

**LOS APUNTES DE LOS TEMAS 12, 13 Y 14 HAN SIDO REDACTADOS POR E. ALONSO
POR NO PODER IMPARTIRLOS EN CLASE**

T12. BIOSÍNTESIS DE PROTEÍNAS: TRADUCCIÓN

La traducción es otra de las etapas cruciales de la **vía de expresión génica**. La traducción es el proceso bioquímico que hace posible la síntesis de cadenas de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos en un **orden determinado** que viene indicado por la secuencia de nucleótidos del mRNA. Mediante la traducción, la secuencia de nucleótidos del mRNA se “traduce” a una secuencia de aminoácidos de una **cadena polipeptídica**. Sin embargo, el resultado directo de la traducción no son las proteínas funcionales. Tras la traducción, las cadenas polipeptídicas obtenidas deberán ser modificadas (**modificaciones post- traduccionales; maduración**) para dar lugar, finalmente, a las **proteínas funcionales** finales que nuestro organismo requiere.

Características generales de la traducción

- En todos los organismos, a nivel de **localización subcelular**, la traducción se realiza en el **citoplasma**. Recordemos que en procariotas, al carecer de núcleo, todos los procesos de la vía de expresión génica tienen lugar en este mismo compartimento. Sin embargo, en eucariotas, la transcripción y maduración del RNA se producen en el núcleo. Posteriormente, todos los elementos necesarios para realizar la traducción se ensamblan y colaboran en el citoplasma para llevar a cabo la síntesis proteica.
- La traducción es un **proceso complejo** debido, fundamentalmente, a dos razones. En primer lugar porque, como veremos más adelante, requiere la interacción de **multitud de componentes distintos**. En segundo lugar porque la traducción implica un **cambio de lenguaje**. El paso del lenguaje de nucleótidos del RNA al lenguaje de aminoácidos de las proteínas requiere la participación de moléculas adaptadoras (tRNAs) que funcionan guiadas por las **leyes del Código Genético**.
- La traducción (biosíntesis proteica) supone para la célula un **cuantioso gasto energético**. Las proteínas están formadas por cientos (o miles) de aminoácidos y, al menos 4 enlaces de alta energía (proporcionados, según las etapas, por el ATP o el GTP) van a ser necesarios para incorporar cada aminoácido a la cadena polipeptídica.
- El objetivo de la traducción es que la secuencia de aminoácidos formada (cadena polipeptídica) refleje lo más fielmente posible la secuencia de nucleótidos del mRNA. Por ello la traducción va a ser un proceso con **capacidad para “corregir” los posibles errores producidos durante la selección de los aminoácidos, antes de que se incorporen a la cadena polipeptídica**. Como veremos, en la traducción vamos a tener **dos etapas con capacidad correctora para dar fidelidad al proceso**.

(**Nota de autoevaluación:** recordar los mecanismos de corrección de errores en la replicación y en la transcripción).

- En la traducción, la información de la secuencia de bases del **mRNA se va a leer en sentido 5'-3'**, lo que corresponde a una síntesis de la **cadena polipeptídica en sentido amino-carboxilo**. Es decir, el primer aminoácido que se incorpora a la cadena es el que ocupa el extremo amino terminal y el último el que ocupa el extremo carboxilo terminal. La lectura 5'-3' del mRNA permite que, en procariotas, transcripción y traducción estén temporalmente acopladas.

(**Nota de autoevaluación:** recordar la direccionalidad de los procesos de síntesis de DNA y RNA en base a su mecanismo).

- La síntesis proteica es una de las **dianas más importantes de antibióticos antimicrobianos**. Aunque el mecanismo general de la traducción es básicamente el mismo en procariotas y eucariotas, existen entre ambos tipos de organismos diferencias en el proceso a nivel molecular. Estas diferencias han permitido el diseño de numerosos compuestos capaces de inhibir selectivamente la síntesis proteica en procariotas y, en consecuencia, de bloquear el crecimiento microbiano. Antibióticos antimicrobianos como eritromicina, tetraciclina, estreptomicina, gentamicina, kanamicina, ... etc, actúan bloqueando la traducción a diferentes niveles (ver última diapositiva del tema)

(**Nota de autoevaluación:** sobre la última diapositiva del tema, intentar obtener una idea general sobre las diferentes dianas de actuación de los diferentes antibióticos).

Componentes de la maquinaria de síntesis proteica

La traducción requiere de la interacción y cooperación de multitud (cientos) de componentes distintos. Comentaremos brevemente las características más importantes de dichos componentes, resaltando aquellas particularmente relevantes para la traducción.

1. **Ribosomas.** Son el **sustrato físico** sobre el que tiene lugar la síntesis proteica. Los que van a **dirigir las interacciones entre los diferentes elementos** que se requieren para la traducción. Los ribosomas son agregados macromoleculares de rRNAs y proteínas que se distribuyen en dos subunidades: una mayor y otra menor. No entraremos en la estructura ribosómica (se verá en Biología) pero es importante destacar, en relación a la traducción, que los rRNAs, además de ser componentes estructurales de los ribosomas, van a ser elementos funcionales importantes en la síntesis proteica. Así, en los ribosomas de procariotas (70S), la subunidad menor (30S) contiene un **rRNA 16S** que va a ser fundamental en la **localización del codón de inicio de traducción del mRNA**. En la subunidad mayor (50S) se encuentra el **rRNA 23S** encargado de catalizar la formación de los enlaces peptídicos entre los aminoácidos (**actividad peptidil transferasa**).

El término **polirribosomas o polisomas** hace referencia al conjunto de ribosomas dispuestos sobre una misma molécula de mRNA para realizar su traducción. Cada uno de estos ribosomas fabricará una cadena polipeptídica.

2. Los **aminoácidos** son otro elemento esencial de la traducción. Van a ser los **sillares para fabricar las cadenas polipeptídicas**. En origen, todas las proteínas se fabrican a partir de un conjunto de 20 aminoácidos que son los que vienen codificados por el **“Código Genético”** (ver más adelante).

Sin embargo, para ser utilizados en la síntesis proteica, los aminoácidos han de ser previamente **activados** mediante unión a sus correspondientes **tRNAs**. La unión entre cada aminoácido y su tRNA específico está catalizada por las **aminoacil-tRNAs sintetasas**. Estas enzimas van a desempeñar un papel muy importante en la traducción puesto que van a ser las responsables de que cada tRNA transporte el aminoácido “correcto”. Sobre ellas recae, en gran medida, la **fidelidad de la traducción** ya que poseen **capacidad correctora**. Todos estos aspectos los comentaremos más tarde al hablar de la fase de activación de la traducción.

3. Las moléculas de **mRNA** van a ser las que nos aporten la información sobre el número y orden en el que se han de incorporar los aminoácidos en las cadenas polipeptídicas. Los mRNAs son moléculas de vida media corta, muy heterogéneos en tamaño (en función de la proteína para la que codifican), y de **estructura compleja**. Es decir, no sólo llevan la información para el número y orden en el que hemos de colocar los aminoácidos. Son **portadores de señales para su identificación y correcta lectura por el ribosoma**, así como para la **regulación de su propia traducción**.

No toda la secuencia de nucleótidos del mRNA va a ser traducida a aminoácidos; sólo lo que se denomina la **región cifrada (ORF; “Open Reading Frame”)**, la comprendida entre una señal de inicio y una de terminación. Las señales de inicio y de terminación de traducción son tripletes, conjuntos de tres bases del mRNA (codones). Sólo hay un codón de inicio de traducción, un codón AUG concreto (excepcionalmente puede ser un GUG) de la secuencia del mRNA que ya veremos posteriormente el mecanismo por el que se localiza. UAA, UAG o UGA son los codones de terminación.

La región cifrada del mRNA, la que se traduce, está flanqueada por secuencias que no se traducen. Son las llamadas **UTRs (“UnTranslated Regions”)**, y son **secuencias reguladoras de la traducción**. En las UTR de 5' se encuentran las señales que permiten localizar el codón AUG concreto de inicio de traducción por los ribosomas. Otras UTR (tanto hacia 5' como hacia 3') permiten regular la eficiencia de la traducción del mensajero. Dependiendo de las condiciones del entorno (niveles de metabolitos o proteínas determinadas), las secuencias UTR pueden adoptar estructuras secundarias que faciliten o dificulten la traducción del mRNA o controlen su degradación.

4. Para poder llevarse a cabo, la traducción va a requerir de la participación de ciertas proteínas específicas denominadas genéricamente “factores”. Dependiendo de la fase de la traducción en la que actúen hablaremos de **factores de iniciación (IF), elongación (EF) o terminación (RF)**, y su función concreta la especificaremos al estudiar el mecanismo de la traducción. En **procariotas** se requieren tres factores de iniciación (IF1- IF3), tres de elongación (EF-Tu, EF-Ts y la translocasa o factor EF-G) y tres de terminación (RF1-RF3). En **eucariotas**, los requerimientos de factores de elongación (eEF) y terminación (eRF) son muy similares. Sin embargo, los factores de iniciación (eIF) son mucho más numerosos, complejos (formados por múltiples subunidades) y, en ciertos casos, de actividad regulada por fosforilación/desfosforilación.
5. Durante la traducción, la formación de los enlaces peptídicos entre los aminoácidos está catalizada por la **peptidil transferasa**, actividad localizada en la subunidad grande del ribosoma. Dado que los aminoácidos han sido previamente activados, la formación del enlace peptídico **es la única de las etapas de la fase de elongación que no requiere aporte energético**.
6. Finalmente, como ya hemos señalado, la traducción supone para la célula un **importante consumo energético. Al menos 4 enlaces de alta energía** (proporcionados, según las etapas, por el ATP o el GTP) van a ser necesarios para **incorporar cada aminoácido a la cadena polipeptídica**.

El Código genético: características

Durante la traducción, las leyes del Código Genético hacen posible el cambio del lenguaje de nucleótidos del RNA al lenguaje de aminoácidos de las proteínas. El **Código Genético** podría definirse como la **relación que existe entre la secuencia de bases (nucleótidos) del mRNA y la secuencia de aminoácidos de la cadena polipeptídica**. Recordemos sus principales características:

1. La relación de codificación es de 3:1. Es decir, cada tres bases (**tripletes o codones**) codifican para la entrada de un aminoácido.
2. Es un código **secuencial**, sin superposición (cada base se lee una sola vez) y **sin paradas** entre un codón de inicio y uno de terminación.
3. Es un código **degenerado**. De los 64 codones que resultan de la combinación en tripletes de los 4 nucleótidos que forman el RNA, 61 codifican para la entrada de aminoácidos en la proteína. Los 3 restantes son codones de parada (stop). Puesto que sólo hay 20 aminoácidos genéticamente codificados, varios tripletes codifican para el mismo aminoácido. Son **codones sinónimos**. Los codones **AUG** localizados internamente en la secuencia traducible del mRNA codifican para **metionina**. Sin embargo, cuando son **inicio de traducción**, codifican para la incorporación de formil metionina (procariotas) o metionina transportada por un tRNA especial iniciador (eucariotas).

4. La degeneración del código **no** significa, en ningún caso, **ambigüedad**. Es decir, cada triplete codifica siempre para la entrada del mismo aminoácido, independientemente de que haya otros codones que codifiquen para el mismo aminoácido.
5. El código genético es **universal**. Todos los organismos utilizan un sistema de tripletes para codificar la entrada de los aminoácidos en la proteína. Sin embargo, el código que se muestra en la imagen es el “estándar”. Existen **excepciones** en cuanto al significado de ciertos codones en mitocondrias y organismos inferiores. También existen variaciones entre organismos en la frecuencia de uso de los codones sinónimos.
6. En relación al Código Genético es importante resaltar el denominado **efecto de balanceo**, y que refiere a las características del emparejamiento codón-anticodón. La incorporación de cada aminoácido a la cadena polipeptídica viene determinado por el emparejamiento de bases entre el anticodón del tRNA que transporta el aminoácido y el codón del mRNA. Por **cuestiones estéricas**, el reconocimiento codón-anticodón es muy fuerte para las dos primeras bases del codón, pero es mucho más débil para la tercera base (efecto de balanceo de la tercera base). La consecuencia es que en esta tercera posición se dan con bastante frecuencia emparejamientos no tradicionales y, por lo tanto, una mayor probabilidad de error.

La existencia de este efecto de balanceo, junto con la observación de que la mayoría de codones sinónimos para un determinado aminoácido tienen en común las dos primeras bases, hace suponer que la **degeneración del Código Genético** ha evolucionado en el sentido de **minimizar los efectos del balanceo**. De dar mayor peso a las dos primeras bases del codón para determinar la entrada del aminoácido. Así, ciertas mutaciones que afecten a la tercera base de un codón pueden ser silenciosas.

Otro hecho importante a tener en cuenta es que **el código genético funciona gracias a dos adaptaciones secuenciales**.

a. La primera de ellas refiere a la **unión específica de cada aminoácido a su tRNA**. Esta unión la catalizan las aminoacil-tRNA-sintetasas en la fase de activación. Es la especificidad y capacidad correctora de pruebas de estas enzimas la que va a determinar que se cometan los mínimos errores en el aminoácido transportado por cada tRNA. Indicar que estas enzimas reconocen la estructura tridimensional del tRNA (segundo código genético), no específicamente el anticodón.

b. La segunda adaptación es la determinada por el emparejamiento codón- anticodón entre el mRNA y el tRNA. Ésta ya es independiente del aminoácido que lleva unido el tRNA.

Fases de la biosíntesis de proteínas: mecanismo de la traducción

1. **ACTIVACIÓN:** Unión de cada aminoácido a su tRNA específico. Esta reacción está catalizada por las aminoacil-tRNA-sintetasas que, utilizando dos enlaces ricoenergéticos de una molécula de **ATP** (se rompe a **AMP + 2Pi**), forman un **enlace éster** entre el grupo **α -carboxilo del aminoácido y el grupo OH del extremo 3' del tRNA** (aminoacil-tRNA). La energía de este enlace éster va a permitir que la posterior formación del enlace peptídico entre aminoácidos no requiera de mayor aporte energético.

Las aminoacil-tRNA-sintetasas son enzimas altamente **específicas** y dotadas de **capacidad correctora**, por lo que su acción va a ser decisiva en la **fidelidad** de la traducción.

2. **INICIACIÓN:** Montaje de la maquinaria y colocación del aminoácido iniciador. Como ya hemos indicado, la traducción comienza siempre en un codón AUG específico que codifica para formil metionina (procariotas) o metionina (eucariotas). El mecanismo de localización de este codón AUG de inicio es diferente en procariotas y eucariotas. En **procariotas**, para que un codón AUG del mRNA sea considerado inicio de traducción debe estar precedido por una secuencia característica denominada Shine-Dalgarno. Esta secuencia es complementaria de otra existente en el extremo 3' del rRNA 16S de la subunidad pequeña del ribosoma. El **emparejamiento** entre ambas **secuencias** es lo que posiciona al mRNA para que comience la traducción en un codón AUG concreto. En un mismo mRNA pueden existir diferentes codones AUG precedidos de secuencias Shine-Dalgarno, y a partir de cualquiera de ellos puede iniciarse la traducción. Por ello se dice que los mRNAs de procariotas pueden ser "**policistrónicos**"; a partir de un mismo mRNA pueden fabricarse diferentes proteínas comenzando la lectura por diferentes codones AUG.

En **eucariotas** (habitualmente), la traducción sólo se inicia en el primer codón AUG que aparece en la secuencia del mRNA (5'-3'). Para comenzar la traducción, el factor de iniciación eIF-4E reconoce y se une al CAP, una estructura característica colocada postranscripcionalmente en el extremo 5' de los mRNAs eucarióticos (ver tema de modificaciones post-transcripcionales). La unión posterior de otros factores de iniciación posiciona al mRNA y desencadena el montaje de la maquinaria traduccional.

Junto con el posicionamiento correcto del mRNA, en la fase de iniciación debe procederse también al **montaje de la maquinaria traduccional**. Ésta incluye el ribosoma y el tRNA cargado con el aminoácido iniciador. El proceso (en procariotas) podría resumirse en:

1. Los factores de iniciación IF-1 e IF-3 se unen a la subunidad ribosómica 30S y promueven su disociación de la subunidad 50S.
2. El mRNA se posiciona sobre la subunidad 30S (por el mecanismo ya indicado de emparejamiento de secuencias).
3. El factor IF-2, junto con una molécula de GTP, se unen al tRNA cargado con formilmetionina (iniciador) y lo transportan hasta el mRNA dónde queda dispuesto sobre el codón AUG de inicio por el emparejamiento codón-anticodón. Hemos formado el **complejo iniciador 30S**.

4. El **complejo iniciador funcional 70S** se produce al unirse la subunidad mayor del ribosoma al complejo 30S. Para ello se requiere la liberación de todos los factores de iniciación y la hidrólisis de la molécula de GTP (a GDP + Pi).
5. El **resultado final** de esta fase de iniciación es que tenemos las dos subunidades ribosómicas dispuestas para la lectura del mRNA, y hemos posicionado adecuadamente el tRNA iniciador sobre el codón AUG de inicio de traducción. En concreto, ocupando el sitio P del ribosoma. El tRNA iniciador es el único que se incorpora por este sitio. El resto de tRNAs lo harán por el sitio A. Este sitio en este momento lo tenemos vacío y dispuesto “sobre” el triplete del mRNA que indica qué tRNA (aminoacil-tRNA) debe ser incorporado a continuación en la fase de elongación.

(**Nota:** Recordar que en el ribosoma se diferencian tres sitios o lugares funcionales que vienen definidos por el codón o triplete del mRNA “sobre” el que se disponen. Si nos movemos por el mRNA en sentido 3'-5' (sentido opuesto al de la traducción) encontramos:

- El **sitio A** (aminoacil) por el que, uno a uno, van a incorporarse los tRNAs cargados con los aminoácidos indicados por el triplete que aparece en el mensajero
- El **sitio P** (peptidil) en el que, en cada ciclo de elongación, va a quedar finalmente dispuesta la cadena polipeptídica unida, a través del tRNA, al triplete del mRNA que ha codificado para la entrada del último aminoácido ya incorporado.
- **Sitio E** (exit; salida) por el que salen del ribosoma los tRNAs “descargados” de sus aminoácidos.

3. **ELONGACIÓN:** Colocación del resto de aminoácidos de la cadena polipeptídica y unión mediante enlaces peptídicos. Es un proceso cíclico que se repetirá para cada aminoácido que se deba incorporar a la cadena polipeptídica. Consume dos enlaces ricoenergéticos de 2 moléculas de GTP y consta de tres etapas:

- Incorporación al sitio A del ribosoma del aminoacil-tRNA codificado por el codón del mRNA dispuesto en este sitio. El **aminoacil-tRNA es transportado hasta el sitio A** por el factor de elongación EF-Tu cargado con una molécula de GTP. En este sitio, la complementariedad codón-anticodón permitirá depositar el aminoacil-tRNA gracias a **la hidrólisis del GTP (a GDP + Pi) del EF-Tu**. Durante este proceso se hace una doble lectura del emparejamiento codón-anticodón y, de existir un error, el aminoacil-tRNA sale del ribosoma y se inicia de nuevo la selección del aminoacil- tRNA correcto. Esta es la segunda **etapa con posibilidad de corrección de errores** que encontramos en la traducción, y va a ser decisiva en la **fidelidad** del proceso. El factor EF-Tu será nuevamente recargado con GTP gracias al factor de elongación EF- Ts, un intercambiador GDP-GTP.
- Una vez tenemos los sitios P y A ocupados con los correspondientes aminoacil-tRNAs tiene lugar la **formación del enlace peptídico** entre los aminoácidos que transportan dichos aminoacil-tRNAs. La reacción está catalizada por la **peptidil transferasa** (localizada en el rRNA 23S en la subunidad 50S del ribosoma) y **no**

requiere aporte energético. Como resultado de esta etapa tendremos un tRNA descargado en el sitio P y una cadena polipeptídica alargada en un aminoácido que permanece unida al tRNA del sitio A.

- En estas condiciones, para poder incorporar el siguiente aminoácido, vamos a necesitar de una etapa de **translocación**. Con la energía proporcionada por la **hidrólisis de una molécula de GTP a GDP + Pi**, la **translocasa** (o factor EF-G) desplaza el ribosoma sobre el mensajero un triplete de bases. De esta forma, el tRNA descargado que ocupaba el sitio P, sale del ribosoma por el sitio E; la cadena polipeptídica unida al último tRNA que ocupaba el sitio A pasa al sitio P; el sitio A queda nuevamente vacío y dispuesto sobre el siguiente triplete del mensajero para que pueda iniciarse nuevamente otro ciclo de elongación.

4. **TERMINACIÓN:** Liberación de la cadena polipeptídica y reciclado de la maquinaria. La terminación se desencadena por la aparición en el mRNA de un **codón de terminación** que queda dispuesto en el **sitio A**. Puesto que no existen tRNAs que reconozcan los codones de terminación, este sitio es ocupado por dos **factores de terminación**: RF-1 o RF-2 (dependiendo del codón de terminación), y RF-3 unido a una molécula de GTP. La unión de estos factores **altera la actividad de la peptidil transferasa** que, en este caso, hidroliza el enlace éster que mantenía unida la cadena polipeptídica al último tRNA. Liberada la cadena polipeptídica, la **hidrólisis del GTP** (a GDP + Pi) promueve la **disociación del resto de componentes de la maquinaria**. Es decir, el último tRNA, el mRNA, el ribosoma y los factores de terminación. Todos ellos podrán ser utilizados nuevamente en función de las necesidades celulares.

5. **MADURACIÓN:** Modificación de las cadenas polipeptídicas para obtener proteínas funcionales (modificaciones post-traduccionales). Esta fase será objeto del tema 14.

(**Nota de autoevaluación:** una vez estudiado el proceso, intentar hacer un balance energético global de la traducción. Etapas en las que se requiere energía, molécula que la proporciona (ATP o GTP) y forma en la que se consume. Señalar las etapas concretas con posibilidad de corrección de errores).