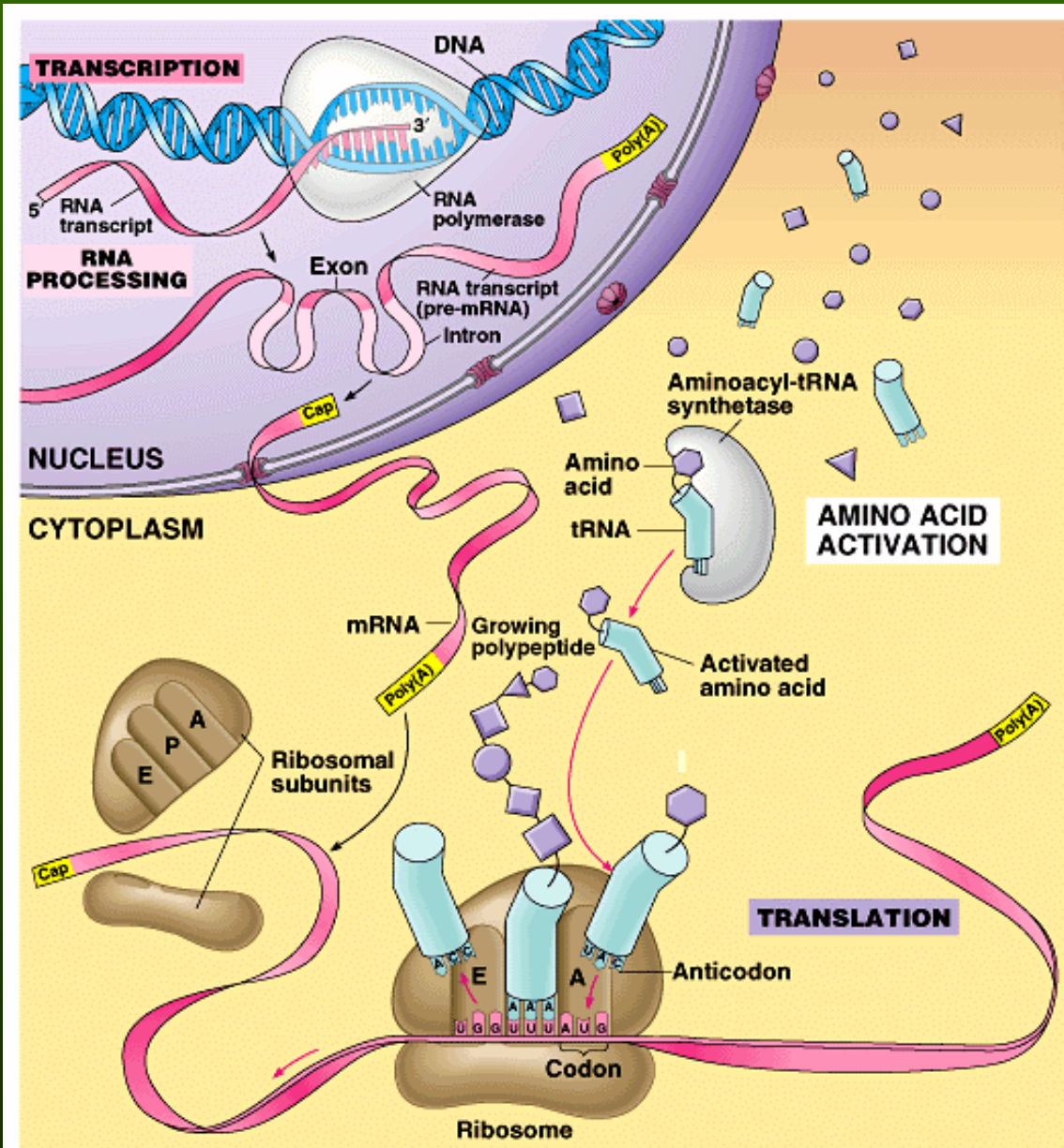


TRADUCCION



- mRNA
- tRNA
- Aminoacyl-tRNA sintetasa
- Ribosomas
- Factores proteicos

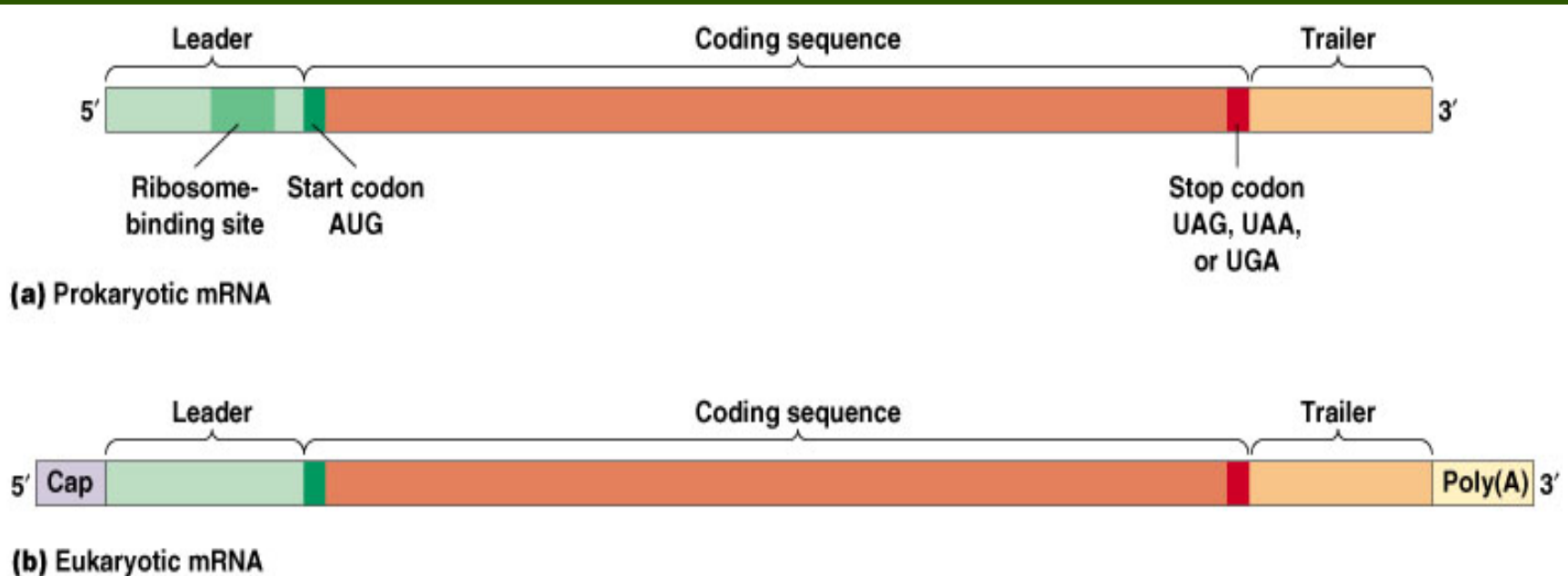
mRNA :

Secuencia codificante

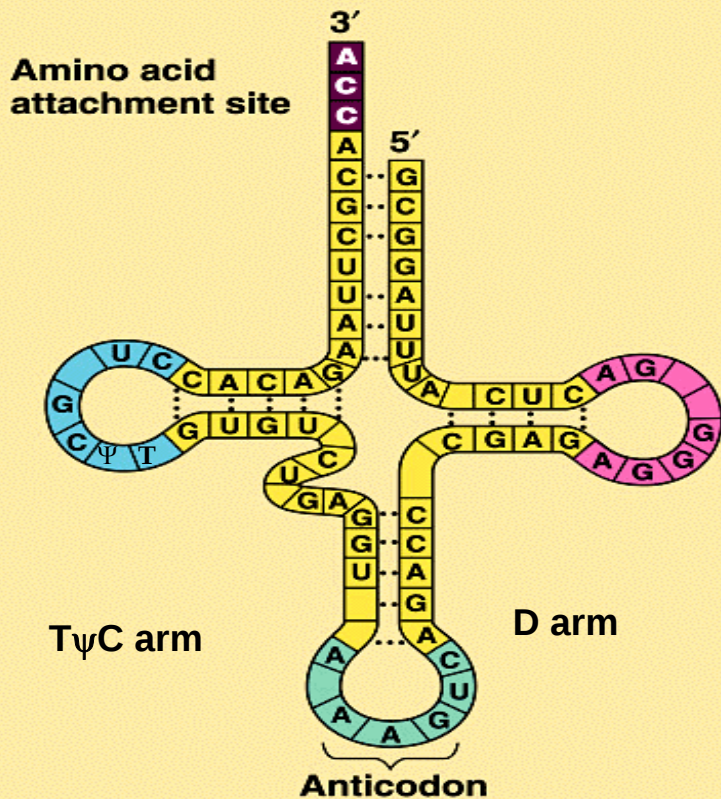
5' leader No traducible (5' UTR)

3' trailer No traducible (3' UTR)

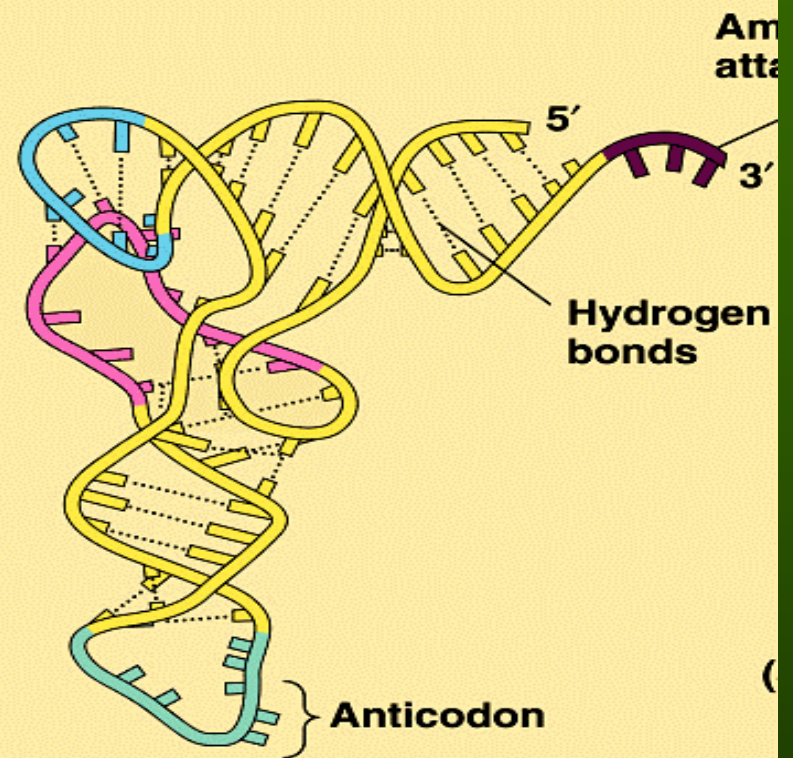
5' cap and 3' poly (A) tail (eucariotas)



tRNA



(a) Two-dimensional structure

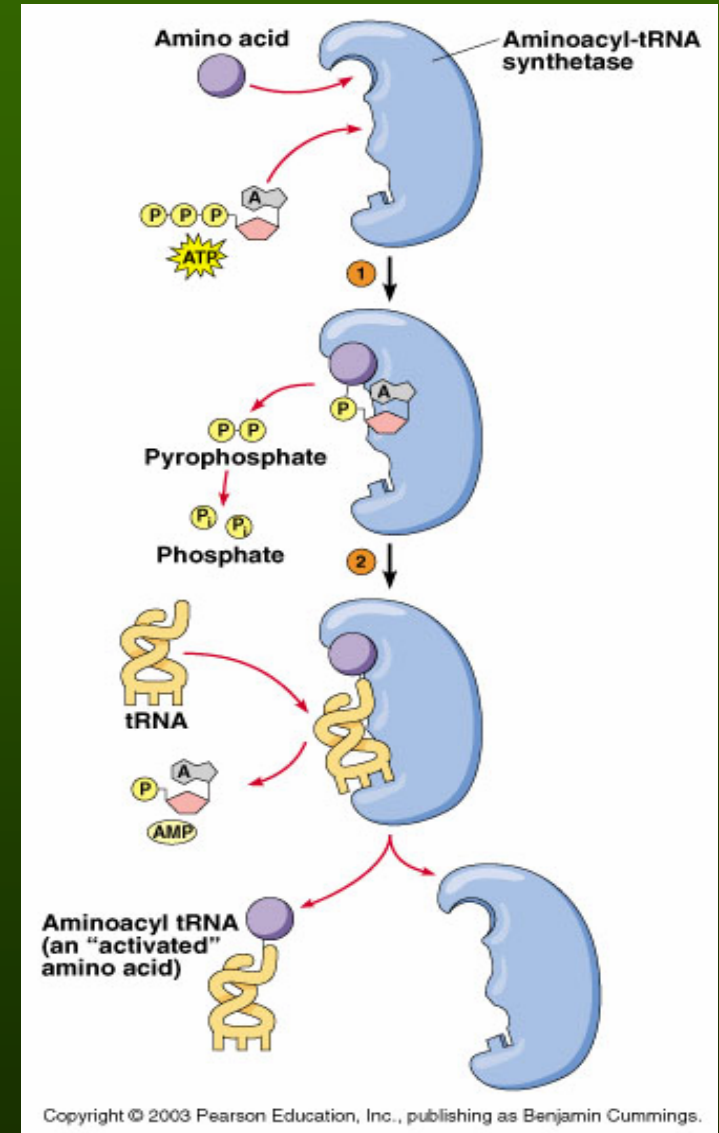


(b) Three-dimensional structure

Aminoacyl-tRNA sintetisas

- Une los aa al correcto t RNA
- Enzimas diferentes
- Requiere ATP

Reconocimiento del tRNA:
puntos de contacto entre tRNA y
sitio activo de proteína (1 -5 sitios,
muchas veces incluye anticodon)



tRNA

Une un aa específico en la terminación 3' o 2' en algunos casos

tRNAs isoaceptores con anticodones diferentes unen el mismo aa (varios codones para un aa)

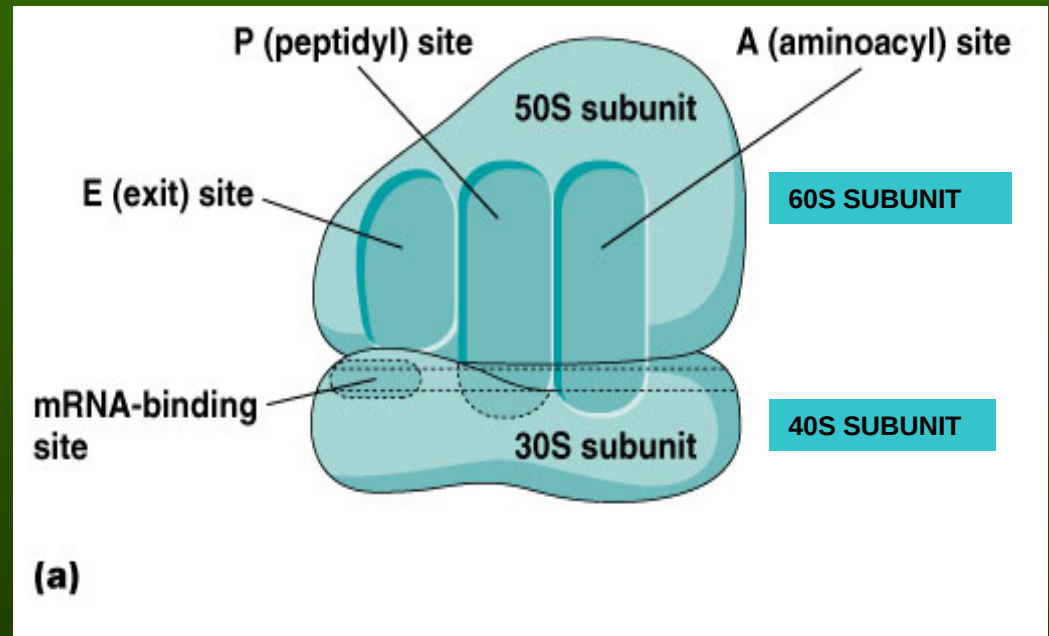
Hay varias especies de tRNA que pueden reaccionar con el mismo codón

El anticodon hace apareamiento de bases con un codon de mRNA (o mas), la tercera base de codón con la primer base de anticodón puede aparear con otras bases además del apareamiento tradicional (Wobbling)

Bases Recognized in Codon (third position only)	Base in Anticodon
U	A
G	C
A or G	U
C or U	G
U,C, or A	I (Inosine)

Ribosomas

4 sitios de binding
mRNA-binding site
A site (aminoacyl)
P site (peptidyl)
E site (exit)

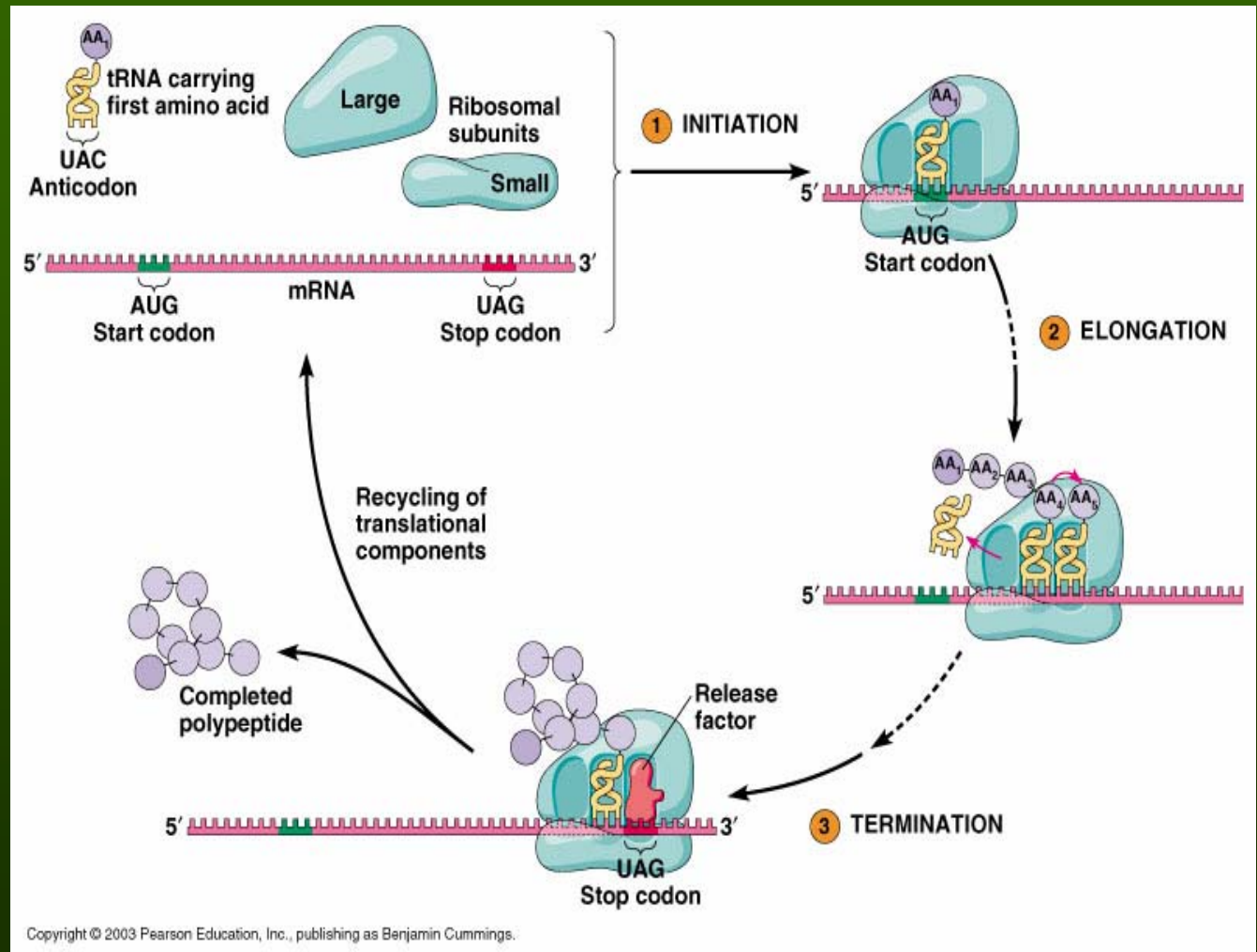


Procariotas : subunidades 30s y 50s

Traducción

3 fases

- Iniciación
- Elongación
- Terminación



INICIACION

Procariotas

Eucariotas

- Transcripción- traducción acopladas

- Iniciación citoplasmática

Iniciación en mRNA que se

están transcribiendo

- Disociación de ribosomas en subunidades

- Reconocimiento de sitio de iniciación

- Estrategias diferentes para

por interacción RNA-mRNA

reconocimiento de sitio de

(Secuencia Shine-Dalgarno)

- Unión de complejo preiniciación a mRNA

iniciación

- Iniciación mediada por factores

Traducción Cap-dependiente

"scanning"

Traducción Cap-independiente

(IRES)

- 3 Factores de iniciación (IF1,IF2,IF3)

- 13 factores diferentes

EUCARIOTAS

INICIACION

3 Pasos

- 1) Unión del iniciador $\text{tRNA}_i^{\text{Met}}$ a la subunidad menor
- 2) Unión de este complejo a mRNA y localización codón de iniciación
- 3) Unión de la subunidad mayor del ribosoma

Cada uno de los pasos de la iniciación de la traducción es facilitado por por proteínas denominadas Factores de iniciación.

Iniciación

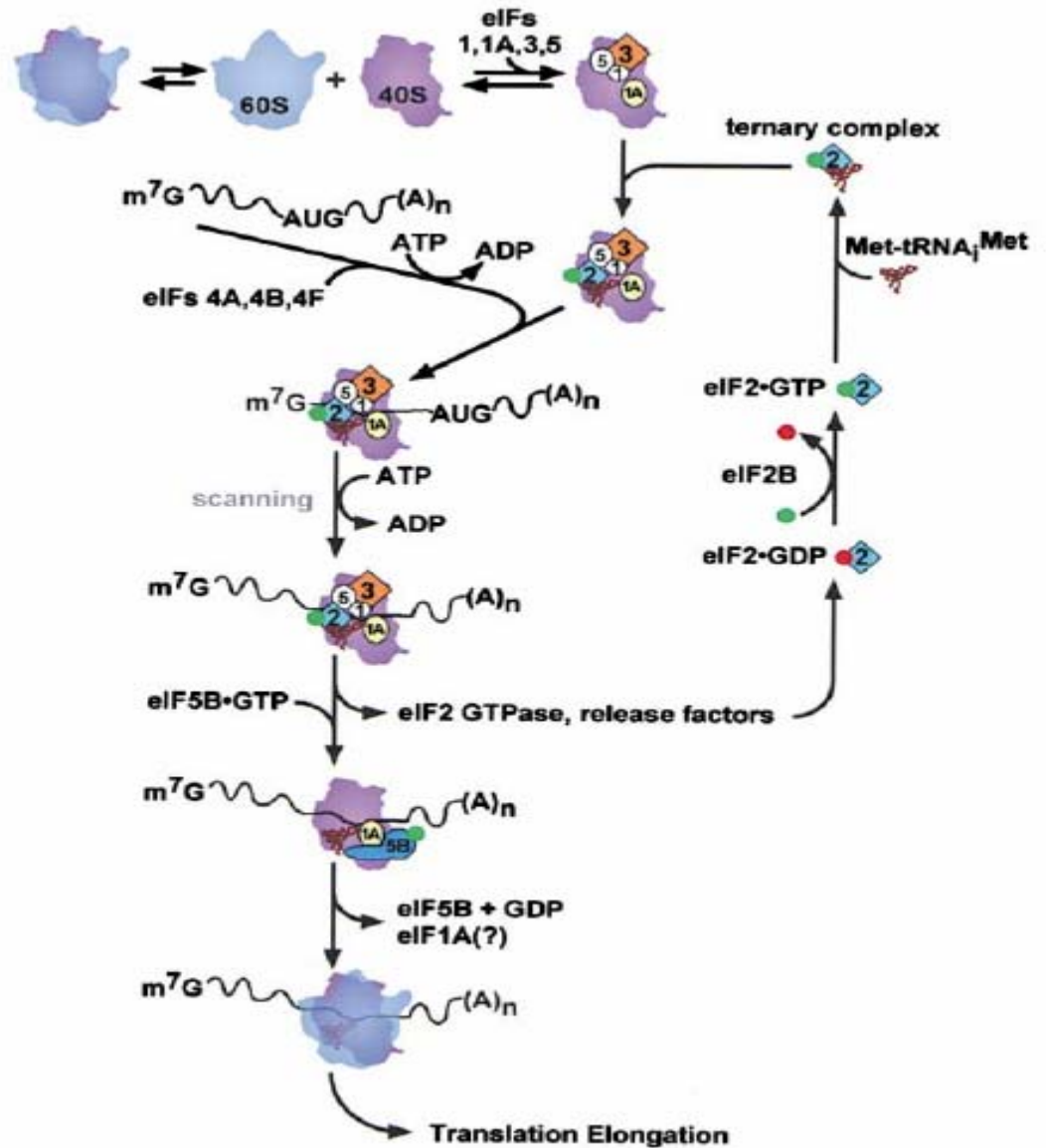
Table 1. Translation Initiation Factors

Eukaryotic Factor	Prokaryotic Factor	Archaeal Factor	Function
eIF1	IF3 ^a	a-eIF1	Fidelity of AUG codon recognition
eIF1A	IF1	a-eIF1A	Facilitate Met-tRNA ^{Met} binding to small subunit
eIF2		a-eIF2	Bind Met-tRNA ^{Met} to 40S subunit; GTPase
eIF2B			Guanine-nucleotide exchange factor for eIF2
eIF3			Promote Met-tRNA ^{Met} and mRNA binding to 40S subunit
eIF4A		a-eIF4A	DEAD-box helicase
eIF4B			Promote eIF4A activity
eIF4E			m ⁷ GpppX cap binding protein
eIF4F			Cap binding complex of eIFs 4A, 4E, and 4G
eIF4G			Adaptor protein interacts with many other factors
eIF4H			Similar to eIF4B
eIF5			AUG recognition and promote eIF2 GTPase activity
eIF5B	IF2	a-eIF5B	Subunit joining; in prokaryotes Met-tRNA ^{Met} binding

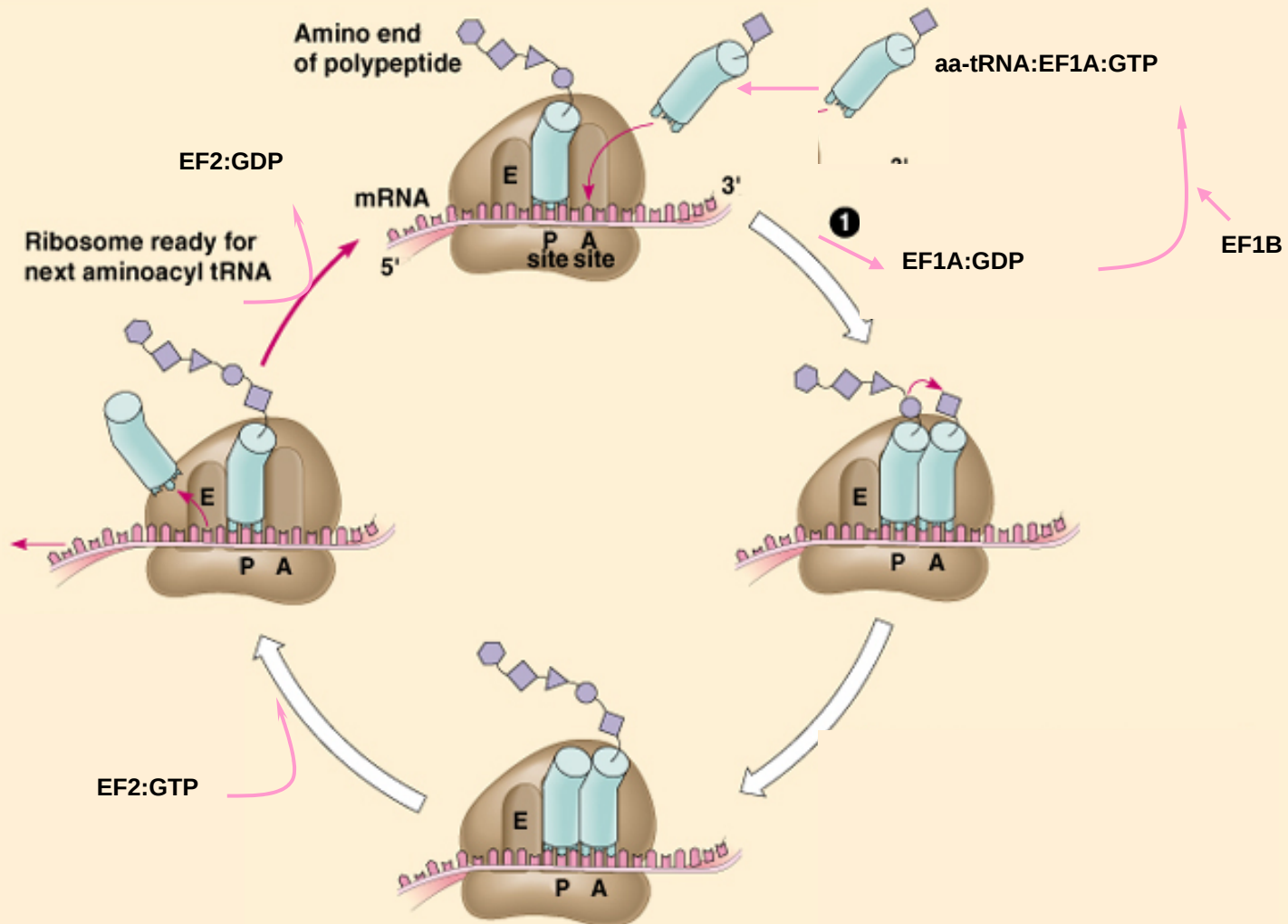
^aThe proposed grouping of eIF1 and IF3 is based on their common function to insure accurate Met-tRNA^{Met} and AUG codon selection, and structural similarity of eIF1 (Fletcher et al., 1999) to the C-terminal domain of IF3 (Biou et al., 1995).

Iniciación

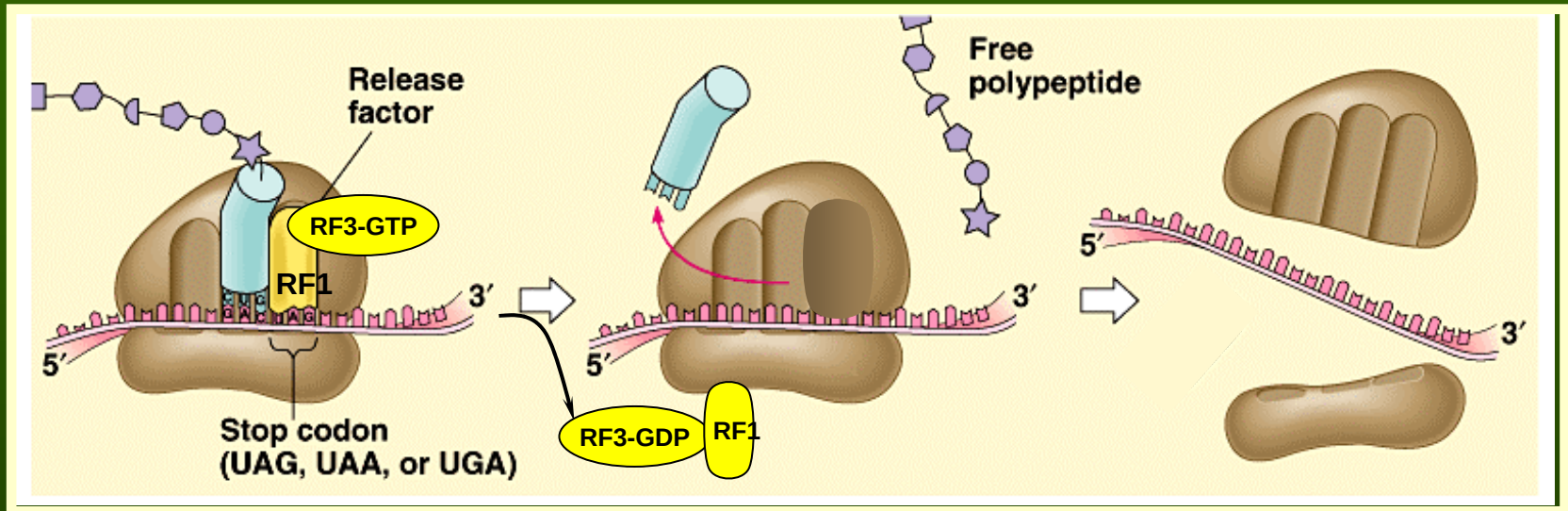
eIF4F } eIF4E
 } eIF4G
 } eIF4A



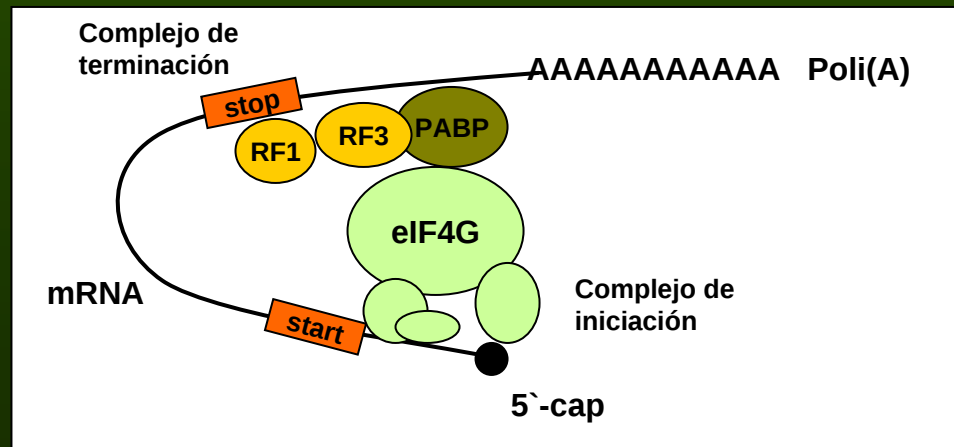
ELONGACION



TERMINACION



La estructura de RF1 se asemeja a la del tRNA



INICIACION

Mecanismos de iniciación

Iniciación cap dependiente y cap independiente

cap-dependiente (Kozak, M 1978)

- Reconocimiento m⁷G-cap en extremo 5'
- Unión de subunidad 40s
- scanning hasta AUG iniciador

* Ribosoma Shunting

cap-independiente

Unión directa de subunidad ribosomal 40s en sitio interno sobre mRNA denominado IRES

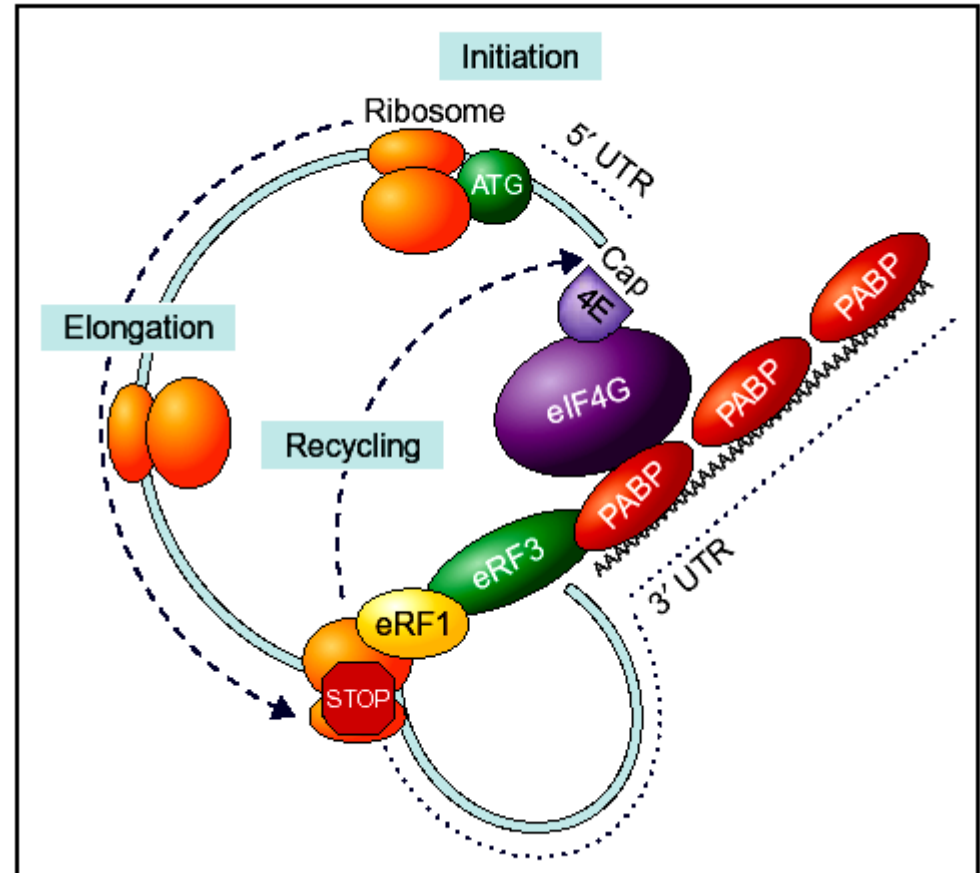
Características del mRNA que afectan la traducción

- 5' m⁷GpppX cap y 3' poli A tail (sinergismo) e interacción entre factores
- Estructura secundaria del 5' leader mRNA (puede impedir unión y/o scanning de los ribosomas)
- Secuencias adyacentes al sitio de iniciación influyen en el reconocimiento del AUG por los ribosomas que están haciendo scanning
- Presencia de pequeños ORF en 5' (uORF) puede impedir la iniciación de la traducción en un AUG downstream.
 - a) Leaky scanning
 - b) Reiniciación después de traducción de ORF

Interacción entre factores y regulación de iniciación

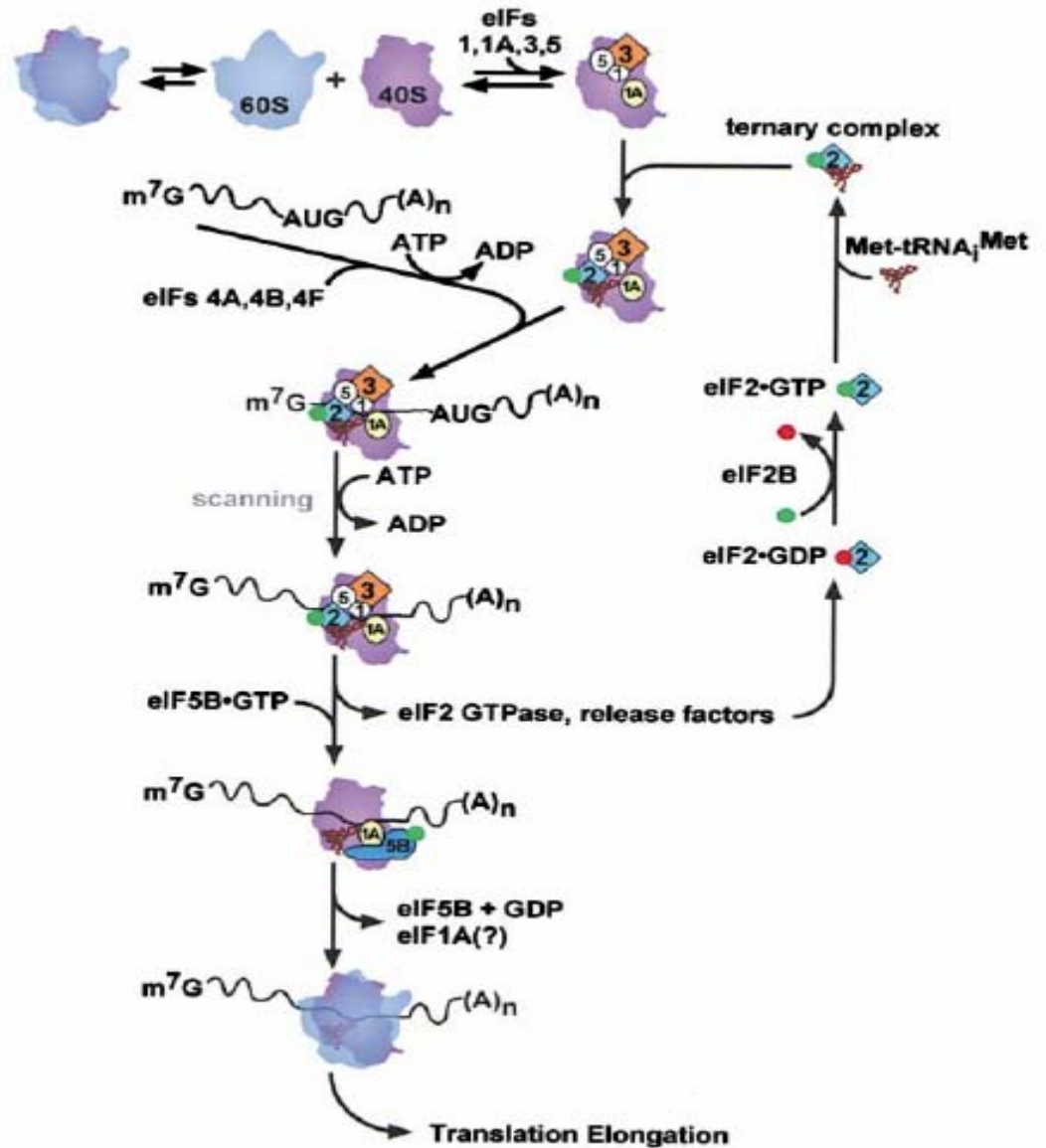
Interacción entre cap y poli A

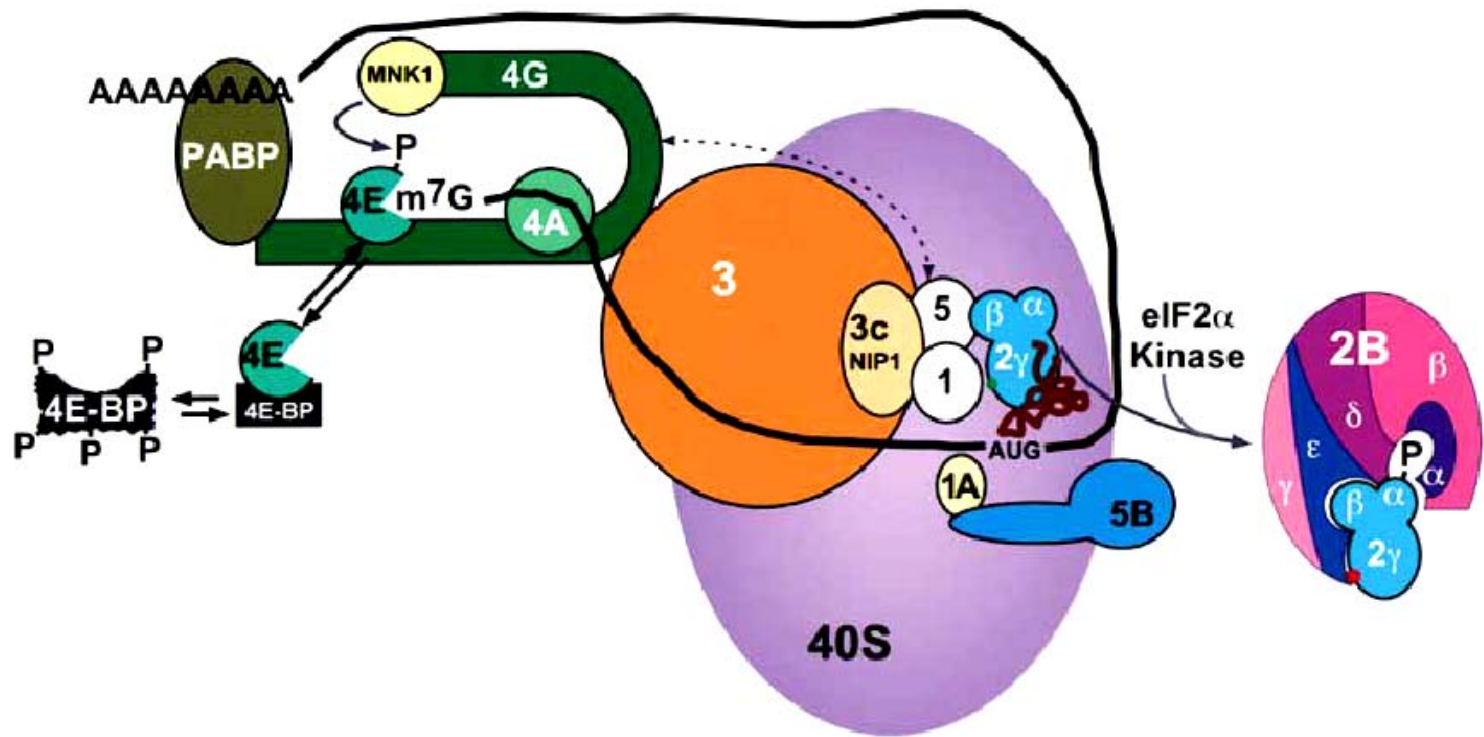
Sinergismo que estimula inicio de traducción-circularización de mRNA



Iniciación

eIF4F } eIF4E
 } eIF4G
 } eIF4A





Regulación de interacción entre factores

Regulación de traducción

1-Regulación de binding al mRNA

a) Proteínas 4E-BPs: Cuando se fosforilan

↓ interacción con eIF4E ↑ traducción

(La defosforilación de 4E-BPs se induce durante estrés)

b) Disponibilidad de eIF4E y fosforilación

eIF4E poco abundante y limitante.

Fosforilación en Ser209 ↑ traducción

c) eIF4G Clivaje y disponibilidad

En apoptosis o infecciones virales ↓ traducción

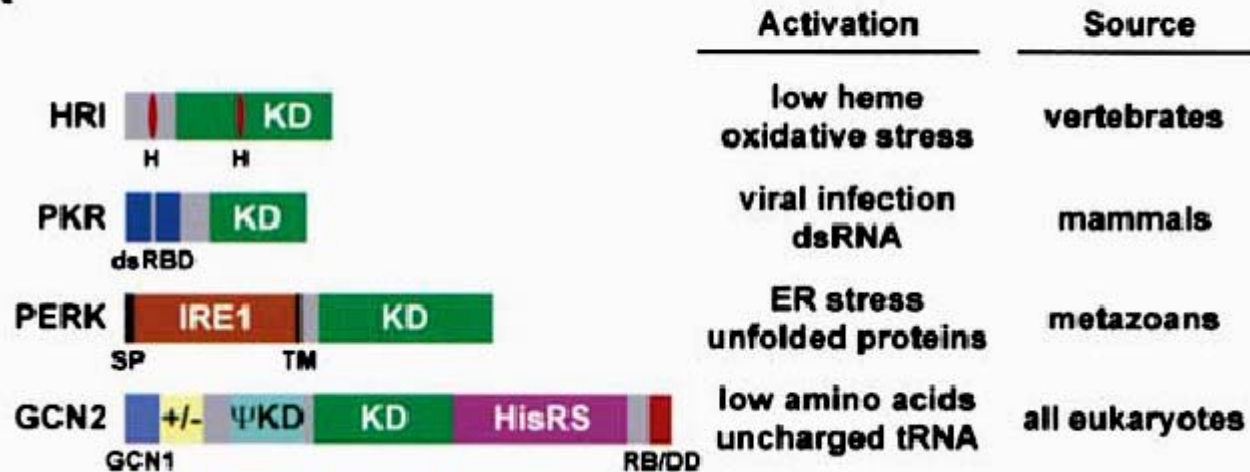
2-Regulación del binding de Met-tRNA

Fosforilación eIF2 α en Ser51

Traducción

eIF2 α -P: inhibidor competitivo de eIF2B

A



Características del mRNA que afectan la traducción

- 5' m⁷GpppX cap y 3' poli A tail (sinergismo)
- Estructura secundaria del 5' leader mRNA (puede impedir unión y/o scanning de los ribosomas)
- Secuencias adyacentes al sitio de iniciación influyen en el reconocimiento del AUG por los ribosomas que están haciendo scanning
- Presencia de pequeños ORF en 5' (uORF) puede impedir la iniciación de la traducción en un AUG downstream.
 - a) Leaky scanning
 - b) Reiniciación después de traducción de ORF

CODON INICIACION

- AUG codon iniciación predominante en eucariotas y exclusivo en levaduras

- AUG mas próximo a 5 ' es iniciación en mayoría de mRNAs

- Secuencia que rodea el AUG es critica :

Pu X X A U G Pu

-3 +1 +4

C C Pu C C A U G C

-3 +1 +4

- Presencia de estructura 2ª downstream AUG aumenta iniciación a partir de ese sitio

- Factores eIF1, eIF5 ,eIF2 importantes en reconocimiento de AUG

Otro mecanismo que media la iniciación:

Ribosoma Shunting

(mRNAs virales y algunos ej en mRNAs celulares hsp)

Los ribosomas se unen en forma Cap-dependiente

Hacen scanning hasta una estructura 2^a estable en mRNA

Se produce un shunting (movilidad) intramolecular

Los ribosomas continúan haciendo scanning hasta el AUG iniciador

cap-independiente

IRES

Internal ribosoma entry sites

IRES : Zonas con estructuras complejas (5' UTRs)

Poca similitud en cuanto a secuencia y tamaño. Su actividad depende de integridad estructural

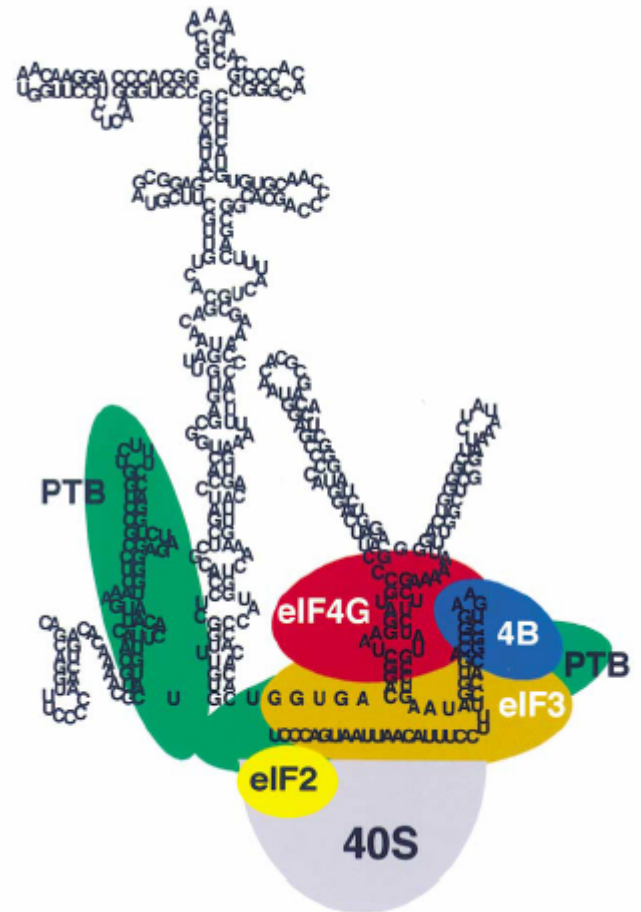
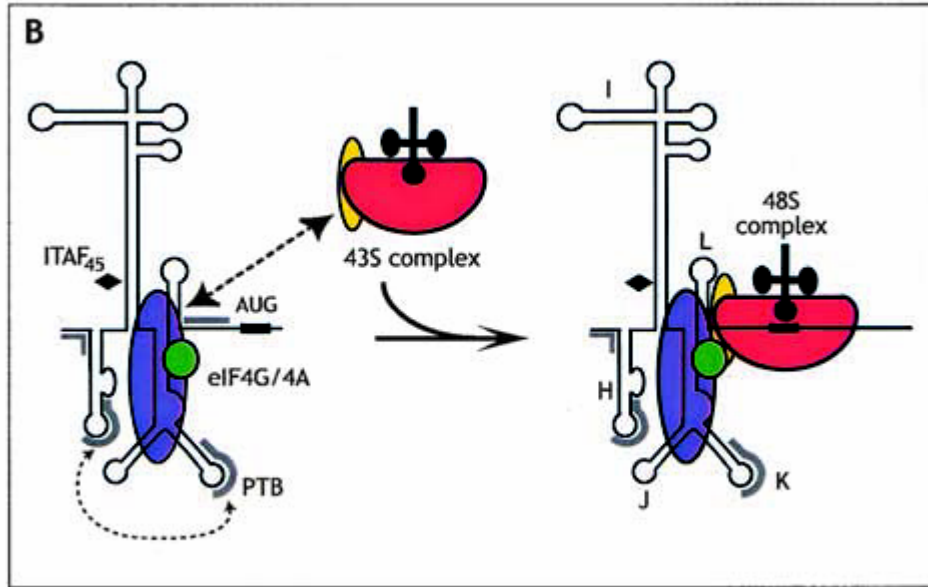
Tipos:

1. IRES GCMV like: eIF4G/eIF4A interacción con IRES , eIFs2,3,y4B necesarios para unión de 40s
2. HVv IRES unen subunidad 40s libre de factores
3. CrPv IRES ensamblan ribosomas 80s sin eIFs ni mtRNAi

Para IRES celulares no se conoce la función de los eIFs , pero necesitan ITAF (factores IRES transactivantes)

Table 3 Cellular mRNAs containing a regulated IRES element

mRNA	Conditions of IRES-dependent translation	Reference(s)
p58 ^{PITSLRE}	G2/M phase of cell cycle	[62]
ODC	G2/M phase of cell cycle	[63]
FGF-2	Growth control	[71]
PDGF2/C-SIS	Growth control	[72]
MYT2	Growth control	[73]
VEGF	Hypoxia	[69,70]
cat-1	Cellular stress	[74–76]
Apaf-1	Apoptosis	[67]
XIAP	Apoptosis	[68]
<i>c-myc</i>	Apoptosis, tissue specific translation	[64,66]
Ubx	Tissue specific translation	[81]
Antp	Tissue specific translation	[81]



GCMV IRES