

Biologia Molecular para o Bacharelado – BIO0307 - 2017

Splicing alternativo do pré-RNA e seu mecanismo

Algumas observações complementares ao texto da aula sobre o *splicing* do pré-RNA e seu mecanismo:

- (1) O termo '*splicing*' do transcrito primário tem recebido diferentes traduções para a língua portuguesa. 'Recomposição de éxons', como adotado no texto da disciplina 'Fundamentos de Biologia Molecular' (livro 'Introdução à Genética' de Griffiths *et al*), é um termo apropriado. Por outro lado, processamento do pré-RNA (transcrito primário ou RNA heterogêneo nuclear, hnRNA), como traduzido do livro 'Biologia Molecular do Gene' de Watson *et al.*, é mais abrangente do que o próprio '*splicing*', uma vez que, mesmo na língua inglesa (*pre-mRNA processing*), o processamento do pré-RNA compreende o 5'-*capping*, o '*splicing*' e a poli-adenilação. Em geral, aceita-se a escrita do termo '*splicing*' em inglês, em itálico ou sublinhado.
- (2) Consideramos na disciplina somente o *splicing* em *cis*, que será tratado aqui simplesmente como *splicing*. Refere-se à ligação de dois fragmentos originários de uma mesma molécula de RNA após exclusão de íntron, ao contrário do *splicing* em *trans* em que duas moléculas de RNA de origens diferentes são ligadas.
- (3) O *splicing* alternativo tem como produto uma composição de éxons no RNA diferente da esperada para o *splicing* constitutivo, o qual mantém a colinearidade dos éxons como encontrada no gene e exclui todos os íntrons. Embora o *splicing* alternativo também mantenha a colinearidade entre RNA e sequência gênica, algumas possibilidades de ganho ou perda de sequência de RNA já foram observadas:
 - a. Exclusão exônica;
 - b. Retenção intrônica;
 - c. Éxons mutuamente excludentes;
 - d. Sítio doador (5') alternativo de *splicing*, situado mais internamente no íntron ou no éxon a 5';
 - e. Sítio receptor (3') alternativo de *splicing*, situado mais a 5' do sítio constitutivo no íntron ou no éxon a 3'.
- (4) Uma vez que para o *splicing* do pré-RNA ocorrer é necessária a exclusão do primeiro íntron seguida de ligação de dois éxons, mantendo a colinearidade com a sequência do gene, a extremidade 5' de um RNA será sempre a mesma que do pré-RNA que o gerou. Logo, o *splicing* alternativo não afeta a porção 5' do primeiro éxon. A presença da porção 5' do primeiro éxon no RNA depende da localização do promotor basal e não do *splicing* do transcrito primário, seja ele constitutivo ou alternativo.
- (5) Estudos têm mostrado que o *splicing* alternativo pode ser regulado de forma específica ao tecido ou célula. Neste caso, o produto final do RNA para dado gene será definido por: (i) expressão dos fatores em *trans* de origem proteica ou ribonucleica de forma regulada na célula; (ii) sua representação no núcleo celular junto ao spliceossomo; e (iii) existência de elementos em *cis* específicos no pré-RNA reconhecidos pelo fator em *trans*.

- (6) Por outro lado, o *splicing* alternativo pode ser um evento estocástico, não regulado, ocorrendo em virtude de: (i) velocidade transcricional, local; (ii) erros do spliceossomo; (iii) comprimentos extremos de éxons ou íntrons; e (iv) elementos em *cis* constitutivos do pré-RNA pouco similares ao consenso.
- (7) O desenvolvimento de uma reação de *splicing in vitro*, utilizando-se clone de DNA genômico parcial e núcleos celulares isolados por centrifugação, foi um passo experimental fundamental para a definição de um mecanismo molecular para o *splicing* do pré-RNA. Analise a figura abaixo.

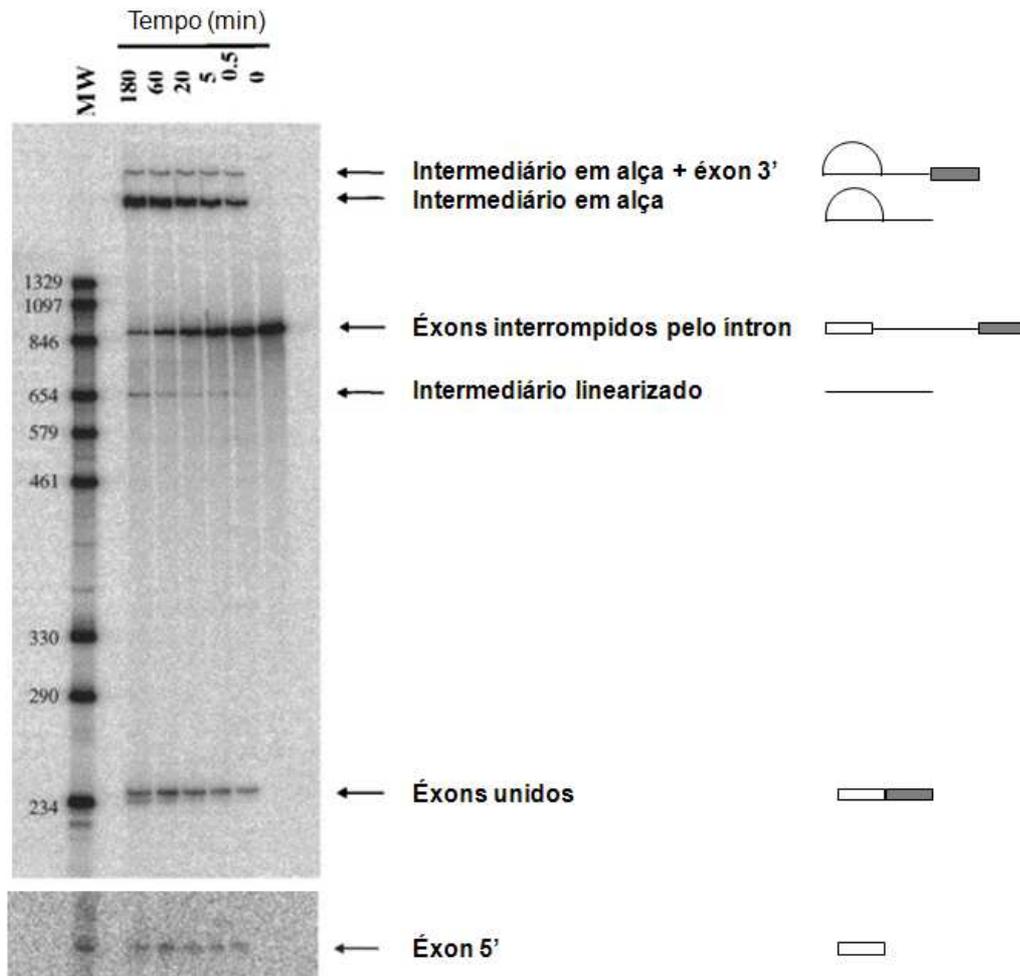


Figura: Gel de poliácridamida desnaturante em que foram aplicadas amostras de RNA, substratos e produtos da reação de *splicing in vitro*, que ocorreu por até 180 minutos, a partir da expressão de clone de DNA contendo dois éxons (retângulos à direita) e um íntron (linha). Antes de aplicar as amostras no gel, houve tratamento com DNase livre de RNase. Os números no alto do gel referem-se ao tempo (em minutos) em que foi interrompida a reação. MW é o marcador de número de bases.