

DA RNA A PROTEINE

Il prodotto finale di alcuni geni è una molecola di RNA. Tuttavia lavaggio parte dei geni in una cellula produce molecole di mRNA che servono da intermedi nella via verso le proteine. Una volta che un mRNA è stato prodotto per trascrizione e modificazione, l'informazione presente nella sua sequenza nucleotidica è usata per sintetizzare una proteina. La conversione di un'informazione da RNA in proteina rappresenta una **traduzione** dell'informazione genetica in un altro linguaggio. La sequenza nucleotidica di un gene viene tradotta nella sequenza degli amminoacidi di una proteina seguendo regole che nel loro insieme sono note come **codice genetico**. La sequenza dei nucleotidi nella molecola di mRNA è letta a gruppi di tre. L'RNA è un polimero lineare di quattro nucleotidi diversi, sono 64 combinazioni (4^3) possibili di nucleotidi. Tuttavia nelle proteine si trovano solo 20 amminoacidi diversi, il codice genetico è ridondante e alcuni amminoacidi sono specificati da più di una tripletta. Ciascun gruppo di tre nucleotidi consecutivi dell'RNA si chiama **codone** e ciascun codone specifica o un amminoacido o un segnale di stop al processo di traduzione. I codoni di una molecola di mRNA non riconoscono direttamente gli amminoacidi che specificano. La traduzione di mRNA in proteina dipende da molecole adattatrici che possono riconoscere e legare sia il codone che l'amminoacido. Questi adattatori consistono di una serie di piccole molecole di RNA note come RNA transfer (tRNA), ciascuna lunga circa 80 nucleotidi. I tRNA sono modificati covalentemente prima che venga permesso loro di uscire dal nucleo. I tRNA eucariotici sono sintetizzati dalla RNA polimerasi III. Il riconoscimento e l'attacco dell'amminoacido corretto dipendono da enzimi chiamati **amminoacil-tRNA sintetasi**, che accoppiano covalentemente ciascun amminoacido alla serie appropriata di molecole di tRNA.

La reazione fondamentale della sintesi proteica è la formazione di un legame peptidico fra il gruppo carbossilico all'estremità di una catena polipeptidica in crescita e un gruppo amminico libero su un amminoacido in arrivo. Di conseguenza una proteina viene sintetizzata dalla sua estremità N-terminale alla sua estremità C-terminale. Per tutto il processo l'estremità carbossilica in crescita della catena polipeptidica rimane attivata dal suo attacco covalente ad una molecola di tRNA. Questo legame covalente ad alta energia viene spezzato durante ciascuna aggiunta, ma è immediatamente sostituito dall'identico legame dell'amminoacido aggiunto più recente. In questo modo ciascun amminoacido porta con sé l'energia di attivazione per l'aggiunta dell'amminoacido successivo invece che l'energia per la propria aggiunta.

Il **codice genetico** è l'insieme delle regole attraverso cui la sequenza dei nucleotidi negli acidi nucleici specifica la sequenza degli amminoacidi nelle proteine. È una sorta di **linguaggio molecolare** basato sull'ordine in cui si susseguono nella molecola di DNA le quattro diverse basi azotate, i nucleotidi. Il DNA dispone di un alfabeto a quattro lettere per specificare i circa 20 amminoacidi da cui possono essere costituite, secondo un preciso ordine di successione, le proteine. Il codice genetico presenta una serie di caratteristiche:

- Contiene un **segnale di inizio** rappresentato dal codone AUG (codifica l'amminoacido metionina).
- Contiene dei **segnali di fine lettura** rappresentati da tre **codoni di stop** o **codoni non senso**.
- **Non è ambiguo** una dato codone specifica sempre un unico amminoacido. Ad esempio il codone AUU codifica sempre per l'isoleucina.
- **È ridondante** o **degenerato**, quasi tutti gli amminoacidi sono specificati da più di un codone. Ad esempio l'isoleucina è codificata dai codoni AUU, AUC e AUA.
- **È universale**, valido per tutti gli organismi, con poche eccezioni come il DNA mitocondriale.

I codoni sinonimi differiscono spesso solo per il terzo nucleotide, la presenza dei sinonimi costituisce una difesa contro le mutazioni, perché in caso si verifici una mutazione, abbassa la probabilità di inserire un amminoacido sbagliato durante la sintesi proteica.

In tutti i codoni i primi due nucleotidi sono conservati, il terzo è variabile. Il codone AUG corrisponde alla metionina ed è detto **codone di inizio**. I codoni UAA, UAG, UGA non corrispondono ad amminoacidi e sono detti **codoni non senso** o **codoni di terminazione**.

I costituenti del macchinario biosintetico sono i **ribosomi**. I ribosomi sono complessi macromolecolari immersi nel citoplasma o ancorati al reticolo endoplasmatico ruvido e sono le particelle responsabili della sintesi proteica. La loro funzione è quella di sintetizzare le proteine leggendo le informazioni contenute in una catena di RNA messaggero (mRNA). I ribosomi sono formati da tre molecole di RNA ribosomiale e da proteine che si associano a formare due subunità di dimensioni differenti. I ribosomi dei batteri, degli archea e degli eucarioti differiscono tra loro sia per la struttura sia per le sequenze di RNA. Un ribosoma batterico ha una massa di circa 2700kDa, un diametro di circa 20nm ed un coefficiente di sedimentazione di 70s. Esso si può suddividere in due parti o subunità, maggiore a 60s e minore a 40s:

- La subunità maggiore è costituita da tre molecole di rRNA, una 28s, una 5,8s e un'ultima 5s.
- La minore consta di una sola catena di rRNA 18s. Nel complesso le due subunità presentano più di 80 proteine.

Le singole molecole di rRNA, tranne la 5s, vengono sintetizzate nei nucleotidi come RNA 45s. Il DNA contenuto nel nucleolo viene trascritto dalla RNA polimerasi I a partire da più punti della catena di DNA in strutture dette cistroni. rRNA 45s appena trascritto è detto pre-rRNA, in seguito a tagli esso darà origine a rRNA 18s e 32s il quale verrà tagliato ulteriormente in 28s e 5,8s.

Nel pre-rRNA sono presenti pseudouridine e basi azotate metilate. La funzione di queste modifiche nelle basi si pensa sia di evitare il taglio enzimatico o favorire le interazioni dell'RNA interne alla catena o con altre molecole.

Il sito in cui la sintesi proteica inizia sull'mRNA è particolarmente cruciale poiché stabilisce il quadro di lettura dell'intera lunghezza del messaggio. Un errore di un nucleotide in un senso o nell'altro a questo stadio provocherebbe la lettura sbagliata di tutti i codoni successivi del messaggio, così che si formerebbe una proteina non funzionante con una sequenza di amminoacidi ingarbugliata.

Un ribosoma, una volta legato ad un mRNA, si muove lungo l'mRNA da un codone al successivo ossia in blocchi consecutivi di tre nucleotidi. Per garantire che siano lette in triplette appropriate il ribosoma si attacca ad un mRNA in un sito specifico chiamato **codone di inizio** che è specificato come AUG. Il legame a questo codone automaticamente pone il ribosoma nell'appropriato **modulo di lettura**, *reading frame*, così che esso legge correttamente l'intero messaggio da quel punto in poi. Un mRNA non si lega ad un ribosoma intero ma alle subunità maggiore e minore in fasi separate. Il passaggio più importante della fase di inizio è costituito dal legame della subunità ribosomiale minore alla prima sequenza AUG nell'RNA messaggero, che serve da codone di inizio. Anche GUG è in grado di funzionare da codone di inizio ma si trova come tale in pochi messaggi naturali. Quando viene usato GUG viene comunque utilizzata la N-formilmetionina per formare il complesso di inizio, nonostante i codoni GUG interni specifichino per la valina.

Gli mRNA batterici possiedono una specifica sequenza di nucleotidi che si trova da 5 a 10 nucleotidi prima del codone di inizio. La sequenza di Shine-Dalgarno è complementare ad una sequenza di di nucleotidi vicino all'estremità 3' dell'RNA ribosomiale 16s della subunità minore del ribosoma.

Il passaggio di inizio è di grande importanza anche per un altro motivo, poiché per la maggior parte dei geni è l'ultimo punto in cui la cellula può decidere se l'mRNA deve essere tradotto e la proteina sintetizzata; la frequenza di inizio determina così la frequenza con cui la proteina è sintetizzata. La traduzione di un mRNA comincia con il codone AUG ed è necessario un tRNA speciale per iniziare la traduzione.

Questo **tRNA iniziatore** porta sempre l'amminoacido metionina, così che tutte le proteine di nuova formazione hanno metionina come primo amminoacido all'estremità N-terminale, l'estremità di una proteina che è sintetizzata per prima. Questa metionina viene di solito rimossa successivamente da una proteasi specifica. Il tRNA iniziatore può essere riconosciuto dai fattori di inizio perché ha una sequenza nucleotidica distinta da quella del tRNA che normalmente porta metionina. Negli eucarioti il complesso tRNA iniziatore-metionina è prima caricato nella subunità ribosomale minore insieme ad altre proteine chiamate **fattori di inizio eucariotici**, o **eIF**. Di tutti gli amminoacil-tRNA della cellula soltanto il tRNA iniziatore carico di metionina è capace di legarsi con forza alla subunità minore del ribosoma senza che sia presente il ribosoma completo, e si lega direttamente al sito P. Quindi la subunità ribosomale minore si lega all'estremità 5' di una molecola di mRNA, che viene riconosciuta in virtù del suo cappuccio 5' e dei due fattori di inizio legati, eIF4E ed eIF4G. La subunità ribosomale minore si muove quindi in avanti, 5'-3' lungo l'mRNA, cercando il primo AUG. Questo movimento è agevolato da ulteriori fattori di inizio che agiscono da elicasi alimentate da ATP, che facilitano il movimento della subunità minore attraverso la struttura secondaria dell'RNA. Nel 90% degli mRNA la traduzione inizia al primo AUG incontrato della subunità minore. A questo punto i fattori di inizio si dissociano dalla subunità ribosomale minore per far posto alla subunità ribosomale maggiore, che si assembla e completa il ribosoma. Il tRNA iniziatore è adesso attaccato al sito P, lasciando vacante il sito A. La sintesi proteica è perciò pronta a iniziare con l'aggiunta della successiva molecola di tRNA. I nucleotidi immediatamente circostanti al sito di inizio negli mRNA eucariotici influenzano l'efficienza di riconoscimento di AUG durante il processo di scansione. Se questo sito di riconoscimento è molto diverso dalla sequenza consenso di riconoscimento (5'-ACCAUGG-3'), le subunità ribosomiali in scansione ignoreranno talvolta il primo codone AUG nell'mRNA e salteranno invece al secondo o terzo codone AUG. Le cellule usano frequentemente questo fenomeno, noto come **leaky scanning**, per produrre due o più proteine, che differiscono nei loro N-terminali, dalla stessa molecola di mRNA. Ciò permette ad alcuni geni di produrre la stessa proteina con o senza una sequenza segnale attaccata al suo N-terminale, per esempio, così che la proteina è diretta in dei compartimenti diversi della cellula. Il meccanismo di selezione del codone di inizio nei batteri è diverso. Gli mRNA batterici non hanno cappucci 5' che indichino al ribosoma dove iniziare a cercare l'inizio della traduzione. Ciascun mRNA batterico contiene invece un sito specifico per i ribosomi, posto pochi nucleotidi a monte dell'AUG al quale deve iniziare la traduzione. Questa sequenza nucleotidica, con il consenso 5'-AGGAGGU-3', forma coppie di basi con l'rRNA 16S della subunità minore del ribosoma per posizionare il codone di inizio AUG nel ribosoma. Una serie di fattori di inizio della traduzione controlla questa interazione, nonché il successivo assemblaggio della subunità ribosomale maggiore per completare il ribosoma.

INIZIO DELLA TRADUZIONE NEGLI EUCARIOTI

I ribosomi eucariotici contengono rRNA più grandi e proteine aggiuntive e gli mRNA eucariotici hanno caratteristiche particolari, come il cappuccio 5' e la coda 3'. L'inizio della traduzione negli eucariotici è differente da quella procariotica. Le cellule eucariotiche richiedono almeno 12 fattori di inizio, per un totale di oltre 25 catene polipeptidiche. Parecchi eIF legano la subunità 40s preparando la stessa subunità a legarsi all'mRNA. Anche il tRNA iniziatore, legato alla metionina, si attacca alla subunità 40s prima di interagire con l'mRNA. Il tRNA iniziatore si inserisce nel sito P della subunità minore in associazione con eIF2-GTP. Successivamente, la subunità minore del ribosoma con i suoi fattori di inizio associati ed il tRNA che porta il cappuccio di metilguanosina. Il complesso 43s viene inizialmente indirizzato verso l'mRNA con l'aiuto di un gruppo di fattori di inizio che sono già legati all'mRNA.

Tra questi fattori:

1. **eIF4E** si lega al cappuccio dell'estremità 5' dell'mRNA eucariotico;
2. **eIF4A** si muove lungo l'estremità 5' del messaggio rimuovendo tutte le regioni a doppio filamento che interferirebbero con lo scorrimento del complesso 43s lungo l'mRNA;
3. **eIF4G** serve da collegamento tra l'estremità 5' incappucciata e quella 3' poliadenilata dell'mRNA. Perciò, eIF4G converte un mRNA lineare in un messaggio circolare.

Una volta che il complesso 43s si è legato all'estremità 5' dell'mRNA, il complesso scorre lungo il messaggio finché raggiunge una sequenza riconoscibile di nucleotidi 5'-CCACCAUGC-3' che contiene il codone di inizio AUG. Quando il complesso 43s ha raggiunto il codone AUG appropriato, il GTP legato a eIF2 è idrolizzato e la subunità maggiore 60s si unisce al complesso. La formazione del ribosoma complesso 80s richiede l'attività di un'altra proteina che lega il GTP detta eIF5B che idrolizza il GTP a cui è legato. L'idrolisi dei due GTP e la formazione del ribosoma complesso sono accompagnate dal rilascio tutti i fattori di inizio. Questi eventi lasciano l'anticodone del tRNA iniziatore legato al codone di inizio AUG nel sito P del ribosoma. Il complesso è quindi pronto per l'allungamento.

Non tutti gli mRNA sono tradotti dopo l'attacco della subunità minore del ribosoma all'estremità 5' del messaggio. Molti mRNA virali ed un numero relativamente di mRNA cellulari, in particolare quelli utilizzati durante la mitosi o in seguito a stress, sono tradotti in seguito all'attacco diretto del ribosoma ad un sito di entrata interno dell'mRNA che può essere localizzato ad una certa distanza dall'estremità 5' del messaggio.

Durante la traduzione un ribosoma va incontro ad un ciclo ripetitivo di cambiamenti meccanici guidati dall'energia rilasciata dall'idrolisi di GTP. I ribosomi sono macchine programmabili, l'informazione conservata nell'mRNA determina la sequenza degli aminoacil-tRNA che il ribosoma usa nella traduzione. Un'altra caratteristica che distingue i ribosomi da molte altre macchine cellulari è l'importanza della loro componente di RNA. Gli RNA ribosomiali svolgono numerosi ruoli importanti selezionando i tRNA assicurando l'accuratezza della traduzione legando fattori proteici e polimerizzando gli aminoacidi. Ogni ribosoma ha 3 siti di associazione per le molecole di RNA transfer. Questi 3 sono il **sito A (amminoacidico)**, **sito P (peptidico)** e **sito E (exit, di uscita)**, ricevono ciascun tRNA in passaggi successivi del ciclo di allungamento. I tRNA si legano a questi siti e riempiono lo spazio tra le due subunità ribosomiali. L'estremità dell'anticodone del tRNA legato contatta la subunità minore che svolge un ruolo chiave nella decodificazione delle informazioni contenute nell'mRNA. L'estremità del tRNA legato che porta l'amminoacido contatta la subunità maggiore che ha ruolo catalitico nella formazione del legame peptidico.

L'interfaccia tra le subunità minore e maggiore forma una cavità relativamente spaziosa che è delimitata quasi esclusivamente da RNA. Il lato della subunità minore rivolto verso questa cavità è delimitato nella sua lunghezza da un'elica continua a doppio filamento di RNA.

Le superfici delle due subunità rivolte una verso l'altra contengono i siti di legame per l'mRNA e per il tRNA in arrivo e quindi rivestono grande importanza per il funzionamento del ribosoma.

Anche il sito attivo dove gli aminoacidi sono legati covalentemente l'uno all'altro è costituito da RNA. Questa porzione catalitica della subunità maggiore giace in una profonda fenditura che protegge il legame peptidico appena formato dall'idrolisi da parte del solvente acquoso.

L'mRNA è situato in uno stretto canale che scorre lungo il collo della subunità maggiore passando attraverso i siti A, P ed E. Prima di entrare nel sito A, l'mRNA è privato di qualsiasi struttura secondaria da una attività elicastica del ribosoma.

Una galleria corre attraverso tutta la subunità maggiore iniziando dal sito attivo. Si ritiene che questa galleria fornisca una via di passaggio per la traslocazione del polipeptide in allungamento attraverso il ribosoma.

La maggior parte delle proteine delle subunità ribosomiali ha siti multipli di legame all'RNA ed è disposta in modo da stabilizzare la complessa struttura terziaria degli rRNA.

ALLUNGAMENTO

Selezione dell'amminoacil-tRNA

Quando il tRNA iniziatore è localizzato nel sito P, il ribosoma è pronto per accettare il secondo amminoacil-tRNA. Prima che il secondo amminoacil-tRNA possa effettivamente legarsi all'mRNA nel sito A esso deve combinarsi con un fattore di allungamento proteico legato a GTP. Questo particolare fattore di allungamento è detto **EF-Tu** nei procariotici ed **EF1A** negli eucarioti. EF-Tu è necessario per indirizzare l'amminoacil-tRNA al sito A del ribosoma. Anche se qualsiasi complesso amminoacil-tRNA-Tu-GTP può entrare nel sito, solo quello che ha l'anticodone complementare al codone dell'mRNA situato nel sito A indurrà nel ribosoma i cambiamenti conformazionali necessari a legare il tRNA all'mRNA nel sito di decodificazione. Quando l'amminoacil-tRNA-Tu-GTP appropriato si è legato al codone dell'mRNA, il GTP viene idrolizzato e il complesso Tu-GDP viene rilasciato, lasciando l'aa-tRNA legato al sito A del ribosoma. La rigenerazione di Tu-GTP dal Tu-GDP rilasciato richiede un altro fattore di allungamento chiamati **EF-Ts**.

Formazione del legame peptidico

Alla fine del primo passaggio, i due amminoacidi, legati ai loro rispettivi tRNA, sono giustapposti in una posizione tale che possono reagire l'uno con l'altro. Il secondo passaggio nel ciclo di allungamento è la formazione di un legame peptidico tra questi due amminoacidi. La formazione del legame peptidico avviene quando il gruppo amminico dell'aa-tRNA situato nel sito A reagisce con il gruppo carbonile dell'amminoacido legato al tRNA del sito P spiazzando il tRNA del sito P. Il tRNA legato al secondo codone del sito A ha un dipeptide attaccato, mentre il tRNA del sito P è deacilato. La formazione del legame peptidico avviene spontaneamente senza immissione di energia esterna. La reazione è catalizzata dalla **peptidil transferasi**, un componente della subunità maggiore del ribosoma.

Per molti anni si è pensato che la peptidil transferasi fosse una delle proteine del ribosoma. Poi quando fu evidenziata l'attività catalitica dell'RNA, si pensò all'RNA ribosomiale come ad un possibile catalizzatore per la formazione del legame peptidico. L'attività peptidil transferasica risiede nella molecola di RNA ribosomiale della subunità maggiore del ribosoma.

Traslocazione

La formazione del primo legame peptidico lascia un'estremità della molecola di tRNA nel sito A ancora attaccata al suo codone complementare sull'mRNA estremità della molecola attaccata al dipeptide. Il tRNA del sito P è ora privo di dell'amminoacido. Il passaggio seguente è la **traslocazione**, è caratterizzato da un piccolo movimento simile a quello di un cricchetto (ratchet) della subunità minore rispetto alla maggiore. Il ribosoma si sposta di tre nucleotidi (codone) lungo l'mRNA in direzione 5'-3'. La traslocazione è accompagnata dallo spostamento del di-peptidil-tRNA dal sito A al sito P del ribosoma, dal movimento del tRNA deacilato dal sito P al sito E. Mentre avvengono questi movimenti, entrambi i tRNA restano legati mediante legami idrogeno ai rispettivi codoni nel mRNA. Un passaggio intermedio nel processo di traslocazione è stato visualizzato mediante crioelettromicroscopia, che ha mostrato che i tRNA in stati ibridi parzialmente traslocati. In questi stati ibridi, l'estremità dell'anticodone dei tRNA risiedono ancora nei siti A e P della subunità minore mentre le estremità accettrici dei tRNA si sono spostate nei siti P e E della subunità maggiore. Si dice che i tRNA occupano i siti ibridi A/P e P/E rispettivamente. Il fattore di allungamento legato a GTP (EF-G nei procarioti e eEF2 negli eucarioti) lega il ribosoma stabilizzandolo nello stato a cricchetto e perciò impedendo il movimento del tRNA indietro verso la conformazione classica A/A e P/P.

Successivamente, l'idrolisi del GTP genera cambiamento conformazionale che muove l'mRNA e le anse dell'anticodone associate del tRNA rispetto alla subunità minore posizionando i tRNA legati negli stati E/E e P/P, lasciando vuoto il sito A. Nello stesso momento il ribosoma è riportato nello stato non cricchetto. In seguito a questa reazione, EF-G-GDP si stacca dal ribosoma.

Rilascio del tRNA deacilato

Nella tappa finale il tRNA deacilato lascia il ribosoma liberando il sito E. Per ciascun ciclo di allungamento, almeno due molecole di GTP sono idrolizzate, una durante la selezione dell'amminoacil-tRNA e durante la traslocazione. Per ogni ciclo di allungamento la maggior parte del tempo è impiegato nella scelta dell'aa-tRNA dal citosol circostante. Una volta che il peptidil-tRNA si è spostato sul sito P mediante la traslocazione, il sito A è ancora una volta libero per far entrare un altro amminoacil-tRNA, in questo caso uno il cui anticodone è complementare al terzo anticodone. Una volta che il terzo tRNA caricato si è legato all'mRNA nel sito A, il dipeptide dal tRNA del sito P viene trasferito all'amminocido sul tRNA nel sito A, formando il secondo legame peptidico e, quindi, un tripeptide attaccato al tRNA nel sito A. Il tRNA nel sito P è ancora una volta privo di amminoacido. La formazione del legame peptidico è seguita dalla traslocazione del ribosoma al quarto codone e dal rilascio del tRNA deacilato e il ciclo è pronto ricominciare. La particolare sequenza di codoni nell'mRNA che è utilizzata dal ribosoma (il modulo lettura) è fissata nel momento in cui il ribosoma si lega al codone di inizio, durante la fase di inizio della traduzione. Tra le mutazioni più deleterie, vi sono quelle in cui una singola base è aggiunta o rimossa dal DNA. A partire dalla mutazione puntiforme e per il resto di tutta la sequenza codificante, il ribosoma si muoverà lungo l'mRNA in un modulo di lettura errato. Mutazioni di questo tipo sono definite **mutazioni frameshift** (cioè, di scivolamento del modulo lettura). Queste mutazioni portano all'assemblaggio di sequenze di amminoacidi completamente anormali a partire dal punto di mutazione fino alla fine del polipeptide.

TERMINAZIONE

Tre dei 64 possibili codoni trinucleotidici funzionano da codoni di stop, la cui funzione è di interrompere la formazione del polipeptide, invece di codificare un altro amminoacido. Non esiste alcun tRNA i cui anticodoni siano complementari ai codoni di stop.

I codoni dirigono l'incorporazione di 20 diversi aminoacidi. In realtà, c'è un ventunesimo aminoacido, chiamato selenocisteina, che viene incorporato in un numero molto piccolo di polipeptidi. La selenocisteina è un aminoacido raro che contiene il metallo selenio. La selenocisteina possiede un suo tRNA specifico chiamato tRNA^{sec} ma manca di un specifico amminoacil-tRNA sintetasi. Questo tRNA particolare viene riconosciuto dalla seril-tRNA sintetasi che lega una serina all'estremità 3' del tRNA^{sec}. In seguito a tale legame, la serina viene convertita enzimaticamente in selenocisteina. La selenocisteina è codificata da UGA che è uno dei tre codoni di stop. In gran parte dei casi, UGA viene letta come un segnale di terminazione. In alcuni casi UGA è seguita da una regione ripiegata dell'mRNA in grado di legarsi ad uno speciale fattore di allungamento, che a sua volta spinge il ribosoma a legare un tRNA^{sec} nel sito A, invece di un fattore di terminazione. Un ventunesimo aminoacido, la pirrolisina, è codificata da un altro codone di stop UAG nel codice genetico di alcuni archea. La pirrolisina ha un proprio tRNA e una sua aa-tRNA sintetasi.

Quando il ribosoma raggiunge uno di questi codoni, UAA, UAG o UGA, il segnale viene letto in modo da bloccare ogni ulteriore allungamento e liberare il polipeptide legato all'ultimo tRNA. La terminazione richiede la presenza di *fattori di rilascio* (RF). I fattori di rilascio possono essere distinti in tre gruppi:

- RF di classe I, che riconoscono i codoni di stop nel sito A del ribosoma;
- RF di classe II, che sono proteine leganti GTP (proteine G).

I batteri hanno due classi di fattori di rilascio:

- RF1, che riconosce i codoni di stop UAA e UAG;
- RF2, che riconosce i codoni di stop UAA e UGA.

Le cellule eucariotiche hanno un RF di classe I denominato eRF1, che riconosce tutti i codoni di stop. Gli RF di classe I entrano nel ribosoma