

Traducción del RNAm a proteínas – Síntesis y modificación de las proteínas

Maria Teresa Rugeles L, Bact, MS, Dr. Sci.¹, Pablo J. Patiño MD, MSc, Dr. Sci.²

¹Profesora Asociada, Grupo Inmunovirología - Corporación Biogénesis

*²Profesor Asociado, Grupo Inmunodeficiencias Primarias - Corporación Biogénesis,
Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia*

La síntesis proteica es la última etapa de la expresión génica y por lo tanto es el proceso final del denominado Dogma central de la biología molecular; sin embargo, aunque las proteínas son el producto final de la actividad o expresión génica de la mayoría de genes, en algunos casos el RNA es el producto final; en forma similar a las proteínas, estos RNA adquieren estructuras tridimensionales y actividades catalíticas dentro de las células, como es el caso del RNA presente en los ribosomas.

A diferencia de la transcripción, en donde la información se convierte de ADN a RNA, básicamente en el mismo lenguaje (en nucleótidos), la traducción, es decir la conversión de la información de RNA a proteína requiere de un cambio de lenguaje el cual usa símbolos diferentes (nucleótidos → aminoácidos). Ya que existen solo cuatro nucleótidos distintos en el RNAm y 20 aminoácidos diferentes en las distintas proteínas no puede existir una correspondencia uno a uno. La traducción entre estos dos lenguajes se logra mediante el código genético, el cual permite establecer la secuencia de nucleótidos que codifica para cada aminoácido. Teniendo en cuenta que existen 4 nucleótidos diferentes y que cada aminoácido es codificado por una secuencia consecutiva de nucleótidos llamada codón, existen 64 posibilidades de codones diferentes. Sin embargo, solo se han descrito 20 aminoácidos diferentes, de manera que, el mismo aminoácido puede ser codificado por más de un codón distinto, lo cual da origen a la característica de redundancia que tiene el código genético.

La traducción del RNAm es un fenómeno que se encuentra altamente conservado en la escala evolutiva: se realiza en los ribosomas y depende de los RNA de transferencia que actúan como adaptadores entre el molde de RNAm y los aminoácidos que se incorporan en la cadena proteica que se está sintetizando. De esta manera la síntesis proteica involucra las interacciones entre los distintos tipos de RNA (RNAm, RNAr y RNAt) y varias proteínas necesarias para la traducción. La figura 1 presenta de manera esquemática el proceso de conversión de la información codificada en el genoma a proteína tanto en procariotes como en organismos eucariotes.

A continuación se hará una breve descripción de cada una de las estructuras esenciales para este proceso de traducción.

RNAt

El codón en la molécula del RNAm no reconoce, en forma directa, los aminoácidos que codifica, por lo tanto la traducción del mensaje depende de moléculas adaptadoras que tienen la capacidad de reconocer por una de sus superficies el codón y por otra el aminoácido. Estas moléculas adaptadoras corresponden a los RNAt que son moléculas pequeñas de aproximadamente 80 nucleótidos de longitud (Figura 2), las cuales tienen una secuencia específica que interactúa con el RNAm conocido como anticodón. Puesto que cada codón en el RNAm es reconocido por un anticodón diferente presente en el RNAt,

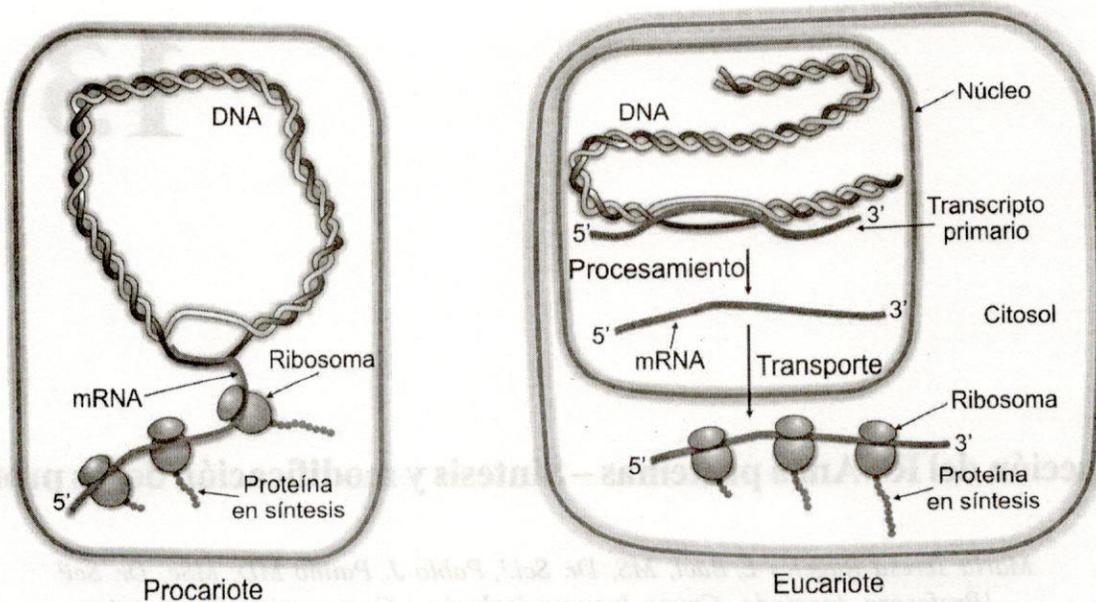


Figura 1. Se presenta de manera esquemática el proceso de conversión de la información codificada en el genoma a proteína tanto en procariotes como en eucariotes, lo cual constituye el evento central para la función y estructura de los organismos vivos. La cantidad final de proteína que se expresa en cada célula depende de la eficiencia de cada etapa así como de la velocidad de degradación de las moléculas de RNA y de proteínas. En los procariotes tanto la transcripción como la traducción tienen lugar en el mismo compartimiento, incluso la mayoría de las veces la traducción del RNAm se inicia antes que haya finalizado la síntesis de esta molécula. En los eucariotes el fenómeno es mucho más complejo, pues una vez se sintetiza el RNA debe sufrir una serie de cambios que aseguran su maduración a una molécula funcional (procesamiento), entre ellos modificaciones en los extremos 5' y 3' y eliminación de los intrones; luego, las moléculas de RNA son transportadas al citoplasma para ser utilizadas en el proceso de traducción a proteínas.

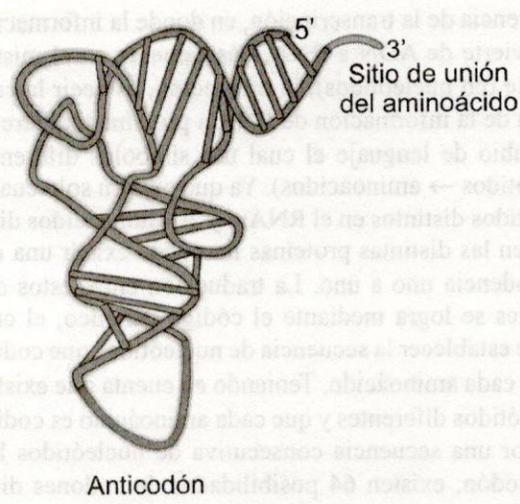
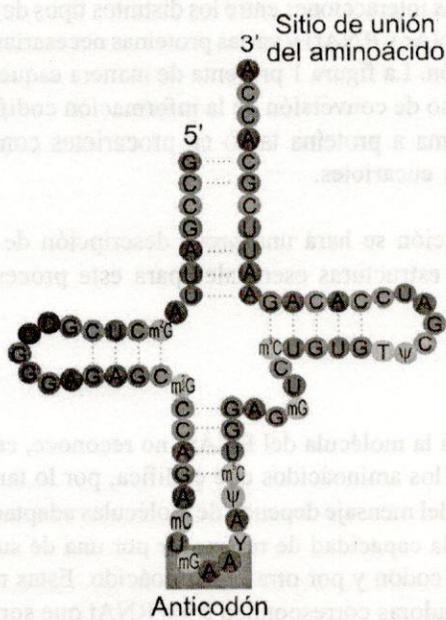


Figura 2. Los RNAt son moléculas pequeñas de aproximadamente 80 nucleótidos de longitud de las cuales existe el número suficiente para unir los distintos aminoácidos que utiliza la célula para la síntesis proteica. En general estas moléculas tienen una estructura tridimensional altamente conservada que se logra gracias a las interacciones intracatenarias (puentes de hidrógeno) entre las bases de los nucleótidos. Además tienen dos características fundamentales: presentan una secuencia específica que interactúa con el RNAm conocido como anticodón y un sitio para unión con el aminoácido que transportan.

debe existir un número de RNAt suficiente para interactuar con cada uno de los codones; sin embargo, la redundancia del código genético, anteriormente descrita, implica que existe más de un RNAt para cada aminoácido o que alguna de las moléculas de RNAt se pueden aparear con más de un codón. Es importante tener en cuenta que no todos los codones codifican para aminoácidos, pues existen tres codones que señalan la terminación de la traducción.

Para los 20 aminoácidos utilizados por las células eucarióticas para la síntesis proteica existen 60 RNAt y 20 aminoacil-RNAt-sintetasas diferentes. Existe una sola enzima aminoacil-RNAt-sintetasa para un aminoácido determinado, la cual reconoce los diferentes RNAt para ese aminoácido específico, entonces en este punto el código genético no es degenerado porque la especificidad de unión de un aminoácido a sus respectivos RNAt lo realiza la aminoacil-RNAt-sintetasa específica, por ejemplo, la alanin-RNAt-sintetasa une la alanina a los cuatro diferentes RNAt que tienen el anticodón para la alanina, mientras la leucin-RNAt-sintetasa une la leucina a los 6 diferentes RNAt que llevan el anticodón para el codón que codifica la leucina. Los RNAt son llamados también los “traductores” porque son los que permiten la “traducción” del lenguaje de ácidos nucleicos al lenguaje de los aminoácidos que conforman las proteínas.

Los RNAt en las células eucariotas son sintetizados por la polimerasa III y requieren de un proceso de procesamiento que solo se realiza cuando ha adquirido la estructura tridimensional característica. Esta conformación espacial se genera como consecuencia de una longitud particular de cada RNAt que permite el apareamiento complementario entre bases ubicadas en regiones diferentes de la molécula.

La unión de los aminoácidos a las respectivas moléculas de RNAt es mediada por un grupo de enzimas conocidas como RNAt aminoacil sintetetasas. En la mayoría de las células eucariotas existen diferentes enzimas sintetetasas, cada una de ellas específica para un aminoácido. Por el contrario, muchas bacterias tienen menos de 20 sintetetasas, por tanto la misma enzima es responsable de unir más de un aminoácido distinto al RNAt apropiado. La unión de los aminoácidos ocurre en dos etapas: en la primera el aminoácido se activa en una reacción con el ATP para formar un intermediario AMP aminoacilo y en la segunda etapa el aminoácido activado es unido covalentemente al extremo 3' del RNAt y el AMP se libera. La especificidad del reconocimiento del RNAt correcto por la RNAt aminoacil sintetetasa depende de la interacción con secuencias únicas presentes en el RNAt, entre ellas la secuencia anticodón (Figura 3).

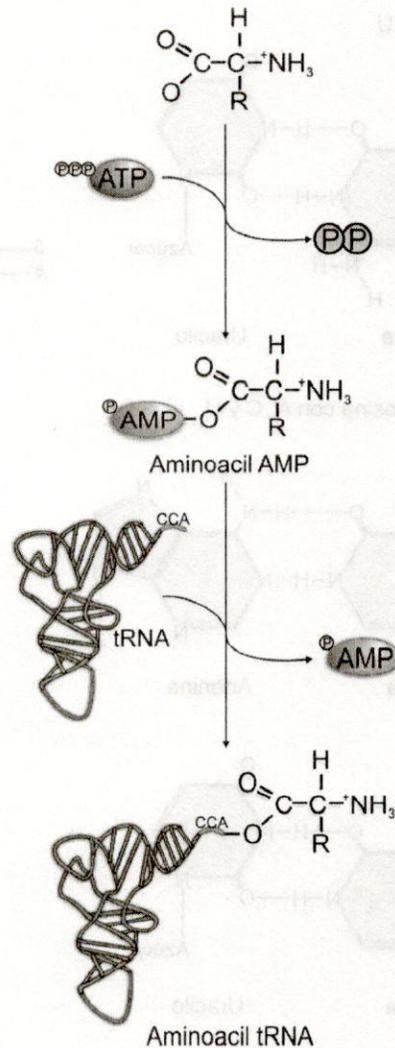
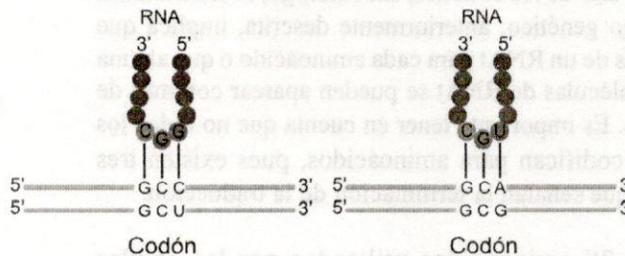
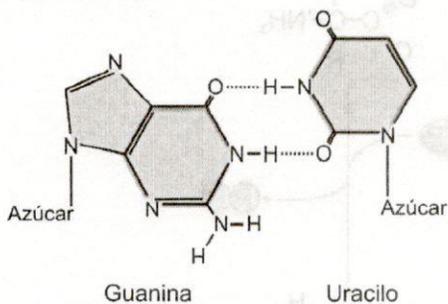


Figura 3. La unión del aminoácido a la respectiva molécula de RNAt depende de una reacción en la que se forma un intermediario de aminoácido y AMP

(aminoacil-AMP). Luego el residuo aminoacídico es transferido al extremo 3' del RNAt (aminoacil-RNAt) donde se une a la secuencia CCA gracias a la acción de una aminoacil sintetetasa. El reconocimiento preciso del RNAt correcto por parte de la RNAt aminoacil sintetetasa depende de la interacción con secuencias únicas presentes en el RNAt, entre ellas la secuencia del anticodón.

El apareamiento de bases entre el codón en el RNAm y el anticodón en el RNAt permite la ubicación del aminoácido en el sitio adecuado para su adición a la cadena proteica que se está sintetizando. Este apareamiento codón – anticodón es menos exigente que las interacciones estándar A-U y G-C, lo cual facilita que algunos RNAt sean capaces de reconocer más de un codón en el RNAm. Esto ocurre por un apareamiento no tradicional, conocido como oscilante, entre el anticodón del RNAt y la tercera posición de algunos codones complementarios. El apareamiento relajado en esa posición resulta en parte de la interacción G-U y en parte de la modificación de guanosina a inosina en los codones de varios RNAt. La inosina puede interactuar con C, U o A, por lo tanto su inclusión en el anticodón permite que una sola molécula de RNAt pueda reconocer tres codones diferentes en el molde de RNAm (Figura 4).

Apareamiento G:U



Apareamiento Inosina con A, C y U

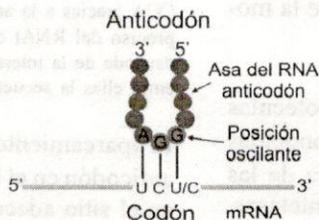
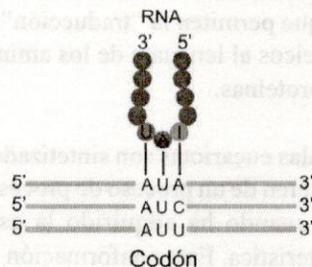
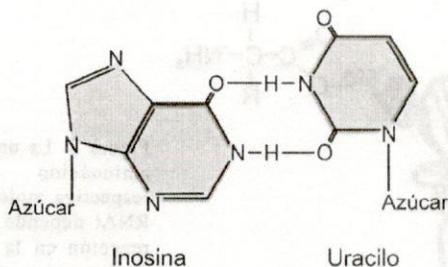
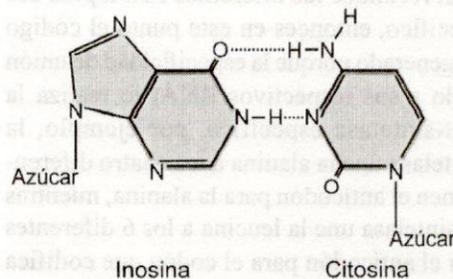
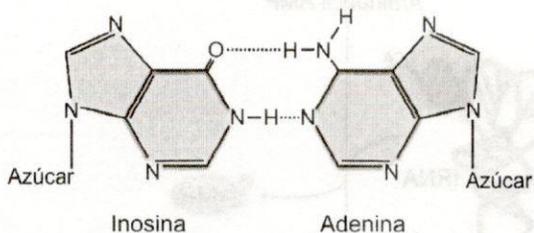
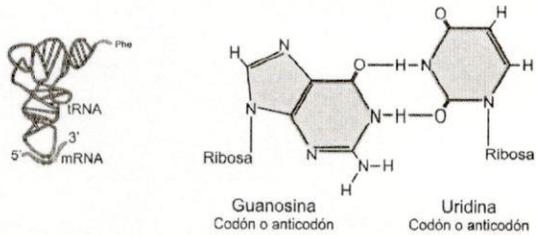
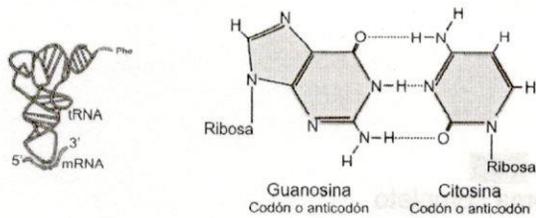


Figura 4. La interacción del anticodón con el codón no es tan estricta como el apareamiento que normalmente ocurre entre las bases para la conformación de la doble hélice de ADN o durante la transcripción. Esto se debe a que se presenta un apareamiento no tradicional, conocido como oscilante, entre el anticodón del RNA_t y la tercera posición de algunos codones complementarios. El apareamiento relajado en esa posición resulta en parte de la interacción G-U y en parte de la modificación de guanosina a inosina en los codones de varios RNA_t. La inosina puede interactuar con C, U o A, por lo tanto su inclusión en el anticodón permite que una sola molécula de RNA_t pueda reconocer tres codones diferentes en el molde de RNA_m. Esto permite que una molécula de RNA_t que transporta un aminoácido pueda reconocer dos codones en el RNA_m.

La fidelidad del proceso es asegurada mediante varios mecanismos que se dan en las diferentes etapas de la adición de los distintos aminoácidos. La primera discriminación depende de la RNA_t aminoacil sintetasa, pues esta enzima selecciona el aminoácido correcto ya que éste tiene la mayor afinidad por el sitio de unión en la enzima; sin

embargo, cabe la posibilidad que aminoácidos similares puedan unirse, como en el caso de la isoleucina y la valina. El segundo momento de discriminación ocurre después de que el aminoácido se ha unido covalentemente al AMP (Figura 5).

Apareamiento de fenilalanil - tRNA



Apareamiento de alanil - tRNA

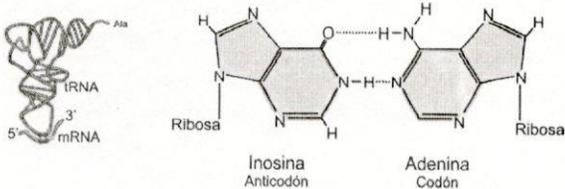
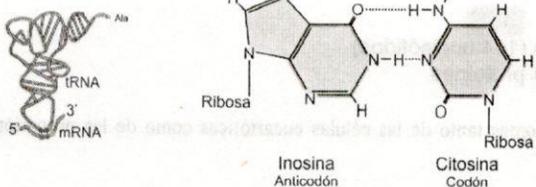
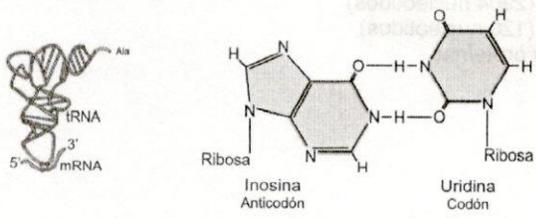


Figura 5. La base ubicada en la tercera posición del anticodón (extremo 5'), puede tener una interacción oscilante, lo cual permite que una molécula de RNAt que transporta un aminoácido se aparee con codones diferentes en el RNAm. En el primer caso, la guanosina en la posición oscilante puede interactuar con citosina o uridina y de esta manera el anticodón 3'-AAG-5' puede decodificar los codones 5'-UUC-3' y 5'-UUU-3', los cuales codifican para fenilalanina, mientras que el anticodón 3'-AAU-5' puede decodificar los codones 5'-UUA-3' y 5'-UUG-3' que corresponden a la leucina. Por su parte, la inosina se puede aparear con adenina, citosina o uridina, lo cual significa que una sola molécula de RNAt (alanil-RNAt) puede decodificar tres codones de la alanina.

Ribosoma

La unidad fundamental de la síntesis peptídica es el **ribosoma**, complejo macromolecular conformado por dos subunidades; cada subunidad a su vez está compuesta por proteínas y RNA ribosomal (RNAr); aproximadamente un 66% corresponde de estas ribonucleoproteínas corresponde a RNA y un 33% a proteínas. Una característica

esencial de las moléculas de RNA que conforman el ribosoma es que poseen actividad catalítica, por lo que se conocen como ribozimas.

Los ribosomas de procariotes y eucariotes se diferencian fundamentalmente por el tamaño. Los ribosomas bacterianos son un poco más pequeños, tienen una tasa de sedimentación de 70S (S significa unidades Svedberg que se refiere al coeficiente de sedimentación cuando se someten a ultracentrifugación lo cual depende de la masa molecular, de la densidad y de la forma de la molécula), mientras que los ribosomas eucarióticos tienen una tasa de sedimentación de 80S. Todos los ribosomas están formados por dos subunidades diferentes, cada una de las cuales a su vez constituida por RNA y proteínas. En las bacterias, la subunidad pequeña (llamada 30S) contiene un RNA de 16S y 21 proteínas, mientras la subunidad grande (50S) está compuesta por los RNA ribosomales 23S y 5S y por 34 proteínas. En las células eucariotas la subunidad pequeña (40S) contiene RNAr 18S y cerca de 30 proteínas; por su parte, la subunidad mayor (60S) contiene 3 RNA ribosomales (28S, 5.8S y 5S) y cerca de 45 proteínas. La figura 6 resume las principales propiedades de los ribosomas tanto de las células eucarióticas como procarióticas.

Al igual que ocurre con el RNAt, los RNAr forman estructuras secundarias complejas gracias a la complementariedad entre bases de la misma cadena. Estas interacciones intracatenarias (Figura 7) junto a la asociación con las proteínas ribosomales es lo que define las formas tridimensionales de las subunidades del ribosoma (Figura 8). Cuando se descubrió la estructura y función de los ribosomas, se consideró que los RNAr cumplían esencialmente una función estructural que permitía el adecuado plegamiento de las proteínas y el acceso de ellas a los sitios catalíticos; sin embargo, recientemente se demostró que la actividad catalítica del ribosoma, consistente en la formación de enlaces peptídicos mediante una reacción peptidiltransferasa, es realizada por el RNAr. Por su parte, las proteínas ribosomales parecen ser importantes para que el RNAr adquiriera una configuración más estable y para que el RNAt se posicione de forma adecuada sobre el ribosoma.

Mecanismo de la traducción

Existen algunas diferencias en el mecanismo de traducción entre células procariotas y eucariotas, principalmente en las señales que indican el sitio de inicio de la síntesis proteica en el RNAm. La secuencia 5' proximal de los RNAm de procariotes y eucariotes tienen una secuencia de nucleótidos que no codifica aminoácidos, la cual se

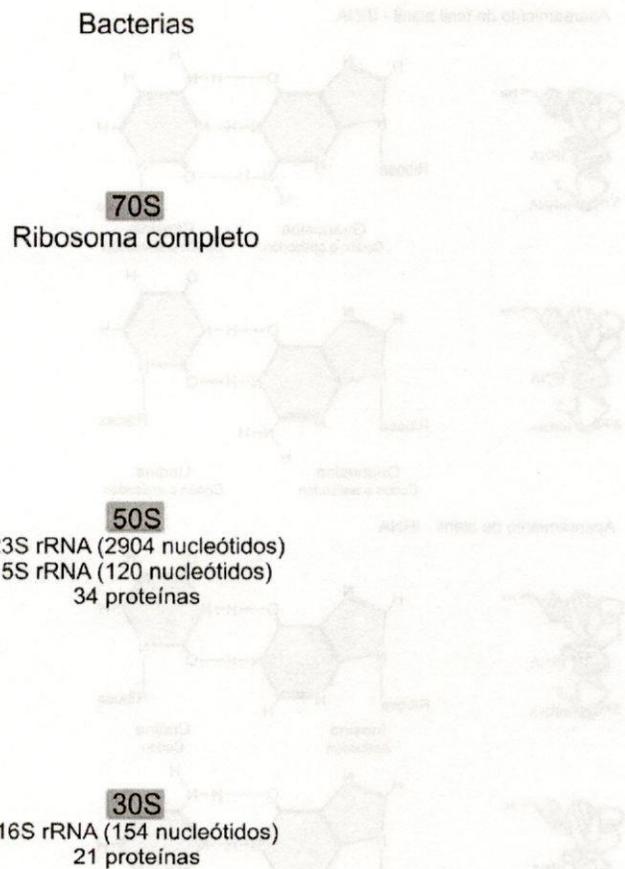
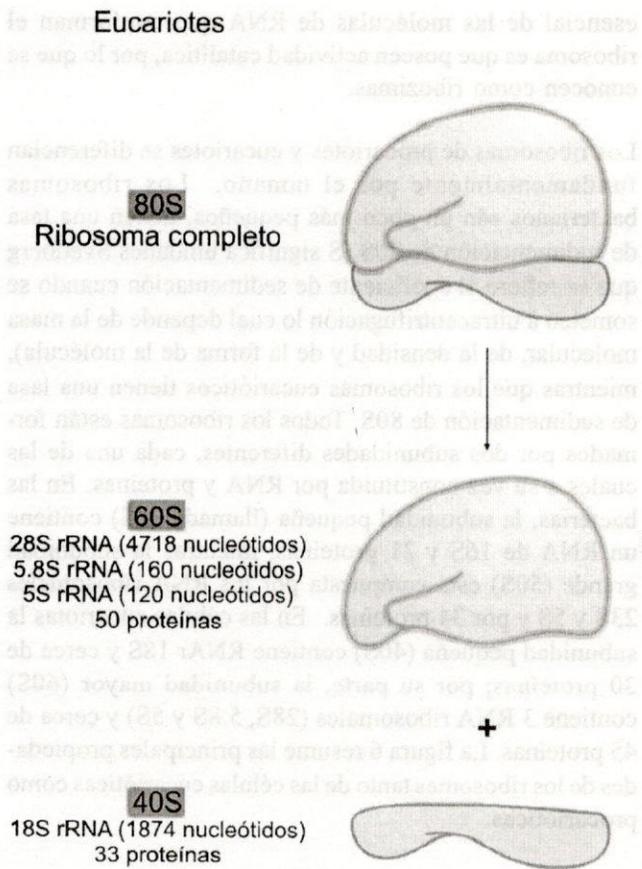


Figura 6. En esta figura se esquematizan las principales características de los ribosomas tanto de las células eucarióticas como de las procarióticas.

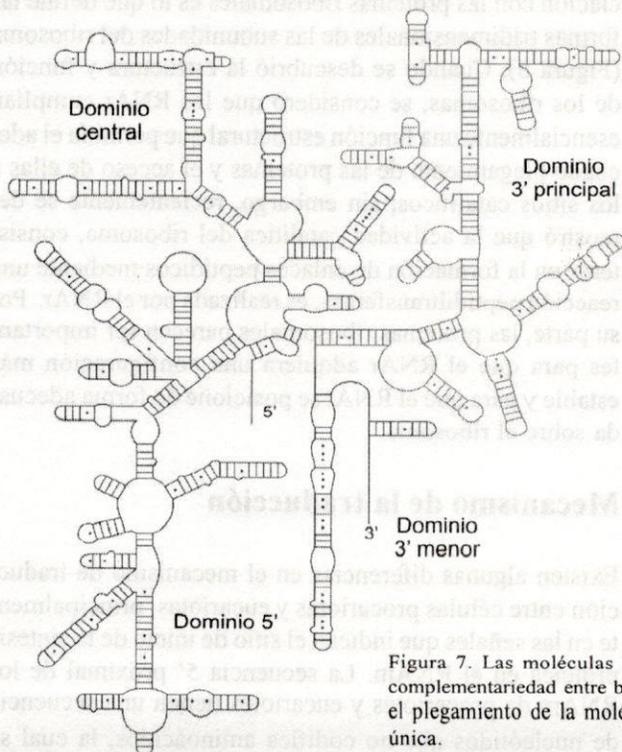


Figura 7. Las moléculas de RNA ribosomal forman estructuras secundarias complejas gracias a la complementariedad entre bases de la misma cadena. Estos puentes de hidrógeno intracatenarios permiten el plegamiento de la molécula en distintos dominios lo cual construye una estructura tridimensional única.

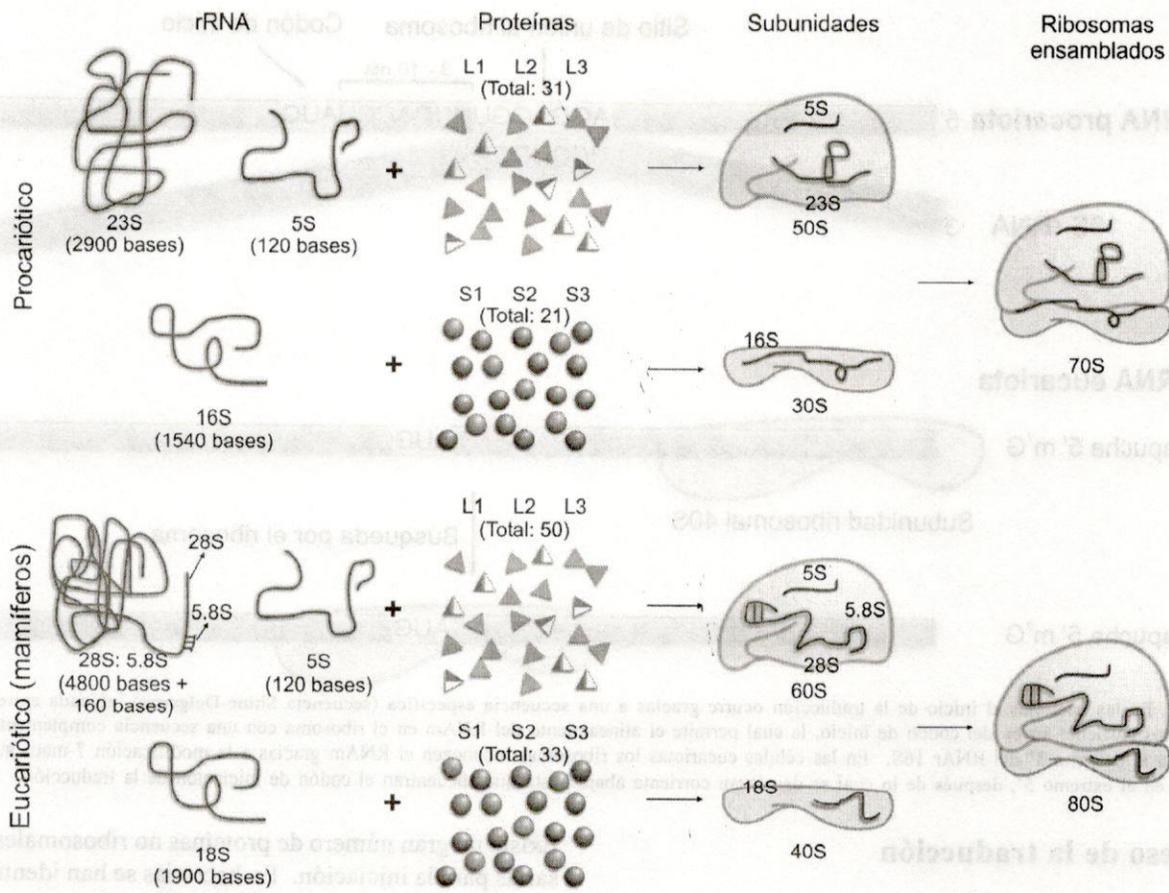


Figura 8. Las moléculas de rRNA se asocian con una gran variedad de proteínas ribosomales, lo cual permite definir las formas tridimensionales finales de las subunidades del ribosoma. Aunque existen diferencias entre procariotes y eucariotes el resultado final es similar, la diferencia más importante reside en la masa molecular.

denomina como región 5' no traducida. Esto hace necesario que existan secuencias específicas que definen el sitio de inicio de la traducción.

En las bacterias la secuencia específica que permite el alineamiento del rRNA en el ribosoma se conoce como secuencia Shine-Delgarno, la cual establece una interacción con una secuencia complementaria que está cerca al extremo 3' del rRNA 16S. Puesto que los rRNAs bacterianos son policistrónicos, la presencia de esta secuencia de reconocimiento antes de los distintos mensajes en una sola molécula de rRNA, permite que se inicie la síntesis proteica en sitios internos de iniciación; por tanto, un rRNA bacteriano puede dar inicio a la traducción simultáneamente en varios sitios de la molécula. De otro lado, en las células eucariotas los ribosomas reconocen el rRNA gracias a la modificación 7-metil guanosina que está presente en el extremo 5' de estas moléculas. Una vez ha ocurrido este reconocimiento se desplazan corriente abajo hasta que encuentran el codón de iniciación de la traducción. Puesto que los rRNA de eucariotes son monocistrónicos, no son necesarias las secuencias de Shine-Delgarno (Figura 9).

Tanto en procariotes como eucariotes la traducción siempre se inicia con el aminoácido metionina, que usualmente es codificado por el codón AUG. En algunas ocasiones las bacterias tienen como codón de iniciación, la secuencia GUG, pero en este caso en vez de indicar la incorporación de valina (el aminoácido que normalmente codifica este codón) ocurre la incorporación de metionina. También en las bacterias la síntesis proteica se inicia con un residuo modificado de metionina (N-formil metionina), mientras que en las células eucarióticas las metioninas no sufren ninguna modificación. En mitocondrias y cloroplastos, los ribosomas y el proceso de traducción proteica es muy similar al que ocurre en las bacterias.

Las subunidades ribosomales se ensamblan sobre el codón de iniciación AUG del rRNA, y luego, se incorporan rápidamente aminoácidos mediante enlaces peptídicos en la cadena naciente. Se forman de 10 a 20 uniones peptídicas por segundo, o sea que la síntesis de una proteína puede tardar de 20 a 60 segundos.

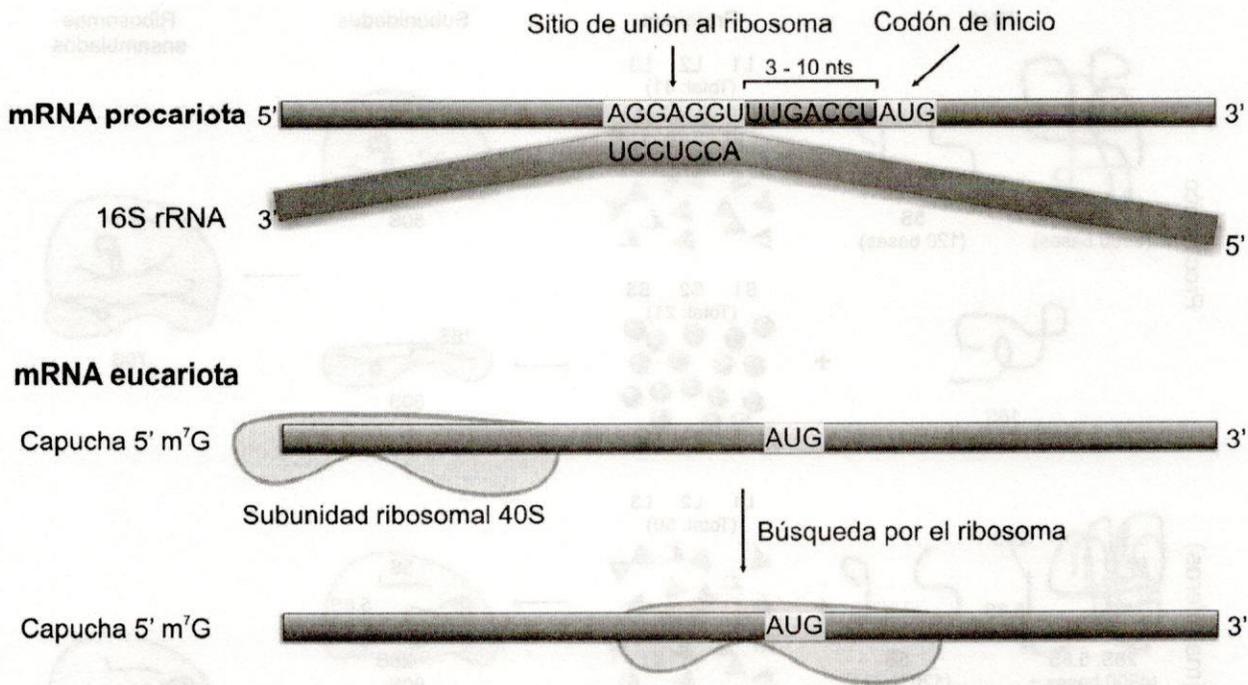


Figura 9. En las bacterias el inicio de la traducción ocurre gracias a una secuencia específica (secuencia Shine-Delgarno), ubicada entre 3 y 10 nucleótidos corriente arriba del codón de inicio, la cual permite el alineamiento del RNAm en el ribosoma con una secuencia complementaria que está cerca al extremo 3' del RNAr 16S. En las células eucariotas los ribosomas reconocen el RNAm gracias a la modificación 7-metil guanosina presente en el extremo 5', después de lo cual se desplazan corriente abajo hasta que encuentran el codón de iniciación de la traducción.

Proceso de la traducción

Por lo general la traducción se divide en tres fases: iniciación, elongación y terminación. La iniciación depende de la unión del metionil RNAt (RNAt unido a una metionina) y del RNAm a la subunidad pequeña del ribosoma. Luego se une la subunidad mayor del ribosoma para constituir el ribosoma funcional y permitir la elongación de la cadena peptídica (Figura 10).

Existe un gran número de proteínas no ribosomales necesarias para la iniciación. En bacterias se han identificado tres factores de iniciación (IF-1, IF-2 e IF-3) que se unen a la subunidad 30S del ribosoma para dar inicio al proceso. Luego se unen el RNAm y el RNAt-formilmetionil, lo que conduce a la liberación del IF-3 permitiendo que la subunidad 50S del ribosoma se asocie con el complejo. Esta asociación induce la hidrólisis de la molécula de GTP que se encuentra unida a IF-2, lo cual conduce a la libera-

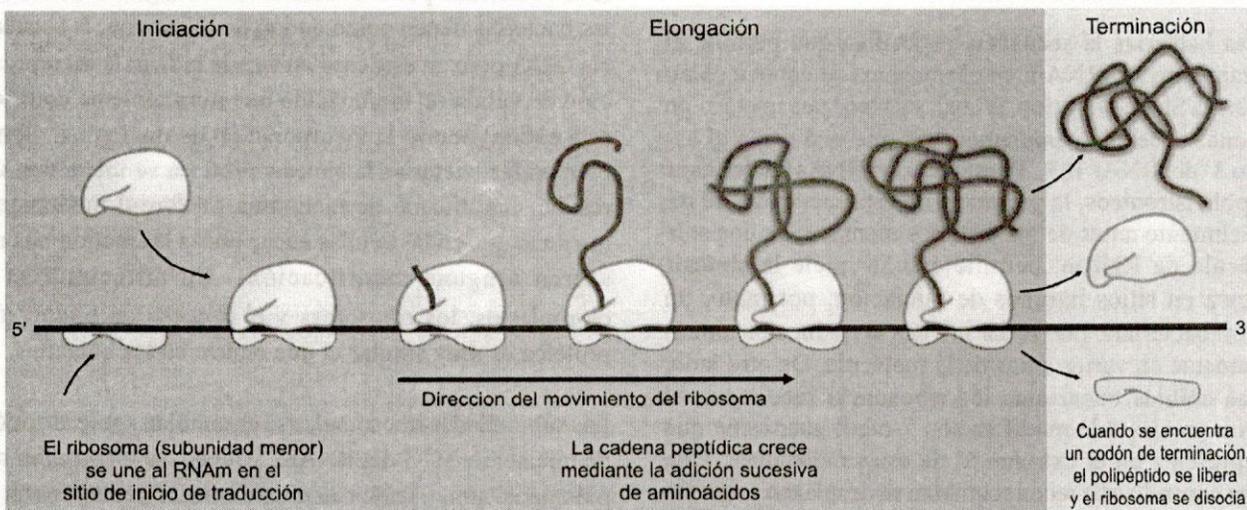


Figura 10. La traducción se divide en tres fases: iniciación, elongación y terminación. La iniciación ocurre cuando una molécula de RNAm se une a la subunidad pequeña del ribosoma; esto conduce a la unión de la subunidad mayor para constituir el ribosoma funcional. Una vez se posiciona el primer aminoacil-RNAt se inicia la elongación de la cadena peptídica mediante la adición sucesiva de aminoácidos. La terminación ocurre cuando en la cadena de RNAm se encuentra un codón de terminación que conduce a la disociación de las subunidades ribosomales.

ción de IF-1 e IF-2; esto resulta en la formación del complejo de iniciación: RNAm y RNAt iniciador unidos al ribosoma (Figura 11).

La iniciación en las células eucarióticas es mucho más compleja. Se han descrito al menos 10 proteínas involucradas en este proceso, las cuales se denominan eIF (factores de iniciación eucarióticos). Los factores eIF-1, eIF-1A y eIF-3 se unen a la subunidad 40S del ribosoma, mientras eIF-2 (asociado a GTP) se une con el metionil RNAt. Por su parte el grupo de factores eIF-4 se unen al RNAm y lo llevan hacia la subunidad ribosomal 40S. Una vez allí, esta subunidad junto con el metionil RNAt y los eIF recorren el RNAm hasta encontrar el codón AUG. Una vez este codón de iniciación es identificado, el eIF-5 desencadena la hidrólisis del GTP unido a eIF-2, los factores de iniciación se liberan y finalmente la subunidad 60S se une a la 40S para formar el complejo de iniciación (Figura 12).

Después de la formación del complejo de iniciación se conforma el ribosoma y se inicia la elongación del

polipéptido, es decir que se añadirán aminoácidos uno detrás del otro, constituyendo una cadena peptídica. En el ribosoma existen 3 sitios para la unión de RNAt: P (peptidil), A (aminoacil) y E (salida). Durante la etapa anterior el metionil RNAt iniciador se ha unido al sitio P, por tanto la primera etapa de la elongación es la unión del próximo aminoacil RNAt al sitio A para aparearse con el segundo codón del RNAm. Los aminoacil RNAt son trasladados al ribosoma por el factor de elongación, el cual está unido a GTP. A medida que el aminoacil RNAt correcto es insertado en el sitio A el GTP se hidroliza a GDP y se libera el factor de elongación (Figura 13). Una vez el factor de elongación sale del ribosoma, se puede formar un enlace peptídico entre el metionil RNAt en el sitio P y el aminoacil RNAt en el sitio A, reacción que es catalizada por el RNAr de la subunidad mayor del ribosoma. Esto resulta en la transferencia de la metionina al aminoacil RNAt en el sitio A, lo que forma un peptidil RNAt y deja un RNAt iniciador vacío en el sitio P. El siguiente paso de la elongación se conoce como traslocación, durante el cual el ribosoma se mueve tres nucleótidos en el RNA para ubicar el siguiente codón en el sitio A, al mismo tiempo

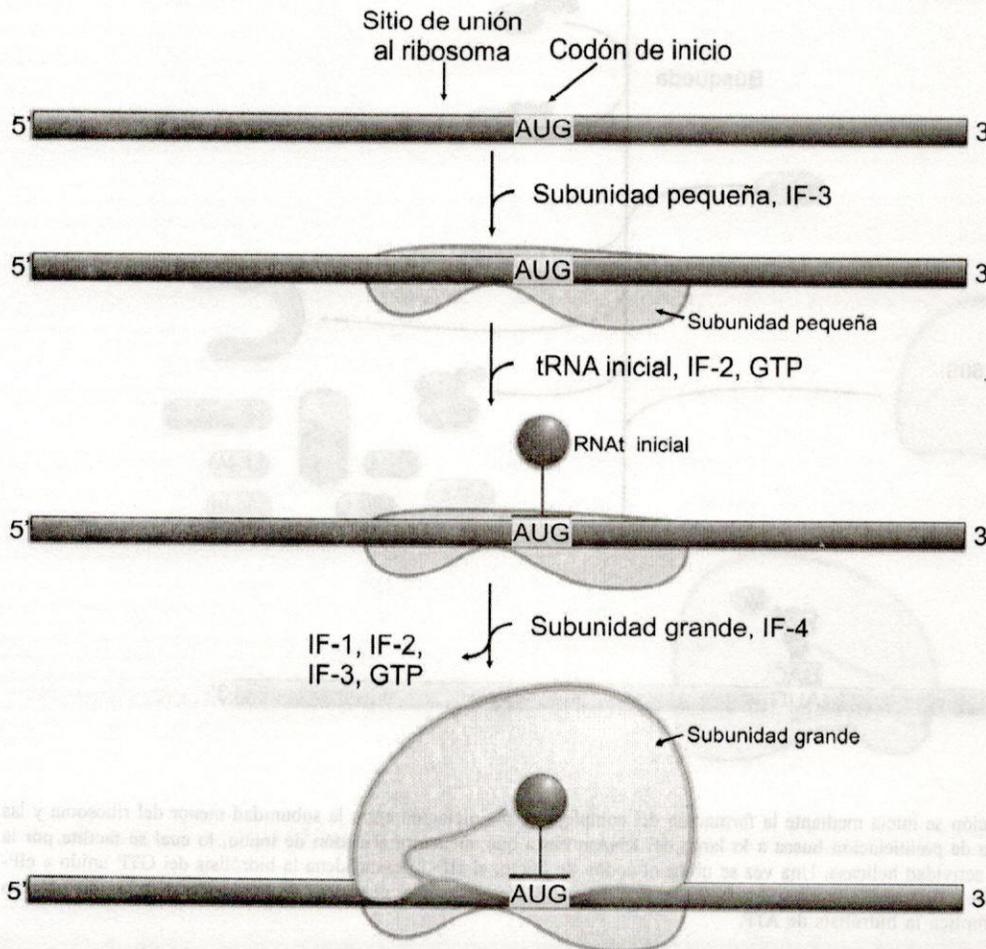


Figura 11. En los procariotes la formación del complejo de iniciación de la traducción ocurre mediante la unión de la subunidad menor a la secuencia específica en el RNAm en presencia del factor de iniciación 3 (IF-3), lo cual conduce a la interacción del RNAt iniciador con el RNAm. Esta asociación induce la hidrólisis de la molécula de GTP que se encuentra unida a IF-2, lo cual conduce a la liberación de IF-1, IF-2 e IF-3.

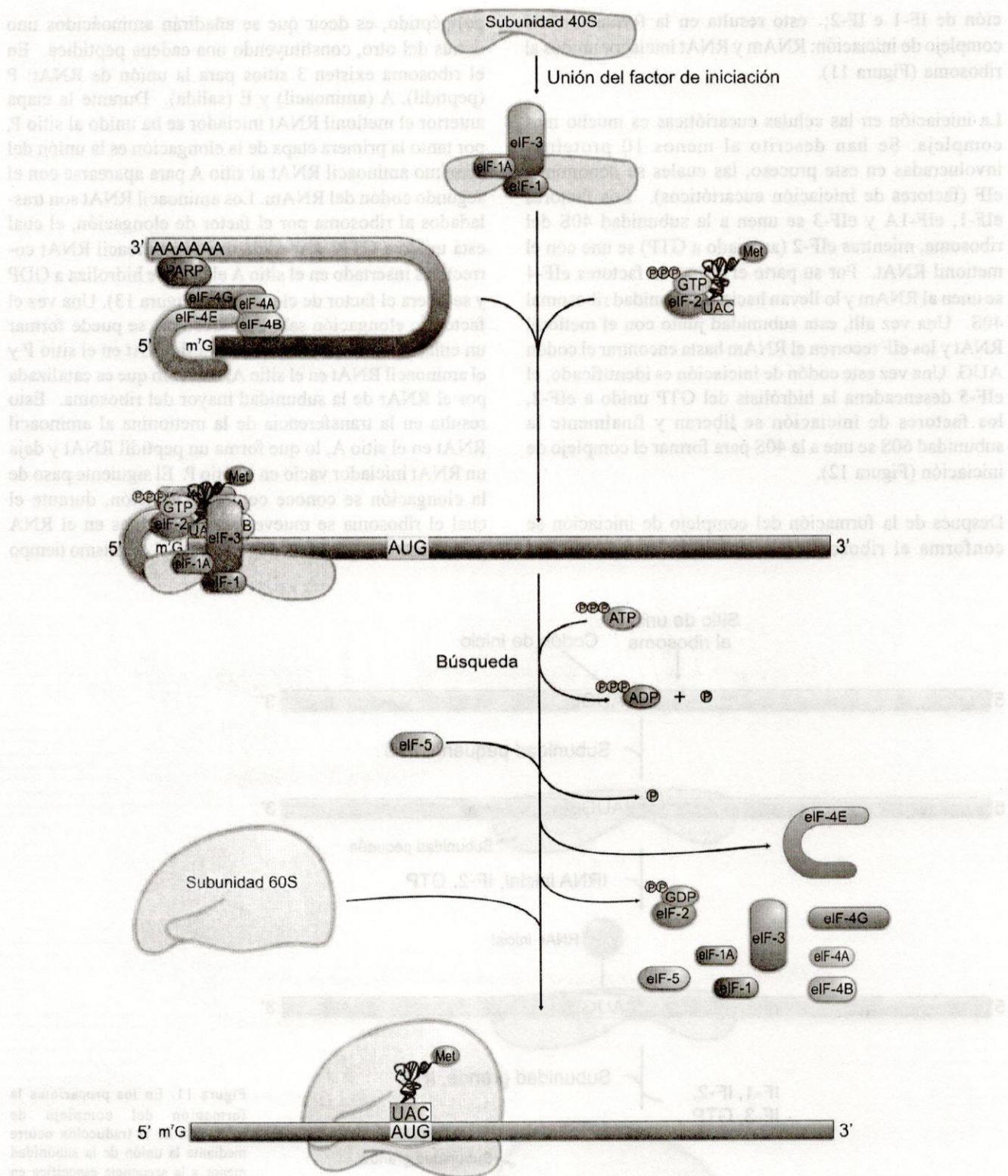


Figura 12. En los eucariotes la traducción se inicia mediante la formación del complejo de preiniciación entre la subunidad menor del ribosoma y las proteínas eIF-1 y eIF-3. Este complejo de preiniciación busca a lo largo del RNAm hasta que encuentra el codón de inicio, lo cual se facilita por la ayuda de eIF-4A y eIF-4B que tienen actividad helicasa. Una vez se ubica el codón de inicio, el eIF-5 desencadena la hidrólisis del GTP unido a eIF-2, los factores de iniciación se liberan y finalmente la subunidad 60S se une a la 40S para formar el complejo de iniciación. Este es un proceso dependiente de energía y por tanto implica la hidrólisis de ATP.

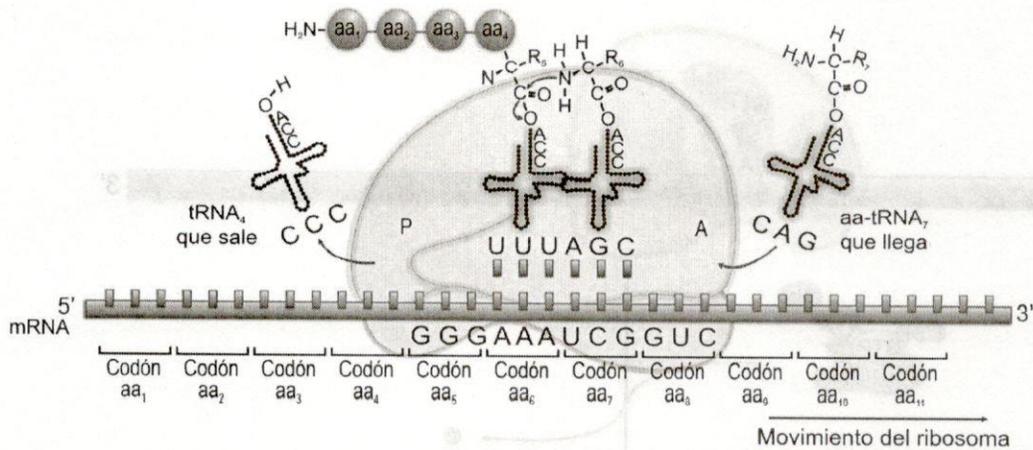


Figura 13. La elongación de la cadena peptídica ocurre gracias a que en el ribosoma existen 3 sitios para la unión de moléculas de RNAt: P (peptidil), A (aminoacil) y E (salida). En la iniciación el metionil-RNAt iniciador se ha unido al sitio P, de manera que la elongación empieza con la unión del siguiente aminoacil-RNAt al sitio A donde interactúa con el segundo codón del RNAm. Los aminoacil-RNAt son trasladados al ribosoma por el factor de elongación (Ef-Tu), el cual está unido a GTP. A medida que el aminoacil-RNAt correcto es insertado en este sitio A, el GTP se hidroliza a GDP y se libera el factor de elongación.

se traslada el peptidil RNAt desde el sitio A al sitio P y el RNAt sin aminoácido del sitio P al sitio E. Esta etapa requiere de un segundo factor de elongación (EF-G en procariontes y eEF-2 en eucariotes) que también es dependiente de la hidrólisis de GTP. La unión de un aminoacil RNAt nuevo al sitio A induce la salida del RNAt sin aminoácido del sitio E, lo cual deja al ribosoma listo para la adición de un nuevo aminoácido a la cadena polipeptídica en síntesis (Figura 14).

Los procesos de elongación de la cadena peptídica dejan libre el codón de iniciación para la formación de un segundo ribosoma que sintetizará una cadena peptídica idéntica. Esto ocurre sucesivamente hasta que se organicen aproximadamente unos 10 a 13 ribosomas sobre el mismo RNAm, lo cual forma el polirribosoma o polisoma o ribosomas libres. La distancia entre dos ribosomas sucesivos del polirribosoma es aproximadamente 80 nucleótidos del RNAm. El RNAm forma un ángulo de 160° dentro de cada ribosoma, cuando se forman varios ribosomas sobre el mismo RNAm se encuentran a distancias equidistantes, lo que produce su aspecto en espiral o caracol que se observa en el microscopio electrónico.

La elongación del polipéptido continúa hasta encontrar un codón de finalización (UAA, UAG o UGA). No existen RNAt que sean complementarios a estos codones, sino que existen factores de liberación que reconocen estas señales y terminan la síntesis proteica. Las células procariontes tienen dos factores de liberación que reconocen los codones de finalización: RF-1 reconoce UAA o UAG, mientras RF-2 reconoce UAA o UGA. En las células eucariotes hay un solo factor de liberación (eRF-1) que reconoce los tres codones de finalización. Una vez los factores de liberación se unen al codón en el sitio A

estimulan la hidrólisis del enlace entre el RNAt y la cadena peptídica en el sitio P, lo cual resulta en la liberación del polipéptido desde el ribosoma (Figura 15). El RNAt también se libera y las subunidades ribosomales y el RNAm se disocian.

Una molécula de RNAm puede ser traducida simultáneamente por varios ribosomas. Una vez un ribosoma se ha desplazado del sitio de iniciación, otro ribosoma puede unirse a este RNAm e iniciar la síntesis de una cadena polipeptídica nueva. De esta manera, cada molécula de RNAm es traducida por una serie de ribosomas que están separados entre sí por 100 a 200 nucleótidos. Esta estructura que se observa en las células, tanto procariontes como eucariotes, se denomina polirribosoma o polisoma. En el polisoma cada ribosoma funciona de manera independiente para sintetizar un polipéptido.

Algunas moléculas de RNAt reconocen más de un codón gracias a un apareamiento oscilante de bases

Se ha demostrado que algunas moléculas de RNAt pueden reconocer más de un codón que comparten las dos primeras bases pero que difieren en la tercera. Esto significa que el reconocimiento de la tercera base de un codón tiene menos capacidad de discriminación que las dos primeras. Estos hallazgos llevaron a Francis Crick a proponer criterios estéricos menos exigentes para el apareamiento de la tercera base del codón, de manera que se presenta cierta libertad estérica (unión oscilante) en ese punto de la interacción entre el codón y el anticodón (se debe tener en cuenta que la tercera base del codón interactúa con la primera del anticodón). En este modelo

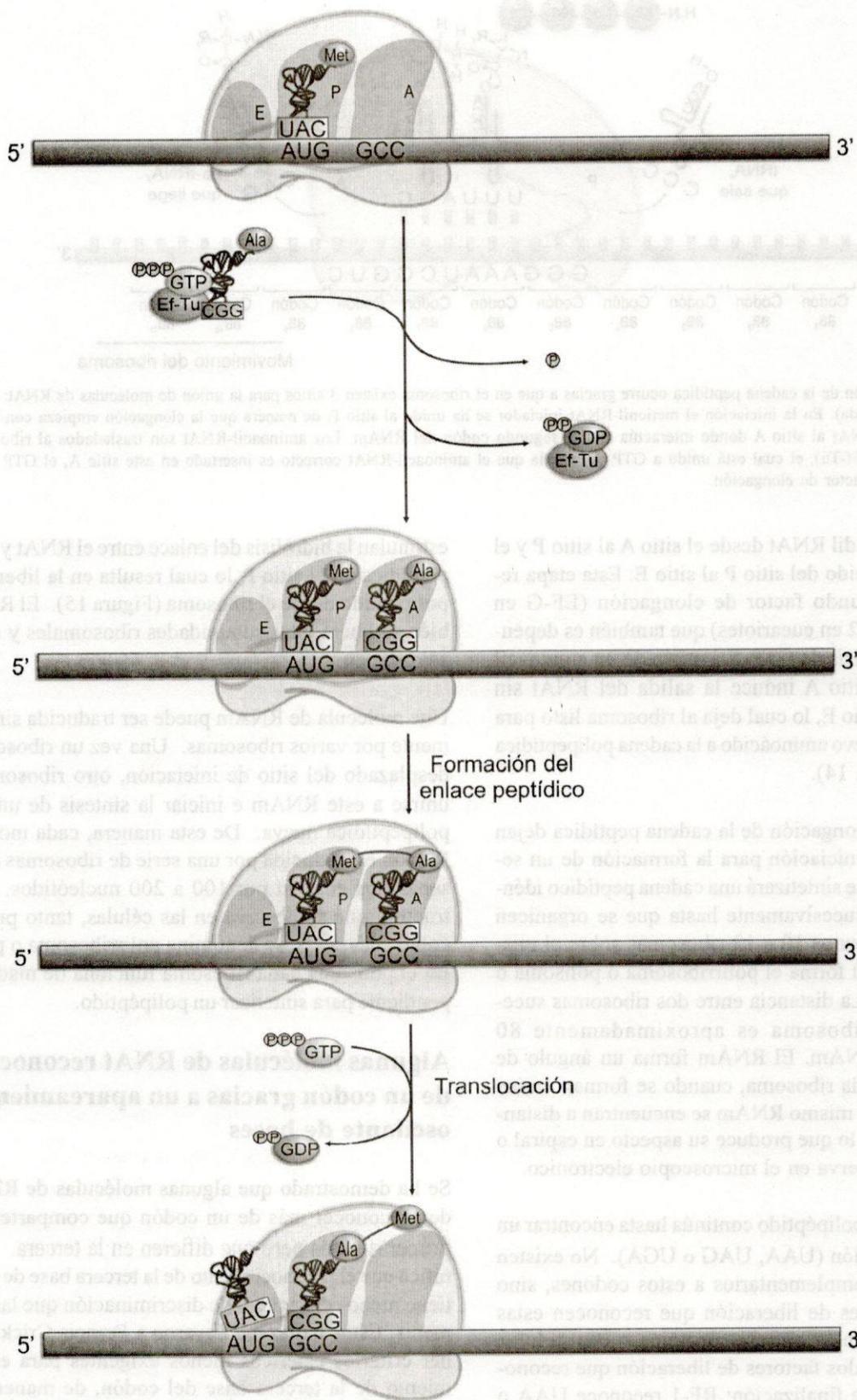


Figura 14. El aminoácido que llega transportado por el nuevo aminoacil-RNAt (al sitio P), forma un enlace peptídico con el aminoácido del aminoacil-RNAt ubicado en el sitio A. Esta reacción es catalizada por el RNAr de la subunidad mayor del ribosoma gracias a su actividad peptidil sintetasa. La unión de un nuevo aminoacil-RNAt al sitio A induce la salida del RNAt sin aminoácido del sitio E, lo cual deja al ribosoma listo para la adición de un nuevo aminoácido a la cadena polipeptídica en síntesis.

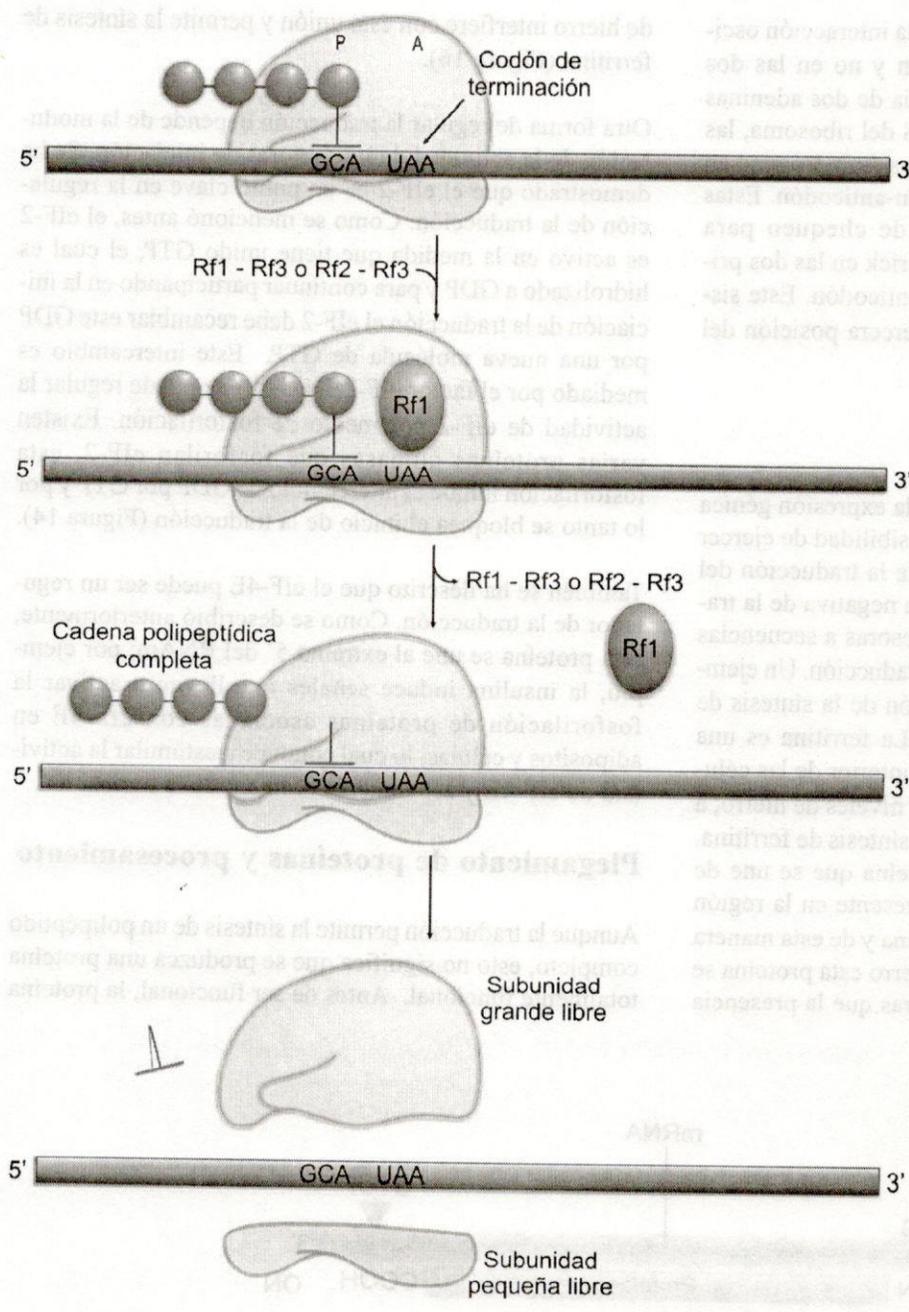


Figura 15. La terminación de la traducción ocurre cuando aparece en el RNAm un codón de finalización que permite la unión de factores de liberación. Una vez los factores de liberación se unen al codón en el sitio A se estimula la hidrólisis del enlace entre el RNAt y la cadena peptídica en el sitio P, lo cual resulta en la liberación del polipéptido desde el ribosoma. El RNAt también se libera y las subunidades ribosomales y el RNAm se disocian.

de unión oscilante tiene un papel importante la base inosina (I), la cual se identificó en varios anticodones. Por ejemplo, en levaduras el anticodón del alanil-RNAt es IGC, el cual reconoce los codones GCU, GCC y GCA. De esta manera la inosina maximiza el número de codones que pueden ser leídos por una molécula particular de RNAt. Las inosinas en los RNAt se forman como consecuencia de la desaminación de la adenosina después de la síntesis del transcrito primario.

De acuerdo a lo anterior se han generado dos conclusiones generales con respecto a la interacción codón-anticodón:

1. Las dos primeras bases de un codón se aparean de manera estándar con las respectivas bases del anticodón. Por tanto, los codones que difieren en alguna de las dos primeras bases son reconocidos por RNAt diferentes.
2. La primera base de un anticodón determina si una molécula particular de RNAt lee uno, dos o tres tipos de codones: C o A (un codón), U o G (dos codones), o I (tres codones). De esta manera, parte de la degeneración del código genético se debe a la imprecisión en el apareamiento de la tercera base del codón con la primera del anticodón.

La explicación molecular que permite la interacción oscilante en la tercera posición del codón y no en las dos primeras tiene que ver con la existencia de dos adeninas (A1492 y A1493) en la subunidad 30S del ribosoma, las cuales permiten la formación de puentes de hidrógeno en la hendidura menor de la dupleta codón-anticodón. Estas interacciones sirven como puntos de chequeo para apareamientos de bases tipo Watson-Crick en las dos primeras posiciones de la unión codón-anticodón. Este sistema de verificación no existe en la tercera posición del codón.

Regulación de la traducción

Aunque la mayor parte del control de la expresión génica ocurre en la transcripción, existe la posibilidad de ejercer una modulación positiva o negativa de la traducción del RNAm. Un mecanismo de regulación negativa de la traducción es la unión de proteínas represoras a secuencias específicas del RNAm que inhiben la traducción. Un ejemplo de este mecanismo es la regulación de la síntesis de ferritina en las células eucarióticas. La ferritina es una proteína que almacena el hierro en el interior de las células y su traducción es regulada por los niveles de hierro; a mayores niveles de hierro mayor es la síntesis de ferritina. Esta regulación depende de una proteína que se une de manera específica a una secuencia presente en la región 5' no traducida del RNAm de la ferritina y de esta manera evita la traducción. En ausencia de hierro esta proteína se une a la secuencia del RNAm, mientras que la presencia

de hierro interfiere con esta unión y permite la síntesis de ferritina (Figura 16).

Otra forma de regular la traducción depende de la modulación de la actividad de los factores de iniciación. Se ha demostrado que el eIF-2 es un punto clave en la regulación de la traducción. Como se mencionó antes, el eIF-2 es activo en la medida que tiene unido GTP, el cual es hidrolizado a GDP y para continuar participando en la iniciación de la traducción el eIF-2 debe recambiar este GDP por una nueva molécula de GTP. Este intercambio es mediado por el factor eIF-2B, así que se puede regular la actividad de eIF-2 por medio de fosforilación. Existen varias proteínas quinasas que fosforilan eIF-2, esta fosforilación inhibe el intercambio de GDP por GTP y por lo tanto se bloquea el inicio de la traducción (Figura 14).

También se ha descrito que el eIF-4E puede ser un regulador de la traducción. Como se describió anteriormente, esta proteína se une al extremo 5' del RNAm; por ejemplo, la insulina induce señales que llevan a activar la fosforilación de proteínas asociadas con eIF-4E en adipositos y células, lo cual conduce a estimular la actividad de eIF-4E y así aumenta el inicio de la traducción.

Plegamiento de proteínas y procesamiento

Aunque la traducción permite la síntesis de un polipéptido completo, esto no significa que se produzca una proteína totalmente funcional. Antes de ser funcional, la proteína

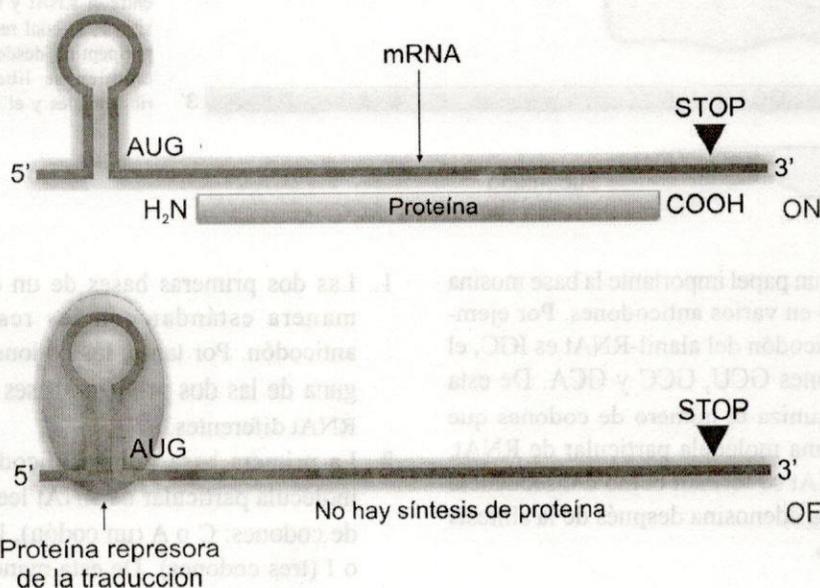


Figura 16. Un ejemplo de control negativo de la traducción mediada por una proteína que se une a una secuencia específica del RNA. En este caso se presenta una proteína que en ausencia de hierro se une a la secuencia del RNAm e inhibe la traducción del RNAm de la ferritina, mientras que la presencia de hierro interfiere con esta unión y permite la síntesis de ferritina.

debe plegarse para adquirir su estructura tridimensional adecuada o interactuar con otras cadenas de proteínas para constituir un complejo multiproteico. Además muchas proteínas sufren modificaciones después de la traducción, que consisten en cortes de fragmentos o en la unión de carbohidratos y lípidos, lo cual es necesario para la ubicación o función de las proteínas en el interior de la célula o en un sitio distante (Figura 17).

Papel de las chaperonas en el plegamiento proteico

Aunque la información requerida para el plegamiento apropiado de las proteínas está en su secuencia de aminoácidos, en las células existen una serie de proteínas que favorecen la adquisición de su conformación final. Estas proteínas se denominan chaperonas moleculares, las cuales facilitan el ensamble de las proteínas sin ser parte del complejo que se forma, o sea que no adicionan información al plegamiento. Las chaperonas se unen y estabilizan los polipéptidos no plegados o parcialmente plegados para conducirlos a su estado de plegamiento correcto (Figura 18). En ausencia de chaperonas los polipéptidos se tornan inestables dentro de la célula, lo cual hace que se plieguen incorrectamente o que se agreguen para formar complejos insolubles.

Las chaperonas actúan de varias maneras. Algunas se unen a los polipéptidos que aún están siendo sintetizados en los ribosomas, lo cual evita el plegamiento incorrecto o la interacción del extremo amino terminal con otras proteínas, antes de que finalice la síntesis de la cadena. En otras ocasiones las chaperonas estabilizan polipéptidos sin plegar durante su transporte a organelas subcelulares; por ejemplo, proteínas que son transportadas a través de la membrana mitocondrial en una conformación parcialmente plegada se mantienen estabilizadas en citoplasma por medio de chaperonas. Las chaperonas también son importantes para el ensamble de proteínas que están formadas por varias cadenas polipeptídicas.

Dentro de las chaperonas hay dos clases de proteínas que parecen tener un papel central en el plegamiento de las proteínas, tanto en células procarióticas como en las eucarióticas. Estas son las proteínas de choque térmico (Hsp) de 60 y 70 kDa, conocidas como familias Hsp70 y Hsp60, respectivamente. Las proteínas de la familia Hsp70 estabilizan polipéptidos no plegados durante la traducción, así como durante el transporte de éstos a varios compartimentos subcelulares (Figura 17). Las proteínas de la familia Hsp60 (chaperoninas) facilitan el plegamiento de las proteínas para adquirir su conformación nativa (Figura 18). Cada chaperonina consiste de 14 subunidades, las cuales forman dos anillos que se unen

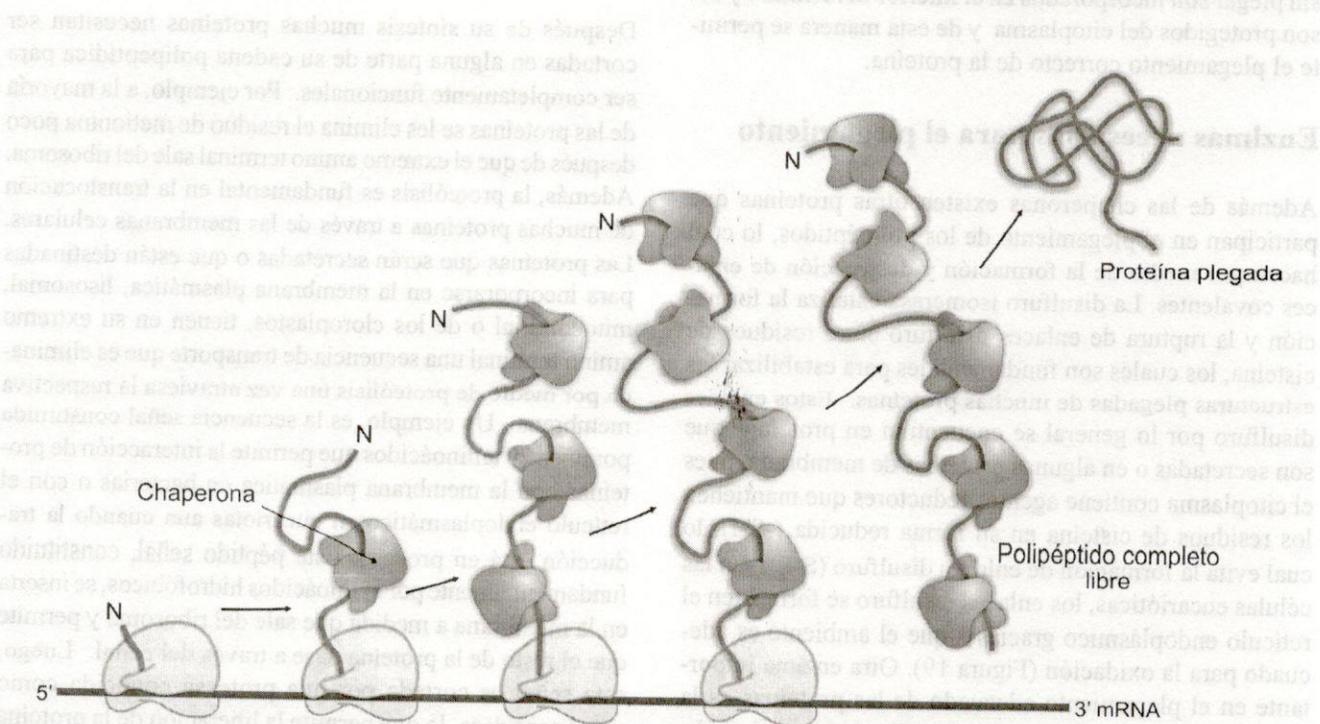


Figura 17. Una vez se inicia la traducción las chaperonas se unen al extremo amino de los polipéptidos para estabilizarlos en una configuración no plegada hasta que se completa su síntesis en el ribosoma, después de lo cual la proteína completa se libera para adquirir su estado de plegamiento tridimensional apropiado.

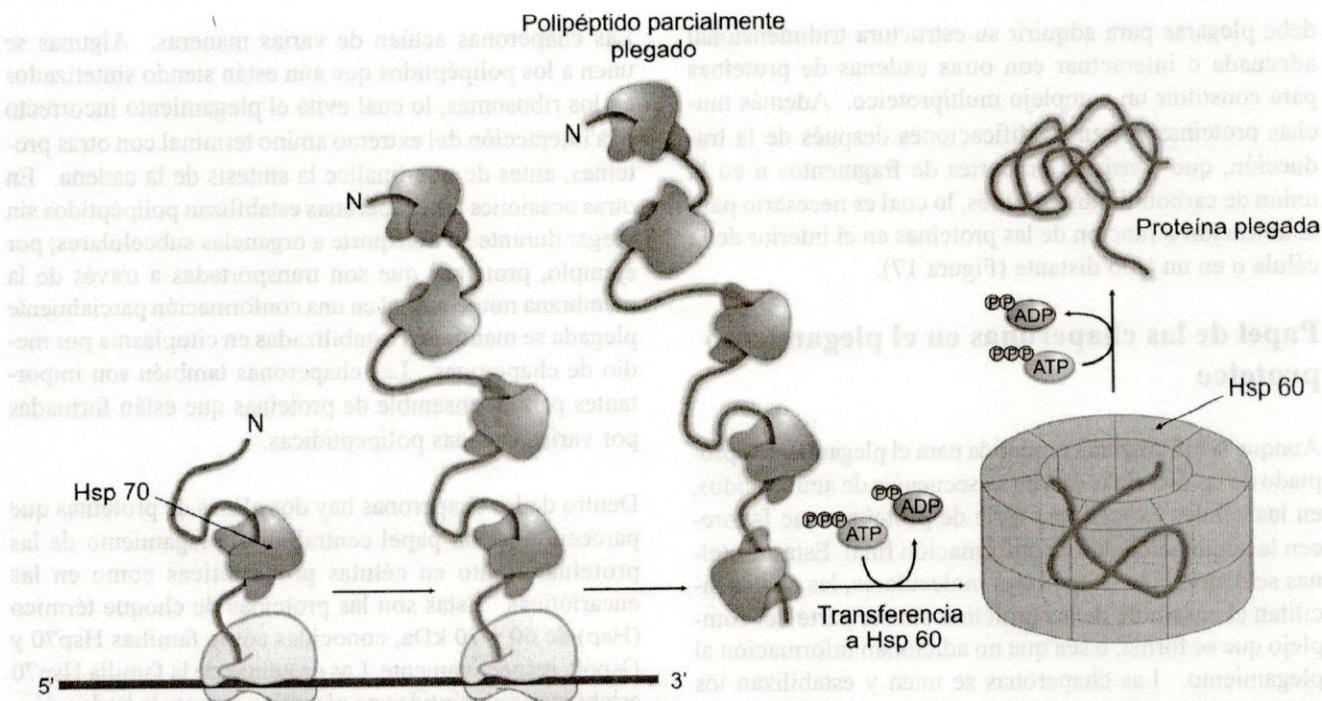


Figura 18. Las chaperonas de la familia Hsp70 se unen y estabilizan a los polipéptidos mientras ocurre la traducción, luego de lo cual estos polipéptidos se transfieren a las chaperonas de la familia Hsp60 (chaperoninas); éstas facilitan el plegamiento de las proteínas para adquirir su conformación nativa final. Para la liberación del péptido desde la Hsp70 como para el plegamiento dentro de la Hsp60 se requiere hidrólisis de ATP.

entre sí para formar una doble abrazadera. Los péptidos sin plegar son incorporados en el interior del cilindro y así son protegidos del citoplasma y de esta manera se permite el plegamiento correcto de la proteína.

Enzimas necesarias para el plegamiento

Además de las chaperonas existen otras proteínas que participan en el plegamiento de los polipéptidos, lo cual hacen por medio de la formación y destrucción de enlaces covalentes. La disulfuro isomerasa cataliza la formación y la ruptura de enlaces disulfuro entre residuos de cisteína, los cuales son fundamentales para estabilizar las estructuras plegadas de muchas proteínas. Estos enlaces disulfuro por lo general se encuentran en proteínas que son secretadas o en algunas proteínas de membrana, pues el citoplasma contiene agentes reductores que mantienen los residuos de cisteína en su forma reducida (-SH), lo cual evita la formación de enlaces disulfuro (S-S). En las células eucarióticas, los enlaces disulfuro se forman en el retículo endoplásmico gracias a que el ambiente es adecuado para la oxidación (Figura 19). Otra enzima importante en el plegamiento adecuado de las proteínas es la peptidil prolil isomerasa, la cual cataliza la isomerización de enlaces peptídicos que involucran residuos de prolina.

Proteólisis

Después de su síntesis muchas proteínas necesitan ser cortadas en alguna parte de su cadena polipeptídica para ser completamente funcionales. Por ejemplo, a la mayoría de las proteínas se les elimina el residuo de metionina poco después de que el extremo amino terminal sale del ribosoma. Además, la proteólisis es fundamental en la translocación de muchas proteínas a través de las membranas celulares. Las proteínas que serán secretadas o que están destinadas para incorporarse en la membrana plasmática, lisosomal, mitocondrial o de los cloroplastos, tienen en su extremo amino terminal una secuencia de transporte que es eliminada por medio de proteólisis una vez atraviesa la respectiva membrana. Un ejemplo, es la secuencia señal constituida por unos 20 aminoácidos que permite la interacción de proteínas con la membrana plasmática en bacterias o con el retículo endoplásmico en eucariotas aun cuando la traducción está en proceso. Este péptido señal, constituido fundamentalmente por aminoácidos hidrofóbicos, se inserta en la membrana a medida que sale del ribosoma y permite que el resto de la proteína pase a través del canal. Luego, esta señal es cortada por una proteasa conocida como señal peptidasa, lo que permite la liberación de la proteína madura (Figura 20).

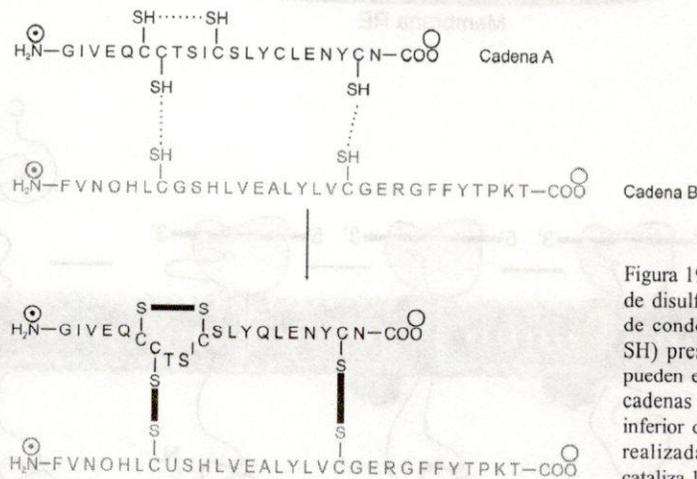
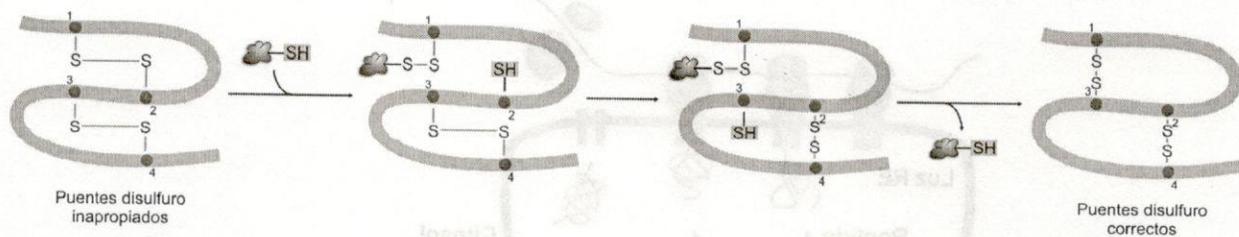


Figura 19. En las células eucarióticas, los puentes de disulfuro (-S-S-) se forman por una reacción de condensación entre dos grupos sulfidril (-SH) presentes en los residuos de cisteína que pueden estar en la misma cadena peptídica o en cadenas distintas como se muestra en la parte inferior de la figura. Esta reacción enzimática es realizada por la disulfuro isomerasa, la cual cataliza la ruptura y la reunión de los puentes de disulfuro; esto ocurre debido a que la enzima forma un puente de disulfuro con el residuo de cisteína del polipéptido y luego intercambia este disulfuro apareado con otro residuo de cisteína, lo cual se muestra en la parte superior de la figura.

En otras ocasiones el procesamiento proteolítico activa proteínas a medida que elimina alguna porción de su molécula. Por ejemplo, la insulina sufre dos cortes enzimáticos. El precursor inicial o preproinsulina, contiene un péptido señal que permite ubicar a la proteína en el retículo endoplásmico, este péptido es cortado durante el paso por el retículo. Este corte da origen a un segundo precursor o proinsulina. Este precursor se convierte a insulina gracias a que se elimina un péptido interno, lo cual deja dos cadenas peptídicas unidas por puentes disulfuro (Figura 21).

Glicosilación

Muchas de las proteínas en las células eucarióticas sufren un proceso de modificación por medio de la adición de moléculas de carbohidratos. Estas glicoproteínas generalmente son secretadas o ubicadas en la membrana plasmática, aunque ocasionalmente se pueden encontrar en otros compartimentos subcelulares. Estas moléculas de carbohidratos que se adicionan son importantes para un plegamiento adecuado en el retículo endoplásmico, para la ubicación adecuada en los compartimentos intracelulares, para el reconocimiento de sitios específicos gracias a las interacciones célula - célula, así como para las interacciones mensajero-receptor.

Existen dos tipos de glicoproteínas. En las glicoproteínas con un enlace tipo N, el carbohidrato se une al átomo de nitrógeno en la cadena lateral de la asparagina (Figura 22a). Por su parte en las glicoproteínas con enlace O, el carbohidrato está unido al átomo de oxígeno presente en la cadena lateral de la serina o treonina (Figura 22b). Los azúcares que usualmente se unen a estos átomos son N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina, respectivamente.

La glicosilación usualmente se inicia en el retículo endoplásmico, incluso antes de terminar la traducción en el ribosoma. La glicosilación tipo N, se inicia con la transferencia de un oligosacárido que contiene 14 residuos (2 N-acetilglucosaminas, 3 glucosas y 9 manosas) hacia un residuo de asparagina en la cadena peptídica ubicado dentro de la secuencia Asn - X - Ser o Asn - X - Thr (X es cualquier aminoácido diferente de prolina). Estando aun en el interior del retículo endoplásmico este oligosacárido con enlace tipo N es modificado, pues se eliminan los 3 residuos de glucosa y uno de manosa. Luego la proteína pasa al aparato de Golgi donde el oligosacárido sufre modificaciones adicionales. Por su parte, los oligosacáridos de enlace tipo O se adicionan dentro del aparato de Golgi; sin embargo, a diferencia de los tipo N los azúcares se van adicionando uno a uno y por lo general el oligosacárido consiste de pocos residuos.

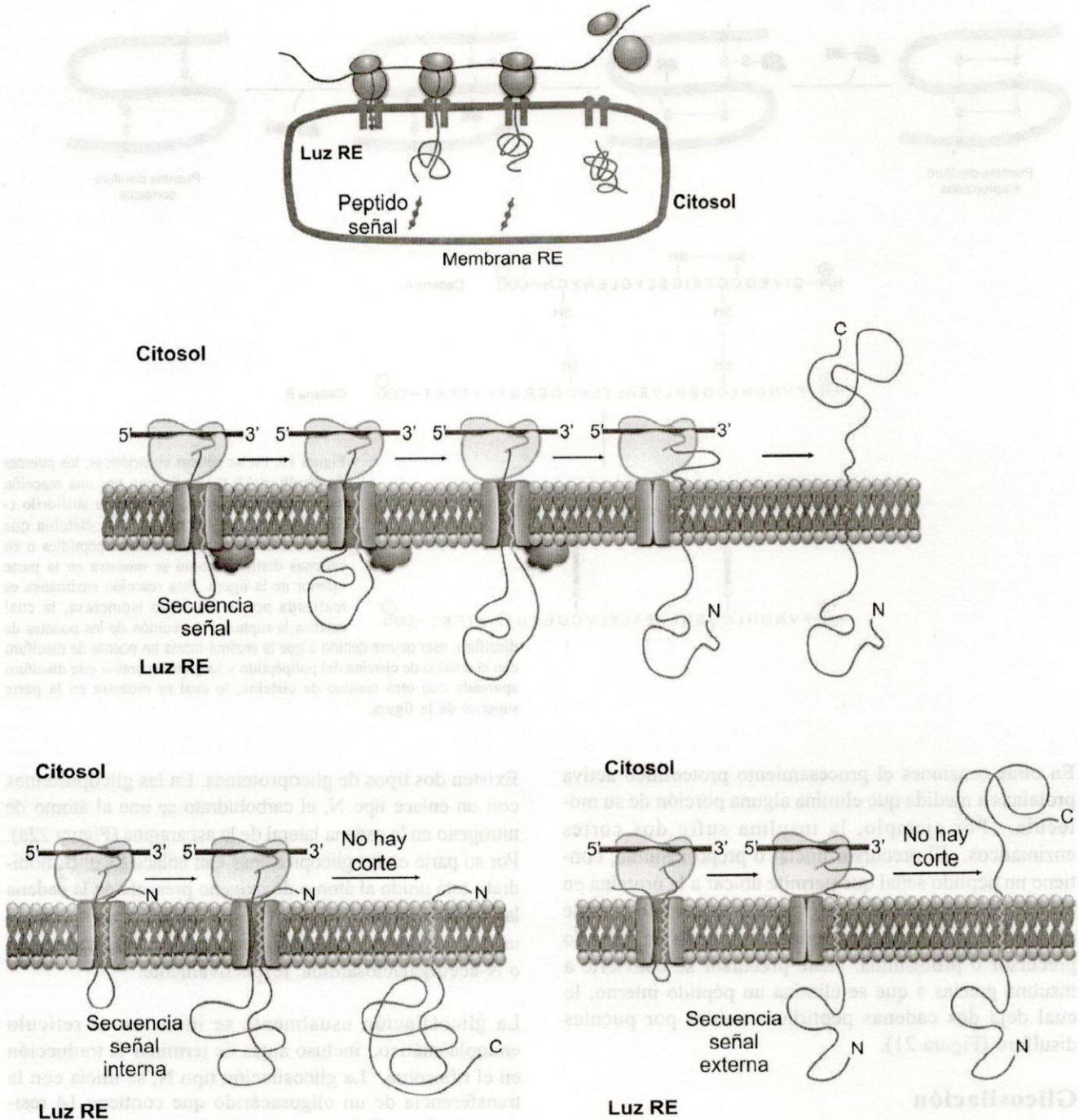


Figura 20. La síntesis de proteínas de membrana ocurre en los ribosomas unidos al retículo endoplásmico; estas proteínas requieren de la eliminación de la secuencia señal. En algunos casos dicha secuencia se corta una vez el polipéptido cruza la membrana, lo cual hace que el extremo amino permanezca en la luz del retículo endoplásmico. En otros casos una secuencia señal interna que no se corta permite que el extremo amino se exponga hacia el lado citosólico de la membrana del retículo, en este caso la secuencia señal actúa como una región transmembrana y extremo citosólico que en la luz del retículo endoplásmico. Finalmente, en algunas circunstancias existen secuencias señales internas que están orientadas para insertarse en la membrana y dirigir la transferencia del extremo amino hacia la luz del retículo endoplásmico.

Adición de lípidos

En las células eucarióticas algunas proteínas reciben la adición de lípidos. La mayoría de las veces esto permite que estas proteínas se anclen a la membrana plasmática. Existen tres tipos de reacción que conducen a la adición

de lípidos a proteínas que están ubicadas en el lado citoplasmático de la membrana plasmática: N-miristoilación, prenilación y palmitoilación. Por su parte, en las proteínas que se anclan en el lado extracelular de la membrana plasmática es común encontrar la adición de glicolípidos.

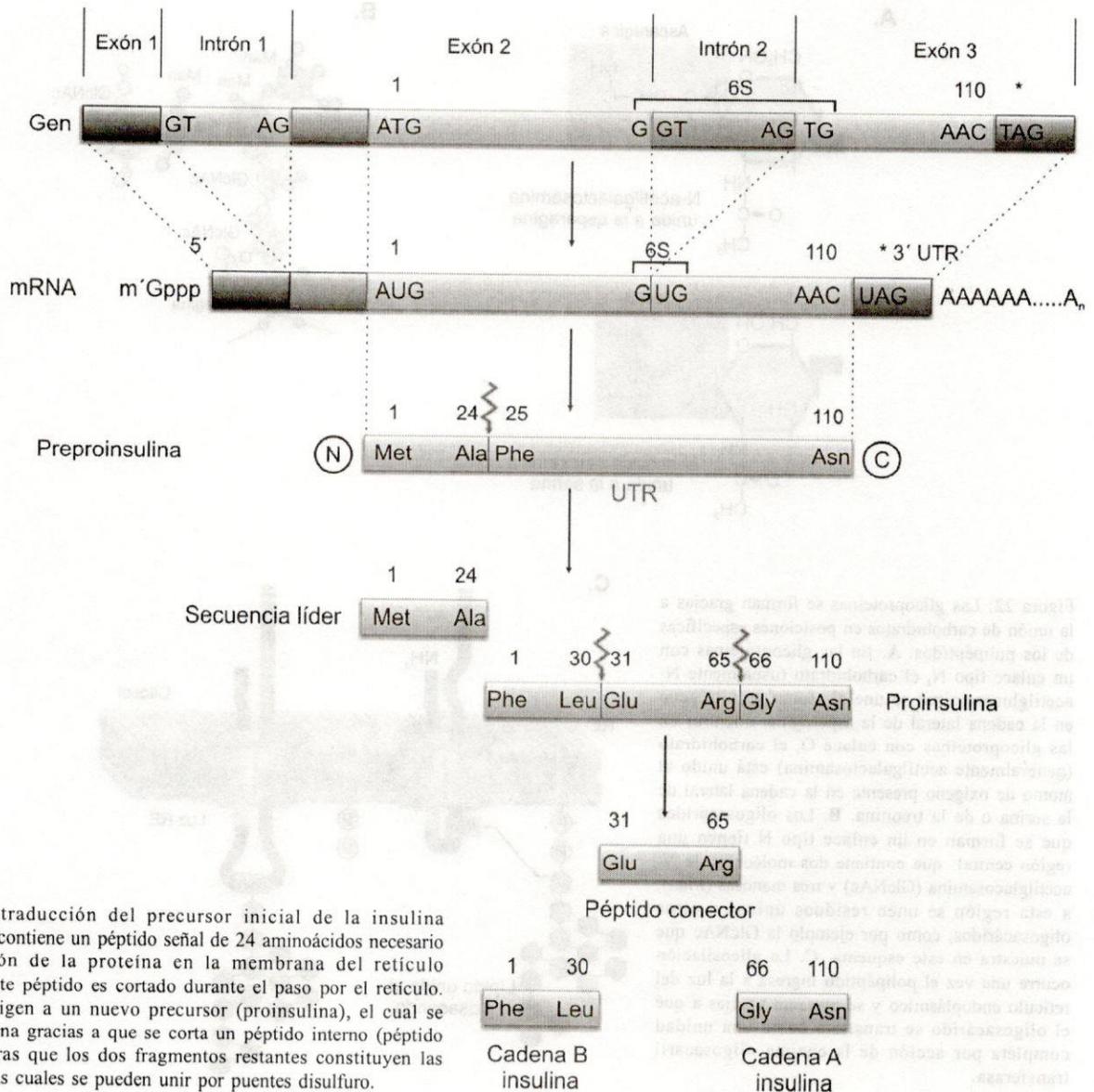


Figura 21. La traducción del precursor inicial de la insulina (preproinsulina), contiene un péptido señal de 24 aminoácidos necesario para la inserción de la proteína en la membrana del retículo endoplásmico; este péptido es cortado durante el paso por el retículo. Esto corte da origen a un nuevo precursor (proinsulina), el cual se convierte a insulina gracias a que se corta un péptido interno (péptido conector), mientras que los dos fragmentos restantes constituyen las cadenas A y B, las cuales se pueden unir por puentes disulfuro.

La miristoilación consiste en la adición de ácido mirístico (ácido graso de 14 carbonos) a un residuo de glicina en el extremo amino terminal de la cadena peptídica. Esta modificación permite la asociación de la proteína con la cara citoplasmática de la membrana celular (Figura 23).

La prenilación consiste en la adición de grupos prenil a los átomos de azufre en la cadena lateral de los residuos de cisteína ubicados cerca al extremo carboxi terminal de la cadena peptídica. Esta modificación ocurre en varias fases. Primero, se adiciona el grupo prenil (farnesil que tiene 15 carbonos o geranilgeranil que posee 20 carbonos) a una cisteína ubicada tres aminoácidos antes de extremo carboxilo de la proteína. Luego se eliminan los aminoácidos que están después de la cisteína, lo que deja a la cisteína como el último aminoácido del extremo

carboxilo. Finalmente, se adiciona un grupo metilo al grupo carboxilo de esta cisteína (Figura 23).

En la palmitoilación una molécula de ácido palmítico (ácido graso de 16 carbonos) se adiciona a los átomos de azufre de las cadenas laterales de residuos de cisteína que se encuentran en el interior de la cadena polipeptídica (Figura 23).

La adición de glicolípidos (lípidos unidos a oligosacáridos) al extremo carboxilo de algunas proteínas, permite que éstas se anclen a la cara extracelular de la membrana plasmática. Puesto que estos glicolípidos contienen fosfatidil inositol en su estructura son conocidos como glicosil fosfatidil inositol o anclaje GPI. La porción oligosacáridica de esta molécula se une al grupo carboxilo

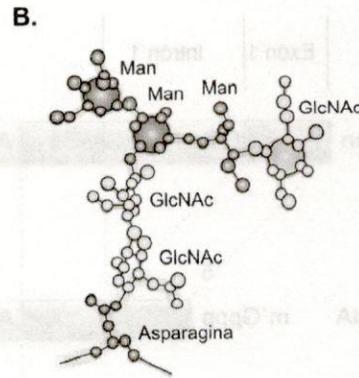
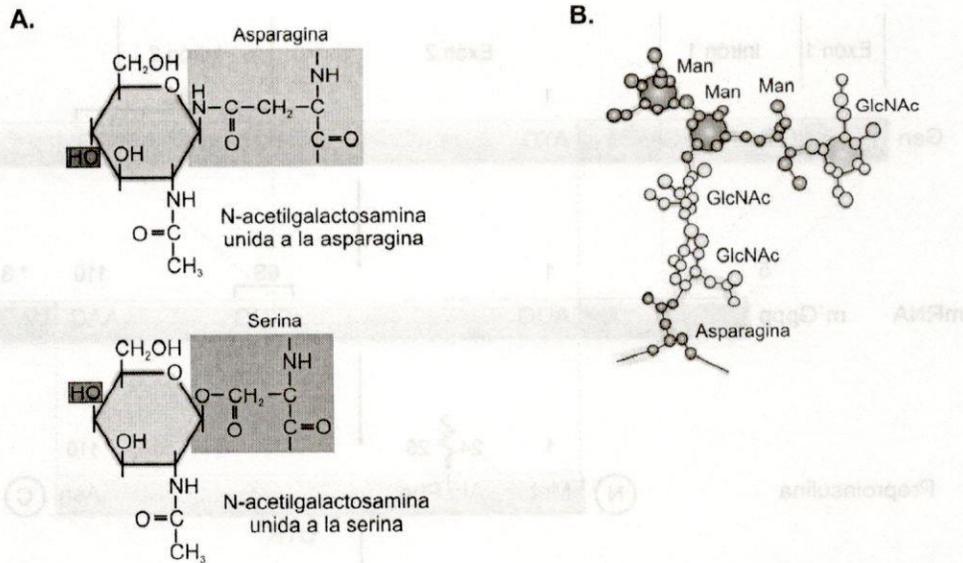
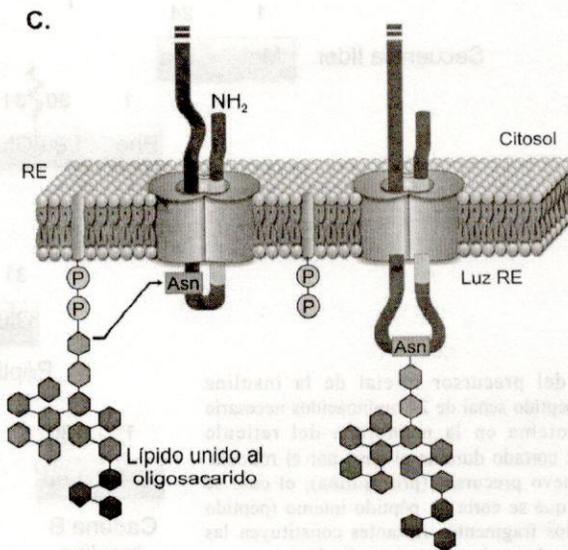


Figura 22. Las glicoproteínas se forman gracias a la unión de carbohidratos en posiciones específicas de los polipéptidos. **A.** En las glicoproteínas con un enlace tipo N, el carbohidrato (usualmente N-acetilglucosamina) se une al átomo de nitrógeno en la cadena lateral de la asparagina, mientras en las glicoproteínas con enlace O, el carbohidrato (generalmente acetilgalactosamina) está unido al átomo de oxígeno presente en la cadena lateral de la serina o de la treonina. **B.** Los oligosacáridos que se forman en un enlace tipo N tienen una región central que contiene dos moléculas de N-acetilglucosamina (GlcNAc) y tres manosas (Man); a esta región se unen residuos únicos u otros oligosacáridos, como por ejemplo la GlcNAc que se muestra en este esquema. **C.** La glicosilación ocurre una vez el polipéptido ingresa a la luz del retículo endoplásmico y se presenta gracias a que el oligosacárido se transfiere como una unidad completa por acción de la enzima oligosacaril transferasa.



terminal de la cadena polipeptídica. A su vez, la cabeza de inositol del fosfatidil inositol se une al oligosacárido de manera que este último actúa como un puente entre la proteína y las cadenas de ácido graso del fosfolípido. Este anclaje GPI se adiciona como unidad dentro del retículo endoplásmico, lo cual ocurre simultáneamente con el corte de una porción del extremo carboxilo de la proteína que generalmente es de unos 20 aminoácidos. Una vez modificada la proteína es transportada a la membrana plasmática donde las cadenas de ácido graso del anclaje GPI permiten su inserción en esta membrana (Figura 24).

Degradación de las proteínas

La concentración de las proteínas en las células y en un organismo no depende únicamente de la tasa de síntesis

sino también de la velocidad con que son degradadas. La vida media de las proteínas puede variar desde algunos minutos hasta varios días y la velocidad con que ellas se degradan es otro mecanismo importante para regular la expresión proteica y por lo tanto la función de una célula. Aproximadamente un tercio de las nuevas cadenas polipeptídicas que se producen son degradadas como resultado de los mecanismos de control de calidad de la traducción. En las células eucarióticas existen dos vías importantes para la degradación de las proteínas: la vía de ubiquitina – proteasoma y la vía de proteólisis lisosomal.

Vía ubiquitina – proteasoma

Esta vía utiliza la ubiquitina como un marcador de proteólisis de proteínas citosólicas y nucleares. Las proteínas son marcadas para degradación cuando una molé-

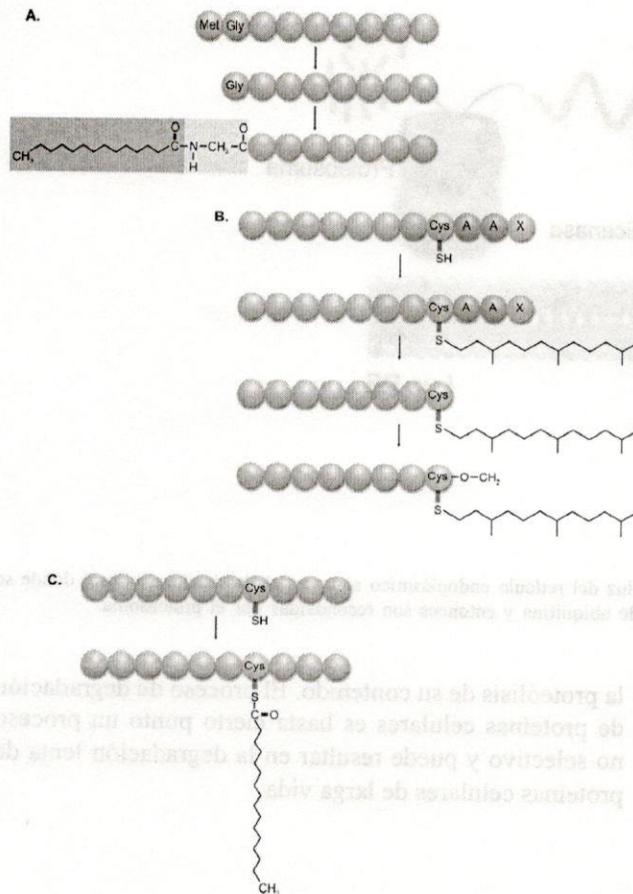


Figura 23. **A.** La miristoilación consiste en la adición de ácido mirístico a un residuo de glicina en el extremo amino terminal de la cadena peptídica, lo cual facilita la asociación de la proteína con la cara interna de la membrana plasmática. **B.** Otra modificación es la prenilación de un residuo de cisteína en el extremo carboxilo del polipéptido. Inicialmente se agrega un grupo farnesil a la cadena lateral de la cisteína, lo cual es seguido por la eliminación proteolítica de los tres aminoácidos del extremo carboxilo y finalmente ocurre la metilación de la cisteína que quedó como último aminoácido. **C.** La palmitoilación consiste en la adición del ácido graso palmitato a la cadena lateral de un residuo de cisteína que está dentro de un polipéptido.

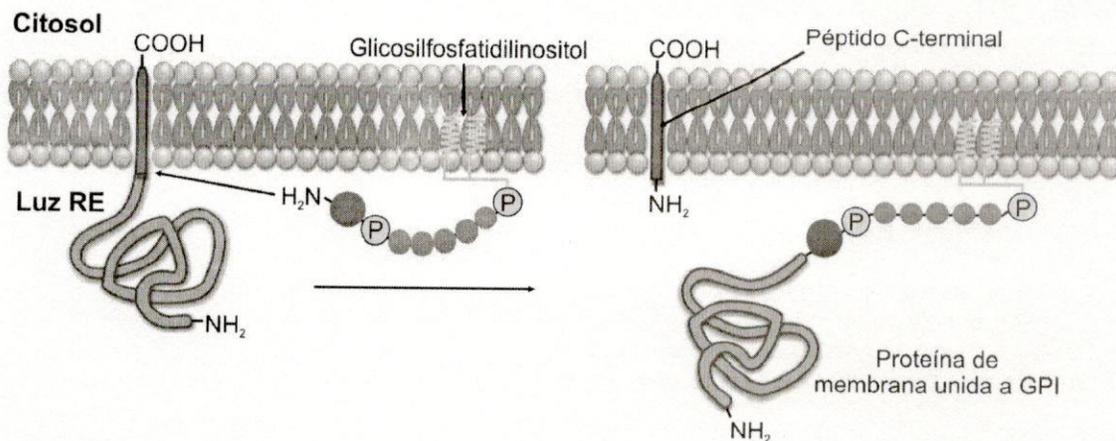


Figura 24. Una vez sintetizada la proteína permanece unida a la membrana del retículo endoplásmico por una secuencia de 15-20 aminoácidos hidrofóbicos en su extremo carboxilo; luego sufre un corte proteolítico y simultáneamente su nuevo extremo carboxilo se une covalentemente al grupo amino de una molécula lipídica (glicosilfosfatidilinositol - GPI) que se encuentra en la membrana. De esta manera la proteína queda expuesta en la luz del retículo endoplásmico y posteriormente al exterior de la célula.

cula de ubiquitina se une a la cadena lateral de un residuo de lisina; posteriormente, se unen otras moléculas de ubiquitina constituyendo una cadena de multiubiquitinas. Estas proteínas son entonces reconocidas por un complejo proteolítico, ubicado en el citosol, denominado proteasoma (Figura 25). Luego, las moléculas de ubiquitina son liberadas para ser reutilizadas. Tanto la unión de ubiquitina como el proceso de degradación requieren de energía, en forma de ATP.

La ubiquitinación es un proceso que ocurre en varias etapas. Inicialmente, se activa la ubiquitina al unirse a la enzima activadora de ubiquitina o E1. Esta ubiquitina activada se transfiere a la enzima conjugadora de ubiquitina o E2. Finalmente, la ubiquitina es transferida a la proteína blanco por medio de la ubiquitina ligasa o E3, la cual identifica las proteínas adecuadas. La mayoría de las células contienen un solo tipo de E1, pero diferentes tipos de E2 y E3. Los distintos miembros de las proteínas E2 y E3 reconocen diferentes proteínas como sustratos y esto es lo que determina de forma selectiva los blancos celulares que van a ser degradados.

Vía de proteólisis lisosomal

Esta vía depende de la captura de proteínas por los lisosomas a partir del medio extracelular por endocitosis o desde otras organelas citoplasmáticas o incluso desde el citosol. Los lisosomas contienen una gran cantidad de enzimas digestivas, entre ellas proteasas, que se encargan de degradar proteínas que han sido ingeridas. Una forma de capturar las proteínas citosólicas es el mecanismo de autofagocitosis, el cual consiste en la formación de vesí-

