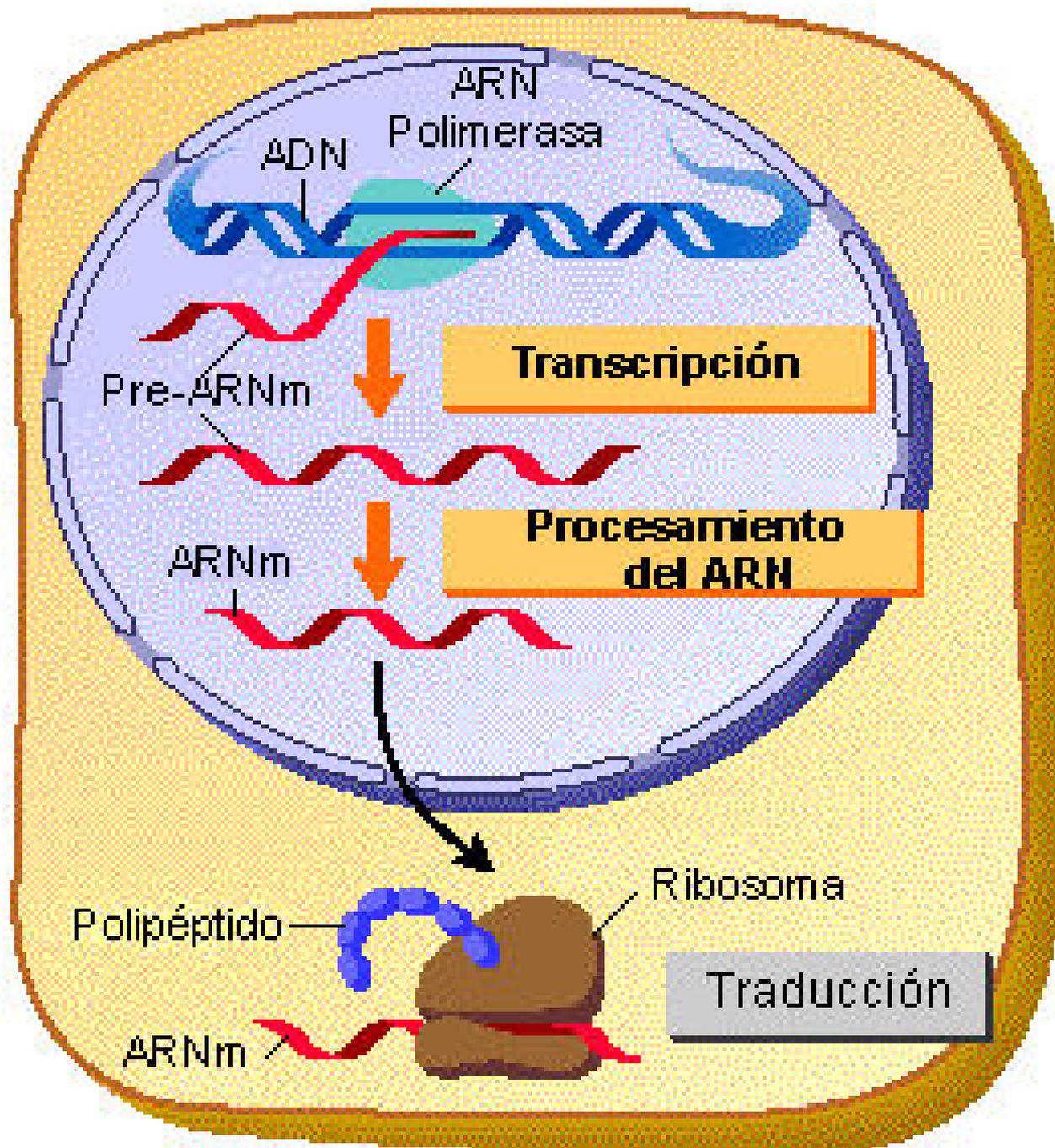


TRADUCCIÓN





QUÉ SE NECESITA?

- **RIBOSOMAS**
- **AMINOÁCIDOS**
- **RNA_m**

TRANSCRIPTO MADURO:

- Adición de caperuza en extremo 5'
- Adición de cola de adeninas (cola de poli A)
- Remoción de intrones



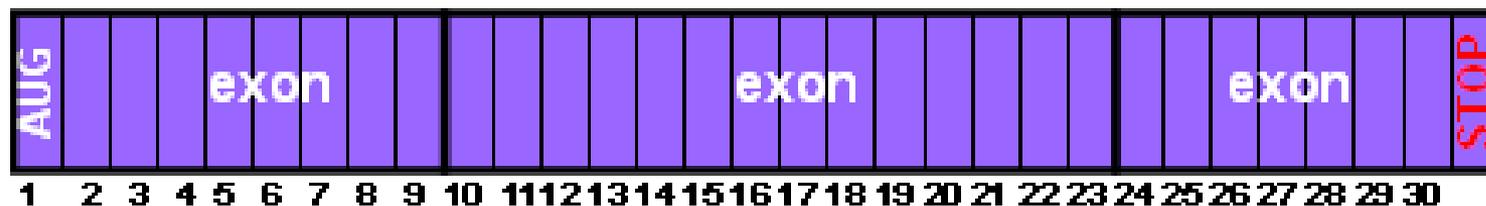
Parte del transcripto que finalmente será traducida por el ribosoma: Marco de lectura



1º triplete de nucleotidos **AUG** dará el aminoácido Metionina

Triplete de nucleótidos que codifica para un codón STOP (**UGA** ó **UAA** ó **UAG**) no genera ningún aminoácido es solo la señal para que finalice el polipéptido

Parte del transcripto que finalmente será traducida por el ribosoma:
Marco de lectura



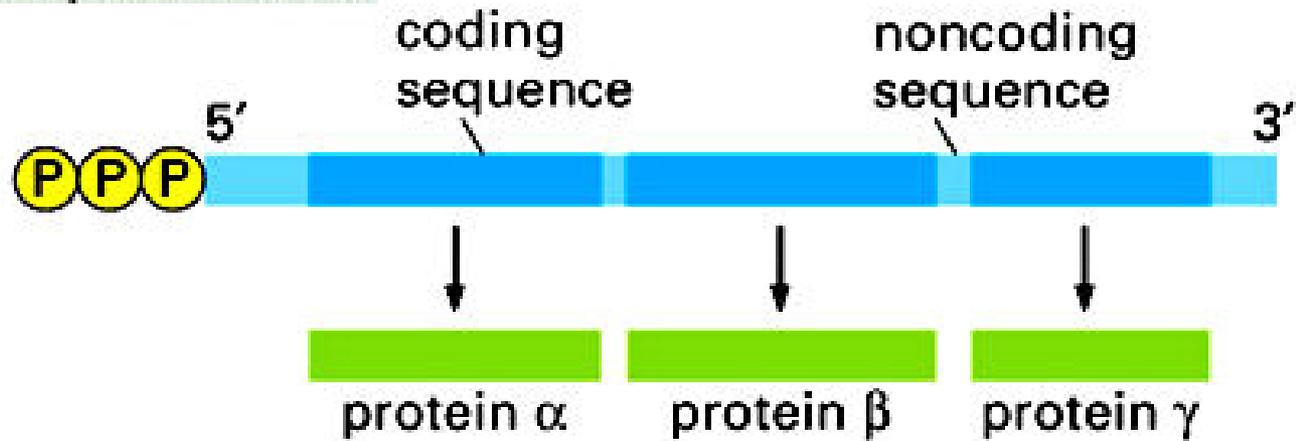
El polipéptido tendrá tantos aminoácidos como tripletes desde el AUG (inclusive) hasta el codón STOP sin incluir éste último.

En el caso de este ejemplo tendrá 30 AA.

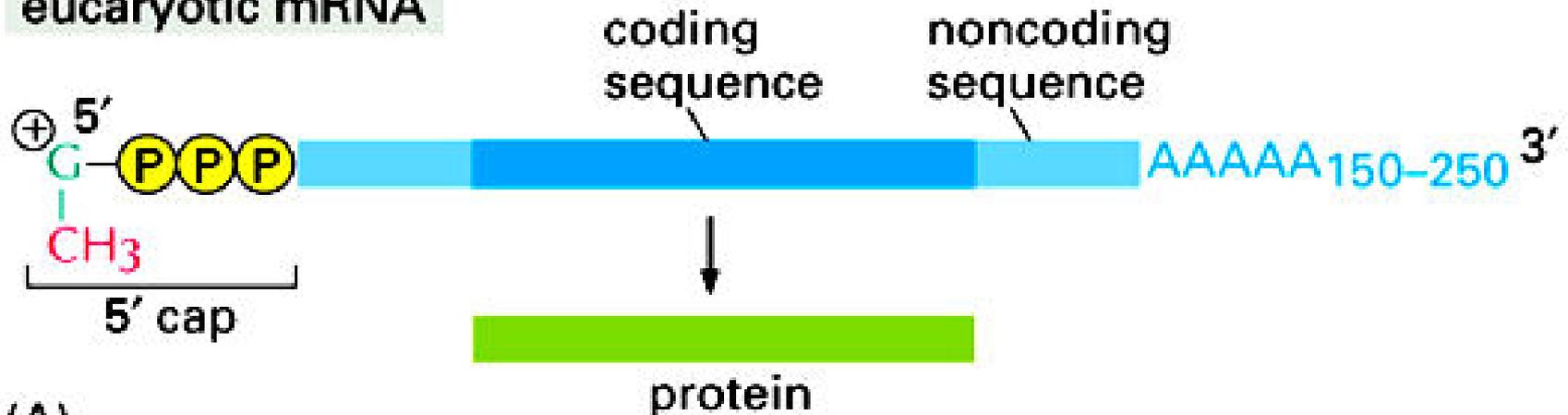


Eukaryotic mRNAs have a distinct structure at the 5' end

procaryotic mRNA



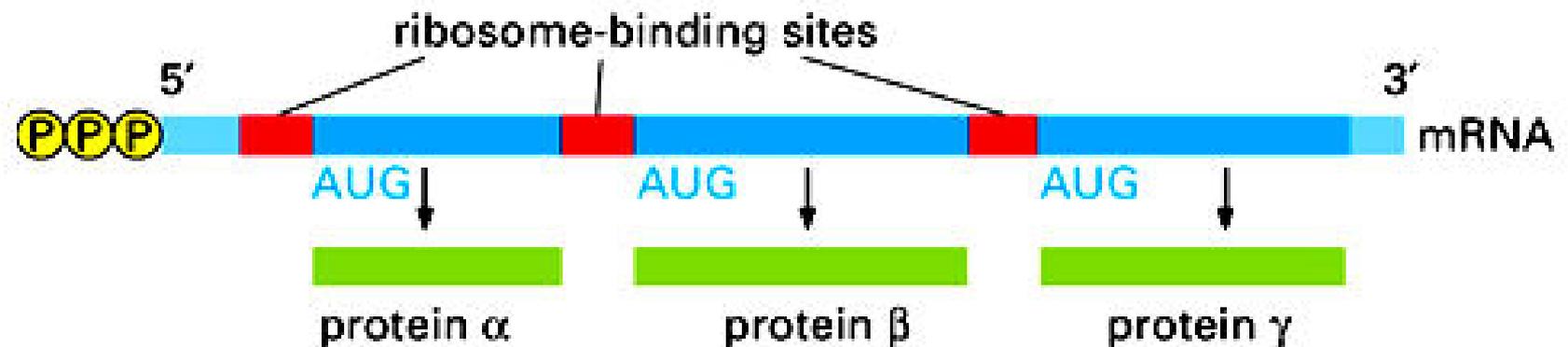
eucaryotic mRNA



(A)

Initiation of Translation

Initiation is controlled differently in prokaryotic and eukaryotic ribosomes



In prokaryotes a single transcript can give rise to multiple proteins

Código Genético

Segunda Letra

Primera letra

	U	C	A	G		
U	UUU UUC	UCU UCC UCA UCG	UAU UAC	UGU UGC	U C	
	UUA UUG		UAA UAG	UGA UGG		A G
	C	CUU CUC CUA CUG	CCU CCC CCA CCG	CAU CAC	CGU CGC CGA CGG	
		AAU AUC AUA	ACU ACC ACA ACG	CAA CAG	AGU AGC	
A	AUG	AAA AAG	AAU AAC	AGA AGG	U C A G	
	G		GUU GUC GUA GUG	GCU GCC GCA GCG		GAU GAC
				GAA GAG		

Tercera Letra

- Como 4 nucleótidos pueden especificar 20 aa?
- Combinándolos de a 2 tenemos $4^2=16$
- Combinándolos de a 3 tenemos $4^3=64$
- 3 codones stop y 61 codones codifican para los 20 aa

G

UGU = cys

UGC = cys

UGA = stop

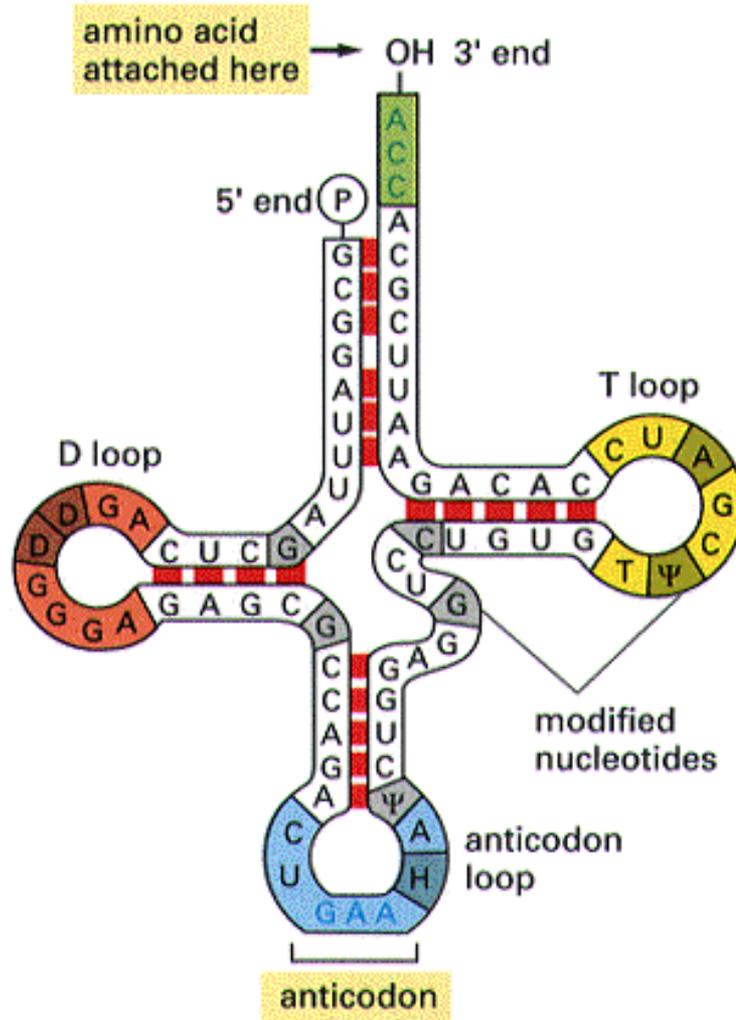
UGG = trp

- El código no es universal
- En mitocondria:
 1. El triplete UGA codifica para Trp
 2. AGA y AGG son stop en lugar de Arg

QUÉ SE NECESITA?

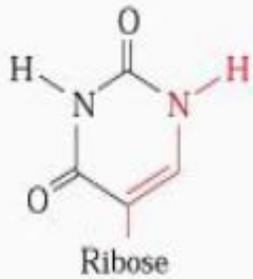
- **RIBOSOMAS**
- **AMINOÁCIDOS**
- **RNA_m**

tRNA

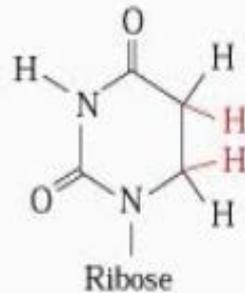


Nucleótidos inusuales

Uracil derivatives

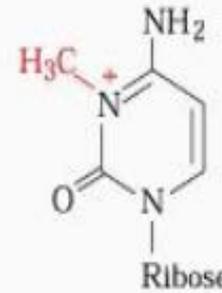


Pseudouridine (ψ)

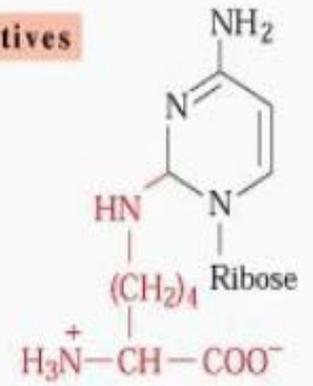


Dihydrouridine (D)

Cytosine derivatives

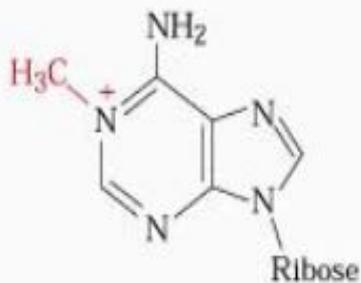


3-Methylcytidine (m³C)

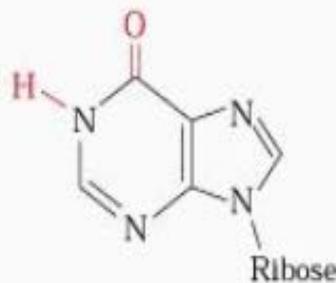


Lysidine (L)

Adenine derivatives



1-Methyladenosine (m¹A)

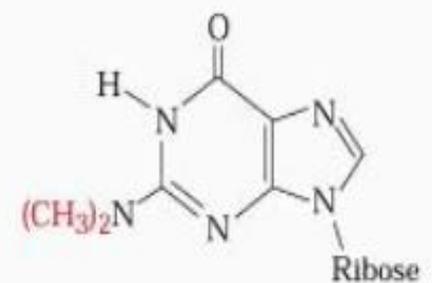


Inosine (I)

Guanine derivatives

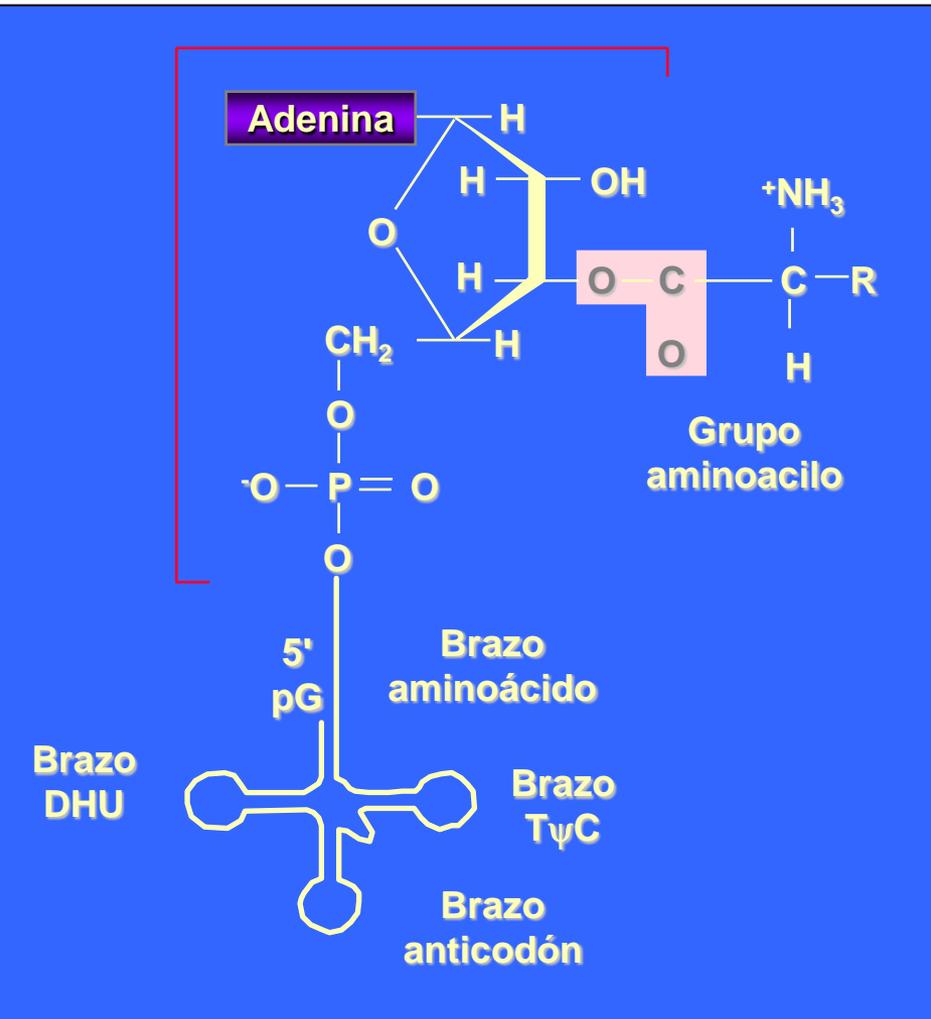


N⁷-Methylguanosine (m⁷G)



N²,N²-Dimethylguanosine (m²G)

Aminoacil tRNA

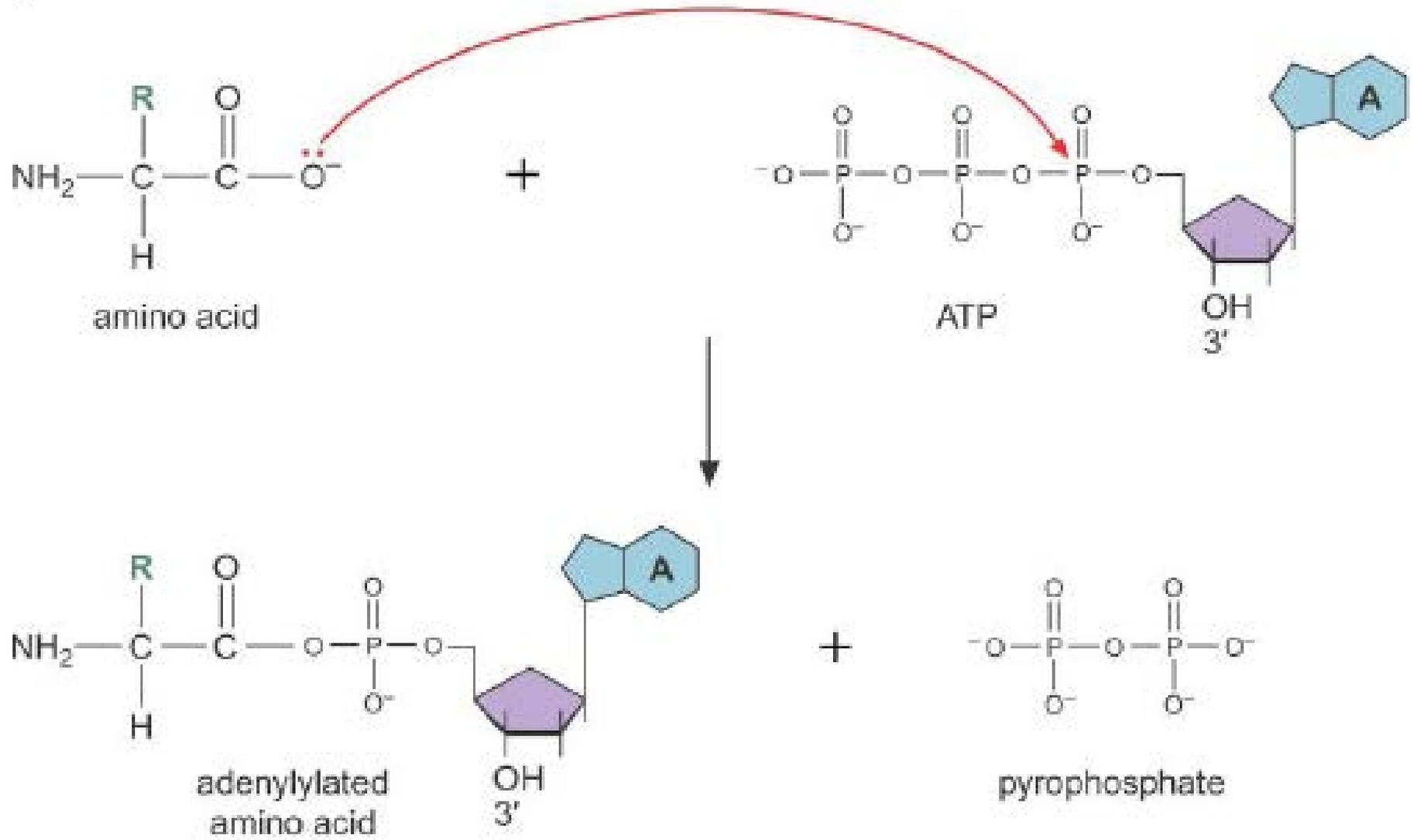


Estructura general de los aminoacil-tRNA

- El grupo aminoacilo está esterificado en la posición 3' del residuo adenilato terminal.
- El enlace éster (en rosa) une el aminoácido al tRNA. → “Activado”

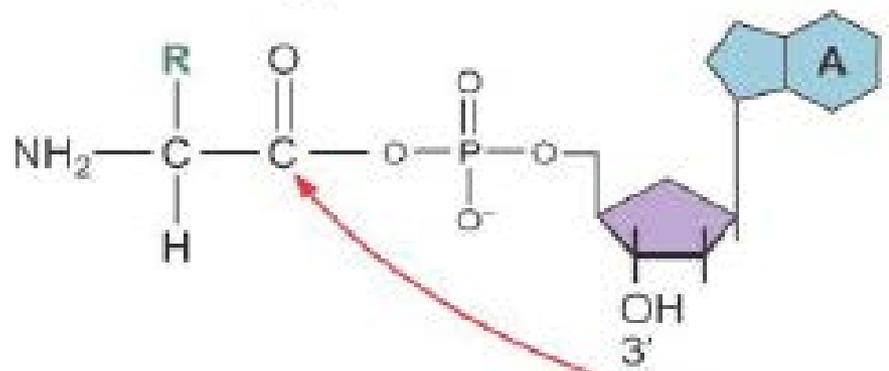
- Por lo menos existen 31 tRNA en el citoplasma y 22 en la mitocondria
- Varían de 54 a 100 nucleótidos de longitud
- Son sumamente específicos

a



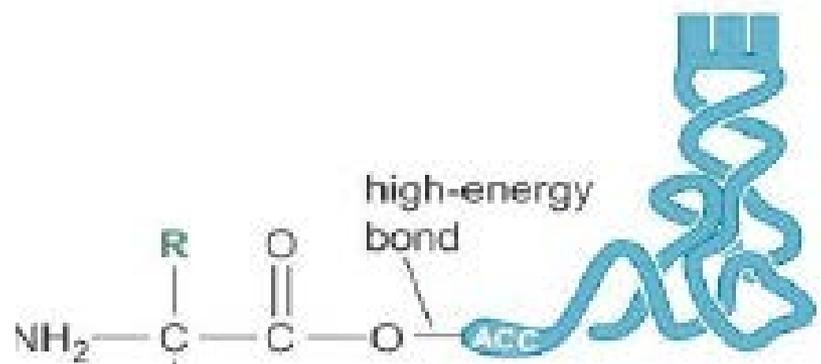
v

adenylylated amino acid



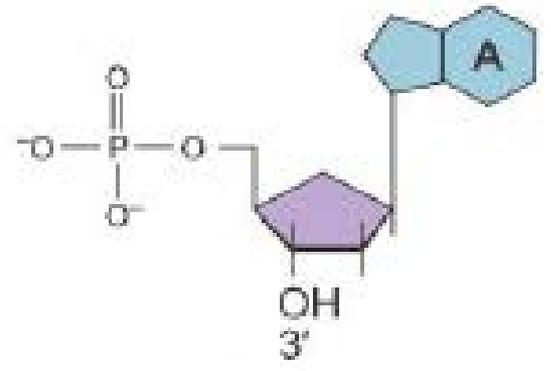
tRNA

3' OH - ACC

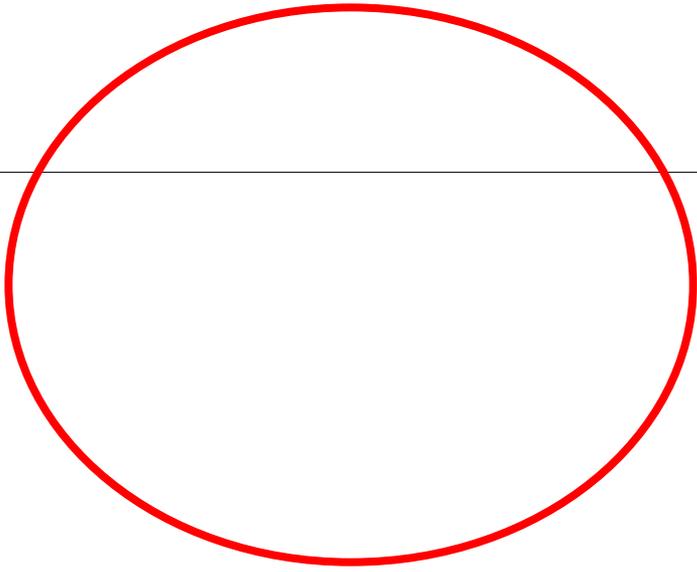


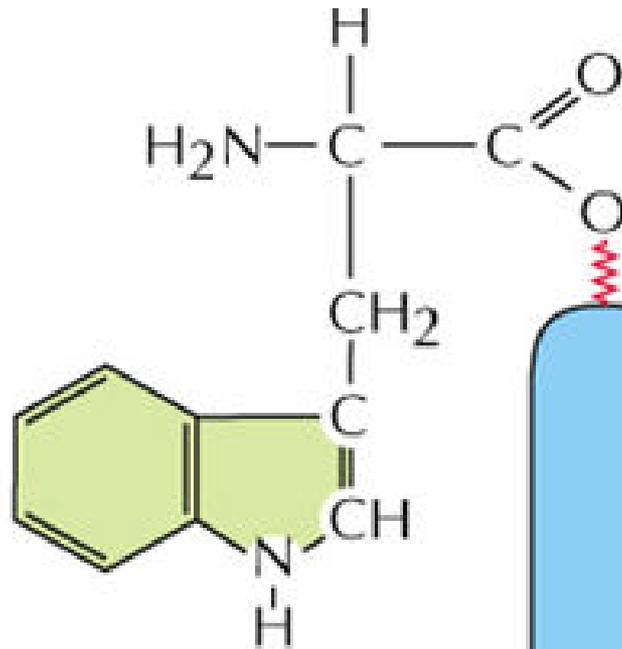
charged tRNA

+



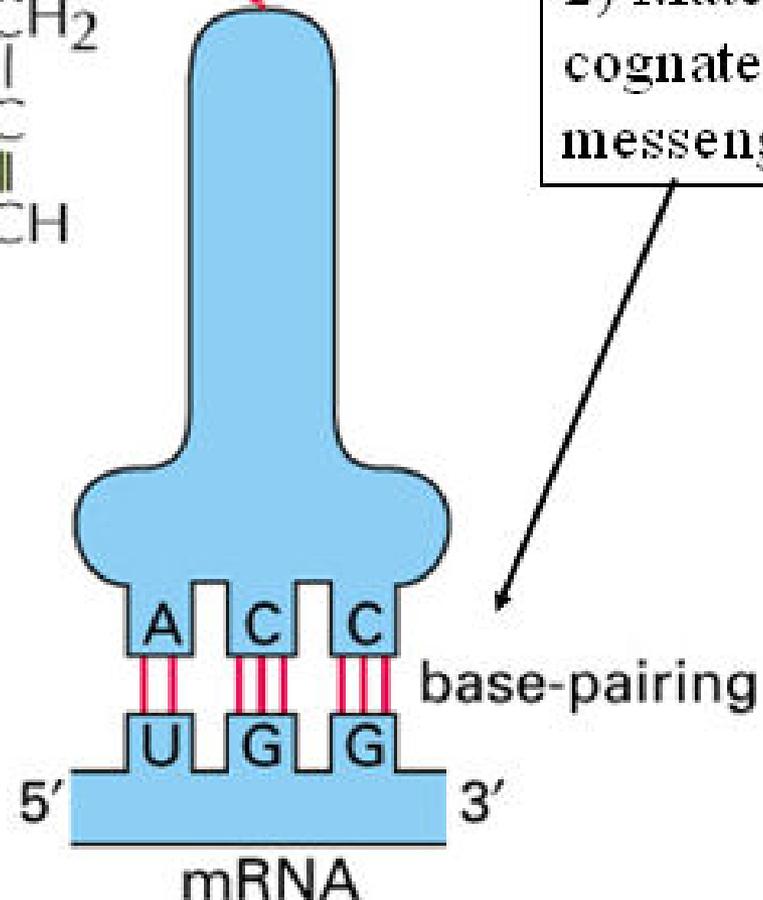
AMP



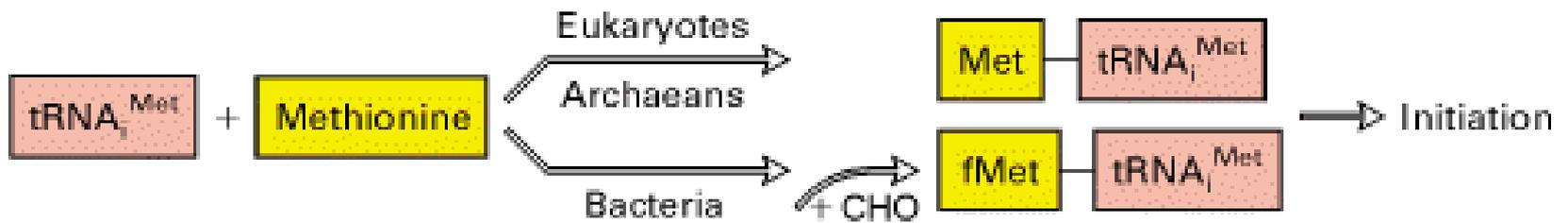


2) Matching the cognate tRNA to the messenger RNA

tRNA binds to its codon in RNA

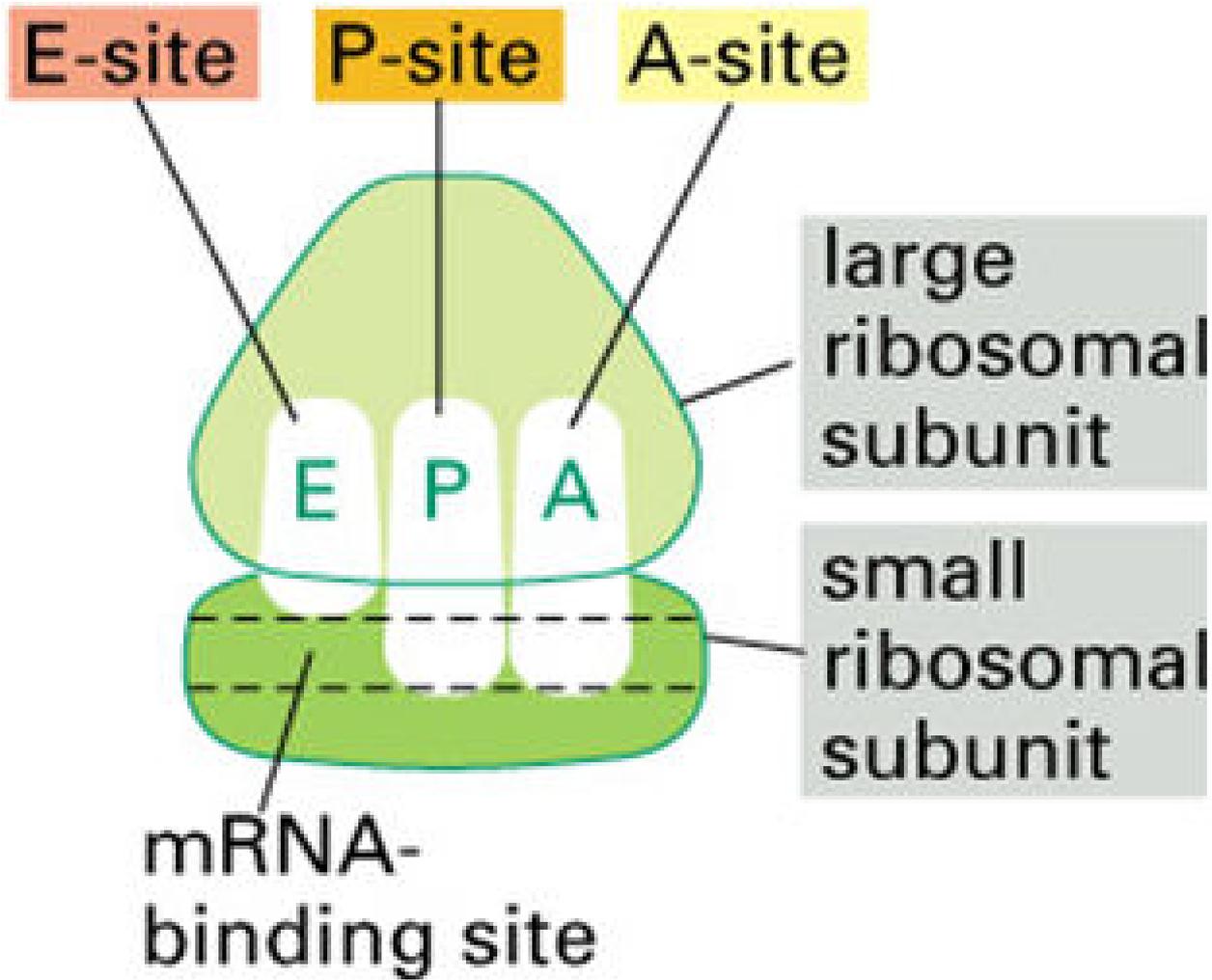


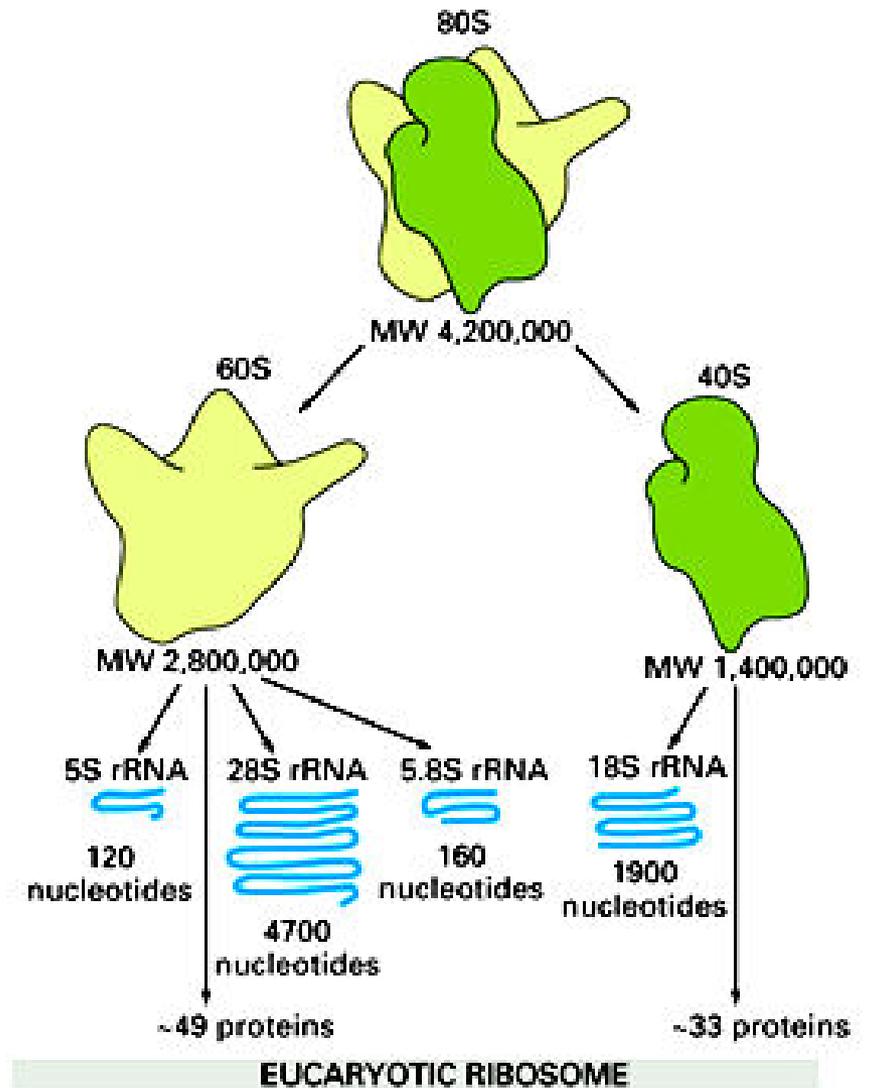
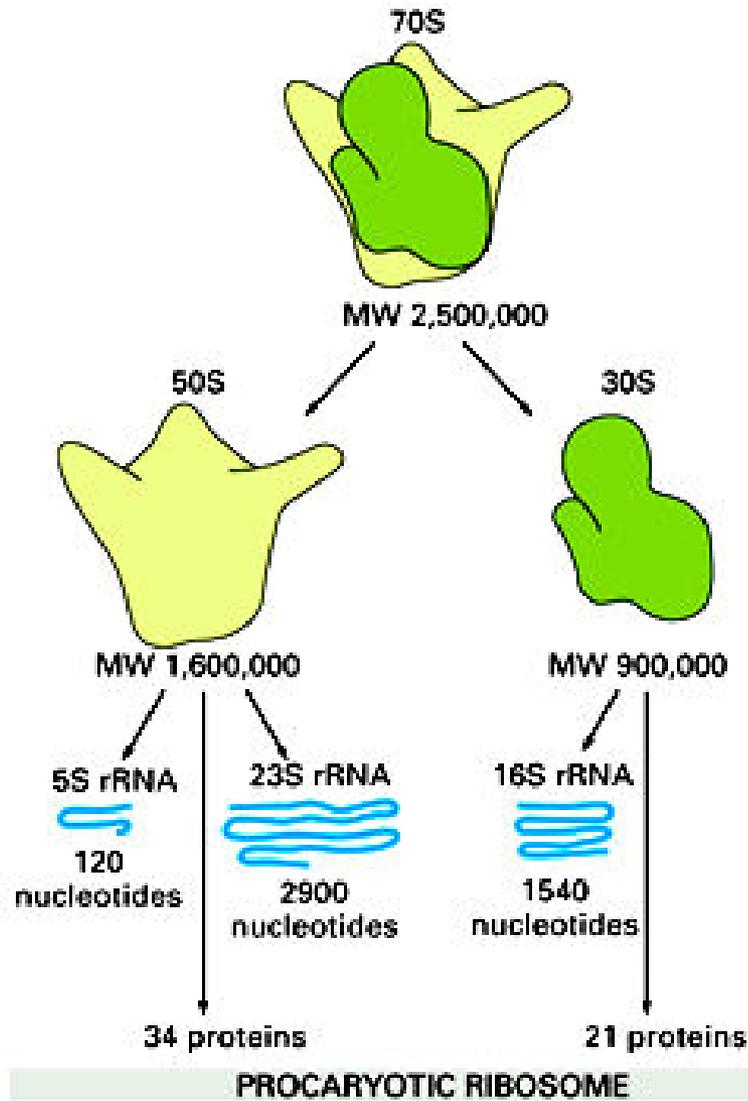
NET RESULT: AMINO ACID IS SELECTED BY ITS CODON



QUÉ SE NECESITA?

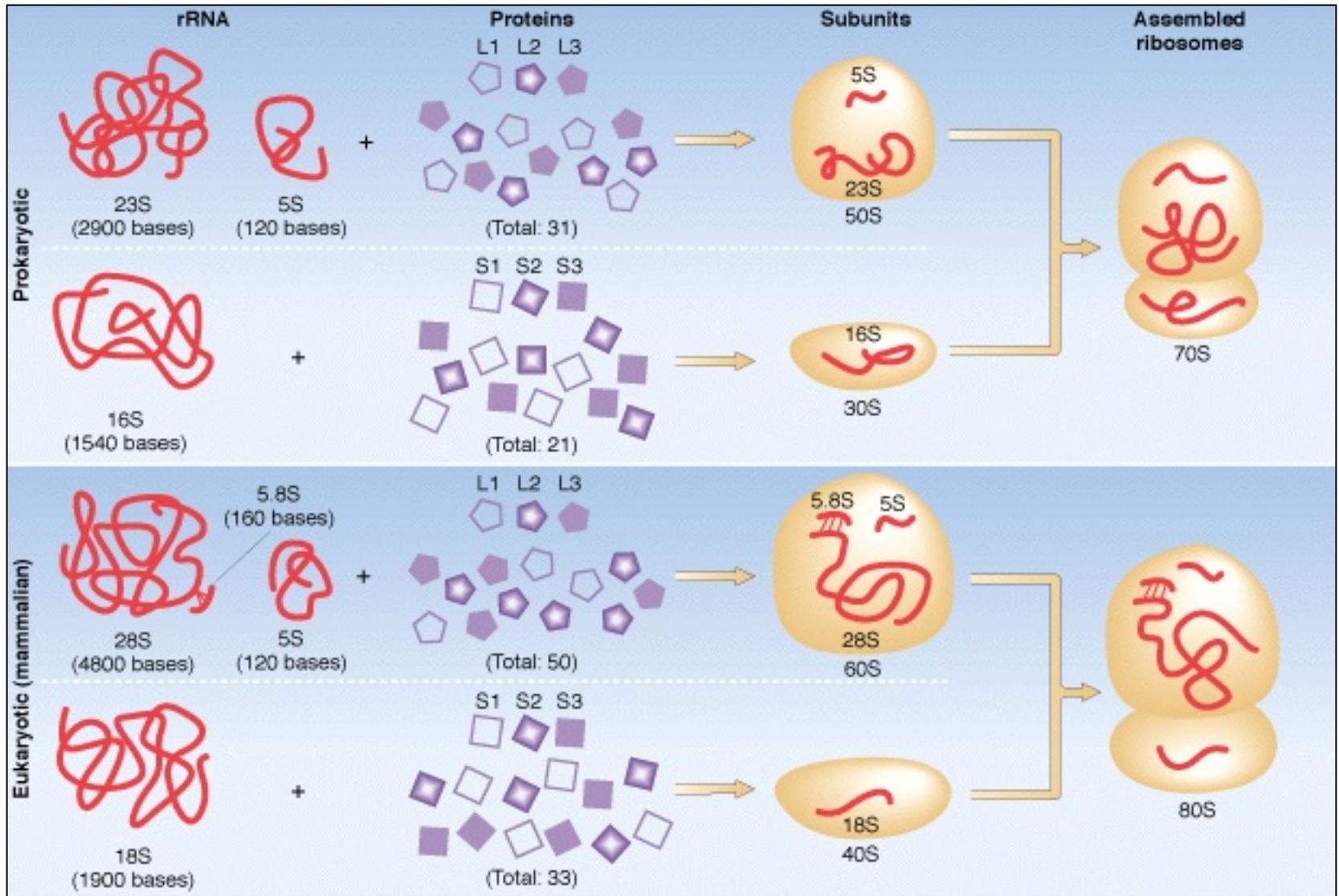
- **RIBOSOMAS**
- **AMINOÁCIDOS**
- **RNA_m**

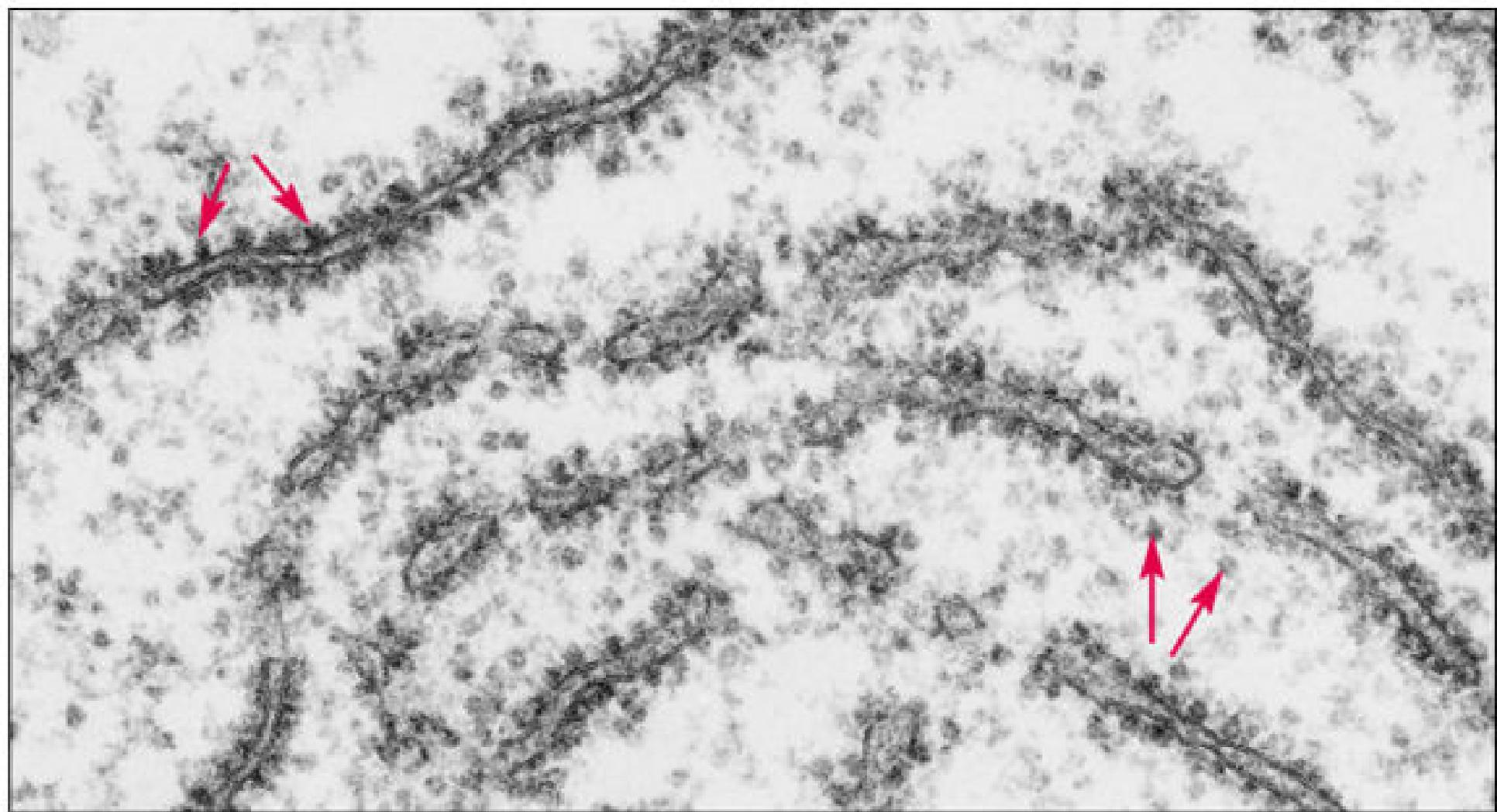




and mitochondria

Ribosoma

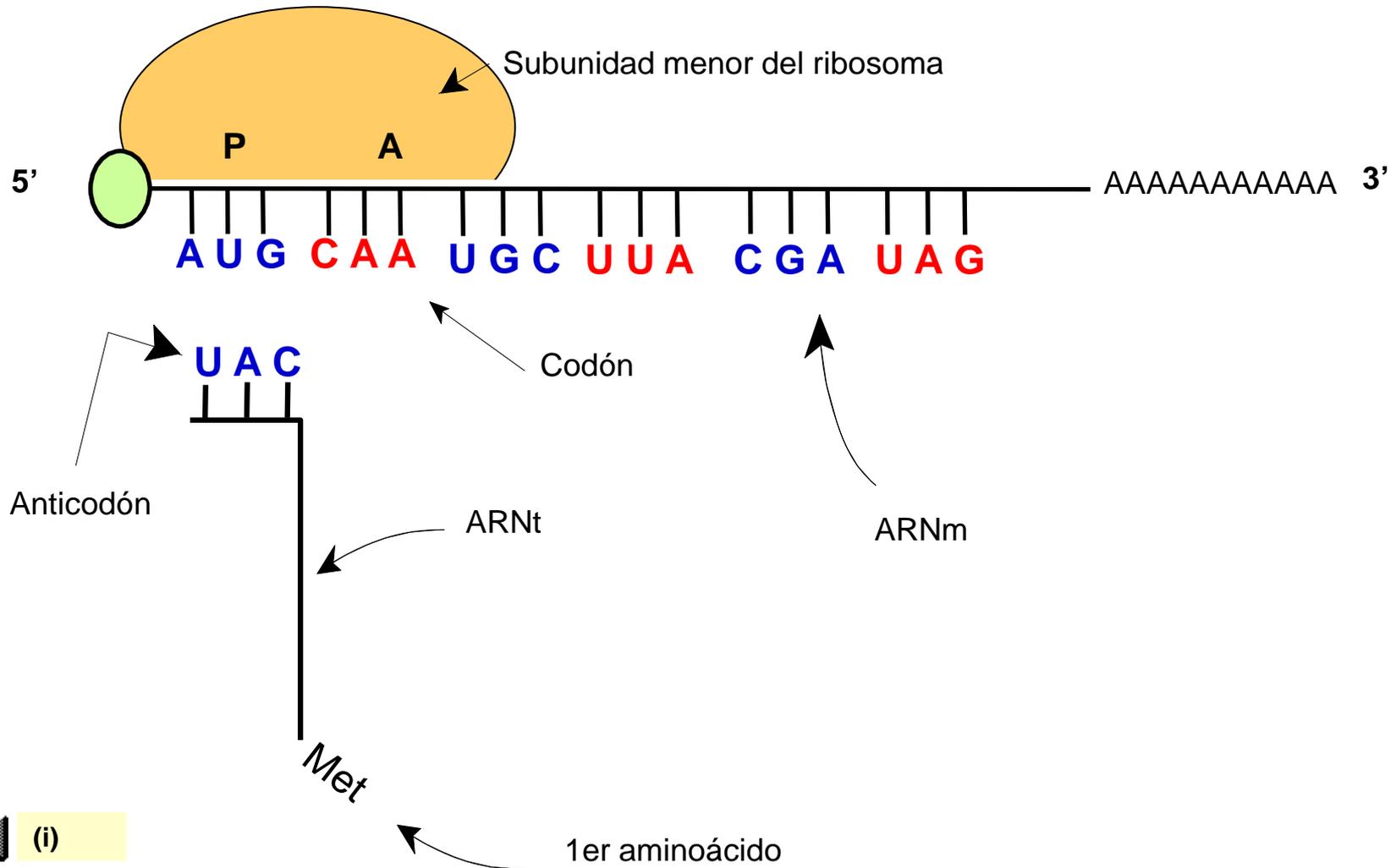




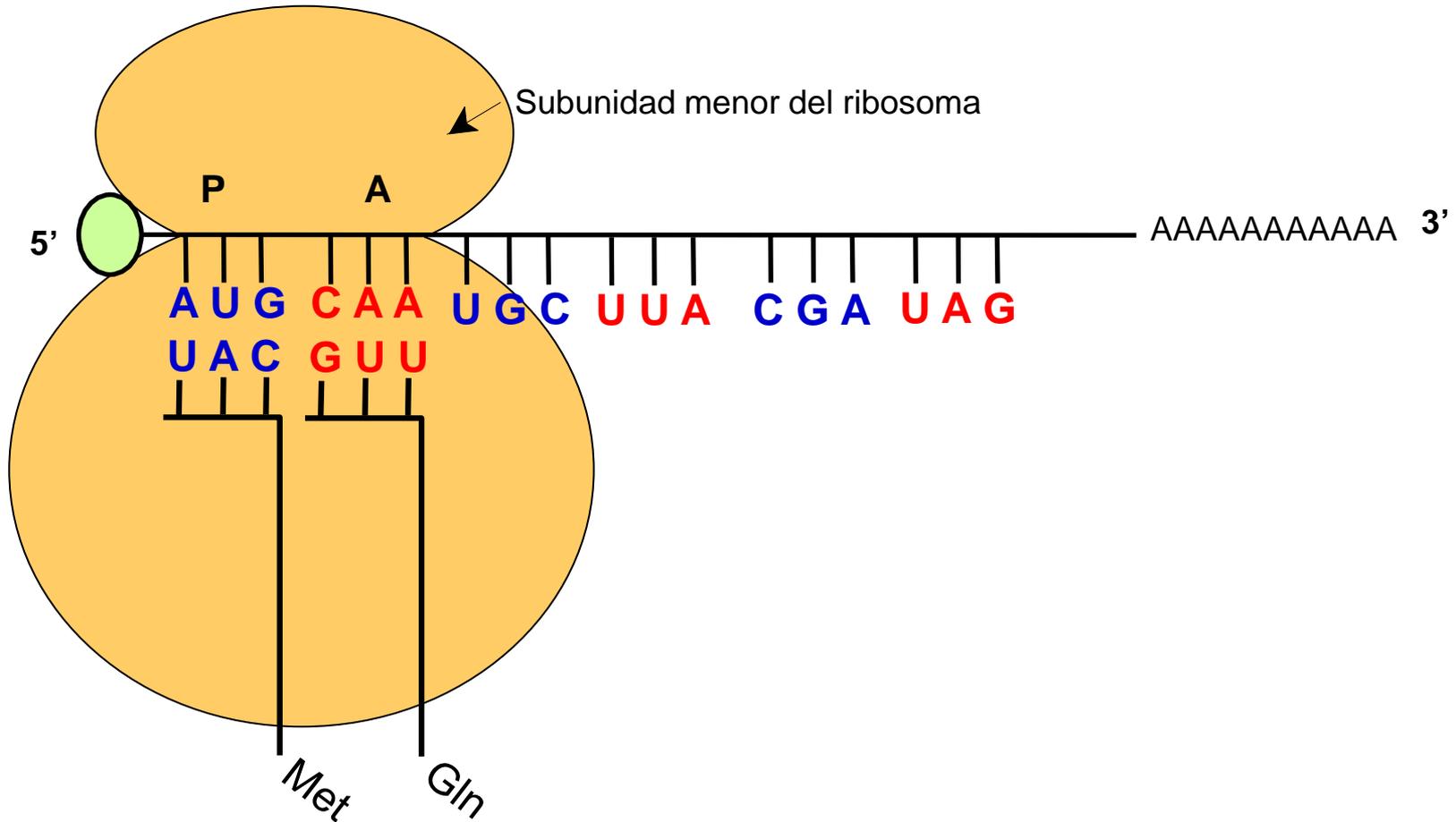
400 nm

ETAPAS DE LA TRADUCCIÓN

Iniciación: La subunidad pequeña del ribosoma se une a la región líder del ARNm y el ARNm se desplaza hasta llegar al codón AUG, que codifica el principio de la proteína. Se une entonces el complejo formado por el ARNt-metionina (Met). La unión se produce entre el codón del ARNm y el anticodón del ARNt que transporta la metionina (Met).

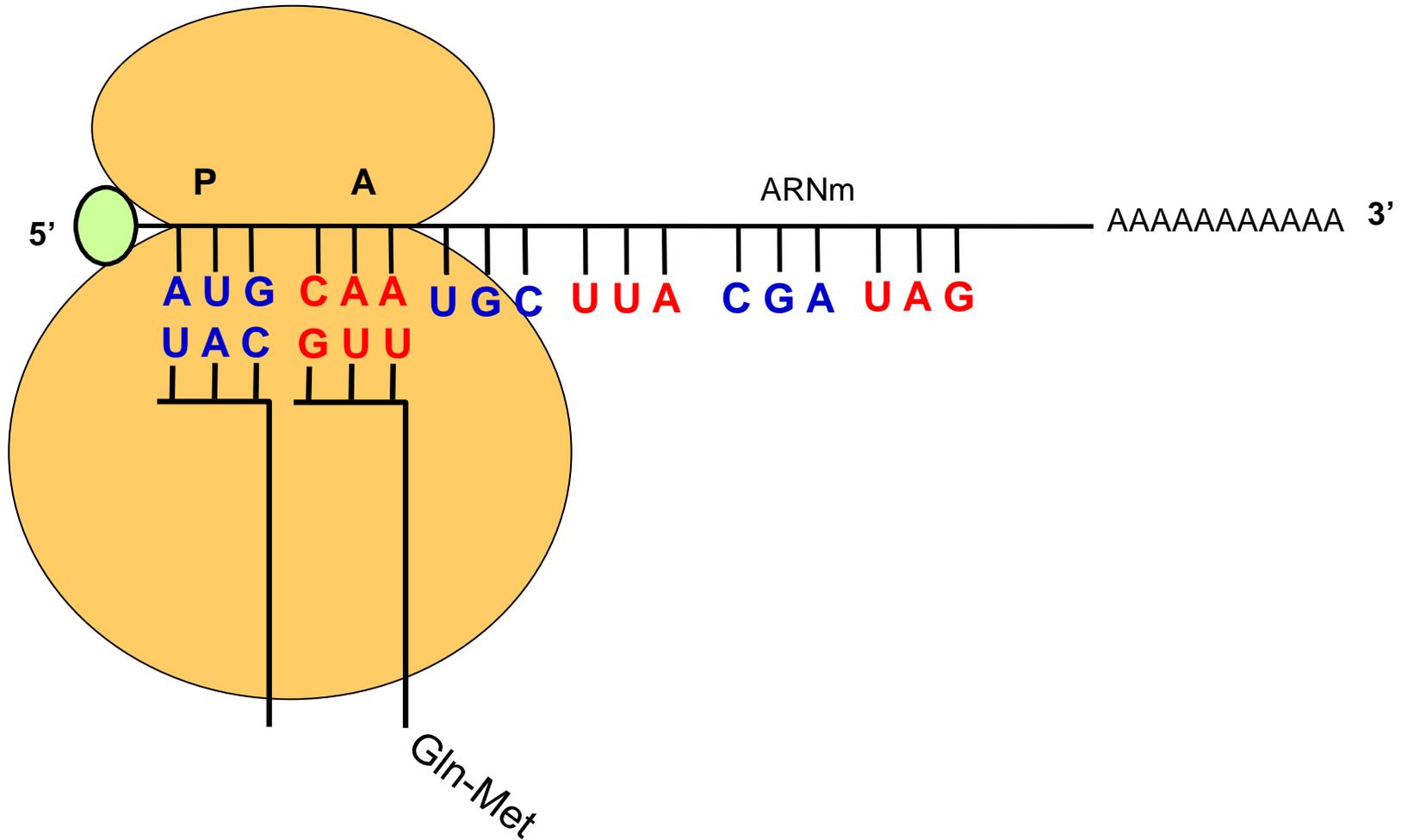


Elongación I: A continuación se une la subunidad mayor a la menor completándose el ribosoma. El complejo ARNt-aminoácido₂, la glutamima (Gln) [ARNt-Gln] se sitúa enfrente del codón correspondiente (CAA). La región del ribosoma a la que se une el complejo ARNt-Gln se le llama región aminoacil (A).

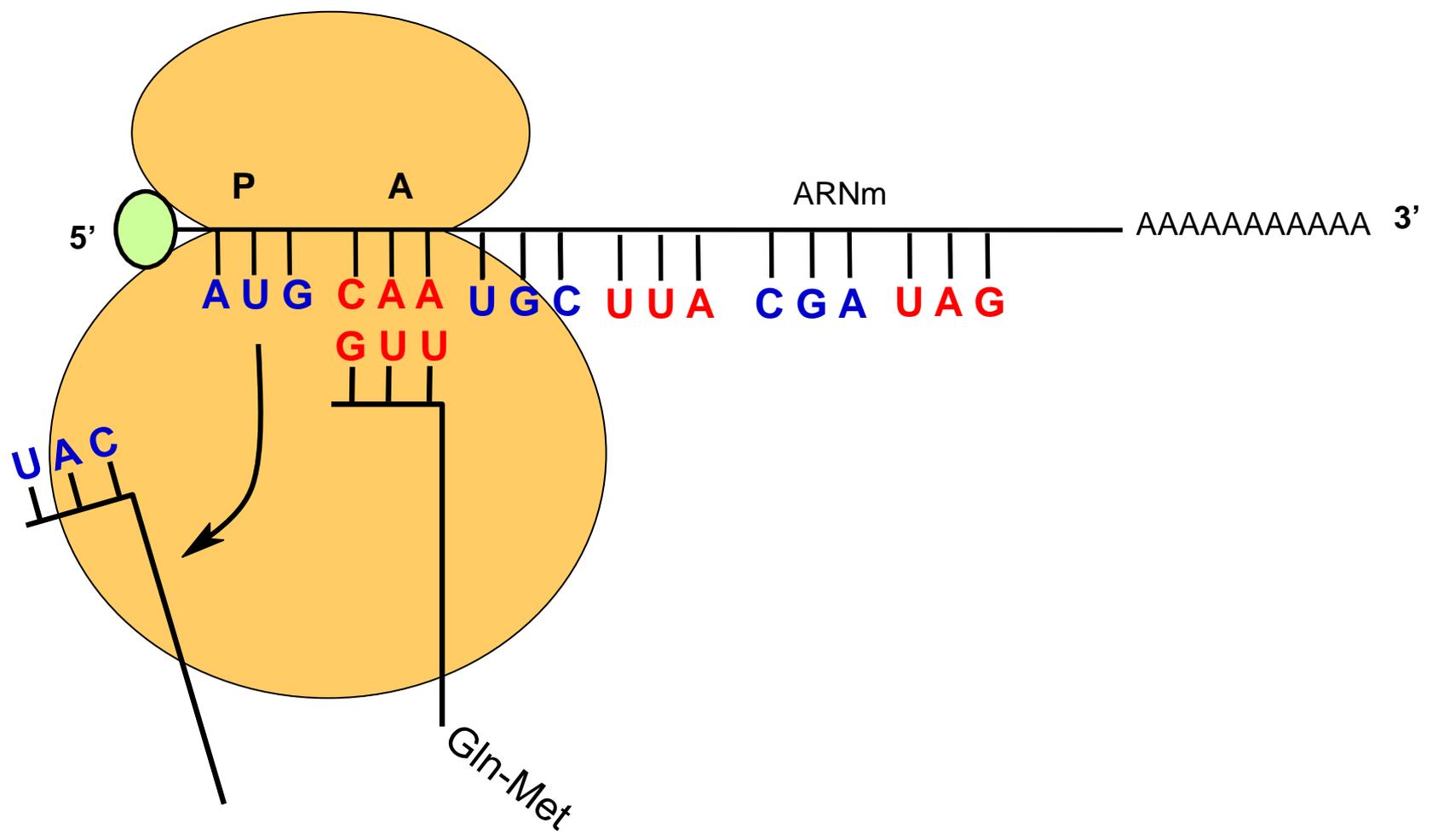


(i)

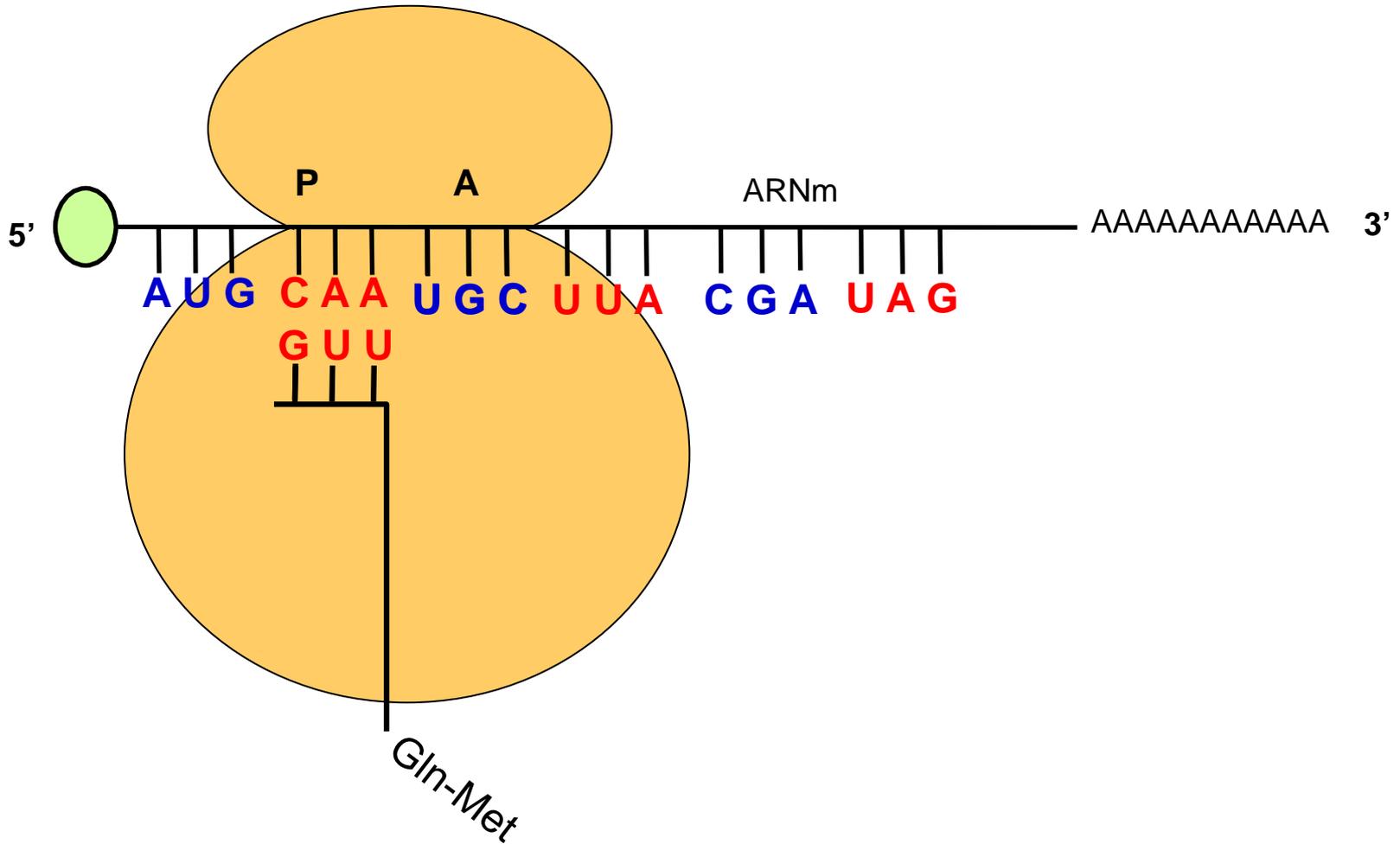
Elongación II: Se forma el enlace peptídico entre el grupo carboxilo de la metionina (Met) y el grupo amino del segundo aminoácido, la glutamina (Gln).



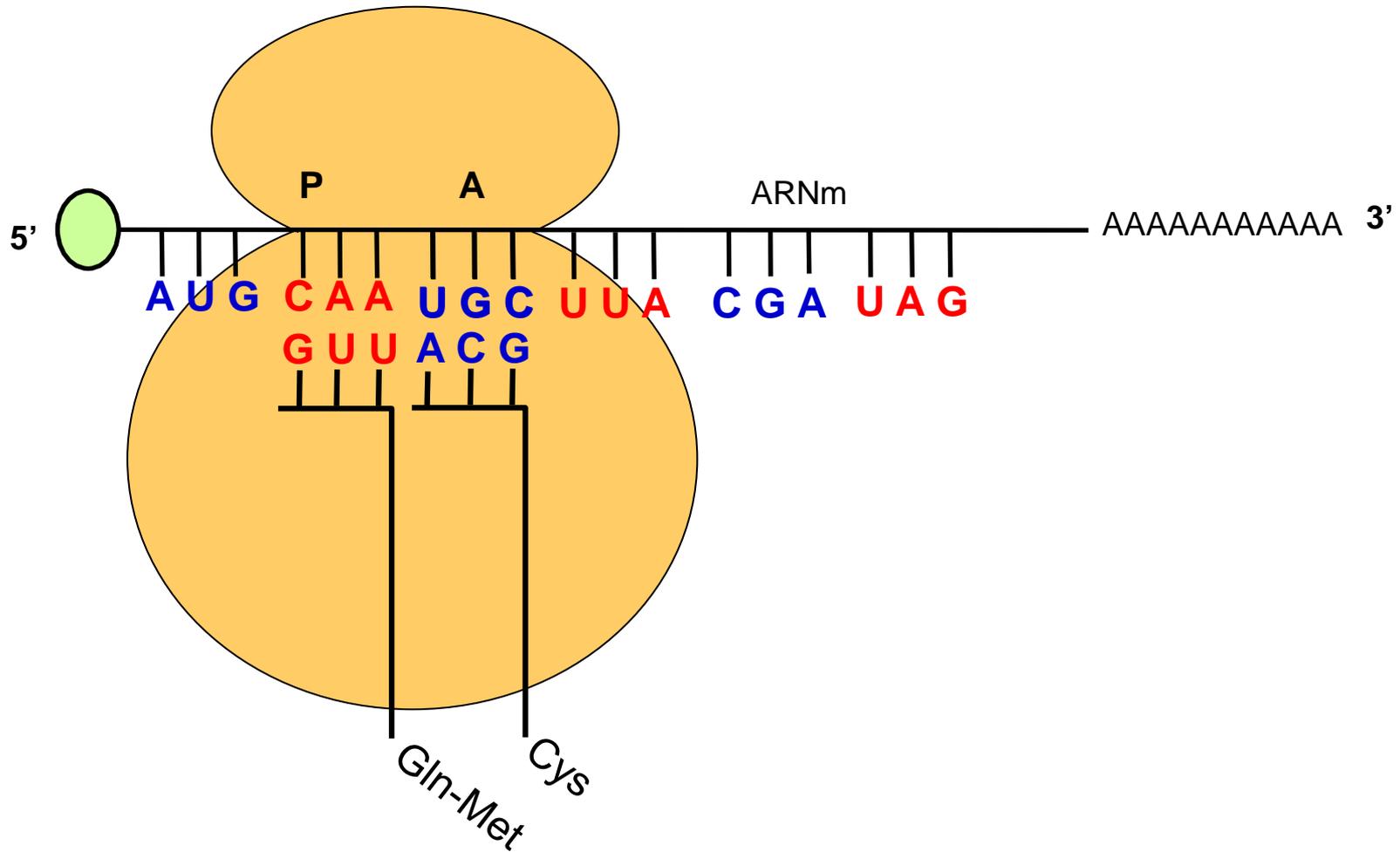
Elongación III: El ARNt del primer aminoácido, la metionina (Met) se libera.



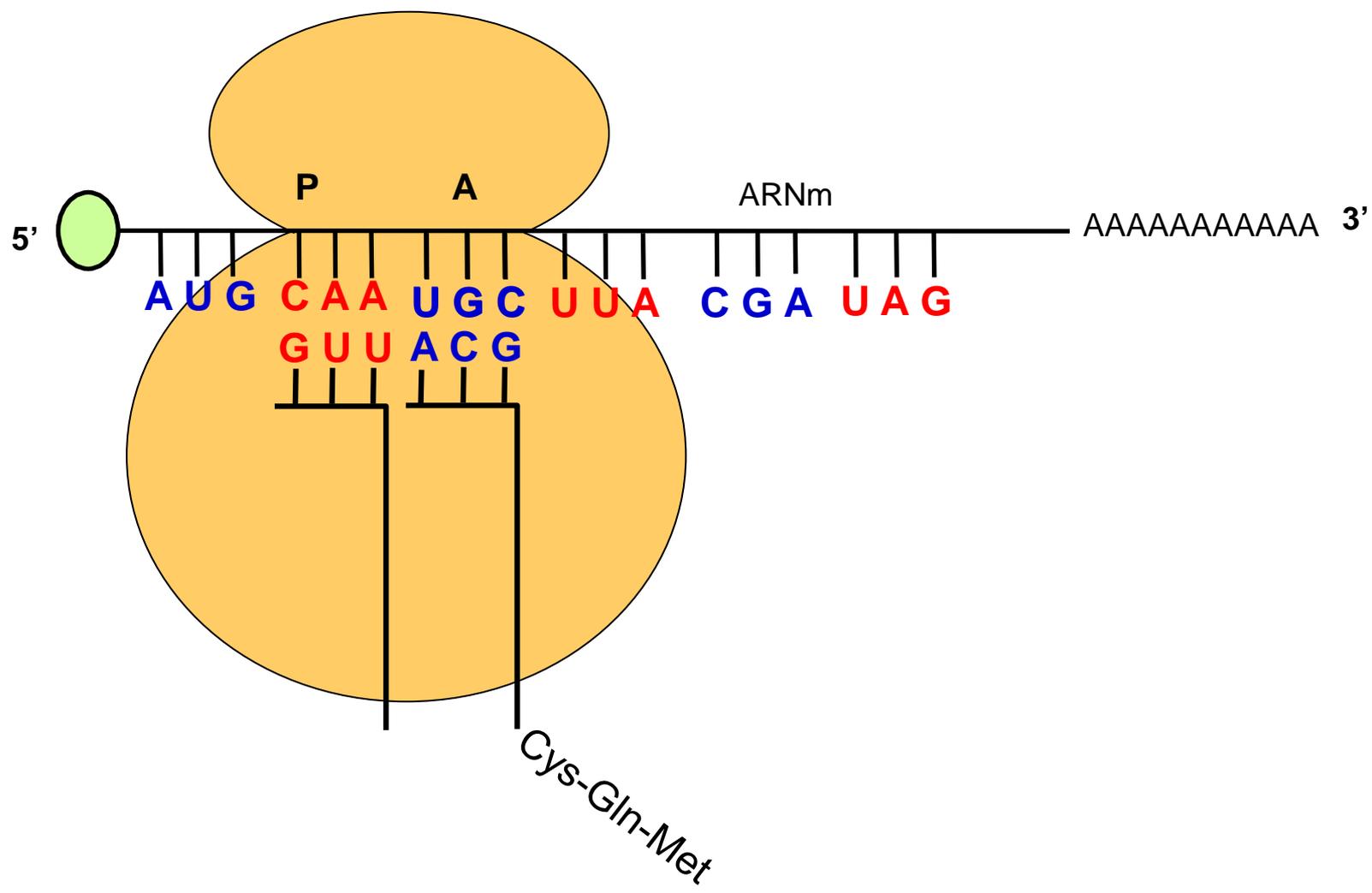
Elongación IV: El ribosoma se desliza sobre el ARNm, de tal manera que el complejo ARNt-Gln-Met queda en la región peptidil del ribosoma, quedando ahora la región aminoacil (A) libre para la entrada del complejo ARNt-aa₃



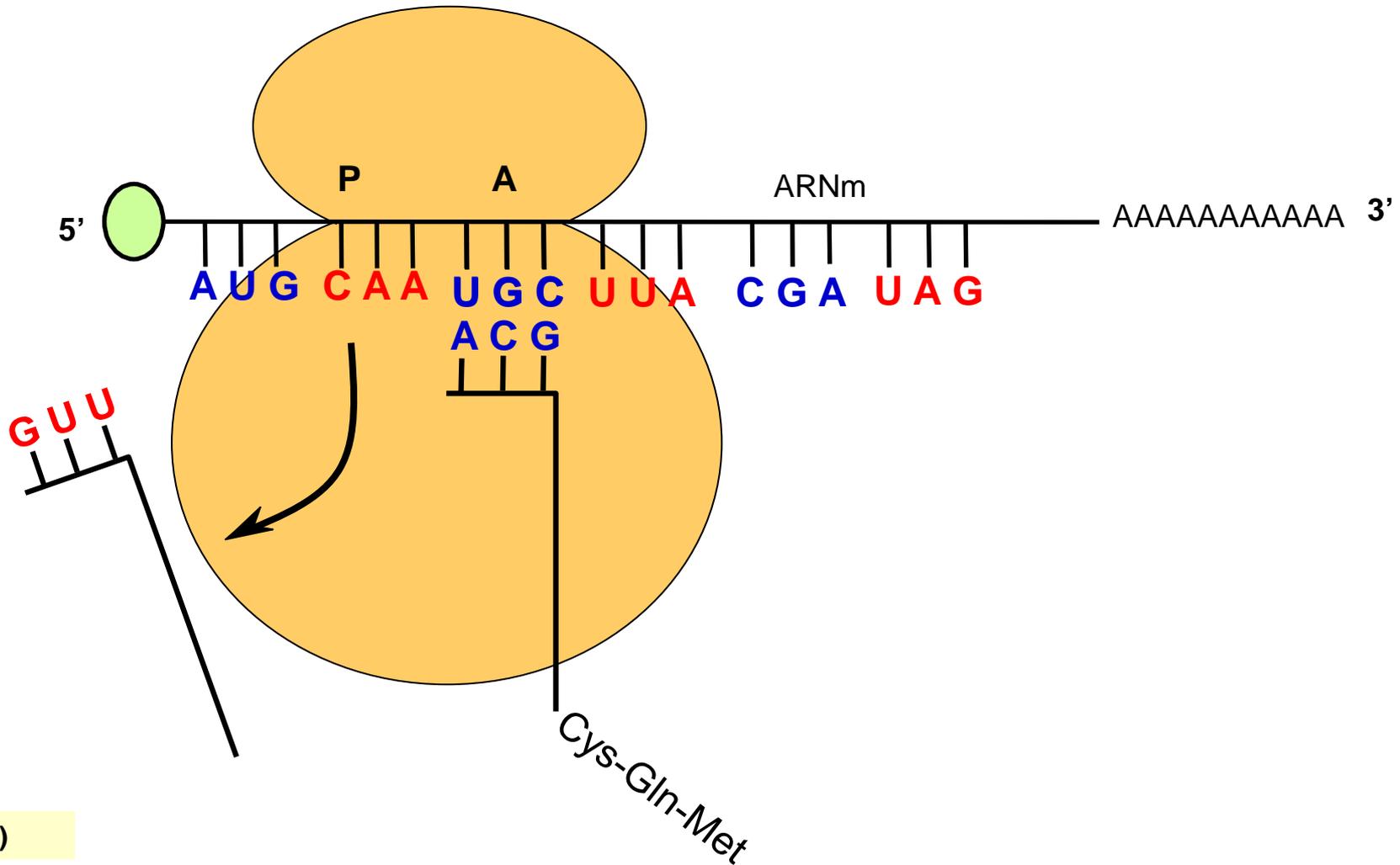
Elongación V: Entrada en la posición correspondiente a la región aminoacil (A) del complejo ARNt-Cys, correspondiente al tercer aminoácido, la cisteína (Cys).



Elongación VI: Unión del péptido Met-Gln (Metionina-Glutamina) a la cisteína (Cys).

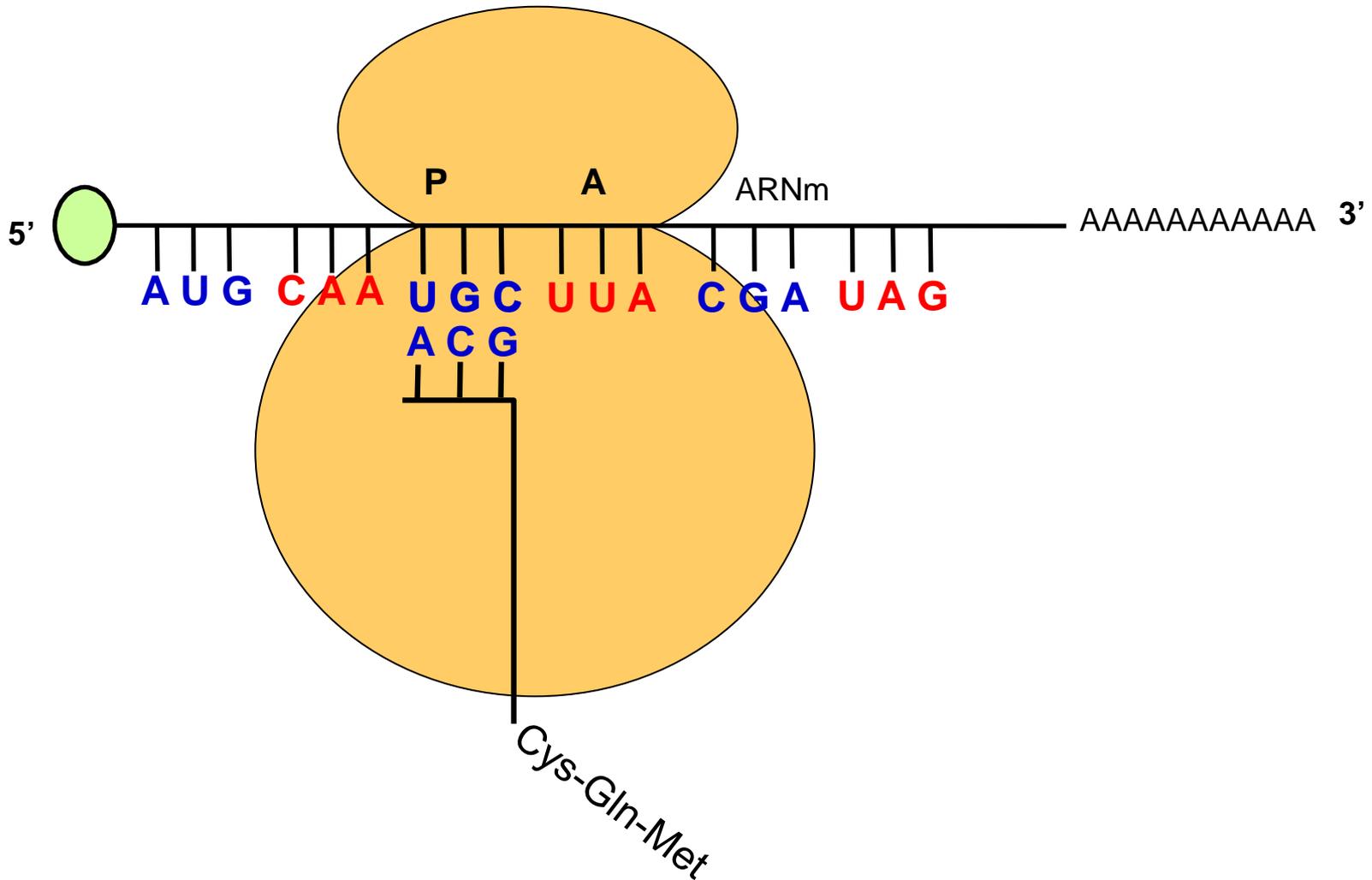


Elongación VII: Se libera el ARNt correspondiente al segundo aminoácido, la glutamina (Glu).

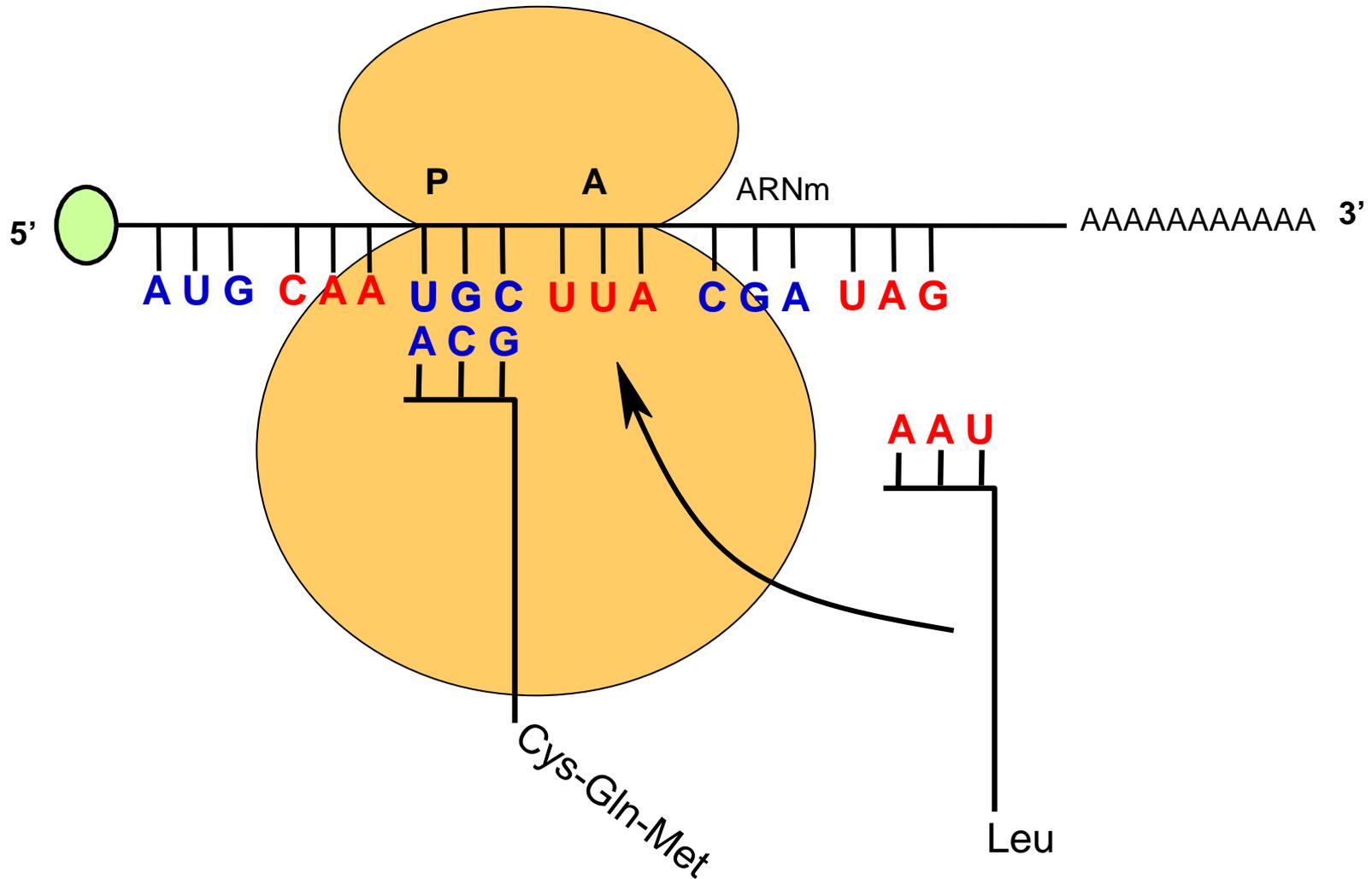


(i)

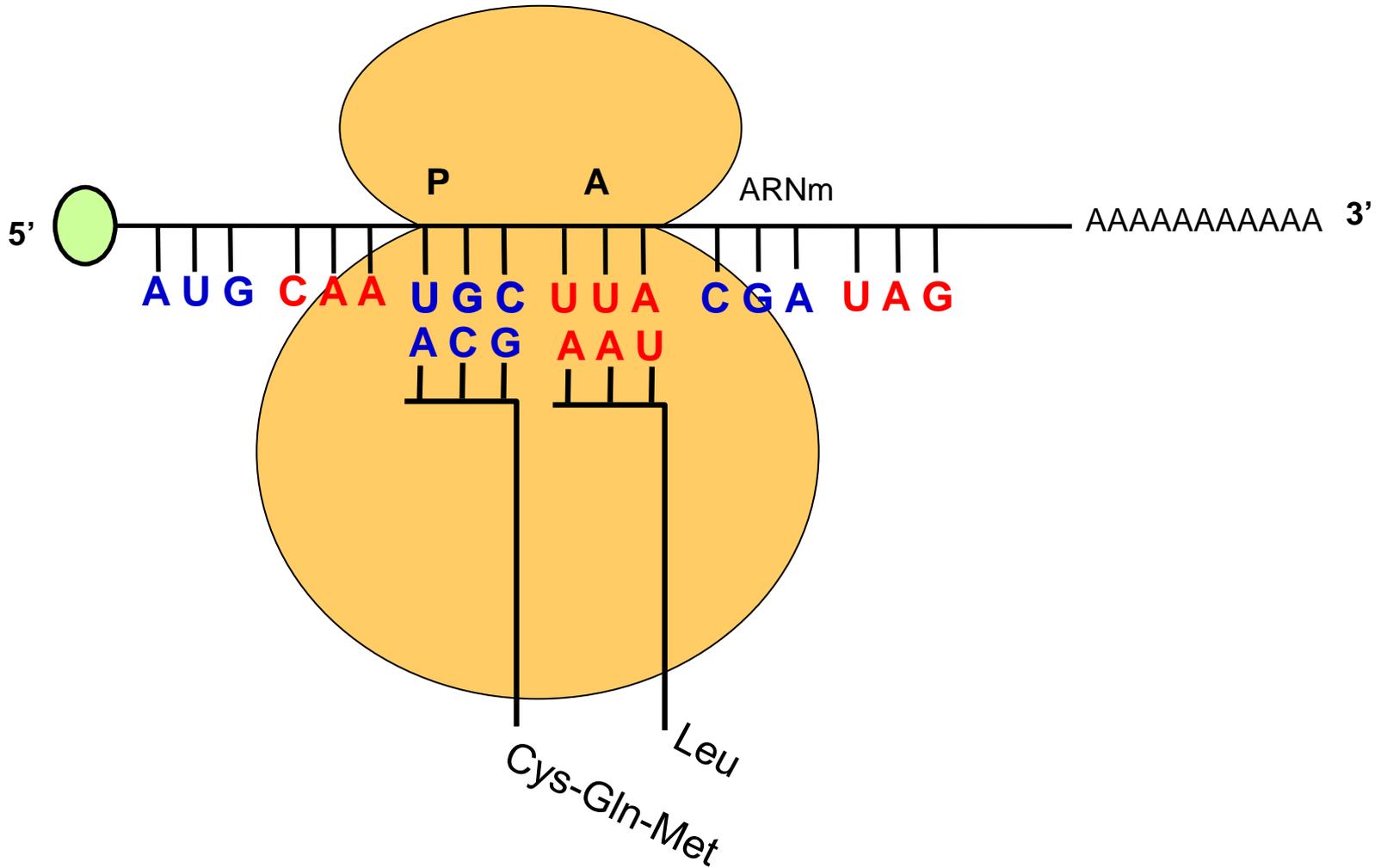
Elongación VIII: El ribosoma corre hacia la otra posición en el ARNm, quedando el complejo ARN_{t3}-Cys-Gln-Met en la región peptidil del ribosoma.



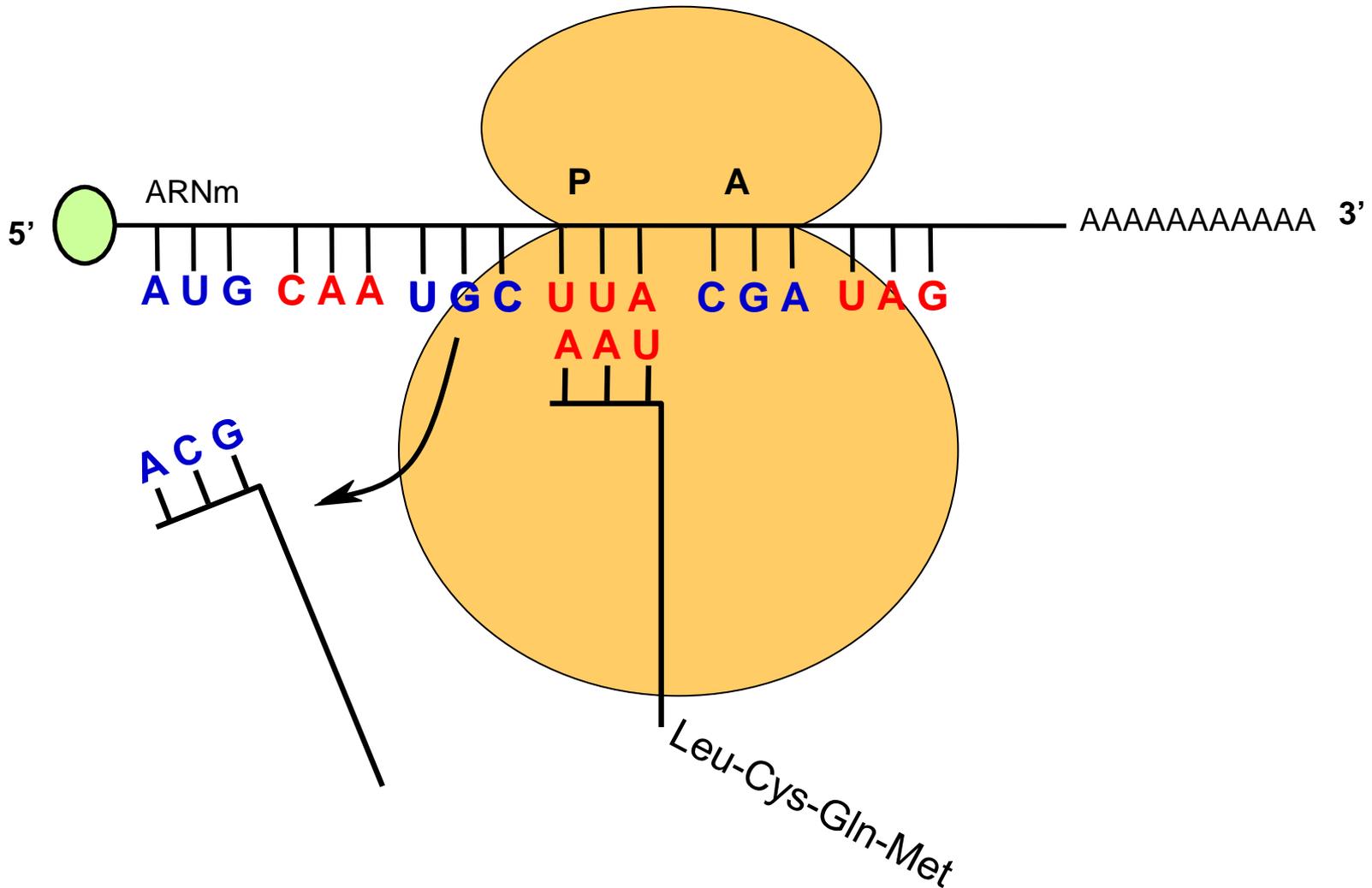
Elongación IX: Entrada del complejo ARNt-Leu correspondiente al 4º aminoácido, la leucina.



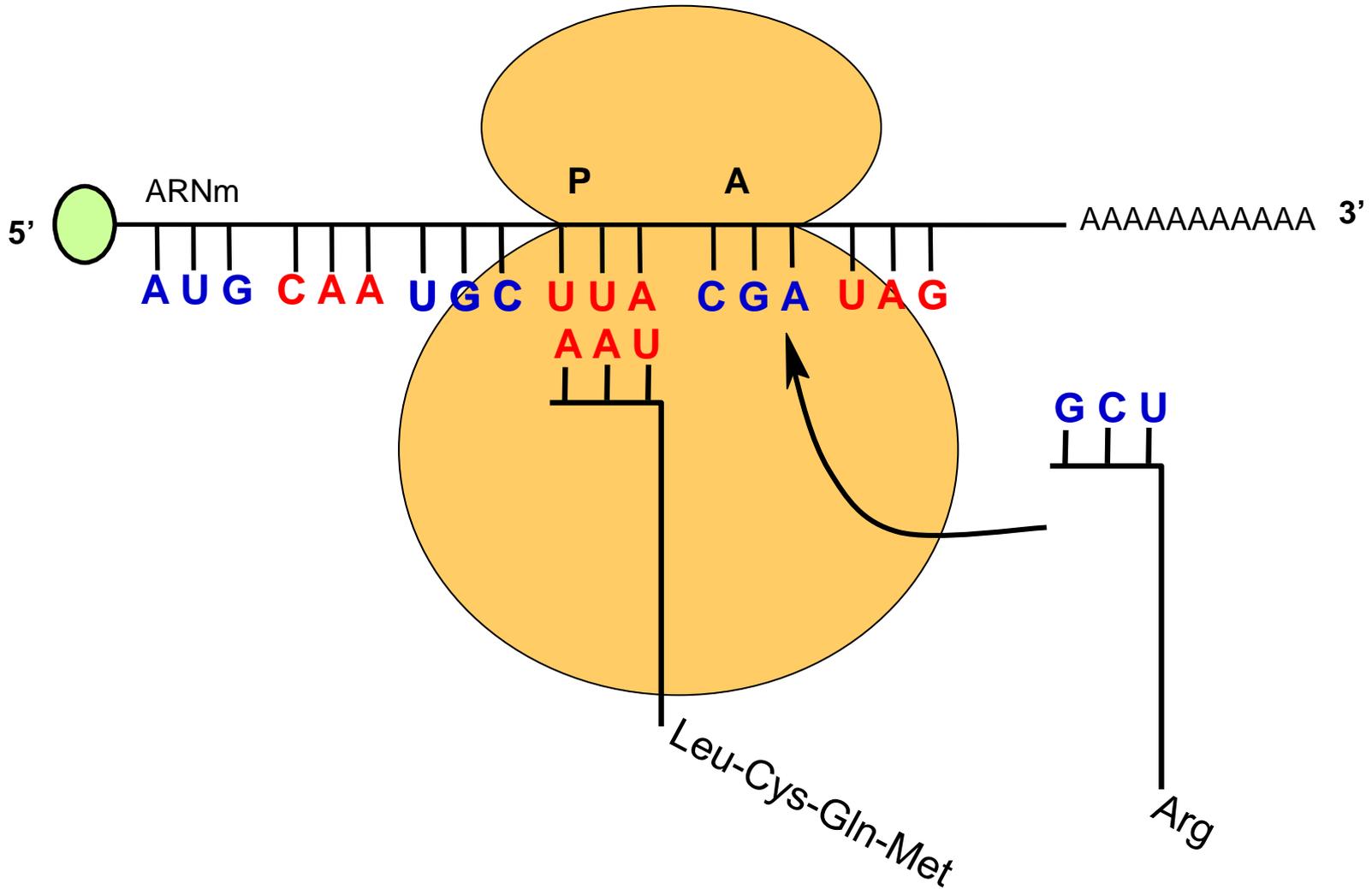
Elongación X: Este se sitúa en la región aminoacil (A).



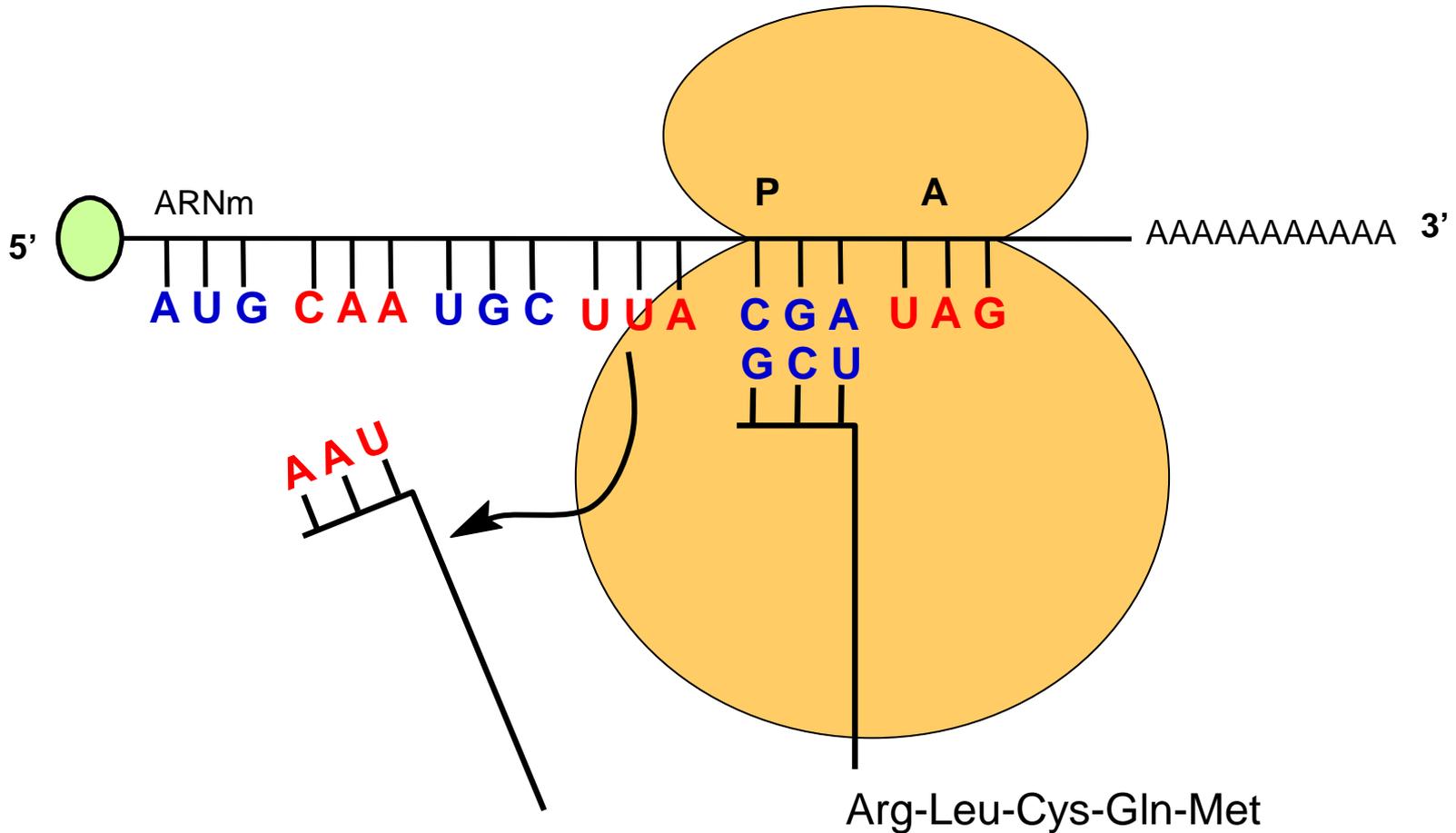
Elongación XI: Unión del péptido Met-Gln-Cys con el 4º aminoácido, la leucina (Leu).
Liberación del ARNt de la leucina. El ribosoma se desplaza a la 5ª posición



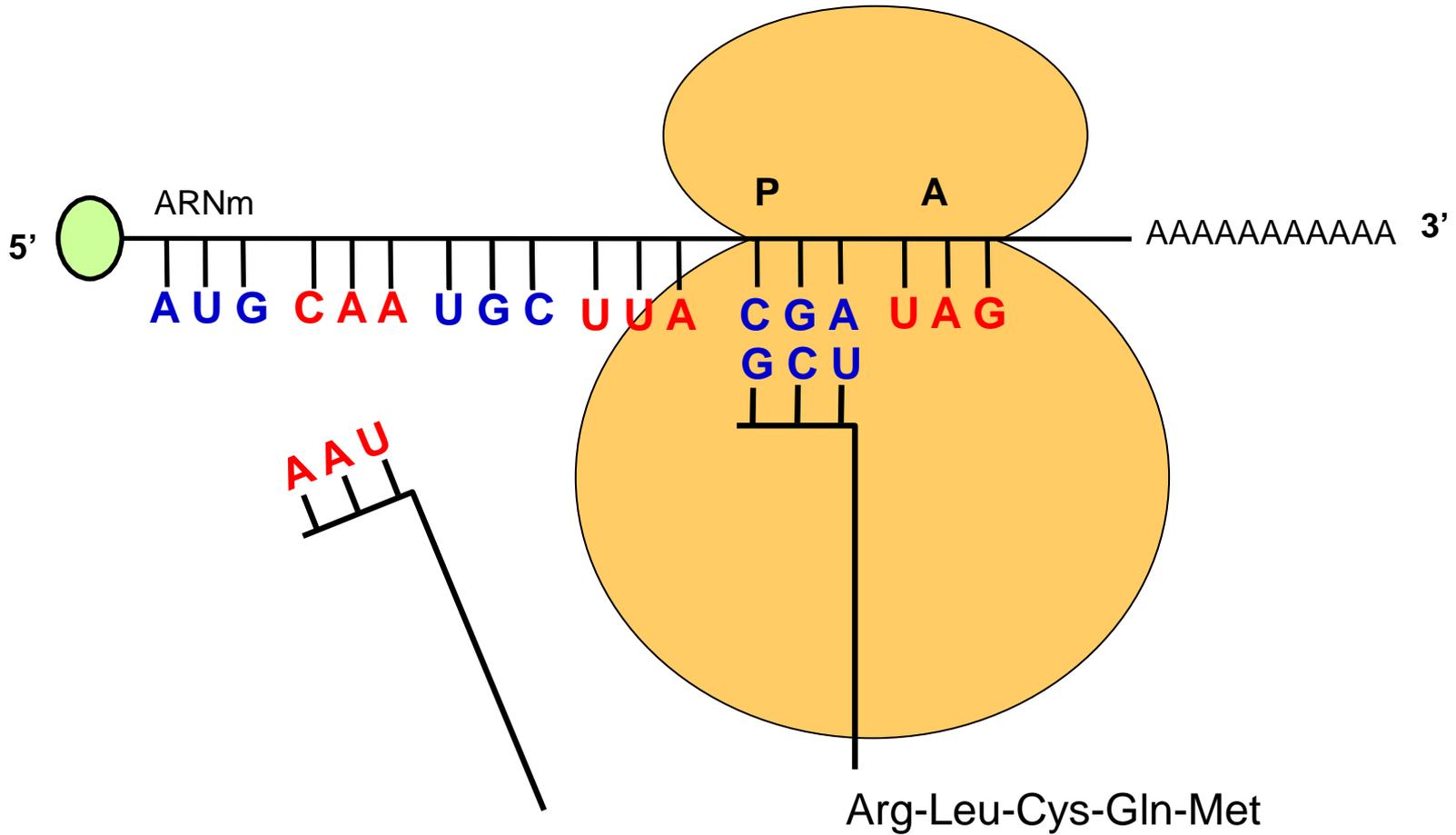
Elongación XII: Entrada del ARNt de la leucina, el 5º aminoácido, la arginina (ARNt-Arg).



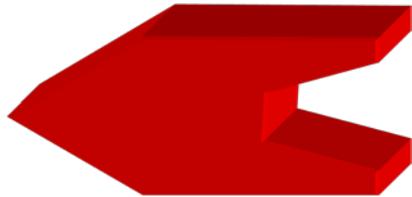
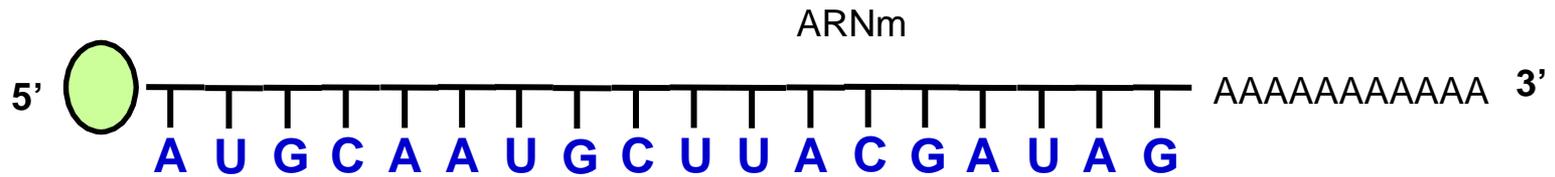
Elongación XIII: Unión del péptido Met-Gln-Cys-Leu con el 5º aminoácido, la arginina (Arg). Liberación del ARNt de la leucina (Leu). El ribosoma se desplaza a la 6ª posición, se trata del un codón de finalización o de stop.



Finalización I: Liberación del péptido o proteína. Las subunidades del ribosoma se disocian y se separan del ARNm.



Finalización II: Después de unos minutos los ARNm son digeridos por enzimas del citoplasma.



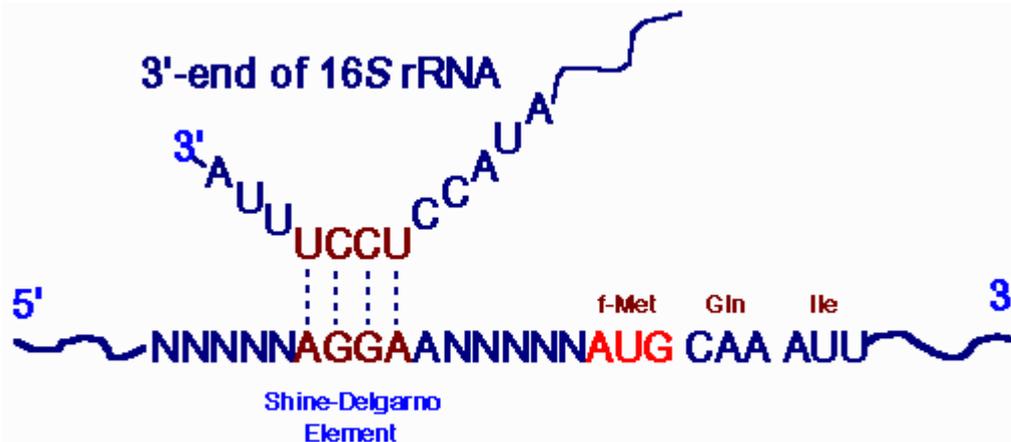
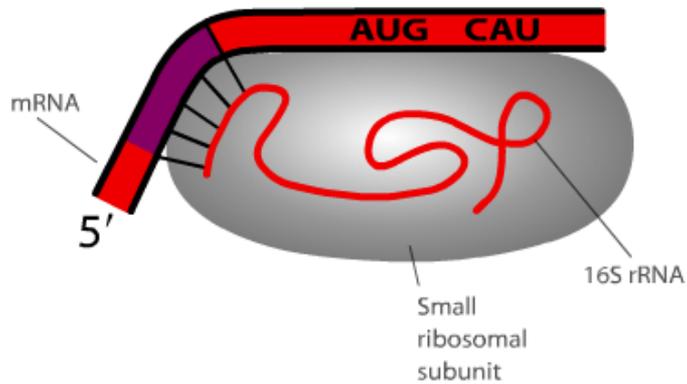
(i)

Traducción en procariontas

Iniciación

- *N-formil metionina es el aminoácido inicial en todas las proteínas.*
- 2 tRNA met:
 - tRNA met, f → reconoce AUG como codón inicial
 - tRNA met, m → reconoce codones AUG excepto inicial
- *Complejo de iniciación (requiere un GTP)*
 - Subunidad 30S + mRNA + tRNA^{Met_f} + 3 factores de iniciación IF1, 2 y 3.
 - Secuencia de Shine-Dalgarno: 16S rRNA (3') complementario mRNA (5').
 - Subunidad 50S se une al complejo
 - Sitio A (aminoacil): entra nuevo tRNA
 - Sitio P (peptidil): crecimiento cadena polipeptídica
 - Sitio E (salida): salida tRNA desacilado

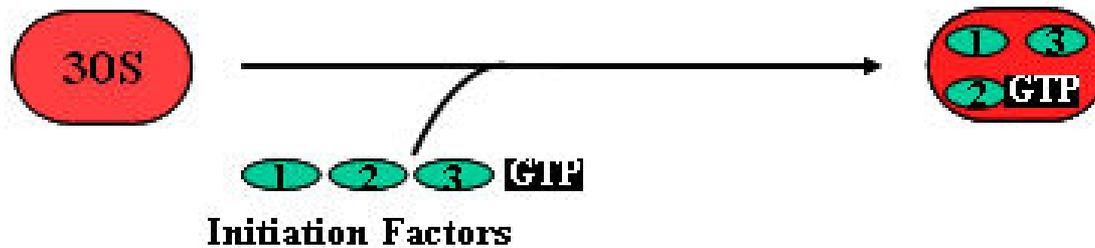
Translation Initiation



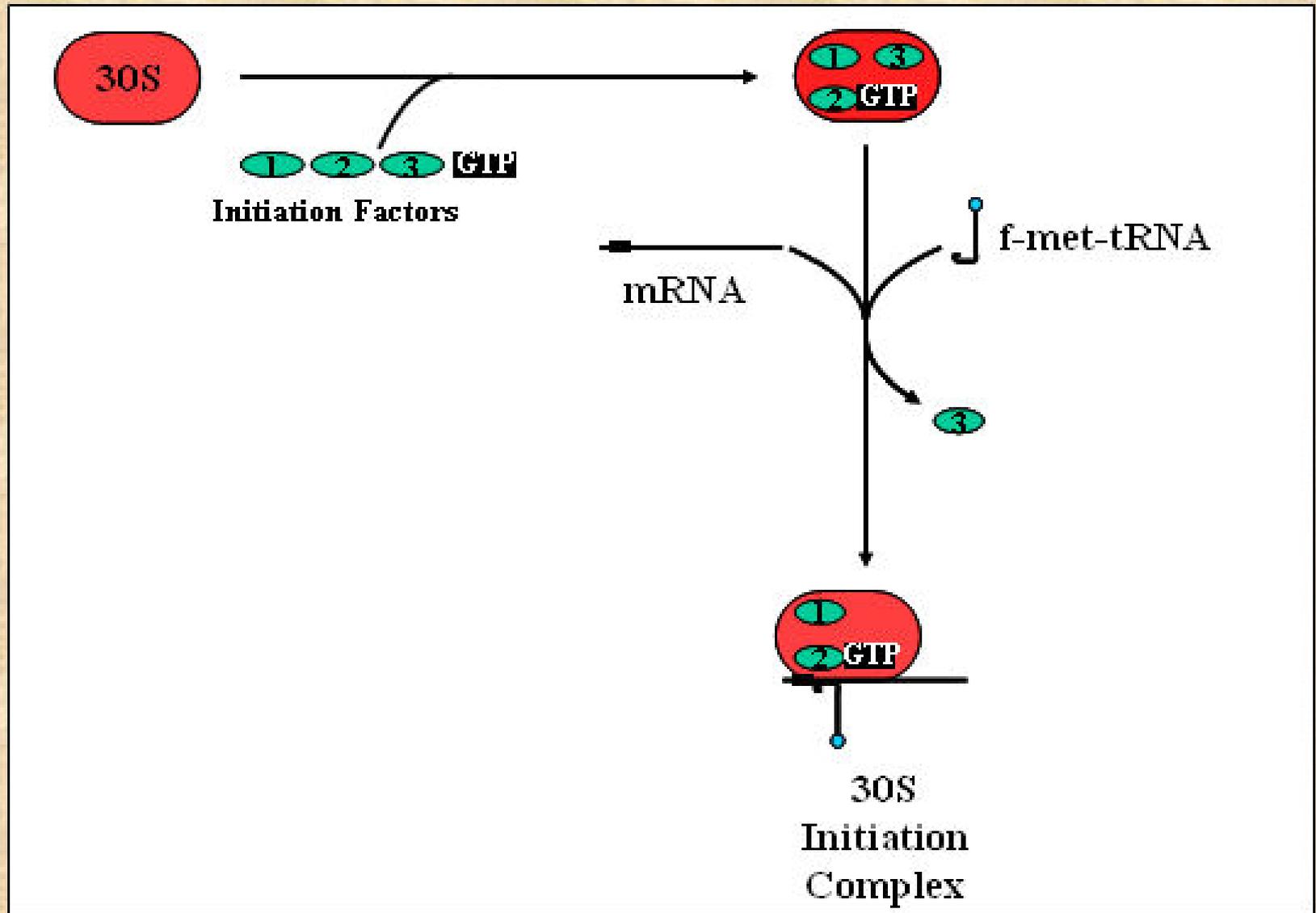
Copyright 1996 M.W.King

El elemento Shine-Dalgarno se encuentra en el extremo 5' del codón iniciador AUG en mRNAs policistrónicas de procariontes. El elemento es complementario a las secuencias presente cerca del extremo 3' del rRNA 16S del ribosoma procariótico.

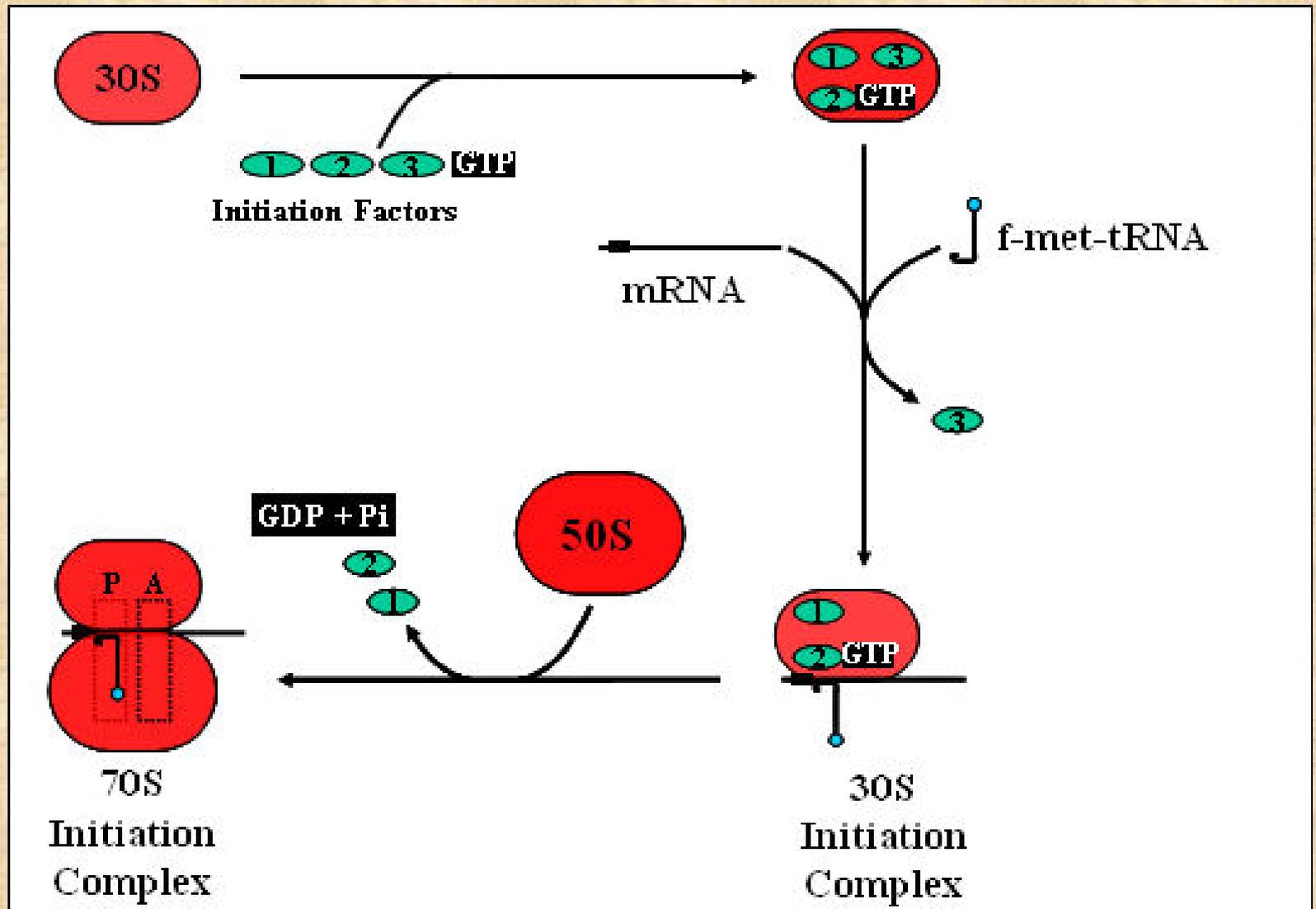
Review of Initiation of Protein Synthesis



Review of Initiation of Protein Synthesis



Review of Initiation of Protein Synthesis



Initiation of protein synthesis in *E. coli* requires initiation factors **IF-1, IF-2, & IF-3**.

- ◆ **IF-3** binds to the **30S ribosomal subunit**, freeing it from its complex with the 50S subunit.
- ◆ **IF-1** assists binding of **IF-3** to the 30S ribosomal subunit.
IF-1 also **occludes the A site** of the small ribosomal subunit, helping insure that the initiation aa-tRNA $fMet-tRNA^{fMet}$ can bind only in the P site & that no other aa-tRNA can bind in the A site during initiation.
- ◆ **IF-2** is a small **GTP-binding** protein.
IF-2-GTP binds the initiator $fMet-tRNA^{fMet}$ & helps it to dock with the small ribosome subunit.

Eucariotas

Complejo de Iniciación en eucariotas:

- Participan 11 Factores de Iniciación (IF).
- No existe la secuencia Shine-Dalgarno.



- Se forma un complejo de **preiniciación** entre IF2, tRNA^{met} y GTP

INICIACIÓN

eIF1 y eIF3 se unen a S menor (complejo de preiniciación)

IF4 se une al 5'CAP de mRNA

eIF4 se une a ARNm y a eIF3 para que el ARNm se coloque sobre la S menor (complejo de iniciación)

eIF5 se une a la S mayor une las subunidades separando a eIF2 , eIF1 y eIF3

Traducción

Elongación

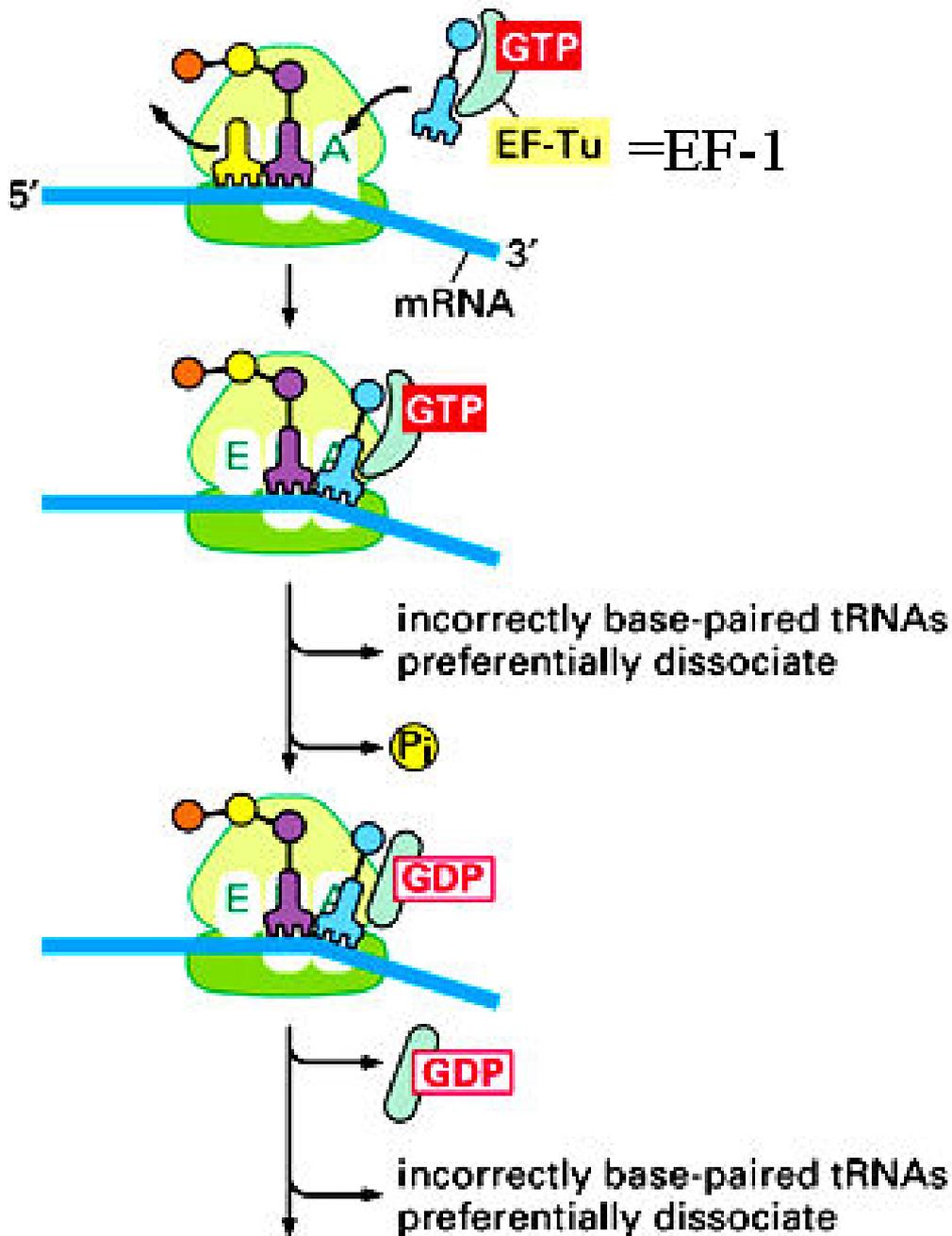
- Segundo tRNA
 - Reconocimiento mediante el enlace de hidrógeno codón-anticodón
 - Requiere *GTP* + 2 factores de elongación (EF-Ts y EF-Tu)
- Formación enlace peptídico
 - Peptidil transferasa: centro activo en 50S
 - Extremo carboxil (enlace rico en energía) del aa en sitio P con extremo amino aa sitio A
 - El tRNA vacío (sin aa) es el del sitio P
- Translocación: Movimiento del ribosoma respecto mRNA de modo tRNA con cadena polipeptídica pasa sitio P, y sitio A quede vacío
 - Requiere *GTP*, y factor EF-G (Translocasa)

Elongation requires participation of **elongation factors**

- **EF-Tu** (also called EF1A)
- **EF-Ts** (EF1B)
- **EF-G** (EF2)

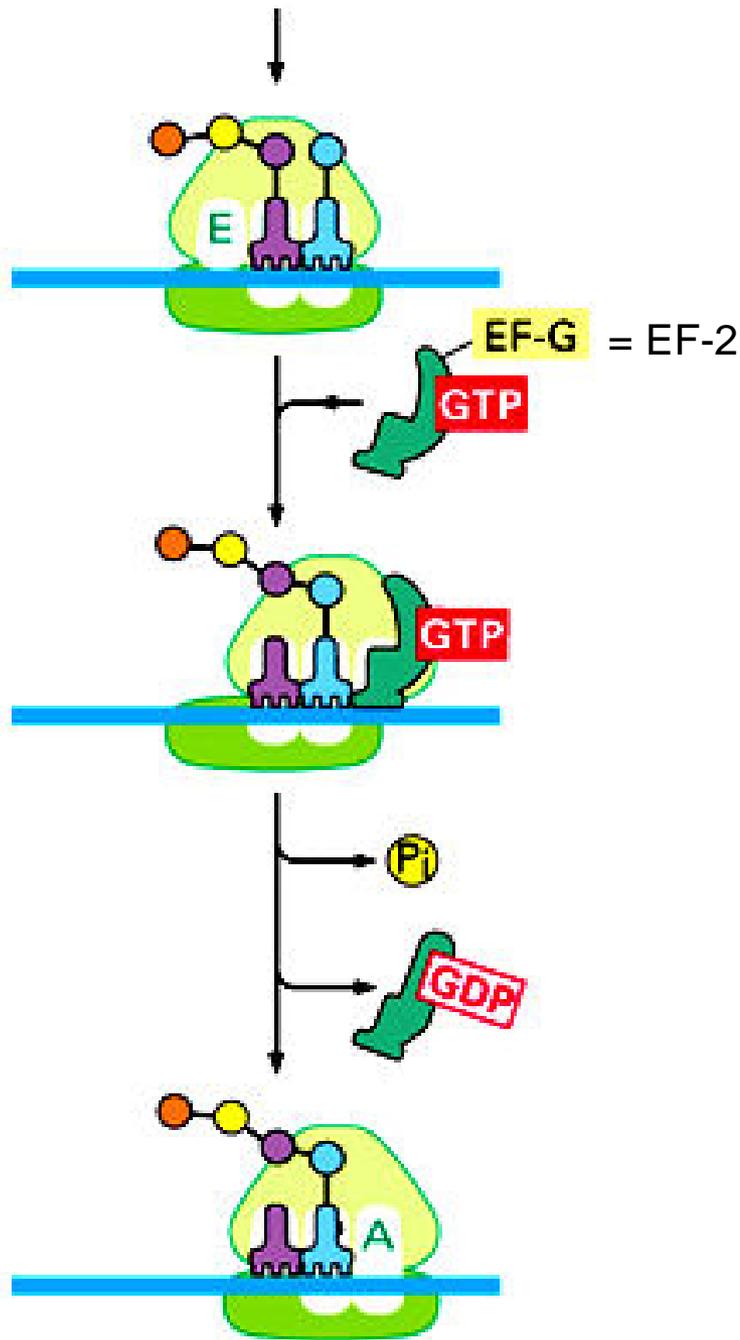
EF-Tu & EF-G are small GTP-binding proteins.

The sequence of events follows.



Proper reading of the anticodon is the second important quality control step ensuring accurate protein synthesis

Elongation factors
Introduce a two-step
“Kinetic proofreading”



A second elongation factor
EF-G or EF-2, drives the
translocation of the ribosome
along the mRNA

Together GTP hydrolysis
by EF-1 and EF-2 help drive
protein synthesis forward

Traducción

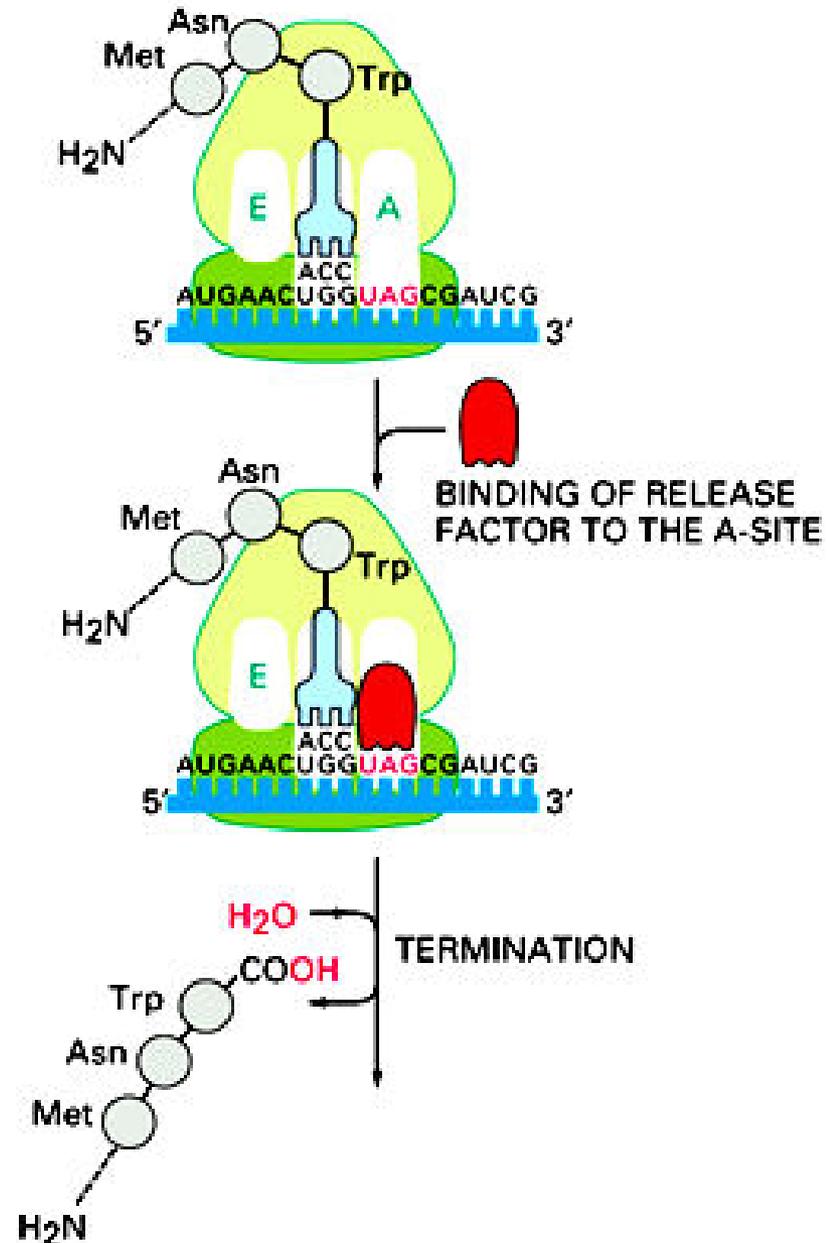
Terminación

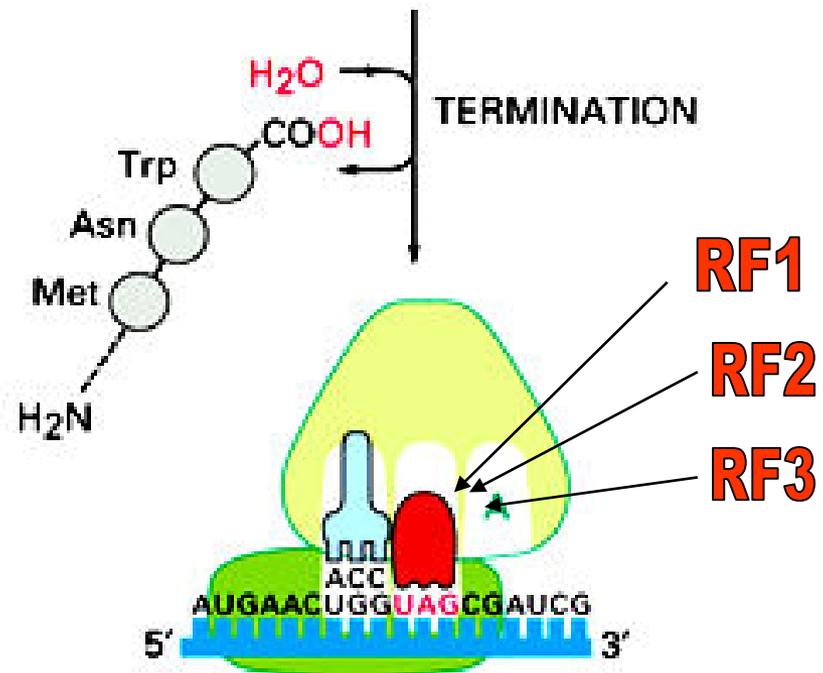
- Codón sin sentido
 - No codifica ningún aminoácido
 - UAG (Ambar), UAA (Ocre), UGA (Opal)
 - Factor de liberación o terminación (RF) y un GTP -> Liberan la proteína del ribosoma
 - Disociación del ribosoma

Termination of translation is triggered by stop codons

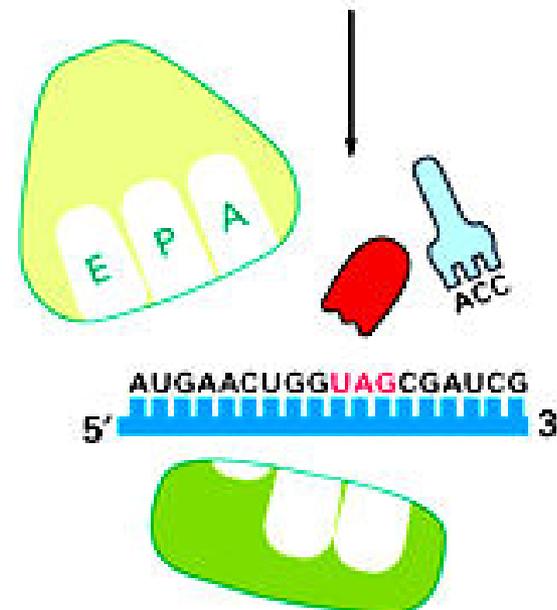
Release factor enters the A site and triggers hydrolysis the peptidyl-tRNA bond leading to release of the protein.

Use GTP

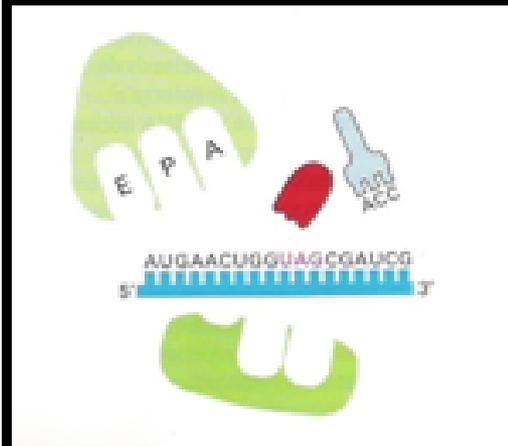
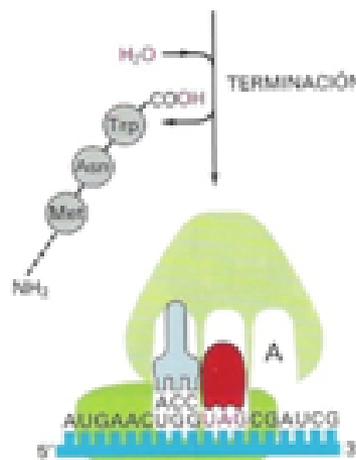
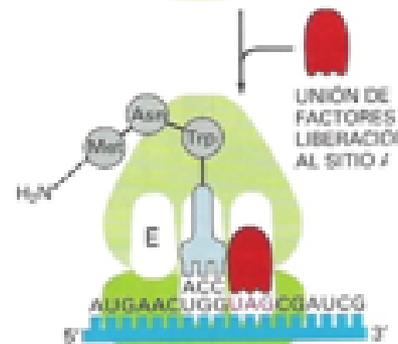
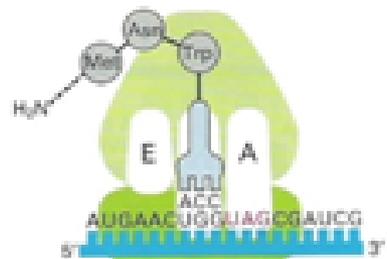




Release of the protein causes the disassociation of the ribosome into its constituent subunits.



TERMINACIÓN



eRF-1 y 2 reconocen los codones de terminación (UAA, UAG, UGA) y eRF-3 colabora con ellos

Traducción: Resumen

Requiere mucha energía (90%) Un enlace peptídico requiere: 2 ATP cargan 2 tRNA, 1 GTP (tRNA en sitio A), 1GTP (translocar)

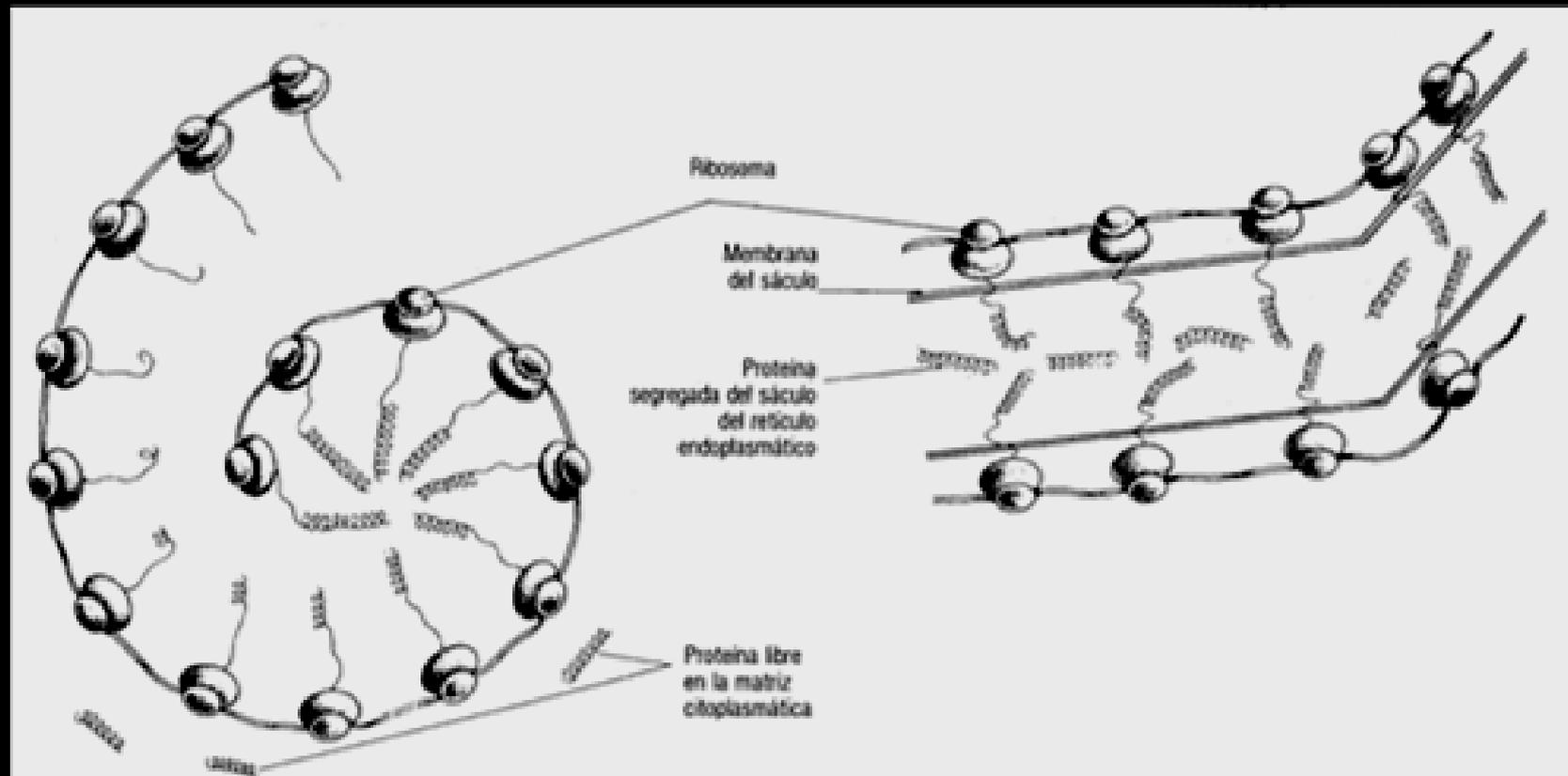
•Procariotas:

- Acoplamiento transcripción - traducción
- Más de un gen por mRNA: mensajeros policistrónicos. Vel síntesis: 300 aa/20 segundos

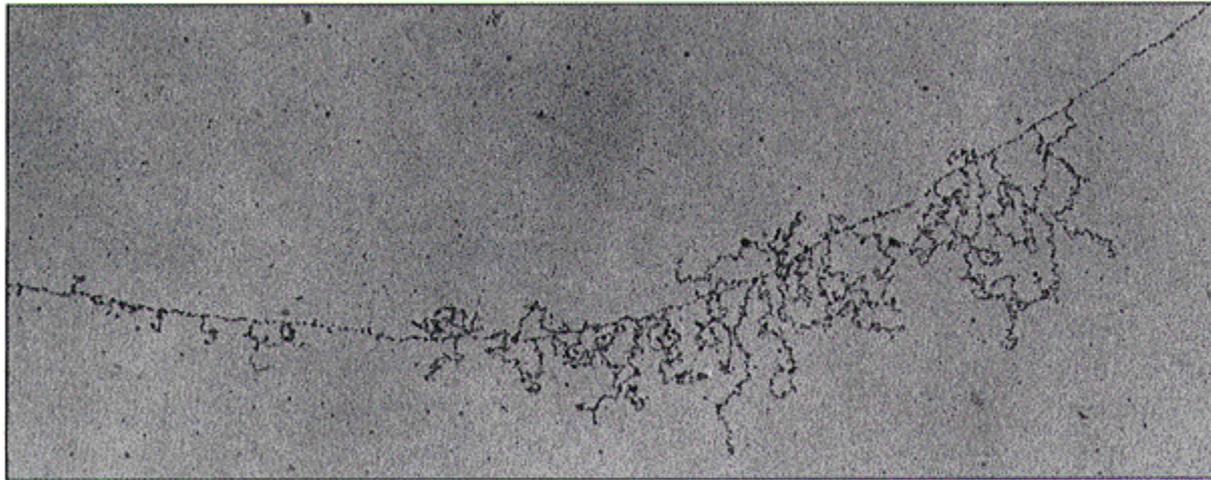
•Eucariotas:

- No acoplamiento, mensajeros no policistrónicos. Vel síntesis: 30 aa/2,5 minutos
- Muchos ribosomas se encuentran en un mRNA (polisoma o poliribosoma)
- Proteínas de membrana: péptido señal
 - Aminoácidos N-terminal (10-20) + partícula reconocimiento señal (SRP)
 - Se une ribosoma a una proteína de atraque de la membrana
 - Eliminación del péptido señal

POLIRIBOSOMAS



Poliribosoma

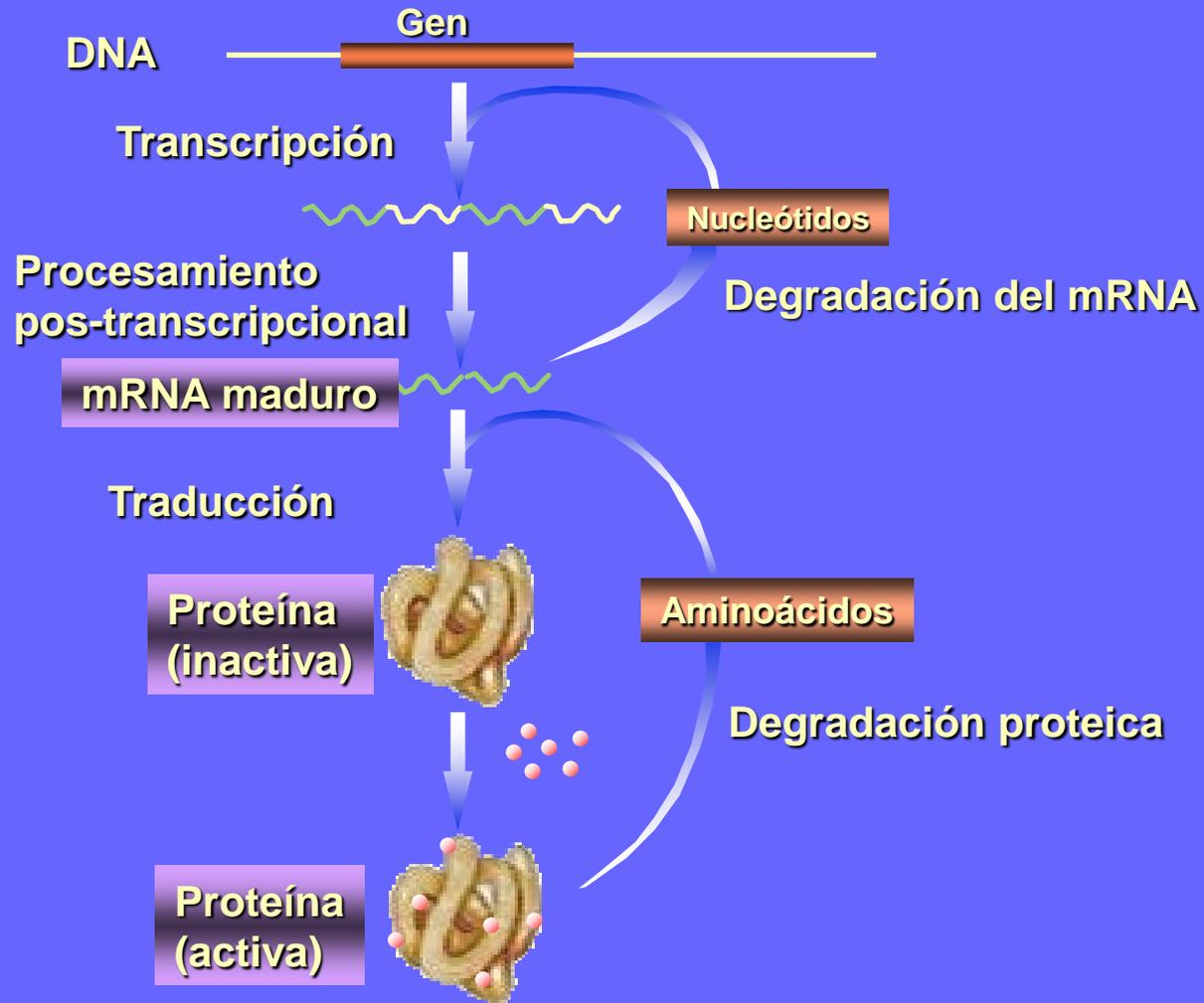


1 μ m

From The Art of MBoC³ © 1995 Garland Publishing, Inc.

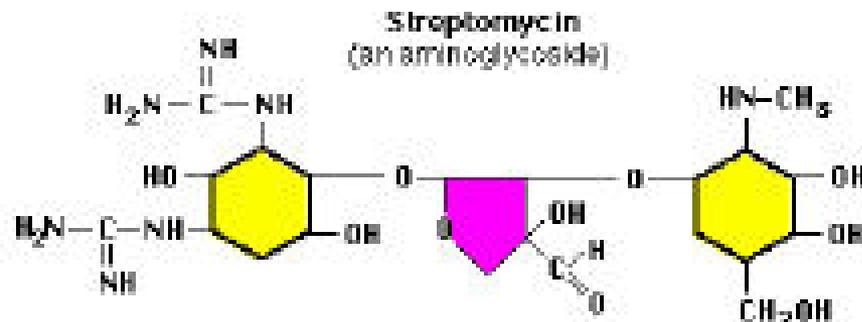


Regulación en la síntesis de proteína



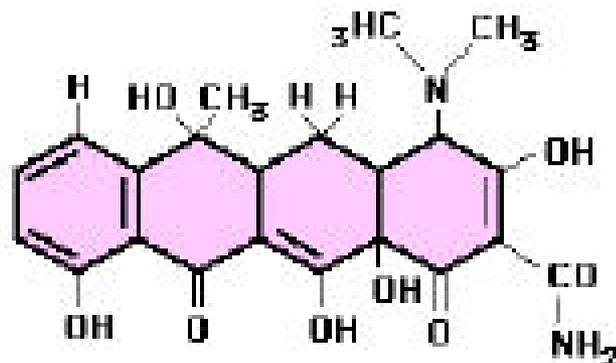
Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas: Traducción

Inhibidores de la síntesis de proteínas a nivel de la subunidad 30S



AMINOGLICÓSIDOS

Streptomicina
Gentamicina
Tobramicina
Amicacina



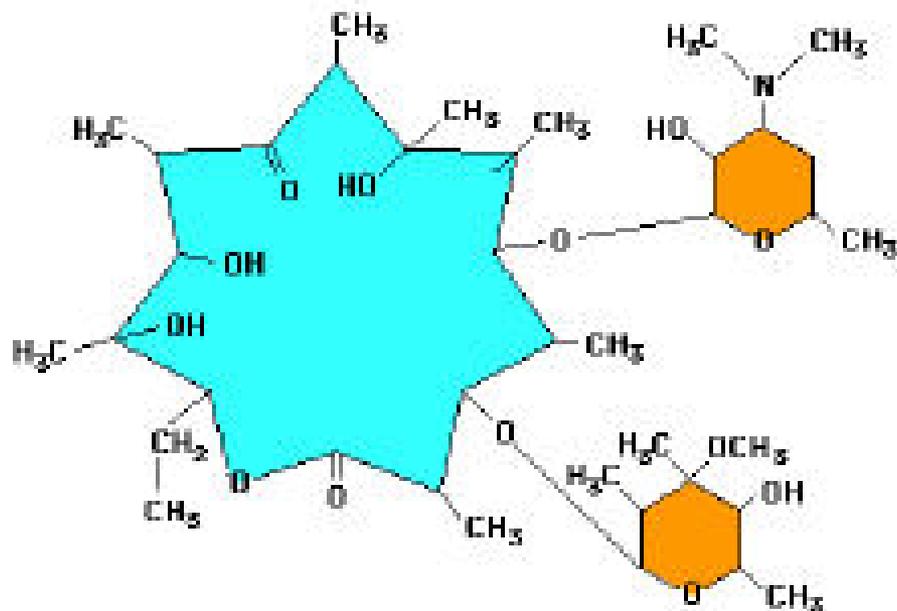
TETRACICLINAS

Tetraciclina
Aureomicina

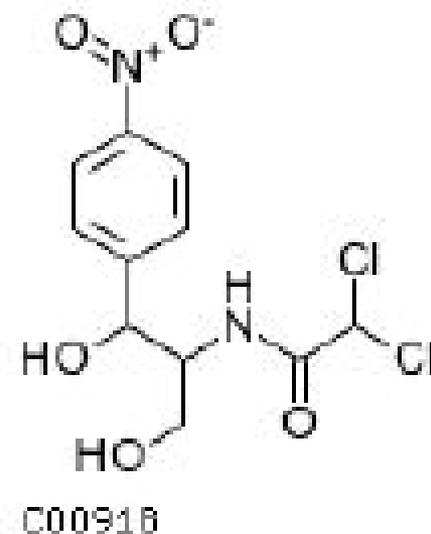
Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas: Traducción

Inhibidores de la síntesis de proteínas a nivel de la subunidad 50 S

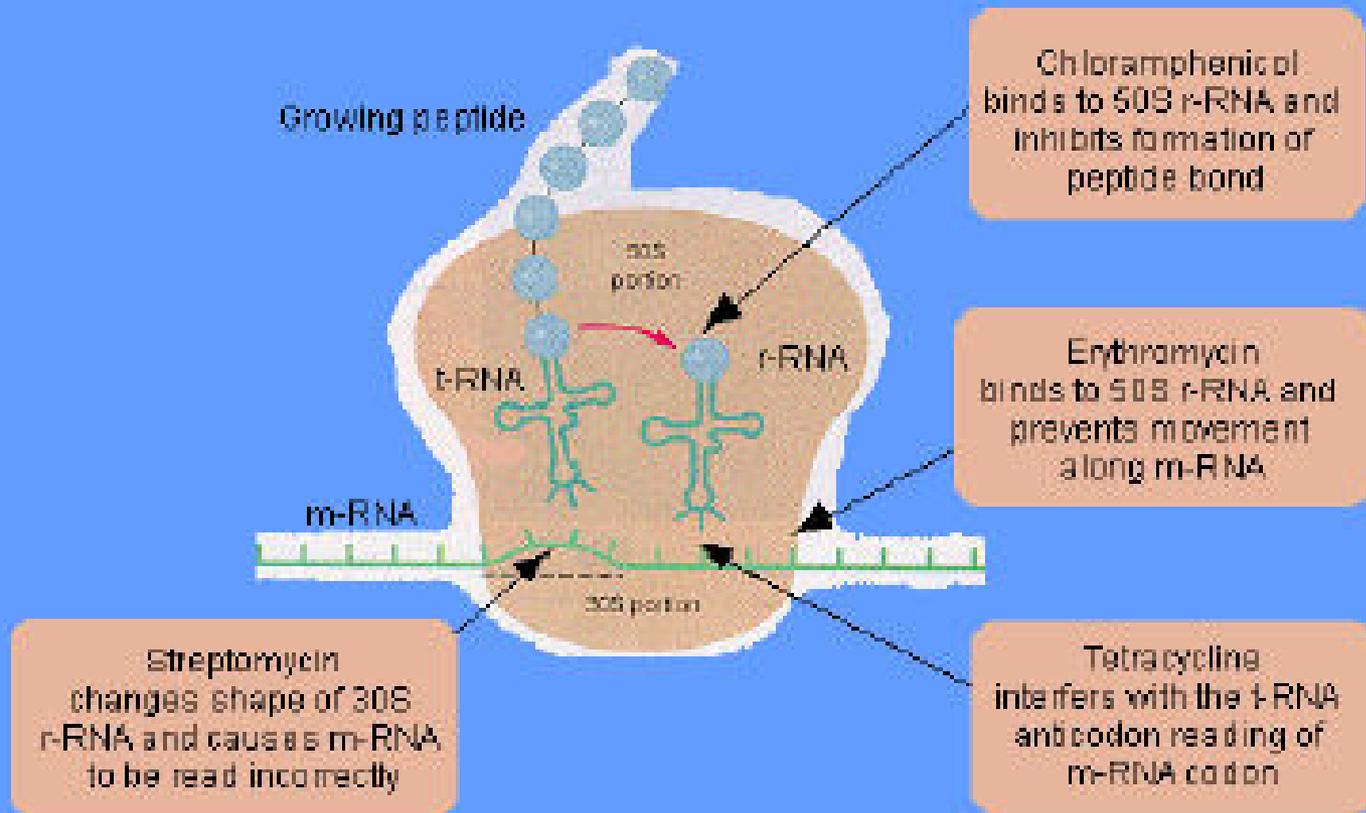
Erythromycin (a macrolide antibiotic)



Cloranfenicol



Inhibition of Protein Synthesis by Antibiotics



Translation Inhibitors are important antibiotics

TABLE 29.4 Antibiotic inhibitors of protein synthesis

Antibiotic	Action
Streptomycin and other aminoglycosides	Inhibit initiation and cause misreading of mRNA (prokaryotes)
Tetracycline	Binds to the 30S subunit and inhibits binding of aminoacyl-tRNAs (prokaryotes)
Chloramphenicol	Inhibits the peptidyl transferase activity of the 50S ribosomal subunit (prokaryotes)
Cycloheximide	Inhibits the peptidyl transferase activity of the 60S ribosomal subunit (eukaryotes)
Erythromycin	Binds to the 50S subunit and inhibits translocation (prokaryotes)
Puromycin	Causes premature chain termination by acting as an analog of aminoacyl-tRNA (prokaryotes and eukaryotes)