



Universidade de São Paulo
Instituto de Química

QBQ0317 – 2020

Código Genético e Tradução

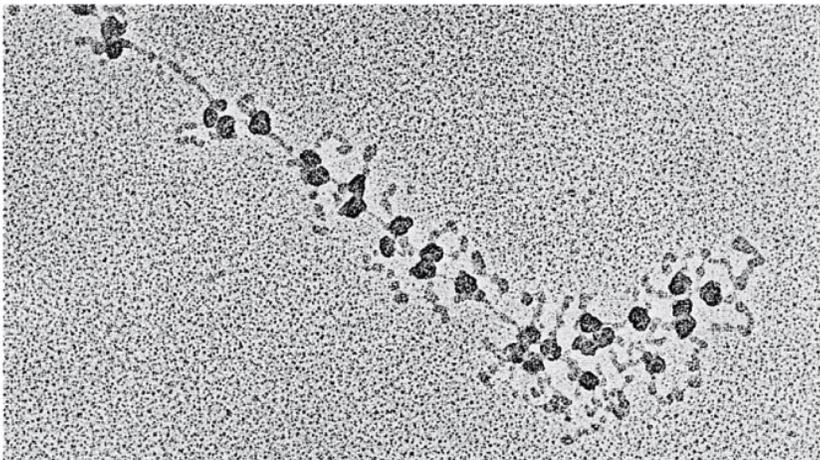
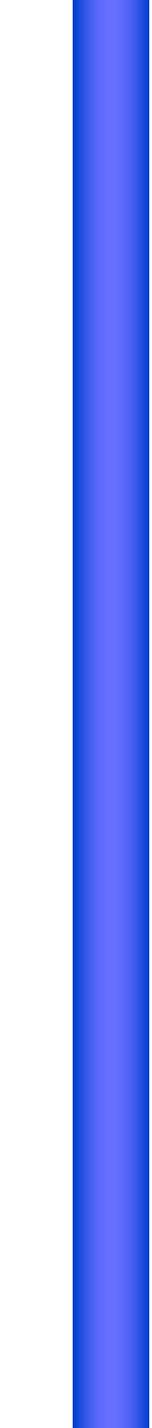


Figure 27-32
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

0.25 μm

Regina Baldini (baldini@iq.usp.br)



Como a informação para a síntese de proteínas está codificada no DNA?

Como as proteínas são montadas?

Tradução

- Acontece nos **ribossomos**, que são grandes complexos de proteína e rRNA

- citoplasma de eucariotos

- catalisam a formação da ligação peptídica

- **mRNA** contém a mensagem, que é “lida” pelos **aminoacil-tRNAs**

- a mensagem é lida em trincas:

- códon** no mRNA pareia com **anticódon** do tRNA

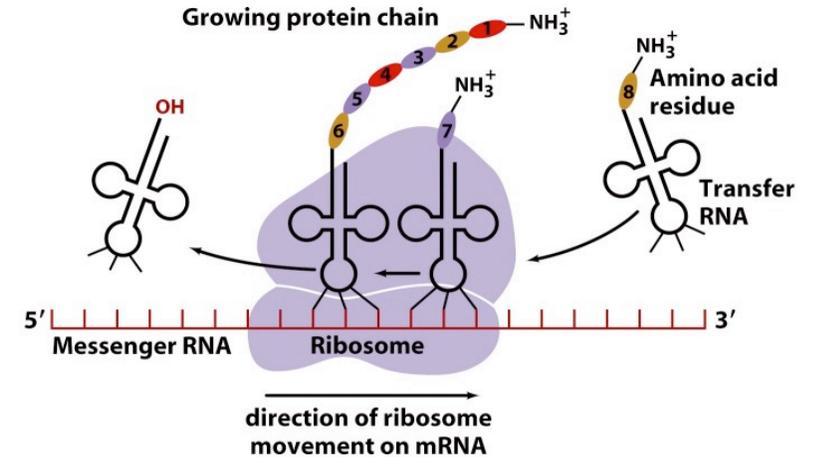
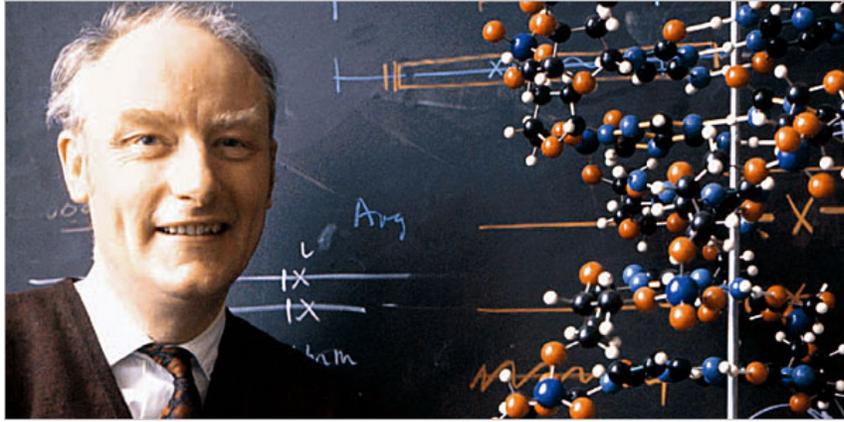


Figure 3-14 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

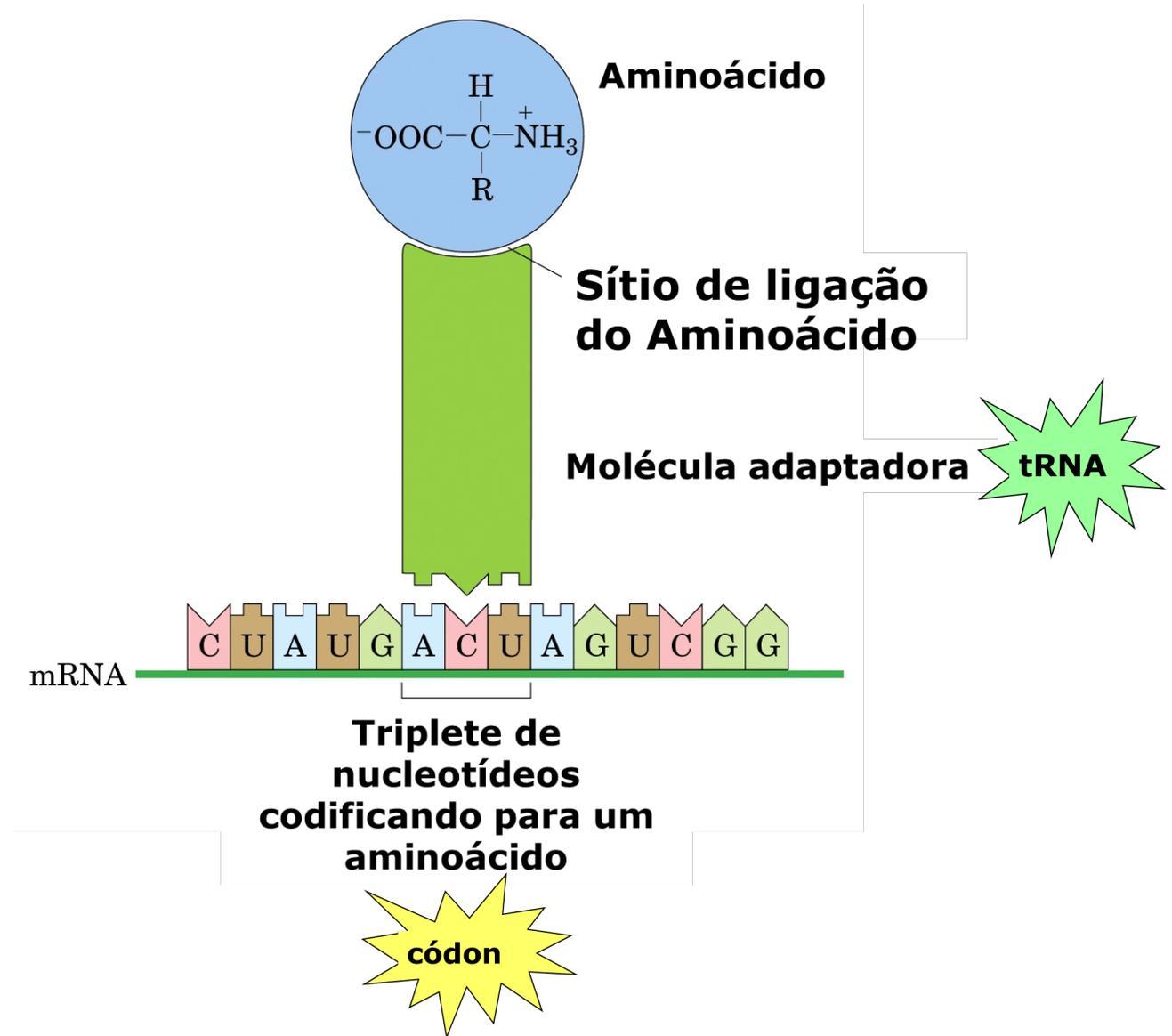
Código genético

- Relação entre a sequência de bases no DNA (e mRNA) e a sequência de aminoácidos na proteína
- “Dicionário” da informação genética

*Atenção para não usar “código genético”
como sinônimo de “genoma”!*



- Francis Crick sugeriu (1955)
 - que o código genético era lido em trincas
 - deveriam existir moléculas adaptadoras para interagir com os aminoácidos e o mRNA
- Código desvendado entre 1961 e 1966



Código Genético

O quebra-cabeças:

A, C, G, T



A, C, D, E, F, G, H, I, K, L, M, N, P, Q, R, S, T, V, W, Y

- Como um alfabeto de 4 letras no DNA se relaciona com um de 20 letras nas proteínas?
- Combinações de 4 bases definem 20 aminoácidos:

$$4^2 = 16 \text{ falta !}$$

$$\longrightarrow 4^3 = 64 \text{ sobra !}$$

2ª. Posição do códon

		U	C	A	G		
1ª. posição do códon	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU UCC Ser UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* stop UAG* stop	UGU Cys UGC UGA* stop UGG Trp	U C A G	
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	U C A G	
	A	AUU Ile AUC AUA AUG† Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G	
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GGA GGG	U C A G	

3ª. Posição do códon

Código Genético

- 20 aminoácidos
- 3 códons de terminação
- códon de início é sempre **AUG**
- Todos os 64 códons são utilizados
- Mais de um codon para a maioria dos aminoácidos

* Chain-terminating or “nonsense” codons.

† Also used in bacteria to specify the initiator formyl-Met-tRNA^{fMet}.

Código Genético

- Universal
 - Praticamente todos os organismos usam a mesma “tabela”
 - Exceção: mitocôndrias, algumas bactérias e ciliados
- Não-sobreposto
 - um códon lido de cada vez nas ORFs
- Degenerado
 - mais de um códon por aminoácido
- Não é aleatório
 - evolução determinou combinações mais vantajosas para evitar efeitos de mutações (*veja slides extras*)
- Terceira posição do códon menos específica

Fases abertas de leitura (ORF: *open reading frames*)

1



2



3



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

- Potencialmente, três fases para uma sequência qualquer, mas apenas uma é de fato traduzida
- ORF “real” deve ter um sinal (códon) de início e de término de tradução
- A leitura é contínua, não há “virgulas” entre os códons

2a. Posição do códon

Degeneração do Código Genético

1ª posição do codon

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

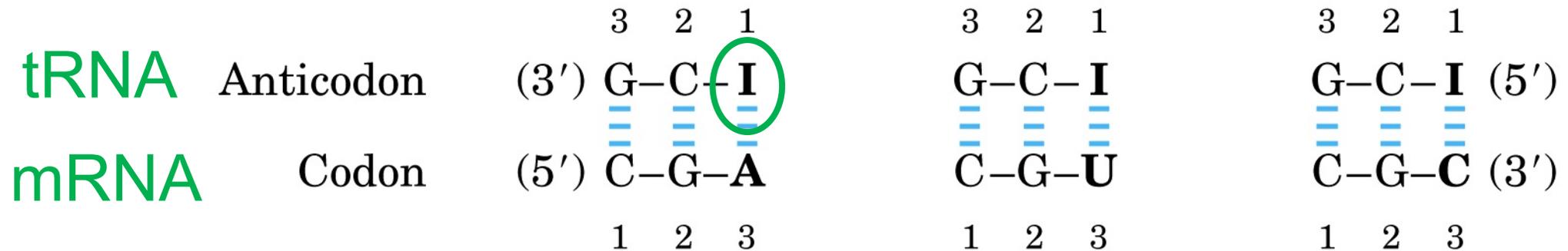
third position (3' end)

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

* Chain-terminating or "nonsense" codons.

† Also used in bacteria to specify the initiator formyl-Met-tRNA^{fMet}.

Pareamento oscilante da terceira base do códon (Wobble base-pairing)



- Alguns tRNAs têm bases modificadas, diferentes de A,G,C,U
- **I = inosinato** (nt); hipoxantina (base)
 - ligações de H mais “fracas” com A, U ou C
- Alguns anticódons podem parear com mais de um códon que codifica o mesmo aminoácido
- Permite rápido deslocamento do ribossomo
- Número menor de tRNAs que os 61 códons

Quem participa da tradução?

- mRNA
- Ribossomos
- Aminoacil-tRNAs
- Fatores de tradução
 - Proteínas com funções específicas em cada etapa do processo
- Fonte de energia: GTP

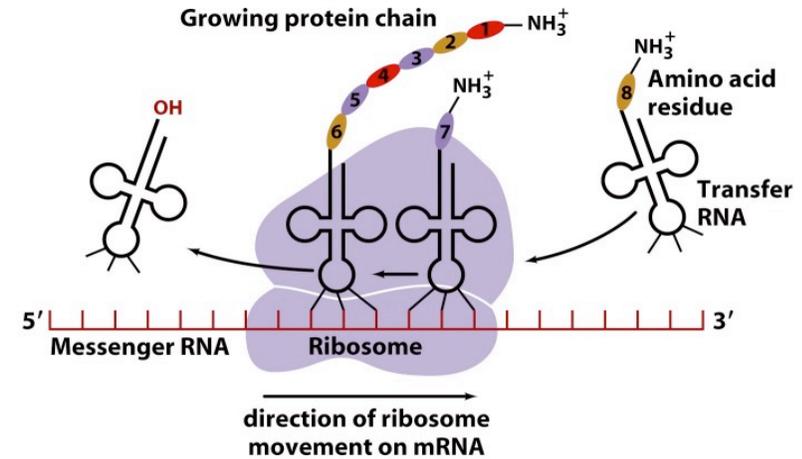
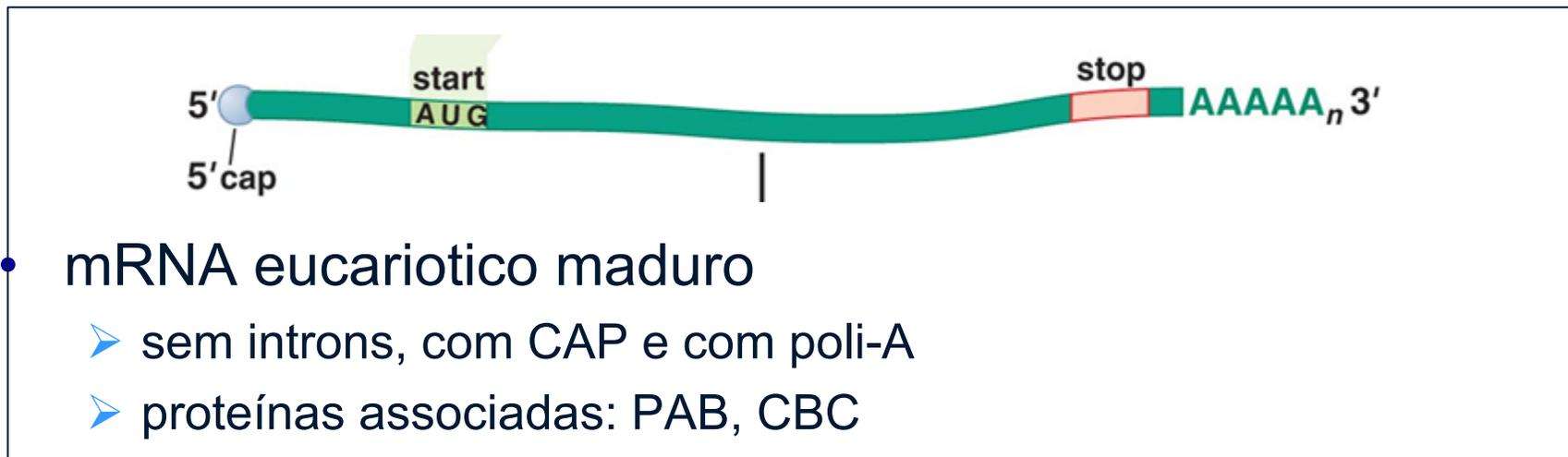
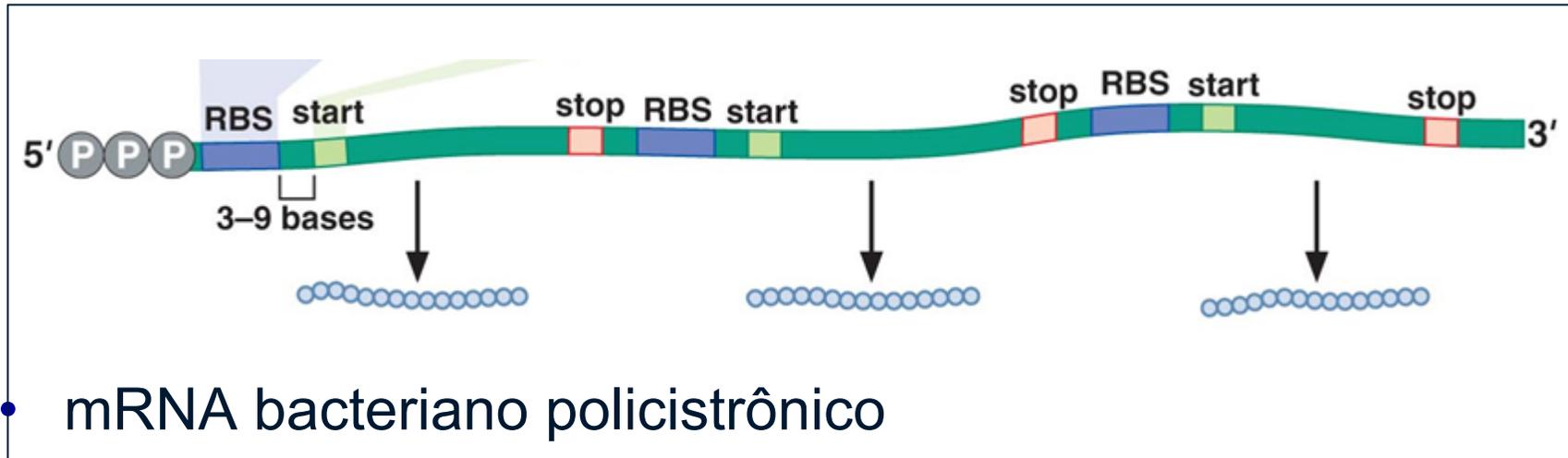


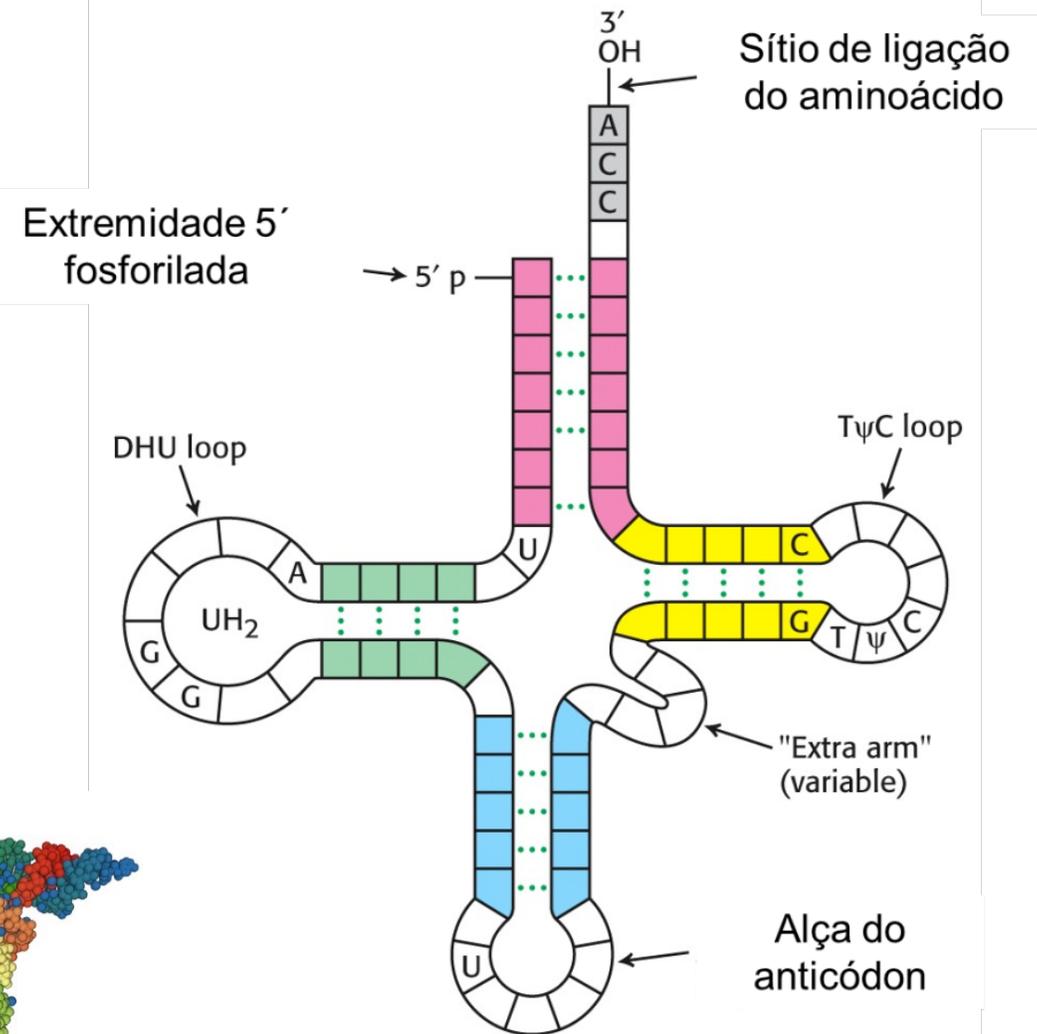
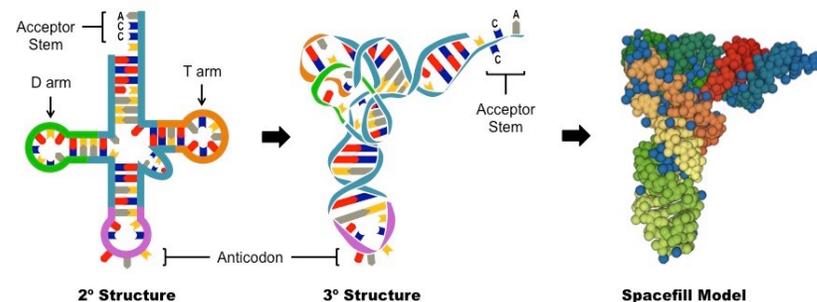
Figure 3-14 Fundamentals of Biochemistry, 2/e
© 2006 John Wiley & Sons

mRNA – RNA mensageiro



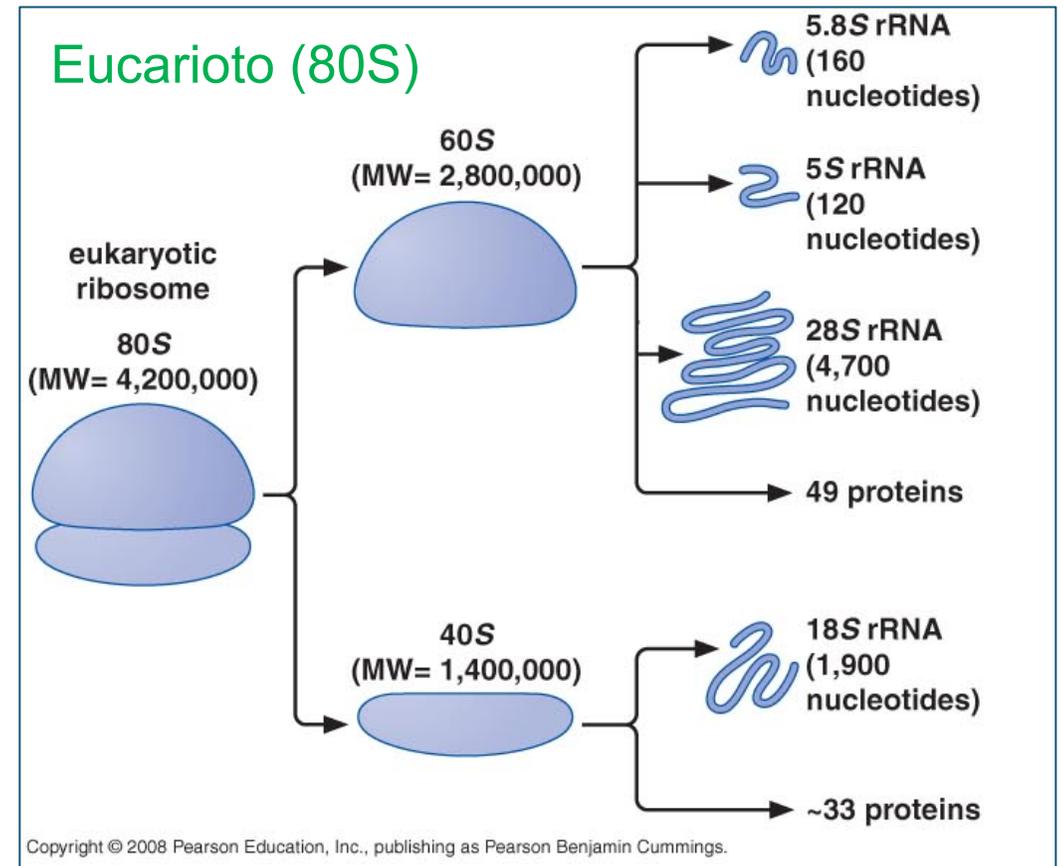
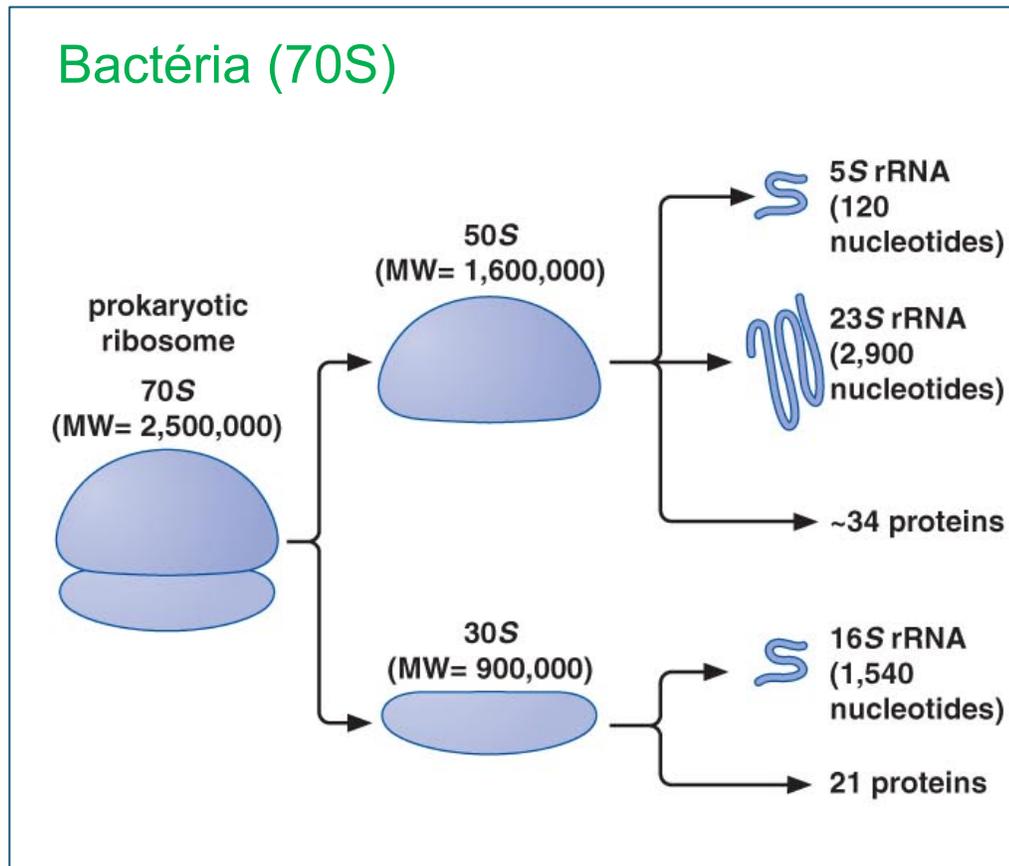
tRNA – RNA transportador

- Transporta aminoácidos para o ribossomo
- Estrutura secundária com grampos e alças, formando um trevo
- Bases modificadas após transcrição
- CCA no 3' - ligação do aa
- 70-100 nt



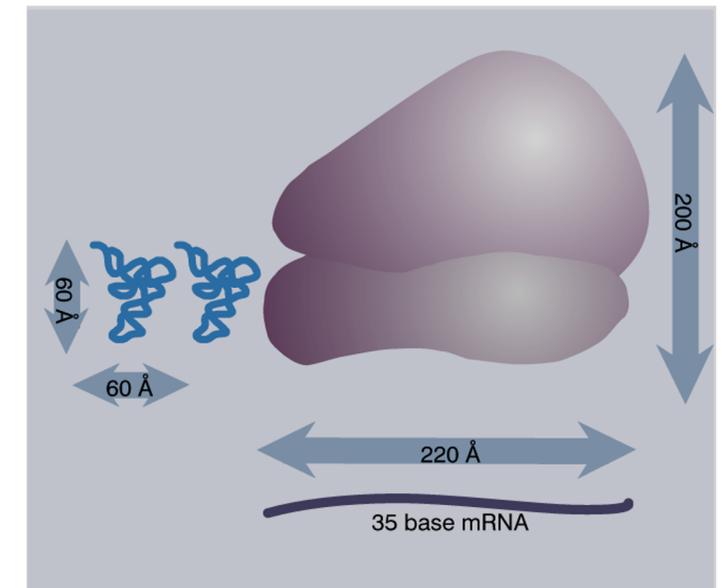
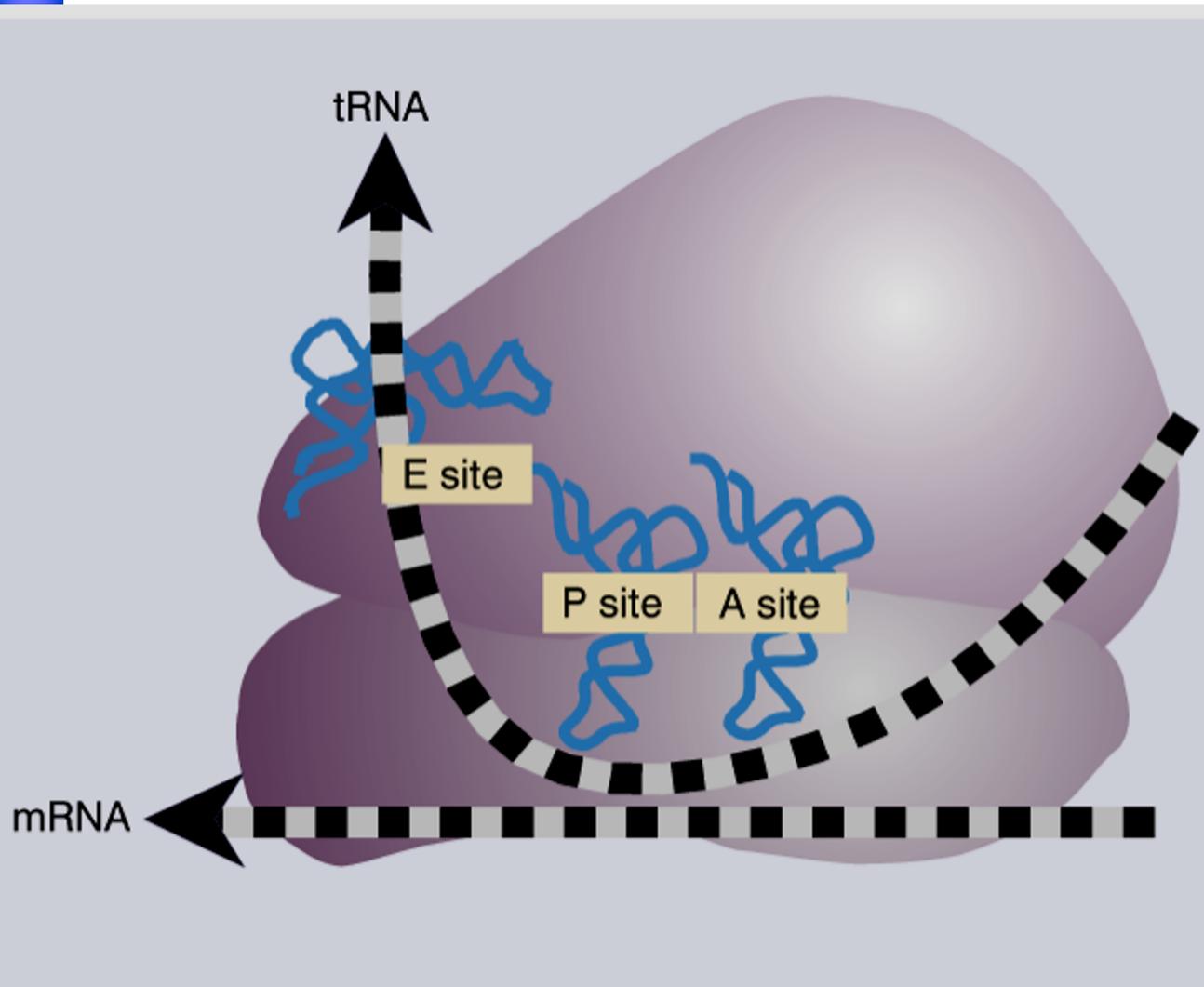
Ribossomos

- Constituído por RNAs e polipeptídeos
- Duas subunidades que só se reúnem durante a tradução



Ribossomos têm três sítios para a ligação de tRNA

- Sítio A: tRNA-*aa*
- Sítio P: tRNA-*peptídeo*
- Sítio E: saída (*exit*)



Etapas da síntese proteica

- Ativação do aminoácido
 - Ligação ao tRNA
- Tradução
 - Início
 - Elongação
 - Terminação
- Dobramento, processamento e modificação da proteína pós-tradução

A etapa de ativação é determinante na fidelidade da tradução

- O aminoácido presente no aminoacil-tRNA não tem papel no reconhecimento códon-anticódon
- O ribossomo não discrimina tRNAs carregados incorretamente
- Portanto, a especificidade das aminoacil-tRNA sintetases é crucial para que a tradução não tenha erros

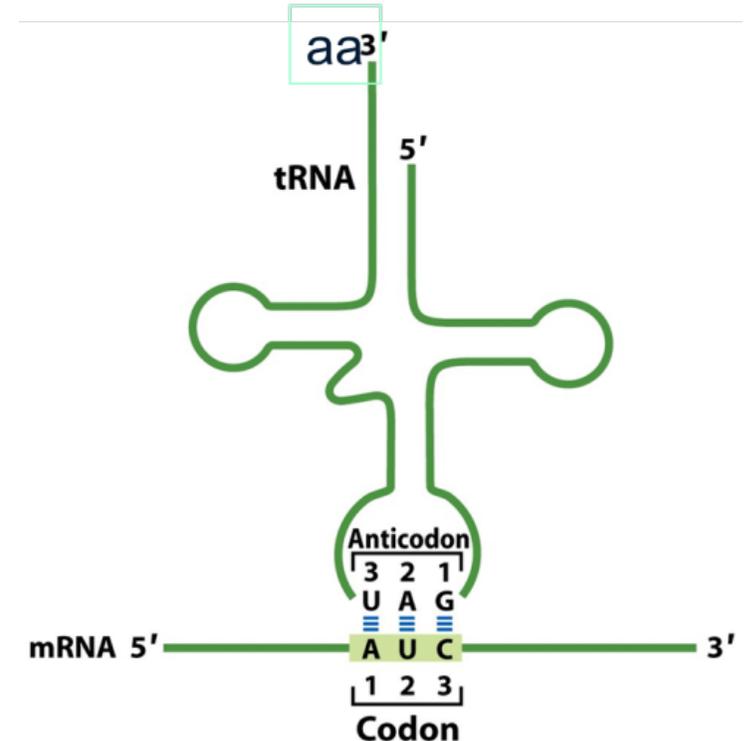


Figure 27-8a
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Etapas da tradução

- **Início**
 - ligação do mRNA e do tRNA iniciador ao ribossomo (códon AUG → Met ou fMet) e primeira ligação peptídica
- **Elongação**
 - da segunda à última ligação peptídica
- **Terminação**
 - liberação do peptídeo e dissociação do mRNA do ribossomo

Ribossomo “caminha” ao longo do mRNA

Tradução - Questões

- **Início**
 - como o códon iniciador (AUG) no mRNA é reconhecido?
- **Elongação**
 - como a ligação peptídica é feita?
- **Término**
 - como o peptídeo é liberado do ribossomo?

Que fatores proteicos são necessários em cada fase?

Como o ribossomo reconhece qual o códon AUG iniciador?

- Outros AUG podem estar ao longo de todo o mRNA
- A leitura deve começar na fase correta
- Início da tradução → diferenças entre bactérias e eucariotos

O ribossomo tem três sítios de ligação ao tRNA

- Sítio A

- entrada do aminoacil-tRNA

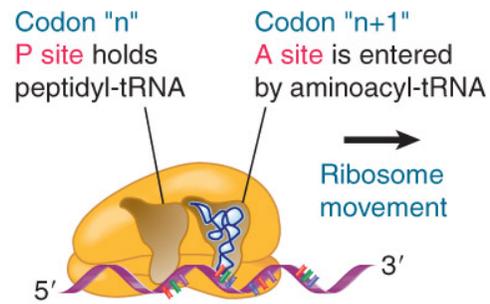
- Sítio P

- onde o peptidil-tRNA se liga (peptídeo nascente ligado ao tRNA)

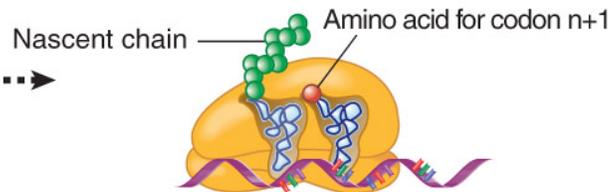
- Sítio E

- saída do tRNA descarregado (exit)

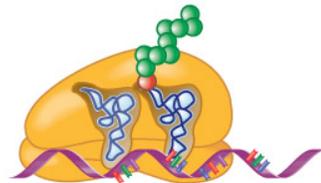
- Subunidade maior



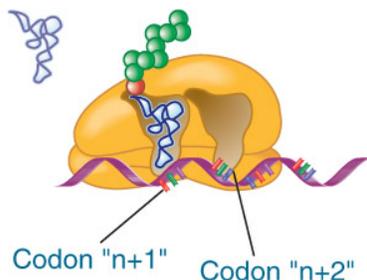
1 Before peptide bond formation peptidyl-tRNA occupies P site; aminoacyl-tRNA occupies A site



2 Peptide bond formation polypeptide is transferred from peptidyl-tRNA in P site to aminoacyl-tRNA in A site

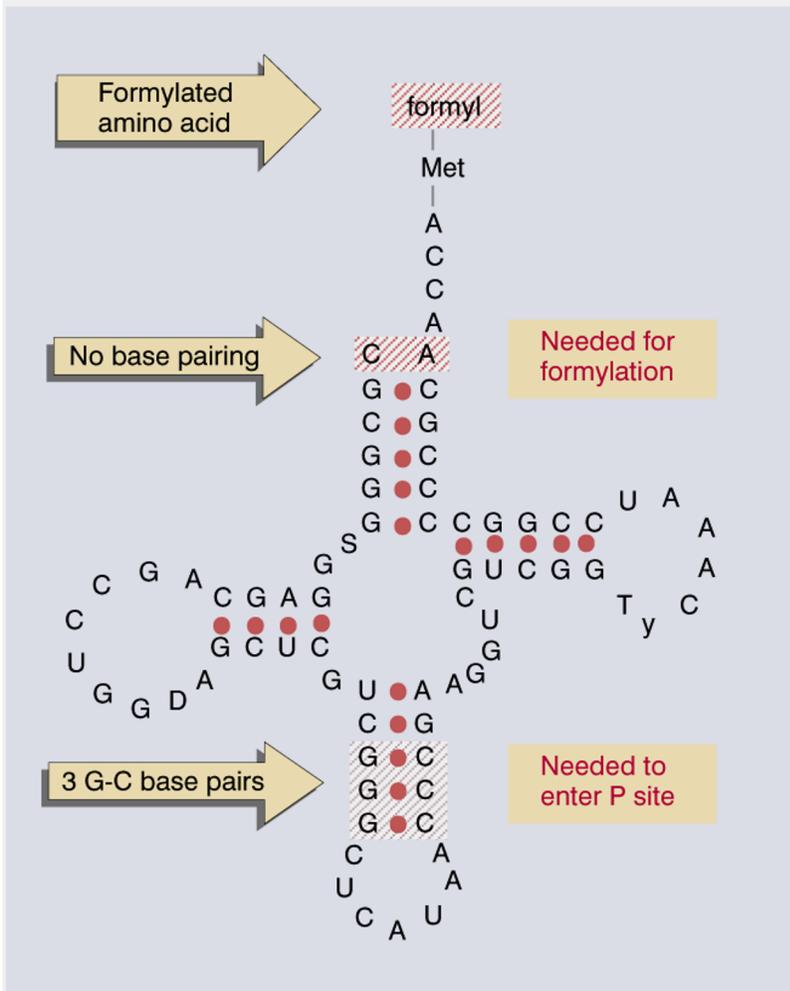


3 Translocation moves ribosome one codon; places peptidyl-tRNA in P site; deacylated tRNA leaves via E site; A site is empty for next aa-tRNA

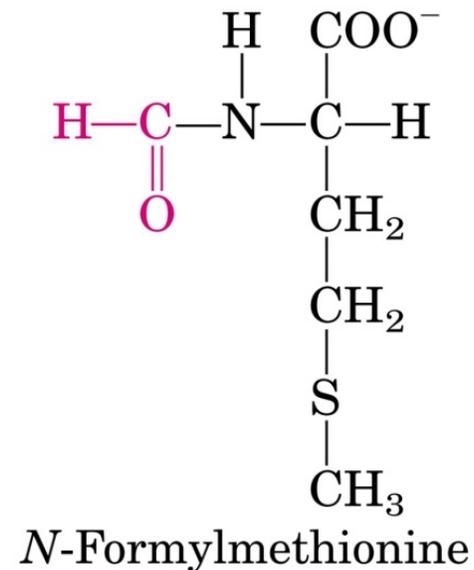


Em bactérias, o primeiro aa a ser adicionado é sempre N-formil-Met

Figure 6.11 fMet-tRNA_f has unique features that distinguish it as the initiator tRNA.



- **fMet-tRNA** tem características únicas que o distinguem como tRNA iniciador
- só ele pode se ligar ao sítio P no início



Início da tradução - bactérias

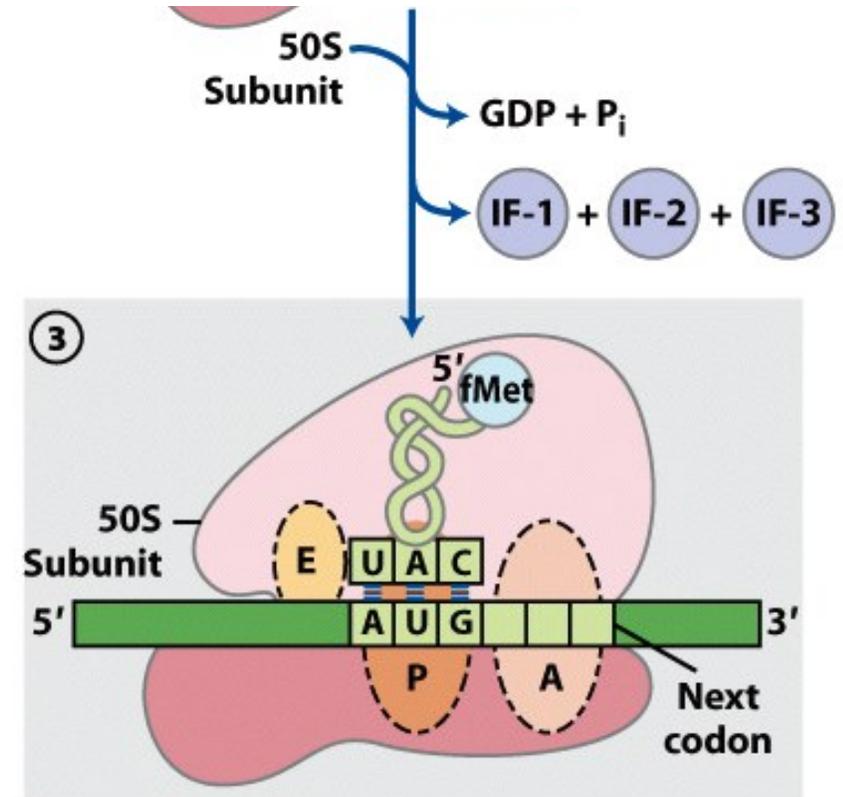
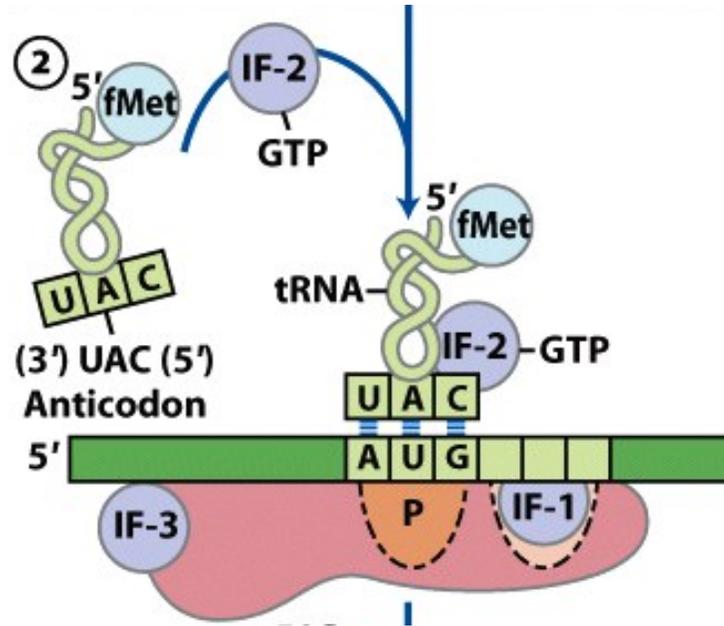
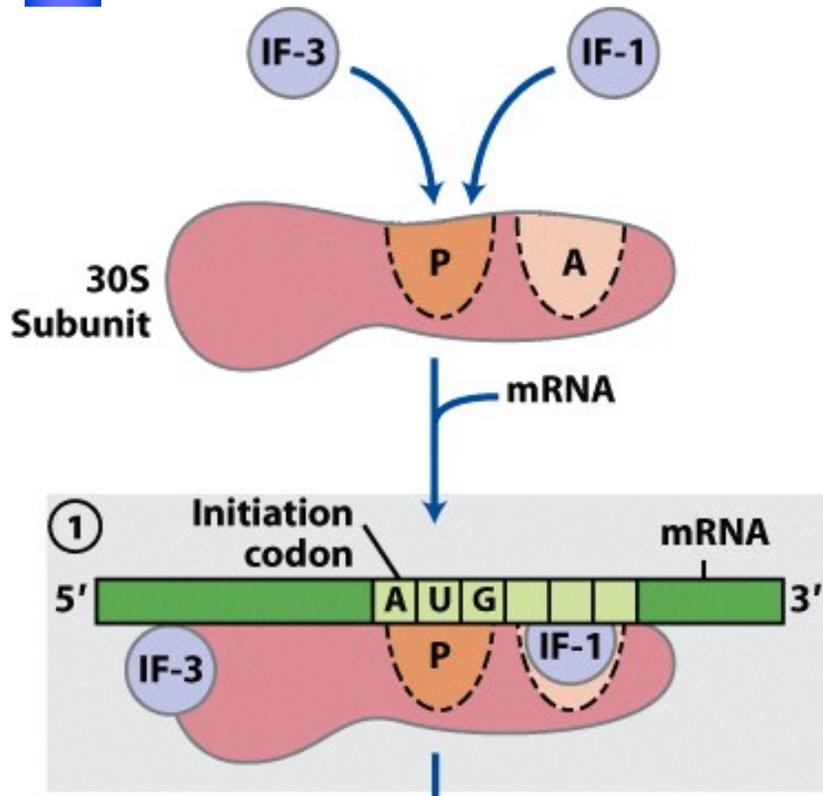
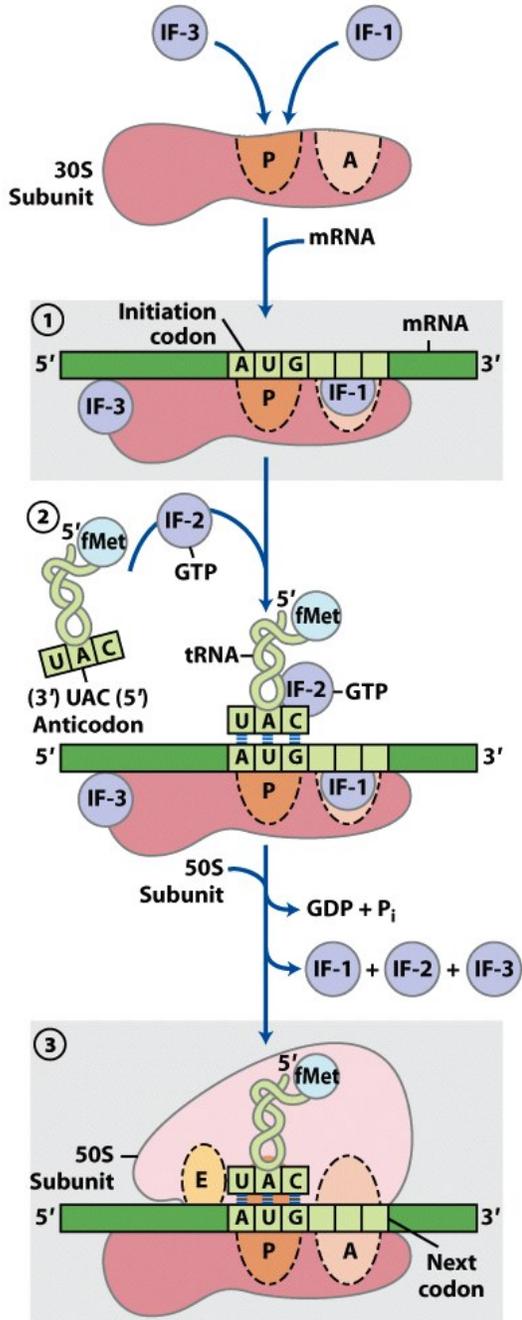


Figure 27-25

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

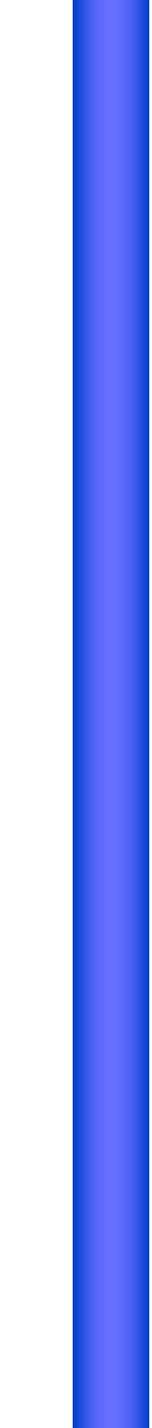
© 2008 W. H. Freeman and Company



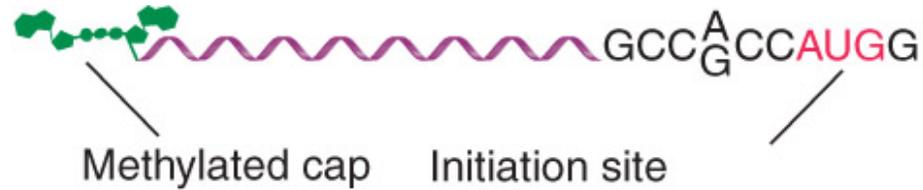
Início da tradução - bactérias

- Ribossomo dissociado
- Subunidade menor ligada a IF-3 e IF-1 e ao mRNA
 - **AUG inicial no sítio P parcial**
- Ligação de IF-2-GTP e fMet-tRNA
- Fatores de iniciação se ligam a subunidade menor do ribossomo
- IFs liberados, hidrólise de GTP e subunidade maior se une

IF = fator de início



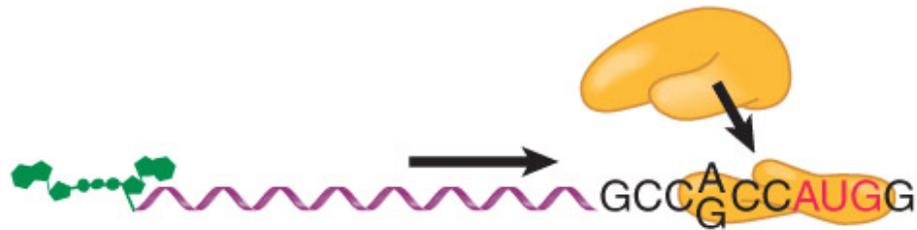
Início em eucariotos



1 Small subunit binds to methylated cap



2 Small subunit migrates to initiation site



3 If leader is long, subunits may form queue



Subunidade menor dos ribossomos de eucariotos reconhece o 5'CAP e se desloca até encontrar o sítio de início

mRNA eucarioto associado a proteínas

mRNA eucarioto se circulariza pela interação entre proteínas e ribossomo

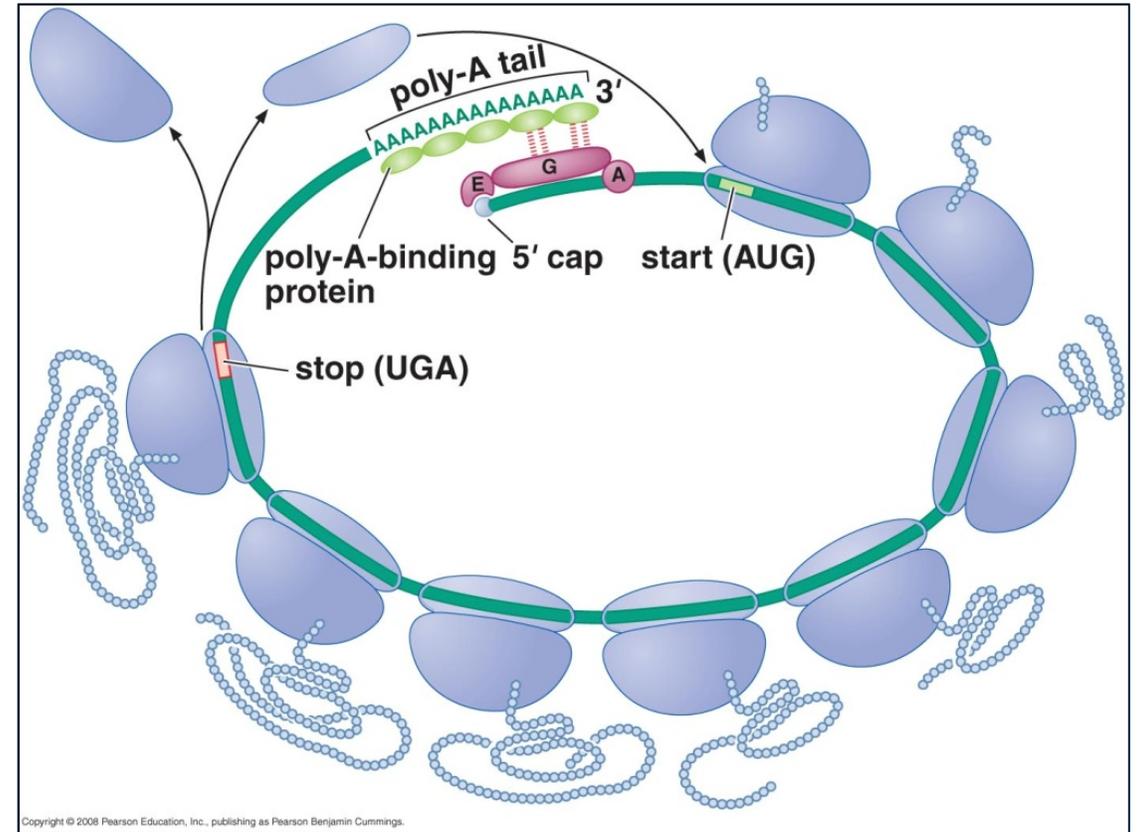
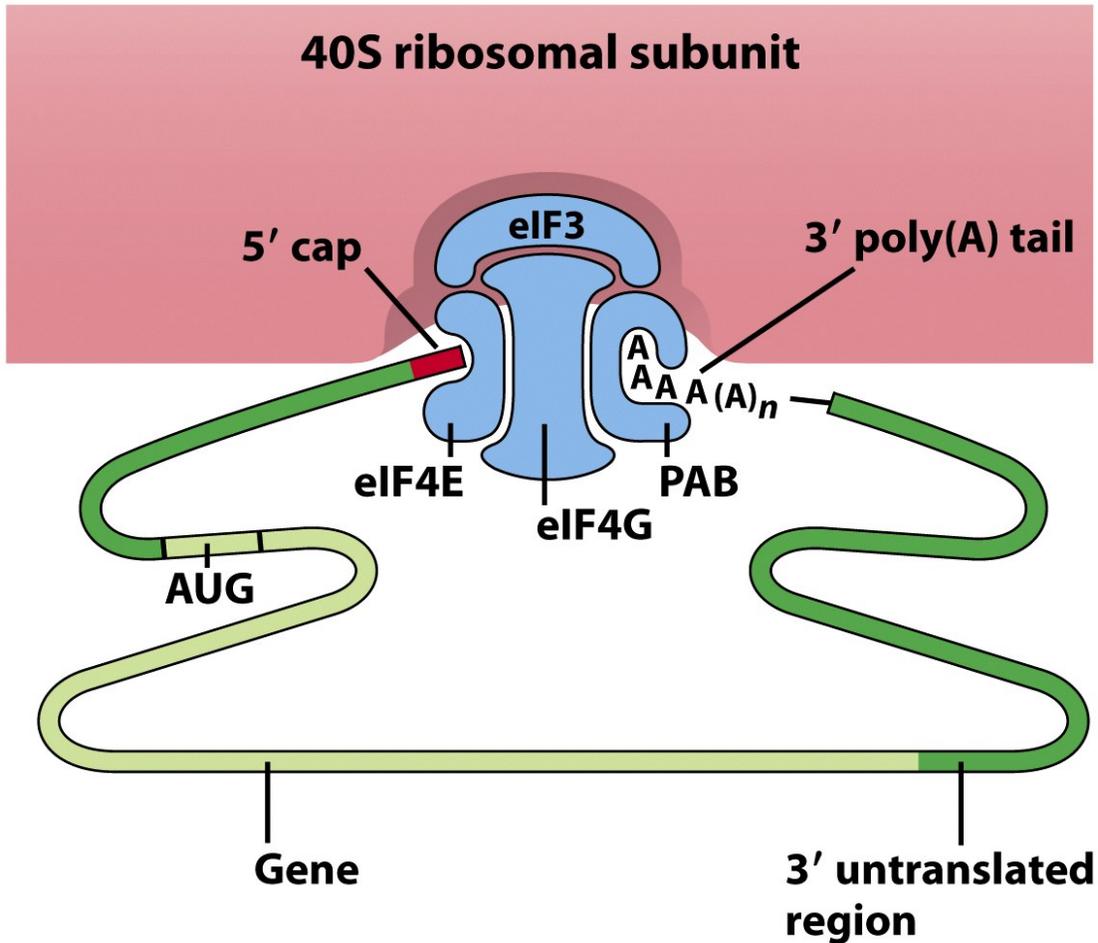
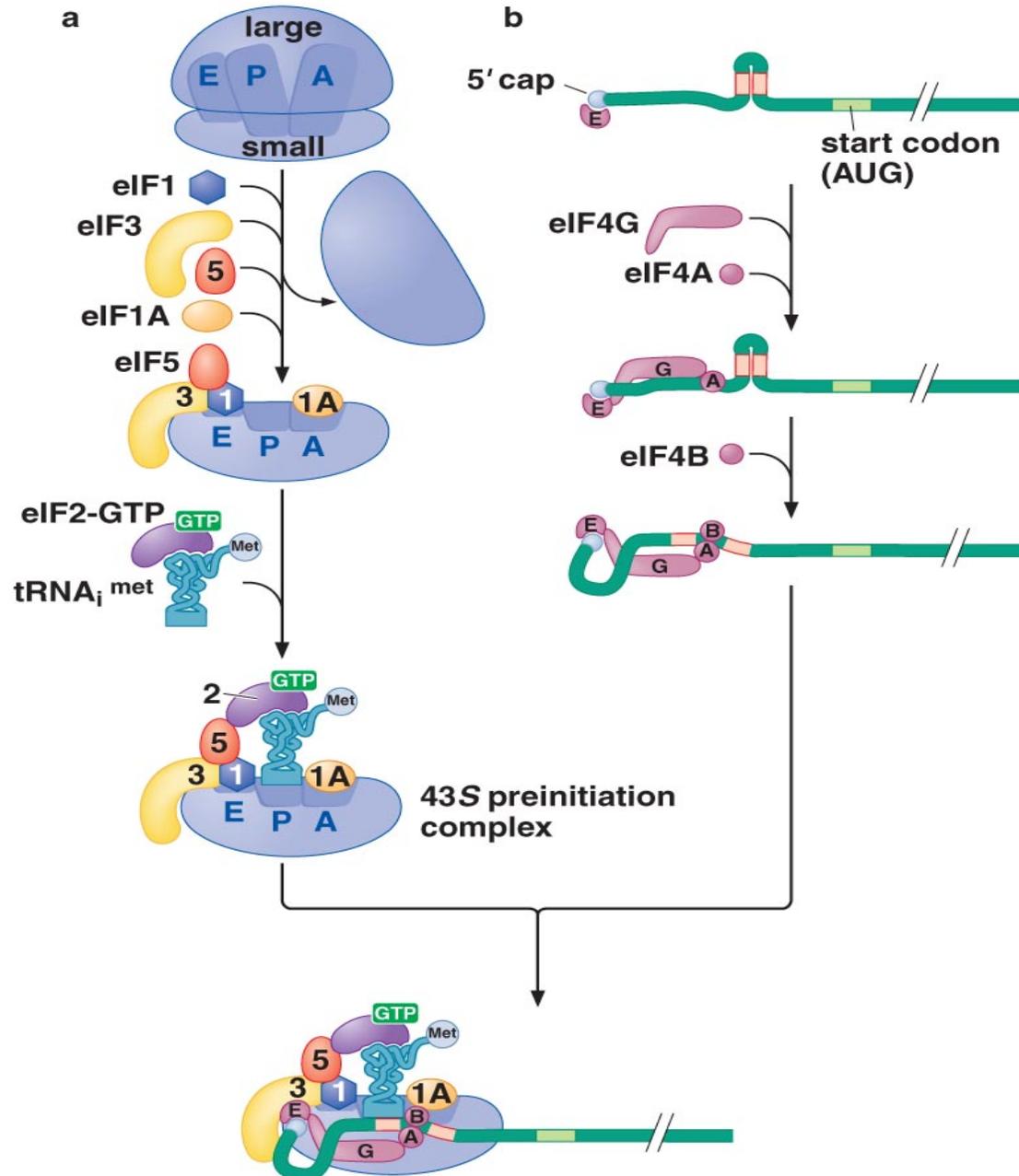


Figure 27-27
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Cauda poli-A e regiões UTR tem papel na regulação da tradução

Fatores de início em eucariotos - eIF



- Complexidade maior que em bactérias
- Primeiro met-tRNA se liga ao sítio P
- Ribossomo se forma após a ligação do mRNA

Voltando para as bactérias...

- Elongação e terminação em bactérias e eucariotos seguem os mesmos princípios
- Fatores proteicos diferentes e maior complexidade em eucariotos

Elongação em bactérias - 1º passo

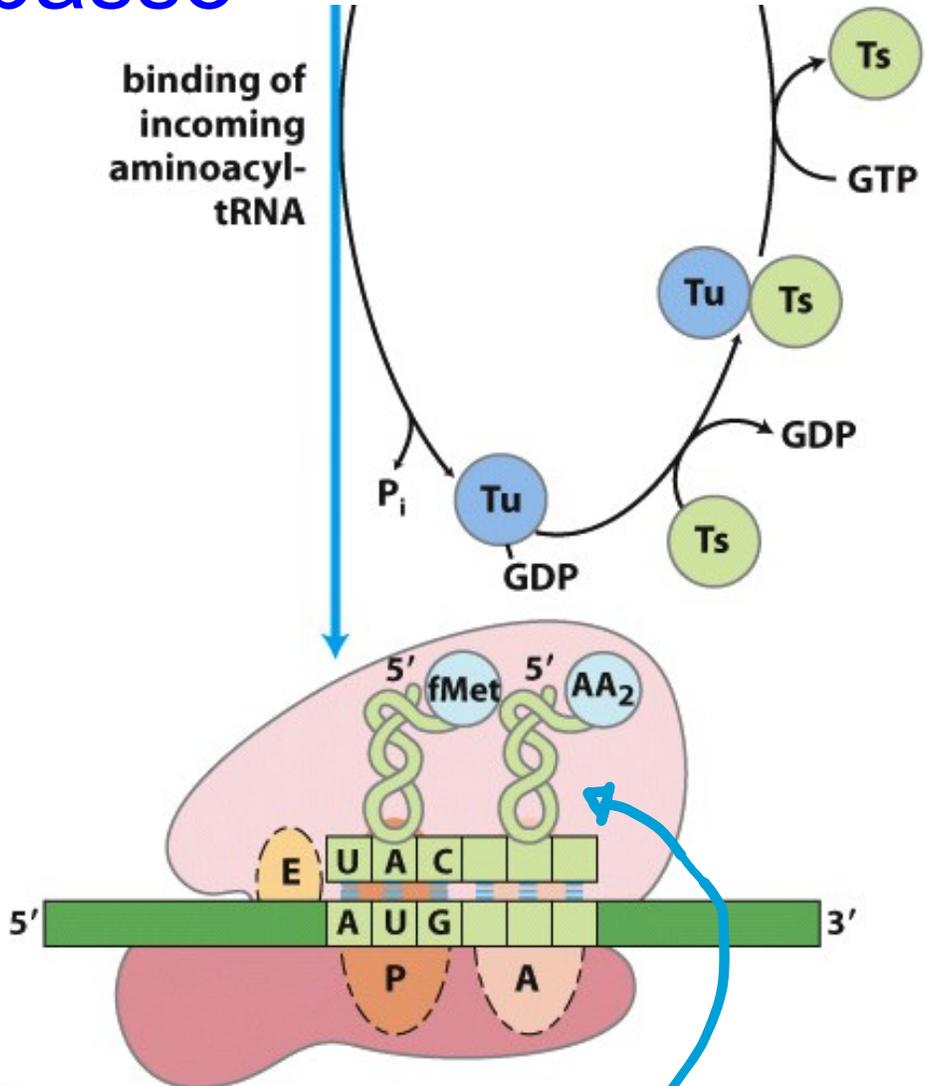
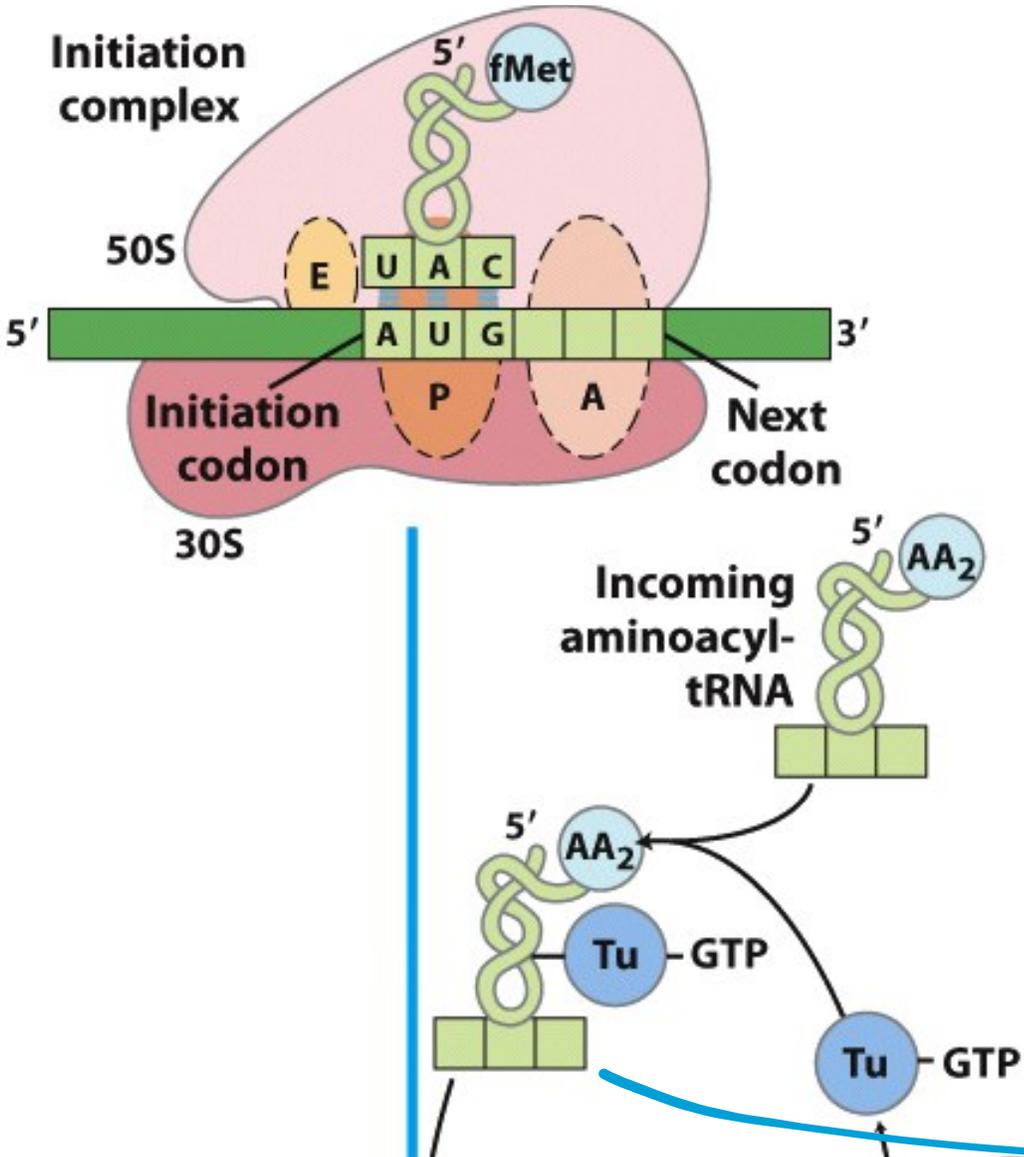


Figure 27-28
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
 © 2008 W.H. Freeman and Company

Elongação em bactérias

1º passo

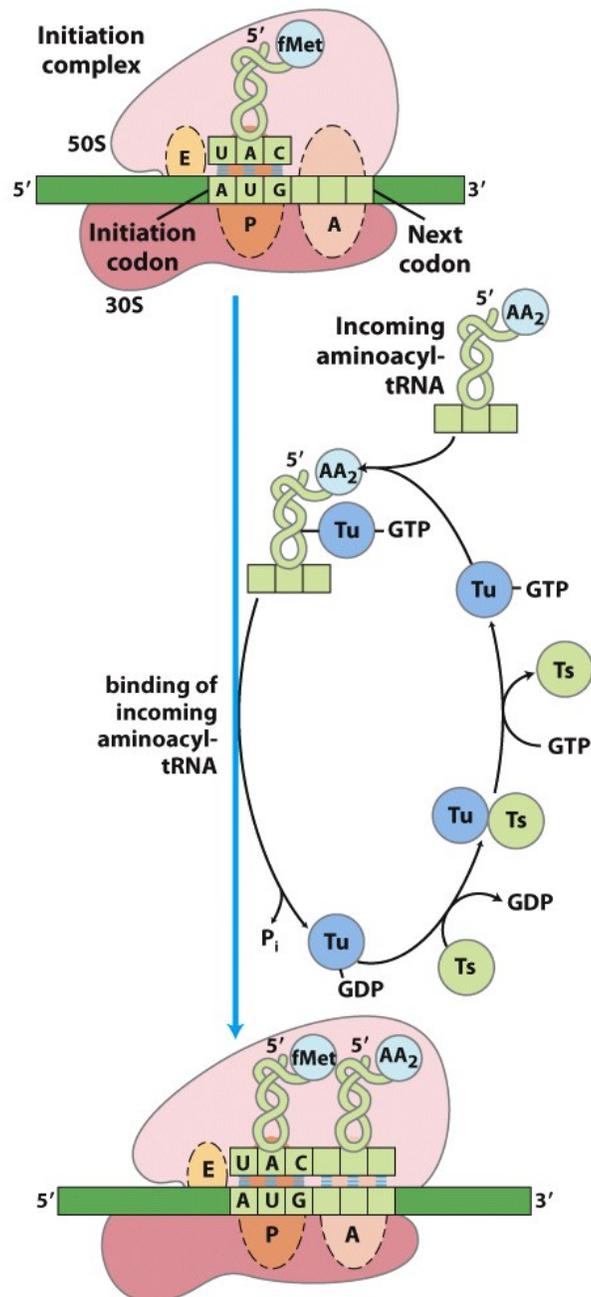


Figure 27-28
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

- fMet-tRNA no sítio P
- Segundo aa-tRNA
 - ligado a EF-Tu-GTP
 - Entra no sítio A
 - Hidrólise de GTP
- EF-Ts religa EF-Tu a GTP

EF = fator de alongação

Elongação em bactérias - 2º passo

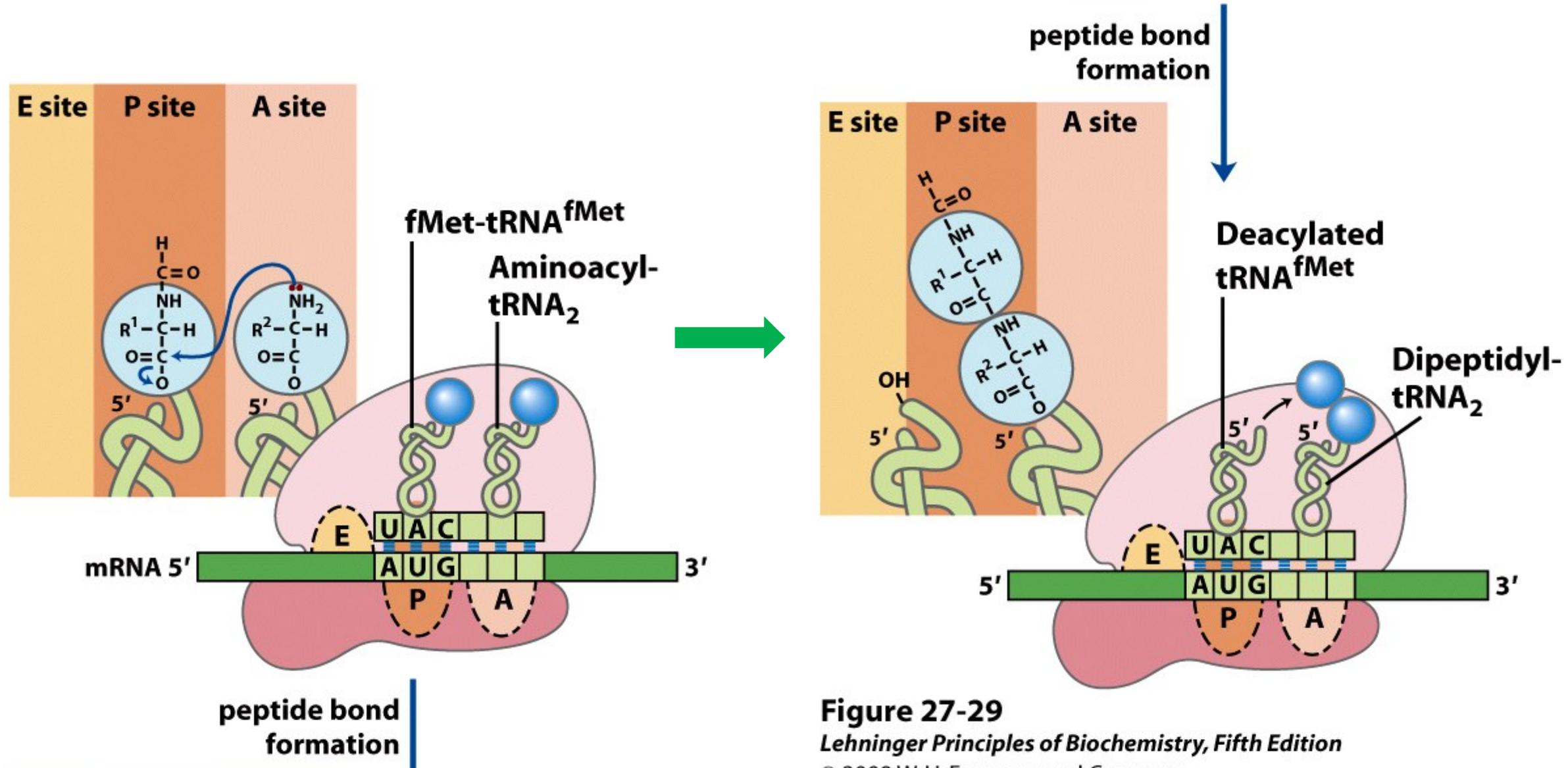


Figure 27-29

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Elongação em bactérias

2º passo

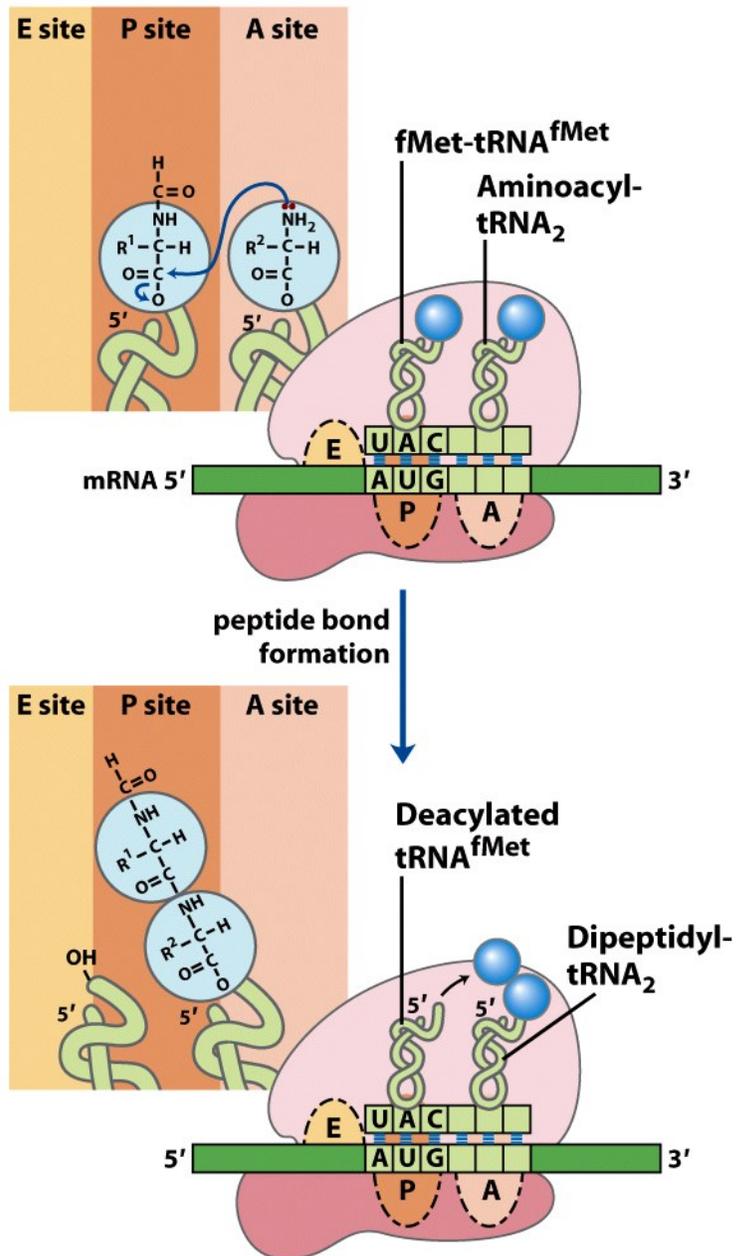


Figure 27-29
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

- **Ligação peptídica**

- fMet é transferida para o NH_2 do aa2
- **Catalisada pelo 23S rRNA**

- tRNA iniciador sem fMet fica no sítio P

- tRNA₂-aa₂-fMet no sítio A

EF = fator de elongação

Elongação em bactérias - 3º passo

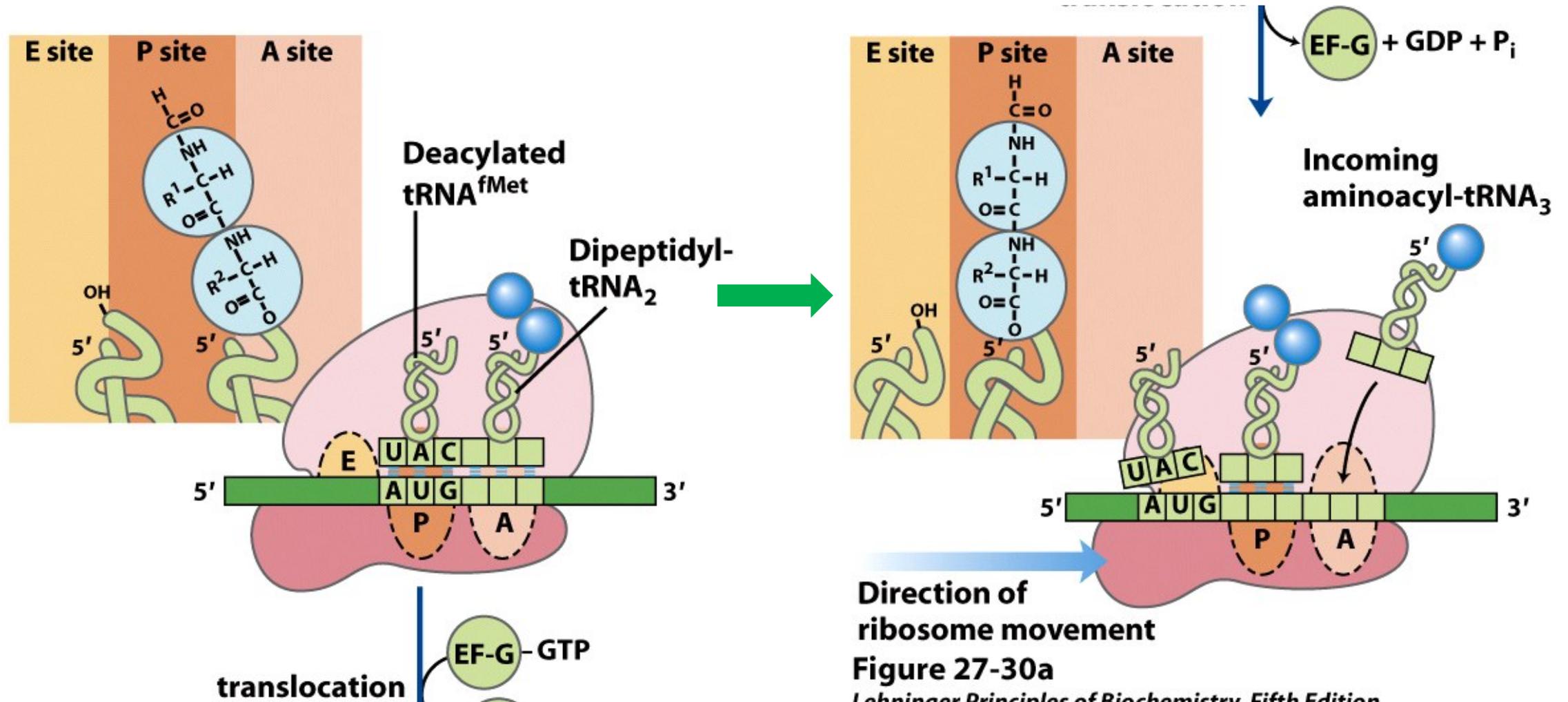


Figure 27-30a

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

Elongação em bactérias

3º passo

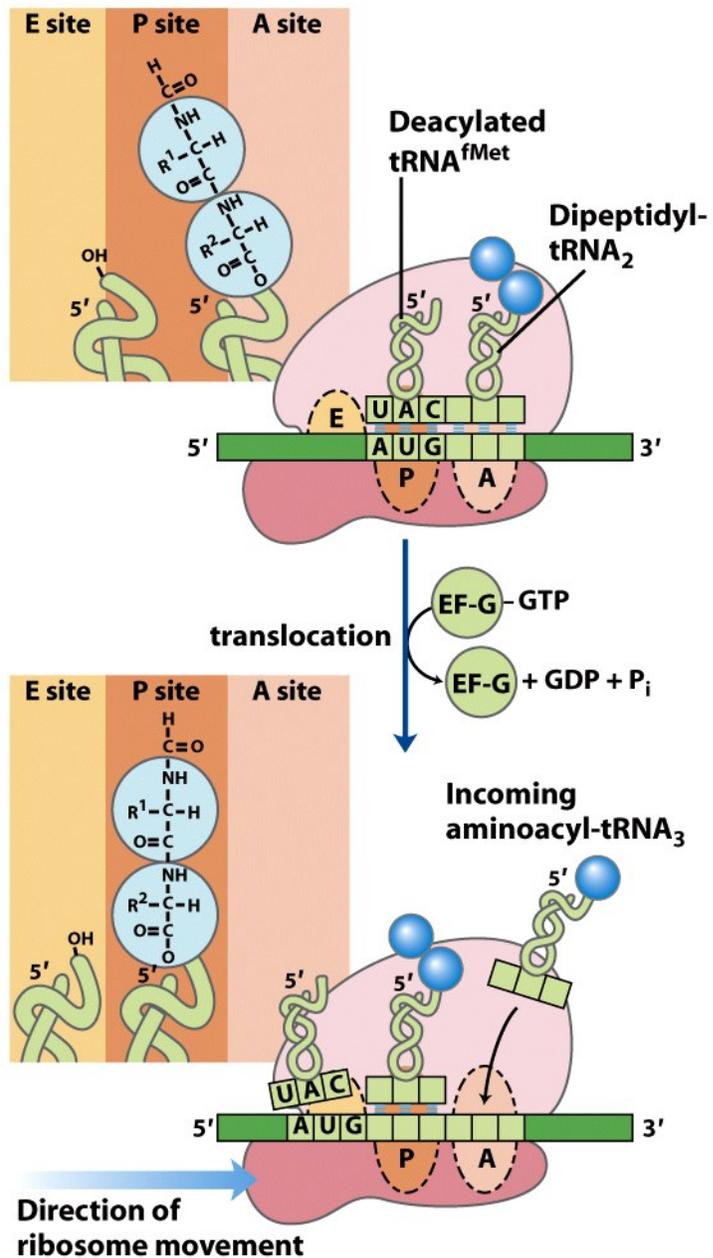


Figure 27-30a

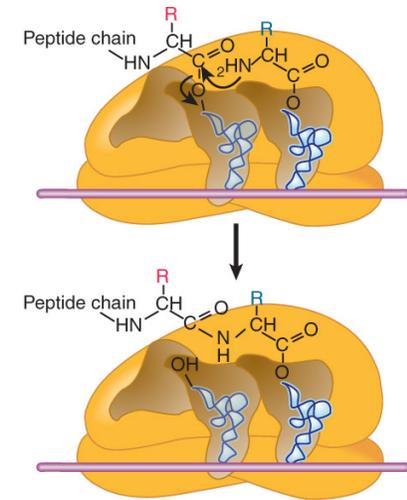
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

- **Translocação:** Ribossomo se move
 - EF-G- GTP se liga e hidrolisa GTP
 - tRNA iniciador sem fMet passa para o sítio E e sai do ribossomo
 - tRNA2-aa2-fMet passa para o sítio P
- Um novo aa-tRNA liga no sítio A
- *Ciclo se repete...*

Resumos - Elongação em bactérias

- mRNA se mantém ligado ao ribossomo
- Ligação peptídica catalisada por rRNA
 - 23S rRNA é uma peptidil transferase



- A cada ciclo, ribossomo se move 1 códon no mRNA
- aa-tRNA entra no sítio A, liga o polipeptídeo nascente, passa para o sítio P e depois para o E, quando descarregado
- Gasto de 2 GTP por aa adicionado
- EF-Tu, EF-G e EF-Ts

Terminação em bactérias

- stop codons
 - UAA (**ochre**)
 - UGA (**opal**)
 - UAG (**amber**)
- Reconhecidos por fatores de liberação que se ligam no sítio A
- RF = *release factor*
- Não tem tRNA correspondente
- Mesmos para eucariotos

Terminação em bactérias

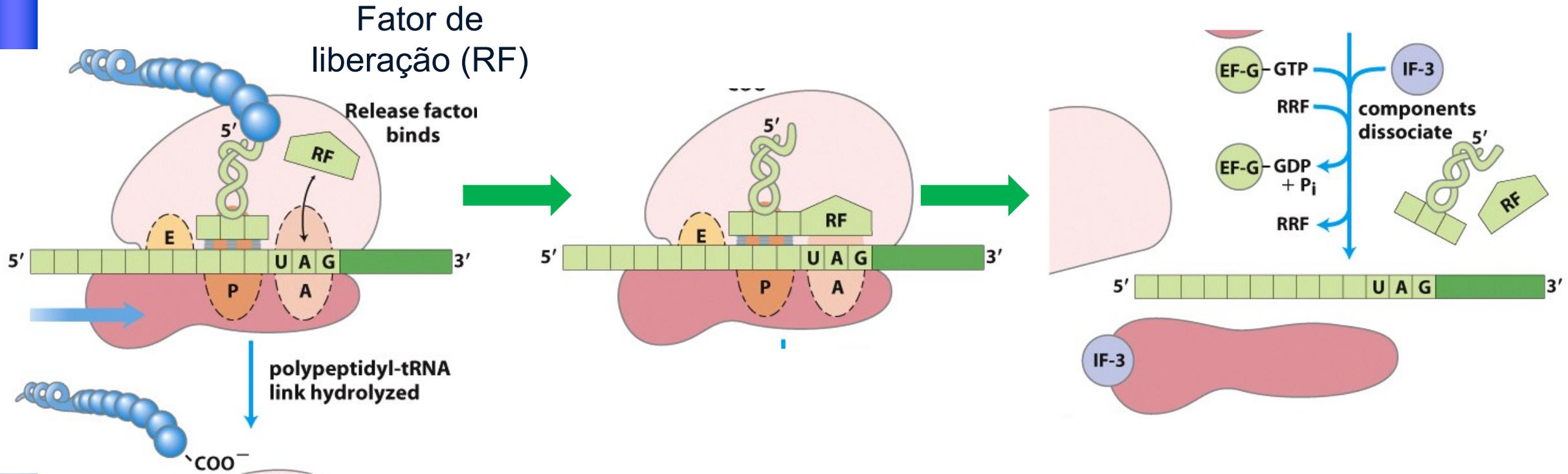


Figure 27-31
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Terminação em bactérias

- Fatores de liberação (RF) se ligam ao sítio A quando um códon de parada está presente
- Ligação entre polipeptídeo e tRNA é quebrada
- Ribossomo é translocado
- Complexo desfeito

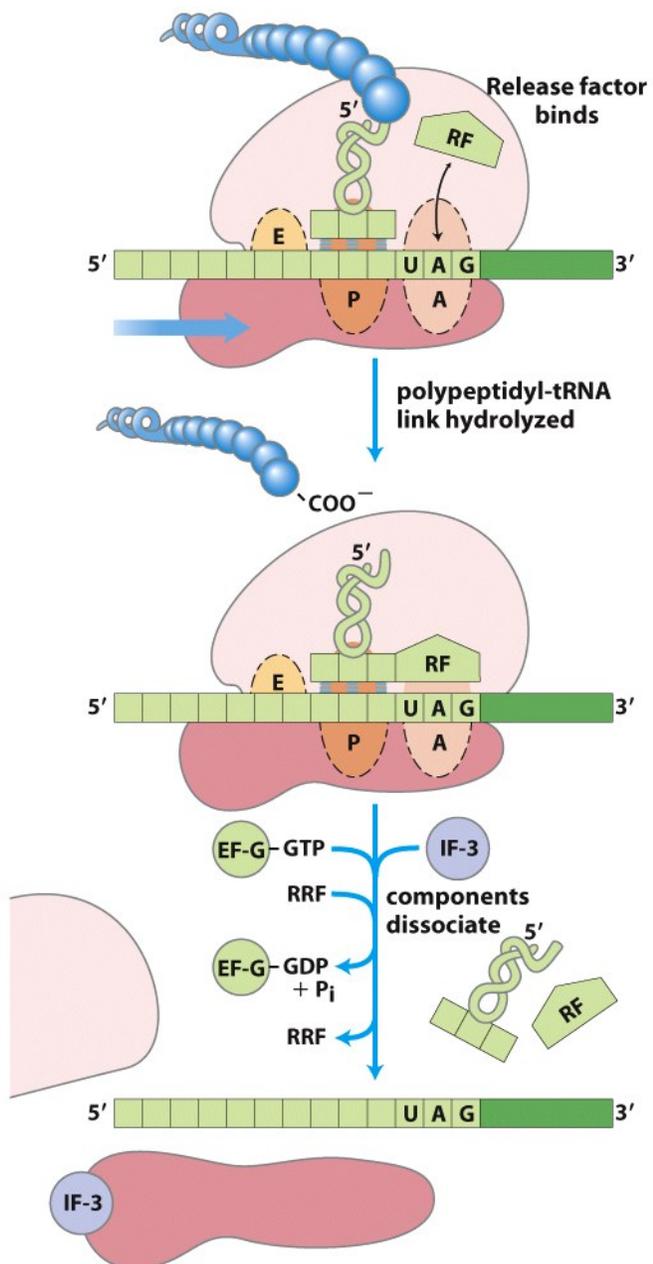
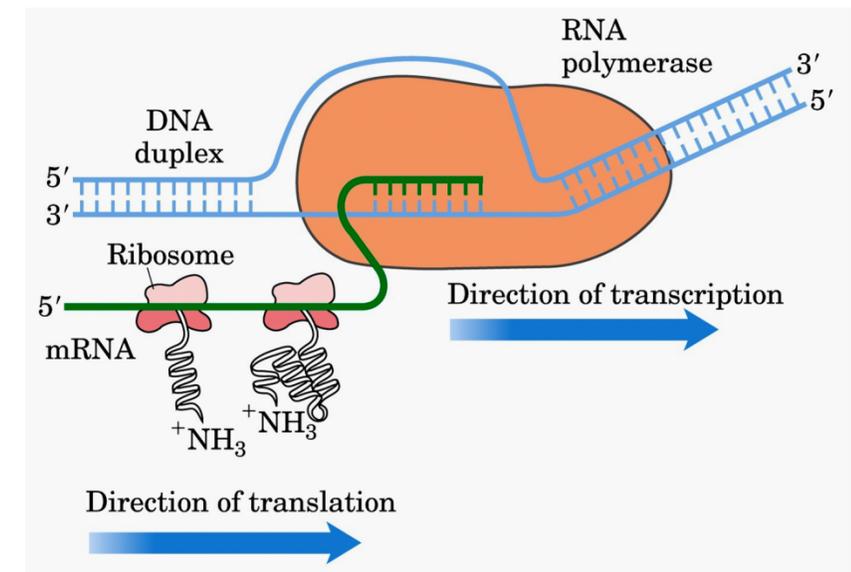
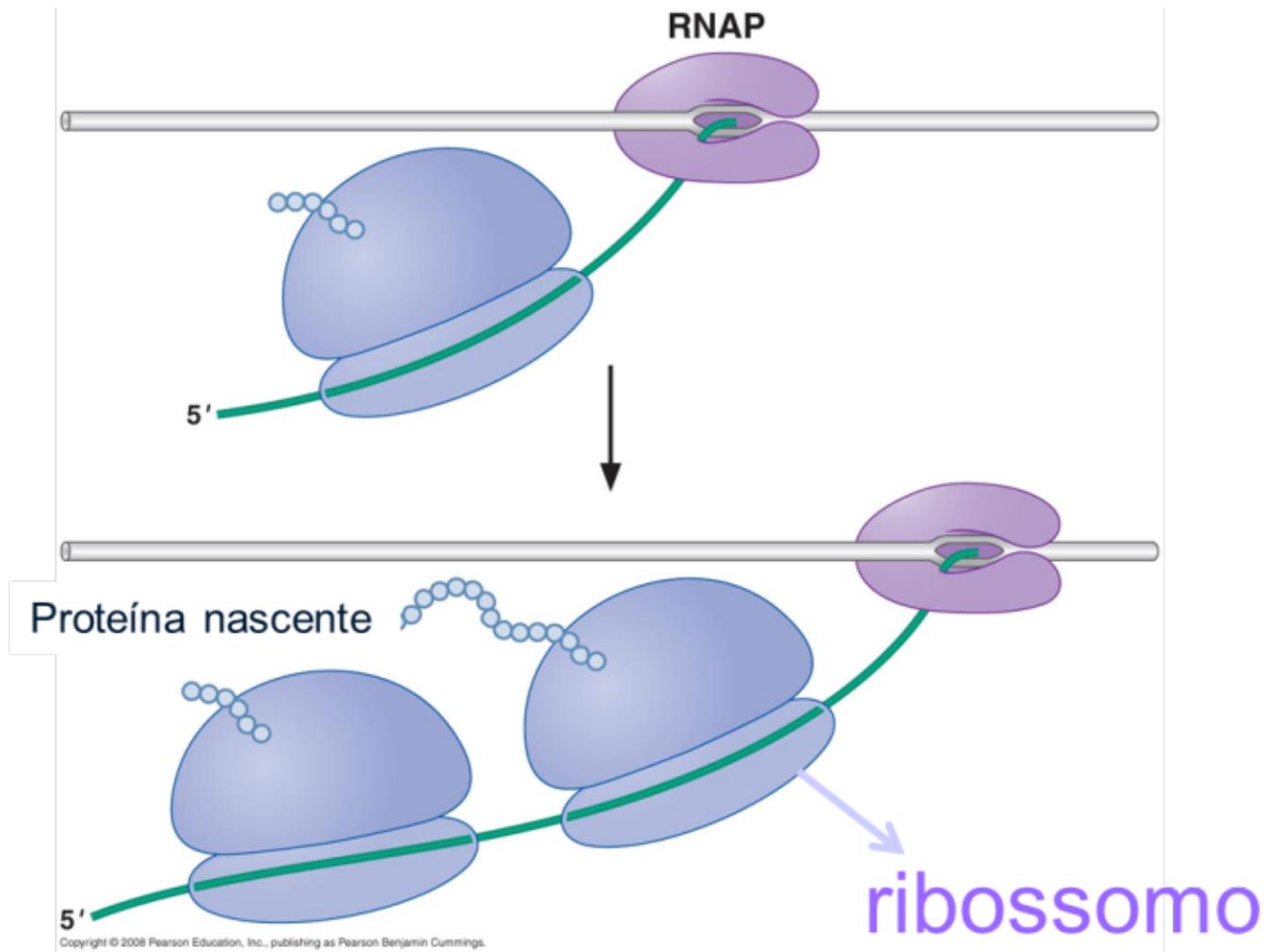
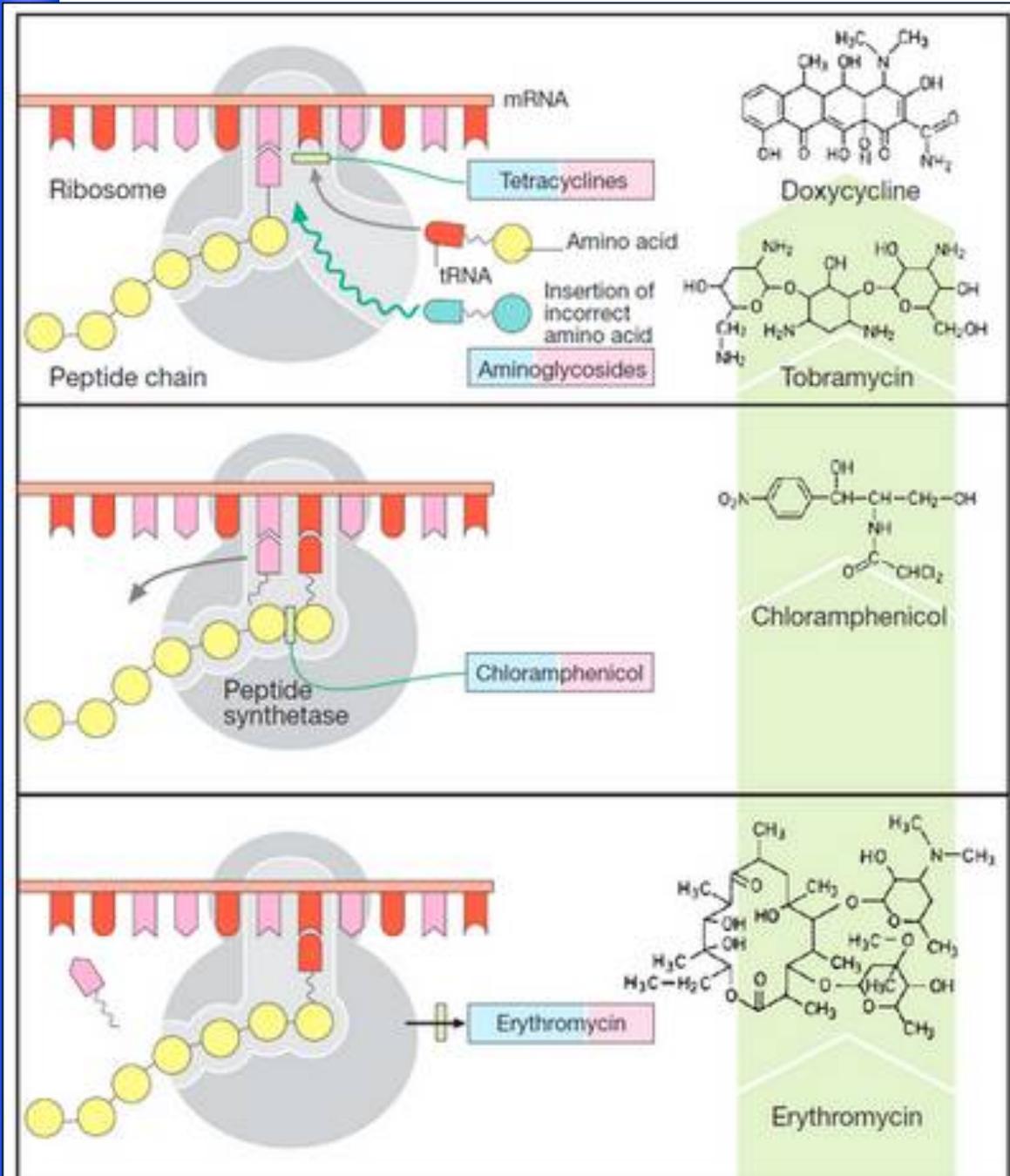


Figure 27-31
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Bactérias: transcrição e tradução simultâneas (Acoplamento)

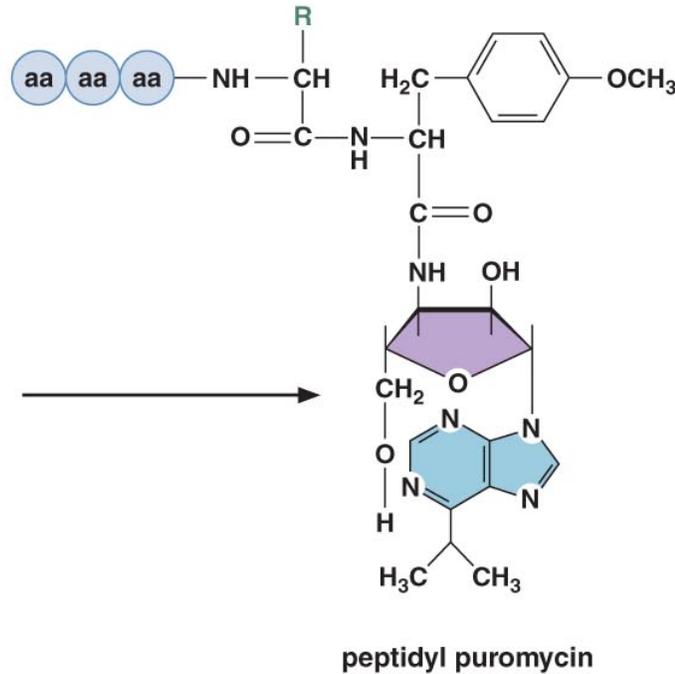
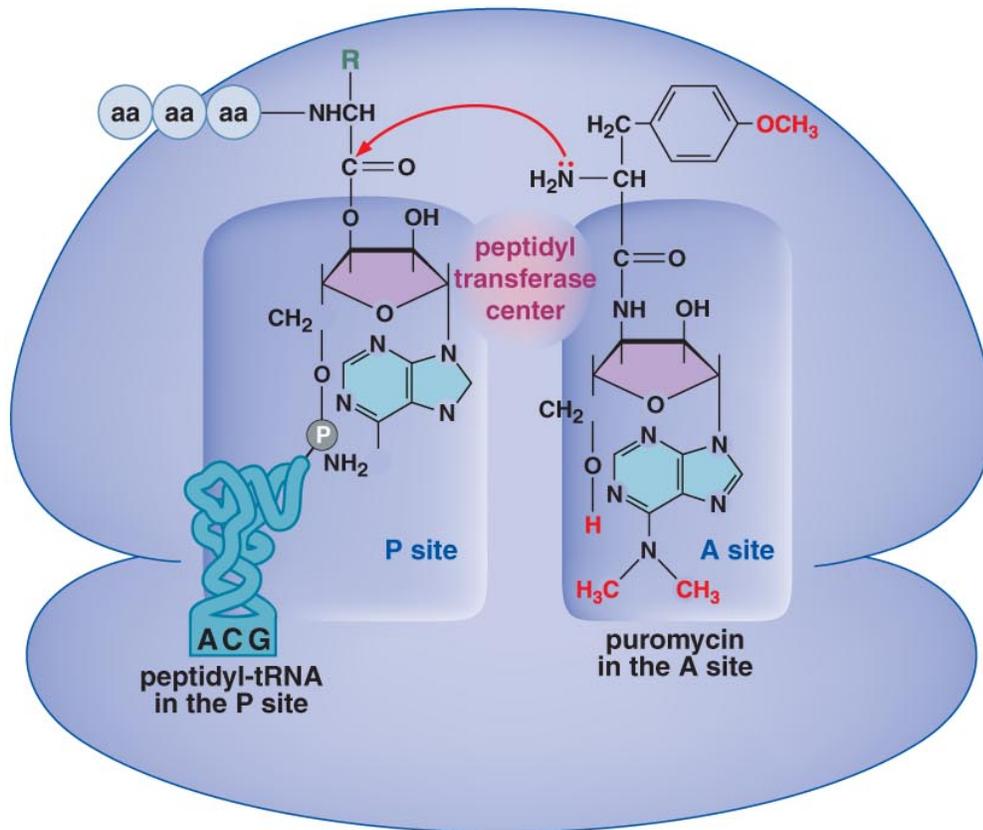




Vários antibacterianos têm a tradução como alvo

- Tetraciclina
 - Bloqueio sítio A
- Estreptomicina
 - Leitura incorreta dos códons
- Cloranfenicol
 - Inibe peptidil-transferase
- Eritromicina
 - Bloqueia translocação

Inibidores de tradução de eucariotos

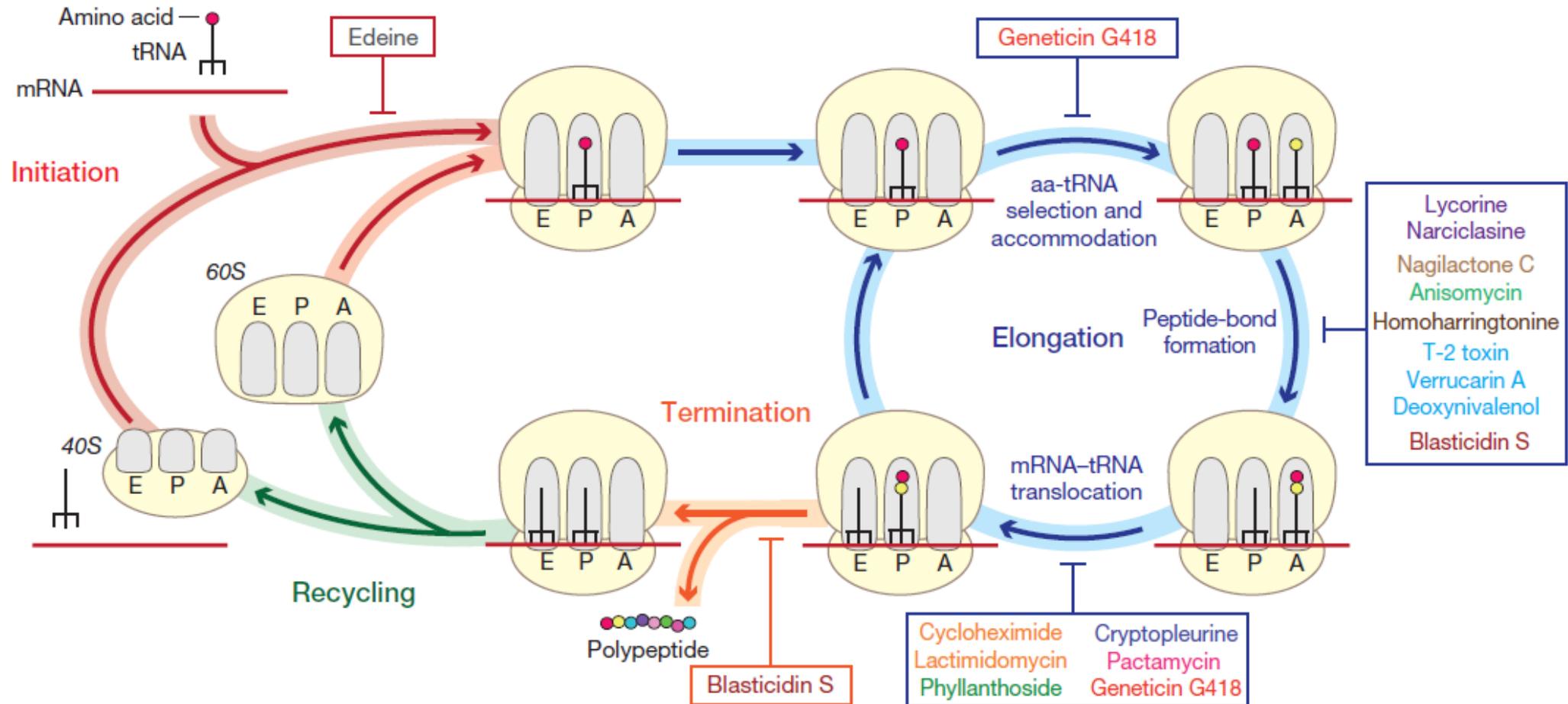


Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

- Puromicina

- Similar ao aa-tRNA, liga-se ao peptídeo nascente

Inibidores de tradução de eucariotos



- Usados para estudar a tradução

Slides Extras

Vários ribossomos podem traduzir o mesmo mRNA simultaneamente: polissomos ou polirribossomos

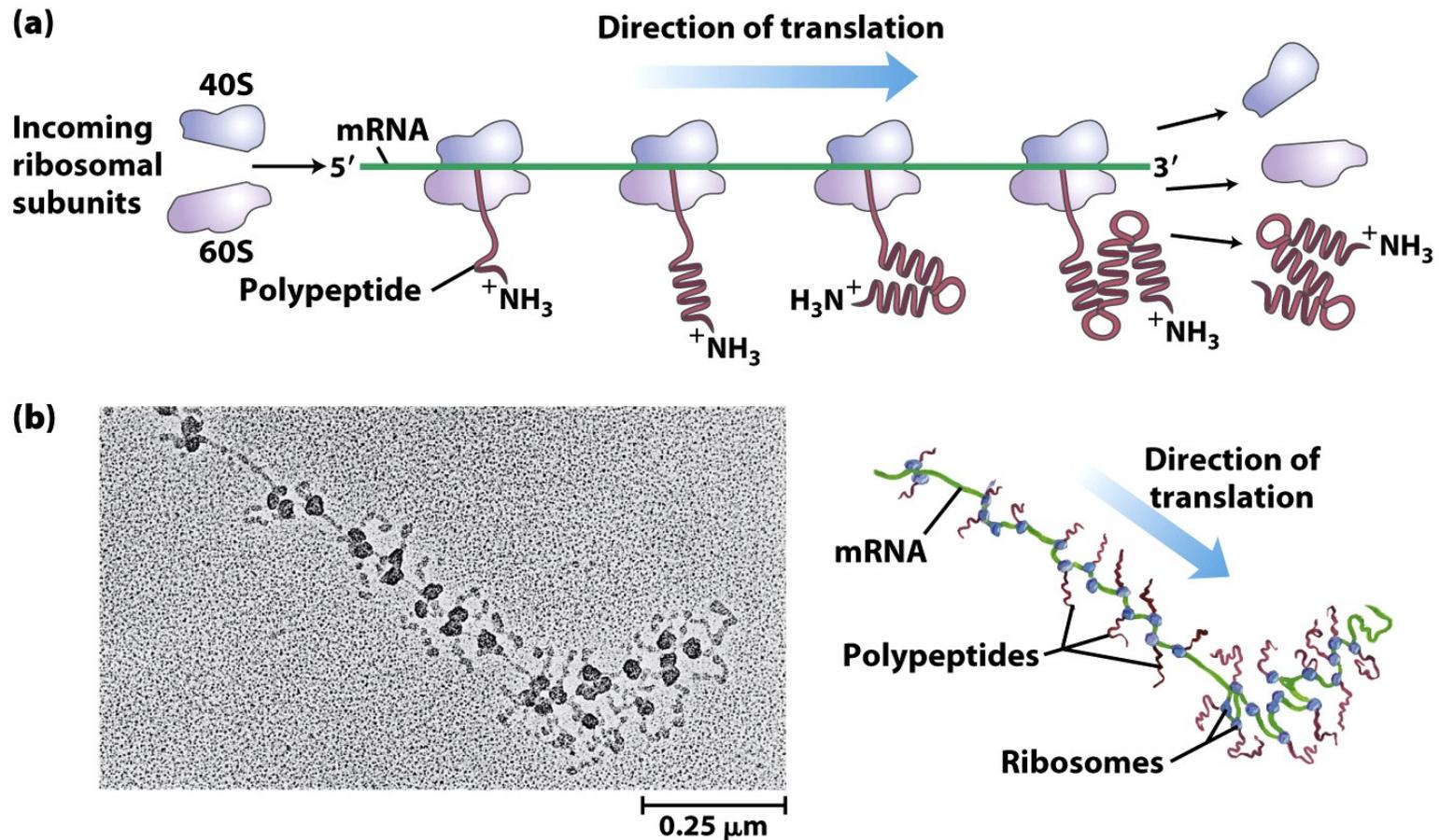


Figure 27-32
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

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

Código Genético

4 bases no DNA x
3 posições = 4^3
= 64 códonos

- 20 aminoácidos
- 3 códonos de terminação
- códon de início é sempre **AUG**

Por que o código genético é degenerado?

OU

Como o código seria se ele não fosse degenerado?

código genético não degenerado

	U	C	A	G	
U	<p>UUU Phe</p> <p>UUU Leu</p>	<p>UCU Ser</p>	<p>UAU Tyr</p> <p>UAA* stop</p> <p>UAG* stop</p>	<p>UGU Cys</p> <p>UGA* stop</p> <p>UGG Trp</p>	U C A G
C	<p>CUU Leu</p>	<p>CCU Pro</p>	<p>CAU His</p> <p>CAA Gln</p>	<p>CGU Arg</p>	U C A G
A	<p>AUC Ile</p> <p>AUG† Met</p>	<p>ACU Thr</p>	<p>AAU Asn</p> <p>AAA Lys</p>	<p>Ser</p> <p>Arg</p>	U C A G
G	<p>GUU Val</p>	<p>GCU Ala</p>	<p>GAU Asp</p> <p>GAA Glu</p>	<p>GGU Gly</p>	U C A G

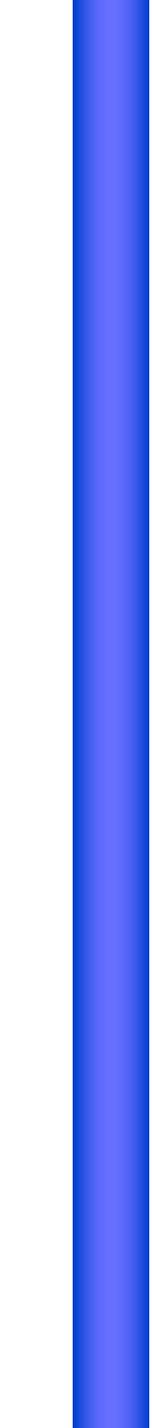
44 das 64 combinações seriam STOP!

Mutações teriam consequências catastróficas

O código genético funciona como uma “proteção” contra mutações

1. Degeneração faz com que a maioria das mutações não resultem em códons de parada

Código **NÃO É** aleatório!
Evoluiu, sofreu seleção para ser estabelecido



2. Mudanças na 3^a. posição frequentemente não alteram o aminoácido codificado → códons sinônimos

Variação na 3ª posição frequentemente gera códons que são “sinônimos”

2ª. Posição do códon

		2ª. Posição do códon					
		U	C	A	G		
1ª. posição do códon	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU Ser UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* stop UAG* stop	UGU Cys UGC UGA* stop UGG Trp	U C A G	
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCG CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	U C A G	
	A	AUU Ile AUC AUA AUG† Met	ACU Thr ACG ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G	
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GGA GGG	U C A G	
						3ª. Posição do códon	

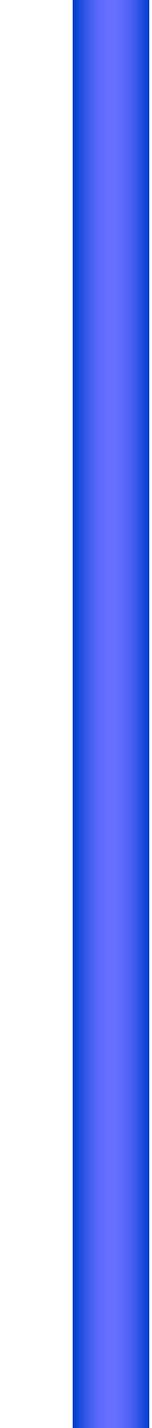
3. Códonos nos quais a 1^a e a 2^a posição são **ambas** ocupadas por G ou C especificam o mesmo aminoácido independente do nucleotídeo na 3^a posição

G e C na 1ª e 2ª posição especificam o mesmo aminoácido

2ª. Posição do códon

		U	C	A	G		
1ª. posição do códon	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU Ser UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* stop UAG* stop	UGU Cys UGC UGA* stop UGG Trp	U C A G	
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	U C A G	
	A	AUU Ile AUC AUA AUG† Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G	
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GGA GGG	U C A G	

3ª. Posição do códon



4. Variações na 1ª posição frequentemente geram substituições conservativas

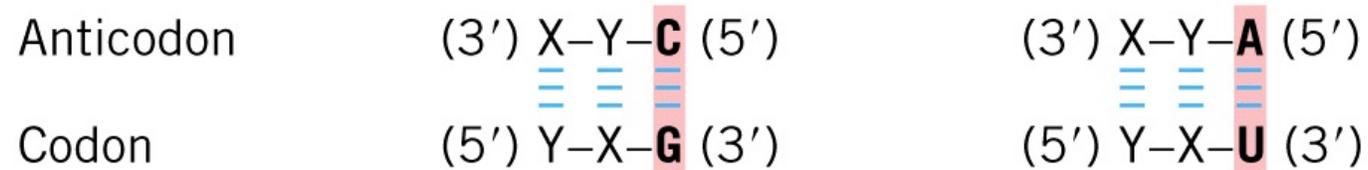
Variações na 1ª posição → substituições conservativas

2ª. Posição do códon

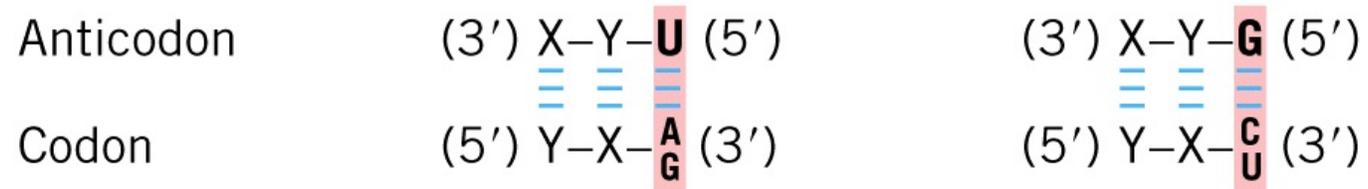
		U	C	A	G		
1ª. posição do códon	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU UCC Ser UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* stop UAG* stop	UGU Cys UGC UGA* stop UGG Trp	3ª. Posição do códon	U
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG		C
	A	AUU Ile AUC AUA AUG† Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG		A
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GGA GGG		G

How the Wobble Base of the Anticodon Determines the Number of Codons a tRNA Can Recognize*

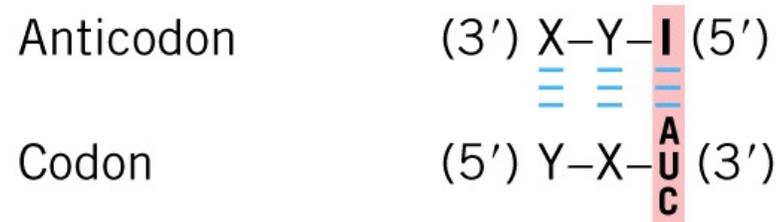
1. One codon recognized:



2. Two codons recognized:

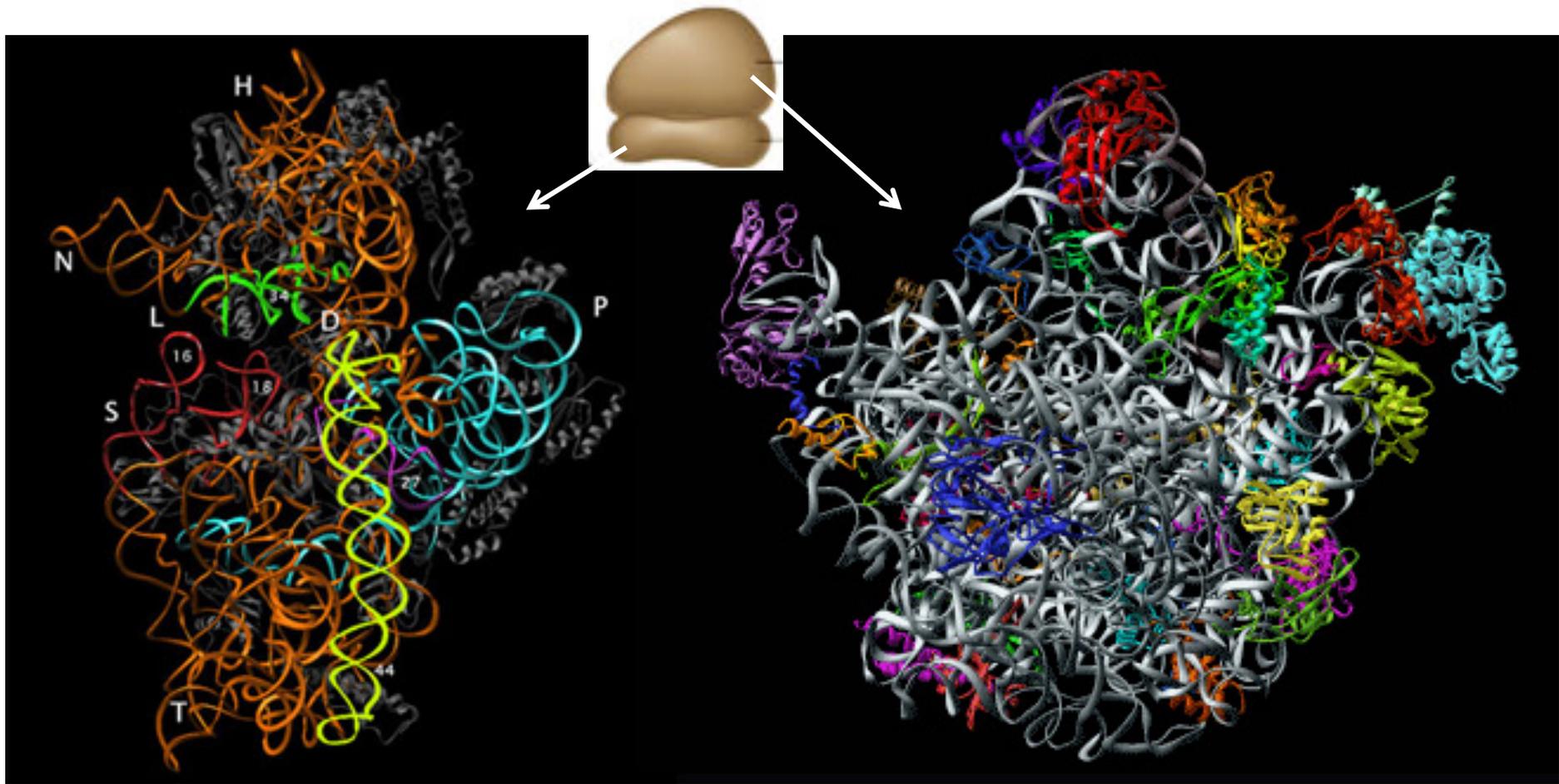


3. Three codons recognized:



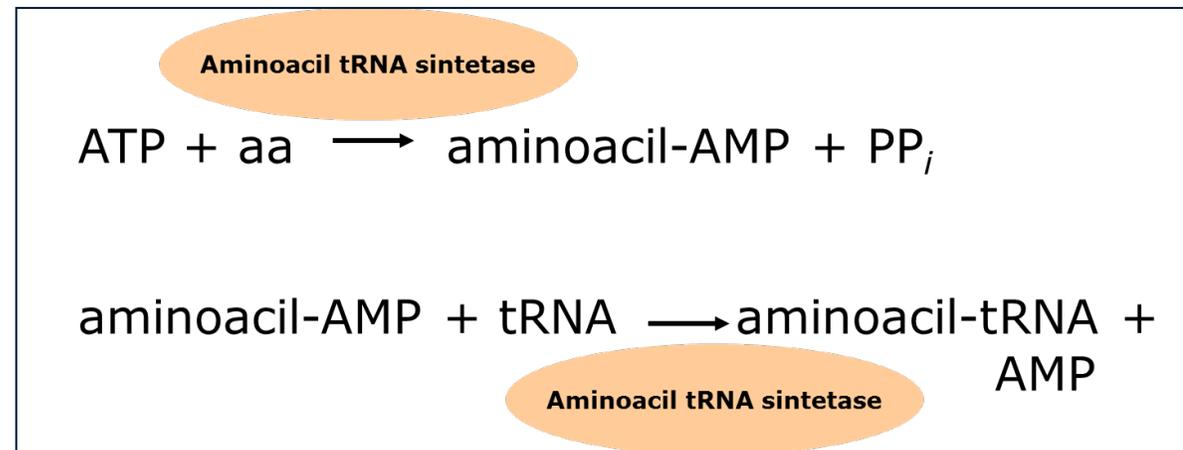
*X and Y denote complementary bases capable of strong Watson-Crick base pairing with each other. The bases in the wobble positions—the 3' position of codons and 5' position of anticodons—are shaded in red.

Ribossomo é formado por proteínas e rRNA



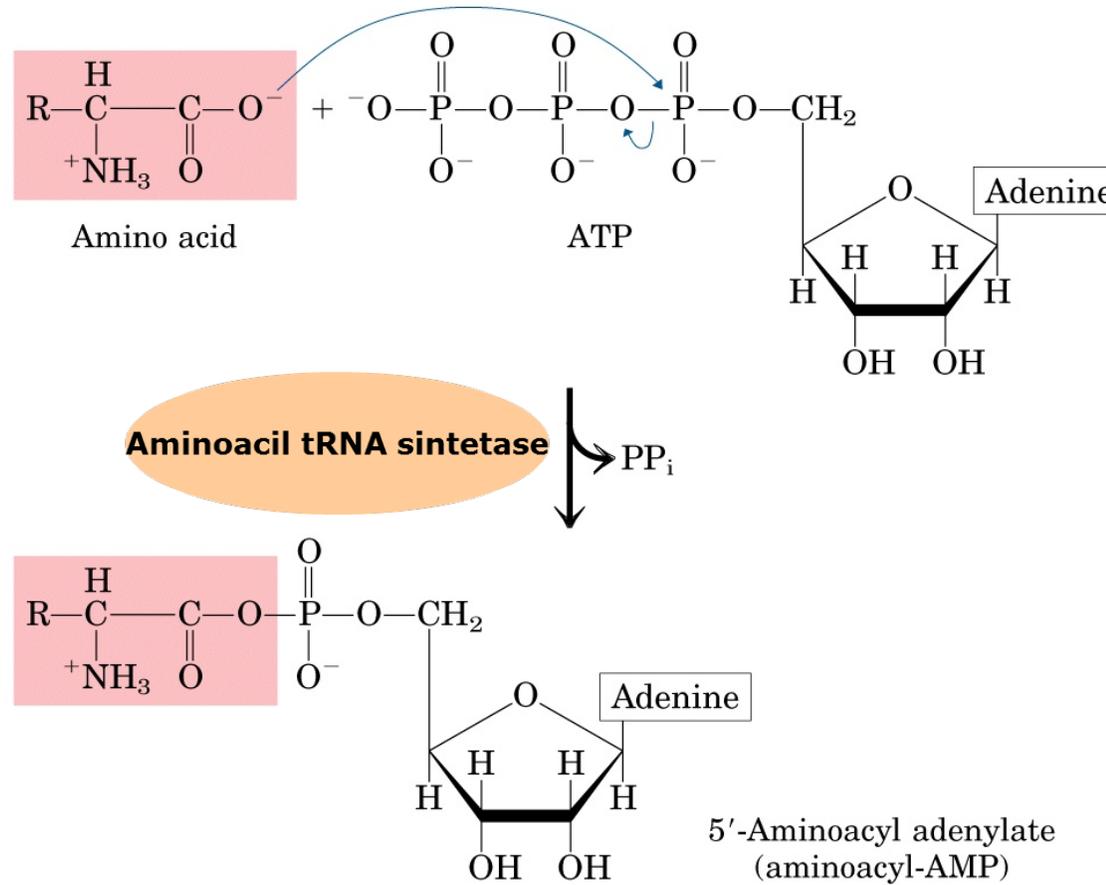
Ativação do aminoácido (aa)

- Duas etapas:
 - formação de AMP-aminoácido
 - Ligação do AMP-aa ao tRNA correspondente
- Enzimas responsáveis:
 - **aminoacil-tRNA sintetases**
 - Específicas para cada par tRNA-aa
 - Algumas podem “corrigir” ligações erradas



Aminoacil-tRNA sintetases

1ª etapa: formação do AMP-aa

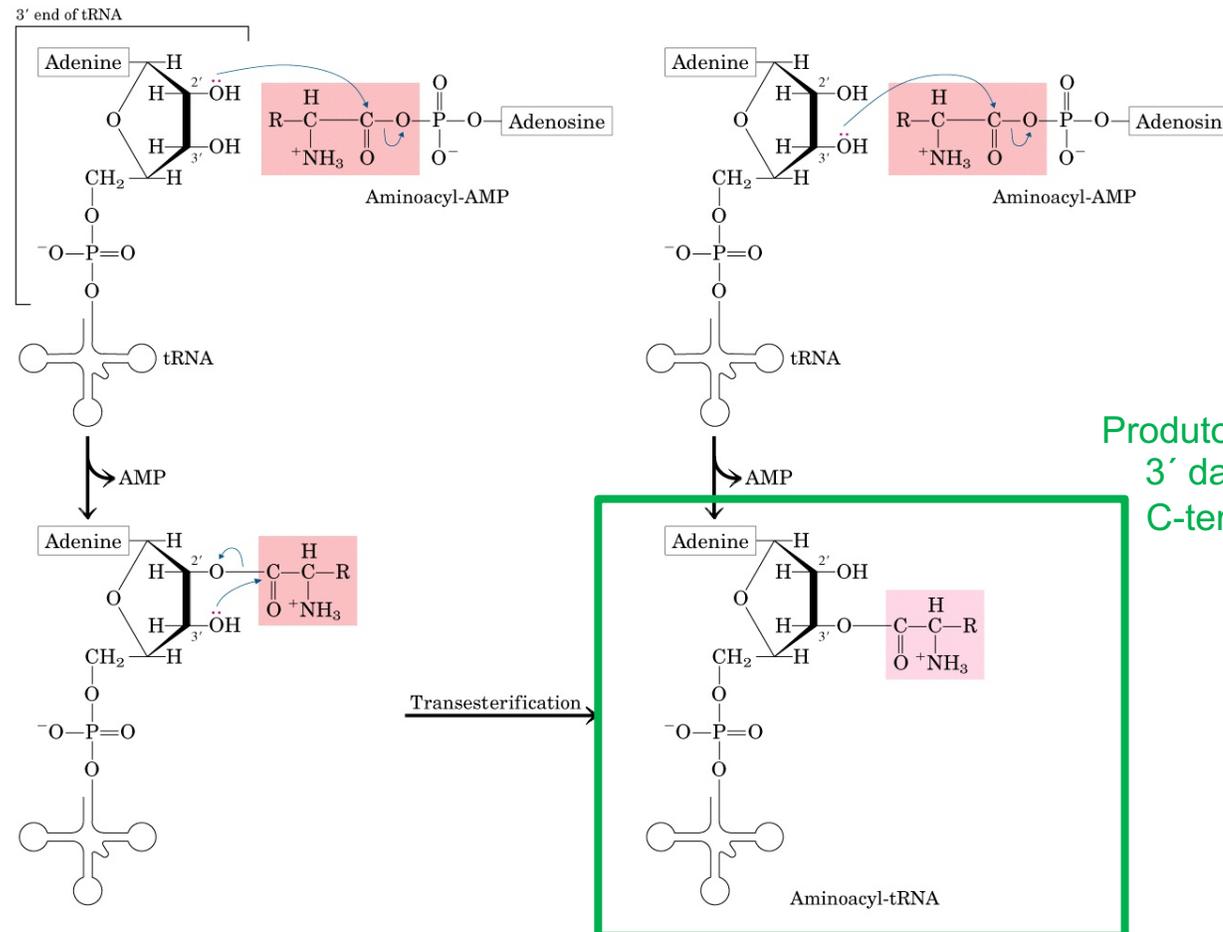


Aminoacil-tRNA sintetases

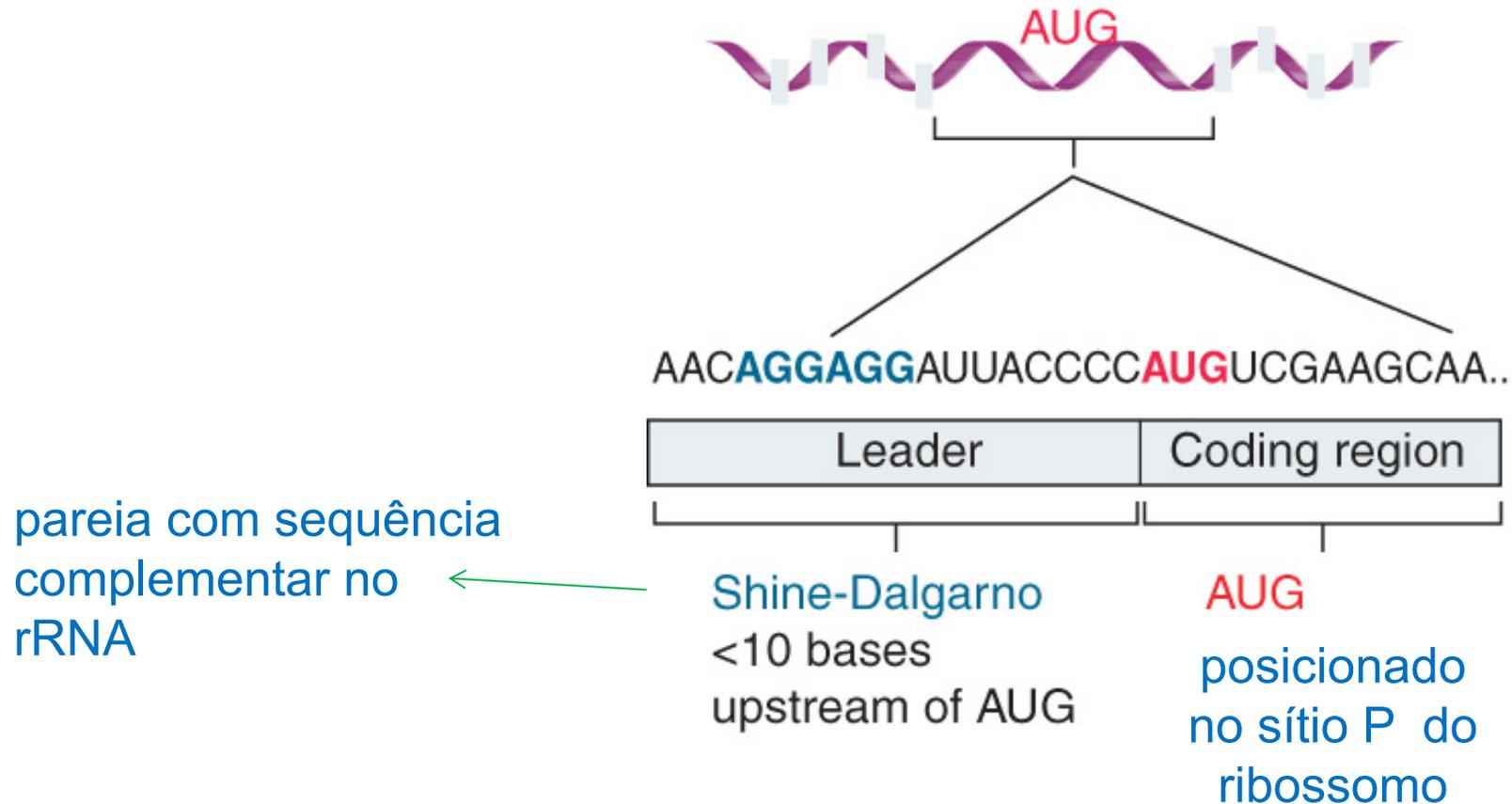
2ª etapa: ligação AMP-aa ao tRNA

classe I

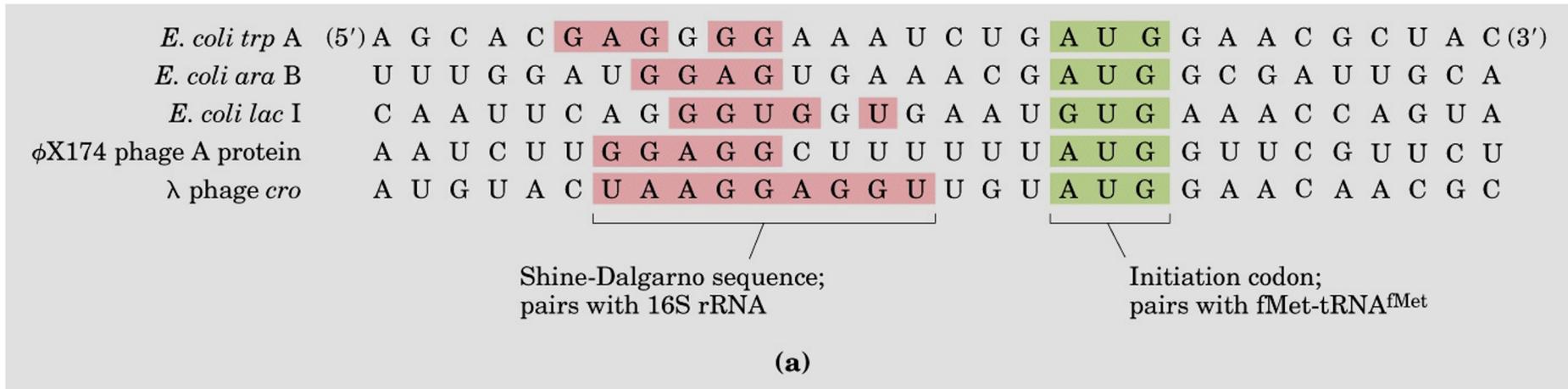
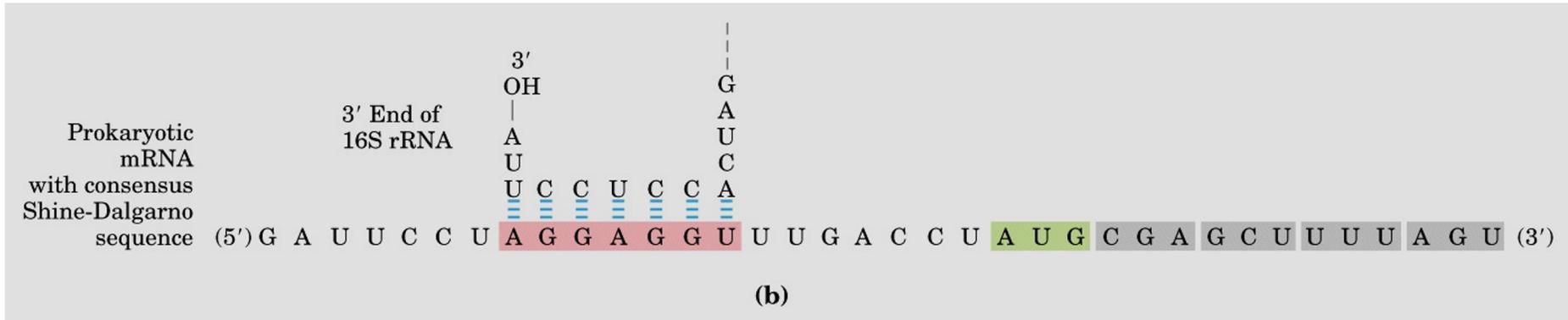
classe II



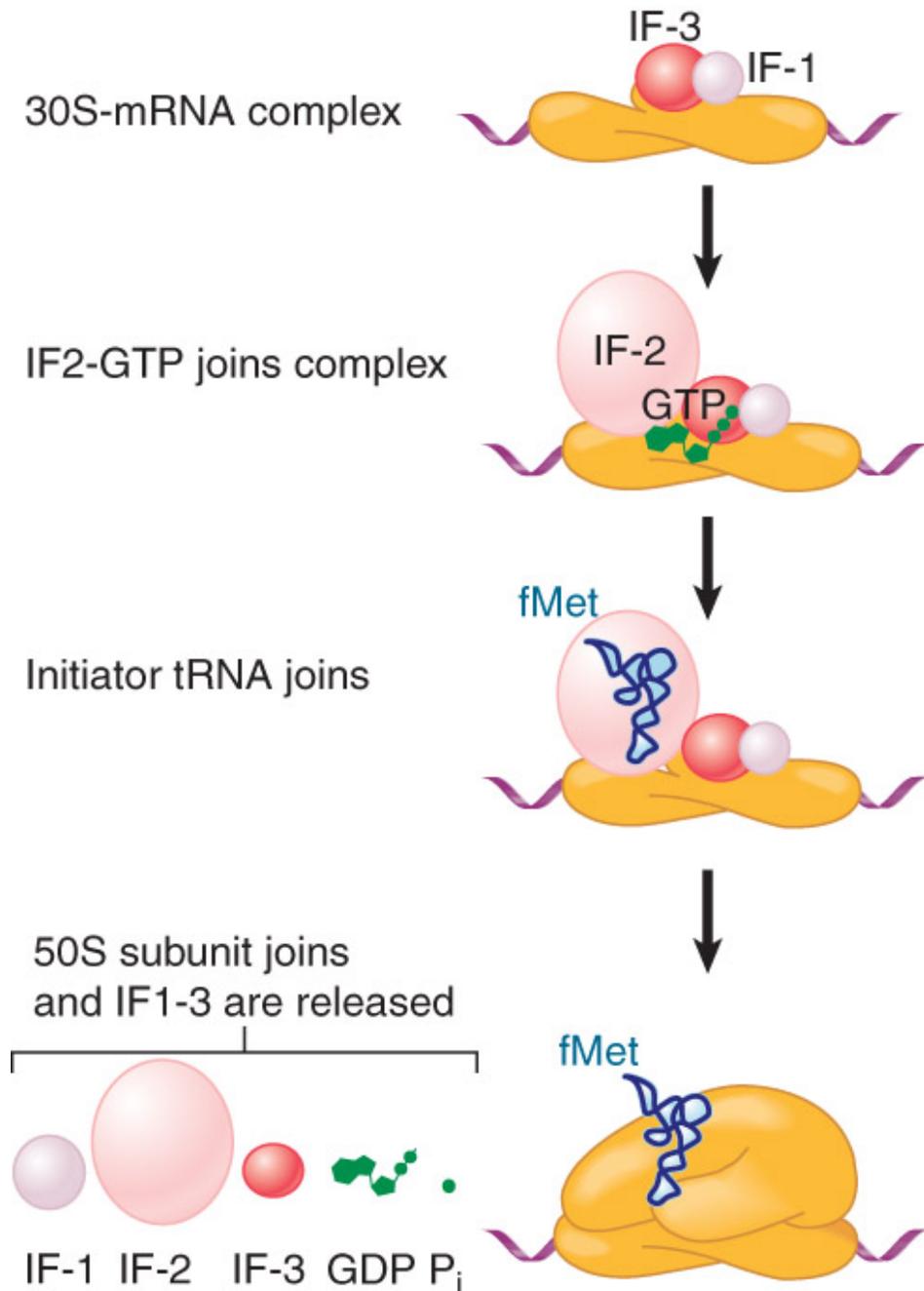
mRNA bacteriano tem sítio de ligação ao ribossomo (=Shine-Dalgarno)



Bactérias: sequência de ligação ao ribossomo (RBS) ou Shine-Dalgarno (SD)



Fatores de Início em bactérias



- IF-3
 - Estabiliza 30S livre
 - Capacita 30S a ligar mRNA
 - Checa acurácia do 1º. Aa
- IF-1
 - Liga próximo ao sítio A parcial
 - Previne entrada de aa-tRNA qualquer
- IF-2
 - Interage com fMet-tRNA
 - Liga/hidrolisa GTP
 - Sítio P parcial

Próximo aa se liga ao sítio A

Elongação em bactérias

