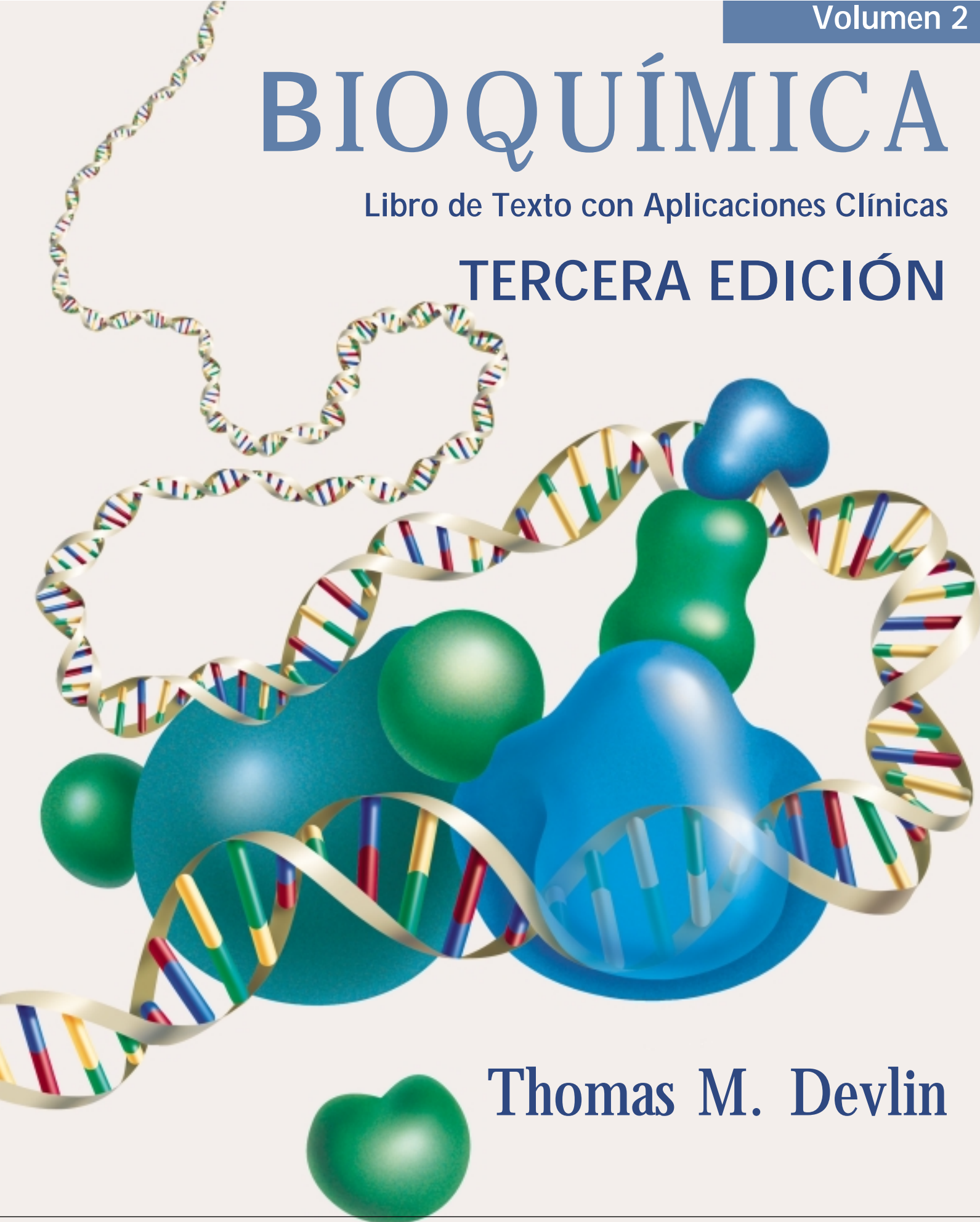


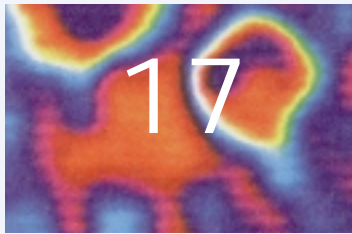
BIOQUÍMICA

Libro de Texto con Aplicaciones Clínicas

TERCERA EDICIÓN

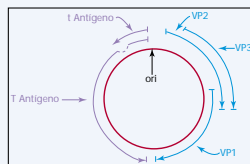


Thomas M. Devlin



SÍNTESIS DE PROTEÍNAS: TRADUCCIÓN Y MODIFICACIONES POSTRADUCCIÓN

Dohn Gritz



17.1 VISIÓN GENERAL	714		
17.2 COMPONENTES DEL APARATO DE TRADUCCIÓN	714		
El RNA mensajero es el portador de la información presente en el DNA	714		
La biosíntesis de proteínas se realiza en los ribosomas	715		
El RNA de transferencia actúa como molécula traductora bilingüe	717		
El código genético emplea un alfabeto nucleotídico de cuatro letras	718		
Los codones del mRNA son palabras de tres letras	718		
Puntuación	719		
Las interacciones codón-anticodón permiten la lectura del mRNA	719		
“Descifrado” del código genético	720		
Mutaciones	721		
La aminoacilación del RNA de transferencia activa los aminoácidos para la síntesis de proteínas	721		
Especificidad y fidelidad de las reacciones de aminoacilación	722		
17.3 BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS	724		
La traducción es direccional y colineal con el mRNA	724		
El inicio de la síntesis de proteínas es un proceso complejo	725		
El alargamiento es un proceso secuencial de formación de enlaces peptídicos	727		
La terminación de la síntesis polipeptídica requiere un codón de terminación	733		
La traducción tiene un coste energético significativo	733		
La síntesis proteica en la mitocondria difiere ligeramente de la síntesis citoplasmática	733		
Algunos antibióticos y toxinas inhiben la biosíntesis de proteínas	733		
17.4 MADURACIÓN DE LAS PROTEÍNAS: MODIFICACIÓN, SECRECIÓN Y DESTINO A LOS ORGÁNULOS	735		
Las proteínas para exportación siguen la ruta secretora	735		
La glucosilación de proteínas tiene lugar en el retículo endoplasmático y en el aparato de Golgi	736		
17.5 BIOGÉNESIS DE ORGÁNULOS Y MARCAJE DE DESTINO DE CIERTAS PROTEÍNAS	739		
La distribución de las proteínas destinadas a los lisosomas tiene lugar en la ruta secretora	739		
La importación de proteínas por la mitocondria requiere señales específicas	742		
		La distribución hacia otros orgánulos también requiere señales específicas	742
		17.6 OTRAS MODIFICACIONES POSTRADUCCIÓN DE LAS PROTEÍNAS	743
		La biosíntesis de la insulina implica un proceso de proteólisis parcial	743
		La proteólisis conduce a la activación de zimógenos	743
		Los aminoácidos pueden ser modificados tras su incorporación a las proteínas	744
		La biosíntesis del colágeno precisa muchas modificaciones posttraducción	746
		Formación del procolágeno en el retículo endoplasmático y aparato de Golgi	746
		Maduración del colágeno	747
		17.7 REGULACIÓN DE LA TRADUCCIÓN	748
		17.8 DEGRADACIÓN Y RECAMBIO DE PROTEÍNAS	750
		La digestión intracelular de algunas proteínas tiene lugar en los lisosomas	750
		La ubiquitina es un marcador en la proteólisis dependiente de ATP	751
		BIBLIOGRAFÍA	753
		PREGUNTAS	754
		RESPUESTAS	755
		APLICACIONES CLÍNICAS	
		17.1 Mutación sustitutiva: hemoglobina	721
		17.2 Enfermedades de los codones terminadores	722
		17.3 Talasemia	722
		17.4 Mutaciones en el RNA ribosómico mitocondrial causan la sordera inducida por antibióticos	734
		17.5 Enfermedad de las células I	740
		17.6 Hiperproinsulinemia familiar	743
		17.7 Ausencia de modificaciones posttraducción: deficiencia múltiple de sulfatasas	746
		17.8 Defectos en la síntesis de colágeno	749
		17.9 Deleción de un codón, modificación posttraducción incorrecta y degradación prematura de la proteína: la fibrosis quística	752

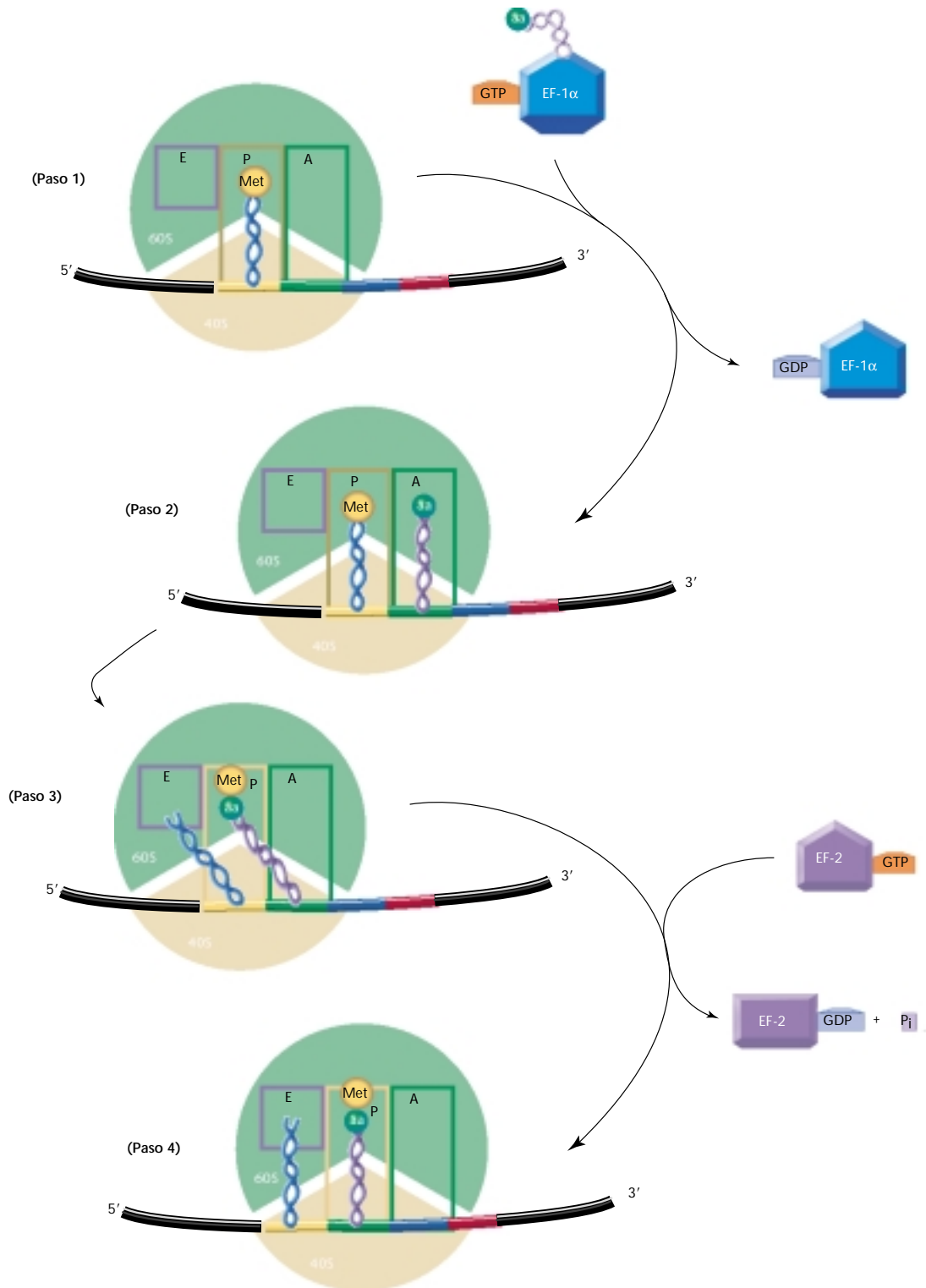
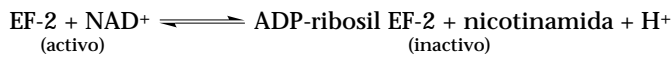


FIGURA 17.8

Pasos del alargamiento en la síntesis de proteínas eucarióticas.

(a) Se muestra el primer ciclo de alargamiento. El paso 1 muestra el complejo de inicio completo con el metionil tRNA^{Met} en el sitio P del 80S. En el paso 2 se ha colocado un aminoacil tRNA en el sitio A ribosómico con la participación de EF-1 α . El cambio en la forma de EF-1 α es un reflejo del cambio de conformación después de la hidrólisis del GTP. En el paso 3 se ha formado ya el primer enlace peptídico, el nuevo peptidil tRNA ocupa una sitio híbrido A/P en el ribosoma y el brazo aceptor desilado del tRNA^{Met} es desplazado al sitio E de la subunidad grande.

la traducción y conduce a la liberación de peptidil-puromicina. El **cloranfenicol** inhibe directamente a la peptidil transferasa por unión al centro activo; no se da transferencia, y el peptidil-tRNA permanece unido al ribosoma. La etapa de translocación constituye también una diana potencial. El antibiótico macrólido **eritromicina** interfiere con la translocación en ribosomas procarióticos. La translocación eucariótica se ve inhibida por una toxina proteica de *Corynebacterium diphtheriae* (**toxina diftérica**), a través de un mecanismo mediante el cual la toxina se une a la membrana celular, y una subunidad penetra en el citoplasma y cataliza la ADP-ribosilación e inactivación del EF-2, tal como muestra la reacción siguiente:



La unión de la fracción ADP-ribosa al EF-2 se efectúa sobre una histidina específica modificada en una etapa postraducción, conocida como diftamida. La próxima sección trata los acontecimientos postraducción.

Existe un tercer grupo de toxinas que atacan al rRNA. La **ricina** (del ricino) y varias toxinas relacionadas son *N*-glucosidasas que cortan una única adenina en el rRNA de la subunidad mayor. El ribosoma se inactiva por este daño aparentemente menor. Una toxina, la **α -sarcina**, corta el rRNA de la subunidad mayor en un único punto e inactiva de forma parecida al ribosoma. Algunas cepas de *E. coli* atacan a otras bacterias mediante la producción de toxinas extracelulares, como la **colicina E3**, que es una ribonucleasa que corta el RNA 16S en un único punto cercano a la secuencia de unión al mensajero y la región de descodificado; de esta forma inactiva la subunidad e interrumpe la síntesis proteica en células competidoras.

17.4 ■ MADURACIÓN DE LAS PROTEÍNAS: MODIFICACIÓN, SECRECIÓN Y DESTINO A LOS ORGANULOS

Algunas proteínas emergen del ribosoma preparadas para ejercer inmediatamente su función. Muchas otras, sin embargo, deben experimentar una gran variedad de **modificaciones postraducción**. Tales modificaciones pueden dar lugar a su conversión en una forma funcional, su traslado a un compartimento subcelular específico, su secreción al exterior de la célula o a una alteración en su actividad o estabilidad. La información que determina el destino postraducción de una proteína reside en su estructura, es decir, la secuencia de aminoácidos y la conformación polipeptídica determinan si una proteína servirá como sustrato para un enzima modificador o la identifican para ser trasladada a una localización subcelular o extracelular.

Las proteínas para exportación siguen la ruta secretora

Las proteínas destinadas a ser exportadas se sintetizan en ribosomas unidos a la membrana del retículo endoplasmático rugoso (figura 17.12). El ribosoma no es capaz de identificar a la proteína que va a ser sintetizada, con lo que el inicio y alargamiento comienzan en ribosomas libres en el citosol. Las proteínas de la ruta secretora tienen un **péptido señal** hidrófobo, normalmente en el extremo amino o cerca de él. No existe una única secuencia de péptido señal, aunque sus características incluyen un extremo N cargado positivamente, un núcleo hidrófobo con 8–12 aminoácidos hidrófobos y un segmento C-terminal más polar que finalmente sirve como lugar de corte para la escisión del péptido señal.

El péptido señal de 15–30 aminoácidos emerge del ribosoma al principio de la síntesis polipeptídica. A medida que surge del ribosoma, se une a una **partícula de reconocimiento de señal (SRP)** citoplasmática (véase figura 17.13). La SRP es una partícula alargada compuesta por seis proteínas distintas, más una molécula de RNA pequeña (7S) que sirve de almacén. La unión de la SRP detiene la síntesis de la proteína y el ribosoma se desplaza hacia el retículo endoplasmático. Allí la SRP reconoce y se une a un **receptor de SRP** o “**proteína de anclaje**” localizada en la cara citoplasmática de la membrana del retículo endoplasmático, mediante una reacción que requiere la

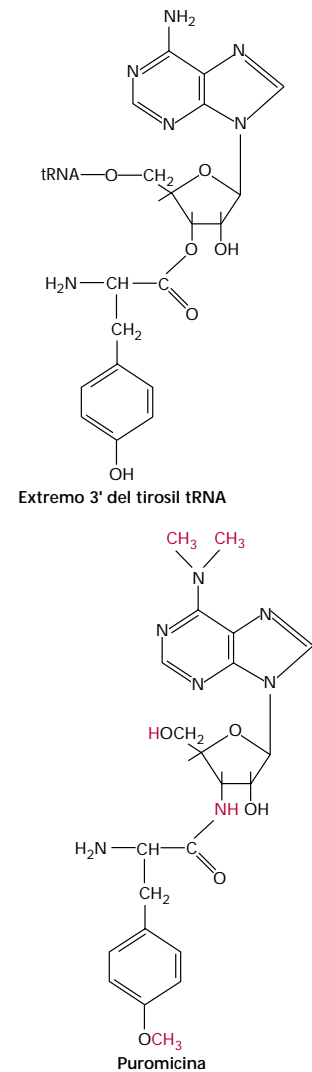


FIGURA 17.11 La puromicina (derecha) interfiere con la síntesis de proteínas al funcionar como un análogo del aminoacil-tRNA, en este caso tirosil-tRNA (izquierda) en la reacción de la peptidiltransferasa.

TABLA 17.9 Glucosiltransferasas de las células eucarióticas.

Azúcar transferido	Abreviatura	Dadores	Glucosiltransferasas
Manosa	Man	GDP-Man Dolicol-Man	Manosiltransferasa
Galactosa	Gal	UDP-Gal	Galactosiltransferasa
Glucosa	Glc	UDP-Glc Dolicol-Glc	Glucosiltransferasa
Fucosa	Fuc	GDP-Fuc	Fucosiltransferasa
<i>N</i> -Acetilgalactosamina	GalNAc	UDP-GlcNAc	<i>N</i> -Acetilgalactosaminiltransferasa
<i>N</i> -Acetilglucosamina	GlcNAc	UDP-GlcNAc	<i>N</i> -Acetilglucosaminiltransferasa
Ácido <i>N</i> -acetilneuramínico (o ácido silíaco)	NANA o NeuNAc SA	CMP-NANA CMP-SA	<i>N</i> -Acetilneuraminiltransferasa (Sialiltransferasa)

proteínas o células. La glucosilación de proteínas puede implicar la adición de unos pocos residuos de glúcidos, o la formación de grandes cadenas de oligosacáridos ramificados. Los sitios y tipos de glucosilación vienen determinados por la presencia de aminoácidos y secuencias apropiados sobre la superficie de la proteína, y por la disponibilidad de enzimas y sustratos para llevar a cabo las reacciones de glucosilación.

La glucosilación de proteínas se realiza por medio de una gran variedad de **glucosiltransferasas**, algunas de las cuales se encuentran en la tabla 17.9. Un centenar de enzimas distintos pueden catalizar esta reacción, aunque el mecanismo básico es similar para todos: un azúcar es transferido desde un sustrato dador activado hasta un receptor apropiado, generalmente otro residuo de azúcar que forma parte de un oligosacárido que está siendo construido. Los enzimas pueden mostrar tres tipos de especificidad: por el monosacárido transferido, por la estructura y secuencia de la molécula aceptora, y por el sitio y configuración del enlace formado.

Una clase de glicoproteínas posee azúcares unidos al nitrógeno de los grupos amida de residuos de asparagina, por un proceso conocido como ***N*-glucosilación**. El antibiótico **tunicamicina**, que impide la *N*-glucosilación, ha sido una herramienta valiosa para la elucidación de la ruta biosintética. La formación de oligosacáridos con enlaces *N* empieza en la luz del retículo endoplasmático, y continúa después con el transporte de la proteína al aparato de Golgi. Se requiere una secuencia específica de glucosilación, Asn-X-Thr (o Ser), en la que X puede ser cualquier aminoácido, excepto prolina o ácido aspártico, para llevar a cabo la *N*-glucosilación. No todas las secuencias Asn-X-Thr/Ser son glucosiladas, ya que algunas de ellas pueden no estar disponibles debido a la conformación adoptada por la proteína.

La biosíntesis de los oligosacáridos con enlace *N* empieza con la síntesis de un intermediario unido a un lípido (fig. 17.14). El **fosfato de dolicol** (estructura en la pág. 350), situado en la superficie citoplasmática de la membrana del retículo endoplasmático sirve como aceptor glucosilo de la *N*-acetilglucosamina. El GlcNAc-pirofosforil dolicol es un aceptor para la glucosilación secuencial y la formación de un (Man)₅(GlcNAc)₂-pirofosforil dolicol ramificado en la cara citoplasmática de la membrana. Tras la reorientación de este intermediario hacia la superficie luminal de la membrana del ER, se añaden secuencialmente cuatro manosas y tres residuos de glucosa adicionales para generar el intermediario completo. Este oligosacárido finalizado es transferido desde su transportador dolicol a un residuo de asparagina del polipéptido a medida que este último surge de la membrana del retículo endoplasmático. Así, la *N*-glucosilación se lleva a cabo **cotraduccionalmente**, es decir, a medida que la proteína es sintetizada, y de ahí que pueda afectar al plegamiento de la proteína.

La **modificación** de oligosacáridos por la **glucosidasas** implica la eliminación de algunos residuos de azúcar de la estructura recién transferida. Dentro de la luz del retículo endoplasmático rugoso, los residuos de glucosa, requeridos para la transferencia del oligosacárido desde su transportador dolicol, son secuencialmente eliminados, así como un residuo de manosa. Tales alteraciones marcan a la glicoproteína para ser transportada hacia el aparato de Golgi, donde puede sufrir cortes posteriores por glucosidasas. También pueden añadirse azúcares adicionales por una gran variedad de gluco-

Defectos en la síntesis de colágeno

Síndrome de Ehlers–Danlos, tipo IV

El síndrome de Ehlers–Danlos es un grupo de al menos 10 enfermedades que son distinguibles por criterios clínicos, genéticos y bioquímicos, pero que tienen todas ellas en común síntomas de debilidad estructural en el tejido conjuntivo. Los problemas comunes están relacionados con fragilidad e hiperextensibilidad de la piel, y con hipermovilidad en las articulaciones. Esta debilidad es resultado de defectos en la estructura del colágeno. Por ejemplo, el síndrome de Ehlers–Danlos del tipo IV está causado por defectos en la estructura del colágeno del tipo III, que es particularmente importante en la piel, arterias y órganos huecos. Entre las características se cuenta una piel fina y transparente, a través de la cual se ven fácilmente las venas, morados marcados y, a veces, una apariencia de envejecimiento en las manos y en la piel. Los problemas clínicos surgen a partir de una rotura arterial, perforación intestinal y ruptura del útero durante el embarazo o el parto. El tratamiento quirúrgico es difícil debido a la fragilidad tisular. El defecto básico del síndrome de Ehlers–Danlos tipo IV parece ser debido a cambios en la estructura primaria de las cadenas de tipo III. Esto es el resultado de una mutación puntual que conduce a la sustitución de los residuos de glicina y a la alteración de la triple hélice del colágeno, además de ignorarse algunos exones, lo que da lugar a un acortamiento del polipéptido y resulta en una secreción ineficiente, en una disminución de la estabilidad térmica del colágeno y en una formación anormal de las fibrillas de colágeno del tipo III. En algunas ocasiones el colágeno tipo III se acumula en el retículo endoplasmático rugoso, se modifica en exceso y se degrada muy lentamente.

Superti-Furga, A., Gugler, E., Gitzelmann, R., y Steimann, B. Ehlers–Danlos syndrome type IV: a multi-exon deletion in one of the two COL3A1 alleles affecting structure, stability, and processing of type III procollagen. *J. Biol. Chem.* 263:6226, 1988.

Osteogénesis imperfecta

La osteogénesis imperfecta es un grupo de al menos cuatro enfermedades distinguibles por criterios clínicos, genéticos y químicos, que se caracteriza por fracturas múltiples que dan lugar a deformaciones óseas. Existen diversas variantes que resultan de mutaciones que dan lugar a cadenas α (I) modificadas. En el ejemplo más claro, una mutación por delección causa la ausencia de un grupo de 84 aminoácidos en la cadena α 1(I). Estas cadenas α 1(I) acortadas logran sintetizarse gracias a que la mutación conserva el marco de lectura original. Las cadenas cortas α 1(I) se asocian con cadenas α 1(I) normales y con cadenas α 2(I) impidiendo de esta manera la formación normal de la triple hélice, lo que da lugar a la degradación de todas las cadenas, un fenómeno que bien podría llamarse “suicidio proteico”. Tres cuartas partes de las moléculas de colágeno tienen al menos, una cadena corta (defectiva) de colágeno α 1(I), amplificándose el efecto de este gen en heterocigosis. Otras formas de osteogénesis imperfecta son el resultado de mutaciones puntuales que sustituyen una de las glicinas por algún aminoácido. Ya que la glicina tiene que encajar en el interior de la triple hélice de colágeno, estas sustituciones desestabilizan esta hélice.

Barsh, G. S., Roush, C. L., Bonadio, J., Byers, P. H., y Gelinas, R. E. Intron mediated recombination causes an α (I) collagen deletion in a lethal form of osteogenesis imperfecta. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:2870, 1985.

Escorbuto y síntesis de hidroxiprolina

El escorbuto se produce por deficiencias de ácido ascórbico en la dieta. La mayor parte de los animales pueden sintetizarlo a partir de

la glucosa, pero el ser humano ha perdido este mecanismo enzimático. Entre otros problemas, la deficiencia en ácido ascórbico causa una disminución de la síntesis de hidroxiprolina debido a que la prolil hidroxilasa requiere ácido ascórbico. La hidroxiprolina proporciona átomos adicionales capaces de formar puentes de hidrógeno que estabilizan la triple hélice de colágeno. El colágeno con una cantidad insuficiente de hidroxiprolina pierde estabilidad térmica resultando menos estable que el colágeno normal a la temperatura corporal. Las manifestaciones clínicas resultantes son evidentes y comprensibles: supresión del crecimiento óseo ordenado en los niños, una cicatrización ineficiente y una fragilidad capilar elevada con el resultado de hemorragias, particularmente en la piel. La deficiencia grave de ácido ascórbico conduce en segundo lugar a una disminución en la velocidad en la síntesis de colágeno.

Crandon, J. H., Lund, C. C., y Dill, D. B. Experimental human scurvy. *N. Engl. J. Med.* 223:353, 1940.

Deficiencia de lisil hidroxilasa

En el síndrome de Ehlers–Danlos tipo IV existe una deficiencia en la lisil hidroxilasa. El resultado es la síntesis de los colágenos de tipo I y III de la piel con un menor contenido de hidroxilina, con lo que el entrecruzamiento entre las fibrillas de colágeno es menos estable. Aunque puede producirse un cierto grado de entrecruzamiento entre lisina y al-lisina, éste no es lo suficientemente estable y no madura tan rápidamente como lo hacen los entrecruzamientos entre hidroxilinas. Además, se añaden residuos de glucidos a la hidroxilina, aunque la función de los mismos es desconocida. Las características clínicas incluyen una marcada hiperextensibilidad de la piel y las articulaciones, cicatrización difícil, y deformidades músculo-esqueléticas. Algunos pacientes con esta forma del síndrome de Ehlers–Danlos tienen una forma mutante de lisil hidroxilasa con una constante de Michaelis para el ácido ascórbico mayor que el enzima normal. En consecuencia estos pacientes responden a dosis elevadas de ácido ascórbico.

Pinnell, S. R., Krane, S. M., Kenzora, J. E., y Glimcher, M. J. A heritable disorder of connective tissue: Hydroxyllysine-deficient collagen disease. *N. Engl. J. Med.* 286:1013, 1972.

Síndrome de Ehlers–Danlos, tipo VII

En el síndrome de Ehlers–Danlos tipo IV la piel se magulla fácilmente y es hiperextensible, pero las manifestaciones más importantes son la dislocación de las principales articulaciones como la cadera y la rodilla. La laxitud de los ligamentos es debido a la eliminación incompleta del propéptido amino terminal de las cadenas de procolágeno. Una variante de esta enfermedad es el resultado de la deficiencia de la procolágeno *N*-proteasa. Una deficiencia similar se observa en la enfermedad autosómica recesiva llamada dermatoparaxis del ganado bovino y ovino y gatos, en la que la fragilidad de la piel es tan extrema que puede llegar a ser letal. En otras variantes las cadenas de pro α 1(I) y pro α 2(I) pierden los aminoácidos del sitio de corte debido a un salto en un exón de los genes. Esto impide la rotura normal por la procolágeno *N*-proteasa.

Cole, W. G., Chan, W., Chambers, G. W., Walker, I. D., y Bateman, J. F. Deletion of 24 amino acids from the pro α (I) chain of type I procollagen in a patient with the Ehlers–Danlos syndrome type VII. *J. Biol. Chem.* 261:5496, 1986.

(continúa)