

El ribosoma y la traducción genética

El alto grado de conservación del ribosoma en todos los organismos indica que su temprana aparición fue crucial para el desarrollo de la vida. Además de traducir la información genética en proteínas, participa en la regulación de la expresión génica

Daniel A. Colón Ramos y Antón Vila Sanjurjo

CONCEPTOS BASICOS

- El ribosoma es el orgánulo celular que traduce el código genético en instrucciones funcionales. El proceso ocurre en todos los organismos.
- Su estructura y su función no han variado mucho desde su aparición en la faz de la Tierra, en un período anterior al surgimiento de las primeras células.
- Sin embargo, posee también una versatilidad bioquímica que le permite adaptar su función a las circunstancias con que se enfrentan los organismos.

Todos los seres vivos se integran en uno u otro de los tres grandes reinos: Eubacteria, Arquea y Eucaria. El primer reino comprende organismos unicelulares minúsculos; por ejemplo, las bacterias *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*, y todos los patógenos humanos de naturaleza bacteriana. El reino Arquea se compone también de organismos unicelulares de tamaño equiparable al de las bacterias, pero muy diferentes de ellas desde el punto de vista bioquímico. Acostumbran medrar en ambientes con temperaturas y condiciones químicas extremas. El resto de los organismos se encuentran en el reino Eucaria, que contiene a los seres vivos que nos son más familiares: las plantas, los animales y los hongos.

Si nos centramos en Eucaria, a primera vista parecería que la agrupación de organismos tan diferentes dentro de un mismo reino se hubiese realizado de forma caprichosa. ¿Cómo es posible que una levadura (subreino Fungi) o incluso un pino (subreino Plantae) estén bajo la misma categoría que los seres humanos (subreino Animalia)? Pese a la divergencia física entre dichos organismos, las células que los componen muestran semejanzas asombrosas. En efecto, todas las células de organismos eucariotas (los pertenecientes a Eucaria) tienen

orgánulos, con funciones muy especializadas, de los que carecen las células de los otros dos reinos. Además, todas las células eucariotas poseen un núcleo celular, del que carecen las células de Eubacteria y Arquea. En el núcleo se encuentra la información genética, en forma de ADN. Esta compartimentalización del material genético no existe en los reinos Eubacteria y Arquea.

Si bien a nivel celular podemos encontrar semejanzas entre organismos a primera vista tan dispares como los de los tres subreinos eucariotas, a nivel molecular las semejanzas van más allá del reino Eucaria. El estrecho parecido molecular entre los tres reinos refleja un mismo origen evolutivo de los seres vivos. Esa realidad, que lleva a su más extrema consecuencia la teoría de Darwin sobre la evolución, se ha descubierto gracias, en buena medida, al estudio del ribosoma, una máquina biológica molecular que hallamos en todos los seres vivos y que tiene por función “traducir” el material genético en instrucciones para la célula [véase “Ribointerruptores”, por Jeffrey E. Barrick y Ronald R. Breaker; INVESTIGACIÓN Y CIENCIA, marzo de 2007]. Entender la función del ribosoma es entender la naturaleza del material genético, su raíz evolutiva y el origen de la vida tal y como la conocemos.

EUBACTERIA

A primera vista, los dos ácidos nucleicos, el ADN y el ARN, podrían parecer casi iguales. De hecho, la única diferencia entre ellos es la presencia de un átomo extra de oxígeno en la estructura química del ARN. Esta pequeña diferencia da lugar a propiedades bioquímicas muy distintas, que dictan y limitan la función biológica de cada una de estas moléculas. El ADN, que se organiza en largas cadenas de doble hélice, es muy estable químicamente; constituye, pues, un compuesto ideal para el almacenamiento de información genética, razón por la cual lo encontramos en todas las células actuales de los tres reinos de la vida.

No parece, sin embargo, que el ADN haya sido la molécula primigenia que dio lugar a la vida. Servir de material genético sería sólo una de las características de la molécula primigenia; la otra sería la de poseer capacidad de autorreplicación, lo cual requiere la habilidad de poder dirigir reacciones químicas de autoensamblaje. La estabilidad química del ADN, que tan bien le ha servido en su función de almacenamiento de información en las células actuales, comporta una seria limitación para su capacidad catalítica.

El ARN y su "mundo"

El ARN también puede almacenar información genética, pero su estructura química lo hace más inestable que el ADN. Una propiedad que, sin embargo, le confiere capacidad para dirigir reacciones químicas. Hasta mediados de los ochenta se creía que los únicos polímeros celulares que podían controlar reacciones químicas, es decir, con poder catalítico, eran un grupo de proteínas denominadas enzimas. Fue entonces cuando Thomas Cech y Sidney Altman, de las universidades de Colorado y Yale, observaron que, en algunos organismos, ciertas moléculas de ARN gobernaban reacciones químicas. Se las denominó ribozimas, o enzimas de ARN. El descubrimiento les valió el premio Nobel en 1989 y supuso una revolución en las teorías sobre el origen de la vida, al erigirse el ARN como la molécula primigenia capaz de cumplir la función de almacenamiento y replicación de información genética.

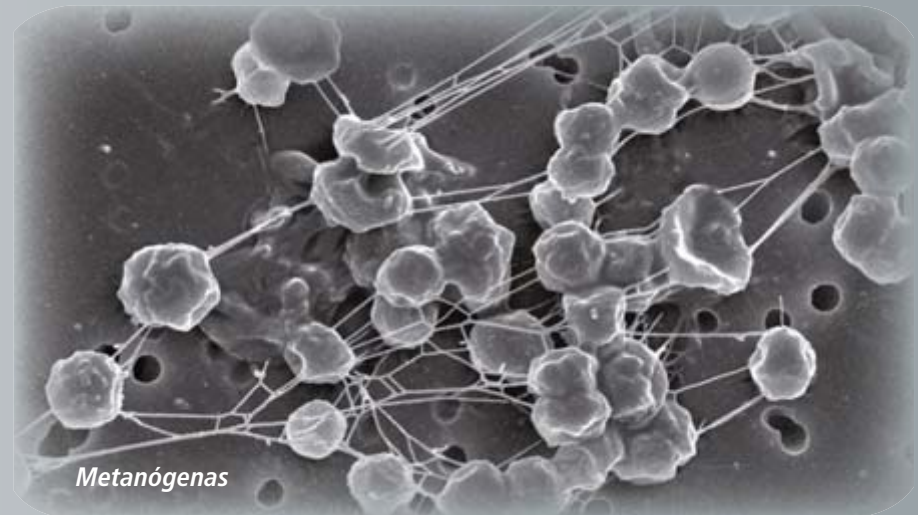
Se creó así la hipótesis del "mundo de ARN", que propone que la transición del

1. PESE A LAS ENORMES DIFERENCIAS macroscópicas y microscópicas entre ellos, los seres de los tres reinos de la vida, Arquea, Eubacteria y Eucaria, presentan sorprendentes semejanzas en el nivel molecular. El ribosoma, cuya estructura se ha conservado en muy buena medida a lo largo de miles de millones de años de evolución de la vida, es uno de los más claros ejemplos.



Salmonella

ARQUEA



Metanógenas

EUCARIA



Plantas, hongos y animales

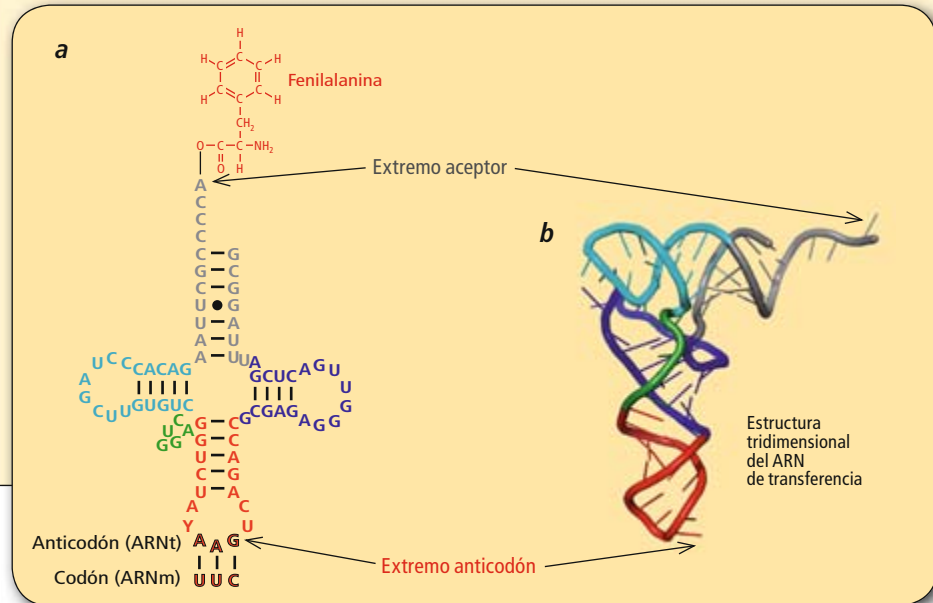
LA ESTRUCTURA DEL ARN Y LA LECTURA DEL CODIGO GENETICO

El ARN celular no forma largas cadenas de doble hélice como el ADN. Raramente produce cadenas con complementariedad perfecta; es decir, un nucleótido de adenosina (A) de una cadena no siempre se liga a uno de uracilo (U) de la otra, o uno de citosina (C) con uno de guanina (G). Esto no significa que sus bases no tiendan también a emparejarse, ya que las bases del ARN no sólo se emparejan siguiendo la ley de la complementariedad, sino que explotan además otras posibilidades de interacción que el ADN no utiliza.

La doble hélice de ARN se forma a través del emparejamiento de pequeñas regiones complementarias pertenecientes a una misma cadena, como se observa en *a*, correspondiente a un ARN de transferencia (ARNt) que codifica al aminoácido fenilalanina. Nótese la presencia de un emparejamiento de bases inusual G-U, marcado con un punto, y la de una base modificada, wibutosina, representada por Y. (La presencia de bases modificadas es común en los ARNt.)

Los ARNt portan su aminoácido correspondiente en su extremo aceptor. Esto se muestra en *a* por medio de la estructura molecular de la fenilalanina (*en rojo*) unida

al último nucleótido del ARNt. Al mismo tiempo, los ARNt se unen por su extremo anticodón a su secuencia de bases complementaria (el codón) en el ARN mensajero (ARNm). En *a* se muestra cómo el ARNt de la fenilalanina “lee” el codón que especifica a este aminoácido, UUC. Tras un primer plegamiento de las cadenas de ARN a través de la formación de zonas discretas de doble hélice, la estructura tridimensional del polímero se complica mediante el establecimiento de otros tipos de interacciones entre sus nucleótidos. Se generan estructuras tridimensionales muy complicadas, como se muestra en *b*.



mundo prebiótico al mundo vivo se realizó por medio de moléculas de ARN con capacidad de autorreplicación. De acuerdo con esa teoría, las proteínas y el ADN surgieron posteriormente al florecimiento del mundo de ARN. Aunque existen multitud de incógnitas con respecto a la hipótesis, se da por cierto que si el primordial mundo de ARN existió, su final sobrevino una vez que el ARN “aprendió” a sintetizar las primeras proteínas. Dada la versatilidad y la poderosa capacidad catalítica de las proteínas, éstas acabarían por reemplazar al ARN en la mayoría de las funciones enzimáticas. Por su parte, el ADN terminó por sustituir al ARN en la tarea de almacenamiento de información.

La evolución del ADN como material genético y de las proteínas como principales agentes catalíticos de la célula no eliminó de la célula al ARN. Muy al contrario: teniendo en cuenta que no hay en los organismos modernos proceso más fundamental que la traducción de la información genética almacenada en el ADN, tarea en la cual el ARN desempeña un papel principal, podríamos decir que el ARN es la molécula central de la vida.

ARNr y traducción genética

El ribosoma es un complejo gigantesco. Contiene normalmente 3 o 4 cadenas de ARN —el ARN ribosómico (ARNr)— y un número variable de proteínas, dependiendo del organismo en cuestión. Algunos segmentos de la secuencia del ARNr se han conservado a lo largo de la evolución a través de los tres reinos: Eubacteria, Arquea y Eucaria. De la misma manera que un botánico puede mirar los anillos del tronco de un árbol y entender su historia, un biólogo molecular puede comparar las secuencias ribosómicas de distintos organismos y comprender su historia evolutiva. Las secuencias de ARNr constituyen el más detallado archivo existente de la evolución de la vida en la Tierra, de ahí que los tres reinos de la vida se hayan definido a partir de la comparación de estas secuencias. La conservación de los ARNr es tal, que da a entender que todos los ribosomas existentes descienden de un primitivo protorribosoma. Se cree que la aparición del protorribosoma marcó en la evolución el final del “mundo del ARN” y el principio de la célula moderna.

Los ribosomas constan de dos subunidades desiguales, la subunidad pequeña y la subunidad grande. Las partículas ribosómicas pueden separarse mediante centrifugación, pues sus coeficientes de sedimentación varían de acuerdo con el tamaño y la forma. Se recurre a estos coeficientes para designar a las partículas ribosómicas. Así, al ribosoma más estudiado, el de la enterobacteria *Escherichia coli*, se le denomina 70S (en unidades de sedimentación Svedberg, o S, en honor de Theodor Svedberg) y se compone de una subunidad 30S y otra 50S. La subunidad 30S de *E. coli* está compuesta de un ARNr, con coeficiente de sedimentación 16S y 21 proteínas, mientras que la subunidad 50S contiene 2 ARNr, cuyos coeficientes son 23S y 5S, y alrededor de 30 proteínas. Los ribosomas eucariotas son mayores, 80S, y se componen de una subunidad 40S, otra 60S y alrededor de 80 proteínas.

Aunque todas las secuencias génicas que codifican proteínas se hallan en el ADN genómico, el ribosoma no puede leer directamente el ADN. Por ello, los genes se transcriben primero en ARN mensajeros (ARNm), unidades discretas de ARN que suelen contener la secuencia de un solo gen.

En el código genético, cada uno de los 20 aminoácidos está especificado por un triplete de bases, o codón, en el ARNm. Al existir cuatro nucleótidos (A, C, G y T en el ADN, o A, C, G y U en el ARN), se pueden formar un total de 64 tripletes diferentes. El código genético soluciona esa disparidad entre el número de aminoácidos y tripletes asignando más de un triplete a cada aminoácido (por lo cual se dice que el código es “degenerado”). Tan básico para la vida es este código, que no ha cambiado en millones de años y es casi universal, de modo que un gen humano se puede traducir en la proteína correcta cuando es insertado en una célula de *E. coli*.

En todos los seres vivos, otra molécula de ARN, el ARN de transferencia, o ARNt, lee los codones del ARNm dentro del ribosoma. La lectura del código genético en el ribosoma utiliza el principio de complementariedad por el que se forma la doble hélice del ADN. Adenina, A, se complementa con uracilo, U (reemplazado por timina o T en el ADN), y citosina, C, con guanina, G. Los dos extremos de la molécula del ARNt son fundamentales durante la traducción del código genético. El extremo aceptor del ARNt se une específicamente al aminoácido leído por el ARNt, mientras que el extremo anticodón contiene dos o tres bases complementarias a las del codón o triplete correspondiente a ese aminoácido en el ARNm. De este modo, cada ARNt puede “leer” la secuencia, o codón, que codifica su aminoá-

cido correspondiente. Existe, por lo menos, un ARNt específico para cada aminoácido.

Si los ARNt leen la secuencia específica del ARNm que codifica a su aminoácido correspondiente, ¿para qué se necesita el ribosoma? Por dos razones fundamentales. Primero, el ribosoma asegura que se siga la secuencia de decodificación especificada por el ARNm, de modo que las proteínas se sinteticen correctamente; en segundo lugar, el ribosoma cataliza la reacción de transferencia peptídica entre aminoácidos consecutivos que permite que se polimericen, es decir, que formen las cadenas proteicas. Estas dos funciones se encuentran separadas física y temporalmente.

Así, mientras se traduce el código genético en la subunidad pequeña, el ensamblaje secuencial de los aminoácidos tiene lugar en la subunidad grande. Para asegurar el cabal desarrollo del proceso, el ribosoma dispone de tres sitios (E, P y A) a los que se unen tres moléculas de ARNt (una por cada sitio) y un sitio al que se une el ARNm.

Las actividades fundamentales del ribosoma —la decodificación, la actividad de transferencia peptídica, o peptidil-transferasa, y la translocación— son propiedades intrínsecas del ARN ribosómico. Por esto se considera al ribosoma la mayor de las ribozimas conocidas. A finales de los años sesenta se sospechó ya que la catálisis de la actividad peptidil transferasa dependía por entero del ARN. Desde entonces se acumularon datos bioquímicos que corroboraban dicho supuesto. Sin embargo, la prueba definitiva llegó con la visualización del ribosoma por medio de la cristalografía de rayos X, obra del grupo de Tom Steitz (galardonado por ello con el premio Nobel de química de 2009), de la Universidad de Yale, ratificada más tarde por otros grupos, el nuestro incluido: se mostró que el centro de transferencia peptídica constaba sólo de ARN.

En fecha más reciente, el grupo de Harry Noller, de la Universidad de California en Santa Cruz, uno de los máximos contribuidores al entendimiento del ribosoma, ha probado también que la translocación de los ARNt (su cambio de posición en el ribosoma) es una función en la que se halla íntimamente implicado el centro de transferencia peptídica. Por último, el propio mantenimiento de la complementariedad entre codón y anticodón durante la decodificación está controlado por un grupo de bases del ARNr de la subunidad pequeña, tal y como propuso inicialmente el grupo de Harry Noller y después comprobó el laboratorio de Venki Ramakrishnan (también premiado con el Nobel de química de 2009), de la Universidad de Cambridge, por medio de la cristalografía de rayos X.

Entender la función del ribosoma es entender la naturaleza del material genético, su raíz evolutiva y el origen de la vida.

Regulación de la expresión génica en el nivel de la traducción

1. Todos cometemos errores, el ribosoma también.

El carácter de ribozima del ribosoma subraya su papel de molécula de transición entre el mundo de ARN y el mundo de las complejas células actuales. La supervivencia de estas células depende de la expresión, en perfecta coordinación, de una multitud de genes. Existen unos 4500 genes en *E. coli*, unos 6000 en las levaduras y más de 25.000 en el ser humano. La regulación del flujo de información desde el ADN hacia las proteínas se desarrolla en varios niveles; entre otros, la replicación del ADN genómico, la transcripción, el procesamiento de los ARNm y la traducción. La mayor parte del control de ese flujo se produce en la transcripción; sin embargo, existen multitud de procesos cuya regulación ha de ser muy rápida y por ello requieren que el punto de control se halle mucho más cercano al producto final, la proteína.

Un ejemplo de regulación en el nivel de la traducción sería el caso del factor de terminación de la traducción RF2. Este factor, que en *E. coli* se encarga de leer los codones de terminación de la traducción, UAA y UGA, se regula por medio de un mecanismo que induce, de forma controlada, la comisión de errores por parte del ribosoma. Durante la decodificación, el ribosoma distingue los ARNt incorrectos de los correctos, para que sólo estos últimos permanezcan en el sitio de decodificación (sitio A) y puedan usarse en el siguiente paso de la traducción. En condiciones normales, el error es mínimo: un aminoácido equivocado por cada 10.000 lecturas.

Sin embargo, la comisión controlada de errores durante la decodificación puede ser utilizada por ésta para la regulación de la expresión génica, en un proceso llamado recodificación. Como analogía, veamos lo que le ocurre a una misma ristra de letras con diferentes marcos de lectura:

Amor: irás y regresarás,
nunca en la guerra perecerás.

¡A morir! Así regresarás nunca,
en la guerra perecerás.

Si bien las letras son las mismas, los dos mensajes difieren entre sí. Del mismo modo, el ribosoma puede leer los ARNm de varias maneras. Cuando los ribosomas se unen al “codón de iniciación”, queda establecido el marco de lectura. En el caso de RF2, la síntesis de la proteína completa y activa requiere que el marco de lectura cambie durante la traducción. La regulación de los niveles de

RF2 está perfectamente ajustada a la exigencia de la célula, ya que el salto al marco de lectura alternativo depende de la concentración celular de RF2.

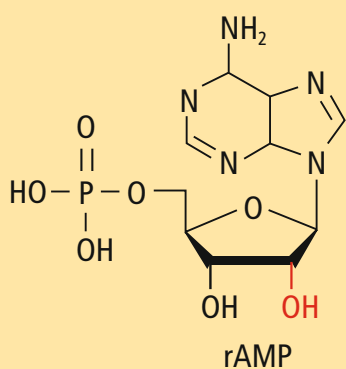
2. Proteínas que se atascan en el ribosoma.

Siendo la decodificación y la actividad peptidil-transferasa las funciones principales del ribosoma, no extraña que la célula aproveche la región de la subunidad grande encargada de esta última actividad (el centro peptidil-transferasa) para la regulación de la expresión génica. Nos ofrece un ejemplo la expresión de los genes que codifican las proteínas TnaA y TnaB, encargadas de la degradación del aminoácido triptófano. Esta ruta metabólica permite que las especies bacterianas que la poseen puedan crecer en un medio de cultivo cuya única fuente de carbono es ese aminoácido.

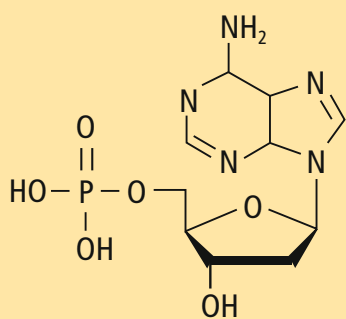
Los genes necesarios para activar esta ruta, *tnaA* y *tnaB*, se agrupan en una unidad de expresión multigénica, el operón, en este caso el operón de la triptofanasa o *tna*. Los distintos genes que componen los operones se transcriben en un único ARNm. El mecanismo de regulación del operón *tna* ha sido elucidado por el grupo de Charles Yanofsky, de la Universidad de Stanford. Para comprender cómo funciona este mecanismo es necesario señalar que en las bacterias la transcripción y la traducción ocurren casi simultáneamente, de modo que el ribosoma sigue físicamente a la ARNpol (ARN polimerasa, la enzima encargada de transcribir el ADN en ARN) a medida que ésta sintetiza el ARNm.

El operón *tna* contiene cerca de su comienzo, y precediendo a *tnaA*, un corto marco de lectura (el espacio entre un codón de iniciación y uno de terminación), *tnaC*, que codifica una proteína de 34 aminoácidos, TnaC. Compete a TnaC permitir que la expresión de los genes importantes del operón, *tnaA* y *tnaB*, responda a los niveles de triptófano, lo cual, como veremos, ocurre sin que la proteína llegue a salir del ribosoma.

La regulación del operón *tna* tiene lugar durante la traducción de este pequeño marco de lectura. En ausencia de triptófano, la iniciación de la transcripción es muy eficiente, pero, como veremos, termina pronto y no alcanza los genes *tnaA* y *tnaB*. En tales condiciones, el ribosoma que sigue a la ARNpol llega al codón de terminación de *tnaC* (UGA) y termina la traducción de la proteína TnaC, que se desprende del ribosoma por la acción de RF2. Entonces, el ribosoma se desensambla del ARNm y este último queda libre para unirse al factor de terminación de la transcripción Rho. Una vez unido, el factor busca a una ARNpol para abortar la transcripción y, la



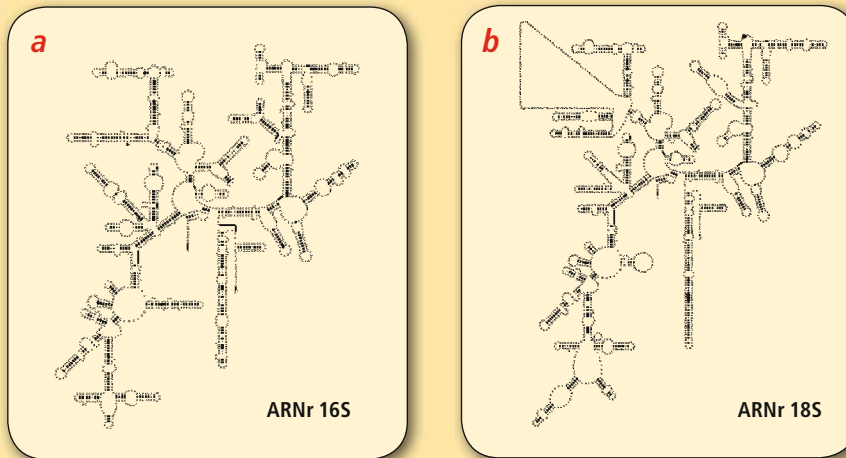
rAMP



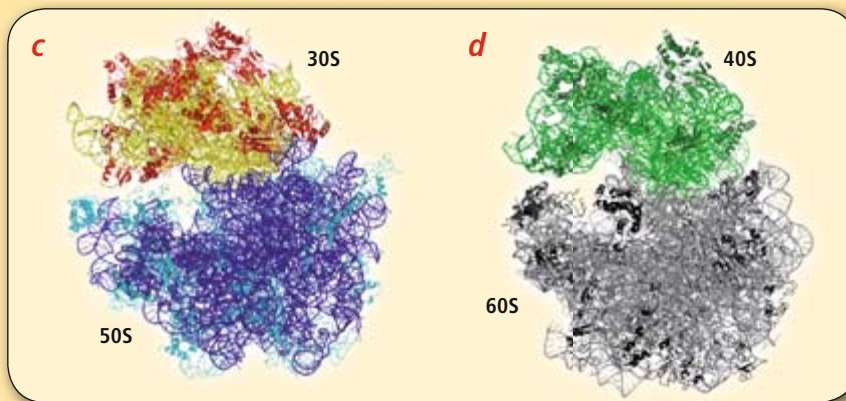
dAMP

2. DIFERENCIAS ENTRE ARN Y ADN. Dos nucleótidos: adenosina monofosfato (rAMP), un componente del ARN, y desoxiadenosina monofosfato (dAMP), su equivalente en el ADN. Nótese la presencia de un grupo hidroxilo extra en rAMP, formado por un oxígeno (O) y un hidrógeno (H) (en rojo).

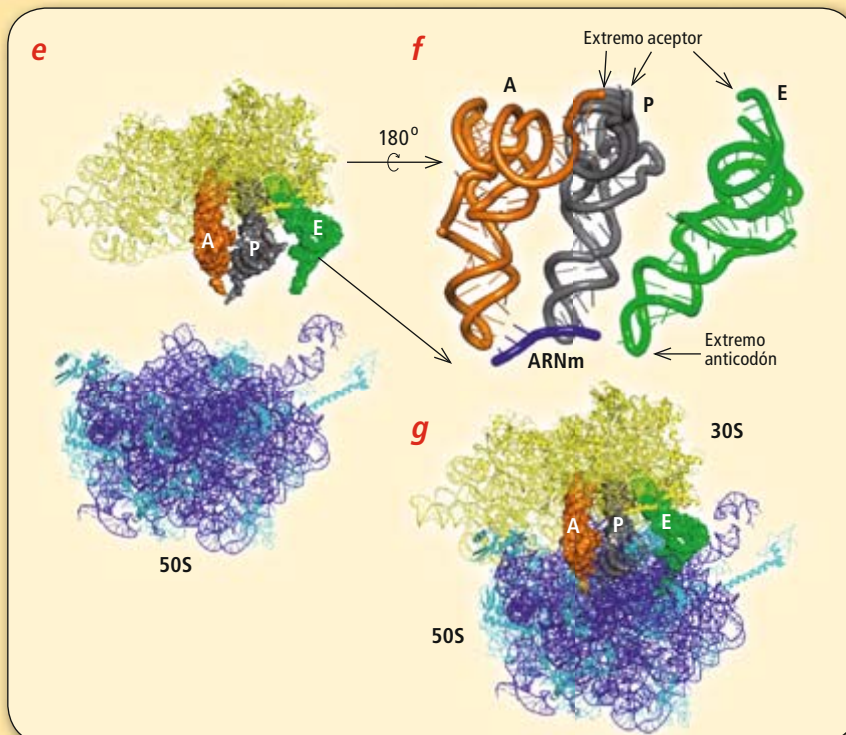
CONSERVACION DE LA ESTRUCTURA DEL RIBOSOMA



A pesar de que la molécula de ARN ribosómica (ARNr) 18S de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (**b**) es 256 nucleótidos más larga que la de ARNr 16S de la bacteria *Escherichia coli* y su secuencia es muy diferente, presentan un plegamiento muy parecido, semejanza que se mantiene en tres dimensiones, tal y como se muestra en **c** y **d**.



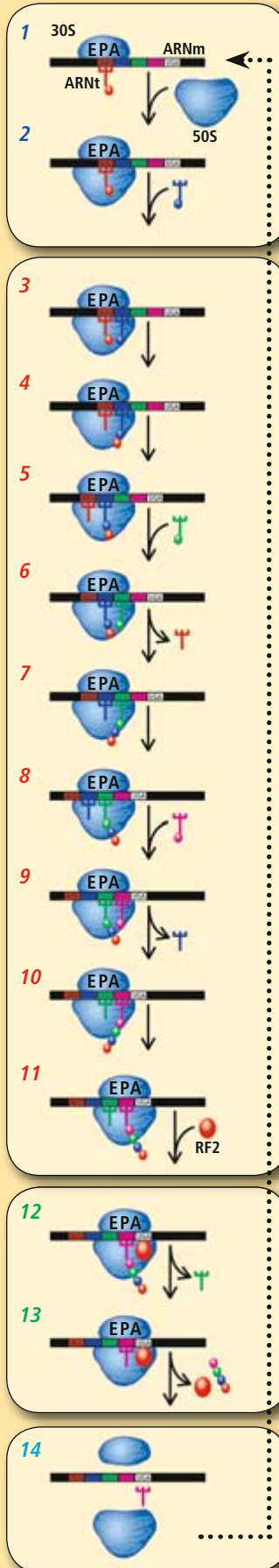
El panel **c** representa la estructura tridimensional del ribosoma 70S de *E. coli* obtenida por nuestro grupo, por medio de la cristalografía de rayos X. Los componentes de la subunidad pequeña se muestran en color amarillo (ARNr 16S) y rojo (proteínas), mientras que los de la subunidad grande se muestran en azul (ARNr 23S y 5S) y cian (proteínas). En **d** se muestra la reconstrucción del ribosoma 80S de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* obtenida por el grupo de Joachim Frank, de la Universidad estatal de Nueva York en Albany. Los componentes de la subunidad pequeña se muestran en color verde claro (ARNr 18S) y verde oscuro (proteínas), mientras que los de la subunidad grande aparecen en gris (ARNr 23S, 5.8S y 5S) y negro (proteínas). (Dado que para la reconstrucción se utilizaron las estructuras cristalográficas de las subunidades 30S [bacteria] y 50S [arquea], el modelo carece de las extensiones características y, por tanto, no refleja el tamaño real, de los ribosomas eucariotas.)



En **e** se ven las tres posiciones posibles de los ARNr de transferencia (ARNt), A (naranja), P (gris) y E (verde), en la subunidad pequeña (en amarillo) de *E. coli*. La subunidad grande (azul y cian como en **c**) se muestra separada. El detalle de los tres ARNr (misma color que en **e**) que se ve en **f** muestra la interacción de sus extremos anticodón con un fragmento del ARN mensajero (ARNm, azul). Además se muestra la proximidad de los extremos aceptores de los ARNr A y P, que permite la interacción química de los aminoácidos normalmente presentes en ese extremo durante la formación del enlace peptídico en la cavidad catalítica del ribosoma, el centro peptidil-transferasa (en la figura no se muestran los aminoácidos; téngase en cuenta además que los ARNr han sido rotados 180° alrededor del ARNm). Por último, **g** muestra los tres ARNr en el ribosoma 70S después de la unión de la subunidad grande.

Los autores

Daniel A. Colón Ramos y Antón Vila Sanjurjo han trabajado en diversos aspectos de la traducción celular. Colón Ramos, natural de Barranquitas, San Juan de Puerto Rico, estudió en la Universidad de Harvard y la Universidad Duke antes de investigar la regulación de ribosomas eucariotas en la Universidad de California en Berkeley. Actualmente dirige un laboratorio de neurobiología en la Escuela de Medicina de la Universidad de Yale (<http://www.cellbiology.yale.edu/colon-ramos/index.html>). Vila Sanjurjo inició sus estudios de biología en su ciudad natal de La Coruña. Su relación con la investigación del ribosoma comenzó en la Universidad de Nebraska en Omaha, donde acabó su licenciatura, y continuó durante su doctorado en la Universidad Brown en Providence, Rhode Island. Su paso por el laboratorio de Jamie Cate en la Universidad de California en Berkeley le introdujo en los estudios estructurales del ribosoma por medio de la cristalografía de rayos X. Actualmente trabaja en el centro de biología sintética de la Universidad de California en Berkeley.



El ciclo de la traducción

La sucesión de eventos durante la traducción es la siguiente (nótese que los factores proteicos necesarios durante la traducción, excepto RF2, no se han incluido, para mayor claridad):

1. La traducción comienza al reconocerse el codón de iniciación, AUG, en el sitio P, o peptidil, de la subunidad pequeña del ribosoma, donde el extremo anticodón del ARNt iniciador "lee" su codón complementario, AUG.

2. Una vez reconocido este codón, se une la subunidad grande al complejo de iniciación 30S. Se forma entonces el complejo de iniciación 70S, en el que el extremo aceptor del ARNt iniciador, unido al aminoácido formil-metionina, se encuentra en una cavidad de la subunidad grande denominada "centro peptidil-transferasa". En este centro se desarrolla la actividad catalítica de polimerización de aminoácidos. Comienza entonces la fase de elongación en la que se utilizarán los otros dos sitios ribosómicos, "A", o aminoacil, y "E", o de salida (del inglés *exit*).

3. El primer paso de esta fase consiste en la unión del segundo ARNt al sitio "A". Mediante este proceso de decodificación, el código genético es leído por el extremo anticodón del nuevo ARNt en el sitio A de la subunidad pequeña.

4. Una vez aceptado el ARNt correspondiente al segundo codón del ARNm, el aminoácido de su extremo aceptor entra en la cavidad peptidil transferasa. La reacción de polimerización de este aminoácido con la formil-metionina, inmediata, produce un dipéptido (dos aminoácidos unidos mediante enlace peptídico) que queda unido al segundo ARNt.

5. A continuación viene la reacción de translocación de los dos ARNt, que resulta en el movimiento del ARNt del sitio "P" al sitio "E" y del ARNt del sitio "A" al sitio "P". El ARNm se mueve simultáneamente con los ARNt; este proceso termina con un sitio "A" vacío, donde el siguiente codón se encuentra listo para ser reconocido por su correspondiente ARNt.

6. El ciclo de la elongación se repite para cada nuevo aminoácido de la proteína (**7, 8, 9, 10, y 11**).

12. La elongación termina cuando el ribosoma alcanza uno de los tres codones de terminación, UGA, UAA o UAG. Al no haber ARNt específicos para estos codones, el ribosoma se detiene en ellos hasta que es liberado por medio de la acción de factores de terminación.

13. Los factores de terminación RF1 y RF2 (RF, del inglés *release factor*) reconocen los codones de terminación (*Escherichia coli* RF1 reconoce UAG y UAA, mientras que RF2 reconoce UGA y UAA) e inducen la liberación de la cadena peptídica. Esta cadena abandona el ribosoma por medio de un túnel que atraviesa la subunidad grande y que comienza en la cavidad peptidil transferasa.

14. El ciclo de la síntesis de proteínas concluye al desensamblarse el ribosoma 70S en sus dos subunidades; éstas pueden utilizarse en un nuevo ciclo.

1 – 2 **Iniciación** 12 – 13 **Terminación**
3 – 11 **Elongación** 14 **Reciclaje**

mayoría de las veces, la encuentra antes de que la ARNpol alcance *tnaA* y *tnaB*. El resultado neto es que las proteínas TnaA y TnaB se producen en muy poca cantidad cuando no son necesarias, es decir, cuando no hay triptófano en el medio.

La situación cambia drásticamente cuando hay triptófano presente. En este caso, la expresión de TnaA y TnaB es imprescindible para que la célula pueda utilizar el aminoácido como alimento. El grupo de Yanofsky descubrió que, en semejantes condiciones, los ribosomas que han alcanzado el codón de terminación de *tnaC* se muestran incapaces de concluir la traducción de TnaC; por una razón: RF2 es incapaz de desprender la proteína del ribosoma. ¿Cómo puede el triptófano impedir la liberación de TnaC?

El ribosoma desempeña un papel central en ese mecanismo, tal y como quedó establecido gracias a un elegante experimento en el que el codón de terminación de *tnaC*, UGA, fue sustituido por el codón de triptófano UGG. Los resultados del experimento fueron claros: cuando UGA se sustituye por UGG, no sólo el aminoácido triptófano puede hacer que TnaC se atasque en el ribosoma; también el ARNt específico del triptófano, cargado con este aminoácido en su extremo aceptor, puede producir el mismo efecto. De lo que se desprende que el triptófano aislado debe ocupar el mismo sitio del ribosoma que el triptófano unido al extremo aceptor de su ARNt específico.

Puesto que los ARNt colocan sus aminoácidos en el sitio A del centro peptidil transferasa, el sensor del triptófano en el ribosoma debe ser el sitio en cuestión. Cuando abunda triptófano, una molécula suya se coloca en el centro peptidil transferasa e impide que RF2 se despegue de la proteína TnaC del ribosoma. Al permanecer la proteína TnaC atascada en el ribosoma, no permite que éste se disocie del ARNm, con lo cual el factor Rho es incapaz de unirse al mismo. Bajo esas condiciones, la ARNpol queda libre para transcribir *tnaA* y *tnaB*, que son inmediatamente traducidos por otro ribosoma. El resultado final del proceso es que, cuando hay triptófano en el medio, las enzimas necesarias para su utilización, TnaA y TnaB, se expresan en grandes cantidades.

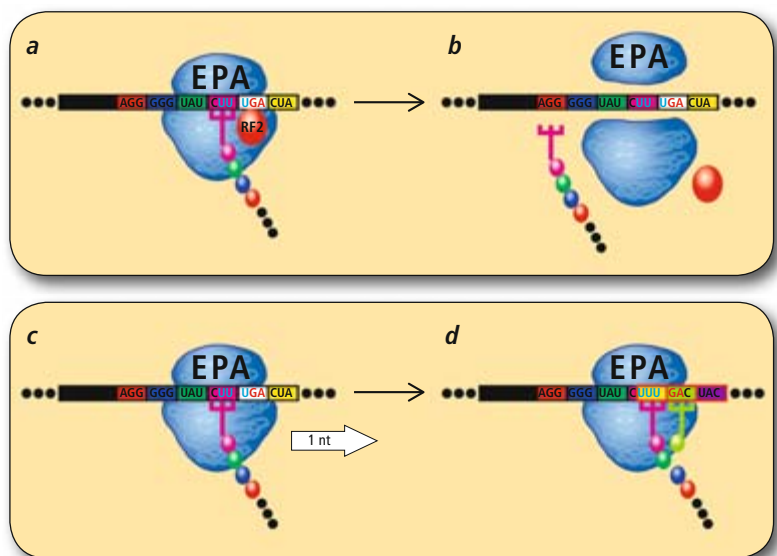
Por lo que se refiere a los distintos niveles de control de la expresión génica durante la regulación del operón *tna*, la unión de un aminoácido a la cavidad de transferencia peptídica del ribosoma en la traducción es utilizada por la célula para regular la expresión génica en el nivel de la transcripción.

3. ARNm polifacéticos. En los organismos eucariotas no existen operones. Cada gen da

lugar a un ARNm. Apoyados en ese dato, se creía que la expresión de cada gen codificaba una sola proteína específica. No obstante, la revolución genómica y proteómica de los últimos años nos han mostrado que la situación es mucho más compleja. Por ejemplo, los más de 25.000 genes humanos expresan más de 100.000 proteínas diferentes. ¿En virtud de qué cada gen humano codifica un solo ARNm y un promedio de cuatro proteínas diferentes?

El ribosoma suele escoger el primer codón de iniciación que encuentra en un contexto favorable y traduce a partir de ese codón. Sin

Recodificación durante la traducción de RF2



En *Escherichia coli* y en un gran número de bacterias, el gen y el ARNm que codifican el factor de terminación RF2 se componen de una secuencia corta que codifica la primera parte del factor y que termina con el codón de terminación UGA. Esta parte se continúa con una secuencia larga que codifica el resto de la proteína y cuya decodificación requiere que el ribosoma cambie su marco de lectura al marco de lectura +1 (es decir, desplazado un nucleótido, lo que cambia la secuencia de codones).

En el esquema se muestra la zona del ARNm de RF2 donde ocurre el cambio de marco de lectura y su posición en el ribosoma (a y c). Este mecanismo de regulación requiere la presencia de una secuencia "resbaladiza", que promueve cambios de marco de lectura, justo antes del codón de terminación UGA. La secuencia en cuestión es CUU UGA C, con el codón CUU, que codifica el aminoácido leucina, solapado con el codón UUU en el marco de lectura +1 (*cian*). Los ribosomas que han decodificado CUU (*rectángulo magenta*) y se han translocado contienen, en el sitio P del ribosoma, un ARNt específico para la leucina (ARNt^{leu}, por claridad mostrado en magenta, al igual que su codón y su aminoácido) unido a la cadena peptídica del primer fragmento de RF2, así como el codón de terminación UGA (*rectángulo blanco*) en el sitio A (a y c).

Cuando RF2 abunda (*círculo rojo* en a), la mayoría de los ribosomas se unen al factor que reconoce el codón de terminación UGA en el sitio A y promueven la terminación de la traducción. Como consecuencia, deja de sintetizarse la versión completa y activa de RF2 (b). Sin embargo, cuando escasea RF2 el ARNt^{leu} en el sitio P puede disociarse del codón CUU para reasociarse en el codón solapante UUU; la traducción continúa, pero ahora en el marco de lectura +1 (c y d).

En este ingenioso sistema de regulación de los niveles de RF2, la eficacia del cambio de marco de lectura es inversamente proporcional a la concentración del factor.

El centro peptidil transferasa es el sensor de los niveles de triptófano en la célula

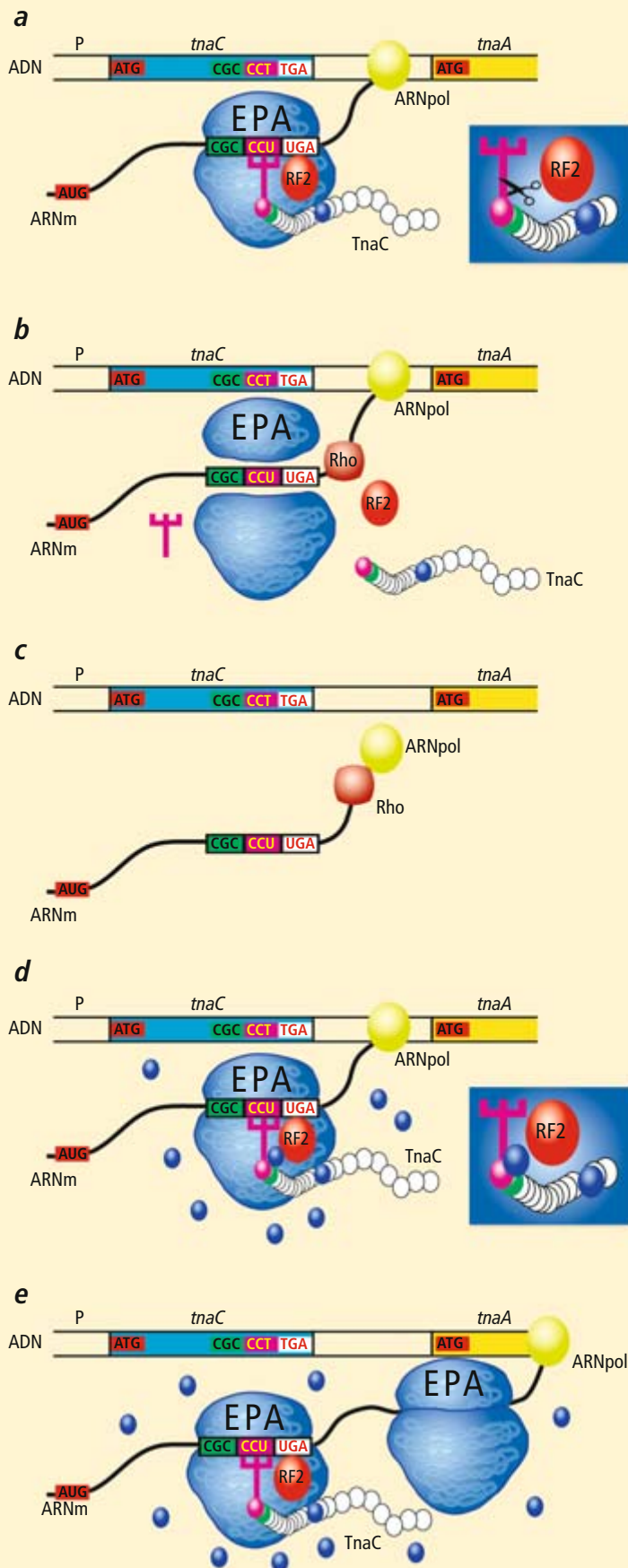
En *Escherichia coli* y en otras bacterias, al principio del operón *tna* y precediendo al gen de la triptofanasa, *tnaA* (amarillo), existe un corto marco de lectura que codifica una proteína de 34 aminoácidos, *tnaC* (cian). Los genes *tnaC* y *tnaA* están separados por una región no codificante de 200 nucleótidos que contiene varios sitios donde la ARNpol hace pausas durante la transcripción. La ARNpol comienza la transcripción del operón *tna*, haya o no triptófano. En cuanto la ARNpol inicia la transcripción del marco de lectura *tnaC*, un ribosoma reconoce su sitio de unión en el ARNm y empieza la traducción del polipéptido hasta que llega al codón de terminación UGA (en rojo sobre blanco) (a y d). Nótese que la base equivalente a U (uracilo) en el ADN es T (timina).

En ausencia de triptófano, el reconocimiento de UGA por RF2 (a), con la consecuente liberación del polipéptido, también producida por RF2 (véase el recuadro en a), y finalmente la disociación del ribosoma (b), expone una secuencia del ARNm justo después de UGA, que el complejo proteico Rho reconoce. La función de este complejo es la de buscar una ARNpol entre las secuencias de *tnaC* y *tnaA*, para desgajarla del ADN y provocar así la terminación prematura de la transcripción antes de que ARNpol pueda alcanzar *tnaA* (c).

El resultado es que, cuando la triptofanasa no es necesaria, por no haber triptófano que degradar, su síntesis se mantiene a niveles muy bajos. La situación cambia de raíz si existe triptófano en el medio (d y e). Se sabe que el triptófano (óvalo azul) se une al ribosoma e impide la liberación del polipéptido TnaC del ribosoma (d), que permanece bloqueado al final de *tnaC*. Entonces, Rho no puede cargarse en el ARNm y ejercer su función de terminador de la transcripción, que prosigue a través de los genes importantes del operón (e). Inmediatamente después de que la ARNpol alcanza *tnaA*, un ribosoma comienza su traducción (e). El resultado es que la proteína triptofanasa se sintetiza en grandes cantidades para degradar el triptófano circundante.

embargo, en ciertas ocasiones, los ribosomas ignoran ese primer codón de iniciación y continúan vagando sobre el ARNm hasta localizar un segundo o un tercer codón alternativo. Dado que alrededor del 50 por ciento de los ARNm humanos contienen varios codones de iniciación, se abre la posibilidad de que se produzcan múltiples proteínas a partir de un solo ARNm, según el punto en que el ribosoma decide comenzar la iniciación.

Esta capacidad de producir varias proteínas a partir de un mismo ARNm permite a las células eucariotas responder con rapidez a los retos a que se enfrentan. Así, las levaduras poseen un sistema de emergencia para sobrevivir a la escasez de nutrientes basado en la proteína Gcn4p. En situaciones normales, las



concentraciones de Gcn4p en las levaduras son muy bajas, dado que el mantenimiento del mecanismo de emergencia es costoso en energía. Por ello, la levadura sólo produce Gcn4p en situaciones de vida o muerte. No hay entonces mucho tiempo para esperar; por eso, en las levaduras ha evolucionado un mecanismo que regula la expresión de Gcn4p durante la traducción.

El ARNm que codifica Gcn4p está siempre presente en las células de levaduras y listo para producir Gcn4p; sin embargo, en condiciones normales, este transcrito produce niveles muy bajos de la proteína. Semejante comportamiento se explica porque el ARNm tiene otros cuatro codones de iniciación que preceden al codón de iniciación de Gcn4p. Estos cuatro codones de iniciación dan lugar a la expresión de cuatro proteínas diferentes de Gcn4p, pero codificadas por su mismo ARNm.

En situaciones normales, los ribosomas traducen la proteína codificada por el corto marco de lectura que marca el primer codón de iniciación. Una vez finalizada la traducción de esta proteína, el ribosoma se disocia, pero algunas subunidades 40S permanecen ensambladas al ARNm y comienzan la traducción al llegar al segundo, tercero o cuarto codón de iniciación. Por este motivo, es muy baja la probabilidad de que los ribosomas empiecen la traducción en el codón de iniciación de Gcn4p.

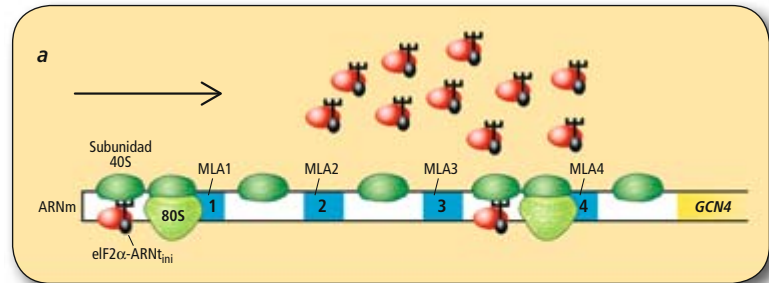
Sin embargo, en caso de emergencia, la situación sufre un cambio drástico. La levadura detecta el problema y activa una señal que culmina en la modificación química, por medio de la fosforilación (la combinación con un grupo fosfato), de uno de los factores de iniciación de la traducción: la proteína eIF2 α , cuya asociación al ribosoma es crítica para el comienzo de la traducción.

Cuando la proteína se fosforila, no puede asociarse con el ribosoma, y éste, incapaz entonces de iniciar la traducción, sigue desplazándose por el ARNm. No todas las copias de eIF2 α se fosforilan durante la escasez de nutrientes; sólo una fracción, en cuantía suficiente para causar que un número elevado de ribosomas continúen desplazándose por el transcrito de Gcn4p hasta dar con el codón de iniciación que controla la expresión de Gcn4p. Se decuplican entonces los niveles celulares de Gcn4p, con la activación consiguiente de los mecanismos de respuesta necesarios para la supervivencia en situaciones de escasez.

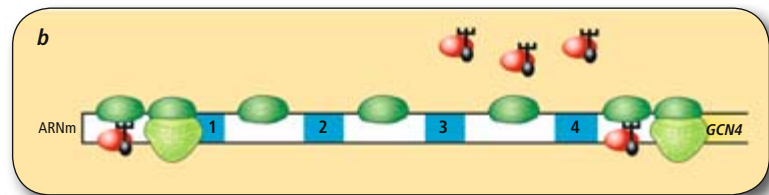
Sólo hemos visto algunos de los muchos mecanismos en los que la expresión génica se regula en el nivel de la traducción. Que la lista de ejemplos de este tipo de regulación no deje de crecer subraya el papel principal del ribosoma y de la traducción genética en la evolución.

Traducción de la proteína de emergencia Gcn4p

El ARNm que codifica a la proteína Gcn4p (representado como un largo rectángulo blanco en a y b) contiene cuatro codones de iniciación, que originan cuatro cortos marcos de lectura abierta, o MLA (mostrados como pequeños recuadros en cian, numerados del 1 al 4 en a y b), antes del codón de iniciación que da lugar al MLA que codifica la proteína (GCN4 en amarillo en a y b). La dirección de movimiento de los ribosomas en el ARNm es señalada por la flecha.



Cuando abundan los nutrientes, la subunidad 40S (verde oscuro) se carga en el extremo del ARNm próximo al primer codón de iniciación. Durante su periplo hacia el MLA-1, la subunidad 40S recibe al ARNt iniciador, ARNtini (negro), que forma un complejo con eIF2 α (óvalo rojo). La subunidad 40S asociada con eIF2 α -ARNtini está preparada para comenzar la traducción de MLA-1, una vez reconocido su codón de iniciación y tras unirse a la subunidad 80S (verde claro). Al final de MLA-1 la subunidad 80S se disocia; algunas subunidades 40S siguen su marcha hacia los otros MLA. Si la subunidad 40S se encuentra con un complejo eIF2 α -ARNtini, podrá comenzar la traducción de uno de estos MLA. La probabilidad de este evento aumenta con la distancia desde el lugar de disociación de la subunidad 80S, es decir, desde el codón de terminación de MLA-1. La distancia entre los diferentes MLA está programada para que la mayoría de los episodios de reiniciación ocurran en el MLA-4. Esto a su vez crea una barrera muy eficiente contra la reiniciación en el vecino codón de iniciación de GCN4.



Si los nutrientes escasean, eIF2 α se modifica químicamente, de modo que la concentración del complejo eIF2 α -ARNtini disminuye y con ello las probabilidades de reiniciación en MLA-4. La falta de iniciación en MLA-4 favorece, sin embargo, que la iniciación ocurra en GCN4, de modo que la expresión de la proteína Gcn4p aumenta hasta 10 veces bajo estas condiciones.

Bibliografía complementaria

STRUCTURE OF THE 80S RIBOSOME FROM *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* — TRNA-RIBOSOME AND SUBUNIT-SUBUNIT INTERACTIONS. C. M. T. Spahn, R. Beckmann, N. Eswar, P. A. Penczek, A. Sali, G. Blobel y J. Frank en *Cell*, vol. 107, págs. 373-386; 2 de noviembre, 2001.

RECODING: TRANSLATIONAL BIFURCATIONS IN GENE EXPRESSION. Pavel V. Baranov, Raymond F. Gesteland y John F. Atkins en *Gene*, vol. 286, págs. 187-201; 2002.

INSTRUCTION OF TRANSLATING RIBOSOME BY NASCENT PEPTIDE. Feng Gong y Charles Yanofsky en *Science*, vol. 297, págs. 1864-1867; 2002.

TRANSLATIONAL REGULATION OF GCN4 AND THE GENERAL AMINO ACID CONTROL OF YEAST. Alan G. Hinnebusch, en *Annual Review of Microbiology*, vol. 59, págs. 407-450; 2005.