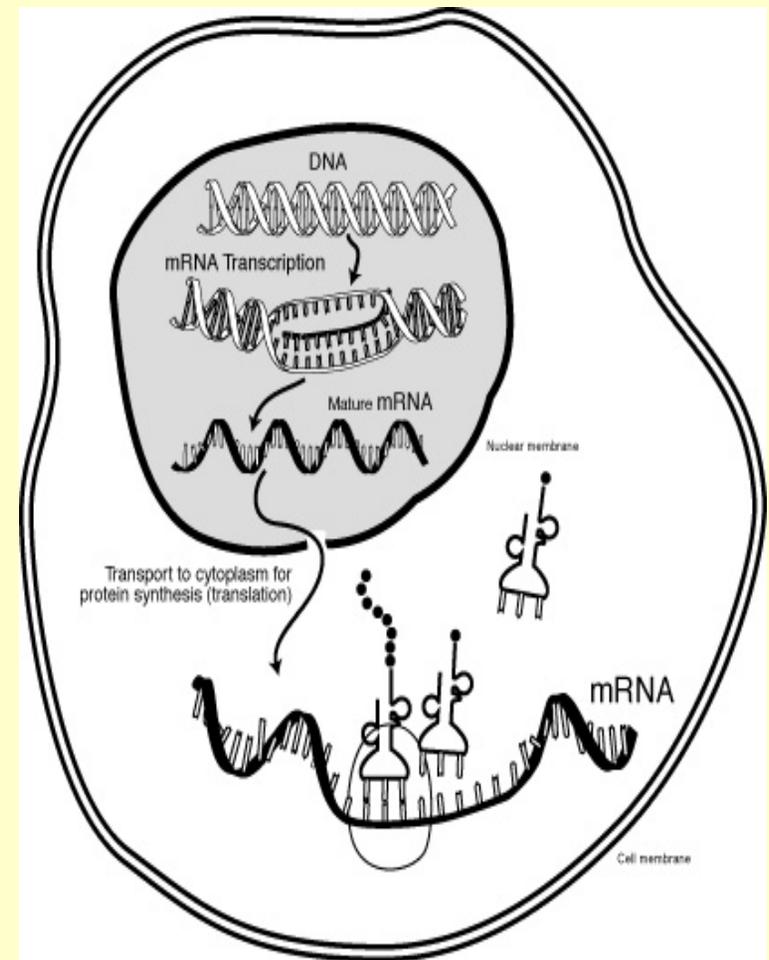


TRADUCCION

- Corresponde al proceso en la cadena de producción de una proteína donde tiene lugar la lectura de una combinación de bases nitrogenadas provenientes del RNAm.
- Por lo tanto, se define como mecanismo de traducción a la determinación de una secuencia aminoacídica.
- Procariontes = proceso "in toto".
- Eucariontes = proceso citoplasmático.



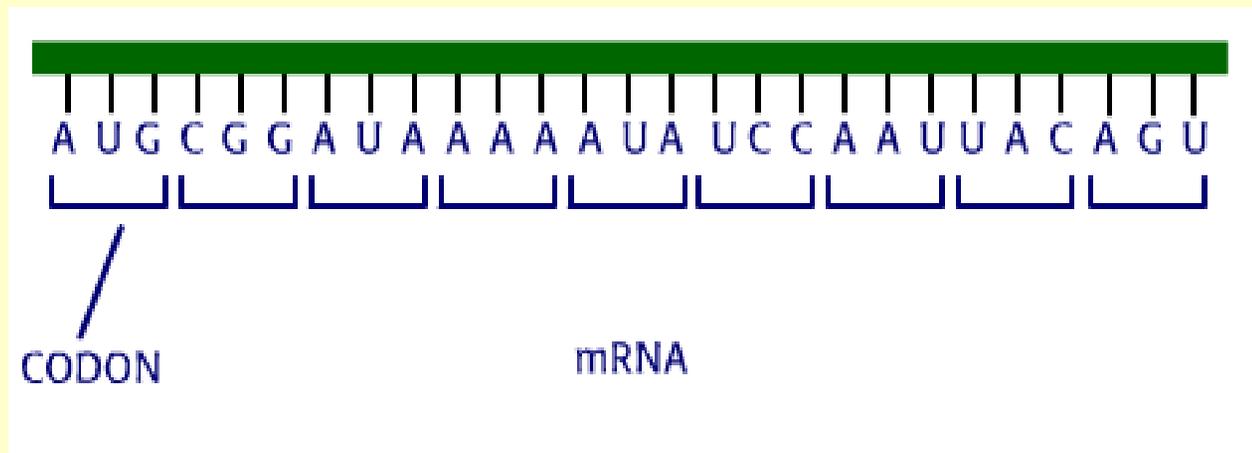
CODIGO GENETICO

Severo Ochoa descubre la ARN polimerasa y sintetiza por primera vez in vitro una molécula de ARN

(Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1959)

Nirenberg y Khorana descifran el código genético

(Premio Nobel de Medicina en 1968)



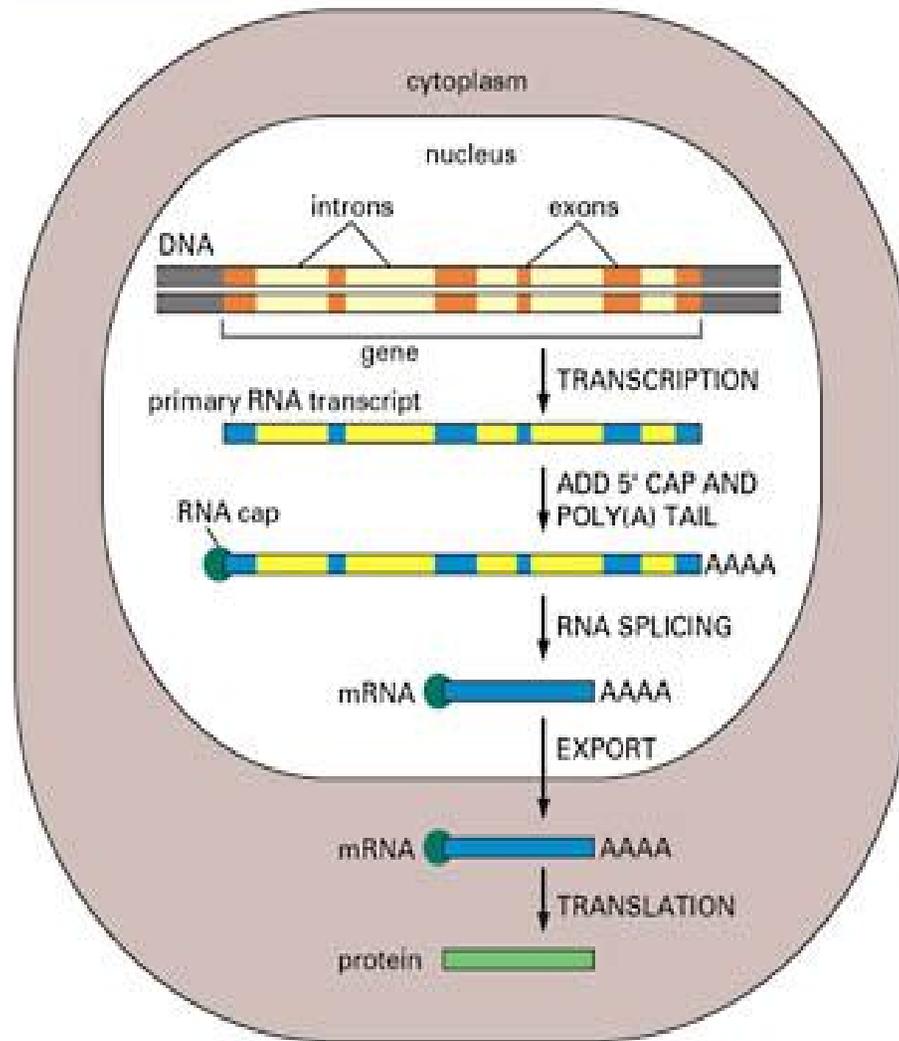
1 NUCLEOTIDE = 4 POSSIBLE CODONS
2 NUCLEOTIDES = 4 X 4 POSSIBLE CODONS

3 NUCLEOTIDES = 4 X 4 X 4 POSSIBLE CODONS
3 NUCLEOTIDES = 64 codons for 20 amino acids

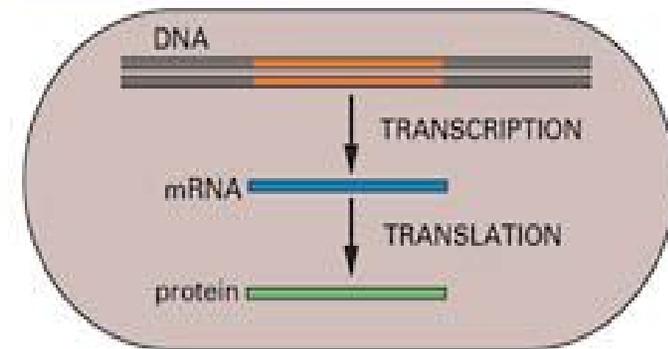
- ✓ La traducción es un proceso RNAm dirigido para la biosíntesis de polipéptidos.
- ✓ La formación del enlace peptídico es una reacción relativamente sencilla.
- ✓ La complejidad del proceso traduccional, que involucra la participación ordenada de más de 100 macromoléculas, está determinada por la necesidad de unir 20 diferentes aminoácidos en un orden específico determinado por un RNAm.

PROCESOS EN PROCARIOTES Y EUCARIOTES

(A) EUCARYOTES



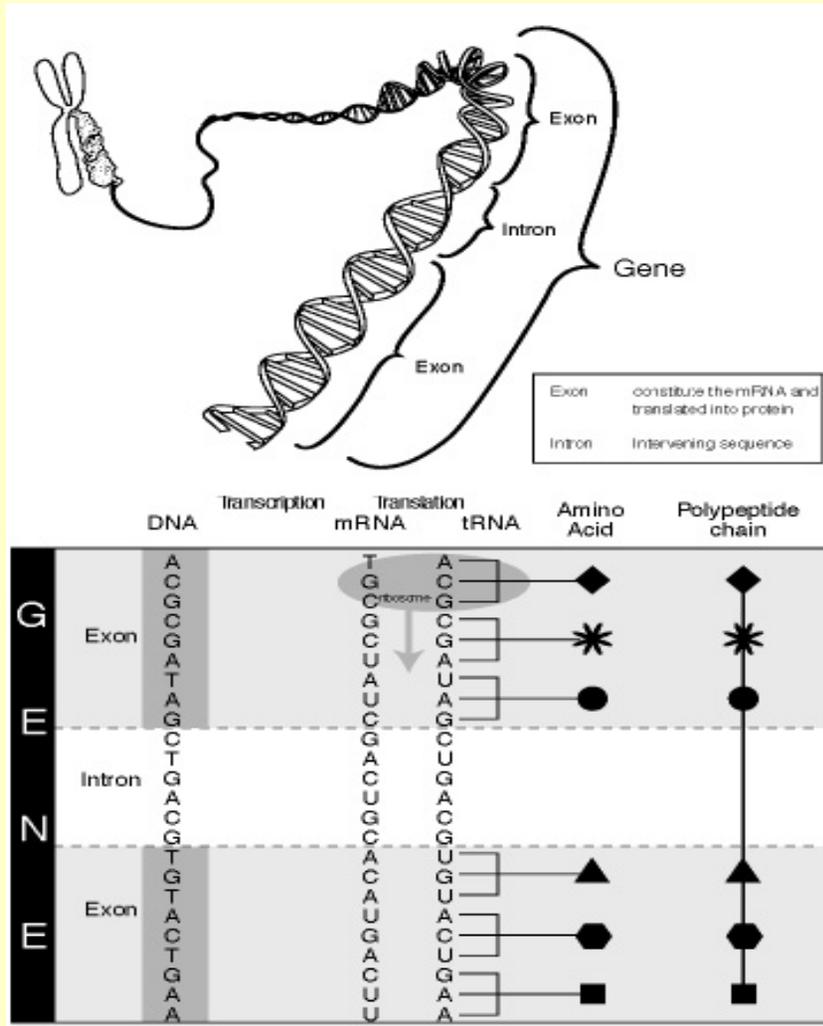
(B) PROCARYOTES



Cómo el DNA codifica la información?

- El mensaje genético contiene la secuencia de aminoácidos de las proteínas. La secuencia de bases en el DNA es el único elemento variable en este polímero monótonamente repetitivo, de tal suerte que la secuencia de aminoácidos en una proteína, está especificada por un segmento de DNA.
- Una secuencia de bases en el DNA puede especificar una secuencia de aminoácidos en muchas maneras.
- Con solamente 4 bases para codificar 20 aminoácidos, un grupo de muchas bases, denominado “codón”, es necesario para especificar un solo aminoácido.
- Un código de tripletes (3 bases por codon), es el mínimamente requerido:

CODIGO GENETICO



Corresponde al conjunto de reglas que relacionan la secuencia de nucleótidos , el correspondiente codón de mRNA y la secuencia de aminoácidos obtenida.

Tres aminoácidos: Arg, Leu y Ser, están especificados por seis codones, muchos de los demás están especificados por cuatro, tres o dos codones. Sólo Met y Trp se representan por un solo codón.

de bases por codón



$$4^3 = 64$$



bases

diferentes combinaciones

Con un código de tripletes, existen dos posibilidades:

- ✓ Existen 44 codones que no codifican para aminoácidos.
- ✓ Algunos aminoácidos son codificados por más de un codón.

Desde el punto de vista matemático, un código como el descrito en la opción b, se denomina como **redundante o Degenerado.**

HISTORIA

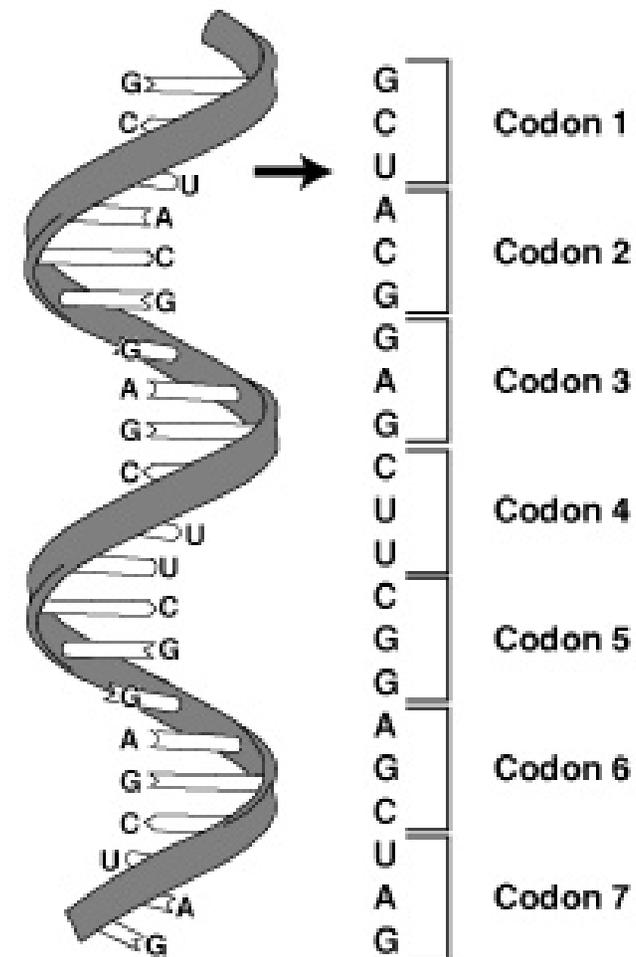
En 1961, al estudiar las mutaciones inducidas por la proflavina en el bacteriofago T4, Francis Crick y Sydney Brenner, determinaron el carácter de tripletes del código genético.

Las conclusiones a las que llegaron son las siguientes:

1.- El código genético es leído de forma secuencial, iniciando en un punto fijo en el gen. La inserción o supresión de un nucleótido modifica el marco de lectura en el cual los nucleótidos son leídos como codones (a estas mutaciones también se les denomina mutaciones de corrimiento del marco de lectura). Por lo tanto, el código no tiene puntuaciones internas que indiquen el marco de lectura. Esto significa que el código genético está libre de comas (o espacios).

2.- El código genético es un código de tripletes.

3.- Todos o casi todos los 64 codones codifican para un aminoácido; lo que significa que el código es redundante.



RNA

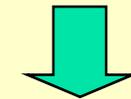
Ribonucleic acid

- ✓ Charles Yanofsky, a principios de los años 60's demostró la colinealidad de los genes y los polipéptidos.
- ✓ Sus resultados fueron obtenidos a partir del aislamiento de varias mutantes de la triptofano sintasa (268 residuos especificados por el gen *trpA*) de *Escherichia coli*.
- ✓ Encontró que la posición de las mutaciones en el gen correspondían con los cambios en la secuencia de aminoácidos en la proteína.

Marcos de Lectura

- Cada set de tres nucleótidos del RNAm se denomina codón.

Colinealidad

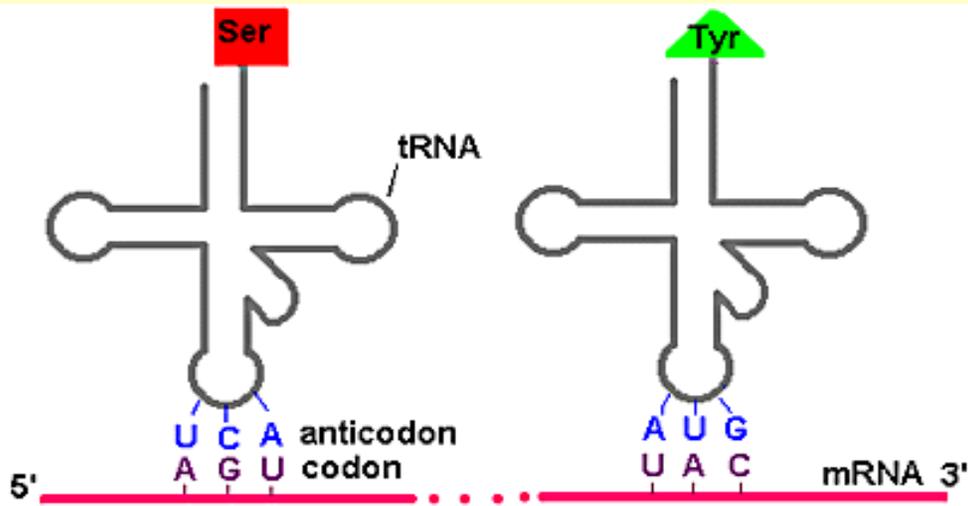


“reading frames”

AUG **CCA** **GGC** **AAA**
Met Pro Gly Lys

A **UGC** **CAG** **GCA** **AA**
Cys Glu Ala

AUG **CAG** **GGC** **AAA**
mutación **U** **UAG** Stop codon



		2nd base in codon					
		U	C	A	G		
1st base in codon	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	
						3rd base in codon	

The Genetic Code

✓ Cada tRNA contiene una secuencia trinucleotídica denominada anticodón que es complementaria con un codón en el mRNA para un aminoácido específico.

✓ Cada aminoácido es unido a su tRNA correspondiente a través de la acción de una enzima específica que reconoce ambas moléculas (el proceso se denomina "cargado").

CODIGO GENETICO

El código genético está compuesto por **codones** (codon= 3 bases nitrogenadas) que definen el proceso de **traducción**

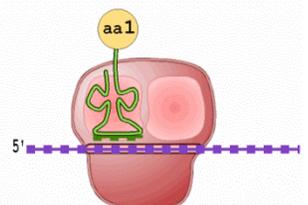
- 61 codones para aminoácidos (existen 20 aminoácidos diferentes)
- 3 codones de terminación

		Segunda Letra				
		U	C	A	G	
Primera letra	U	UUU Fenilalanina UUC UUA Leucina UUG	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Triptófano UAC UAA UAG (stop codon)	UGU Cisteína UGC UGA Cod. parada UGG Triptófano	U C A G
	C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Histidina CAC CAA Glutamina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG	U C A G
	A	AUU Isoleucina AUC AUA AUG Metionina (Iniciación)	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC AAA Lisina AAG	AGU Serina AGC AGA Arginina AGG	U C A G
	G	GUU Valina GUC GUA GUG	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Acido Aspartico GAC GAA Acido Glutámico GAG	GGU Glicina GGC GGA GGG	U C A G

El código genético es **universal**

El código genético es **redundante** (varios codones para un mismo aminoácido)

Ejemplo: El aminoácido **glicina** está codificado por GGU, GGC, GGA y GGG



EL CODIGO GENETICO ES DEGENERADO

- ✓ Muchos sinónimos ocupan el mismo bloque en la Tabla de codones, difieren solamente en su tercer nucleótido.
- ✓ Las únicas excepciones son Arg, Leu y Ser que tienen seis codones cada uno.
- ✓ Cambios en la primera posición del codón tienden a especificar aminoácidos similares, muchas veces el mismo.
- ✓ Codones en los cuales la segunda posición es una pirimidina codifican principalmente para aminoácidos hidrofóbicos, aquellos cuya segunda posición es una purina codifican principalmente para aminoácidos con cadenas laterales polares no cargadas o cargadas.
- ✓ Aparentemente, esta característica existe para evitar el carácter deletéreo de las mutaciones.

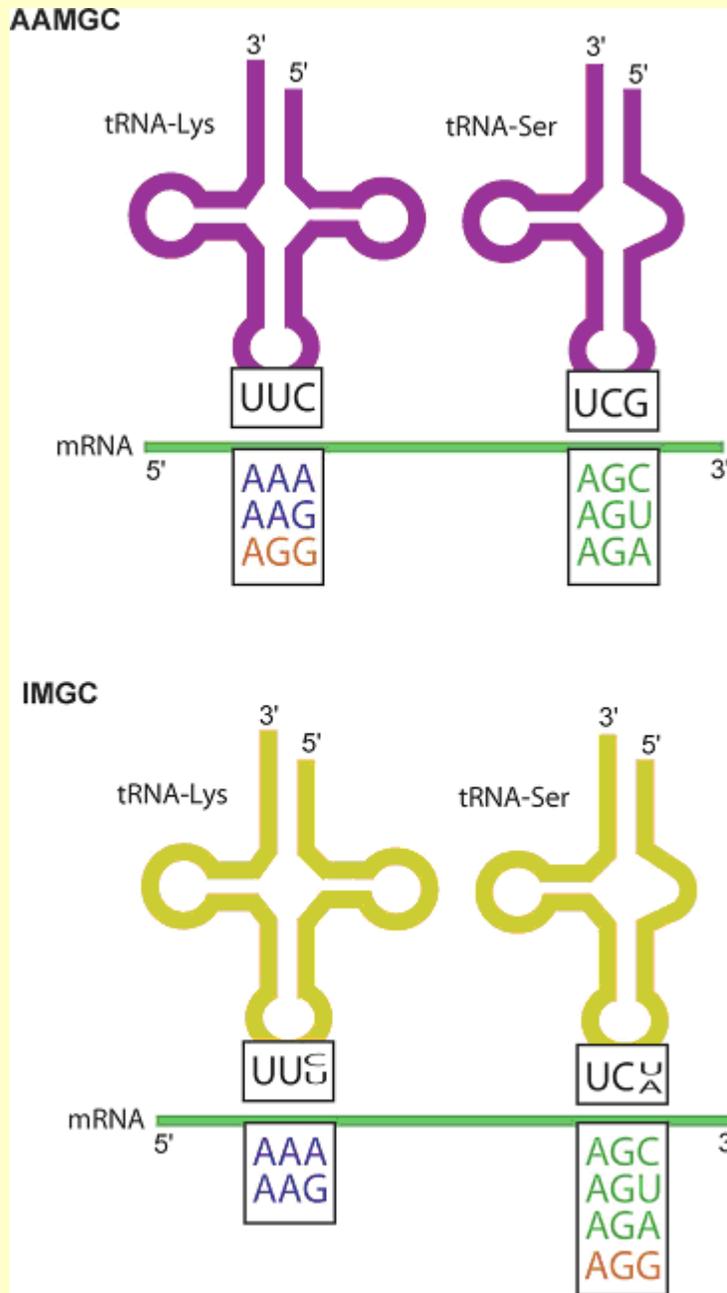
CONSERVACION

- ✓ Durante muchos años se pensó que el código genético estándar (mostrado en la Tabla de codones anterior), era universal. Esta observación se debió a que muchos genes de diferentes organismos (por ejemplo los de humano), pueden ser traducidos por *Escherichia coli*; este hecho es la base de la Ingeniería Genética.
- ✓ En 1981 se describió que el código genético de ciertas mitocondrias (en ellas existe la maquinaria para sintetizar entre 10 y 20 proteínas mitocondriales, el resto proviene de información en el núcleo), es una variante de código genético estándar.
- ✓ Por ejemplo en las mitocondrias de mamíferos, AUA así como AUG (en el código estándar) es el codón iniciación/Met; UGA especifica Trp en vez de la señal de terminación. AGA y AGG son señales de terminación en vez de Arg.
- ✓ De esta manera las mitocondrias simplifican el código estándar incrementando la degeneración.

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

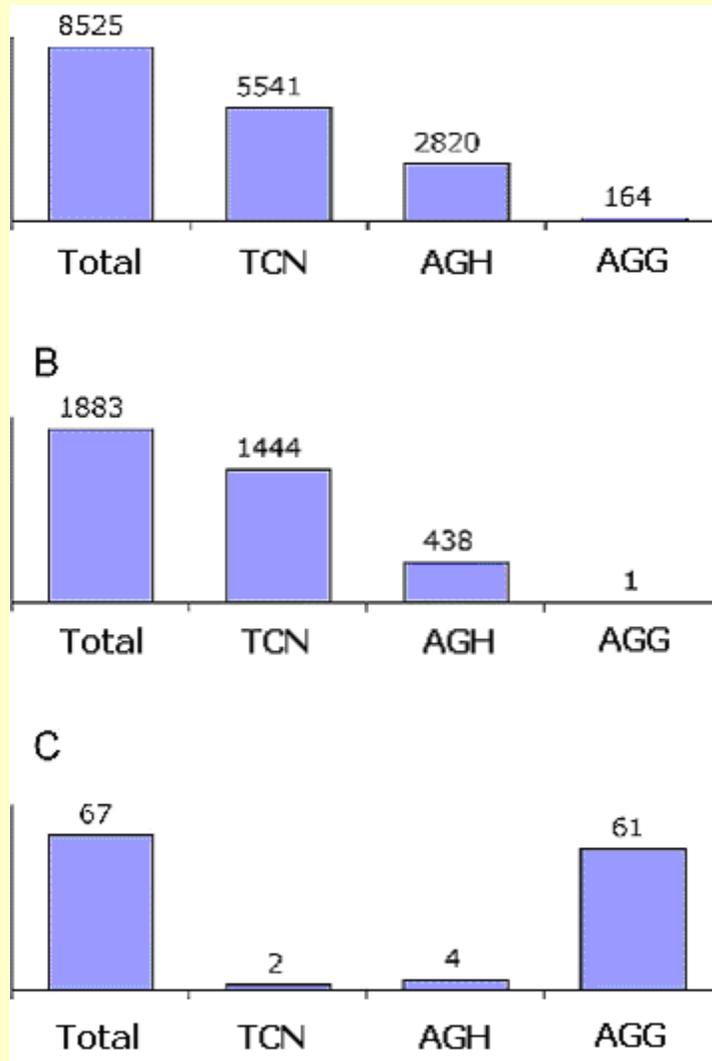
Codones característicos de las mitocondrias humanas

codon	signif. estándar	signif. mitocondrial
UGA	<u>End</u>	<u>Trp</u>
UGG	Trp	<u>Trp</u>
AGA	Arg	<u>End</u>
AGG	Arg	<u>End</u>
AUA	Ile	<u>Met</u>
<u>AUG</u>	<u>Met</u>	<u>Met</u>

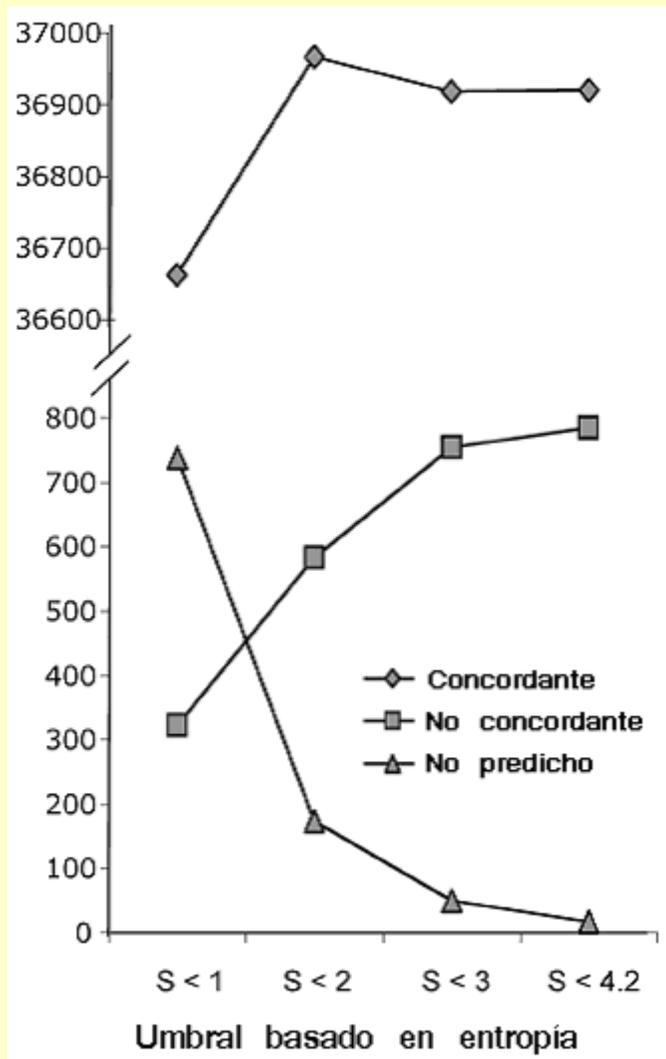


Las moléculas de ARNt-Lys y ARNt-Ser en artrópodos tienen el AAMGC o el IMGC

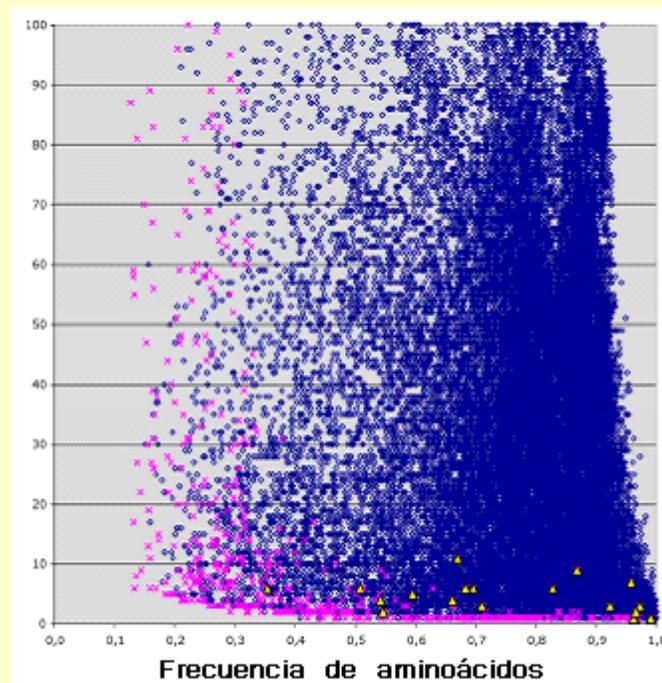
Los anticodones ARNt-Lys y ARNt-Ser decodifican AGG como Lys o Ser, así como la traducción predicha de los codones-ARNm AGN y AAR, son mostrados. Note que los anticodones son descritos en el sentido 3' a 5', por ejemplo UUC en ARNt-Lys corresponde al anticodón CUU en la notación estándar



Uso de los codones TCN y AGN en los genomas mitocondriales de 24 artrópodos que se predijo que traducían AGG como Lys. El uso total de los codones TCN/AGN (A), y su uso particular en los sitios proteicos donde Ser (B) o Lys (C) están conservadas más del 80% de los 626 ADNmt metazoarios analizados son mostrados. N = A, C, G o T; H = A, C o T.



Rendimiento del Método de Asignación de Codón. El número de asignaciones concordantes (diamantes) y no concordantes (cuadrados) con registros de GenBank, así como el número de codones que fueron dejados sin predecir (porque no había observaciones para ellos; triángulos) son mostrados en diferentes umbrales de entropía.



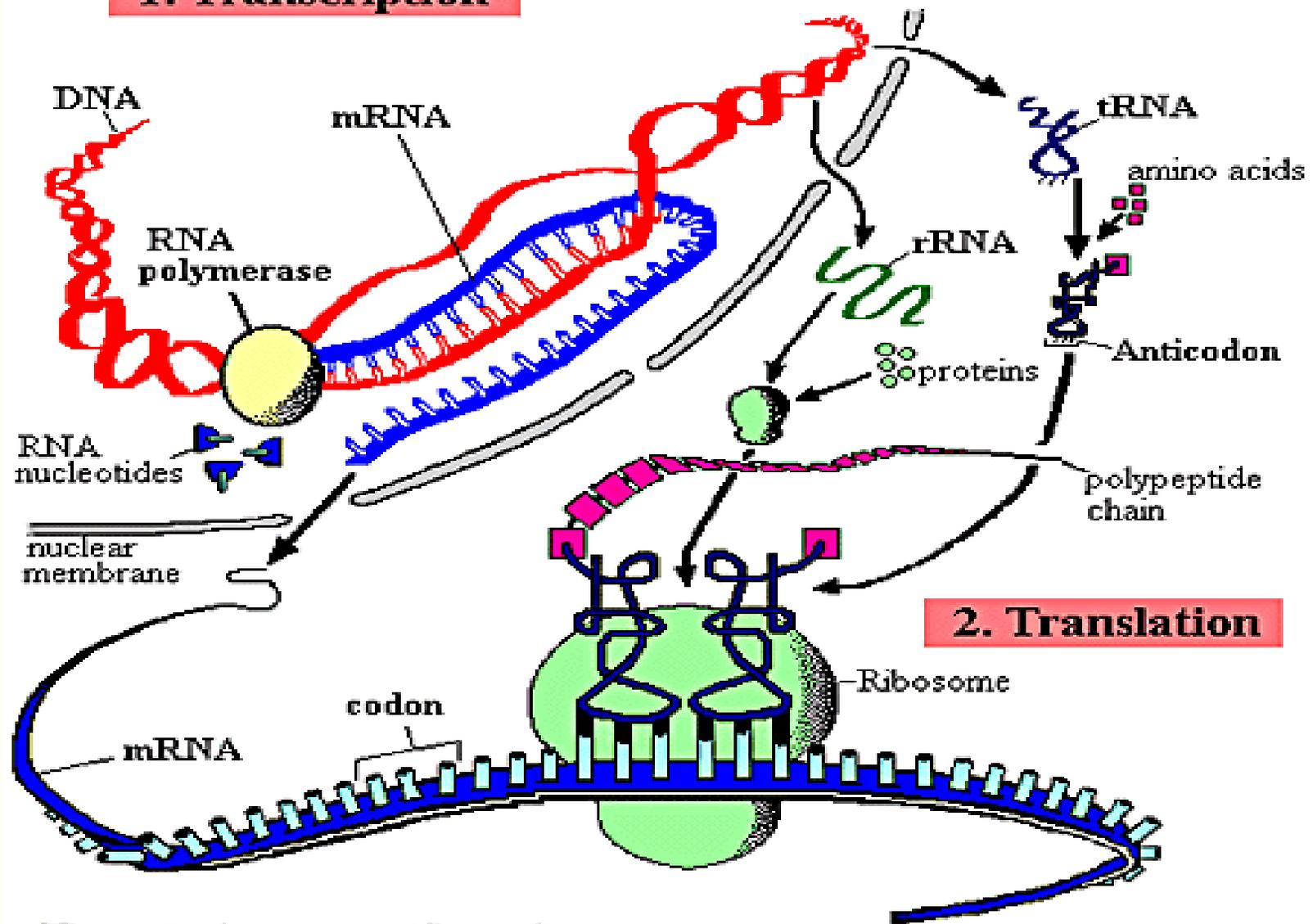
Función y Estructura de Ribosomas

- ✓ Los ribosomas se observaron por primera vez la década de los 30's por Albert Claude en homogenizados celulares utilizando microscopía de campo oscuro. Claude los denominó "microsomos".
- ✓ Fue hasta la década de los 50's cuando George Palade los observó por microscopía electrónica, pero pensó que eran artefactos de la técnica.
- ✓ El nombre de ribosomas deriva de que en *Escherichia coli*, están formados por aproximadamente 2/3 partes de RNA y 1/3 de proteína (los microsomos son en realidad las vesículas formadas por el retículo endoplásmico, son ricos en ribosomas y es posible aislarlos por centrifugación diferencial).

LOCALIZACION DE LA SINTESIS PROTEICA

- ✓ La correlación entre la cantidad de RNA en la célula y la velocidad a la cual se sintetizan las proteínas, llevó a la sospecha de que los ribosomas eran el sitio de la síntesis de proteínas.
- ✓ Esta hipótesis fue confirmada en 1955 por Paul Zamecnik, quien demostró que aminoácidos marcados con ^{14}C permanecen algún tiempo asociados a los ribosomas antes de aparecer en las proteínas libres.
- ✓ El análisis de la síntesis de proteínas muestra que consiste de tres fases: iniciación, elongación y terminación.

1. Transcription



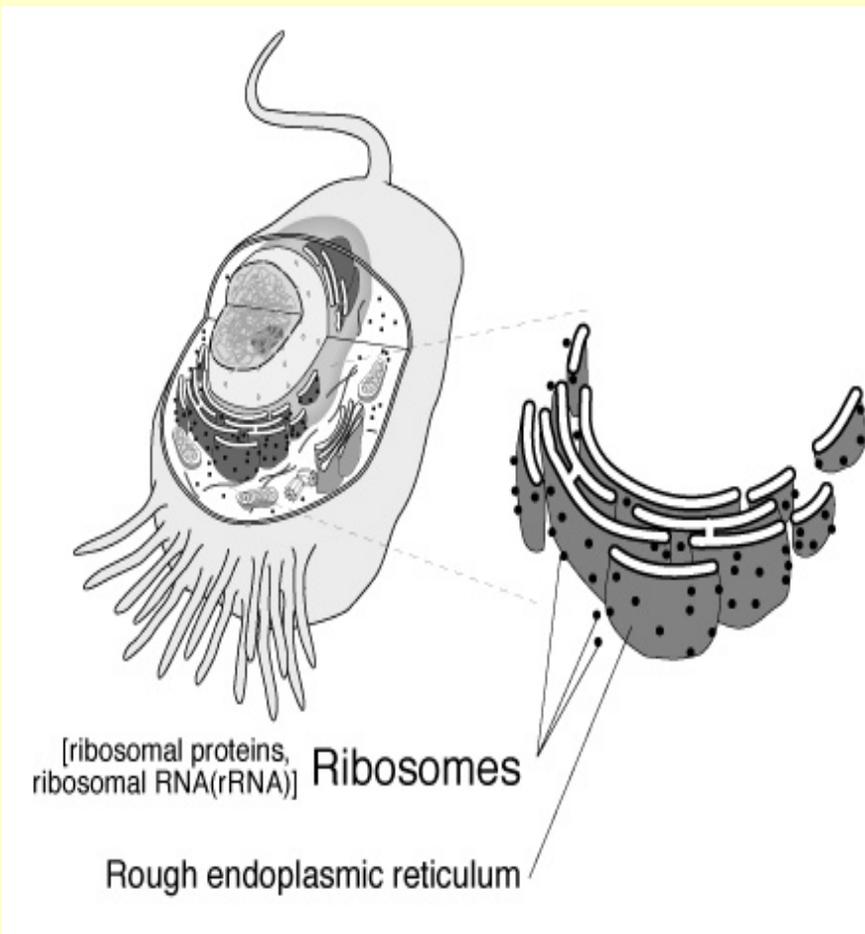
2. Translation

Protein synthesis

✓El RNAr 16S que fue secuenciado por Harry Noller, y consiste de 1542 nucleótidos. Una búsqueda computarizada de esta secuencia, señala que presenta una estructura de doble hélice, la comparación de las secuencias del RNAr 16S de varios procariontes, suponiendo que son evolutivamente conservados, ha permitido proponer a la estructura tridimensional que los conforma.

✓Esta estructura forma cuatro dominios.

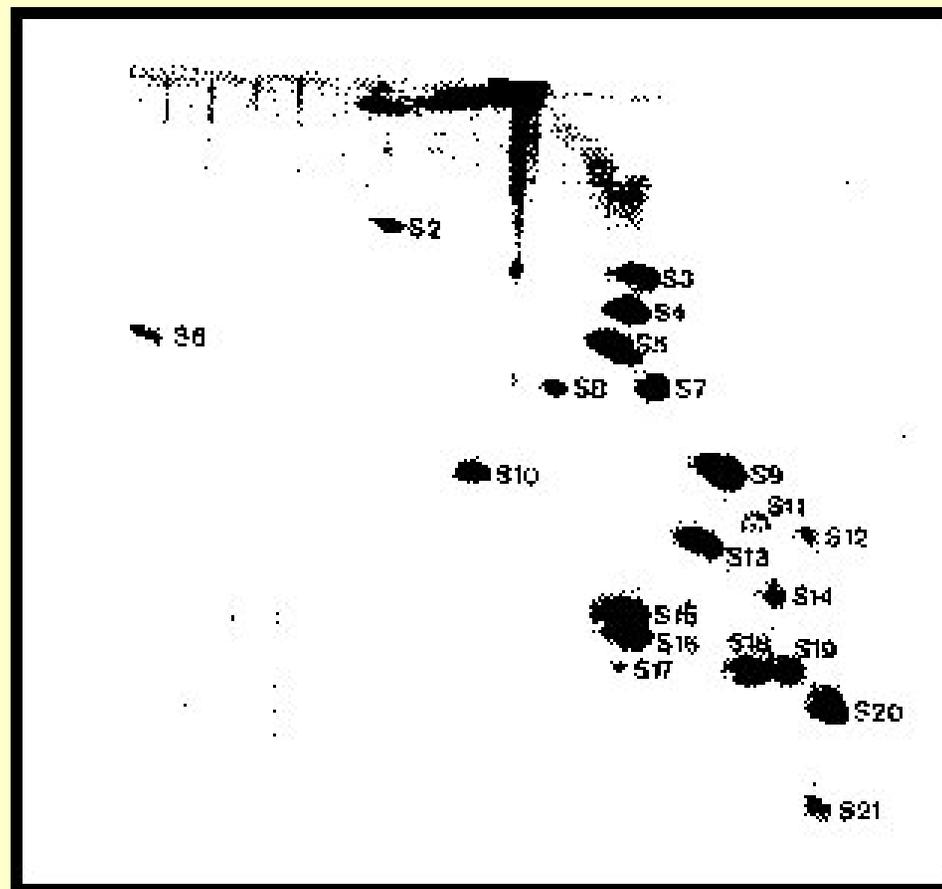
✓La subunidad grande también ha sido secuenciada y presenta al igual que la 16S, estructura secundaria.



Los ribosomas, no pueden reconocer directamente a los aminoácidos, reconocen diversas moléculas de tRNA que cada una de ellas carga un aminoácido específico.

Durante la traducción, el mRNA pasa a través del ribosoma, de tal forma que cada codon se une específicamente a su tRNA correspondiente

Las proteínas ribosomales son difíciles de separar por que ellas son insolubles en agua. Por convención las proteínas de la subunidad grande se denominan L y las de la pequeña S (de Large y Small), seguido de un número que indica su posición de arriba a la izquierda hacia abajo a la derecha en una electroforesis en gel de doble dimensión



Las subunidades ribosomales se forman, bajo las condiciones apropiadas a partir de mezclas de numerosos componentes macromoleculares, son entidades autoensamblables.

Esta observación la hizo Masayasu Nomura a través de experimentos de reconstitución parcial. Si un componente macromolecular falta en una mezcla de proteínas y RNA, los componentes que no puedan unirse a la subunidad parcialmente ensamblada, probablemente, interactúan con el componente omitido.

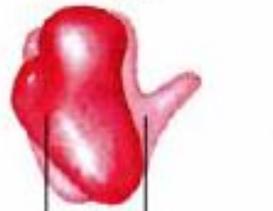
De tal forma que en la actualidad, se cuenta con el mapa de la subunidad pequeña.

Estructura Ribosomal

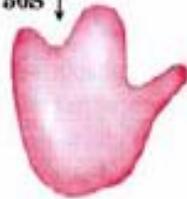
	Procarionte	Eucarionte
Peso (Kda)	2.500.000	4.200.000
Subunidades	50S y 30S	60S y 40S
Peso de cada subunidad	50S = 1.600.000 30S = 900.000	60S = 2.800.000 40S = 1.400.000
Nucleotidos	50S > 3000 30S = 1540	60S > 4900 40S = 1900
Proteínas	50S = 34 prot. 30S = 21 prot.	60S = 49 prot. 40S = 33 prot.

COMPONENTES DE LOS RIBOSOMAS

Ribosoma bacteriano
70S $M_r 2,7 \times 10^6$



50S



$M_r 1,8 \times 10^6$
rRNA 5S
(120 nucleótidos)
rRNA 23S
(3.200 nucleótidos)
36 proteínas



30S

$M_r 0,9 \times 10^6$
rRNA 16S
(1.540 nucleótidos)
21 proteínas

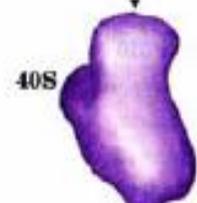
Ribosoma eucariótico
80S $M_r 4,2 \times 10^6$



60S



$M_r 2,8 \times 10^6$
rRNA 5S
(120 nucleótidos)
rRNA 28S
(4.700 nucleótidos)
rRNA 5,8S
(160 nucleótidos)
~ 49 proteínas

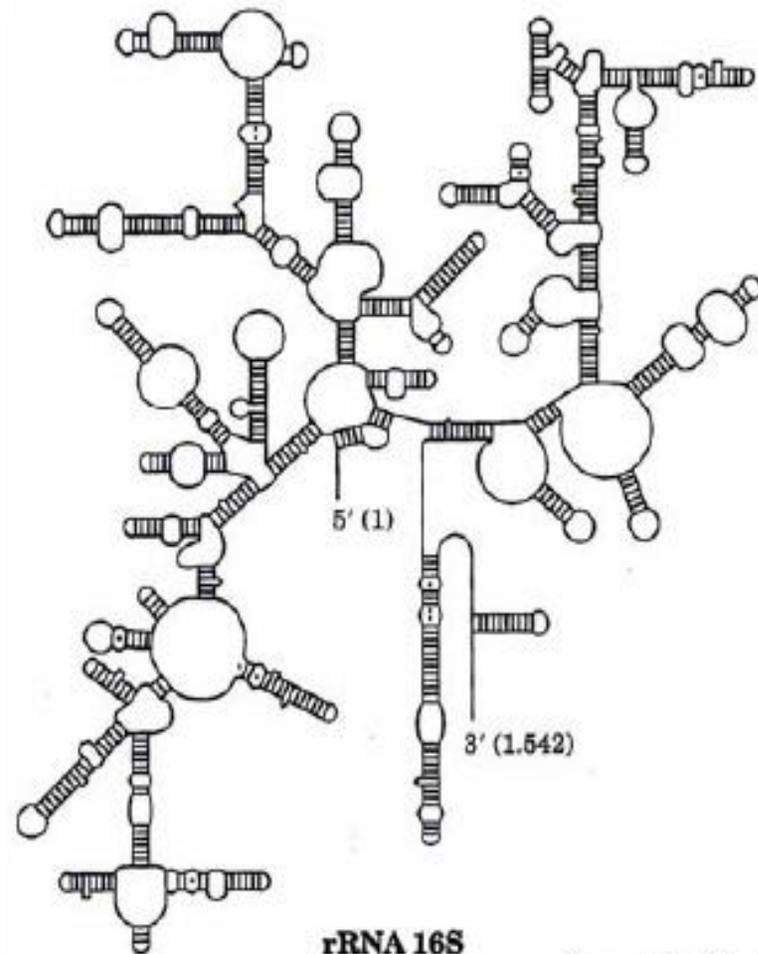


40S

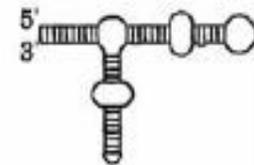
$M_r 1,4 \times 10^6$
rRNA 18S
(1.900 nucleótidos)
~ 33 proteínas

(b)

ESTRUCTURA PLEGADA DE LOS rRNAS

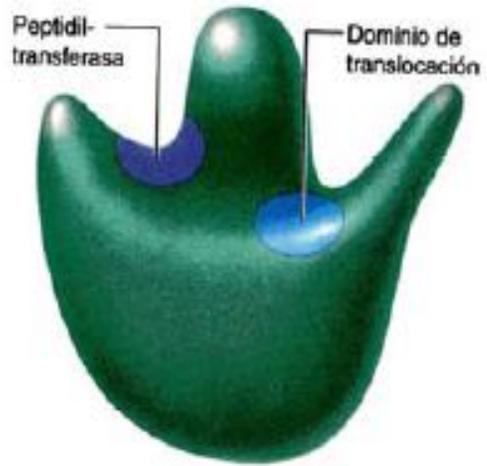


rRNA 16S

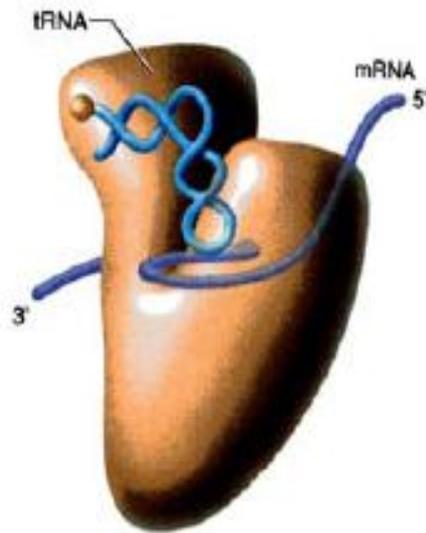


rRNA 5S

(a)



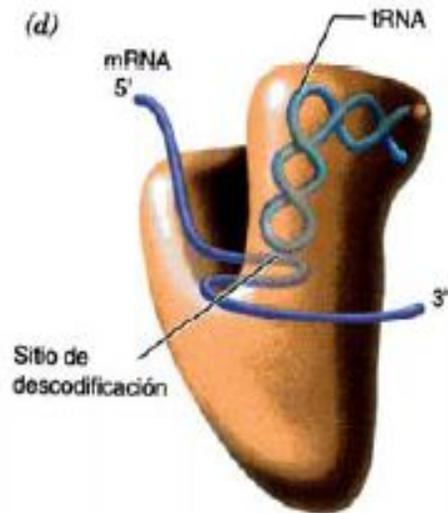
(b)



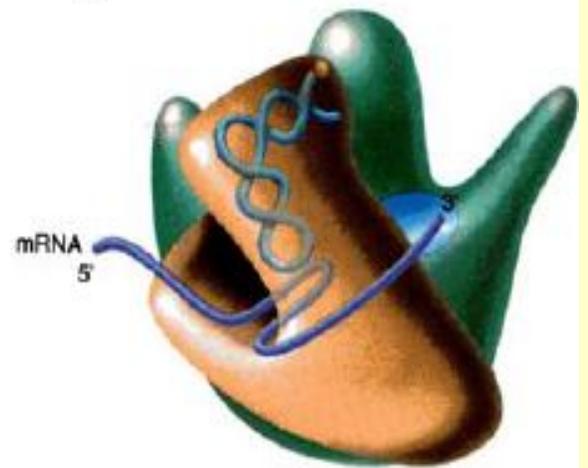
(c)



(d)



(e)



Comparación de Ribosomas

- ✓ Ambos son similares en diseño y función.
- ✓ En ambos ribosomas, la subunidad menor une al tRNA y al mRNA.
- ✓ En ambos casos la subunidad mayor corresponde a la entidad catalítica del complejo (enlace peptídico).
- ✓ > del 60% del peso del ribosoma es RNAr.
- ✓ El RNAr es uno de los más conservados en la naturaleza.

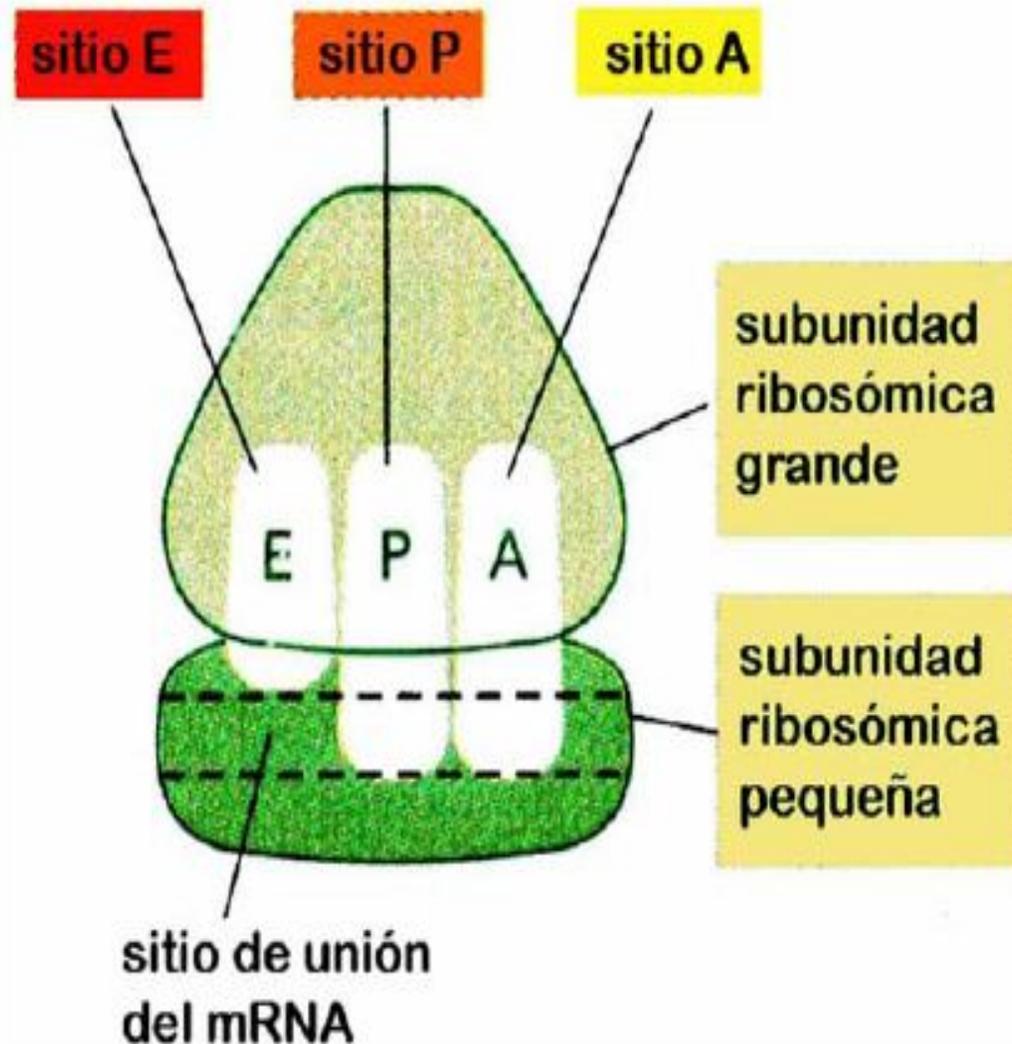
Comparación Transcripción vs Traducción

	Transcripción	Traducción
RNAm	Molde del DNA	Código específico para aa.
Unidades	4 nucleótidos	20 aminoácidos
Enzimas	RNA polimerasa	Aminoacil-tRNA, peptidil-tRNA y enzimas de activación.
Proteínas Estructurales	Ninguna	Ribosomas
Otros RNAs	tRNA, rRNA	RNAm
tRNA	Ninguno	Unión a los aa.
rRNA	Ninguno	Estructura ribosomal
Energía	ATP, GTP, CTP y UTP	ATP y GTP

Sitio A: es donde se sitúan todos los aminoacil-tRNAs entrantes, excepto el de iniciación

Sitio P: es el lugar donde se sitúa el peptidil-tRNA en formación y el metionil-tRNA de iniciación

Sitio E: es el lugar donde se sitúa el tRNA descargado antes de abandonar el ribosoma



RESUMEN DE CONCEPTOS: PARTE 1

**EL CODIGO GENETICO ES
DEGENERADO**

**Codon: degenerado
Anticodon: pivoteante "wobble"**

		second position				
		U	C	A	G	
first position (5' end)	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU Ser UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* stop UAG* stop	UGU Cys UGC UGA* stop UGG Trp	third position (3' end)
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	
	A	AUU Ile AUC AUA AUG† Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GAA GGG	

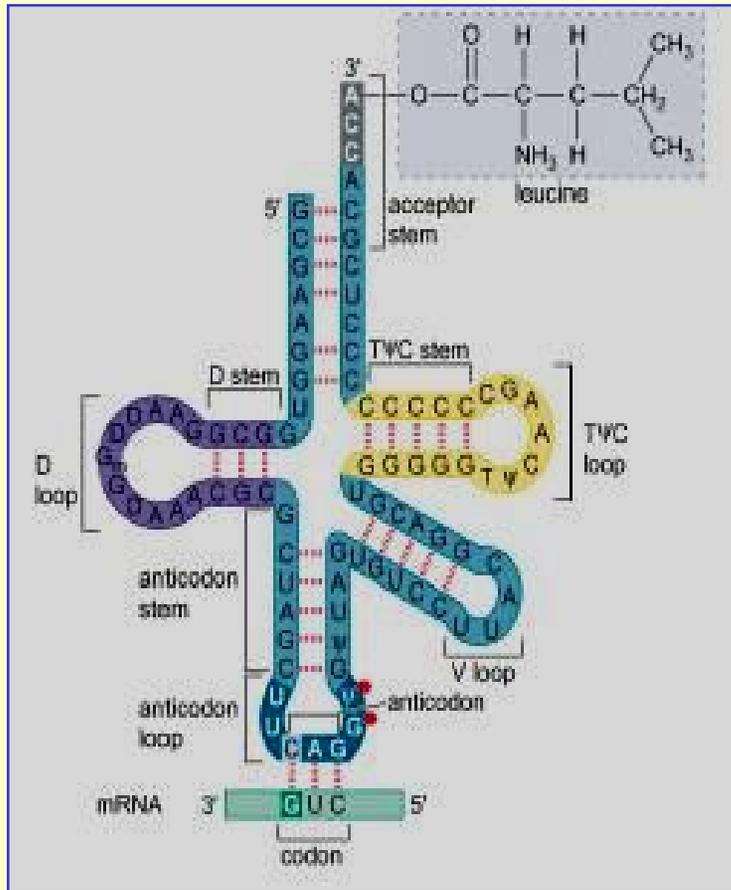
* Chain-terminating or "nonsense" codons
† Also used in bacteria to specify the initiator formyl-Met-tRNA^{fMet}

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

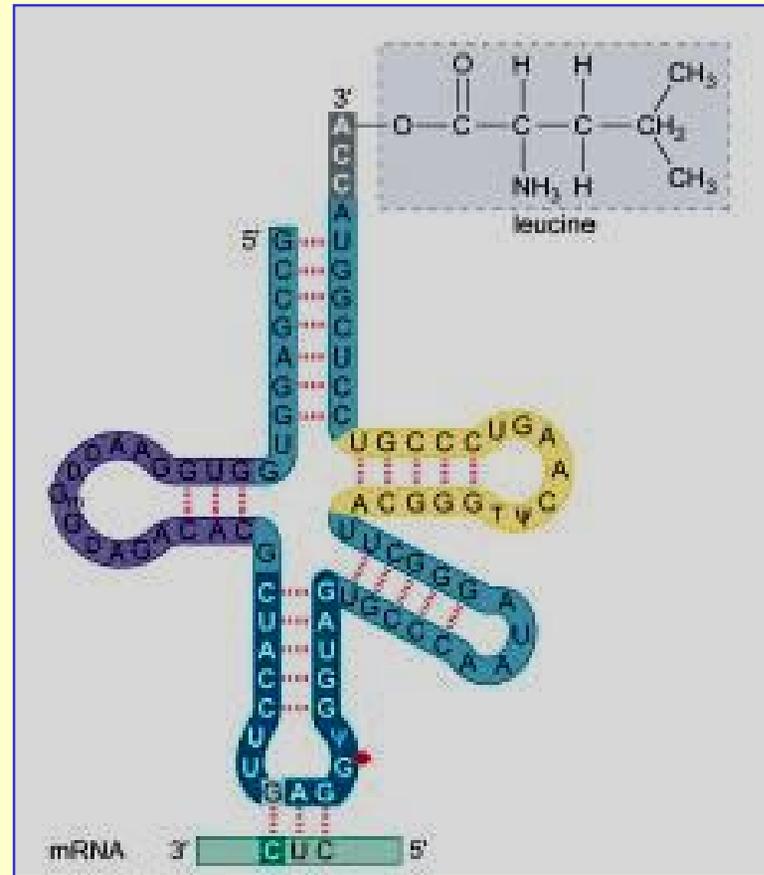
Muchos aminoácidos son especificados por más de un codón (degeneración)
Los codones que especifican para un mismo aminoácido se denominan **sinónimos**

Codificación 1

1. Frecuentemente, cuando los primeros dos nucleótidos son idénticos, el tercer nucleótido es C o U y no genera cambios en el código.
2. La **transición** en la tercera posición de un codón especifica para un mismo aminoácido. La **transversión** en esta posición cambia el aminoácido



CUG



CUC

**Codon-anticodon
apareamiento de dos tRNA para Leu**

La degeneración del código explica como podemos encontrar mayores variaciones en las relaciones AT/GC en el DNA de varios organismos, sin grandes cambios en la proporción de aminoácidos en sus proteínas

Para qué existe este aparente orden en el código genético?

- 1. El código genético conserva este tipo de propiedades para minimizar el efecto deletéreo de las mutaciones**
- 2. La degeneración del código puede servir como un mecanismo de seguridad para minimizar los errores en la lectura de codones**

Codificación 2

1. La segunda posición del codón:

- Pirimidina-aminoácido **hidrofóbico**
- Purina-aminoácido **polar**

2. Si las dos primeras posiciones están ocupadas por G o C, cada uno de los cuatro nucleótidos en la tercera posición especificarán para el mismo aminoácido

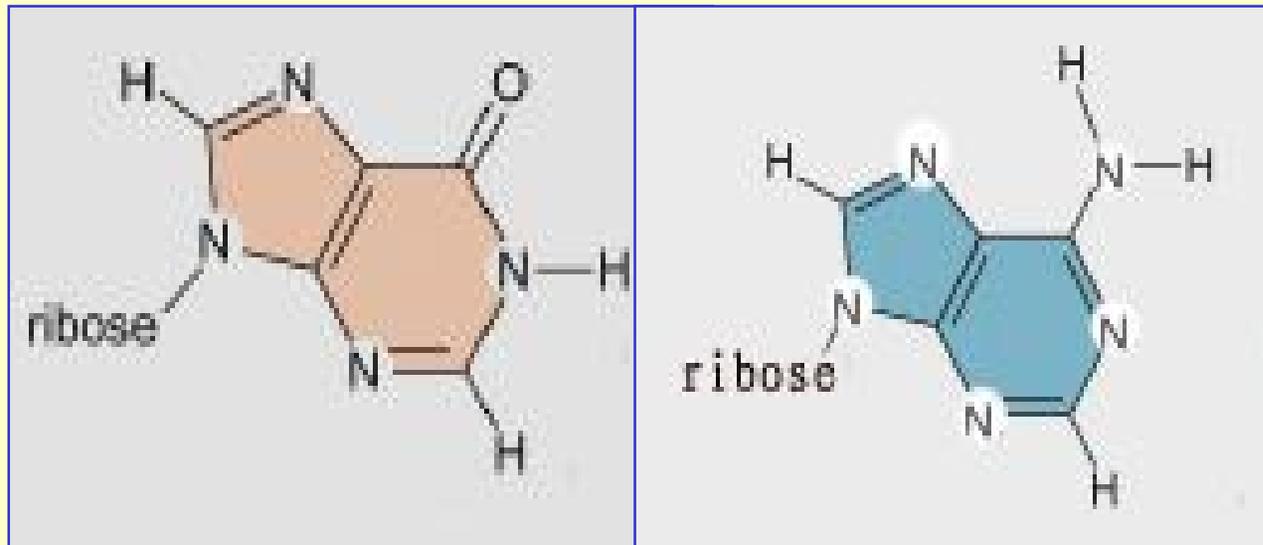
“Pivoteo” en el Anticodon

Pregunta: Existe un tRNA específico para cada codon? (si esto fuera verdad, deberían existir al menos 61 tRNAs diferentes)

La respuesta es NO

- **Algunos tRNA reconocen codones diferentes**
- **La inosina está presente en el “loop” del anticodon como una quinta base**

Inosina



inosina

adenina

La inosina aparece por una modificación enzimática de la adenina

Concepto "Wobble"

En 1966, Francis Crick predijo el concepto "wobble". Este estado donde la base en 5' del anticodon no está espacialmente confinada como las otras dos, formando puentes de hidrógeno con más de una base localizada al final del codon en 3'

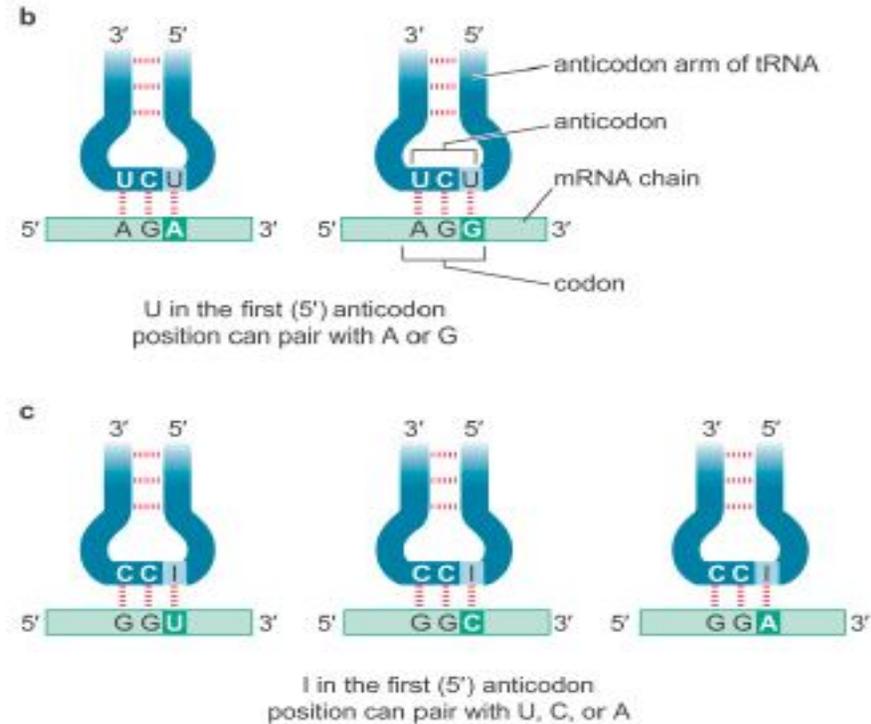
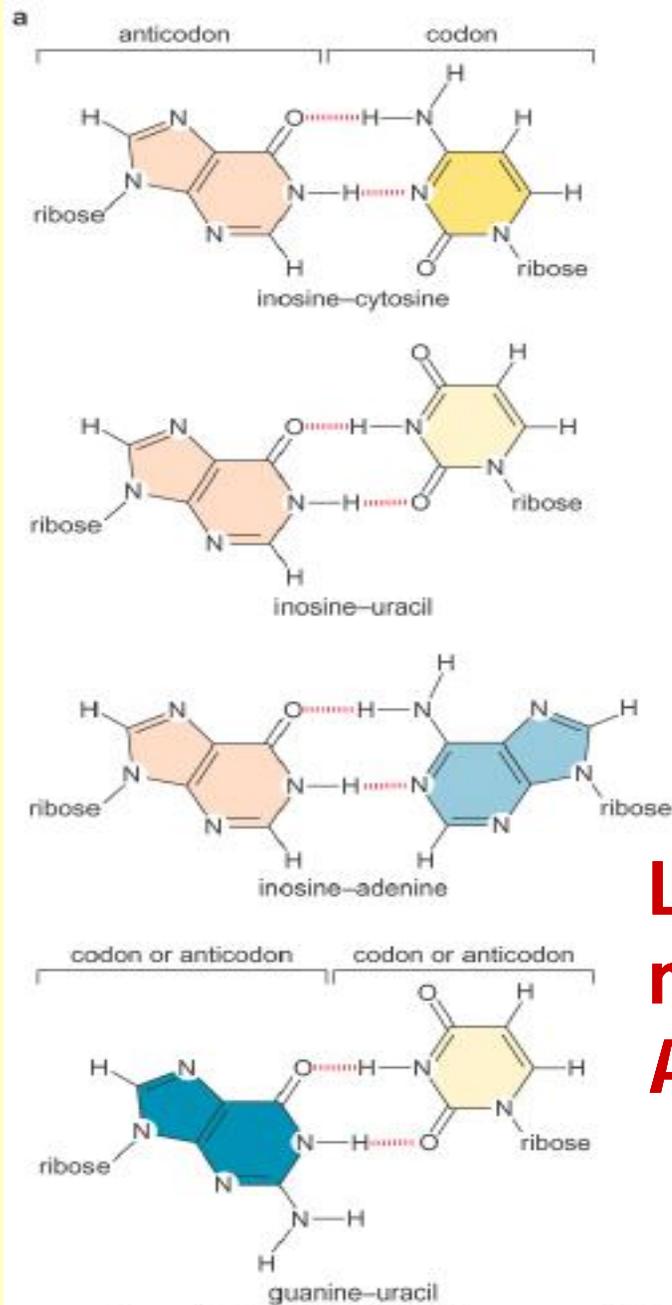
Combinaciones de apareamiento con el concepto "Wobble"

Base en 5' Anticodon Base en 3' Codon

G	U o C
C	G
A	U
U	A o G
I	A, U, o C

Reglas para efecto "Wobble"

- Los apareamientos permitidos son aquellos dados por las distancias ribosa-ribosa **cerca de las combinaciones estándar A:U o G:C**
- Las distancias ribosa-ribosa:
 - Purina-purina: larga
 - Pirimidina-pirimidina: corta



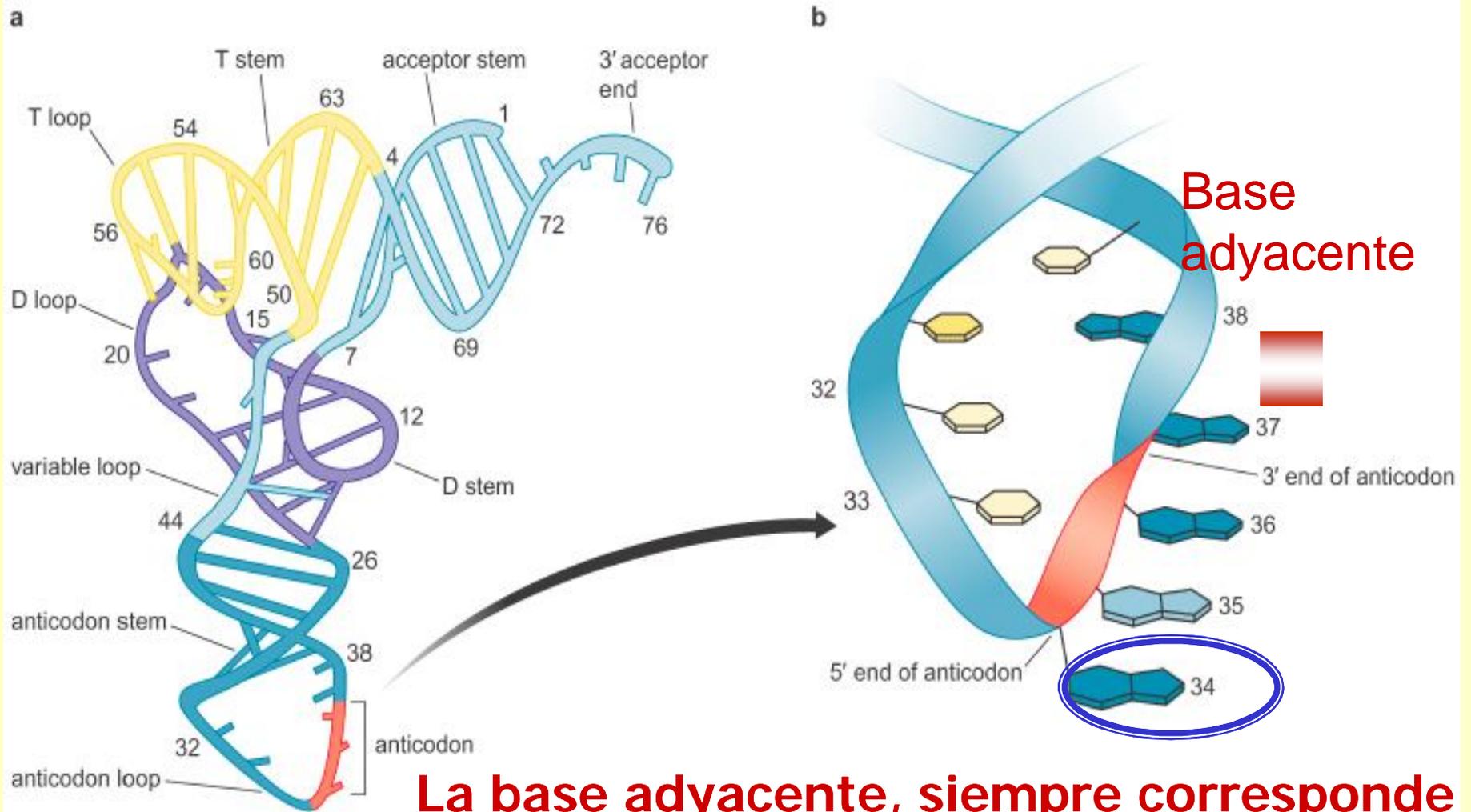
La distancia ribosa-ribosa están más cercanas para las parejas A:U que G:C

Pensamiento crítico

El concepto “wobble” predice que al menos existen **tres** tRNAs para los **seis** codones del aminoácido serina (UCU, UCC, UCA, UCG, AGU y AGC).
Por qué?

Por qué este efecto “wobble” se da en el 5' anticodon ?

- La estructura 3-D del tRNA muestra que las interacciones superficiales de las terceras bases que forman el anticodon + las 2 bases siguientes (posición 5') tienen menos restricción de movimientos
- La base en la posición 3' aparece en la mitad de la horquilla con movimientos restringidos



La base adyacente, siempre corresponde a un residuo de purina modificado

Estructura del tRNA(Phe): levaduras