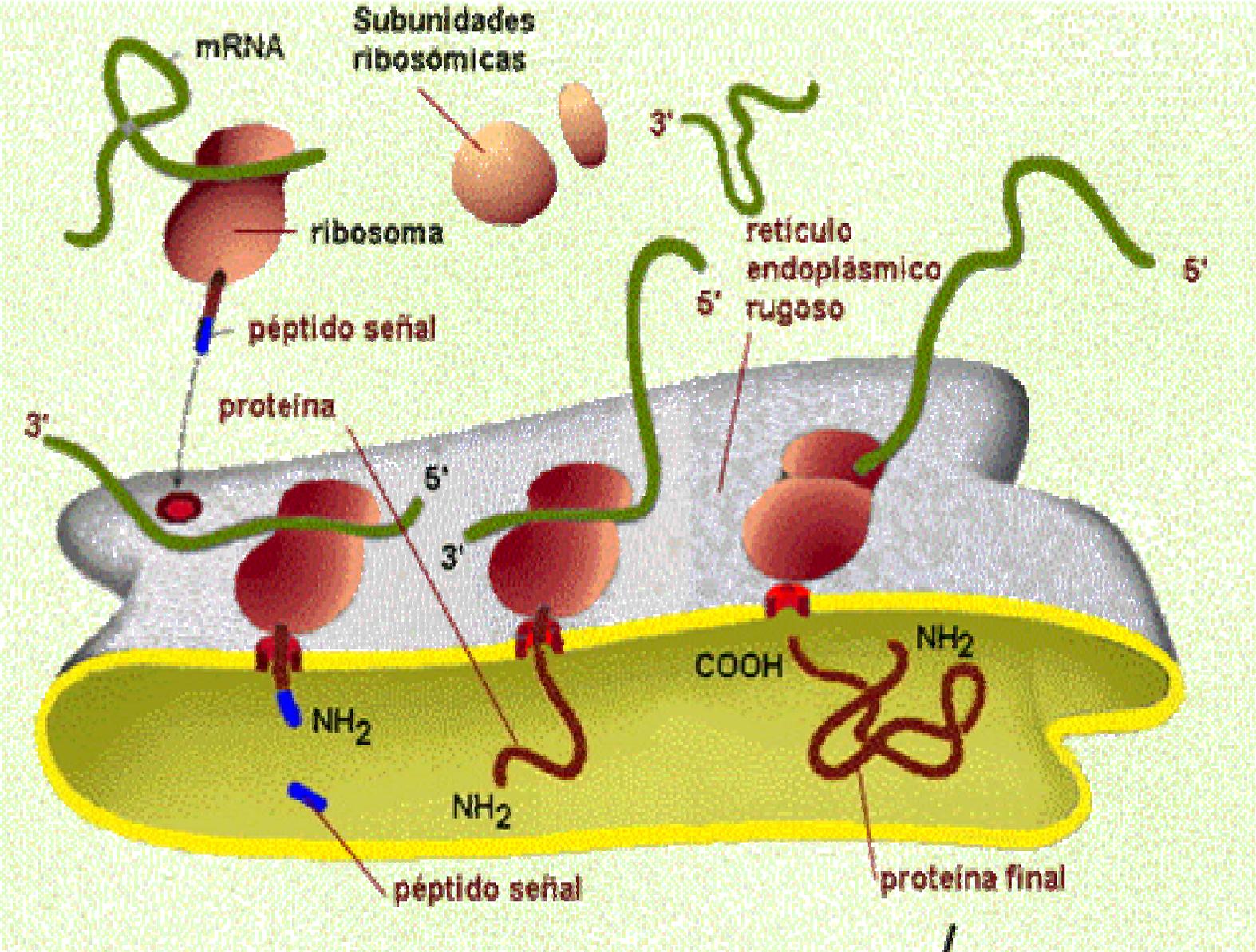


MECANISMOS DE SINTESIS PROTEICA

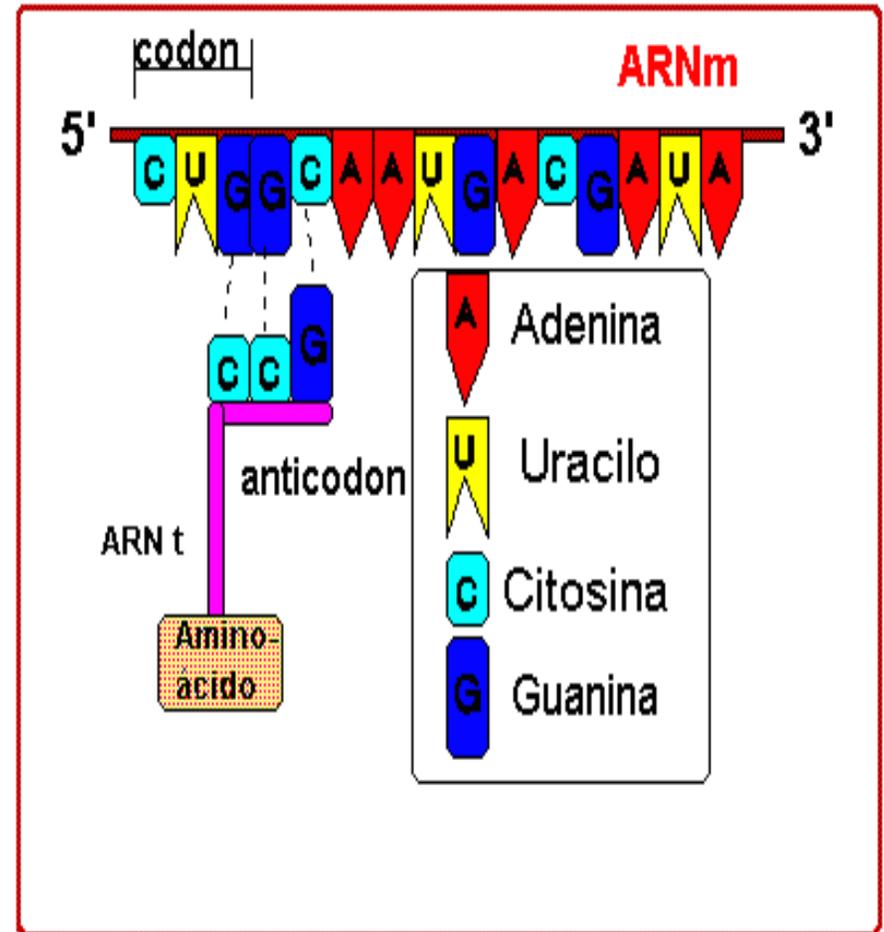


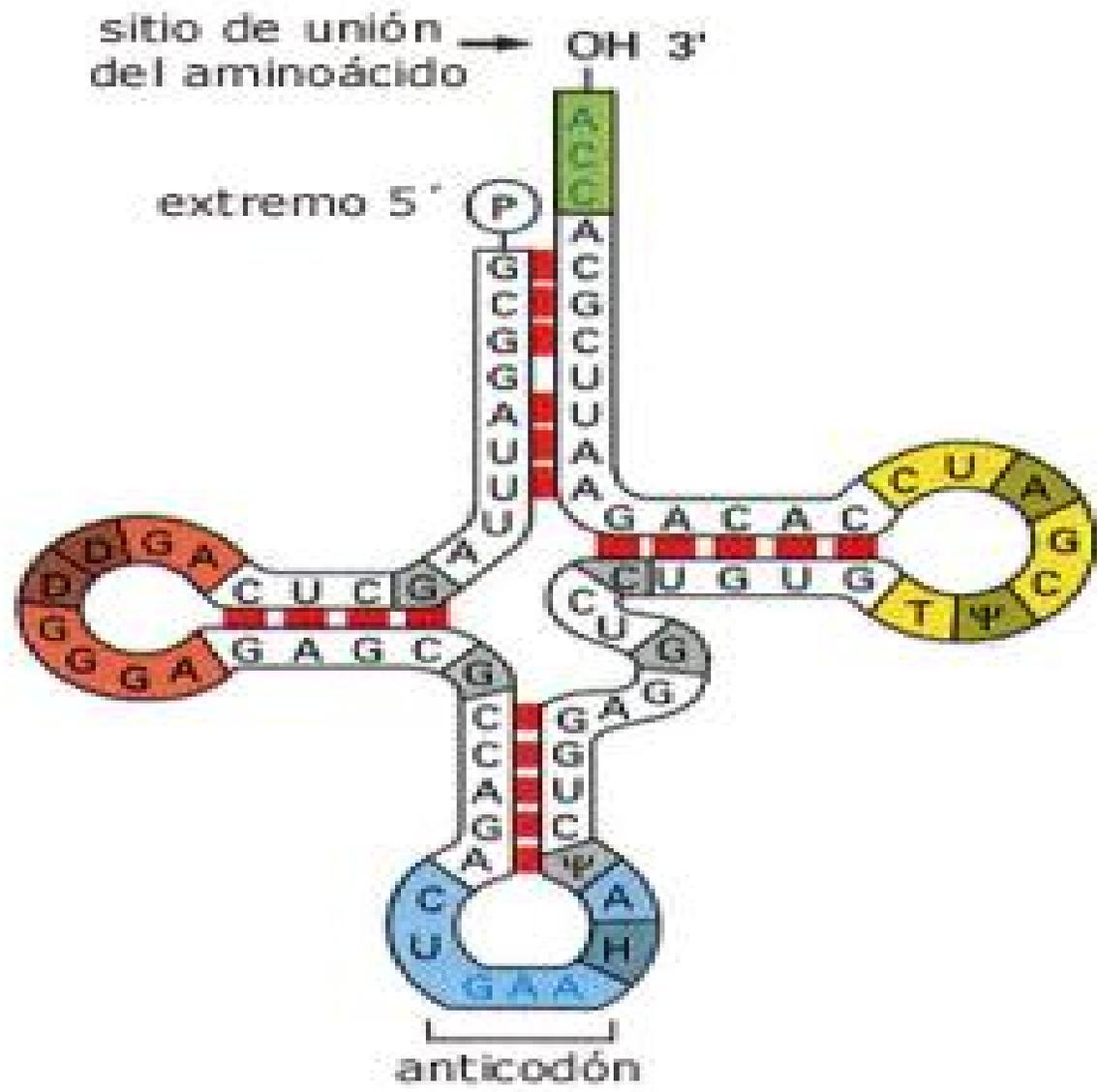
El producto de traducción requiere de dos pasos de reconocimiento importantes:

a) la elección del aminoácido correcto para la unión covalente con su tRNA

b) la selección de los tRNAs cargados con sus aminoácidos específicos.

El primero de estos pasos, es catalizado por enzimas específicas denominadas aminoacil tRNA sintasas (**aaRSs**), que unen un aminoácido al extremo 3' de su ribosa para formar un aminoacil-tRNA





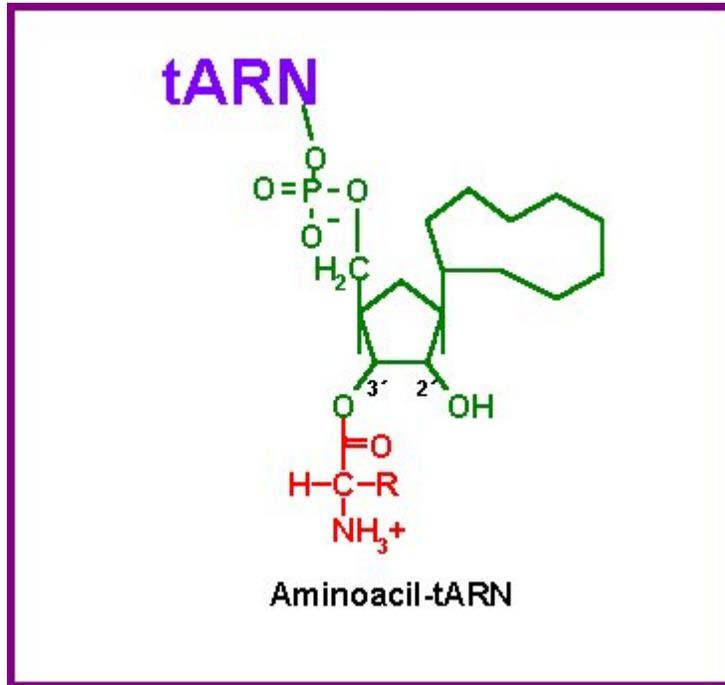


Figura: representación de un aminoacil-tARN

Este proceso necesita de la hidrólisis de ATP en dos reacciones secuenciales que se catalizan en la misma enzima:

1.- Primero el aminoácido es activado con ATP para formar aminoacil-adenilato. Este intermediario puede ser aislado con dificultad, pues permanece unido fuertemente a la enzima.

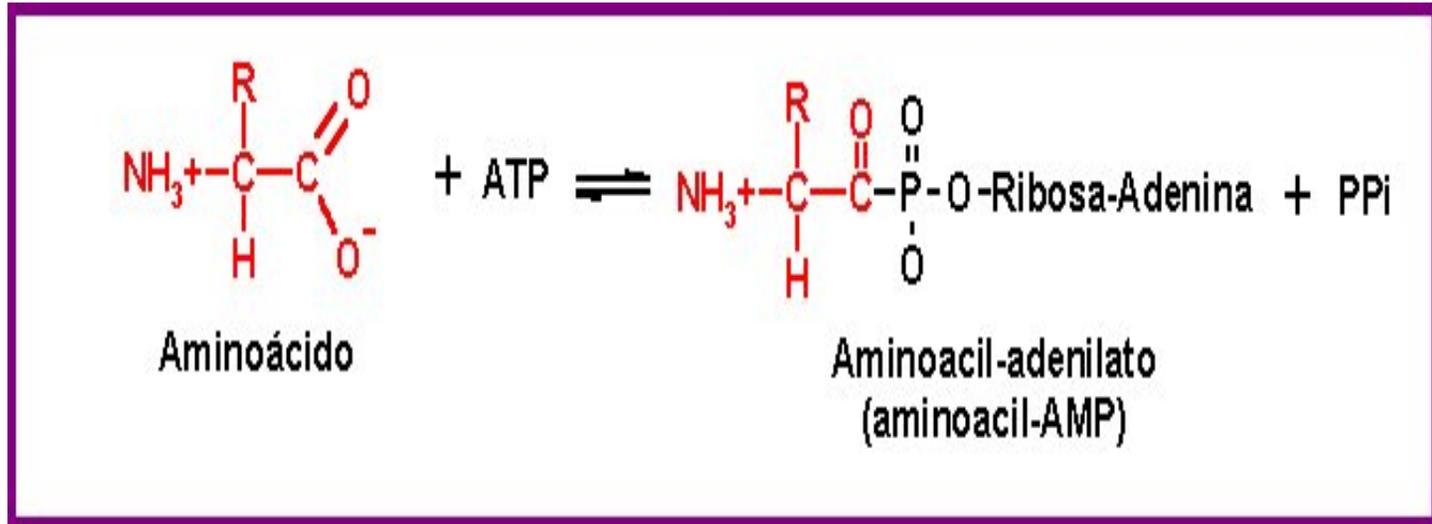


Figura: activación de un aminoácido para la aminoacilación

2.- el anhídrido mixto formado en el paso 1, reacciona con el tARN para formar el aminoacil-tRNA de la siguiente forma:



Algunas aaRSs unen exclusivamente aminoácidos en el grupo OH en la posición 2' de su tRNA, otras de estas enzimas, también lo pueden hacer en el extremo 3' (esto se supo al utilizar tRNAs carentes de alguno de los dos extremos).

De manera natural, el grupo aminoacil se equilibra rápidamente entre las posiciones 2' y 3', por tanto la reacción general de aminoacilación es:



✓La reacción es reversible porque las energías de hidrólisis de los enlaces formados para el aminoacil-adenilato y en el aminoacil-tRNA son comparables a la hidrólisis del ATP.



✓La dirección de la reacción se mantiene por la acción de la pirofosfatasa inorgánica que actúa en el primer paso de la reacción.

✓El tRNA es el aceptor de acilos en la activación de los aminoácidos.

Existen dos clases de aminoacil-tRNA sintasas

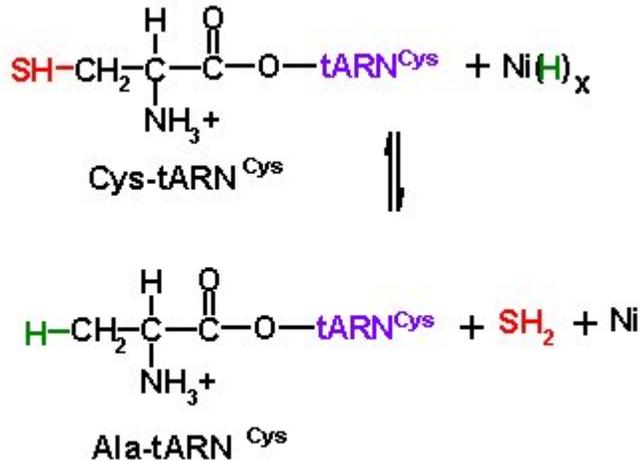
- ✓ Las células deben tener al menos una aminoacil-tRNA sintasa para cada uno de los 20 aminoácidos.
- ✓ La similitud de las reacciones catalizadas por estas enzimas y el parecido estructural de todos los tRNAs sugiere que todas las aaRSs tienen un ancestro común y que estarían relacionadas estructuralmente.
- ✓ De las aproximadamente 100 aaRSs que se han caracterizado cada una de ellas tiene cuatro tipos de subunidades α , α_2 (la forma predominante), α_4 y $\alpha_2\beta_2$ que varían entre 334 y 112 residuos.
- ✓ A pesar de estas notables diferencias, existe una pequeña secuencia similar entre las enzimas específicas para cada aminoácido.

La aminoacil-tRNA es muy específica

En la síntesis de proteínas el tRNA adecuado es seleccionado sólo a través de interacciones codon-anticodon, el grupo aminoacilo no participa en el proceso.

El fenómeno fue demostrado utilizando la molécula de Cys-tRNA^{Cys} en la cual el residuo de Cys está marcado con ¹⁴C.

Esta molécula fue desulfurizada reductivamente de tal forma que la Cys se transformó en Ala



El híbrido resultante Ala-tRNA^{Cys} marcado con ¹⁴C, se agregó a un sistema de síntesis de proteínas de reticulocitos de conejo libre de células.

El experimento se siguió en la síntesis de la cadena α de la hemoglobina, proteína que contiene varios puentes disulfuro.

Se encontró que la hemoglobina sintetizada en estas condiciones no contenía marca radioactiva. De esta forma se comprobó que la única parte de la molécula del tRNA "cargado" que participa en el reconocimiento del codon, es el anticodon.

La degeneración del código genético está mediada por la tercera posición de la interacción codón-anticodón que es variable

Muchas células contienen tRNAs isoaceptores, lo que quiere decir que algunos tRNAs, son específicos para el mismo aminoácido.

Por ejemplo el tRNA^{Phe} de levadura que contiene el anticodón GAA, reconoce los codones UUC y UUU.

Recordar que la interacción es antiparalela como se muestra a continuación:

Anticodon

3' - **A** - **A** - **mG** - 5'

. . .
. . .

Codon

5' - **U** - **U** - **C** - 3'

3' - **A** - **A** - **mG** - 5'

. . .
. . .

5' - **U** - **U** - **U** - 3'

Anticodon

3' - **C** - **G** - **I** - 5'

. . .
. . .

Codon

5' - **G** - **C** - **A** - 3'

Lo anterior significa que los pares de bases "flexibles" pueden aparecer en la tercera posición de la interacción codon-anticodon

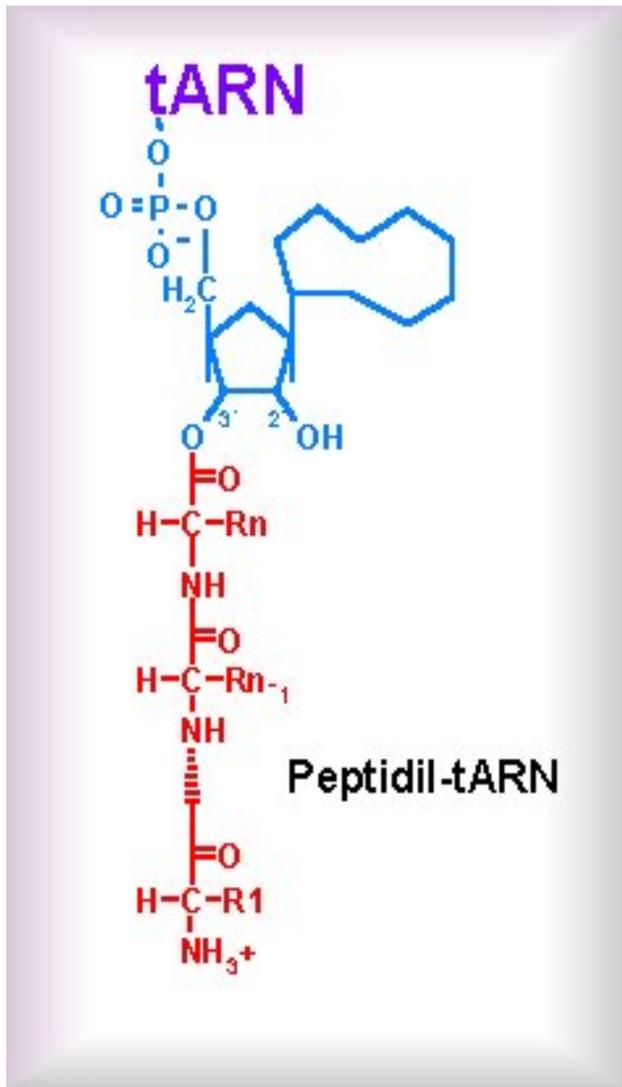
La síntesis de proteínas procede desde el amino hacia el carboxilo terminal

- ✓ Esta dirección fue deducida por Howard Dintzis en 1961 a través de experimento de marcaje isotópico.
- ✓ Expuso reticulocitos que sintetizaban activamente hemoglobina en presencia de [^3H]Leucina en tiempos menores del que necesitan para producir al polipéptido entero (síntesis parcial)
- ✓ La cantidad de péptidos obtenidos por tripsinización se incrementaba con la proximidad al carboxilo terminal.

La elongación ocurre por la unión de la cadena en crecimiento con el aminoácido cargado en el tRNA

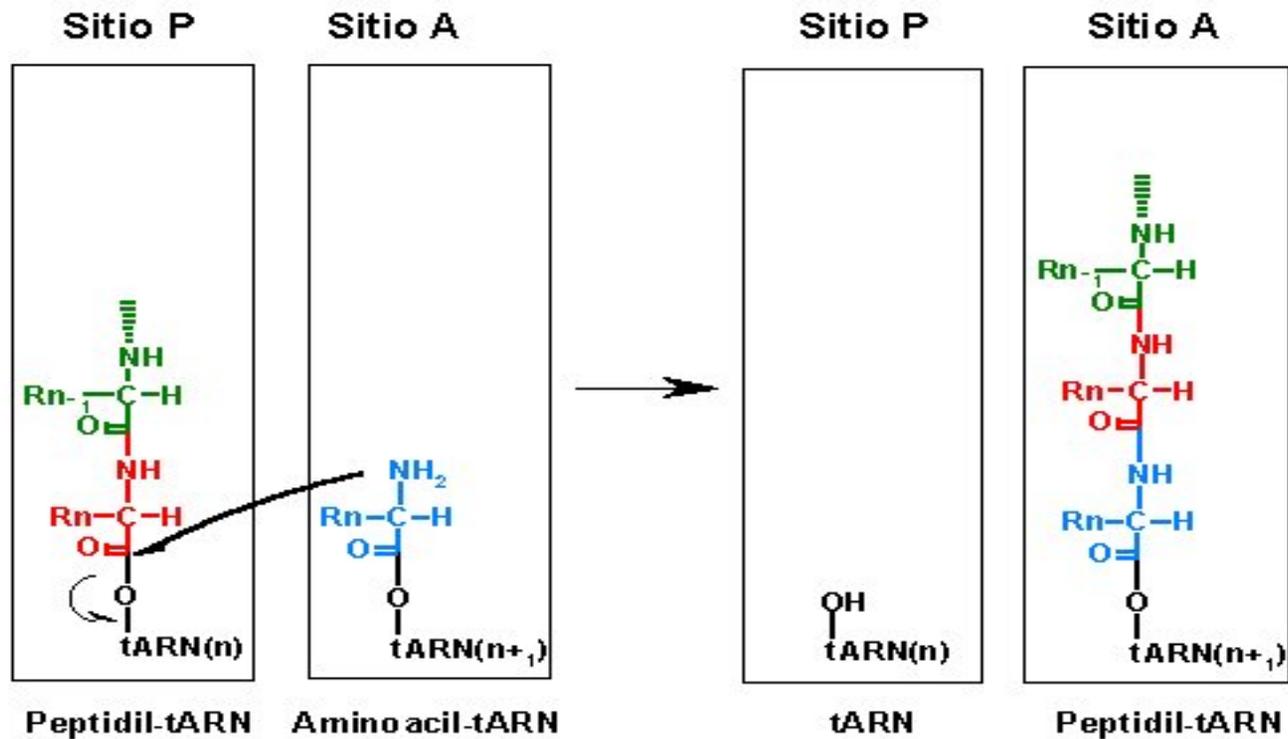
Durante la síntesis de polipéptidos, los aminoácidos son agregados secuencialmente en el extremo carboxilo de la cadena naciente unida al ribosoma.

Si se obliga a salir a la cadena naciente del ribosoma mediante tratamiento con altas concentraciones de sal, el residuo en el carboxilo terminal está siempre esterificado a un tRNA, formando un peptidil-tRNA (ingreso secuencial).

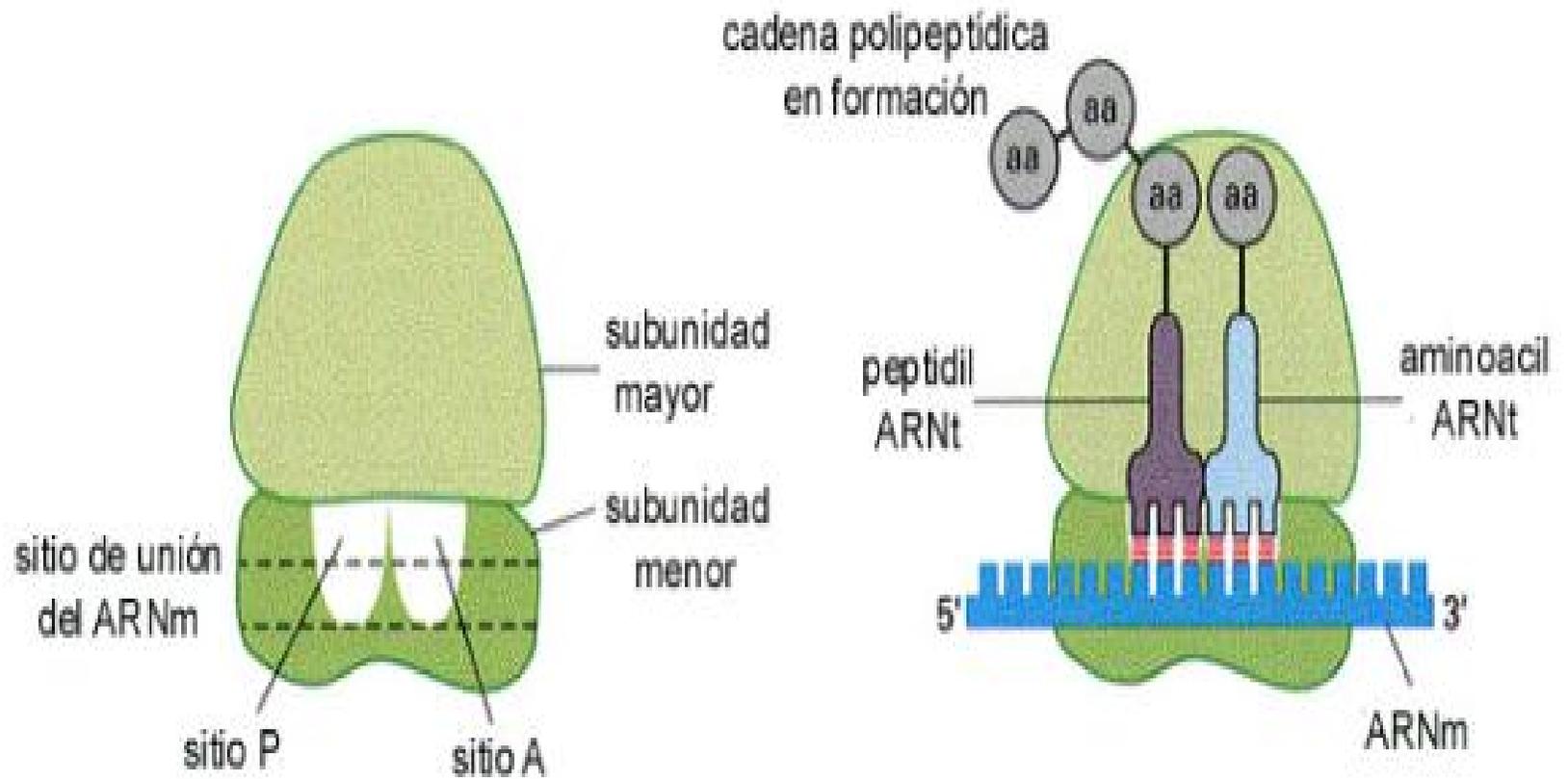


El polipéptido naciente debe crecer entonces transfiriendo el aminoácido unido al tRNA hacia el peptidil-tRNA.

El ribosoma posee dos sitios de unión, el sitio **P** que une al peptidil-tRNA y el sitio **A** que une al aminoacil-tRNA, estos sitios son "artificiales"



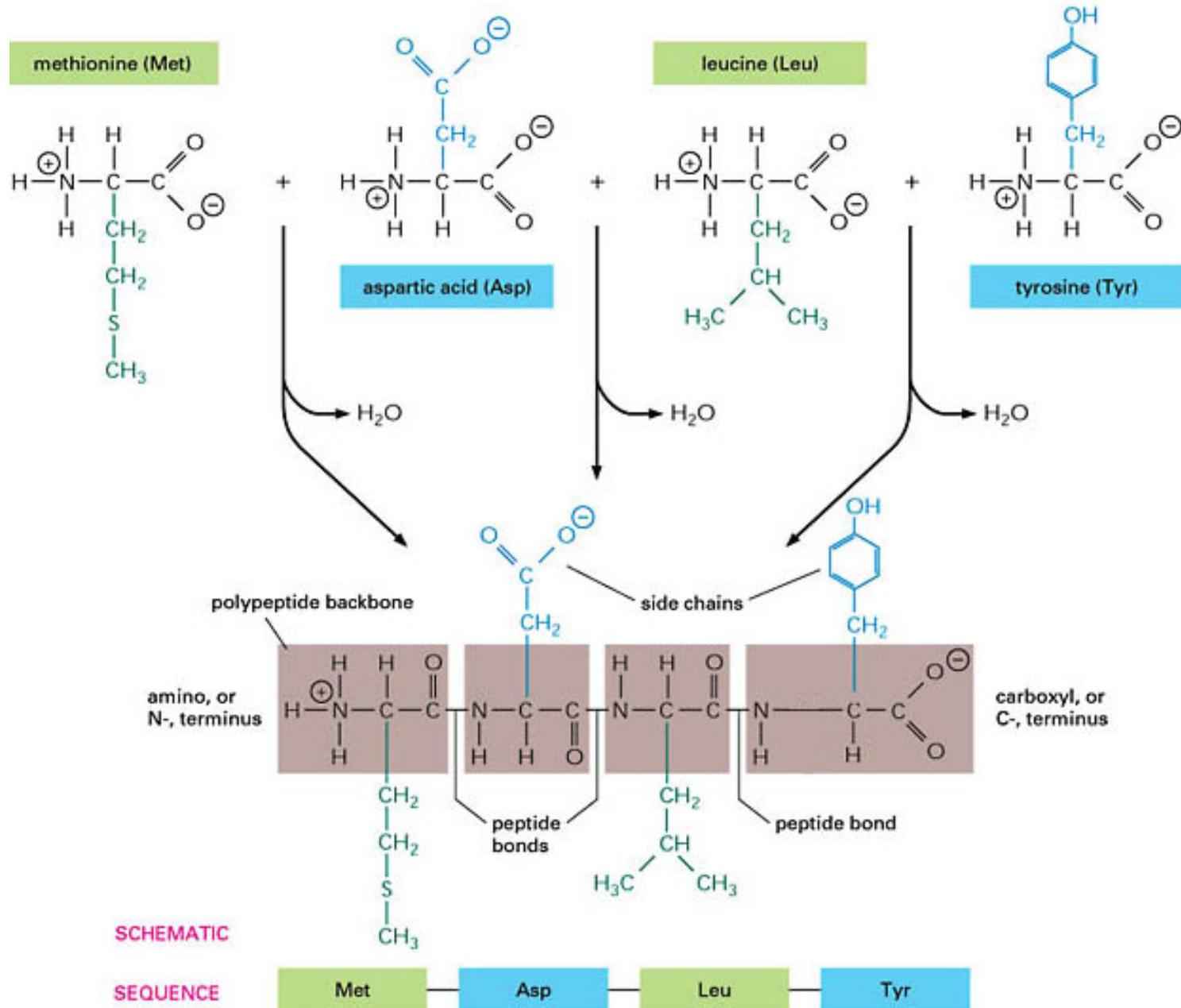
Consecuentemente, después de la formación del enlace peptídico, el sitio P contiene un tARN deacilado que es liberado y reemplazado por el nuevo peptidil-tARN formado previamente en el sitio A y así sucesivamente. Además en el ribosoma existe un tercer sitio, el sitio E (Exit), que une momentáneamente a la cadena naciente.

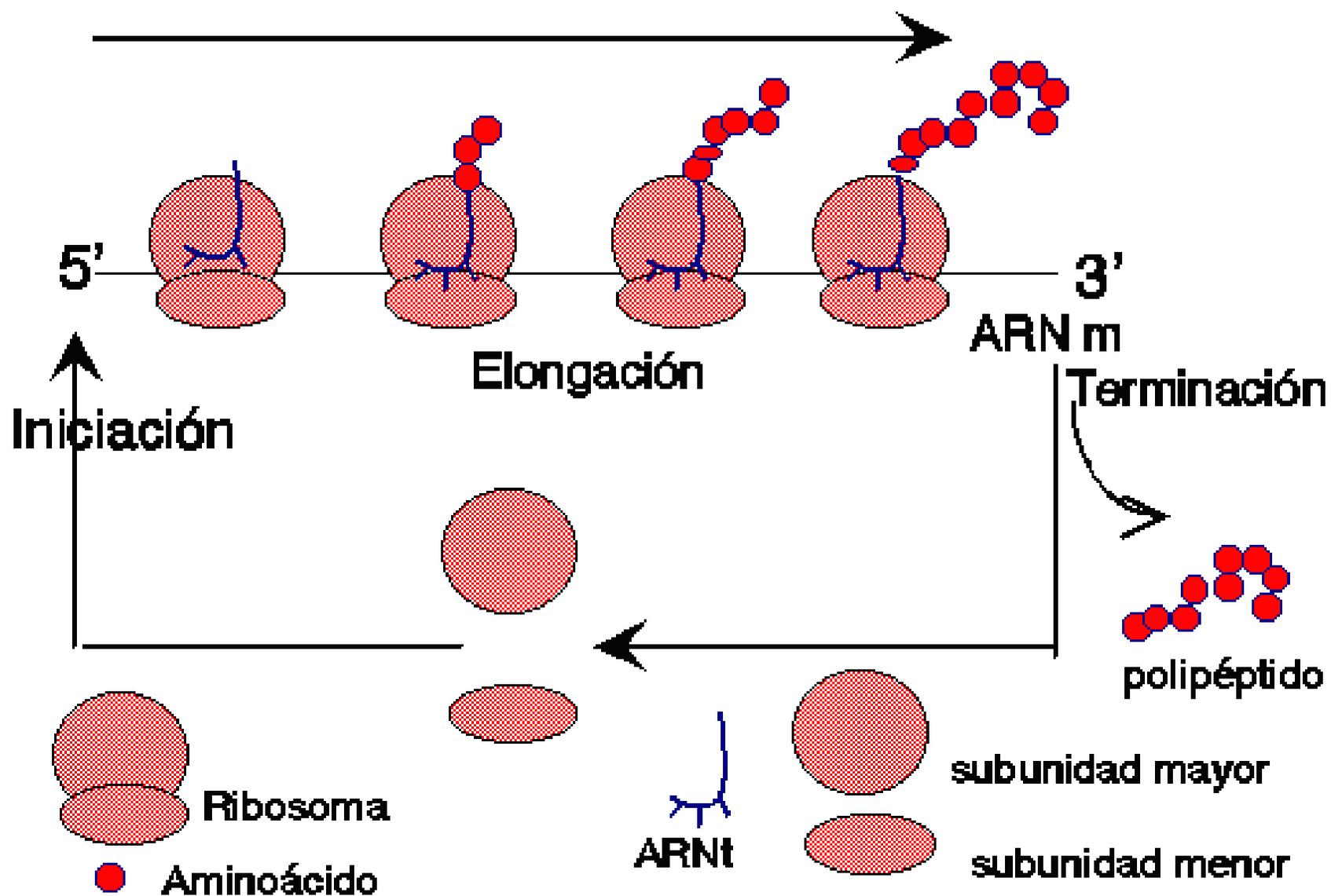


DINAMICA DE TRADUCCION



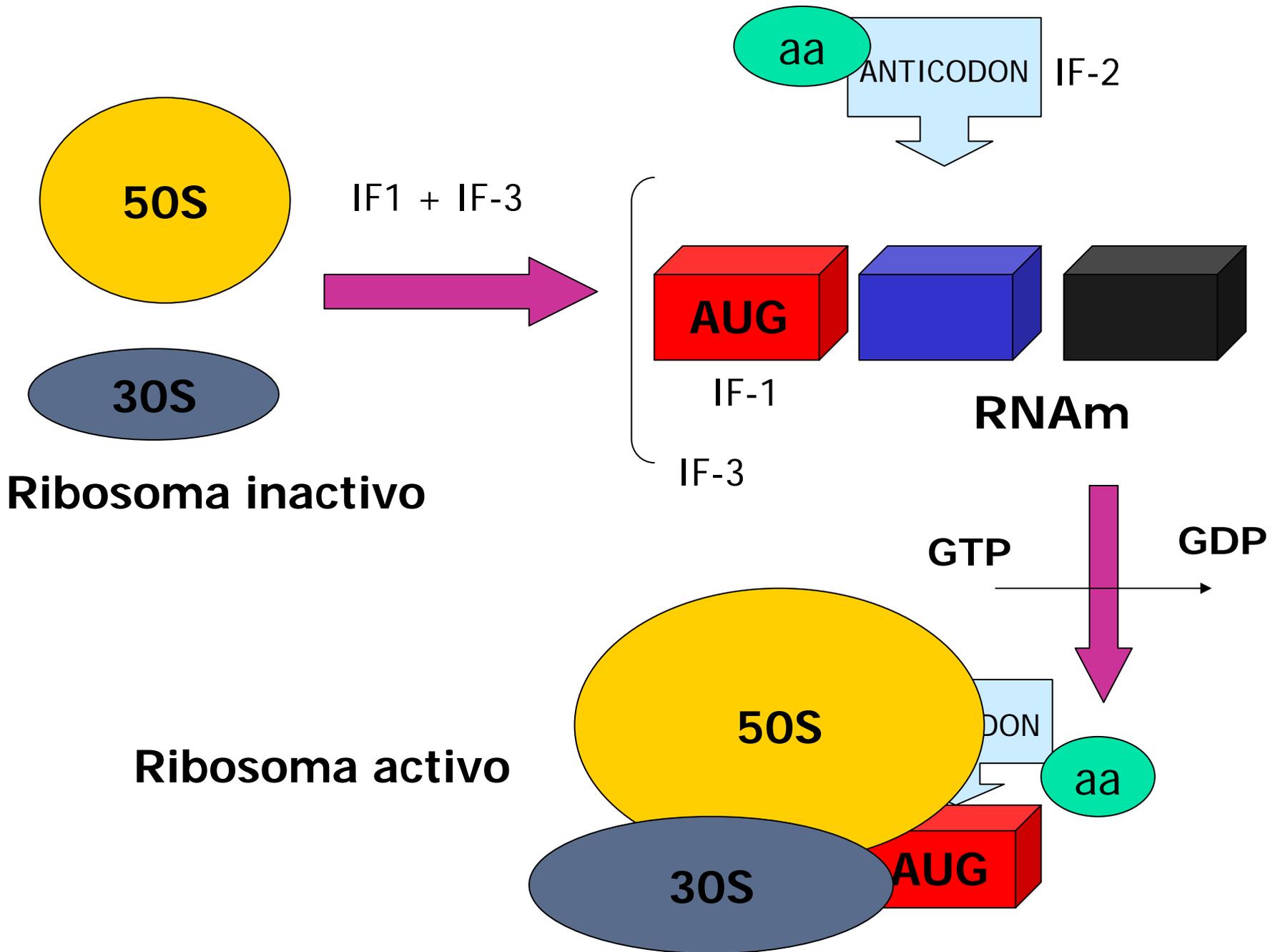
el ribosoma "lee" el mensaje del ARN





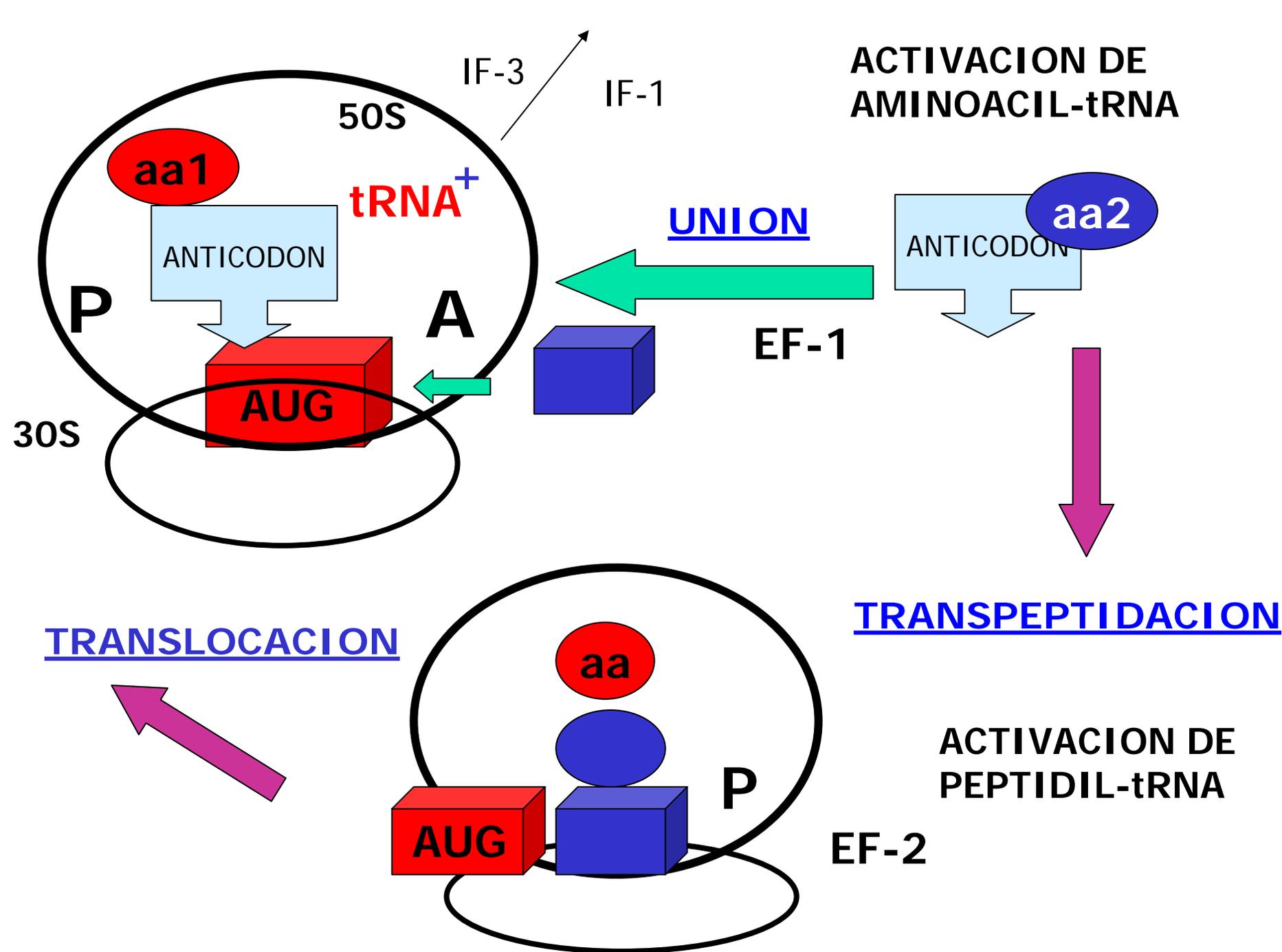
REACCION DE INICIACION

- ✓ La localización de un codón de inicio conservado entre las especies es una evidencia importante (>60% proteínas de E. Coli comienzan por Met).
- ✓ En la reacción de iniciación participan 3 factores importantes: IF-1, IF-2 e IF-3.
- ✓ IF-1 : localiza el codón de inicio (AUG)
- ✓ IF-1 + IF-3: estabilizan la subunidad mayor del ribosoma.
- ✓ IF-2 : se ordena junto al tRNA para formar el complejo de iniciación.
- ✓ Este complejo es dependiente de GTP.



REACCION DE ELONGACION

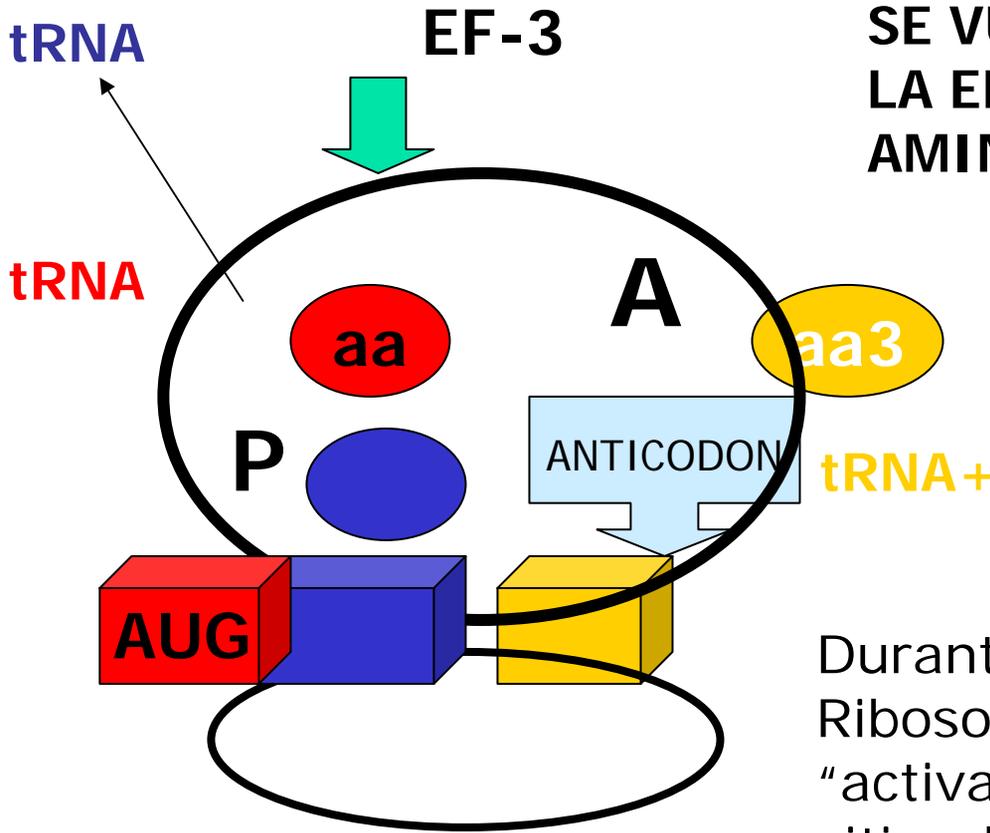
- ✓ La elongación de la cadena polipeptídica comienza con 3 etapas claves:
- ✓ La activación de los sitios A y P en el ribosoma.
- ✓ La liberación de los factores IF1 e IF-2.
- ✓ El ingreso de los precursores catalíticos EF-1, EF-2 y EF-3.
- ✓ En la reacción de elongación se producen 3 reacciones intermediarias.



**SE VUELVE A ACTIVAR
LA ENZIMA
AMINOACIL-tRNA**

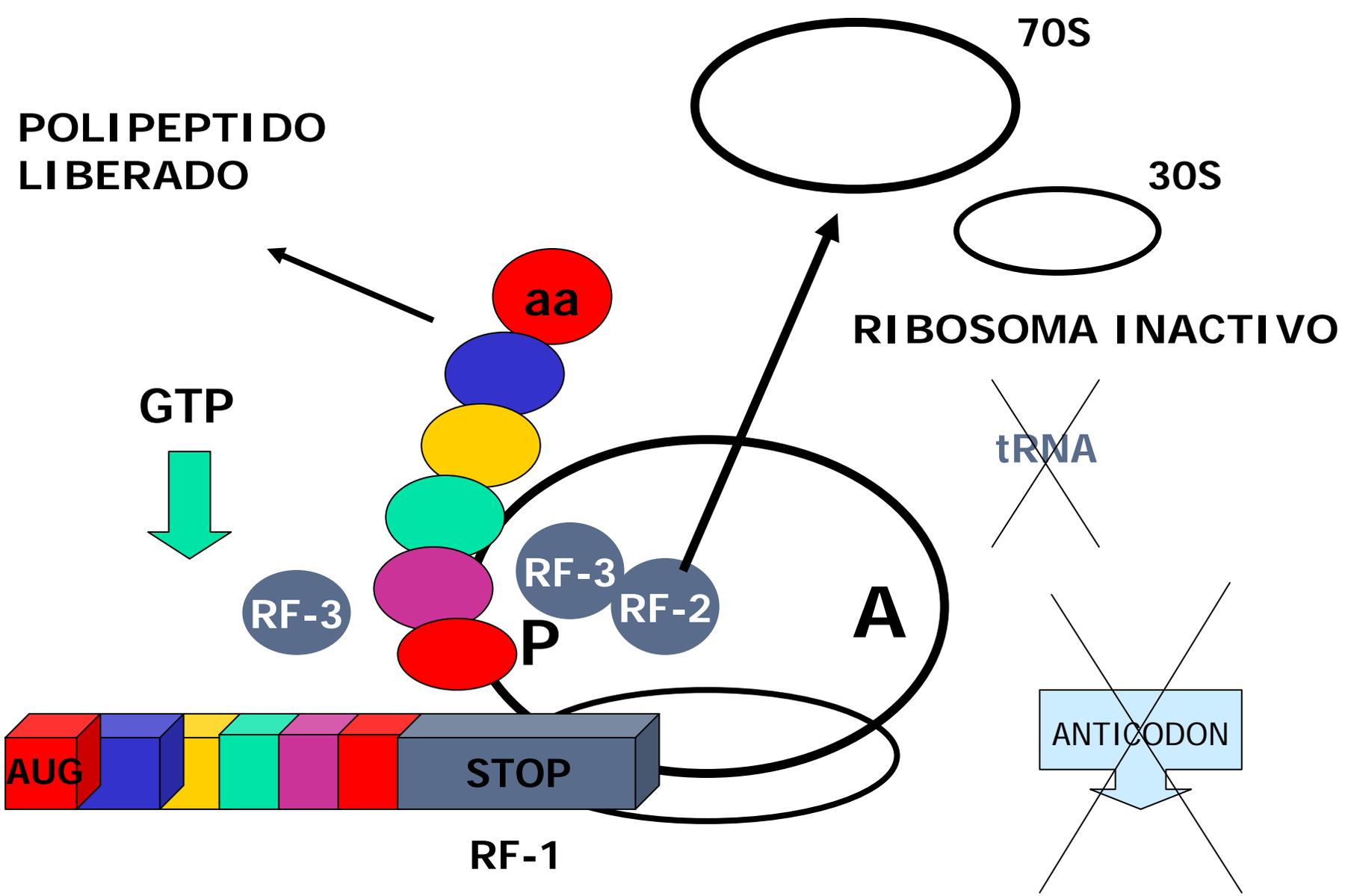
TRANSLOCACION

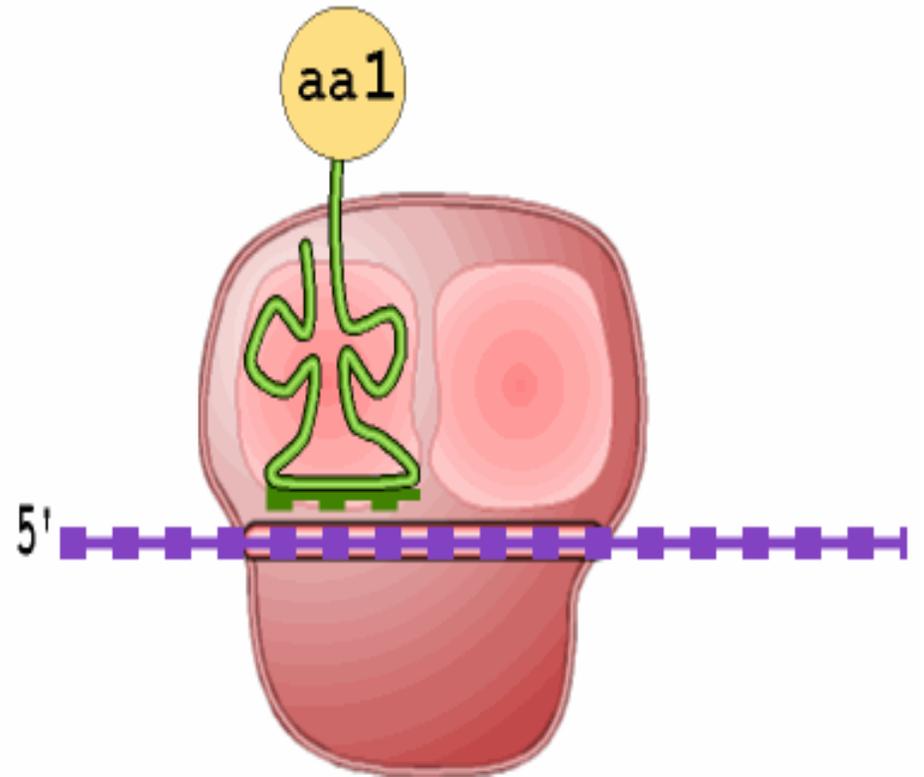
Durante esta etapa los sitios del Ribosoma vuelven a su "activación" inicial, es decir A en el sitio donde se activa la aminoacyl y P como el sitio donde se detecta actividad de la peptidil.



REACCION DE TERMINACION

- ✓ La reacción de terminación de la cadena se inicia cuando llega un triplete o codón de término a la unidad ribosomal.
- ✓ La señal que da el codón de término es reconocida por los factores de liberación RF-1, RF-2 y RF-3.
- ✓ RF-1 localiza el codón de término.
- ✓ RF-2 + RF-3 neutralizan la cadena polipeptídica transfiriendo un H a la cadena.
- ✓ RF-3 es el encargado además de activar al GTP, energía que se gasta en esta reacción.
- ✓ RF-2 es el cofactor que separa las unidades ribosomales.





Generalmente, varios ribosomas traducen de forma simultánea la misma molécula de RNAm, dando lugar a un **polisoma o polirribosoma**.

De ese modo, se pueden sintetizar gran número de moléculas de proteínas en un breve período. Por ejemplo: el tiempo aproximado de síntesis de una proteína compuesta por 400 aminoácidos es de cerca de 20 segundos

