

## T13. MODIFICACIONES POST-TRANSCRIPCIONALES Y POST-TRADUCCIONALES

La **transcripción es el primer paso de la vía de expresión de la información genética y su principal punto de control**. Sin embargo, todos y cada uno de los pasos de esta vía están sometidos a múltiples y variados mecanismos de control y regulación. No debemos olvidar que el **objetivo final de la vía de expresión génica es asegurar** que la **cantidad y calidad de RNAs y proteínas** de cada célula en cada momento respondan a las necesidades fisiológicas. Por ello, en la regulación de este proceso, está la **base del funcionamiento de nuestro organismo**. En este sentido, tanto las modificaciones post-transcripcionales del RNA como las post- traduccionales de las cadenas polipeptídicas van a ser también puntos importantes de control y regulación de la vía.

### Modificaciones post-transcripcionales del RNA

Los RNAs sintetizadas mediante la transcripción, en la mayor parte de los casos, no son las moléculas de RNA funcionales que las células necesitan. Son lo que se denomina **“transcritos primarios”**. Moléculas de RNA **afuncionales** que deberán sufrir un exhaustivo proceso de **maduración (modificaciones post-transcripcionales)** para convertirse en los RNAs maduros funcionales de los que hemos hablado en temas anteriores.

Antes de centrarnos en las modificaciones post-transcripcionales concretas de los diferentes RNAs y sus mecanismos, señalaremos algunos **conceptos y aspectos generales del proceso** que pueden servirnos de **guía para su comprensión**:

1. El objetivo de las modificaciones post-transcripcionales es dar funcionalidad al RNA.
2. Los tipos de modificaciones más frecuentes van a ser la eliminación de secuencias, la adición de nuevas secuencias, y la modificación de las bases (a veces también de la ribosa) del RNA. En todos los casos, las modificaciones estarán controladas enzimáticamente y serán permanentes e irreversibles.
3. Las modificaciones post-transcripcionales van a ser más frecuentes y extensivas en los organismos eucariotas. En **procariotas**, al no existir núcleo, la transcripción y la traducción están acopladas en el tiempo y en el espacio; la transcripción de los genes que codifican para proteínas genera directamente los mRNAs sobre los que los ribosomas se disponen para realizar la traducción. En procariotas **no existe maduración de los mRNAs**.

En **eucariotas**, la transcripción tiene lugar en el núcleo y la traducción en el citoplasma; hay separación en tiempo y espacio de los procesos de transcripción y traducción. Los transcritos primarios resultantes de la transcripción, antes salir al citoplasma, son modificados extensamente para generar los diferentes RNAs funcionales. Destacan, por su relevancia y significado, las **modificaciones post-transcripcionales de los precursores de los mRNAs eucarióticos (hnRNAs)**.

4. Un punto muy importante a tener en cuenta es que las **modificaciones post-transcripcionales que debe sufrir un transcrito primario vienen determinadas por el gen transcrito**. Es decir, cada gen codifica para un determinado producto/s (tRNA, rRNA, mRNA, otros tipos de RNAs), y la función de las modificaciones post-transcripcionales va a ser la conversión del transcrito primario de cada gen en su producto/s funcional/es.

### Modificaciones post-transcripcionales de los hnRNAs

Hablamos de un **proceso exclusivo de eucariotas**. En estos organismos, los transcritos primarios de los genes que codifican para proteínas reciben el nombre particular de **hnRNAs** (RNAs heterogéneos nucleares). Estos genes son transcritos por la **RNAPolimerasa II** y, para transformarse en los **mRNAs funcionales**, los hnRNAs han de sufrir una exhaustiva maduración en el núcleo. Hasta el momento, se han descrito **4 tipos** de modificaciones post-transcripcionales para los hnRNAs. Sin embargo, **no todas son obligatorias** y, en su mayoría, son **co-transcripcionales**. Es decir, se realizan cuando todavía se está llevando a cabo la transcripción. A continuación, revisaremos estas modificaciones prestando particular atención a su función y significado fisiológico.

**1. Modificación del extremo 5' del RNA** naciente (recordar que la síntesis de RNA en la transcripción tiene lugar en sentido 5'-3'). Consiste en la adición de un resto de 7- metilguanosa que se une, mediante un puente 5'-5' trifosfato, al primer nucleótido del hnRNA. Esta estructura particular se denomina habitualmente "**cap**" (caperuza o capuchón) y, en ocasiones, también incluye la metilación de los grupos 2'-OH del primero o de los dos primeros nucleótidos del hnRNA. La adición del cap está catalizada por enzimas específicas, se produce co-transcripcionalmente y es la **única obligatoria** para todos los hnRNAs. Sin embargo, hay que indicar que el cap no es exclusivo de los mRNA, ya que está presente también en otros tipos de RNAs eucarióticos.

La adición del cap cumple diferentes **funciones**. La primera es la de **protección frente a exonucleasas** que funcionan 5'-3'. Las exonucleasas son capaces de romper los enlaces fosfodiéster en 5' o 3' que mantienen la estructura primaria del RNA, pero no los que sustentan el puente 5'-5' trifosfato. De esta forma, el cap va a prevenir la degradación del hnRNA. Por otra parte, el cap es la señal reconocida por la maquinaria traduccional (factor eIF4E) para iniciar la traducción del mRNA. Por lo tanto, otra de sus funciones es "**marcar**" al hnRNA naciente como futuro mRNA que debe ser traducido.

**2. Modificación del extremo 3' del RNA** naciente. Consiste en la adición sucesiva a este extremo de numerosos nucleótidos (hasta 200-300 residuos) de Adenina (**poliadenilación**) para formar la denominada "**cola poliA**". La poliadenilación viene desencadenada por la aparición en el hnRNA de una secuencia característica (secuencia consenso AAUAAA) que es reconocida por una endonucleasa específica. Tras el reconocimiento y corte del hnRNA por la endonucleasa, se activa una poliA- polimerasa que es la que lleva a cabo la poliadenilación. La poliA-polimerasa, en esencia, funciona como las RNAPol pero sin molde y utilizando ATP como único sustrato. La poliadenilación se produce co-transcripcionalmente y **no es obligatoria**, dado que existen mRNAs que carecen de cola poliA (p.e. los de las histonas).

Se han propuesto diversas **funciones** para la cola poliA. Al igual que el cap, serviría de **protección frente a exonucleasas 3' -5'**. Esta función estaría apoyada por la observación experimental de que la longitud de las colas poliA disminuye con el tiempo de permanencia del mRNA en el citoplasma. Igualmente, su probada interacción con ciertas proteínas, puede contribuir a la protección del mRNA por este extremo. Otra función no menos importante podría ser la de **incrementar la eficiencia de traducción del mRNA**; ésta se realizaría a través de la interacción de una proteína que reconoce específicamente la cola poliA (PABP) con los factores de iniciación de la traducción (ver tema 12; inicio de traducción).

Una característica **importante** de la poliadenilación es que pueden existir **sitios alternativos** para realizarla en una misma molécula de hnRNA. El uso de estos sitios vendrá determinado por las condiciones del entorno. El resultado de la poliadenilación alternativa será que, partiendo del mismo hnRNA (**mismo gen**), se podrán obtener diferentes mRNAs y, por lo tanto, **diferentes proteínas**.

**3. Splicing: Eliminación de intrones y unión de exones.** La parte estructural de la mayoría de genes eucarióticos, la que se transcribe a RNA, está formada por intrones y exones. Los intrones son largas secuencias de nucleótidos (suelen constituir la mayor parte del gen) que no aparecen finalmente en el mRNA, y que han sido eliminados mediante el proceso de splicing. Dada la complejidad de este proceso, destacaremos sólo sus **aspectos principales**.

El primero de ellos es que el splicing debe realizarse con una **precisión absoluta**, entre unos nucleótidos concretos, ya que el desplazamiento en un único nucleótido puede cambiar totalmente la pauta de lectura del mRNA.

En el splicing, la información necesaria para la eliminación de los intrones y la capacidad para desencadenar y “catalizar” el proceso se encuentran en el propio intrón (ejemplo de RNA **autocatalítico**). Así, en el splicing van a ser cruciales los nucleótidos de los lindes intrón-exón (concretamente, los dos primeros y los dos últimos nucleótidos del intrón), una región del intrón rica en pirimidinas próxima al sitio de splicing 3' y, particularmente, el nucleótido de Adenina del denominado “centro de ramificación”.

A nivel químico, el splicing consiste simplemente en dos reacciones sucesivas de **transesterificación**. Es decir, en el cambio de posición de dos enlaces éster sin modificar su número. Las reacciones de transesterificación serán desencadenadas y dirigidas por el grupo OH en 2' del nucleótido de Adenina del centro de ramificación. (**Nota:** intentar seguir el curso de las reacciones de transesterificación a través de las imágenes del tema en PowerPoint).

La eliminación de los intrones tiene lugar en los denominados **espliceosomas** (cuerpos de splicing). Éstos son asociaciones dinámicas, altamente organizadas de proteínas y snRNAs unidos al hnRNA que se está procesando. Son los elementos del espliceosoma (concretamente los **snRNAs**) los encargados de **orientar al hnRNA** para la correcta eliminación de los intrones.

Es importante destacar que la mayoría de genes eucarióticos (se cree que más del 90%) pueden sufrir **splicing alternativo**. Es decir, hacer un uso diferencial de los puntos de splicing en función de las señales que reciben del entorno. La reordenación diferencial de los exones de los hnRNAs, al igual que ocurría con la poliadenilación, permite la obtención de diferentes mRNAs (y por lo tanto de **diferentes proteínas**) a partir de la información de un **mismo gen**.

Comentar, finalmente, la importancia de las **mutaciones** que afectan a **secuencias intrónicas**. Como ya hemos señalado, los intrones son portadores de la información requerida para su eliminación. Por lo tanto, las mutaciones que afecten a dicha información pueden conducir a splicing aberrante y a la obtención de mRNAs y proteínas afuncionales o defectuosas. Ciertos ejemplos de  $\beta$ -talasemias ilustran la relación entre mutaciones intrónicas y enfermedad.

4. **Editado**. Bajo este término se engloban aquellas modificaciones, distintas de las anteriores, que permiten **dar la forma final al mRNA**. En eucariotas inferiores se han descrito procesos muy exhaustivos de editado por **adición de secuencias** de nucleótidos, particularmente conteniendo Uracilo. Sin embargo, en eucariotas superiores, los casos descritos de editado son bastante escasos y limitados, normalmente, a **cambios en un nucleótido**. Uno de los ejemplos mejor estudiados es el del gen de la apolipoproteína B (ApoB). A partir del gen ApoB se sintetizan dos apoproteínas diferentes en intestino e hígado dependiendo de que se produzca o no editado del mRNA. En el hígado, el mRNA de ApoB no sufre editado y da lugar, mediante traducción, a la ApoB-100. En intestino, el mRNA de ApoB sufre un proceso de editado consistente en la desaminación oxidativa de la Citosina del codón 2153 (CAA). Como consecuencia, en esta posición del mRNA aparece ahora el codón UAA de terminación de traducción. La lectura del mensajero finaliza en este punto y la proteína fabricada es la ApoB-48.

(**Nota:** intentar analizar la repercusión biológica de este ejemplo a partir del papel de las apolipoproteínas en el transporte de lípidos y de las características estructurales y funcionales de las proteínas ApoB-100 y ApoB-48).

### Maduración de los transcritos primarios de tRNAs y rRNAs

Los genes que codifican para los diferentes tipos de tRNAs y rRNAs se encuentran bastante repetidos en el genoma y forman agrupaciones que dirigen su transcripción desde un **promotor común**. Debido a esta organización, el resultado de la transcripción es un **transcrito primario conjunto**, muy grande, a partir del cual, por acción de **endonucleasas y exonucleasas**, se van liberando y perfilando los fragmentos de RNA que madurarán individualmente para dar lugar a los tRNAs y rRNAs funcionales. El proceso de maduración incluirá también **modificaciones y adiciones de bases** que serán particulares para cada molécula. En este caso, las líneas generales del proceso de maduración son similares en procariontes y eucariotas.

## Modificaciones post-traduccionales: maduración de las cadenas polipeptídicas

El **objetivo** de las modificaciones post-traduccionales es **convertir las cadenas polipeptídicas** resultantes de la traducción en las **proteínas funcionales** que nuestro organismo requiere. Si volvemos sobre los pasos de la vía de expresión génica, el resultado directo de la traducción no son proteínas funcionales. Son cadenas polipeptídicas afuncionales que deberán ser modificadas (**modificaciones post-traduccionales; maduración**) para adquirir su funcionalidad.

Resulta imposible abarcar en este tema los **innumerables tipos** de modificaciones post-traduccionales descritos. Éste es un campo de intensa investigación al que continuamente se están incorporando nuevos tipos de modificaciones. Una idea global sobre la complejidad y peculiaridad de las modificaciones post-traduccionales de cada proteína la obtenéis al realizar el trabajo tutorizado sobre **la insulina**. Si extrapolamos, cada proteína será diferente. Sin embargo, basta tener en cuenta que **cada cadena polipeptídica, cada proteína, sufrirá el conjunto de modificaciones propio y característico requerido para hacerla funcional en el lugar y el tiempo determinados por las necesidades fisiológicas**. Por supuesto, al igual que el resto de procesos que conforman la vía de expresión génica, la maduración proteica va a estar **estrictamente regulada y controlada enzimáticamente**.

A continuación, comentaremos brevemente algunos de los tipos más frecuentes y conocidos de modificaciones post-traduccionales haciendo particular hincapié, como siempre, en su función y significado fisiológico.

1. **Plegamiento en el espacio para adquirir la estructura tridimensional funcional.** **Todas las proteínas** deben alcanzar el grado de plegamiento y complejidad estructural requeridos para realizar su función (estructura terciaria o cuaternaria). Este proceso requiere en muchas ocasiones, como ya habéis visto en los temas de proteínas, de la colaboración de chaperonas o chaperoninas.
2. **Modificación de los extremos amino y/o carboxilo terminales** de las cadenas polipeptídicas. La modificación puede consistir en la adición de grupos químicos (p.e. acetilación del extremo amino), o en la eliminación uno o más residuos de aminoácidos (p.e. eliminación de la metionina presente en el extremo amino-terminal de todas las proteínas).
3. **Formación de puentes disulfuro (S-S) entre residuos de cisteína.** La presencia de puentes disulfuro inter o intracatenarios es habitual en el mantenimiento de la estructura y función de multitud de proteínas. La formación de dichos puentes que implica, en ocasiones, residuos de cisteína muy alejados en la secuencia lineal, es un proceso post-traduccionales.
4. **Adición de grupos prostéticos.** La funcionalidad de numerosas proteínas requiere de la unión covalente, post-traduccionales, de grupos de naturaleza no proteica denominados grupos prostéticos. La naturaleza de dichos grupos es químicamente muy variada. Ejemplos serían el grupo hemo de la hemoglobina o la biotina que contienen los enzimas que catalizan reacciones de carboxilación.

5. **Unión de restos glucídicos o lipídicos.** La unión covalente de glúcidos a los restos laterales de los aminoácidos que conforman las proteínas es una modificación post- traduccional extraordinariamente frecuente. La mayoría de proteínas de secreción o dispuestas en la cara externa de las membranas son glicoproteínas. La glicosilación, entre otras funciones, incrementa la **solubilidad**. Por el contrario, la unión covalente de restos lipídicos disminuye la solubilidad de las proteínas y les permite, por ejemplo, anclarse en la parte lipídica de las membranas dirigiendo su localización.

(**Nota:** las proteínas a las que se unen covalentemente restos lipídicos NO se las denomina lipoproteínas. Ver el significado y función de las lipoproteínas)

6. **Eliminación de secuencias de señalización** que dirigen a las proteínas hacia sus destinos. Todas las proteínas de secreción o localizadas en compartimentos especializados se generan inicialmente como **pre-proteínas**. Este término hace referencia a que contienen secuencias que permiten dirigir las hacia estos destinos. El ejemplo más representativo es el denominado péptido señal o secuencia señal. Éste consiste en una corta secuencia de aminoácidos localizada en el extremo amino terminal de la proteína (el primero que se fabrica en la traducción) que, al ser reconocida por la partícula de reconocimiento de la señal (SRP), permite dirigir al ribosoma hacia el retículo endoplásmico. La interacción de la SRP con su receptor en la membrana del retículo facilita la entrada de la proteína en este compartimento. Una vez cumplida su función, el péptido señal es eliminado de la pre-proteína por rotura proteolítica liberándose la proteína.
7. **Eliminación de secuencias que mantienen a las proteínas inactivas.** Ciertas proteínas se fabrican inicialmente con secuencias que las mantienen inactivas hasta que es requerida su actuación. Son las denominadas **pro-proteínas** o, en el caso de enzimas, pro-enzimas o zimógenos. El corte proteolítico de la secuencia inactivante permite liberar, cuando es requerida, la forma activa de la proteína. Uno de los ejemplos más representativos de este proceso es la síntesis de las proteasas que participan en la digestión de las proteínas de los alimentos a nivel intestinal.
8. **Modificación covalente de los restos laterales de los aminoácidos.** La adecuada funcionalidad de gran número de proteínas es críticamente dependiente de la modificación química de ciertos residuos de aminoácidos. Entre las modificaciones más frecuentes se encuentran la **hidroxilación** (p.e. de la prolina en el colágeno para generar hidroxiprolina), la **carboxilación** (p.e. del ácido glutámico en los factores de la coagulación para generar restos de  $\gamma$ -carboxiglutámico) o la **fosforilación**. La fosforilación-desfosforilación reversible (catalizadas por quinasas y fosfatasas, respectivamente) de proteínas es el proceso más extendido y estudiado de regulación de la actividad proteica.

### Notas de refuerzo:

- En base al proceso de síntesis de la insulina abordado en el trabajo tutorizado, y a los temas estudiados de proteínas, intentar relacionarlos con las modificaciones post-traduccionales aquí señaladas
- Profundizar en la importancia y significado bioquímico-fisiológico-patológico de la hidroxilación del colágeno, la carboxilación de los factores de coagulación y la fosforilación permanente de la caseína de la leche.