

Síntese de Proteínas

Jonas Contiero - 2006

Traduzindo a Mensagem

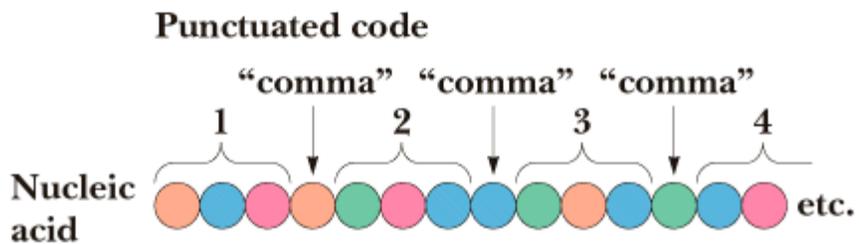
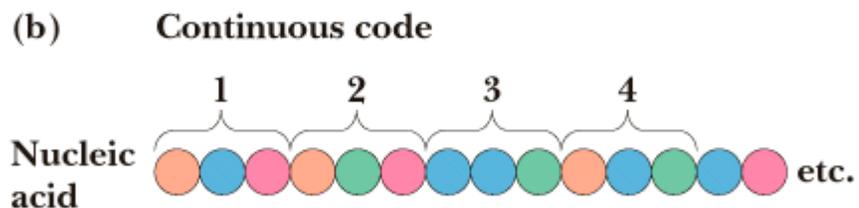
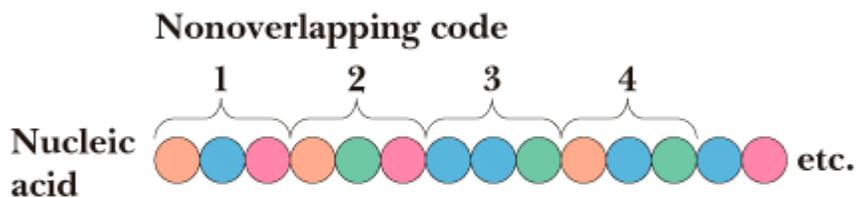
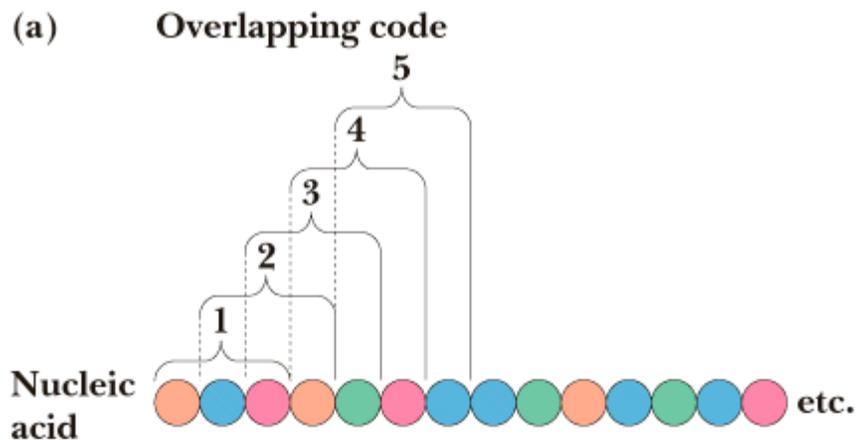
- Como a sequência de mRNA é traduzida na sequência de uma proteína?
- O que é o código genético?
- Como se traduz o "código de 4 letras" do mRNA no "código de 20-letas" das proteínas?
- E como são os mecanismos característicos? Não há afinidade química óbvia entre as bases purinas e pirimidinas e os aminoácidos que constituem a proteína.
- Como "saída" deste dilema, Crick propôs "moléculas adaptadas" - são elas os tRNAs!

A Colinearidade do Gene e Estruturas de Proteínas

- Estrutura de Watson e Crick's para o DNA, junto com Sanger's demonstraram que as seqüências de proteínas são únicas e específicas, dando a impressão de que a seqüência de DNA detalha a seqüência de proteína
- Yanofsky provou melhor a evidência em 1964: ele mostrou que as distâncias relativas entre mutações no DNA eram proporcionais as distâncias entre substituições de aminoácidos em *E. coli* na síntese de triptofano

Elucidando o Código Genético

- Como é o código de DNA para 20 aminoácidos diferentes?
- Código de 2 letras pode permitir apenas 16 combinações possíveis.
- Código 4 letras permite 256 combinações possíveis.
- Código de 3 letras permite 64 combinações diferentes
- O código é sobreposto?
- O código é pontual?



A Natureza do Código Genético

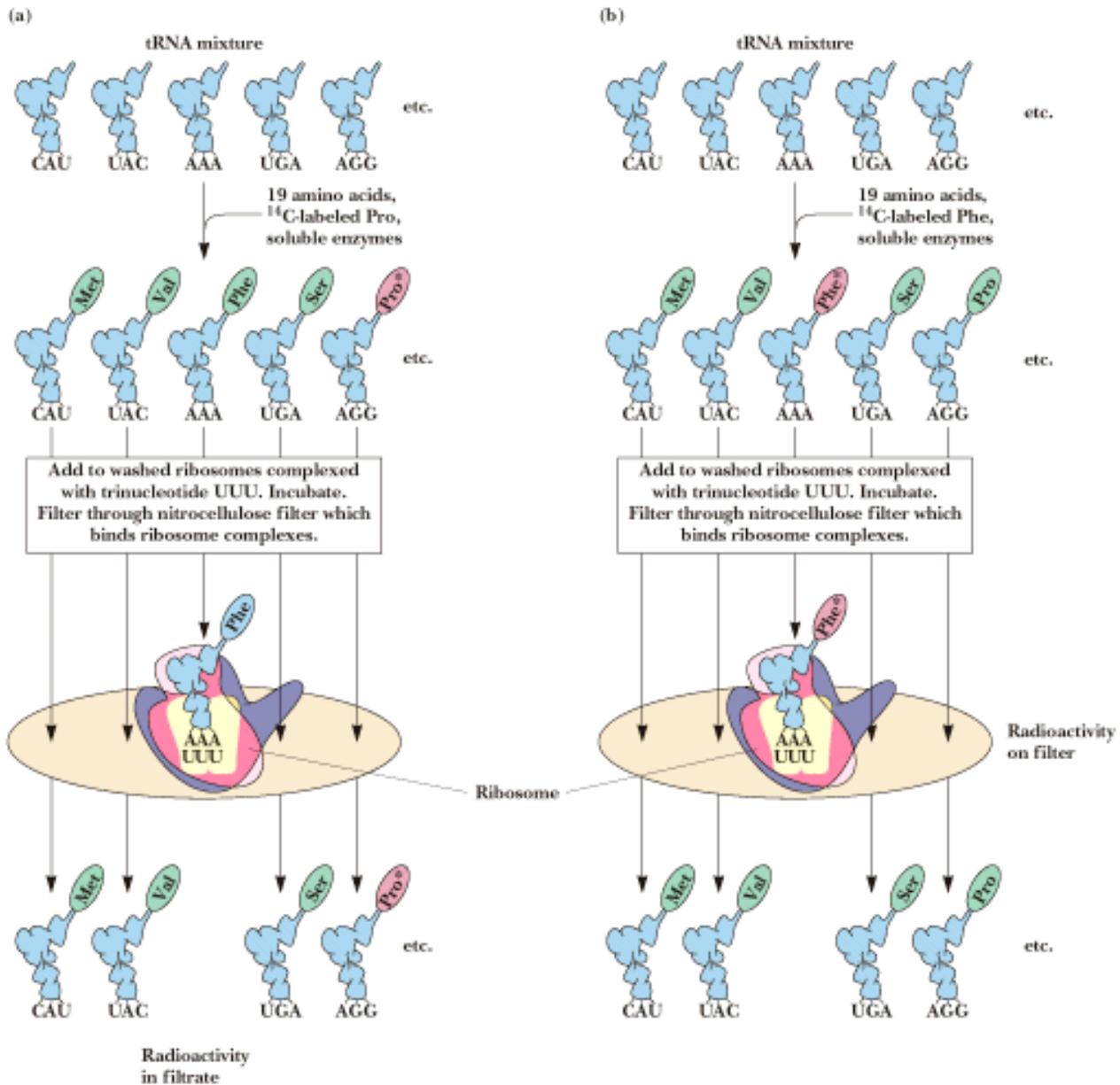
- Um grupo de 3 códigos de bases para um aminoácido
- O código não é sobreposto
- A seqüência de bases é escrita de um ponto inicial fixo, com nenhuma pontuação
- O código é degenerado (em muitos casos, cada aminoácido pode ser designado por qualquer das várias tríplexes)

Como o código foi quebrado

- A designação de "códon" para seus respectivos aminoácidos foi alcançada pela bioquímica *in vitro*
- Marshall Nirenberg e Heinrich Matthaei mostraram que poli-U produzem polifenilalanina na célula livre em solução de *E. coli*
- Poli-A origina polilisina
- Poli-C origina poliprolina
- Poli-G origina poliglicina
- Mas qual dos outros?

Obtendo o Resto do Código

- Trabalhos com copolímeros nucleotídeo (poli (A,C), etc.), revelou alguns dos códigos
- Mas Marshall Nirenberg e Philip Leder desvendaram o código inteiro em 1964
- Eles mostraram que trinucleotídeos pulam para ribossomos e podem dirigir-se ligando ao aminoacil-tRNAs específico
- Utilizando C-14 marcado aminoácidos com todos os possíveis códigos de trinucleotídeos, eles elucidaram todos os 64 correspondentes no código



Características do Código Genético

- Todos os códons tem significado: 61 aminoácidos específicos, e os outros 3 são "não essenciais" ou "stop" códons
- O código é unambiguous - apenas 1 aminoácido é indicado por cada 1 dos 61 códons
- O código é degenerativo - exceto pela Tre e Met, cada aminoácido é codificado por dois ou mais códons
- Primeiro 2 códons de triplíces são muitas vezes suficientes para aminoácido específico. Terceira posição difere
- Códons representando o mesmo ou aminoácidos similares são similares na seqüência (Glu e Asp)

**First position
(5' end)**

U

Second position

C

A

G

**Third position
(3' end)**

U

Phe
Phe
Leu
Leu

Ser
Ser
Ser
Ser

Tyr
Tyr
STOP
STOP

Cys
Cys
STOP
Trp

U
C
A
G

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

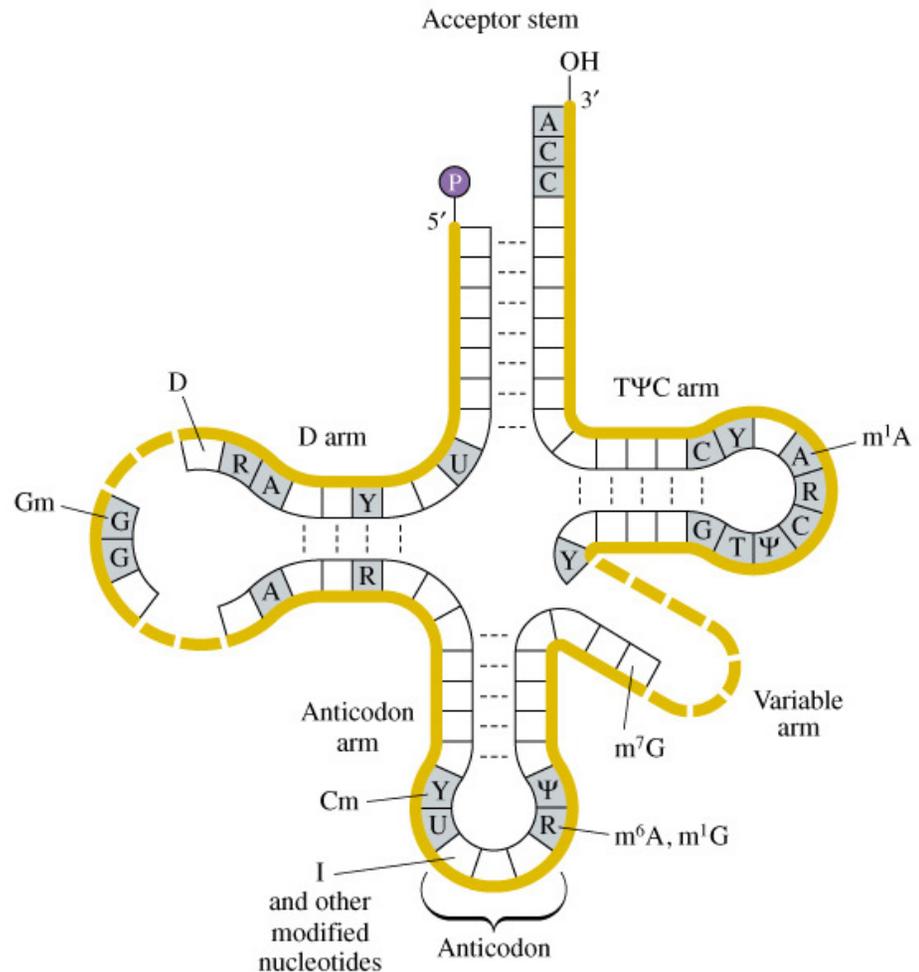
Asp
Asp
Glu
Glu

Gly
Gly
Gly
Gly

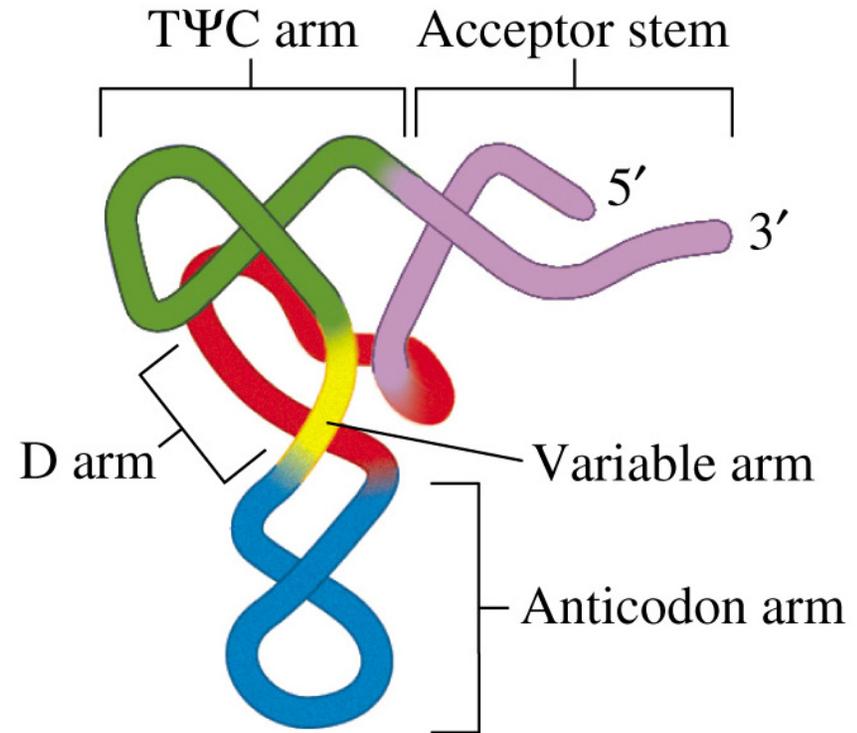
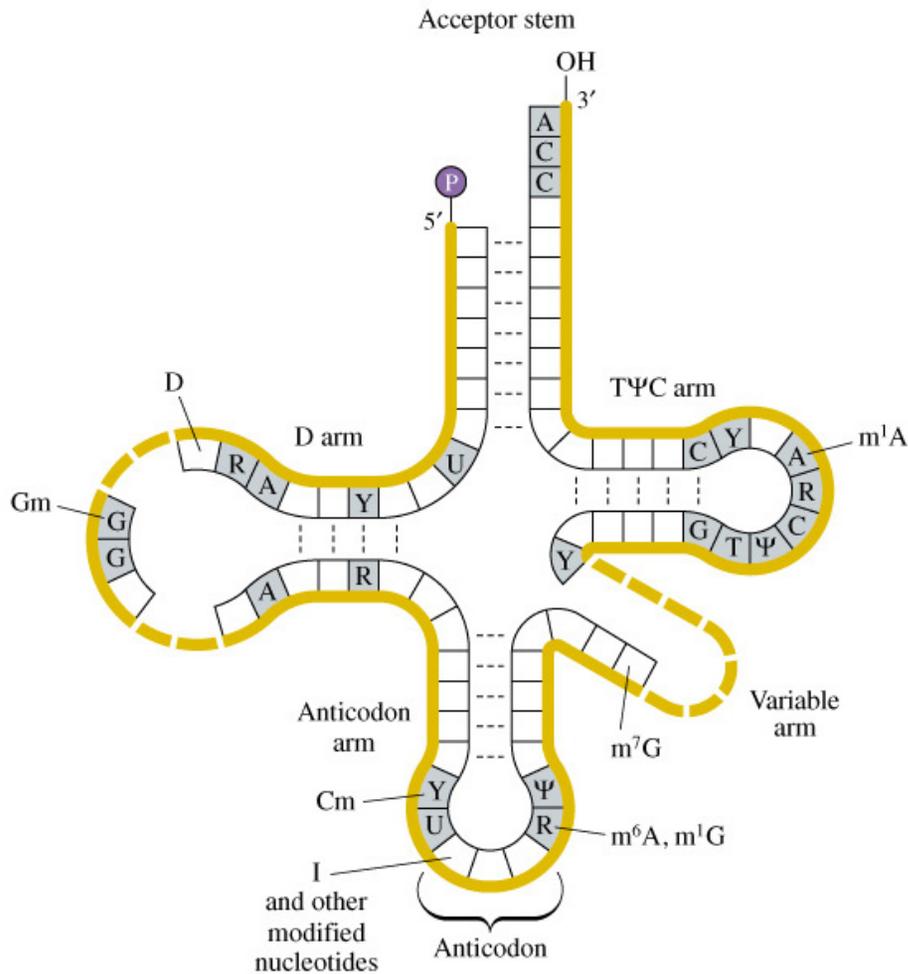
U
C
A
G

tRNAs

- tRNAs são intérpretes do código genético
- Comprimento = 73 - 95 bases
- Tem 2º estrutura extensa
- Braço Aceptor- posicionado onde aminoácido é ligado
- Anticódon - complementaridade ao mRNA
- Várias bases modificadas covalentemente
- Bases cinzas são conservadas entre tRNAs



tRNAs: 2^a vs 3^a Estrutura

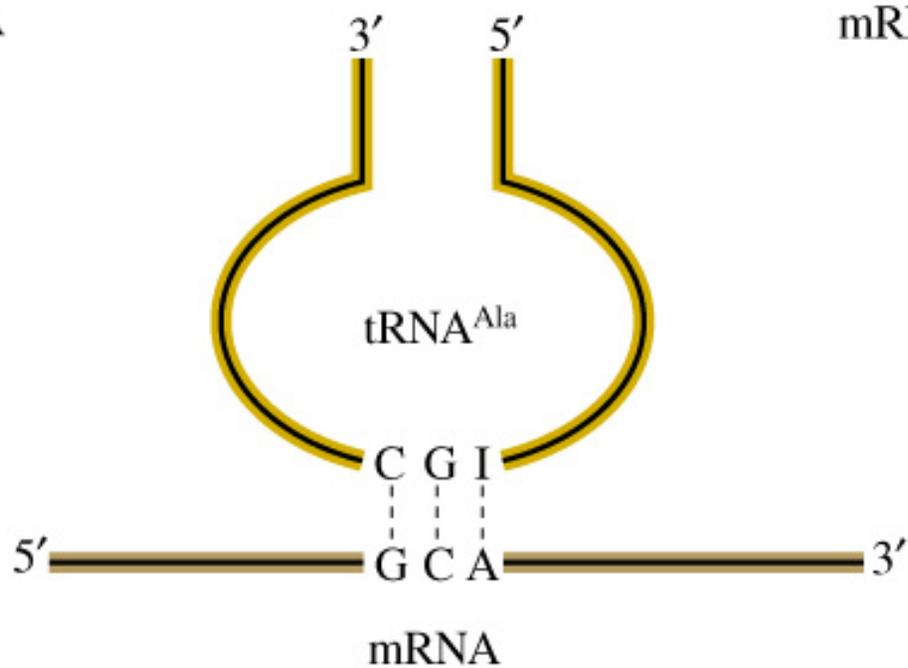
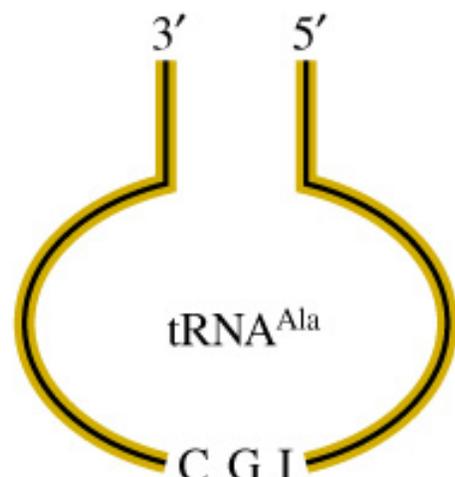
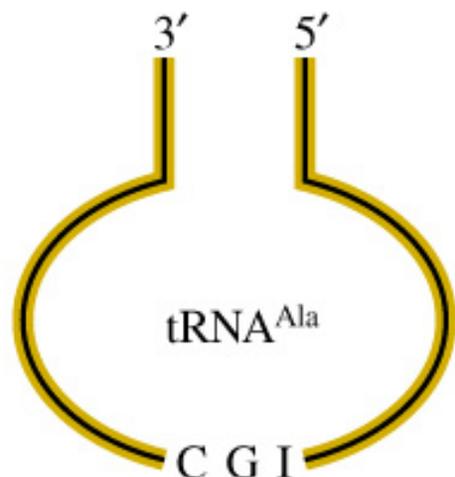


Terceira-Base Degenerada

- Códon-anticódon pareados é a característica crucial da "escrita do código"
- Mas o que conta para a "degenerabilidade": Há 61 anticódons diferentes, ou pode você se manter com menos do que 61, devido á falta de especificidade na terceira posição?
- Hipótese de Crick's Wobble contesta a segunda possibilidade - a primeira base do anticódon (a qual emparelha com a terceira base do códon) é referida como "posição wobble"

A Hipótese de Wobble

- As duas primeiras bases do códon fazem ligação normal com H- pareado com as segunda e terceira bases do anticódon
- Na posição remanescente, menos códigos escassos concentrados e pares não-canônicos podem ocorrer
- As regras: primeira base U pode reconhecer A ou G, primeira base G pode reconhecer U ou C, e primeira base I pode reconhecer U, C ou A (I provém da deaminação de A)
- Vantagem de wobble: dissociação de tRNA de mRNA é rápida e a síntese de proteínas também



First position (5' end)	Second position				Third position (3' end)
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	STOP	STOP	A
	Leu	Ser	STOP	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	Ile	Thr	Lys	Arg	A
	Met	Thr	Lys	Arg	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

Ativação de AA por síntese de proteínas

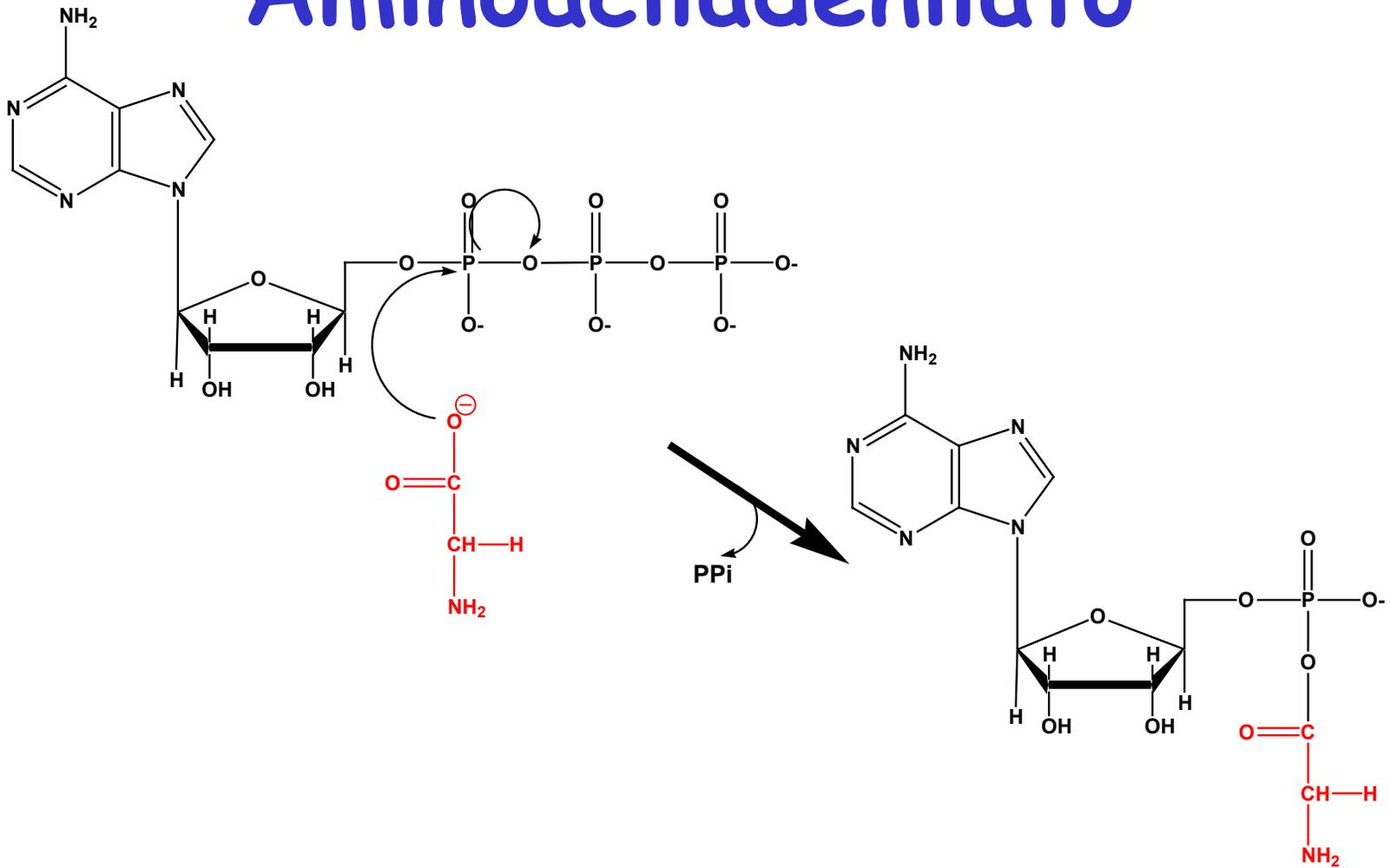
- Códon são reconhecidos por aminoacil-tRNAs
- Maioria das bases pareadas permite ao tRNA trazer seu aminoácido particular ao ribossomo
- Mas aminoacil-tRNAs fazem alguma coisa senão: ativar o aminoácido para transferir ao peptídeo
- Aminoacil-tRNA sintetase faz o trabalho crítico - ligando o aminoácido correto com tRNA "cognato"
- Dois níveis de especificidade - um formando o aminoacil adenilato e um em ligação ao tRNA

Aminoacil-tRNA Sintetase

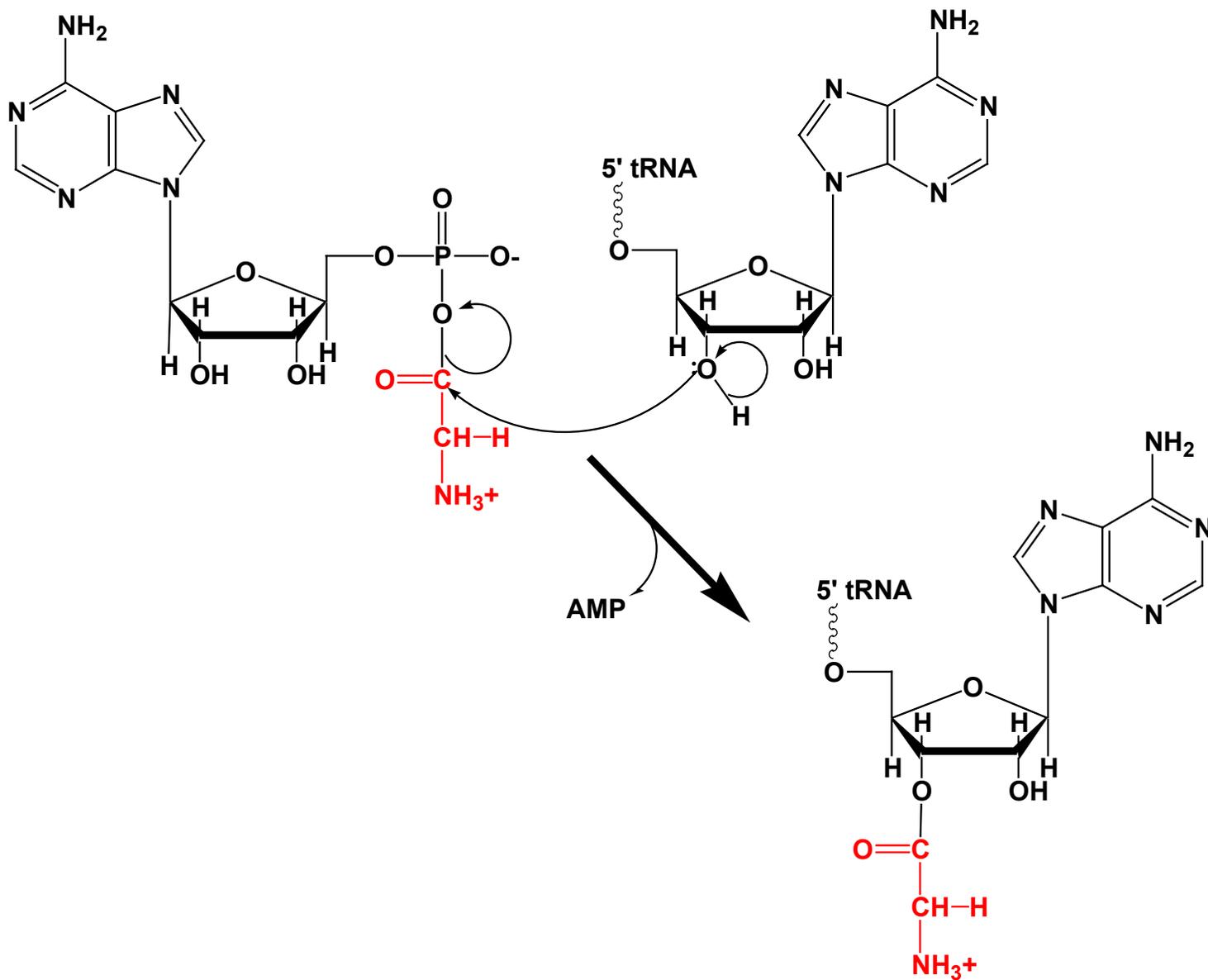
Aminoácido + tRNA + ATP → aminoacil-tRNA + AMP + PPi

- Maioria das espécies tem ao menos 20 aminoacil-tRNA sintetases diferentes.
- Tipicamente uma enzima é hábil para reconhecer múltiplos anticódons codificados para um único aminoácido (p.e serina, 6 anticódons diferentes e apenas uma sintetase)
- Dois passos no processo:
 - 1) Ativação do aminoácido para aminoaciladenilato
 - 2) Formação de amino-acil-tRNA

Formação de Aminoaciladenilato



Aminoacyl-tRNA Sintetase Rxn



Especificidade de Aminoacil-tRNA Sintetases

- Anticódon e estrutura características do braço aceptor dos tRNAs específicos são importantes no reconhecimento da enzima
- Sintetases são altamente específicas para substratos, mas Ile-tRNA sintetase tem taxa de erro de 1%. Algumas vezes incorporadas a Val.
- Ile-tRNA tem função escrita à prova. Têm atividade de deacilase que "edita" e hidroliza aminoacil-tRNAs misacilado