

BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS

•Se denomina también traducción porque el lenguaje de ácidos nucleicos es traducido a lenguaje de aminoácidos.

Figure 1-4. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS



Paul Zamecnik

- *Proceso celular mediante el que se sintetiza una proteína a partir de sus aminoácidos constituyentes, utilizando RNA mensajero como molde.*
- *Tiene lugar en el citoplasma, más concretamente, en los ribosomas.*
- *Los aminoácidos son “activados” mediante la unión con tRNAs específicos*

BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS

- *La biosíntesis de proteínas requiere:*
 - mRNA. *Actúa como molde. En el caso de eucariotas, ha de ser transportado desde el núcleo hasta el citoplasma.*
 - Aminoácidos. *Son utilizados en forma de aminoacil-tRNAs. Es decir, cada aminoácido se une a una molécula de tRNA específica de ese aminoácido.*
 - tRNAs. *Transportan los aminoácidos y traducen la secuencia nucleotídica del mRNA a la secuencia de aminoácidos de la proteína.*
 - Ribosomas. *Son estructuras que proporcionan el entorno adecuado para la síntesis. Están formados por RNA y proteínas.*

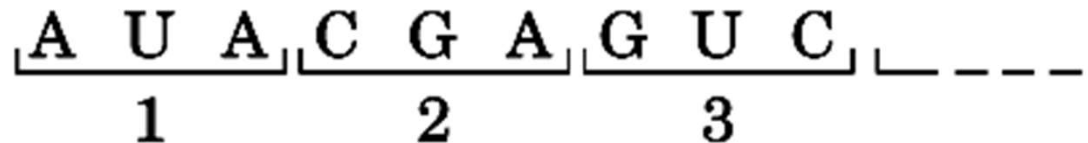
CARACTERÍSTICAS GENERALES

- *Los mRNAs se traducen en sentido 5'-3'.*
- *Las proteínas se sintetizan en sentido Nt-Ct.*
- *Cada aminoácido de la proteína está codificado por un triplete de nucleótidos en el mRNA, triplete que se denomina codón.*
- *Cada codón del mRNA se empareja con otro triplete de bases existente en el tRNA que transporta el aminoácido correspondiente. Este triplete del tRNA se denomina anticodón.*

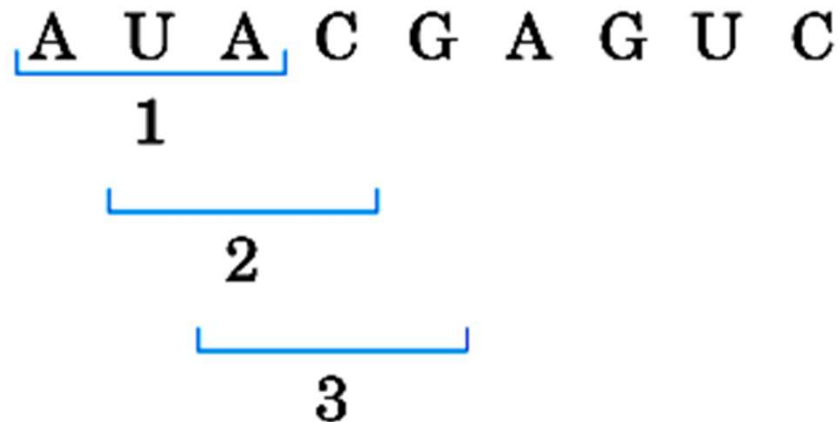
CODIGO GENETICO CONTINUO Y SIN SOLAPAMIENTO

- *Una vez que ha comenzado la traducción en un codón AUG, el resto de los codones se traducen en dirección 5'-3' de manera continua y sin solapamiento.*

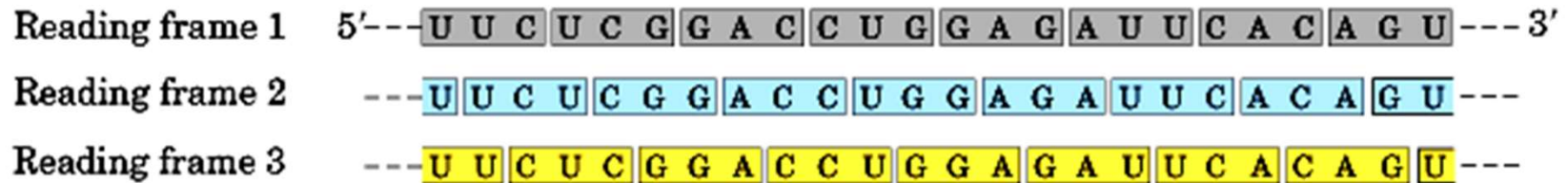
Código no solapante



Código solapante



MARCOS O PAUTAS DE LECTURA

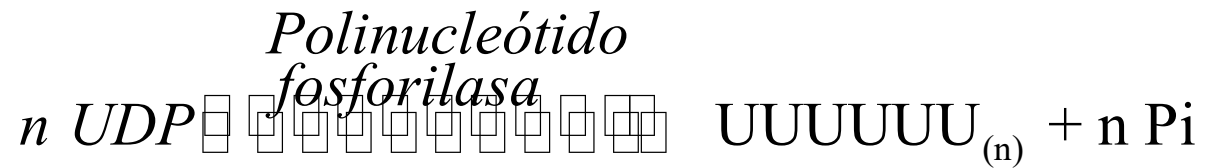


- *En un código de tripletes sin solapamiento, todos los mRNAs tienen tres pautas de lectura potenciales.*
- *La secuencia de aminoácidos codificada por cada una de las tres pautas es distinta.*

DESCIFRADO DEL CÓDIGO GENÉTICO



Marshall Nirenberg
Premio Nobel, 1968



Poli(U) → Poli-Phe	UUU → Phe
Poli(A) → Poli-Lys	AAA → Lys
Poli(C) → Poli-Pro	CCC → Pro

CÓDIGO GENÉTICO

		Second letter of codon							
		U		C		A		G	
		UUU	UUC	UCU	UCC	UAU	UAC	UGU	UGC
First letter of codon (5' end)	U	Phe	Phe	Ser	Ser	Tyr	Tyr	Cys	Cys
		Leu	Leu	Ser	Ser	Stop	Stop	Stop	Trp
		Leu	Leu	Pro	Pro	His	His	Arg	Arg
		Leu	Leu	Pro	Pro	Gln	Gln	Arg	Arg
	C	Ile	Ile	Thr	Thr	Asn	Asn	Ser	Ser
		Ile	Met	Thr	Thr	Lys	Lys	Arg	Arg
		Val	Val	Ala	Ala	Asp	Asp	Gly	Gly
		Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly
A	Val	Val	Ala	Ala	Asp	Asp	Gly	Gly	
	Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	
	Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	
	Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	
G	Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	
	Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	
	Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	
	Val	Val	Ala	Ala	Glu	Glu	Gly	Gly	

- *Es la relación entre la secuencia de nucleótidos en el DNA o en el RNAm maduro y la secuencia de aminoácidos en la proteína.*

CÓDIGO GENÉTICO

GCA	AGA									UUA
GCC	AGG									UUG
GCG	CGA						GGA			CUA
GCU	CGC						GGC		AUA	CUC
	CGG	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	GGG	CAC	AUC	CUG
	CGU	GAU	AAU	UGU	GAG	CAG	GGU	CAU	AUU	CUU
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L

				AGC						
				AGU						
			CCA	UCA	ACA			GUA		UAA
AAA			CCC	UCC	ACC			GUC		UAG
AAG	AUG	UUC	CCG	UCG	ACG		UAC	GUG		UGA
		UUU	CCU	UCU	ACU	UGG	UAU	GUU		
Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop	
K	M	F	P	S	T	W	Y	V		

CARACTERÍSTICAS DEL CÓDIGO GENÉTICO

- *Es un código de tripletes.*
- *No es solapante.*
- *Carece de puntuación.*
- *Es degenerado.*
- *No es ambiguo.*
- *Es universal (casi).*

DEGENERACIÓN DEL CÓDIGO GENÉTICO

table 27-4

Degeneracy of the Genetic Code	
Amino acid	Number of codons
Ala	4
Arg	6
Asn	2
Asp	2
Cys	2
Gln	2
Glu	2
Gly	4
His	2
Ile	3
Leu	6
Lys	2
Met	1
Phe	2
Pro	4
Ser	6
Thr	4
Trp	1
Tyr	2
Val	4

- *Existen 64 codones diferentes. 61 codifican aminoácidos y 3 de ellos son codones de parada.*
- *Puesto que sólo hay 20 aminoácidos, esto supone que casi todos los aminoácidos están codificados por más de un triplete: degeneración del código.*

Traducir la siguiente secuencia de RNA en las tres pautas de lectura

5' -AUGUCUGAUUCGCUAUAUCAUCCAUCGAGUU

mRNA AUGUCUGAUUCGCUAUAUCAUCCAUCGAGUU

Pauta 1

Pauta 2

Pauta 3

¿Qué secuencias de DNA codificarían los siguientes péptidos?

a) MWMWW

b) MDNCEQH

c) MARGLPS

1. Activación de los aminoácidos

tRNA

Aminoacil tRNA sintetasas

2. Síntesis de la cadena polipeptídica

Ribosomas

Etapas: - Iniciación
- Elongación
- Terminación

3. Plegamiento y modificaciones post-traduccionales

1. Activación de los aminoácidos

tRNA

Aminoacil tRNA sintetasas

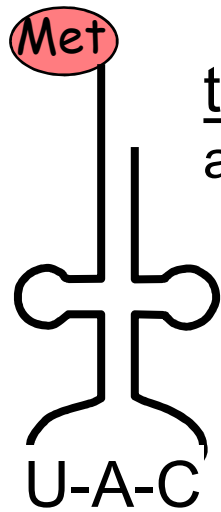
2. Síntesis de la cadena polipeptídica

Ribosomas

Etapas: - Iniciación
- Elongación
- Terminación

3. Plegamiento y modificaciones post-traduccionales

Componentes del aparato traduccional



tRNAs:
adaptadores



mRNA 5' ...-A-U-G-G-G-U-G-C-U-A-A-A-U-A-A.....3'

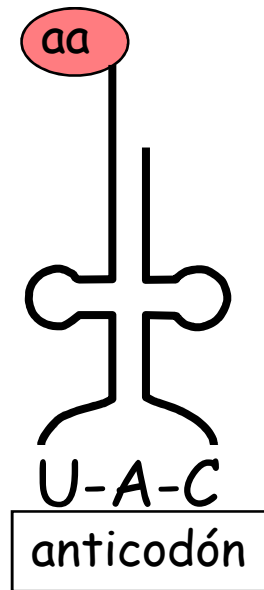
-Factores proteicos:

- IFs, EFs, RFs.
- Energía, regulación

-GTP.

- GTPasas: eIF2, eEF1a, eEF2, eRF3
- Factores de intercambio: eEF1bg
- GAP (activadores de GTPasa): eIF5

Activación de los aminoácidos



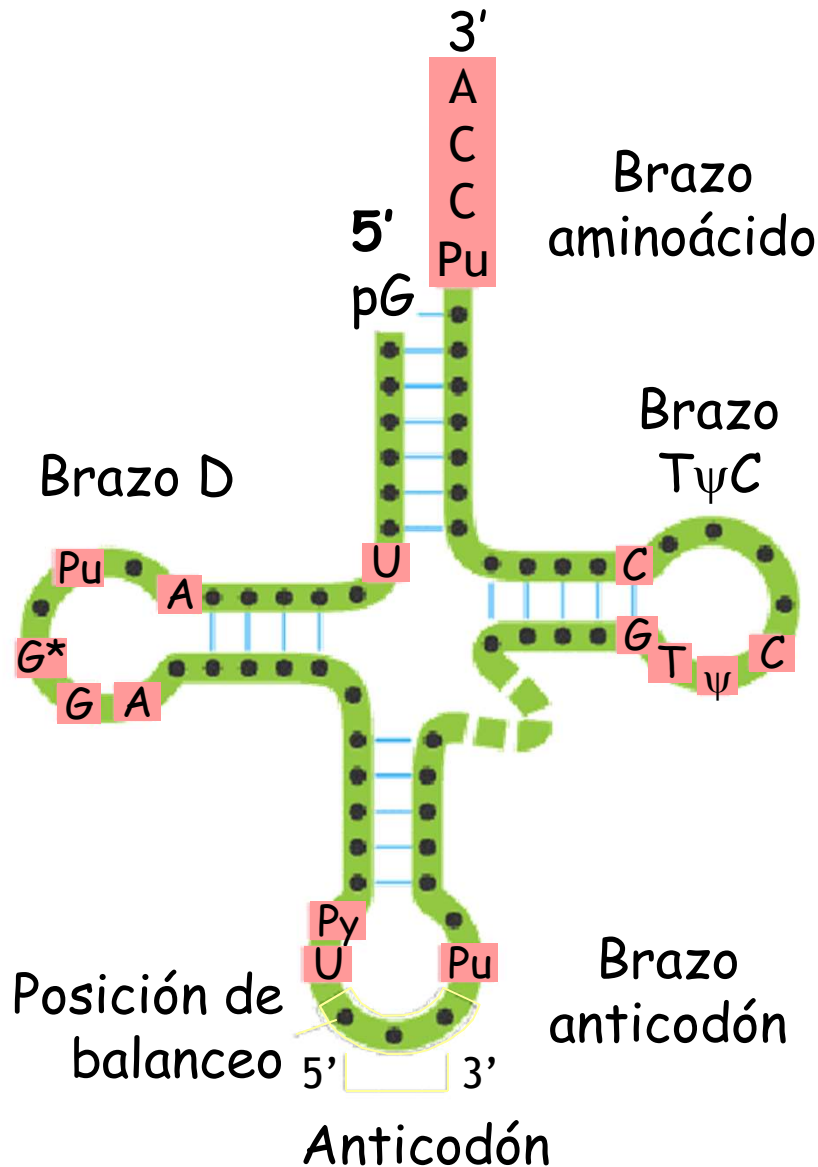
Unión de los aminoácidos a sus tRNAs específicos

1. Activación del grupo carboxilo
2. Asigna una "etiqueta nucleotídica" a los aminoácidos: interpretación del código genético

Aminoacil-tRNA sintetasas

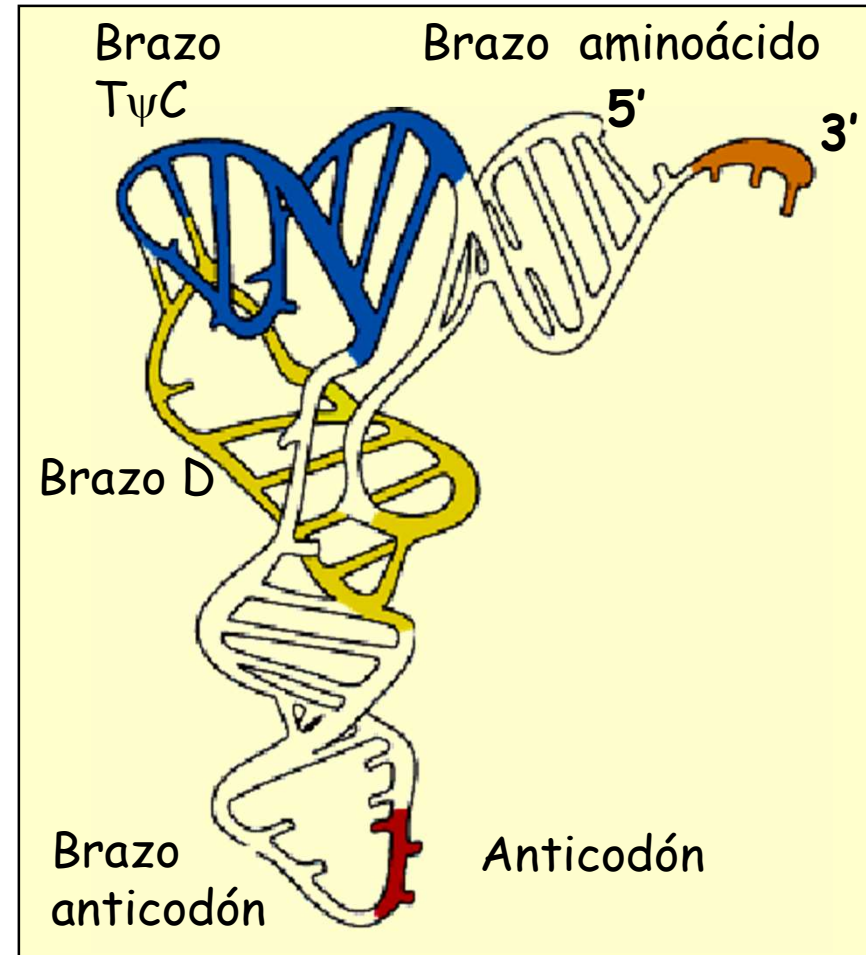
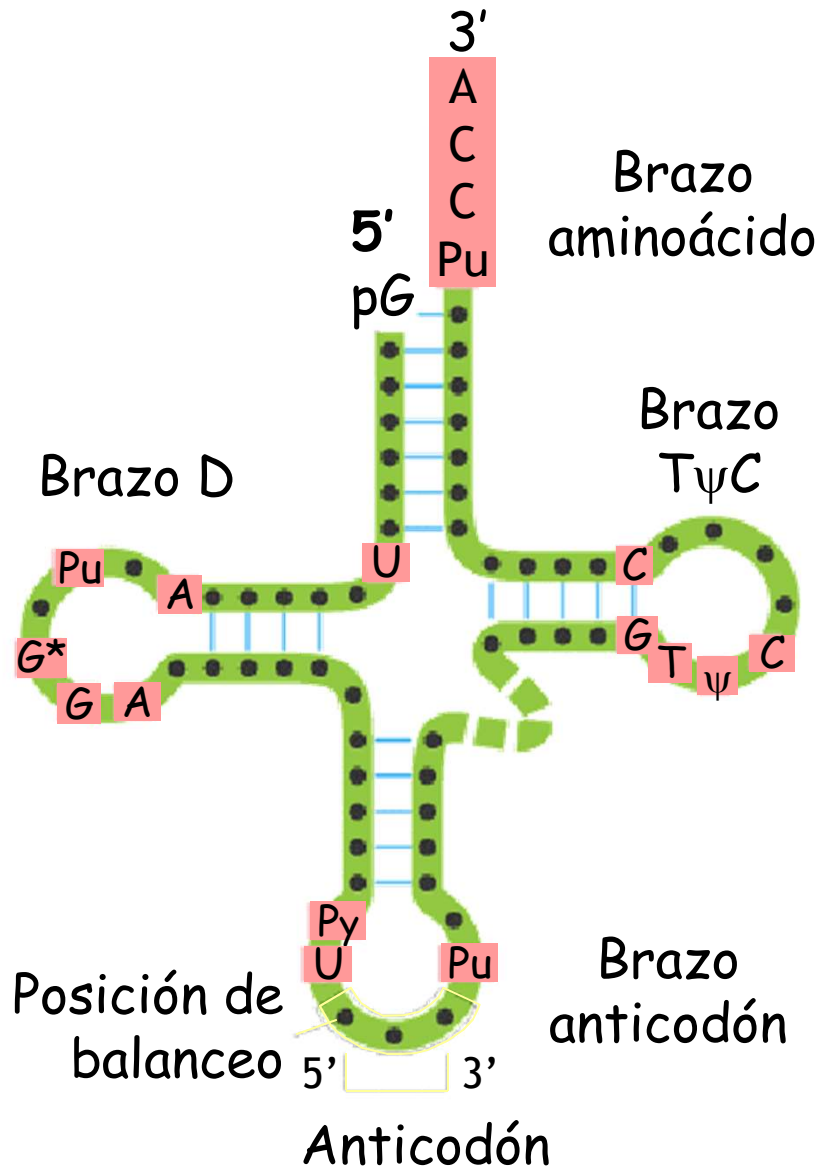


ESTRUCTURA DE LOS tRNAs

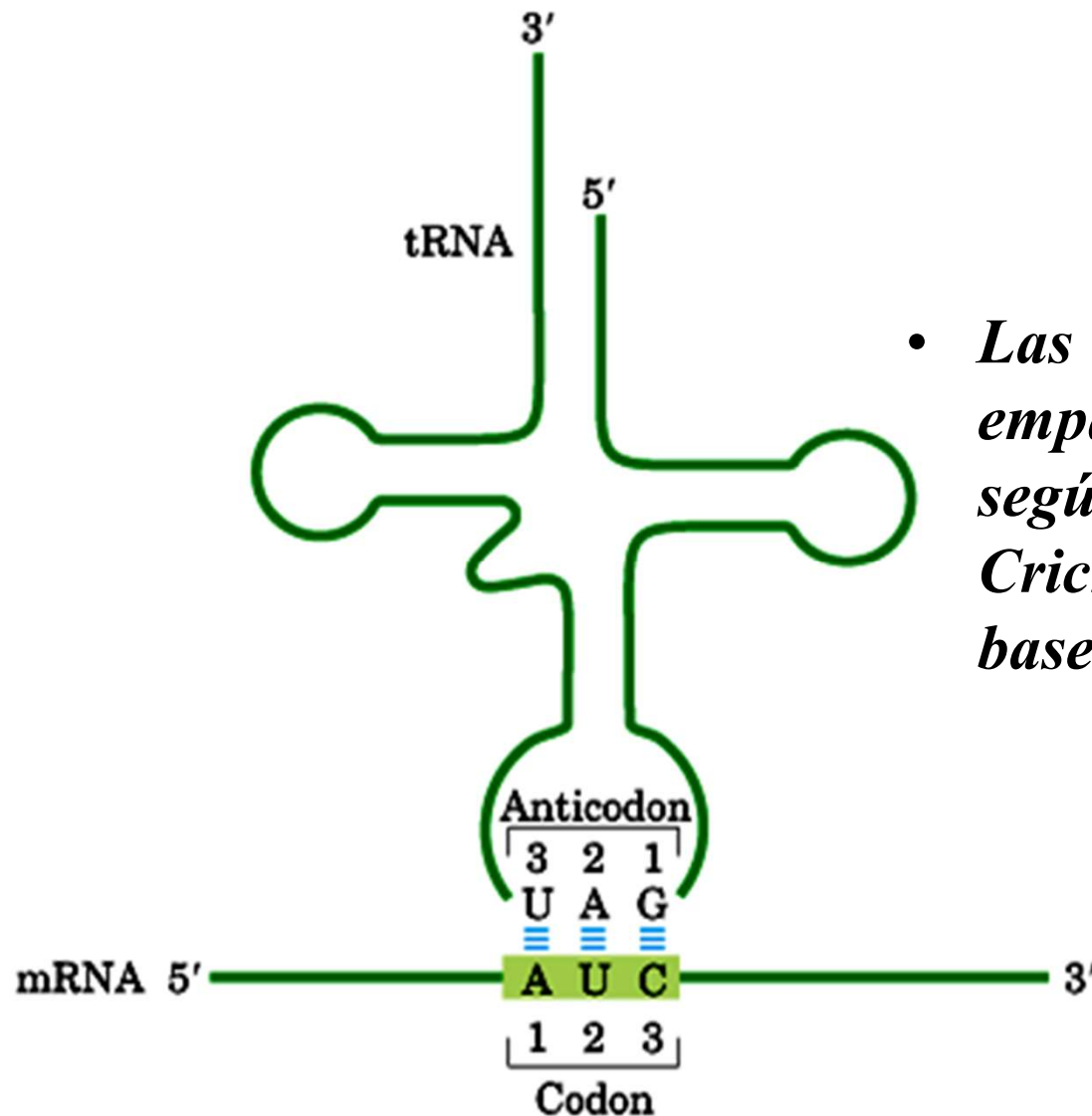


- *Existe un tRNA específico para cada aminoácido.*
- *Diseño estructural común:*
 - *RNA de unos 80 nucleótidos*
 - *muchos nucleótidos modificados post-transcripcionalmente*
 - *muchos nucleótidos inusuales: inosina, pseudouridina, ribotimidina....*
- *El extremo 5' está fosforilado y generalmente es G (pG).*
- *El extremo 3' tiene el hidroxilo libre.*
- *La secuencia del extremo 3' es CCA.*
- *El aminoácido se va a unir al extremo 3'-OH.*

ESTRUCTURA DE LOS tRNAs



INTERACCIÓN CODÓN-ANTICODÓN



- *Las dos 1^{as} bases del codón se emparejan de forma estándar, según las leyes de Watson-Crick, con las dos últimas bases del anticodón.*

HIPÓTESIS DEL BALANCEO DE LA 3ª BASE DEL CODÓN

- *Pero en cuanto a la interacción entre la 3ª base del codón y la 1ª del anticodón, son posibles varias combinaciones:*

1ª base del anticodón

C
A
U
G
I (inosina, purina)

3ª base del codón

G
U
A ó G
U ó C
U, C ó A

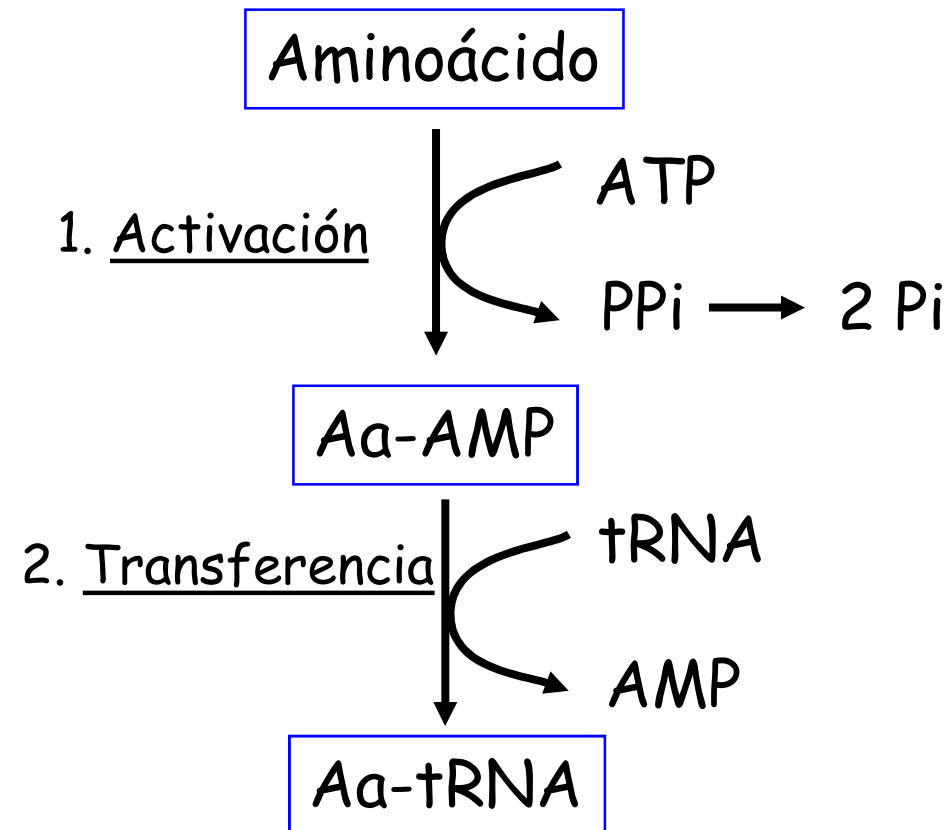
1ª base del anticodón

3ª base del codón

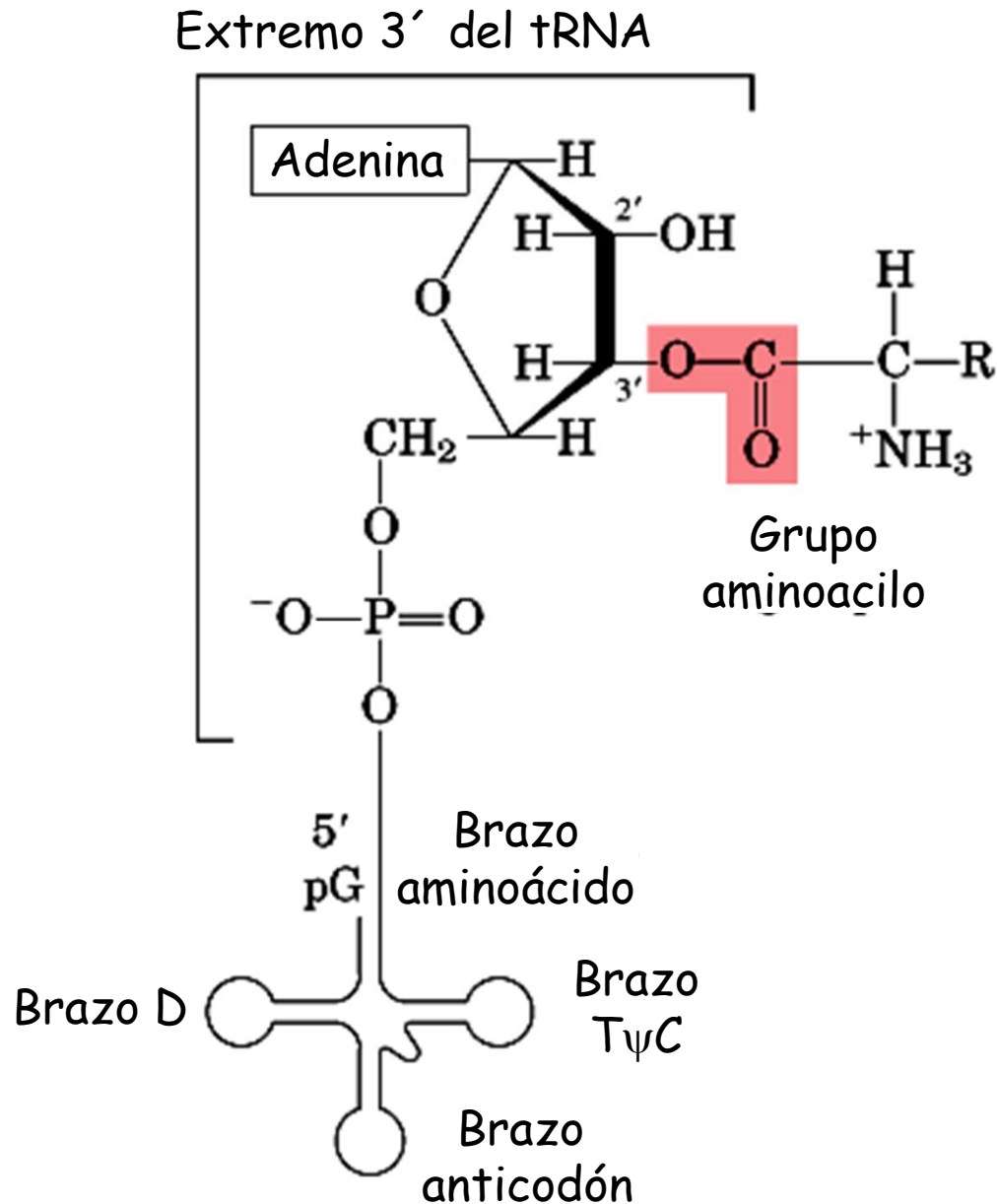
<i>C</i>	<i>G</i>
<i>A</i>	<i>U</i>
<i>U</i>	<i>A ó G</i>
<i>G</i>	<i>U ó C</i>
<i>I (inosina, purina)</i>	<i>U, C ó A</i>

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

Reacción de activación de los aminoácidos



ESTRUCTURA GENERAL DE LOS AMINOACIL-tRNA

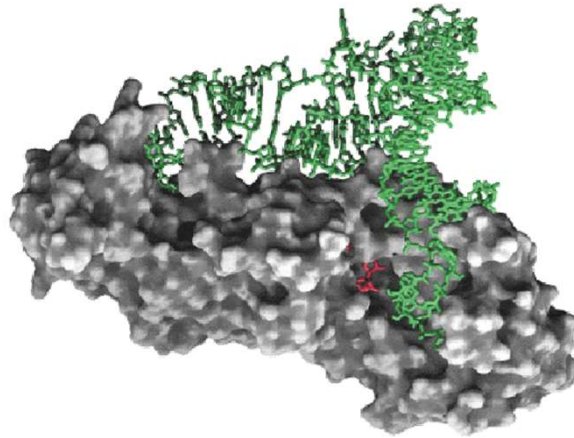


•El aminoácido queda unido mediante un enlace éster al extremo 3' del tRNA.

Aminoacyl-tRNA sintetasas

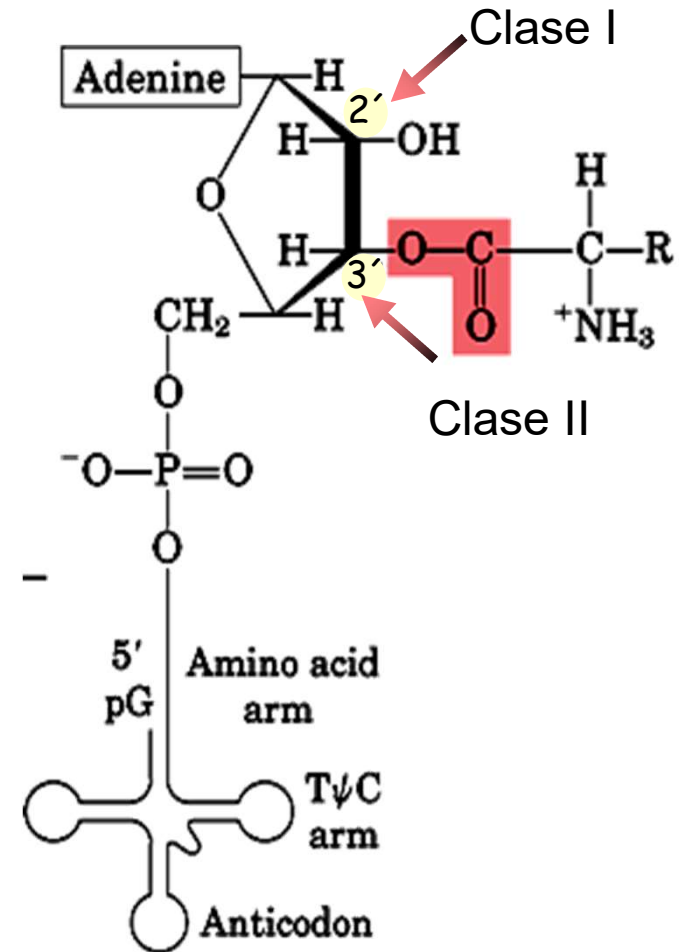
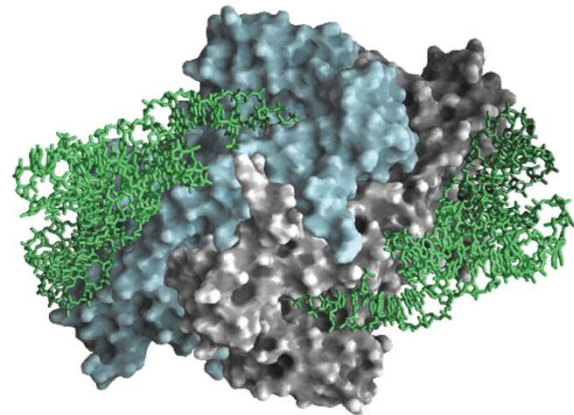
Clase I

Arg, Cys,
Gln, Glu,
Ile, Leu,
Met, Trp,
Tyr, Val



Clase II

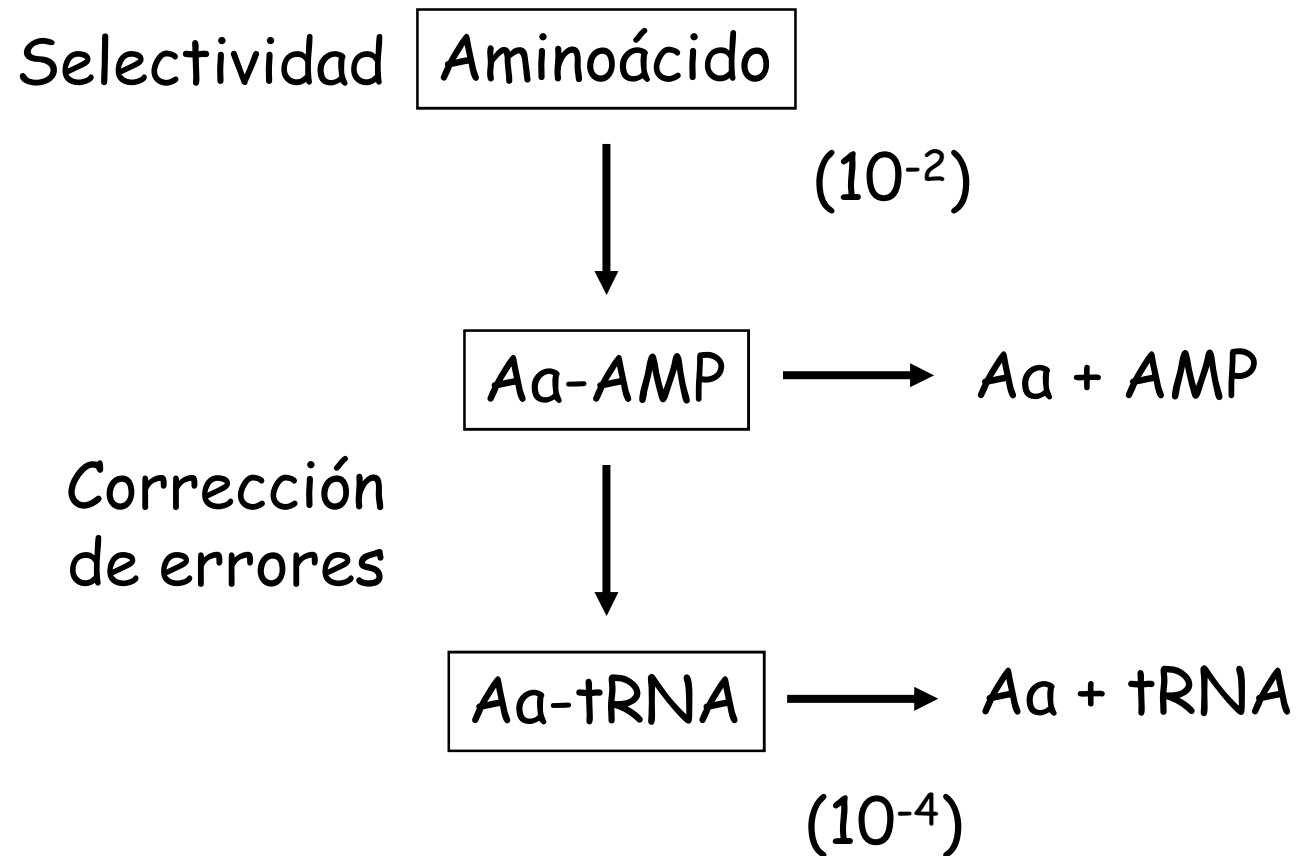
Ala, Asn,
Asp, Gly,
His, Lys,
Phe, Pro,
Ser, Thr



Especificidad de las aminoacil tRNA sintetasas

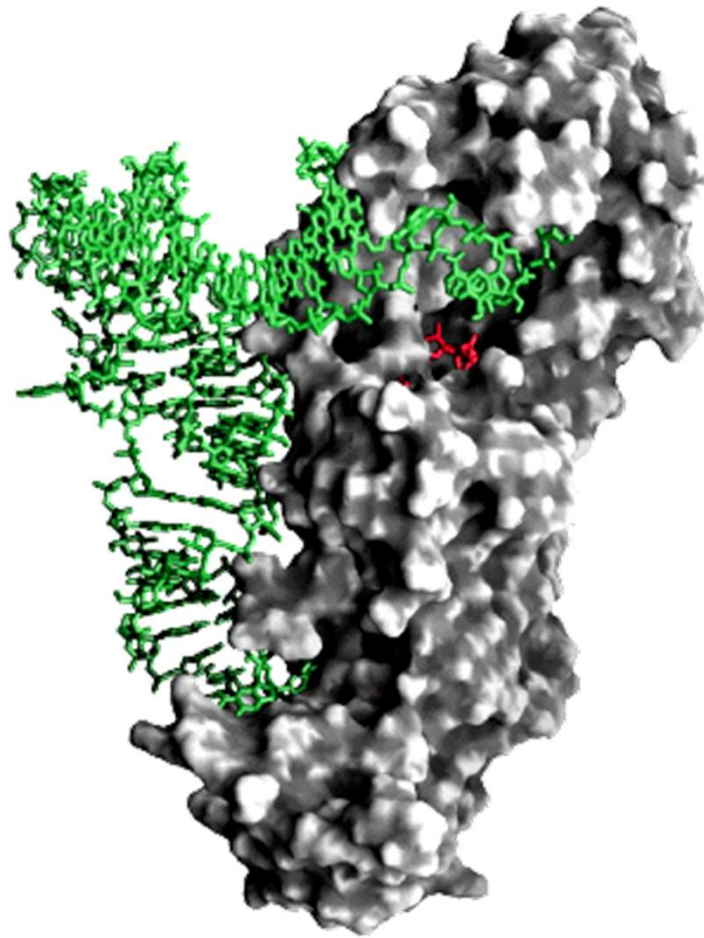
- La especificidad de la traducción depende de las aminoacil-tRNA sintetasas. En el ribosoma no se comprueba la identidad del aminoácido unido al tRNA.
 - Especificidad de aminoácido
 - Especificidad de tRNA

Especificidad de aminoácido



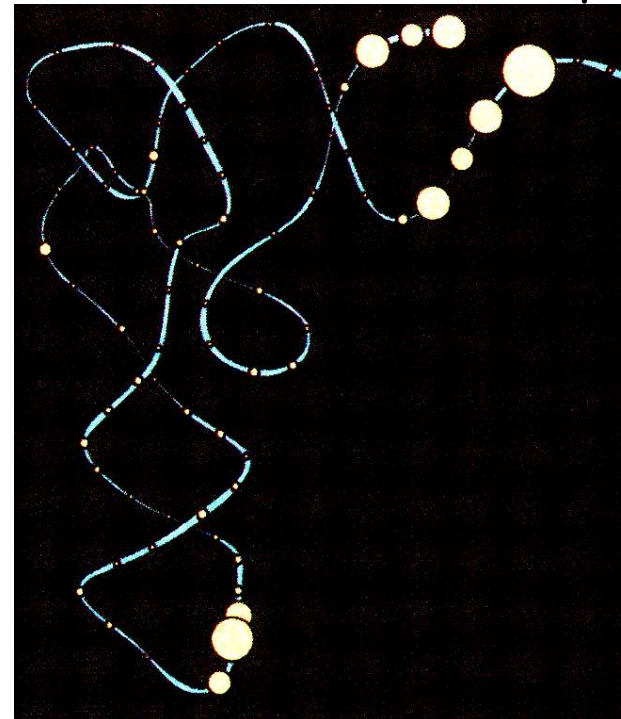
Reconocimiento de los tRNAs

- Mutagénesis de tRNAs
- Estructura 3-D



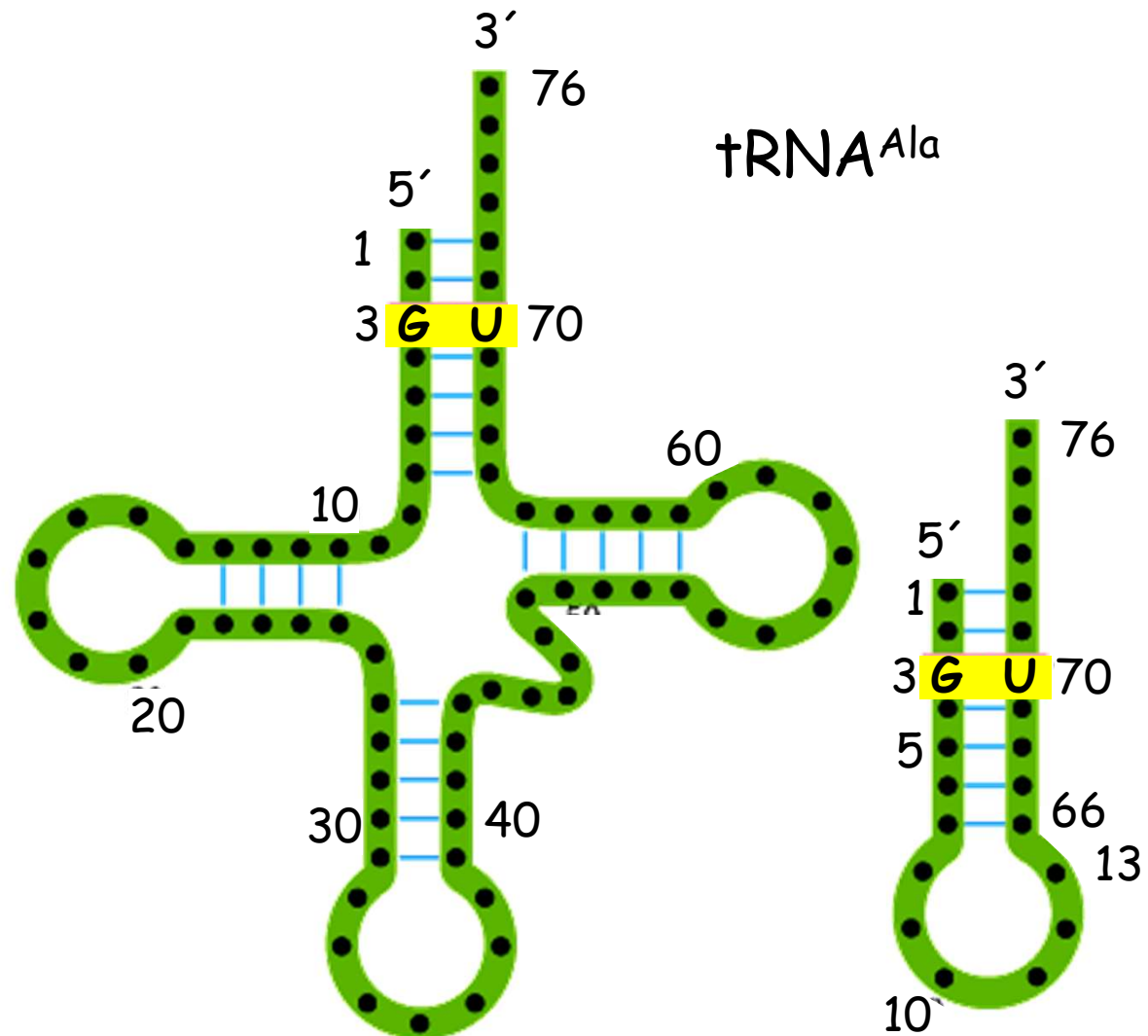
Gln tRNA sintetasa

Brazo aceptor

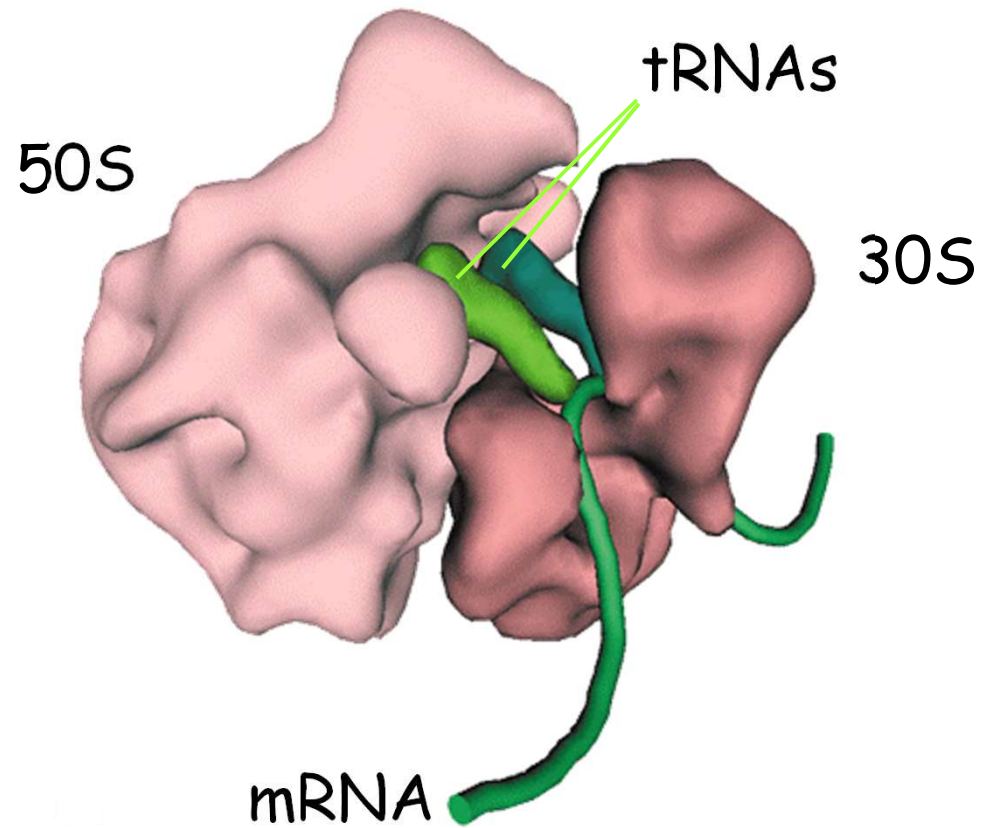


Brazo anticodón

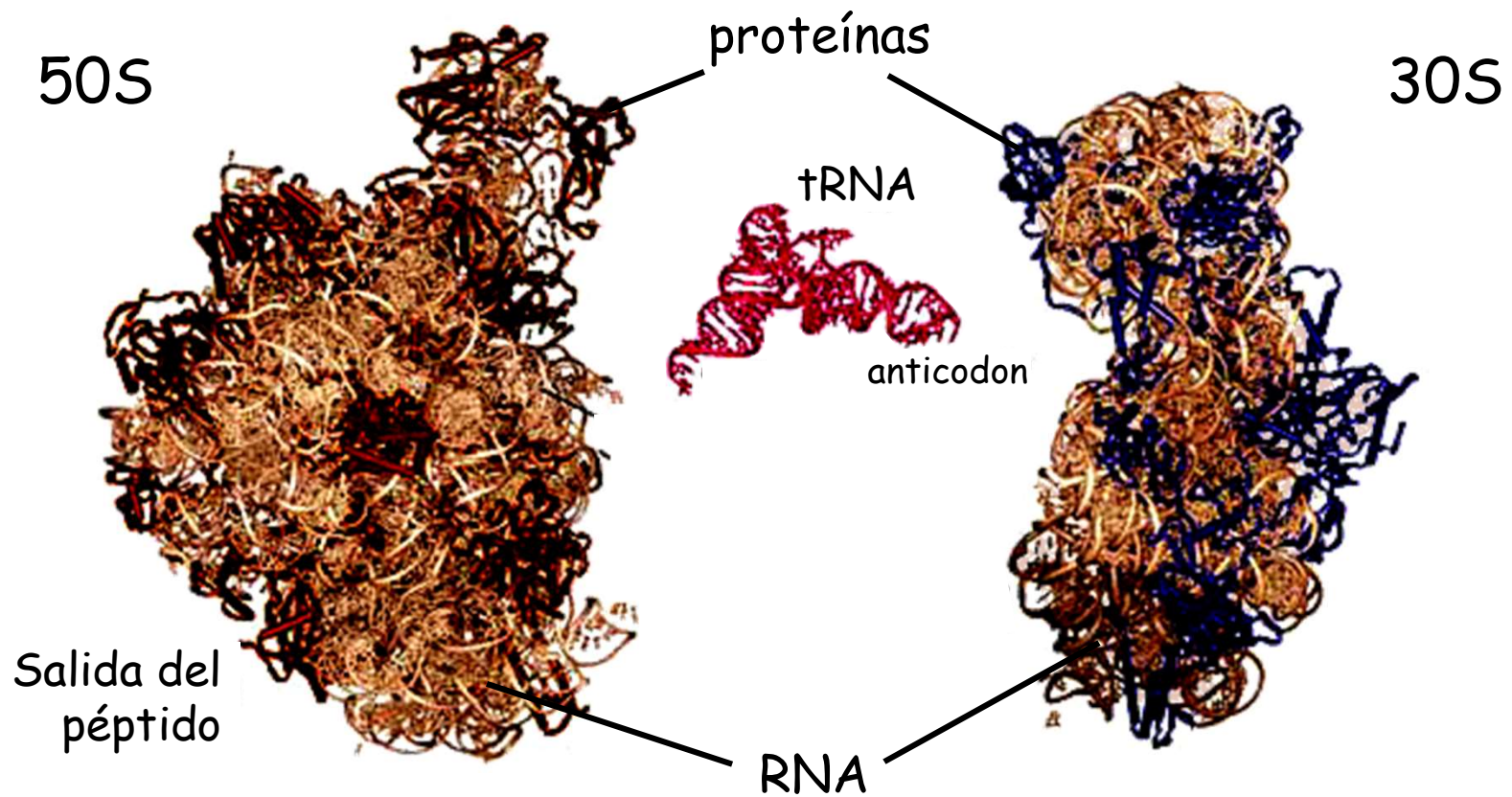
Reconocimiento del tRNA^{Ala}



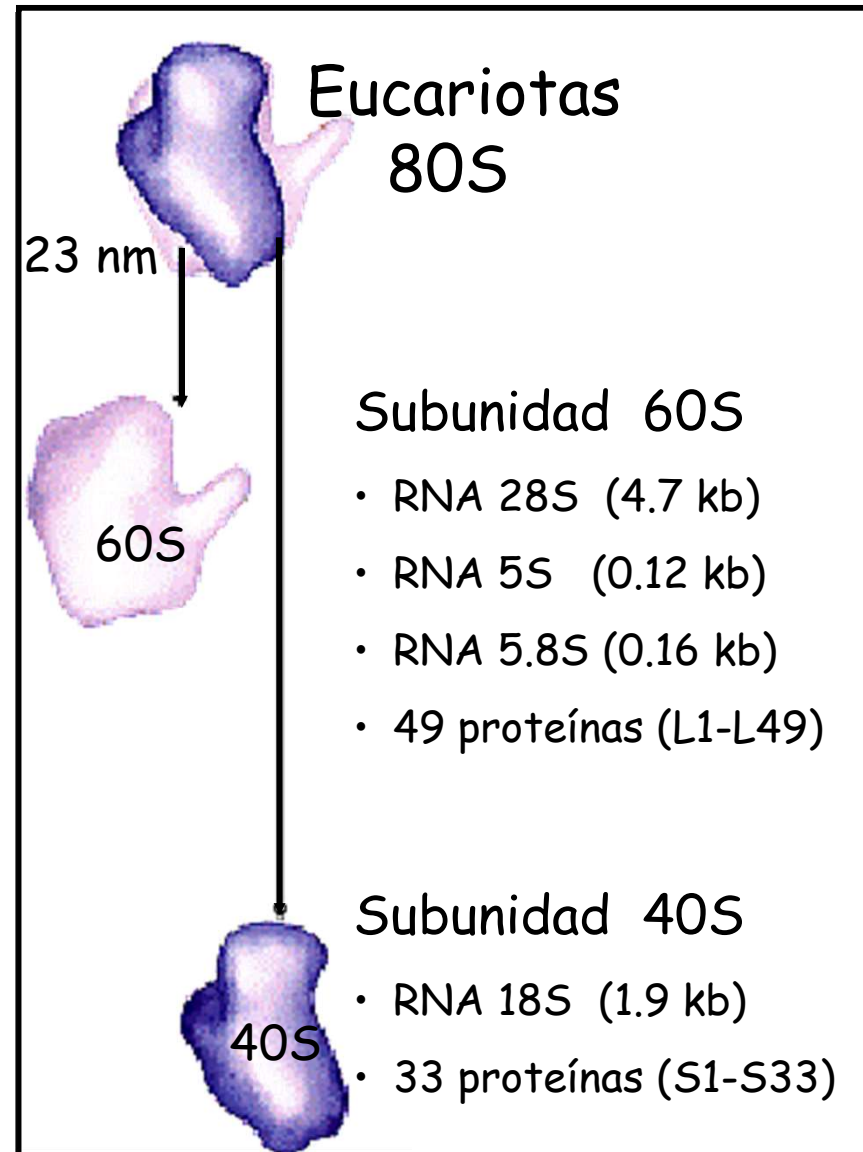
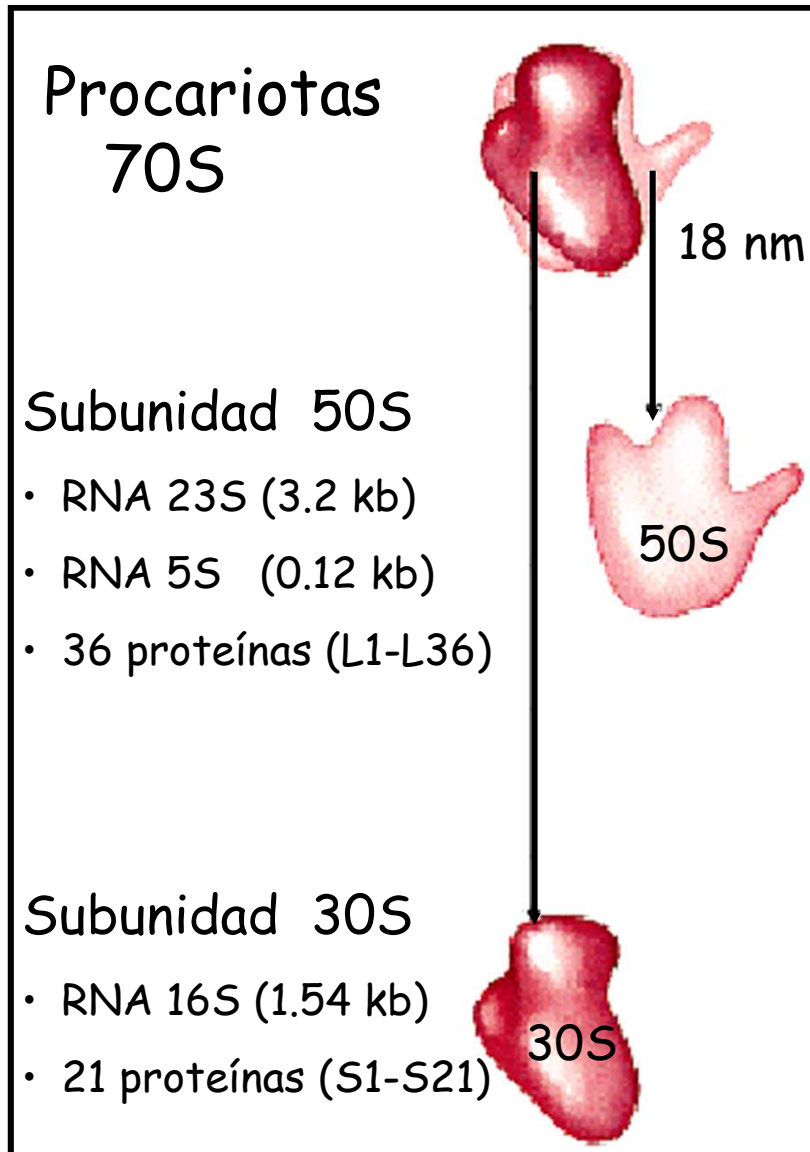
Estructura general de los ribosomas



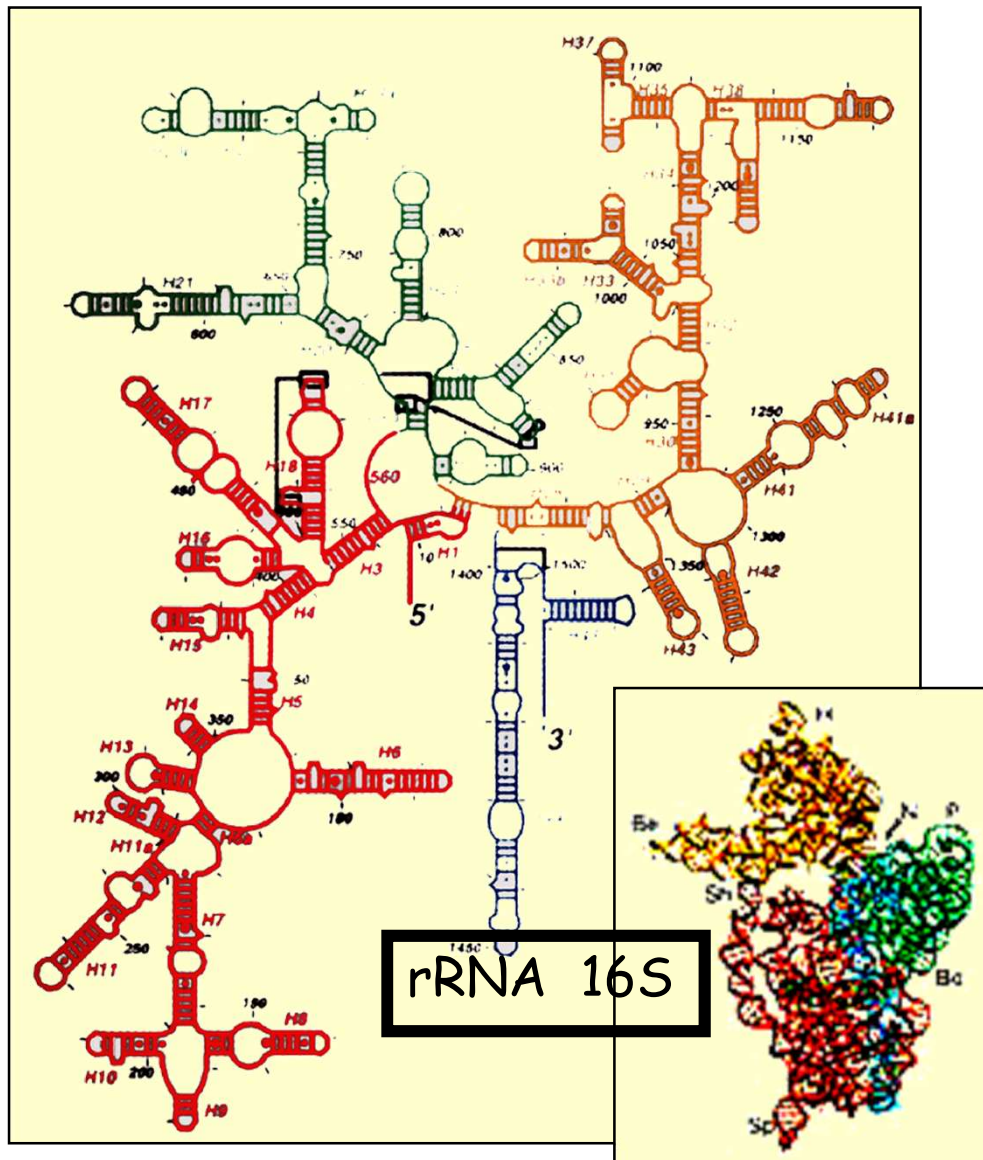
Estructura de los ribosomas a alta resolución



Composición de los ribosomas



Estructura y función de los rRNAs



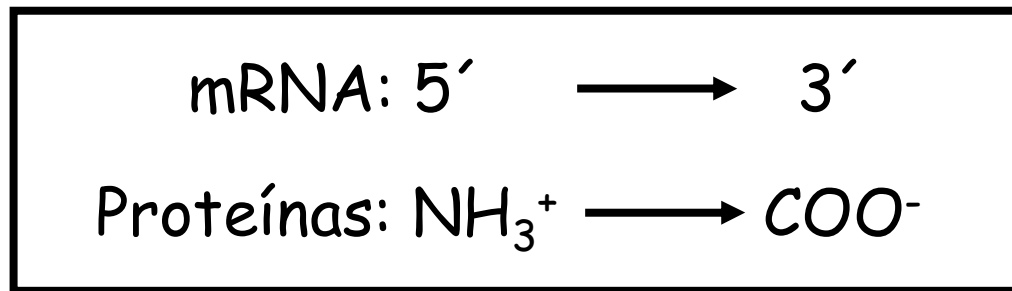
Función estructural

- Armazón del ribosoma
- Posicionamiento de mRNAs

Función catalítica

- Peptidil transferasa (el ribosoma es un ribozima)

Síntesis ribosomal de la cadena polipeptídica



Etapas:

1. Iniciación
2. Elongación
3. Terminación

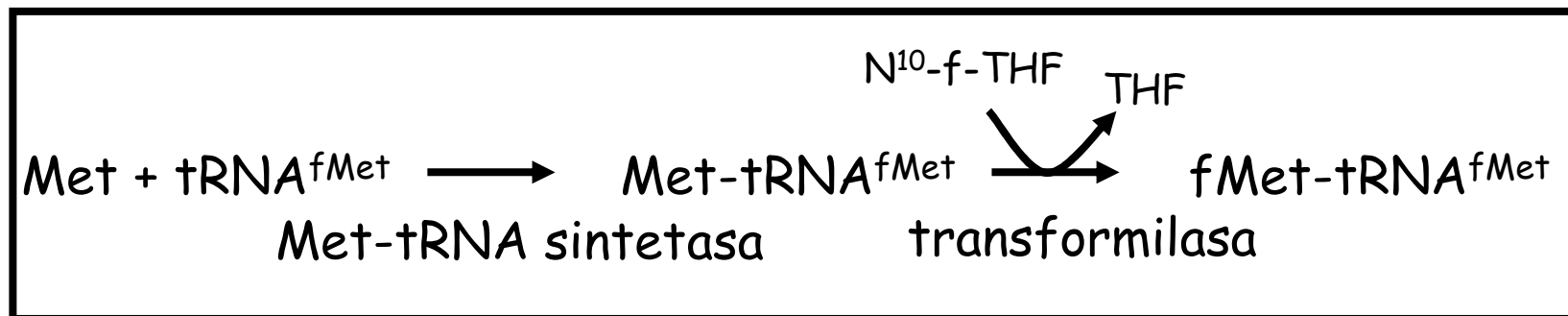
Iniciación de la síntesis de proteínas

- Ensamblaje de componentes
- Selección del codón de iniciación (AUG)
- Regulación

• AUG iniciador: $\text{tRNA}^{\text{iMet}}$

• AUG internos: tRNA^{Met}

Bacterias: formil-metionina (fMet)

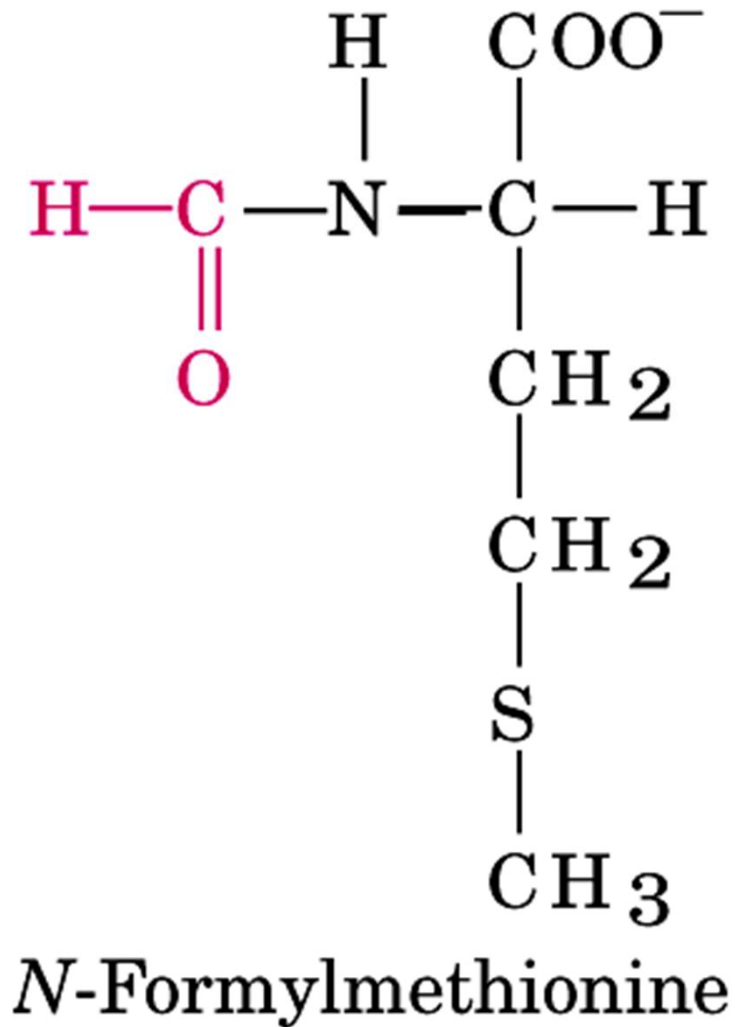


Eucariotas:

Citosol: Met (2 tRNA)

Mitocondrias y cloroplastos: fMet

INICIACIÓN



•El codón de iniciación AUG va a ser reconocido por un formilmetionil-tRNA en procariotas y por metionil-tRNA en eucariotas. Este tRNA iniciador, denominado tRNA_f es distinto del que transporta las metioninas en posiciones internas de la proteína, denominado tRNA_m.

Iniciación: diferencias entre procariontas y eucariotas

Procariontas

mRNA

- Mensajeros policistrónicos
- Secuencia de Shine-Dalgarno

— SD AUG — SD AUG —

3 Factores de iniciación

Eucariotas

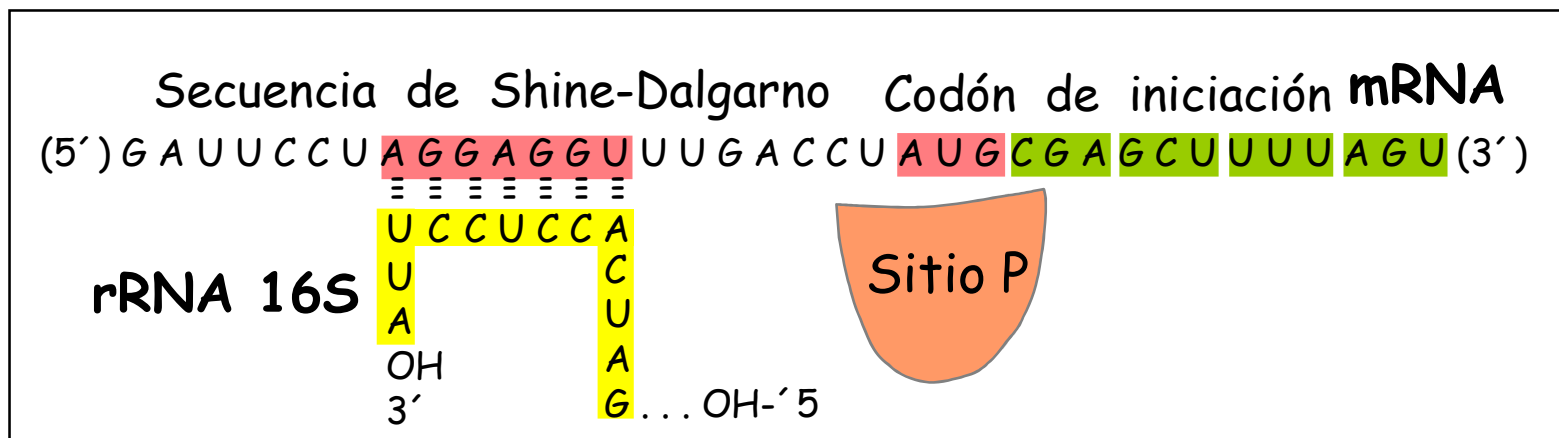
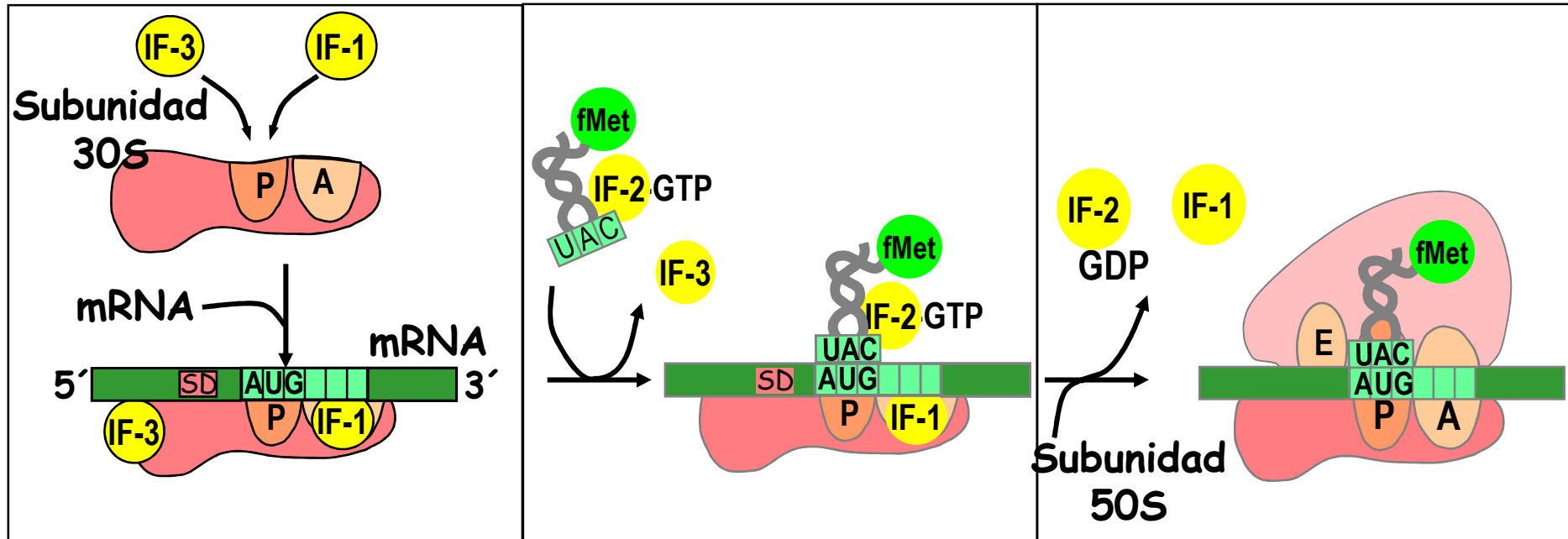
mRNA

- Mensajeros monocistrónicos
- cap y poliA

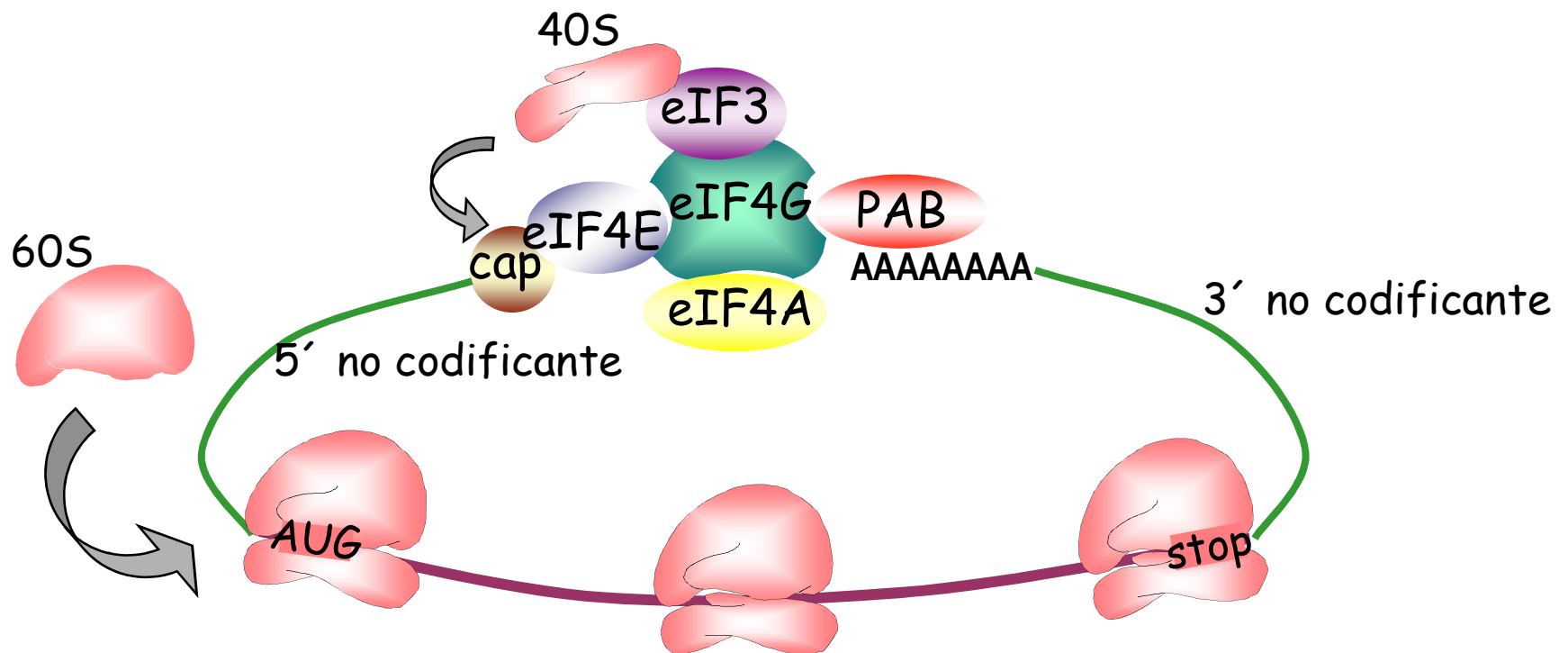
cap — AUG — AAAAAA

10 Factores de iniciación

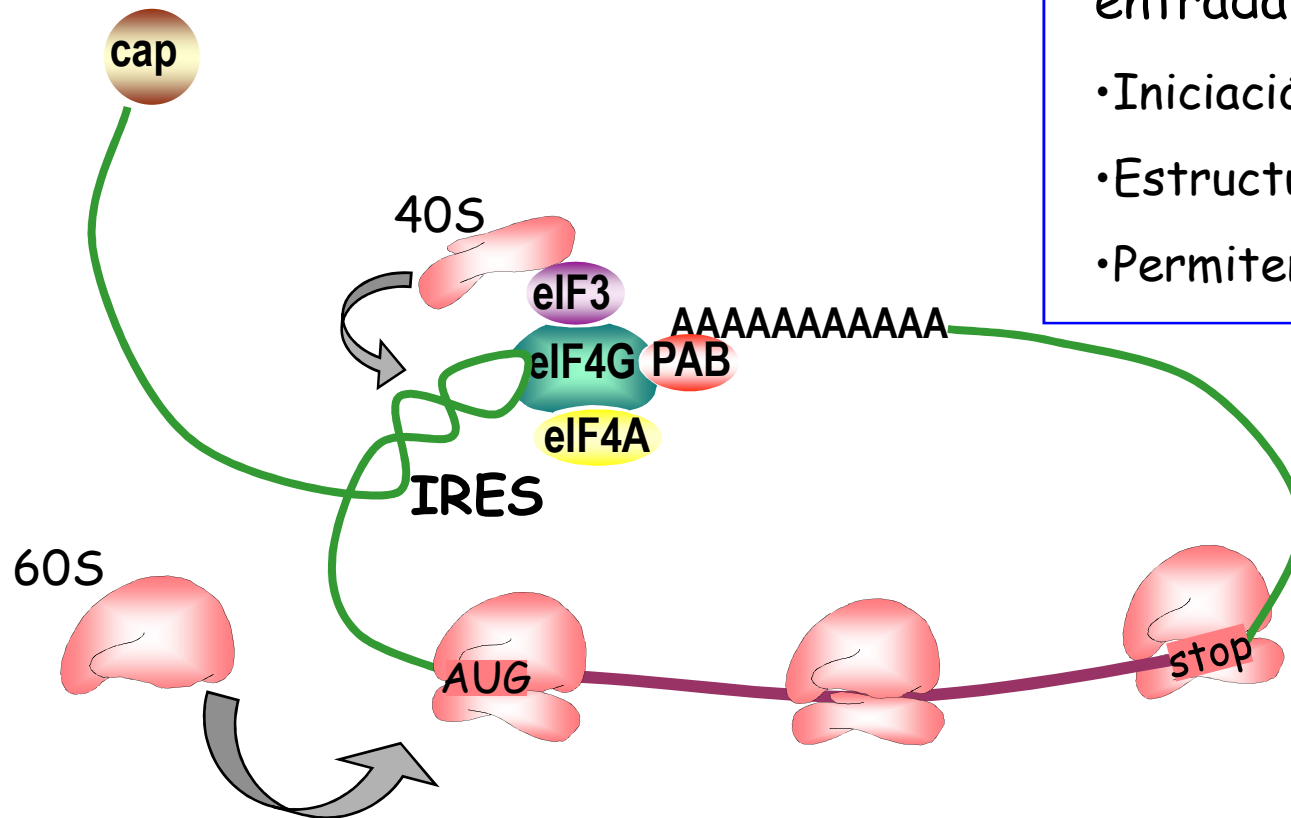
Iniciación de la traducción en procarionotas



Traducción en polirribosomas circulares eucariotas



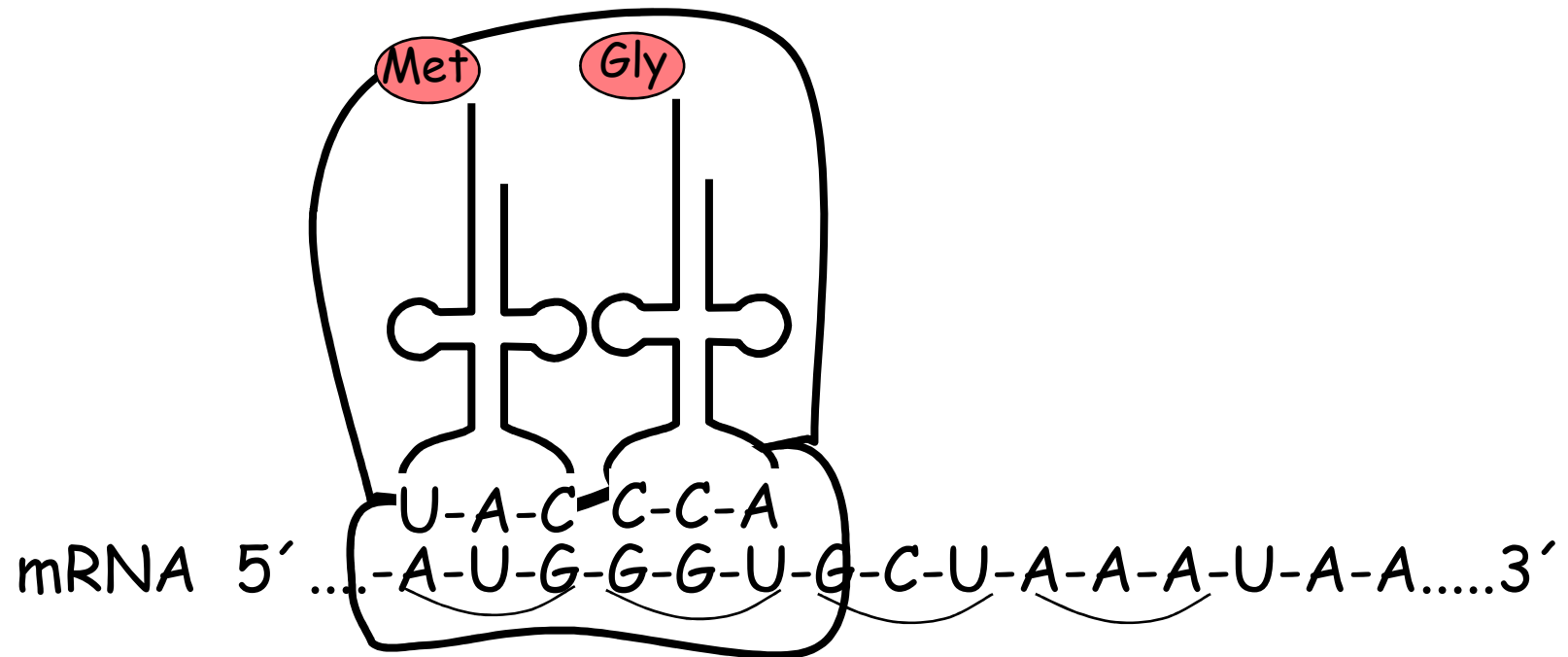
Mecanismos alternativos de iniciación en eucariotas: IRES



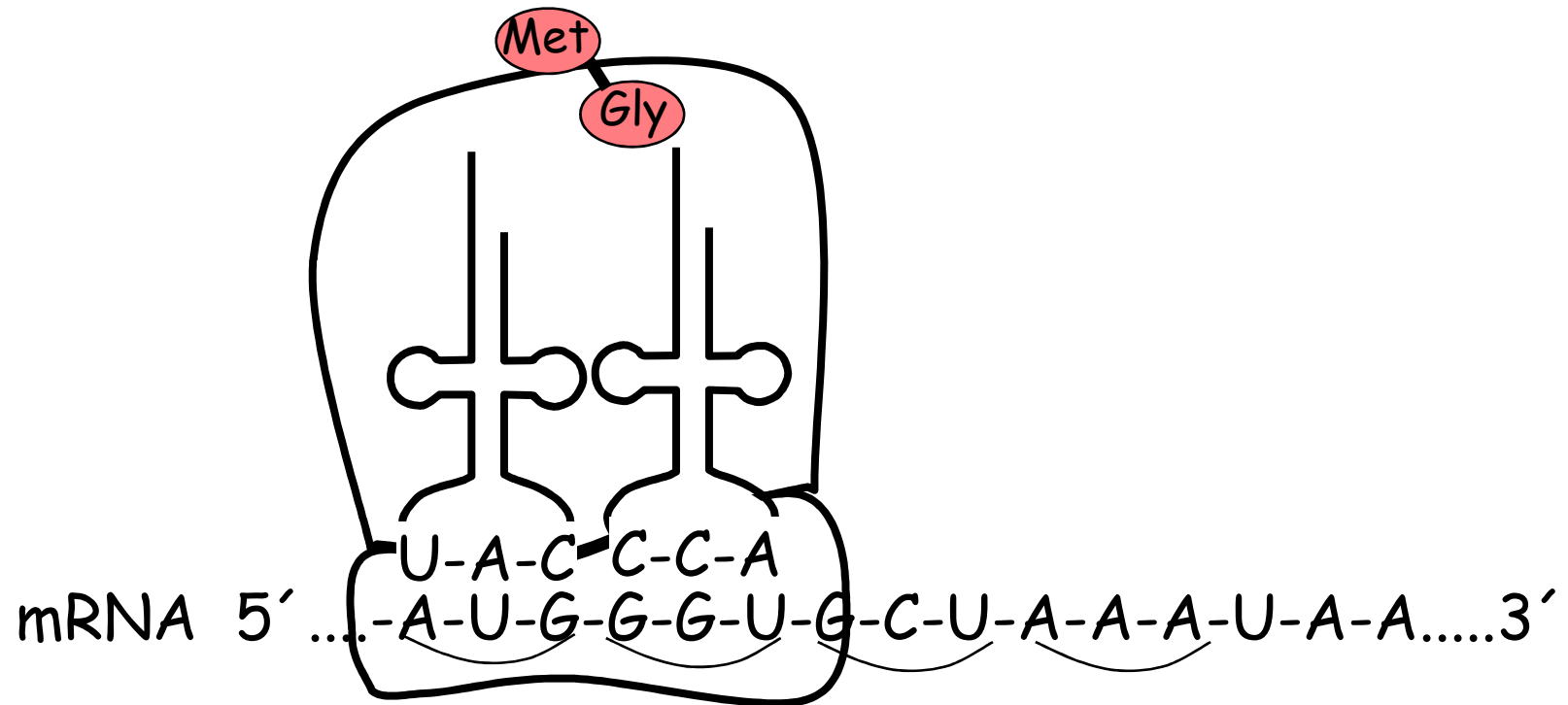
IRES: Sitios internos de entrada del ribosoma

- Iniciación independiente de cap
- Estructuras diversas
- Permiten mRNAs policistrónicos

Elongación



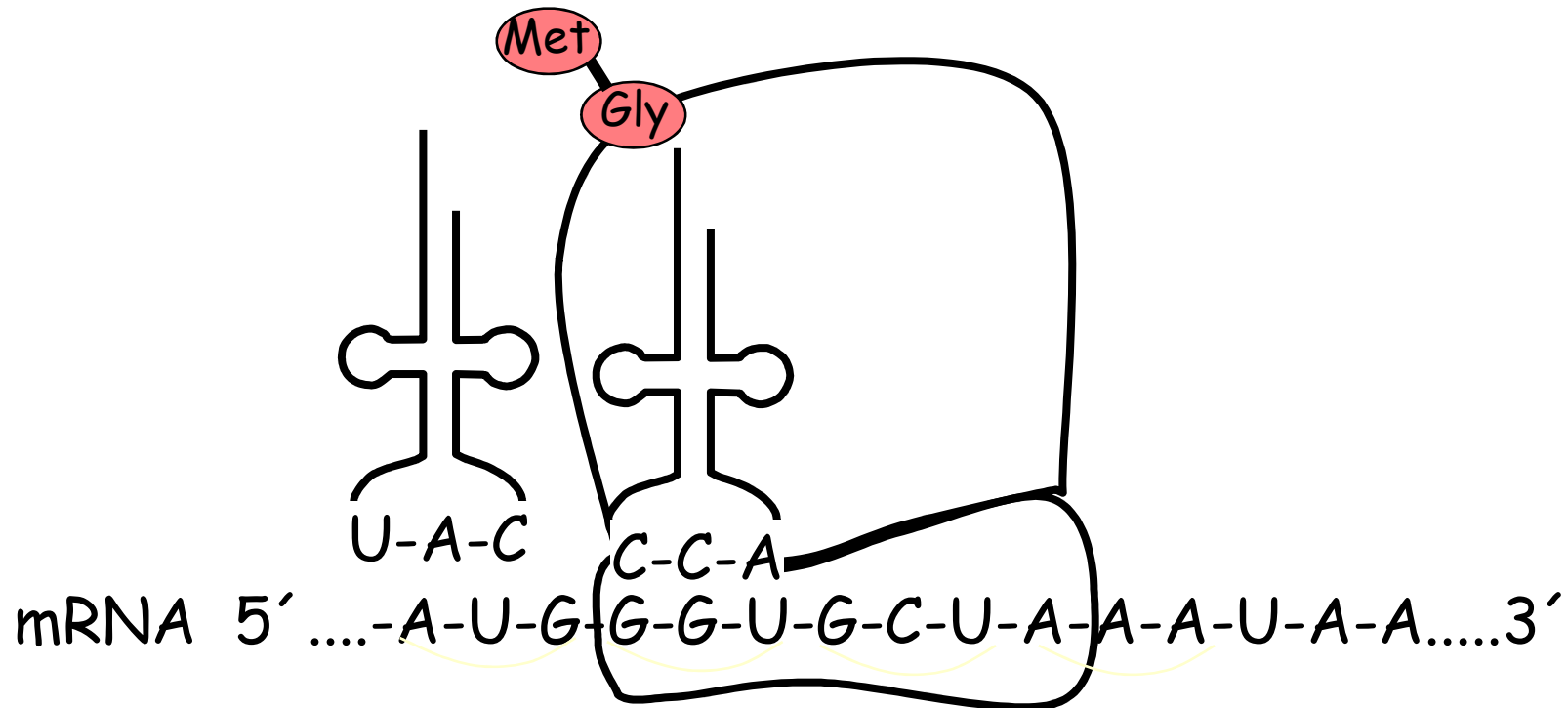
Elongación



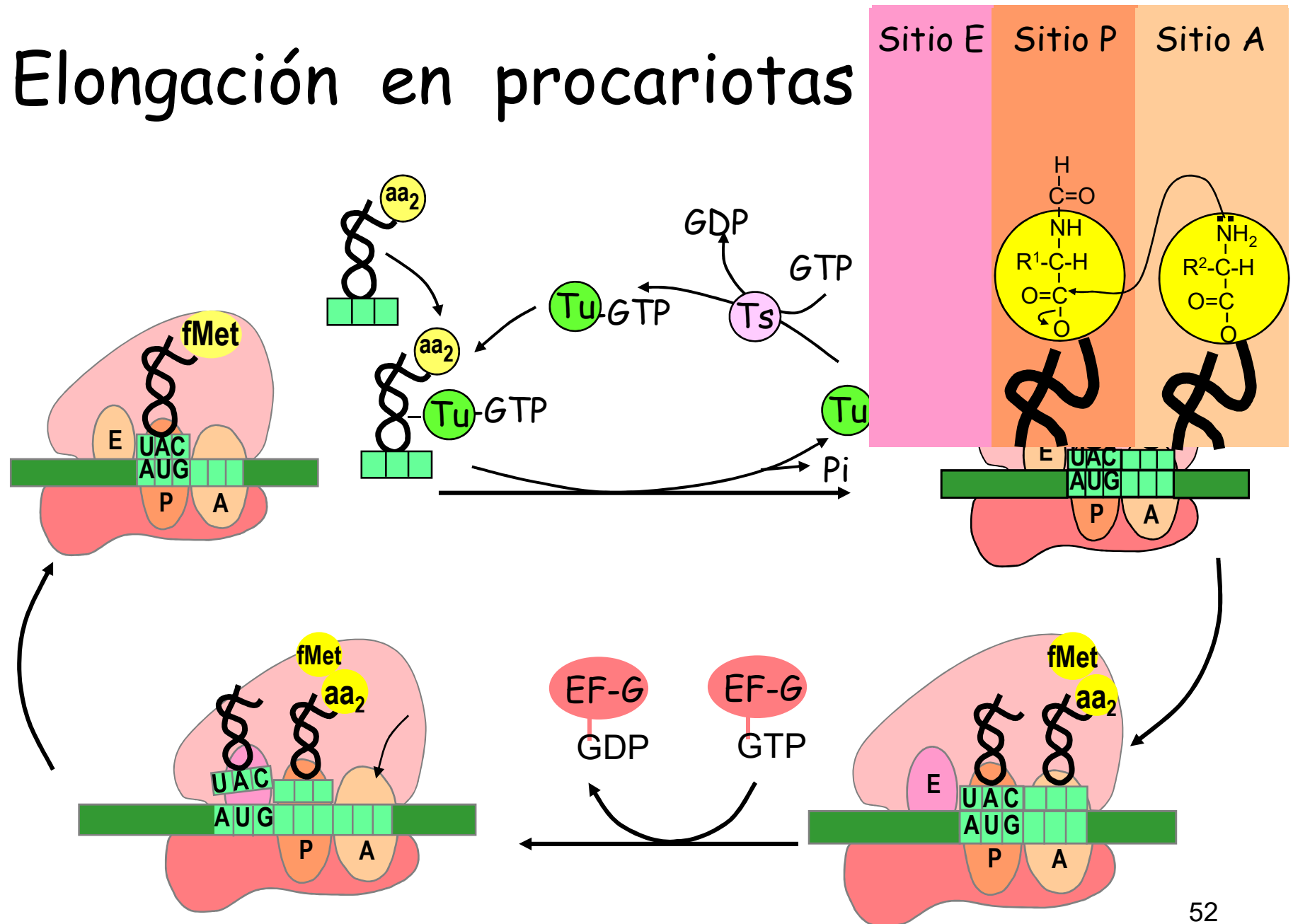
Elongación

- 3 Factores de elongación

- 2 GTP/ciclo



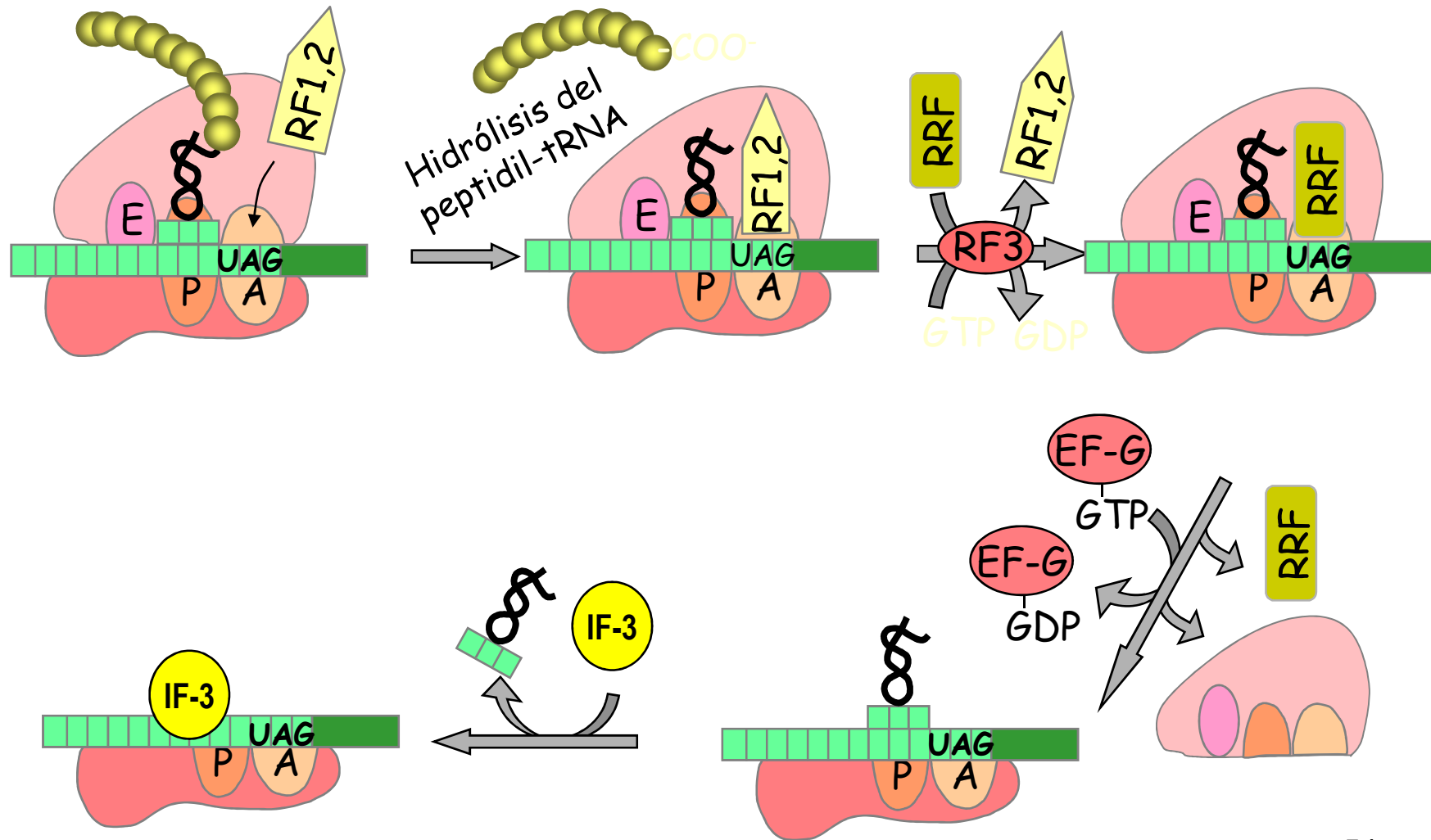
Elongación en procarionotas



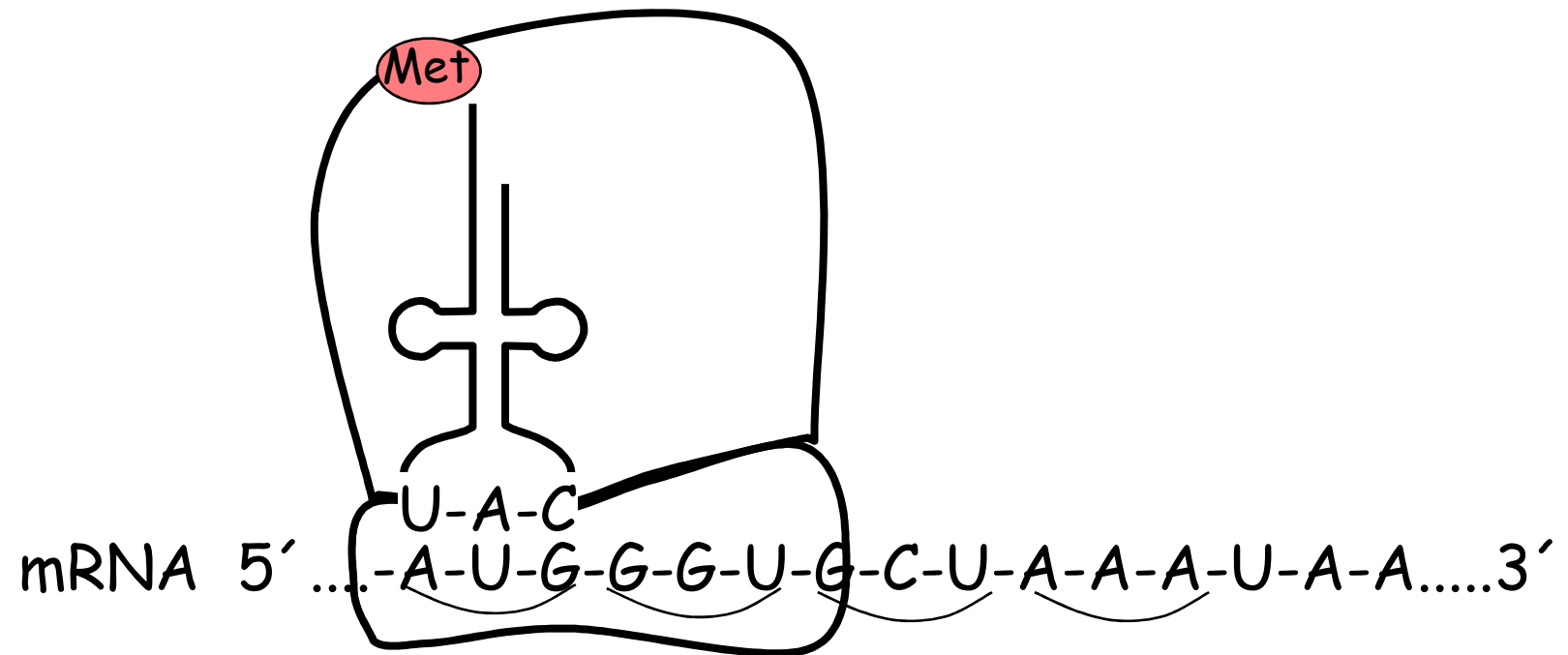
Factores de elongación

	<u>Bacterias</u>	<u>Eucariotas</u>
GTPasa	EF-Tu	eEF-1 α
Intercambio GDP/GTP	EF-Ts	eEF-1 $\beta\gamma$
Traslocasa	EF-G	eEF-2

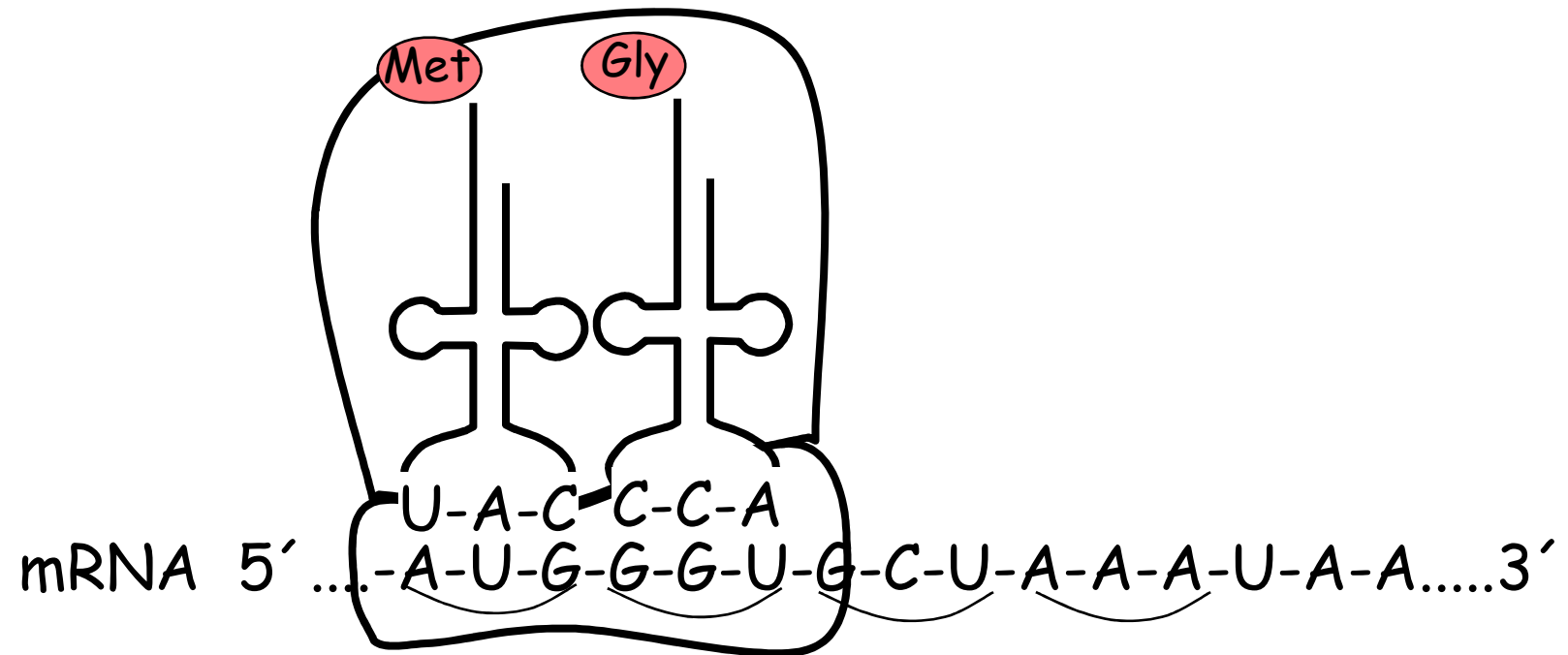
Terminación de la traducción en procarionotas



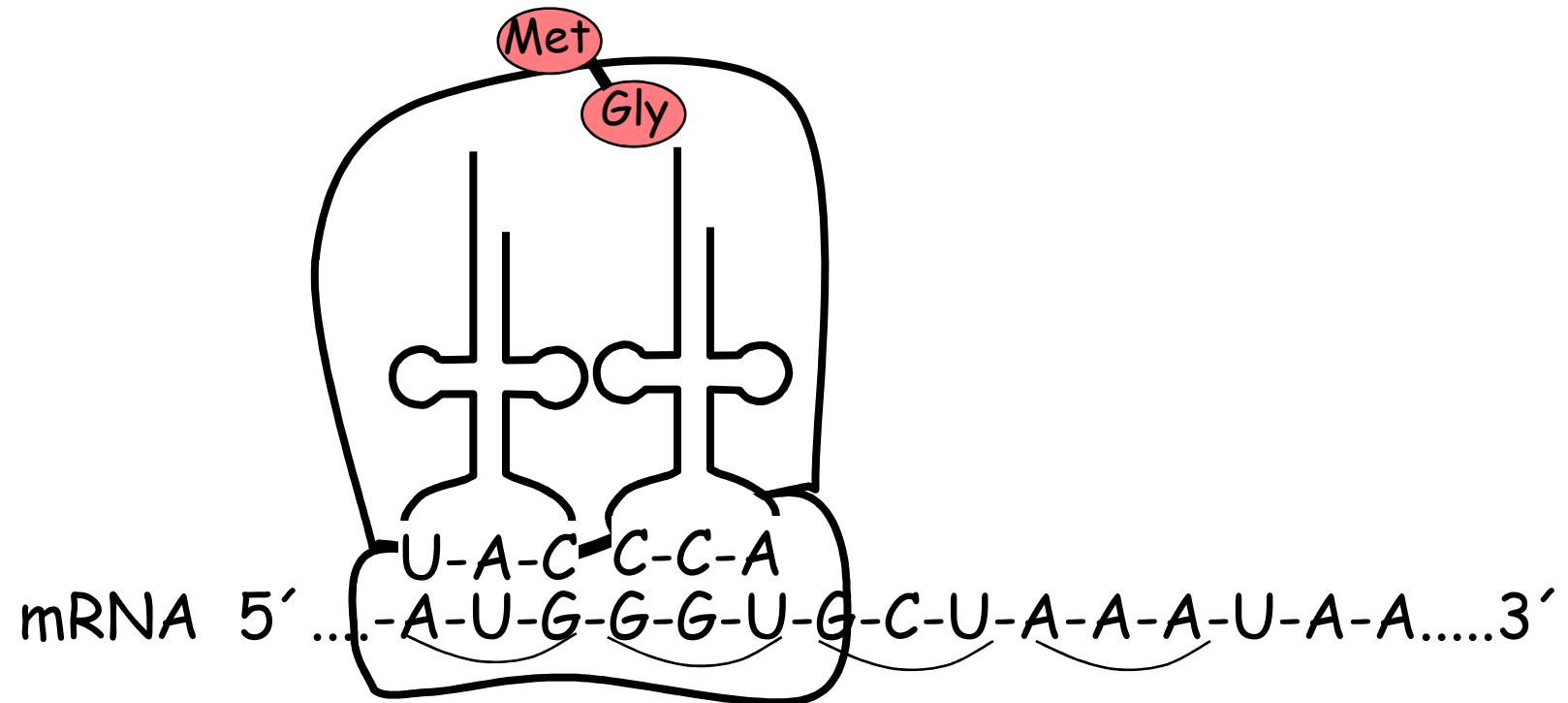
Iniciación



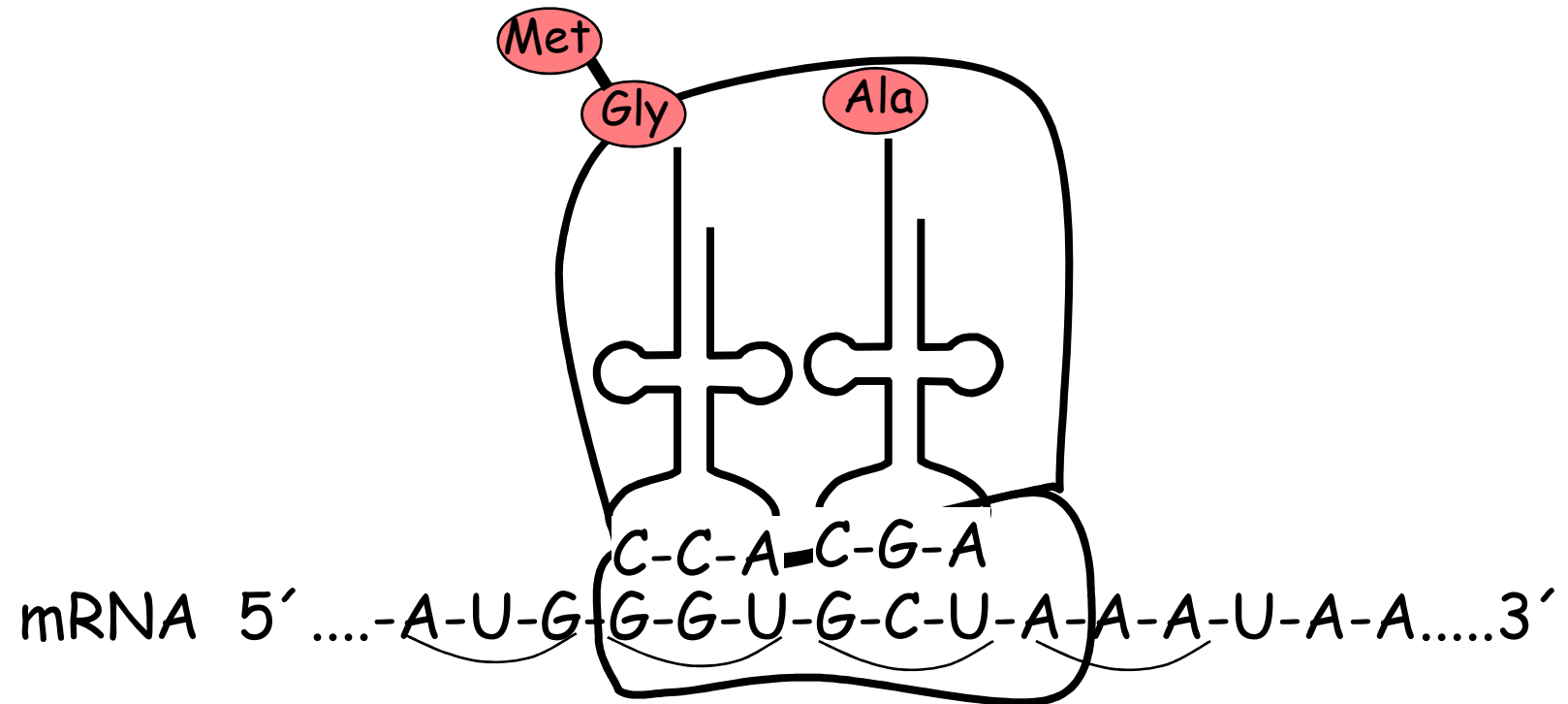
Elongación



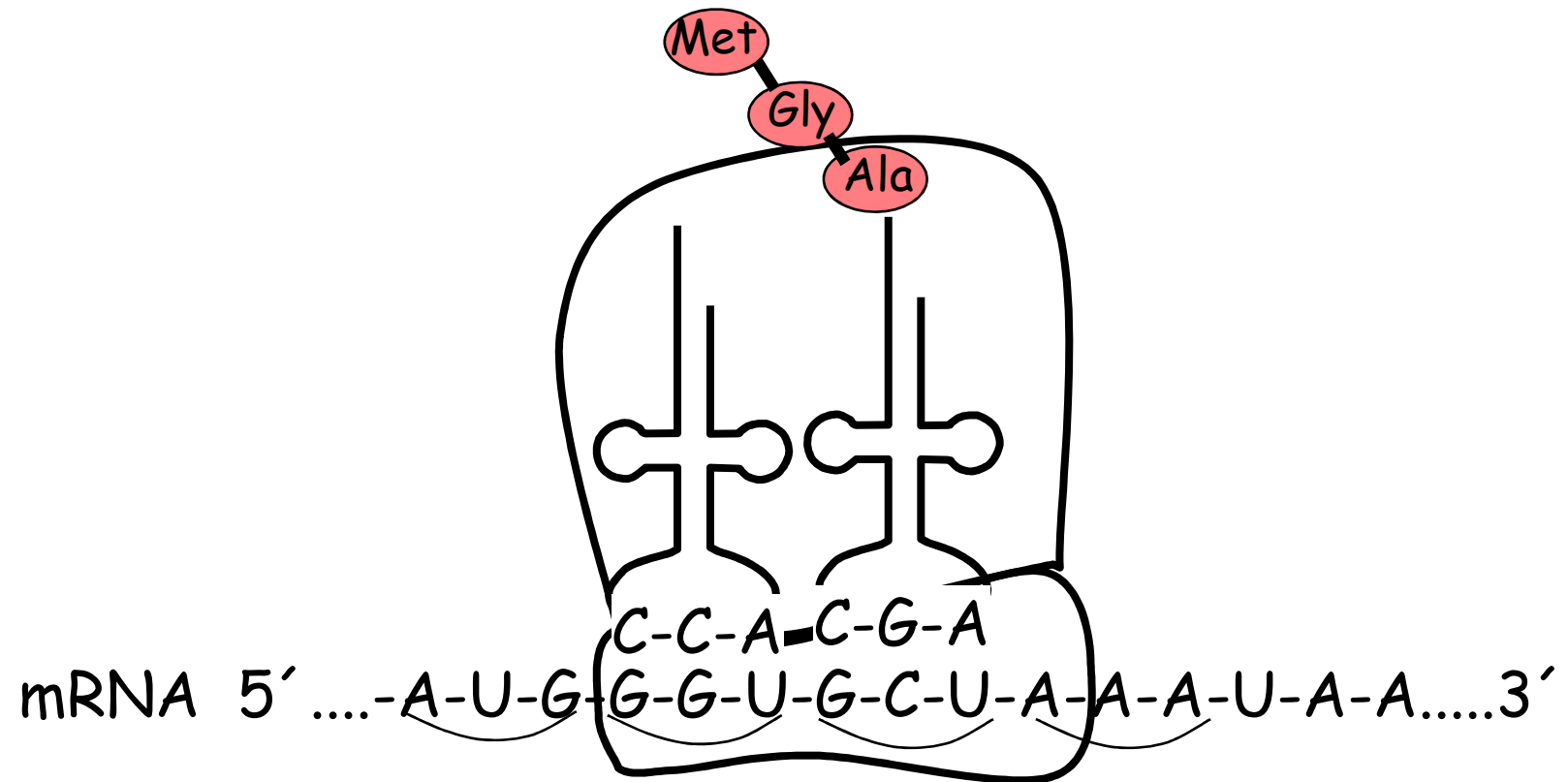
Elongación



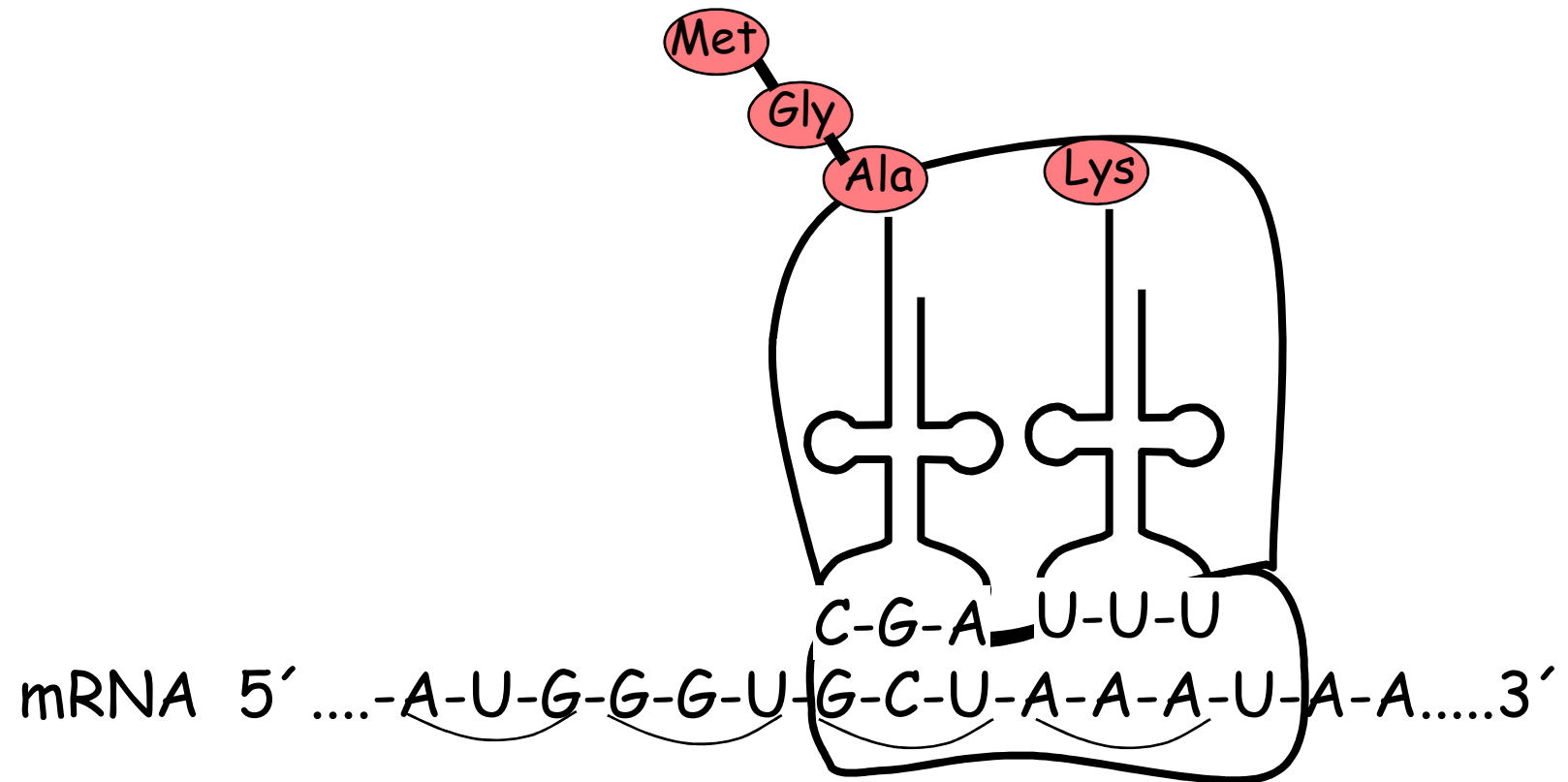
Elongación



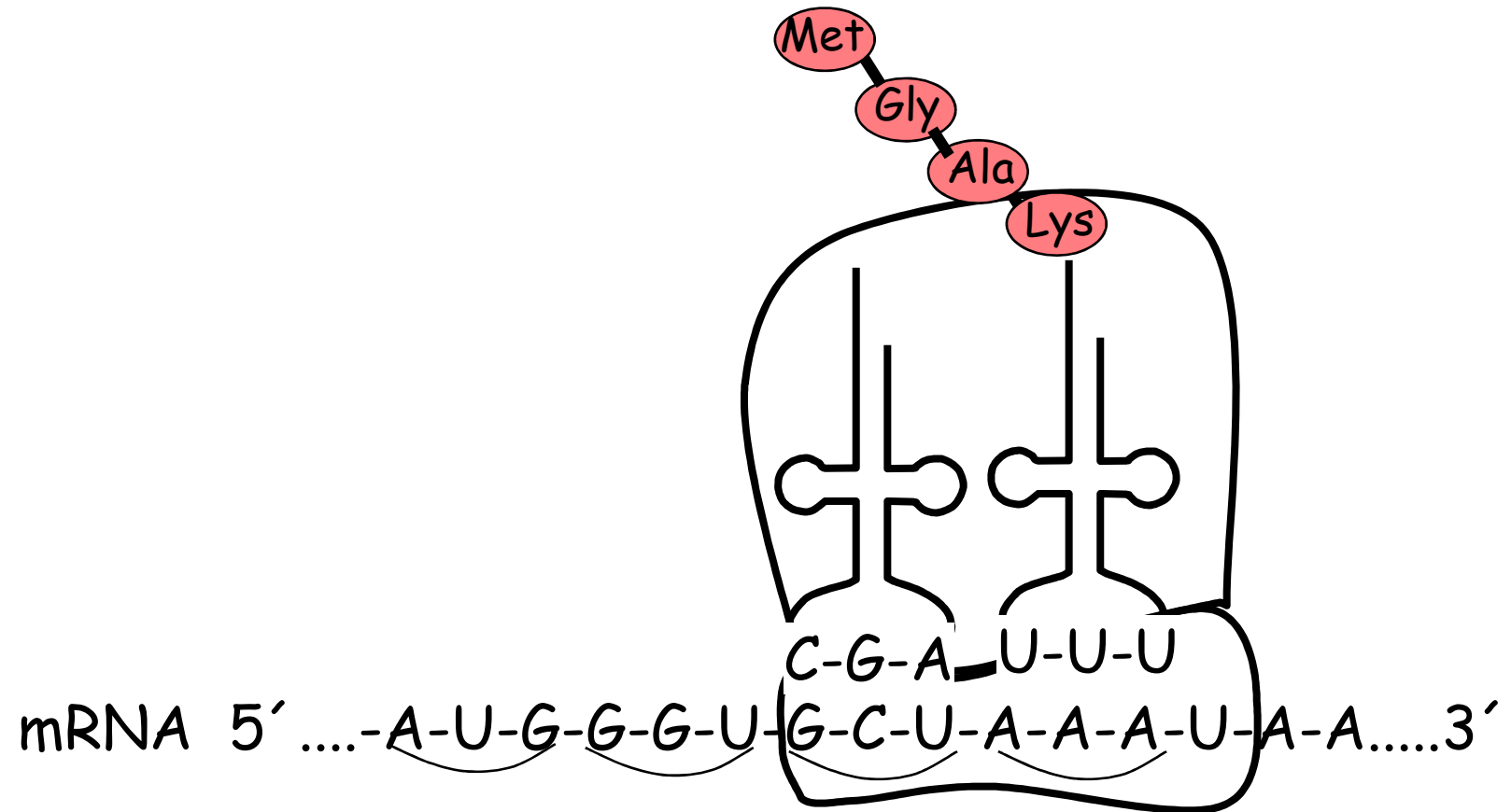
Elongación



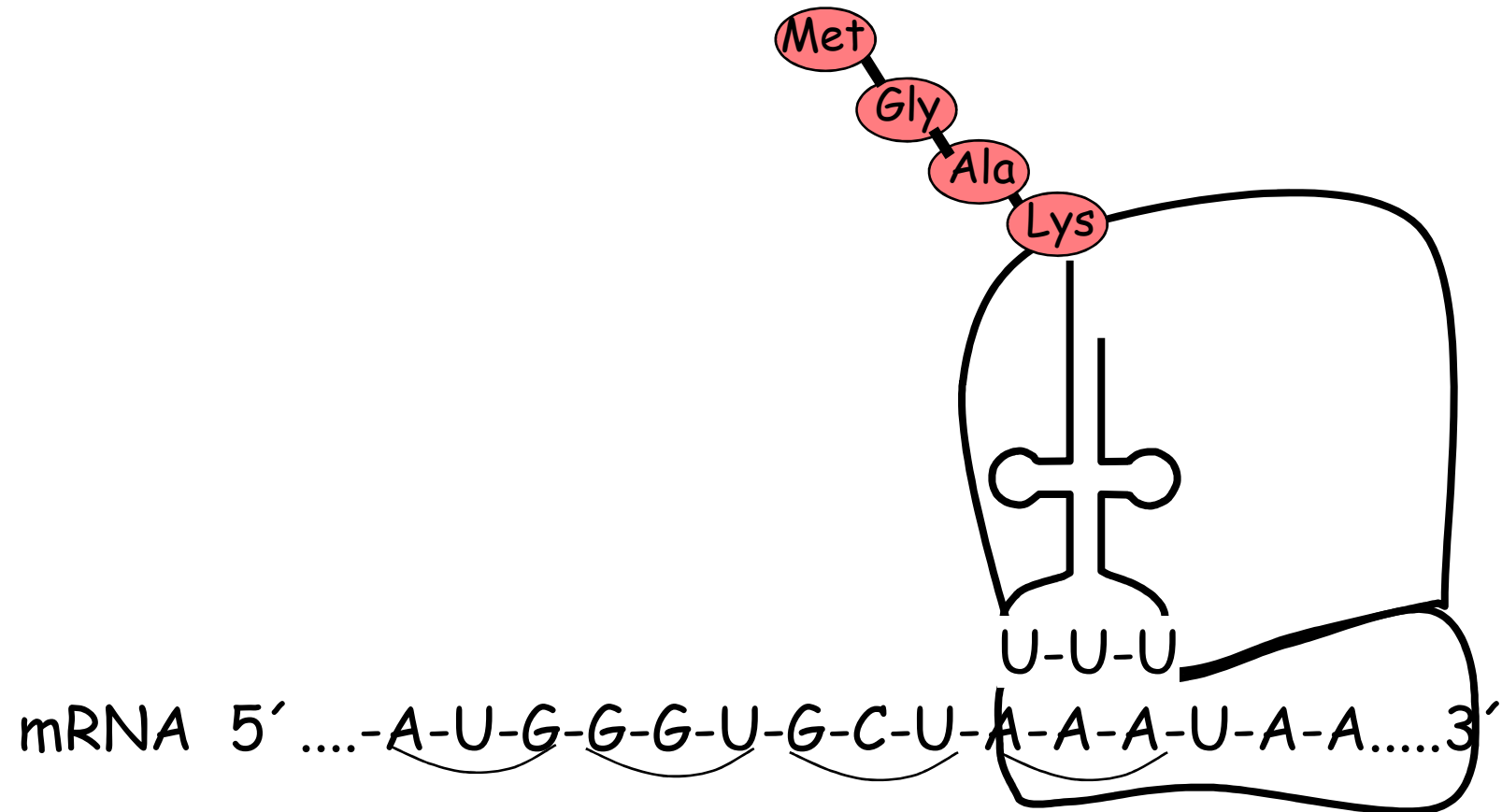
Elongación



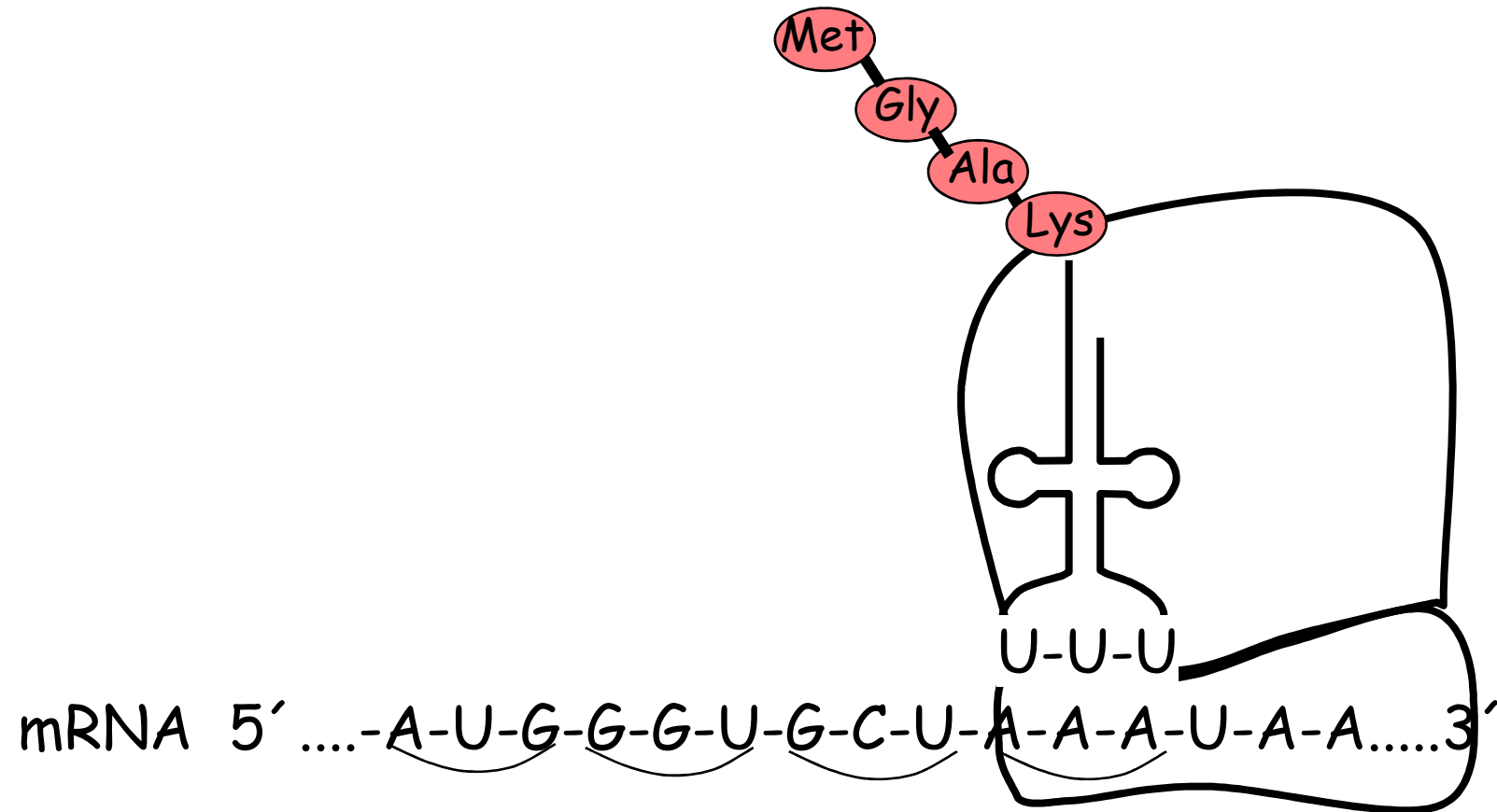
Elongación



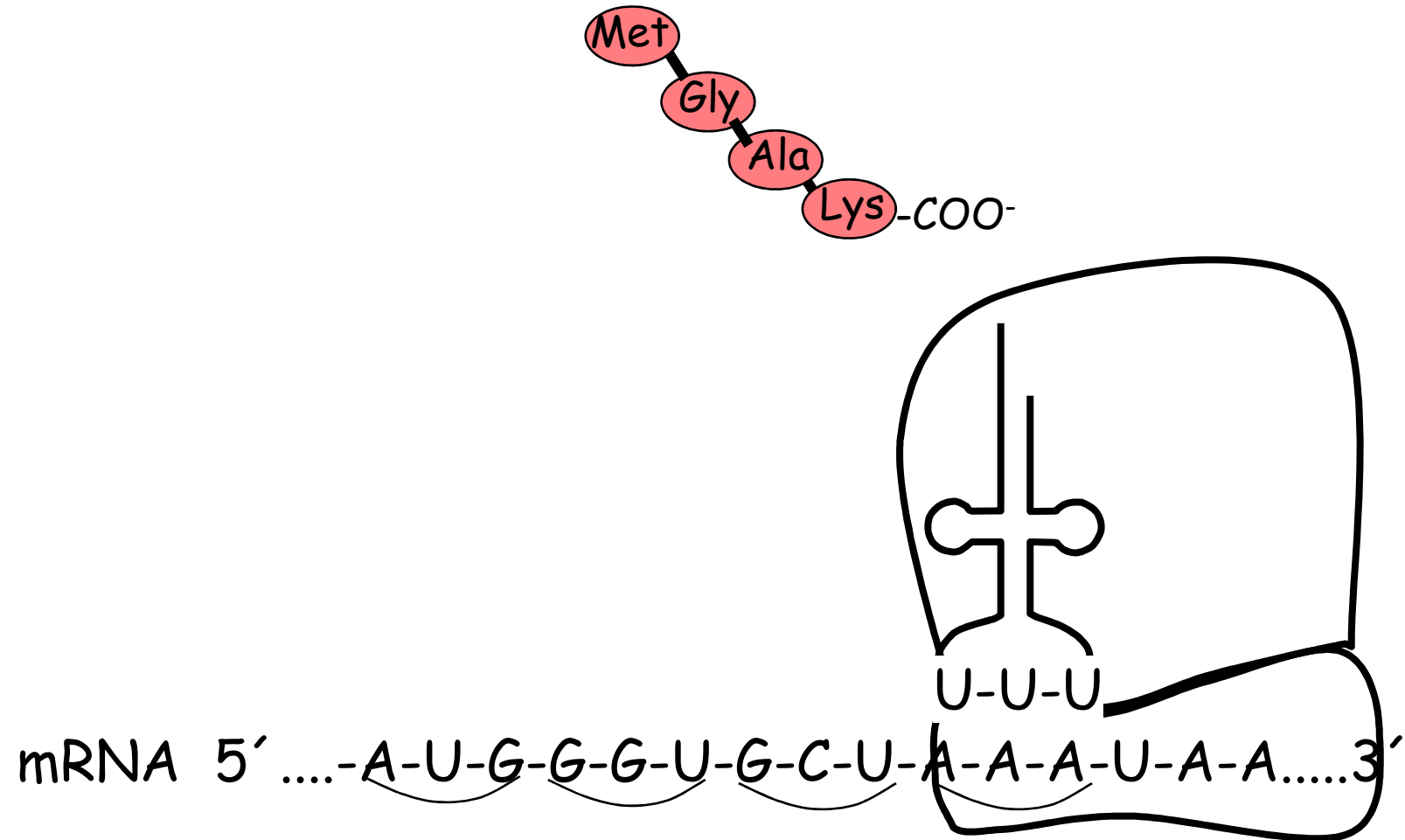
Elongación



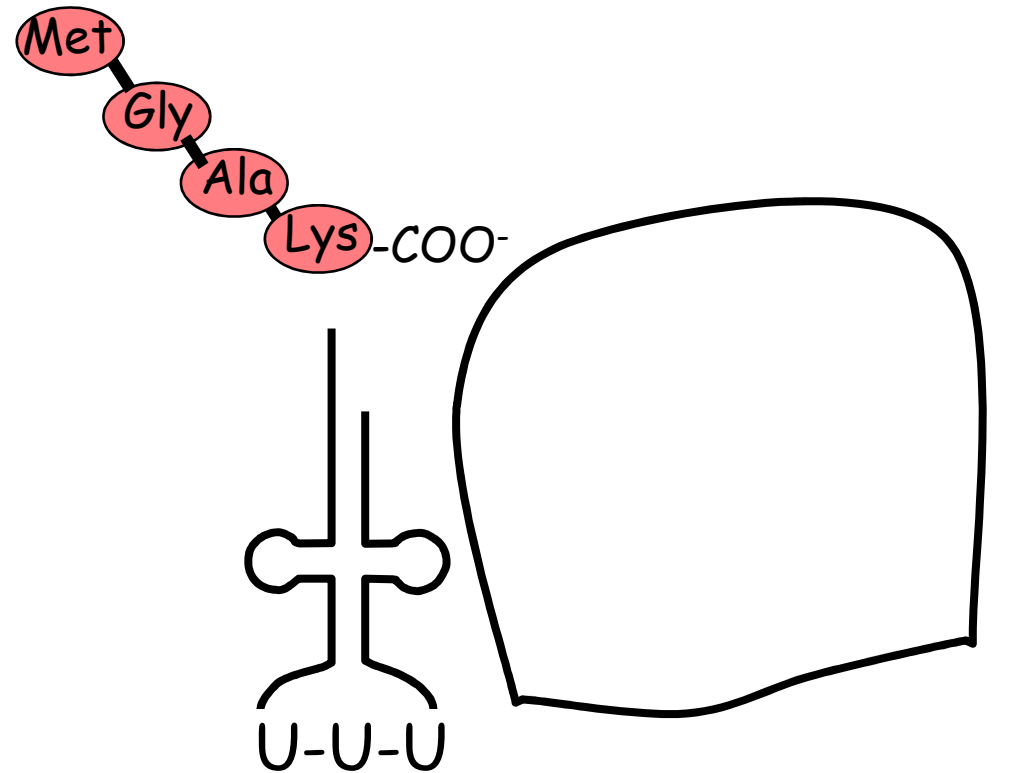
Terminación



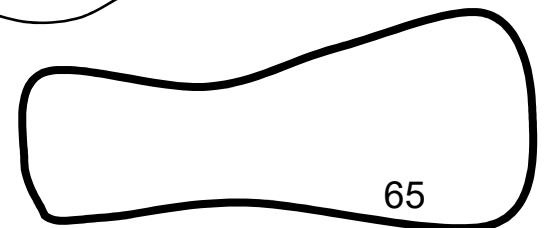
Terminación



Terminación



mRNA 5' ...-A-U-G-G-G-U-G-C-U-A-A-A-U-A-A....3'



Antibióticos inhibidores de la traducción

Cloranfenicol	Inhíbe la <u>peptidil transferasa</u> en ribosomas 70S
Cicloheximida	Inhíbe la <u>peptidil transferasa</u> en ribosomas 80S
Eritromicina	Impide <u>translocación del ribosoma</u> , se une a 50S
Puromicina	<u>Terminación prematura</u> . Análogo de aa-tRNA
Tetraciclina	<u>Elongación</u> . Une 30S, impide unión de aa-tRNA
Estreptomicina Gentamicina, Kanamicina, Neomicina	<u>Iniciación</u> : impiden la entrada de fMet-tRNA. <u>Elongación</u> : errores de lectura. Efecto bactericida

Eficacia del aparato traduccional

Escherichia coli:

100 residuos: 5 segundos

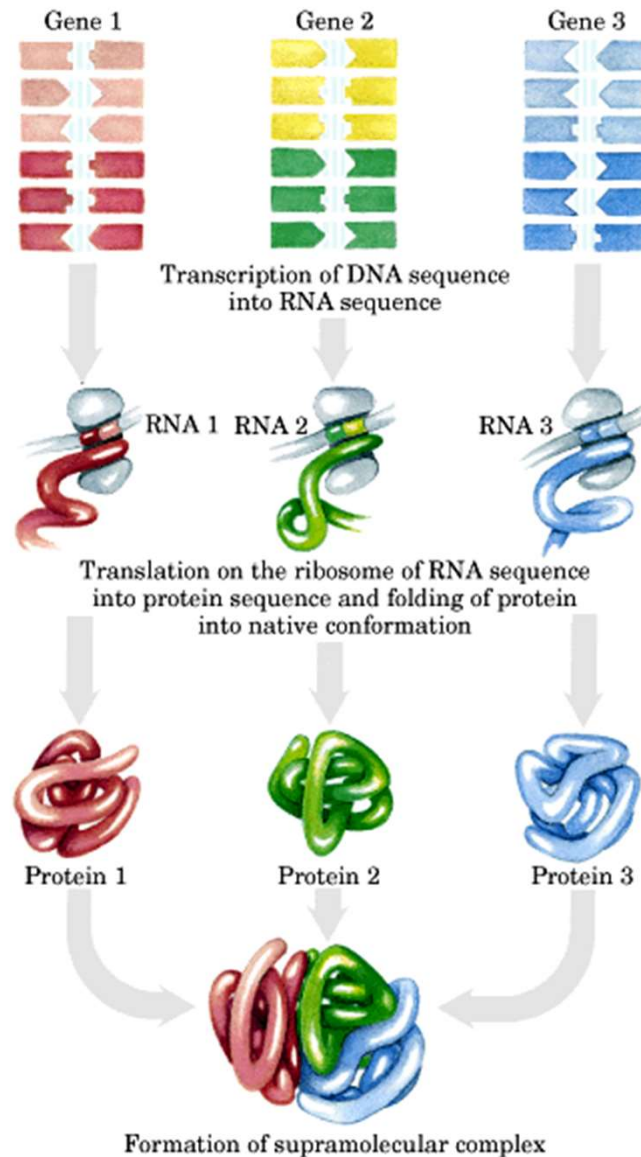
90% de la energía dedicada a biosíntesis

20.000 ribosomas

100.000 moléculas de IFs, EFs y RFs

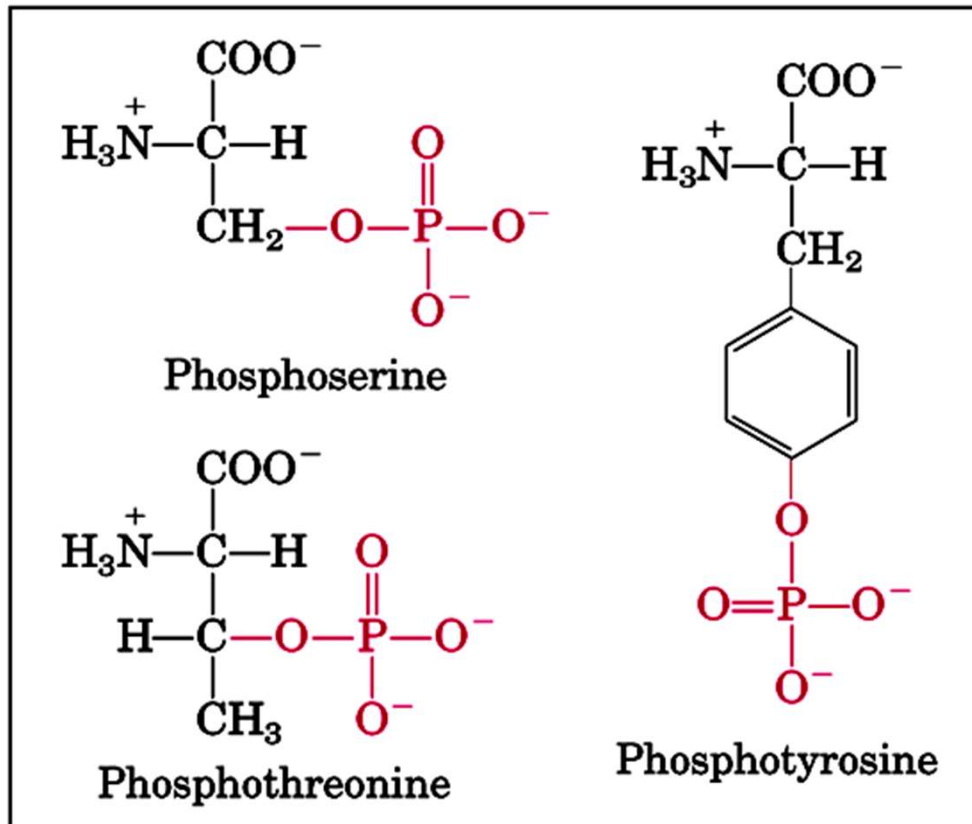
200.000 moléculas de tRNA

PLEGAMIENTO



- *Durante o tras su síntesis, la cadena polipeptídica va adoptando progresivamente su conformación nativa y funcional. En este plegamiento participan unas proteínas denominadas chaperones.*

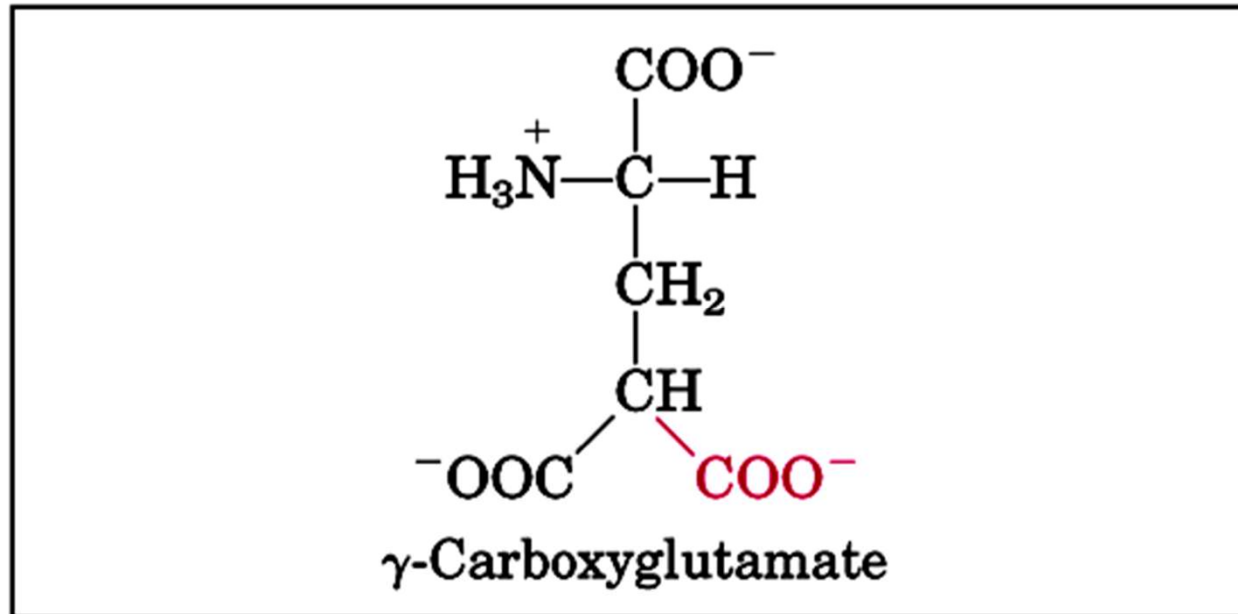
MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES



- *Eliminación en la mayoría de los casos de la formilmetionina en procariontas y de la metionina iniciadora en eucariotas en el extremo N-t.*
- *Fosforilación de ciertos residuos de Ser, Thr y Tyr en algunas proteínas.*

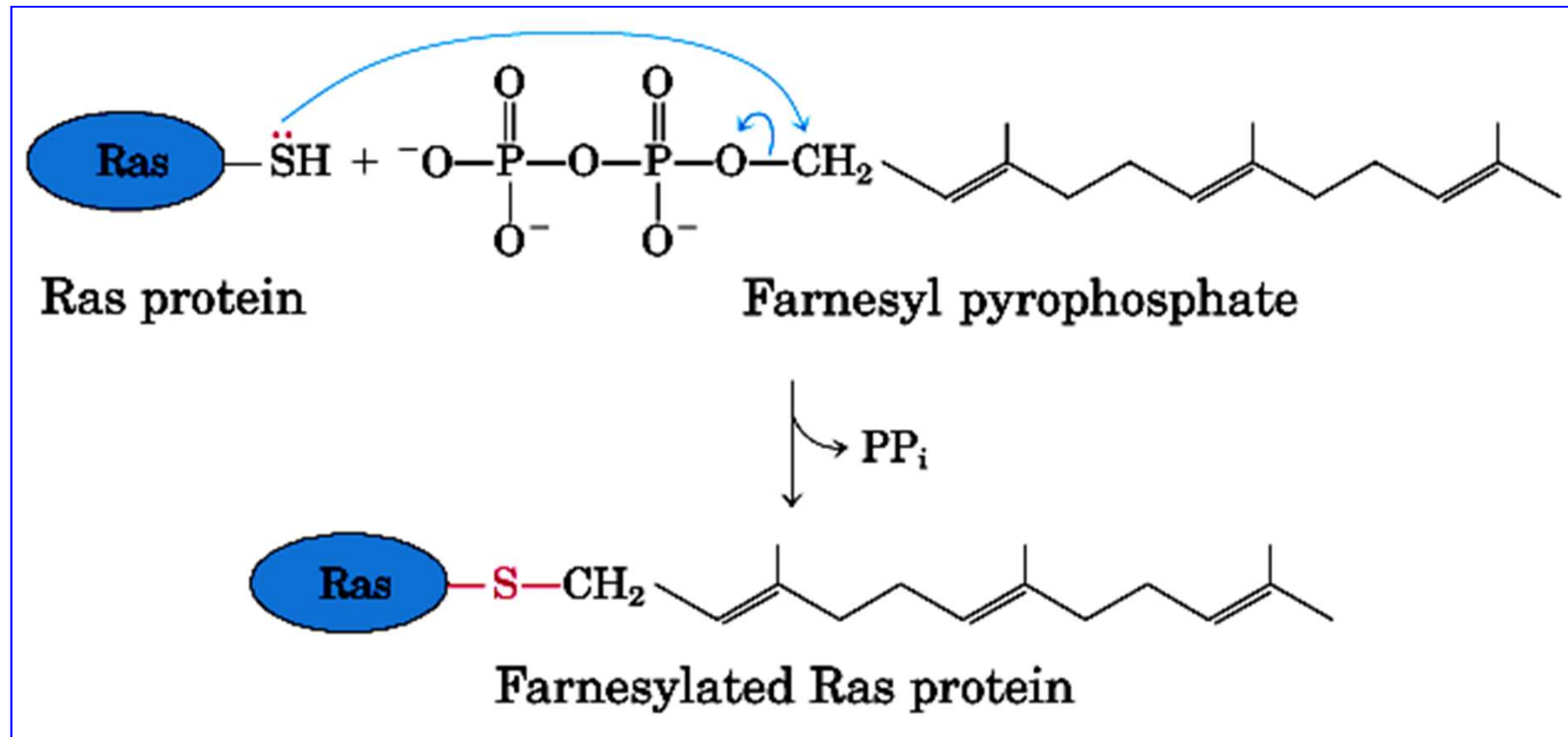
MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES

- *Carboxilación de algunos residuos de Glu en ciertas proteínas.*



MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES

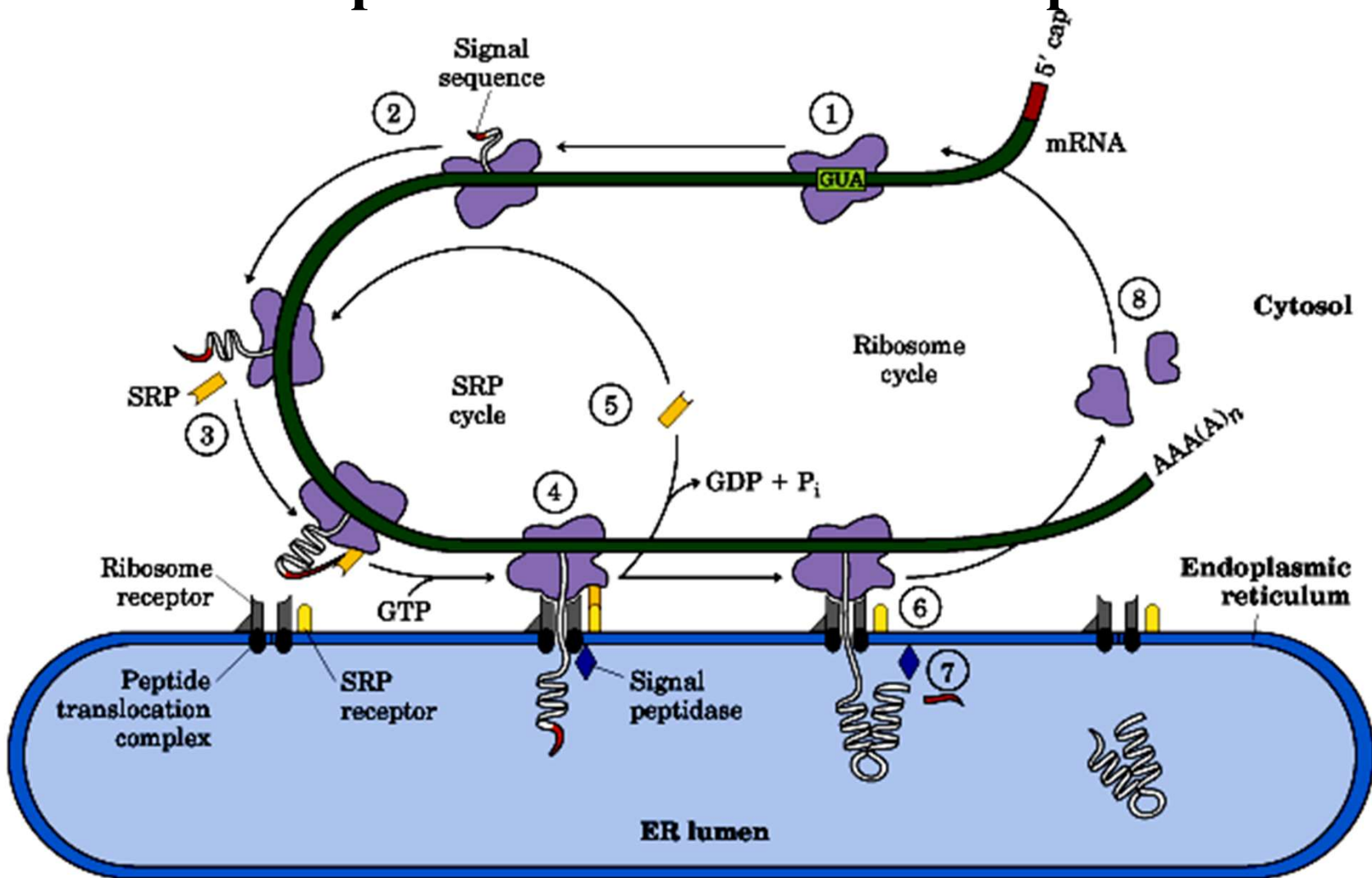
- *Unión de grupos lipídicos (isoprenilación, palmitoilación, miristoilación)*



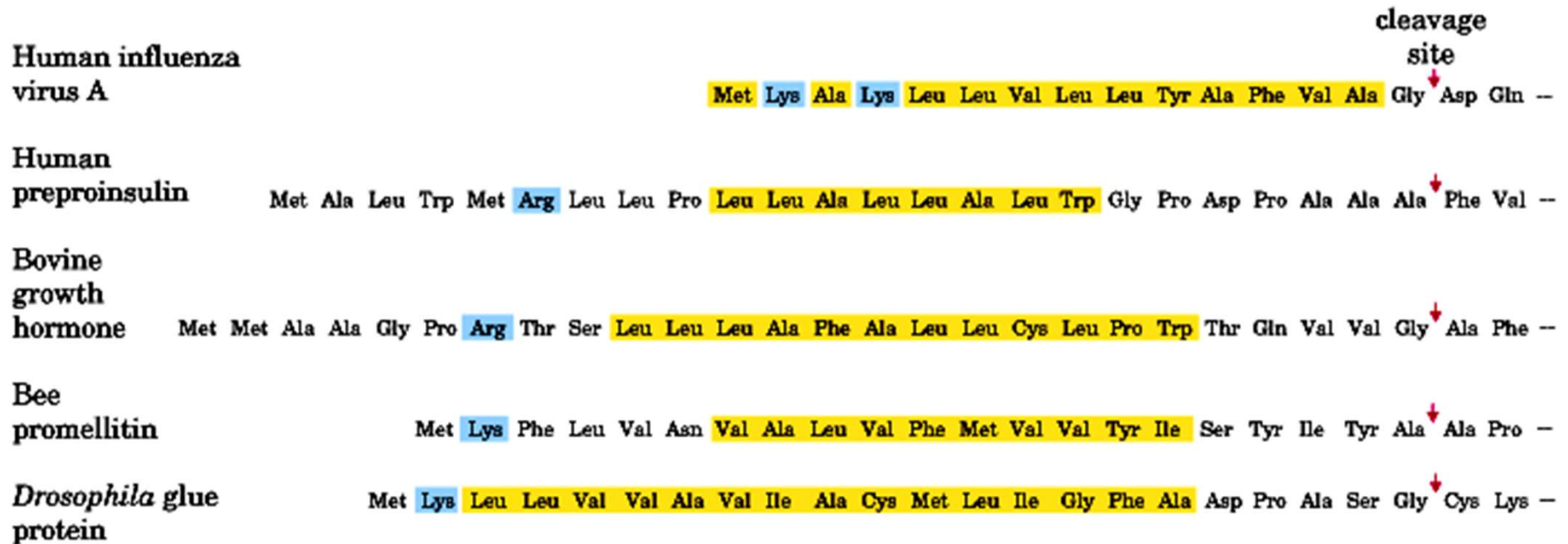
MODIFICACIONES POST-TRADUCCIONALES

- *Glicosilación (adición de glúcidos) de residuos de Asn mediante enlaces N-glicosídicos o de residuos de Ser o Thr mediante enlaces O-glicosídicos.*
- *Formación de puentes disulfuro.*
- *Modificación proteolítica. Algunas proteínas, como la insulina, la tripsina, la quimotripsina, se sintetizan como precursores inactivos, y han de ser procesadas proteolíticamente para dar sus formas activas, más pequeñas.*

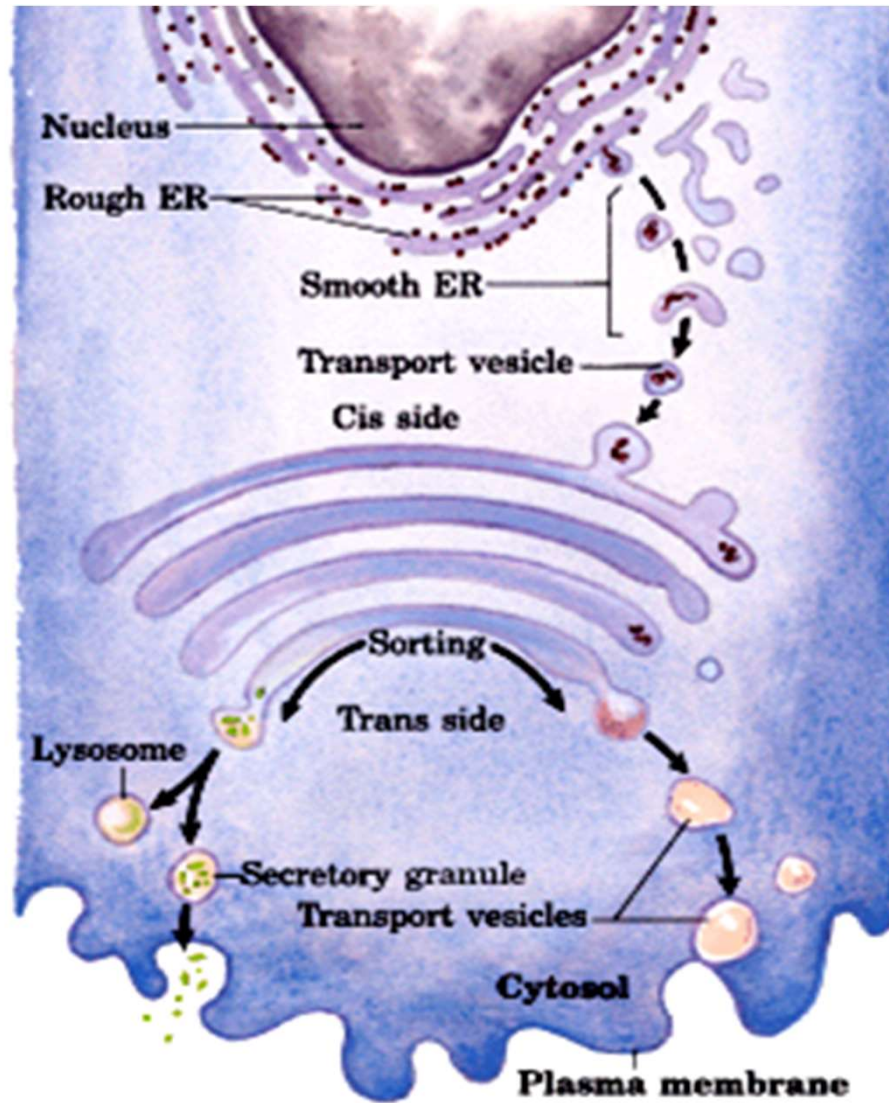
Envío de proteínas al Retículo Endoplásmico



Péptidos señal



Ruta de secreción proteica



Envío de proteínas al Núcleo

