

Pequeno questionário sobre os conceitos básicos em genética

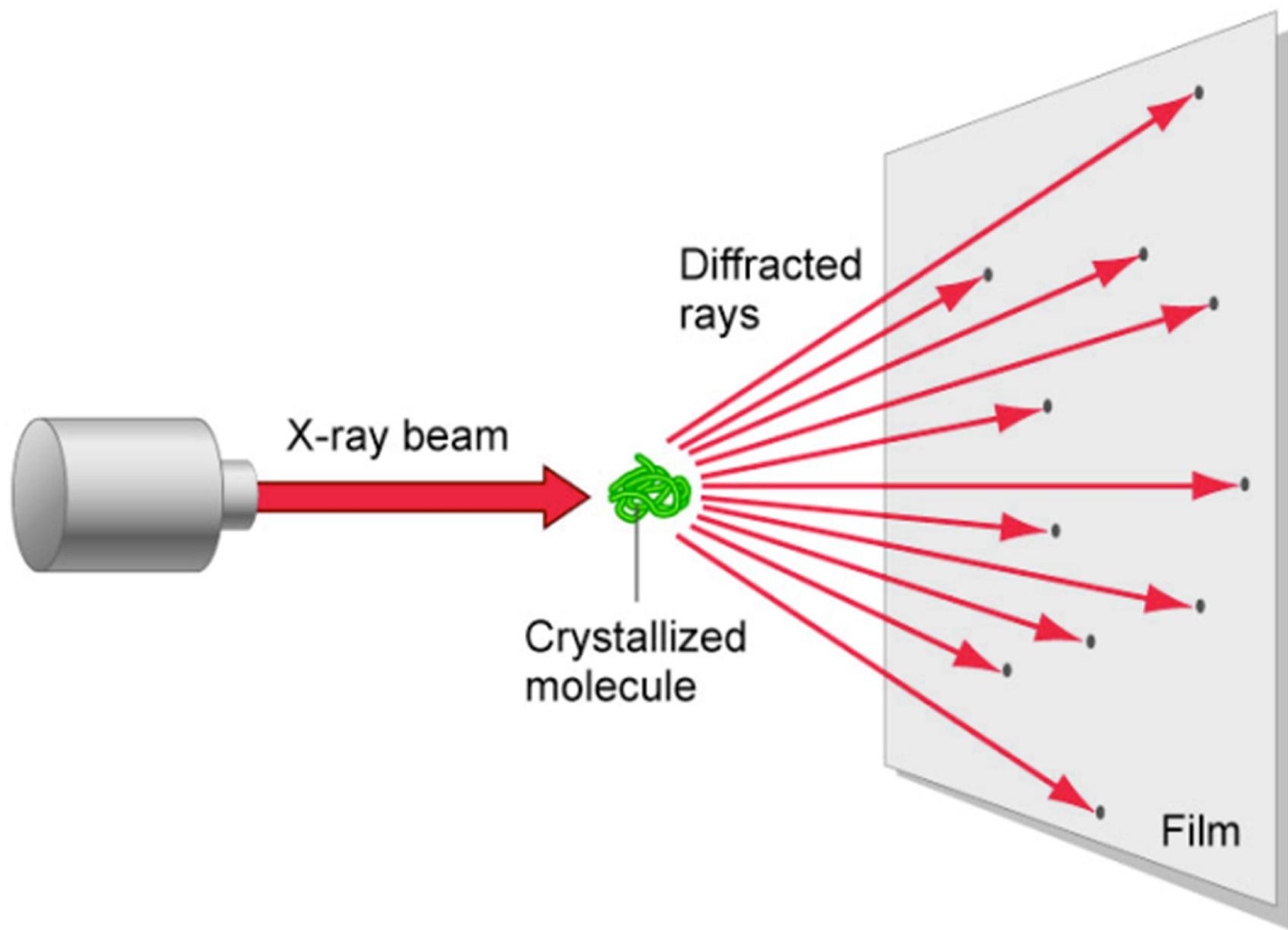
<https://goo.gl/5iT3PM>

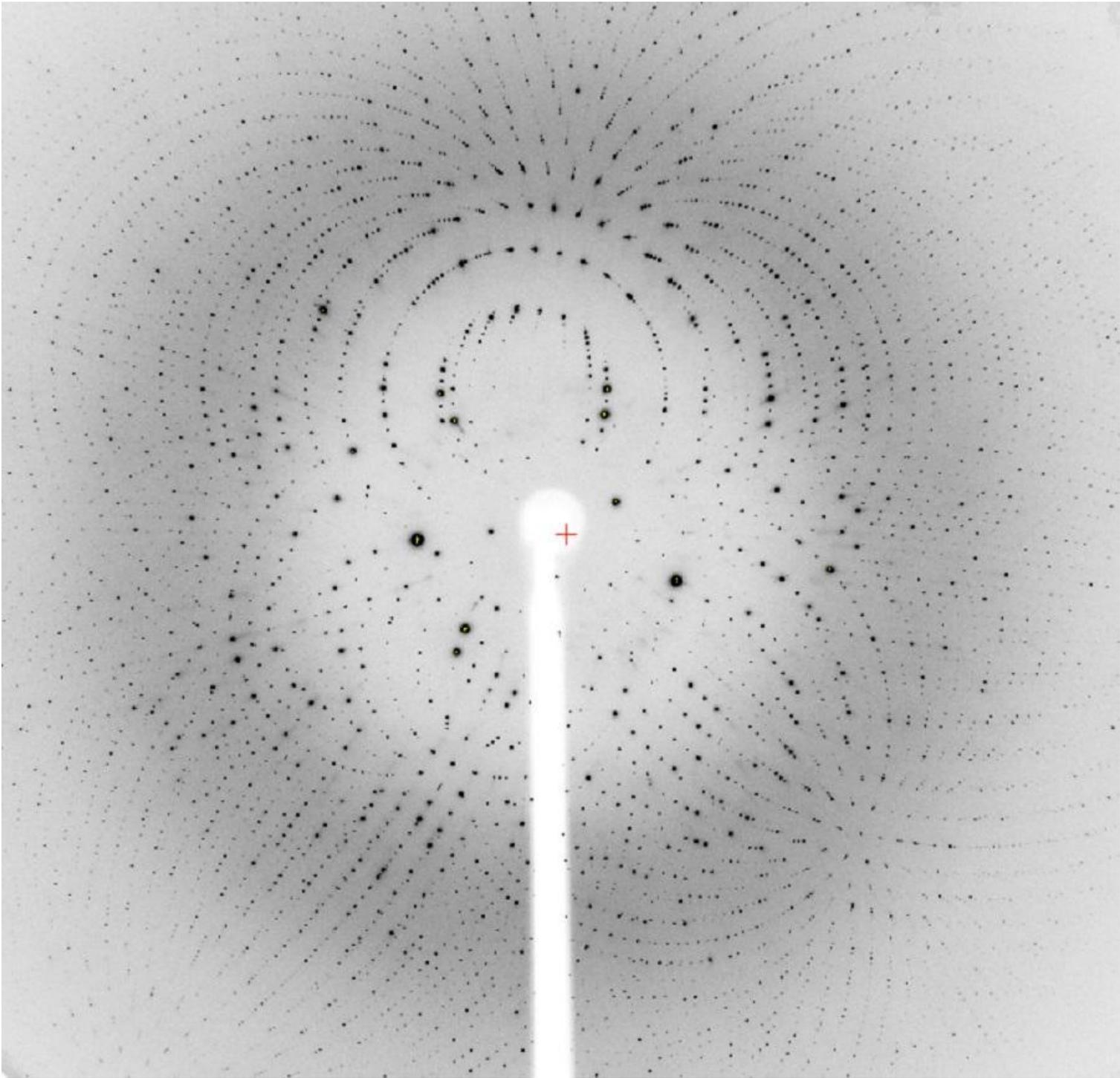


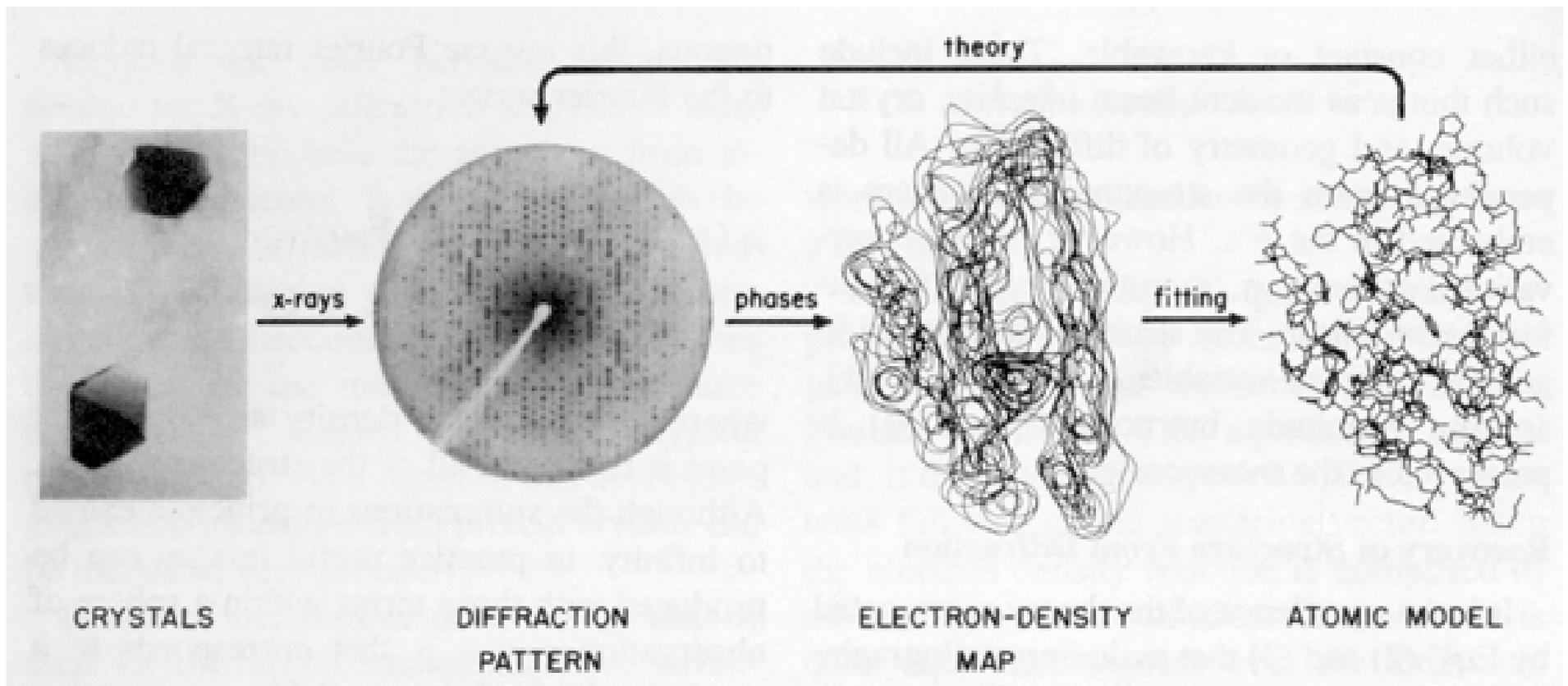


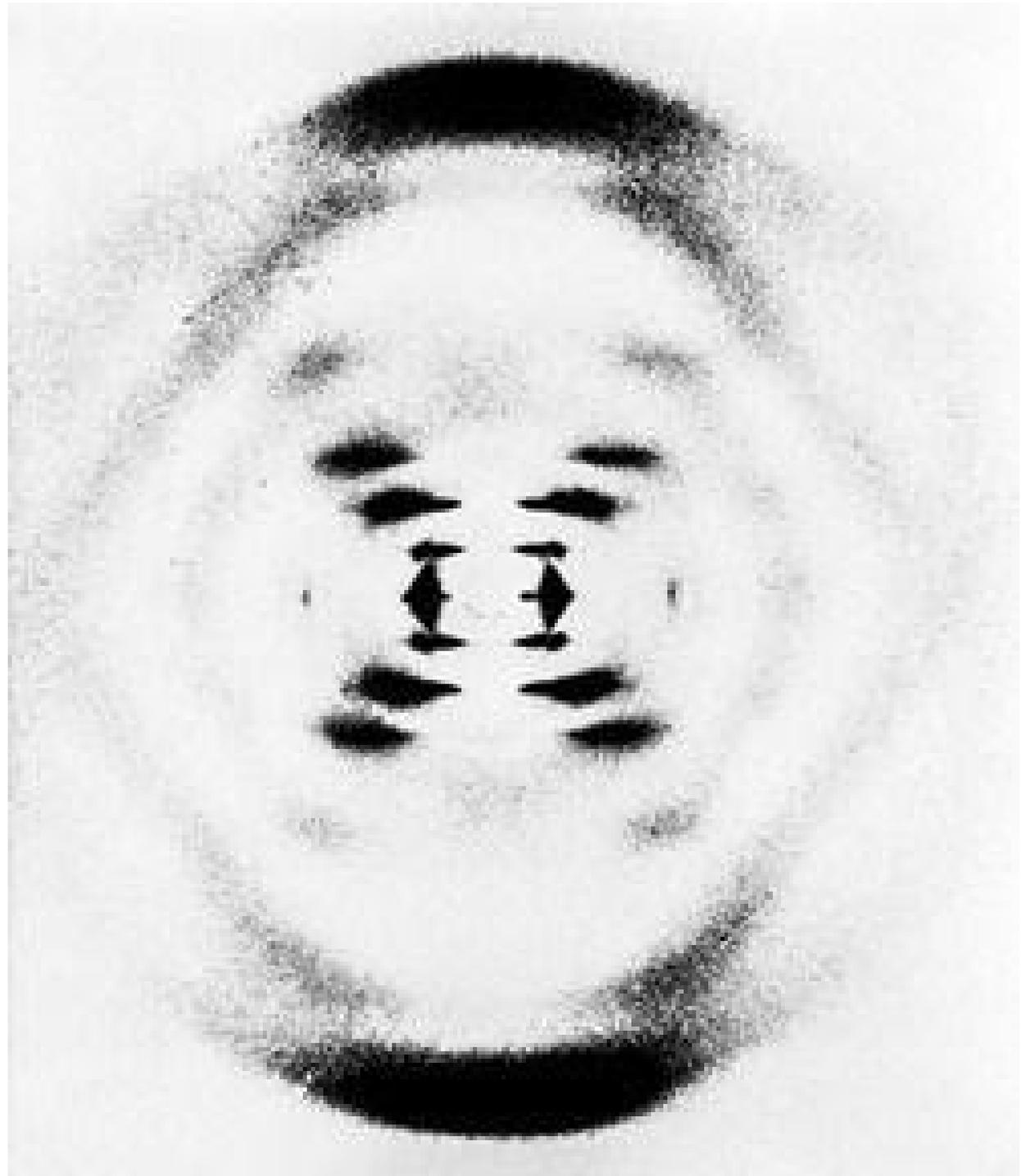
Organização genômica

Prof. Michel Naslavsky





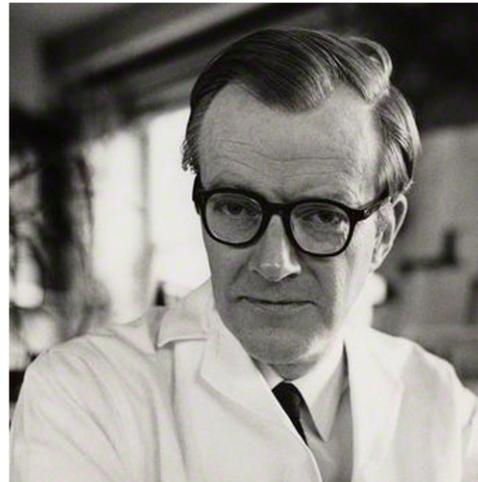
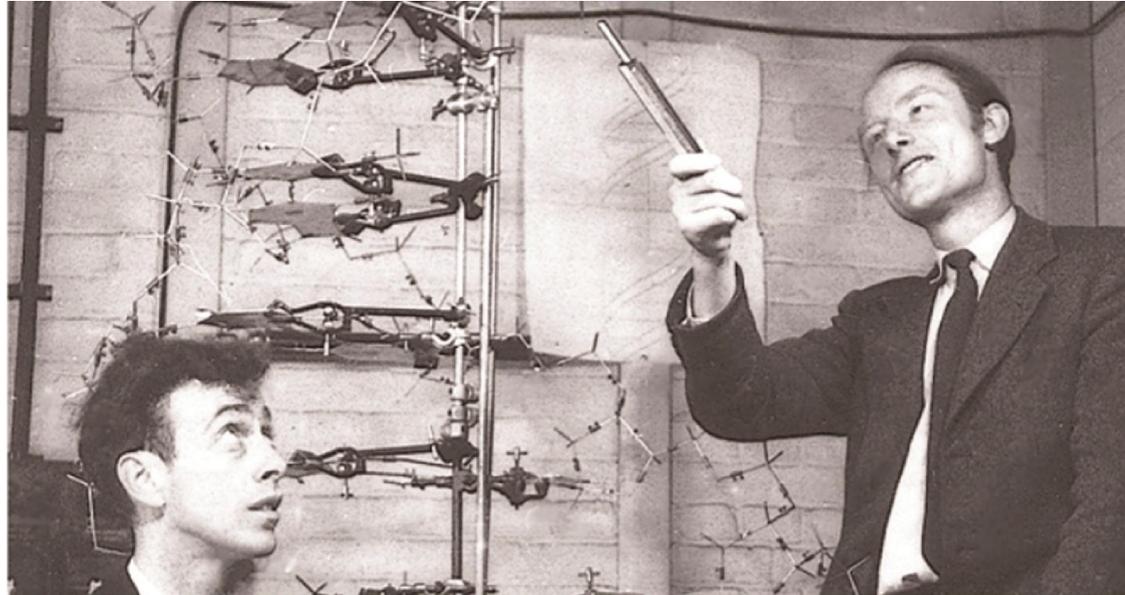




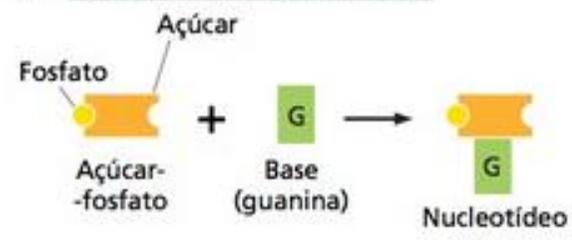
Rosalind Franklin



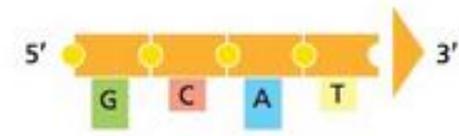
Watson, Crick e Wilkins



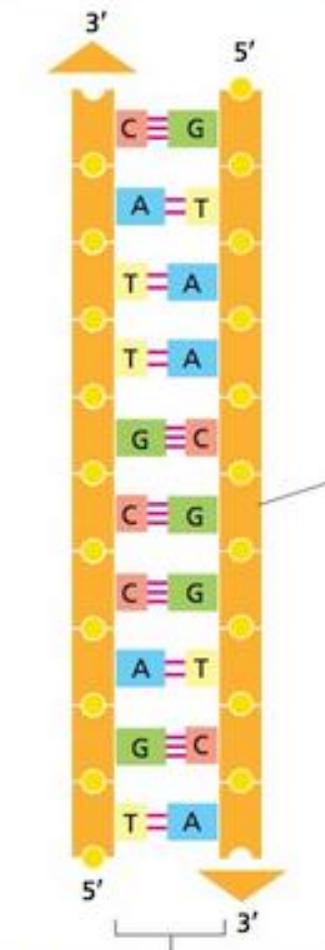
(A) Unidades estruturais do DNA



(B) Fita de DNA



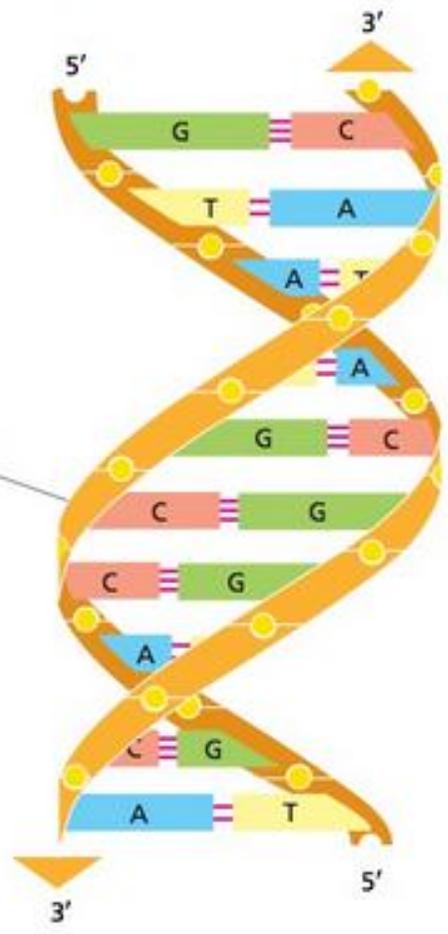
(C) DNA de fita dupla



Cadeia principal de açúcar-fosfato

Pareamento de bases por ligações de hidrogênio

(D) Dupla-hélice de DNA

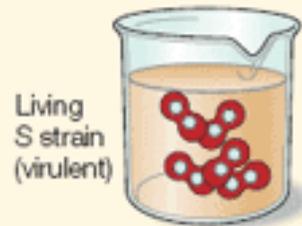


Griffith (1923)

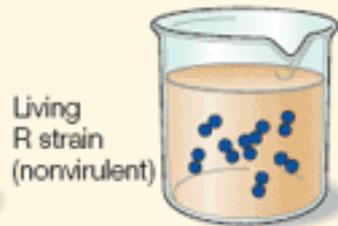
EXPERIMENT

HYPOTHESIS: Material in dead bacterial cells can genetically transform living bacterial cells.

METHOD

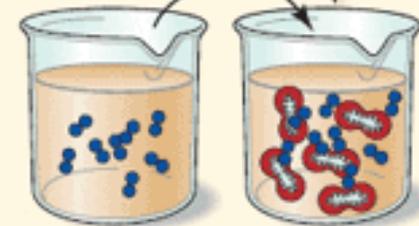
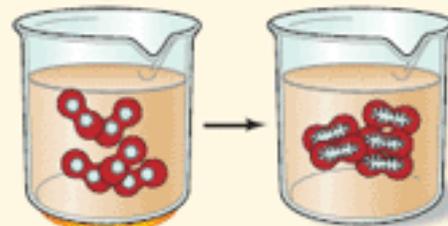


Living S strain (virulent)



Living R strain (nonvirulent)

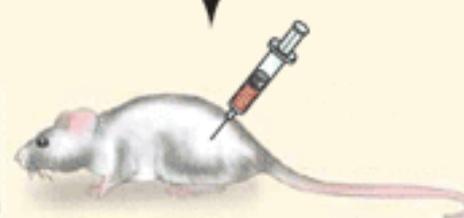
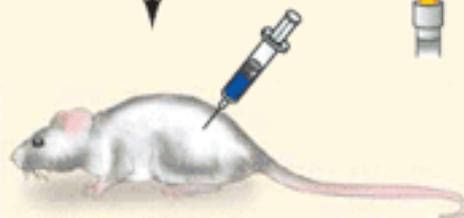
Kill the virulent S strain bacteria by heating.



Mix dead S strain cells with living, nonvirulent R strain bacteria.



Injection



RESULTS

Mouse dies

Living S strain cells found in heart

Mouse healthy

No bacterial cells found in heart

Mouse healthy

No bacterial cells found in heart

Mouse dies

Living S strain cells found in heart

CONCLUSION: A chemical substance from one cell is capable of genetically transforming another cell.

<https://sites.google.com/site/averymacleodmccarty/griffith-s-experiment>

Avery, McCarty e MacLeod (1944)

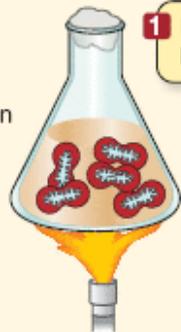
EXPERIMENT

HYPOTHESIS: The chemical nature of the transforming substance from pneumococcus is DNA.

METHOD

1 Heat-kill virulent S strain bacteria, homogenize, and filter.

S strain (killed)



S strain (virulent) filtrate

2 Treat samples with enzymes that destroy RNA, proteins, or DNA.



RNase
(destroys RNA)



Protease
(destroys proteins)



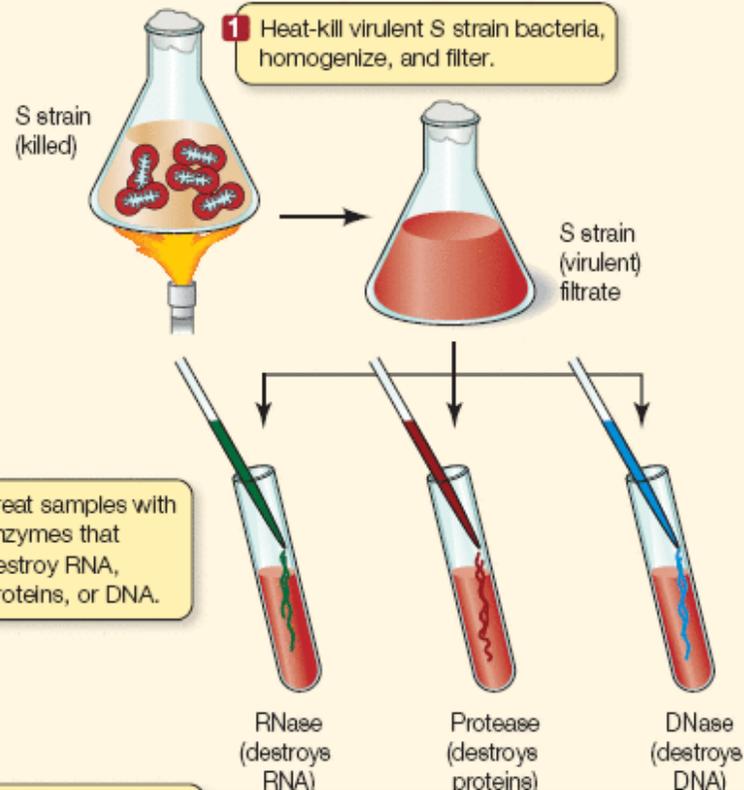
DNase
(destroys DNA)

Avery, McCarty e MacLeod (1944)

EXPERIMENT

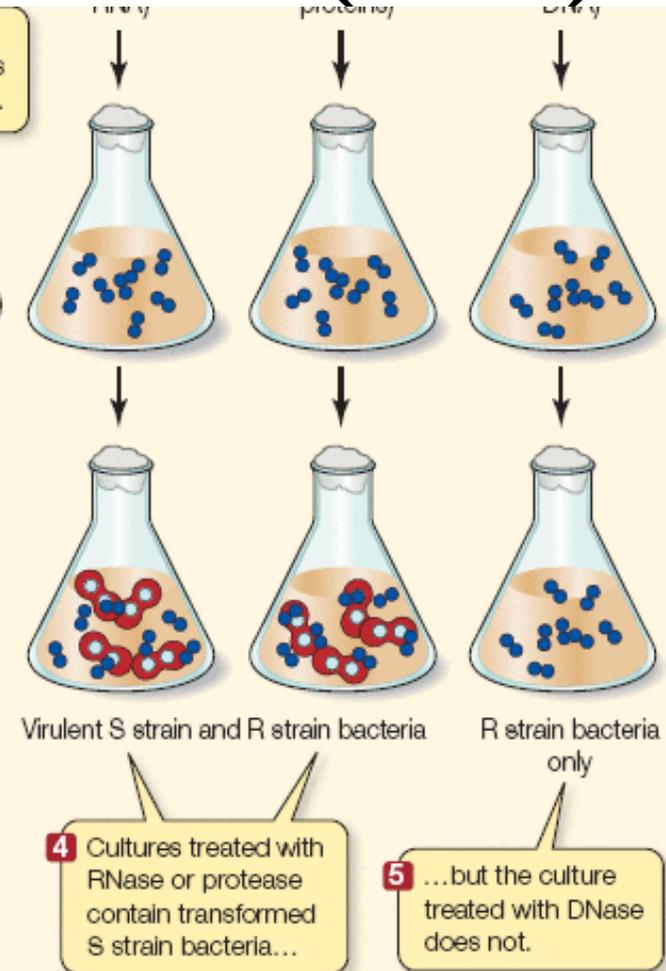
HYPOTHESIS: The chemical nature of the transforming substance from pneumococcus is DNA.

METHOD



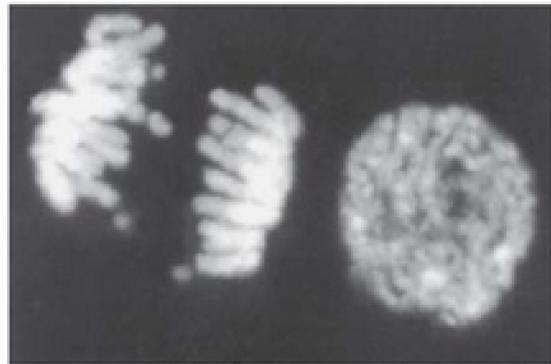
3 Add the treated samples to cultures of R strain bacteria.

RESULTS



CONCLUSION: Because only DNase destroyed the transforming substance, the transforming substance is DNA.

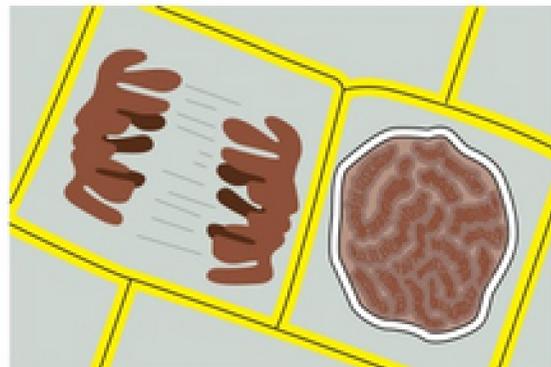
Van Beneden (1846)



(A)

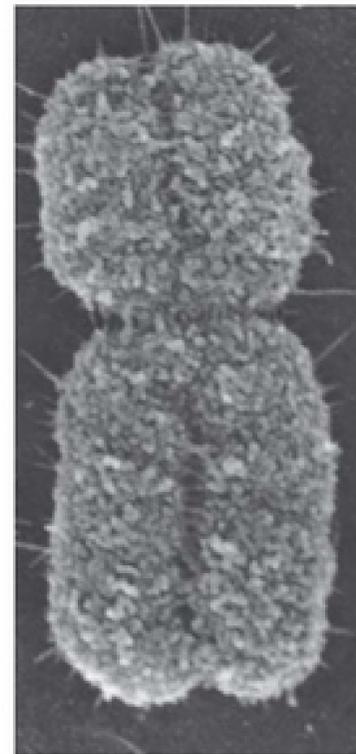
Célula em divisão

Célula em interfase
(célula que não
está em divisão)



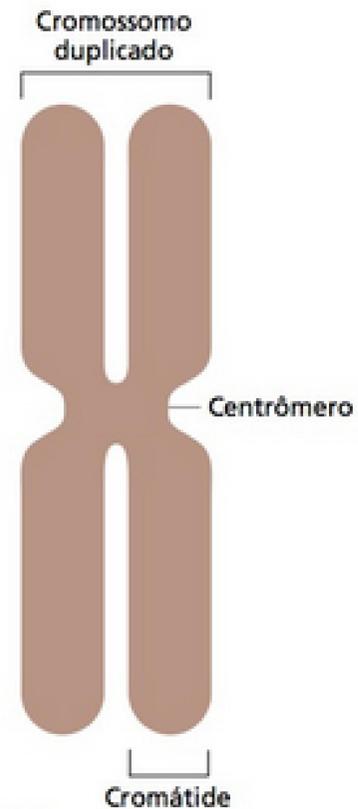
(B)

10 μm

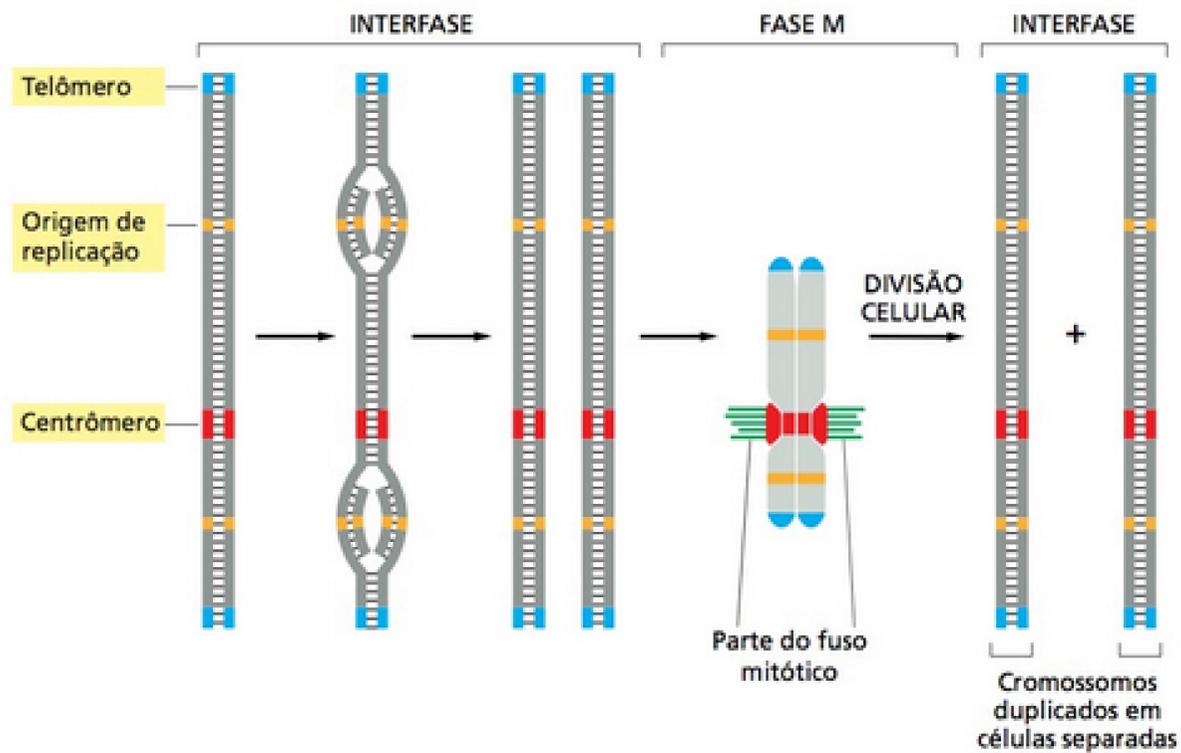
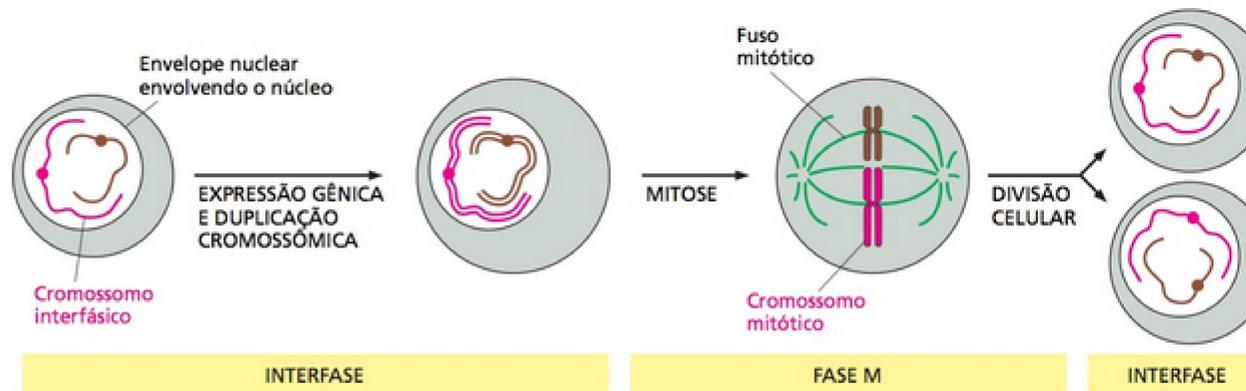


(A)

1 μm



(B)





(A)

Cromatina
interfásica

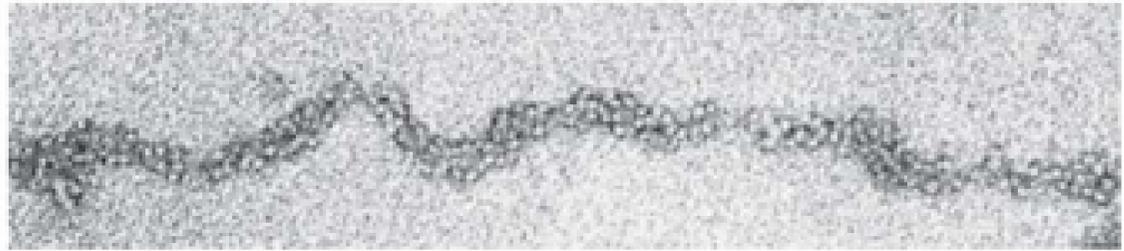
5 μ m



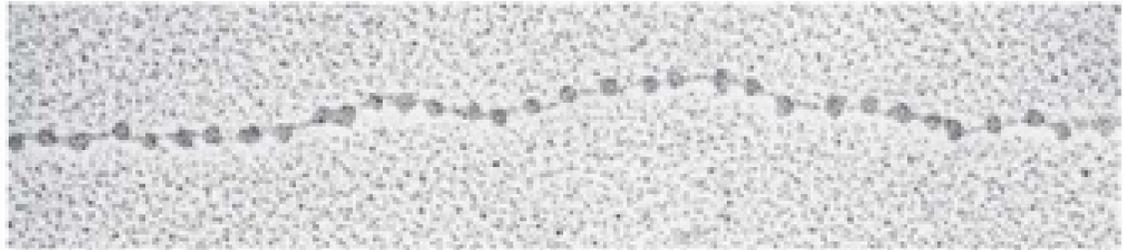
Cromossomo mitótico

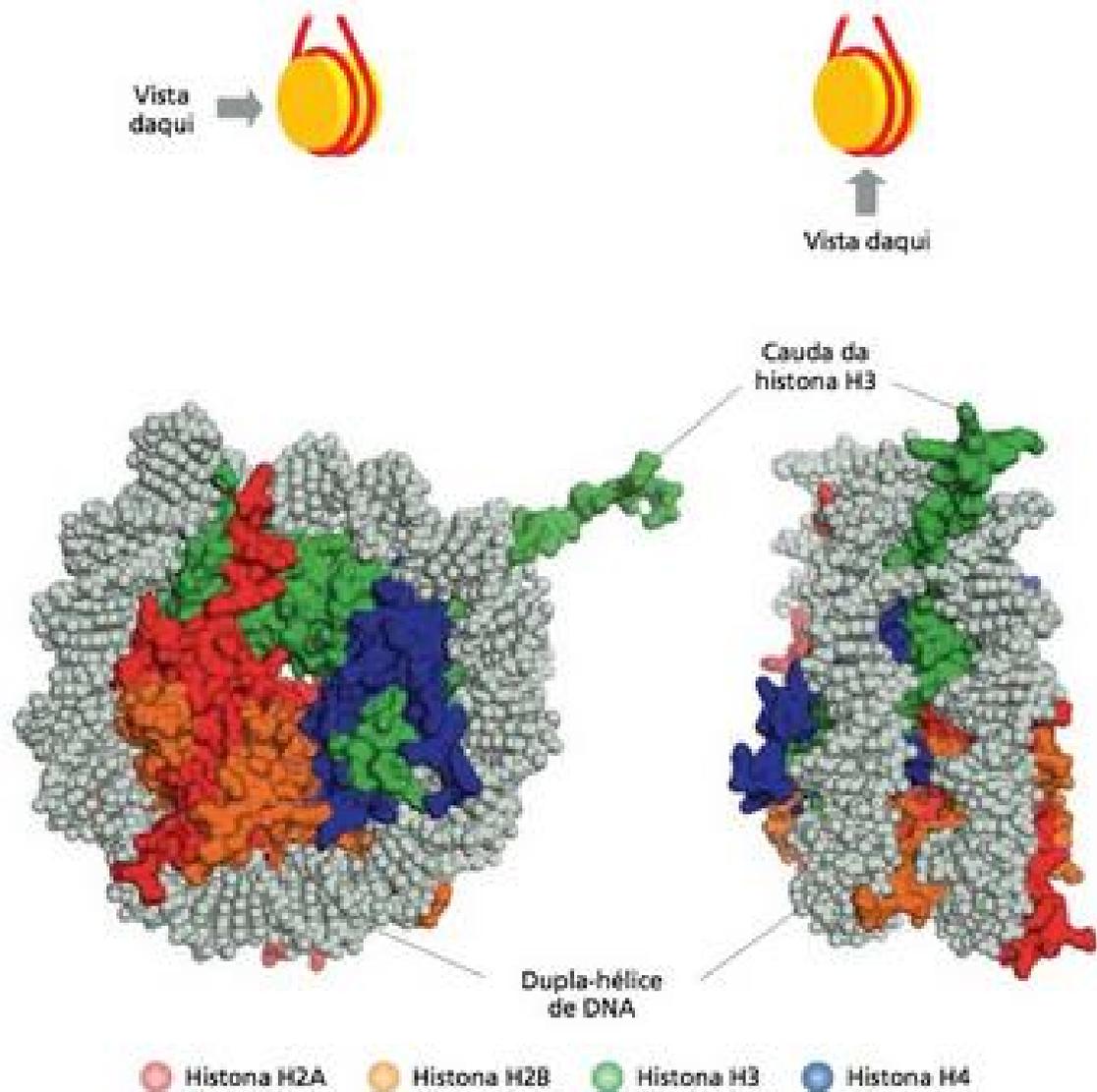
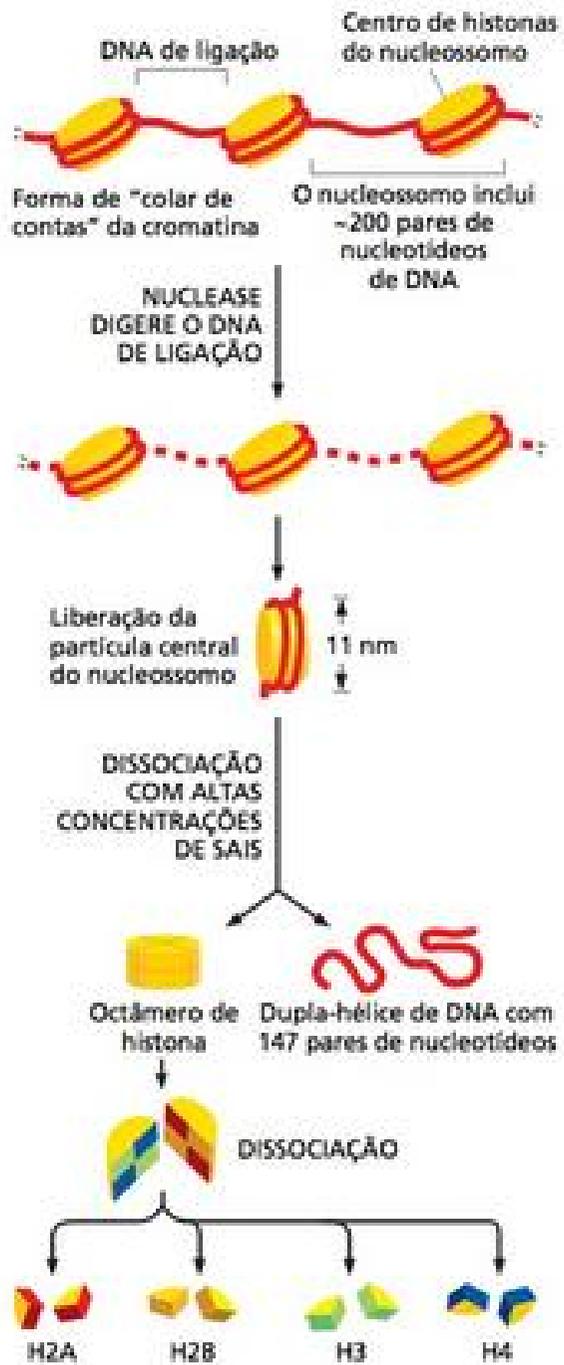
(B)

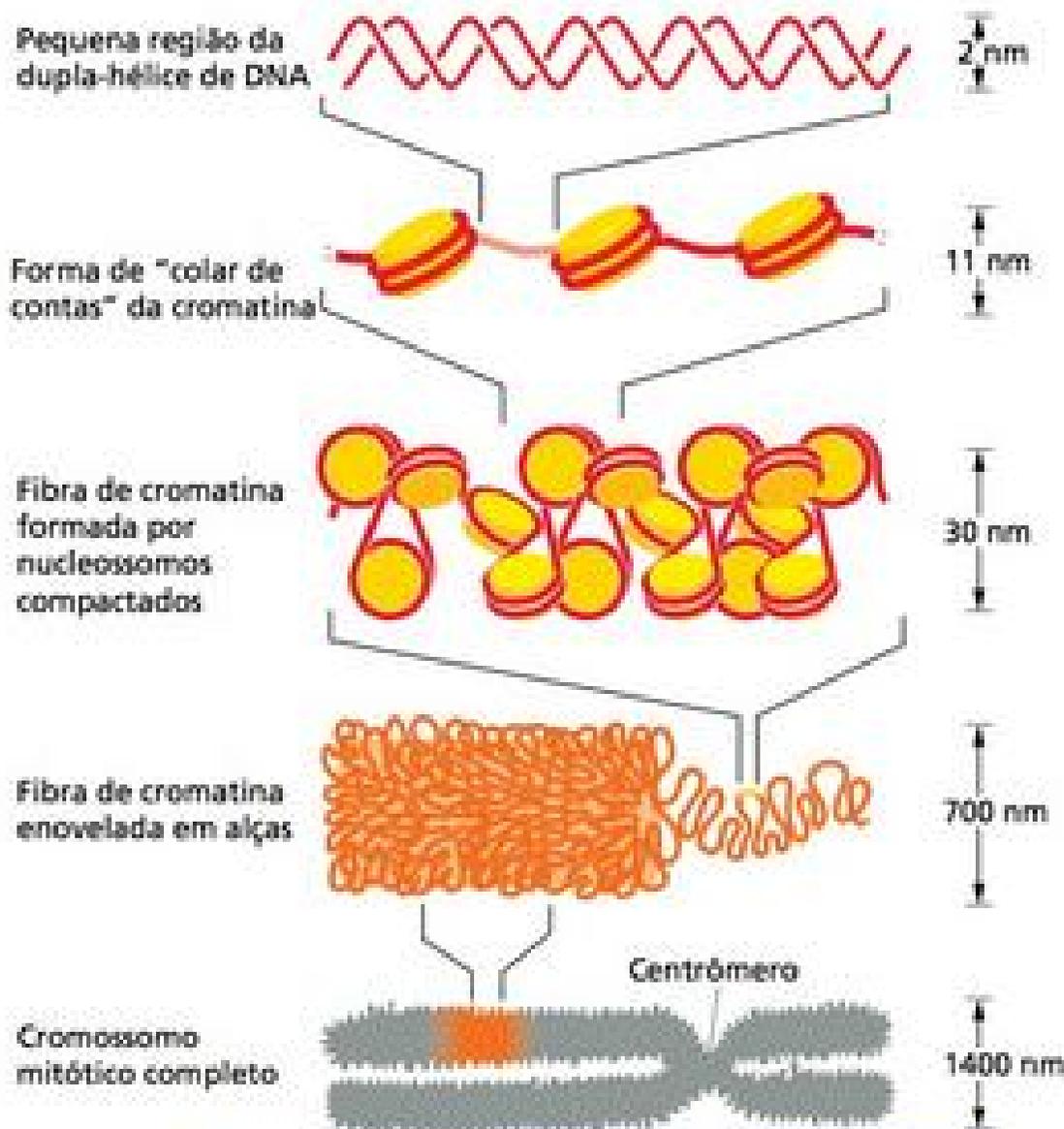
(A)



(B)







RESULTADO FINAL: CADA MOLÉCULA DE DNA É COMPACTADA EM UM CROMOSSOMO MITÓTICO QUE É 10.000 VEZES MAIS CURTO DO QUE EM SUA FORMA INTEIRAMENTE ESTENDIDA

Pequena região da dupla-hélice de DNA



2 nm

Forma de "colar de contas" da cromatina



11 nm

Fibra de cromatina formada por nucleossomos compactados



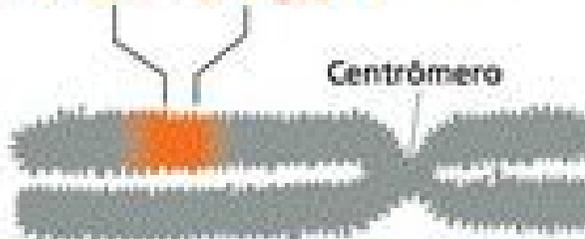
30 nm

Fibra de cromatina enovelada em alças



700 nm

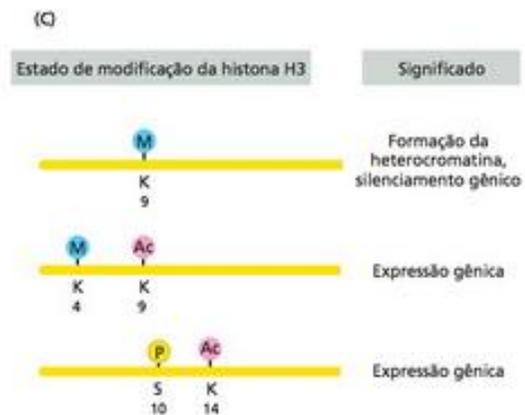
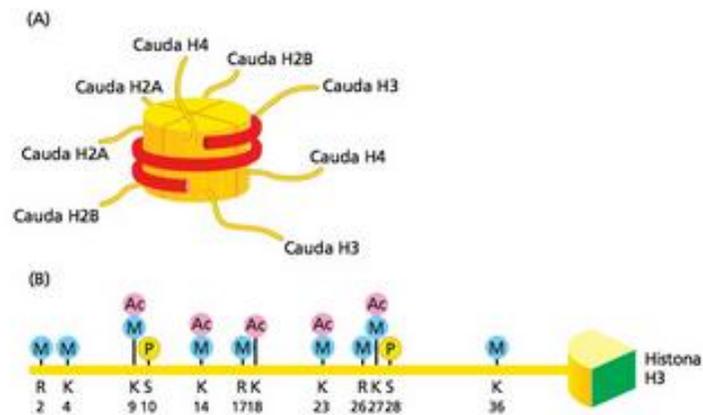
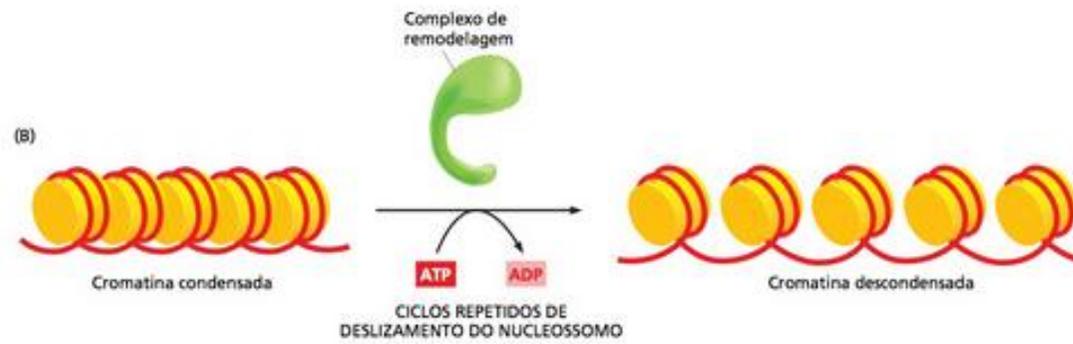
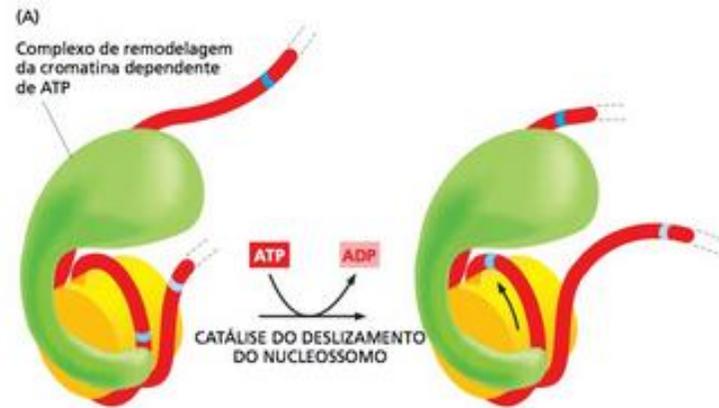
Cromossomo mitótico completo

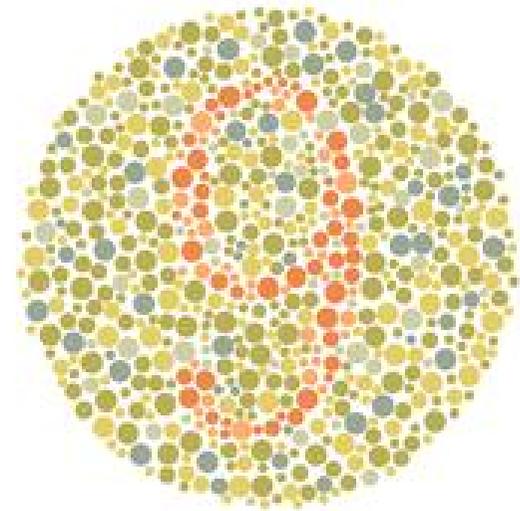
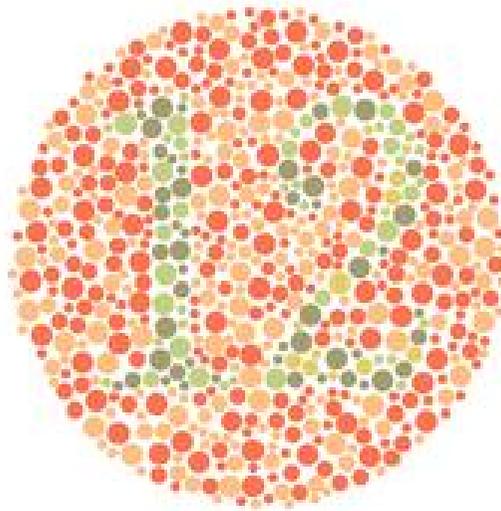
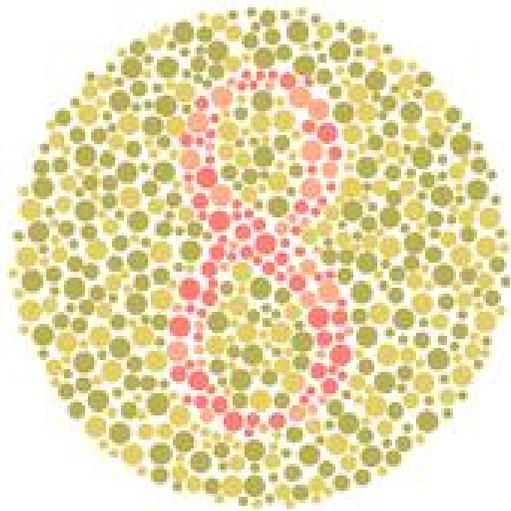
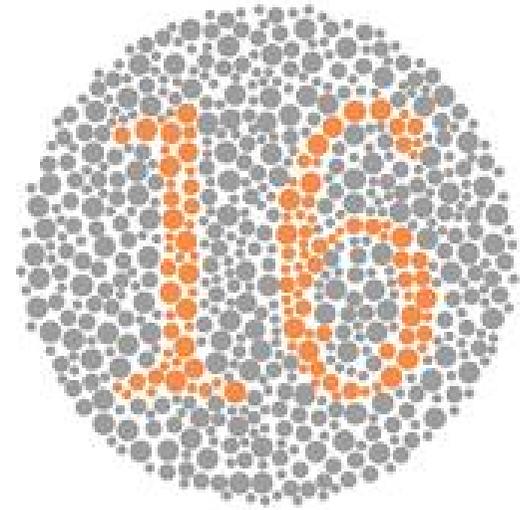
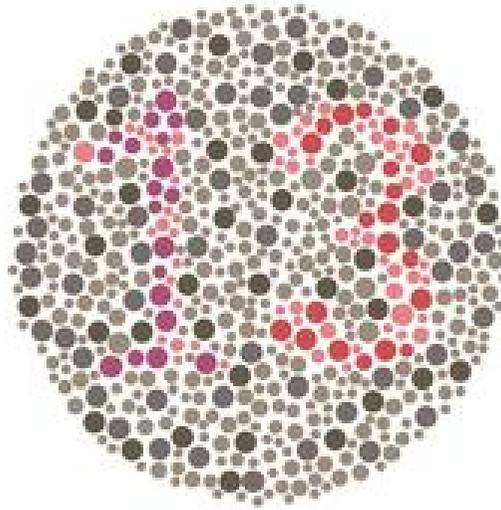
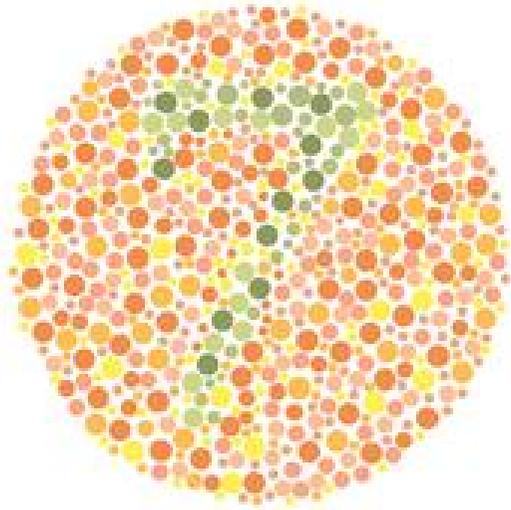


1400 nm

RESULTADO FINAL: CADA MOLÉCULA DE DNA É COMPACTADA EM UM CROMOSSOMO MITÓTICO QUE É 10.000 VEZES MAIS CURTO DO QUE EM SUA FORMA INTEIRAMENTE ESTENDIDA



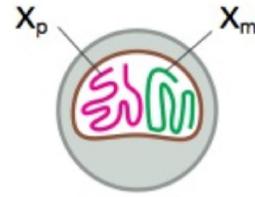




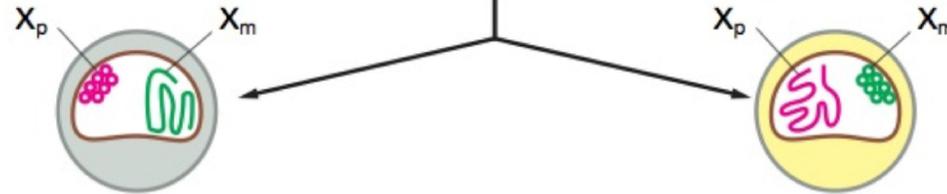
QUESTÃO 5-4

As mutações em um determinado gene do cromossomo X resultam em daltonismo em homens. Por outro lado, a maioria das mulheres portadoras da mutação possui visão para cores, mas enxerga os objetos coloridos com resolução reduzida, já que suas células cone funcionais (as células fotorreceptoras responsáveis pela visão em cores) estão mais distantes umas das outras na retina do que o normal. Você pode dar uma explicação plausível para essa observação? Se uma mulher é daltônica, o que você poderia dizer a respeito de seu pai? E a respeito de sua mãe? Explique suas respostas.

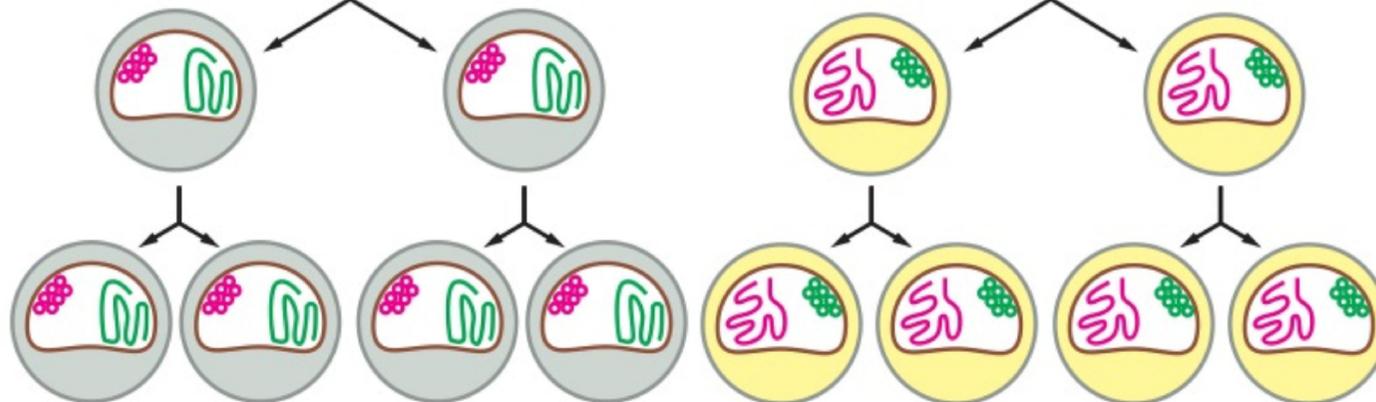
Célula do embrião inicial



INATIVAÇÃO DE UM CROMOSSOMO X SELECIONADO ALEATORIAMENTE



HERANÇA DIRETA DO PADRÃO DE INATIVAÇÃO DO CROMOSSOMO X



Apenas X_m ativo neste clone

Apenas X_p ativo neste clone

O que é um gene?

O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

2 xícaras (chá) de açúcar

3 xícaras (chá) de farinha de trigo

4 colheres (sopa) de margarina

3 ovos

1 e 1/2 xícara (chá) de leite

1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve

Misture as gemas, a margarina e o açúcar até obter uma massa homogênea

Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de bater

Por último, adicione as claras em neve e o fermento

Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada

Asse em forno médio 180 °C, pré-aquecido, por aproximadamente 40 minutos ou ao

furar o bolo com um garfo, este saia limpo

O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

2 xícaras (chá) de açúcar

3 xícaras (chá) de farinha de trigo

4 colheres (sopa) de margarina

3 ovos

1 e 1/2 xícara (chá) de leite

1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve

Misture as gemas, a margarina e o açúcar até obter uma massa homogênea

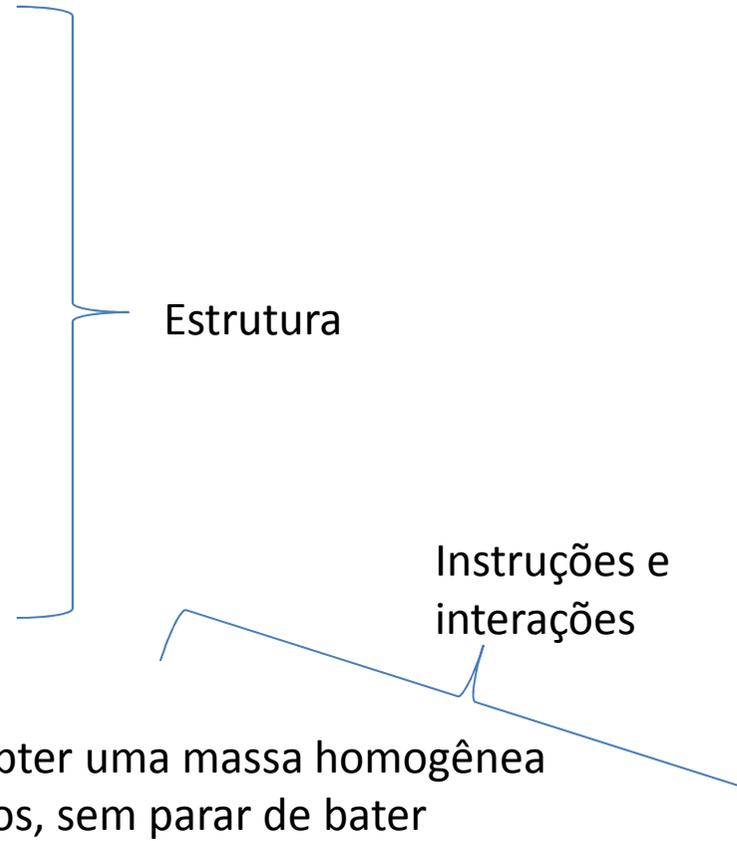
Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de bater

Por último, adicione as claras em neve e o fermento

Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada

Asse em forno médio 180 °C, pré-aquecido, por aproximadamente 40 minutos ou ao

furar o bolo com um garfo, este saia limpo



O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

2 xícaras (chá) de açúcar

3 xícaras (chá) de farinha de trigo

4 colheres (sopa) de margarina

3 ovos

1 e 1/2 xícara (chá) de leite

1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve

Misture as gemas, a margarina e o açúcar até obter uma massa homogênea

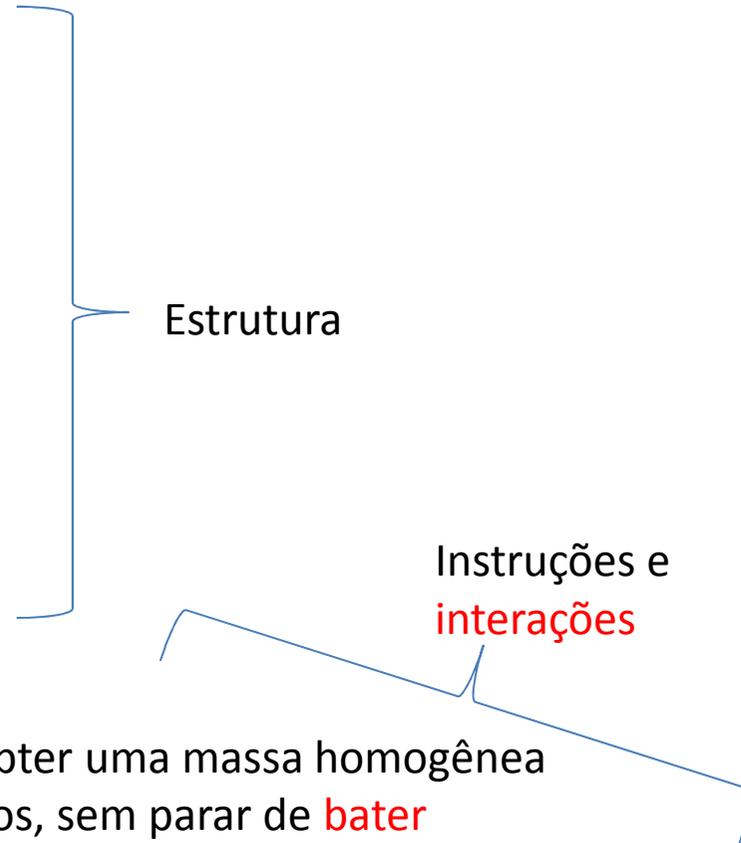
Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de **bater**

Por último, adicione as claras em neve e o fermento

Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada

Asse em forno médio 180 °C, pré-aquecido, por aproximadamente 40 minutos ou ao

furar o bolo com um garfo, este saia limpo



O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

2 xícaras (chá) de açúcar

3 xícaras (chá) de farinha de trigo

4 colheres (sopa) de margarina

3 ovos

1 e 1/2 xícara (chá) de leite

1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve

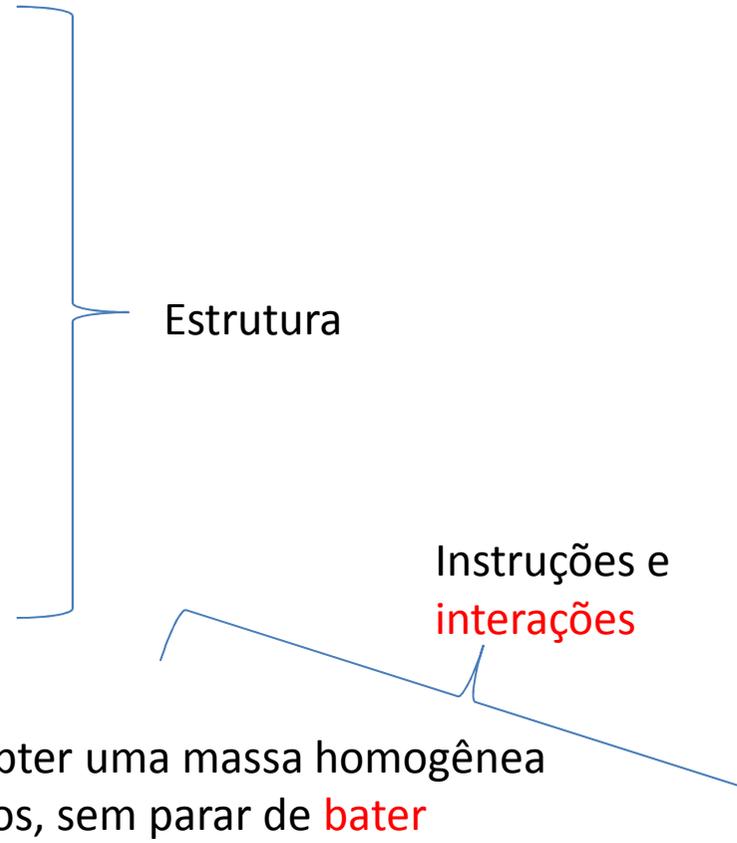
Misture as gemas, a margarina e o açúcar até obter uma massa homogênea

Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de **bater**

Por último, adicione as claras em neve e o fermento

Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada

Asse em forno médio 180 °C, pré-aquecido, por aproximadamente 40 minutos ou ao furar o bolo com um **garfo**, este saia limpo



O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

2 xícaras (chá) de açúcar

3 xícaras (chá) de farinha de trigo

4 colheres (sopa) de margarina

3 ovos

1 e 1/2 xícara (chá) de leite

1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve

Misture as gemas, a margarina e o açúcar até obter uma massa homogênea

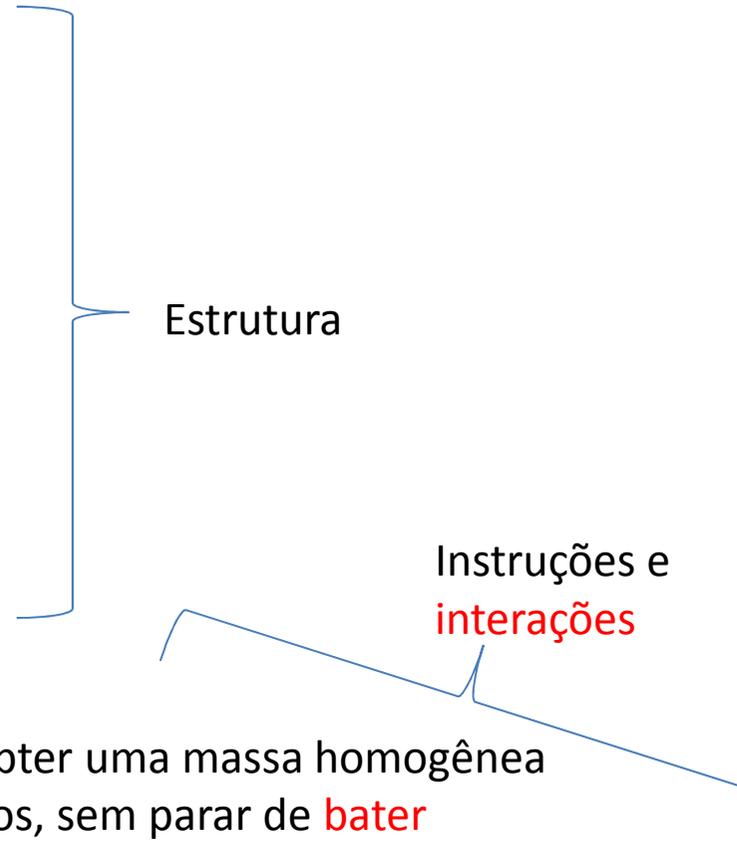
Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de **bater**

Por último, adicione as claras em neve e o fermento

Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada

Asse em **forno** médio 180 °C, pré-aquecido, por aproximadamente 40 minutos ou ao

furar o bolo com um **garfo**, este saia limpo



O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

2 xícaras (chá) de açúcar

3 xícaras (chá) de farinha de trigo

4 colheres (sopa) de margarina

3 ovos

1 e 1/2 xícara (chá) de leite

1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve

Misture as gemas, a margarina e o açúcar até obter uma massa homogênea

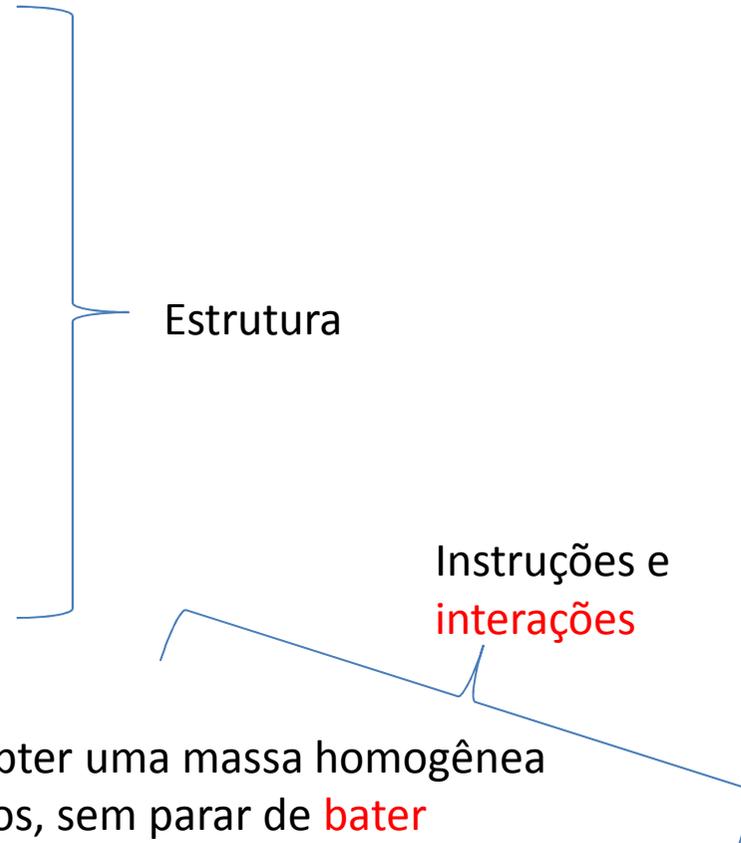
Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de **bater**

Por último, adicione as claras em neve e o fermento

Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada

Asse em **forno médio 180 °C**, pré-aquecido, por aproximadamente 40 minutos ou ao

furar o bolo com um **garfo**, este saia limpo



O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

- 2 xícaras (chá) de açúcar
- 3 xícaras (chá) de farinha de trigo
- 4 colheres (sopa) de margarina
- 3 ovos
- 1 e 1/2 xícara (chá) de leite
- 1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve

Misture as gemas, a margarina e o açúcar **até obter uma massa homogênea**

Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de **bater**

Por último, adicione as claras em neve e o fermento

Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada

Asse em **forno médio 180 °C**, pré-aquecido, por aproximadamente **40 minutos** ou ao

furar o bolo com um **garfo**, este saia limpo

Estrutura

Instruções e
interações

+ **Condições**

O que é um gene?

Bolo simples

Ingredientes

2 xícaras (chá) de açúcar
3 xícaras (chá) de farinha de trigo
4 colheres (sopa) de margarina
3 ovos
1 e 1/2 xícara (chá) de leite
1 colher (sopa) bem cheia de fermento em pó

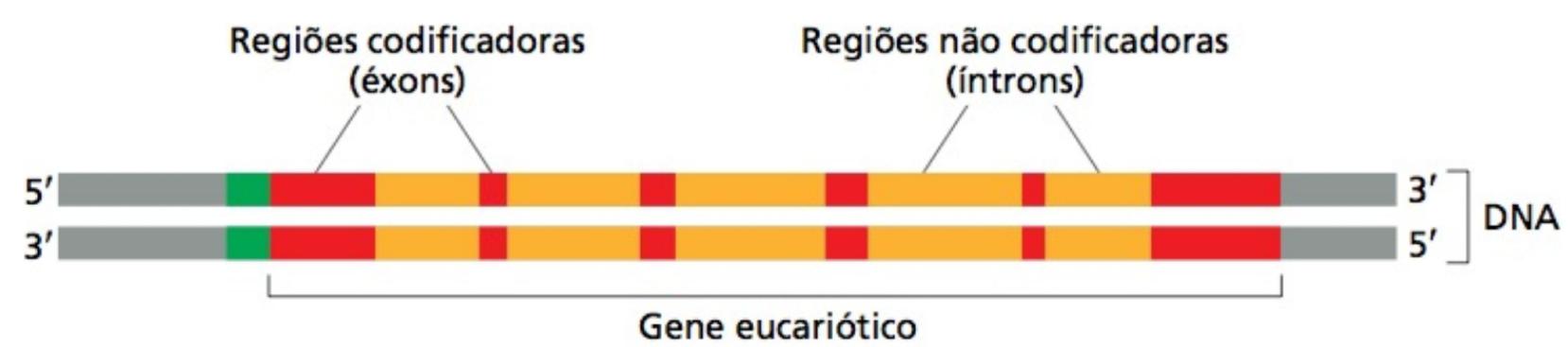
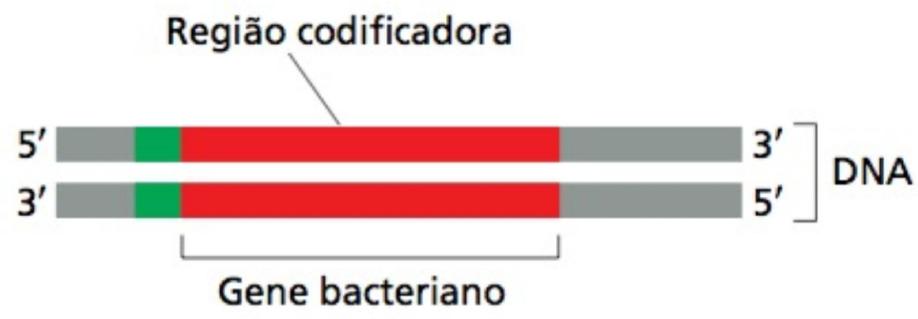
Modo de Preparo

Bata as claras em neve e reserve
Misture as gemas, a margarina e o açúcar **até obter uma massa homogênea**
Acrescente o leite e a farinha de trigo aos poucos, sem parar de **bater**
Por último, adicione as claras em neve e o fermento
Despeje a massa em uma forma grande de furo central untada e enfarinhada
Asse em **forno médio 180 °C**, pré-aquecido, por aproximadamente **40 minutos** ou **ao furar o bolo** com um **garfo, este saia limpo**

Estrutura

Instruções e
interações

+ Condições

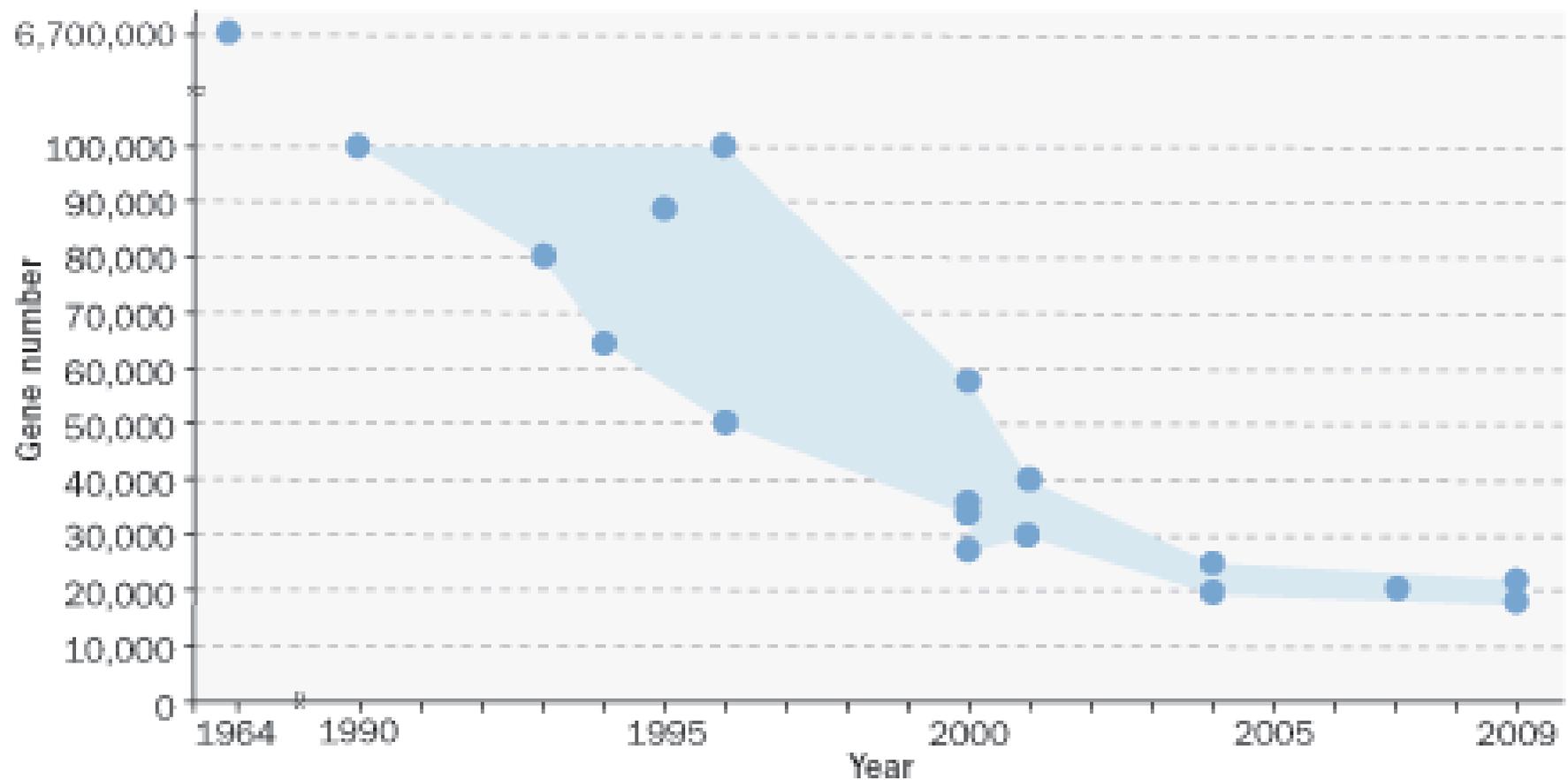


Como melhorar essa imagem?

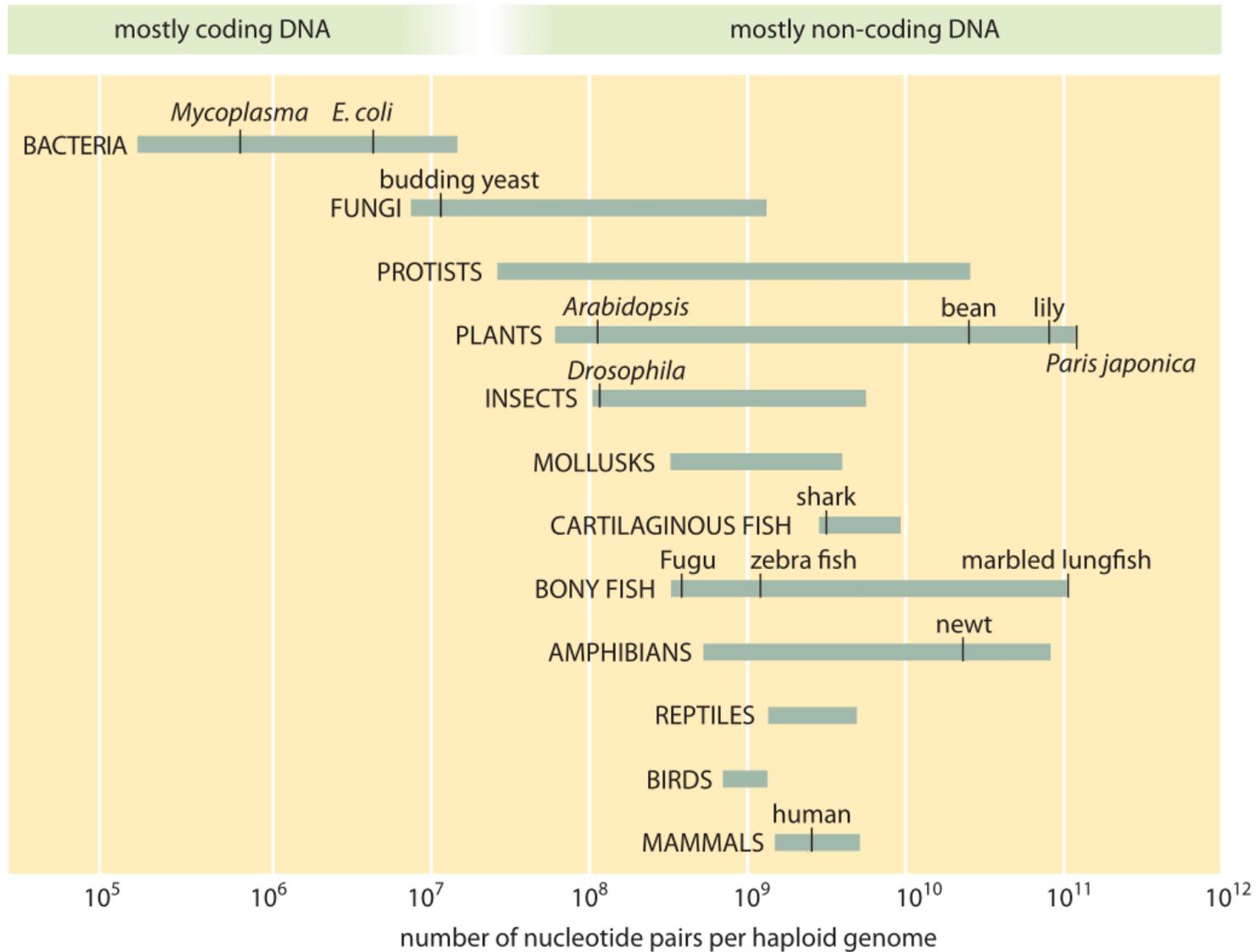
- Regiões UTR
- Regiões regulatórias
- Sítios de splicing

Quanto genes existem?

Human gene number estimates over time



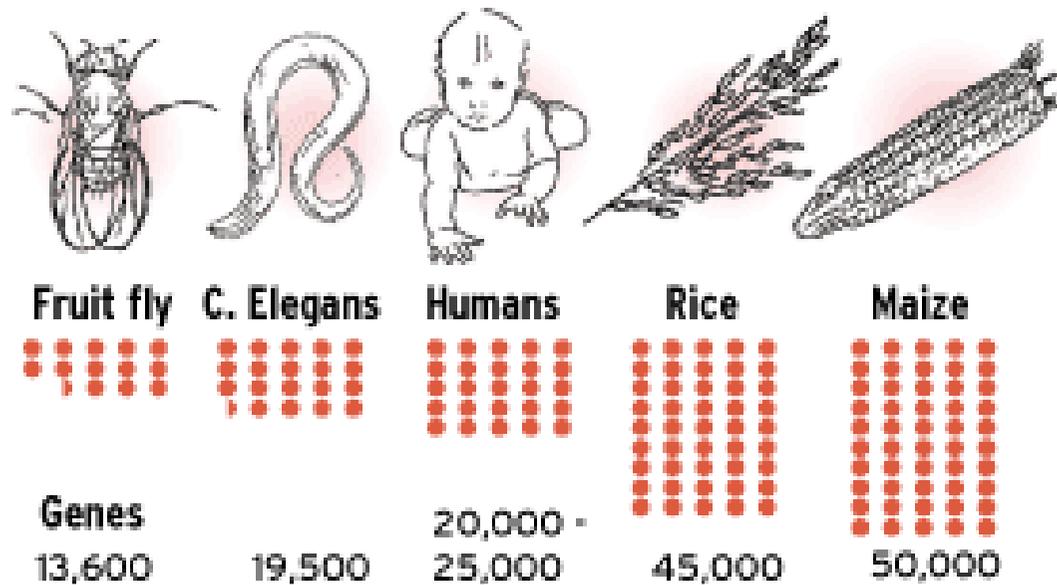
Que tamanhos genomas tem?



Quanto genes existem?

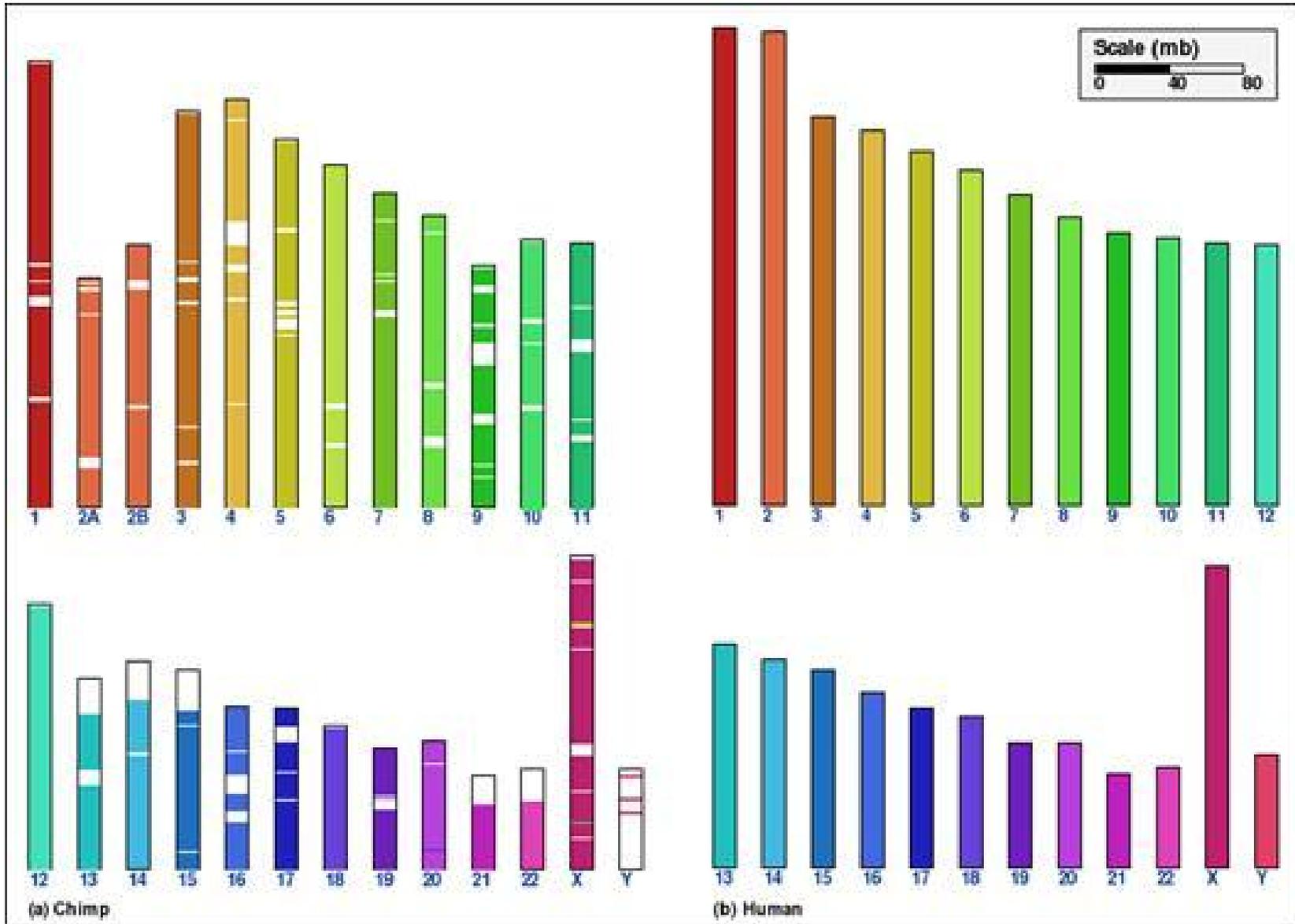
Humans have fewer genes

In Thursday's issue of the journal *Nature*, researchers who decoded the human genome concluded that people have only 20,000 to 25,000 genes, a drop from the 30,000 to 40,000 estimated in 2001.



SOURCE: *Nature*

AP



Sintenia: <http://cinteny.cchmc.org/doc/multiplegenomes.php>

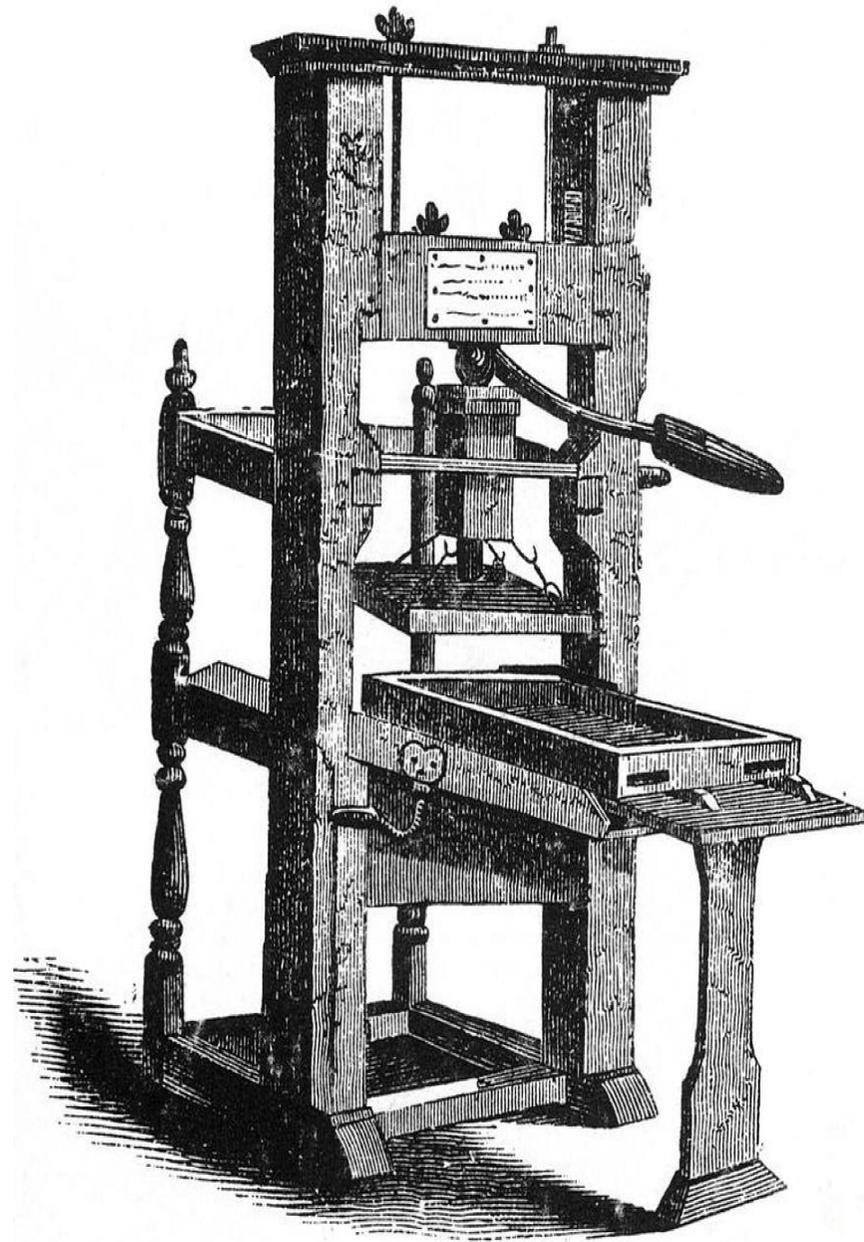




Replicação

Biologia Molecular

Prof. Michel Naslavsky

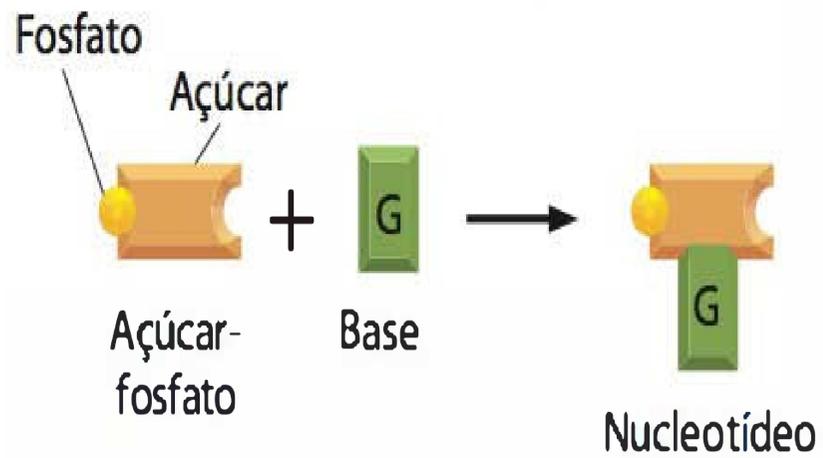




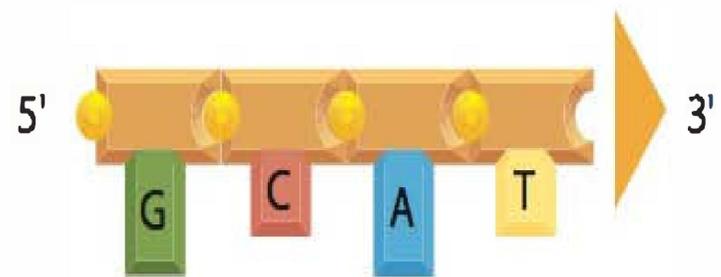


Olhando a estrutura do DNA de perto

Blocos construtores de DNA



Fita de DNA

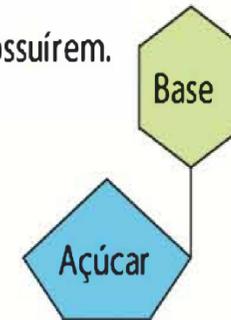


NOMENCLATURA Os nucleosídeos e os nucleotídeos são denominados segundo a base nitrogenada que possuírem.

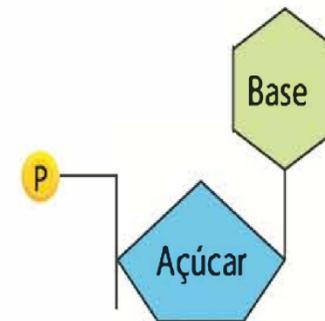
BASE	NUCLEOSÍDEO	ABREV.
Adenina	Adenosina	A
Guanina	Guanosina	G
Citosina	Citidina	C
Uracila	Uridina	U
Timina	Timidina	T

A abreviatura de uma só letra é usada para abreviar (1) apenas a base, (2) apenas o nucleosídeo ou (3) apenas o nucleotídeo. Normalmente, o contexto deixa claro de qual dos três sentidos se trata. Quando o contexto não é suficiente, adiciona-se os termos "base", "nucleosídeo" ou "nucleotídeo", como no exemplo abaixo, usando o código de 3 letras dos nucleotídeos.

AMP = monofosfato de adenosina
 dAMP = monofosfato de desoxiadenosina
 UDP = difosfato de uridina
 ATP = trifosfato de adenosina

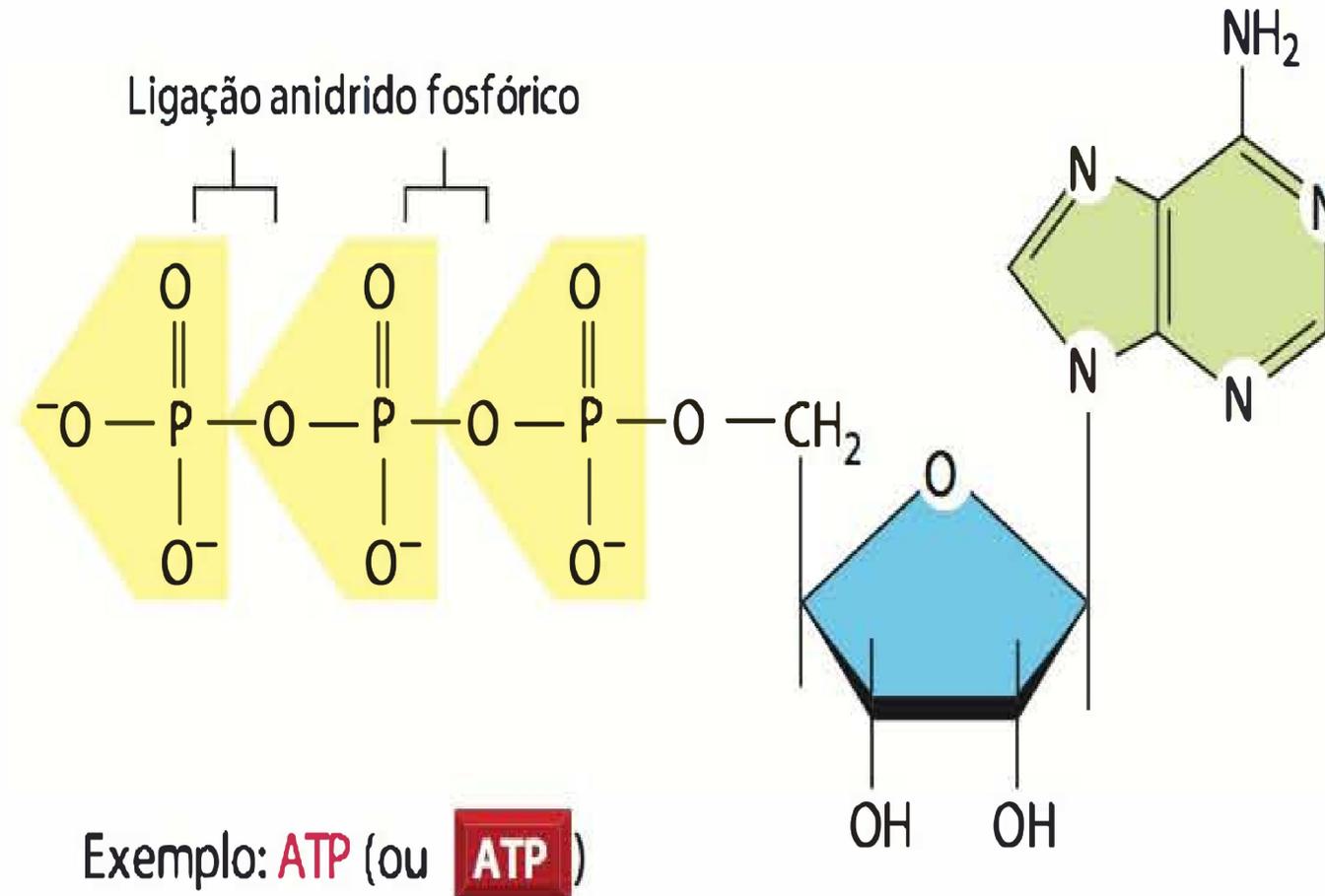


Base + açúcar = **NUCLEOSÍDEOS**

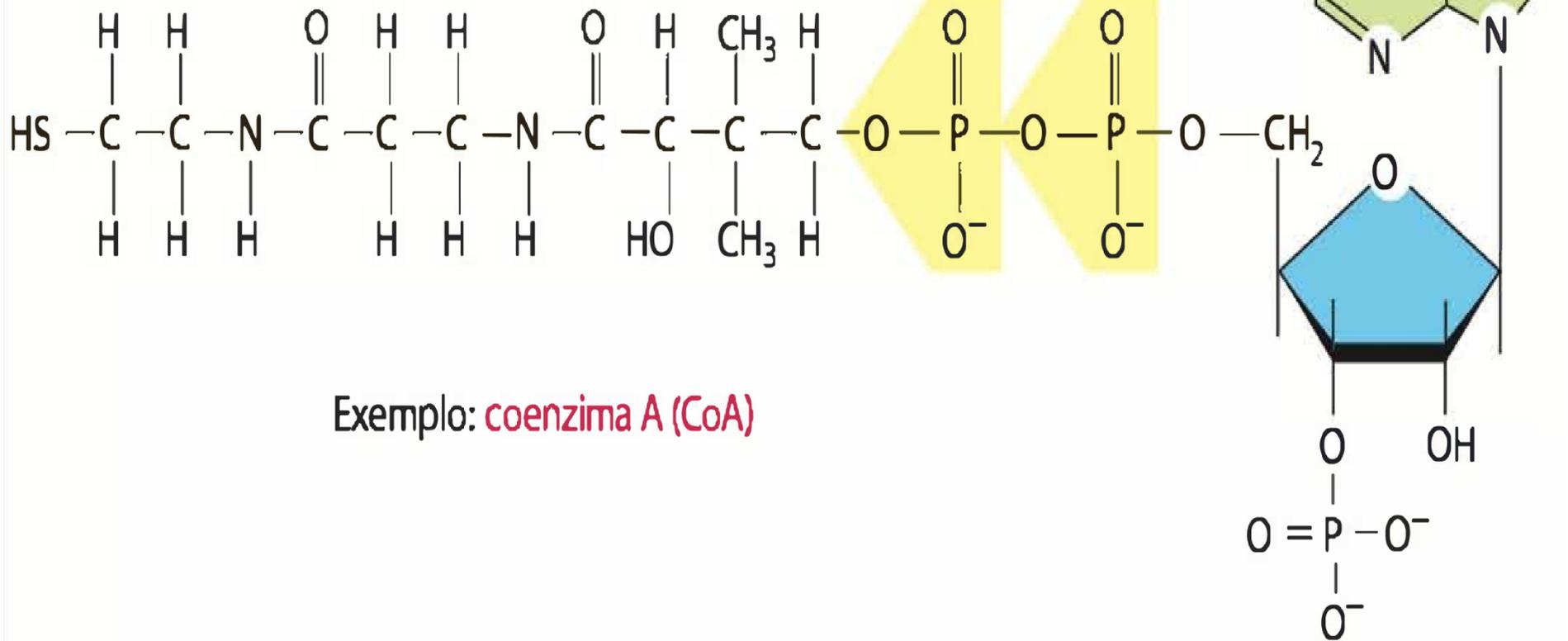


BASE + AÇÚCAR + FOSFATO = **NUCLEOTÍDEO**

- 1 Carregam energia química nas suas ligações anidrido fosfórico facilmente hidrolisáveis.

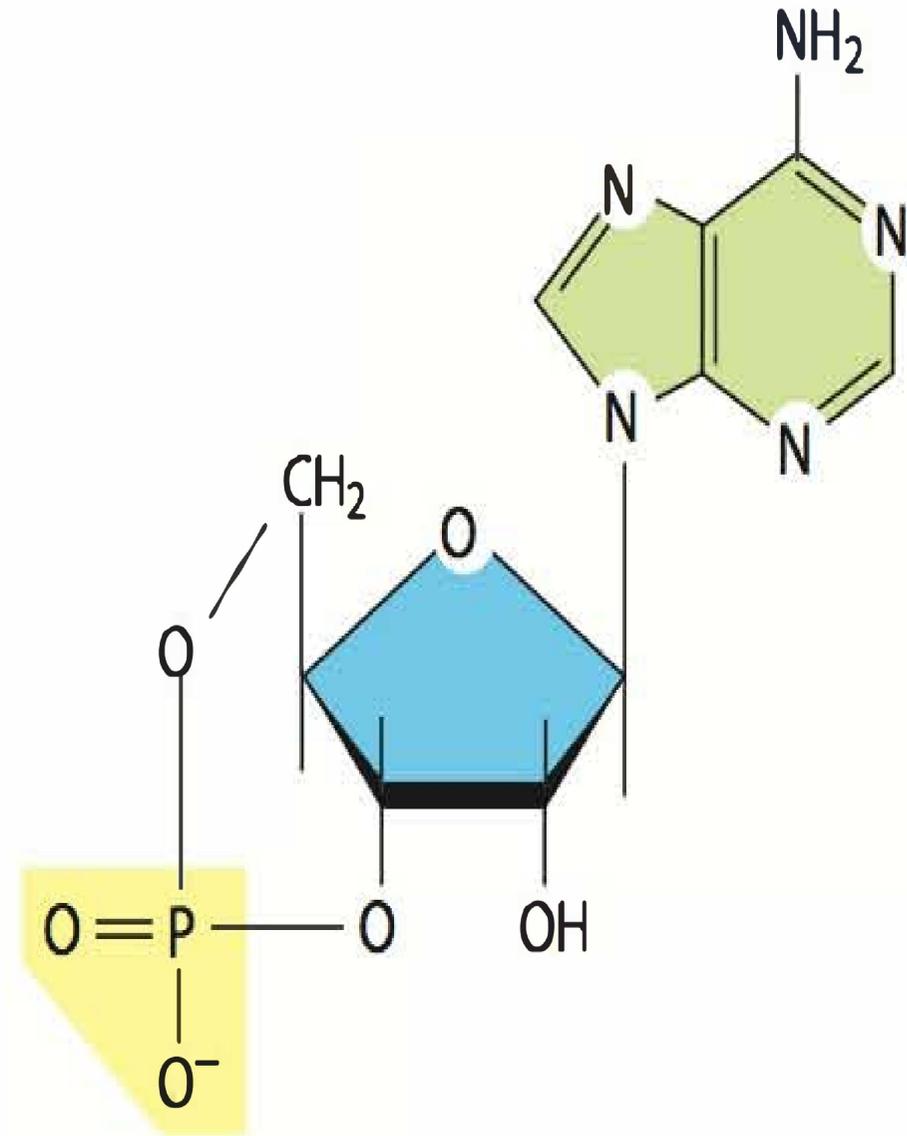


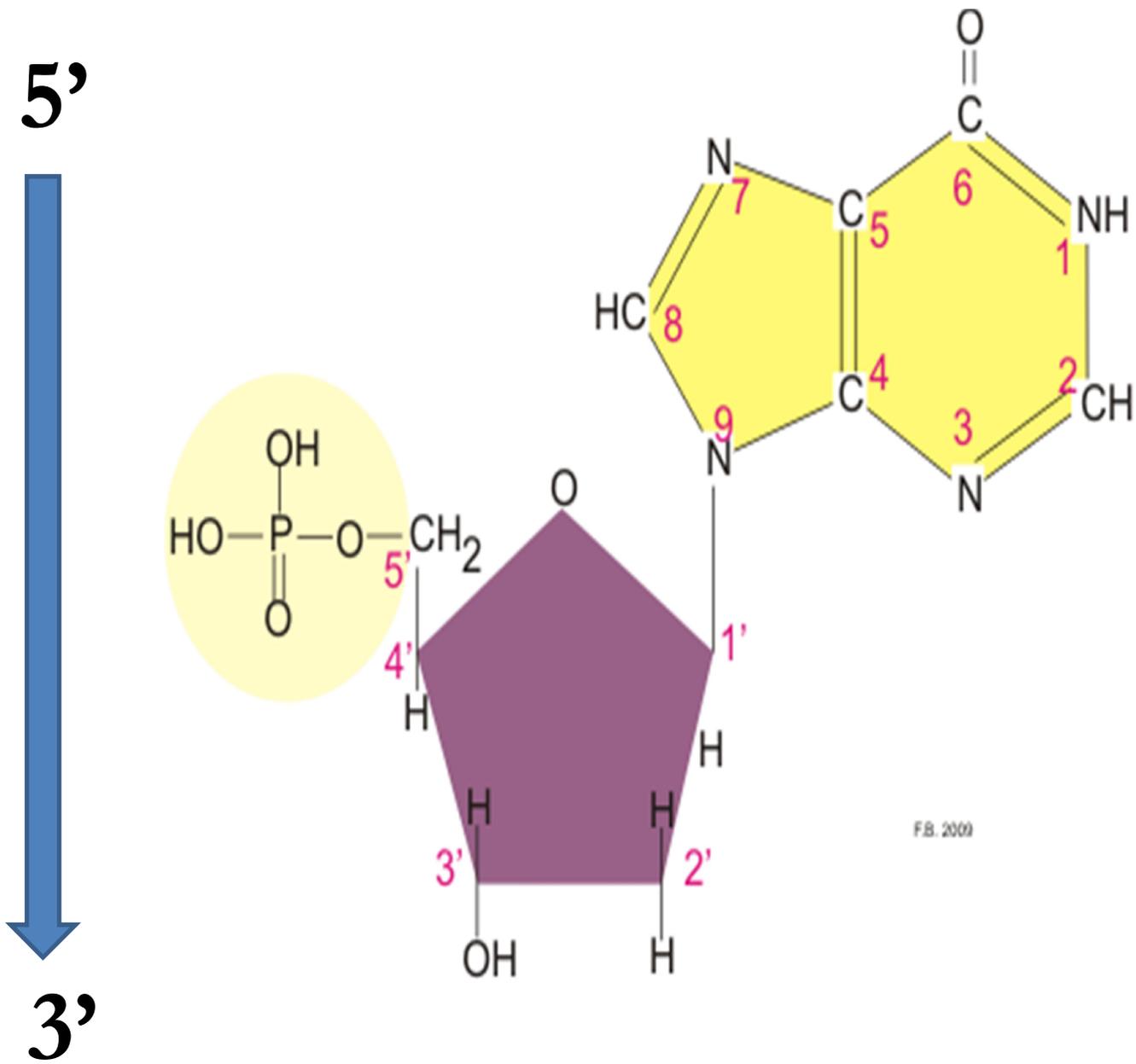
2 Combinam-se a outros grupos formando coenzimas.

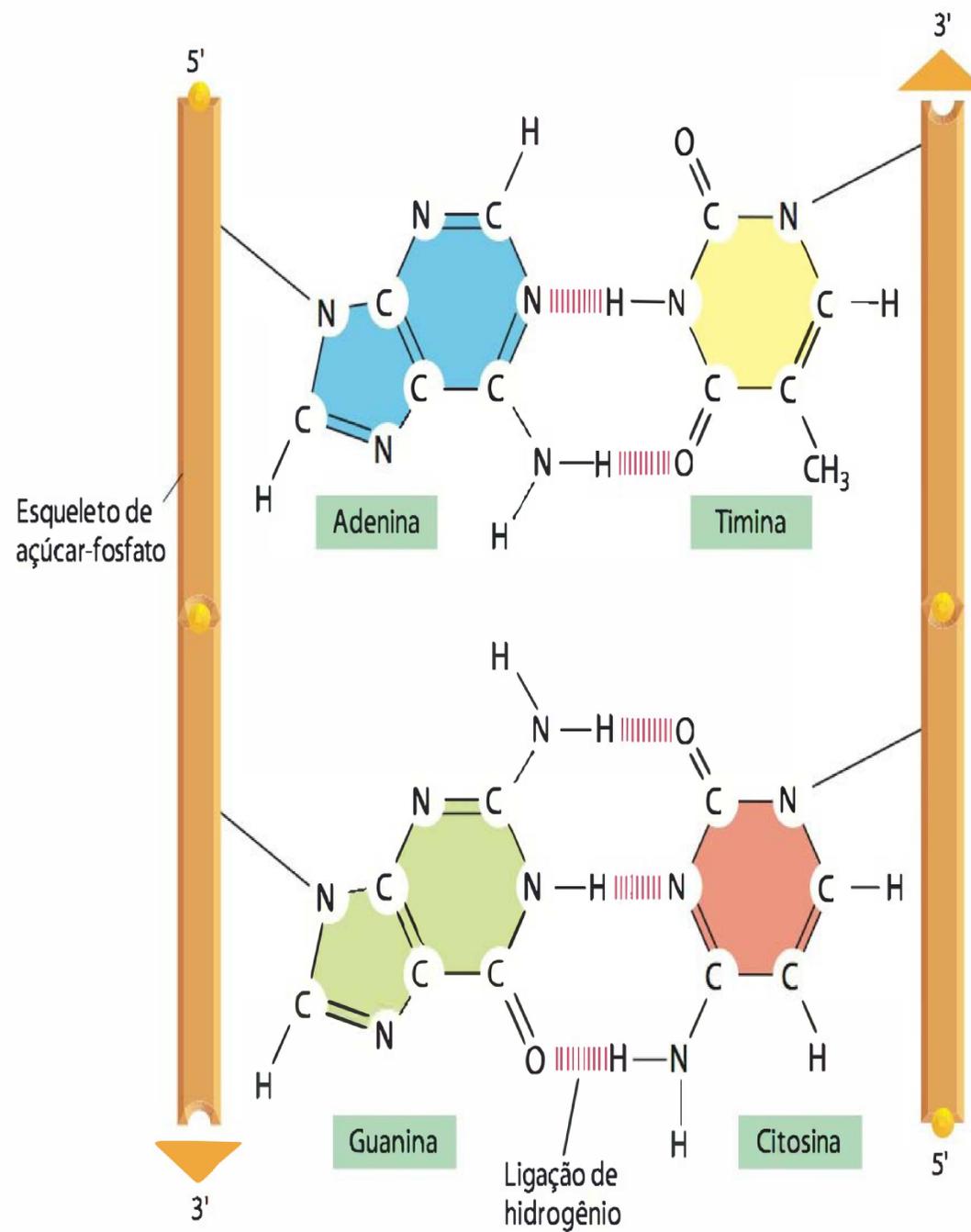


- 3 São usados como moléculas sinalizadoras específicas pelas células.

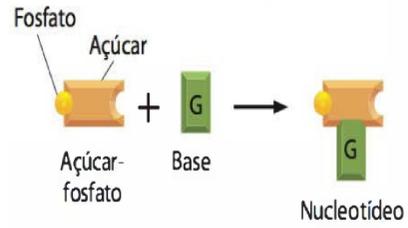
Exemplo: AMP cíclico (cAMP)



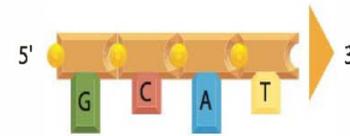




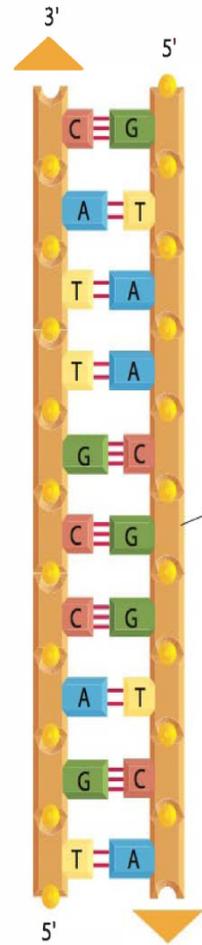
Blocos construtores de DNA



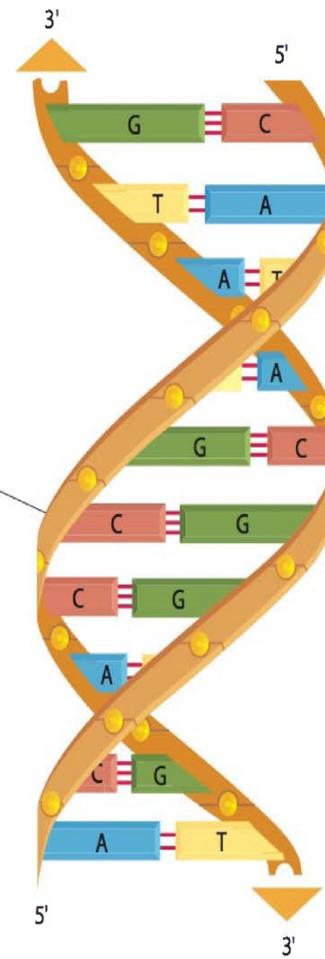
Fita de DNA



Fita dupla de DNA

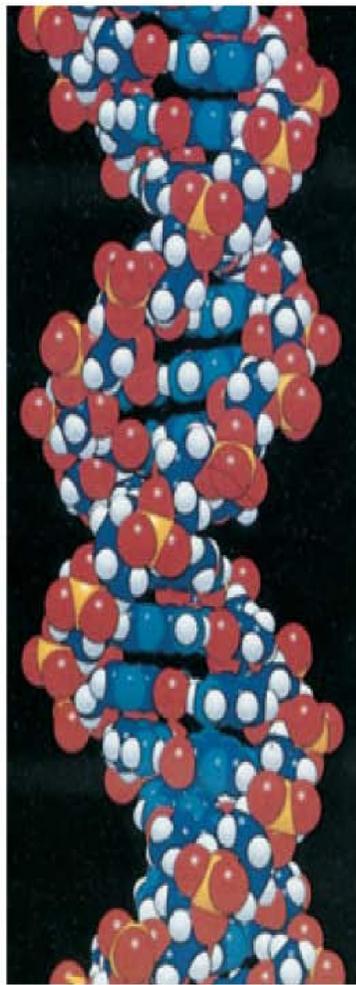


Dupla-hélice de DNA



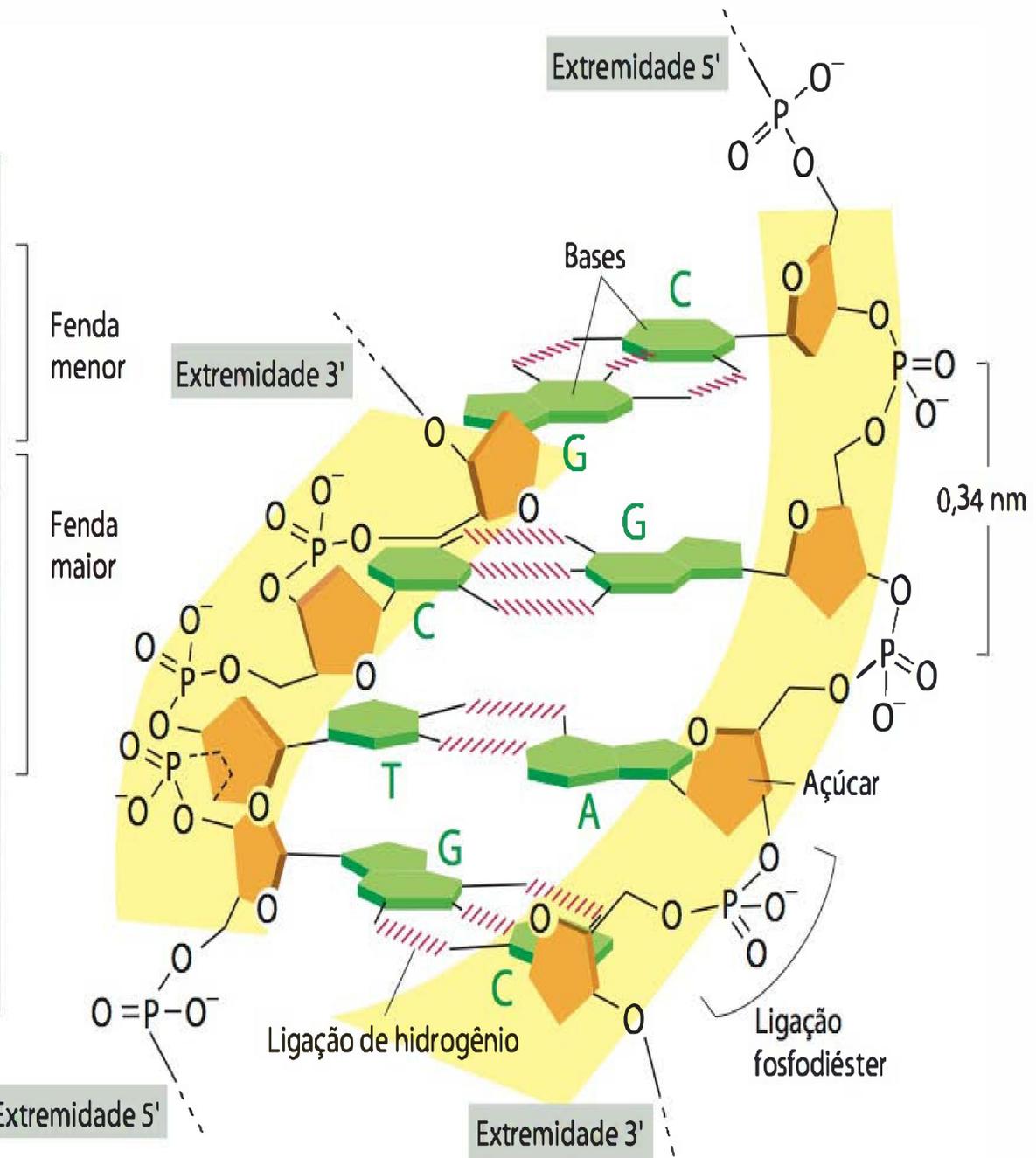
Esqueleto de açúcar-fosfato

Pares de bases unidos por ligações de hidrogénio



2 nm

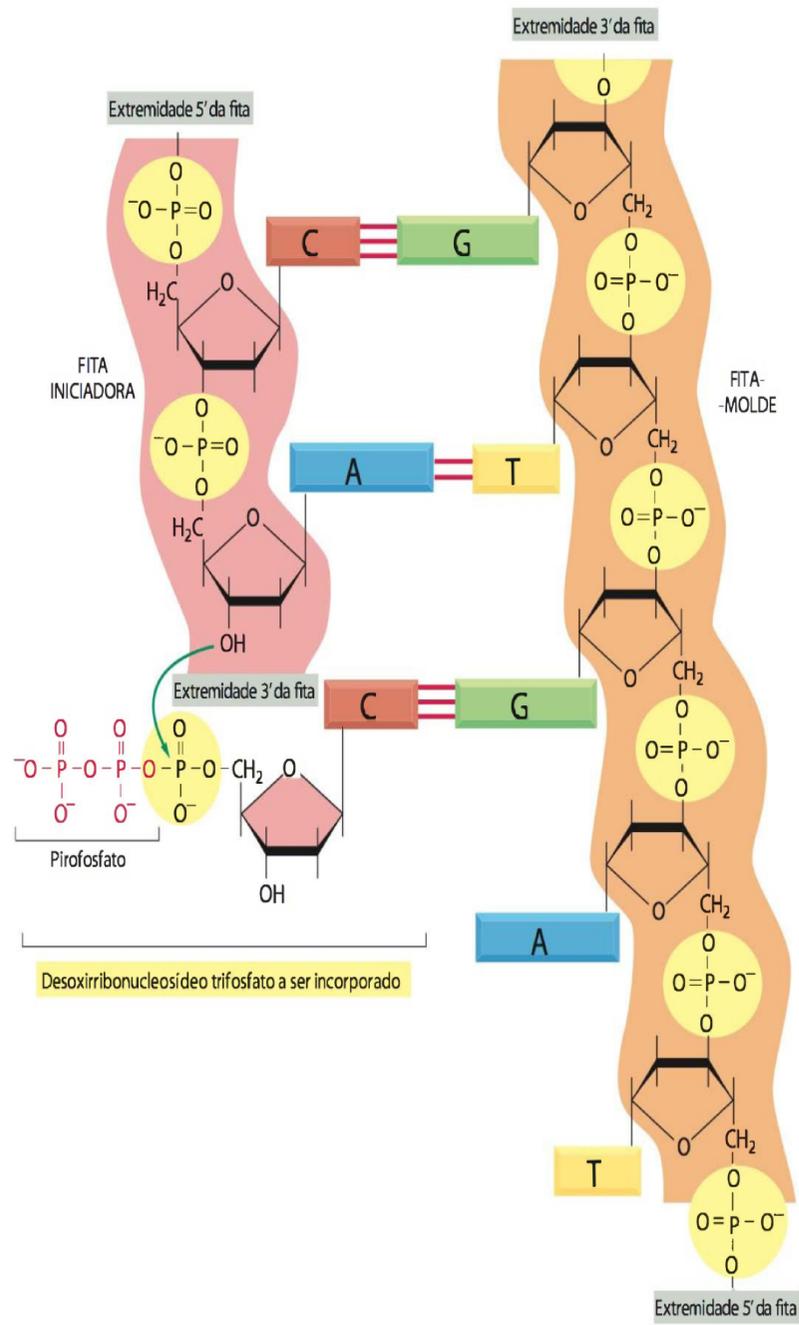
(A)

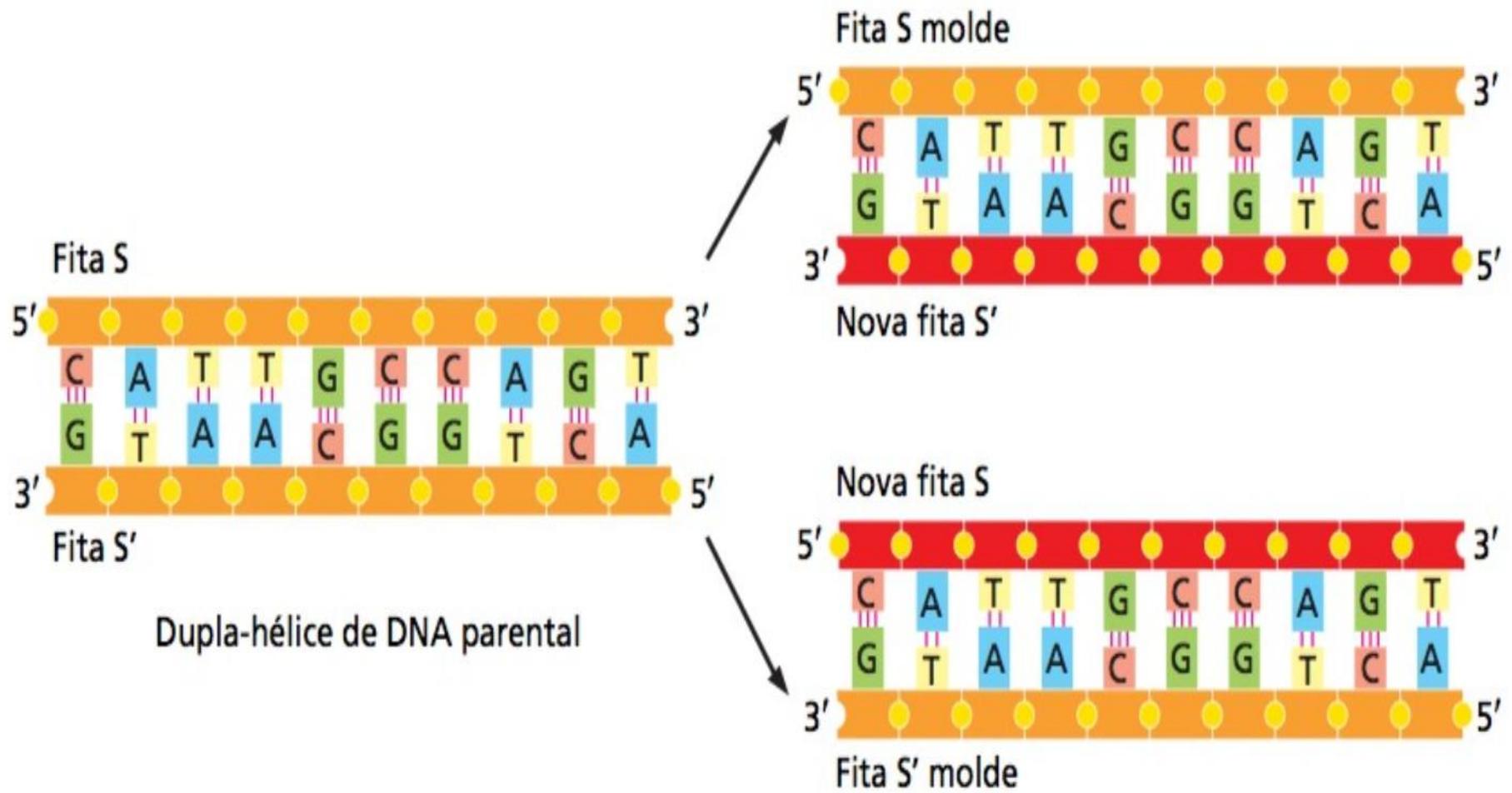


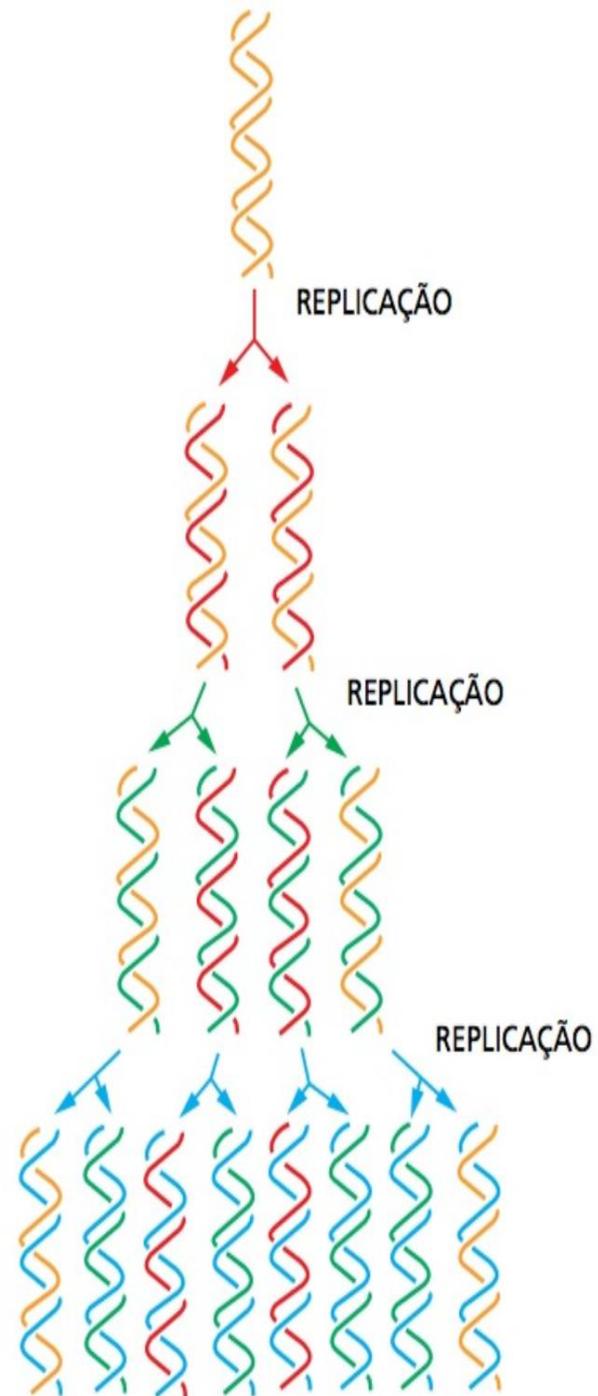
(B)

CCCTGTGGAGCCACACCCTAGGGTTGGCCA
ATCTACTCCCAGGAGCAGGGAGGGCAGGAG
CCAGGGCTGGGCATAAAAGTCAGGGCAGAG
CCATCTATTGCTTACATTTGCTTCTGACAC
AACTGTGTTCACTAGCAACTCAAACAGACA
CCATGGTGCACCTGACTCCTGAGGAGAAGT
CTGCCGTTACTGCCCTGTGGGGCAAGGTGA
ACGTGGATGAAGTTGGTGGTGAAGCCCTGG
GCAGGTTGGTATCAAGGTTACAAGACAGGT
TTAAGGAGACCAATAGAACTGGGCATGTG
GAGACAGAGAAGACTCTTGGGTTTCTGATA
GGCACTGACTCTCTCTGCCTATTGGTCTAT
TTTCCCACCCTTAGGCTGCTGGTGGTCTAC
CCTTGGACCCAGAGGTTCTTTGAGTCCTTT
GGGGATCTGTCCACTCCTGATGCTGTTATG
GGCAACCCTAAGGTGAAGGCTCATGGCAAG
AAAGTGCTCGGTGCCTTTAGTGATGGCCTG
GCTCACCTGGACAACCTCAAGGGCACCTTT
GCCACACTGAGTGAGCTGCACTGTGACAAG
CTGCACGTGGATCCTGAGAACTTCAGGGTG
AGTCTATGGGACCCTTGATGTTTTCTTTCC
CCTTCTTTTCTATGGTTAAGTTCATGTCAT
AGGAAGGGGAGAAGTAACAGGGTACAGTTT
AGAATGGGAAACAGACGAATGATTGCATCA
GTGTGGAAGTCTCAGGATCGTTTTAGTTTC
TTTTATTTGCTGTTCAACAATTGTTTTT
TTTTGTTTAATTCTTGCTTTCTTTTTTTTT
CTTCTCCGCAATTTTTACTATTATACTTAA

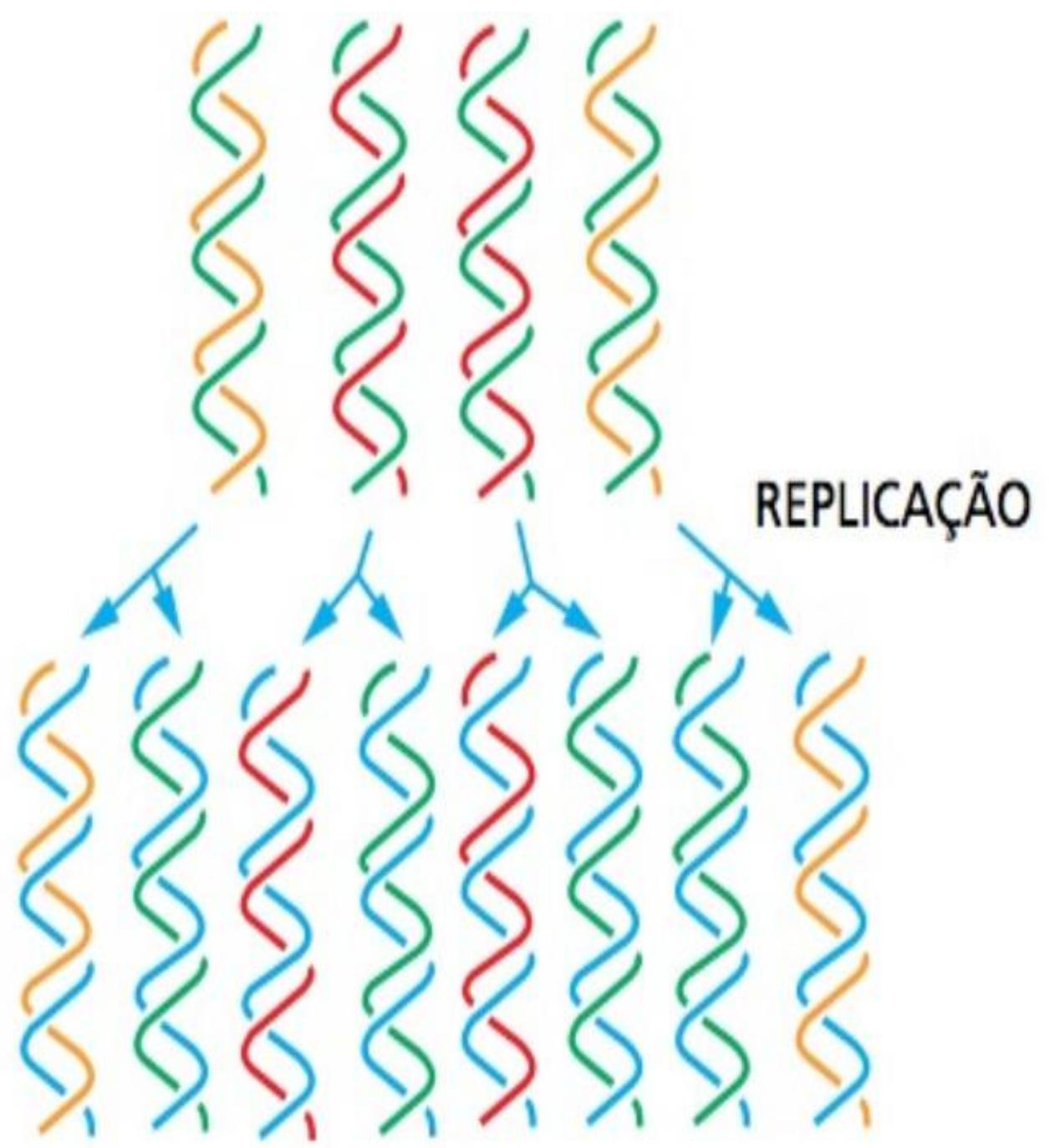
Replicação de DNA



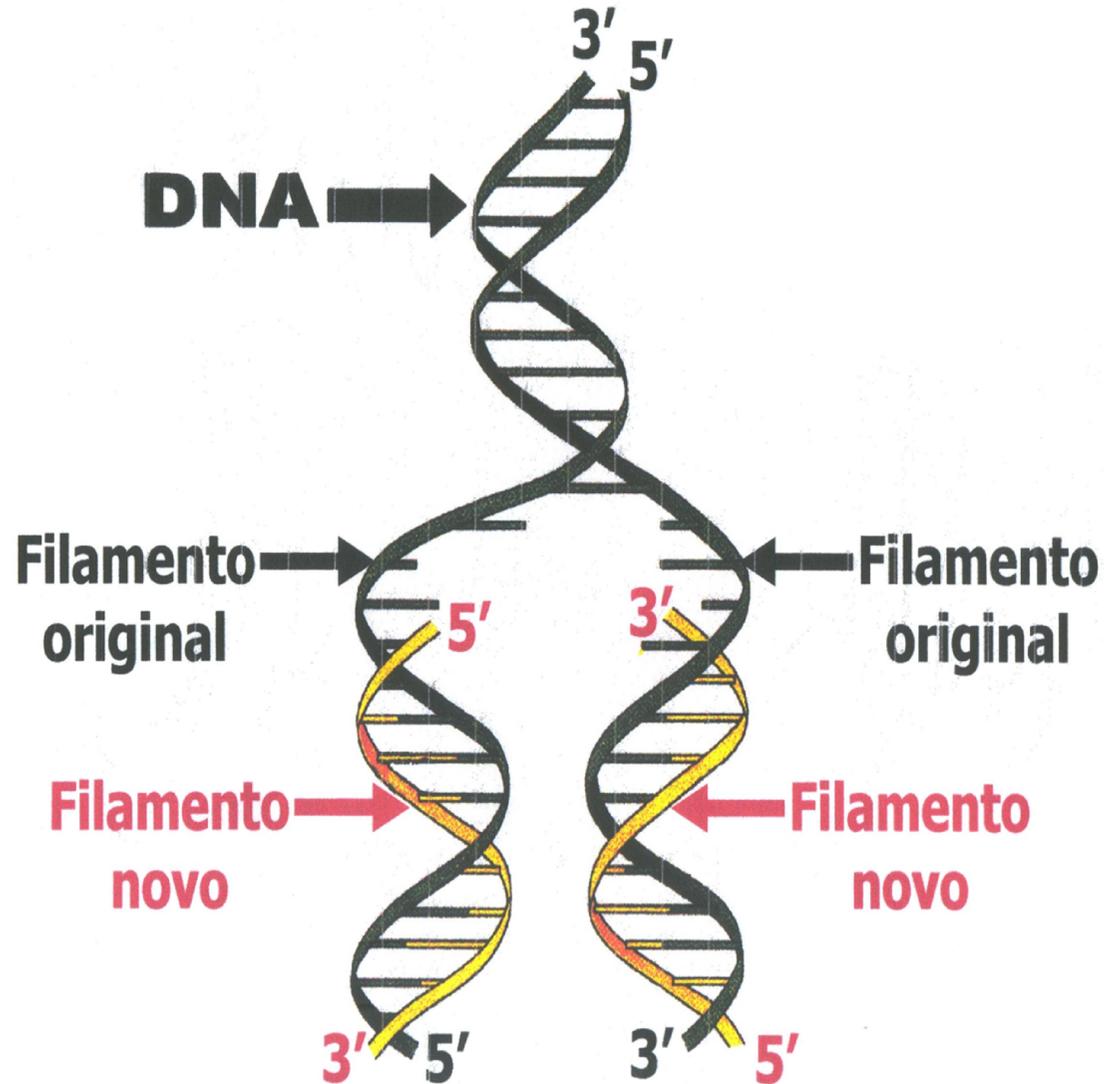




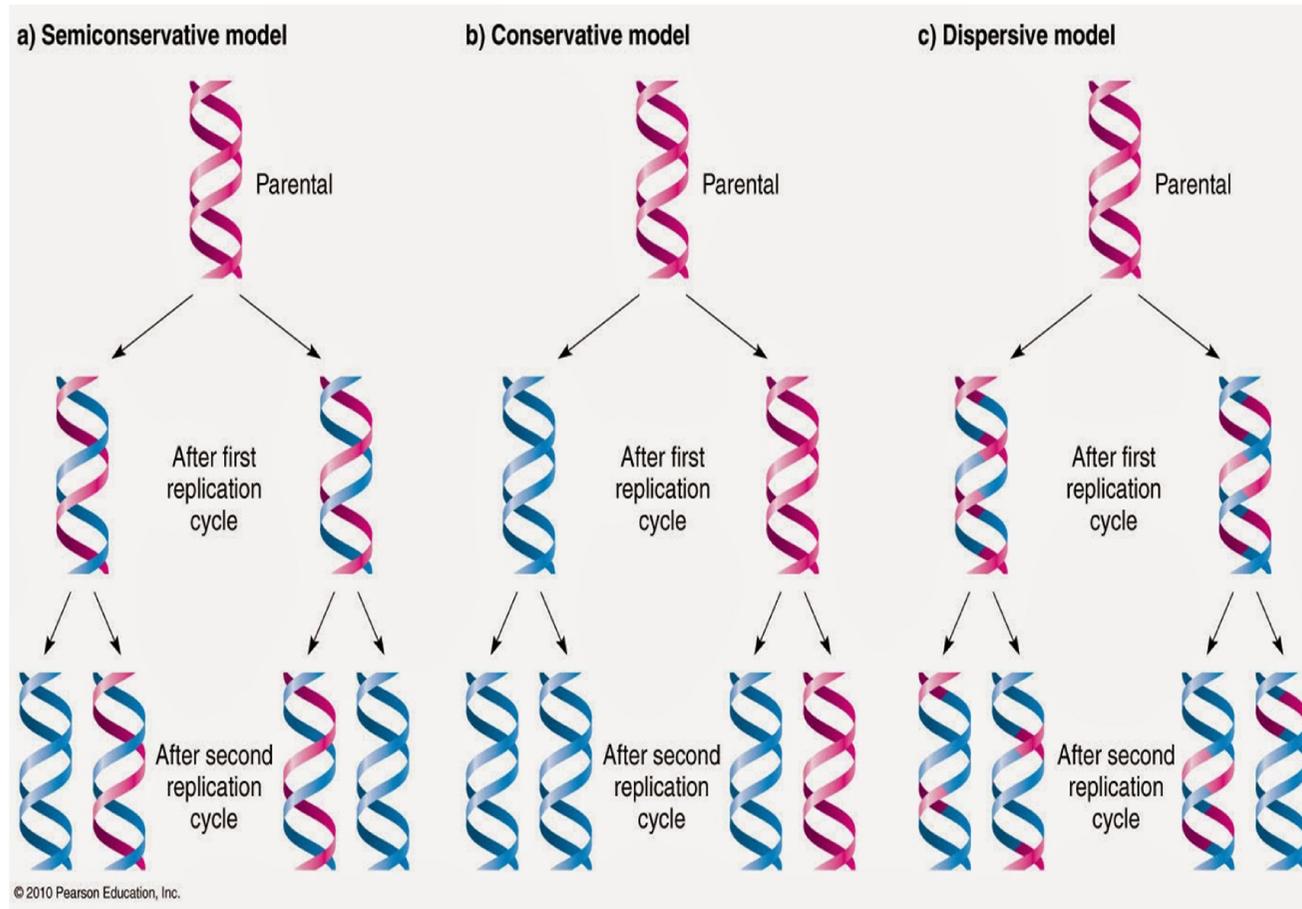




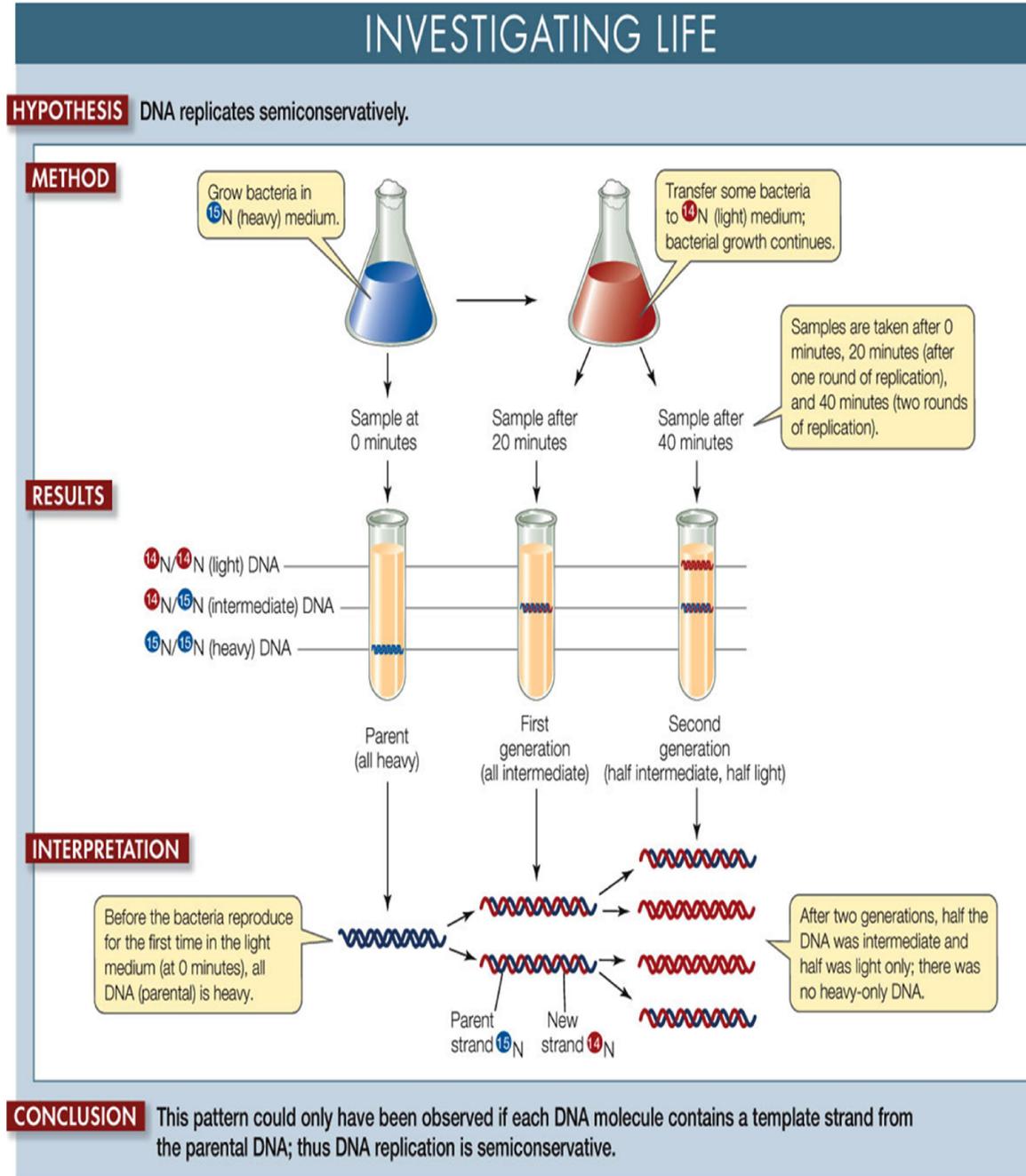
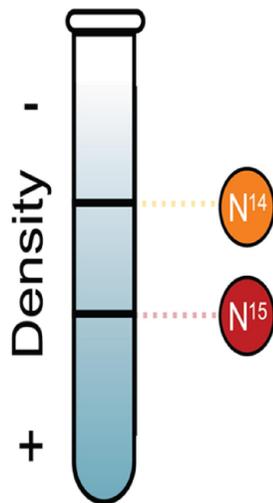
Replicação Semi-Conservativa



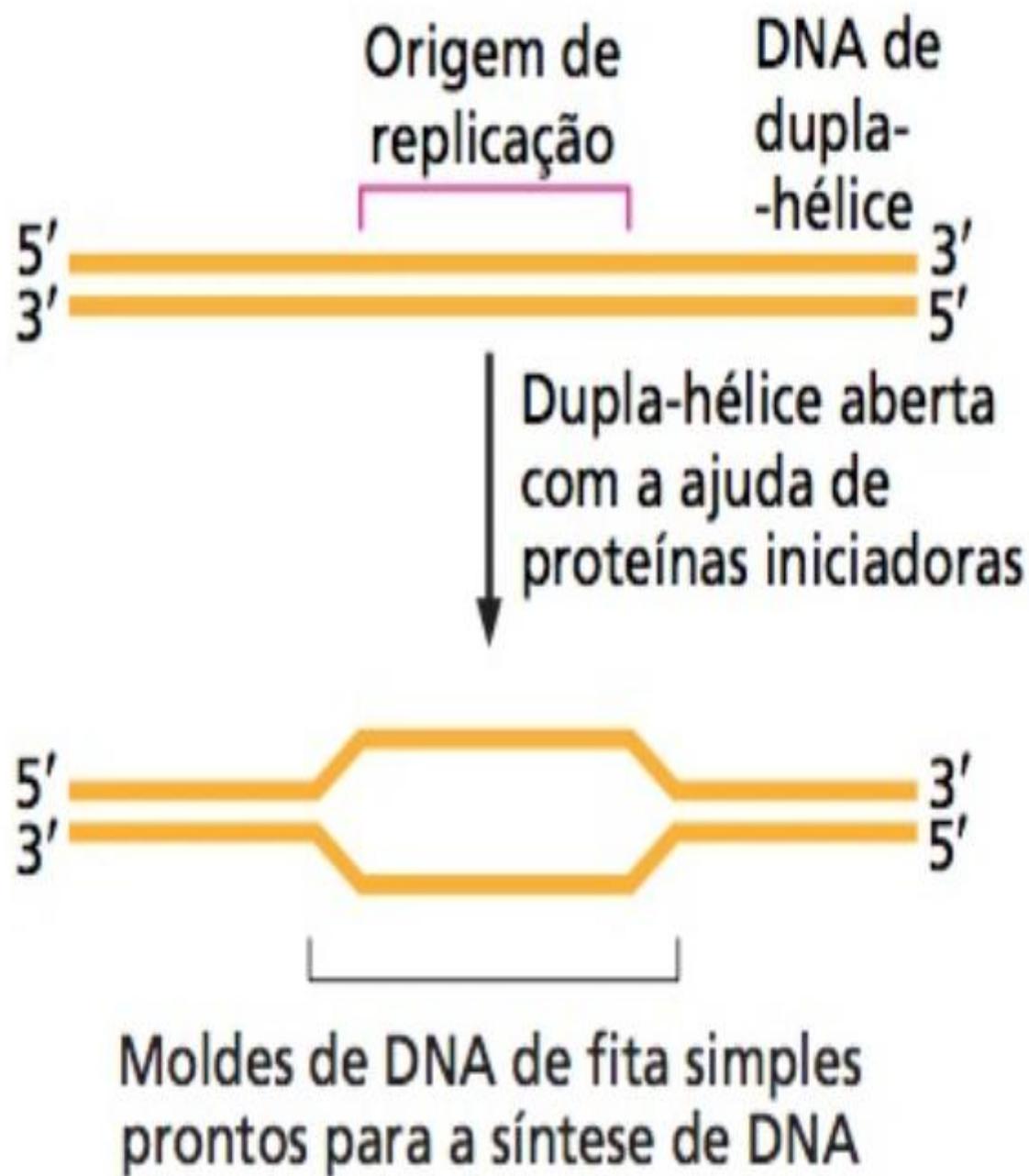
Modelos alternativos ao semi-conservativo

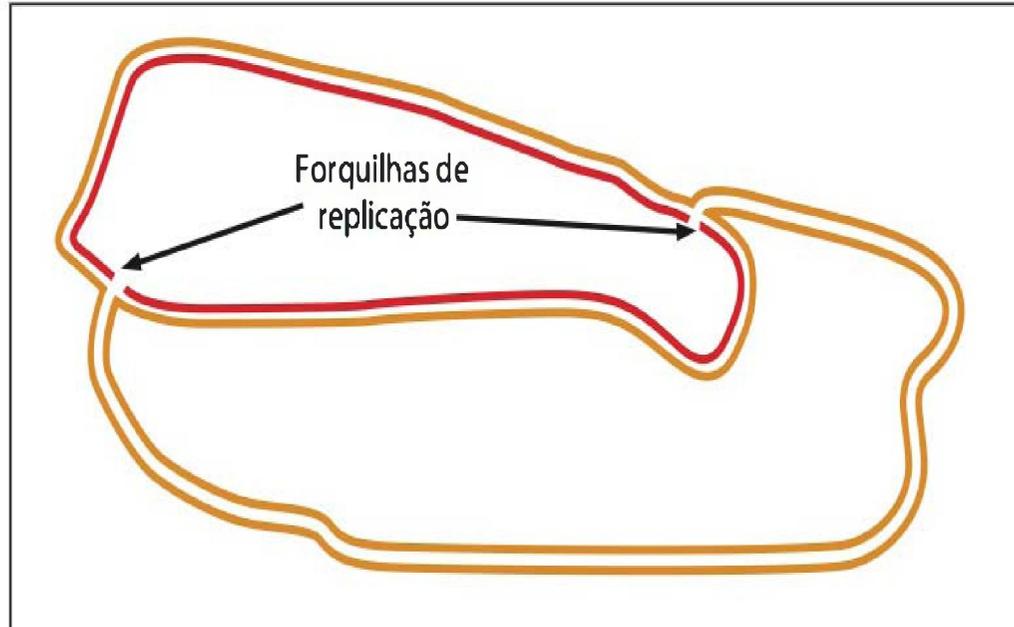
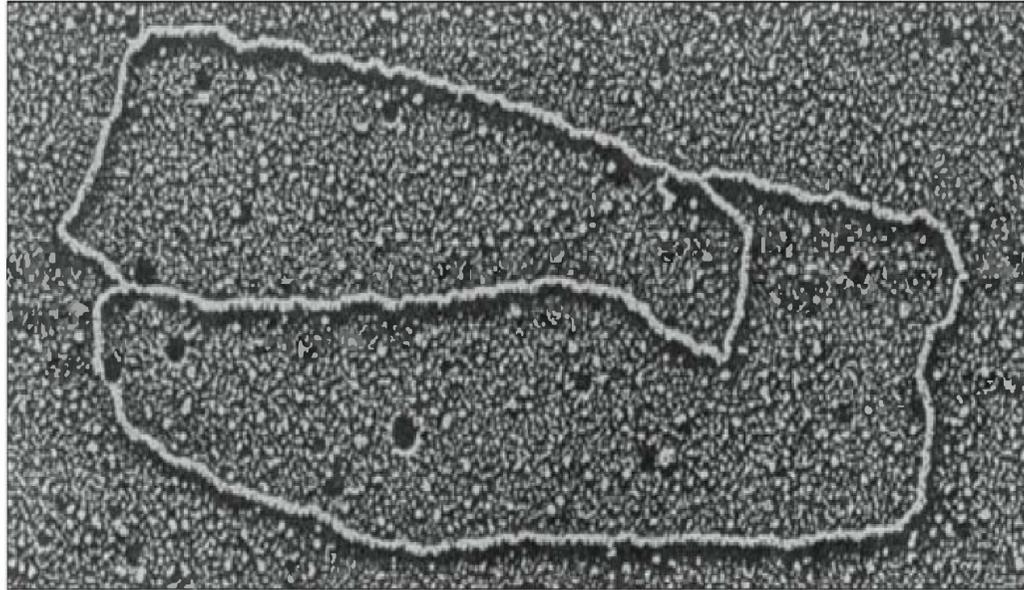


- 1957
- Cresceram *E. coli* em meio com N-15 e depois voltaram pra N-14
- Purificação do DNA das bactérias
- Três tipos de DNA
 - N-15 + N-15
 - N-15 + N-14
 - N-14 + N-14

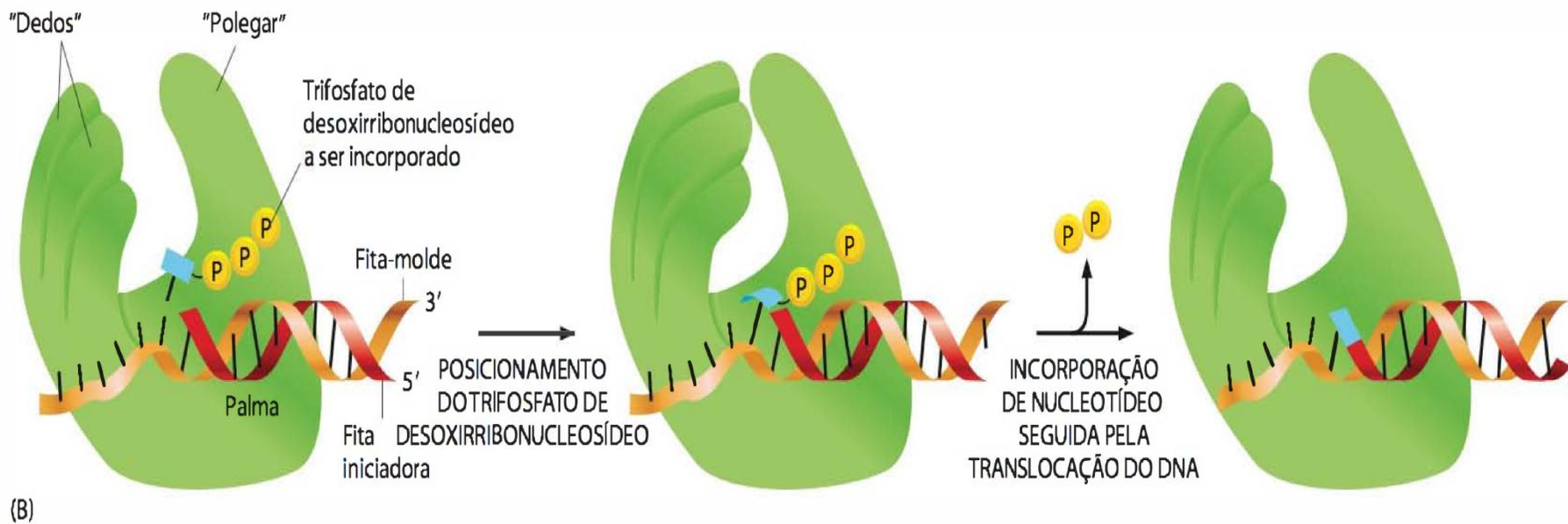
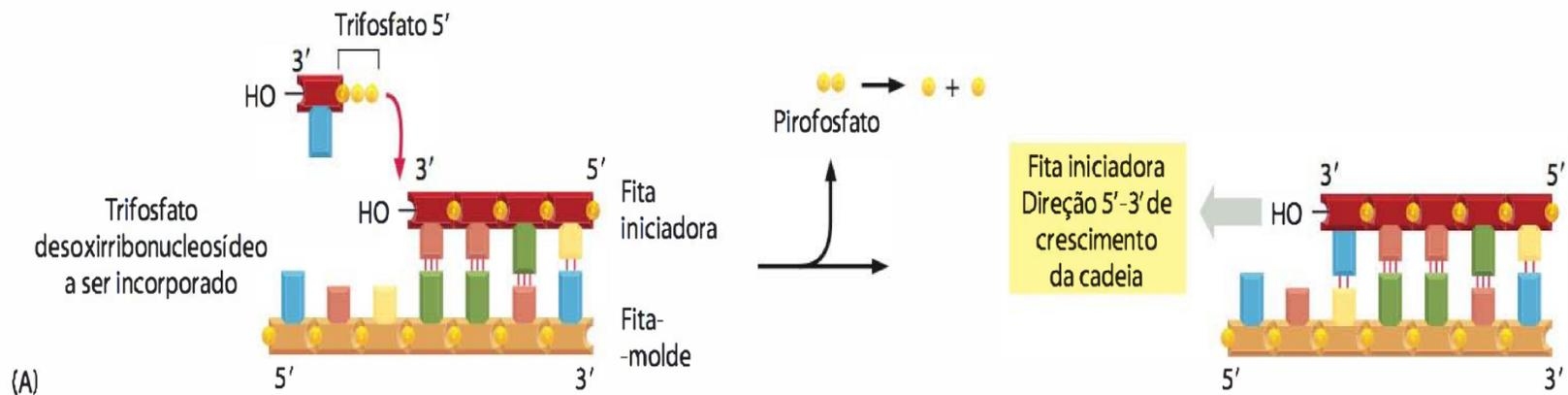


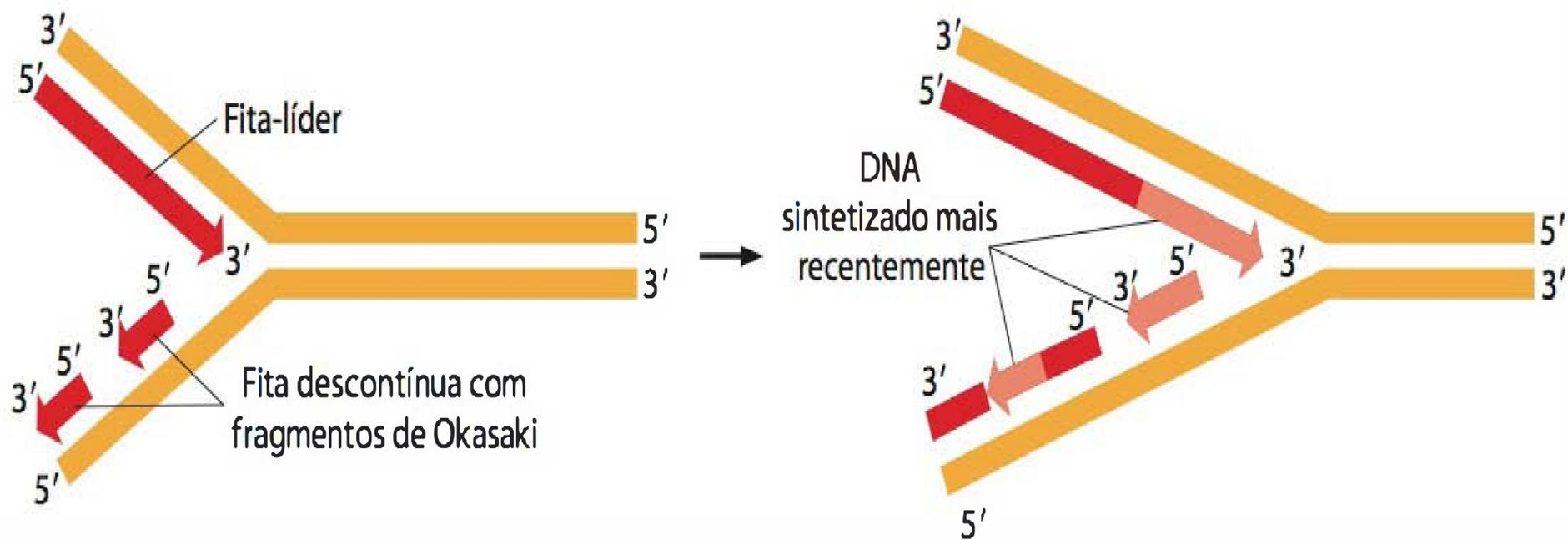
9e, Figure 13.11





1 μm





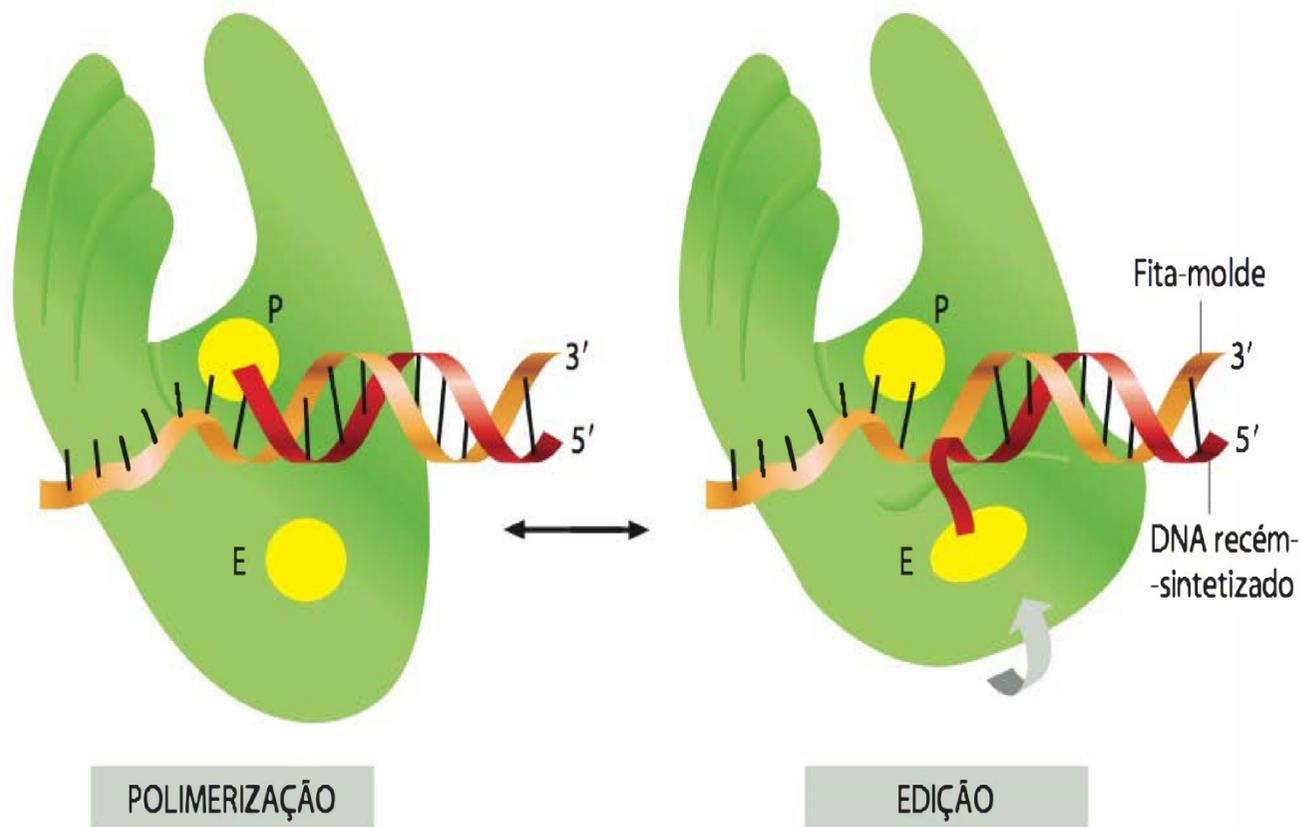
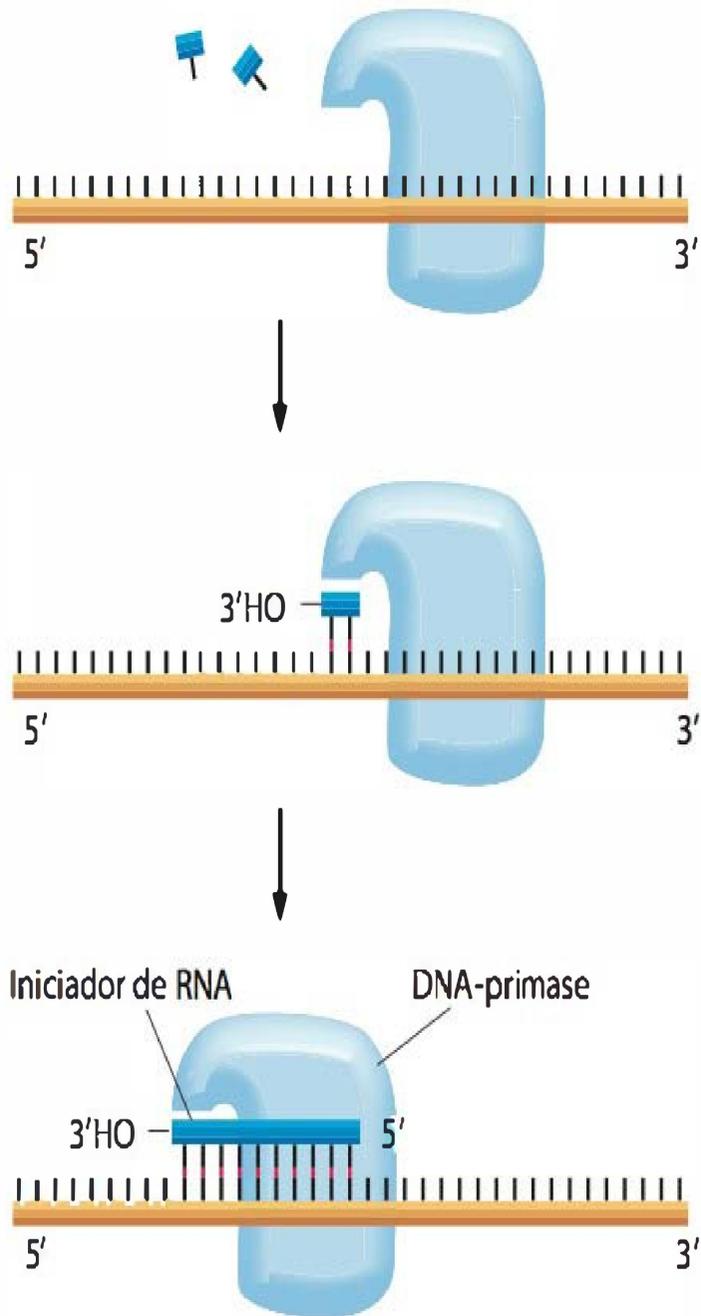
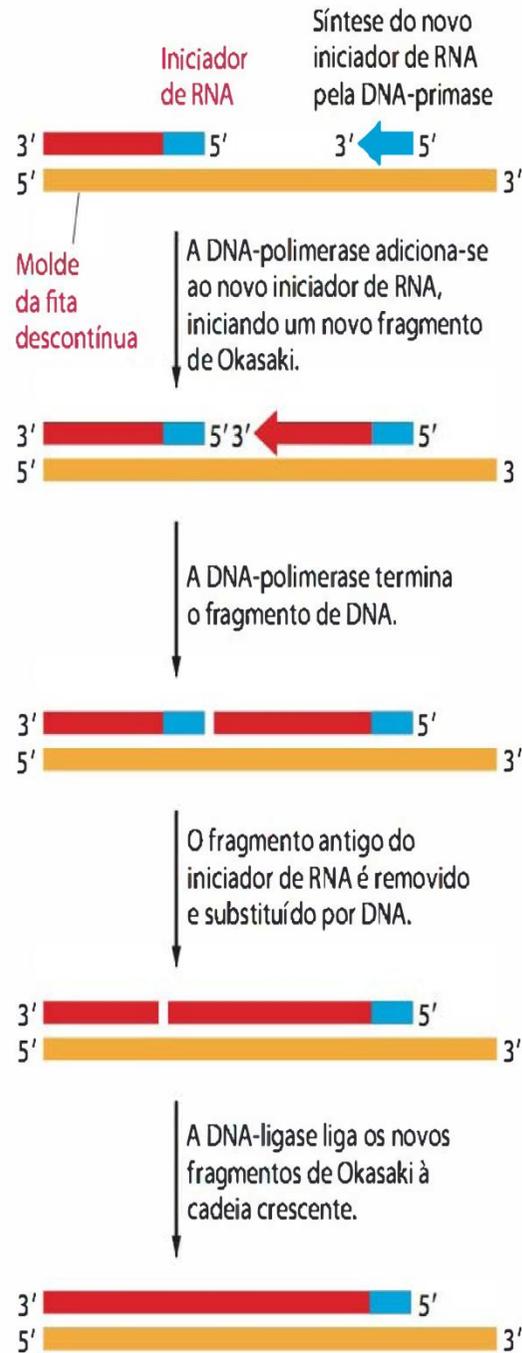
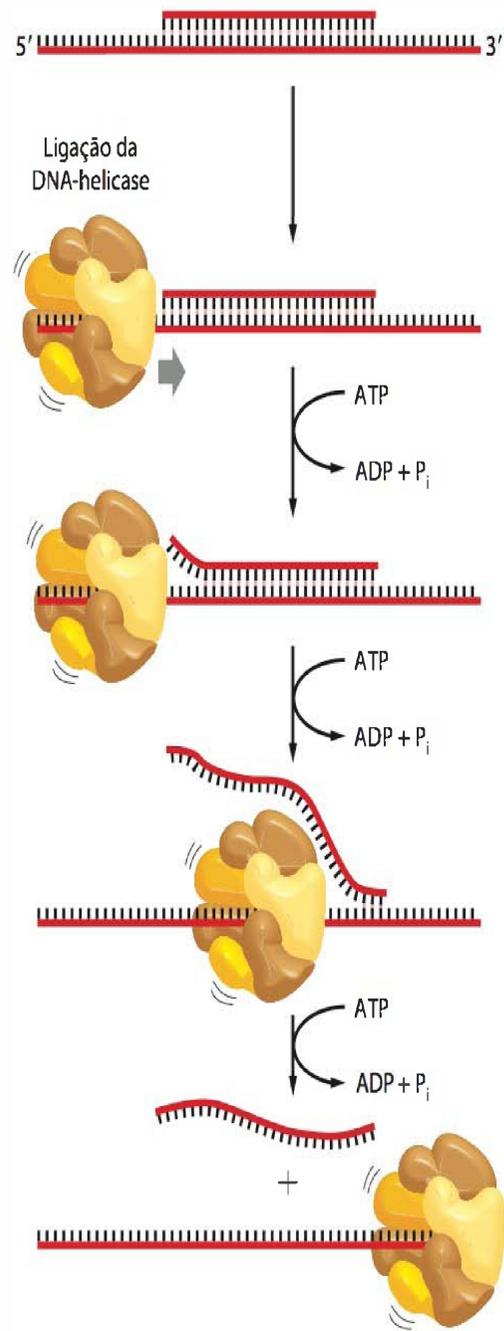
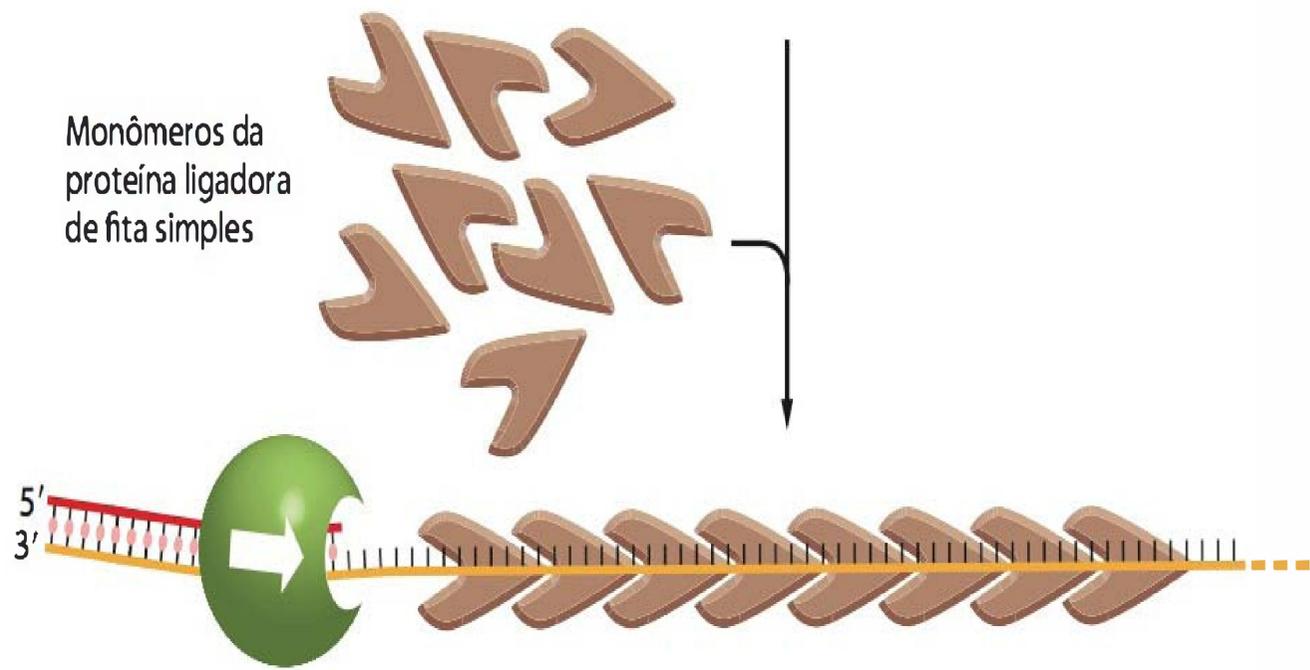
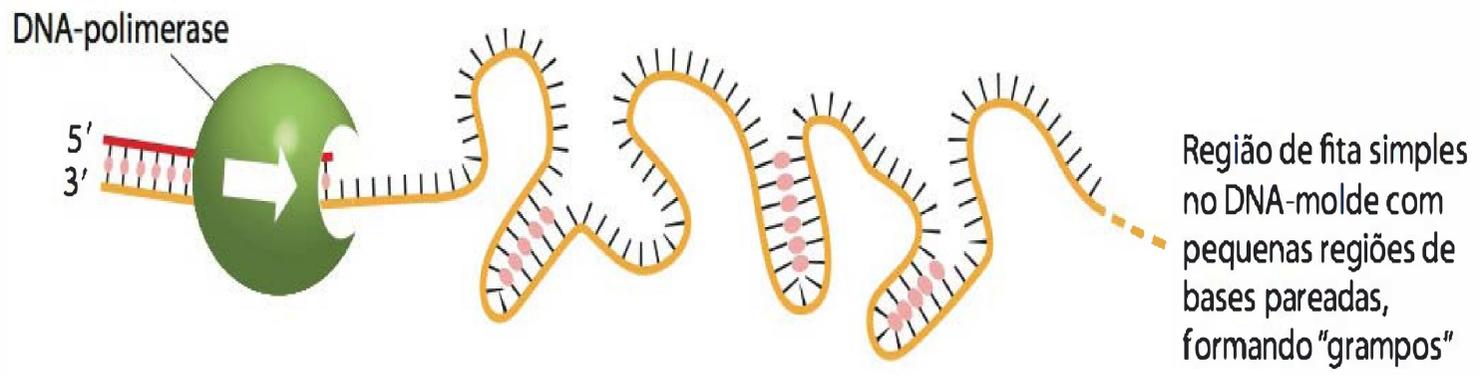


Figura 5-9 Edição pela DNA-polimerase. Esquema das estruturas da DNA-polimerase complexadas com o DNA-molde no modo de polimerização (esquerda) e no modo de edição (direita). Os sítios catalíticos para as reações de exonuclease (E) e polimerização (P) estão indicados. No modo de edição, o DNA recém-sintetizado temporariamente se libera do molde e a polimerase sofre uma alteração conformacional, posicionando o sítio catalítico de edição para remover o nucleotídeo mais recentemente adicionado.

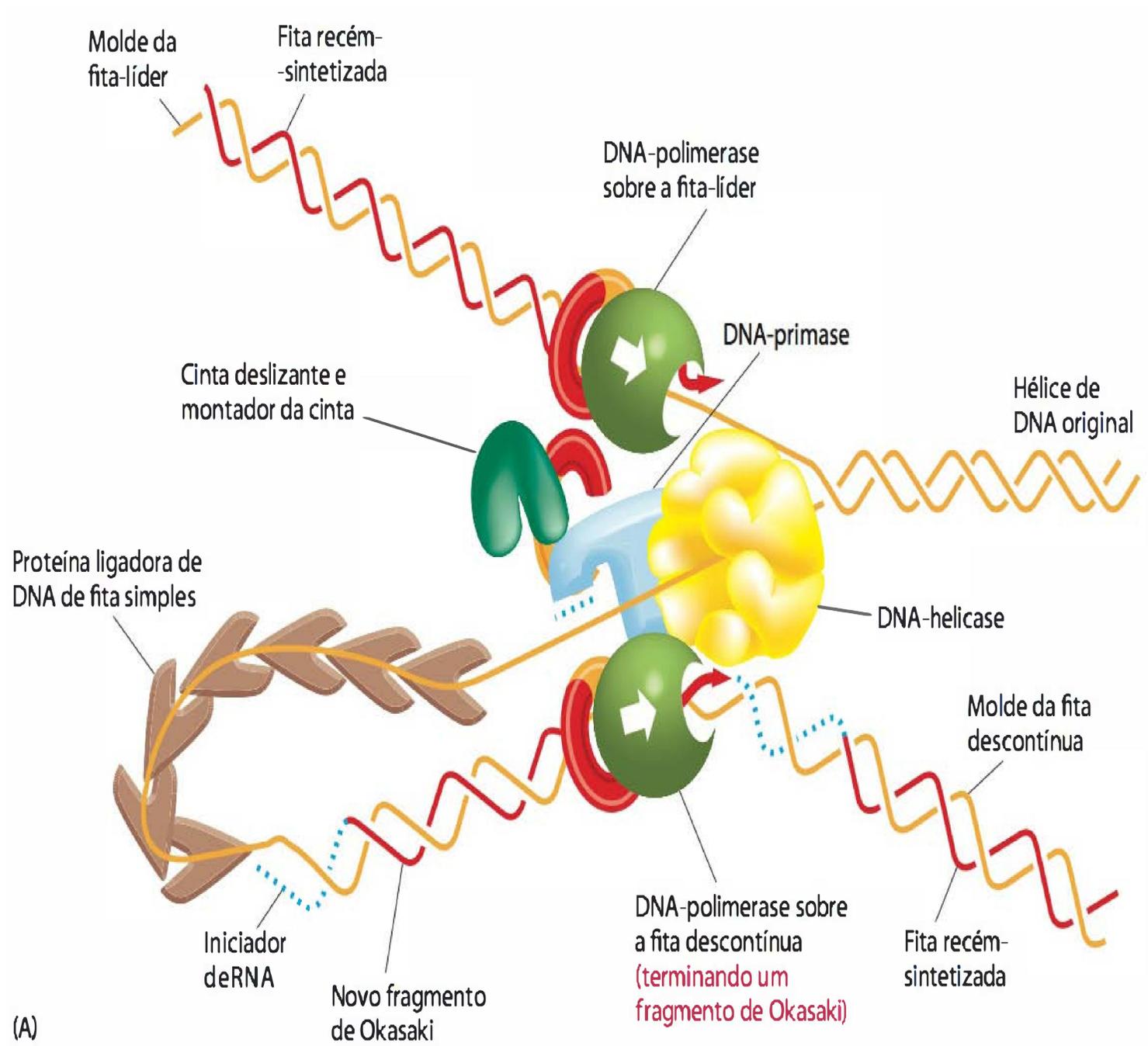


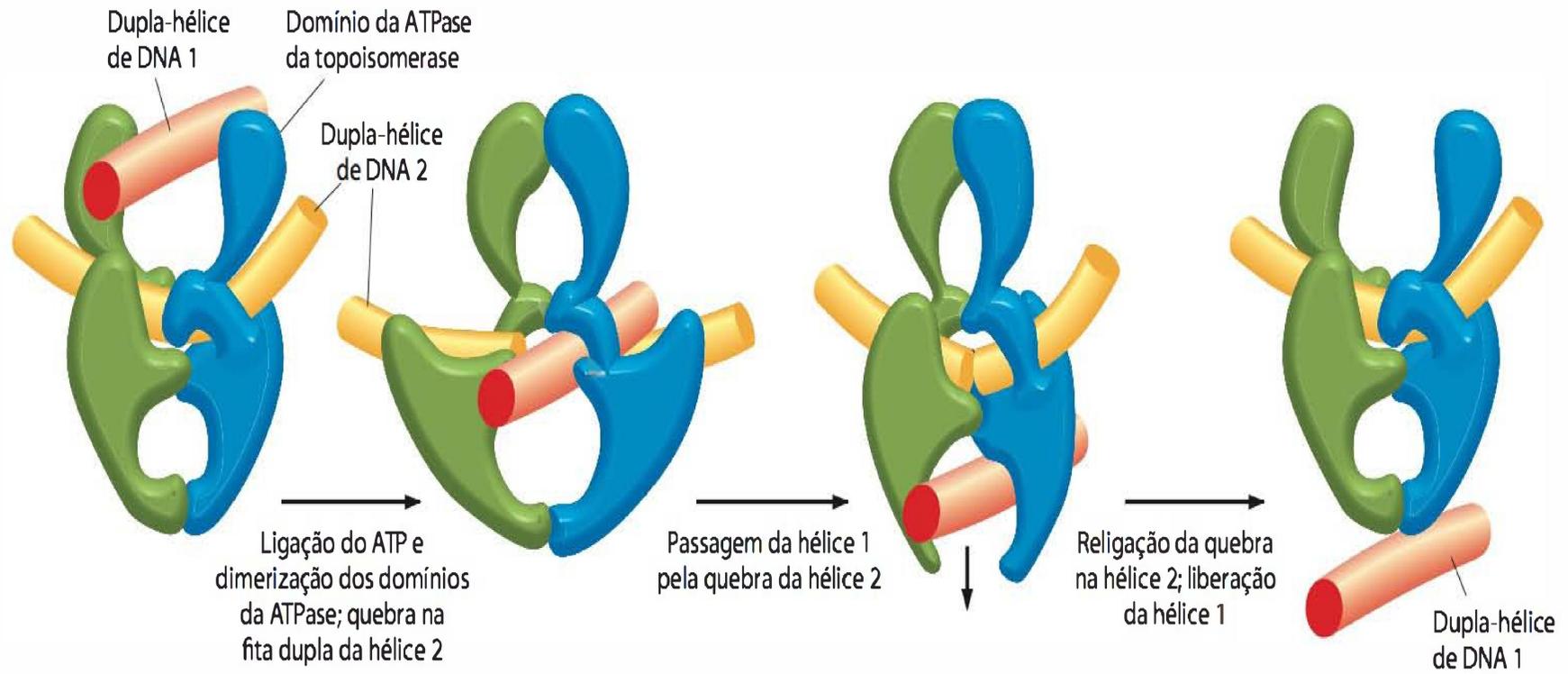


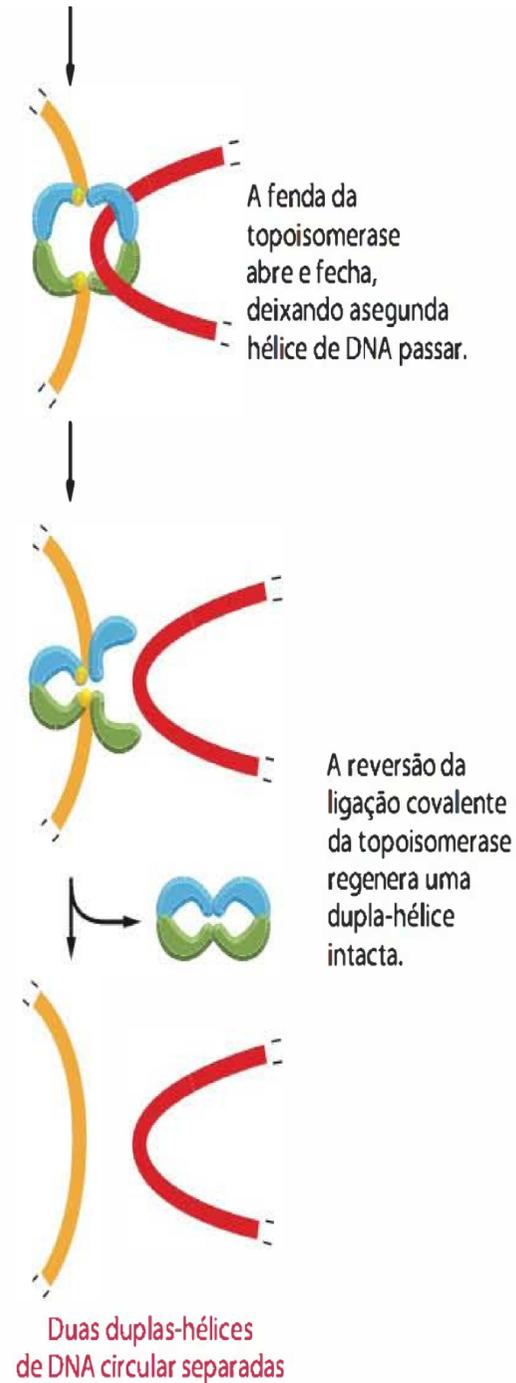
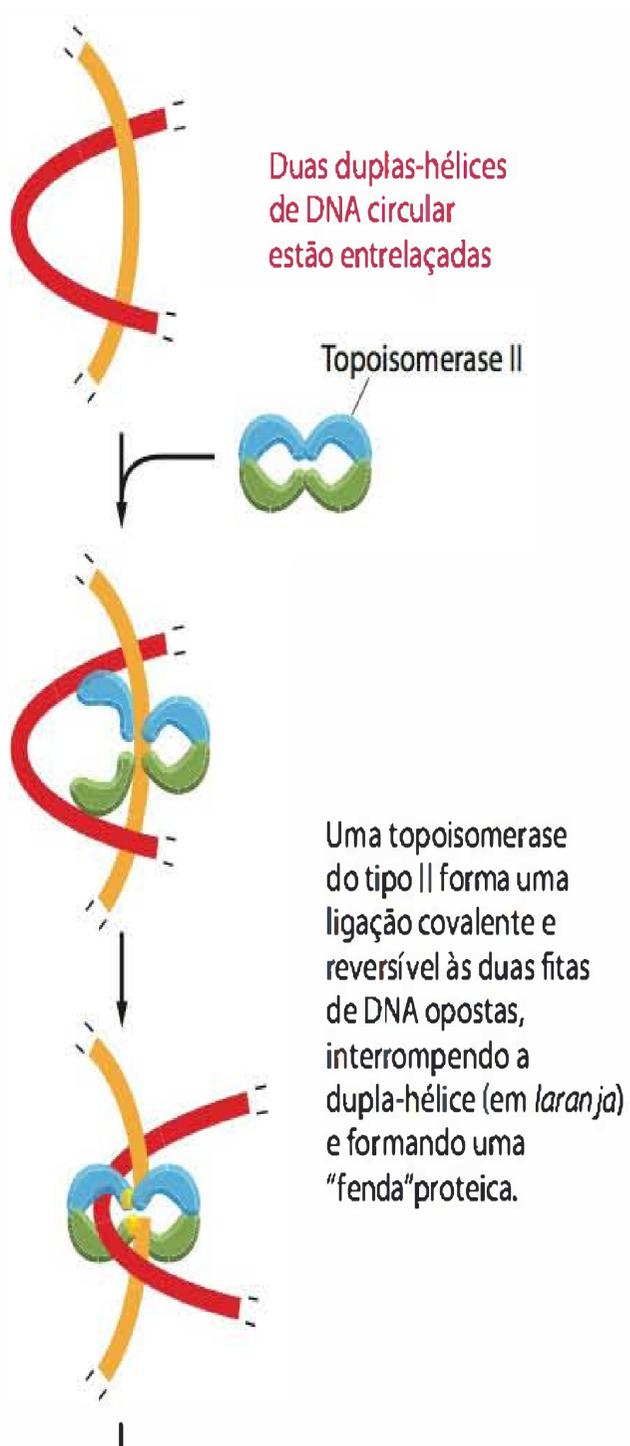


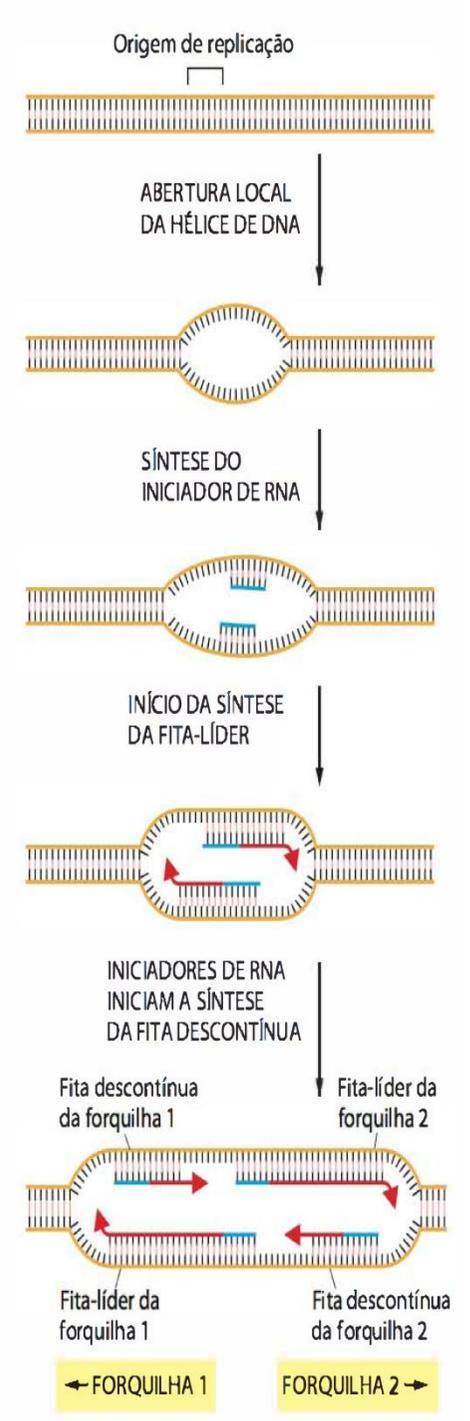


A ligação cooperativa das proteínas estende as regiões da cadeia

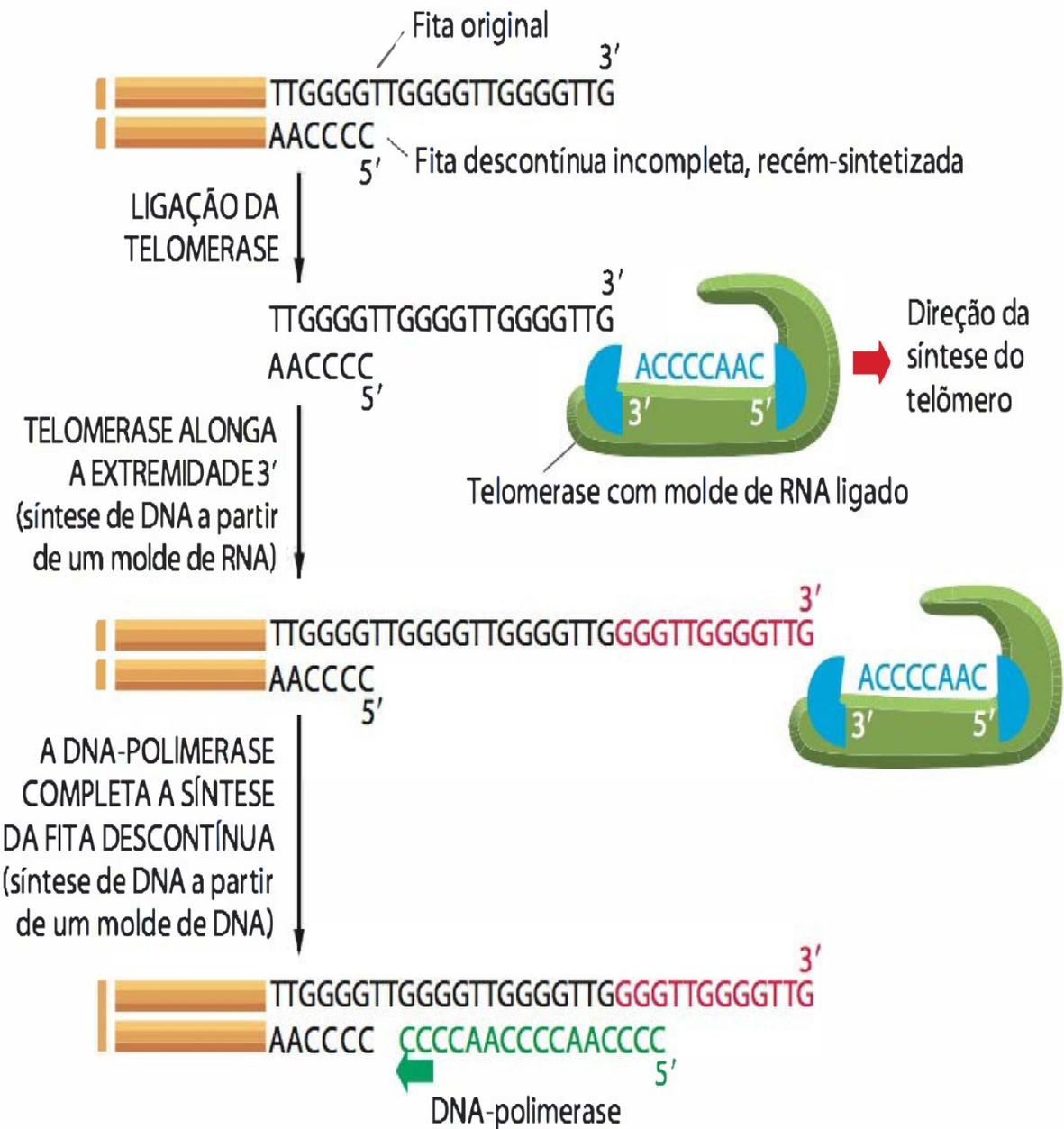




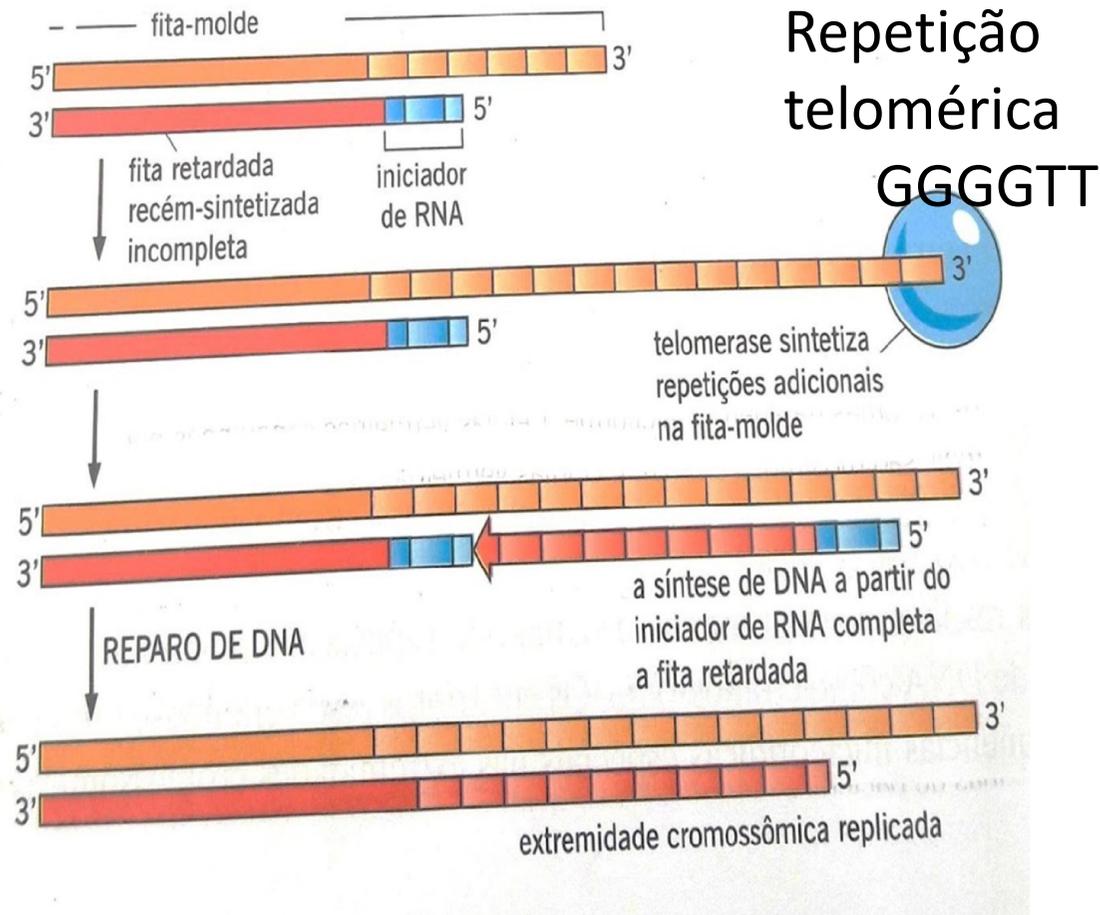




O problema da replicação da ponta do DNA



Telômero e Telomerase



<https://www.youtube.com/watch?v=vf9tSk>
aDTnE

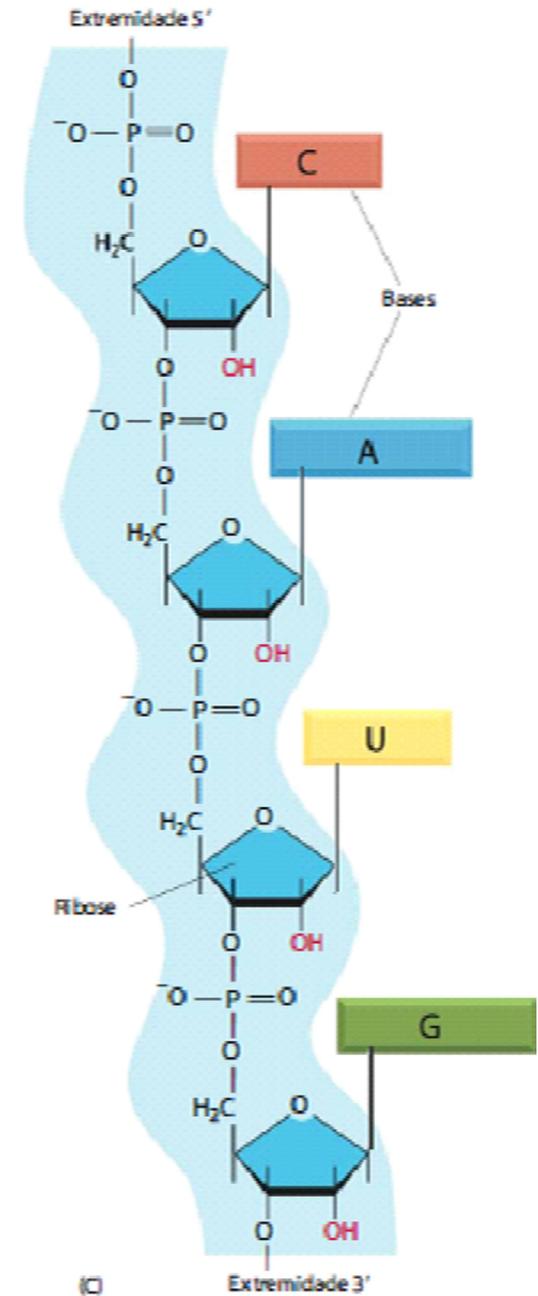
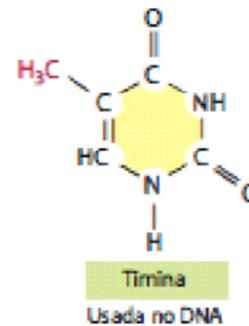
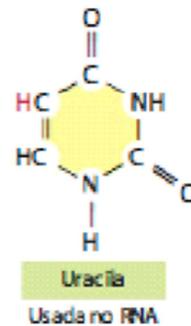
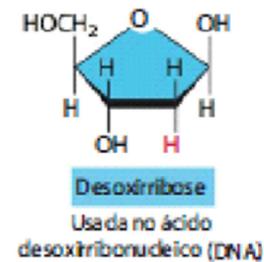
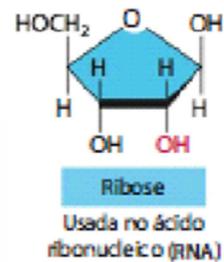
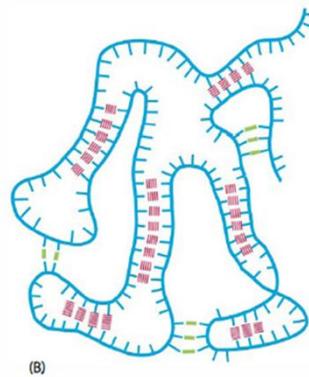
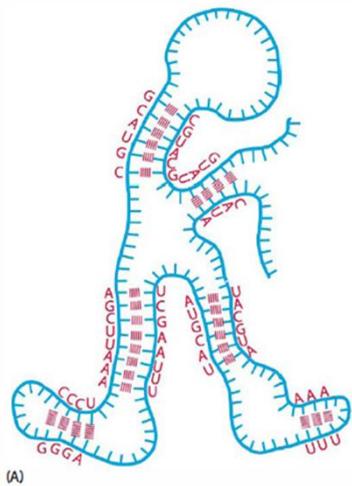
Transcrição

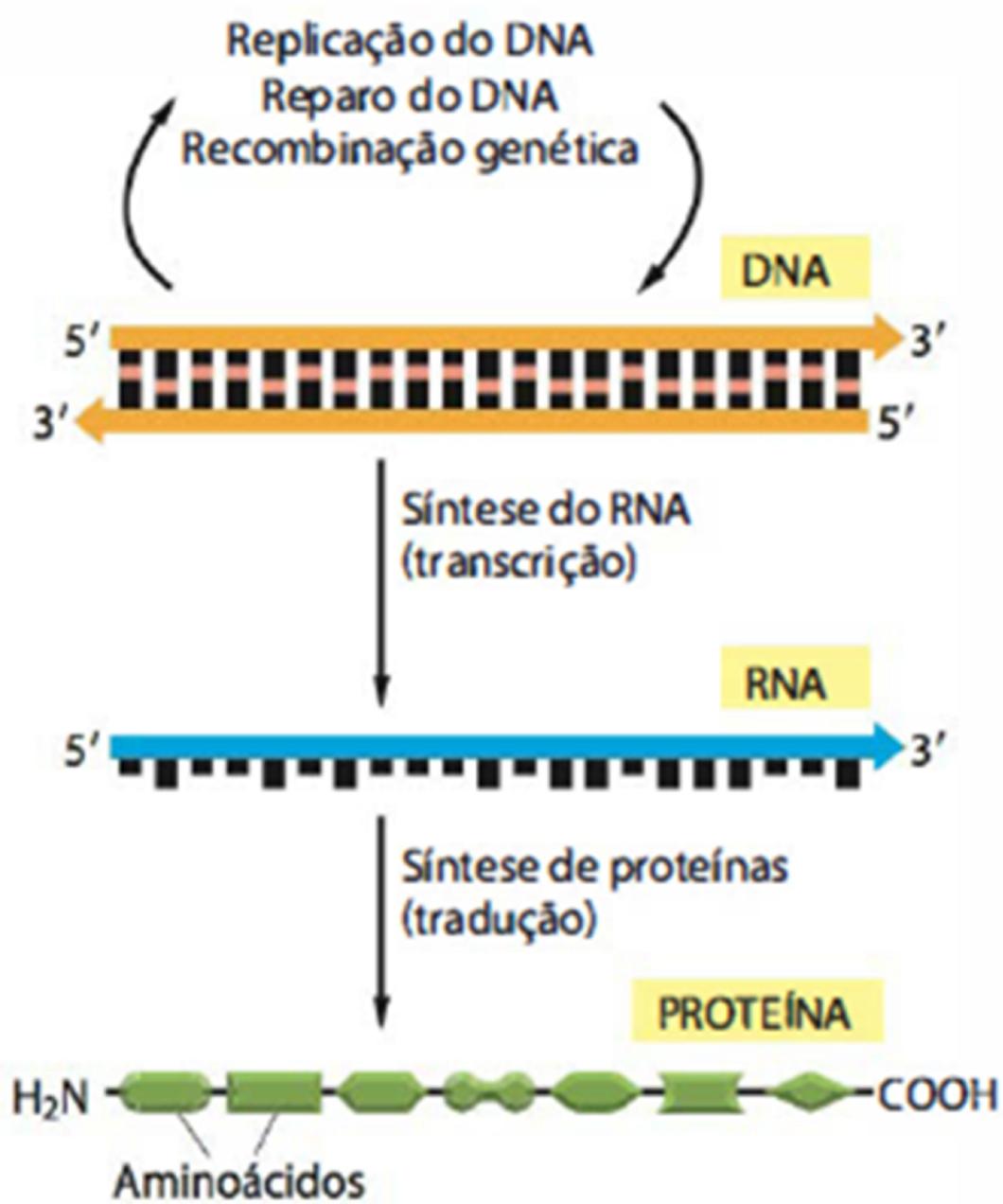
Biologia Molecular

Prof. Michel Naslavsky

RNA

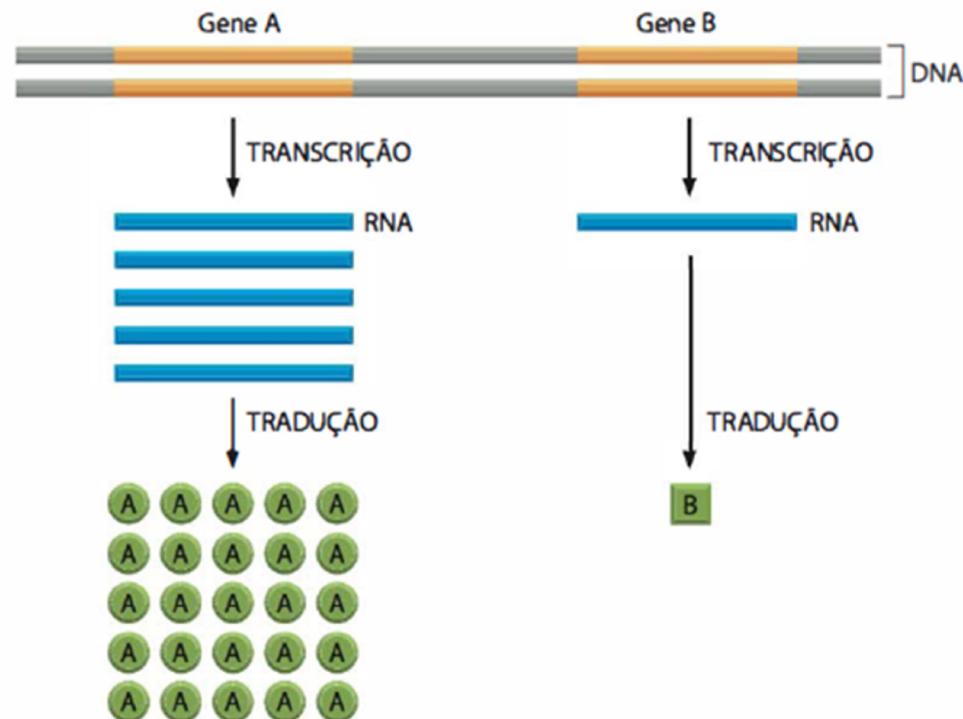
- Polímero composto de 4 tipos diferentes de (ribo)nucleotídeo (A, U, G, C).
- Ribonucleotídeos ligados por ligações fosfodiéster (açúcar-fosfato).
- Fita simples (formas tridimensionais).
- Sintetizado de forma **complementar** a fita-molde de DNA.





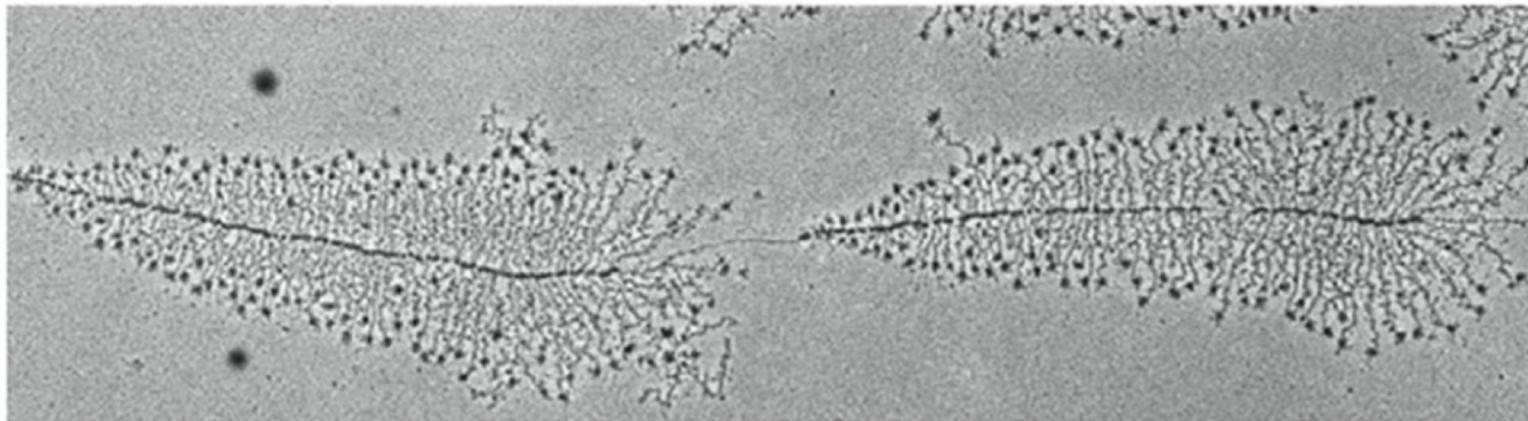
Expressão Gênica Diferencial

- A célula pode controlar a expressão de cada um de seus genes de acordo com a **necessidade** do momento.
- Cada gene pode ser transcrito e traduzido sob **taxas diferentes**, permitindo que a célula sintetize enormes quantidades de certas proteínas e mínimas quantidades de outras.



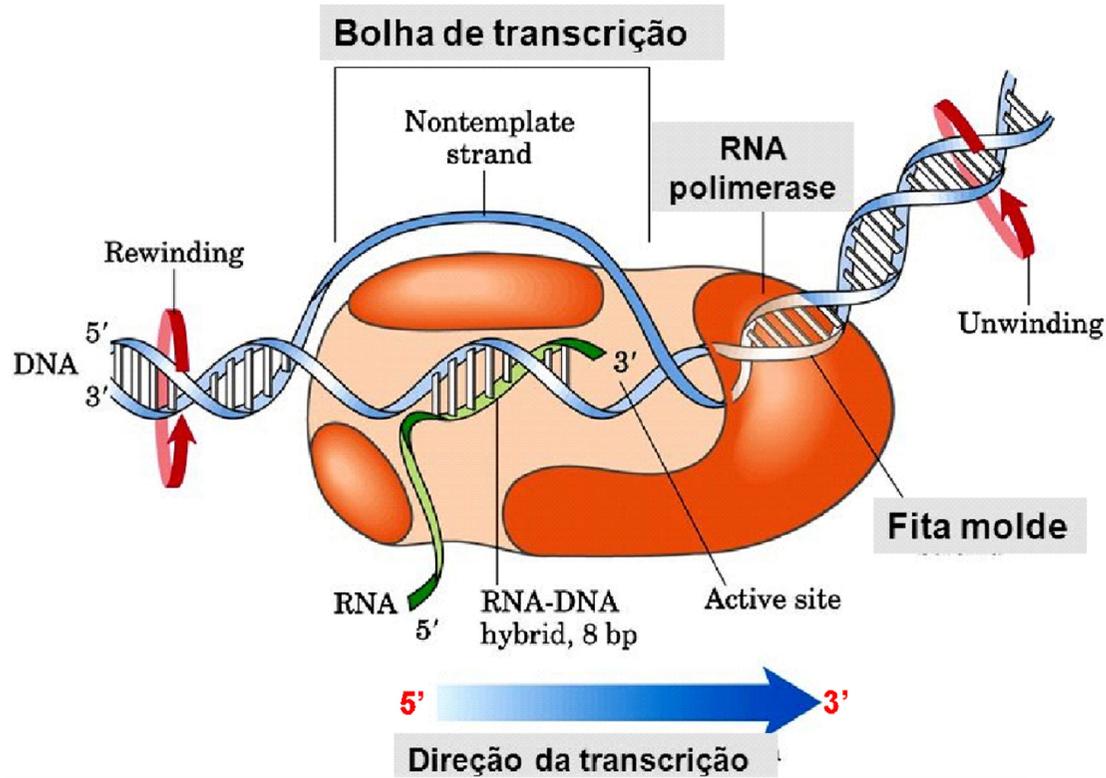
Transcrição

- Muitas **cópias idênticas de RNA** podem ser produzidas a partir do mesmo gene.
- Cada uma dessas moléculas de RNA codificam várias **moléculas idênticas de proteína**.
- Se **necessário** a célula rapidamente sintetiza **grande quantidade** dessa proteína.



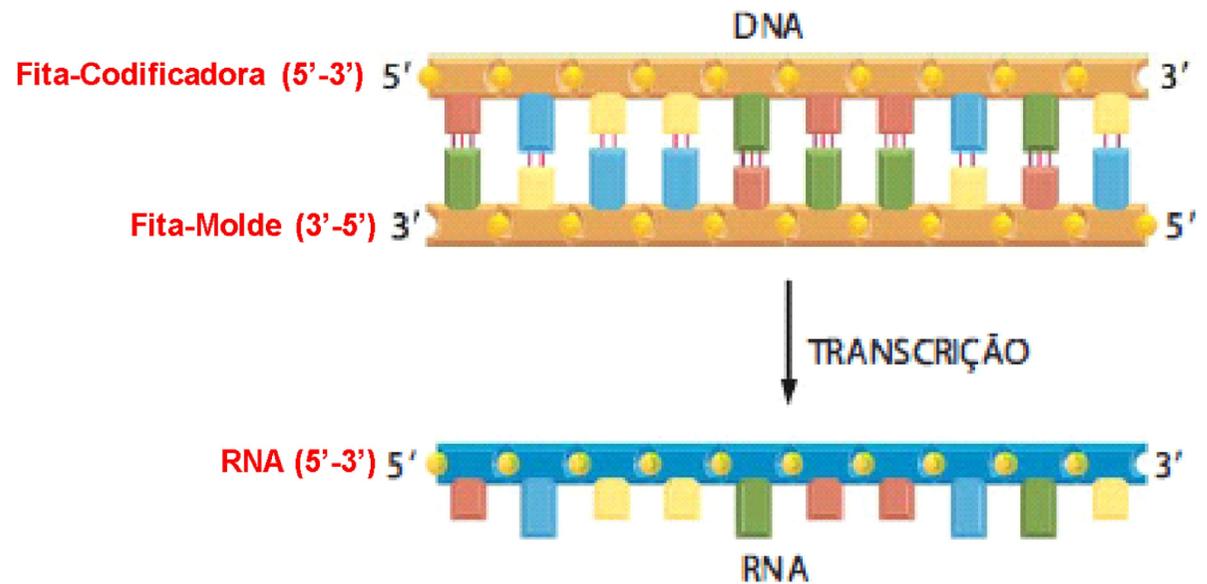
1 μm



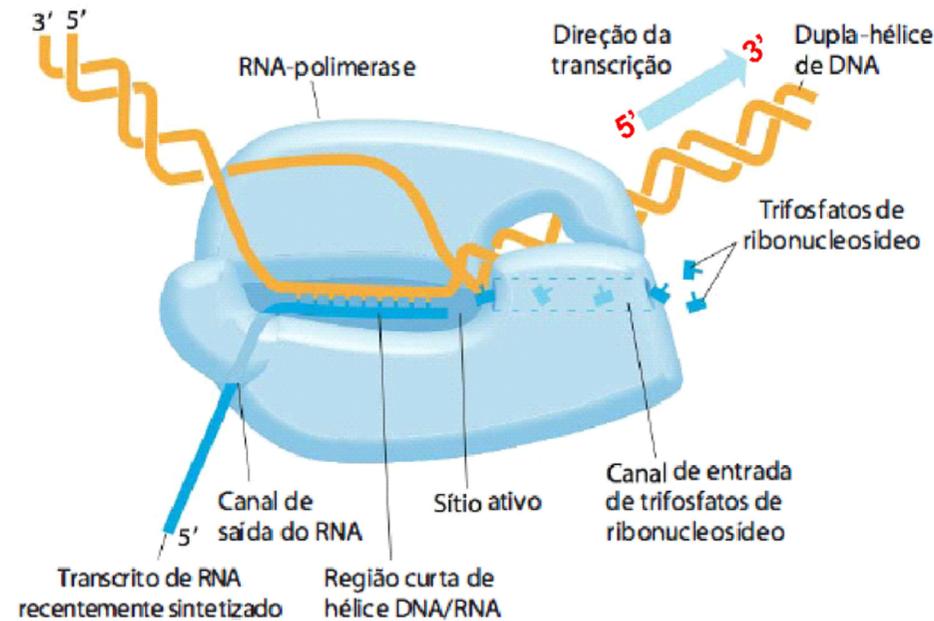


Transcrição

RNA-Polimerase

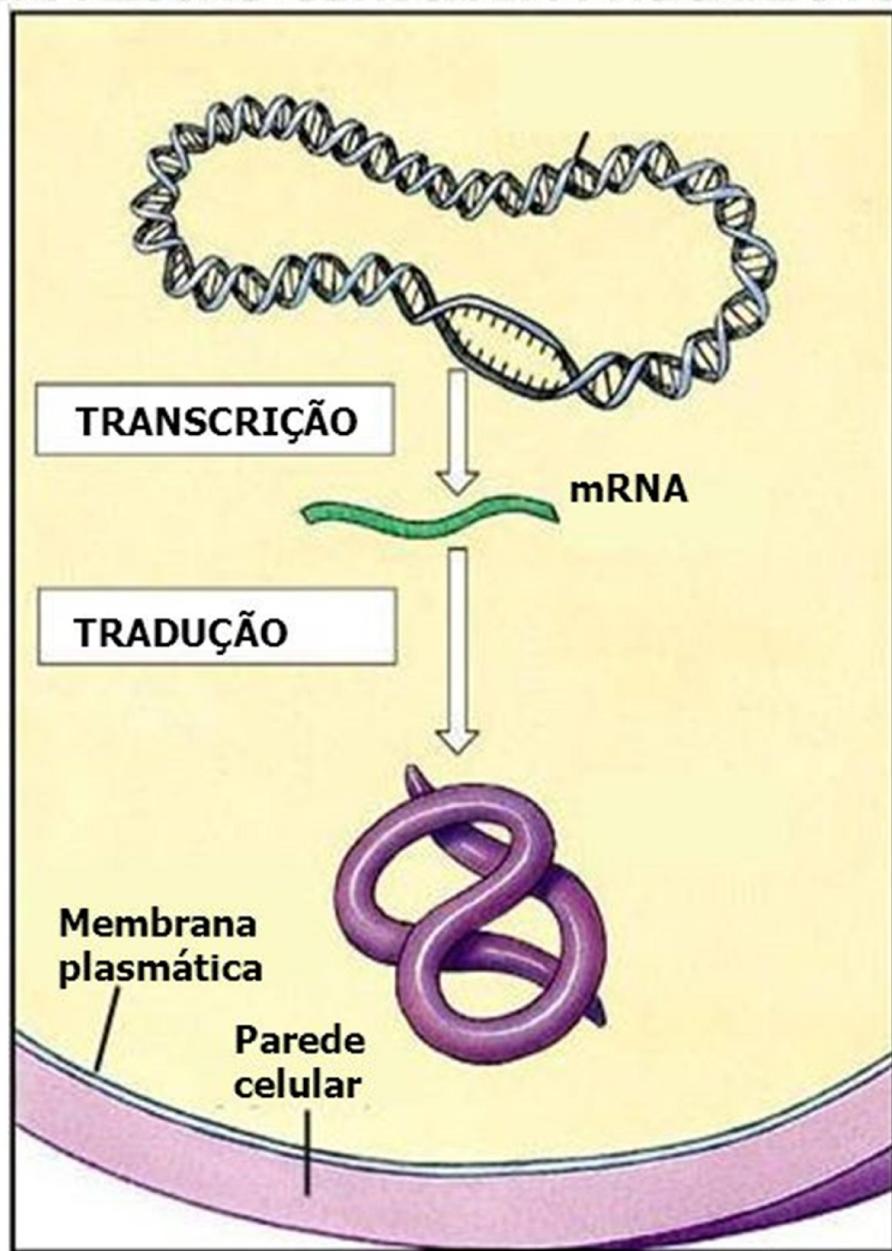


RNA-Polimerase

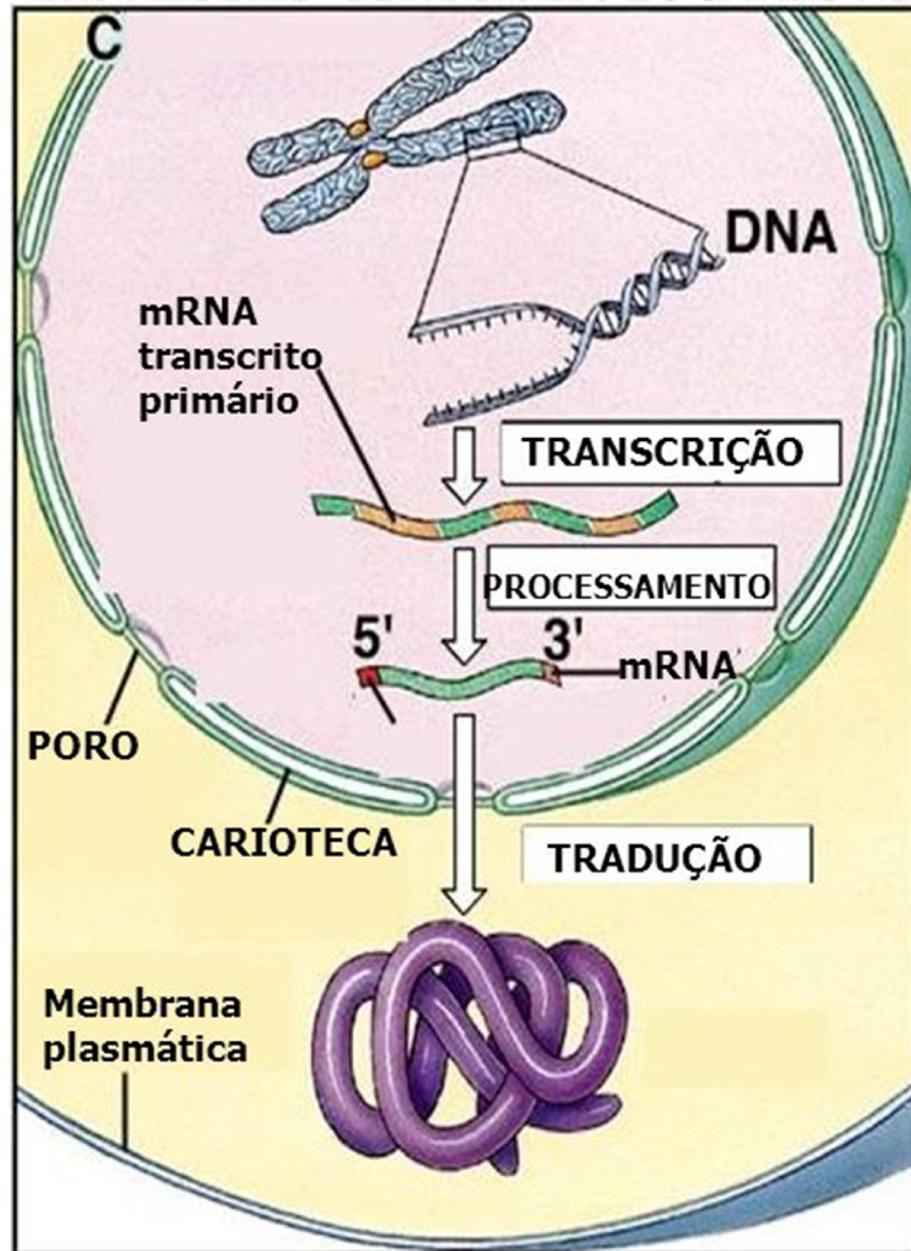


DNA-Polimerase	RNA-Polimerase
Catalisa ligações fosfodiéster entre desorribonucleotídeos.	Catalisa ligações fosfodiéster entre ribonucleotídeos.
Necessita de iniciadores (primers) para iniciar sua polimerização.	Não necessita de iniciadores (primers) para iniciar sua polimerização.
Tem autocorreção (10^7)	Tem autocorreção (10^4)
Cofator Inorgânico Mg^{+2}	Cofator Inorgânico Mg^{+2}

EXPRESSION GÊNICA EM PROCARIOTO

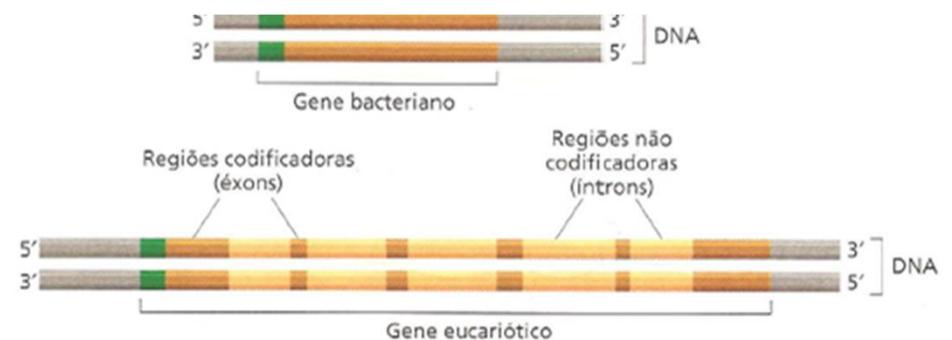
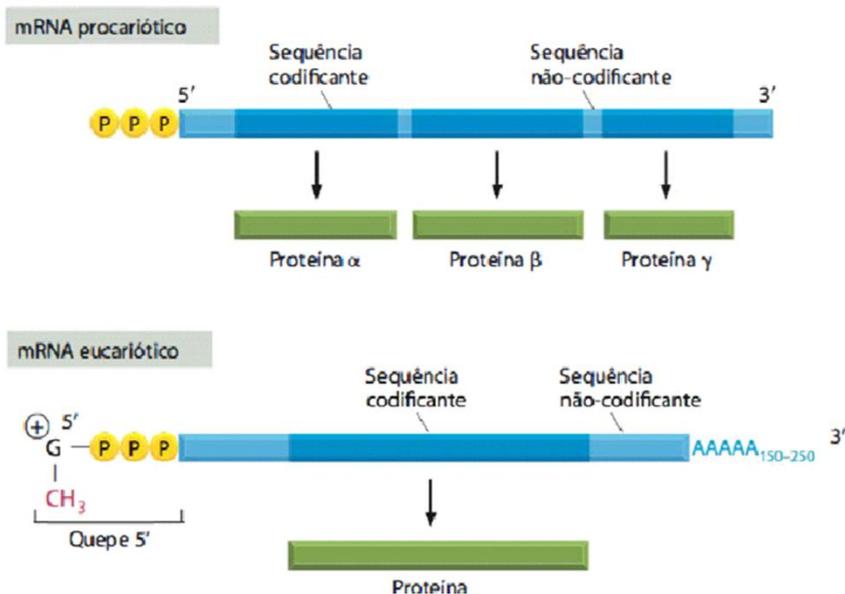


EXPRESSION GÊNICA EM EUKARIOTO

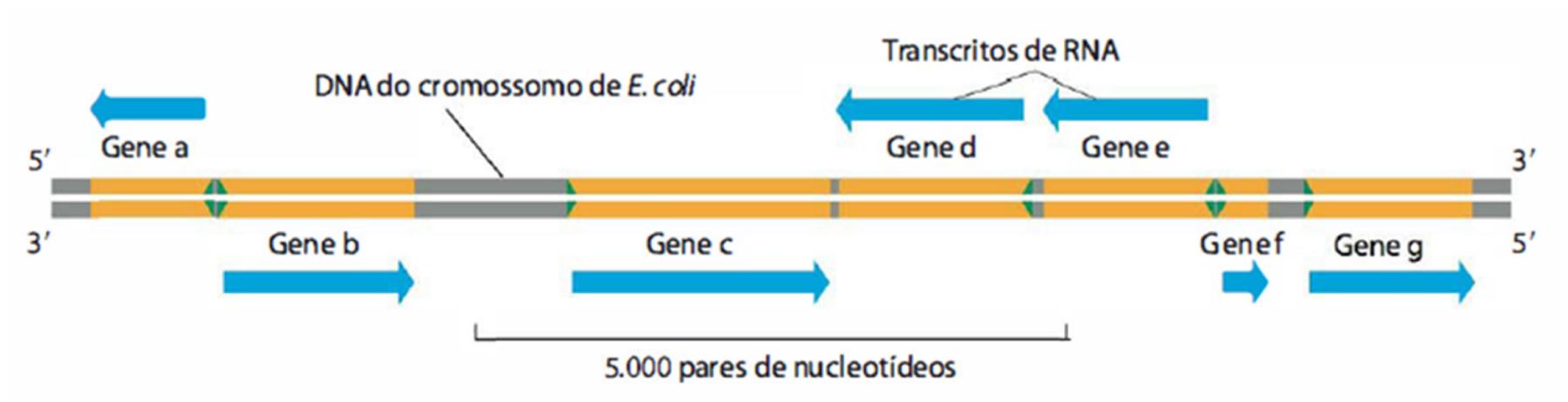
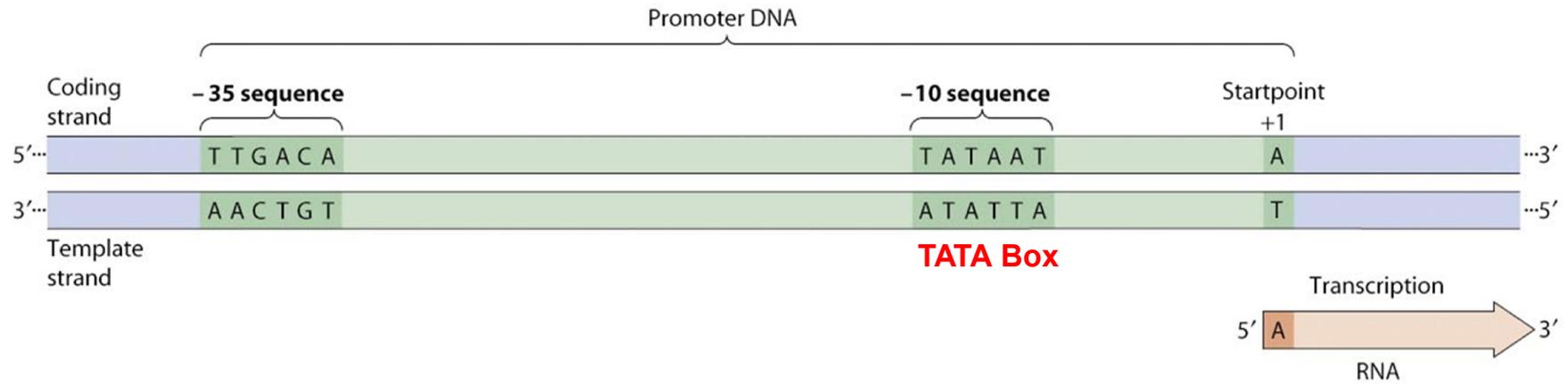


Unidade de Transcrição

- **Procarioto:** carrega a informação de **um conjunto de genes** que são transcritos em **uma molécula única de RNAm** que carrega a informação para **várias proteínas distintas**.
- **Eucarioto:** carrega informação de **apenas um gene**, e portanto codifica ou para uma **única molécula de RNA**, ou para **uma única proteína (ou grupo de proteínas relacionadas**, se o transcrito de RNA inicial for processado de diferentes maneiras produzindo diferentes RNAm – **Splicing Alternativo**).

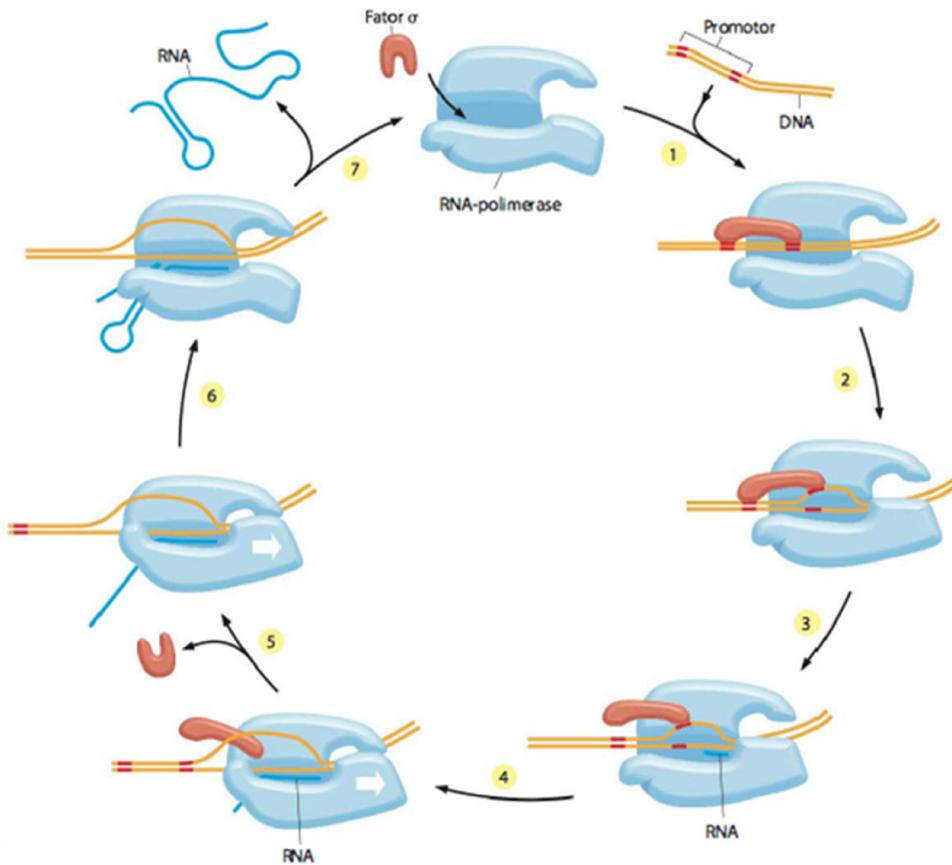


Transcrição em Procariotos

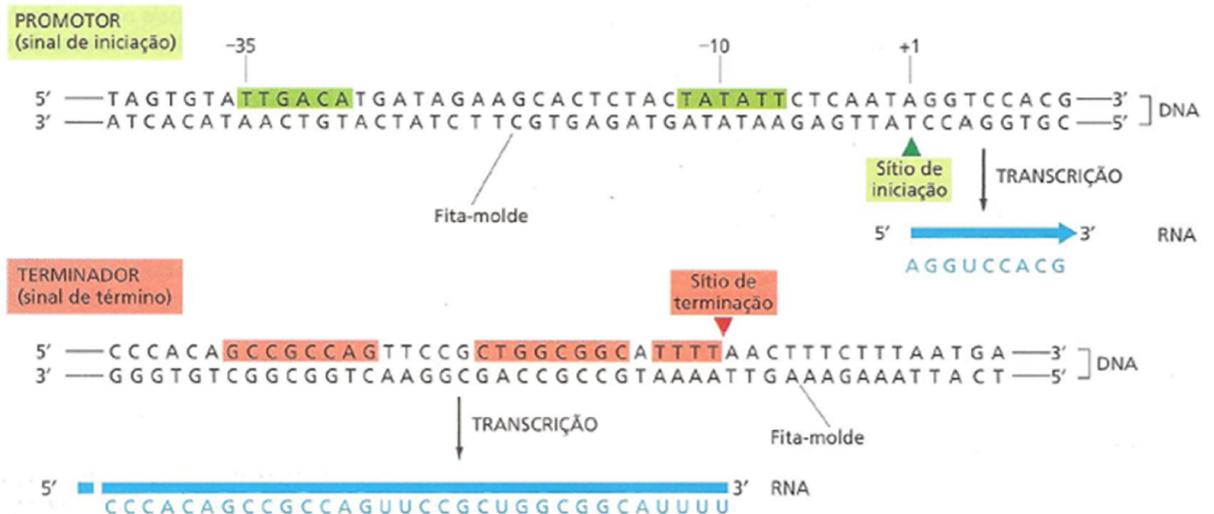


Transcrição em Procariotos

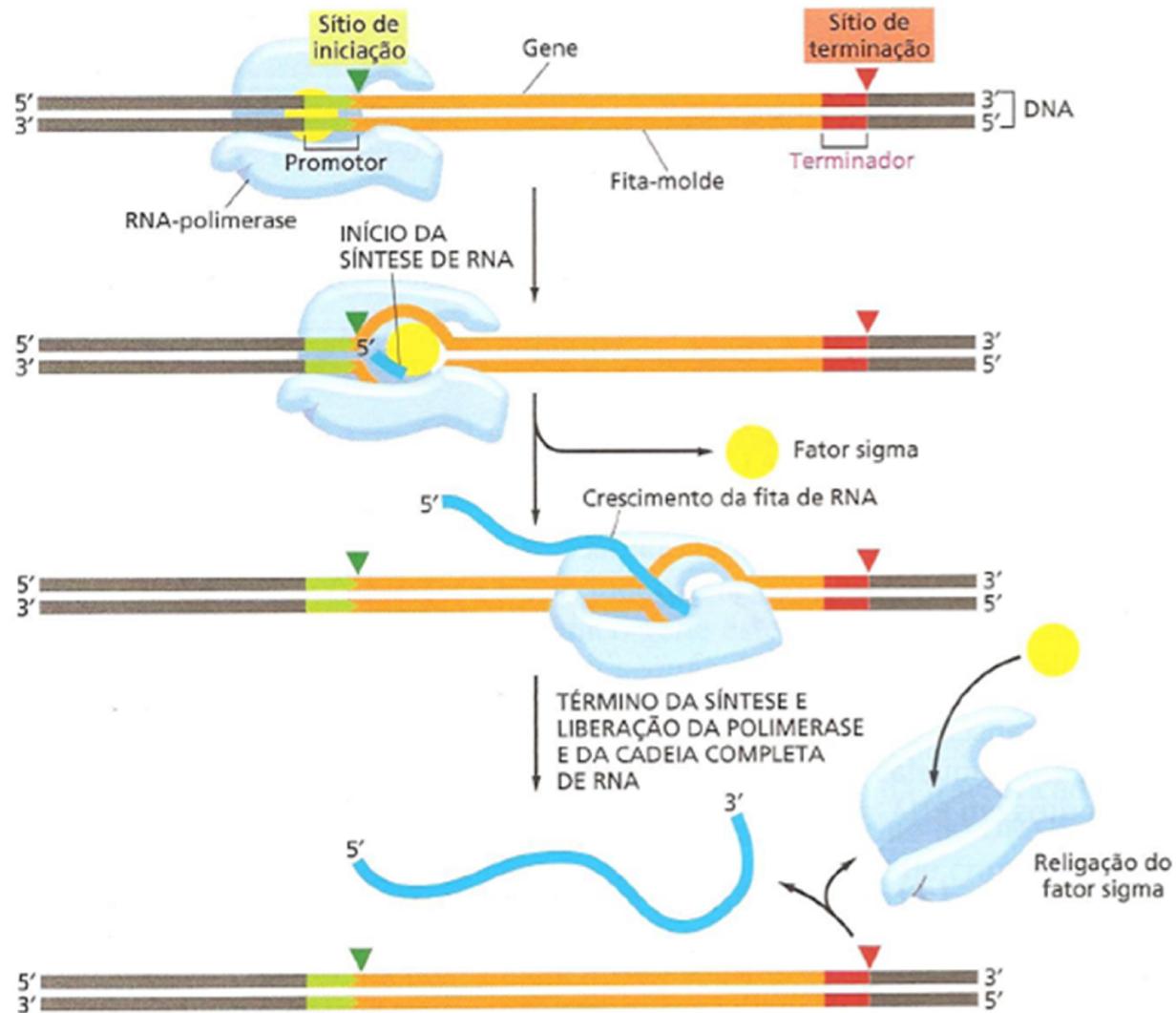
RNA-polimerase (holoenzima)



- Cofator Inorgânico (Mg^{+2})
- Ativa na presença do Fator Sigma (σ)
- Promotor: local de ligação do Fator Sigma.
- RNA-polimerase:
 - abertura da dupla-hélice (sem ATP).
 - liberação do Fator Sigma.
 - polimerização (5'-3').
- Terminador: Grampo G-C seguido de A-T.



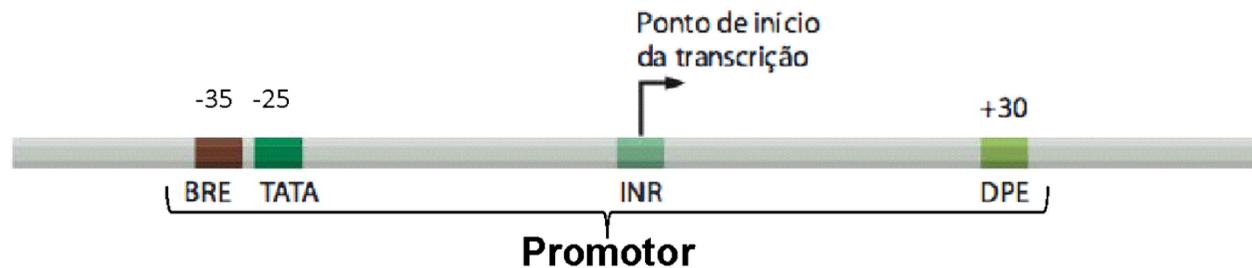
Transcrição em Procariotos



Transcrição em Eucariotos

Tabela 6-2 As três RNA-polimerases de células eucarióticas

Tipo de polimerase	Genes transcritos
RNA-polimerase I	Genes do rRNA 5,8S, 18S e 28S.
RNA-polimerase II	Todos os genes que codificam proteínas, além de genes que codificam snoRNA, miRNA, siRNA e a maioria dos genes de snRNA.
RNA-polimerase III	Genes de tRNA, rRNA 5S, alguns snRNA e genes de outros pequenos RNAs.

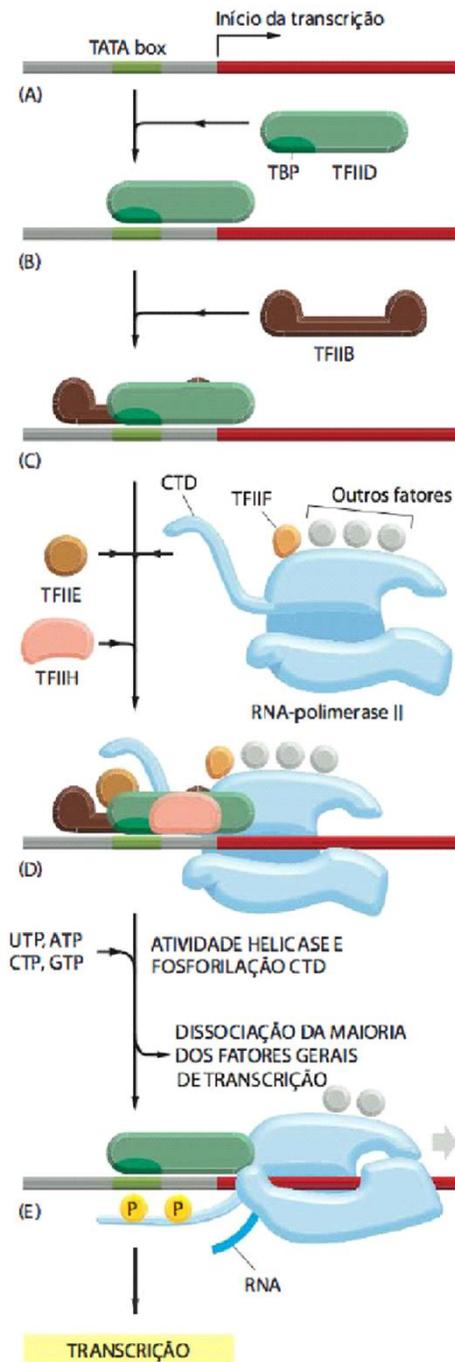


Elemento	Sequência consenso	Fator geral de transcrição
BRE	G/C G/C G/A C G C C	TFIIB
TATA	T A T A A / T A A / T	TBP
INR	C / T C / T A N T / A C / T C / T	TFIID
DPE	A / G G A / T C G T G	TFIID

- **Fatores Gerais de Transcrição II (TFII):** são necessários praticamente em todos os promotores utilizados pela RNA-polimerase II.

Transcrição em Eucariotos

Complexo de Iniciação de Transcrição

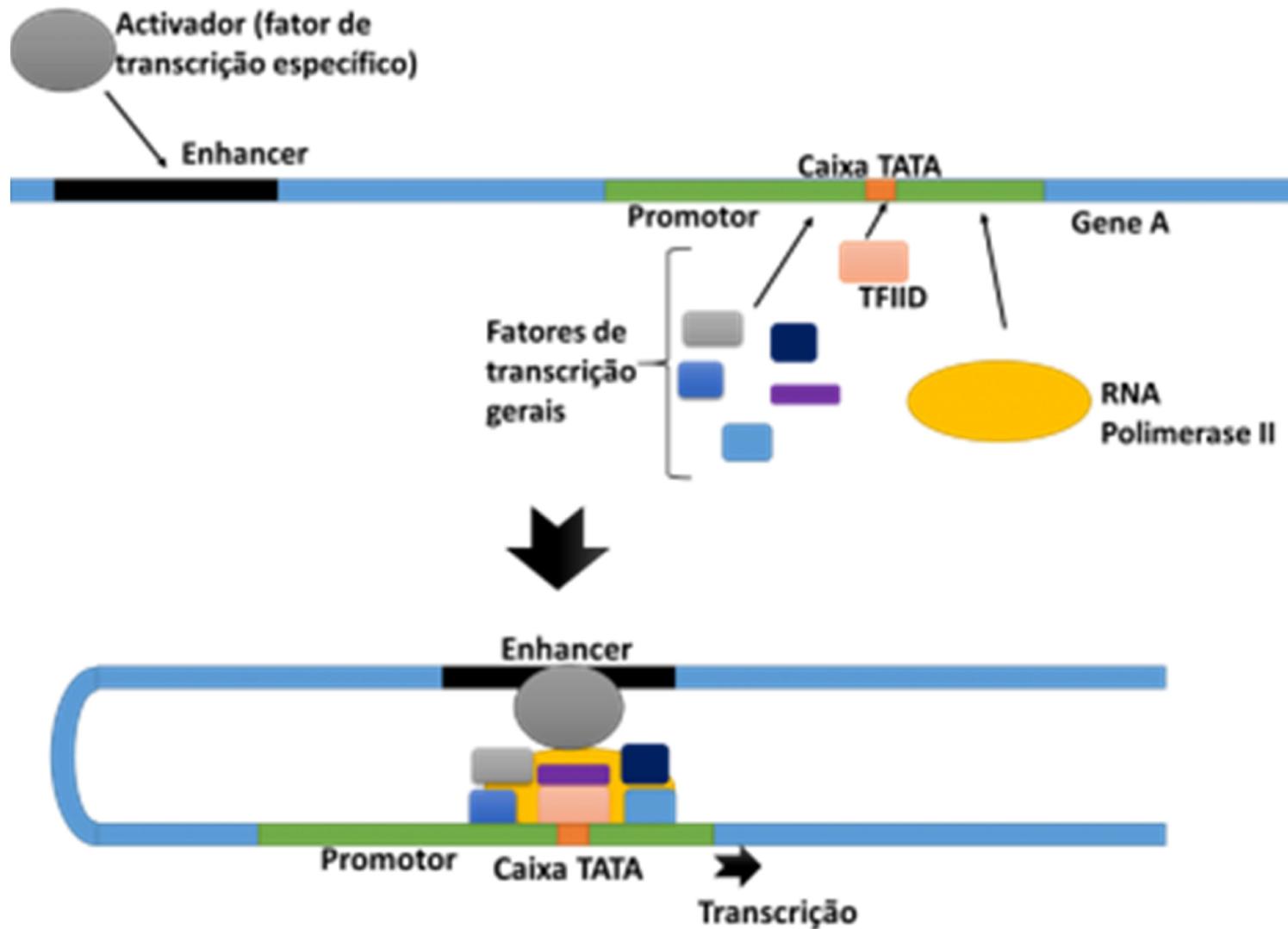


Fatores Gerais de Transcrição	Função
TFII-D (TBP)	Reconhece o TATA Box (-25).
TFII-B	Reconhece o BRE (-35).
TFII-F	Estabiliza a RNA-polimerase II com TFII-D e TFII-B. Atrai TFII-E e TFII-H.
TFII-E	Atrai TFII-H.
TFII-H	Abre a dupla-hélice. Fosforila CTD (separação dos TFIIs). Libera a RNA-polimerase II do promotor.

<https://youtu.be/slOneovpOEK>

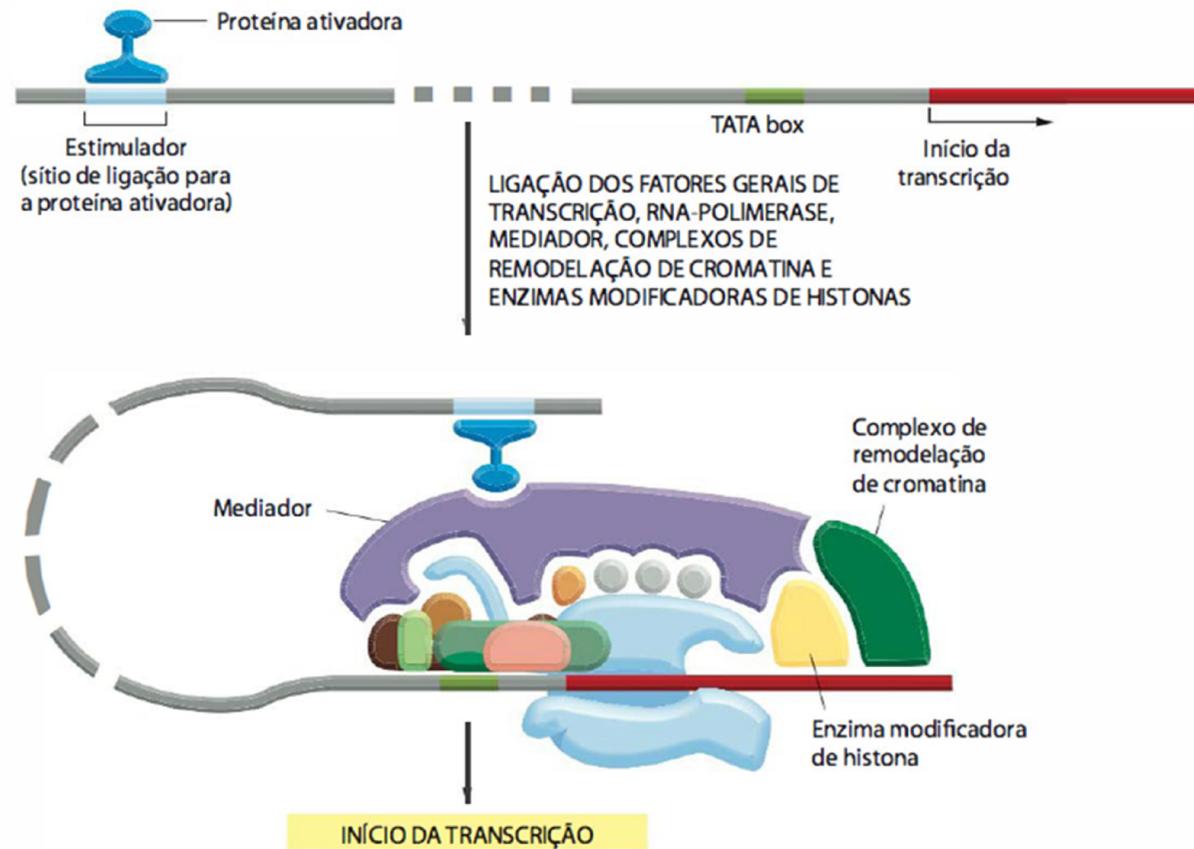
Transcrição em Eucariotos

- **Fatores de Transcrição Específicos:** se ligam aos sítios de “Enhancer”.



Transcrição em Eucariotos

- Fatores de Transcrição Específicos: Proteínas ativadoras que se ligam aos sítios de “Enhancer”. Também se ligam ao mediador.
- Complexo de Remodelação da Cromatina.
- Enzimas modificadoras de histonas.

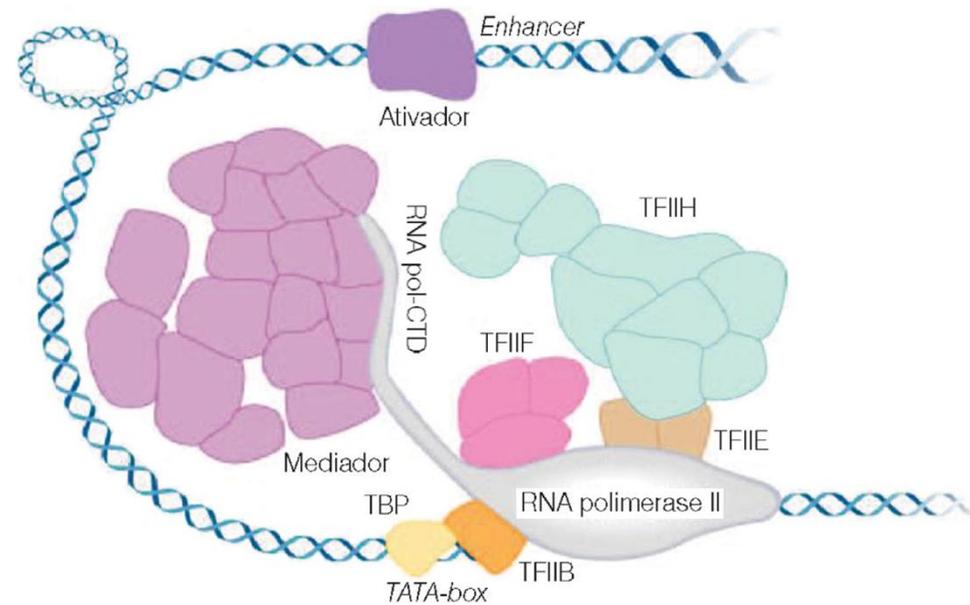
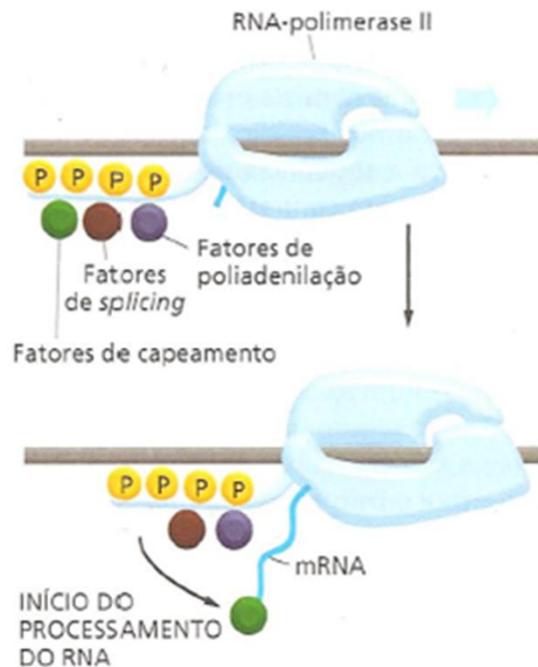


https://www.youtube.com/watch?v=vi-zWoobt_Q

Transcrição em Eucariotos

Domínio C-Terminal (CTD)

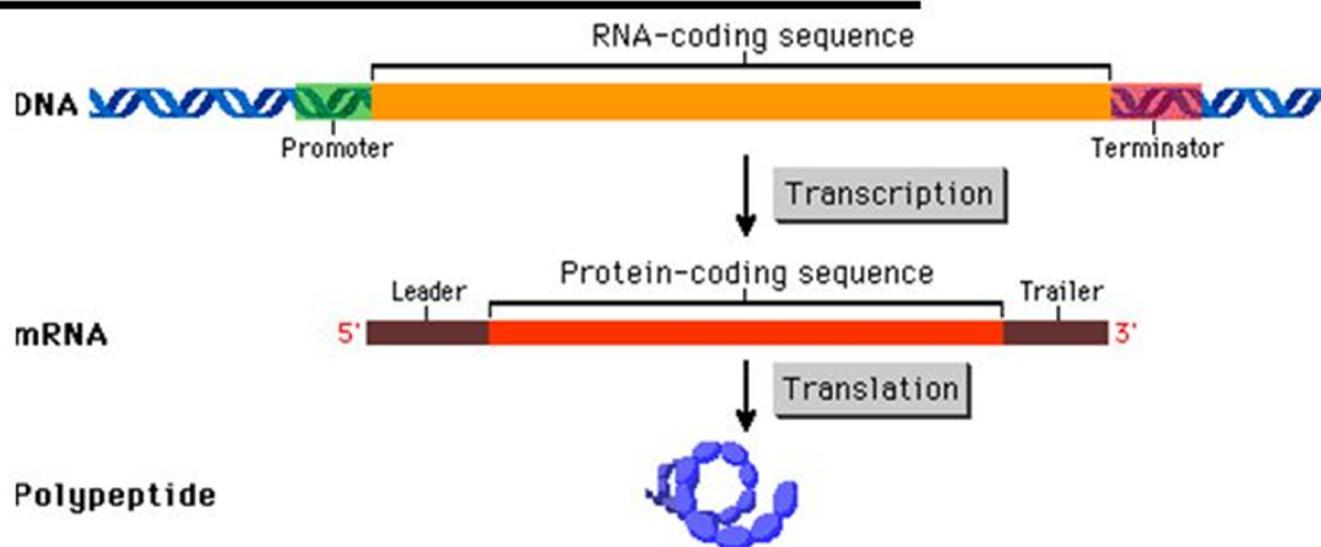
A **fosforilação de CTD** faz com que componentes da maquinaria do processamento do RNA se acumulem sobre a RNA-polimerase e estejam **próximos para modificar o RNA recém-transcrito** assim que ele emergir da RNA-polimerase.



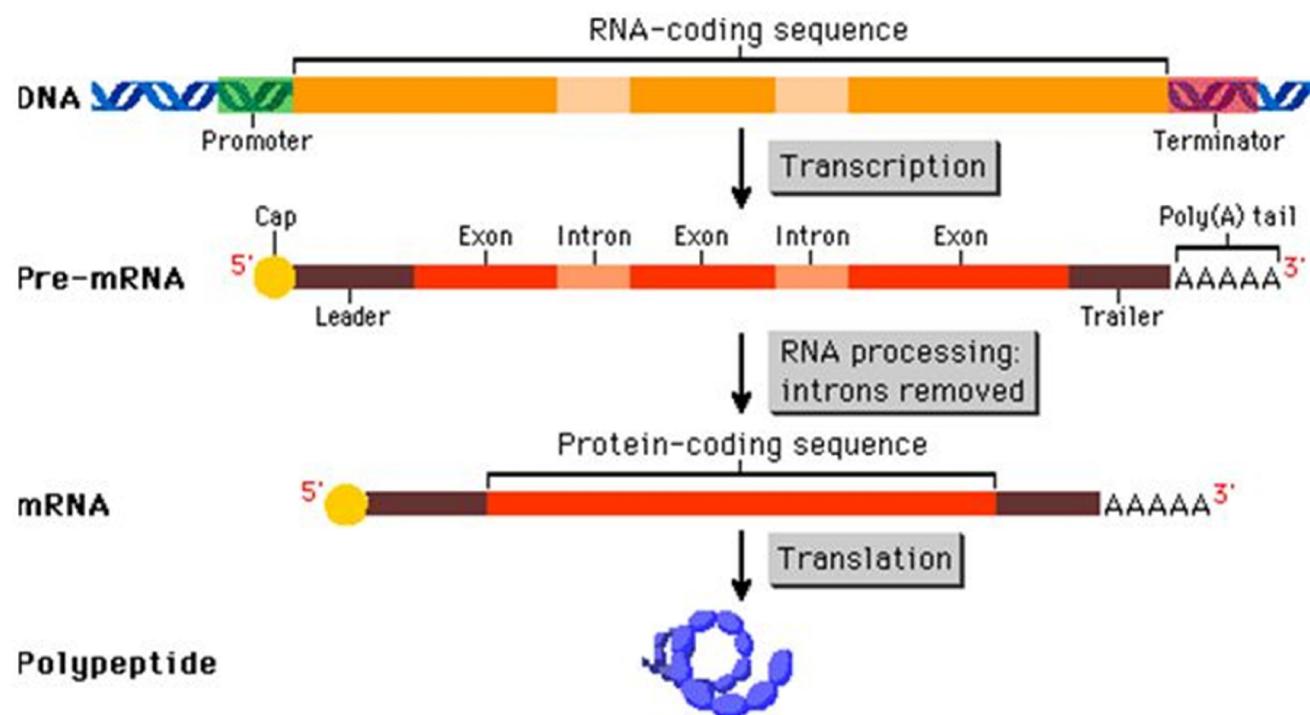
Transcrição

Estrutura do gene

Procaríotos



Eucariotos

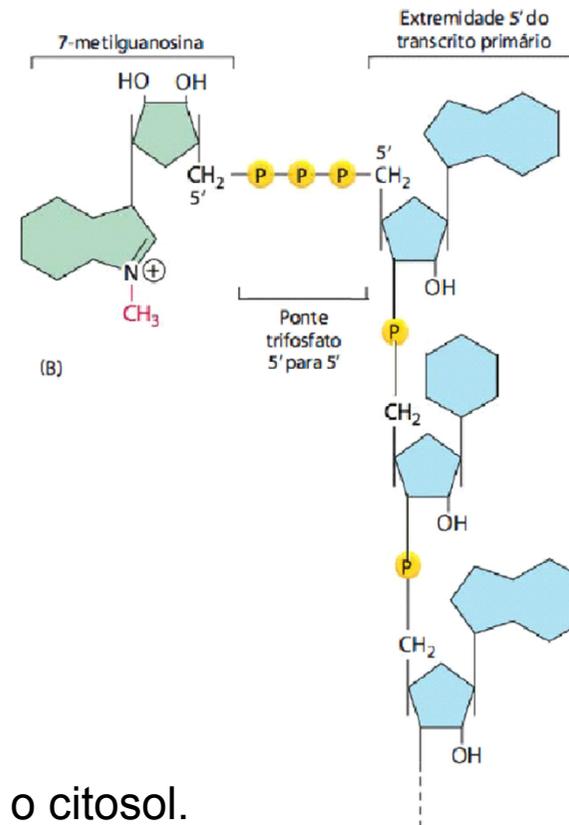
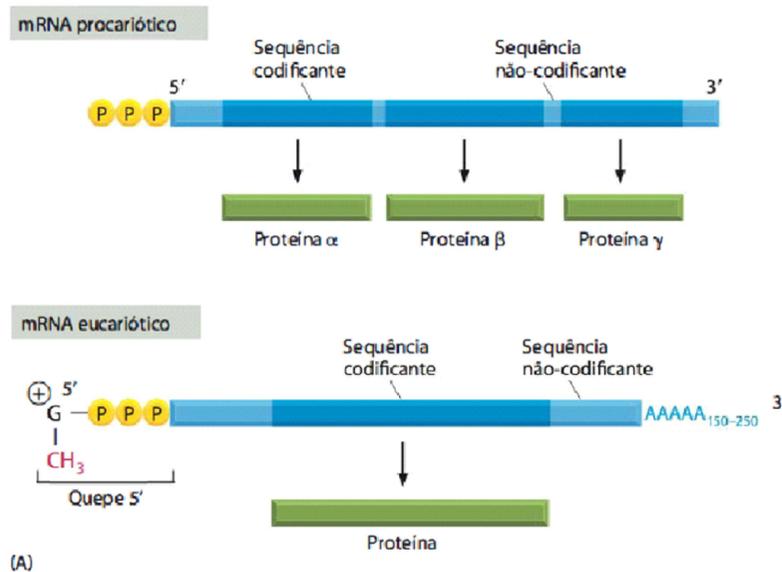


Processamento do RNAm de Eucariotos

1) Capeamento da extremidade 5': CAP-5'

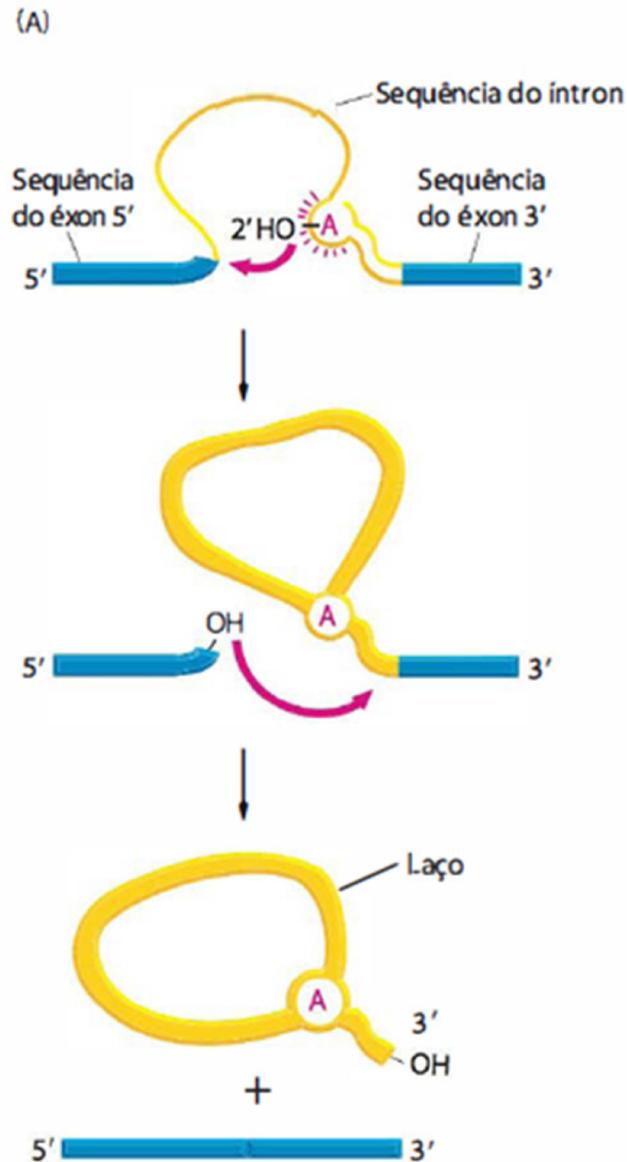
Ocorre logo que a extremidade 5' emerge.

- Retirada de um fosfato
- Adição de uma Guanosina Monofosfato (GMP)
- Metilação do GMP



- Distinção dos RNAm dos outros RNAs.
- No núcleo se liga ao CBC para exportação para o citosol.
- Local que auxilia na montagem do Ribossomo (Tradução).

Processamento do RNAm de Eucariotos

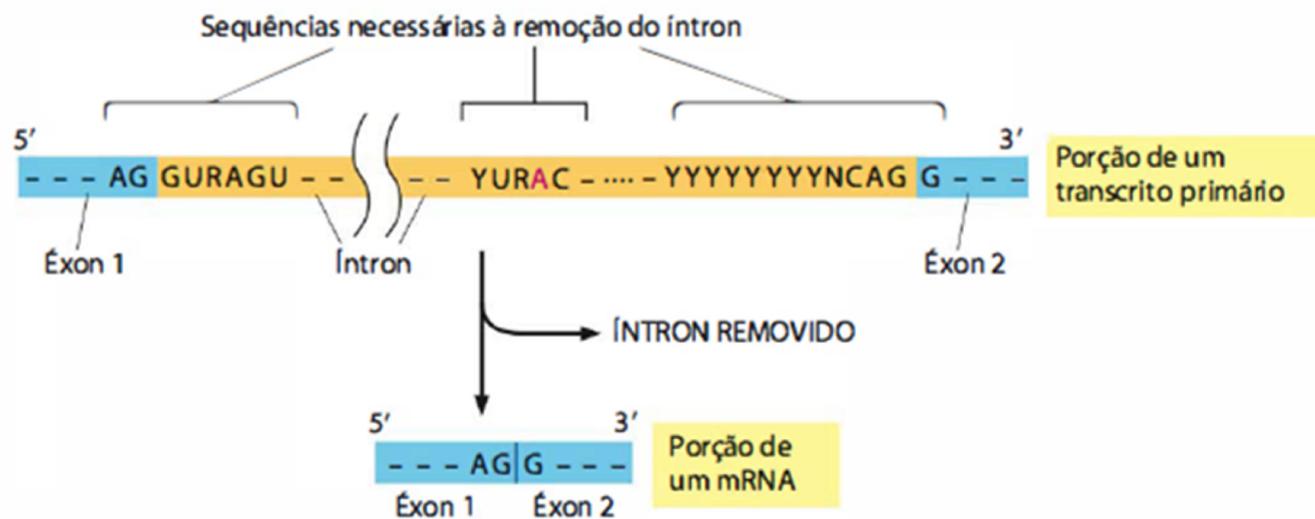


2) Splicing:

- Remove os íntrons de pré-RNAm recém-transcritos por **duas reações de transesterificação**.
- Enorme gasto energético (ATP).

Processamento do RNAm de Eucariotos

2) Splicing: duas reações de transesterificação.



(A) TRANSCRITO PRIMÁRIO NORMAL DA β -GLOBINA EM ADULTO



Sequências de íntrons

O mRNA normal é formado a partir de três éxons.

(B) ALGUMAS ALTERAÇÕES DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO QUE DESTROEM UM SÍTIO NORMAL DE SPLICING PROVOCAM O ABANDONO DE UM ÉXON



mRNA com ausência do éxon 2

(C) ALGUMAS ALTERAÇÕES DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO QUE DESTROEM UM SÍTIO NORMAL DE SPLICING ATIVAM SÍTIOS CRÍPTICOS DE SPLICING



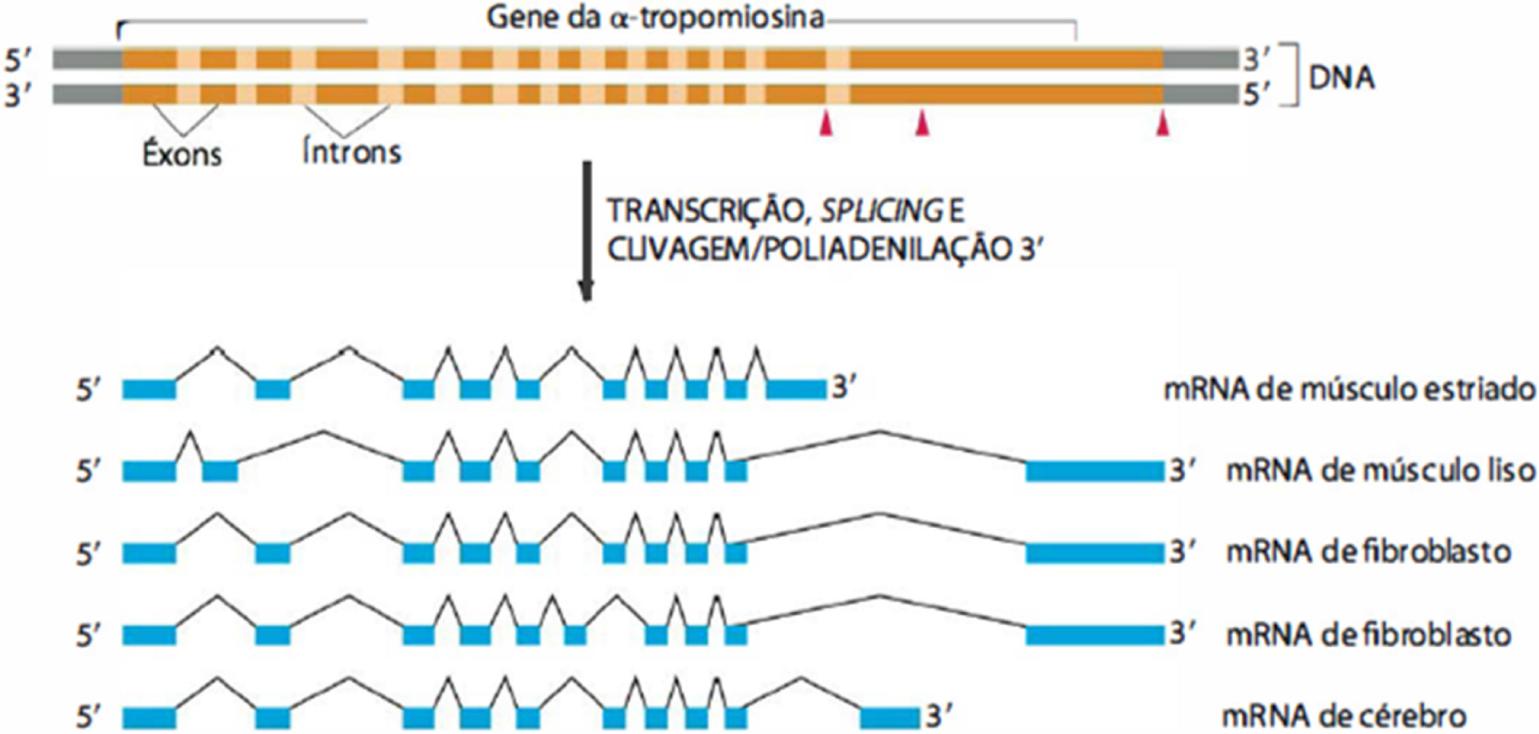
mRNA com um éxon 3 estendido

(D) ALGUMAS ALTERAÇÕES DE UM ÚNICO NUCLEOTÍDEO QUE CRIAM NOVOS SÍTIOS DE SPLICING CAUSAM A INSERÇÃO DE NOVOS ÉXONS



mRNA com éxon extra inserido entre os éxons 2 e 3

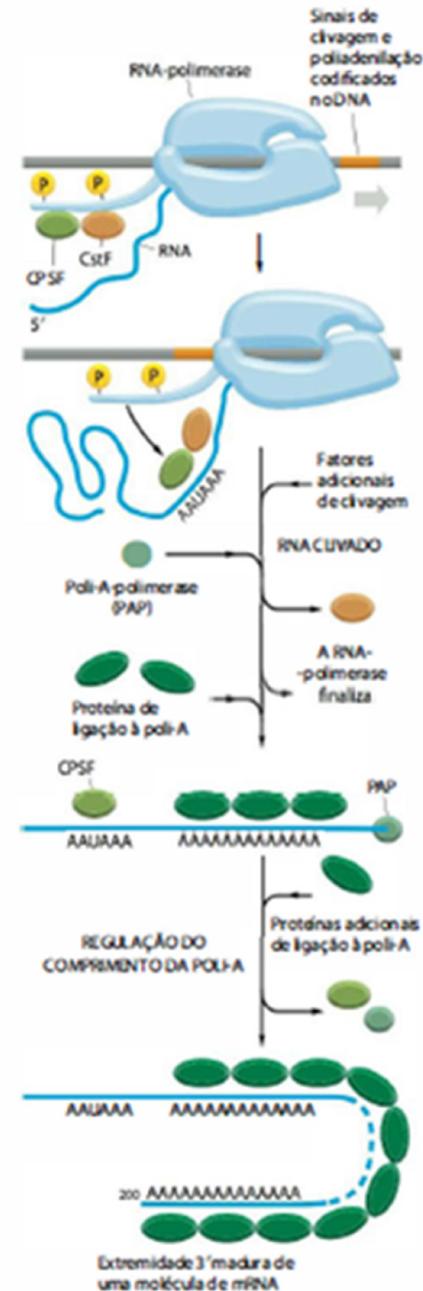
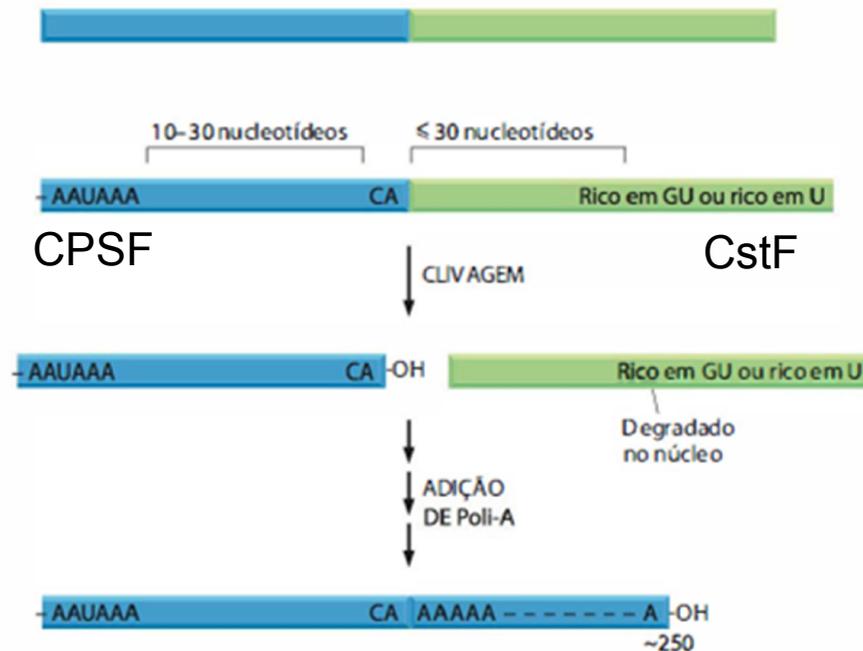
Splicing Alternativo: diferentes proteínas originadas do mesmo gene.



Processamento do RNAm de Eucariotos

3) Poliadenilação: adição de uma cauda Poli-A na extremidade 3'.

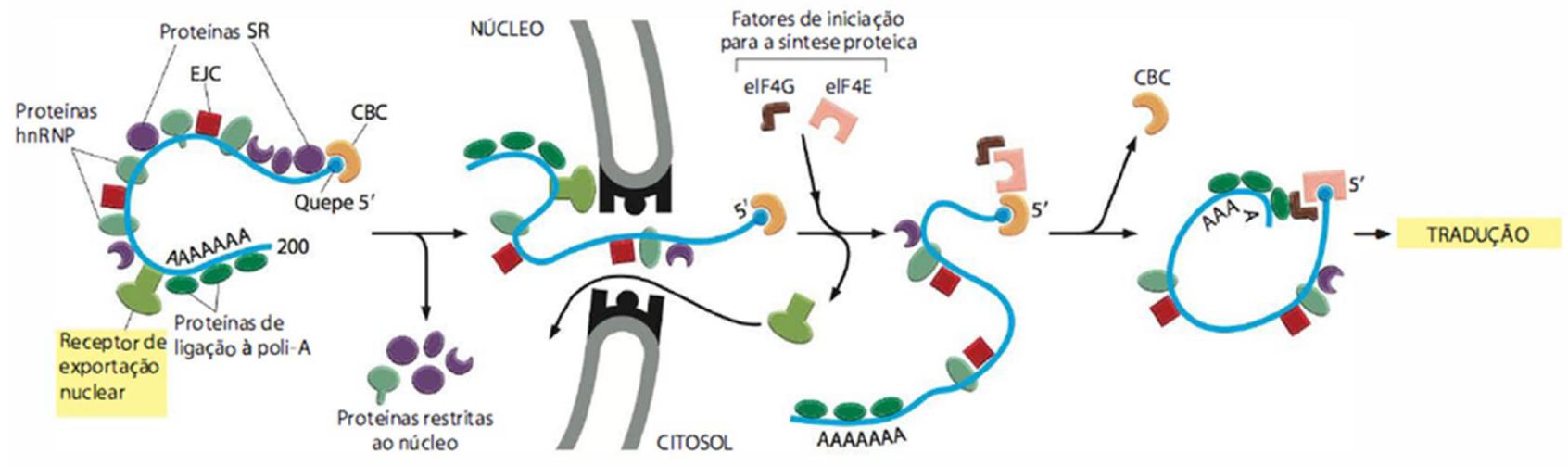
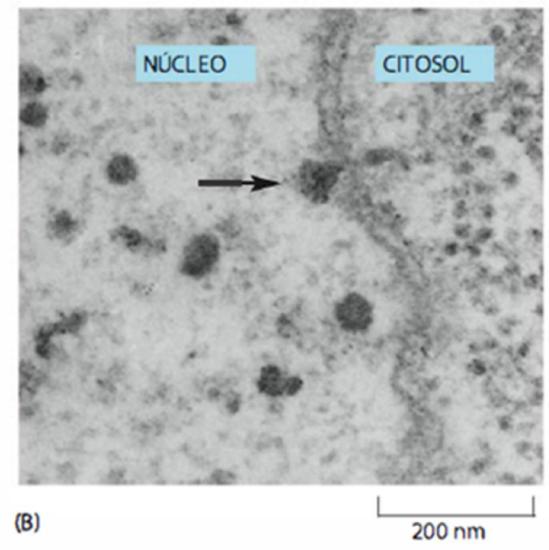
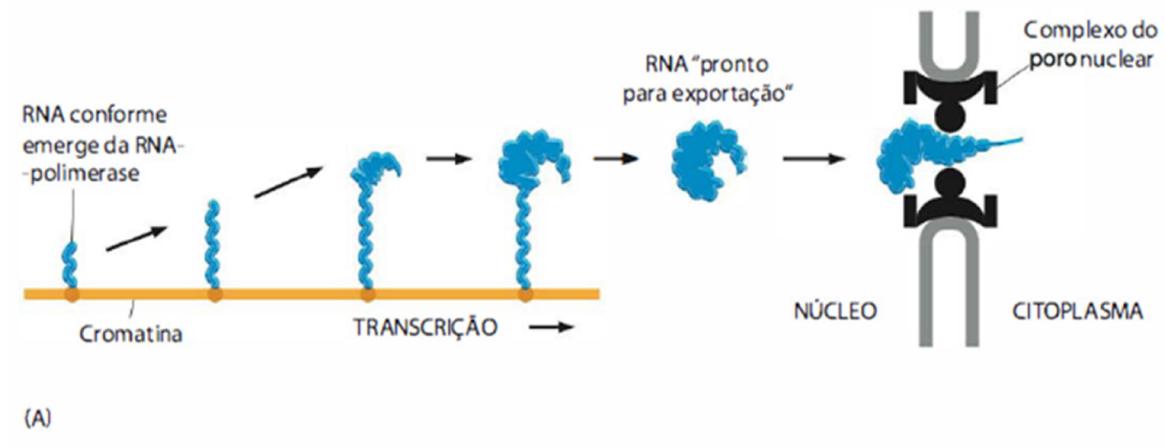
Sequência Terminal



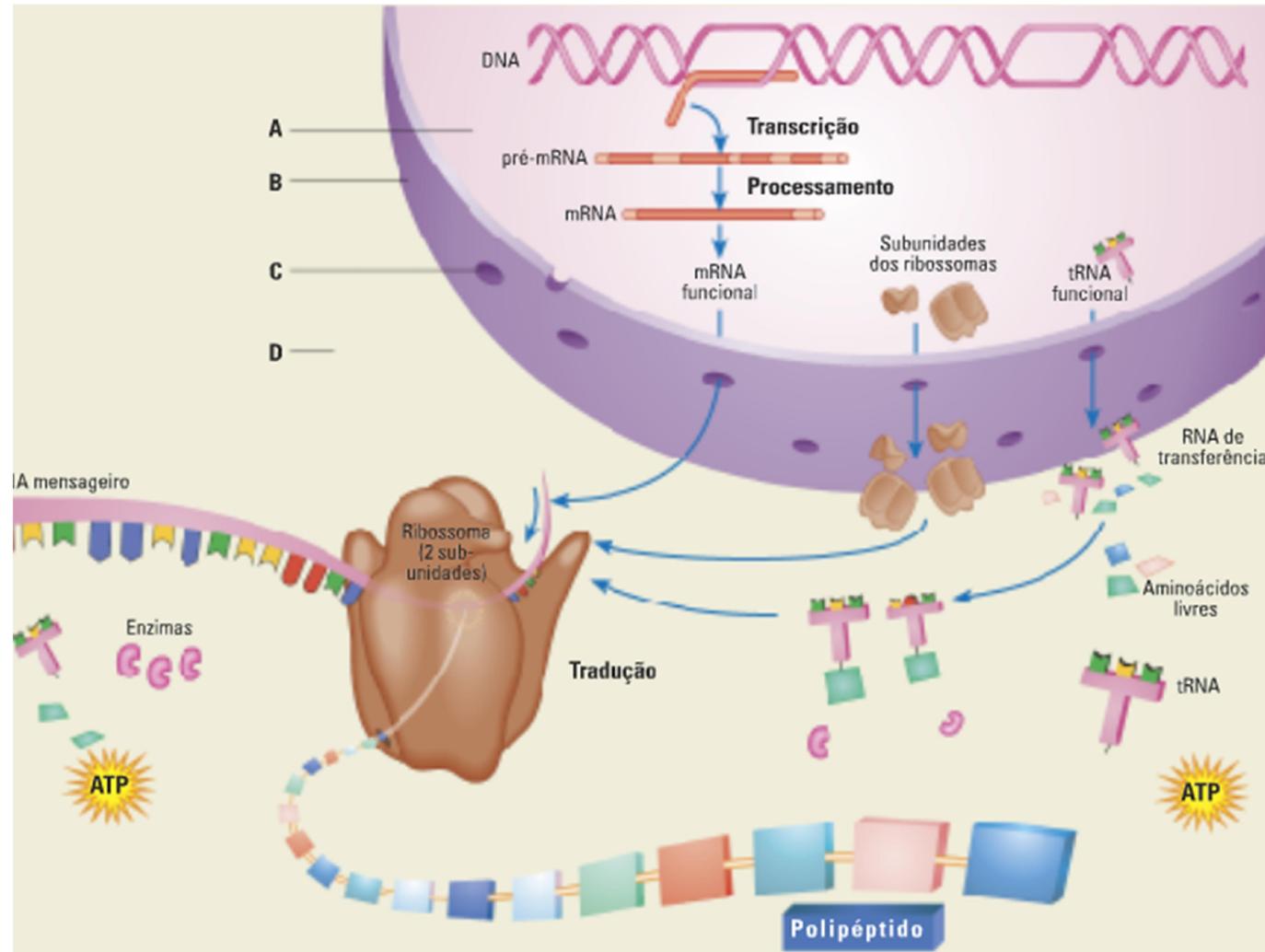
Transporte do RNAm de Eucarioto para o Citoplasma

<https://www.youtube.com/watch?v=FzrKdj-7hzU>

Transporte do RNAm de Eucarioto para o Citoplasma

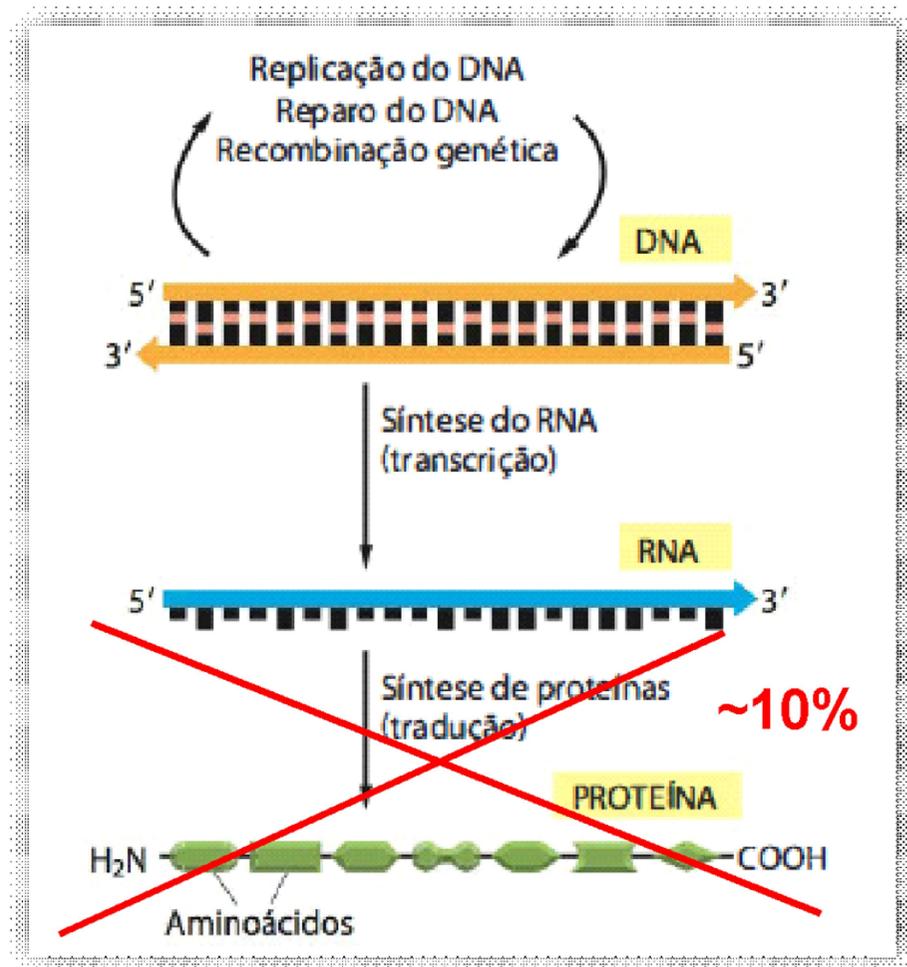


Transporte do RNAm, RNAt e RNAr de Eucarioto para o Citoplasma



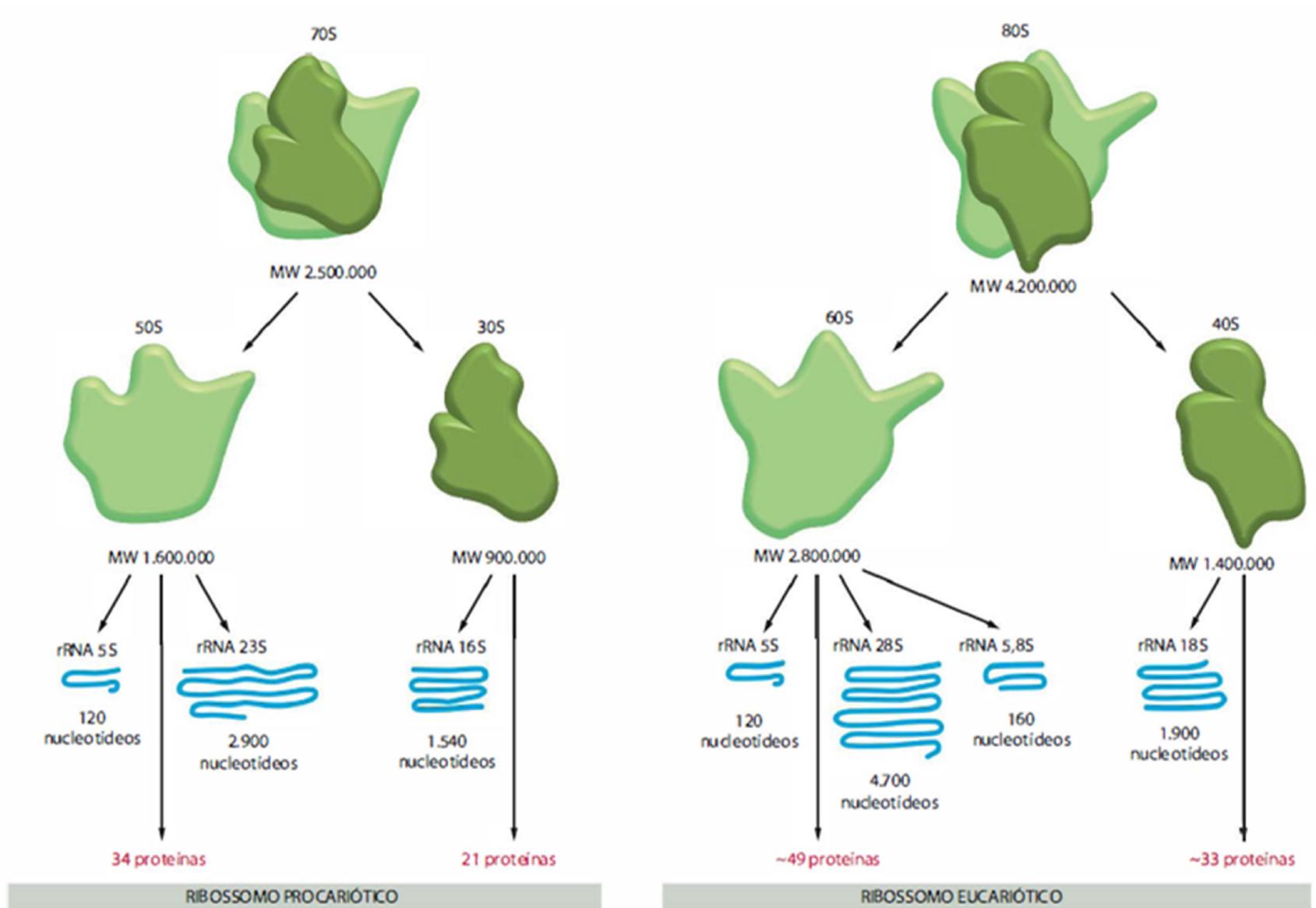
As células produzem **diversos tipos** de RNA a partir da transcrição do DNA.

- Maioria dos genes: **RNA codificantes**
 - será traduzido em uma proteína.
 - RNAm
- Minoria dos genes: **RNA não-codificantes**
 - não será traduzido em uma proteína.
 - RNA é o produto final .
 - Função catalítica ou estrutural (fita simples com formas tridimensionais).
 - RNAr, RNAt, microRNA, siRNA, snRNAs.

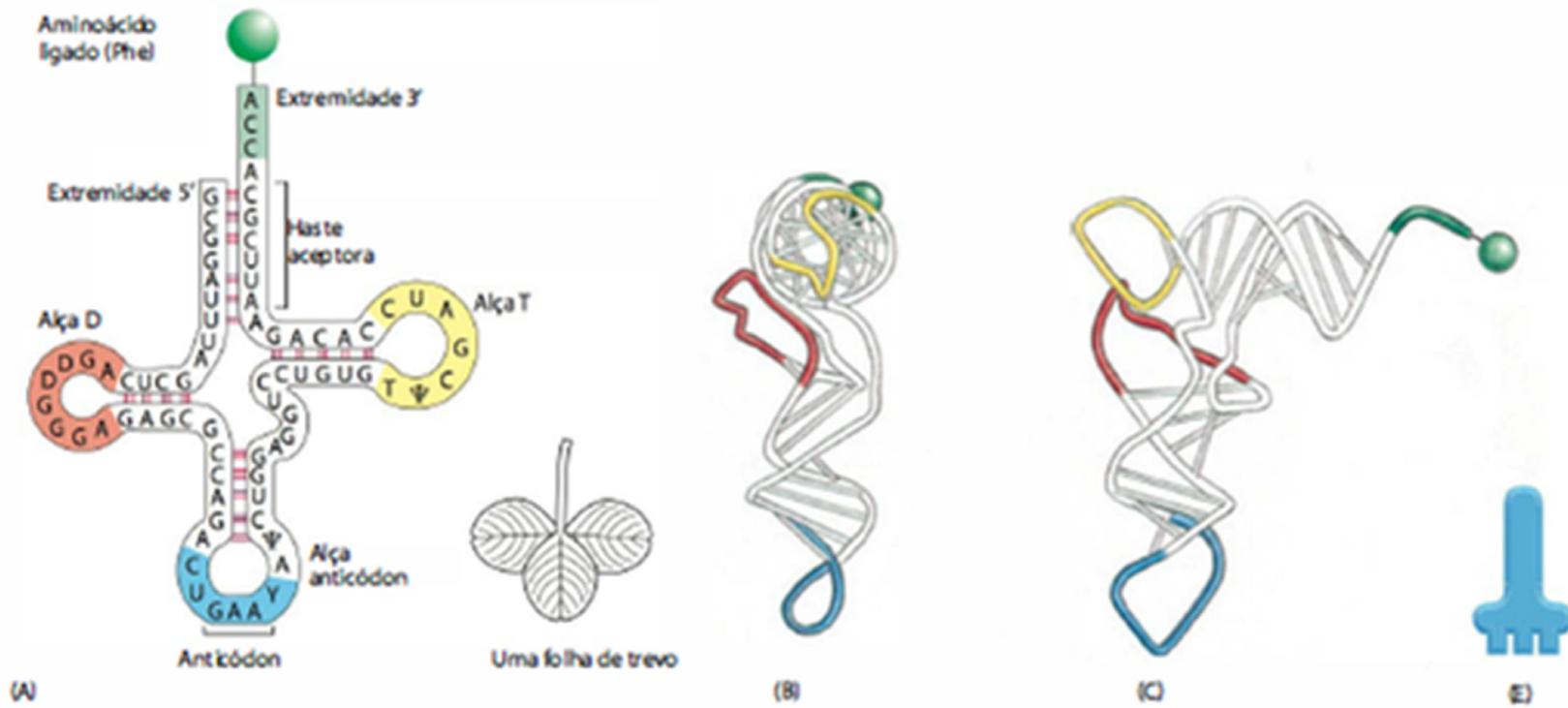


Tipo de RNA	Função
RNAm	RNAs mensageiros da informação, codificam proteínas.
RNAr	RNAs ribossomais, formam a estrutura básica do ribossomo e catalisam a síntese proteica.
RNAt	RNA transportadores, funcionam como adaptadores entre RNAm e os aminoácidos.
snRNAs	Pequenos RNAs nucleares, auxiliam no processo de splicing.
microRNA (Íntrons)	Silenciamento gênico, bloqueio da tradução no ribossomo e desadenilação.
siRNA (sintético)	Silenciamento gênico, degradação do RNAm.
Telomerase	Possue um molde de RNA, síntese dos telômeros.
Ribozimas	RNA catalisador.

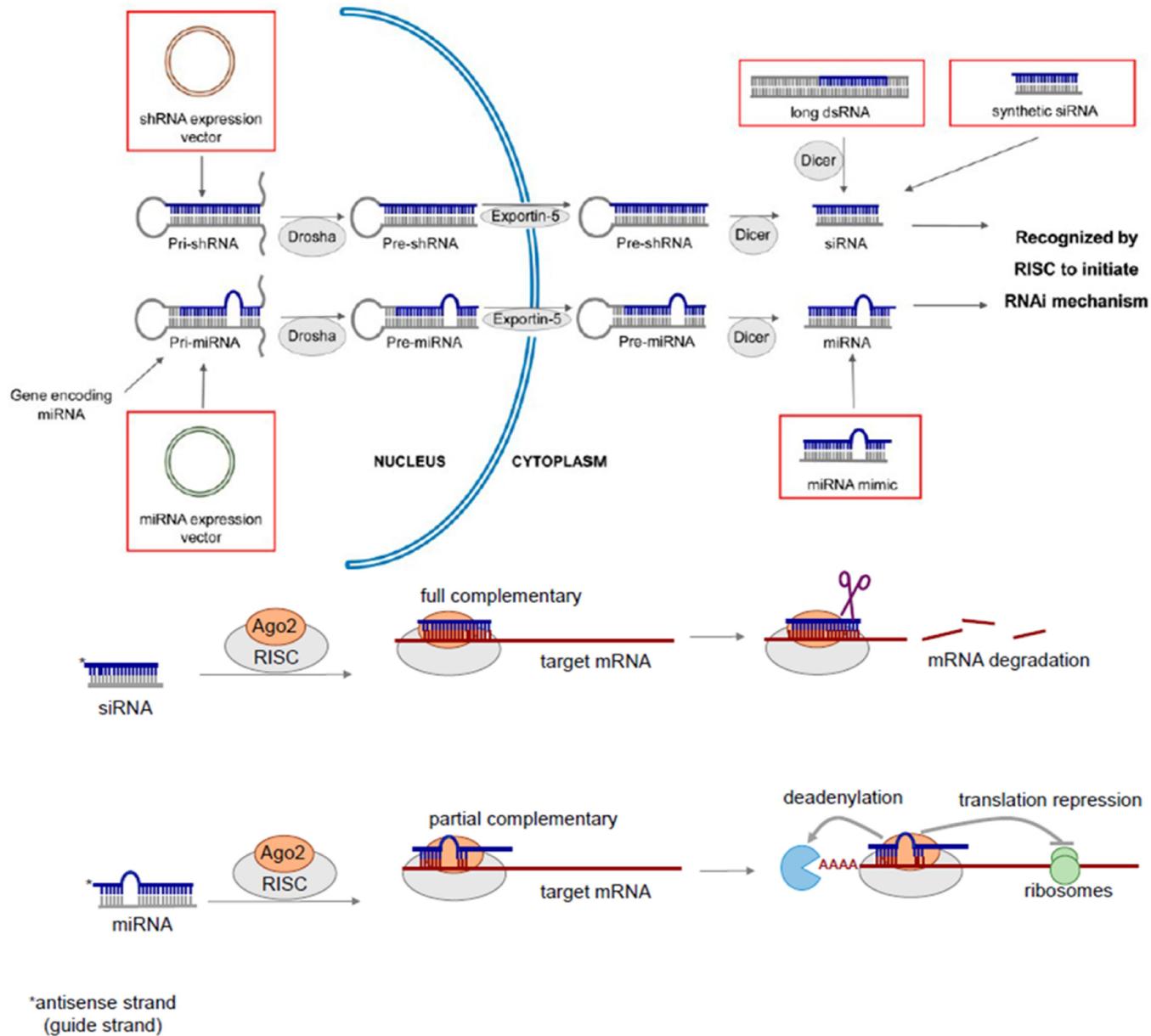
RNAr: RNA ribossomal



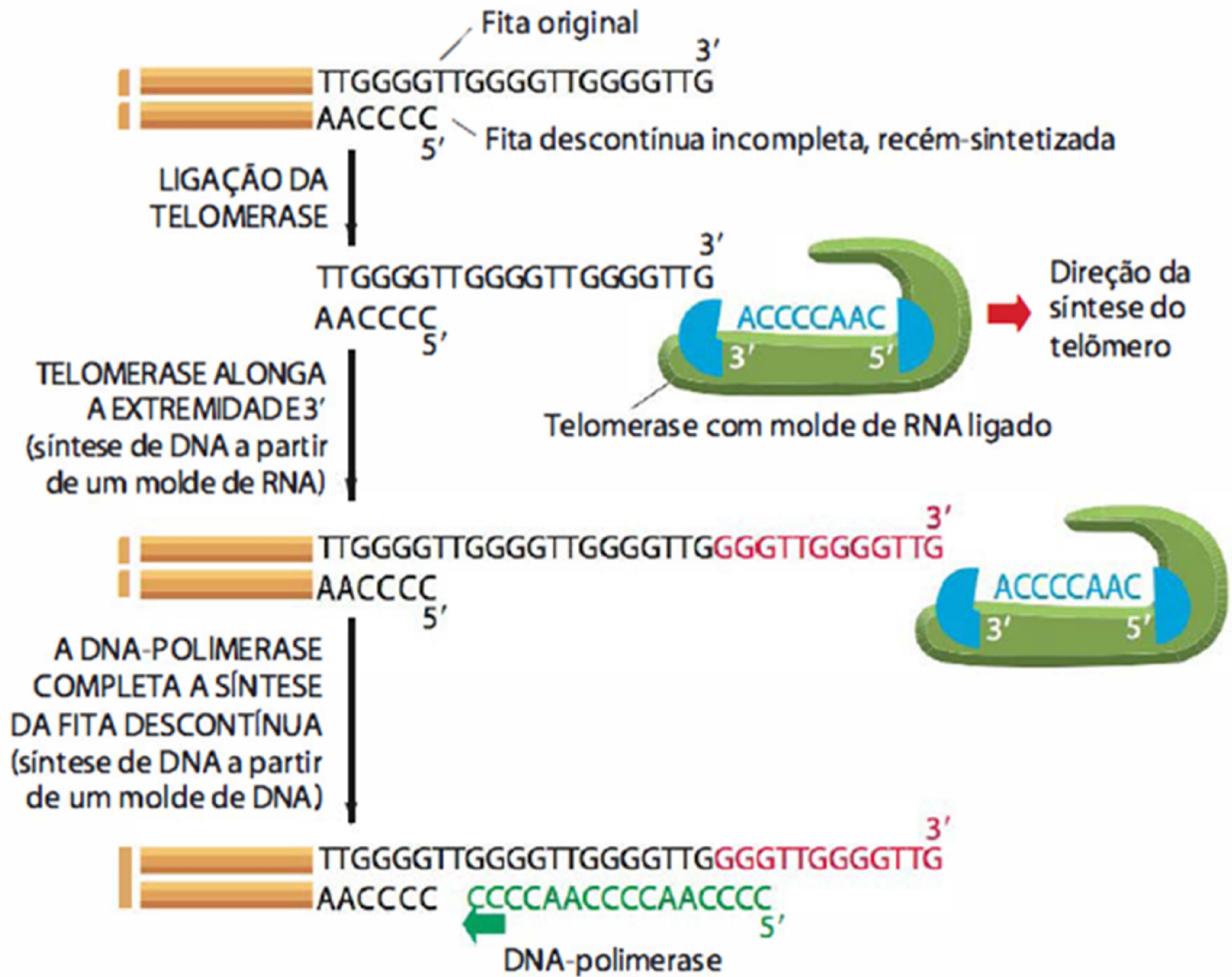
RNA: RNA transportador



microRNA e siRNA: silenciamento gênico



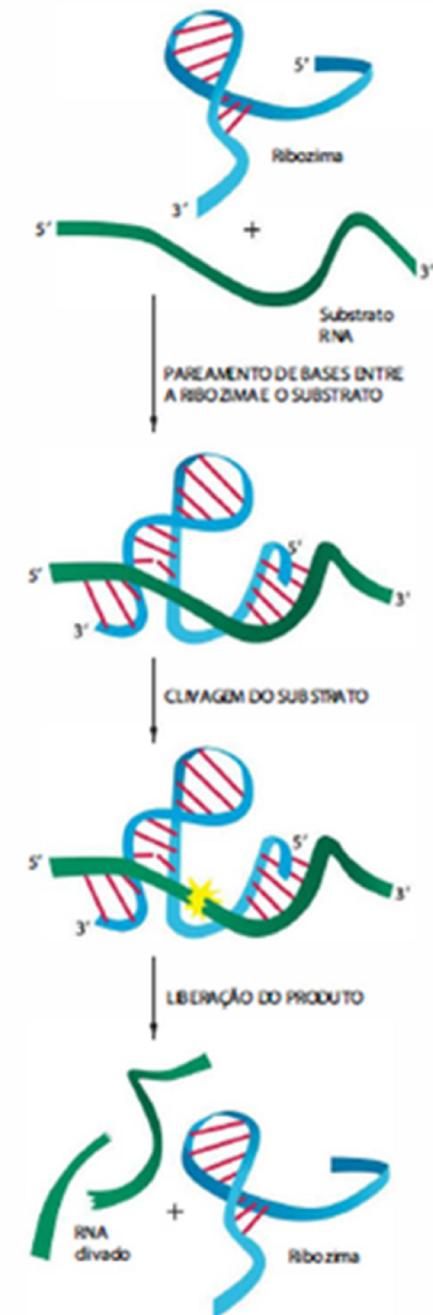
Telomerase: molde de RNA para síntese do Telômero



Ribozima: RNA catalisador

Tabela 6-5 Algumas reações bioquímicas que podem ser catalisadas por ribozimas

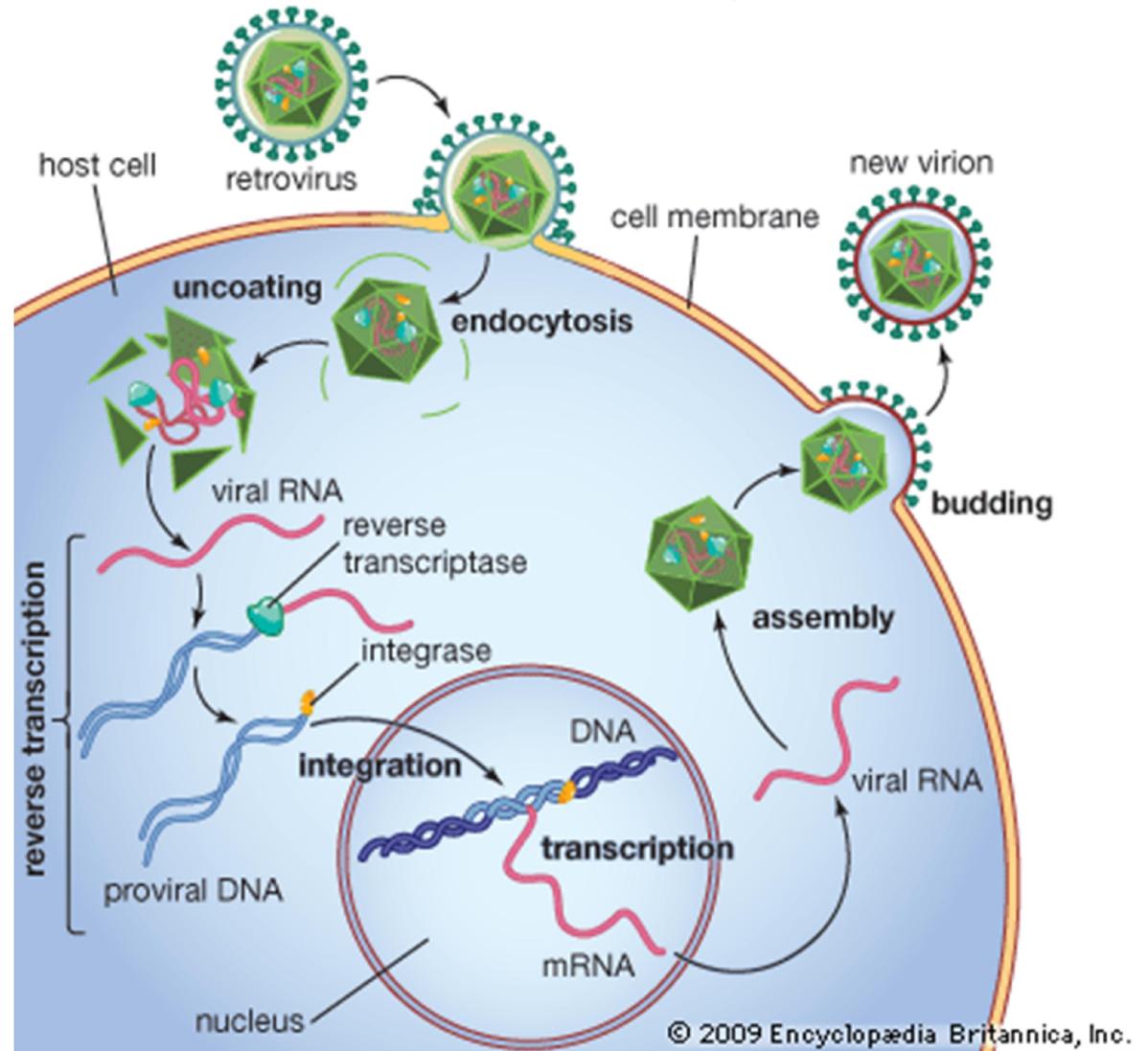
Atividade	Ribozimas
Formação de ligação peptídica na síntese de proteínas	RNA ribossomal
Clivagem de RNA, ligação de RNA	RNAs auto- <i>splicing</i> ; RNase P; incluindo RNA selecionado <i>in vitro</i>
Clivagem de DNA	RNAs auto- <i>splicing</i>
<i>Splicing</i> de RNA	RNAs auto- <i>splicing</i> , talvez RNAs do spliceossomo

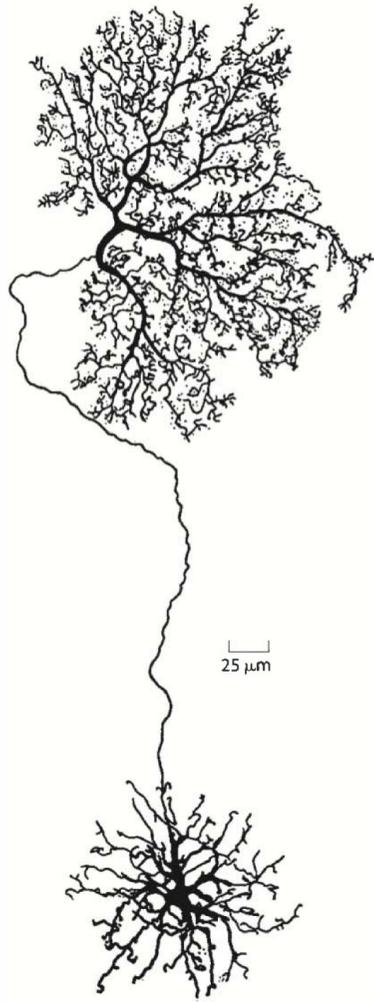


Transcrição Reversa:

O genoma de alguns vírus é constituído por RNA. Esses vírus possuem a enzima Transcriptase Reversa que produzem um cDNA a partir do RNA original.

Retrovirus infection and reverse transcription





Neurônio



Linfócito

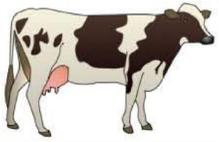
(A)



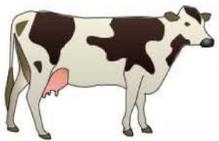
Sapo adulto

↳ ↳ ↳

(C)



Vacas



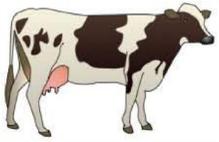
(A)



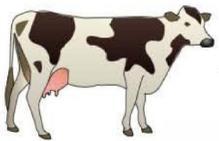
Sapo adulto

↳ ↳ ↳

(C)



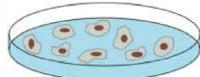
Vacas



(A)



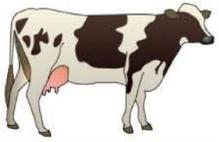
Sapo adulto



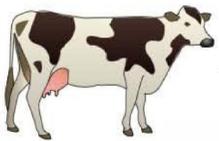
Células da pele em
placa de cultura

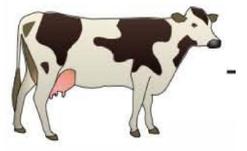
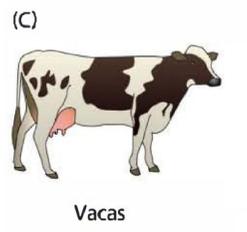
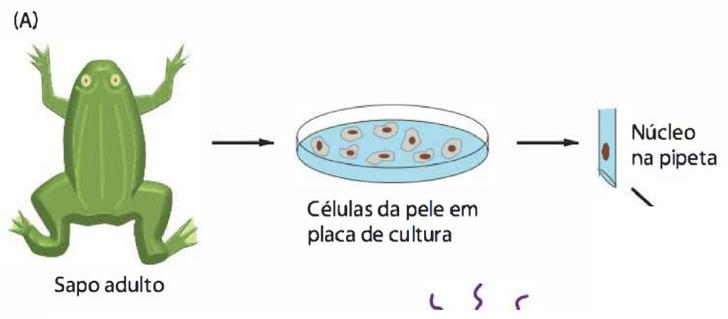
↳

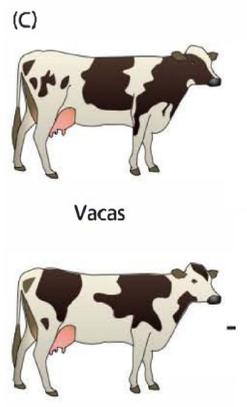
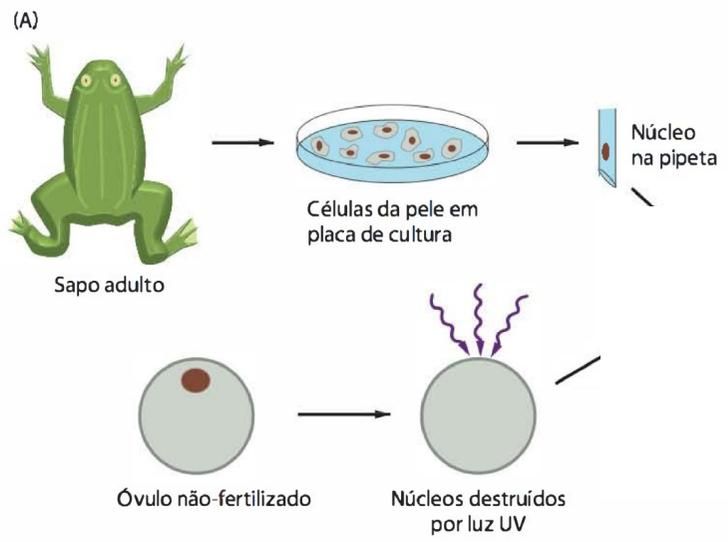
(C)

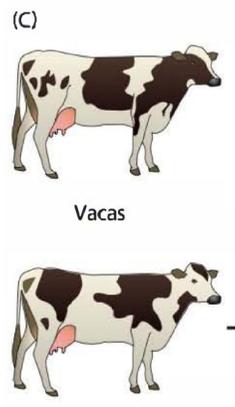
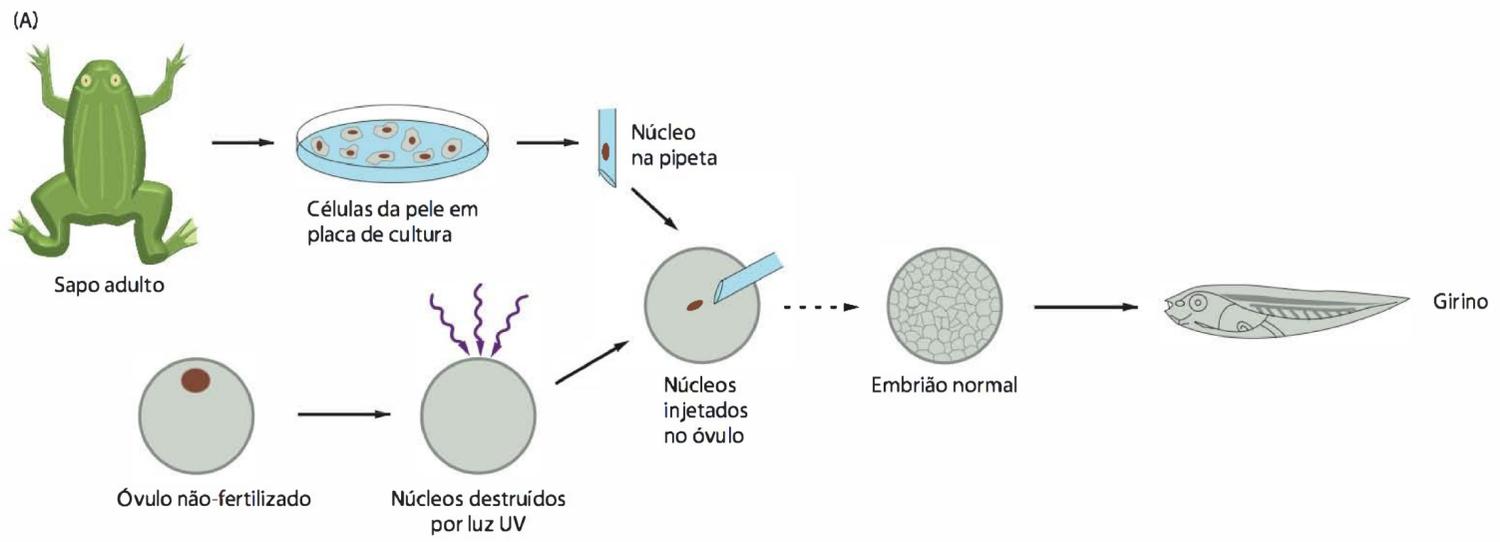


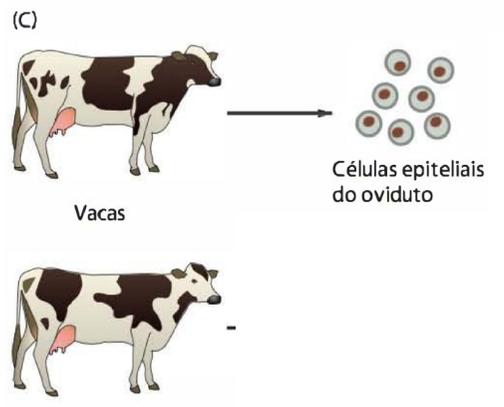
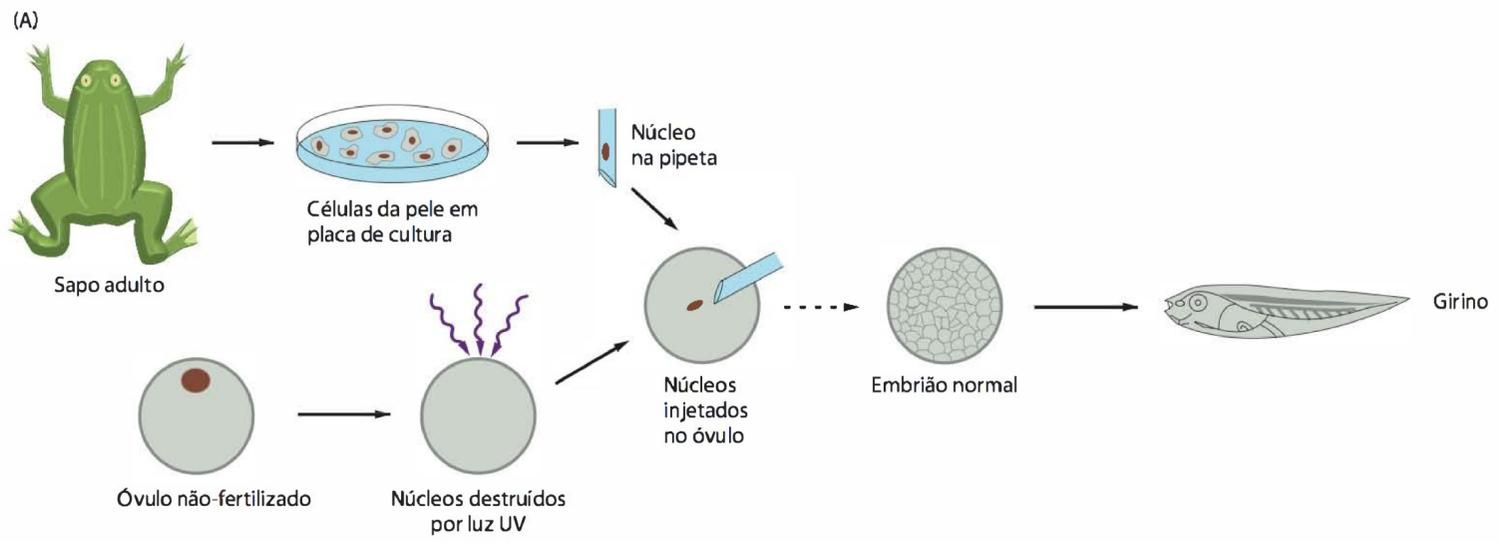
Vacas

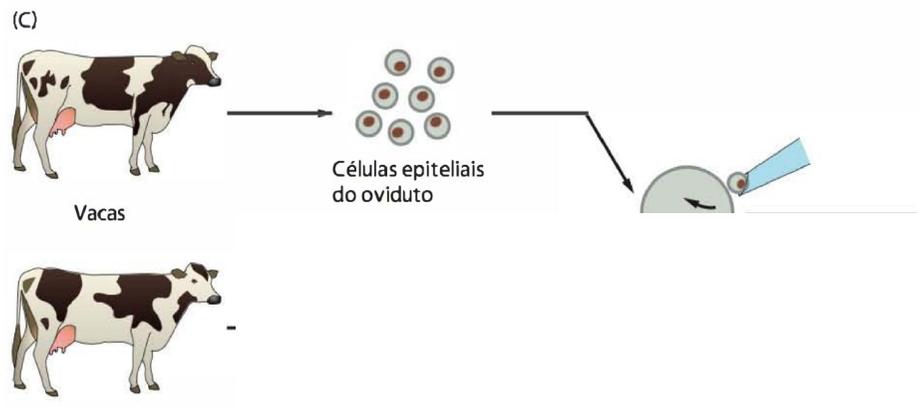
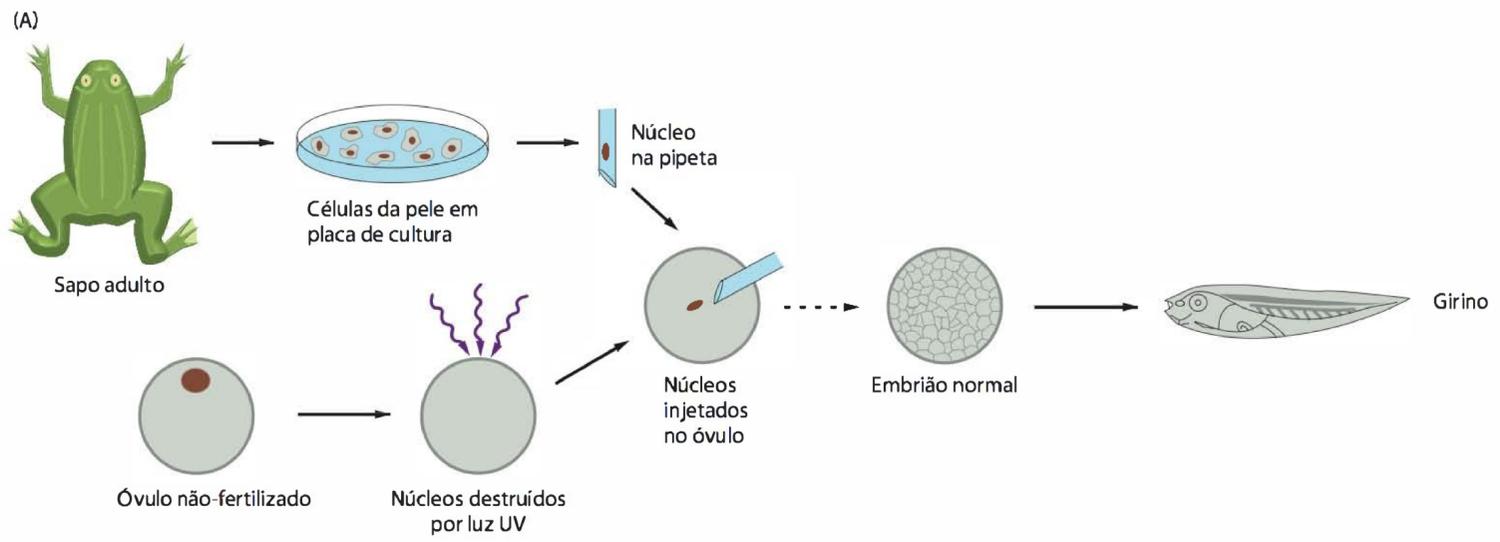


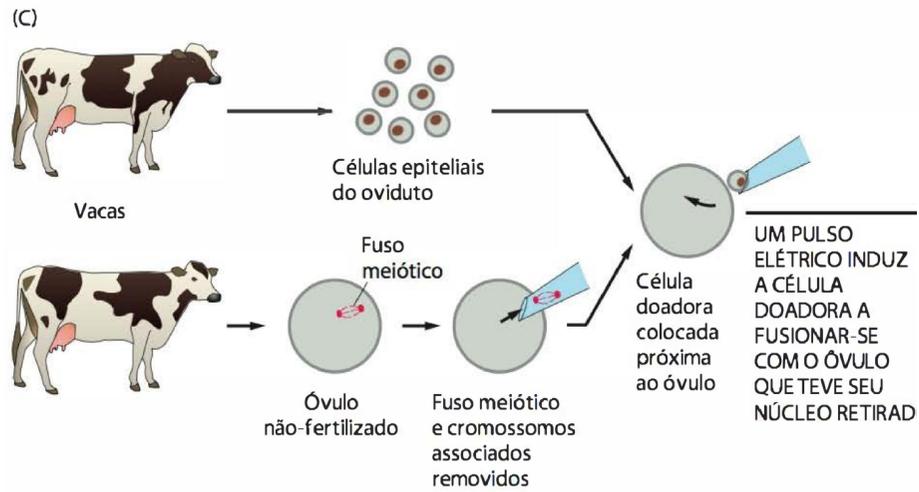
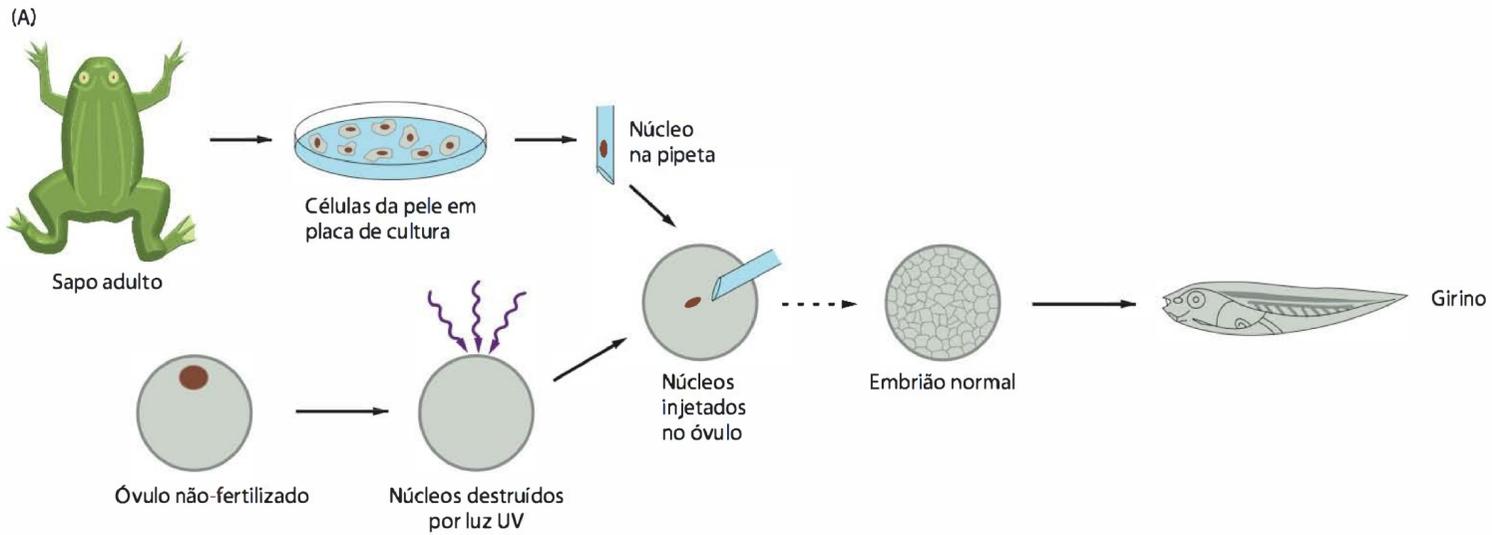


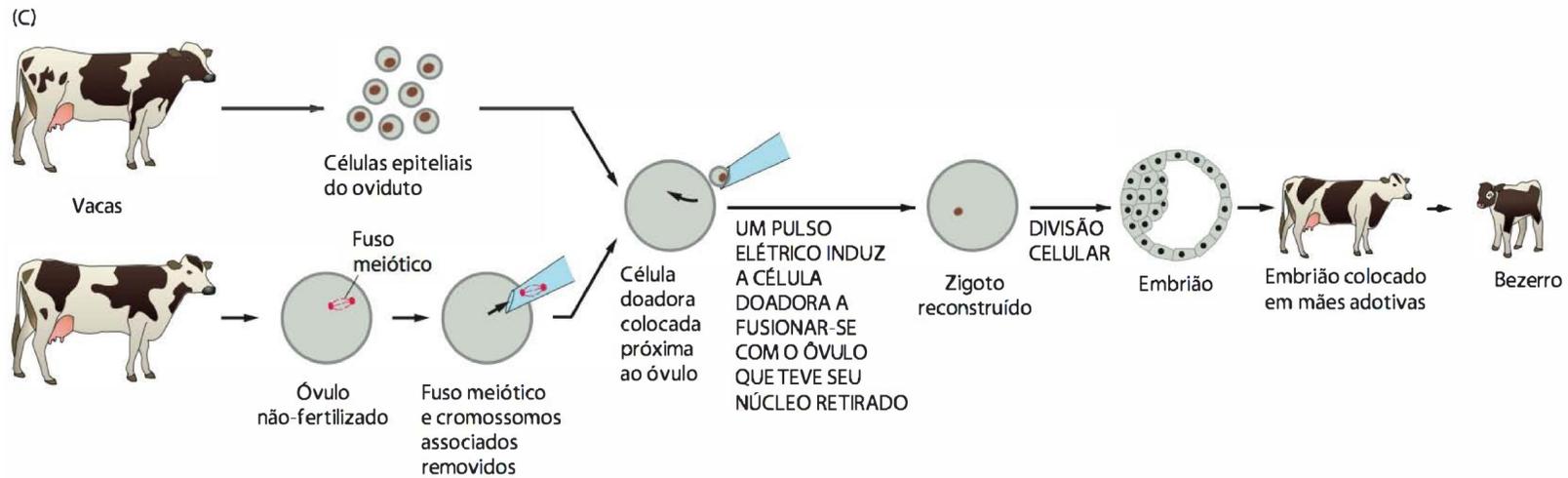
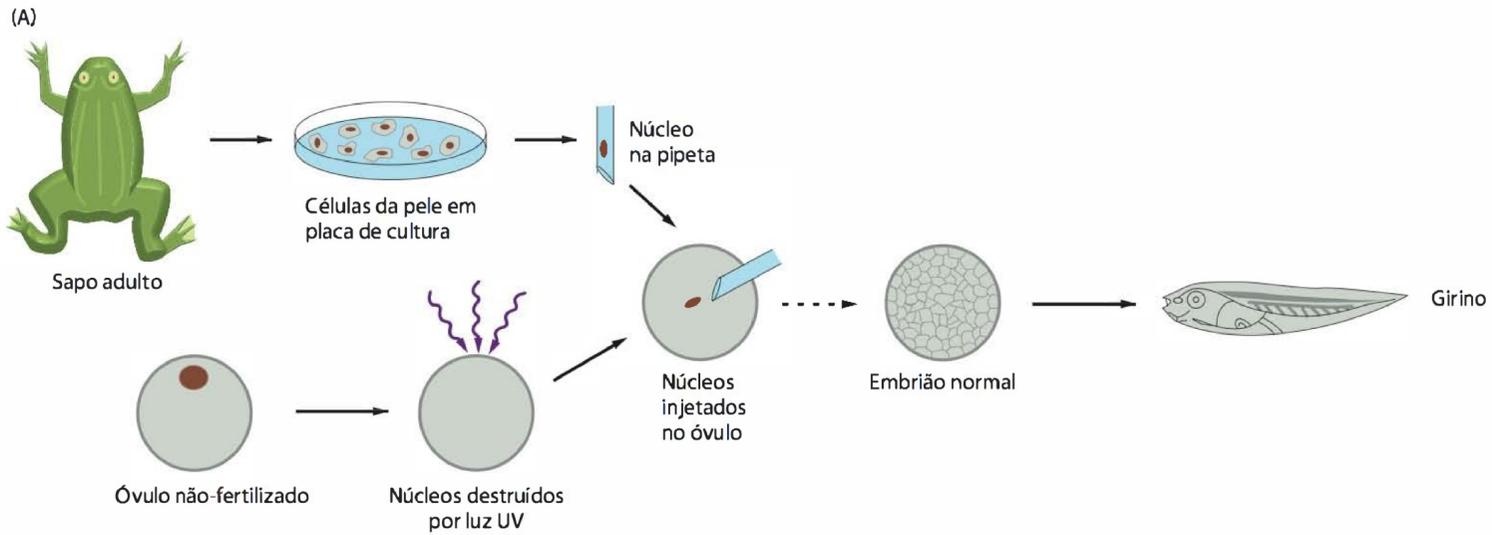












Cada tipo celular tem um repertório específico

1. Vários processos básicos e essenciais para a célula demandam um repertório comum de proteínas e RNAs funcionais, a exemplo de proteínas estruturais dos cromossomos, polimerases, enzimas de reparo de DNA, proteínas ribossomais, enzimas envolvidas em metabolismo, proteínas do citoesqueleto.

Cada tipo celular tem um repertório específico

1. Vários processos básicos e essenciais para a célula demandam um repertório comum de proteínas e RNAs funcionais, a exemplo de proteínas estruturais dos cromossomos, polimerases, enzimas de reparo de DNA, proteínas ribossomais, enzimas envolvidas em metabolismo, proteínas do citoesqueleto.
2. Outras proteínas e RNAs funcionais estão presentes em alguns tecidos e ausentes em outros.

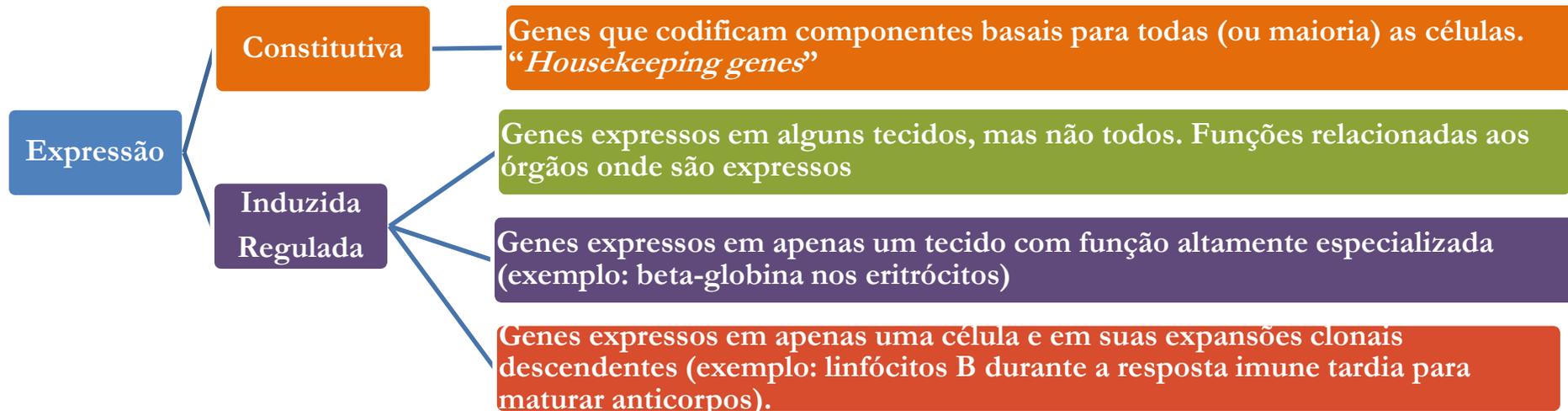
Cada tipo celular tem um repertório específico

1. Vários processos básicos e essenciais para a célula demandam um repertório comum de proteínas e RNAs funcionais, a exemplo de proteínas estruturais dos cromossomos, polimerases, enzimas de reparo de DNA, proteínas ribossomais, enzimas envolvidas em metabolismo, proteínas do citoesqueleto.
2. Outras proteínas e RNAs funcionais estão presentes em alguns tecidos e ausentes em outros.
3. Mesmo em duas células que expressam os mesmos RNA mensageiros, os níveis (quantidade) não necessariamente são os mesmo e podem variar bastante.

Cada tipo celular tem um repertório específico

1. Vários processos básicos e essenciais para a célula demandam um repertório comum de proteínas e RNAs funcionais, a exemplo de proteínas estruturais dos cromossomos, polimerases, enzimas de reparo de DNA, proteínas ribossomais, enzimas envolvidas em metabolismo, proteínas do citoesqueleto.
2. Outras proteínas e RNAs funcionais estão presentes em alguns tecidos e ausentes em outros.
3. Mesmo em duas células que expressam os mesmos RNA mensageiros, os níveis (quantidade) não necessariamente são os mesmo e podem variar bastante.
4. Tal variabilidade qualitativa e quantitativa não reflete integralmente a variabilidade de proteínas: há outros níveis de regulação

Cada tipo celular tem um repertório específico



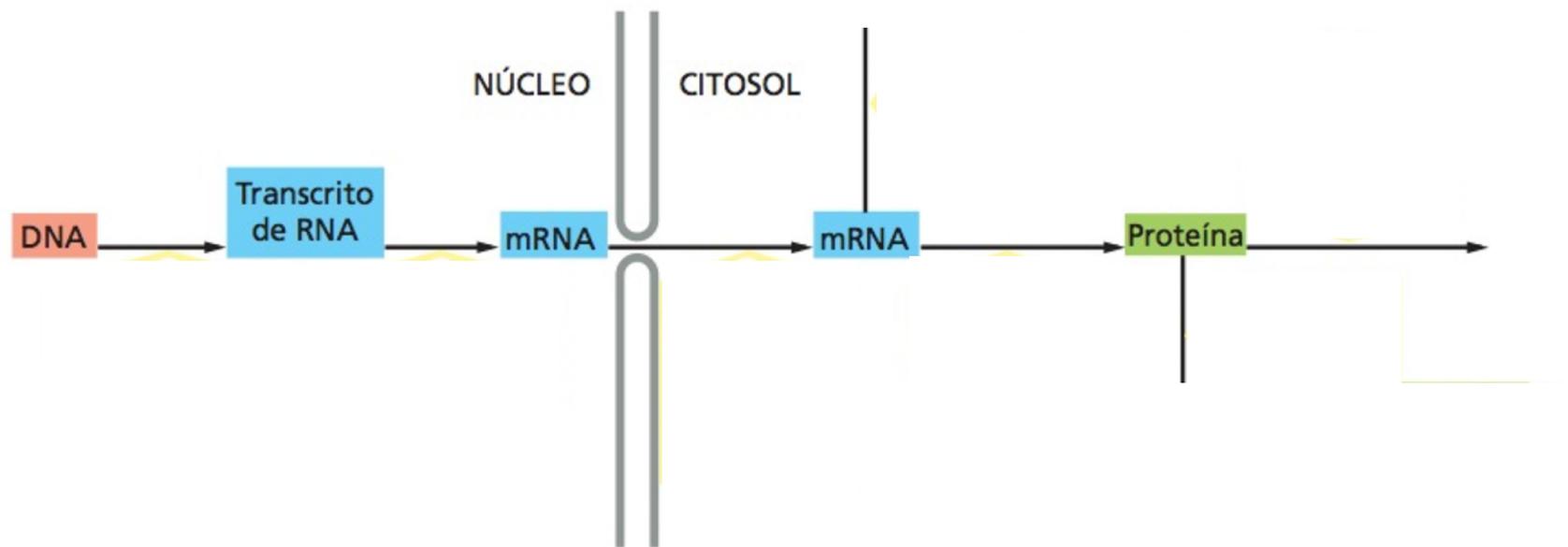
Cada tipo celular tem um repertório específico

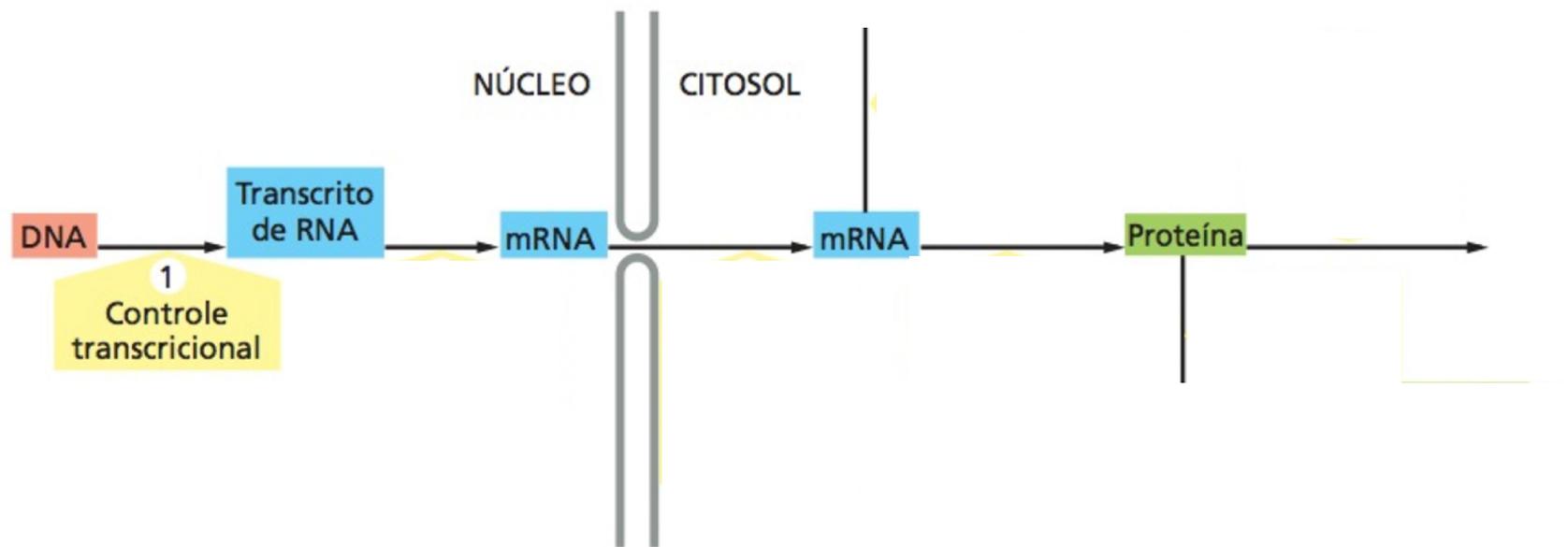
Atividade da aula anterior

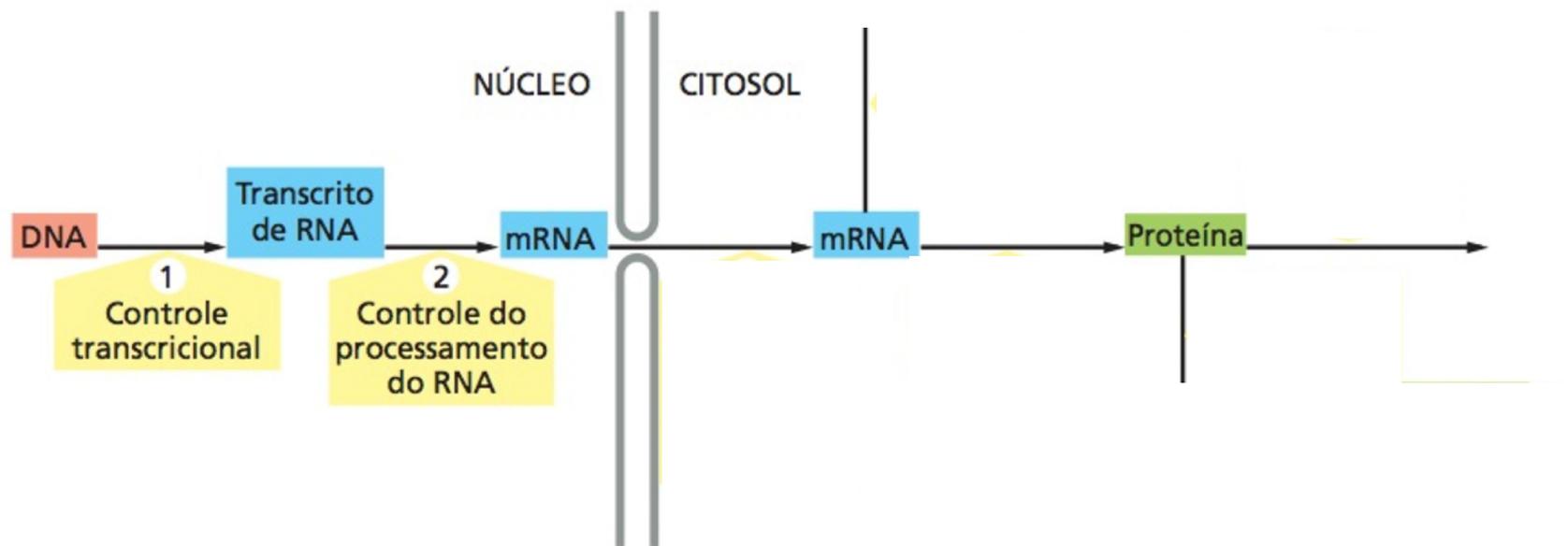
<https://www.cancercommons.org/knowledge-blog/to-type-or-to-print-oncotype-dx-and-mammablueprint-tests-for-breast-cancer/>

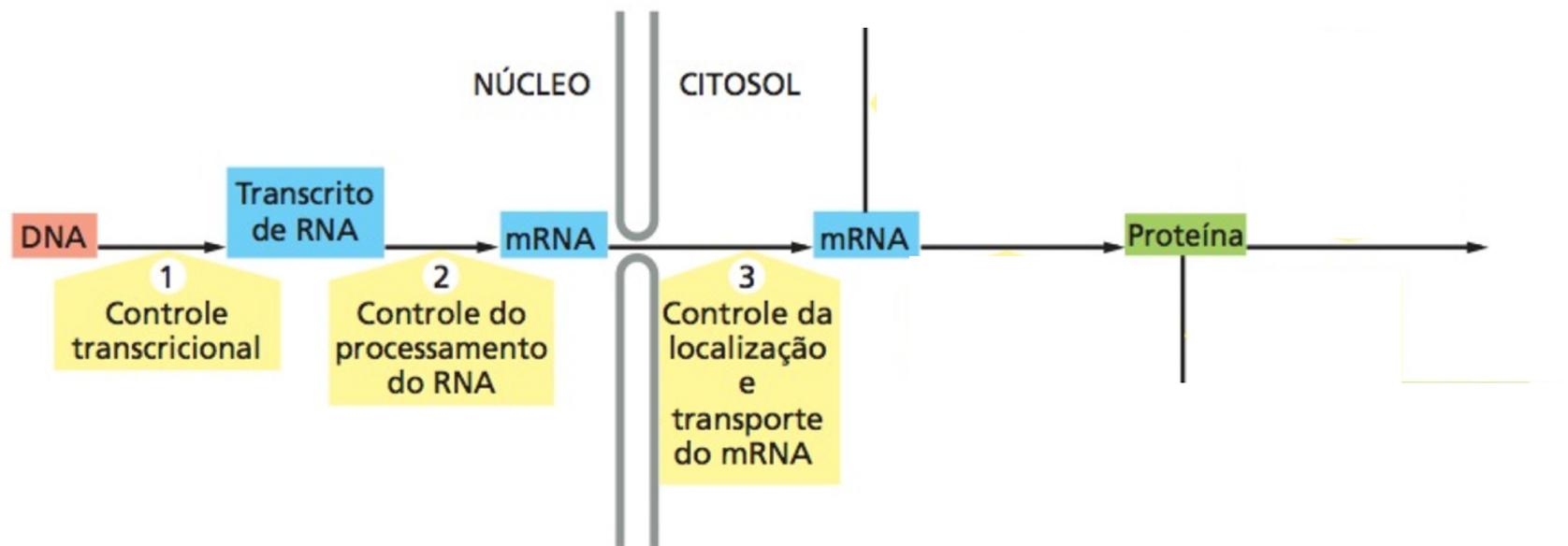
Buscar exames que utilizem o conhecimento sobre expressão gênica para auxílio em diagnóstico e/ou prognóstico de câncer

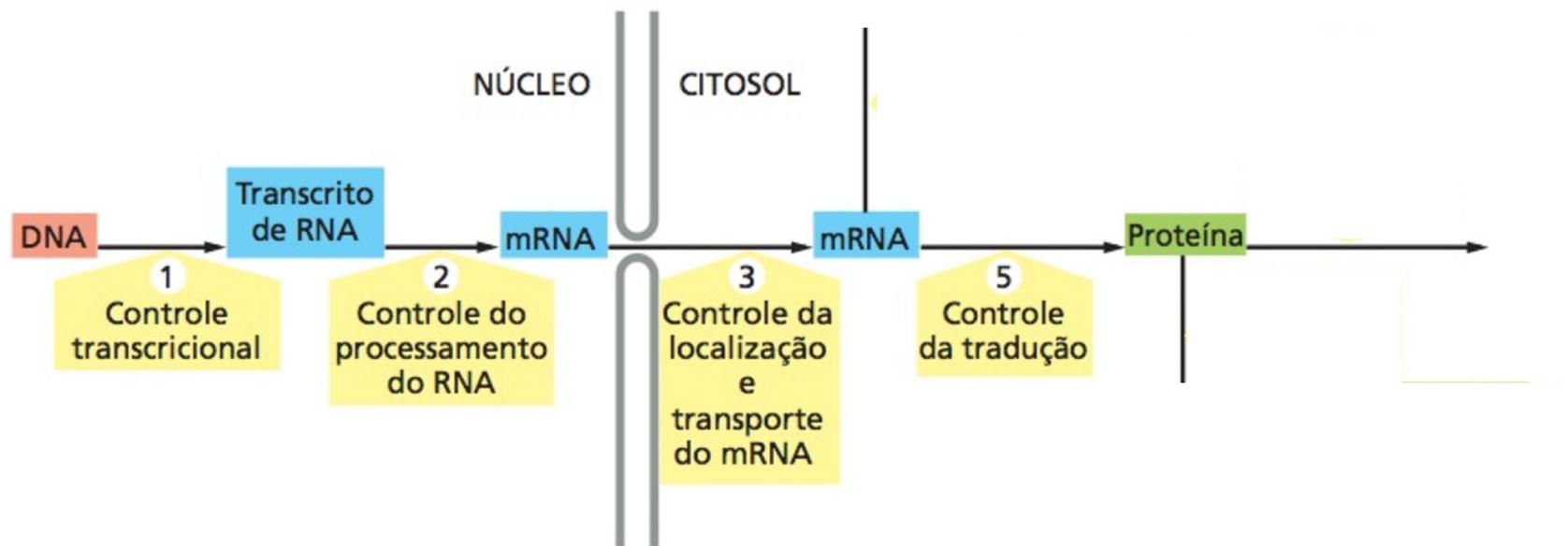
- 1) Cite um exame e a propriedade informativa que permite sua aplicação.
- 2) Quais tipos de genes espera-se que sejam mais informativos para este tipo de teste?
- 3) Cite duas limitações deste tipo de exame.

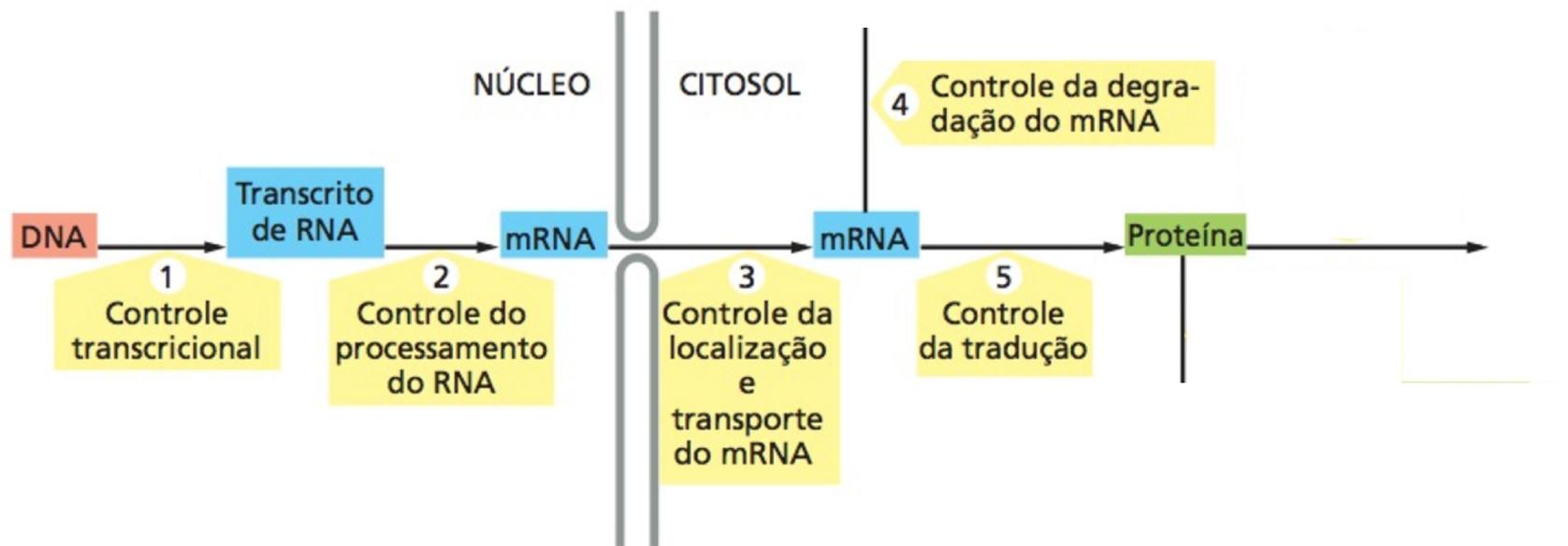


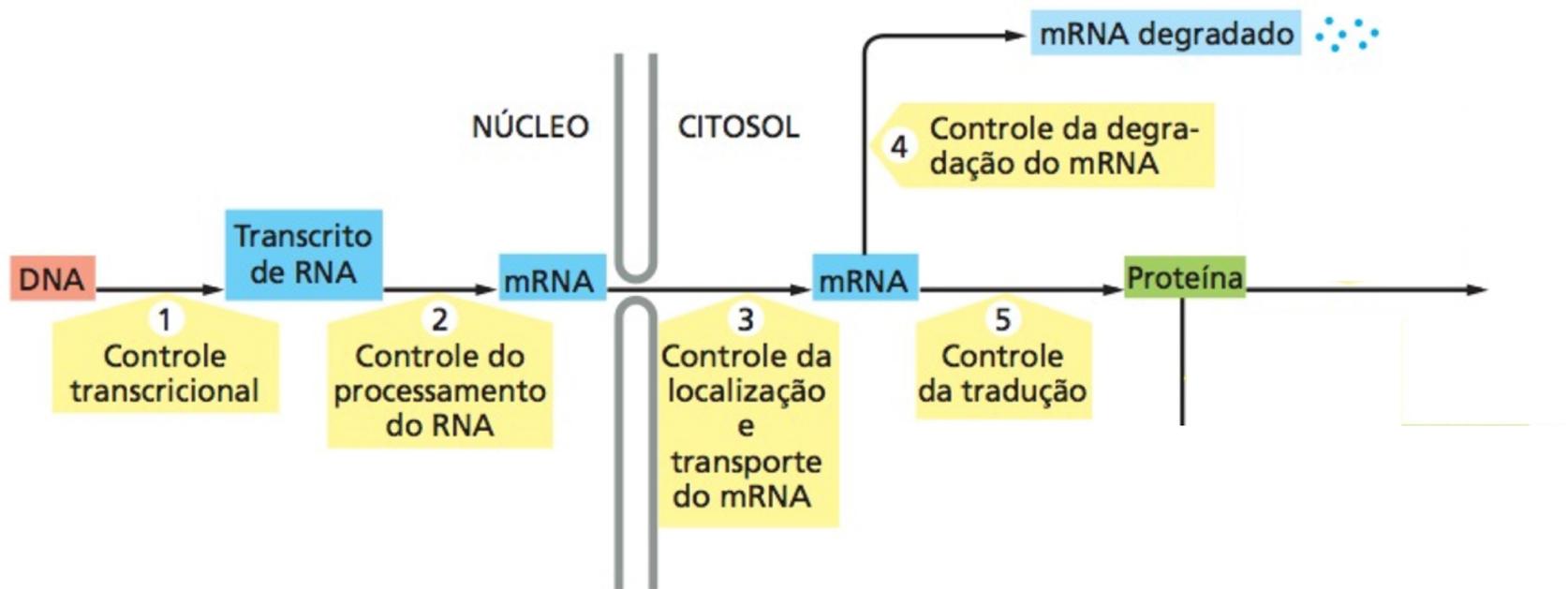


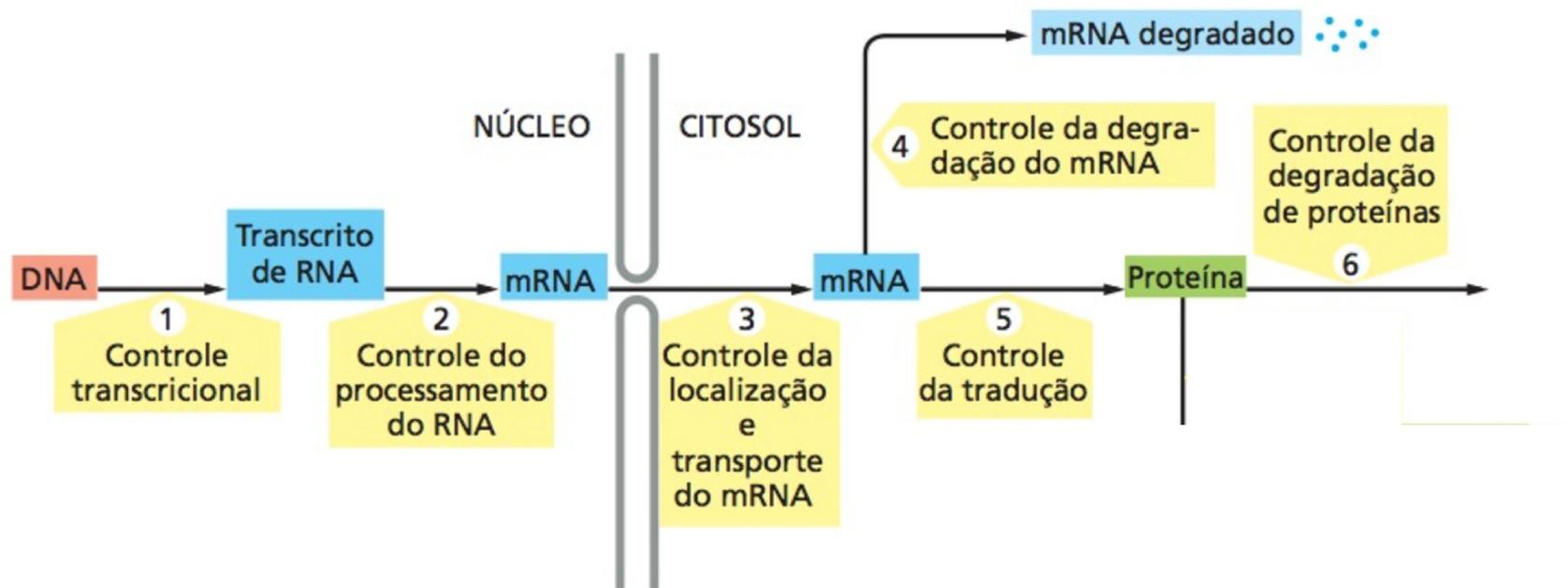


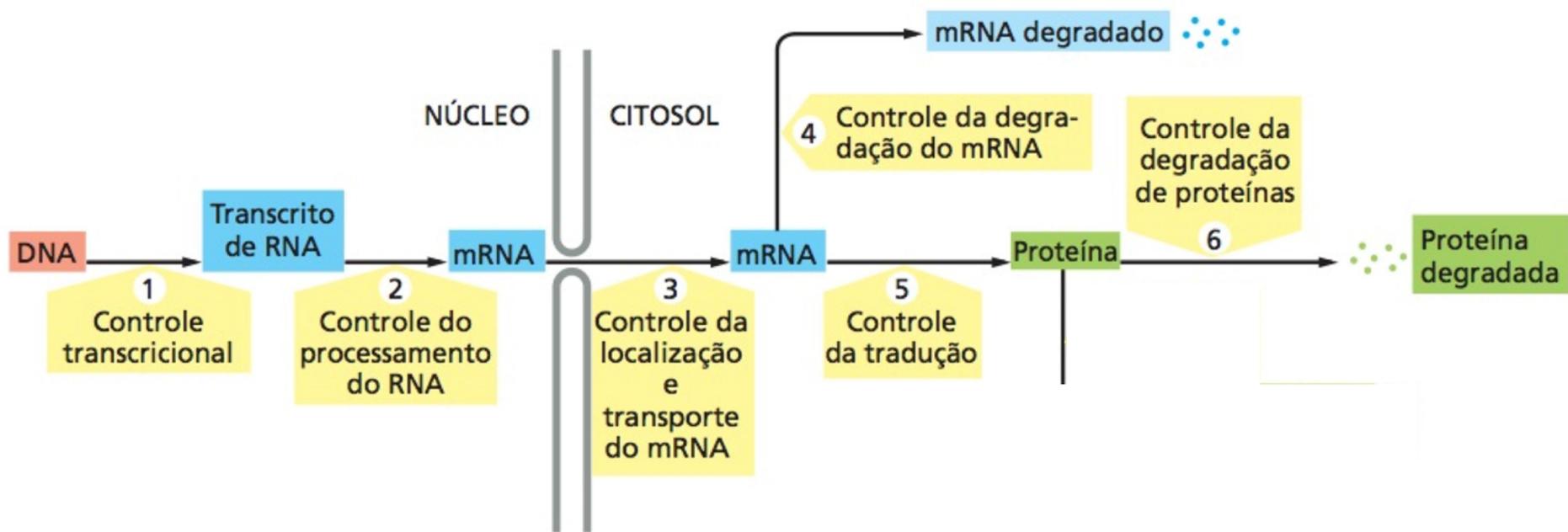


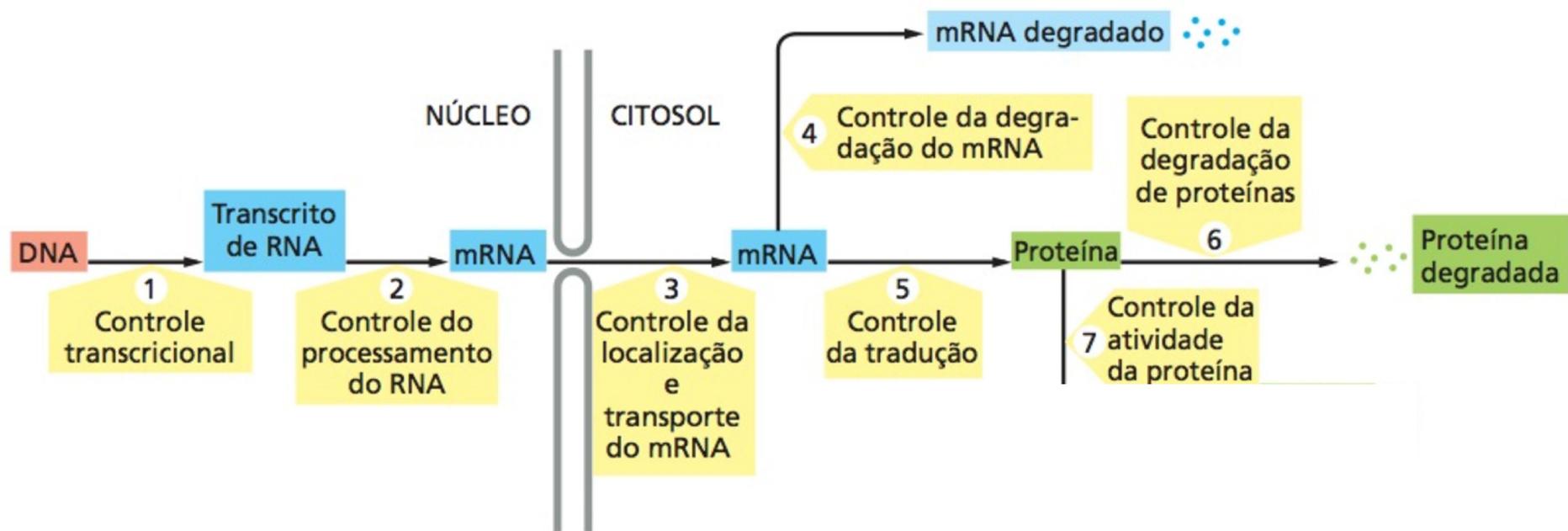


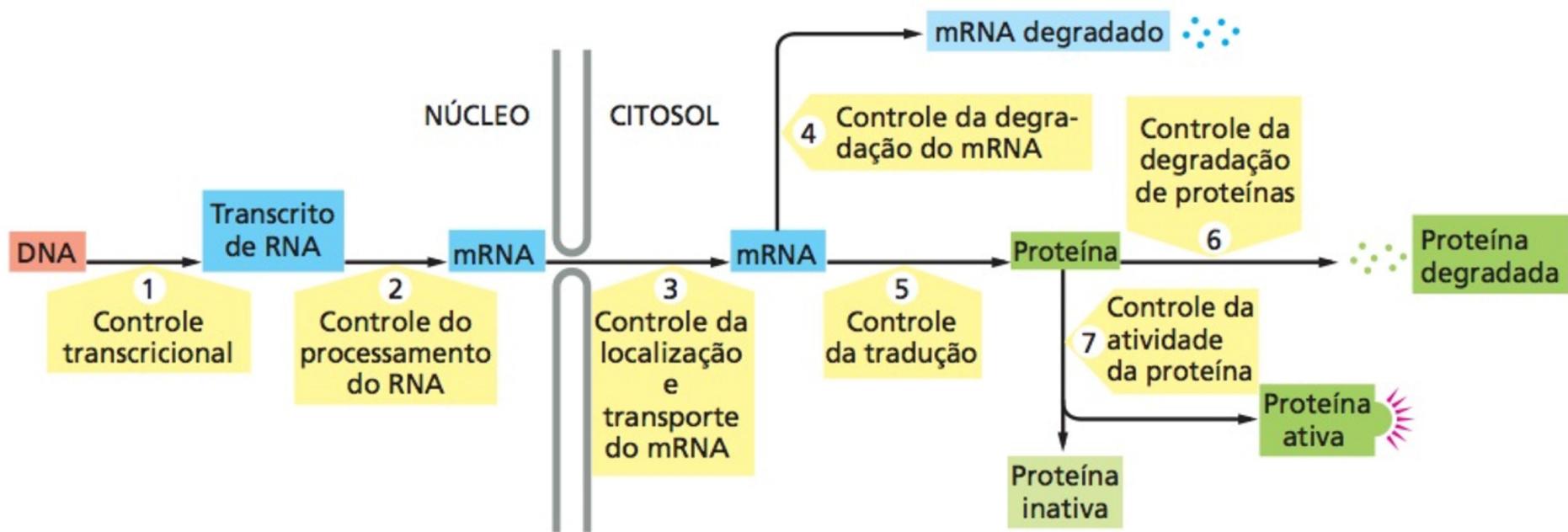






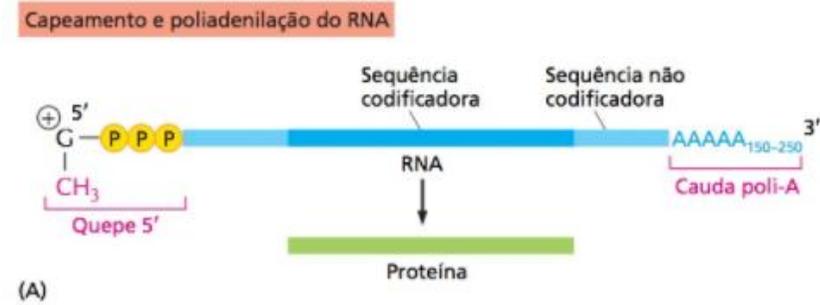






Controle do *splicing*

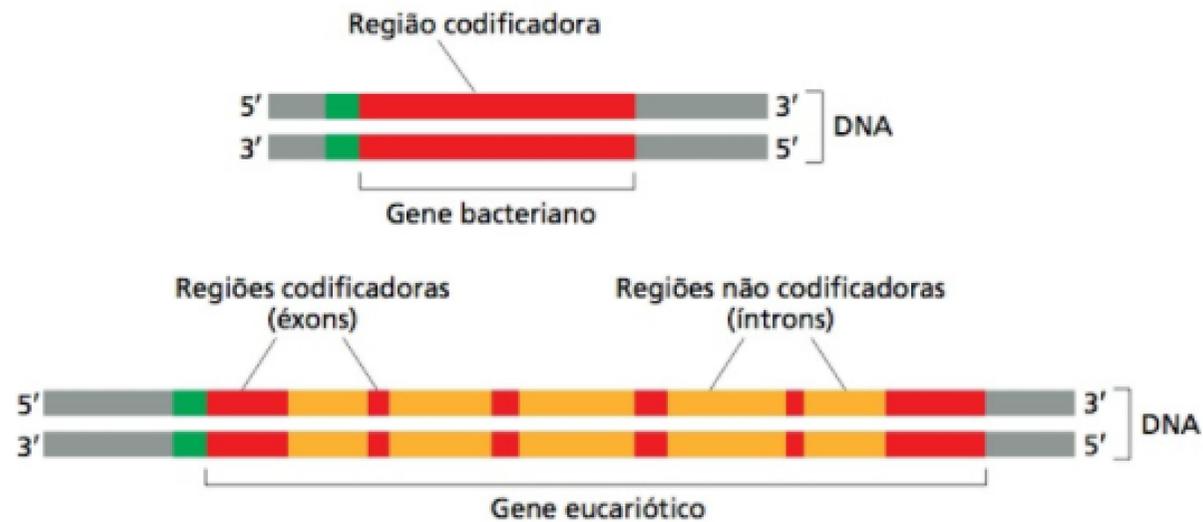
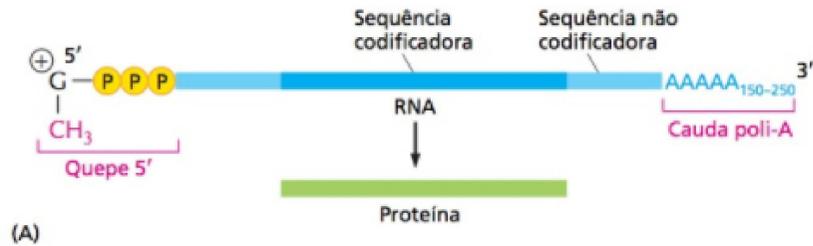
Alberts – Fundamentos - Cap. 7, p233-238)



Controle do *splicing*

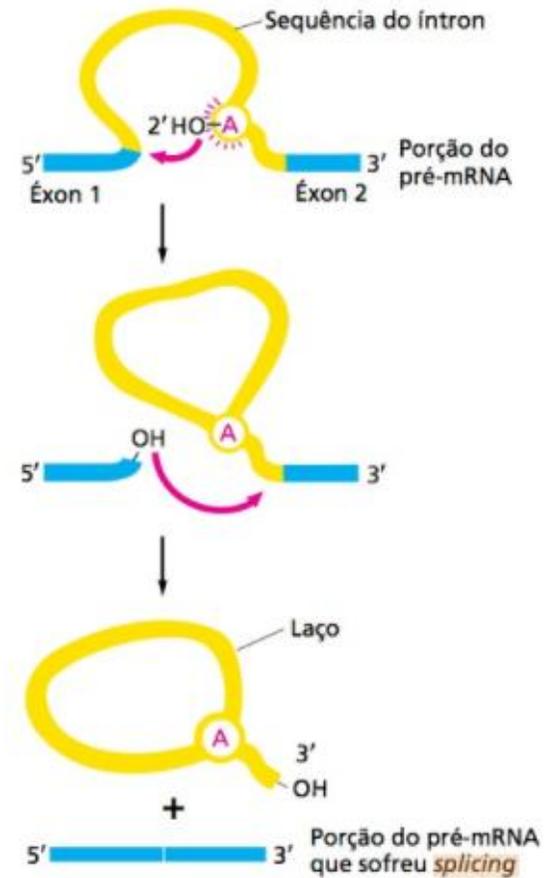
Alberts – Fundamentos - Cap. 7, p233-238)

Capeamento e poliadenilação do RNA



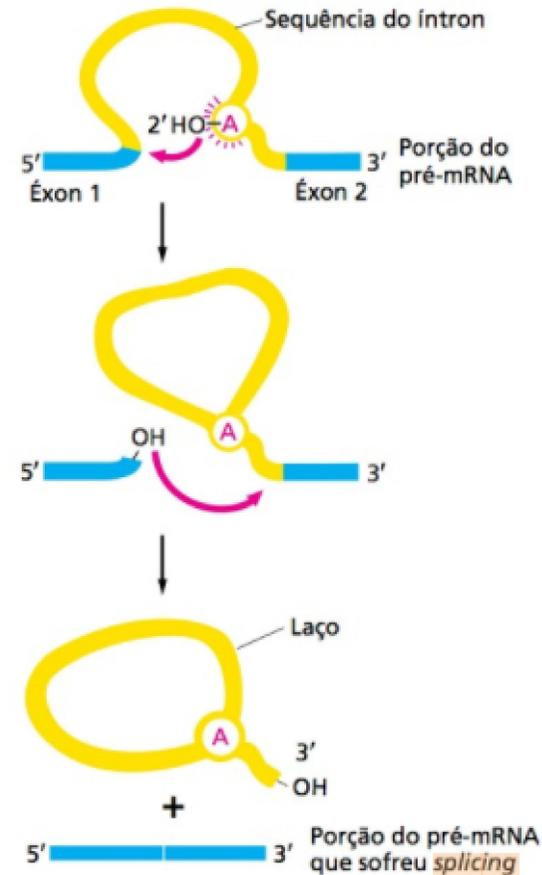
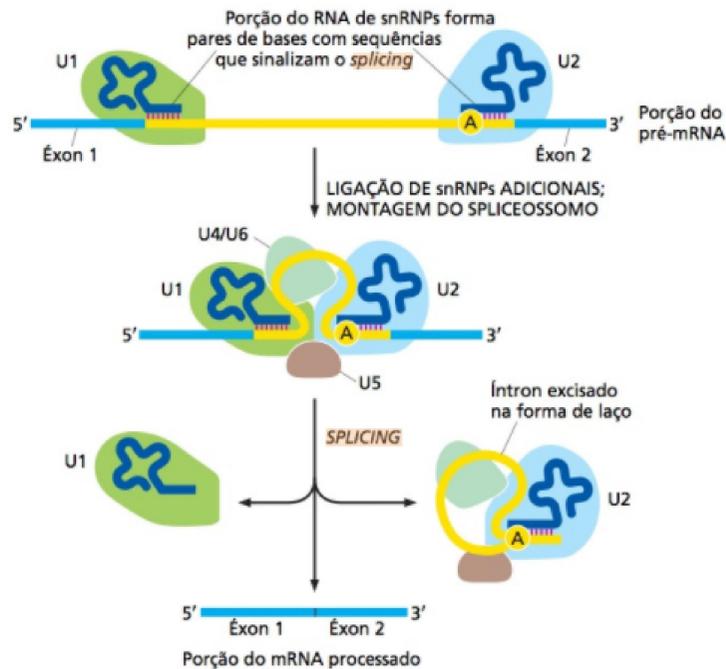
Controle do *splicing*

Alberts – Fundamentos - Cap. 7, p233-238)



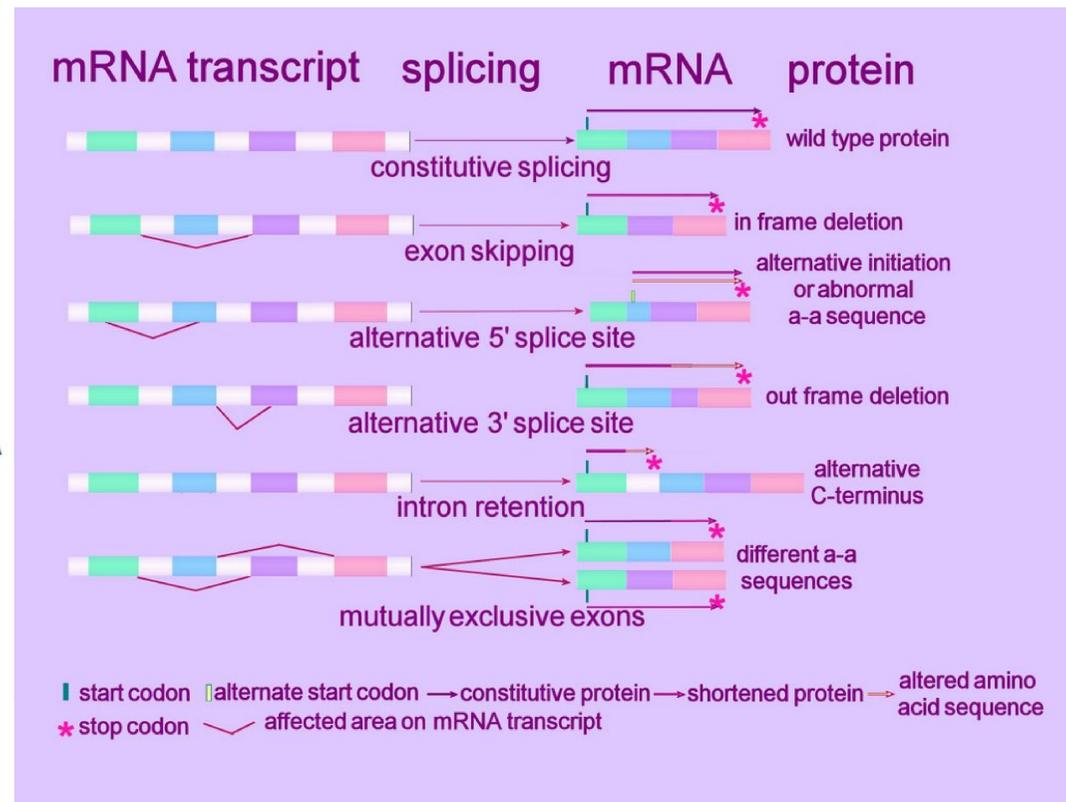
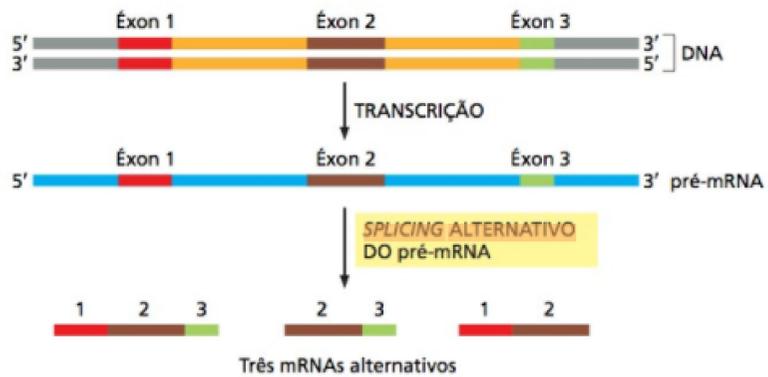
Controle do *splicing*

Alberts – Fundamentos - Cap. 7, p233-238)



Controle do *splicing*

Alberts – Fundamentos - Cap. 7, p233-238)



<http://chemistryoflife.blogspot.com.br/2007/12/alternative-splicing.html>

Controle do *splicing*

- Doenças associadas a mutações na maquinaria de *splicing*: raríssimo!

Exemplo: Formas dominantes de retinite pigmentosa: mutação em um dos componentes do fator U4

- Doenças associadas a mutações que alteram localmente o padrão de *splicing*: muito mais comuns

Exemplos:

Atrofia espinhal progressiva (AEP): recessiva, incidência de 1:10000 até 1:6000 nascidos vivos. Degeneração de neurônios motores . O gene *SMN1* codifica uma proteína do complexo snRNP. *SMN2* é um gene duplicado e pode compensar, se super expresso, a função de *SMN1*. A sua função é reduzida pois este gene tem uma diferença no exon 7, a qual é responsável pela sua excisão e truncamento.

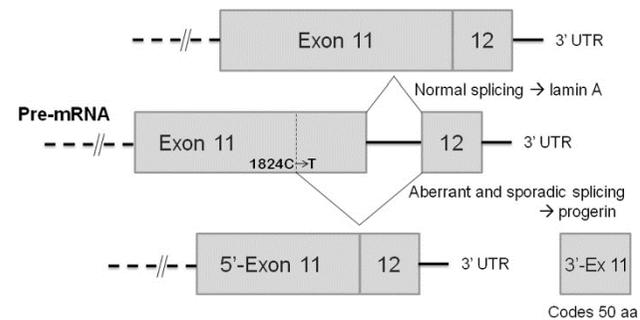
Controle do *splicing*

- Doenças associadas a mutações na maquinaria de splicing: raríssimo!

Exemplo: Formas dominantes de retinite pigmentosa: mutação em um dos componentes do fator U4

- Doenças associadas a mutações que alteram localmente o padrão de splicing: muito mais comuns

Exemplos:

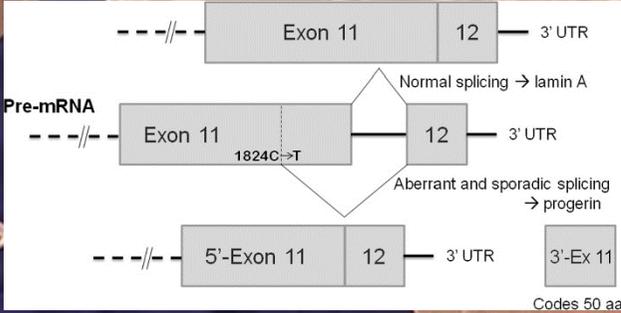


DOI: 10.1042/BST20110687



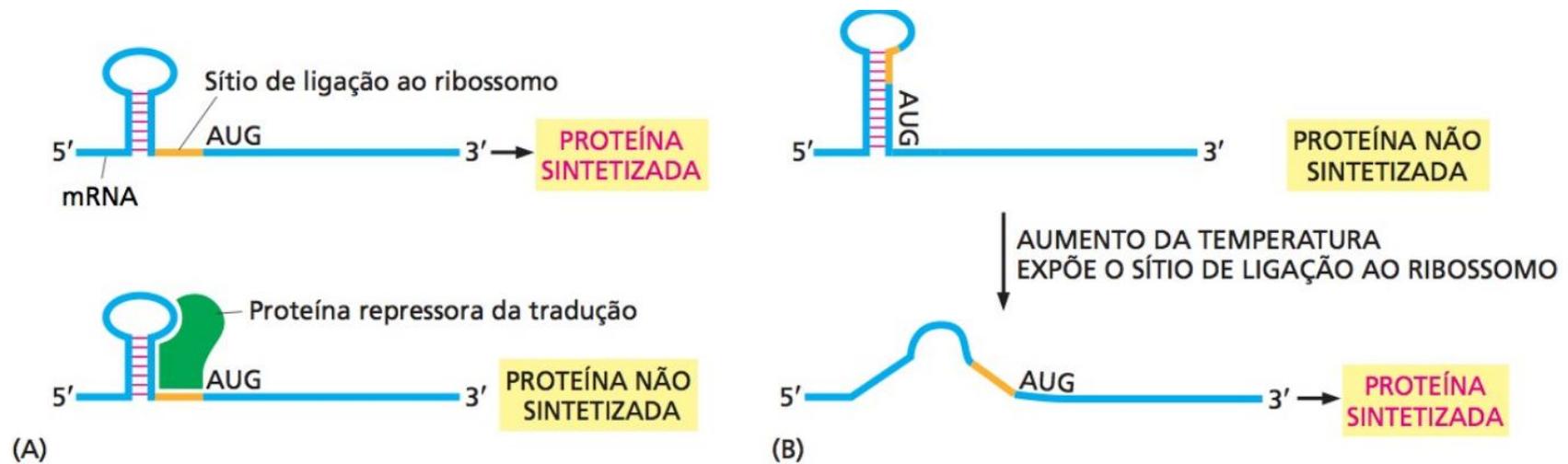


Síndrome de Hutchinson-Gilford: Progeria
<https://www.omim.org/entry/176670>



DOI: 10.1042/BST20110687

Controle pós-transcricional



β -defensina-1 humana (hBD-1)

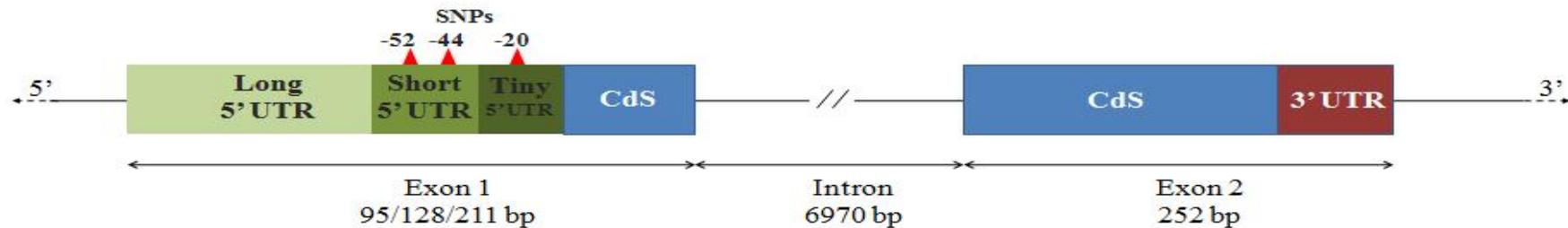
Imunidade inata \rightarrow Peptídeo antimicrobiano

Provável ação como supressor tumoral

Expressão constitutiva em céls. do tecido epitelial

DEFB1: gene codificador de hBD-1 (NT_023736)

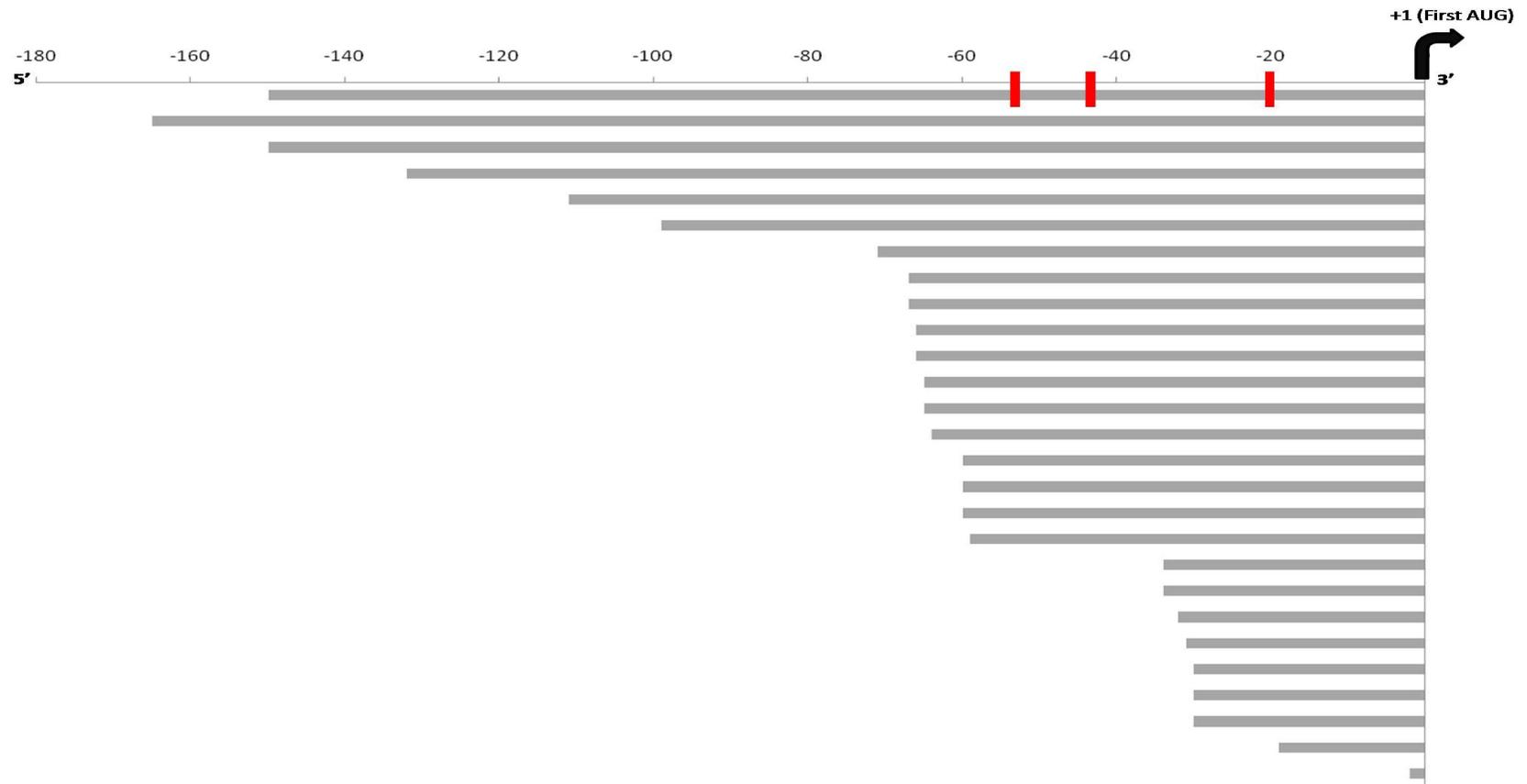
Chromosome 8p23.1



SNPs: -52 G/A; -44 C/G ; -20 G/A

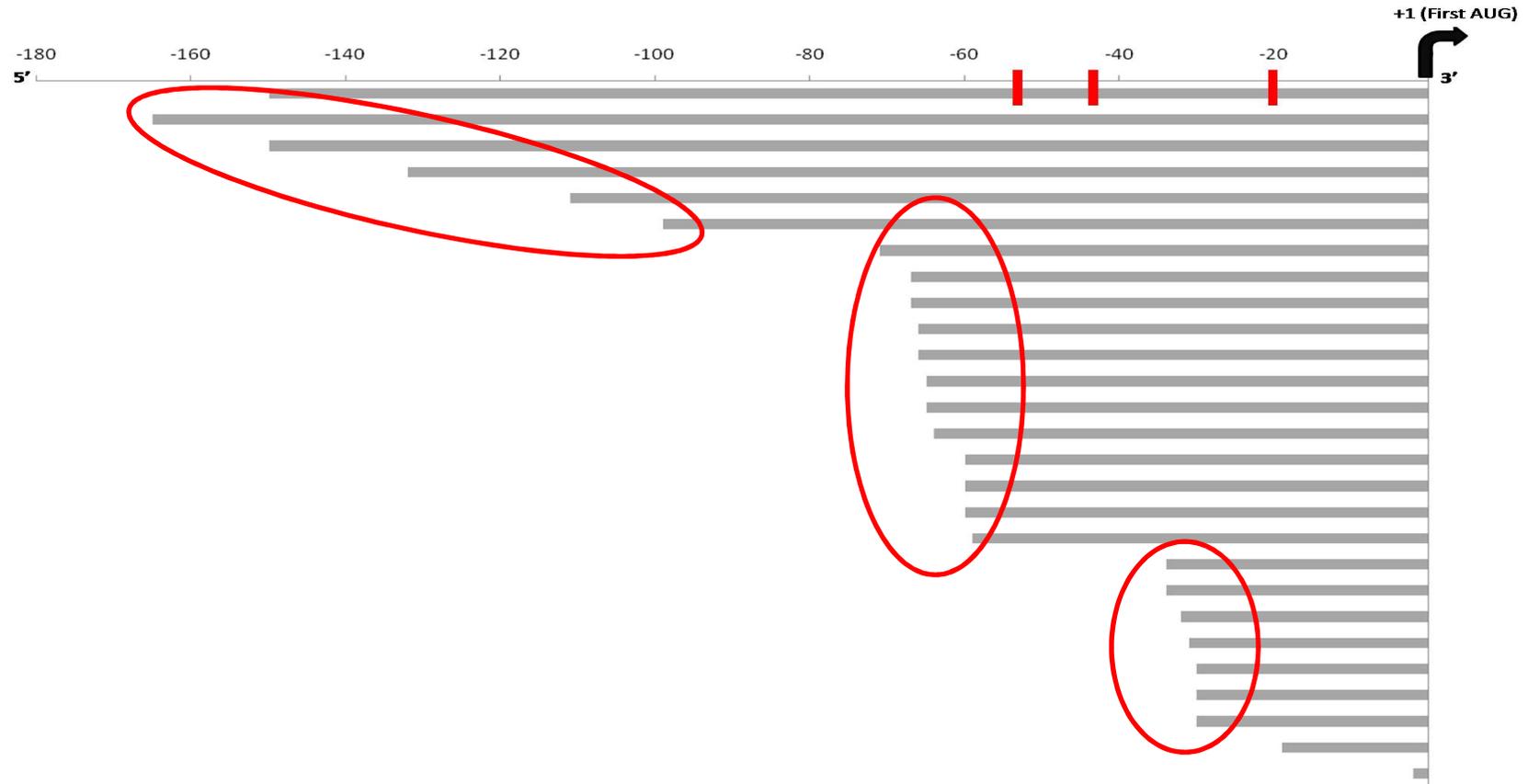
Condições	SNPs (Suscetibilidade)	Referência
Asma	-52A/-44C/-20G	Leung, 2006
<i>P. aeruginosa</i> em pacientes com fibrose cística	-52A/-44C/-20G	Tesse, 2008
Progressão de septicemia	-52G/-44G/-20G	Chen, 2007
Doença pulmonária obstrutiva crônica (COPD)	-44C	Hu, 2004
Carga de HIV-1 no leite materno	-52A	Baroncelli, 2008
Infecção por HIV-1 em recém-nascidos	-52G/-20A	Milanese, 2006
Infecção por HIV-1 em recém-nascidos	-44C	Braida, 2004
Carga de <i>Candida albicans</i>	-44C	Jurevic, 2003
Expressão de luciferase repórter	-44G	Milanese, 2007
Expressão de luciferase repórter	-44C	Sun, 2006
Doença de Crohn (CD)	-44C/-20A	Kocsis, 2007
Dermatite atópica	-44C/-20G	P-montes, 2007

Alinhamento ESTs por 5' (NCBI/TIGR) + Busca de elementos de promotor



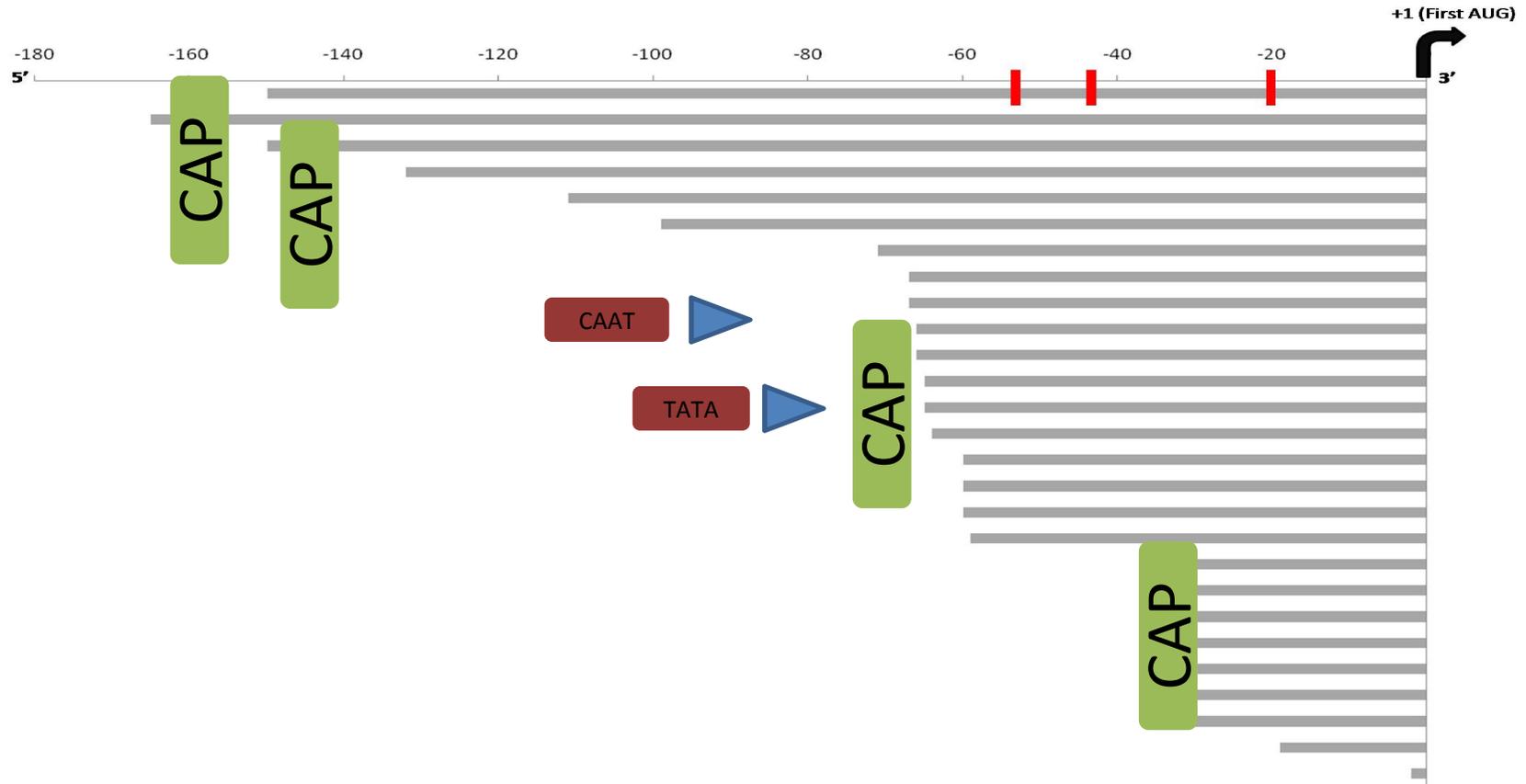
Alinhamento ESTs por 5' (NCBI/TIGR)

Resultados



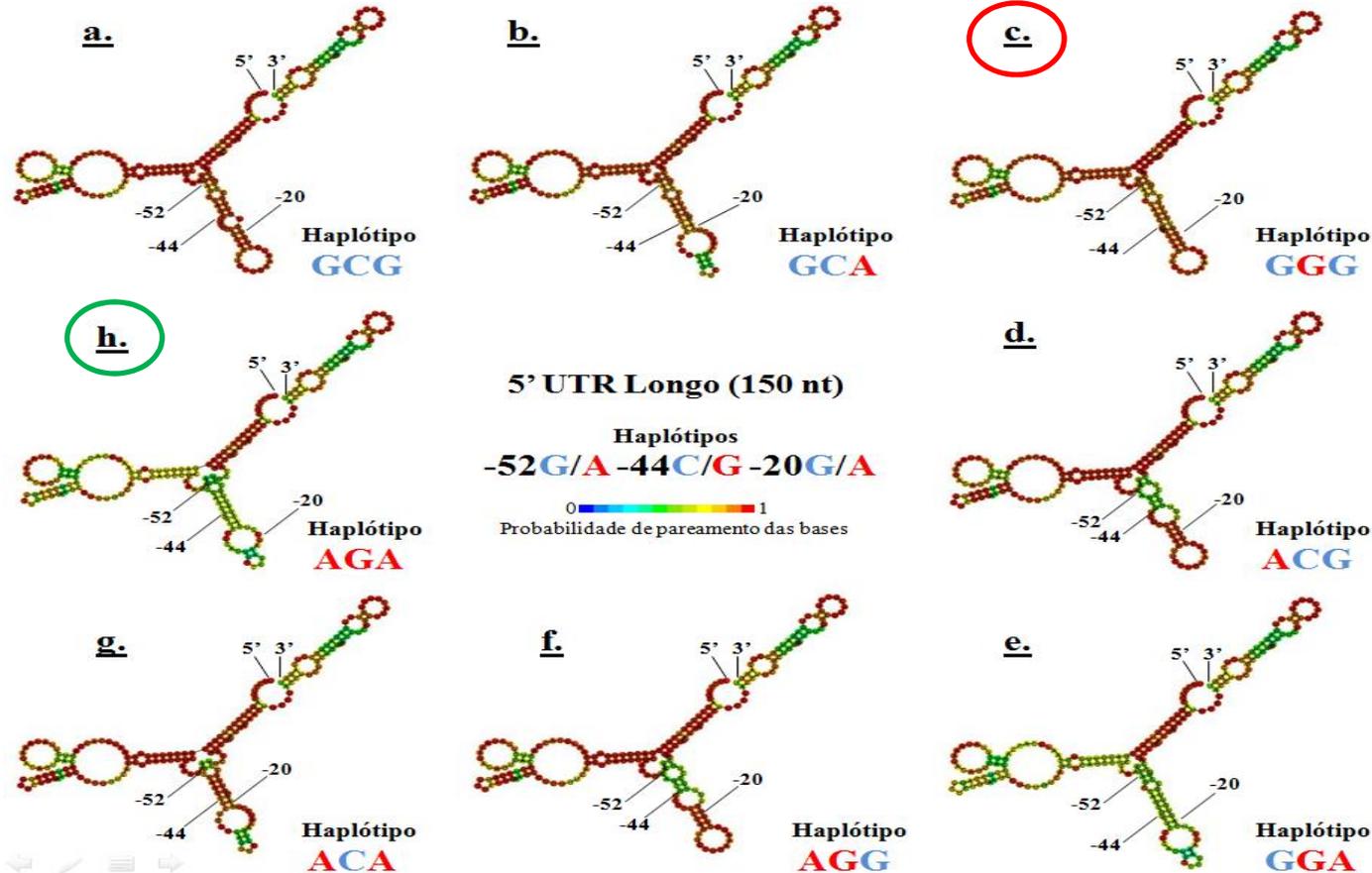
Busca de elementos de promotor (TFSearch)

Resultados



Predição da estrutura secundária do mRNA (RNA Fold)

Resultados



-52G/A presente na base de um grampo;

-44C/G e -20G/A próximos espacialmente;

Haplótipo GGG:
MFE maior valor = mais estável;

→ Grampo próximo ao AUG: ↓
desdobramento da helicase eIF4A

(Pickering & Willis, 2005);

→ Progressão a septicemia

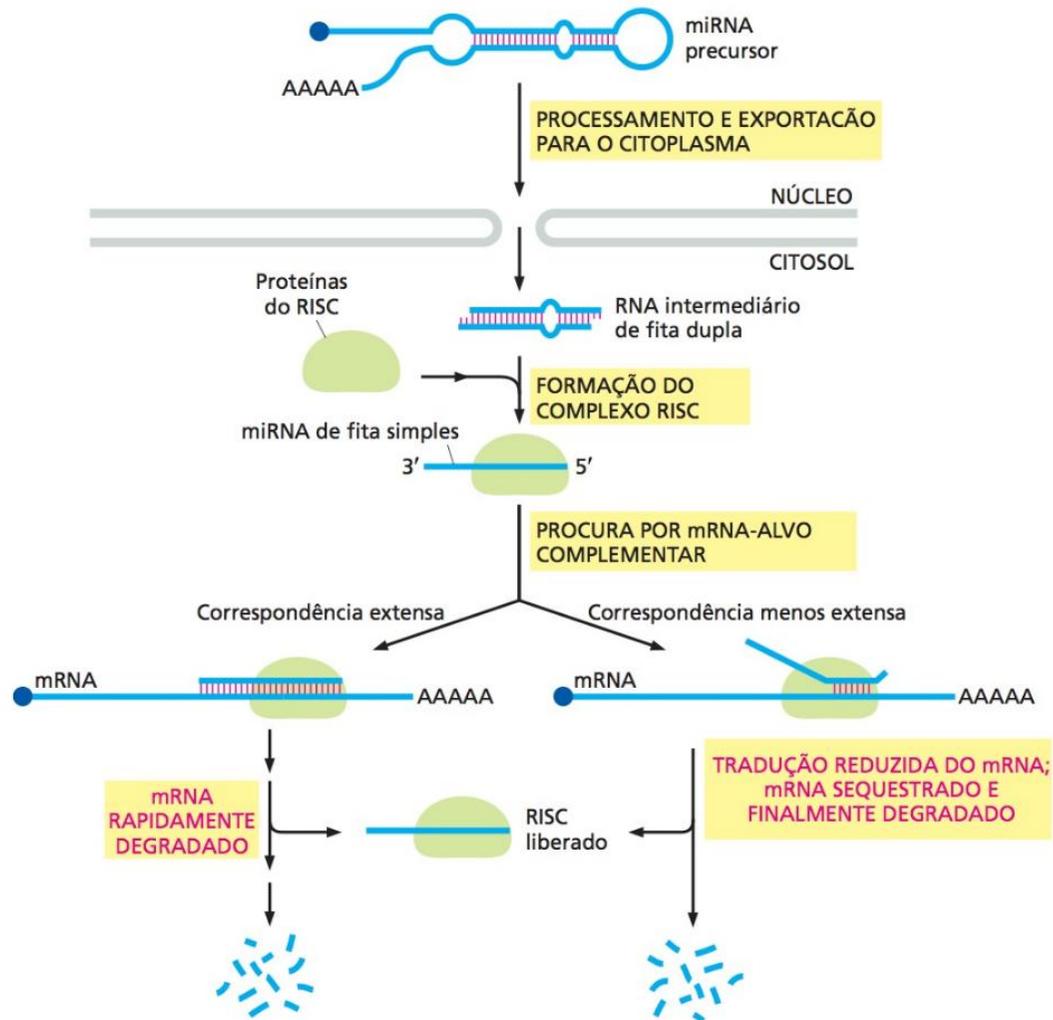
(Chen et al., 2007).

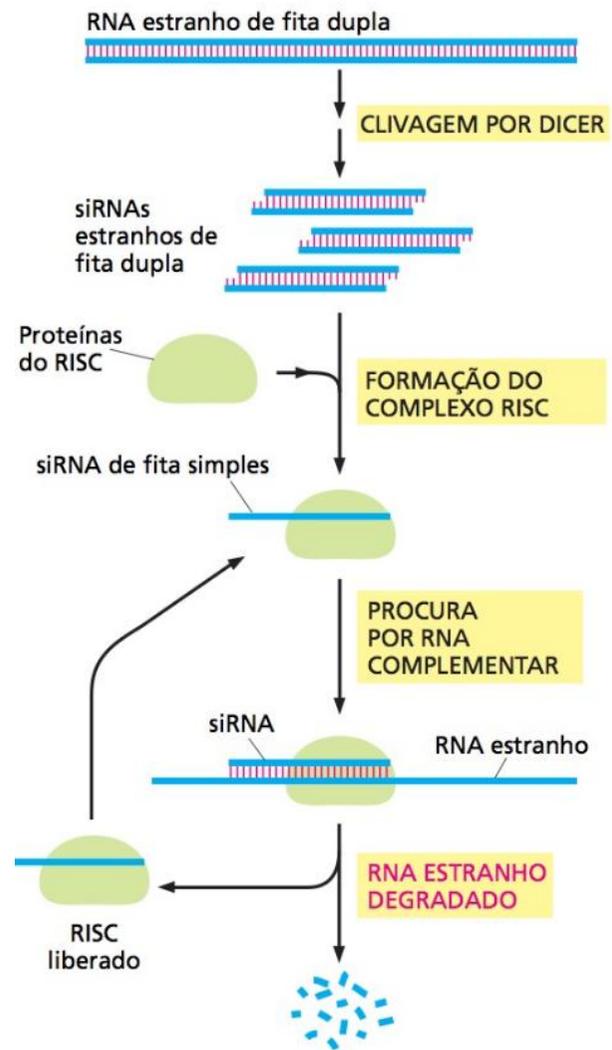
Referência dos últimos 6 slides

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165-2478\(10\)00008-8](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165-2478(10)00008-8)

The sound of silence: Human β -defensin-1 gene untranslated SNPs change the predicted mRNA secondary structure in a length-dependent manner
Immunology Letters, Volume 129, Issue 1, Pages 53-55

M.S. Naslavsky, S. Crovella, J.L. Lima Filho, C.R.C. Rocha



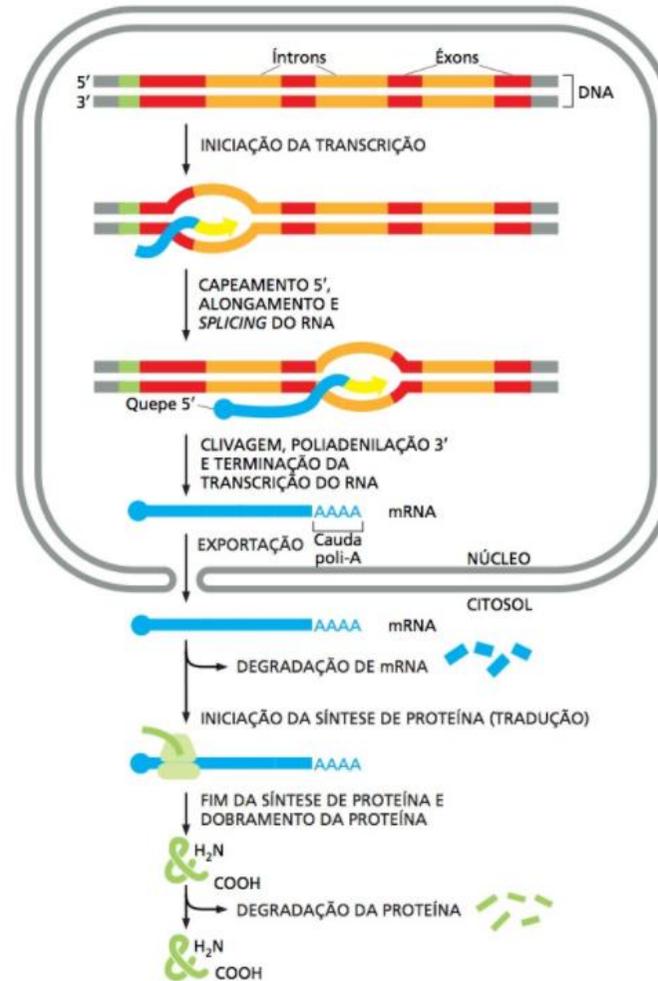


Resumindo...

- As células eucarióticas expressam apenas parte dos seus genes e os tipos diferentes de células expressam perfis específicos (os quais são muito responsáveis pela própria diferenciação celular)
- A expressão gênica pode ser controlada em praticamente todos os níveis, mas o início da transcrição é o ponto mais importante
- Fatores de transcrição são proteínas (elementos em trans) que ativam e inibem a transcrição ao se ligarem não covalentemente a sequências específicas, principalmente nas regiões promotoras (cis)
- A regulação do início da transcrição se dá através da associação direta dos fatores com a RNA-polimerase e/ou do remodelamento local da cromatina.

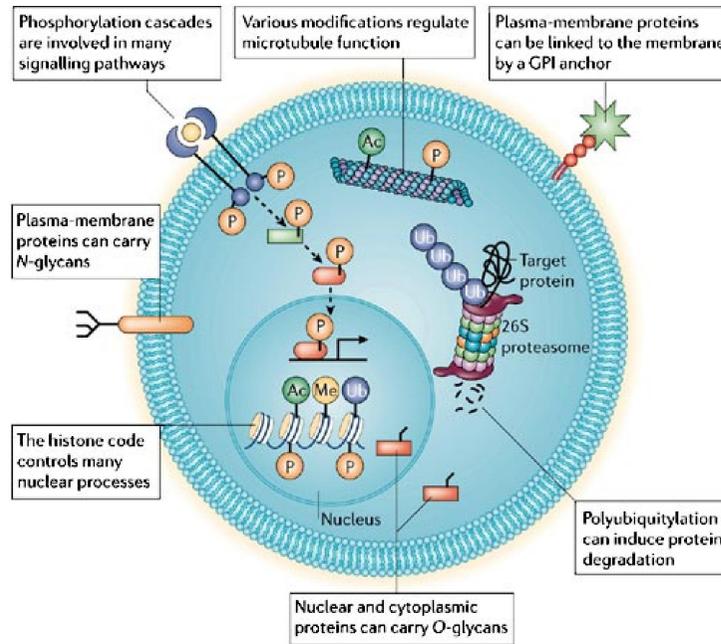
Controle pós-traducional

Alberts – Fundamentos - Cap. 7, p250-253)



Controle pós-traducional

Alberts – Fundamentos - Cap. 7, p250-253)



Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Cadeia polipeptídica nascente



DOBRAMENTO E LIGAÇÃO A COFATORES (INTERAÇÕES NÃO COVALENTE)



MODIFICAÇÕES COVALENTE POR, POR EXEMPLO, FOSFORILAÇÃO

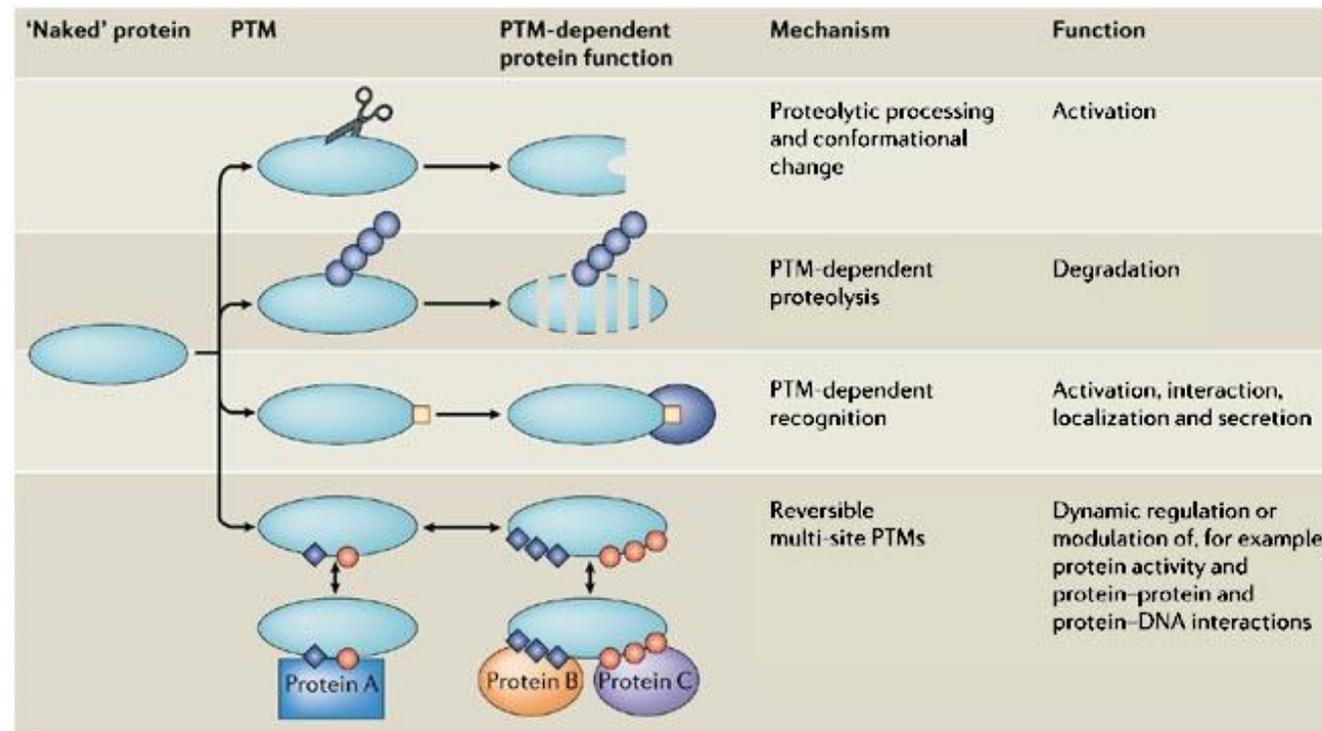


LIGAÇÃO NÃO COVALENTE A OUTRAS SUBUNIDADES PROTEICAS



Proteína funcional madura

Controle pós-traducional



Pequeno questionário sobre os conceitos básicos de genética molecular

<https://goo.gl/nQwsNU>

