

Un viaje en tren por el interior de la célula: el Aparato de Golgi como la estación central del tráfico intracelular de membranas

© Gustavo Egea, 2001
egea@medicina.ub.es

RESUMEN

El sistema de membranas constituye un componente esencial para las células. La célula eucariota tiene la membrana plasmática que la aísla del exterior y las membranas intracelulares que la subdividen formando los distintos orgánulos. Esta compartimentación le permite adaptarse a los variables ambientes extracelulares y llevar a cabo funciones específicas dependiendo del tejido u órgano al que pertenezca. Las membranas están compuestas por (glico)lípidos y (glico)proteínas, que, una vez sintetizados, se transportan a sus destinos intracelulares. Errores en su envío y/o ubicación pueden resultar fatales para la célula y para el organismo. Por ello, es crucial el control y la regulación del transporte intracelular. Un orgánulo clave es el aparato o complejo de Golgi. Este orgánulo representa la Estación Central intracelular de un viaje en tren en el que viajeros, vagones, ruedas, cambios de aguja, semáforos, motores y vías nos van a ayudar a entender cómo tiene lugar el tráfico intracelular de membranas.

ABSTRACT

Cellular membranes are crucial for the cells. The eukaryotic cell is made up of the plasma membrane that isolates it from the external world, and of intracellular membranes, which form compartments that give rise to the organelles. This subdivision allows the cell to adapt to changing external conditions, and to perform specific functions depending on the tissue. Cell membranes are made up of (glyco)lipids and (glyco)proteins that once

synthesized are sorted and transported to their specific subcellular destination. Mistakes in this process may compromise cell survival and, consequently, the whole organism. Hence, the control and regulation of intracellular transport is a crucial process for the survival of the cell. The Golgi complex, or Golgi apparatus, is the organelle responsible for such regulation and control. It can be compared to the Grand Central station on the intracellular rail trip in which travellers, carriages, wheels, traffic lights, motors and tracks help us to understand how the intracellular membrane traffic takes place.

Introducción

La célula está protegida del mundo exterior gracias a que está envuelta por la membrana celular o membrana plasmática. En determinados tipos celulares, esta membrana presenta unos dominios o regiones claramente diferenciados, tanto a nivel funcional como morfológico (cilios, flagelos, microvellosidades). Son las células polarizadas, entre las que se encuentran, entre otras, las células de ciertos epitelios (como el renal y el intestinal) y las células neuronales. Sin embargo, otros tipos celulares no presentan estas especializaciones estructurales y, por tanto, son células no polarizadas, como por ejemplo, los fibroblastos.

La célula eucariota ha evolucionado funcionalmente conforme han ido apareciendo los compartimientos intracelulares. Esta compartimentación estructural y funcional viene determinada por la composición diferencial de los componentes de las membranas: los lípidos y las proteínas. Sobre estos componentes recaen las funciones comunes y especializadas de todas las células. Su correcta localización es lo que determina que la célula lleve a cabo las funciones que le vienen determinadas genéticamente. Por lo tanto, cualquier alteración en su localización intracelular puede acarrear trastornos patológicos serios. El conocimiento de las señales que guían y/o controlan la localización de los lípidos y proteínas y cómo se transportan a los distintos compartimientos u orgánulos (retículo endoplasmático, aparato de Golgi, lisosomas, cloroplastos, mitocondria, peroxisomas, entre otros) resulta esencial para comprender las funciones comunes y propias de la célula y, por extensión, del tejido u órgano en el que está ubicada. El campo de estudio que aborda estas cuestiones recibe el nombre de tráfico intracelular de membranas.

Las grandes rutas del tráfico intracelular de membranas

El tráfico intracelular de membranas es el proceso por el que los lípidos y proteínas son enviados a los compartimentos de destino. De este modo, se distinguen (Fig. 1):

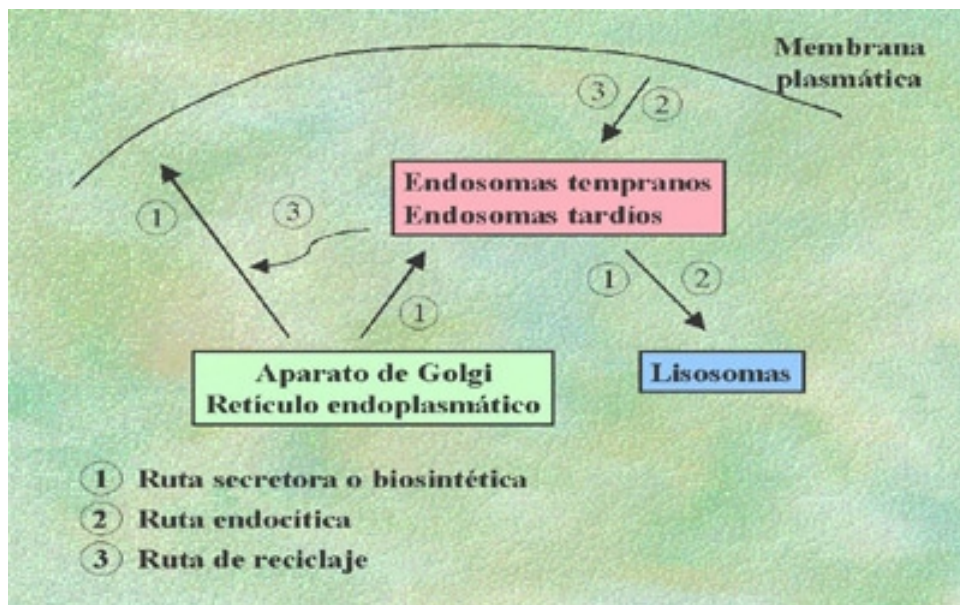


Fig.1. Esquema general de las distintas rutas intracelulares del tráfico de membranas.

1. La ruta secretora, biosintética o exocítica. Es la ruta por la que los componentes recién sintetizados son transportados desde el compartimiento de síntesis o retículo endoplasmático (RE) hasta (a) otros orgánulos (aparato de Golgi, lisosomas, cloroplastos, etc), (b) la membrana plasmática, y (c) al medio extracelular. Se distinguen dos tipos de secreción:

1.1. La secreción constitutiva. A medida que los lípidos y las proteínas son sintetizados, se transportan y secretan sin pausa alguna hasta el destino final. Esta secreción tiene lugar en todas las células¹.

¹ Como ejemplo de una proteína de secreción constitutiva ver el artículo de Ureña & Arribas (2000).

1.2. La secreción regulada. Sólo tiene lugar cuando aparece una señal específica, como la entrada de algunos iones (calcio) o como consecuencia de la interacción entre una hormona y su receptor. Los productos susceptibles de secreción regulada, una vez sintetizados, se almacenan en unas estructuras esféricas de membrana conocidas como vesículas o gránulos de secreción (en función del tamaño que tengan), a la espera de que aparezca la señal de disparo de la secreción. La secreción regulada acontece en las células de tejidos endocrinos (glándulas secretoras de hormonas) y exocrinos (páncreas exocrino), los macrófagos, algunos tipos de leucocitos y las neuronas.

2. La ruta endocítica. Es la ruta por la que componentes solubles y de membrana entran en la célula. Esta ruta abarca a su vez:

2.1. La ruta de internalización mediada por un receptor. En este caso, las moléculas exógenas se unen a un receptor que generalmente se encuentra en la membrana plasmática, o bien en determinados casos se almacena en compartimientos intracelulares localizados inmediatamente por debajo de la superficie celular y a la que se incorporan rápida y sincrónicamente cuando llega una señal específica, como sucede, por ejemplo, con los receptores GLUT4 de la glucosa. Estos receptores se encuentran en un compartimiento situado por debajo de la membrana plasmática. Cuando suben los niveles de glucosa en sangre, se produce la secreción de insulina, que se une a su vez a sus receptores presentes en la membrana plasmática. Esta unión dispara la fusión de las vesículas que contienen el receptor GLUT4 con la membrana plasmática, captando rápidamente la glucosa del medio extracelular. Acto seguido, los receptores con la glucosa son internalizados y la glucosa se desliga del receptor. Los receptores ya vacíos, esperan el inicio de un nuevo ciclo funcional, cuando aparezca otra vez la insulina en el medio extracelular. El desacoplamiento en la secuencia de este proceso comporta la aparición de la diabetes mellitus independiente de insulina.

2.2. La pinocitosis. Es la vía por la que se internalizan macromoléculas y fluidos. Además, es el mecanismo empleado para el recambio constante de la membrana plasmática. En función del tipo celular, la membrana plasmática se renueva completamente cada 30-60 min.

2.3. La internalización mediada por caveolas. Es una ruta de internalización que emplea unas vesículas que contienen mayoritariamente una proteína denominada caveolina. A través de estas vesículas se captan las moléculas de

pequeño tamaño y de naturaleza hidrofóbica como el colesterol y el ácido fólico y parecen estar implicadas en la señalización intracelular.

2.4. La fagocitosis. La fagocitosis es un tipo especializado de endocitosis por el que se internalizan grandes partículas como virus, bacterias, parásitos intracelulares y complejos inertes. Se encuentra sólo en determinados tipos celulares como los macrófagos y los neutrófilos.

3. La ruta de reciclaje. Algunos componentes de membrana se internalizan, pero una vez liberada la carga de unión son devueltos a la membrana plasmática para volver a ejercer su función. Esta ruta la emplean la mayoría de los receptores de membrana (por ejemplo, los receptores de factores tróficos y el receptor de la transferrina) y en realidad es una combinación de la ruta endocítica (internalización) y de la secretora (vuelta a la superficie celular).

El tráfico secretor y endocítico están muy equilibrados en cuanto a la cantidad de membrana intracelular. Cualquier alteración en este equilibrio comporta anomalías que comprometen la supervivencia de la célula.

Viajando en tren por el interior de la célula

Detallaré a continuación los distintos orgánulos y componentes moleculares en el tráfico de membranas, como si de un viaje en tren se tratase, en el que los pasajeros representarían los lípidos y proteínas, los vagones corresponderían a los intermediarios de transporte o vesículas y las estaciones, a los distintos orgánulos (retículo endoplasmático, los lisosomas, los endosomas, la membrana plasmática). Sin embargo, me extenderé con cierto detalle en el compartimento que representaría la Estación Central intracelular: el complejo o aparato de Golgi.

El retículo endoplasmático como el hangar, factoría y cadena de montaje de los trenes intracelulares

Lípidos y proteínas son sintetizados en el retículo endoplasmático (RE), que está formado por una red continua de cisternas aplanadas, recubiertas de ribosomas y que se extiende por todo el citoplasma. Los ribosomas son estructuras citoplasmáticas encargadas del proceso de traducción de proteínas a partir de los ARN mensajeros (ARNms) presentes en el citoplasma, que a su vez provienen del núcleo una vez transcritos del ADN. Los ARNms codifican las proteínas celulares, algunas de las cuales se

situarán en el citoplasma y otras en el RE. De éstas últimas, unas permanecerán solubles en el interior (o lumen) de las cisternas del RE y otras se insertarán en la membrana del mismo. Las proteínas del RE equivaldrían a los pasajeros que tienen asiento (proteínas de membrana) y los que permanecen de pie (proteínas solubles o luminales). Del conjunto de proteínas sintetizadas en el RE, unas residirán en orgánulos y otras serán secretadas al exterior de la célula. Por consiguiente, las proteínas que pertenecen a otros orgánulos que no sean el RE y las de secreción deben transportarse a otras estaciones intracelulares (aparato de Golgi, lisosomas, membrana plasmática), mientras que las proteínas residentes del RE deben retenerse. Hay que mencionar que la mayoría de las proteínas sintetizadas en el RE son también glicosiladas al mismo tiempo (proceso de N-glicosilación; ver más adelante).

Todas las proteínas presentan una estructura tridimensional. Para adquirirla deben plegarse paulatinamente sobre sí mismas. Solamente las proteínas que se han plegado correctamente serán susceptibles de ser transportadas. Este plegamiento puede tener lugar en forma espontánea, pero suelen producirse errores que las incapacitan funcionalmente. Para resolver este problema, dentro del lumen del RE se encuentran unas proteínas que ayudan a sus compañeras en este ejercicio de contorsionismo molecular y que son conocidas con el nombre de chaperonas. Las chaperonas facilitan el plegamiento lento y ordenado de otras proteínas, así como un correcto ensamblaje cuando se componen de varias subunidades (Ellgaard et al., 1999). Estos procesos post-traduccionales equivaldrían a que los viajeros (proteínas) dejen las maletas, se quiten el abrigo, lean el periódico, etc. Sin embargo, necesitan lo más esencial: el billete. ¿Qué es el billete? ¿Cuáles pasajeros pueden viajar y cuáles no? Intuitivamente, al igual que sucede en la vida cotidiana, uno supone que para viajar hay que adquirir un billete pero... sorprendentemente dentro de la célula, el viajar es para algunos gratis y para otros no. Hasta hace poco tiempo se pensaba que no hacía falta ninguna señal que determinase la salida de las proteínas solubles y de membrana (conocidas genéricamente como "carga") fuera del RE. Es la teoría de la "" (bulk-flow) (Wieland et al., 1987). Sin embargo, datos experimentales recientes demuestran que algunas proteínas sí presentan una señal de salida en el extremo carboxilo y que consiste en dos aminoácidos fenilalanina (di-fenilalanina) o, por lo menos, dos aminoácidos de naturaleza ácida (Nishimura & Balch, 1997). Más claro es el caso de las señales que implican la retención de las proteínas propias o residentes del RE. Así, tenemos los aminoácidos en la posición carboxilo-terminal (1) di-lisina o di-arginina para las proteínas de membrana de tipo I y tipo II, respectivamente (Nilsson et al., 1989; Jackson et

al., 1990; Schutze et al., 1994) y (2) lisina-asparagina-glutámico-leucina (KDEL –código de una letra-) para las proteínas solubles (Munro & Pelham, 1987). En principio, todas las proteínas que no contengan esta señal de retención podrán salir del RE. El destino inmediato: el aparato o complejo de Golgi. Sin embargo, antes de llegar al aparato de Golgi, hay que explicar cómo y en qué vehículo se realiza el transporte, ya que el RE y el aparato de Golgi no están físicamente interconectados. Por lo tanto, se ven obligados a utilizar unos intermediarios de membrana que son las vesículas de transporte y que vienen a representar los vagones del tren en que vamos a realizar nuestro viaje intracelular.

Las vesículas de transporte o cómo se forman y ensamblan los distintos vagones intracelulares

Tanto las proteínas solubles como las de membrana que van a seguir la ruta secretora, deben salir del RE camino al aparato de Golgi para ser completadas en su estructura molecular (como por ejemplo, la glicosilación y la fosforilación), empaquetadas y finalmente enviadas a sus respectivos destinos.

La salida del RE es un proceso complejo, del que se conoce bastante bien su maquinaria molecular. Hay que tener en cuenta que el volumen y la extensión del RE es muchísimo mayor que el volumen del aparato de Golgi. Esto significa que las proteínas dentro del RE están diluidas y por consiguiente deben concentrarse a lo largo de su viaje hasta el aparato de Golgi. Esta concentración se realiza de forma paralela al proceso de formación de vesículas de transporte en determinados lugares del RE carentes de ribosomas y conocidos como zonas de salida (exiting sites). Esto significa que no todo el RE es susceptible de concentrar cargo y producir las vesículas de transporte. Siguiendo con nuestro símil, los vagones o trenes (las vesículas) sólo se encuentran en los andenes (zonas de salida del RE).

Asociado al transporte tienen lugar dos hechos importantes: (1) la carga del cargo en la vesícula y (2) la deformación de la membrana en los lugares de salida del RE para seguidamente desprenderse y formar la vesícula de transporte. Siguiendo con nuestro símil, los pasajeros (proteínas y lípidos) están diseminados por toda la estación hasta que se van agrupando (concentrando) en el andén (zonas de salida del RE) conforme se acerca la hora de salida del tren (conjunto de vesículas de transporte).

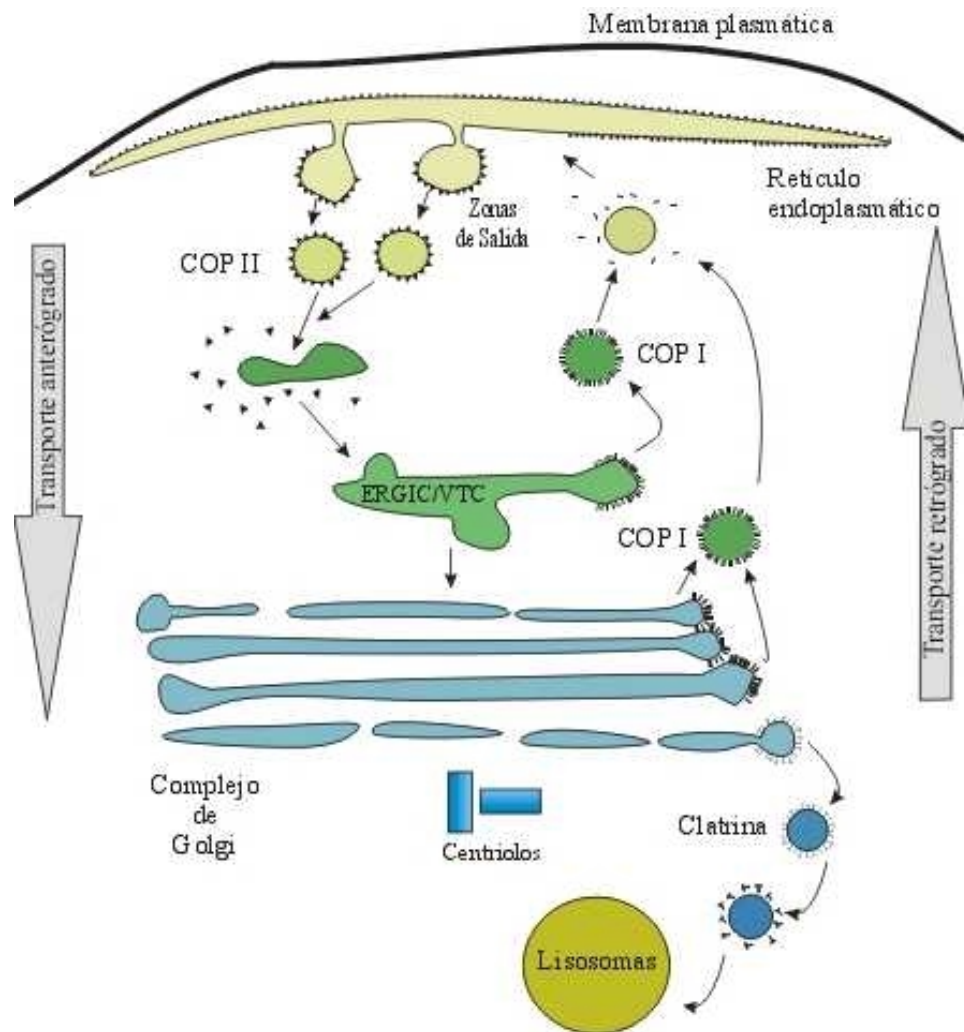


Fig. 2. Esquema del transporte intracelular entre el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi. El aparato de Golgi está englobado por el retículo endoplasmático y se sitúa alrededor de los centriolos. Entre el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi se sitúan estructuras tubulo-vesiculares que forman el compartimento denominado ERGIC o VTC (complejo de transporte vesículo-tubular).

Las vesículas de transporte que viajan desde el RE hasta el aparato de Golgi presentan una serie de cubiertas (coats) formadas por complejos multiprotéicos que al autoensamblarse deforman la membrana donadora para formar las vesículas de transporte. Son las vesículas con cubiertas de tipo COP (coat protein). Así tenemos las de tipo COP I y las de tipo COP II (Kreiss

and Pepperkok, 1994). Hay que destacar que estas vesículas actúan en tandem (Nickel et al., 1998). Es decir, primero se forman vesículas tipo COPII en el retículo endoplasmático y luego las COP I en un compartimiento lábil y pleomórfico formado por estructuras túbulo-vesiculares (VTCs, vesicular-tubular clusters) situado a medio camino entre el RE y el aparato de Golgi y denominado ERGIC (endoplasmic reticulum-Golgi intermediate compartment) (Fig. 2) (Hauri et al., 2000). En este compartimiento se produce la concentración de ciertas proteínas solubles destinadas a la secreción (Martínez-Menárguez et al., 1999).²

Hay otro tipo de cubierta conocida como clatrina. La clatrina está constituida por la asociación de tres cadenas pesadas y tres ligeras que forman unas unidades llamadas triskelion y que se ensamblan formando figuras poliédricas a modo de red de canasta de baloncesto. Originariamente se descubrieron en relación con la endocitosis mediada por receptor y posteriormente se han visto también en los procesos de salida de las proteínas del aparato de Golgi destinadas a los lisosomas (Le Borgue & Hoflack, 1998).

Hay que tener en cuenta que la formación de vesículas es un proceso que está altamente regulado por otras moléculas, muchas de las cuales están directamente implicadas también en procesos de señalización intracelular (Stow, 1995; De Camilli et al., 1996). Esto es importante porque permite a la célula regular su tráfico intracelular en función de lo que acontece o proviene en un momento determinado del exterior. Sería equivalente a que en función de terminados sucesos (espectáculos deportivos, políticos, musicales, etc.g) o épocas del año (temporadas alta, media y baja) se produce una mayor o menor demanda para viajar. Para ajustarse a dicha demanda hay que regular o ajustar el número de vagones o su capacidad y/o la frecuencia de paso de los trenes. De este modo se evita que el tráfico se colapse al no dar salida a las demandas de membrana y/o de alguno de sus componentes, o bien que se infrutilice, lo que comportaría un despilfarro de membrana y energía. Hay que tener en cuenta que la formación de vesículas requiere energía.

² Para un mayor detalle sobre la maquinaria molecular implicada en el ensamblaje y formación de las vesículas de transporte, dirigirse a revisiones especializadas (Rothman & Wieland, 1996; Schekman y Orci, 1996; Wieland & Harter, 1999; Springer et al., 1999).

El aparato de Golgi: la Estación Central de distribución del tráfico intracelular de membranas en células eucariotas

En la mayoría de las células animales no polarizadas, el aparato de Golgi es un orgánulo muy dinámico y único (una sola copia). Está compuesto por una serie de pilas (stacks) formadas por cisternas muy aplanadas con unas dilataciones laterales (rims). Estas pilas están interconectadas entre sí por túbulos y vesículas (Rambourg y Clermont, 1990). El aparato de Golgi es el orgánulo responsable de la mayor parte de las modificaciones que sufren los lípidos y las proteínas una vez finalizada su síntesis en el RE (Driouch & Staehelin, 1997; Farquhar & Palade, 1998). El más abundante es el proceso de glicosilación que da lugar a los glicolípidos y a las glicoproteínas. En el aparato de Golgi tienen lugar extensas modificaciones del bloque de azúcares estandarizado que se ha añadido a las proteínas conforme se sintetizaban en el RE. También en el aparato de Golgi se producen procesos de fosforilación que son esenciales para el envío correcto de ciertas proteínas solubles al interior de los lisosomas, procesos de sulfatación de proteoglicanos y de ciertos aminoácidos y por último reacciones de proteólisis esenciales para la activación de ciertas hormonas.

En las células animales, el aparato de Golgi se localiza cerca del núcleo y alrededor del centrosoma (Fig. 3A). El centrosoma es un orgánulo citoplasmático del que surgen los microtúbulos. Englobando al aparato de Golgi se sitúa el RE (Fig. 2) (Nota: en los libros de texto de Biología Celular y Molecular y en los de Bioquímica, sitúan el aparato de Golgi entre el RE y la membrana plasmática para de este modo hacer más comprensible la secuencia del transporte en la vía secretora. Este esquema funciona bien didácticamente pero no refleja la disposición real intracelular en la célula no polarizada, lo que fácilmente induce a errores de interpretación).

Tanto en células animales como vegetales, un stack de Golgi está constituido por las cisternas aplanadas (zona media) con una zona o cara de entrada (cis) y otra de salida (trans) (Fig. 3B). Cada una de las caras está unida a su respectiva red de estructuras túbulo-vesiculares: una de entrada o red tubular cis del Golgi (cis-Golgi network, CGN) y la otra de salida o red tubular trans del Golgi (trans-Golgi network, TGN) (Rambourg y Clermont, 1990) (Fig. 2). La morfología del aparato de Golgi es un tanto variable en función del tipo celular. Su tamaño suele estar en consonancia con la actividad biosintética de la célula. De forma similar sucede con el tamaño de las

estaciones centrales de ferrocarriles: mayores cuanto mayor es el tráfico de trenes que deben soportar.

Esta polaridad morfológica del aparato de Golgi se traduce en una polaridad funcional y un tráfico vectorial en sentido de la ruta secretora hacia la membrana plasmática. A lo largo de este viaje, las proteínas y lípidos en tránsito por el aparato de Golgi sufren una serie de modificaciones que se suceden también de forma secuencial. Estas modificaciones secuenciales vienen determinadas por la distinta composición molecular, principalmente por lo que se refiere a las enzimas de glicosilación o glicosiltransferasas, las cuales se localizan de forma más o menos diferencial a lo largo de las cisternas del aparato de Golgi (Roth, 1997; Varki, 1998). A diferencia de lo que ocurre con las proteínas residentes en el RE, no se conocen con exactitud las secuencias y/o los requisitos estructurales que contienen las glicosiltransferasas para su retención en el aparato de Golgi.

Ensamblaje y mantenimiento del aparato de Golgi en células eucariotas. Modelos de transporte vesicular y de maduración de cisternas.

El aparato de Golgi está compuesto también por una membrana. A pesar de sufrir un intenso tráfico de membranas, el aparato de Golgi permanece constante en cuanto a tamaño y forma. Este hecho implica la existencia de un delicado equilibrio dinámico de los flujos de membrana de entrada y de salida. Hay que evitar que el aparato de Golgi ni se hipertrofie convirtiéndose en un monstruo intracelular ni tampoco que se atrofie o incluso desaparezca. Cualquiera de estas situaciones comprometería la vida de la célula. La integridad estructural del aparato de Golgi es pues el resultado del equilibrio entre el tráfico anterógrado y retrógrado (Fig. 2). El tráfico anterógrado viene definido por el flujo de membrana que entra y sale del aparato de Golgi en dirección a la membrana plasmática. El tráfico retrógrado se define como el flujo de membrana que pasando u originado en el aparato de Golgi se dirige al RE. El tráfico anterógrado es el que clásicamente identificamos como el de la vía secretora. El tráfico retrógrado es el que emplean las proteínas solubles y de membrana que se han escapado del RE hacia el aparato de Golgi y que después son devueltos de nuevo al RE. Para ello, emplean una serie de receptores que reconocen las secuencias de retención del retículo (receptores de K(H)DEL; Lewis & Pelham, 1990) y que ya se han mencionado anteriormente. El transporte retrógrado es también la

ruta que emplean algunas toxinas (la toxina colérica) para llegar al RE y ejercer después su efecto tóxico. En este caso, estas proteínas una vez internalizadas deben cruzar forzosamente el aparato de Golgi para llegar hasta el RE (Sandvig et al., 1992).

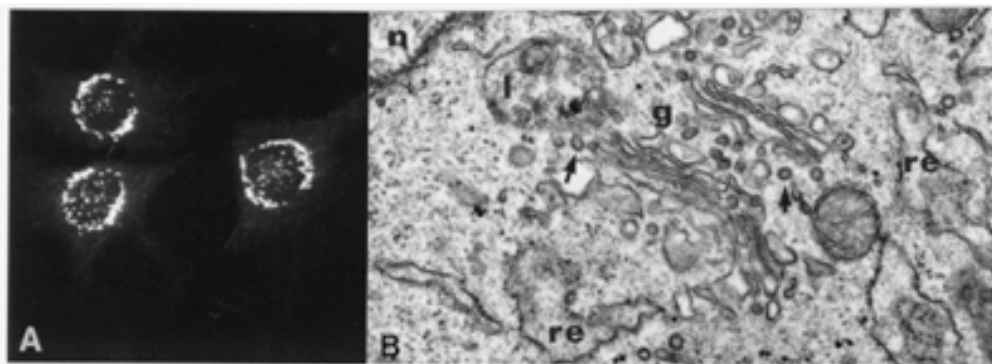


Fig. 3. (A) El aparato de Golgi de las células de mamífero en cultivo visualizado con el microscopio óptico de fluorescencia empleando anticuerpos contra una de sus proteínas residentes (la manosidasa II). Se observa que el aparato de Golgi presenta una morfología reticular y extendida alrededor del núcleo de la célula. (B) El aparato de Golgi visualizado con el microscopio electrónico de transmisión (B). El aparato de Golgi (g) está formado por una pila de cisternas planas. Se observa también que el aparato de Golgi está rodeado de cisternas del retículo endoplasmático (re). Las flechas indican algunas vesículas de transporte que contienen la cubierta COPI. n, núcleo; l, lisosoma.

Sin embargo, ¿quién determina y/o regula la especificidad o fidelidad del tráfico tanto anterógrado como retrógrado? En otras palabras, ¿quién o quiénes actúan de semáforo, de cambios de aguja o autorizan la entrada y salida de trenes de nuestra estación central intracelular? Parece ser que la especificidad en el reconocimiento y en la fusión de membranas radica en la interacción molecular de una serie de complejos multiprotéicos y que han originado la hipótesis SNARE del transporte vesicular (Rothman y Warren, 1994). Según este modelo, se produce la interacción específica de un grupo constante de componentes proteicos como son las proteínas NSF (proteína de fusión sensible a NEM), SNAPs (proteínas solubles de unión a la NSF) y SNAREs (proteínas receptoras de SNAPs). Estas SNAREs estarían presentes tanto en la membrana donadora (vSNARE), por ejemplo en una vesícula de transporte, como en la membrana aceptora (tSNARE), por ejemplo una cisterna del aparato de Golgi o la membrana plasmática. La interacción entre

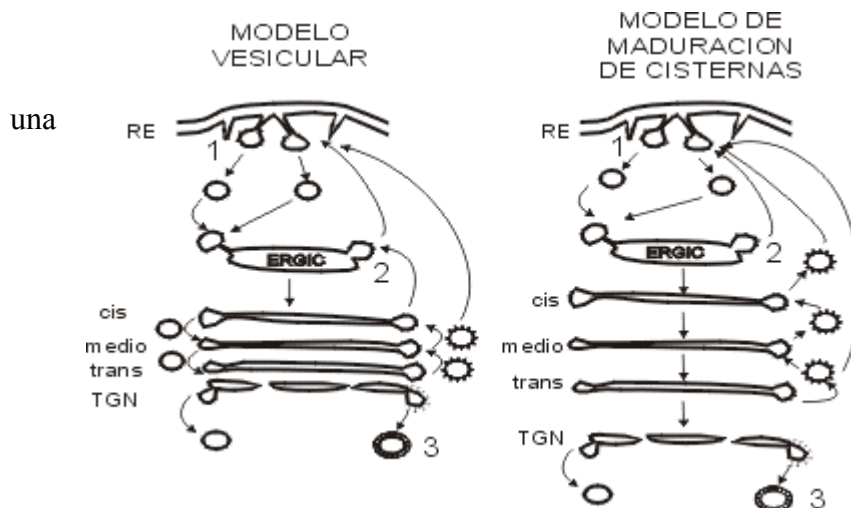


Fig. 4. Esquema general de los dos modelos de transporte intracelular: el modelo vesicular (A) y el de maduración de cisternas (B). Para más detalles ver el texto. Modificado a partir de Glick y Malhotra (1998).

vSNARE y una tSNARE sería única y aseguraría la especificidad de la fusión. Se han identificado hasta la fecha numerosas proteínas SNAREs específicas para determinados compartimentos. Siguiendo con nuestro símil, las SNAREs actuarían como los cambios de aguja que desvían cada tren a su correspondiente andén. Sin embargo, experimentalmente se ha visto que las SNAREs no son totalmente específicas y se verían ayudadas en su especificidad por otras proteínas llamadas Rab (Novick y Zerial, 1997). Las proteínas Rab se anclan a las membranas cuando se activan por unión al nucleótido GTP. Para cada compartimento intracelular se ha identificado una proteína Rab específica. Estas vendrían a representar los semáforos intracelulares que evitarían tanto las colisiones de trenes que ocurrirían durante los cambios de vías camino a los andenes así como los errores de ubicación de los trenes en los andenes. Evidentemente, hay otros componentes reguladores menores pero que se escapan del ámbito de este artículo.

Tanto el transporte anterógrado como el retrógrado tendrían como intermediarios de membrana a las vesículas (Rothman, 1994) (Fig. 4A). Estas estructuras de membrana suelen tener un tamaño de unos 60-80 nm y su especificidad y fidelidad en el transporte vendrían determinadas principalmente por las proteínas SNARE y Rab. El modelo vesicular funciona muy bien para explicar el transporte de la mayoría de proteínas y lípidos, ya que se ajustan bien al tamaño de la vesícula. Además, la relación volumen/superficie es alta, con lo que la capacidad de carga es muy elevada.

Sin embargo, la célula también sintetiza y transporta al exterior moléculas o complejos protéicos de gran tamaño. Por ejemplo, las escamas de ciertas algas, el procolágeno sintetizado por los fibroblastos, o los complejos multiprotéicos entre la apoproteína E y la albúmina en el hepatocito ¡todos son demasiado grandes para caber en el interior de las vesículas! En estos casos se piensa en un modelo alternativo conocido como el de maduración de cisternas (Fig. 4B) (Mironov et al., 1997; Glick y Malhotra, 1998). Este modelo postula que se formaría una cisterna en la parte *cis* del aparato de Golgi por la continua fusión de los VTCs procedentes del RE. De esta fusión resultaría la cisterna más *cis* del aparato de Golgi. El posterior transporte hasta la membrana plasmática tendría lugar gracias al progresivo movimiento de las cisternas en dirección a la parte *trans* del aparato de Golgi. Según este modelo, las proteínas transportadas no saldrían nunca del interior de las cisternas y las proteínas residentes del aparato de Golgi (las glicosiltransferasas) saldrían de las cisternas conforme éstas van madurando, transportándose retrógradamente de forma vesicular a la cisterna inmediatamente anterior. Finalmente, ya en la parte más *trans* del aparato de Golgi (el TGN), la cisterna “madura” se transportaría como tal o bien se rompería formando túbulos, para finalmente fusionarse con la membrana plasmática.

Un modelo muy utilizado para el estudio de la maquinaria molecular responsable del ensamblaje y desensamblaje del aparato de Golgi es la *mitosis* (Warren & Malhotra, 1998). La mitosis es el proceso por el cual las células se dividen dando origen a las células hijas. Consecuentemente, éstas reciben una copia de todo lo que contiene la célula madre: el material genético (cromosomas) y los distintos orgánulos. Durante el proceso mitótico, el aparato de Golgi se fragmenta, dispersándose por el citoplasma, distribuyéndose equitativamente estos fragmentos de Golgi a cada célula hija. Al final de la mitosis, estos fragmentos se vuelven a ensamblar y forman un único aparato de Golgi con la clásica morfología reticular y situado alrededor del centrosoma (Fig. 3A; 6A) (Lowe et al., 1998). Sin embargo, hay que destacar que la fragmentación del aparato de Golgi asociada a la mitosis sólo acontece en las células de mamíferos. En otros eucariotas como las levaduras (el otro gran modelo de estudio de la maquinaria molecular implicada en el tráfico intracelular de membranas; Duden & Schekman, 1997), en insectos como *Drosophila* (Stanley et al., 1997), y en las células vegetales (Driouch & Staehelin, 1997), el aparato de Golgi no se fragmenta .

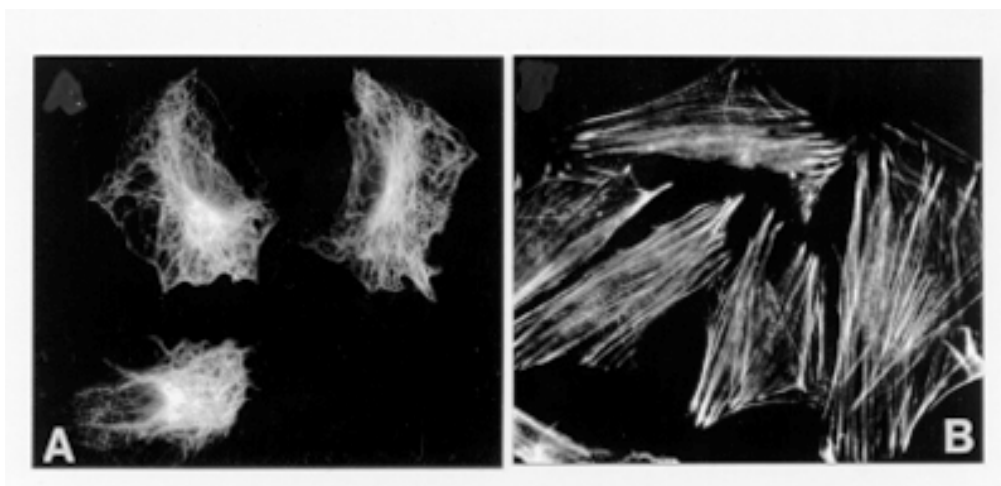


Fig. 5. El citoesqueleto en las células eucariotas. (A) La red de microtúbulos visualizada empleando anticuerpos contra la α -tubulina. (B) El citoesqueleto de actina (fibras de estrés) visualizado empleando la toxina faloidina.

Vías de alta y baja velocidad en el transporte intracelular: el citoesqueleto y su relación con el aparato de Golgi

Hemos visto hasta ahora que el tráfico intracelular entre los distintos compartimentos subcelulares está mediado principalmente por vesículas. Estos sucesos de transporte implican ciclos de selección del cargo en dominios de membrana específicos de los distintos orgánulos, seguidos a continuación por el envío y posterior fusión de la vesícula con la membrana del compartimiento receptor. Hemos descrito la maquinaria molecular que regula estos procesos (proteínas de cubierta COPI, COPII; SNAREs, rabs) pero existen también unas moléculas más de tipo estructural que establecen y mantienen la forma de los compartimentos, que retienen los orgánulos en un determinado lugar dentro de la célula y/o permiten que las vesículas se unan y muevan a lo largo de ciertas estructuras para alcanzar sus destinos intracelulares. Siguiendo con nuestro símil, vamos a continuación a hablar sobre motores, ruedas y vías de tren.

Todas las células contienen un citoesqueleto que organiza y determina en cierto modo la localización de los orgánulos y mantiene la forma celular. Este citoesqueleto está compuesto por los microtúbulos (Fig. 5A), los filamentos intermedios y los microfilamentos de actina (Fig. 5B).

Los microtúbulos (Fig. 5A) son estructuras lineales compuestas por unidades de tubulina que irradian hacia la periferia de la célula desde los centriolos o centro organizador de los microtúbulos (MTOC). Tal como he mencionado anteriormente, el aparato de Golgi se sitúa alrededor de los centriolos. Esta disposición permite centralizar en el aparato de Golgi el flujo de membrana que se origina en el RE (Fig. 2) (Cole y Lippincott-Schwartz, 1995). El aparato de Golgi se encuentra asociado al citoesqueleto (Kreis et al., 1997). Los agentes que alteran la estructura de los microtúbulos y microfilamentos también alteran la integridad y localización del aparato de Golgi (Fig. 6). En particular, la desintegración de los microtúbulos comporta la fragmentación del aparato de Golgi en pequeños trozos o *ministacks* que se dispersan por todo el citoplasma (Fig. 6B). Tanto el aparato de Golgi como las vesículas de transporte, interaccionan indirectamente con los microtúbulos a través de unas proteínas que tienen la capacidad de moverse y que se conocen como las dineínas y las quinesinas. Estas proteínas transforman la energía del ATP en movimiento en una determinada dirección. Por eso se las conoce como proteínas motoras (Allan, 1996). En células no polarizadas, la dineína (*dynein*) permite el movimiento hacia el centrosoma, mientras que la quinesina (*kinesin*) lo hace hacia la membrana plasmática (Lane & Allan, 1998). Siguiendo con nuestro símil, estas proteínas representarían las ruedas motrices de los vagones (vesículas) que se mueven sobre los raíles (microtúbulos). Las vesículas de transporte que emplean los microtúbulos viajan de una forma directa y rápida a su lugar de destino, por lo que los microtúbulos representarían las vías de alta velocidad intracelulares. No obstante, hay que tener en cuenta que el aparato de Golgi sigue unido a los microtúbulos cuando la función motora no está activada, por lo que debe haber un tipo de moléculas que permitan la unión permanente del aparato de Golgi al citoesqueleto de microtúbulos (Infante et al., 1999). Es posible que estas moléculas actúen a modo de frenos del movimiento de los orgánulos en general y del aparato de Golgi en particular. Por otro lado, el aparato de Golgi también interacciona con los microfilamentos de actina (Valderrama et al., 1998, 2000). Al igual que con los microtúbulos, los microfilamentos están compuestos por unidades de actina globular (G-actina) que tienen la capacidad de ensamblarse formando filamentos (F-actina; Fig. 5B) pero con un diámetro inferior al de los microtúbulos. Los microfilamentos son también estructuras lineales, pero mucho más cortas y ramificadas. De este modo forman una densa red citoplasmática. El citoesqueleto de actina es también una estructura sobre la que recae la capacidad de movimiento de las células. La rotura de los microfilamentos de actina comporta la compactación del aparato de Golgi (Fig. 6C).

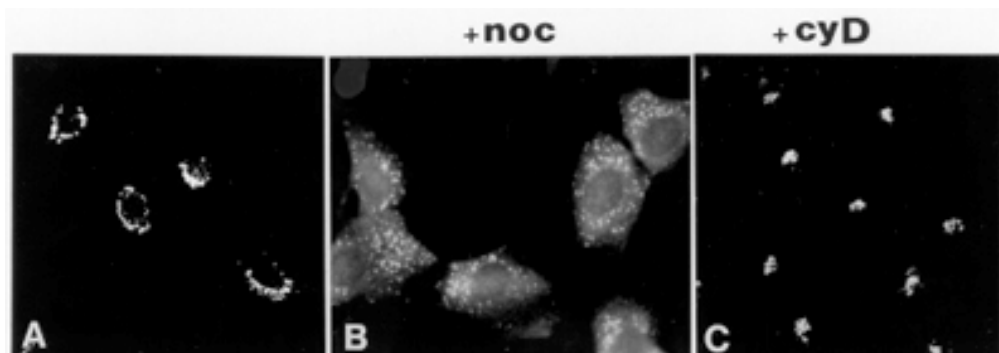


Fig. 6. La localización subcelular y la morfología del aparato de Golgi (A) dependen del citoesqueleto. La rotura de los microtúbulos empleando nocodazole (noc) comporta la fragmentación del aparato de Golgi y su dispersión por todo el citoplasma (B). La rotura del citoesqueleto de actina por la citocalasina D (cyD) comporta sin embargo su compactación (C).

Los microfilamentos tienen también unas proteínas motoras asociadas denominadas miosinas (*myosins*; Sellers, 1999). La velocidad de transporte de las vesículas a través de los microfilamentos es sensiblemente inferior a la que acontece sobre los microtúbulos por lo que los microfilamentos de actina equivaldrían a las vías de baja velocidad intracelular. Sin embargo, la disposición reticular de los microfilamentos permitiría que las vesículas pudiesen llegar a todos los rincones de la célula. Vendrían a cubrir aquellas rutas de cercanías en donde prevalece la accesibilidad de las distancias cortas con numerosas paradas intermedias frente a la alta velocidad requerida para las largas distancias.

Por último, en el aparato de Golgi también se encuentran otros componentes estructurales como ciertas isoformas de la espectrina (*spectrin*) y la anquirina (*ankyrin*) (Holleran y Holzbaur, 1998), las que, se supone actuarían a modo de los andamiajes de las construcciones arquitectónicas. El citoesqueleto basado en la espectrina está muy estudiado en los hematíes y es el responsable de su flexibilidad y deformabilidad a su paso por los estrechos capilares de la microcirculación sanguínea. Se desconoce, sin embargo, su papel en el aparato de Golgi, pero podrían estar más implicadas en la configuración aplanada de las cisternas que sobre el transporte intracelular.

APÉNDICE

¿Es el aparato de Golgi un orgánulo dependiente o independiente del retículo endoplasmático?

Estamos en una época en la que cualquier aspecto, tanto morfológico como funcional, que haga referencia al aparato de Golgi, conlleva una viva y larga discusión. Hasta ahora se entendía (y así se ha enfocado esta revisión) que el aparato de Golgi mantenía un equilibrio dinámico con y era dependiente del RE. Sin embargo, han aparecido recientemente un par de trabajos que postulan que no es este el caso. Si no más bien, que el aparato de Golgi sería un orgánulo independiente. Si asumimos que la formación y la fisiología del aparato de Golgi es dependiente del RE, se podría entonces restituir un aparato de Golgi funcional a partir del RE. Mediante técnicas de microcirugía, Pelletier et al. (2000) obtuvieron fragmentos del cuerpo celular que sólo contenían membranas del RE. Observaron que estos fragmentos subcelulares eran capaces de sintetizar y transportar proteínas fuera del RE. Sin embargo, estas proteínas no se secretaban, pero permanecían retenidas en las zonas de salida del RE como consecuencia de la ausencia del aparato de Golgi en estos fragmentos subcelulares. Para saber si el RE resulta necesario o no para formar el aparato de Golgi, Seemann et al. (2000) trataron células con una droga (brefeldina A), que induce de forma reversible la redistribución de las glicosiltransferasas del aparato de Golgi en el RE. Observaron que al retirar la brefeldina A del medio de cultivo (y teóricamente se permite la reconstitución del aparato de Golgi) en células que expresaban la proteína mutada Sar1 (proteína esencial para la formación de vesículas COPII y por consiguiente para el transporte desde el RE hasta el Golgi) reaparecía una estructura similar al aparato de Golgi que contenía unas proteínas estructurales (*matrix proteins*) pero que en cambio carecía de las glicosiltransferasas, las cuales seguían retenidas en el RE al estar su salida como consecuencia de bloqueo ejercido por el mutante de Sar1. Estos experimentos sugieren que el RE ni es necesario ni suficiente para la formación y funcionalidad del aparato de Golgi, lo que sugiere que actúa como un orgánulo independiente del RE (Kumplerman, 2000). A continuación, surgen inmediatamente nuevos modelos para explicar el transporte a lo largo de la vía secretora y dentro del aparato de Golgi (Pelham y Rothman, 2000; Stephens and Pepperkok, 2001).

Hace ahora poco más de un siglo que fue descubierto el aparato de Golgi (Golgi, 1989). En los últimos 20 años, el campo del tráfico intracelular de membranas ha sufrido espectaculares avances hacia la identificación de su

maquinaria molecular. Se han descubierto las proteínas responsables de los procesos de fusión, fisión y gemación de membranas, dando lugar a modelos que explican cómo sus componentes se ensamblan y funcionan. Sin embargo, existen pocos datos de cómo acontece el transporte *in vivo*. La aparición y desarrollo de proteínas quiméricas con GFP (*green fluorescent protein*; proteína verde fluorescente) y de técnicas microscópicas de alta resolución aportarán sin duda nueva información sobre la fisiología de este proceso (Lippincott-Schwartz et al., 1998; Polishchuck et al., 2000; Keller et al., 2001). Confiamos en no tener que esperar otro siglo para entender completamente la compleja y dinámica fisiología de este misterioso y a la vez fascinante orgánulo.

Agradecimientos

Agradezco a los integrantes pasados y presentes de mi grupo, Inmaculada Ayala, Teresa Babià, Juan Manuel Durán, Ana Luna, Olga Matas y Ferran Valderrama, sus aportaciones y discusiones, y también y de forma muy especial el continuo apoyo y colaboración de Jesús Ávila, Jaime Renau-Piqueras, Vivek Malhotra, Carlos Dotti, y Gareth Griffiths, y el consejo editorial de Marc de Semir (IDIBAPS). El trabajo realizado en el laboratorio del autor está financiado por proyectos y becas de la CYCIT (Ministerio de Educación y Ciencia/Cultura), la CIRIT (Generalitat de Catalunya) y la Universidad de Barcelona. Este trabajo esta dedicado a José Cortina por dejarme siempre abiertas las puertas del laboratorio del colegio y a mi familia por su inestimable paciencia y cariño.

Punteros de Interés

Citoesqueleto

1. La actina durante el movimiento celular. Laboratory de TM Terry (Universidad de Connecticut, Storrs)
<http://cmgm.stanford.edu/theriot/movies.htm>
2. La actina durante el proceso de endocitosis (Joel Swanson, Univ. Michigan, Ann Harbor, USA)
<http://www.umich.edu/~jswanlab/Movies/movies.html>
3. Imágenes de fagocitosis en

<http://www.umich.edu/~jswanlab/Images/images.html>.

4. Dinámica de microtubulos durante los procesos de mitosis, motilidad celular y tráfico de membrana (Salmon Lab Movies)

<http://www.unc.edu/depts/salmlab/salmonlabmovies.html>

Motores

1. Motores moleculares (Molecular Motors Group at the University of York, UK)

<http://motility.york.ac.uk:85/>

2. Superfamilia de las kinesinas (Laboratorio de N. Hirokawa, Tokyo, Japón)

<http://cb.m.u-tokyo.ac.jp/>

3. Página Web del laboratorio de Ron Vale sobre motores moleculares

<http://cmp.ucsf.edu/valelab/>

4. Movimiento de la kinesina a lo largo de un microtúbulo

<http://math.lbl.gov/~hwang/animation/walk9.mpeg>

<http://www.bio.brandeis.edu/~gelles/kamppnp/index.html>

5. Miosina

<http://www.mrc-lmb.cam.ac.uk/myosin/myosin.html>

6. Miosina II durante la división y la migración celular

<http://www.stc.cmu.edu/CLMIBhp/Imggallpg/>

7. La fuerza generada por la miosina II sobre el microfilamento de actina

<http://cmgm.stanford.edu/~wshih/gif.html>

8. Imágenes del transporte de vesículas a lo largo de los microtúbulos y microfilamentos en el axón gigante de calamar (Laboratory de M. Langford)

<http://www.dartmouth.edu/~langford/>

9. Microtúbulos y microfilamentos en la motilidad celular, crecimiento axonal, los melanóforos (Laboratorio de G. Borisy)

<http://borisy.bocklabs.wisc.edu/pages/movies.html>

10. Lista completa de laboratorios que trabajan sobre el citoesqueleto

<http://vl.bwh.harvard.edu/labs.shtml#cytoskeleton>

El complejo de Golgi y tráfico intracelular

1. El complejo de Golgi en Plantas

<http://cs3.brookes.ac.uk/schools/bms/research/molcell/hawes/gfp/gfp.html>

2. Página del laboratorio de Viki Allan sobre motores en la interfase retículo/Golgi

<http://www.biomed2.man.ac.uk/allan/>

3. Imágenes del laboratorio de Jennifer Lippincott-Schwartz sobre tráfico intracelular empleando proteínas quiméricas unidas a GFP

<http://dir.nichd.nih.gov/CBMB/uobhome.htm>

<http://dir.nichd.nih.gov/cbmb/pb1labob.html>

4. Imágenes obtenidas en el laboratorio de Graham Warren sobre el complejo de Golgi durante la mitosis en células animales

<http://info.med.yale.edu/cellbio/Warren.html>

5. Página de Derek Toomre sobre el transporte intracelular "in vivo"

<http://www.livingroomcell.com/>

6. Página del Grupo de Rainer Pepperkok sobre la vía secretora y la biogénesis de orgánulos

<http://www.embl-heidelberg.de/ExternalInfo/pepperko/index.html>

<http://www.rpi.edu/~plourj/cellbiol/er-golgi.htm>

7. Página del laboratorio de Bruno Goud sobre los mecanismos moleculares implicados en el transporte intracelular

<http://www.curie.fr/sr/cdrom/equipes/goude.htm>

5. Página del laboratorio de Kai Simons sobre los mecanismos moleculares implicados en el transporte intracelular pero en células polarizadas, y mecanismos de segregación en la parte trans del aparato de Golgi

<http://www.mpi-cbg.de/content.php3?lang=en&aktID=simons>

<http://www.embl-heidelberg.de/ExtrenalInfo/simons/movies.html>

6. Página del grupo de Felix Wieland sobre los componentes moleculares implicados en la formación de vesículas con cubierta COPI

<http://www.uni-heidelberg.de/zentral/bzh/wieland.html>

7. Organización tridimensional del aparato de Golgi

<http://bio3d.colorado.edu/>

8. Endocitosis mediada por clatrina

<http://www.hms.harvard.edu/news/clathrin/index.html>

9. Citoesqueleto y tráfico intracelular en el laboratorio del difunto Thomas Kreis

http://www.unige.ch/keris-lab/FP/FP_Video.html

Miscelánea

1. Página de alerta general para Biólogos Celulares (P. Lafont)

http://www.unige.ch/sciences/biochimie/Lafont/WA_CB.html

Referencias

- Allan, V.J. (1996) Role of motor proteins in organizing the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. *Sem. Cell Dev. Biol.* 7: 335-342.
- Allan, V.J. & Schroer, T.A. (1999) Membrane motors. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11: 476-482.
- Cole, N.B. & Lippincott-Schwartz, J. (1995) organization of organelles and membrane traffic by microtubules. *Curr. Opin. Cell Biol.* 7: 55-64.
- De Camilli, P., Emr, S.D., McPherson, P.S. & Novick, P. (1996) Phosphoinositides as regulators in membrane traffic. *Science*, 271:1533-1539.
- Driouich, A. & Staehelin, L.A. (1997) The plant Golgi apparatus: structural organization and functional properties. In: *The Golgi apparatus*. Eds. Berger, E.G. & Roth, J. Birkhäuser Verlag, Basel, pp. 275-302.
- Duden, R. & Schekman, R. (1997) Insights into Golgi function through mutants in yeast and animal cells. In: *The Golgi apparatus*. Eds. Berger, E.G. & Roth, J. Birkhäuser Verlag, Basel, pp 219-246.
- Ellgaard, L., Molinari, M & Helenius, A (1999) Setting the standards: quality control in the secretory pathway. *Science*, 286: 1882-1888.
- Farquhar, M.G. & Palade, G.E. (1998) The Golgi apparatus: 100 years of progress and controversy. *Trends Cell Biol.*, 8:2-10.
- Glick, B.S. & Malhotra, V. (1998) The curious status of the Golgi apparatus. *Cell*, 95: 883-889.
- Golgi, C. (1898) Sur la structure des cellules nerveuses. *Arch. Ital. Biol.* 30:60-71 (Original publicado en *Boll. Soc. med.-chir. di Pavia*, 1989).
- Hauri, H.-P., Kappeler, F., Andersson, H. & Appenzeller, C. (2000) ERGIC-53 and traffic in the secretory pathway. *J. Cell Sci.*, 113: 587-596.
- Holleran, E.A. & Holzbaur, E.L.F. (1998) Speculating about spectrin: new insights into Golgi-associated cytoskeleton. *Trends Cell Biol.* 8: 21-25.

- Infante, C., Ramos Morales, F., Fedriani, C., Bornens, M. & Ríos, RM (1999) GMAP 210, a cis-Golgi network-associated protein, is a minus microtubule-binding protein. *J. Cell Biol.*, 145:83-98.
- Jackson, M.R., Nilsson, T. & Peterson, P.A. (1990) Identification of a consensus motif for retention of transmembrane proteins in the endoplasmic reticulum. *EMBO J.*, 9:3153-3162.
- Keller, P., Toomre, D., Díaz, E., White, J. & Simons, K. (2001) Multicolor imaging of post-Golgi sorting and trafficking in live cells. *Nat. Cell Biol.* 3: 140-150.
- Kreis, T.E. & Pepperkok, R. (1994) Coat proteins in intracellular membrane transport. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 6: 533-537.
- Kreis, T.E., Goodson, H.V., Pérez, F. & Rönholm, R. (1997) Golgi apparatus-cytoskeleton interactions. In: *The Golgi apparatus*. Eds. Berger, E.G. & Roth, J. Birkhäuser Verlag, Basel, pp179-194.
- Kreis, T.E., Lowe, M. & Pepperkok, R. (1995) COPs regulating membrane traffic. *Ann. Rev. Cell Develop. Biol.* 11:677-706.
- Klumperman, J. (2000) The growing Golgi: in search of its independence. *Nat. Cell Biol.* 2: E217-219.
- Lane, J. & Allan, V.J. (1998) Microtubule-based membrane movement. *Biochim. Biophys. Acta* 1376: 27-55.
- Le Borgue, R. & Hoflack, B. (1998). Mechanisms of protein sorting and coat assembly: insights from the clathrin-coated vesicle pathway. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 10: 499-503.
- Lewis, M.J. & Pelham, H.R.B. (1990) The human homologue of the yeast HDEL receptor. *Nature*, 348: 162-163.
- Lippincott-Schwartz, J., Cole, N., & Presley, J. (1998) Unraveling Golgi membrane traffic with green fluorescent protein chimeras. *Trends in Cell Biol.* 8: 16-21.
- Lowe, M, Nakamura, N. & Warren, G. (1998) Golgi division and membrane traffic. *Trends Cell Biol.*, 8: 40-45.
- Martínez-Menárguez, J.A., Geuze, H., Slot J.W. & Klumperman, J. (1999) Vesicular tubular clusters between the ER and Golgi mediate concentration of soluble secretory proteins by exclusion from COPI-coated vesicles. *Cell*, 98:81-90.
- Mironov, A.A., Weidman, P. & Luini, A. (1997) Variations on the intracellular transport theme: maturing cisternae and trafficking tubule. *J. Cell Biol.*, 138: 481-484.
- Munro, S. & Pelham, H.R. (1987) A C-terminal signal prevents secretion of luminal ER proteins. *Cell*, 48:899-907.
- Nickel, W., Brügger, B. & Wieland, F.T. (1998) Protein and lipid sorting between the endoplasmic reticulum and the Golgi apparatus. *Sem. Cell Dev. Biol.* 9:493-501.
- Nilsson, T., Jackson, M., & Peterson, P.A. (1989) Short cytoplasmic sequences serve as retention signals for transmembrane proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell*, 58: 707-718.
- Nishimura, N. & Balch W.E. (1997) A di-acid signal required for selective export from the endoplasmic reticulum. *Science*, 277:556-558.
- Novick, P. & Zerial, M. (1997) The diversity of Rab proteins and vesicle transport. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9:496-504.
- Pelham, H. & Rothman, J.E. (2000) The debate about transport in the Golgi –two sides of the same coin? *Cell* 102:713-719.
- Pelletier, L. Jokitalo, E. & Warren, G. (2000) The effect of Golgi depletion on exocytic transport. *Nat. Cell Biol.* 2:840-845.
- Polishchuk, R.S., Polishchuk, E.V., Marra, P., Alberti, S., Buccione, R., Luini, A. & Mironov, A.A. (2000) Correlative light-electron microscopy reveals the tubular-saccular

- ultrastructure of carriers operating between Golgi apparatus and plasma membrane. *J. Cell Biol.* 148: 45-58.
- Rambourg, A. & Clermont, Y. (1997) Three-dimensional structure of the Golgi apparatus in mammalian cells. In: *The Golgi apparatus*. Eds. Berger, E.G. & Roth, J. Birkhäuser Verlag, Basel.
- Roth, J (1997) Topology of glycosylation in the Golgi apparatus. In: *The Golgi apparatus*. Eds. Berger, E.G. & Roth, J. Birkhäuser Verlag, Basel, pp 131-162.
- Rothman, J.E. (1994) Mechanisms of intracellular protein transport. *Nature*, 372:55-63.
- Rothman, J.E. & Warren, G. (1994) Implications of the SNARE hypothesis for intracellular membrane topology and dynamics. *Curr. Biol.*, 4:220-233.
- Rothman, J.E. & Wieland, F.T. (1996) Protein sorting by transport vesicle. *Science* 272: 227-234.
- Sandvig, K., Garred, O., Prydz, K., Koslov, J.V., Hansen, S.H. & van deurs, B. (1992) Retrograde transport of endocytosed Shiga toxin to the endoplasmic reticulum. *Nature*, 358:510-512.
- Schekman, R. & Orci, L (1996) Coat proteins and vesicle budding. *Science*, 271:1526-1533.
- Schutze, M.P., Peterson, P.A. & Jackson, M.R. (1994) An N-terminal double-arginine motif maintains type II membrane proteins in the endoplasmic reticulum. *EMBO J.*, 14:1329-1339.
- Seemann, J., Jokitalo, E., Pypaert, M. & Warren, G (2000) Matrix proteins can generate the higher order architecture of the Golgi apparatus. *Nature* 407: 1022-1026.
- Sellers, J.R. (1999) *Myosins* (2nd. Edition). Oxford University Press, Oxford, pp. 1-237.
- Springer, S., Spang, A. & Schekman, R. (1999) A primer on vesicle budding. *Cell*, 97: 145-148.
- Stanley, H., Bota, J., Tokuyasu, K. & Malhotra, V (1997) The mechanism of Golgi segregation is cell type specific. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94: 14467-14470.
- Stow, J.L. (1995) Regulation of vesicular transport by GTP-binding proteins. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 4:421-425.
- Stephens, D.J. & Pepperkok, R. (2001) Illuminating the secretory pathway: when do we need vesicles? *J. Cell Sci.* 114:1053-1059.
- Ureña, J.M. & Arribas J. (2000). El transporte intracelular de proteínas. El caso del TGF- α . <http://www.ciencia.cl/CienciaAlDia/volumen3/numero1/articulos/articulo2.html>.
- Valderrama F., Babià, T., Ayala, I., Kok, J.W., Renau-Piqueras, J. & Egea, G. (1998) Actin microfilaments are essential for the cytological positioning and morphology of the Golgi complex. *Eur. J. Cell Biol.*, 76: 9-17.
- Valderrama, F., Luna, A., Babià, T., Martínez-Menárguez, J.A., Ballesta, J., Barth, H., Chaponnier, C., Renau-Piqueras, J., & Egea, G. (2000) The Golgi-associated COPI-coated buds and vesicles contain $\square\square$ -actin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 1560-1565.
- Varki, A. (1998) Factors controlling the glycosylation potential of the Golgi apparatus. *Trends Cell Biol.* 8: 34-40.
- Warren, G. & Malhotra, V. (1998) The organization of the Golgi apparatus. *Curr. Opin. Cell Biol.* 10: 493-498.
- Wieland, F. T., Gleason, M.L., Serafini, T., Rothman, J.E. (1987) The rate of bulk-flow from the endoplasmic reticulum to the cell surface. *Cell*, 50:289-300.
- Wieland, F.T. & Harter, C. (1999) Mechanisms of vesicle formation: insights from the COP system. *Curr. Opin. Cell Biol.* 11:440-446.

Gustavo Egea es Doctor en Ciencias Biológicas, Profesor Titular de la Universidad de Barcelona e Investigador del IDIBAPS (Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer). Su Tesis Doctoral versó sobre los mecanismos de liberación de la acetilcolina y la acción de las toxinas clostridiales en los terminales nerviosos. Realizó su período post-doctoral en el Biozentrum de la Universidad de Basilea estudiando la compartimentación del proceso de glicosilación de proteínas en el aparato de Golgi. Ha realizado diversas estancias en otros centros de investigación como el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (Madrid, España), el European Molecular Biology Laboratory, (Heidelberg, Alemania) y el Instituto Mario Negri Sud (Chieti, Italia). Desde 1995 dirige un grupo de investigación en el Departamento de Biología Celular y Anatomía Patológica en la Facultad de Medicina de la Universidad de Barcelona. Su línea de investigación se centra en el tráfico intracelular de membranas en células normales y tumorales y en la interacción del aparato de Golgi con el citoesqueleto de actina.