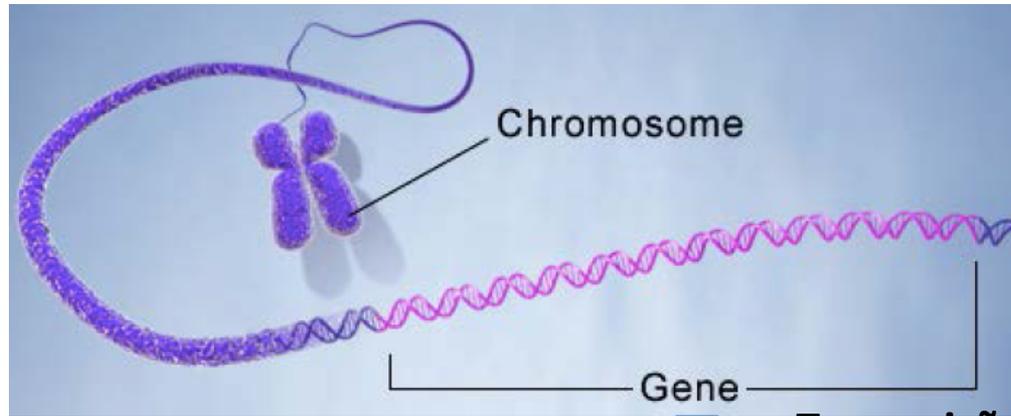


Conceitos de Biologia Molecular

Aula 9- Tradução e Código genético

2022



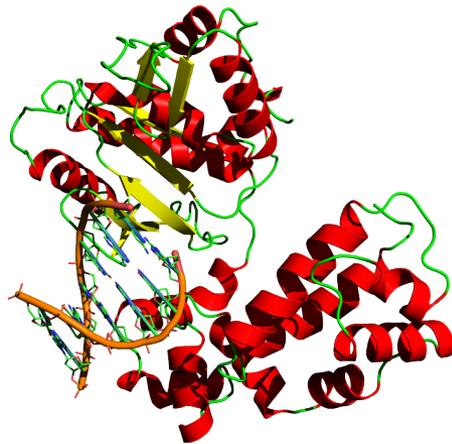
Transcrição



Código Genético



Tradução



PROTEÍNA

- Processo para síntese das proteínas da célula

- Processo que ocorre nos ribossomos

- Reflete o estado fisiológico da célula/ organismo

Fluxo da Informação Genética

Polímero de nucleotídios (DNA/ RNA)

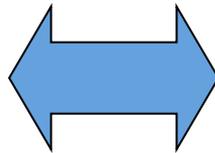


Polímero de aminoácidos

Decifrando o Código Genético

1. Quantos nucleotídeos seriam necessários?

**4 nucleotídeos
diferentes no
DNA**



**20 aminoácidos
diferentes na
proteína**

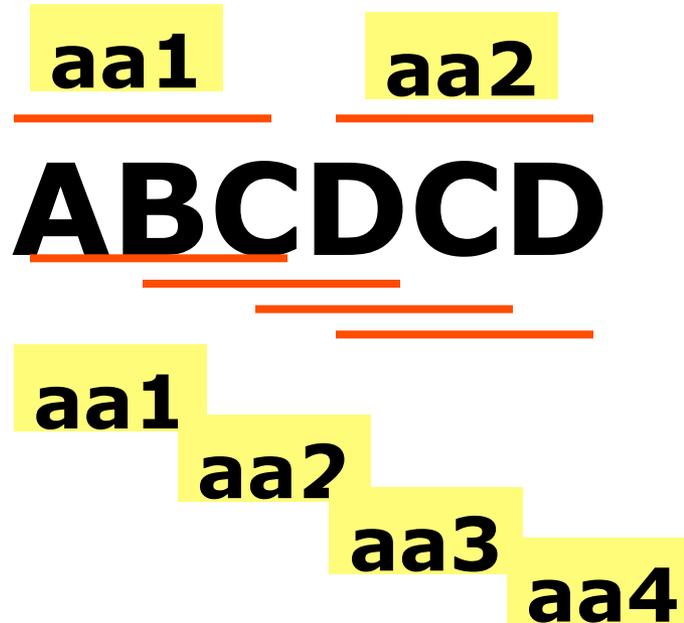
Código de um nucleotídeo = 4 combinações

Código de dois nucleotídeos (4^2) = 16 combinações

Código de três nucleotídeos (4^3) = 64 combinações

Decifrando o Código Genético

2.0 código não é superposto



Análise da seqüência de aminoácidos de mutantes da proteína da capa do vírus mosaico do tabaco mostraram que o código não era superposto. A mutação em um nucleotídeo leva a mudança de um aminoácido e não de três aminoácidos

Decifrando o Código Genético

3.0 código não tem pausas

5' AUG CAC UUU ACU AAC CGC UAU UCC 3'

5' A UGC ACU UUA CUA ACC GCU AUU C C 3'

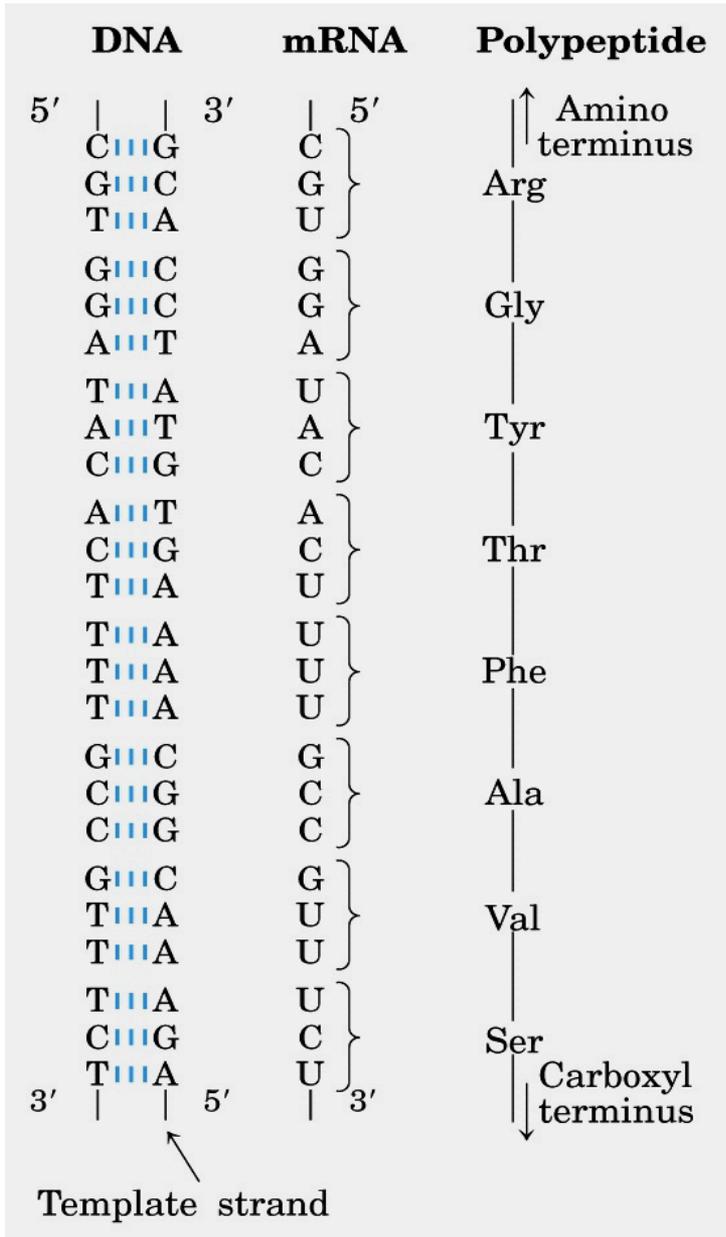
- código é lido **sequencialmente sem pausas a partir do início determinado definição de fase de leitura**

4. O código é degenerado

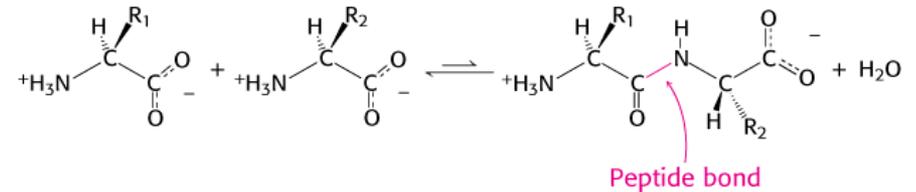
Degeneração do código genético

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

Amino acid	Number of codons
Ala	4
Arg	6
Asn	2
Asp	2
Cys	2
Gln	2
Glu	2
Gly	4
His	2
Ile	3
Leu	6
Lys	2
Met	1
Phe	2
Pro	4
Ser	6
Thr	4
Trp	1
Tyr	2
Val	4



Fluxo da Informação Genética



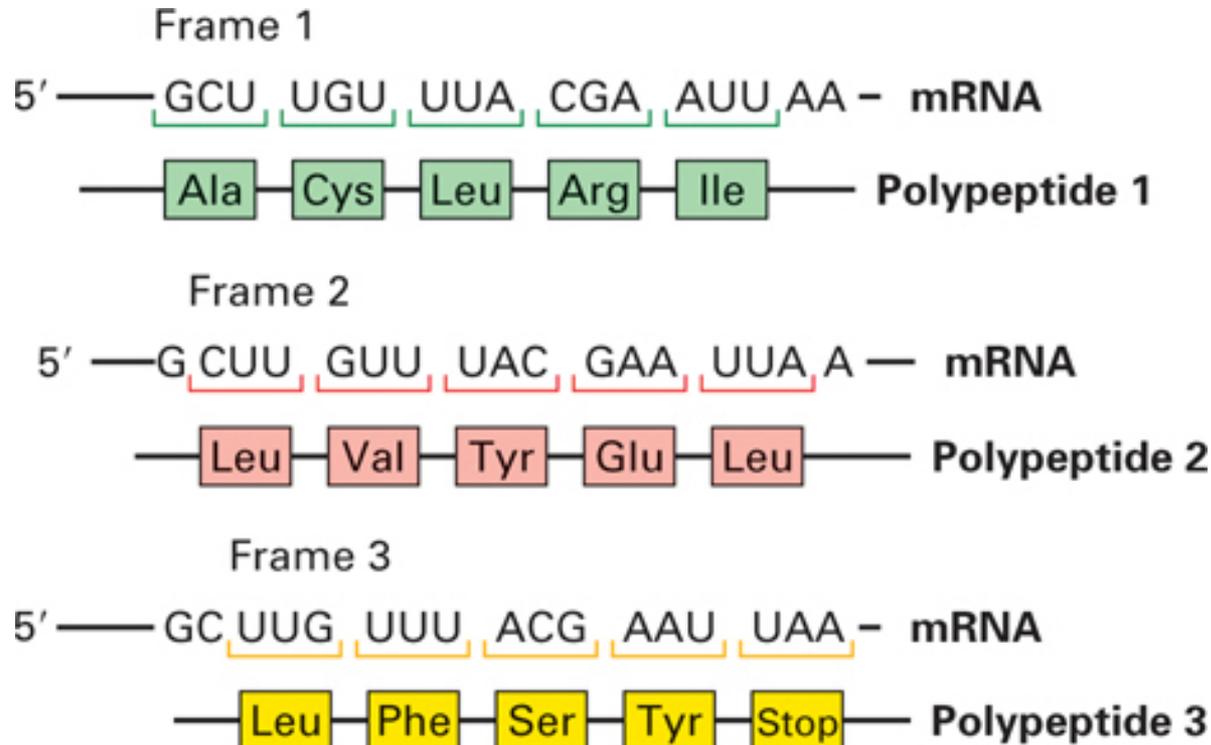
Código genético

Códon de iniciação: AUG
 (menos frequente GUG,
 UCC em algumas bactérias)

Códons de terminação:
 UAA, UAG, UGA

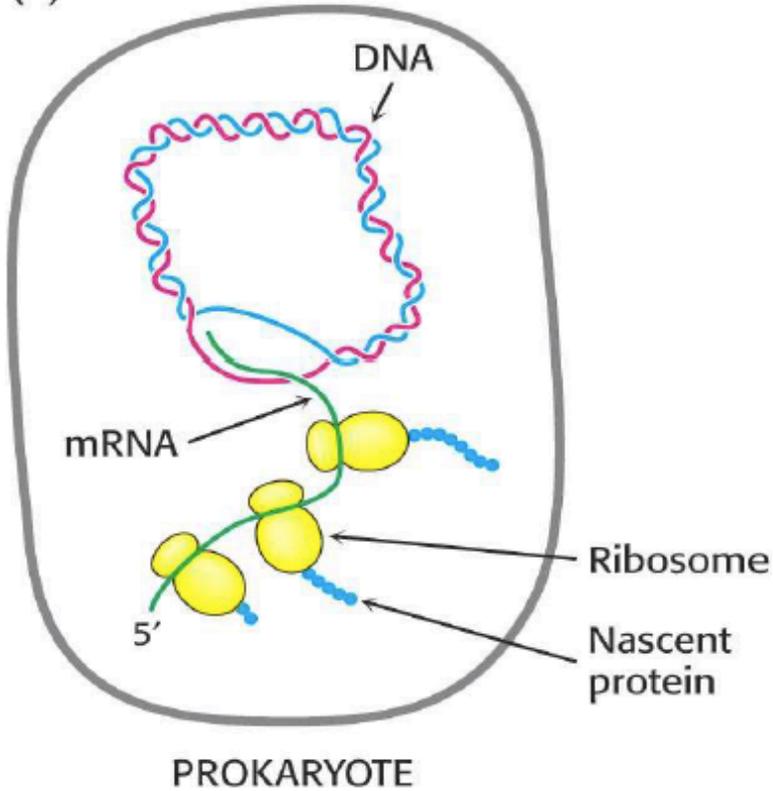
Leitura do código

definição de fase de leitura

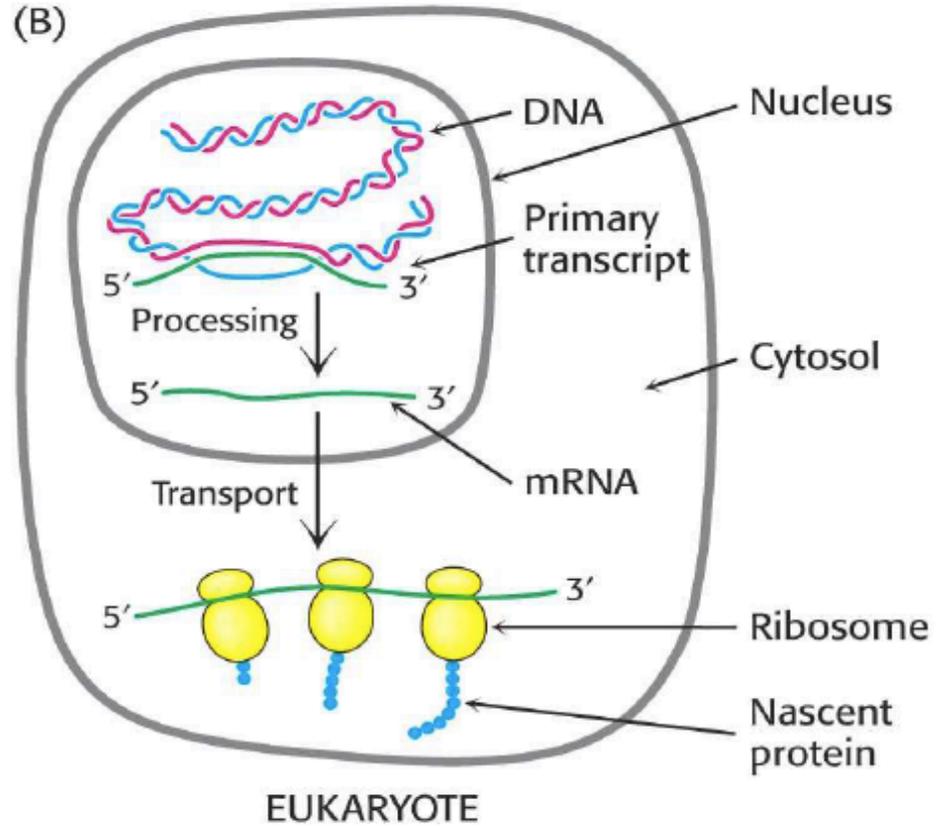


procarioto e eucarioto

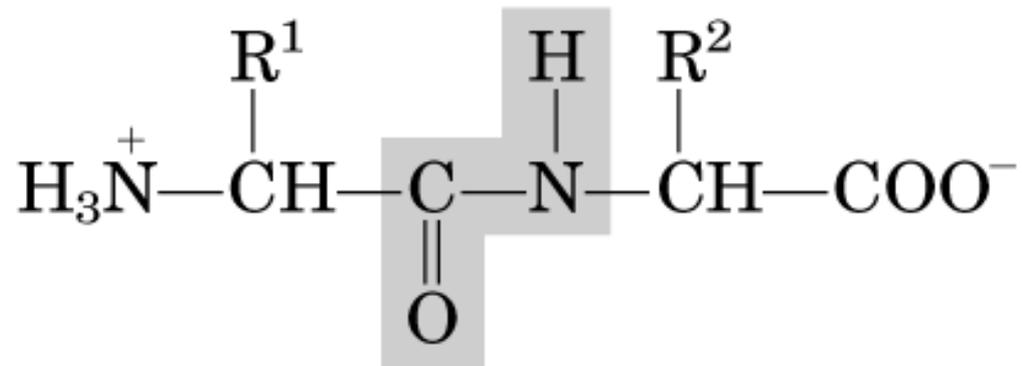
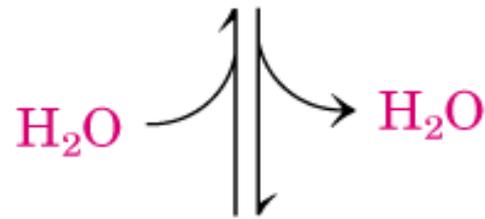
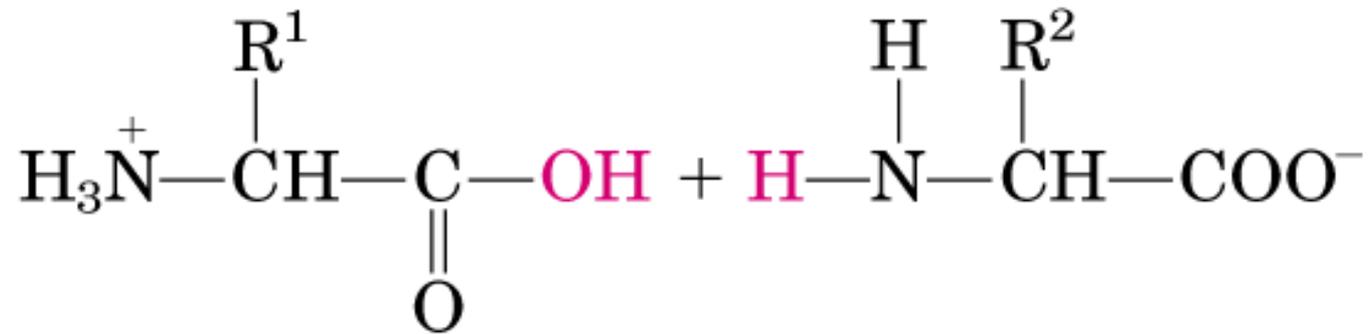
(A)



(B)



Ligação peptídica



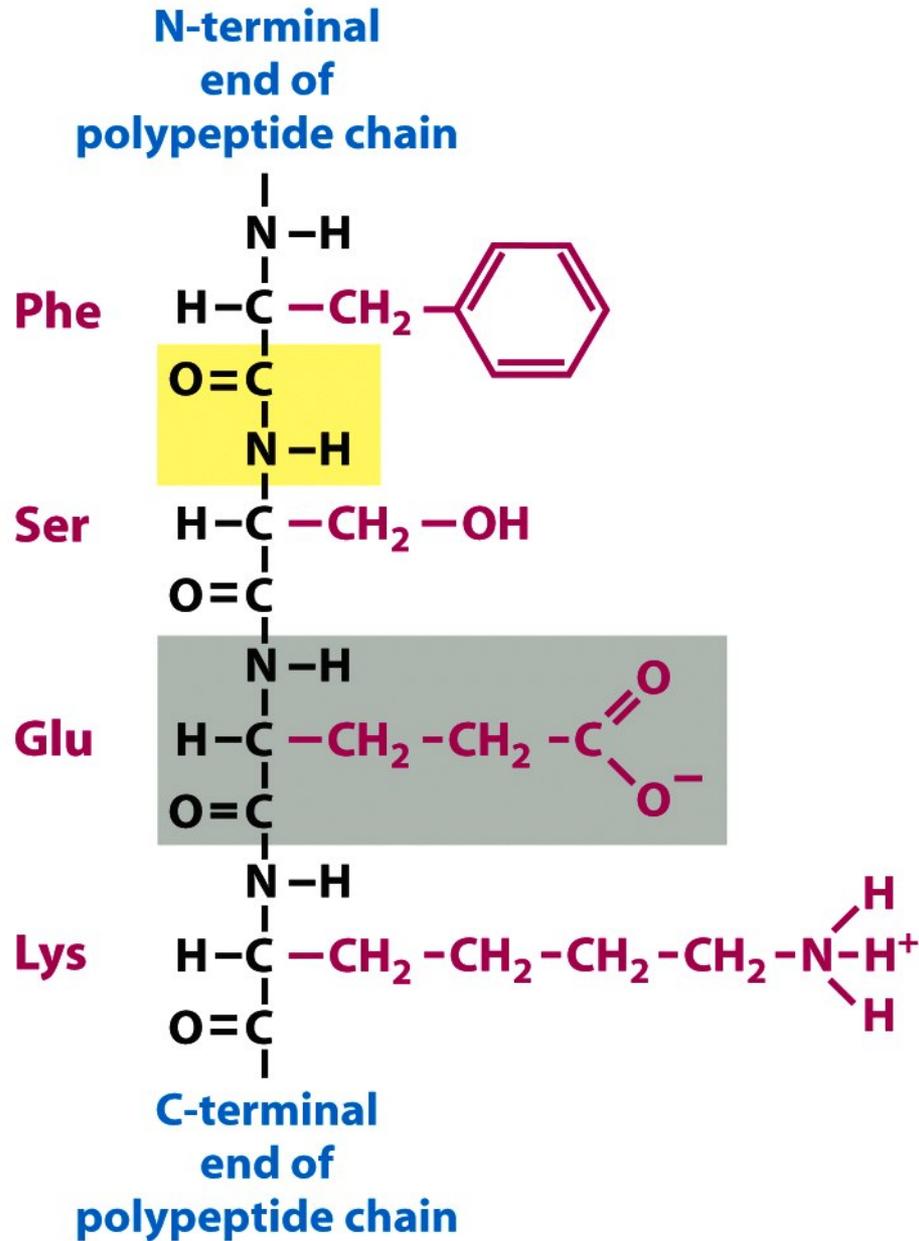


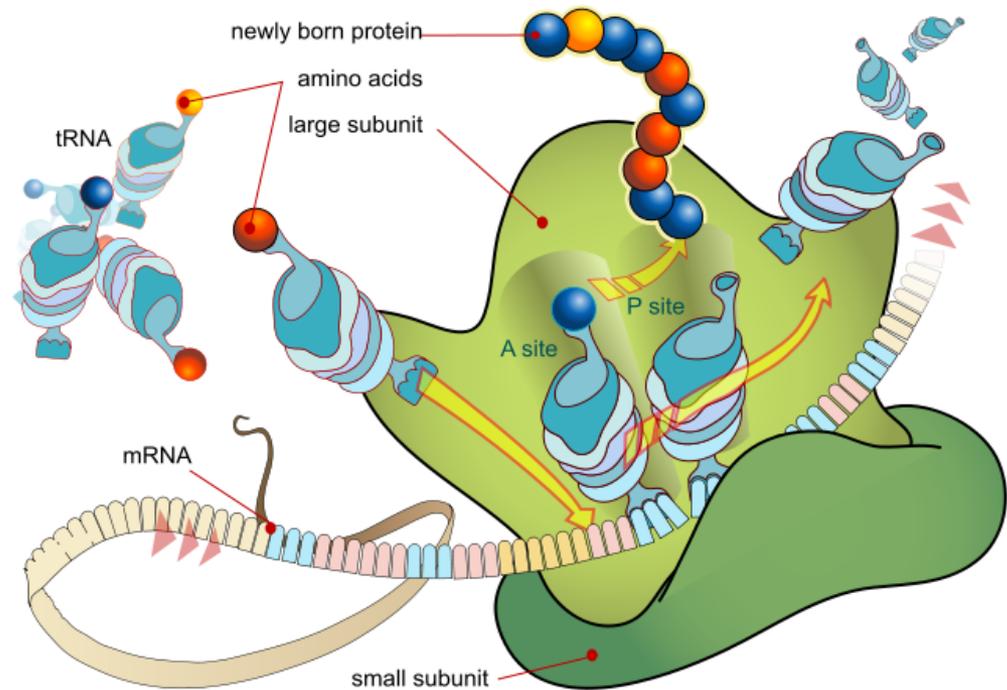
Figure 2-24 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Síntese proteica

- ~300 moléculas envolvidas
- ~90% da energia gasta nos processos biossintéticos
- **Bactérias:** ~35% do peso:
 - 20.000 ribossomos, 100.000 proteínas (fatores e enzimas), 200.000 tRNAs. Tradução acoplada à transcrição.
- **Processo rápido:** ~20 resíduos/seg
- **Erro:** 1 a cada 10.000 aa adicionados
- **Síntese:** de 5' para 3' do mRNA

Componentes básicos da síntese proteica

tRNAs- aa
mRNA
Ribossomos



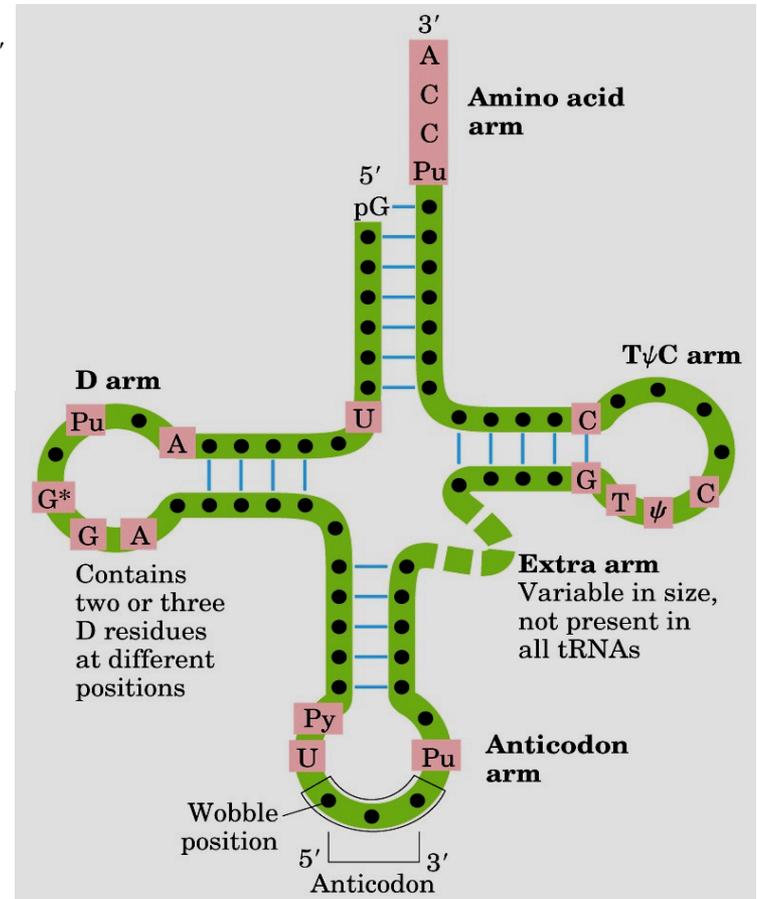
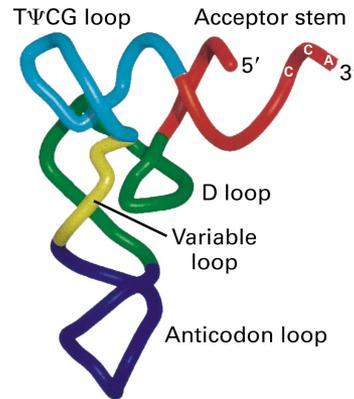
tRNA

-Entre 75- 95 ribonucleotíós; sequência variada.

-Estrutura secundária com grampos e alças formando um trevo

-Alto número de bases modificadas depois da sua transcrição

-tRNA carregado (com aa ligado no braço 5' CCA 3')



Ribossomo- maquinaria de leitura

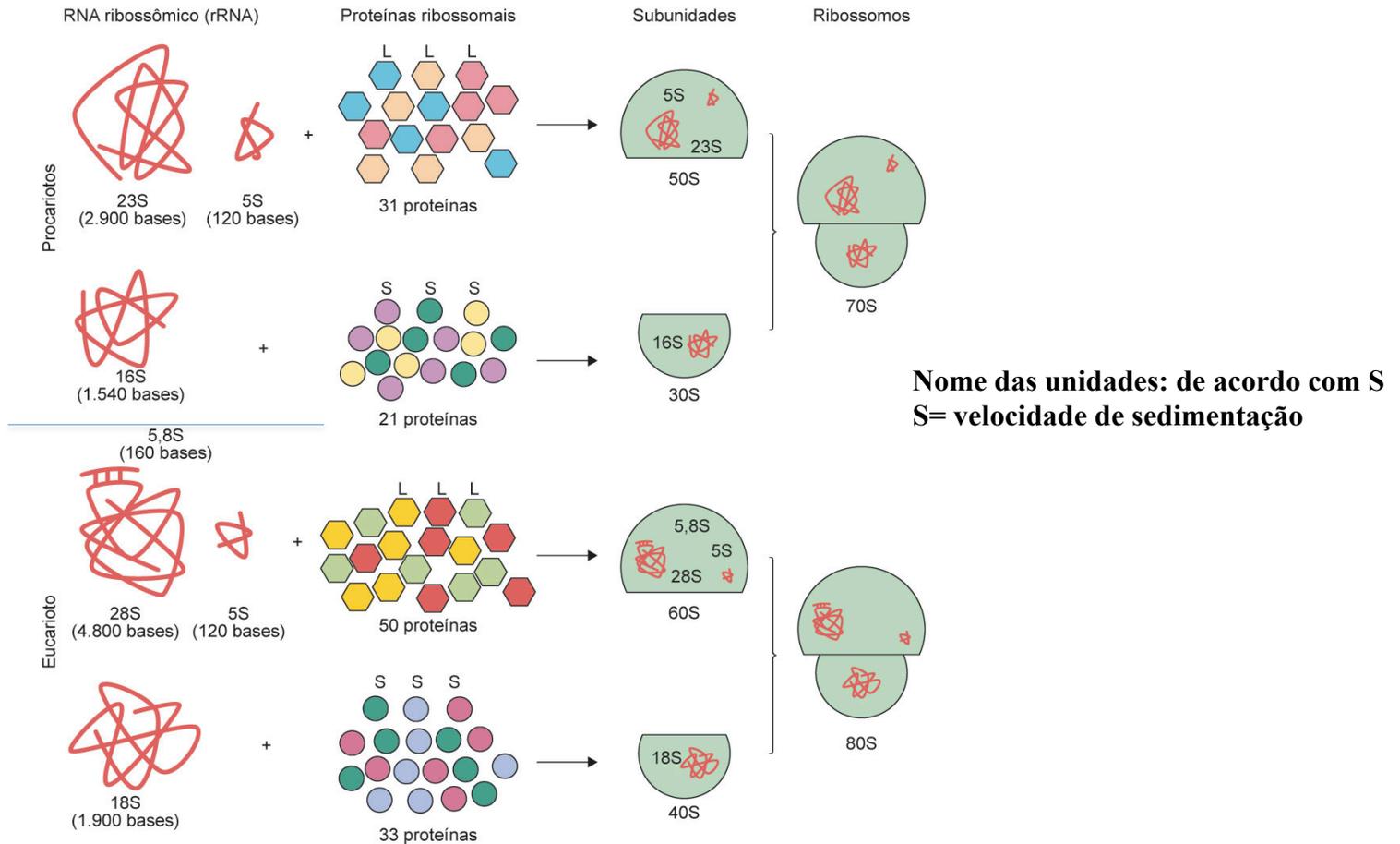


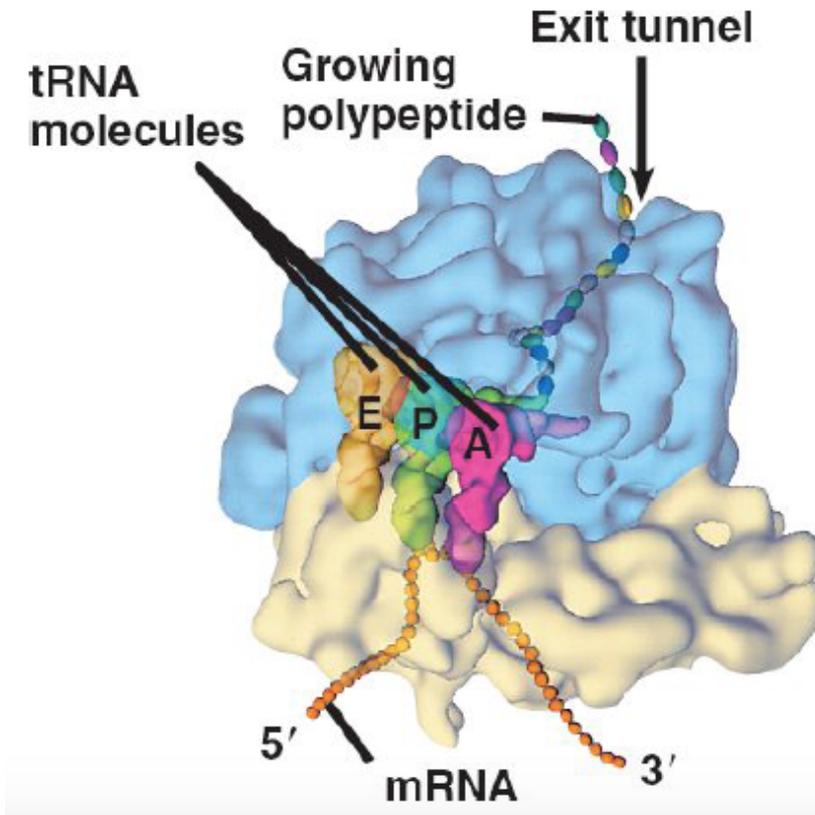
Figura 7.6 Composição dos ribossomos procarióticos e eucarióticos.

Menk & van Sluys

Ribossomo

Subunidade menor: plataforma para o pareamento mRNA- tRNA

Subunidade maior: responsável pela formação da ligação peptídica (ribozima)

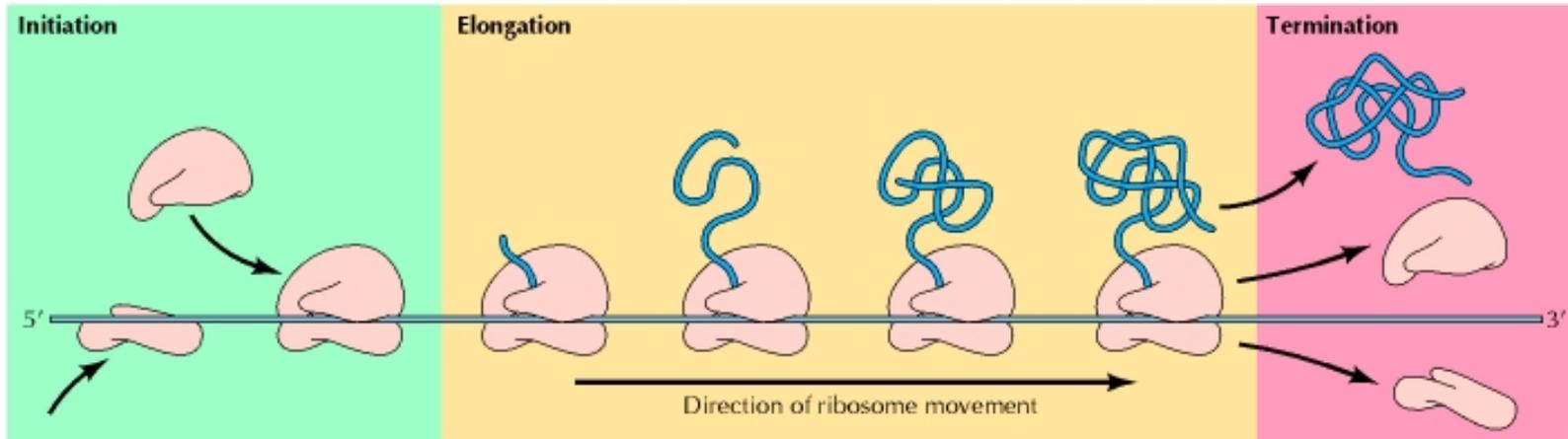


Sítios

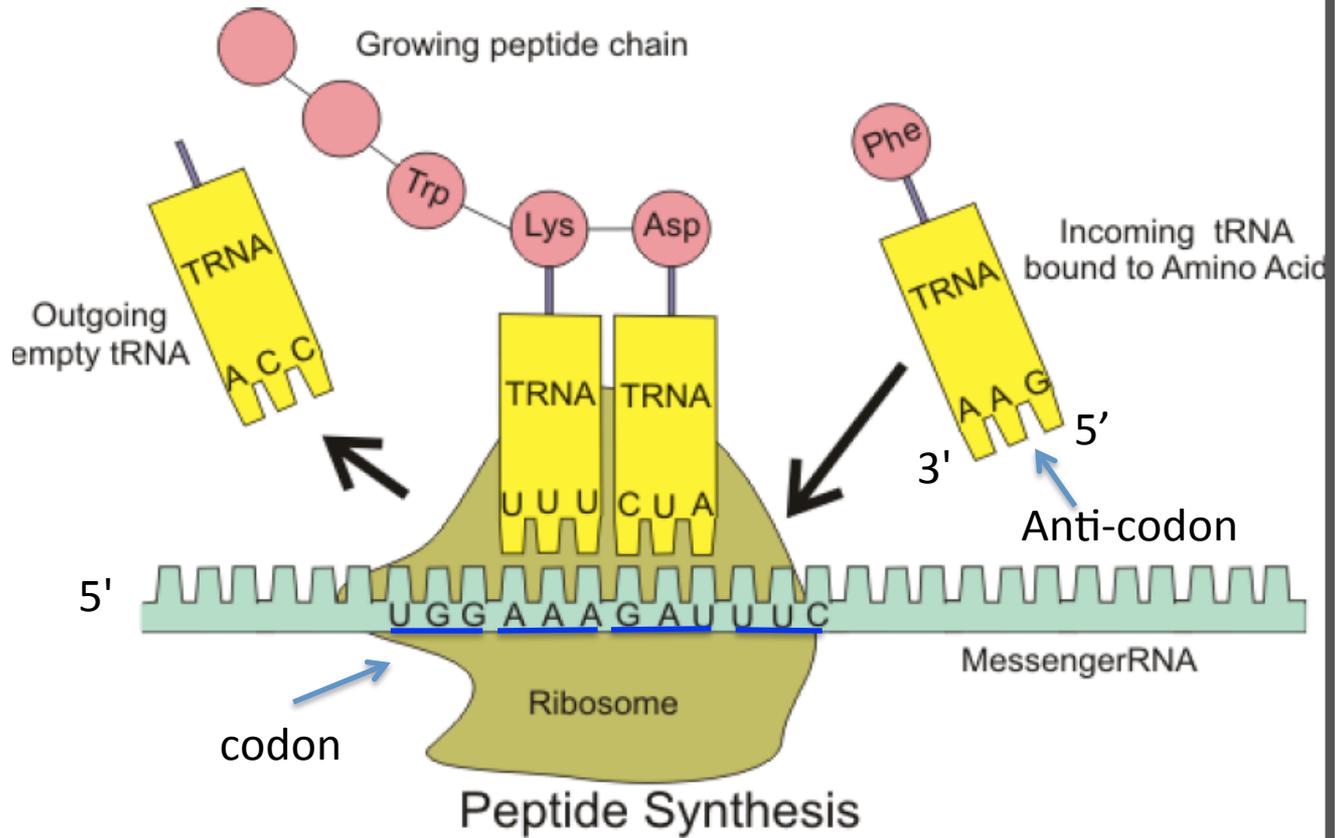
A- acesso } Específico
P- peptidil } tRNA
E- (exit)- saída

Etapas da síntese proteica

- **Formação de aminoacil-tRNA**
 - **Iniciação**
 - **Alongamento**
 - **Terminação e liberação**
- } **Tradução**
- **Enovelamento final e processamento pós-traducional**



Síntese proteica

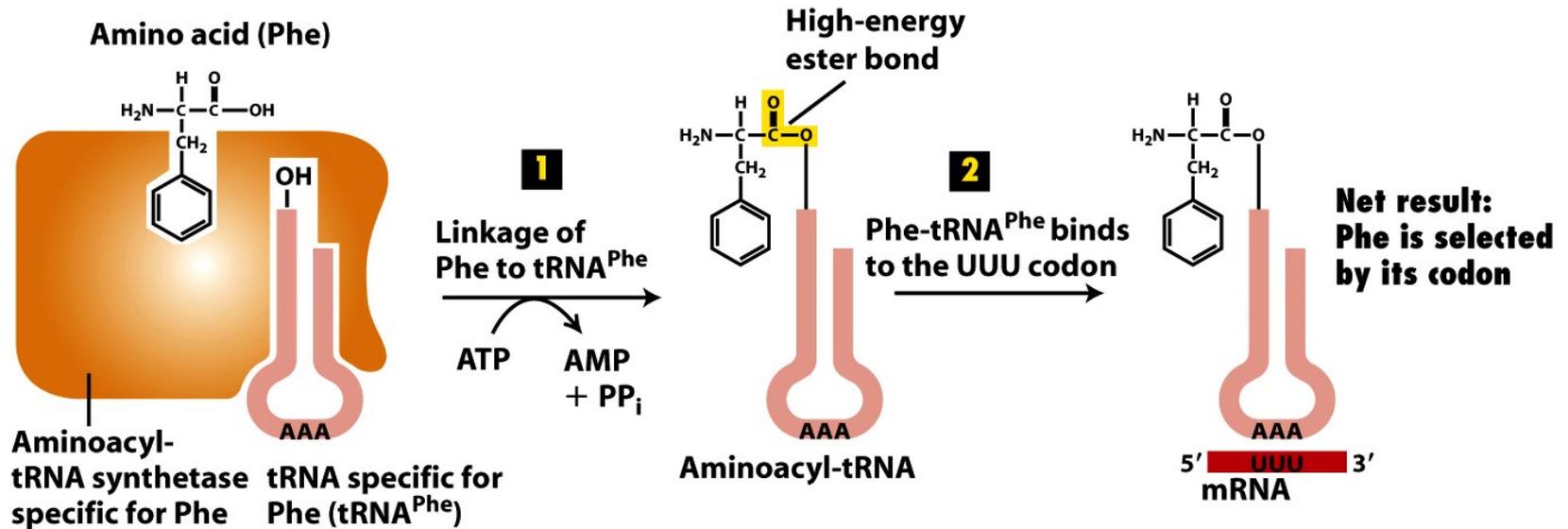


Etapas da síntese de proteínas

Ativação do aminoácido/ ligação ao tRNA específico

- **20 aa**
- **20 ou mais tRNAs**
- **Aminoacil- tRNA sintetases**
- **ATP**
- **Mg²⁺**

Aminoacyl-tRNA synthetases



Bactéria: 30-40 tRNAs; eucariotos: 50-100 tRNA

Cada aminoacyl- tRNA sintetase reconhece 1 aminoácido

Síntese proteica

1. iniciação

- **Primeiro codon- AUG (mais frequente)**
- **Procariotos, cloroplastos, mitocôndria- formil metionina (frequente, com poucas exceções nos procariotos)**
- **Eucariotos- metionina (removida frequentemente por peptidases, às vezes com mais 1-2 aa)**
- **tRNA específico para a primeira metionina**
- **tRNA distinto para as demais metioninas**

Etapas da síntese de proteínas

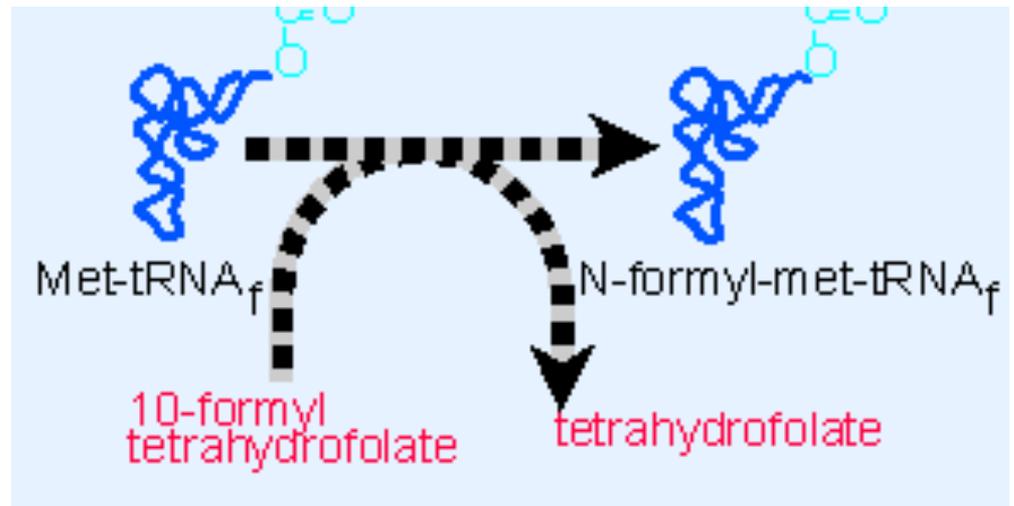
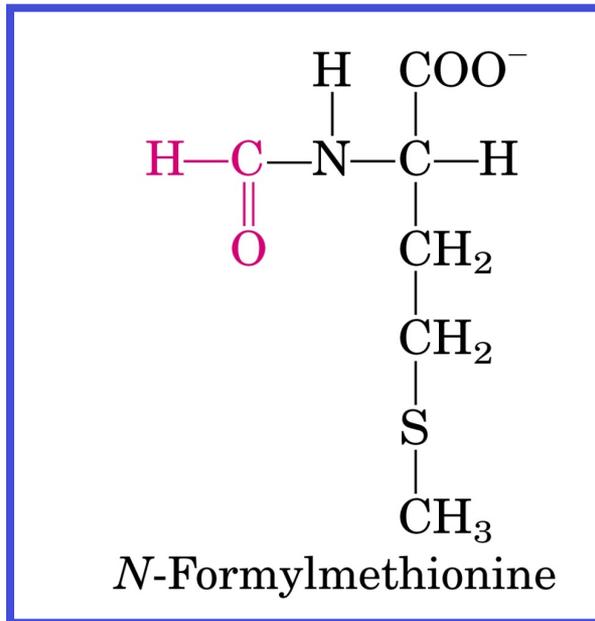
Iniciação (procariotos)

- **mRNA**
- **N-formilmetionil-tRNA (mais frequente)**
- **Codon de iniciação no mRNA (AUG, mais frequente)**
- **Ribossomo 30S**
- **Ribossomo 50S**
- **Fatores de iniciação (IF-1, IF-2, IF-3)**
- **GTP**
- **Mg²⁺**

Primeiro aminoácido da síntese: tRNA específico

Formação de fMet-tRNA
(procariotos)

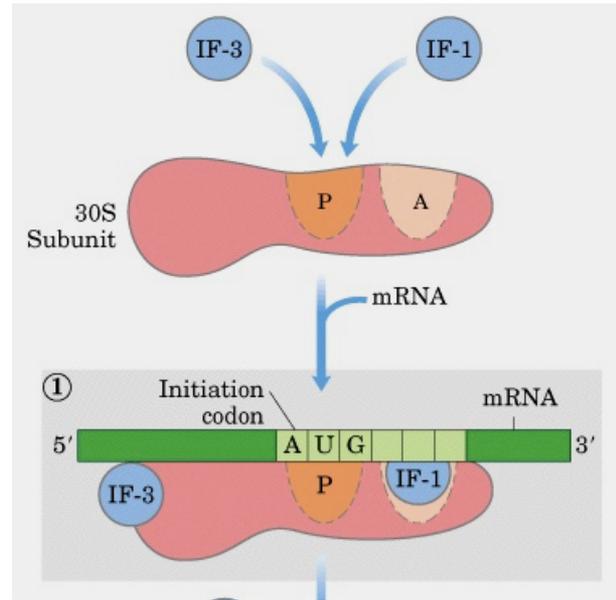
fMet-tRNA, características
que o distinguem como tRNA
iniciador



Adição do grupo formil: dependente de ácido fólico
(vit B9)

Fidelidade da Iniciação (bactéria)

Ribossomo bacteriano (16S)
reconhece uma sequência no
mRNA- Shine Delgarno (3-9
pares de base do codon de
Iniciação)



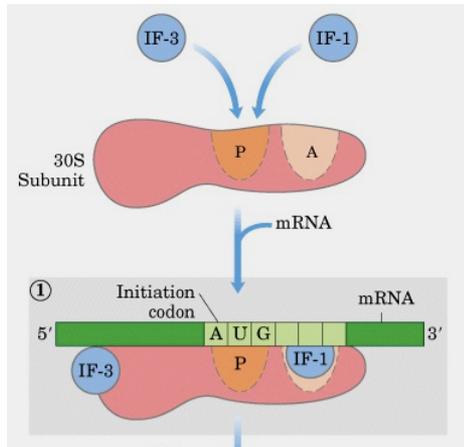
<i>E. coli trp A</i>	(5') A G C A C	G A G G G G	A A A U C U G	A U G	G A A C G C U A C (3')
<i>E. coli ara B</i>	U U U G G	A U G G A G	U G A A A C G	A U G	G C G A U U G C A
<i>E. coli lac I</i>	C A A U U C A G	G G U G G	U G A A U	G U G	A A A C C A G U A
ϕ X174 phage A protein	A A U C U U	G G A G G C	U U U U U U	A U G	G U U C G U U C U
λ phage <i>cro</i>	A U G U A C	U A A G G A G G	U U G U	A U G	G A A C A A C G C

Shine-Dalgarno sequence;
pairs with 16S rRNA
Initiation codon;
pairs with fMet-tRNA^{fMet}

(a)

**Eucariotos- reconhecimento do início depende de 5'Cap;
Primeira associação é com tRNA; associação com mRNA
dependente de 5'cap e vários fatores de iniciação)**

Iniciação (bactéria)

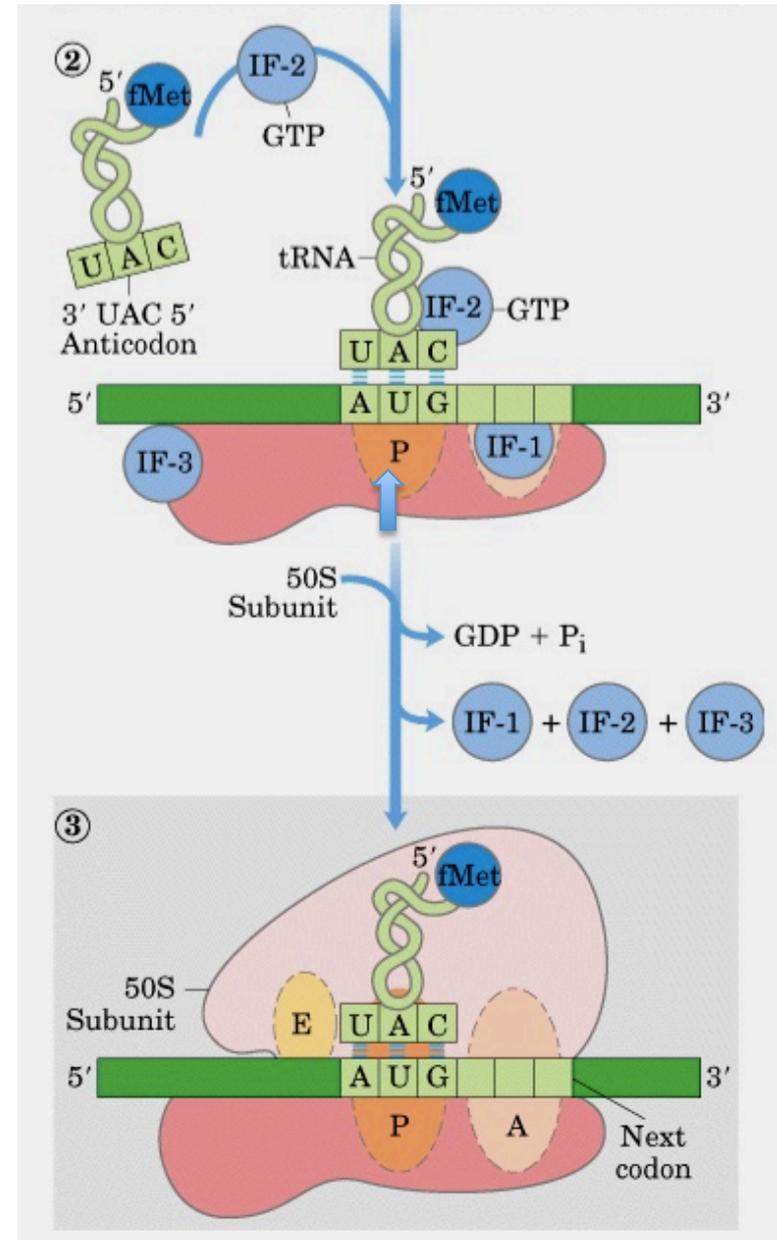


Ribossomo bacteriano (16S)

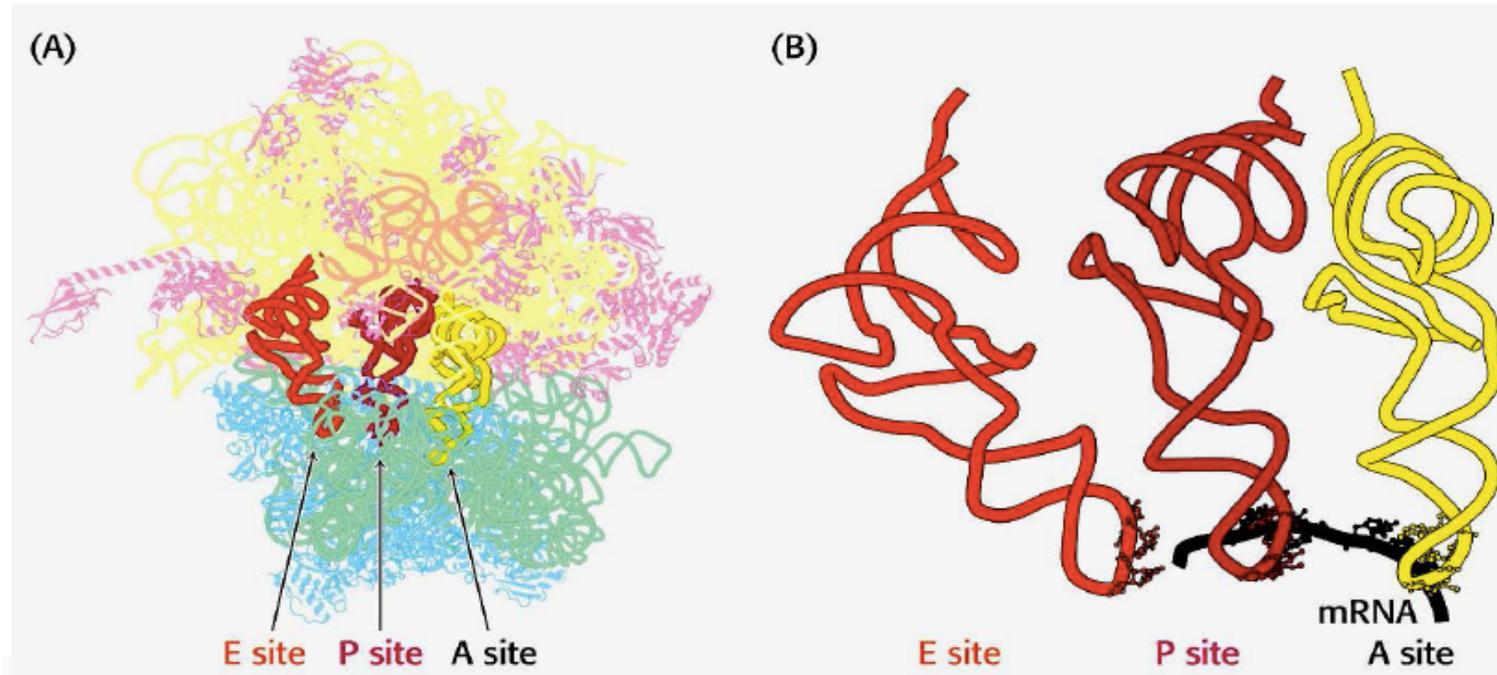
-fmet-tRNA: entra no Sítio P e não no sítio A

-Fator de iniciação IF1 bloqueia sítio A

-Subunidade 30 S: associação pouco antes da formação da 1ª ligação peptídica



→ Os sítios A e P mantêm o tRNA ligado ao mRNA
- pareamento complementar códon-anticódon



Somente o aa- tRNA iniciador se liga diretamente ao sítio P

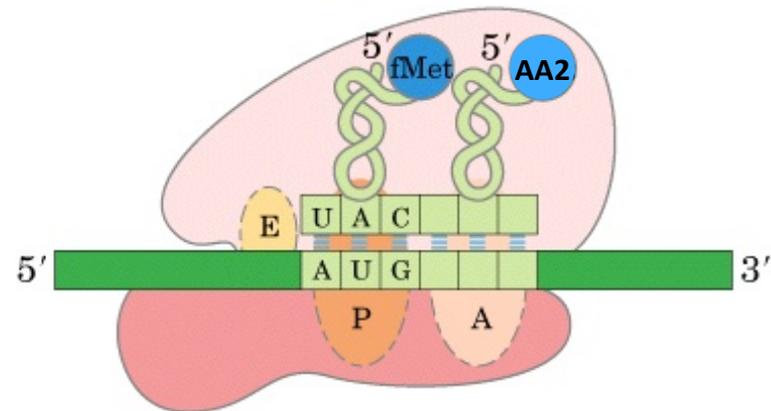
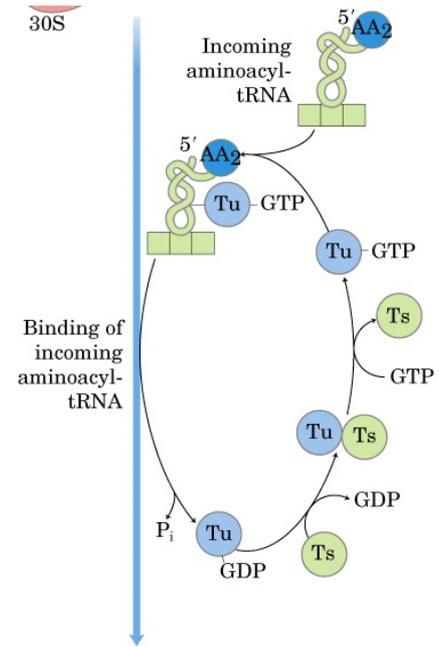
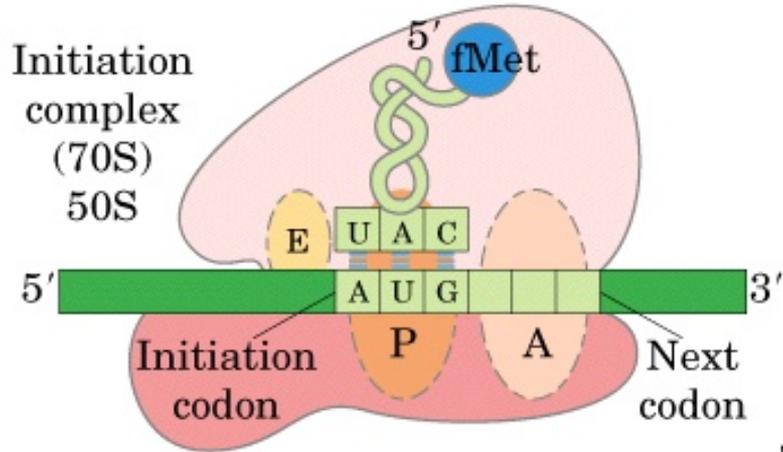
Etapas da síntese de proteínas (procarioto)

2. Elongação

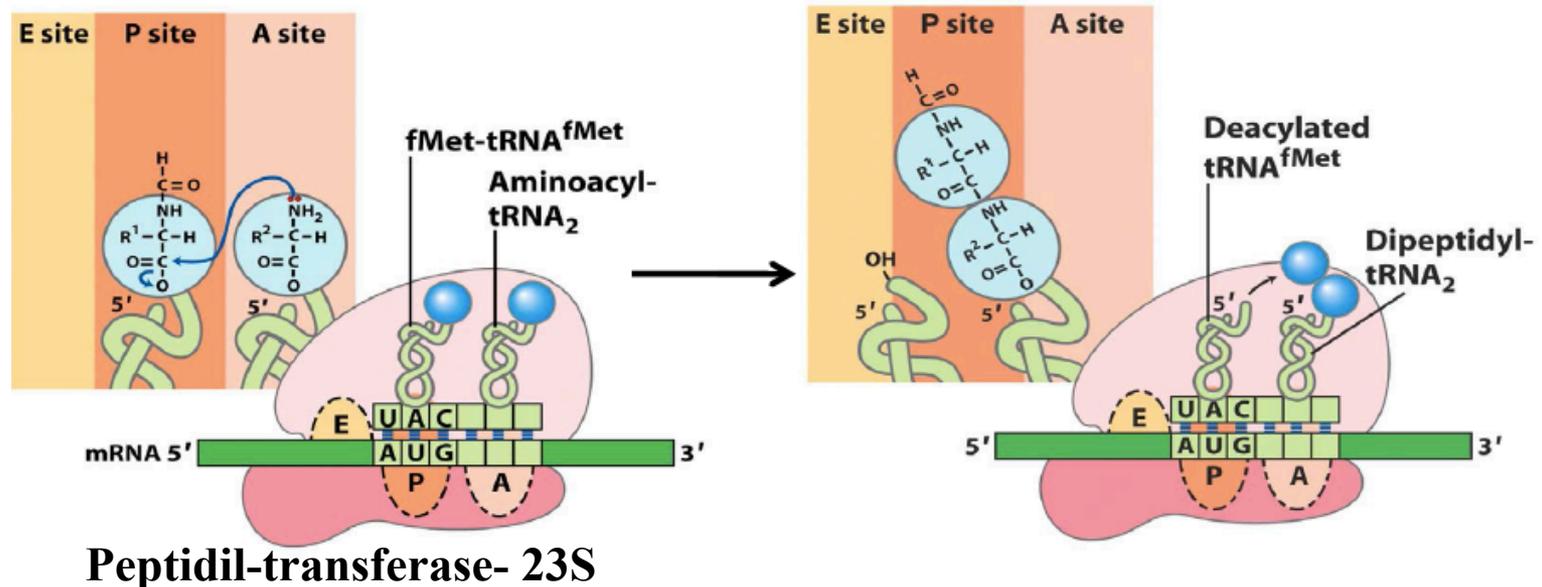
(~3-5 aa/ seg)

- **Ribossomo 70S funcional**
- **Aminoacil-tRNAs**
- **Fatores de elongação (EF-Tu, EF-Ts, EF-G)**
- **GTP**
- **Mg²⁺**

3. Elongação



Elongação- formação da ligação peptídica



Translocação induzida pela hidrólise de GTP

Modificações conformacionais deslocam o mRNA em 3 nucleotídios no sentido P

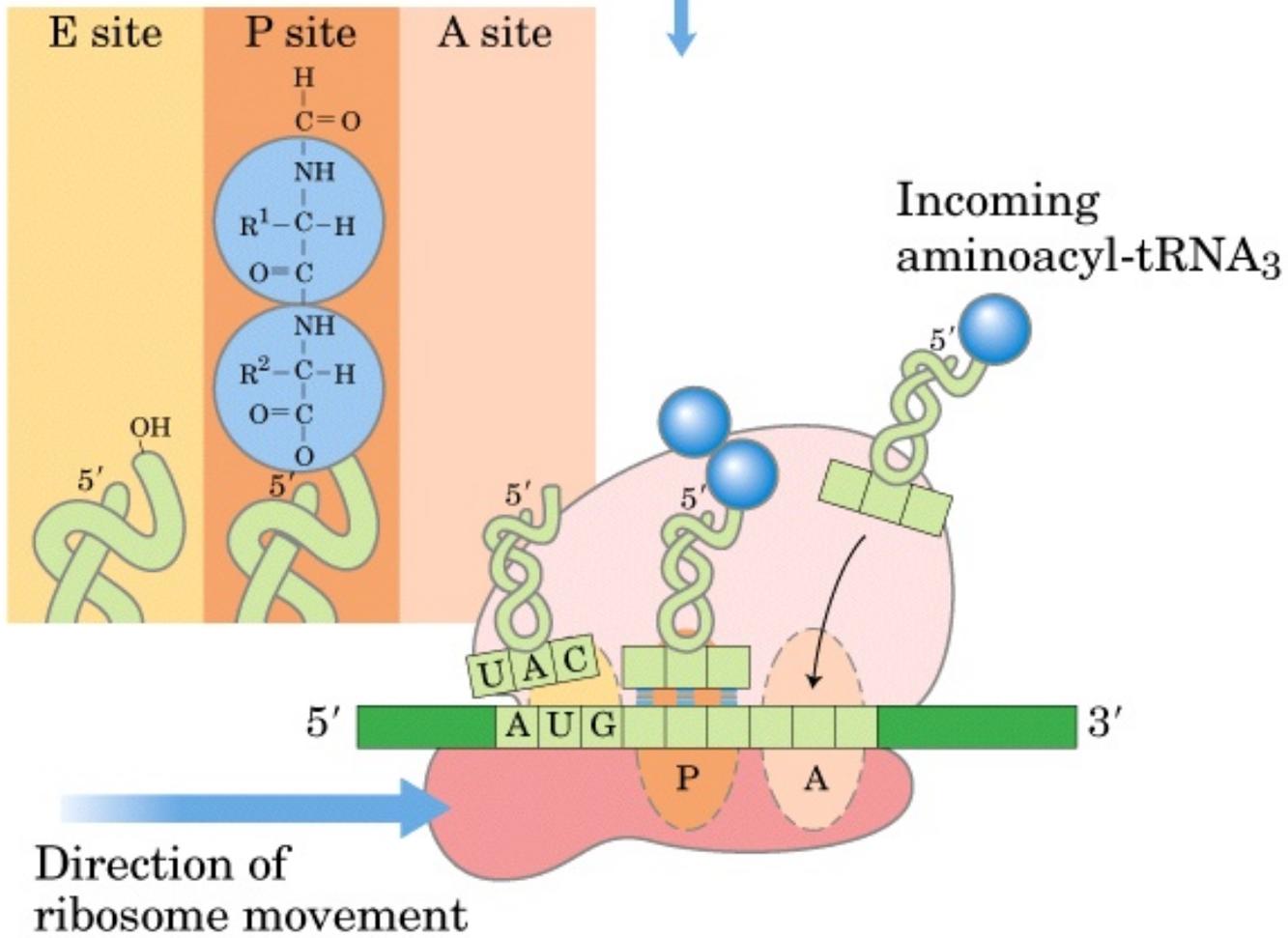
Translocação necessária para a leitura do novo codon

Síntese ocorre por um túnel formado pelo rRNA 23S

Translocação

EF-G-GTP

EF-G + GDP + P_i



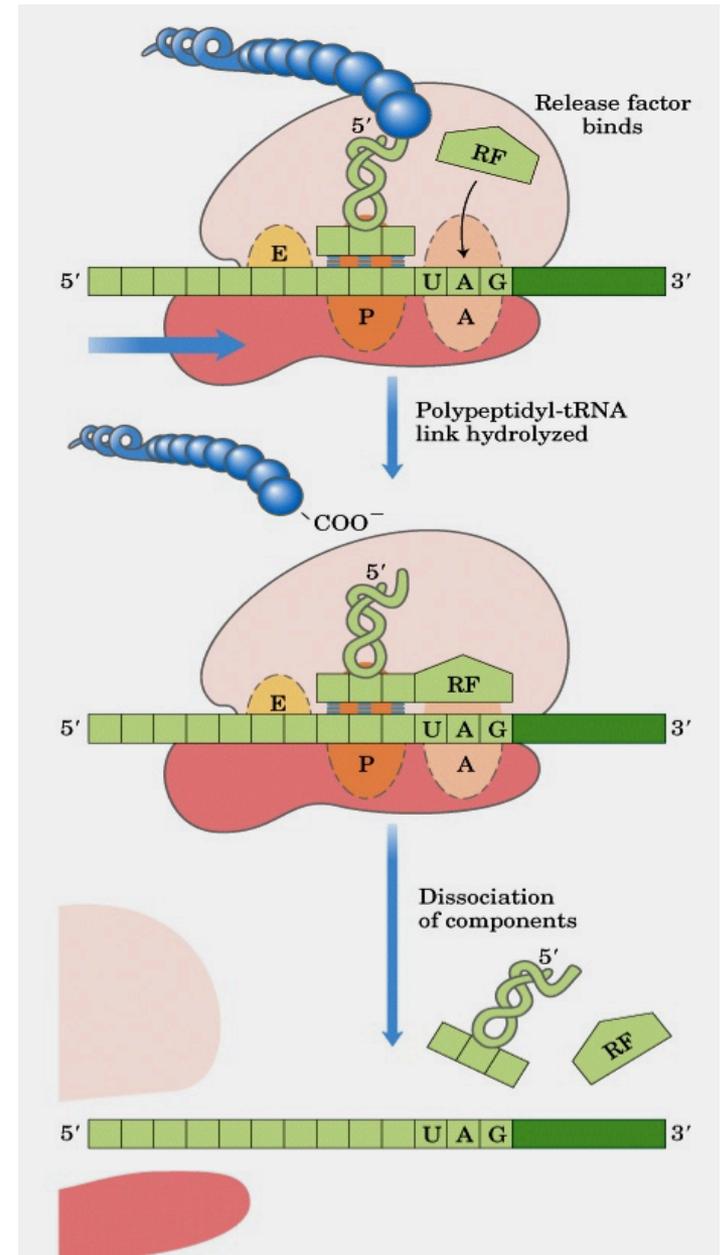
Etapas da síntese de proteínas (procariotos)

3. Terminação

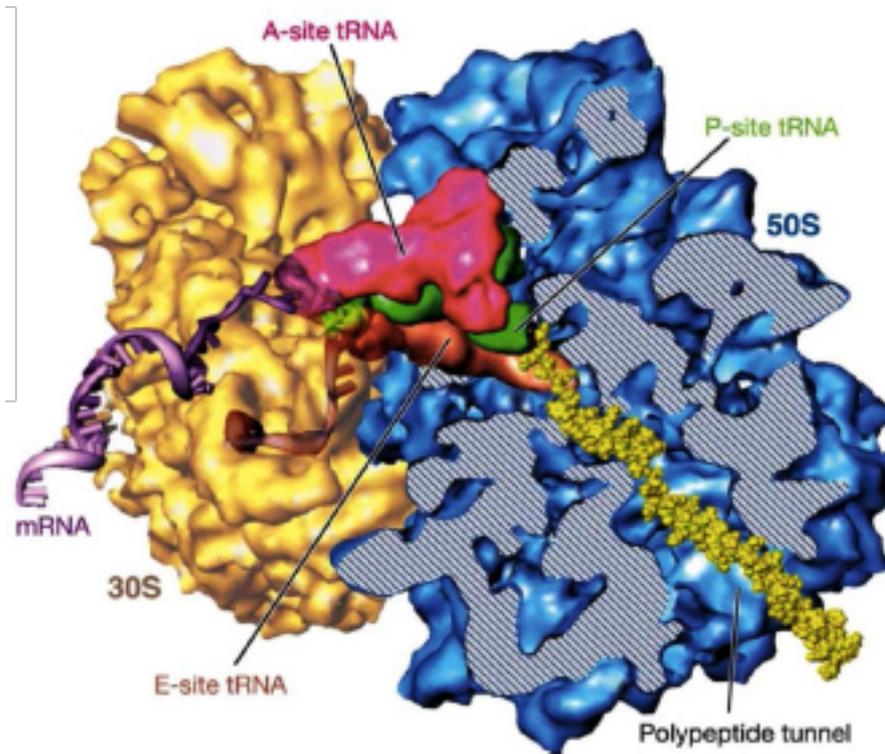
- **Codon de terminação**
- **Fatores de liberação (RF1, RF2, RF3)**
- **ATP**

Terminação

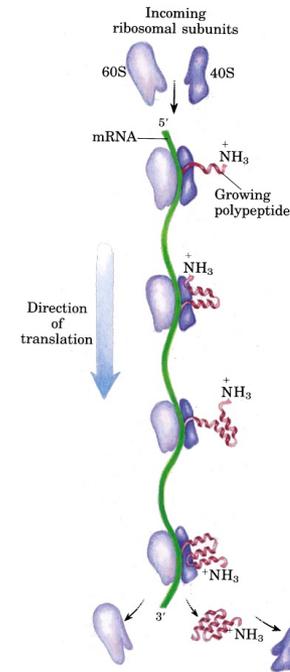
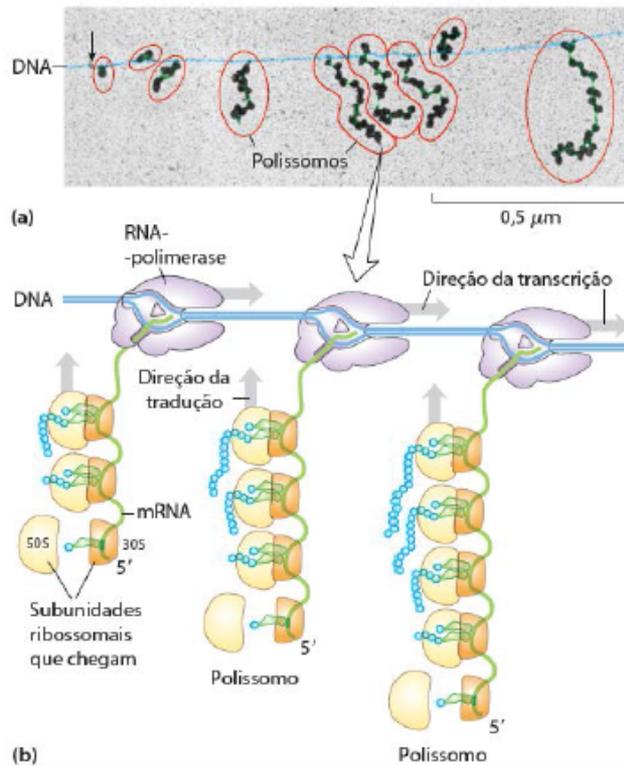
- Proteínas de terminação, diferentes de acordo com o Códon de terminação.
- Hidrólise da ligação peptídio-tRNA no sítio P.
- Desmonte do complexo ribossomo/ tRNA, mRNA.



Enovelamento da proteína é concomitante com a síntese

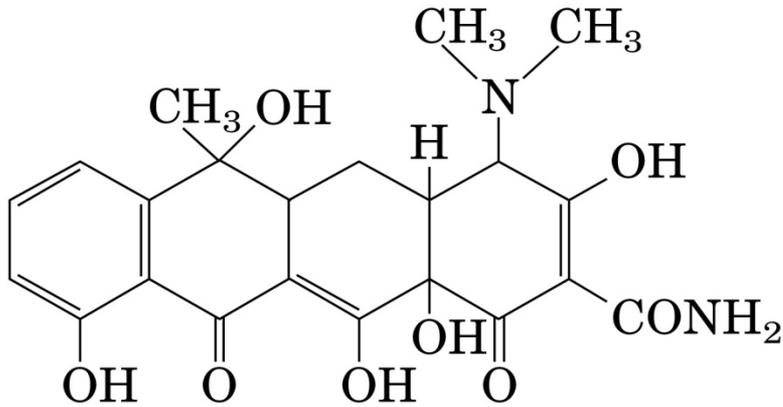


Polissomos: vários ribossomos atuando no mesmo mRNA (10 a 100 ribossomos)



No caso de mRNA policistrônico: um único promotor, mas cada gene desse mRNA tem seu códon de iniciação

Inibição da síntese proteica por antibióticos e toxinas

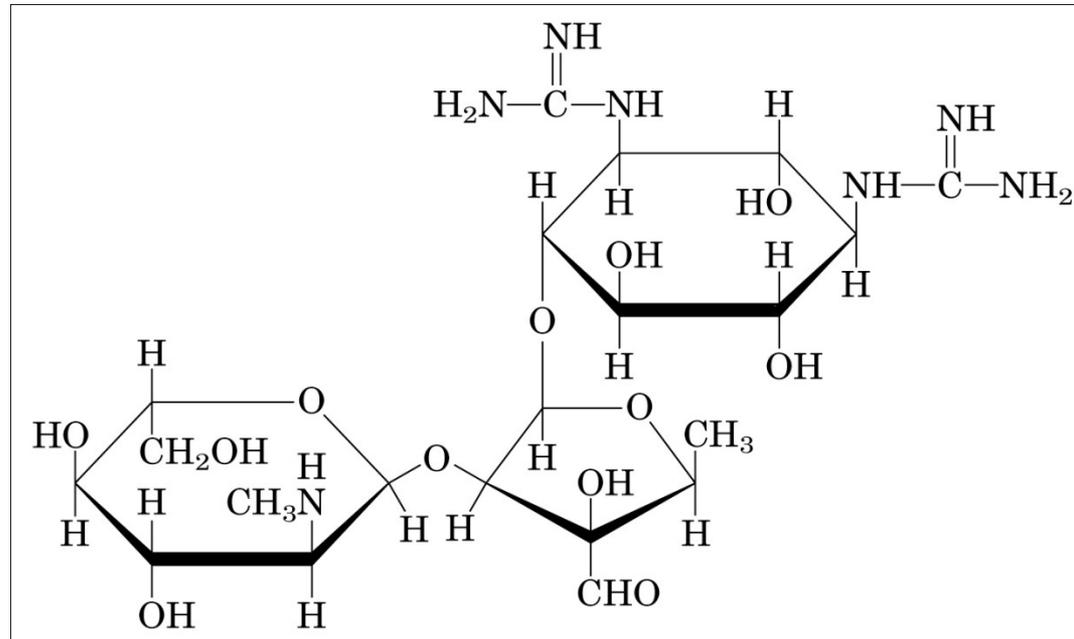


Tetraciclina

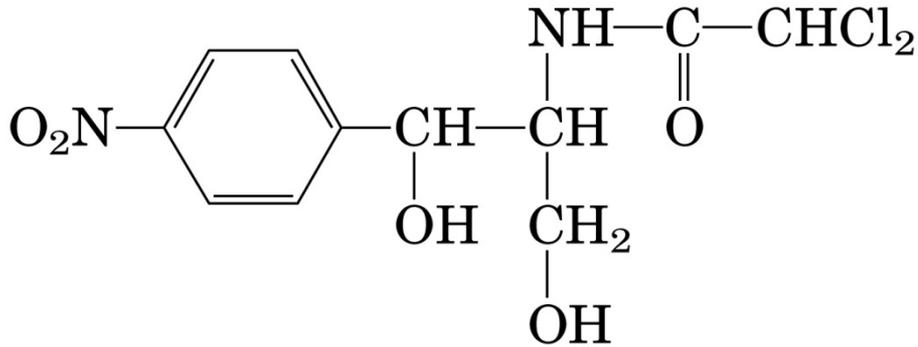
Bloqueia o sítio A do ribossomo bacteriano e inibe associação do aminoacil-tRNA

Estreptomicina

Causa leitura incorreta dos códons e inibe iniciação

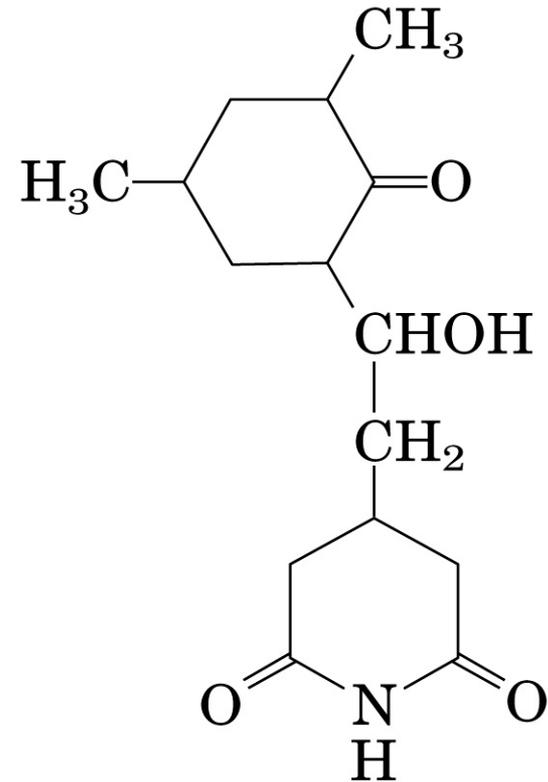


Inibição da síntese proteica por antibióticos e toxinas



Cloranfenicol

**Bloqueia atividade de
peptidil transferase de
ribossomos bacterianos e
mitocondriais**



Cicloheximida

**Bloqueia atividade de
peptidil transferase do
ribossomo eucariótico**

Processamento após (ou durante) a síntese de proteínas

- 
- **Dobramento (Folding)**
 - **Clivagem proteolítica (incluindo aa amino-terminal do início da síntese)**
 - **Modificações covalentes nos aminoácidos**
 - **Degradação**
- **Influencia a estrutura e função de proteínas**

**20 aminoácidos
diferentes**

**Modificações covalentes
nos aminoácidos
(modificações pós-
traducionais):**

Ex:

Metilação

Acetilação

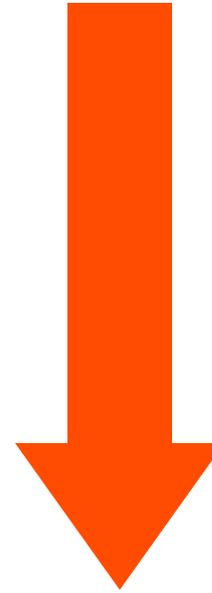
Hidroxilação

Glicosilação

Fosforilação

Grupos prostéticos

Acilação

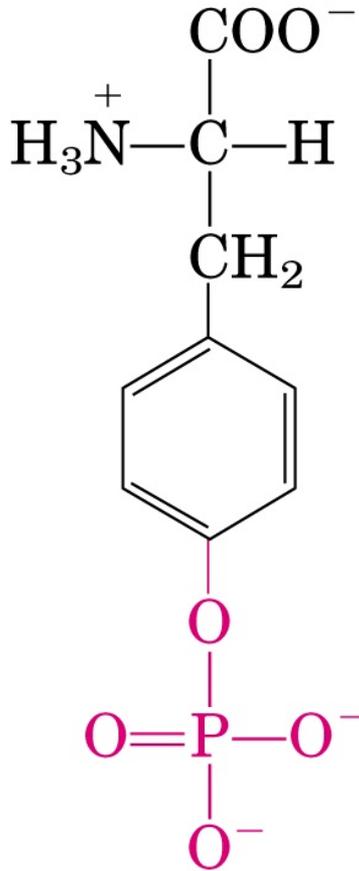


**~200 aminoácidos
diferentes**

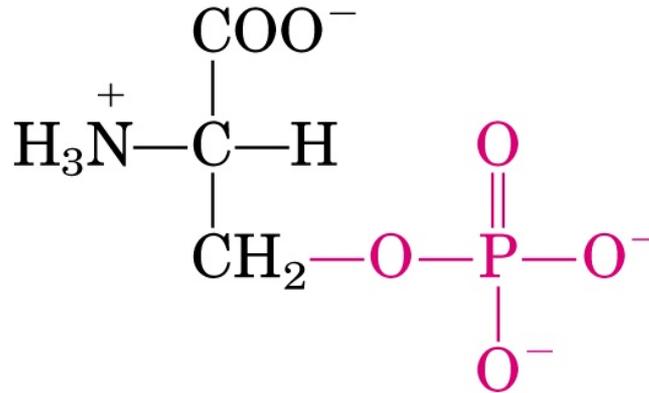
(modificados covalentemente)

Fosforilação

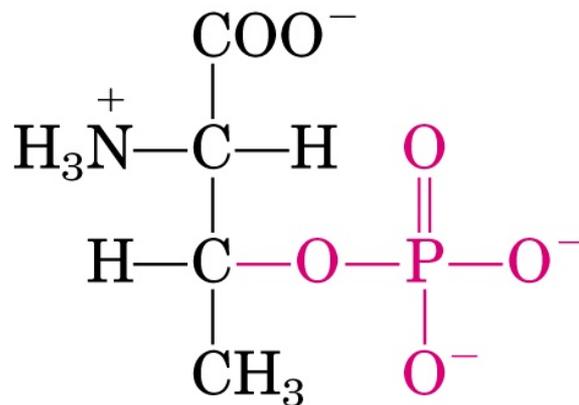
Modulação da atividade de proteínas, modulação de interações moleculares, sinalização celular



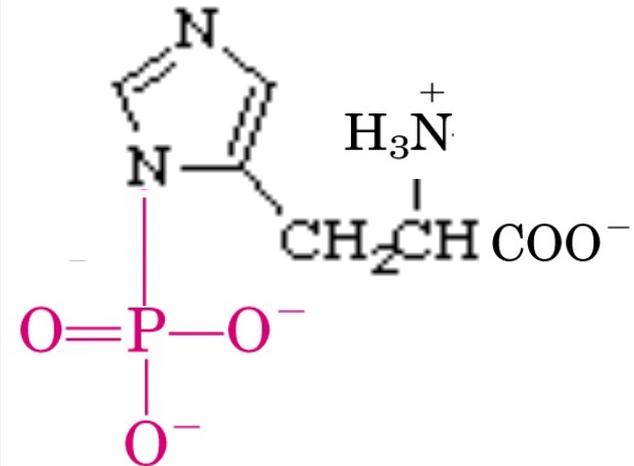
Fosfo-tirosina



Fosfo-serina

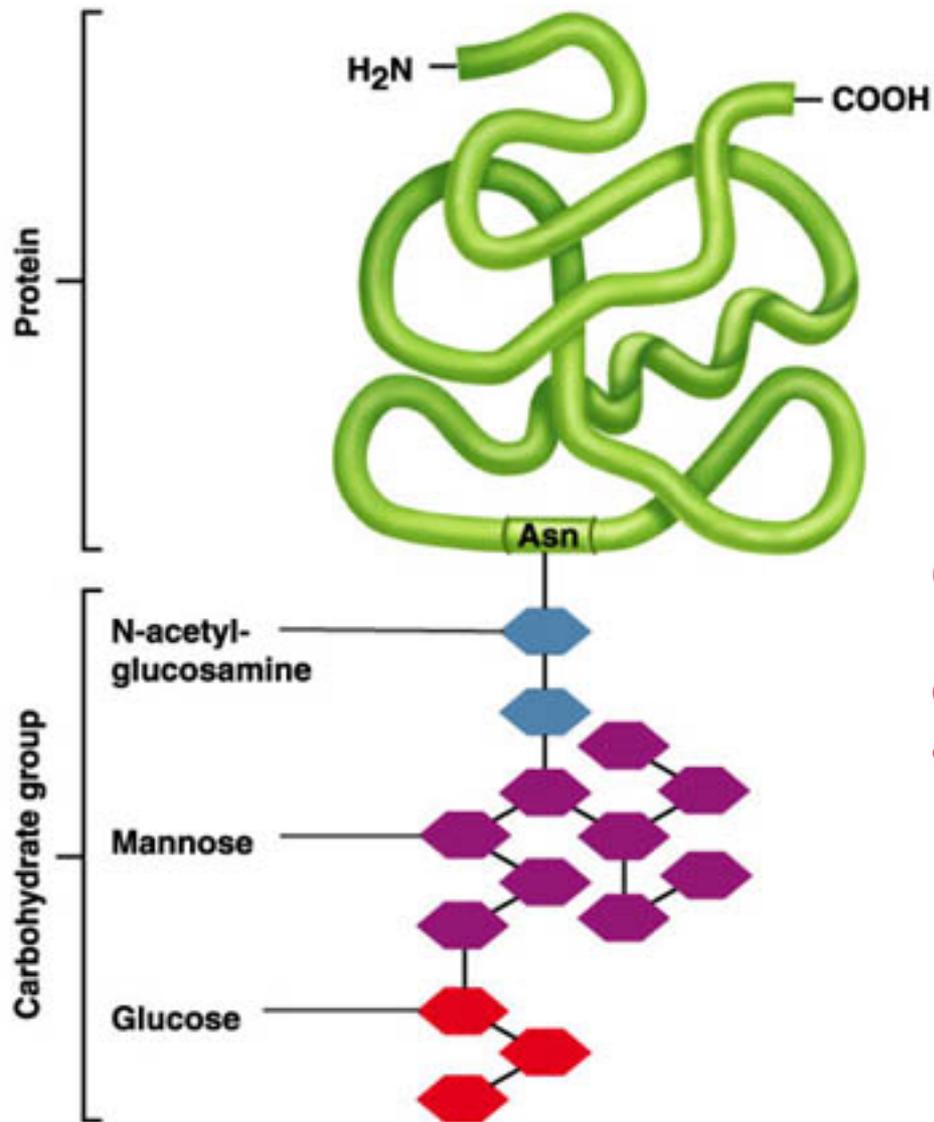


Fosfo-treonina

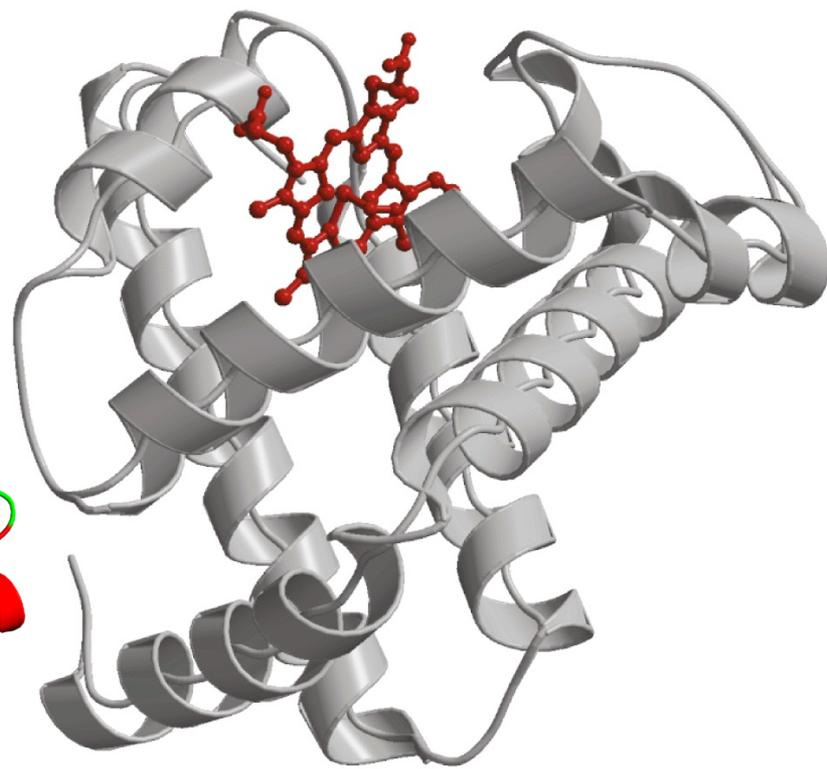
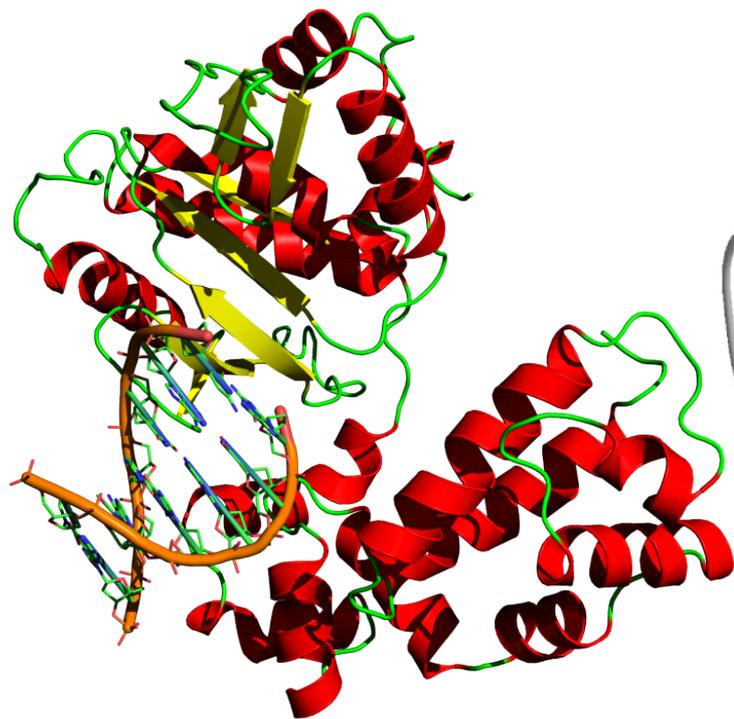


Fosfo-histidina

Glicosilação



Os carboidratos são ligados aos resíduos de aminoácidos através de ligações N- ou O- glicosídicas



(a)

Exercícios

1. Quais os elementos envolvidos na terminação?
2. Comente a afirmação: Todas as proteínas de eucariotos têm metionina como amino-terminal. Explique
3. Um DNA que codifica para uma determinada proteína bacteriana sofreu uma mutação com a troca de uma única base. No entanto, a proteína resultante não teve alteração na sua estrutura primária. Explique
4. Procure na literatura 2 substâncias que inibem a tradução (eucariotos ou procariotos). Discuta sua importância.
5. Enumere as principais etapas da tradução. Quais os principais elementos envolvidos? Explique o conceito de codon e anti-códon.
6. continua

- **O que se entende por ativação de aminoácidos? Qual a enzima envolvida?**
- **Como é garantida a adição correta do aminoácido ao tRNA?**
- **O amino ácido X covalentemente ligado ao seu RNA foi modificado quimicamente para o amino ácido Y. Qual amino ácido (X ou Y) será adicionado no codon correspondente a X? Explique.**
- **Como se dá a iniciação da tradução? O que se entende por complexo de iniciação?**
- **O que se entende por alongação na síntese proteica? Esquematize as principais etapas. Que tipo de ligação covalente é formada na alongação?**