

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA E GENÉTICA

Março 2008

Texto Didático (revisado em agosto 2008)

Dr^a Judith Viégas, Prof^a Adjunta

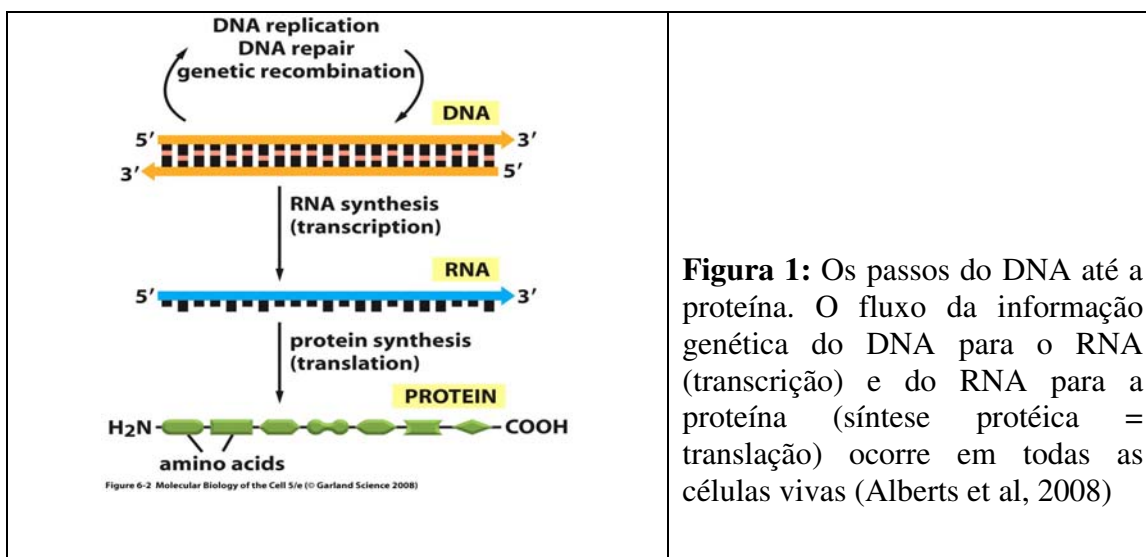
BIOLOGIA MOLECULAR – Parte IV

CÓDIGO GENÉTICO E SÍNTESE PROTÉICA

1. CÓDIGO GENÉTICO

O DNA é o material genético, isto é, a molécula onde estão codificadas as informações genéticas, que são transmitidas de uma geração para outra e que possibilitam aos seres vivos assemelharem-se entre si em termos de espécie e diferenciarem-se entre si em termos individuais.

A codificação do DNA é transmitida ao mRNA (RNA mensageiro) e vai ser traduzida em polipeptídeo, durante a síntese protéica, com o auxílio essencial dos tRNAs (RNAs de transferência) e dos ribossomos, que contém os rRNAs (RNAs ribossômicos).



Existe uma relação de **colinearidade** entre DNA, mRNA e polipeptídeo no que se refere, respectivamente, aos nucleotídeos e aminoácidos, ou seja, os aminoácidos do polipeptídeo correspondem às bases nitrogenadas do mRNA, as quais correspondem às bases nitrogenadas de um dos filamentos do DNA. Portanto, qualquer modificação em

número ou seqüência de bases do DNA será copiada no mRNA e, conseqüentemente, no polipeptídeo (Figura 2).

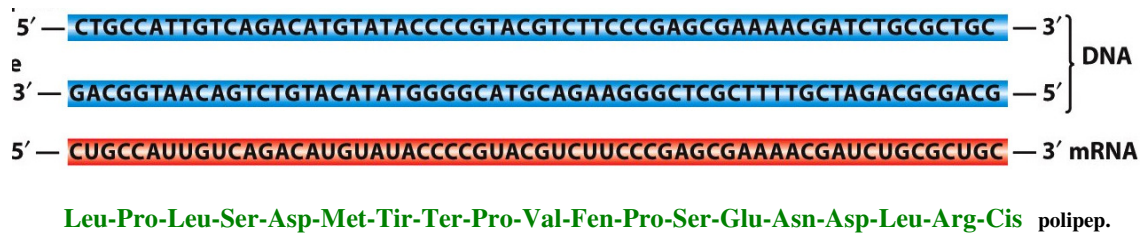


Figura 2: Relação de colineariedade entre dna, mrna e polipeptídeo (modificado de Griffiths et al, 2008).

A codificação genética é **tríplice**, isto é, cada combinação de 3 nucleotídeos (=3 bases) codifica 1 aminoácido. Estes conjuntos de três nucleotídeos são denominados de **trincas, códons** ou **triplets** (Figura 3).

Código Genético (codificação em mRNA)					
Segunda Base					
Primeira Base	U	C	A	G	Terceira Base
U	UUU fen	UCU ser	UAU tir	UGU cis	U
	UUC fen	UCC ser	UAC tir	UGC cis	C
	UUA leu	UCA ser	UAA fim	UGA fim	A
	UUG leu	UCG ser	UAG fim	UGG tri	G
C	CUU leu	CCU pro	CAU his	CGU arg	U
	CUC leu	CCC pro	CAC his	CGC arg	C
	CUA leu	CCA pro	CAA gln	CGA arg	A
	CUG leu	CCG pro	CAG gln	CGG arg	G
A	AUU ile	ACU tre	AAU asn	AGU ser	U
	AUC ile	ACC tre	AAC asn	AGC ser	C
	AUA ile	ACA tre	AAA lis	AGA arg	A
	AUG met	ACG tre	AAG lis	AGG arg	G
G	GUU val	GCU ala	GAU asp	GGU gli	U
	GUC val	GCC ala	GAC asp	GGC gli	C
	GUA val	GCA ala	GAA glu	GGA gli	A
	GUG val	GCG ala	GAG glu	GGG gli	G

Figura 3: Quadro do código genético, expresso em mRNA.

Abreviações para aminoácidos: ala = alanina, arg = arginina, asn = asparagina, asp = ácido aspártico, cis = cisteína, gln = glutamina, glu = ácido glutâmico, gli = glicina, his = histidina, ile = isoleucina, leu = leucina, lis = lisina, met = metionina, fen = fenilalanina, pro = prolina, ser = serina, tre = treonina, tri = triptofano, tir = tirosina, val = valina, fim = código de finalização

O código genético é expresso em mRNA. Ao verificar o quadro do Código Genético, vê-se, por exemplo, que UUU codifica o aminoácido fenilalanina. Observa-se, também, que este mesmo aminoácido pode ser codificado por UUC. Por esta característica de um aminoácido ser codificado por mais de um códon diz-se que o código genético é **degenerado** ou **redundante**. Esta característica é uma vantagem em termos de rapidez de síntese protéica e uma medida preventiva em relação a mutações (por exemplo: CUU codifica leucina, se houver mutação da 3ª base, de U para C, ou para A ou para G, não haverá alteração no polipeptídeo, pois o aminoácido codificado por CUC, CUA ou CUG é, também, a leucina). Códon que representam um mesmo aminoácido são chamados de **sinônimos**.

Observa-se, ainda, no quadro do código genético, a existência de três códon não codificadores de aminoácidos: **UAA**, **UAG** e **UGA**. Estes são códigos de terminação ou finalização, isto é, codificam o fim da síntese protéica na cadeia de mRNA.

Como a síntese de qualquer polipeptídeo inicia sempre com o aminoácido metionina, codificado por **AUG**, diz-se que o código é **polarizado**, isto é, tem uma única direção marcada pelos **códons de iniciação** e **códons de finalização**.

A leitura do código é realizada de **modo contínuo**, também chamada de leitura **sem vírgulas**. Isto significa que, entre os códon de início e de fim, não existem códon de paradas intermediárias, todos os códon entre estes dois pontos codificam apenas aminoácidos, o que reforça a relação de colinearidade existente entre o material genético e seu produto primário, o polipeptídeo, cuja estrutura primária é a seqüência e número de aminoácidos.

A leitura é, também, **sem sobreposição**, isto é, cada base do mRNA só participa de apenas um códon, não é reaproveitada para os códon seguintes.

O código genético é dito **universal**, pois foi verificado que é o mesmo em todas as formas de vida nas quais foi investigado, incluindo os vírus. Exceções são encontradas em alguns protozoários ciliados e em mitocôndrias. Em *Tetrahymena thermophila* e em *Paramecium*, UAA e UAG são lidos como glutamina e não como códigos de terminação. Em mitocôndrias de fungos e de humanos, o código de terminação UGA é lido como triptofano, já em vegetais possui seu significado usual. O significado usual de AGA é arginina, que é lido como serina em mitocôndria de drosófila e como código de terminação em mitocôndria de mamíferos. AUA indica comumente a isoleucina, mas em mitocôndrias pode ser metionina de iniciação

(mamíferos e drosófila) ou de alongamento (leveduras). Em mitocôndrias de leveduras, CUA que codifica usualmente a leucina, indica treonina.

Alguns tipos de tRNAs possuem a terceira base de seu anti-códon com capacidade de reconhecer outra base não complementar, são os chamados **pareamentos oscilantes**. Assim, nesta terceira posição, a base pode ou não parear com a sua base complementar ou com uma alternativa. As bases que fazem pareamentos oscilantes são G que poderá parear com U e U que poderá parear com G, além da base rara I (inosina) encontrada nos tRNA, que pareia com U, C ou A.

2. SÍNTESE PROTÉICA

Uma cadeia polipeptídica de 300 a 500 aminoácidos será codificada por um mRNA com, no mínimo, 900 a 1.500 nucleotídeos. A síntese de uma cadeia polipeptídica desta dimensão dura, na célula, cerca de 10 a 20 segundos (a duração média do mRNA é de 1 a 2 minutos).

O processo de síntese ocorre no citoplasma em nível dos ribossomos. Os ribossomos são constituídos de duas subunidades, uma maior e outra menor, que se encontram separadas quando não estão envolvidas na síntese. Os ribossomos possuem três locais de vital importância para a síntese protéica, o **sítio A** (aminoacil), o **sítio P** (peptidil) e o **sítio E** (*exit* = saída), conforme Figura 4.

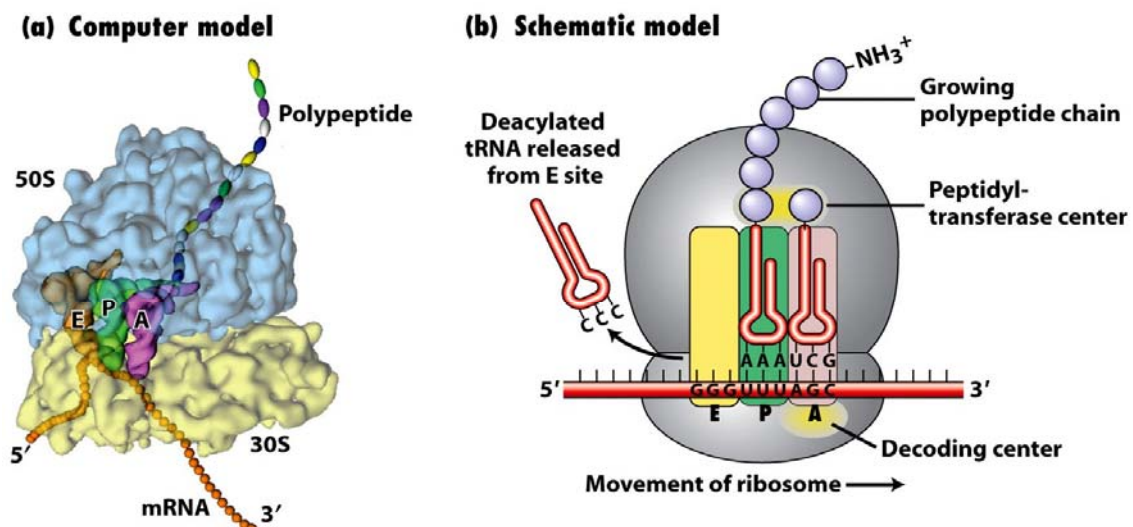


Figure 9-13
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W. H. Freeman and Company

Figura 4: Sítios chave do ribossomo durante a síntese protéica/translação, mostrados em modelo de computador (a) e modelo esquemático (b). Observar os sítios E, P e A, assim como o mRNA e o polipeptídeo nascente, ver texto para maiores detalhes (Griffiths et al, 2008).

- o sítio A recebe o tRNA carregado com o seu aminoácido específico;
- no sítio P fica o tRNA com o seu aminoácido específico, que está ligado ao polipeptídeo em crescimento;
- ao sítio E chega o tRNA que já se desfez de sua carga de aminoácidos e, portanto, sairá do ribossomo, podendo ser novamente carregado com seu aminoácido específico.

O processo de síntese protéica envolve a ação dos ribossomos, mRNA e dos diversos tRNAs, associados a uma série de proteínas específicas (fatores de liberação, alongamento, enzimas, etc..), e compreende três fases: **a iniciação, o alongamento e a terminação.**

2.1. Síntese protéica em procariotes

2.1.1. Iniciação em procariotes

Para que a síntese protéica inicie, são necessárias as subunidades ribossômicas, o mRNA, os diversos tRNAs carregados com seus aminoácidos específicos e proteínas chamadas fatores de iniciação.

Em bactérias, o processo inicia com a ligação de três **fatores de iniciação** (IF-1, IF-2 e IF-3) à **subunidade ribossomal menor (30S)**. O **mRNA** e o **tRNA iniciador** (tRNA formilmetionina) ligam-se a esta subunidade ribossômica menor, formando o **complexo de iniciação**. Mas, para que isto ocorra, antes deve haver o pareamento correto entre a **seqüência Shine-Dalgarno** do mRNA com suas bases complementares do rRNA 16S da subunidade menor 30S do ribossomo. A seqüência Shine-Dalgarno fica posicionada a *downstream* do código de início AUG.

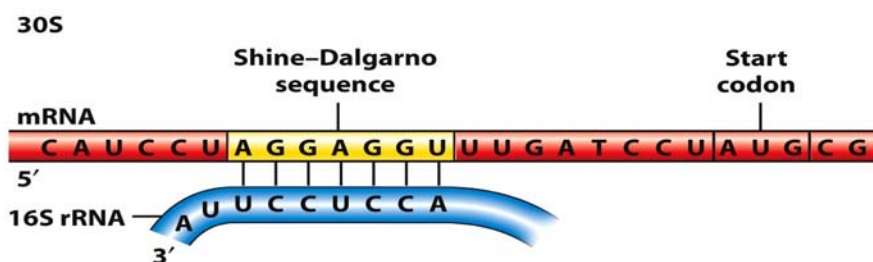


Figure 9-14
Introduction to Genetic Analysis, Ninth Edition
© 2008 W.H. Freeman and Company

Figura 5: Em bactérias, as bases complementares entre a extremidade 3' do rRNA 16S da subunidade menor do ribossomo e a seqüência Shine-Dalgarno do mRNA é que posicionam corretamente o ribossomo (*downstream* do códon AUG) para o início da síntese de proteínas (translação), segundo Griffiths et al, 2008.

Após a formação do complexo de iniciação, IF-3 é liberado e a subunidade maior do ribossomo (50S) liga-se ao complexo, formando o ribossomo completo (70S), e liberando os fatores de iniciação IF-2 (responsável pelo reconhecimento do tRNA iniciador) e IF-1. Neste complexo de iniciação, o mRNA posicionou seu códon AUG no sítio P e ocorreu a ligação, através da formação de pontes H, entre este códon AUG e o anti-códon UAC do tRNA iniciador. Neste momento, o ribossomo completo está com o sítio P ocupado pelo tRNA formil-metionina e com o códon para o próximo aminoácido exposto no sítio A, terminando assim o processo de iniciação da síntese protéica/translação, que está todo esquematizado na Figura 6.

Figura 7.9

Iniciação da tradução em bactérias Primeiro, três fatores de iniciação (IF-1, IF-2 e IF-3) ligam-se à subunidade ribossomal 30S. Esse passo é seguido pela ligação do mRNA e do tRNA *N*-formilmetionil (fMet) iniciador, que é reconhecido pelo IF-2 ligado à GTP. O IF-3 é, então, liberado e uma subunidade 50S liga-se ao complexo, desencadeando a hidrólise da GTP ligada, seguido pela liberação de IF-1 e IF-2 ligados à GDP.

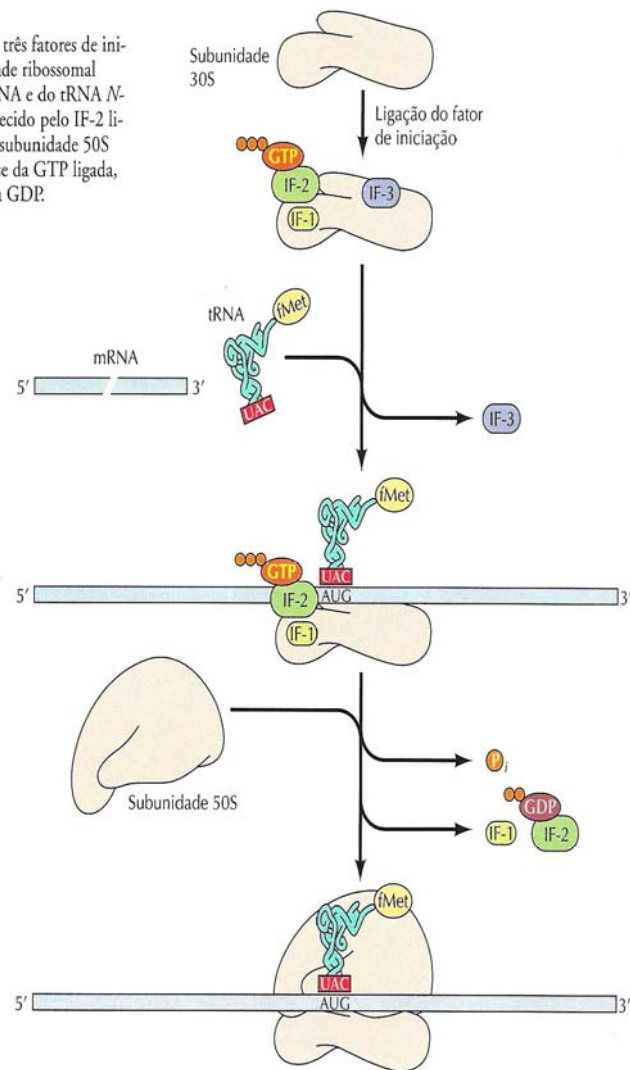


Figura 6: Iniciação do processo de síntese protéica em procariotes (Cooper, 2001).

2.1.2. Alongamento em procariotes

Tendo sido formado o complexo de iniciação da síntese protéica, reunidas as subunidades ribossômicas e liberados os fatores de iniciação, começa o crescimento da cadeia polipeptídica codificada no mRNA, processo este denominado de **alongamento**.

O tRNA iniciador, ao se localizar no sítio P do ribossomo, deixa vazio o sítio A, ficando exposto o códon seguinte do mRNA (códon 2). O aminoacil-tRNA específico para este códon (aminoacil-tRNA 2 = tRNA 2 + ácido 2) é trazido do citoplasma para o sítio A pelo fator de alongamento **EF-Tu** (EF = *elongation factor*). Ao chegar ao sítio A, ocorre o pareamento entre o aminoacil-tRNA 2 e o mRNA através da formação de pontes H entre seus respectivos anticódon e códon.

O EF-Tu é liberado e é, posteriormente, reciclado à sua forma ativa, pelo fator de alongamento **EF-Ts**, para tornar a ligar-se a aminoacil-tRNAs.

Ambos os sítios - A e P - do ribossomo estão ocupados por aminoacil-tRNAs, ou seja, tRNAs carregados com seus respectivos aminoácidos. Neste momento, uma **peptidil transferase** (uma enzima integrante da subunidade maior do ribossomo) catalisa a ligação peptídica entre os dois aminoácidos, permitindo que a formil-metionina, que está ligada ao tRNA iniciador localizado no sítio P, seja ligada ao aminoácido 2 do aminoacil-tRNA 2 no sítio A (este passará a denominar-se de peptidil-tRNA 2, pois transporta, agora, o peptídeo em crescimento, ou seja, os dois aminoácidos: metionina + aminoácido 2). Simultaneamente à ligação peptídica, ocorre o desligamento do aminoácido formil-metionina do tRNA iniciador.

O ribossomo realiza, então, um movimento de **translocação**, com auxílio do fator de alongamento **EF-G** (uma translocase), e avança três nucleotídeos no mRNA, expondo o códon 3 no sítio A. Simultaneamente, o tRNA iniciador descarregado é translocado para o sítio E (saindo do ribossomo e podendo recarregar-se com novo aminoácido no citoplasma.) e o peptidil-tRNA 2 é translocado do sítio A para o sítio P.

O aminoacil-tRNA 3 (tRNA 3 + ácido 3), cujo anticódon complementa o códon 3 do mRNA, é levado ao sítio A pelo EF-Tu. É realizado o pareamento anticódon-códon e a peptidil transferase propicia a ligação peptídica entre o aminoácido 2 do peptídeo em crescimento e o aminoácido 3. O aminoácido 2 desliga-se de seu tRNA. O movimento de translocação desloca o peptidil-tRNA 3 do sítio A para o sítio P e o tRNA 2 para o sítio E, de onde é liberado para o citoplasma e fica exposto novo códon no sítio A

(códon 4). O aminoacil-tRNA 4 (tRNA 4 + aminoácido 4), cujo anticódon complementa o códon 4 do mRNA, é levado ao sítio A pelo EF-Tu. É realizado o pareamento códon-anticódon e a peptidil transferase propicia a ligação peptídica entre o aminoácido 3 do peptídeo em crescimento e o aminoácido 4. O aminoácido 3 desliga-se de seu tRNA. O movimento de translocação desloca o peptidil-tRNA 4 do sítio A para o sítio P, o tRNA 3 para o sítio E. O tRNA 3 é liberado do sítio E para o citoplasma e fica exposto novo códon no sítio A (códon 5). O aminoacil-tRNA 5 (tRNA 5 + aminoácido 5), cujo anticódon complementa o códon 5 do mRNA, é apresentado no sítio A pelo EF-Tu. É realizado o pareamento códon-anticódon e este processo continuará sempre da mesma maneira até o término da codificação para a síntese da cadeia polipeptídica, conforme Figura 7.

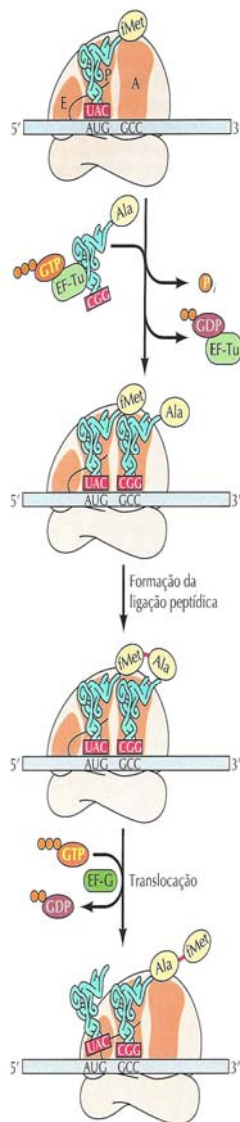


Figura 7.11
Estágio de alongamento da tradução O ribossomo tem três sítios de ligação para o tRNA, designados como P (peptidil), A (aminoacil) e E (saída). O tRNA *N*-formilmetionil iniciador está posicionado no sítio P, deixando um sítio A vazio. O segundo tRNA aminoacil (por exemplo, tRNA da alanina) é, então, conduzido ao sítio A pelo EF-Tu (complexado com GTP). Seguindo a hidrólise da GTP, o EF-Tu (complexado com GDP) deixa o ribossomo, com o tRNA da alanina inserido no sítio A. Uma ligação peptídica é, então, formada, resultando na transferência da metionina ao tRNA aminoacil no sítio A. Desta forma, o ribossomo move-se três nucleotídeos ao longo do mRNA. Esse movimento transloca o tRNA peptidil (Met-Ala) para o sítio P, e o tRNA descarregado para o sítio E, deixando um sítio A vazio pronto para a adição do próximo aminoácido. A translocação é mediada pelo EF-G, acoplada à hidrólise da GTP. O processo, ilustrado aqui para células procarióticas, é muito similar em eucariotos. (A Tabela 7.1 fornece os nomes dos fatores de alongamento eucarióticos.)

Figura 7: Processo de alongamento da síntese protéica, em procariotes (Cooper, 2001).

2.1.3. Terminação em procaríotes

O processo de terminação da síntese protéica ocorre quando fica exposto, no sítio A, um dos códons de término (UAA, UAG ou UGA), conforme a Figura 8. Estes códigos de fim são reconhecidos por proteínas específicas denominadas de **fatores de liberação**. Os fatores de liberação marcam o ponto final da síntese protéica e fazem com que os elementos da maquinaria de síntese se separem liberando a proteína sintetizada. O fator de liberação **RF-1** reconhece os códons UAA e UAG e o **RF-2**, os códons UAA e UGA. O término da síntese ocorre com a localização de RF-1 ou RF-2 no sítio A, que junto com **RF-3** fazem a liberação do polipeptídeo completo do ribossomo. O tRNA é liberado e ocorre a dissociação das subunidade 30S, 50S e do mRNA. O fator de liberação RF-3 não reconhece códons de terminação, mas auxilia os fatores RF-1 e RF-2 na liberação do polipeptídeo.

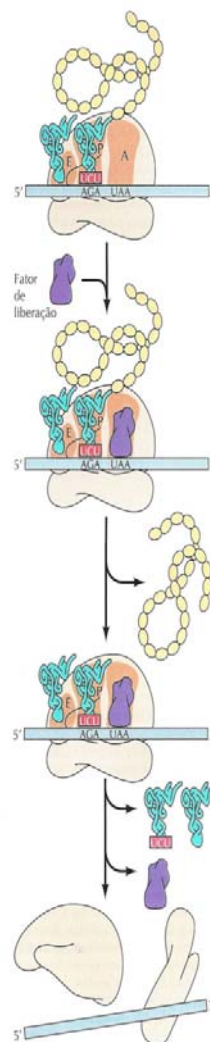


Figura 7.13
Término da tradução O códon de terminação (por exemplo, UAA) no sítio A é reconhecido por um fator de liberação em vez do tRNA. O resultado é a liberação da cadeia polipeptídica completa, seguida pela dissociação do tRNA e do mRNA do ribossomo.

Figura 8: Processo de terminação da síntese protéica em eucariotes (Cooper, 2001).

Uma mesma molécula de mRNA é percorrida, simultaneamente, por mais de um ribossomo. Isto determina que diversas cadeias polipeptídicas, em diversas fases de alongamento, possam ser encontradas ao longo de uma mesma molécula de mRNA. A este conjunto de mRNA com vários ribossomos e as cadeias polipeptídicas em formação, denomina-se de **polisossomo** ou **polirribossomo** (Figura 9).

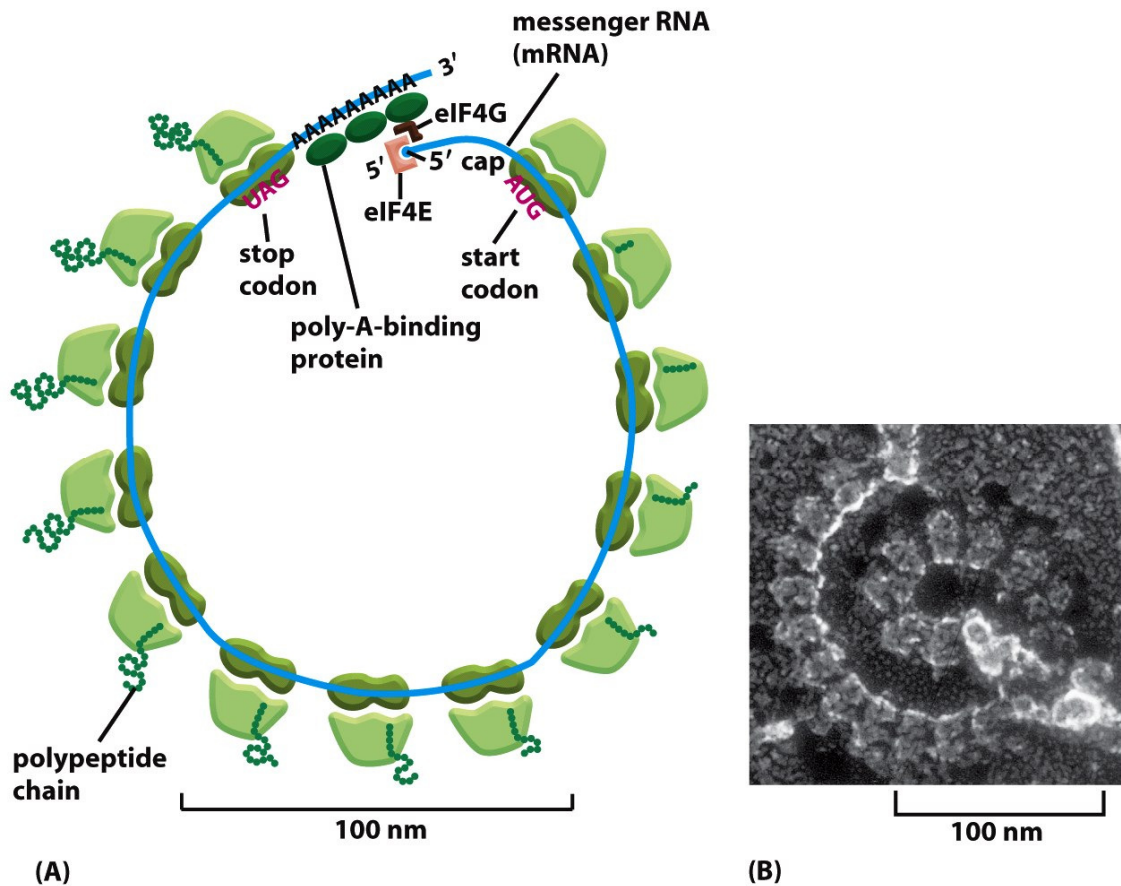


Figure 6-76 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Figura 9: Desenho esquemático (a) e microfotografia eletrônica (b) de uma formação de polirribossomos sobre um mRNA de célula eucariota (Albertes et al, 2008)

2.2. Síntese protéica em eucariotes

2.2.1. Iniciação em eucariotes

Em eucariotes, o processo de iniciação é semelhante ao de bactérias, entretanto, ocorre um número maior de fatores de iniciação, os chamados **fatores de iniciação de eucariotes** (eIF), com funções semelhantes aos IF.

Os fatores de iniciação de eucariotes eIF-1, eIF-1A, eIF-3 ligam-se à subunidade ribossômica 40S. O tRNA iniciador é conduzido ao ribossomo pelo eIF-2. O mRNA é ligado ao ribossomo pelo grupo de fatores eIF-4, que se ligam ao cap na extremidade 5'

do mRNA e à proteína da ligação PABPN (proteína de ligação do poli-A), que como diz o nome, liga-se à cauda poli-A na extremidade 3' do mRNA.

Este complexo percorre o mRNA no sentido 5' → 3' até identificar o códon de iniciação AUG. Neste momento, o eIF-5 desencadeia a liberação dos fatores de iniciação e uma subunidade ribossômica 60S une-se à subunidade ribossômica 40S, que já tem ligados o mRNA e o tRNA iniciador, para formar o complexo de iniciação 80S dos eucariotes

2.2.2. Alongamento em eucariotes

Nos eucariotes, o alongamento da síntese protéica é muito semelhante ao dos procariotes. Foi isolado um **fator de alongamento (eEF 1- α)** que possui atividades análogas às de EF-Tu e EF-Ts, ou seja a função de alongamento propriamente dito. A translocação é realizada pelo fator de alongamento **eEF 2**, semelhante ao EF-G.

2.3.2. Terminação em eucariotes

Em eucariotes, foi descrito apenas um **fator de liberação**, o **eRF**, que reconhece os três códons de terminação.

Bibliografia

Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D. **Biologia Molecular da Célula**, Editora Artes Médicas, Porto Alegre, 1997, 1.294 p.

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. **Molecular Biology of the Cell**, Garland Science, New York, 2008, 1.268 p.

Borges-Osório, M.R., Robinson, W.M. **Genética Médica**, Editora Artes Médicas, Porto Alegre, 2001, 459 p.

Cooper, G.M. **A Célula: uma abordagem molecular**, Editora ARTMED, Porto Alegre, 2001, 712 p.

Cooper, G.M.; Hausmann, R.E. **The Cell: A Molecular Approach**, ASM Press, Washington, 2004, 713 p.

Griffiths, A.J.F., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Lewontin, R.C., Gelbart, W.M. **Introdução à Genética**, Editora Guanabara Koogan S.A., Rio de Janeiro, 2002, 794 p.

Griffiths, A.J.F., Wessler, S.R., Lewontin, R.C., Carroll, S.B. **Introduction to Genetic Analysis**, W. H. Freeman and Company, New York, 2008, 838 p.