

9. MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES DE LAS PROTEINAS

ESQUEMA. Modificaciones postraduccionales de las proteínas

1. Introducción

- **Tipos de modificaciones postraduccionales en las proteínas**
- **Localización de las modificaciones postraduccionales**
- **Función de las modificaciones postraduccionales**

2. Modificaciones N- y C-terminales

3. Glicosilación

N-glicosilación

O-glicosilación

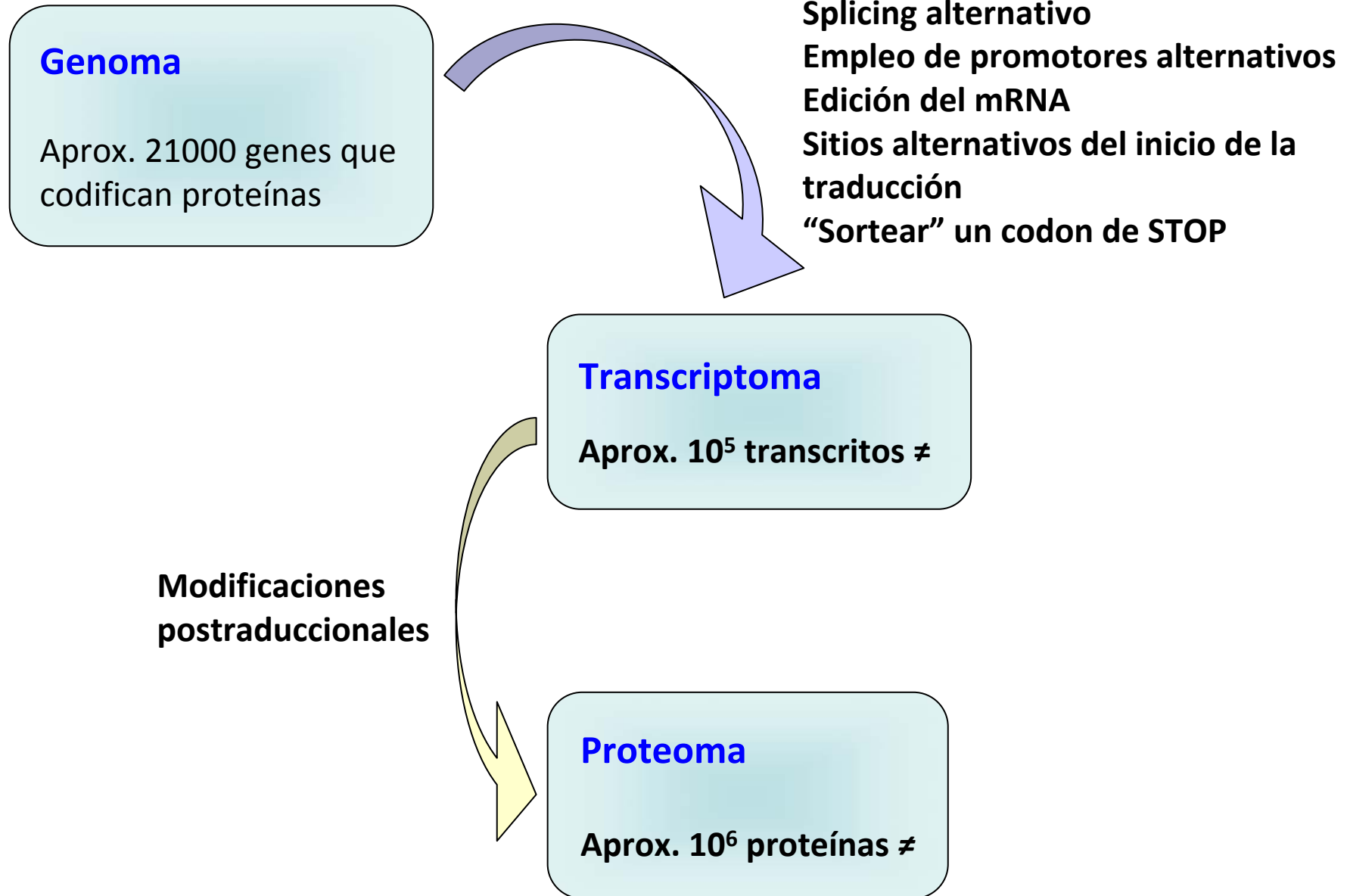
4. Fosforilación

5. Ubiquitinación

6. Acilación

7. Otras modificaciones postraduccionales

INTRODUCCION



Las modificaciones postraduccionales

Modificación postraducciona

Modificaciones covalentes de la estructura de una proteína

Función: regular la funcionalidad

localización celular

interacción con otras proteínas

>200 tipos: gran variabilidad

presentes en el 80% de las proteínas de eucariontes: alta frecuencia

Secuencias consenso que determinan la existencia de una modificación

→ **Predicción bioinformática**

TIPOS DE MODIFICACIONES EN LAS PROTEINAS (I)

Formación de enlaces covalentes

Puentes disulfuro entre Cys

Unión de pequeñas moléculas

fosforilación – grupos fosfato

O- y N-glicosilación – monosacáridos

hidroxilación – grupos hidroxilo

acilación – grupos acilo

metilación – grupos metilo

amidación – grupos amida

Unión de otras proteínas: **ubiquitinación**

SUMOilación

Tipos de modificaciones en las proteínas (II)

Rotura de enlaces covalentes

Proteolisis: escisión de un fragmento proteico y activación de la proteína

Autoproteolisis

Rotura de secuencias señal: peptidasas de la señal

Proteolisis intramolecular

neuropéptidos

hormonas (insulina)

morfógenos (notch, shh)

activación de zimógenos

cascada de coagulación sanguínea

Tipos de modificaciones en las proteínas (III)

Según el aminoácido modificado

Extremo N-t: formilación, acetilación, acilación, mistirilación, glicosilación

Extremo C-t: metilación, ADP-ribosilación

Arg: acetilación, metilación, ADP-ribosilación

Asn: N-glicosilación, metilación, desamidación

Asp: metilación, hidroxilación

Cys: formación de puentes disulfuro, de SelenoCys
acilación, prenilación, unión de grupos prostéticos (hemo)

Glu: metilación, carboxilación, ADP-ribosilación

Gln: desamidación

Tipos de modificaciones en las proteínas (IV)

His: metilación, fosforilación, ADP-ribosilación

Lys: N-acetilación, metilación, oxidación, hidroxilación, ubiquitinación

Met: formación de sulfóxidos

Phe: β -hidroxilación, O-glucosilación

Pro: hidroxilación, O-glicosilación

Ser: fosforilación, O-glicosilación, acetilación

Thr: fosforilación, O-glicosilación, metilación

Trp: β -hidroxilación

Tyr: fosforilación, yodación, adenilación, sulfatación, hidroxilación

LOCALIZACION DE LAS MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES (I)

Núcleo: acetilación, fosforilación (no exclusivas)

Lisosoma: resto manosa-6P en proteínas lisosomales

Mitocondria: N-formilación

Aparato de Golgi: N- y O-glicosilación, sulfatación, palmitilación

Retículo endoplasmático (ER): N-glicosilación, unión a fosfatidil-inositol

Citosol: acetilación, metilación, fosforilación

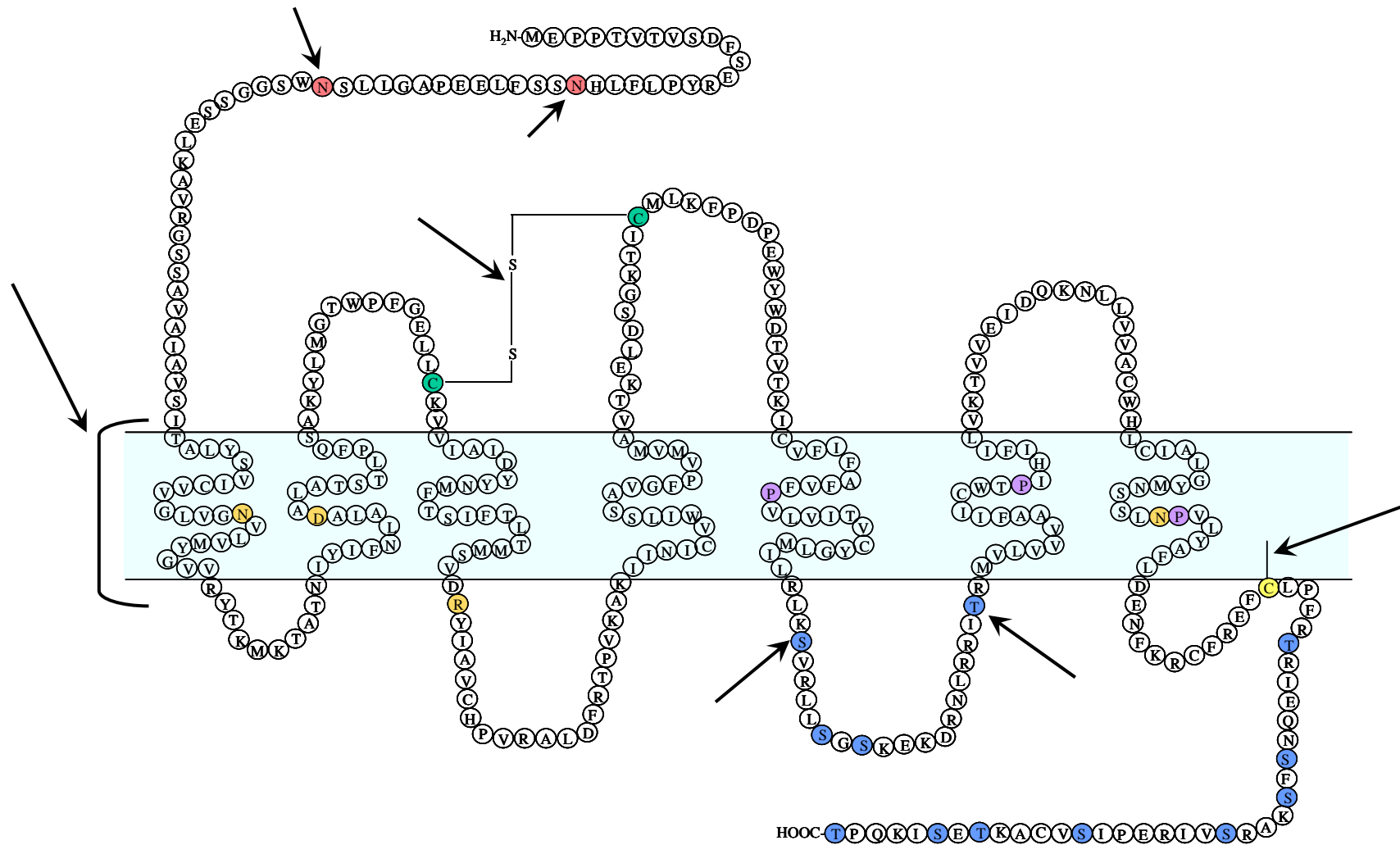
Ribosoma: metilación

Membrana plasmática: N- y O-glicosilación, unión a fosfatidil-inositol

Fluido extracelular: N- y O-glicosilación, acetilación, fosforilación

Matriz extracelular: N- y O-glicosilación, fosforilación, hidroxilación, sulfatación

Localización de las modificaciones postraduccionales (II)



Una misma proteína puede presentar más de una modificación postraduccionales

FUNCION DE LAS MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

Protein targetting

Tráfico intra ó intercelular. Por ejemplo, manosa-6P, ubiquitinación

Estabilidad de la proteína

Sialo vs. asialoglicoproteínas, ubiquitinación

Determinante clave para la actividad proteica

Bolsillo de unión de receptores de membrana

Control de la actividad

Fosforilación / defosforilación

Proteolisis: activación de caspasas, de factores de coagulación

Regulación de la expresión génica: acetilación de histonas

IDENTIFICACION DE LAS MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES

Secuencias consenso

Predicción bioinformática

Herramientas bioinformáticas para predecir modificaciones postraduccionales

Bases de datos & software: ExPASy the proteomic server, PFAM, SMART, ELM, UNI-PROT etc

Espectrometría de masas

Especialmente en combinación con 2D SDS-PAGE, digestiones y HPLC

Incorporación de grupos marcados radiactivamente, con Bpa, digoxigenina...

Cross-reactividad con anticuerpos

MODIFICACIONES N- & C-TERMINALES (I)

Eliminación de la Met N-terminal

muy común $MASRP + H_2O \rightarrow M + ASRP$

Eliminación del péptido señal

Por las enzimas peptidasas de la señal

Gran utilidad en las predicciones bioinformáticas del destino celular de una proteína

Proinsulina humana

Met-Ala-Leu-Trp-Met-Arg-Leu-Leu-Pro-Leu-Leu-Ala-Leu-Leu-Trp-Gly-Pro-Asp-Pro-Ala-Ala-Ala -- [ROTURA DEL PEPTIDO SEÑAL] --Phe-Val

Modificaciones N- & C-terminales (II)

Acilación N-terminal

Acetilación, formilación (bacterias) o mistirilación



Amidación C-terminal

Tras la proteólisis de la última Gly: muchos neuropéptidos



GLICOSILACION

La modificación postraducciona l más importante y más compleja

Adición de **unidades glucídicas** sobre cadenas laterales de $\alpha\alpha$

Muy frecuente en proteínas extracelulares de membrana plasmática o secretadas

Glucoproteínas: Pm de la cadena proteica > Pm de la parte glucídica

vs.

Proteoglucanos: Pm de la parte glucídica > Pm de la cadena proteica

Monosacáridos

Glc, Gal, Man, NAcGlc, NAcGal, fucosa, ñácidos siálicos

Glicosil tansferasas

Enzimas con alta especificidad de monosacárido

estructura del aceptor

sitio del enlace

configuración del enlace

Funciones de la Glicosilación

Aumenta la solubilidad de la proteína

Aumenta la vida media de las proteínas secretadas

→ protección contra proteasas y otras enzimas proteolíticas

Reconocimiento celular por proteínas de membrana

Marcador específico de tejidos

Desarrollo de tejidos y modificación de señales extracelulares

Soporte estructural

Proteoglicanos de la matriz extracelular

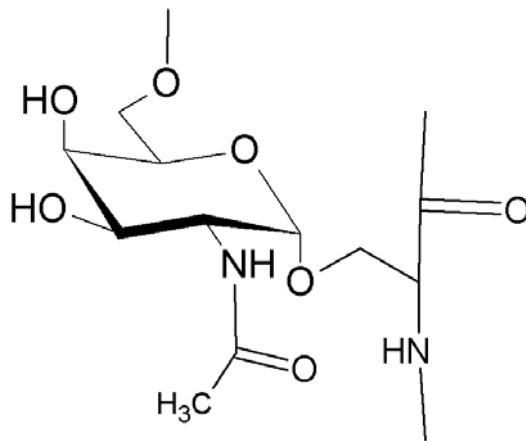
Glicosilación de proteínas

La glicosilación tiene lugar fundamentalmente en el ER y Golgi

El plegamiento de glicoproteínas requiere de chaperones del ER

Lectinas: proteínas que “leen” el código glucídico e intervienen en el reconocimiento celular, señalización, adhesión y destino celular de las proteínas

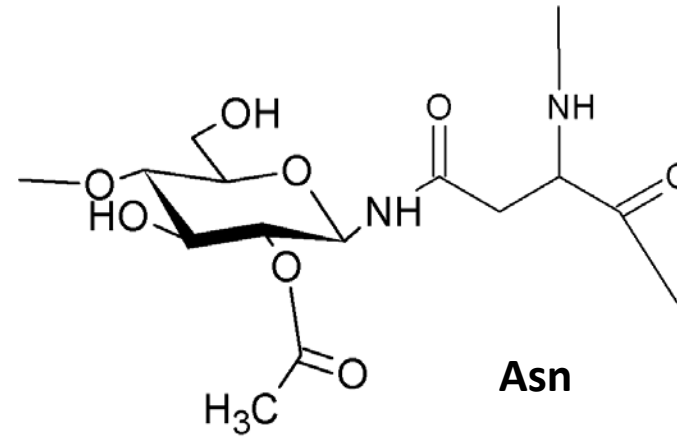
Tipos de glicosilación



GalNAc

Ser

O-glicosilación



GlcNAc

Asn

N-glicosilación

N-GLICOSILACION (I)

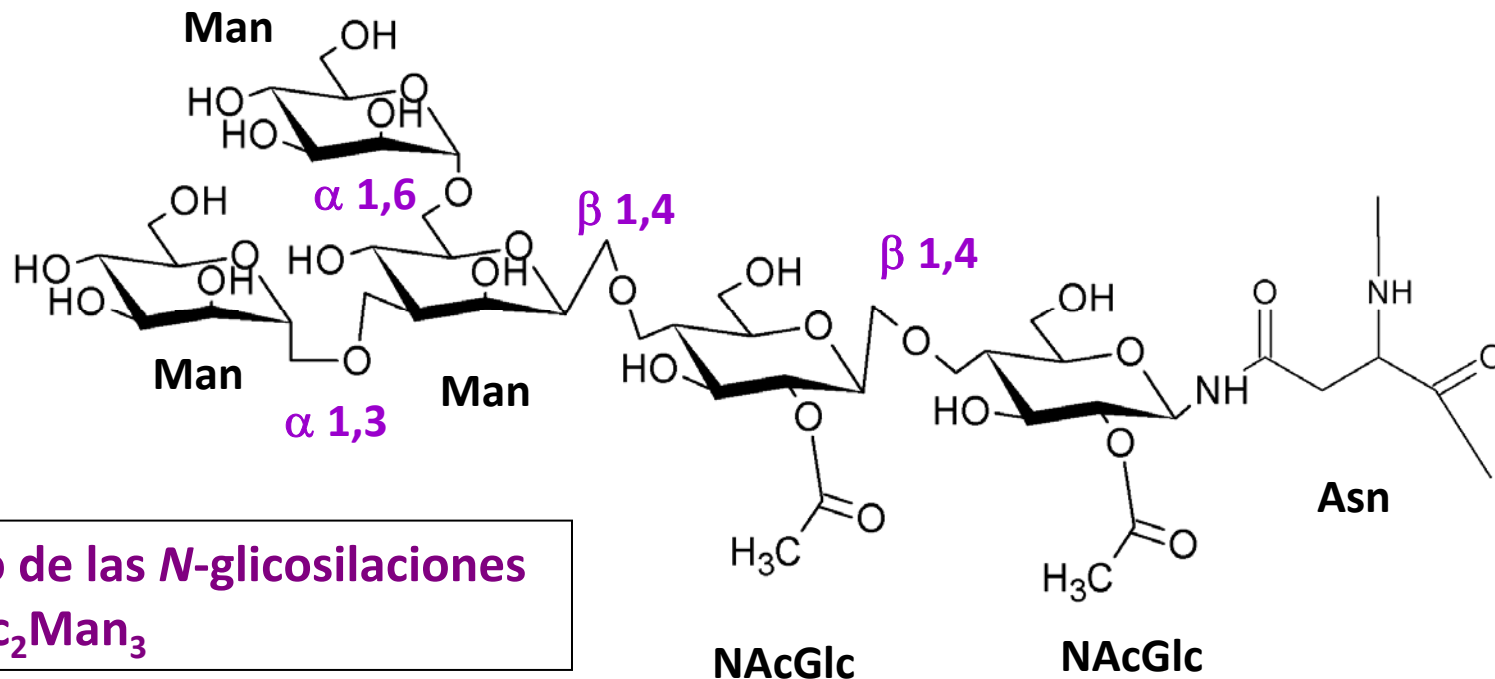
Sobre **Asn**

Secuencia consenso **N-X-T/S/C**; X \neq Pro \rightarrow predicción bioinformática

Tiene lugar en el ER

Núcleo común para todas las N-glicosilaciones: **NAcGlc₂Man₃**

Reconocido por las lectinas y por las N-glicanasas (PNGaseF)



N-glicosilación (II)

Modelos de glicosilación

Tipo rico en manosa

Tipo complejo: NAcGlc, Gal, manosa, ácido siálico y fucosa

Híbrido

Síntesis en varios pasos

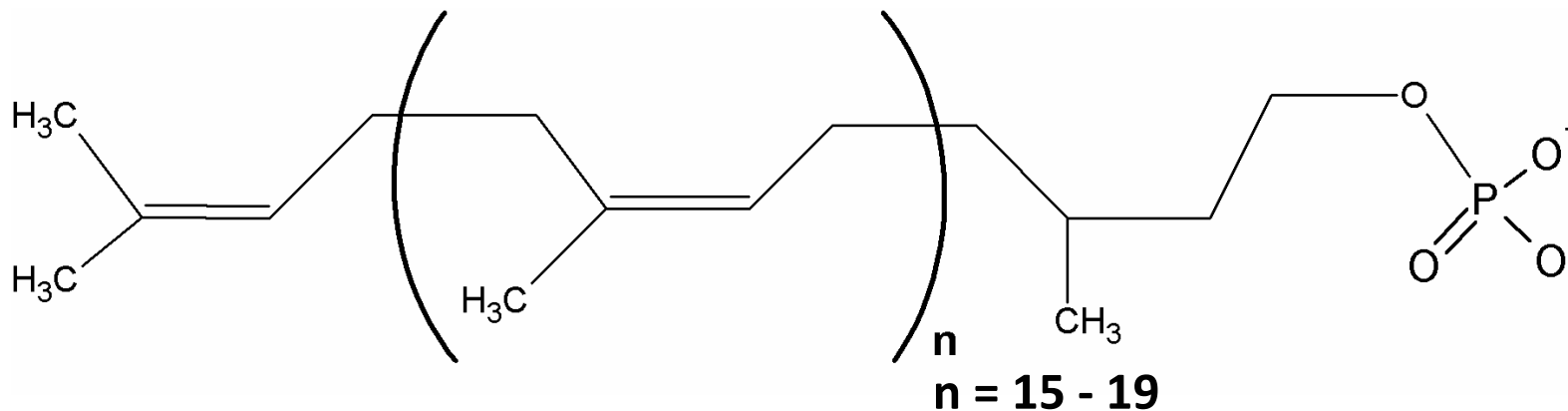
1. Síntesis sobre de un intermediario sobre el **dolicol-P** de la membrana del ER
2. Transferencia sobre la proteína que tenga la secuencia consenso

N-glicosilación (III)

Dolicol-P

Lípido altamente hidrofóbico compuesto por 20 isoprenos (C5)

Localizado en la membrana del retículo endoplasmático liso



Estructura del dolicol-P

Dadores de azúcares activados y del dolicol

UDP, GDP & dolicol-PP

N-glicosilación (IV)

1. **Transferasas citosólicas**

Síntesis del núcleo del oligosacárido sobre el dolicol-P

El grupo P del dolicol se sitúa en la cara citosólica de la membrana del ER

Se transfieren **2 GlcNAc y 5 Man**

2. **Traslocación** del glicolípido a través de la membrana del ER

3. Las **transferasas del ER** prosiguen con la glicosilación

Síntesis del oligosacárido nuclear sobre el dolicol-P: **(GlcNAc)₂-(Man)₉-(Glc)₃**

4. **Transferencia** del oligosacárido sobre un residuo de **Asn** (secuencia consenso)

5. **Reciclaje del dolicol-P**: dolicol-PP → dolicol-P + Pi

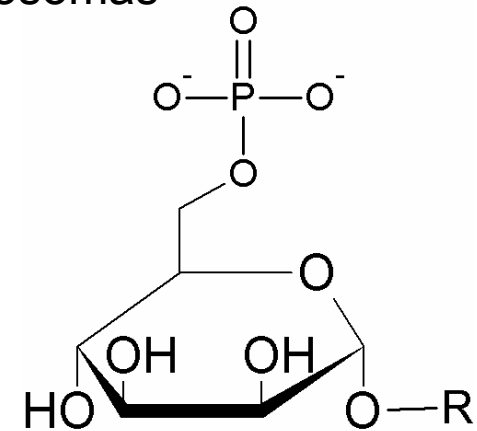
Enzima: **fosfatasa**

Importancia de la *N*-glicosilación. Ejemplos

Protein targeting, intra- ó extracelular

Receptor de asialoglicoproteínas en el hígado → eliminación del torrente sanguíneo (*turnover*)

Resto de Manosa-6P → marcaje de proteínas hacia los lisosomas



Man-6P

Interacción parásito – huésped

Unión de *E. coli* a las células epiteliales del tubo digestivo

N. gonorrhoeae

Interacción óvulo – espermatozoide

Glúcidos de la zona pelucida con proteína ZP3

O-GLICOSILACION

Ausencia de secuencia consenso → no predicción bioinformática

Adición de residuos de GlcNAc

Unión β -O-N-acetilglucosamina sobre Ser ó Thr

En el núcleo y en el citosol

Enzimas: O-linked GlcNAc transferasas

Adición de residuos de GalNAc

Sobre Ser ó Thr

Estructura tipo mucina

Tiene lugar en el Golgi

N-acetil-galactosaminil-transferasas

Ejemplo de O-glicosilación

Antígenos de los grupos sanguíneos A, B, O

FOSFORILACIÓN (I)

Formación de un éster fosfórico

Entre un grupo –OH de la cadena lateral de Ser, Thr & Tyr y un grupo fosfato

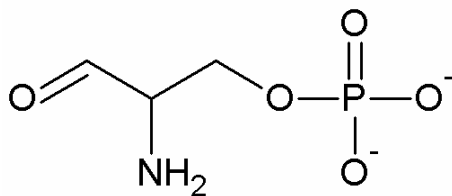
Fosfato donado por el ATP

Alta frecuencia de aparición

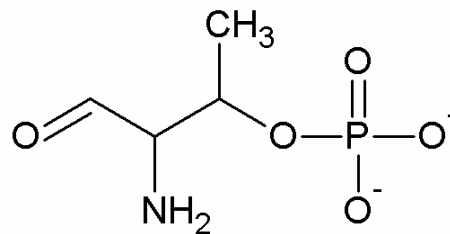
1 de cada 8 proteínas esta fosforilada, muchas veces, en varios residuos

Función

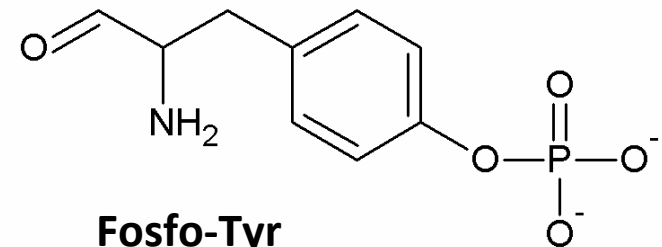
Regulación de la función proteica: al alterar la estructura y la actividad de una proteína (aparición de un grupo cargado negativamente)



Fosfo-Ser



Fosfo-Thr



Fosfo-Tyr

Fosforilación (II)

Modificación postraducciona**l rápida y reversible**

Acciones mediadas por **proteín kinasas** vs. **fosfatasa**s

Tipos de proteín kinasas

Ser/Thr proteín kinasas

PK_A, PK_C, CAM PK. Generalmente solubles

Transducción de señales, activación de kinasas (cascadas de fosforilación)

Tyr proteín kinasas

Dominios TyrK en receptores de membrana para insulina y factores de crecimiento → transfosforilación, dimerización y activación

Proteín kinasas multifuncionales

UBIQUITINACION (I)

Ubiquitina (Ub)

Proteína pequeña de 76 $\alpha\alpha$ (8.5 KDa)

Presente en todos los organismos eucariontes

Se une a otras proteínas

Enlace entre la **Gly C-terminal de la Ub** y el ϵ $-\text{NH}_2$ de una **Lys** de la proteína diana

Forma cadenas de **poliubiquitina**

Marca las proteínas para su **degradación en el proteasoma 26S**

Ubiquitinación (II)

Actualmente se admite que la ubiquitinación puede tener funciones de

señalización intracelular = *protein targetting / trafficking*

- reciclaje vs. degradación de receptores de m.p. que han sido internalizados

- mecanismo de señalización = protein targetting

SUMOilación

Adición de proteínas similares a la ubiquitina

Importancia en las casadas de señalización

el control de la expresión génica por modificación de histonas

Ubiquitinación (III)

Proceso dependiente de ATP en el que participan 3 proteínas

E1: enzima activadora de la ubiquitina



Ub-C=O-AMP: Ubiquitinil acil adenilato



Formación de un enlace tioséster

E2: Proteína transportadora de la ubiquitina



E3: ubiquitina ligasa



ACILACIÓN (I)

Unión de restos lipídicos

Consecuencias

- Generalmente se produce una pérdida de Q^+
- Aumento en la hidrofobicidad

Función

- Interacción de la proteína con las membranas biológicas
- Anclaje de las proteínas en las membranas

Mistirilación (C14:0)

Gly amidada N-terminal (Met-Gly-X-X-X-Ser/Thr), en **Lys** ó **Cys**

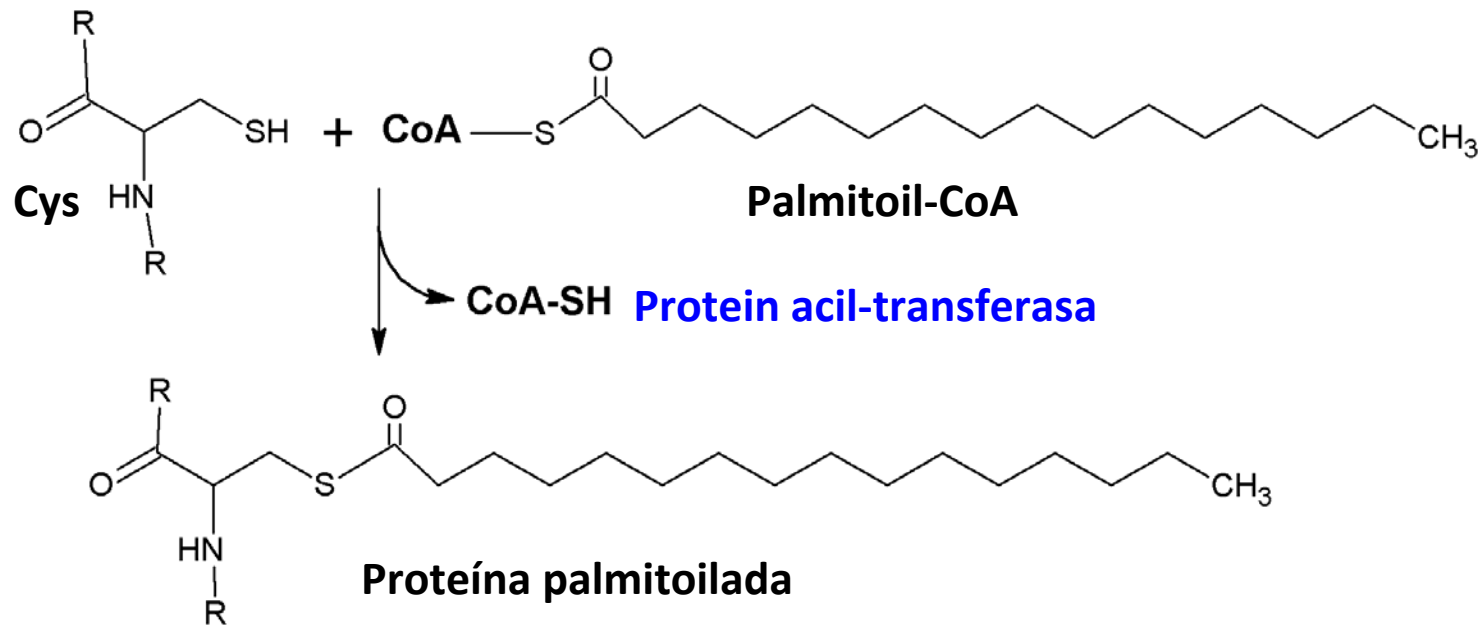
Acilación (II)

Palmitoilación (C16:0)

En residuos de **Cys** de la cara citosólica de la membrana plasmática

Formación de un enlace tioéster

Importancia en GPCRs y proteínas G



Acilación (III)

Prenilación

Farnesilación, geranyl-geranylación

En **Cys** del dominio C-terminal

Secuencias consenso: **CxC, Cxxx, xCC**

Farnesilación del oncogen *ras* con farnesil-PP

Ras se une a la membrana plasmática, permitiendo la transmisión de las señales de receptores de membrana al interior celular

Ras + farnesil-PP → Ras-farnesilado + PPI

Union GPI-anchor, a DAG o a CHO

En un residuo de Gly C-terminal

Característico de proteínas integrales de membrana

La proteína se sitúa en la cara extracelular de la membrana plasmática

OTRAS MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES (I)

Formación de puentes disulfuro

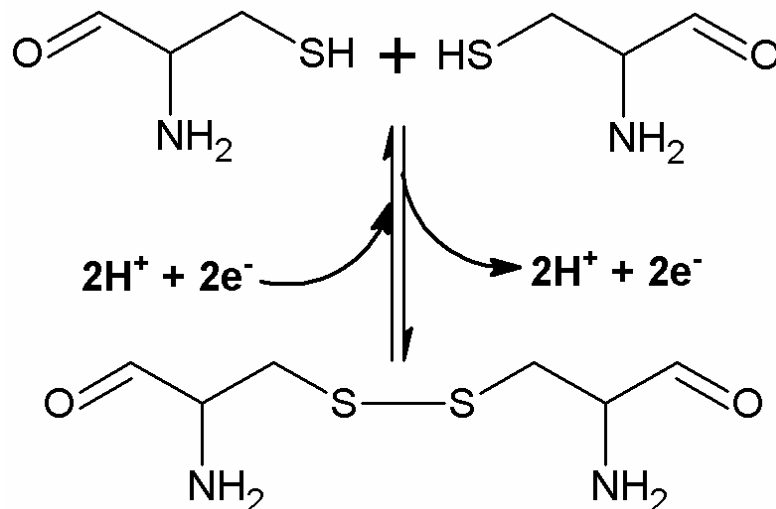
Entre dos residuos de **Cys**

Inter- ó intramoleculares

Funcion: La dimerización de cisteínas = **$\alpha\alpha$ cistina** contribuye al **mantenimiento de la estructura 3D de las proteínas**

Interconversión de puentes disulfuro por las **Proteínas disulfuro isomerasas**

→ es imprescindible que el puente disulfuro se forme entre las dos Cys correctas



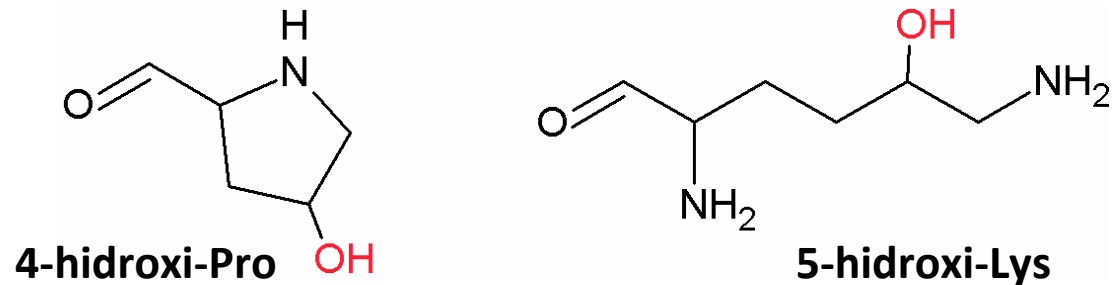
Formación de un puente disulfuro entre dos Cys

Otras modificaciones postraduccionales (II)

Hidroxilación

5-hidroxi-Lys, 4-hidroxi-Pro, Asn, Asp

Presentes en el colágeno, hidroxilación por la **Prolil-hidroxilasa** (proceso dependiente de vitamina C)



ADP-ribosilación

Introducción de una molécula de ADP-ribosa (del NAD) sobre **His, Arg & Glu**

Enzima: **ADP-ribosil transferasa**

- **Bacterianas:** inactivación de proteínas del huésped
toxina colérica, toxina pertúsica: sobre proteínas G heterotriméricas
toxina diftérica: sobre el factor EF-2 de la traducción de proteínas
- **Intracelulares:** implicadas en la transducción de señales
ADP-ribosilación de histonas → control de la expresión génica

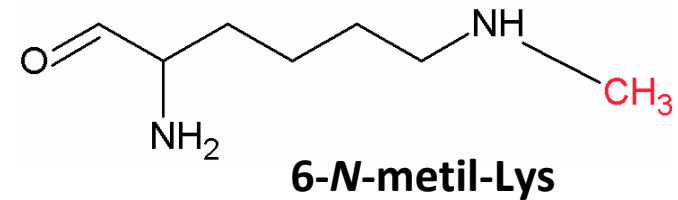
Otras modificaciones postraduccionales (III)

Metilación ó alquilación

En **Lys, Arg, His, Asn, Glu, Phe N-terminal & Cys C-terminal**

Función: generalmente produce la **pérdida de una Q⁺** en un grupo amino lateral

6-*N*-Me-Lys: presente en la miosina



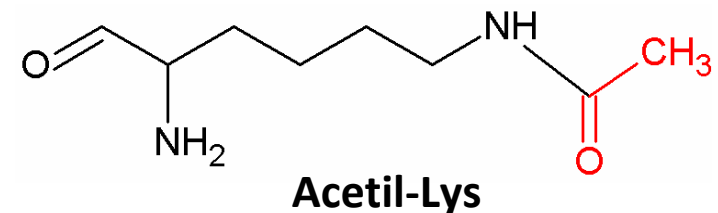
Acetilación

En **Lys y en el extremo N-terminal**

Funcion: generalmente produce la **pérdida de una Q⁺** en un grupo amino lateral

Ejemplo: *Acetilación de la histona H3 en Lys⁵⁶*

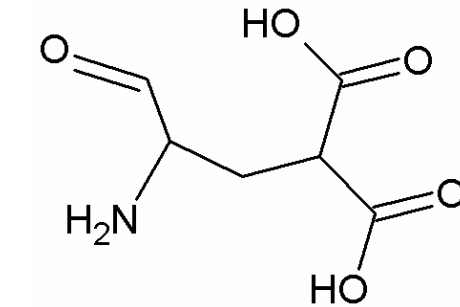
muy frecuente en genes transcripcionalmente activos
permite el acceso del complejo remodelador de la cromatina



Otras modificaciones postraduccionales (IV)

Carboxilación

γ -carboxi-Glu: en los factores de coagulación
carboxilación dependiente de vitamina K



γ -carboxi-Glu

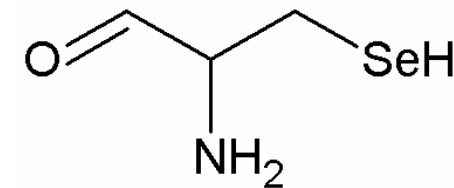
Selenización

$\alpha\alpha$ con Se: **Selenocisteína, Selenometionina**

La Selenocisteína está presente en el centro activo de enzimas, que catalizan procesos redox, como la glutatión peroxidasa

La Selenocisteína viene codificada por un codon UGA (= STOP) en presencia de elementos SECIS en el RNA

SelenoCys = 'the twenty first amino acid'



Selenocisteína

Otras modificaciones postraduccionales (V)

Sulfatación

Tyr, Ser, Thr

Presente en proteoglicanos

Enzima **Sulfotransferasa**

Ejemplo: la sulfatación de glicosamino-glicanos es clave para la activación de factores de crecimiento

Nitrosilación

Adición de un grupo NO a un residuo de **Cys** → formación de un **S-nitrosotiol**

Importante para la activación de metaloproteínas

inactivación de proteínas (caspasas)

Unión de iones metálicos

Forman parte del centro activo de muchas enzimas

Otras modificaciones postraduccionales (VI)

Unión de grupos prostéticos

Ejemplo: **piridoxal-fosfato (PLP)**

- coenzima en todas las reacciones de aminotransferencia
 - algunas reacciones de descarboxilación
 - reacciones de desaminación de los aminoácidos
- actúa como una base de Schiff

Desmosina

Cross-link formado por 4 cadenas polipeptídicas distintas: 3 alílicas + Lys

Función clave en el mantenimiento de la matriz extracelular

Presente en la **elastina**