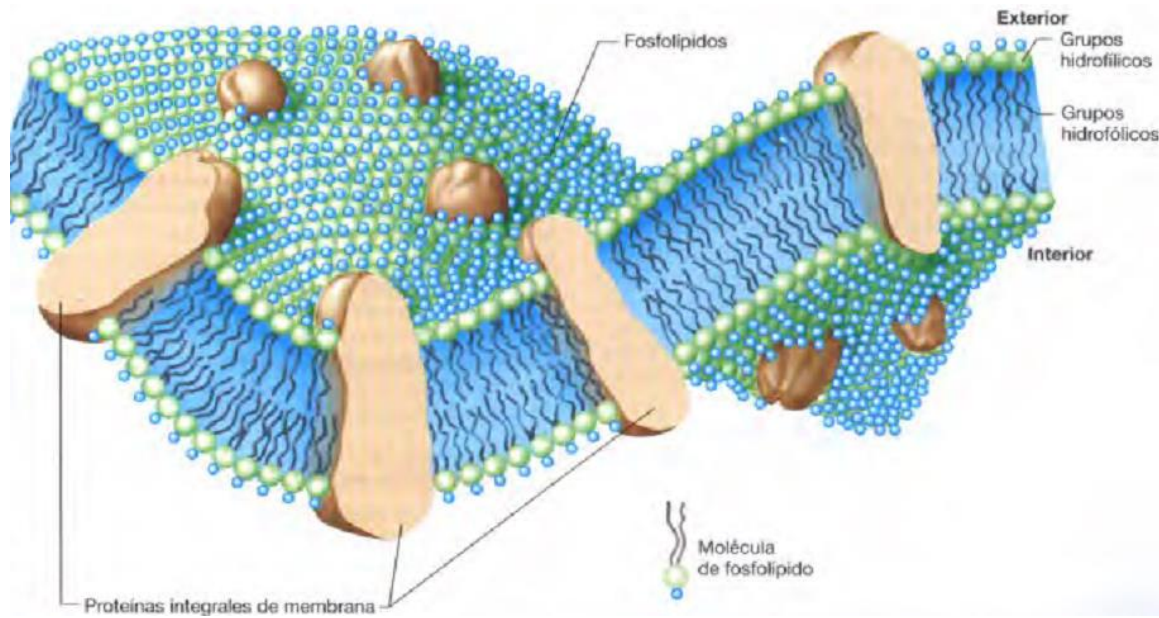
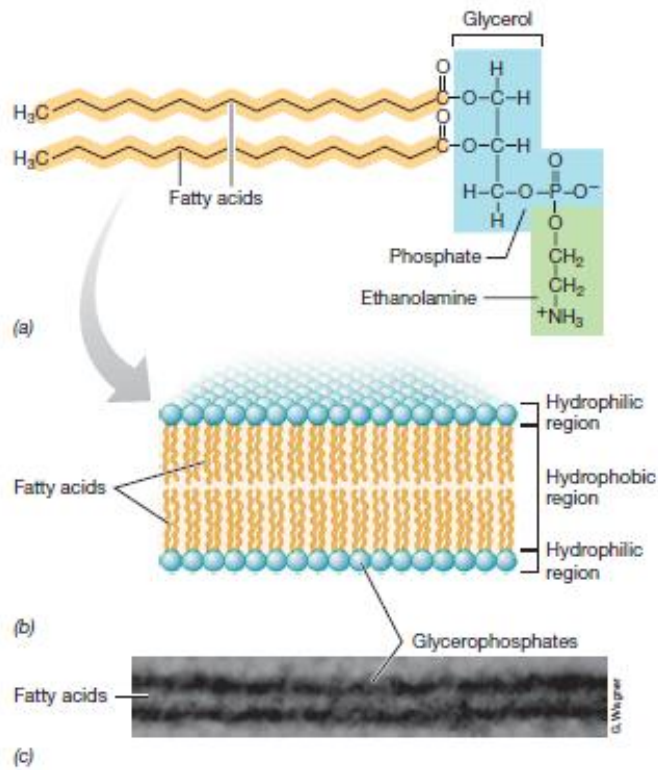


**Transporte a través de la membrana**

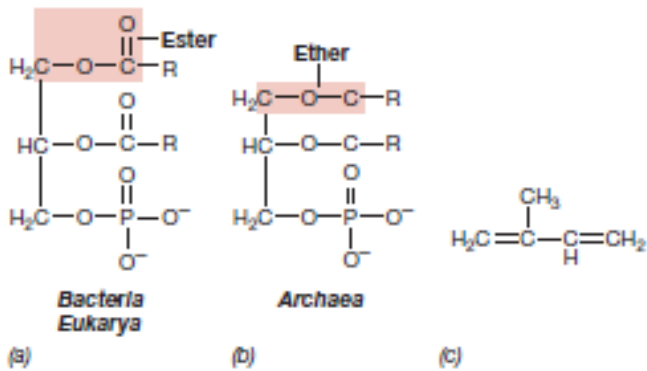
**Rutas de Secreción de proteínas**

**en procariotas**



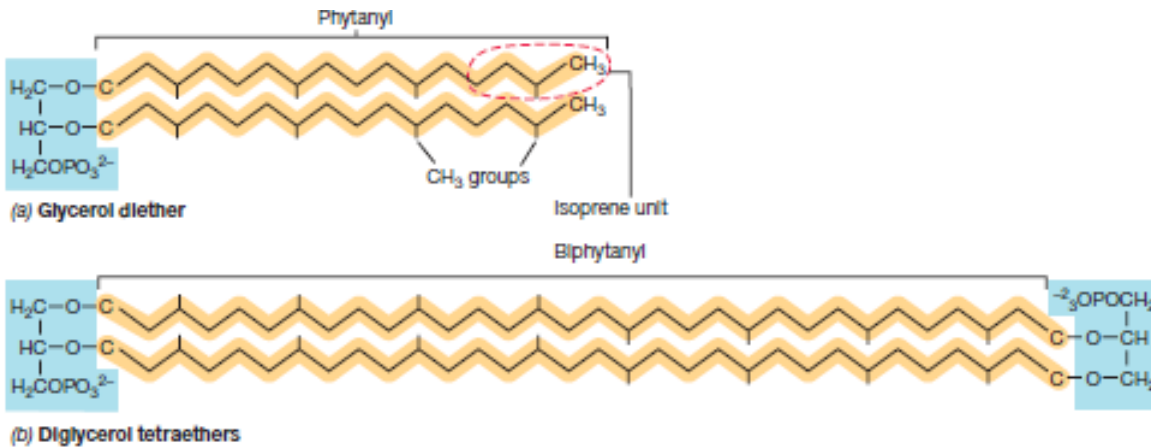
**Estructura de la membrana citoplasmática: bicapa de fosfolípidos**

**Existen variantes a este diseño en las arqueas**

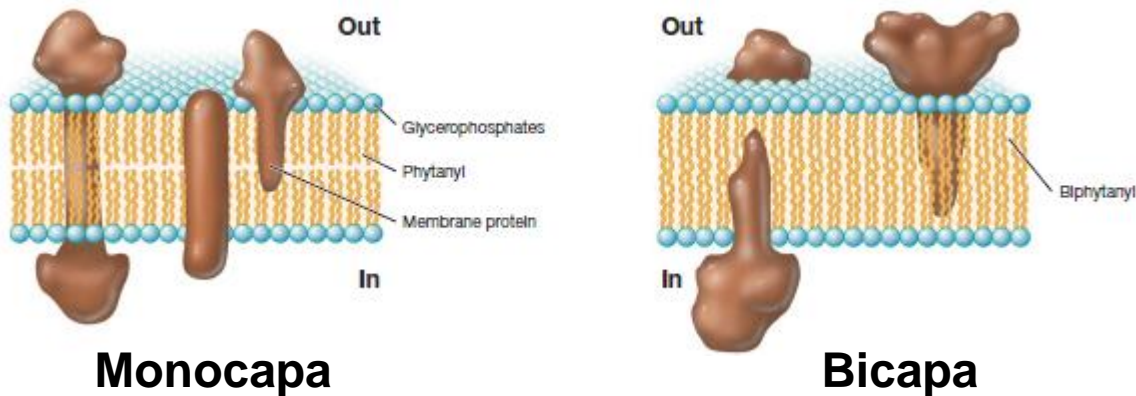


## Estructura general de los lípidos de las membranas

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

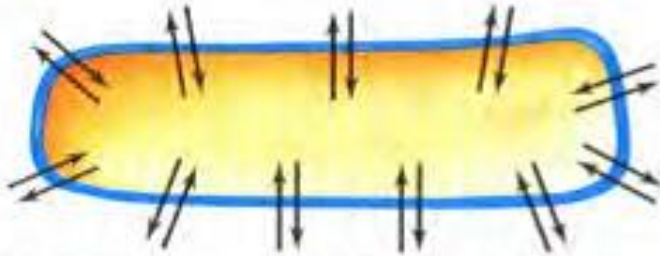


## Estructura de las membranas arqueanas

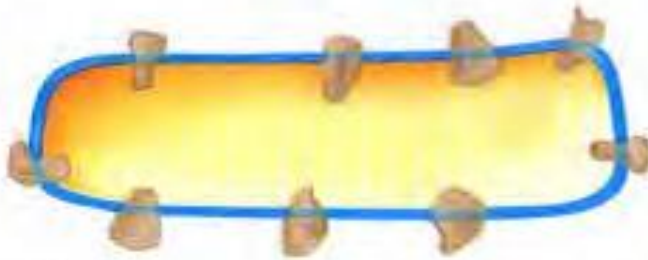


Bicapas más resistentes  
Hipertermófilos

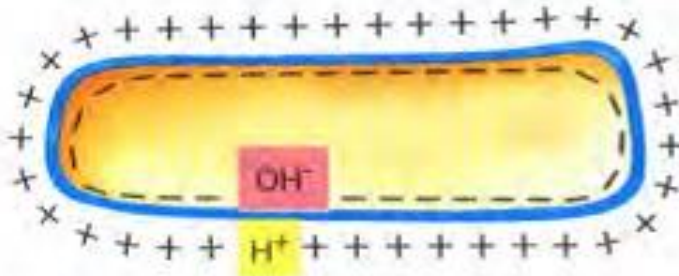
# Funciones de la membrana citoplasmática



**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)

**Table 3.2** Comparative permeability of membranes to various molecules

| Substance                       | Rate of permeability <sup>a</sup> | Potential for diffusion into a cell |
|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| Water                           | 100                               | Excellent                           |
| Glycerol                        | 0.1                               | Good                                |
| Tryptophan                      | 0.001                             | Fair/Poor                           |
| Glucose                         | 0.001                             | Fair/Poor                           |
| Chloride ion (Cl <sup>-</sup> ) | 0.000001                          | Very poor                           |
| Potassium ion (K <sup>+</sup> ) | 0.0000001                         | Extremely poor                      |
| Sodium ion (Na <sup>+</sup> )   | 0.00000001                        | Extremely poor                      |

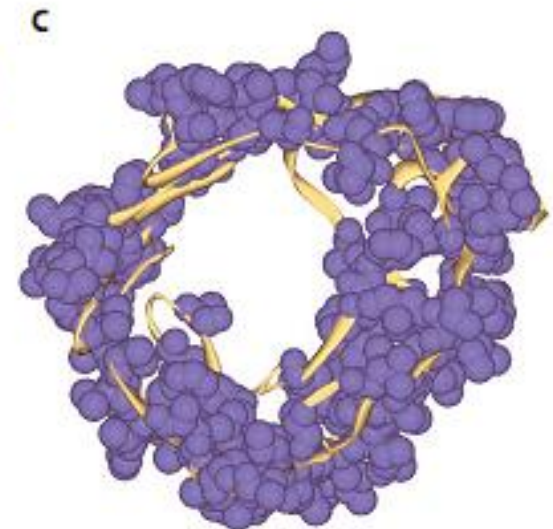
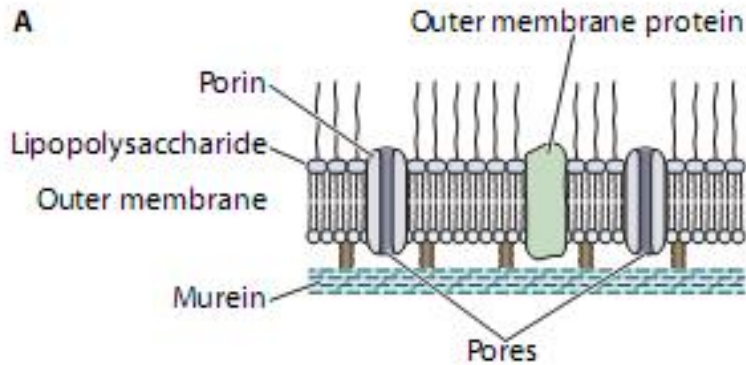
<sup>a</sup>Relative scale—permeability with respect to permeability to water given as 100. Permeability of the membrane to water may be affected by aquaporins (see text).

- ✓ Permeable a: gases (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>), moléculas pequeñas (agua, etanol), moléculas liposolubles (glicerol, ac. grasos), ácidos y bases débiles en forma no cargada
- ✓ El transporte de agua es acelerado por **aquaporinas** (canales proteicos)
- ✓ **Proteínas transportadoras acumulan solutos en contra de gradiente**

La **membrana externa (ME)** (bacterias Gram -) es permeable a

Moléculas pequeñas, a través de **Porinas** (1 nm diámetro)

Impermeable a moléculas hidrofílicas (aa, azúcares, iones)



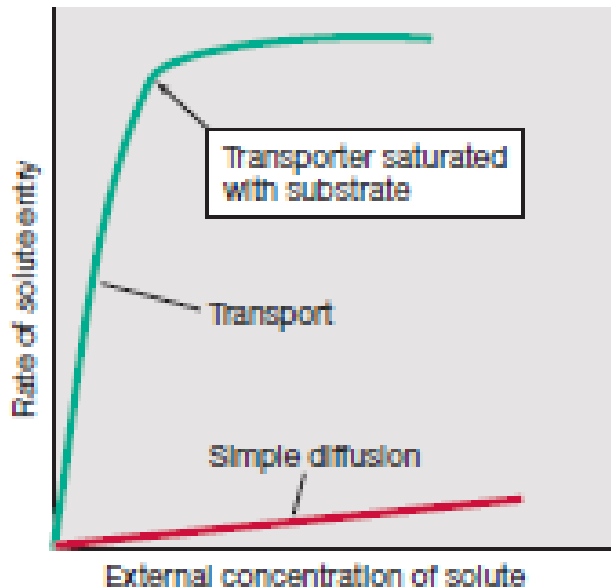


# Transporte mediado por proteínas

## 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

$\Delta C$ , 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:

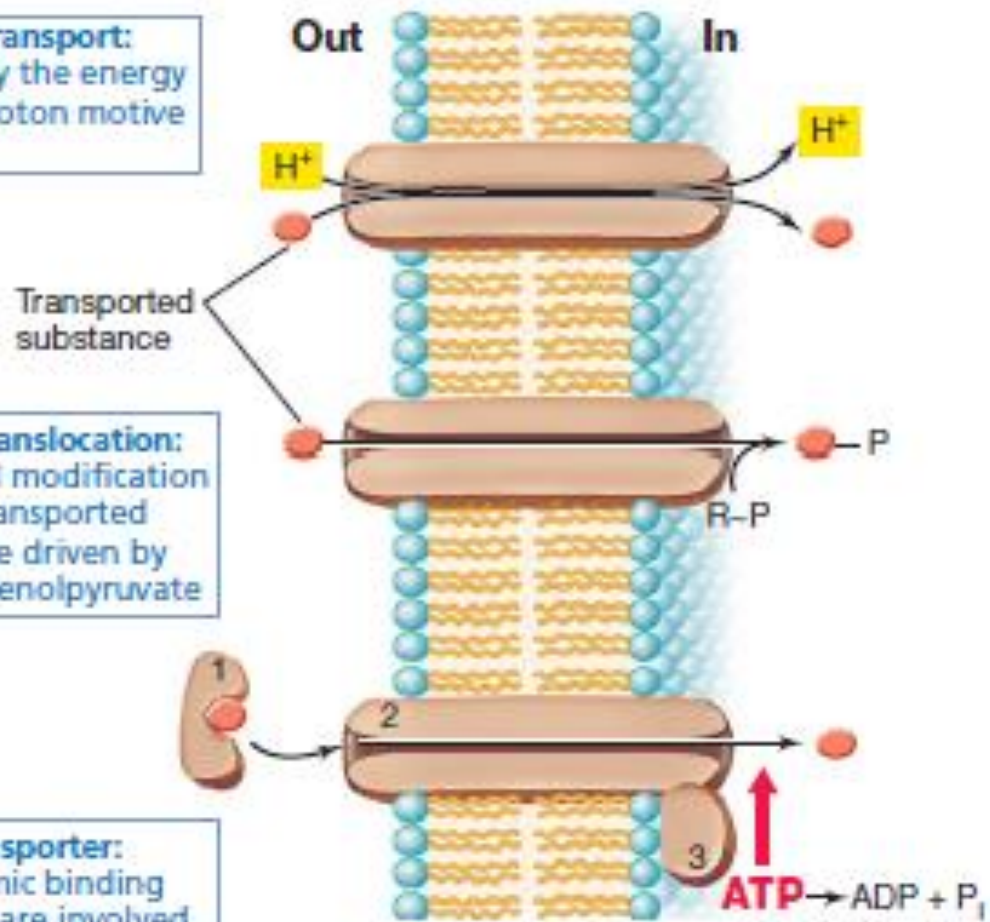
1. **Difusión** (simple o facilitada). No requiere energía
2. **Transporte activo**. Requiere energía
3. **Sistema de las fosfotransferasas (PTS)** . Requiere energía



**Simple transport:**  
Driven by the energy in the proton motive force

**Group translocation:**  
Chemical modification of the transported substance driven by phosphoenolpyruvate

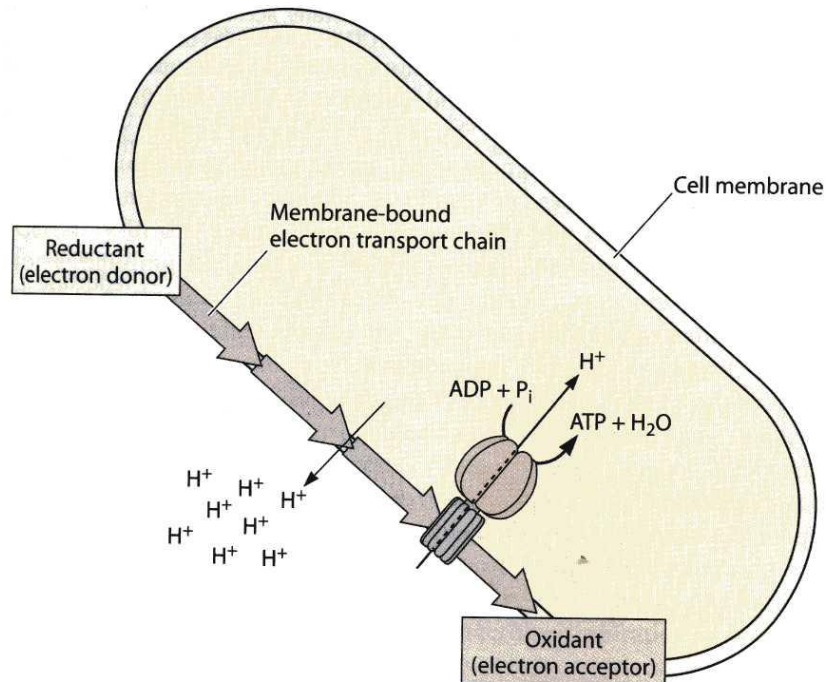
**ABC transporter:**  
Periplasmic binding proteins are involved and energy comes from ATP



# 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)

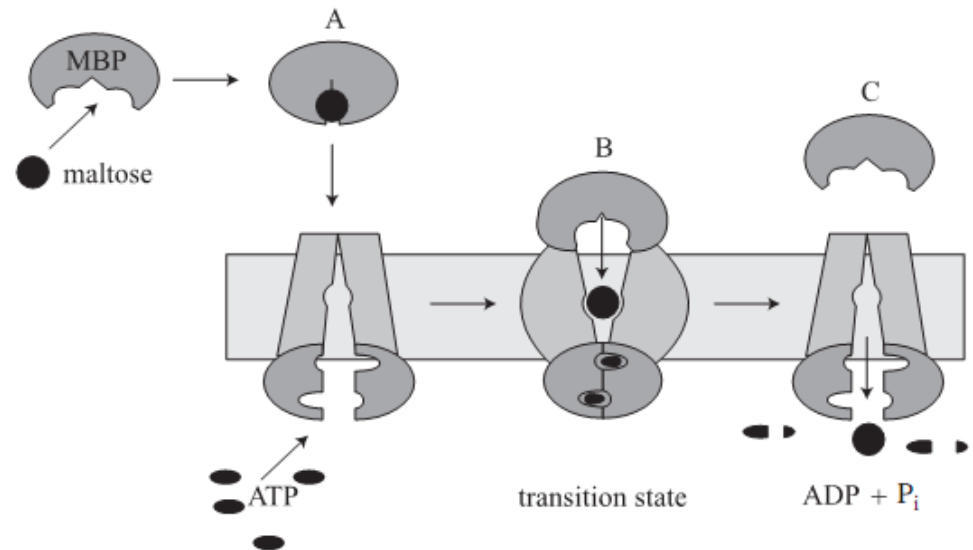
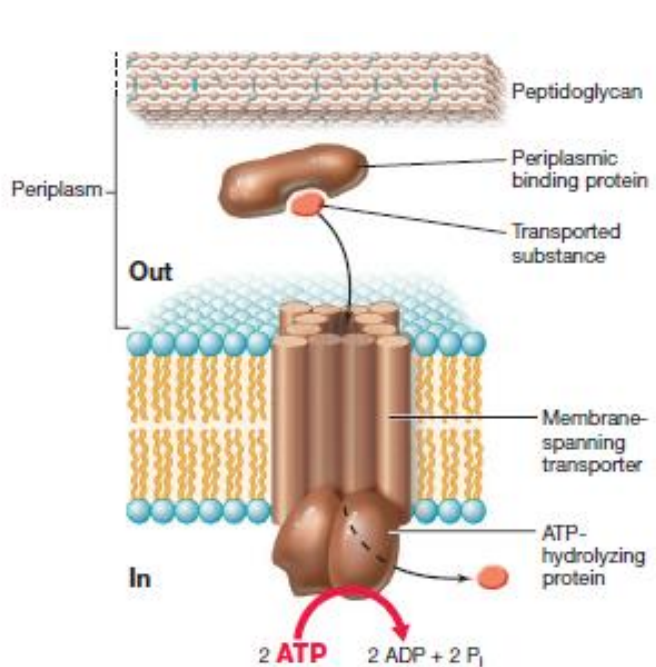


# Transportadores ABC “ATP-Binding Cassette”

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

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

Transportadores de alta afinidad por el sustrato (1 uM)

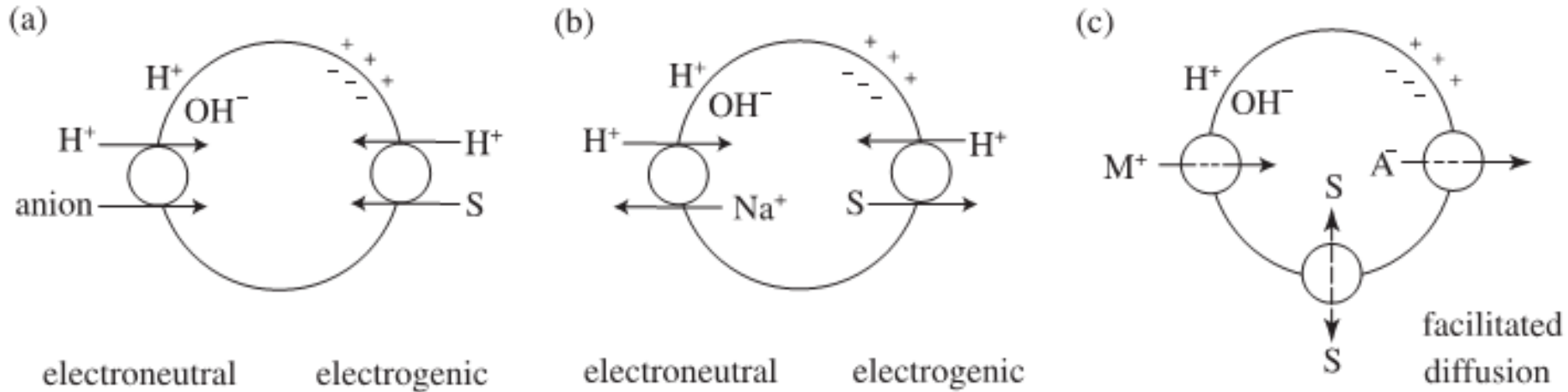


## Transporte de maltosa

**MBP** (proteína de unión a maltosa), presenta **alta afinidad por el sustrato** y se une al transportador. Inicia transporte e hidrólisis de ATP.

# Transporte secundario

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



**Simporte**

**Antiporte**

**Uniporte**

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

**Antiporter.** El soluto es transportado en dirección opuesta al  $H^+/Na^+$ .

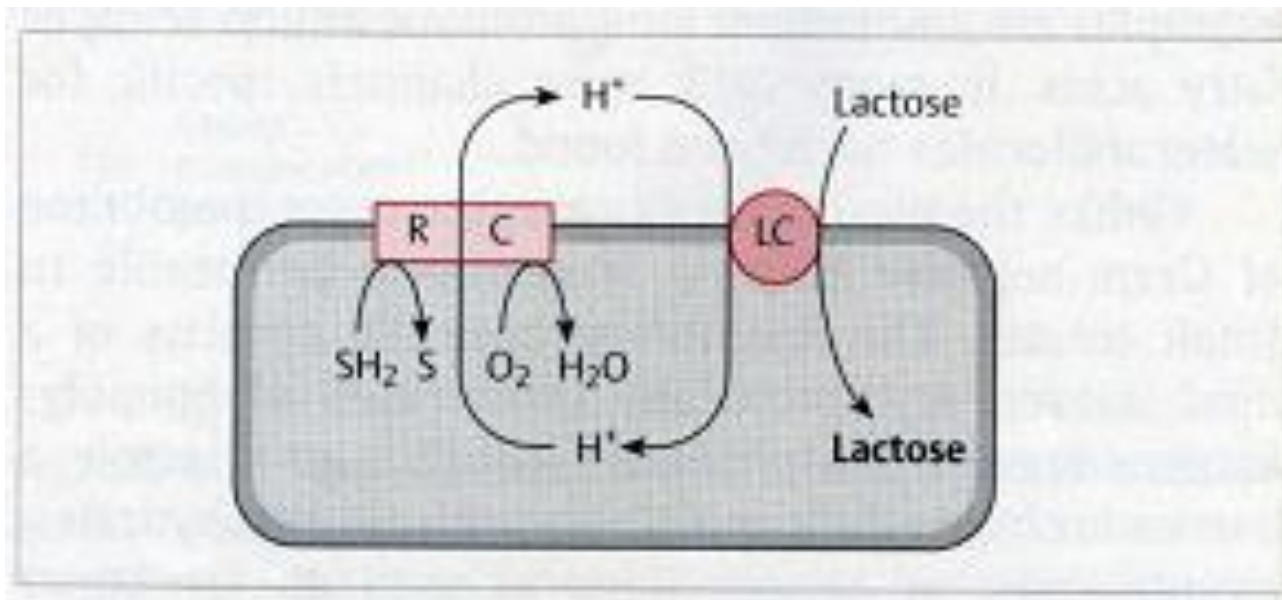
**Uniporte (difusión facilitada).** Transporte de ión a través del gradiente electroquímico sin involucrar co-transporte de  $H^+$  o  $Na^+$ .

## Simporte es frecuente en las bacterias

Generalmente acoplado al eflujo de iones  $H^+$  o  $Na^+$

Transporte 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.

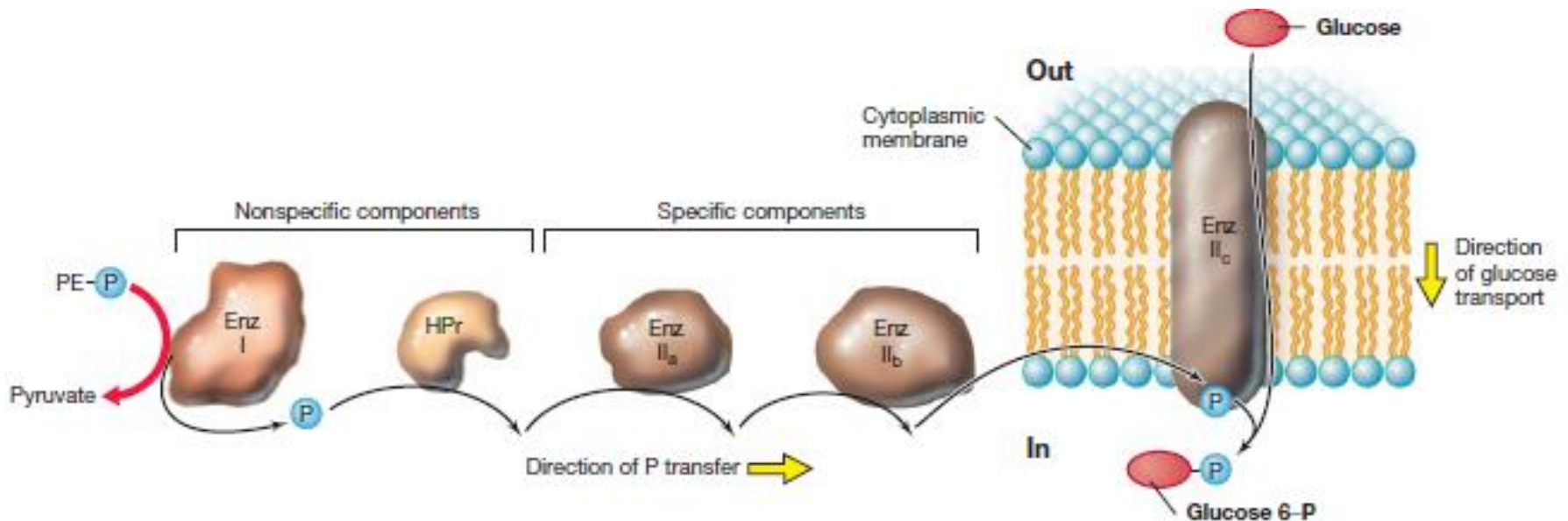
# Sistema de las Fosfotransferasas (PTS)

El soluto es modificado (fosforilado) durante el transporte

El donador de P es el fosfoenol piruvato (PEP), intermediario de la glicólisis

Transporte carbohidratos

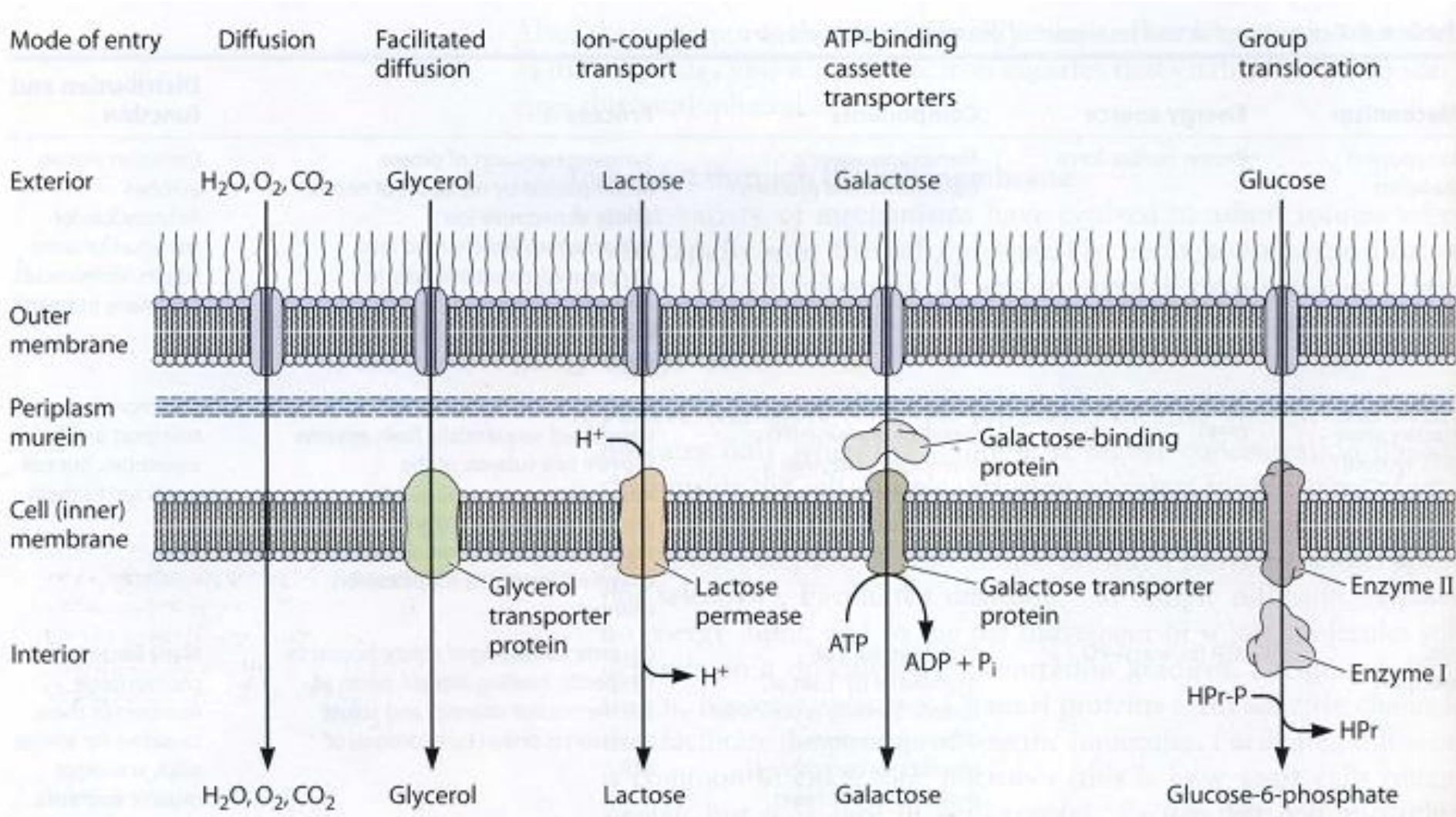
Sistema particular de las bacterias



- ✓ **EI** (enzima I) y **HPr** (proteína que contiene His) , citosólicas y **comunes** a varios sistemas de transporte de azúcares
- ✓ **EII** (enzima II A, B, C), unidas a membrana y **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<br>Antiport: two like-charged ions transported simultaneously in opposite directions<br>Uniport: single molecule transported driven by electrochemical gradient | Common among aerobes<br>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)<br>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 <sub>4</sub> ) | Periplasm (G <sup>-</sup> ) or membrane (G <sup>+</sup> ): set of specific binding proteins for different substrates<br>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<br>Secreted siderophore (a chelator of Fe <sup>3+</sup> )                            | The siderophore (enterochelin is one of <i>Escherichia coli</i> 's) is made and secreted; after binding Fe <sup>3+</sup> , 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/secreción 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)

## Sistemas de Transporte a través de membrana citoplasmática:

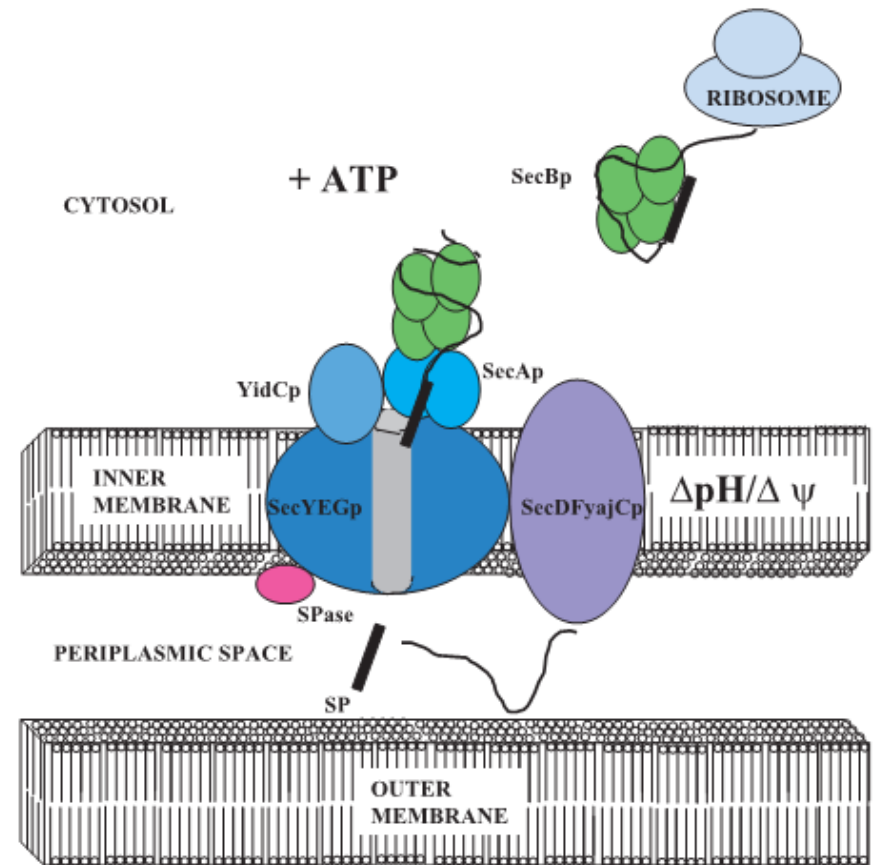
1. Via general de secreción (**GSP o Sec**)
2. Via **ABC**
3. Via de las argininas gemelas (*Twin-arginine Translocation –TAT- Pathway*)

**Sistemas de secreción de proteínas.** Sistemas para transportar las proteínas a través de la membrana externa (bacterias Gram – )

# Sistema de Secreción General (Via Sec)

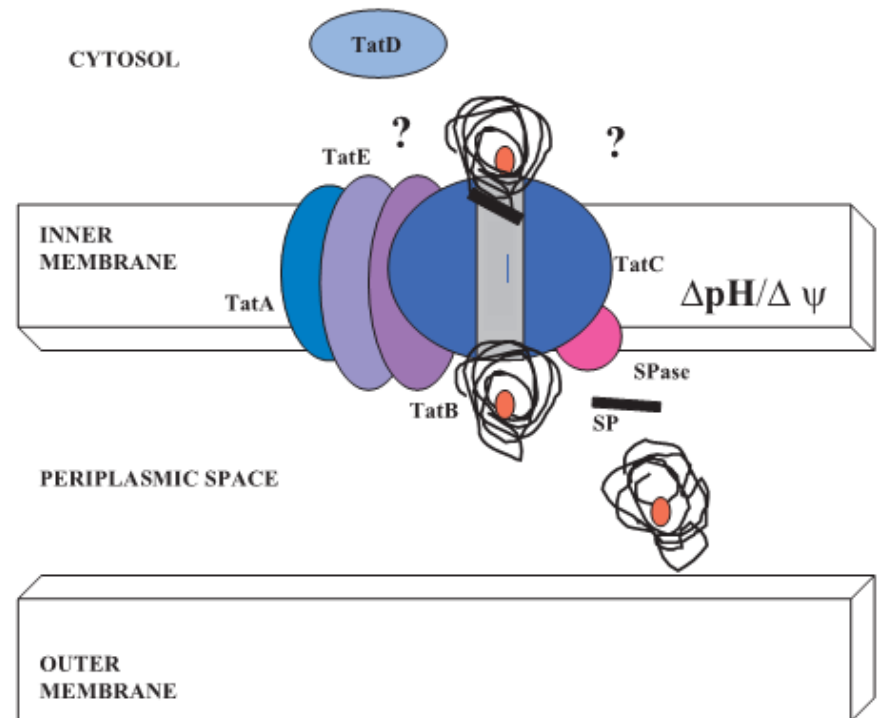
- ✓ Necesario para la viabilidad de las bacterias
- ✓ Conservado en todos los organismos
- ✓ Proteínas sustratos poseen péptido señal en extremo N-terminal
- ✓ Transporta proteínas desplegadas
- ✓ Depende de ATP y FPM
- ✓ Proteínas periplasmáticas o de membrana externa

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



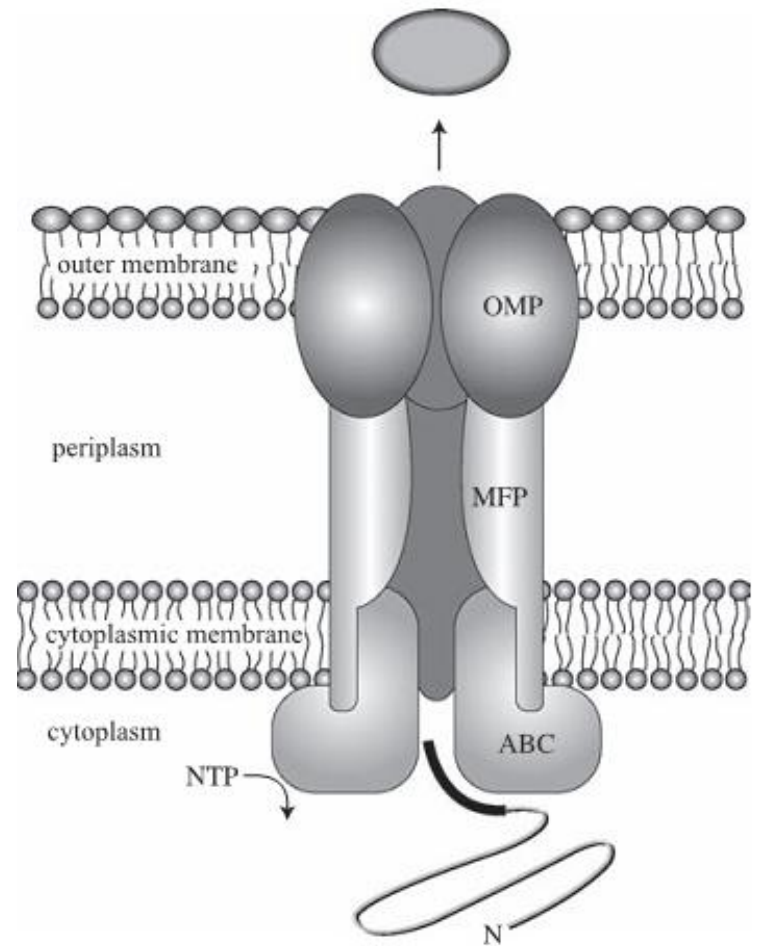
## Via de las argininas gemelas, TAT

- ✓ Mecanismo preferencia en las arqueas halófilas extremas, importancia 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

- ✓ 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
- ✓ Proteínas desplegadas
- ✓ Depende de ATP
- ✓ **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)

