



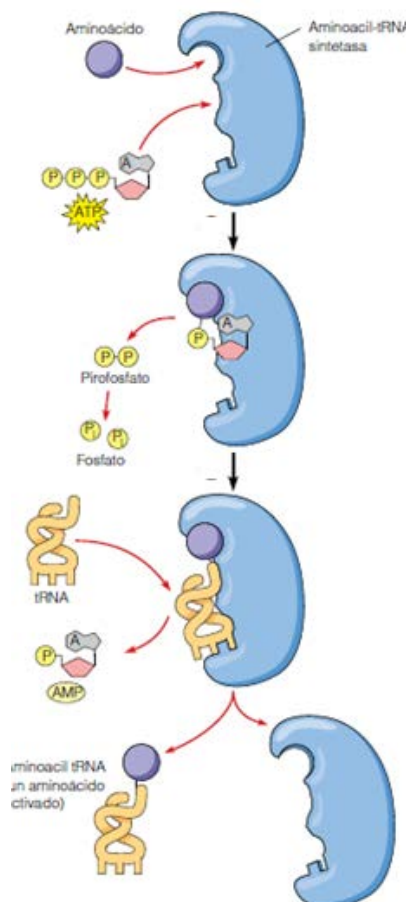
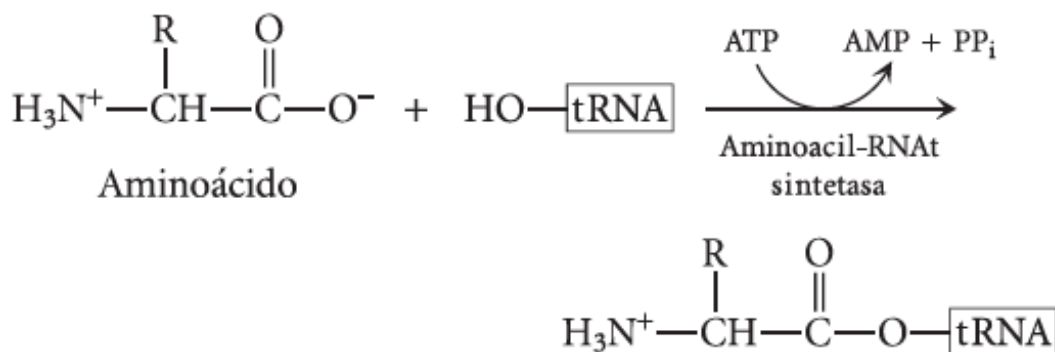
RESUMEN: SECUENCIA SÍNTESIS Y PROCESAMIENTO DE LAS PROTEÍNAS

Material extraído del capítulo 22 *Expresión génica: II. Síntesis y clasificación de proteínas* del libro *El mundo de la célula* – Wayne M. Becker, Lewis J. Kleinsmith & Jeff Hardin

Las aminoacil-tRNA sintetasas unen los aminoácidos a los RNAs de transferencia adecuados

Antes de que una molécula de tRNA pueda llevar su aminoácido específico al ribosoma, ese aminoácido debe estar unido covalentemente al tRNA. Las enzimas responsables de la unión de los aminoácidos a sus respectivas moléculas de tRNA se denominan **aminoacil-tRNA sintetasas**. Las células tienen normalmente 20 tipos distintos de aminoacil-tRNA sintetasas, una por cada uno de los 20 aminoácidos más frecuentes para la síntesis de proteínas.

Cuando existe más de un tRNA para un determinado aminoácido, la aminoacil-tRNA sintetasa correspondiente para ese aminoácido reconoce cada uno de los tRNAs. Algunas células presentan menos de 20 aminoacil-tRNA sintetasas. En estos casos, la misma aminoacil-tRNA sintetasa puede catalizar la unión de dos aminoácidos a sus tRNA correspondientes o puede unir un aminoácido incorrecto a una molécula de tRNA. Estos errores son después corregidos por una segunda enzima que altera el aminoácido incorrecto tras su unión al tRNA. Las aminoacil-tRNA sintetasas catalizan la unión de un aminoácido a su correspondiente tRNA, mediante un enlace éster, en una reacción acoplada a la hidrólisis de ATP en AMP y pirofosfato:



La Figura 22.5 resume los pasos de esta reacción. La hidrólisis del pirofosfato a 2 P_i conduce la reacción. Se dice que el enlace éster que une el aminoácido al tRNA es un enlace de «alta energía». Esto significa simplemente que la hidrólisis del enlace libera suficiente energía para permitir la formación del enlace peptídico, que posteriormente unirá el aminoácido a la cadena polipeptídica en formación. El proceso de aminoacilación de una molécula de tRNA se denomina, por lo tanto, *activación del aminoácido*, porque no sólo une el aminoácido a su tRNA adecuado, sino que además lo activa para la posterior formación del enlace peptídico.

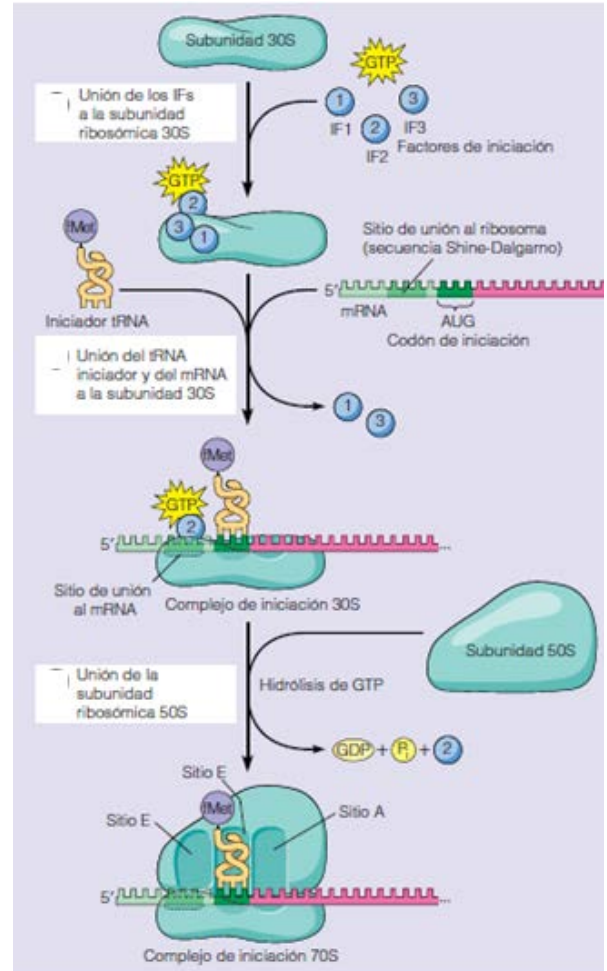
¿Cómo identifican las aminoacil-tRNA sintetasas el tRNA correcto para cada aminoácido? Las diferencias en las secuencias de bases de las distintas moléculas de tRNA hacen posible distinguirlas y, sorprendentemente, el anticodón no es la única característica reconocible. Los cambios en la secuencia de bases del triplete anticodón o en el extremo 3' de la molécula de tRNA pueden cambiar el aminoácido al que se une el tRNA. Así, las aminoacil-tRNA sintetasas reconocen nucleótidos localizados en, al menos, dos regiones distintas de las moléculas del tRNA, cuando interaccionan con el tRNA que va a unirse a un aminoácido concreto. Después de unir un aminoácido a la molécula de tRNA, algunas aminoacil-tRNA sintetasas revisan el producto final, para asegurarse de que se ha introducido el aminoácido correcto. Esta actividad correctora es llevada a cabo por un sitio de la aminoacil-tRNA sintetasa, que reconoce aminoácidos erróneos y los libera hidrolizando el enlace de unión al tRNA.



La iniciación de la traducción requiere factores de iniciación, subunidades ribosómicas, mRNA y tRNA iniciador

Iniciación en procariotas. En la Figura 22.8 se representa la iniciación de la traducción en procariotas, donde se aprecia que la iniciación se puede subdividir en tres pasos distintos. En el paso 1, los tres **factores de iniciación** —denominados *IF1*, *IF2* e *IF3*— se unen a la subunidad ribosómica menor, con el GTP unido a *IF2*. En el paso 2 de la Figura 22.8, el mRNA y el tRNA que lleva el primer aminoácido se unen a la subunidad ribosómica 30S. El mRNA se une a la subunidad 30S en la orientación adecuada por medio de una secuencia de nucleótidos especial denominada *sitio de unión del mRNA al ribosoma* (conocida también como secuencia *Shine-Dalgarno*, por sus descubridores). Esta secuencia consta de un conjunto de 3-9 nucleótidos de purina (a menudo AGGA) localizados ligeramente por delante del codón de iniciación. Estas purinas del mRNA aparean con una secuencia rica en pirimidinas del extremo 3' del rRNA 16S, que forma el *sitio de unión a mRNA* del ribosoma. La unión del mRNA a su sitio de unión en la subunidad ribosómica menor, sitúa el codón AUG de iniciación del mRNA en el sitio P del ribosoma, desde donde se puede unir al anticodón del tRNA adecuado.

Durante la iniciación, el tRNA iniciador con su N-formilmetionina se une al sitio P de la subunidad ribosómica 30S por la acción del factor de iniciación *IF2* (unido a GTP), que puede distinguir al tRNA_{fMet} de otros tipos de tRNAs. Esta propiedad del *IF2* ayuda a explicar por qué los codones AUG de iniciación se unen al tRNA_{fMet} iniciador mientras que los codones AUG localizados en otro sitio del mRNA se unen al tRNA_{Met} no iniciador. Una vez que el tRNA_{fMet} entra en el sitio P, su anticodón aparea con el codón de iniciación AUG del mRNA, y se liberan *IF1* e *IF3*. El complejo formado por la subunidad 30S con el GTP-*IF2*, el mRNA y la N-formilmetionil tRNA_{fMet}, se conoce como **complejo de iniciación 30S**. Por último, en el paso 3 de la Figura 22.8, el complejo de iniciación 30S se une a una subunidad ribosómica 50S libre, generando el **complejo de iniciación 70S**. La unión de la subunidad 50S se produce gracias a la hidrólisis del GTP asociado a *IF2*, que se da cuando *IF2* abandona el ribosoma. En esta fase, los tres factores de iniciación han sido liberados.

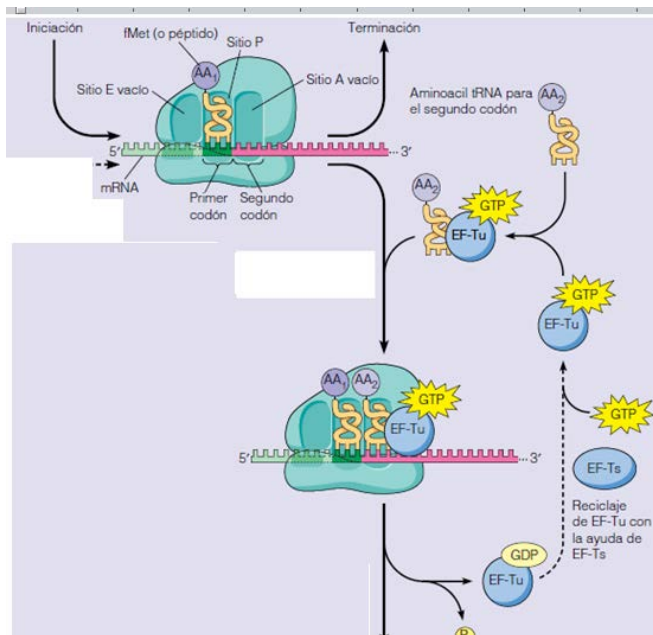


Iniciación en eucariotas. El proceso de iniciación en eucariotas requiere un conjunto diferente de factores de iniciación (denominados eIFs), una ruta algo distinta de ensamblaje del complejo de iniciación y un iniciador especial tRNA_{Met} que —como el tRNA normal de la metionina, pero a diferencia del tRNA iniciador en procariotas— lleva una metionina que no ha sido previamente formilada. El factor de iniciación eIF2, con el GTP ya unido, se une al iniciador metionil tRNA_{Met}; posteriormente este tRNA se une a la subunidad menor del ribosoma, junto con otros factores de iniciación. El complejo resultante se une después al extremo 5' de un mRNA, reconociendo el casquete 5' (en algunas situaciones el complejo puede unirse a un *sitio interno de unión al ribosoma* o IRES, que se encuentra por encima del codón de iniciación en ciertos tipos de mRNA, incluyendo mRNAs virales). Después de la unión a un mRNA, la subunidad menor del ribosoma, con el tRNA iniciador ya unido, rastrea a lo largo del mRNA y normalmente empieza la traducción en el primer triplete AUG que encuentra. Cuando el tRNA_{Met} iniciador aparea con el codón de iniciación, la subunidad ribosómica mayor se une al complejo.



La elongación de la cadena implica ciclos secuenciales de unión del aminoacil tRNA, formación del enlace peptídico y traslocación

Una vez formado el complejo de iniciación, se sintetiza una cadena polipeptídica por adiciones sucesivas de aminoácidos, de acuerdo con la secuencia de codones del mRNA. Como se especifica en la Figura 22.10, esta etapa de elongación de la síntesis del polipéptido implica un ciclo repetitivo de tres pasos en el que la *unión de un aminoacil tRNA* lleva un nuevo aminoácido a la posición de unión a la cadena polipeptídica, la *formación del enlace peptídico* une el aminoácido a la cadena polipeptídica en formación, y se produce un desplazamiento del mRNA de tres nucleótidos mediante el proceso de *traslocación* para llevar al siguiente codón a la posición correcta para la traducción. Cada uno de estos pasos se describirá más detalladamente en los siguientes párrafos

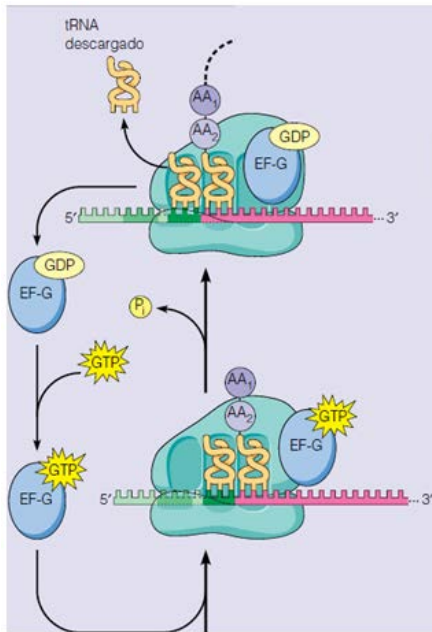


Unión del aminoacil tRNA. Al principio de la etapa de elongación, el codón de iniciación AUG del mRNA está localizado en el sitio P del ribosoma y el segundo codón (el codón inmediatamente por debajo del codón de iniciación) está localizado en el sitio A. La elongación empieza cuando un aminoacil tRNA cuyo codón es complementario al segundo codón se une al sitio A del ribosoma (véase la Figura 22.10,). La unión de este nuevo aminoacil tRNA al codón del sitio A requiere dos **factores de elongación** proteicos, *EF-Tu* y *EF-Ts*, y está mediada por la hidrólisis de GTP. A partir de este momento, todos los nuevos aminoácidos que se van incorporando se unen primero al sitio A (aminoacil), de ahí el nombre de este sitio. La función de *EF-Tu*, con su GTP unido, es transportar el aminoacil tRNA al sitio A del ribosoma. El complejo *EFTu*-GTP promueve la unión de todos los aminoacil tRNA al ribosoma, excepto el tRNA *iniciador*; así se asegura, por lo tanto, que los codones AUG localizados por debajo del codón de iniciación no recluten erróneamente hacia el ribosoma a un tRNA iniciador. Durante la transferencia del aminoacil tRNA al ribosoma, se hidroliza GTP y se libera el complejo *EF-Tu*-GDP. La función de *EF-Ts* es regenerar *EF-Tu*-GTP a partir de *EF-Tu*-GDP para el

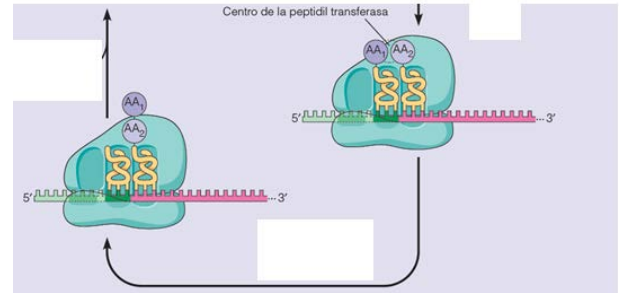
siguiente ciclo de elongación (véase Figura 22.10,). Los factores de elongación no reconocen anticodones concretos, lo que significa que cualquier tipo de aminoacil tRNA (distinto del tRNA de iniciación) puede ser transportado hacia el ribosoma. Sin embargo, algunos mecanismos deben asegurar que en el ribosoma sólo se retiene el aminoacil tRNA correcto para su utilización, durante la formación del enlace peptídico. Si el anticodón de un nuevo aminoacil tRNA no es complementario del codón expuesto en el sitio A, el aminoacil tRNA no se une al ribosoma lo suficiente como para que pueda producirse la hidrólisis de GTP. Cuando el ajuste es casi correcto pero no exacto, puede darse una unión transitoria y se hidroliza GTP. Si embargo, los desapareamientos entre el anticodón



del aminoacil tRNA y el codón del mRNA generan una estructura anormal del sitio A que normalmente es detectada por el ribosoma, lo que supone un rechazo a la unión del aminoacil tRNA. Estos mecanismos de selección contra aminoacil tRNA incorrectos, junto con la capacidad de corrección de errores de las aminoacil tRNA sintetetas descrita anteriormente, hacen que la tasa final de error en la traducción no sea normalmente mayor de 1 aminoácido incorrecto por cada 10.000 incorporaciones.



Formación del enlace peptídico. Tras la incorporación del aminoacil tRNA adecuado en el sitio A del ribosoma, el siguiente paso es la formación de un enlace peptídico entre el grupo amino del aminoácido unido al sitio A y el grupo carboxilo por el que el aminoácido inicial (o la cadena polipeptídica en formación) se encuentra unido al tRNA del sitio P. La formación de este enlace peptídico hace que la cadena polipeptídica en formación sea transferida del tRNA localizado en el sitio P al tRNA del sitio A (véase Figura 22.10,). La formación del enlace peptídico es el único paso en la síntesis de proteínas que no requiere ni factores proteicos ni una fuente externa de energía como el GTP o el ATP. La energía necesaria procede de la ruptura del enlace de alta energía que une el aminoácido o la cadena polipeptídica al tRNA localizado en el sitio P.



Traslocación. Después de la formación del enlace peptídico, el sitio P contiene un tRNA vacío, mientras que el sitio A contiene un peptidil tRNA (el RNA al que se encuentra unida la cadena polipeptídica). El mRNA avanza entonces una distancia de tres nucleótidos respecto a la subunidad menor, llevando el siguiente codón a la posición adecuada para la traducción. Durante este proceso de **traslocación**, el peptidil tRNA se desplaza del sitio P al sitio E (salida), donde se libera del ribosoma (véase Figura 22.10,). El proceso de traslocación requiere que un factor de elongación, denominado *ER-G* y una molécula de GTP, se asocien transitoriamente al ribosoma. La energía para la traslocación procede de la hidrólisis de este GTP.

El efecto neto de la traslocación es el desplazamiento del mRNA al sitio A, de manera que el ribosoma está de nuevo listo para recibir el siguiente aminoacil tRNA y repetir el ciclo de elongación. La única diferencia entre los sucesivos ciclos de elongación y el primer ciclo es que un tRNA de iniciación ocupa el sitio P al principio del primer ciclo de elongación y es un peptidil tRNA el que lo ocupa al principio de los siguientes ciclos. A medida que se añade un nuevo aminoácido, el mRNA se va leyendo progresivamente en dirección 5' : 3'. El extremo amino terminal de la cadena polipeptídica en crecimiento sale del ribosoma a través de un *canal de salida* situado en la subunidad 50S, y la cadena empieza a plegarse generalmente según sale de este túnel. La síntesis de los polipéptidos es muy rápida; en una célula de *E.coli* en crecimiento, un polipéptido de 400 aminoácidos puede sintetizarse en ¡10 segundos!

La terminación de la síntesis polipeptídica está mediada por factores de liberación que reconocen codones stop

El proceso de elongación representado en la Figura 22.10 continúa de forma cíclica, leyéndose un codón tras otro y añadiendo sucesivos aminoácidos a la cadena polipeptídica, hasta que uno de los tres posibles codones stop (UAG, UAA o UGA) del mRNA llega al sitio A del ribosoma (Figura 22.11). A diferencia de lo que sucede con otros codones, no hay moléculas de tRNA que reconozcan codones stop. Estos codones stop son, sin embargo, reconocidos por proteínas denominadas **factores de liberación**, que mimetizan la estructura molecular de las moléculas de tRNA, que llevando GTP, se unen al sitio A del ribosoma y finalizan la traducción, puesto que separan a la cadena polipeptídica completa del peptidil tRNA. El corte es hidrolítico; el polipéptido se transfiere a una molécula de agua en lugar de a un



aminoácido activado, quedando un grupo carboxi- lo libre al final de la cadena polipeptídica, que es su extremo C-terminal. Al mismo tiempo que el polipéptido se libera por la hidrólisis de GTP, los otros componentes del complejo ribosómico se separan. Ahora están de nuevo disponibles para su reutilización en un nuevo complejo de iniciación.

El plegamiento del polipéptido está facilitado por chaperonas moleculares

Para que los polipéptidos sintetizados «de novo» puedan llevar a cabo sus funciones biológicas, deben plegarse para adquirir la conformación tridimensional adecuada. Los polipéptidos suelen empezar a plegarse en sus estructuras secundaria y terciaria cuando todavía están siendo sintetizados. Como vimos en los Capítulos 2 y 3, la estructura primaria de una proteína es suficiente para determinar su estructura tridimensional, y de hecho muchos polipéptidos se pueden plegar espontáneamente en sus conformaciones adecuadas en un tubo de ensayo. Sin embargo, el plegamiento de las proteínas dentro de las células está normalmente facilitado por proteínas denominadas **chaperonas moleculares** (véase pág. 32). De hecho, el plegamiento adecuado de algunas proteínas requiere la acción de varias chaperonas distintas que actúan en diferentes fases del proceso de plegamiento, empezando por el momento en que la cadena polipeptídica empieza a salir del ribosoma. Una de las funciones primarias de las chaperonas es unirse a las cadenas polipeptídicas durante las primeras etapas del plegamiento, evitando así que interactúen con otros polipéptidos antes de haber adquirido su conformación adecuada. Cuando se producen fallos en el plegamiento, las proteínas mal plegadas pueden ser destruidas o, en algunos casos, reparadas con la ayuda de las chaperonas. Sin embargo, algunos tipos de cadenas polipeptídicas incompletas o incorrectamente plegadas tienden a unirse entre sí, formando agregados insolubles que se depositan en el interior de las células o entre ellas. Estos depósitos proteicos desencadenan alteraciones en las funciones celulares y pueden incluso dar lugar a degeneración tisular y muerte celular. El Anexo 22A describe cómo estos sucesos contribuyen al desarrollo de enfermedades como el Alzheimer o el «mal de las vacas locas».

Procesamiento postraducción

Después de la síntesis de las cadenas polipeptídicas, éstas suelen ser modificadas químicamente antes de poder llevar a cabo sus funciones. En procariotas, por ejemplo, el grupo N-formil localizado en el extremo N-terminal de las cadenas polipeptídicas suele ser eliminado. Es más, la metionina a la que se encuentra unido suele eliminarse también, de la misma forma que la metionina inicial de los polipéptidos de eucariotas. Como resultado, relativamente pocos polipéptidos maduros tienen metionina en su extremo N-terminal, pese a que todos ellos se iniciaran de este modo. A veces son incluso grandes conjuntos de aminoácidos los que se eliminan del polipéptido. Ciertas enzimas, por ejemplo, son sintetizadas como precursores inactivos que deben ser activados por eliminación de una secuencia específica en uno u otro extremo. El transporte de proteínas a través de la membrana también implica la eliminación de una secuencia señal terminal, como veremos brevemente, y algunos polipéptidos tienen segmentos internos de aminoácidos que deben ser eliminados para dar lugar a la forma activa. Por ejemplo, la insulina se sintetiza como un polipéptido que es después procesado para eliminar una secuencia interna; los dos segmentos restantes se unen mediante puentes disulfuro entre residuos de cisteína, en la hormona activa (Figura 22.13a).

Otros tipos de procesamiento incluyen modificaciones químicas de grupos de aminoácidos concretos —metilaciones, fosforilaciones o reacciones de acetilación, por ejemplo—. Además, un polipéptido puede ser glicosilado (adición de cadenas laterales de carbohidratos; véase Capítulo 12) o unirse a grupos prostéticos. Por último, en el caso de proteínas compuestas por muchas subunidades, las cadenas polipeptídicas individuales deben unirse a alguna otra forma de las proteínas del multímero o complejo multimolecular. Además de los procesos postraducción enumerados, algunas proteínas experimentan un tipo de procesamiento relativamente inusual denominado **ajuste de proteínas**, que es análogo al fenómeno de *ajuste de RNA* expuesto en el Capítulo 21. Como vimos, las secuencias de intrones se eliminan del RNA durante el ajuste y las secuencias restantes, los exones, se empalman entre sí. De la misma forma, durante el ajuste de proteínas, unas secuencias de aminoácidos específicas denominadas *inteínas* son eliminadas de la cadena polipeptídica y los segmentos restantes, denominados *exteínas*, se empalman para dar lugar



a la proteína madura. El ajuste de proteínas suele ser intramolecular e implica la escisión de una inteína a partir de una sola cadena polipeptídica mediante un mecanismo autocatalítico (Figura 22.13b). Sin embargo, el ajuste también puede darse entre dos cadenas distintas codificadas por dos mRNAs distintos. Por ejemplo, en algunas bacterias fotosintéticas se produce una subunidad de la DNA polimerasa III a partir de dos genes separados que codifican un polipéptido con una inteína, que incluye parte de la subunidad de la DNA polimerasa. Los dos polipéptidos se unen por unión entre sus segmentos de inteínas y una reacción de ajuste intermolecular une los dos polipéptidos, al tiempo que se elimina la inteína (Figura 20.22c). En algunos casos, las inteínas eliminadas por reacciones de ajuste se vuelven proteínas estables con su propia actividad endonucleasa. Por lo tanto, aunque fue considerado en principio una rareza, el ajuste de proteínas ya se ha detectado en docenas de organismos distintos, tanto procariotas como eucariotas.

