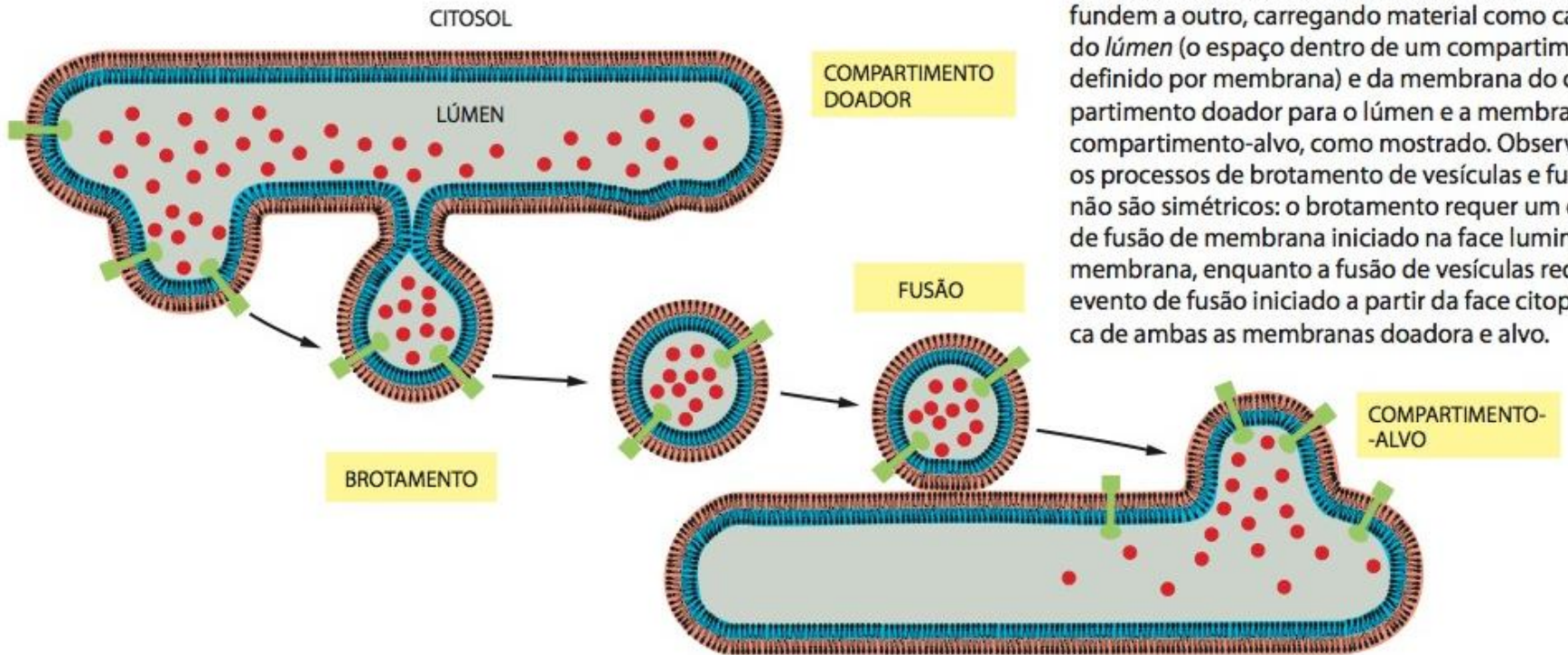
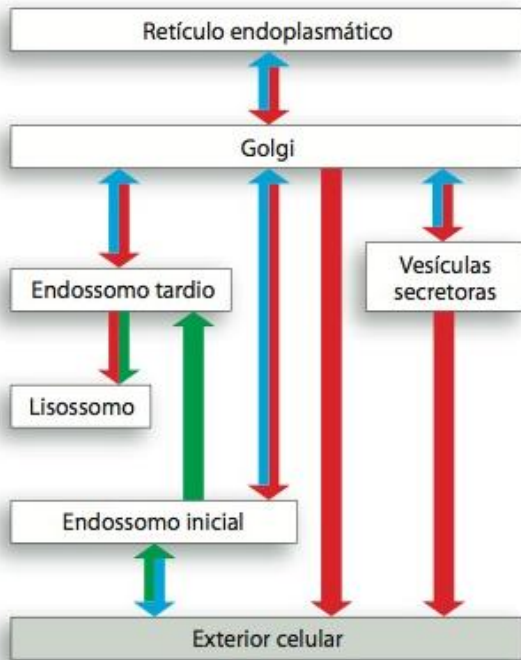
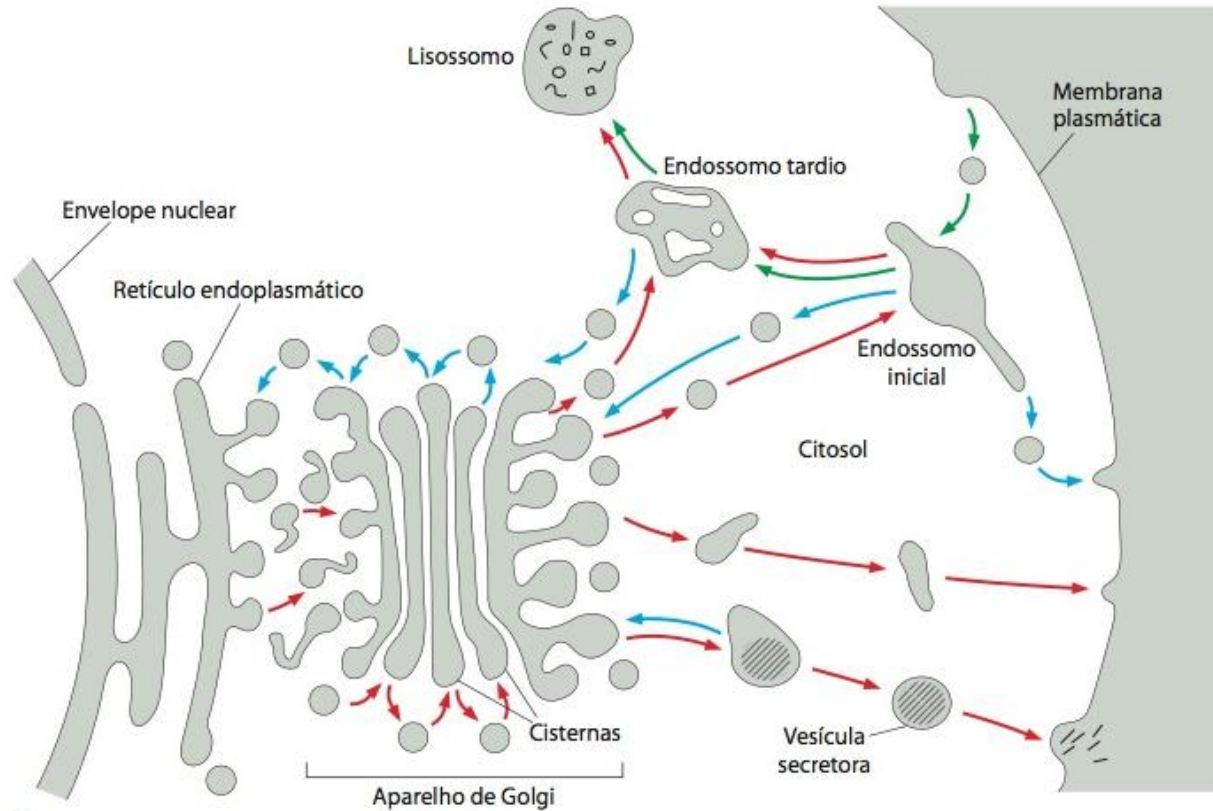


Figura 13-2 Transporte vesicular. Vesículas transportadoras brotam de um compartimento e se fundem a outro, carregando material como carga do *lúmen* (o espaço dentro de um compartimento definido por membrana) e da membrana do compartimento doador para o lúmen e a membrana do compartimento-alvo, como mostrado. Observe que os processos de brotamento de vesículas e fusão não são simétricos: o brotamento requer um evento de fusão de membrana iniciado na face luminal da membrana, enquanto a fusão de vesículas requer um evento de fusão iniciado a partir da face citoplasmática de ambas as membranas doadora e alvo.

Transporte vesicular

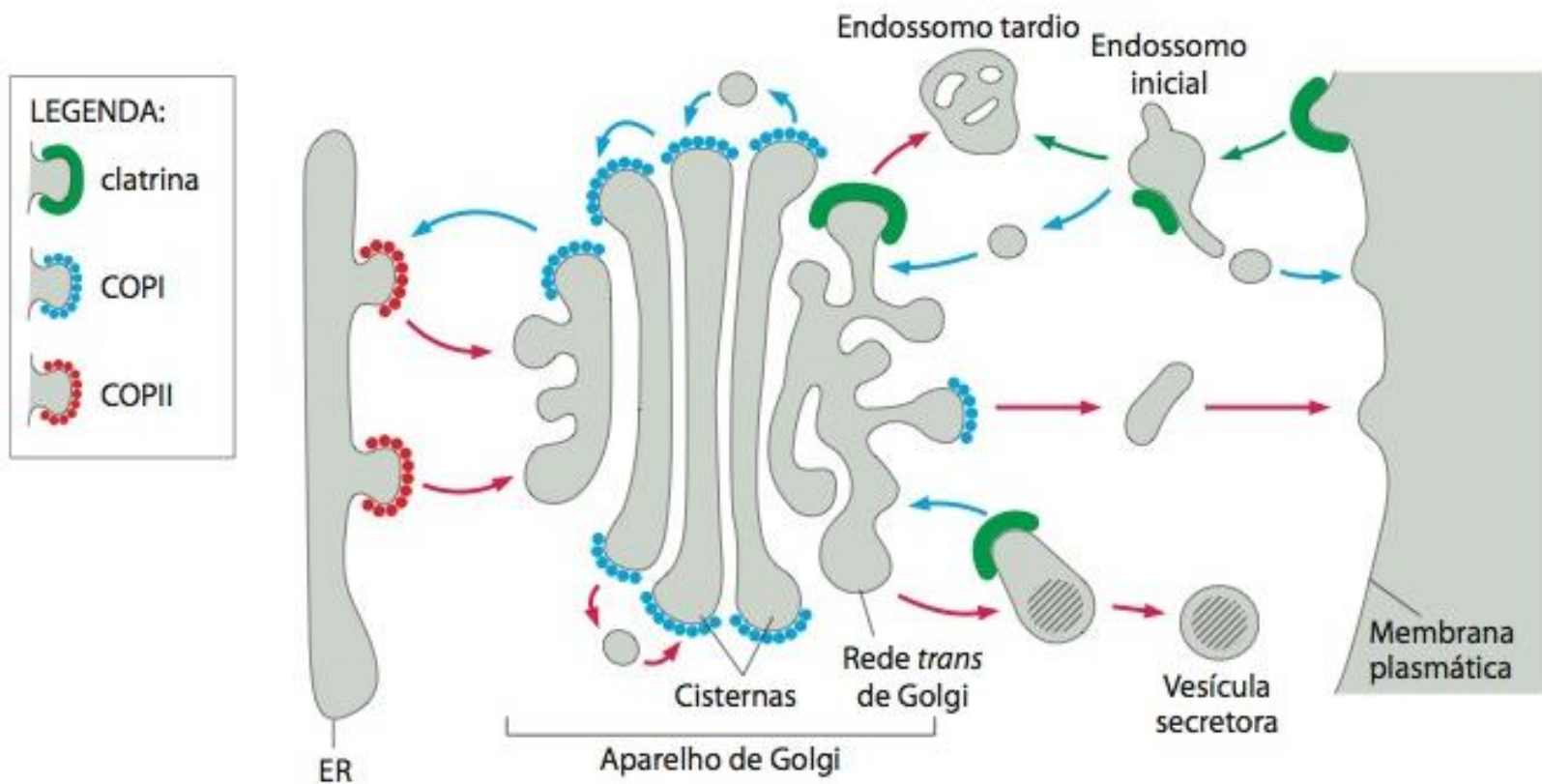


(A)

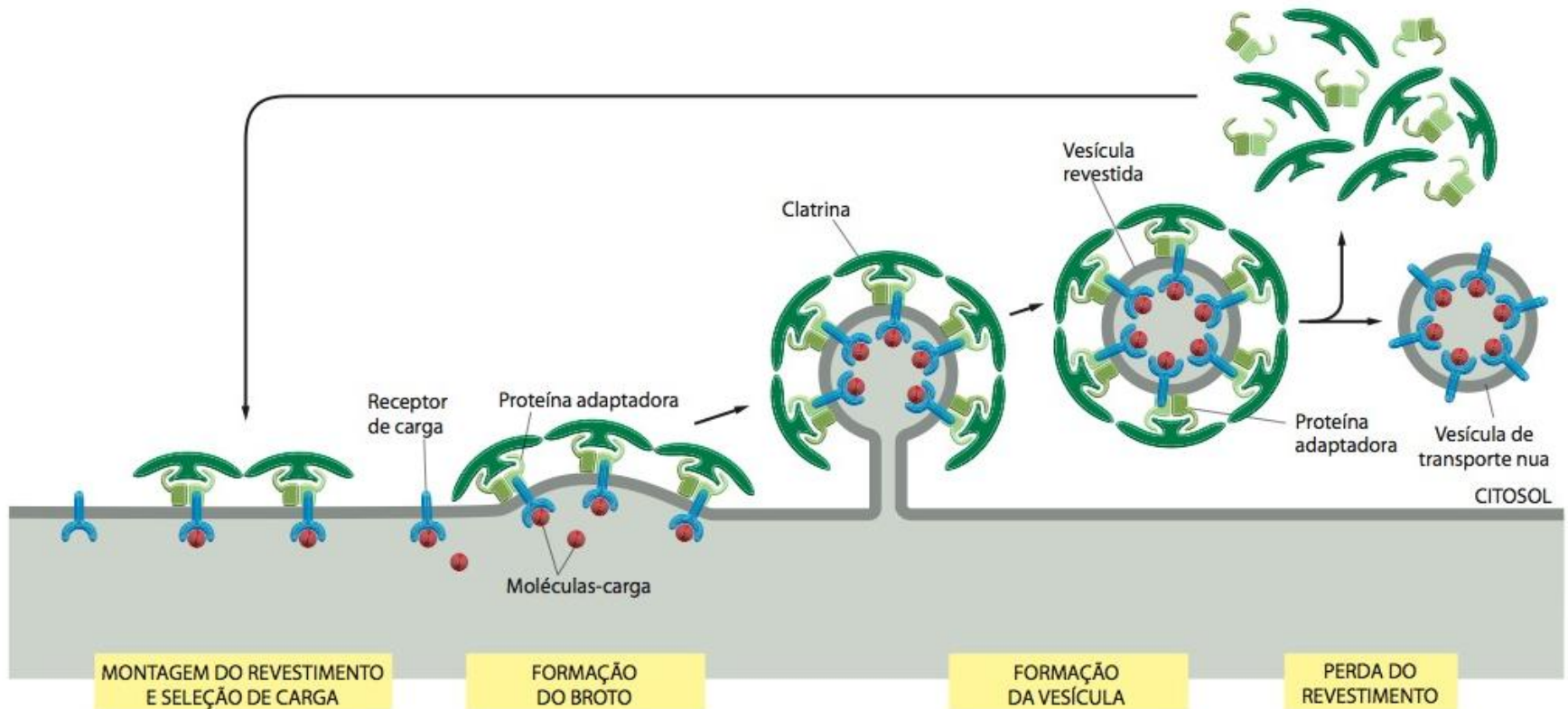


(B)

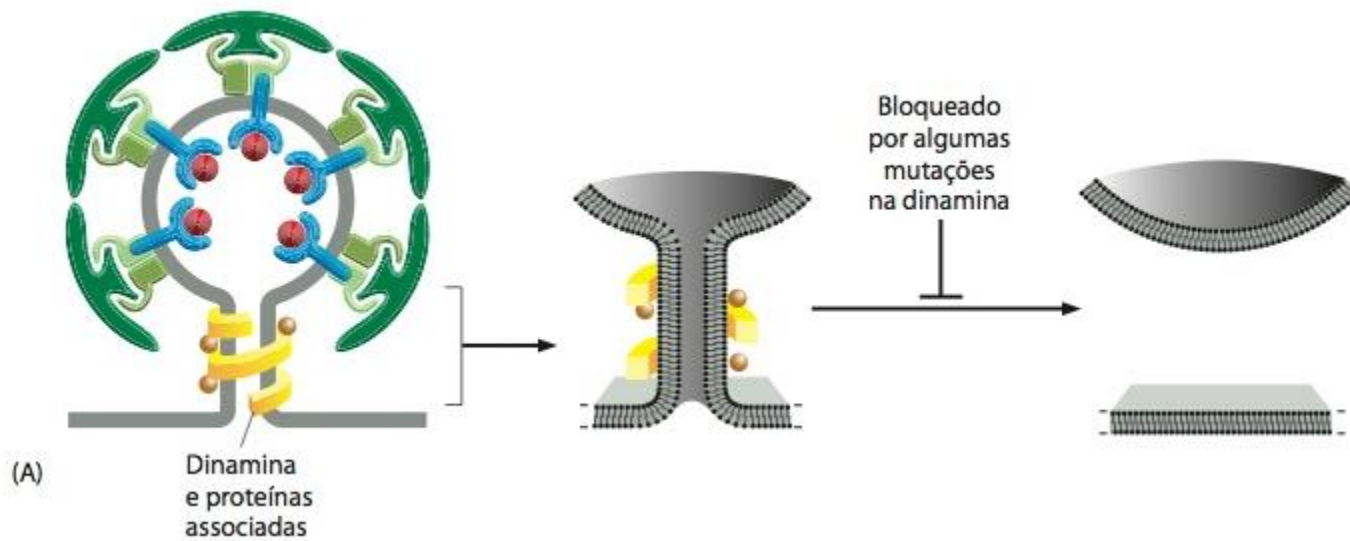
Transporte vesicular



Transporte vesicular

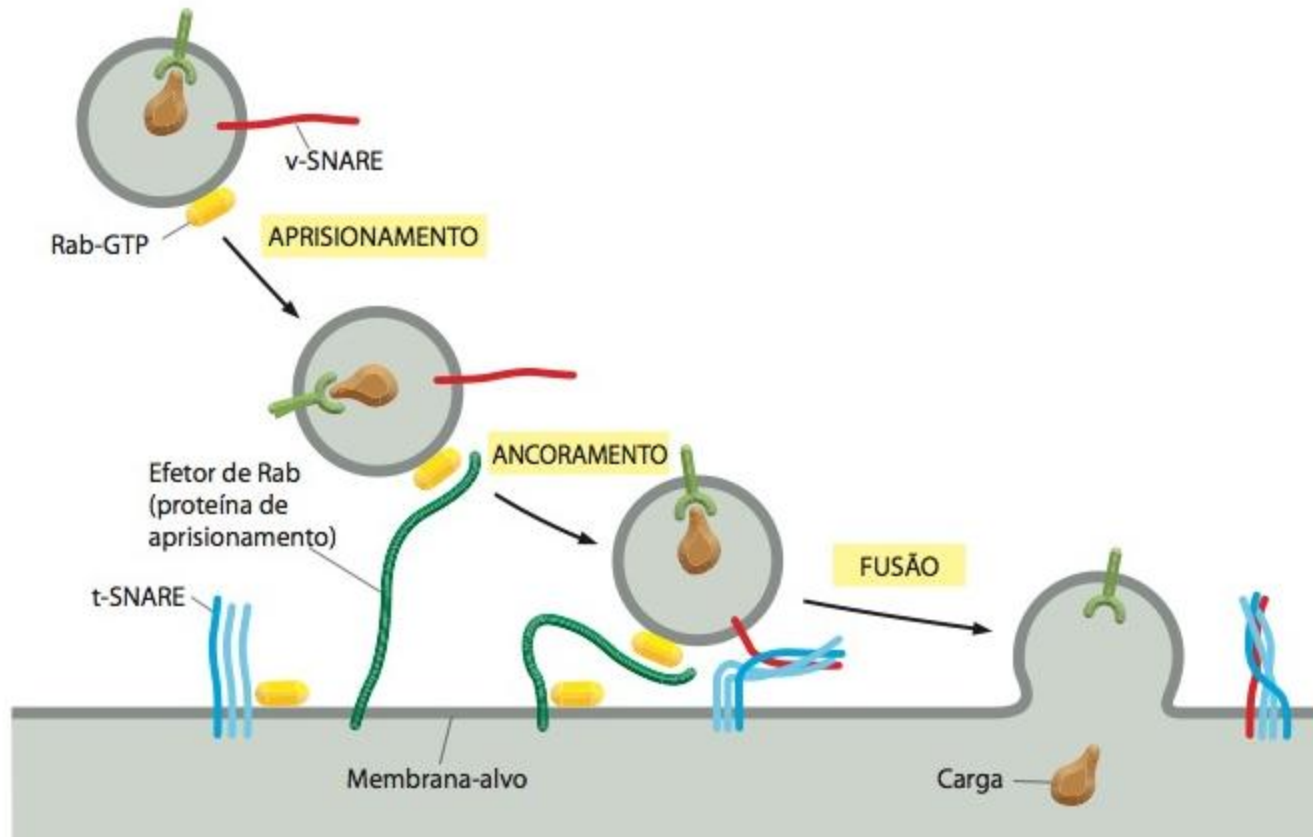


Transporte vesicular

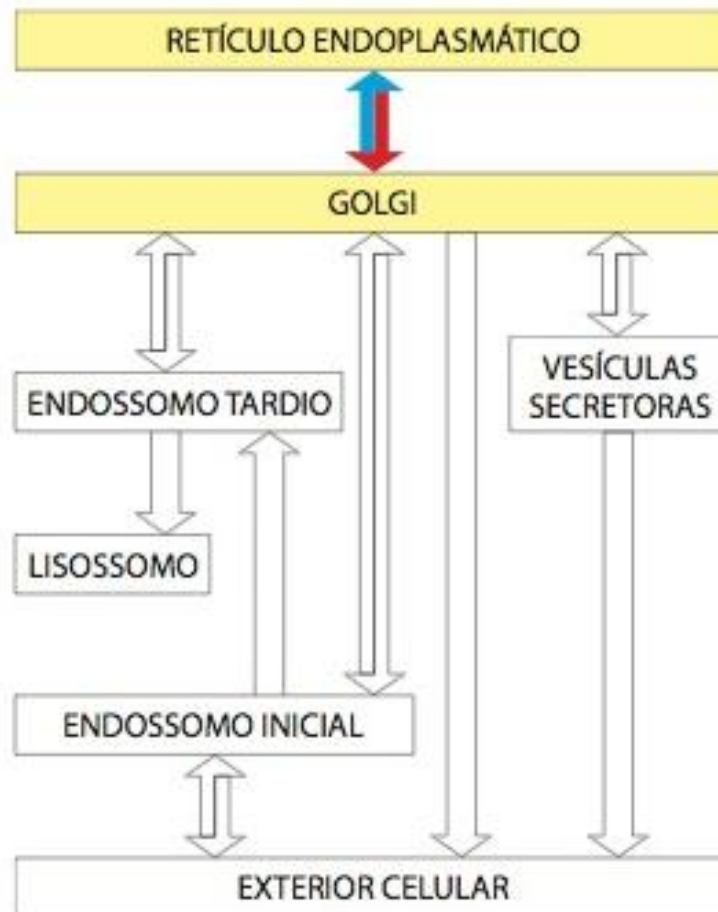


bbc1_19_20_vesicula_revestida_clatrina.swf

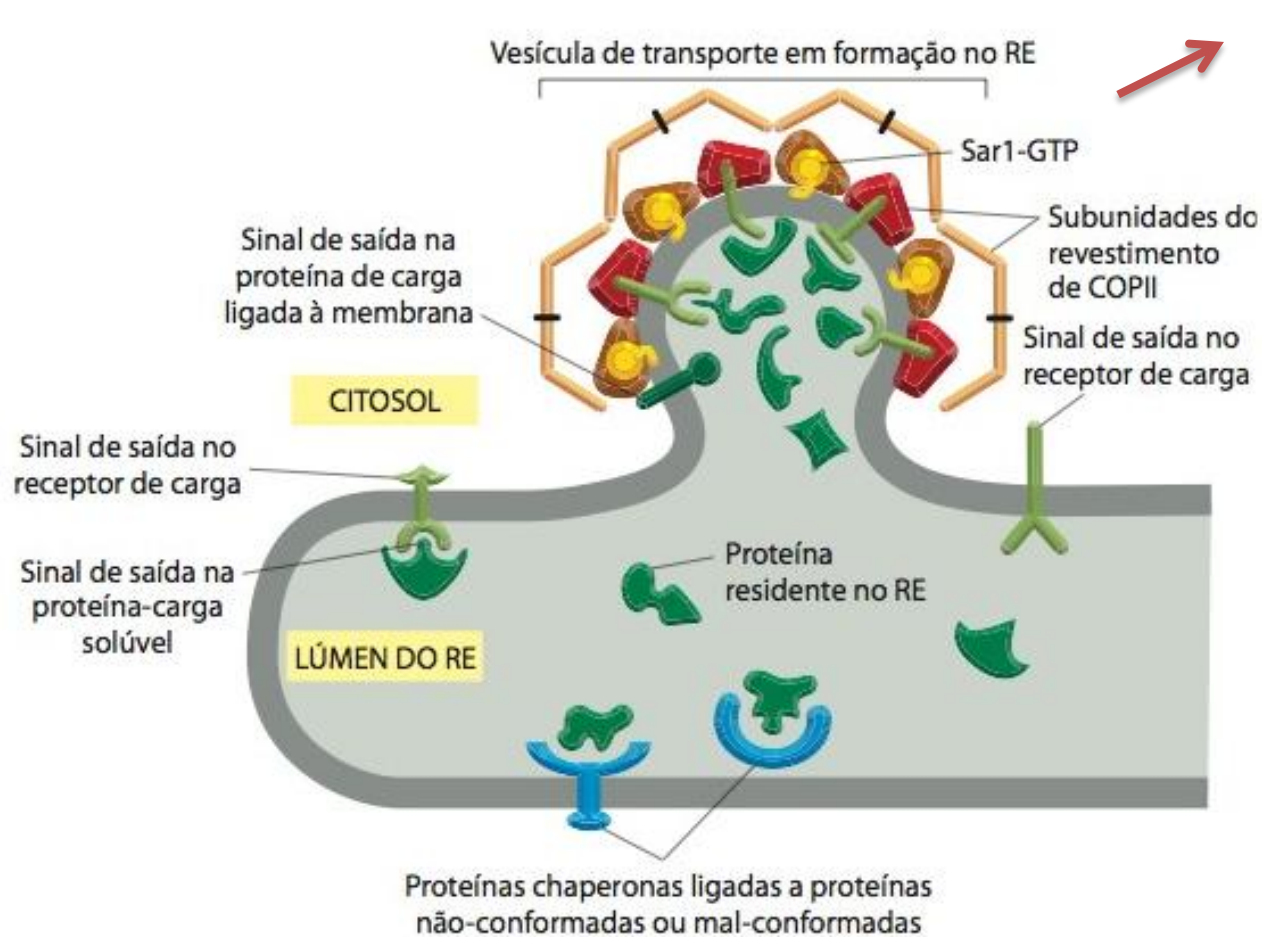
Transporte vesicular



snare.swf



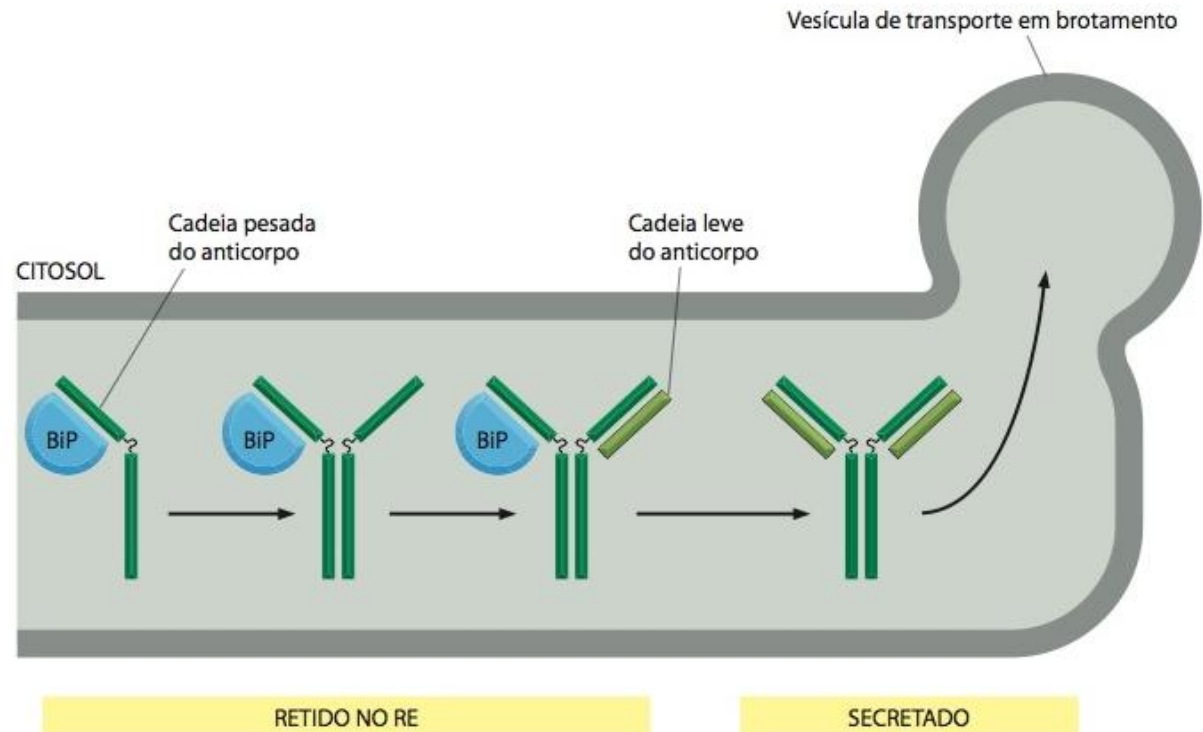
Transporte a partir do RE



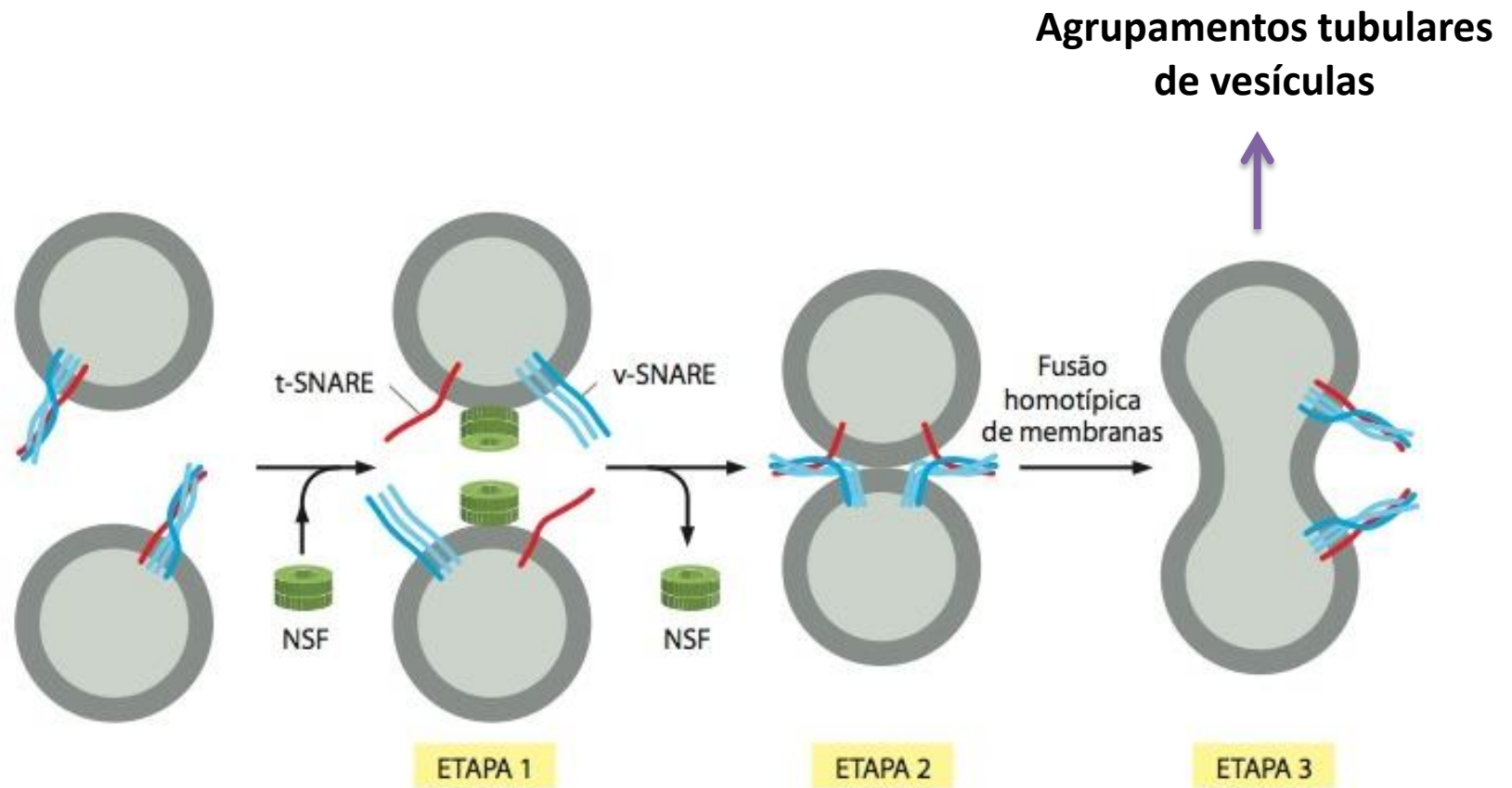
Sítio de saída
do RE

Transporte a partir do RE

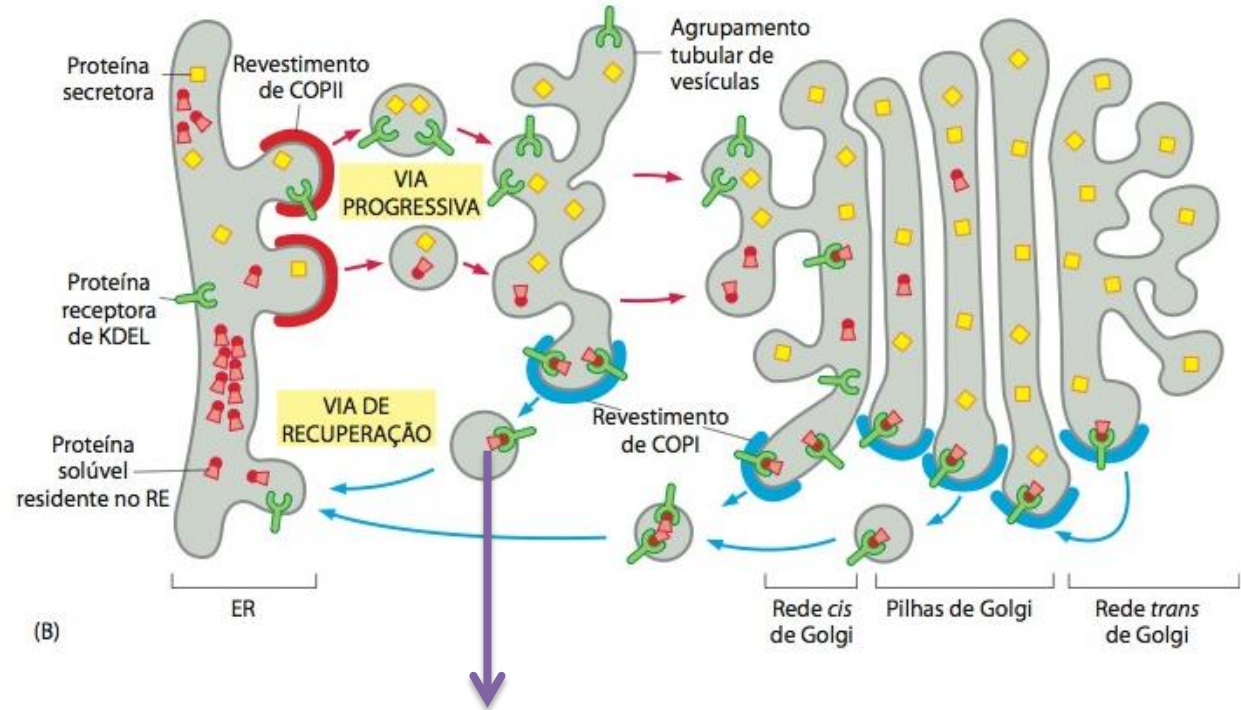
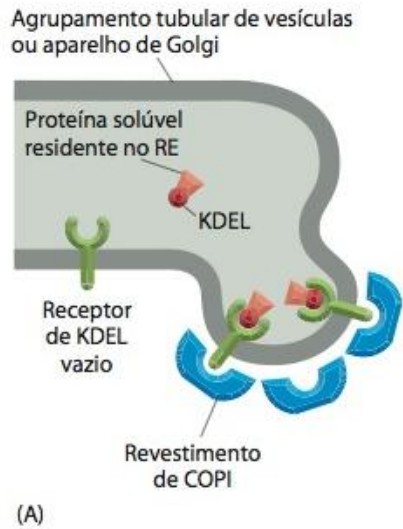
Figura 13-21 Retenção de moléculas de anticorpos incompletamente montados no RE. Os anticorpos são constituídos de duas cadeias pesadas e de duas cadeias leves (discutido no Capítulo 25), as quais são montadas no RE. Acredita-se que a chaperona BiP ligue-se a todas as moléculas de anticorpos incompletamente montadas e encubra os sinais de saída. Logo, somente anticorpos completamente montados deixam o RE e são secretados.



Transporte a partir do RE

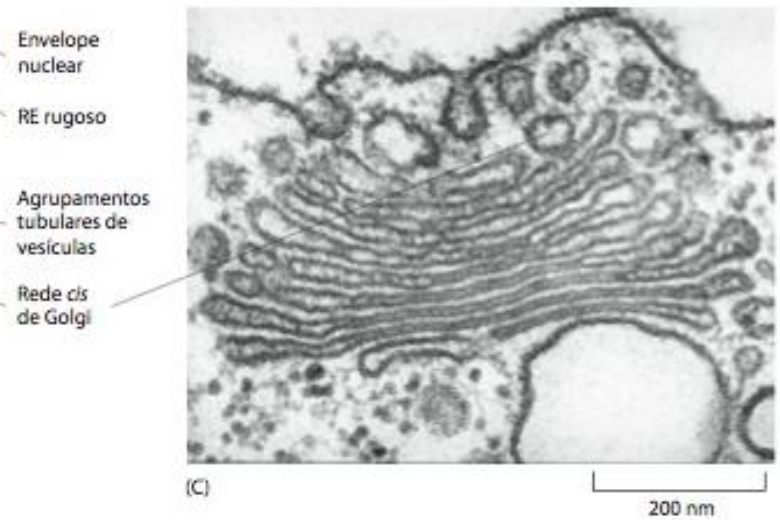
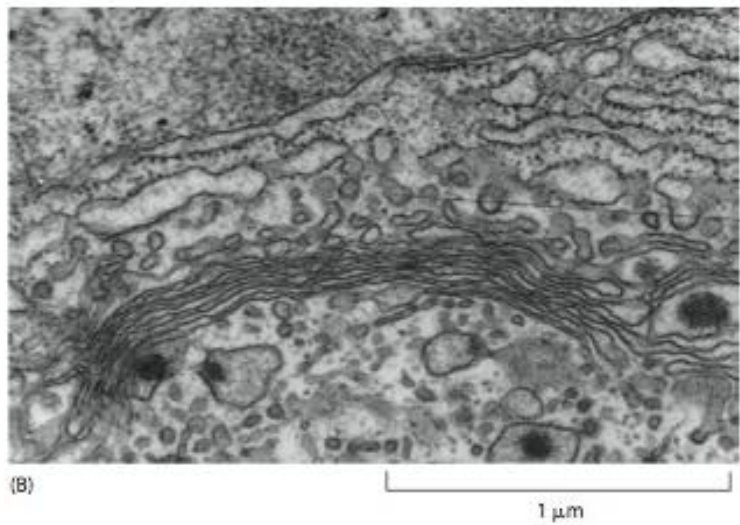
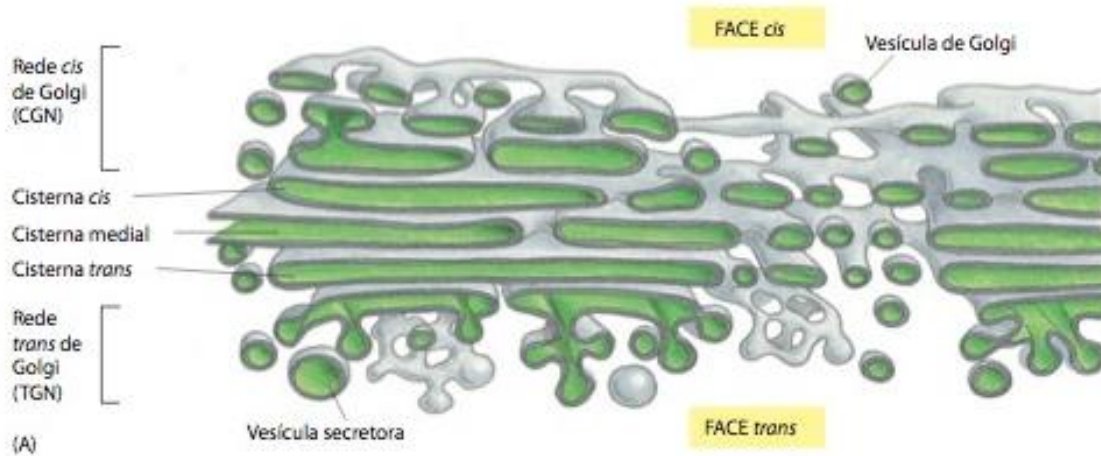


Transporte a partir do RE



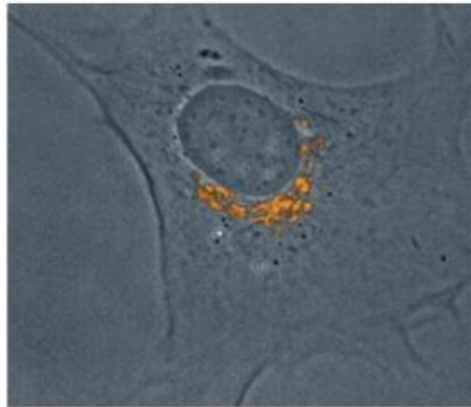
Sinais de recuperação (C-terminal – KKXX)

Aparelho de Golgi

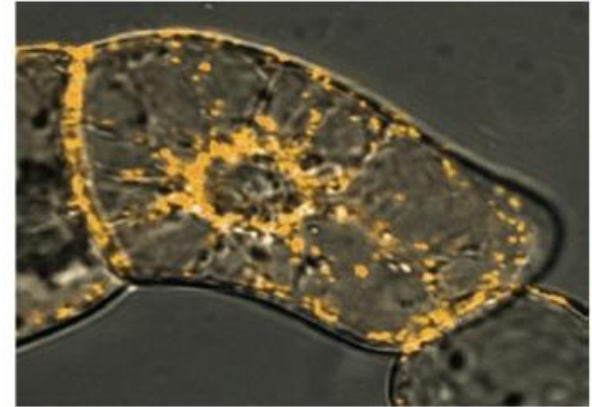


Aparelho de Golgi

Figura 13-26 Localização do aparelho de Golgi em células animais e vegetais. (A) O aparelho de Golgi em um fibroblasto cultivado com um anticorpo fluorescente que reconhece uma proteína residente no Golgi (*vermelho*). O aparelho de Golgi está polarizado na direção na qual a célula estava movendo-se antes da fixação. (B) O aparelho de Golgi de uma célula vegetal que está expressando uma proteína de fusão constituída de uma enzima residente no Golgi fusionada à proteína de fluorescência verde. Os pontos *laranja* brilhantes (coloração falsa) são as pilhas de Golgi. (A, cortesia de John Henley e Mark McNiven; B, cortesia de Chris Hawes.)

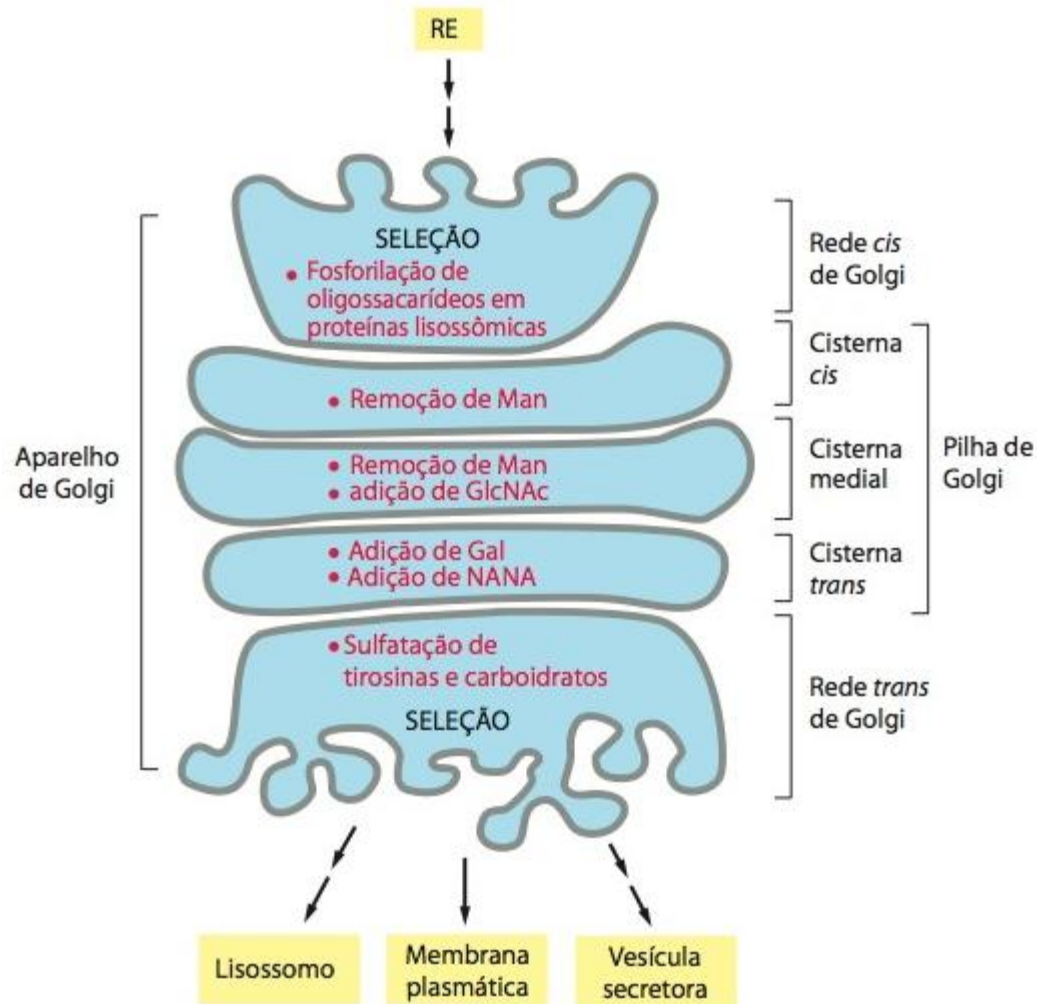


(A)

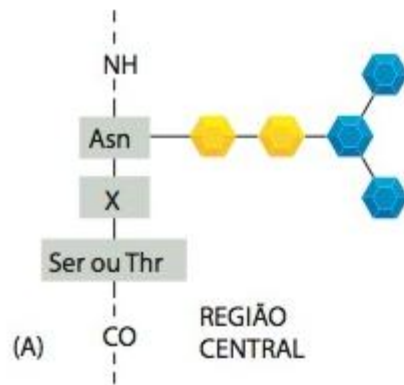


(B)

Glicosilação no aparelho de Golgi



N-Glicosilação no aparelho de Golgi



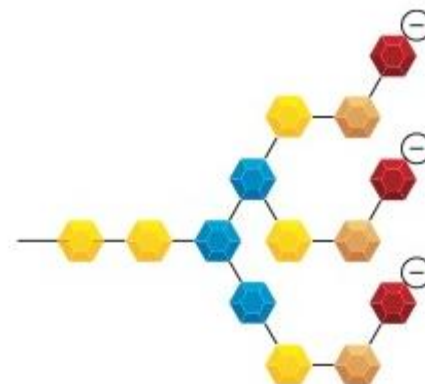
LEGENDA

 = N-acetilglicosamina (GlcNAc)

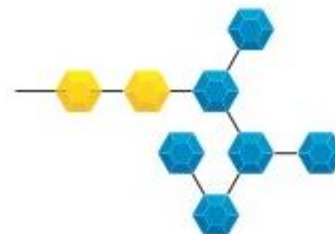
 = Manose (Man)

 = Galactose (Gal)

 = Ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico, ou NANA)

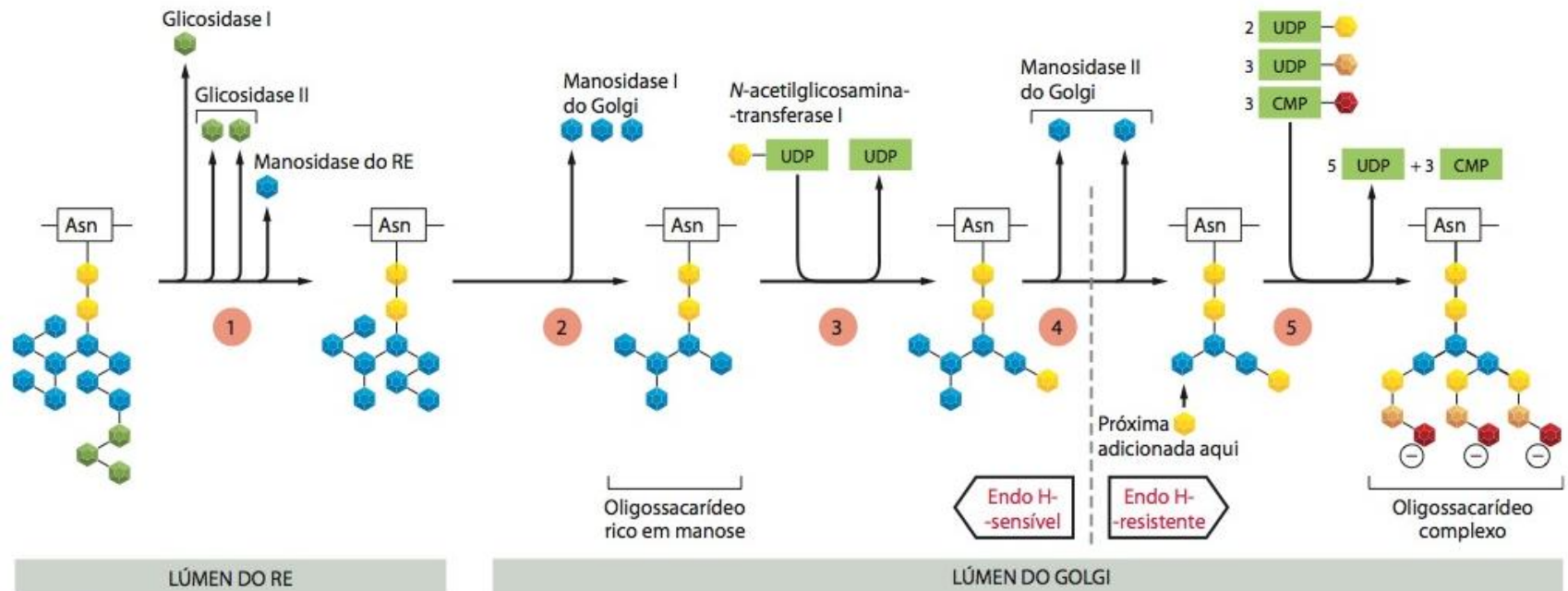


(B) OLIGOSSACARÍDEO COMPLEXO



(C) OLIGOSSACARÍDEO RICO EM MANOSE

N-Glicosilação no aparelho de Golgi



LEGENDA:

Amarelo = N-acetilglicosamina (GlcNAc)

Azul = Manose (Man)

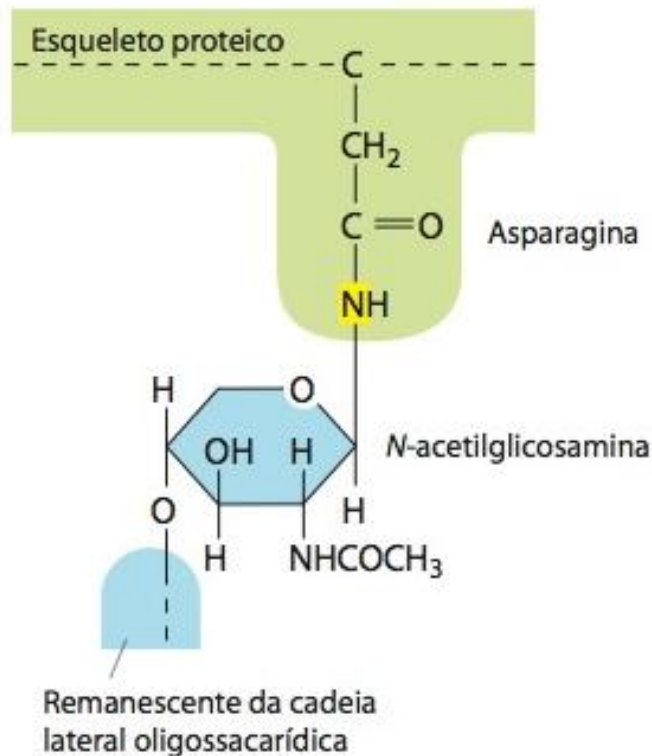
Verde = Glicose (Glc)

Laranja = Galactose (Gal)

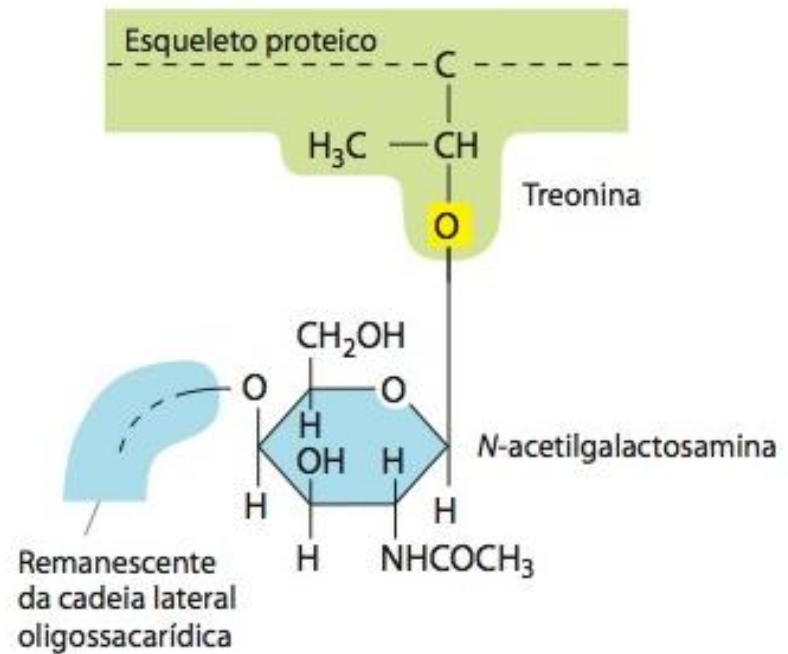
Vermelho com círculo branco = Ácido N-acetilneuramínico (ácido siálico, ou NANA)

***N*-Glicosilação e *O*-Glicosilação no aparelho de Golgi**

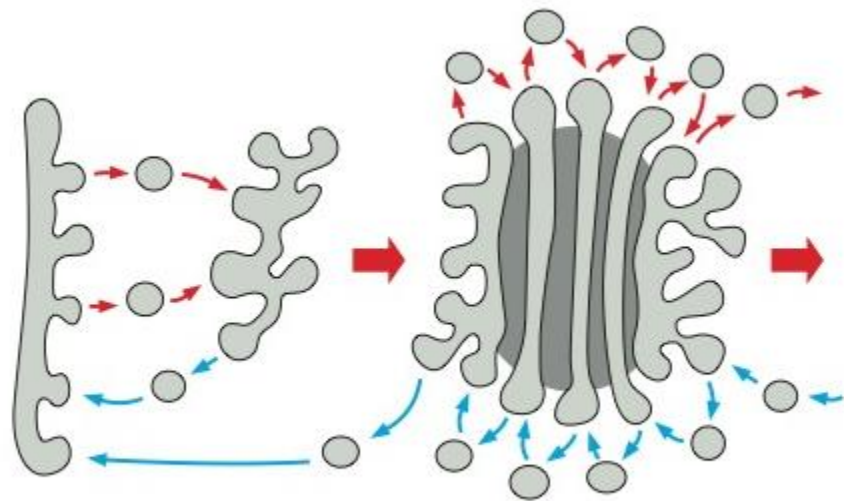
GLICOSILAÇÃO *N*-LIGADA



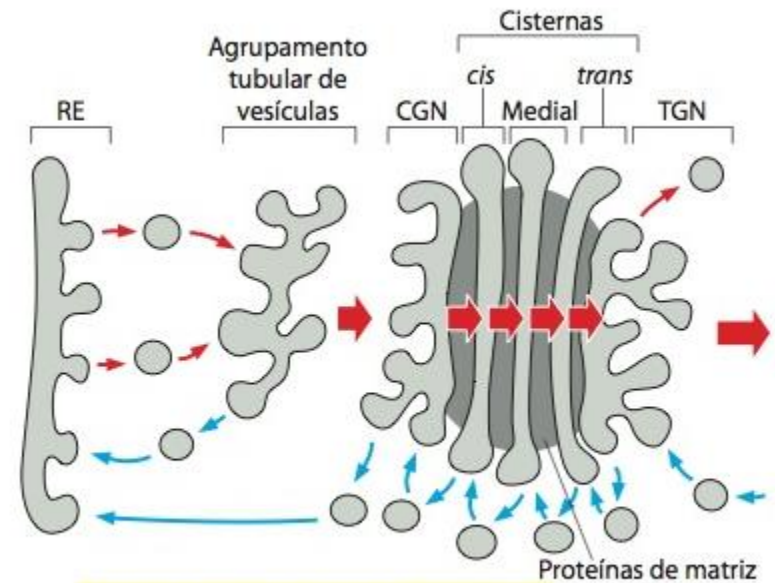
GLICOSILAÇÃO *O*-LIGADA



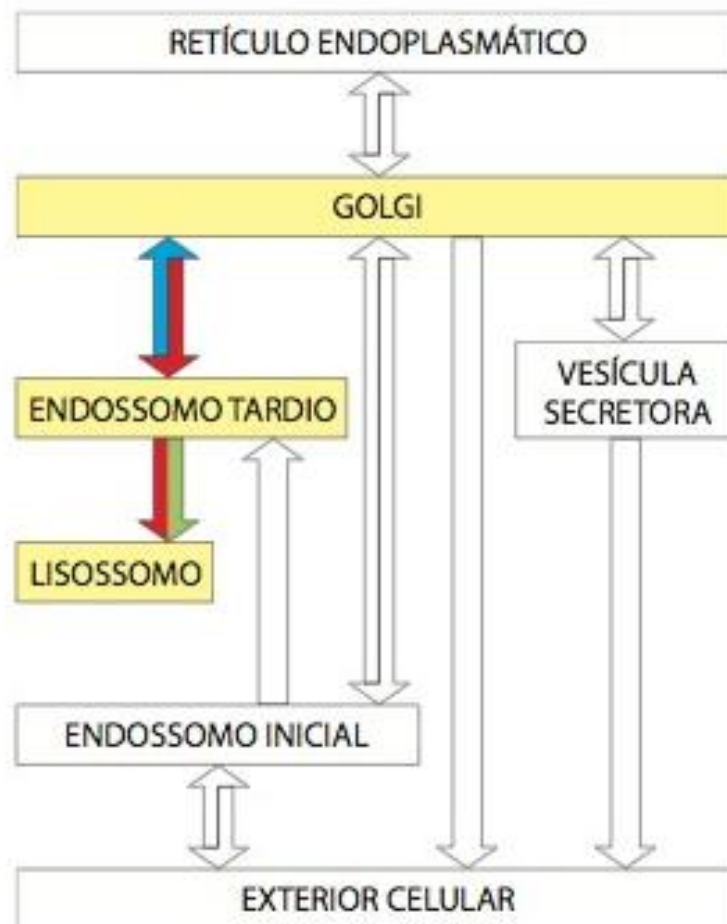
Organização e transporte de proteínas aparelho de Golgi



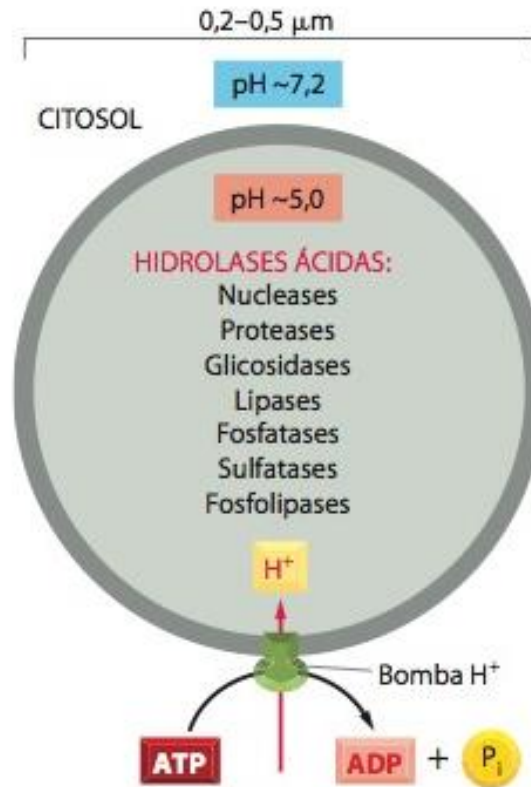
(A) MODELO DO TRANSPORTE VESICULAR



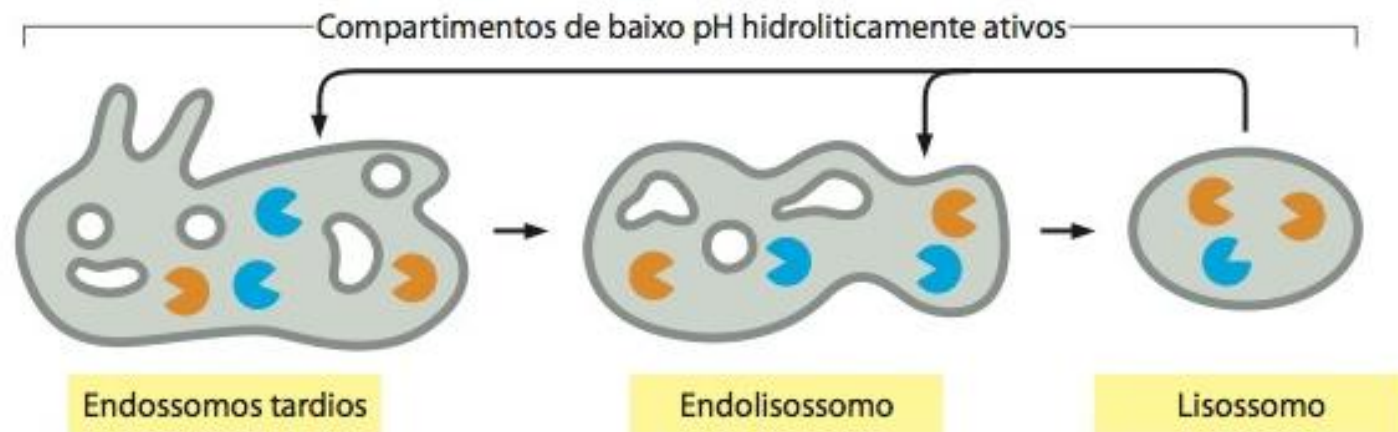
(B) MODELO DA MATURAÇÃO DE CISTERNAS



Lisossomos



Lisossomos



Lisossomos

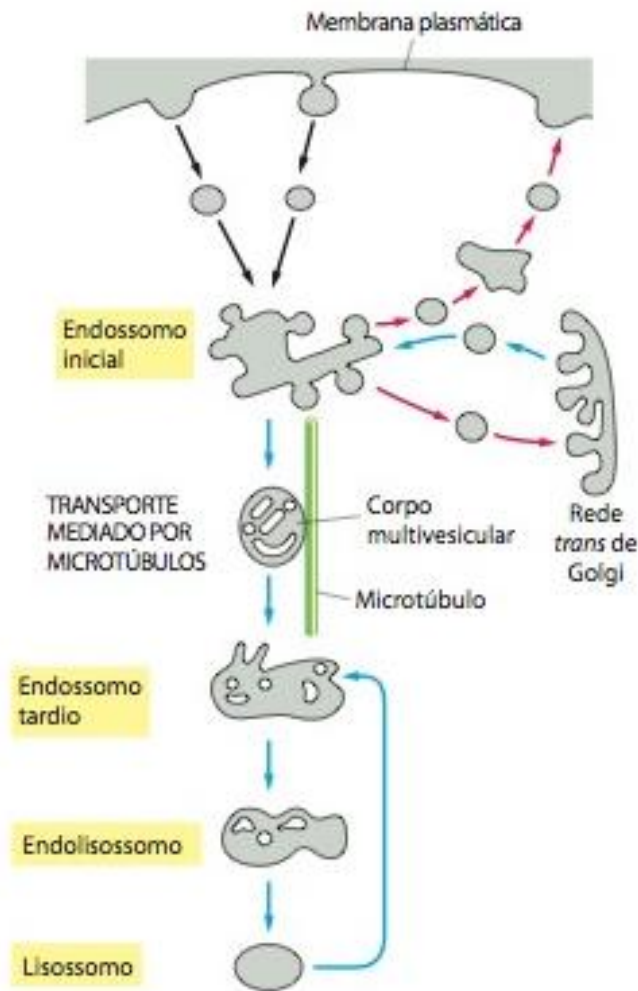
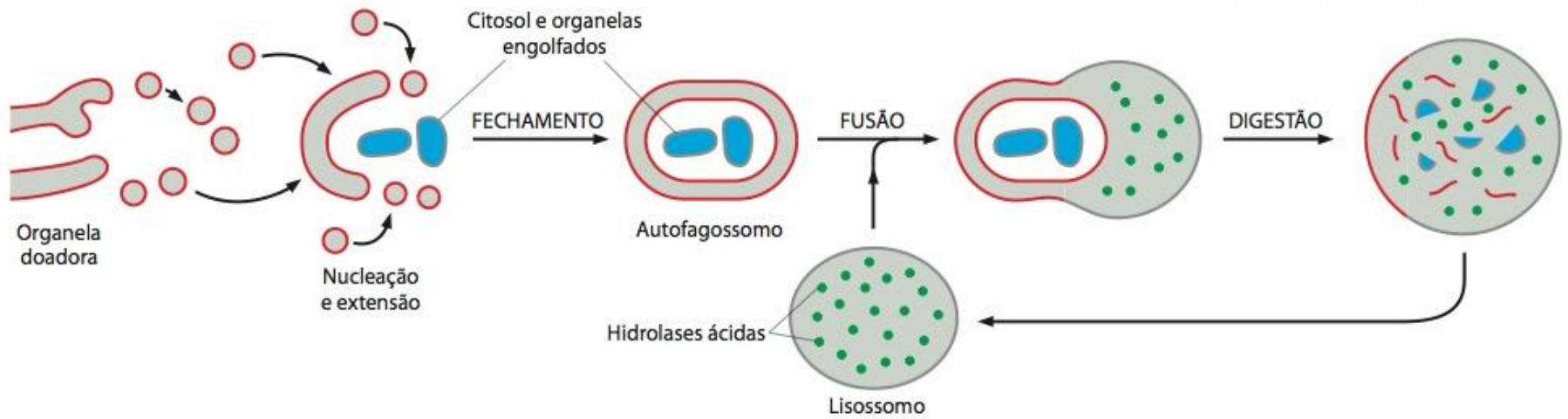


Figura 13-56 Detalhes da via endocítica da membrana plasmática para os lisossomos. A maturação dos endossomos iniciais para os tardios ocorre por meio da formação de corpos multivesiculares, os quais contêm grandes quantidades de membranas invaginadas e vesículas internas (daí os seus nomes). Estes corpos movem-se para dentro ao longo de microtúbulos, desprendendo continuamente vesículas de transporte que reciclam componentes para a membrana plasmática. Os corpos multivesiculares gradualmente convertem-se em endossomos tardios pela fusão entre si, ou pela fusão a endossomos tardios preexistentes. Os endossomos tardios não são mais capazes de enviar vesículas à membrana plasmática.

Lisossomos



Lisossomos

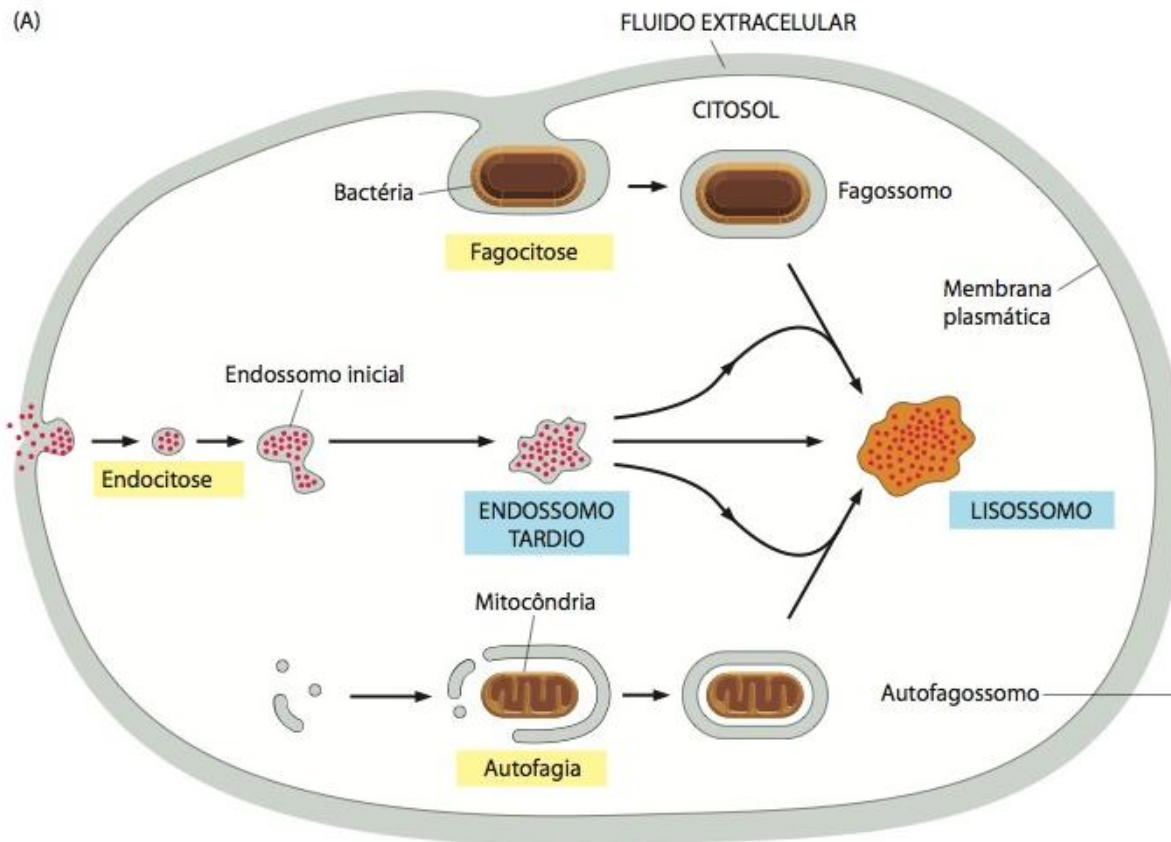
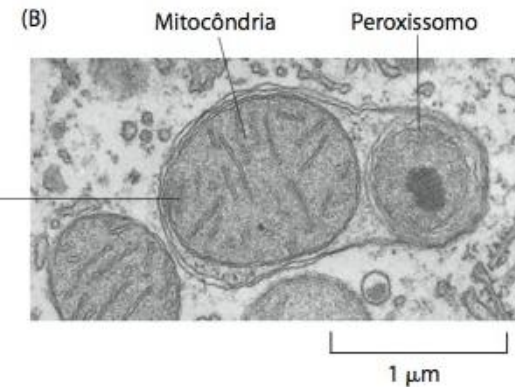


Figura 13-42 As três vias para a degradação em lisossomos. (A) Os materiais de cada via são derivados de uma fonte diferente. Observe que o autofagossomo possui uma membrana dupla. (B) Uma micrografia eletrônica de um autofagossomo contendo uma mitocôndria e um peroxissomo. (B, cortesia de Daniel S. Friend, retirada de D. W. Fawcett, *A Textbook of Histology*, 12ª ed., New York: Chapman e Hall, 1994. Com permissão de Kluwer.)



Lisossomos

