



Universidade Federal do Acre
Centro de Ciências da Saúde e dos Desportos

Processamento do mRNA

Tradução

Profa. Leila Priscila Peters

Rio Branco – dezembro - 2022

Sumário

- Processamento do mRNA;
- Características do código genético;
- tRNAs e ribossomos.

Nucleotídeos

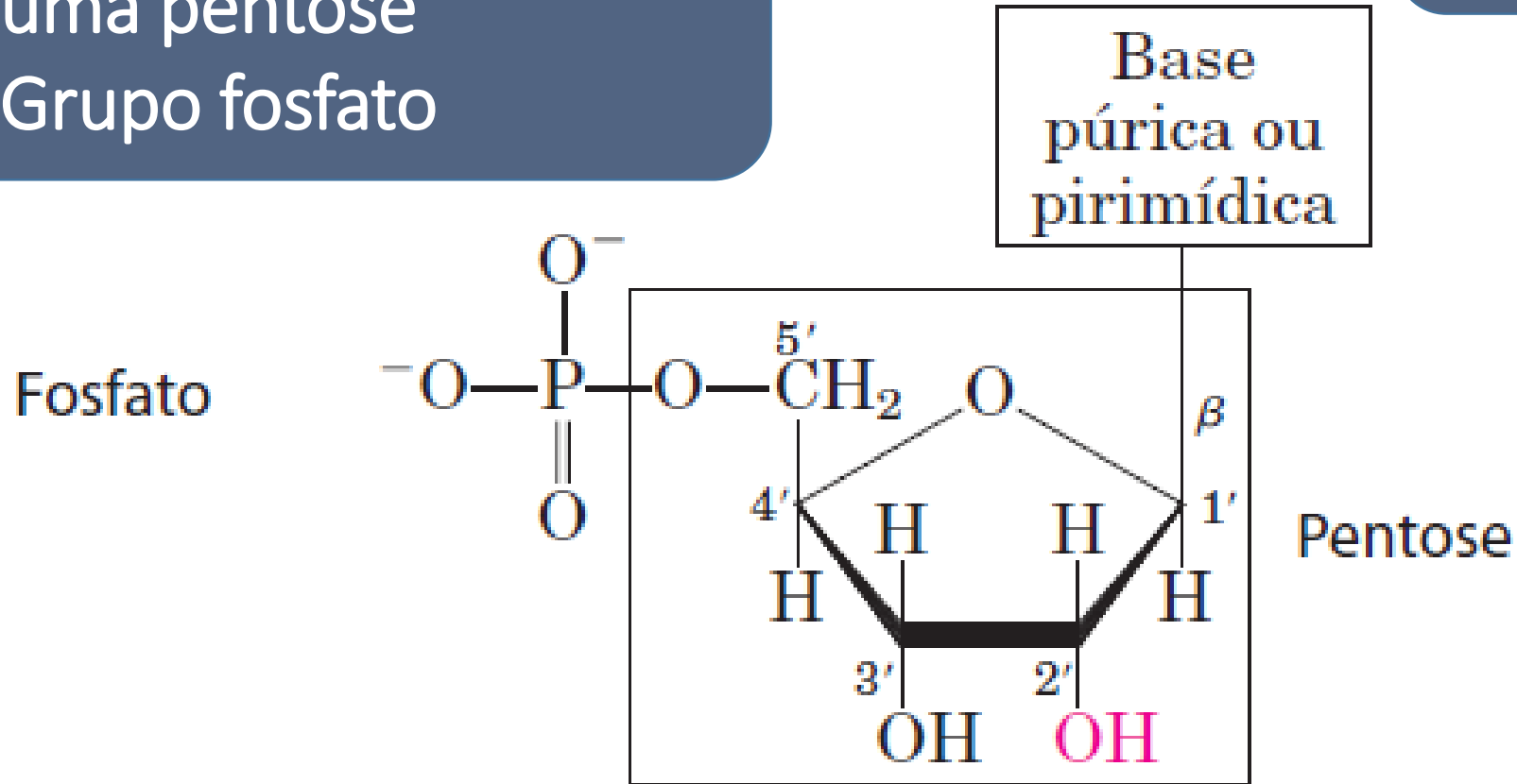
- Apresentam 3 componentes:

1- uma base nitrogenada

2- uma pentose

3- Grupo fosfato

Nucleosídeo
Molécula sem o grupo
fosfato



Ácidos nucleicos

Ácidos nucleicos são formados por qual unidade básica?



Nucleotídeos consecutivos são ligados covalentemente por
“pontes” de grupos fosfato



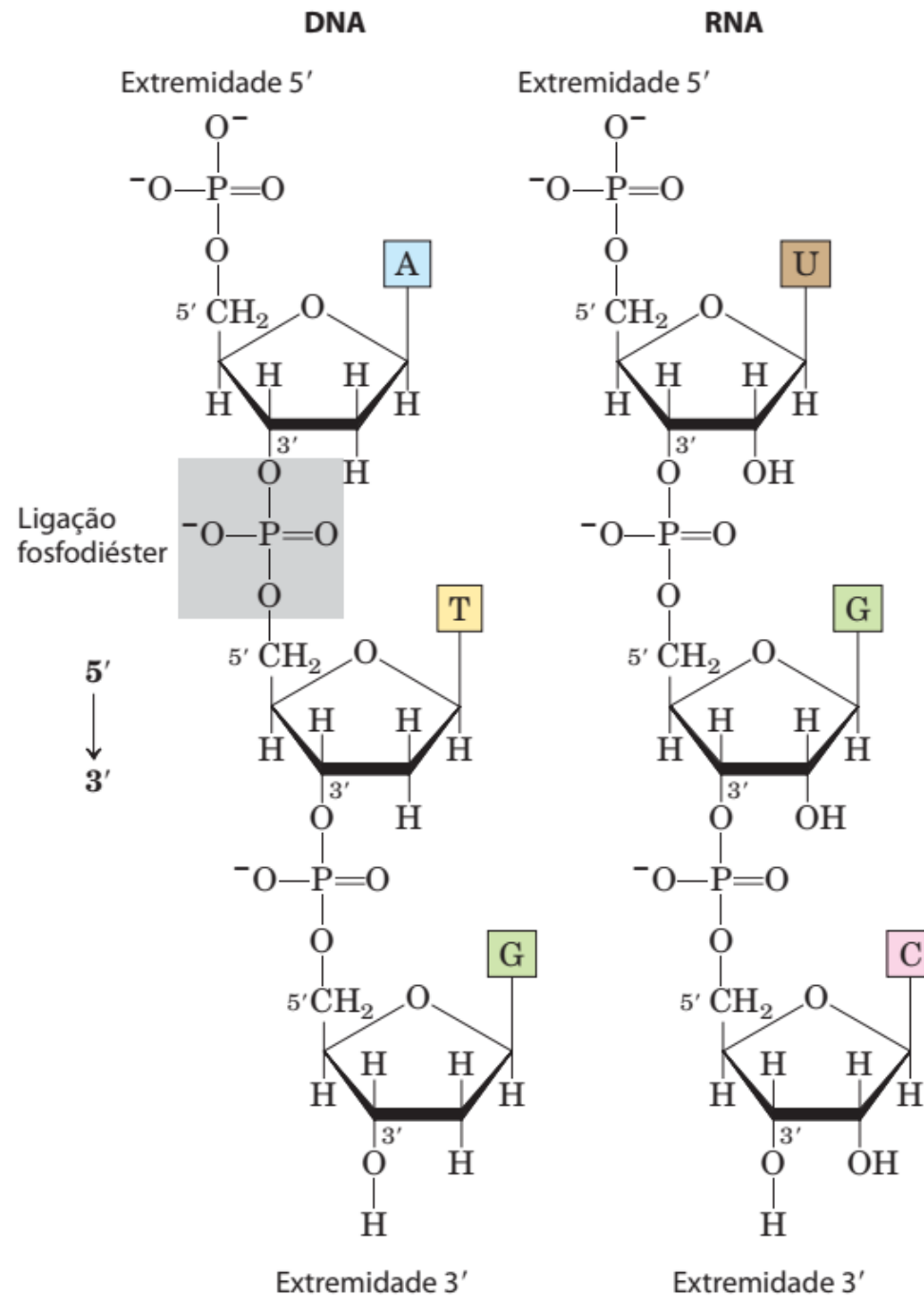
Ligações fosfodiéster

Nucleotídeos

Ligações fosfodiéster

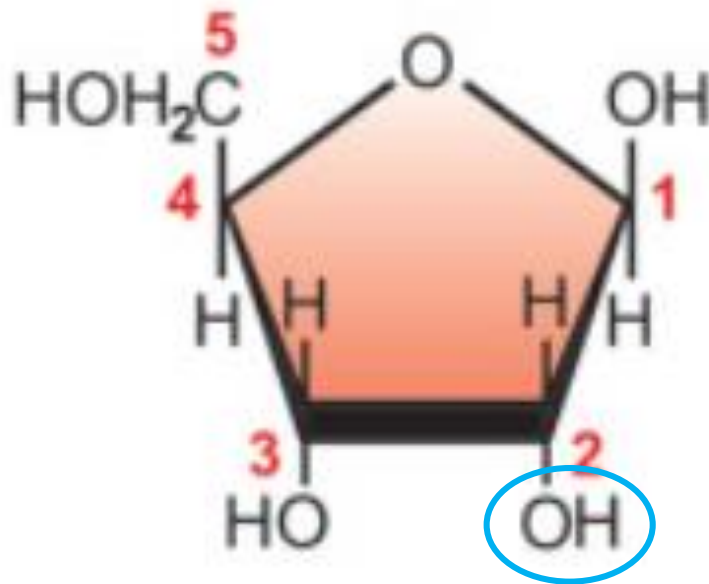
O grupo 5'-fosfato de uma unidade nucleotídica é ligado ao grupo 3'-hidroxila do próximo nucleotídeo

O esqueleto covalente dos ácidos nucleicos consiste em fosfatos e resíduos de pentose alternados, e as bases nitrogenadas podem ser consideradas como grupos laterais ligados ao esqueleto em intervalos regulares.



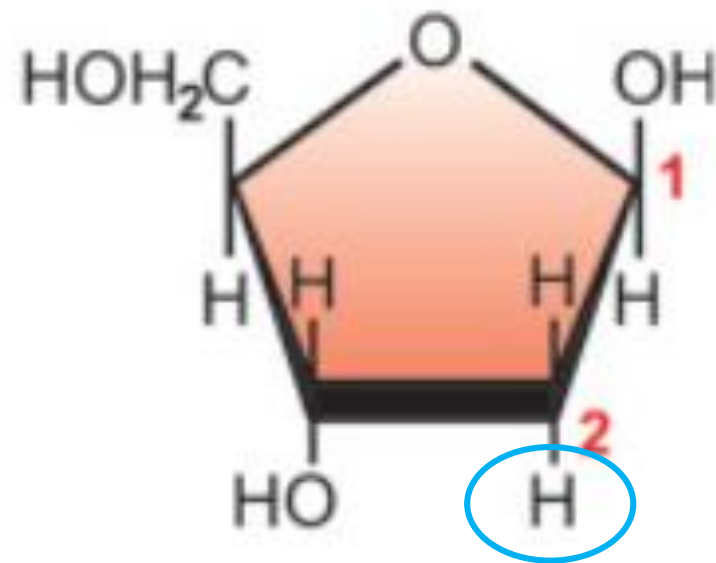
Nucleotídeos

Os ácidos nucleicos tem dois tipos de pentose



β -D-Ribose

Unidades ribonucleotídicas

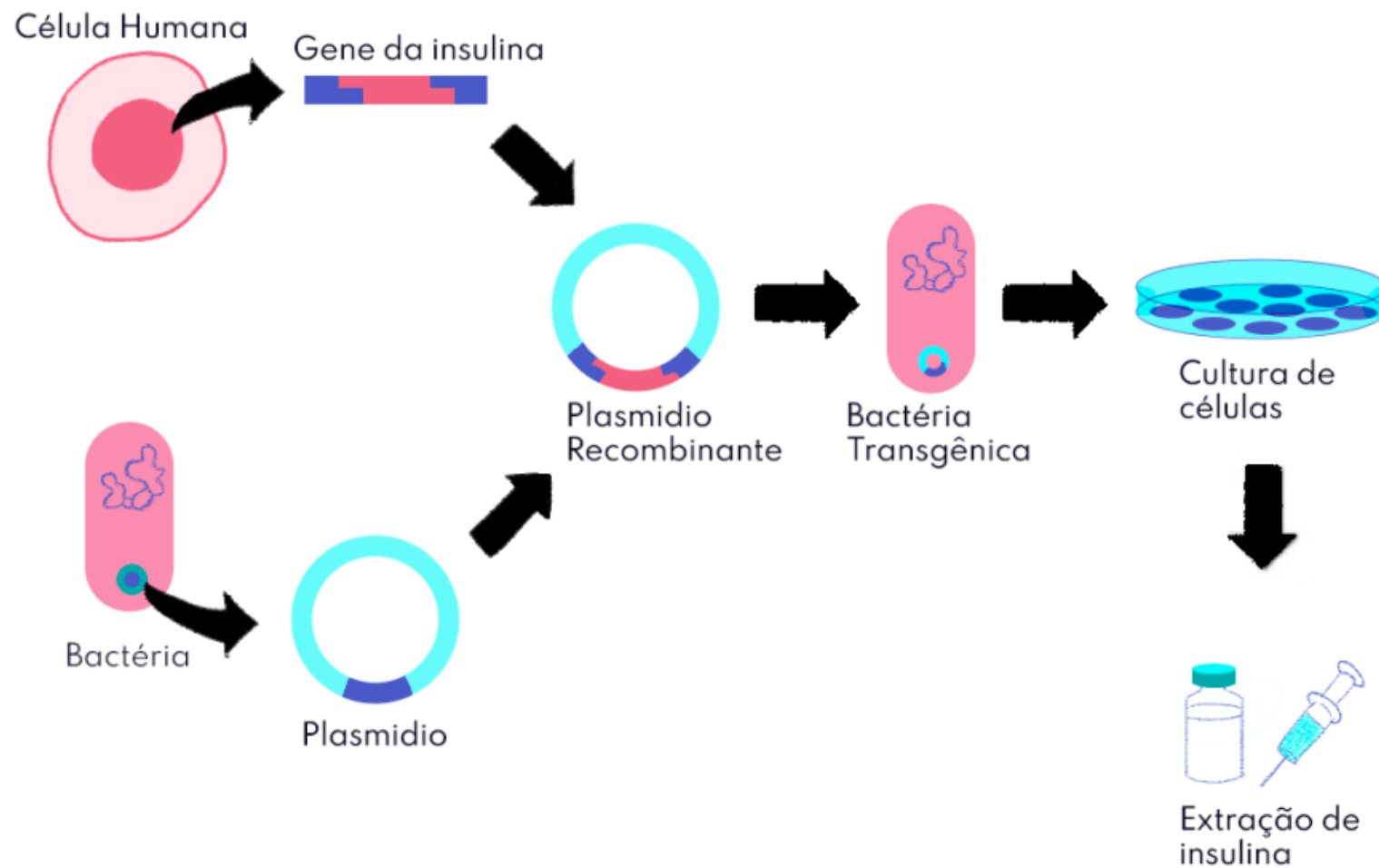


β -D-2-Deoxyribose

Unidades desoxirribonucleotídicas

Genética e sua aplicação

➤ Produção da insulina

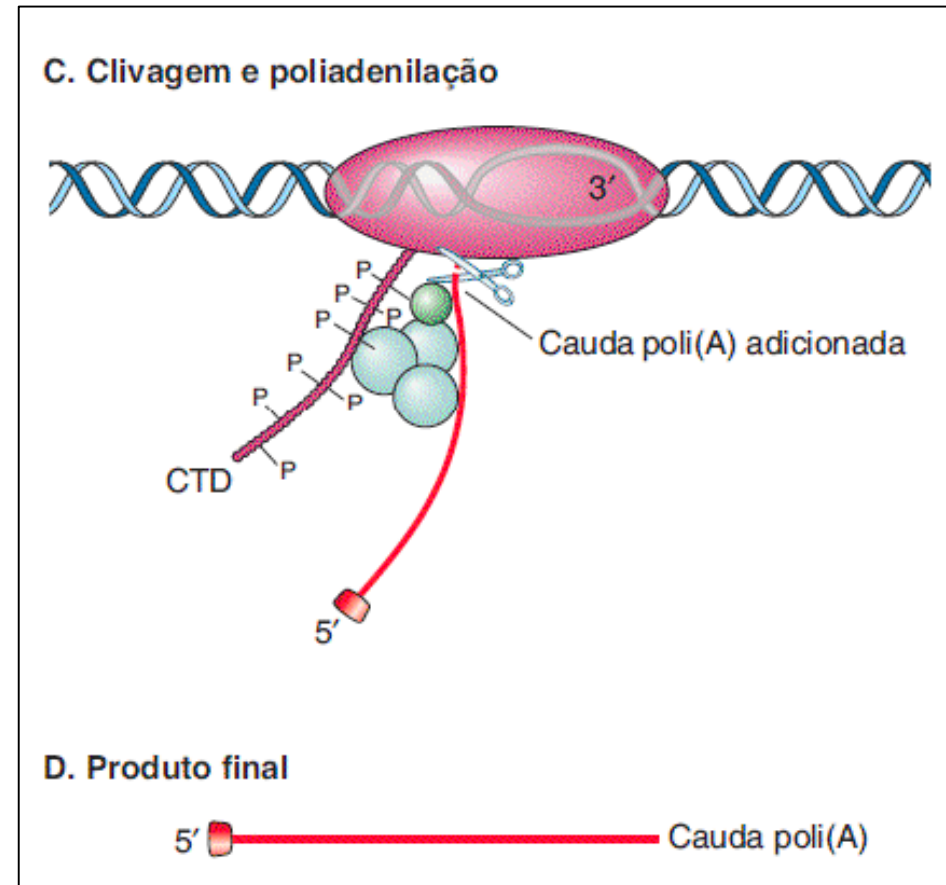
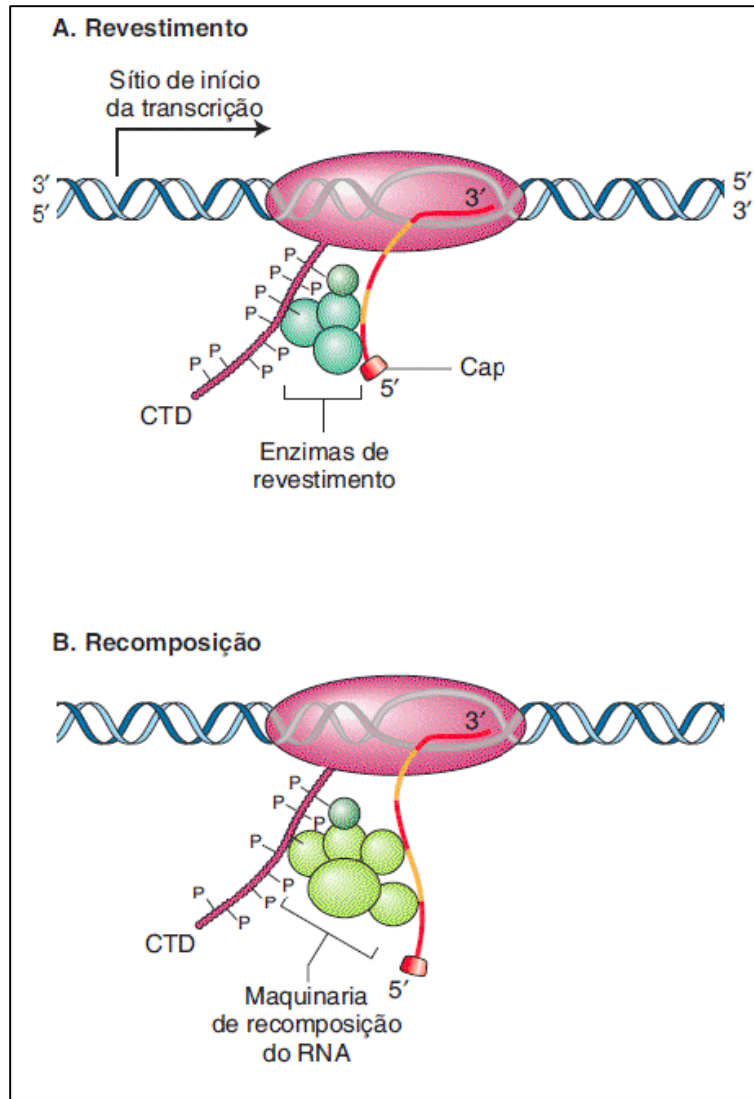


➤ Processamento do RNAm e Tradução

Estágios da transcrição - eucariontes

❖ Processamento cotranscricional do RNA

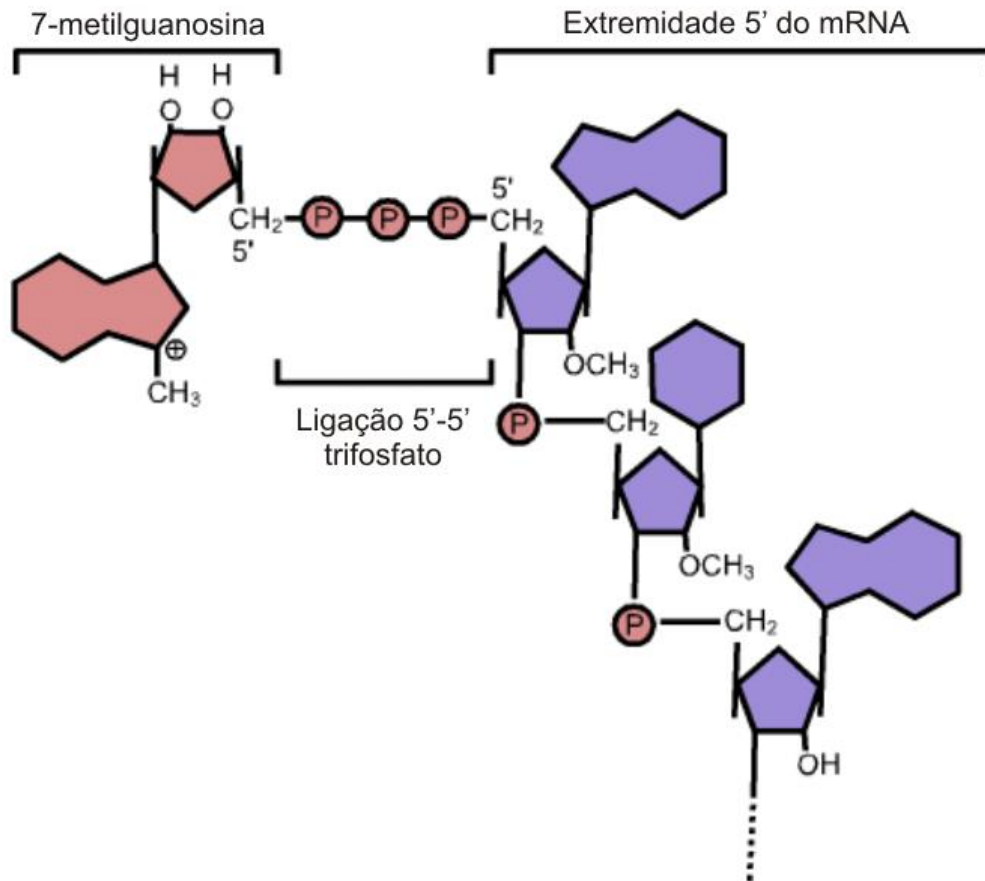
Esse processamento inclui (1) a **adição de um revestimento** (*cap*) na extremidade 5', (2) a **recomposição** (*splicing*) para eliminar os íntrons e (3) a **adição de uma cauda de nucleotídeos adenina** (poliadenilação) em 3'.



Processamento do mRNA em eucariotos

❖ Capeamento - cap

Os mRNAs sintetizados são modificados em sua extremidade 5' com a adição de um nucleotídeo de guanina metilado – 7-metilguanossina.



O cap é adicionado ao RNA (quando tem em torno de 25 nucleotídeos);

Participação de 3 enzimas:

- 1) RNA trifosfatase: remove o fosfato do 1 nucleotídeo do mRNA;
- 2) Guanililtransferase: usa o GTP como substrato e liga o GMP ao 1 nucleotídeo;
- 3) 7-Metiltransferase: adiciona um metil na posição 7 da base da guanina recém adicionada.

Processamento do mRNA em eucariotos

❖ Capeamento - cap

Quais as funções?

- ✓ Protegem os mRNAs das exonucleases;
- ✓ Servem como sítio de ligação para proteínas (proteínas do complexo de ligação que servem de mediadores para eventos subsequentes – splicing, poliadenilação e exportação nuclear;
- ✓ Importante para a primeira rodada da tradução.

Processamento do mRNA em eucariotos

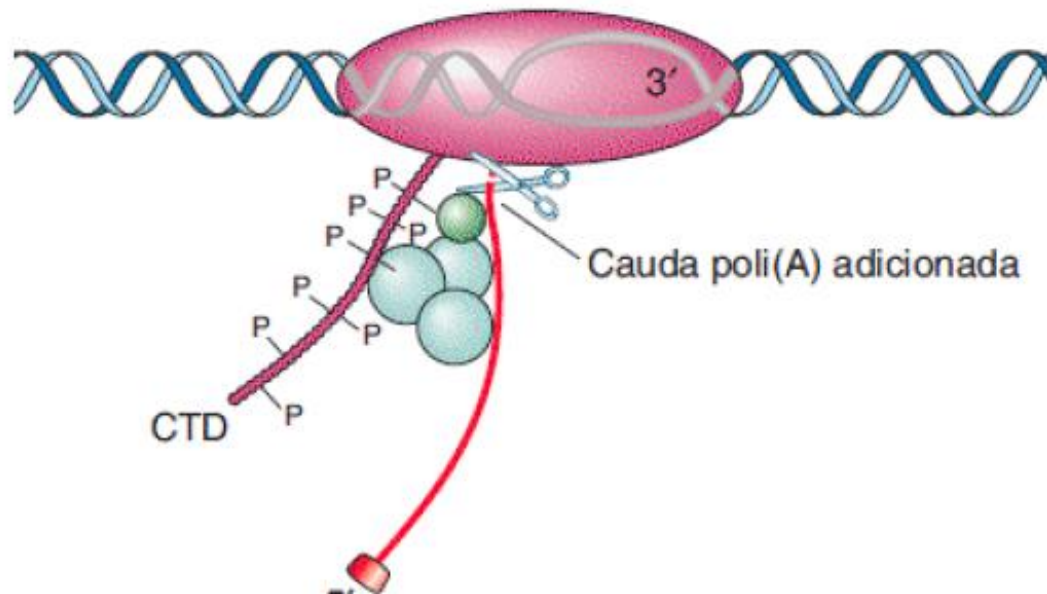
❖ Poliadenilação

É adicionado a extremidade 3' do mRNA a cauda poli-A

Consiste em 2 eventos

- 1) Clivagem – corta o mRNA transcrito da RNA pol II
- 2) A poliadenilação – adiciona de 50 a 250 resíduos de adenosina

C. Clivagem e poliadenilação



AAUUAAA → sequência importante para a clivagem e poliadenilação;

A enzima polimerase poli (A) que adiciona a cadeia A a extremidade 3'-OH.

Processamento do mRNA em eucariotos

❖ Poliadenilação



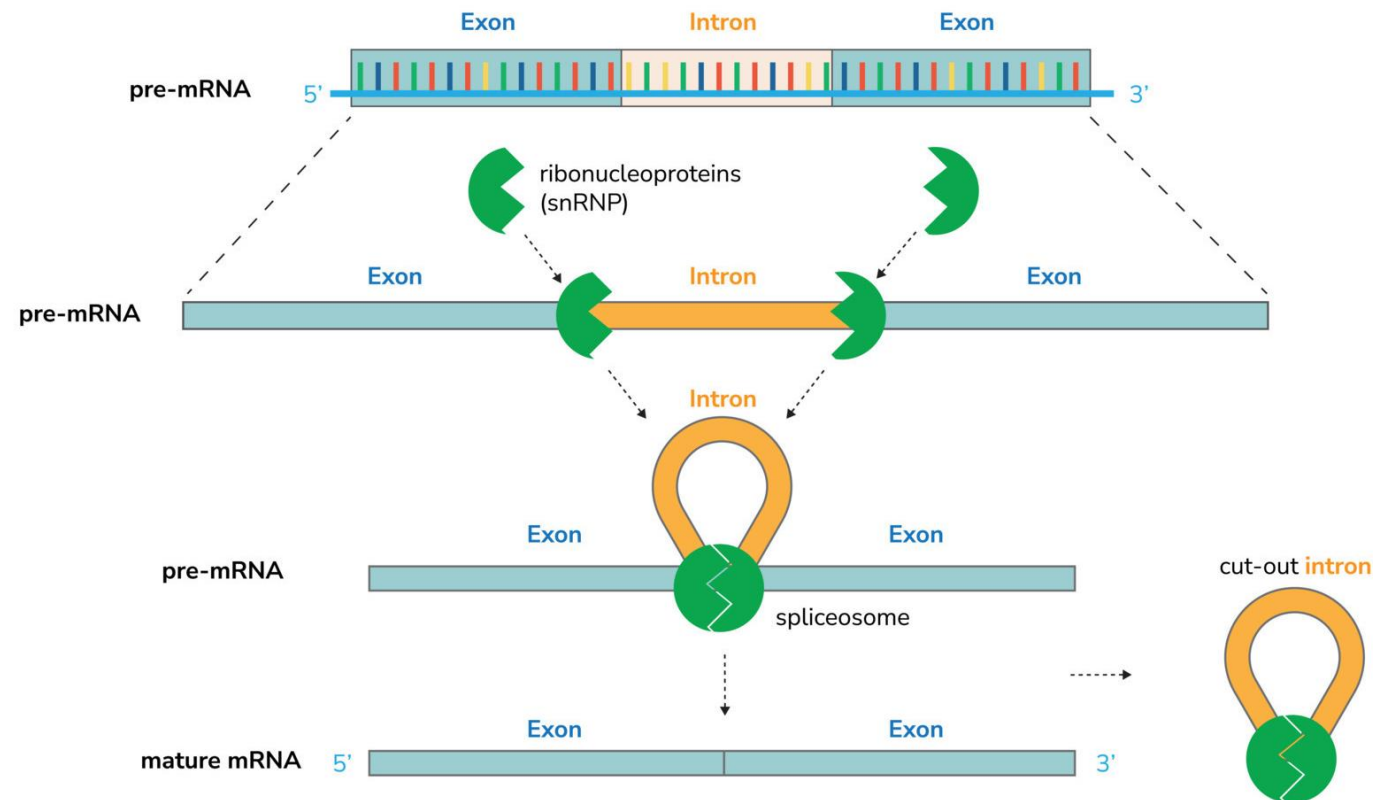
Qual a função?

- ✓ Protegem os mRNAs das exonucleases;
- ✓ Importante para o processo de tradução.

Processamento do mRNA em eucariotos

❖ Splicing ou recombinação do mRNA

Processo que remove segmentos de mRNA chamados íntrons e une segmentos restantes chamados éxons.



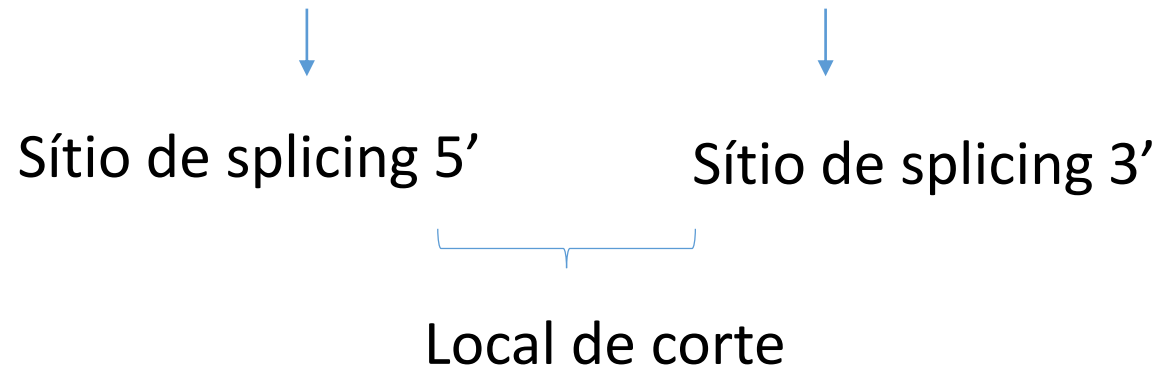
Processamento do mRNA em eucariotos

❖ Mecanismo de *splicing*

Processo que remove segmentos de mRNA chamados íntron e une segmentos restantes chamados éxons.

A maquinaria de *splicing* é chamada de spliceossomo;

Quase todos os íntrons iniciam com GU e terminam com AG;



Processamento do mRNA em eucariotos

❖ Genes x proteínas

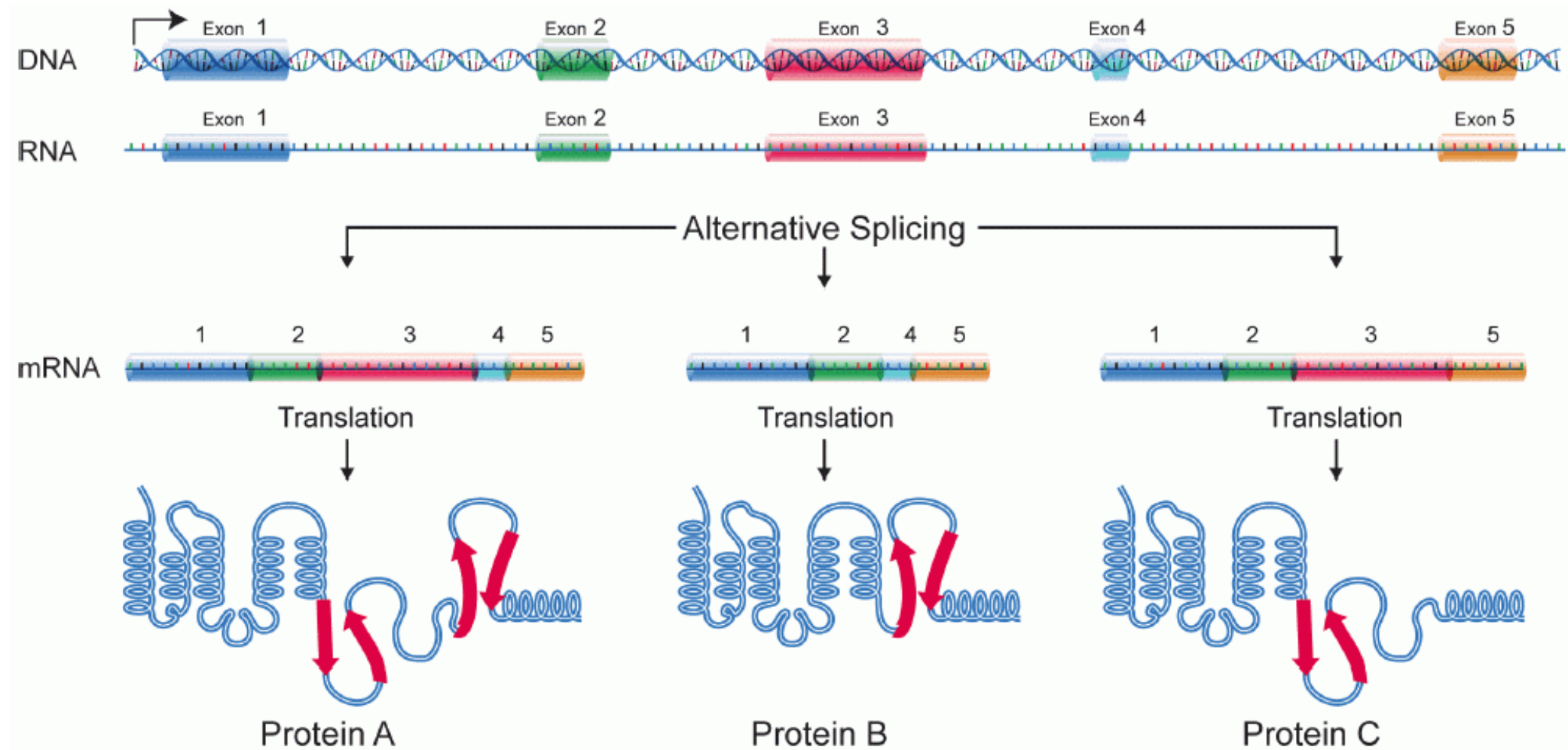
20.000 genes x 400 mil proteínas



Como isso é possível?

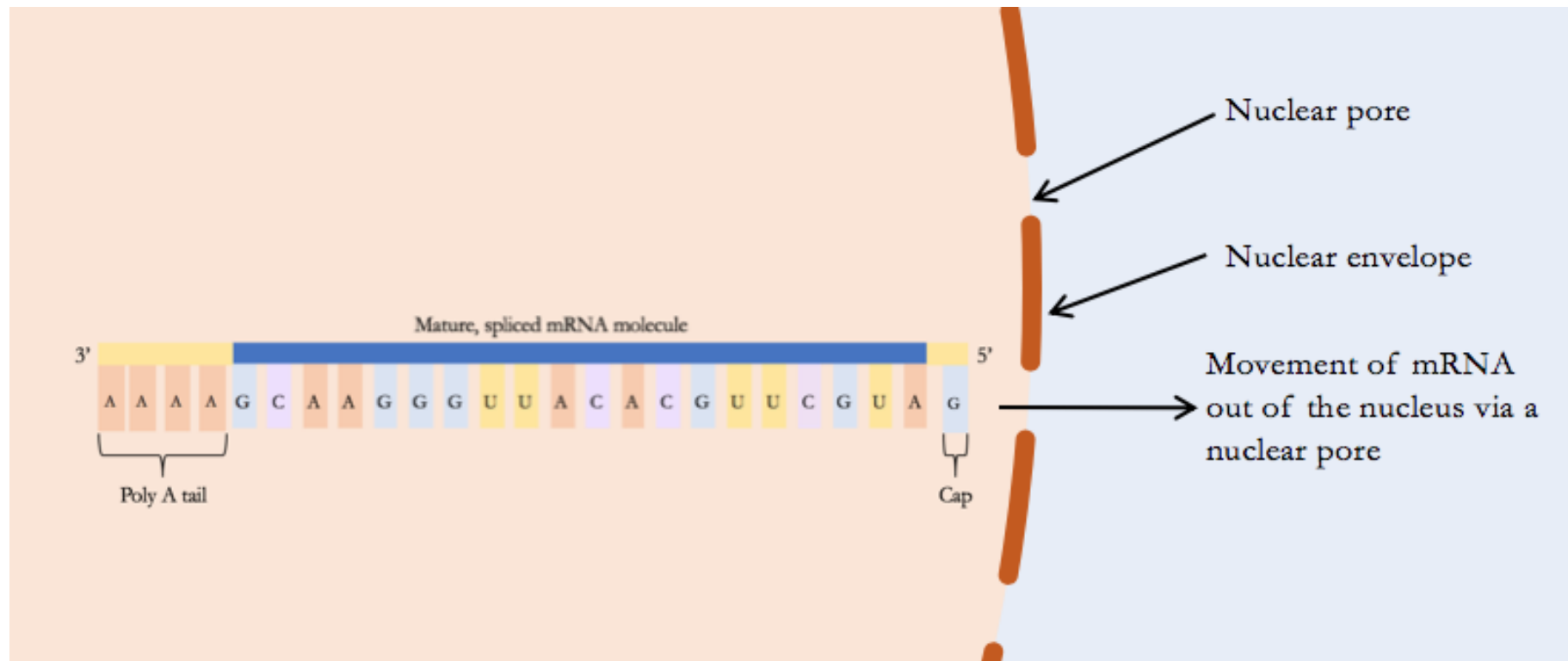
Processamento do mRNA em eucariotos

❖ Splicing alternativo



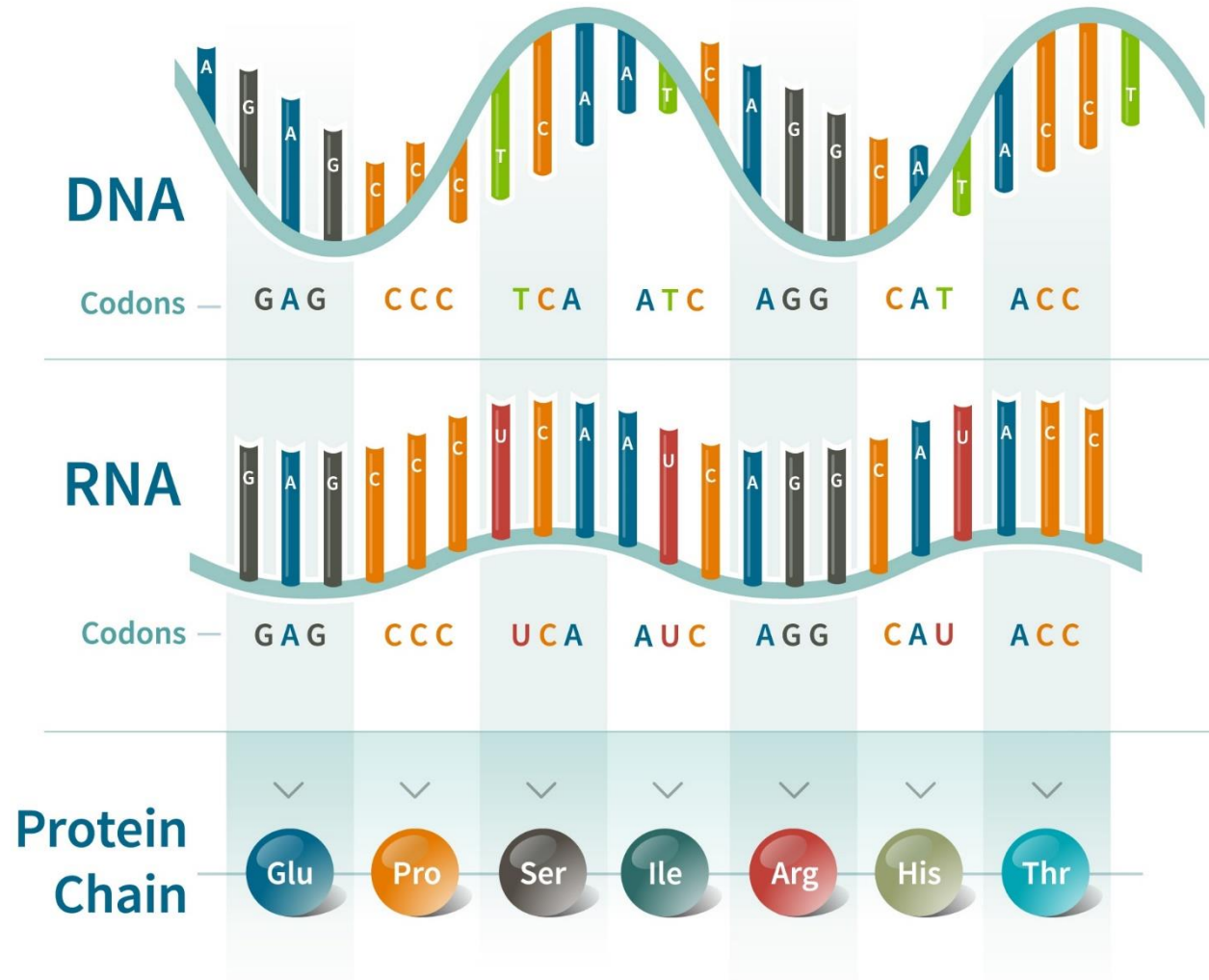
Exportação do mRNA do núcleo

- ❖ Mecanismo envolvem proteínas adaptadoras que se ligam aos mRNA no início da sua biogênese e os escoltam até o citoplasma através dos canais da membrana nuclear



Código genético

❖ Como o DNA dita a sequências de aminoácidos nas proteínas?



Código genético

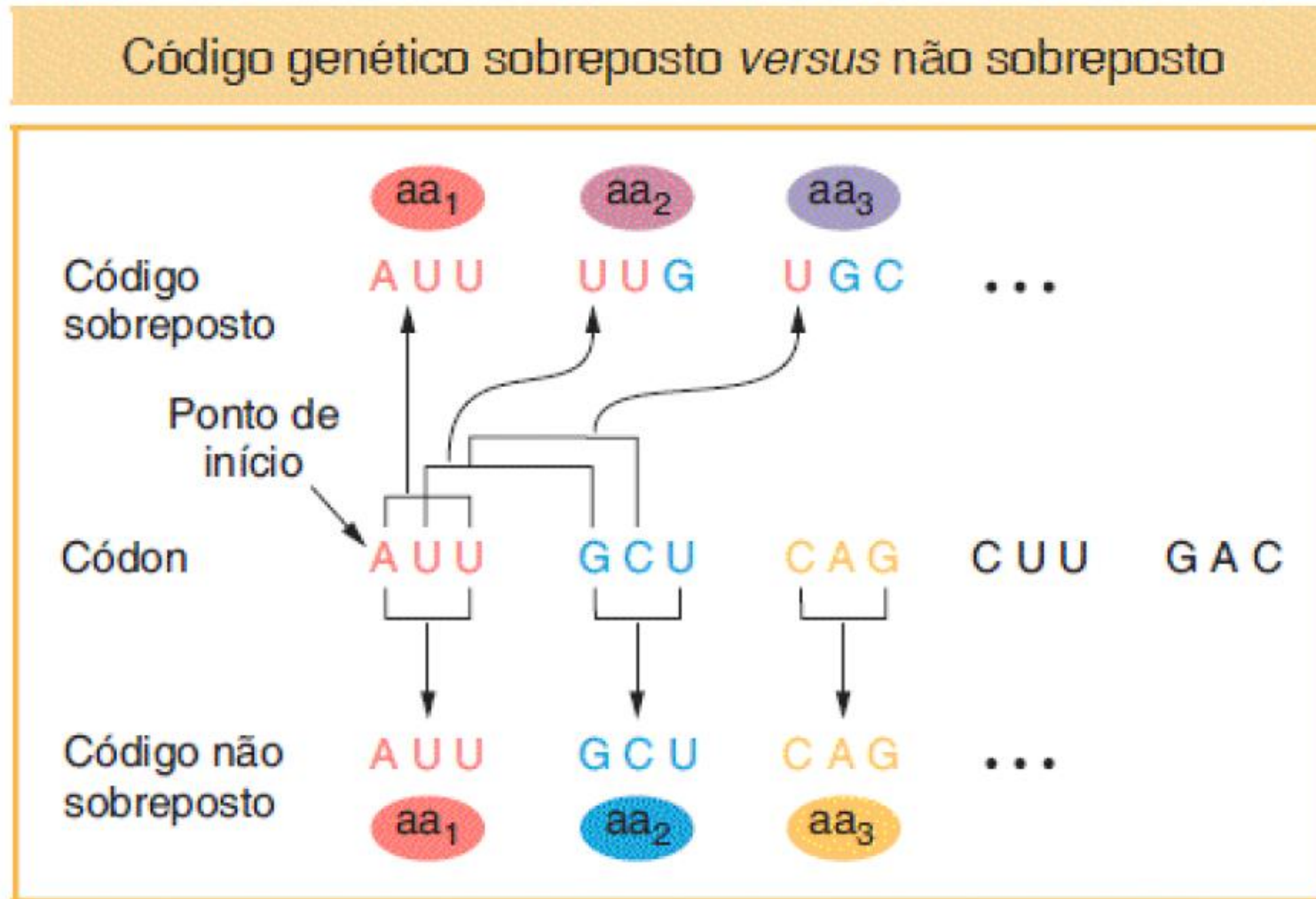
❖ Código é degenerado

Alguns aminoácidos são específicos por duas ou mais trincas diferentes

| | | Second Base | | | | Third Base |
|------------|---|--|---|--|--|------------|
| | | U | C | A | G | |
| First Base | U | UUU } Fenilalanina F UUC } UUA } Leucina L UUG } | UCU } UCC } Serina S UCA } UCG } | UAU } Tirosina Y UUC } UAA } Códon de parada UAG } | UGU } Cisteína C UGC } UGA } Códon de parada UGG } Triptofano W | |
| | C | CUU } CUC } Leucina L CUA } CUG } | CCU } CCC } Prolina P CCA } CCG } | CAU } Histidina H CAC } CAA } Glutamina Q CAG } | CGU } CGC } Arginina R CGA } CGG } | |
| | A | AUU } AUC } Isoleucina I AUA } AUG } Metionina, M Códon de iniciação | ACU } ACC } Treonina T ACA } ACG } | AAU } Asparagina N AAC } AAA } Lisina K AAG } | AGU } Serina S AGC } AGA } Arginina R AGG } | |
| | G | GUU } GUC } Valina V GUA } GUG } | GCU } GCC } Alanina A GCA } GCG } | GAU } Ácido aspártico D GAC } GAA } Ácido glutâmico E GAG } | GGU } GGC } Glicina G GGA } GGG } | |

Código genético

❖ O código não se sobrepõe

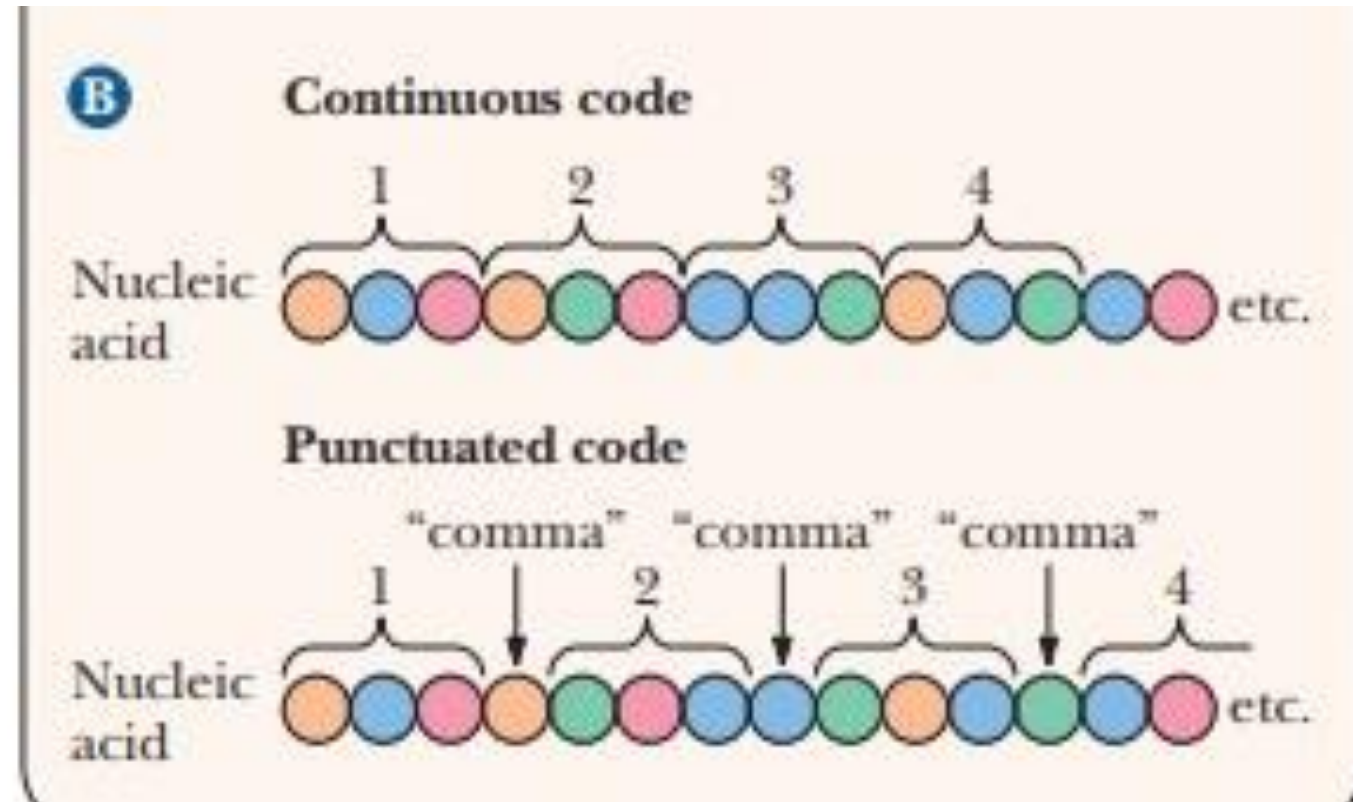


Código genético

❖ O código é contínuo

Código contínuo

Código descontínuo



Código genético

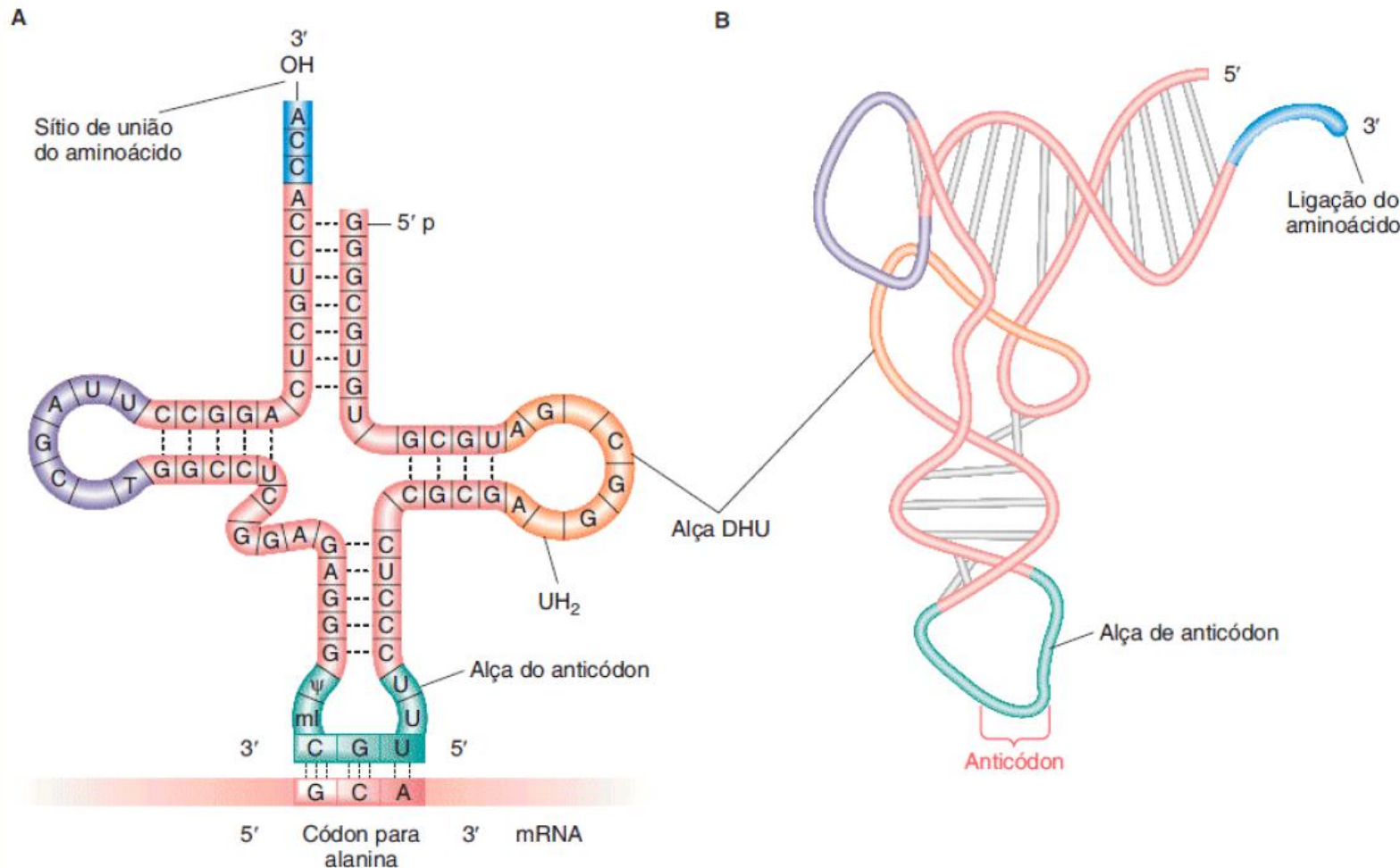
❖ Códon de parada – não especificam aa (UAA, UAG e UGA)

| | | Second Base | | | | |
|------------|---|--|---|--|--|------------------|
| | | U | C | A | G | |
| First Base | U | UUU } Fenilalanina F UUC } UUA } Leucina L UUG } | UCU } UCC } Serina S UCA } UCG } | UAU } Tirosina Y UUC } UAA } Códon de parada UAG } | UGU } Cisteína C UGC } UGA } Códon de parada UGG } Triptofano W | U C A G |
| | C | CUU } CUC } Leucina L CUA } CUG } | CCU } CCC } Prolina P CCA } CCG } | CAU } Histidina H CAC } CAA } Glutamina Q CAG } | CGU } CGC } Arginina R CGA } CGG } | U C A G |
| | A | AUU } AUC } Isoleucina I AUA } AUG } Metionina, M Códon de iniciação | ACU } ACC } Treonina T ACA } ACG } | AAU } Asparagina N AAC } AAA } Lisina K AAG } | AGU } Serina S AGC } AGA } Arginina R AGG } | U C A G |
| | G | GUU } GUC } Valina V GUA } GUG } | GCU } GCC } Alanina A GCA } GCG } | GAU } Ácido aspártico D GAC } GAA } Ácido glutâmico E GAG } | GGU } GGC } Glicina G GGA } GGG } | U C A G |

tRNA e ribossomos

❖ tRNAs são adaptadores

A estrutura do RNA transportador ou de transferência



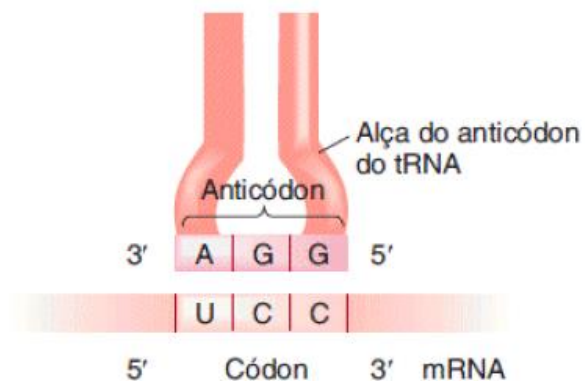
- ✓ Em eucariotos, a sequência 5'CCA3' é adicionada pela enzima nucleotidiltransferase;
- ✓ Estrutura tridimensional de L invertido;
- ✓ Nucleótidos modificados (inosina) – alteram o dobramento e a estabilidade;
- ✓ Possui um anticódon.

tRNA e ribossomos

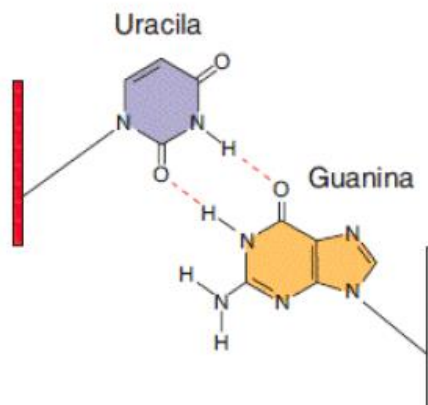
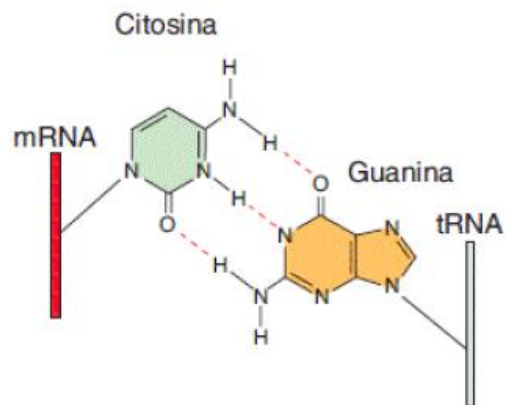
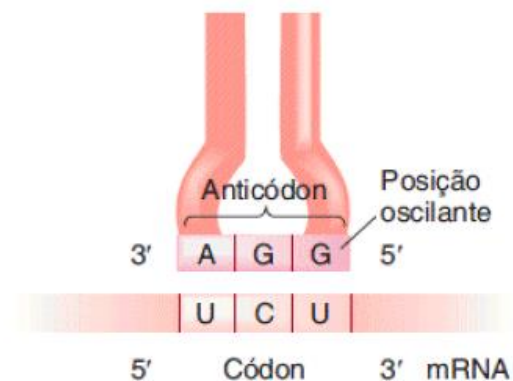
❖ Pareamento oscilante

O pareamento oscilante possibilita que o tRNA reconheça dois códons

Pareamento complementar normal



Pareamento alternativo

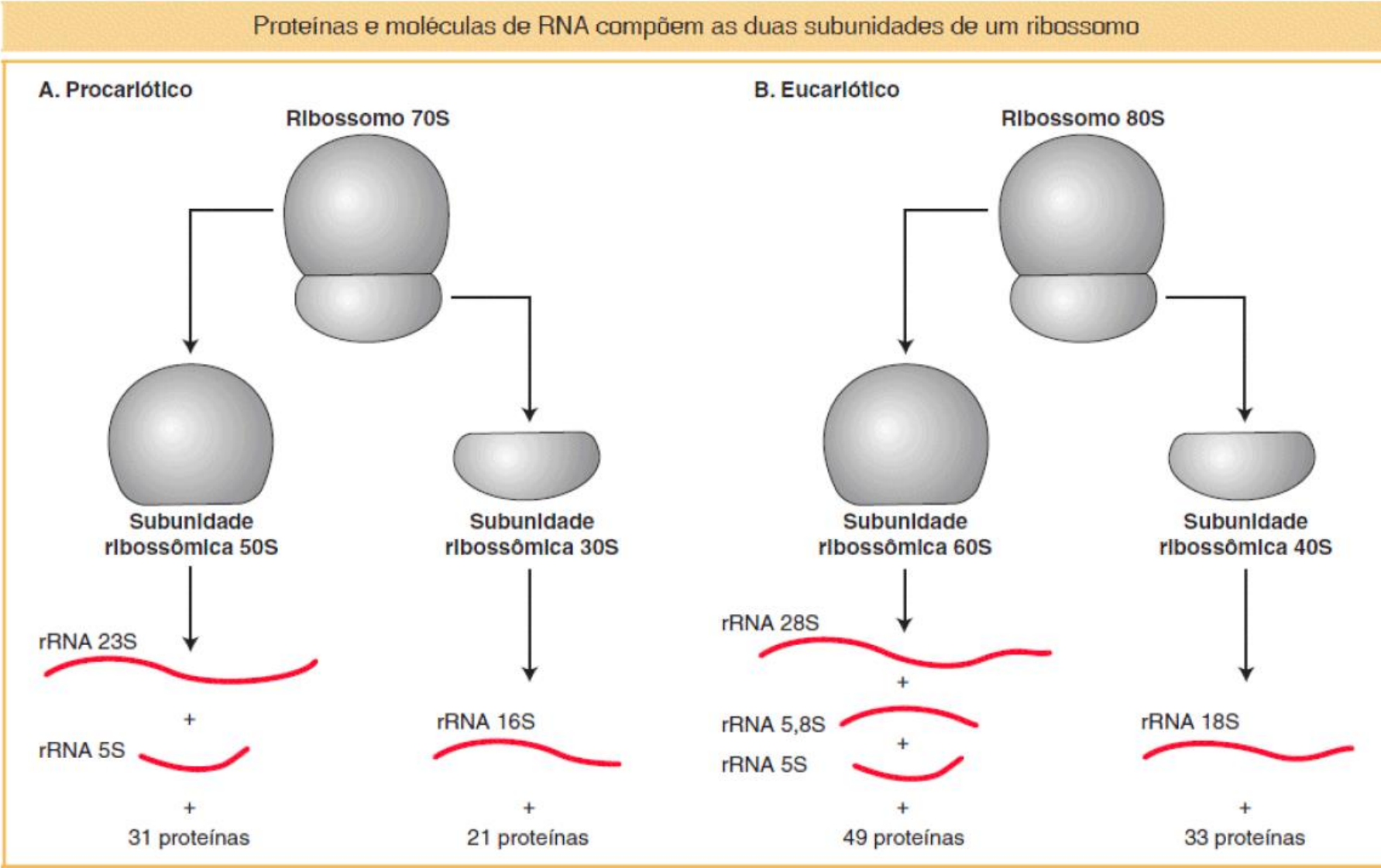


No terceiro sítio (extremidade 5') do anticódon, G pode adotar qualquer uma de duas posições oscilantes, sendo capaz, portanto, de parear-se com U ou C. Essa capacidade significa que uma única espécie de tRNA que carrega um aminoácido (nesse caso, serina) consegue reconhecer dois códons — UCU e UCC — no mRNA.

tRNA e ribossomos

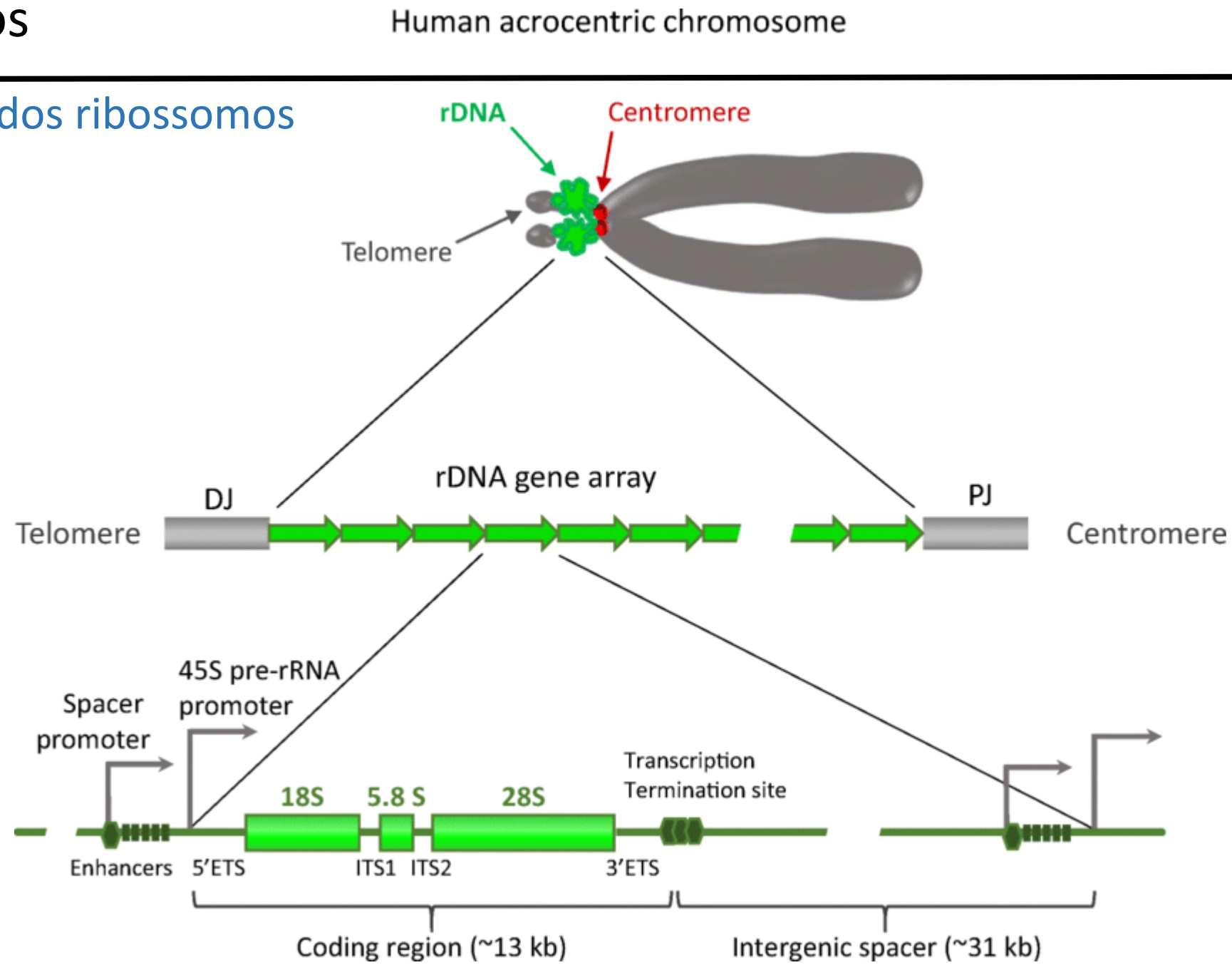
❖ Estrutura e função dos ribossomos

S – unidades Svedberg – taxa de sedimentação



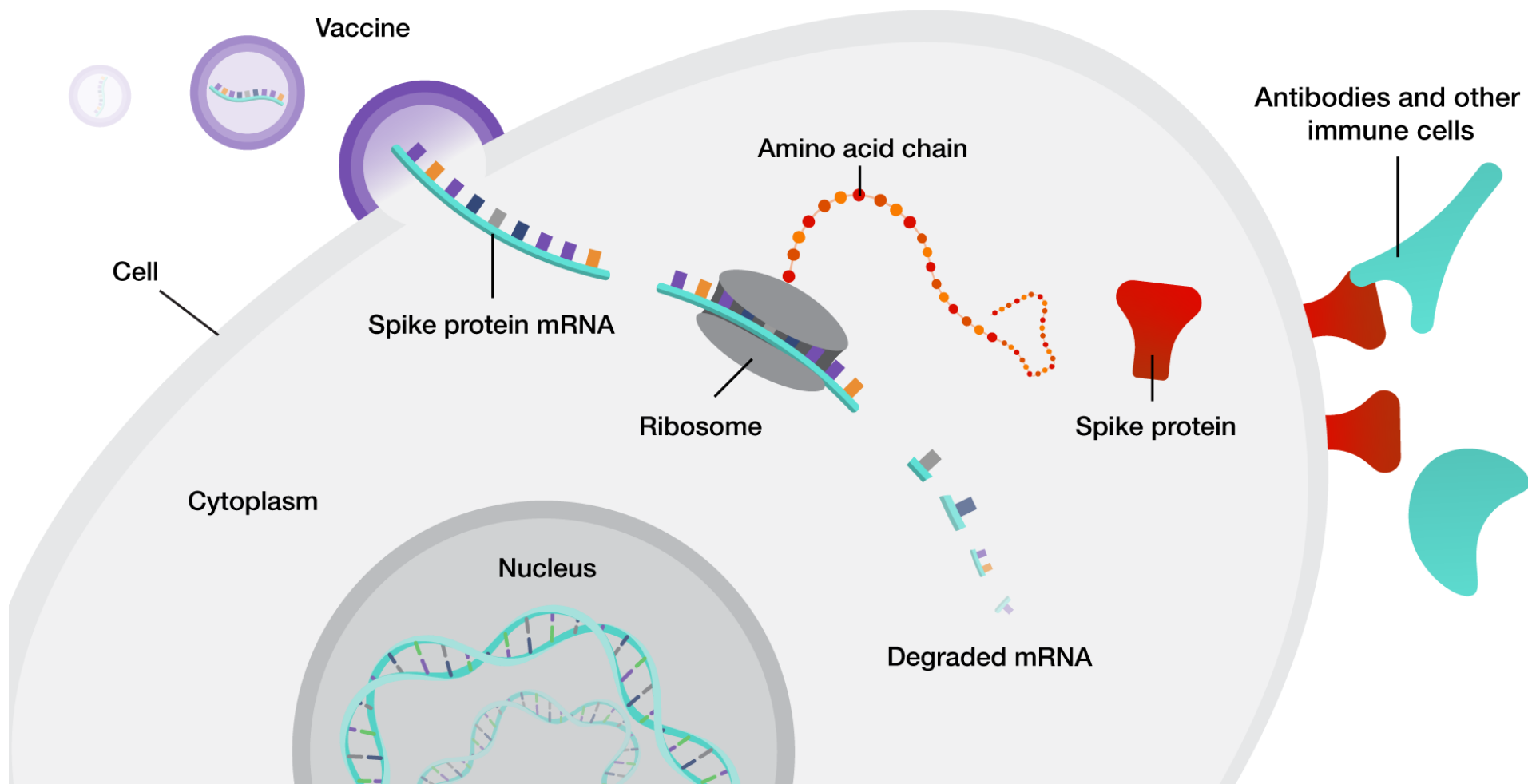
tRNA e ribossomos

❖ Estrutura e função dos ribossomos



Vacina a partir do RNAm – COVID-19

- As vacinas de mRNA carregam uma parte do código genético do vírus que contém as instruções para que as células do corpo produzam determinadas proteínas

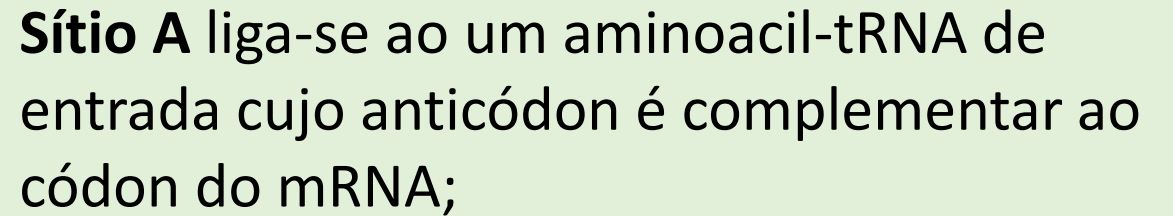


Vacina a partir do RNAm – COVID-19

➤ As vacinas de mRNA

- Agilidade → são desenvolvidas e produzidas rapidamente e de forma sintética, usando apenas o código genético do patógeno;
- Flexibilidade → A sequência de RNA da vacina pode ser alterada rapidamente para poder agir contra variantes do vírus que eventualmente não seriam atingidas pela vacina em uso;
- Produção → O RNA mensageiro pode ser produzido em laboratório, utilizando materiais mais acessíveis. Por isso, o processo pode ser padronizado e a produção pode ser feita em grande escala, o que permite respostas rápidas a grandes surtos e epidemias.

❖ Características do ribossomo



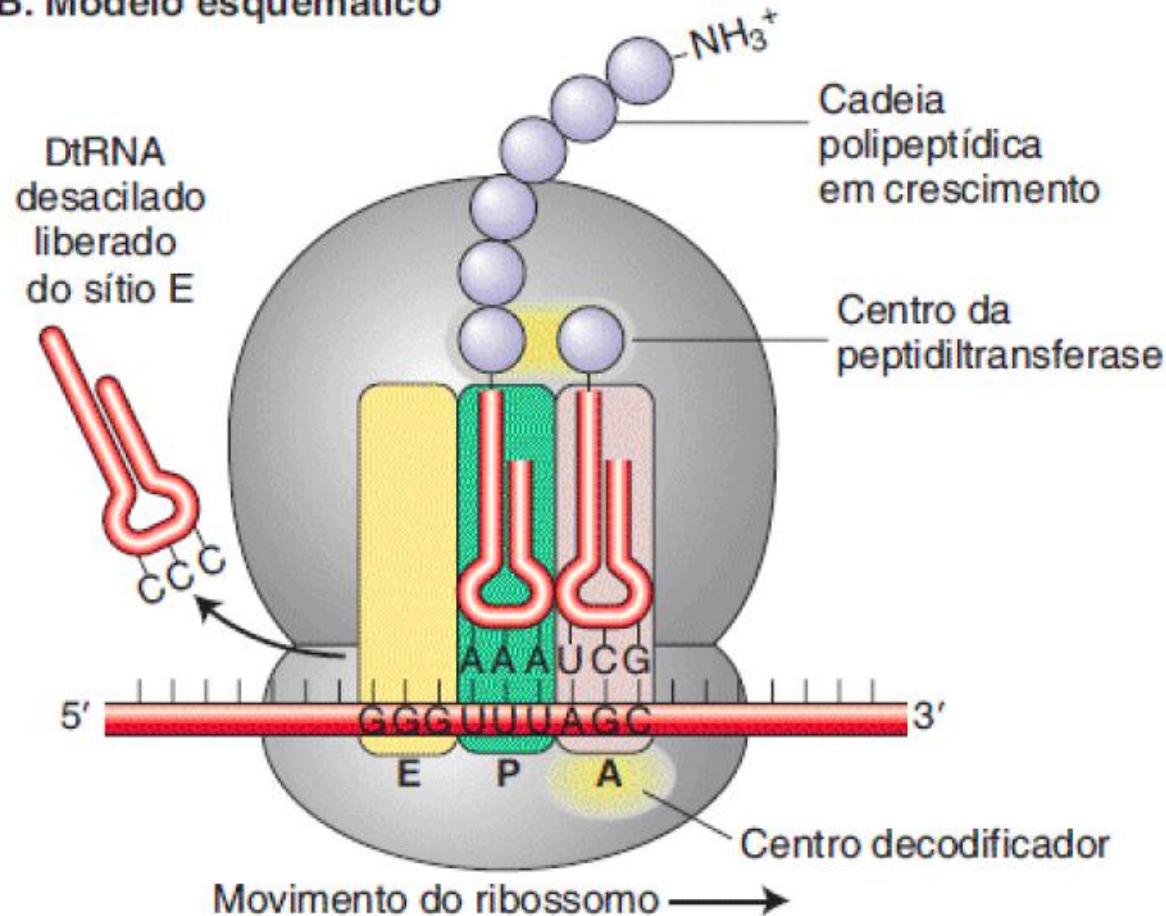
Esses sítios facilitam a formação da ligação peptídica

Sítio E contém um tRNA desacilado, o qual está pronto para ser liberado.

tRNA e ribossomos

❖ Características do ribossomo

B. Modelo esquemático



Centro de decodificação: garante que apenas tRNAs carregando anticódons que correspondem ao códon serão aceitos no sítio A;

Centro da peptidiltransferase: local onde ocorre a ligação peptídica.

Tradução do mRNA

❖ Três etapas

```
graph TD; A[Iniciação] --> B[Alongamento]; B --> C[Término];
```

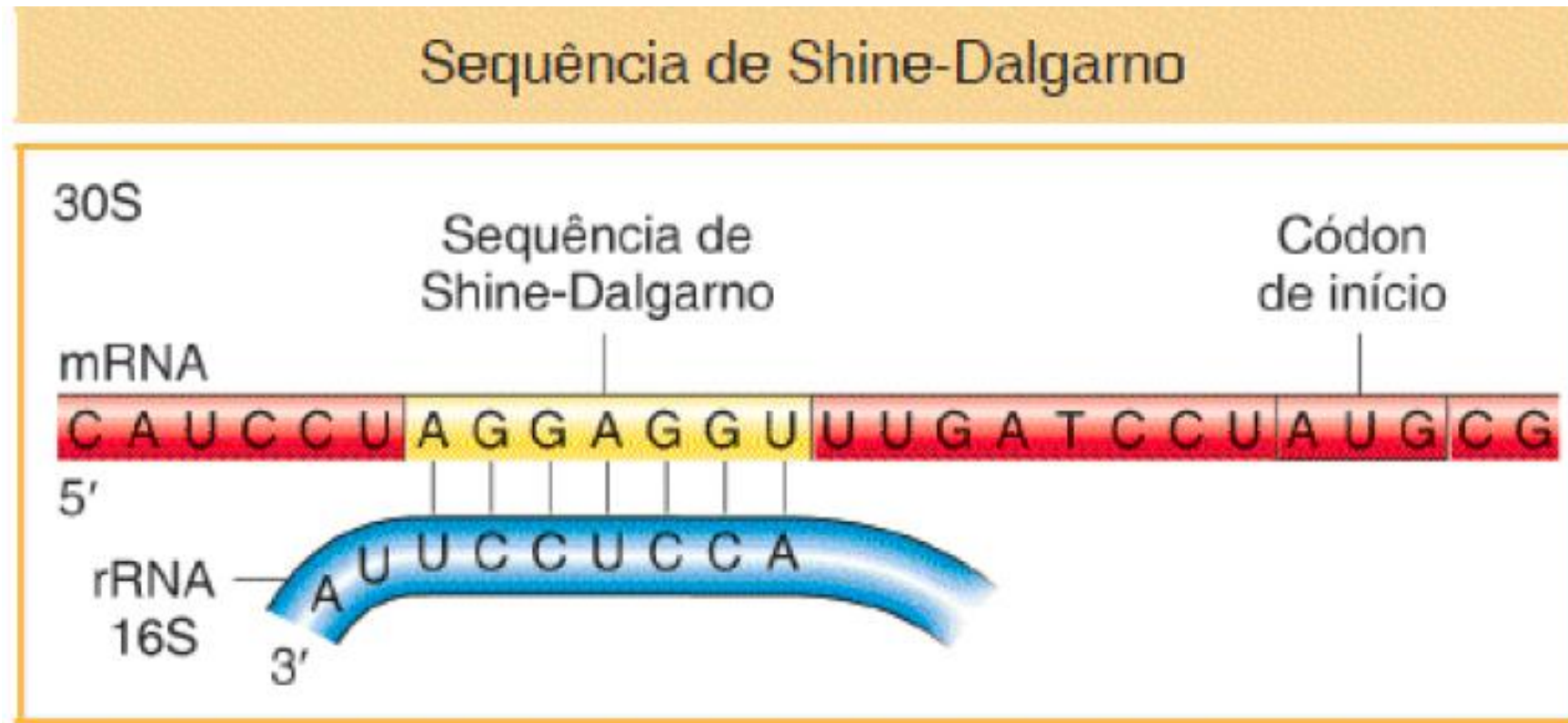
Iniciação

Alongamento

Término

Tradução do mRNA

❖ Iniciação - procariontes



Em bactérias, a complementaridade de bases entre a extremidade 3' do rRNA 16S da subunidade ribossômica pequena (30S) e a sequência de Shine-Dalgarno do mRNA posiciona o ribossomo para iniciar corretamente a tradução no códon AUG downstream.

Tradução do mRNA

❖ Iniciação - procariontes



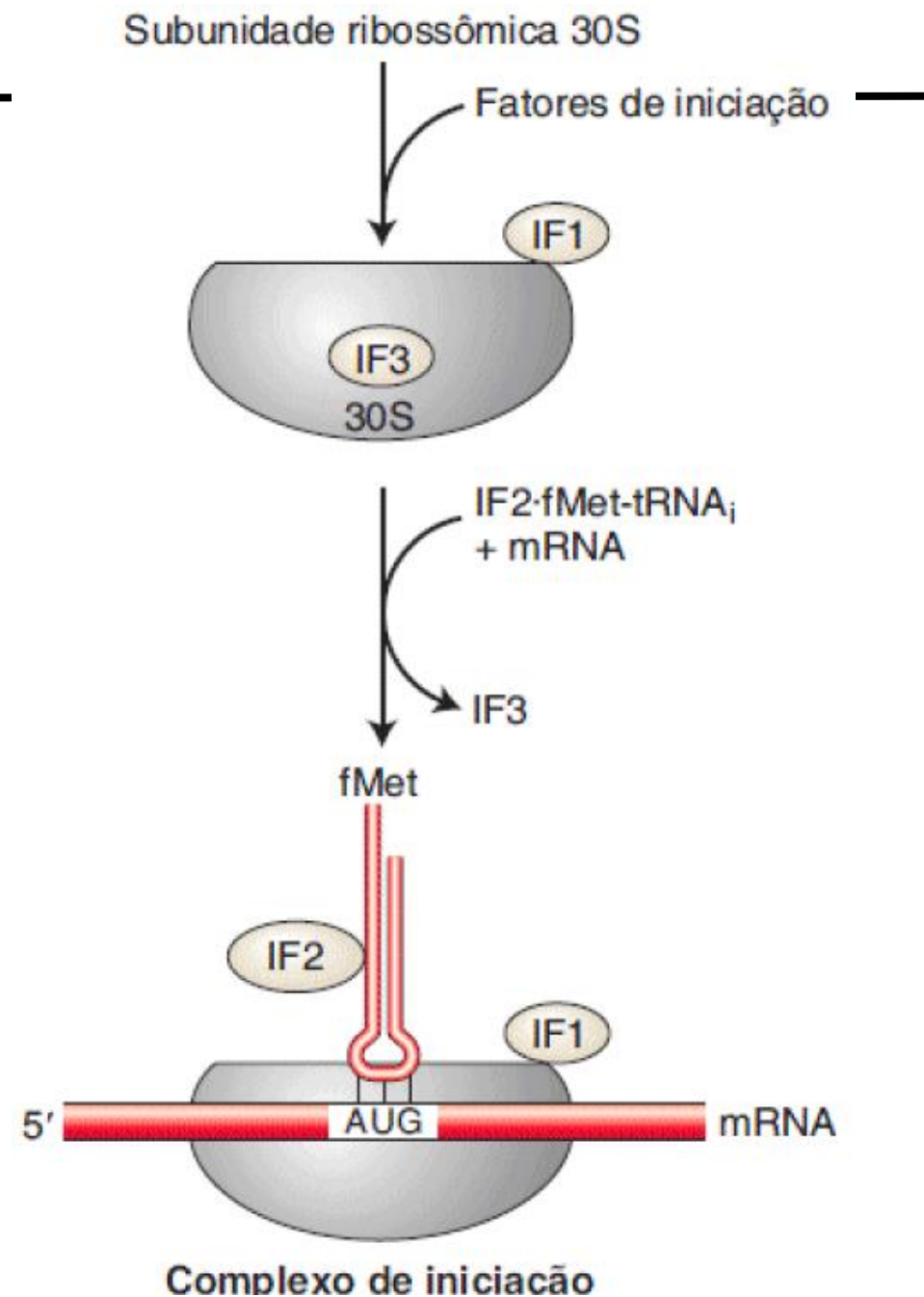
Em bactérias, a complementaridade de bases entre a extremidade 3' do rRNA 16S da subunidade ribossômica pequena (30S) e a sequência de Shine-Dalgarno do mRNA posiciona o ribossomo para iniciar corretamente a tradução no códon AUG downstream.

Tradução do mRNA

❖ Iniciação - procariontes

A IF3 é necessária para manter a subunidade 30S dissociada da subunidade 50S;

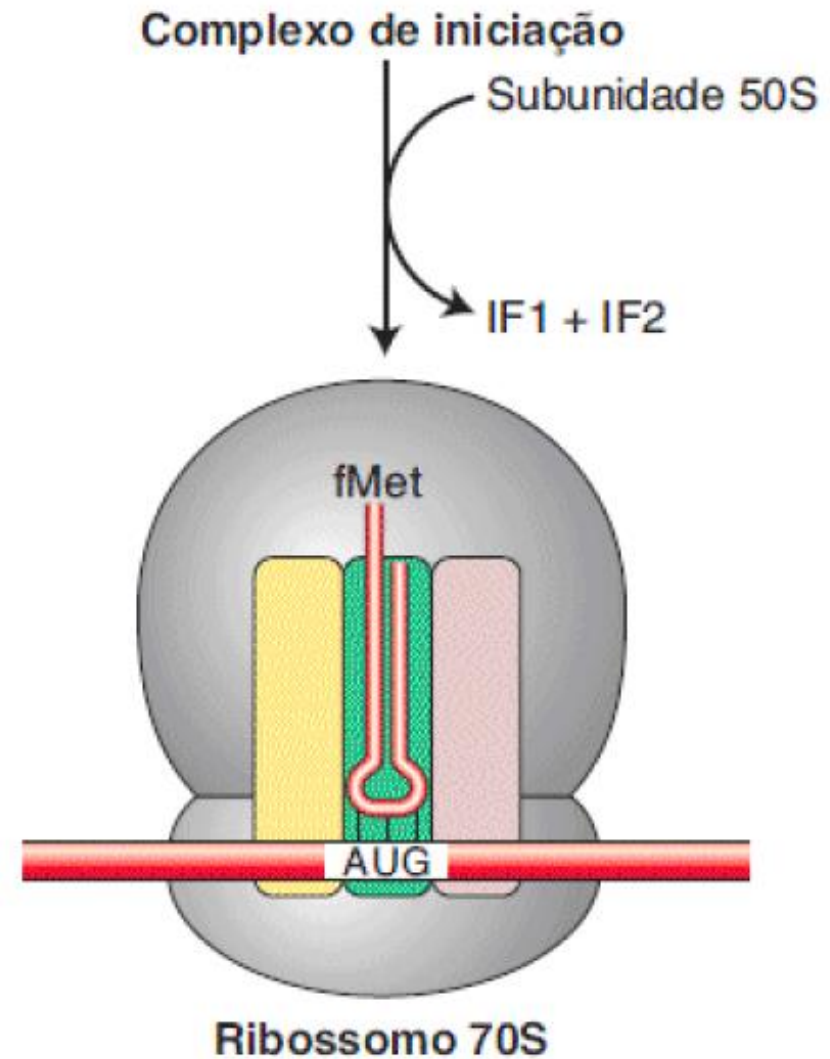
IF1 e IF2 atuam para assegurar que apenas o tRNA iniciador entre no sítio P.



Tradução do mRNA

❖ Iniciação - procariontes

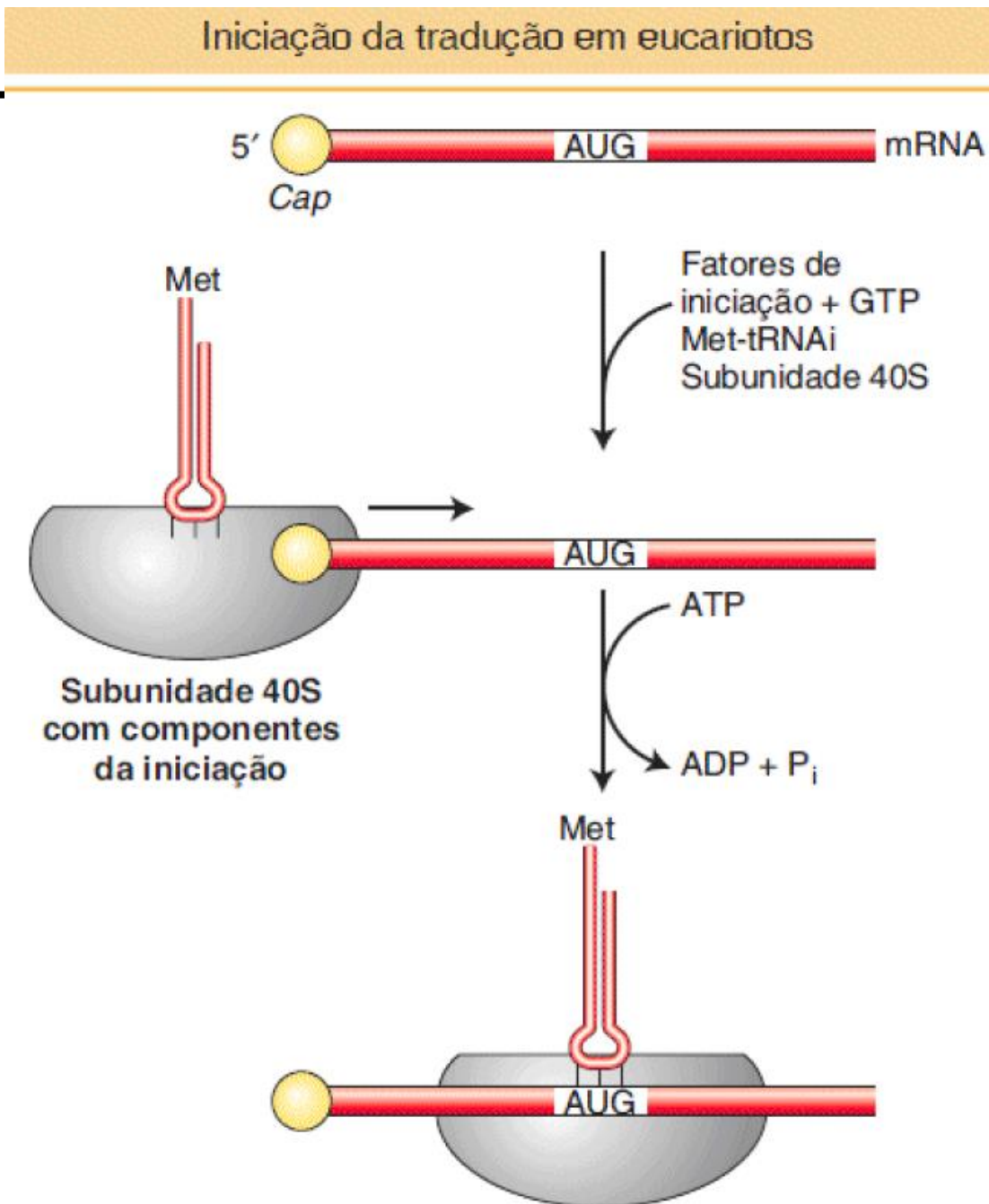
Ocorre a liberação dos fatores de iniciação



Tradução do mRNA

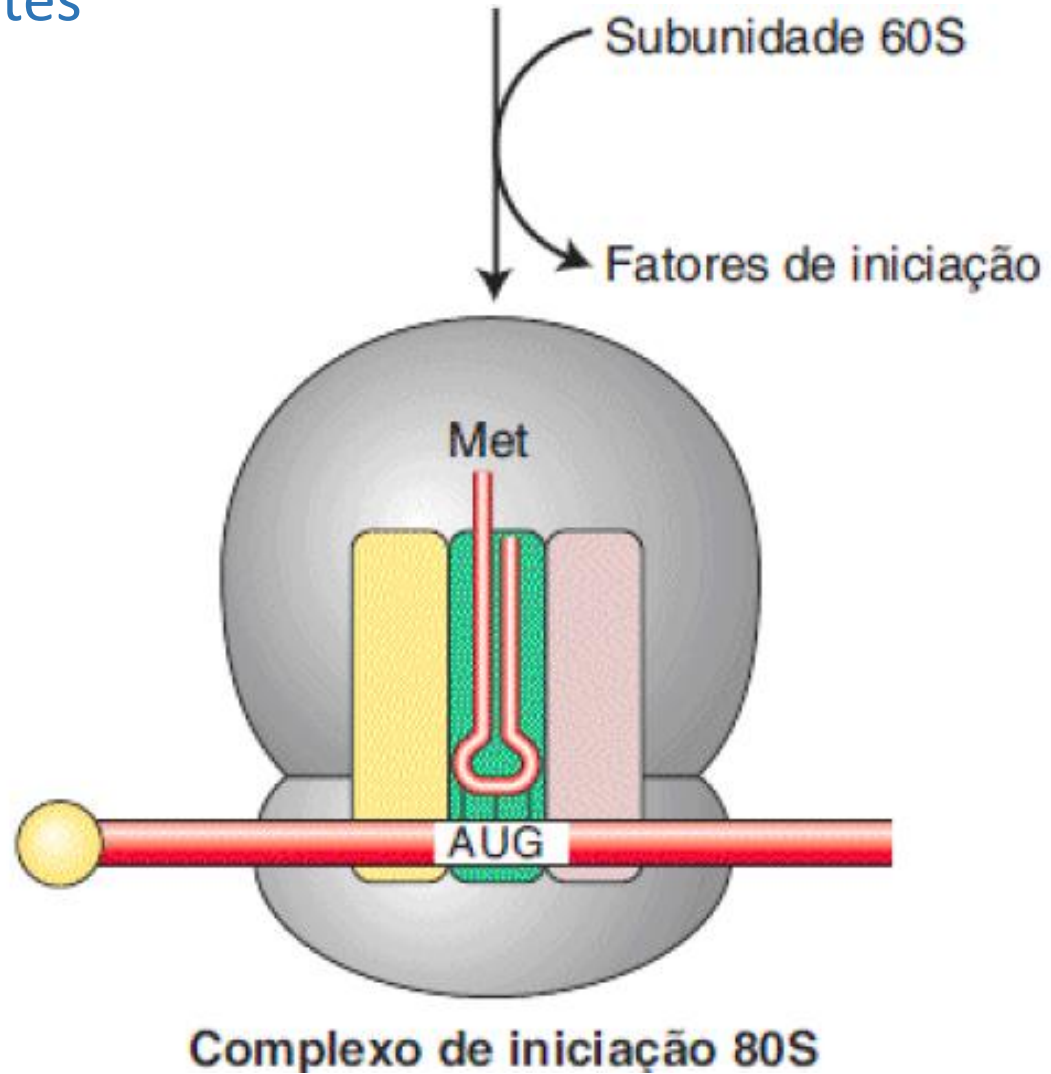
❖ Iniciação - eucariontes

Fatores de iniciação se associam à estrutura do *cap* (que se encontra na extremidade 5') e à subunidade 40S e ao tRNA iniciador para formar um complexo de iniciação.



Tradução do mRNA

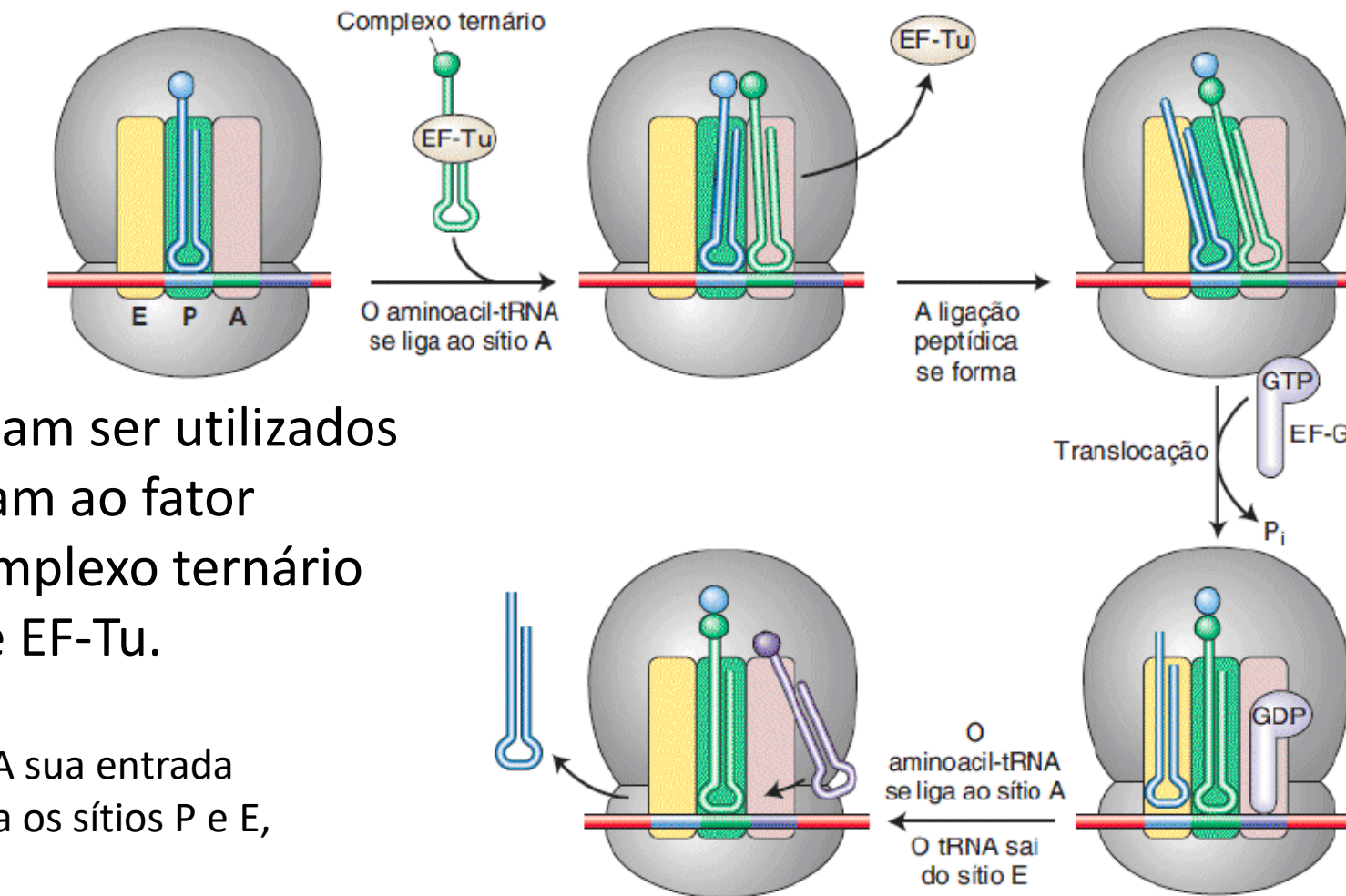
❖ Iniciação - eucariontes



Tradução do mRNA

❖ Alongamento - eucariontes

Etapas no alongamento da tradução



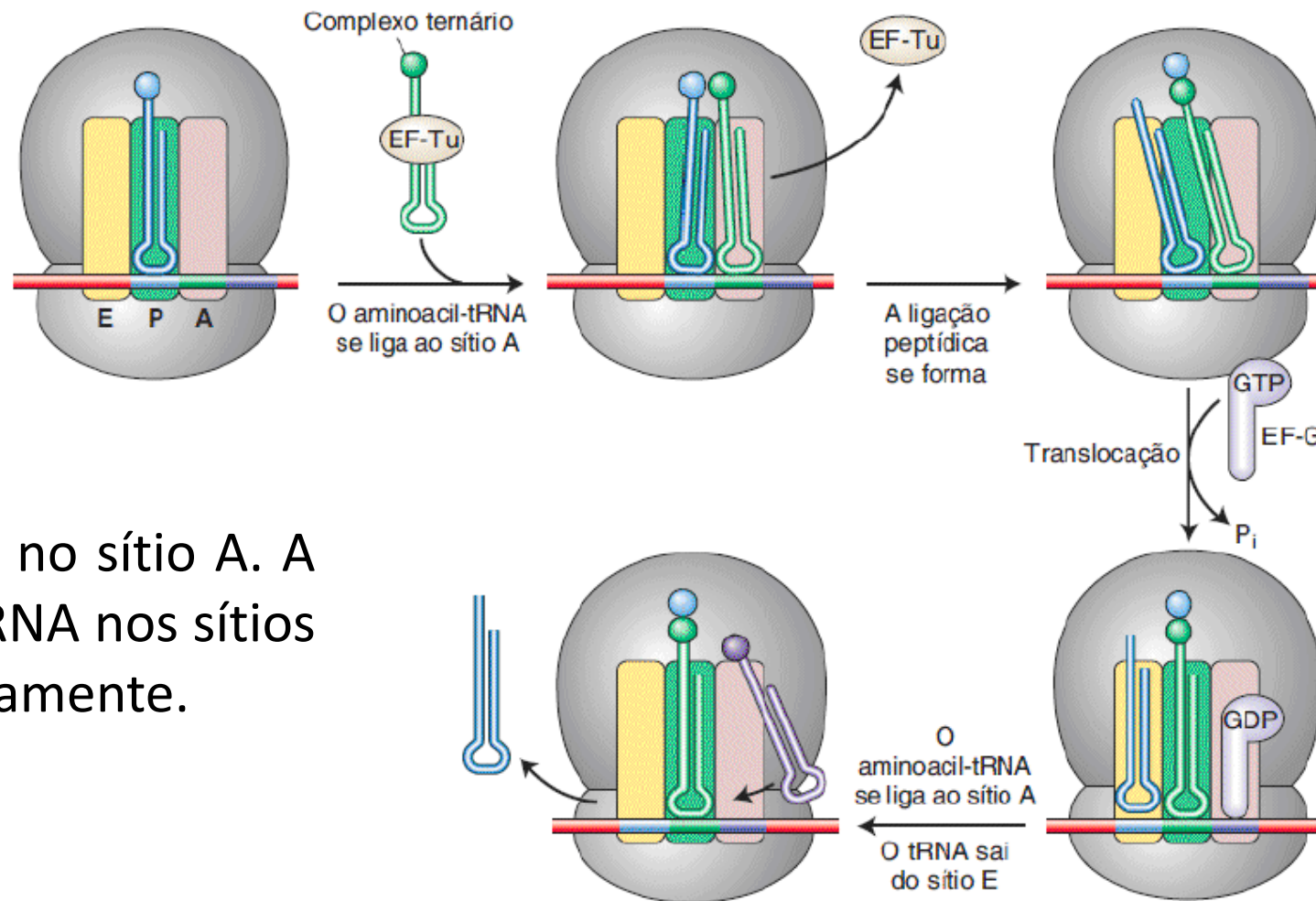
Antes que os aminoacil-tRNA possam ser utilizados na síntese proteica, eles se associam ao fator proteico EF-Tu para formar um complexo ternário composto por tRNA, aminoácido e EF-Tu.

O fator EF-G aparenta se encaixar no sítio A. A sua entrada nesse sítio altera os tRNA nos sítios A e P para os sítios P e E, respectivamente

Tradução do mRNA

❖ Alongamento - eucariontes

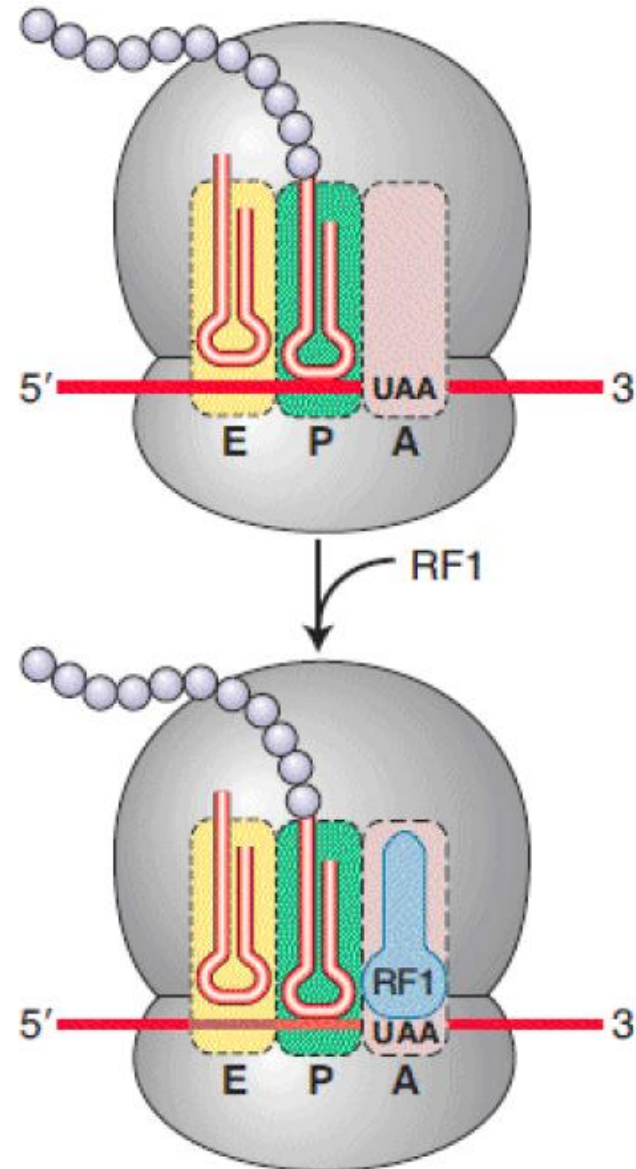
Etapas no alongamento da tradução



O fator EF-G aparenta se encaixar no sítio A. A sua entrada nesse sítio altera os tRNA nos sítios A e P para os sítios P e E, respectivamente.

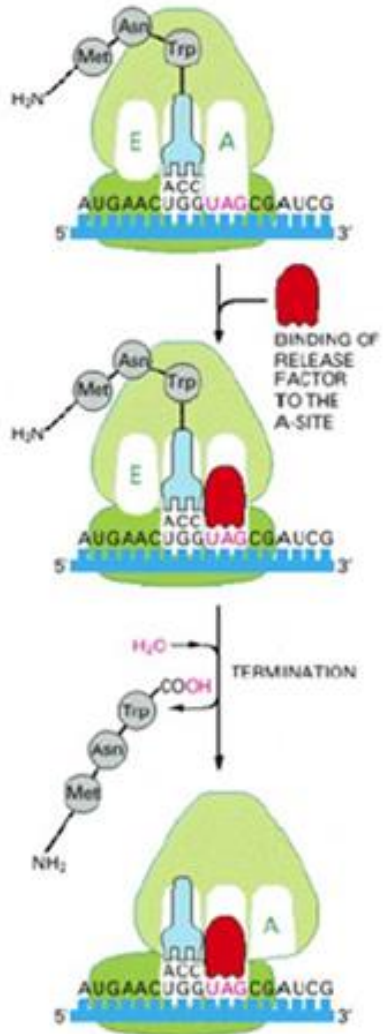
Tradução do mRNA

❖ Alongamento - eucariontes



Tradução do mRNA

❖ Término - eucariontes



1. O stop codon é encontrado no sítio A, o qual causa a ligação do fator de liberação ao sítio A com GTP ao invés do aminoacil-tRNA;

2. O fator de liberação liga-se ao stop códon e hidrolisa a ligação que prende a cadeia polipeptídica ao tRNA no sítio P;

3. Desde que não haja nenhum aminoácido localizado no sítio A, a hidrólise permite que a cadeia polipeptídica seja liberada do ribossomo; com a liberação do polipeptídeo, o fator de liberação é retirado do sítio A, e o tRNA vazio é retirado do sítio P;

4. Componentes ribossômicos separados.

Revisão

- ❖ Qual a importância do processo de transcrição para as células?
- ❖ O que é um gene?