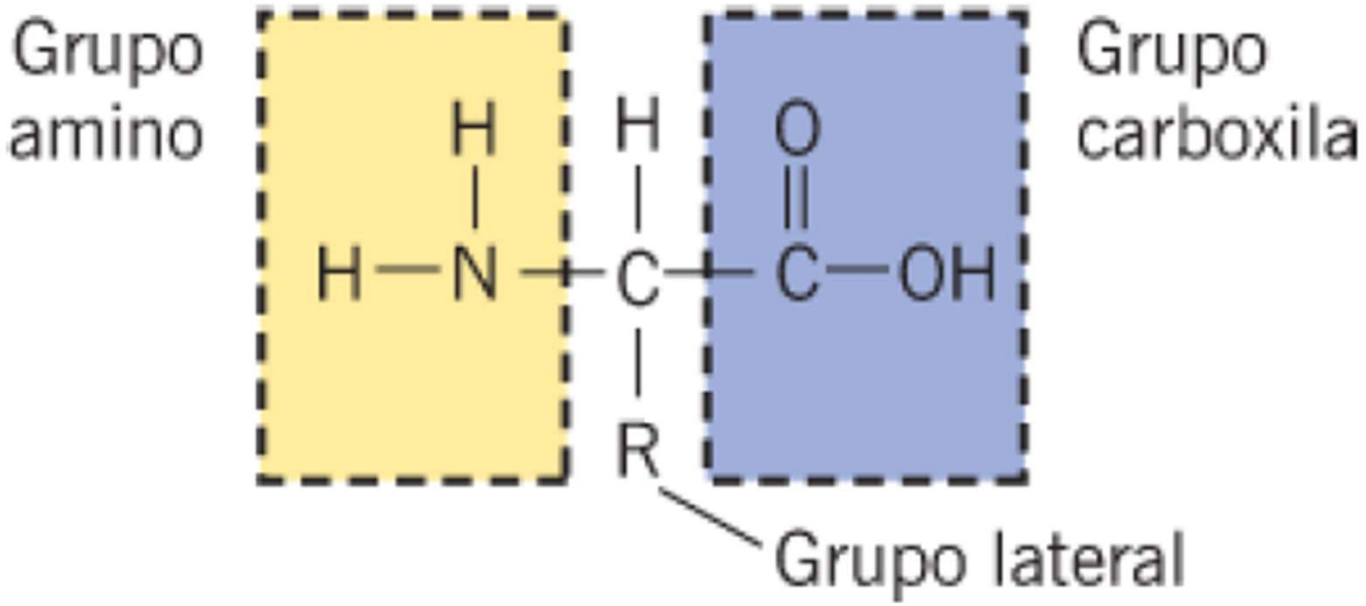
Tradução de proteínas

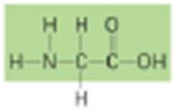
Micrografia eletrônica de varredura de hemácias normais e afoiçadas em paciente com anemia falciforme.

Eye of Science/Photo Researchers.

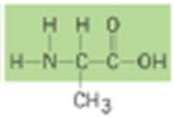

Grupo amino
Grupo carboxila
H
H
O
H—N—C—C—OH
R
Grupo lateral

1. Grupos laterais hidrofóbicos ou apolares

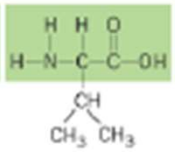
Glicina (Gly) [G]



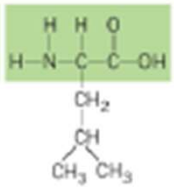
L-Alanina (Ala) [A]



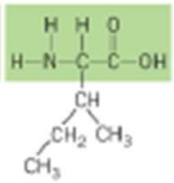
L-Valina (Val) [V]



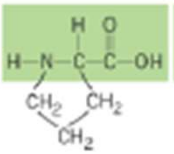
L-Leucina (Leu) [L]



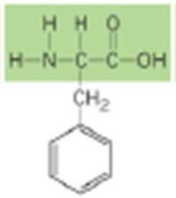
L-Isoleucina (Ile) [I]



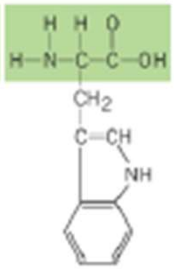
L-Prolina (Pro) [P]



L-Fenilalanina (Phe) [F]

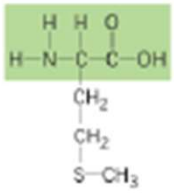


L- Triptofano (Trp) [W]

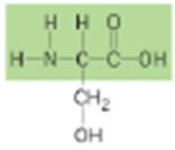


2. Grupos laterais hidrofílicos ou polares

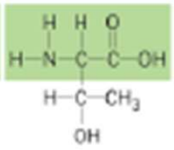
L-Metionina (Met) [M]



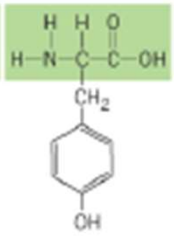
L-Serina (Ser) [S]



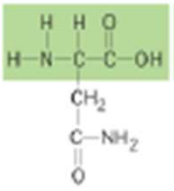
L-Treonina (Thr) [T]



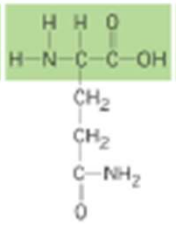
L-Tirosina (Tyr) [Y]



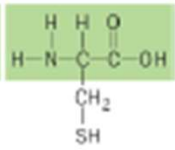
L-Asparagina (Asn) [N]



L-Glutamina (Gln) [Q]

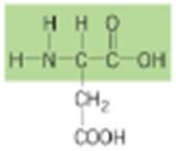


L-Cisteína (Cys) [C]

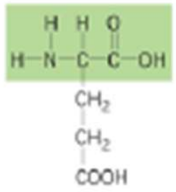


3. Grupos laterais ácidos

L-Ácido aspártico (Asp) [D]

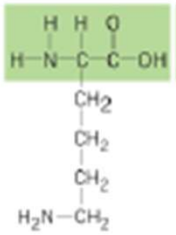


L-Ácido glutâmico (Glu) [E]

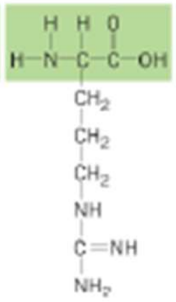


4. Grupos laterais básicos

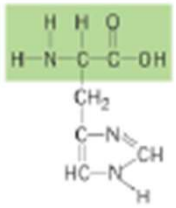
L-Lisina (Lys) [K]

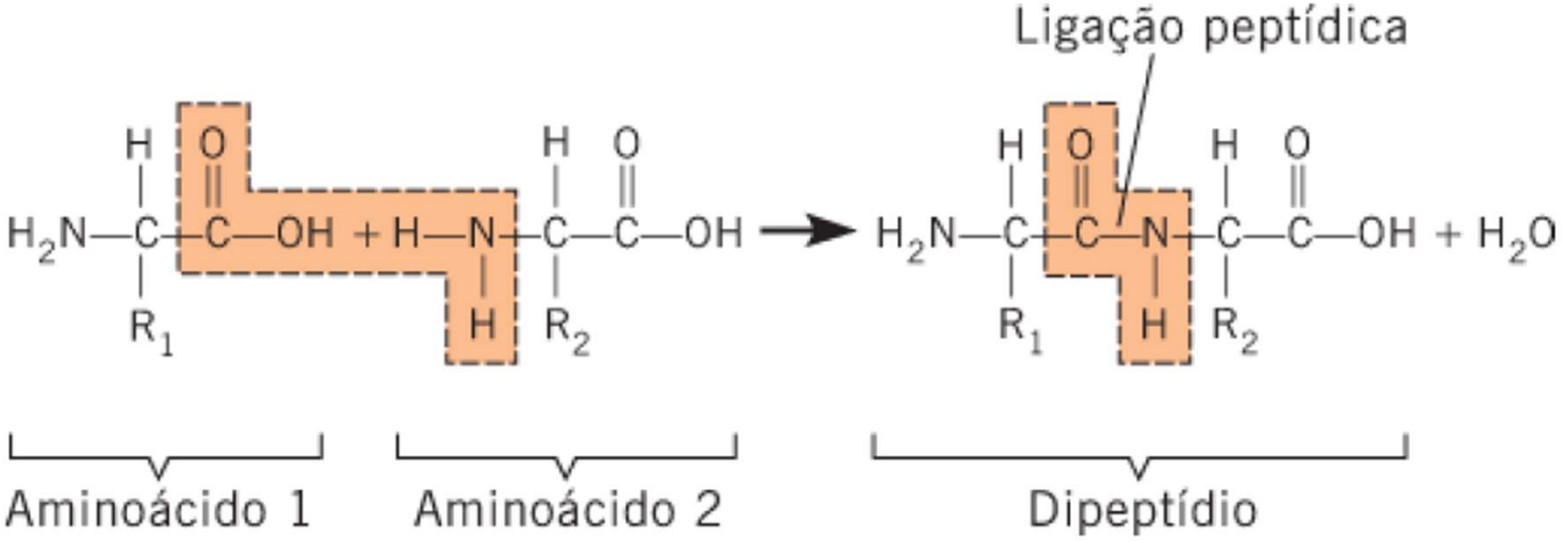


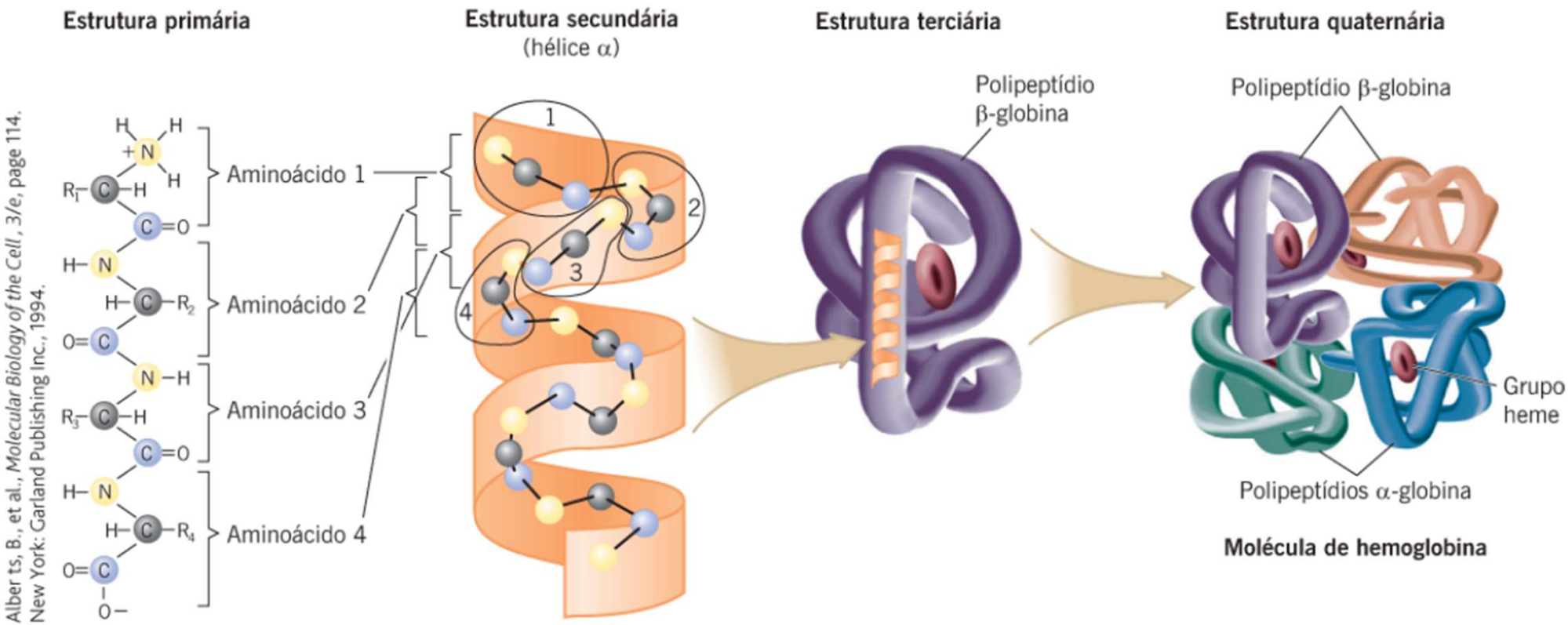
L-Arginina (Arg) [R]



L- Histidina (His) [H]




Ligação peptídica
Aminoácido 1
Aminoácido 2
Dipeptídio



Alberts, B., et al., *Molecular Biology of the Cell*, 3/e, page 114. New York: Garland Publishing Inc., 1994.

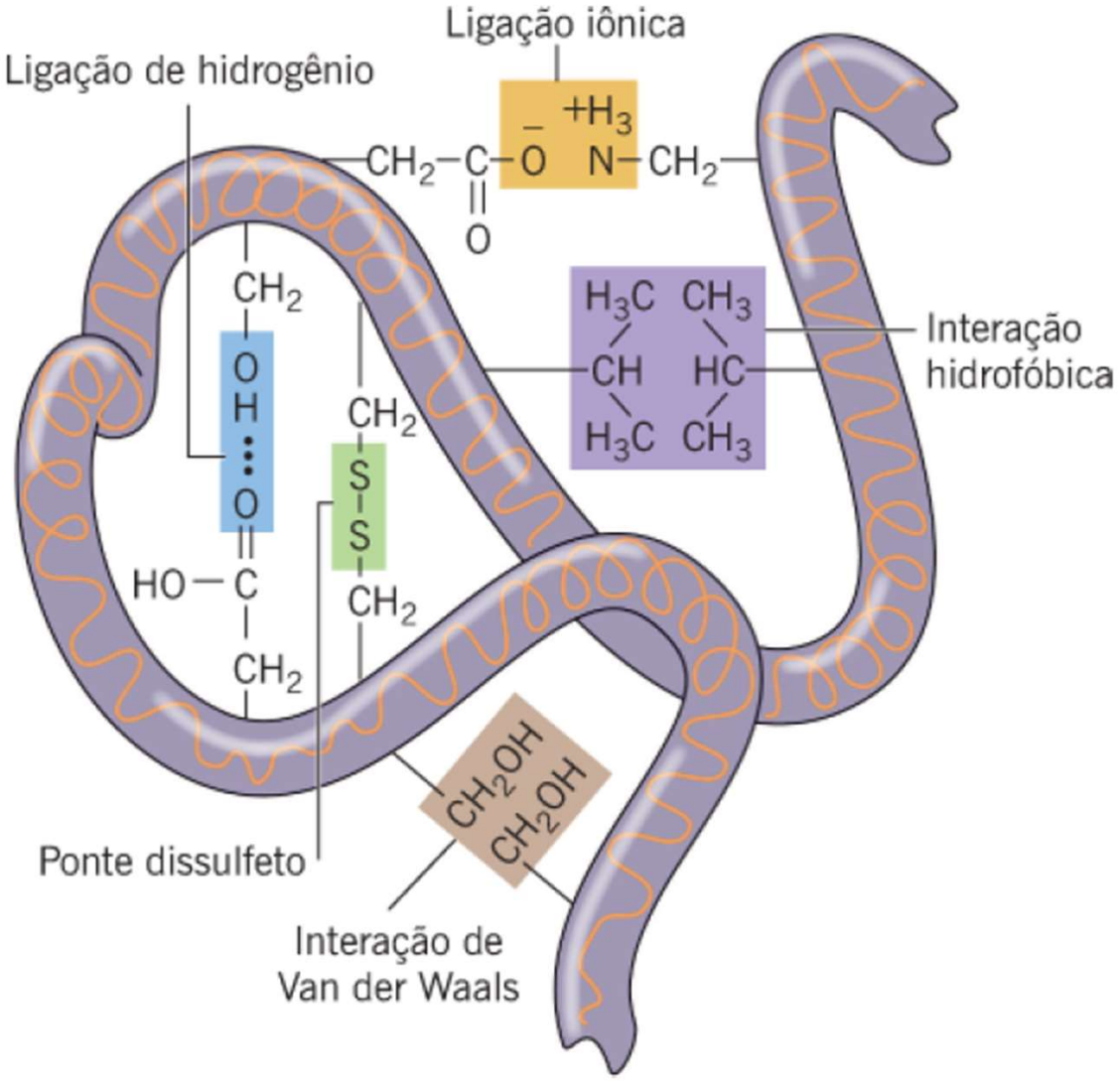
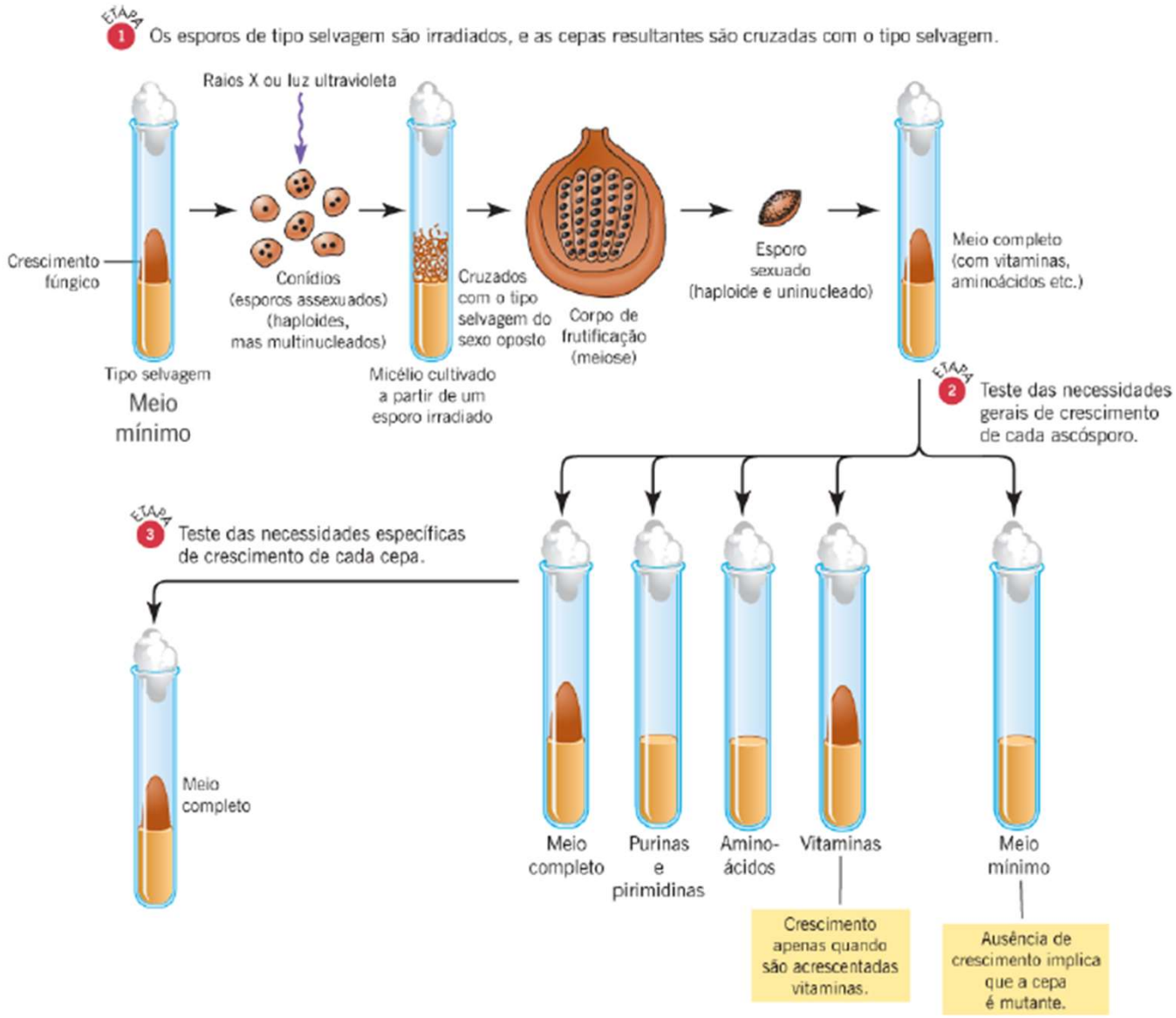
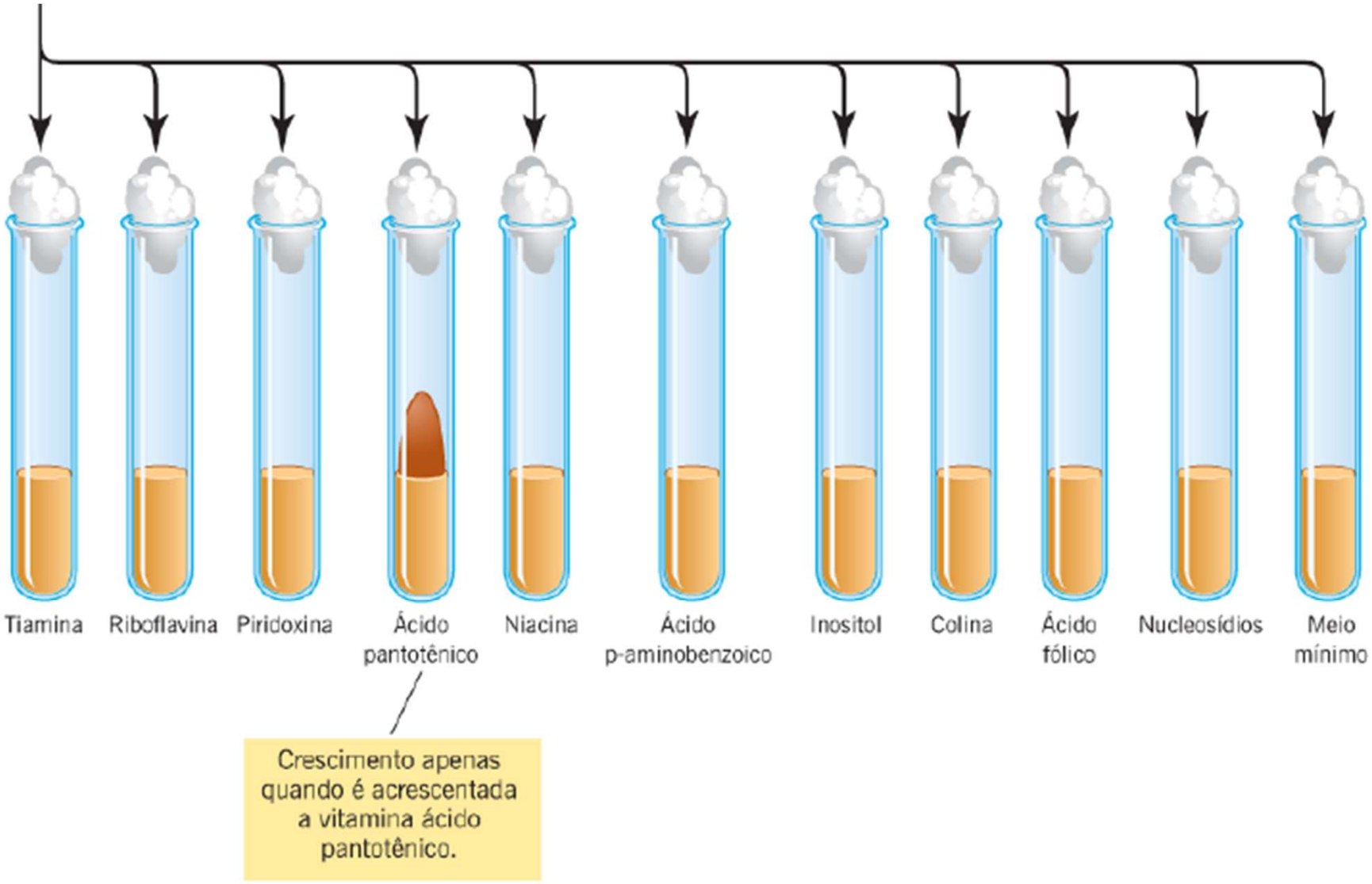
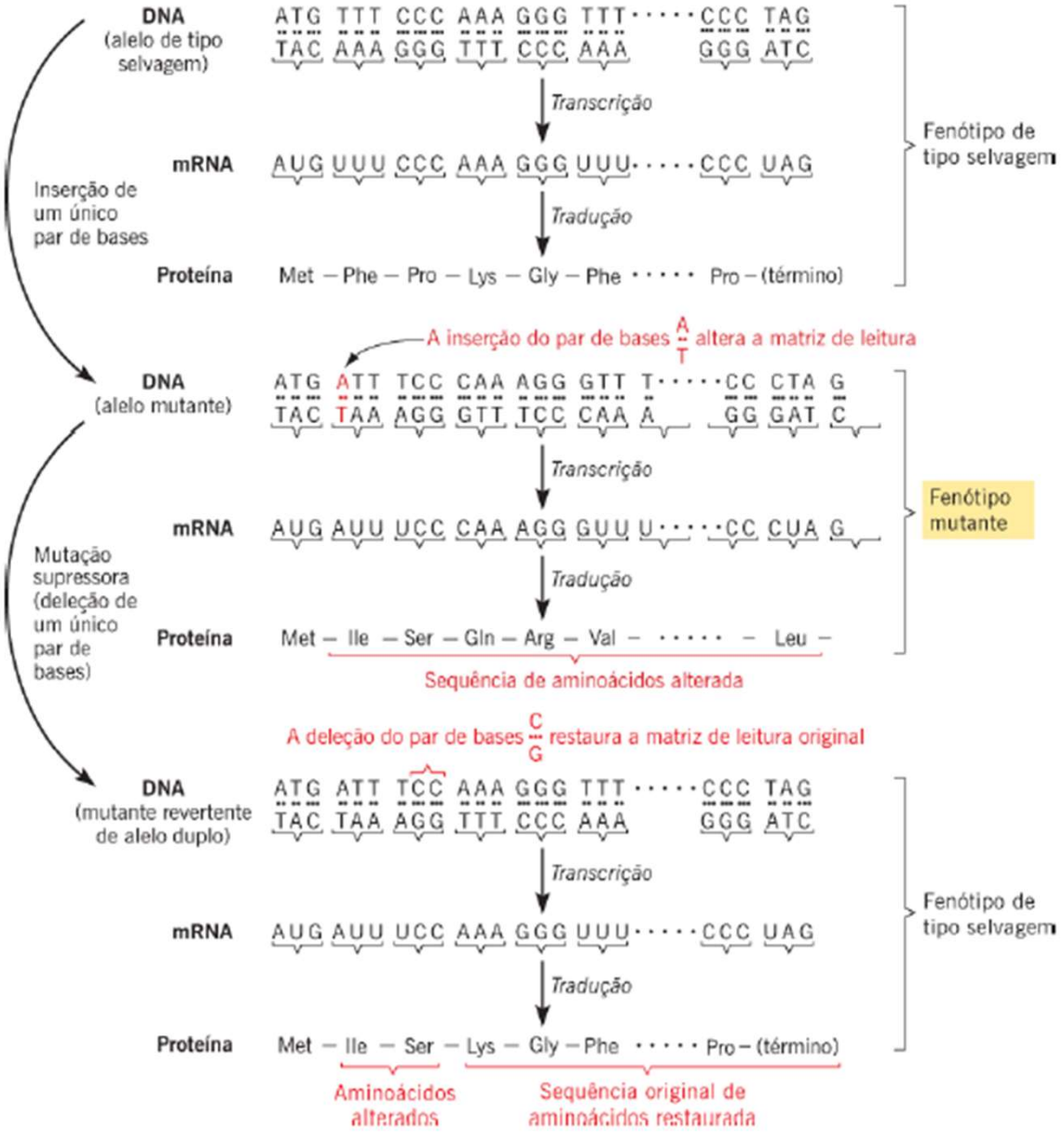


Ilustração de Biology, Second Edition por Claude A. Villee, Eldra Pearl Solomon, Charles E. Martin, Diana W. Martin, Linda R. Berg e P. William Davis, copyright © 1989 por Saunders College Publishing, reproduzida, com autorização, de Harcourt Brace & Company.


ETAPA 1
Os esporos de tipo selvagem são irradiados, e as cepas resultantes são cruzadas com o tipo selvagem.
Raios X ou luz ultravioleta
Crescimento fúngico
Tipo selvagem
Meio mínimo
Conídios (esporos assexuados) (haploides, mas multinucleados)
Micélio cultivado a partir de um esporo irradiado
Cruzados com o tipo selvagem do sexo oposto
Corpo de frutificação (meiose)
Esporo sexuado (haploide e uninucleado)
Meio completo (com vitaminas, aminoácidos etc.)
ETAPA 2
Teste das necessidades gerais de crescimento de cada ascósporo.
ETAPA 3
Teste das necessidades específicas de crescimento de cada cepa.
Meio completo
Meio completo
Purinas e pirimidinas
Amino-ácidos
Vitaminas
Meio mínimo
Crescimento apenas quando são acrescentadas vitaminas.
Ausência de crescimento implica que a cepa é mutante.


Tiamina
Riboflavina
Piridoxina
Ácido pantotênico
Niacina
Ácido p-aminobenzoico
Inositol
Colina
Ácido fólico
Nucleosídios
Meio mínimo
Crescimento apenas quando é acrescentada a vitamina ácido pantotênico.


DNA
(alelo de tipo selvagem)
ATG TTT CCC AAA GGG TTT ····· CCC TAG
TAC AAA GGG TTT CCC AAA GGG ATC
Transcrição
mRNA
AUG UUU CCC AAA GGG UUU ····· CCC UAG
Tradução
Proteína
Met – Phe – Pro – Lys – Gly – Phe ····· Pro – (término)
Fenótipo de tipo selvagem
Inserção de um único par de bases
A inserção do par de bases A/T altera a matriz de leitura
DNA
(alelo mutante)
ATG ATT TCC CAA AGG GTT T····· CC CTA G
TAC TAA AGG GTT TCC CAA A GG GAT C
Transcrição
mRNA
AUG AUU UCC CAA AGG GUU U····· CC CUA G
Tradução
Proteína
Met – Ile – Ser – Gln – Arg – Val – ····· – Leu –
Fenótipo mutante
Mutação supressora (deleção de um único par de bases)
Sequência de aminoácidos alterada
A deleção do par de bases C/G restaura a matriz de leitura original
DNA
(mutante revertente de alelo duplo)
ATG ATT TCC AAA GGG TTT ····· CCC TAG
TAC TAA AGG TTT CCC AAA GGG ATC
Transcrição
mRNA
AUG AUU UCC AAA GGG UUU ····· CCC UAG
Tradução
Proteína
Met – Ile – Ser – Lys – Gly – Phe ····· Pro – (término)
Fenótipo de tipo selvagem
Aminoácidos alterados
Sequência original de aminoácidos restaurada

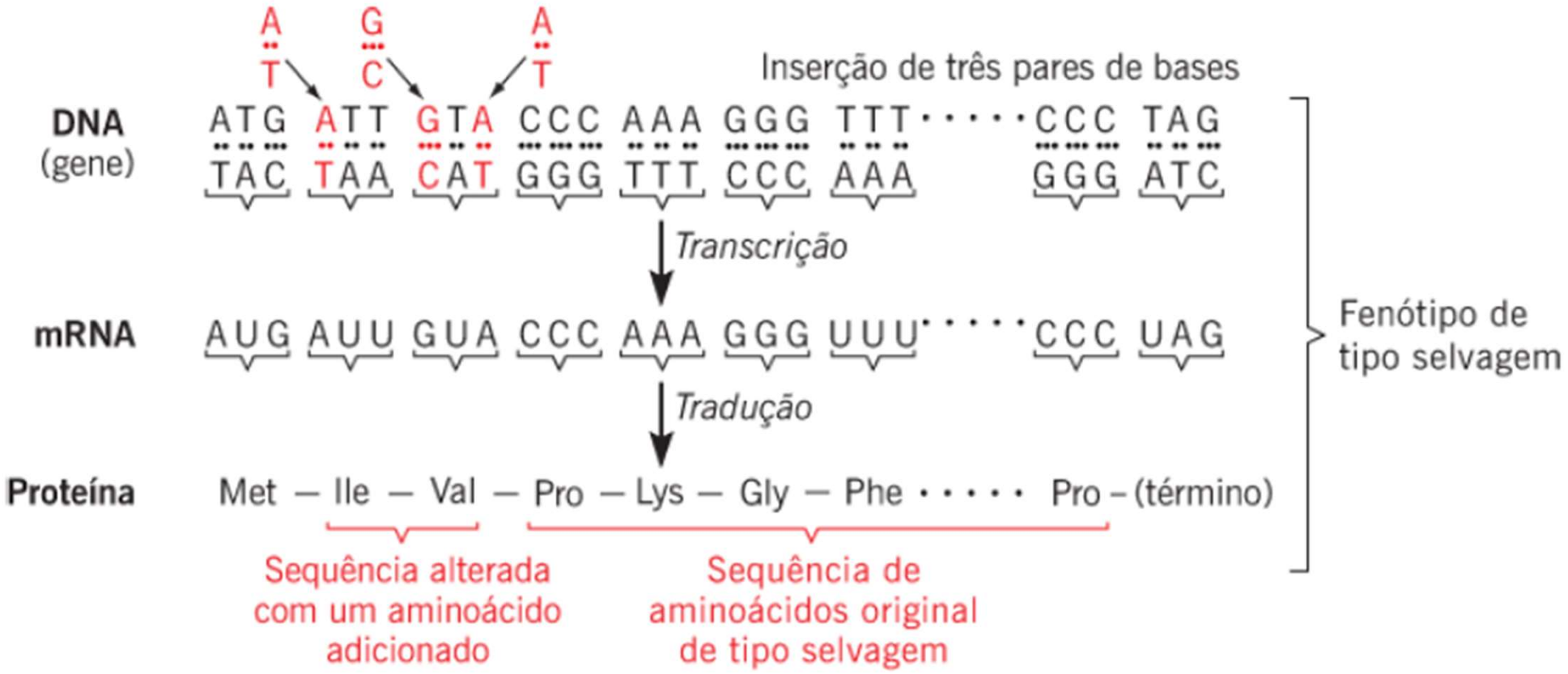
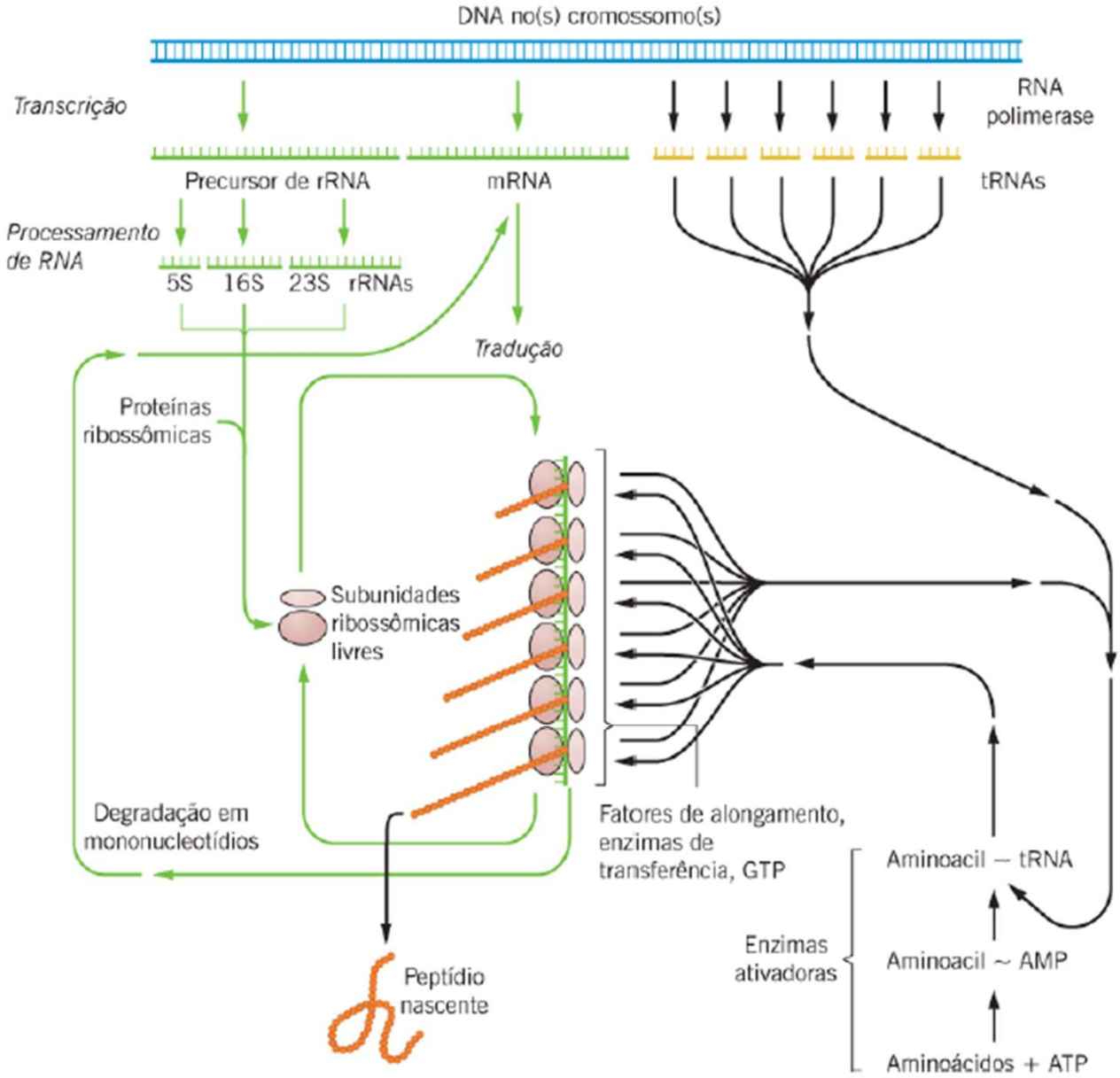
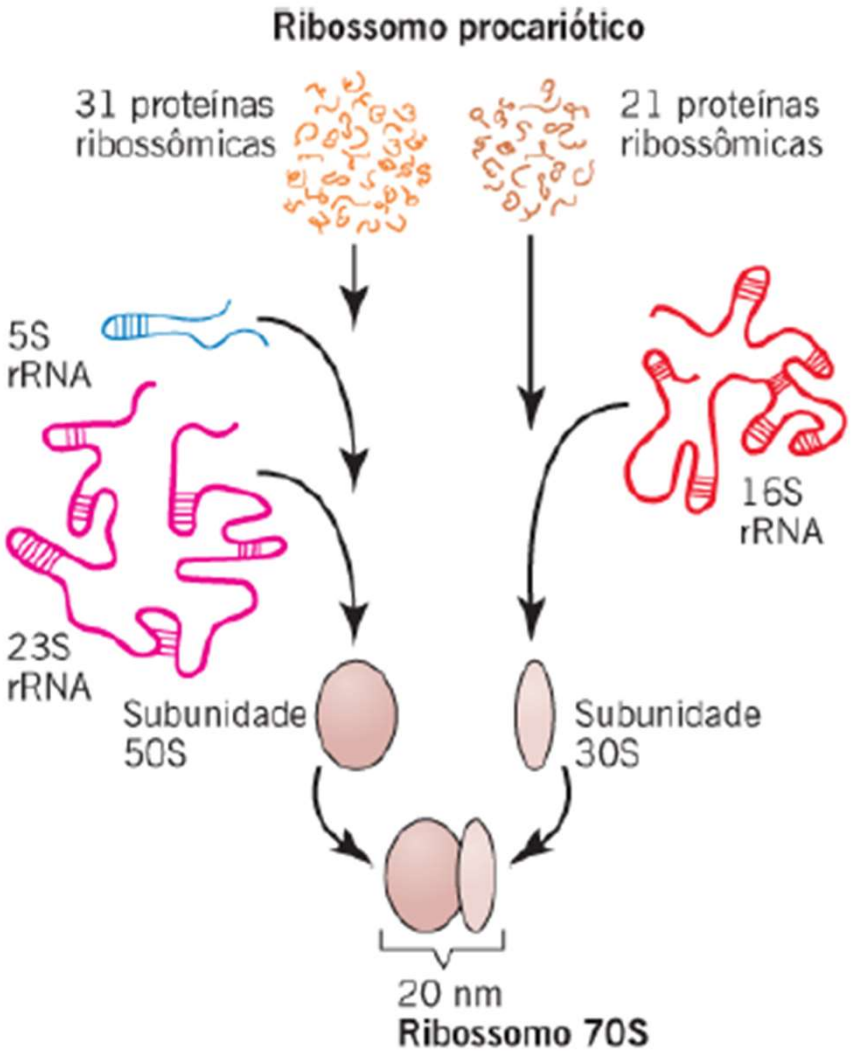
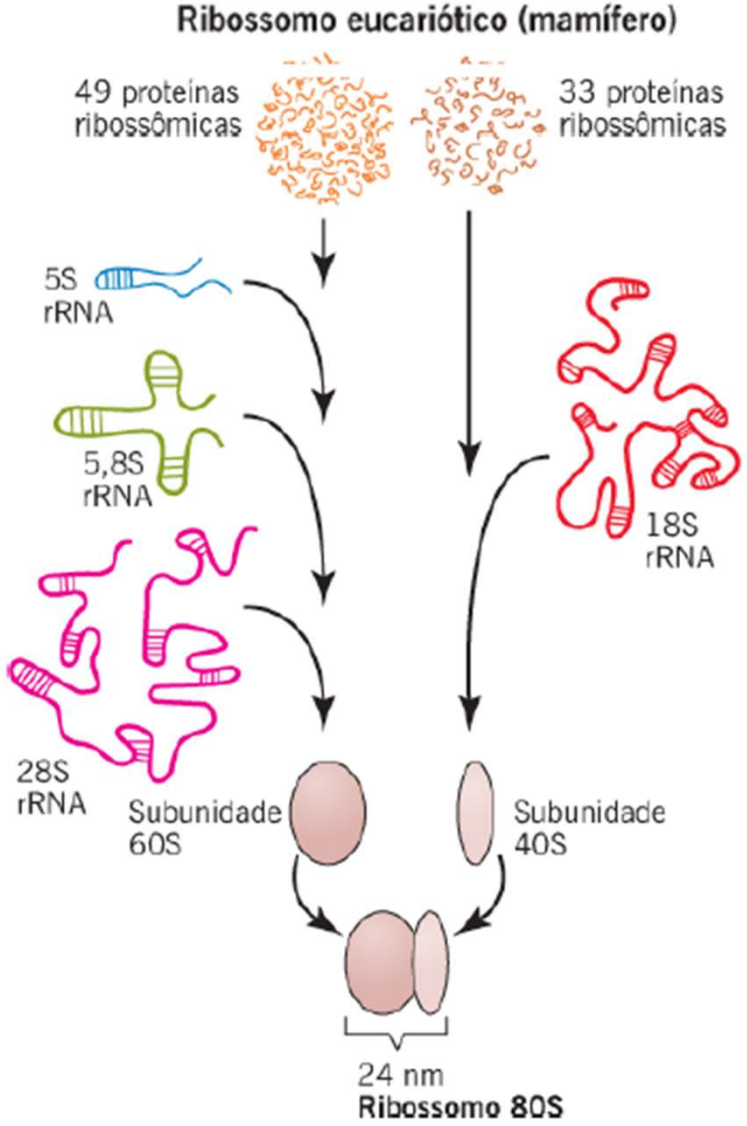


FIGURA 12.7 Um recombinante contendo três inserções de pares de bases únicos tem a matriz de leitura do tipo selvagem.


DNA no(s) cromossomo(s)
Transcrição
RNA polimerase
Precursor de rRNA
mRNA
tRNAs
Processamento de RNA
5S 16S 23S rRNAs
Tradução
Proteínas ribossômicas
Subunidades ribossômicas livres
Degradação em mononucleotídios
Fatores de alongamento, enzimas de transferência, GTP
Peptídio nascente
Enzimas ativadoras
Aminoacil — tRNA
Aminoacil ~ AMP
Aminoácidos + ATP


Ribossomo procariótico
31 proteínas ribossômicas
21 proteínas ribossômicas
5S rRNA
16S rRNA
23S rRNA
Subunidade 50S
Subunidade 30S
20 nm
Ribossomo 70S


Ribossomo eucariótico (mamífero)
49 proteínas ribossômicas
33 proteínas ribossômicas
5S rRNA
5,8S rRNA
18S rRNA
28S rRNA
Subunidade 60S
Subunidade 40S
24 nm
Ribossomo 80S

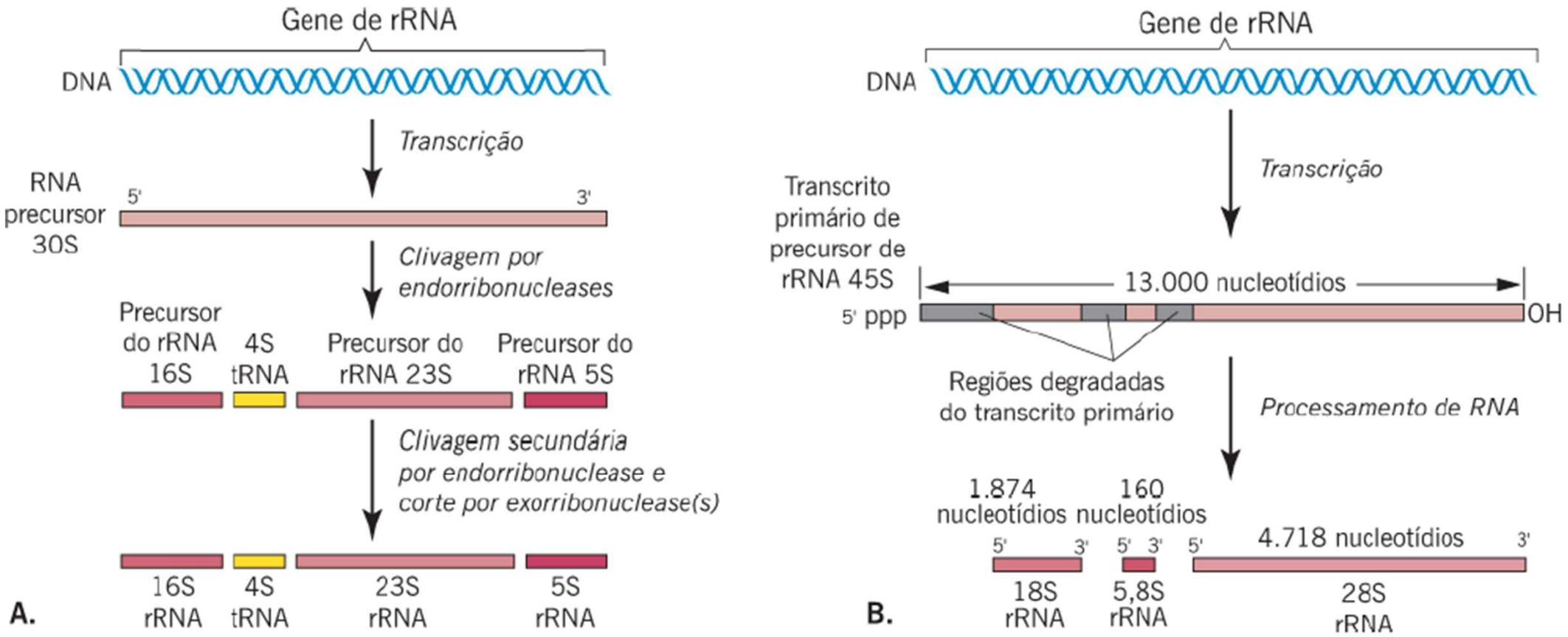
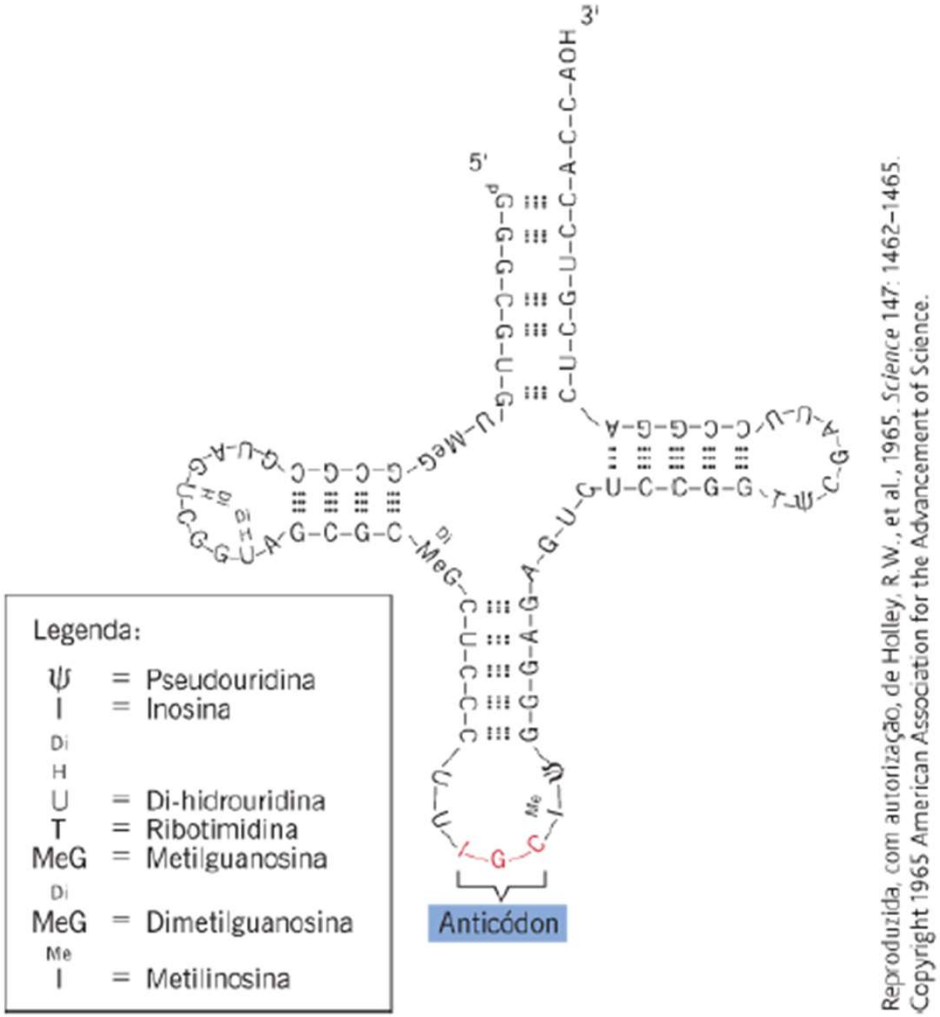


FIGURA 12.11 Síntese e processamento de precursor de rRNA 30S em *E. coli* (A) e precursor de rRNA 45S em mamíferos (B).



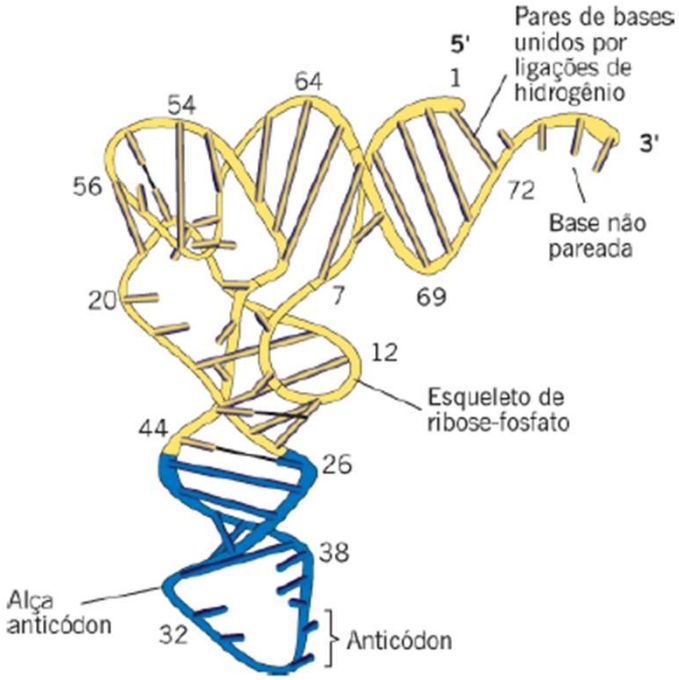
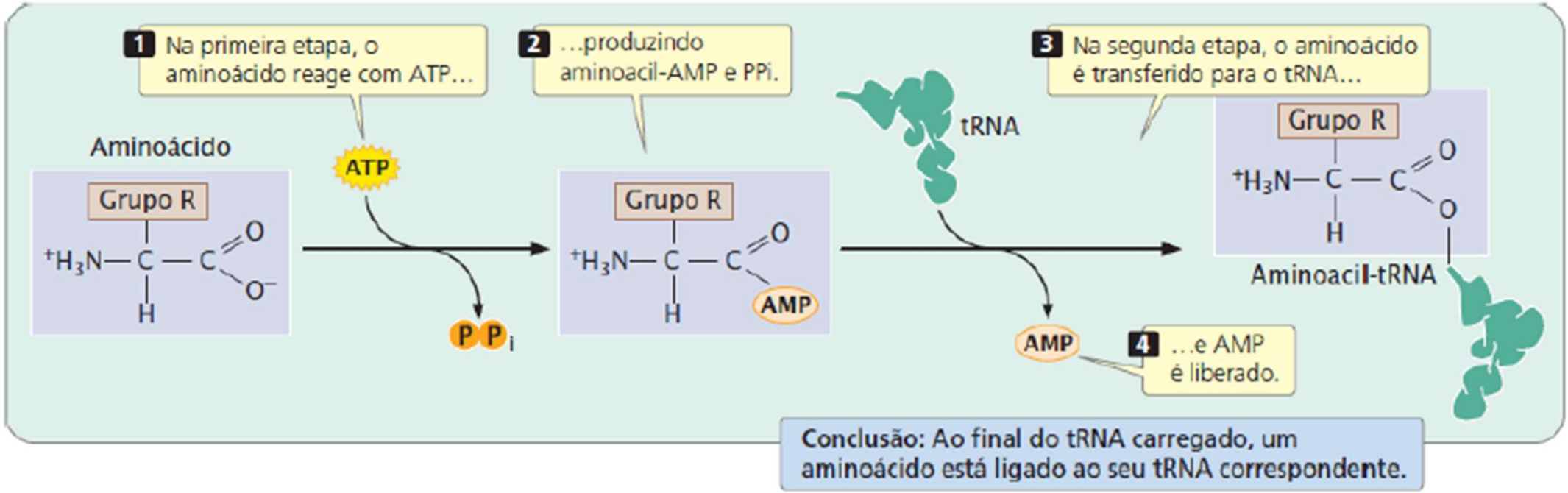


FIGURA 12.12 Sequência nucleotídica e configuração em folha de trevo do tRNA de alanina de *S. cerevisiae*. Os nomes dos nucleosídios modificados presentes no tRNA são mostrados no detalhe.


1 Na primeira etapa, o aminoácido reage com ATP...
2 ...produzindo aminoacil-AMP e PPi.
3 Na segunda etapa, o aminoácido é transferido para o tRNA...
Aminoácido
Grupo R
ATP
PPi
AMP
tRNA
Aminoacil-tRNA
4 ...e AMP é liberado.
Conclusão: Ao final do tRNA carregado, um aminoácido está ligado ao seu tRNA correspondente.

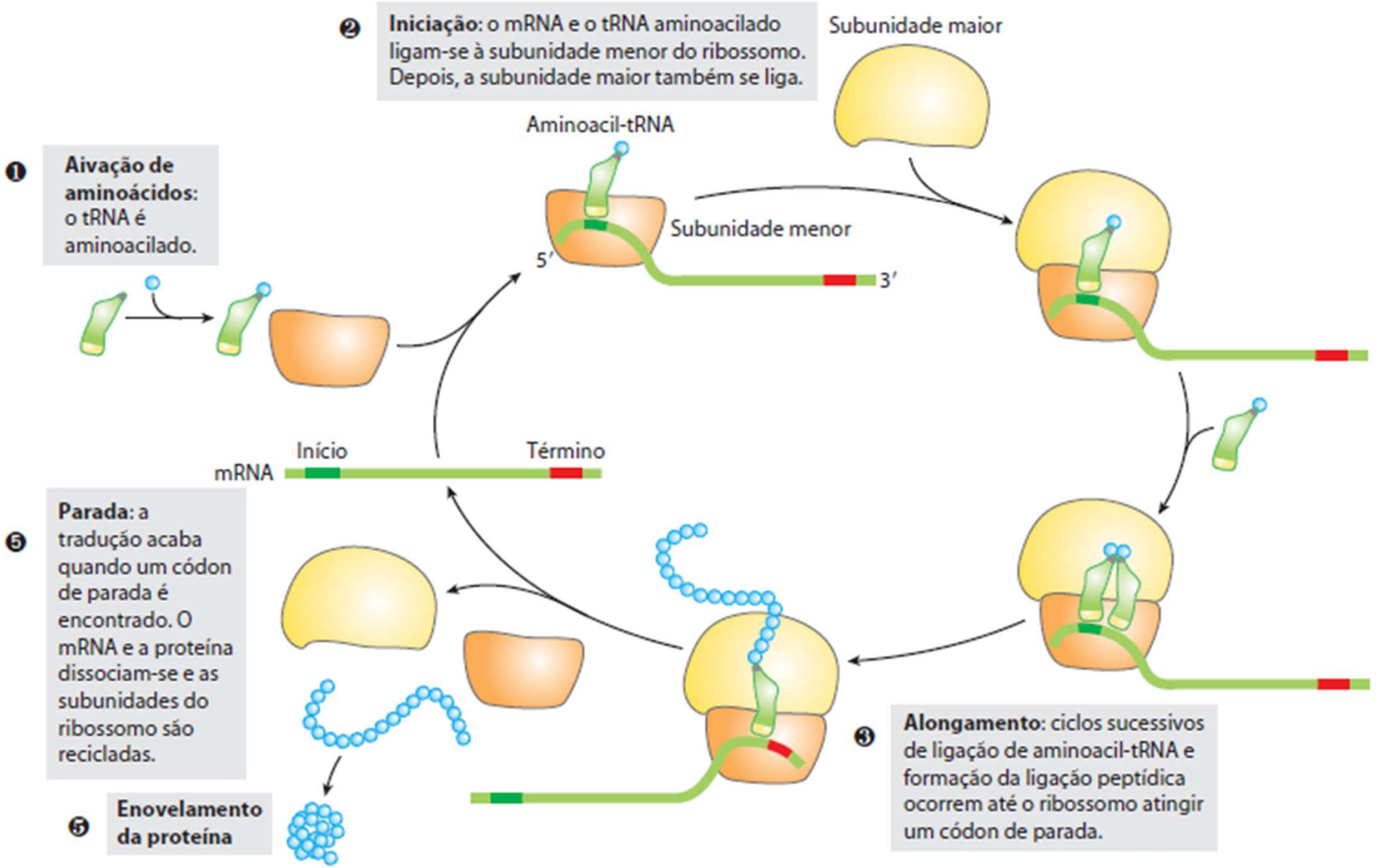
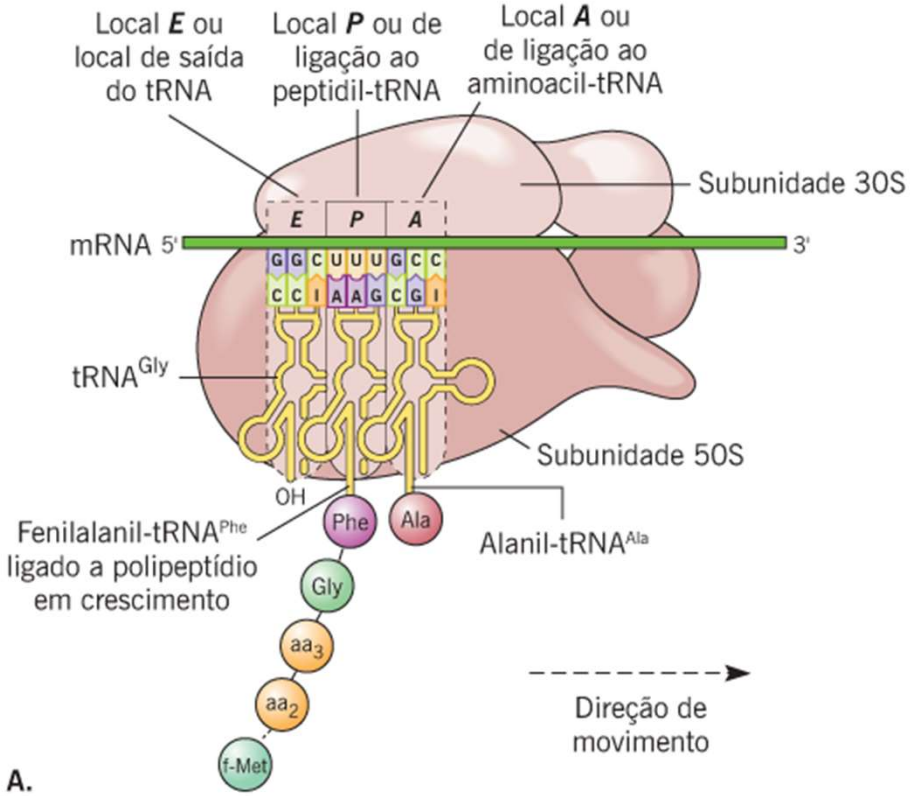
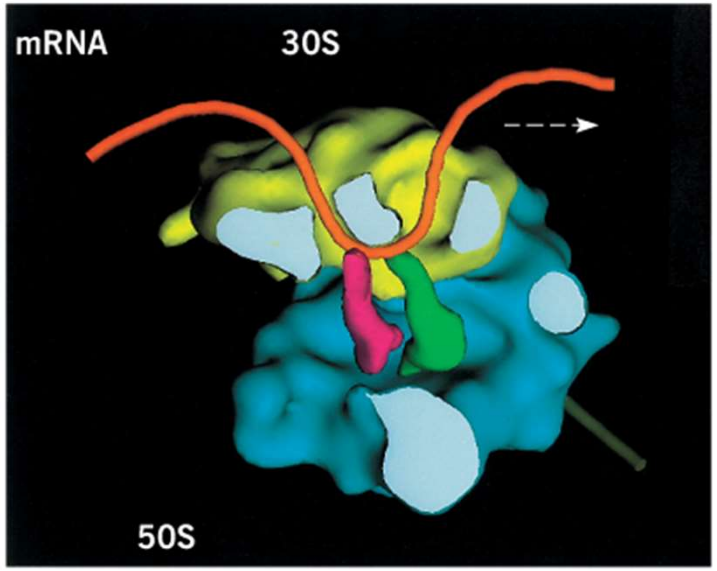

❶ Aivação de aminoácidos: o tRNA é aminoacilado.
❷ Iniciação: o mRNA e o tRNA aminoacilado ligam-se à subunidade menor do ribossomo. Depois, a subunidade maior também se liga.
Subunidade maior
Aminoacil-tRNA
Subunidade menor
5′
3′
mRNA
Início
Término
❸ Alongamento: ciclos sucessivos de ligação de aminoacil-tRNA e formação da ligação peptídica ocorrem até o ribossomo atingir um códon de parada.
❺ Parada: a tradução acaba quando um códon de parada é encontrado. O mRNA e a proteína dissociam-se e as subunidades do ribossomo são recicladas.
❻ Enovelamento da proteína

Diagrama de ribossomo 70S



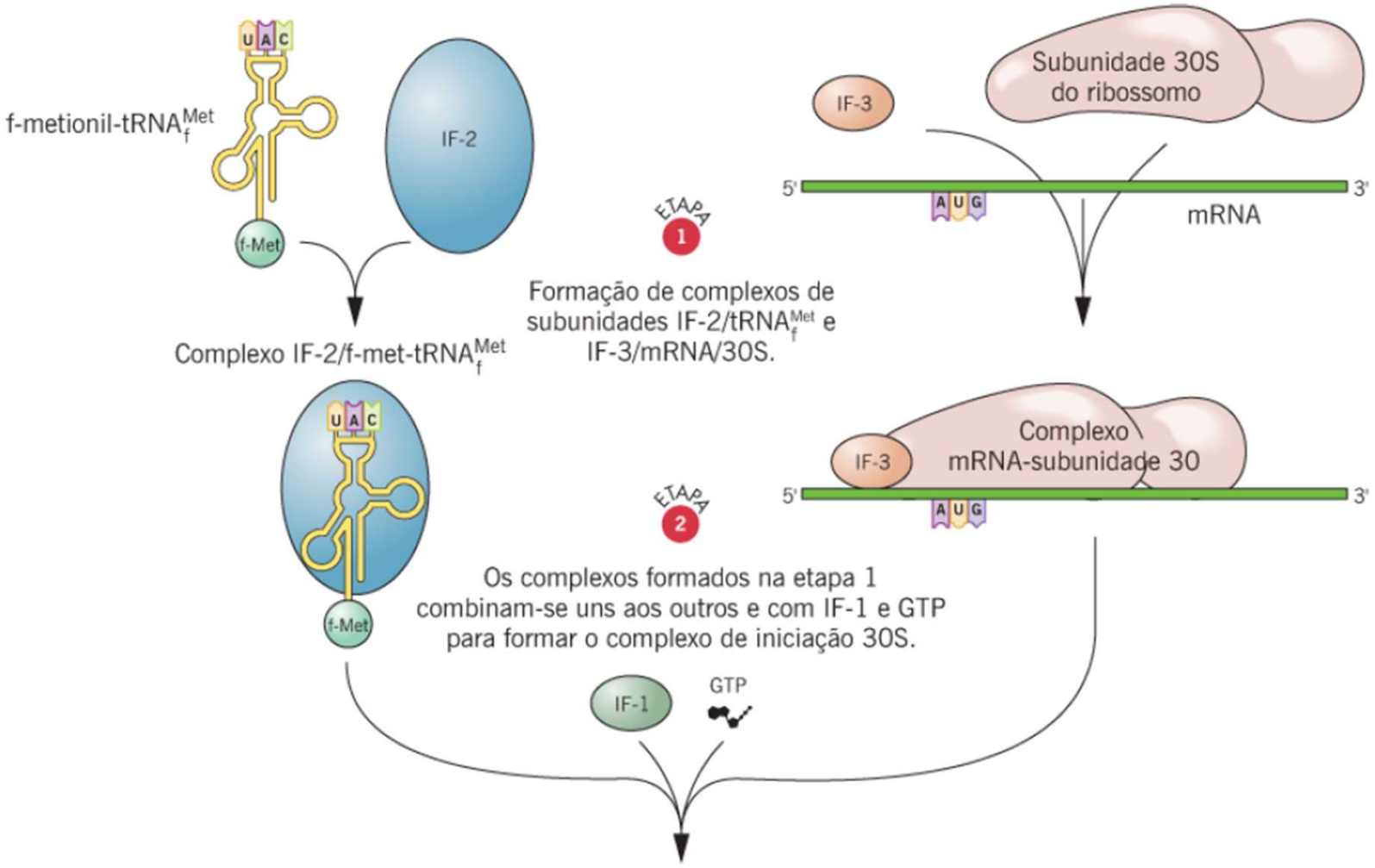
A.

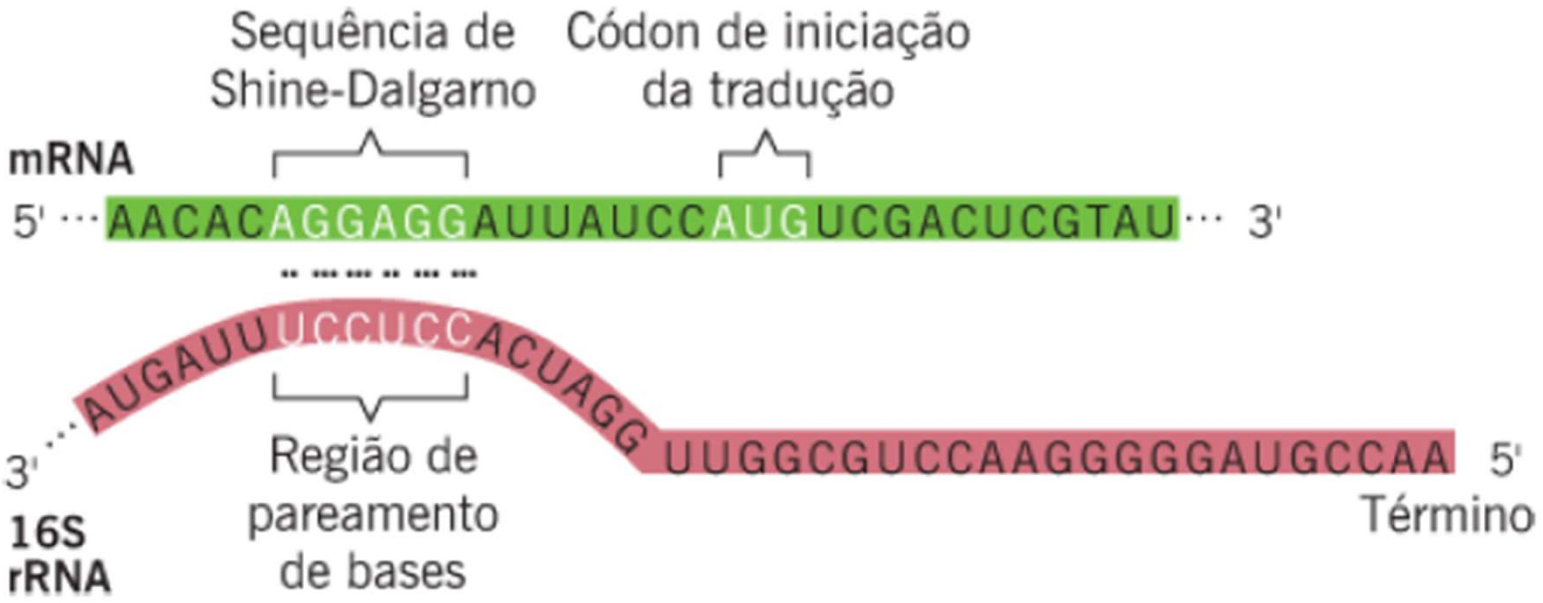
Ribossomo 70S – vista cortada de modelo

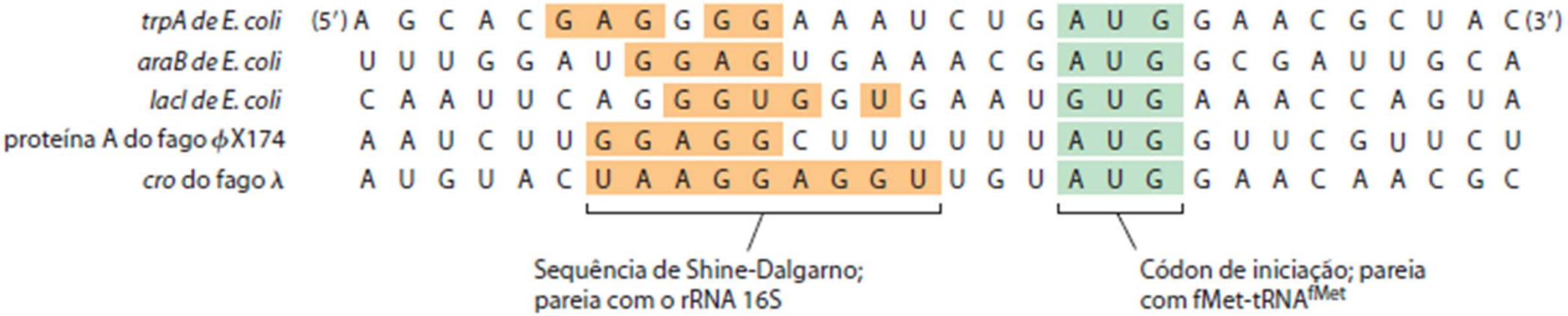


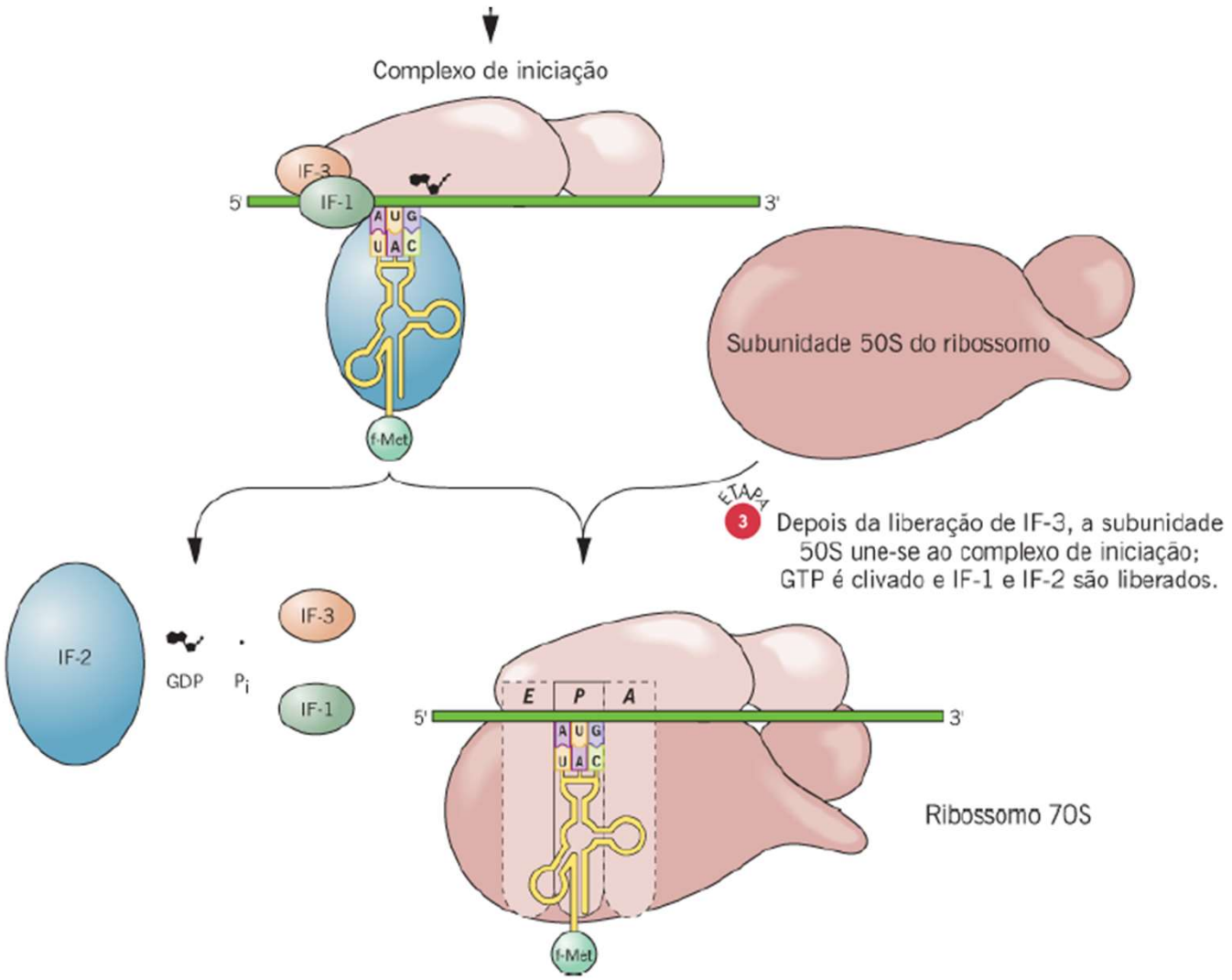
B.

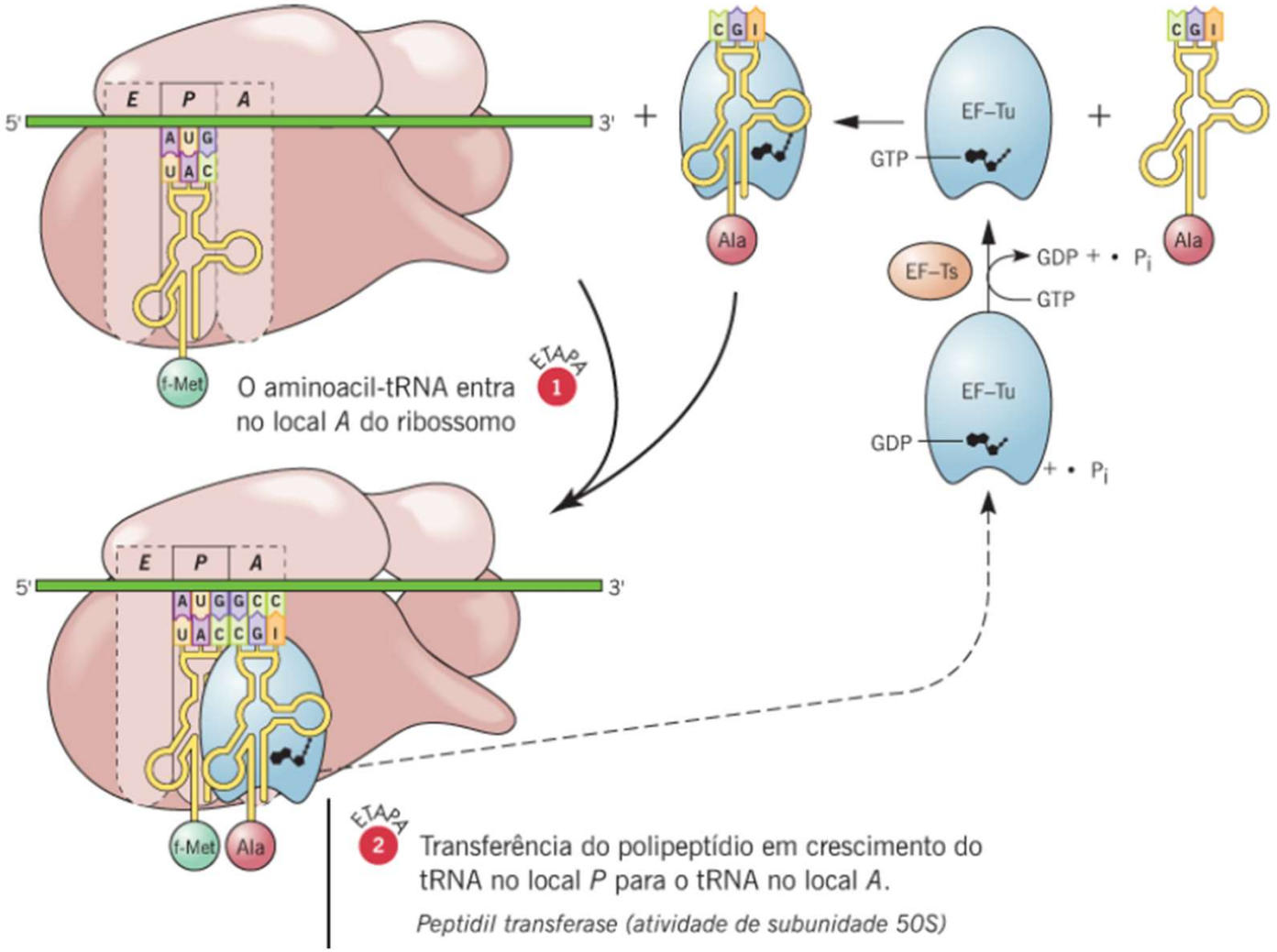
Cortesia de Dr. Joachim Frank. From Frank, et al. 1995. Biochemistry and Cell Biology 73: 357.

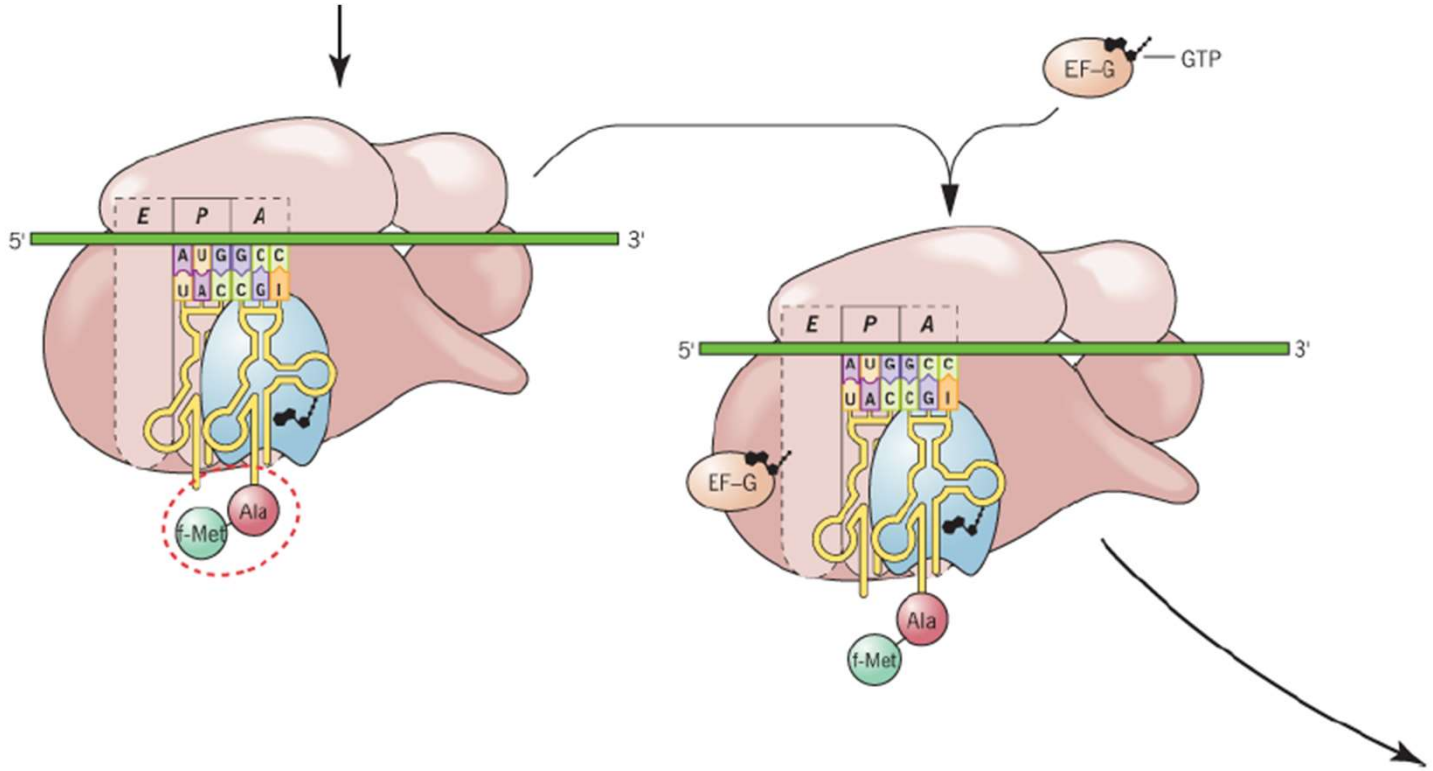

f-metionil-tRNA$_f^{Met}$
U A C
f-Met
IF-2
Complexo IF-2/f-met-tRNA$_f^{Met}$
ETAPA 1
Formação de complexos de subunidades IF-2/tRNA$_f^{Met}$ e IF-3/mRNA/30S.
Subunidade 30S do ribossomo
IF-3
5'
3'
A U G
mRNA
ETAPA 2
Os complexos formados na etapa 1 combinam-se uns aos outros e com IF-1 e GTP para formar o complexo de iniciação 30S.
Complexo mRNA-subunidade 30
IF-1
GTP

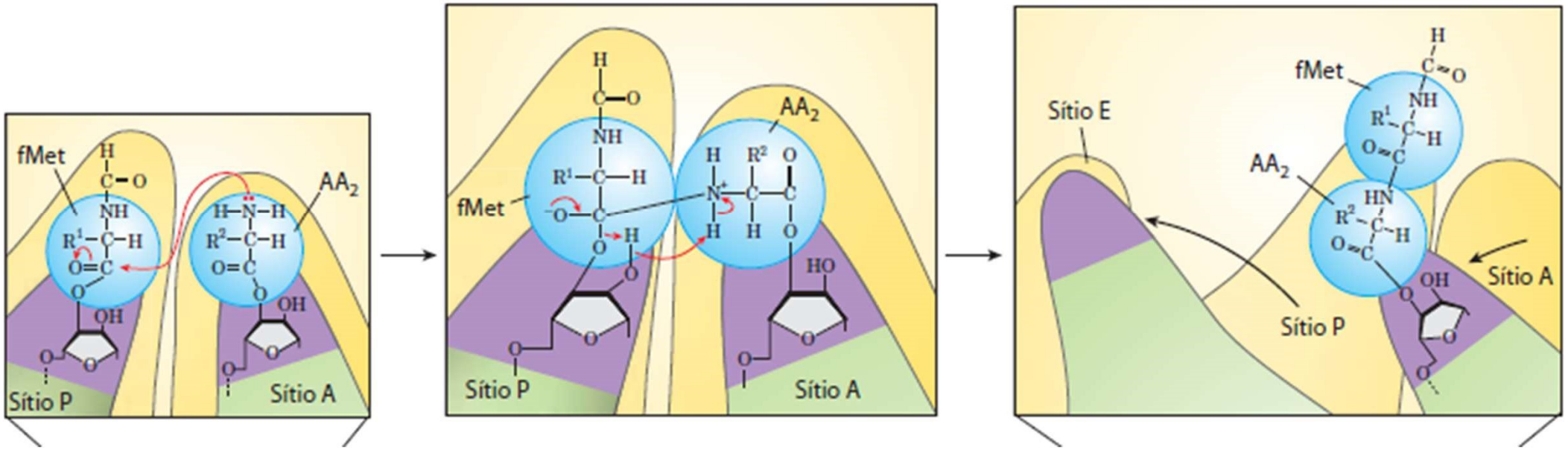

Sequência de Shine-Dalgarno
Códon de iniciação da tradução
mRNA
5' ··· AACACAGGAGGAUUAUCCAUGUCGACUCGTAU ··· 3'
3' ··· AUGAUUUCCUCCACUAGG
UUGGCGUCCAAGGGGGAUGCCAA 5'
Término
Região de pareamento de bases
16S rRNA


trpA de E. coli (5′) A G C A C G A G G G A A A U C U G A U G G A A C G C U A C (3′)
araB de E. coli 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
lacI de E. coli 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
proteína A do fago ϕX174 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
cro do fago λ 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
Sequência de Shine-Dalgarno; pareia com o rRNA 16S
Códon de iniciação; pareia com fMet-tRNA fMet


Complexo de iniciação
IF-3
IF-1
5'
3'
A U G
U A C
f-Met
Subunidade 50S do ribossomo
ETAPA 3
Depois da liberação de IF-3, a subunidade 50S une-se ao complexo de iniciação; GTP é clivado e IF-1 e IF-2 são liberados.
IF-2
GDP
P_i
IF-3
IF-1
E P A
5'
3'
A U G
U A C
f-Met
Ribossomo 70S

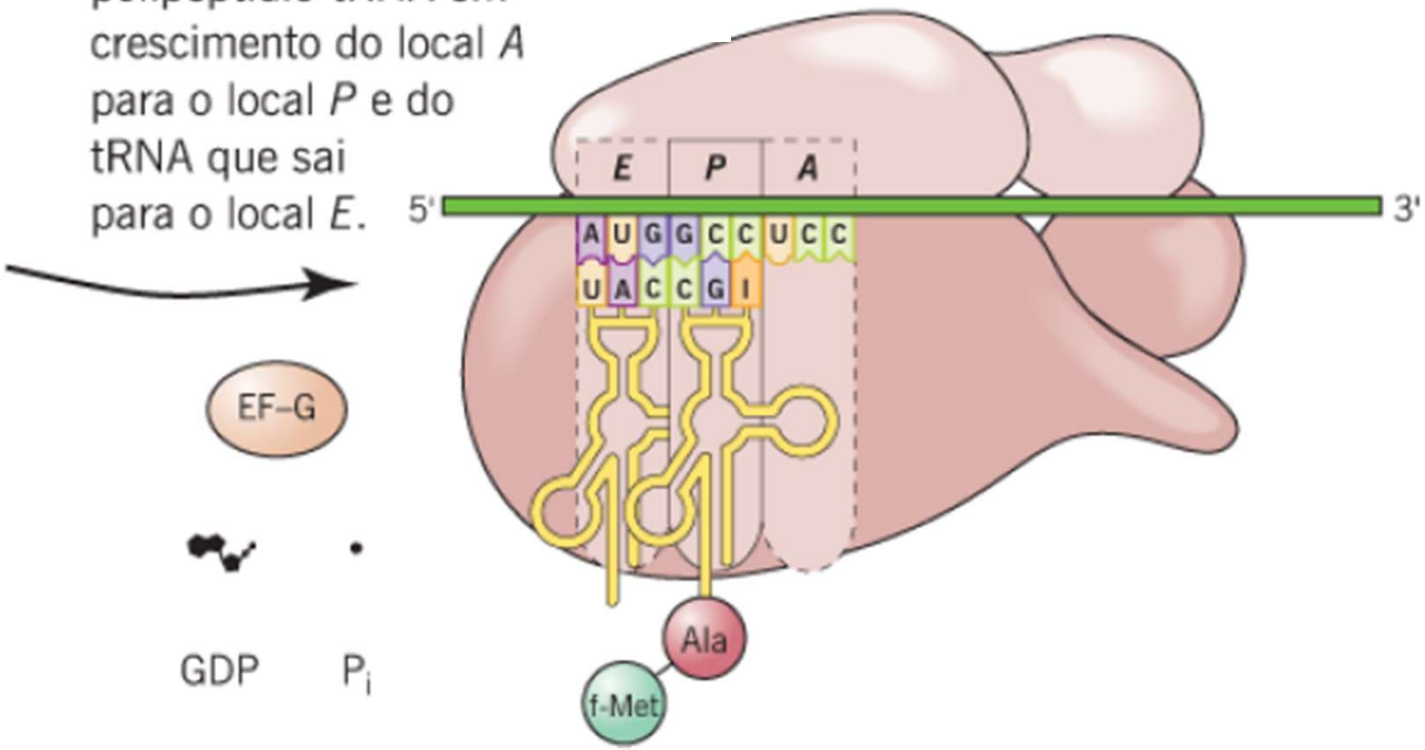

E
P
A
5'
3'
A U G
U A C
f-Met
C G I
Ala
EF–Tu
GTP
EF–Ts
GDP + • Pi
GTP
EF–Tu
GDP
+ • Pi
ETAPA 1
O aminoacil-tRNA entra no local A do ribossomo
A U G G C C
U A C C G I
f-Met
Ala
ETAPA 2
Transferência do polipeptídio em crescimento do tRNA no local P para o tRNA no local A.
Peptidil transferase (atividade de subunidade 50S)

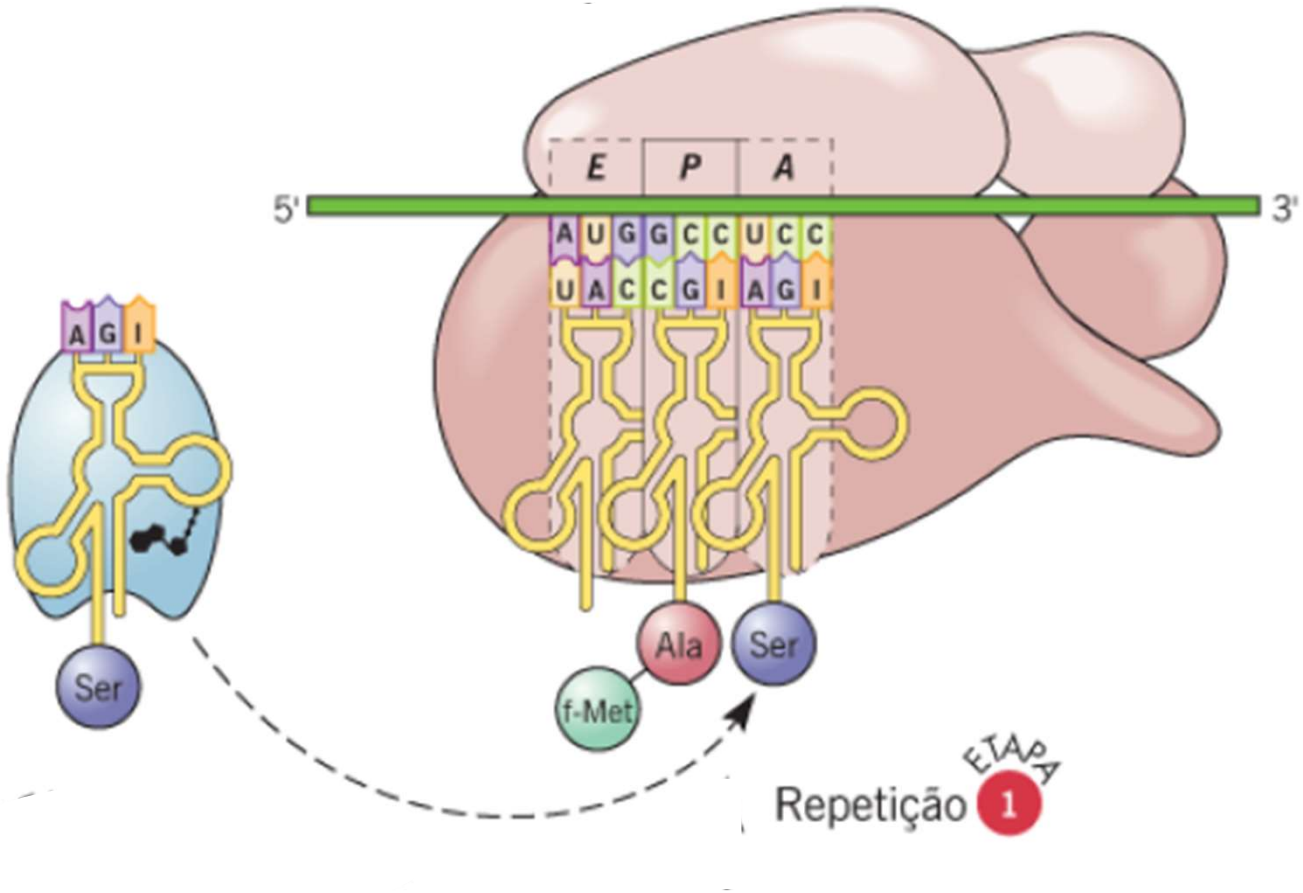

EF–G
GTP
E
P
A
5'
3'
A U G G C C
U A C C G I
f-Met
Ala
EF–G
E
P
A
5'
3'
A U G G C C
U A C C G I
Ala
f-Met

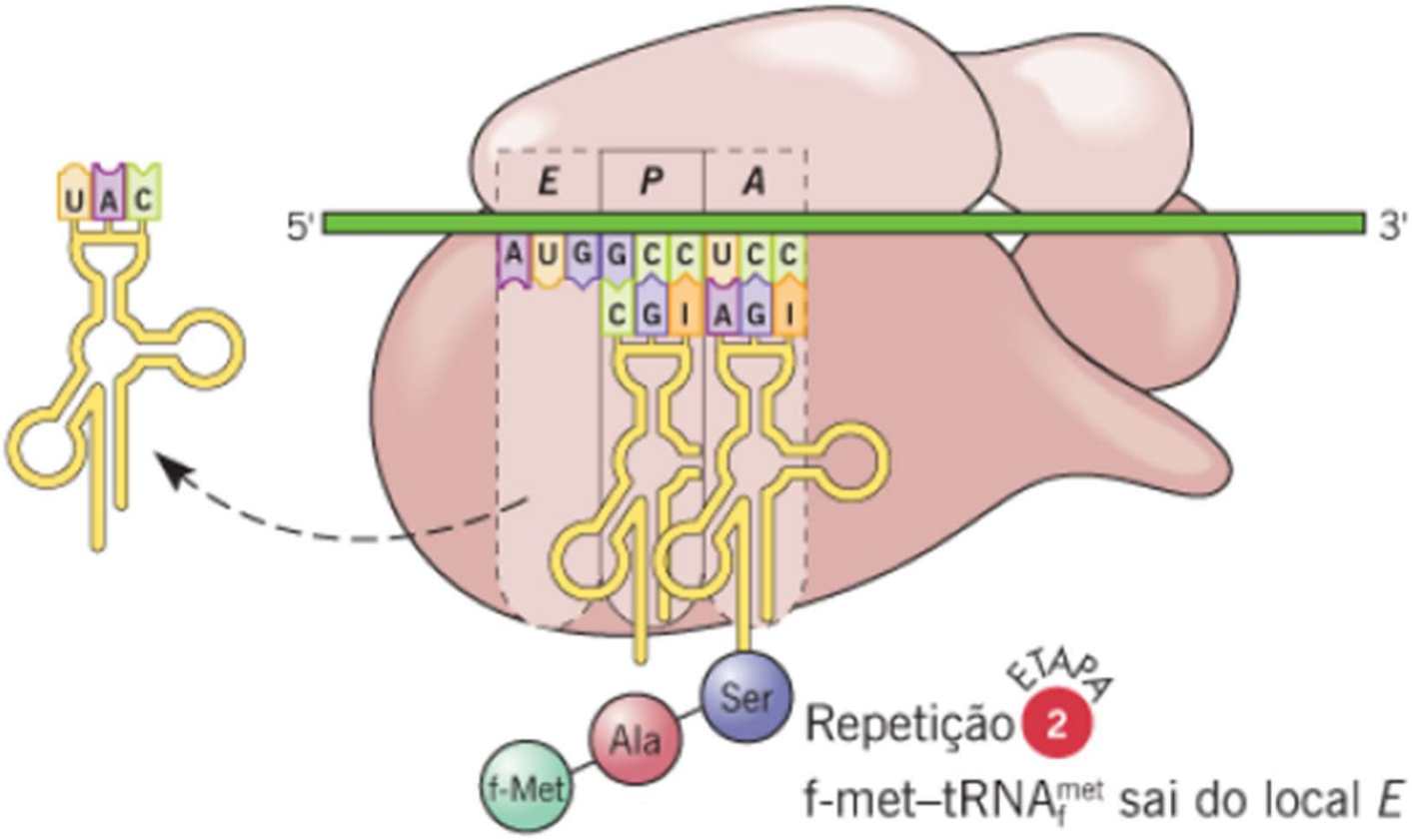

fMet
AA2
Sítio P
Sítio A
fMet
AA2
Sítio P
Sítio A
Sítio E
fMet
AA2
Sítio P
Sítio A

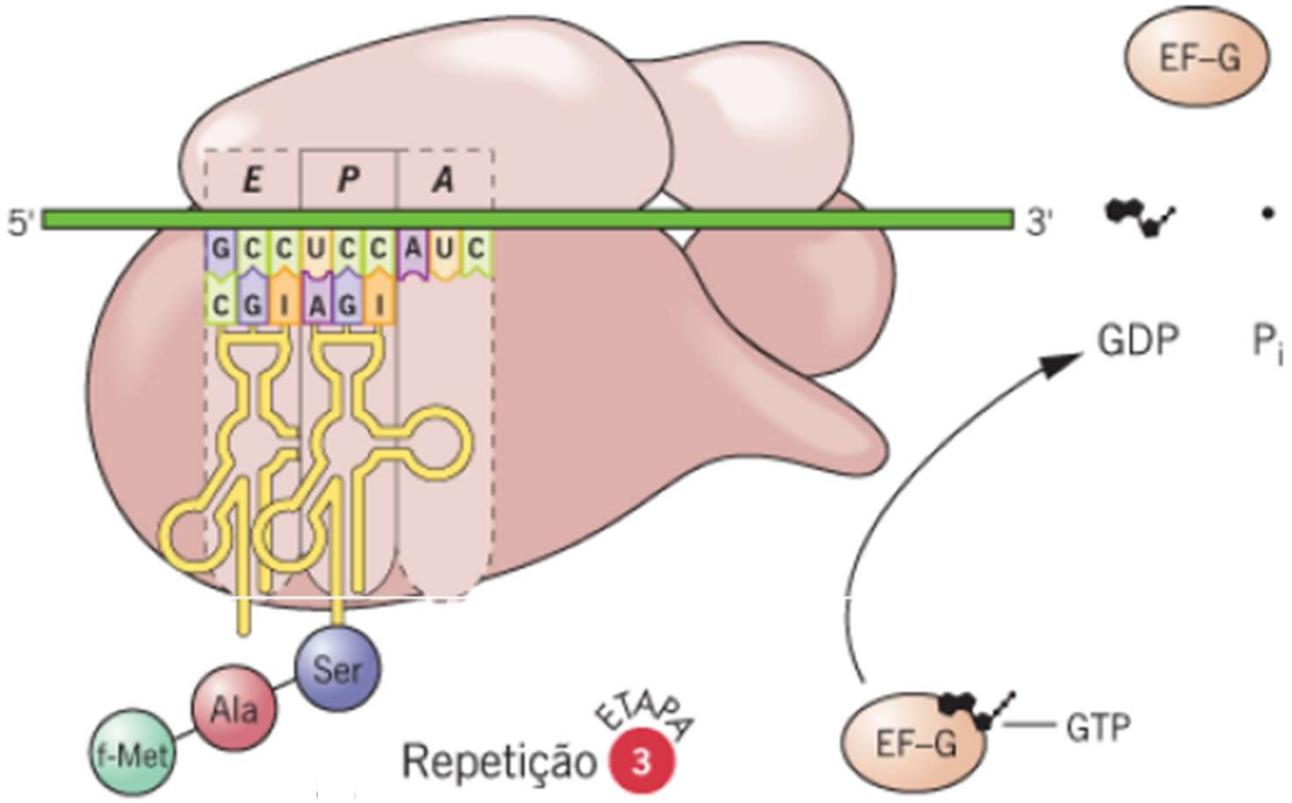
ETAPA 3

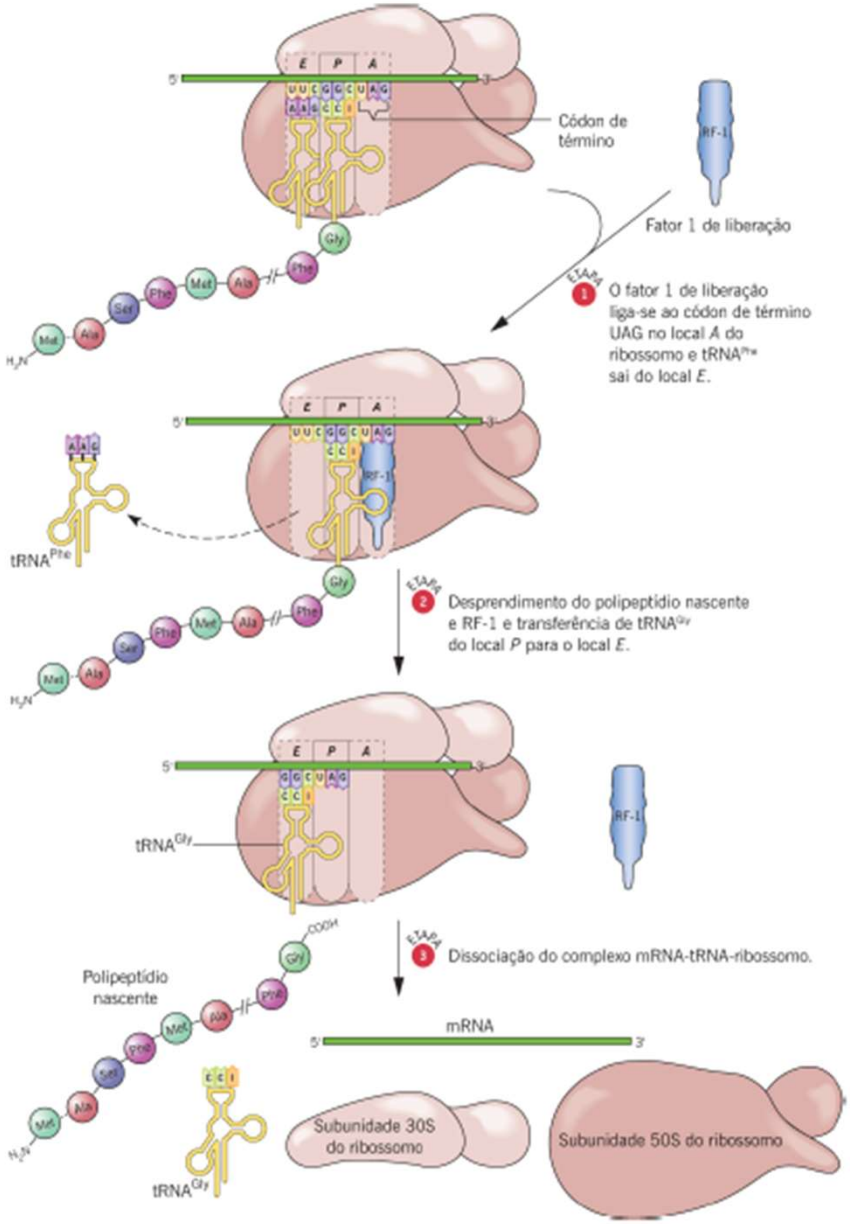
Translocação do polipeptídio-tRNA em crescimento do local *A* para o local *P* e do tRNA que sai para o local *E*.




E
P
A
5'
3'
A U G G C C U C C
U A C C G I A G I
A G I
Ser
Ala
Ser
f-Met
ETAPA
Repetição 1


U A C
E P A
5'
3'
A U G G C C U C C
C G I A G I
Ser
Ala
f-Met
ETAPA
Repetição 2
f-met–tRNA$_f^{met}$ sai do local *E*


EF–G
E
P
A
5'
3'
G C C U C C A U C
C G I A G I
GDP
P_i
Ser
Ala
f-Met
ETAPA
Repetição 3
EF–G
GTP


E P A
5'
3'
Códon de término
RF-1
Fator 1 de liberação
EJAs
1
O fator 1 de liberação liga-se ao códon de término UAG no local A do ribossomo e tRNA^Phe sai do local E.
tRNA^Phe
2
Desprendimento do polipeptídio nascente e RF-1 e transferência de tRNA^Gly do local P para o local E.
tRNA^Gly
3
Dissociação do complexo mRNA-tRNA-ribossomo.
Polipeptídio nascente
COOH
mRNA
Subunidade 30S do ribossomo
Subunidade 50S do ribossomo