
This is the **published version** of the bachelor thesis:

Meseguer Girón, Ángela. Reprogramación del codón ámbar en E. coli. 2021.
(815 Grau en Biotecnologia)

This version is available at <https://ddd.uab.cat/record/248705>

under the terms of the  license

Reprogramación del codón ámbar en *E. coli*

Ángela Meseguer Girón

Trabajo de fin de grado - 2020
Grado en biotecnología

INTRODUCCIÓN

La reprogramación del código genético consiste en **asignar codones** ya existentes o nuevos a **aminoácidos no canónicos** (ncAAs). Uno de los enfoques más emblemáticos es la **supresión del codón de terminación UAG**, denominado ámbar. Las metodologías necesarias se desarrollaron inicialmente en *E. coli* y han sido adaptadas posteriormente a otros organismos.

El objetivo de este trabajo es describir los procesos que constituyen este enfoque, y que han abierto las puertas a nuevos avances en el campo.

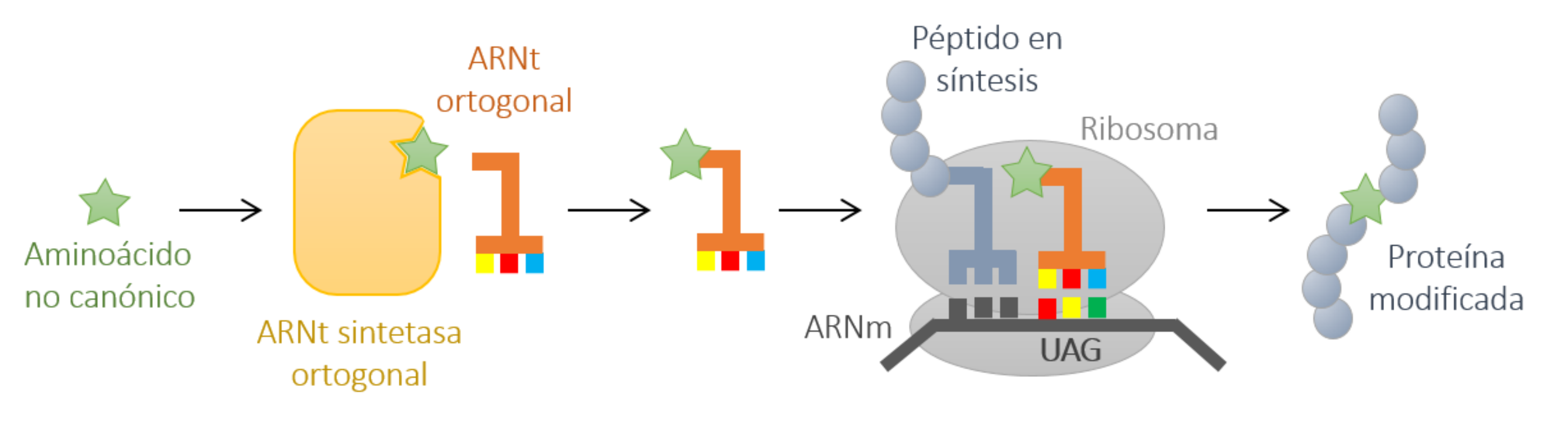
METODOLOGÍA

Se han consultado revisiones bibliográficas y artículos en bases de datos como PubMed, ScienceDirect y SpringerLink, mediante la búsqueda de palabras claves como “reprogramming”, “amber suppression”, “genetic code”, “tRNA synthetase”, “ribosome” o “amino acids”.

PAREJAS aaRS/ARNt ORTOGONALES

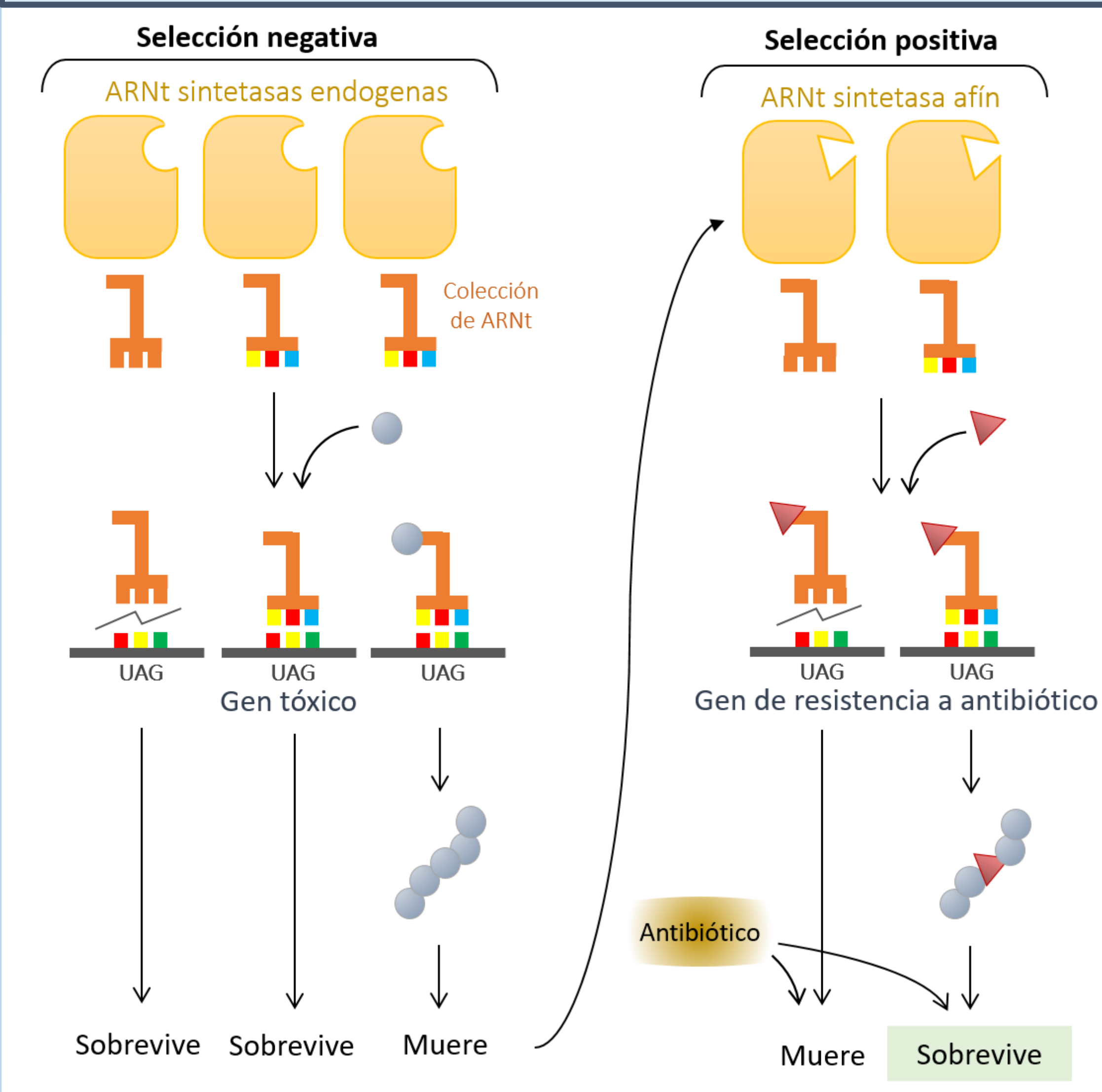
La reprogramación de codón ámbar usa parejas **aminoacil-ARNt sintetasa** (aaRS)/**ARN de transferencia** (ARNt) **ortogonales supresoras** de UAG.

- La aaRS solo aminoacila a su ARNt afín, a ninguno endógeno.
- El ARNt solo es aminoacilado por su aaRS, por ninguna endógena.
- El ARNt incorpora un aminoácido durante la traducción en respuesta al codón ámbar (ARNt_{CUA}).¹



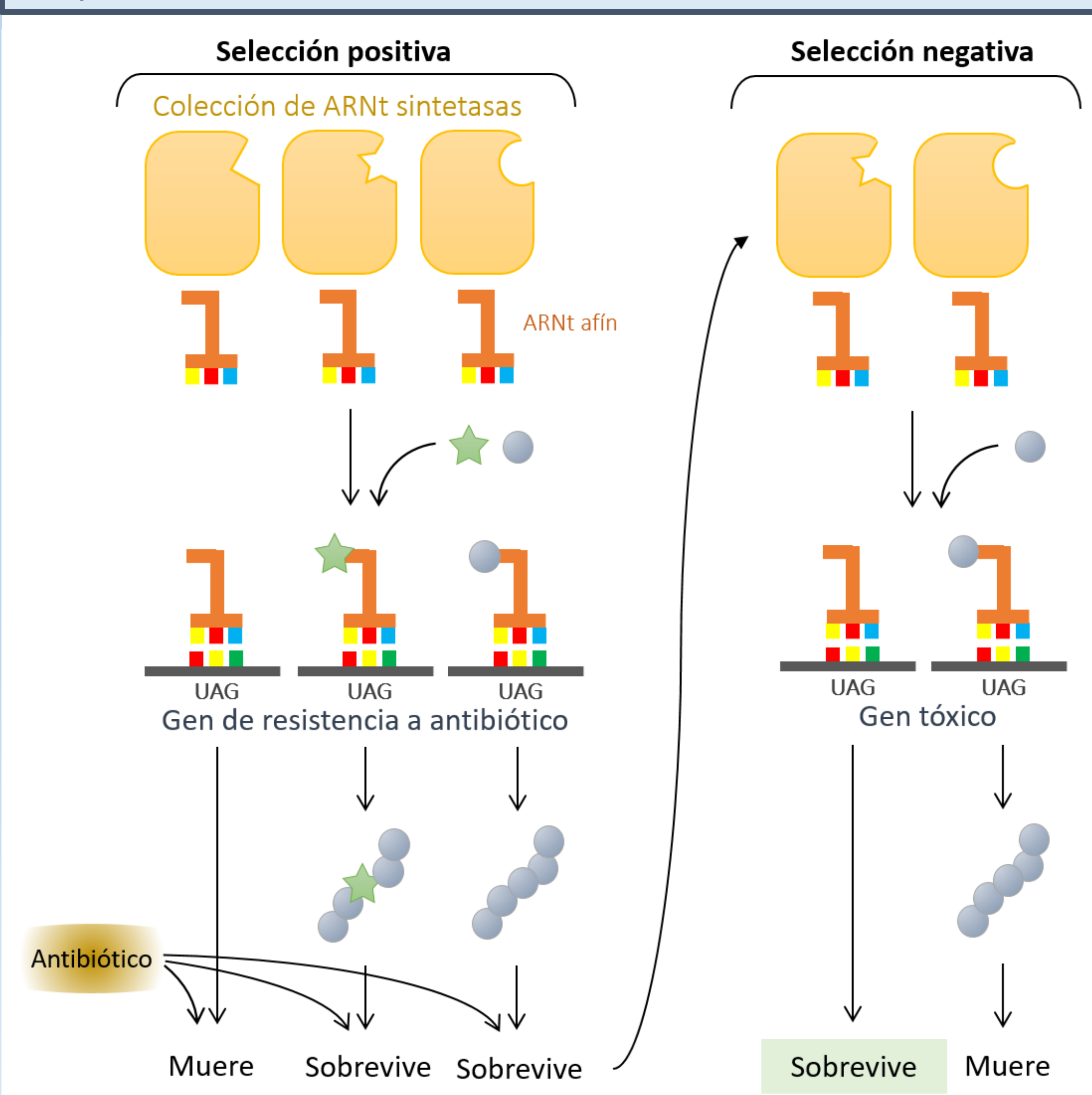
EVOLUCIÓN DE LOS ARNt

Cuando se importa una pareja ortogonal a un nuevo organismo, es posible que el codón que reconoce la ARNt no sea el deseado. Es necesaria la **evolución dirigida del ARNt** para que sea **supresor de ámbar**.²



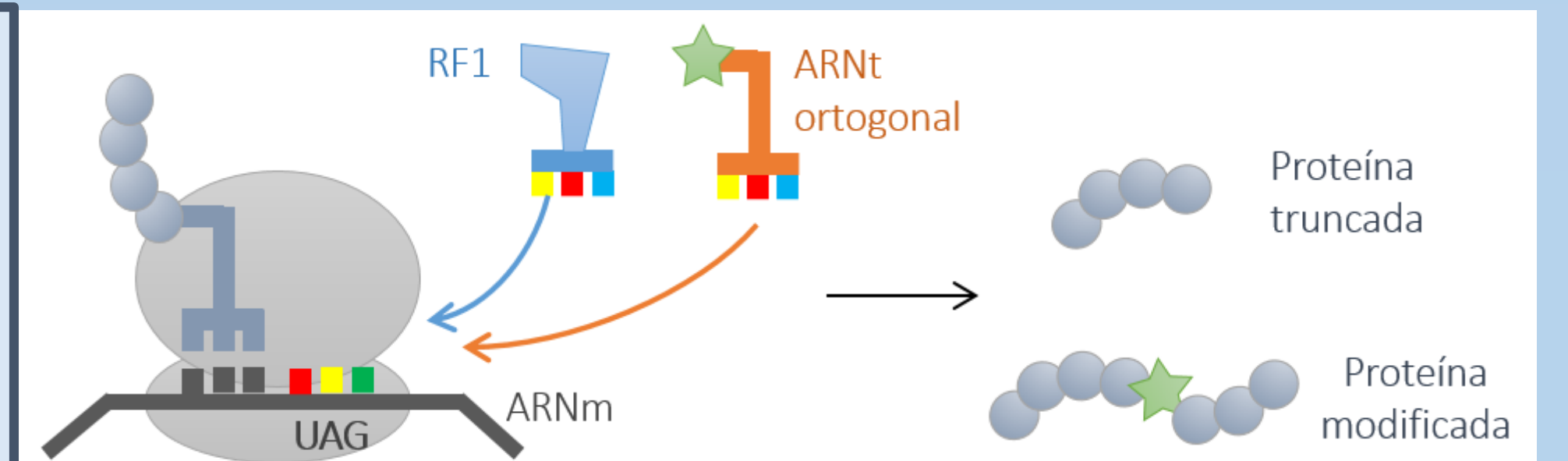
EVOLUCIÓN DE LA aaRS

La aaRS debe ser incapaz de unirse a aminoácidos canónicos, pero sí a un ncAA y transferirlo a su ARNt afín. Para conseguir esta **especificidad**, se debe realizar un proceso de **evolución del centro activo de la aaRS**.³



RF1

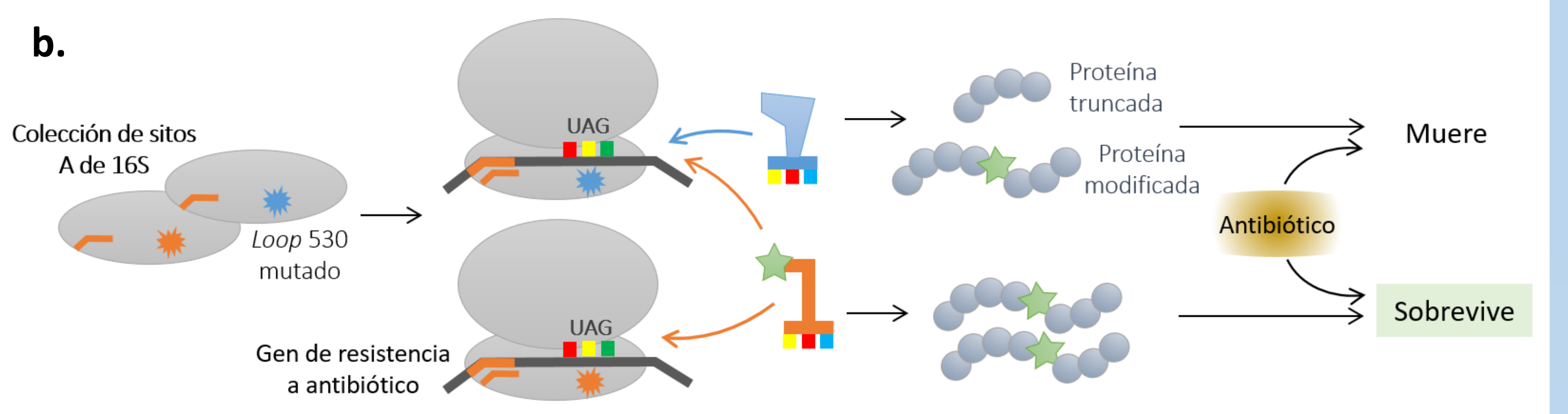
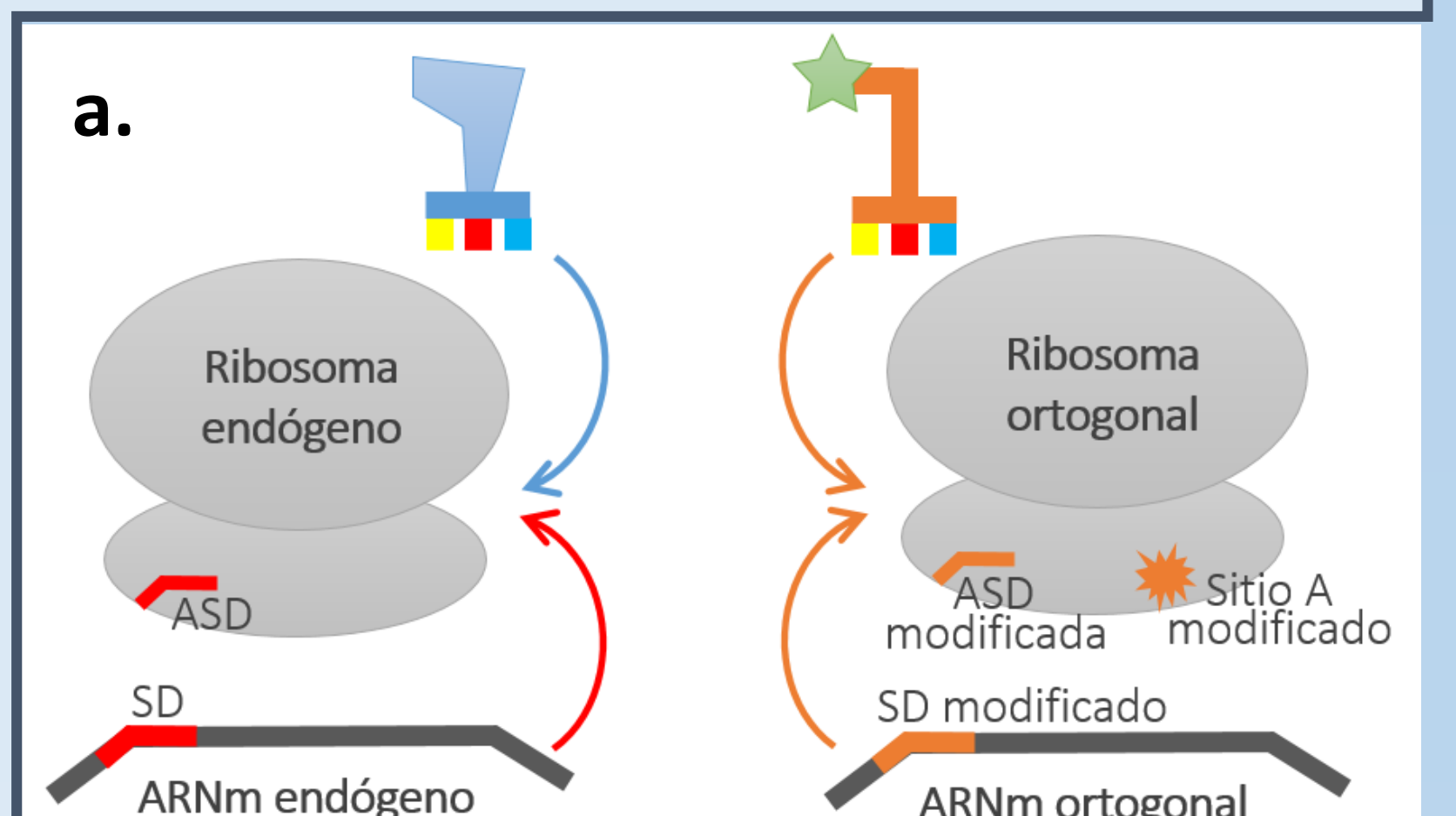
La eficiencia de incorporación del ncAA es baja, debido a que el ARNt_{CUA} compete con el **factor de liberación RF1**.¹



RIBOSOMAS ORTOGONALES

Una solución para **disminuir los efectos de RF1** es usar **ribosomas ortogonales**. Mientras que los ribosomas naturales pueden procesar cualquier ARNm endógeno, los ribosomas ortogonales solo funcionan con ARNm que contenga ciertas mutaciones en la secuencia **Shine-Delgarno (SD)**, complementarias a las modificaciones de la secuencia **anti-SD (ASD)** del propio ribosoma ortogonal. Además estos ARNm modificados son también ortogonales, puesto que no pueden ser traducidos por los ribosomas endógenos.⁴

Un ribosoma ortogonal puede someterse a **evolución dirigida del sitio A**, para impedir la unión de RF1. De manera que, si los genes en los que se suprime ámbar se transcriben en forma de **ARNm ortogonal**, estos serán los únicos en los que **no actuará RF1**.⁴



CONCLUSIONES

Es estrategia directa para incorporar ncAA, y resulta relativamente **sencilla de adaptar** a nuevos aminoácidos y organismos. Sin embargo, está limitada a la incorporación de **un solo aminoácido no canónico**, por lo que nuevas estrategias han sido y están siendo desarrolladas, pudiendo complementar o sustituir la de supresión del codón ámbar.

REFERENCIAS

1. Chin, J. W. (2014). Expanding and Reprogramming the Genetic Code of Cells and Animals. Annual Review of Biochemistry, 83(1), 379–408. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060713-035737>
2. Wang, L., & Schultz, P. G. (2001). A general approach for the generation of orthogonal tRNAs. Chemistry & Biology, 8(9), 883–890. [https://doi.org/10.1016/s1074-5521\(01\)00063-1](https://doi.org/10.1016/s1074-5521(01)00063-1)
3. Wang, L., Xie, J., & Schultz, P. G. (2006). EXPANDING THE GENETIC CODE. Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure, 35(1), 225–249. <https://doi.org/10.1146/annurev.biophys.35.101105.121507>
4. Rackham, O., & Chin, J. W. (2005). A network of orthogonal ribosome-mRNA pairs. Nature Chemical Biology, 1(3), 159–166. <https://doi.org/10.1038/nchembio719>