

<https://sites.google.com/a/usp.br/lgn0232-genetica-molecular/home>

Aula 3 - Revisão

Replicação, Transcrição, Tradução

Estudo Dirigido – Aula 2 - Revisão

1. Características comuns a todos os organismos vivos;
2. Domínios da Vida e tipos celulares, principais diferenças dos tipos celulares;
3. Estruturas: DNA, RNA e Proteína;
4. Orientação das sequências de DNA, RNA e Proteínas;
5. Sequência determina → Estrutura determina → Função;
6. Estrutura típica dos genes;
7. Diferenças entre as estruturas dos genes em eucariotos e procariotos (presença de introns e exons);
8. Os promotores dos genes de eucariotos e procariotos são específicos;
9. Características da DNA polimerase e Replicação do DNA;
10. Características da RNA polimerase e Transcrição do mRNA;
11. Código genético e Tradução.

Flavr Savr (Calgene)

✓ O tomate Flavr Savr, foi desenvolvido pela Calgene, uma companhia de biotecnologia com base em Davis, na Califórnia. Vários anos se passaram até que o FDA aprovasse o transgênico. O FDA não exige aprovação, no entanto a Calgene submeteu voluntariamente o Flavr Savr para aprovação em 1989. Em 1994, o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos aprovou que este não apresentava risco ao ambiente.

Flavr Savr (Calgene)

Tomate transgênico



O tomate transgênico amadurece na planta, ficando com mais sabor. Mantém-se firme após a colheita.

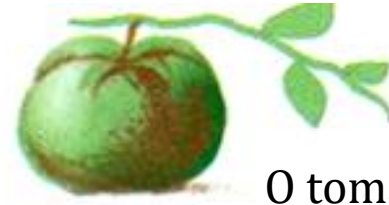


O tomate tradicional é vaporizado com etileno para induzir a maturação.



SUPERMERCADO

Tomate tradicional



O tomate tradicional tem de ser colhido verde, para não ser esmagado durante o transporte.



Flavr Savr

Gene que amolece o tomate
(poligalacturonase)

DNA

Gene Flavr Savr



RNA mensageiro

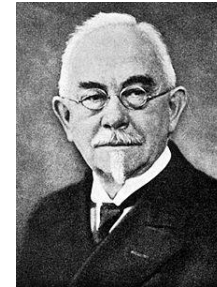


RNA inativado



TTCATACTTGGTTAAGACCTTTACAAGCCGACCAACGTGGTGACAGTGTCGTCCTTTA
CGCACCGAATCCCTTTATCATTGAATTAGTAGAAGAGCGATACTTAGGACGTCTTCGG
ATGGAATCTTGGTCCCGTTGCCTGGAACGTCTTGAAACTGAATTCCCGCCAGAAGATG
TTCATACTTGGTTAAGACCTTTACAAGCCGACCAACGTGGTGACAGTGTCGTCCTTTA
CGCACCGAATCCCTTTATCATTGAATTAGTAGAAGAGCGATACTTAGGACGTCTTCGG
GAATTGTTATCCTATTTCTCAGGAATACGTGAAGTAGTCCTTGCAATTGGCTCACGAC
CTAAAACAACAGAACTACCCGTACCAGTAGACACTACAGGACGTTTGTCTTCAACAGT
CCCATTTAACGGAAATCTCGACACACACTATAACTTTGATAATTTTGTTGAGGGACGA
AGCAATCAACTCGCTCGTGCTGCAGCTTGGCAAGCGGCACAGAAACCGGGAGACCGTA
CTCACAACCCTCTATTGCTCTATGGTGGGACTGGTTTGGGTAAAACCCATTTAATGTT
TGCTGCAGGTAAACGTAATGCGGCAAGTAAACCCAACTTATAAAGTAATGTATCTTCGT
TCGGAACAGTTTTTTCAGCGCCATGATAAGAGCGTACAAGATAAAAAGTATGGATCATAA
GGGTAAAACCCATTTAATGTTTGCTGCAGGTAAACGTAATGCGGCAAGTAAACCCAACT
TATAAAGTAATGTATCTTCGTTTCGGAACAGTTTTTTCAGCGCCATGATAAGAGCGTACA
AGATAAAAAGTATGGATCATAAGGGTAAAACCCATTTAATGTTTGCTGCAGGTAAACGTA
ATGCGGCAAGTAAACCCAACTTATAAAGTAATGTATCTTCGTTTCGGAACAGTTTTTCA
GCGCCATGATAAGAGCGTACAAGATAAAAAGTATGGATCATAAAAACGTAATGCGGCAAG
TAAACCCAACTTATAAAGTAATGTATCTTCGTTTCGGAACAGGGTAAAACCCATTTAAT
GTTTGCTGCAGGTAAACGTAATGCGGCAAGTAAACCCAACTTATAAAGTAATGTATCTT
CGTTTCGGAACAGTTTTTTCAGCGCCATGATAAGAGCGTACAAGATAAAAAGTATGGATCA
TAAAACGTAATGCGGCAAGTAAACCCAACTTATAAAGTAATGTATCTTCGTTTCGGAAC
AAAAACGTAATGCGGCAAGTAAACCCAACTTATAAAGTAATGTATCTTCGTTTCGGAAC

DEFINIÇÃO DE GENE



Wilhelm Johannsen em 1909 → gene

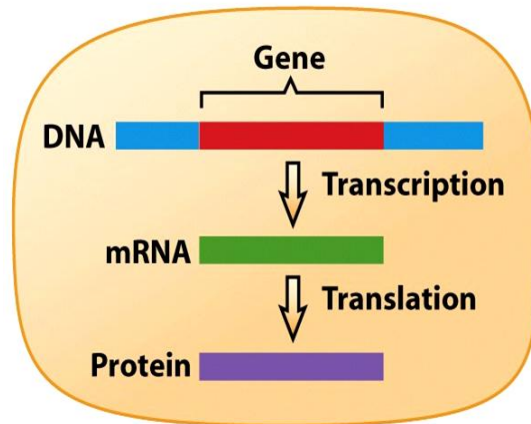
- Um gene → unidade da **informação genética** que **controla** a síntese de **polipeptídios** ou uma molécula de **RNA estrutural**

mRNA → polipeptídio
tRNA e rRNA → RNA estrutural

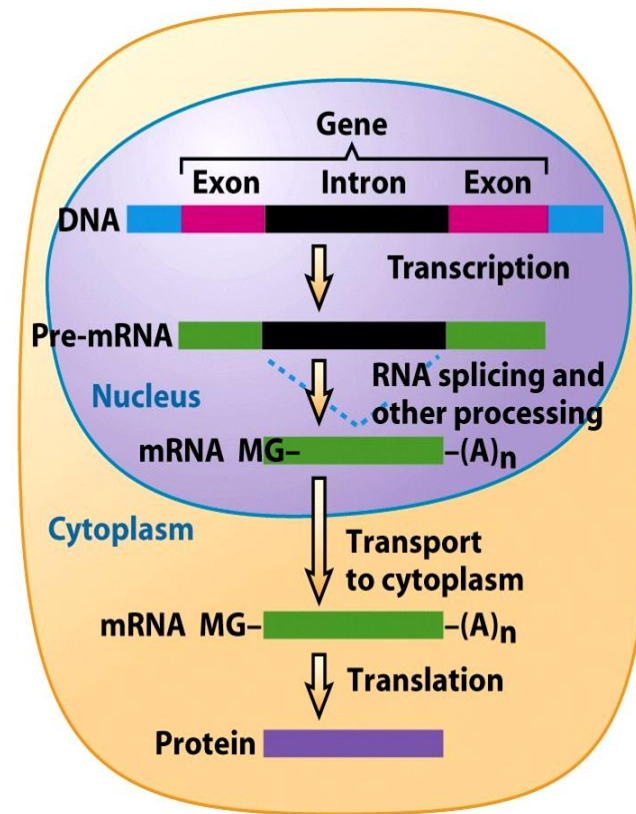
- Gene inclui as regiões 5' e 3' não codificantes que estão envolvidas na regulação da transcrição e tradução e todos os introns dentro do gene

GENOMA: material genético de um organismo

Célula de Procarioto



Célula de Eucarioto



- ✓ Nos eucariotos a transcrição ocorre no núcleo, enquanto a tradução ocorre no citoplasma.
- ✓ Já nos procariotos tal separação celular não existe, sendo os dois processos acoplados no espaço e no tempo.

GENE TÍPICO DE PROCARIOTOS

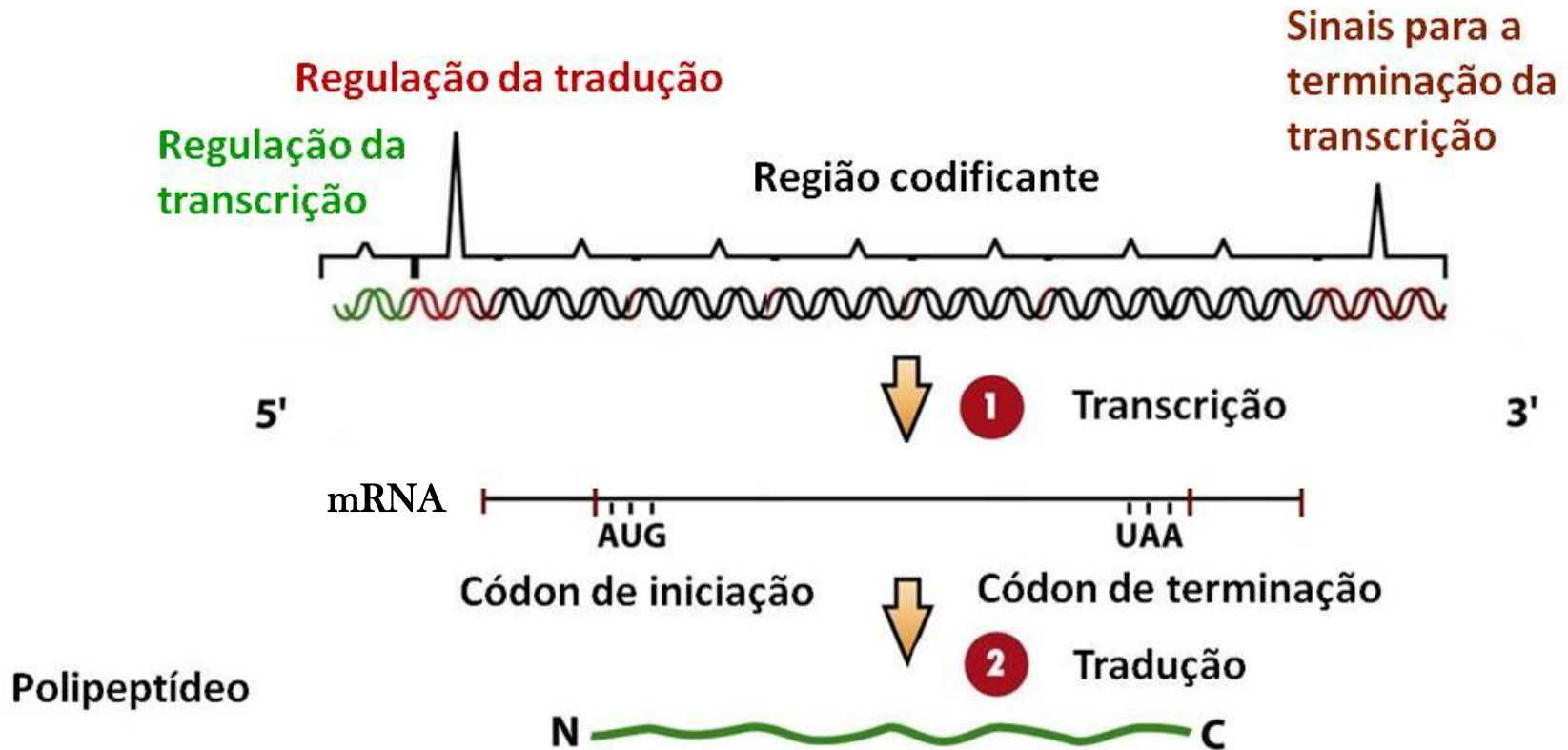
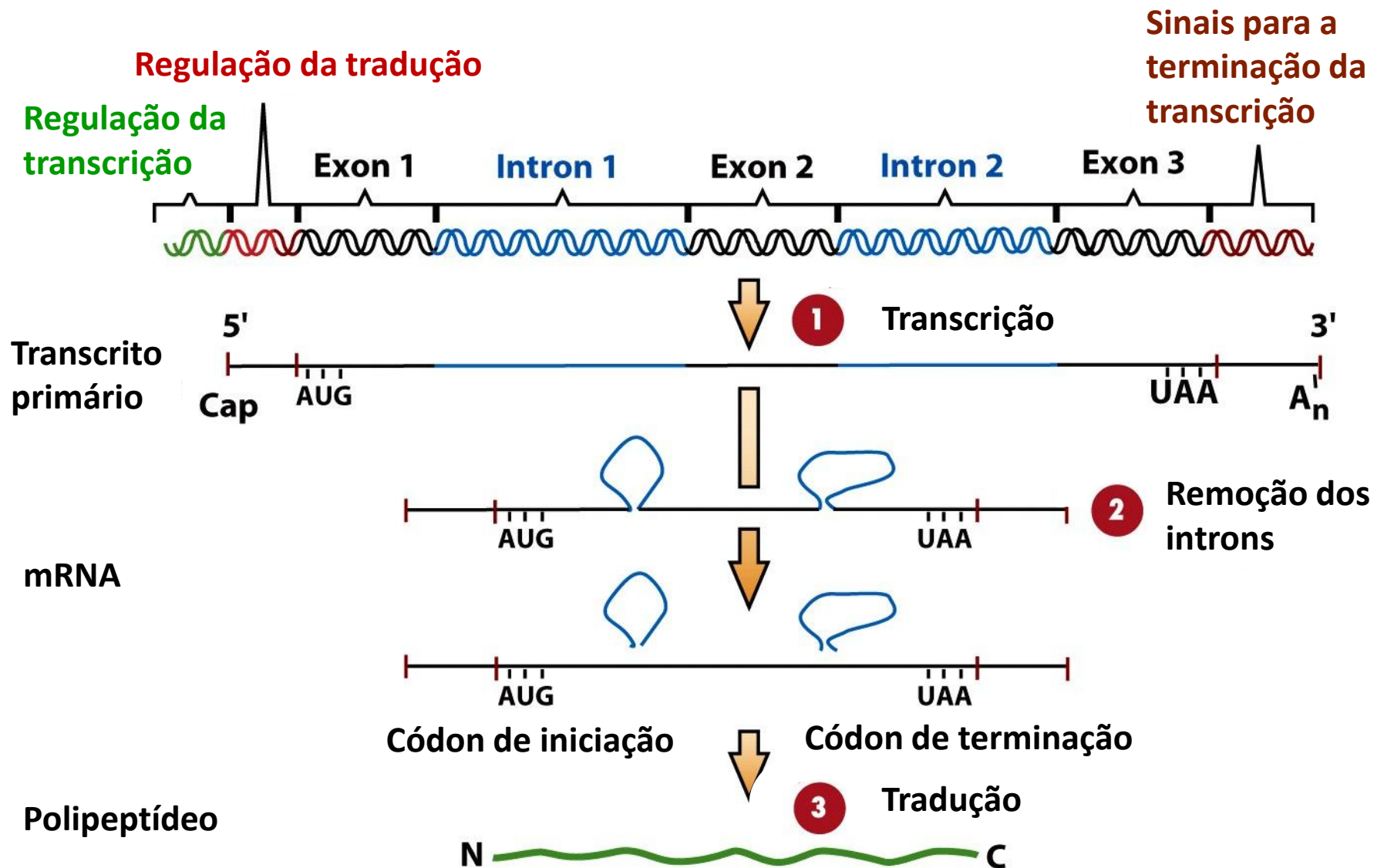
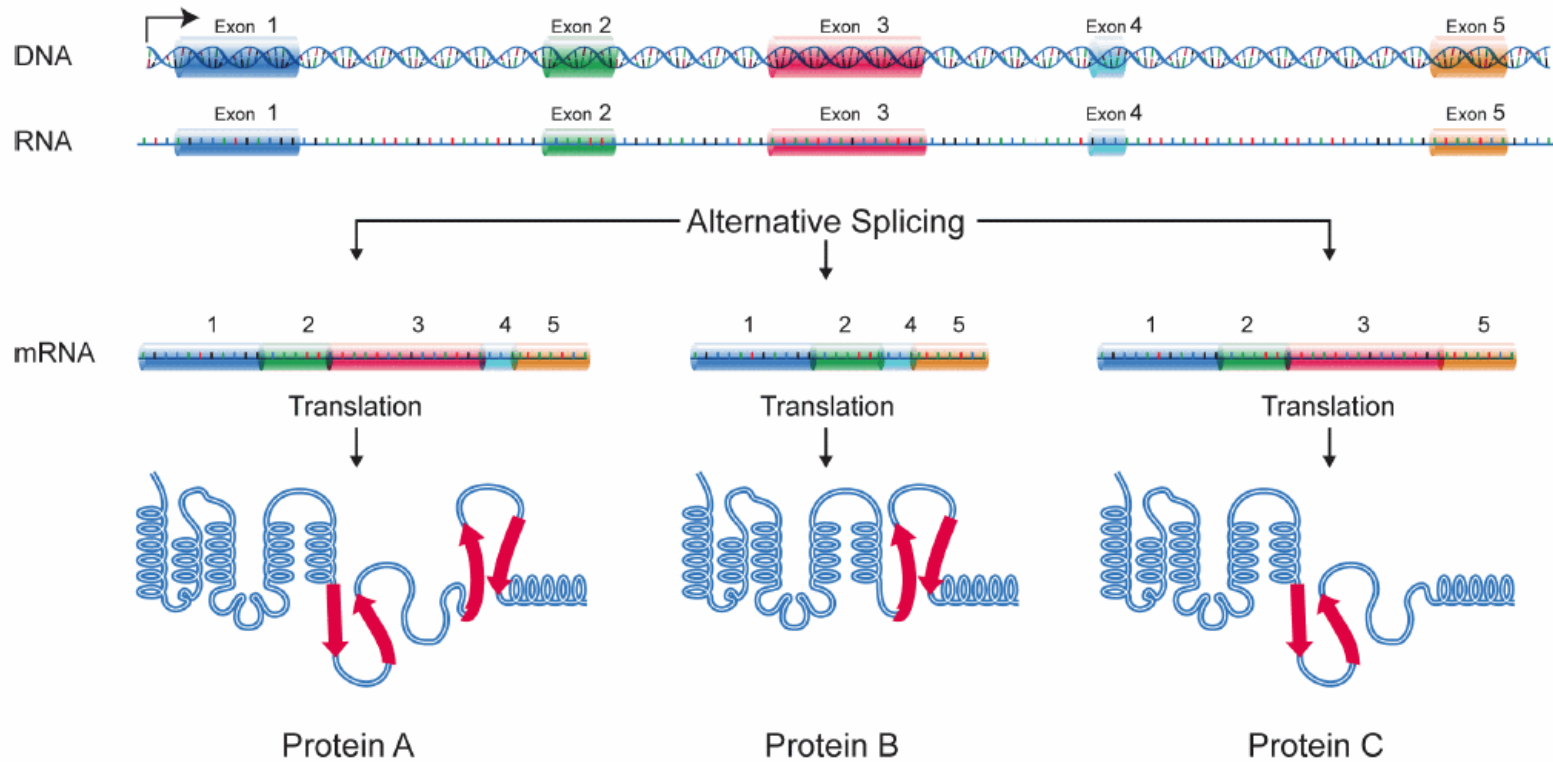


Figure 14-1b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

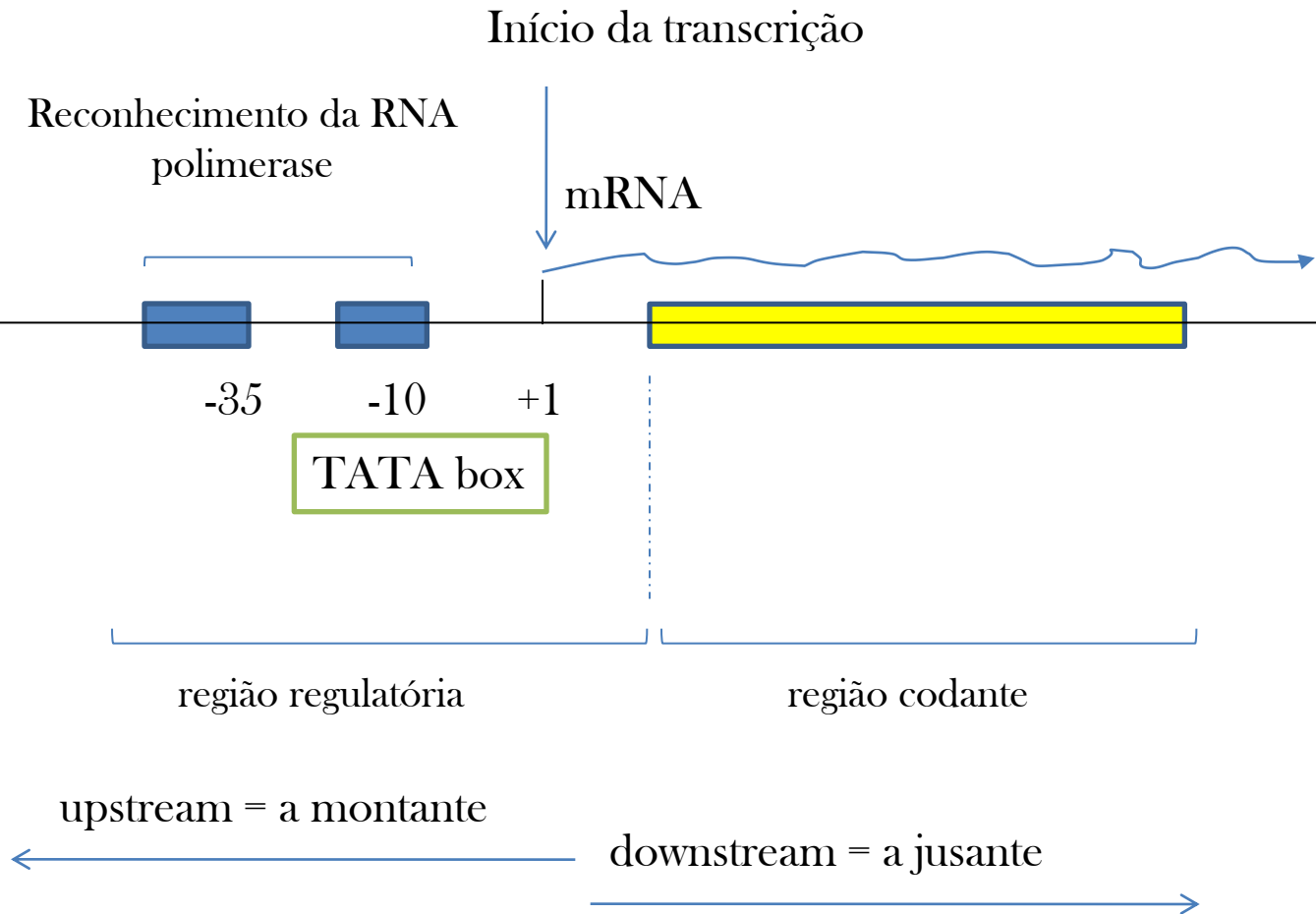
GENE TÍPICO DE EUCARIOTOS



SPLICING ALTERNATIVO DO mRNA



ESTRUTURA DO PROMOTOR EM PROCARIOTOS

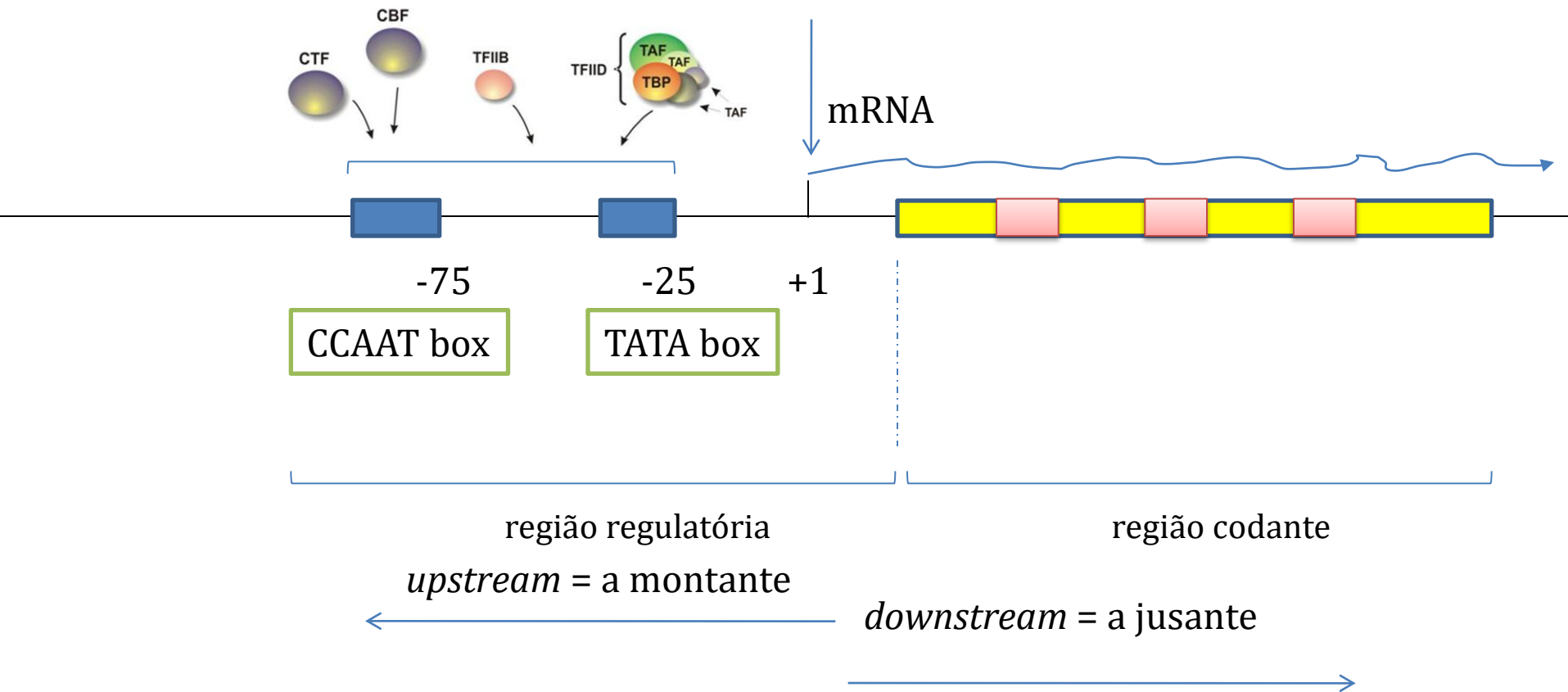


ESTRUTURA DO PROMOTOR EM EUCARIOTOS

Reconhecimento da RNA
polimerase

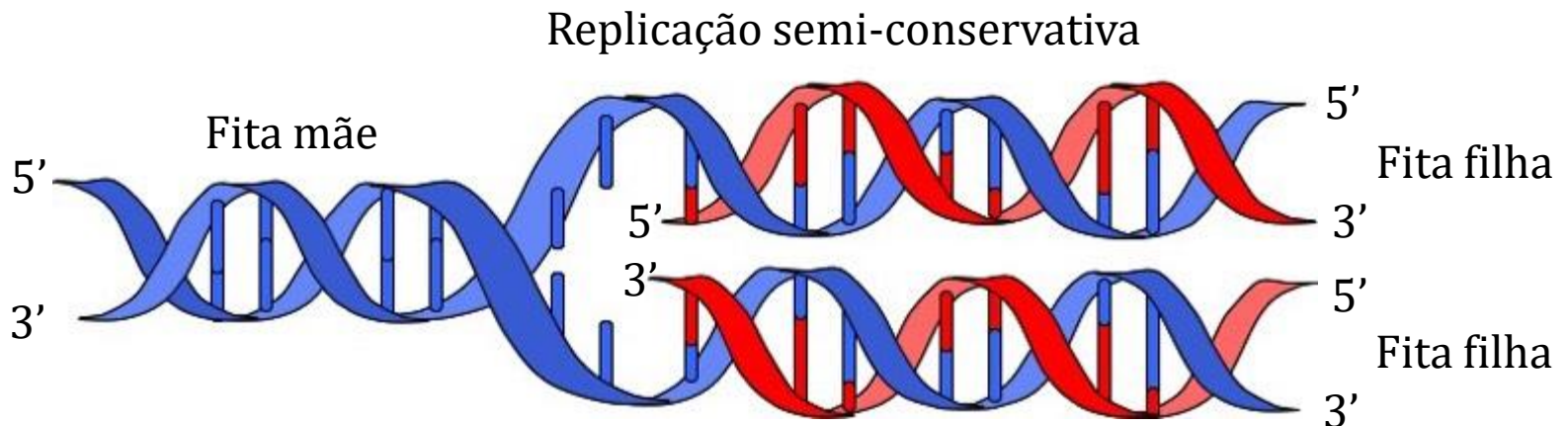
FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Início da transcrição



REPLICAÇÃO DO DNA

- ✓ O DNA replica-se por um mecanismo **semiconservativo**: a medida que os dois filamentos complementares de uma dupla hélice parental se desenrolam e se separam, cada um serve como um **molde para a síntese** de um novo filamento complementar;
- ✓ Os potenciais de pontes de H das bases dos filamentos moldes especificam as sequências de **bases complementares** nos filamentos de DNA nascentes;
- ✓ A replicação é iniciada em uma **origem** e continua **bidirecionalmente**.





DNA- POLIMERASE

1950 - Arthur Kornberg
DNA Polimerase

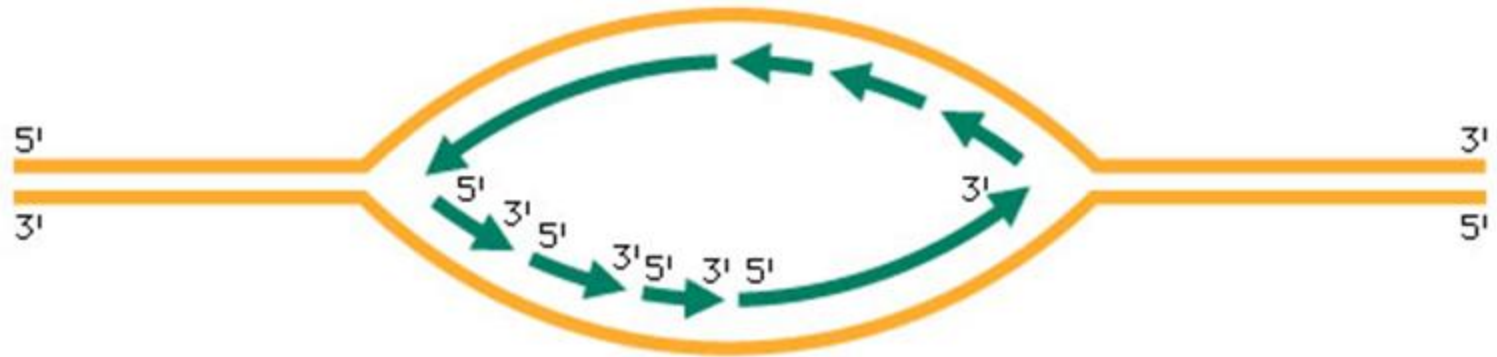
Propriedades gerais:

- ❑ Polimerizam 5'→3'
- ❑ Necessitam de um molde;
- ❑ Não iniciam cadeias (precisam de um terminal 3'-OH disponível).

Proteínas auxiliares da Replicação do DNA

Helicase	Desenrola o DNA
DNA girase (topoisomerase)	Alivia a tensão de torção gerada pela abertura da dupla-fita
Primase	Sintetiza os <i>primers</i> (iniciadores) de RNA
DNA polimerase III	Polimerização do DNA
<i>Single Strand DNA Binding protein</i> (SSB)	Mantém a fita simples de DNA
DNA ligase	Une os fragmentos de Okasaki
DNA polimerase I e II	Retirada dos <i>primers</i> e reparo do DNA

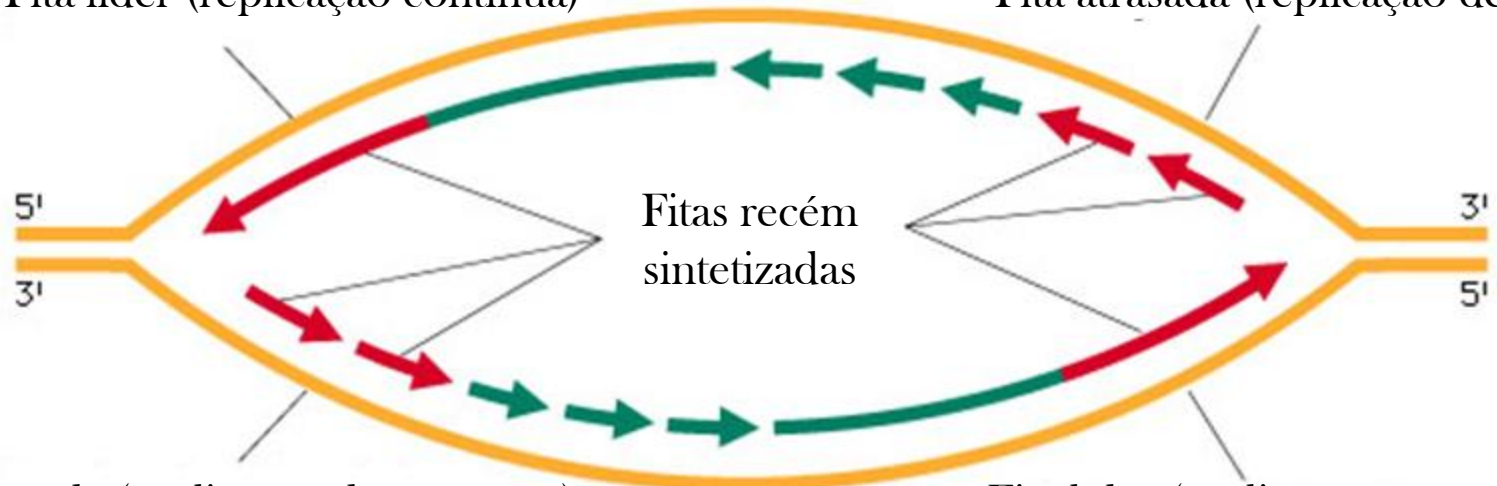
Forquilha de replicação



Replicação bidirecional

Fita líder (replicação contínua)

Fita atrasada (replicação descontínua)

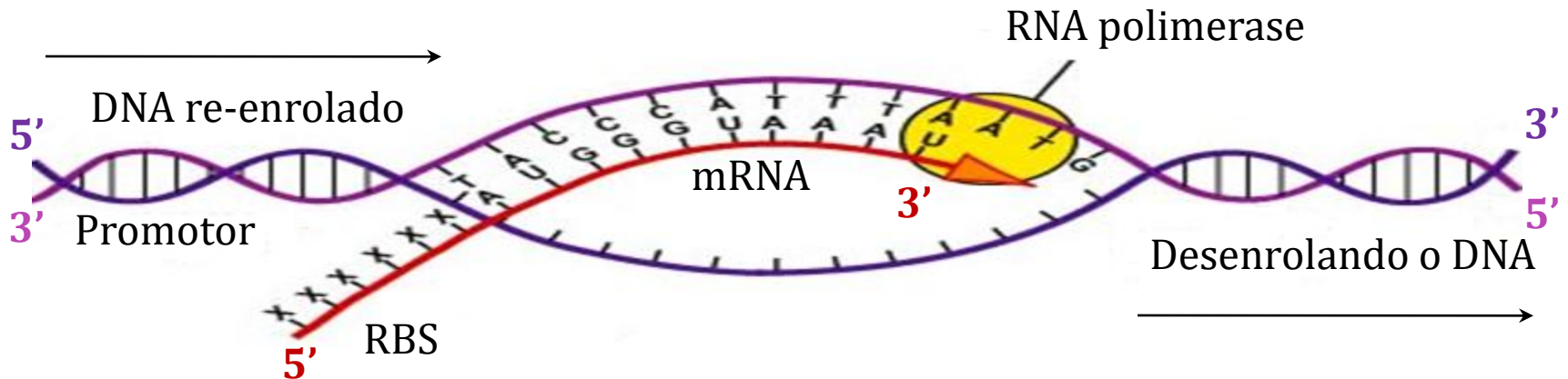


Fita atrasada (replicação descontínua)

Fita líder (replicação contínua)

TRANSCRIÇÃO

1. Os precursores são **ribonucleotídeos**;
2. apenas **1 fita de DNA** é utilizada com molde para a síntese de RNA complementar em determinada região;
3. as cadeias de RNA podem ser sintetizadas *de novo*, sem a necessidade de um filamento *primer* pré-existente (**RNA polimerase**);
4. síntese é **complementar ao DNA**, no entanto **A → U**;
5. polimerização sentido **5' → 3'**;
6. RNA polimerase inicia a transcrição em sequências específicas de nucleotídeos → **promotores**





1955- Severo Ochoa
RNA polimerase

RNA- POLIMERASE

Propriedades gerais:

- ❑ Polimerizam 5' → 3'
- ❑ Necessitam de um molde;
- ❑ Iniciam polimerização.

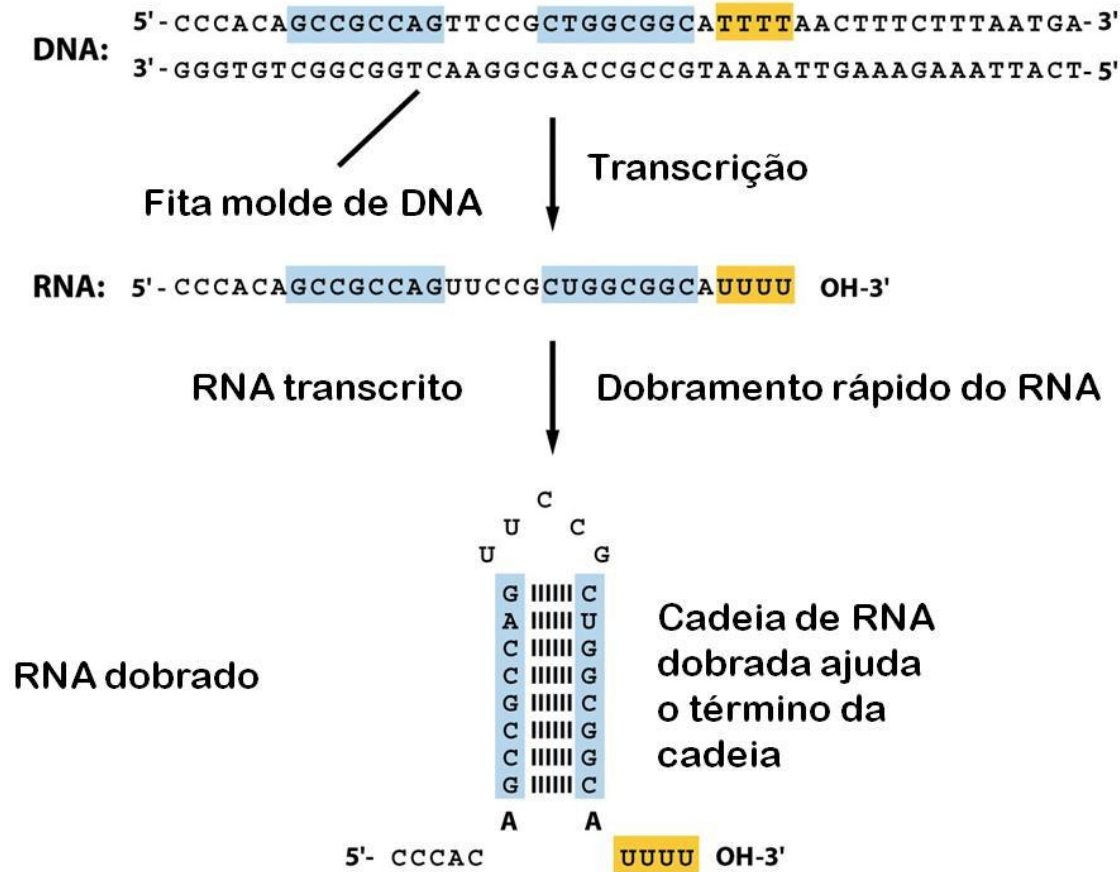
- Reconhece e liga-se a sequências específicas de DNA (**promotor**);
- Desnatura o DNA expondo a sequência de nucleotídeos a ser copiada;
- Mantém as fitas de DNA separadas na região de síntese;
- Mantém o híbrido DNA:RNA estável
- Renatura o DNA na região imediatamente posterior à da síntese;
- Com o auxílio de algumas proteínas específicas, termina a síntese do RNA.

Processamento do mRNA

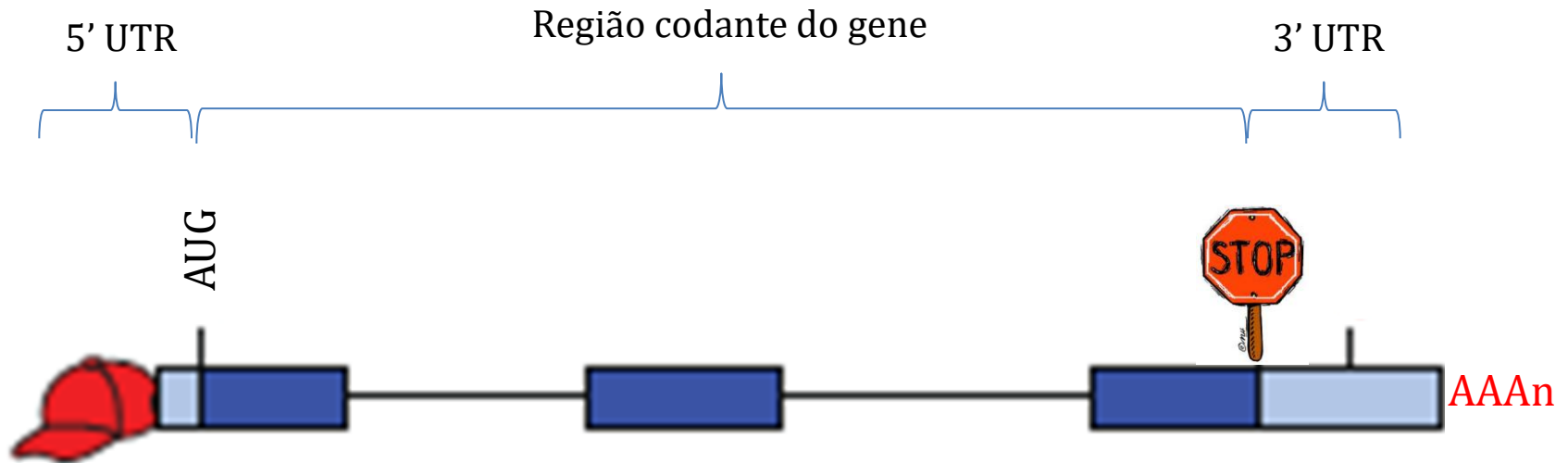
- As modificações que podem ocorrer nos transcritos nucleares são, basicamente de três tipos:
 - Montagem de segmentos codificadores ("splicing")
 - Capeamento ("capping") do terminal 5';
 - Poliadenilação do terminal 3';
- Este conjunto de modificações no transcrito nuclear originará o mRNA, pronto para migrar para o citoplasma
- Transcritos originados na mitocôndria ou cloroplastos não sofrem tais modificações, comportando-se de forma similar aos de bactérias

TERMINO DA REPLICAÇÃO

✓ o término das cadeias de RNA ocorre quando a RNA polimerase encontra um sinal de término, quando isso ocorre o complexo é liberado;



ESTRUTURA DO mRNA



Gene - tem promotor!
mRNA - não tem promotor!

TRADUÇÃO

As proteínas são sintetizadas a partir dos moldes de mRNA por um processo altamente conservado durante o processo evolutivo

- Todos os RNAs mensageiros são lidos na direção 5'- 3';
- As cadeias polipeptídicas são sintetizadas da extremidade amina (NH_3) para a carboxila terminal (COOH) – ligação peptídica;
- A tradução é realizada nos ribossomos, com os RNA transportadores como adaptadores entre o molde de mRNA e os aminoácidos;
- Os ribossomos reconhecem a sequência de ligação ao ribossomo (RBS) na região de regulação da tradução;
- Cada aminoácido é especificado por três bases (códon) no mRNA – código genético universal.

SINAIS PARA O INÍCIO DA TRADUÇÃO

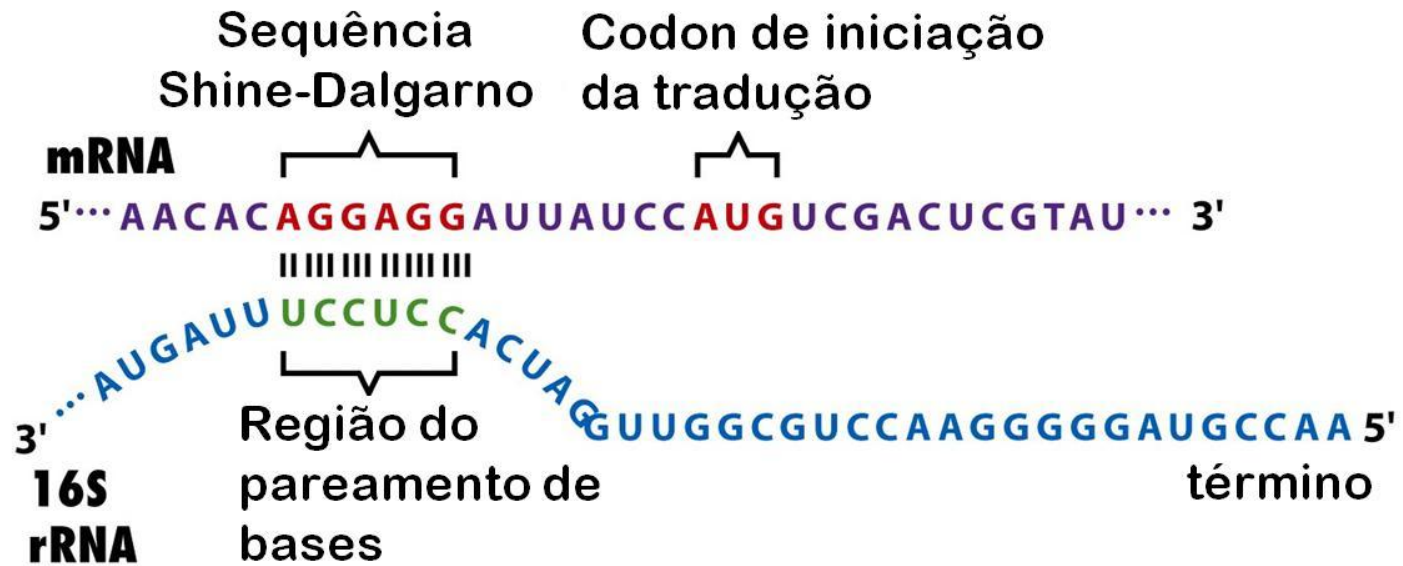


Figure 12-16 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

(Regras de Kozak)

5' - GCC (A ou G) CC **AUG** G - 3'

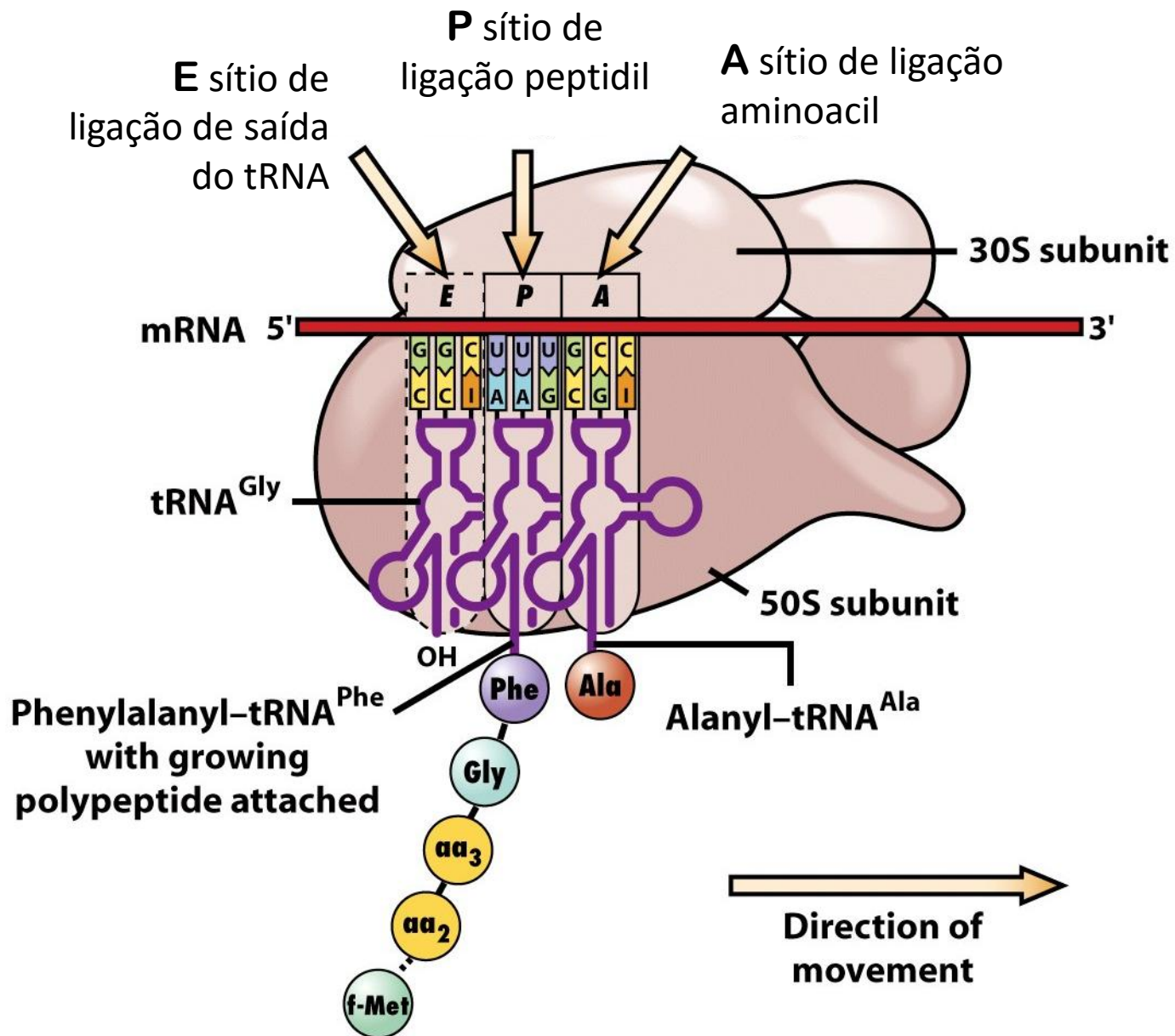
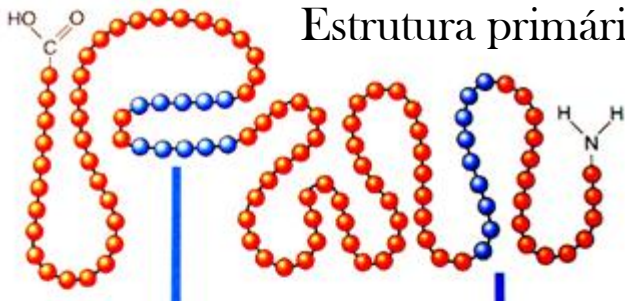
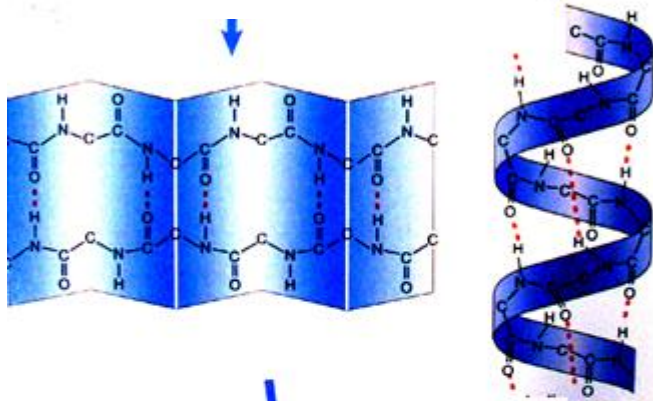


Figure 12-14a Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

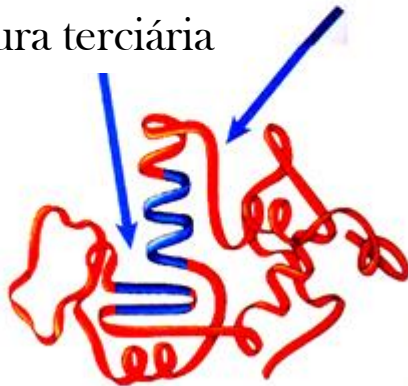
Estrutura primária



Estrutura secundária



Estrutura terciária



Estrutura quaternária



Amino acid

Codons

Alanine	GCC, GCU, GCG, GCA
Arginine	CGC, CGG, CGU, CGA, AGA, AGG
Asparagine	AAU, AAC
Aspartic acid	GAU, GAC
Cysteine	UGU, UGC
Glutamic acid	GAA, GAG
Glutamine	CAA, CAG
Glycine	GGU, GGC, GGA, GGG
Histidine	CAU, CAC
Isoleucine	AUU, AUC, AUA
Leucine	UUA, UUG, CUA, CUG, CUU, CUC
Lysine	AAA, AAG
Methionine	AUG
Phenylalanine	UUC, UUU
Proline	CCU, CCC, CCA, CCG
Serine	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
Threonine	ACU, ACC, ACA, ACG
Tyrosine	UAU, UAC
Tryptophan	UGG
Valine	GUU, GUC, GUA, GUG
"Stop"	UAA, UAG, UGA

5' UTR

Região codante do gene

3' UTR

mRNA

5'

AUG

UAA
UAG
UGA



AAAn

3'

Cauda Poli-A

Proteína

A-terminal

C-terminal

