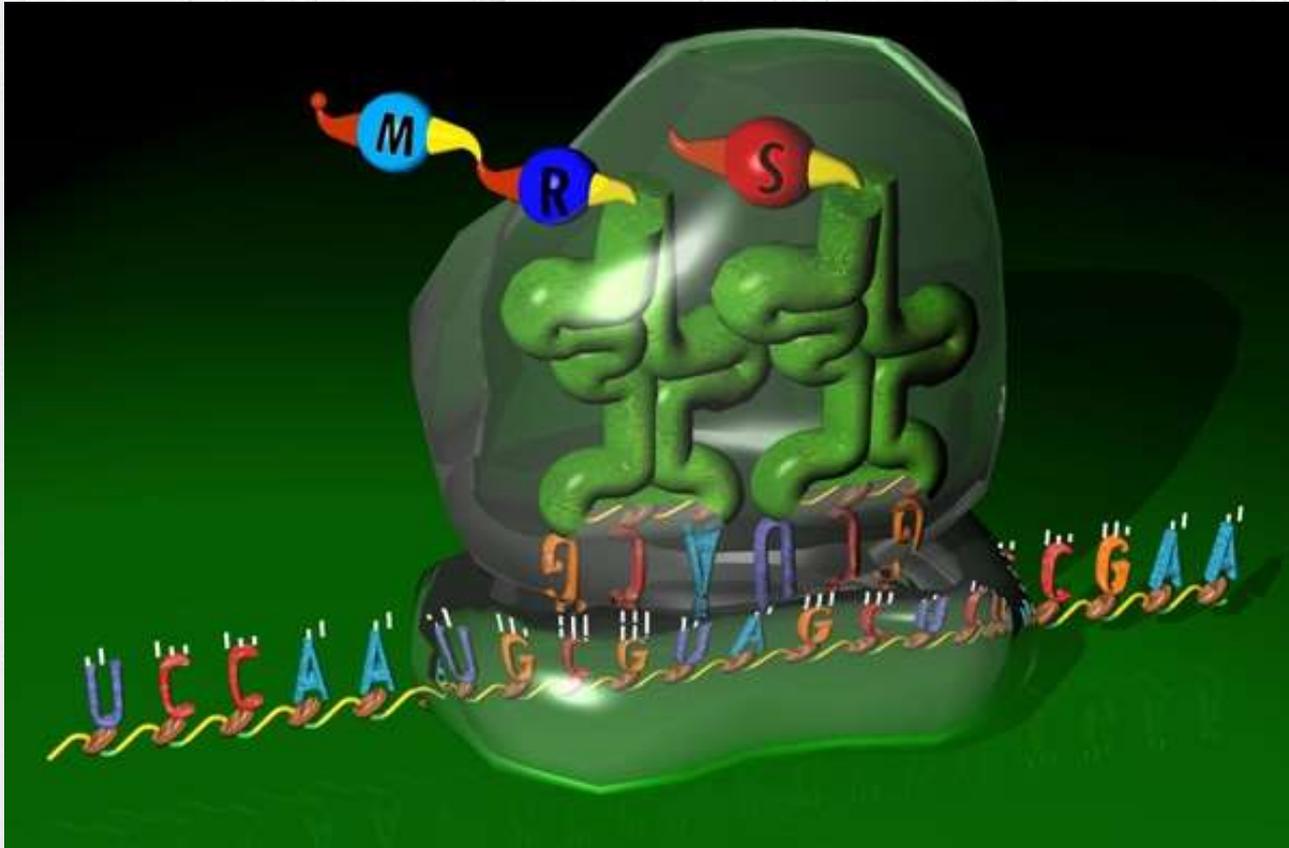


Expresión génica: traducción



Expresión génica: traducción

Deberán quedar bien claros los siguientes puntos:

- Ribosomas y RNA ribosómicos (rRNA)
- RNA de transferencia (tRNA)
- Traducción: Iniciación, Elongación y Terminación
- El código genético: degeneración, universalidad
- Redundancia y tambaleo
- Comparación de la traducción en procariotas y eucariotas
- Comparación entre replicación, transcripción y traducción
- Excepciones al dogma del flujo de la información

Traducción

Proceso por el que la secuencia de nucleótidos de un mRNA determina la estructura primaria de una proteína

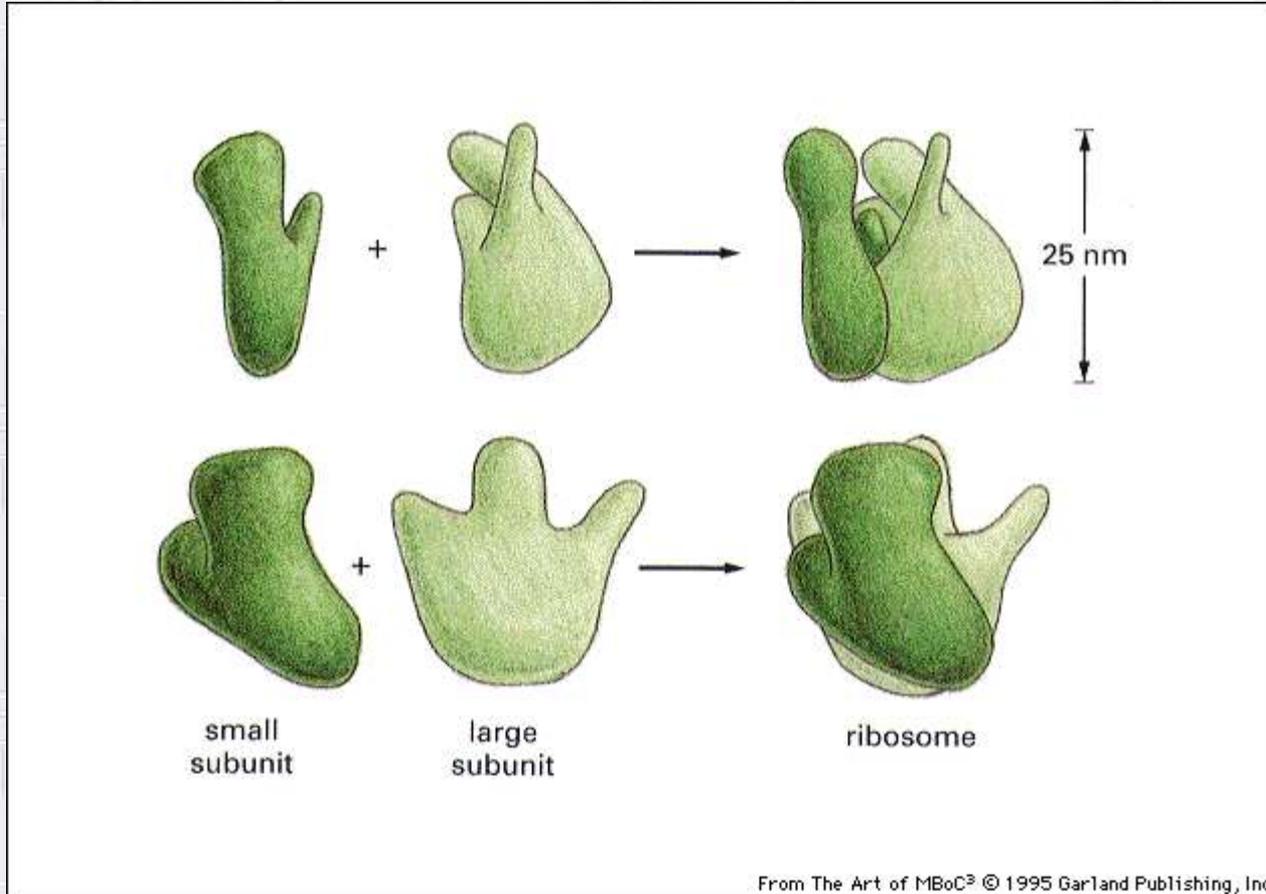
• **Aparato decodificador** -> Secuencia primaria de polipéptido

Ribosomas (rRNA + proteínas): lugar de síntesis
tRNA: Portador de aminoácidos
mRNA: Portador del mensaje cifrado

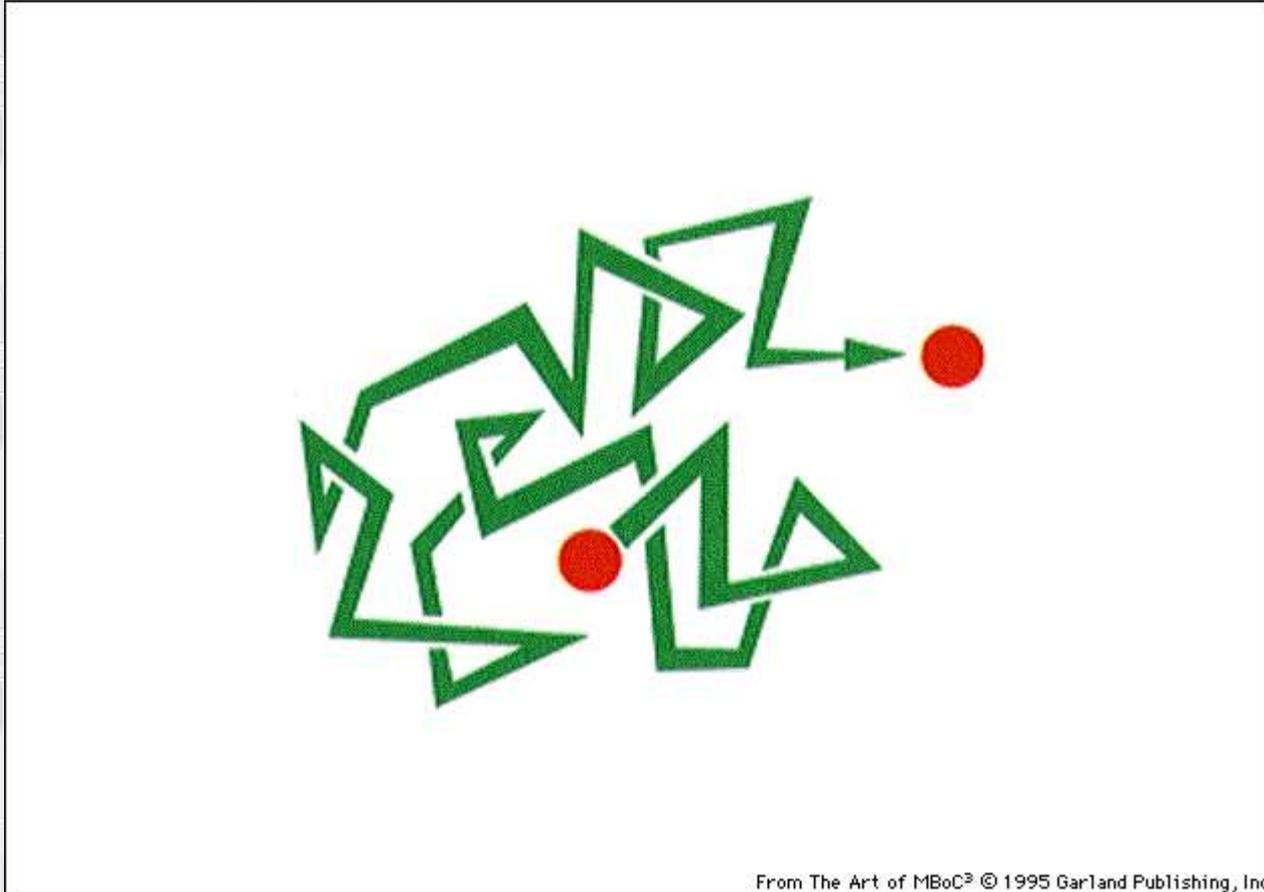
} 95%
RNA
total

Factores adicionales: IF, EF, RF, enlaces fosfatos
• Separación componentes mediante centrifugación en gradiente de sacarosa (velocidad de sedimentación, S-Svedberg-)

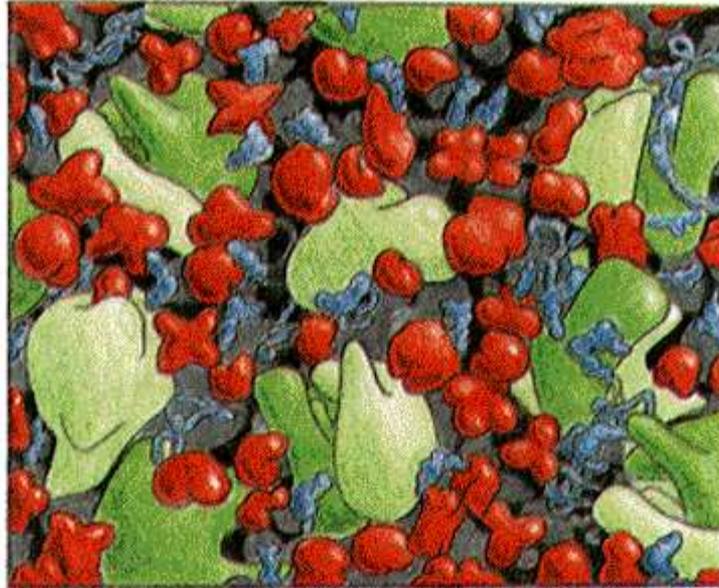
Ribosoma



El movimiento browniano es la fuerza dominante en el contexto celular



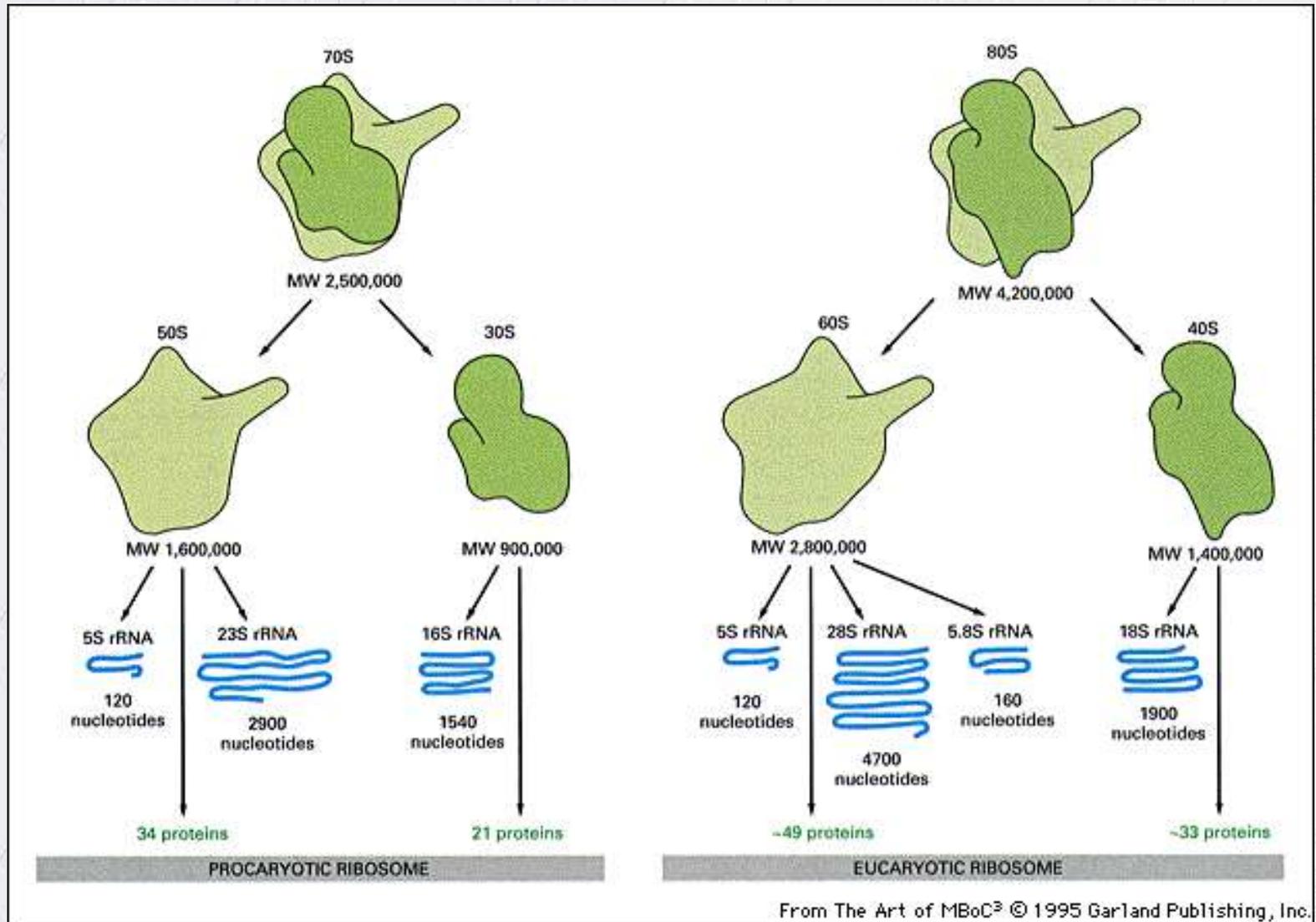
Contexto celular



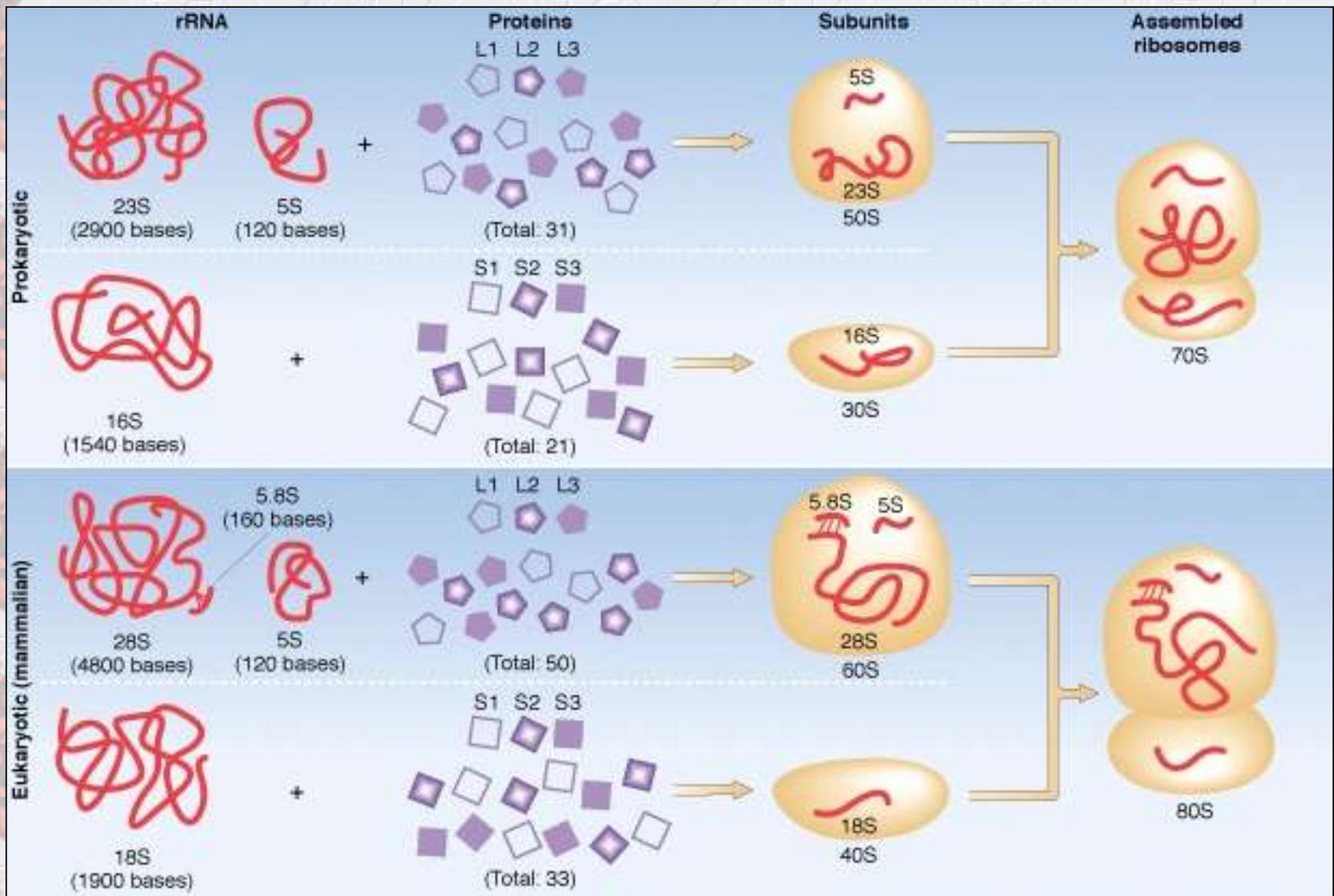
100 nm

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

Ribosoma



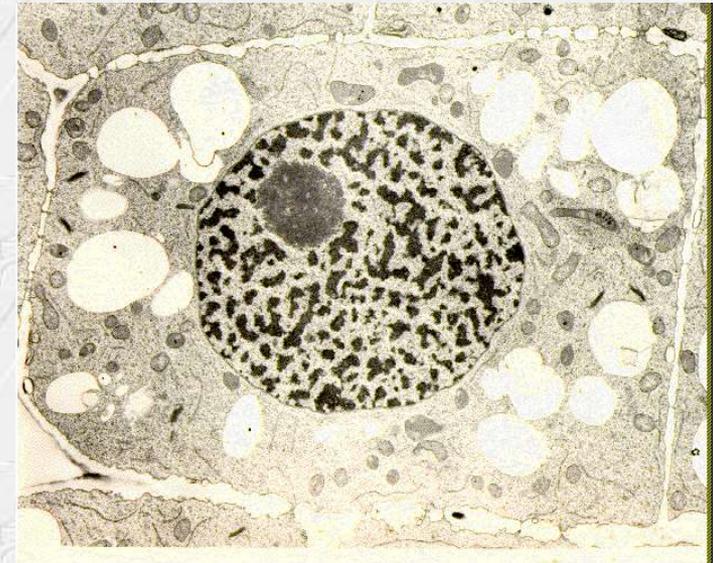
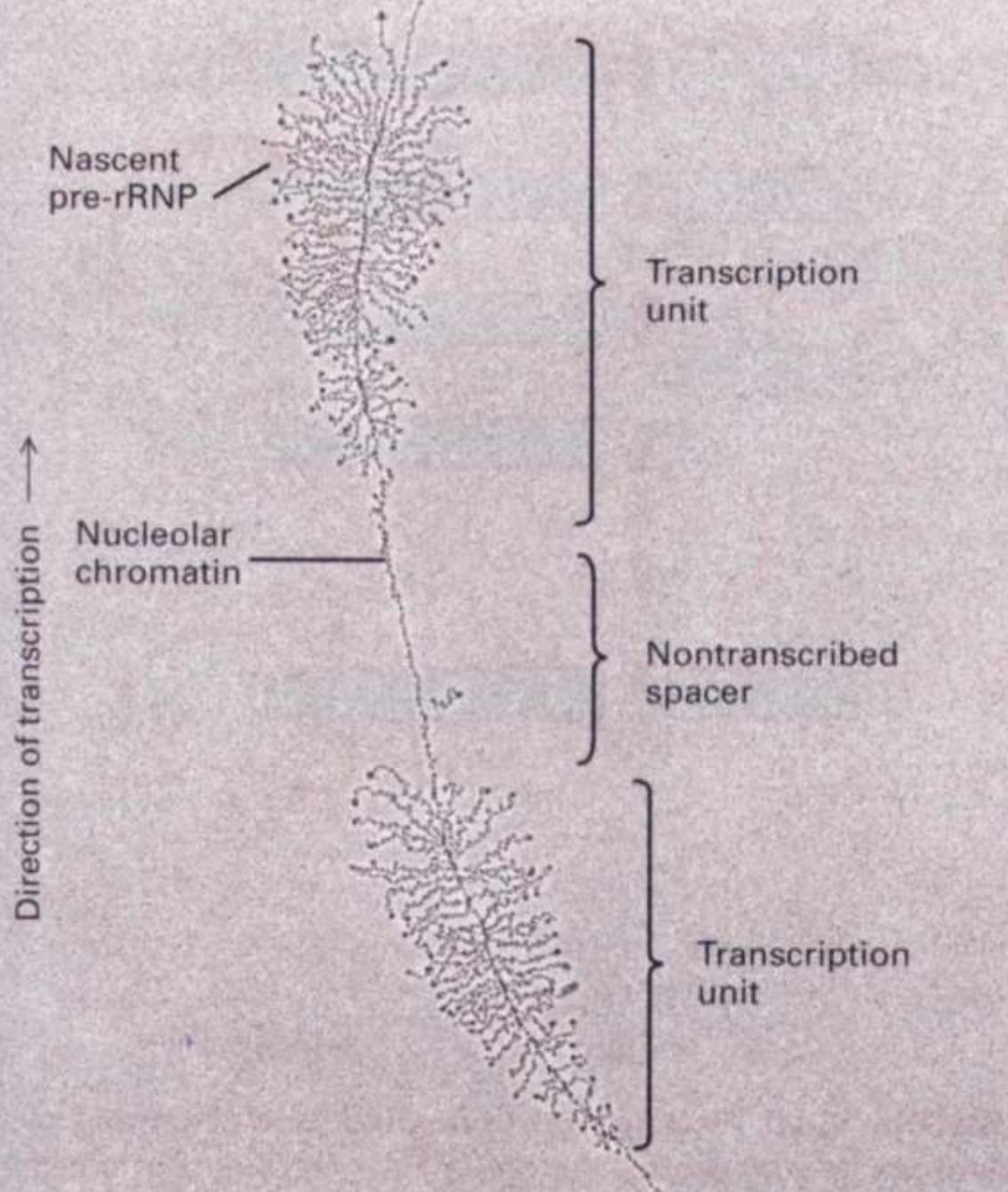
Ribosoma



Traducción

- El Ribosoma: agregado macromolecular proteínas y rRNA (70S en procariotas y 80S en eucariotas)
 - Dos subunidades: 50S con rRNA 23S y 5S (60S 5, 5,8 y 28 en eucariotas)
 - Pequeña: 30S con rRNA 16S (40S y 18S en eucariotas)
- Las tres moléculas de rRNA de *E. coli* se encuentran en el mismo transcrito. 5-10 copias del gen que codifica rRNA. Se obtiene proporción 1:1:1
- En eucariotas también se transcriben conjuntamente excepto rRNA 5S. *D. melanogaster* 130 copias rRNA genes en tándem cromosomas X e Y (el organizador nucleolar) que transcribe RNA pol I -> Nucleolo, mancha oscura núcleo eucariotas, lugar montaje ribosomas. Entre dos copias consecutivas hay DNA espaciador.

Transcripción rRNA



Nucleolo

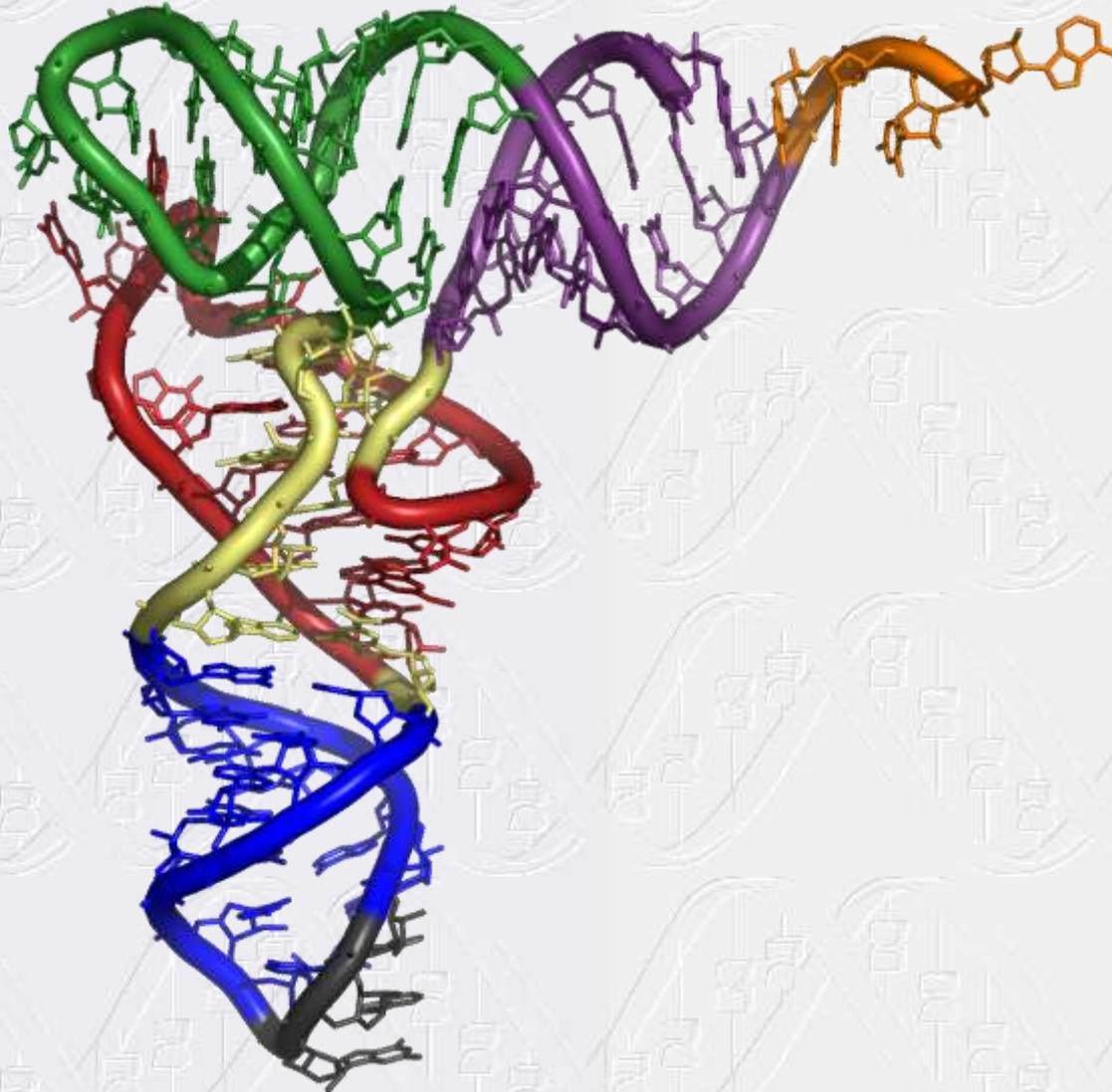


Mensaje:

Algunos genes codifican proteínas; otros genes especifican RNA (tRNA, rRNA, siRNA) como producto final. Luego,

Un gen es una región de DNA que codifica RNA

tRNA: la molécula adaptadora



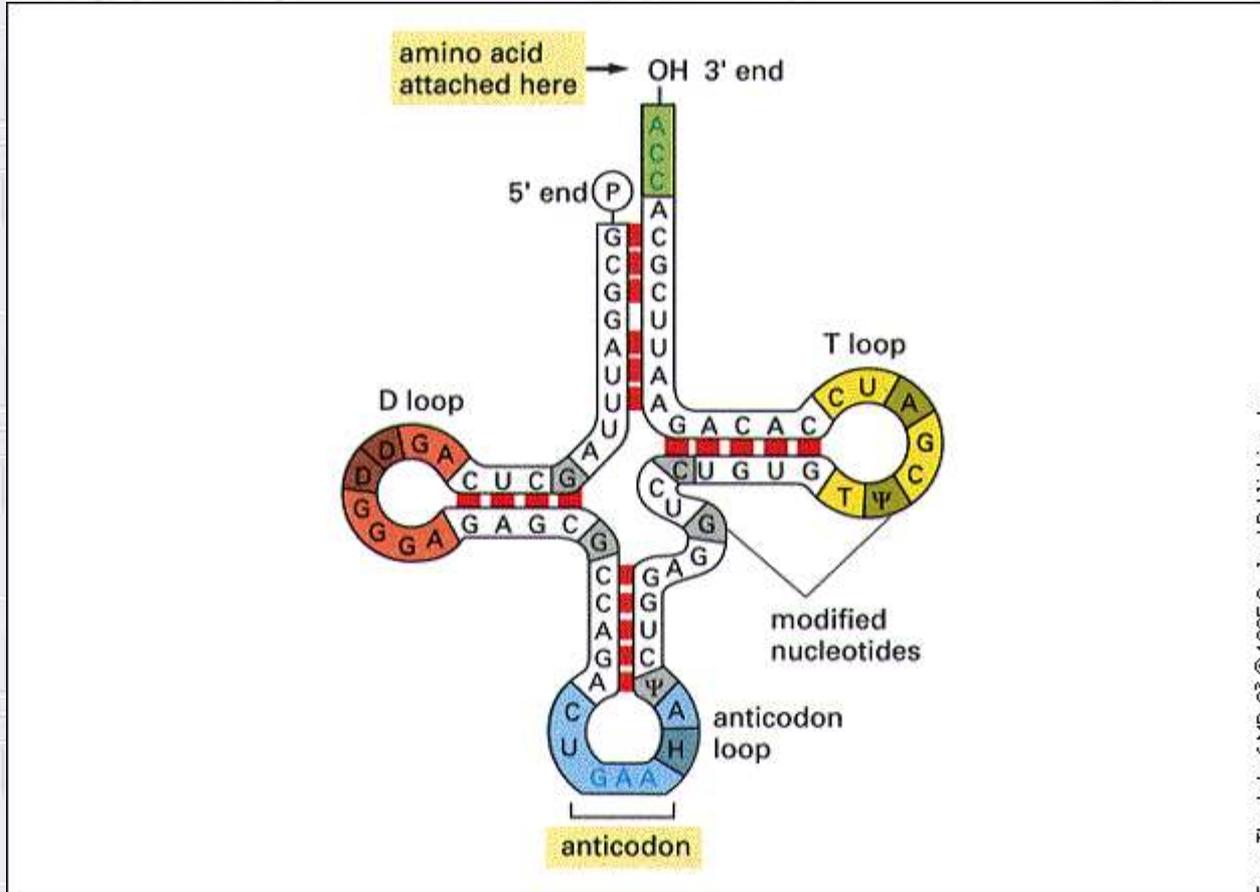
tRNA

- Región específica (anticodón) que se une a mRNA (codón)
- tRNAs son muy semejantes. 80 nc. Bases raras.
- Lazos T, lazo anticodón y lazo dihidroU
- Carga del aminoácido: Aminoacil tRNA, enlace ~
 - Aminoacil tRNA sintetasa específica para cada aa (20)
 - ATP
 - Unión aa extremo 3'OH del tRNA
 - Algunas tRNA reconoce > 1 codón: tambaleo

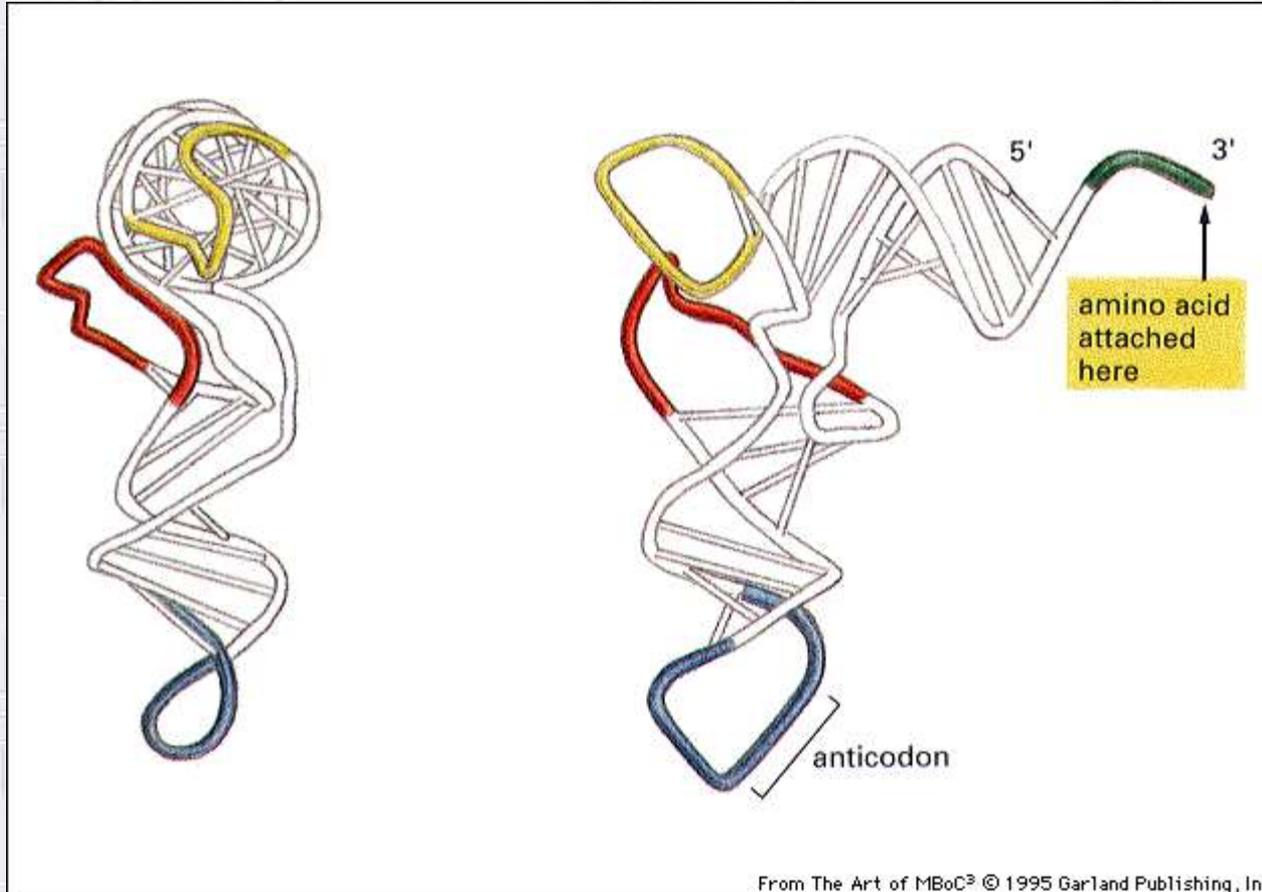
$Aa + ATP \rightarrow aa \sim P - \text{adenosina} + tRNA \rightarrow aa \sim tRNA + \text{adenosina} + P$

- Durante la síntesis se reconoce el tRNA (su anticodón) y no el aminoácido (Experimento de Chapeville)

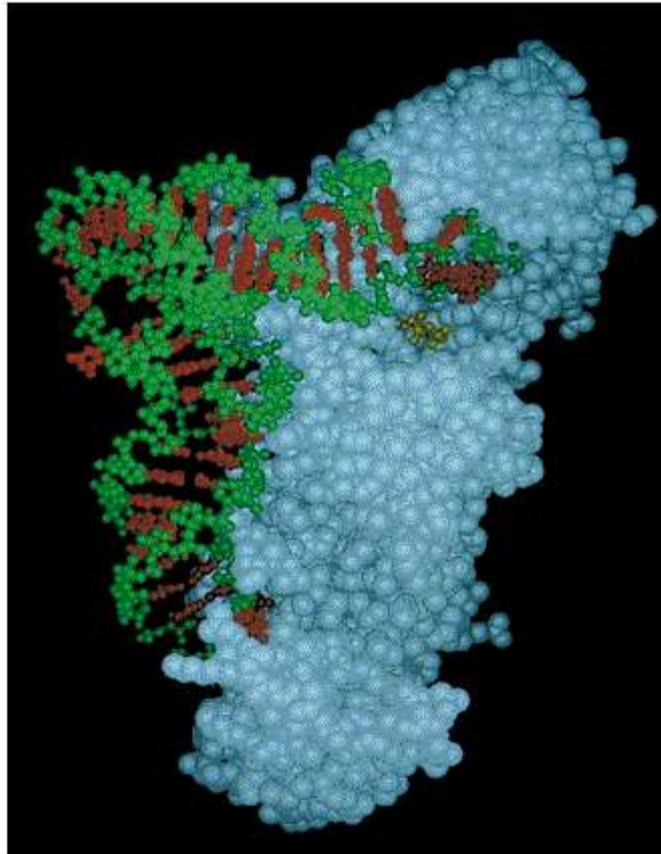
tRNA



tRNA



Aminoacil tRNA sintetisas



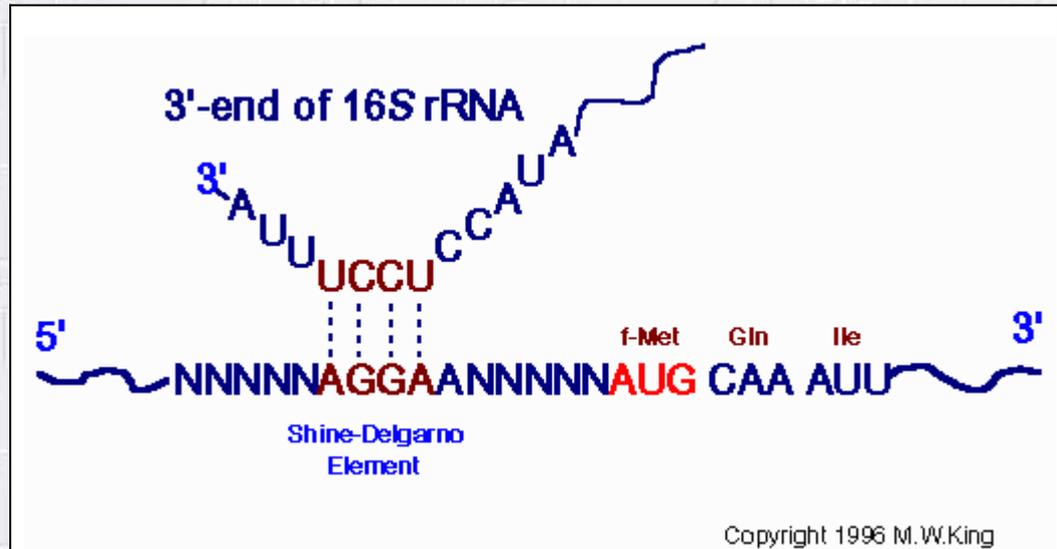
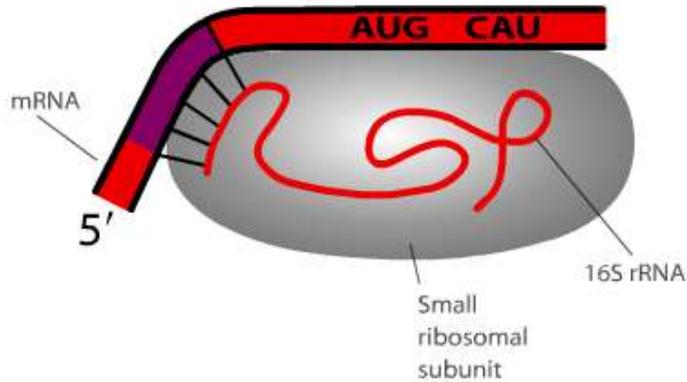
From The Art of MBoC³ © 1995 Garland Publishing, Inc.

Traducción

Iniciación

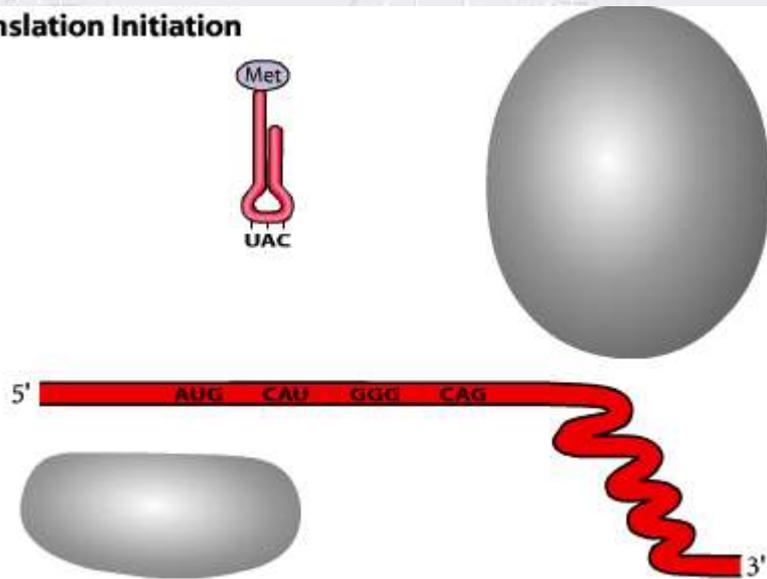
- N-formil metionina aminoácido inicial. Todas las proteínas tienen f-met en el extremo N-terminal (E. coli)
 - 2 tRNA met
 - tRNA met, f → reconoce AUG como codón inicial
 - tRNA met, m → reconoce codones AUG excepto inicial
- Complejo de iniciación (requiere un GTP)
 - Subunidad 30S + mRNA + tRNA^{Met_f} + 3 factores de iniciación IF1, IF2, IF3
 - Secuencia de Shine-Dalgarno: 16S rRNA (3') complementario mRNA (5'). En eucariota la caperuza 5' (7 metil guanosina)
 - 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

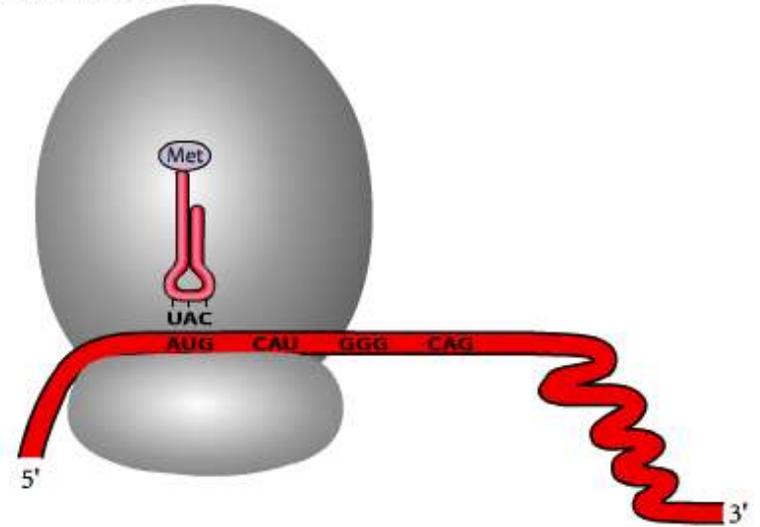


El elemento Shine-Delgarno se encuentra en el extremo 5' del codón iniciador AUG en mRNAs policistrónicas de procariontas. El elementos es complementario a las secuencias presente cerca del extremo 3' del rRNA 16S del ribosoma procariótico.

Translation Initiation



Translation Initiation

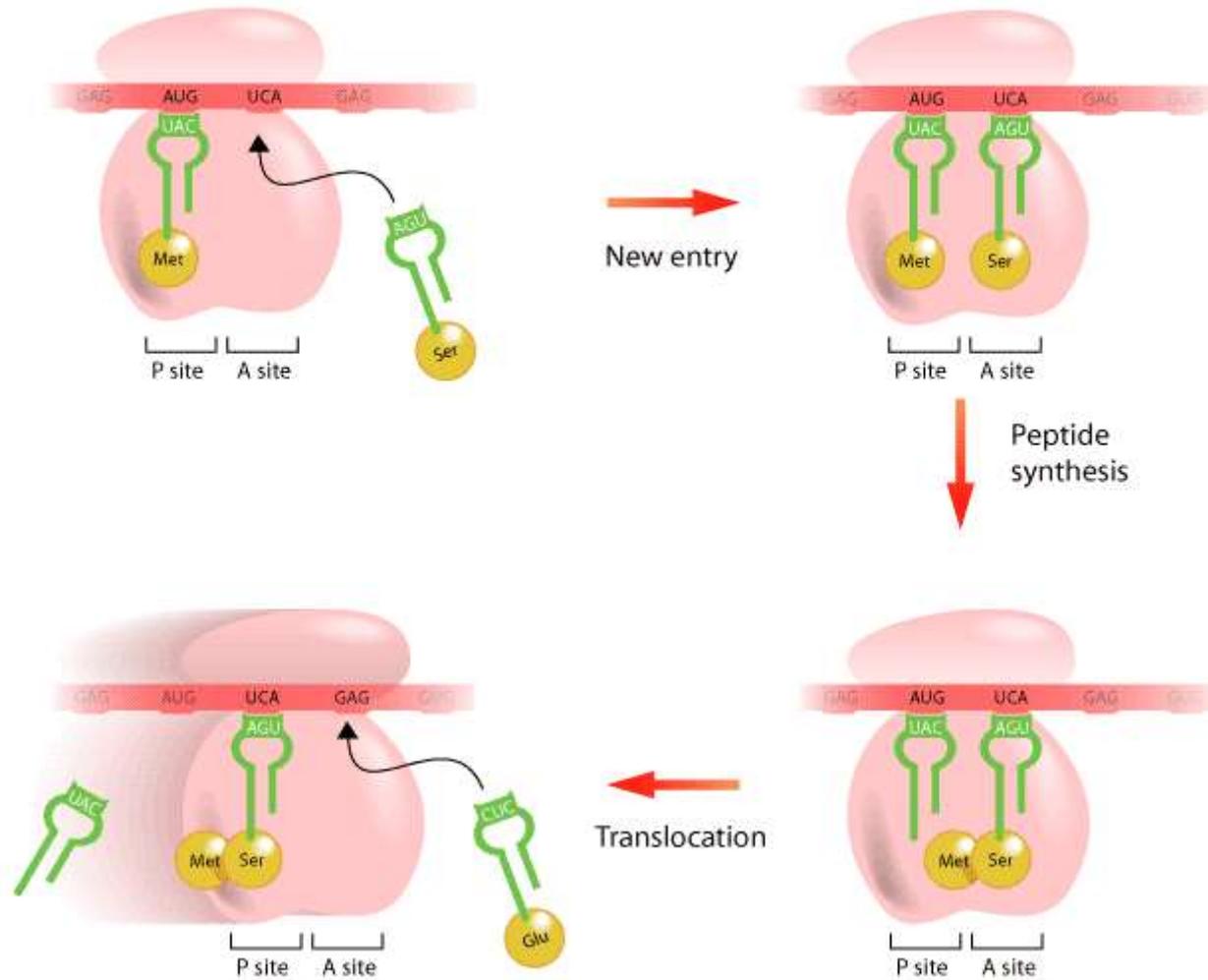


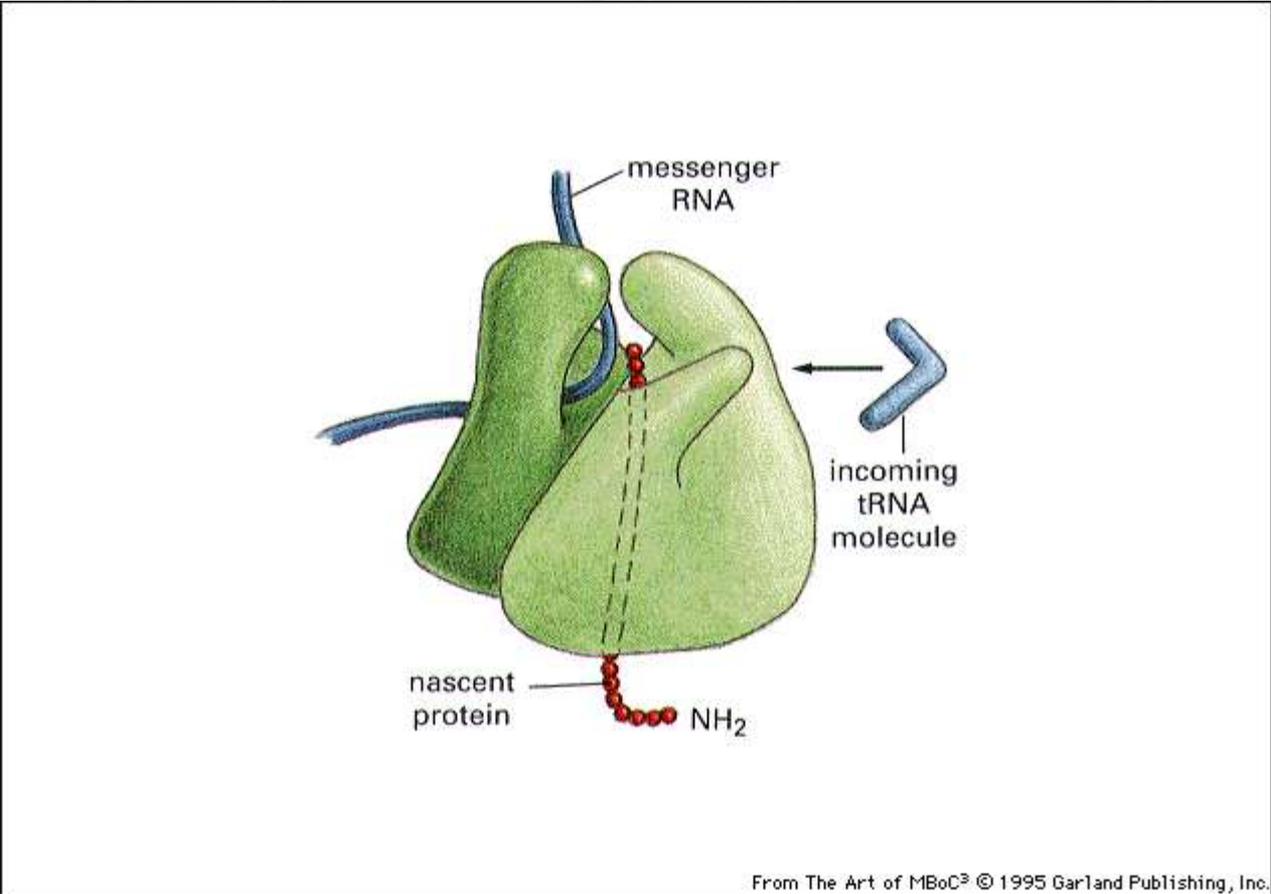
Traducción

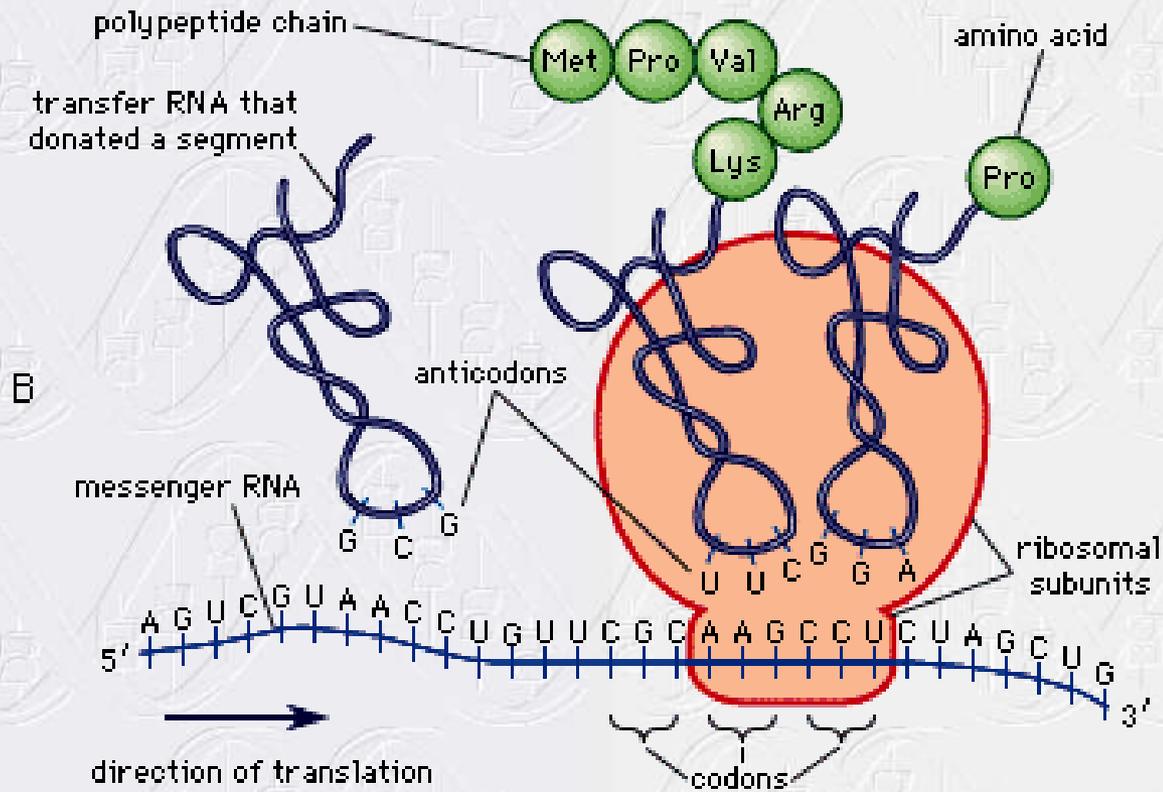
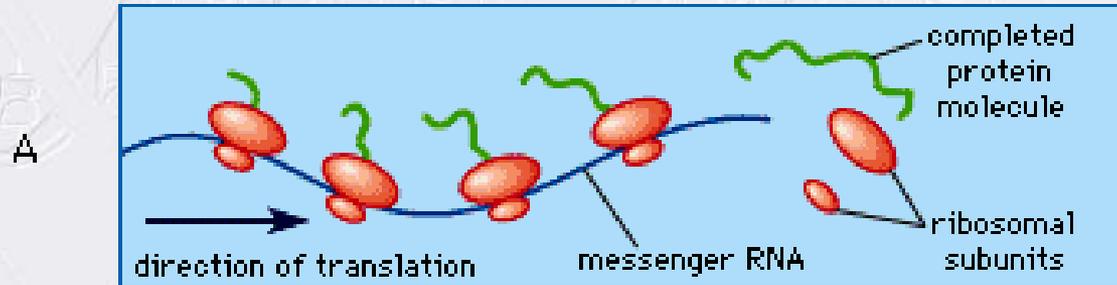
Elongación

- 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)

b) Elongation





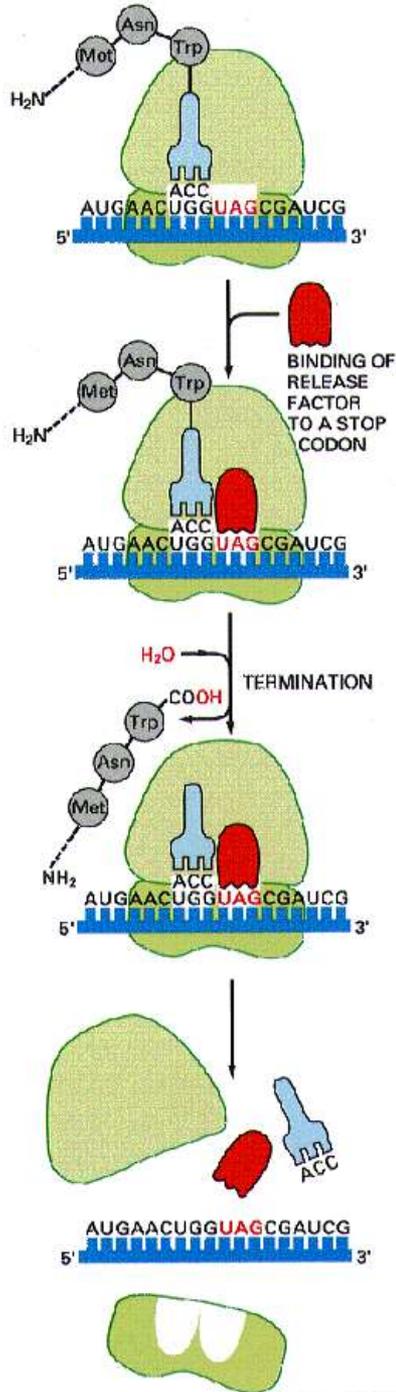


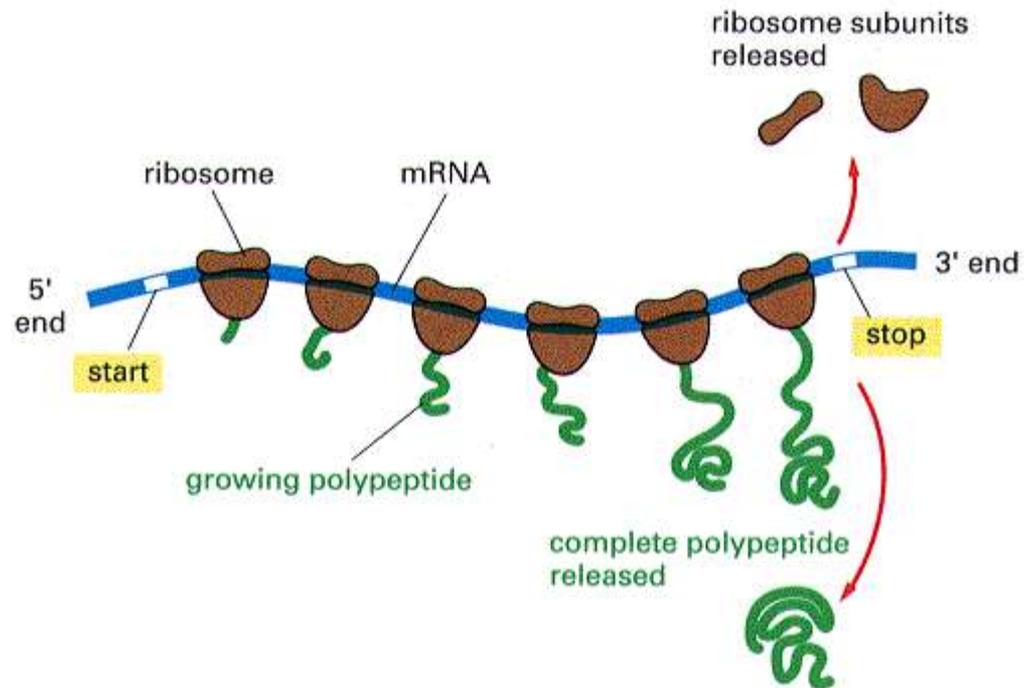
© 2006 Encyclopædia Britannica, Inc.

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



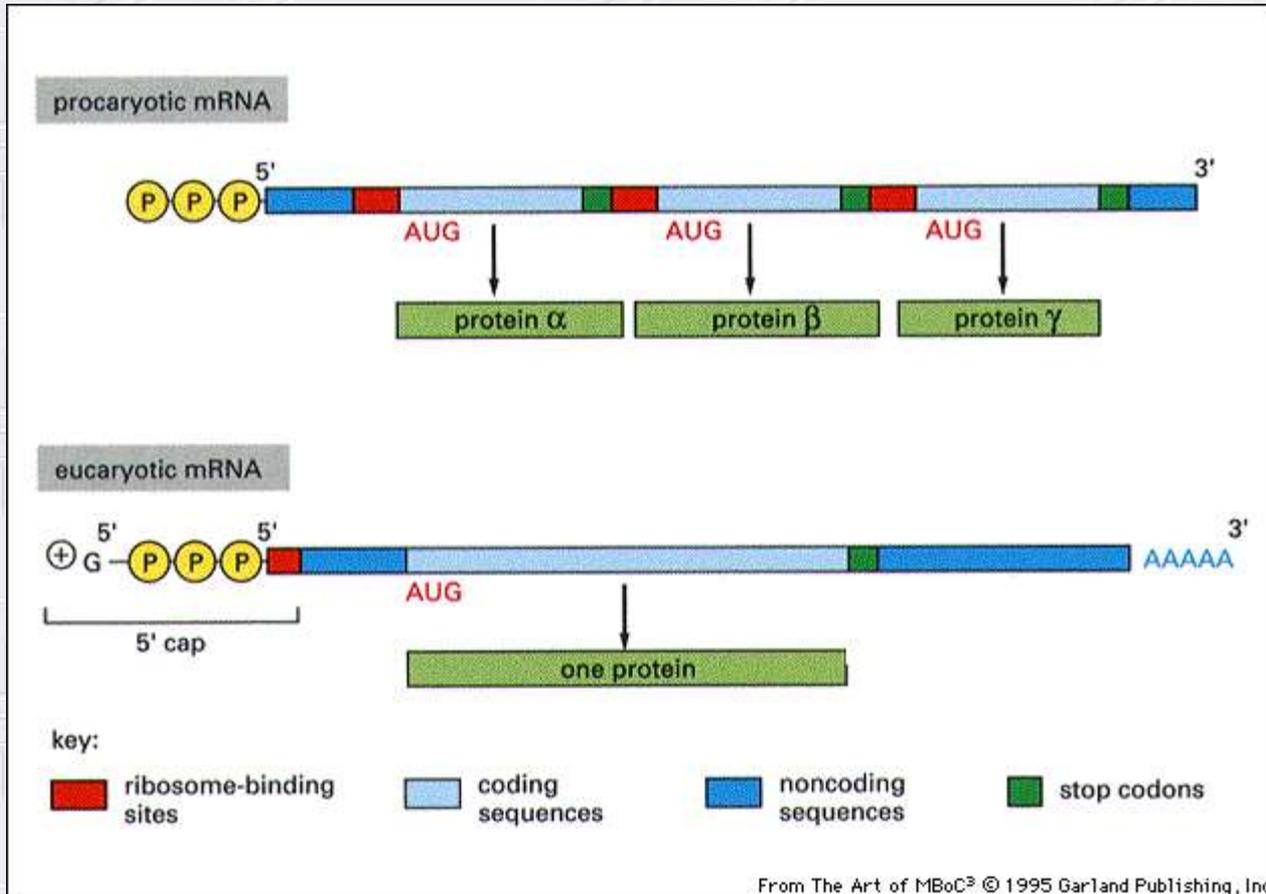


From The Art of MBoC³ © 1995 Garland Publishing, Inc.

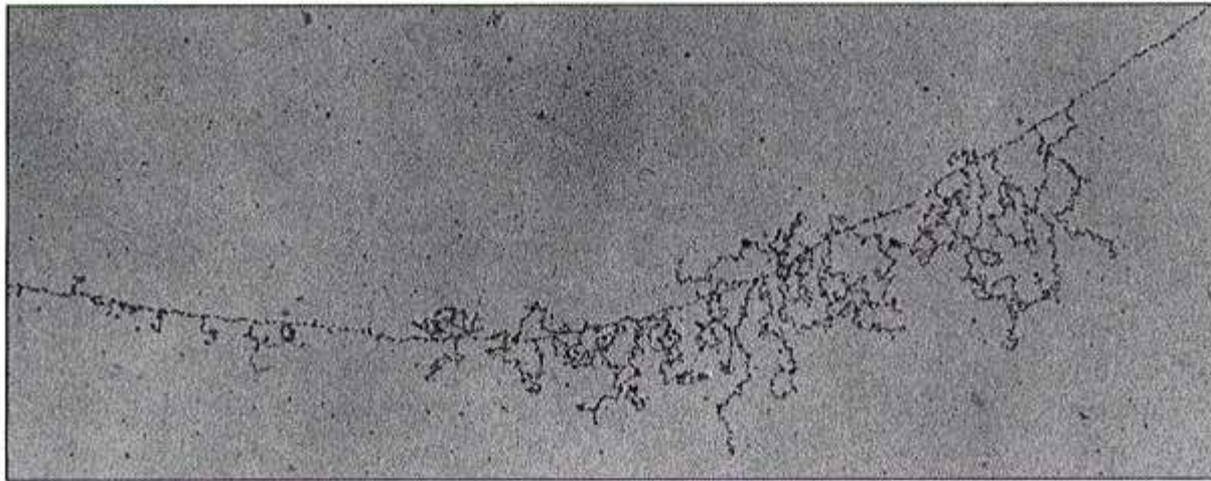
Traducción

Resumen

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



Poliribosoma



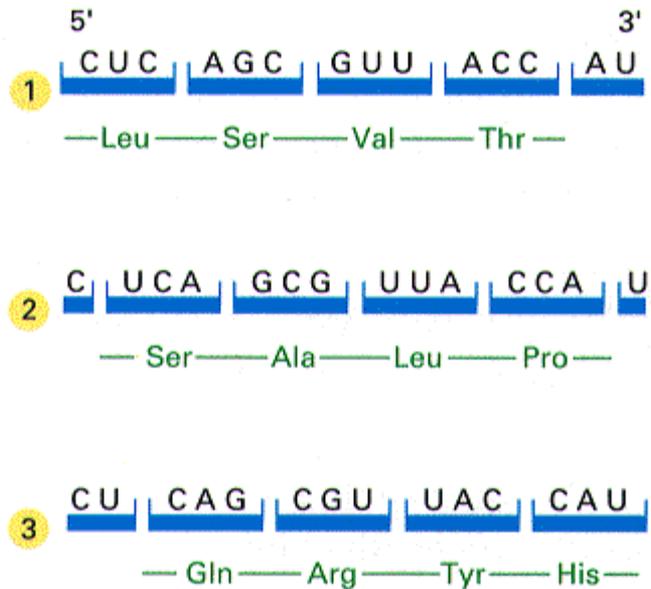
1 μ m

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

Código genético

- Número bases por aa
 - 3 bases (triplete) / aa mínimo para la síntesis de 20 aa
 - Experimento de Crick en gen rII fago T4 tratado mutágeno proflavina (añade o quita un nc) -> mutación de desplazamiento pauta lectura:
 - +1 y luego -1, restablece una mutación
 - +3 ó -3 también
- Solapamiento y puntuación
 - Mutaciones conocidas (p.e., Hb S) solo cambian un aa
 - mRNA virus necrosis tabaco codones justos para la síntesis de la proteína de membrana
- Descifrado del código (Ochoa, Nirenberg)
 - mRNA sintético *in vitro* enzima polinucleótido fosforilasa
 - poliU->Fenilalanina
 - Proporciones conocidas de nucleótidos
 - Uso de codones sintéticos en pruebas de unión

Código genético



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

Código genético

1st position (5' end) ↓	2nd position				3rd position (3' end) ↓
	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

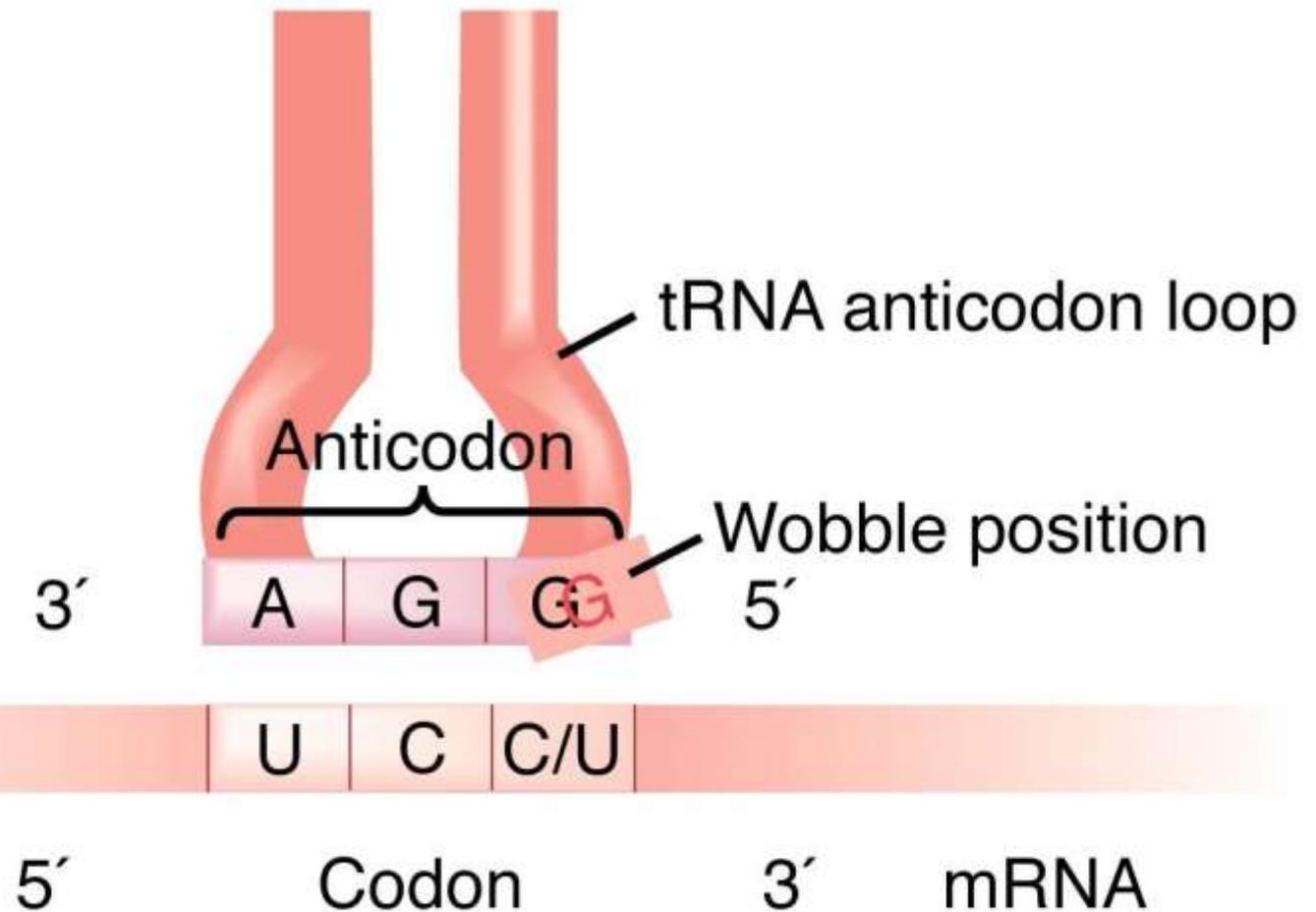
From The Art of MBoC³ © 1995 Garland Publishing, Inc.

Código genético

- Código es degenerado: varios codones determinan el mismo aminoácido
 - Familias no compartidas de codones (8) GUX 3ª base no importa
 - Familias compartidas de codones
- Número de tRNA 50 < Número de codones 61 -> Algunos anticodones deben reconocer más de un codón
 $61/20 \sim 3,5$
- Hipótesis del tambaleo (Crick):
 - El apareamiento de la 3ª base del codón no es rígido

Código genético

- Hipótesis del tambaleo (Crick):
 - El apareamiento de la 3ª base del codón no es rígido



Código genético

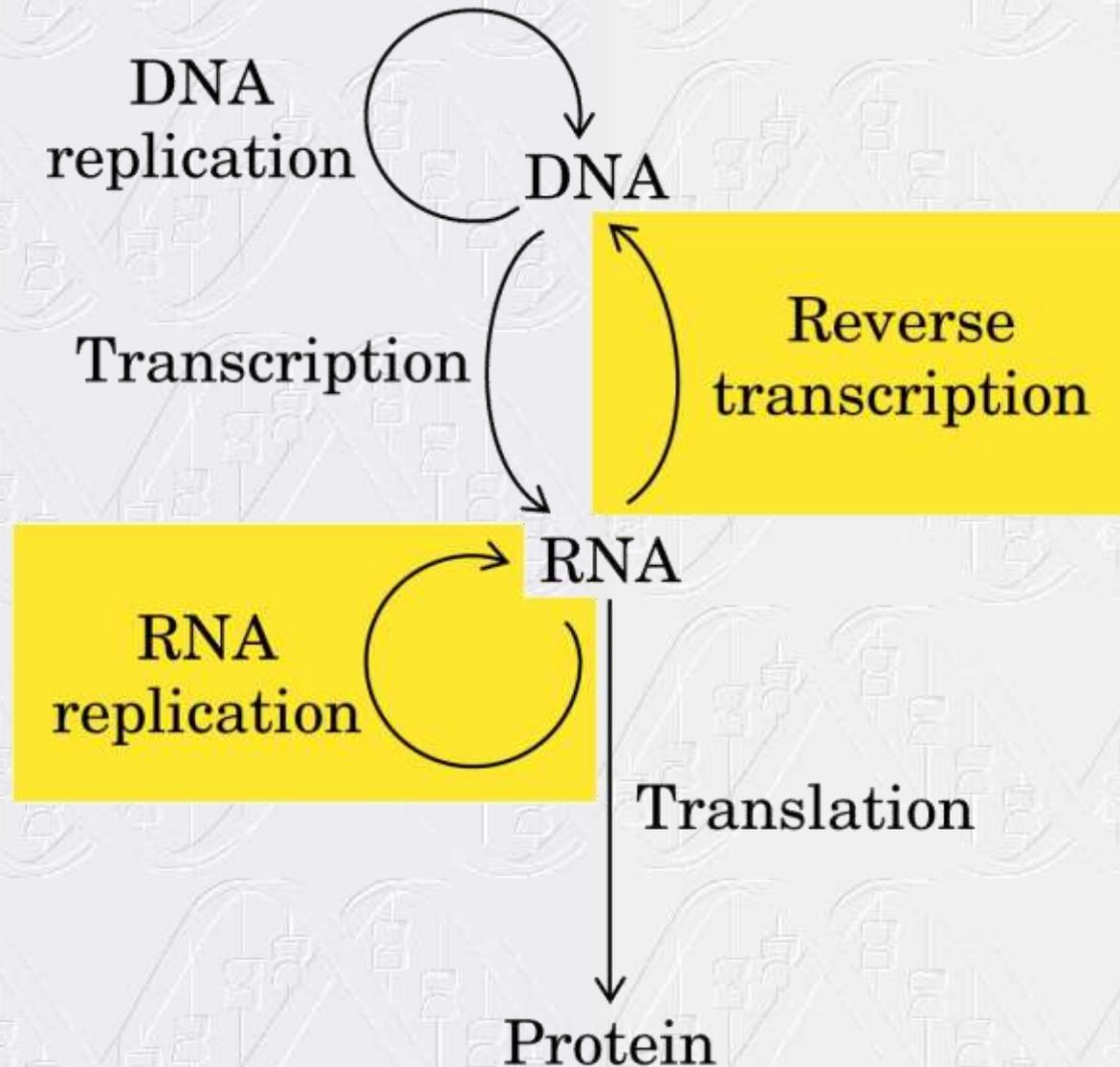
- Hipótesis del tambaleo (Crick):
 - El apareamiento de la 3ª base del codón no es rígido

Extremo 5' del anticodón		Extremo 3' del codón
G		C o U
C		Sólo G
A		Sólo U
U		A o G
I		U, C o A
tRNA isoaceptores	Anticodón	Codón
tRNA ^{Ser} ₁	UCG + tambaleo	UCC UCU
tRNA ^{Ser} ₂	AGU + tambaleo	UCA UCG
tRNA ^{Ser} ₃	UCG + tambaleo	AGC AGU

Código genético

- Universalidad del código
 - La inmensa mayoría de organismos usan el mismo código
- Mitocondrias
 - U en sitio tambaleo en tRNA pueden aparear con todas las bases. Reducción del número de tRNAs a 24
 - CUX: leu, no thr; UGA: trp, no stop
- Otros organismos leen codones stops

El "dogma" central revisado



Diferencia entre replicación y transcripción por un lado y traducción por el otro

En el primer paso del flujo de la información, de DNA a DNA o DNA a RNA, el lenguaje es lineal y biyectivo, y por lo tanto reversible (como lo muestra la existencia del fenómeno de retrotranscripción, pero el paso de RNA a proteína es irreversible. El código es degenerado y la proteína adquiere, conforme se traduce, una estructura no lineal, tridimensional