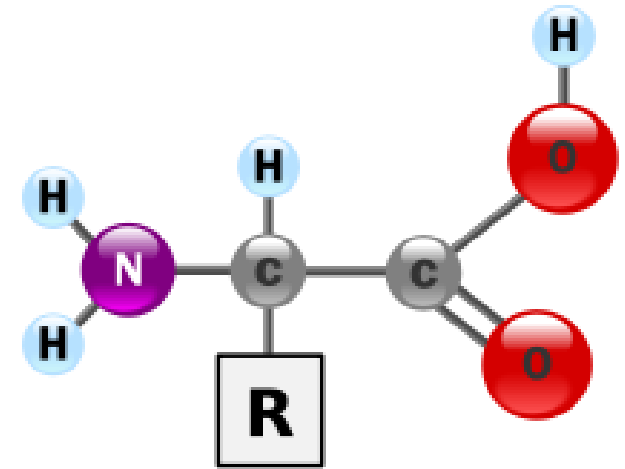


Síntese de Proteínas

-polipeptídeos codificado por genes;

-R= grupo lateral: dá aos aminoácidos propriedades únicas (hidrofóbico, hidrofílico, básico ou ácido).



Estruturais
Enzimáticas
Receptores
Hormônios
Anticorpos

**~90% da energia celular é
voltada para a síntese protéica.**



Proteínas: diferentes níveis de organização

-1ª: sequência aa.

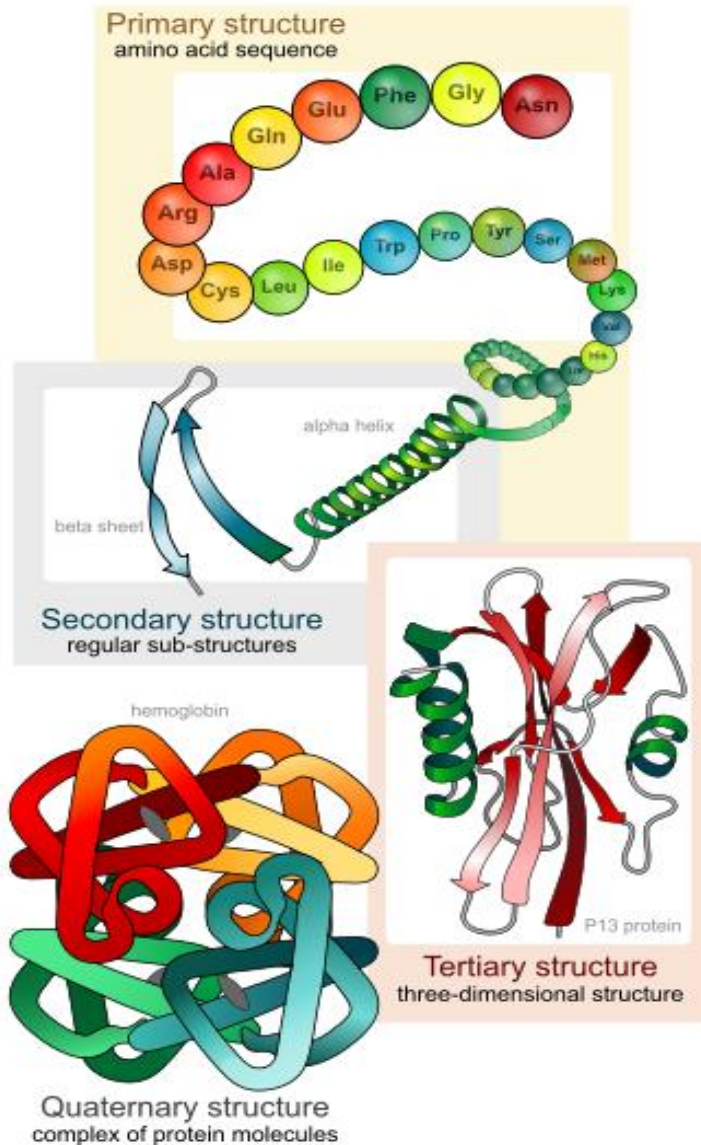
-2ª: inter-relações espaciais (α -hélices e folhas β) estabilizadas por pontes de H.

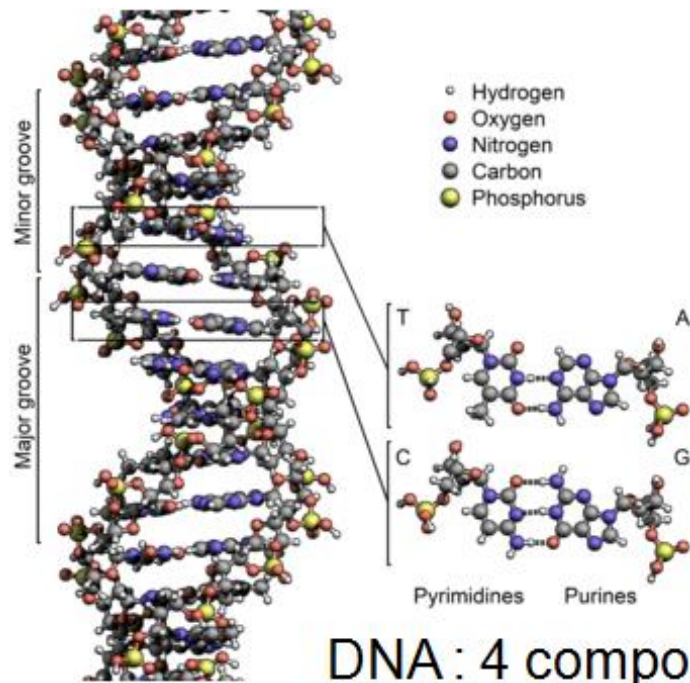
α -hélices: cilíndricas. As cadeias laterais dos aminoácidos viradas para fora.

folhas β : regiões vizinhas da cadeia polipeptídica associam-se, resultando em uma estrutura achatada e rígida.

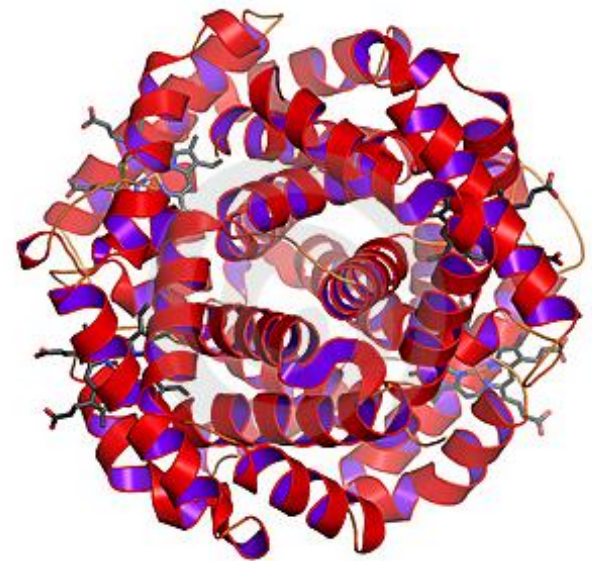
-3ª: dobras tridimensionais (auxiliadas por chaperonas).

-4ª: associação de 2 ou mais polipeptídeos (multiméricas).





DNA: 4 componentes
(ACGT)



Proteínas: 20aa



Em busca do código genético:

1- 1950, Zamecnik:

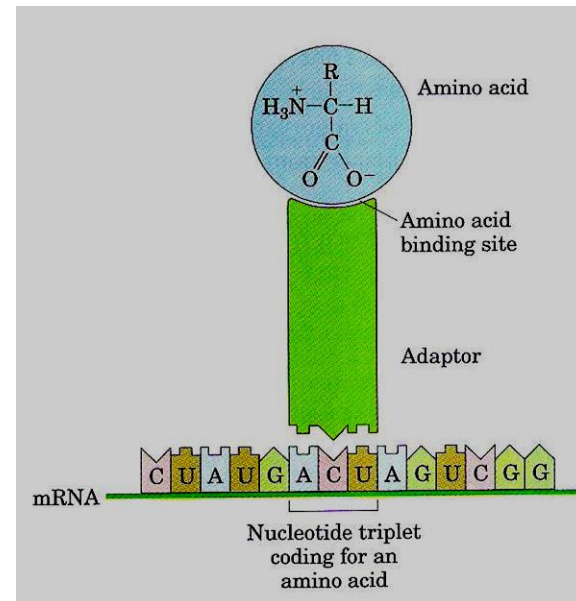
tratou ratos com aa radioativo, examinou frações subcelulares para a presença de radioatividade – fração = partículas ribonucleoprotéicas (RIBOSSOMOS);

2- Hoagland e Zamecnick:

aa + ATP + fração citosol de cel de fígado \longrightarrow aa aderiam a um RNA solúvel (estável ao calor, mais tarde chamado de RNAt).

Portanto – formação de um aminoacil-RNAt

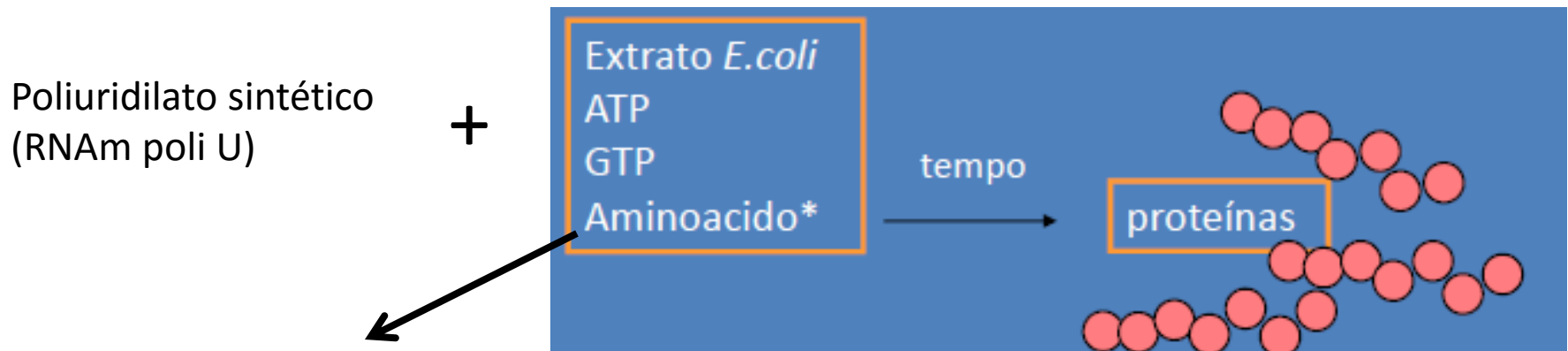
3- Hipótese do adaptador: reconheceria de um lado um aa específico e do outro a sequência de nt (em um RNAm) que codificaria tal aa.



Em busca do código genético:

Pelo menos 3 nucleotídeos seriam necessários para codificar cada aa.

1961: Nirenberg e Matthaei:



Testou cada aminoácido separadamente. Marcados com radioatividade.

Apenas para o aa Fenilalanina (UUU) se formou um polipeptídeo radioativo

Para outras trincas, os polinucleotídeos sintéticos foram formados com fosforilase de polinucleotídeos que catalisa a formação de RNA com ADP, GDP, UDP e CDP. Alterando a concentração de cada um dos nucleotídeos eles deduziram os tripletes da maioria dos aa.



Em busca do código genético:

1964: Khorana

-sintetizou quimicamente polirribonucleotídeos (RNA) contendo de 2 a 4 bases diferentes.

-Ex o copolímero ACACACACACAC: formava-se polipeptídeo sintético com = quantidade de histidina (CAC) e de treonina (ACA).

Dessa forma foi desvendado o código genético – descoberta mais importante do sec XX!!!

Synthetic mRNA	Polypeptide(s) synthesized
(UG) _n	(Ser-Leu)
(UG) _n	(Val-Cys)
(AC) _n	(Thr-His)
(AG) _n	(Arg-Glu)
(UUC) _n	(Ser-Ser) and (Leu-Leu) and (Phe-Phe)
(UUG) _n	(Leu-Leu) and (Val-Val) and (Cys-Cys)
(AAG) _n	(Arg-Arg) and (Lys-Lys) and (Glu-Glu)
(CAA) _n	(Thr-Thr) and (Asn-Asn) and (Gln-Gln)
(UAC) _n	(Thr-Thr) and (Leu-Leu) and (Tyr-Tyr)
(AUC) _n	(Ile-Ile) and (Ser-Ser) and (His-His)
(GUA) _n	(Ser-Ser) and (Val-Val)
(GAU) _n	(Asp-Asp) and (Met-Met)
(UAUC) _n	(Tyr-Leu-Ser-Ile)
(UUAC) _n	(Leu-Leu-Thr-Tyr)
(GAUA) _n	None
(GUAA) _n	None

		Seond letter				
		U	C	A	G	
First letter	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 } CUC } Leu CUA } CUG }	CCU } CCC } Pro CCA } CCG }	CAU } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGU } CGC } Arg CGA } CGG }	U C A G
	A	AUU } AUC } Ile AUA } AUG Met	ACU } ACC } Thr ACA } ACG }	AAU } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGU } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	U C A G
	G	GUU } GUC } Val GUA } GUG }	GCU } GCC } Ala GCA } GCG }	GAU } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGU } GGC } Gly GGA } GGG }	U C A G

Código genético:

		2ª LETRA					
		U	C	A	G		
1ª LETRA	U	UUU Fenilalanina	UCU Serina	UAU Tirosina	UGU Cisteína	U	3ª LETRA
	C	UUC Fenilalanina	UCC Serina	UAC Tirosina	UGC Cisteína	C	
	A	UUA Leucina	UCA Serina	UAA Parada	UGA Parada	A	
	G	UUG Leucina	UCG Serina	UAG Parada	UGG Triptofano	G	
C	U	CUU Leucina	CCU Prolina	CAU Histidina	CGU Arginina	U	A
	C	CUC Leucina	CCC Prolina	CAC Histidina	CGC Arginina	C	
	A	CUA Leucina	CCA Prolina	CAA Glutamina	CGA Arginina	A	
	G	CUG Leucina	CCG Prolina	CAG Glutamina	CGG Arginina	G	
A	U	AUU Isoleucina	ACU Treonina	AAU Asparagina	AGU Serina	U	G
	C	AUC Isoleucina	ACC Treonina	AAC Asparagina	AGC Serina	C	
	A	AUA Isoleucina	ACA Treonina	AAA Lisina	AGA Arginina	A	
	G	AUG Metionina	ACG Treonina	AAG Lisina	AGG Arginina	G	
G	U	GUU Valina	GCU Alanina	GAU Aspartato	GGU Glicina	U	
	C	GUC Valina	GCC Alanina	GAC Aspartato	GGC Glicina	C	
	A	GUA Valina	GCA Alanina	GAA Glutamato	GGA Glicina	A	
	G	GUG Valina	GCG Alanina	GAG Glutamato	GGG Glicina	G	

- degeneração não é uniforme (alguns aa só 1 trinca, outros, até 6!!!)
- 61 codons – aa e 3 *stop* codons
- conservado ao longo da evolução biológica (com algumas exceções).
- códon podem ser usados de forma diferencial (“*codon usage*”)



Código genético:

-Causa da redundância:

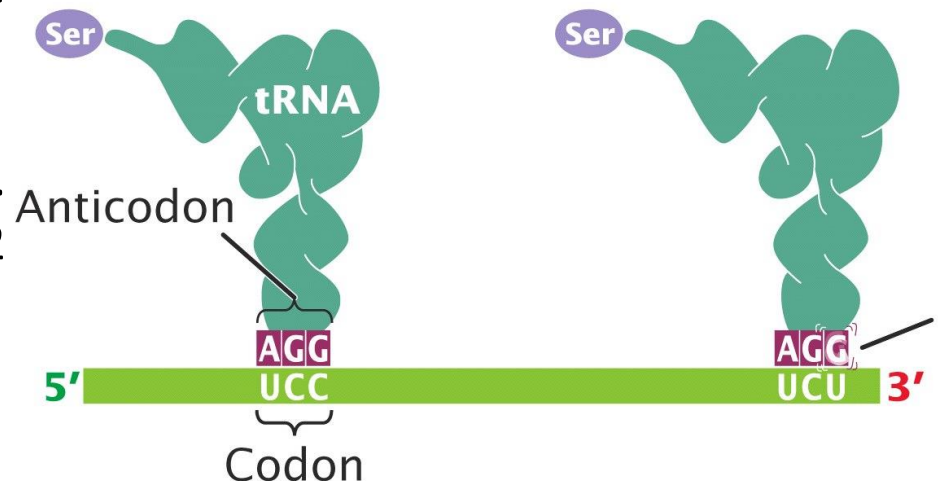
O anticodon do tRNA é capaz de se parear com codons diferentes

Hipótese da Oscilação

-Suporte: Não existem 61 tRNA, mas sim 32 na maioria dos organismos e 22 em mitocôndrias).

-pareamento da 3 base não é rígido.
Ex: um mesmo RNAt reconhece 2 códons codificadores de Ser.

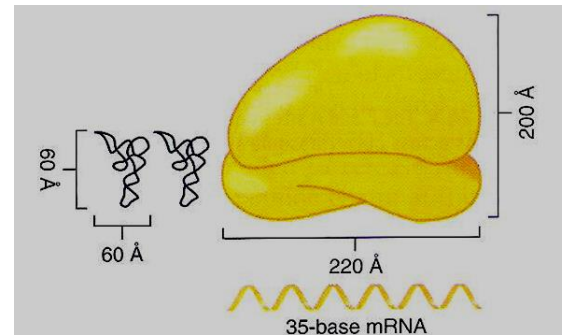
Ex: Serina







Aspectos gerais da síntese protéica

Componentes necessários

{ Ribossomos
RNAm
RNAt

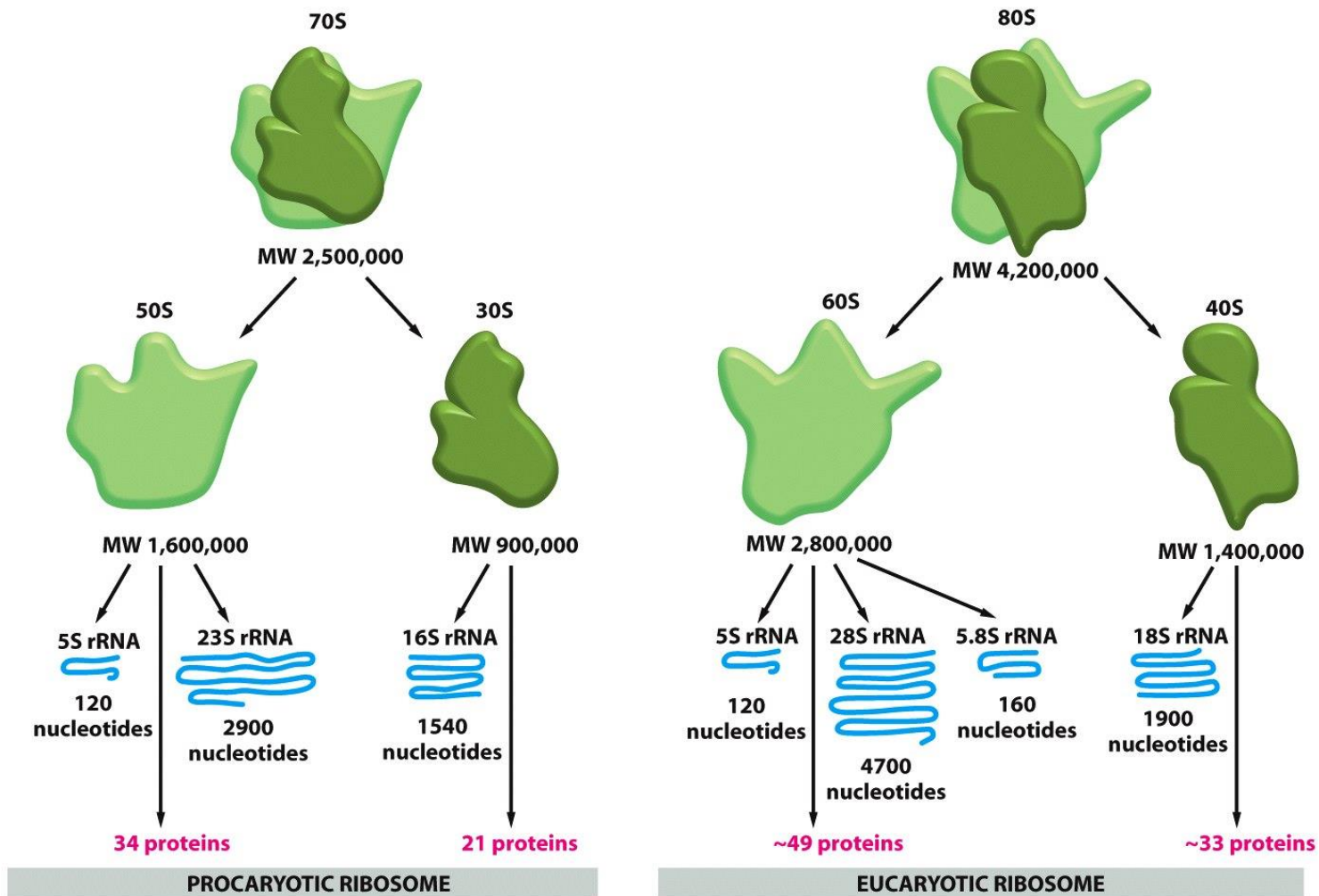


Ribossomos RNAr + Proteínas

Ribosomes		rRNAs		r-proteins
Bacterial (70S) mass: 2.5 MDa 66% RNA	 50S	23S = 2904 bases		31
	 30S	5S = 120 bases		
Mammalian (80S) mass: 4.2 MDa 60% RNA		16S = 1542 bases		21
	 60S	28S = 4718 bases		49
	 40S	5.8S = 160 bases		
		5S = 120 bases		
		18S = 1874 bases		33

Subunidades dissociadas quando livres





Grande – ligações peptídicas da cadeia de aa em formação.

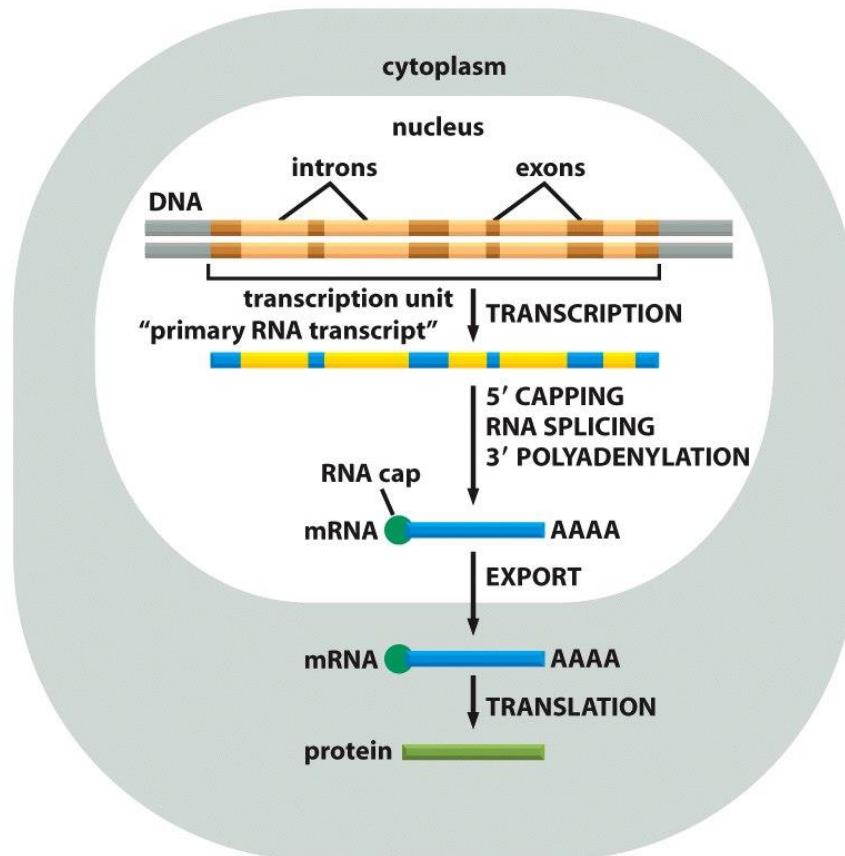
Pequena – correto pareamento códon x anticódon.



RNAm: possui a mensagem (os códons) que irão interagir com os anticódons do aminoacil-RNAt

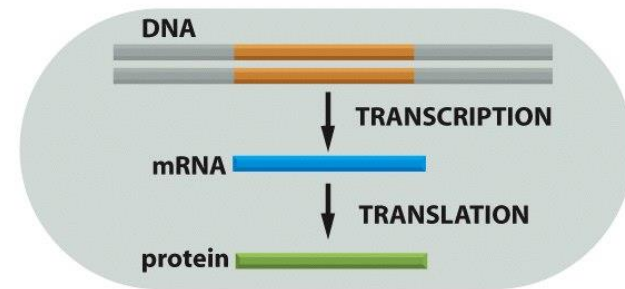
(A)

EUCARYOTES



(B)

PROCARYOTES

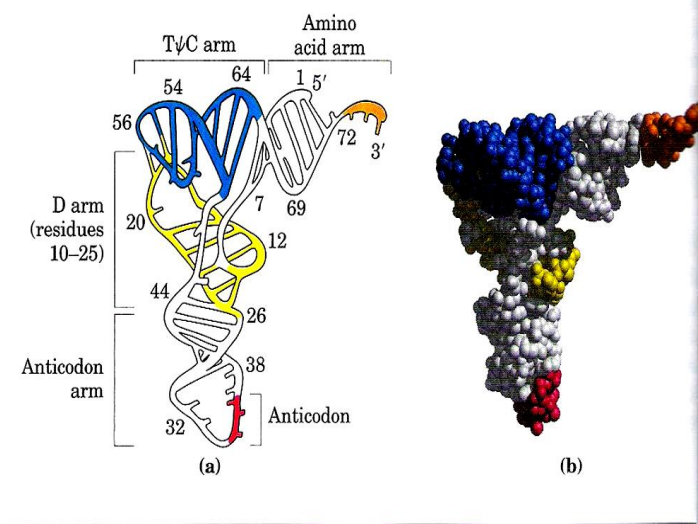


Eucariotos: genes interrompidos (introns).

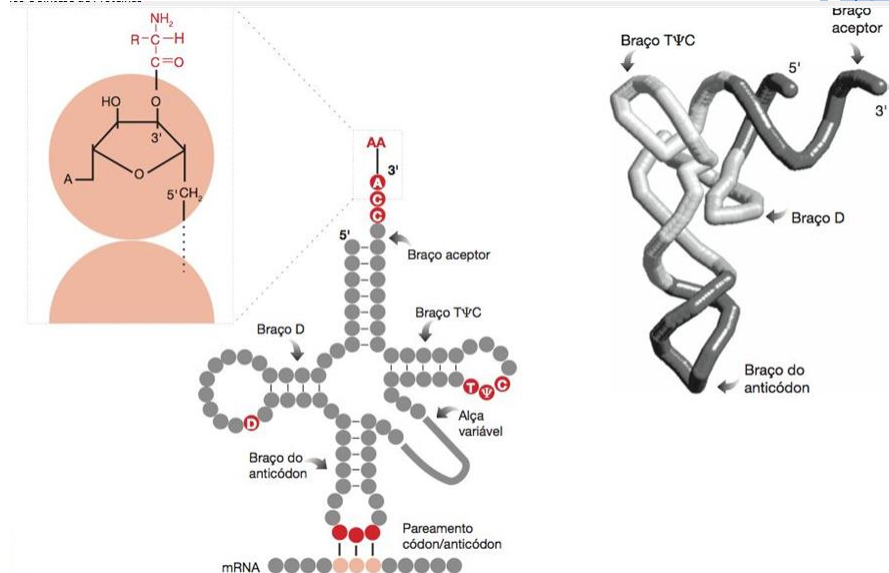
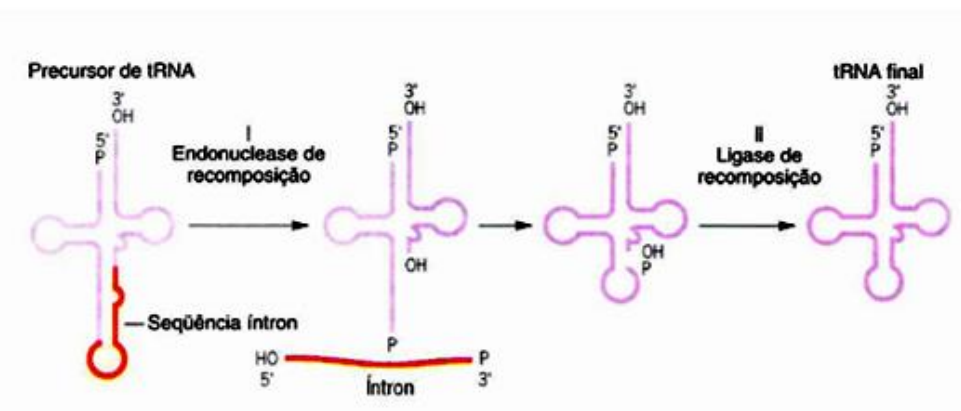
Transcrito primário: é editado em eucariotos, enquanto que em procariotos já é processado pelos ribossomos.

RNA_t

Adaptadores entre aa e os codons do RNAm durante a tradução. Existe de 1 a 4 RNA_t para cada aa. 70-90nt. Forma de trevo por pareamentos intramoleculares.



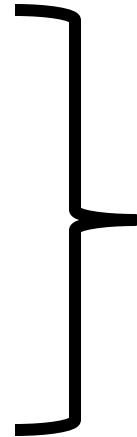
Seu processamento envolve clivagens e metilações
Podem conter nucleosídeos não presentes no transcrito (ex: inosina, pseudouridina, diidrouridina, 1-metilguanossina) devido a edições pós-transcricionais



Passo a passo generalizado da síntese protéica

1- ATIVAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS

-20 aa
-20 aminoacil-RNA^t sintetase
-32 RNA^t
-ATP
-Mg⁺²



FORMAÇÃO DOS RNA^t
ACOPLADOS AOS
DEVIDOS aa:

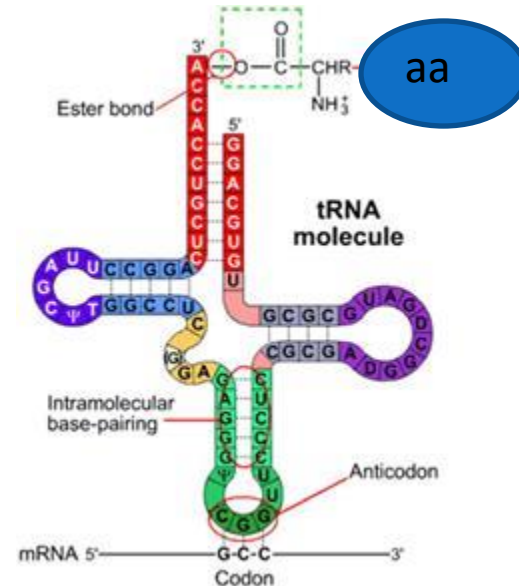
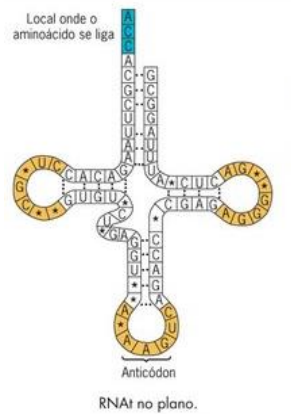
AMINOACIL-RNAT



O aa é acoplado ao RNAt pela Aminoacil-RNAt sintetase



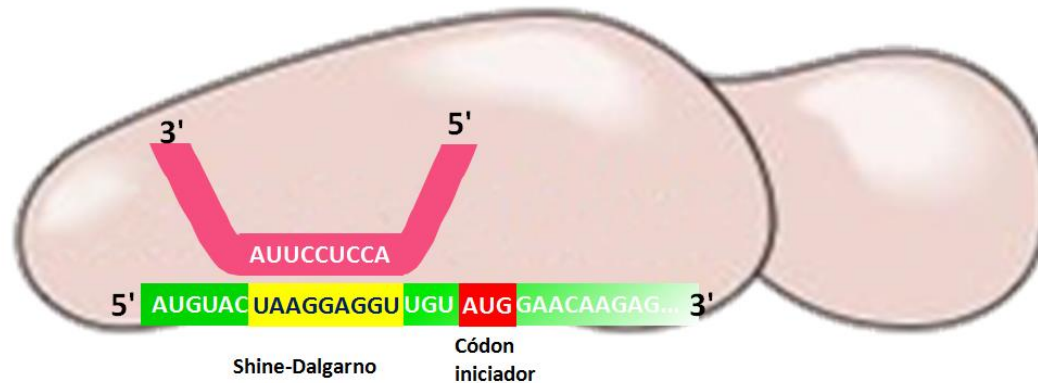
aa



Existe um Aminoacil-RNAt sintetase para cada aa

A iniciação envolve pareamento de bases entre o RNAm e o RNAr em procarioto:

-Pequena subunidade do ribossomo se liga ao RNAm e acha o sítio *start* via sequência Shine-Dalgarno (EM PROCARIOTOS APENAS).

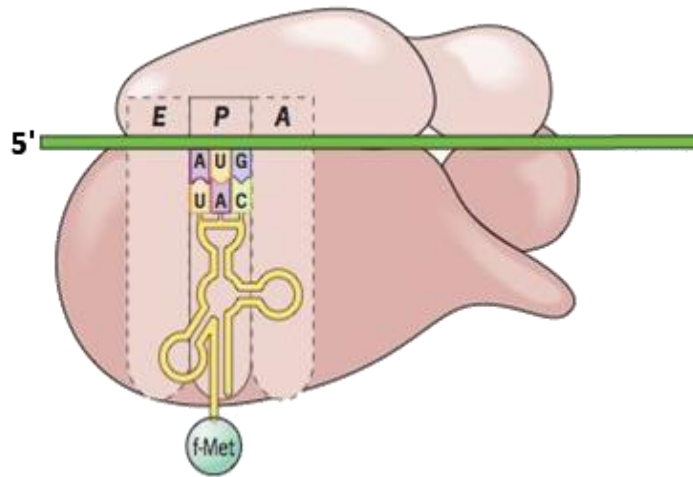


Shine-Dalgarno = sequência de polipurinas complementar a uma sequência muito conservada da ponta 3' do rRNA 16S. Está a menos de 10 nt acima do AUG inicial.

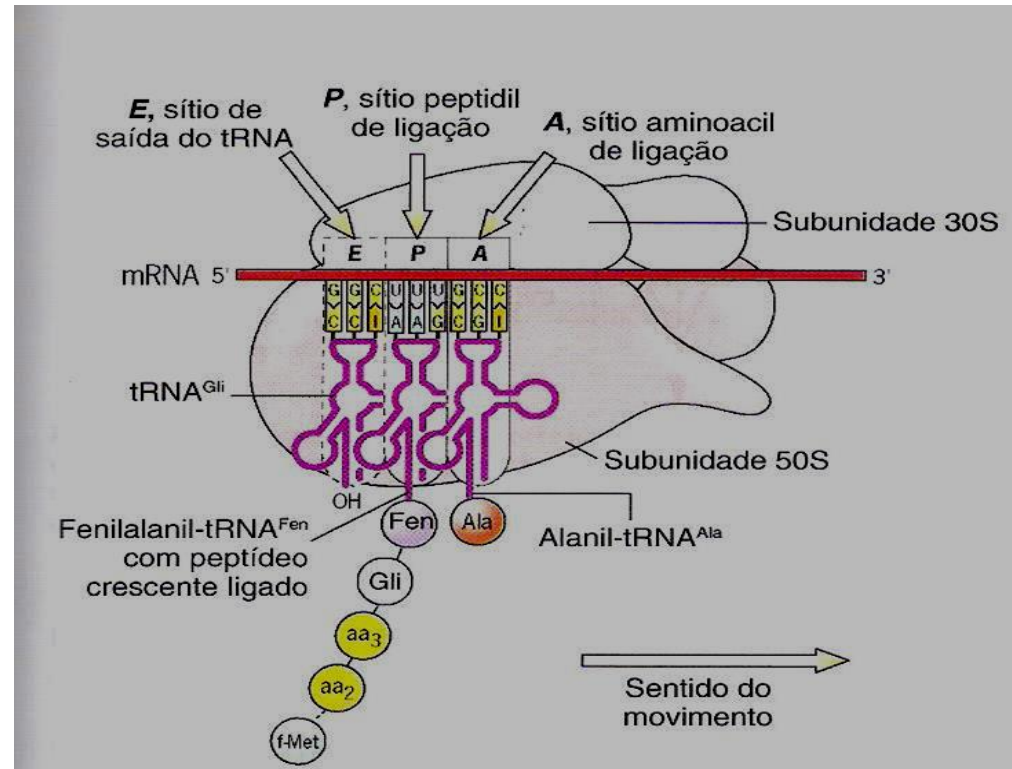
Shine-Dalgarno ausente em eucariotos

2- INÍCIO (Procariotos)

-Um aminoacil-RNAt INICIADOR, entra no sítio P do ribossomo. É o único aminoacil-RNAt que consegue entrar em P.



- Fatores de iniciação:
Energia: GTP, Mg^{+2} = cofator



O 1° aminoacil-RNAt a entrar no ribossomo é modificado:

- bactéria, mitocôndria e cloroplasto;**
- RNAt iniciador carrega uma Met formilada;**
- O RNAt iniciador reconhece os códons AUG, GUG e UUG;**
- as metioninas dos demais RNAt, usados no alongamento não são formiladas;**
- Após a síntese protéica, o formil é removido por uma deformilase gerando NH₂ normal;**
- Quando a Met não é o codon iniciador, ela é removida (~1/2 da proteínas).**



Detalhes do Início em *E. coli*

-30S se liga ao RNAm juntamente com IFs

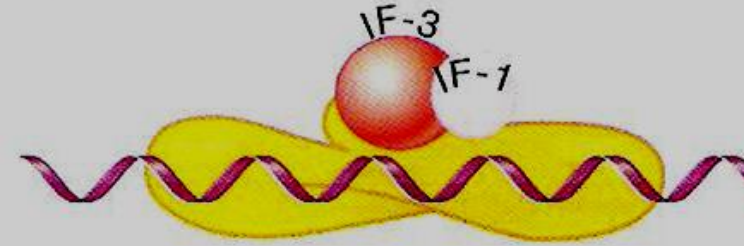
-IF3: estabiliza 30S livre e impede que ele se ligue ao 50S sem o envolvimento do RNAm

-IF1: se liga próximo ao sítio A e não deixa o RNAt iniciador se ligar;

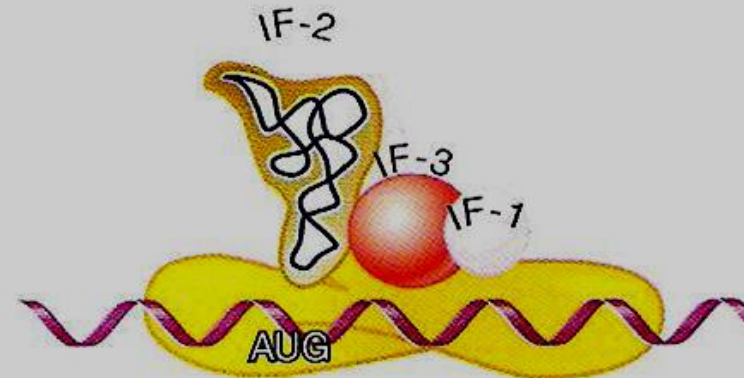
-IF2: liga o aminoacil RNAt iniciador ao sítio P;

-Quando os IFs são liberados – 30S + 50S

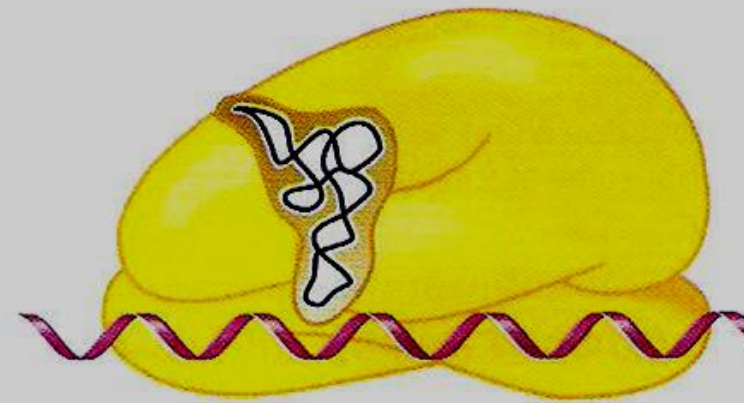
1 30S subunit binds to mRNA



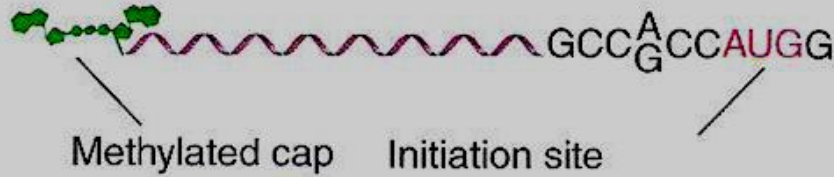
2 IF-2 brings tRNA to P site



3 IFs are released and 50S subunit joins



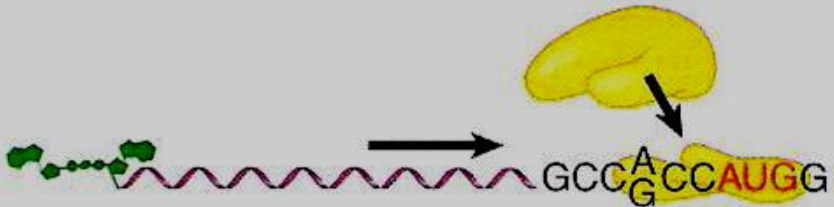
Iniciação da tradução em eucariotos



1 Small subunit binds to methylated cap



2 Small subunit migrates to initiation site



3 If leader is long, subunits may form queue



-~ a de procariotos.

-Mais fatores envolvidos.

-pequena subunidade (40S)
reconhece 5'do RNAm - CAP (e
não o sítio de iniciação
diretamente).

-40S migra pelo RNAm a partir
do CAP até chegar no AUG
inicial.



Fatores de iniciação em Eucariotos:

-aminoacil RNAt iniciador = RNAtMet(i): fosforilado no C 2'da ribose na base 64.

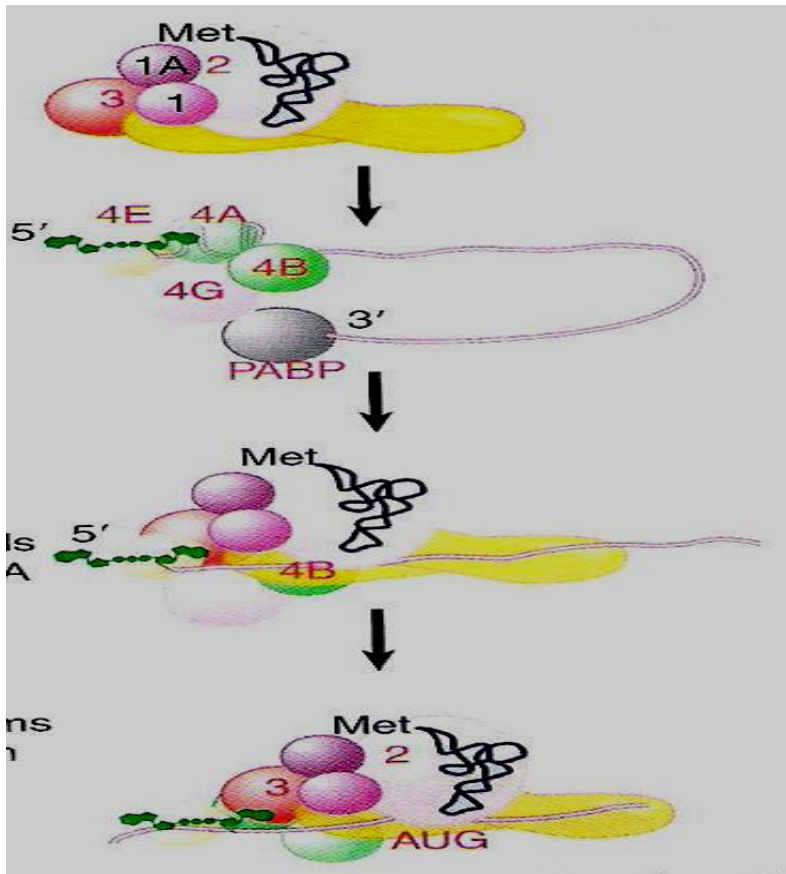
-12 IFs

-eIF2 liga o RNAtMet(i) ao complexo contendo outros eIFs e 40S;

-ligação do RNAm aos eIF4A,B,E e G (no CAP 5') e à PABP (na PoliA)

- complexo migra pelo RNAm a partir do CAP até chegar no AUG, cujo contexto é: NNNPuNNAUGG

Depois a 60S se liga e os eIF são liberados



3- ALONGAMENTO DA CADEIA DE AMINOÁCIDOS

-A ligação peptídica ocorre quando o **polipeptídeo** **carreado pelo peptidil-RNAt do sítio P** é **transferido para o aa carregado pelo RNAt que acabou de chegar em A**. Processo catalisado pela grande subunidade.



3- ALONGAMENTO DA CADEIA DE AMINOÁCIDOS

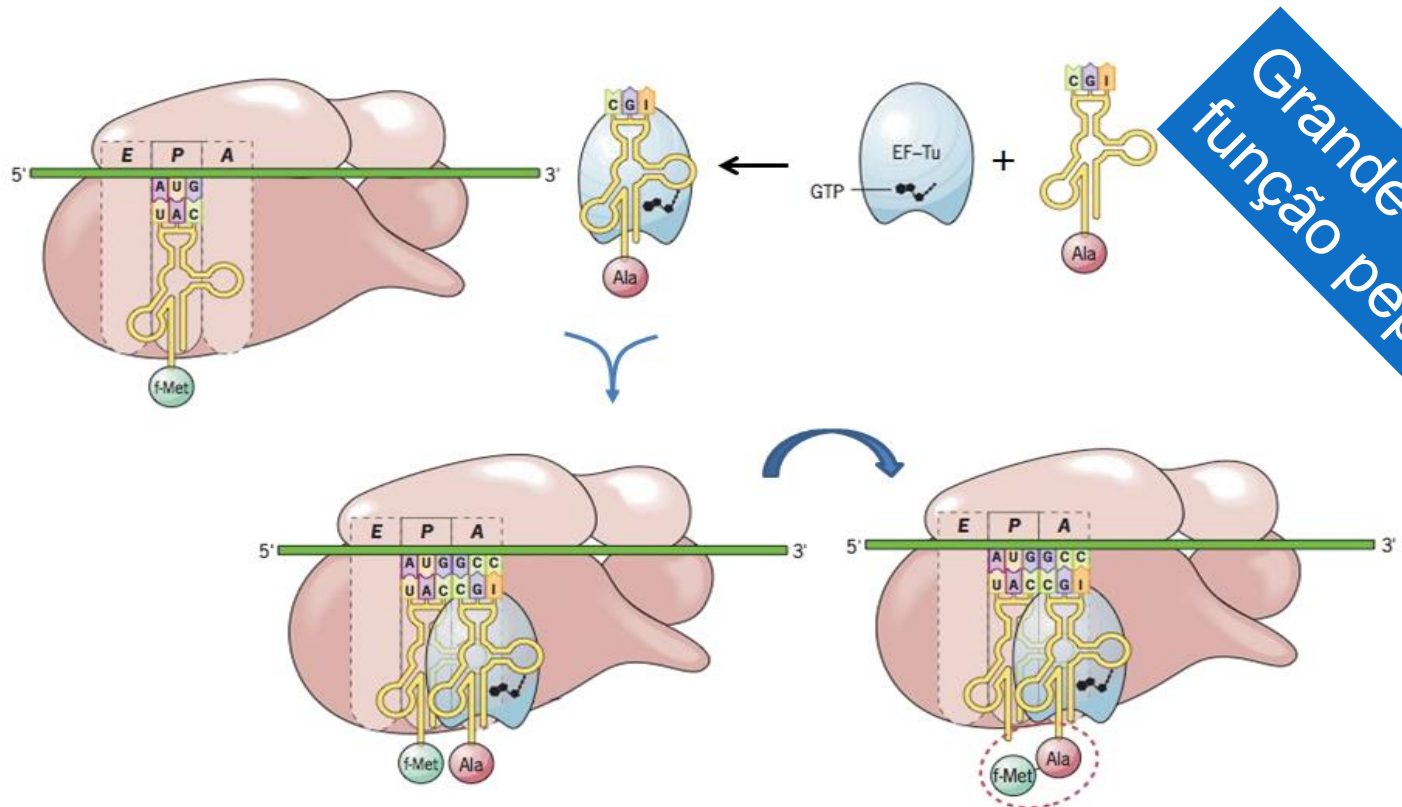
-**Ribossomo** se move para a próxima trinca (Translocação) e o RNAt sem o aa vai para E (*exit*) e o peptidil RNAt que estava em A passa para P.

- usa **GTP** Mg^{+2} e fatores de alongamento



3- ALONGAMENTO

Fator de alongamento EF-Tu (em procarioto, mas similar em eucariotos). Faz a mediação da ligação de um tRNA-aminoacil ao sítio A vazio do ribossomo.



Grande subunidade possui função peptidil-transferase.

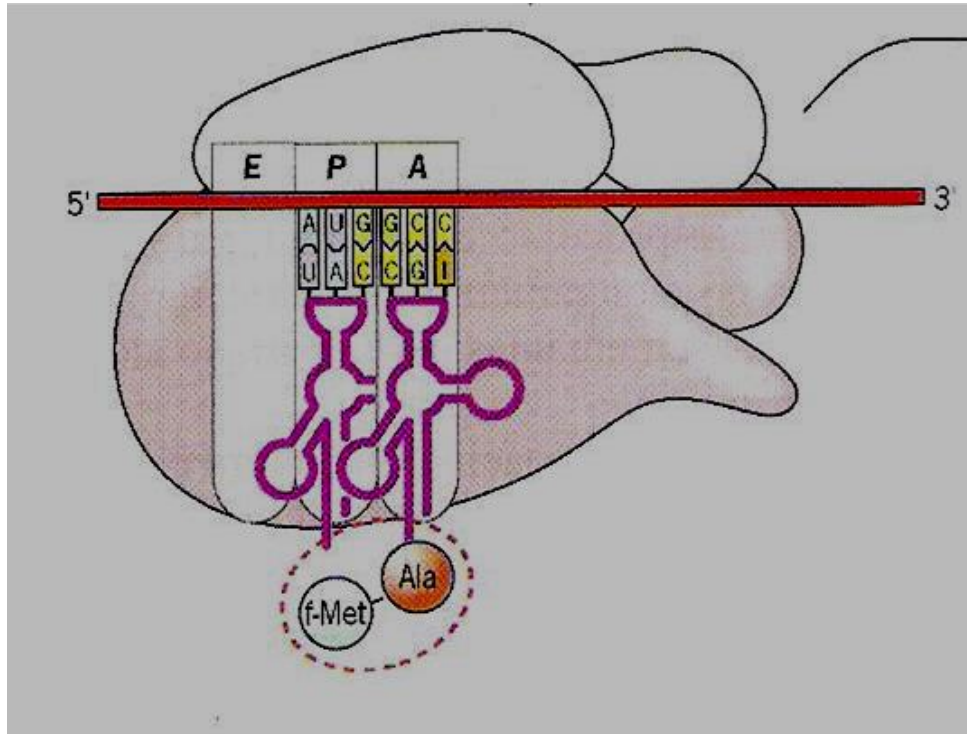
A ligação codon+anticodon no sítio A, muda a conformação do ribossomo e faz com que EF-Tu hidrolise o GTP, liberando EF-Tu+GDP.



Transferência do polipeptídeo do RNAt peptidil do sítio P para o RNAt aminoacil do sítio A (atividade da grande subunidade)

RNAr **23S** tem atividade de **peptidil transferase**

Tanto o RNAr como as proteínas de 50S são necessárias



4- TRANSLOCAÇÃO

-**Translocação** do RNAm e do RNAt para “baixo” no ribossomo. O RNAt sem aa vai para E (*exit*) e o peptidil RNAt que estava em A passa para P. O sítio A fica livre para receber o próximo RNAt.

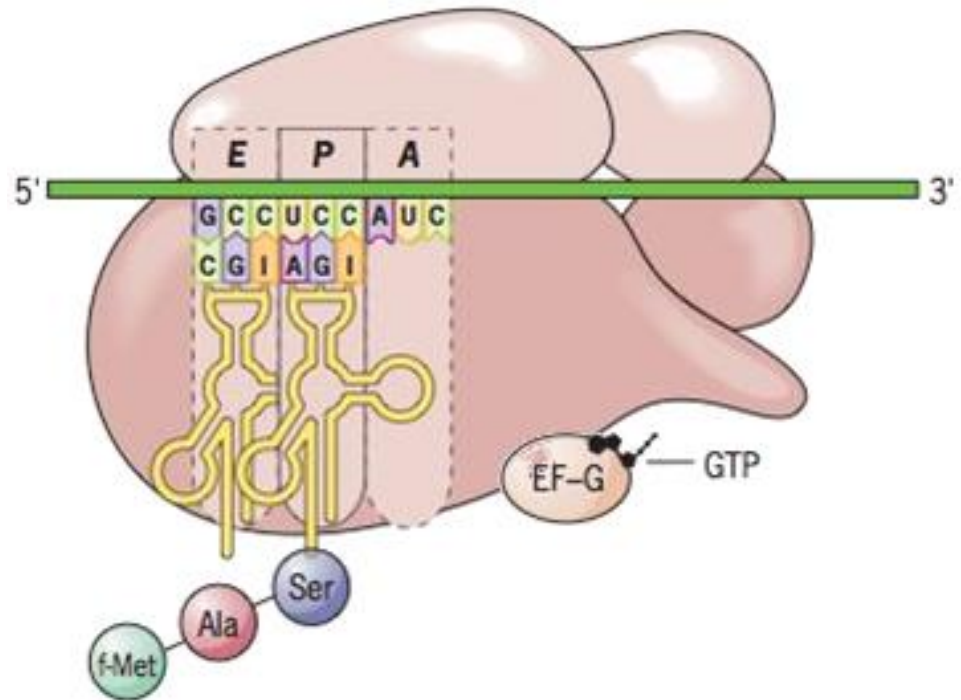
-Catalizada por EF-G (EM PROCARIOTOS).

Requer EF-G (no estado ativado, com GTP)

Em eucariotos: eEF2
(translocase dependente de GTP)

EF-G hidrolisa o GTP e causa translocação:

Faz o RNAt carregando a cadeia de aa sair de A e ir para P



Término

Códons: UAA, UAG, UGA

Em bactéria a frequência: UAA>UGA>UAG

Mutação que gera stop códon = sem sentido

Códons reconhecidos por fatores protéicos (e não por RNAt)

Reação de término:

- Liberação da cadeia de aa do último RNAt
- Liberação dos RNAs m e t e dissociação do ribossomo



5- TÉRMINO

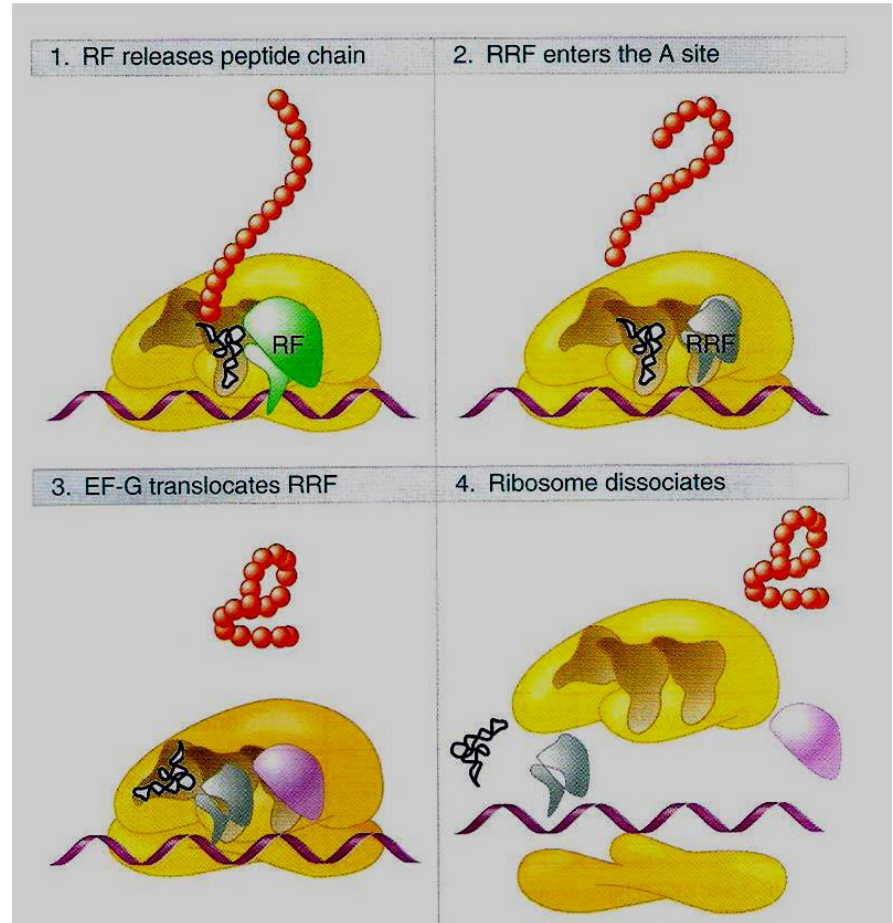
Códons de término UAA, UAG, UGA **são reconhecidos por Fatores de Liberação (RF)**

1- RF libera da cadeia peptídica;

2- RRF (fator de reciclagem ribossômica) entra no sítio A;

3- EF-G transloca o ribossomo e RRF vai para o sítio P;

4- Ribossomo se dissocia.





**VAMOS VER SE VOCÊS
ENTENDERAM MESMO?**

Você não pode dormir sem saber:

1) O código genético é degenerado (hipótese da oscilação);

2) A síntese de proteínas envolve: RNAm, RNAt, Ribossomos (RNAr+proteínas)
- sítios A, P e E;

3) Fases da tradução:

- **ATIVACÃO** dos aa (RNAt+aa);

- **INÍCIO** (ligação da pequena subunidade + IF + RNAt iniciador*, seguido de acoplamento da grande subunidade) – ligação códon-anticódon: **PEQUENA SUBUNIDADE**.

- **ALONGAMENTO:** fatores de alongamento responsáveis pela adição de aa-RNAt ao sítio A e pela translocação do ribossomo. Grande subunidade: peptidil transferase;

- **TÉRMINO:** fatores de liberação da cadeia de aa e de Reciclagem Ribossômica

