

Tráfego Intracelular

(parte 3)

(Endocitose e Exocitose)

Rafael H.F. Valverde

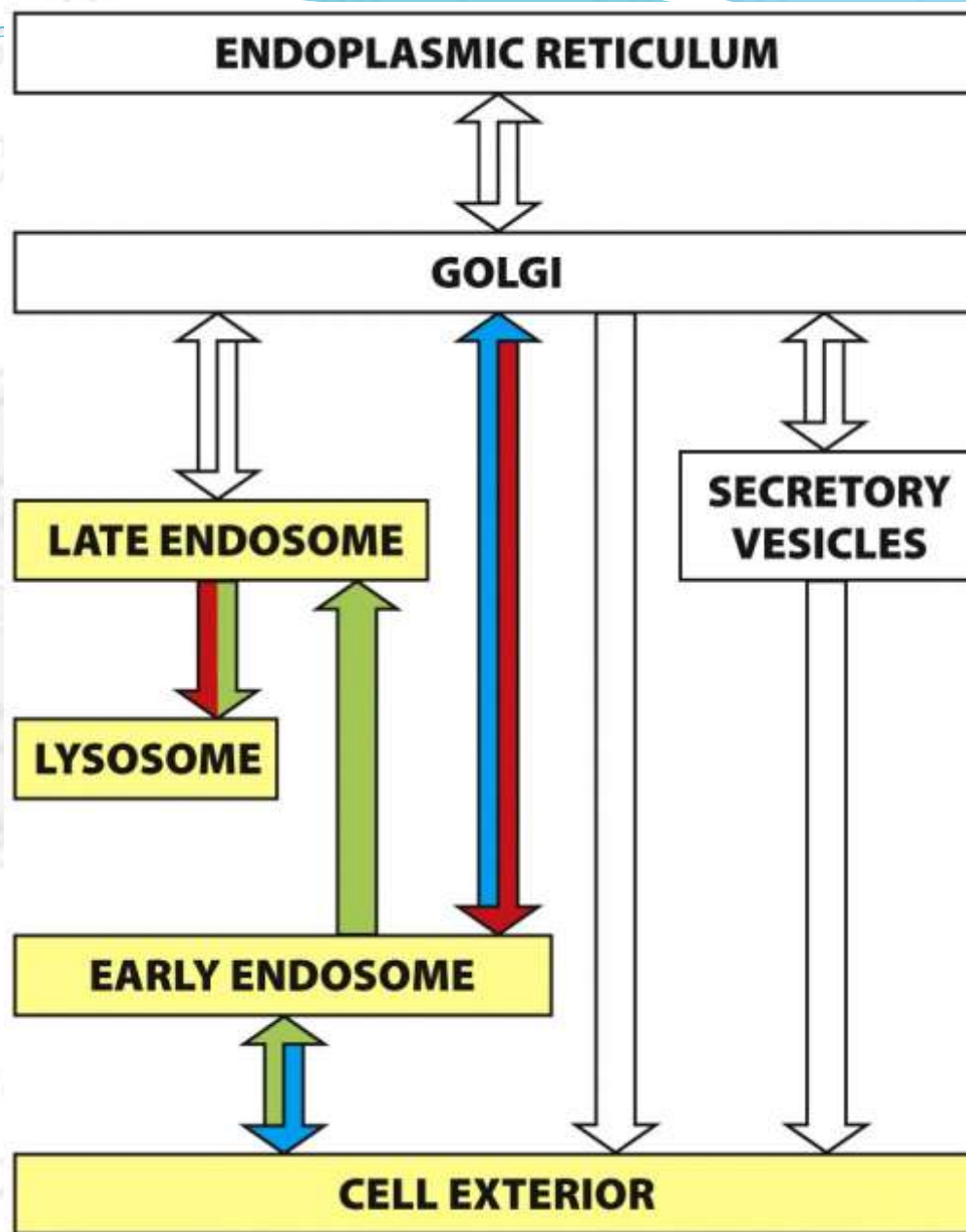
valverde@nano.ufrj.br

Laboratório de Biomembranas G-37

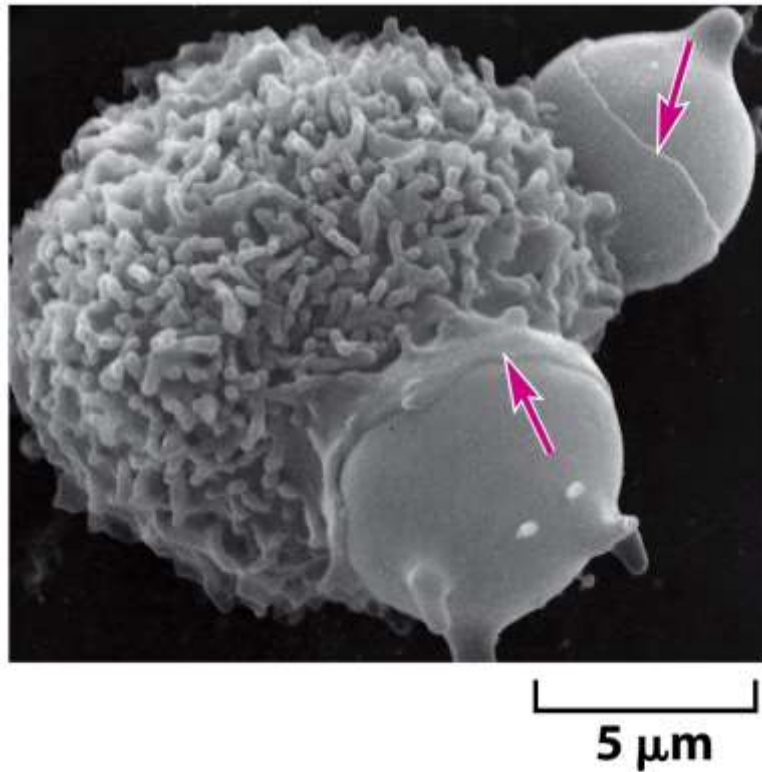
Biologia Celular para Nanotecnologia
IBCCFº UFRJ



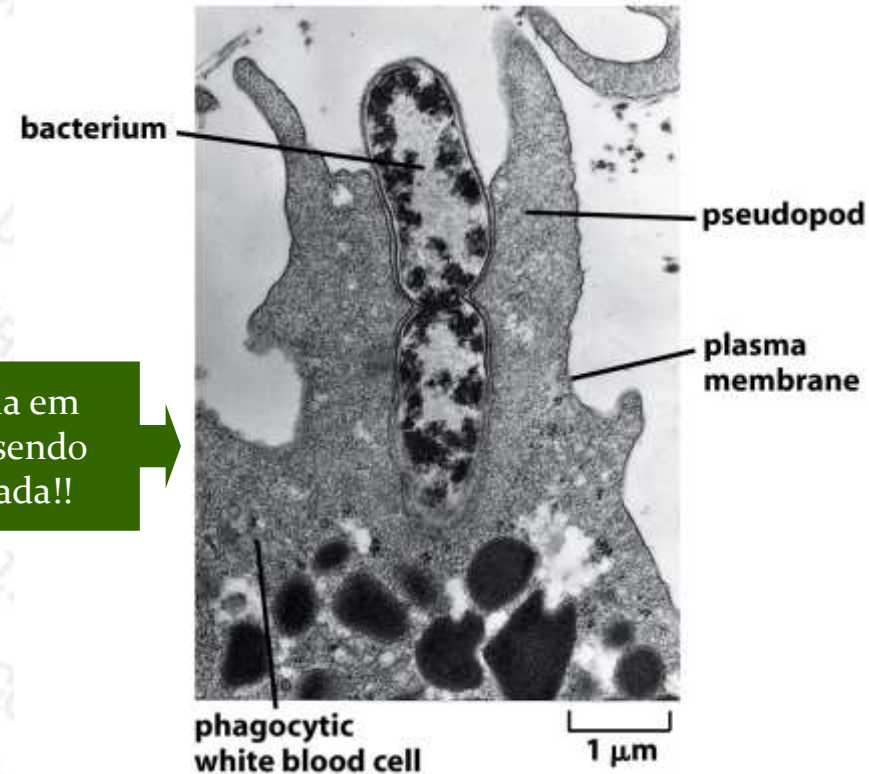
Junho – 2022



Células Fagocíticas Profissionais podem Ingerir Grandes Partículas



bactéria em divisão sendo fagocitada!!



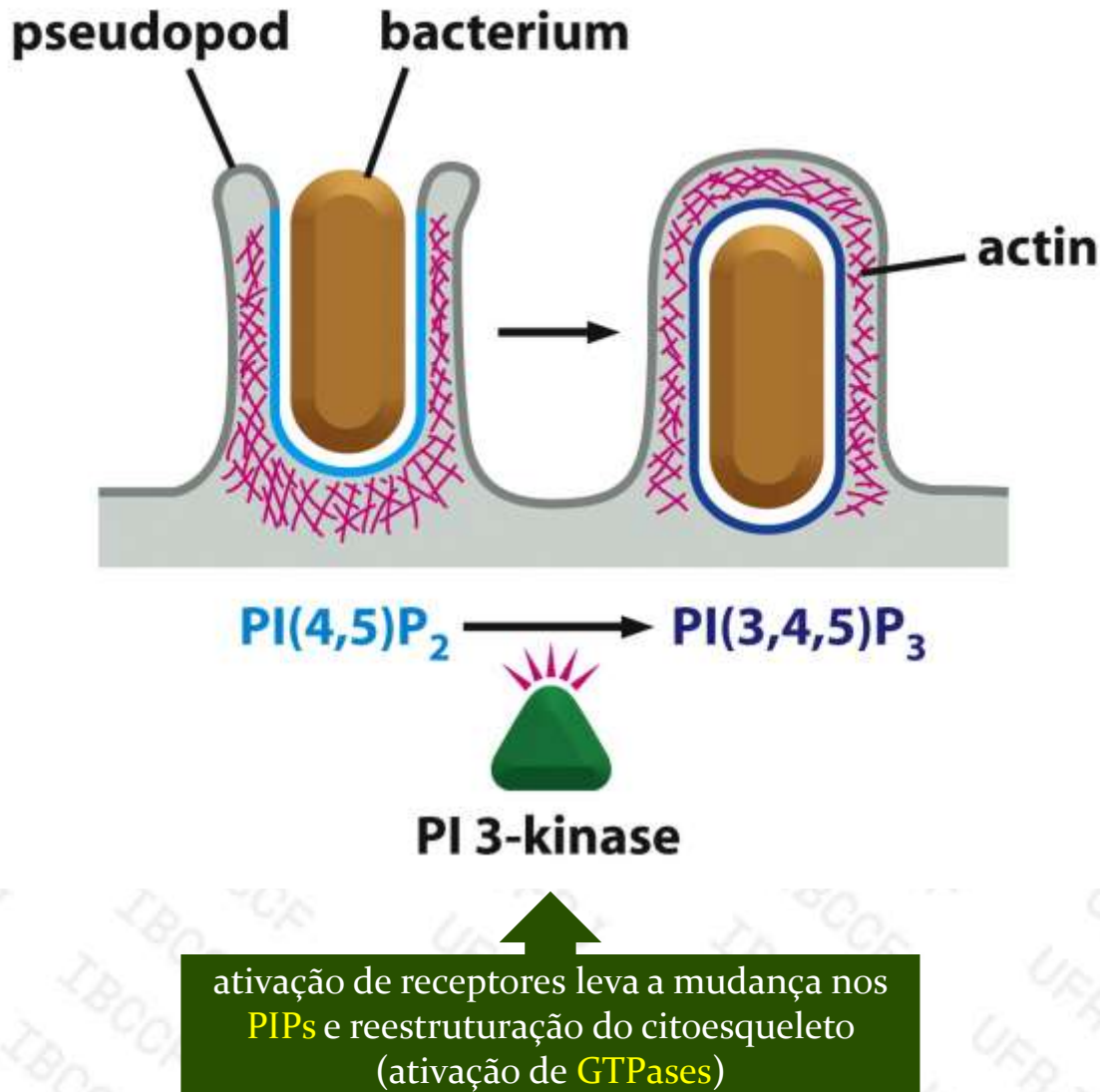
tipos de **endocitose** variam: **fagocitose** (grandes partículas) e **pinocitose** (fluidos e pequenas moléculas)

maioria das células está constantemente fazendo **pinocitose**

fagocitose no sistema imune (microorganismos inteiros, grande tamanho)

fagossomas se fusionam aos **lisossomos** onde partículas são digeridas

Formação do Fagossoma



fagocitose requer reconhecimento por receptores na membrana (disparam a maquinaria fagocítica)

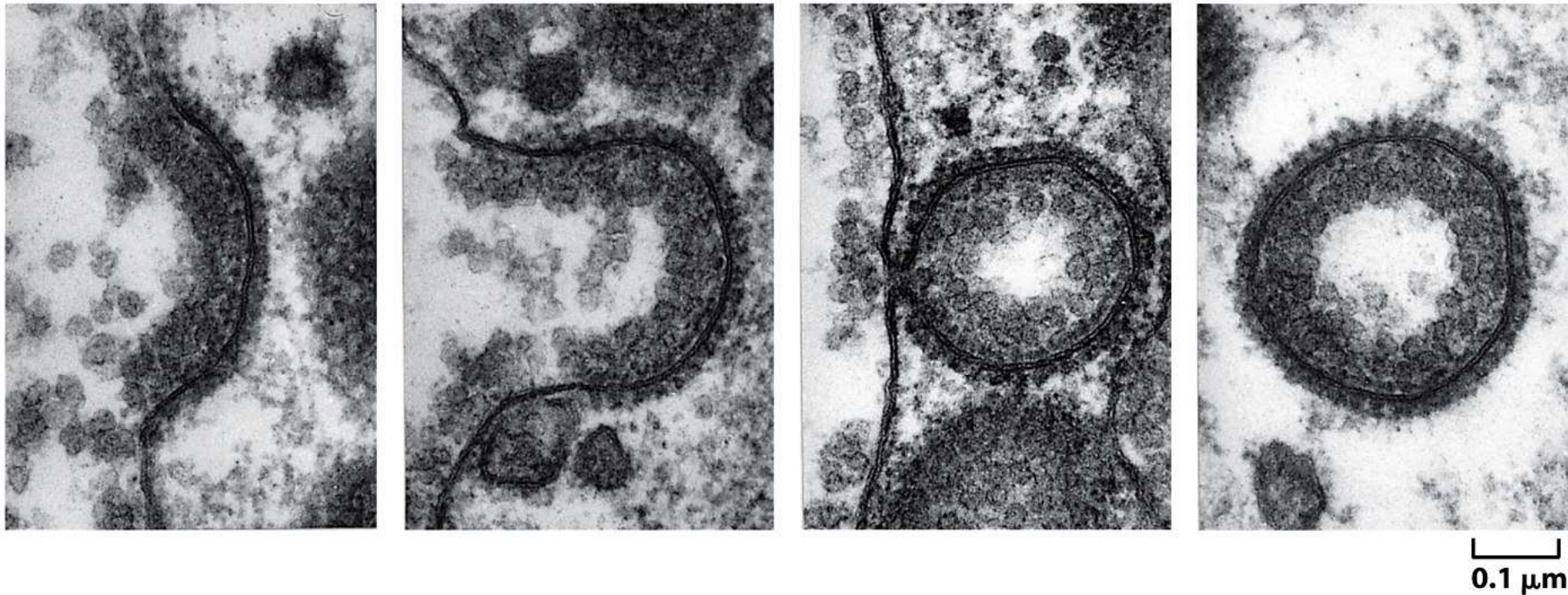
a pinocitose é constitutiva (independe das necessidades da célula)

anticorpos: desencadeiam fagocitose (cadeias Fc reconhecidas por receptores no macrófago)

reconhecimento pelos receptores leva a extensão de pseudópodos e formação dos fagossomos

polimerização local de filamentos de actina acionado pela GTPase Rho e lipídio-cinases!

Vesículas Pinocíticas se Formam de Regiões de coat na Membrana Plasmática



eucariotos capturam trechos de **membrana plasmática** (taxa variável de **pinocitose**)

macrófago: 3% da superfície de membrana endocitada / min

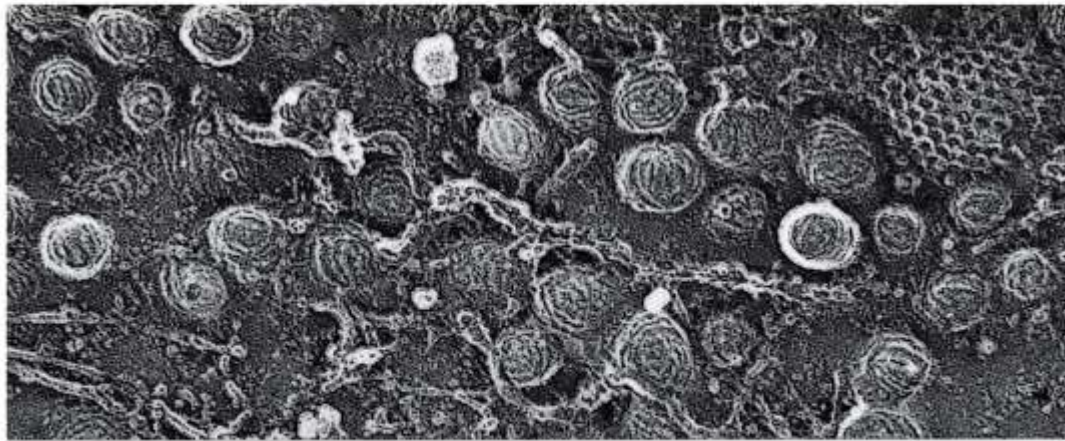
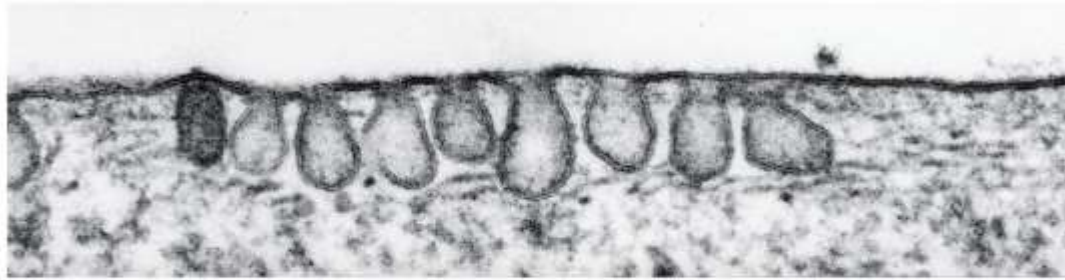
fibroblastos: 1% da superfície de membrana endocitada / min

membrana **endocitada** é reposta por **exocitose** (**ciclo**)

ciclo intenso em terminações sinápticas neuronais

endocitose se inicia em **coats** de **clatrina**, que se formam e brotam em cerca de um 1 min. na membrana

Nem Todas as Vesículas Pinocíticas Contém coat de Clatrina



via alternativa de pinocitose se inicia em **cavéolas** presentes na membrana plasmática

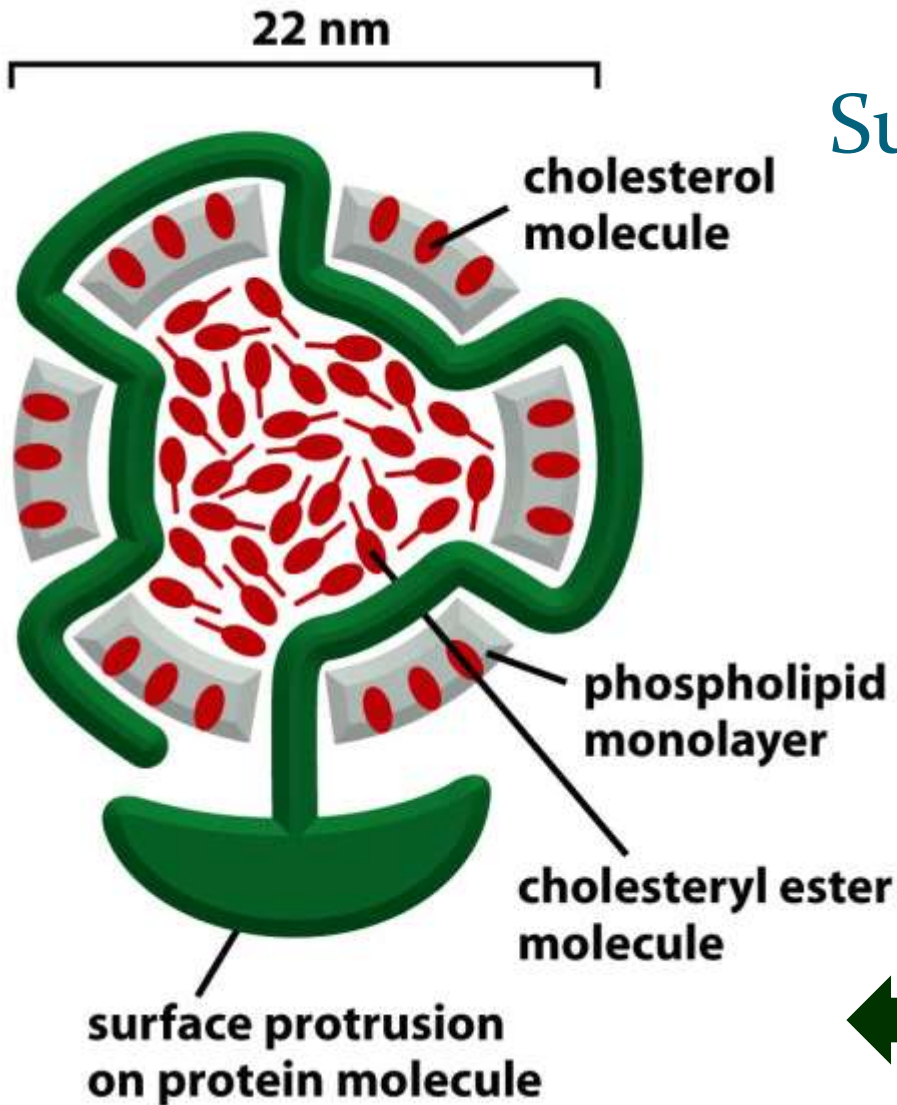
microdomínio lipídico rico em **colesterol**, **glicosfingolipídios** e **caveolina**

≠ de vesículas de **clatrina**, **COPI** e **II** as **caveolas** invaginam devido a sua composição e não pela formação de um **coat** citosólico

cavéolas não perdem suas **caveolinas** ao brotarem e entregam sua carga na membrana oposta da célula (**transcitose**) ou em um “caveossoma”

0.2 μm

Células Importam Substâncias Específicas por Endocitose Mediada por Receptores

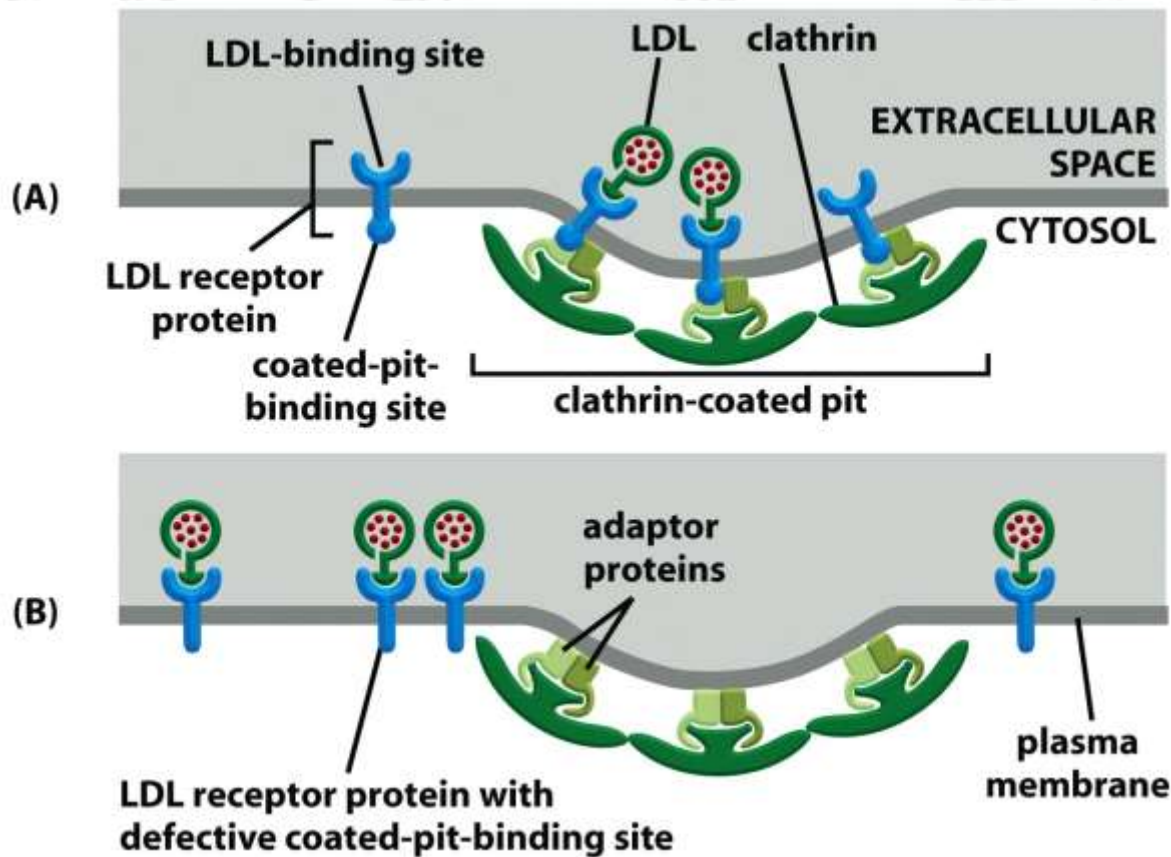


moléculas podem ser endocitadas associadas a **receptores** específicos em vesículas de **clatrina**

endocitose de substâncias pouco concentradas: internalização de grande quantidade de fluido extracel.

ex: **endocitose** de **colesterol**

colesterol é transportado no sangue sob a forma de partículas lipídio-proteicas (*low density lipoproteins* **LDLs**)



↑ expressão de **receptores de LDL** quando célula requer **colesterol**

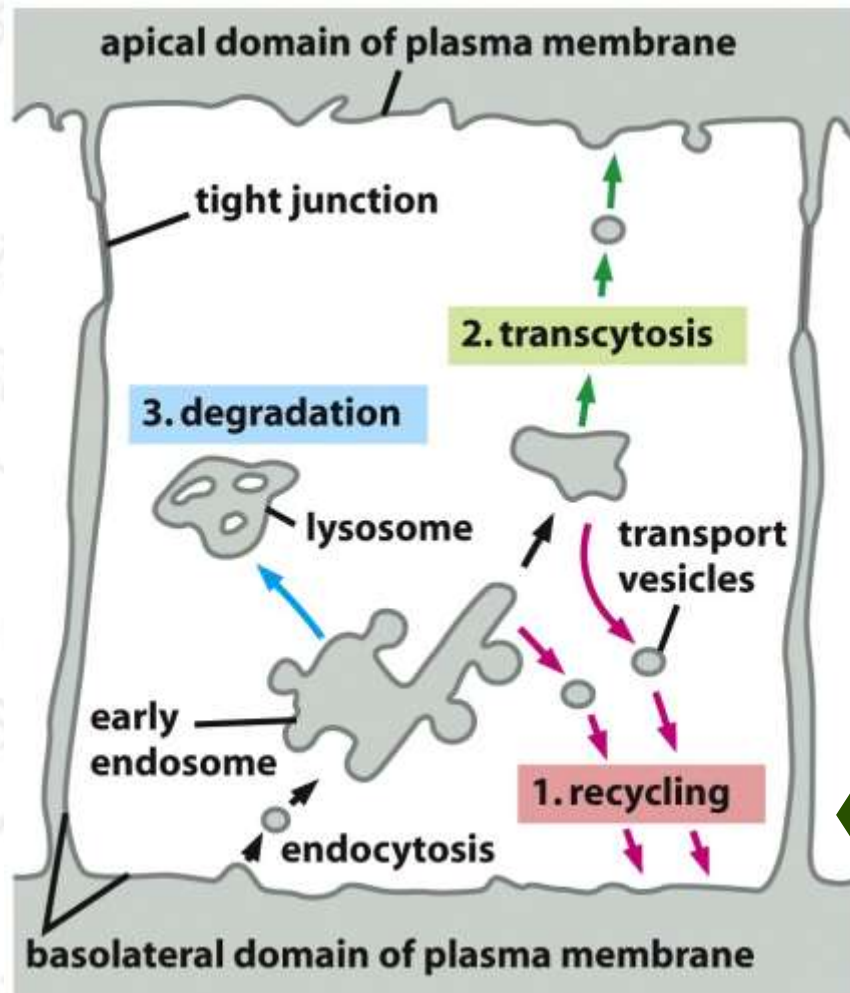
receptores se difundem e se ancoram em regiões com **clatrina**

LDLs ligados a **receptores** são endocitados e entregues ao **endossoma** precoce

pH do **endossoma** libera **LDL** dos receptores que são devolvidos a **membrana plasmática** (**colesterol** é liberado do **LDL** no **lisossoma**)

mutações no **receptor de LDL** aumentam o risco de obstrução dos vasos sanguíneos (↑**colesterol** no sangue)

Possíveis Destinos de Receptores Transmembrana que foram Endocitados



endossomas precoces são compartimentos de triagem da via endocítica

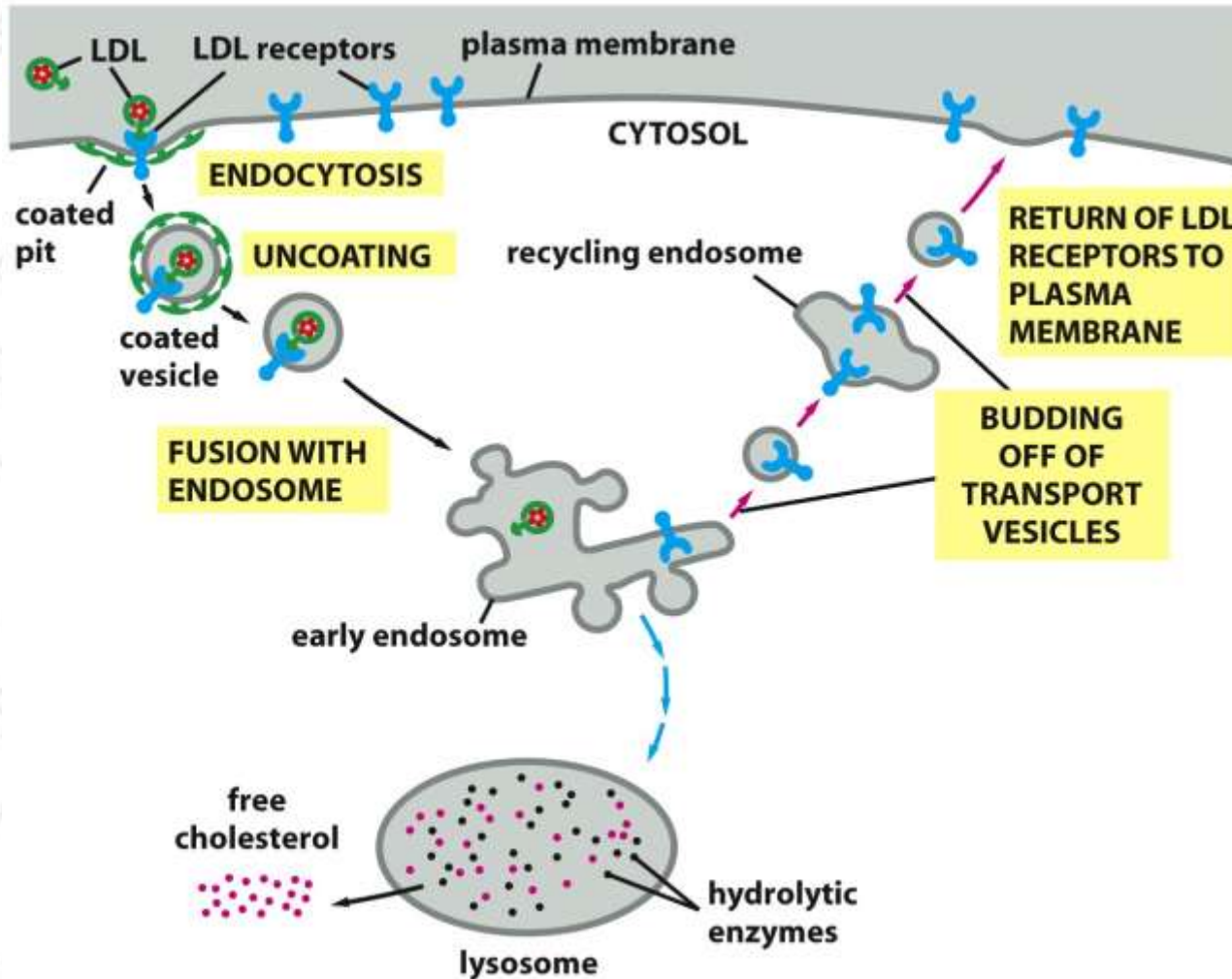
pH baixo permite liberar cargas dos **receptores** (degradação no **lisossoma**)

moléculas que não se desligam neste pH mais ácido seguem junto aos seus **receptores**

destino de **receptores** e **receptores/cargas** depende do **receptor**:

1. devolvido a membrana
2. prossegue para outro domínio da membrana plasmática (**transciotose**)
3. **lisossoma**

Endocitose do Receptor de LDL Segue a Primeira Via



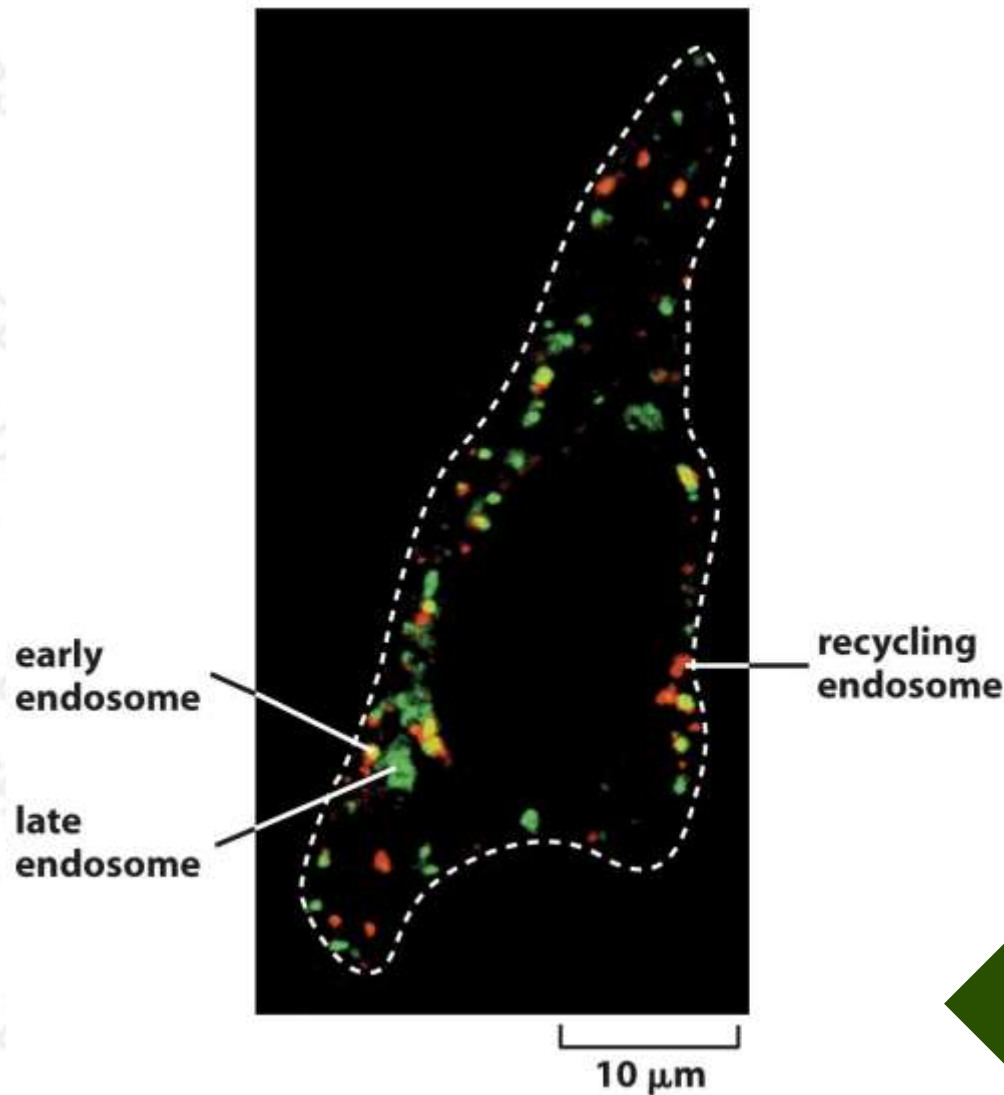
receptor de LDL se dissocia do ligante no **endossoma precoce** e é devolvido a **membrana plasmática** (LDL é digerido no **lisossoma**)

extensões tubulares do **endossoma** geram vesículas que brotam do **endossoma** para a **membrana plasmática**

se fusionam e formam o **endossoma de reciclagem**

via de reciclagem é constitutiva e compensa a **endocitose** na membrana plasmática

Triagem das Proteínas de Membrana na via Endocítica



o **receptor de transferrina** segue a mesma via do **receptor de LDL** mas o ligante também é reciclado

transferrina: proteína solúvel que carrega o Fe^{2+} no sangue e entrega o metal via **endocitose** mediada por **receptor**

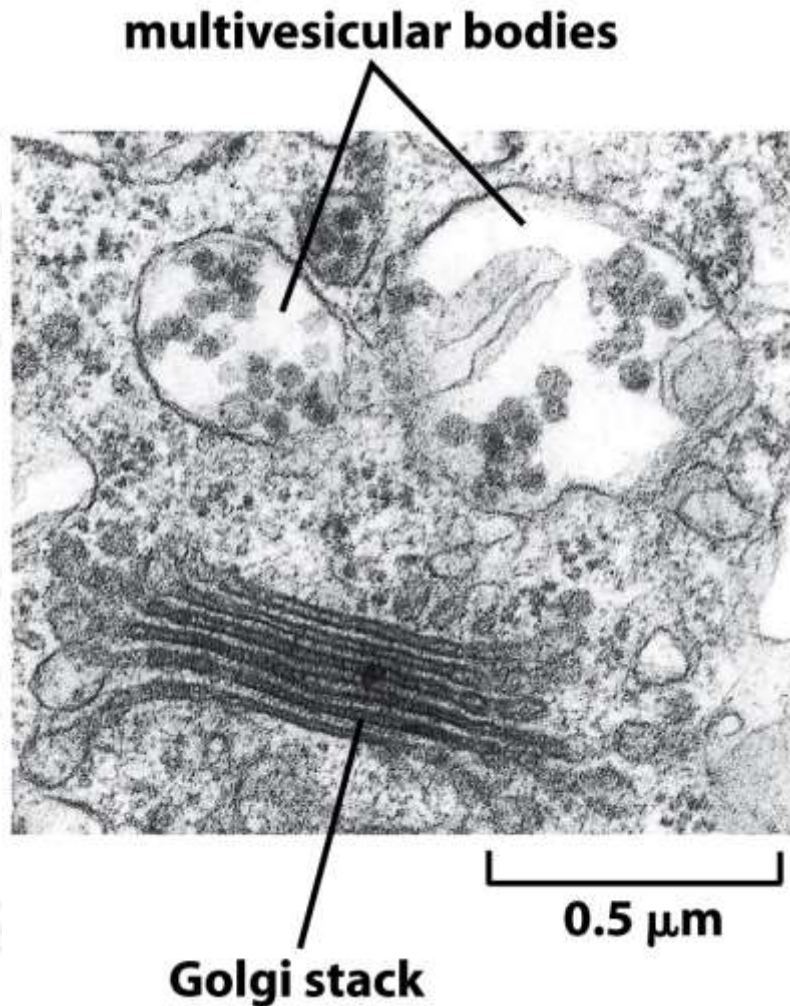
Fe^{2+} se desliga da **transferrina** quando pH diminui mas a **transferrina** permanece receptor-ligada

receptor-transferrina são reciclados a **membrana plasmática** onde se desliga do **receptor** no pH neutro

receptores opióides (verde) e de **transferrina** (vermelho) são endocitados em **coats de clatrina**

o primeiro vai para **end. tardio** e o outro para **end. de reciclagem**

Corpos Multivesiculares se Formam no Caminho para os Endossomas Tardios



diversas moléculas passam do **endossoma precoce** para o **tardio**

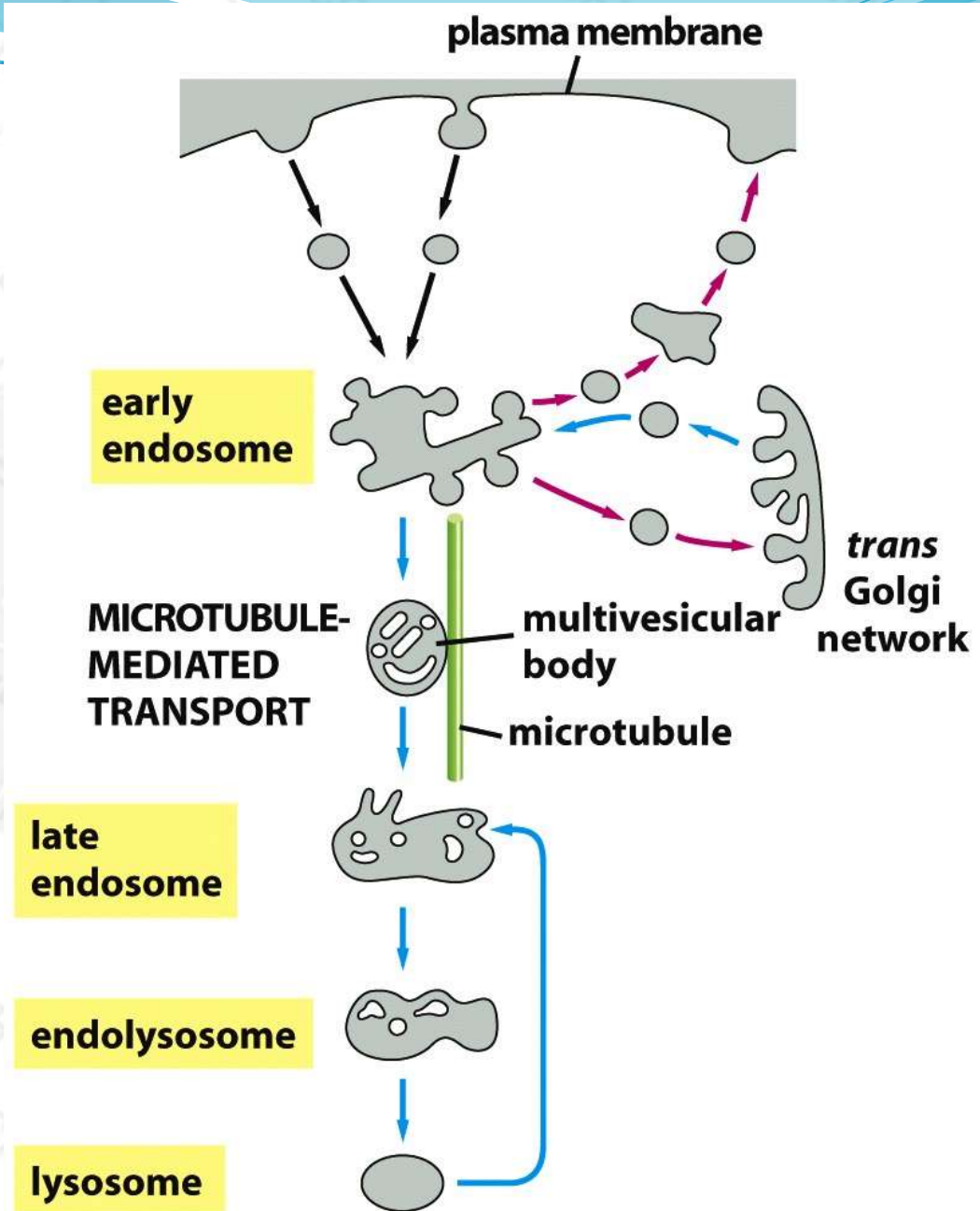
endossomas iniciais migram ao longo dos **microtúbulos** em direção ao centro da célula (**vesículas de reciclagem** brotam de partes tubulares do compartimento)

membrana do **endossoma** em migração forma invaginações criando vesículas internas (**corpos multivesiculares**)

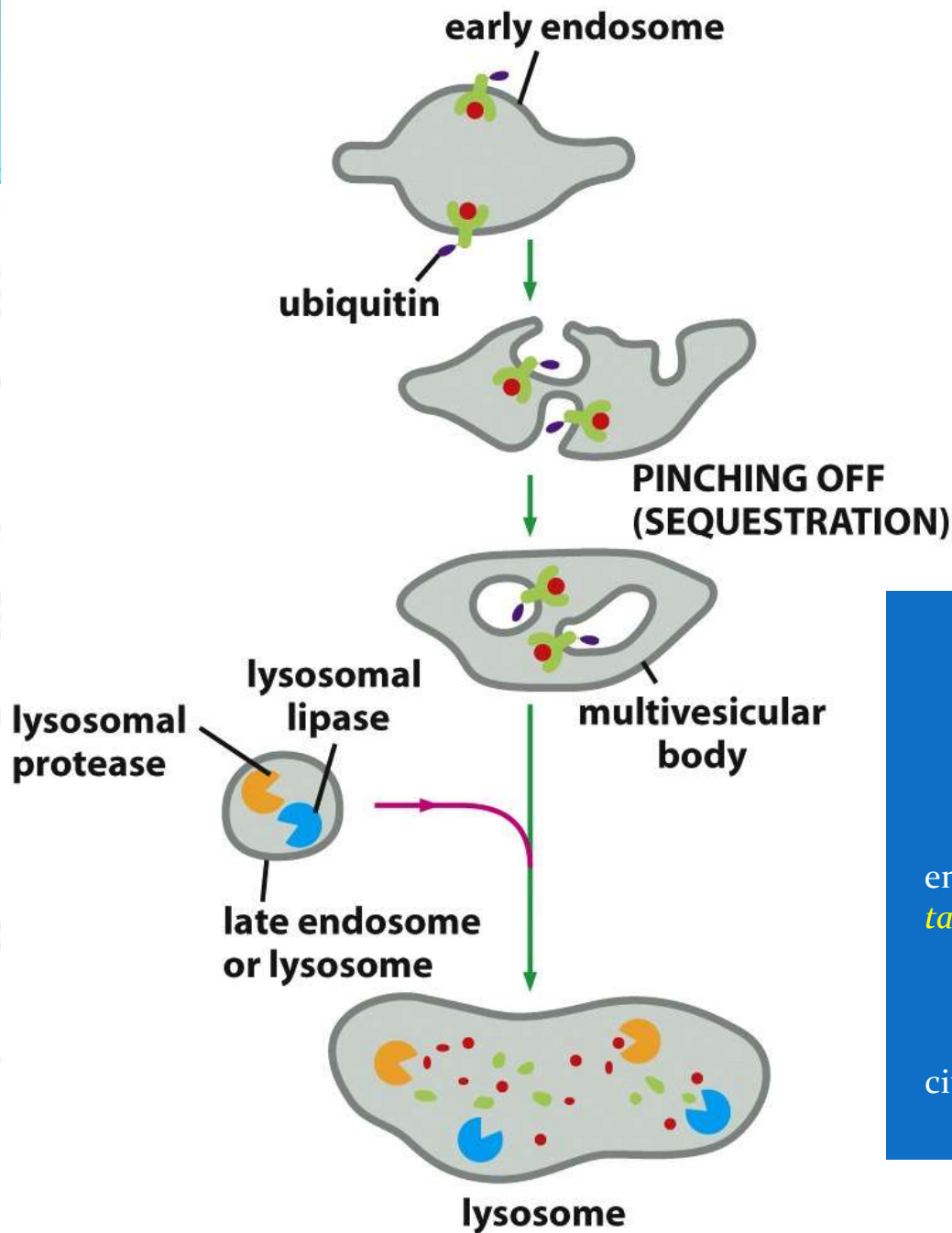
Na Maturação do Endossoma Precoce a Endossoma Tardio se Formam Corpos Multivesiculares

corpos multivesiculares eventualmente se fusionam com endossoma tardio ou uns com os outros para formar um endossoma tardio

no final desta via endossomas tardios maturam a lisossoma



Sequestro de Proteínas Endocitadas nas Membranas Internas dos Corpos Multivesiculares



corpos multivesiculares levam proteínas de membrana endocitadas para a degradação

receptores a serem degradados são alocados nas invaginações destes corpos

empacotamento nos corpos multivesiculares requer tags de ubiquitina na parte citosólica da proteína de membrana

tags são reconhecidos por complexos proteicos citosólicos que deslocam as proteínas de membrana para vesículas internas

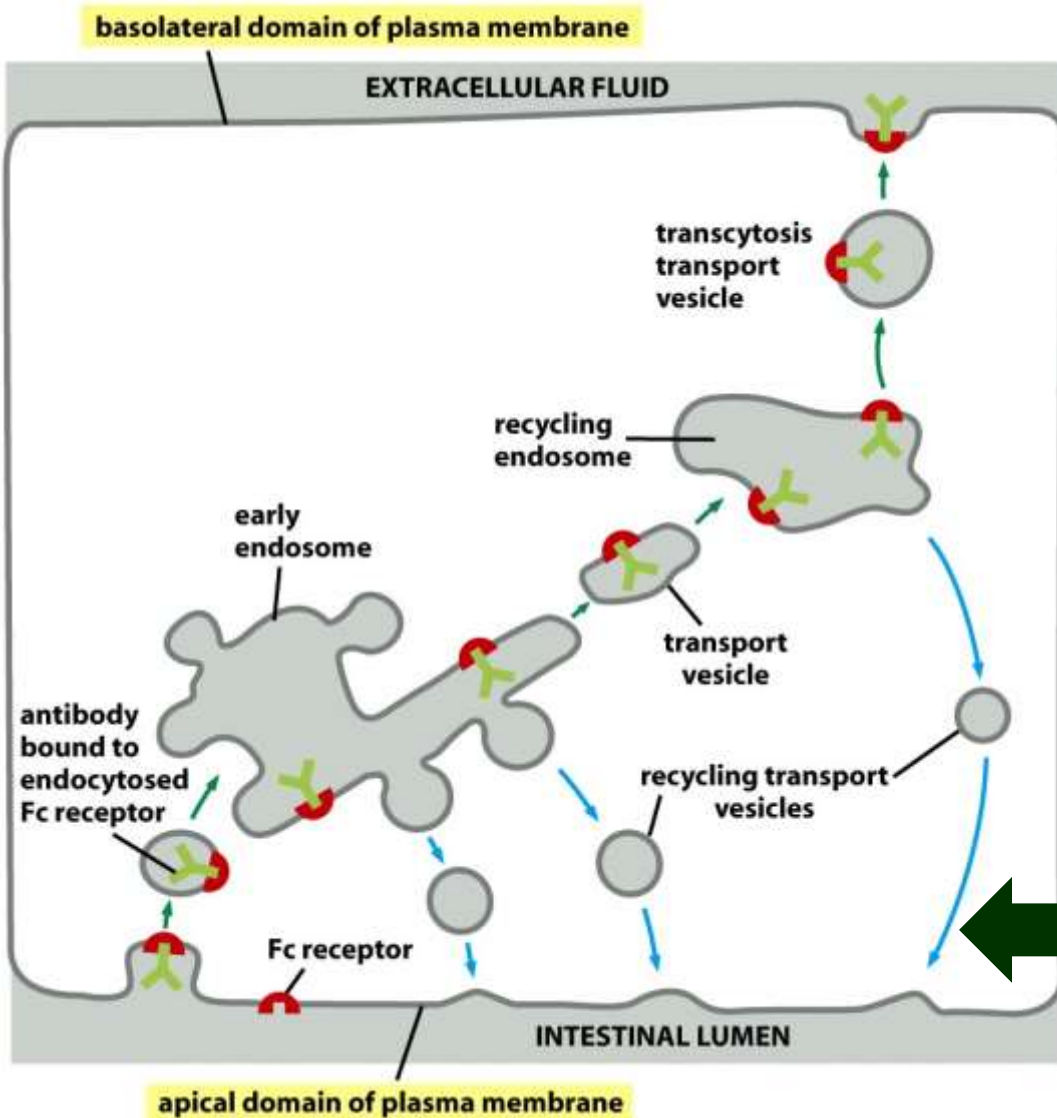
Transcitosse transfere moléculas Através de uma Camada de Células Epiteliais

alguns **receptores** de células epiteliais polarizadas transferem macromoléculas de um espaço extracelular a outro

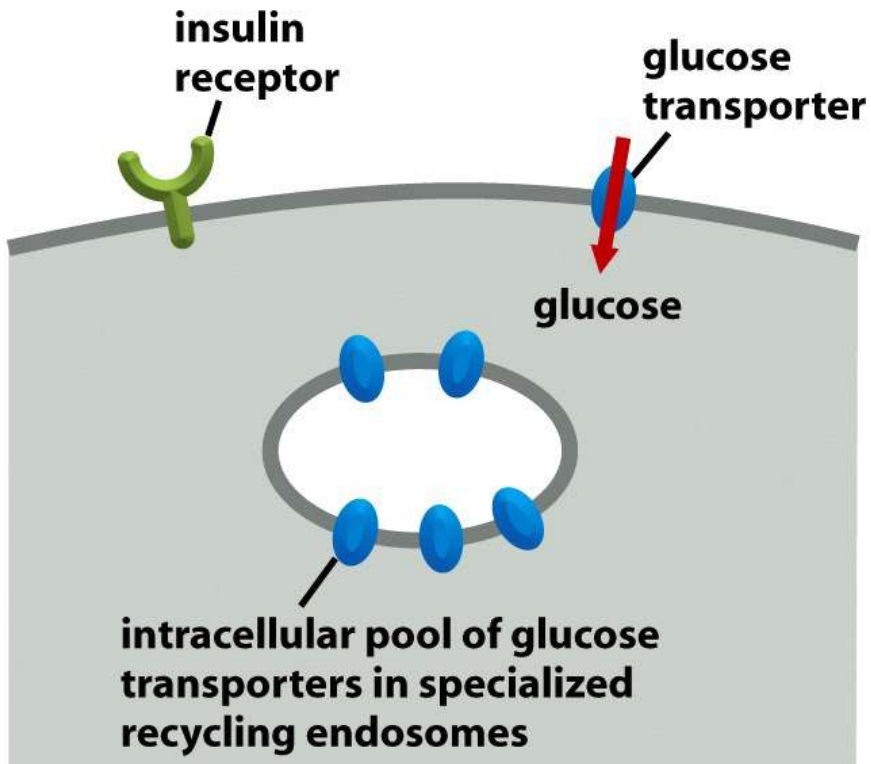
recém-nascidos obtém **anticorpos** desta maneira pelo leite materno!

baixo pH do lúmen do estômago: ligação dos **anticorpos** nos seus **receptores** da face apical

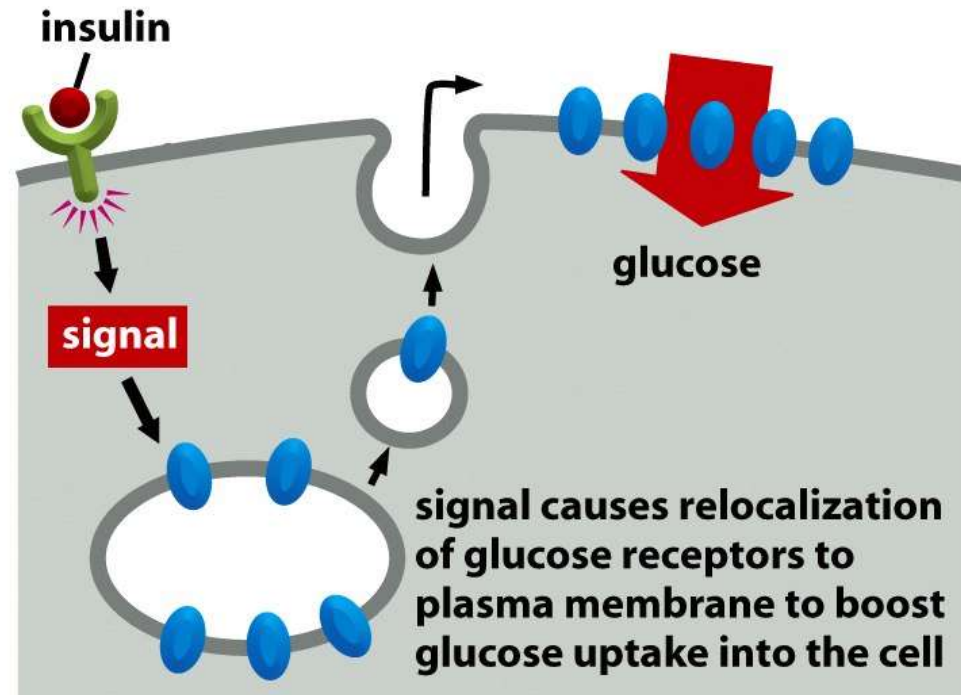
receptor endocitado em vesículas de **clatrina** é entregue a **endossomas precoces** e direcionados para a **membrana basolateral** (pH neutro)



unstimulated cell



insulin-stimulated cell



transcitose requer passagem dos receptores por um **endossoma** intermediário: **endossoma de reciclagem**

saída de proteínas de membrana do **endossoma de reciclagem** pode ser regulada

ajuste da responsividade celular ao meio!!

células possuem pools de **transportadores de glicose (GLUT)**

GLUT estocados em **endossomas de reciclagem** respondem a **insulina** migrando para a membrana plasmática (exposição de **seq. sinal**)

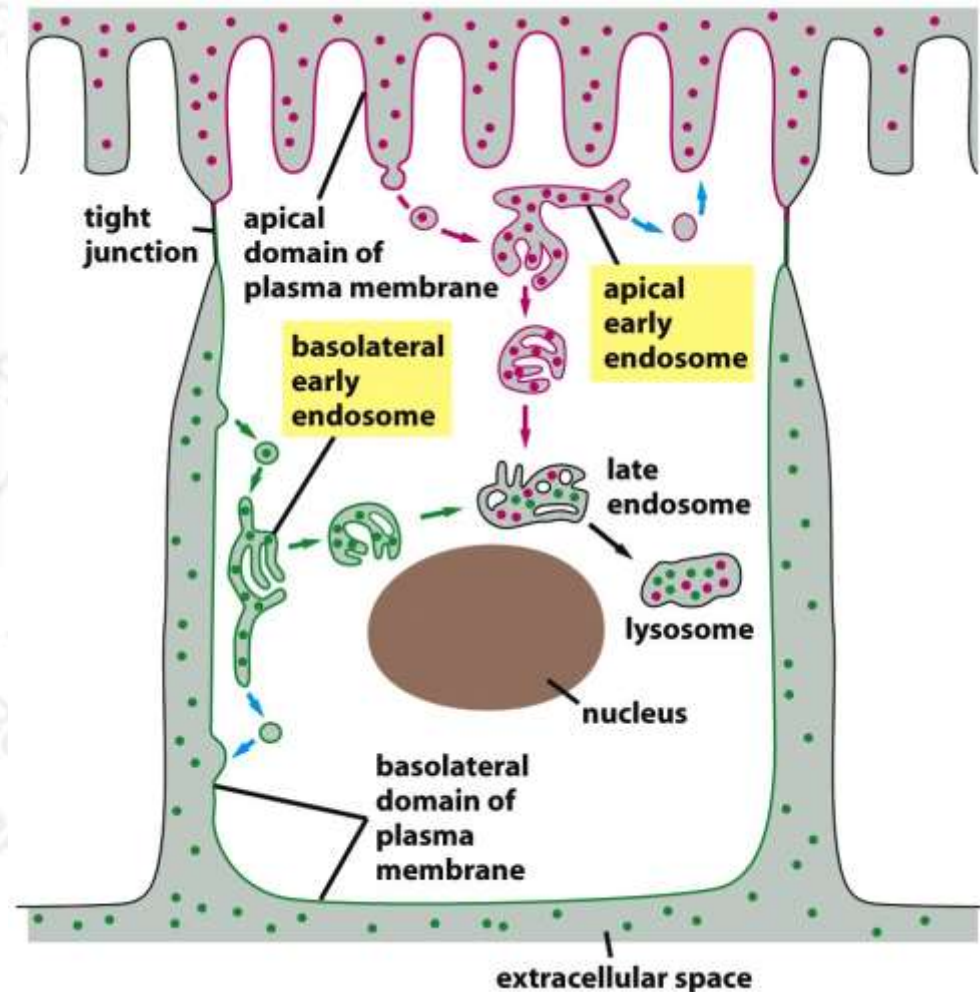
Células Epiteliais Possuem Dois Endossomas Precoces

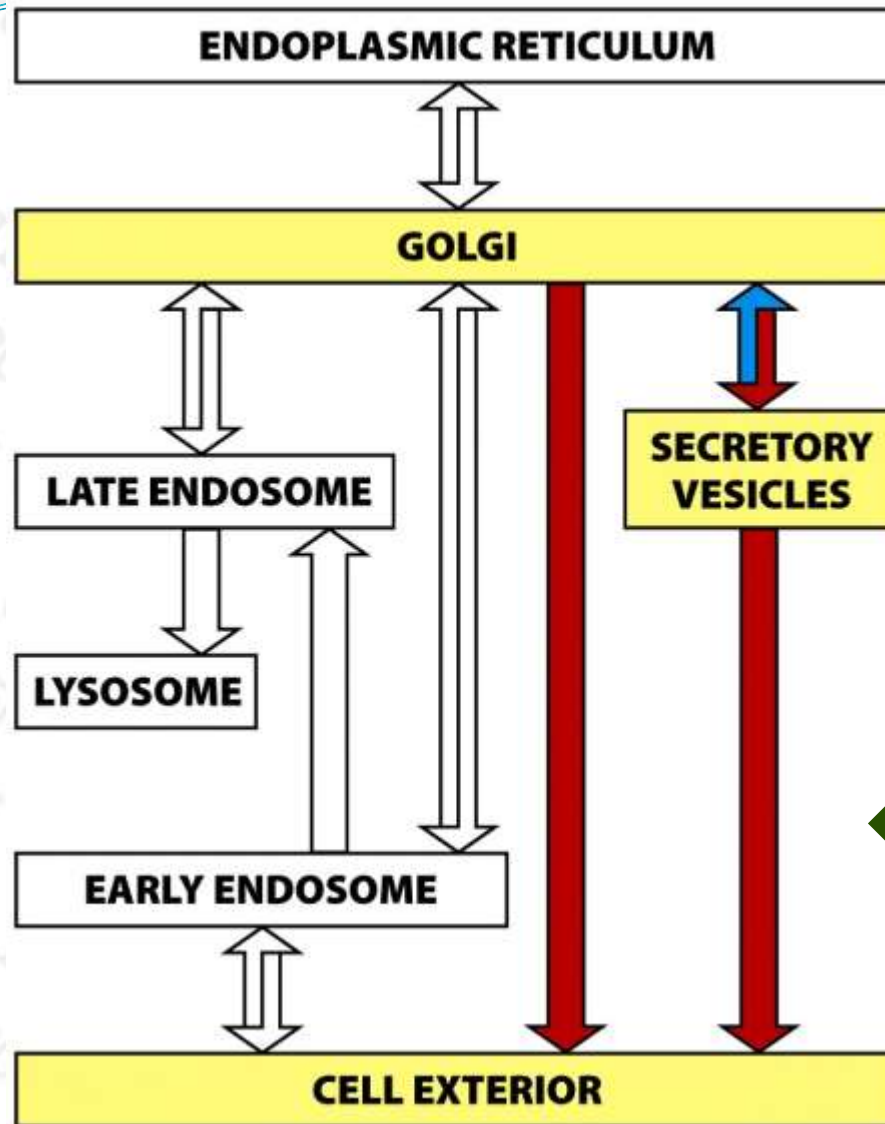
em epitélios polarizados a **endocitose** ocorre tanto na superfície **basolateral** quanto na **apical**

material endocitado primeiramente entra em um **endossoma inicial** único daquela região

este arranjo permite reciclar receptores (não marcados para **transcitose**) para sua membrana de origem

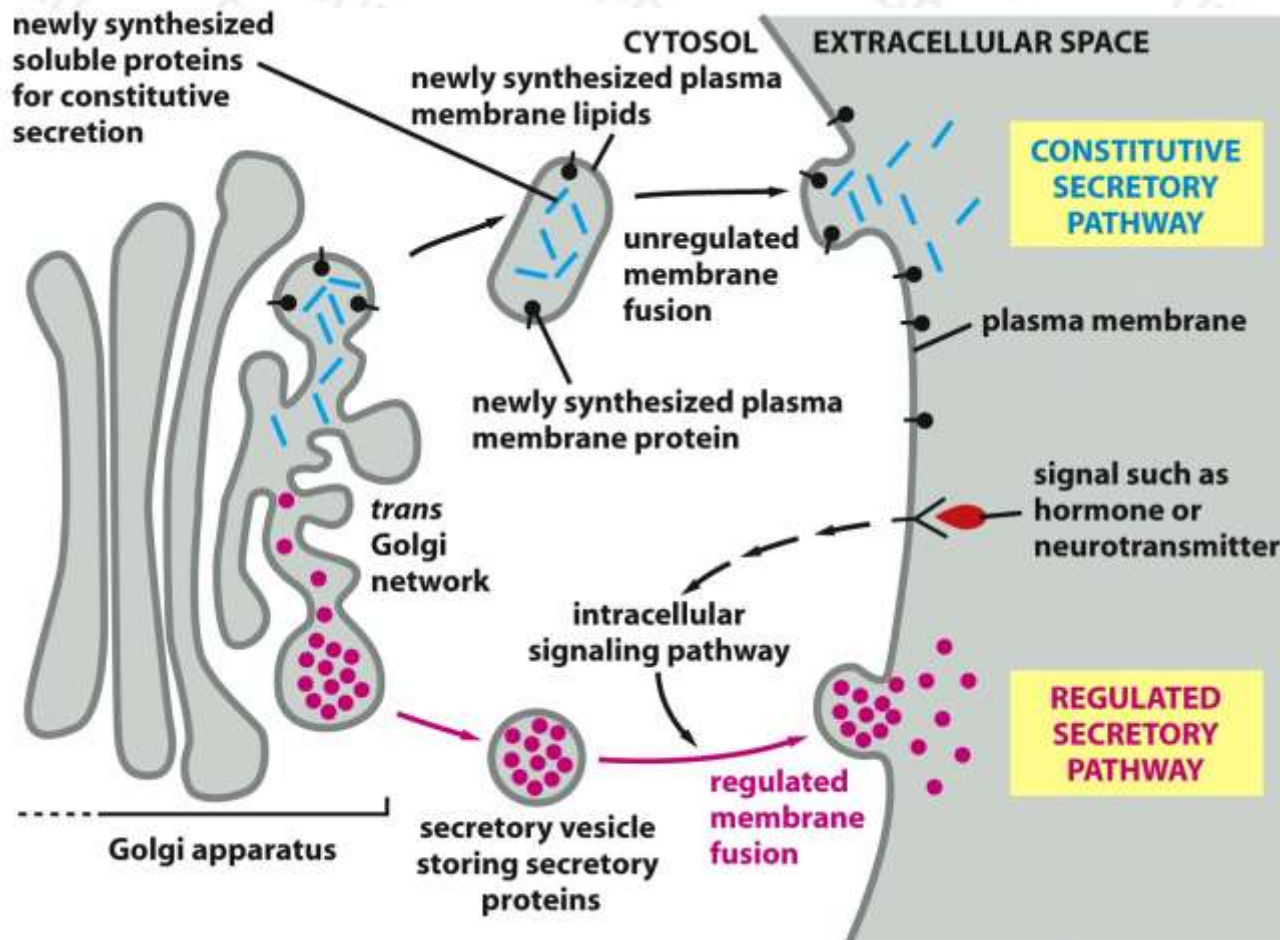
moléculas endocitadas que não são retiradas do **endossoma inicial** seguem no **endossoma tardio** → **lisossoma**





na via secretória substâncias solúveis são liberadas no meio extracelular
novas proteínas e lipídios são adicionados a **membrana**

Vias de Secreção Constitutivas e Reguladas

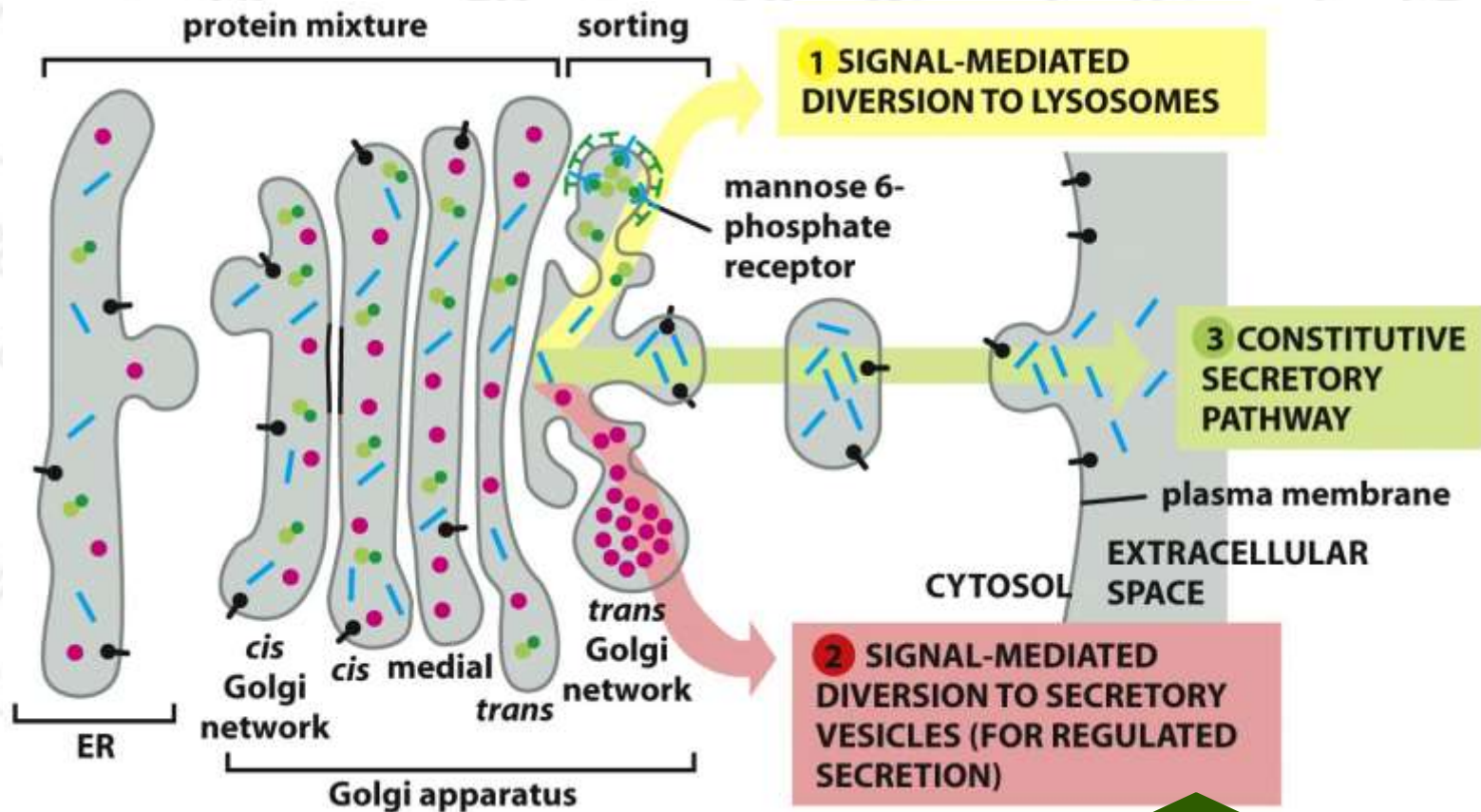


via secretória constitutiva
mantem características
lipídicas/proteicas da
membrana plasmática

via secretória regulada é
encontrada em células
secretores de moléculas
mediante estímulo (ex:
neurônios, glândulas)

moléculas permanecem
estocadas até que o estímulo de
secreção ocorra

Proteínas e Lipídios são Levados Constitutivamente para a Membrana

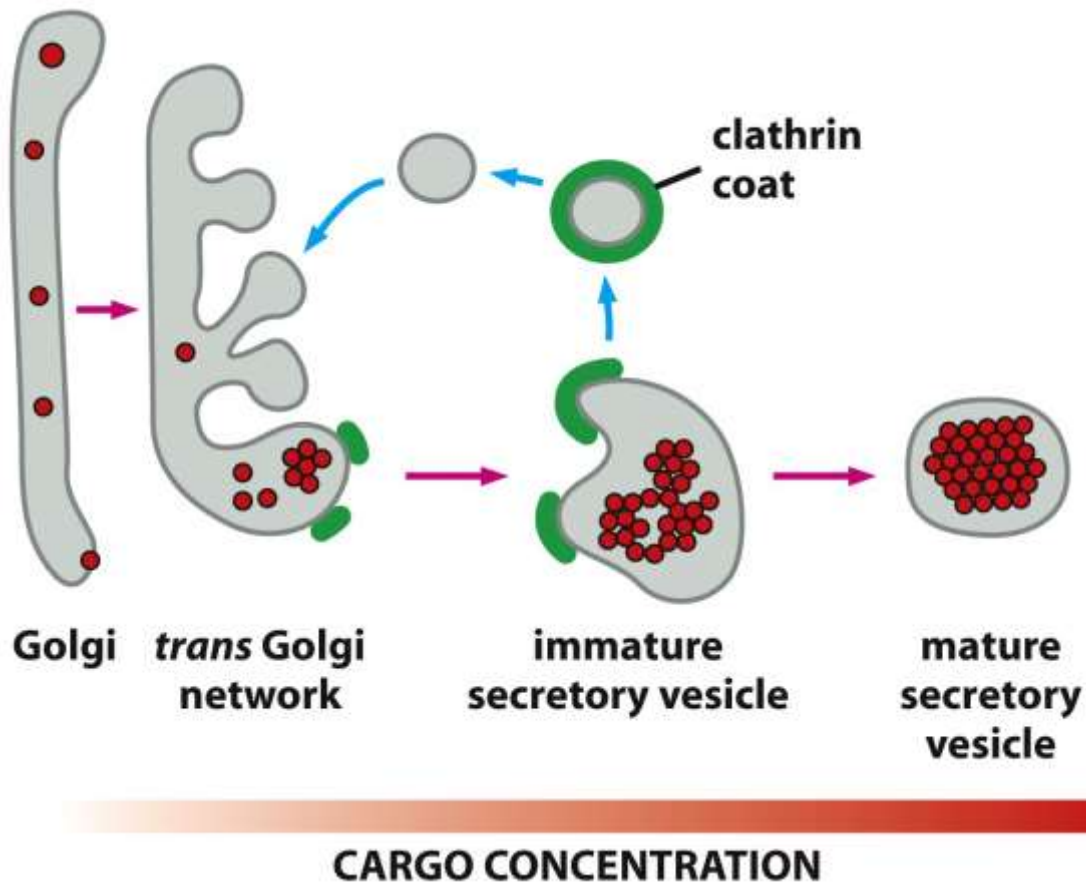


células que realizam a **via secretória regulada** lidam com três tipos de proteína: destinadas ao **lisossomo**, a **secreção**, e as que devem ser entregues imediatamente a membrana (**via constitutiva imediata**)

proteínas do **lisossomo**: marcadas com **M6P**

via regulada: tem **seq.sinal**

via secretória constitutiva: não possuem qualquer sinal (células não-polarizadas)



formação das **vesículas de secreção** é ainda obscura (proteínas receptoras reconhecem sinais de empacotamento)

membrana das **vesículas secretórias** que deixam o **TGN** envolve frouxamente agregados para secreção (vesículas imaturas)

vesículas trazem conteúdo proteico para secreção (superfície de membrana é devolvida ao **TGN**)

células especializadas em secretar em resposta a estímulos concentram substâncias em **vesículas secretórias** formadas no **TGN**

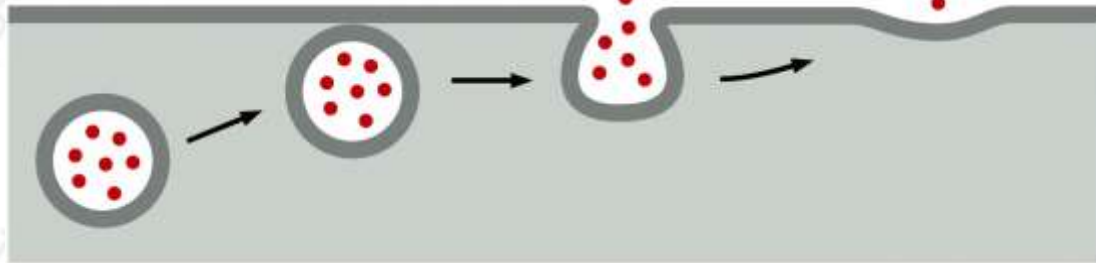
liberam seu conteúdo por **exocitose** após sinal

a reciclagem da membrana para o **Golgi** é importante (repõe componentes do **Golgi** e concentra **vesículas secretórias**)

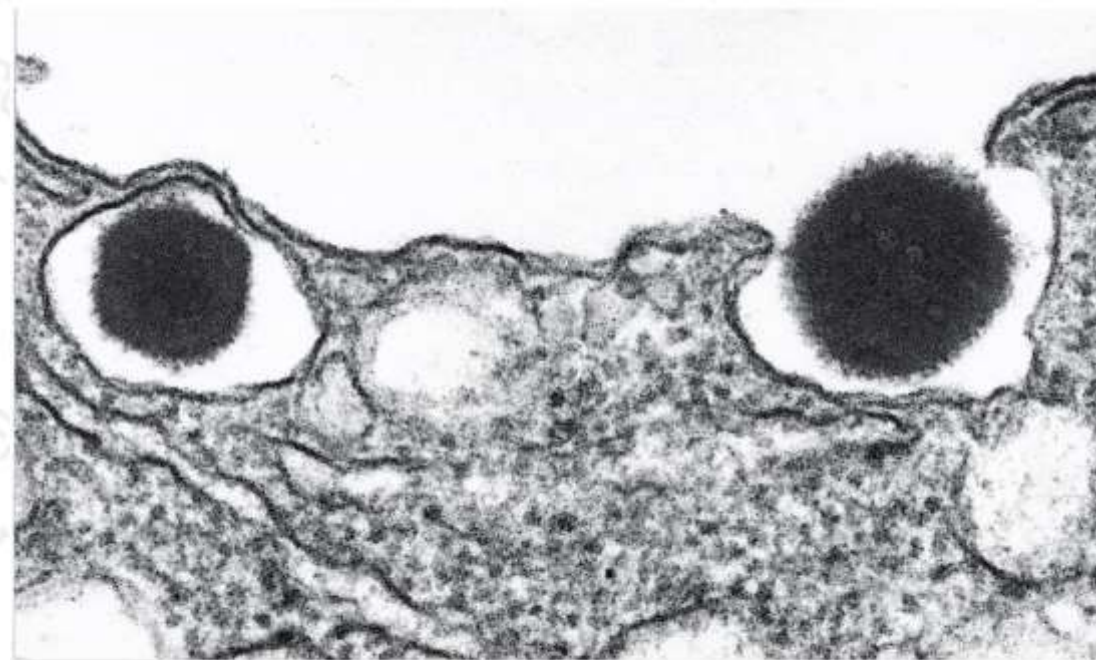
Exocitose de Vesículas Secretórias

DOCKING

FUSION



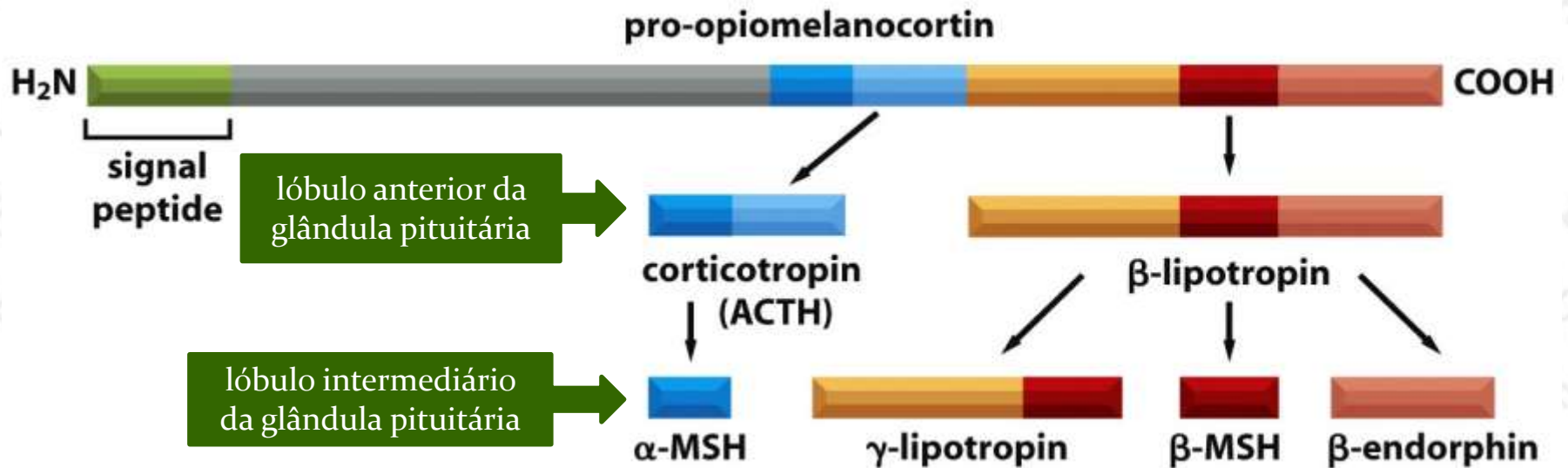
vesículas secretórias estão altamente concentradas em seu conteúdo no momento da secreção por **exocitose**



secreção de **insulina** por **exocitose** em uma célula pancreática

0.2 μm

Proteínas são Ativadas Proteoliticamente durante Maturação das Vesículas Secretórias



durante a maturação das **vesículas secretórias** não apenas há concentração do conteúdo, há **proteólise limitada** de conteúdo!

diversos **hormônios**, **neuropeptídeos** e **ptns hidrolíticas** requerem ativação, que ocorre no **TGN** e continua nas **v. secretórias** e **meio extracelular**

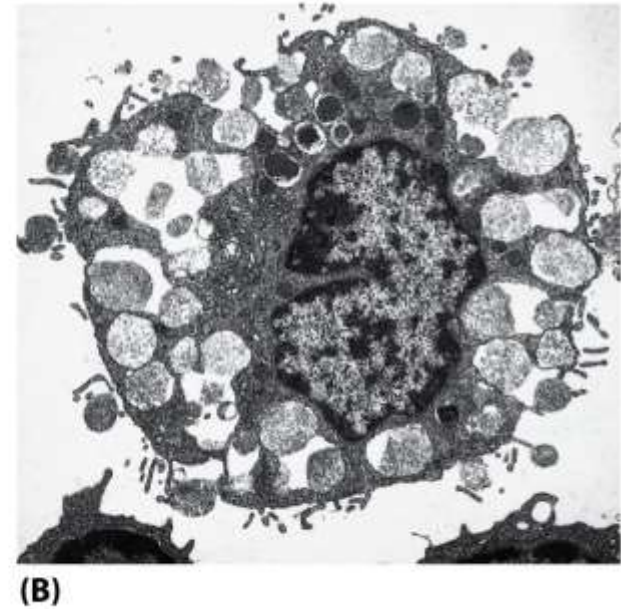
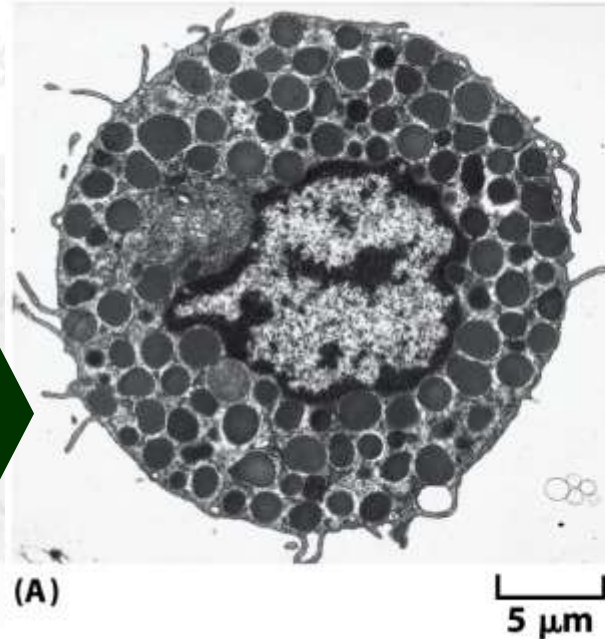
sintetizadas como **pré-proteínas** que podem gerar diferentes produtos finais dependendo do tipo celular

porque o **processamento proteolítico** é comum na **via secretória**? peptídeos ativos são pequenos demais para translocação co-traducional

Vesículas Secretórias Esperam Próximas a Membrana Plasmática até Receberem Sinal de Exocitose

exocitose pode ser direcionada

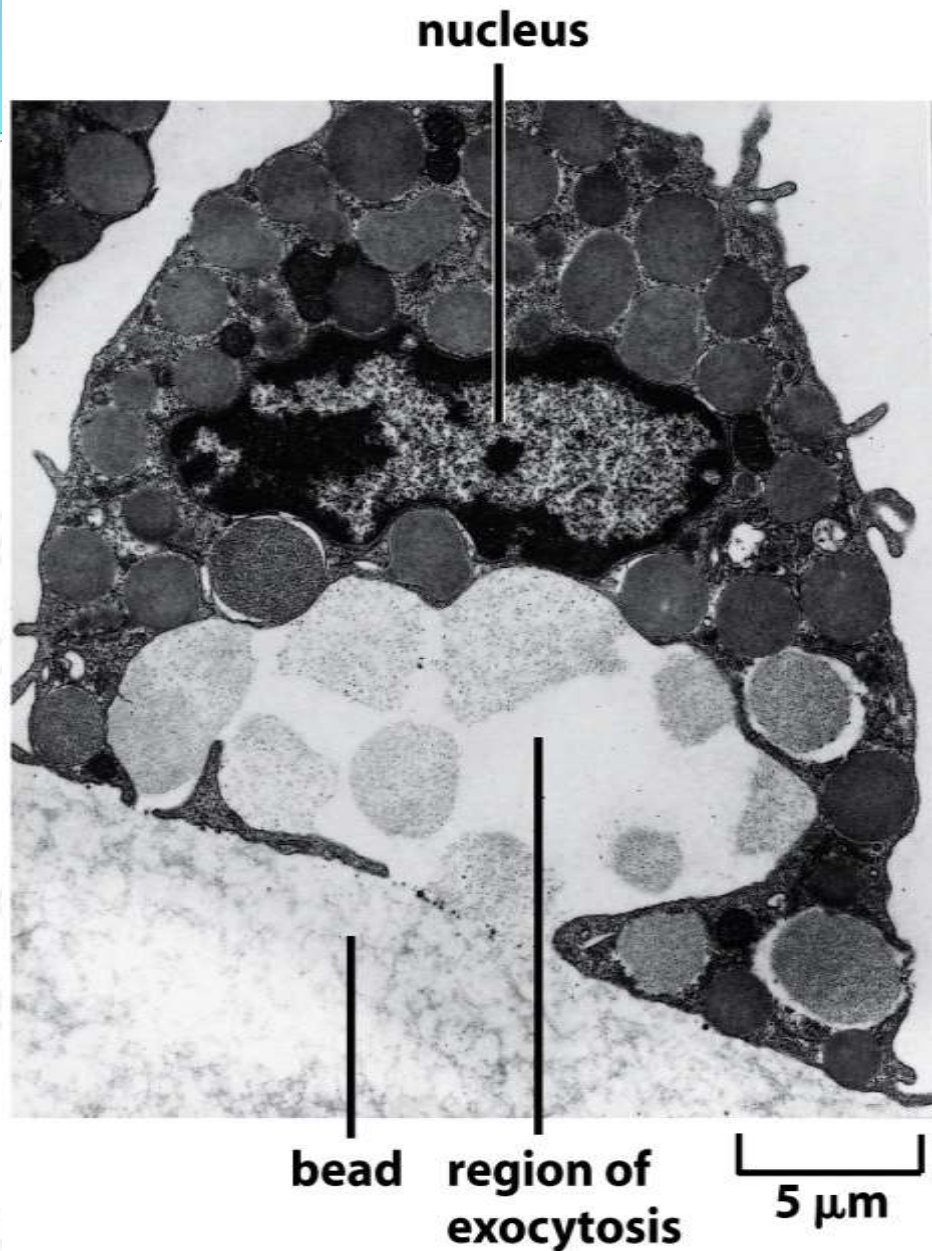
mastócitos secretam histamina de forma generalizada em meio líquido contendo ligantes para seus receptores



em alguns tipos celulares vesículas migram grande distância a partir do TGN para seu ponto de espera (neurônios) (via secretória regulada)

vesículas sinápticas dependem de Ca^{2+} para se fundir a membrana (liberam SNAREs!!) (reação extremamente rápida)

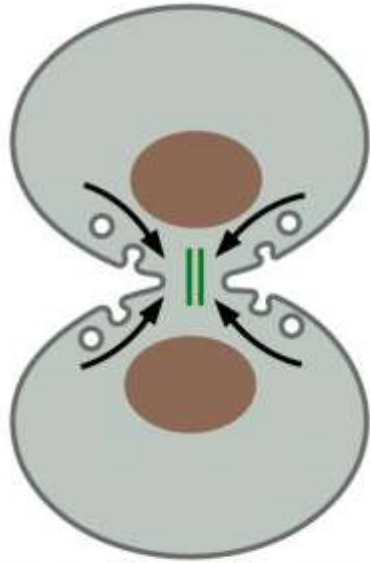
Exocitose como Resposta Localizada



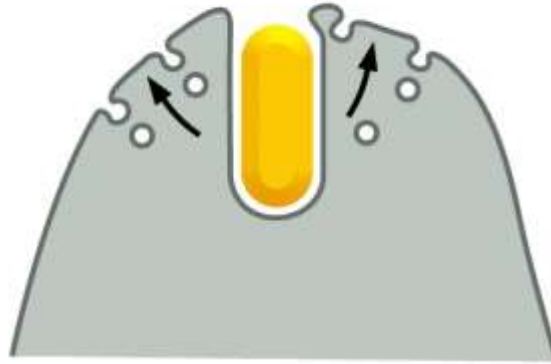
← **mastócitos** secretam **histamina** de forma localizada quando sua membrana entra em contato com resina que expõe ligante para seus receptores associados a resposta secretória

na **exocitose regulada** as diferentes regiões da membrana plasmática respondem independentemente (respostas localizadas)

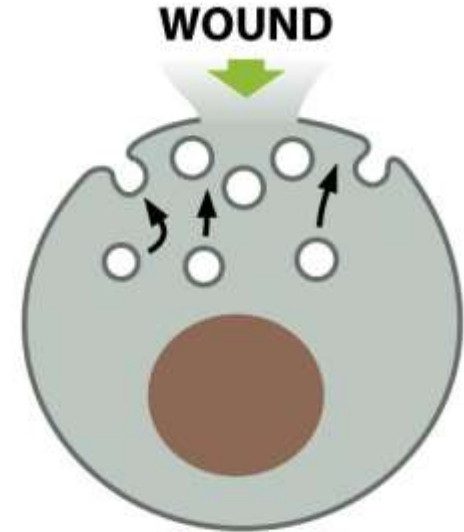
Alguns Eventos de Exocitose Regulada Servem para Aumentar a Membrana Plasmática



(A) CLEAVAGE FURROW



(B) PHAGOCYTOSIS



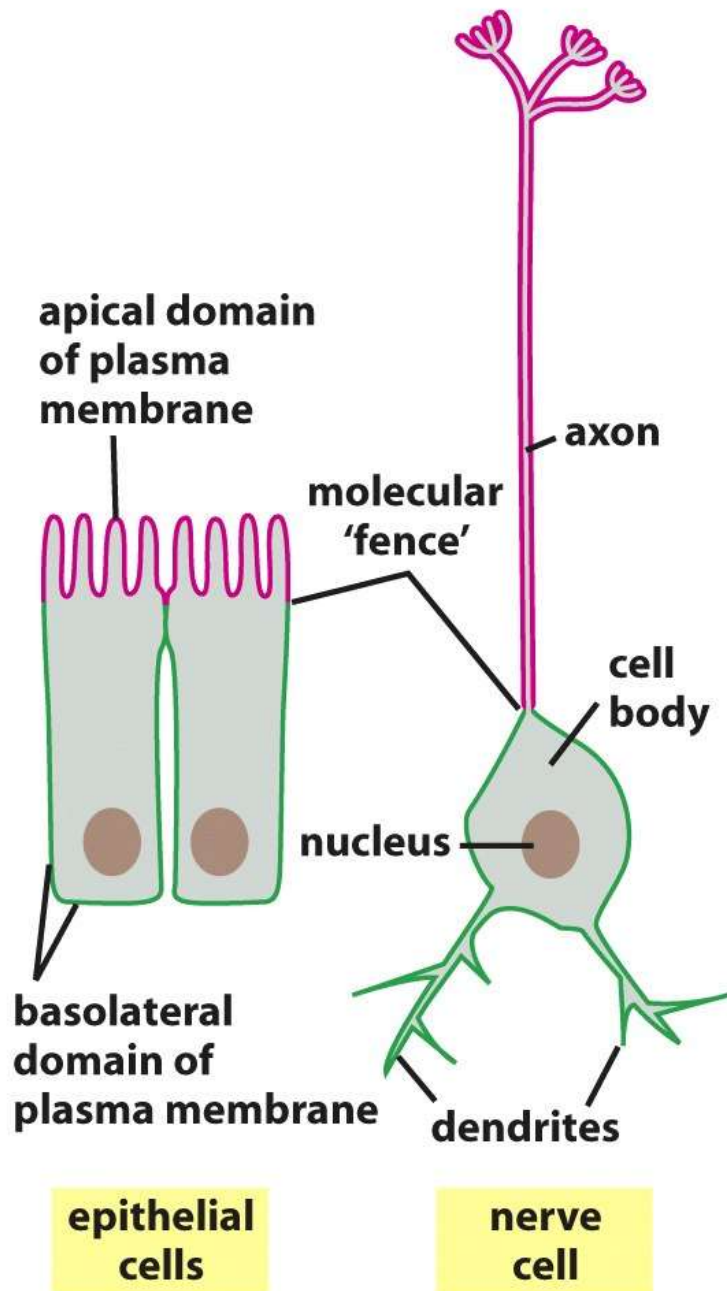
(C) WOUND REPAIR

diversas células (especialmente as sujeitas a stress mecânico) sofrem pequenas rupturas da **membrana plasmática** durante a vida

retalho de membrana é rapidamente criado utilizando processos de **fusão homotípica** e **exocitose** a partir de fontes de membrana internas

vesículas que se fundem a membrana durante fenômenos de citocinese e fagocitose são provenientes dos **endossomas**, enquanto que no reparo do dano se acredita que venham de **lisossomos**

nerve terminals



Células Polarizadas Direcionam Proteínas do TGN para a Região Correta da Membrana

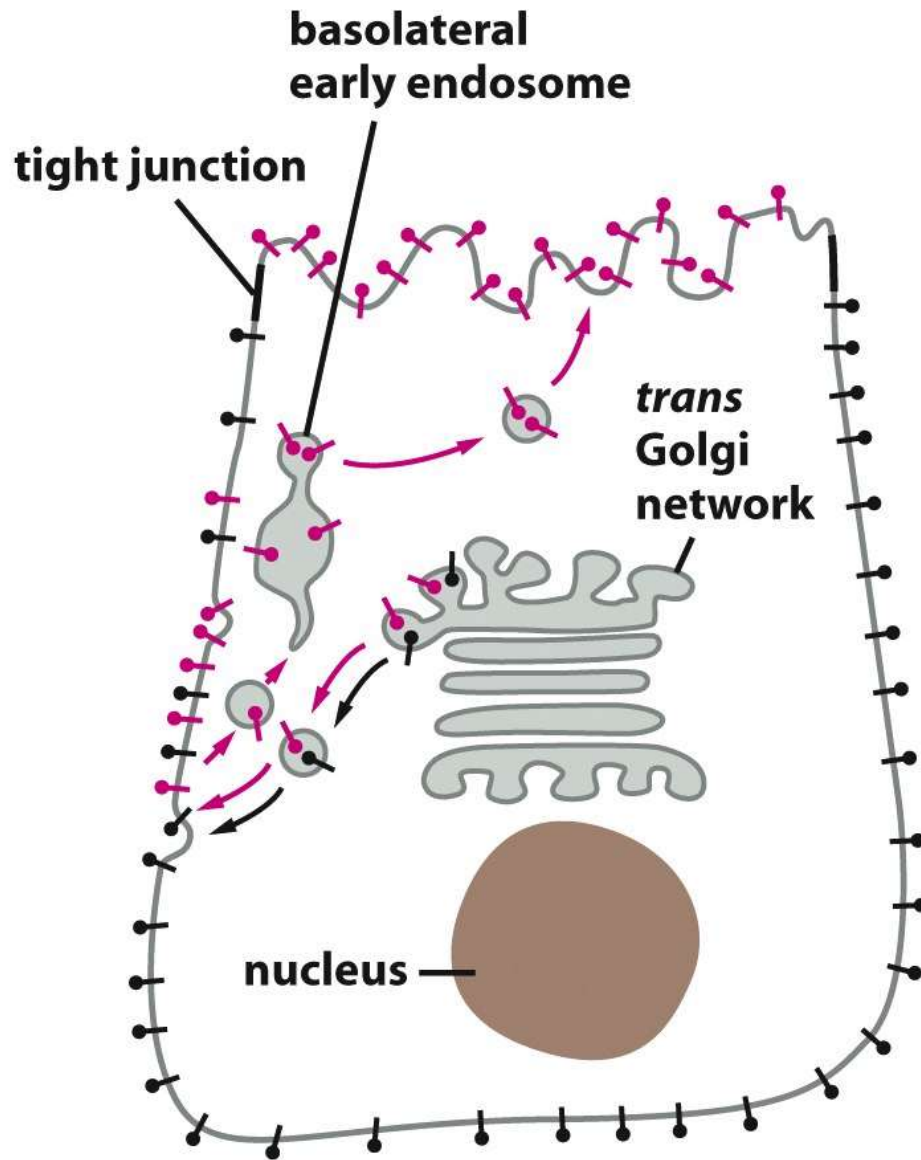
células polarizadas possuem dois ou mais domínios de membrana diferentes. Como é organizado o tráfego vesicular para manter esta identidade regional?

típica célula polarizada possui uma **face apical** (voltada para a luz de um tecido) e uma **face basolateral** (restante da célula) separadas por **junções celulares** (*tight junctions*)

neurônios tem outro tipo de polarização: axônios e terminações sinápticas especializados para sinalizar para outras células

corpo da célula e **dendritos** são especializados para receber sinais de outros neurônios

Diferentes Estratégias Guiam Proteínas e Lipídios ao Domínio Correto da Membrana



INDIRECT SORTING VIA ENDOSOMES

componentes da membrana podem ser entregues indiscriminadamente e depois seletivamente distribuídos nas regiões apropriadas

tática utilizada em alguns casos mas frequentemente a entrega de componentes é específica em cada região

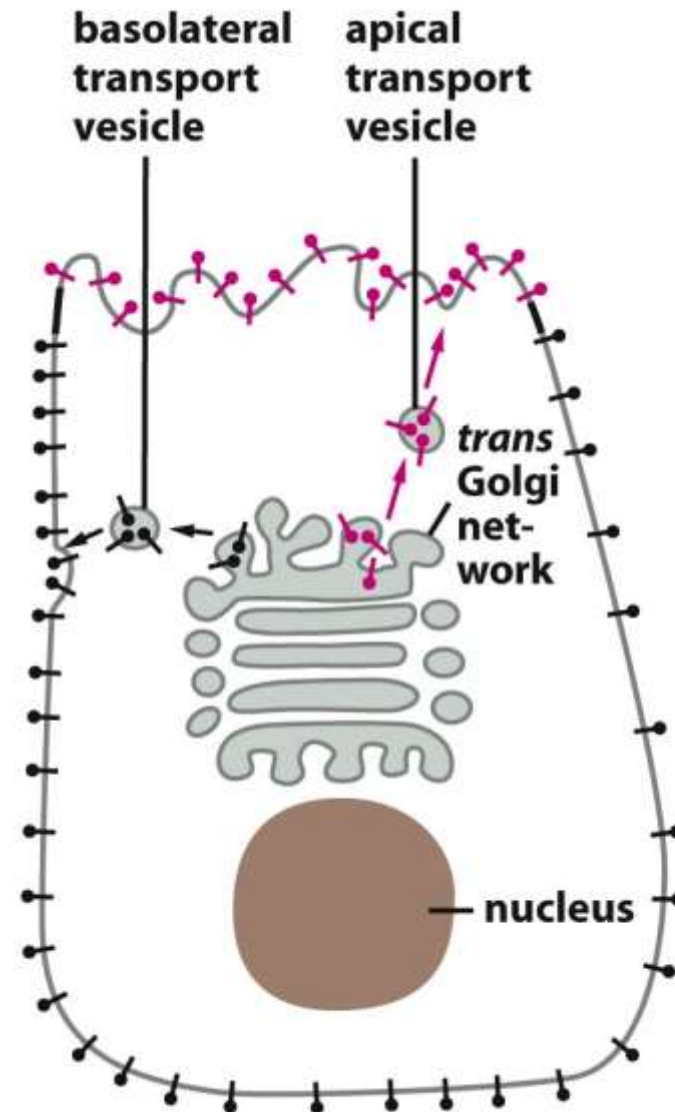
células epiteliais podem secretar substâncias na superfície **apical** (ex: enzimas digestivas) e secretar outras na **basolateral** (ex: componentes da **lâmina basal**)

células são capazes de direcionar vesículas para domínios diferentes da membrana

a superfície apical de células polarizadas geralmente é rica em **glicoesfingolipídios** (açúcares protegem contra dano)

diversas proteínas destinadas a **membrana apical** possuem **âncoras de GPI** e se associam aos **rafts** em formação no **TGN** (seleção de carga pelo microdomínio)

proteínas destinadas a **membrana basolateral** possuem sequências sinal em sua porção citosólica



**DIRECT SORTING OF MEMBRANE PROTEINS
IN THE TRANS GOLGI NETWORK**