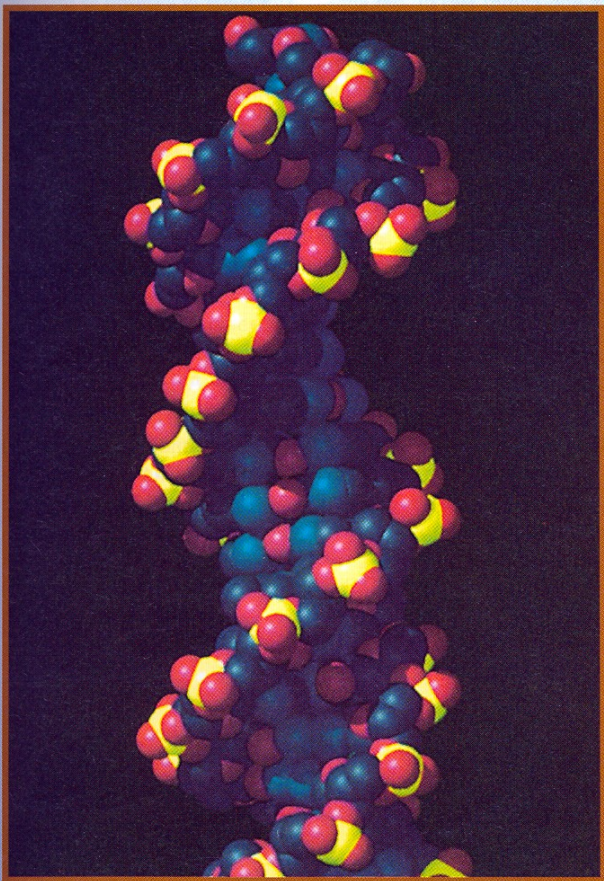


# 10

## BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA FUNCIÓN GÉNICA



Modelo simulado por ordenador de la molécula de DNA.

(J. Newdol, Computer Graphics Laboratory, University of California, San Francisco. Copyright © Regents, University of California.)

### *Ideas fundamentales*

El DNA se transcribe en una molécula de mRNA, que posteriormente se traduce durante el proceso de síntesis proteica.

La traducción requiere moléculas de RNA transferentes y ribosomas.

El código genético consiste en un código de tripletes no solapados.

Existen secuencias específicas que marcan las posiciones donde debe comenzar y terminar la transcripción y la traducción.

En los eucariotas, el transcrito primario se procesa de diversas maneras antes de convertirse en mRNA.

Muchos genes eucarióticos contienen segmentos de DNA, denominados intrones, que interrumpen la secuencia informativa del gen.

Para eliminar los intrones y producir el mRNA final, el transcrito primario eucariótico sufre un proceso de corte y empalme.



El objetivo de este capítulo es analizar cómo la información genética se traduce en la aparición de macromoléculas funcionales. Los productos iniciales de todos los genes son los ácidos ribonucleicos (RNA). El RNA es similar al DNA, excepto que el azúcar en el RNA es la ribosa y el uracilo sustituye a la timina. El RNA se sintetiza mediante un proceso que copia la secuencia nucleotídica del DNA. Puesto que este proceso recuerda a la transcripción o copia de palabras escritas, el proceso de síntesis de RNA se conoce como **transcripción**, y el producto así obtenido se denomina **transcrito**. Veremos en este capítulo que uno de los primeros indicios sobre cómo el DNA dirige la síntesis de proteínas se obtuvo de experimentos realizados con bacteriófagos, a partir de los cuales se demostró que la expresión génica resultaba en la transcripción de moléculas de RNA a partir del DNA molde. La transcripción es catalizada por una enzima, la polimerasa de RNA, siguiendo unas normas muy similares a las que gobiernan la replicación.

Existen varias clases de RNA que analizaremos en este capítulo. Los *RNA informativos* son intermediarios en el proceso de descodificación de los genes a cadenas polipeptídicas. El RNA informativo a partir del cual se sintetizan directamente las proteínas es el **RNA mensajero (mRNA)**. En los procariotas, el transcrito, tal como es sintetizado a partir del DNA (el transcrito primario), es el mRNA. En los eucariotas, sin embargo, el transcrito primario sufre un procesamiento que consiste en la modificación de los extremos 5' y 3', y la eliminación de fragmentos (intrones) del transcrito primario. El resultado final de este procesamiento del pre-mRNA es el mRNA. Más adelante en este capítulo, analizaremos con más detalle estos pasos en la producción del mRNA. La secuencia de nucleótidos del mRNA se convierte en la secuencia de aminoácidos de la cadena polipeptídica por un proceso denominado **traducción**.

Los *RNA funcionales* nunca se traducen en polipéptidos. Ejercen su acción en forma de RNA y desempeñan varias funciones diferentes. En todos los organismos se han encontrado dos clases. Las moléculas de **RNA transferente (tRNA)** transportan los aminoácidos al mRNA durante la síntesis proteica. Los tRNA son componentes generales de la maquinaria de traducción. Los **RNA ribosómicos (rRNA)** se asocian a un conjunto de proteínas diferentes para formar los ribosomas, que son las «máquinas» encargadas de la síntesis proteica. Existen otras dos clases de RNA funcionales que están implicados en el procesamiento de la información y son específicos de eucariotas. Los **RNA nucleares pequeños (snRNA)** participan en el procesamiento en el núcleo de los transcritos primarios a RNA mensajeros. Varias proteínas específicas se combinan con los snRNA y forman pequeñas partículas ribonucleoproteicas (**snRNP**) que sirven de «plataforma» para las reacciones de corte y empalme. Los **RNA citoplásmicos pequeños (scRNA)** están involucrados en el transporte de proteínas dentro de las células eucarióticas. En concreto, se encargan de asegurar que polipéptidos destinados, por ejemplo, a ser secretados, se inserten en el compartimiento celular adecuado (el retículo endoplásmico rugoso). Así comienza el proceso de secreción proteica.

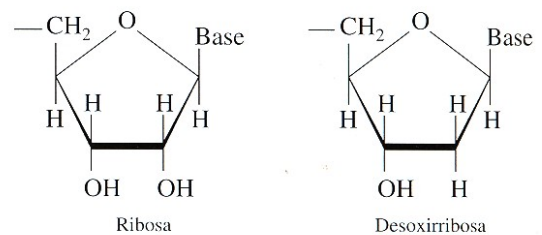
Cualquier función del DNA y del RNA se basa en dos principios fundamentales:

1. Las bases complementarias de las cadenas nucleotídicas individuales pueden establecer puentes de hidrógeno y formar así estructuras de cadena doble.
2. Secuencias nucleotídicas concretas de los ácidos nucleicos de cadena sencilla y doble pueden ser reconocidas por proteínas específicas que se unen a los ácidos nucleicos. En los siguientes apartados puede verse aplicado este principio.

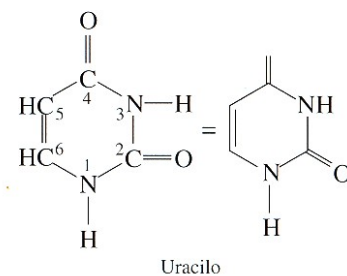
## Propiedades del RNA

Aunque tanto el RNA como el DNA son ácidos nucleicos, el RNA difiere en varios aspectos fundamentales:

1. EL RNA suele estar constituido por una sola cadena de nucleótidos, no es una hélice doble. Como consecuencia, el RNA puede adoptar una gama mucho mayor de estructuras tridimensionales complejas que el DNA de cadena doble. Consideraremos esta propiedad con más detalle posteriormente en este capítulo.
2. El RNA tiene el azúcar **ribosa** en sus nucleótidos, en vez de una desoxirribosa. Como sus nombres indican, los dos azúcares difieren en la presencia o ausencia de un átomo de oxígeno. Igual que las cadenas individuales del DNA, el RNA presenta un esqueleto de fosfato-ribosa, en el que cada base se une covalentemente a la posición 1' de cada ribosa.



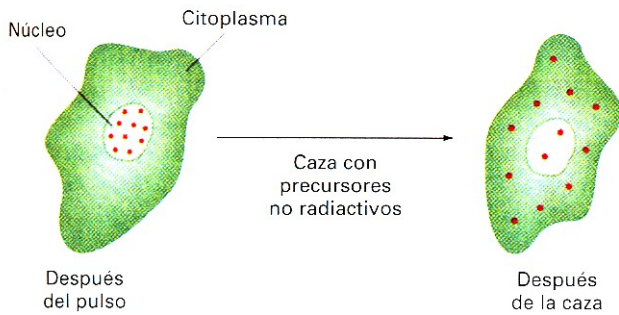
3. Los nucleótidos del RNA pueden tener las bases adenina, guanina y citosina, pero la base pirimidínica **uracilo (U)** sustituye a la timina. No obstante, el uracilo establece puentes de hidrógeno con la adenina, igual que lo hace la timina.



## Transcripción

Los primeros investigadores del tema tenían motivos justificados para pensar que la información no se transfiere directamente del DNA a las proteínas. En una célula eucariótica, el DNA se encuentra en el núcleo, mientras que las proteínas se sintetizan en el citoplasma. La necesidad de un intermediario es obvia.





**Figura 10-1.** El RNA sintetizado durante un breve período de tiempo se marca, suministrando a la célula un «pulso» de precursores radiactivos del RNA, seguido de una «caza» con precursores no radiactivos. En una autorradiografía, el RNA marcado aparece como granos oscuros. Los resultados sugieren que el RNA se sintetiza en el núcleo y luego se transporta al citoplasma.

**Experimentos pioneros que sugirieron la existencia de un RNA intermediario**

Si se suministran precursores radioactivos a las células, donde primero se observa el RNA es en el núcleo, lo que indica que es ahí donde se sintetiza el RNA. En un experimento de **pulso y caza**, los precursores del RNA marcados se suministran en forma de un pulso breve. Una vez que estos precursores se han incorporado al RNA, las células se transfieren a un medio con precursores no marcados. De este modo se puede «cazar o perseguir» la marca incorporada en el RNA, ya que a medida que este RNA se degrada, la síntesis de nuevas moléculas de RNA ocurre a partir de los precursores no marcados. Los experimentos de pulso y caza nos permiten seguir la evolución temporal de una población de moléculas de RNA que han sido sintetizadas casi simultáneamente. En muestras tomadas después de la caza, el RNA marcado se encuentra en el citoplasma (Fig. 10-1). Parece, entonces, que el RNA se sintetiza en el núcleo y se traslada posteriormente al citoplasma, donde se sintetizan las proteínas. Por ello, el RNA es un buen candidato a servir de intermediario en la transferencia de información entre el DNA y las proteínas.

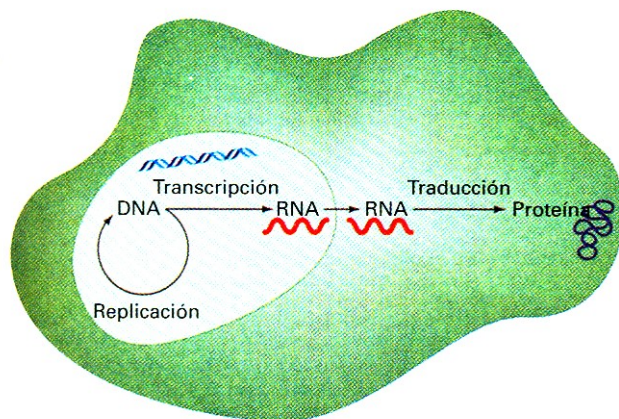
En 1957, Elliot Volkin y Lawrence Astrachan realizaron una observación significativa. Encontraron que uno de los cambios

moleculares más sorprendentes que ocurren cuando *E. coli* es infectada con el fago T2 es un aumento repentino en la síntesis de RNA. Además, el RNA cuya síntesis se induce por el fago tiene una vida media muy corta, como se demuestra en el siguiente experimento. Primero, las bacterias infectadas se someten a un pulso con uracilo radiactivo (un precursor específico del RNA); luego, las bacterias se someten a una caza con uracilo no marcado. El RNA recuperado poco después del pulso se encuentra marcado, pero el recuperado algo después de la caza no está marcado, lo que indica que el RNA tiene una vida media muy corta. Finalmente, cuando se compara el contenido nucleotídico del RNA inducido por el fago se observa que este RNA es muy parecido al DNA del fago.

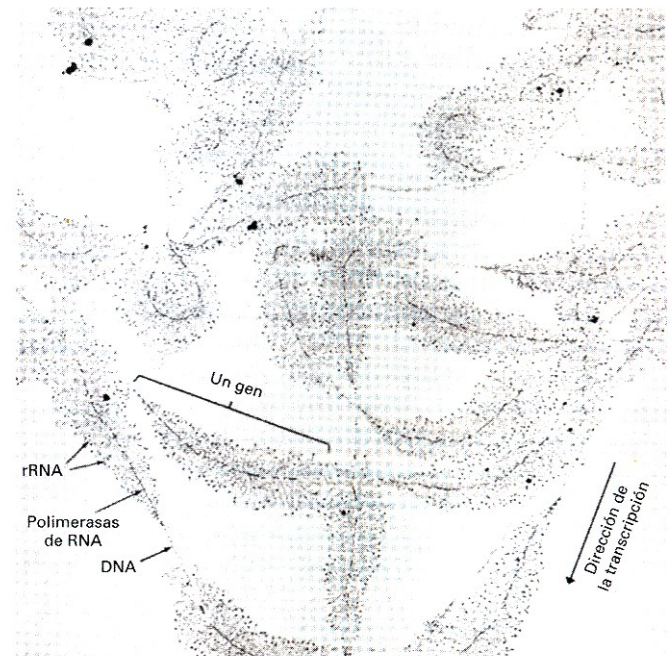
La conclusión más tentativa de los dos experimentos descritos es que el RNA se sintetiza a partir del DNA y, de algún modo, se utiliza para sintetizar proteínas. Podemos ahora definir tres etapas en el flujo de información (Fig. 10-2): *replicación* (la síntesis de DNA), *transcripción* (la copia a RNA de una parte del DNA) y *traducción* (la síntesis de un polipéptido dictada por la secuencia del RNA).

**Complementariedad y asimetría en la síntesis de RNA**

El parecido entre el RNA y el DNA sugería que la transcripción podría estar basada en la complementariedad entre bases, en la que también se fundamenta la replicación del DNA. La enzima



**Figura 10-2.** Los tres procesos de flujo de información: replicación, transcripción y traducción.



**Figura 10-3.** Transcripción en el nucléolo de *Triturus viridiscens* (un anfibio) de los genes repetidos en tándem que determinan el RNA ribosómico (rRNA). (El rRNA es un componente del ribosoma). A lo largo de cada gen se encuentran unidas muchas moléculas de polimerasa de RNA transcribiendo en una dirección. Las moléculas de RNA en crecimiento tienen aspecto de fibras que emanan del esqueleto de DNA. Las moléculas de RNA más cortas se encuentran más cerca del sitio de inicio de la transcripción; las más largas casi han completado el proceso. De ahí, el aspecto de «árbol de Navidad». (Fotografía de O. L. Miller Jr. y Barbara A. Hamkalo.)



encargada de la transcripción, la polimerasa de RNA, podría realizar la transcripción a partir de la cadena molde de forma bastante similar a como se lleva a cabo la replicación.

De hecho, este modelo para la transcripción puede confirmarse citológicamente (Fig. 10-3). También se demuestra que la síntesis del RNA utiliza el DNA como molde, ya que, en presencia de DNA y polimerasa de RNA purificada, puede producirse RNA *in vitro* a partir de nucleótidos. Cualquiera que sea la fuente de DNA utilizada, el RNA sintetizado presenta una relación  $(A + U)/(G + C)$  similar a la relación  $(A + T)/(G + C)$  del DNA (Cuadro 10-1). Este experimento no indica si el RNA se sintetiza a partir de ambas cadenas o sólo de una, pero refleja que la frecuencia lineal de los pares A—T (en comparación con los pares G—C) en el DNA se corresponde con la abundancia relativa de (A + U) en el RNA. (Estas nociones pueden resultar difíciles de captar sin la ayuda de esquemas; el problema 2 de este capítulo debería ayudar a su comprensión).

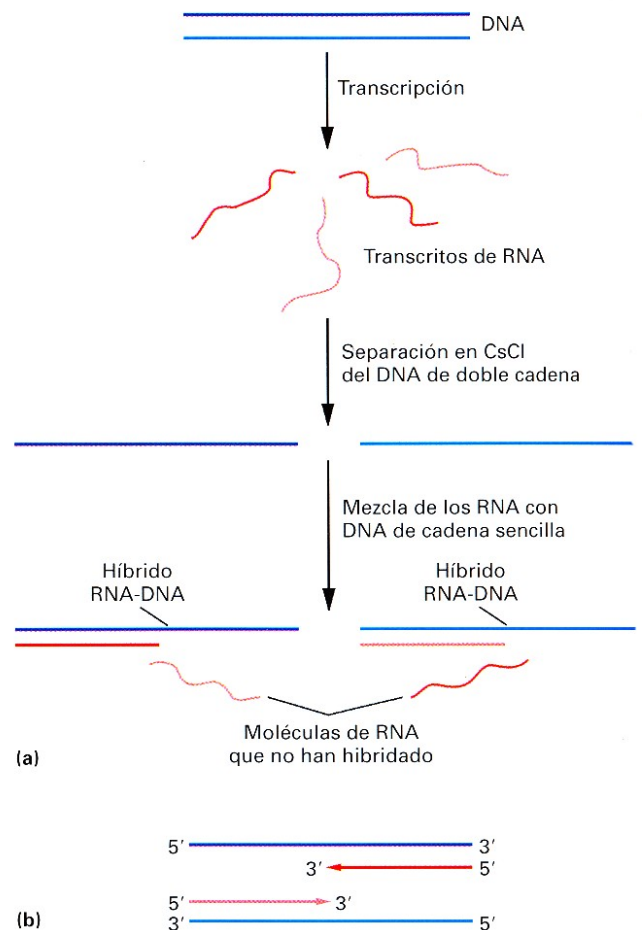
Para comprobar si existe complementariedad entre el DNA y el RNA, los investigadores pueden hacer uso de la especificidad y precisión de la hibridación entre ácidos nucleicos. El DNA se desnaturaliza y se mezcla con el RNA sintetizado en su presencia. Cuando la preparación se enfría lentamente, algunas de las cadenas de RNA se asocian con el DNA complementario dando lugar a un híbrido DNA-RNA. El híbrido DNA-RNA tiene una densidad diferente a la de la doble hélice DNA-DNA, por lo que su presencia puede detectarse por ultracentrifugación en gradiente de cloruro de cesio (CsCl). Los ácidos nucleicos sólo se asocian si existen tramos suficientemente largos de complementariedad entre las bases, de manera que la aparición de un híbrido DNA-RNA demuestra que la secuencia del transcrito es complementaria a la del DNA parental.

¿Es posible determinar si el RNA se sintetiza a partir de una sola o de ambas cadenas del DNA? Parece razonable que se utilice una sola cadena, porque la transcripción de ambas cadenas produciría dos moléculas de RNA complementarias a partir del mismo tramo de DNA, y dos proteínas diferentes (con secuencias aminoacídicas distintas). De hecho, existen una variedad de pruebas químicas que demuestran que la transcripción suele utilizar una sola de las cadenas de DNA (aunque no necesariamente la misma cadena a lo largo de todo el cromosoma).

Los experimentos de hibridación también nos permiten contestar a dicha pregunta. Si las dos cadenas presentan una relación purinas:pirimidinas suficientemente diferente, pueden separarse en un gradiente de cloruro de cesio porque tienen densidades distintas. El RNA sintetizado a partir de un tramo de DNA puede ser purificado y mezclado por separado con cada una de las ca-

denas para determinar si es complementario a una sola de las cadenas. J. Marmur y colaboradores separaron las cadenas de DNA del fago SP8 de *Bacillus subtilis* de la siguiente manera. Desnaturalizaron el DNA, lo enfriaron rápidamente para impedir la reasociación y separaron las cadenas en CsCl. Así, demostraron que el RNA de SP8 hibrida con una sola de las cadenas y que, por consiguiente, la transcripción es **asimétrica**, es decir, ocurre a partir de una sola de las cadenas.

Aunque, para cada gen, el RNA se transcribe a partir de una sola cadena, la misma cadena no se utiliza necesariamente como molde a lo largo de todo el cromosoma o en las diferentes etapas del ciclo de vida. El RNA sintetizado en diferentes momentos del ciclo de infección de un fago hibrida con diferentes segmentos del cromosoma, indicando que hay una expresión diferencial de genes a lo largo del ciclo (Fig. 10-4). En el fago  $\lambda$ , cada una de las cadenas de DNA se transcribe parcialmente en diferentes momentos del ciclo. En el fago T7, sin embargo, la misma cadena se utiliza para transcribir los genes tempranos y tardíos. La Figura 10-5 muestra una secuencia de RNA sintetizada a parti-



**Figura 10-4.** (a) Los experimentos de hibridación DNA-RNA demuestran que cada transcrito de RNA es complementario a sólo una de las dos cadenas del DNA parental. En este ejemplo, ambas cadenas de DNA se transcriben, pero la transcripción es asimétrica, es decir, en una región concreta sólo se transcribe una de las cadenas. (b) Mapa de este genoma hipotético que muestra la dirección de la transcripción de los dos transcritos de cadenas opuestas de DNA.

**CUADRO 10-1.** Proporción de nucleótidos de distintos DNA y de sus transcritos (*in vitro*)

Origen del DNA	$\frac{(A + T)}{(G + C)}$ del DNA	$\frac{(A + U)}{(G + C)}$ del RNA
Fago T2	1.84	1.86
Vaca	1.35	1.40
<i>Micrococcus</i> (bacteria)	0.39	0.49





**Figura 10-5.** La secuencia de mRNA es complementaria a la cadena molde del DNA utilizada para su síntesis. La secuencia que se muestra aquí procede del gen que determina la enzima β-galactosidasa, implicada en el metabolismo de la lactosa.

de la cadena molde de DNA. La cadena de DNA que se transcribe para un mRNA dado se denomina **cadena molde**. La cadena complementaria de DNA es la **cadena sin sentido**. Observe que la secuencia del mRNA coincide con la secuencia de la cadena sin sentido (excepto que U sustituye a T).

### Transcripción y polimerasa de RNA

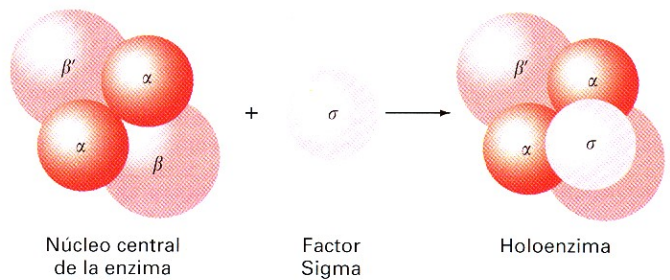
Como se comentó anteriormente, la transcripción depende de la complementariedad entre las bases. Se produce una separación local de las dos cadenas del DNA, y una de las cadenas separadas actúa como guía para la síntesis de RNA. A continuación, nucleótidos libres se emparejan con el DNA molde, «atraídos» por las bases complementarias en el mismo. El nucleótido libre A empareja con una T en el DNA, G con C, C con G, y U con A. Este proceso está catalizado por la **polimerasa de RNA**, que se une al DNA y se mueve a lo largo de la molécula añadiendo ribonucleótidos al RNA en crecimiento como se muestra en la Figura 10-6a. Vemos así los dos principios básicos en acción: la complementariedad entre bases y la unión de proteínas a los ácidos nucleicos (en este caso, la polimerasa de RNA).

El crecimiento del RNA se produce siempre en la dirección 5' → 3'; en otras palabras, los nucleótidos siempre se añaden a

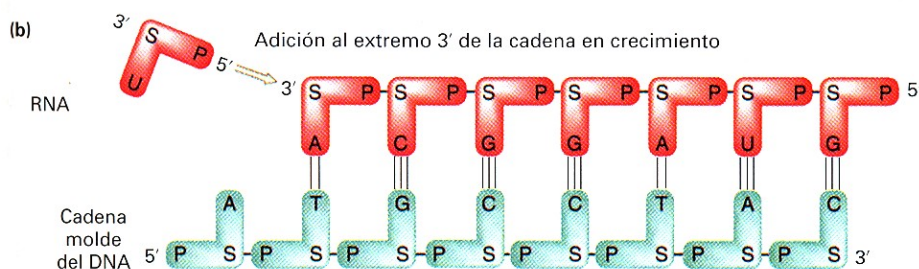
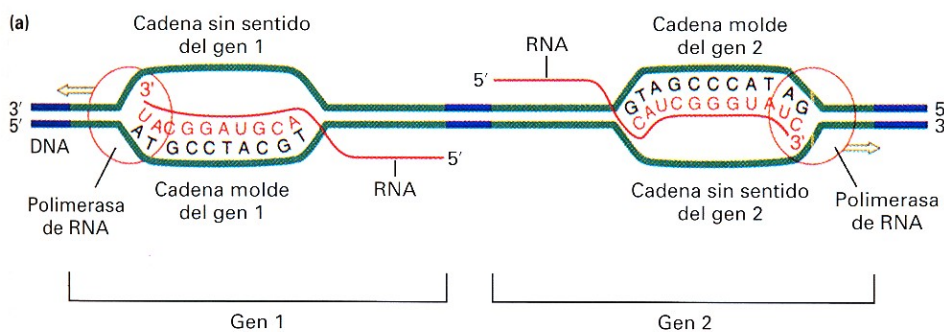
un extremo 3' creciente, como se ilustra en la Figura 10-6b. Debido a la naturaleza antiparalela del emparejamiento entre nucleótidos, que el RNA se sintetice en la dirección 5' → 3' significa que la cadena molde debe estar orientada en la dirección contraria 3' → 5'.

### Polimerasa de RNA

En la mayoría de los procariontes, una sola polimerasa de RNA transcribe todos los tipos de RNA. La Figura 10-7 muestra la



**Figura 10-7.** Estructura de la polimerasa de RNA. El núcleo central de la enzima contiene dos polipéptidos α, un polipéptido β y un polipéptido β'. La unión de la subunidad σ al núcleo central de la enzima permite la iniciación específica de la transcripción en las regiones promotoras.

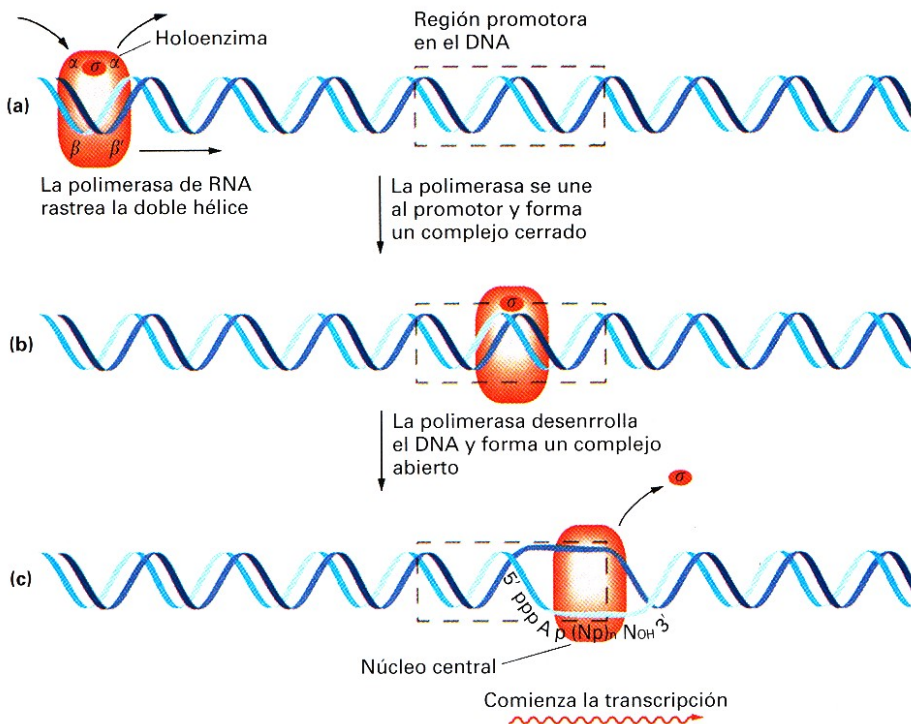


**Figura 10-6.** Transcripción de dos genes. (a) La polimerasa de RNA se mueve desde el extremo 3' de la cadena molde, generando una cadena de RNA que crece en la dirección 5' → 3' (ya que debe ser antiparalela a la cadena molde). Observe que algunos genes se transcriben a partir de una cadena del DNA y otros a partir de la cadena complementaria. (b) Se está añadiendo un uracilo al extremo 3' del transcrito del gen 1, así que crece en la dirección 5' → 3'.





**Figura 10-8.** Secuencia promotora. (a) El promotor está situado «aguas arriba» (hacia el extremo 5') del sitio de inicio y de las secuencias cifradoras. (b) Los promotores contienen regiones con secuencias similares, que aparecen sombreadas en amarillo en los 13 promotores de *E. coli* mostrados. Los espacios (indicados con puntos) se introducen para potenciar la homología en las secuencias consenso. A la izquierda se indica el gen controlado por cada promotor. La numeración se asigna considerando el número de bases anteriores (-) o posteriores (+) al sitio de inicio de la transcripción. (c) El código de color utilizado en las secuencias consenso deducidas a partir de todos los promotores de *E. coli* es: letras azules, >75%; letras negras en negrita, 50-75%; letras negras, 40-50%. [Tomado de H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 3.ª ed. Copyright © 1995 de Scientific American Books, Inc. Véase W. R. McClure, *Ann. Rev. Biochem.* 54, 1985, 171 (Consensus Sequences).]



**Figura 10-9.** Iniciación de la transcripción. (a) La polimerasa de RNA busca un sitio promotor. (b) La enzima reconoce un sitio promotor y se une a él fuertemente, formando un complejo cerrado. (c) La holoenzima desenrolla una pequeña región de DNA, formando el complejo abierto. La transcripción comienza y se libera el factor  $\sigma$ . Se muestra el transcrito de RNA, comenzando con trifosfato de adenosina (pppA) y terminando en N<sub>OH</sub> tras la incorporación de un número indeterminado de nucleótidos [(Np)<sub>n</sub>]. (Tomado de J. Darnell, H. Lodish, y D. Baltimore, *Molecular Cell Biology*, 2d ed. Copyright © 1990 de Scientific American Books, Inc.)



estructura de la polimerasa de RNA de *E. coli*. Podemos ver que la enzima está compuesta por cuatro subunidades diferentes. La subunidad beta ( $\beta$ ) tiene un peso molecular de 150 000, la beta prima ( $\beta'$ ) de 160 000, la alfa ( $\alpha$ ) de 40 000 y la sigma ( $\sigma$ ) de 70 000. La subunidad  $\sigma$  puede disociarse del resto del complejo, dejando el **núcleo central de la enzima**. La enzima completa con la subunidad  $\sigma$  es la RNA polimerasa en su forma de **holoenzima** y es necesaria para que la transcripción se inicie correctamente; una vez iniciado el proceso, el núcleo central de la enzima continúa con la transcripción.

Analicemos las tres fases de la transcripción: **iniciación, elongación y terminación**.

### Iniciación

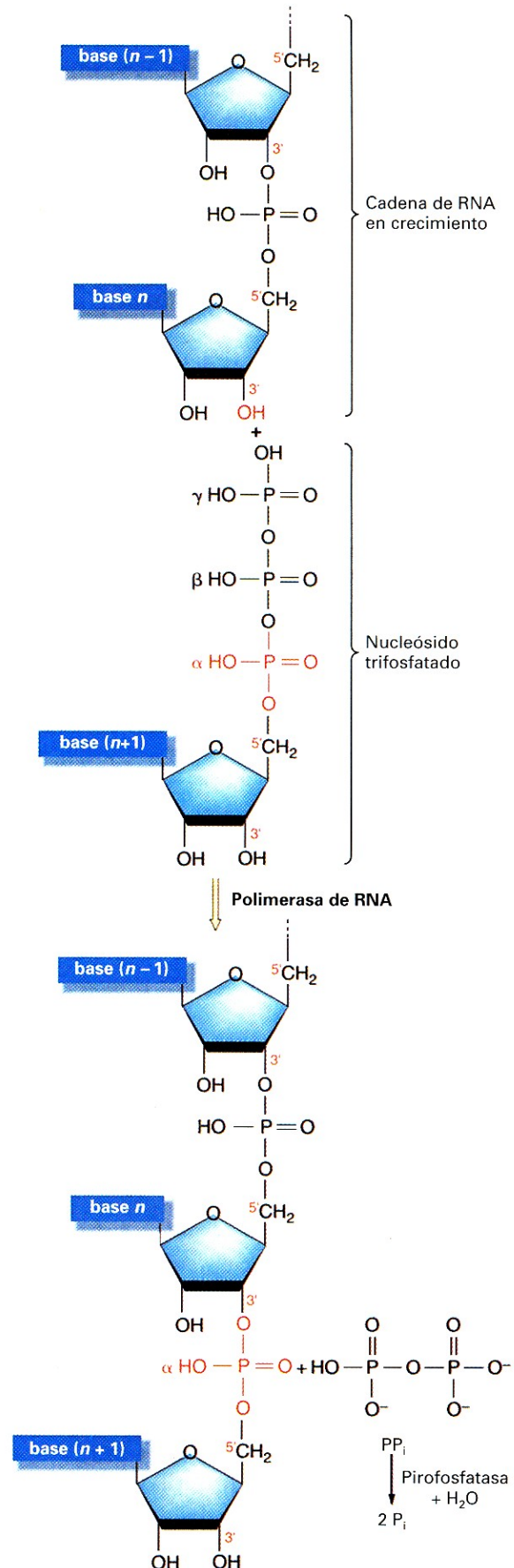
Las secuencias a las que se une la polimerasa de RNA para iniciar la transcripción se denominan **promotores**. (En el Cap. 11 analizaremos su papel en la regulación génica). La Figura 10-8 muestra las secuencias promotoras correspondientes a 13 sitios de inicio de la transcripción del genoma de *E. coli*. Las bases están alineadas por homología o similitud en la secuencia que aparece justo antes de la primera base transcrita (designado como «sitio de iniciación» en la Fig. 10-8).

Cabe señalar que en la Figura 10-8 aparecen dos regiones con similitud parcial en prácticamente todos los casos. Estas regiones se conocen como regiones  $-35$  y  $-10$  debido a su posición respecto al sitio de inicio de la transcripción. En la parte inferior de la Figura 10-8 se muestra la secuencia promotora consenso o ideal. Se ha demostrado que la polimerasa contacta con estas dos regiones cuando se une al DNA. La enzima desenrolla entonces la doble hélice y comienza la síntesis de una molécula de RNA.

La subunidad disociable de la polimerasa de RNA, el factor  $\sigma$ , es responsable de que la polimerasa de RNA reconozca y se una específicamente a las regiones promotoras. En primer lugar, la holoenzima explora el DNA en busca del promotor (Fig. 10-9a); una vez reconocidas las secuencias  $-35$  y  $-10$ , se une a ellas débilmente. La estructura resultante se conoce como el *complejo cerrado* con el promotor (Fig. 10-9b). A continuación, la enzima se une más fuertemente y desenrolla las bases cercanas a la región  $-10$ . Cuando la polimerasa unida provoca esta desnaturalización local de la doble hélice se dice que forma el *complejo abierto* con el promotor (Fig. 10-9c). Para esta etapa de iniciación se requiere la subunidad sigma.

### Elongación

Poco después de la iniciación de la transcripción, el factor sigma se disocia de la polimerasa de RNA. El RNA se sintetiza siempre en la dirección  $5' \rightarrow 3'$  (Figs. 10-10 y 10-11), a partir de

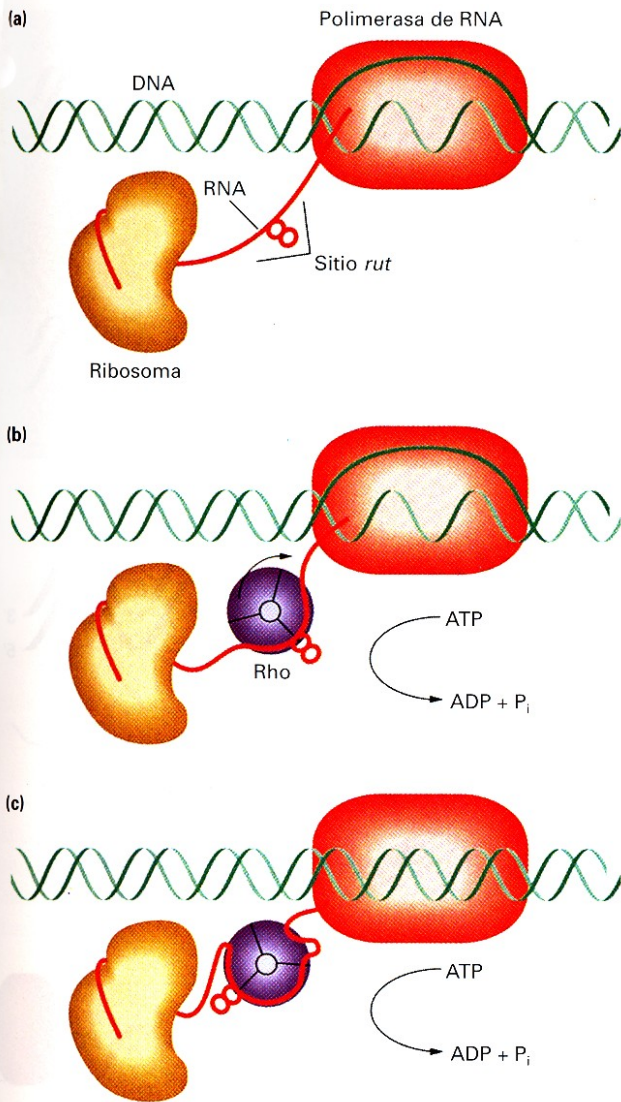


**Figura 10-10.** La incorporación secuencial de los nucleótidos ocurre de uno en uno, en dirección  $5'$  a  $3'$ . La cadena crece por formación de un enlace entre el extremo  $3'$  hidroxilo de la cadena en crecimiento y un nucleósido trifosfato, liberando una molécula de pirofosfato (PP<sub>i</sub>). Esto conduce a la adición neta de un fosfato, que se incorpora al esqueleto de la nueva cadena. El DNA crece por reacción con desoxirribonucleósidos trifosfatados, mientras que el RNA lo hace por reacción con ribonucleósidos trifosfatados. (Tomado de H. Lodish y D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 3.<sup>a</sup> ed. Copyright © 1995, de Scientific American Books, Inc.).









**Figura 10-13.** Modelo de acción de rho sobre un RNA en crecimiento que está siendo simultáneamente traducido. (Tomado de J. P. Richardson, *Cell* 64, 1991, 1047-1049.)

**Síntesis de RNA**

Mientras que hay una sola polimerasa de RNA que sintetiza todos los RNA en procariotas, los eucariotas tienen tres polimerasas de RNA diferentes:

1. La polimerasa de RNA I sintetiza rRNA.
2. La polimerasa de RNA II sintetiza mRNA. En eucariotas, las moléculas de mRNA siempre determinan la síntesis de una sola proteína, mientras que en procariotas hay muchos mRNA que contienen información para la síntesis de varias proteínas.
3. La polimerasa de RNA III transcribe los tRNA, así como moléculas de RNA nucleares y celulares de pequeño tamaño.

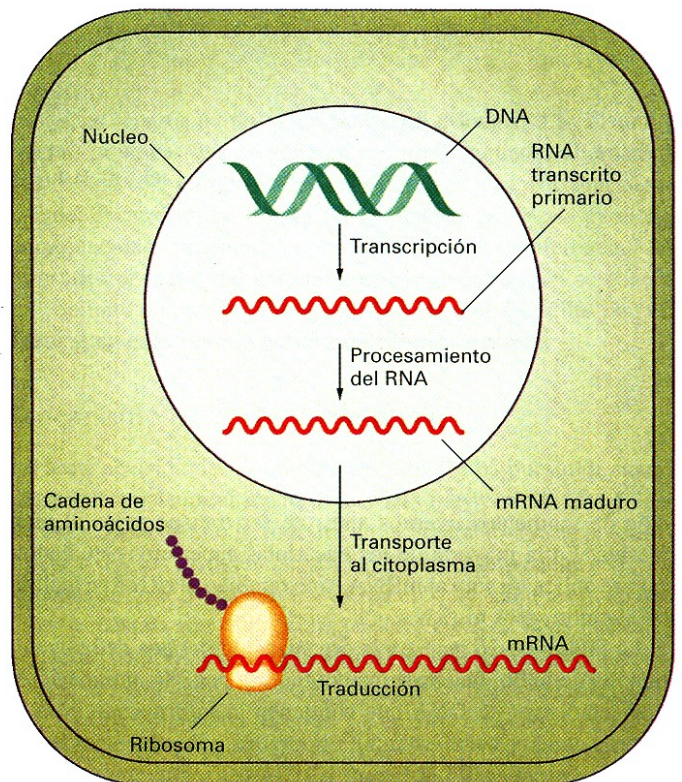
Las polimerasas eucarióticas son mucho más complejas que las polimerasas procarióticas. Algunas de sus subunidades son similares a las proteínas de *E. coli* correspondientes, pero otras no.

**Procesamiento de RNA**

El producto inicial de la transcripción, el transcrito de RNA primario, se procesa de diversas maneras antes de ser transportado al citosol, donde es utilizado por la maquinaria de traducción (Fig. 10-14). La Figura 10-15 ilustra con detalle los pasos del procesamiento. En primer lugar, durante la transcripción, se añade una **caperuza** constituida por un residuo 7-metilguanósina al extremo 5' del transcrito, mediante el establecimiento de un enlace trifosfato. A continuación, se añade una cola de adeninas al extremo 3' del transcrito. La longitud de estas **colas de poli (A)** es de unos 150 a 200 residuos. Una vez que se han llevado a cabo estas modificaciones, un paso de **maduración** elimina partes internas del transcrito. El descubrimiento de este proceso, del que se deriva que los genes están «fragmentados» y que su región informativa está interrumpida por secuencias internas, constituye uno de los hallazgos más importantes de la Genética molecular en los últimos 25 años.

**Genes fragmentados**

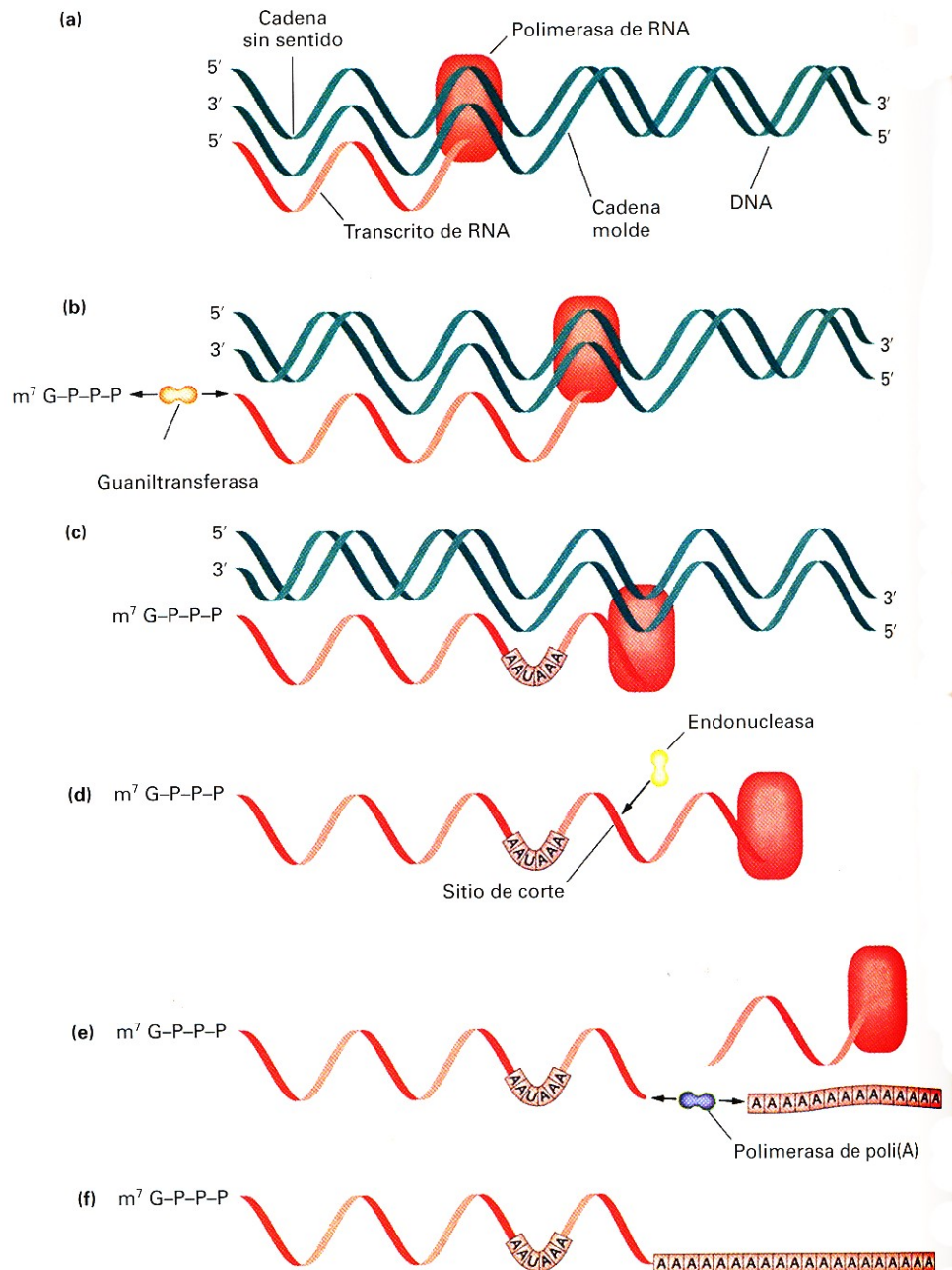
Los estudios con transcritos sintetizados a partir de DNA de virus de mamíferos indicaron por primera vez una falta de correspondencia entre el DNA viral y las moléculas de mRNA. Cuando la tecnología del DNA recombinante (véase el Cap. 12) facilitó el análisis físico de los genes eucarióticos se hizo patente que los transcritos *primarios* se acortaban mediante la elimina-



**Figura 10-14.** Expresión génica en eucariotas. El mRNA se procesa en el núcleo antes de ser transportado al citoplasma. (Tomado de J. E. Darnell, Jr., «The Processing of RNA». Copyright © 1983 de Scientific American, Inc. Reservados todos los derechos.)



**Figura 10-15.** Procesamiento de un transcrito primario. (a) La transcripción está mediada por la polimerasa de RNA. (b) Poco después del inicio de la transcripción, la enzima guaniltransferasa añade 7-metilguanósina ( $m^7Gppp$ ) al extremo 5' del mRNA. (c) La secuencia AAUAAA, cerca del extremo 3', actúa como señal para que ocurra (d) una reacción de corte unas 20 pb aguas abajo catalizada por una endonucleasa. (e) Entonces, la enzima polimerasa de poli(A) añade una cola de poli(A), compuesta por 150 a 200 residuos de adenosina, al extremo 3' del sitio de corte. (f) Así se produce el mRNA primario completo. (De J. E. Darnell, Jr., «The Processing of RNA.» Copyright © 1983 de Scientific American, Inc. Reservados todos los derechos).



ción de segmentos internos antes de ser transportados al citoplasma. En la mayoría de los eucariotas superiores estudiados, esto se aplica no sólo al mRNA, sino también al rRNA, e incluso en algunos casos al tRNA.

La Figura 10-16 muestra la organización del gen de la ovoalbúmina de pollo, una proteína compuesta por 386 aminoácidos. Los segmentos de DNA que contienen la información para la síntesis de la proteína están interrumpidos por secuencias denominadas **intrones**. En la Figura 10-16 estos segmentos se designan con las letras A a G. El transcrito primario se procesa mediante una serie de reacciones de «corte y empalme», igual que un mensaje grabado en una cinta puede ser cortado y empalmado. El procesamiento conduce a la eliminación de intrones y al

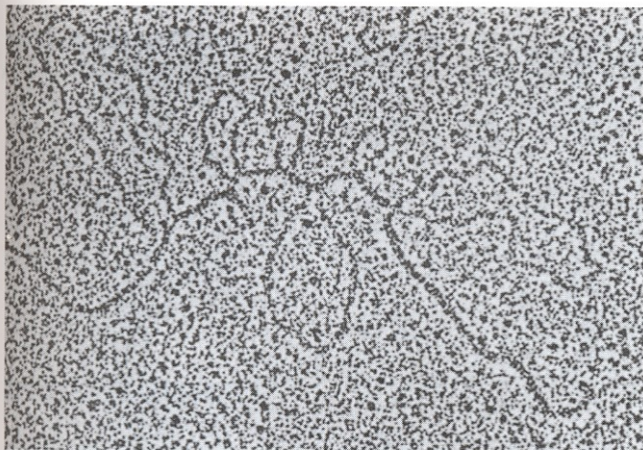
empalme de las regiones informativas, denominadas **exones**, produciendo un mRNA cuya secuencia es exactamente colineal con la secuencia de la ovoalbúmina. En la Figura 10-16, los exones aparecen indicados por la letra L y los números 1 a 7. En diferentes genes, se han detectado intrones con una longitud de hasta 2000 pares de bases. Algunos genes contienen hasta 16 intrones.

Es obvio que el procesamiento ocurre después de la transcripción y en varios pasos, porque es posible aislar tanto transcritos de RNA (denominados anteriormente RNA nuclear heterogéneo, o HnRNA) que corresponden a toda la región genética (intrones + exones), como transcritos de tamaño intermedio. En estos transcritos de longitud intermedia ya se han eliminado al-

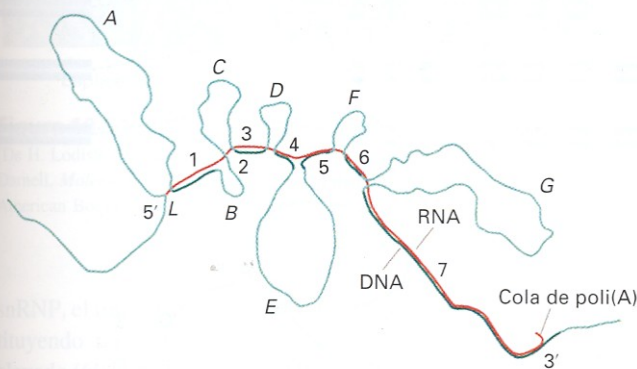




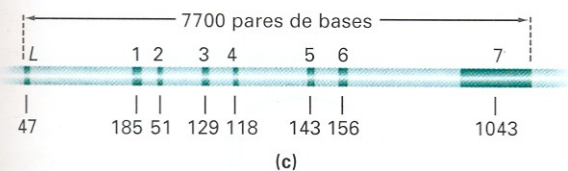




(a)



(b)



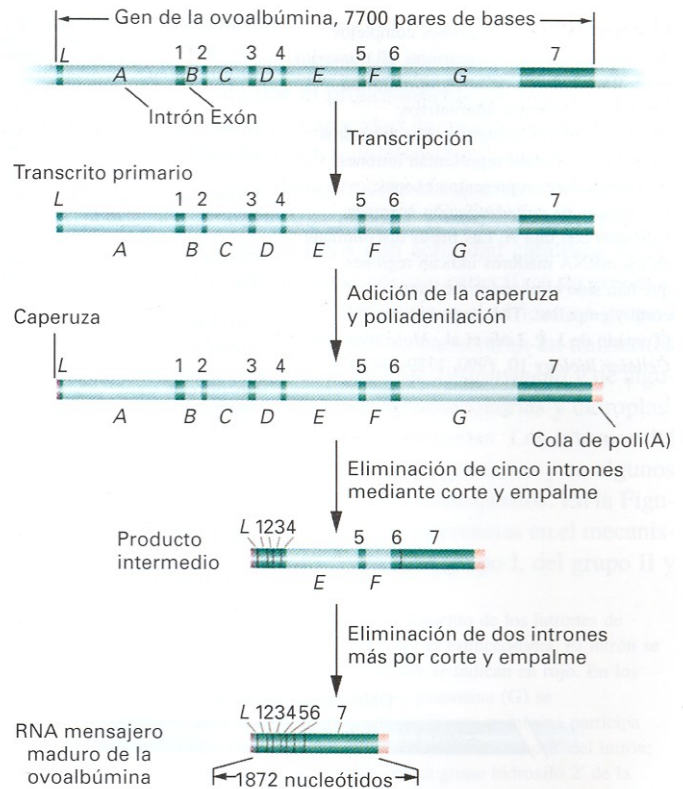
(c)

**Figura 10-16.** Organización en fragmentos separados del gen de la proteína ovoalbúmina. (a) La micrografía electrónica y (b) su representación cartográfica muestran el resultado de un experimento en el que una cadena sencilla de una molécula de DNA que incluye el gen de la proteína de la clara del huevo (ovoalbúmina) se dejó hibridar con mRNA para la ovoalbúmina, la molécula a partir de la cual se traduce la proteína. Los segmentos de cadena sencilla que sobresalen a modo de bucles corresponden a los intrones. (c) La representación esquemática del gen muestra los siete intrones (en verde claro), los ocho exones (en verde oscuro) y el número de pares de bases de cada exón; el tamaño de los intrones varía desde los 251 pares de bases del intrón B hasta los cerca de 1600 de G. (Tomado de P. Chambon, «Split Genes». Copyright © 1981 de Scientific American, Inc. Reservados todos los derechos).

unos intrones, pero otros se mantienen. En la Figura 10-17 se resume la secuencia de pasos en el procesamiento del RNA.

### Procesamiento alternativo

Mediante la utilización de rutas alternativas de procesamiento se pueden producir diferentes mRNA y, por lo tanto, diferentes



**Figura 10-17.** El mRNA maduro se produce en varios pasos. (Tomado de P. Chambon, «Split Genes». Copyright © 1981 de Scientific American, Inc. Reservados todos los derechos.)

proteínas a partir de un único transcrito primario. Las distintas formas proteicas que se generan por procesamiento alternativo suelen aparecer en tipos celulares diferentes o en diferentes etapas del desarrollo. La Figura 10-18 muestra la amplia gama de combinaciones producidas por el procesamiento diferencial del transcrito primario del gen de la tropomiosina  $\alpha$ . Así se genera un conjunto de proteínas relacionadas, cada una de ellas con un funcionamiento óptimo en un tipo celular concreto.

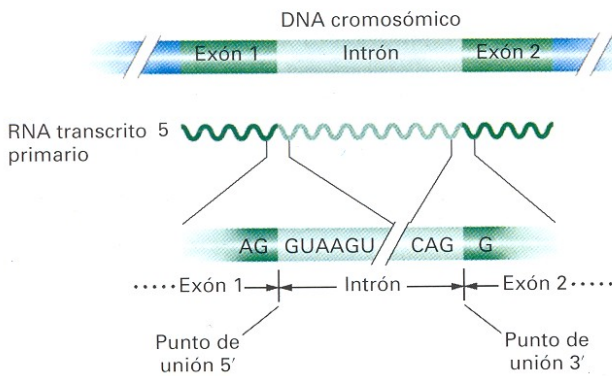
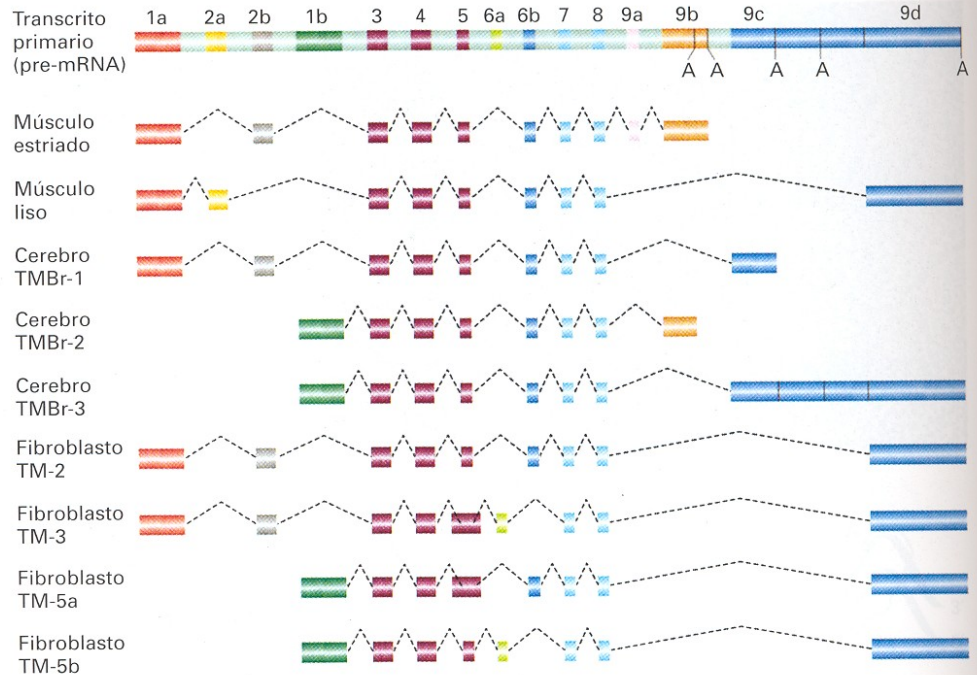
### Mecanismo de corte y empalme

La secuenciación de las uniones exón-intrón ha puesto de manifiesto que existen secuencias específicas muy conservadas en estas posiciones. Como se muestra en la Figura 10-19, en prácticamente todos los casos analizados se encuentra la secuencia GU en el punto de corte 5' del intrón y AG en el 3'. Se ha demostrado que estas secuencias son reconocidas por moléculas de RNA nucleares pequeñas (snRNA) en una reacción en la que se coordina la complementariedad entre bases con la acción de las enzimas implicadas. La propia reacción de corte y empalme se ilustra en la Figura 10-20, en la que se muestra la eliminación de un intrón en forma de «lazada», como resultado de dos reacciones de transesterificación. Las reacciones consisten en el intercambio de un enlace fosfoéster por otro, dando como resultado la fusión o ligación de dos exones.

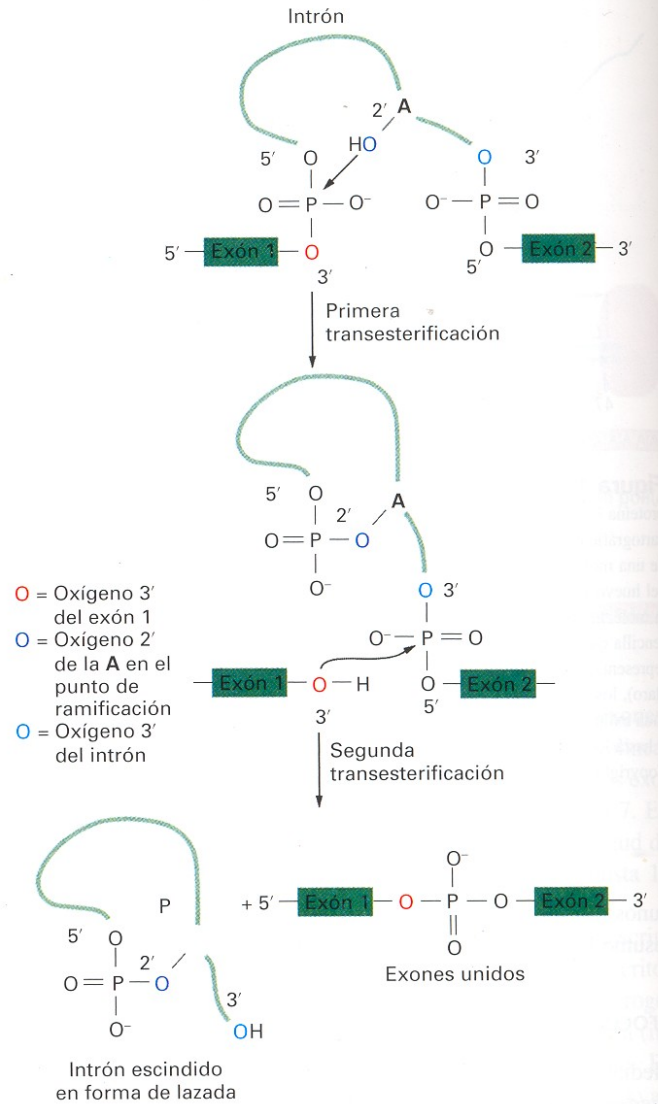
Los snRNA se asocian con proteínas para formar partículas ribonucleoproteicas pequeñas (snRNP). En células superiores, las



**Figura 10-18.** Patrones complejos de corte y empalme en eucariotas. El transcrito pre-mRNA del gen de la  $\alpha$ -tropomiosina sufre procesamientos alternativos en tipos celulares diferentes. Los recuadros de color verde claro representan intrones; los otros colores representan exones. Las señales de poliadenilación aparecen indicadas con una A. Las líneas discontinuas en los mRNA maduros indican regiones que han sido eliminadas mediante corte y empalme. TM, tropomiosina. (Tomado de J. P. Lees et al., *Molecular and Cellular Biology* 10, 1990, 1729-1742.)

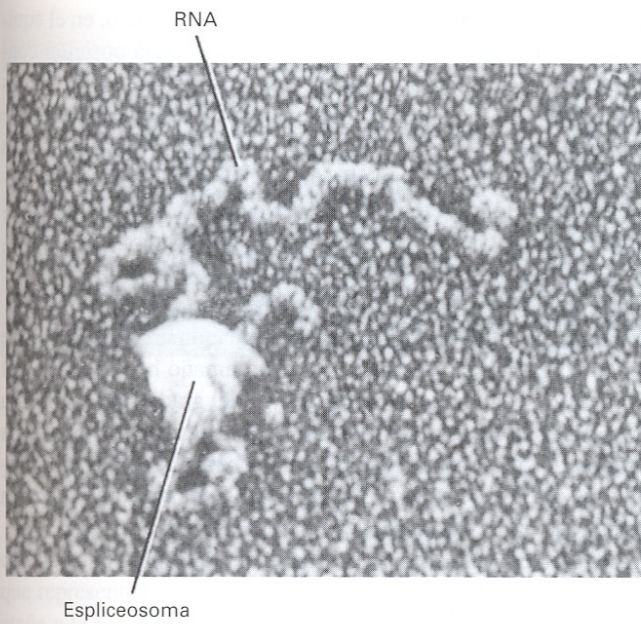


**Figura 10-19.** Secuencias consenso en los sitios 3' y 5' donde se produce el corte y empalme de los mRNA eucarióticos. Casi todos los intrones comienzan con GU y terminan con AG. Del análisis de las regiones fronterizas entre muchos exones e intrones, se han podido establecer unas secuencias consenso de nucleótidos que aparecen preferentemente en los extremos 5' y 3'. Además de la secuencia AG, hay otros nucleótidos situados justo aguas arriba del sitio 3' que también son importantes para que el proceso de corte y empalme ocurra correctamente. (Tomado de J. D. Watson, M. Gilman, J. Witkowski, y M. Zoller, *Recombinant DNA*, 2.<sup>a</sup> ed. Copyright © 1992 de James D. Watson, Michael Gilman, Jan Witkowski, y Mark Zoller.)



**Figura 10-20.** El empalme de los exones del transcrito primario ocurre mediante dos reacciones de transesterificación. En la primera reacción, el enlace éster entre el fósforo 5' del intrón y el oxígeno 3' (en rojo) del exón 1 se intercambia por un enlace éster con el oxígeno 2' (en azul oscuro) del residuo A del punto de ramificación. En la segunda reacción, el enlace éster entre el fósforo 5' del exón 2 y el oxígeno 3' (en azul claro) del intrón se intercambia por enlace éster con el oxígeno 3' del exón 1, provocando la liberación del intrón en forma de lazada y la unión de los dos exones. Las flechas señalan las posiciones donde los oxígenos activados reaccionan con los átomos de fósforo. (Tomado de H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, y J. Darnell, *Molecular Biology of the Cell*, 3.<sup>a</sup> ed. Copyright © 1995 de Scientific American Books, Inc.)





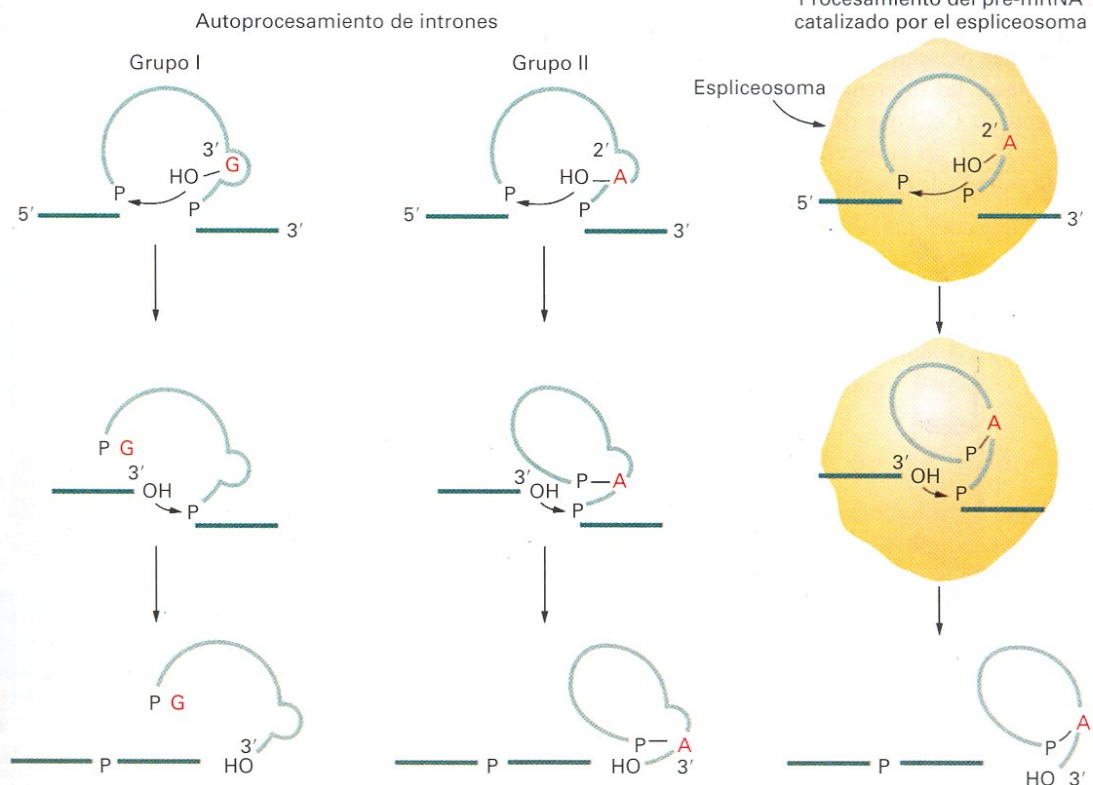
**Figura 10-21.** Fotografía con el microscopio electrónico del espliceosoma. (De H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 3ª ed, Copyright © 1995 de Scientific American Books, Inc.).

snRNP, el transcrito primario, y factores asociados se unen constituyendo un complejo ribonucleoproteico de peso molecular elevado (60S) denominado **espliceosoma** (Fig. 10-21), que cataliza las reacciones de transesterificación descritas.

### Autoprocésamiento

Actualmente, se conocen numerosos ejemplos de moléculas de RNA que pueden catalizar el procesamiento de sus intrones sin la ayuda de proteínas. Esta capacidad de autoprocésamiento fue descubierta por Thomas Cech y colaboradores en *Tetrahymena*, y constituyó la primera demostración de que una molécula de RNA puede actuar como una enzima y catalizar una reacción biológica específica. Estos RNA con actividad catalítica se denominan *ribozimas*. Según el mecanismo específico de procesamiento, los intrones que se autoprocésan se clasifican en grupo I o grupo II. Los intrones del grupo I se encuentran en transcritos primarios de algunos virus de *E. coli*, de *Tetrahymena* y de algunos otros organismos unicelulares, en mitocondrias y cloroplastos, y en algunos tRNA primarios de bacterias. Los intrones del grupo II se encuentran en algunos tRNA primarios y en algunos transcritos primarios de mitocondrias y cloroplastos. En la Figura 10-22 se muestra un esquema de las diferencias en el mecanismo de procesamiento de los intrones del grupo I, del grupo II y

**Figura 10-22.** Mecanismo de autoprocésamiento de los intrones de los grupos I y II, y procesamiento del mRNA por el espliceosoma. El intrón se indica en color azul; los exones que han de unirse se indican en rojo. En los intrones del grupo I (a la izquierda), el cofactor guanósina (G) se asocia con el centro activo. El grupo hidroxilo 3' de esta guanósina participa en una reacción de transesterificación con el fosfato del extremo 5' del intrón; esta reacción es análoga a la que se produce con el grupo hidroxilo 2' de la A del sitio de ramificación en el procesamiento de los intrones del grupo II y del pre-mRNA. La siguiente transesterificación, que conduce a la unión de los exones 5' y 3', es similar en los tres mecanismos de corte y empalme. Observe que los intrones del grupo I se liberan como moléculas lineales y no como las estructuras ramificadas que se producen en los otros dos casos. (Tomado de P. A. Sharp, *Science* 235, 1987, 769.)









CUADRO 10-2. Moléculas de RNA de *E. coli*

Tipo	Porcentaje del RNA celular	Coefficiente de sedimentación (S)	Peso molecular	Número de nucleótidos
RNA ribosómico (rRNA)	80	23	$1.2 \times 10^6$	3700
		16	$0.55 \times 10^6$	1700
		5	$3.6 \times 10^4$	1700
RNA transferente (tRNA)	15	4	$2.5 \times 10^4$	75
RNA mensajero (mRNA)	5		Heterogéneo	Variable

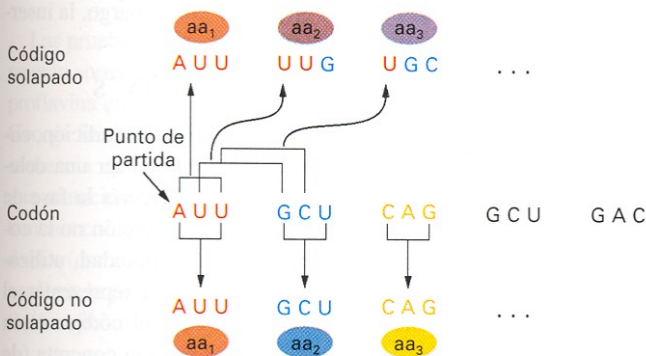
Fuente: L. Stryer, *Biochemistry*, 4.ª ed. Copyright © 1995 de Lubert Stryer.

contaremos en esta sección. La experimentación fue sofisticada y rápida, y no tardó mucho en descifrarse el código, una vez que su existencia parecía segura.

Por pura lógica, si los nucleótidos constituyen las «letras» del código, la combinación de estas letras puede originar «palabras» que representen diferentes aminoácidos. Una pregunta obligada atañe a la lectura de este código. ¿Es o no solapado? Luego podemos preguntarnos cuántas letras del mRNA son necesarias para constituir una palabra, o **codón**, y qué codón o codones representan cada aminoácido específico.

### Código solapado versus no solapado

La Figura 10-24 muestra la diferencia entre un código solapado y uno no solapado. En el ejemplo, se muestra un código de tres letras o **tripletes**. En un código no solapado, los sucesivos aminoácidos están determinados por palabras sucesivas del mensaje (codones), como se muestra en la parte inferior de la Figura 10-24. En un código solapado, los sucesivos aminoácidos están determinados en el mRNA por codones que comparten algunas



**Figura 10-24.** Diferencia entre un código solapado y uno no solapado.

El ejemplo corresponde a un código de tres letras (un código de tripletes). Un código solapado utilizaría codones con algún nucleótido en común en la traducción de una misma proteína, tal como se ilustra en la parte superior del esquema (referente a la secuencia de mRNA que aparece en la parte central del esquema). En un código no solapado, los codones que se leen en la traducción de una proteína no comparten ningún nucleótido. Observe que la designación de los aminoácidos como  $aa_1$ ,  $aa_2$ , etc. en ambos modelos no implica que los aminoácidos sean idénticos. Dado que los tripletes que componen los codones respectivos para el  $aa_3$ , por ejemplo, son diferentes según el modelo, es muy probable que los aminoácidos también lo sean. La coincidencia numérica entre aminoácidos sólo implica una coincidencia en la posición que ocupan en la cadena proteica.

bases consecutivas; por ejemplo, las dos últimas bases de un codón serían también las dos primeras del siguiente. Los codones solapados se muestran en la parte superior de la Figura 10-24. Así pues, para la secuencia AUUGCUCAG, en un código no solapado, los tres primeros aminoácidos estarían cifrados por los tripletes AAU, GCU y CAG, respectivamente. Sin embargo, en un código solapado y con un solapamiento de dos bases, los tres primeros aminoácidos estarían cifrados por los tripletes AAU, UUG y UGC, como se indica en la Figura 10-24.

Ya en 1961 parecía claro que el código genético no era solapado. El análisis de proteínas alteradas por mutación, en particular, los mutantes del virus del mosaico del tabaco obtenidos con ácido nitroso, puso de manifiesto que sólo cambiaba un aminoácido a la vez en una región determinada de la proteína. Esto es precisamente lo que produce un código no solapado. Como se indica en la Figura 10-24, un código solapado implicaría que el cambio de una sola base alteraría a la vez tres aminoácidos adyacentes de la proteína.

Cabe destacar que, aunque la existencia de un código solapado fue descartada del análisis de proteínas individuales, nada excluía el uso de fases de lectura alternativas para determinar los aminoácidos de dos proteínas distintas. En nuestro ejemplo, una proteína estaría cifrada por la serie de codones que se lee como AAU, GCU, CAG, CUU, etc. Una segunda proteína podría estar cifrada por codones desplazados una base y que serían, por tanto, UUG, CUC, AGC, UUG, etc. Esto constituye un ejemplo de almacenamiento de la información que cifra dos proteínas distintas en dos fases de lectura diferentes, manteniéndose el uso de un código de lectura no solapada durante la traducción de una proteína concreta. Se conocen algunos ejemplos de este tipo de cambios en la fase de lectura.

### El número de letras de cada codón

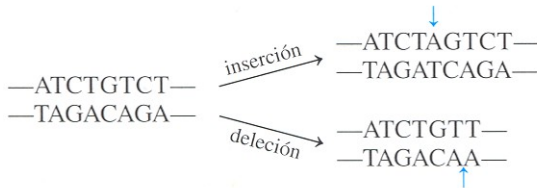
Al leer una molécula de mRNA a partir de uno de sus extremos, sólo podemos encontrar una de las cuatro bases posibles, A, U, G o C. Por lo tanto, si las palabras estuvieran constituidas por una sola letra, sólo serían posibles cuatro palabras. El código genético no puede estar basado en un vocabulario tan limitado, ya que debemos contar con una palabra para cada uno de los 20 aminoácidos que se encuentran comúnmente en las proteínas celulares. Si las palabras estuvieran formadas por dos letras, entonces tendríamos de  $4^2 = 16$  palabras posibles; por ejemplo, AU, CU o CC. Este vocabulario sigue siendo limitado.



Si las palabras fuesen de tres letras, serían posibles  $4^3 = 64$  palabras; por ejemplo, AUU, GCG o UGC. Este vocabulario sería ya más que suficiente para constituir el código. Podemos concluir, por tanto, que las palabras del código deben estar formadas por al menos tres pares de nucleótidos. Sin embargo, si todas las palabras fueran «tripletes», dispondríamos de muchas más palabras que las 20 necesarias para especificar los aminoácidos comunes.

**Uso de supresores para demostrar la clave de tripletes**

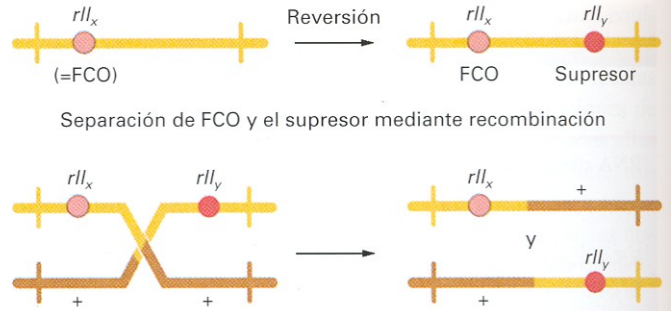
Pruebas convincentes de que un codón está realmente constituido por tres letras (y no más de tres) se obtuvieron en experimentos genéticos de gran belleza, dados a conocer en 1961 por Francis Crick, Sidney Brenner y colaboradores, y realizados con mutantes del locus *rII* del fago T4. Indujeron mutaciones que producen el fenotipo rII (véase el Cap. 9) empleando un compuesto denominado *proflavina*, del que se suponía que actuaba por adición o deleción de un solo par de nucleótidos en el DNA. (Esta suposición se basaba en pruebas experimentales que aquí no se incluyen). Los siguientes ejemplos ilustran la acción de la proflavina sobre el DNA de cadena doble.



Partiendo de una mutación particular inducida con proflavina, a la que llamaron FCO, Crick y sus colaboradores encontraron «reversiones» (recuperaciones del fenotipo normal) que detectaron por la formación de halos de lisis silvestres sobre la estirpe K( $\lambda$ ) de *E. coli*. El análisis genético de estos halos puso de manifiesto que los «revertientes» no eran exactamente iguales que el silvestre, sugiriendo así que la segunda mutación no era una reversión precisa de la mutación original. De hecho, la reversión se debía a la presencia de una *segunda mutación* en un sitio diferente del de la mutación FCO, aunque en el mismo gen; esta segunda mutación «suprimía» el fenotipo mutante causado por la mutación FCO. Recuerde del Capítulo 4 que una **mutación supresora** es la que contrarresta o suprime los efectos de otra mutación.

Cuando la mutación supresora se separó por recombinación de la primera mutación se observó que la propia mutación supresora era también una mutación *rII* (Fig. 10-25).

¿Cómo explicaríamos estos resultados? Si suponemos que la lectura es polarizada, es decir, si el gen se lee desde un único extremo, entonces, la adición o deleción provocada originalmente por la proflavina podría provocar el fenotipo mutante, al interrumpir el mecanismo normal de lectura responsable de establecer los grupos de bases que han de interpretarse como palabras. Por ejemplo, si cada tres bases en el mRNA constituyen una palabra, entonces la «fase de lectura» se establecería tomando las tres primeras bases del extremo como la primera palabra, las tres siguientes como la segunda palabra y así sucesivamente. En tal caso, la adición o deleción de un solo par de bases induci-



**Figura 10-25.** El supresor de una mutación *rII*, cuando se separa por recombinación de la mutación *rII*, resulta ser él mismo una mutación *rII*. El mutante original, FCO, se obtuvo mediante tratamiento con proflavina. Luego, cuando la estirpe FCO se trató de nuevo con proflavina, se encontró un revertiente que, a primera vista, parecía silvestre. Sin embargo, se observó que se había inducido una segunda mutación en la región *rII*, y que el doble mutante *rII<sub>x</sub>rII<sub>y</sub>* se comportaba como la estirpe silvestre.

da con proflavina cambiaría la fase de lectura del mRNA desde ese punto en adelante, provocando la lectura errónea de todas las palabras siguientes. Esta **mutación de cambio de fase** podría convertir gran parte del mensaje genético en un auténtico galimatías. No obstante, una deleción o adición de un par de bases en otro sitio cercano restablecería la fase de lectura, limitando el galimatías al corto trecho entre los dos sitios mutados. Considere el siguiente ejemplo, en el que se usan palabras de tres letras para representar codones:

CON TEO HAN IDO DOS MAS  
 Si quitamos la H: CON TEO ANI DOD OSM AS  
 Si insertamos la E: CON TEO ANE IDO DOS MAS

La inserción suprime el efecto de la deleción porque restablece el sentido de casi toda la frase. Por sí sola, sin embargo, la inserción también cambiaría el sentido de la frase:

CON TEO HAN EID ODO SMA S

Si suponemos que el mutante FCO se debe a una adición, entonces la segunda mutación (supresora) tuvo que ser una deleción porque, como hemos visto, así se restablecería la fase de lectura del mensaje resultante (una segunda inserción no la corregiría). En los siguientes diagramas, por simplicidad, utilizamos una cadena hipotética de nucleótidos para representar el RNA. También suponemos que las palabras del código están formadas por tres letras y se leen en una dirección concreta (de izquierda a derecha en nuestros diagramas).

1. Mensaje silvestre

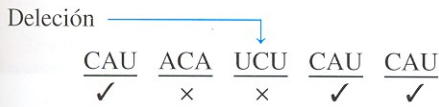
CAU CAU CAU CAU CAU

2. Mensaje *rII<sub>a</sub>*: las palabras distales cambian (x) debido a una mutación de cambio de fase (las palabras marcadas con (✓) permanecen igual)

Adición  $\rightarrow$   
 $\frac{\text{CAU}}{\checkmark}$   $\frac{\text{ACA}}{\times}$   $\frac{\text{UCA}}{\times}$   $\frac{\text{UCA}}{\times}$   $\frac{\text{UCA}}{\times}$   $\frac{\text{U}}{\quad}$



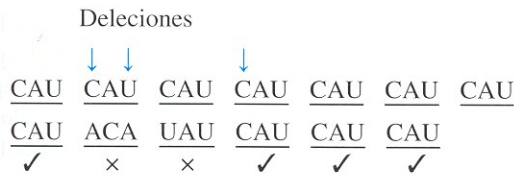
3. Mensaje  $rII_a rII_b$ ; algunas palabras erróneas, pero la fase de lectura se recupera en palabras sucesivas



Las pocas palabras incorrectas en el genotipo suprimido explicarían que los «revertientes» (fenotipos suprimidos) que Crick y sus colaboradores encontraron no fueran fenotípicamente iguales que el verdadero silvestre.

Hemos dado por supuesto que la mutación original era una adición, pero la explicación sería la misma si la mutación original FCO fuera una delección y la mutación supresora fuera una adición. Si asignamos el signo (+) a la mutación FCO, entonces la mutación supresora sería automáticamente de signo contrario (-). Se ha demostrado experimentalmente que una mutación (+) no puede suprimir a otra mutación (+), y una (-) tampoco puede suprimir a otra (-). En otras palabras, dos mutaciones del mismo signo nunca actúan como supresora una de la otra. Sin embargo, se ha demostrado que las combinaciones de tres mutaciones (+) o de tres mutaciones (-) pueden actuar conjuntamente restaurando el fenotipo silvestre.

Esta observación supuso la primera prueba experimental de que las palabras del código genético estaban compuestas por tres pares de nucleótidos consecutivos o tripletes. Sólo si las palabras son tripletes, se explica que tres adiciones o tres deleciones de un par de nucleótidos restauren automáticamente la fase de lectura del mRNA. Por ejemplo,



Las pruebas de que las deducciones genéticas sobre la proflavina eran correctas proceden del análisis de mutaciones inducidas con proflavina en un gen cuyo producto proteico podía ser analizado. George Streisinger trabajó con el gen de la enzima lisozima, cuya secuencia de aminoácidos conocía. Utilizando proflavina, indujo una mutación en el gen y luego seleccionó revertientes inducidos también con proflavina, que genéticamente resultaron ser mutantes dobles (con mutaciones de signo opuesto). Como había predicho, al analizar la proteína de uno de los mutantes dobles, encontró un trecho de aminoácidos distintos entre dos extremos silvestres:

Silvestre:

—Thr—Lys—Ser—Pro—Ser—Leu—Asn—Ala

Revertiente:

—Thr—Lys—Val—His—His—Leu—Met—Ala

### Degeneración del código genético

El trabajo de Crick sugería también que el código genético era **degenerado**. Esta expresión no pretende ser una descalificación

moral. Alude simplemente a que cada uno de los 64 tripletes debe tener algún significado en el código y, por tanto, al menos algunos de los aminoácidos deben de estar representados por dos o más tripletes distintos. Si sólo se usaran 20 tripletes (careciendo de sentido los 44 tripletes restantes, que no cifrarían ningún aminoácido), entonces se esperaría que la mayoría de las mutaciones de cambio de fase dieran lugar a palabras sin sentido, conduciendo presumiblemente a una paralización del proceso de fabricación de la proteína. Si así fuera, la supresión de los cambios de fase no ocurriría nunca o casi nunca. Si, por el contrario, todos los tripletes cifraran un aminoácido, entonces los cambios en las palabras simplemente provocarían la incorporación de aminoácidos erróneos en la proteína. Estas consideraciones llevaron a Crick a razonar que muchos de los aminoácidos, si no todos, tendrían varios nombres distintos en el código de pares de bases, hipótesis que posteriormente fue confirmada bioquímicamente.

### COROLARIO

Los trabajos presentados hasta aquí demuestran que

1. El código genético no es solapado.
2. Tres bases cifran un aminoácido. Estos tripletes se denominan codones.
3. El mensaje empieza a leerse a partir de un punto fijo y el proceso de lectura continúa hasta el final de la secuencia informativa. Sabemos que es así porque una sola mutación de cambio de fase en cualquier parte de la secuencia informativa altera el alineamiento de los codones del resto de la proteína.
4. El código es degenerado, en el sentido de que algunos aminoácidos están representados por más de un codón.

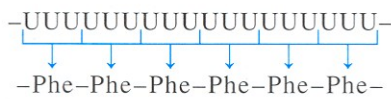
### El desciframiento del código

El desciframiento del código genético (la determinación del aminoácido cifrado por cada triplete) ha sido uno de los logros genéticos más excitantes de los últimos 50 años. Una vez que se dispuso de las técnicas experimentales necesarias, el código genético no tardó en descifrarse.

El primer logro fue descubrir la manera de producir mRNA sintético. Si se mezclan los nucleótidos del RNA con una enzima especial, la fosforilasa de polinucleótidos, se produce una reacción de síntesis de RNA de cadena sencilla. Esta síntesis ocurre en ausencia de DNA, por lo que los nucleótidos se incorporan al azar. Esta capacidad de sintetizar mRNA ofrecía la excitante posibilidad de crear moléculas de mRNA con secuencias particulares y analizar los aminoácidos determinados en ellas. El primer mensajero sintético obtenido, poli(U), se generó mezclando sólo nucleótidos de uracilo con la enzima sintetizadora de RNA, lo que produce —UUUU—. En 1961, Marshall Nirenberg y Heinrich Matthaei mezclaron poli(U) con la maquinaria de síntesis de proteínas de *E. coli in vitro* y ¡observaron la formación de proteína! La excitación giraba principalmente en torno a cuál sería la secuencia de la proteína. Resultó ser polifenilalanina —una cadena de moléculas de fenilalanina unidas entre sí constituyen-



do un polipéptido—. Así se concluyó que el triplete UUU debía cifrar fenilalanina:



Este tipo de análisis se repitió, pero ahora realizando la síntesis de mRNA sintético a partir de mezclas con proporciones establecidas de más de un nucleótido. En uno de tales experimentos, se mezclaron los nucleótidos uracilo y guanina en la proporción 3:1. La frecuencia relativa de aparición de cada triplete en la secuencia, cuando los nucleótidos se incorporan aleatoriamente en el mRNA sintético, puede calcularse a partir de la proporción relativa de los diferentes nucleótidos presentes en la mezcla (Cuadro 10-3). Observe que, en el Cuadro 10-3, la frecuencia de los posibles tripletes aparecen normalizadas respecto a la frecuencia del triplete UUU. Por ejemplo, UUG, se espera que aparezca con una frecuencia  $p(\text{UUG}) = 9/64$ , que es tres veces inferior a la de UUU, cuya frecuencia esperada es  $p(\text{UUU}) = 27/64$ . En otras palabras,  $p(\text{UUG})/p(\text{UUU}) = 1/3 = 0.33$ , que coincide con el valor mostrado para UUG en el Cuadro 10-3.

Si cada uno de estos codones cifrara un aminoácido diferente (es decir, si no fueran redundantes), los aminoácidos generados por esta mezcla particular de guanina y uracilo deberían aparecer en las mismas proporciones que los diferentes codones. Ciertamente, aunque algunos de estos codones son redundantes, las proporciones de aminoácidos obtenidas a partir de esta mezcla de bases (Cuadro 10-4) se ajustan bastante bien a las proporciones de los distintos codones del Cuadro 10-3. (En el Cuadro 10-4, los valores están referidos a la frecuencia obtenida para fenilalanina).

A partir de estos datos, podemos deducir que los codones formados por una guanina y dos uracilos (G + 2U) determinan valina, leucina y cisteína, aunque no podamos asignar la secuencia específica de los tripletes que cifran cada uno de estos aminoácidos. De igual modo, un uracilo y dos guaninas (U + 2G) deben determinar triptófano, glicina y quizás algún otro. Parece que el modelo de Watson y Crick es correcto en su predicción de la

**CUADRO 10-3.** Frecuencia esperada de varios codones en un mRNA sintético compuesto por  $\frac{3}{4}$  de uracilo y  $\frac{1}{4}$  de guanina

Codón	Probabilidad	Razón*
UUU	$p(\text{UUU}) = \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} = \frac{27}{64}$	1.00
UUG	$p(\text{UUG}) = \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{9}{64}$	0.33
UGU	$p(\text{UGU}) = \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{3}{4} = \frac{9}{64}$	0.33
GUU	$p(\text{GUU}) = \frac{1}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{3}{4} = \frac{9}{64}$	0.33
UGG	$p(\text{UGG}) = \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{3}{64}$	0.11
GGU	$p(\text{GGU}) = \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{3}{4} = \frac{3}{64}$	0.11
GUG	$p(\text{GUG}) = \frac{1}{4} \times \frac{3}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{3}{64}$	0.11
GGG	$p(\text{GGG}) = \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{64}$	0.03

\* La frecuencia de UUU se ha utilizado como referencia en el cálculo de las frecuencias relativas de los otros codones. Por ejemplo, la frecuencia de UUG deriva del cociente  $p(\text{UUG})/p(\text{UUU}) = 0.33$ .

**CUADRO 10-4.** Frecuencias observadas de varios aminoácidos en las proteínas traducidas a partir de un mRNA sintético compuesto de  $\frac{3}{4}$  de uracilo y  $\frac{1}{4}$  de guanina

Aminoácido	Razón*
Fenilalanina	1.00
Leucina	0.37
Valina	0.36
Cisteína	0.35
Triptófano	0.14
Glicina	0.12

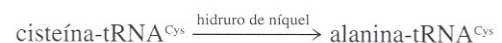
\* La concentración de fenilalanina se ha utilizado como referencia para el cálculo de la concentración relativa de los otros aminoácidos. Observe la correlación entre estos valores (razón) y los correspondientes del Cuadro 10-3.

importancia de la secuencia precisa de bases, además de la proporción en que aparecen. Siguiendo el procedimiento descrito para G y U, pronto se realizaron muchas asignaciones provisionales, principalmente por los grupos de trabajo de Nirenberg y de Severo Ochoa.

Antes de considerar otras palabras del código, analizaremos las moléculas de tRNA, que contribuyen a explicar el vínculo entre los codones del mRNA y el reconocimiento de aminoácidos concretos.

### Reconocimiento de los codones por las moléculas de tRNA

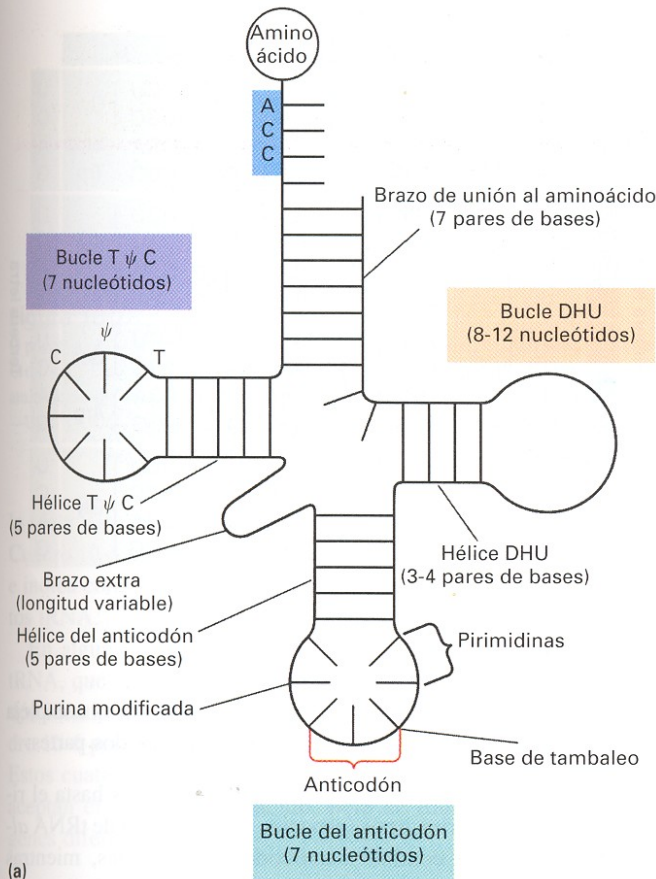
¿Es el tRNA o el propio aminoácido el que reconoce la porción del mRNA que cifra un aminoácido concreto? Un experimento muy convincente proporcionó la respuesta a esta pregunta. En dicho experimento, se trató el cisteinil-tRNA «cargado» con cisteína (tRNA<sup>Cys</sup>) con hidruro de níquel, que convierte la cisteína unida al tRNA en el aminoácido alanina, sin afectar al tRNA:



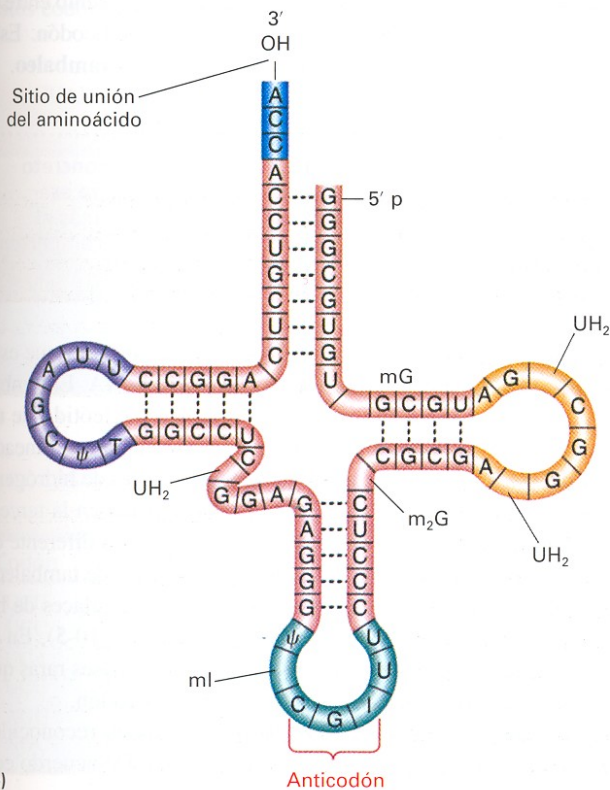
Las proteínas sintetizadas en presencia de esta especie híbrida presentaban alanina donde se esperaría cisteína. Así se demostró que los aminoácidos son «analfabetos» y que su inserción en el sitio correcto depende de los «adaptadores» de tRNA, que reconocen los codones del mRNA e insertan en la posición correcta el aminoácido al que están unidos. Cabría esperar, por tanto, que en cada molécula de tRNA haya un sitio capaz de reconocer el codón correspondiente en el mRNA por complementariedad entre bases.

La Figura 10-26a muestra varios sitios funcionales de la molécula de tRNA. El sitio que reconoce un codón en el mRNA se denomina **anticodón**; sus bases son complementarias y antiparalelas a las bases del codón. Otro sitio operativo identificable es el sitio de unión al aminoácido. Es probable que los otros brazos cooperen en la unión del tRNA al ribosoma. La Figura 10-26b muestra un tRNA concreto (el tRNA de levadura para alanina). Las estructuras en forma de hoja de trébol «plana» que aparecen en estos diagramas no corresponden a la conformación real adoptada por las moléculas de tRNA; normalmente, el tRNA adopta una estructura de hoja de trébol plegada en forma de L,





(a)

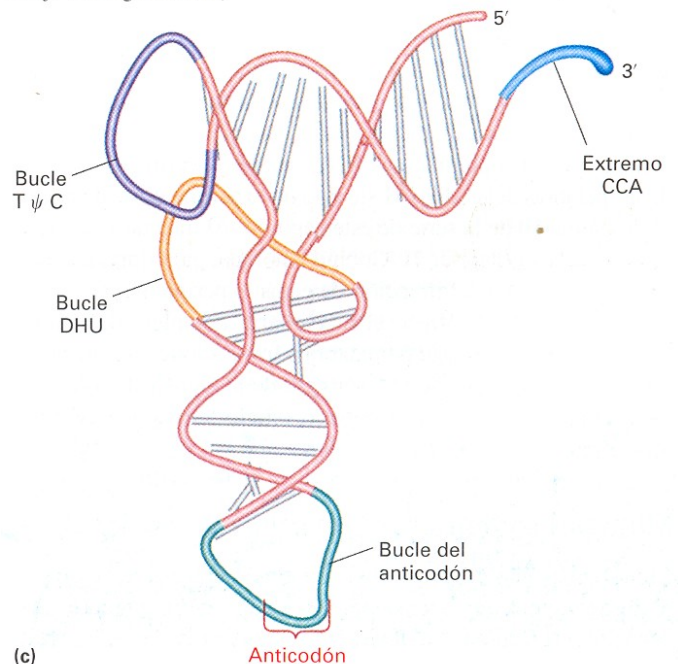


(b)

como se muestra en la Figura 10-26c. Estos diagramas se basan en análisis químicos muy sofisticados de las secuencias de nucleótidos de los tRNA y en datos cristalográficos sobre la estructura global de la molécula. Aunque el parecido estructural entre las distintas moléculas de tRNA es grande, cada una de ellas adopta una estructura tridimensional única que permite su reconocimiento por la sintetasa correcta, encargada de catalizar la unión de un tRNA con su aminoácido específico para formar el aminoacil-tRNA. (Las sintetastas se tratarán en el apartado sobre «La síntesis de proteínas»). La especificidad del sistema de carga de los tRNA es fundamental para mantener la integridad del proceso de síntesis proteica.

¿De dónde proceden los tRNA? Si se introduce tRNA radiactivo en un núcleo celular cuyo DNA ha sido desnaturalizado parcialmente mediante calor, la radiactividad aparece localizada (por autorradiografía) en regiones concretas de los cromosomas. Probablemente, estas regiones reflejan la localización de los genes de los tRNA; se trata de regiones del DNA que no producen mRNA, sino tRNA. El tRNA marcado hibrida en esas posiciones por la complementariedad entre su secuencia de bases y la del gen parental. Una situación similar ocurre con el rRNA. Vemos, pues, que ni siquiera la idea «un gen-un polipéptido» es absolutamente válida. Algunos genes no cifran proteínas; en su lugar, determinan moléculas de RNA que forman parte de la maquinaria de traducción.

**Figura 10-26.** Estructura del RNA transferente. (a) Regiones funcionales de cualquier molécula de tRNA. (b) Secuencia específica del tRNA de la alanina de levadura. Las flechas señalan distintos tipos de bases modificadas raras. (c) Esquema de la estructura tridimensional real del tRNA de la fenilalanina de levadura. Los símbolos  $\psi$ , mG,  $m_2G$ , mI, y DHU ( $UH_2$ ) son abreviaturas de las bases modificadas pseudouridina, metilguanosa, dimetilguanosa, metilinosina y dihidrouridina, respectivamente. (Parte a, tomada de S. Arnott, «The Structure of Transfer RNA», *Progress in Biophysics and Molecular Biology* 22, 1971, 186; partes b y c, tomadas de L. Stryer, *Biochemistry*, 4.ª ed. Copyright © 1995 de Lubert Stryer; parte c, basada en un dibujo de Sung-Hou Kim.)



(c)



**COROLARIO**

Algunos genes cifran proteínas; otros genes determinan RNA (tRNA o rRNA) como producto final.

¿Cómo adopta el tRNA su estructura tan curiosa? Probablemente, se pliega de forma espontánea en la conformación más estable. El RNA transferente contiene varias bases «raras» o modificadas (como el pseudouracilo,  $\psi$ ) en sus nucleótidos; estas bases intervienen directamente en el plegamiento, además de cumplir otras funciones en el tRNA. Quizás haya advertido la existencia de algunos emparejamientos inusuales de bases en los lazos del tRNA en la Figura 10-26b, como una G emparejada por puentes de hidrógeno con una U (en vez de con una C). En el siguiente apartado se discute este emparejamiento aparentemente erróneo.

**El código al completo**

Dos tipos de experimentos permitieron descifrar las palabras específicas del código. El primero implicaba la síntesis de «mini mRNA» constituidos por tan sólo tres nucleótidos. Estos mini mRNA son demasiado cortos para ser traducidos en una proteína, pero inducen la unión de los aminoacil-tRNA a los ribosomas en una especie de intento fallido de traducción. Se puede sintetizar un mini mRNA específico y determinar *qué* aminoacil-tRNA se ha unido a los ribosomas. Por ejemplo, el problema de la combinación G + 2U discutido anteriormente puede resolverse utilizando los siguientes mini mRNA:

GUU, que estimula la unión de valil-tRNA  
 UUG, que estimula la unión de leucil-tRNA  
 UGU, que estimula la unión de cisteinil-tRNA

El uso de mini mRNA semejantes permitió descifrar los 64 codones posibles.

El segundo tipo de experimentos que sirvió para descifrar el código implicaba el uso de *copolímeros con repetición*. Por ejemplo, se utilizó el copolímero designado (AGA) $_n$ , que consiste en una sucesión de nucleótidos AGAAGAAGAAGA, para la síntesis de proteínas *in vitro*. A partir de la secuencia de los polipéptidos resultantes y de los posibles tripletes que pueden darse en el copolímero de RNA, pudieron verificarse muchas de las palabras del código. (Este tipo de experimento se detalla en el Problema 10 de la serie de este capítulo. Al intentar resolverlo, se pondrá en el lugar de H. Gobind Khorana, galardonado con el Premio Nobel por la dirección de estos experimentos).

La Figura 10-27 ofrece el diccionario completo del código genético, compuesto por 64 palabras. Inspeccione este diccionario con cuidado y pondere el milagro de la Genética molecular. Esta labor de inspección debería revelar varios aspectos que requieren explicaciones adicionales.

**Múltiples codones para un solo aminoácido**

Como vimos en nuestra discusión sobre la degeneración del código, el número de codones para un aminoácido concreto varía desde uno (triptófano = UGG) hasta seis (serina = UCU, UCC,

		Segunda letra				
		U	C	A	G	
Primera letra	U	UUU } Phe UUC } UUA } Leu UUG }	UCU } Ser UCC } UCA } UCG }	UAU } Tyr UAC } UAA Stop UAG Stop	UGU } Cys UGC } UGA Stop UGG Trp	U C A G
	C	CUU } Leu CUC } CUA } CUG }	CCU } Pro CCC } CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gin CAG }	CGU } Arg CGC } CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } Ile AUC } AUA } AUG Met	ACU } Thr ACC } ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
	G	GUU } Val GUC } GUA } GUG }	GCU } Ala GCC } GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } Gly GGC } GGA } GGG }	U C A G

Figura 10-27. El código genético.

UCA, UCG, AGU o AGC). ¿Por qué? La respuesta es compleja pero no difícil de entender; podemos dividirla en dos partes:

1. Algunos aminoácidos pueden ser transportados hasta el ribosoma por varios tipos (especies moleculares) de tRNA *alternativos* que contienen anticodones diferentes, mientras que otros aminoácidos son transportados hasta el ribosoma por un solo tRNA.
2. Algunas especies de tRNA pueden incorporar su aminoácido específico en respuesta a varios codones distintos, no sólo uno, por cierto relajamiento en el emparejamiento entre el extremo 3' del codón y el extremo 5' del anticodón. Este emparejamiento algo permisivo se denomina **tambaleo**.

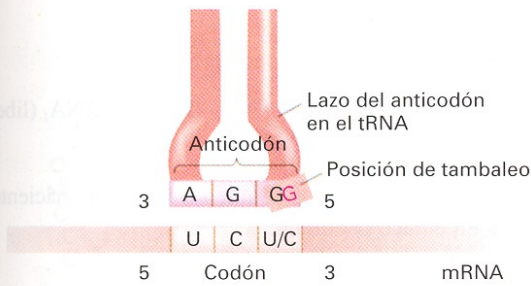
**COROLARIO**

El grado de degeneración para un aminoácido concreto está determinado por el número de codones para ese aminoácido que cuentan con un tRNA distinto, más el número de codones para dicho aminoácido que comparten un mismo tRNA por el tambaleo.

Es mejor que consideremos primero el tambaleo, ya que esto nos llevará a discutir las distintas especies de tRNA. El tambaleo implica una situación en la que el tercer nucleótido de un anticodón (en el extremo 5') no está perfectamente alineado (Fig. 10-28). Este nucleótido puede formar puentes de hidrógeno no sólo con su nucleótido complementario normal en la tercera posición del codón sino también con un nucleótido diferente en esa posición. Crick estableció una serie de «reglas de tambaleo» que rigen qué nucleótidos pueden formar nuevos enlaces de hidrógeno mediante tambaleo y cuáles no (Cuadro 10-5). En el Cuadro 10-5, la letra I denota inosina, una de las bases raras que se encuentran en el tRNA, a menudo en el anticodón.

La Figura 10-28 muestra los codones posibles reconocidos por una de las especies de tRNA para la serina. De acuerdo con





**Figura 10-28.** En la tercera posición (extremo 5') del anticodón, la G puede adoptar cualquiera de dos posiciones de tambaleo, emparejando así con U o con C. Esto significa que una sola especie de tRNA portador de un aminoácido (en este caso, serina) puede reconocer dos codones distintos —UCU y UCC— en el mRNA.

la regla del tambaleo, la G puede emparejar con U o con C. El Cuadro 10-6 incluye una lista de todos los codones para la serina e indica cómo estos codones pueden ser reconocidos por distintos tRNA.

En algunas ocasiones puede haber una especie adicional de tRNA, que representamos como tRNA<sup>Ser</sup><sub>4</sub>, que tiene un anticodón idéntico a uno de los tres anticodones indicados en el Cuadro 10-6 pero difiere en otra parte de su secuencia nucleotídica. Estos cuatro tRNAs se denominan **tRNA isoaceptores** porque aceptan el mismo aminoácido, pero se transcriben a partir de genes diferentes.

### Codones de terminación

El segundo detalle que puede que haya notado en la Figura 10-27 es que algunos codones no determinan aminoácido alguno. Estos codones se denominan **codones de parada o codones de**

**CUADRO 10-5.** Emparejamientos codón-anticodón permitidos por las reglas del tambaleo

Extremo 5' del anticodón	Extremo 3' del codón
G	U o C
C	sólo G
A	sólo U
U	A o G
I	U, C, o A

**CUADRO 10-6.** Distintos tRNA al servicio de los codones para serina

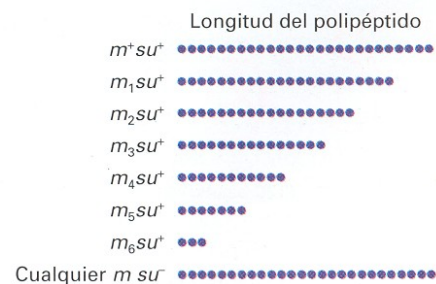
Codón	tRNA	Anticodón
UCU UCC	tRNA <sup>Ser</sup> <sub>1</sub>	AGG + tambaleo
UCA UCG	tRNA <sup>Ser</sup> <sub>2</sub>	AGU + tambaleo
AGU AGC	tRNA <sup>Ser</sup> <sub>3</sub>	UGG + tambaleo

**terminación.** Pueden considerarse como signos de puntuación, al igual que las comas o los puntos, que indican el fin del mensaje cifrado por el mRNA.

Uno de los primeros indicios de la existencia de codones de parada procede del trabajo realizado en 1965 por Brenner con el fago T4. Brenner analizó ciertas mutaciones ( $m_1$ — $m_6$ ) en el gen que determina la síntesis de la proteína de la cápsida viral. Estos mutantes presentaban dos cosas en común. En primer lugar, la proteína de la cápsida viral de cada mutante era más corta que la del silvestre. En segundo lugar, la presencia de una mutación supresora (*su*) en el cromosoma de la célula hospedadora tenía como resultado la aparición de una proteína de la cápsida de longitud normal (silvestre) a pesar de la presencia de la mutación *m* (Fig. 10-29).

Brenner examinó los extremos de las proteínas acortadas y los comparó con la proteína silvestre, registrando para cada mutante el aminoácido que *habría* seguido insertándose para continuar con la cadena silvestre. Para los seis mutantes, estos aminoácidos habrían sido glutamina, lisina, ácido glutámico, tirosina, triptófano y serina. Estos resultados no muestran un patrón que resulte inmediatamente obvio, pero Brenner hizo la brillante deducción de que algunos de los codones para cada uno de estos aminoácidos eran similares en cuanto a que podían mutar al codón UAG por cambio de un solo par de nucleótidos en el DNA. Propuso, por tanto, que UAG se interpretaba como un codón de terminación, es decir, como una señal que avisa a la maquinaria de traducción de que la proteína está completa.

UAG fue el primer codón de terminación que se descifró y es conocido como **codón ámbar**. Los mutantes cuyo fenotipo defectuoso se debe a la presencia de un codón ámbar prematuro se denominan *mutantes ámbar*, y a sus supresores se les llama *supresores ámbar*. UGA, el **codón ópalo**, y UAA, el **codón ocre**, son también codones de terminación que cuentan con sus respectivos supresores. Los codones de terminación suelen denominarse **codones sin sentido** puesto que no cifran ningún aminoácido. No es ninguna sorpresa, entonces, que los codones de terminación no funcionen como mini mRNA induciendo *in vitro* la unión de un aminoacil-tRNA a los ribosomas. Más adelante, una vez que hayamos analizado el proceso de síntesis proteica, volveremos a considerar los codones de terminación y sus supresores.



**Figura 10-29.** Tamaño de las cadenas polipeptídicas de la proteína de la cápsida del fago T4 en la estirpe silvestre (*parte superior*) y en varios mutantes ámbar (*m*). Un supresor ámbar (*su*) conduce a la síntesis de una cadena del mismo tamaño que la silvestre y al desarrollo del fenotipo silvestre.

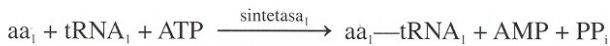


## La síntesis de proteínas

Podemos contemplar la **síntesis proteica** como una reacción química, y esta aproximación es la que utilizaremos en primer lugar. Luego prestaremos atención a las interacciones físicas que ocurren entre los principales componentes de la maquinaria de síntesis.

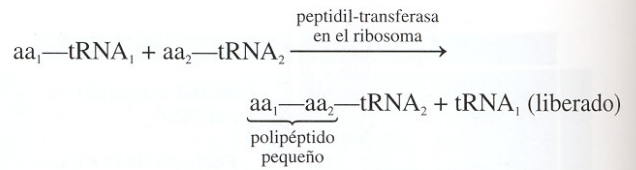
Cuando se considera la síntesis de proteínas como una reacción química:

1. Cada aminoácido se une a la molécula de tRNA adecuada mediante un enlace rico en energía derivado del ATP. El proceso lo cataliza una enzima específica denominada **sintetasa** (se dice que el tRNA está «cargado» cuando se ha unido a un aminoácido):

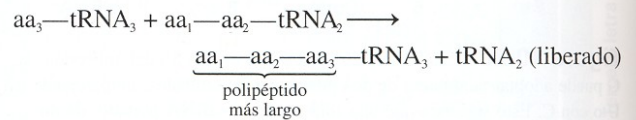


Existe una sintetasa diferente para cada aminoácido.

2. La energía del tRNA cargado se invierte en la formación de un enlace peptídico entre el aminoácido del tRNA y otro aminoácido en el ribosoma:



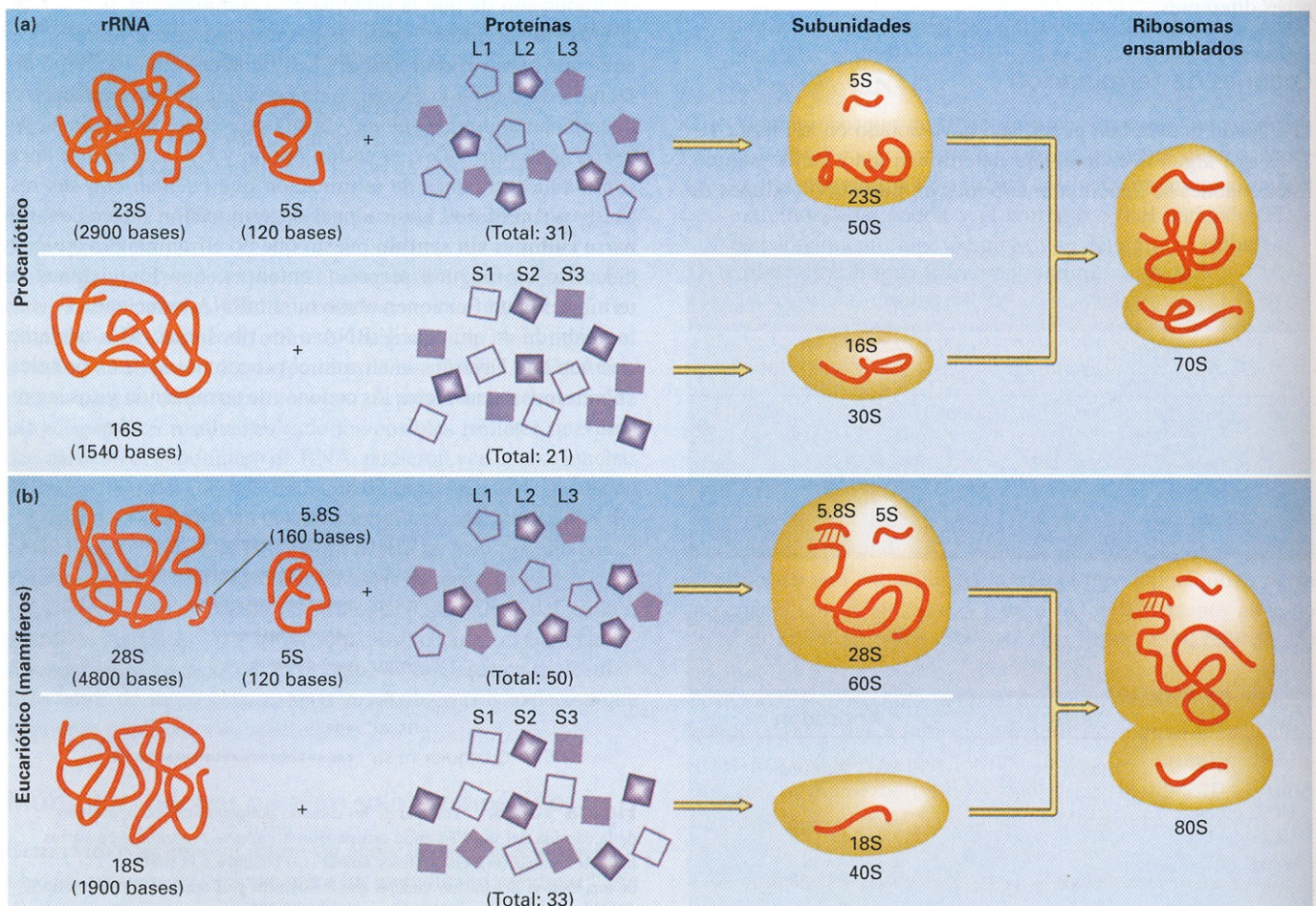
3. Los nuevos aminoácidos se unen a la cadena naciente mediante un enlace peptídico:



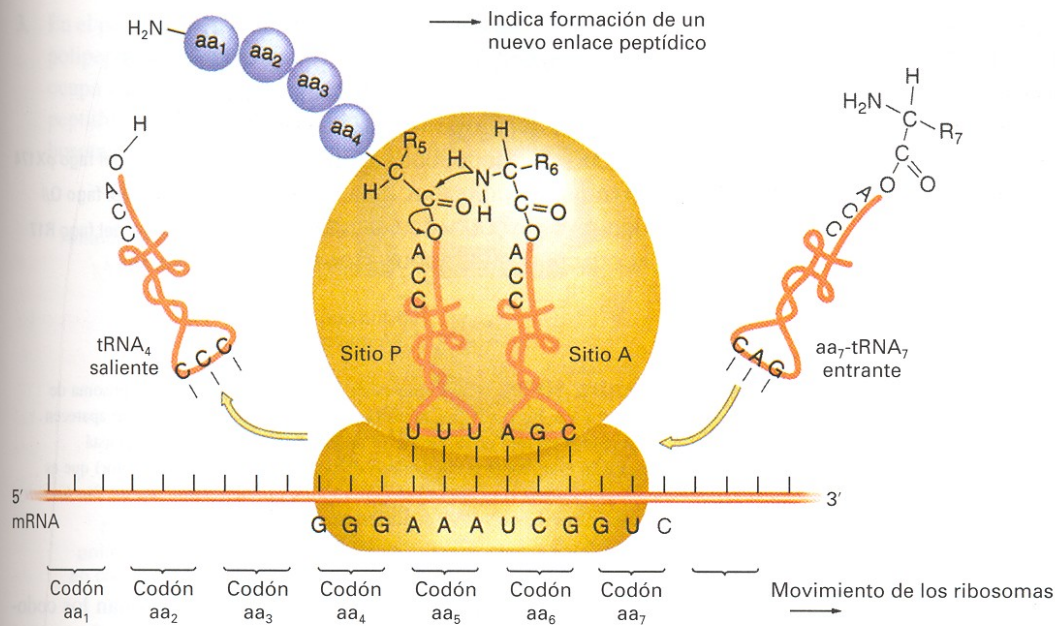
4. Este proceso continúa hasta que se añade el  $aa_n$  (el último aminoácido). Por supuesto, el proceso sólo funciona en presencia a la vez de mRNA, ribosomas, varios factores proteicos adicionales, enzimas e iones inorgánicos.

### Los ribosomas

Los ribosomas están constituidos por dos subunidades que, en procariotas, sedimentan como partículas de 50S y 30S, que se asocian formando una partícula 70S, como se muestra en la Figura 10-30a. En los ribosomas eucarióticos, la subunidad grande







**Figura 10-31.** Adición de un aminoácido a la cadena polipeptídica creciente durante la traducción del mRNA.

es 60S, la subunidad pequeña 40S y el ribosoma completo 80S (Fig. 10-30b). Los ribosomas contienen sitios específicos que les permiten unirse al mRNA, a los tRNA y a otros factores proteicos específicos, todos ellos necesarios para la síntesis de proteínas. Examinemos primero la síntesis de proteínas en el ribosoma desde una perspectiva general y después veremos cada uno de los pasos con más detalle.

La Figura 10-31 muestra la síntesis de un polipéptido en el ribosoma. El mRNA se une a la subunidad pequeña 30S. Los tRNA se unen a dos sitios en el ribosoma que cubren parte de ambas subunidades. El **sitio A** es el punto de entrada para un aminoacil-tRNA (un tRNA portador de un solo aminoácido). El peptidil-tRNA, portador de la cadena polipeptídica creciente, se une al **sitio P**. Cada aminoácido nuevo se añade por transferencia de la cadena creciente al nuevo aminoacil-tRNA, dando lugar a la formación de un nuevo enlace peptídico. El tRNA que ha transferido su aminoácido se disocia entonces del sitio P y el ribosoma avanza hasta el siguiente codón del mensaje, transfiriendo el nuevo peptidil-tRNA al sitio P y dejando vacante el sitio A para el siguiente aminoacil-tRNA entrante.

El proceso de síntesis proteica se divide en tres etapas: **iniciación**, **elongación** y **terminación**. Examinemos cada una de estas etapas con detalle, utilizando como ejemplo a los procariontas.

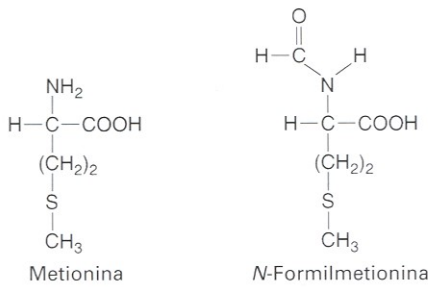
**Figura 10-30.** Los ribosomas constan de una subunidad grande y una pequeña. Cada subunidad contiene rRNA de distintas longitudes y un conjunto de proteínas (representadas con diferentes formas y tonos de colores). En todos los ribosomas hay dos moléculas principales de rRNA. (a) Los ribosomas procarióticos contienen además un rRNA de 120 bases que sedimenta a 5S. (b) Los ribosomas eucarióticos contienen dos rRNA pequeños: una molécula de rRNA 5S similar a la procariótica 5S y una molécula de 160 bases que sedimenta a 5.8 S. Las proteínas de la subunidad grande se denominan L1, L2, etc., y las de la subunidad pequeña S1, S2, etc. (De H. Lodish, D. Baltimore, A. Berk, S. L. Zipursky, P. Matsudaira, y J. Darnell, *Molecular Cell Biology*, 3.<sup>a</sup> ed. Copyright ©, 1995 de Scientific American Books, Inc.).

## Iniciación

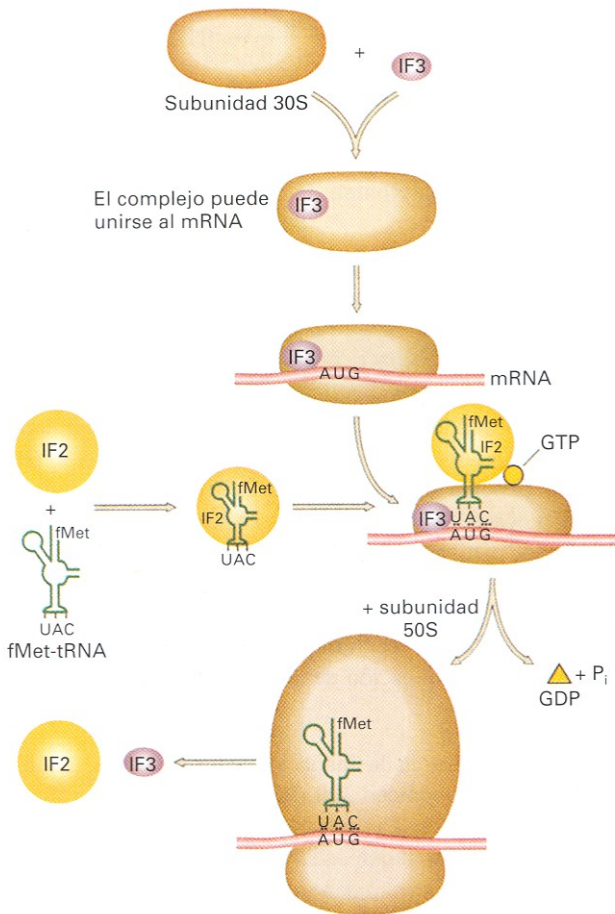
**Los tres pasos de la iniciación.** Además del mRNA, los ribosomas y las moléculas específicas de tRNA, la iniciación requiere la participación de varios factores denominados **factores de iniciación IF1, IF2 e IF3**. En *E. coli* y en la mayoría de los organismos procarióticos restantes, el primer aminoácido de cualquier polipéptido recién sintetizado es la *N*-formilmetionina. En su incorporación no interviene el tRNA<sup>Met</sup> sino un **tRNA iniciador** denominado tRNA<sup>fMet</sup>. Este tRNA iniciador tiene el anticodón normal para metionina pero inserta *N*-formilmetionina en vez de metionina (Fig. 10-32). En *E. coli*, AUG y GUG, y rara vez UUG, funcionan como codones de iniciación. Cuando uno de estos codones aparece en la posición de iniciación, el *N*-formilMet-tRNA lo reconoce y se incorpora *N*-formilmetionina como primer aminoácido de la cadena. Examinemos los pasos con mayor detalle.

1. El primer paso en la iniciación consiste en la unión del mRNA a la subunidad 30S (Fig. 10-33). El factor IF3 estimula dicha unión. Cuando no están ocupadas en la síntesis de proteínas, las subunidades ribosómicas están separadas; su ensamblaje para formar ribosomas completos ocurre como resultado del proceso de iniciación.
2. El factor de iniciación IF2 se une a GTP y al iniciador fMet-tRNA, y estimula la unión del fMet-tRNA al complejo de iniciación, guiando el fMet-tRNA hasta el sitio P, como se muestra en la Figura 10-33.
3. Una de las proteínas ribosómicas hidroliza el GTP unido a IF2, promoviendo así el ensamblaje de las dos subunidades ribosómicas (Fig. 10-33, parte inferior). En este momento, se disocian los factores IF2 e IF3. (Se desconoce cuál es la función exacta de IF1, aunque parece que participa en el proceso de reciclado de los ribosomas).



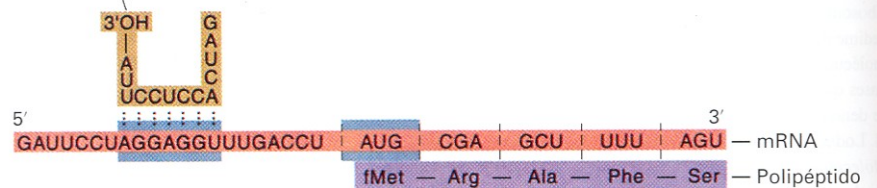


**Figura 10-32.** Estructura de la metionina (Met) y de la N-formilmetionina (fMet). En procariontes, un tRNA cargado con fMet puede iniciar una cadena polipeptídica, pero no puede incorporarse a una cadena en crecimiento; un tRNA cargado con Met puede insertarse en una cadena en crecimiento, pero no puede iniciar una nueva cadena. Ambos tRNA llevan el mismo anticodón, complementario al codón AUG.



**Figura 10-33.** Pasos en la iniciación de la traducción (consulte el texto).

Extremo 3' del rRNA 16S



**Figura 10-35.** Unión entre la secuencia Shine-Dalgarno de un mRNA y el extremo 3' del rRNA 16S. (Tomado de L. Stryer, *Biochemistry*, 4.ª ed. Copyright © 1995 de Lubert Stryer.)

AGCACGAGGGGAAAUCUGAUGGAACGCUAC	<i>E. coli trpA</i>
UUUGGAGGAGUGAAACGAUGGCGAUUGCA	<i>E. coli araB</i>
GGUAAACCAGGUAACAACCAUGCGAGUGUUG	<i>E. coli thrA</i>
CAAUUCAGGGUGGUGAAUGUGAAACCAGUA	<i>E. coli lacI</i>
AAUCUUGGAGGCUUUUUUAUGGUUCGUUCU	Proteína A del fago φX174
UAACUAAGGAUGAAAUGCAUGUCUAAGACA	Replicasa del fago Qβ
UCCUAGGAGGUUUGACCUAUGCGAGCUUUU	Proteína A del fago R17
AUGUACUAAGGAGGUUGUAUGGAACAACGC	<i>cro</i> del fago λ

Hibrida con el rRNA 16S

Hibrida con el tRNA iniciador

**Figura 10-34.** Las secuencias de los sitios de unión al ribosoma de *E. coli* y sus bacteriófagos muestran ciertos rasgos en común, que aparecen coloreados en rojo en la figura. El codón de iniciación (en color) está separado unos cuantos nucleótidos de una secuencia corta (en color) que es complementaria al extremo 3' del rRNA 16S. (Tomado de L. Stryer, *Biochemistry*, 4.ª ed. Copyright © 1995 de Lubert Stryer.)

**Sitios de unión al ribosoma.** ¿Cómo se seleccionan los codones de iniciación correctos entre los muchos codones AUG y GUG de una molécula de mRNA? John Shine y Lynn Dalgarno fueron los primeros en advertir que los verdaderos codones de iniciación estaban precedidos por secuencias que emparejaban bien con el extremo 3' del rRNA 16S. La Figura 10-34 muestra algunas de estas secuencias. Entre la secuencia Shine-Dalgarno y el codón de iniciación existe una separación pequeña pero variable. La Figura 10-35 muestra el emparejamiento entre un mRNA hipotético y el rRNA 16S que, en presencia de fMet-tRNA, promueve la formación de complejos ribosoma-mRNA para el inicio de la síntesis proteica.

### Elongación

En la Figura 10.36 se detallan los pasos del proceso de elongación, en los que colaboran tres proteínas, **EF-Tu**, **EF-Ts** y **EF-G**. Los pasos son:

1. El factor de elongación EF-Tu media la entrada de los aminoacil-tRNA al sitio A. Para ello, es necesario que EF-Tu se una primero a GTP. Este complejo EF-Tu-GTP activado se une al tRNA. A continuación, la hidrólisis del GTP a GDP favorece la unión del aminoacil-tRNA al sitio A, en cuyo momento se disocia el factor EF-Tu (Fig. 10-36a), dejando el nuevo tRNA en el sitio A (Fig. 10-36b).
2. El factor de elongación EF-Ts media la liberación de EF-Tu-GDP del ribosoma y la regeneración de EF-Tu-GTP.



3. En el paso siguiente, la translocación, se transfiere la cadena polipeptídica del peptidil-tRNA al aminoacil-tRNA que ocupa el sitio A, en una reacción catalizada por la enzima peptidil-transferasa (Fig. 10-36c). Es entonces cuando el ribosoma se transloca, avanzando un codón en el mRNA, al

movearse en dirección 5' → 3'. Este paso está mediado por el factor de elongación EF-G (Fig. 10-36d) y activado por la hidrólisis de GTP a GDP. En el proceso se libera el tRNA descargado del sitio P y se transfiere el peptidil-tRNA recién formado desde el sitio A al sitio P (Fig. 10-36e).

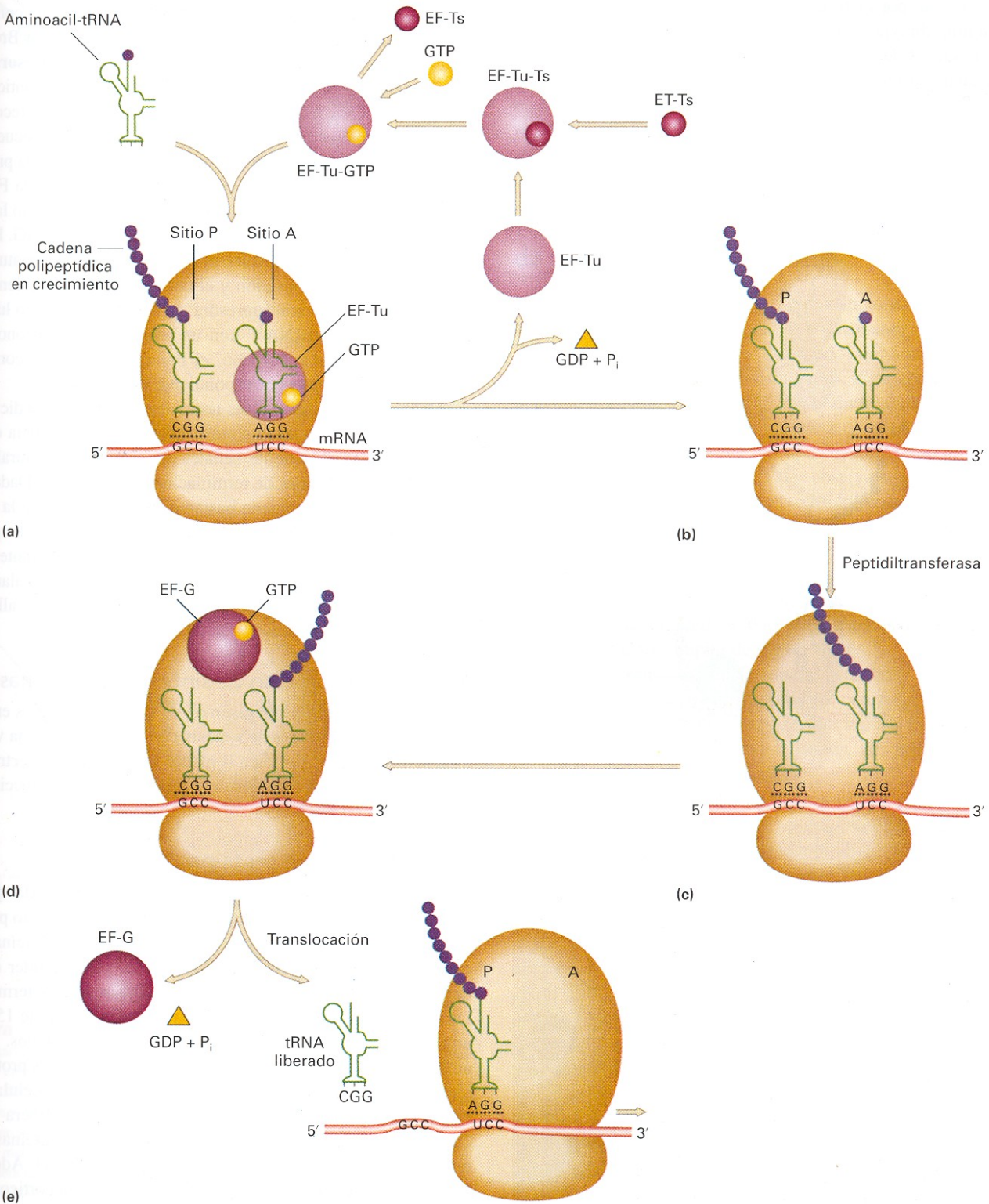


Figura 10-36. Pasos en la elongación (consulte el texto).



## Terminación

**Factores de liberación.** En nuestra discusión previa sobre el código genético, hablamos de los tres codones de terminación de la síntesis proteica, UAG, UGA y UAA. Significativamente, ninguno de los tres codones de terminación son reconocidos por un tRNA, sino por factores proteicos denominados **factores de liberación**, abreviadamente **RF1** y **RF2**. RF1 reconoce los tripletes UAA y UAG, y RF2 reconoce los tripletes UAA y UGA. Existe un tercer factor, **RF3**, que también colabora en la catálisis

de la reacción de terminación. Cuando el peptidil-tRNA ocupa el sitio P, los factores de liberación, en respuesta a la presencia de los codones de terminación, se unen al sitio A. El polipéptido entonces se libera del sitio P, y las dos subunidades de los ribosomas se disocian en una reacción favorecida por la hidrólisis de GTP. La Figura 10-37 muestra un esquema del proceso.

**Supresores de las mutaciones sin sentido.** Conviene considerar los supresores de mutaciones sin sentido aislados por Brenner y sus colaboradores. Muchas de estas **mutaciones supresoras de fin de mensaje** provocan una alteración en el lazo del anticodón de algunos tRNA específicos, permitiendo que ahora reconozcan una mutación sin sentido en el mRNA. Como consecuencia, se inserta un aminoácido en respuesta al codón de parada prematuro y la traducción no se detiene en este triplete. En la Figura 10-38, se muestra una mutación ámbar que ha provocado la sustitución del codón silvestre por el codón de parada UAG. Por sí mismo, el codón UAG provocaría la terminación prematura de la traducción y el consiguiente acortamiento de la proteína. La mutación supresora, en este caso, ha dado lugar a la aparición de un tRNA<sup>Tyr</sup> con un anticodón que reconoce el codón mutado UAG. Por ello, el mutante suprimido contiene tirosina en la posición correspondiente de la proteína.

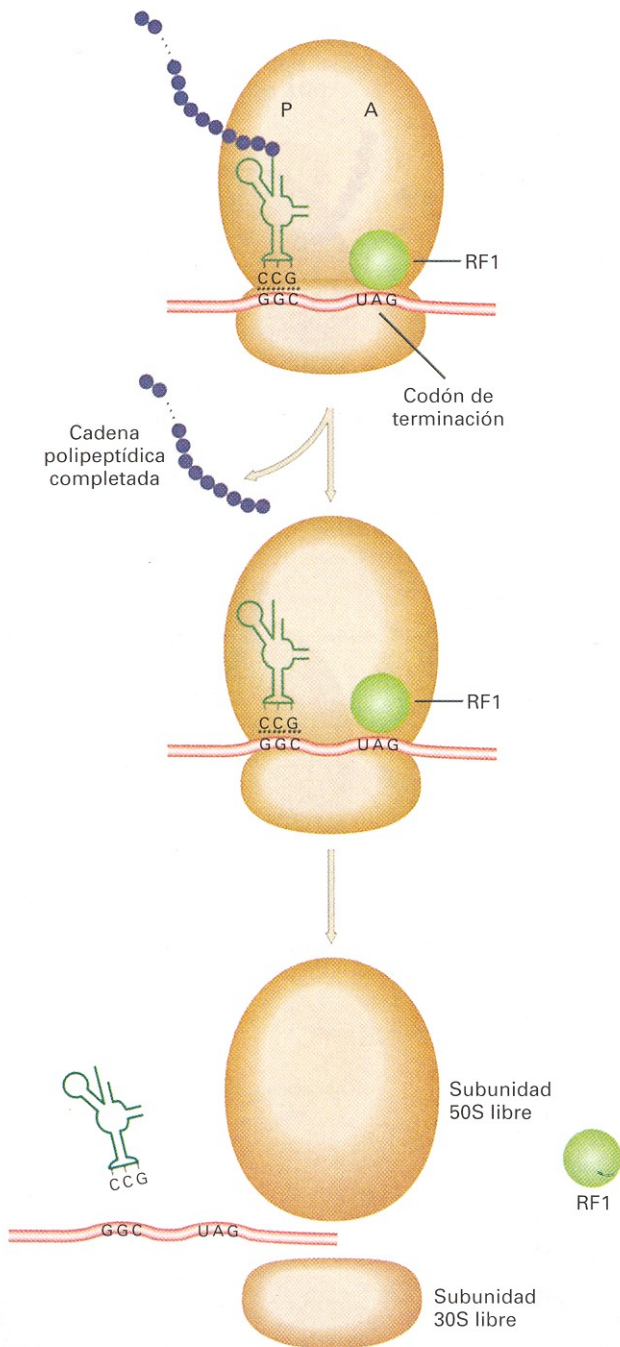
¿Qué sucede con las señales normales de parada, que dictan la terminación correcta de la síntesis proteica, en presencia de un supresor? En muchas de las señales de terminación naturales se encuentran dos codones de terminación consecutivos. Dado que la supresión es un fenómeno bastante ineficaz, debido a la competición con los factores de liberación, la probabilidad de que se supriman dos codones de terminación sucesivos es bastante baja. Por ello, se producen muy pocas proteínas que se hayan alargado como consecuencia de que la traducción prosiga más allá del codón normal de parada.

## Resumen del proceso de síntesis de proteínas

La Figura 10-39 ofrece un resumen de los pasos tratados en esta sección sobre el proceso de síntesis de las proteínas. Una visión directa de la síntesis proteica la ofrece la micrografía electrónica de la Figura 10-40, que muestra la transcripción y traducción de un gen de *E. coli*.

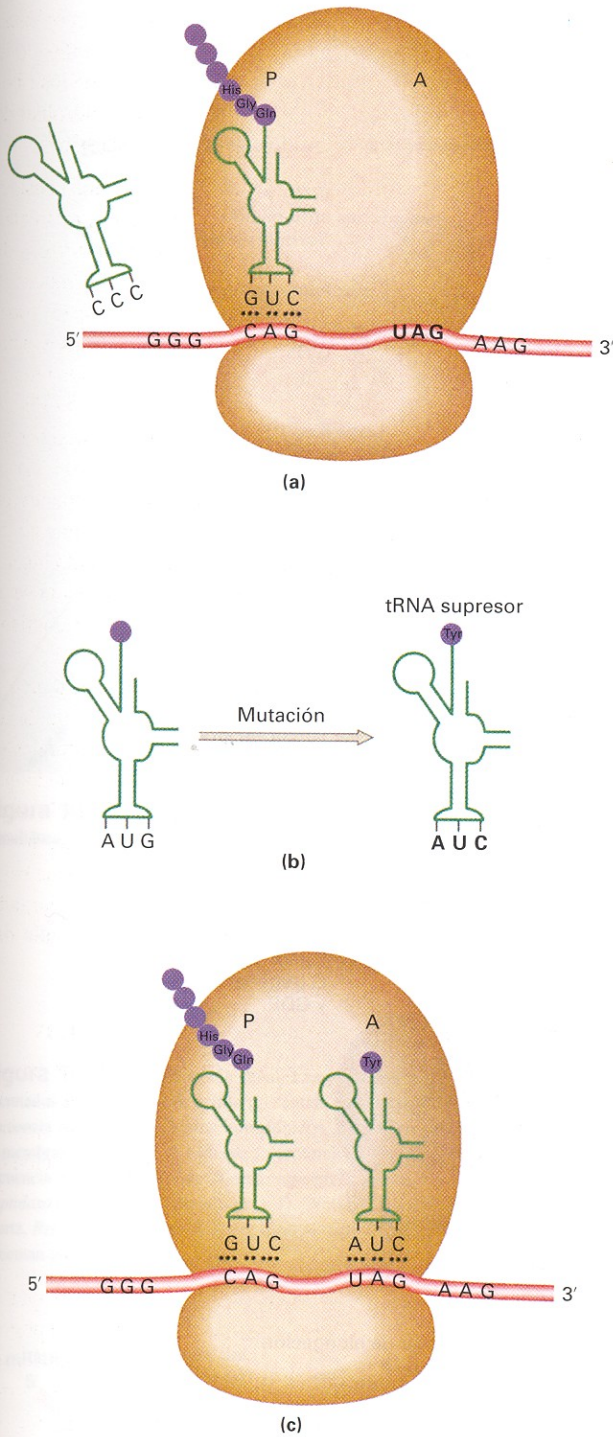
## Procesamiento de proteínas

El procesamiento puede continuar incluso después de que el mRNA se haya traducido en su correspondiente producto proteico. Por ejemplo, las proteínas de membrana o las proteínas secretadas por la célula se sintetizan con un péptido líder corto, denominado **secuencia señal**, en el extremo amino (N-terminal). Dicha secuencia señal está constituida por un trecho de 15 a 25 aminoácidos, de los cuales la mayoría son hidrofóbicos. Estos aminoácidos son reconocidos por factores y receptores proteicos que median el transporte a través de la membrana celular; en este proceso, una peptidasa introduce un corte que libera la secuencia señal (Fig. 10-41). (En el caso de algunas proteínas bacterianas que se secretan ocurre un fenómeno similar). Además, varias hormonas peptídicas pequeñas, tales como la corticotropina (ACTH), se producen tras el procesamiento específico de una proteína precursora de mayor tamaño.



**Figura 10-37.** Pasos que conducen a la terminación de la síntesis proteica (consulte el texto).





**Figura 10-38.** (a) Terminación de la traducción. En el ejemplo, la maquinaria de traducción no puede avanzar más allá del codón sin sentido (UAG, en este caso), debido a que no existe ningún tRNA capaz de reconocer el triplete UAG. Esto provoca la terminación prematura de la síntesis proteica y la liberación de un polipéptido más corto de lo normal. En el dibujo no se han incluido los factores de liberación. (b) Consecuencias moleculares de una mutación que altera el anticodón de uno de los tRNA de la tirosina, de manera que sea capaz de leer el codón UAG. (c) Supresión del codón UAG por el tRNA alterado, que permite ahora la elongación de la cadena. (Tomado de D. Watson, J. Tooze, y D. T. Kurtz, *Recombinant DNA: A Short Course*. Copyright © 1983 de W. H. Freeman and Company.)

### Corte y empalme de segmentos proteicos

Tanto en los procariotas como en los eucariotas se ha observado un fenómeno sorprendente que consiste en la eliminación de segmentos internos de algunas proteínas. Estos segmentos internos se denominan **secuencias proteicas interpuestas** o **IVPS** (del inglés *Intervening Protein Sequence*). El aspecto más destacado de este proceso es que se forma un nuevo enlace peptídico entre las dos secuencias que flanquean la IVPS. La reacción es autocatalítica y puede ocurrir *in vitro*. La Figura 10-42 muestra un esquema del proceso de corte y empalme de proteínas. Curiosamente, todas las secuencias IVPS estudiadas hasta el momento muestran actividad endonucleasa, aunque esta actividad no está relacionada con la reacción de corte y empalme de proteínas.

### Universalidad del flujo de la información genética

Hasta ahora, nuestra discusión ha girado en torno a lo que ocurre en los procariotas; lo sorprendente, sin embargo, es que el flujo de información y los procesos de cifrado son virtualmente idénticos en todos los organismos estudiados. Por ejemplo, el código genético deducido a partir de *E. coli* permite explicar satisfactoriamente todos los cambios de un solo aminoácido conocidos en la hemoglobina humana que resultan del cambio de un solo par de nucleótidos (Cuadro 10-7). Tales observaciones sugieren que el código genético es el mismo en todos los seres vivos. Además, una molécula informativa, tal como el mRNA de eritrocito de conejo, que está compuesto mayoritariamente por el transcrito del gen de la hemoglobina, en un ambiente no natural (como el oocito de rana) será traducido en hemoglobina de conejo (Fig. 10-43). Al parecer, la maquinaria de traducción es funcionalmente equivalente en una gama amplia de organismos.

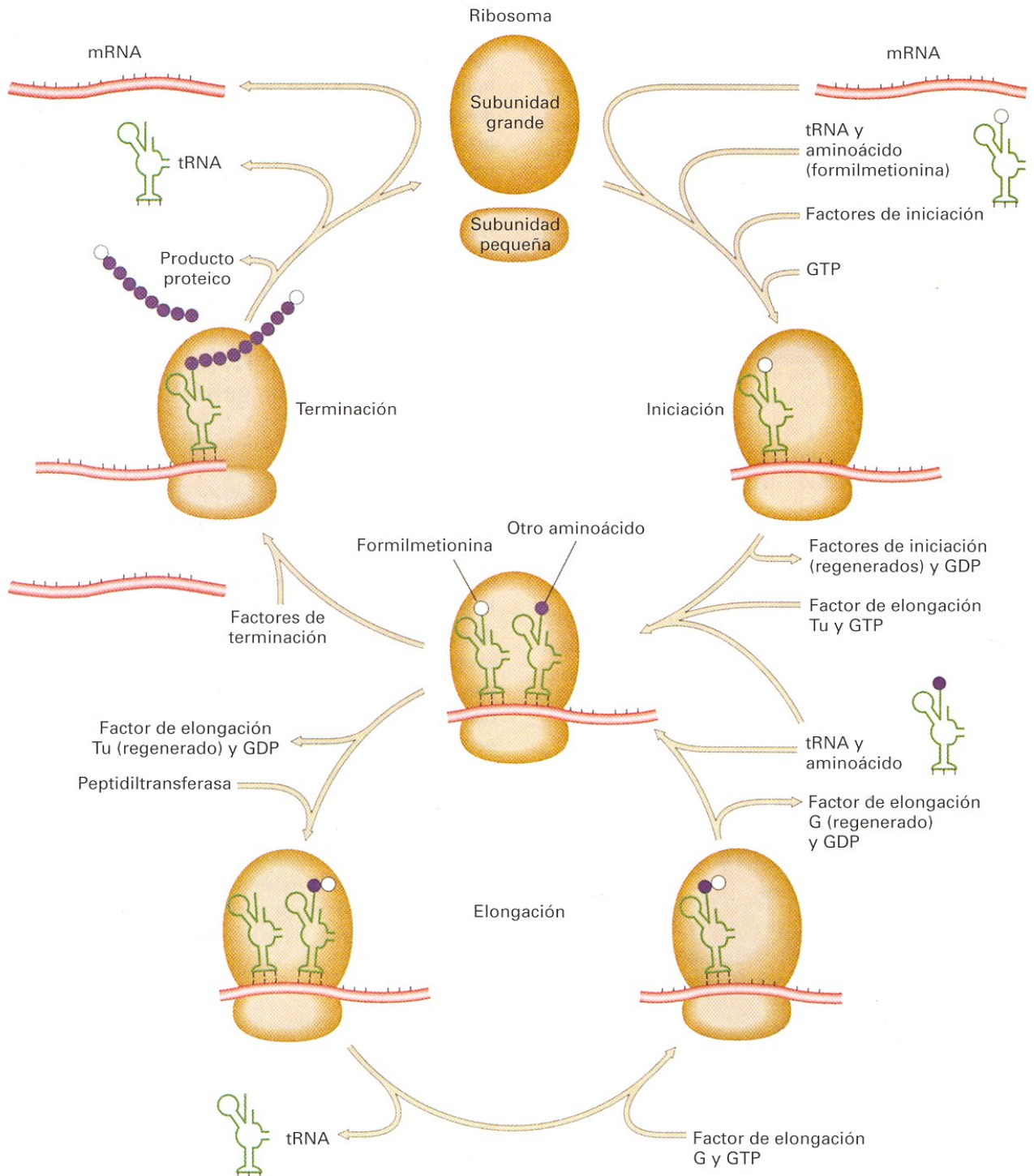
Las técnicas de secuenciación de proteínas, RNA y DNA (véase el Cap. 12) han ratificado que el código genético es universal en todos los organismos estudiados hasta la fecha, desde los virus a las bacterias y los seres humanos. Las mitocondrias son

**CUADRO 10-7.** Mutaciones y cambios de codones inferidos de las mismas

Proteína*	Cambio de aminoácido	Cambio de codón inferido
Hemoglobina	Glu → Val	GAA → GUA
Hemoglobina	Glu → Lys	GAA → AAA
Hemoglobina	Glu → Gly	GAA → GGA
Sintetasa de triptófano	Gly → Arg	GGA → AGA
Sintetasa de triptófano	Gly → Glu	GGA → GAA
Sintetasa de triptófano	Glu → Ala	GAA → GCA
Proteína de la envoltura del TMV	Leu → Phe	CUU → UUU
Proteína de la envoltura del TMV	Glu → Gly	GAA → GGA
Proteína de la envoltura del TMV	Pro → Ser	CCC → UCC

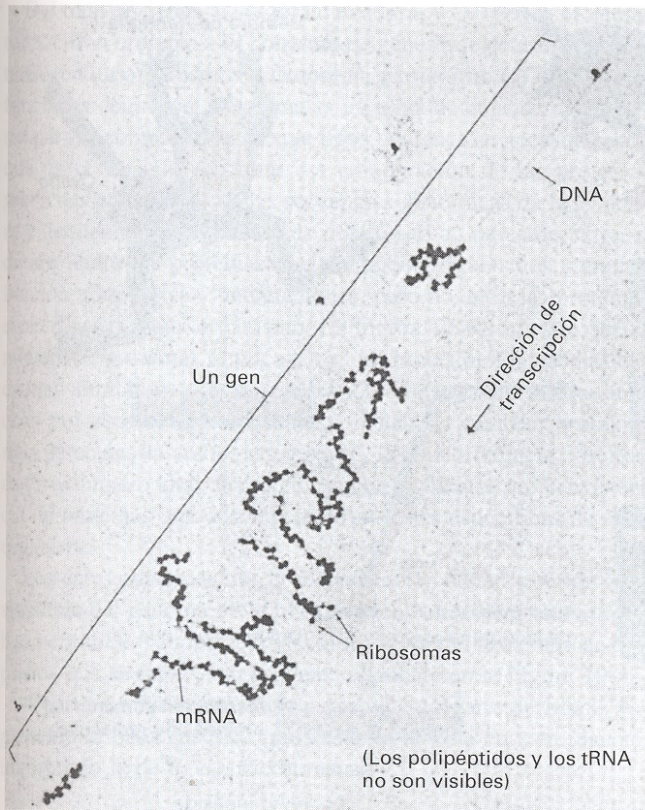
\* Mutaciones de la hemoglobina humana, de la sintetasa de triptófano de *E. coli* y de la proteína de la envoltura del virus del mosaico del tabaco (TMV).  
Fuente: L. Stryer, *Biochemistry*, 2.<sup>a</sup> ed. Copyright © 1981 de Lubert Stryer.





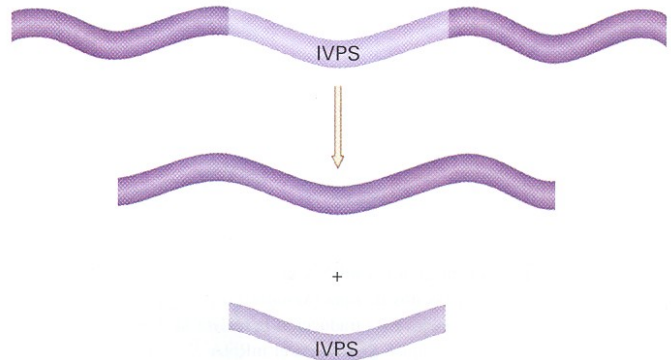
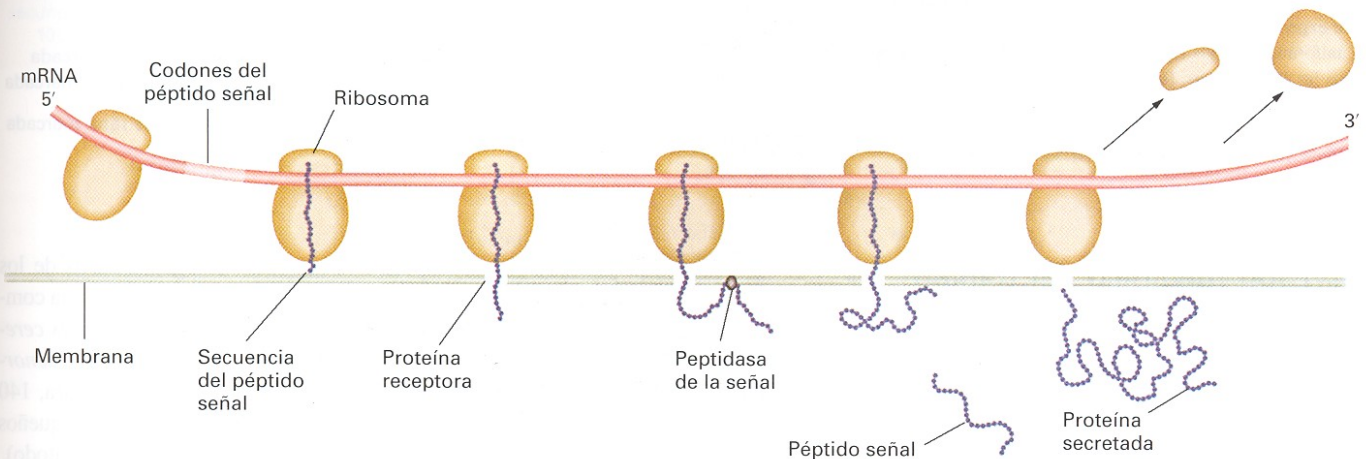
**Figura 10-39.** Las distintas operaciones que ocurren en el ribosoma. En la iniciación, el ribosoma reconoce la secuencia iniciadora en el mRNA y capta una molécula de tRNA cargada con un solo aminoácido. En todas las proteínas bacterianas, el primer aminoácido es la *N*-formilmetionina. En la elongación, un segundo aminoácido es añadido al primero. El ribosoma se desplaza entonces sobre la molécula de mRNA y el ciclo de elongación se repite. Cuando se alcanza el codón de terminación, la cadena de aminoácidos se pliega espontáneamente para formar la proteína. Seguidamente, el ribosoma se disocia en sus dos subunidades, que se reasocian antes de traducir una nueva molécula de mRNA. En la síntesis de proteínas colaboran varias proteínas catalíticas (factores de iniciación, elongación y terminación) y el trifosfato de guanósina, una pequeña molécula que libera energía al ser transformada en difosfato de guanósina (GDP). (Tomado de D. M. Engleman y P. B. Moore, «Neutron-Scattering Studies of the Ribosome». Copyright © 1976 de Scientific American, Inc. Reservados todos los derechos.)





**Figura 10-40.** Gen de *E. coli* siendo transcrito y traducido de forma simultánea. (Micrografía electrónica de O. L. Miller, Jr., y Barbara A. Hamkalo.)

**Figura 10-41.** Secuencia señal. Las proteínas destinadas a ser secretadas al exterior de la célula presentan, en su extremo amino, una secuencia rica en aminoácidos hidrofóbicos. Esta secuencia señal se une a la membrana y arrastra al resto de la proteína a través de la bicapa lipídica. La secuencia señal es eliminada durante este proceso por una enzima denominada *peptidasa de la señal*. (Tomado de J. D. Watson, J. Tooze, y D. T. Kurtz, *Recombinant DNA: A Short Course*. Copyright © 1983 de W. H. Freeman and Company.)

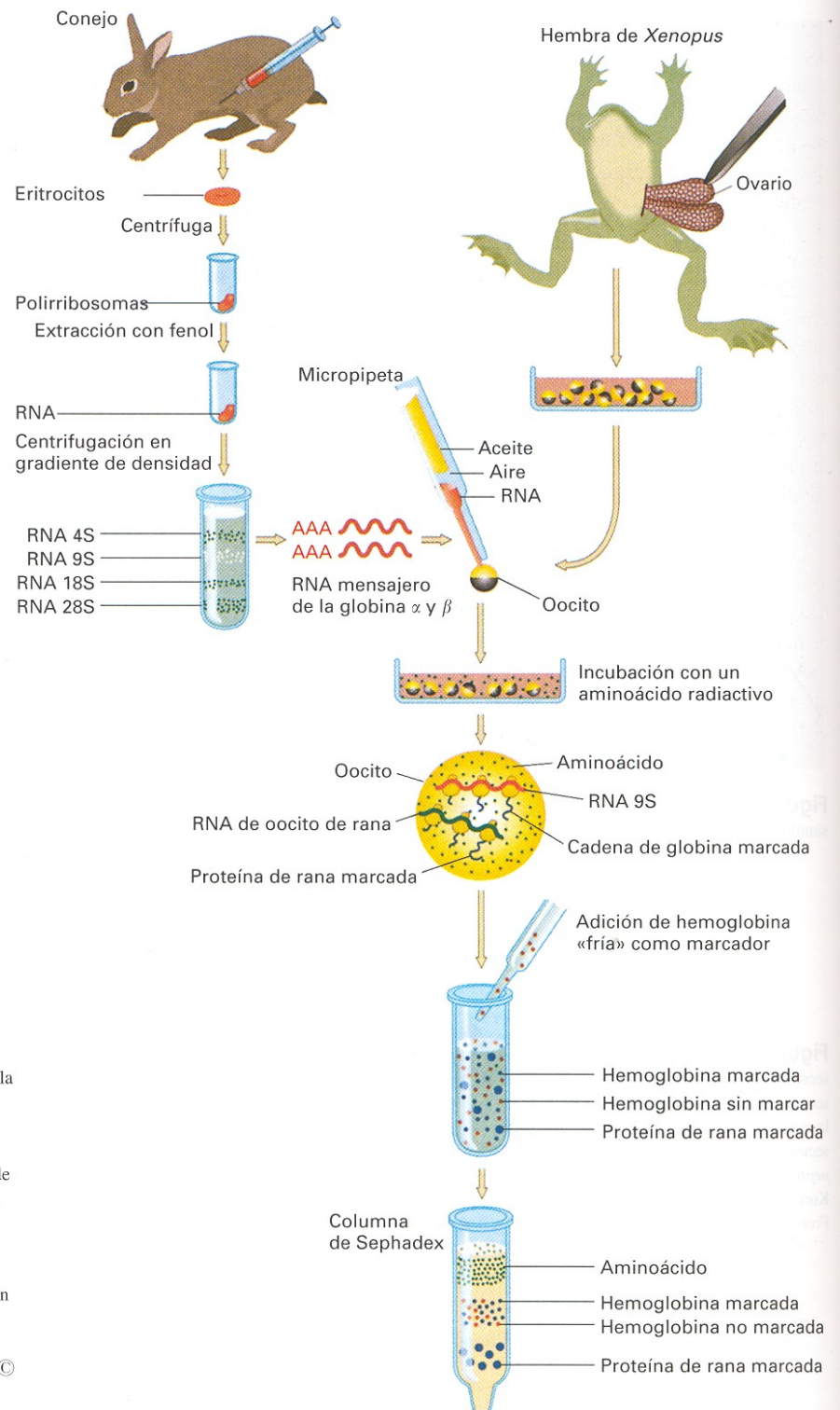


**Figura 10-42.** El procesamiento de proteínas conduce a la eliminación de un segmento interno (IVPS) y la formación de un nuevo enlace peptídico, que acaba uniendo las dos regiones originalmente adyacentes al segmento eliminado.

una excepción (véase también el Cap. 21). En este caso, dos codones se traducen de manera distinta, debido a las características de los tRNA propios del sistema mitocondrial. Así pues, aunque el codón AUA normalmente significa isoleucina, en las mitocondrias se lee como metionina. Además, en las mitocondrias de mamífero, UGA se lee como triptófano, a pesar de que UGA normalmente es un codón de terminación. En las levaduras, las mitocondrias traducen UGA como triptófano, al igual que las mitocondrias de mamífero, pero AUA se lee como isoleucina, como en los sistemas bacterianos (no mitocondriales). Se han encontrado otras excepciones al código universal en el genoma nuclear de algunos protozoos. Como tendremos ocasión de comprobar en el Capítulo 13, a través de ciertos experimentos de Ingeniería genética, el DNA es DNA independientemente de su origen. La naturaleza y el mensaje del DNA representan un lenguaje de vida universal sobre la Tierra.

Esta equivalencia interespecífica de los componentes del aparato genético ¿refleja la existencia de un ancestro evolutivamente común a todas las formas vivas que habitan en la Tierra? ¿O refleja simplemente que ésta es la única opción bioquímica operativa en el ámbito terrestre (predestinación bioquímica)? Cualquiera que sea la respuesta, la maravillosa uniformidad de la base molecular de la vida está firmemente establecida. Existen pequeñas variaciones que no alcanzan a empañar la uniformidad fundamental del mecanismo que hemos descrito.





**Figura 10-43.** Traducción del mRNA de la hemoglobina de conejo en oocitos de rana (*Xenopus*) produce hemoglobina de conejo. Esta traducción la realiza la maquinaria de síntesis de *Xenopus*. Se inyecta el mRNA de la hemoglobina de conejo en un oocito de *Xenopus*, que luego se incuba en presencia de aminoácidos marcados radiactivamente. A continuación, los productos de la traducción se separan en una columna de cromatografía. La hemoglobina del conejo se identifica comparando su posición con la de hemoglobina de conejo no marcada. Este experimento es uno de los tantos que demuestran la uniformidad de los mecanismos moleculares genéticos en todas las formas vivas. (El Sephadex es un material de separación empleado en cromatografía). (Tomado de C. Lane, «Rabbit Hemoglobin from Frog Eggs». Copyright © 1976 de Scientific American, Inc. Reservados todos los derechos.)

## División funcional del trabajo en el conjunto de genes

¿Qué tipos diferentes de genes son necesarios para construir un organismo? Recientemente, la secuenciación de varios genomas completos ha permitido empezar a vislumbrar la respuesta, de modo que tenemos ya cierta idea sobre las categorías generales

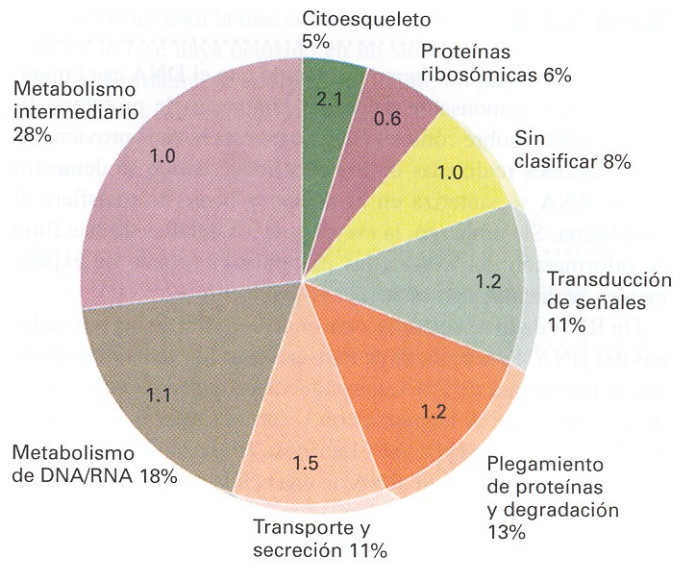
de genes y el tamaño relativo de estas categorías. Dos de los organismos eucarióticos para los que se conoce la secuencia completa de nucleótidos son la levadura del pan *Saccharomyces cerevisiae*, que cuenta con más de 6300 genes, y el nematodo *Caenorhabditis elegans*, con más de 19 000 genes. En la levadura, 140 genes determinan rRNA, 40 determinan RNA nucleares pequeños y 275 determinan tRNA (comparados con 877 en el nematodo).



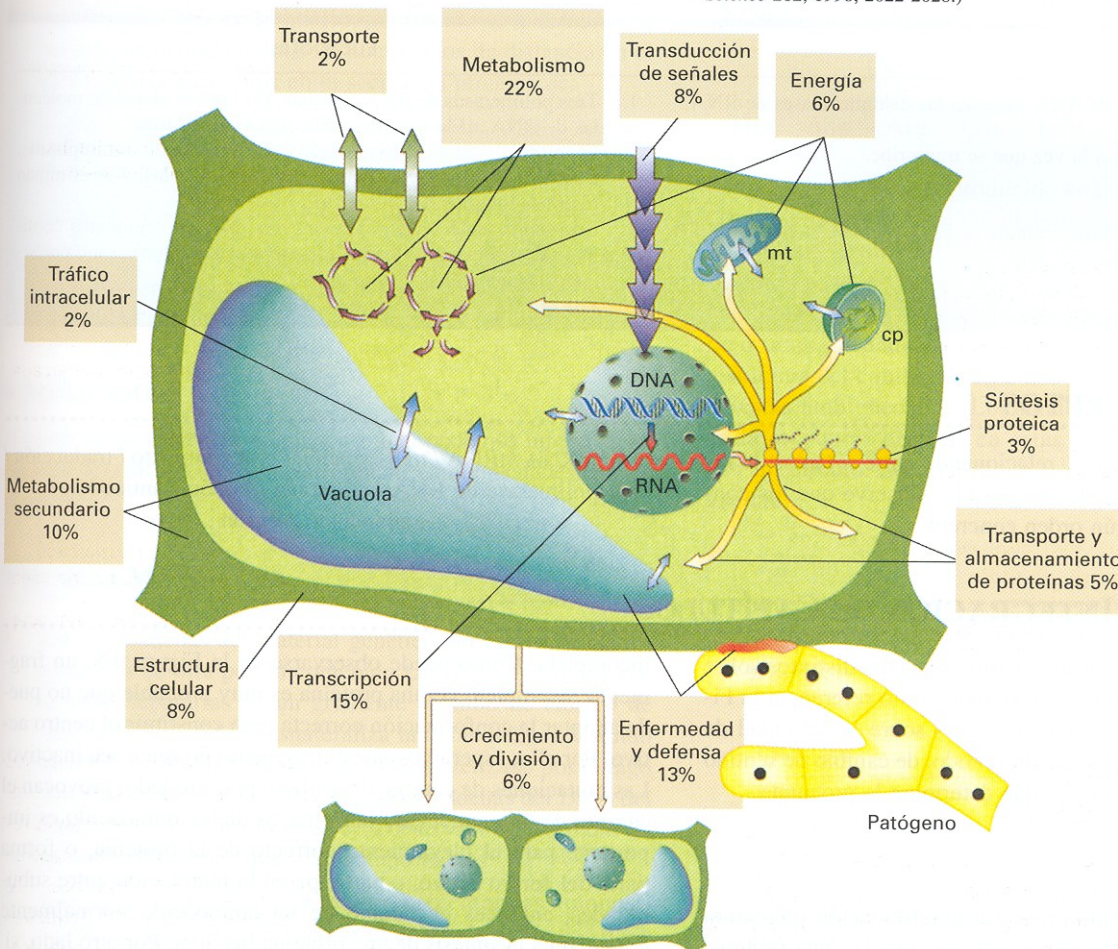
Del total de genes, 6217 en la levadura, y 19 099 en el nematodo, cifran proteínas. El conjunto de genes que determinan proteínas en un organismo se denomina **proteoma**. La división de funciones dentro del proteoma es un tema de considerable interés para la comprensión de qué tipos de genes se necesitan para que un organismo funcione. La comparación de las proteínas predichas por análisis de las secuencias genómicas de la levadura y del nematodo ha puesto de manifiesto un parecido extraordinario entre las proteínas que en ambos organismos cumplen funciones biológicas fundamentales, pero no entre las proteínas específicas de cada organismo. La Figura 10-44 muestra que el número de proteínas implicadas en las tareas biológicas básicas es muy similar en ambos organismos. Por lo tanto, aunque muchos procesos biológicos fundamentales los realizan proteínas muy parecidas en ambos organismos, la gran diferencia observada en el número total de proteínas debe explicarse por la existencia de proteínas que desempeñan funciones específicas de cada organismo.

Los datos obtenidos tras la secuenciación de una porción considerable del genoma de la planta modelo *Arabidopsis thaliana* han permitido elaborar una visión tentativa del proteoma de una planta, que se representa esquemáticamente en la Figura 10-45.

A partir de tales estimaciones puede empezar a perfilarse vagamente la base genética que sustenta la vida en este planeta, incluyendo la de la especie humana.



**Figura 10-44.** Distribución de las funciones biológicas básicas conservadas en la levadura y el gusano. Las secuencias de las proteínas de la levadura y del gusano pueden agruparse en grupos estrechamente relacionados. Cada grupo (incluyendo los grupos con dos o más secuencias) se asigna a una única categoría funcional. La cifra que aparece dentro de cada categoría indica la relación entre el número de secuencias de gusano/levadura para dicha categoría. (Tomado de S. A. Chervitz et al., «Comparison of the complete protein sets of worm and yeast: orthology and divergence». *Science* 282, 1998, 2022-2028.)



**Figura 10-45.** Distribuciones de varias categorías de genes que determinan proteínas. La estimación se ha hecho a partir de los genes de la planta *Arabidopsis thaliana* que conocemos en la actualidad. mt, mitocondria; cp, cloroplasto.



## RESUMEN

En capítulos anteriores hemos conocido que el DNA es el material genético responsable de dirigir la síntesis de proteínas. El primer indicio sobre cómo el DNA logra esta hazaña proviene de observaciones realizadas en los eucariotas, donde se demostró que el RNA se sintetiza en el núcleo y luego se transfiere al citoplasma. Sin embargo, la mayoría de los detalles de este flujo de información del DNA a las proteínas provienen de experimentos realizados con bacterias y fagos.

Un RNA dado se sintetiza a partir de una sola de las dos cadenas del DNA. Este proceso de transcripción lo cataliza una enzima, la polimerasa de RNA, que sigue unas reglas parecidas a las de la replicación: A empareja con U (en vez de con T, como en el DNA) y G empareja con C. La ribosa es el azúcar utilizado en el RNA. La extracción de RNA de una célula revela la existencia de tres variedades: ribosómico, transferente y mensajero. Los tres tamaños de RNA ribosómico (rRNA) se asocian con una serie de proteínas para formar los ribosomas, las máquinas que llevan a cabo la síntesis de proteínas (traducción). Los RNA transferentes (tRNA) son un grupo de moléculas pequeñas de RNA, con especificidad cada una de ellas por un aminoácido concreto; se encargan de transportar los aminoácidos hasta el ribosoma, donde se añaden a la cadena peptídica en crecimiento.

Las moléculas de RNA mensajero (mRNA) presentan tamaños y secuencias muy distintas. Son las moléculas que contienen la información para la síntesis de proteínas. La secuencia de codones en el mRNA determina la secuencia de aminoácidos del polipéptido correspondiente. Cada codón es específico de un aminoácido, aunque varios codones diferentes pueden cifrar el mismo aminoácido; es decir, el código genético es redundante. Además, hay tres codones para los que no existe ningún tRNA; estos codones indican dónde debe terminar el proceso de traducción.

En los eucariotas, el RNA se procesa antes de ser transportado al citoplasma. Se añaden caperuzas y colas, y se eliminan partes internas del transcrito primario. Así pues, muchos genes eucarióticos están «fragmentados», de manera que las partes informativas del gen no son colineales con el mRNA procesado. El Cuadro 10-8 resume algunas de las diferencias entre la síntesis de RNA en procariotas y eucariotas.

Los procesos de almacenamiento de información, replicación, transcripción y traducción son fundamentalmente similares en todos los seres vivos. Al poner de manifiesto esta similitud, la Genética molecular ha suministrado una poderosa fuerza unificadora a la Biología.

CUADRO 10-8. Diferencias en la expresión génica entre procariotas y eucariotas

Procariotas	Eucariotas
1. Una sola polimerasa de RNA sintetiza las distintas clases de RNA.	1. Tres polimerasas de RNA distintas. De las tres clases de moléculas de RNA, cada una transcribe una clase distinta.
2. El mRNA se traduce a la vez que se transcribe.	2. El mRNA es procesado antes de ser transportado al citoplasma, donde se traduce. Se le añaden caperuzas y colas, y se eliminan regiones internas del transcrito.
3. Los genes son segmentos continuos de DNA, colineales con el mRNA traducido en proteína.	3. Los genes suelen estar fragmentados. No son segmentos continuos de secuencias informativas, debido a la interrupción por secuencias intercaladas (intrones).
4. Los mRNA suelen ser policistrónicos	4. Los mRNA son monocistrónicos.

## MAPA DE CONCEPTOS

Trace un mapa de conceptos, relacionando entre sí tantos de los siguientes términos como le sea posible. Observe que los conceptos no están en ningún orden concreto.

gen / mRNA / tRNA / transcripción / procesamiento / traducción / polimerasa de RNA / ribosoma / codón / anticodón / aminoácido / intrón

## PROBLEMA DE INTEGRACIÓN DE CAPÍTULOS

En el Capítulo 9, consideramos varios aspectos distintos sobre la estructura de las proteínas. Tomando como referencia la Figura 9-8, explique los efectos esperados sobre la actividad de una proteína por una mutación sin sentido, de cambio de sentido y de cambio de fase en el gen que determina la proteína.

### ♦ Solución ♦

Las mutaciones sin sentido provocan la terminación prematura de la síntesis proteica, de manera que se sintetiza una proteína

incompleta. Como puede observarse en la Figura 9-8, un fragmento incompleto de una proteína es muy probable que no pueda adoptar la conformación correcta para constituir el centro activo. Por ello, esperamos que el fragmento proteico sea inactivo. Las mutaciones de cambio de sentido, por otro lado, provocan el cambio de un aminoácido por otro. Si dicho aminoácido es importante para el plegamiento correcto de la proteína, o forma parte del centro activo, o participa en la interacción entre subunidades, entonces el cambio de tal aminoácido normalmente conducirá a la síntesis de una proteína inactiva. Por otro lado, si



