



Universidade de São Paulo  
**Instituto de Química**

# Transcrição e tradução

*Prof. João Carlos Setubal*

# "Dogma Central" da Biologia Molecular

Replicação

DNA

Transcrição

RNA mensageiro

RNA

Tradução de mRNAs

Proteína

Usa **Uracila** ao invés de Timina

Ocorre no **ribossomo**

# Transcrição

(5') CGCTATAGCGTTT(3')

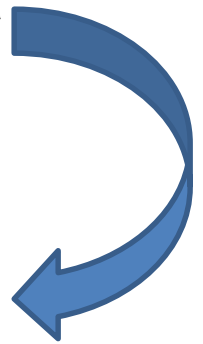
**DNA fita codificadora**

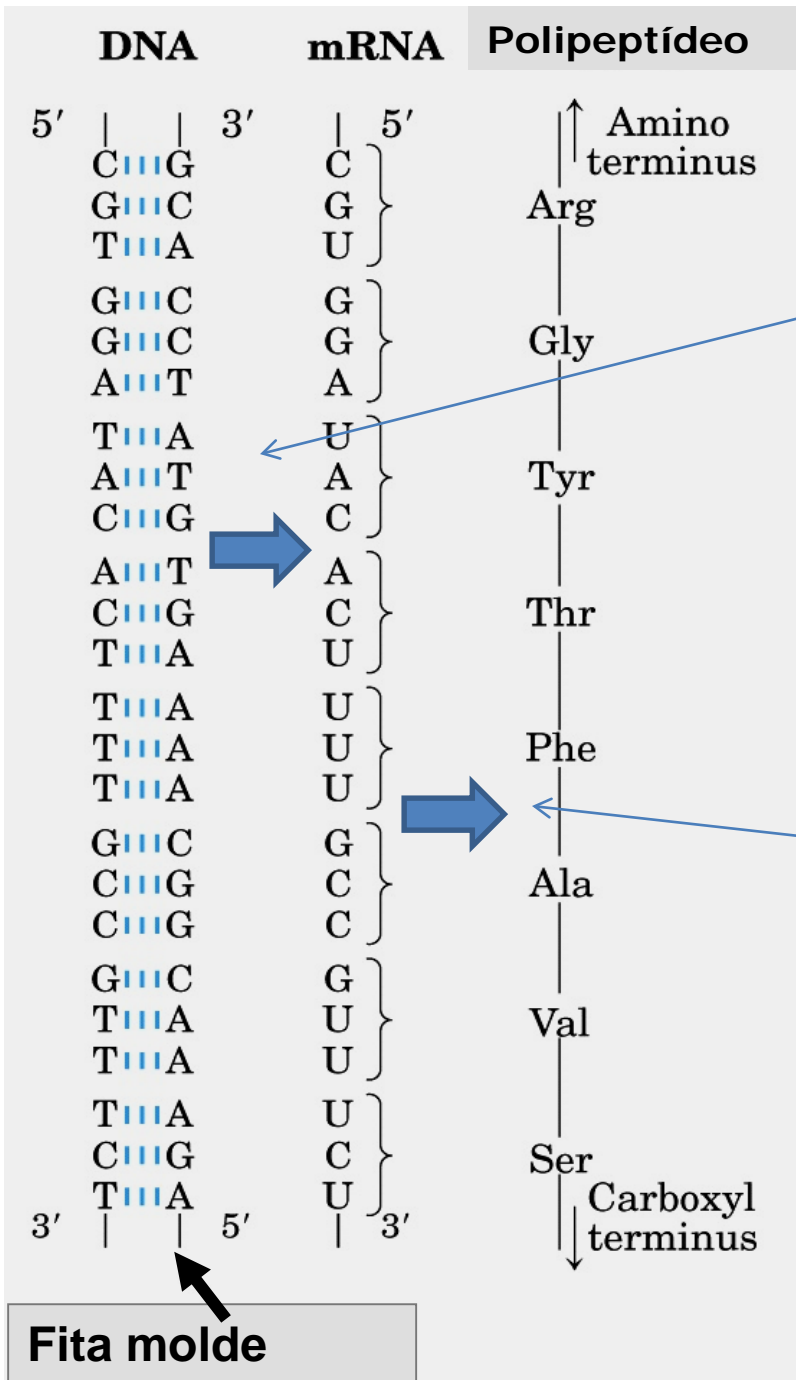
(3') GCGATATCGCAAA(5')

**DNA fita molde**

(5') CGCUAUAGCGUUU(3')

**RNA transcrito**





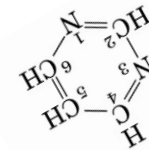
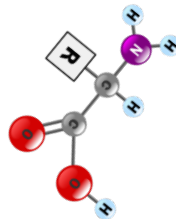
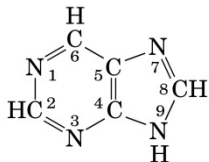
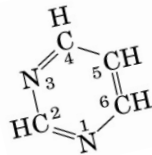
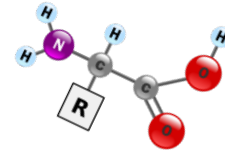
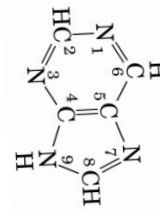
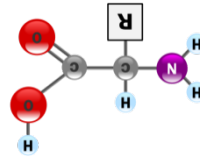
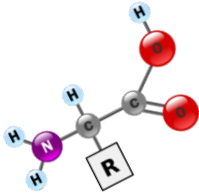
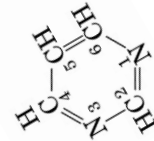
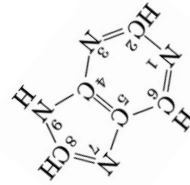
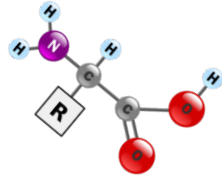
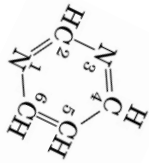
transcrição

tradução

# Processos moleculares de transcrição e tradução

- Onde ocorrem?
- Quem são os participantes?
- O que fazem os participantes?

# Ribonucleotídeos e aminoácidos “soltos” estão “nadando” na célula



# Quem faz transcrição na célula?

O DNA é transcrito pela enzima  
**RNA polimerase II**

- Ela “captura” **ribonucleotídeos** e os pareia com os nucleotídeos da fita molde
  - Produzindo **RNA mensageiro**

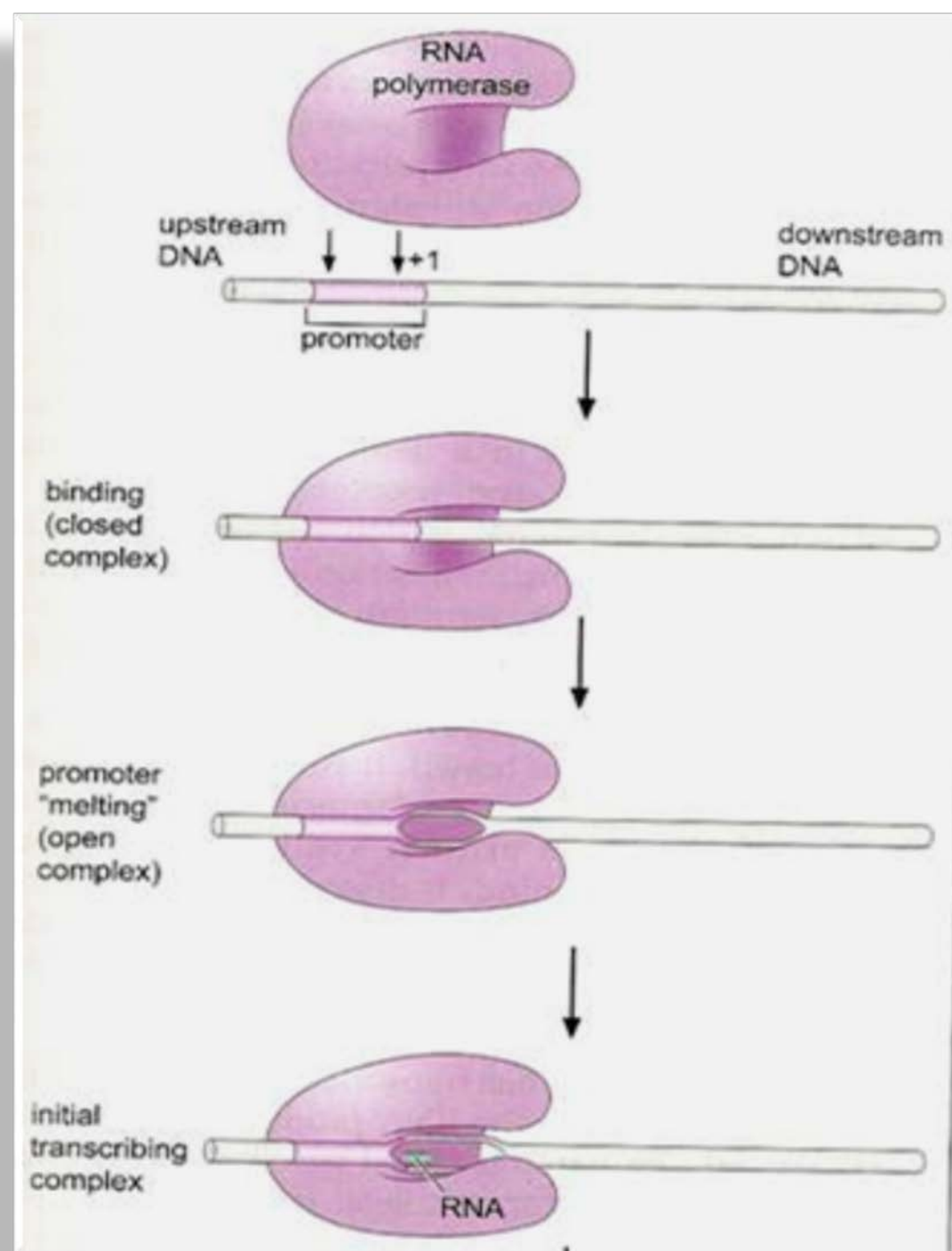
## Fases da transcrição:

### 1. Início:

Reconhecimento do promotor pela RNAPolimerase

Abertura da fita dupla de DNA (região do promotor)

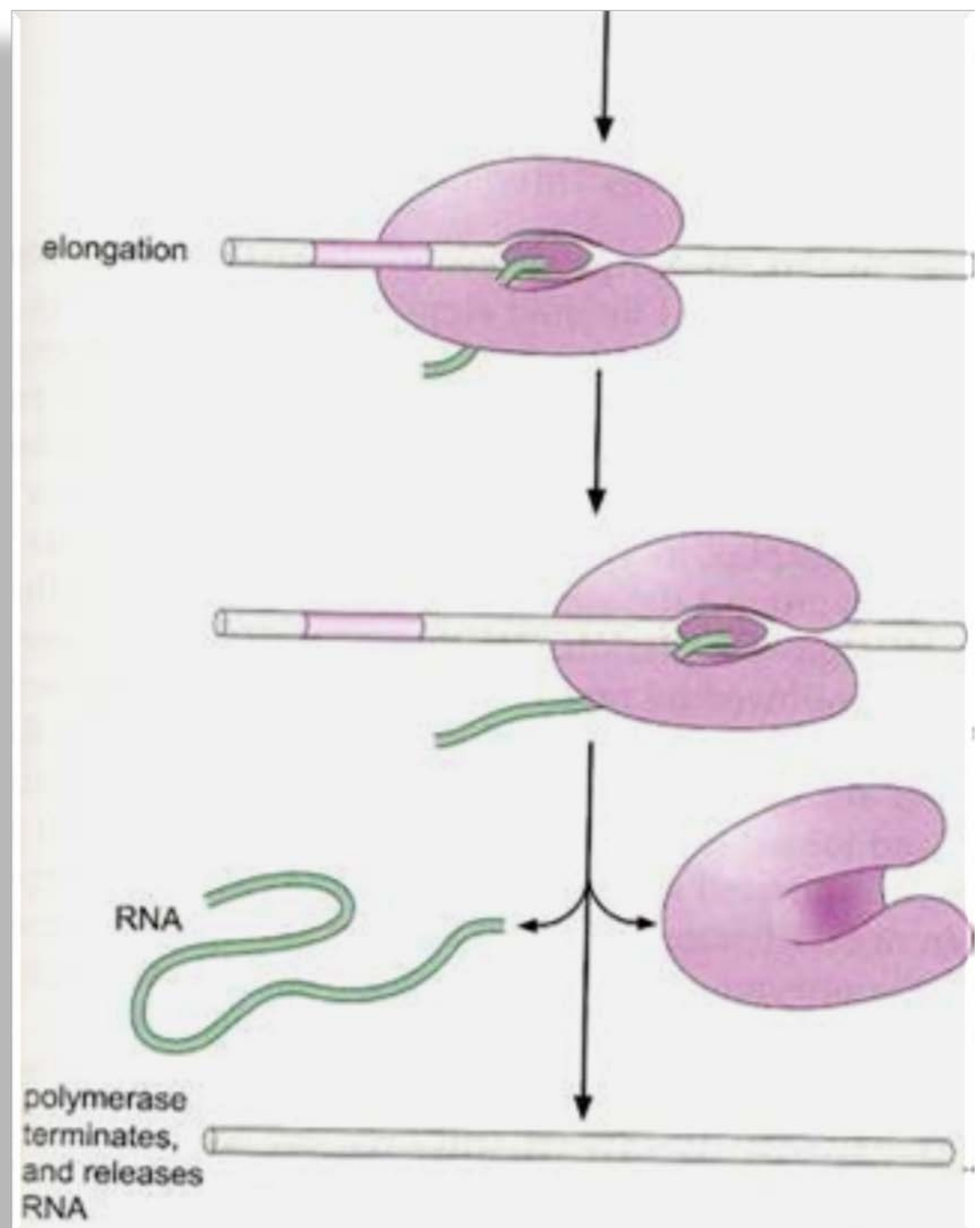
Formação do complexo de início de transcrição





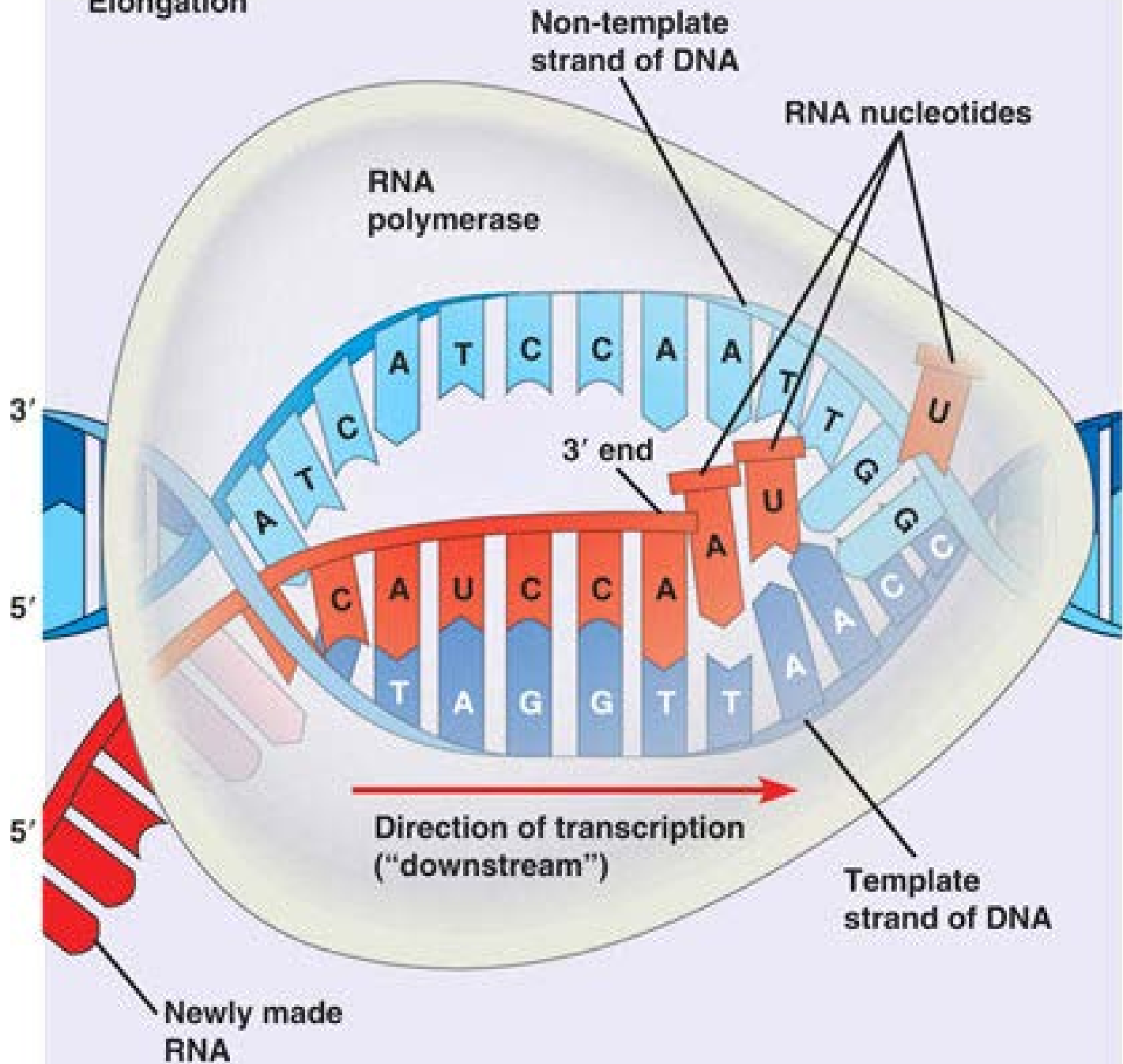
# Fases da transcrição:

## 2. Elongação:

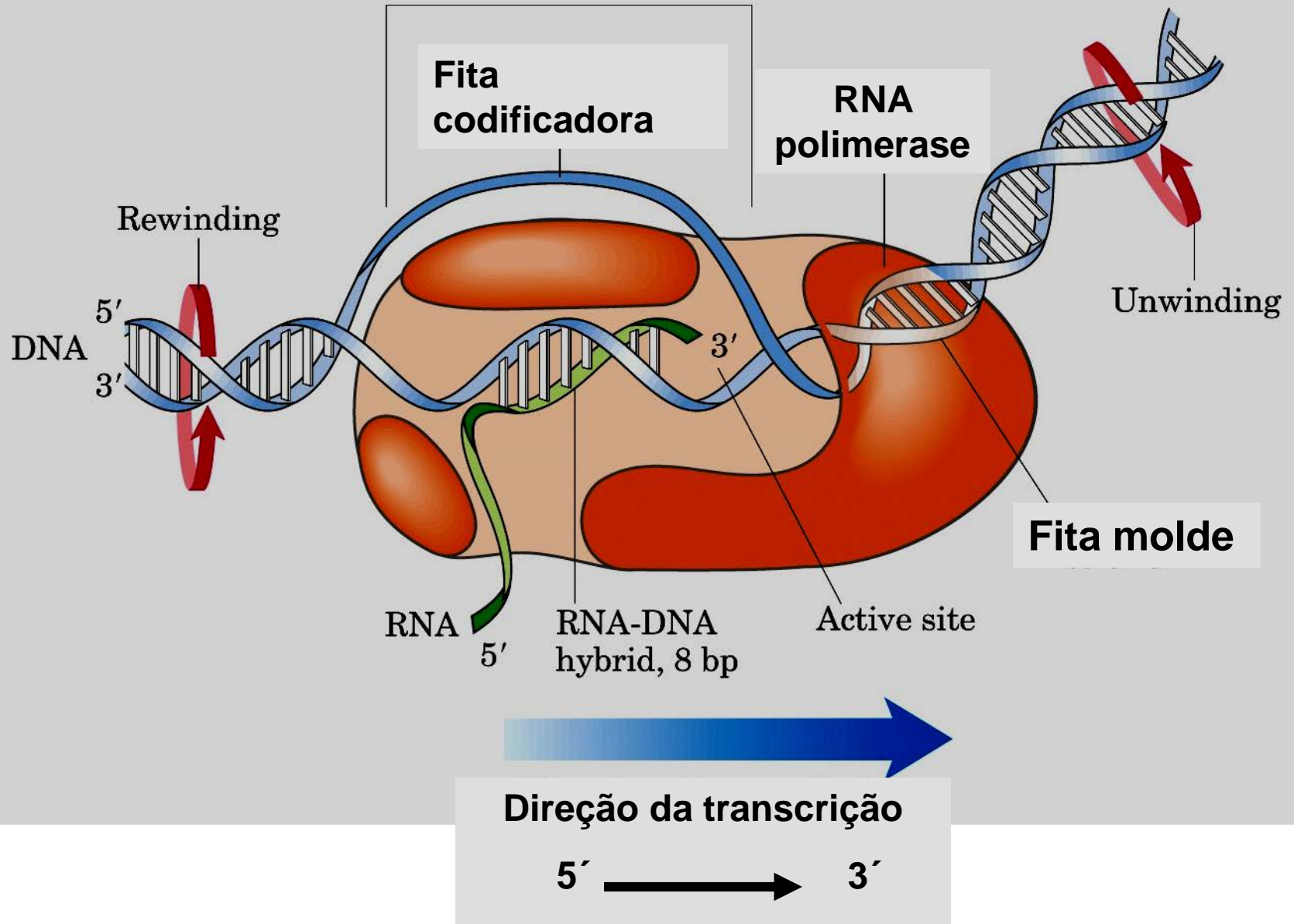


## 3. Término

# Elongation



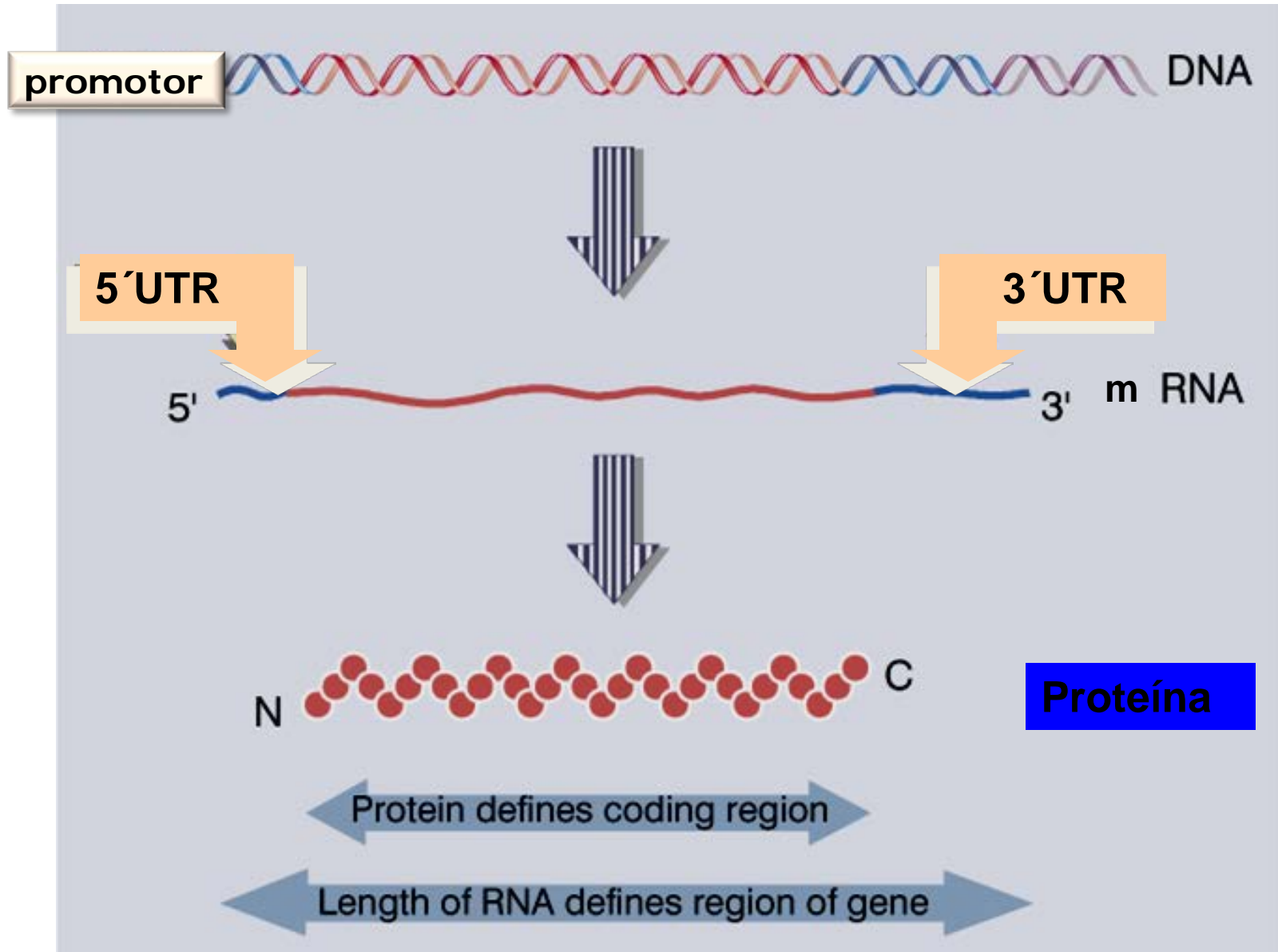
# Bolha de transcrição



# Procariotos e Eucariotos

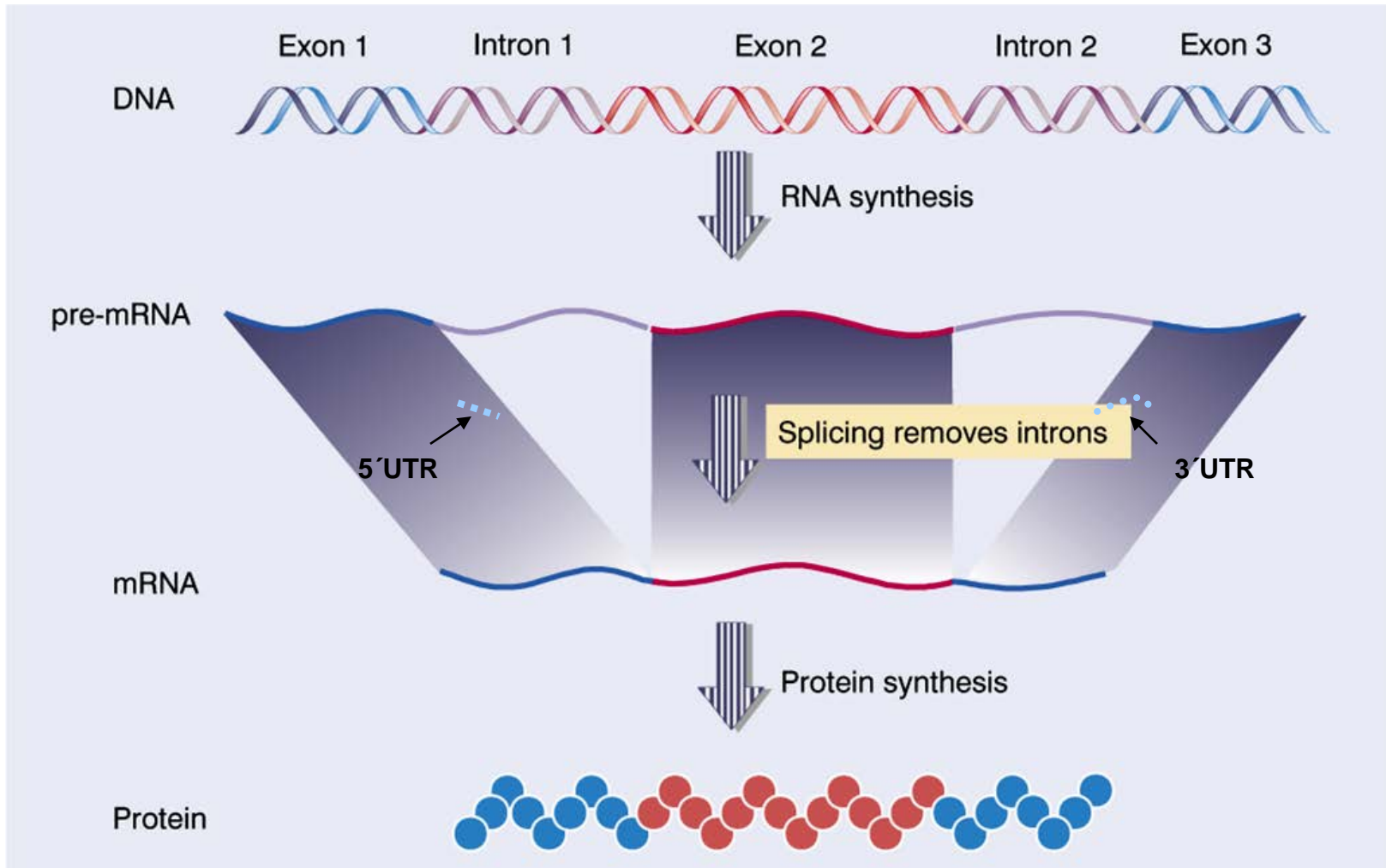
- Procariotos são as bactérias e as arqueias
- Eucariotos são o resto
  - Tem núcleo, e o DNA fica no núcleo
- Há uma **diferença básica** entre eles na forma como os genes são representados no DNA e com conseqüente diferença no processo de transcrição (formação do RNA mensageiro **maduro**)

# Procaríotos



UTR: Região não traduzida (Untranslated region)

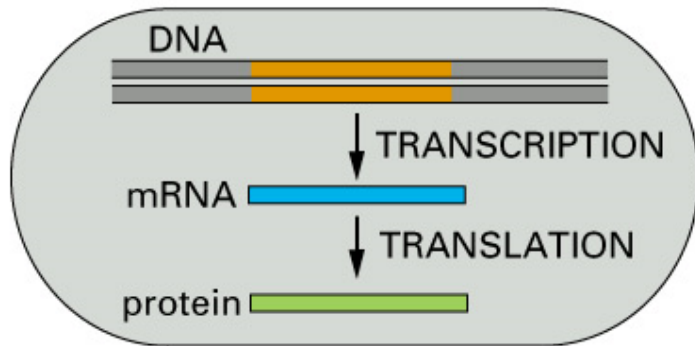
# Eucariotos



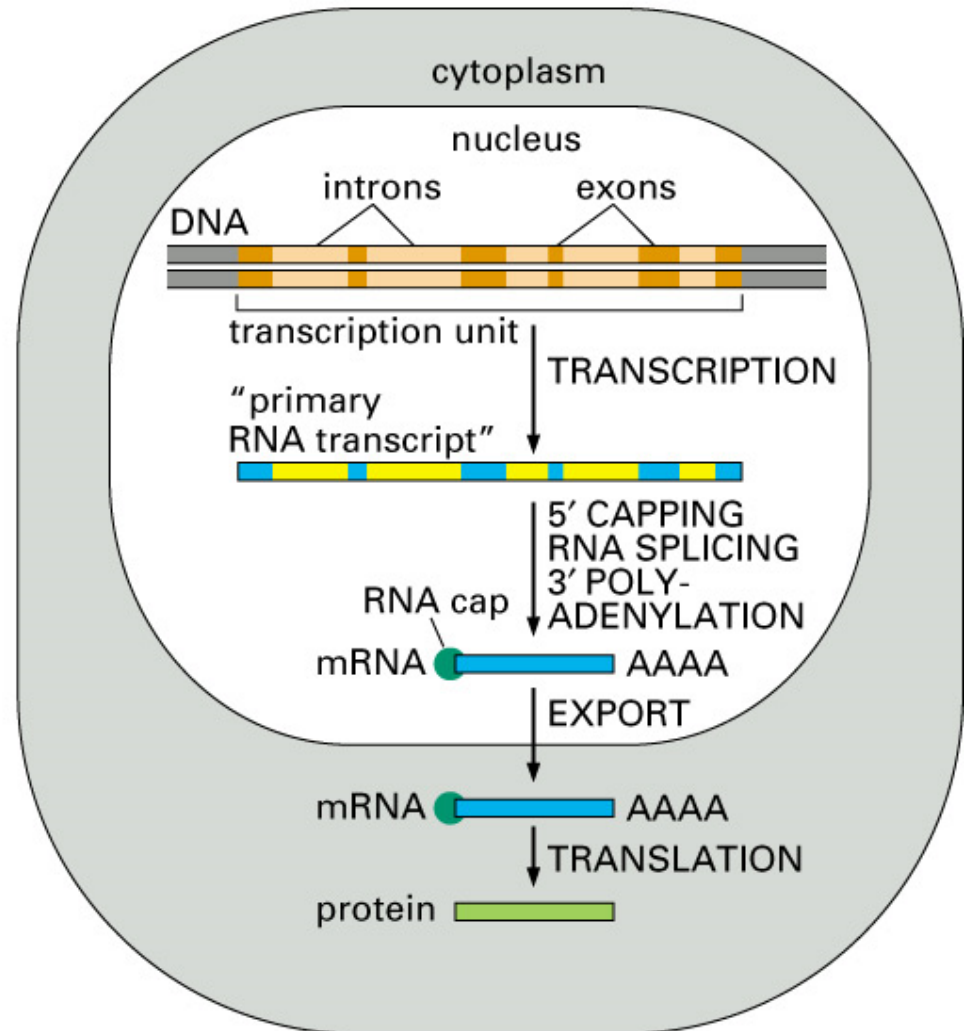
**Genes eucarióticos são (em sua maioria) constituídos por exons interrompidos por introns**

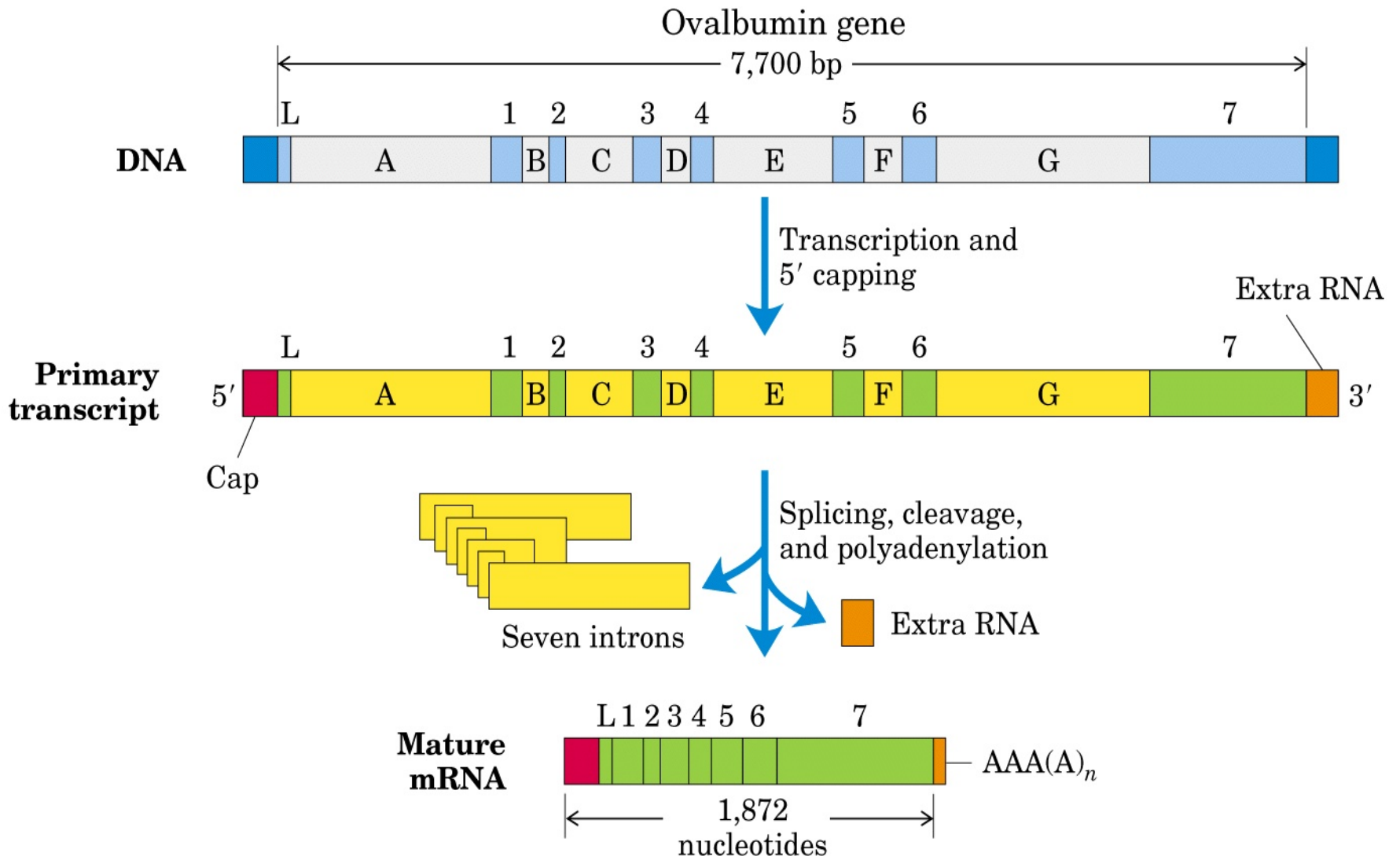
# Processamento do mRNA

## Eubactérias

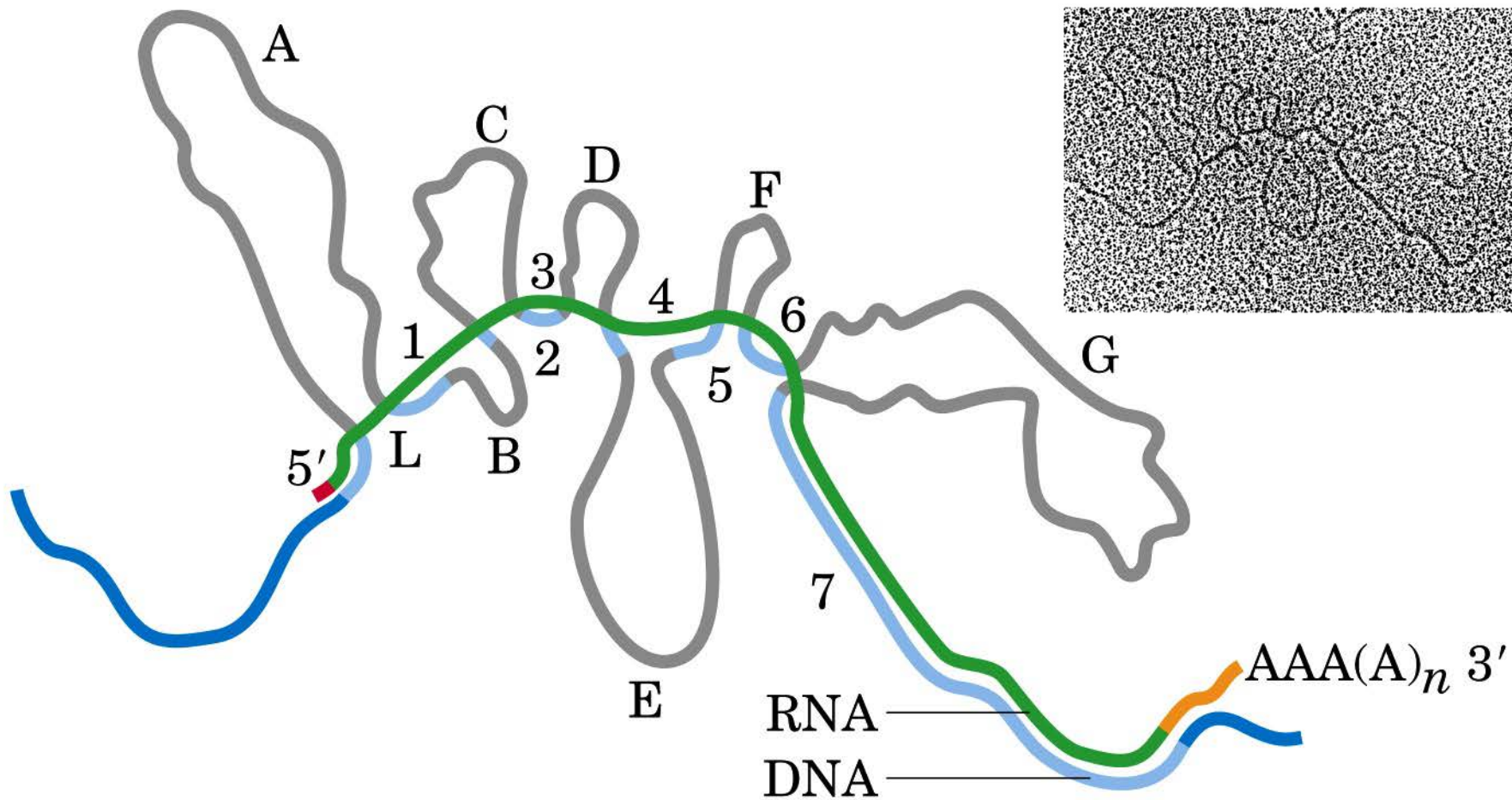
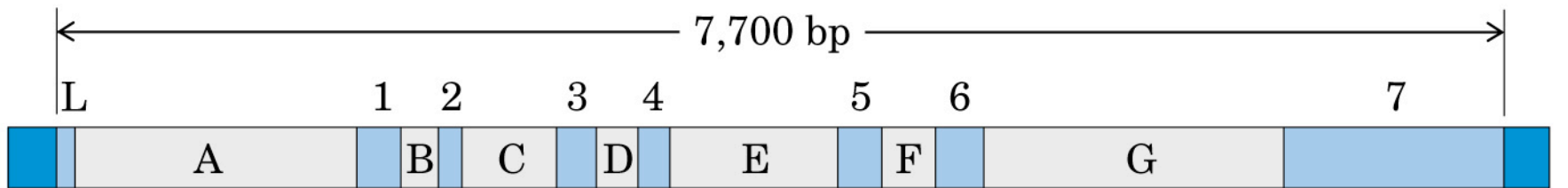


## Eucariotos



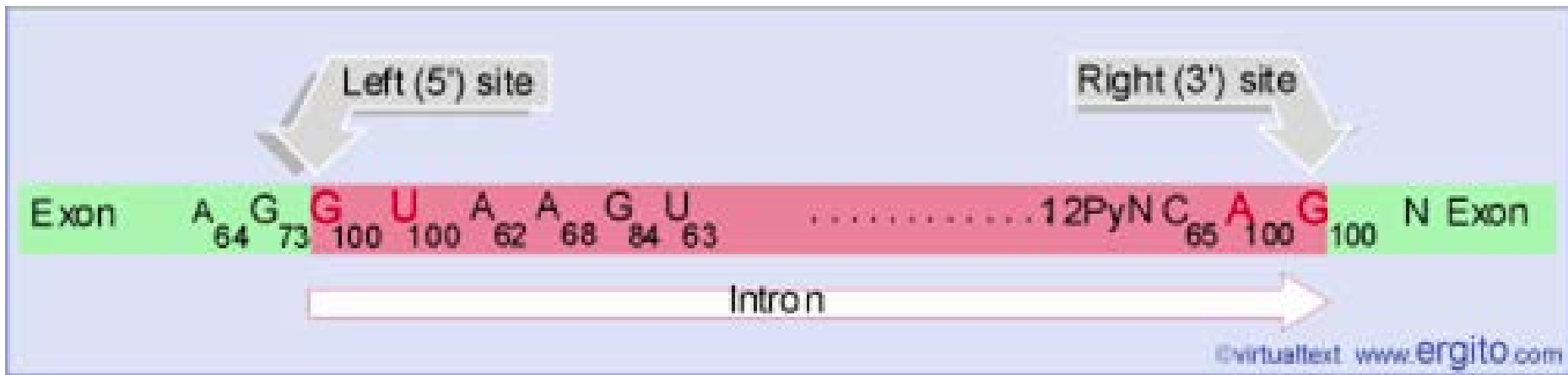






## Junções de splicing: regra GU/AG

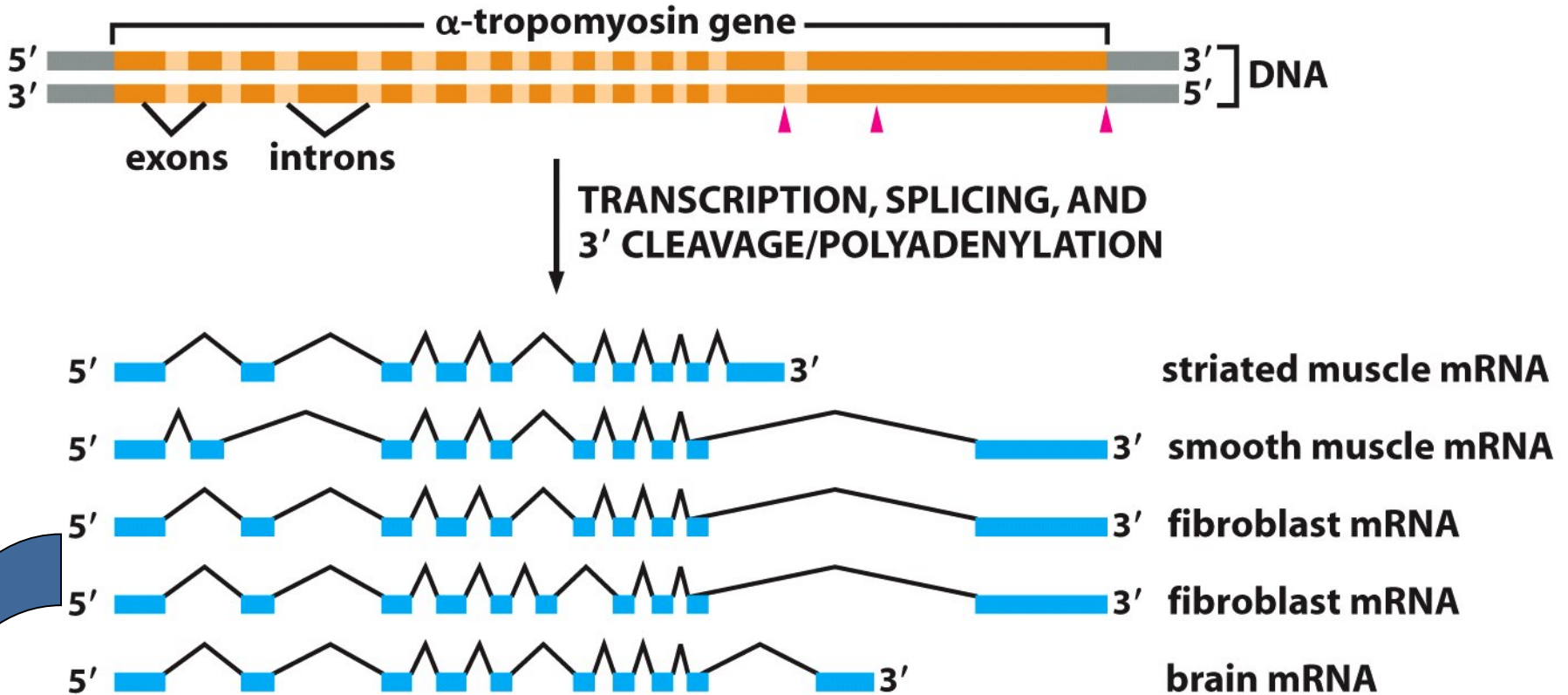
98% das junções de splicing no genoma humano



Junções alternativas

<1% = GC-AG  
< 0,1% = AU-AC

# Splicing Alternativo



**Isoformas/variantes de splicing**

A maioria dos genes humanos apresentam splicing alternativo

Por que ter a complicação de introns e splice alternativo?

# Números de genes (de proteínas)

organismo	Número de genes (aprox)
<i>Mycoplasma genitalium</i>	500
<i>Escherichia coli</i>	4.000
Levedura	6.000
<i>C. elegans</i> (verme)	13.000
Mosca	20.000
Camundongo	20.000
Humanos	21.000
Tomate	36.000
Arroz	46.000

# Grande parte da complexidade de eucariotos vem de **splice alternativo**

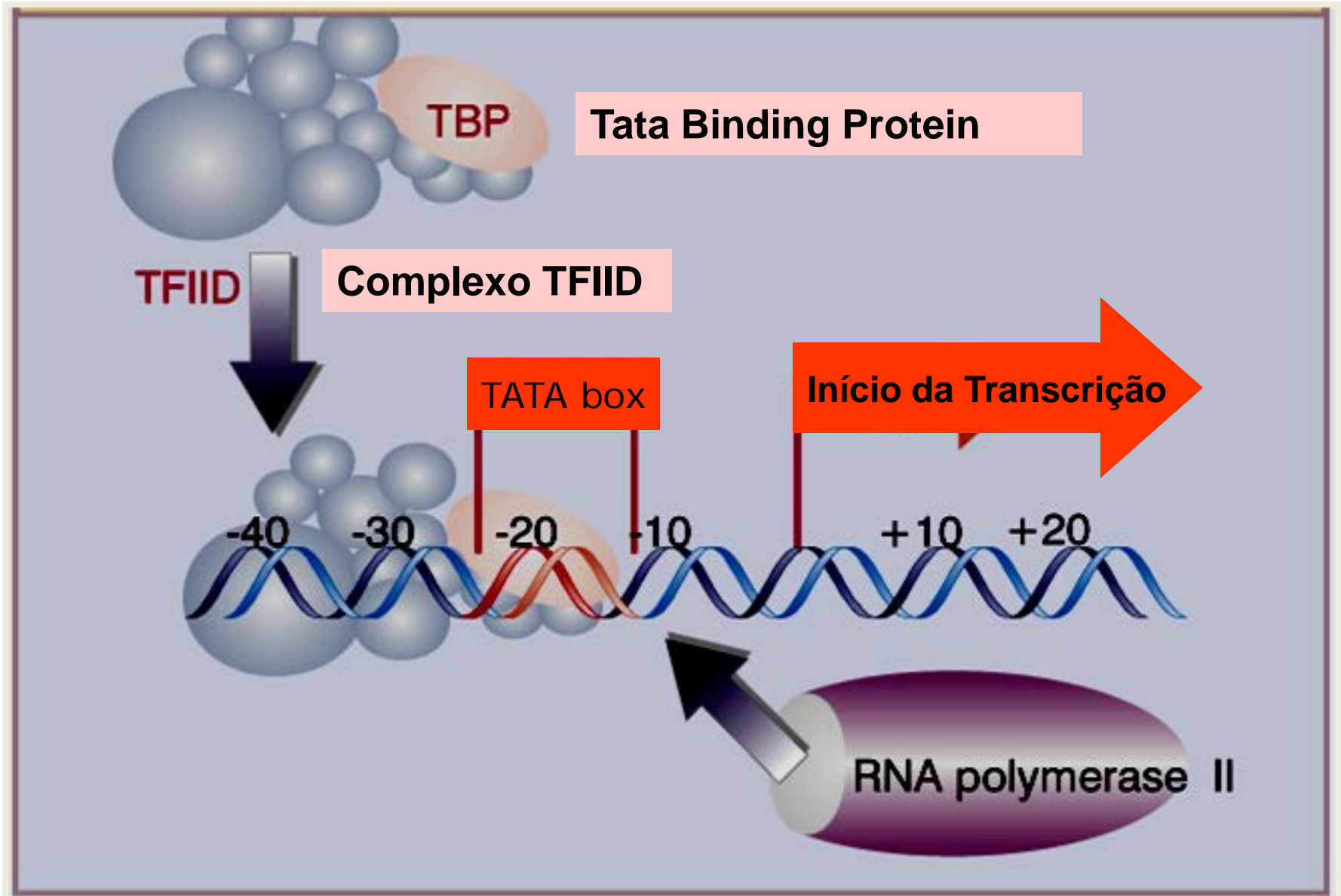
Permite obter várias diferentes proteínas a partir do mesmo gene

Existem aproximadamente cerca de **1 milhão** de diferentes proteínas no corpo humano apenas por causa de splice alternativo

# A transcrição envolve outras enzimas

- **Fatores de transcrição** (transcription factors, ou TFs)
- São enzimas que podem **ativar** ou **desativar** o processo de transcrição

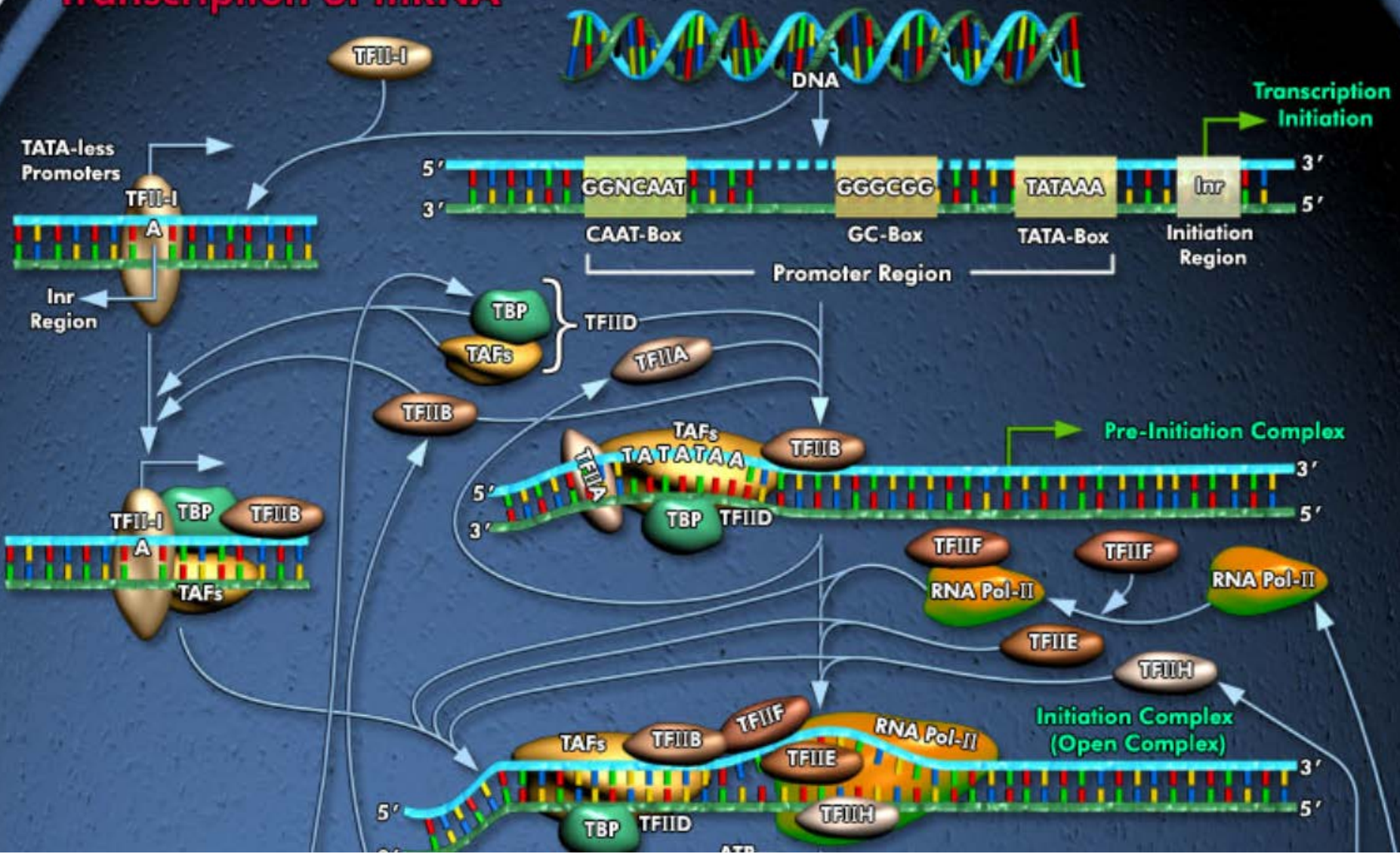
# Promotores de genes transcritos pela RNAPol II

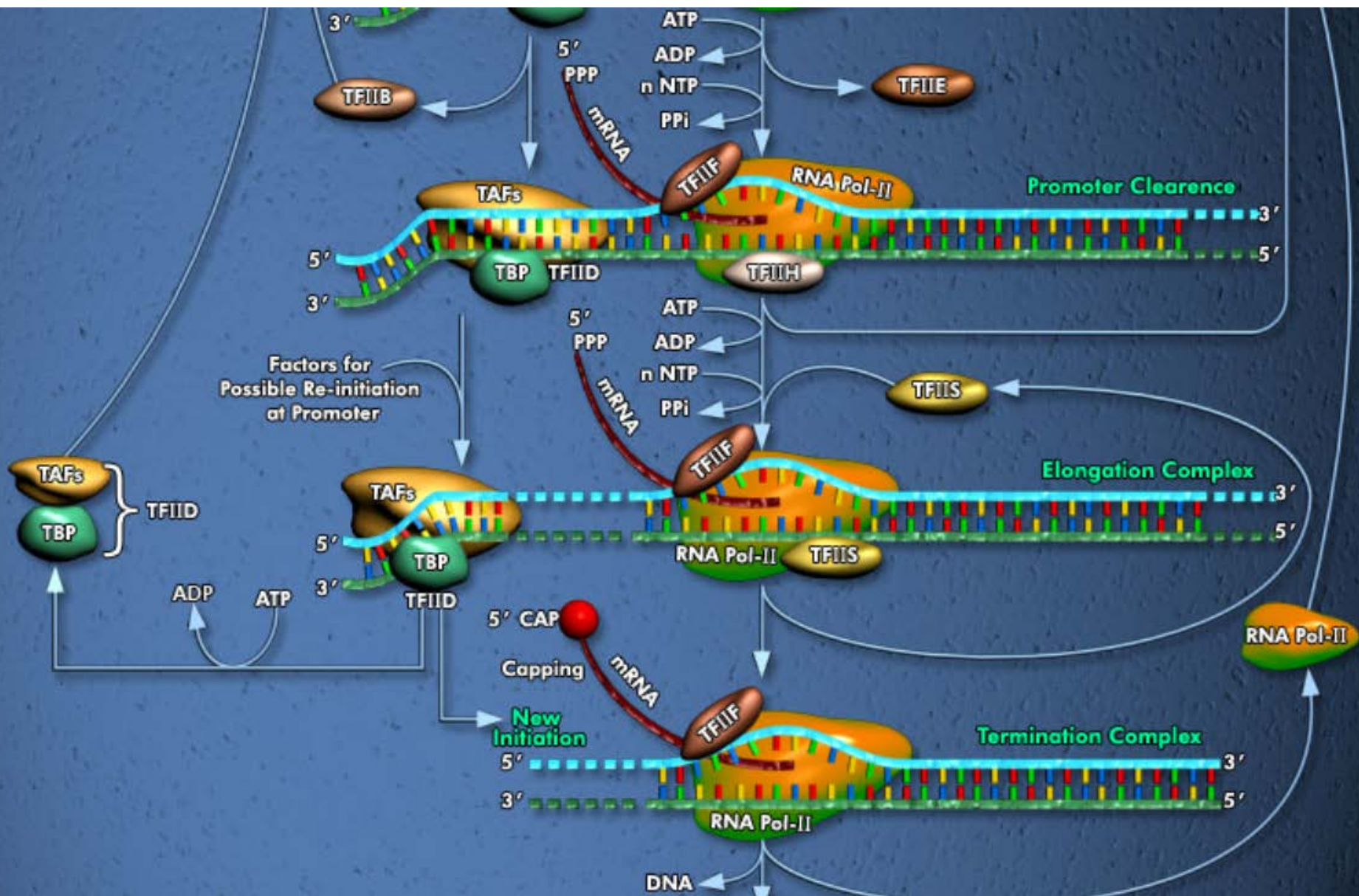




Um diagrama mostrando a complexidade do processo

# Transcription of mRNA



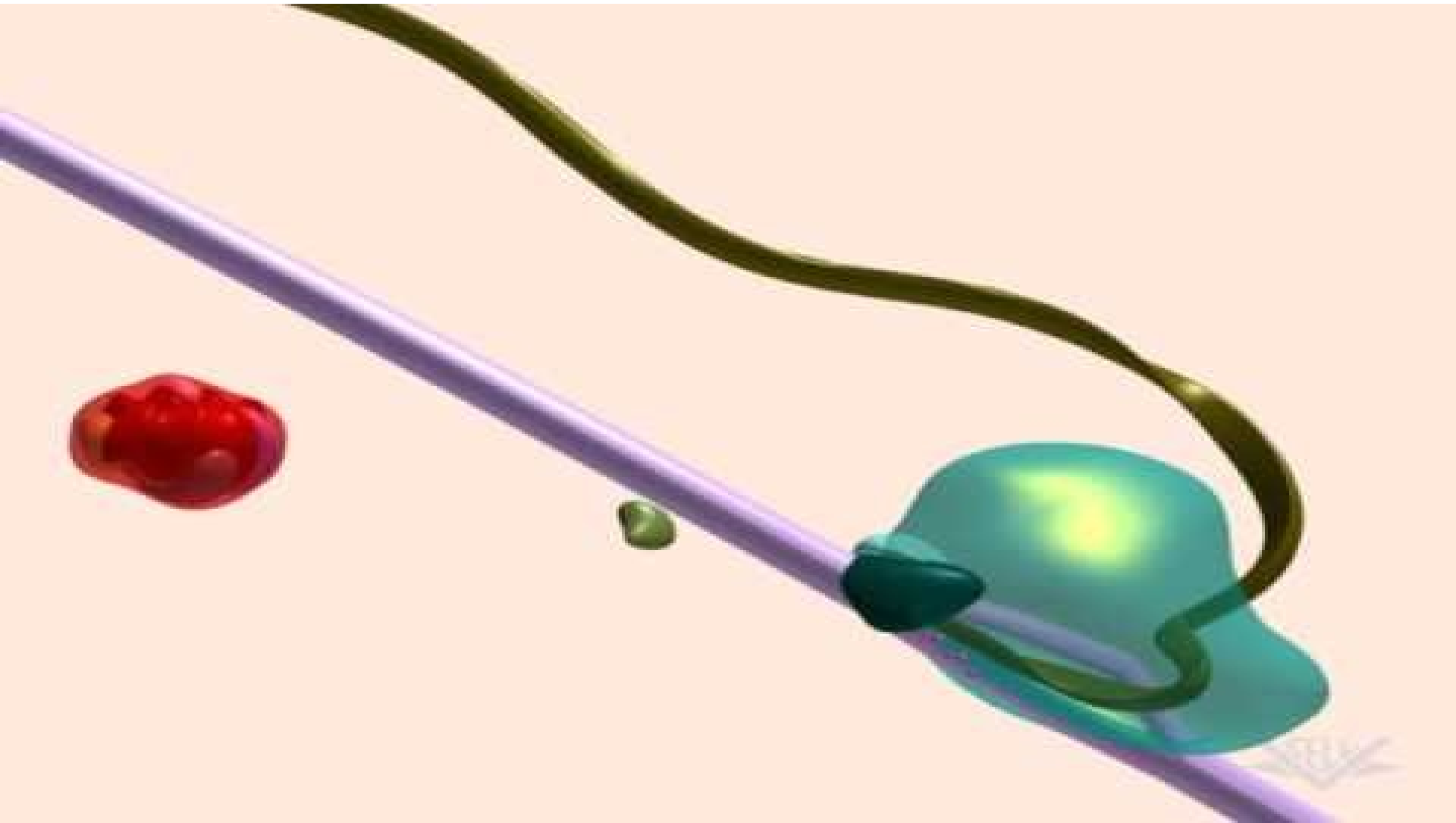


# Há vários tipos de RNA na célula

- RNA que serve de primer para replicação
- RNA mensageiro: mRNA
- RNA ribossomal: rRNA
- RNA transportador: tRNA
- Outros RNAs chamados de RNA não codificadores (ncRNA)

# Há 3 tipos de RNA polimerase

- RNA polimerase II é para mRNA
- RNA polimerase I é para rRNA
- RNA polimerase III é para tRNA



Assista agora a uma animação no YouTube sobre o processo de transcrição

<https://youtu.be/WsofH466lqk>

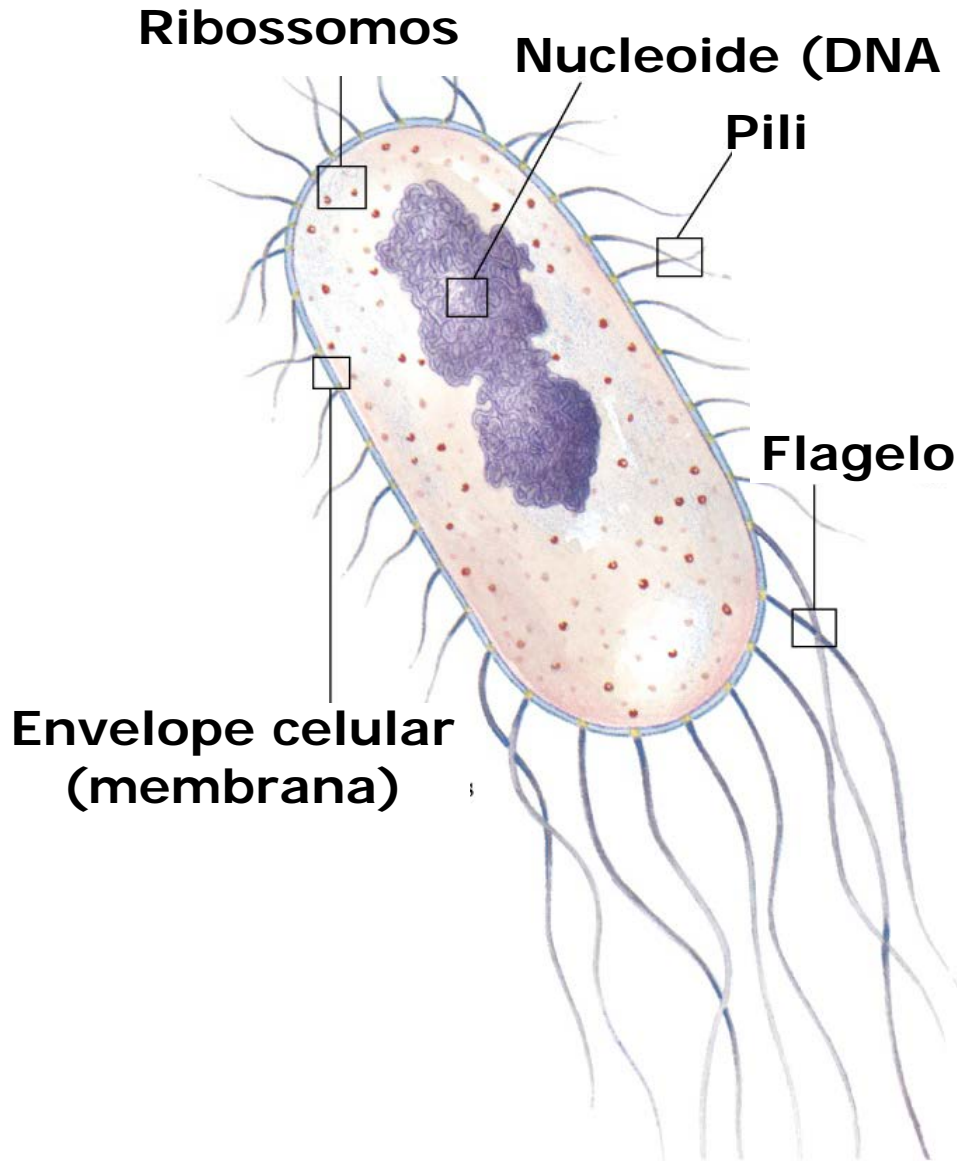
Procure identificar os elementos descritos nos slides anteriores nessa animação

# Tradução

- É o processo que leva do **mRNA** para a **proteína**
- É quando os codons são “**traduzidos**” em aminoácidos
- Ocorre no ribossomo



# Um célula bacteriana



**Não tem organelas (núcleo, mitocôndrias, etc)**

**Material genético compactado no nucleóide (não compartimentalizado)**

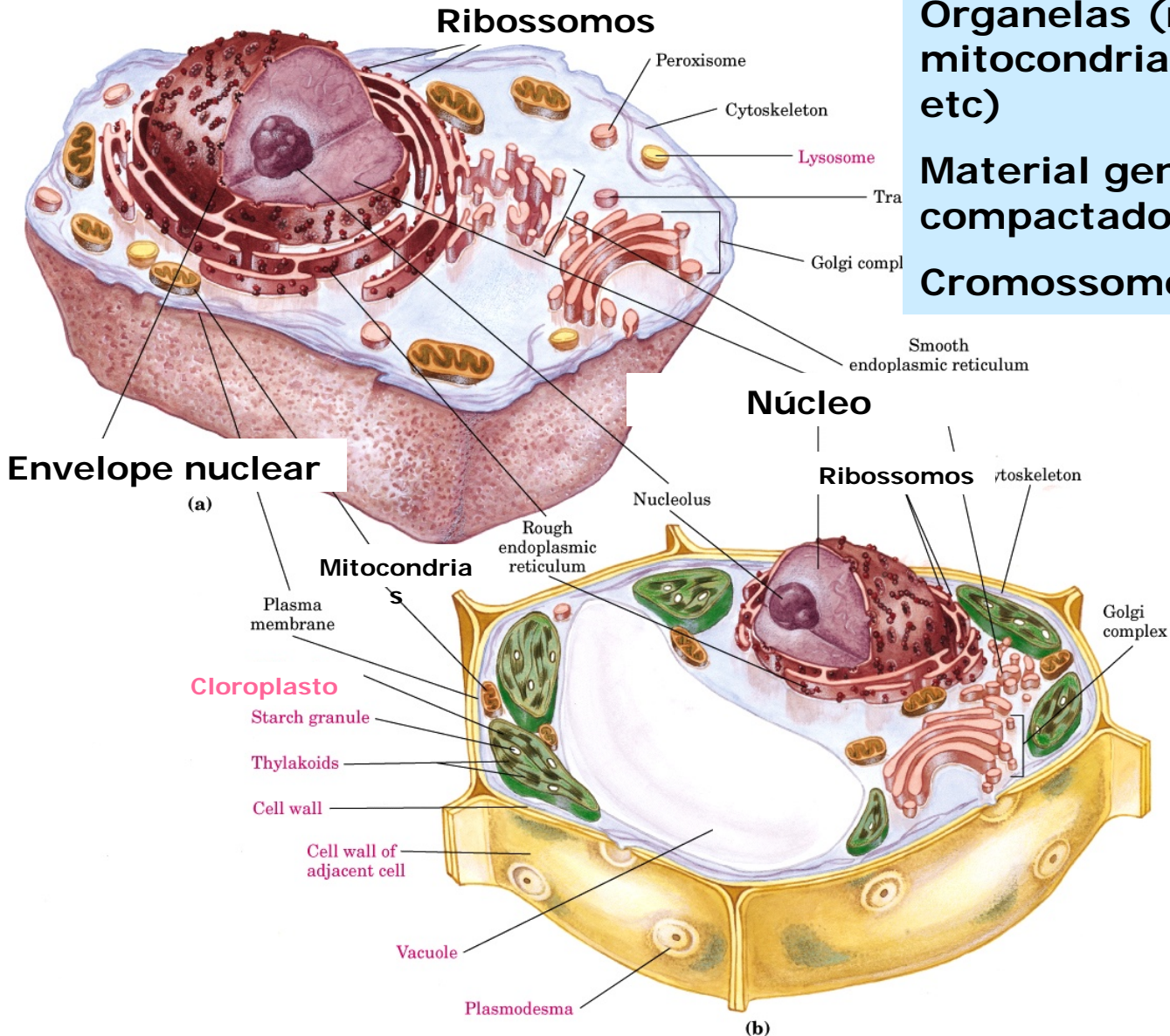
**Cromossomo único, circular fechado (na maioria das bactérias, ex: *Escherichia coli*)**

# Uma célula de eucarioto

Organelas (núcleo, mitocôndrias, cloroplastos, etc)

Material genético compactado no núcleo

Cromossomos lineares



# Proteínas ribossomais

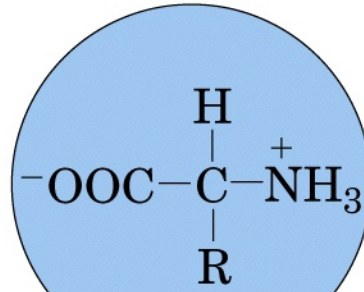
- Um ribossomo é constituído de
  - RNA ribossomal
  - proteínas ribossomais
- *E. coli* tem 54 diferentes proteínas ribossomais
- Eucariotos tem 79 diferentes proteínas ribossomais
- Elas são importantes na formação do ribossomo e no processo de tradução

# Pareamento entre códon e aminoácidos

- A célula tem que “saber” o código genético de alguma forma
- Que forma é essa?

“nadando” no citoplasma

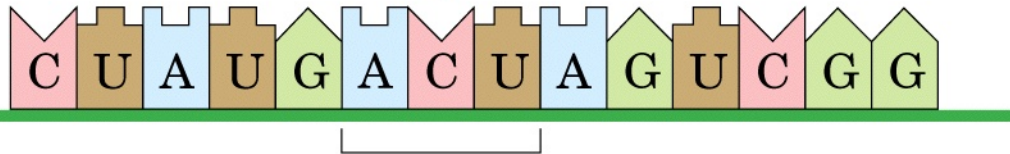
**Aminoácido**



**Sítio de ligação do Aminoácido**

**Molécula adaptadora**

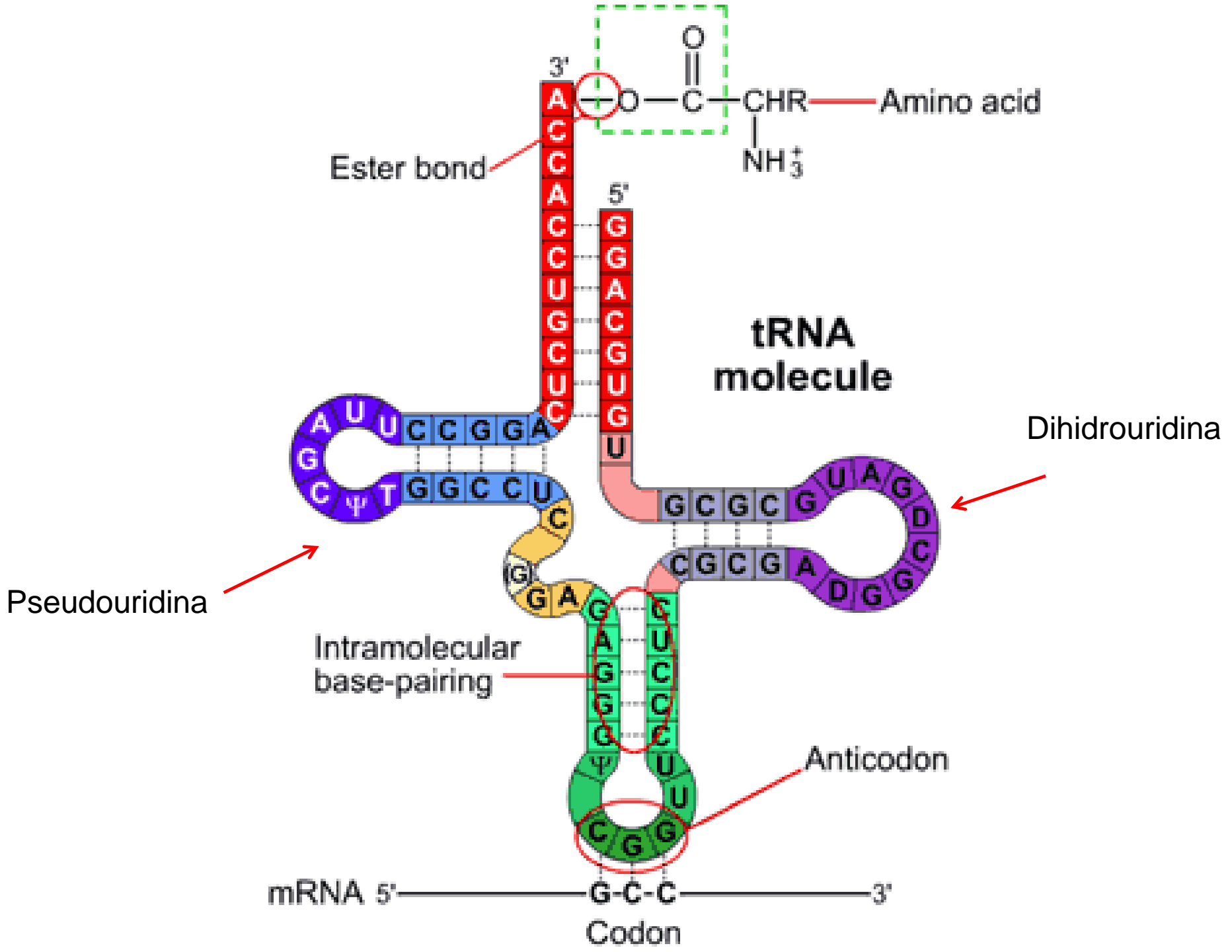
mRNA

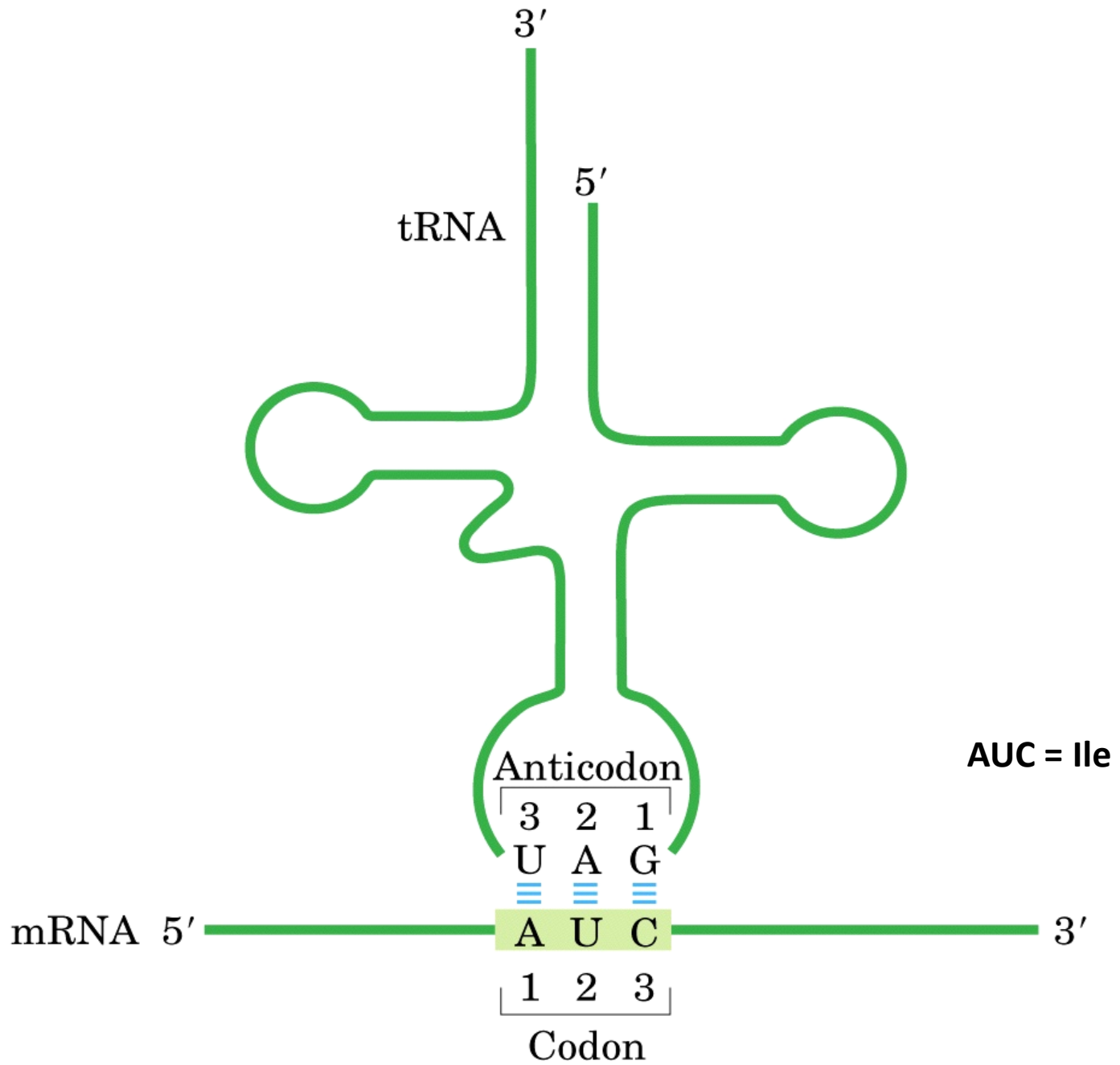


**Triplete de nucleotídeos  
codificando para um  
aminoácido**

# Molécula adaptadora

- RNA transportador (ou RNA de transferência)
- tRNA





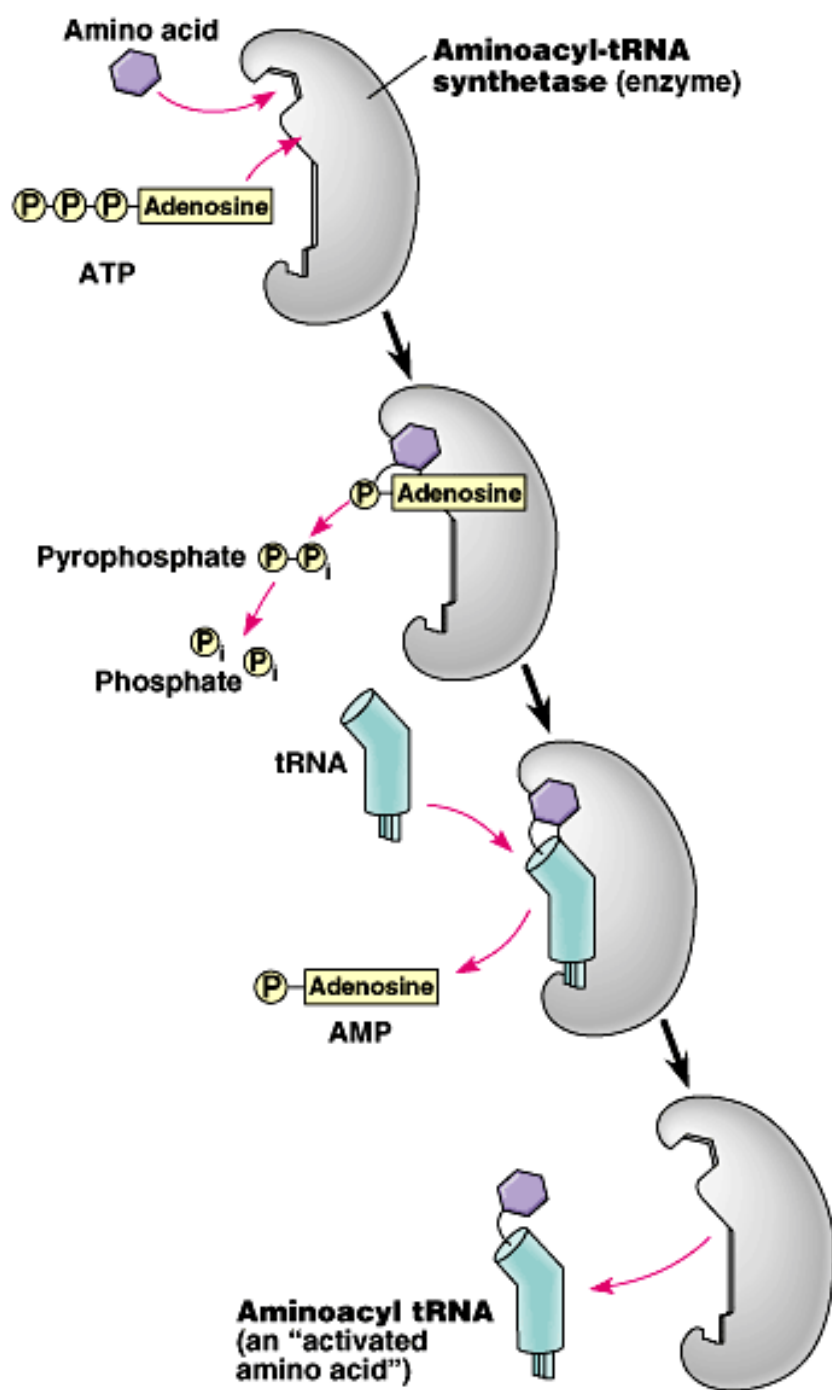


# Como a célula “sabe” o código genético

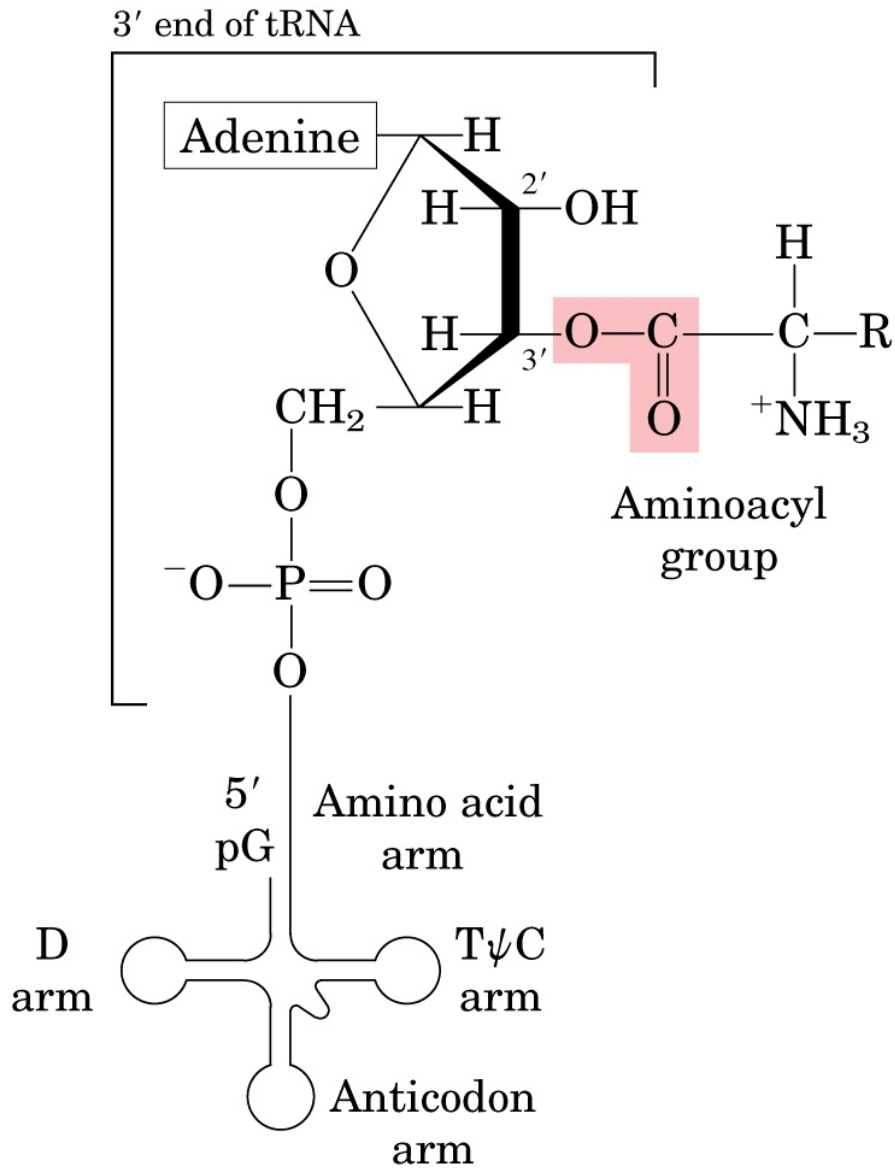
- aminoácidos precisam ser “ativados”
- Ativados = serem acoplados com o tRNA correto
- Teoricamente deveriam existir **61 diferentes** tRNAs
  - um para cada possível codon codificador
- A enzima que liga o aminoácido na ponta 3'-OH se chama **aminoacil tRNA sintetase** (aaRS)
- Existe uma aaRS específica para cada AA
  - Então existem **20 diferentes aaRSs**
- Então o conhecimento do **código genético** está encapsulado nessas moléculas e nos tRNAs

# aminoacil tRNA sintetases em *Azotobacter vinelandii*

"glycyl-tRNA synthetase subunit beta"  
"glycyl-tRNA synthetase subunit alpha"  
leucyl-tRNA synthetase"  
valyl-tRNA synthetase"  
isoleucyl-tRNA synthetase"  
tryptophanyl-tRNA synthetase"  
methionyl-tRNA synthetase"  
glutamyl-tRNA synthetase"  
threonyl-tRNA synthetase"  
phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha"  
phenylalanyl-tRNA synthetase subunit beta"  
glutaminyl-tRNA synthetase"  
cysteinyl-tRNA synthetase"  
"seryl-tRNA synthetase"  
"alanyl-tRNA synthetase"  
"aspartyl-tRNA synthetase"  
"prolyl-tRNA synthetase"  
"lysyl-tRNA synthetase"  
"histidyl-tRNA synthetase"  
"arginyl-tRNA synthetase"  
"tyrosyl-tRNA synthetase"



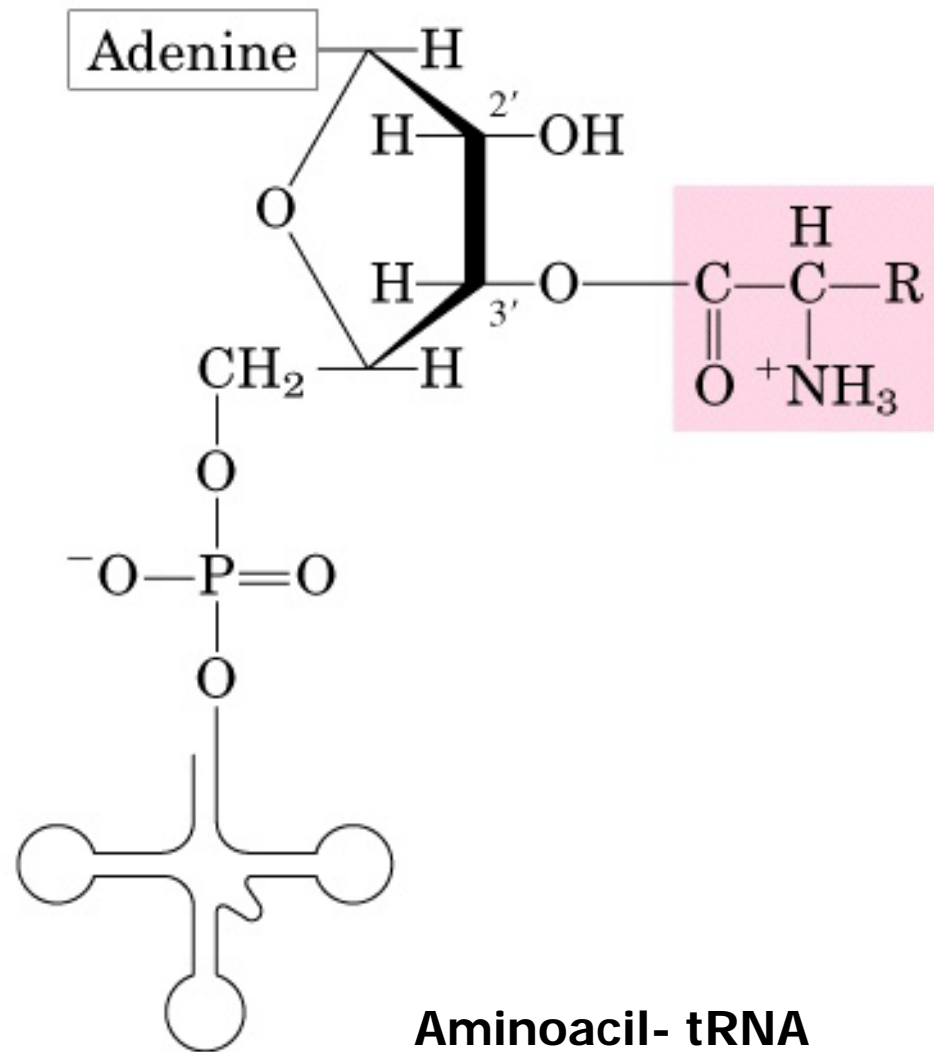
# 1. Ativação do aminoácido

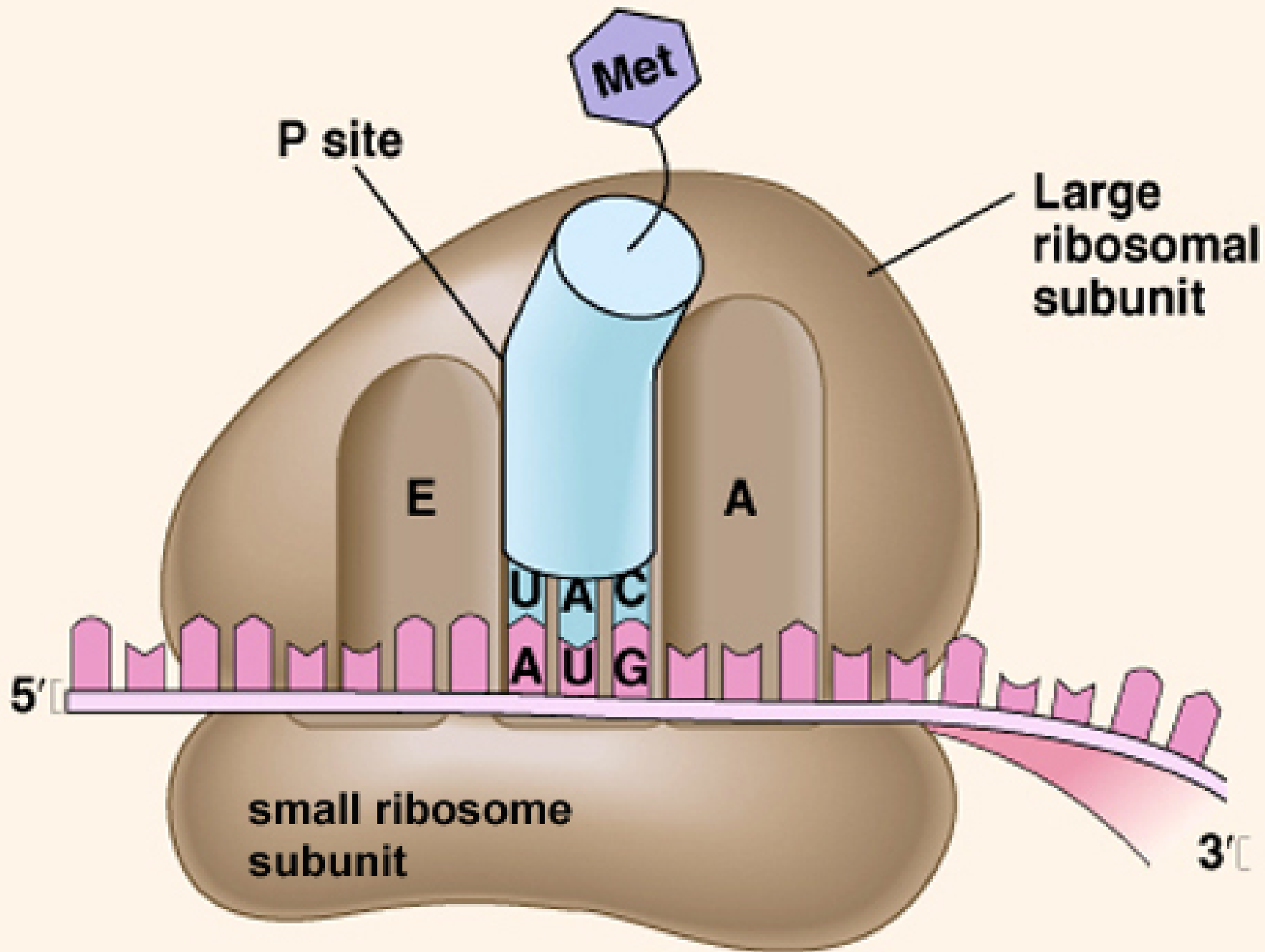


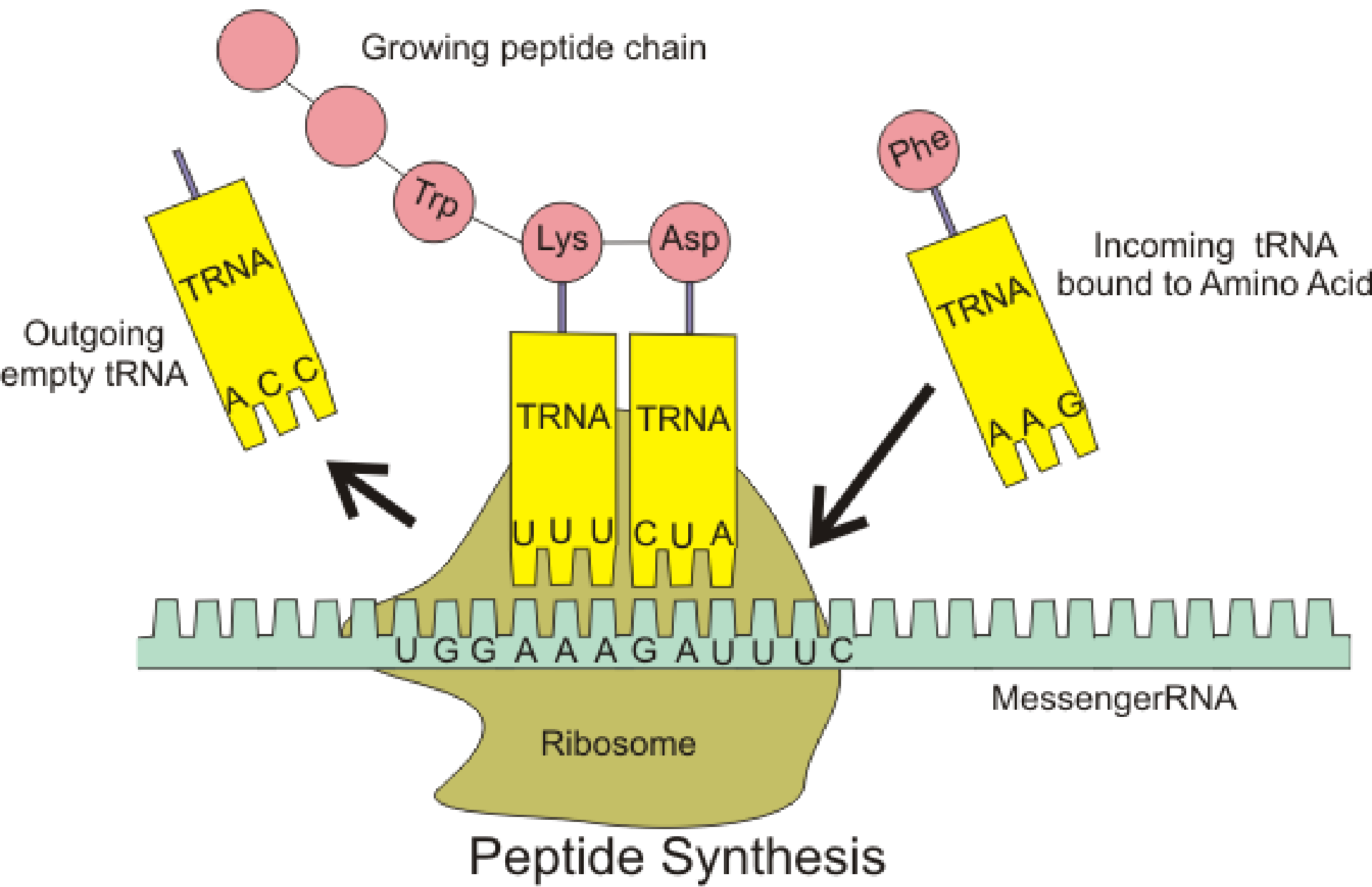
Ligação do aminoácido ao tRNA

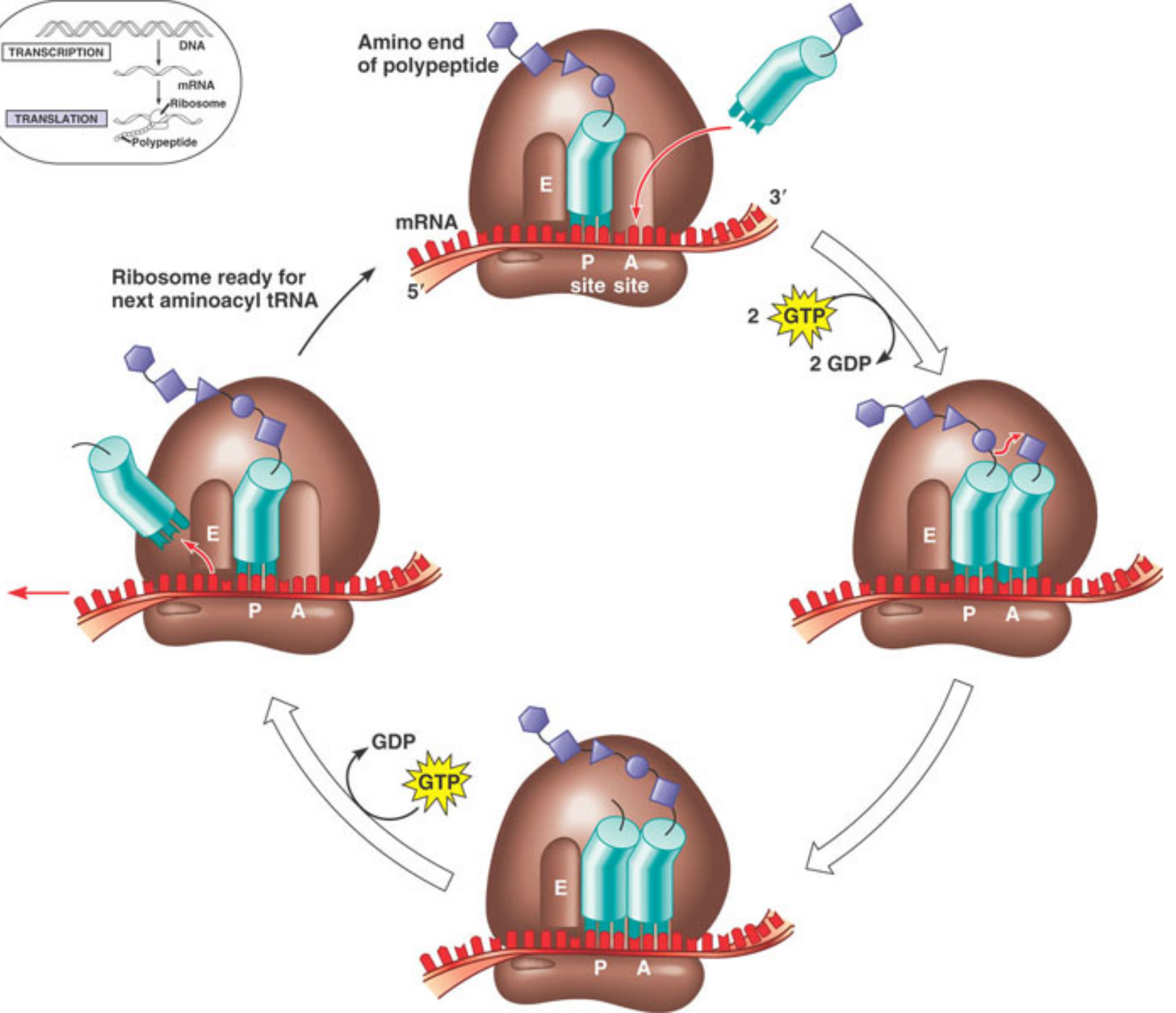
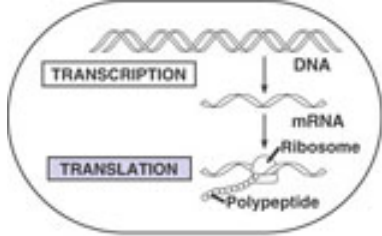


Aminoacyl t-RNA



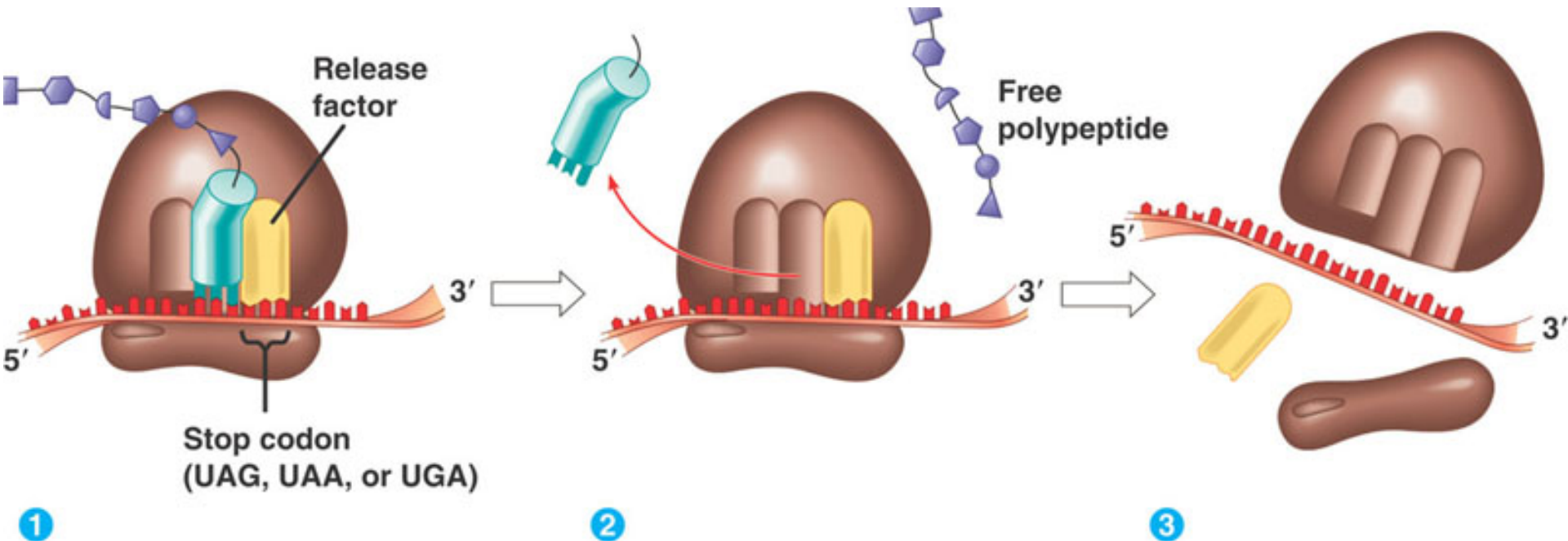


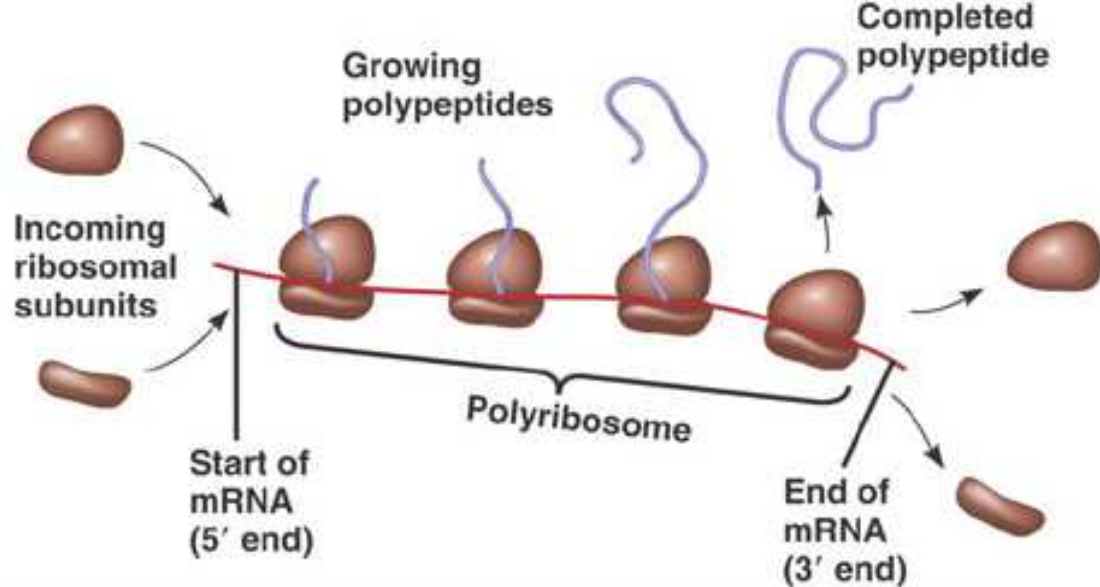




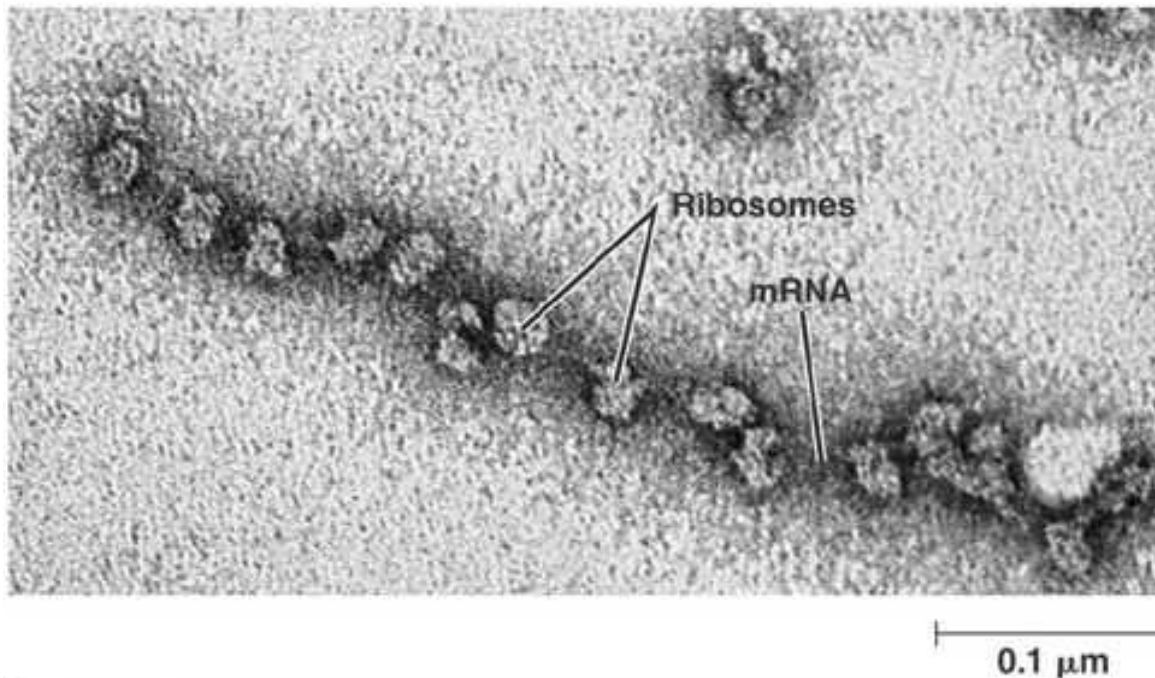


# Terminação de tradução



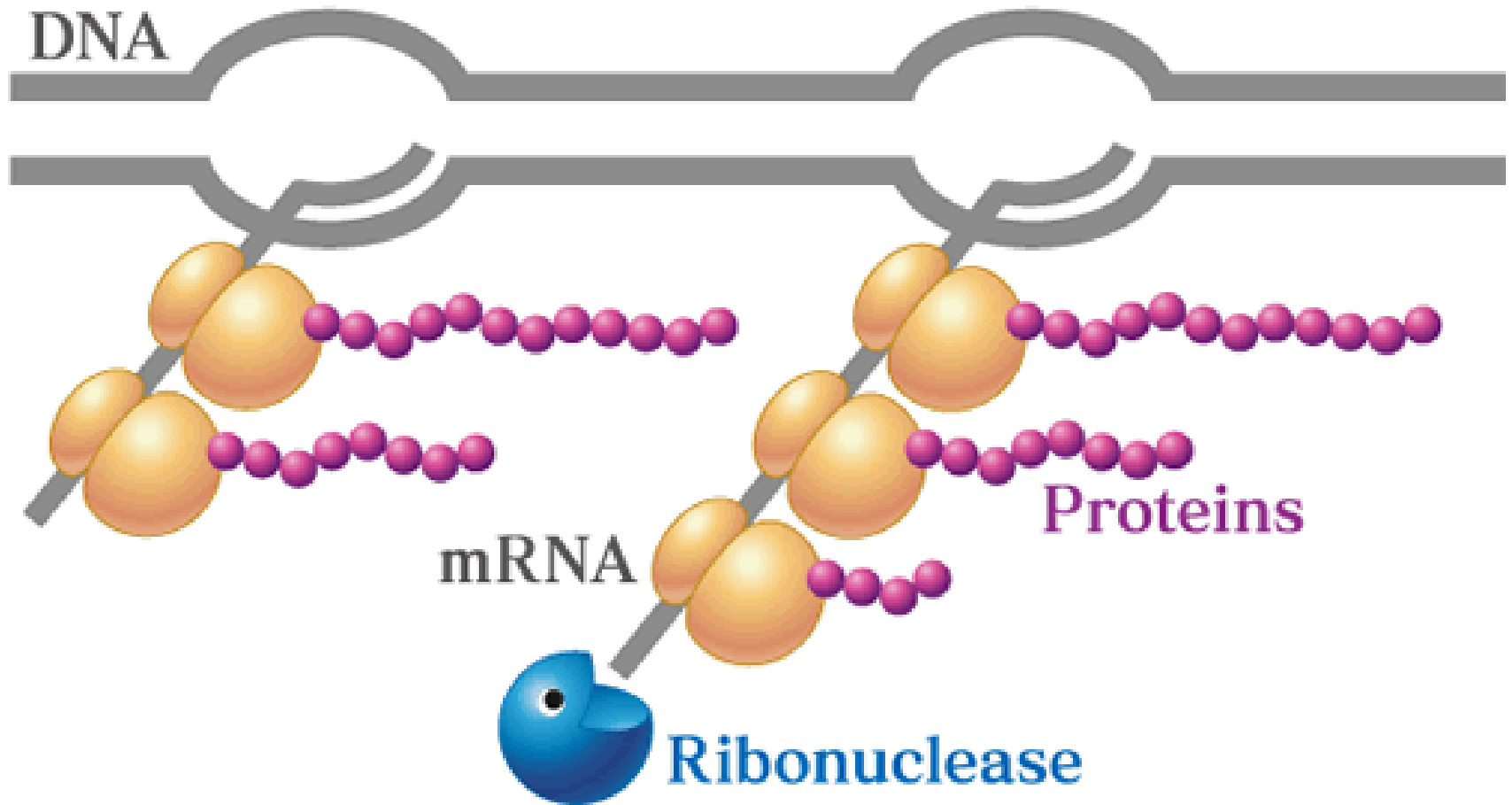


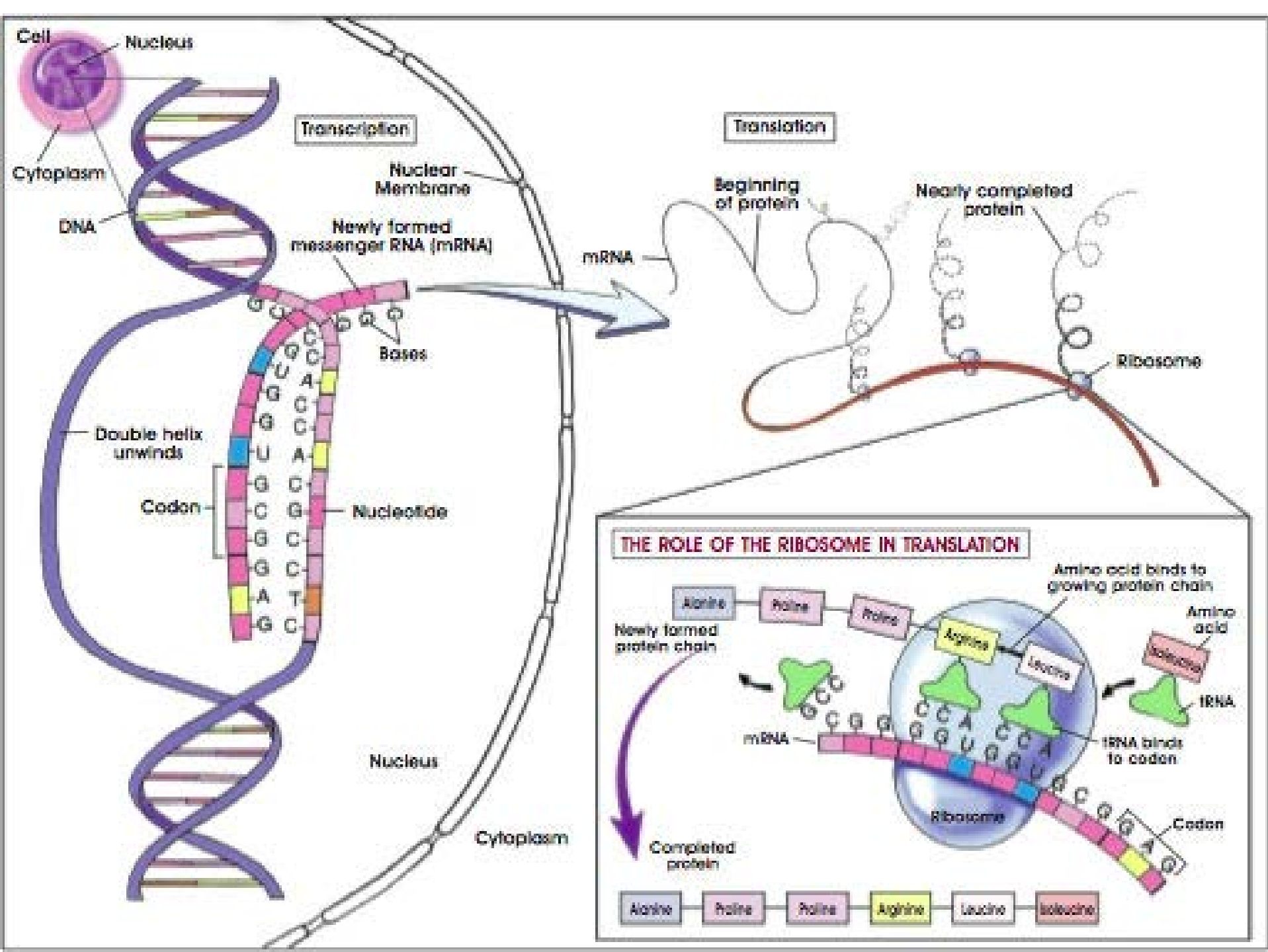
(a) An mRNA molecule is generally translated simultaneously by several ribosomes in clusters called polyribosomes.



(b) This micrograph shows a large polyribosome in a prokaryotic cell (TEM).

# Prokaryote







Assista agora a uma animação no YouTube sobre o processo de tradução ou síntese proteica

<https://youtu.be/NJxobgkPEAo>

Procure identificar os elementos descritos nos slides anteriores nessa animação

# Base wobble de tRNAs

- **Somente as 2 primeiras bases** no anticodon do tRNA são estritamente necessárias para o pareamento de um codon com um AA
- A terceira base se chama de “wobble”
- Por isso **não são** necessários 61 diferentes tRNAs; em geral 45 tRNAs **distintos** são suficientes (mas pode haver duplicação de genes de tRNAs)

# Pareamentos possíveis de anticodon e codon

Base 5' no anticodon	Base 3' no codon
G	U ou C
C	G
A	U
U	A ou G
I	A, U, ou C

**Base Inosina:** é capaz de se ligar com U, C, A

Anticodon CCI serve para GGA, GGC, GGU (glicina)



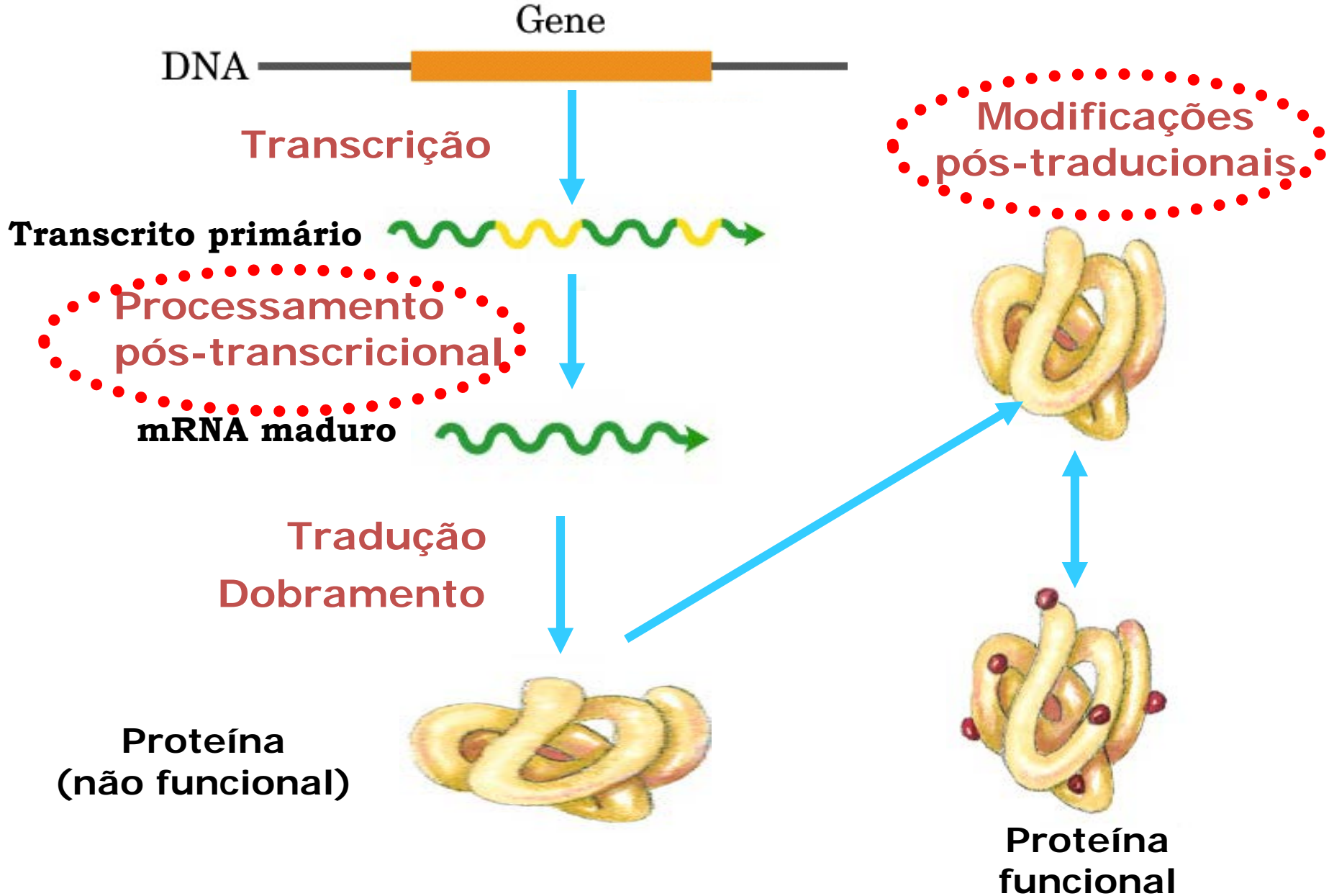
# Exercício

- Com base na tabela anterior e na tabela do código genético, calcule o número exato e mínimo de tRNAs necessários

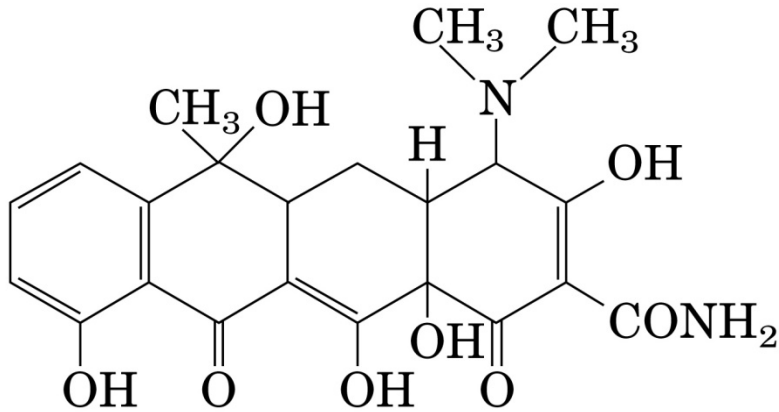
# *Escherichia coli*

- Tem 86 **genes** de tRNA
- Portanto muitos desses genes são redundantes (duplicados, triplicados, etc)
- Por quê?
  - Eficiência de tradução
  - Preferência de codons, uma propriedade que é específica de cada organismo

# Síntese e Processamento de Proteínas



# Inibição da síntese proteica por antibióticos



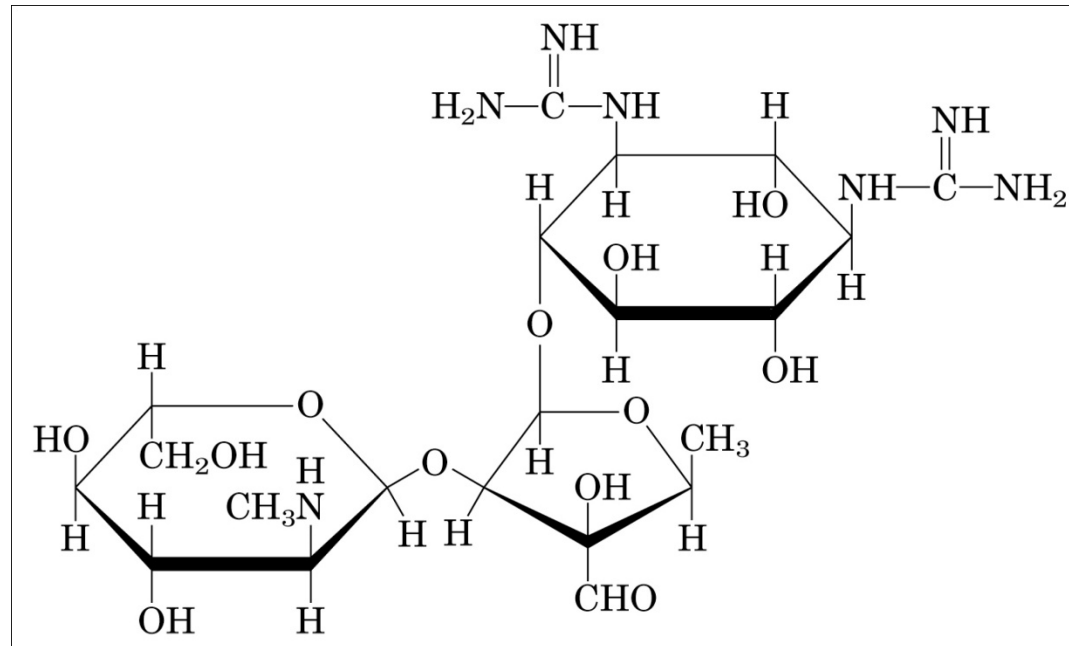
## Tetraciclina

**Bloqueia o sítio A do ribossomo bacteriano e inibe associação do aminoacil-tRNA**

Ribossomos de procaríotos são diferentes de ribossomos de eucariotos

## Estreptomicina

**Causa leitura incorreta dos códons e inibe iniciação de tradução**



# Para pensar

- Onde está a informação que permite a célula criar um ribossomo?
- Onde está a informação para criar um tRNA?
- Explique como a célula sintetiza uma aminoacil tRNA sintetase?

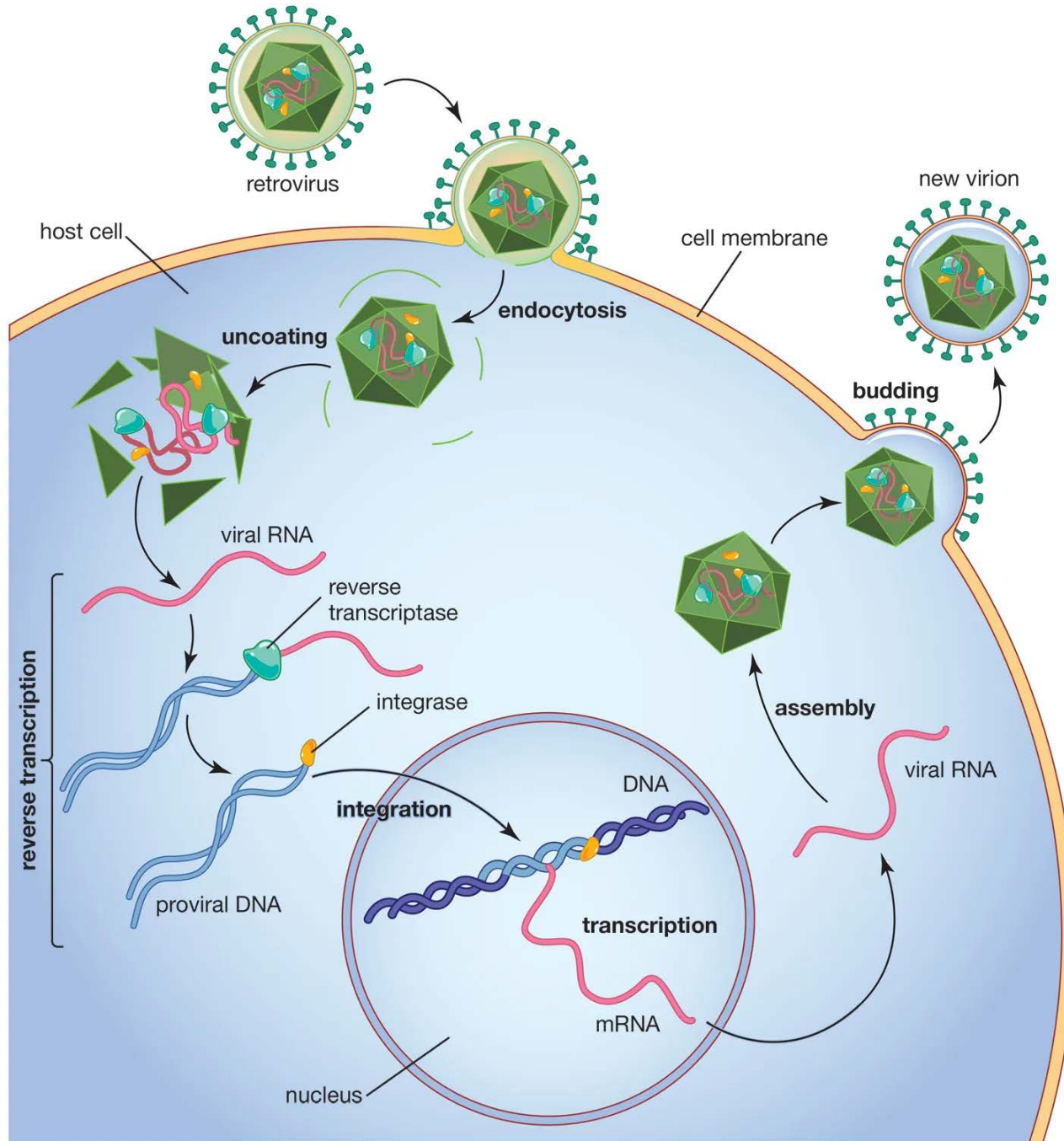
# Quantas moléculas existem numa célula?

- Uma célula de *Escherichia coli* tem aproximadamente
  - 3 milhões de proteínas (55% de sua “massa seca”)
  - 300 mil moléculas de RNA, a maior parte sendo tRNAs, mas em massa a maior parte sendo RNA ribossomal (20% da massa seca)
  - 15%: moléculas da membrana celular
  - 10%: demais moléculas, incluindo DNA
- Compare com a estimativa do número de proteínas numa célula de levedura (1a aula):
  - 42 milhões
  - levedura é um eucarioto (*E. coli* é uma bactéria)

# Transcrição reversa

- É o processo que leva mRNA para DNA
- Mecanismo usado por vírus para se integrarem ao genoma do hospedeiro
- e dessa forma usarem a maquinaria de replicação de DNA do hospedeiro para se multiplicarem
- Ocorre graças a uma enzima chamada **Transcriptase reversa**

# Retrovirus infection and reverse transcription





# Transcrição reversa é um processo complexo

1. [Lysyl tRNA](#) acts as a primer and hybridizes to a complementary part of the virus RNA genome called the primer binding site or PBS.
2. Reverse transcriptase then adds DNA nucleotides onto the 3' end of the primer, synthesizing [DNA complementary](#) to the U5 (non-coding region) and R region (a direct repeat found at both ends of the RNA molecule) of the viral RNA.
3. A domain on the reverse transcriptase enzyme called [RNase H](#) degrades the U5 and R regions on the 5' end of the RNA.
4. The tRNA primer then "jumps" to the 3' end of the viral genome, and the newly synthesised DNA strands hybridizes to the complementary R region on the RNA.
5. The complementary DNA (cDNA) added in (2) is further extended.
6. The majority of viral RNA is degraded by RNase H, leaving only the PP sequence.
7. Synthesis of the second DNA strand begins, using the remaining PP fragment of viral RNA as a primer.
8. The tRNA primer leaves and a "jump" happens. The PBS from the second strand hybridizes with the complementary PBS on the first strand.
9. Both strands are extended to form a complete double-stranded DNA copy of the original viral RNA genome, which can then be incorporated into the host's genome by the enzyme [integrase](#).

# Transcriptase reversa é usada no teste de Coronavírus

- SARS-CoV-2 é um vírus de **RNA**
- Para que PCR possa ser feito, seu genoma precisa primeiro ser transformado em **cDNA**
- Mas SARS-CoV-2 não é um retrovírus!
- HIV é um retrovírus

# Histórico

- Howard Temin (University of Wisconsin) e David Baltimore (MIT) de forma independente descobriram enzimas associadas com replicação de vírus de RNA, chamados de **retrovirus**
- Estas enzimas convertem o RNA do vírus em DNA complementar (cDNA), que consegue se integrar no genoma do hospedeiro
- Estas enzimas são RNA-dependent DNA polymerases e são chamadas de **transcriptases reversas**
- Em 1975, Temin e Baltimore ganharam o prêmio Nobel por essa descoberta

# vacinas de mRNA contra coronavirus

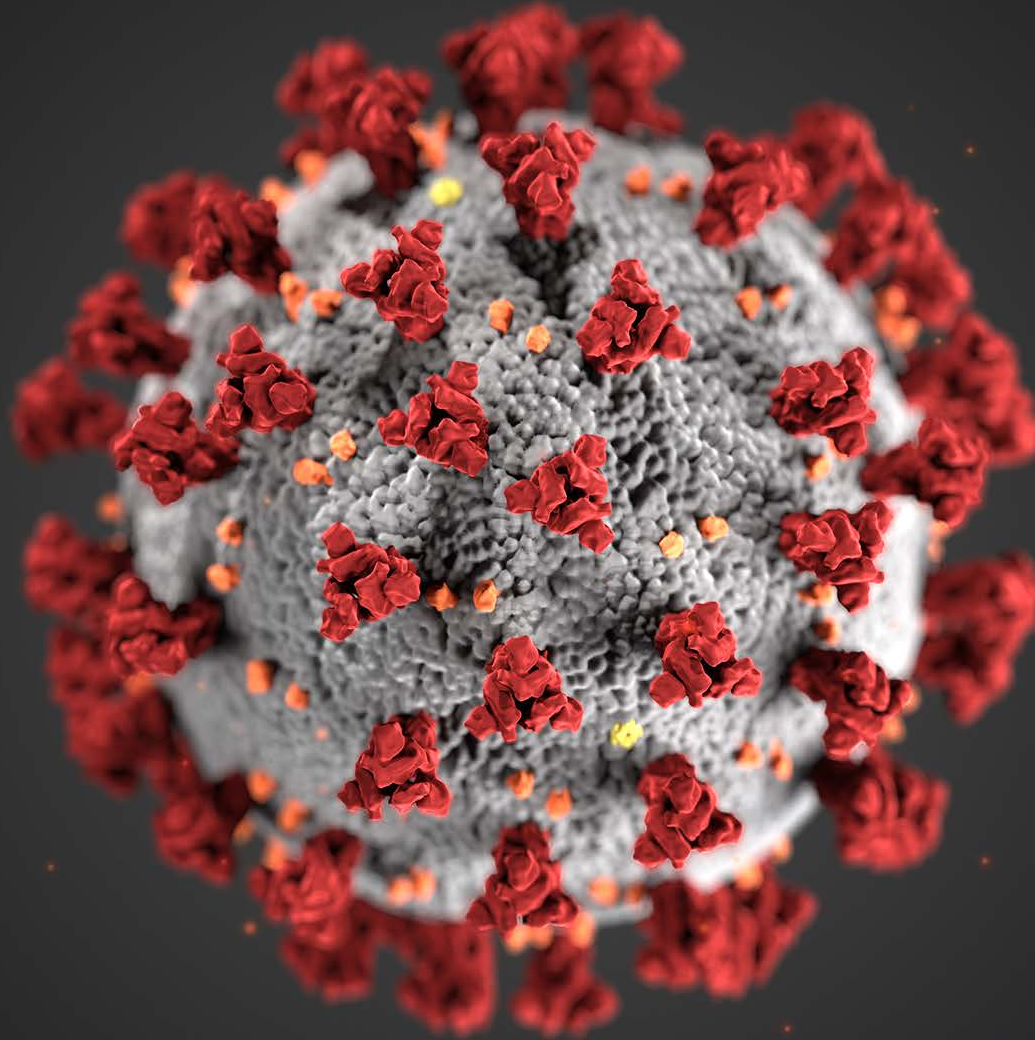
- empresas que desenvolveram este tipo de vacina
  - Pfizer / BioNTech
  - Moderna
- O entendimento completo de como funcionam essas vacinas depende de
  - biologia molecular
  - imunologia

# Katalin Karikó and Drew Weissman

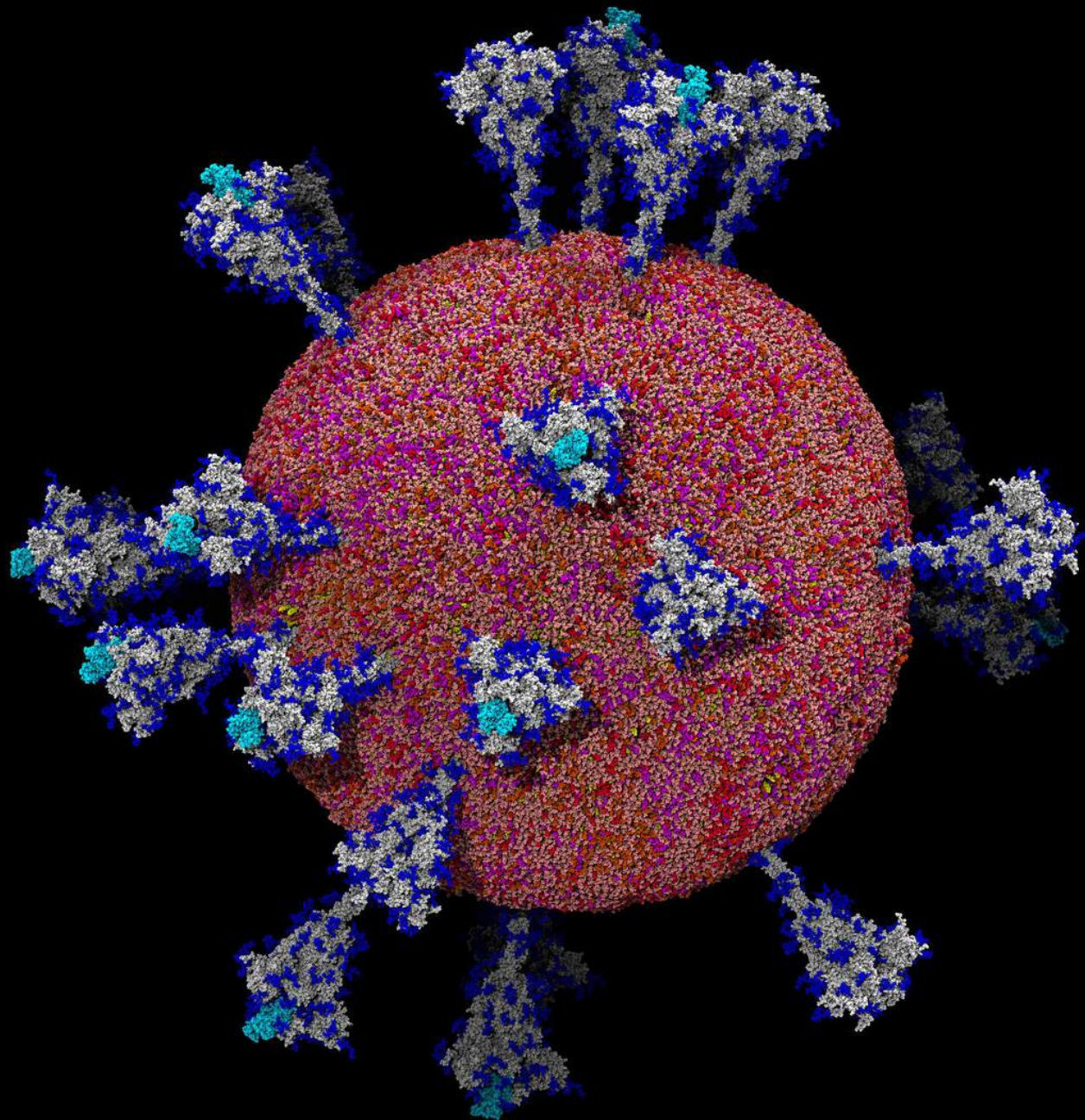
<https://www.penmedicine.org/mrna>

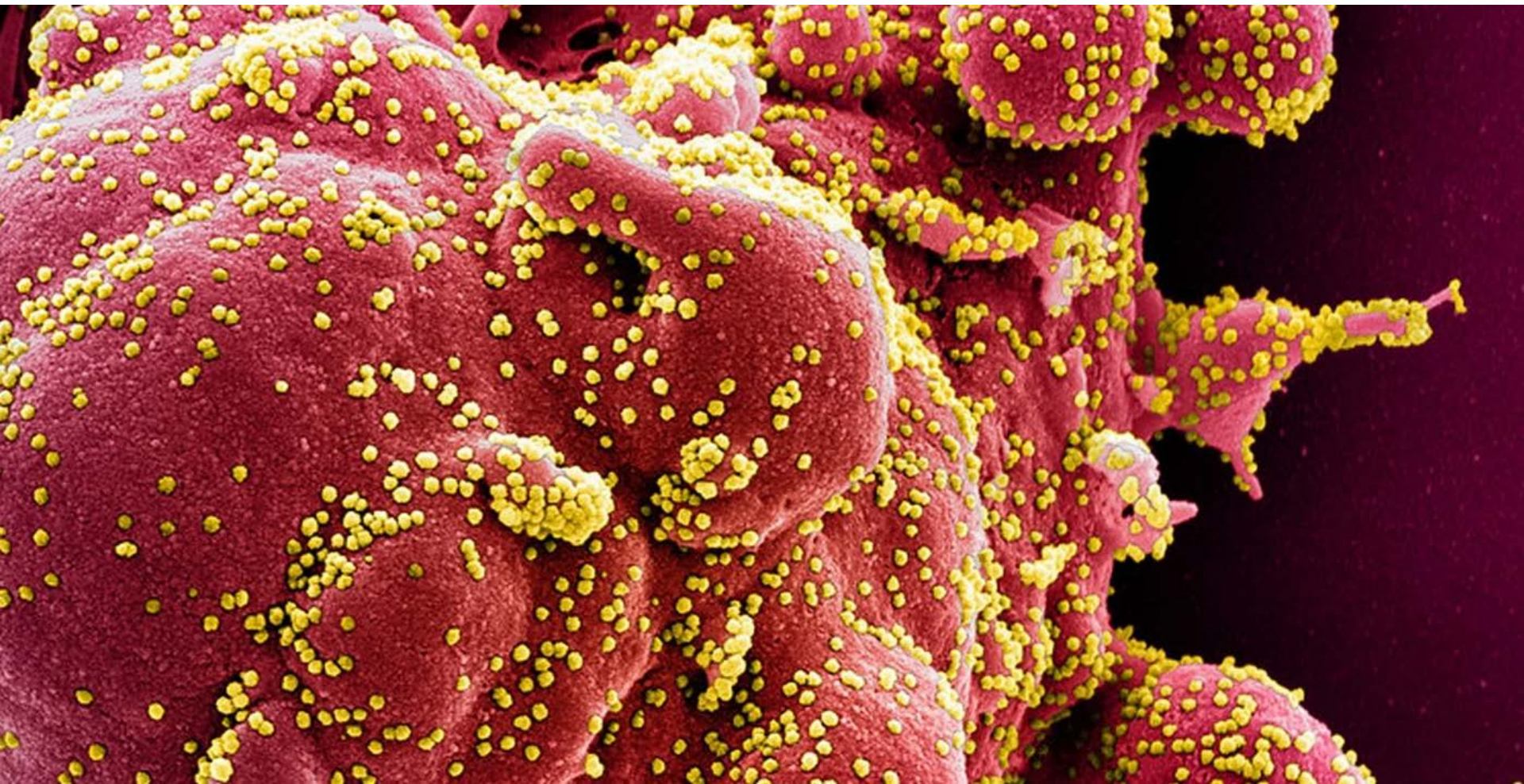


**2023 NOBEL PRIZE**  
IN PHYSIOLOGY OR MEDICINE



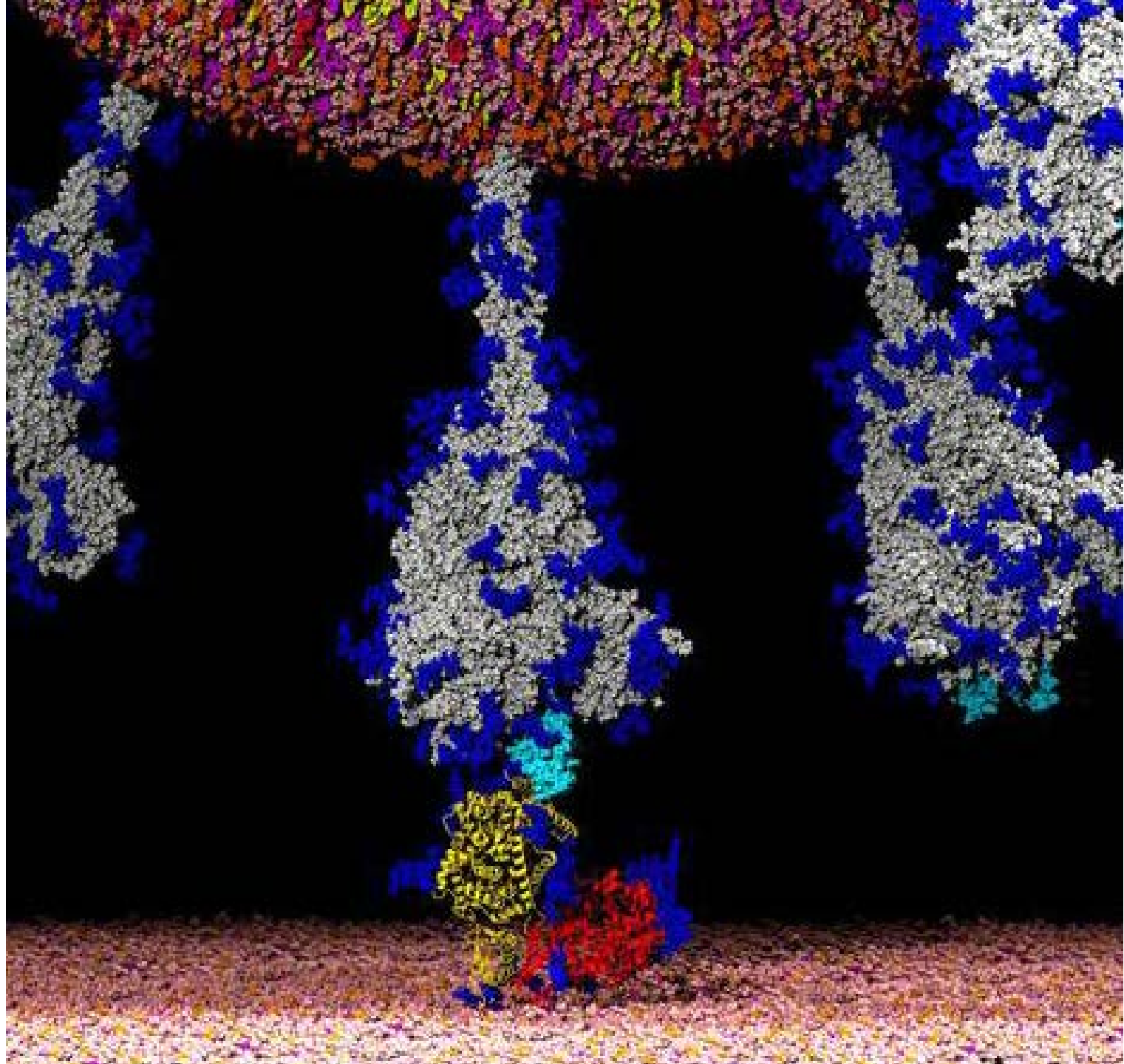
Alissa Eckert, Dan Higgins/CDC



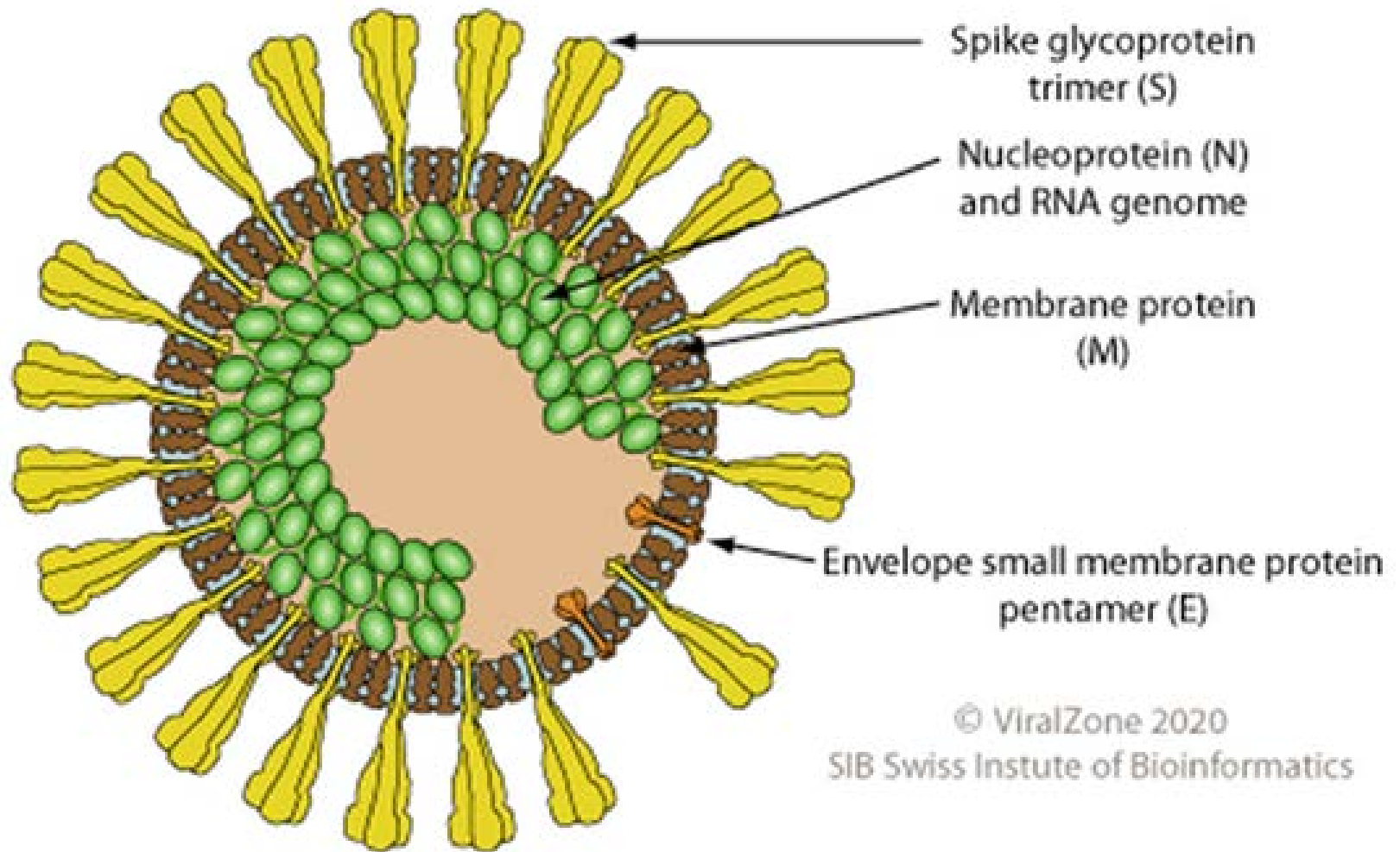


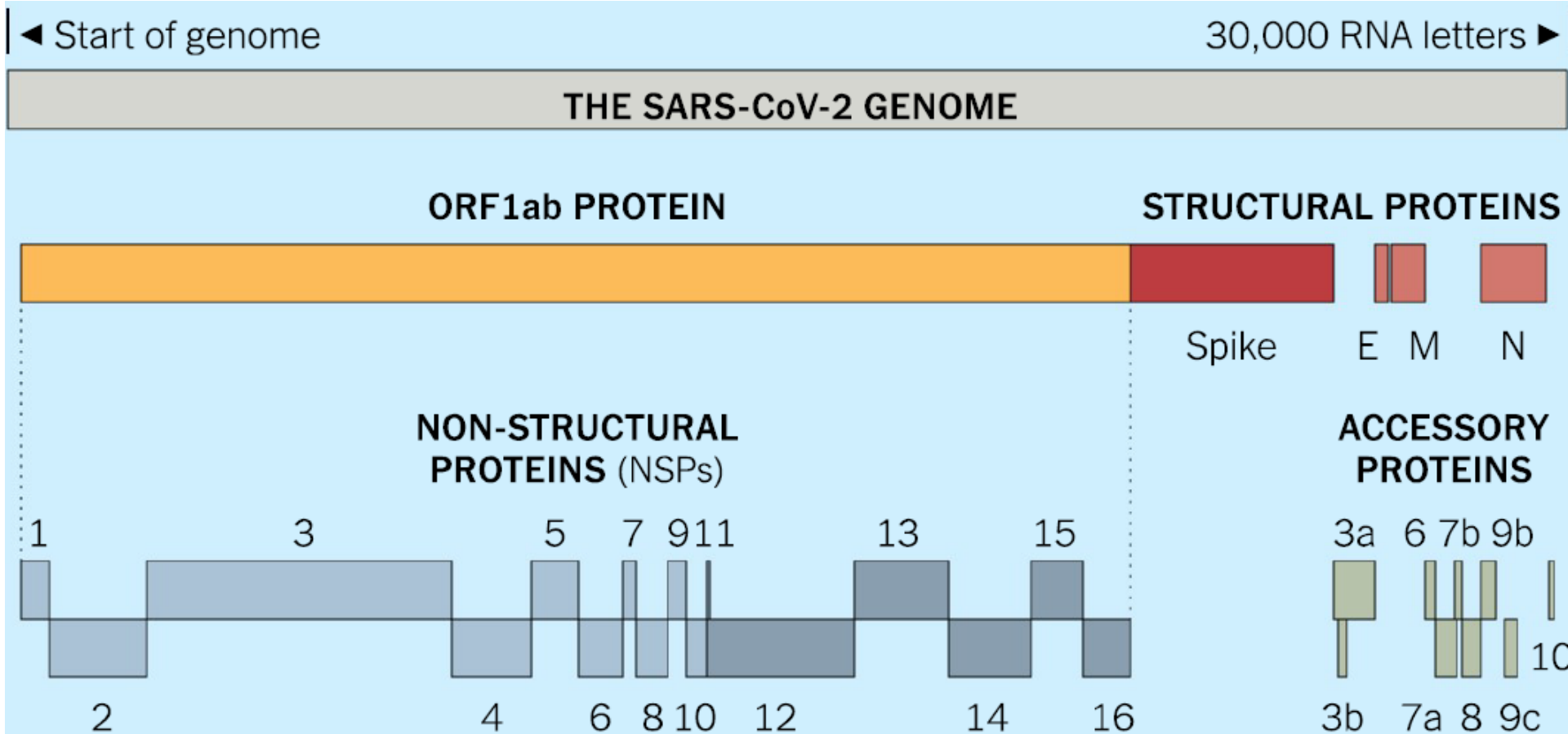
National Institutes of Health/EPA, via Shutterstock



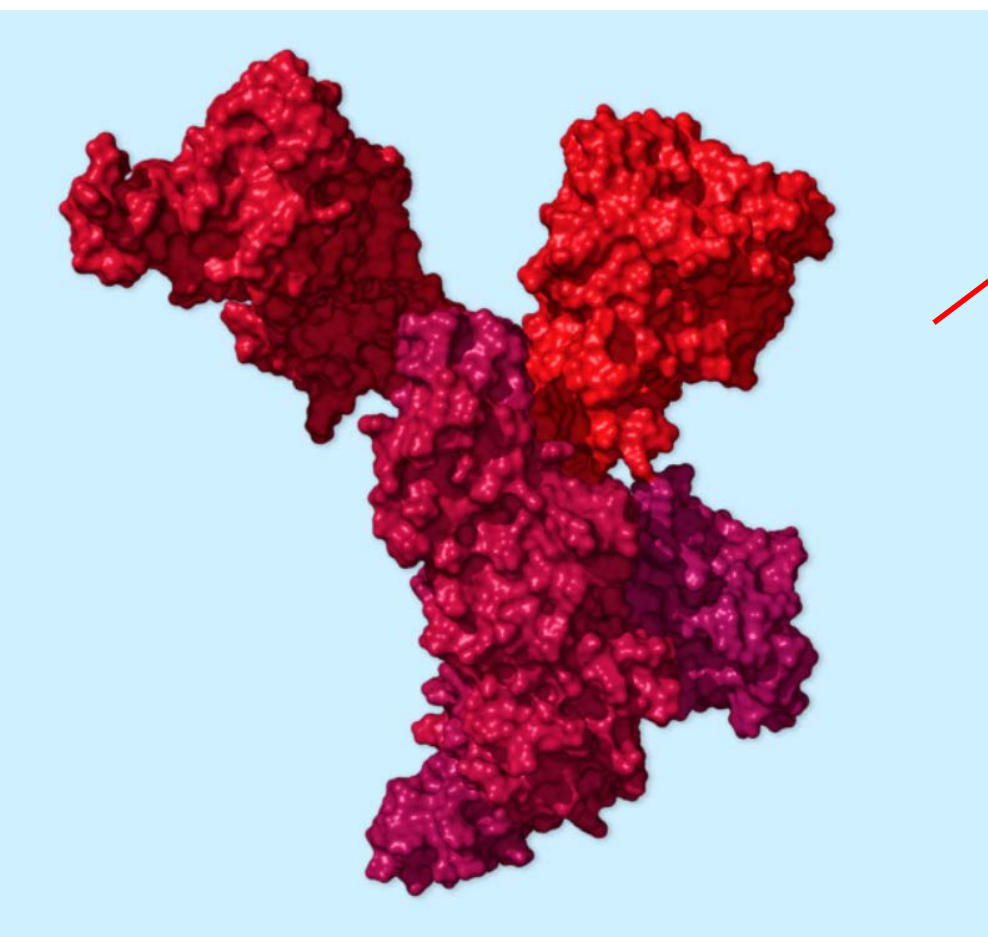
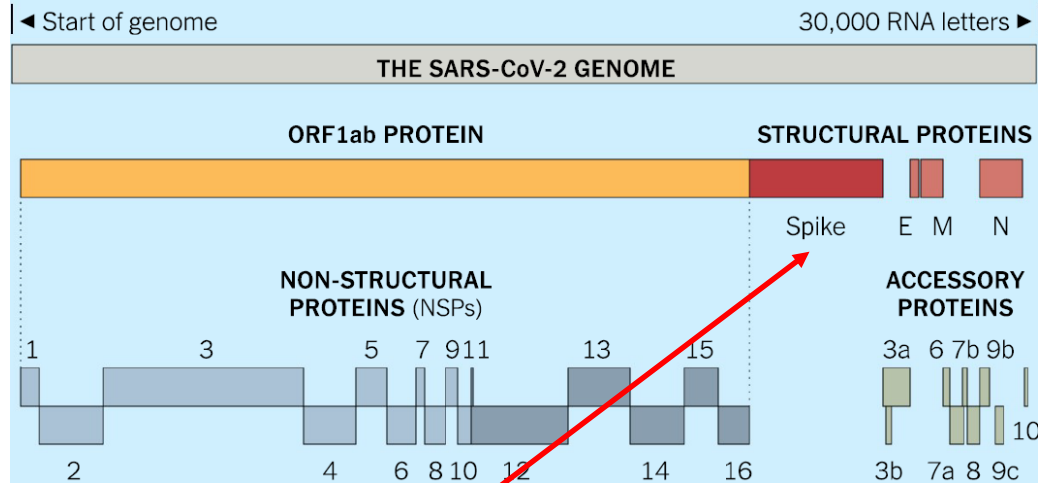


# SARS coronavirus

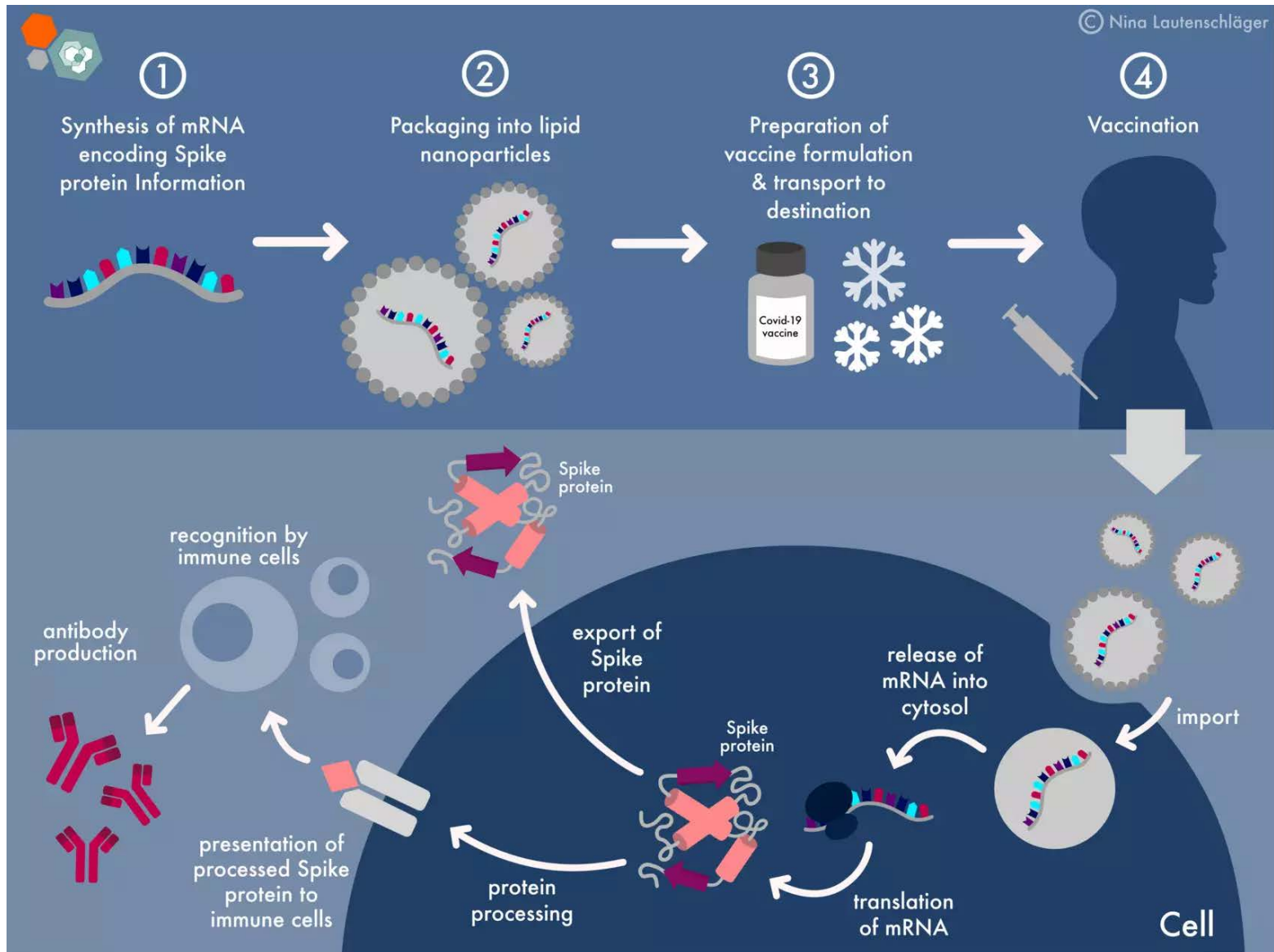


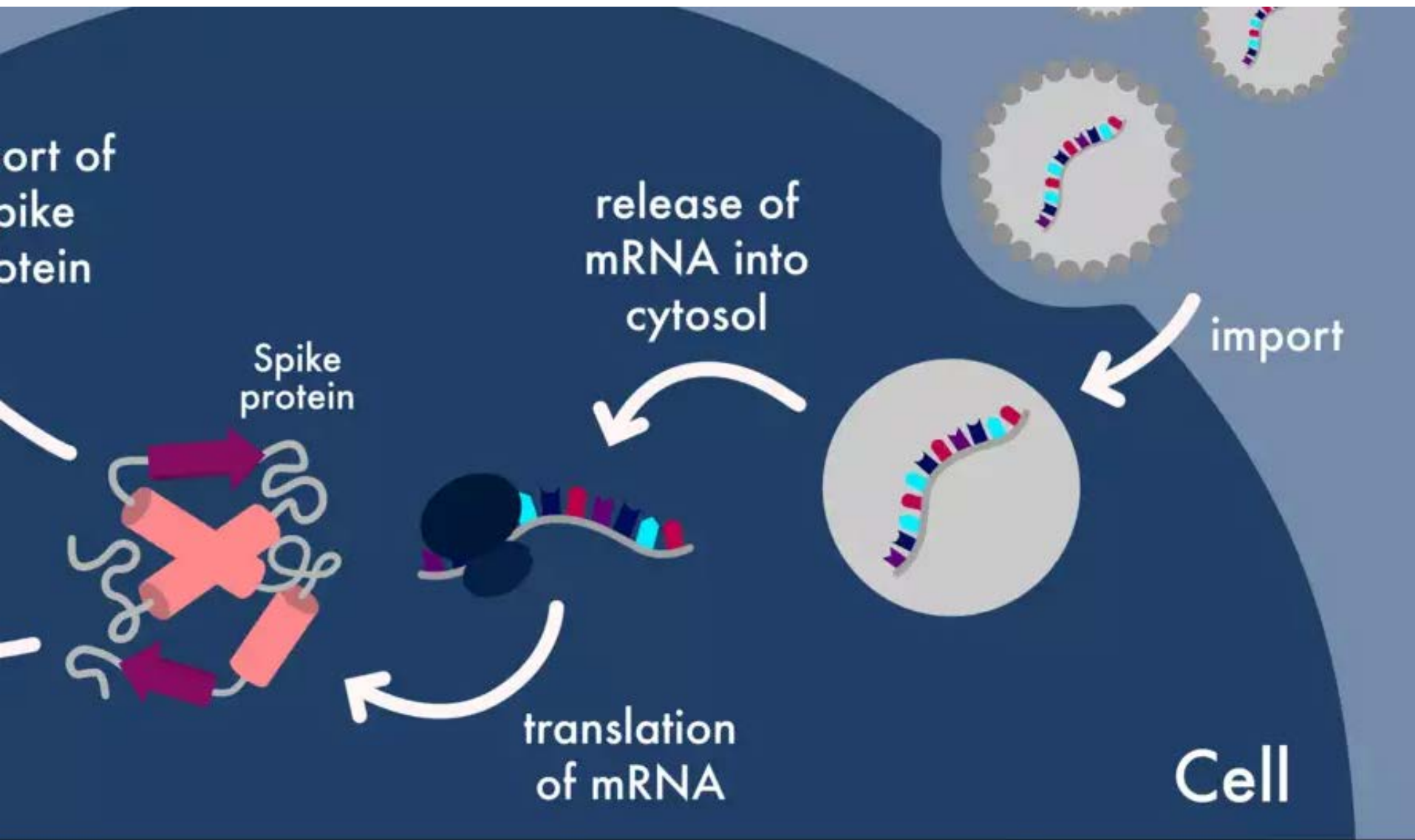


Spike protein S



# vacinas de mRNA





# Características notáveis

- tempo de disponibilização para uso geral
  - menos de 2 anos
- aproveitamento da informação genômica
  - o desenvolvimento da vacina pôde começar assim que o genoma do SARS-CoV-2 ficou disponível
- aproveitamento da maquinaria celular para produzir os antígenos