

REVISÃO – LEMBRANDO O DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA

Aula 2

LGN0232 – Genética molecular

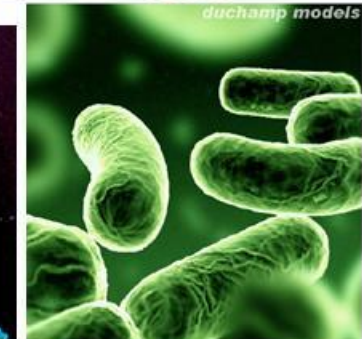
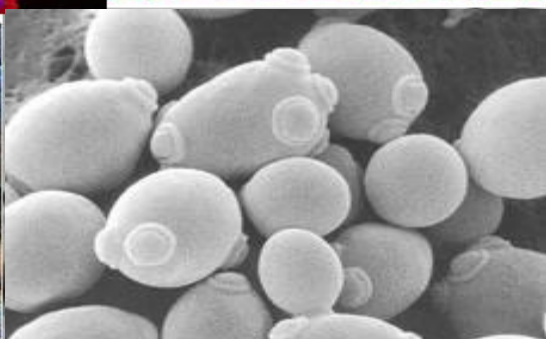
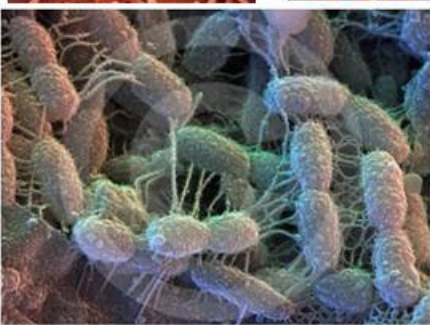
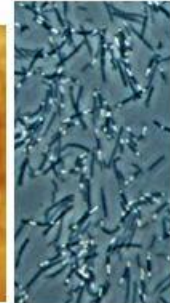
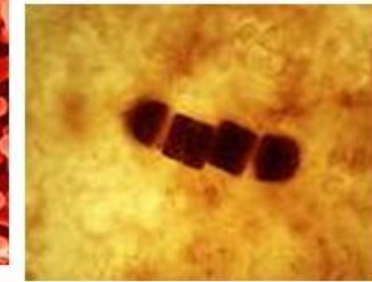
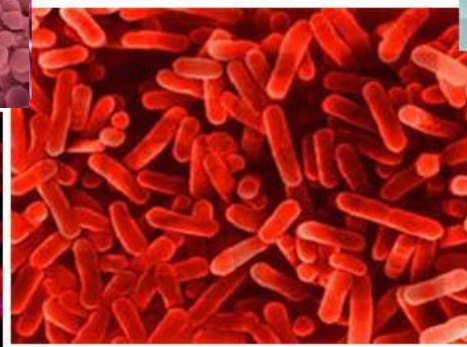
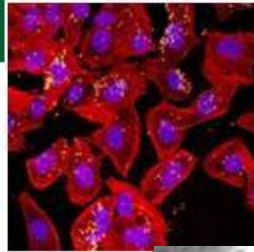
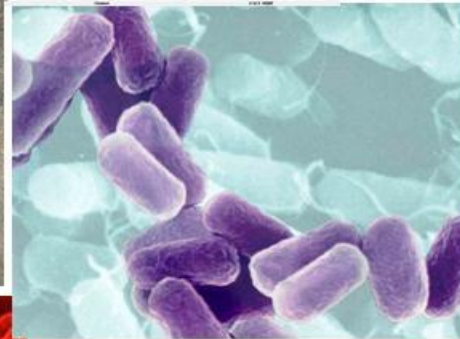
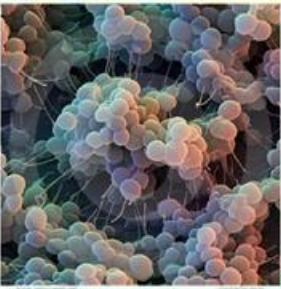
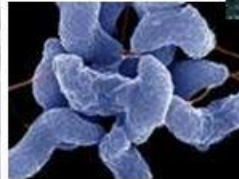
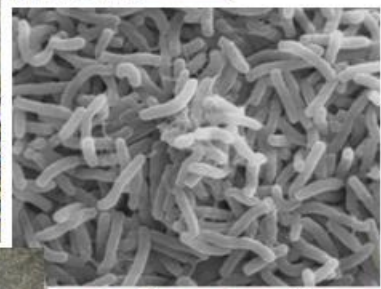
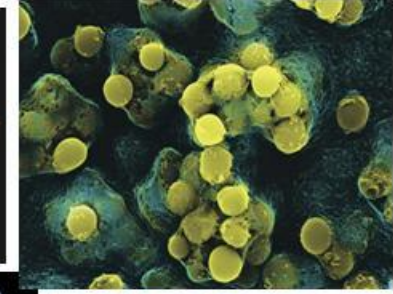
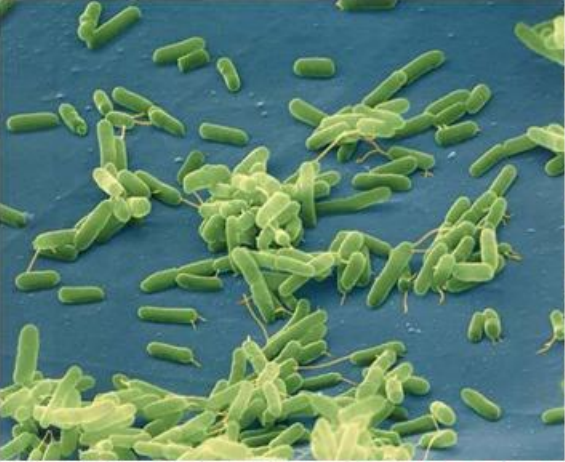


Maria Carolina Quecine
Departamento de Genética
mquecine@usp.br



Pressão das ações humanas põe em risco a biodiversidade

FOTO: ZIG KOCH

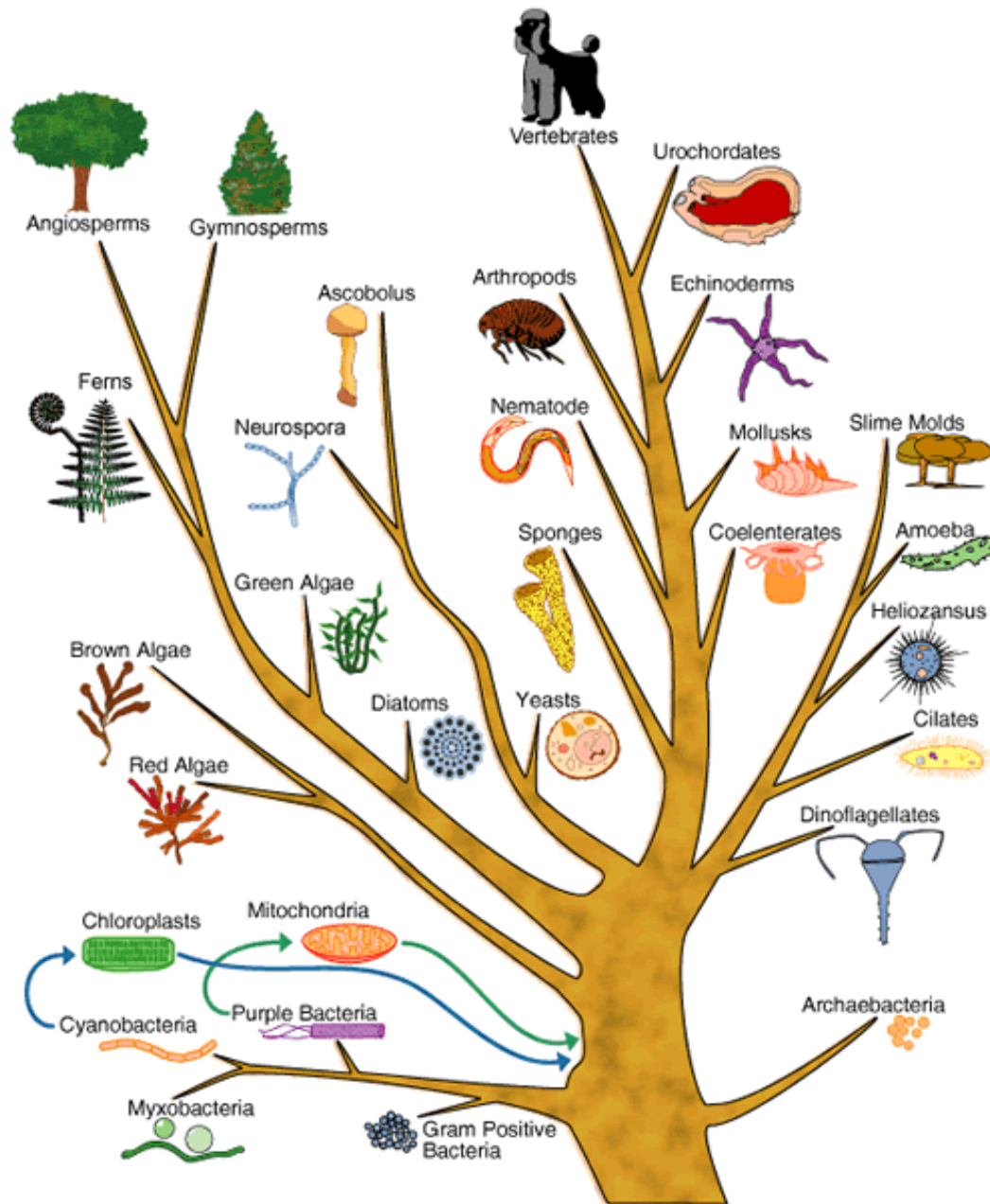


duchamp models

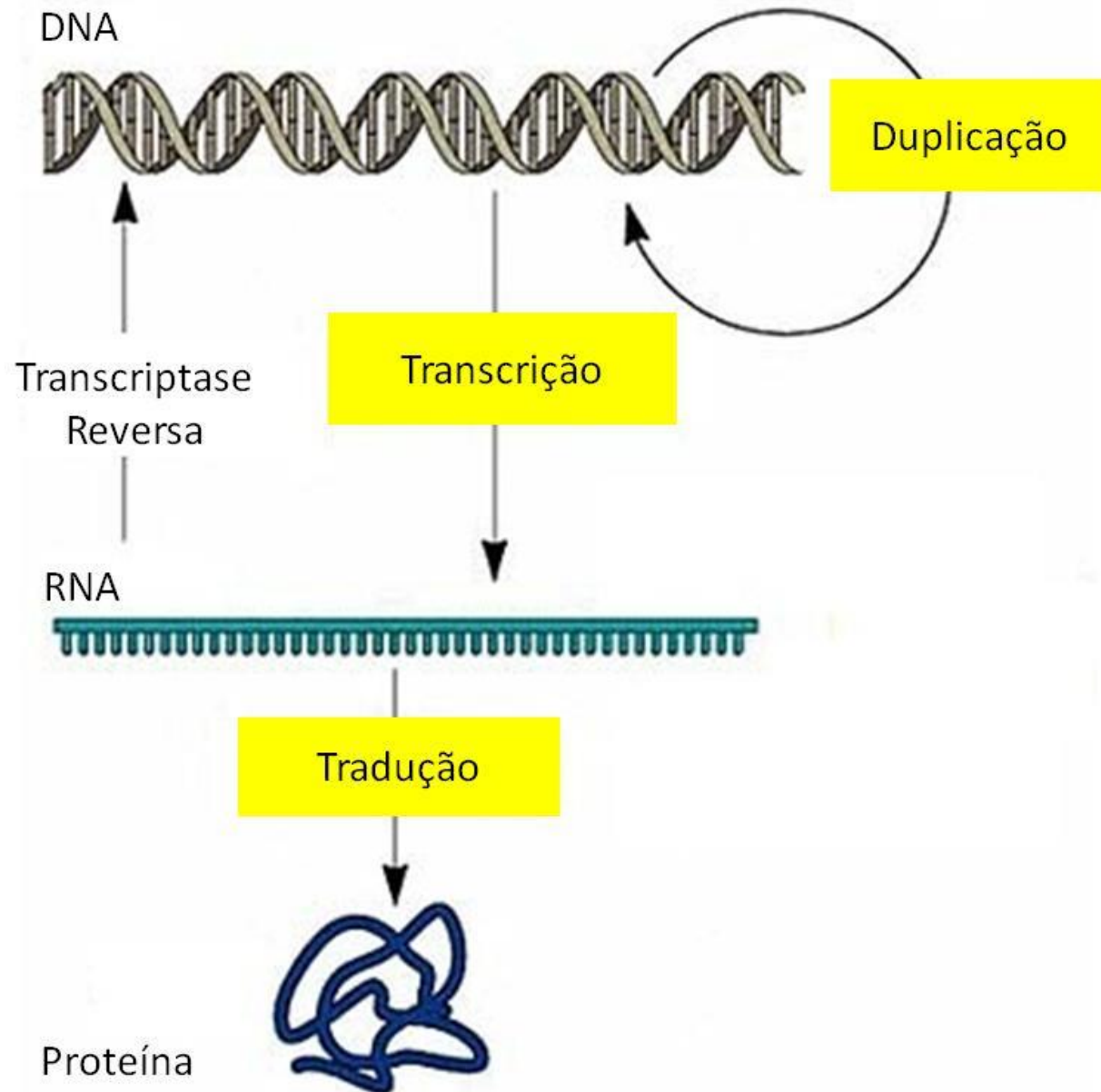
O QUE EXISTE EM COMUM ENTRE OS ORGANISMOS?

O QUE FAZ UM ORGANISMO DIFERENTE DO OUTRO?

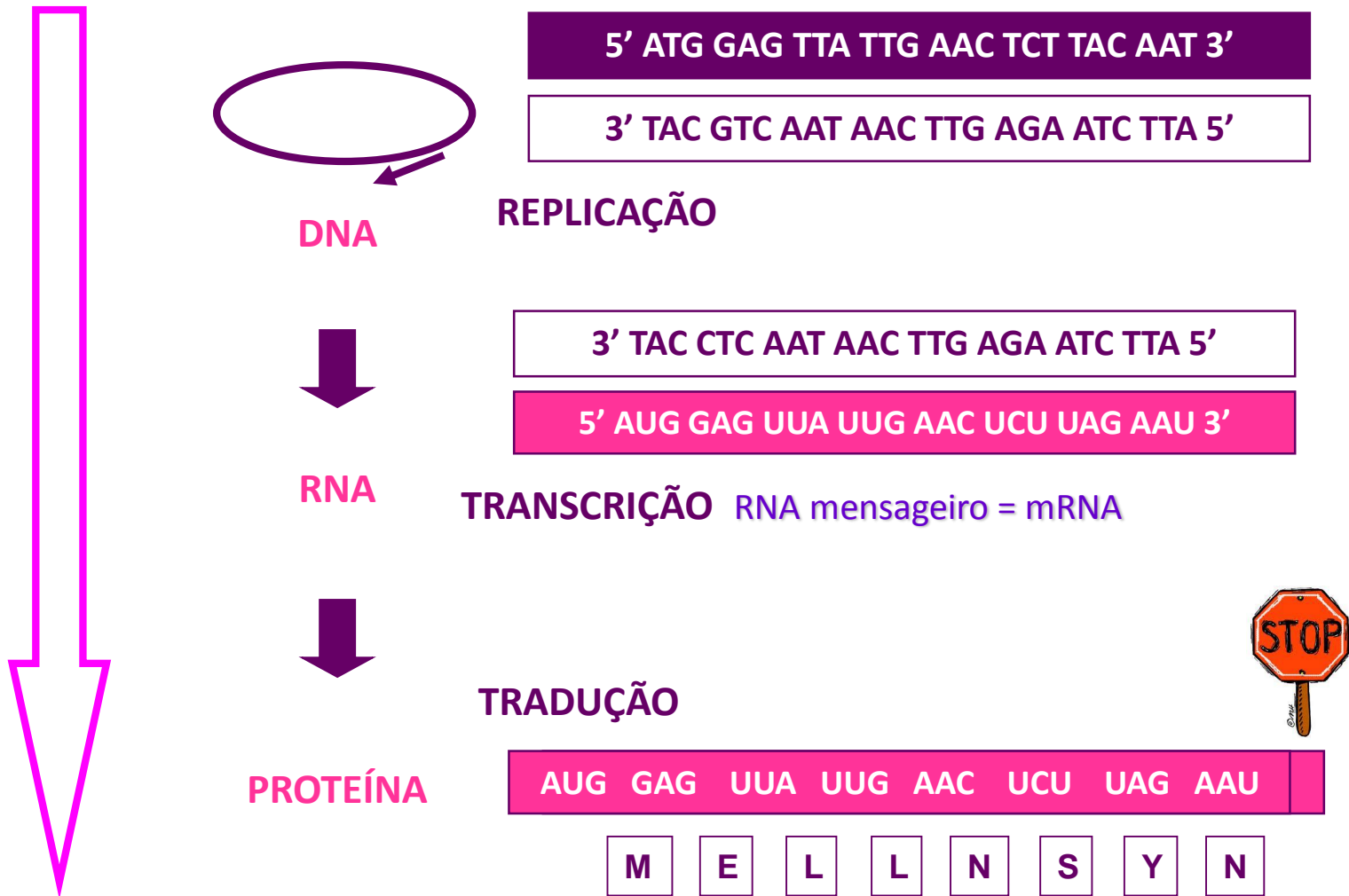
TODOS VIERAM DE UM MESMO ANCESTRAL COMUM



A MAQUINARIA GENÉTICA É A MESMA



FLUXO DA INFORMAÇÃO GENÉTICA FUNCIONA IGUAL



MAS NÃO É TÃO SIMPLES...

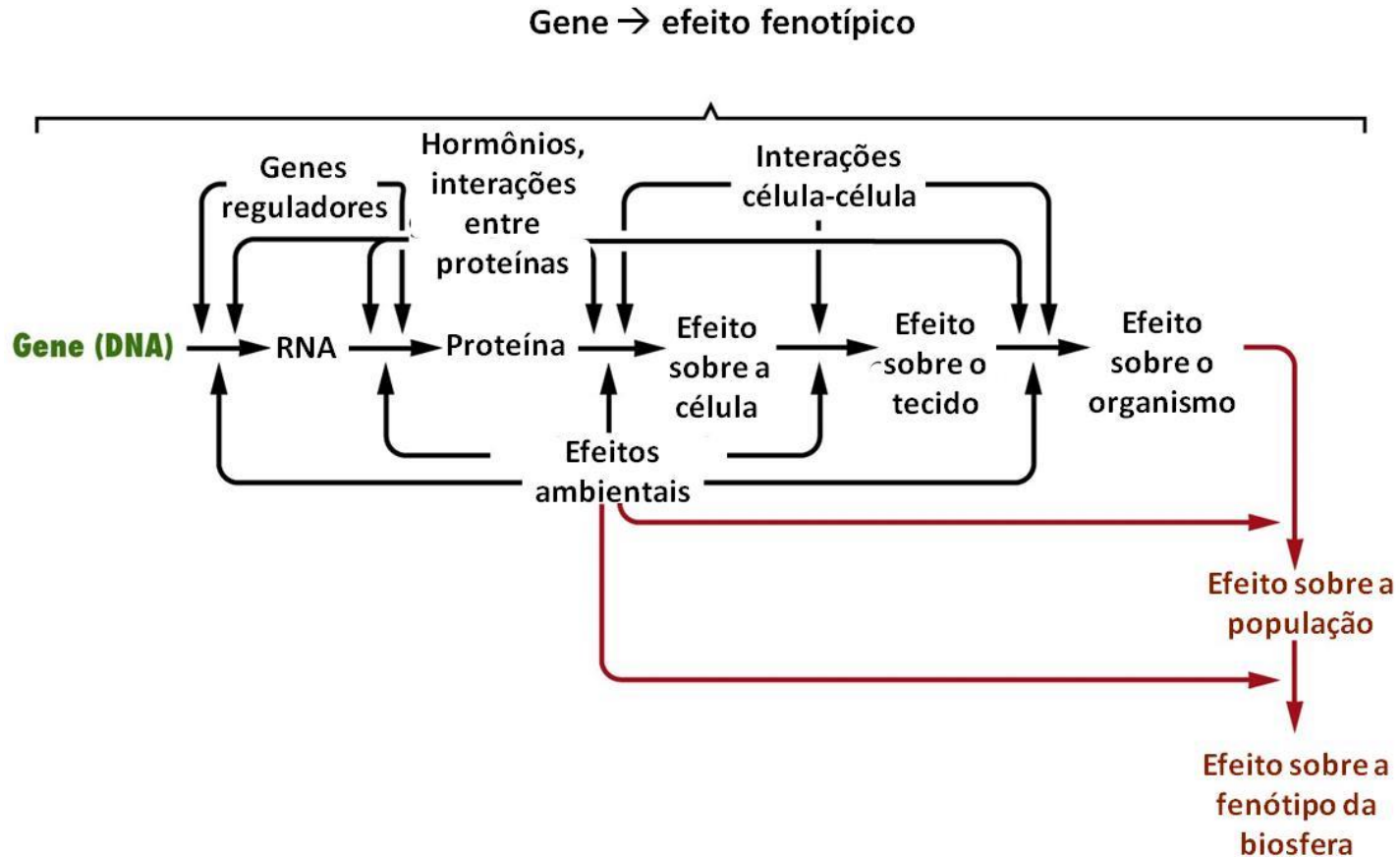
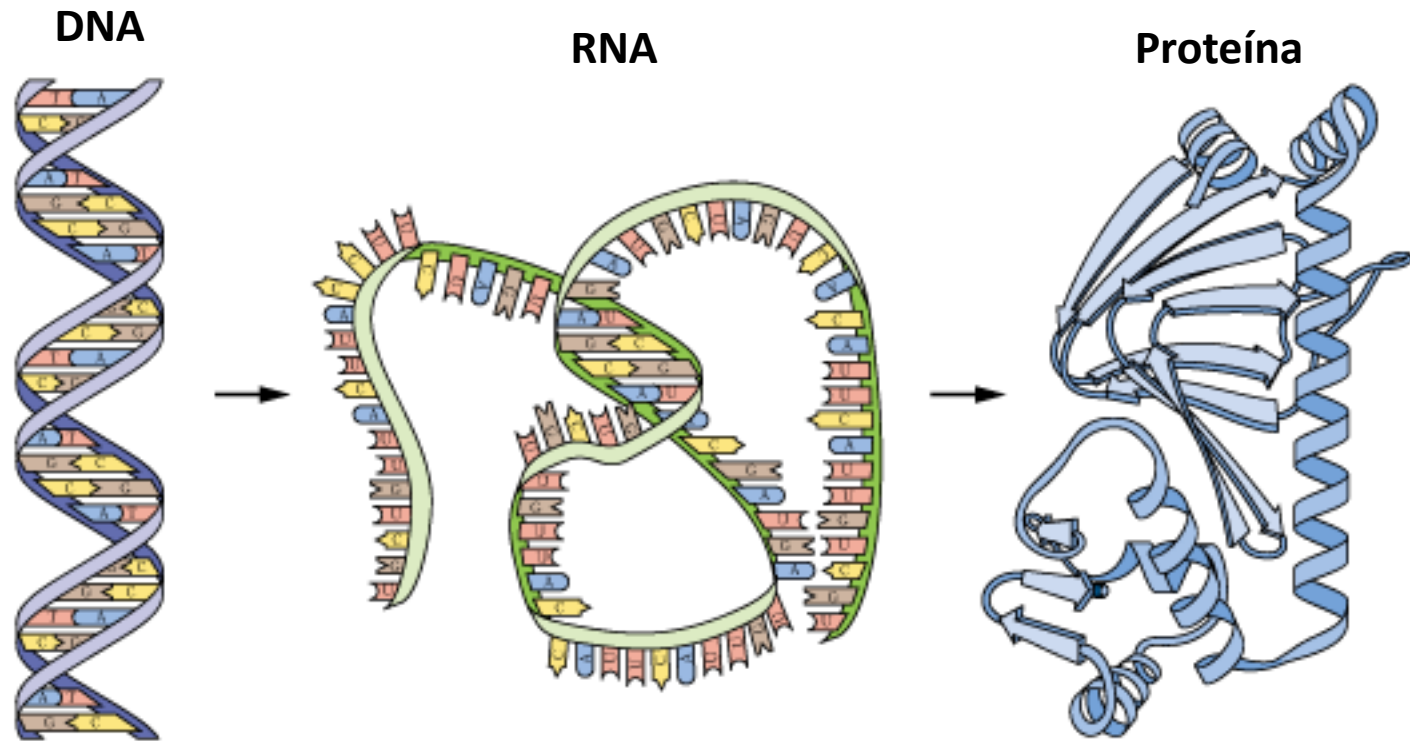


Figure 14-2 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

Genética Molecular: É a área da biologia que estuda a estrutura e função dos genes em nível molecular.

DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA

A informação genética, armazenada nos cromossomos, é transferida às células filhas através da **replicação do DNA**, sendo expressa através da **transcrição em mRNA** e **traduzida** subsequentemente em cadeias polipeptídicas.

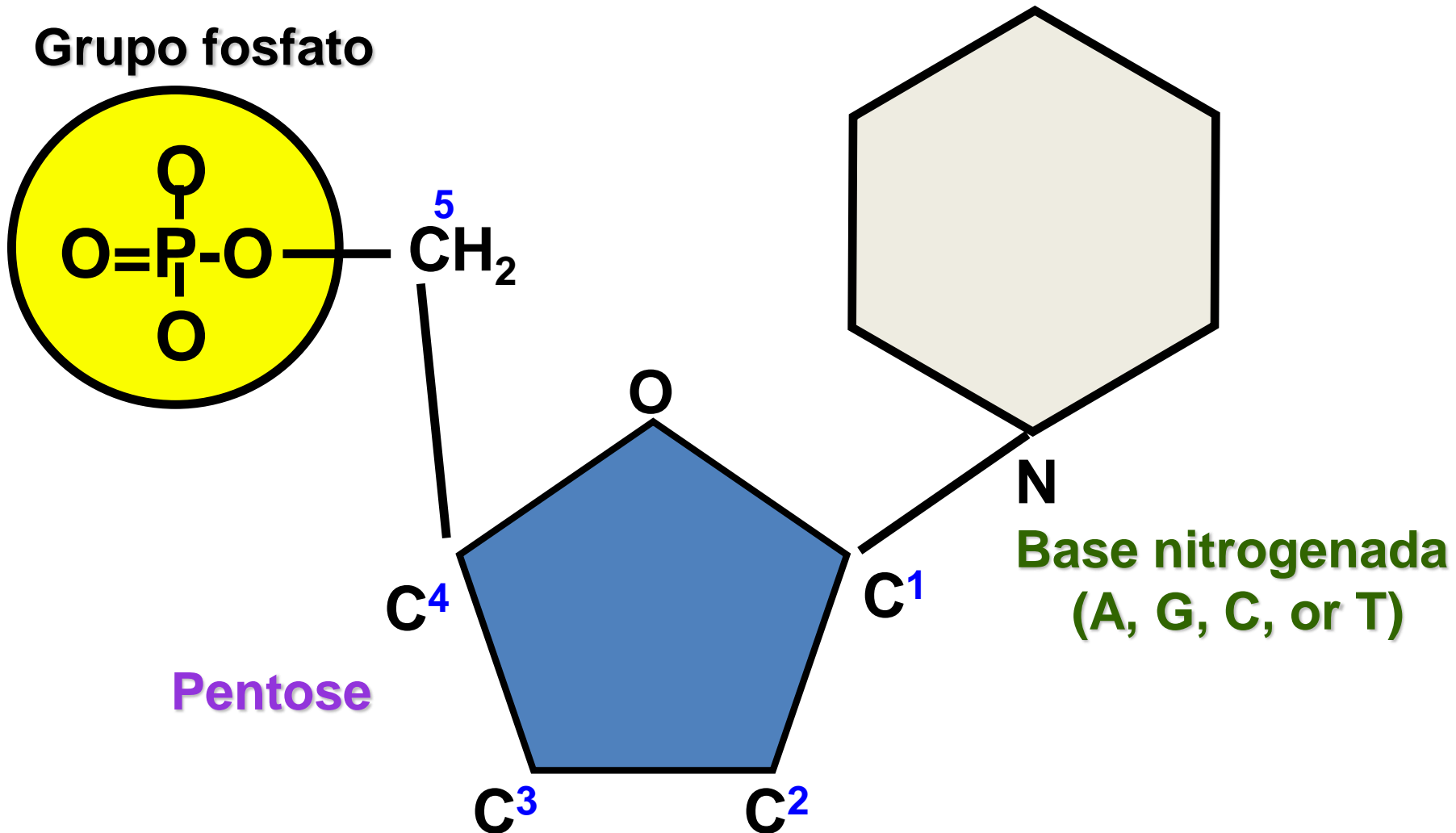


ÁCIDOS NUCLEICOS

- **DNA:** Armazenamento da informação genética
 - Estabilidade
- **RNA:** síntese de macromoléculas - várias funções
 - **RNA ribossomal (rRNA)** - componentes estruturais de ribossomos
 - **RNA mensageiro (mRNA)** - contém a informação genética para a sequência de aminoácidos das proteínas
 - **RNA transportador (tRNA)** - identifica e transporta os aminoácidos até o ribossomo
 - snRNA, microRNA, etc.

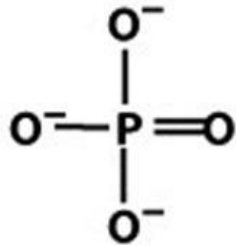
ÁCIDOS NUCLEICOS

São polímeros de nucleotídeos



COMPONENTES DOS NUCLEOTÍDEOS

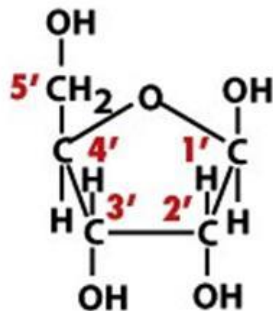
(1)
Um
grupamento
fosfato:



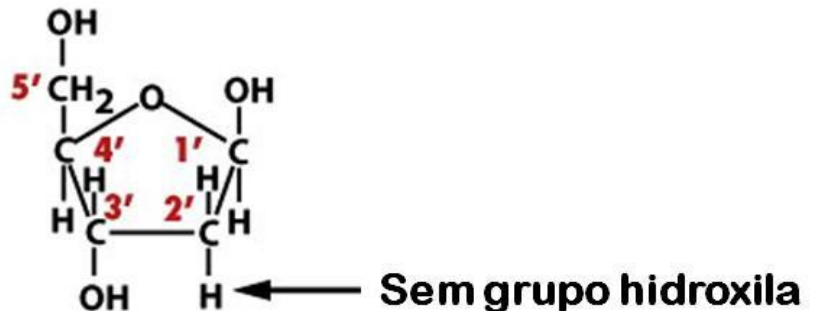
Carbono 5

(2)
pentoses
(açúcares
de 5
carbonos)

(a) RNA:
Ribose



(b) DNA:
2-Desoxirribose

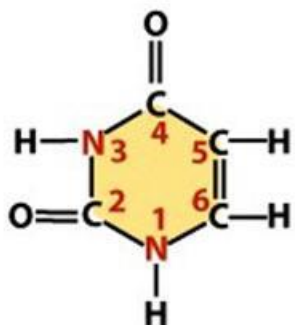


Carbono 2

COMPONENTES DOS NUCLEOTÍDEOS

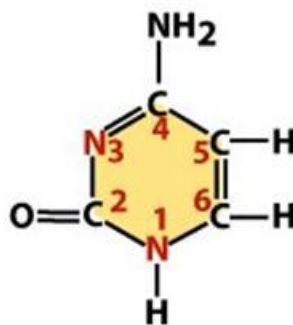
(3)
Uma base
cíclica
contendo
Nitrogênio

(a) RNA

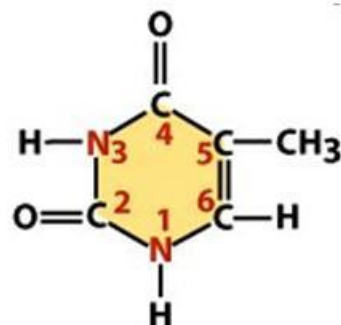


Uracila

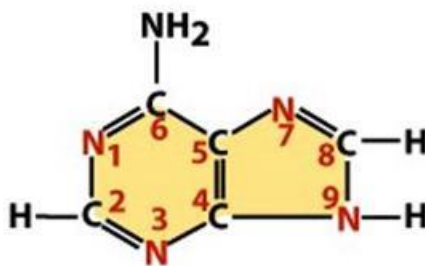
(b) DNA e RNA (c) DNA



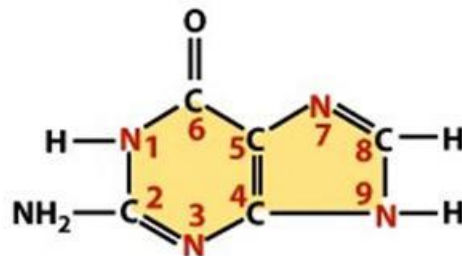
Citosina



Timina



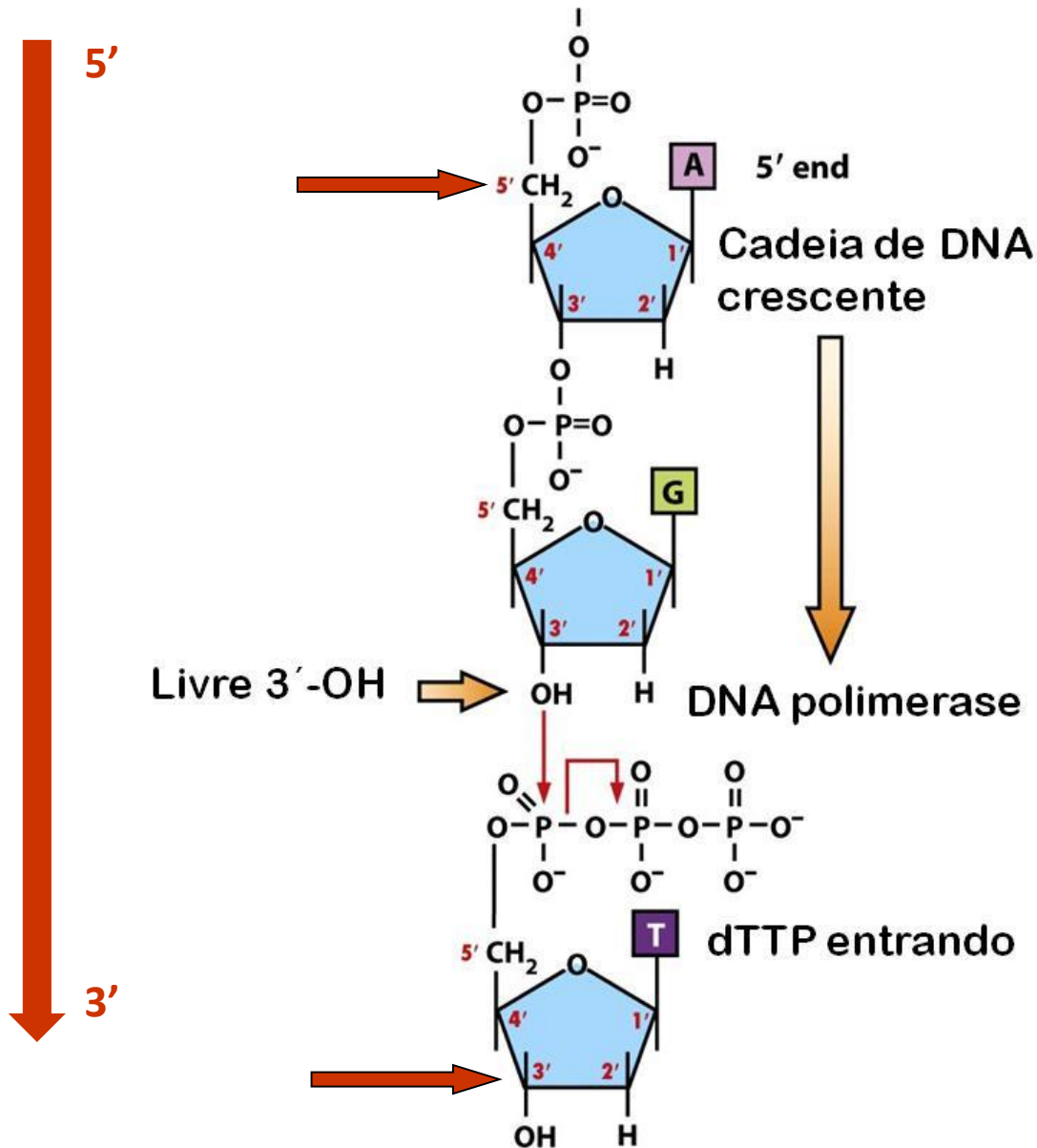
Adenina



Guanina

Purinas: A, G
Pirimidinas: U, T, C

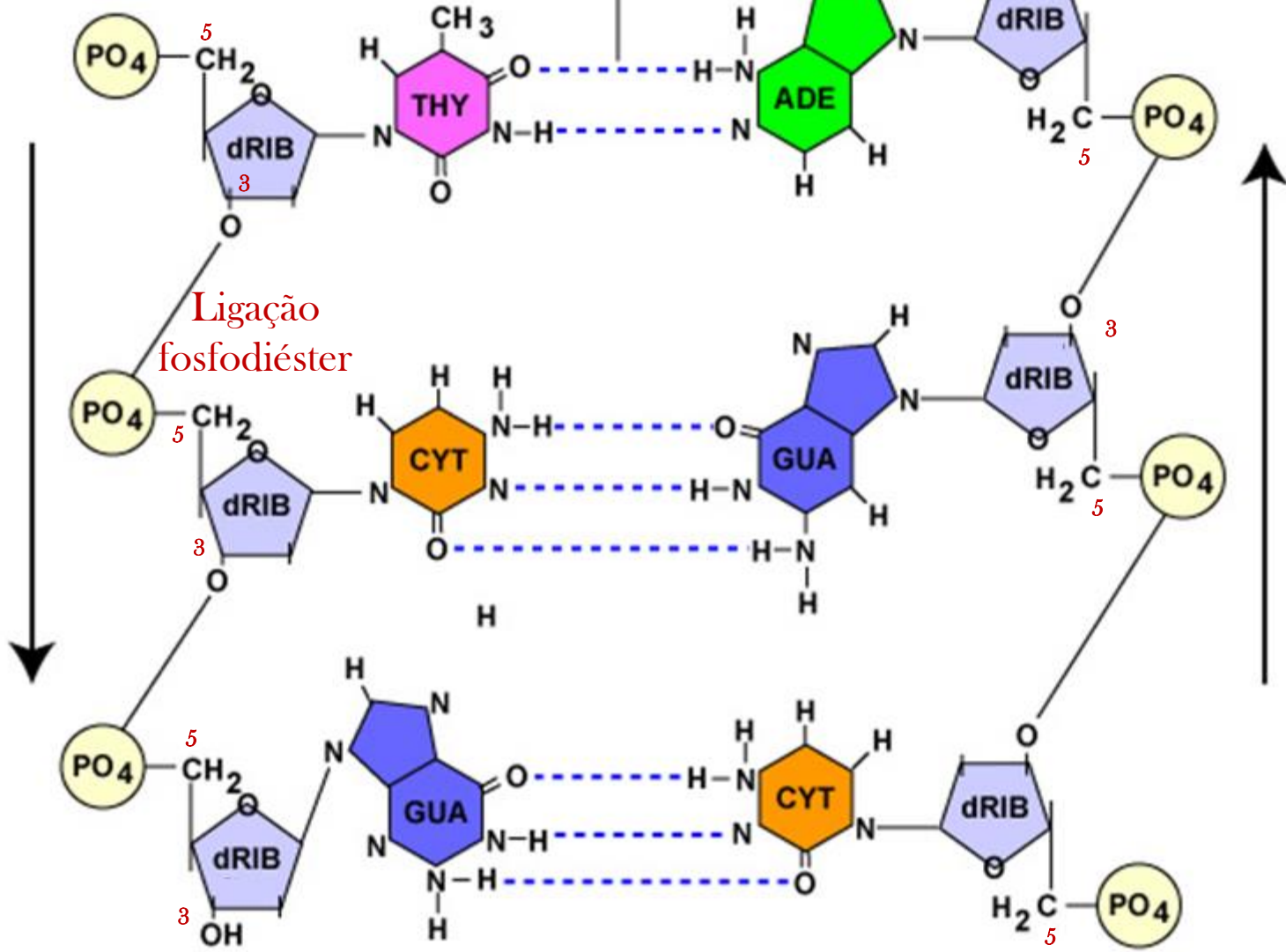
LIGAÇÕES FOSFODIÉSTER



5'

3'

Ligação de Hidrogênio

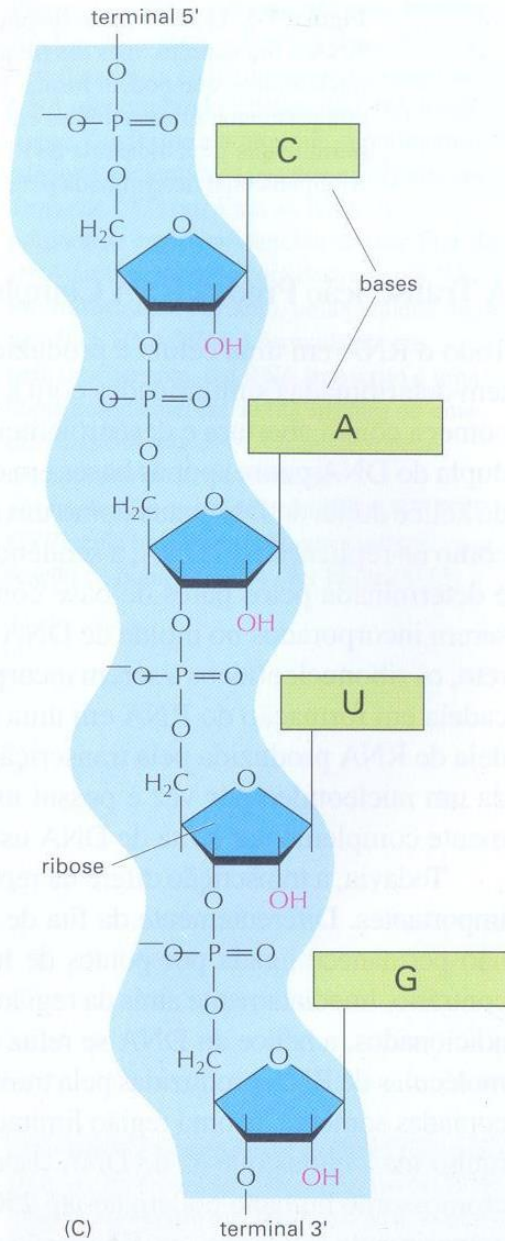


Ligação fosfodiéster

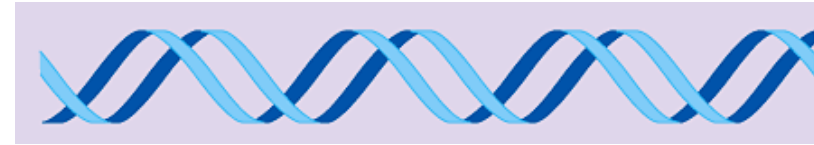
3'

5

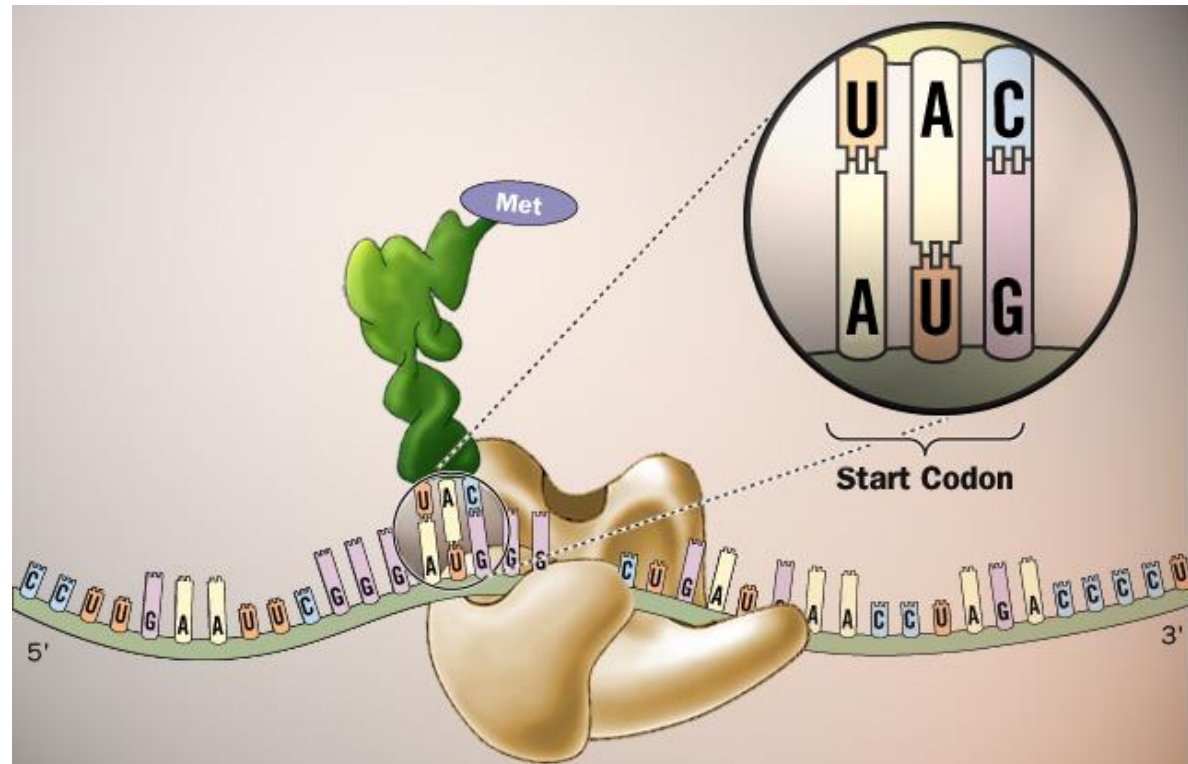
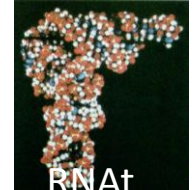
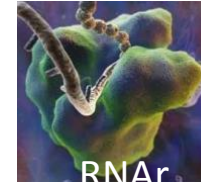
RELEMBRANDO O RNA...



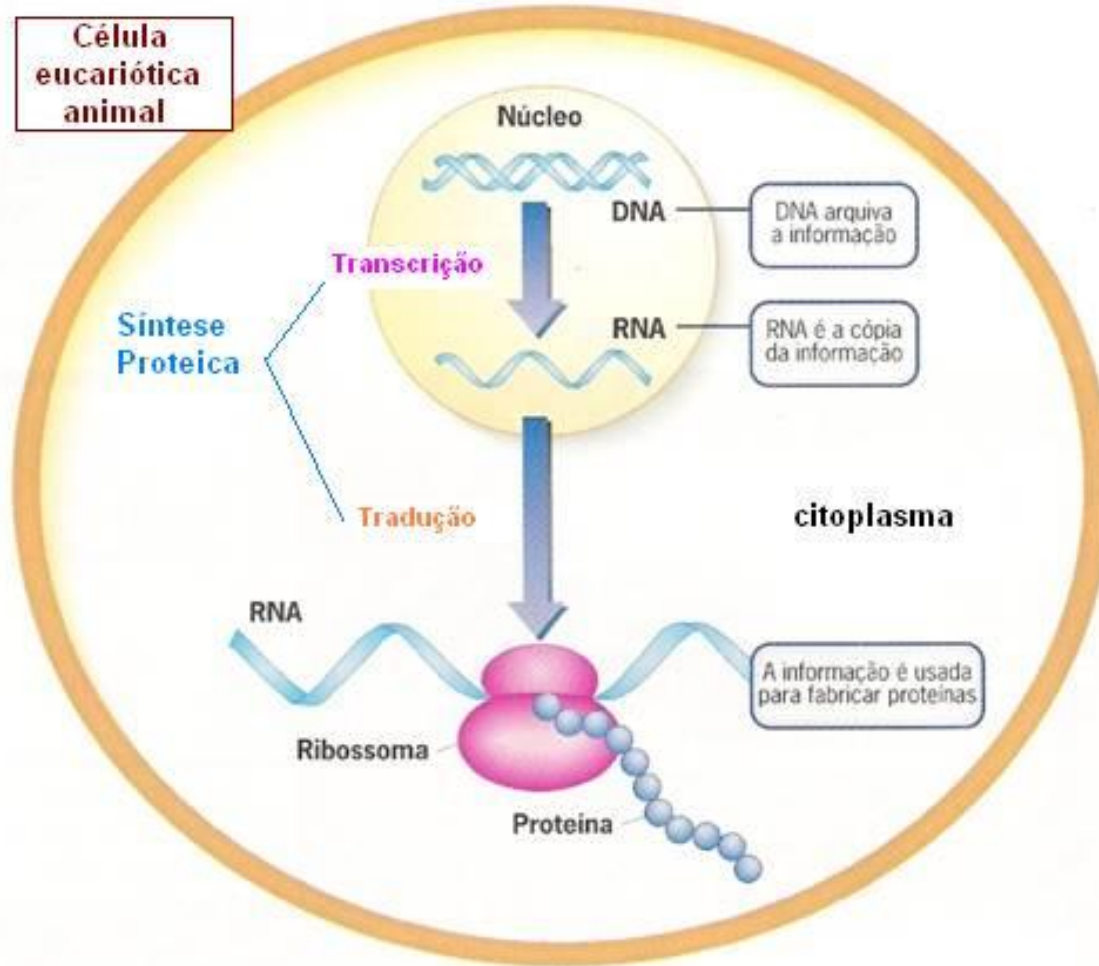
Polímero de 4 tipos de ribonucleotídeos unidos por ligação fosfodiéster, existente como fita simples



RNAm

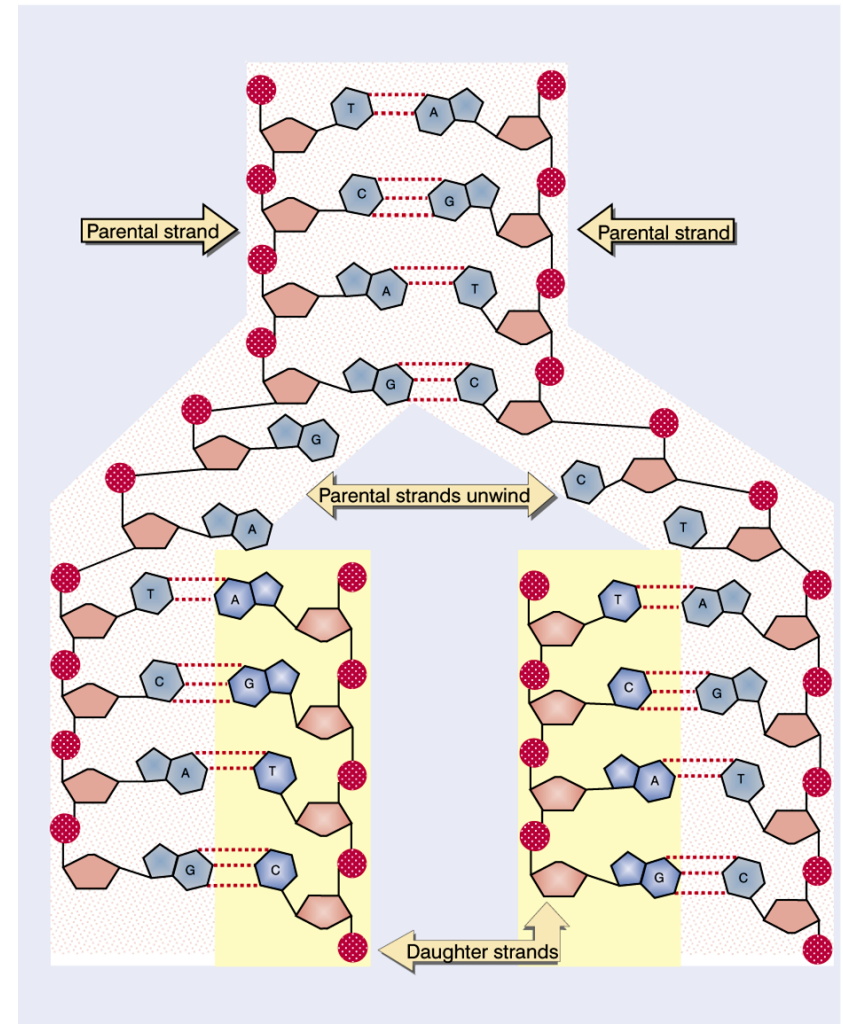


VISÃO GERAL

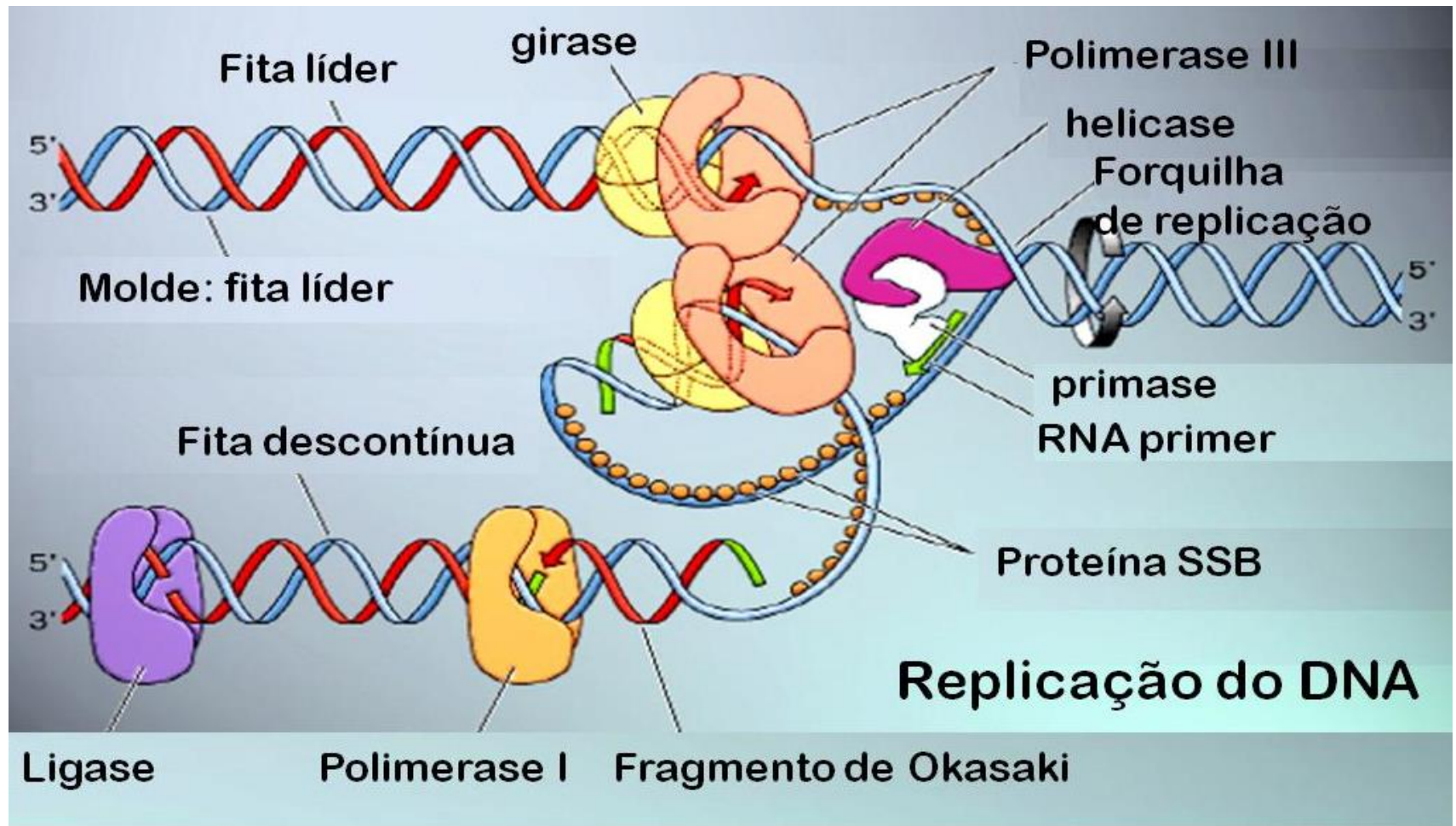


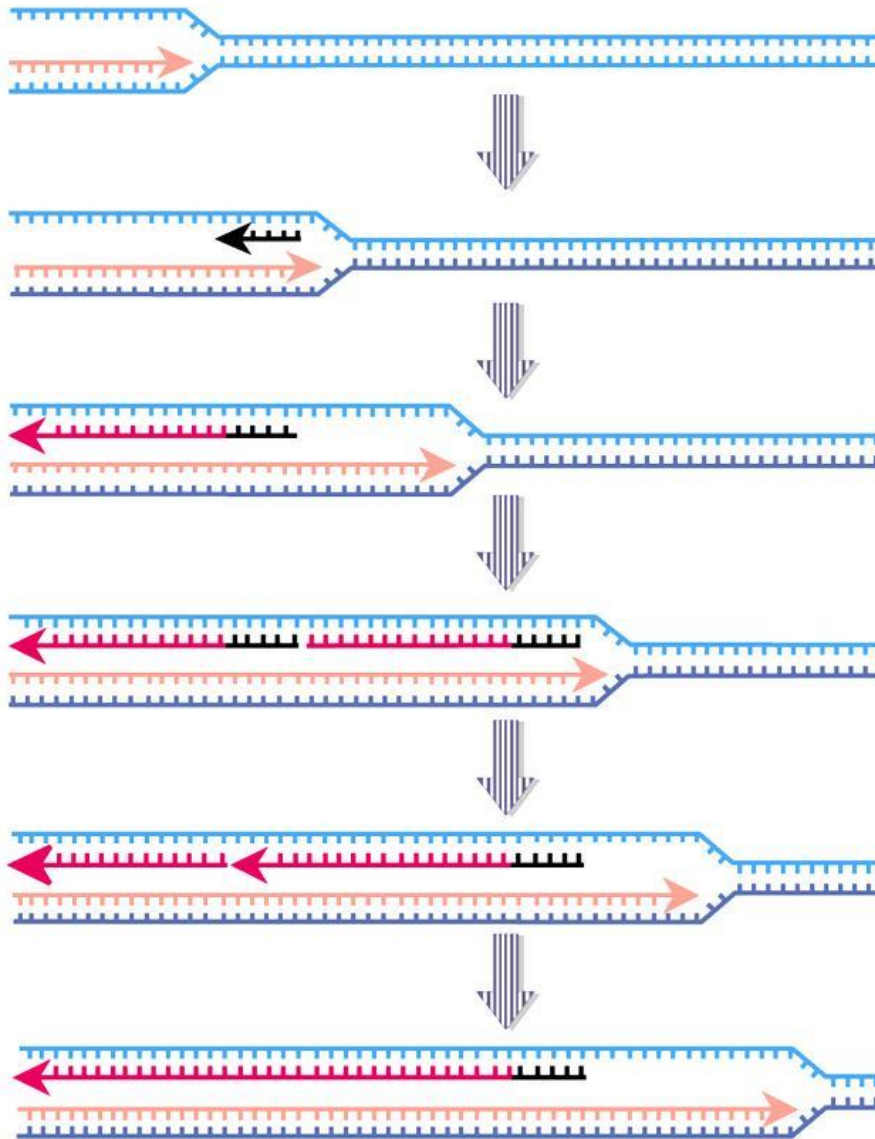
REPLICAÇÃO DO DNA

- ✓ 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 seqüências de bases complementares nos filamentos de DNA nascentes;
- ✓ A replicação é iniciada em origens únicas e em geral continua bidirecionalmente a partir de cada origem.



Síntese das fitas contínua e descontínua é independente



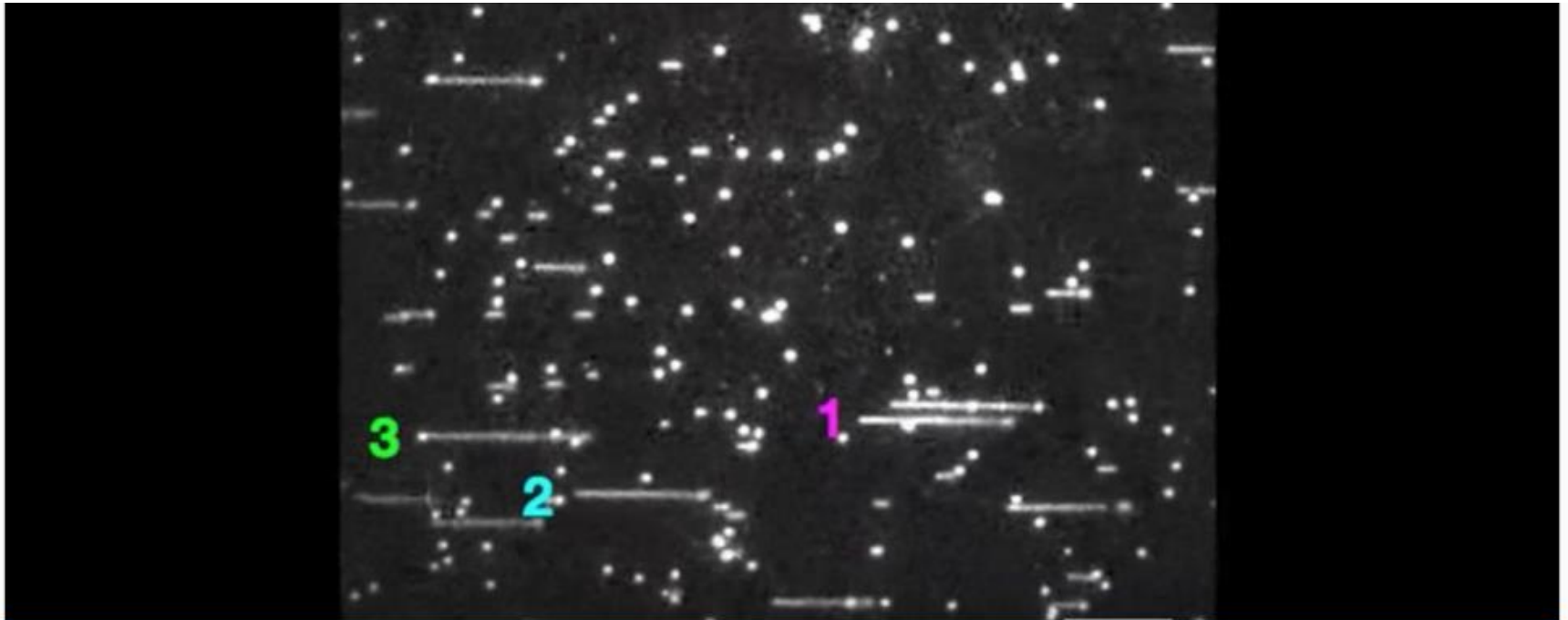


- Fragmentos de Okasaki ocorrem na fita descontínua

- A DNA polimerase III é responsável pela síntese da maior parte do DNA

- A DNA polimerase I remove o primer de RNA e preenche as lacunas

- A DNA ligase sela as quebras



James Graham/UC Davis

DNA Replication Has Been Filmed For The First Time, And It's Not What We Expected

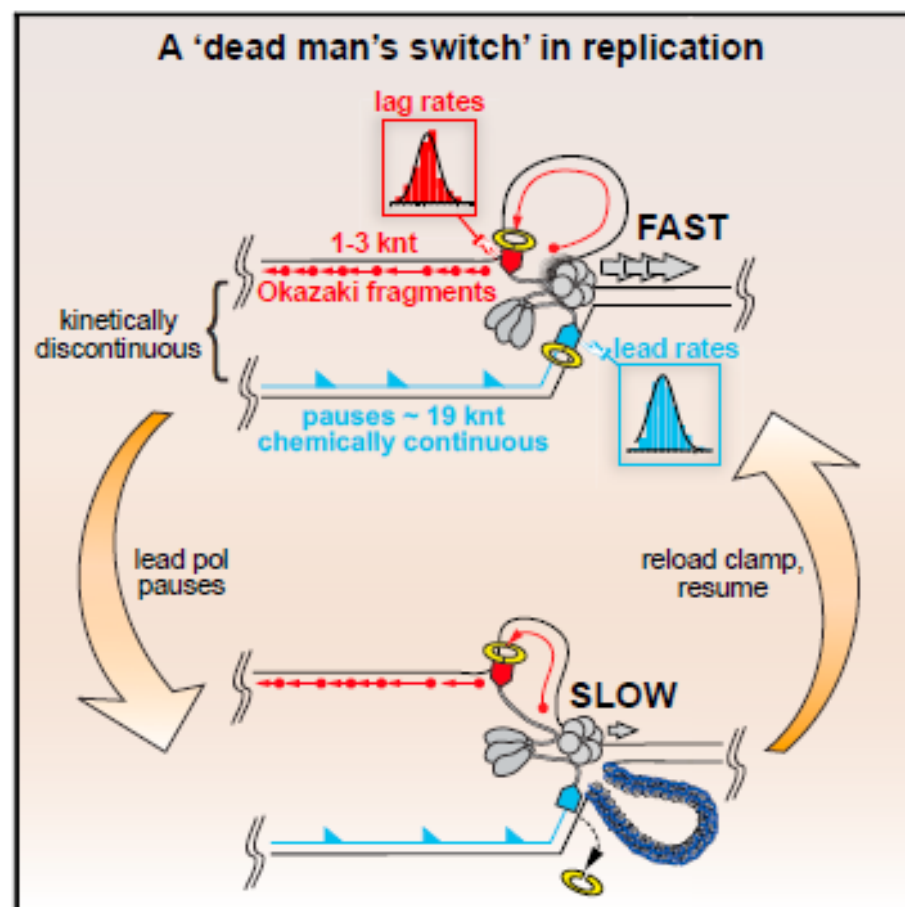
"It undermines a great deal of what's in the textbooks."

BEC CREW 19 JUN 2017

<http://www.sciencealert.com/dna-replication-has-been-filmed-for-the-first-time-and-it-s-stranger-than-we-thought>

Independent and Stochastic Action of DNA Polymerases in the Replisome

Graphical Abstract



Authors

James E. Graham, Kenneth J. Marians,
Stephen C. Kowalczykowski

Correspondence

kmarians@sloankettering.edu (K.J.M.),
sckowalczykowski@ucdavis.edu (S.C.K.)

In Brief

Polymerases within the replisome operate independently and discontinuously, and they are not coordinated.

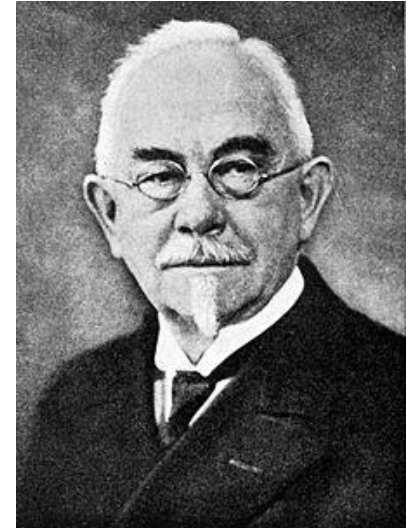
MAS O QUE É UM GENE?



DEFINIÇÃO DE GENE

Wilhelm Johannsen

1909 → gene



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

mRNA → polipeptídeo

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

GENE TÍPICO DE PROCARIOTOS

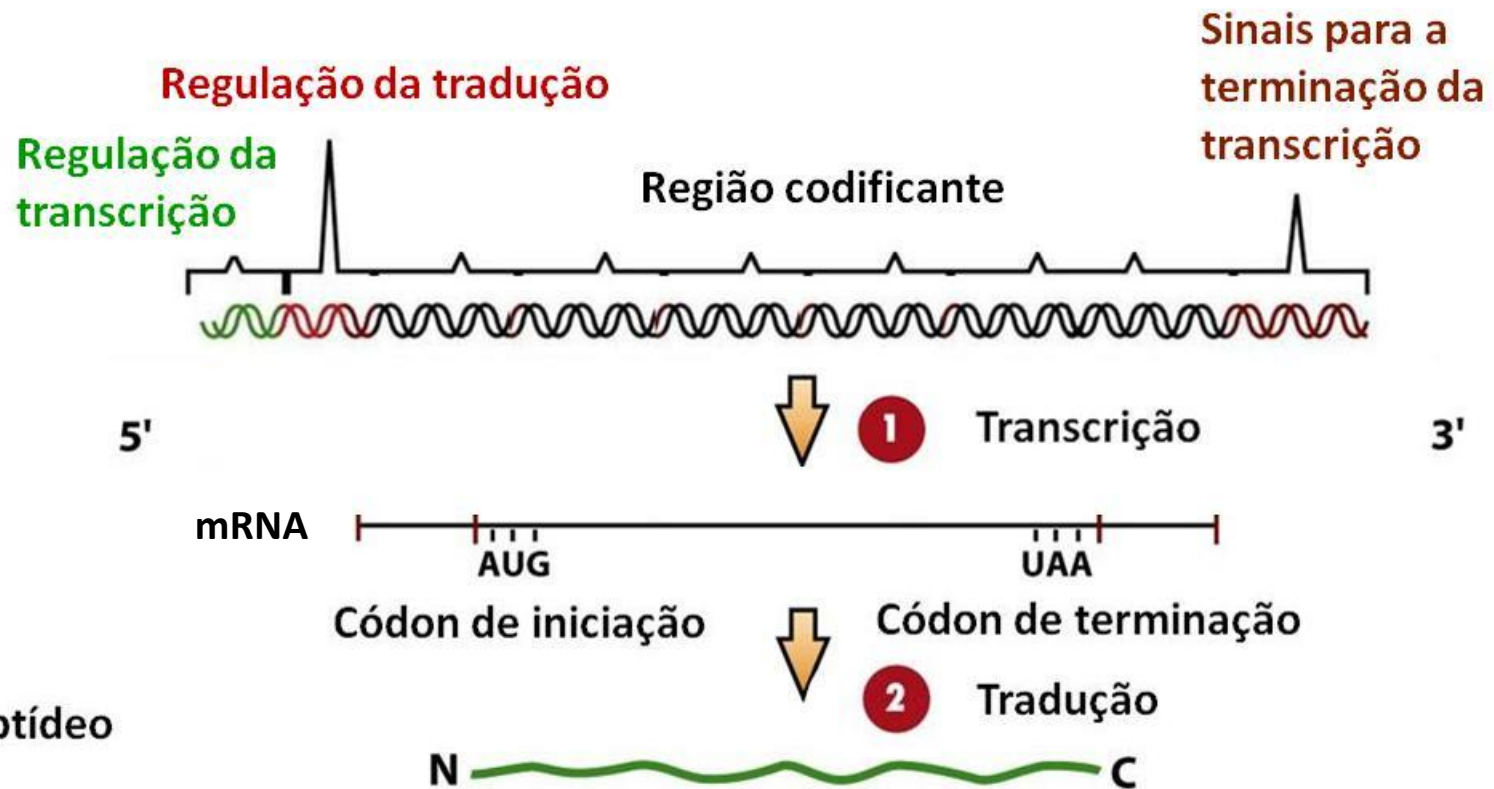
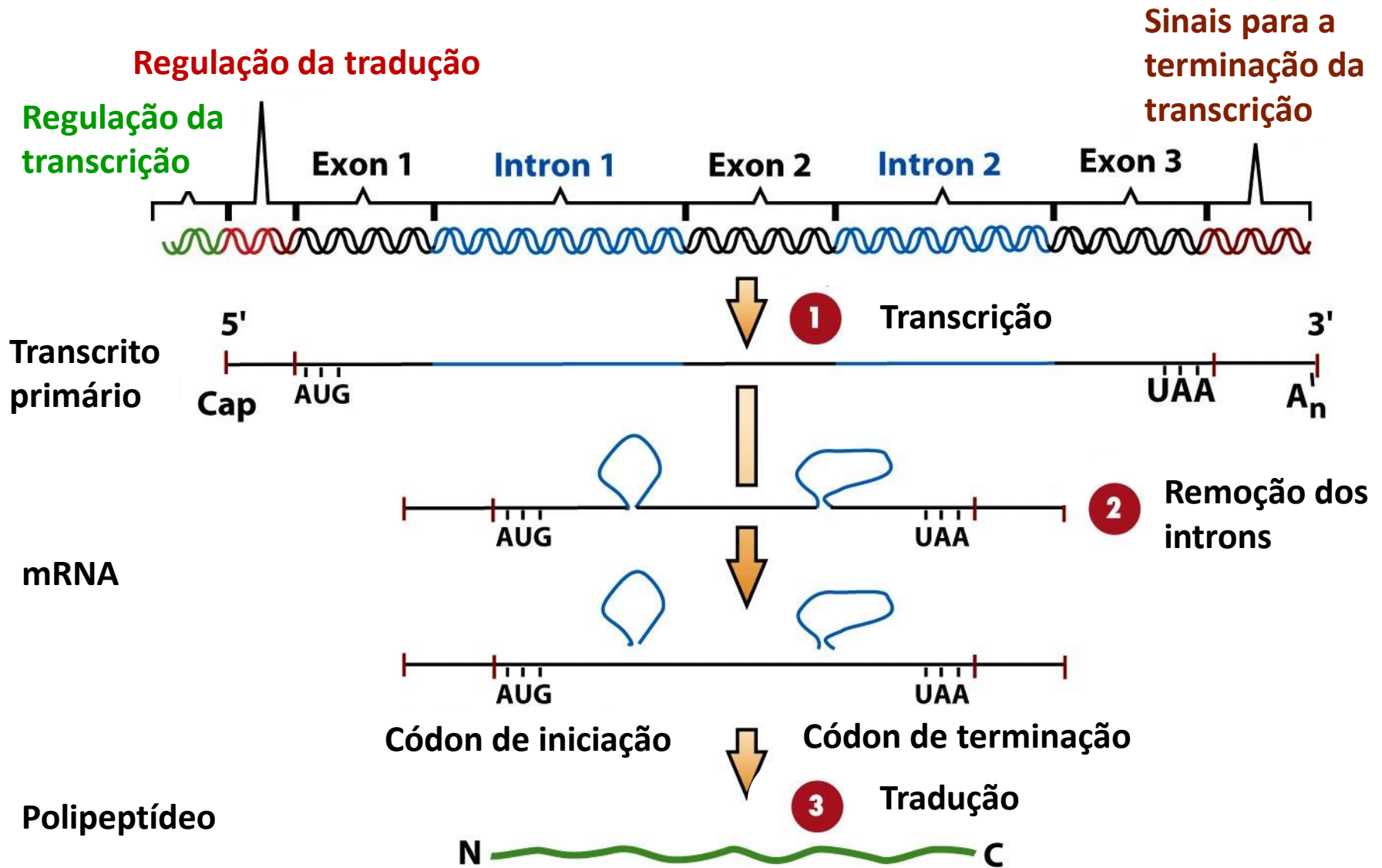


Figure 14-1b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

GENE TÍPICO DE EUCARIOTOS

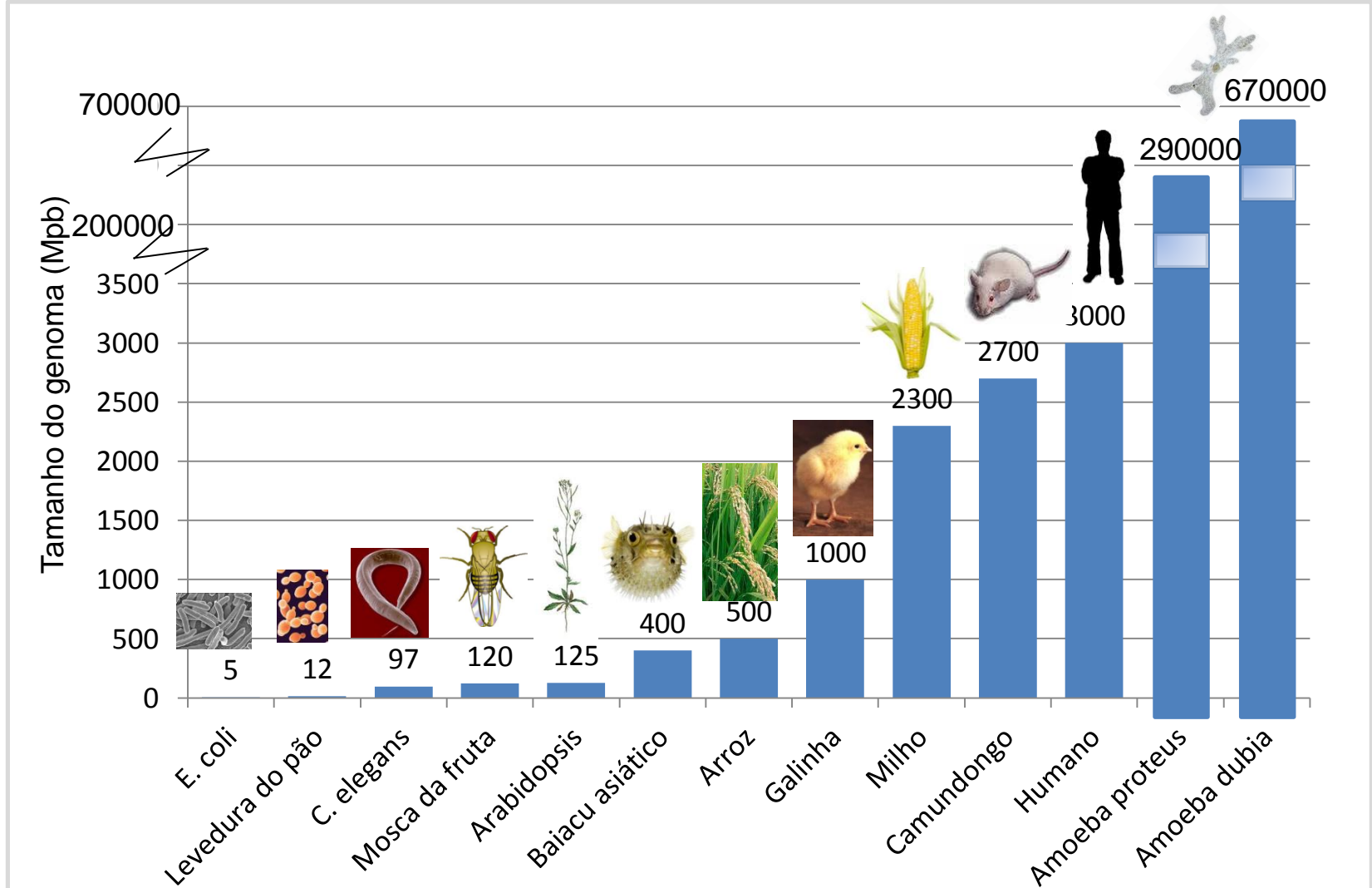


NÚMERO DE GENES EM EUCARIOTOS

Espécies	Genoma (Mb)	Genes
<i>D. melanogaster</i>	165	~12.000
<i>S. cerevisiae</i>	13	~6.000
<i>C. elegans</i>	97	~20.000
<i>H. sapiens</i>	3.300	~30.000

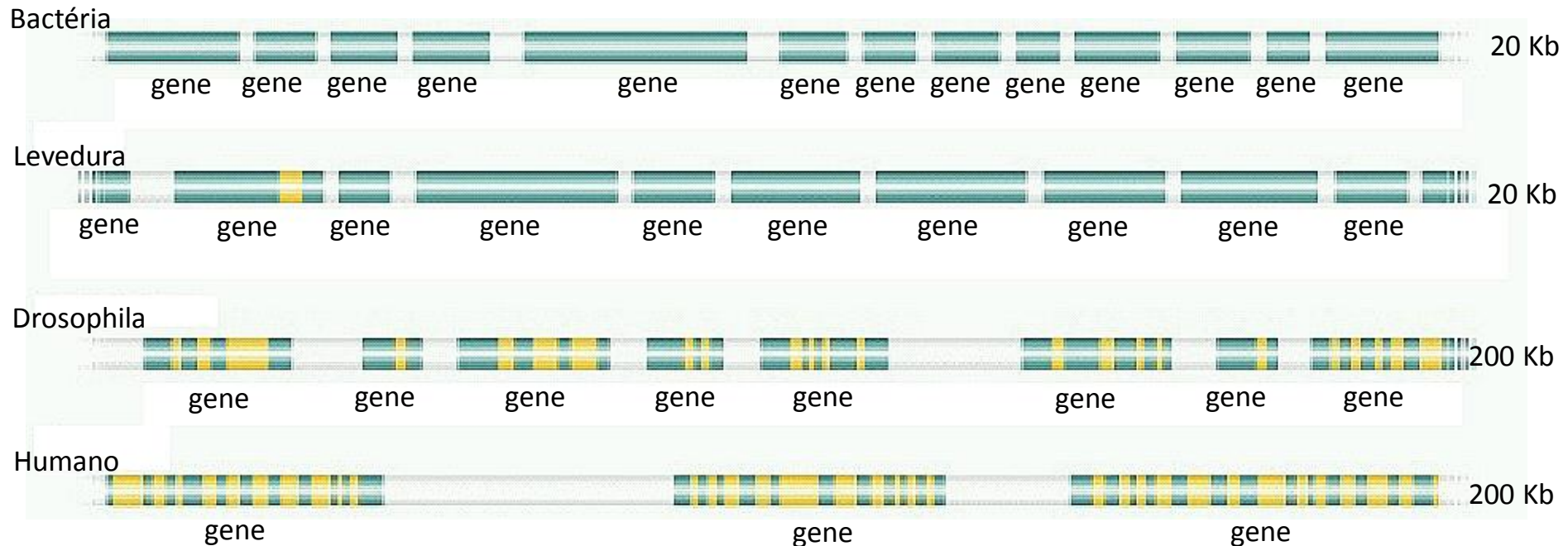


COMPARAÇÃO NO TAMANHO DE GENOMAS



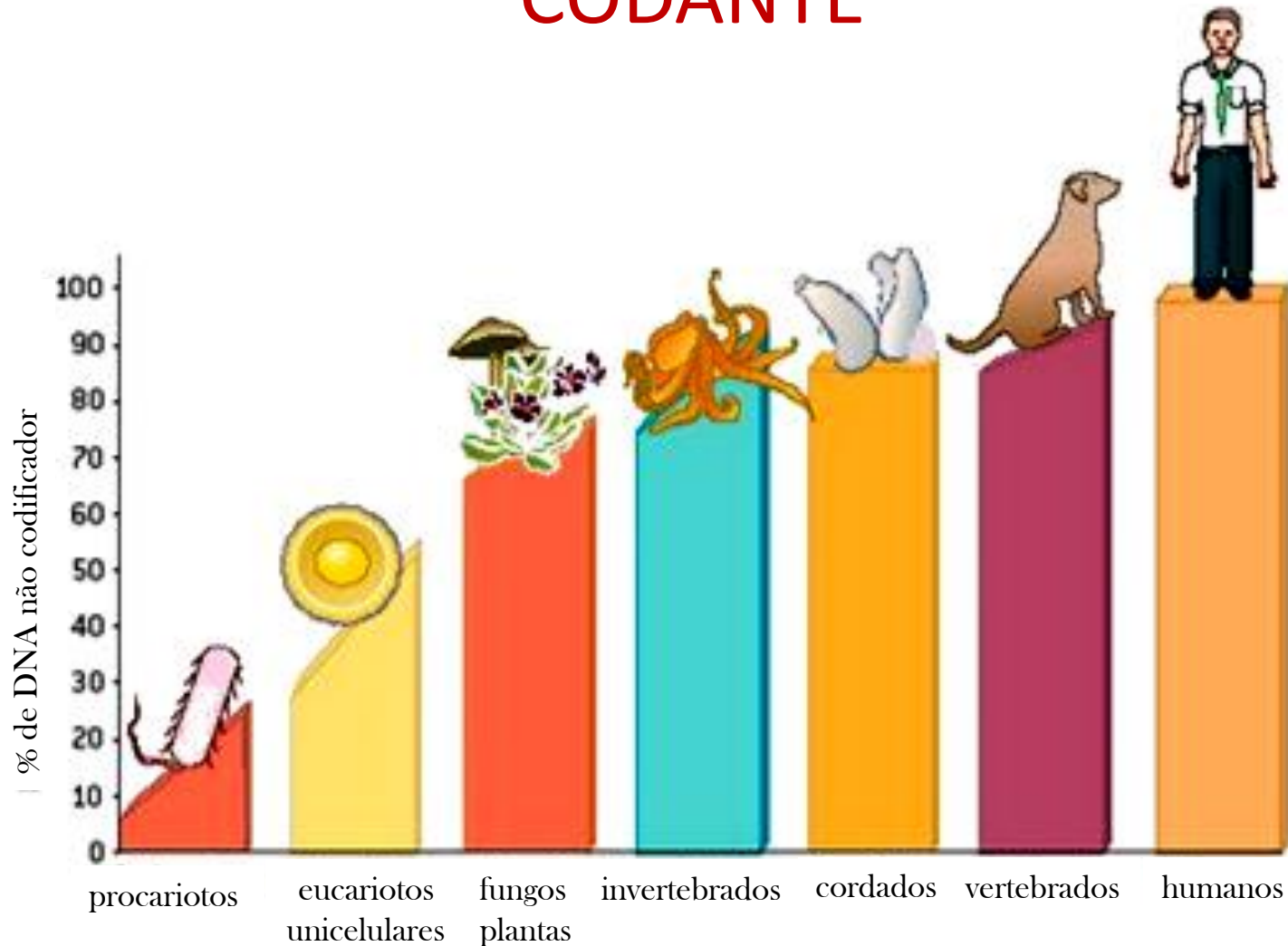
A complexidade de um organismo não é diretamente proporcional ao tamanho do genoma; alguns organismos unicelulares possuem muito mais DNA que os humanos.

GENES NA MOLÉCULA DE DNA

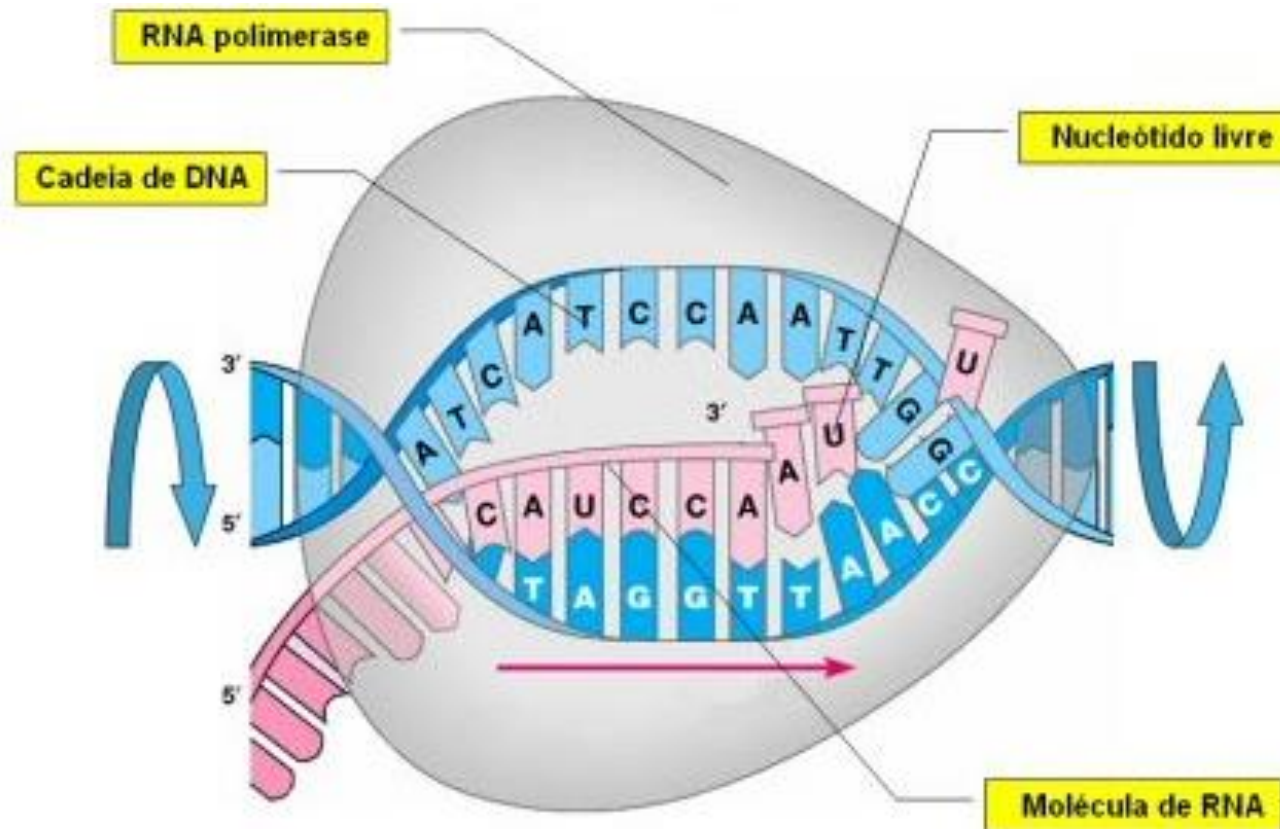


Grande variação nos tamanho dos genes geradas pela presença dos introns!

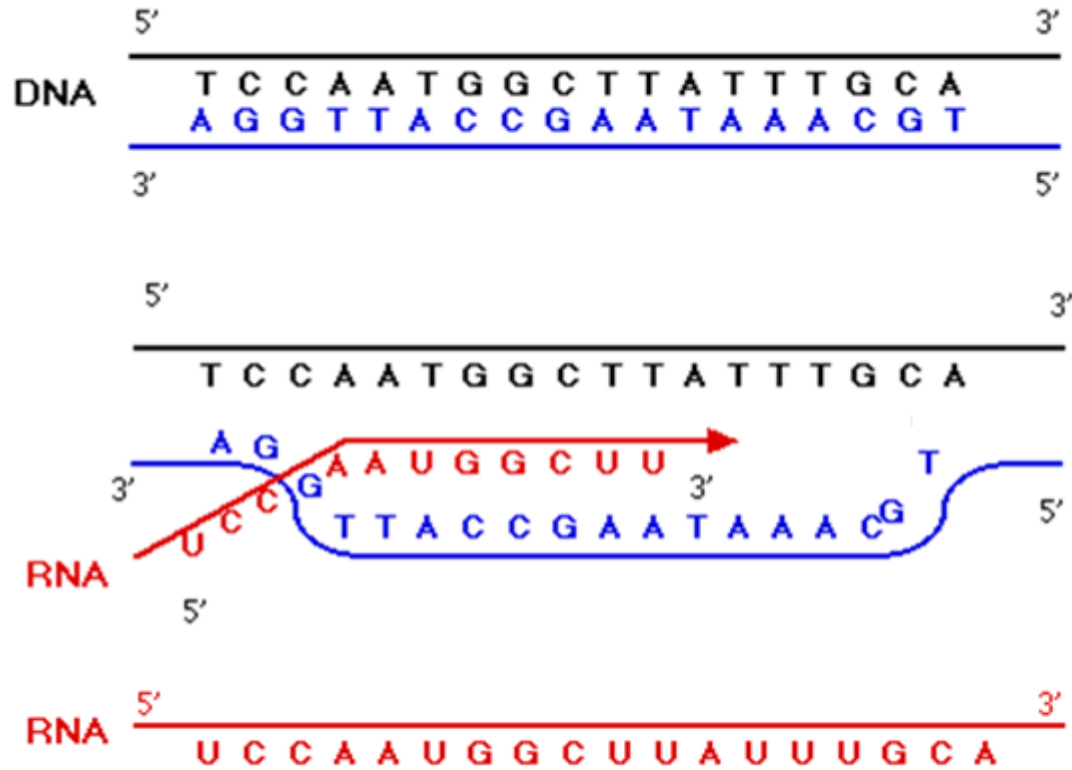
PORCENTAGEM DO GENOMA QUE NÃO CODANTE



POR QUE É PRECISO CONHECER A ESTRUTURA DE GENES DE PROCARIOTOS E EUCARIOTOS?

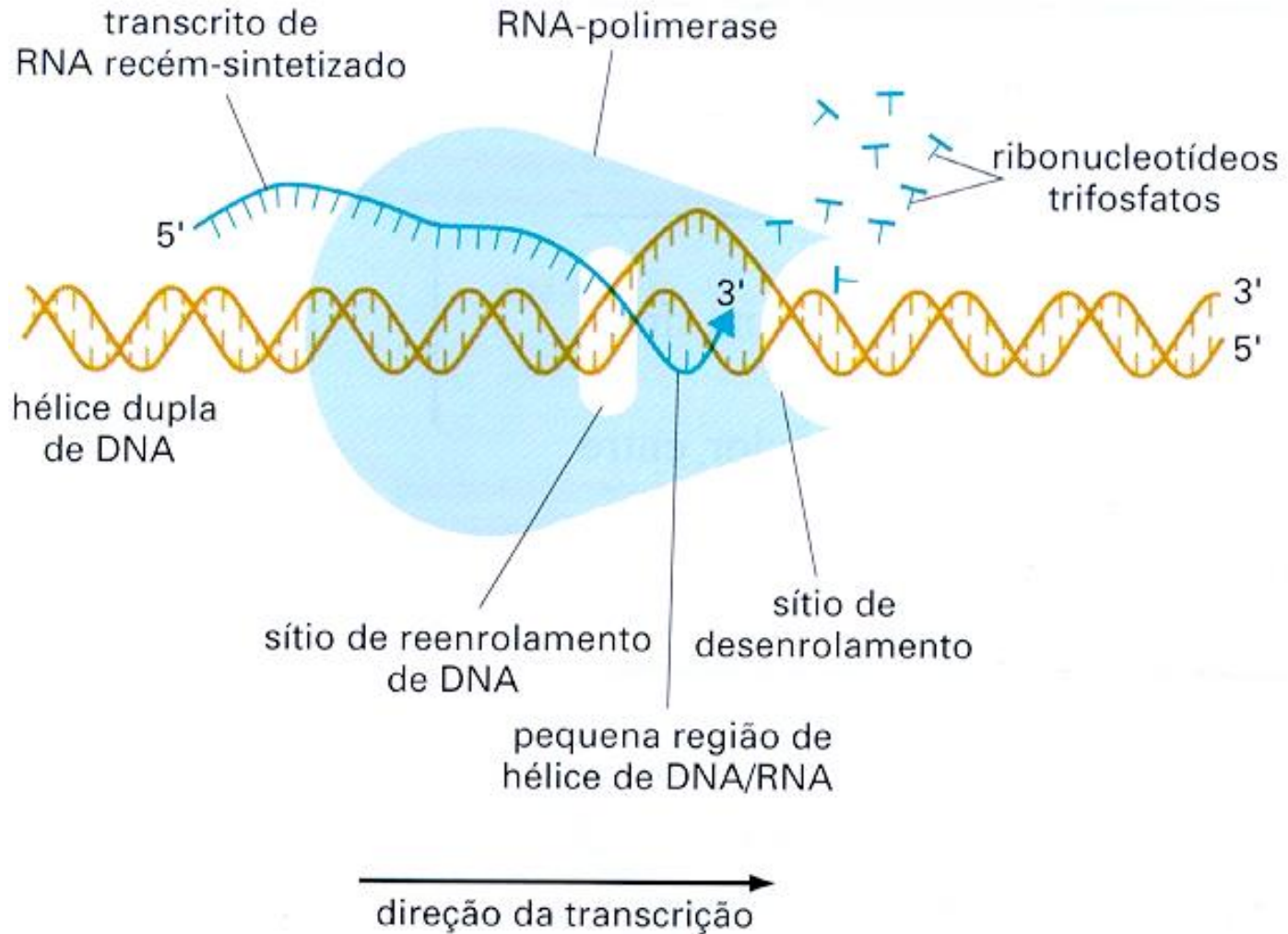


TRANSCRIÇÃO



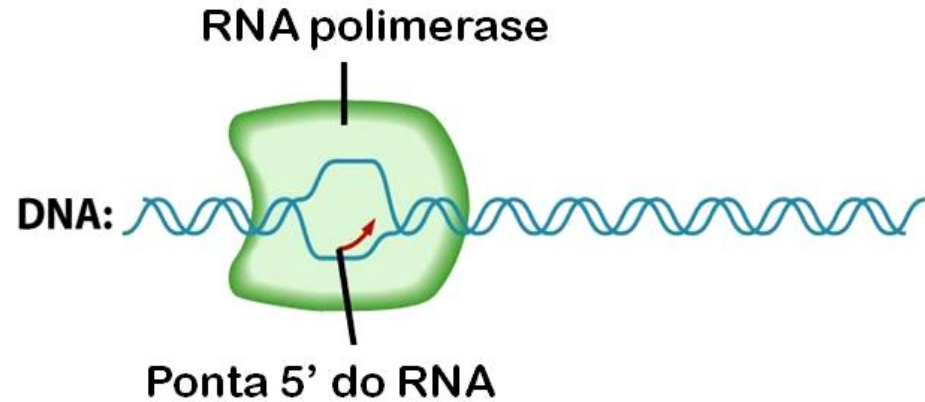
- ❑ A informação genética contida num segmento do DNA é reescrita em uma fita simples de RNA;
- ❑ Esta fita apresenta uma sequência de ribonucleotídeos complementar a uma das fitas da dupla hélice de DNA (**molde**) e idêntica à sequência da outra fita (**codificadora**), com substituição de T por U.

ENZIMA RNA POLIMERASE

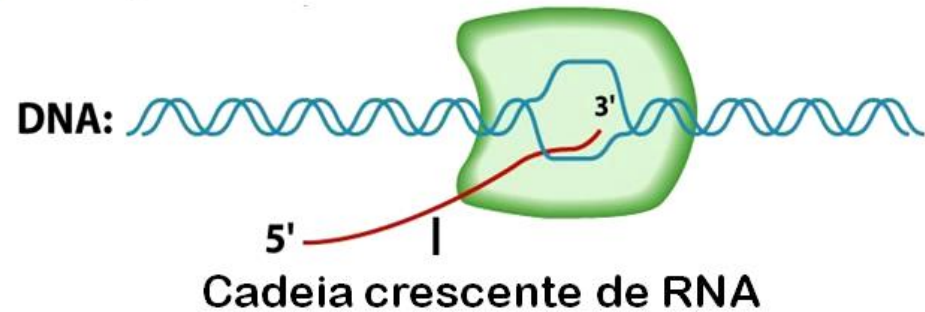


ETAPAS DA TRANSCRIÇÃO

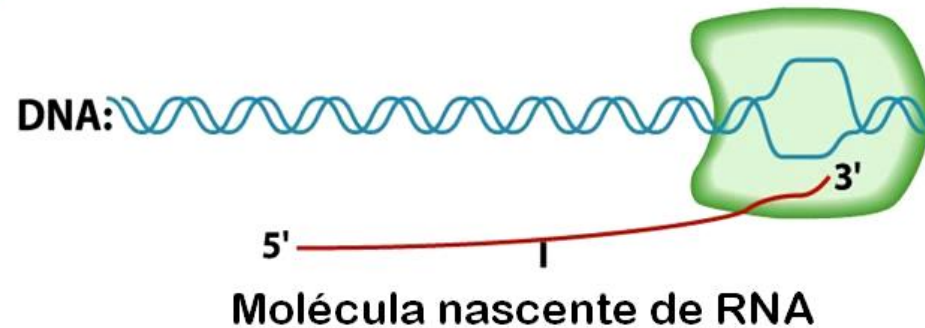
1 Iniciação da cadeia de RNA



2 Alongamento da cadeia de RNA



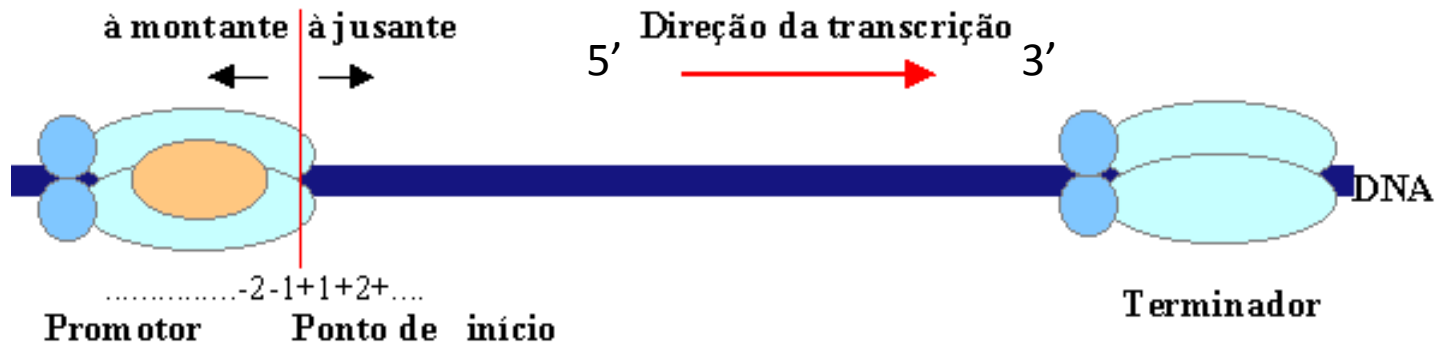
3 Término da cadeia de RNA



CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SÍNTESE DE RNA

1. Os precursores são **ribonucleotídeos**;
2. Apenas **1 fita de DNA** é utilizada como **molde** para a síntese de RNA complementar;
3. As cadeias de RNA são sintetizadas **sem** a necessidade de um filamento *primer* preexistente (atuação da **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**;
7. RNA polimerase termina a transcrição em **sequências específicas** de nucleotídeos → **terminadores (finalizadores)**.

REGIÃO PROMOTORA DE UM GENE

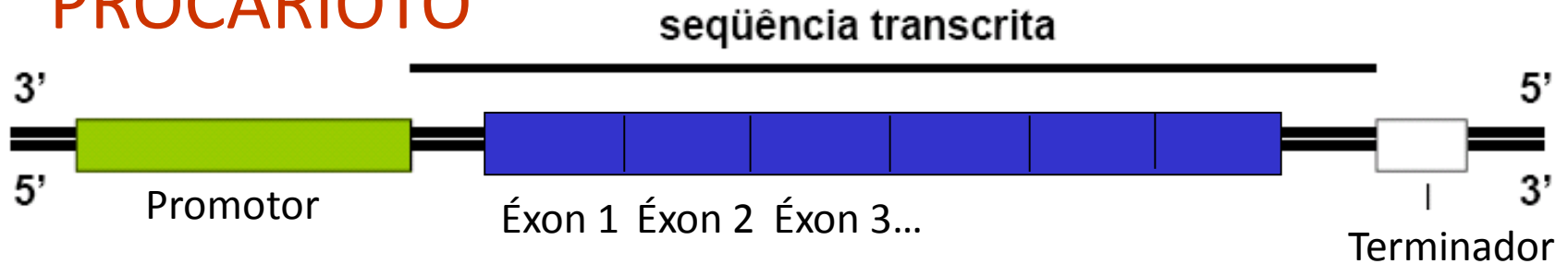


- ❑ Diz-se que as sequências que antecedem o ponto de **início da transcrição** localizam-se à montante (*upstream*) e as que o sucedem localizam-se à jusante (*downstream*);
- ❑ A posição das bases é numerada nos dois sentidos, a partir do ponto de início da transcrição, ao qual se atribui o **valor +1**. Os valores aumentam (valor positivo) à jusante e diminuem (valor negativo) à montante.

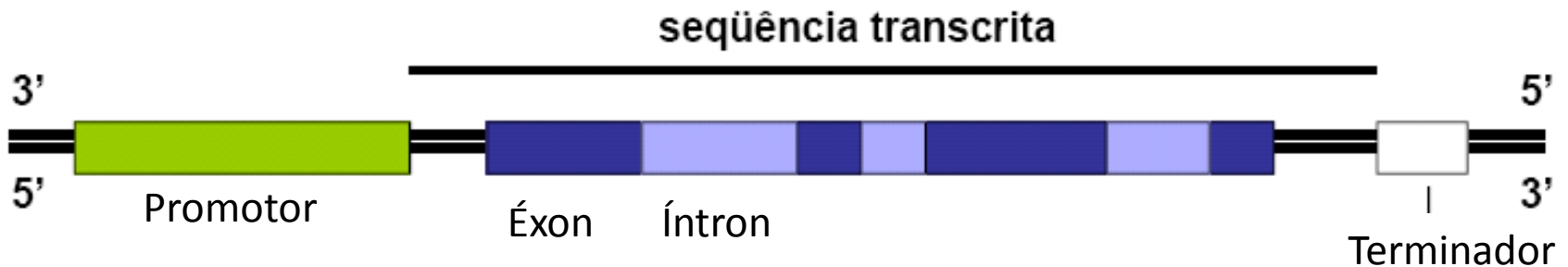
EM SÍNTESE...

REGIÕES CHAVE DO DNA NA TRANSCRIÇÃO

PROCARIOTO

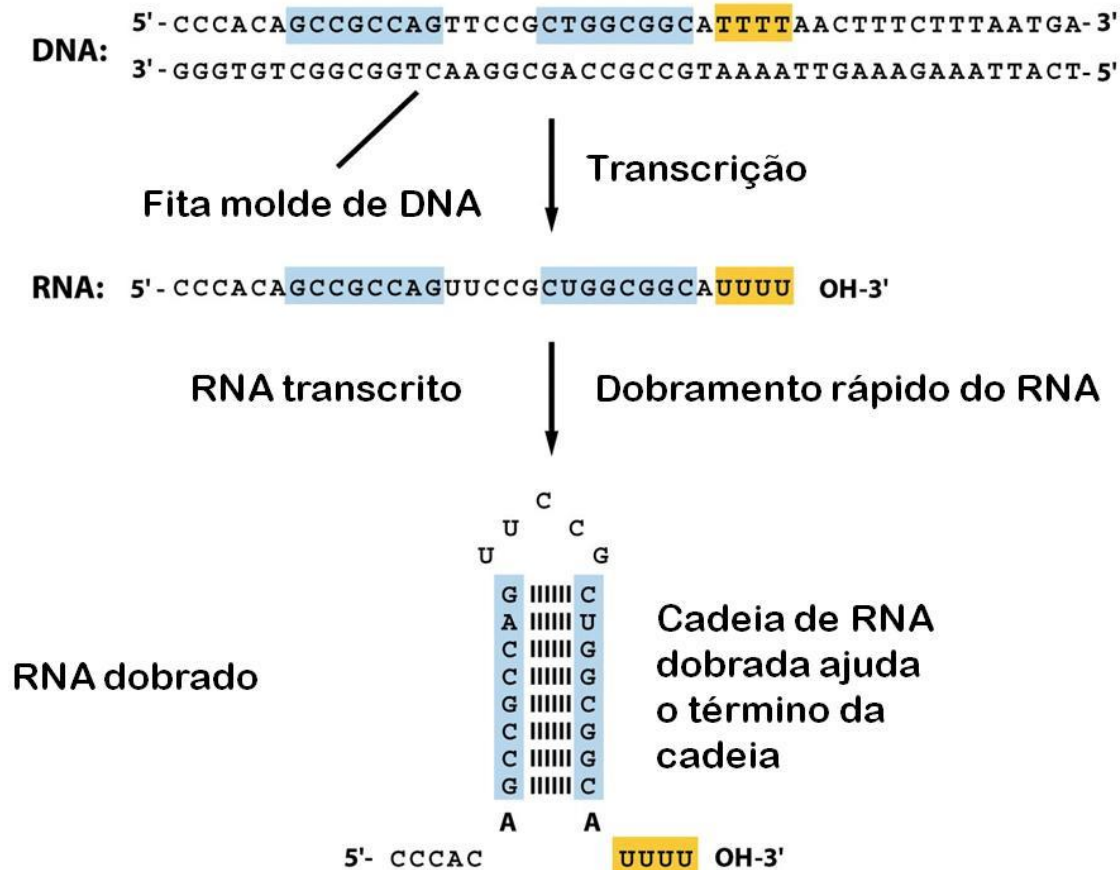


EUCARIOTO



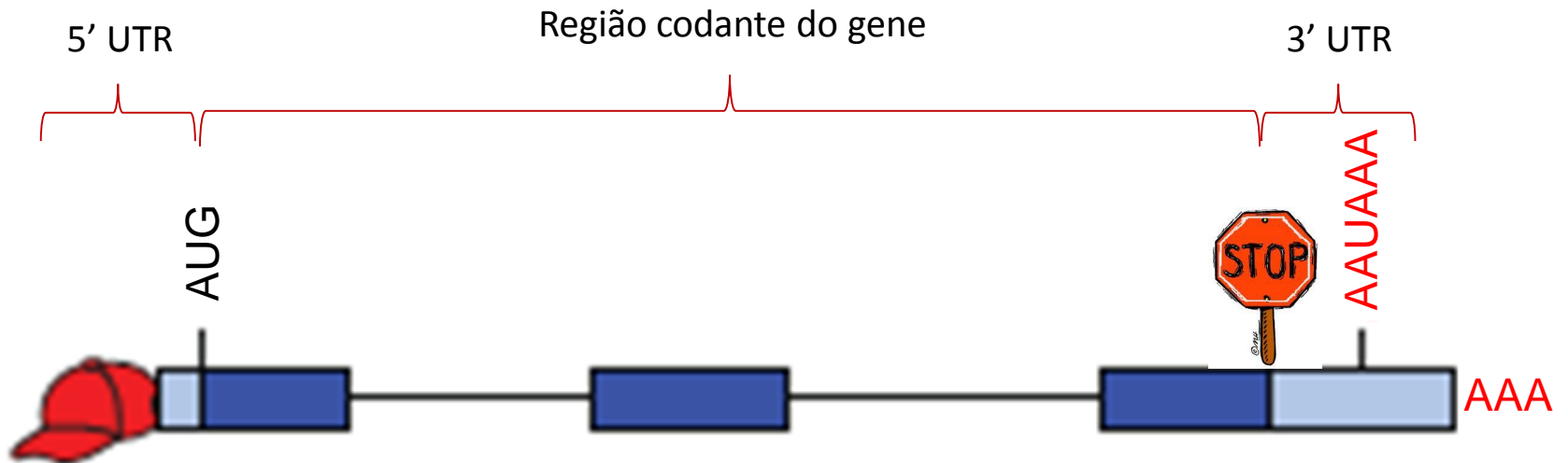
TERMINO DA TRANSCRIÇÃO

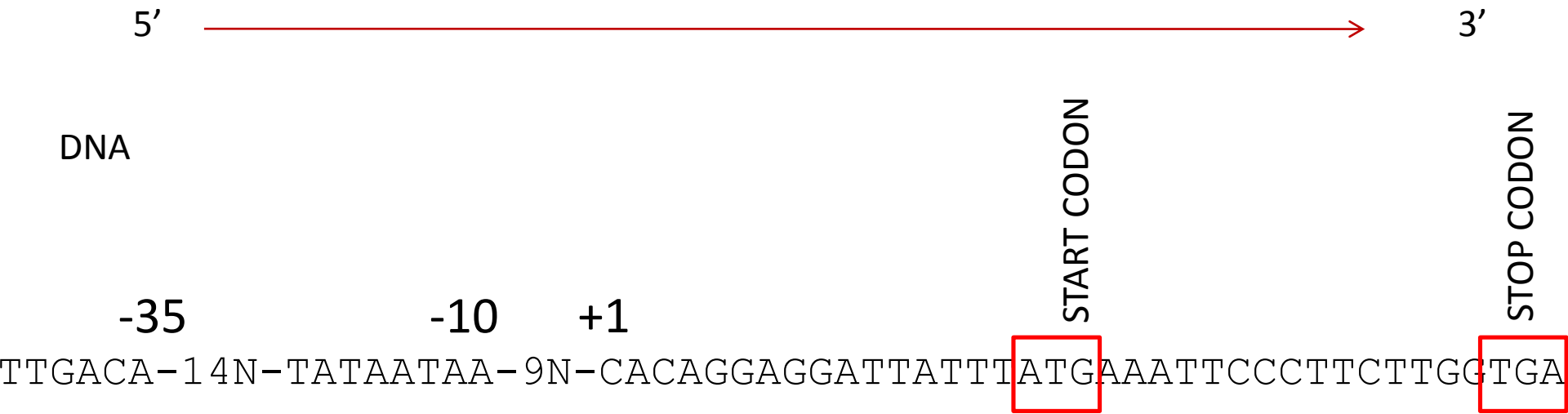
✓ o término das cadeias de RNA ocorre quando a RNA polimerase encontra um sinal de término, quando isso ocorre o complexo é liberado;



START E STOP CODONS

Delimitam a região codante (região que é transcrita e traduzida)





mRNA CACAGGAGGAUUAUCCAUGAAAUUCCCUUCUUGGUGA

PROTEINA MET LYS PHE PRO SER TRY



START E STOP CODONS

Start codon

- **PROCARIOTOS** – 90% das vezes **AUG** é o codon de iniciação mas também **AUA, GUG ou UUG** podem ser encontrados;
- **EUCARIOTOS** – **AUG** é quase sempre o codon de iniciação.

Stop codon

UAA, UAG, UGA – sempre sinal para o término da **tradução**

TRANSCRIÇÃO

- Processo pelo qual uma molécula de RNA é sintetizada a partir da informação contida na sequência de nucleotídeos de uma molécula de DNA fita dupla.

(5') CGCTATAGCGTTT(3')

DNA fita

(3') GCGATATCGCAAA(5')

codificadora

DNA fita molde

(5') CGCUAUAGCGUUU(3')

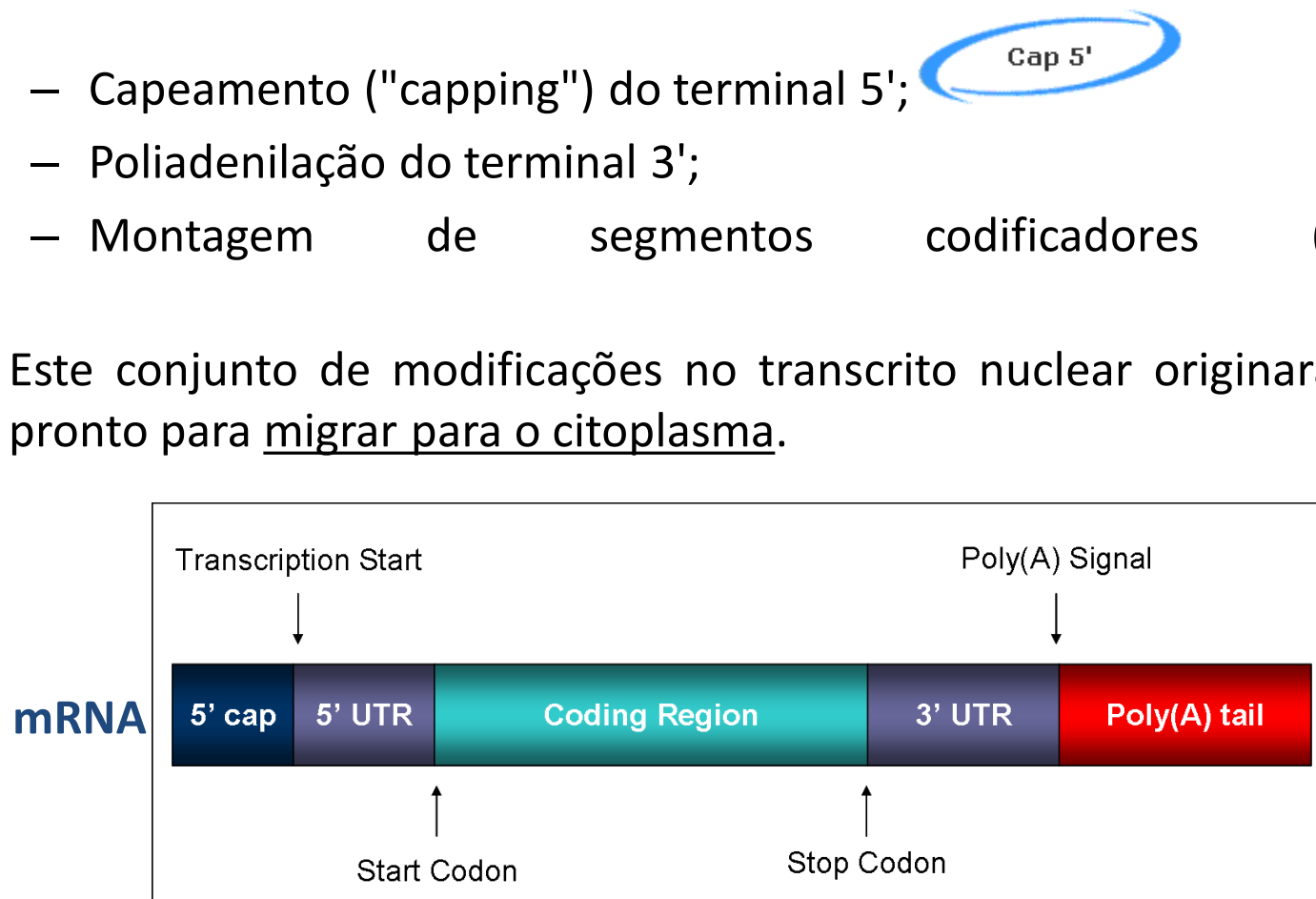
RNA transcrito

Nomenclatura:

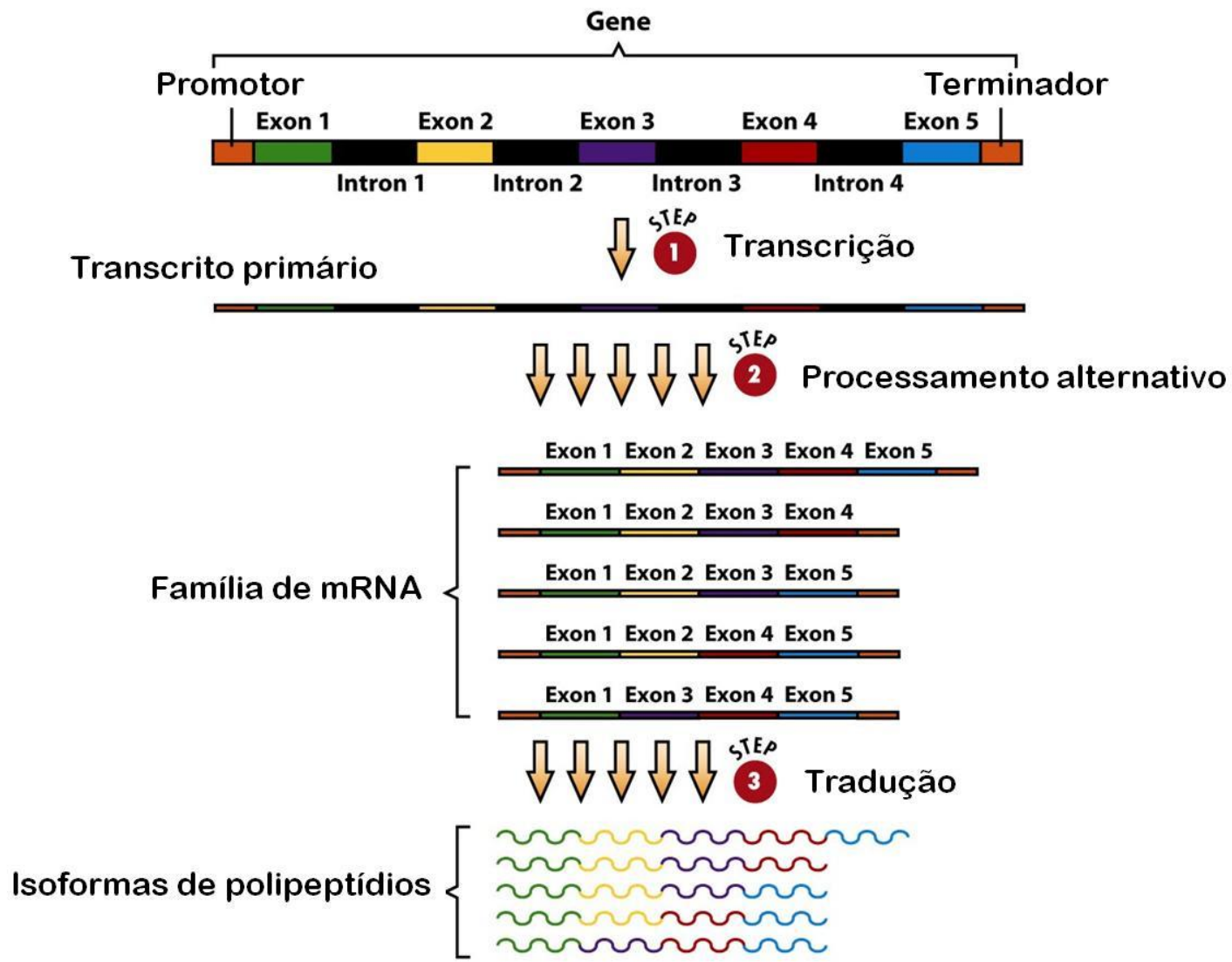
- DNA fita codificadora (senso)
- DNA fita molde (anti-senso)

PROCESSAMENTO DO RNA (TRANSCRITO) PRIMÁRIO EM EUKARIOTOS

- As modificações que podem ocorrer nos transcritos nucleares são basicamente de três tipos:
 - Capeamento ("capping") do terminal 5';
 - Poliadenilação do terminal 3';
 - Montagem de segmentos codificadores ("*splicing*").
- Este conjunto de modificações no transcrito nuclear originará o mRNA, pronto para migrar para o citoplasma.

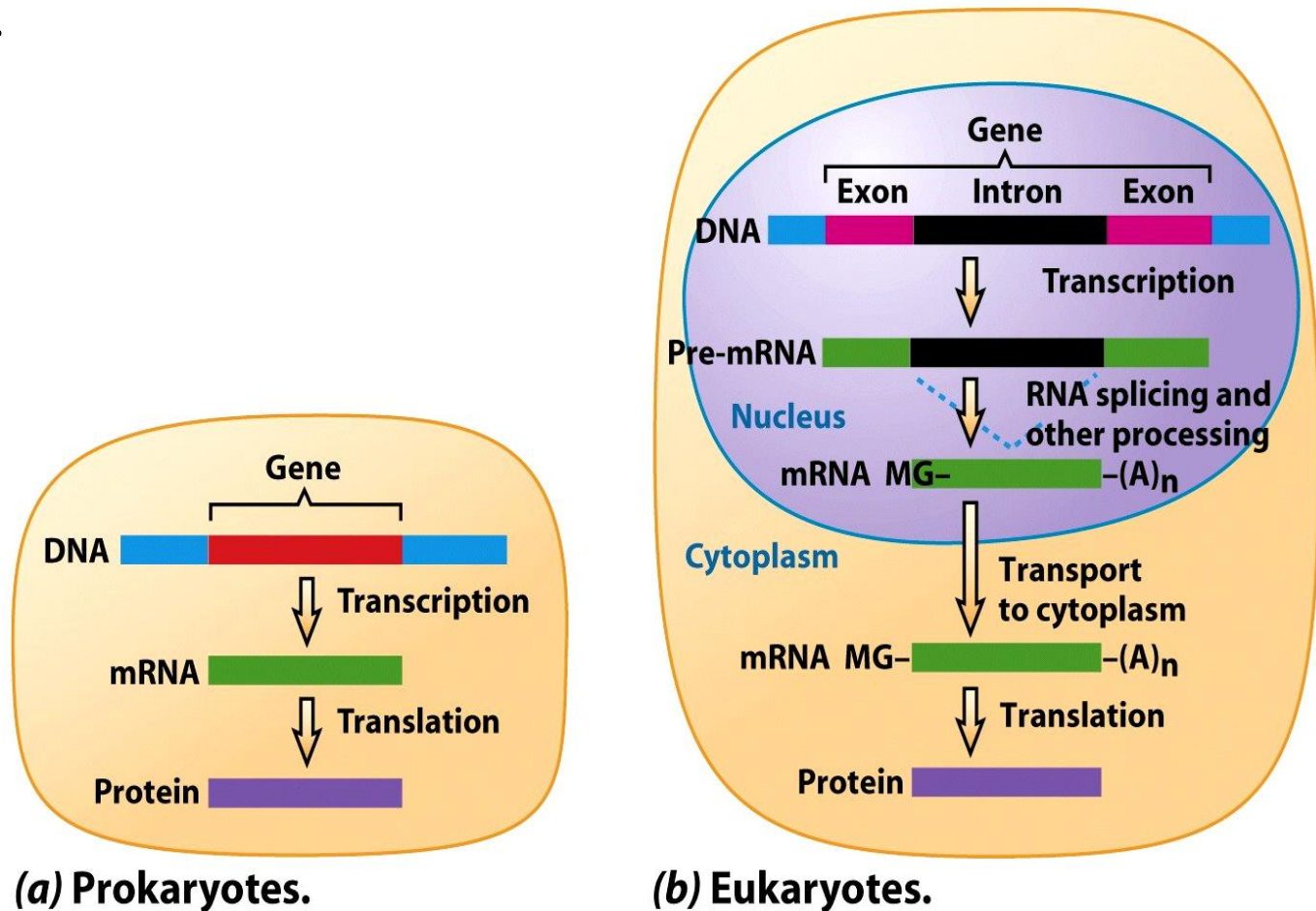


ISOFORMAS DE PROTEÍNAS

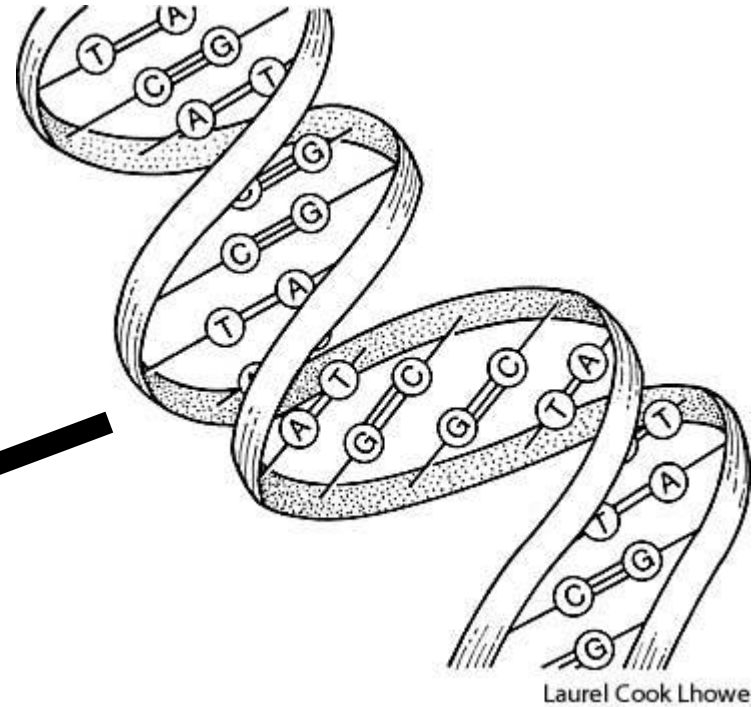


TRANSCRIÇÃO

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



TRADUÇÃO



Interpretação

```
AAGTCCTTTTAAATAAATAAATTCTAGCTATATTTGCAAC
GTTGGAAAATTAGCTATTCTAATGTTATCGAAAGAAGAA
CACAGTTACTTAGTTTCTCGGCAAACATATCAAAATGA
GAAGGTGAAAGAGTGGCATAATGATAAGCAAATCTGAAA
ATTTTTGGTATAATAATCTTGATTGAAATTTGAATGGA
GTAGGCTTACCAAATGTTGGTAAATCAACCTTATTTAAC
ATTATCCTTTTGC GACTATTGATCCCAATGTTGGTATGG
GACAGAATTGATTACACCTAAAAAACAGTTCCGACAAC
AAAGGTGCTTCTAGAGGGGAAGGTCTAGGAAATAAATTT
TTCATGTGGTACGTGCTTTTGGATGATGAAAATGTCATGC
TCCTATAGCAGATATTGACACTATTAATCTTGAATTAAT
TATGCGCGTGTGAAAAAATGGCACGAACTCAAAAAGAT
AAAAGATTAACCTGTTTTGGAAGATGGGAAATCAGCTA
AGTTGTAAAGGTCTCTTTTTATTAACAACCTAACCTGT
GTTGCTAATCTAGATGGTATTGATTATGTCAAACAAATT
TAGTTGTTATCTCAGCGCGTGCAGAAGAAGAAATTTAG
GGAAGCTATCGGTCTTACTGAATCAGGCGTTGATAAATT
GGAACCTATTTTACAGCAGGTGAAAAAGAGGTTCTGTCT
AAGCTGCTGGTATTATCCATTAGATTTTAAAAGAGGTT
```

Código genético

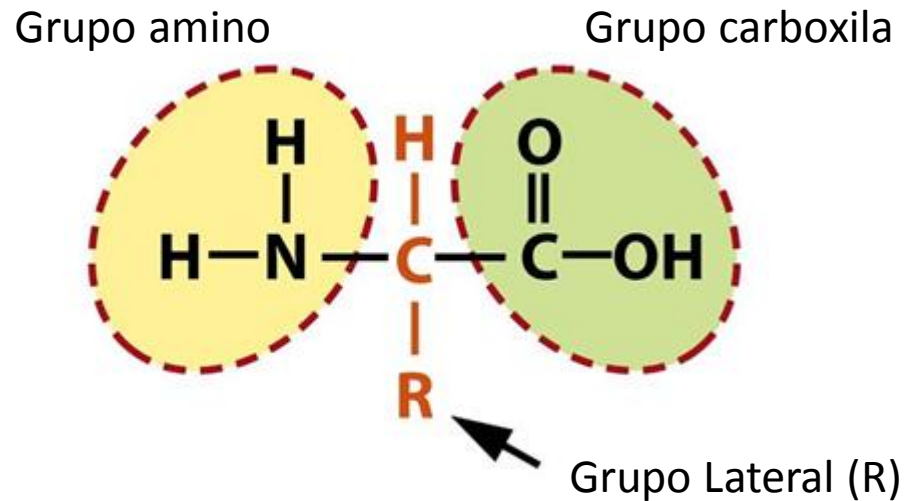
CARACTERÍSTICAS GERAIS DA TRADUÇÃO

- ✓ 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;
- ✓ Cada aminoácido é especificado por três bases (códon) no mRNA – código genético universal.

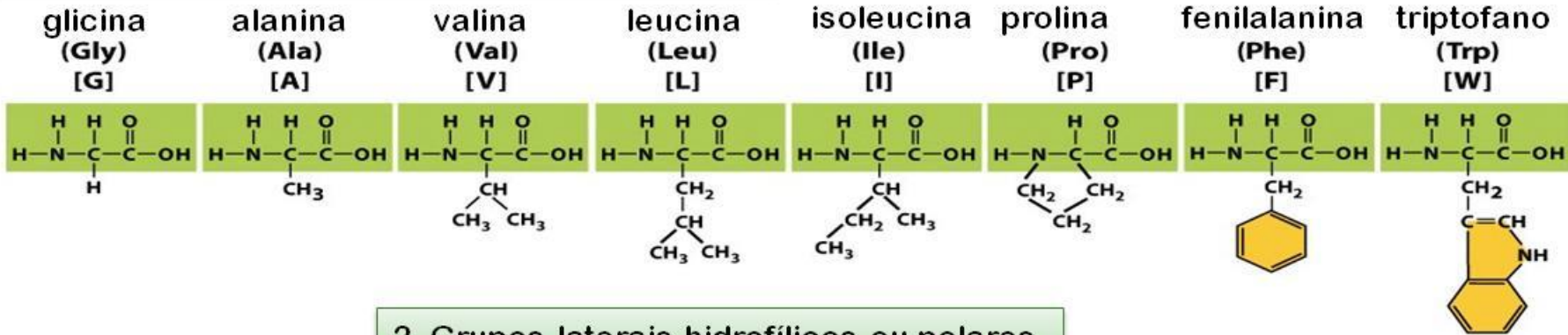
ESTRUTURA DA PROTEÍNA

Aminoácidos (20 tipo):

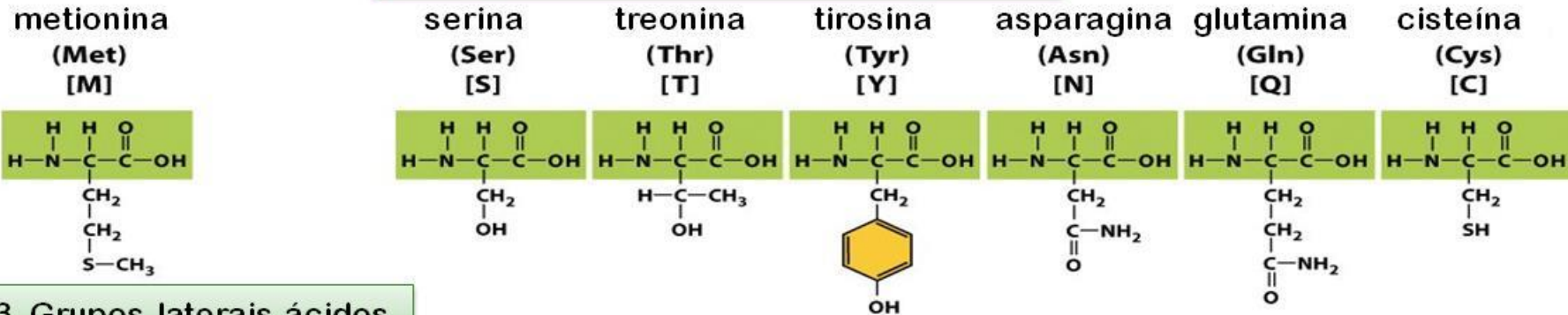
- grupo amino;
- grupo carboxila;
- grupo lateral.



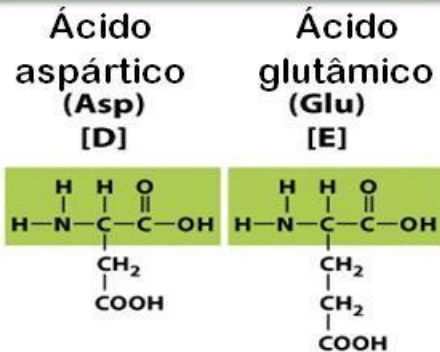
1. Grupos laterais hidrofóbicos ou não polares



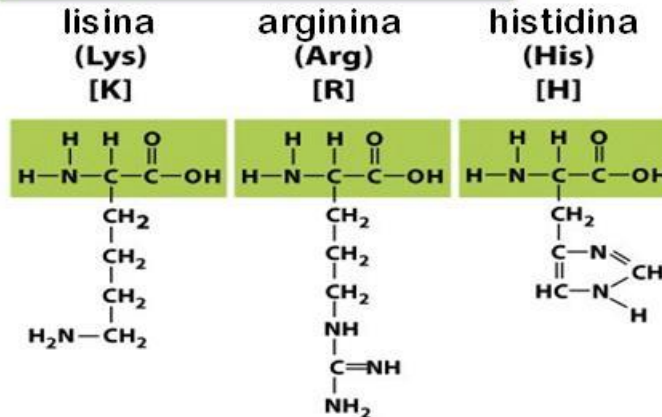
2. Grupos laterais hidrofílicos ou polares



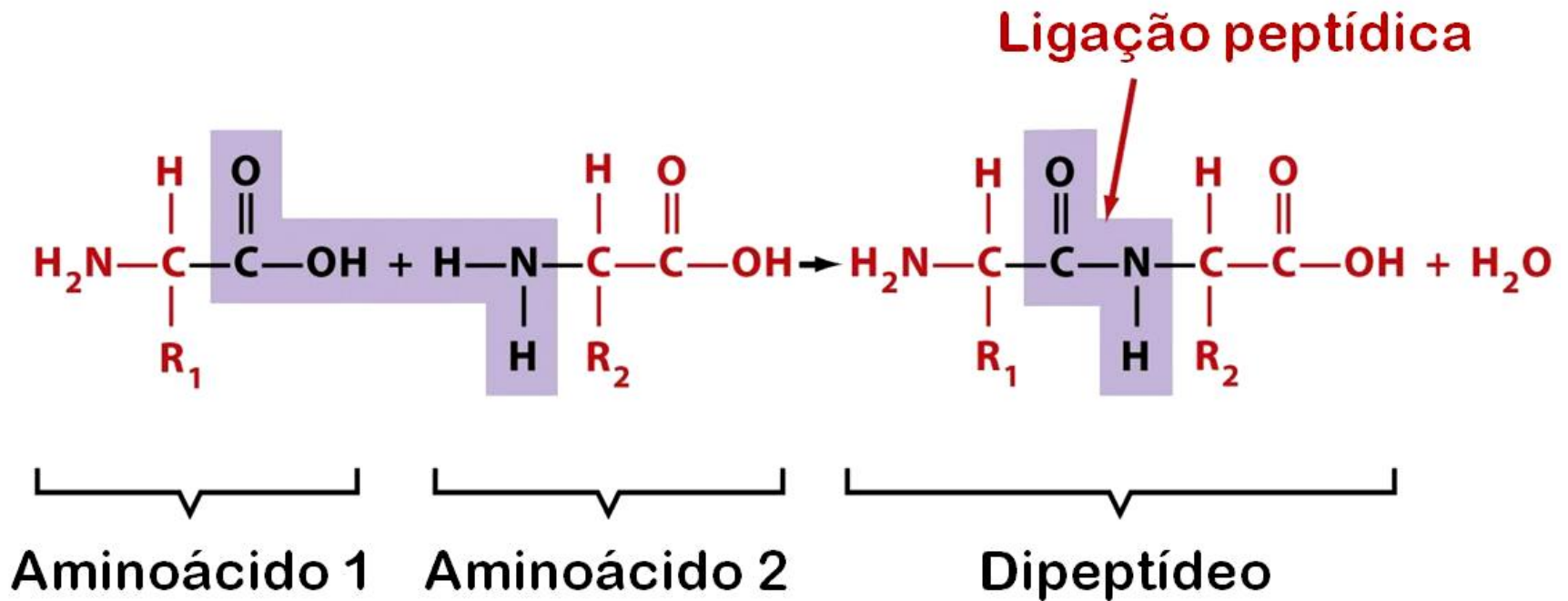
3. Grupos laterais ácidos



4. Grupos laterais básicos

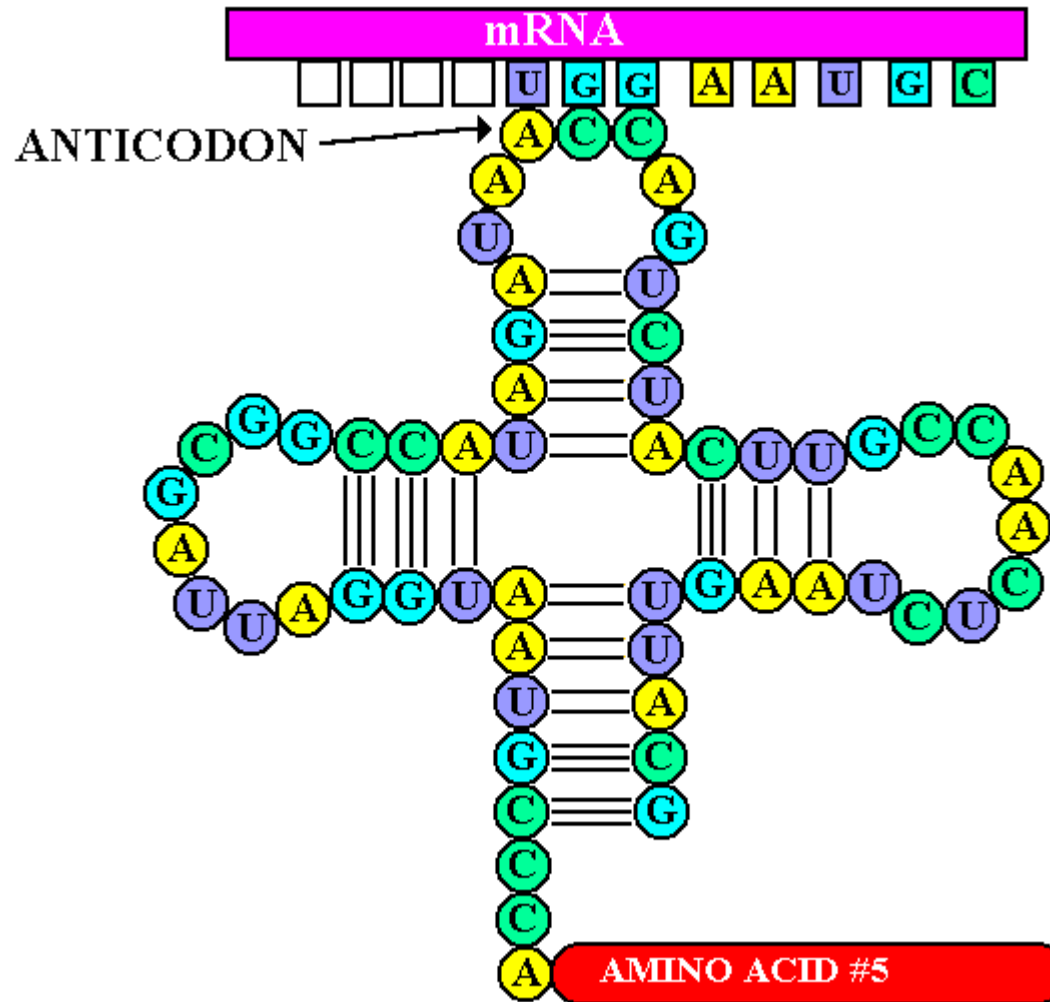


LIGAÇÃO PEPTÍDICA



Proteína - direção d e síntese

CÓDON E ANTICÓDON



GCA	AGA						GGA		AUA	UUA							CCA	AGC													
GCC	AGG						GGC		AUC	UUG							CCC	AGU													
GCG	CGA	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	GGG	CAC	AUU	CUA	AAA					CCG	UCA	ACA													
GCU	CGC	GAU	AAU	UGU	GAG	CAG	GGU	CAU	AUU	CUC	AAG	AUG	UUC	UUU	CCU	UCG	ACG														
	CGU									CUU						UCU	ACU	UGG	UAC	GUA	UAG										
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop											
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	stop											

Figure 7-24 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

**A leitura
correta do
código
genético
pelo
ribossomo é
vital!!!**

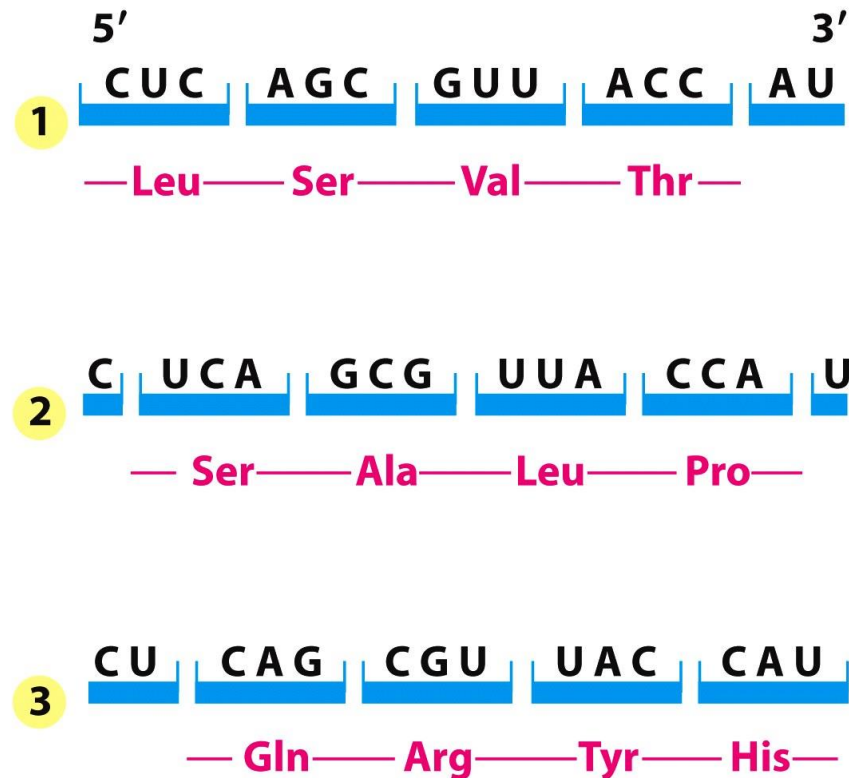


Figure 7-25 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

START CODON E STOP CODON

Início: códon de iniciação da síntese protéica

– AUG –



METIONINA

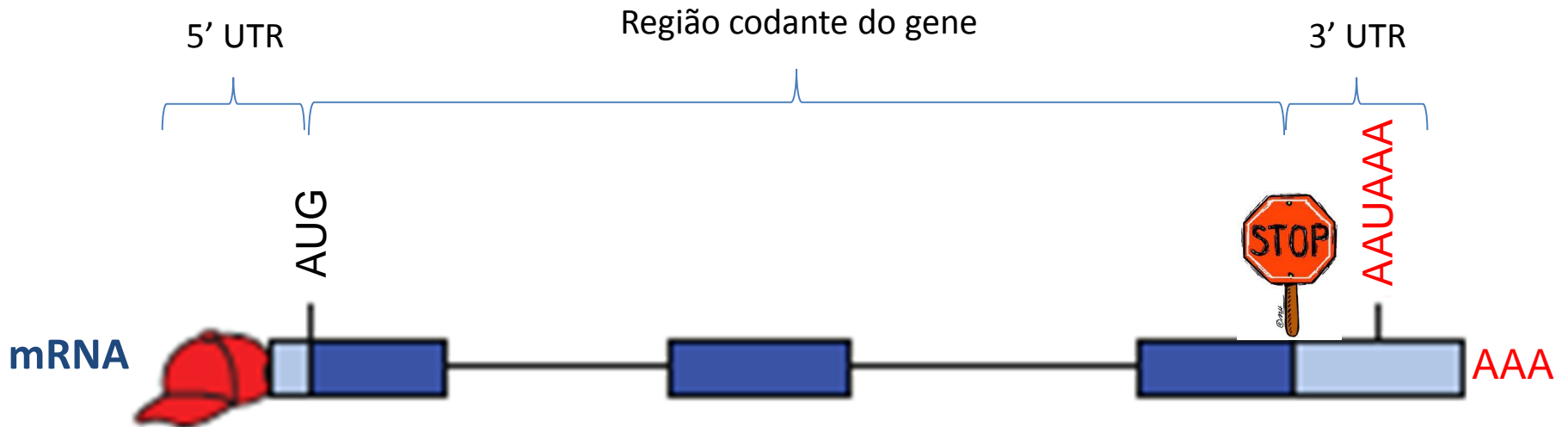
Terminação: três códons terminam a síntese protéica

– UAG – UAA – UGA –



START CODON E STOP CODON

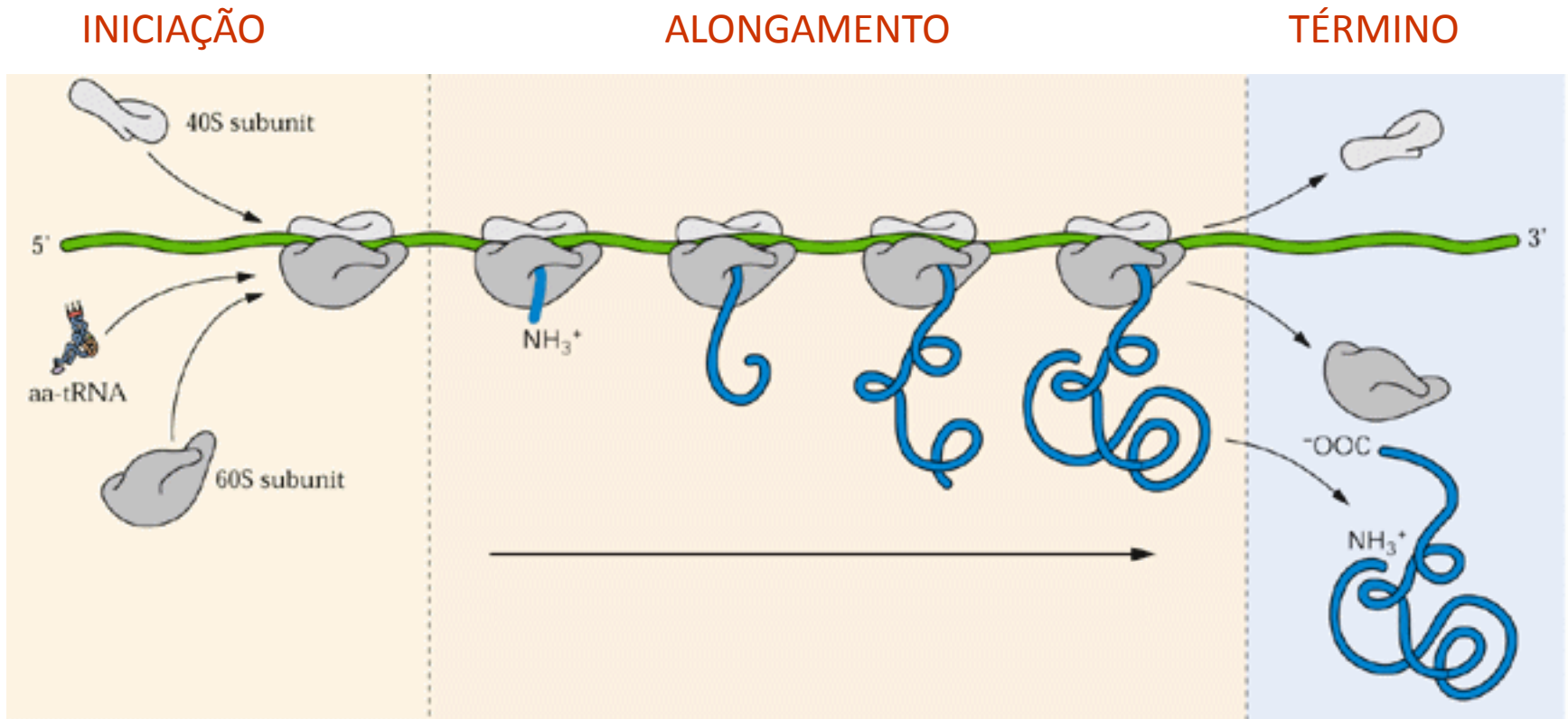
- ❖ Delimitam a região codante (região que é transcrita e traduzida!)



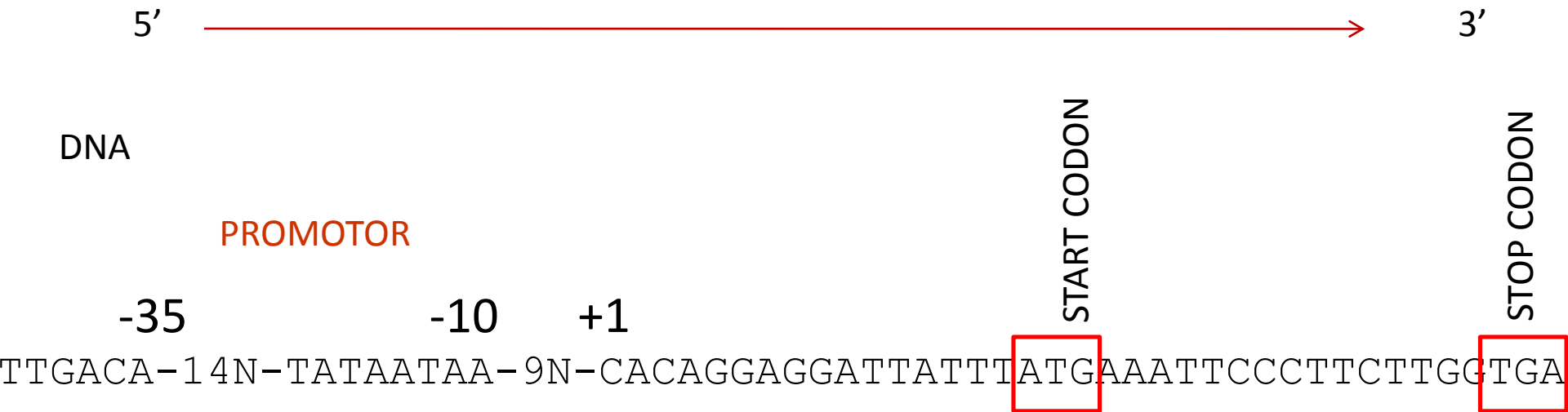
TRADUÇÃO: INÍCIO E FIM

TTCATACTTGGTTAAGACCTTTACAAGCCGACCAACGTGGTGAC
AGTGTCGTCCTTTACGCACCGAATCCCTTTATCATTGAATTAGT
AGAAGAGCGATACTTAGGACGTCTTCGG**ATG**GAATCTTGGTCCC
GTTGCCTGGAACGTCTTGAAACTGAATTCCCGCCAGAAGATGTT
CATACTTGGTTAAGACCTTTACAAGCCGACCAACGTGGTGACAG
TGTCGTCCTTTACGCACCGAATCCCTTTATCATATTGAATTAGT
AGAAGAGCGATACTTAGGACGTCTTCGGGAATTGTTATCCTATT
TCTCAGGAATACGTGAAGTAGTCCTTGCAATTGGCTCACGACCT
AAAACAACAGAACTACCCGTACCAGTAGACACTACAGGACGTTT
GTCTTCAACAGTCCCATTTAACGGAAATCTCGACACACACTATA
ACTT**TGA**TAATTTTGTGAGGGACGAAGCAATCAACTCGCTCGT
GCTGCAGCTTGGCAAGCGGCACAGAAACCGGGAGACCGTACTCA
CAACCCTCTATTGCTCTATGGTGGGACTGGTTTGGGTAAAACCC
ATTTAATGTTTGCTGCAGGTAACGTAATGCGGCAAGTAAACCCA
ACTTATAAAGTAATGTATCTTCGTTTCGGAACAGTTTTTTCAGCGC
CATGATAAGAGCGTACAAGATAAAAAGTATGGATCATAAGGGTAA

TRADUÇÃO



DOBRAMENTO DE PROTEÍNAS



mRNA

CACAGGAGGAUUAUCCAUUGAAAUUUCCUUCUUGGUGA

Detailed description: The mRNA sequence is CACAGGAGGAUUAUCCAUUGAAAUUUCCUUCUUGGUGA. Red boxes highlight the start codon 'AUG' and the stop codon 'UGA'.

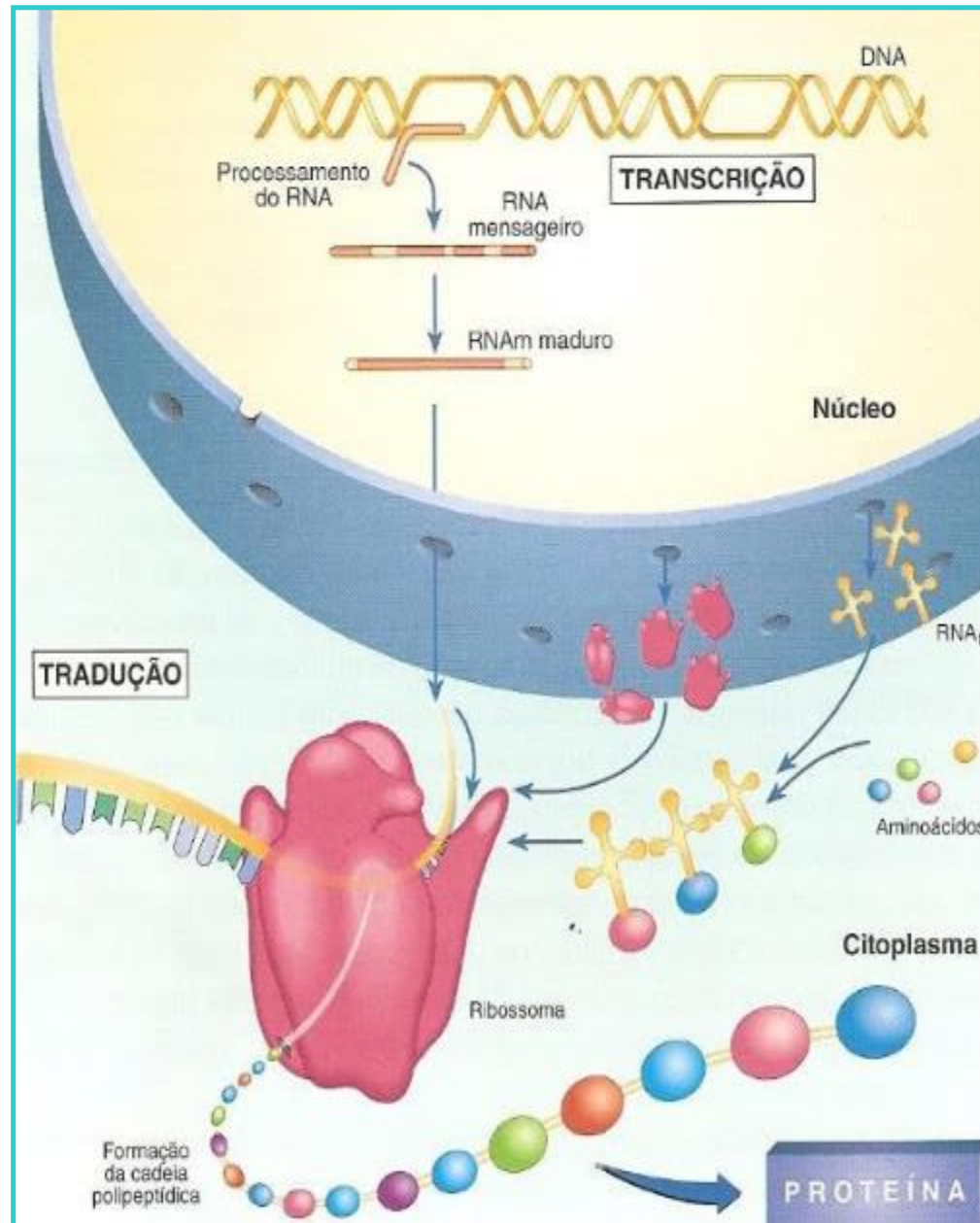
PROTEINA

MET LYS PHE PRO SER TRY



TRADUÇÃO EM PROCARIOTOS

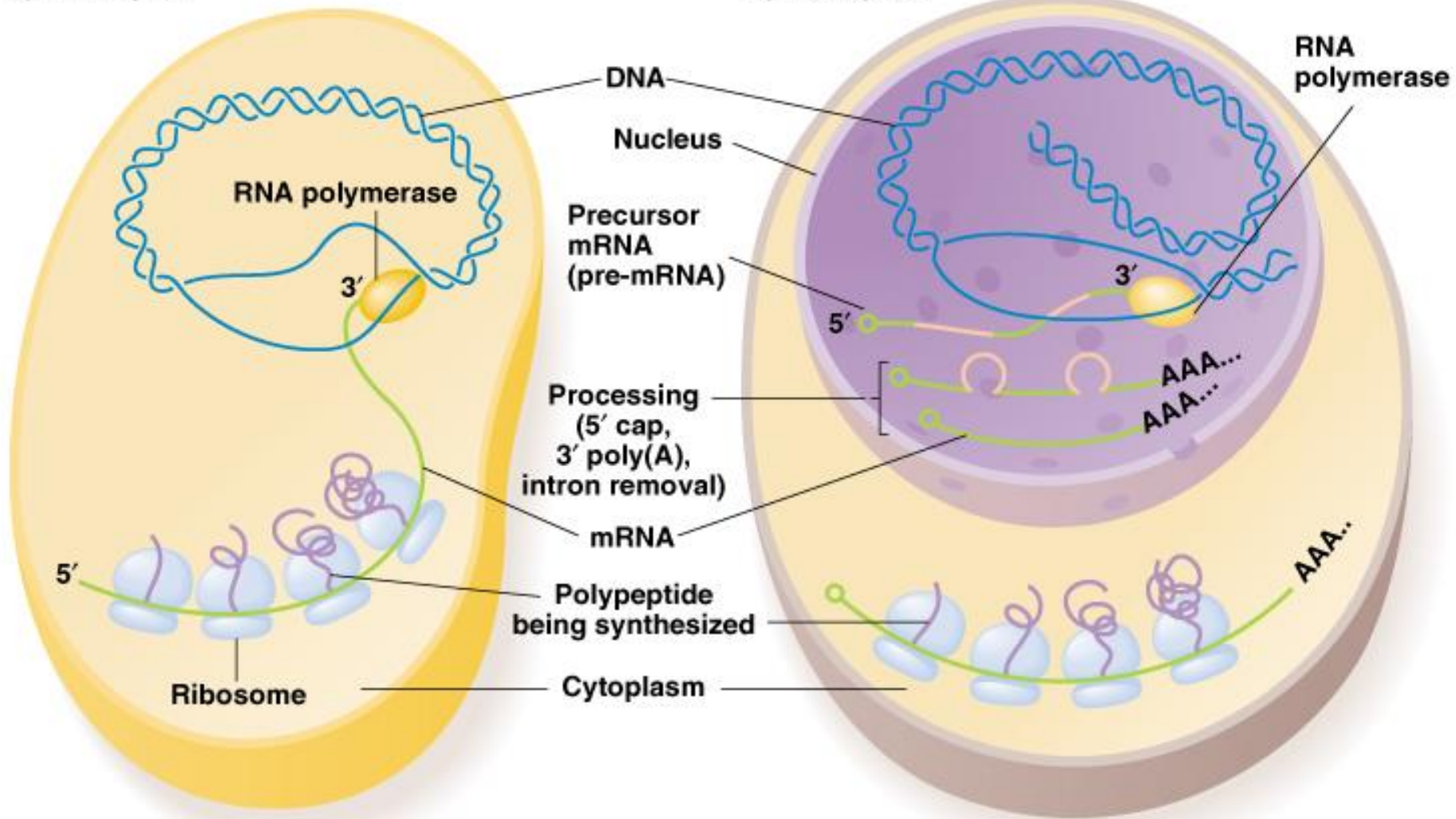
TRADUÇÃO EM EUCARIOTOS



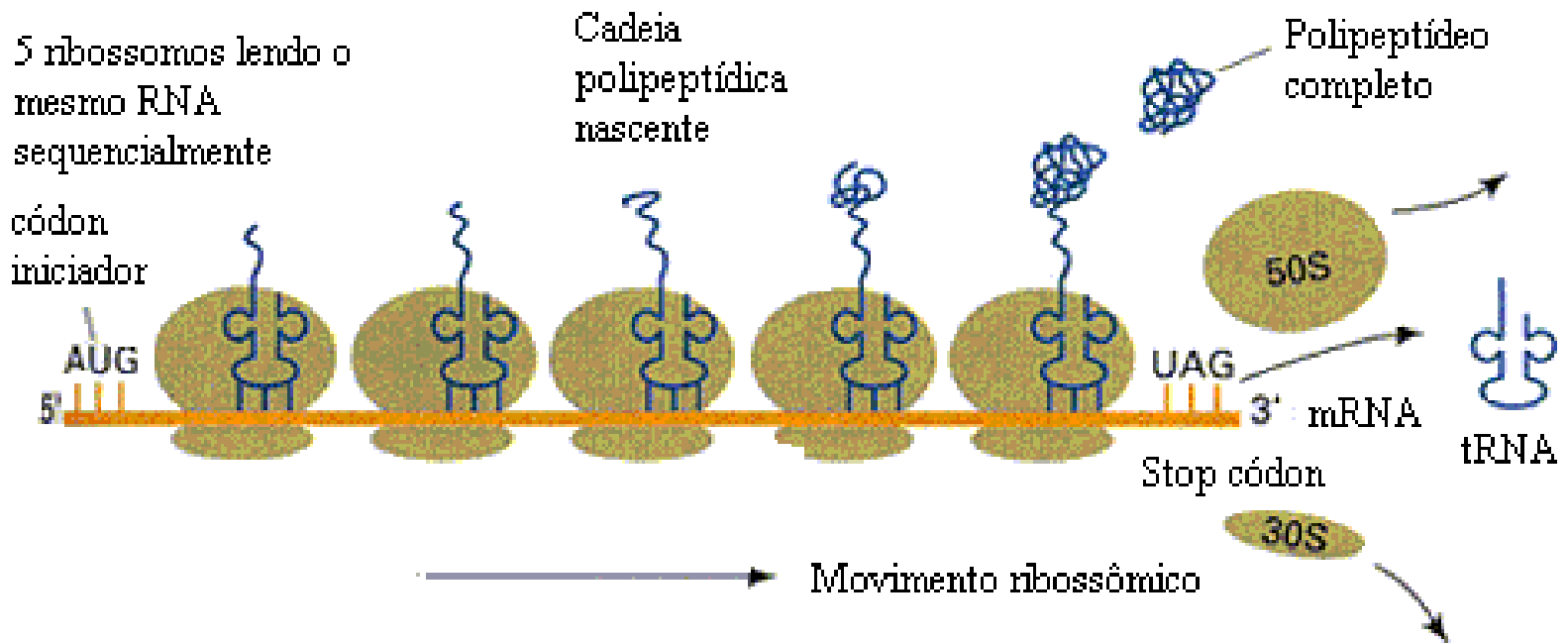
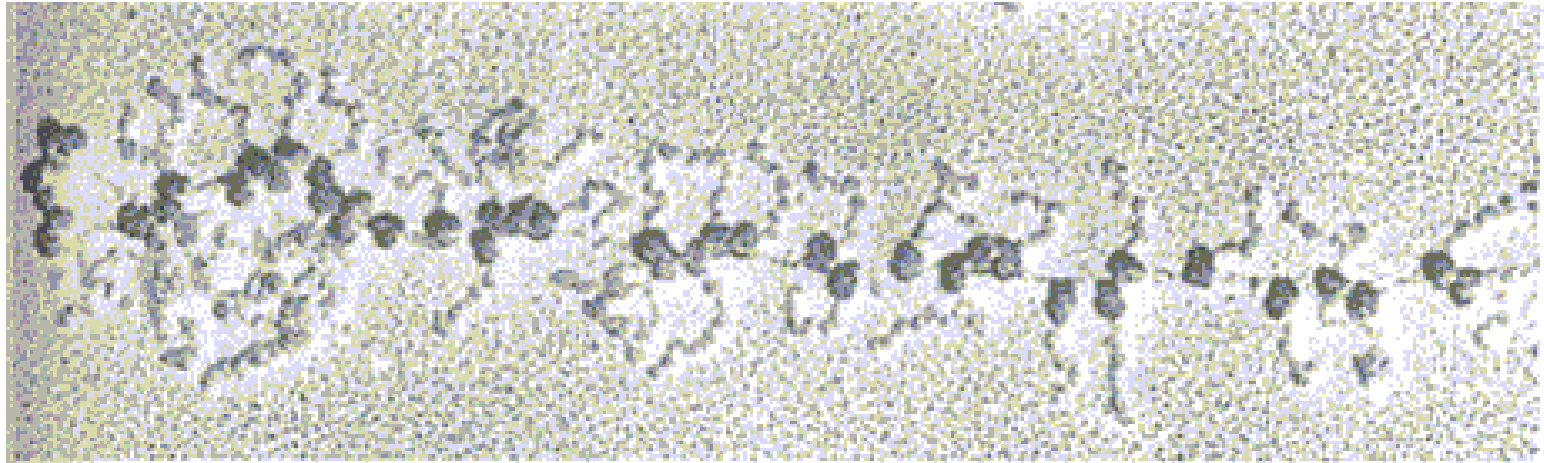
VISÃO GERAL

a) Prokaryote

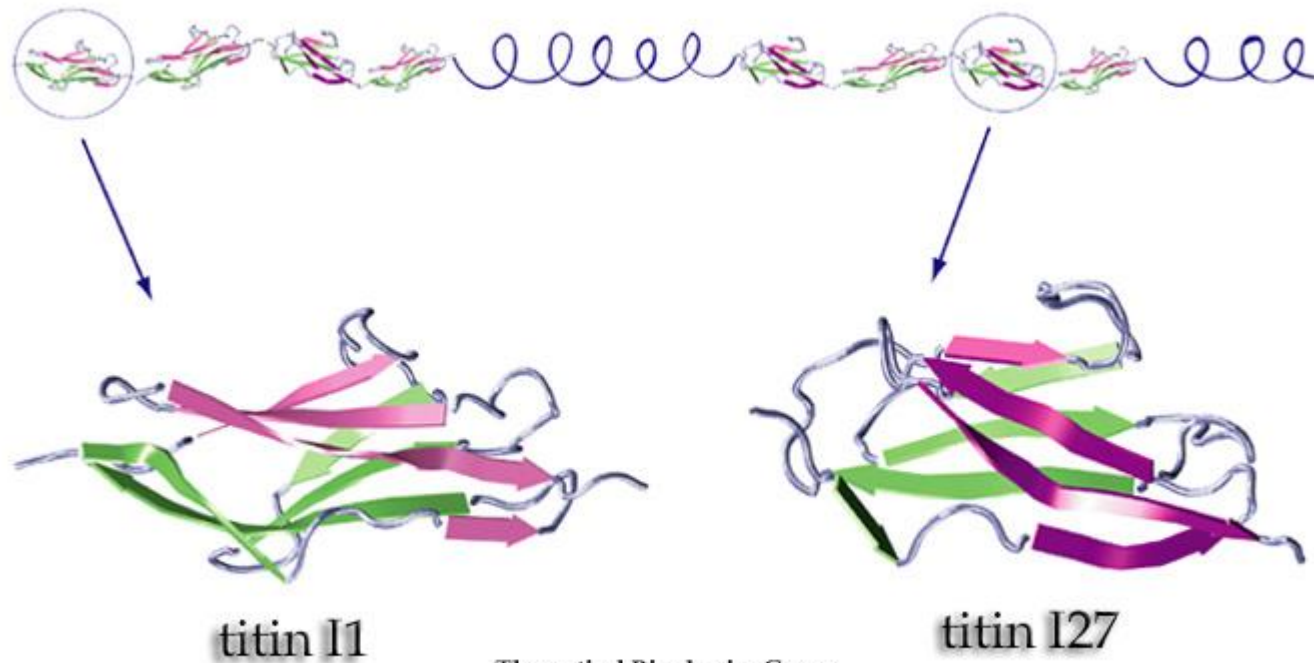
b) Eukaryote



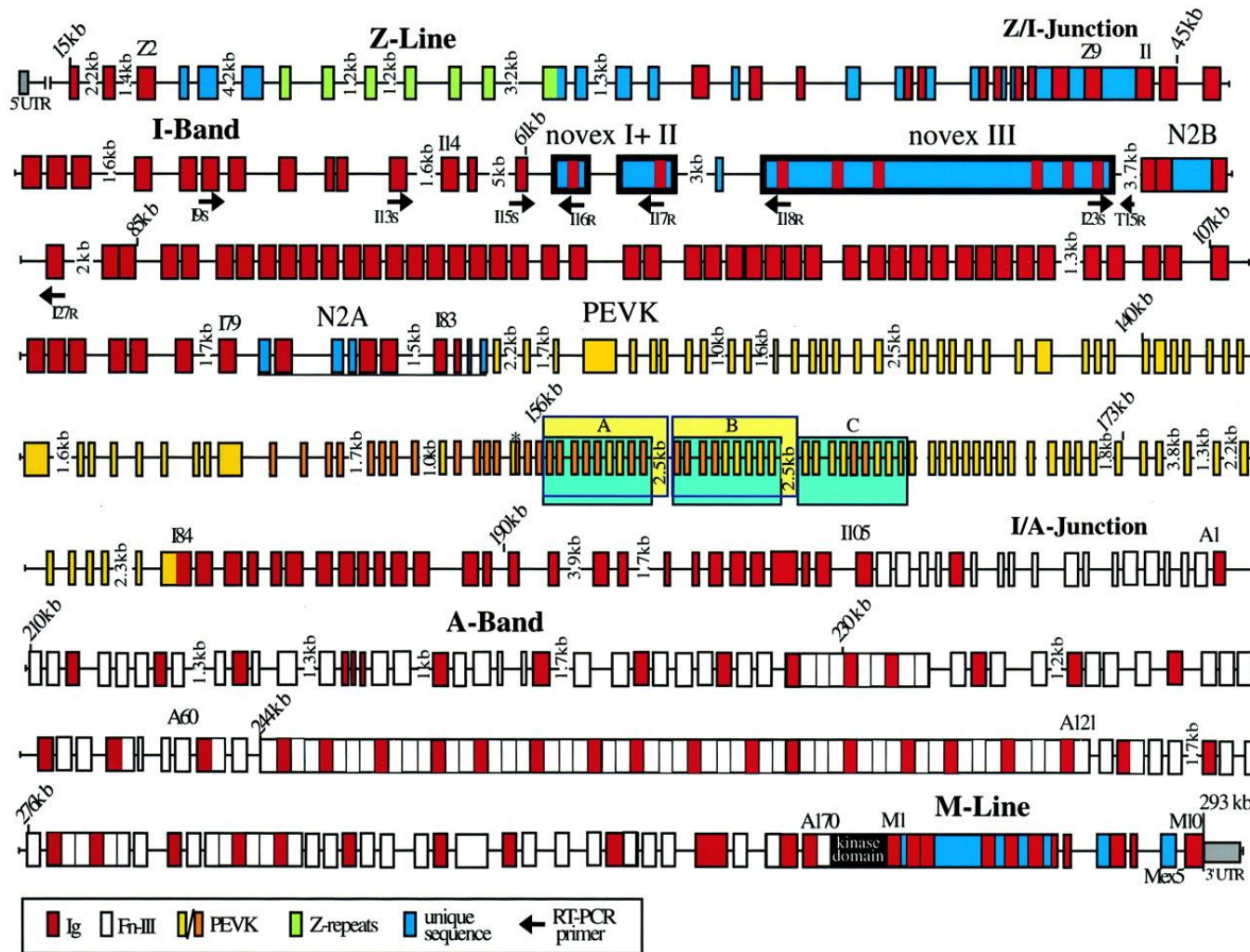
Animação: <http://www.youtube.com/watch?v=983lhh20rGY&feature=related>



A proteína gigante do músculo titin contém 38 138 resíduos de aminoácidos (contém 363 exons) que tem um papel importante na contração e elasticidade dos músculos.

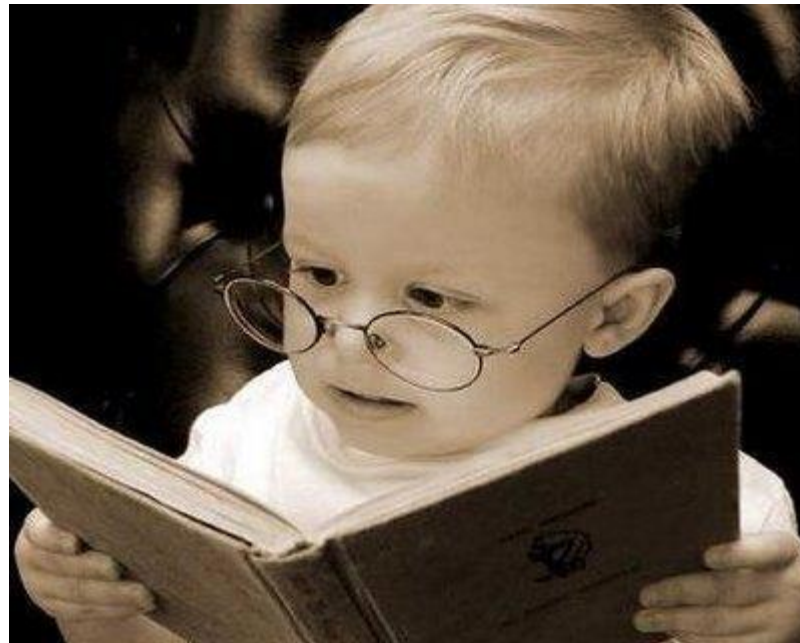


Estrutura de exon-intron do gene titin (293 kb)

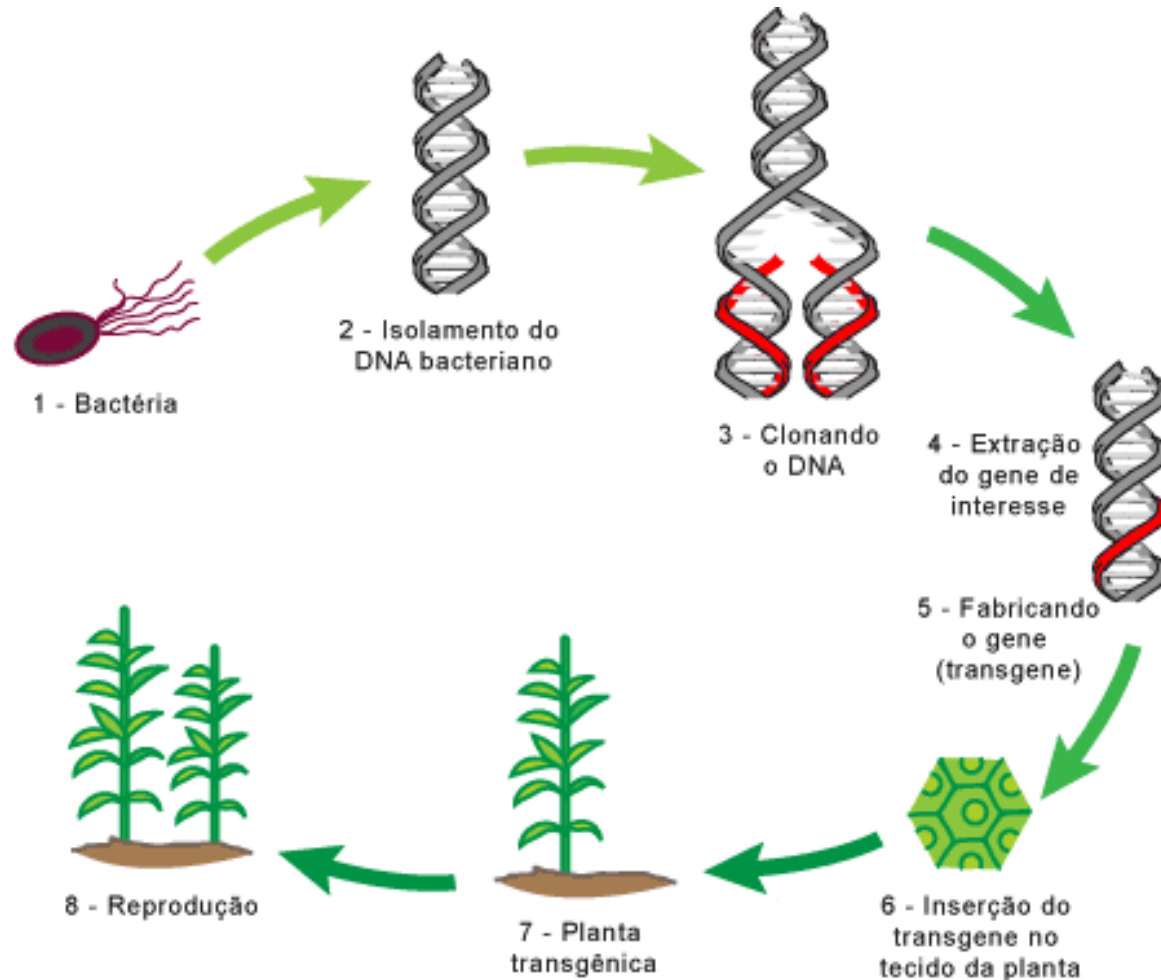


Bang, M.-L. et al. Circ Res 2001;89:1065-1072

APLICANDO O CONHECIMENTO..



OBTENÇÃO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS



CONSTRUÇÃO PRESENTE NA SOJA RR[®]

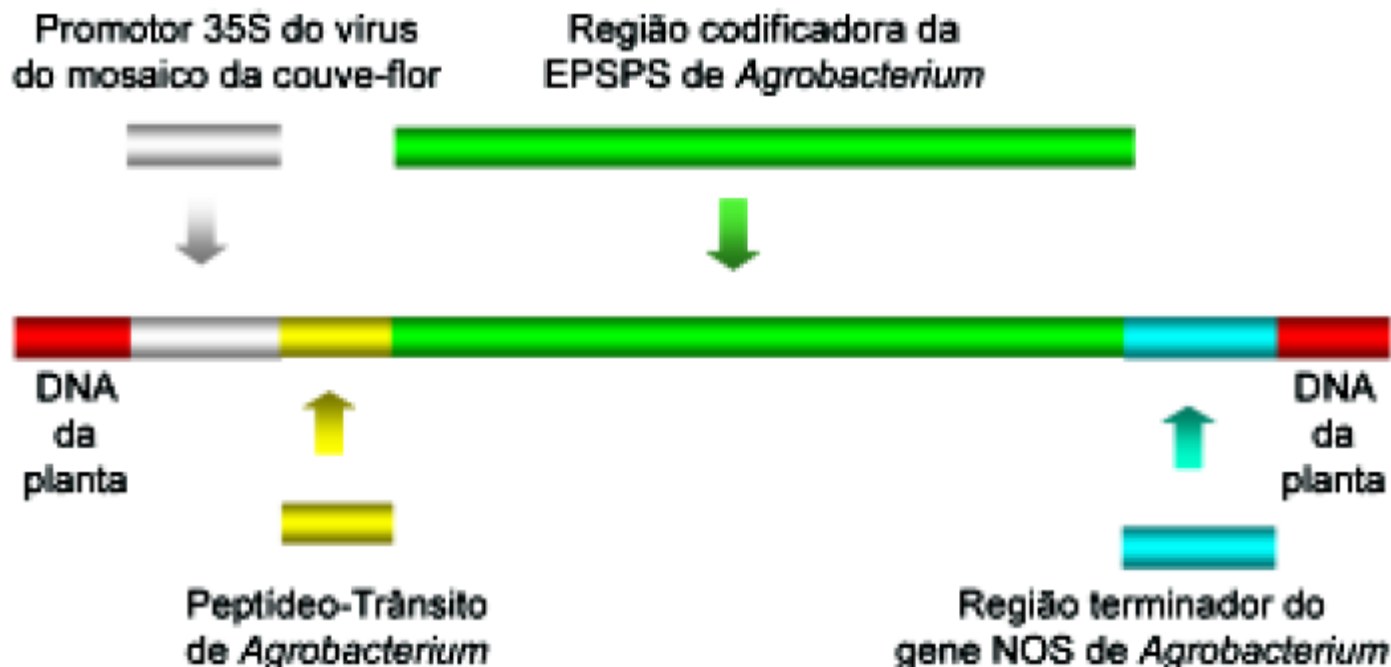


Figura 1 - Representação da construção presente na soja RR[®] (*Roundup Ready*). Região promotora 35S do vírus do mosaico da couve flor, peptídeo de trânsito de Petúnia, gene que codifica a proteína EPSPS, que confere a resistência ao herbicida, e o terminador do gene da nopalina sintase (NOS).

VISUALIZANDO O PROCESSO...

<http://www.youtube.com/watch?v=983lhh20rGY&feature=related>

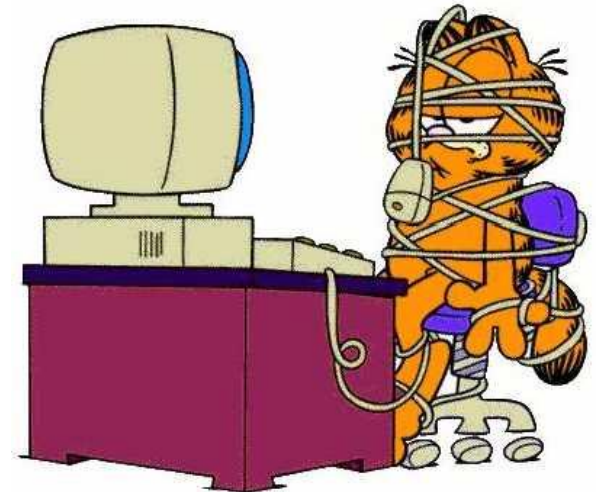
http://www.youtube.com/watch?v=-ygpqVr7_xs&feature=related

<http://qnint.s bq.org.br/qni/visualizarTema.php?idTema=33>

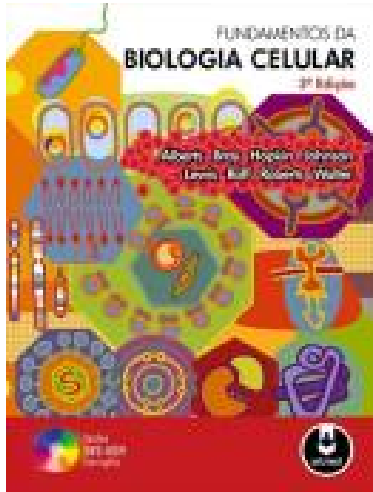
<http://www.odnavaiaescola.com.br/dna/19/bio.htm>

<http://www.youtube.com/watch?v=teV62zrm2P0>

<http://www.youtube.com/watch?v=4PKjF7OumYo>



LEITURA RECOMENDADA



FUNDAMENTOS DA BIOLOGIA CELULAR

Formato: Livro

Autor: ALBERTS, BRUCE

Idioma: PORTUGUES

Editora: ARTMED -

Assunto: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - BIOLOGIA

Capítulos: 5, 6 e 7 – Estará no Xerox do Calq e no Stoa!

ESTUDO DIRIGIDO

1. Diferenças fundamentais entre DNA e RNA;
2. Estrutura e função do DNA;
3. Principais características da dupla hélice do DNA;
4. Principais tipos e funções dos RNAs;
5. Definição de gene;
6. Diferença na estrutura dos genes de eucariotos e procariotos;
7. Região promotora e sua importância para a transcrição em eucariotos e procariotos;
8. Região codante: start codon e stop codon.
9. Processo de tradução

Dogma Central da Biologia
Celular - Mapa conceitual

