

# 8. BIOSINTESIS DE PROTEINAS

---

# **ESQUEMA. Biosíntesis de proteínas**

---

## **1. El código genético**

## **2. Elementos participantes en la traducción**

- mRNA**
- tRNAs y aminoacil-tRNA sintetasas**
- Ribosomas**

## **3. Etapas de la biosíntesis de proteínas**

- Iniciación**
- Elongación**
- Traducción**

## **4. Inhibidores de la biosíntesis de proteínas**

## **EL CODIGO GENETICO (I)**

---

**Conjunto de reglas que determinan cómo la secuencia de nucleótidos de una molécula de mRNA especifica la secuencia de aminoácidos de un polipéptido**

**A su vez, el mRNA se ha formado por la transcripción del DNA**

## El código genético (II)

---

**DNA**

5' TATGCAGGGAAATCAATTCTGTGAACGATACTCCTAG 3'  
3' ATACGTCCCTTTAGTTAAGACACTTGCTATGAGGATC 5'

↓  
**Transcripción**  
*(por complementariedad de bases)*

**mRNA**

5' UAUGCAGGGAAAUCAAUUCUGUGAACGAUACUCCUAG 3'

↓  
**Traducción**  
?

**Proteína**

**Met-Gln-Gly-Asn-Gln-Phe-Cys-Glu-Arg-Tyr-Ser-STOP**

## El código genético (III)

		Segunda base							
		U		C		A		G	
Primera base	U	UUU	Phe / F	UCU	Ser / S	UAU	Tyr / Y	UGU	Cys / C
		UUC		UCC		UAC		UGC	
		UUA	Leu / L	UCA		UAA	STOP	UGA	STOP
		UUG		UCG		UAG	STOP	UGG	Trp / W
	C	CUU	Leu / L	CCU	Pro / P	CAU	His / H	CGU	Arg / R
		CUC		CCC		CAC		CGC	
		CUA		CCA		CAA	Gln / Q	CGA	
		CUG		CCG		CAG		CGG	
	A	AUU	Ile / I	ACU	Thr / T	AAU	Asn / N	AGU	Ser / S
		AUC		ACC		AAC		AGC	
		AUA		ACA		AAA	Lys / K	AGA	
		AUG	Met / M	ACG		AAG		AGG	Arg / R
	G	GUU	Val / V	GCU	Ala / A	GAU	Asp / D	GGU	Gly / G
		GUC		GCC		GAC		GGC	
		GUA		GCA		GAA	Glu / E	GGA	
		GUG		GCG		GAG		GGG	

**Leyenda de los aminoácidos:** amarillo = apolar alifático; morado = apolar aromático; blanco = Gly; azul = polar sin carga; verde = básico; naranja = ácido

## Características del código genético (I)

---

1. Organizado en **tripletes o codones**: 3 nucleótidos especifican un aminoácido

**Lectura del mRNA SIEMPRE en sentido 5' → 3' y de la proteína en sentido N-terminal → C-terminal**

<b>mRNA</b>	5'	UAU	GCA	GGG	AAA	UCA	AUU	CUG	UGC	3'
<b>Proteína</b>	N-t	Tyr	Ala	Gly	Lys	Ser	Ile	Leu	Cys	C-t

2. Código **direccional y co-lineal**, sin solapamientos ni puntuaciones

3. **Ausencia de ambigüedades**: cada triplete especifica un solo aminoácido

## Características del código genético (II)

---

### 4. El código es **degenerado**

4 bases en tripletes:  $4^3 = 64$  tripletes distintos ← relación con → 20 aminoácidos?

**Solución:** un mismo aminoácido está codificado por más de un triplete (excepciones: Trp y Met)

### 5. Hipótesis del **balanceo de la tercera base del codon**

A menudo, los múltiples codones que especifican un aminoácido solo varían en la tercera base

**Causa: formación de puentes de hidrógeno alternativos**

Base en la posición 5' del anticodon		Base en la posición 3' del codon
G	se aparea con	C ó U
C	se aparea con	G
A	se aparea con	U
U	se aparea con	A ó G
I	se aparea con	A, U, ó C

## Características del código genético (III)

---

### 6. El código genético tiene una cierta **lógica interna**

Los tripletes que codifican el mismo aminoácido (o parecidos) son similares en su secuencia

- pirimidina en la 2 posición del triplete: codifica aminoácido apolar
- purina en la 2 posición del triplete: codifica aminoácido polar ó cargado

### 7. Existe una **señal de inicio: AUG – Met**

(a veces, UUG – Leu, AUU – Ile, GUG – Val)

### 8. Existen 3 **señales de terminación o STOP: UAA** (ocre) **UAG** (ámbar) **UGA** (opalo)



## Características del código genético (IV)

---

### 9. El código genético es (casi) **universal**

**Excepciones** presentes en las mitocondrias y determinados protozoos

Organismo	Codon	Significado en el código nuclear	Significado en el código mitocondrial
Todos	UGA	STOP	Trp
Levadura	CUX	Leu	Thr
<i>Drosophila</i>	AGA	Arg	Ser
Humano, bovino	AGA, AGC	Arg	STOP
Humano, bovino	AUA	Ile	Met (iniciación)
Ratón	AUU, AUC, AUA	Ile	Met (iniciación)

## Ejemplo anterior (I)

---

**DNA** 5' TATGCAGGGAAATCAATTCTGTGAACGATACTCCTAG 3'  
3' ATACGTCCCTTTAGTTAAGACACTTGCTATGAGGATC 5'

↓  
**Transcripción**  
*(por complementariedad de bases)*

**mRNA** 5' UAUGCAGGGAAAUCAAUUCUGUGAACGAUACUCCUAG 3'

### Traducción

**mRNA**

5' U AUG CAG GGA AAU CAA UUC UGU GAA CGA UAC UCC UAG 3'

**Proteína**

N-t **Met** Gln Gly Asn Gln Phe Cys Glu Arg Tyr Ser **STOP** C-t

NH<sub>2</sub>-Met-Gln-Gly-Asn-Gln-Phe-Cys-Glu-Arg-Tyr-Ser-COOH

## Ejemplo anterior (II)

---

NH<sub>2</sub>-Met-Gln-Gly-Asn-Gln-Phe-Cys-Glu-Arg-Tyr-Ser-COOH

### Delección de un nucleótido

#### mRNA

5' U AUG CAG GGA <sup>↑(A)</sup> AUC AAU UCU GUG AAC GAU ACU CCU AG 3'

#### Proteína

N-t **Met** Gln Gly Ile Asn Ser Val Asn Asp Thr Pro C-t

### Delección de dos nucleótidos

#### mRNA

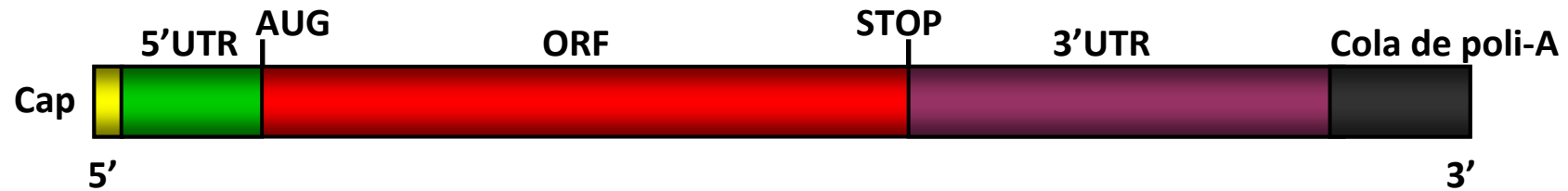
5' U AUG CAG GGA <sup>↑(AA)</sup> UCA AUU CUG UGA ACG AUA CUC CUA G 3'

#### Proteína

N-t **Met** Gln Gly Ser Ile Leu STOP C-t

# EL mRNA

---



## Estructura de un mRNA eucariótico

**Cap** (= casquete): 7Me-Gpp

**5'UTR**: región 5' no traducida

**ORF**: pauta de lectura abierta que codifica para una proteína  
comienza en un codon iniciador AUG y termina en un codon de STOP

**3'UTR**: región 3' no traducida

**Cola de poli-A**

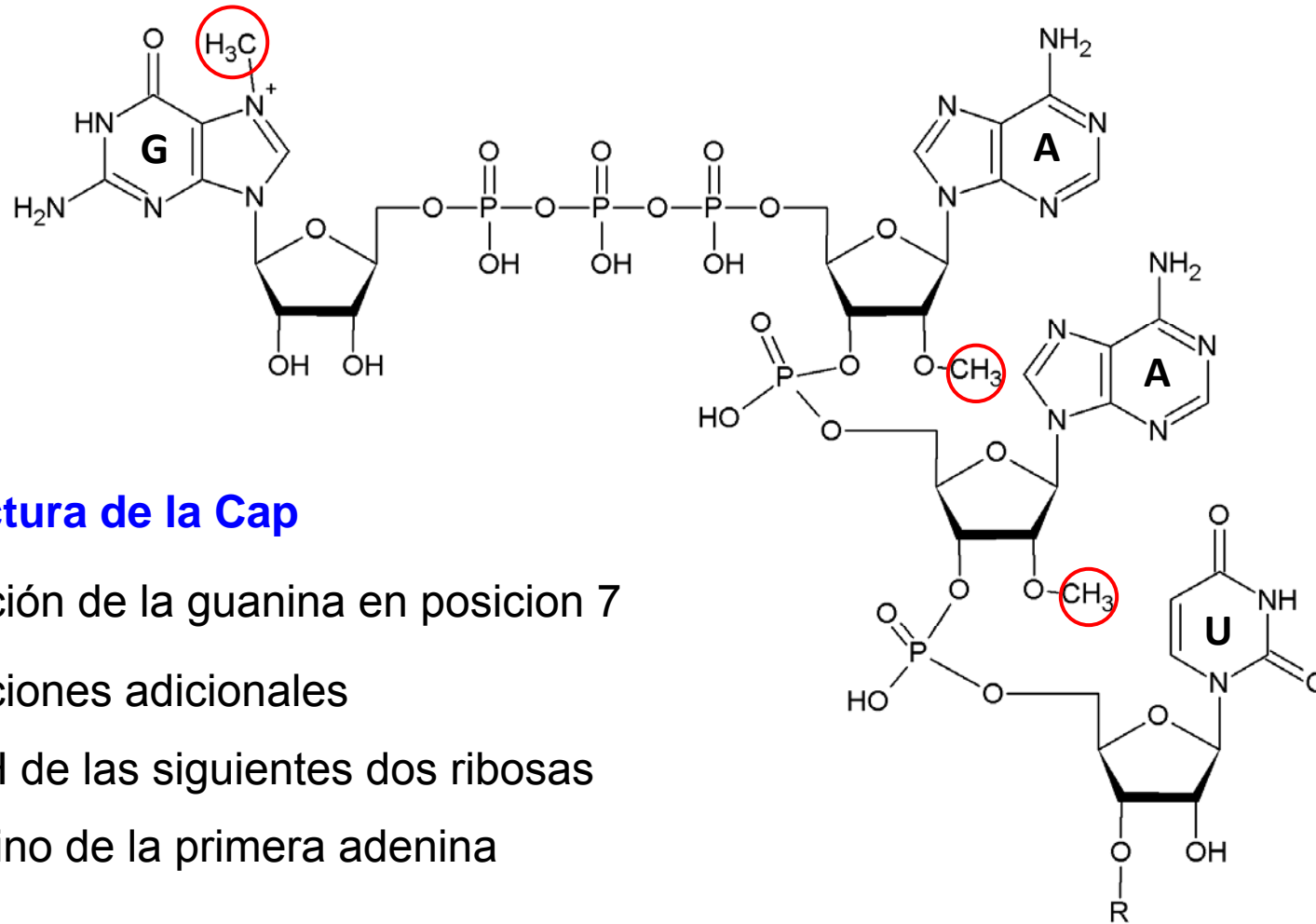
## Procariontes

Secuencia Shine-Dalgarno en 5'UTR: 5' GGAGG-(N)<sub>3-9</sub>-AUG

complementaria a la secuencia en 3' del rRNA 16S

## Adición de Cap = 7Me-GpppNp por la guanilil-transferasa

**GTP + 5' mRNA → 5'CAP-mRNA + PPI + Pi**    Enzima: **guanilil transferasa**



### Estructura de la Cap

Metilación de la guanina en posición 7

Metilaciones adicionales

- 2'-OH de las siguientes dos ribosas
- 6-amino de la primera adenina

## Poliadenilación en 3'

---

- **Secuencia consenso** de poliadenilación en el mRNA: **AAUAAA**
- **AAUAAA(N)<sub>10-30</sub>**: Adición de 100 – 200 adenosinas = cola de poli-A
- Catalizado por la **poli(A)-polimerasa**
- Importancia para determinar la estabilidad del mRNA

## tRNAs

---

**Problema:** Los mRNAs están formados por 4 bases nitrogenadas distintas

Las proteínas están formadas por 20 aminoácidos distintos

No hay una relación directa entre las purinas / pirimidinas y los aminoácidos

**¿Cómo se traduce la secuencia de tripletes en secuencia de aminoácidos?**

**Solución:** Se necesita un adaptador: **tRNA**

Los tRNAs poseen un **anticodon** complementario a los codones del mRNA

Los tRNAs **portan el aminoácido** codificado por el codon complementario al anticodon

→ **Los tRNAs “leen” la secuencia de tripletes e incorporan el aminoácido codificado por cada uno de los tripletes**

# Estructura de un tRNA

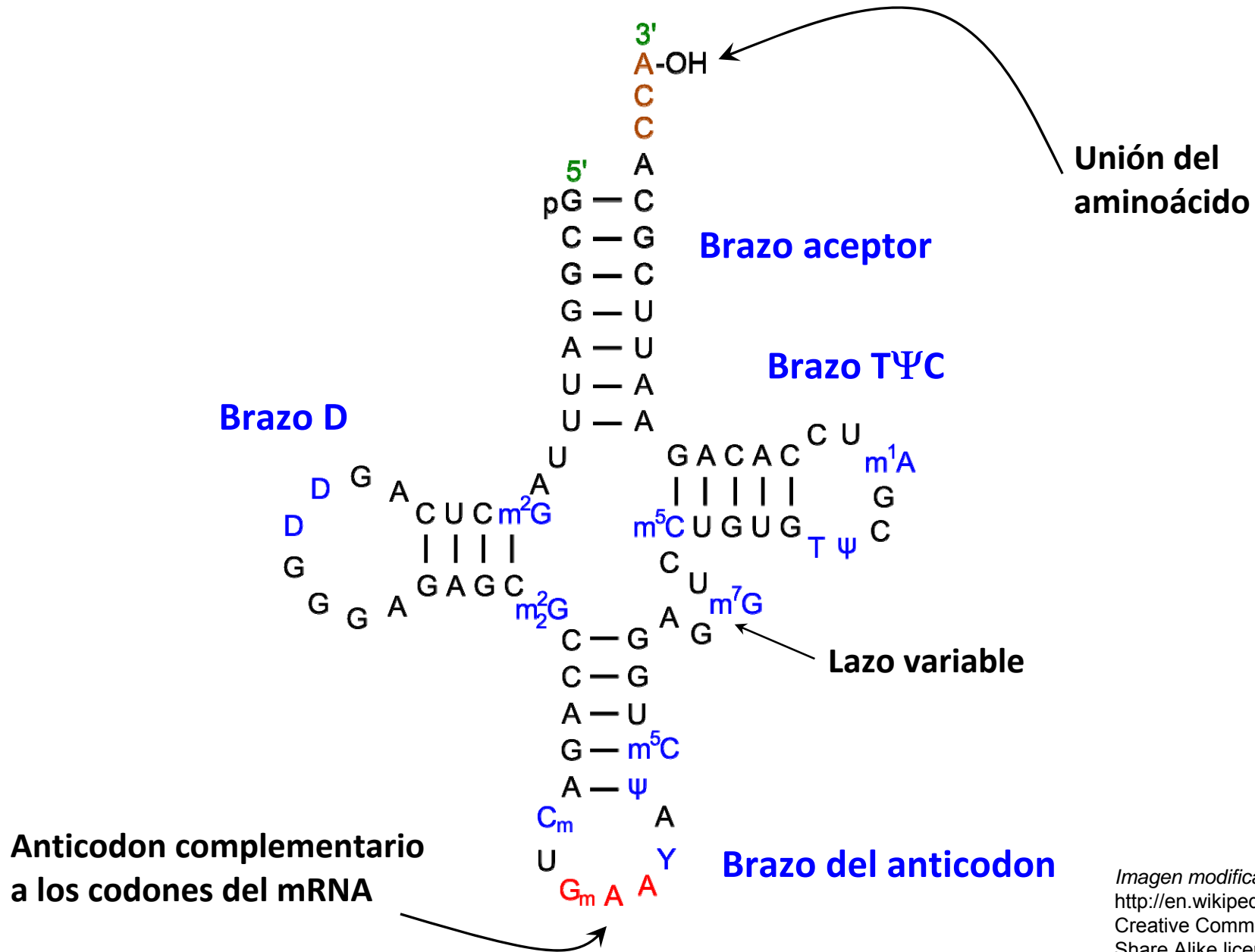
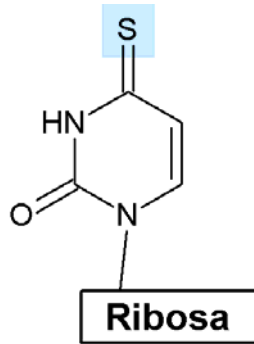


Imagen modificada a partir de:  
<http://en.wikipedia.org>  
 Creative Commons Attribution-Share Alike license

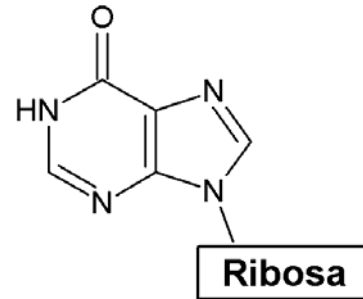


# Bases modificadas que aparecen en los tRNAs

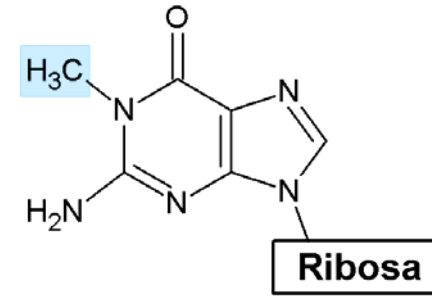
---



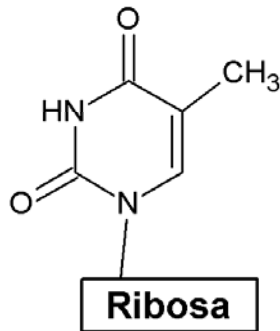
4-Tiouridina (S<sup>4</sup>-U)



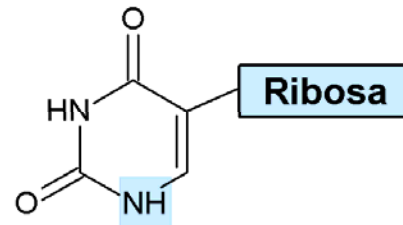
Inosina (I)



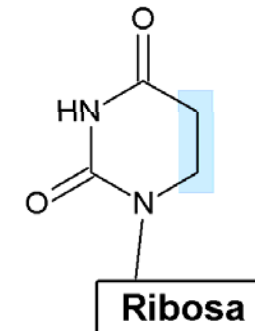
1-metilguanósina (m<sup>1</sup>G)



Ribotimidina (T)



Pseudouridina (Ψ)



Dihidrouridina (D)

## Características de los tRNAs (I)

---

Si hay 61 codones y 20 aminoácidos, se necesitarían 61 tRNAs distintos

**Realidad:** sólo hay **31 tRNAs diferentes** (+ tRNA iniciador)

→ Debido a la **degeneración del código genético y al balanceo de la tercera base** del codon, no se necesitan 61 tRNAs

# Características de los tRNAs

---

## Síntesis de los tRNAs

1. Transcripción de los genes que codifican para tRNAs por la **RNA polimerasa III**

→ **Obtención del transcrito primario**

2. Procesamiento por la **RNasa P** en 5' & por la **RNasa D** en 3'

Adición de "CCA" en 3' por la **nucleotidil-transferasa**

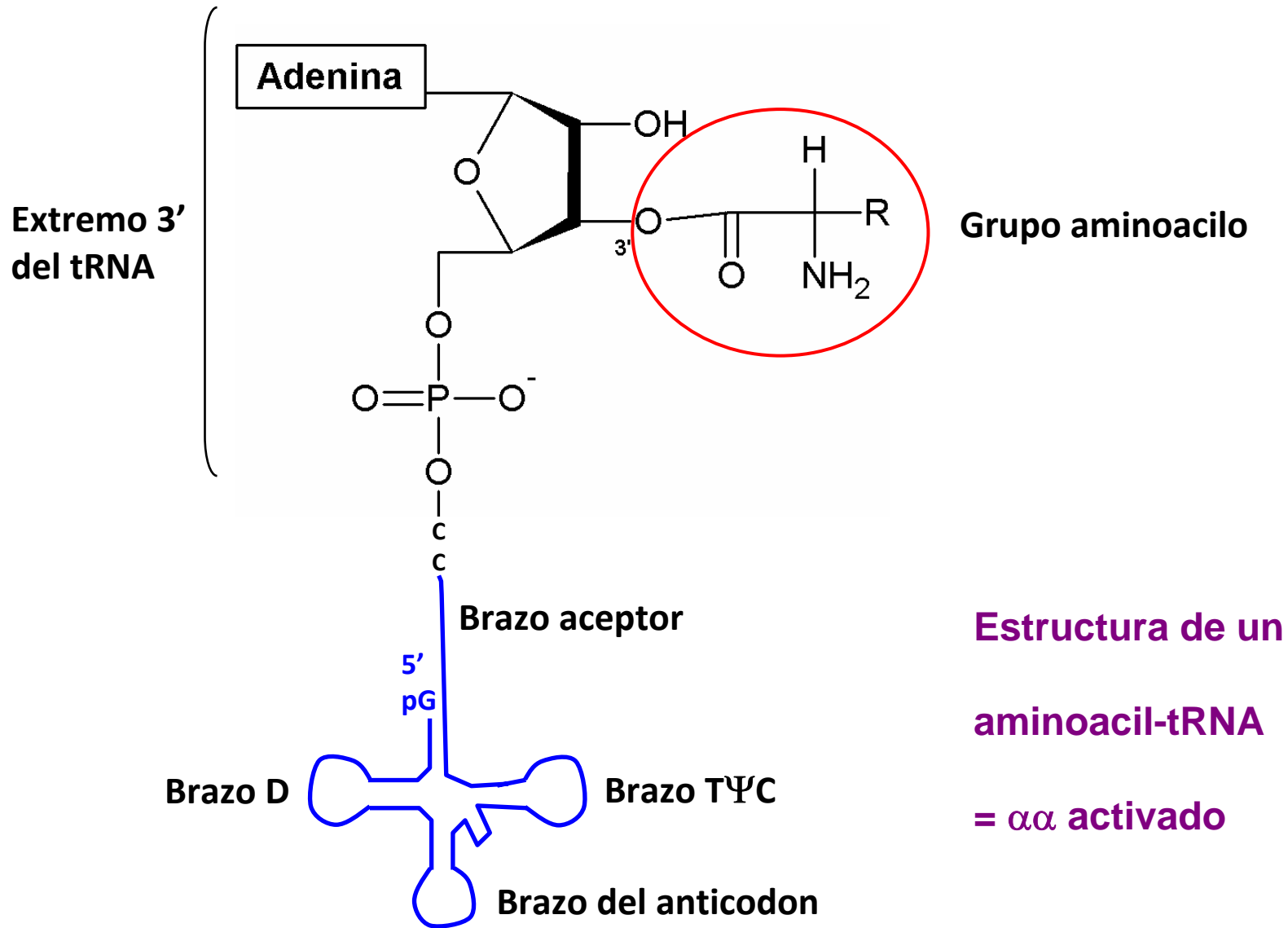
**Modificación** de bases (ej. pseudouridina)

→ **Obtención del producto intermedio**

3. **Splicing**: eliminación del intron en el anticodon

→ **Obtención del tRNA maduro**

# aminoacil-tRNA



## Aminoacil-tRNA sintetasas (I)

---

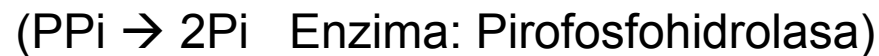
### Activación de los aminoácidos y formación de los aminoacil-tRNA

Unión del aminoácido al brazo aceptor del tRNA correspondiente

Necesidad de aporte  $\epsilon$  (ATP)  $\rightarrow$  2 ATP / reacción

Enzimas: **aminoacil-tRNA-sintetasas**

#### Reacción en 2 pasos:



## Aminoacil-tRNA sintetasas (II)

---

### 2 mecanismos catalíticos para la aminoacilación

Se corresponden con cada una de las clases de aminoacil tRNA sintetasas

#### Clase I

Produce la aminoacilación en 2'-OH de la ribosa

Transesterificación del 2'-OH al 3'-OH

#### Clase II

Produce la aminoacilación en 3'-OH de la ribosa

### Actividad correctora de las aminoacil-tRNA sintetasas: deacilasa



## Aminoacil-tRNA sintetasa (III)

---

Al menos 1 aminoacil-tRNA sintetasa por cada aminoácido

Cada enzima reconoce todos los tRNAs que codifican para el mismo  $\alpha\alpha$ :  
**tRNAs isoaceptores**

**2 clases de aminoacil-tRNA sintetasa** ( $\neq$  mecanismos catalíticos)

**Clase I:** para Arg, Cys, Gln, Glu, Ile, Leu, Met, Trp Tyr, Val

**Clase II:** para Ala, Asn, Asp, Gly, His, Lys, Phe, Pro, Ser, Thr

Características	Clase I			Clase II			
Sitio de aminoacilación	2' OH			3' OH			
Secuencias específicas del dominio catalítico	HIGH KMSKS			1 ...P ... 2 ...FRXE ... 3 ...GXGXGXER ...			
Forma de acercarse al brazo aceptor	Surco menor			Surco mayor			
Miembros por subclase	<b>a</b> Leu Ile Val Cys Met	<b>b</b> Tyr Trp	<b>c</b> Arg Gln Glu	<b>a</b> His Pro Ser Thr	<b>b</b> Asp Asn Lys	<b>c</b> Gly Ala	Phe

## Aminoacil-tRNA sintetisas (IV)

---

### Reconocimiento específico de los aminoácidos y de los tRNAs

#### Selección del $\alpha\alpha$

Discriminación por Q, tamaño y  $\Delta G$  de unión

- formación de puentes de hidrógeno específicos entre la enzima y el  $\alpha\alpha$
- interacciones hidrofóbicas entre la enzima y el  $\alpha\alpha$
- impedimentos estéricos: los  $\alpha\alpha$  no pueden acceder al sitio activo

#### Selección del tRNA

No solo a nivel del anticodon

- Interacciones específicas entre las superficies de la enzima y del tRNA



# RIBOSOMAS (I)

---

Orgánulo que realiza la síntesis de proteínas

## Ribosoma procariótico

70S, 2500 KDa

### Subunidad mayor

50S, 1600 KDa

34 proteínas

2 rRNAs: 23S, 2900 nt  
5S, 120 nt

### Subunidad menor

30S, 900 KDa

21 proteínas

rRNA 16S, 1540 nt

## Ribosoma eucariótico

80S, 4200 KDa

### Subunidad mayor

60S, 2800 KDa

49 proteínas

3 rRNAs: 28S, 4700 nt  
5.8S, 160 nt  
5S, 120 nt

### Subunidad menor

40S, 1400 KDa

33 proteínas

rRNA 18S, 1900 nt

## Ribosomas (II)

---

### rRNAs

- papel estructural y catalítico
- constituyen la mayor parte del Pm ribosomal
- determinan la posición de las proteínas ribosomales

### Eucariontes

- las subunidades se forman en el núcleo
- ensamblaje en el citoplasma
- ausencia de selectividad: traducen cualquier mRNA maduro

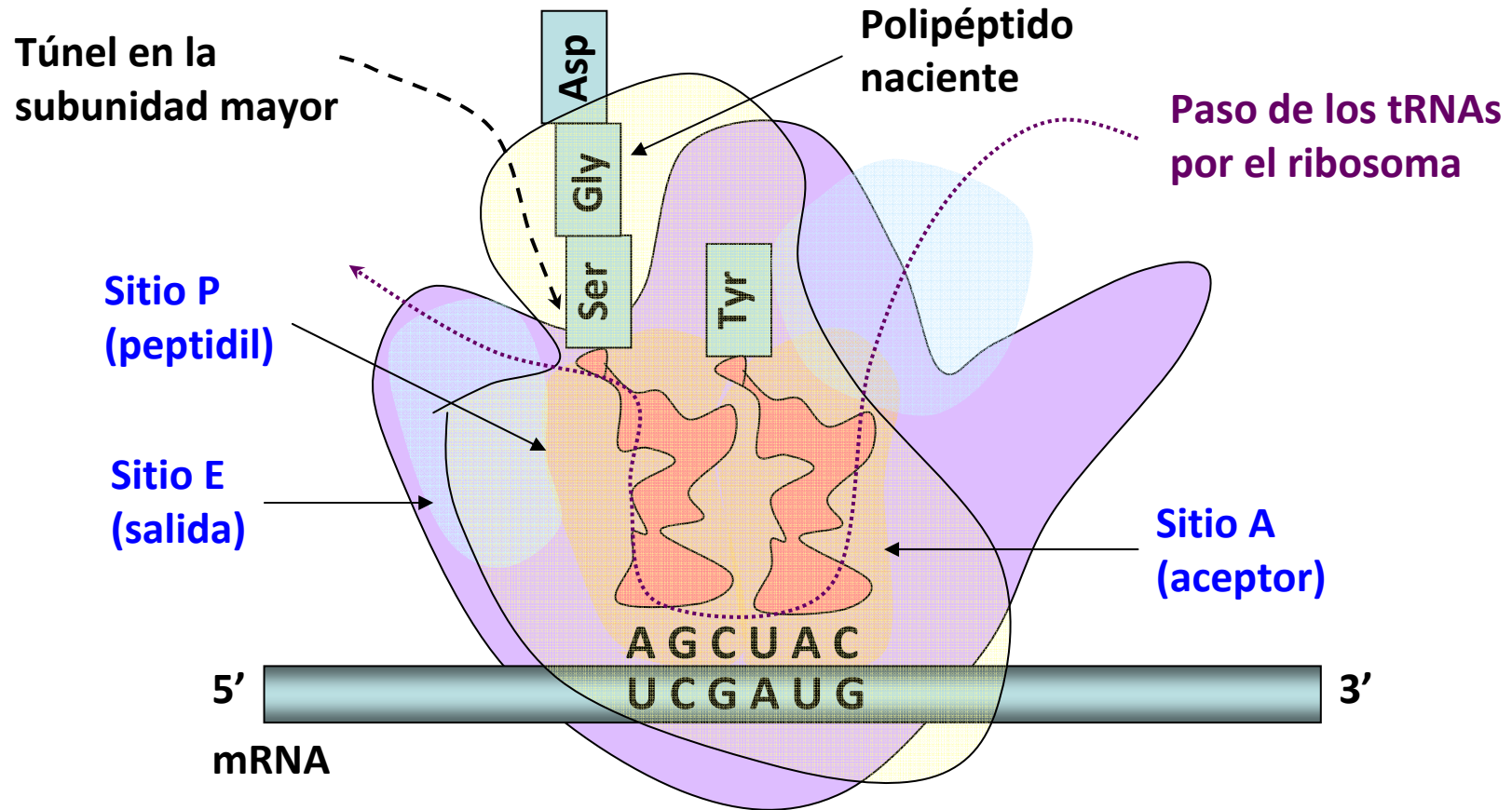
### Localización

- libres en el citoplasma
- asociados al ER (eucariontes): RER - reticulo endoplasmático rugoso

### Procariontes

Transcripción y traducción están acopladas en espacio y tiempo

# Sitios funcionales de los ribosomas



## Polisomas

Estructura formada cuando varios ribosomas traducen un mismo mRNA

## Ciclo del ribosoma

---

1. **Unión del mRNA, tRNA iniciador sobre el sitio P y la subunidad menor del ribosoma**

Necesidad de la presencia de **factores de iniciación**

2. **Unión de la subunidad mayor y comienzo de la traducción**

3. Entrada del segundo aminoacil-tRNA sobre el sitio A

4. Formación del **primer enlace peptídico** entre los dos primeros aminoácidos

5. **Traslocación** del ribosoma y salida del tRNA descargado por el sitio E

El sitio A queda libre para unir un nuevo aminoacil-tRNA

6. **Repetición del ciclo** de entrada de tRNA, transpeptidación y traslocación hasta llegar a un codon de STOP

Necesidad de **factores de elongación**

7. El codon de STOP es reconocido por un **factor de terminación**

8. **Separación del polipéptido recién sintetizado, mRNA, tRNA y de las dos subunidades ribosómicas**

# ETAPAS EN LA BIOSINTESIS DE PROTEINAS

---

## 3 Fases: iniciación, elongación y terminación

### Iniciación

1. Unión del mRNA y del tRNA iniciador (f-Met-tRNA<sub>f</sub><sup>Met</sup>) a la subunidad pequeña del ribosoma
2. Unión de la subunidad grande y ensamblaje del complejo macromolecular

### Elongación

Catálisis de los enlaces peptídicos entre los aminoácidos unidos a los tRNAs del sitio peptidil (P) y aceptor (A)

Gasto de  $\epsilon$  en forma de GTP durante la elongación

**Terminación:** al llegar a un codon de STOP

Liberación del polipéptido recién sintetizado

Separación de las 2 subunidades del ribosoma

# Iniciación en procariontes (I)

---

## tRNA iniciador

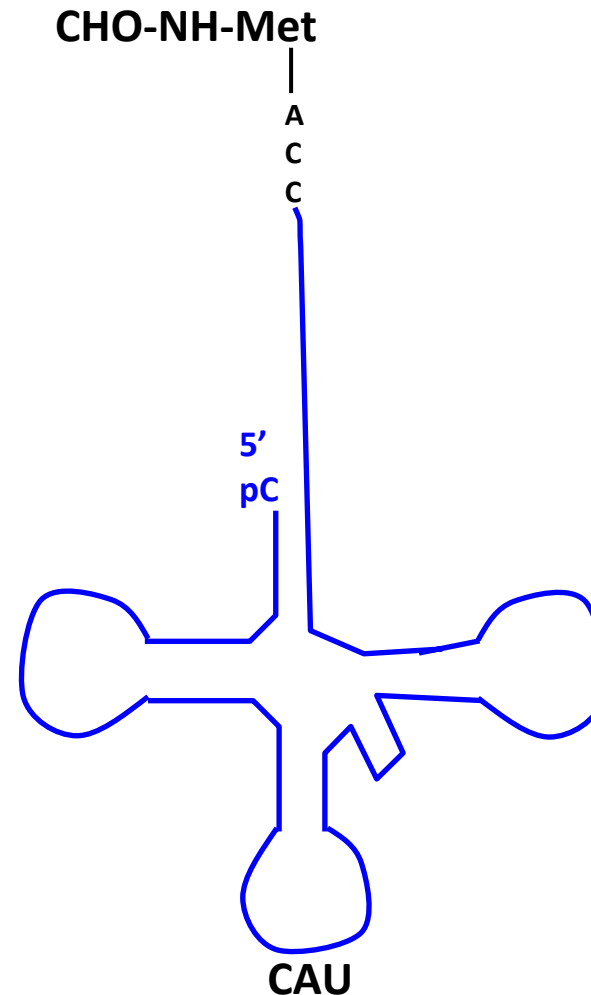
Porta formil-Met  $\rightarrow$  **f-Met-tRNA<sub>f</sub><sup>Met</sup>**

Distinto de los tRNAs que incorporan Met durante la elongación: Met-tRNA<sub>m</sub><sup>Met</sup>

Formilación de la Met por la enzima

## Formil-transferasa

Posteriormente la N-formil-Met es eliminada en el 50% de las proteínas por una **Deformilasa**





## Iniciación en procariontes (III)

---

### Formación del complejo iniciador

1. Interacción de la subunidad 30S con IF-1 & IF-3
2. Interacción de IF-2 & f-Met-tRNA<sub>f</sub><sup>Met</sup>
3. Los complejos anteriores interaccionan con el mRNA y GTP

#### → Ensamblaje del complejo iniciador 30S

- subunidad pequeña 30S del ribosoma
  - factores de iniciación IF-1, IF-2 & IF-3
  - GTP: aporte  $\epsilon$
  - f-Met-tRNA<sub>f</sub><sup>Met</sup>
  - mRNA
4. Separación de los IFs y unión de la subunidad grande 50S del ribosoma
    - proceso favorecido por la hidrólisis de GTP → GDP + Pi
    - el f-Met-tRNA<sub>f</sub><sup>Met</sup> ocupa el sitio P
    - sitio A libre para aceptar un aminoacil-tRNA

#### → Ensamblaje del complejo iniciador 70S



## Elongación en procariontes (I)

---

### Necesidad de factores de elongación (EFs)

1. **EF-Tu** se une a los aminoacil-tRNA & GTP formando un complejo



2. El complejo anterior entra en el sitio A del ribosoma: interacción del codon del mRNA con el anticodon del tRNA

3. Hidrólisis del **GTP → GDP + Pi**

Separación de EF-Tu • GDP del ribosoma

4. Reciclaje de EF-Tu con ayuda de **EF-Ts**: intercambio de GDP por GTP



## Elongación en procariontes (II)

---

### Transpeptidación

**Síntesis de un enlace peptídico entre el peptidil-tRNA del sitio P y el aminoacil tRNA del sitio A**

Catalizado por la actividad **peptidil-transferasa**

- reacción clave en la síntesis de proteínas
- actividad peptidil-transferasa está localizada en el **rRNA 23S**  
contiene un centro activo formado por una secuencia de bases altamente conservadas en todos los organismos
- no necesita de aporte de  $\epsilon$ , ya que los aminoácidos están activados

## Elongación en procariontes (III)

---

Una vez catalizada la transferencia del aminoácido entrante sobre la cadena polipeptídica naciente:

- el peptidil-tRNA se localiza sobre el sitio A
- el tRNA descargado se localiza sobre el sitio P
- el tRNA descargado que ocupa el sitio P pasa al sitio E y se separa del ribosoma

Necesidad de factores de elongación (EFs)

**EF-G • GTP + tRNA → separación del ribosoma → EF-G + GDP + Pi + tRNA**

- traslocación del peptidil-tRNA del sitio A al sitio P: el ribosoma se “mueve” sobre el mRNA

**→ El sitio A queda libre para aceptar un nuevo aminoacil-tRNA**

## Terminación en procariontes

---

**Codon de STOP** sobre el sitio A del ribosoma

Necesidad de **factores de liberación (RF)**

### 1. Los RFs reconocen el codon de STOP

RF-1 reconoce UAA & UAG

RF-2 reconoce UAA & UGA

RF-1/2 + RF-3 + GTP se unen al ribosoma

### 2. La actividad peptidil-transferasa se transforma en **hidrolasa**

→ **separación del polipéptido recién sintetizado** (entrada de H<sub>2</sub>O)

### 3. Hidrólisis del **GTP → GDP + Pi**

### 4. Separación del tRNA, mRNA y de las dos subunidades del ribosoma

## Balance $\epsilon$ de la Biosíntesis de proteínas (I)

---

### Iniciación: 4 ATP

1. Activación del f-Met-tRNA<sup>fMet</sup> :  $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + \text{Pi}$  Balance  $\epsilon$ : **2 ATP**
2. Formación del complejo 70S:  $\text{IF-2} \cdot \text{GTP} \rightarrow \text{IF-2} + \text{GDP} + \text{Pi}$  Balance  $\epsilon$ : **1 ATP**
3. Separación del tRNA descargado  
 $\text{EF-G} \cdot \text{GTP} + \text{tRNA} \rightarrow \text{EF-G} + \text{GDP} + \text{Pi} + \text{tRNA}$  Balance  $\epsilon$ : **1 ATP**

### Elongación: 5 ATP / $\alpha\alpha$ incorporado

1. Activación de los  $\alpha\alpha$ :  $\text{ATP} \rightarrow \text{AMP} + \text{Pi}$ ; Balance  $\epsilon$ : **2 ATP**
2. Entrada de un aminoacil-tRNA en el ribosoma  
 $\text{aminoacil-tRNA} \cdot 2 \text{EF-Tu} \cdot 2 \text{GTP}$ ; Balance  $\epsilon$ : **2 ATP**
3. Separación del tRNA descargado  
 $\text{EF-G} \cdot \text{GTP} + \text{tRNA} \rightarrow \text{EF-G} + \text{GDP} + \text{Pi} + \text{tRNA}$ ; Balance  $\epsilon$ : **1 ATP**

### Terminación: 1 GTP

Balance  $\epsilon$ : **1 ATP**

## Balance $\varepsilon$ de la Biosíntesis de proteínas (II)

---

**Balance  $\varepsilon$  total: 5 ATP /  $\alpha\alpha$**

$\varepsilon$  **utilizada en:** activación de  $\alpha\alpha$   
producción de cambios conformacionales que facilitan el proceso

→ **La biosíntesis de proteínas consume un alto % de la  $\varepsilon$  producida por las reacciones catabólicas celulares**

### Ejemplo

Polipéptido de 437 aminoácidos: 1 Met iniciadora + 436  $\alpha\alpha$  + STOP

- iniciación: 4 ATP / Met iniciadora

- elongación: 5 ATP /  $\alpha\alpha$  \* 436  $\alpha\alpha$  = 2180

- terminación: 1 ATP

**Total: 2185 ATP / proteína**

### Ejercicio

¿Cuántas moléculas de Glc deberían degradarse completamente para que esta proteína se sintetizara?

## Biosíntesis de proteínas en eucariontes

---

Proceso más complejo

Necesita de un mayor número de factores

**mRNA eucariótico**: Casquete o Cap = 5'-metil-GTP  
cola de poli-A (+ proteínas PBP)

Reconocimiento simultáneo de ambas estructuras

### Proceso de iniciación en eucariontes

Necesita de un mayor número de factores: **11 IFs**

Primer tRNA = **tRNA<sub>i</sub><sup>Met</sup>**: sólo actúa en la iniciación  
no porta formil-Met, sino Met

Necesidad de aporte  $\epsilon$  en forma de **ATP**

Las proteínas del complejo iniciador “**escanean**” el **mRNA** hasta encontrar el codon AUG de iniciación

**Regulación** de la iniciación por **fosforilación** de la proteína ribosómica S6 y de eIF-4F (+) & eIF-2a (-)

## Inhibidores de la Biosíntesis de proteínas (I)

---

### 1. Aplicaciones como herramientas de investigación

#### **Puromicina**

Se une al sitio A del ribosoma, aceptando el polipéptido naciente

→ terminación prematura de la síntesis de proteínas

#### **Cicloheximida**

Inhibe la actividad peptidil-transferasa en eucariontes



## Inhibidores de la Biosíntesis de proteínas (II)

---

### 2. Antibióticos: si sólo afectan a la maquinaria de procariontes

#### Estreptomicina

Antibiótico aminoglicósido

Produce alteraciones en la lectura del mRNA → proteínas mutantes

→ disminución de la tasa de crecimiento bacteriano

#### Tetraciclina

Inhibe la unión de aminoacil-tRNAs sobre la subunidad pequeña

#### Cloranfenicol

Inhibe la actividad peptidil-transferasa de procariontes y mitocondrias

#### Eritromicina

Inhibe la traslocación

## Inhibidores de la Biosíntesis de proteínas (III)

---

### 3. Otros: toxinas (eucariontes)

#### Toxina diftérica

ADP-ribosilasa-NAD<sup>+</sup>-dependiente. Produce la ADP-ribosilación de EF-2

→ EF-2 no puede hidrolizar GTP → bloqueo de la traducción

#### Ricina

Inactiva la subunidad grande del ribosoma

→ bloqueo total de la biosíntesis de proteínas