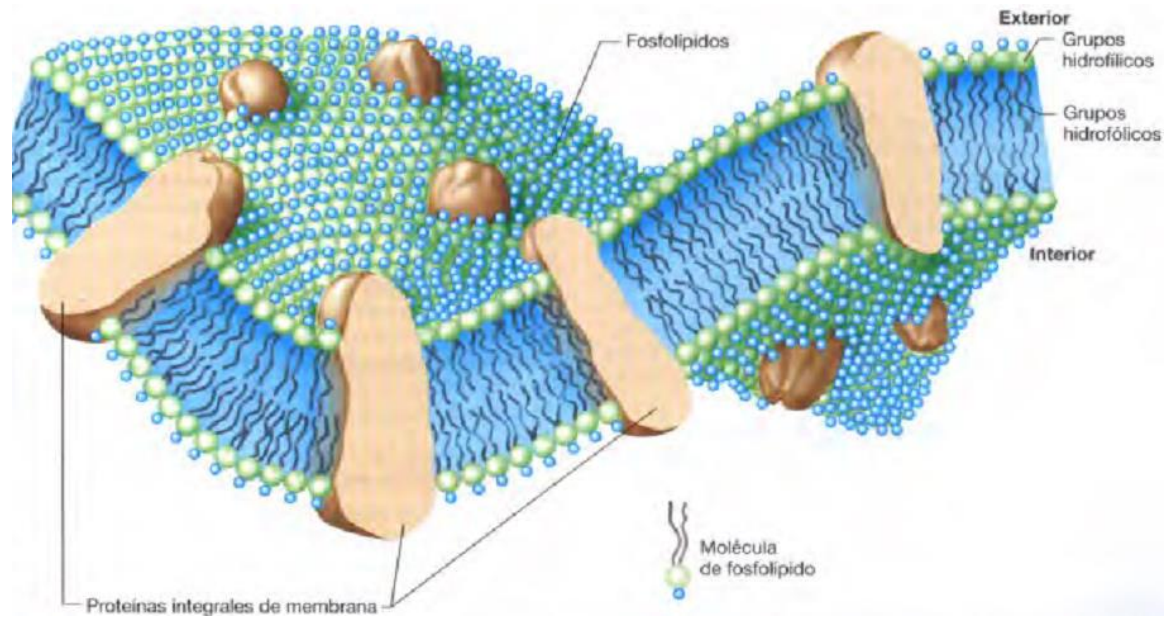
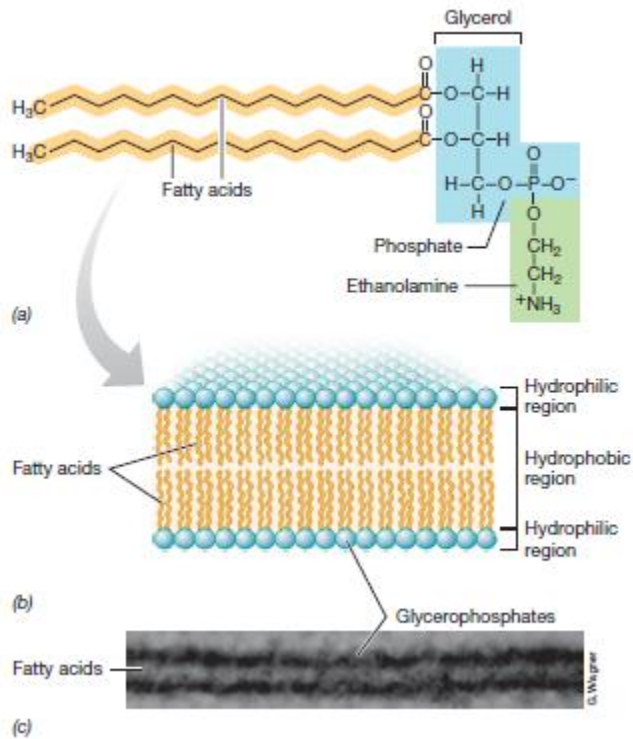


Transporte a través de la membrana

Rutas de Secreción de proteínas en procariotas

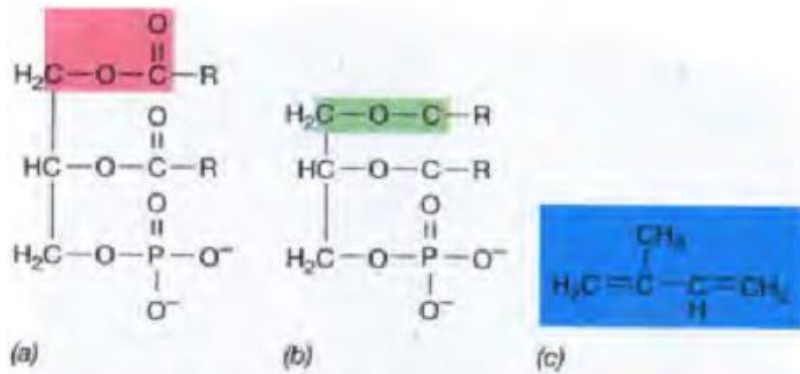


Estructura de la membrana citoplasmática: bicapa de fosfolípidos.

La estructura general de la membrana citoplasmática es similar en procariontes y eucariontes.

La mayoría de procariontes no poseen esteroides en la membrana (colesterol)

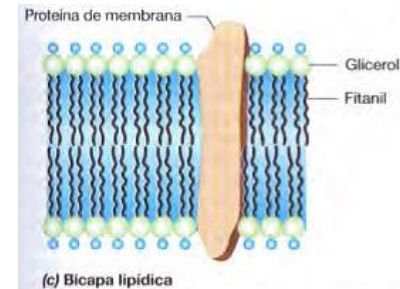
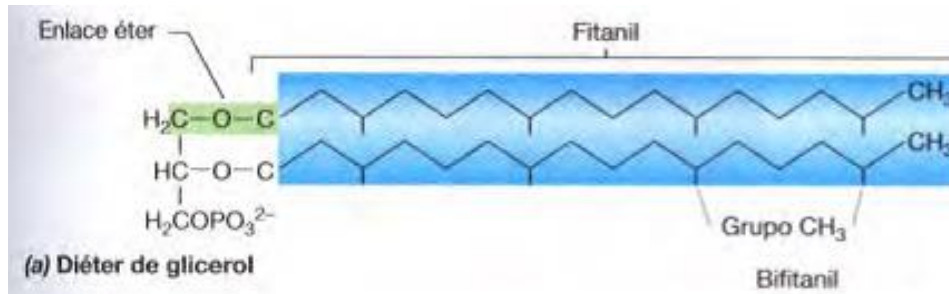
Existen excepciones a este diseño en las arqueas.



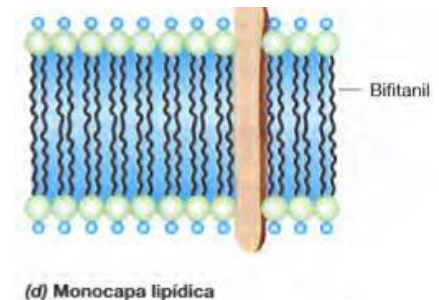
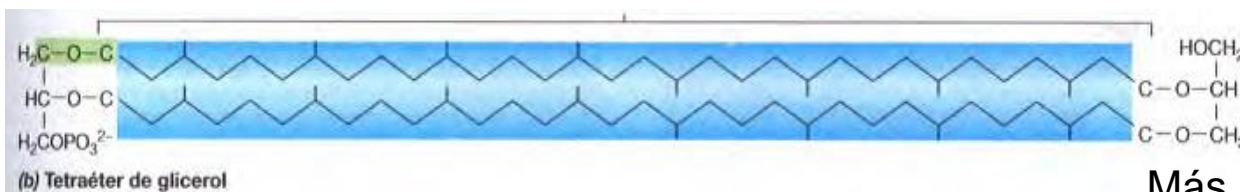
Estructura general de los lípidos de membrana.

- Unión éster (bacterias y eucariotas). Cadenas laterales formadas por ácidos grasos.
- Unión éter (arqueas)
- Isopreno. Unidad parental de las cadenas laterales de lípidos de arqueas.

Estructura de las membranas arqueanas

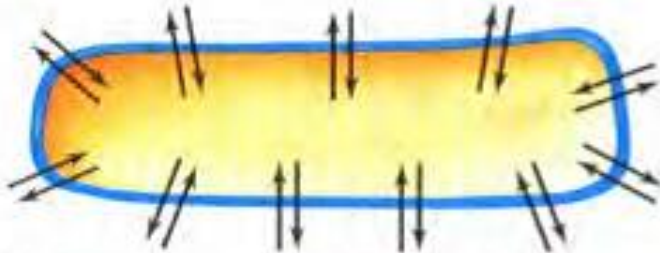


Arqueol: 2,3, di-O fitanil glicerol (C20, C20). Marcador quimiotaxonómico del dominio *Archaea*

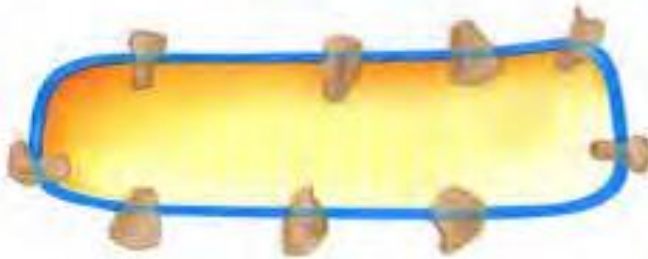


Más resistentes. Hipertermófilos

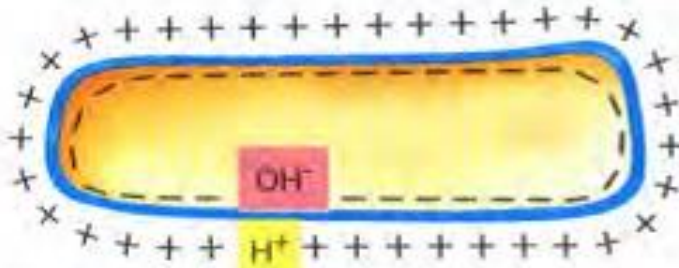
Funciones de la membrana citoplasmática



Barrera de permeabilidad — Evita pérdidas y funciona como puerta de entrada y salida de nutrientes



Anclaje de proteínas — Lugar de situación de muchas proteínas implicadas en transporte, bioenergética y quimiotaxis



Conservación de energía — Sitio de generación y uso de la fuerza motriz de protones

- Barrera osmótica
- Transporte de solutos específico
- Estructura de anclaje de proteínas y enzimas involucradas en bioenergética (transportadores de electrones, ATPasas)
- Recepción de estímulos mediante proteínas sensoras.
- Movilidad celular (quimiotaxis)

Permeabilidad de la membrana citoplasmática (MC) a diversos solutos

Sustancia	Porcentaje de permeabilidad ^a
Agua	100
Glicerol	0,1
Triptófano	0,001
Glucosa	0,001
Ion cloruro (Cl ⁻)	0,000001
Ion potasio (K ⁺)	0,0000001
Ion sodio (Na ⁺)	0,00000001

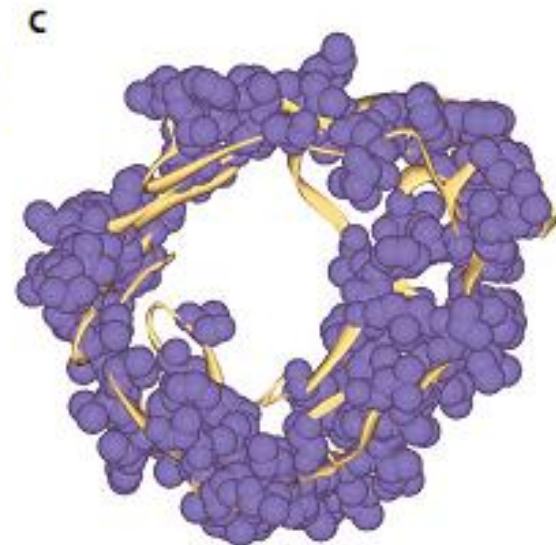
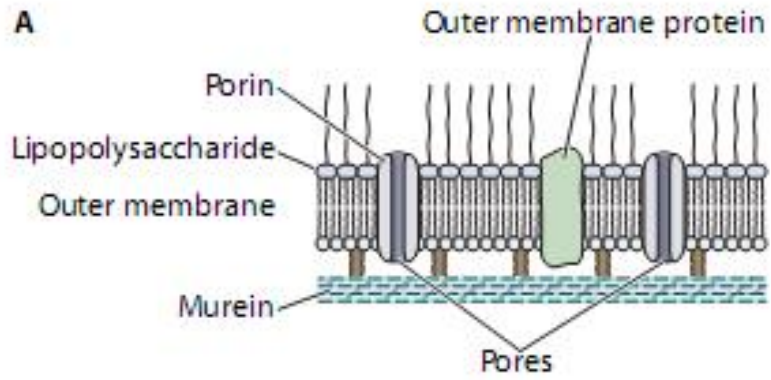
La **MC** es permeable a: gases (O₂, CO₂, NH₃), mol. pequeñas (agua, etanol), mol. liposolubles (glicerol, ac. grasos), ácidos y bases débiles en forma no cargada.

El transporte de agua es acelerado por **aquaporinas** (canales proteicos).

La mayoría de los solutos no pasan pasivamente a través de la MC y deben ser transportados por proteínas específicas. **Proteínas transportadoras acumulan solutos en contra de gradiente.**

La **membrana externa** (bacterias G-) es permeable a: mol. pequeñas, impermeable a mol. hidrofílicas (aa, azúcares, iones). Transporte mediado por **Porinas**.

Porinas

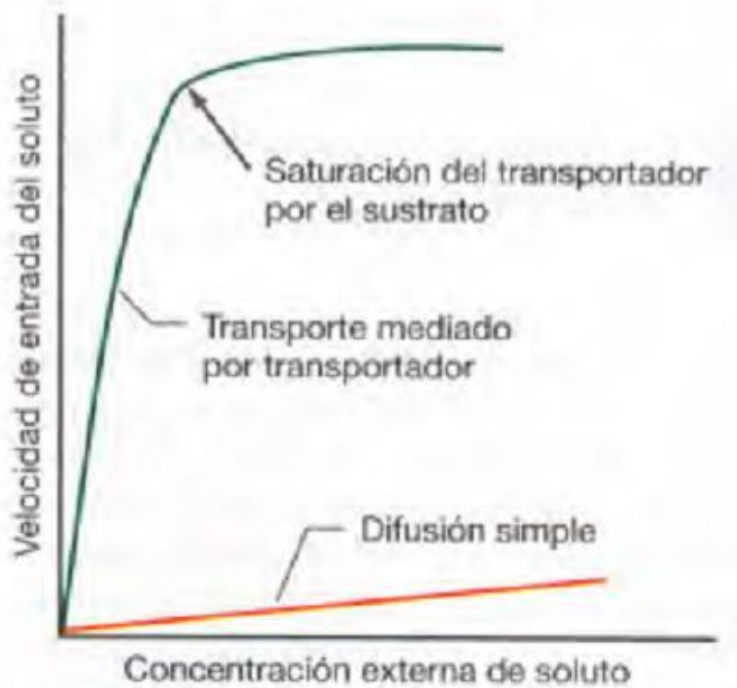


Transporte mediado por proteínas

Transportadores o permeasas:

Proteínas integrales de la MC que catalizan la transferencia de solutos. Aumentan la velocidad de transporte.

Permiten **acumular solutos (nutrientes)** en el citoplasma **en contra del gradiente de concentración**.



Cinética de transporte mediado por permeasas vs difusión simple

Difusión, $V = P \cdot A \cdot \Delta C$

P, cte

A, área

ΔC , dif. conc. soluto

Transporte por permeasas

$$V = V_{\max} \cdot (S) / (K_m + (S))$$

Saturable

Específico

Sensible a inhibición

Sujeto a regulación

Sistemas de transporte en procariotas

Según el mecanismo involucrado se clasifican en:

1. Difusión
2. Transporte activo
3. Sistema de las fosfotransferasas (PTS)

1. No requiere energía
- 2-3. Requieren energía

Difusión

Difusión simple, no requiere transportador . Ej. agua, O₂

Difusión facilitada, requiere transportador. Ej. glicerol

Transporte activo

Primario. Conducido por el metabolismo generador de energía:

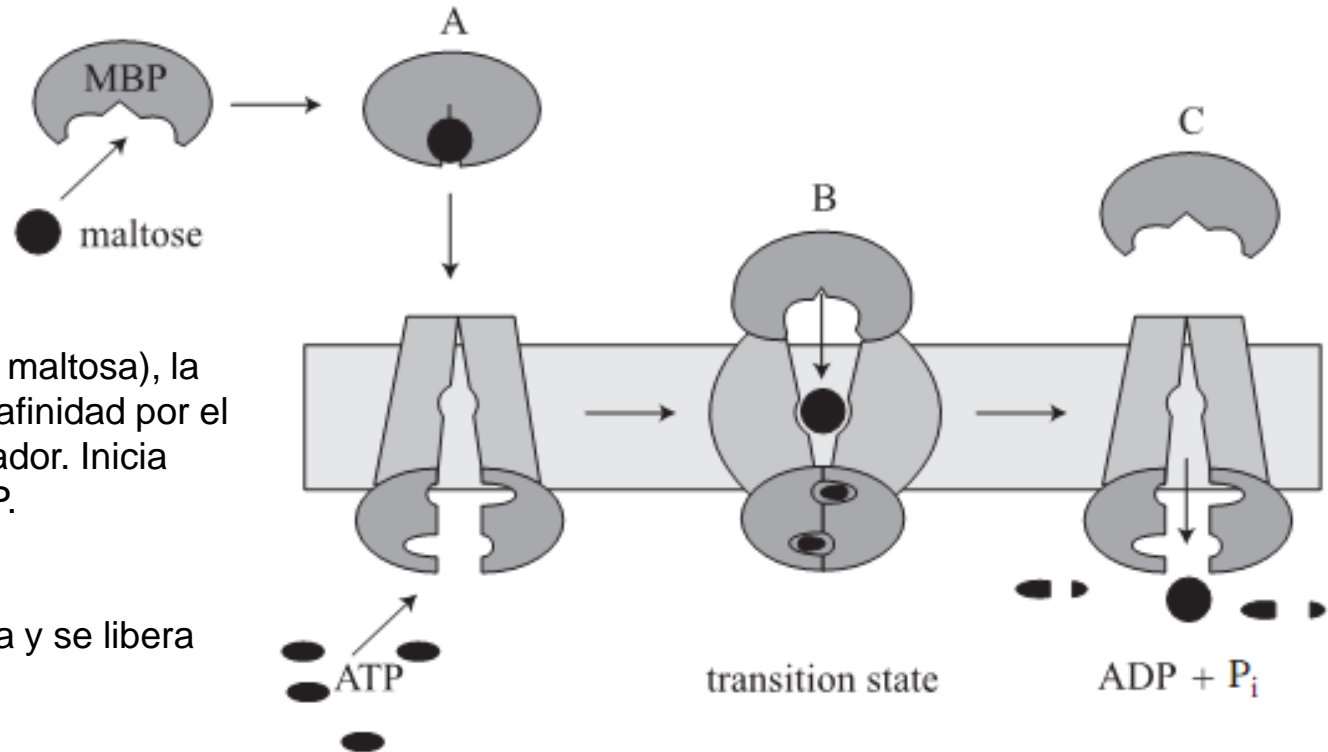
- Exporte de H^+ generado por respiración y fotosíntesis.
- Exporte de H^+ (bacteriorodopsina), importe de Cl^- (halorodopsina) mediado por luz (haloarqueas)
- Dependientes de ATP (ATPasas, transportadores ABC)
- Exporte de Na^+ acoplado a reacciones de decarboxilación de aa

Son mecanismos conservadores de energía

Secundario

La energía es aportada por un gradiente electroquímico generado por transporte primario: fuerza H^+ motiva (FPM) o sodio motiva (FSM)

Transporte primario dependiente de ATP. Vía del “ATP-binding cassette” (ABC)



Transporte de maltosa.

A, MBP (proteína de unión a maltosa), la forma cerrada presenta alta afinidad por el azúcar y se une al transportador. Inicia transporte e hidrólisis de ATP.

B, transferencia del azúcar.

C, la maltosa es transportada y se libera MBP.

Tres componentes: proteína de unión al sustrato (periplasma), transportador (membrana), proteína con actividad ATP hidrolasa (cara citoplasmática)

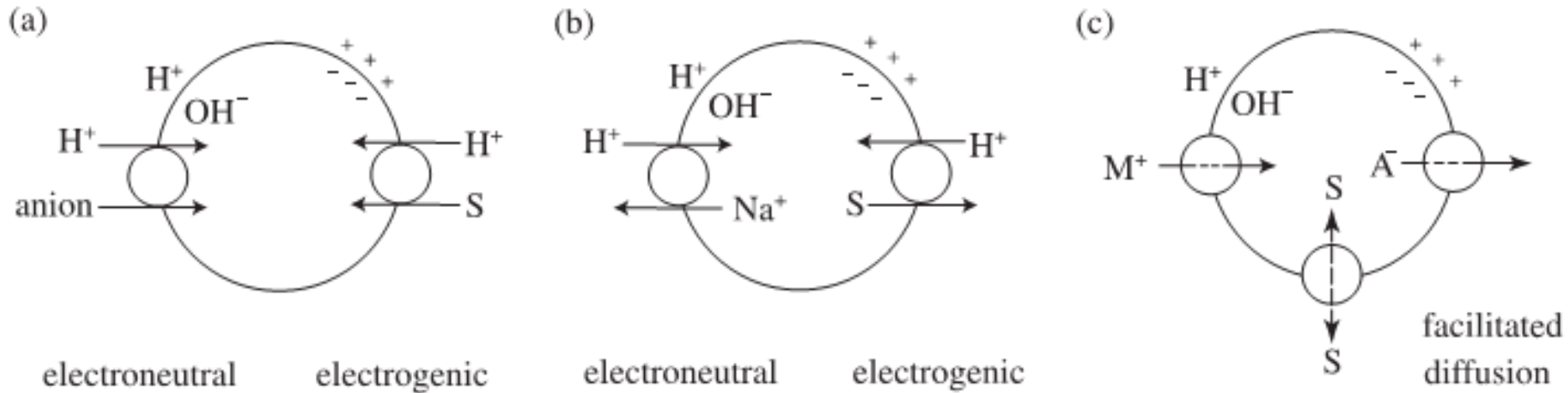
Las bacterias G⁻ poseen **proteínas de unión a solutos** (ej. MBP) en periplasma

Los solutos pasan membrana ext. a través de **porinas** y se unen a **proteínas de unión a solutos** antes de ser transportados por un **complejo unido a membrana (ATP-binding cassette, ABC)**. Este complejo une e hidroliza ATP para proveer energía al transporte.

Transporte de aa, azúcares, nucleótidos, iones, exporte de proteínas y compuestos tóxicos.

Existen homólogos de las proteínas tipo ABC en todos los organismos.

Transporte secundario



Simporte

Antiporte

Uniporte

Simporte. El soluto es transportado en la misma dirección que el H^+ / Na^+ .

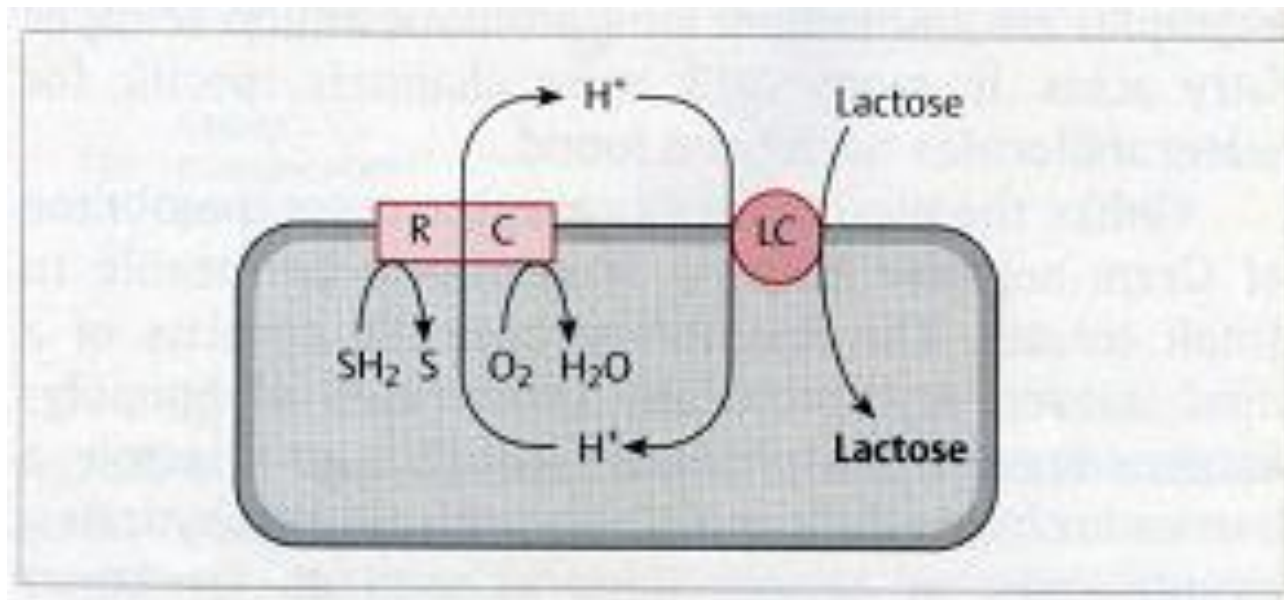
Antiporte. El soluto es transportado en dirección opuesta al H^+ / Na^+ .

Uniporte. Transporte de ión a través del gradiente electroquímico sin involucrar co- transporte de H^+ o Na^+ .

La toma de solutos mediante mecanismos de **simporte** es frecuente en las bacterias. Generalmente va acoplado al eflujo de iones H^+ o Na^+ .

De este modo se transportan aa, monosacáridos y disacáridos.

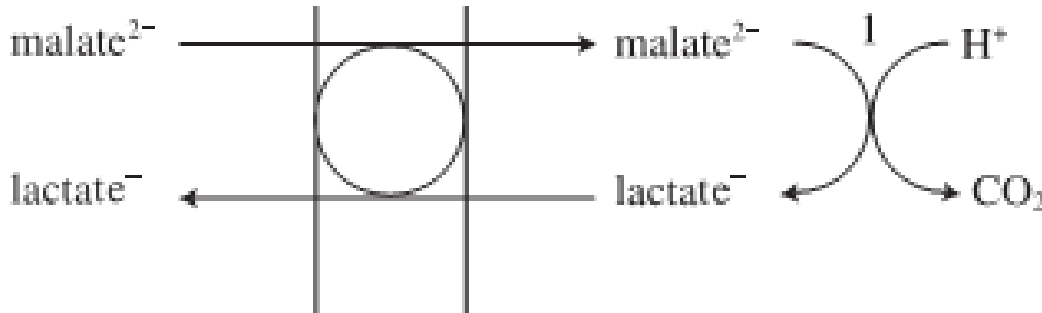
Ej. **simporte lactosa/ H^+** (lactosa permeasa, LacY) de *E. coli*.



Acoplamiento quimiosmótico del transporte secundario en bacterias. RC, cadena respiratoria; LC, lactosa permeasa (LacY); S, sustrato.

Antiport precursor/ producto

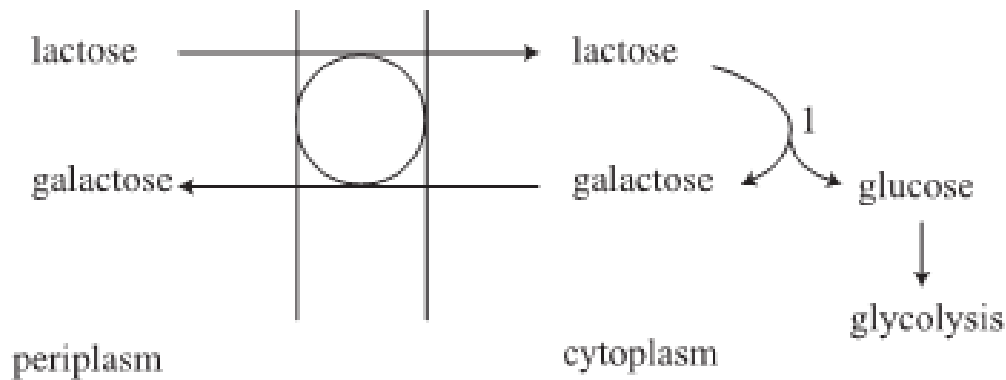
Algunas bacterias anaeróbicas fermentativas (bacterias lácticas) utilizan la energía potencial de una alta conc. de productos de fermentación dentro de la célula para importar el precursor.



Antiport malato/lactato

Fermentación maloláctica.

Lactobacillus, Streptococcus



Antiport lactosa/galactosa

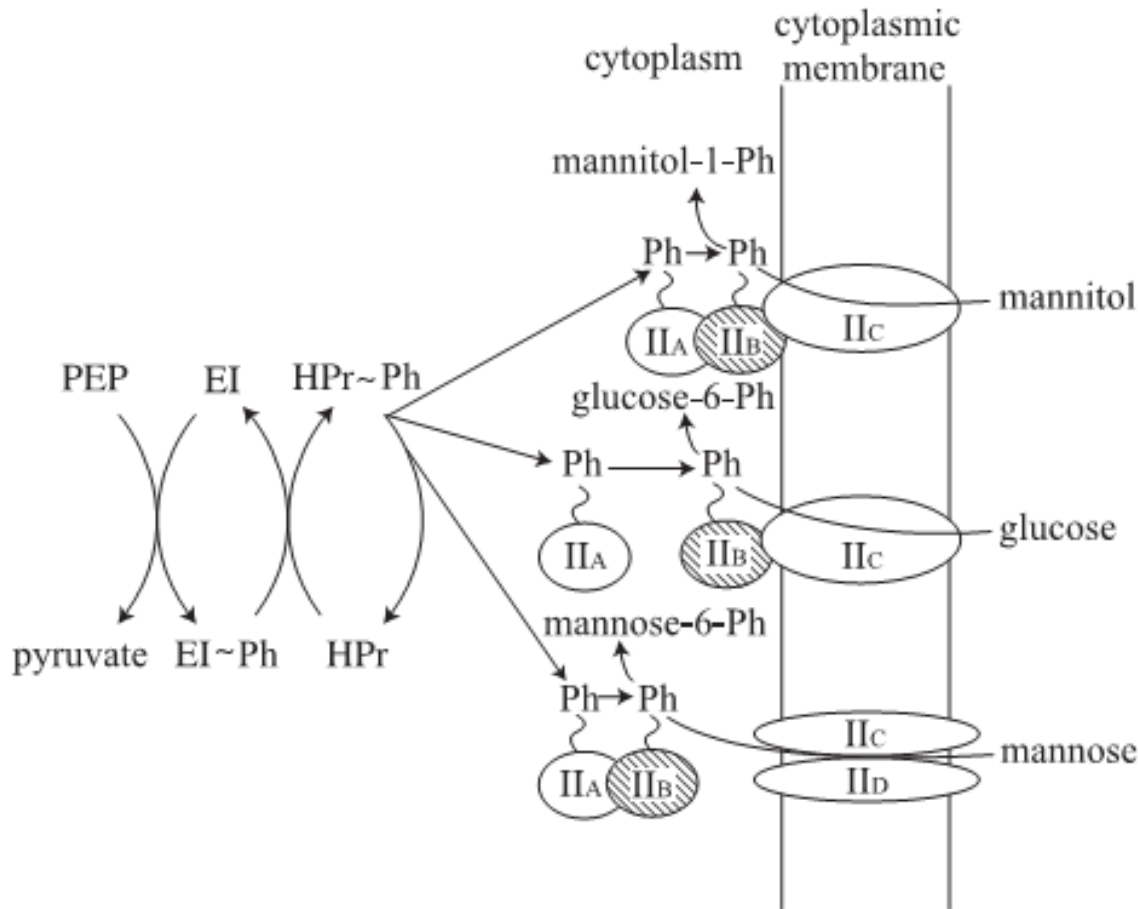
La lactosa es hidrolizada por B-galactosidasa, glu es oxidada en glicólisis. Gal (producto) es intercambiada por lactosa (precursor).

Gal excretada es luego utilizada como fuente de C y E cuando lactosa se consumió.

Sistema de las Fosfotransferasas (PTS)

El soluto es modificado (fosforilado) durante el transporte. El donador de P es PEP, intermediario de glicólisis.

Usado para transportar carbohidratos. Es un **sistema único de las bacterias**, no hay homólogos en las arqueas ni eucariotas.



El sistema de las fosfotransferasas (PTS) fosforila y transporta azúcares.

EI (enzima I) y HPr (prot. que contiene His) son citosólicas y son comunes a varios sistemas de transporte de azúcares.

EII (enzima II A, B, C) están unidas a una membrana y son específicas para cada carbohidrato. C es la permeasa.

Sistemas de transportes de solutos en procariontas

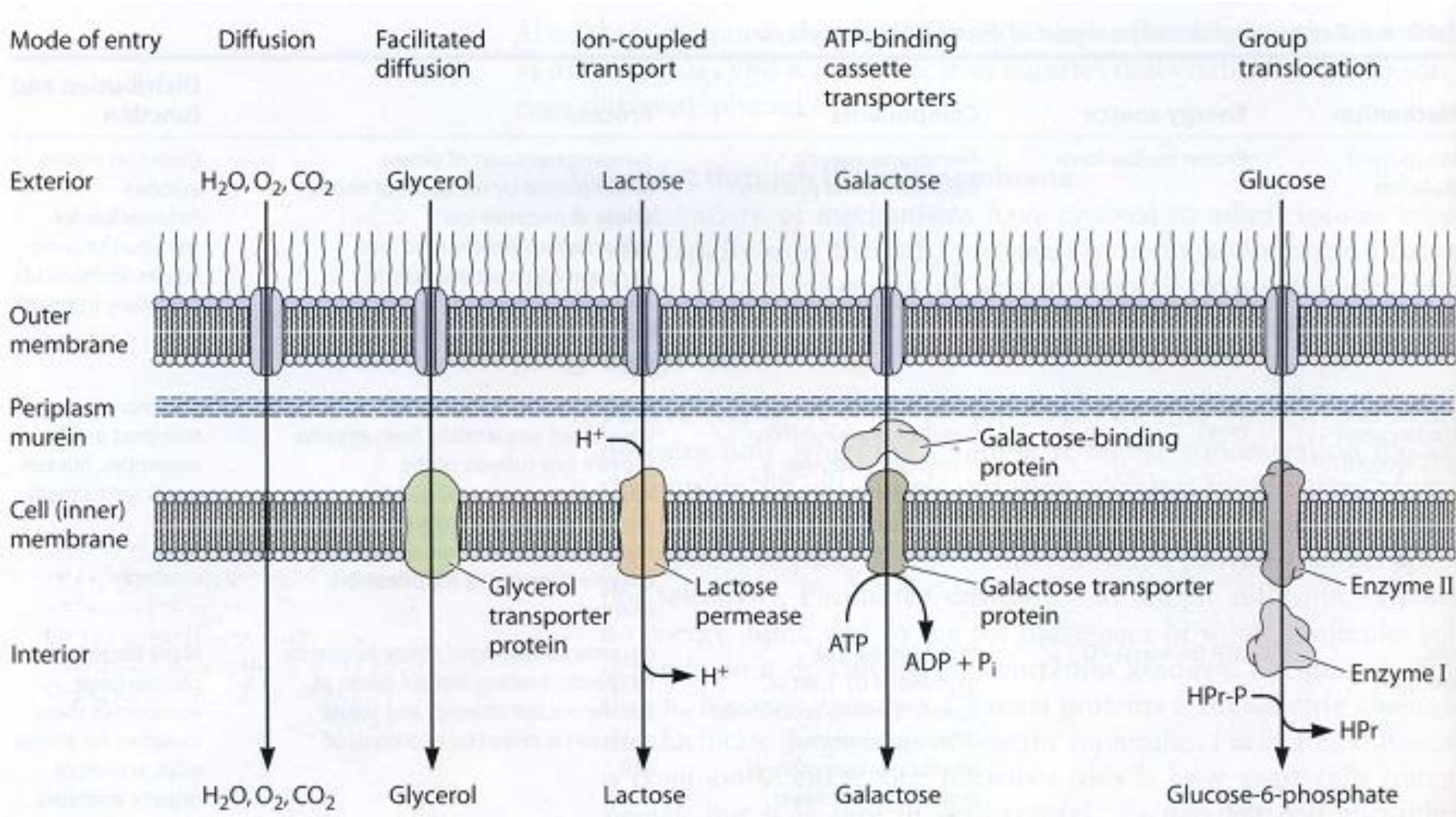


Table 6.8 Examples of active transport of solutes in prokaryotes

Mechanism	Energy source	Components	Process	Distribution and function
Ion-coupled transport	Proton motive force	Membrane: specific transmembrane proteins	Symport: transport of proton accompanied by transport of neutral solute or negative ion Antiport: two like-charged ions transported simultaneously in opposite directions Uniport: single molecule transported driven by electrochemical gradient	Common among aerobes Responsible for transport of some sugars, amino acids, and many inorganic ions
Group translocation (PTS system)	Phosphoenolpyruvate (PEP)	Cytoplasm: enzyme I and histidine protein (HPr) Membrane: enzymes II (specific proteins for different substrates), which have multiple subunits	The phosphoryl group of PEP is transferred sequentially from enzyme I to HPr to a subunit of the appropriate enzyme II, which phosphorylates the incoming solute, usually a sugar; another subunit of enzyme II forms the translocation channel.	Common for sugar transport in anaerobes, but not restricted to them
ABC transport	ATP (or acetyl-PO ₄)	Periplasm (G ⁻) or membrane (G ⁺): set of specific binding proteins for different substrates Membrane: two channel proteins, two ATPases	Cassette consisting of solute bound to its specific binding protein docks at the membrane channel, and solute transport is driven by hydrolysis of ATP.	Many bacteria contain large numbers of these cassettes for amino acids and other organic nutrients.
Iron siderophore transport	ATP	Envelope: group of eight or more proteins that span all layers of the envelope Secreted siderophore (a chelator of Fe ³⁺)	The siderophore (enterochelin is one of <i>Escherichia coli</i> 's) is made and secreted; after binding Fe ³⁺ , it is transported across all layers of the envelope by the eight-protein envelope complex.	Common among many pathogens and others living in Fe-poor environments

Exporte de proteínas en procariotas

Funciones de proteínas extracelulares:

Biogénesis de estructuras externas

Nutrición (hidrolasas)

Factores de virulencia

Componentes de cadena respiratoria, permeasas

Señalamiento celular (sensores)

Las proteínas son transportadas a través de la membrana citoplasmática mediante al menos 3 mecanismos:

1. Via general de secreción (**GSP o Sec**)
2. Via **ABC**
3. Via de las argininas gemelas (*Twin-arginine Traslocation –TAT- Pathway*)

Las bacterias Gram – poseen, además, sistemas para transportar las proteínas a través de la membrana externa: **sistemas de secreción de proteínas**

Sistema de secrecion general (Via Sec)

Es necesario para la viabilidad de las bacterias.

Existe en todos los organismos.

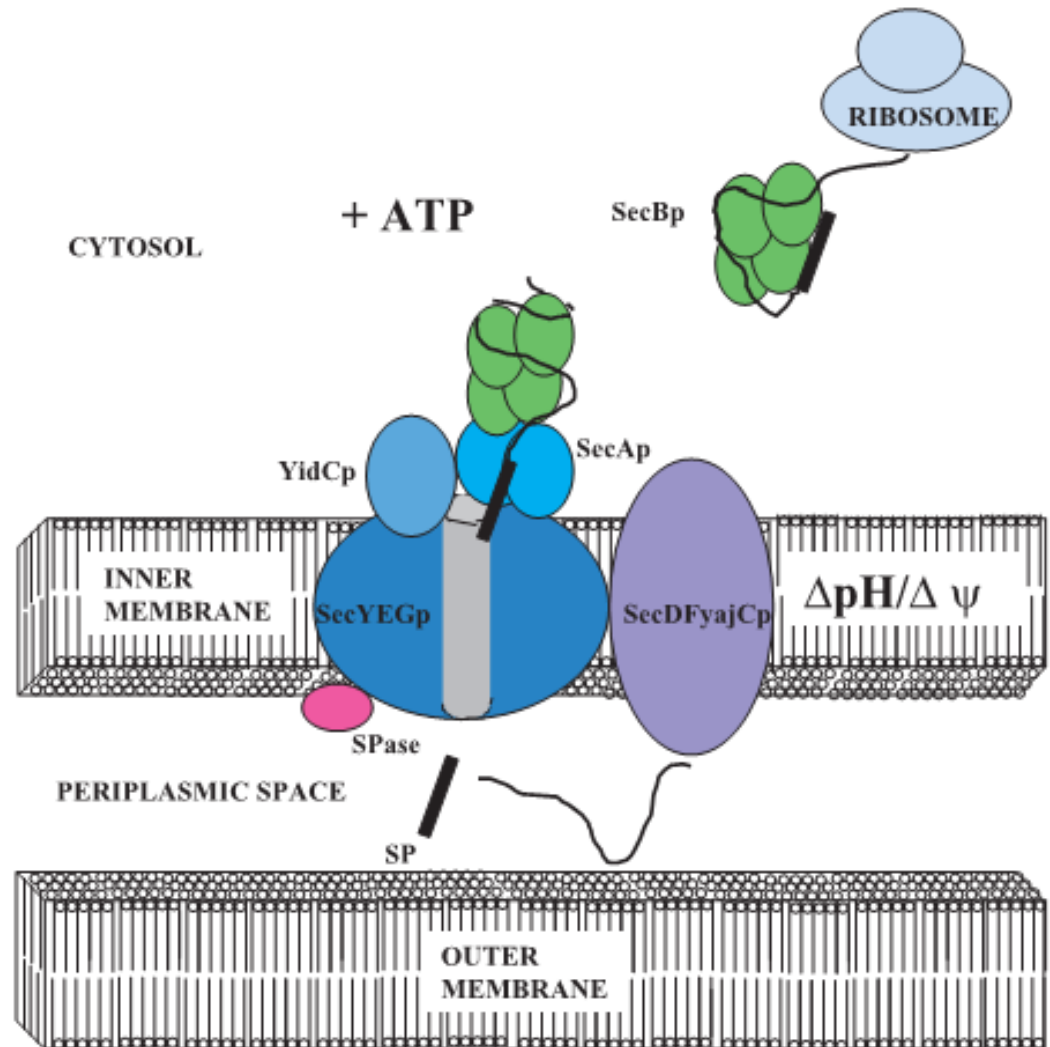
Proteínas sustratos poseen péptido señal en extremo N-terminal

Transporta proteínas desplegadas.

Depende de ATP y FPM

Exporta proteínas periplasmáticas o de membrana externa

Una variante del sistema Sec permite insertar proteínas integrales en la membrana citoplasmática (**Via SRP**, *signal recognition particle*)



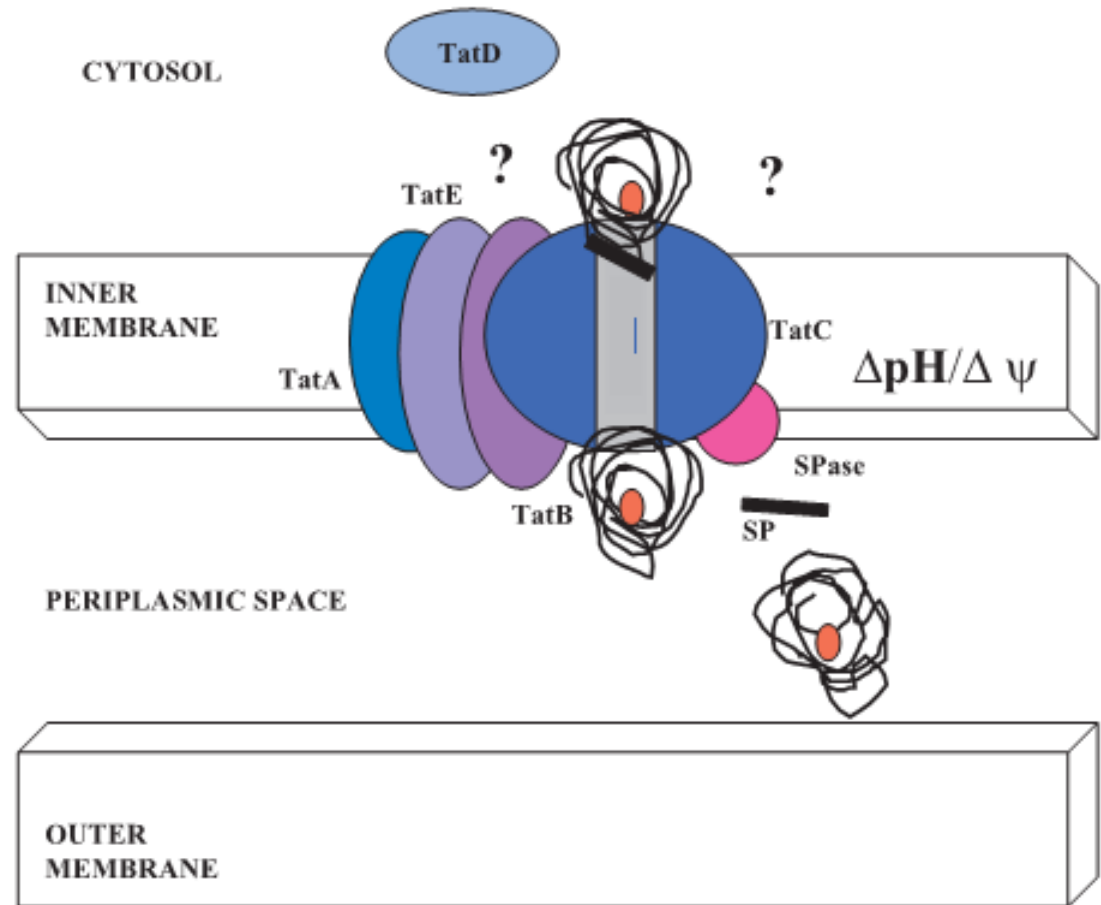
Via de las argininas gemelas, TAT

Mecanismo preferencial de secreción de proteínas en las arqueas halófilas extremas, su importancia es secundaria en las bacterias.

Transporta proteínas en estado parcial o totalmente nativo y enzimas con cofactores.

Proteínas sustratos poseen péptido señal en extremo N-terminal con **motivo característico** que contiene **RR**

Depende de FPM



Via de transporte de proteínas ABC

Permite el transporte de proteínas al medio extracelular en un solo paso.

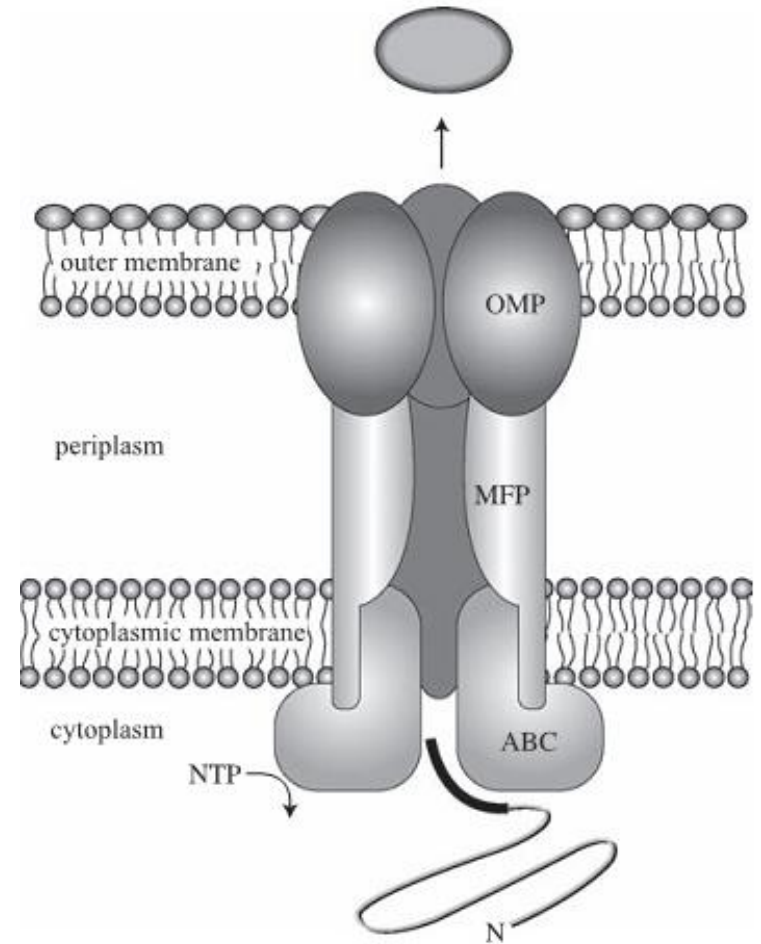
Frecuentemente usado por bacterias patógenas para secretar factores de virulencia

Proteínas sustratos poseen péptido señal en extremo C-terminal, no se remueve después del transporte.

Transporta proteínas desplegadas.

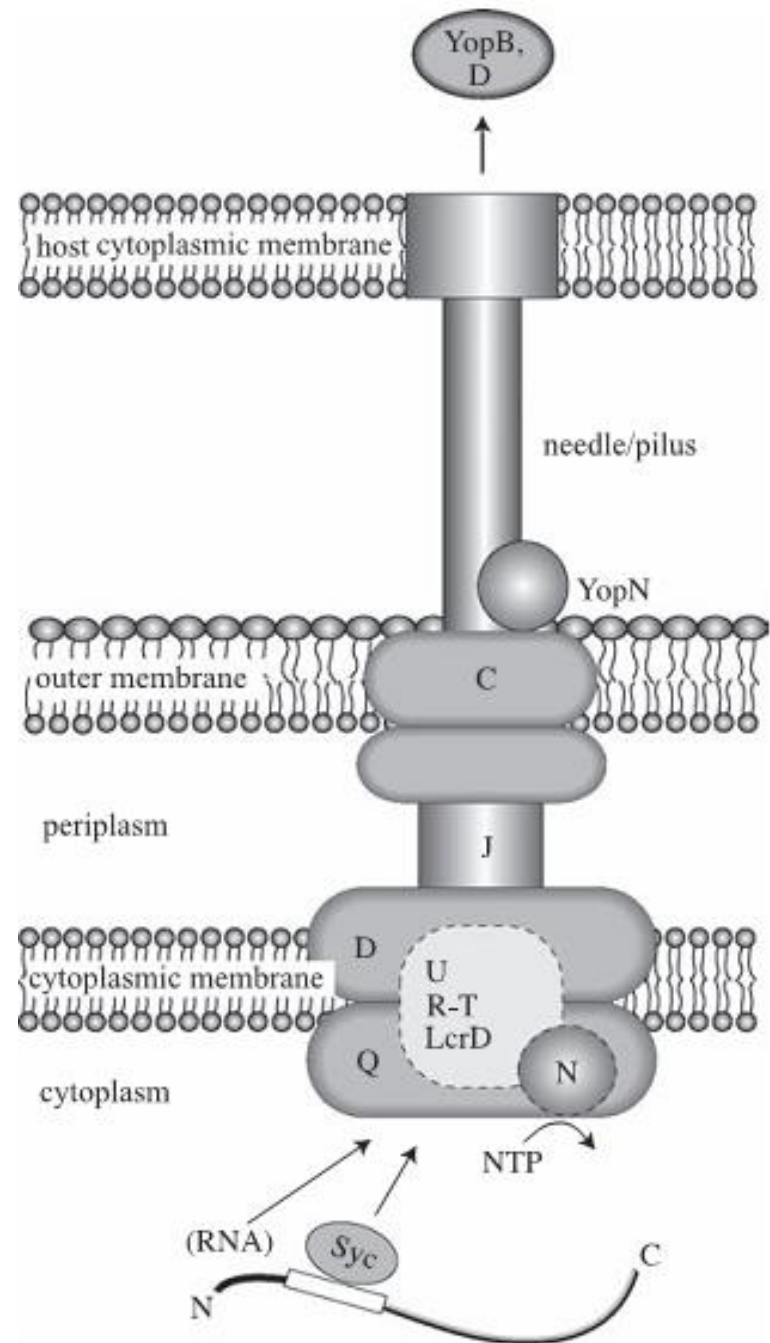
Depende de ATP.

Posee complejo de la flia **transportadores ABC** en membrana citoplasmática



Inyección de proteínas dentro de la célula huésped mediante Sistema de secreción tipo III.

Ej. *Yersinia* (bacteria Gram- patógeno humano)



Referencias Secreción de Proteínas

- *Protein translocation across membranes*

Agarraberes and Dice, BBA 1513 (2001)1-24

- *Multiple pathways allow protein secretion across the bacterial outer membrane*

Thanassi and Hultgen, Curr Opinion in Cell Biology (2000) 12:420-30