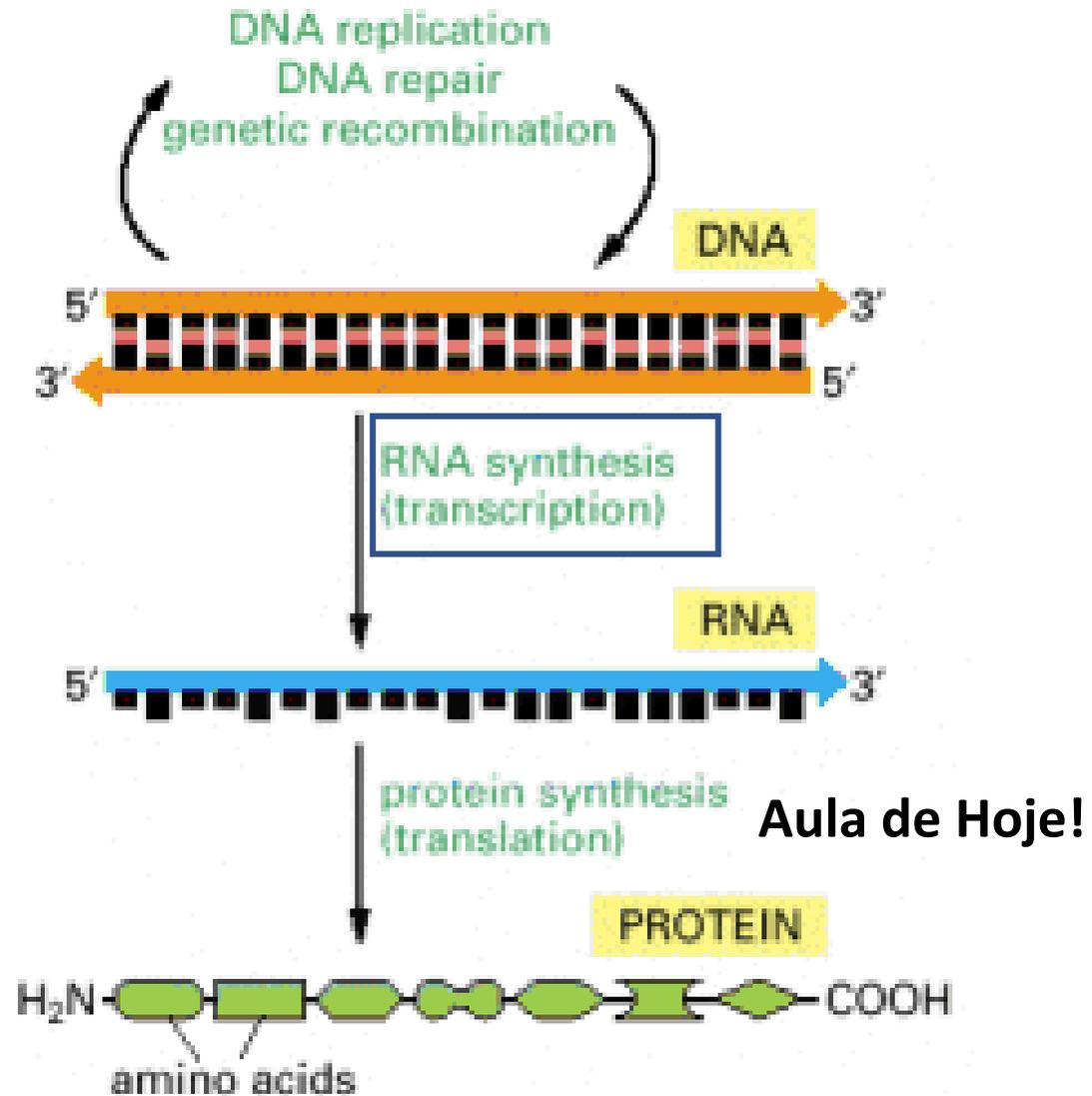
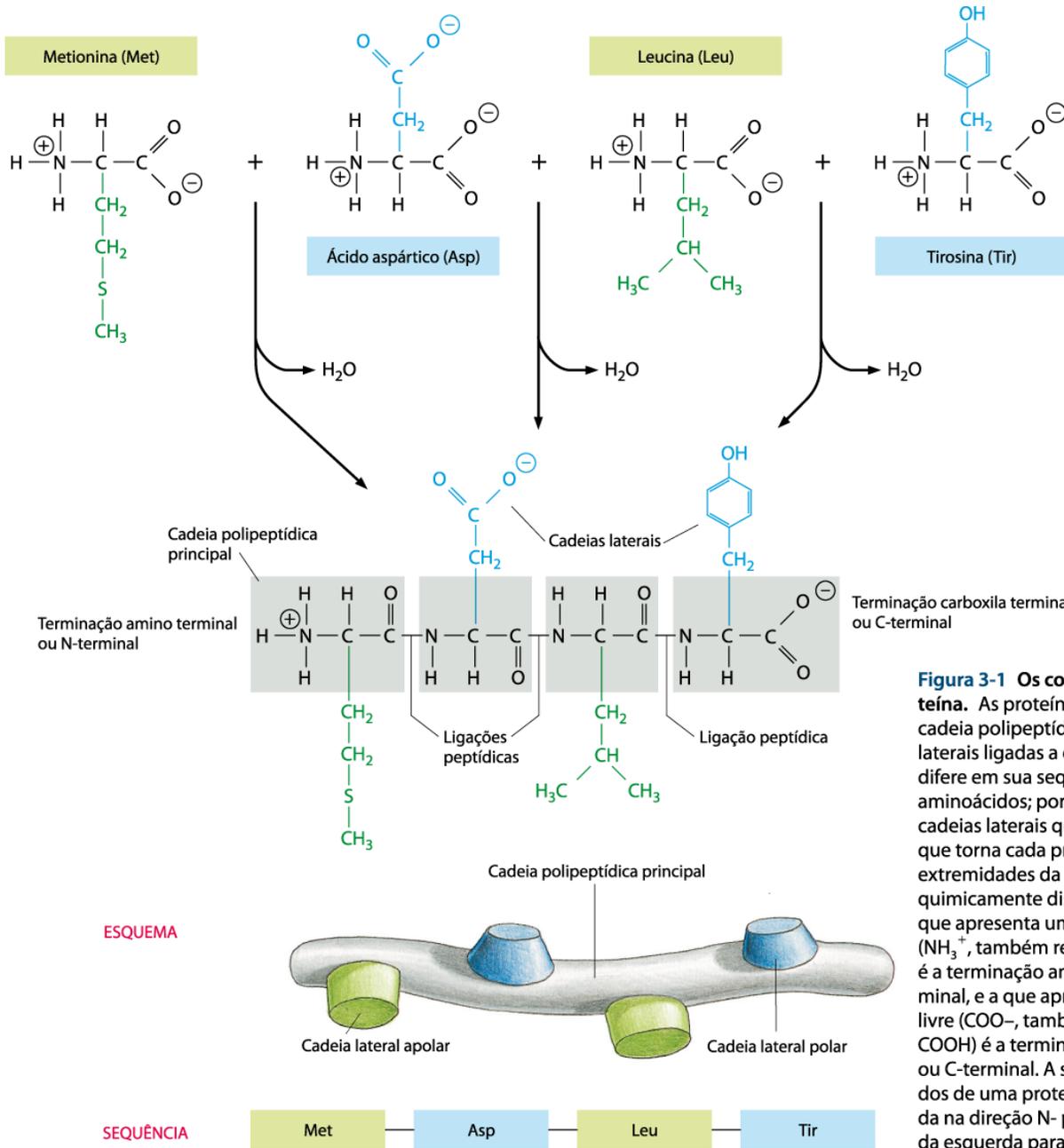
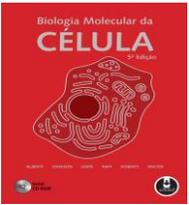


# Tradução



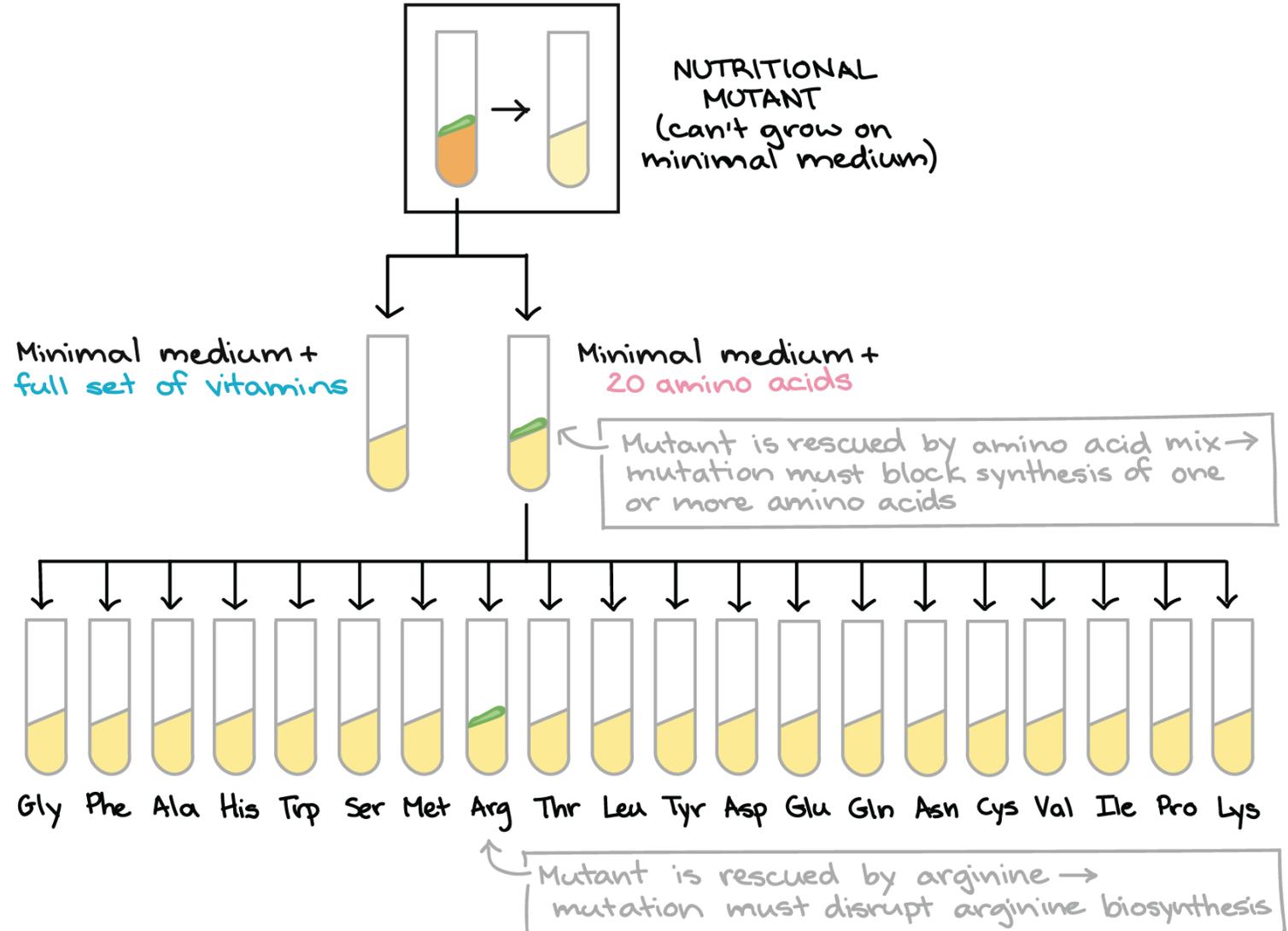
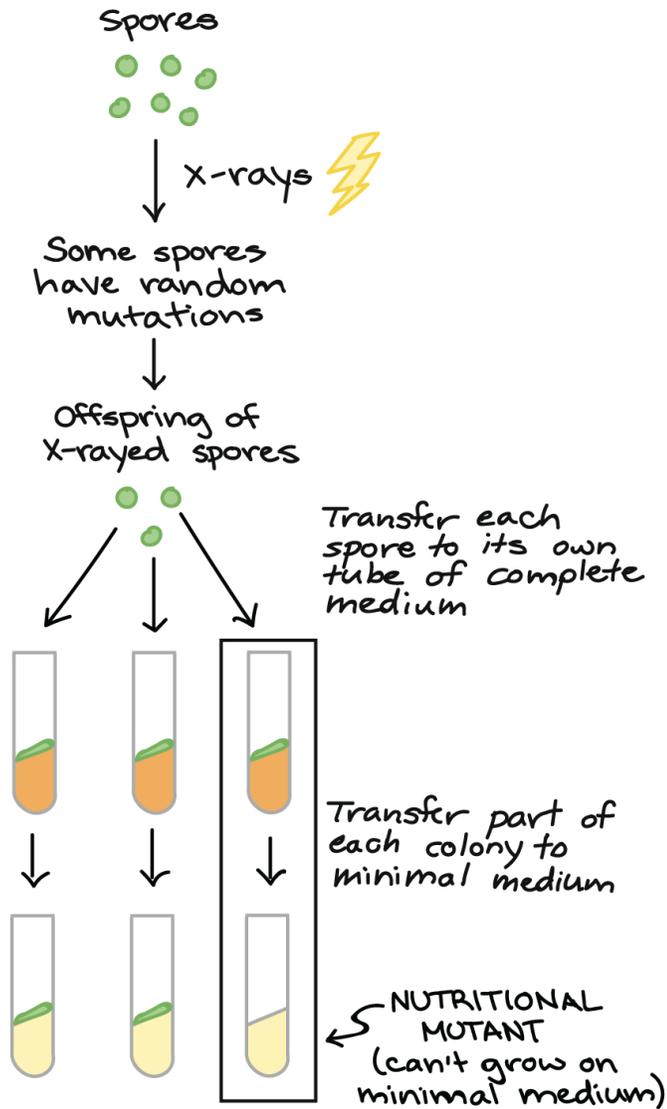
# O Fluxo da informação gênica (Dogma central da Biologia)





**Figura 3-1 Os componentes de uma proteína.** As proteínas consistem em uma cadeia polipeptídica principal com grupos laterais ligadas a ela. Cada tipo de proteína difere em sua sequência e seu número de aminoácidos; portanto, é a sequência de cadeias laterais quimicamente distintas que torna cada proteína diferente. As duas extremidades da cadeia polipeptídica são quimicamente distintas: a extremidade que apresenta um grupo amino livre ( $NH_3^+$ , também representado como  $NH_2$ ) é a terminação amino terminal, ou N-terminal, e a que apresenta o grupo carboxila livre ( $COO^-$ , também representado como  $COOH$ ) é a terminação carboxila terminal ou C-terminal. A sequência de aminoácidos de uma proteína é sempre apresentada na direção N- para C-terminal, lendo-se da esquerda para a direita.

# Beedle e Tatum e os primeiros experimentos...



## Beedle e Tatum e os primeiros experimentos...

Com este experimento, estabeleceu-se que a **mutação em um gene** afetava **uma proteína**

Hipótese “um gene, uma enzima”

Ou “um gene, uma proteína”

Ou “um gene, um polipeptídeo”...

Hoje, sabe-se que muitos genes não codificam proteínas, mas sim RNAs não traduzidos...

Por que a síntese de proteínas se chama **tradução**?

A informação biológica é transformada da **linguagem dos ácidos nucleicos** (4 bases nitrogenadas) para a **linguagem das proteínas** (20 aminoácidos).

Muitos cientistas se debruçaram sobre a questão de como seria o **código genético**, ou seja, a chave para decodificação dos ácidos nucleicos em proteínas.

## Robert Gamow



Primeiro a propor que o código genético era composto de trincas de nucleotídeos, baseado em... Lógica!

4 nucleotídeos → 20 aminoácidos

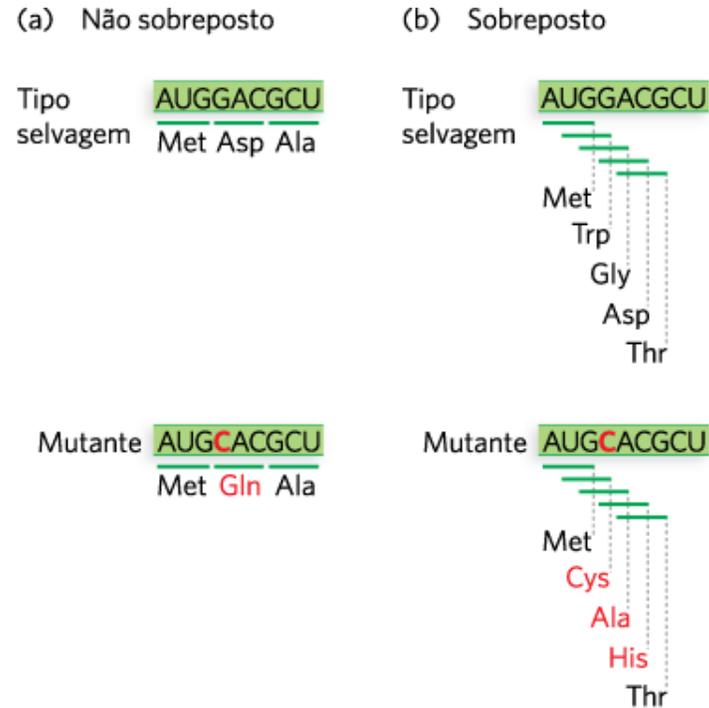
Logo, a mensagem não podia ser codificada 1:1 (um nucleotídeo especifica um aminoácido).

Poderia ser codificada então em palavras de 2 nucleotídeos? Não!  $4 \times 4 = 16$  palavras possíveis, não seria o suficiente para os 20 aminoácidos

Poderia ser codificada em palavras de 3 nucleotídeos: Sim!  $4 \times 4 \times 4 = 64$  combinações possíveis. Suficiente para 20 aminoácidos.

Poderia ser codificada em palavras de 4 ou mais nucleotídeos: Sim, mas seria um desperdício de informação. Não era a hipótese mais parcimoniosa

# Seria o código genético sobreposto, ou não sobreposto?



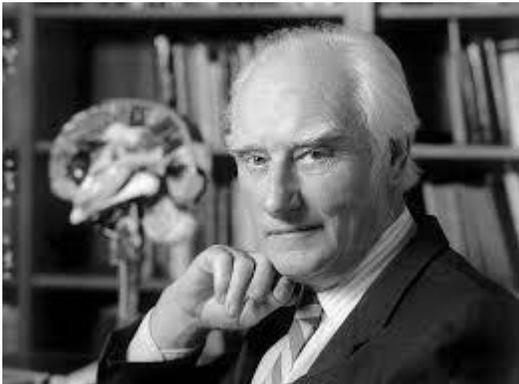
Não sobreposto!

Logo se percebeu que muitas mutações afetavam apenas um aminoácido da proteína resultante!

**FIGURA 17-11 Efeitos da mutação em códigos não sobrepostos e sobrepostos.** (a) Em um código que não se sobrepõe, os códons no mRNA não compartilham nucleotídeos, de maneira que a mutação de um único nucleotídeo altera apenas um códon e a proteína resultante possui um único aminoácido alterado. (b) Em um código que se sobrepõe, alguns nucleotídeos são compartilhados por alguns códons. Em um código triplo com sobreposição máxima, um nucleotídeo pode ser compartilhado por três códons; assim, uma mutação de um único nucleotídeo resulta em três alterações no códon e, com isso, três alterações de aminoácidos na proteína. Hoje se sabe que o código genético de todos os sistemas vivos não se sobrepõe.

Mas se existem apenas 20 aminoácidos, como interpretar a presença de 64 palavras (códon) distintos?

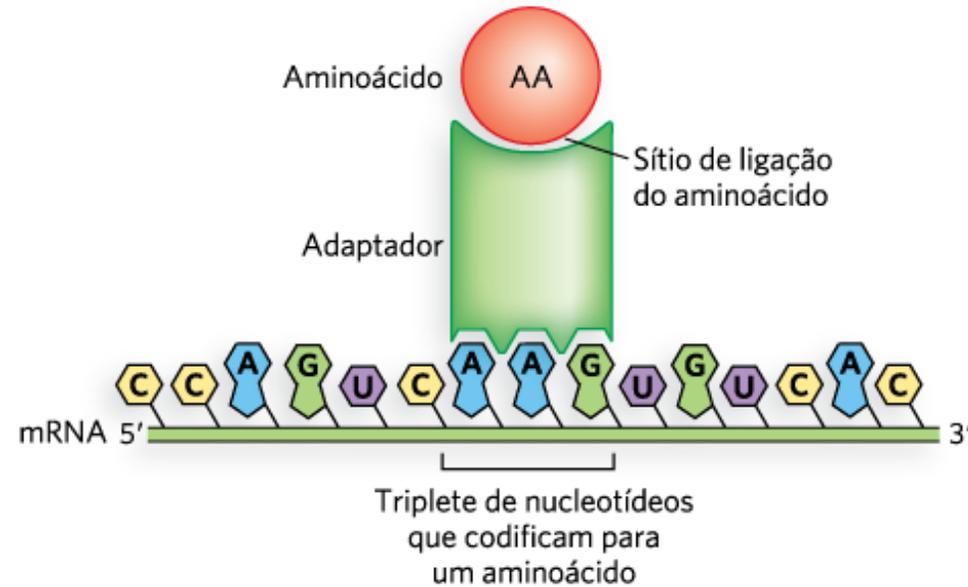
Necessariamente, o código genético deveria ser degenerado, ou seja, possuir mais de uma palavra (códon) para um mesmo aminoácido.



Francis Crick

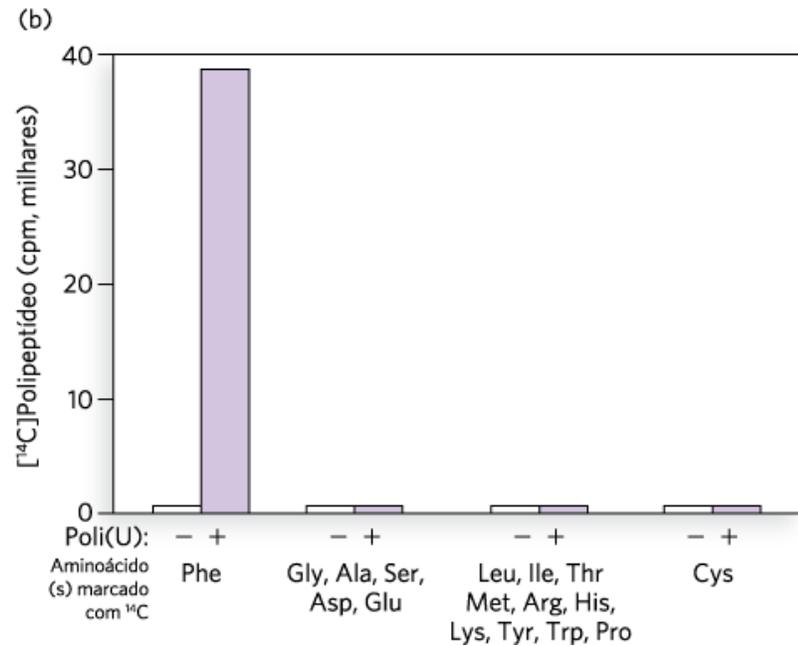
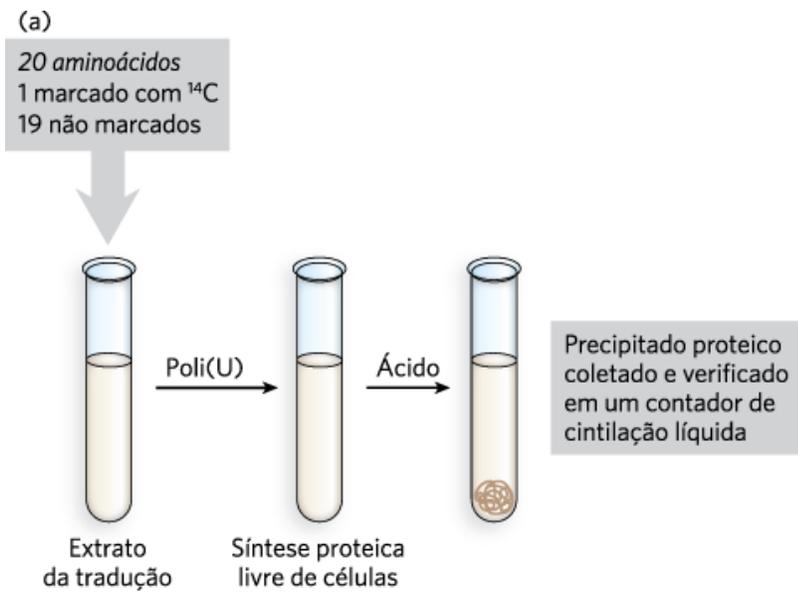
Crick Previu a degeneração do código genético, ao observar que os organismos possuem **conteúdos de GC diferentes** no seu genoma (de 20 a 70%), porém com **conteúdos de aminoácidos parecidos** em suas proteínas. Logo, estava claro que para vários aminoácidos, deveria existir mais de um códon.

Crick também hipotetizou a existência de “adaptadores” que decodificariam a informação do ácido nucleico para proteína



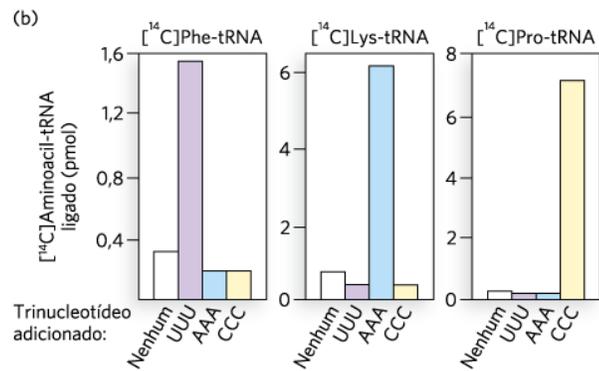
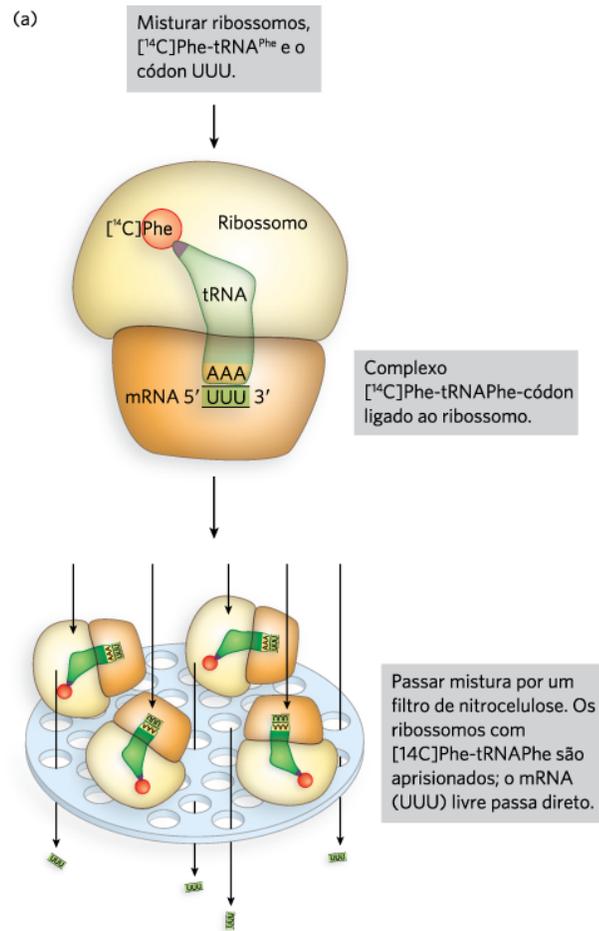
**FIGURA 17-1 Hipótese do adaptador de Crick.** Moléculas adaptadoras reconhecem códons no mRNA que carregam aminoácidos específicos. Assim, elas alinham os aminoácidos em uma ordem que depende da sequência dos códons no mRNA. Hoje sabemos que o adaptador é uma molécula de tRNA. O aminoácido está ligado covalentemente na extremidade 3' da molécula de tRNA, e um triplete específico de nucleotídeos (anticódon) no tRNA interage com um triplete (códon) no mRNA por meio de ligações de hidrogênio entre as bases complementares.





**FIGURA 17-14 Síntese de poli(Phe) direcionada por poli(U).**

(a) Vinte aminoácidos diferentes marcados com  $^{14}\text{C}$  foram adicionados individualmente, ou misturados, com o restante dos aminoácidos na forma não marcada, a extratos celulares que poderiam sintetizar proteínas na presença de um molde poli(U) adicionado. (b) Apenas os extratos contendo [ $^{14}\text{C}$ ] fenilalanina produziram uma quantidade significativa de polipeptídeo radiativo na presença de poli(U). [Fonte: Adaptada de M. Nirenberg and P. Leder, *Science* 145:1399, 1964.]



**FIGURA 17-15** Uso de seqüências de trinucleotídeos como mRNA. (a) Vinte [ $^{14}\text{C}$ ]aminoacil-tRNAs foram formados em reações separadas, usando os 20 aminoácidos diferentes marcados com  $^{14}\text{C}$ , e cada um foi adicionado a uma preparação de ribossomos, junto com RNA de três nucleotídeos de seqüência definida (um códon). Misturas de reação individuais foram, então, passadas por um filtro de nitrocelulose que liga proteínas, aprisionando o [ $^{14}\text{C}$ ]aminoacil-tRNA ligado ao códon em triplete de RNA no ribossomo. A reação mostrada aqui usou [ $^{14}\text{C}$ ]Phe-tRNA<sup>Phe</sup> e o códon UUU. (b) Resultados obtidos com vários códons e [ $^{14}\text{C}$ ]aminoacil-tRNAs. [Fonte: Adaptada de M. Nirenberg e P. Leder, *Science* 145:1399-1407, 1964.]

# O código genético

1st letter	U	C	A	G	2nd letter
U	Phenylalanine	Serine	Tyrosine	Cysteine	U
	Phenylalanine	Serine	Tyrosine	Cysteine	C
	Leucine	Serine	stop	stop	A
	Leucine	Serine	stop	Tryptophan	G
C	Leucine	Proline	Histidine	Arginine	U
	Leucine	Proline	Histidine	Arginine	C
	Leucine	Proline	Glutamine	Arginine	A
	Leucine	Proline	Glutamine	Arginine	G
A	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	U
	Isoleucine	Threonine	Asparagine	Serine	C
	Isoleucine	Threonine	Lysine	Arginine	A
	(start) Methionine	Threonine	Lysine	Arginine	G
G	Valine	Alanine	Aspartic acid	Glycine	U
	Valine	Alanine	Aspartic acid	Glycine	C
	Valine	Alanine	Glutamic acid	Glycine	A
	Valine	Alanine	Glutamic acid	Glycine	G

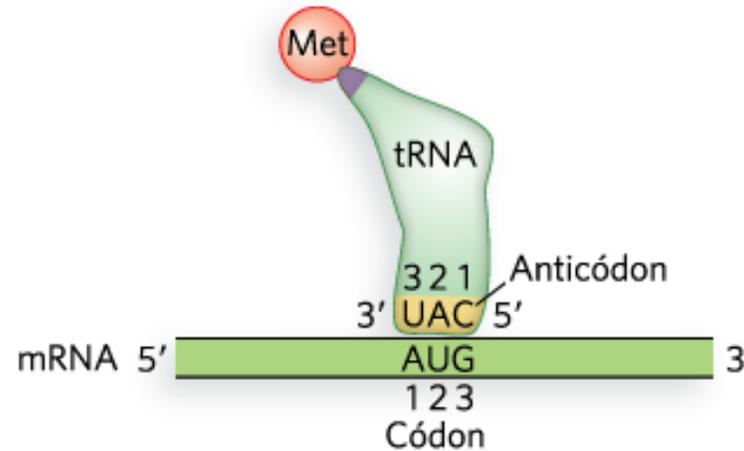
  

Examples of tRNAs	
Codon: UGC	
Codon: CAC	
Codon: GGA	

- **É universal!** (com exceções: mitocôndrias, DNA nuclear de alguns fungos e protistas).
- Códons parecidos para um mesmo aminoácido.
- Códons parecidos para aminoácidos com propriedades parecidas.
- **Degenração** geralmente no **terceiro nucleotídeo**.

# tRNAs – os adaptadores necessários para a tradução

O anticódon emparelha com o códon do mRNA!



**FIGURA 17-3 A relação de pareamento do códon e anticódon.** O Met-tRNA<sup>Met</sup> (metionil-tRNA<sup>Met</sup>) está representado. As posições dos nucleotídeos do códon e anticódon estão numeradas com 1, 2 e 3, na direção 5'→3' (dessa forma, o nucleotídeo 3 do anticódon forma par com o nucleotídeo 1 do códon).

# tRNAs – os adaptadores necessários para a tradução

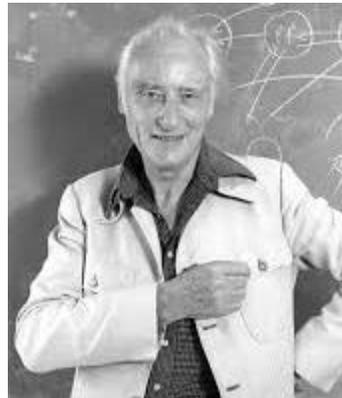
64 códons, 20 aminoácidos

**3 usados como códons de parada:** 61 códons restantes

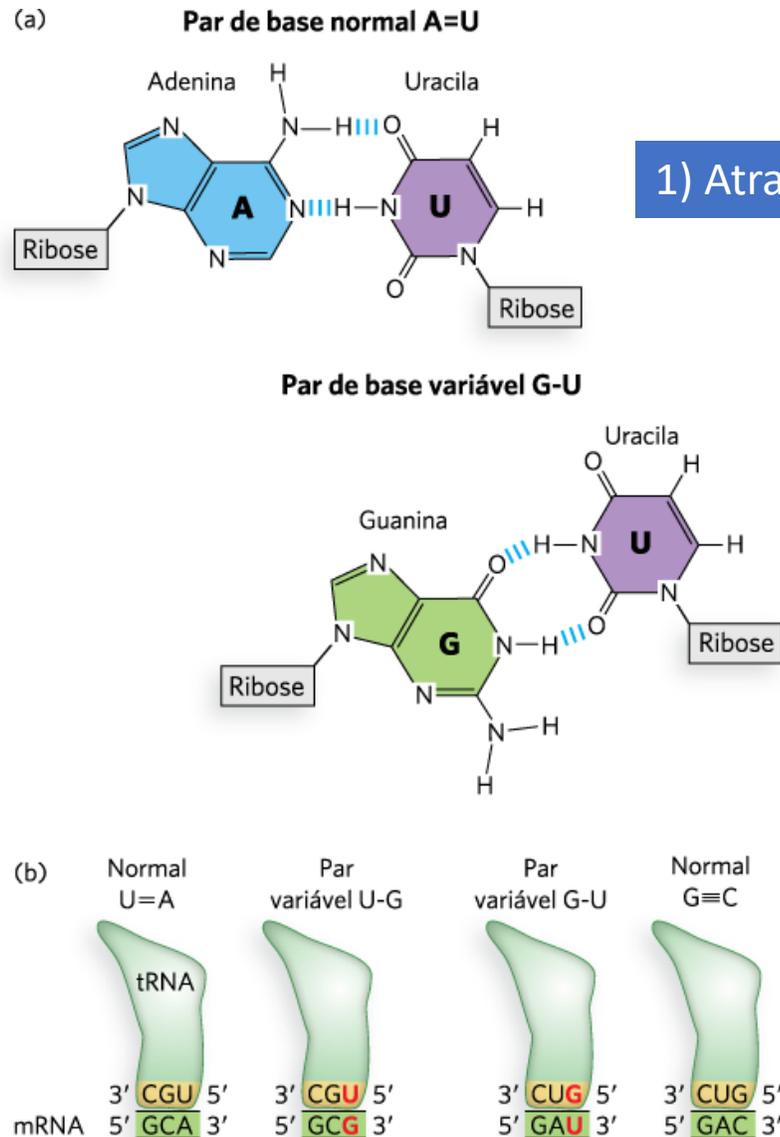
Na maioria dos casos, **cada aminoácido possui apenas 1 tRNA correspondente**, mesmo com a degeneração do código genético! Isso é possível graças a um **menor impedimento estérico para o emparelhamento de bases na terceira posição do códon**. Hipótese da [base pendular](#) *“wooble hypothesis”*

Proposta por...

Francis Crick



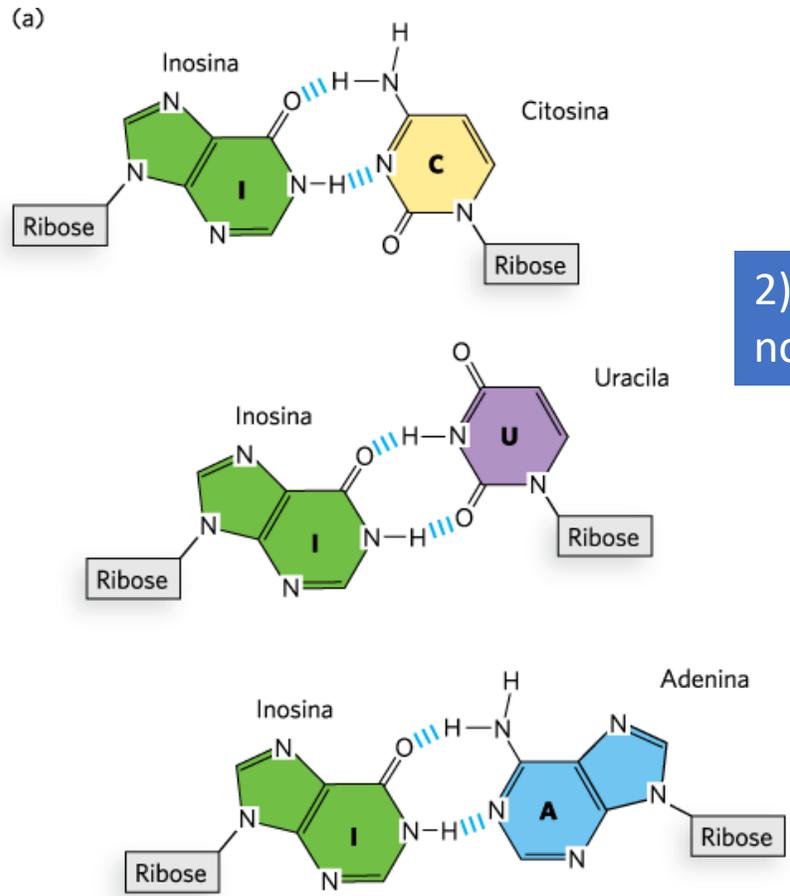
# Como um mesmo tRNA pode reconhecer diferentes códons?



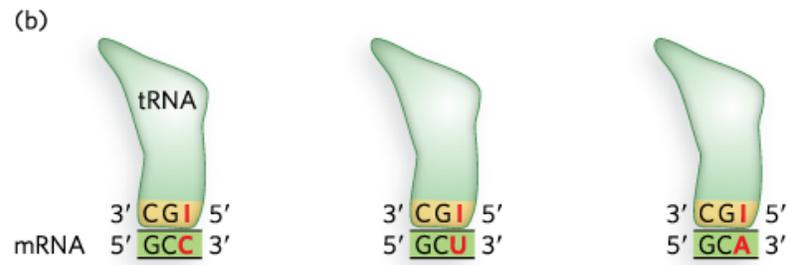
1) Através de emparelhamentos não convencionais (variáveis)

**FIGURA 17-5 Pareamento de base variável.** (a) O movimento de vai e vem permite que um tRNA reconheça dois códons diferentes. U normalmente constitui par com A (topo), mas pode formar duas pontes de hidrogênio com G para constituir um par de base variável G-U fraco, que ocorre na terceira posição do códon (inferior). (b) Um tRNA forma par com dois códons diferentes por meio do pareamento variável (mostrado em vermelho) no terceiro nucleotídeo do códon. O G do par G-U pode ser o anticódon (esquerda) ou o códon (direita).

# Como um mesmo tRNA pode reconhecer diferentes códons?

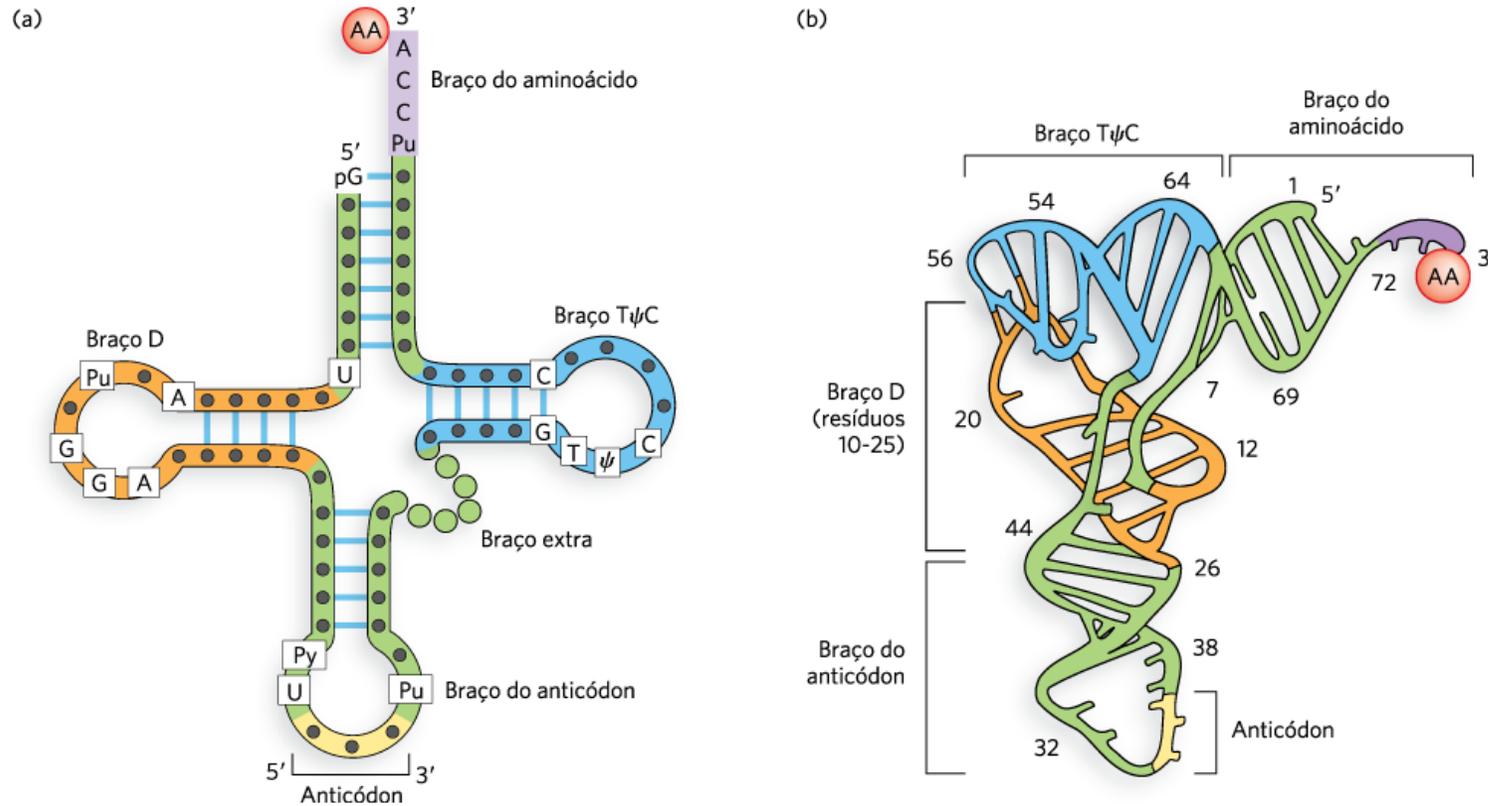


2) Pela presença de bases não convencionais (não canônicas) no anticódon



**FIGURA 17-6 Inosina como nucleotídeo variável.** (a) A inosina (I) pode formar duas ligações de hidrogênio com C, U ou A. (b) Um tRNA contendo I na primeira posição do anticódon pode reconhecer três códons diferentes, de acordo com as regras do movimento de vai e vem. Os pareamentos variáveis estão em vermelho.

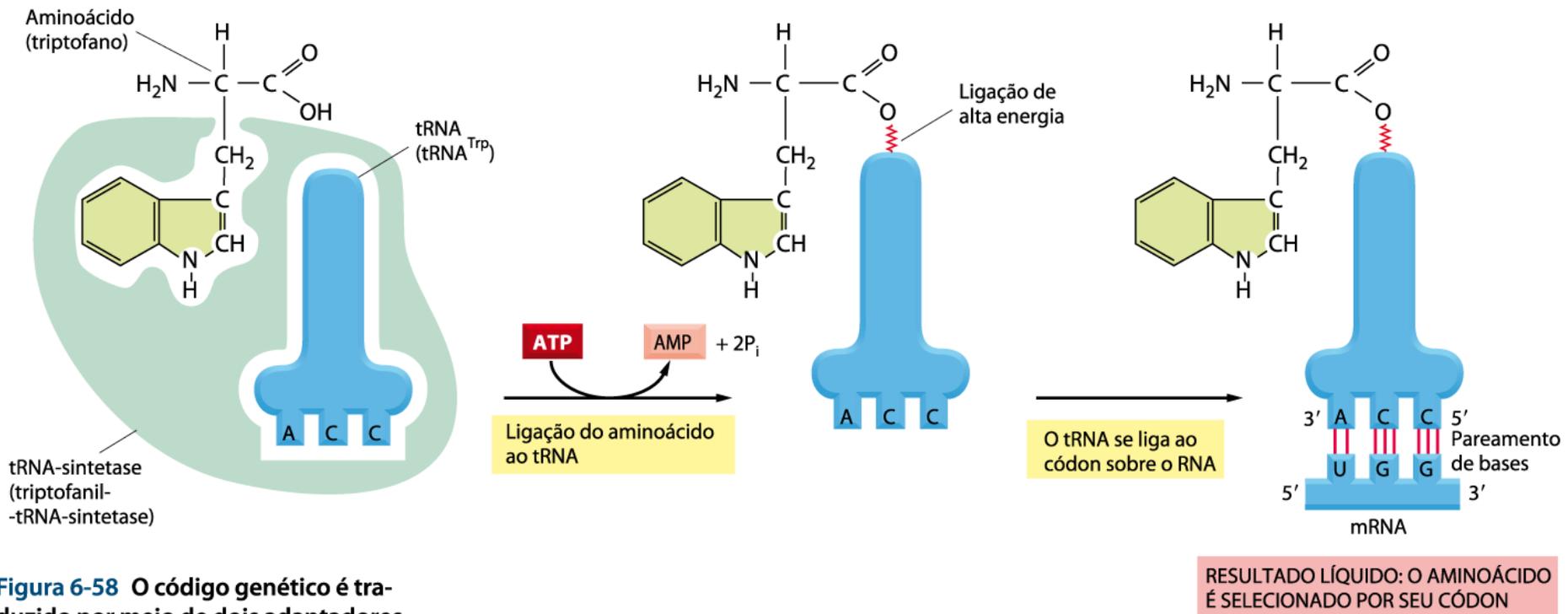
# tRNAs – os adaptadores necessários para a tradução



**FIGURA 17-2 A estrutura do tRNA.** (a) A forma de folha de trevo. Os pontos grandes no esqueleto representam os resíduos de nucleotídeos; as linhas azuis são pares de bases. Três nucleotídeos constituem o anticódon (parte inferior), e os aminoácidos estão ligados ao braço do aminoácido 3' terminal. Nucleotídeos modificados incomuns estão presentes no

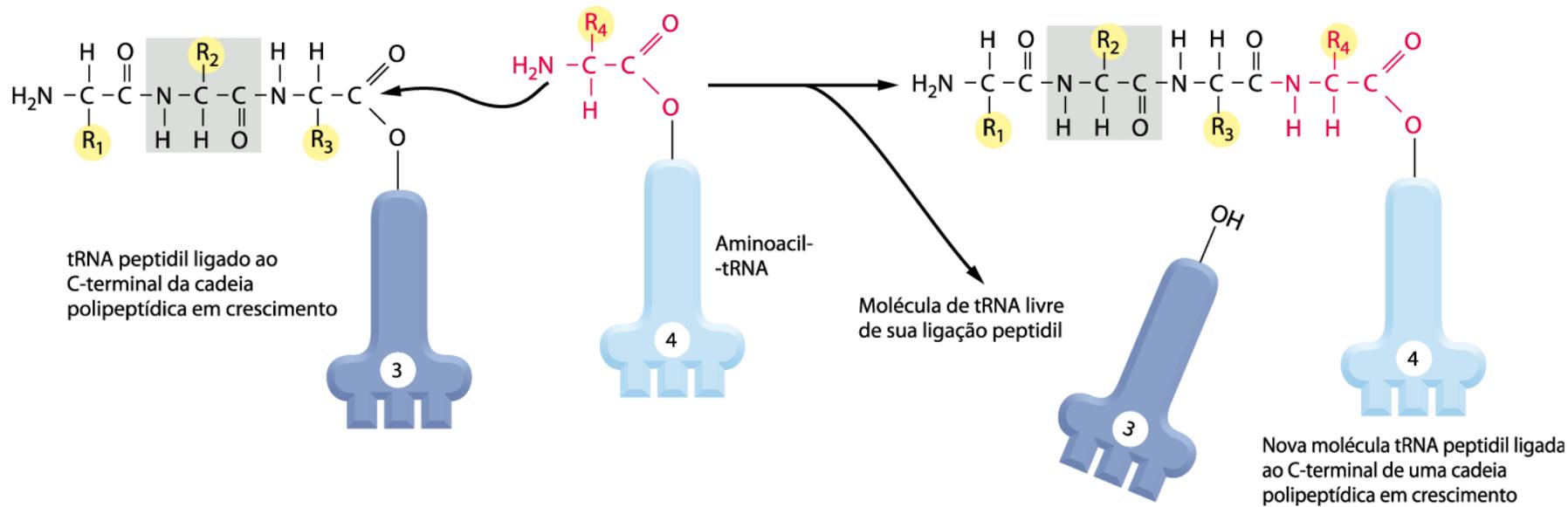
braço D e no braço TψC. A Py (pirimidina) pode ser U ou C. A Pu (purina) pode ser A ou G. O braço D muitas vezes contém um resíduo de diidouracila (não mostrado). (b) A estrutura tridimensional se dobra em uma forma de L torcido. As posições do anticódon, o braço do aminoácido 3' terminal e os braços D e TψC estão mostrados.

# tRNAs são carregados com seus aminoácidos cognatos pelas aminoacil tRNA sintetases



**Figura 6-58** O código genético é traduzido por meio de dois adaptadores que agem um após o outro. O primeiro adaptador é a aminoacil-tRNA-sintetase, que acopla um aminoácido específico ao seu tRNA correspondente; o segundo adaptador é a própria molécula de tRNA, cujo anticódon forma pares de bases com o códon apropriado no mRNA. Um erro em qualquer um desses passos pode causar a incorporação de um aminoácido errado na cadeia de proteína. Na sequência de eventos ilustrada, o aminoácido triptofano (Trp) é selecionado pelo códon UGG no mRNA.

# Aminoacil tRNAs são usados na síntese proteica



**Figura 6-61 Incorporação de um aminoácido em uma proteína.** Uma cadeia polipeptídica cresce pela adição sucessiva de aminoácidos à sua extremidade C-terminal. A formação de cada ligação peptídica é energeticamente favorável, pois a extremidade C-terminal em crescimento foi ativada pela ligação covalente de uma molécula de tRNA. A ligação peptidil-tRNA que ativa a extremidade em crescimento é regenerada a cada adição. As cadeias laterais dos aminoácidos são indicadas como  $\text{R}_1$ ,  $\text{R}_2$ ,  $\text{R}_3$  e  $\text{R}_4$ ; como ponto de referência, todos os átomos no segundo aminoácido na cadeia polipeptídica estão em cinza. A figura mostra a adição do quarto aminoácido (vermelho) à cadeia em crescimento.

### 3 fases de leitura são possíveis. Como encontrar a fase correta?

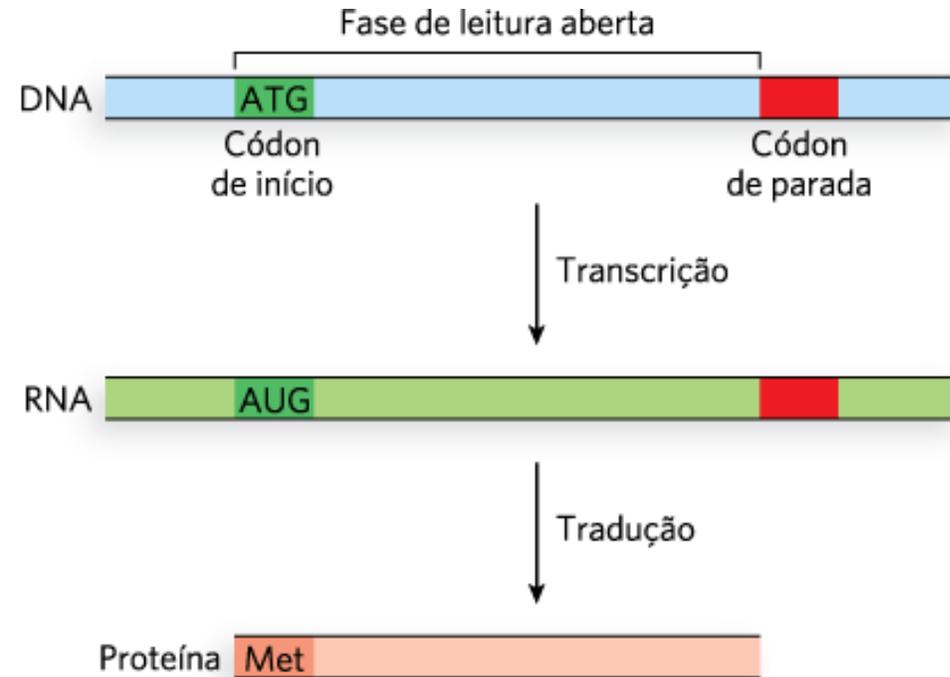
AUG	GUG	CGU	AGG	GUC	GAU	UGG	CGC	AGA	AAG	UUA	GUU	AGA	GAG	UAC	
Met	Val	Arg	Arg	Val	Asp	Trp	Arg	Arg	Lys	Leu	Val	Arg	Glu	Tyr	
A	UGG	UGC	GUA	GGG	UCG	AUU	GGC	GCA	GAA	AGU	UAG	UUA	GAG	AGU	AC
	Trp	Cys	Val	Gly	Ser	Ile	Gly	Ala	Glu	Ser	Parada	Leu	Glu	Ser	
AU	GGU	GCG	UAG	GGU	CGA	UUG	GCG	CAG	AAA	GUU	AGU	UAG	AGA	GUA	C
	Gly	Ala	Parada	Gly	Arg	Leu	Ala	Gln	Lys	Val	Ser	Parada	Arg	Val	

**FIGURA 17-7 Três fases de leitura possíveis.** Uma única sequência de RNA traduzida nas três fases de leitura está representada aqui. O produto proteico está abaixo de cada sequência.

Por uma simples questão de probabilidade, a leitura fora da fase correta rapidamente encontra um códon de parada.

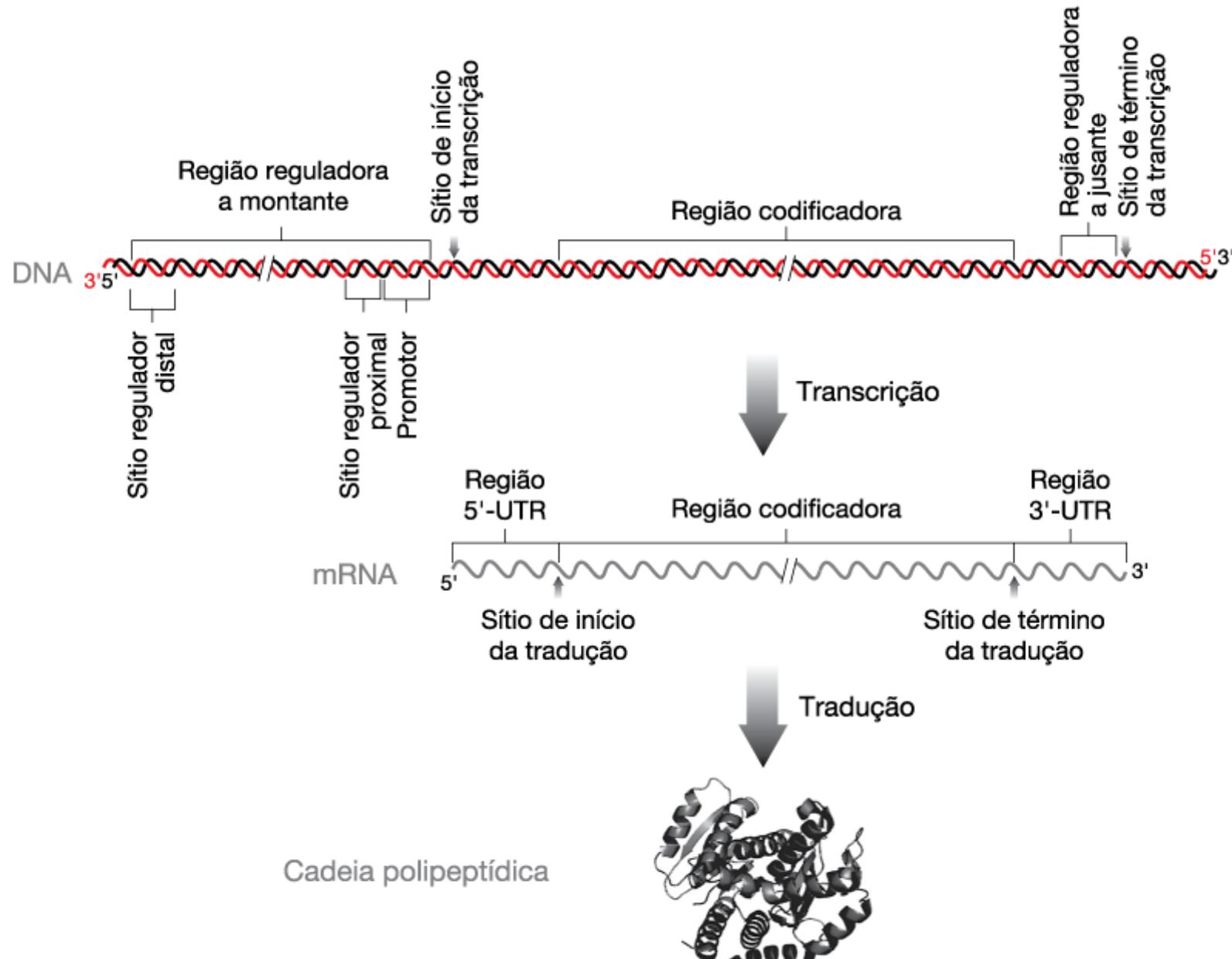
### 3 fases de leitura são possíveis. Como encontrar a fase correta?

Os códons de início e de parada determinam a região a ser traduzida!

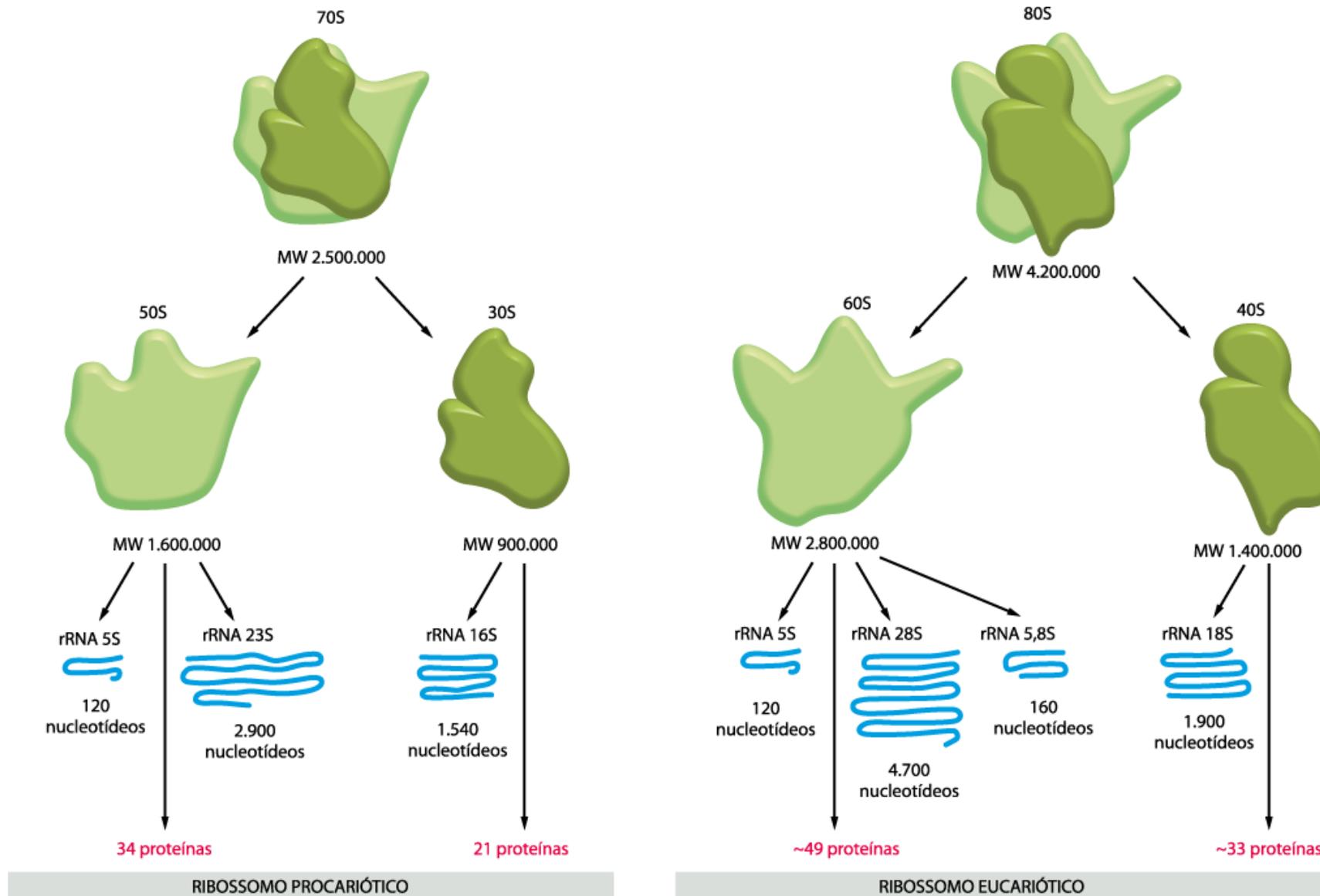


**FIGURA 17-8** Sinais de início e de término na fase de leitura aberta de um gene. A fase de leitura de um gene que codifica para uma proteína se inicia em um códon de início ATG na fita codificante do DNA (AUG no mRNA) e termina no primeiro códon de parada na mesma fase de leitura do códon de início.

# Início e término da **tradução** não são os mesmos do início e término da **transcrição**!

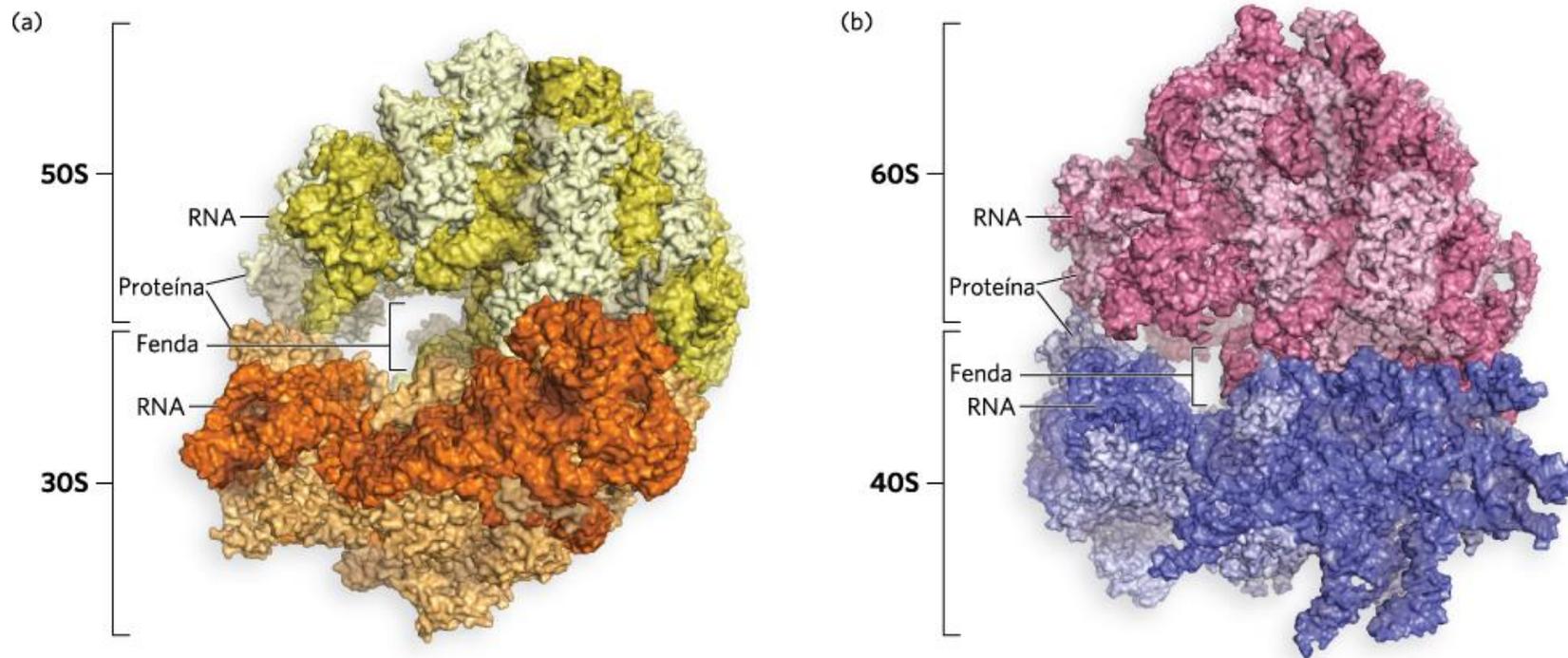


# Ribossomos: as máquinas de leitura do código



# Ribossomos: as máquinas de leitura do código

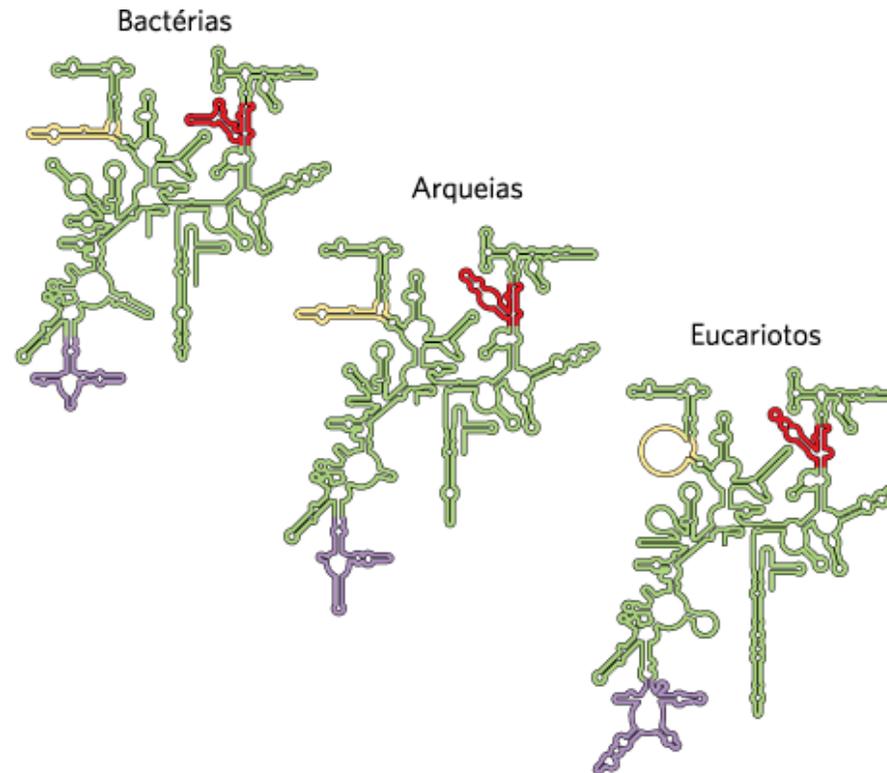
Alta conservação de mecanismo de ação e de estrutura entre eucariotos e procariotos!



**FIGURA 18-3 Estrutura cristalográfica do ribossomo bacteriano.** (a) As subunidades 50S (grande) e 30S (pequena) formam, juntas, o ribossomo 70S. A interface entre as duas subunidades forma uma fenda onde ocorre a reação peptidil transferase (conforme descrito adiante no texto). (b) O ribossomo de levedura possui uma estrutura com complexidade aumentada. [Fonte: (a) PDB ID 1SVA e 2OW8; (b) PDB ID 3O58 e 3OZZ.]

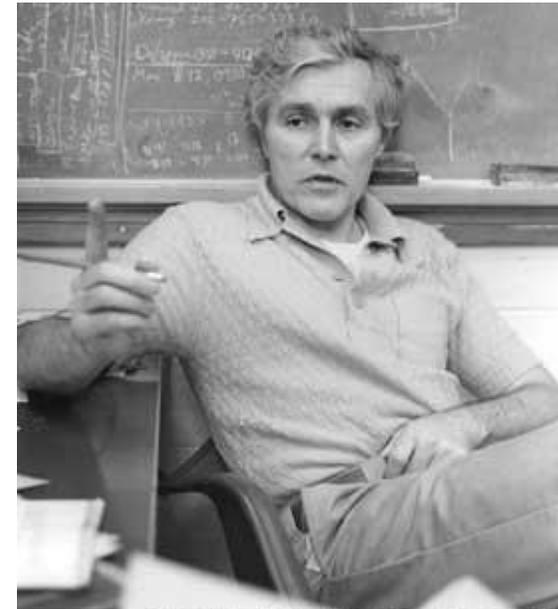
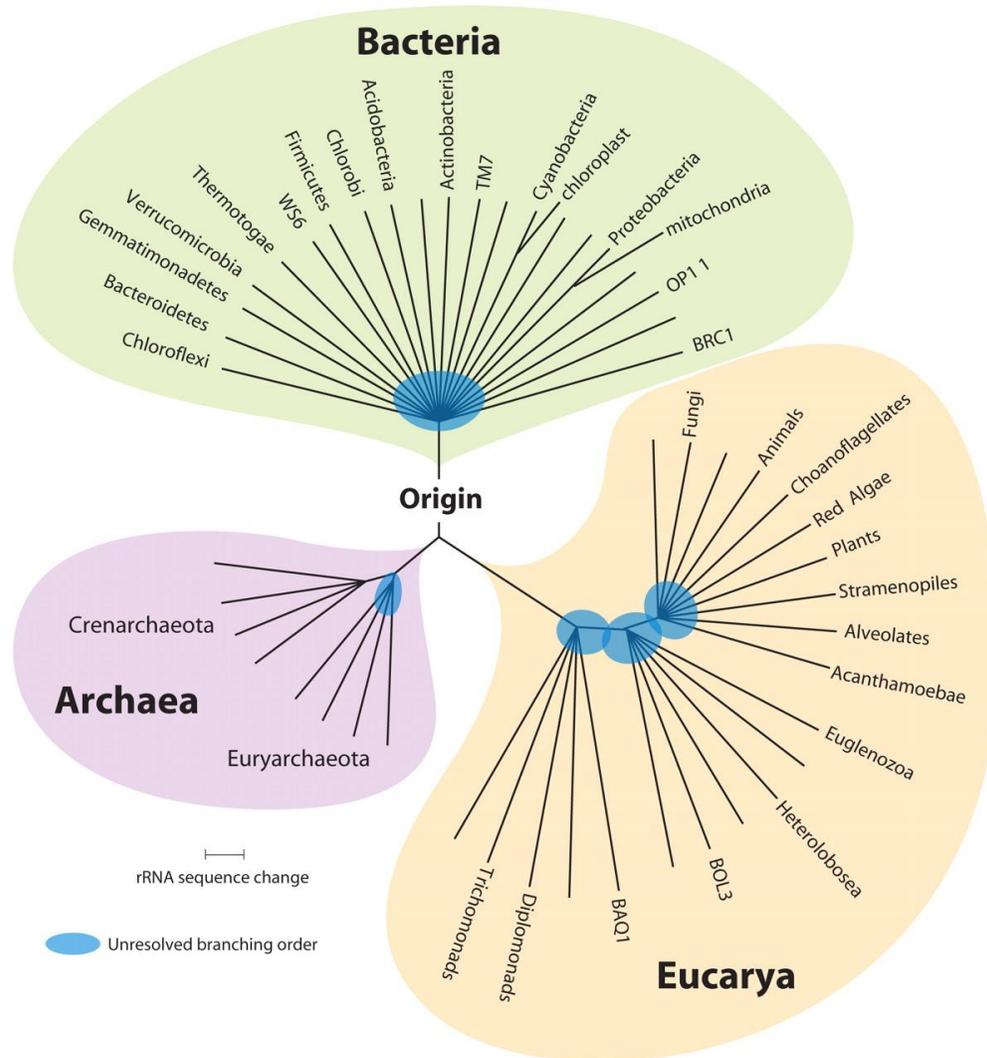
# Ribossomos: as máquinas de leitura do código

Alta conservação de mecanismo de ação e de estrutura entre eucariotos e procariotos!



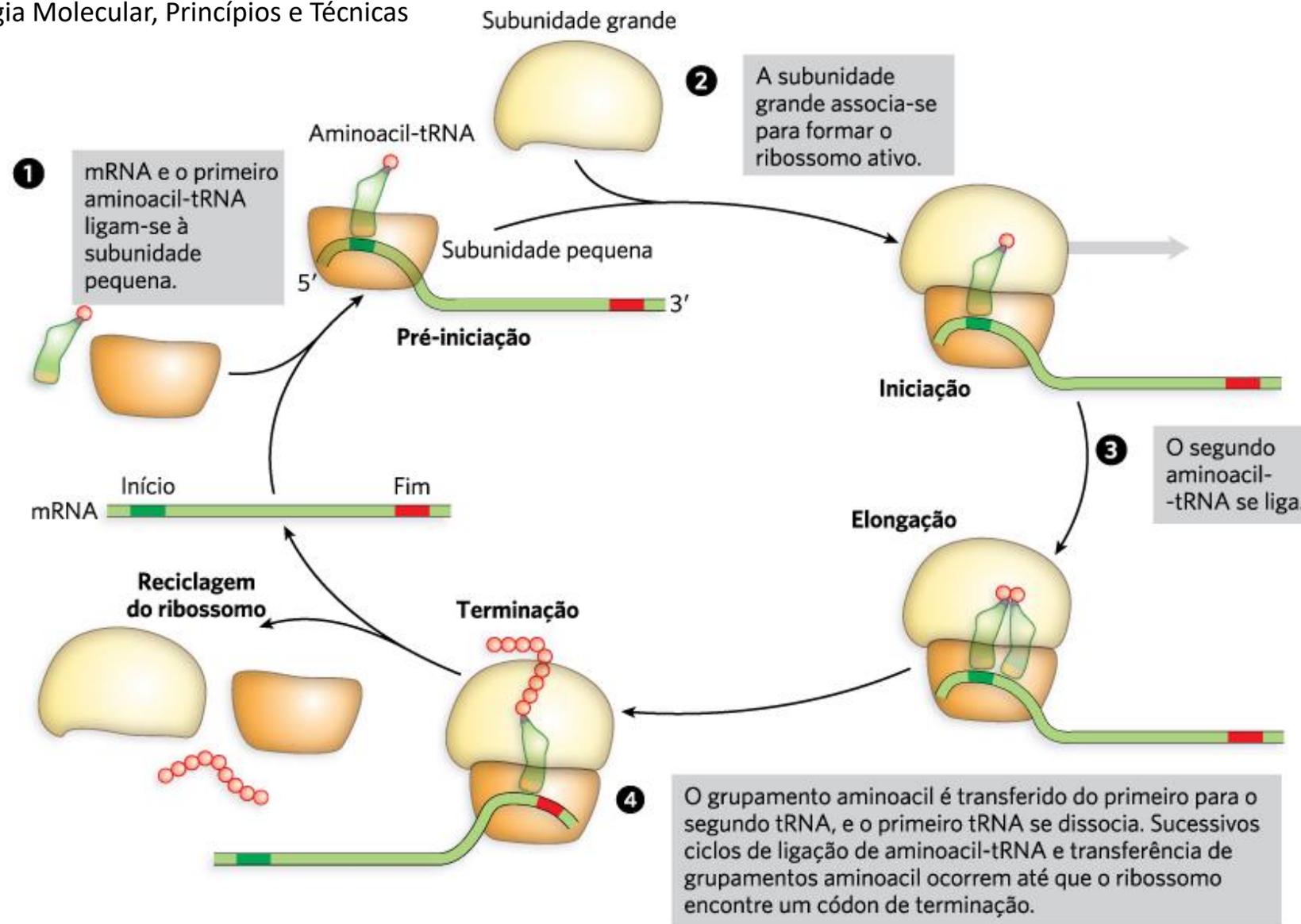
**FIGURA 18-2** Conservação nas estruturas secundárias da subunidade pequena do rRNA de três domínios de vida. As áreas em vermelho, amarelo e roxo indicam locais onde as estruturas dos rRNAs de bactérias, arqueias e eucariotos divergiram; as regiões conservadas são mostradas em verde.

Os rRNAs são tão conservados, que são usados como marcadores para reconstruções filogenéticas!



NARA/U. of Illinois 306-PS-E-77—5743

**Carl Woese** foi o pioneiro nesta técnica, que redividiu a vida em três grandes domínios.



**FIGURA 18-4 Uma visão global dos principais eventos na tradução.** A tradução é iniciada pelo pareamento de um mRNA e um tRNA no ribossomo. Na elongação, o ribossomo move-se junto ao mRNA, combinando tRNAs com cada có-

don e catalisando a formação da ligação peptídica. A tradução termina em um códon de terminação, e as subunidades ribossomais são liberadas para outra rodada de síntese.

**Vários fatores acessórios são necessários para o ciclo de tradução completo.**

**Fatores de iniciação:** IF em bactérias, eIF em eucariotos

**Fatores de alongação:** EF em bactérias, eEF em eucariotos

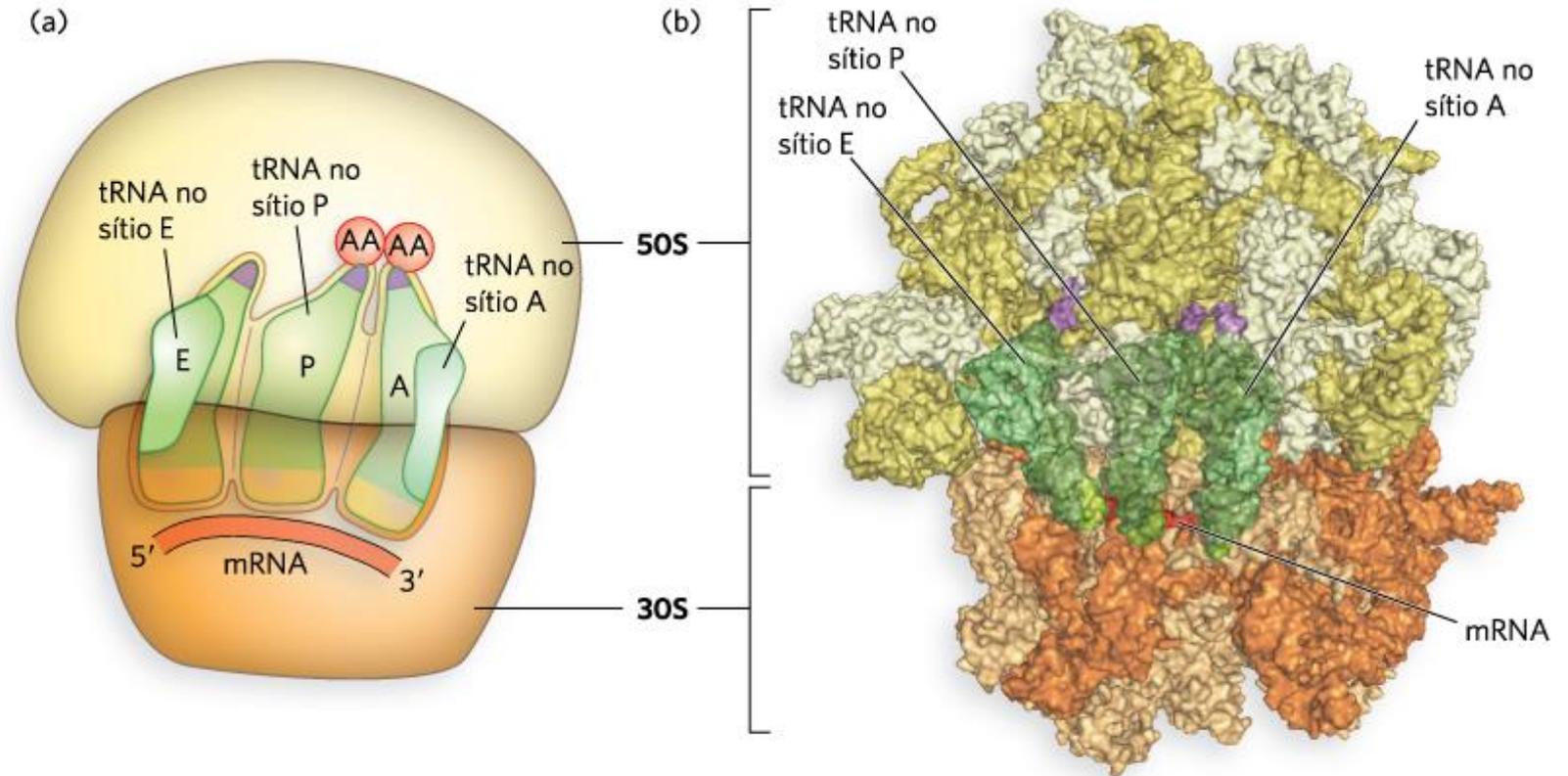
**Fatores de terminação (liberação):** RF em bactérias, eRF em eucariotos

# Ribossomos: as máquinas de leitura do código

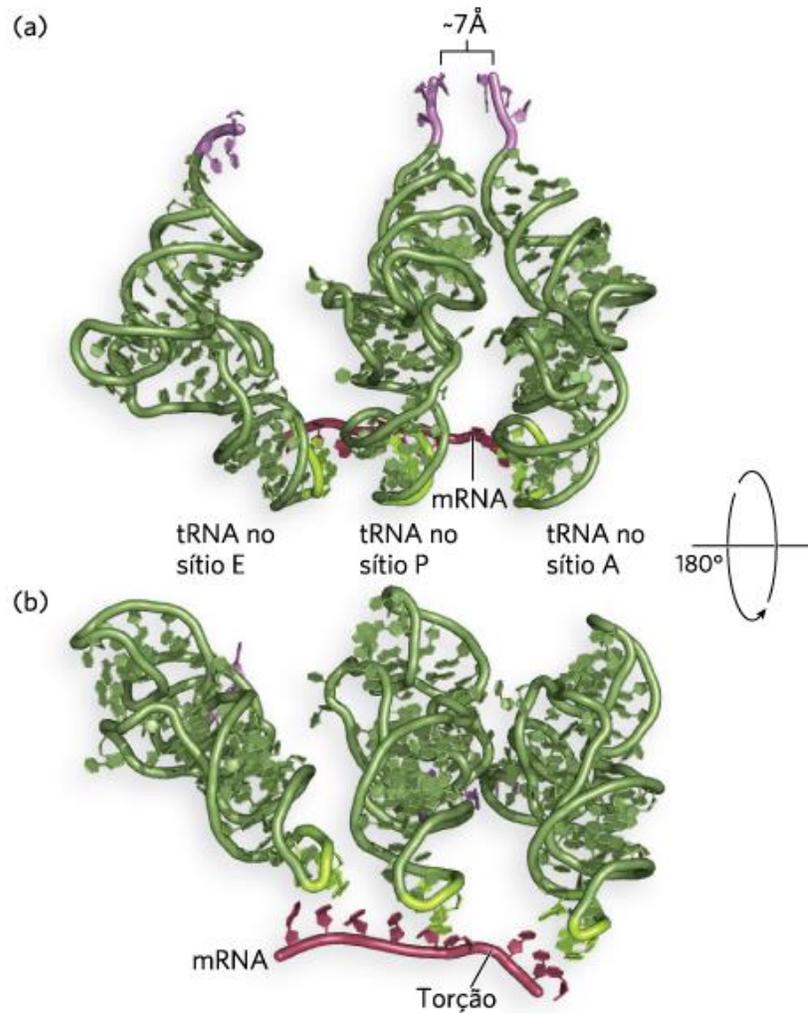
**Sítio E:** Sítio de Saída. Por onde saem os tRNAs vazios

**Sítio P:** Sítio para onde é translocado o tRNA acoplado ao peptídeo nascente.

**Sítio A:** Sítio de entrada do próximo tRNA carregado.



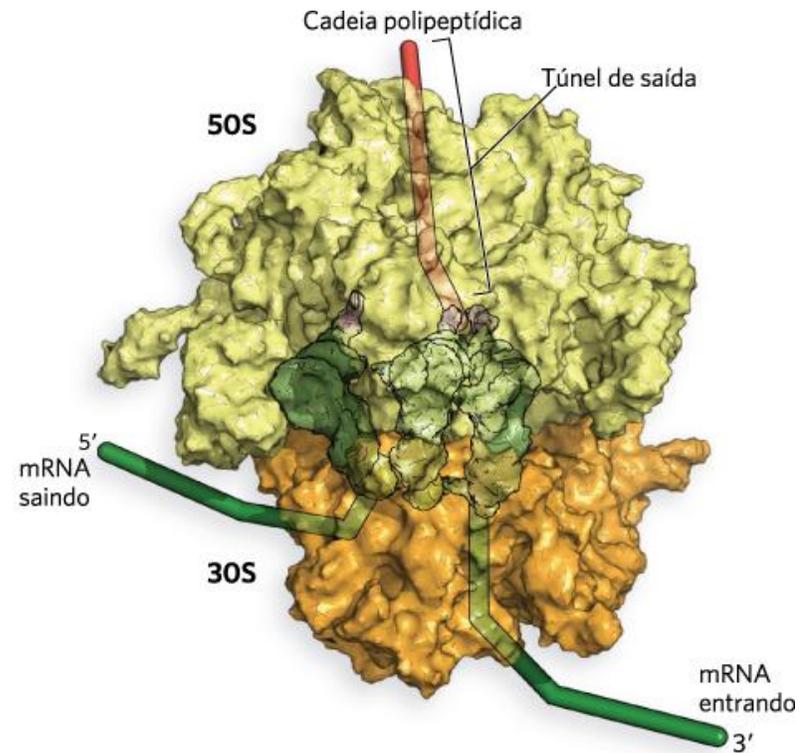
**FIGURA 18-8 Os sítios A, P e E do ribossomo.** (a) Sítios A, P e E em relação ao mRNA ligado. Ambas as subunidades ribossomais são mostradas. (b) Estrutura cristalográfica da subunidade 50S do ribossomo de *E. coli* ligada aos tRNAs (representando aminoacil-tRNA, peptidil-tRNA e tRNA livre, respectivamente) nos sítios A, P e E, vista a partir da interface 30S. [Fonte: (b) PDB ID 1SVA e PDB 2OW8.]



**FIGURA 18-9 Alinhamento dos tRNAs no mRNA e o sítio peptidil transferase.** (a) O peptidil-tRNA e o aminoacil-tRNA estão posicionados de modo que os aminoácidos estejam a uma distância excelente para a formação da ligação peptídica. (b) Os anticódons torcem o mRNA. [Fontes: PDB ID 1GIX e PDB ID 2OW8.]

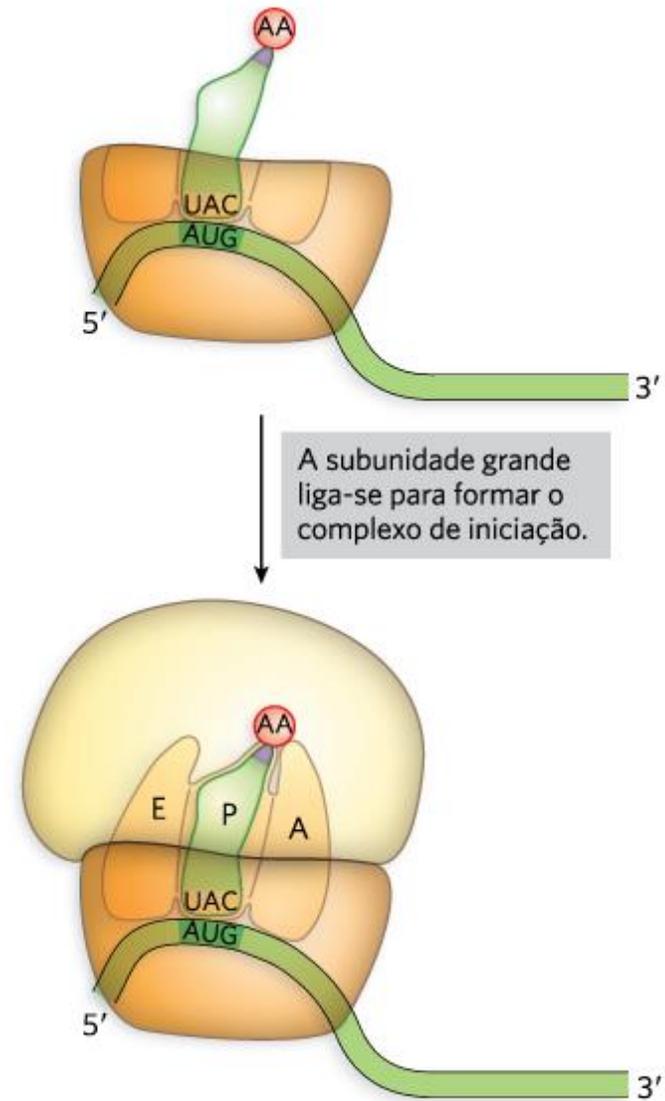
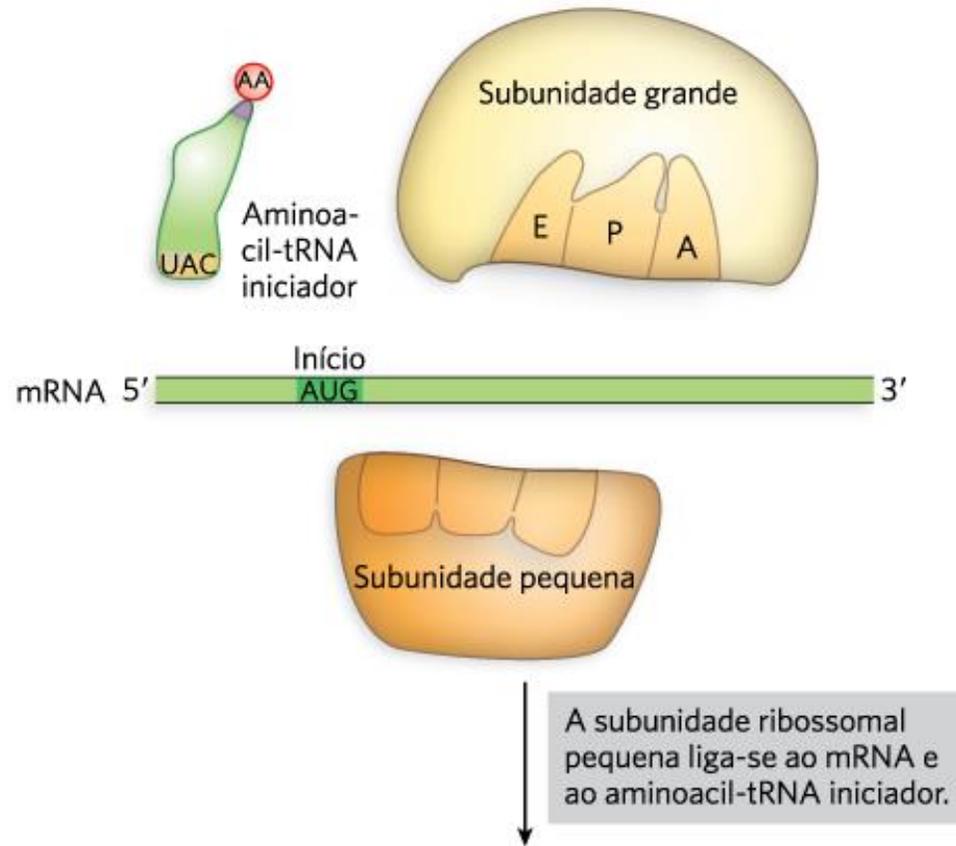
# Ribossomos: as máquinas de leitura do código

Um canal dentro da estrutura dos ribossomos acomoda o polipeptídeo nascente



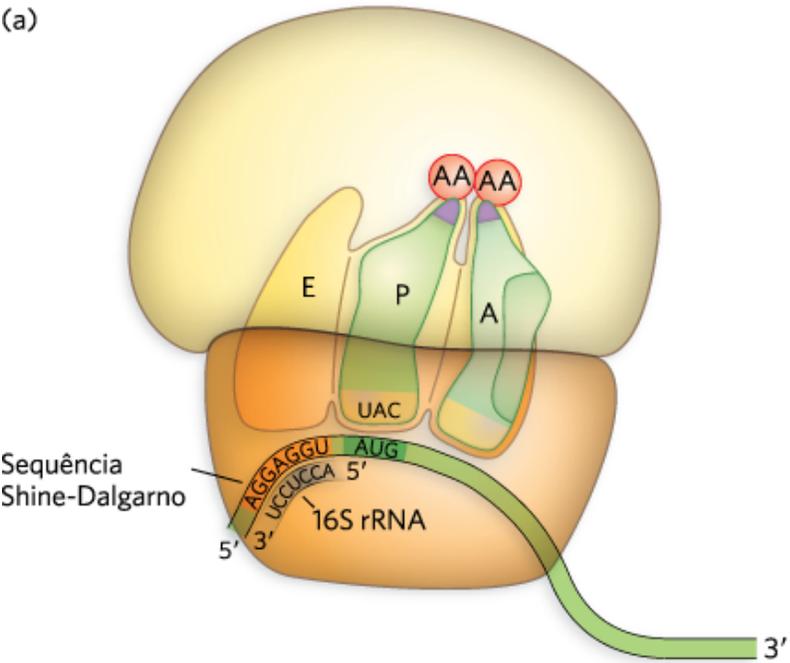
**FIGURA 18-10** O túnel de saída para proteínas na subunidade 50S. O túnel de saída de proteína está adjacente ao sítio P e é largo o suficiente apenas para permitir a passagem de polipeptídeos não enovelados. [Fonte: (b) PDB ID 1VSA, 2OW8, 1GIX.]

# O início da tradução



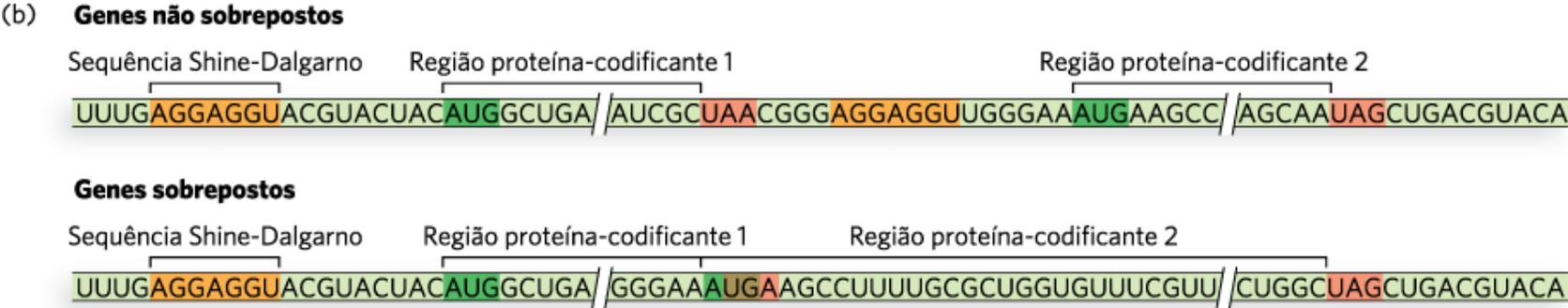
**FIGURA 18-15** Uma visão geral dos eventos da iniciação da tradução.

# Encontrando o Códon de início: a sequência de Shine-Dalgarno ou rbs (ribosome binding site)

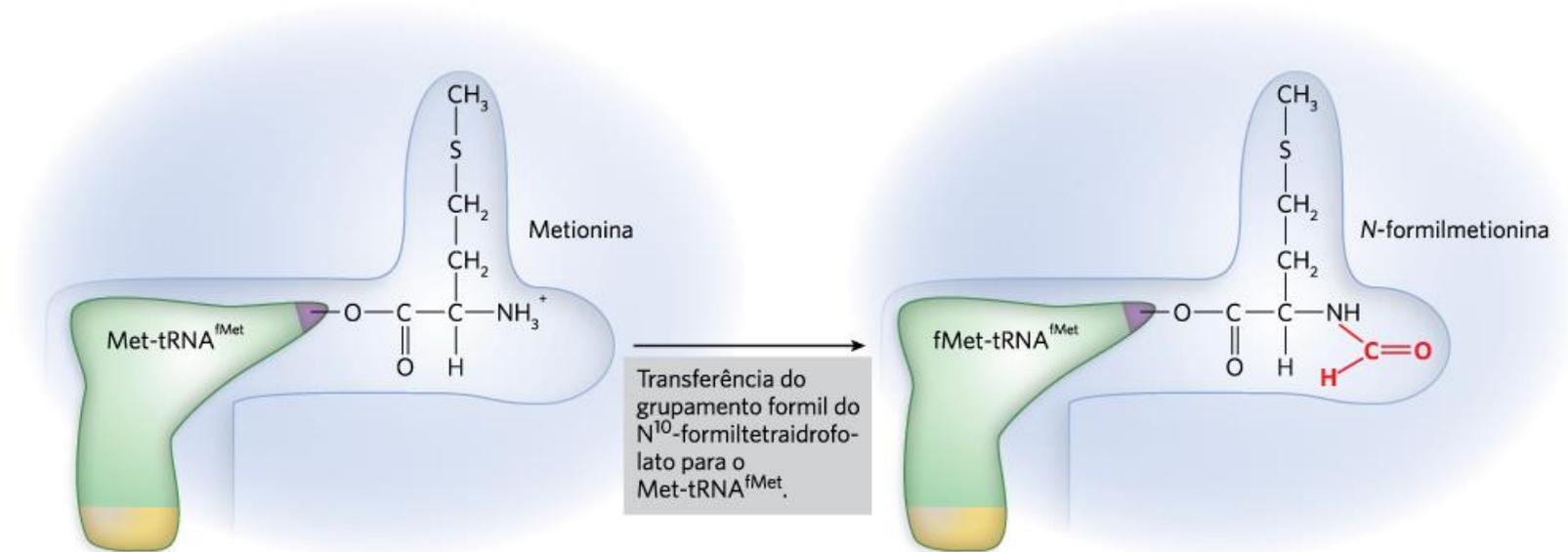


**FIGURA 18-16 A sequência Shine-Dalgarno.** (a) A sequência Shine-Dalgarno posiciona o mRNA no ribossomo bacteriano por meio da ligação do rRNA 16S. (b) Em bactérias, alguns genes policistrônicos possuem códons de início e terminação sobrepostos (parte inferior), permitindo que o ribossomo dê início à síntese na ausência da sequência Shine-Dalgarno.

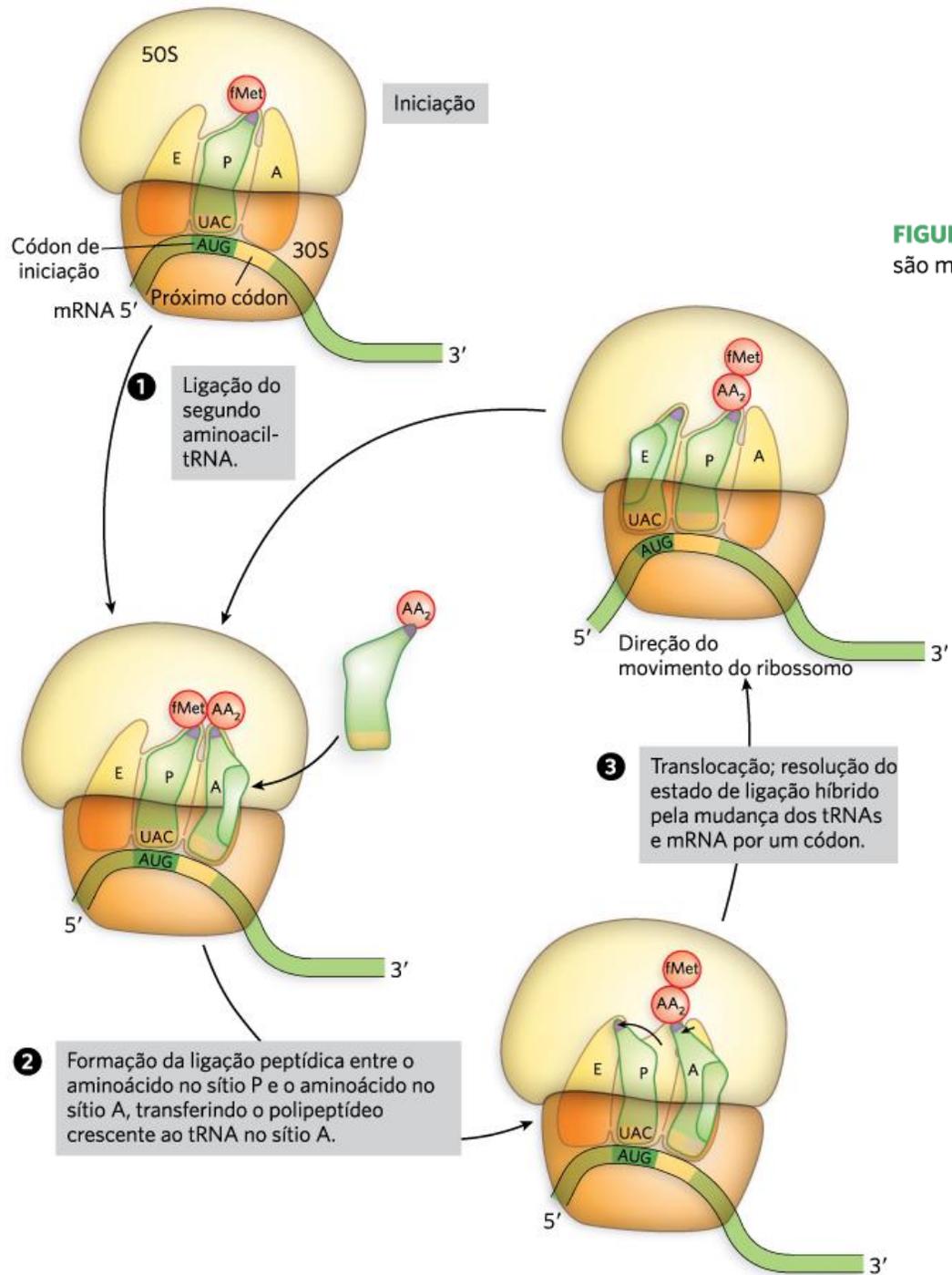
Em eucariotos é diferente: primeiro ATG do RNA é usado!



## Em bactérias, o primeiro aminoácido usado pelo tRNA iniciador é uma metionina modificada: N-formilmetionina

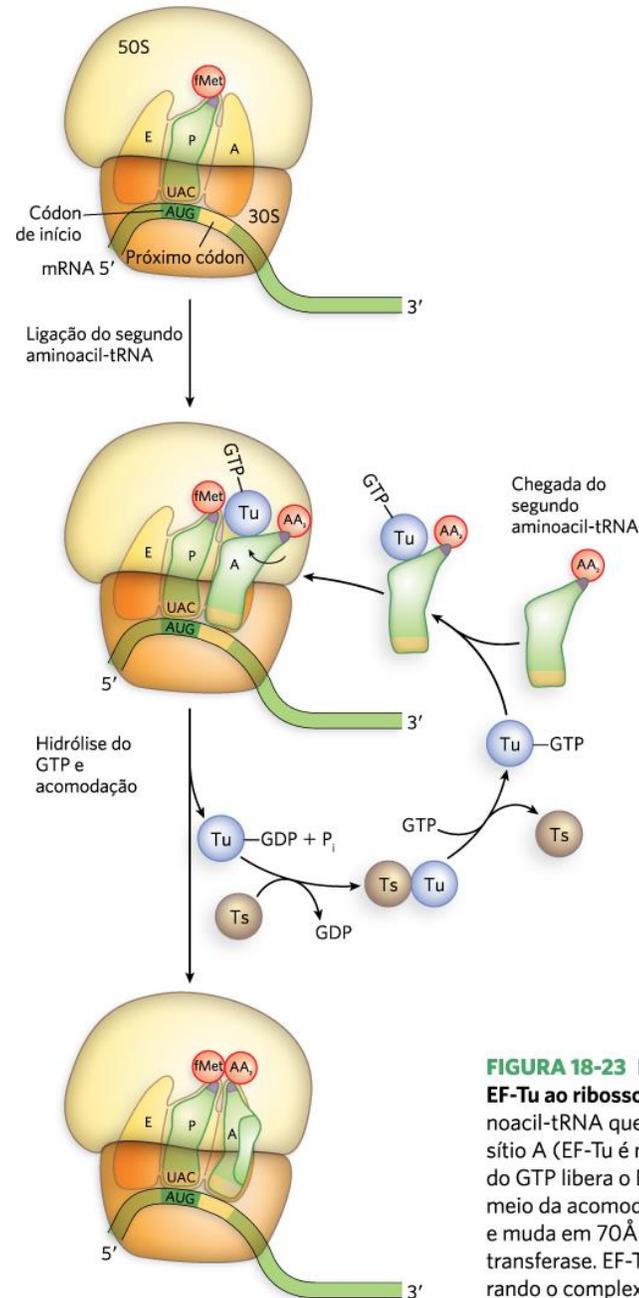


**FIGURA 18-17** A formação do fMet-tRNA<sup>fMet</sup>. O tRNA<sup>fMet</sup> é primeiramente carregado com a metionina (não mostrado), e então a Met é convertida em fMet pela metionil-tRNA formiltransferase (transformilase).



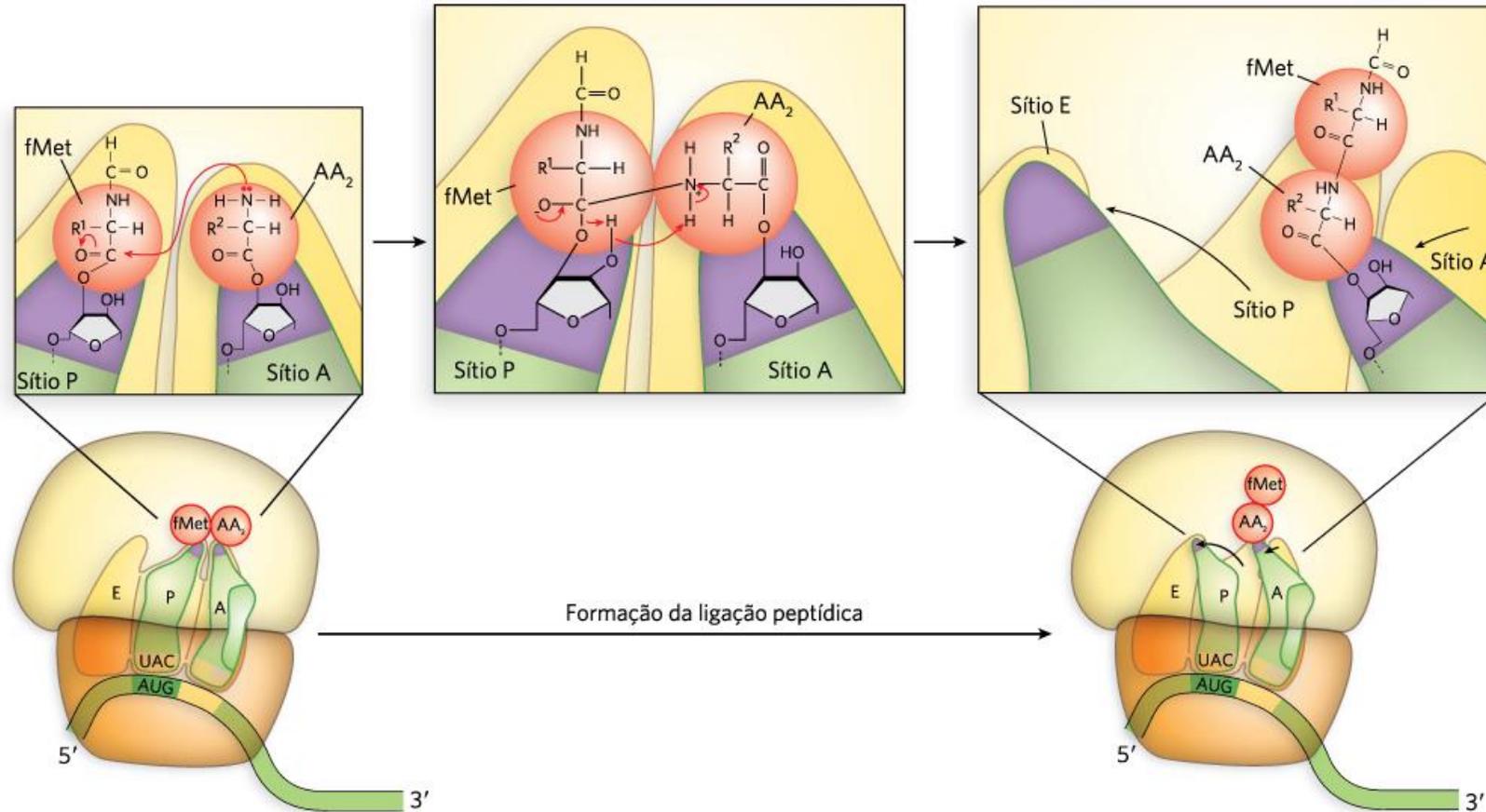
**FIGURA 18-22 Um visão geral do ciclo de elongação da tradução.** Os detalhes dessas três etapas são mostrados nas Figuras 18-23, 18-24 e 18-26.

# tRNAs carregados são trazidos para o sítio A pelo fator de alongação EF-Tu



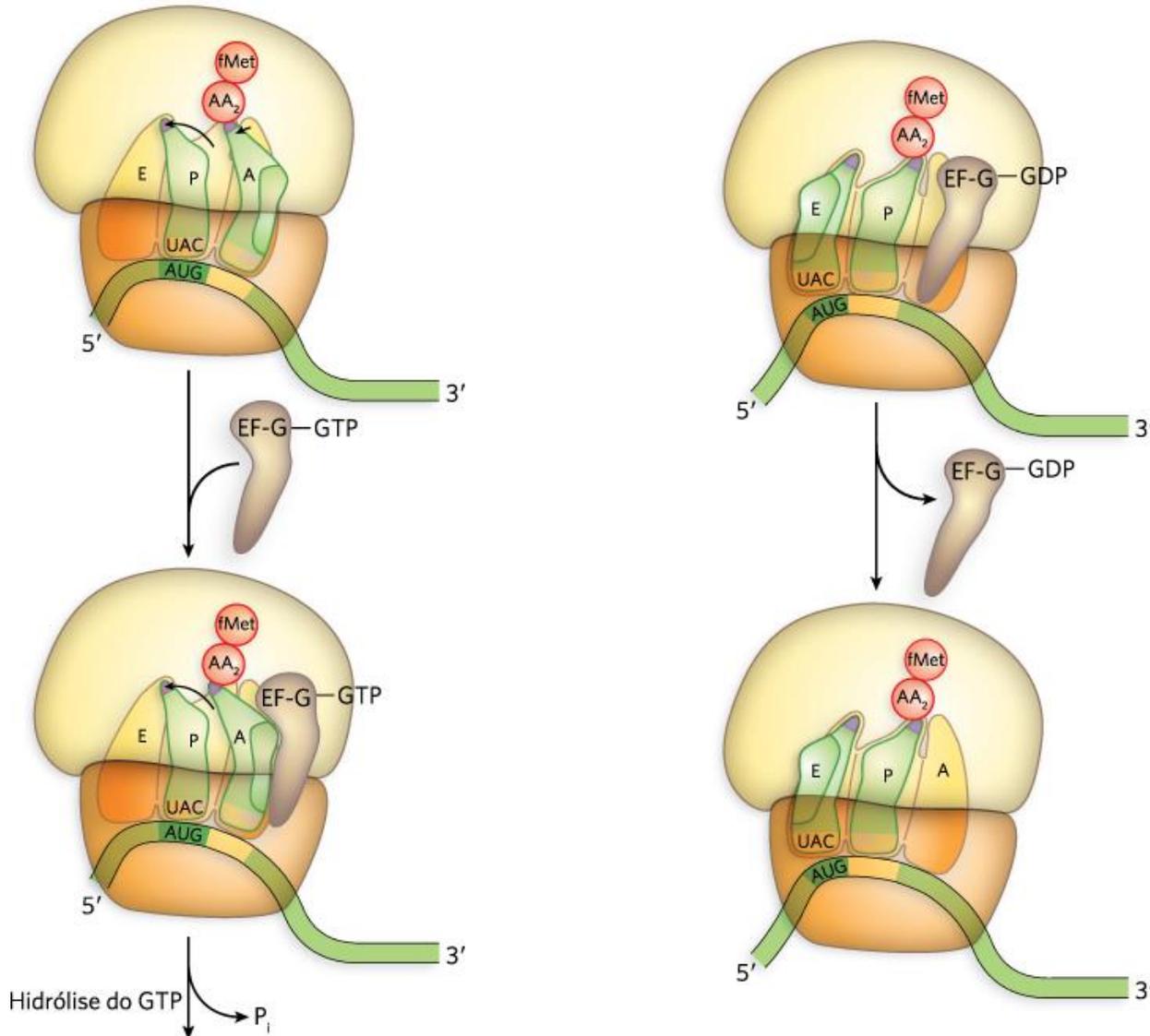
**FIGURA 18-23** Ligação do aminoacil-tRNA mediada pelo EF-Tu ao ribossomo. Na primeira etapa da elongação, o aminoacil-tRNA que chega é ligado pelo EF-Tu-GTP e inserido no sítio A (EF-Tu é mostrado simplesmente como Tu). A hidrólise do GTP libera o EF-Tu-GDP, deixando o tRNA em posição. Por meio da acomodação, o tRNA pareia com o códon do mRNA e muda em 70Å até a posição correta para a reação peptidil transferase. EF-Ts (mostrado como Ts) recicla EF-Tu, regenerando o complexo EF-Tu-GTP.

## A formação da ligação peptídica é catalisada pelo RNA ribossomal.



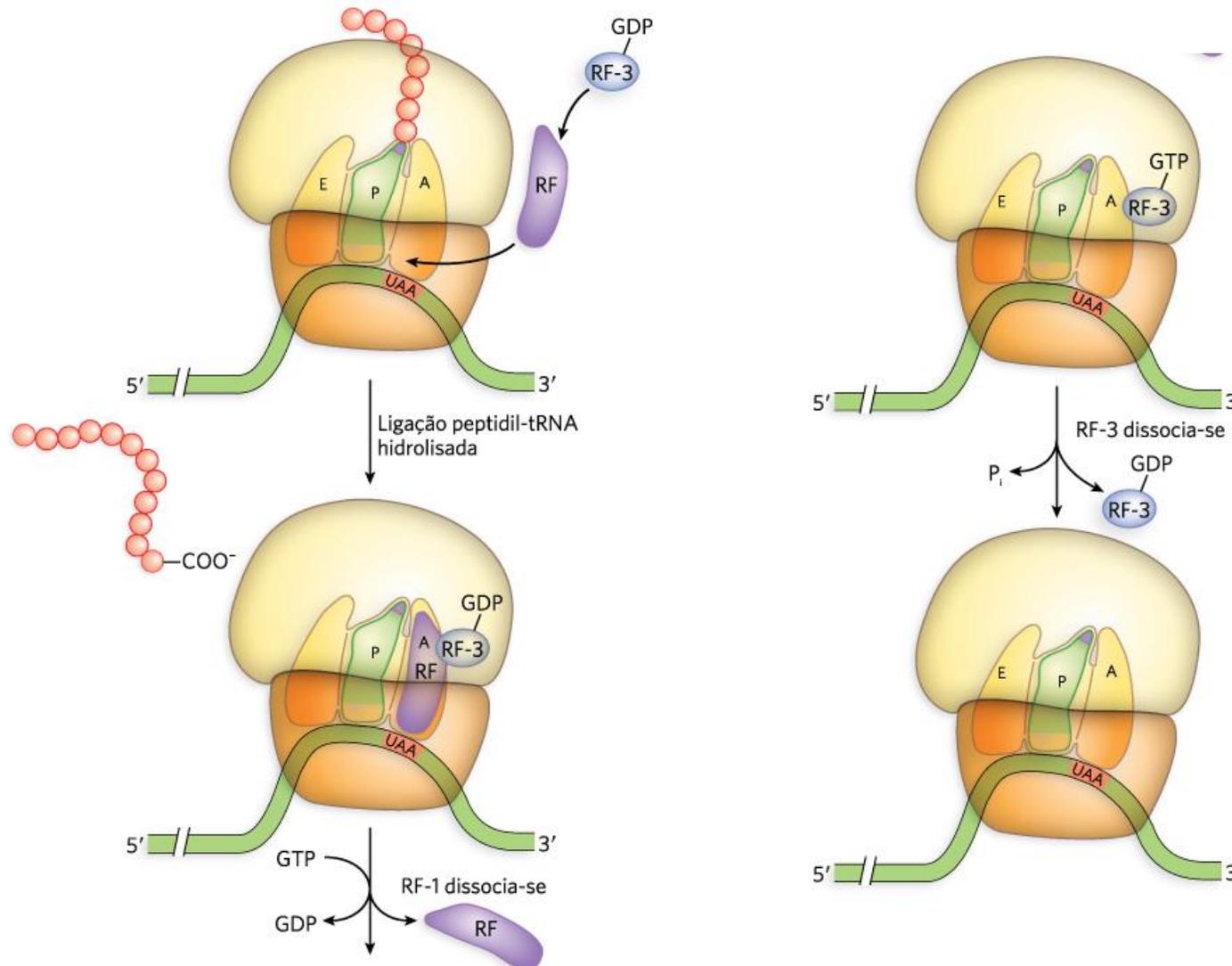
**FIGURA 18-24 A reação peptidil transferase.** Na segunda etapa da elongação, o grupamento  $\alpha$ -amino do aminoacil-tRNA do sítio A ataca o carbono carbonil do fMet-tRNA do sítio P, mudando o fMet para o tRNA do sítio A para formar um dipeptidil-tRNA. Essa reação é catalisada pelo rRNA 23S.

## Hidrólise de GTP e o fator EF-G terminam a translocação do tRNA carregando o peptídeo nascente para o sítio P



**FIGURA 18-26** Translocação promovida pela ligação do EF-G e hidrólise do GTP. Na terceira etapa da elongação, o estado de ligação híbrido formado na reação peptidil transferase (ver Figura 18-24) é resolvido pela ligação do EF-G-GTP no sítio A. A hidrólise do GTP causa uma mudança conformacional no EF-G que desloca o peptidil-tRNA do sítio A para o P, resultando no movimento do ribossomo em um códon no mRNA. Uma vez liberado o EF-G-GDP, o sítio A está disponível para outro aminoacil-tRNA.

# Fatores de término reconhecem os códons de parada, resultando na clivagem da ligação entre a proteína e o tRNA

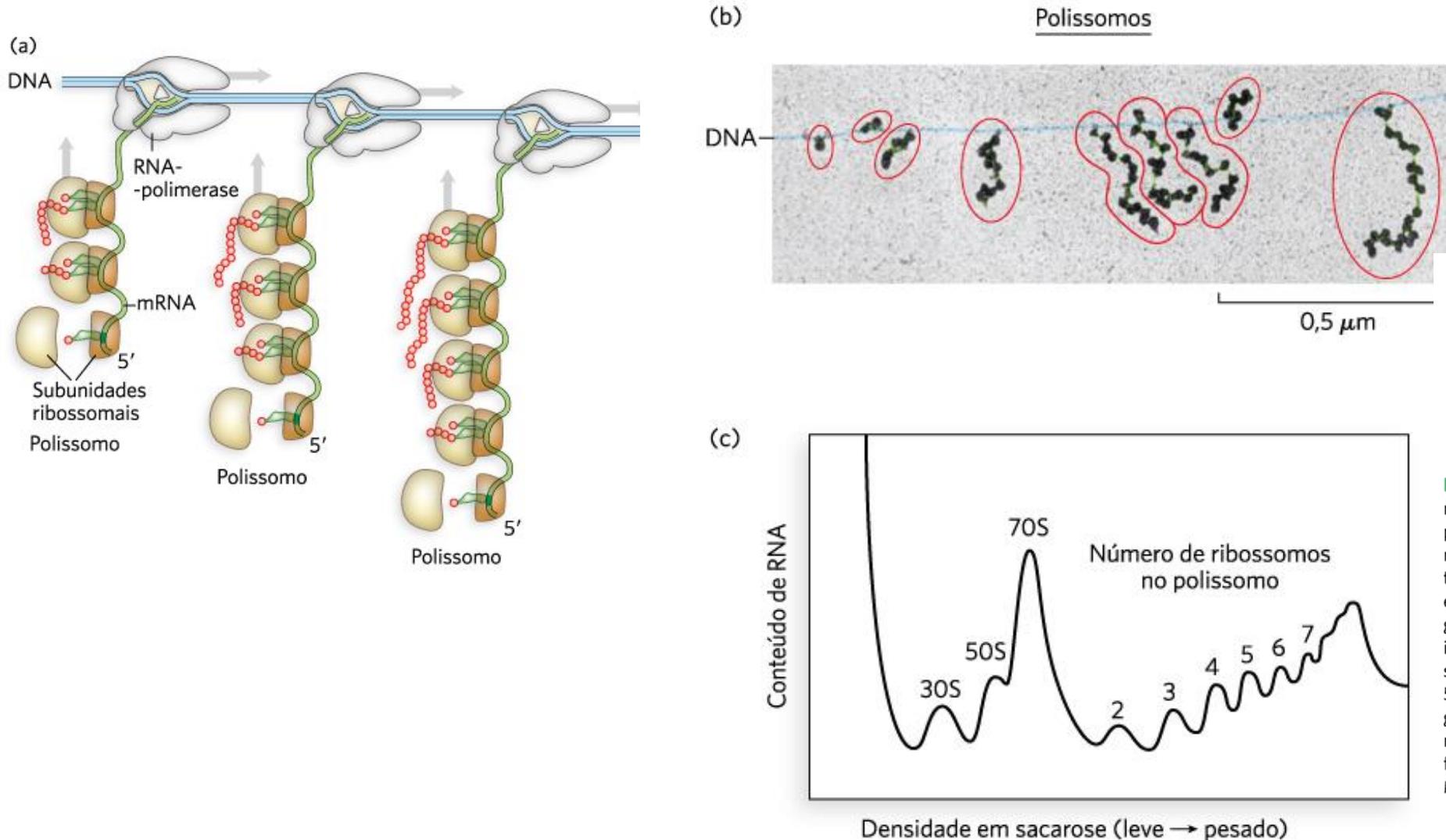


**FIGURA 18-27** A terminação da tradução em bactérias. Quando o ribossomo encontra um códon de parada, RF-1 ou RF-2 ligam-se ao sítio A e induzem a liberação da cadeia polipeptídica. RF-3-GDP se liga ao ribossomo e troca o GTP por GDP, deslocando RF-1 ou RF-2. O RF-3-GTP está ligado firmemente ao ribossomo, porém a hidrólise do GTP enfraquece sua afinidade, e o RF-3 é liberado.

<https://www.youtube.com/watch?v=lkq9AcBcohA>

<https://www.youtube.com/watch?v=qlwrhUrvX-k>

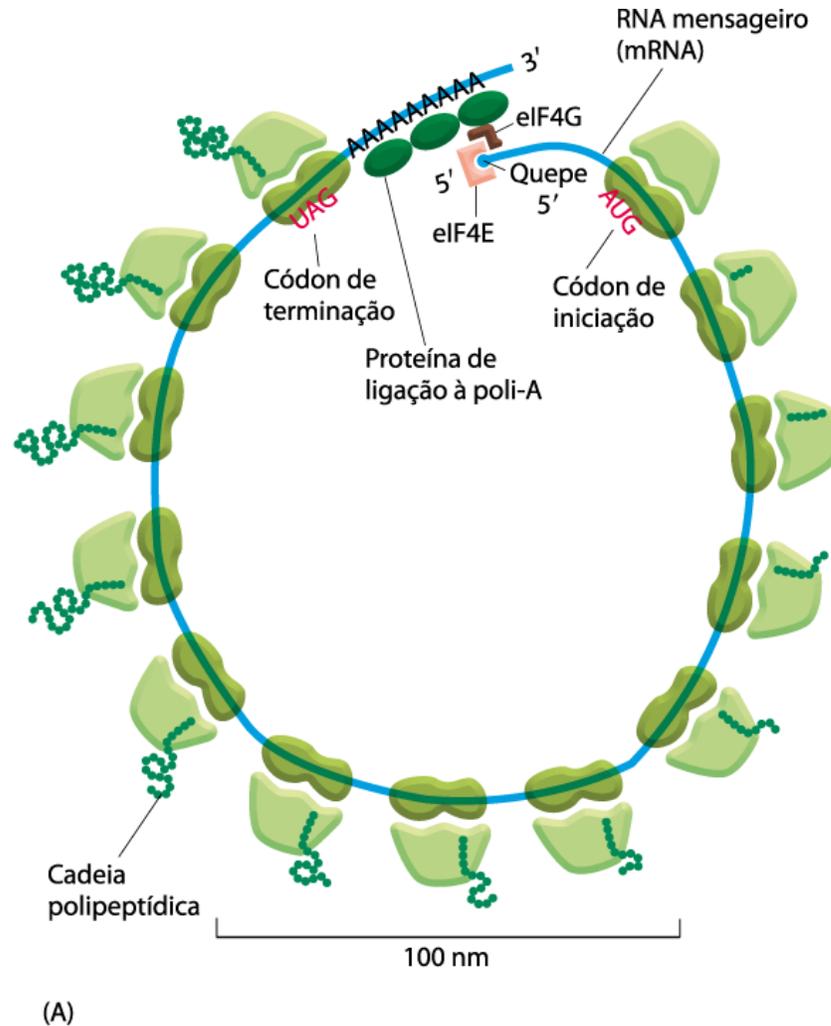
# Frequentemente, um único mensageiro é traduzido simultaneamente por vários ribossomos



**FIGURA 18-5 Polissomos.** (a) Os polissomos consistem em múltiplos ribossomos associados em um só mRNA. (b) Os polissomos de *E. coli* (circulados em vermelho) visíveis nesta micrografia eletrônica traduzem o mRNA (verde) conforme transcrito a partir do DNA (linha azul). O promotor está à esquerda. (c) Os polissomos podem ser separados em um gradiente de densidade em sacarose. O perfil do polissomo indica o conteúdo de RNA total na densidade aumentada de sacarose. Os resultados mostram que as subunidades 30S e 50S, bem como os ribossomos 70S, migram perto do topo do gradiente, enquanto os polissomos compreendendo dois ou mais ribossomos associados ao mRNA transcrito migram nas frações pesadas (mais densas) do gradiente. [Fonte: (b) L. O. Miller et al., *Science* 169:392-395, 1970.]

# Frequentemente, um único mensageiro é traduzido simultaneamente por vários ribossomos

Em eucariotos também!



**Figura 6-76 Um polirribossomo.** (A) Desenho esquemático mostrando como uma série de ribossomos pode traduzir simultaneamente a mesma molécula de mRNA eucariótico. (B) Microfotografia eletrônica de um polirribossomo de uma célula eucariótica. (B, cortesia de John Heuser.)

(B)

**Fim!!!**