

LGN0232 - Genética Molecular

Dogma Central da Biologia

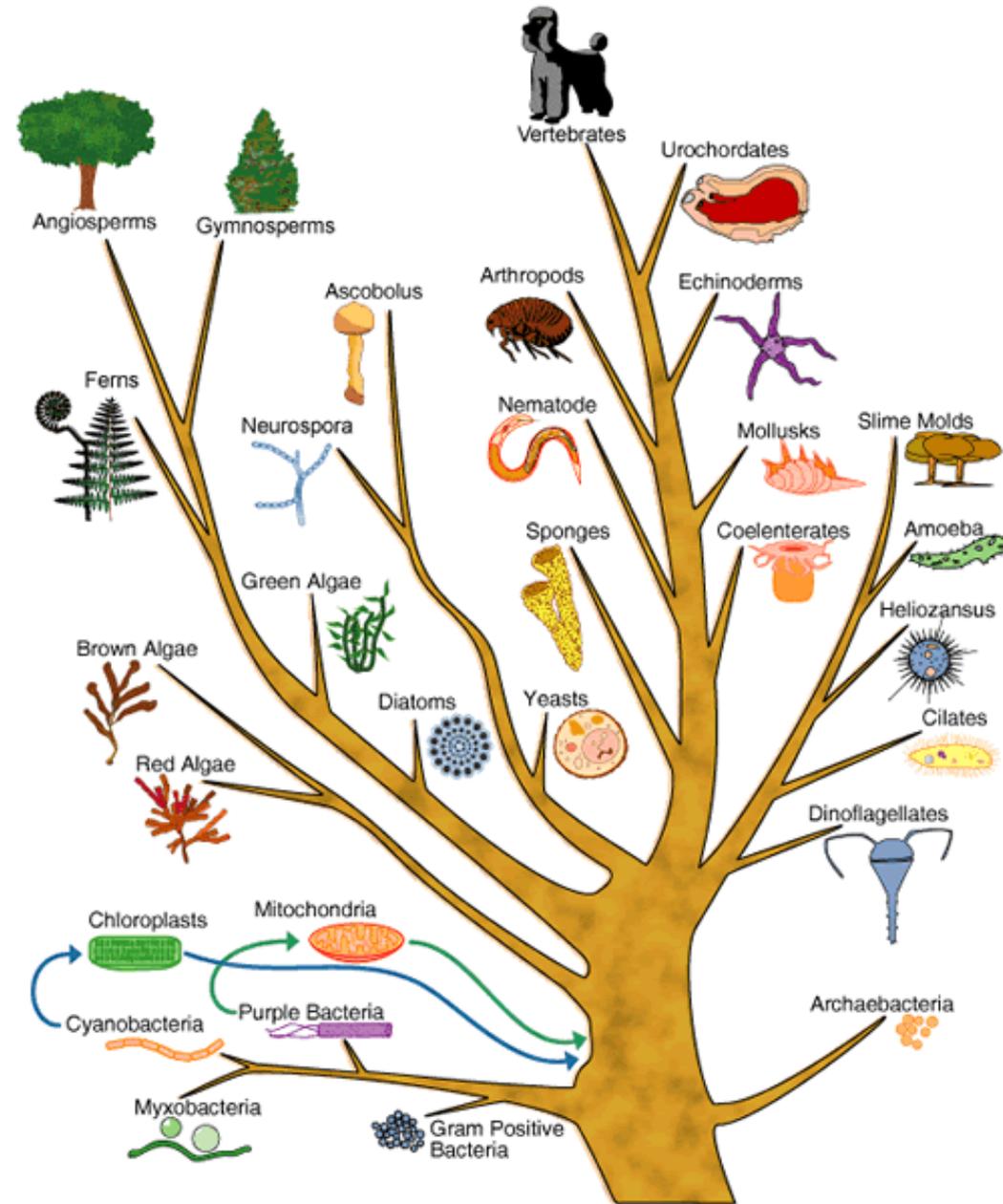
Antonio Figueira

CENA

figueira@cena.usp.br

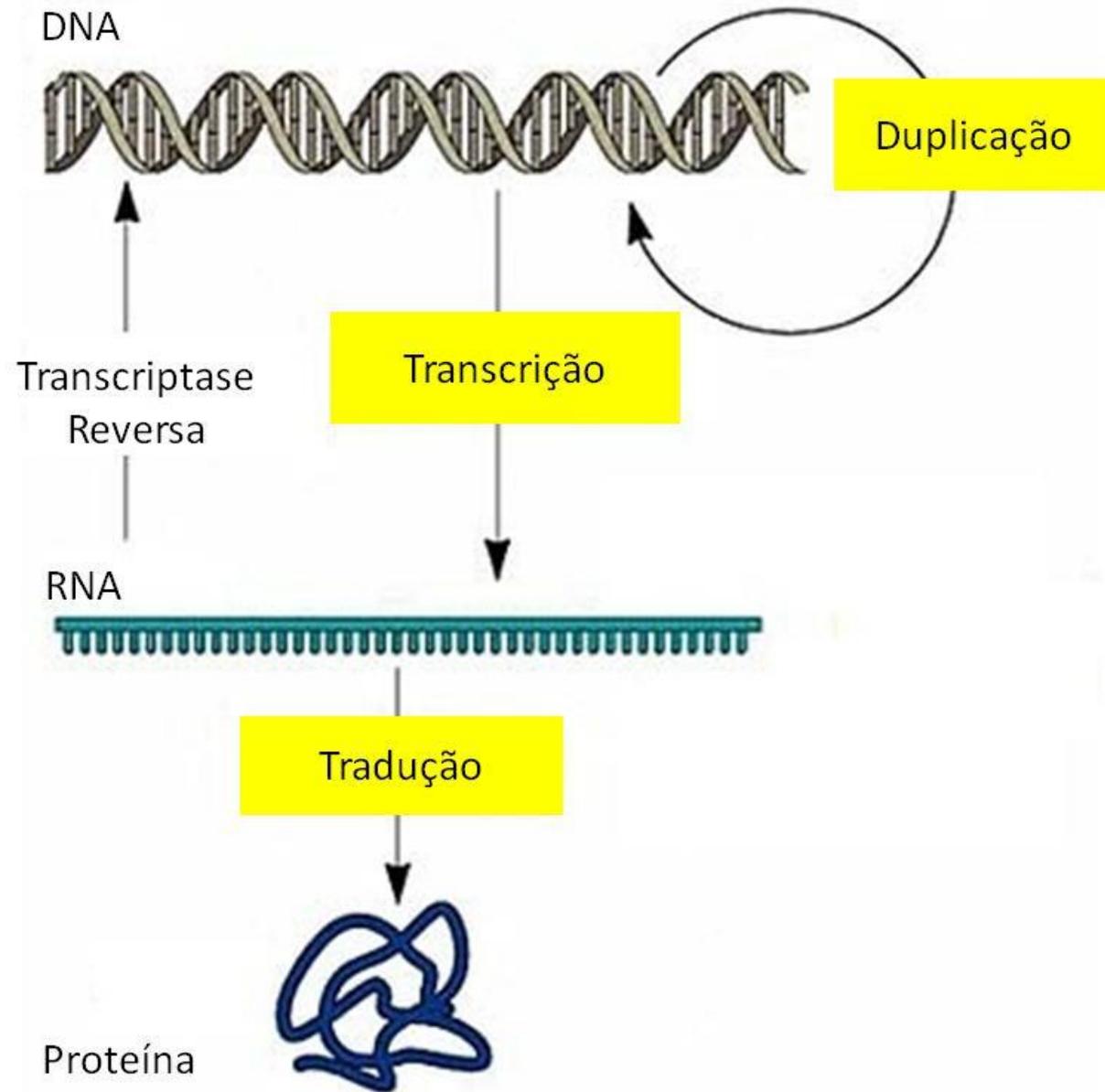
**Qual evidência vocês usariam
para estabelecer a origem
comum da vida?**

Todas as espécies vieram de um ancestral comum

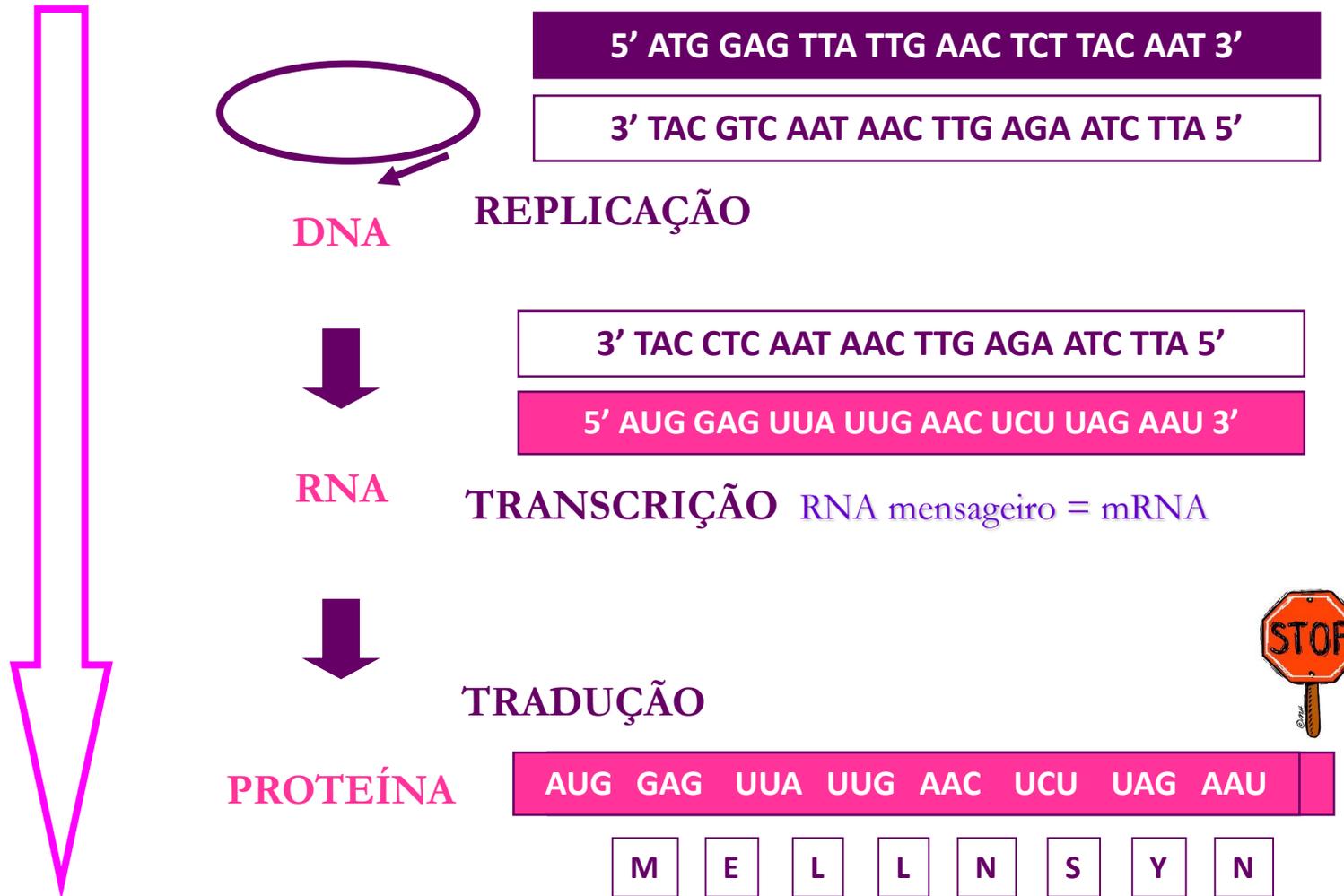


Tree of Life Project
<http://tolweb.org/tree/>

Todos organismos dividem a mesma maquinaria genética



Fluxo da Informação Genética funciona do mesmo modo



Mas não é tão simples...

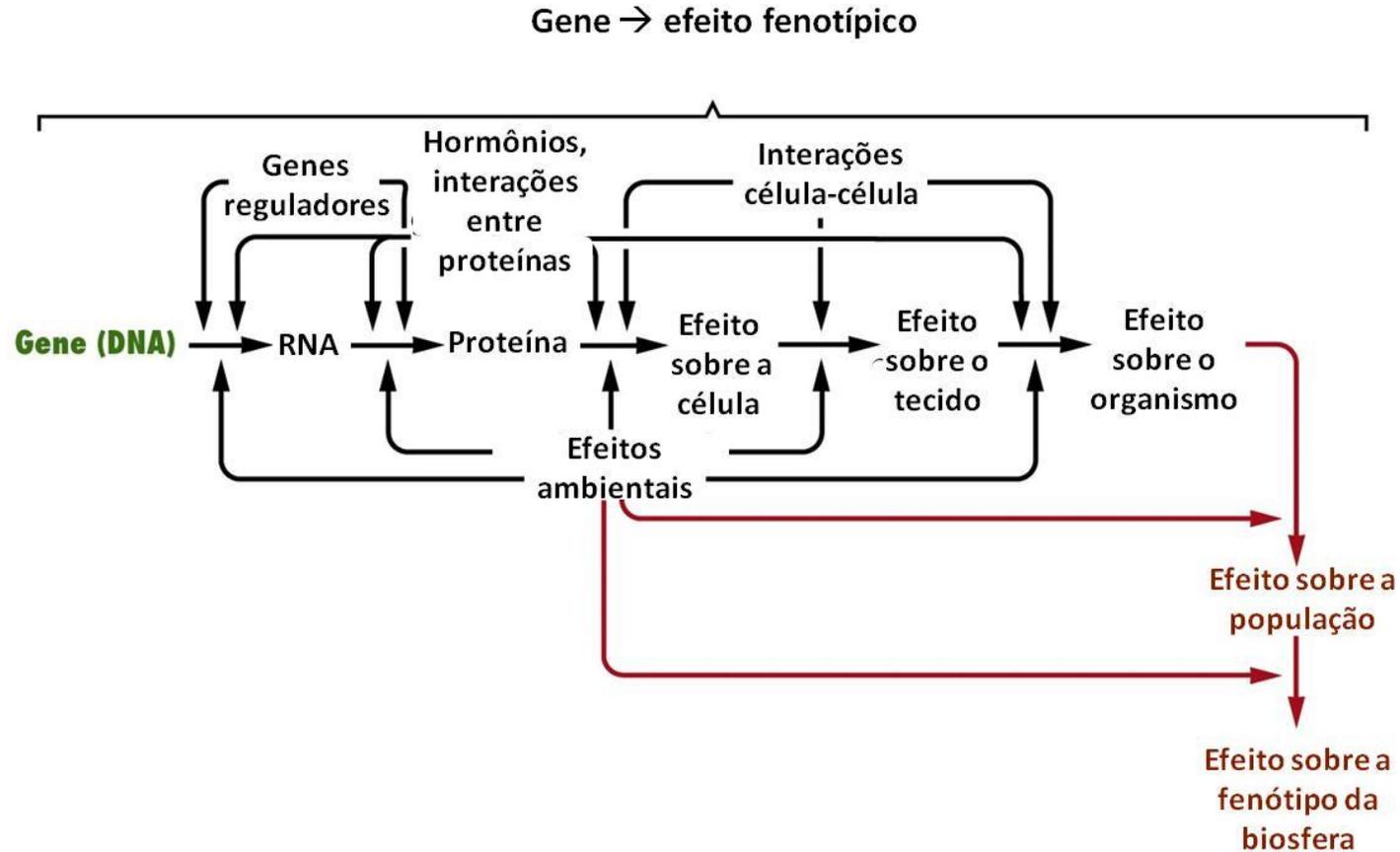
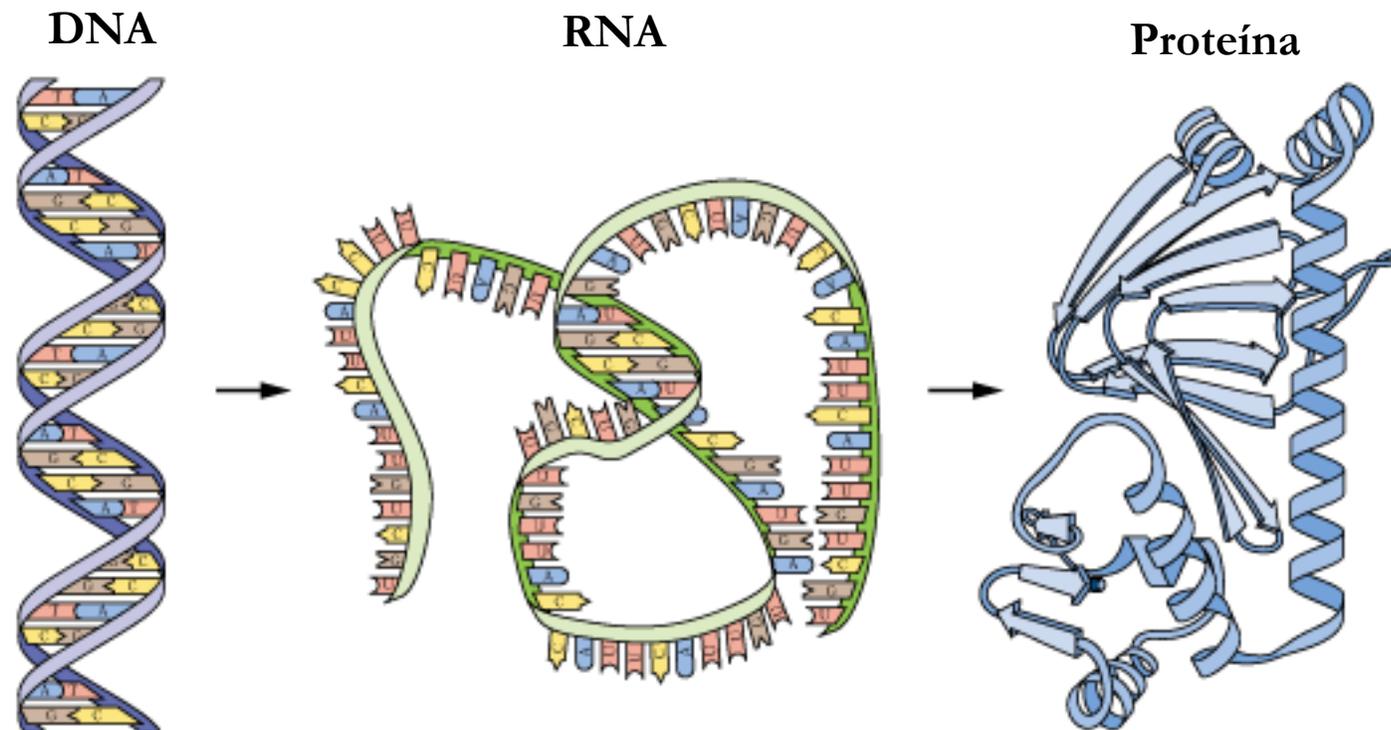


Figure 14-2 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

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

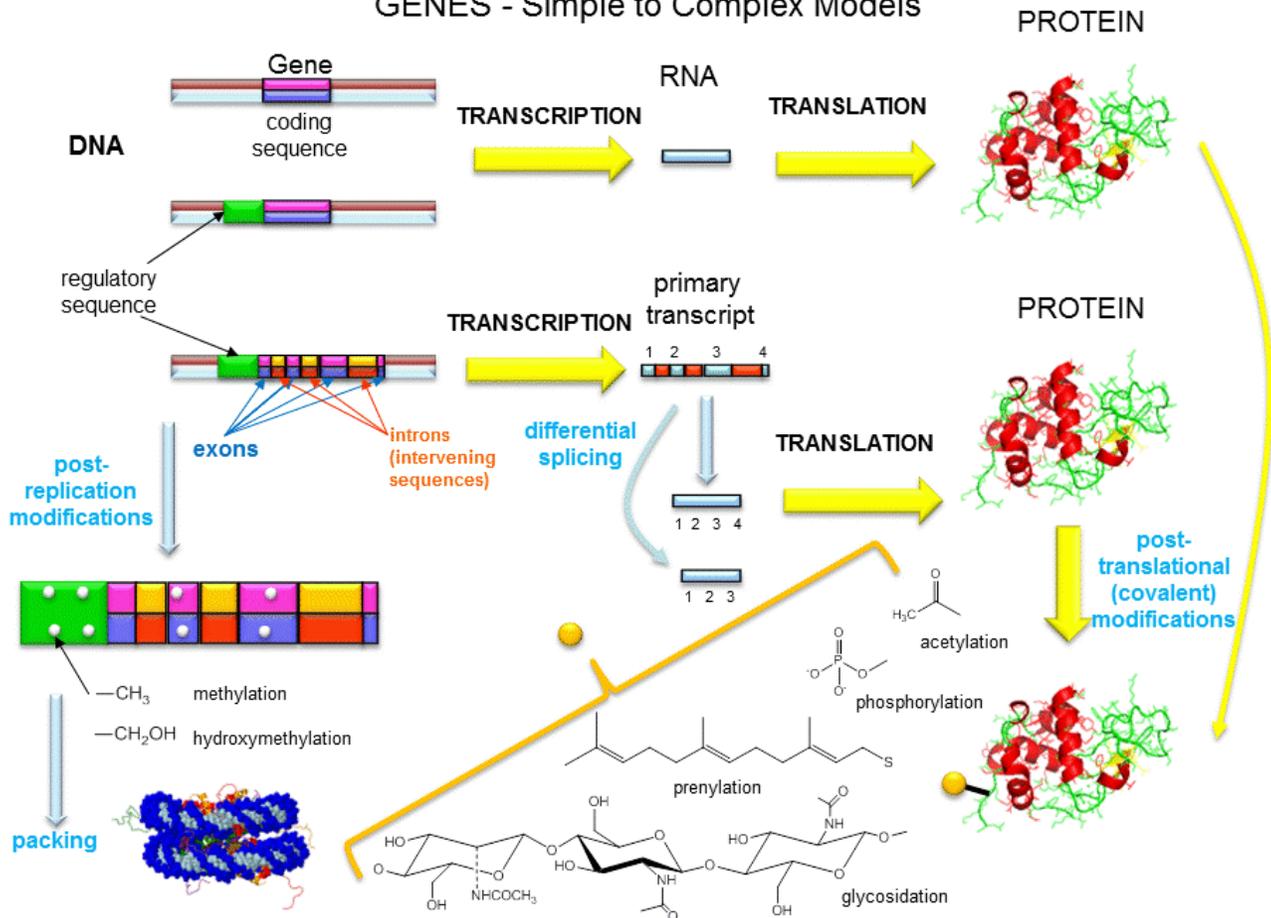
Dogma Central da Biologia

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

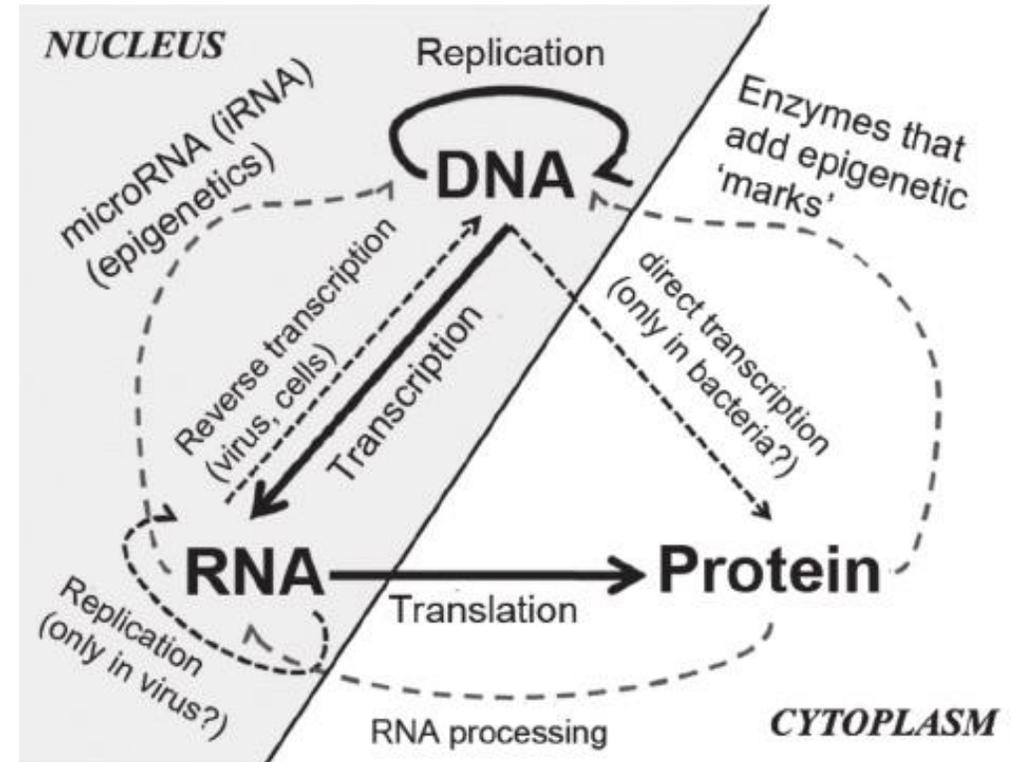


Novas visões do Dogma Central da Biologia

AN EXPANDED CENTRAL DOGMA OF BIOLOGY:
GENES - Simple to Complex Models



[link](#)

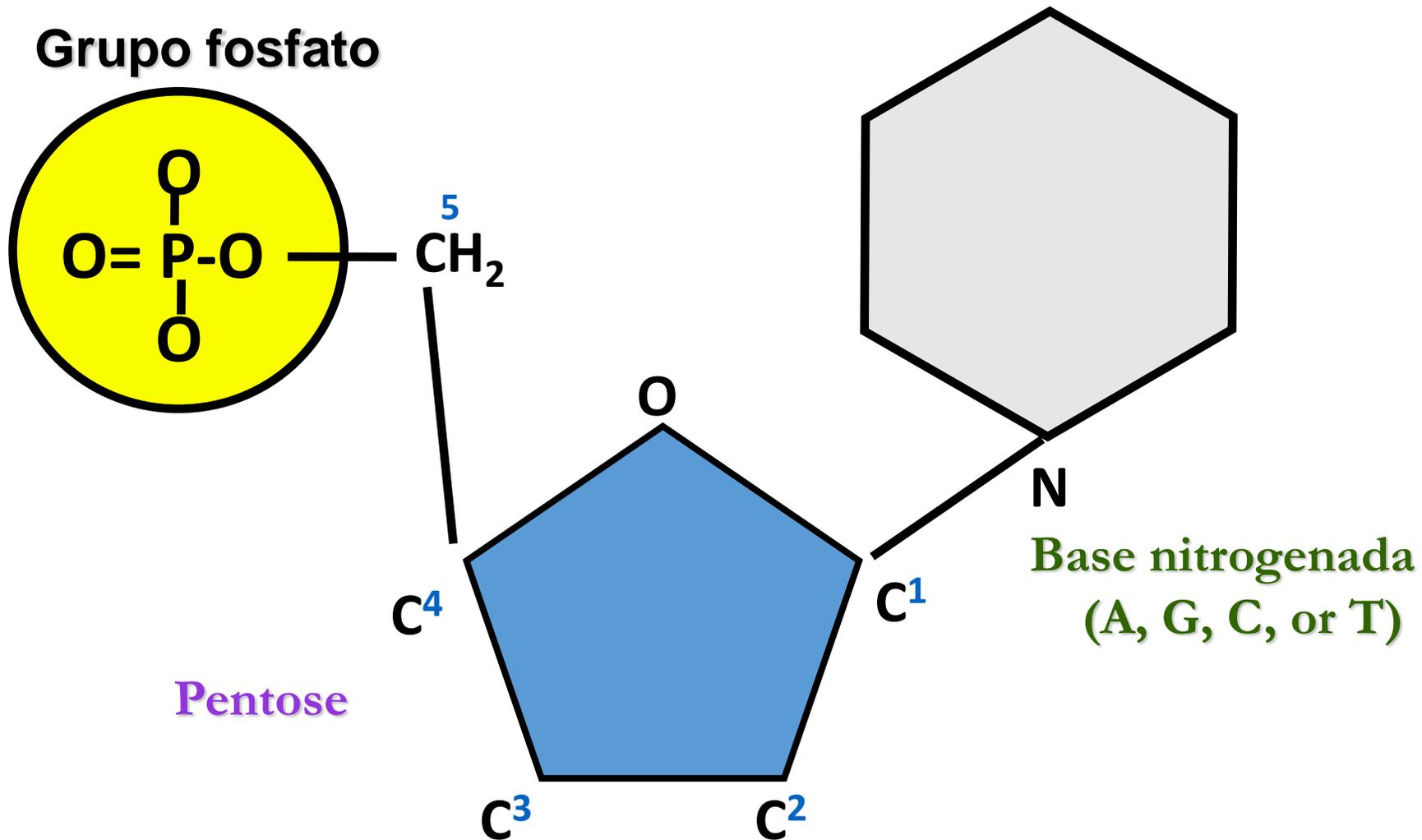


Ácidos Nucleicos

- **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, lncRNA, etc.**

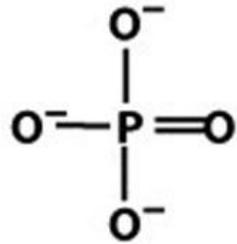
Ácidos Nucleicos

São polímeros de nucleotídeos



Componentes dos Nucleotídeos

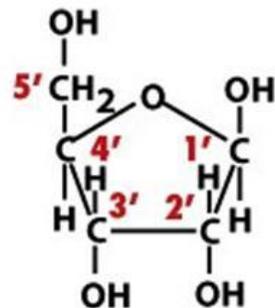
(1)
Um
grupamento
fosfato:



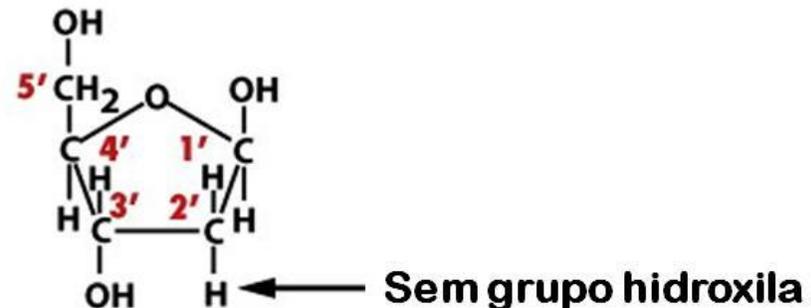
Carbono-5'

(2)
pentoses
(açúcares
de 5
carbonos)

(a) RNA:
Ribose



(b) DNA:
2-Desoxirribose

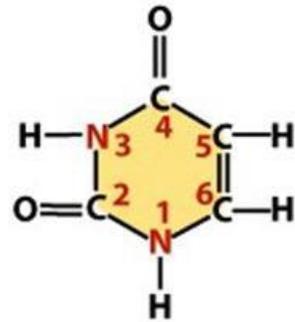


Carbono-2'

Componentes dos Nucleotídeos

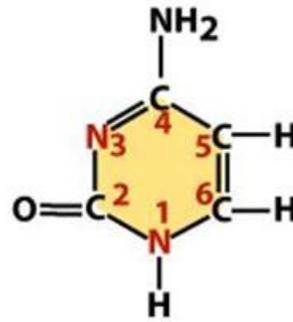
(3)
Uma base
cíclica
contendo
Nitrogênio

(a) RNA

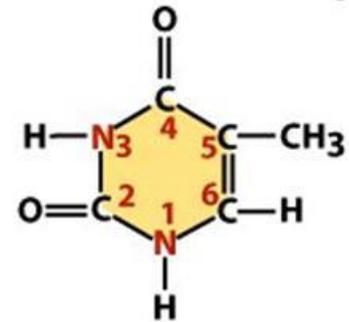


Uracila

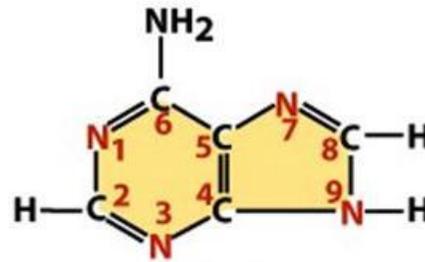
(b) DNA e RNA (c) DNA



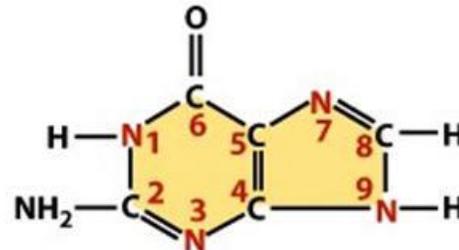
Citosina



Timina



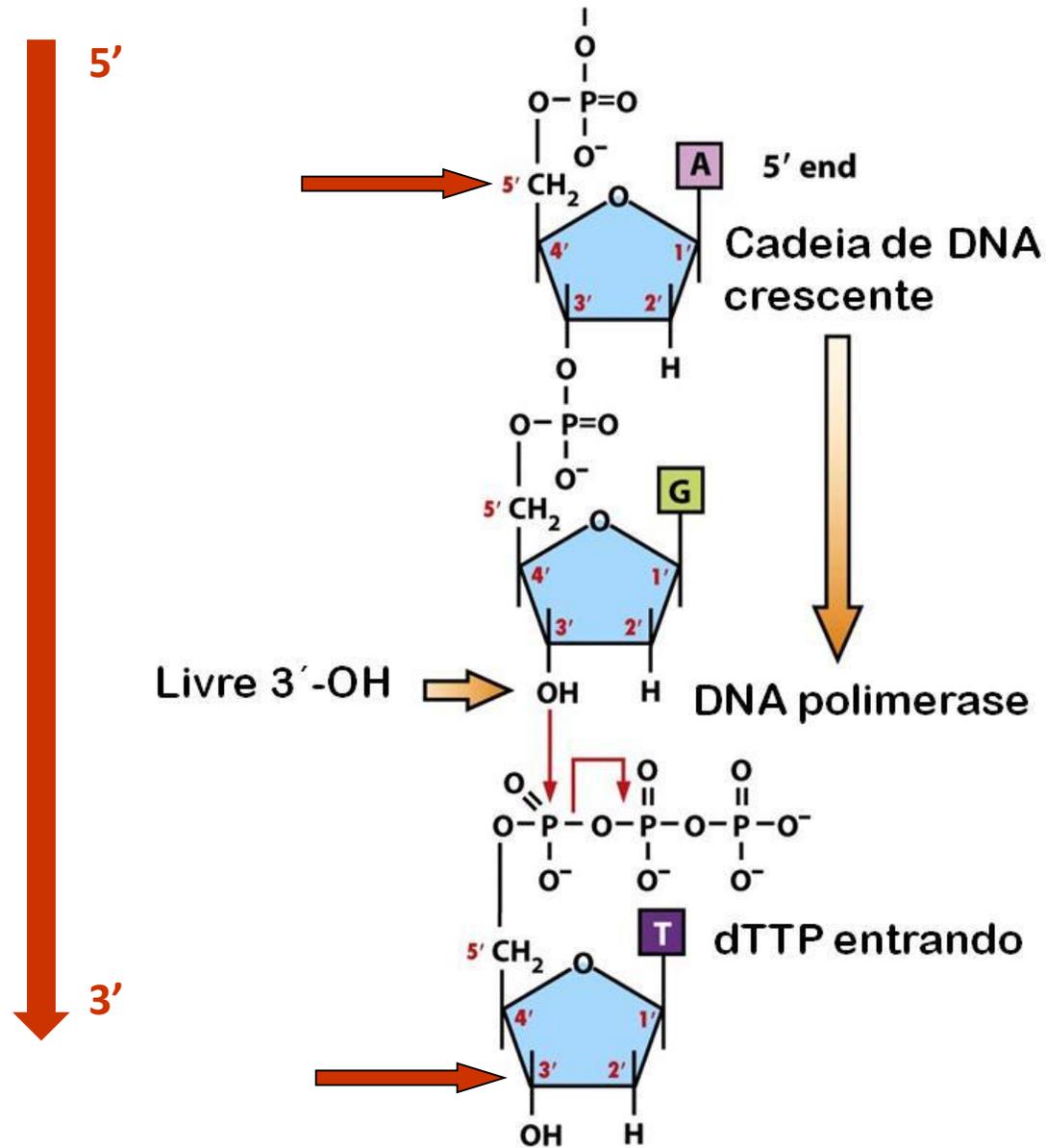
Adenina



Guanina

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

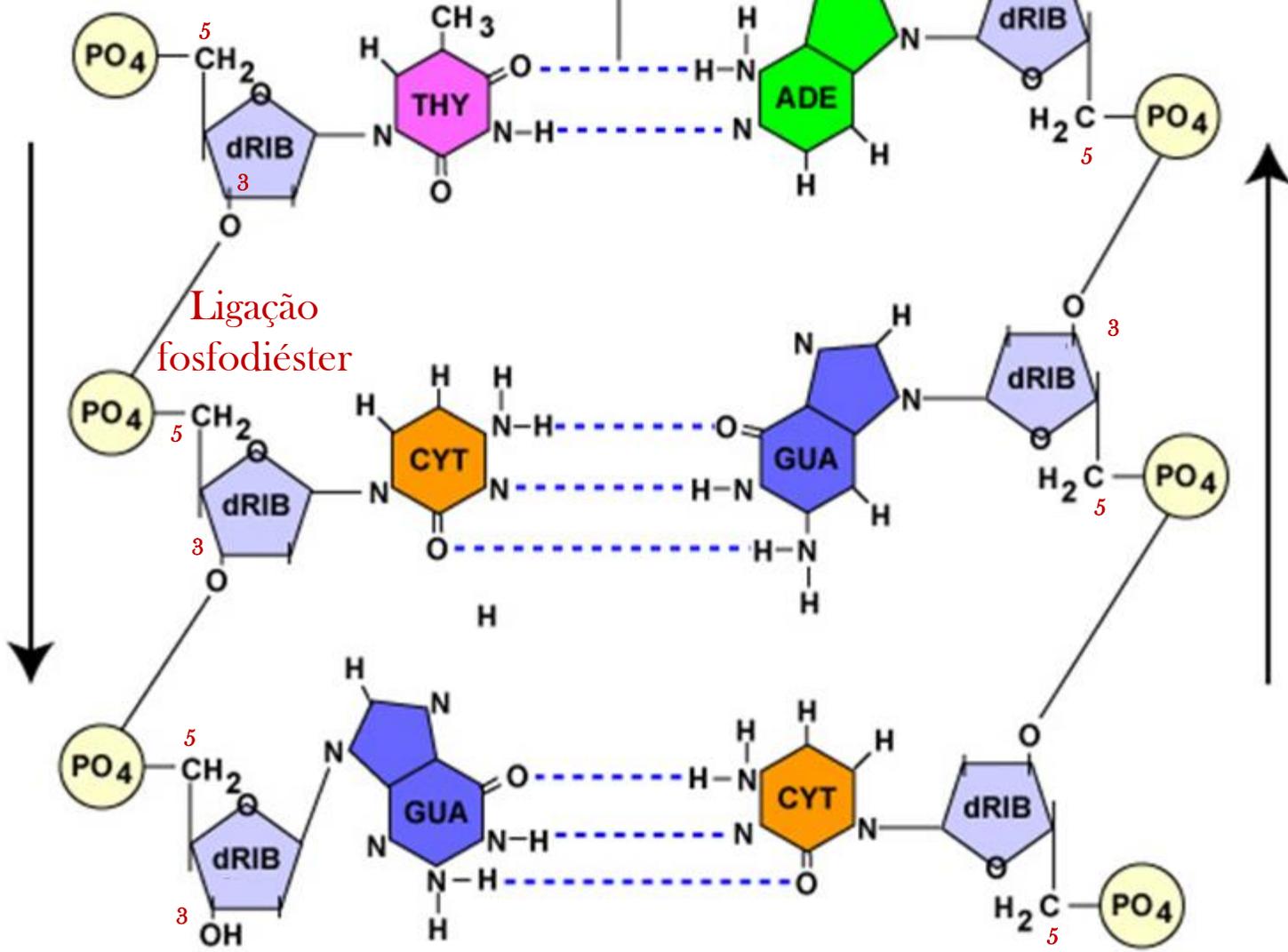
Ligações Fosfodiéster



5'

3'

Ponte de Hidrogênio

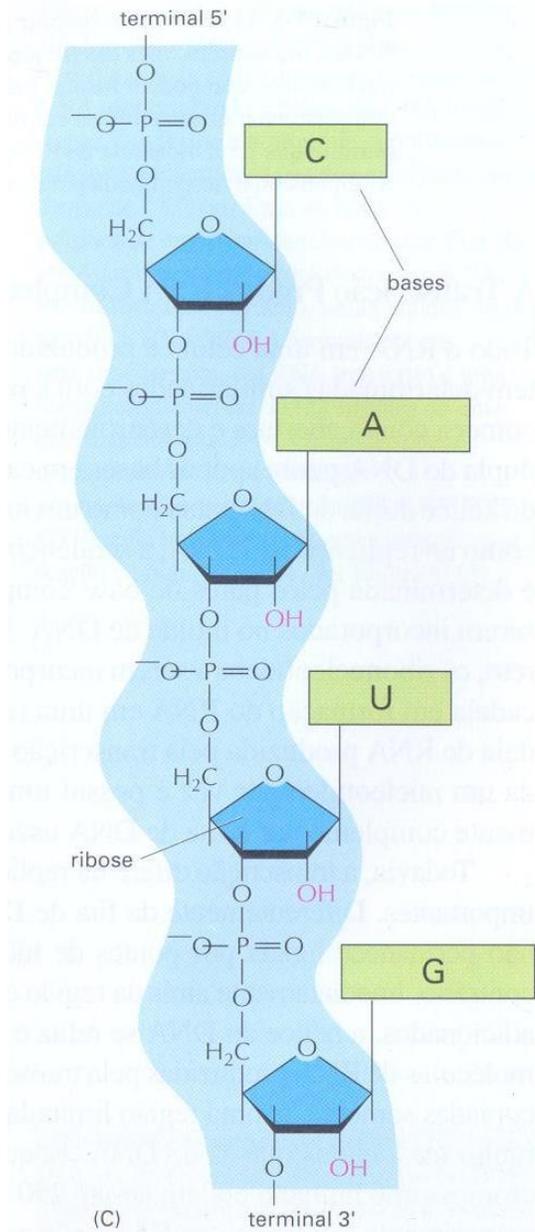


Ligação fosfodiéster

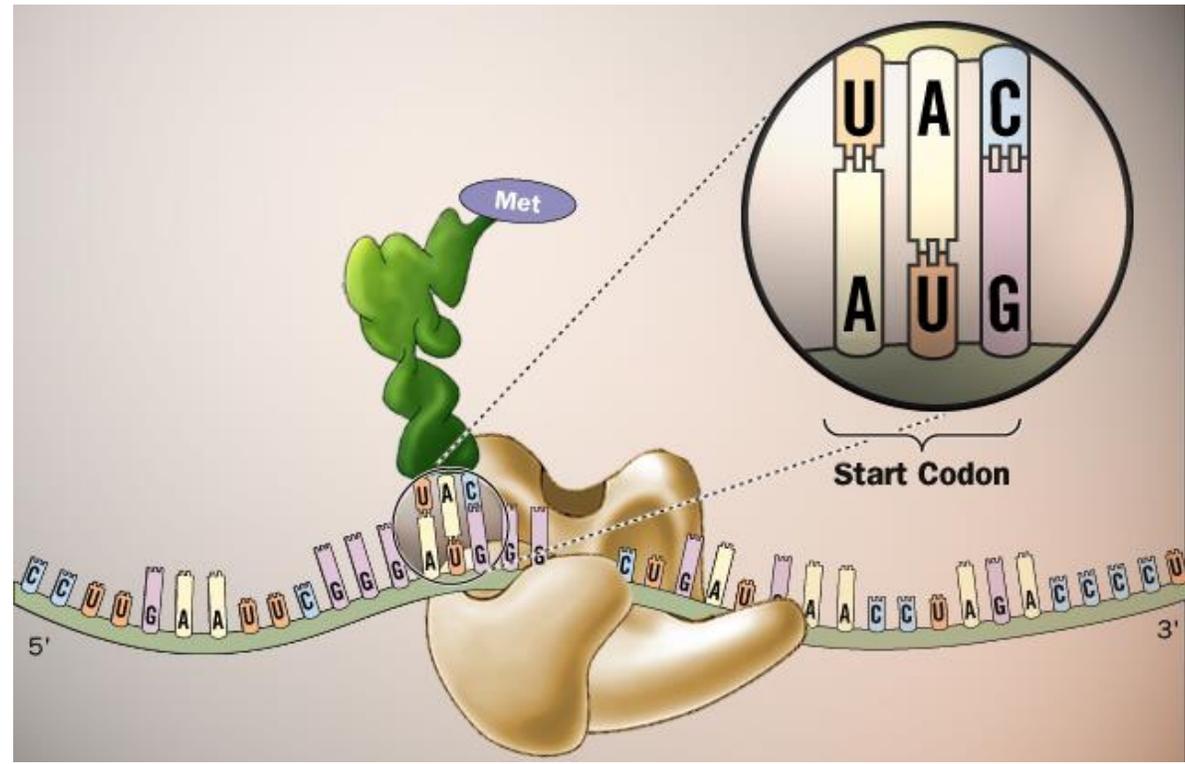
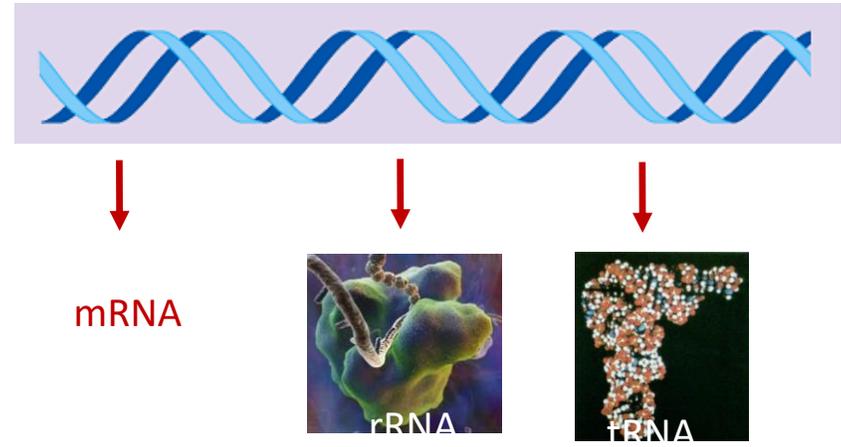
3'

5

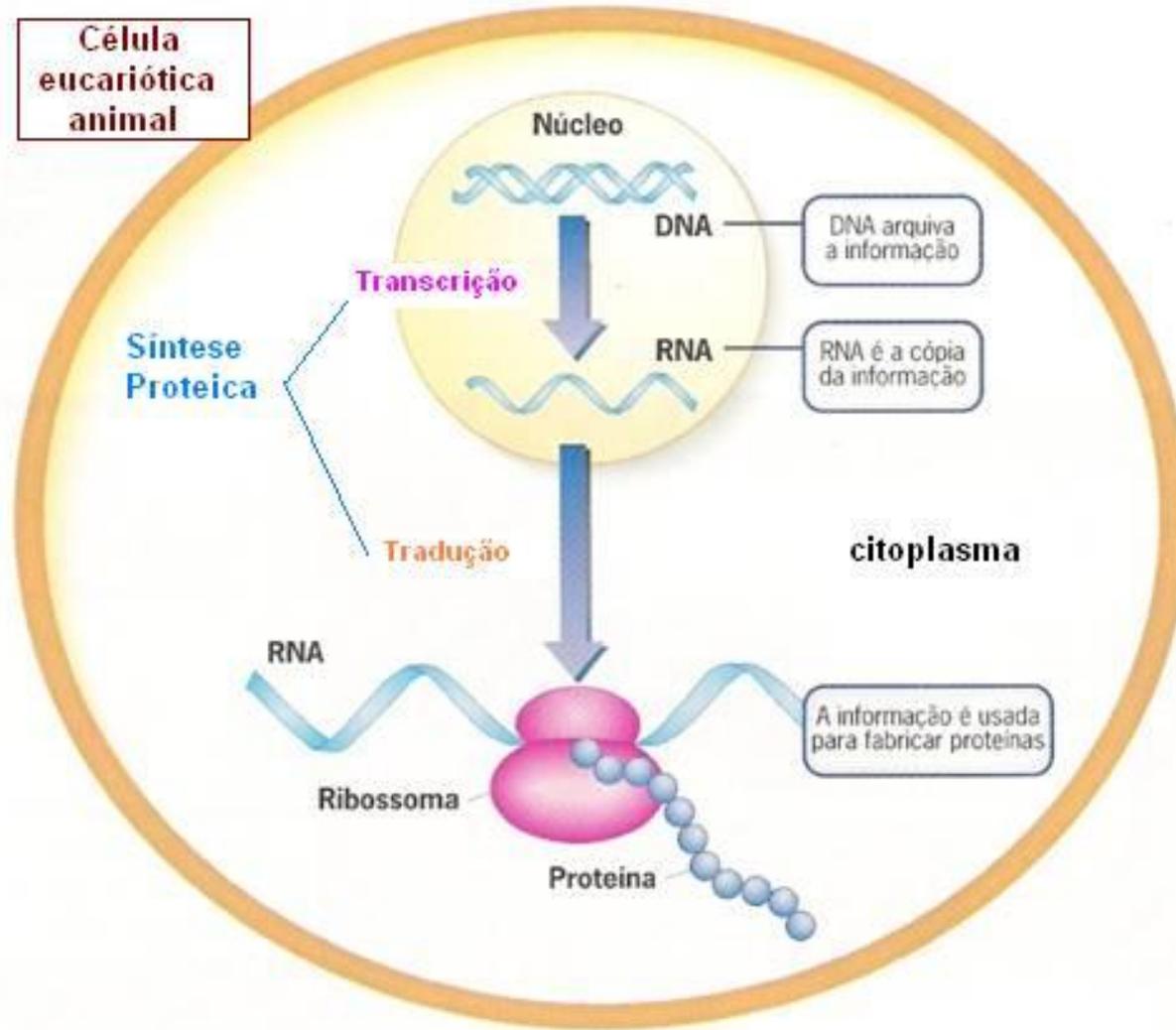
Relembrando o RNA...



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



Visão Geral em Eucariotos



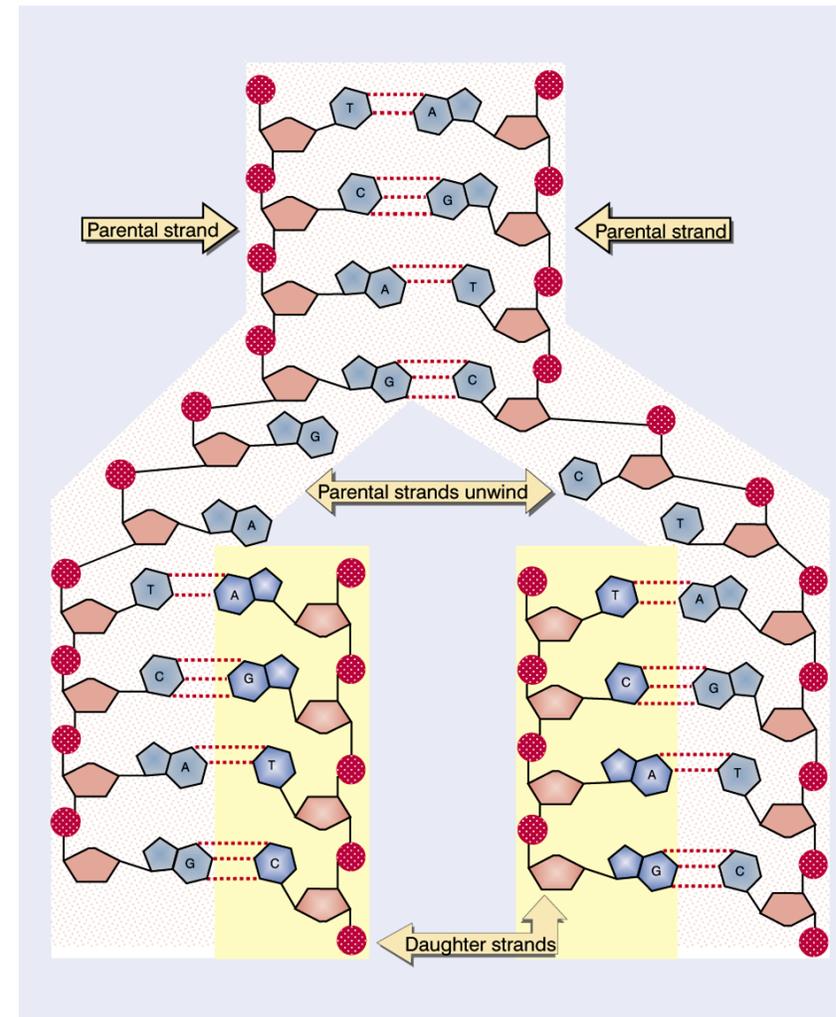
Replicação do DNA

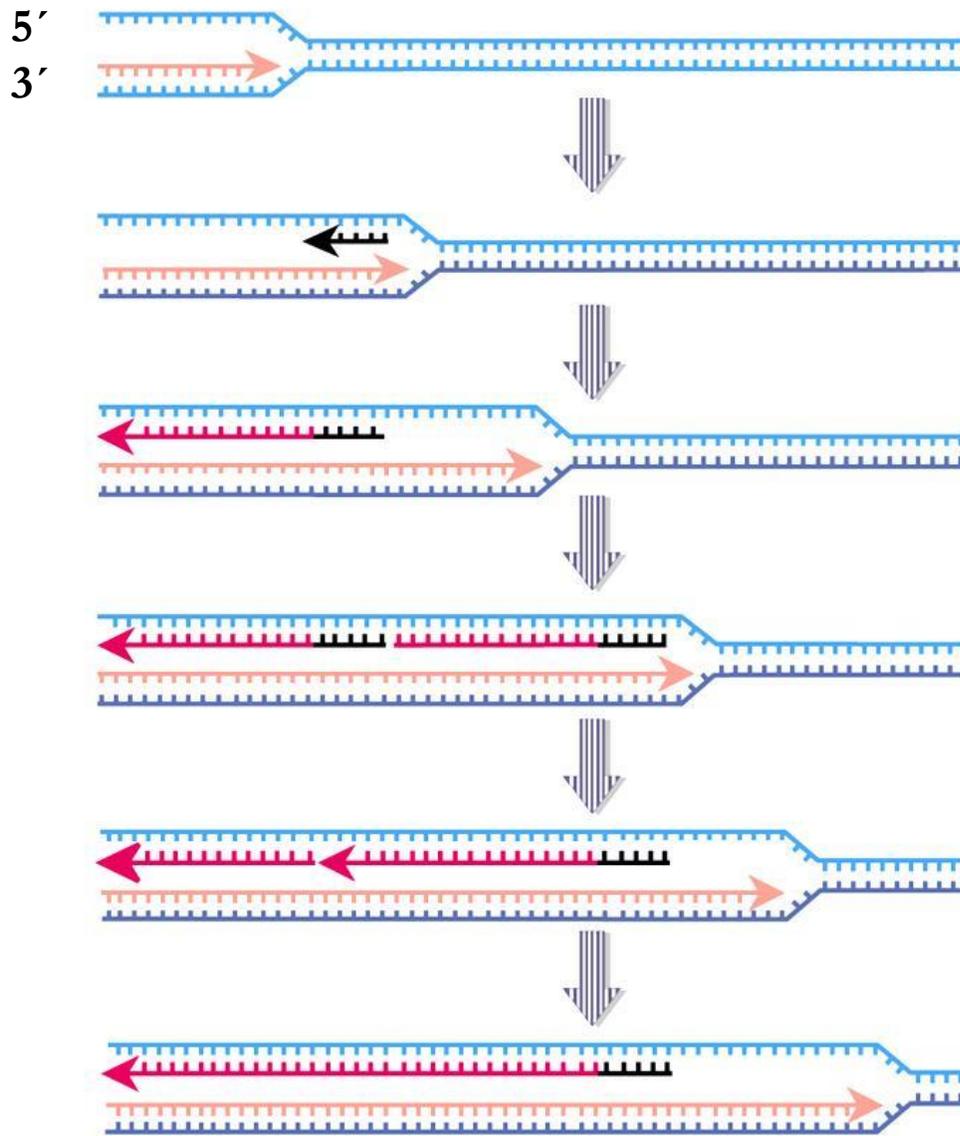
- ✓ O DNA replica-se por um mecanismo **semiconservativo**: a medida que as duas fitas complementares de uma dupla hélice parental se desenrolam e se separam, cada uma serve como molde para a síntese de uma nova fita **complementar**;
- ✓ Os potenciais de pontes de H das bases das fitas moldes especificam as seqüências de bases complementares nas fitas de DNA nascentes;
- ✓ A replicação é iniciada em origens únicas e em geral continua bi-direcionalmente a partir de cada origem.

<https://www.dnalc.org/resources/3d/04-mechanism-of-replication-advanced.html>

<https://www.youtube.com/watch?v=dKubyIRiN84>

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





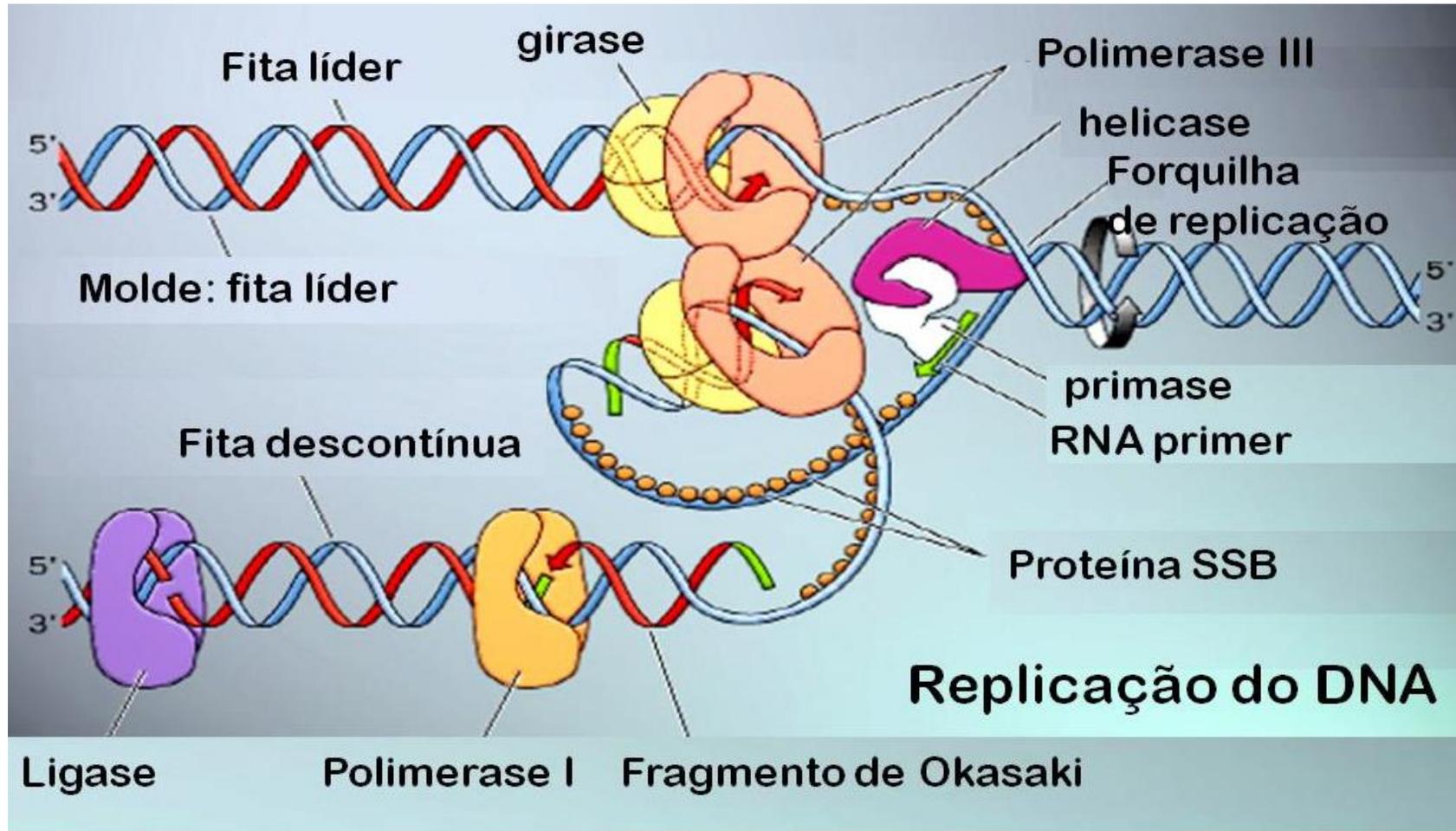
● Fragmentos de Okasaki ocorrem na fita descontínua

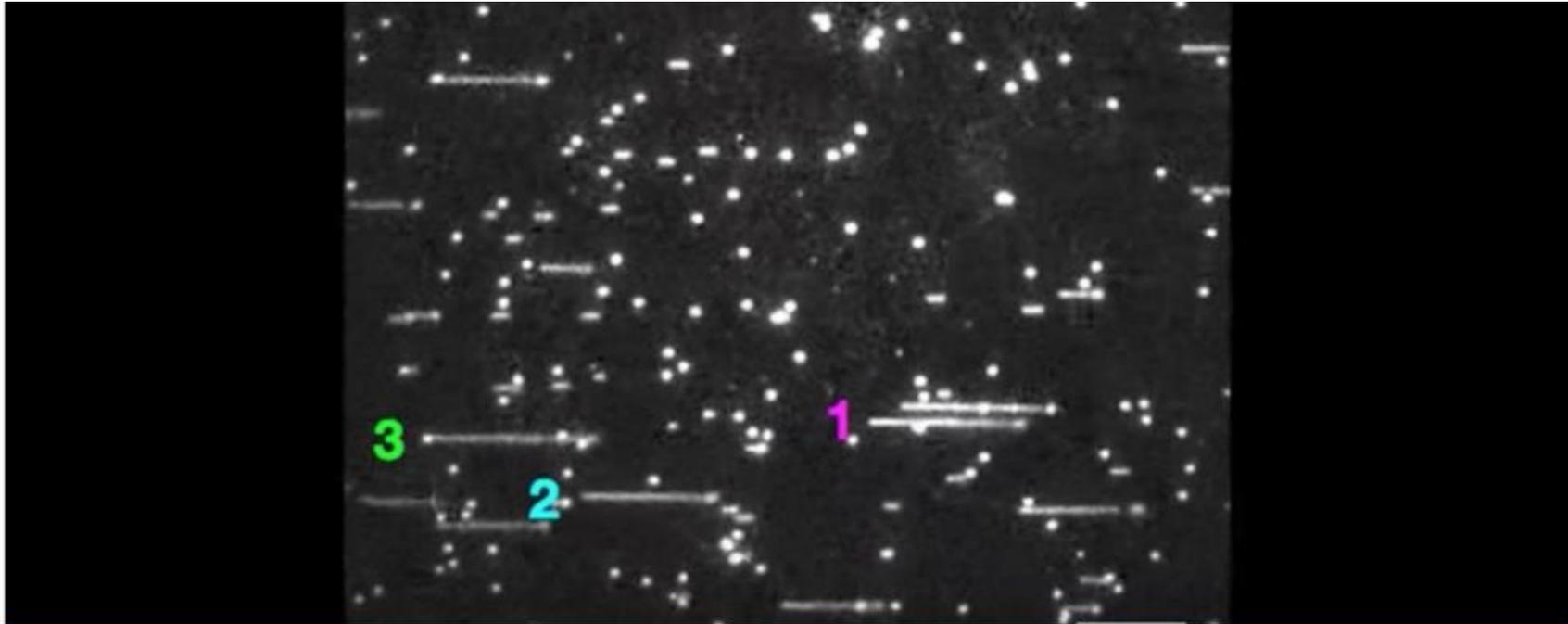
● A DNA polimerase III é responsável pela síntese da maior parte do DNA

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

● A DNA ligase sela as quebras

Síntese das fitas contínua e descontínua é independente





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

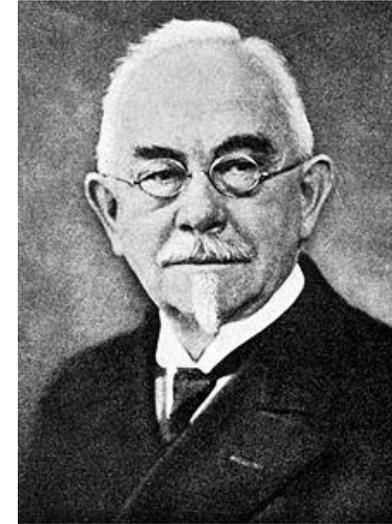
<http://www.sciencealert.com/dna-replication-has-been-filmed-for-the-first-time-and-it-s-stranger-than-we-thought>

Mas o que é um gene?

Definição de Gene

Wilhelm Johannsen

1909 → gene



- **Gene** → unidade da informação genética que codifica a síntese de polipeptídeo 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

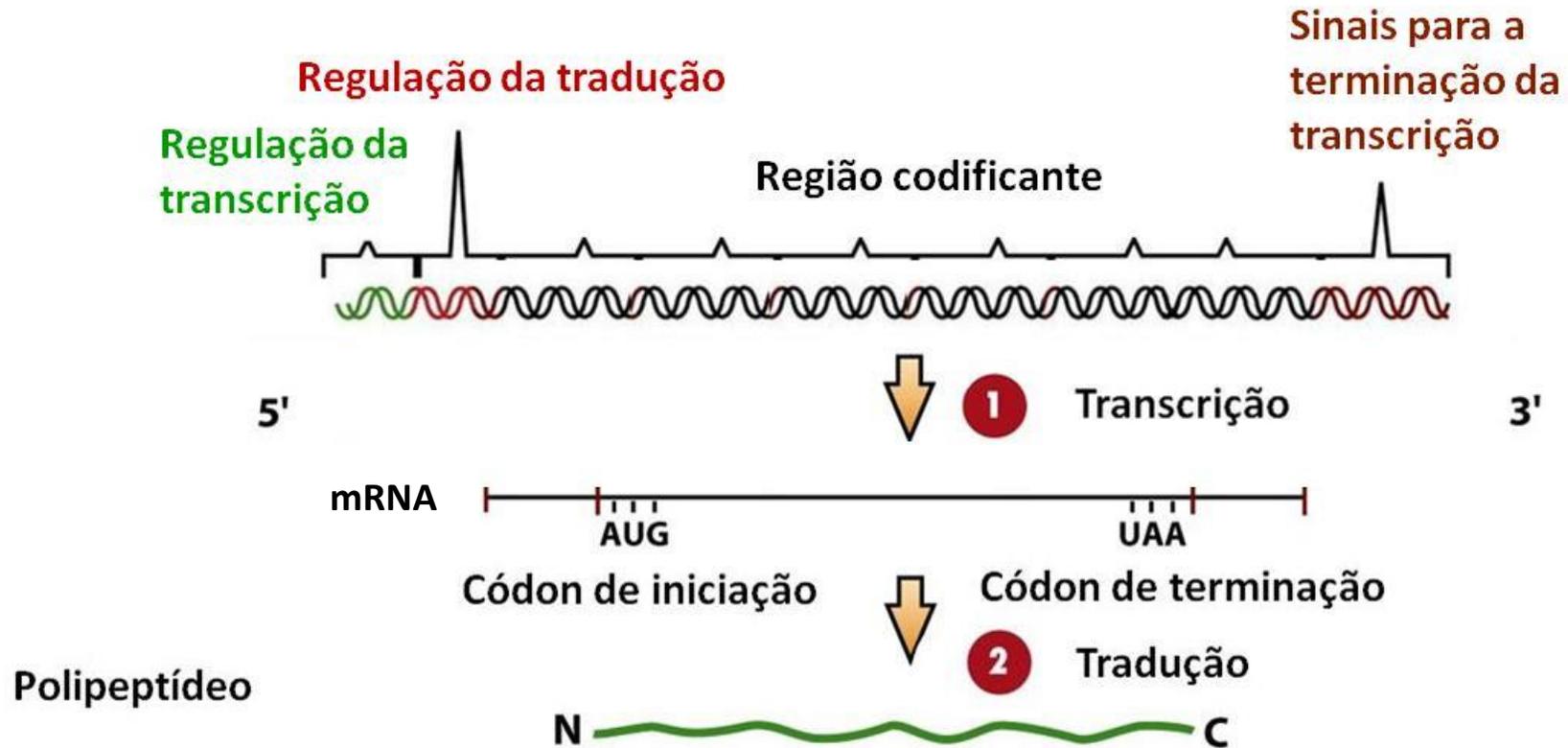
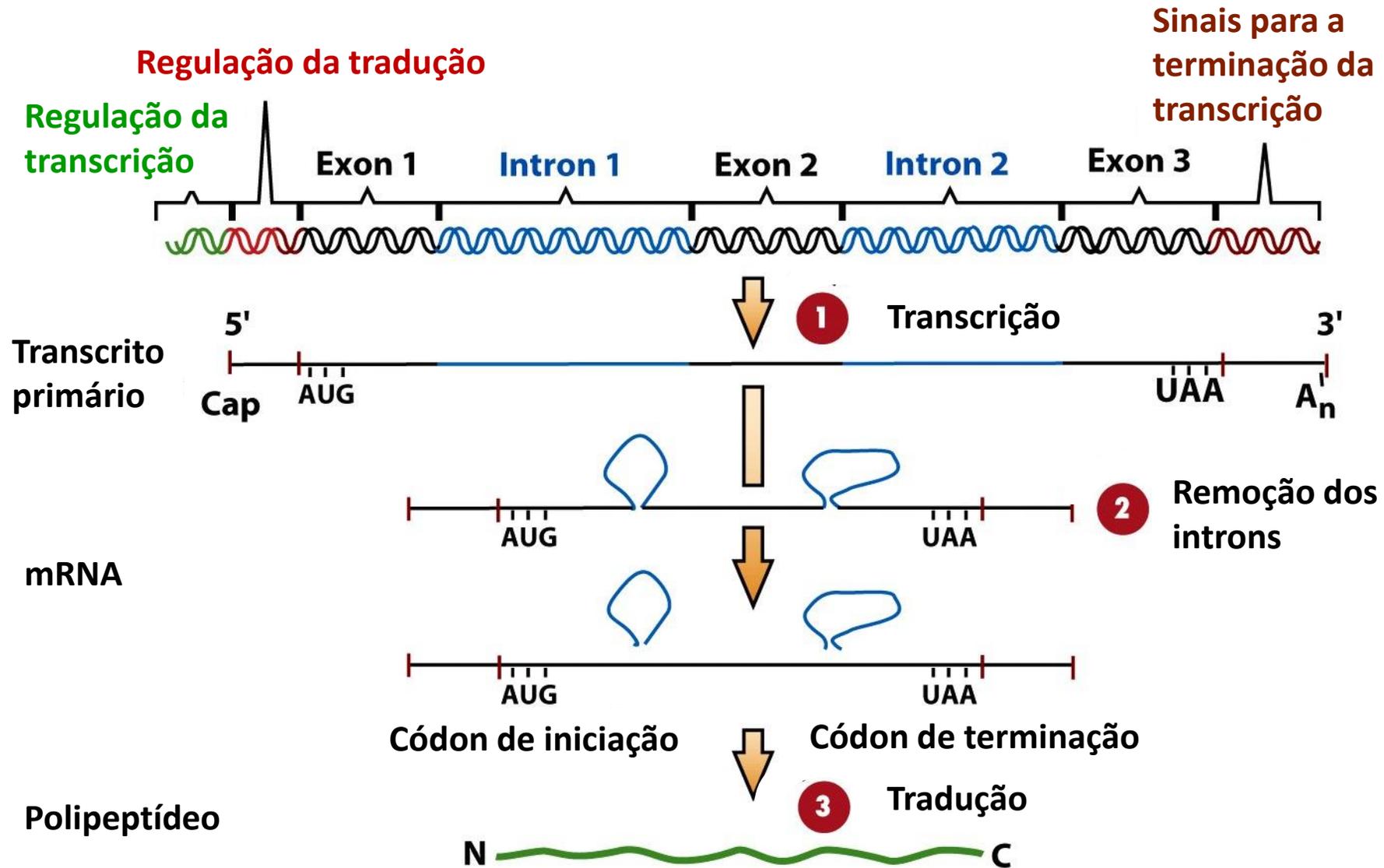


Figure 14-1b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

Gene Típico de Eucariotos

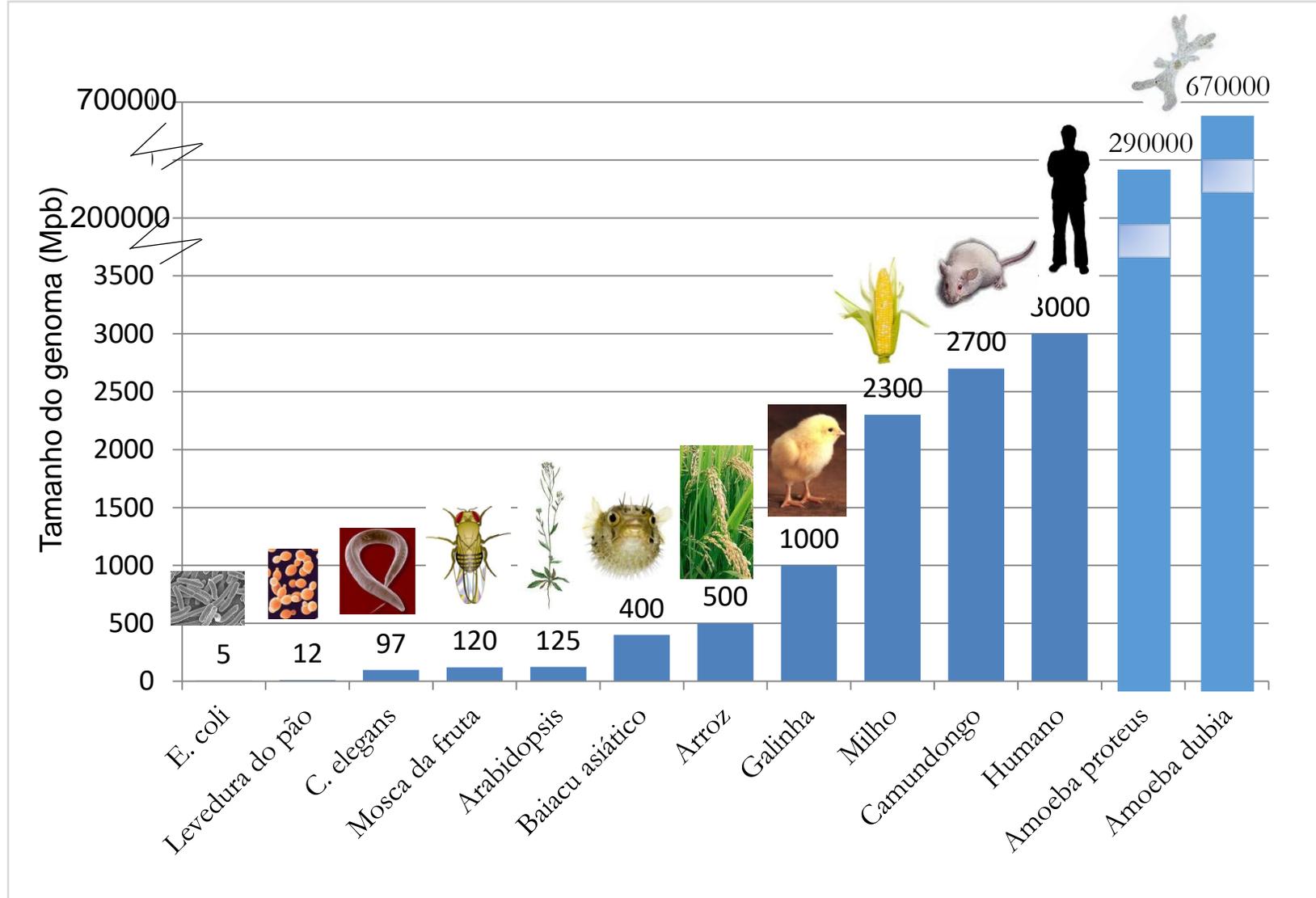


Número de genes em Eucariotos

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



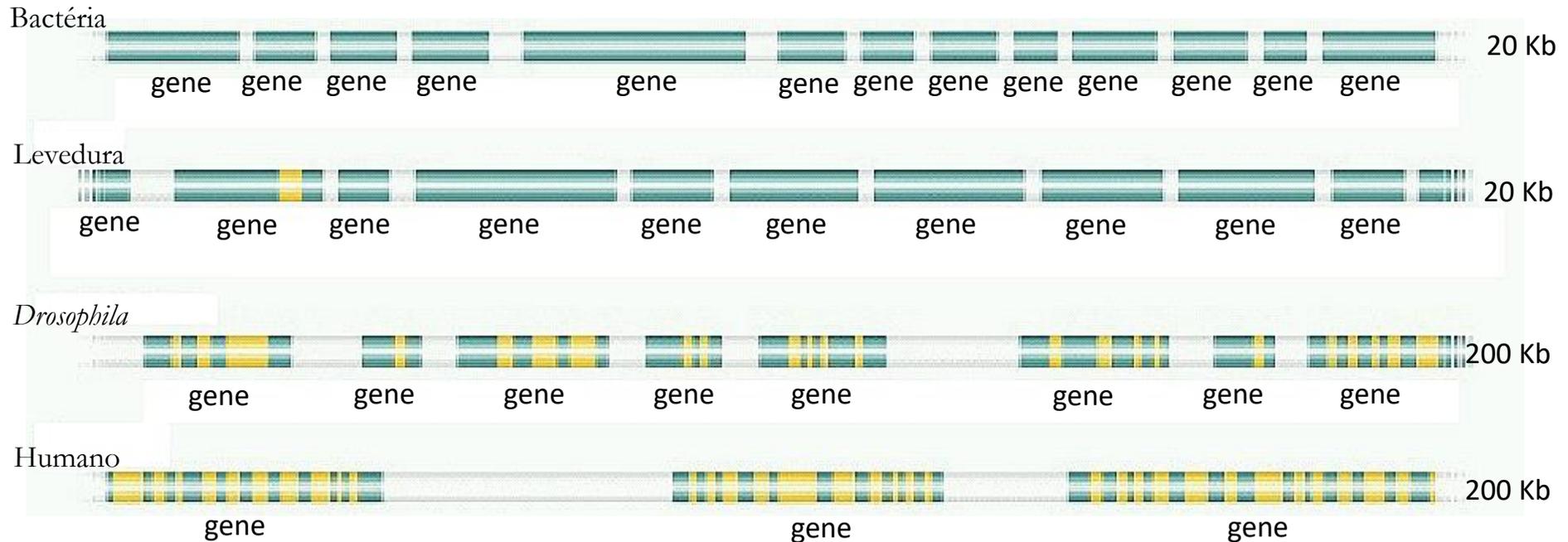
Comparação do Tamanho de Genomas



Paradoxo-C
O que seria?

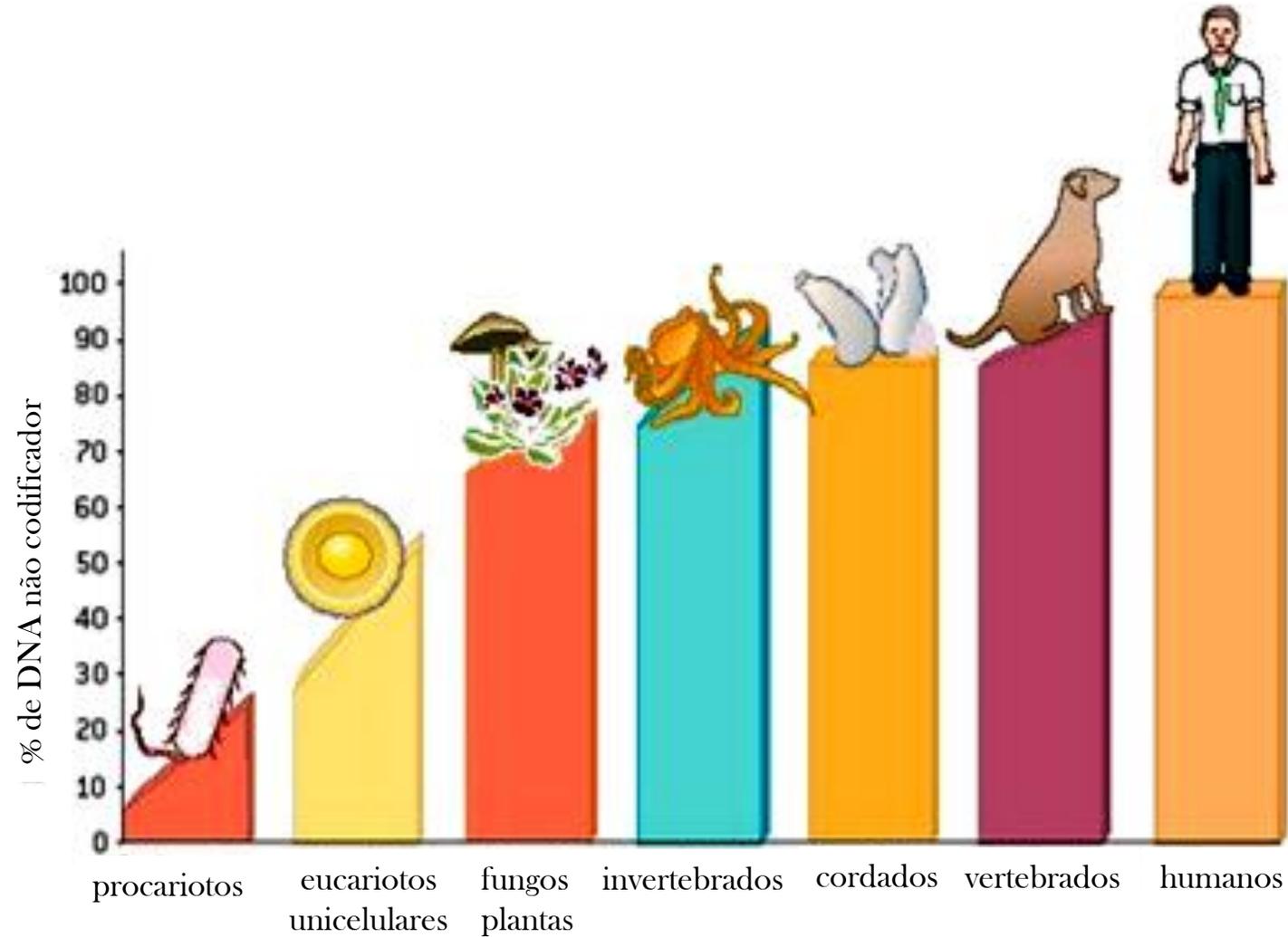
A complexidade de um organismo não é diretamente proporcional ao tamanho do genoma

Estrutura de genes na molécula de DNA

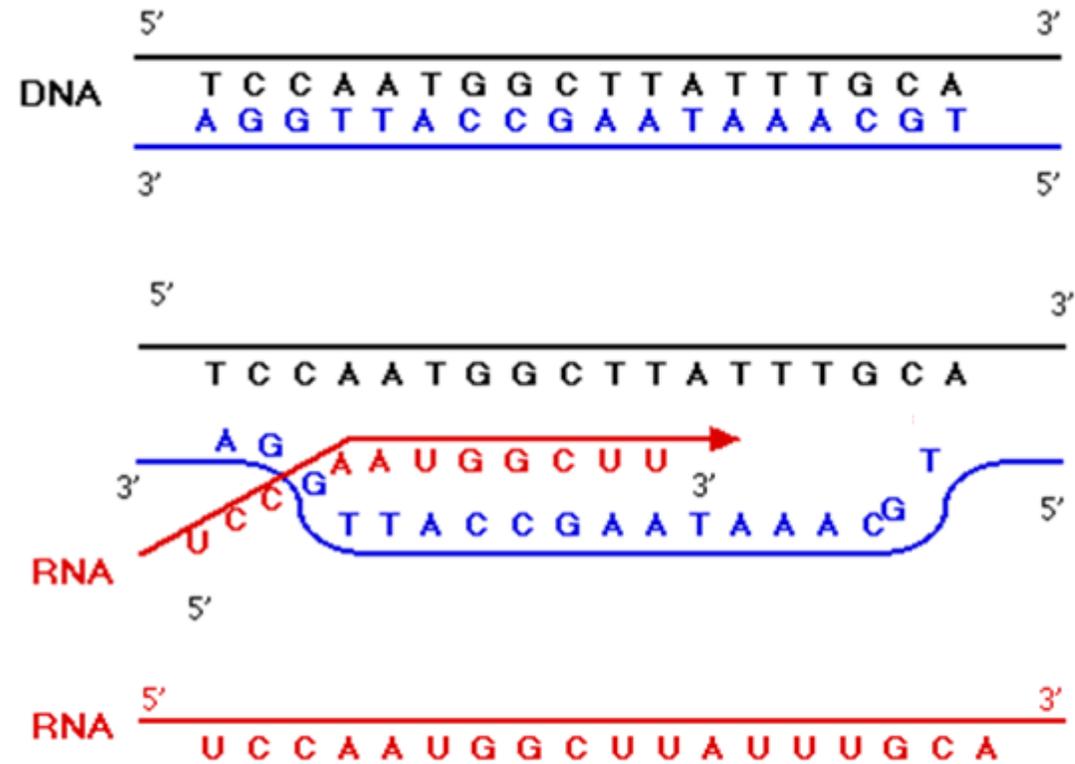


Grande variação nos tamanhos dos genes devido a presença dos introns!

Percentual do Genoma não-codificante

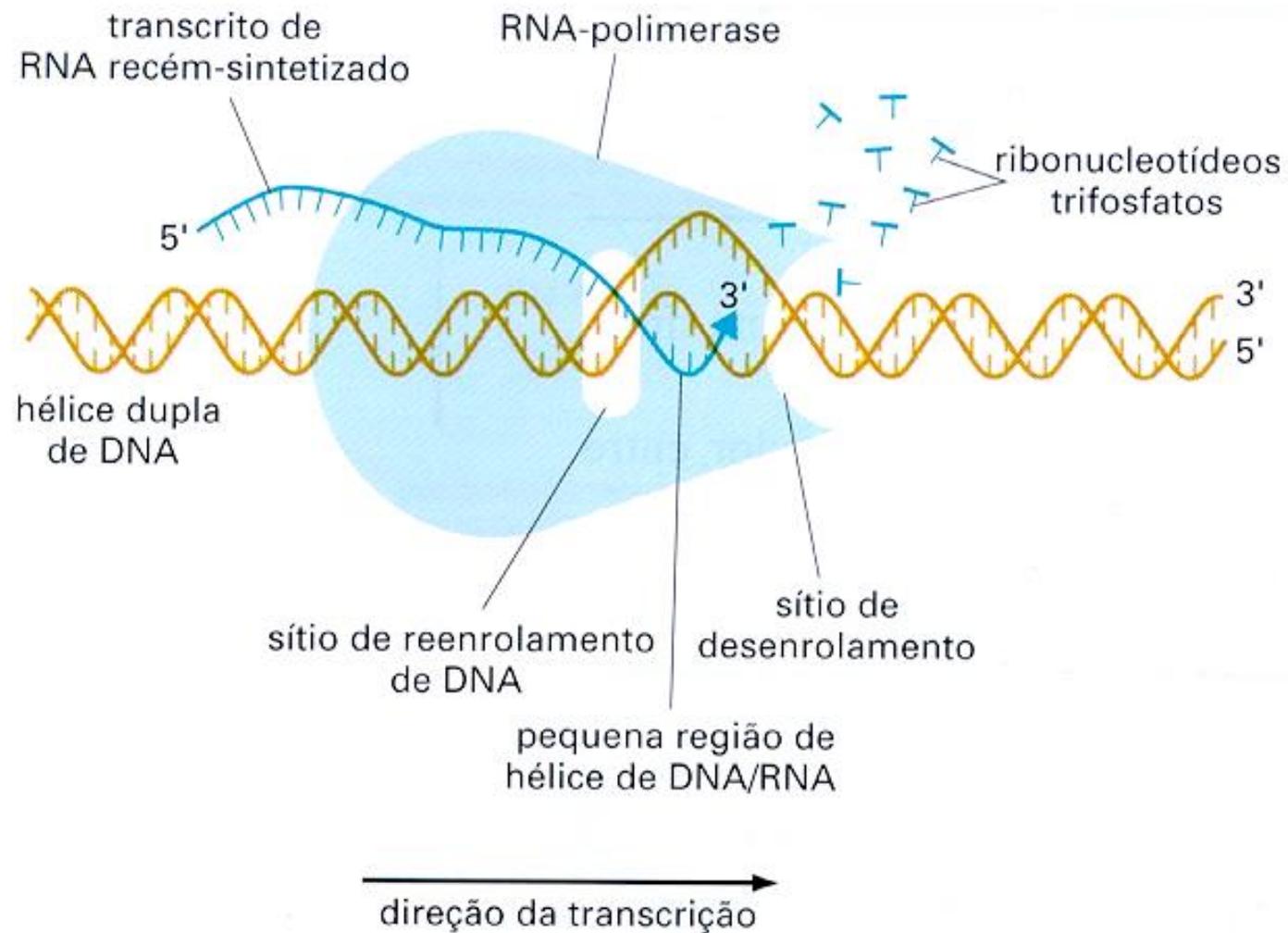


Transcrição



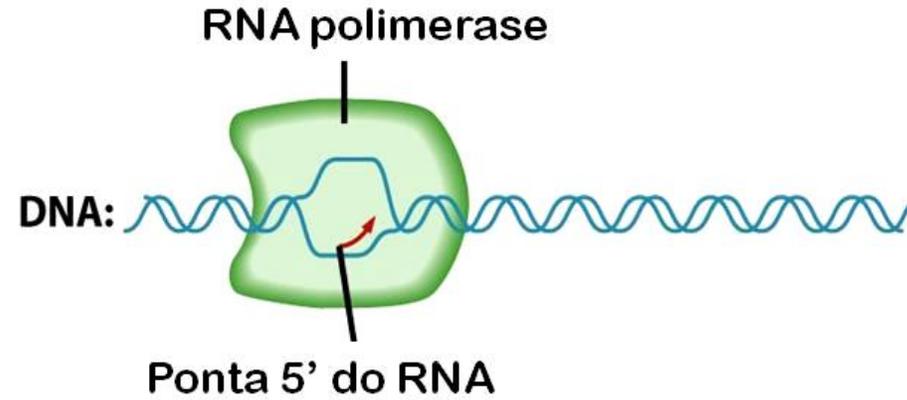
- A informação genética contida num segmento do DNA é reescrita em uma fita simples de RNA;
- Esta fita apresenta uma sequência de ribonucleotídeos complementar a uma das fitas da dupla hélice de DNA (**molde**) e idêntica à sequência da outra fita (**codificadora**), com substituição de T por U.

Enzima RNA Polimerase

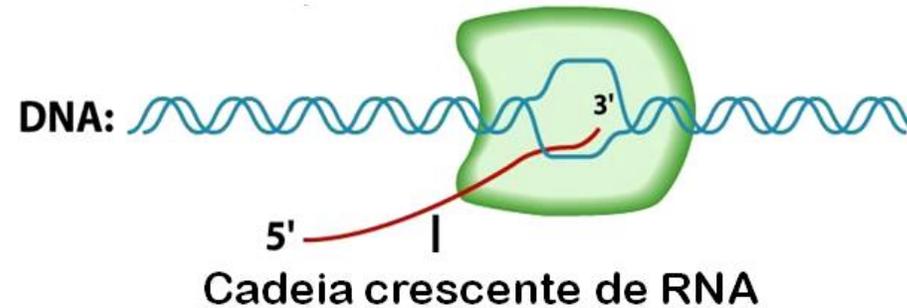


Etapa da Transcrição

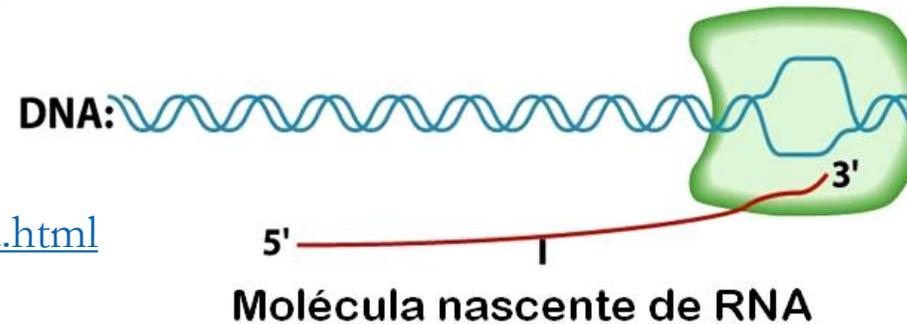
1 Iniciação da cadeia de RNA



2 Alongamento da cadeia de RNA



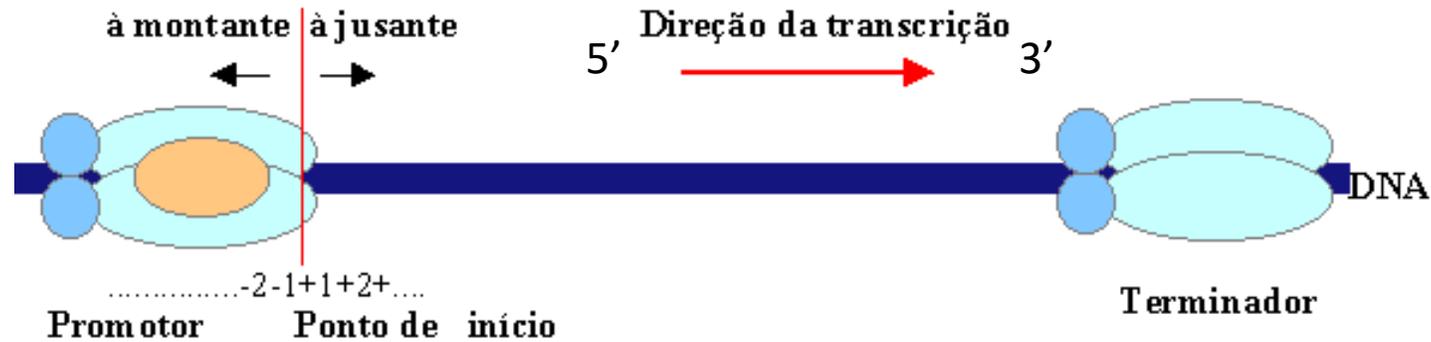
3 Término da cadeia de RNA



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)**

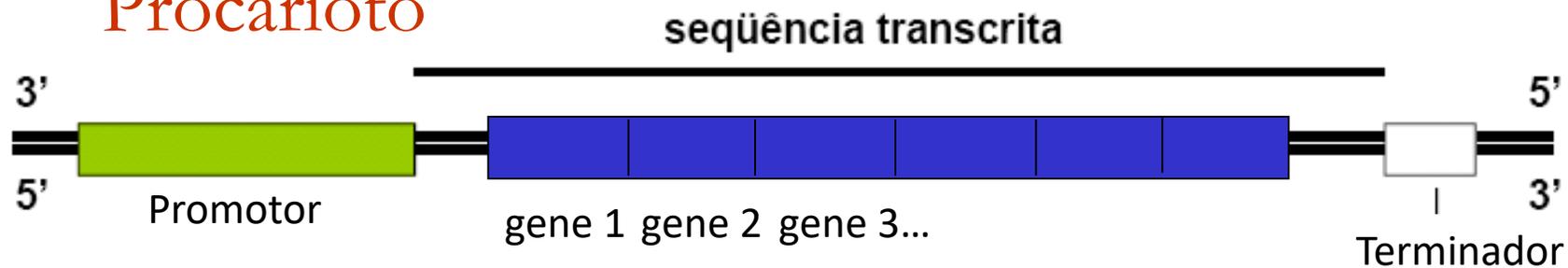
Região promotora de um gene



- 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.

Regiões Chave do DNA na Transcrição

Procaríoto



Eucarioto

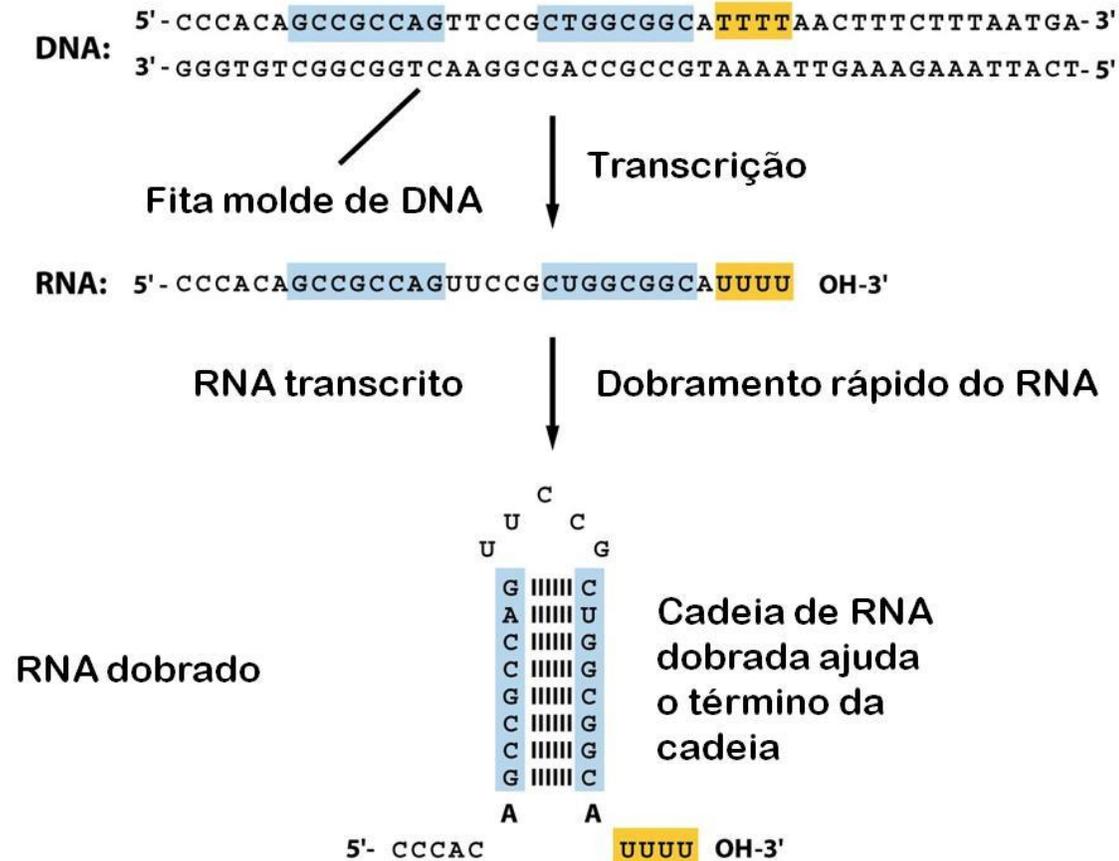


policistrônico

monocistrônico

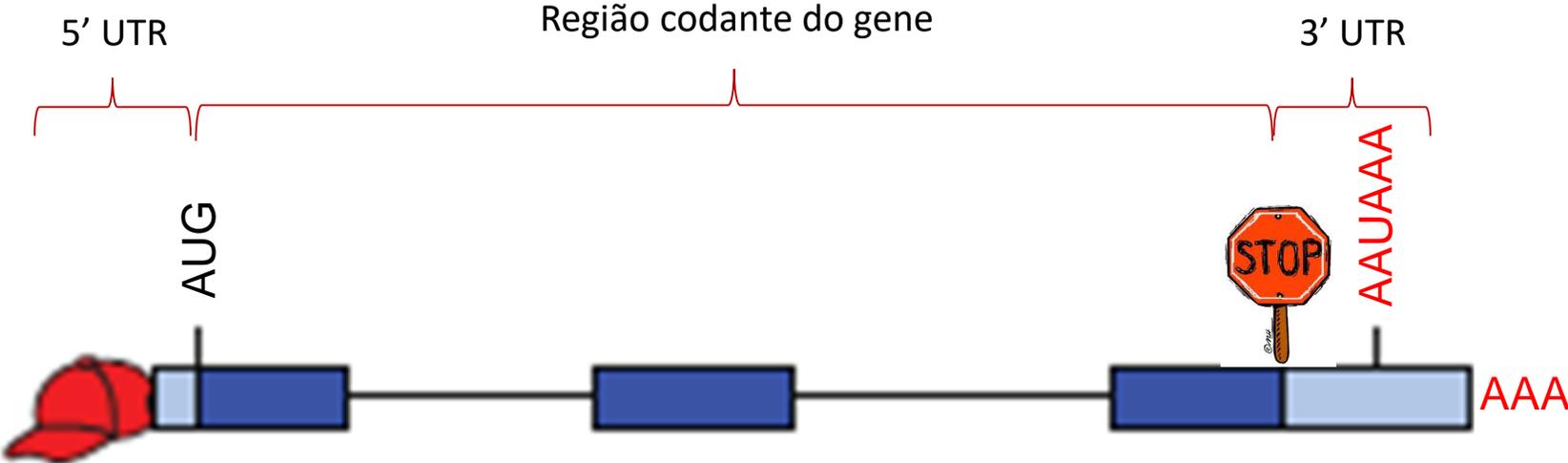
Término da Transcrição

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

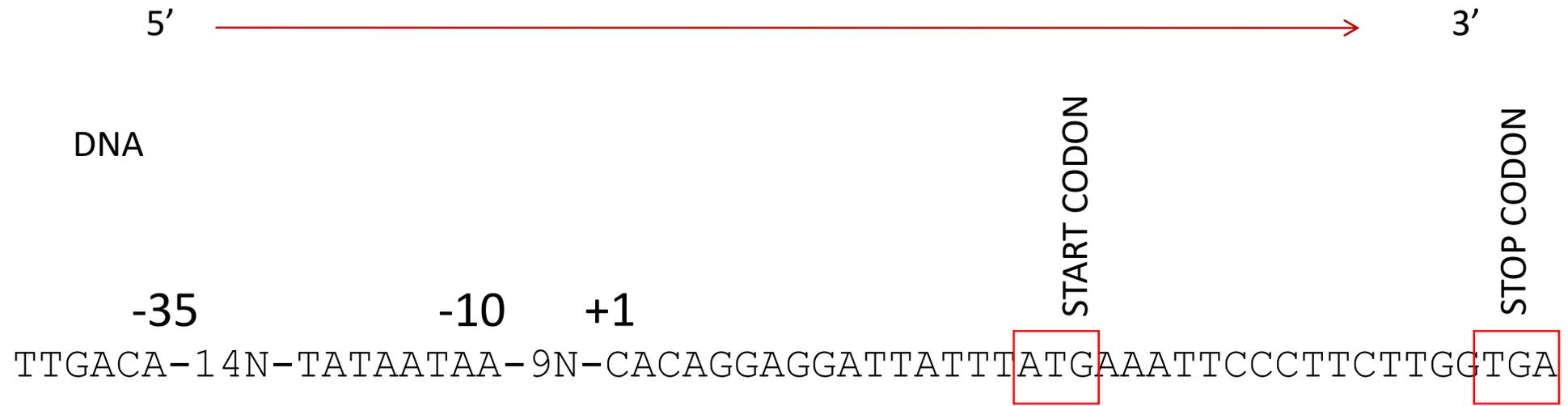


Start e Stop Codons

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



UTR: Untranslated region
5' UTR e 3' UTR



mRNA CACAGGAGGAUUAUCCAUGAAAUUCCCUUCUUGGUGA

PROTEINA MET LYS PHE PRO SER TRY



itsof.com

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 codificadora

(3') GCGATATCGCAAA(5')

DNA fita molde

(5') CGCUAUAGCGUUU(3')

RNA transcrito

Nomenclatura:

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

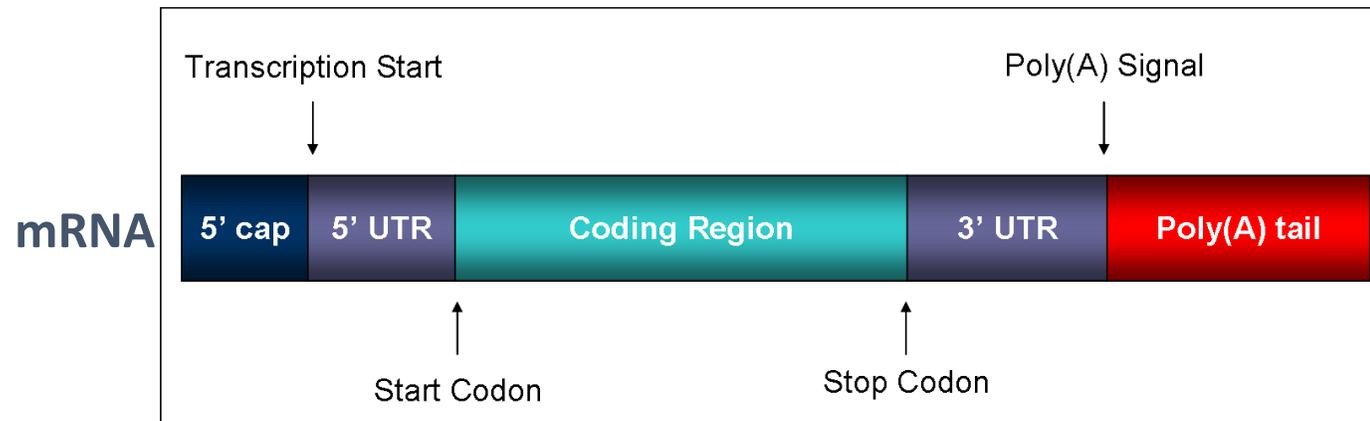
Processamento do RNA (transcrito) primário em Eucariotos

- As modificações que podem ocorrer nos transcritos nucleares são basicamente de três tipos:

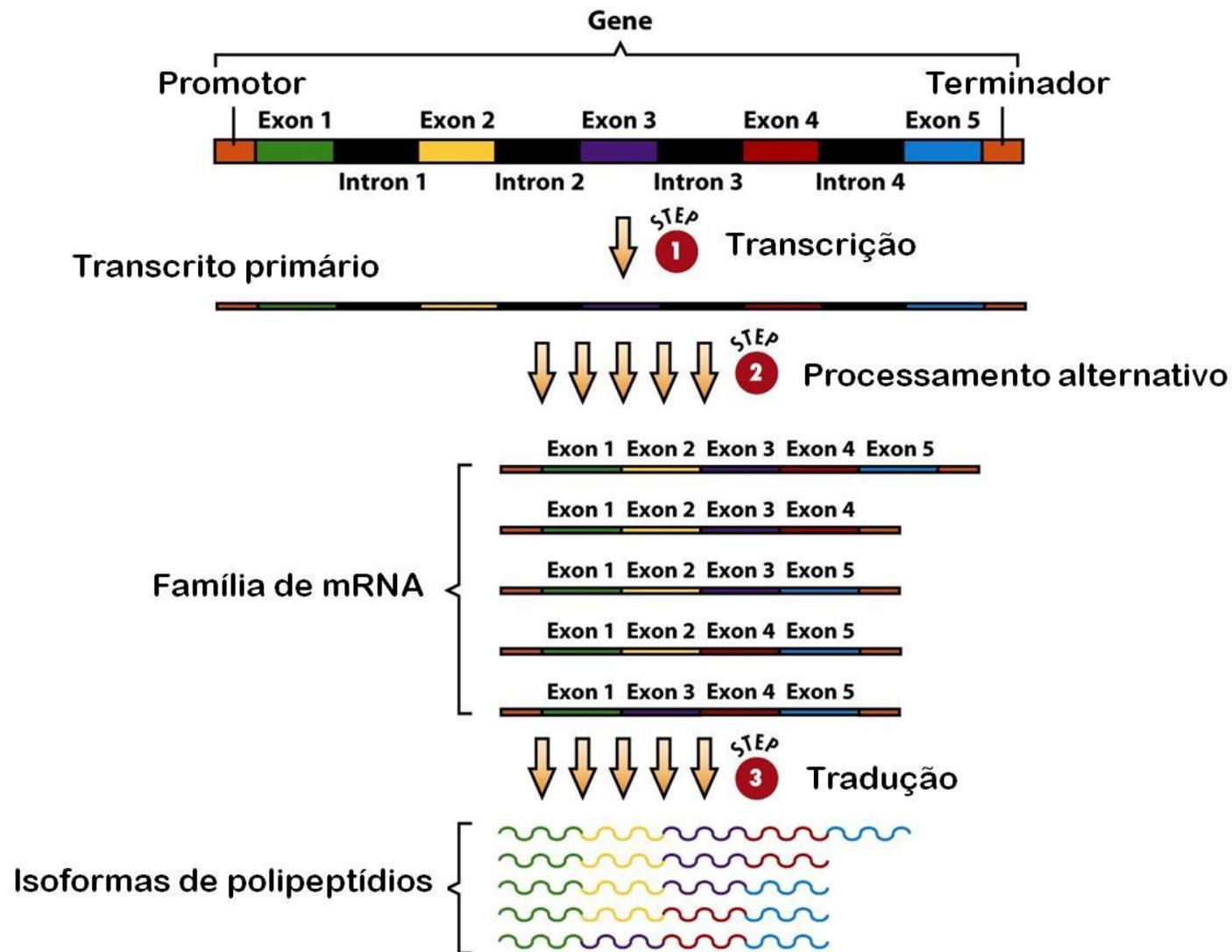
- Capeamento ("capping") do terminal 5'
- Poliadenilação do terminal 3'
- Montagem de segmentos codificadores ("*splicing*")



- Este conjunto de modificações no transcrito nuclear originará o mRNA, pronto para migrar para o citoplasma

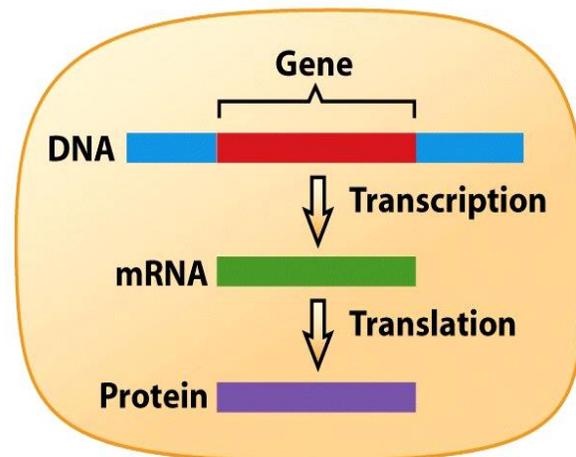


Isoformas de Proteínas

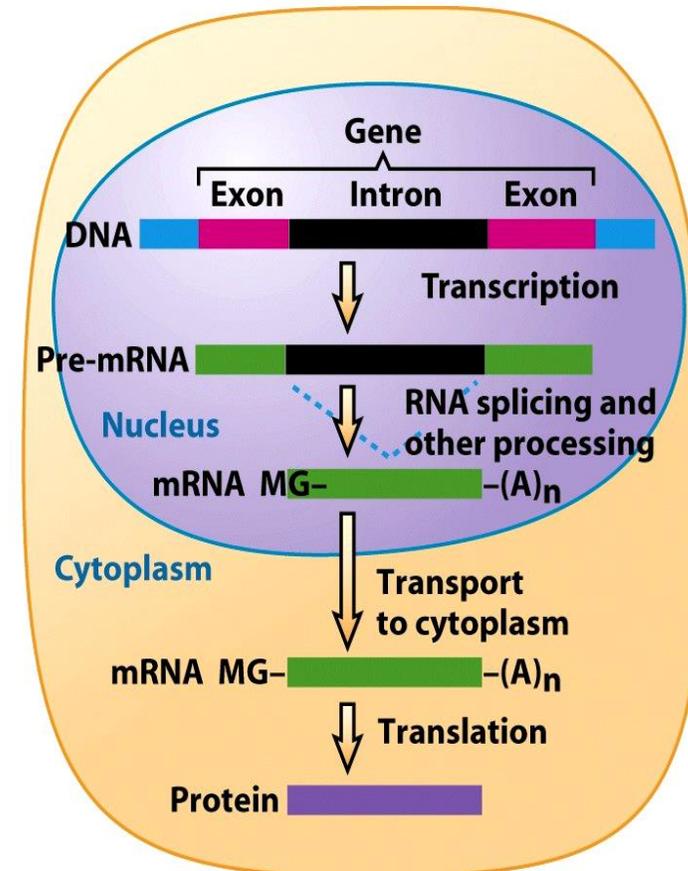


Transcrição

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



(a) Prokaryotes.

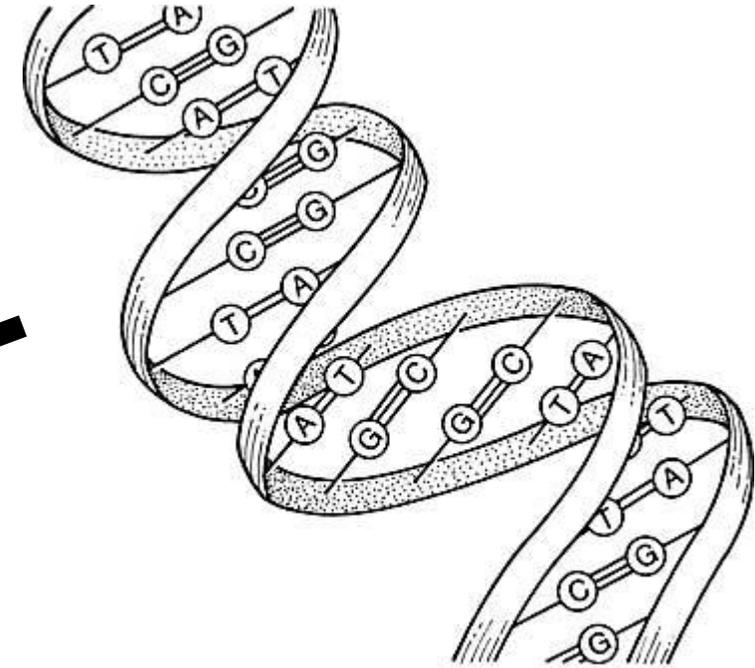


(b) Eukaryotes.

Tradução

Interpretação

```
AAGTCCTTTTAAATAAATAATTCTAGCTATATTTGCAAC  
GTTGGAAAATTAGCTATTCTAATGTTATCGAAAGAAGAA  
CACAGTTACTTAGTTTCTCGGCAAATATATCAAAATGA  
GAAGGTGAAAGAGTGGCATAATGATAAGCAAATCTGAAA  
ATTTTTTGGTATAATAATCTTGATTGAAATTTGAATGGA  
GTAGGCTTACCAAATGTTGGTAAATCAACCTTATTTAAC  
ATTATCCTTTTGC GACTATTGATCCAATGTTGGTATGG  
GACAGAATTGATTACACCTAAAAAACAGTTCCGACAAC  
AAAGGTGCTTCTAGAGGGGAAGGTCTAGGAAATAAATTT  
TTCATGTGGTACGTGCTTTTGGATGATGAAAATGTCATGC  
TCCTATAGCAGATATTGACACTATTAATCTTGAATTAAT  
TATGCGCGTGTGAAAAAATGGCACGAACTCAAAAAGAT  
AAAAGATTAACCTGTTTTGGAAGATGGGAAATCAGCTA  
AGTTGTAAAGGTCTCTTTTTATTAACAACCTAACCTGT  
GTTGCTAATCTAGATGGTATTGATTATGTCAAACAAATT  
TAGTTGTTATCTCAGCGCGTGCAGAAGAAGAAATTTAG  
GGAAGCTATCGGTCTTACTGAATCAGGCGTTGATAAATT  
GGAACCTATTTTACAGCAGGTGAAAAAGAGGTTCTGTCT  
AAGCTGCTGGTATTATCCATTAGATTTTAAAAGAGGTT
```



Laurel Cook Lhowe

Código genético

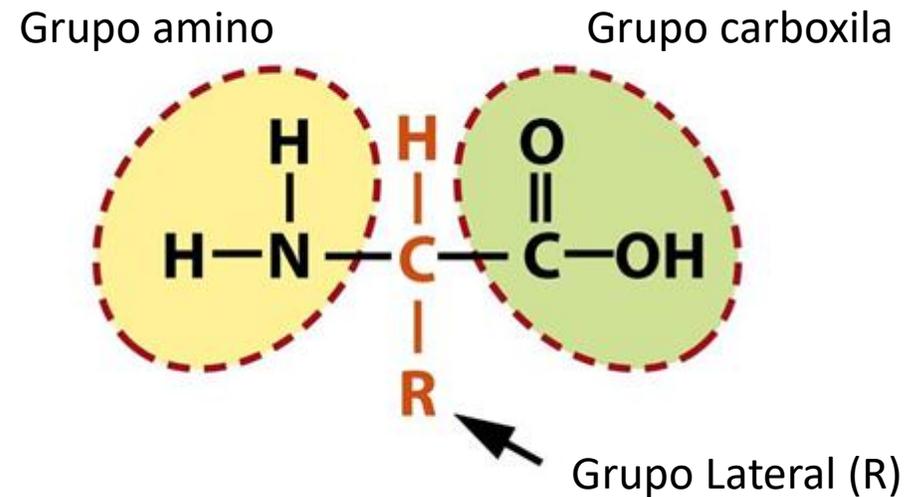
Características Gerais da Tradução

- ✓ Todos os RNAs mensageiros são lidos na direção 5'-3'
- ✓ As cadeias polipeptídicas são sintetizadas da extremidade amino (NH_3) para o terminal carboxílico (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**

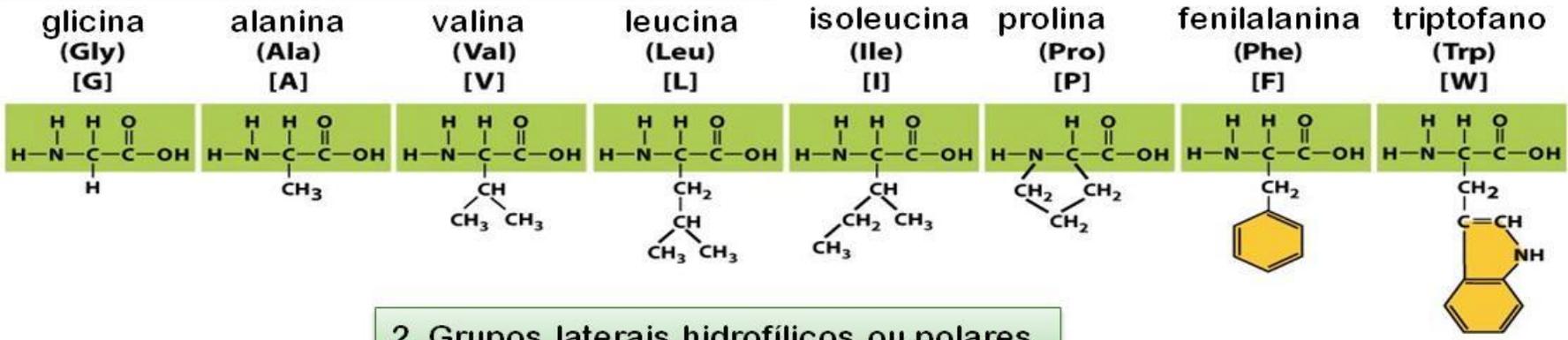
Estrutura da Proteína

Aminoácidos (20 tipos):

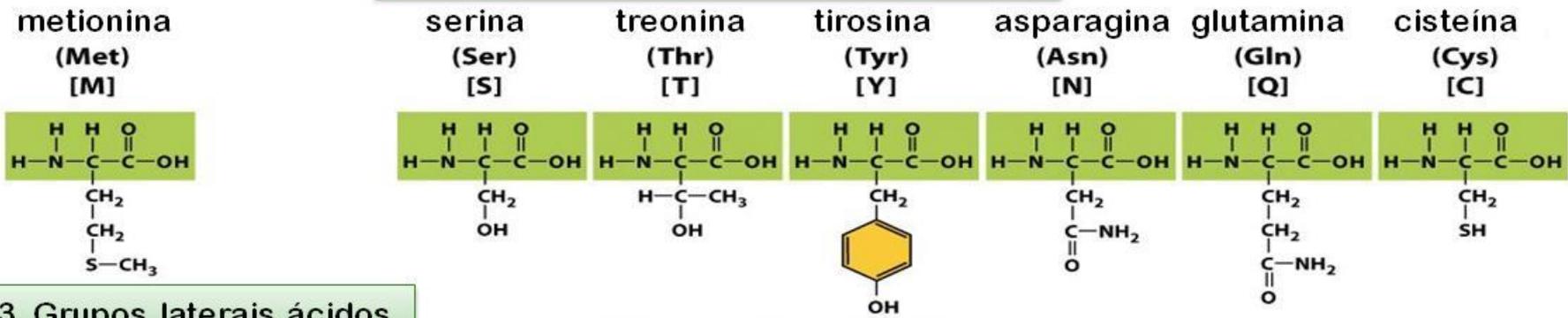
- grupo amino
- grupo carboxila
- grupo lateral



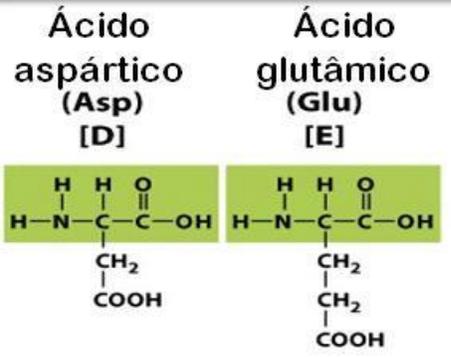
1. Grupos laterais hidrofóbicos ou não polares



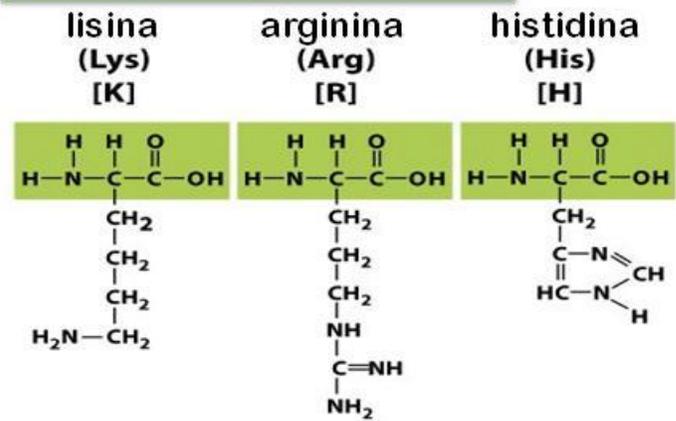
2. Grupos laterais hidrofílicos ou polares



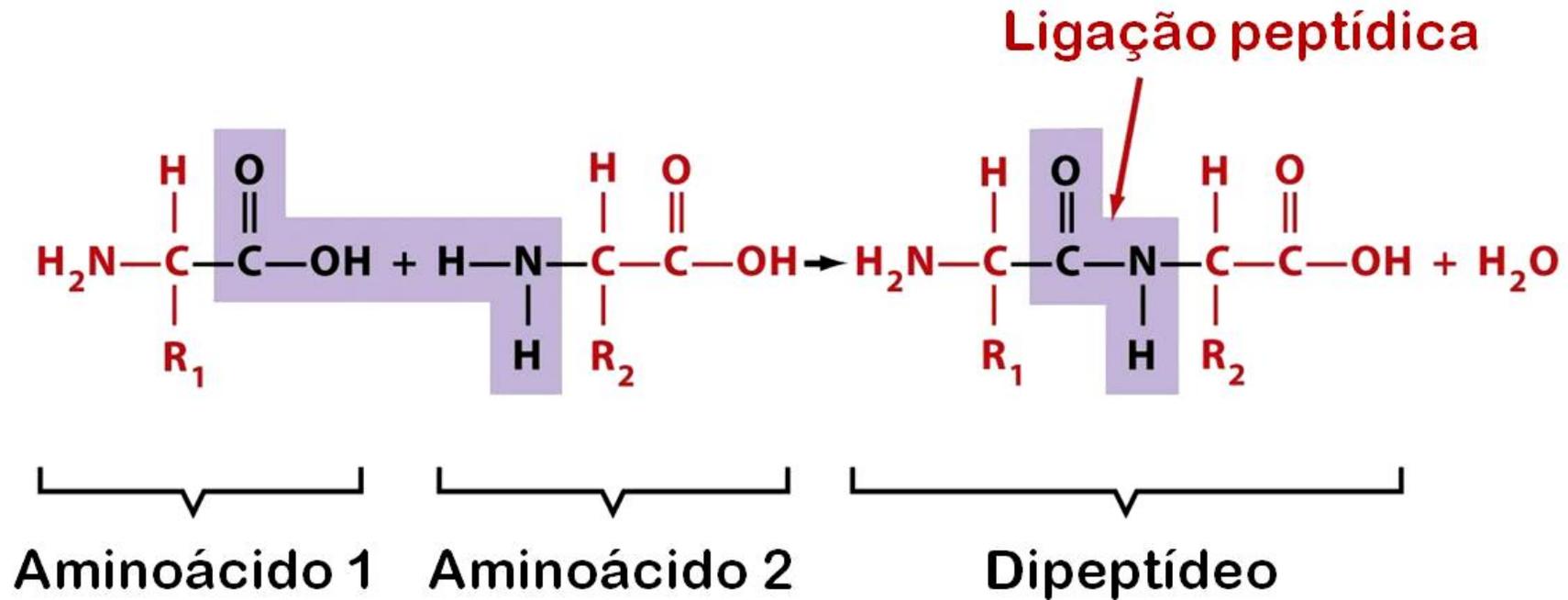
3. Grupos laterais ácidos



4. Grupos laterais básicos

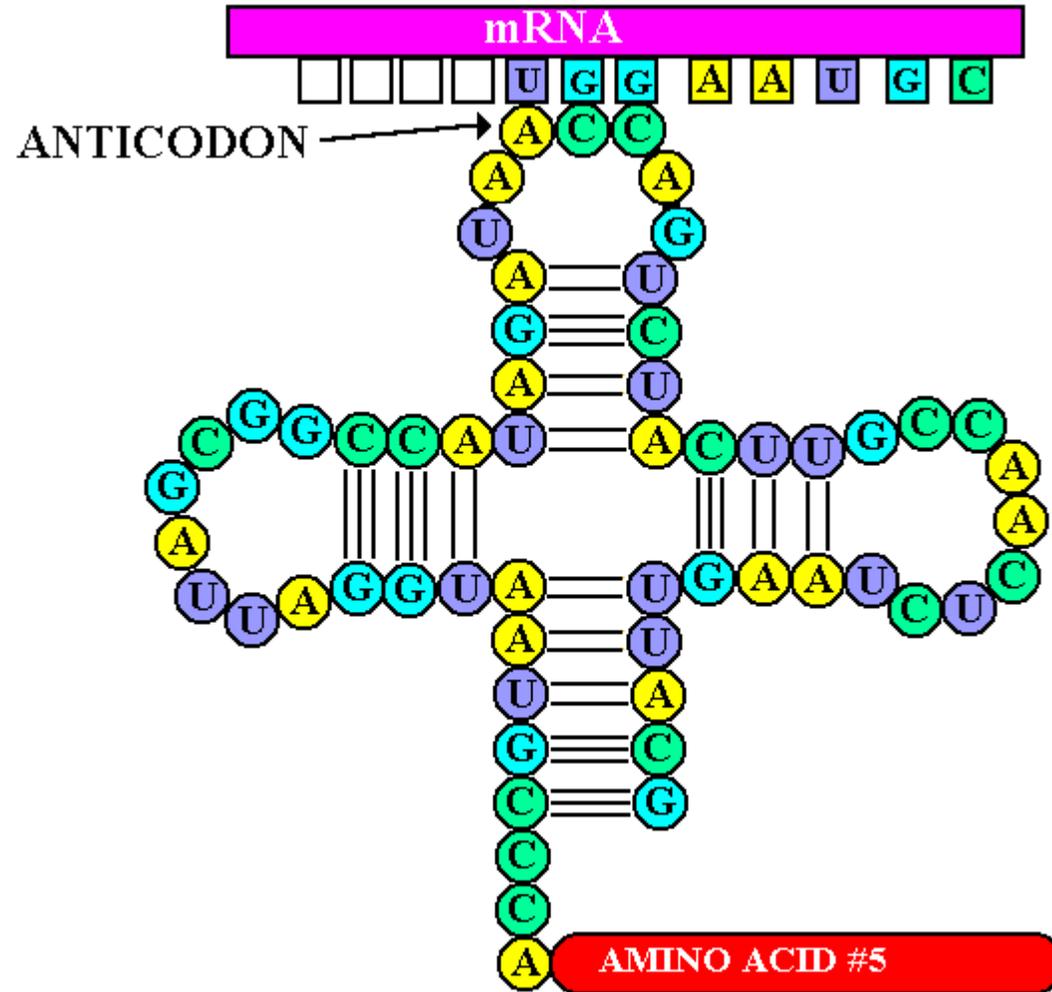


Ligação Peptídica



Proteína - direção de síntese

Codon e Anticodon



Start codon e Stop codon

Início: códon de iniciação da síntese protéica

– AUG –



METIONINA

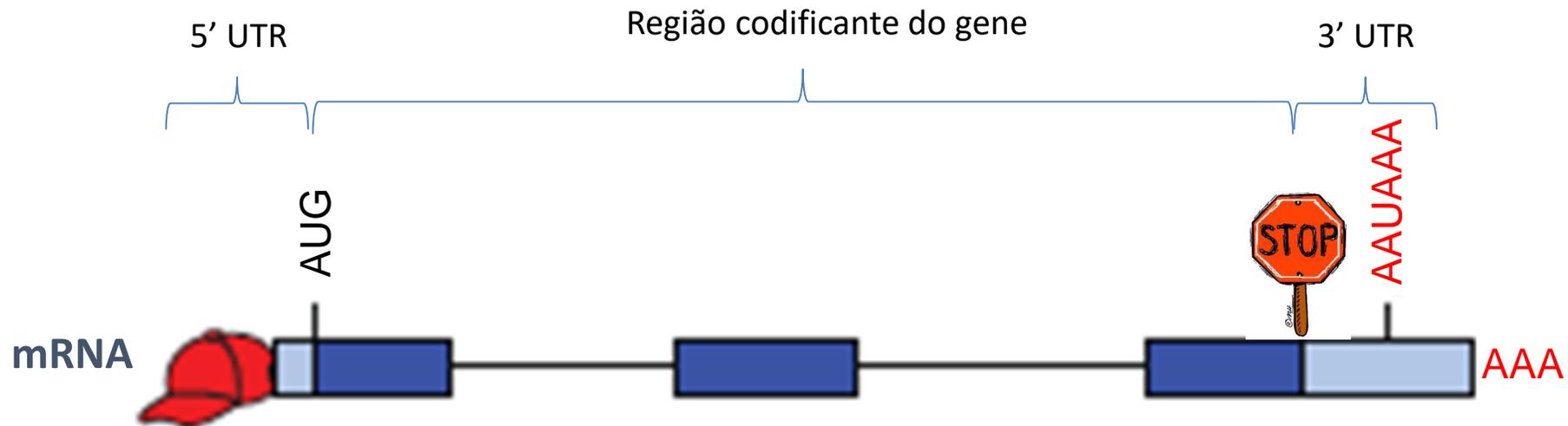
Terminação: três códons terminam a síntese protéica

– UAG – UAA – UGA –



Start codon e Stop codon

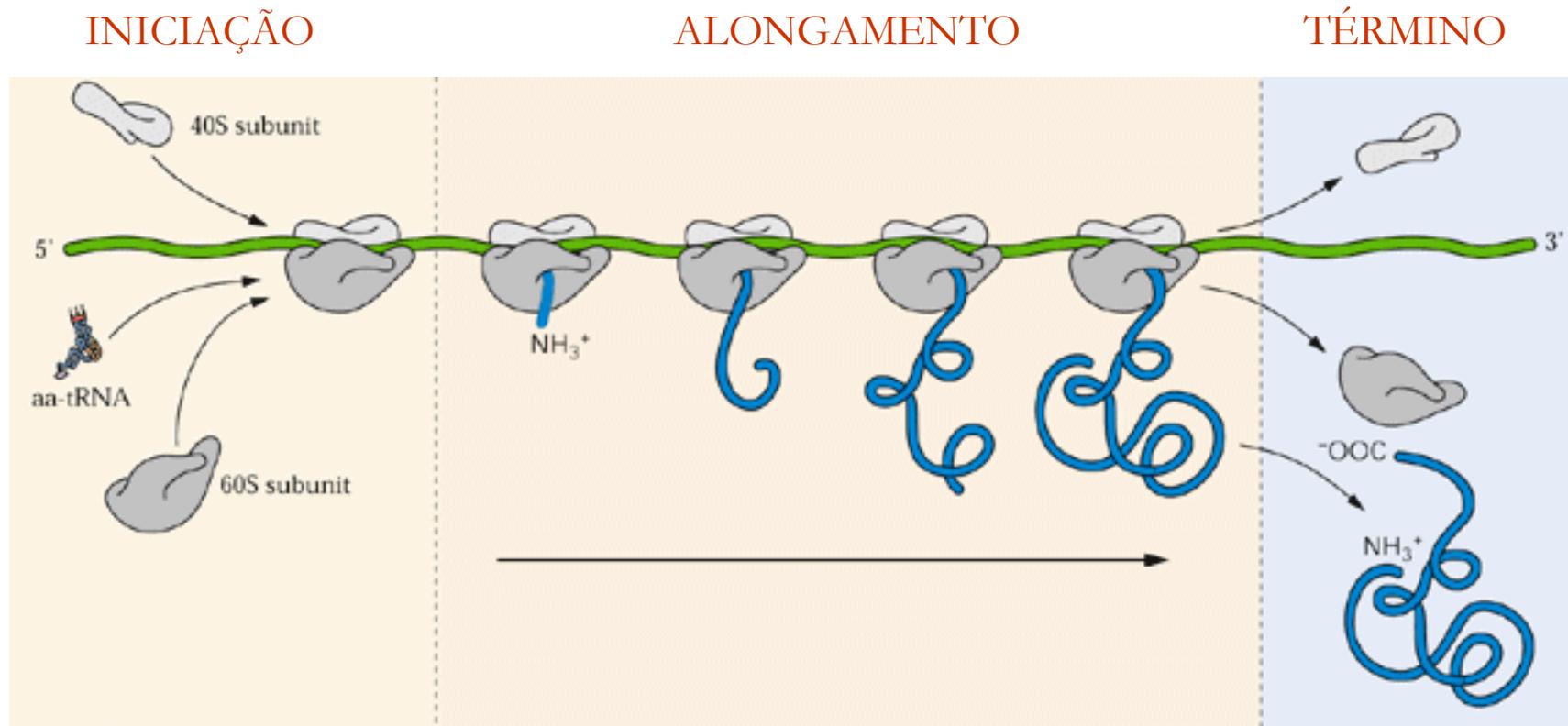
- ❖ Delimitam a região codificante (região que é transcrita e traduzida!)



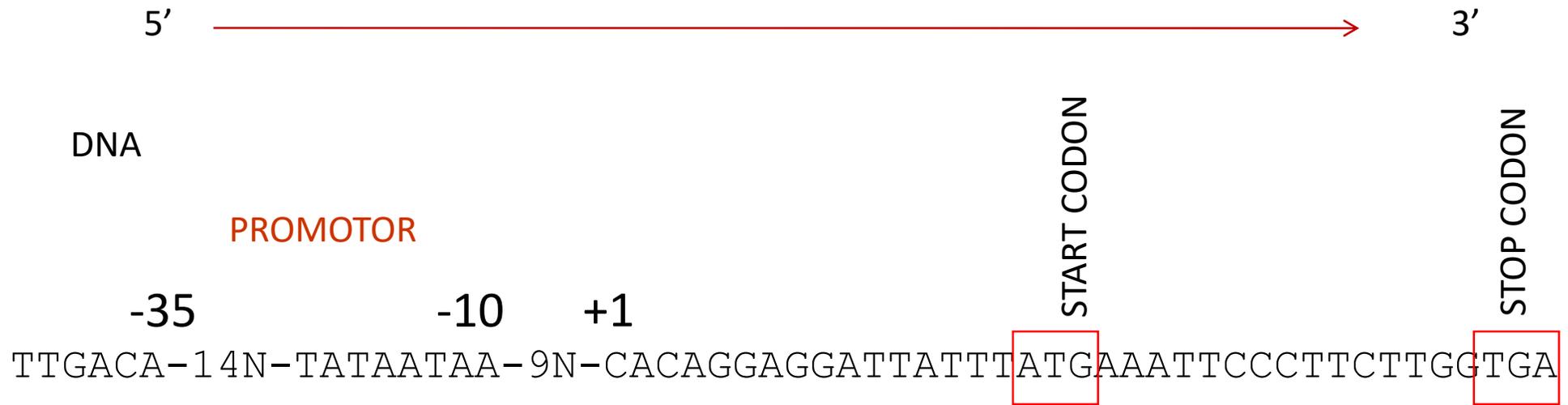
Tradução: Início e Fim

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

Tradução



Dobramento de Proteínas



mRNA CACAGGAGGAUUAUCCAUGAAAUUCCUUCUUGGUGA

The mRNA sequence is: CACAGGAGGAUUAUCCAUGAAAUUCCUUCUUGGUGA. The start codon (AUG) and stop codon (UGA) are highlighted with red boxes.

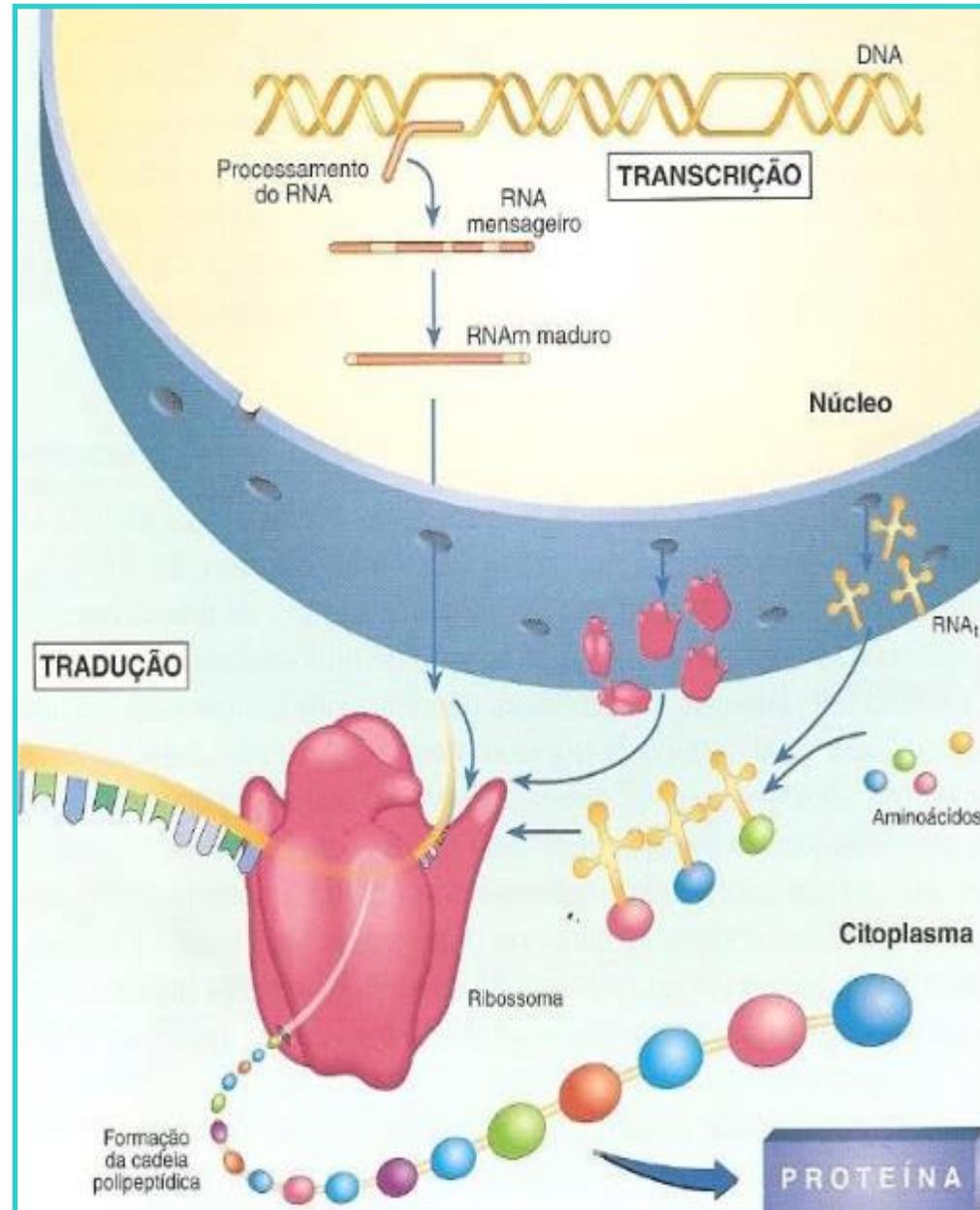
PROTEINA

MET LYS PHE PRO SER TRY



Tradução em Procariotos

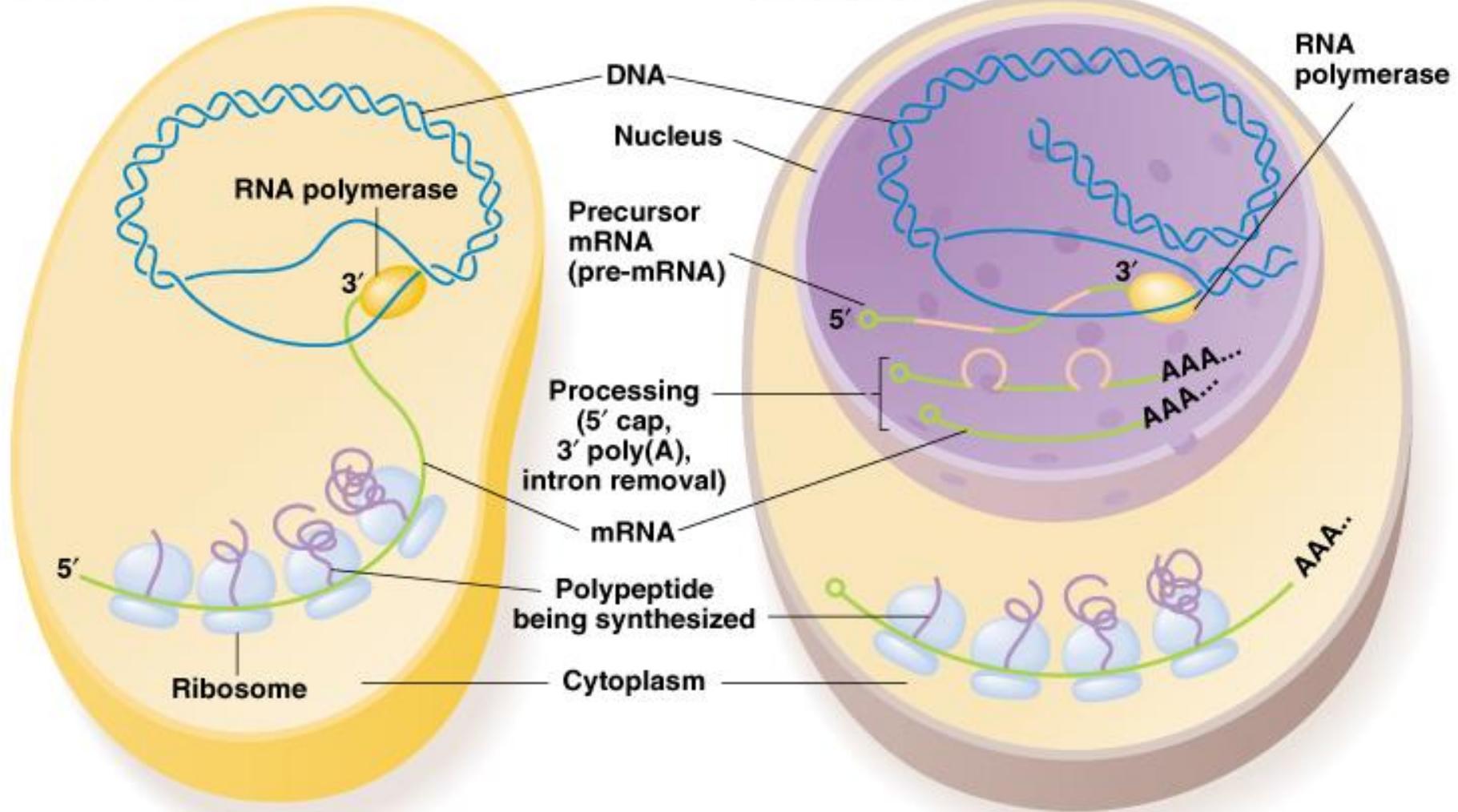
Tradução em Eucariotos



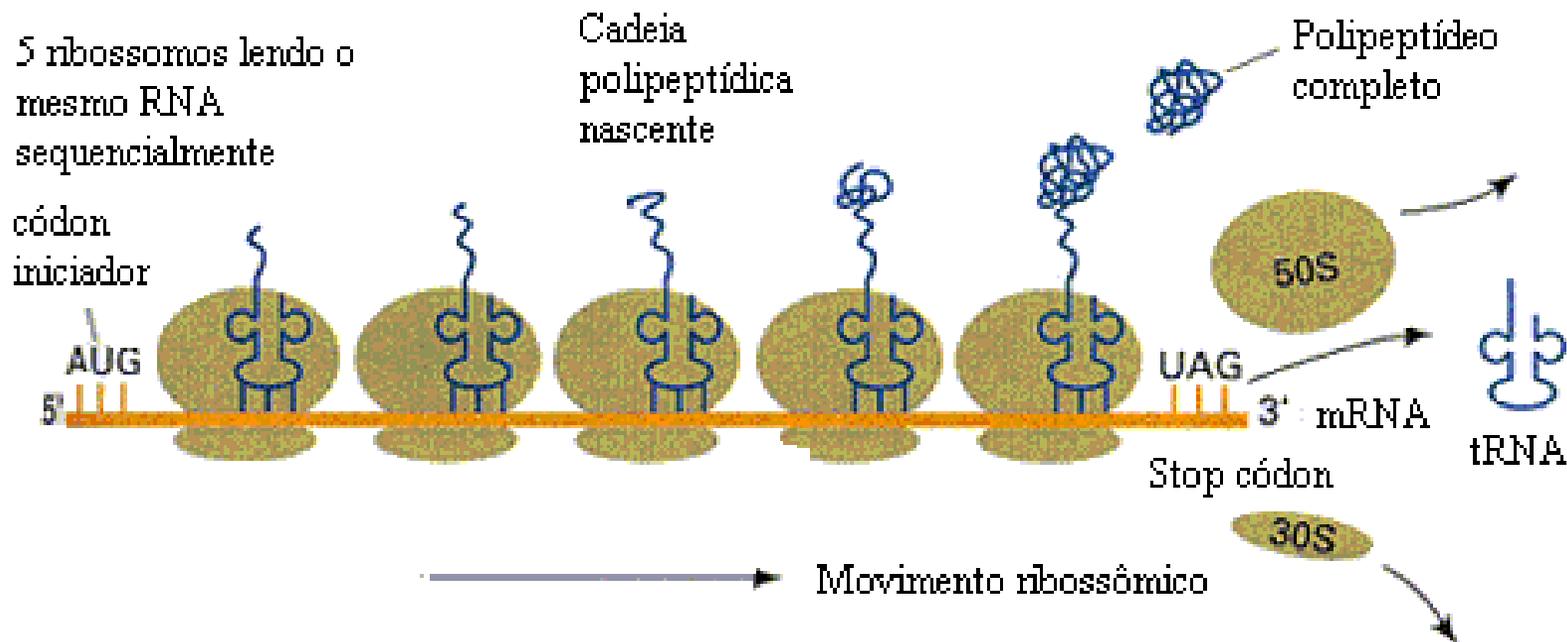
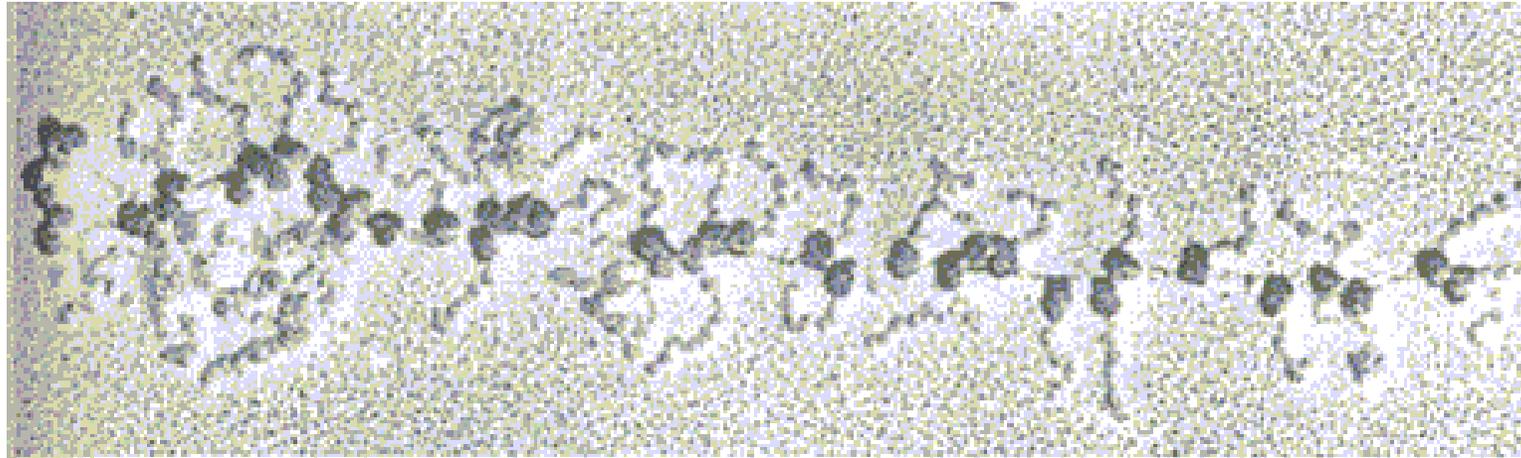
Visão Geral

a) Prokaryote

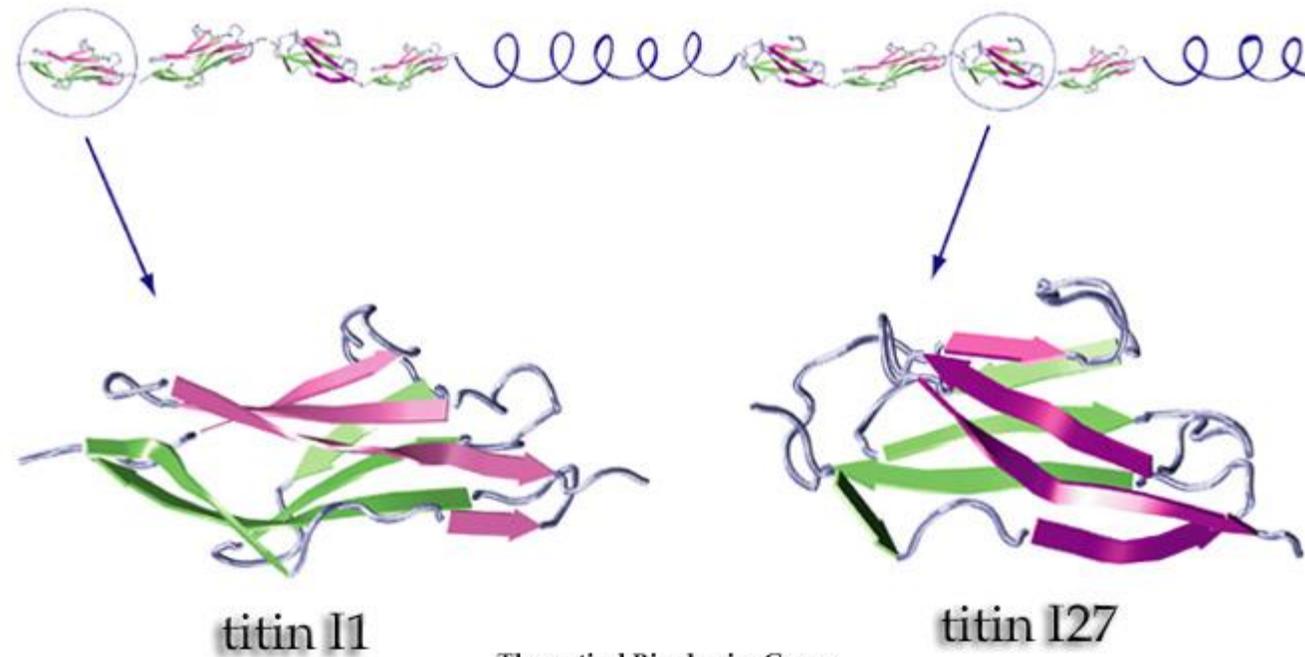
b) Eukaryote



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



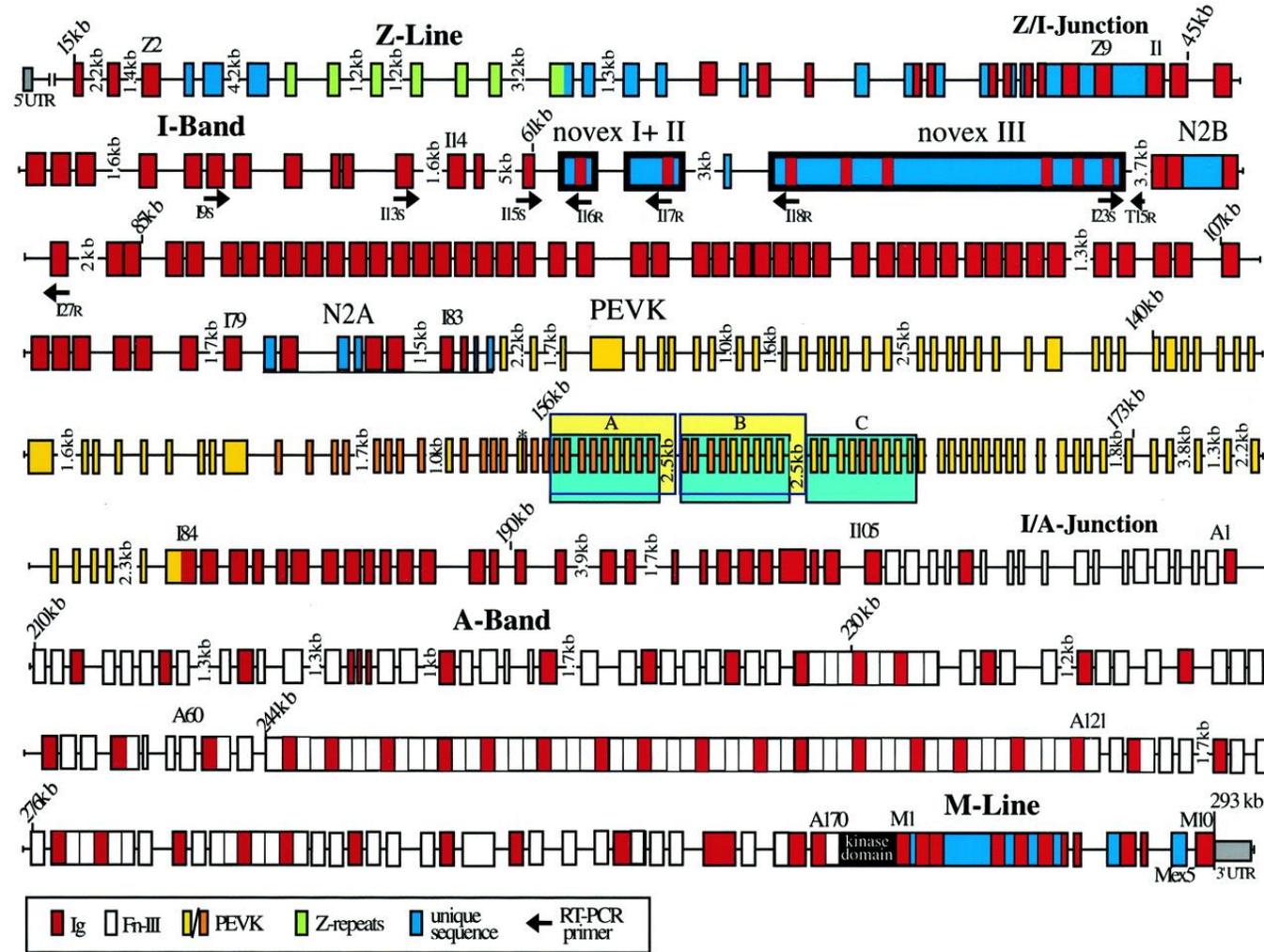
A proteína gigante do músculo **titin** contém 38.138 resíduos de aminoácidos (contém 363 exons) que tem um papel importante na contração e elasticidade dos músculos



titin I1

titin I27

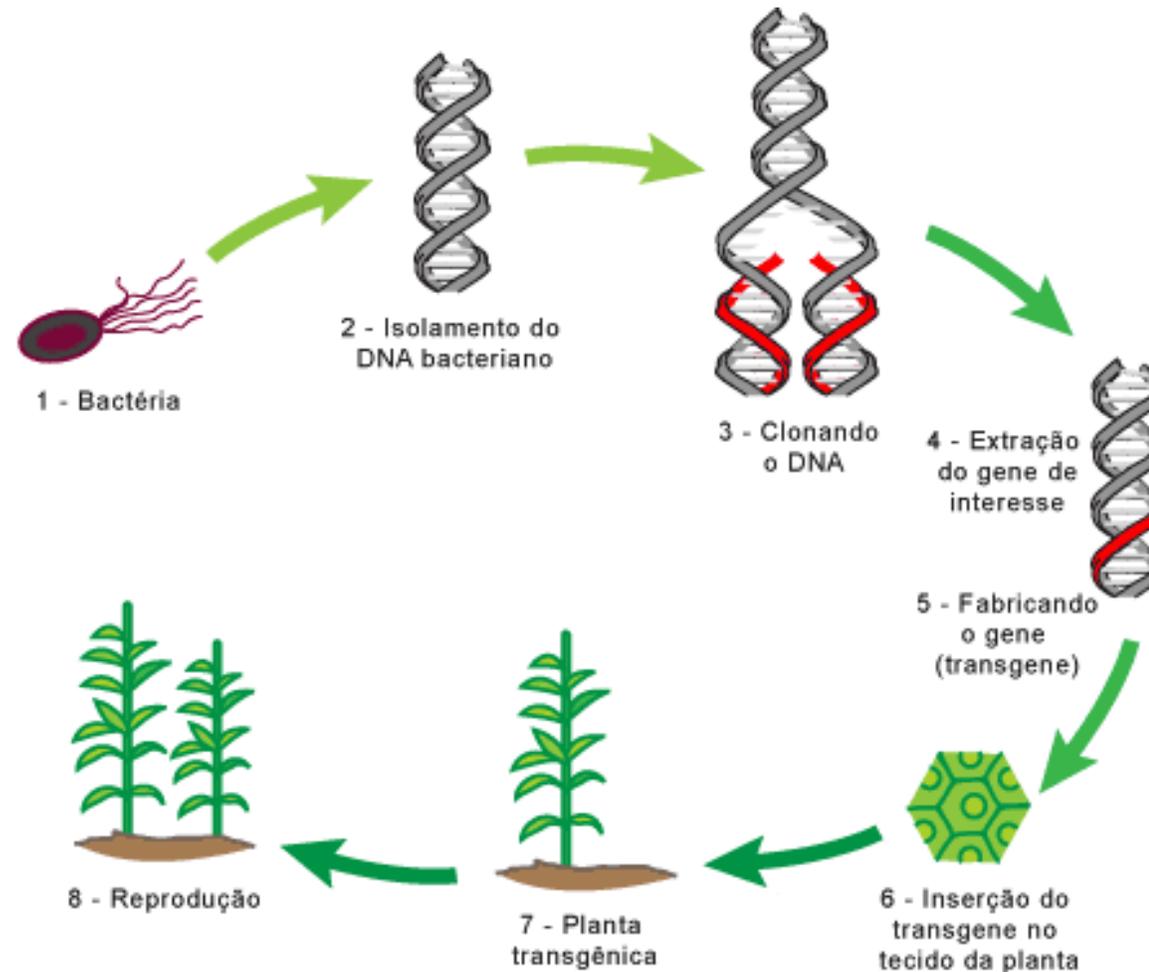
Estrutura de exon-intron do gene titin (293 kb)



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

APLICANDO O CONHECIMENTO...

Obtenção de Organismos Geneticamente Modificados



Construção presente na soja RR®

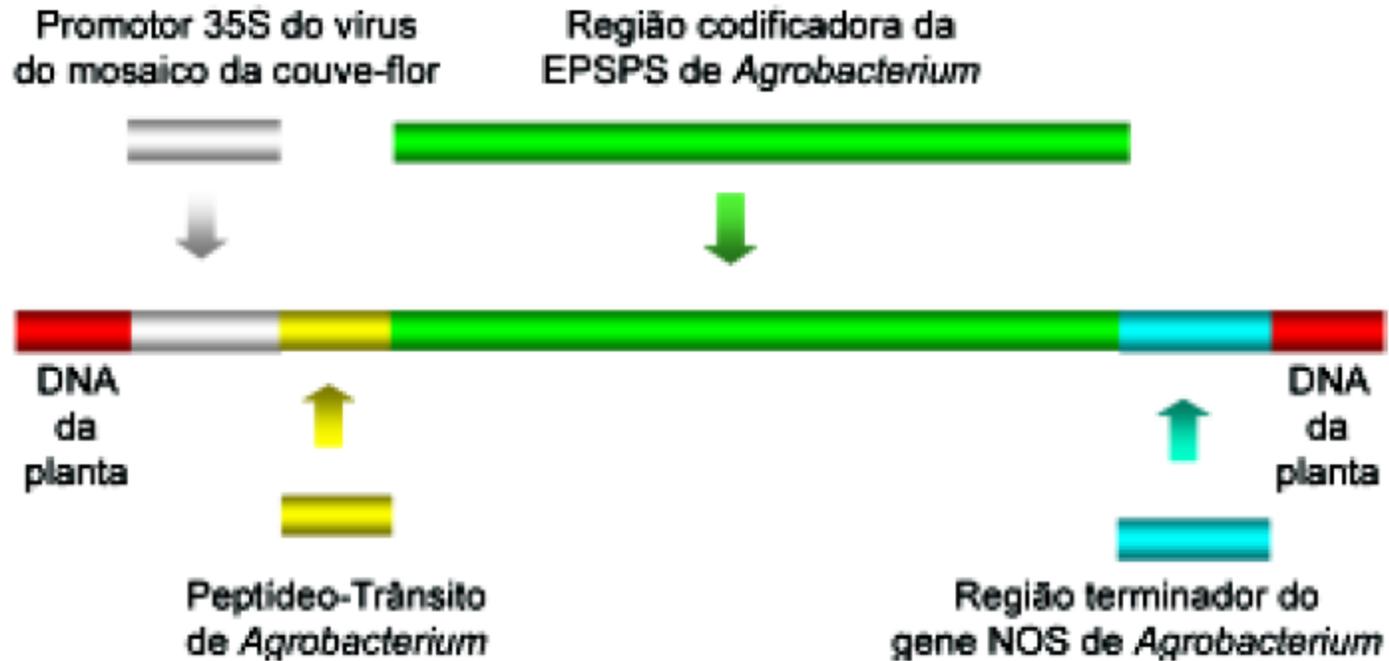


Figura 1 - Representação da construção presente na soja RR® (*Roundup Ready*). Região promotora 35S do vírus do mosaico da couve flor, peptídeo de trânsito de Petúnia, gene que codifica a proteína EPSPS, que confere a resistência ao herbicida, e o terminador do gene da nopalina sintase (NOS).

Visualizando o processo...

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

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

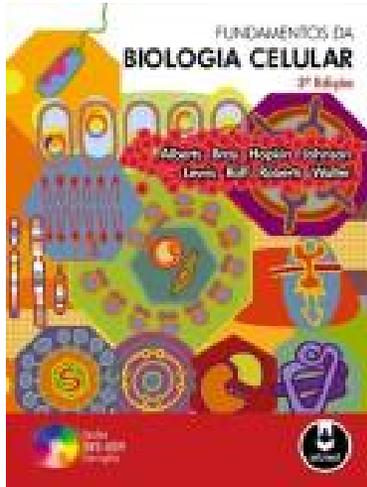
<http://qnint.sbq.org.br/qni/visualizarTema.php?idTema=33>

<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 codificante: start codon e stop codon.
9. Processo de tradução

Dogma Central da Biologia Celular - Mapa conceitual