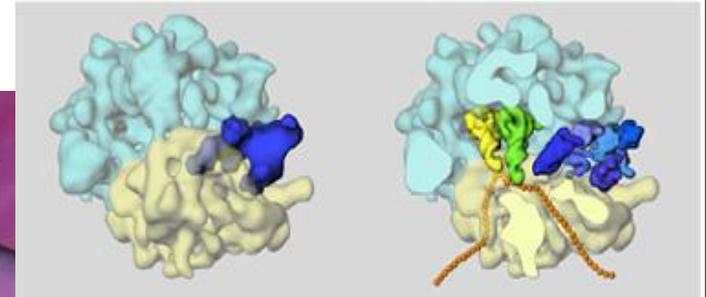
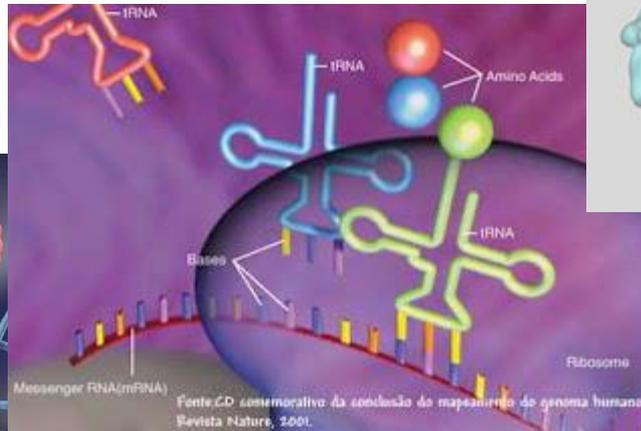


Transcrição – Do DNA ao RNA

Processamento do RNA

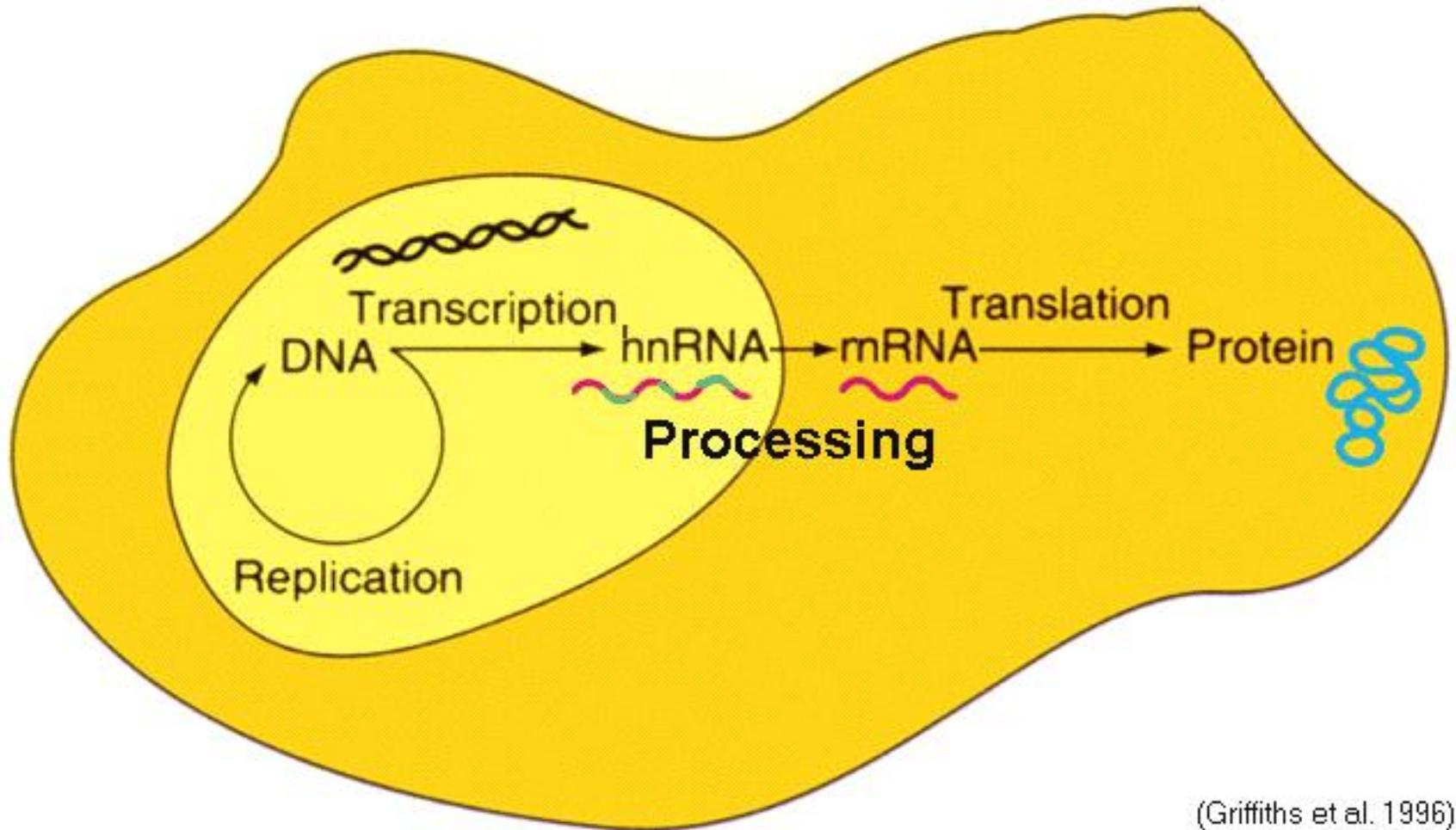
Tradução – Síntese Protéica



Professor Ricardo Antunes de Azevedo
Turma: Ciências dos Alimentos

Biologia Celular

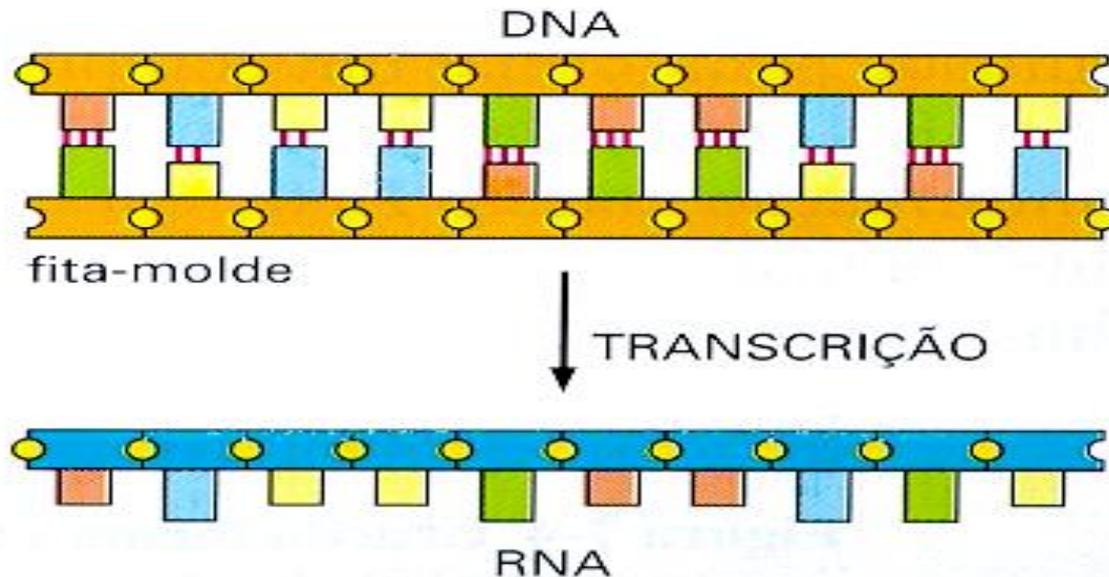
DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA



Transcrição – Do DNA ao RNA

Síntese de RNA a partir de uma molécula molde de DNA.

Uma das fitas do DNA serve de molde, determinando a ordem na qual os ribonucleotídeos são polimerizados para formar uma fita complementar.



Transcrição – Do DNA ao RNA

A transcrição e a tradução são maneiras pelas quais as células lêem ou ***expressam*** as suas instruções genéticas, contidas nos seus genes

Cada gene pode ser transcrito e traduzido em diferentes taxas, possibilitando que a célula produza grandes quantidades de uma proteínas e ao mesmo tempo quantidades minúsculas de outras;

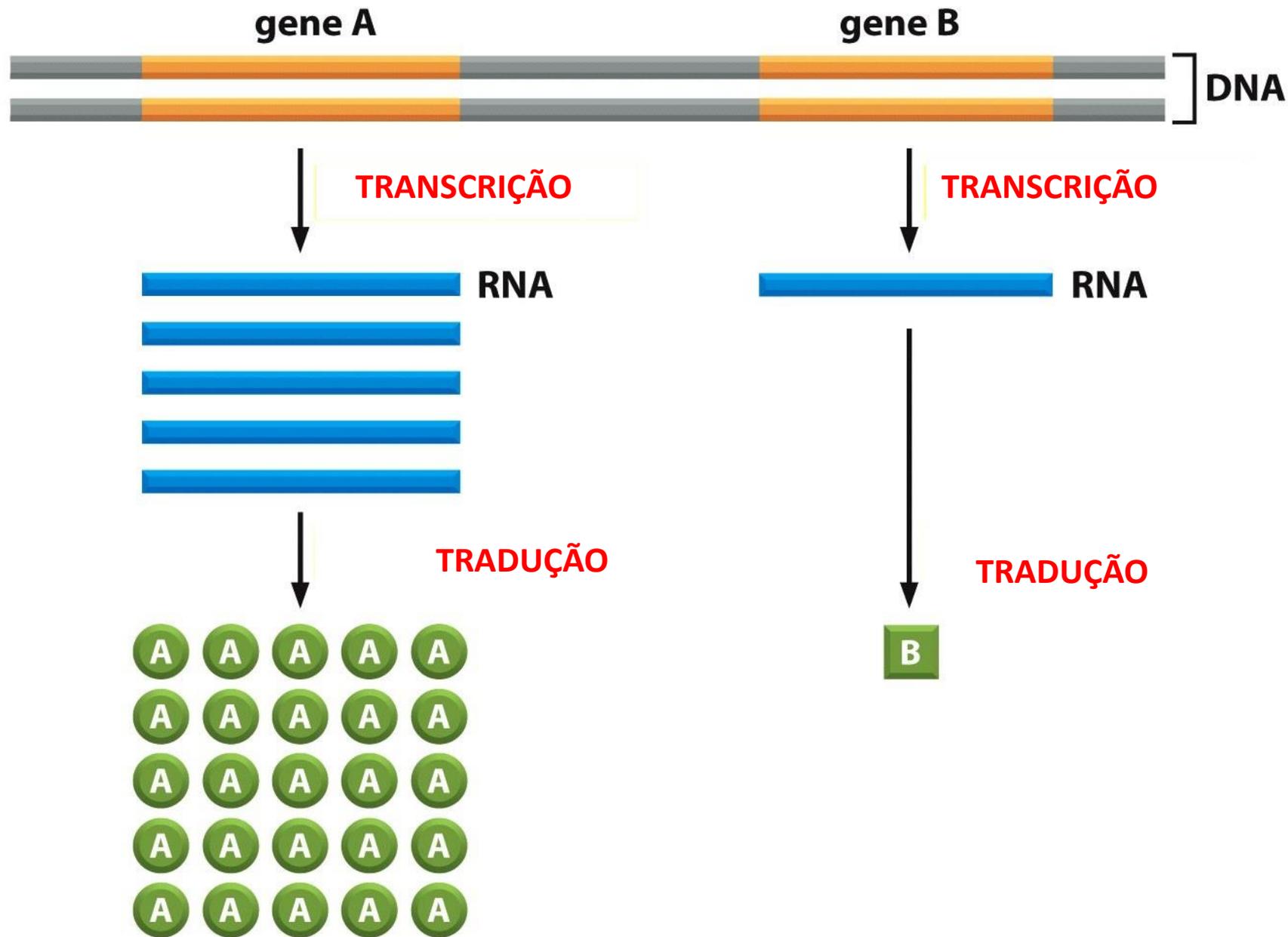
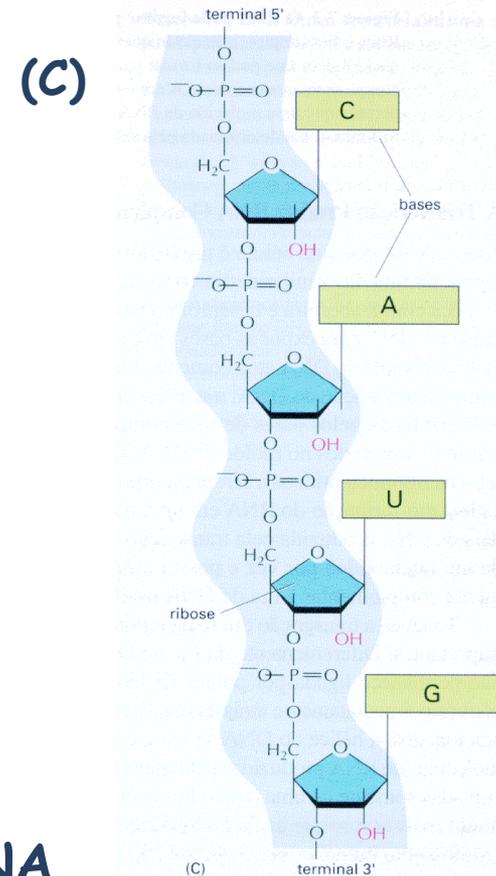
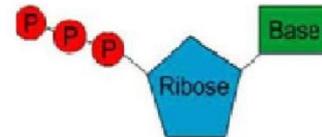
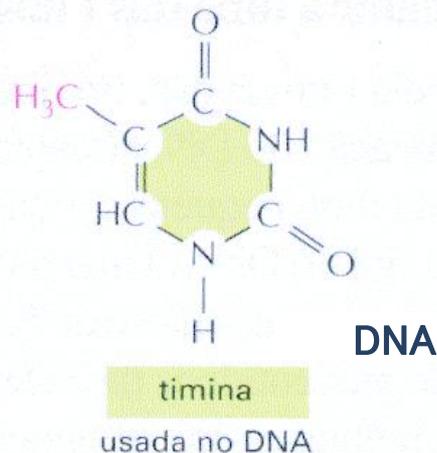
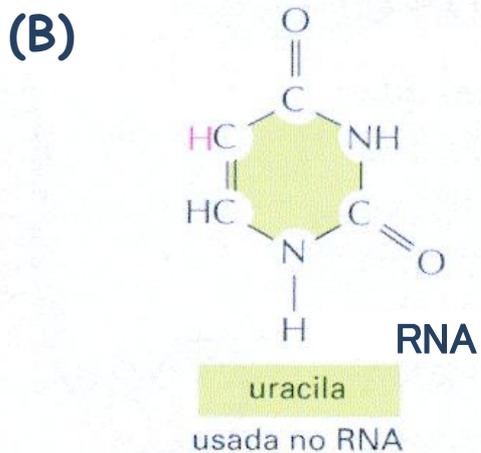
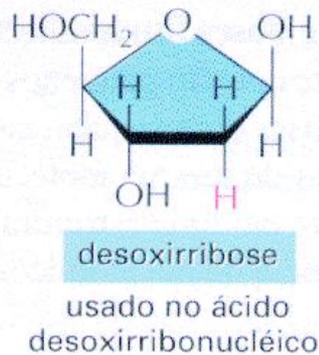
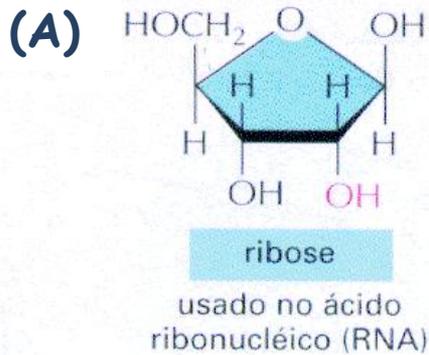


Figure 7-2 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

Transcrição – Do DNA ao RNA

Características Gerais

1. Os precursores são **ribonucleotídeos**;



(A) Ribose (B) Uracila (C) Exemplo de RNA

Transcrição – Do DNA ao RNA

Características Gerais

2. Apenas 1 fita de DNA é utilizada com molde para a síntese de RNA complementar em determinada região;
3. As cadeias de RNA podem ser sintetizadas *de novo*, sem a necessidade de um filamento *primer* pré-existente (**RNA polimerase**);
4. Síntese é **complementar ao DNA**, no entanto **A → U**;
5. Polimerização sentido **5' → 3'**;
6. RNA polimerase inicia a transcrição em sequências específicas de nucleotídeos → **promotores**

Transcrição – Do DNA ao RNA

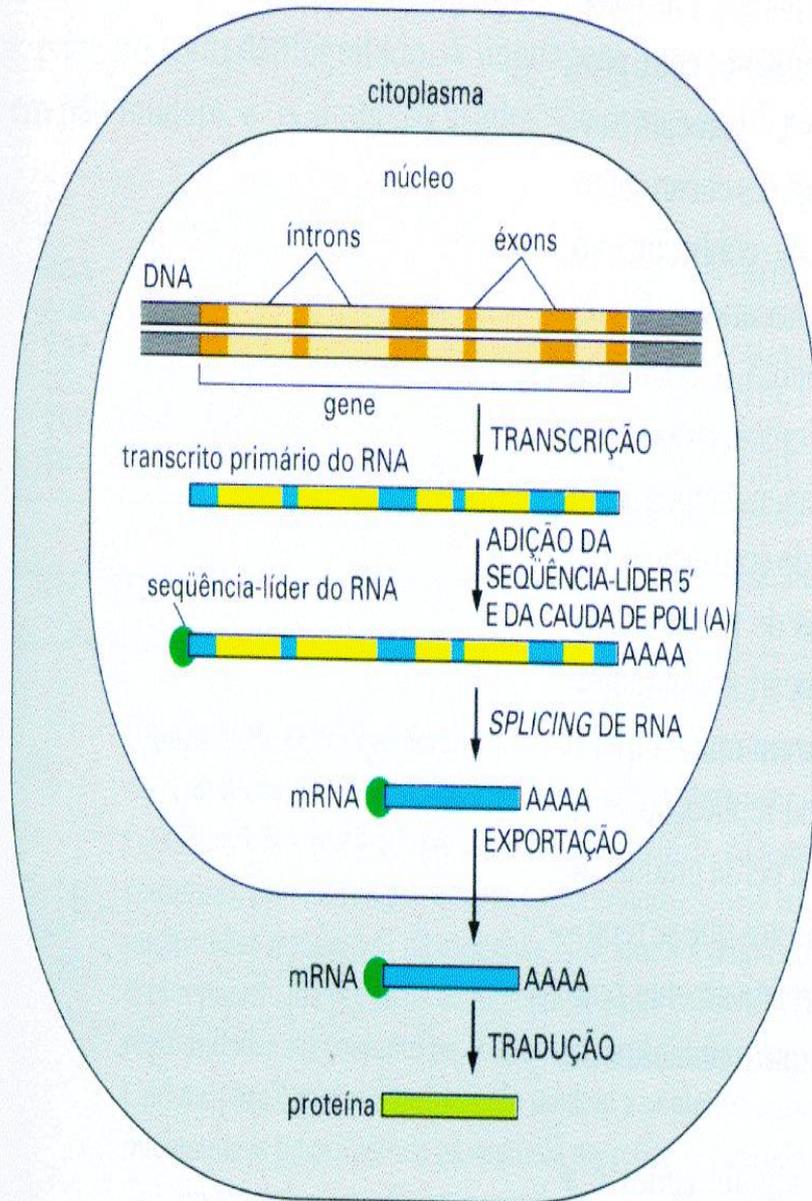
Onde ocorre?

Apesar do princípio de molde pelo qual o DNA é transcrito em RNA ser o mesmo em todos os organismos, o modo como os transcritos são manipulados antes de serem utilizados pelas células difere entre bactérias e eucariotos

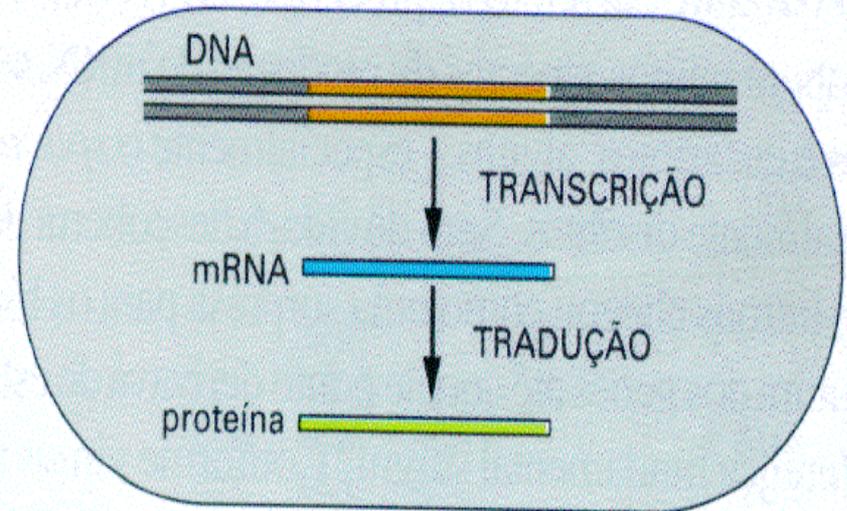
O DNA bacteriano permanece exposto diretamente no citoplasma, onde se localizam os ribossomos nos quais a síntese protéica ocorre

Já nas células eucarióticas o DNA está isolado dentro do núcleo, onde ocorre a transcrição, mas a síntese de proteínas ocorre nos ribossomos encontrados no citoplasma. Assim ele precisa ser transportado para fora do núcleo e ainda passa por modificações chamadas **PROCESSAMENTO DO RNA**

Eucariotos



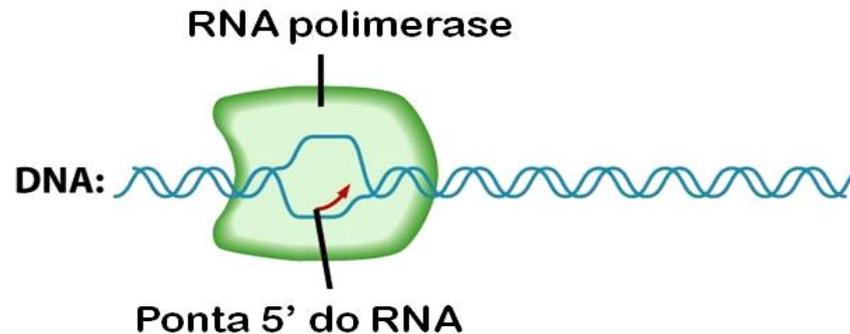
Procaríotos



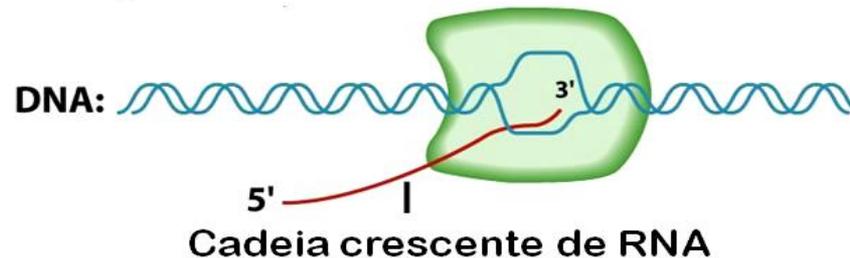
Transcrição – Do DNA ao RNA

Etapas da Transcrição

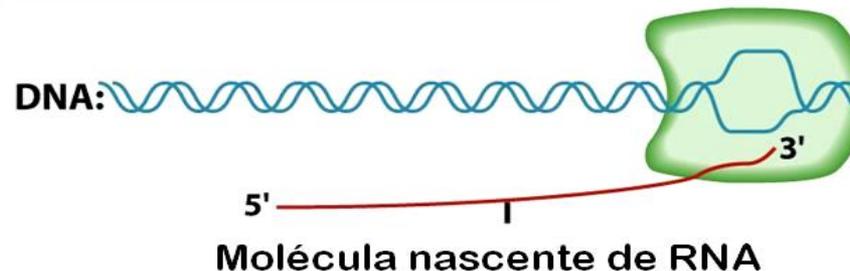
1 Iniciação da cadeia de RNA



2 Alongamento da cadeia de RNA

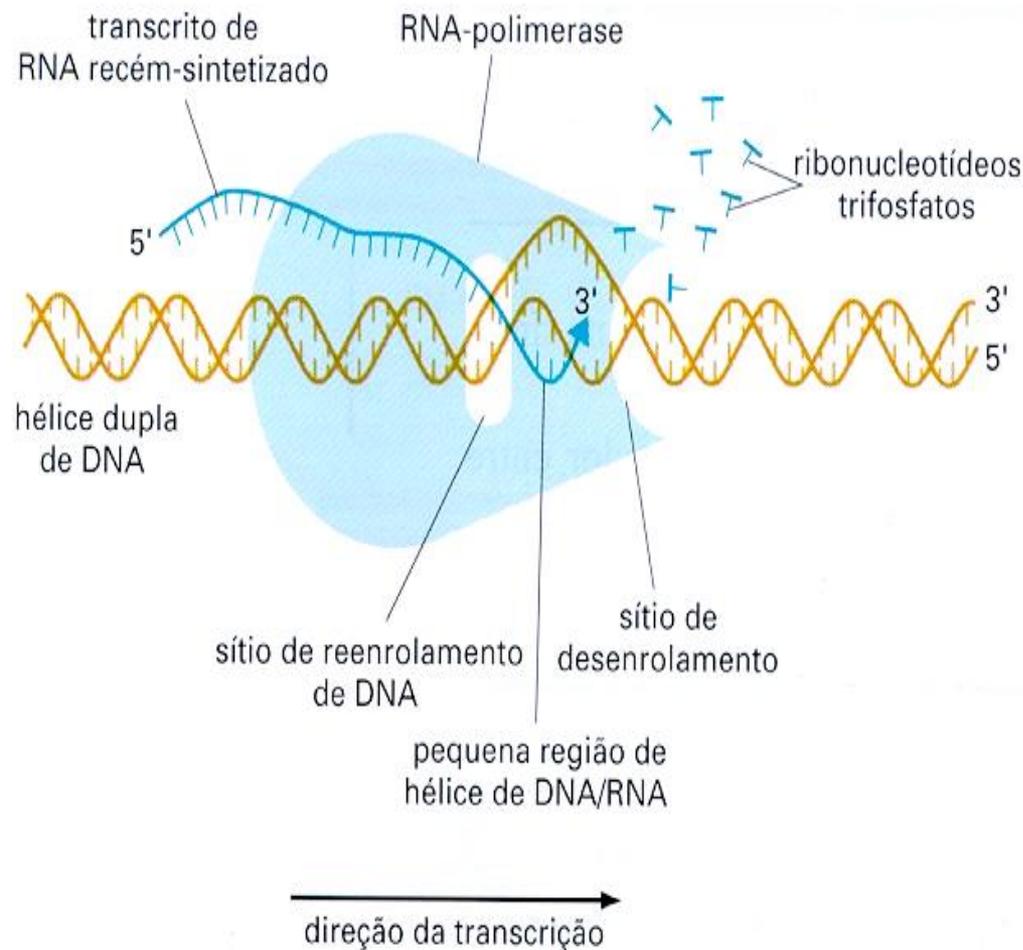


3 Término da cadeia de RNA



Transcrição – Do DNA ao RNA

A enzima RNA Polimerase



- Reconhece e liga-se a sequências específicas de DNA (**promotor**);
- Desnatura o DNA expondo a sequência de nucleotídeos a ser copiada;
- Mantém as fitas de DNA separadas na região de síntese;
- Mantém o híbrido DNA/RNA estável
- Renatura o DNA na região imediatamente posterior à da síntese;
- Sozinha, ou com o auxílio de proteínas específicas, termina a síntese do RNA.

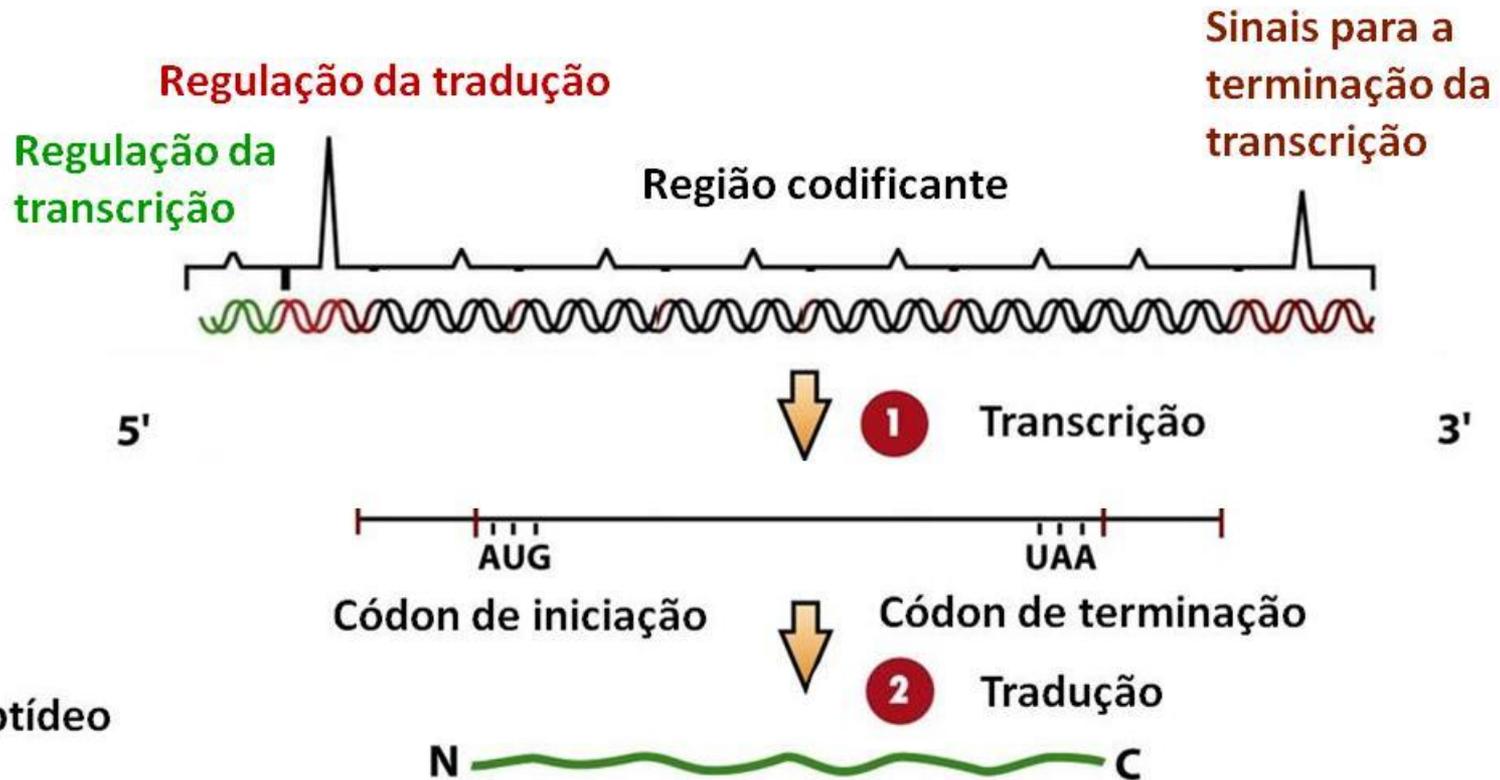
Transcrição – Do DNA ao RNA

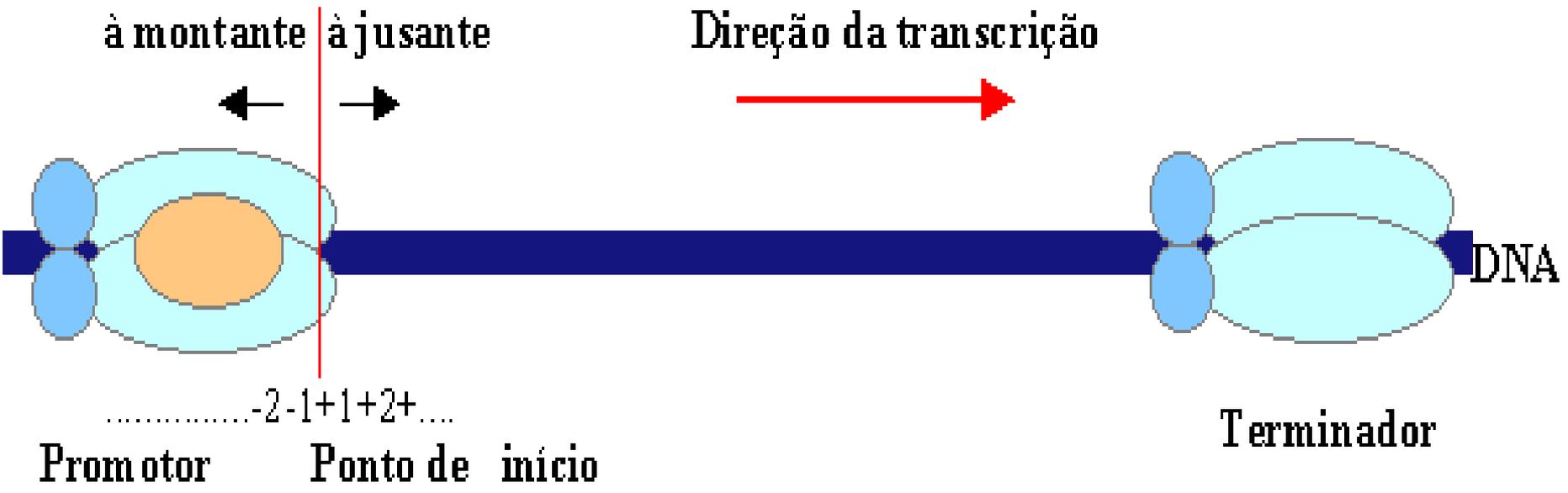
Procariotos

Transcrição – Do DNA ao RNA

Procaríotos

Gene típico de procaríotos





Diz-se que as sequências que antecedem o ponto de início localizam-se à montante (*upstream*) e as que o sucedem localizam-se à jusante (*downstream*)

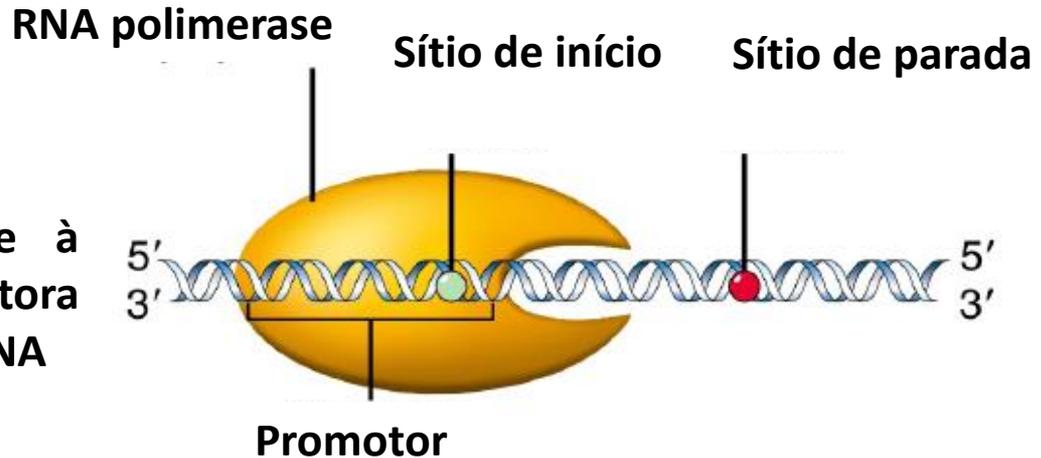
A posição das bases é numerada nos dois sentidos, a partir do ponto de início, ao qual se atribui o valor +1. Os valores aumentam (valor positivo) à jusante e diminuem (valor negativo) à montante

Transcrição – Do DNA ao RNA

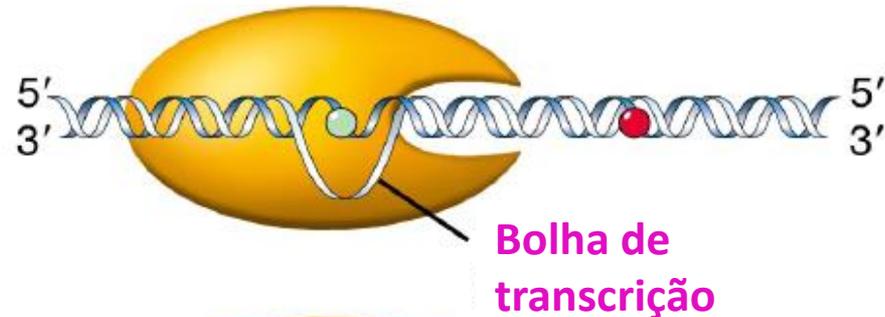
Etapas da Transcrição

Iniciação

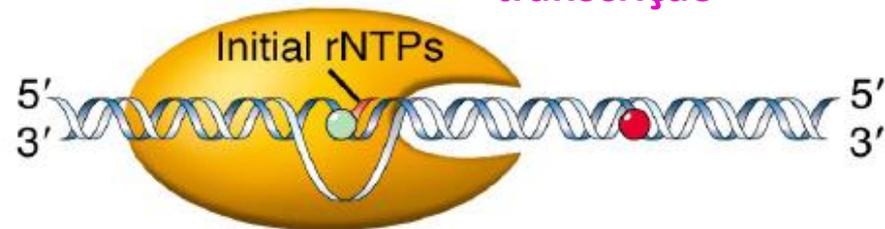
1 Polimerase liga-se à seqüência promotora na dupla fita de DNA



2 Polimerase desfaz a dupla fita próximo ao sítio de início, formando a bolha de transcrição



3 Polimerase catalisa a ligação fosfodiéster de 2 rNTPs (ribonucleotídeos)

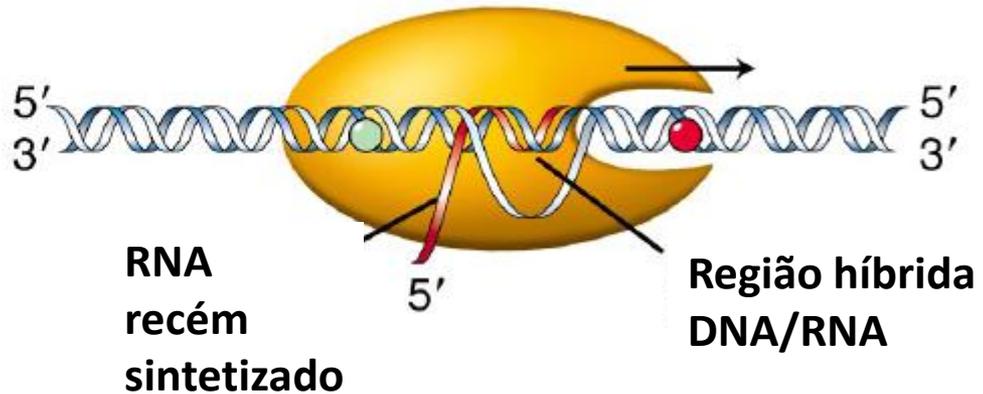


Transcrição – Do DNA ao RNA

Etapas da Transcrição

Alongamento

- 4** Polimerase avança no sentido $3' \rightarrow 5'$ para baixo da fita molde, separando a dupla fita e adicionando rNTPs à fita crescente de RNA

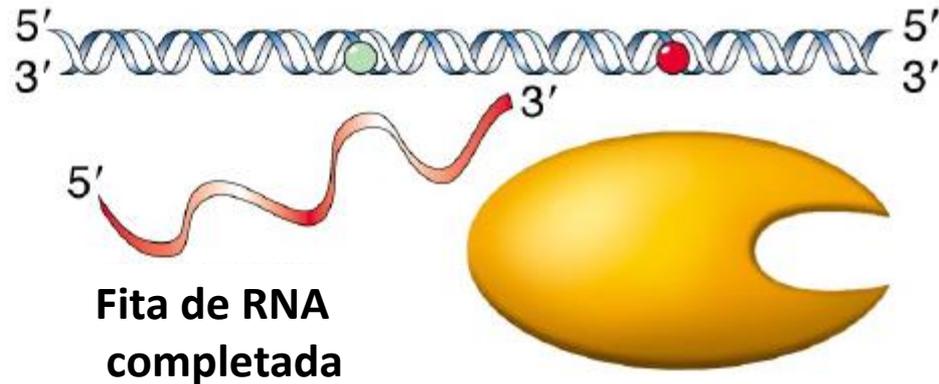


Transcrição – Do DNA ao RNA

Etapas da Transcrição

Terminação

- 5** No sítio de término, a polimerase libera a fita completa de RNA e se dissocia do DNA

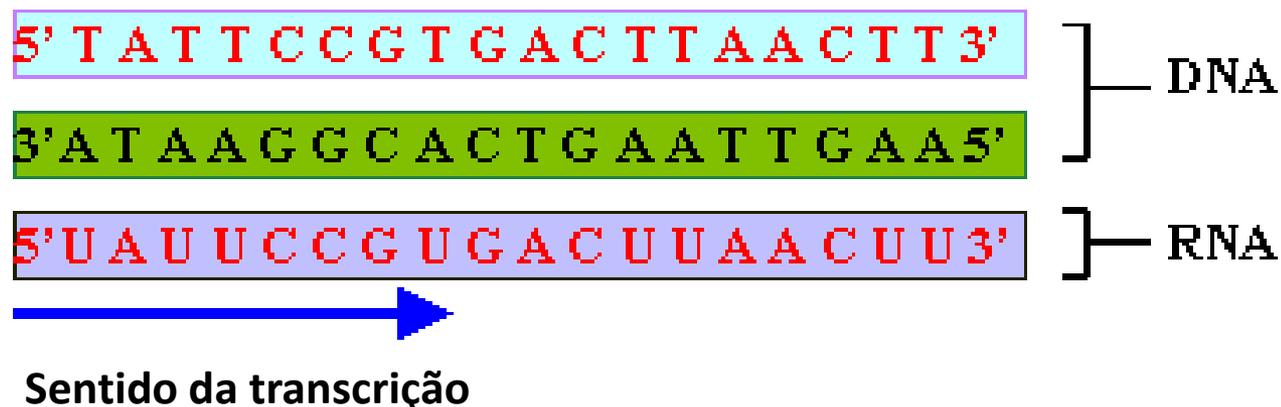


Na etapa final da transcrição, o transcrito primário é liberado da RNA Polimerase e a enzima se dissocia do DNA. Seqüências específicas do DNA sinalizam à RNA Polimerase para se dissociar da molécula de DNA.

Transcrição – Do DNA ao RNA

Etapas da Transcrição

- A informação genética contida num segmento do DNA, é reescrita em uma fita simples de RNA
- Esta fita apresenta uma sequência de ribonucleotídeos complementar a uma das fitas da dupla hélice de DNA (**fita molde**) e idêntica à sequência da outra fita (**fita codificadora**), com substituição de T por U

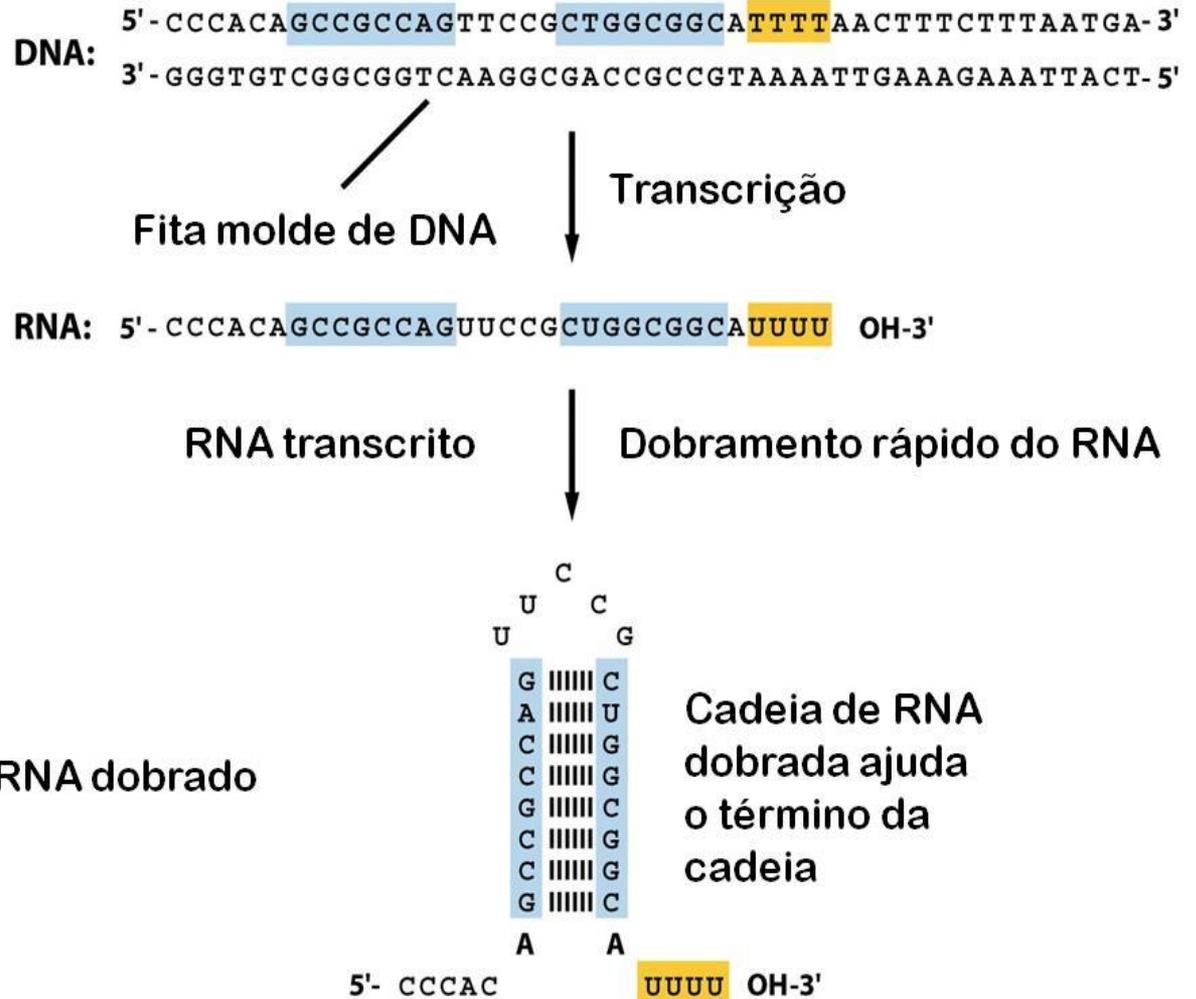


Transcrição – Do DNA ao RNA

Etapas da Transcrição

Terminação

O término das cadeias de RNA ocorre quando a RNA polimerase encontra um sinal de término, quando isso ocorre o complexo é liberado;



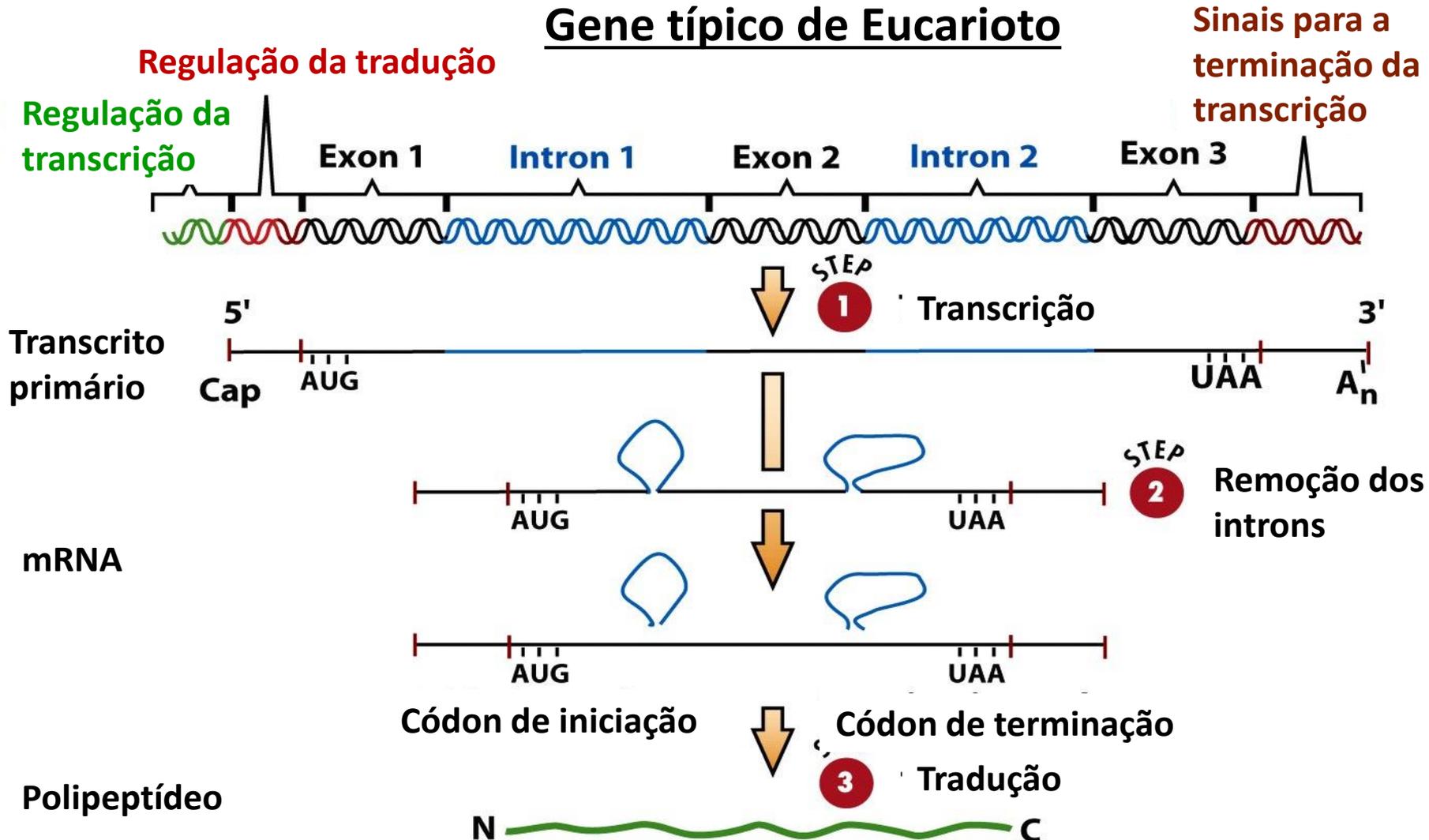
Transcrição – Do DNA ao RNA

Eucariotos

Transcrição – Do DNA ao RNA

Eucariotos

Gene típico de Eucarioto



Transcrição – Do DNA ao RNA

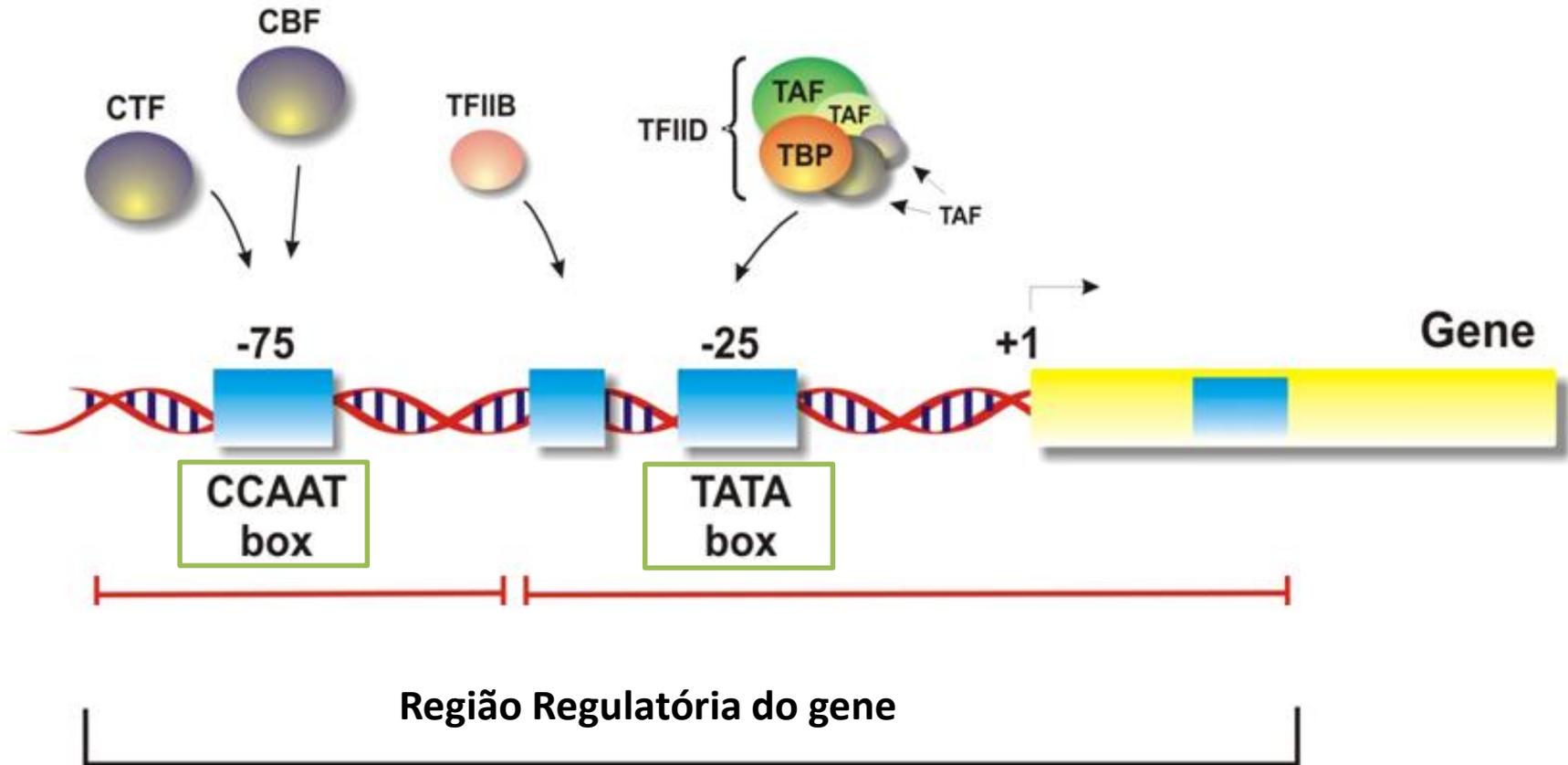
RNAs Polimerases de Eucariotos

Em eucariotos existem vários subtipos de RNA polimerases envolvidas na síntese de RNAs específicos:

- . RNA polimerase I – localizada no nucléolo e responsável pela síntese do RNA ribossômico**
- . RNA polimerase II – localizada no nucleoplasma e responsável pela síntese do RNA mensageiro**
- . RNA polimerase III – também localizada no nucleoplasma e responsável pela síntese do RNA de transferência**

Transcrição – Do DNA ao RNA

Promotor e Fatores de Transcrição



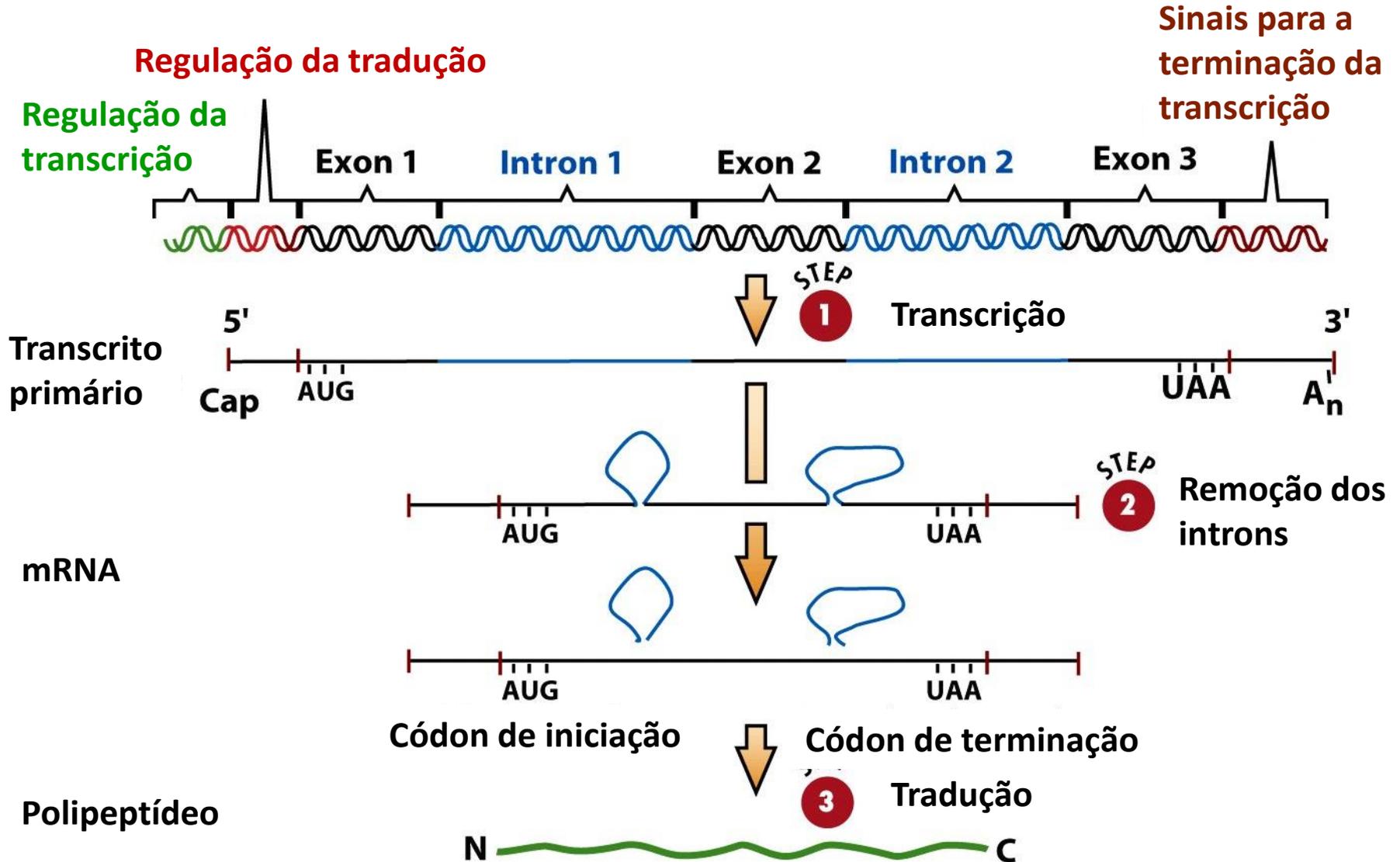
FATORES DE TRANSCRIÇÃO - Proteínas que auxiliam o processo de transcrição (PRINCIPALMENTE NO RECONHECIMENTO DO PROMOTOR)

Transcrição – Do DNA ao RNA

Processamento do mRNA

- **As modificações que podem ocorrer nos transcritos nucleares são, basicamente de três tipos:**
 - **Capeamento ("capping") do terminal 5';**
 - **Poliadenilação do terminal 3';**
 - **Montagem de segmentos codificadores ("**splicing**")**
- **Este conjunto de modificações no transcrito nuclear originará o mRNA, pronto para migrar para o citoplasma**
- **Transcritos originados na mitocôndria ou cloroplastos não sofrem tais modificações, comportando-se de forma similar aos de bactérias**

Splicing



Poliadenilação

- Após o término da transcrição – clivagem terminal do RNA
- Adição de cerca de 200 resíduos de adenilato (AMP)

FUNÇÕES:

- . Facilitar transporte para o citoplasma.
- . Estabilizar o RNAm
- . Facilitar a tradução

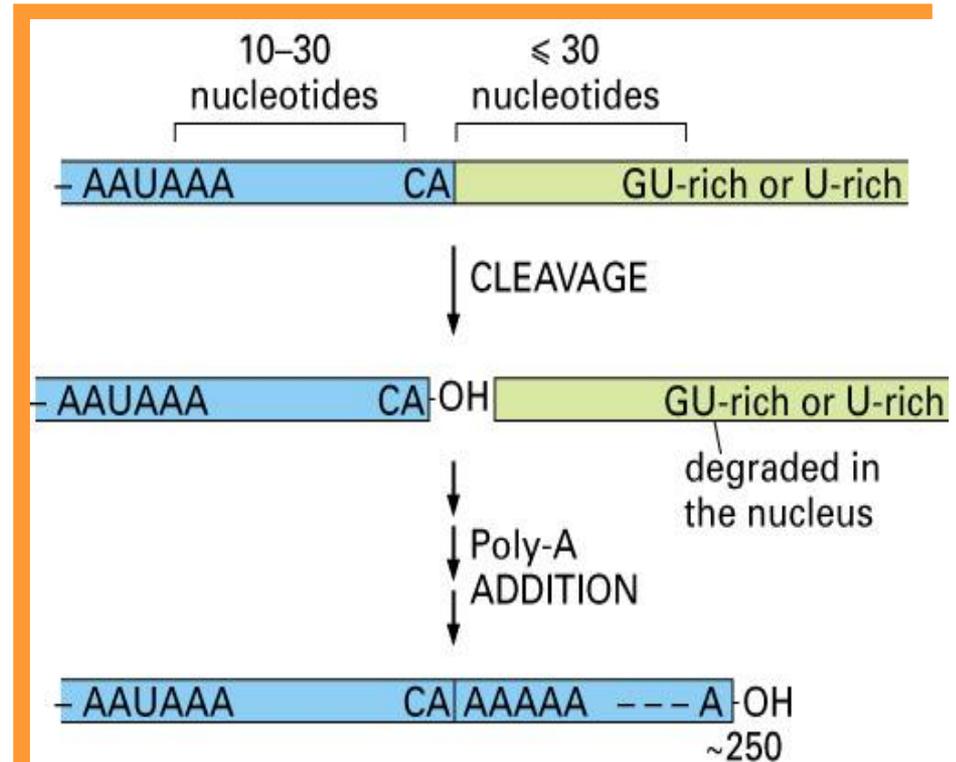


Figure 6-37. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

Capeamento e poliadenilação do RNA

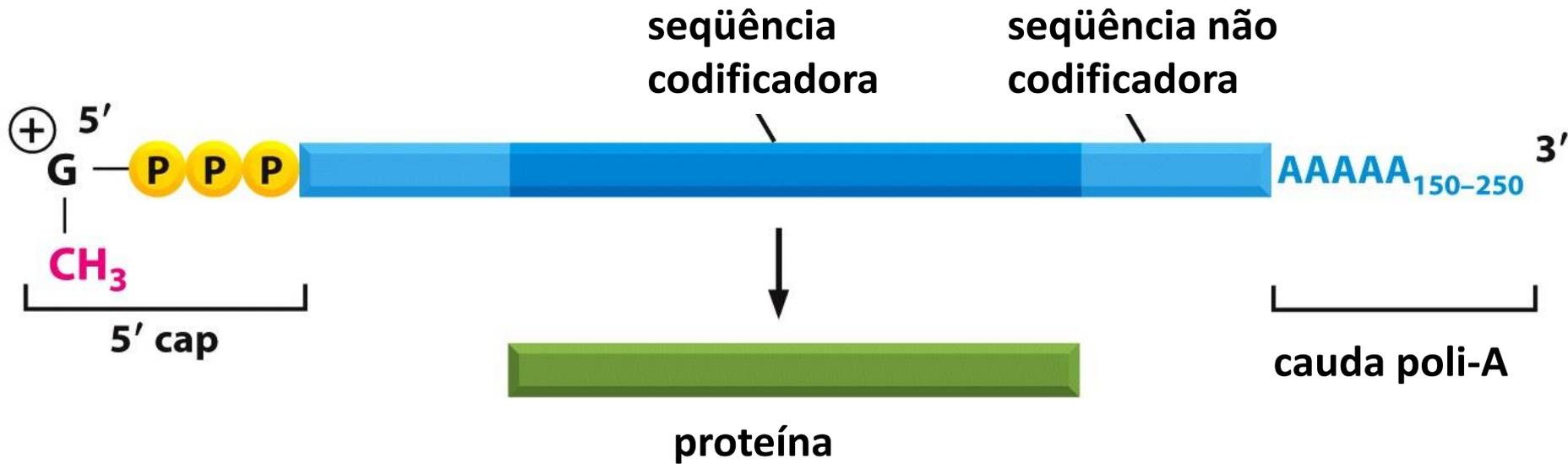


Figure 7-16a Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

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

Tradução – Do RNA à Proteína

- É o último estágio no fluxo da informação genética e é comandada pelo DNA.
- Dependente de elementos da célula (ribossomos, RNAm, RNAt, RNAr, enzimas).

- Maquinaria para a síntese de proteínas:

RIBOSSOMOS:

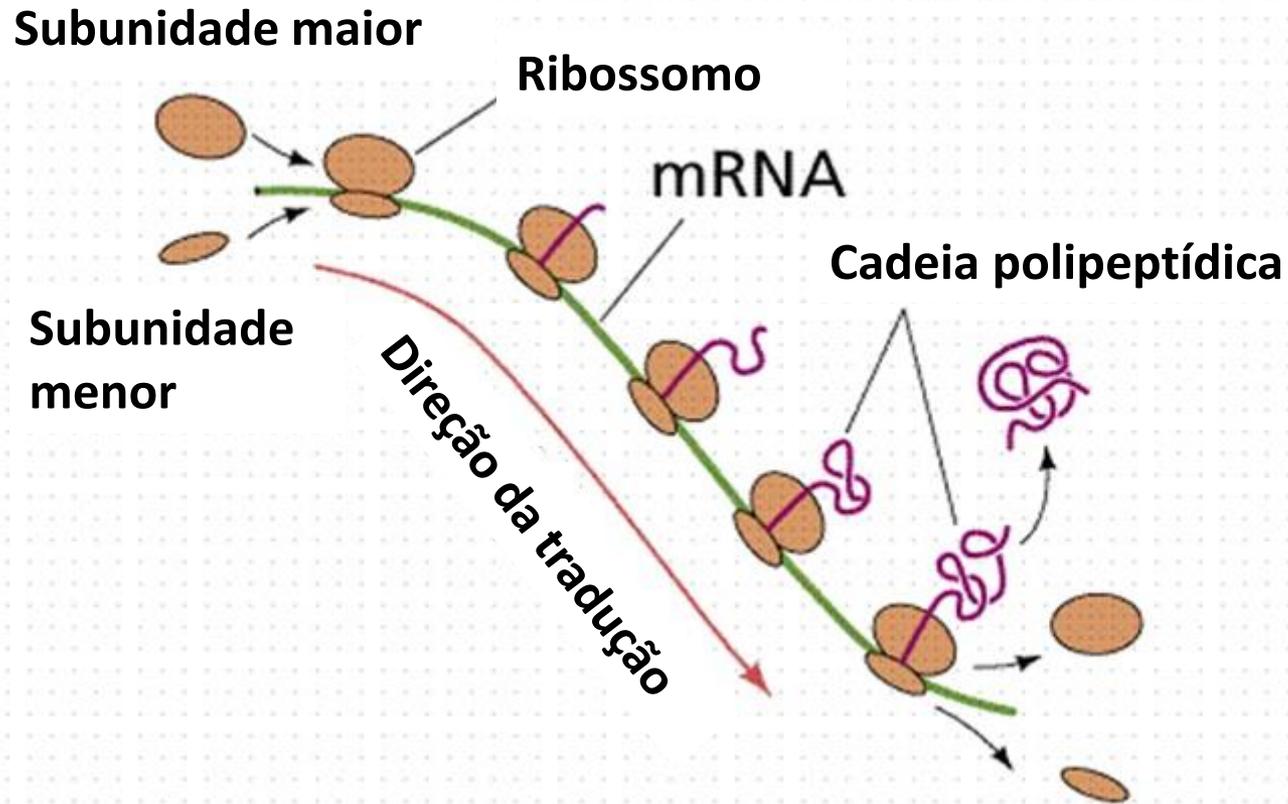
- Grânulos compostos de rRNA e proteínas.
- Dão suporte para a interação ordenada das diversas moléculas envolvidas na síntese de proteínas.

Tradução – Do RNA à Proteína

Características Gerais:

- **Ribossomos eucarióticos e procarióticos: Possuem pouca homologia estrutural e grande homologia funcional.**
- **Polissomos ou polirribossomos: União de vários ribossomos a uma mesma molécula de RNA (uma molécula de RNAm sendo traduzida por vários ribossomos ao mesmo tempo).**
- **Proteínas ribossômicas: Pequenas e associadas aos ribossomos. Podem ser dissociadas e posteriormente reassociadas reconstruindo ribossomos ativos**

Tradução – Do RNA à Proteína

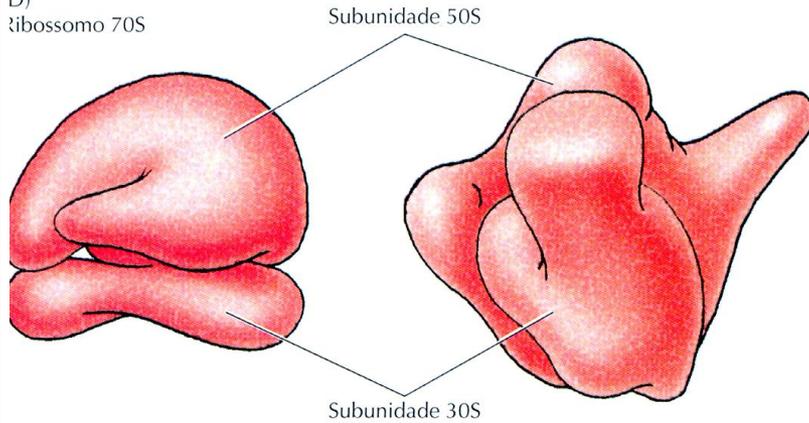


Polissomo

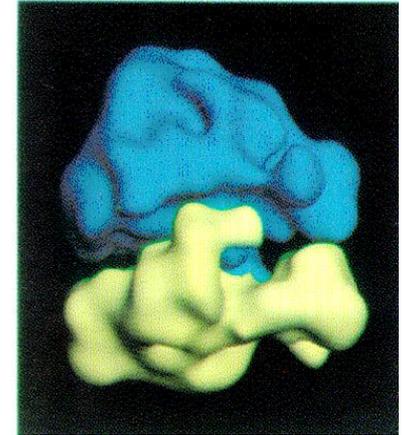
Tradução – Do RNA à Proteína

Ribossomos

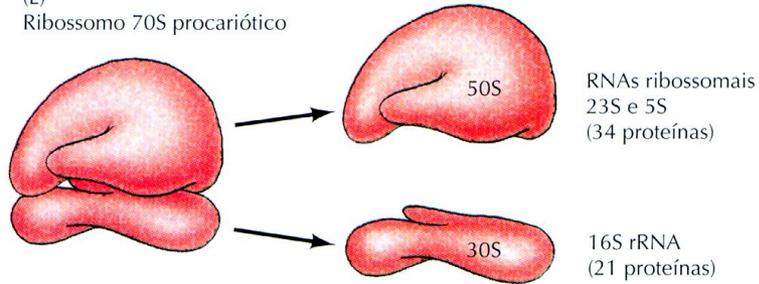
D)
Ribossomo 70S



**Componentes
do ribossomo**

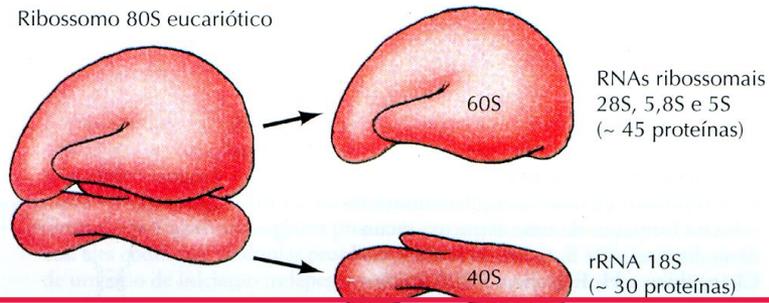


(E)
Ribossomo 70S procariótico



Procariótico

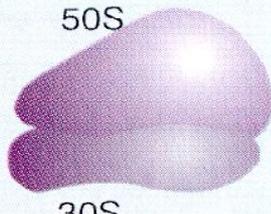
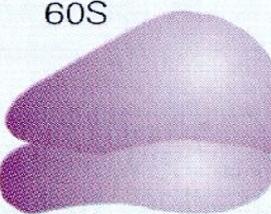
Ribossomo 80S eucariótico



Eucariótico

Tradução – Do RNA à Proteína

Ribossomos

Ribossomos	rRNAs	Proteínas
<p>Bacterianos</p>  <p>50S 30S</p> <p>70S massa: $2,5 \times 10^6$ D 66% RNA</p>	<p>23S = 2.904 bases 5S = 120 bases</p> <p>16S = 1.542 bases</p>	<p>31</p> <p>21</p>
<p>De mamíferos</p>  <p>60S 40S</p> <p>80S massa: $4,2 \times 10^6$ D 60% RNA</p>	<p>28S = 4.718 bases 5,8S = 160 bases 5S = 120 bases</p> <p>18S = 1.874 bases</p>	<p>49</p> <p>33</p>

Tradução – Do RNA à Proteína

Tipos de RNAs

RNA ribossômico (rRNA):

Forma-se dentro do núcleo, no nucléolo. Junto com as proteínas são os principais constituintes dos ribossomos.

RNA de transferência (tRNA):

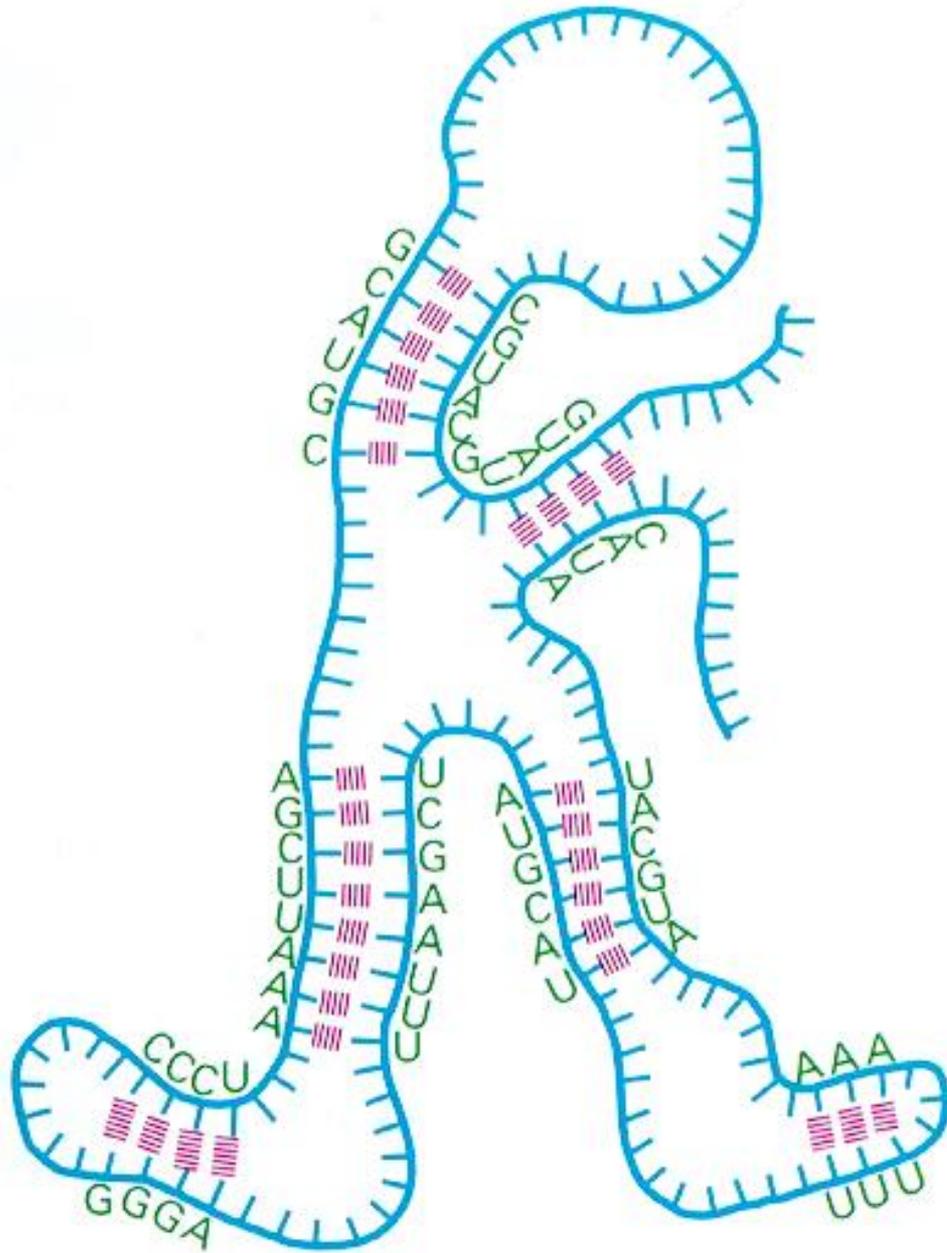
Pequenos. Identificam um aminoácido no citoplasma. Transportam esse aminoácido até o ribossomo.

Apresenta uma *estrutura secundária* - folha de trevo. 4 alças compostas por combinações características de nucleotídeos. 1 extremidade acceptora (CCA) - ligação com o aminoácido específico.

RNA mensageiro (mRNA):

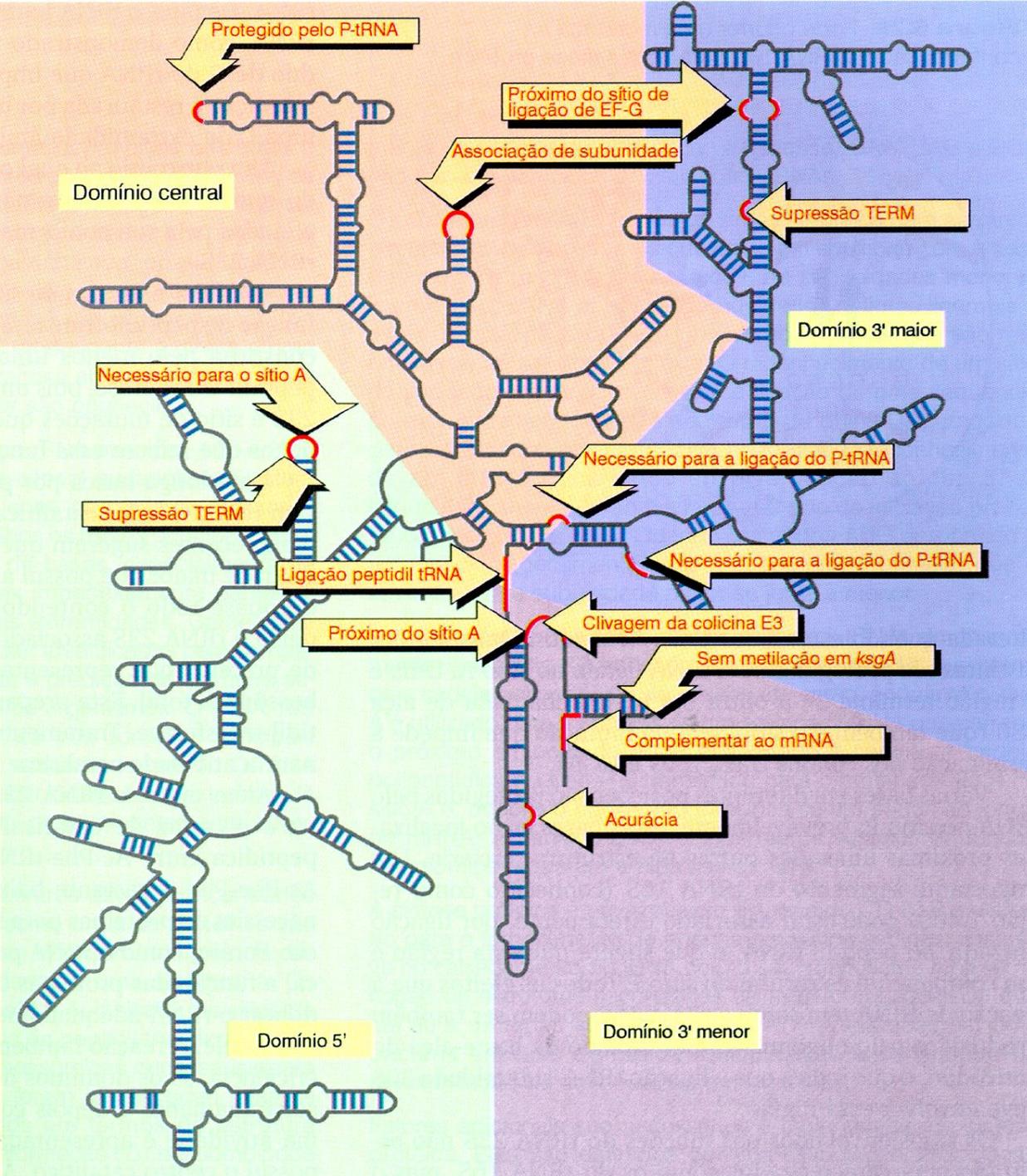
Contém a informação transcrita do DNA.

Seqüência de bases complementar à do DNA do qual foi copiado. Passa por um processamento em EUCARIOTOS.

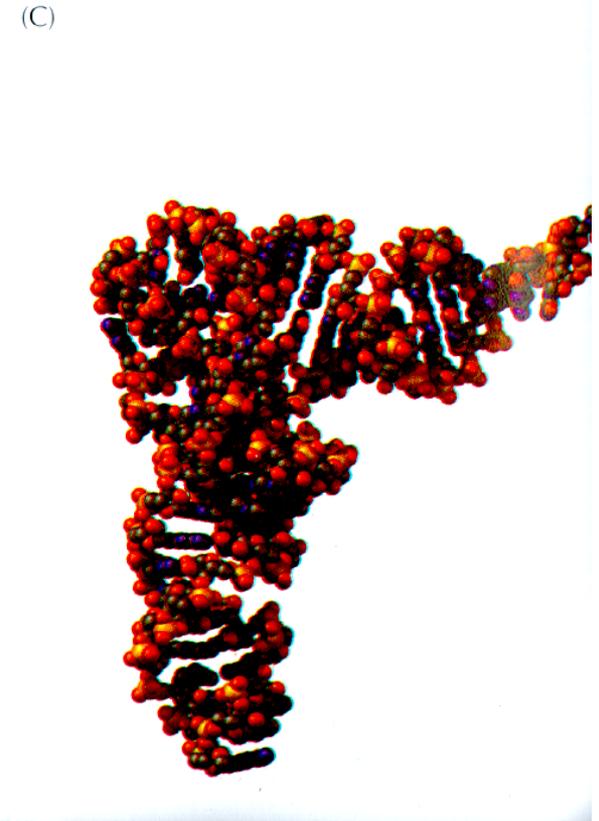
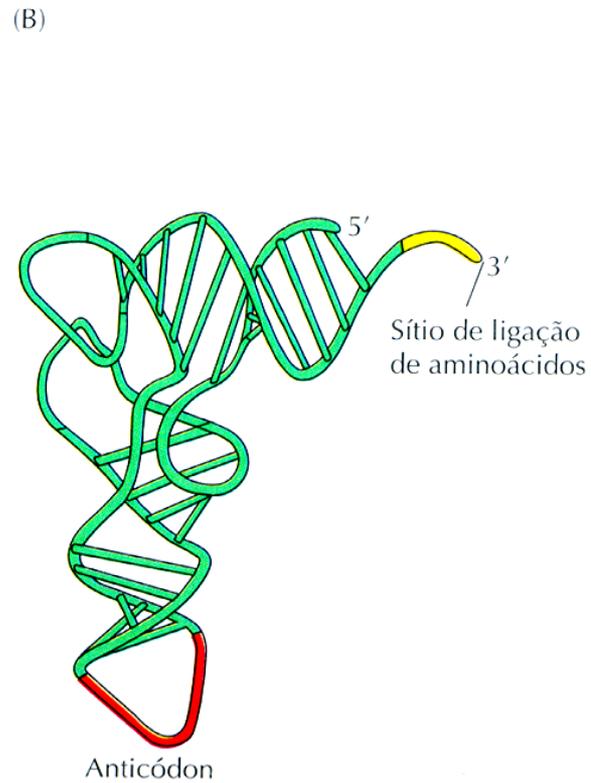
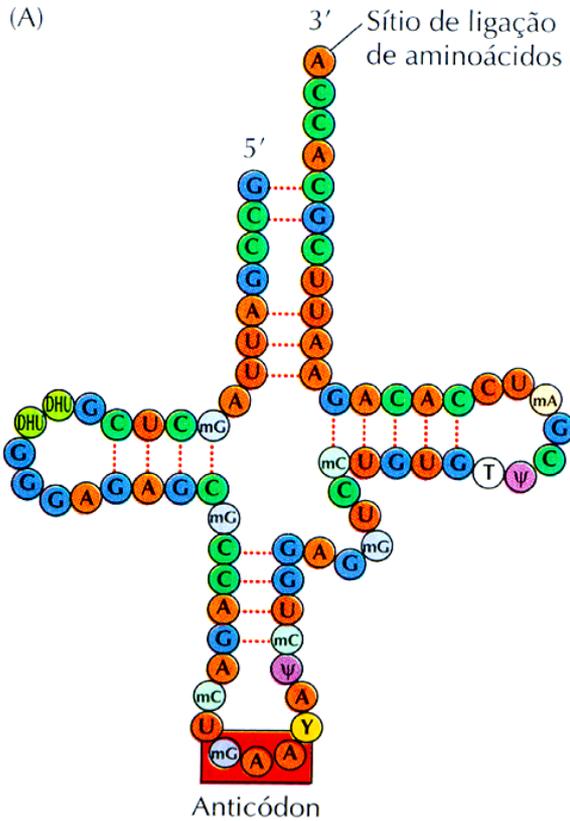


mRNA

rRNA



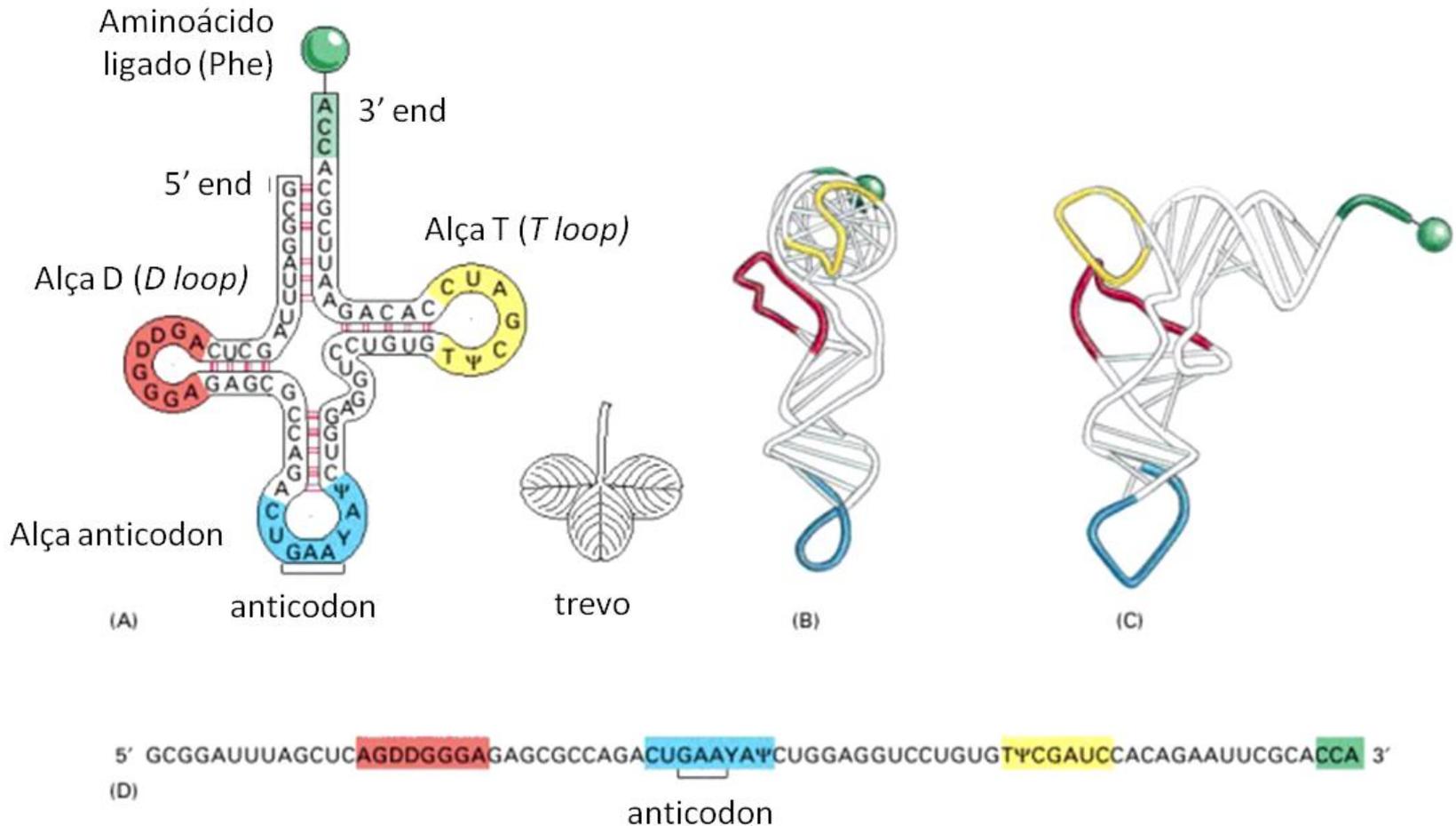
tRNA



Tradução – Do RNA à Proteína

RNA de Transferência

Durante a tradução, cada um dos 20 aminoácidos deve ser alinhado com o seu códon correspondente no molde de mRNA



Tradução – Do RNA à Proteína

TRADUÇÃO DO mRNA

As Proteínas são sintetizadas a partir dos moldes de mRNA por um processo altamente conservado ao longo da evolução

- Todos os RNAs mensageiros são lidos na direção **5'-3'**
- As cadeias polipeptídicas são sintetizadas da extremidade **amina (NH₃)** para a **carboxila terminal (COOH)**
- A tradução é realizada nos **ribossomos**, com os **RNA transportadores** como adaptadores entre o **molde de mRNA** e os **aminoácidos**
- Cada aminoácido é especificado por **três bases (códon)** no mRNA – **código genético universal**

Código Genético

“uso de codon”

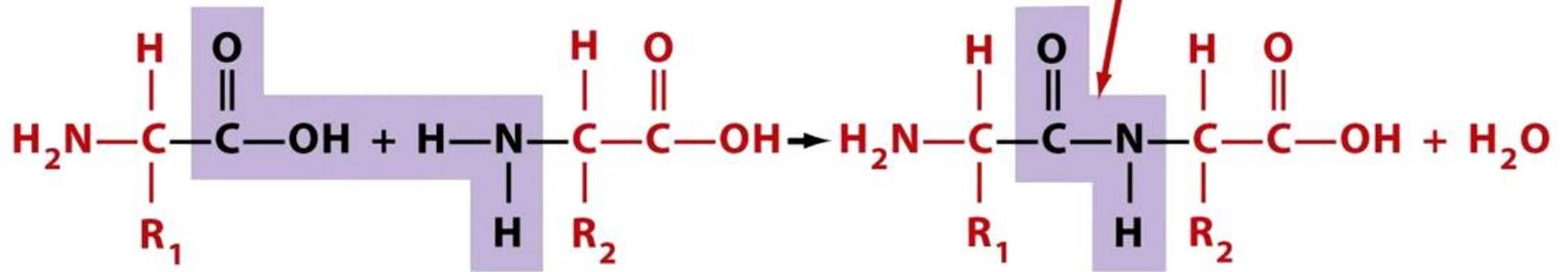
Amino acid	3-Letter code	1-Letter code	Codons	
Alanine	Ala	A	GCC, GCU, GCG, GCA	
Arginine	Arg	R	CGC, CGG, CGU, CGA, AGA, AGG	
Asparagine	Asn	N	AAU, AAC	
Aspartic acid	Asp	D	GAU, GAC	
Cysteine	Cys	C	UGU, UGC	
Glutamic acid	Glu	E	GAA, GAG	
Glutamine	Gln	Q	CAA, CAG	
Glycine	Gly	G	GGU, GGC, GGA, GGG	
Histidine	His	H	CAU, CAC	
Isoleucine	Ile	I	AUU, AUC, AUA	
Leucine	Leu	L	UUA, UUG, CUA, CUG, CUU, CUC	
Lysine	Lys	K	AAA, AAG	
Methionine	Met	M	AUG	start codon -iniciador
Phenylalanine	Phe	F	UUC, UUU	
Proline	Pro	P	CCU, CCC, CCA, CCG	
Serine	Ser	S	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC	
Threonine	Thr	T	ACU, ACC, ACA, ACG	
Tyrosine	Tyr	Y	UAU, UAC	
Tryptophan	Trp	W	UGG	
Valine	Val	V	GUU, GUC, GUA, GUG	
“Stop”	— nonsense codon —		UAA, UAG, UGA	stop codon -terminador

Código Genético

- “Triplet” – trinca - uma sequência de 3 nucleotídeos (códon) é necessário para especificar um aminoácido;
- Não tem bases soltas entre os códons;
- Redundante – mais de uma trinca pode codificar o mesmo aminoácido;
- Universal – apresenta pequenas variações.

Tradução – Do RNA à Proteína

Ligação peptídica



Aminoácido 1

Aminoácido 2

Dipeptídeo

Tradução – Do RNA à Proteína

Ribossomos

O RNA ribossomal (rRNA) é transcrito a partir de um molde de DNA; Em eucariotos acontece no nucléolo e catalisada pela RNA polimerase I; e junto com as proteínas são os principais constituintes dos ribossomos.

Os genes ribossomais estão presentes em arranjos em tandem duplicados separados por regiões espaçadoras intergênicas.

Tradução – Do RNA à Proteína

Etapas

Iniciação:

1. Metionina liga-se à extremidade acceptora do RNAt. Ação da enzima metionil-RNA t sintetase.

Dois tipos de RNAt ligam-se à metionina: o iniciador, Met-RNAt em eucariotos e f-Met-RNAt (metionina formilada) em procariotos. E o RNAt Met que transporta metionina para outras posições na cadeia polipeptídica.

2. Complexo iniciador 30S é formado.
(30S + fatores de iniciação IF-1; IF-2; IF-3).

3. GTP liga-se a IF-2.

Permite que o RNAm e o f-Met-RNAt se juntem ao complexo de iniciação, liberando IF-3.

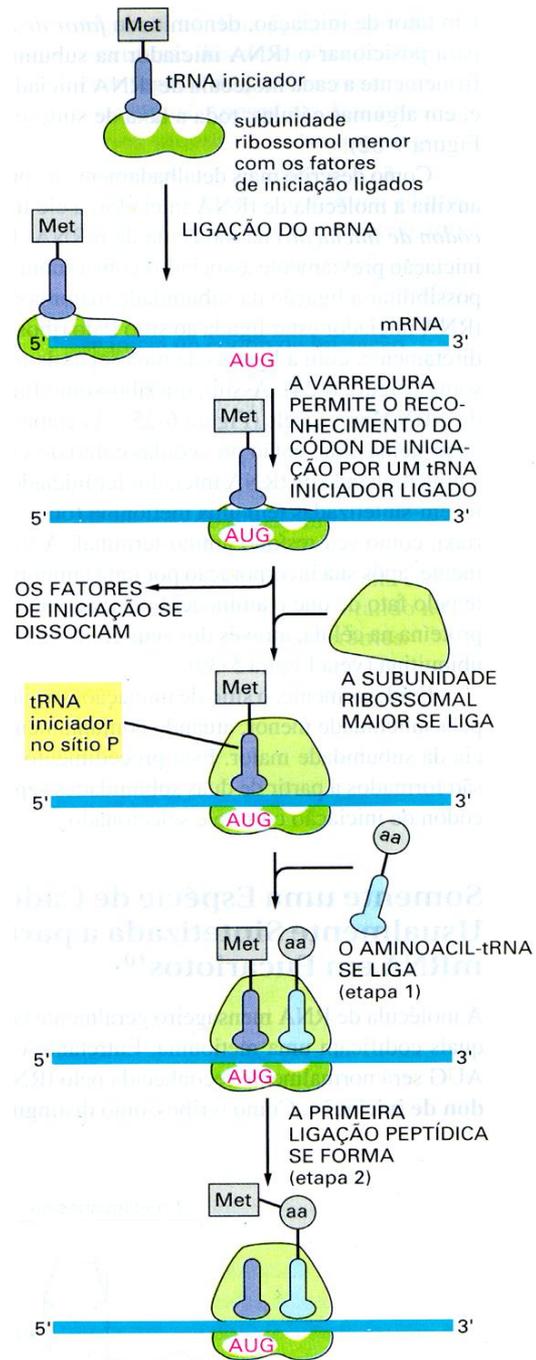
4. Entrada da subunidade 50S.

Ocorre com a liberação do IF-1 e a hidrólise do GTP ligado ao IF-2.

5. Forma-se o complexo de iniciação 70S.

A f-Met-RNAt localiza-se no sítio peptidil (P).

O sítio aminoacil (A) fica vazio.



Etapa 1

Etapa 2

Iniciação:

1. Metionina liga-se à extremidade acceptora do RNAt. Ação da enzima metionil-RNA t sintetase.

Dois tipos de RNAt ligam-se à metionina: o iniciador, Met-RNAt em eucariotos e f-Met-RNAt (metionina formilada) em procariotos. E o RNAt Met que transporta metionina para outras posições na cadeia polipeptídica.

2. Complexo iniciador 30S é formado.
(30S + fatores de iniciação IF-1; IF-2; IF-3).

3. GTP liga-se a IF-2.

Permite que o RNAm e o f-Met-RNAt se juntem ao complexo de iniciação, liberando IF-3.

4. Entrada da subunidade 50S.

Ocorre com a liberação do IF-1 e a hidrólise do GTP ligado ao IF-2.

5. Forma-se o complexo de iniciação 70S.

A f-Met-RNAt localiza-se no sítio peptidil (P).

O sítio aminoacil (A) fica vazio.

Alongamento:

1. Formação do Complexo de alongamento.

Ação do fator de alongamento EF-Ts, onde:

O fator de alongamento EF-Tu é ligado ao GTP e ao RNAt (para qualquer outro aminoácido) associando-se ao sítio A.

2. Ocorre uma ligação peptídica - ação de peptidil transferase.

Ligação entre o grupo carboxila (sítio P) de um aminoácido e um grupo amina (sítio A) de outro sendo liberada uma molécula de água.

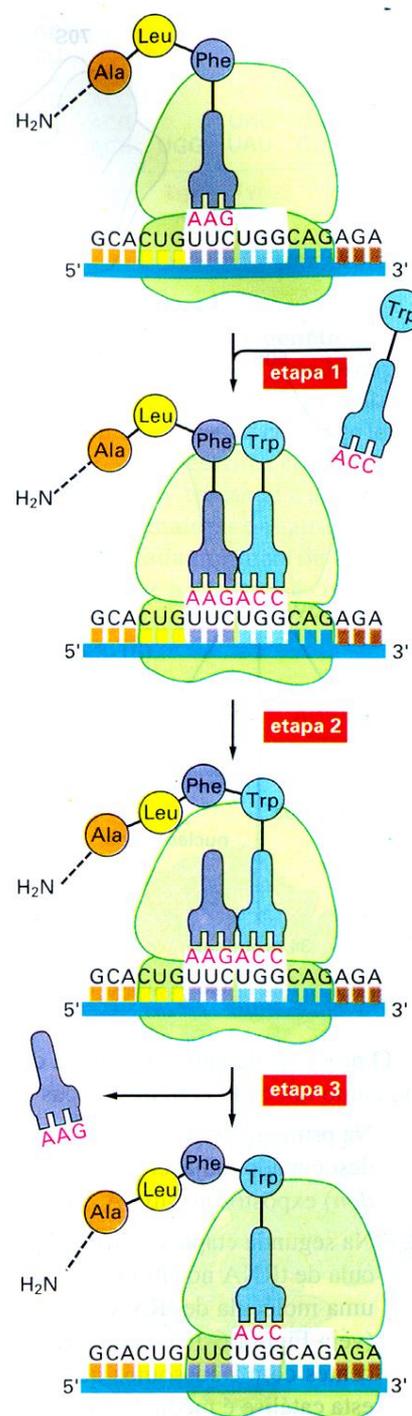
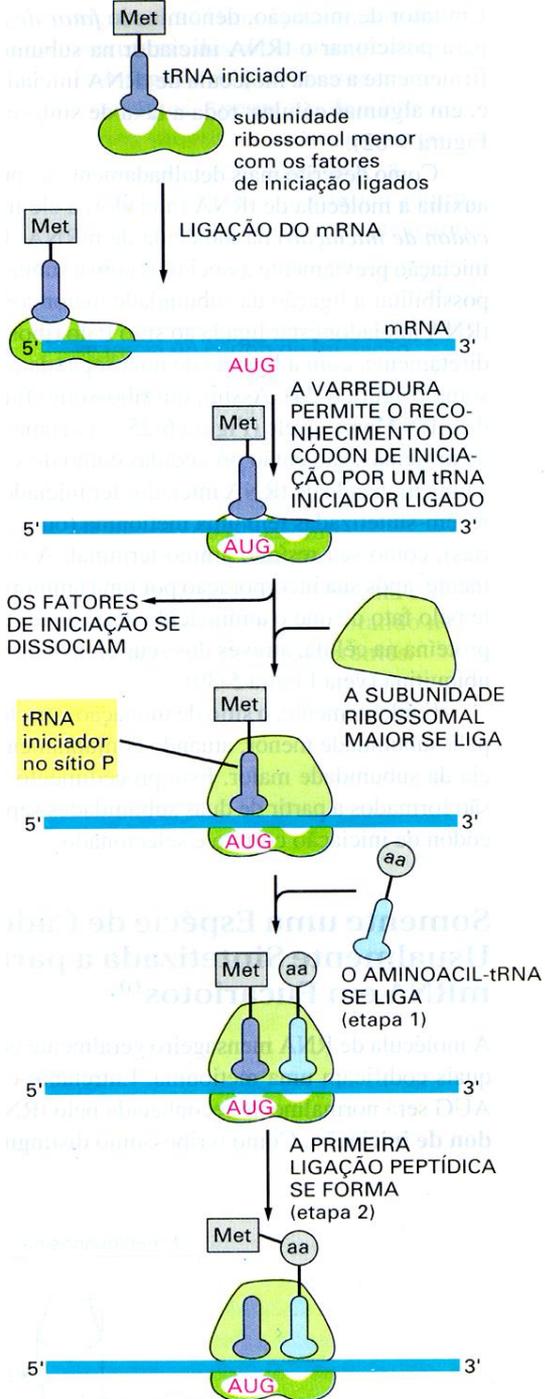
3. Eliminação do EF-Tu do ribossomo pela hidrólise do GTP.

4. Movimentação do ribossomo de um códon a outro ao longo do RNAm.

O RNAt do sítio P deixa o ribossomo.

O fator de alongamento G (translocase) associa-se ao GTP.

O RNAt contendo a cadeia polipeptídica em formação passa para o sítio P.



Fases de iniciação e alongamento

(Alberts et al., 1999)

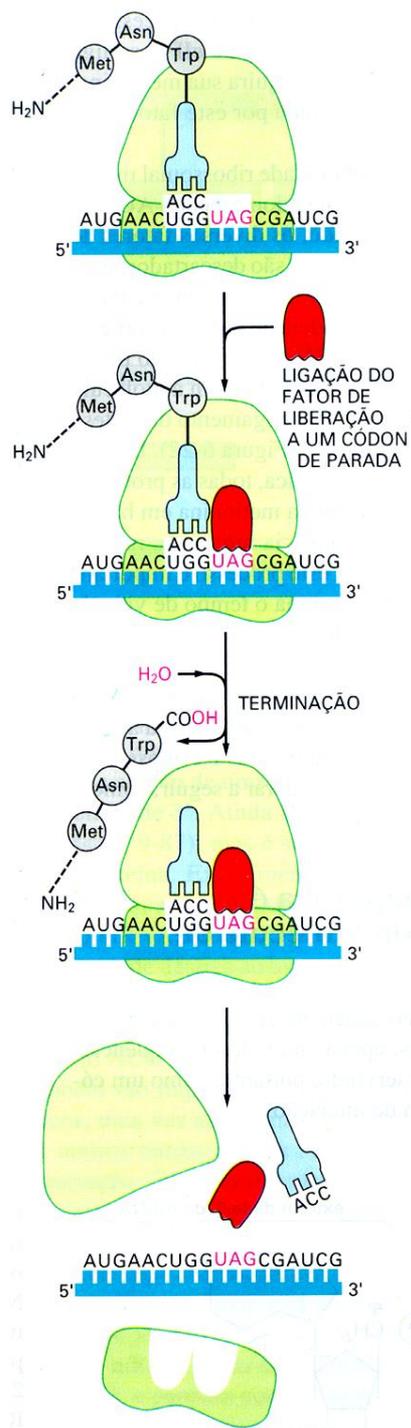
Terminação:

O ribossomo 70S atinge o códon de terminação (UAA, UAG e UGA).

Os códons de terminação são reconhecidos pelos fatores de liberação R1 e R2.

Ocorre a liberação do polipeptídeo e do tRNA.

Ocorre a dissociação do ribossomo 70S nas subunidades 30S e 50S.



Fase de terminação

(Alberts et al., 1999)

Terminação:

O ribossomo 70S atinge o códon de terminação (UAA, UAG e UGA).

Os códons de terminação são reconhecidos pelos fatores de liberação R1 e R2.

Ocorre a liberação do polipeptídeo e do tRNA.

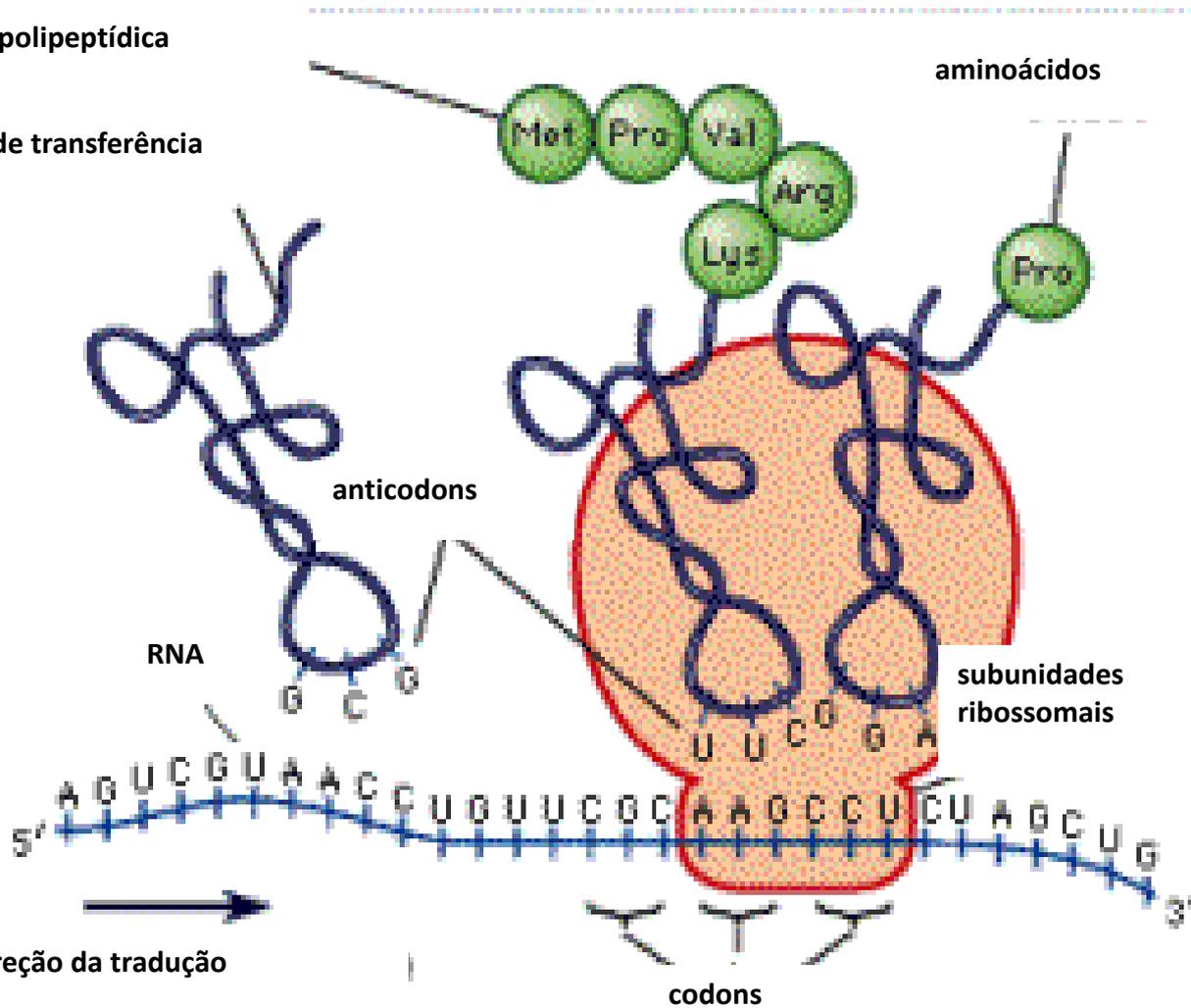
Ocorre a dissociação do ribossomo 70S nas subunidades 30S e 50S.

Etapa final em detalhe

cadeia polipeptídica

RNA de transferência

aminoácidos



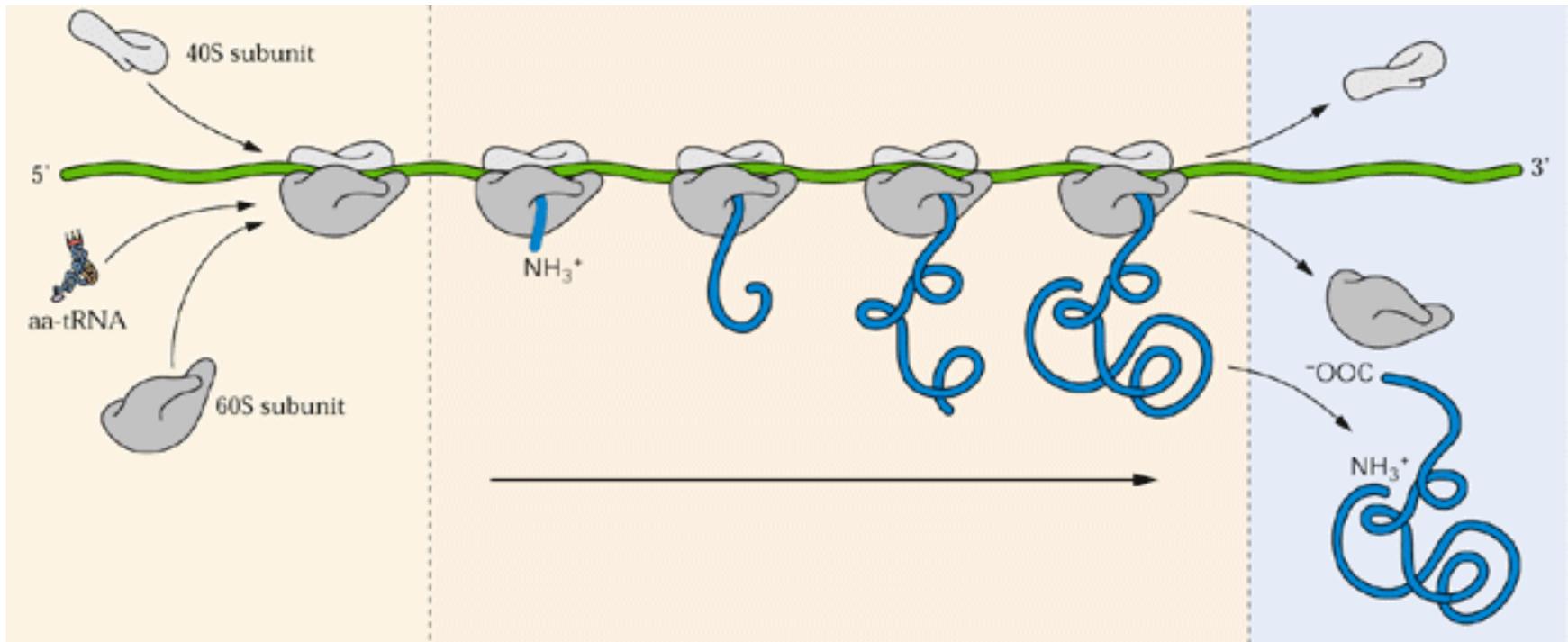
Tradução – Do RNA à Proteína

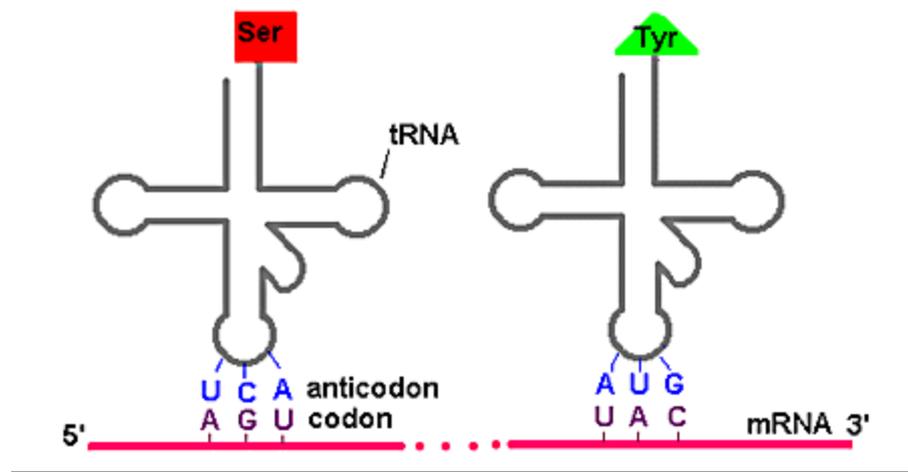
Visão geral da tradução

Iniciação

alongamento

término





2nd base in codon

		U	C	A	G		
1st base in codon	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G	3rd base in codon
	C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G	
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G	
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G	

The Genetic Code

Duplicação: https://www.youtube.com/watch?v=Luw5_z8mlrl

<https://www.youtube.com/watch?v=Cw8GAPuhAk4>

Transcrição: <https://www.youtube.com/watch?v=ztPkv7wc3yU>

Tradução: <https://www.youtube.com/watch?v=5bLEDd-PSTQ>

Dogma: https://www.youtube.com/watch?v=6nxRxoGME_I&t=62s

<https://www.youtube.com/watch?v=gG7uCskUOrA&t=56s>