

Modificación	aa modificado
Fosforilación	Ser, Thr y Tyr
Hidroxilación	Lys y Pro
Acetilación	Lys y Ser
Metilación	Lys, His y Arg
Sulfatación	Tyr
Carboxilación	Glu
Selenización	Ser
Citrulinización	Arg
Ubiquitinación	Lys
Prenilación	Cys
Nitración	Tyr
Glicosilación	Variado ²⁰¹¹

7

Ser, Thr y Tyr

FOSFORILACIÓN

21/08/2011

8

- La fosforilación es una de las modificaciones proteicas más comunes.
- Constituye un importante mecanismo de regulación de la actividad biológica y como tales son modificaciones transitorias.

21/08/2011

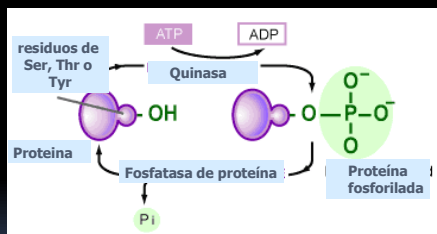
9

Quinasas/Fosfatasa

- Las enzimas que fosforilan proteínas se denominan quinasas, y aquellas que remueven el grupo fosfato son fosfatasa.
- Ser, Thr, y Tyr son los aminoácidos sujetos a fosforilación.
- El grupo más grande de quinasas son las que fosforilan tanto a Ser como a Thr.
- La relación de fosforilación de los diferentes aminoácidos es aproximadamente 1000/100/1 para Ser/Thr/Tyr.

10

Fosforilación



21/08/2011

11

Glucógeno sintasa y fosforilasa

- La fosforilación de la glucógeno sintasa y glucógeno fosforilasa se da en los hepatocitos en respuesta a la liberación de glucagón por el páncreas.
- La fosforilación inhibe la actividad de la sintasa, mientras que la actividad de la fosforilasa es aumentada.
- Estos eventos llevan al aumento de la liberación de glucosa por el hígado a la sangre.

21/08/2011

12

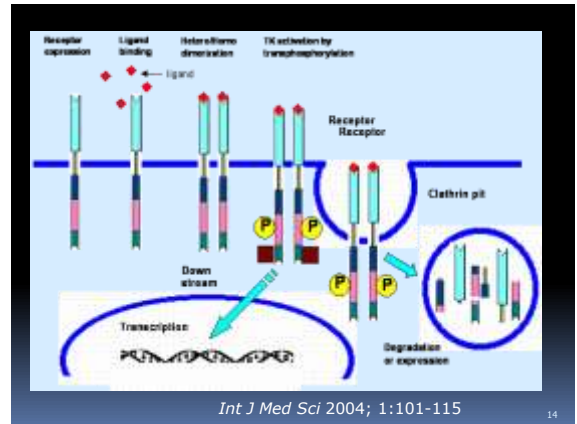
Fosforilación de Tyr

- Aunque el nivel de fosforilación de tirosinas es menor, el rol de este tipo de fosforilación es muy importante, por ejemplo
 - la actividad de muchos receptores de factores de crecimiento es controlada por fosforilación de sus residuos de Tyr.
 - Oncogenes

Qué receptor es una quinasa de tirosina y se auto fosforila?

21/08/2011

13



Int J Med Sci 2004; 1:101-115

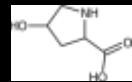
14

HIDROXILACIONES

21/08/2011

15

Aminoácidos hidroxilados



- **4 OH-Pro** – estabiliza al colágeno
- **5 OH-Lys** – genera sitios de entrecruzamiento y glicosilación
- Ambas hidroxilasas requieren **ascorbato** y el reconocimiento de la secuencia Gly-X-Pro o Gly-X-Lys

21/08/2011

16

ADICIÓN DE GRUPOS ACILO

21/08/2011

17

Adición de grupos acilo

- El grupo **acetilo** se asocia al extremo N-terminal de las proteínas aceptoras.
 - El dador de acetilo es la Acetil-CoA.
- En algunas proteínas el grupo que se une al extremo N-terminal es el **miristoilo**, de 14 carbonos.
 - Esta modificación permite la asociación de la proteína modificada con las membranas.
 - La subunidad catalítica de la PKA se encuentra miristoilado.



18

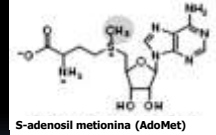
ADICIÓN DE GRUPOS METILO

21/08/2011 19

Metilación

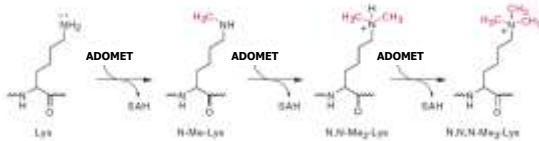
- Se produce en residuos de **Lys**
- El dador de grupos metilo es la **S-adenosilmetionina (AdoMet)**

- Se produce entre otras, en:
 - calmodulina
 - citocromo *c*
 - histonas,
 - en ellas modula la interacción con el ADN



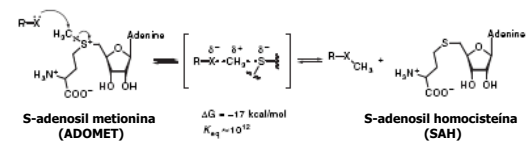
21/08/2011 20

Metilación proteica



21/08/2011 21

Metilación proteica



- El grupo metilo de la **AdoMet** está unido a un átomo de azufre cargado, que desestabiliza termodinámicamente a la molécula que transforma al metil-tiol relativamente inerte de la metionina en un grupo muy reactivo con nucleófilos polarizables (N, O y S) y átomos de C activados (carbaniones).
- Las metiltransferasas dependientes de AdoMet actúan además sobre el ADN, ARN, proteínas, polisacáridos, lípidos y pequeñas moléculas.

21/08/2011 22

SULFATACIÓN

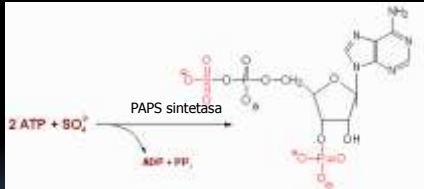
21/08/2011 23

Sulfatación

- La sulfatación proteica se produce en residuos de Tyr
- Fibrinógeno y algunas proteínas de secreción (ej. gastrina) son sulfatadas.
- El dador de sulfato es 3'-fosfoadenosil-5'-fosfosulfato (PAPS), que se forma por activación del sulfato mediante 2 ATP

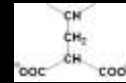
21/08/2011 24

3'-fosfoadenosil-5'-fosfosulfato (PAPS)



21/08/2011

25



CARBOXILACIÓN DE GLUTAMATO

21/08/2011

26

Carboxilación de glutamato

- Genera el **ácido γ -carboxiglutámico (GLA)**
- Necesario para la actividad de los factores de la coagulación II, VII, IX y X.
- Quela iones Ca²⁺ necesarios para la formación del coágulo

21/08/2011

27

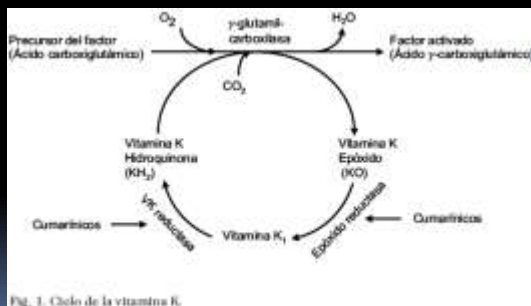
Carboxilación de glutamato

- Catalizado por una carboxilasa del RE**
 - Requiere vitamina K reducida
 - La reductasa de la vitamina K requieren ditiolos (como la tioredoxina) como cofactor
 - Análogos estructurales de la vitamina K (warfarina y dicumarol) inhiben a la reductasa y se emplean como anticoagulantes

21/08/2011

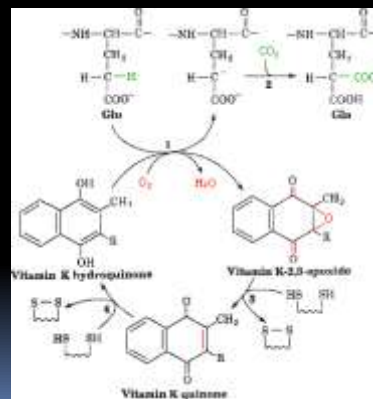
28

Carboxilación de glutamato



21/08/2011

29



30

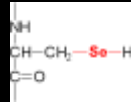
ADICIÓN DE SELENIO

Selenocisteína = Sec = U
se considera el aminoácido 21 presente en proteínas

21/08/2011

31

Seleno proteínas



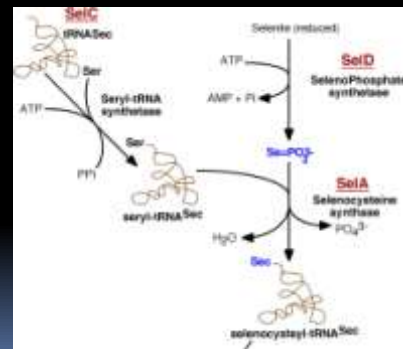
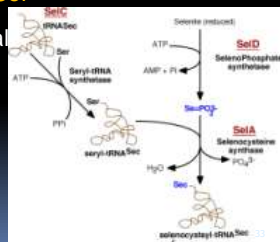
- El selenio es un elemento traza, componente de varias enzimas de procariontes y eucariotes involucradas en reacciones redox.
- El selenio es incorporado en las selenoproteínas **durante la traducción**, por tanto es una modificación cotraduccional.

21/08/2011

32

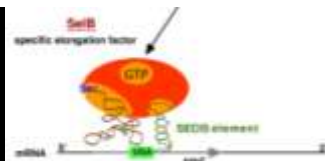
Incorporación de selenio

- La incorporación de Sec a la maquinaria traduccional se produce por la selenización de **Ser** después que este aminoácido se asoció al ARN_t_{Ser}.
- La Sec sintasa dependiente de PLP cataliza la síntesis de selenocisteína



21/08/2011

34



- El anticodón de la Sec-ARN_t interactúa con un codón de stop en el ARNm (UGA) en lugar de hacerlo con el codón de serina.
- El Sec-ARN_t es transportado al ribosoma por un factor de elongación específico (SelB).
- Un elemento en la región 3' no traducida del ARNm (Secuencia de Inserción de la Sec = SECIS) determina que el codón UGA sea leído como el codón para Sec y no como codón de terminación.

35

Selenoproteínas

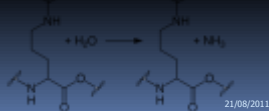
- Selenoenzimas particularmente importantes en eucariotes son la glutatión peroxidasa y la tioredoxina reductasa.
- También pertenecen a este grupo varias hidrogenasas y deshidrogenasas

21/08/2011

36

CITRULINIZACIÓN

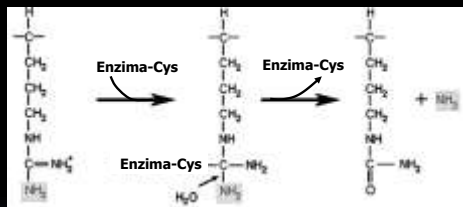
Transformación de Argininas proteicas en Citrulina



- Citrulinización es la conversión enzimática de arginina en citrulina.
- La enzima que cataliza esta reacción es la peptidilarginina deiminasa (PAD).
- Existen varias isoenzimas (PAD1, PAD2,)
- Durante la reacción, la arginina es atacada por un residuo de cisteína de la enzima para establecer un aducto tetraédrico al tiempo que se libera amonio.
- Entonces el aducto es separado por el ataque nucleofílico de una molécula de agua que regenera el residuo de cisteína y forma el grupo ceto.

38

Transformación de Arg en citrulina



Peptidil Arginina

Peptidil Citrulina

Catalizada por PEPTIDIL-ARGININA DEIMINASA (PAD), activada por Ca^{2+}

❖ Algunas proteínas Blanco de las PADs

- Proteínas de la epidermis
- Proteína básica de la mielina
- Proteínas nucleares
- Proteínas de la coagulación

Patologías relacionadas

- Psoriasis
- Esclerosis múltiple
- Artritis reumatoidea

21/08/2011

40

Proteínas Blanco de deiminización en la epidermis

- Filagrina y keratinas K1 y K10 de la epidermis, se asocian entre sí gracias a la disminución de sus pl por citrulinización.
- Las unidades de filagrina se unen a filamentos de keratina organizándolos en una matriz ordenada.
- Tricohialina (THH) se solubiliza y también se enlaza a keratina luego de citrulinada, estabilizando las fibras.

21/08/2011

41

UBICUITINACIÓN

21/08/2011

42

Ubicuitinación (la retomaremos más adelante)

- Es la adición de una proteína pequeña, de 76 aminoácido, ubiquitina (Ub)
- Existen proteínas similares a ubiquitina y con funciones similares: SUMO, Nedd8, UCRP, FAT10, HAB, ISGN15, Apg8, Apg12, URM1, An1
- La Gly C-terminal de la Ub se une por enlace amida (isopeptídico) a restos de Lys de la proteína blanco
- Es una modificación reversible debido a la existencia de enzimas desubiquitinantes (DUBs) y otras isopeptidasas (para SUMO, etc)

43

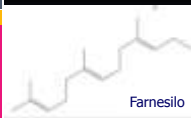
PRENILACIÓN

21/08/2011

44

Prenilación

- Es la adición del grupo farnesilo de 15 carbonos, o del geranylgeranilo de 20 carbonos a proteínas aceptoras.
- Ambos son compuestos isoprenoides derivados de la vía de síntesis del colesterol



21/08/2011

45

Prenilación

- Los grupos isoprenoides se unen a residuos de Cys presentes en el extremo C-terminal de las proteínas mediante unión tioéter.
- Una secuencia consenso común se identificó en estas proteínas CAAX, donde:
 - C es cisteína
 - A es un aminoácido alifático (excepto Ala)
 - X es el aminoácido C-terminal

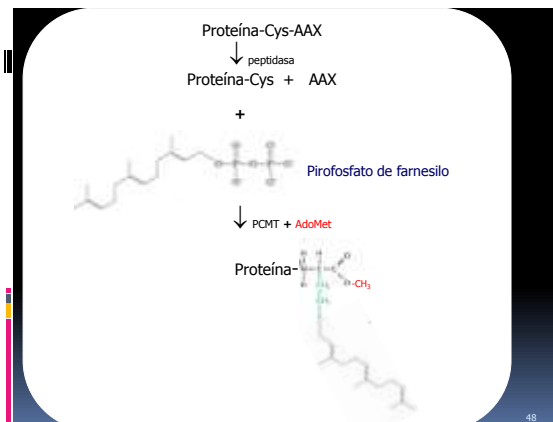
46

Prenilación

- Para que la prenilación se lleve a cabo los tres aminoácidos del extremo C-terminal (AAX) deben ser removidos
- La cisteína debe ser activada por metilación por la prenil-cisteína metil transferasa (PCMT) dependiente de AdoMet

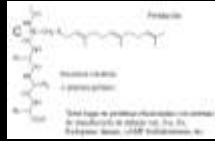
21/08/2011

47



48

Prenilación



- Ejemplos de proteínas preniladas:
 - proteína oncogénica *ras*
 - La subunidad g de la proteína visual transducina
 - Numerosas proteínas de transducción de señales que unen GTP (proteínas G)

21/08/2011

49

la retomaremos más adelante

GLICOSILACIÓN

21/08/2011

50

Glicosilación

- Altera solubilidad, estabilidad y tamaño físico
- Confieren señal de reconocimiento para transporte y blanco
- **Glicosil transferasas** presentan especificidad por
 - el monosacárido transferido
 - cierta porción de la secuencia de la molécula aceptora
 - la configuración del enlace formado
- **N- Glicosilación**
 - Los azúcares están unidos al N de un grupo amida.
 - En el RE y el Golgi
- **O- Glicosilación**
 - Ocurre en el O de un residuo Ser o Thr
 - En Golgi
 - En proteínas ya plegadas

21/08/2011

51

Marcado de enzimas con destino al lisosoma

- Las enzimas lisosomales son dirigidas hacia los lisosomas por una modificación específica.
 - Durante el tránsito por el Golgi se adiciona un residuo de N-Acetil Glucosamina-1-fosfato (GlcNAc-1-P) al grupo hidroxilo en el carbono-6 de una o más manosas que han sido agregadas a la enzima.
 - La GlcNAc se activa por acoplamiento a UDP y es transferido por la enzima lisosomal GlcNAc-fosfotransferasa, para dar: GlcNAc-1-P-6-Man-proteína.

21/08/2011

52

Marcado de enzimas con destino al lisosoma

- Una segunda reacción (catalizada por GlcNAc 1-fosfodiéster-N-acetilglucosaminidasa) remueve el GlcNAc dejando residuos de manosa fosforilados en la posición 6: Man-6-P-proteína.
- Un receptor específico Man-6-P (MPR) está presente en las membranas del Golgi. La unión de Man-6-P a este receptor dirige las proteínas a los lisosomas.

21/08/2011

53

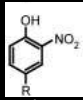
NITRACION

MODIFICACIONES OXIDATIVAS

21/08/2011

54

NITRACION



- Nitración es la adición de un grupo **nitro** en la posición 3 del anillo de tirosina
- Se lleva a cabo por la oxidación del anillo fenólico a radical tirosilo y la posterior adición de $\cdot\text{NO}_2$
- Dos mecanismos son responsables de este proceso
 - Mediado por ONOO^-
 - Catalizado por mieloperoxidasa en presencia de H_2O_2 y NO_2^-

21/08/2011

55

- Se ha observado la presencia de nitrotirosina en diferentes tejidos expuestos a condiciones inflamatorias
- Células que expresan la iNOS y la NADPH-oxidasa (como macrófagos) serían las responsables de la generación de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno que llevan a la nitración de Tyr y a la formación de otros productos de oxidación proteica y lipídica.

21/08/2011

56

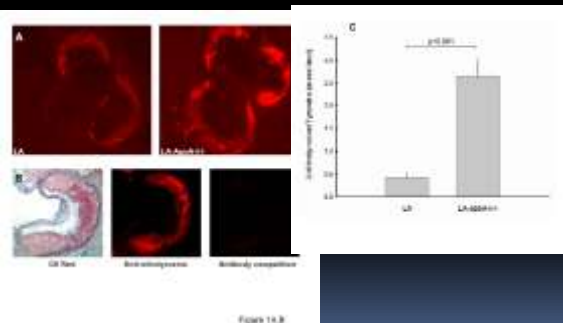
Rol biológico

- La nitración/oxidación proteica es un mecanismo de **señalización intracelular**
 - Activación de NF κ B
- La nitración/oxidación proteica le confiere capacidad antigénica a proteínas autólogas.
- La oxidación de LDL lleva a su reconocimiento por el receptor scavenger de macrófagos con la consiguiente formación de células espumosas y placas ateromatosas.

21/08/2011

57

Presencia de nitrotirosina en placas de ateroma de ratones **knock out** para el receptor de Apo-B100, Apo-B48 y Apo-AI



21/08/2011

58

MODIFICACIÓN POSTRADUCCIONAL MEDIANTE PROTEOLISIS LIMITADA

21/08/2011

59

Proteolisis limitada

- La mayor parte de las proteínas sufren cortes proteolíticos después de la traducción.
- La forma más simple es la remoción de la Met (fMet en procariontas) de iniciación.
- Muchas proteínas se sintetizan como precursores inactivos (Pro-proteínas) que se activan por proteolisis limitada bajo condiciones apropiadas.
- Las enzimas digestivas y las involucradas en la cascada de la coagulación se sintetizan como pro-proteínas y se activan por proteolisis limitada (lo veremos en las clases siguientes).

21/08/2011

60

EJEMPLO #1: MARCADO DE PROTEÍNAS PARA LA SECRECIÓN Y EL ANCLAJE A MEMBRANA

el péptido señal es removido mediante protólisis limitada

21/08/2011

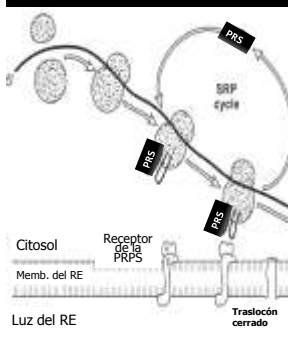
61

El péptido señal es removido mediante protólisis limitada

- Las proteínas destinadas a formar parte de membranas y las proteínas a ser secretadas se sintetizan por los ribosomas del RE.
- Estas proteínas contienen a nivel del extremo N-terminal una secuencia o péptido señal, constituido por 13-36 residuos predominantemente hidrofóbicos.

21/08/2011

62



- El péptido señal, sintetizado por ribosomas citosólicos.
- Es reconocido por un complejo multiproteico llamado **Partícula de Reconocimiento del Péptido Señal (PRS)**.

21/08/2011

63

Partícula de Reconocimiento de Señal (PRS)

- Es un complejo de 325 kDa
- Formado por 6 polipéptidos diferentes y una molécula de RNA de 300 bases
- Une GTP, que se hidroliza durante el proceso

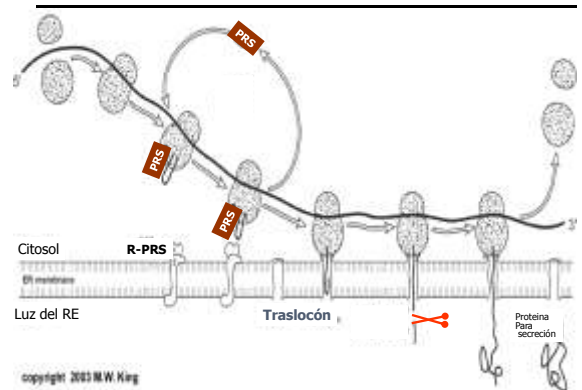
21/08/2011

64

- La unión de la PRS al ribosoma detiene la síntesis y el complejo se une a su **receptor (R-PRS)** de la superficie citosólica del RE.
- El ribosoma es transferido a un translocón (receptor ribosómico), liberándose del complejo PRS/R-PRS.
- La región hidrofóbica del péptido señal sirve de anclaje a la membrana.
- El péptido señal es removido de las pre-proteínas por peptidasas del RE.

21/08/2011

65



copyright 2003 N.W. King

21/08/2011

66

- La síntesis continúa y si la proteína está destinada a la secreción terminará totalmente inmersa en la luz del retículo.
- En cambio, si se trata de una proteína de membrana la transferencia hacia la luz se verá impedida por un *motivo de detención de la transferencia*, que será la porción transmembrana de la proteína.

21/08/2011 67

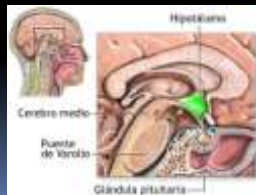
OPIOMELANOCORTINA
INSULINA

DOS EJEMPLOS DE ACTIVACIÓN POR PROTEOLISIS LIMITADA:

21/08/2011 68

PRE-PRO-OPIOMELANOCORTINA

- Un ejemplo complejo de procesamiento postraduccional de una preproteína es el de la preopiomelanocortina (Pre-POMC) sintetizada en la hipófisis o glándula pituitaria

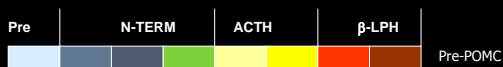


- Esta preproteína sufre diferente procesamiento proteolítico, dependiendo del sitio de síntesis del precursor.
 - Células corticotropas de la hipófisis anterior
 - Células melanotropas del lóbulo intermedio de la hipófisis
 - Por unas 3000 neuronas del hipotálamo
 - Por melanocitos en la piel

21/08/2011 70

Derivados generados por proteólisis limitada:

- En la hipófisis anterior (células corticotropas):
 - Hormona adrenocorticotropa (ACTH)
 - β -Lipotropina (β -LPH)

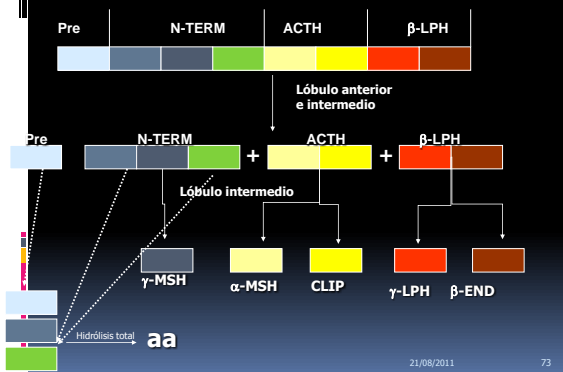


21/08/2011 71

- En el lóbulo intermedio de la hipófisis (células melanotropas):
 - ACTH se escinde en:
 - Péptido del lóbulo intermedio similar a corticotropina (CLIP),
 - Hormona estimulante de melanocitos (MSH)
 - β -LPH en:
 - γ -LPH
 - β -endorfina (β -END).

21/08/2011 72

Procesamiento de POMC



Funciones:

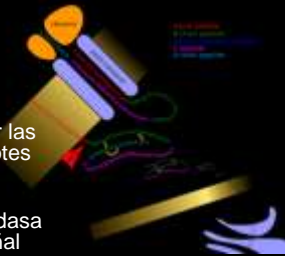
- α -MSH
 - regulación del apetito y en el comportamiento sexual,
 - regula la producción de melanina.
- ACTH
 - regula la secreción de glucocorticoides por la corteza adrenal.
- β -endorfina y meta-enkefalina
 - Son péptidos opioides.

21/08/2011

74

Otro ejemplo : Insulina

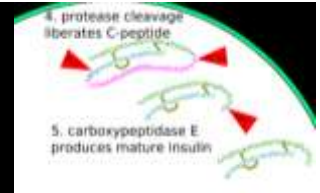
- Se sintetiza como **preproinsulina** por las células β de los islotes de Langerhan del páncreas
- En el RE una peptidasa corta el péptido señal de 24 aminoácidos generando **proinsulina**
- Se forman los puentes disulfuro y en el Golgi se empaqueta en gránulos



21/08/2011

75

Insulina



- En los gránulos se elimina el péptido C por acción de las enzimas **pro-hormona convertasa (PC) 2 y 1/3**, y la **carboxipeptidasa E**
- Se transforma en **insulina**, formada por los péptidos A y B unidos por puentes disulfuro

21/08/2011

76