

TEXTO 7

SÍNTESE DE PROTEÍNAS

A Síntese de Proteínas

O RNA e a Síntese de Proteínas

O papel do RNAt e das sintetases do aminoacil-RNAt

O emparelhamento códon-anticódon

O papel do RNAm e dos ribossomos

Etapas da Síntese de Proteínas

A iniciação da tradução em procariontes

A iniciação da tradução em eucariontes

O alongamento da cadeia polipeptídica

O término da tradução

Quadros de Leitura do RNA Mensageiro

Exercícios

Parte A: Revendo Conceitos Básicos

Parte B: Ligando Conceitos e Fatos

Parte C: Aplicando Conceitos

Parte D: Resolvendo Problemas

Apresentação

O dogma central sintetiza o paradigma da biologia molecular: os genes se perpetuam como ácidos nucleicos, mas se expressam na forma de proteínas, cuja sequência de aminoácidos é determinada pela sequência de bases do RNA, o qual é transcrito a partir de uma das fitas da molécula de DNA. Nesta unidade apresentaremos como os polipeptídeos são sintetizados nos ribossomos das células procarióticas e eucarióticas, etapa fundamental da expressão gênica.

Essa apostila foi organizada pelos docentes do Instituto de Biociências da USP que ministraram e ministram as disciplinas “Biologia Molecular e de Microrganismos”, “Biologia Molecular” e “Fundamentos de Biologia Molecular” para os cursos de Bacharelado e Licenciatura em Ciências Biológicas. O texto foi adaptado e compilado de diversos livros didáticos e materiais instrucionais.

A Síntese de Proteínas

O RNA e a Síntese de Proteínas

As proteínas constituem mais da metade da massa seca total de uma célula e sua síntese tem uma importância fundamental para a manutenção e o crescimento celulares. A síntese de proteínas ocorre nos ribossomos e envolve vários tipos de moléculas de RNA que atuam nas diversas etapas do processo. Inicialmente, uma molécula de RNA mensageiro (RNAm) deve ser sintetizada a partir de uma das cadeias do DNA que codifica para a proteína. No citoplasma, moléculas de cada um dos 20 aminoácidos que entram na composição das proteínas devem se unir a seus respectivos RNA transportadores (RNAt). As subunidades ribossômicas que promoverão a síntese devem se associar com proteínas auxiliaadoras no processo.

A síntese de proteínas tem início quando todos os componentes mencionados acima, ou seja, um RNAm, um dos RNAt e as subunidades de um ribossomo se reúnem para formar um ribossomo funcional. Cada ribossomo percorre, então, a molécula de RNAm traduzindo a sequência de códons em uma sequência de aminoácidos. Vejamos agora, em detalhe, cada uma dessas etapas.

O papel do RNAt e das sintetases do aminoacil-RNAt

As moléculas de RNAt atuam como adaptadoras no processo de síntese de proteínas, uma vez que elas definem a posição dos aminoácidos de acordo com a sequência de bases do RNAm. Essa característica dos RNAt se deve ao fato deles terem duas regiões de ligação em sua molécula, uma onde se liga covalentemente um aminoácido específico e outra, o anticódon, o qual se liga ao códon do RNAm, por meio de pontes de hidrogênio.

A ligação de um RNAt com seu aminoácido específico é catalisada por uma enzima chamada **sintetase do aminoacil-RNAt**. A atuação dessa enzima se dá em duas etapas. Primeiramente, os aminoácidos reagem com ATP para formar um aminoacil-adenilato. A energia para essa reação é fornecida pela clivagem da ligação altamente energética do ATP, com liberação de pirofosfato. Essa etapa é conhecida como **ativação do aminoácido**. Em uma segunda etapa, o aminoácido ativado reage com o RNAt, liberando uma molécula de AMP. A ligação do aminoácido com o RNAt se dá entre o grupo carboxila do aminoácido e carbono 3' da ribose do último ribonucleotídeo da extremidade 3' do RNAt, o qual contém sempre a base adenina (Fig.1).

Existem pelo menos vinte tipos diferentes de aminoacil-sintetases, uma para cada tipo de aminoácido. Cada uma reconhece um único aminoácido e catalisa sua união a um dos RNAts correspondente a esse aminoácido. Lembre-se que pode existir mais de um tipo de RNAt para um mesmo aminoácido.

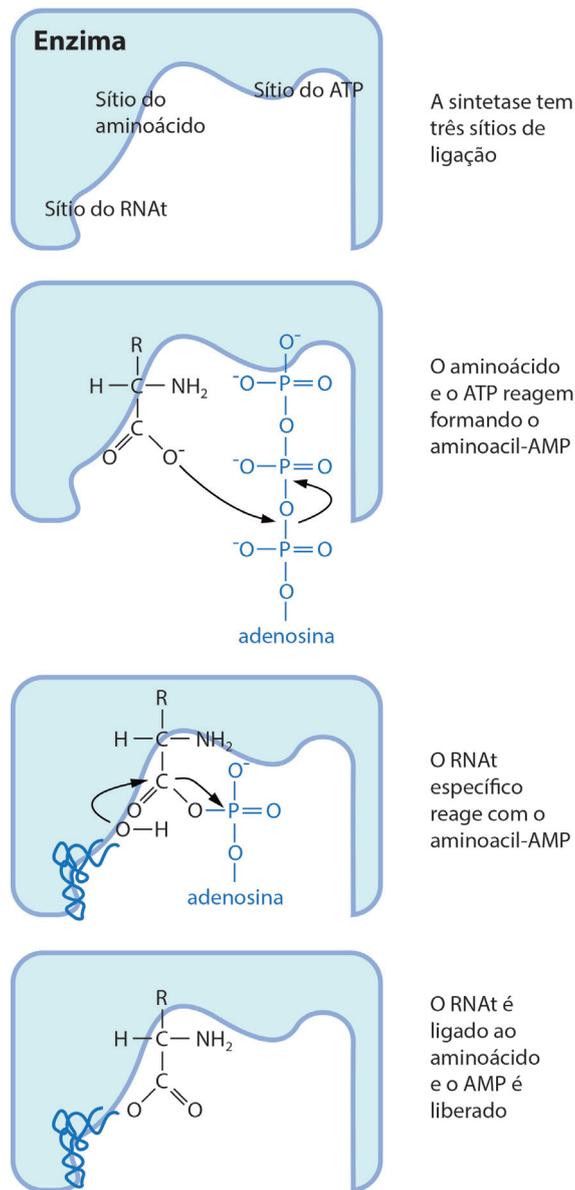
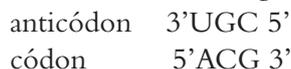


Figura 1. Representação esquemática das reações de ativação de um aminoácido e de sua ligação ao RNAt, as quais são catalisadas por enzimas denominadas sintetase do aminoacil-RNAt.

Um RNAt é denominado de acordo com o aminoácido ao qual ele se liga. Por exemplo, o RNAt que se liga ao aminoácido alanina é chamado RNAt^{Ala}. Um aminoacil-RNAt carregando um aminoácido específico é designado pela abreviatura do aminoácido colocada antes de sua sigla; por exemplo, o RNAt^{Ala} ligado a seu aminoácido é chamado Ala-RNAt.

O emparelhamento códon-anticódon

Antes de continuarmos nossa discussão é importante tomarmos conhecimento de uma regra nomenclatural que se não esclarecida devidamente pode dificultar a compreensão do texto. A regra é a seguinte: um RNA é sempre escrito no sentido 5' - 3'. Assim, temos de ter em mente que os códons do RNAm e os anticódon dos RNAt estão escritos no mesmo sentido, contrário, portanto, a seu emparelhamento, o qual é anti-paralelo. Isso quer dizer que a primeira base na sequência do anticódon emparelha-se com a terceira base do códon. Por exemplo, CGU é o anticódon correspondente ao códon ACG, pois ambos estão escritos no mesmo sentido, de 5' para 3', mas eles se emparelham em sentidos opostos, como mostrado a seguir:



A hipótese de que é o anticódon que permite ao aminoacil-RNAt reconhecer seu códon pôde ser testada experimentalmente, por meio de reações químicas controladas, em que foi possível transformar cisteínas, já ligadas

a seus RNAt específicos (Cys-RNAt^{Cys}), em alaninas, gerando, portanto, Ala-RNAt^{Cys}. Admitindo-se a veracidade da hipótese, caso esses aminoacil-RNAt modificados fossem utilizados em um sistema de síntese de proteínas *in vitro*, alanina seria incorporada nos locais da proteína onde normalmente existiria cisteína. O experimento foi realizado e o resultado obtido foi o previsto pela hipótese. Assim, uma vez unido ao RNAt, o aminoácido não tem papel na especificidade da reação de síntese de proteína, sendo esta determinada exclusivamente pela interação códon-anticódon (Fig. 2).

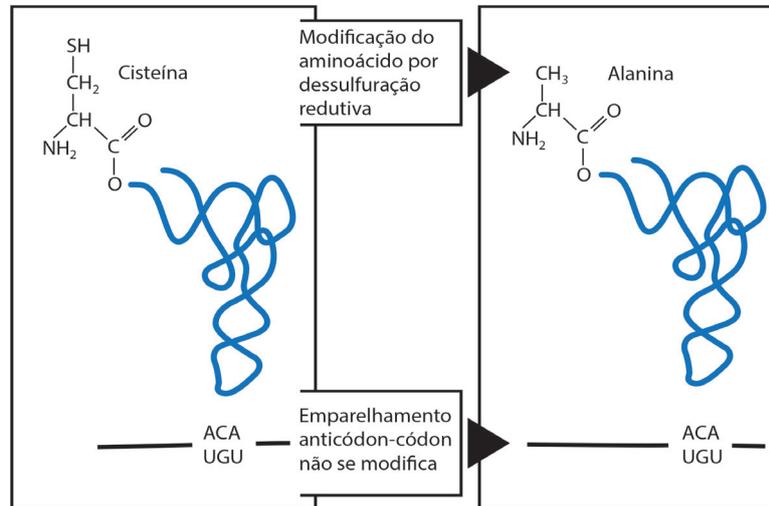


Figura 2. Representação esquemática do experimento que comprovou que a incorporação do RNAt é determinada pelo anticódon e não pelo aminoácido. A modificação química de cisteína unida a seu RNAt, transformando-a em alanina, faz com que esse último aminoácido seja incorporado em lugar da cisteína.

Uma pergunta importante a se discutir sobre os RNAt é quantos tipos deles existem. Como vimos no texto sobre código genético, existem 61 códons de RNA mensageiro que especificam aminoácidos. Assim, teoricamente, esperaríamos encontrar na célula 61 tipos diferentes de RNA transportadores, cada um deles com um anticódon complementar a um dos 61 códons existentes. No entanto, existe um número bem menor de RNAt. O fato é que um mesmo RNAt pode reconhecer, com frequência, mais do que um códon, pois a base na primeira posição do anticódon pode se emparelhar com mais de um tipo de base na terceira posição do códon. Essa idéia foi proposta em 1966, e ficou conhecida como hipótese do **emparelhamento incerto ou oscilação (usa-se o termo wobble, em inglês)**. Segundo esta hipótese, o emparelhamento da primeira base do anticódon não seria espacialmente tão restrito como para as outras duas, de modo que a primeira base de um anticódon poderia fazer pontes de hidrogênio com mais de um tipo de base na terceira posição do códon. Esse emparelhamento, no entanto, não é irrestrito, ou seja, uma primeira base de um anticódon não pode se emparelhar com qualquer tipo de base na terceira posição do códon. Na realidade, observou-se que, por exemplo, uracila na primeira base do anticódon pode se emparelhar com adenina ou guanina, mas não com citosina ou com outra uracila. Em geral, purinas não se emparelham com purinas, e pirimidinas não se emparelham com pirimidinas, por questão de distância entre as bases. Os tipos de emparelhamento incerto estão representados na Tabela 1.

Tabela 1. Emparelhamento entre bases do códon e do anticódon

Base na primeira posição do anticódon	Base reconhecida na terceira posição do códon
G	U ou C
C	G
A	U
U	A ou G
I	C, U ou A

O emparelhamento incerto ocorre porque a conformação da alça do anticódon do RNAt permite esta flexibilidade na primeira base do anticódon. Modificações das bases vizinhas do anticódon também influenciam no emparelhamento da primeira base.

Outros tipos de emparelhamento alternativo, além do tipo Watson-Crick e dos previstos pela hipótese do emparelhamento incerto, podem ocorrer quando a primeira base do anticódon de certos RNAt sofrem modificação. Um exemplo disso é a base modificada inosina (I, Tabela 1), que, na primeira posição de um anticódon, pode emparelhar-se com U, C ou A na terceira posição de um códon.

A presença de inosina como primeira base do anticódon é particularmente importante na distinção entre os códons AUA, que codifica para isoleucina, e AUG, que codifica para metionina. Com as bases usuais não seria possível distinguir entre A e G na terceira posição do códon; como as duas são bases púricas, qualquer RNAt com U na primeira base do anticódon reconheceria tanto AUG como AUA. Este problema é resolvido pela existência da inosina no anticódon; um RNAt com anticódon IAU, que se liga ao aminoácido isoleucina, reconhece AUA, AUC e AUU, mas não AUG; um RNAt com anticódon CAU, que se liga à metionina, reconhece apenas AUG.

O papel do RNAm e dos ribossomos

O processo da síntese de proteínas é comparável a uma linha de montagem, na qual o ribossomo vai deslizando sobre o RNA mensageiro e os aminoácidos, trazidos pelos RNAt, vão sendo encaixados em seus respectivos lugares, de acordo com a sequência de bases do RNAm.

O ribossomo é um pacote complexo de moléculas de proteína e de RNA, as quais formam sítios catalíticos com funções especializadas. Vários fatores acessórios participam, juntamente com o ribossomo, da síntese de proteínas e a energia para a movimentação do ribossomo é fornecida pela hidrólise de GTP.

Um ribossomo procariótico possui um sítio para a ligação do RNAm e três sítios para a ligação de RNAt. Os sítios onde se ligam os RNAt são denominados: **sítio P, sítio A e sítio E** (Fig. 3).

O sítio P, ou sítio de ligação do peptidil-RNAt, é onde se associa a molécula de RNAt ligada à extremidade carboxílica do polipeptídeo em crescimento. O sítio A, ou sítio de entrada do aminoacil-RNAt, é onde se associa o RNAt recém-chegado ao ribossomo e que traz o aminoácido a ser incorporado na cadeia polipeptídica em crescimento. O sítio E (do inglês *exit*), ou sítio de saída, é ocupado transitoriamente pelo RNAt livre de aminoácido que acabou de sair do sítio P e que está, portanto, deixando o ribossomo. Enquanto o sítio E está ocupado, a afinidade do sítio A fica reduzida, impedindo assim que um novo aminoacil-RNAt entre no ribossomo antes que ele esteja pronto para recebê-lo. Assim, o caminho do RNAt no ribossomo se dá na seguinte sequência: ele entra no sítio A, passa para o sítio P e finalmente deixa o ribossomo pelo sítio E.

Cada ribossomo apresenta um segmento da cadeia polipeptídica em processo de síntese, com comprimento proporcional ao segmento de RNAm já traduzido por ele. Essa cadeia polipeptídica em formação costuma ser chamada de **proteína nascente**.

Em geral, sobre uma molécula de RNA mensageiro, são encontrados vários ribossomos, cada um deles com um segmento de proteína nascente. Se olhássemos da extremidade 5' para a 3' do RNA mensageiro, veríamos os ribossomos a ele associados apresentando proteínas nascentes progressivamente maiores, pois os ribossomos mais próximos da extremidade 3' estariam mais próximos do fim da síntese do polipeptídeo. A esta estrutura formada por uma molécula de RNA mensageiro associada a vários ribossomos dá-se o nome de **polissomo** (Fig. 4).

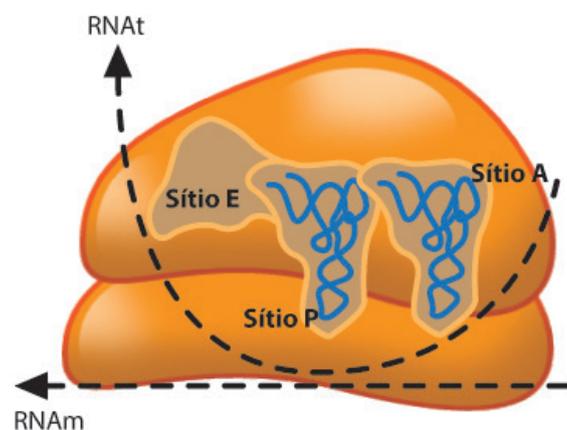


Figura 3. Representação esquemática dos sítios de ligação dos RNA no ribossomo procariótico. As setas indicam que o RNAt e o RNAm se movem através do ribossomo em um mesmo sentido.

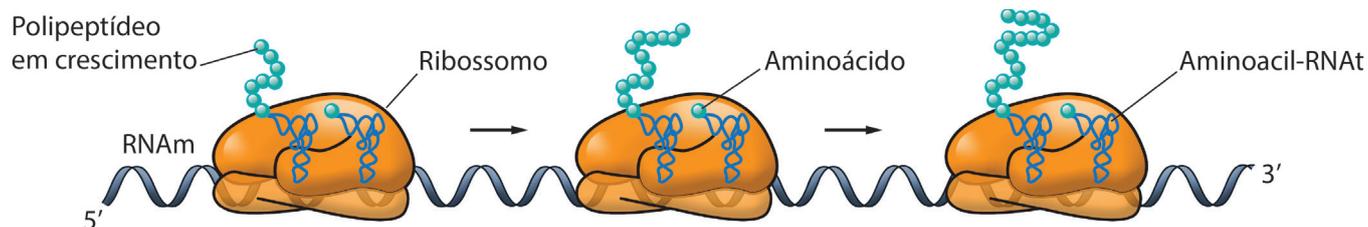


Figura 4. Um polissomo consiste de uma molécula de RNAm sendo traduzida simultaneamente por diversos ribossomos que se movem no sentido 5' → 3'. Ligadas a cada ribossomo existem duas moléculas de RNAt; a primeira (à esquerda, no sítio P) está ligada ao aminoácido recém-incorporado à cadeia proteica nascente; a segunda (à direita, no sítio A) carrega o aminoácido a ser incorporado em seguida.

O tamanho de um polissomo depende tanto do comprimento do RNAm quanto da eficiência com o que o ribossomo é capaz de se ligar ao mensageiro para iniciar a tradução. Em bactérias, os polissomos contêm, em geral, dezenas de ribossomos e podem ser encontrados associados ao DNA. Isso ocorre porque em bactérias, a tradução e a transcrição são acopladas, ou seja, os RNAm começam a ser traduzidos antes do término de sua síntese (Fig. 5).

Nos eucariontes, os polissomos apresentam em média oito ribossomos e são encontrados no citoplasma, livres no citosol ou presos às paredes do retículo endoplasmático.

Podemos ter uma idéia da atividade de síntese de proteína em uma célula examinando o número de alguns elementos envolvidos nesse processo em uma bactéria, por exemplo. A célula de *Escherichia coli* possui cerca de 20 mil ribossomos, que constituem um quarto da massa total da célula, cerca de 3 mil cópias de cada tipo de RNAt e por volta de 1500 moléculas de RNAm.

O processo de síntese de proteínas costuma ser dividido em três etapas: **iniciação, alongamento e término**.

A **iniciação** consiste nas reações que precedem o início da formação do peptídeo, portanto, é a etapa que ocorre antes da união dos primeiros aminoácidos. Ela consiste na ligação do ribossomo ao RNAm formando um complexo de iniciação que contém o primeiro aminoacil-RNAt (o da N-formilmetionina em bactérias e o da metionina em eucariontes). A iniciação é uma etapa demorada e pode ser decisiva na determinação da frequência com que um mensageiro será traduzido.

O **alongamento** compreende todas as reações que ocorrem desde a formação da primeira ligação peptídica até a incorporação do último aminoácido do peptídeo, sendo a etapa mais rápida da síntese de proteínas. Em bactérias, aproximadamente 15 aminoácidos são adicionados por segundo à cadeia polipeptídica nascente, de modo que a síntese de um polipeptídeo com 300 aminoácidos leva cerca de 20 segundos. Em eucariontes, a velocidade é menor, são adicionados cerca de dois aminoácidos por segundo.

O **término** compreende os processos necessários à liberação do polipeptídeo pronto. Nesta etapa, o ribossomo se dissocia do RNAm.

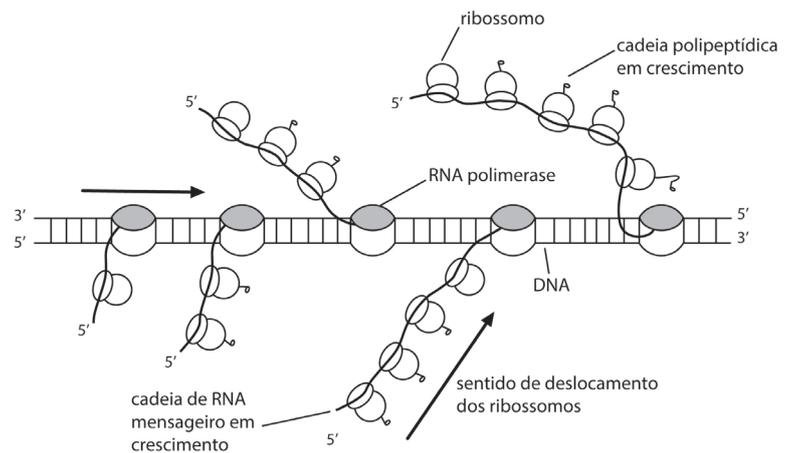


Figura 5. Representação esquemática do acoplamento entre os processos de transcrição e tradução em bactérias. As moléculas de RNA sendo transcritas crescem no sentido 5' → 3' e as primeiras sequências liberadas do molde de DNA começam a ser traduzidas pelos ribossomos antes do término da transcrição.

Etapas da Síntese de Proteínas

Apesar de muito semelhante nos aspectos gerais, a síntese de proteínas difere entre células procarióticas e células eucarióticas. As principais diferenças são observadas na etapa de iniciação do processo.

A iniciação da tradução em procariontes

Em *E. coli*, o processo de iniciação da tradução requer a presença de uma subunidade menor do ribossomo (30S), um RNAt especial iniciador da tradução, uma molécula de RNAm e três fatores protéicos de iniciação, denominados IF-1, IF-2 e IF-3 e GTP (Fig. 6).

Inicialmente uma subunidade ribossomal 30S livre associa-se a um RNAm e aos fatores de iniciação IF-3 e IF-1. A formação desse complexo depende da interação de bases entre uma sequência do RNAr 16S e uma região especial do RNAm, conhecida como sequência de **Shine-Dalgarno**. Essa sequência corresponde a um consenso de seis bases (AGGAGG) localizado sete nucleotídeos antes (a 5') do códon de iniciação AUG. A região do RNAm que compreende a sequência de Shine-Dalgarno e que interage com o ribossomo no processo de iniciação é denominada **sítio de ligação do ribossomo** e compreende cerca de 40 nucleotídeos (Fig. 7).

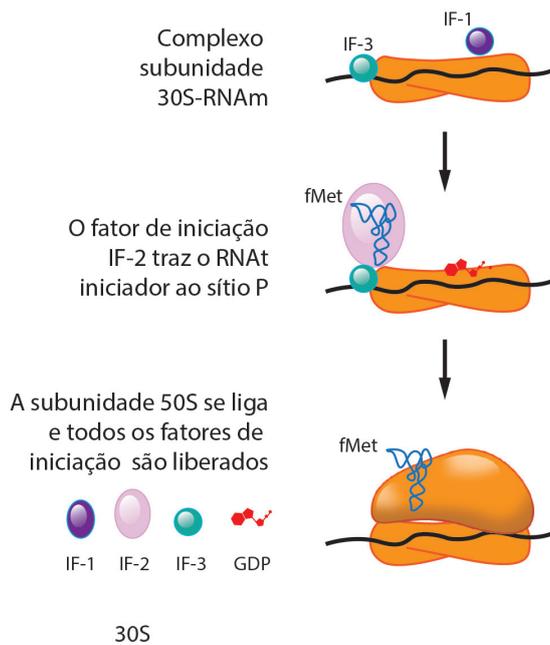


Figura 6. Representação esquemática da etapa de iniciação da síntese de proteína em bactéria. A subunidade menor 30S do ribossomo se liga ao RNAm, acompanhada de fatores de iniciação IF-1 e IF-3. O fator de iniciação IF-2 liga-se ao RNAt fmet e em seguida à subunidade 30S do ribossomo unida ao RNAm. O complexo de iniciação formado se une à subunidade 50S do ribossomo. Quando isso ocorre, são liberados o IF-2, outros fatores IF e os produtos da degradação do GTP, ou seja, GDP e fosfato.

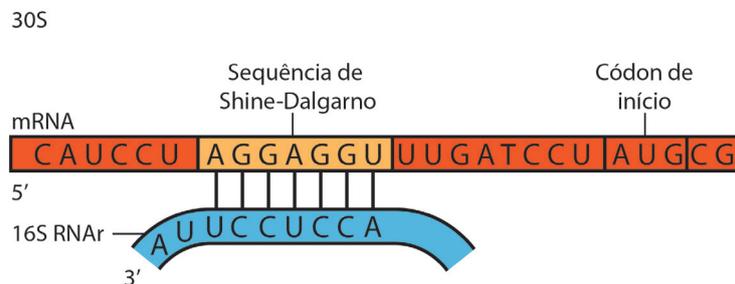


Figura 7. Em bactérias, as bases complementares entre a extremidade 3' do RNAr 16S da subunidade ribossômica menor e a sequência de Shine-Dalgarno do RNAm posicionam o ribossomo para iniciar a tradução do códon de iniciação AUG localizado a seguir.

Em seguida, um RNAt especial, o RNAt^{f-Met} (da N-formilmetionina), associado ao fator IF-2, combina-se ao complexo subunidade ribossomal 30S-RNAm. Essa combinação demanda a participação do fator IF-1 e de GTP, como fornecedor de energia.

O passo final da iniciação é a associação da subunidade maior do ribossomo, para construir um ribossomo completo. Para que isso aconteça, é preciso que o IF-3 se dissocie do complexo. Essa é a razão do fator IF-3 ser chamado de fator anti-associação das subunidades ribossomais. O IF-3 e a subunidade 50S nunca ficam associados simultaneamente à subunidade ribossomal menor. Os demais fatores de iniciação também são liberados após a chegada da subunidade maior do ribossomo (Fig. 6). O RNAt^{f-Met} iniciador posiciona-se então no sítio P do ribossomo completo. Este é o único RNAt bacteriano capaz de entrar no sítio P diretamente, sem ter que passar pelo sítio A, como acontece com os demais RNA transportadores. Com o RNAt iniciador no sítio P, o sítio A fica posicionado no segundo códon do mensageiro e irá determinar qual aminoacil-RNAt será incorporado nessa posição (Fig. 8)

Pelo que vimos acima, um componente fundamental à iniciação da síntese de proteínas em bactérias é o RNAt^{f-Met}. Esse RNAt especial liga-se a uma metionina que é, então, enzimaticamente transformada em N-formilmetionina. A transformação da metionina em N-formilmetionina consiste na adição de um radical formil à extremidade amino do aminoácido. Como o RNAt^{f-Met} é incapaz de se associar ao sítio A do ribossomo, ele só participa na iniciação da tradução. Eventuais códon AUG internos ao gene são traduzidos por outro RNAt, o RNAt^{Met}, que introduz metionina não formilada no local correspondente

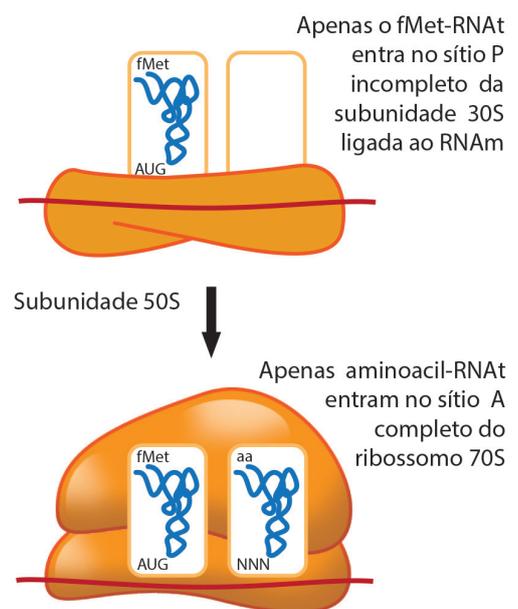


Figura 8. Em bactérias, apenas o RNAt^{f-Met} pode ser usado para a iniciação, pois é o único aminoacil-RNAt capaz de se unir à subunidade menor de um ribossomo incompleto. No ribossomo completo o fMet-RNAt não consegue entrar; qualquer outro aminoacil-RNAt pode agora se acoplar ao ribossomo e ser usado no processo de alongamento da cadeia polipeptídica.

do polipeptídeo. Assim, todos os peptídeos bacterianos iniciam com a N-formilmetionina. Em certos casos, o grupo formil inicial do polipeptídeo é eliminado por uma desformilase; em outros casos, a N-formilmetionina é removida por uma aminopeptidase, originando uma nova extremidade para o peptídeo.

A iniciação da tradução em eucariontes

A iniciação da tradução em eucariontes é mais complexa que nos procariontes e envolve diversos fatores de iniciação.

Uma das diferenças entre a iniciação da tradução desses dois grupos de organismos refere-se ao estado conformacional do RNAm a ser traduzido. Em bactérias, a agregação do ribossomo ao RNAm acontece tão logo a extremidade 5' do RNAm se solta do DNA molde na transcrição. Isso evita que o RNAm adquira estruturas secundárias que poderiam dificultar a iniciação da tradução. Já em eucariontes, o RNAm recém-sintetizado é empacotado com proteínas necessárias ao seu transporte do núcleo para o citoplasma.

Uma etapa importante da síntese de proteínas nos eucariontes é o desempacotamento do RNAm. Nesse processo, uma proteína reconhece o *cap* da extremidade 5' dos mensageiros eucarióticos, enquanto que outros fatores protéicos desfazem dobramentos no início do mensageiro (Fig. 9). São muitos os fatores de iniciação proteicos que se ligam formando um complexo na extremidade 5' do RNAm (Fig. 10).

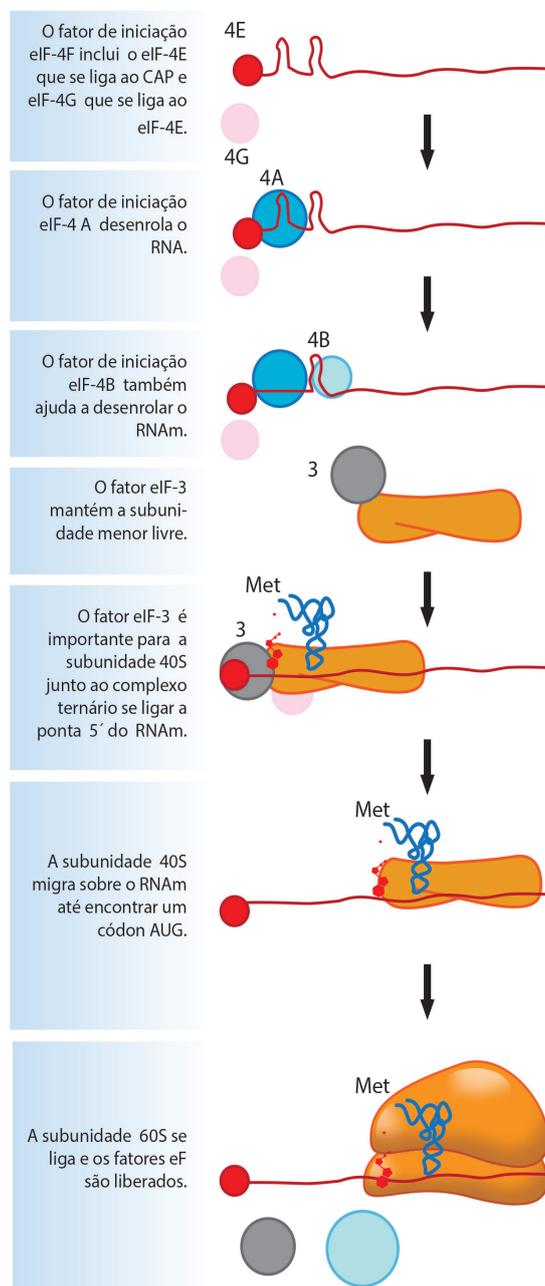
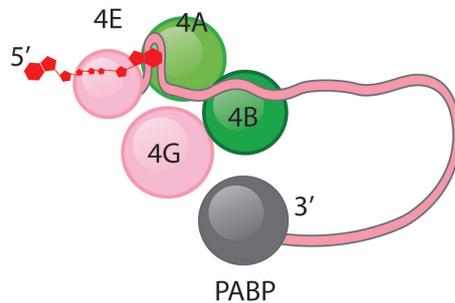


Figura 9. Representação esquemática das etapas de iniciação da tradução em eucariotos.

eIF4F é um heterotrímero que consiste de:

- eIF4G que é uma proteína de ancoragem;
- eIF4E que se liga ao CAP na extremidade 5';
- eIF4A que é uma helicase que desfaz dobramentos na extremidade 5'.



eIF4G se liga a dois outros fatores:

- eIF4B que estimula a helicase eIF4A; e
- PABP que se liga à cauda de poli-A.

Figura 10. Alguns dos fatores necessários para a iniciação em eucariontes e suas respectivas funções. Em vermelho, está representado o CAP na extremidade 5'.

Uma diferença importante entre a iniciação da tradução em procariontes e eucariontes, é que, nesses últimos, apesar de existir um RNAt iniciador que também carrega metionina, esta nunca é formilada, como em bactérias. Além disso, em eucariontes, o complexo de iniciação se forma na extremidade 5' do RNAm, percorrendo em seguida o RNAm até alcançar um códon AUG, onde tem início a tradução. Assim, em eucariontes, a tradução se inicia no códon AUG mais próximo à extremidade 5' do mensageiro e não em uma sequência especial de bases como a de Shine Dalgarno. Apesar disso, a eficiência da iniciação parece depender, pelo menos em parte, de sequências de bases vizinhas ao códon de iniciação.

O alongamento da cadeia polipeptídica

O processo de alongamento da cadeia polipeptídica é basicamente o mesmo em procariontes e eucariontes e ocorre em três etapas: (1) ligação de um aminoacil-RNAt ao sítio A do ribossomo; (2) ligação peptídica com o aminoácido recém-chegado causando a transferência da cadeia polipeptídica em crescimento do sítio P para o sítio A; e (3) translocação do ribossomo ao longo do RNAm, transferindo o novo peptidil-RNAt do sítio A para o sítio P, com posicionamento do próximo códon a ser traduzido no sítio A. Durante a terceira etapa, o RNAt descarregado é translocado para o sítio E. Esses três passos são repetidos de maneira cíclica e vários fatores são importantes nesses processos.

Na primeira etapa, o aminoacil RNAt se liga ao sítio A e sua especificidade é determinada pelo códon do RNAm ali posicionado. Os três nucleotídeos do anticódon devem parear com os três nucleotídeos do códon. A região do ribossomo que garante o emparelhamento códon-anticódon é chamada de **centro decodificador**. A chegada do aminoacil-RNAt ao sítio A do ribossomo só ocorre se ele estiver associado ao fator de alongamento EF-Tu carregado com uma molécula de GTP (EF-TuGTP). O GTP é necessário para ligação do aminoacil-RNAt ao sítio A e é clivado na formação da ligação peptídica, atuando como fornecedor de energia. Após a clivagem do GTP em GDP e P_i , o complexo EF-TuGDP é liberado do ribossomo e, para tomar parte em novos ciclos de alongação, deve ser recarregado a EF-TuGTP. Outro fator de alongamento, o EF-T, é o responsável pela regeneração do EF-TuGTP.

A formação da ligação peptídica entre o grupo amino do aminoacil RNAt e o carboxila do peptídeo em crescimento é catalisada numa região do ribossomo chamado de centro **peptidil-transferase**. A formação da ligação peptídica é uma atividade enzimática desempenhada pela subunidade maior do ribossomo. É interessante destacar que esta função é desempenhada pela molécula de RNAr 23S e não por proteínas do ribossomo. A ligação peptídica requer a hidrólise da molécula de GTP trazida pelo EF-Tu.

Com a formação da ligação peptídica, o peptidil RNAt presente no sítio A do ribossomo é translocado ao sítio P, o RNAt descarregado é transferido para o sítio E e o ribossomo sofre mudanças de conformação movendo-se

três nucleotídeos em direção à extremidade 3' do RNA mensageiro. O passo de translocação requer energia oriunda da clivagem do GTP e a presença do fator de alongação EF-G, o qual se desliga do ribossomo após a hidrólise do GTP. Um fato interessante é que o EF-G jamais se liga ao ribossomo se EF-Tu estiver ligado e vice-versa. Isso garante que o alongamento prossiga em ciclos, em que se alternam a ligação de um novo aminoacil RNAt e o movimento de translocação do ribossomo (Fig. 11).

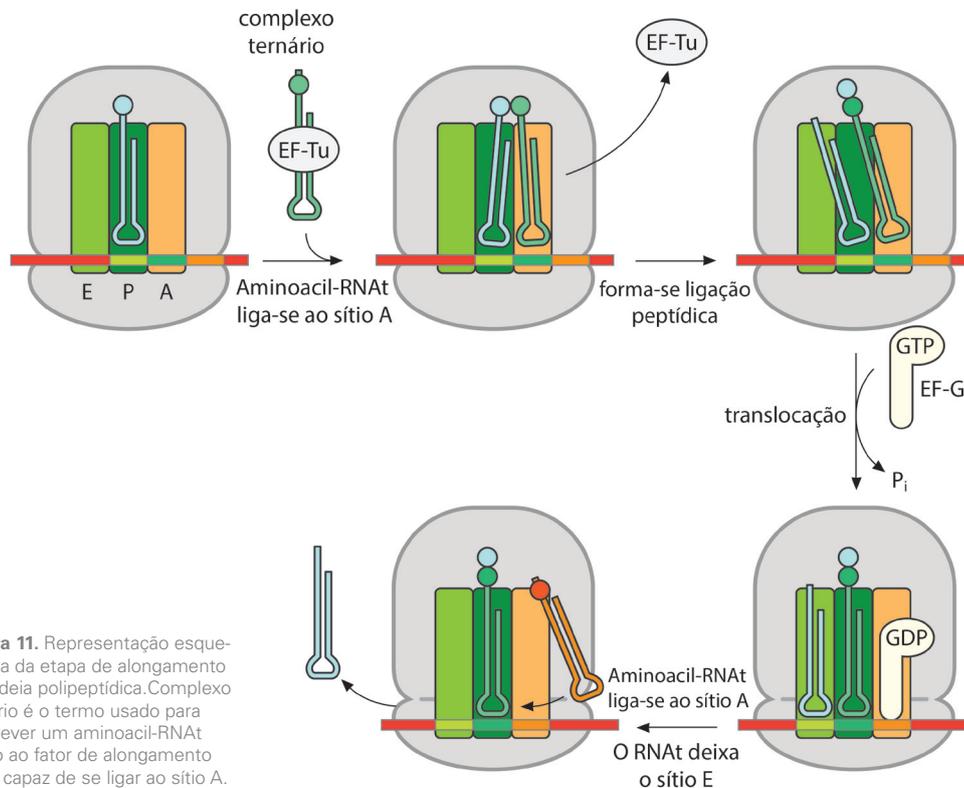


Figura 11. Representação esquemática da etapa de alongamento da cadeia polipeptídica. Complexo ternário é o termo usado para descrever um aminoacil-RNAt ligado ao fator de alongamento EF-Tu capaz de se ligar ao sítio A.

A formação de uma ligação peptídica no ribossomo consome pelo menos três ligações fosfato de alta energia: uma para carregar o RNAt com seu aminoácido específico (sintetase do aminoacil), outra para ligar o aminoacil-RNAt ao sítio A do ribossomo na primeira etapa e a terceira é gasta no movimento de translocação do ribossomo.

O processo de alongamento de um peptídeo é muito rápido. Em *E. coli*, as três etapas que culminam com a adição de um único aminoácido levam cerca de 0,05 segundos. Logo, a síntese de um peptídeo contendo 300 aminoácidos leva apenas 15 segundos. Considerando a sua complexidade e especificidade, a rapidez do processo de tradução é surpreendente.

O término da tradução

Como já vimos, existem três códons do código genético que não codificam aminoácidos (UAG, UAA e UGA), sendo usados como sinais de término da síntese da cadeia polipeptídica. Em bactérias, o códon UAA é o códon de terminação mais utilizado, e UGA é mais usado que UAG.

Nenhum dos códons de terminação tem um RNAt correspondente, eles são reconhecidos diretamente por fatores protéicos. Em *E. coli*, os fatores que catalisam a terminação são denominados **RFs** (do inglês *release factors*). RF-1 reconhece o códon UAA e UAG, e RF-2 reconhece os códons UGA e UAA. Esses fatores entram no sítio A do ribossomo, quando este sítio se posiciona sobre um códon de terminação. Eles também requerem a presença de um peptídil-RNAt no sítio P para agir. Nos eucarionotes, existe apenas um fator de terminação, o chamado eRF. Para o eRF se ligar ao ribossomo é necessário GTP, que provavelmente é clivado após a conclusão da etapa de terminação. A reação de terminação consiste na liberação do polipeptídeo pronto do RNAt, expulsão do último RNAt do ribossomo e dissociação do ribossomo do RNAm.

Quadros de Leitura do RNA Mensageiro

Dada uma sequência de bases do DNA ela pode ser lida teoricamente em três quadros de leitura, um começando na primeira base, outro na segunda base e outro na terceira base; uma leitura a partir da quarta base repete o primeiro quadro e assim por diante.

Um quadro de leitura formado exclusivamente por trincas que significam aminoácidos é chamado de quadro de leitura aberto ou ORF (do inglês *open reading frame*). Um quadro de leitura que não pode ser traduzido, porque é interrompido por um códon de terminação, é dito interrompido. Se certa sequência está bloqueada nos seus três quadros de leitura possíveis, ela não deverá codificar proteína.

Uma sequência que é traduzida em proteína tem um quadro de leitura que começa sempre com um códon de iniciação e se estende por uma série de códons sucessivos que significam aminoácidos, até atingir um códon de terminação.

A identificação de um quadro de leitura aberto em uma sequência de DNA não significa obrigatoriamente que tal sequência seja traduzida em proteína até que tal fato seja efetivamente demonstrado pela identificação do seu produto proteico.

A transcrição da informação genética em RNA e a tradução em proteínas são reguladas por sequências especiais de bases presentes no DNA e no RNA. No DNA, essas sequências formam os sítios de ligação da polimerase do RNA ou de fatores de transcrição nas regiões promotoras. Esses sítios de ligação localizam-se antes (5') do sítio de início de tradução presente no RNAm. No DNA, localiza-se também o sítio de término da transcrição, o qual fica além (3') do sítio de término da tradução localizado no RNAm. (Fig. 12).

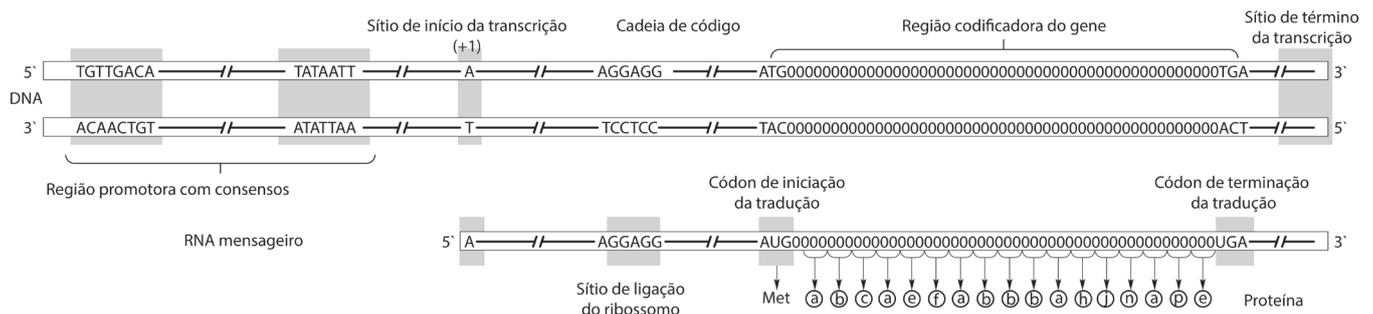


Figura 12. Resumo da organização da informação na molécula de DNA de uma bactéria. Uma molécula de DNA é uma dupla hélice formada por duas cadeias polinucleotídicas. A informação genética encontra-se codificada na sequência de bases ao longo de uma das cadeias (cadeia de código). A expressão de um gene se dá pela transcrição de uma fita do DNA em uma molécula de RNAm.

EXERCÍCIOS

Parte A: Revendo Conceitos Básicos

Preencha os espaços em branco nas frases de 1 a 14 usando o termo abaixo mais apropriado:

- | | |
|----------------------------|--------------------|
| (a) aminoacil-sintetase | (h) polissomo |
| (b) anticódon | (i) Shine-Dalgarno |
| (c) ativação do aminoácido | (j) sítio A |
| (d) alongamento | (k) sítio P |
| (e) emparelhamento incerto | (l) sítio E |
| (f) iniciação | (m) translocação |
| (g) peptidil-transferase | (n) terminação |

1. A etapa da síntese de proteína que termina com a dissociação das subunidades do ribossomo e com a liberação do polipeptídeo pronto e do RNAt é chamada ().

2. A propriedade da primeira base de um anticódon reconhecer mais de uma base na posição terceira base do códon é chamada ().
3. () é uma trinca de bases do RNAt que se emparelha com o códon do RNA mensageiro.
4. Chama-se () à união entre um aminoácido e uma molécula de ATP, que ocorre antes do aminoácido ser ligado ao seu RNAt específico.
5. () é a etapa da síntese de proteína em que ocorre a ligação do ribossomo ao RNAm, formando um complexo que contém o primeiro aminoacil-RNAt.
6. () é a etapa da síntese de proteínas em que os aminoácidos são unidos em sequência na cadeia polipeptídica.
7. () é o local do ribossomo onde se alojam os aminoacil-RNAt recém-chegados.
8. A enzima que catalisa a união de um RNAt a seu aminoácido específico é chamada ().
9. () é o local do ribossomo onde se aloja o aminoacil-RNAt ligado ao polipeptídeo em crescimento.
10. () é o nome do conjunto formado por diversos ribossomos unidos a uma molécula de RNA mensageiro.
11. () é o local do ribossomo de procariontes onde fica alojado um RNAt que já se dissociou do peptídeo em crescimento mas ainda não deixou o ribossomo.
12. A atividade catalítica que promove a ligação peptídica entre o aminoácido recém-chegado ao ribossomo e o peptídeo em crescimento é chamada ().
13. O deslocamento do ribossomo de três em três bases do RNAm, que termina com a exposição no sítio A de um novo códon a ser traduzido é chamado ().
14. () é o nome da sequência de nucleotídeos localizada no início de um RNA mensageiro procariótico, que permite a reunião das duas subunidades dos ribossomo e o início da tradução no local correto.

Parte B: Ligando Conceitos e Fatos

Para cada uma das frases listadas nas questões de 15 a 25, escreva no parênteses a letra V caso a afirmação seja verdadeira, e a letra F, no caso de ser falsa.

15. A modificação química de um aminoácido ligado a um RNAt não afeta o peptídeo, pois os ribossomos têm mecanismo de correção de erros na tradução ().
16. A iniciação da tradução em procariontes depende de uma sequência de nucleotídeos no início dos RNA mensageiros ().
17. Na iniciação da tradução em procariontes, os ribossomos deslizam até encontrar o códon de iniciação ().
18. Na iniciação da tradução em eucariontes, os ribossomos deslizam até encontrar o códon de iniciação ().
19. Na iniciação da tradução em eucariontes, as proteínas que reconhecem o encapamento e desdobram o RNA mensageiro têm papel importante ().

20. Drogas que afetam a produção de energia na célula, em princípio, não interferem na tradução, pois o movimento dos ribossomos independe de energia ().
21. A incorporação dos aminoácidos corretos no ribossomo depende da ação das aminoacil-sintetases, que ligam cada RNAt ao seu aminoácido correto ().
22. É obrigatória a existência, em cada célula, de 61 tipos diferentes de RNAts, um para cada códon codificador de aminoácidos ().
23. Experimentos com ribossomos desprovidos de proteínas indicam que a formação das ligações peptídicas é catalisada apenas por proteínas ribossomais ().
24. Tanto em procariontes como em eucariontes é possível encontrar polissomos associados ao DNA que está transcrevendo o RNAm ().
25. Quando um códon de terminação surge no sítio A, um RNAt especial de terminação entra nesse sítio e promove a dissociação do RNAm e das subunidades ribossomais ().

Parte C: Aplicando Conceitos

26. Faça um esquema de um ribossomo procarionte na fase de alongação, indicando os sítios de ligação do RNAt e do RNAm, os aminoacil-RNAts presentes e o peptídeo em crescimento.
27. Faça um esquema comparativo entre as células procarióticas e eucarióticas abordando os seguintes aspectos: local da transcrição, local da tradução, tipos de polimerase do RNA e processamento do RNA.
28. Faça um esquema de um gene genérico de procarionte indicando as fitas de molde e de código, os promotores, o sítio de iniciação da transcrição, o sítio de ligação do ribossomo, o códon de iniciação, um quadro de leitura com alguns aminoácidos, o códon de parada e a região de término da transcrição. Represente também o RNA mensageiro e o peptídeo produzidos.

Parte D: Resolvendo Problemas

29. Liste quatro diferenças entre a síntese de proteínas em eucariontes e procariontes.