Regulação da expressão gênica I

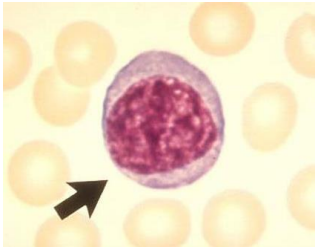
“Potência sem controle não é nada!”

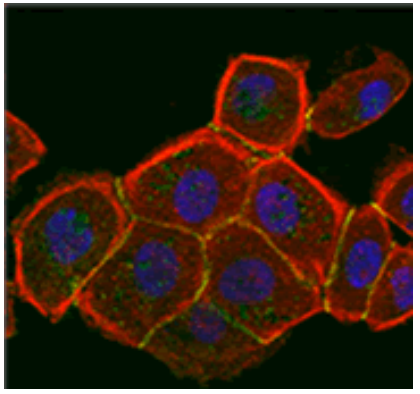
Enrique Boccardo

eboccardo@usp.br

Regulação da expressão gênica

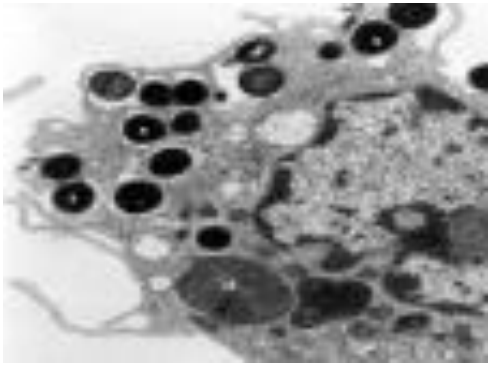
Como é possível?

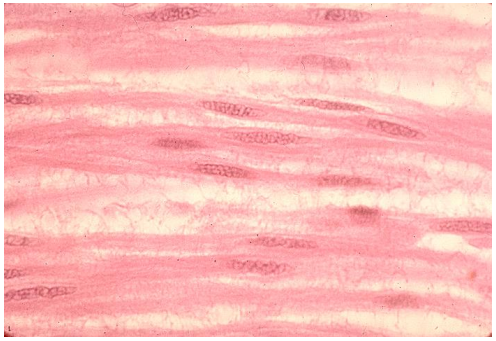


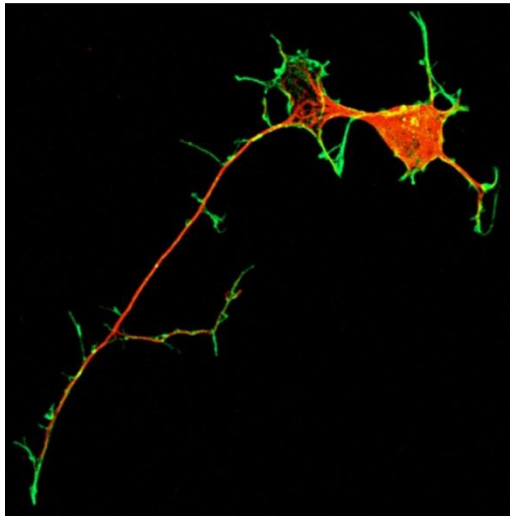










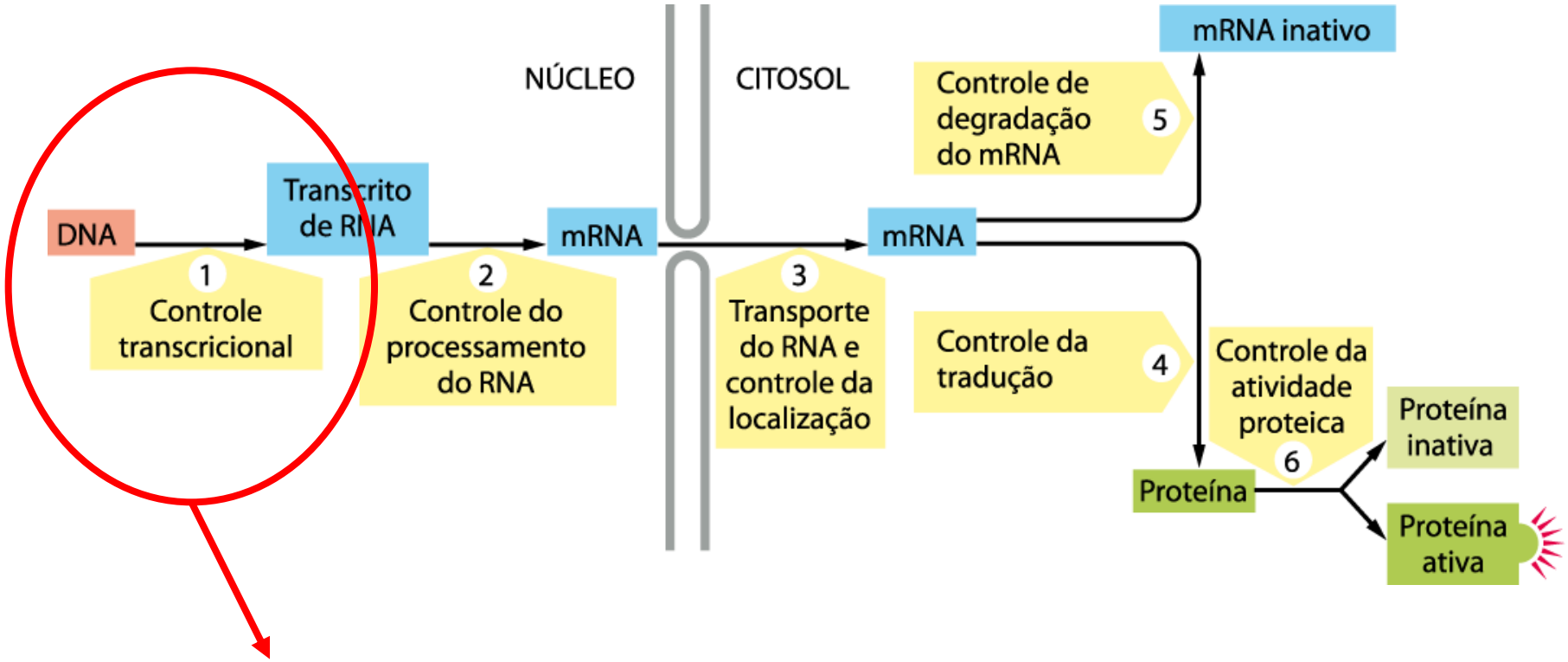


Regulação da expressão gênica

Tudo pode ser resumido a poucas questões simples...

- **QUEM?**
- **ONDE?**
- **QUANDO?**
- **QUANTO?**

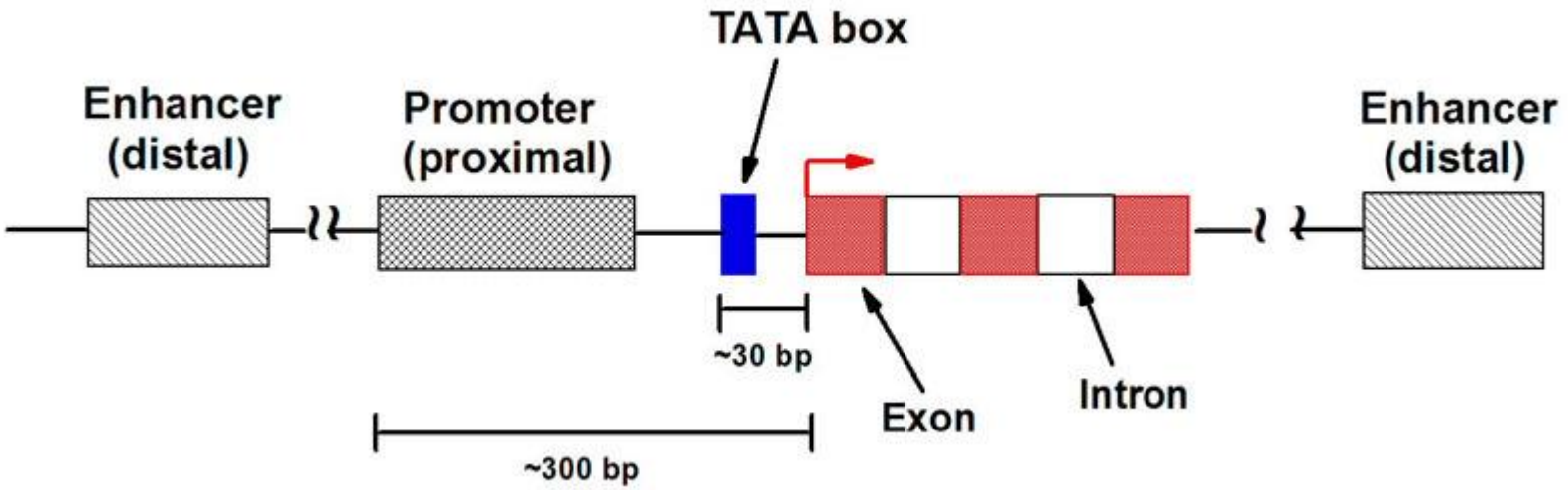
Regulação da expressão gênica



O controle do início do transcrição é o principal

Regulação da expressão gênica

Estrutura de um gene que codifica proteínas



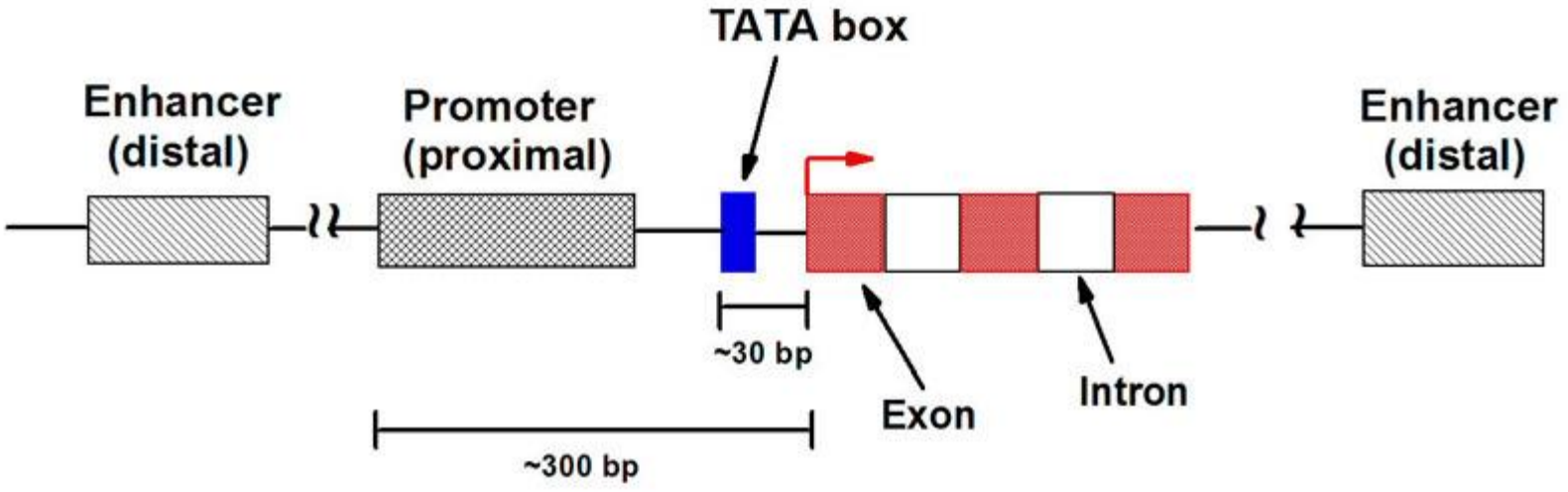
Funcionalmente, um gene é maior do que a região que codifica a proteína

Regulação da expressão gênica

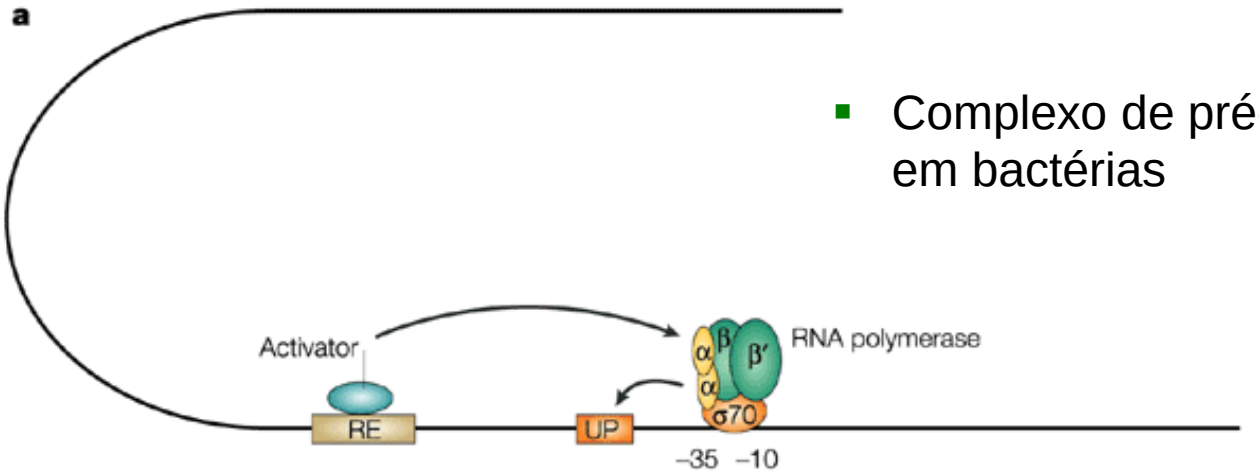
A expressão de um gene é regulada por uma combinação de:

- **Elementos *trans*** – proteínas codificadas por outra molécula de DNA ou por genes distantes que precisam se locomover para chegar ao promotor que será regulado.

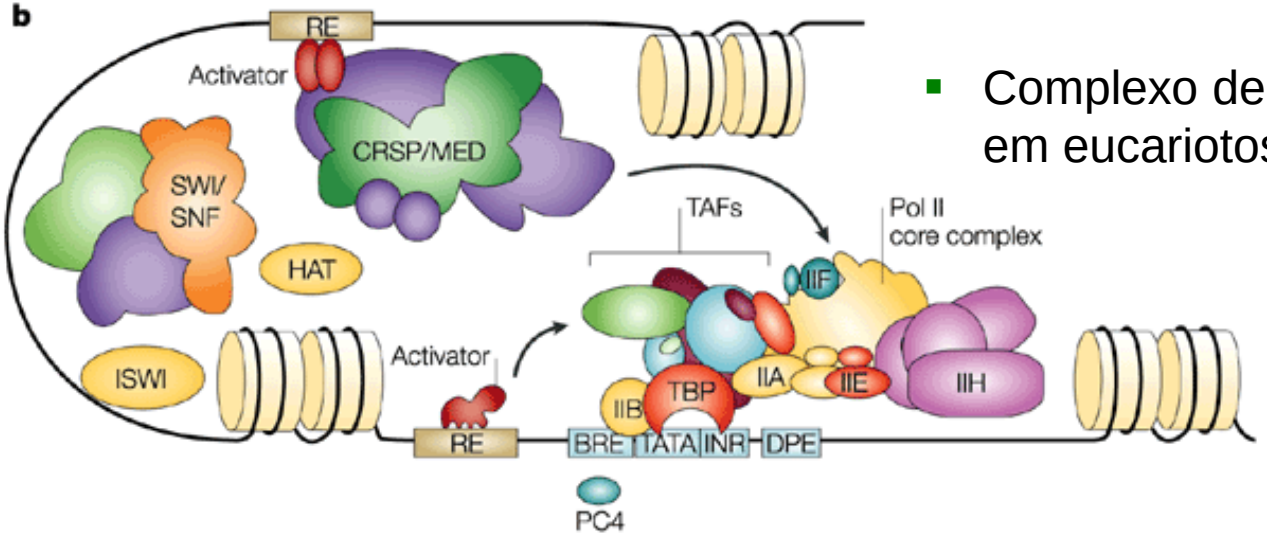
- **Elementos *cis*** – seqüências presentes no promotor ou no *enhancer* do gene regulado



Regulação da expressão gênica



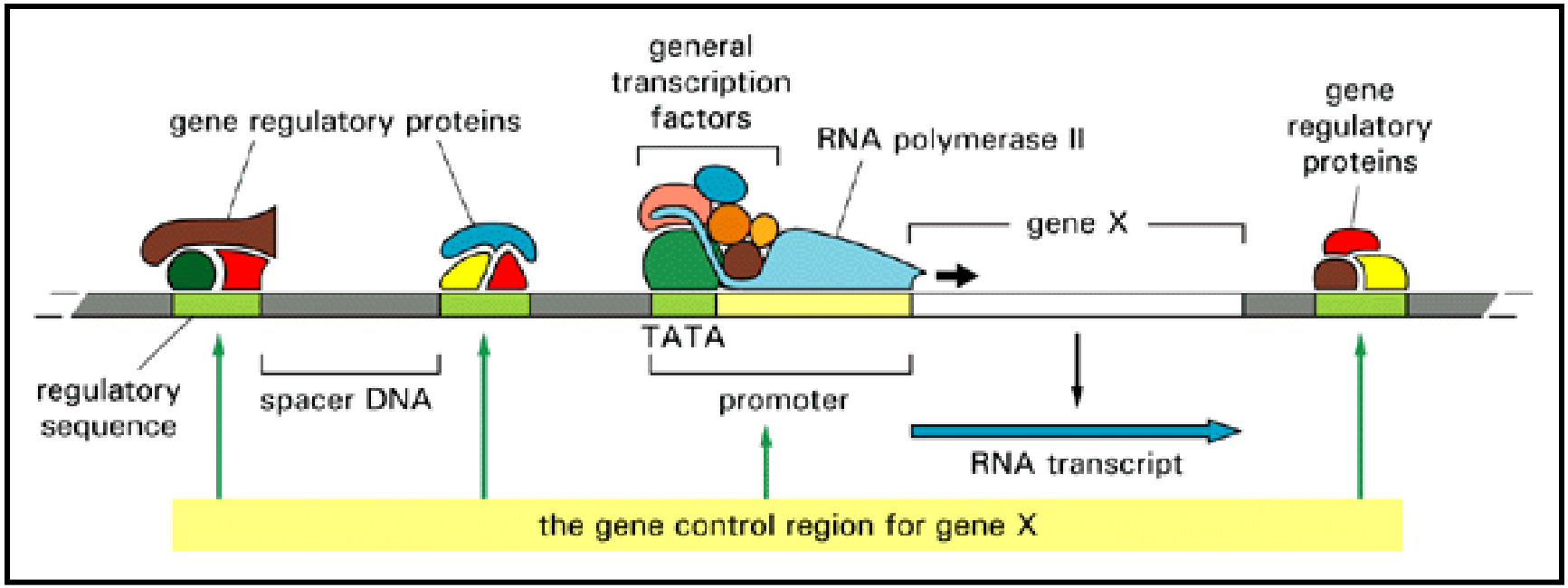
- Complexo de pré-iniciação em bactérias



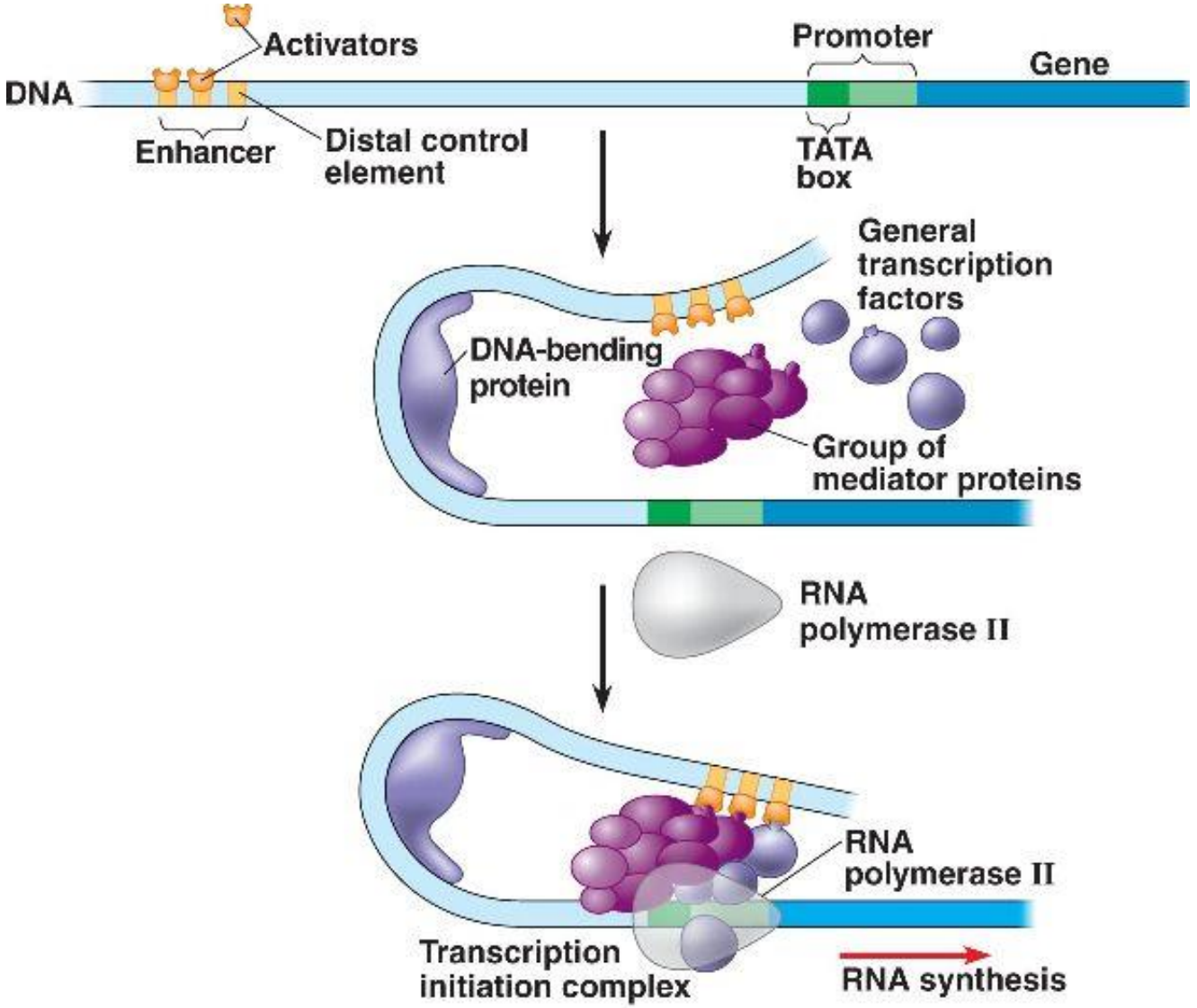
- Complexo de pré-iniciação em eucariotos.

Regulação da expressão gênica

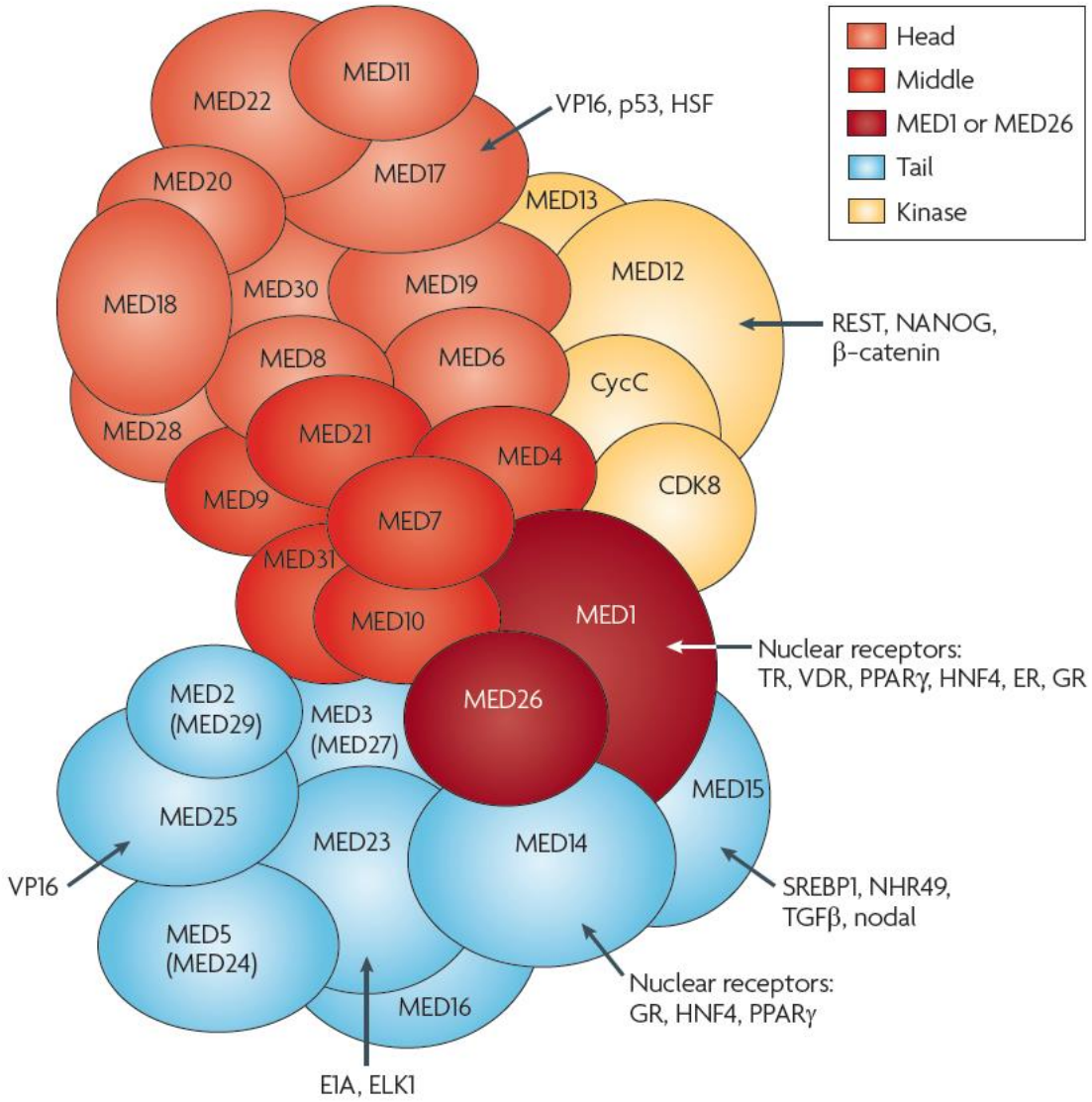
- **A expressão de um gene é regulada por uma combinação de seqüências regulatórias e fatores de transcrição.**



Regulação da expressão gênica



Regulação da expressão gênica

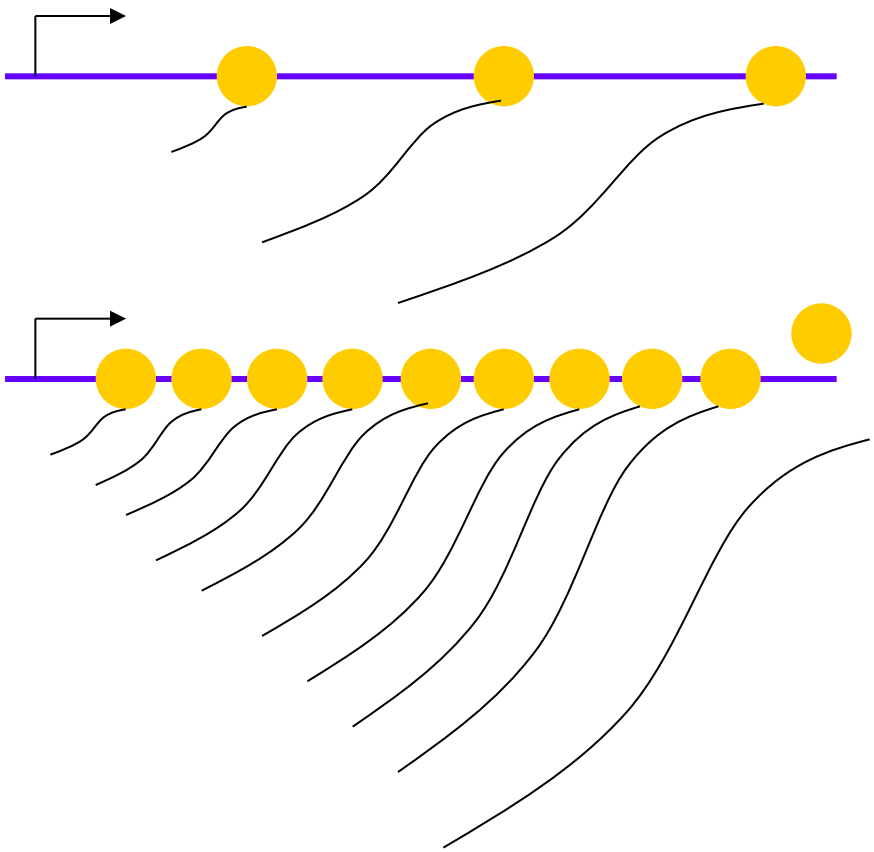


Regulação da expressão gênica

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Fatores que decodificam mensagens do exterior da célula para o núcleo

Alteram a taxa de iniciação de transcrição gênica

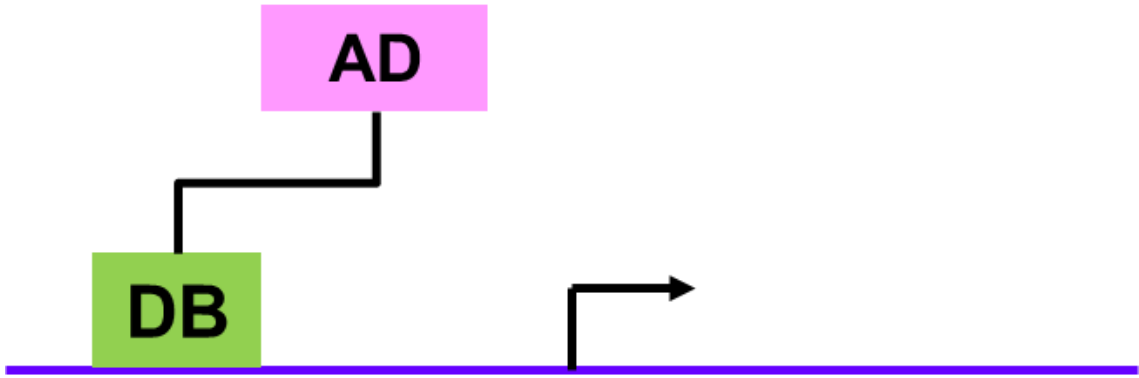


Regulação da expressão gênica

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Fatores que decodificam mensagens do exterior da célula para o núcleo

Alteram a taxa de iniciação de transcrição gênica



Regulação da expressão gênica

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

- A combinação é importante.

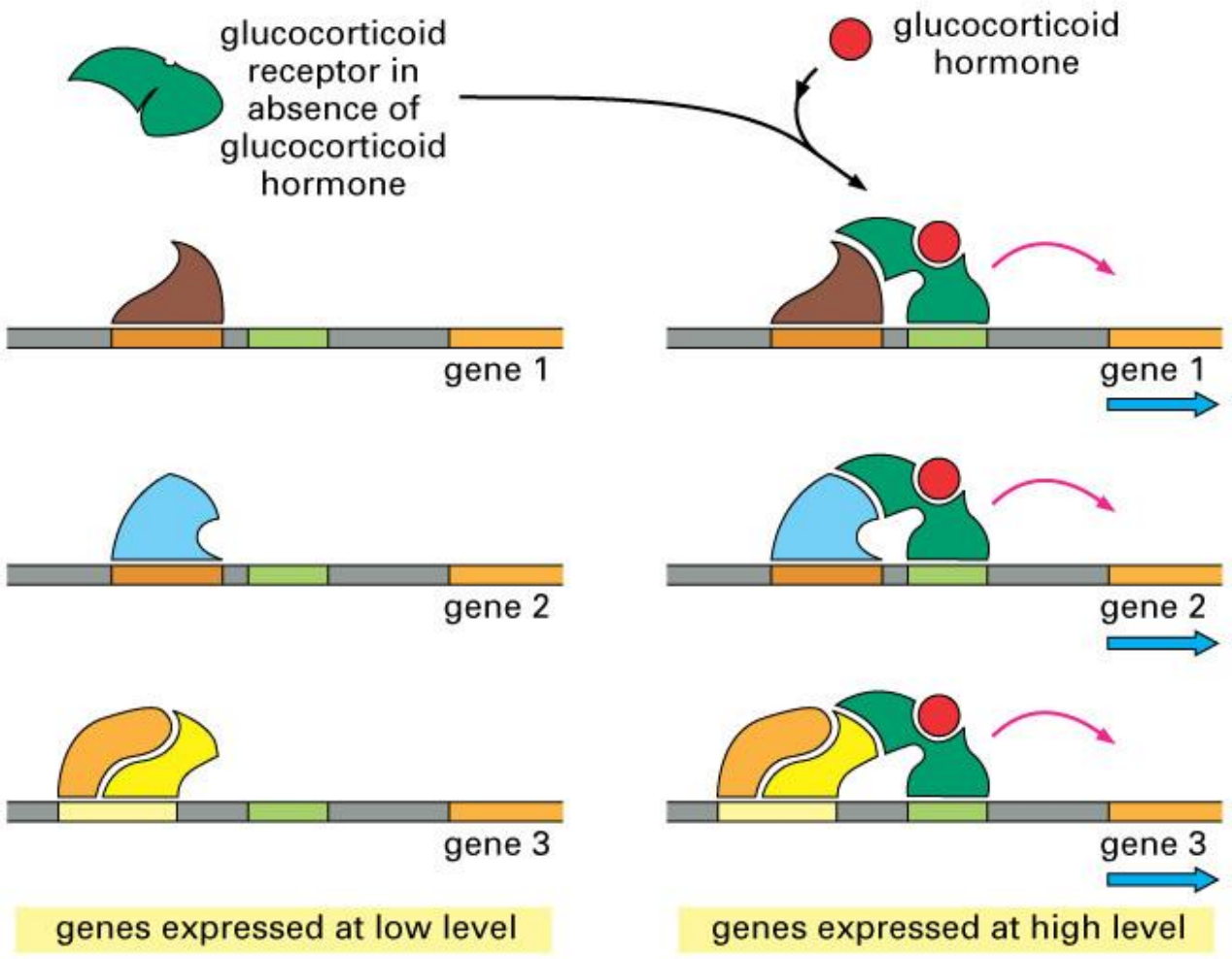
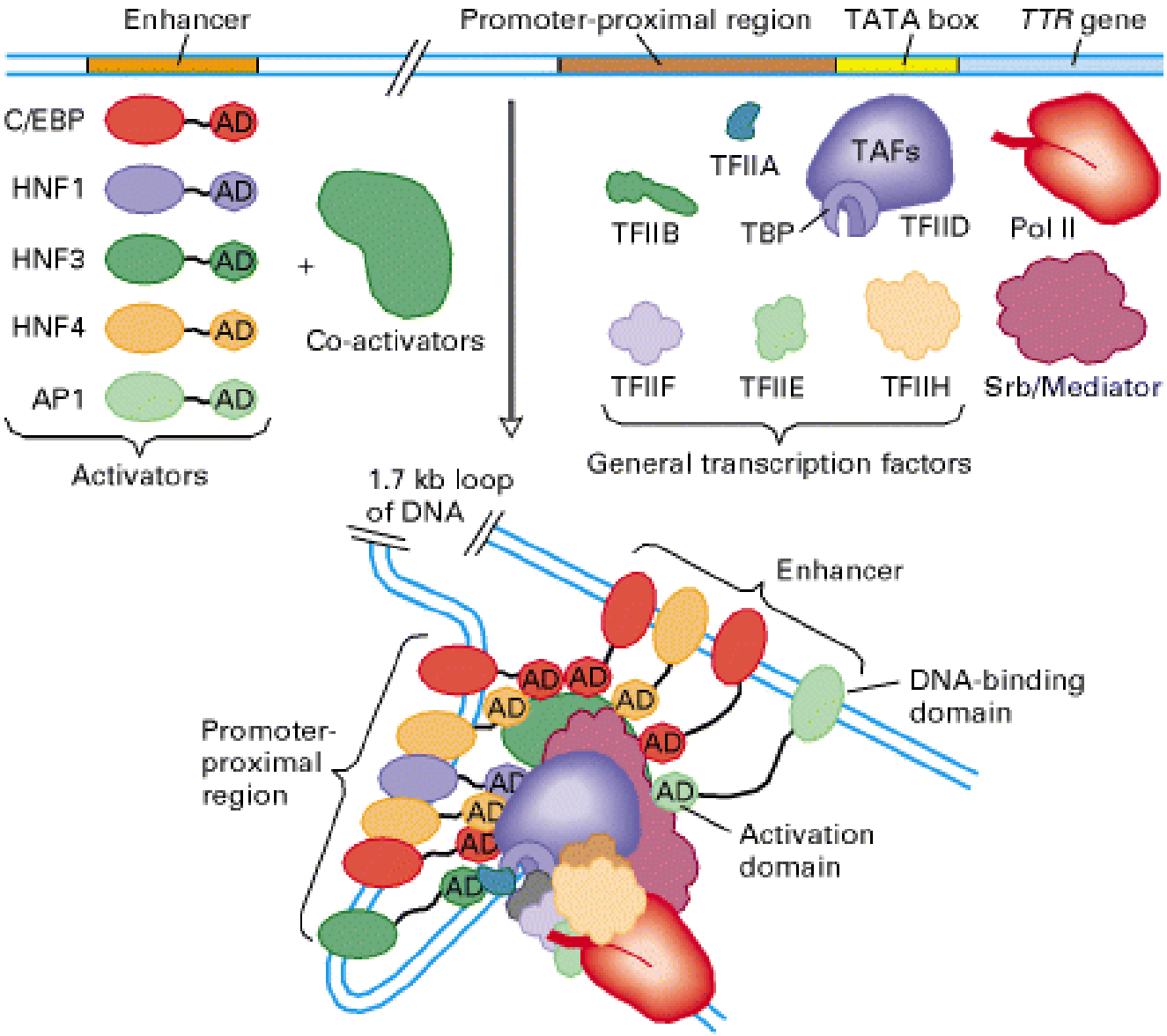


Figure 8-20 Essential Cell Biology, 2/e. (© 2004 Garland Science)

Regulação da expressão gênica

FATORES DE TRANSCRIÇÃO



Regulação da expressão gênica

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

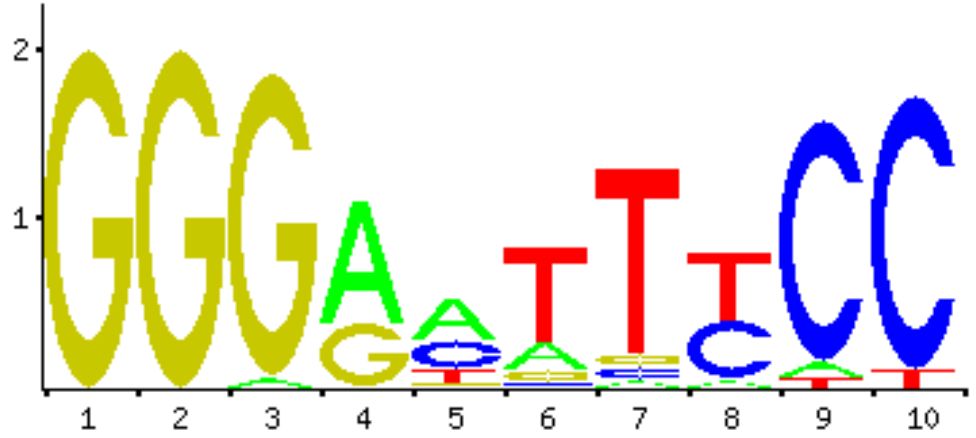
- Os fatores de transcrição atúam através de sua ligação à seqüências específicas.

Fator de Transcrição	Sítio de ligação consenso
Specificity protein 1 (Sp1)	GGGCGG
CCAAT/Enhancer binding protein (C/EBP)	CCAAT
Activator protein 1 (AP1)	TGACTCA
Octamer binding proteins (OCT-1 and OCT-2)	ATGCAAAT
E-box binding proteins (E12, E47, E2-2)	CANNTG

N = qualquer nucleotídeo

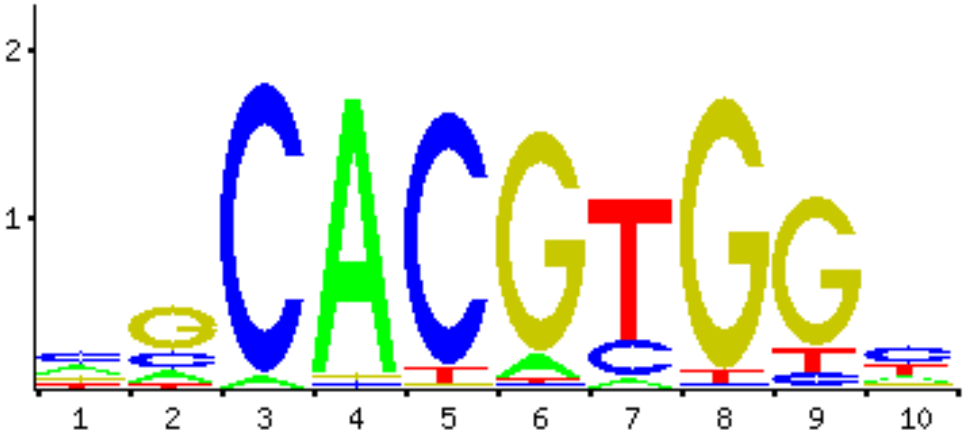
Regulação da expressão gênica

FATORES DE TRANSCRIÇÃO



NFκB

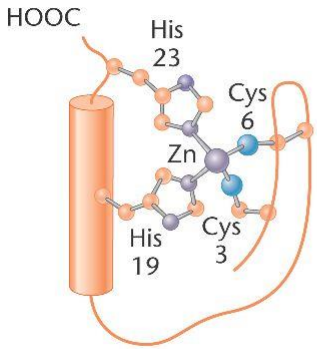
- Cada fator tem sua seqüência consenso.

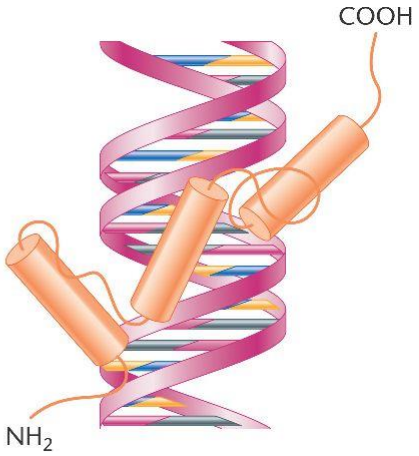


Myc

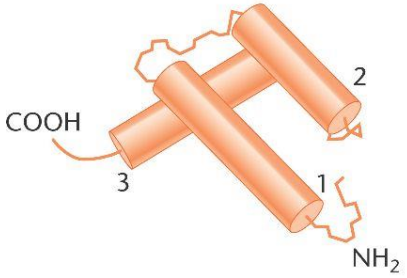
FATORES DE TRANSCRIÇÃO: estruturas específicas

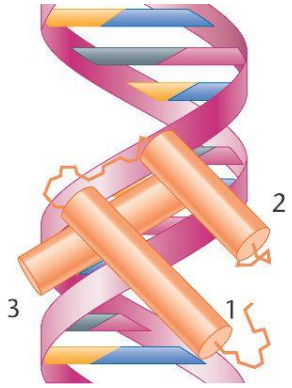
Zinc fingers



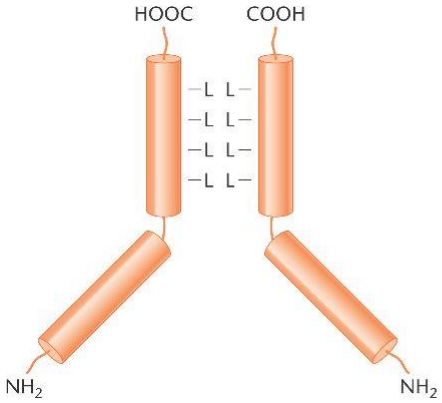


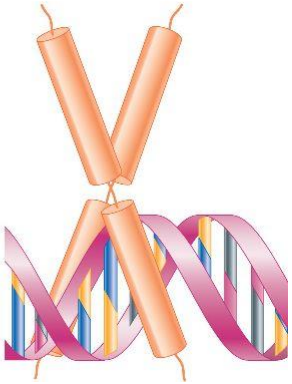
Helix-turn-helix



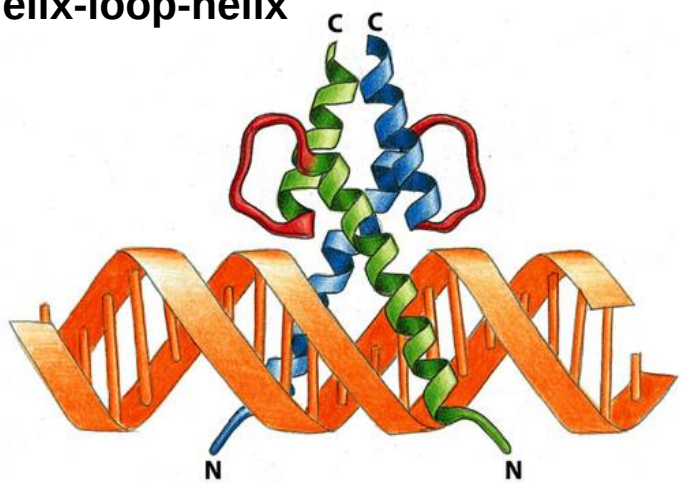


Leucine ziper



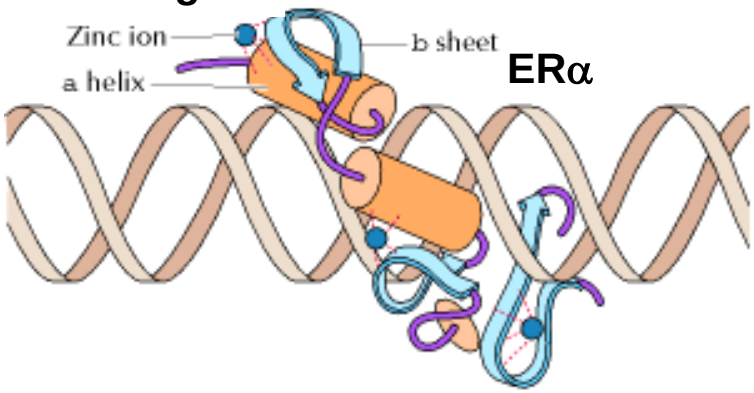


Helix-loop-helix



FATORES DE TRANSCRIÇÃO: estruturas específicas

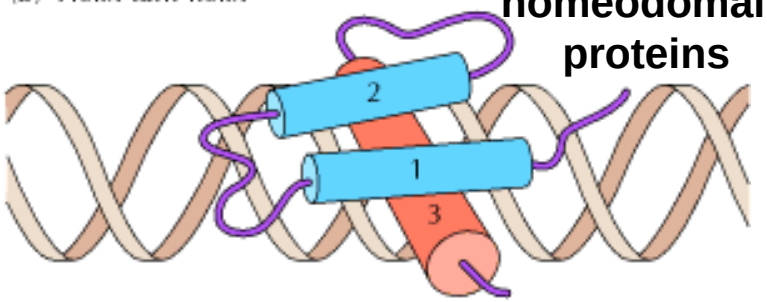
Zinc fingers



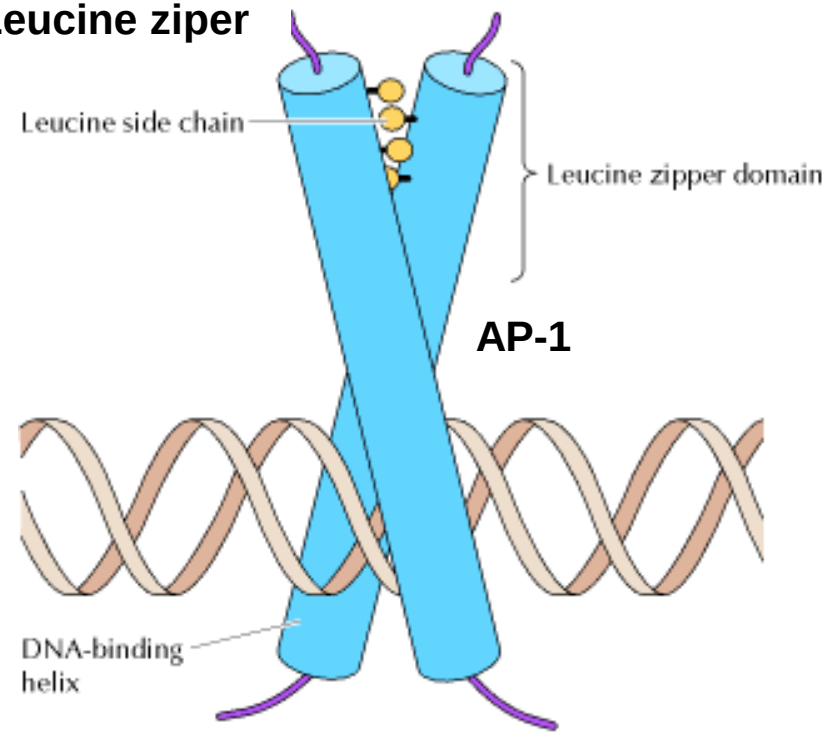
ERα

Helix-turn-helix

homeodomain proteins

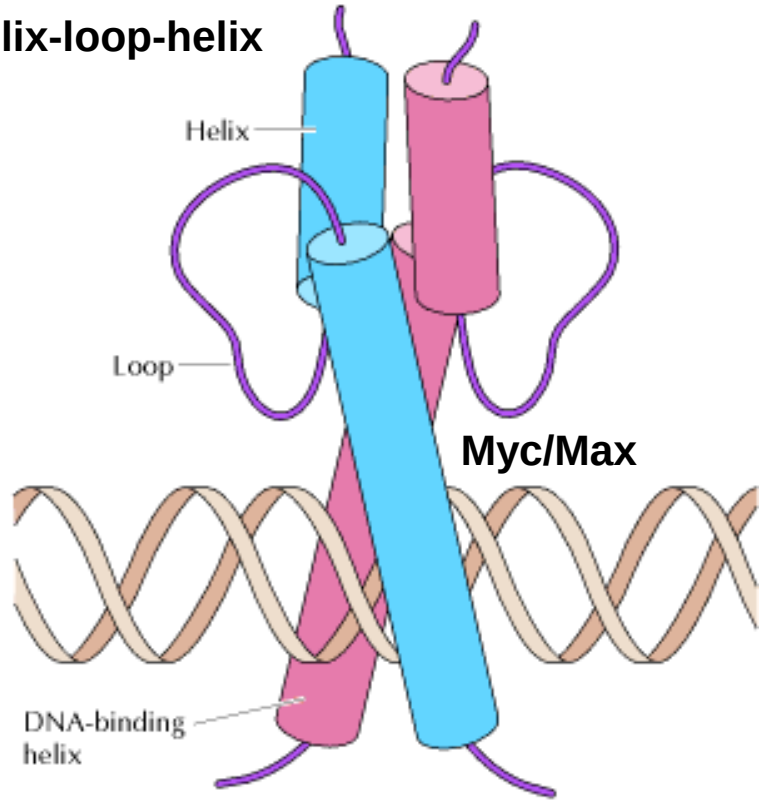


Leucine ziper



AP-1

Helix-loop-helix



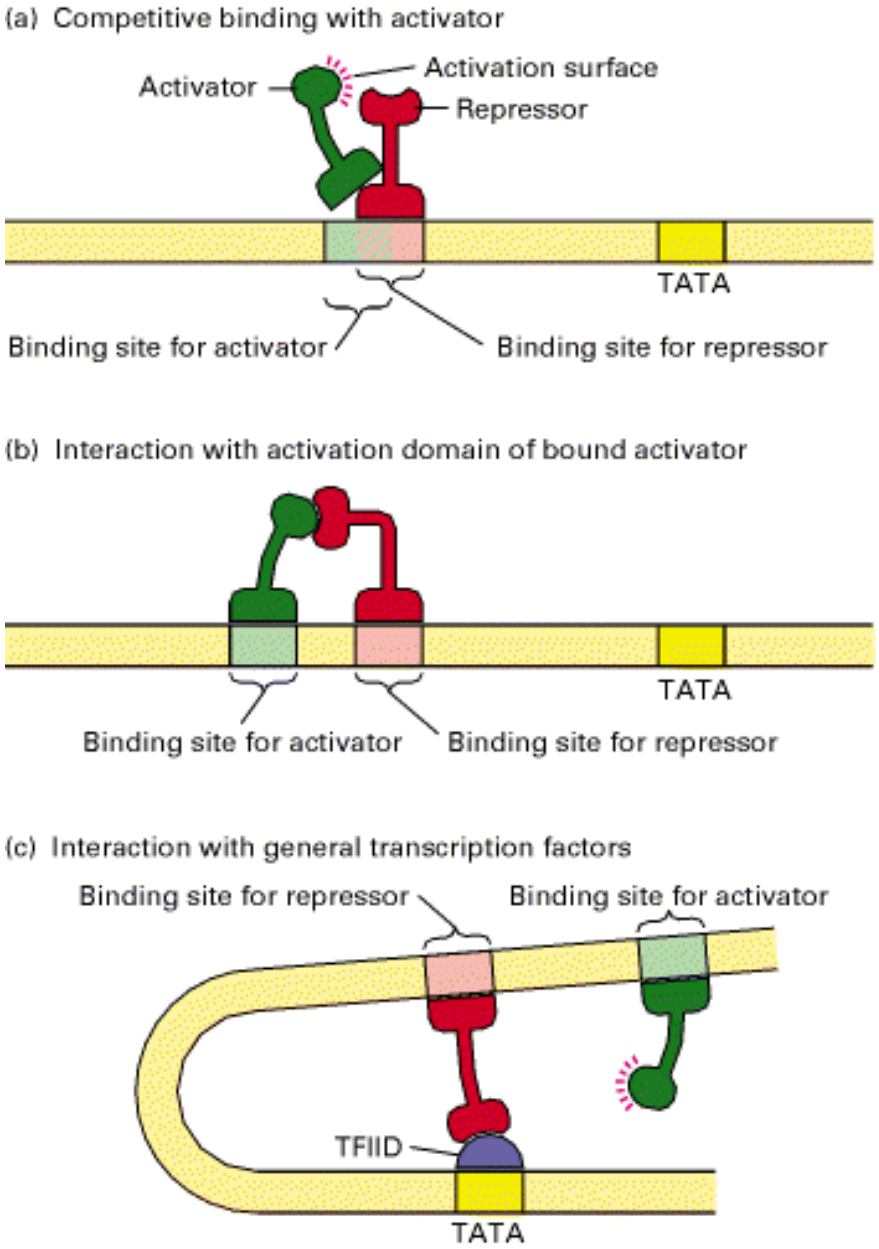
Myc/Max

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Fatores de transcrição também podem reprimir expressão gênica.

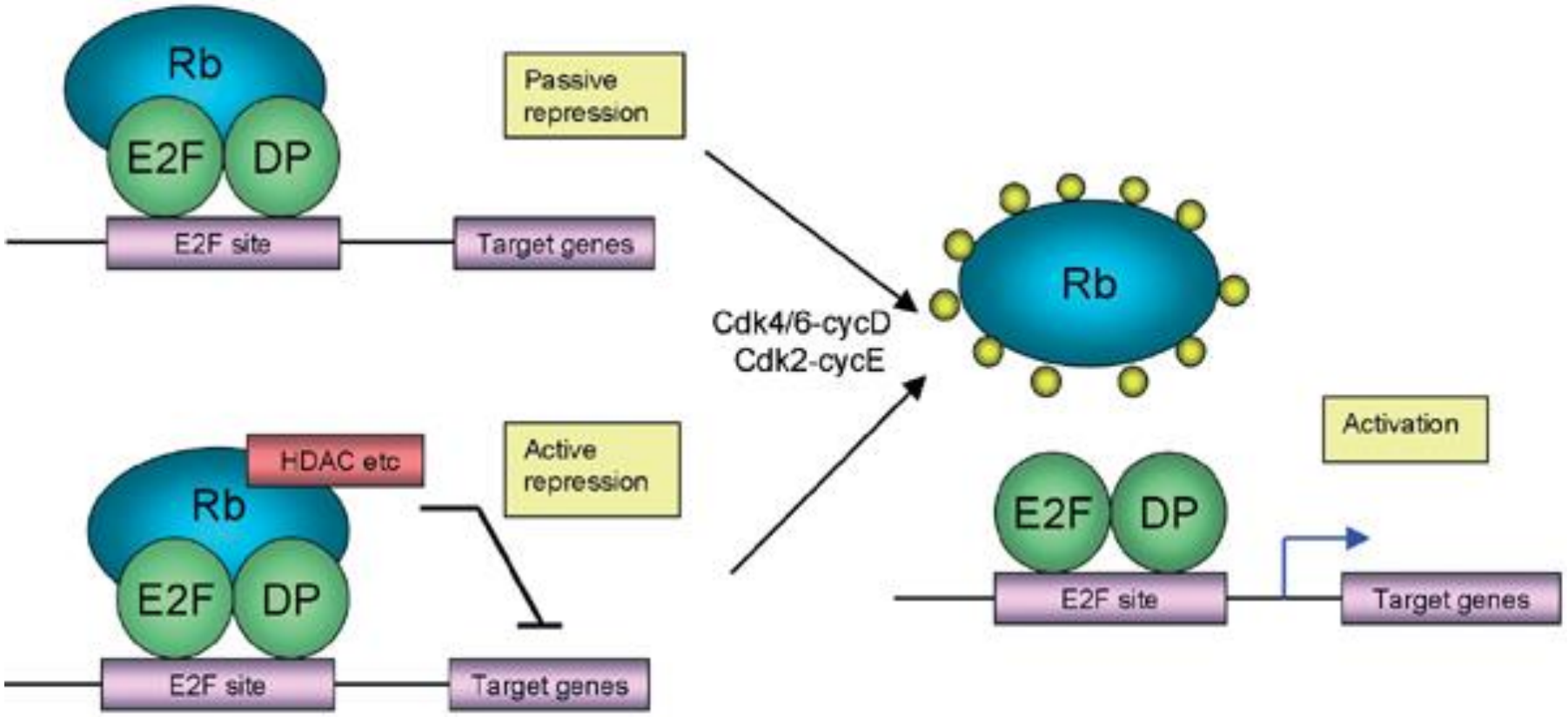
Interação direta com outros fatores de transcrição

Recrutamento de enzimas que alterem o status da cromatina eg., Mad/Max - HDAC



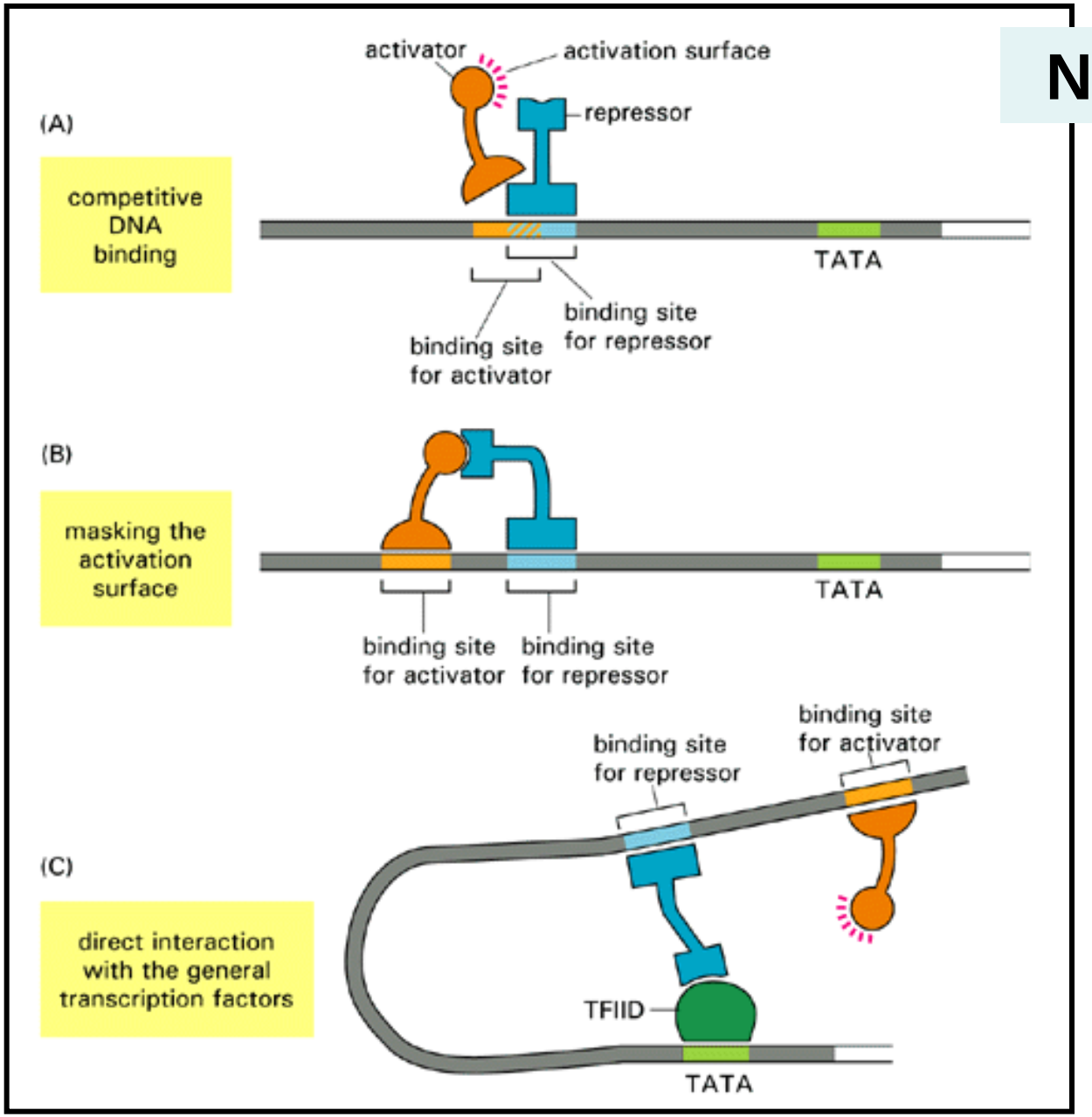
Regulação da expressão gênica

Positiva vs. Negativa



Regulação da expressão gênica

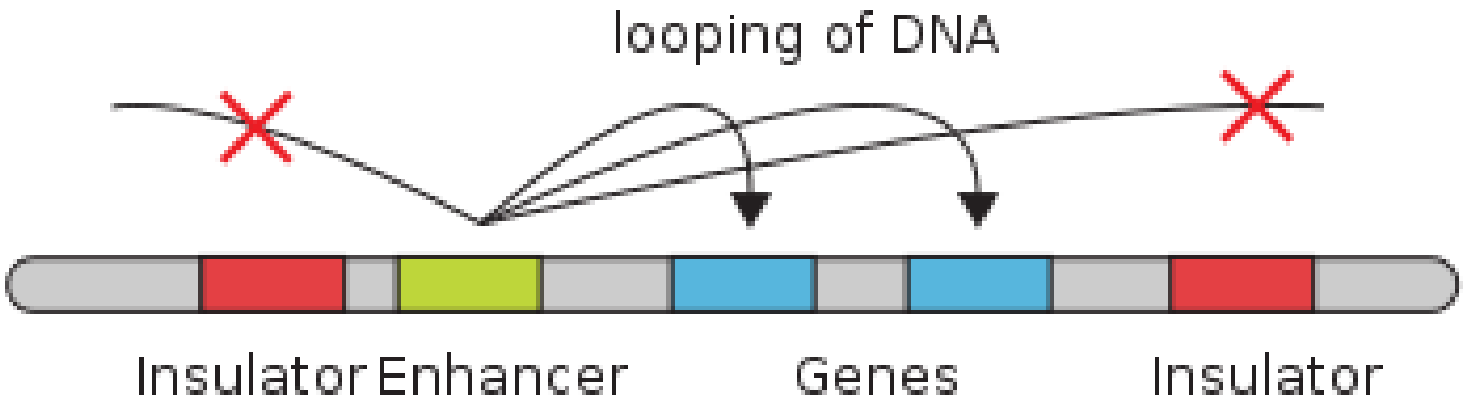
Negativa



Regulação da expressão gênica

Elementos regulatórios à distância: *Enhancers* e *insulators*

Podem regular a expressão de um gene distante independentemente da sua orientação ou posição.



Regulação da expressão gênica

Elementos regulatórios: *Enhancers*

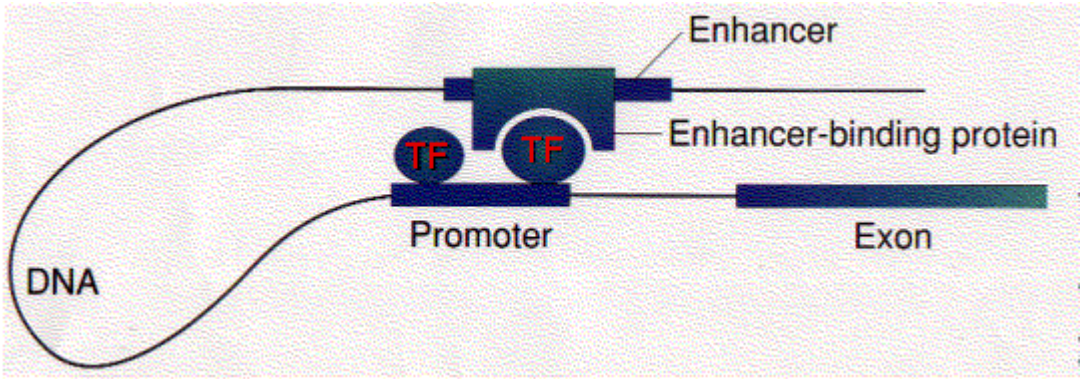
ESTRUTURA
Promovem dobras ou alterações na estrutura do DNA facilitando a ligação da maquinaria basal

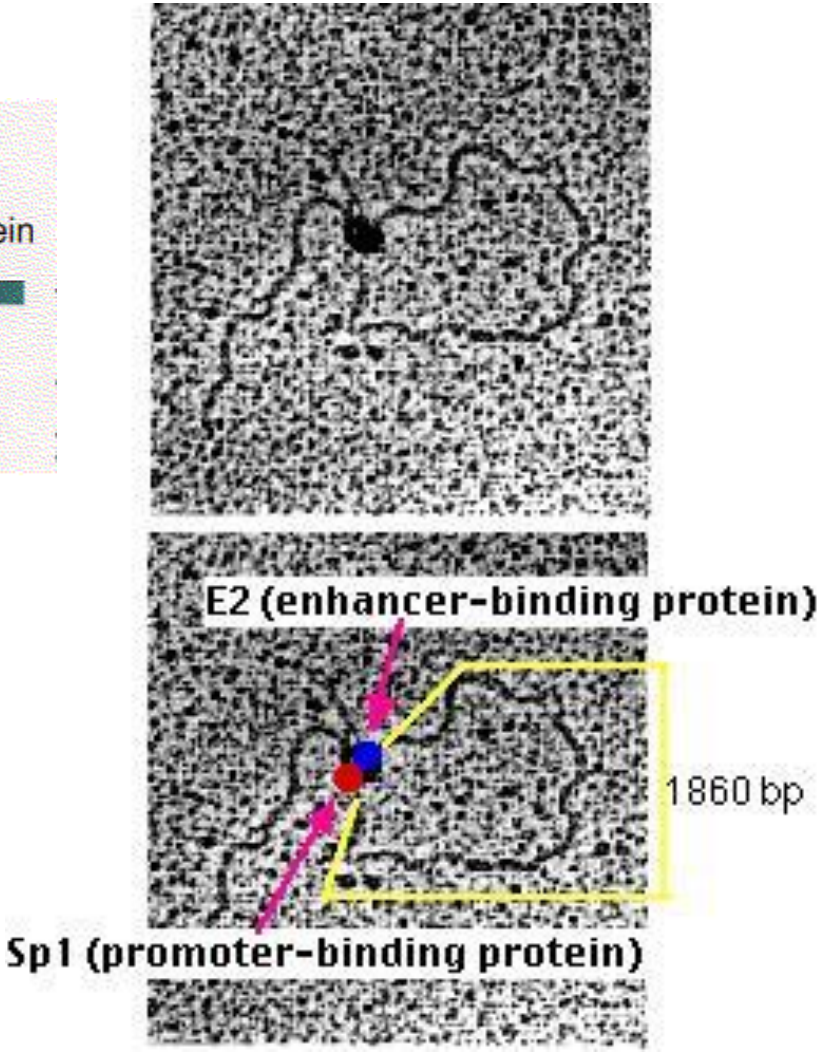
MODIFICAÇÕES EPIGENÉTICAS
Recrutam enzimas que acetilam histonas para facilitar acesso de fatores de transcrição ou maquinaria basal ao DNA

TERMODINÂMICA
Recrutam fatores da maquinaria basal, alterando a concentração local destes fatores, portanto facilitando a ligação dos mesmos ao DNA.

Regulação da expressão gênica

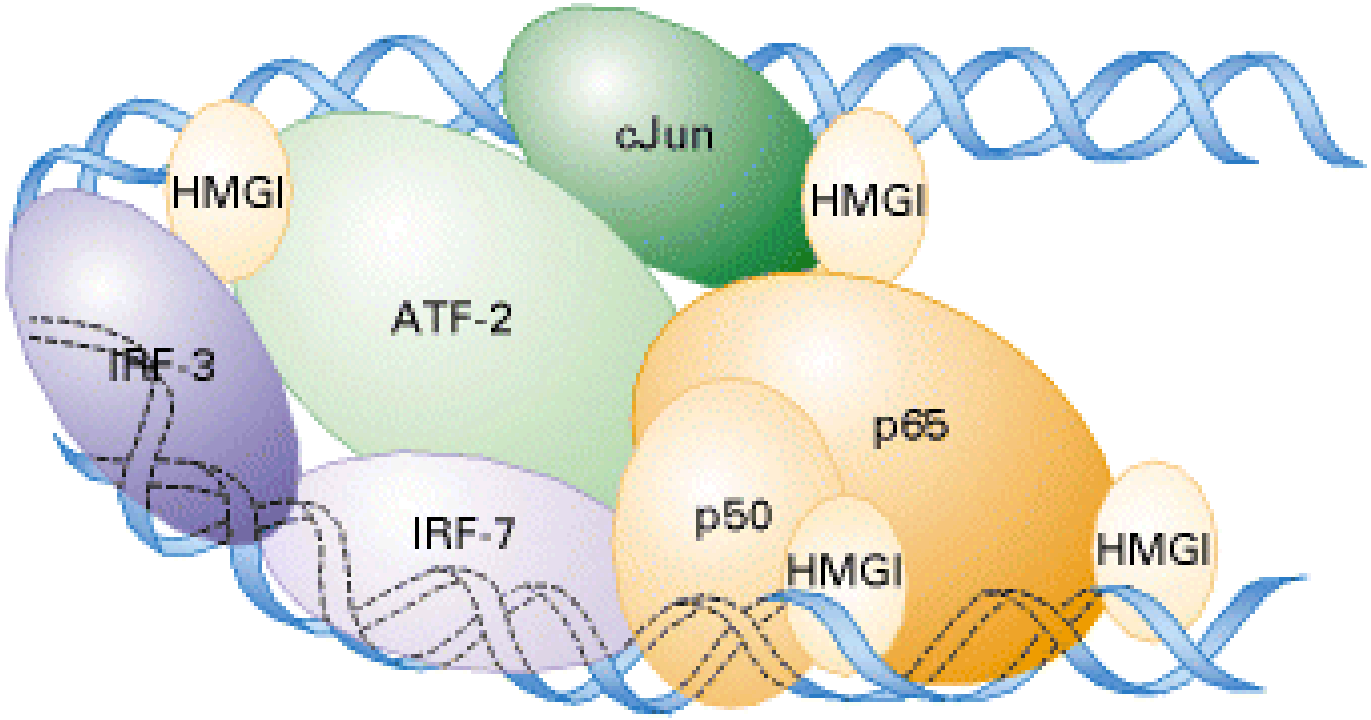
Elementos regulatórios: *Enhancers*





Regulação da expressão gênica

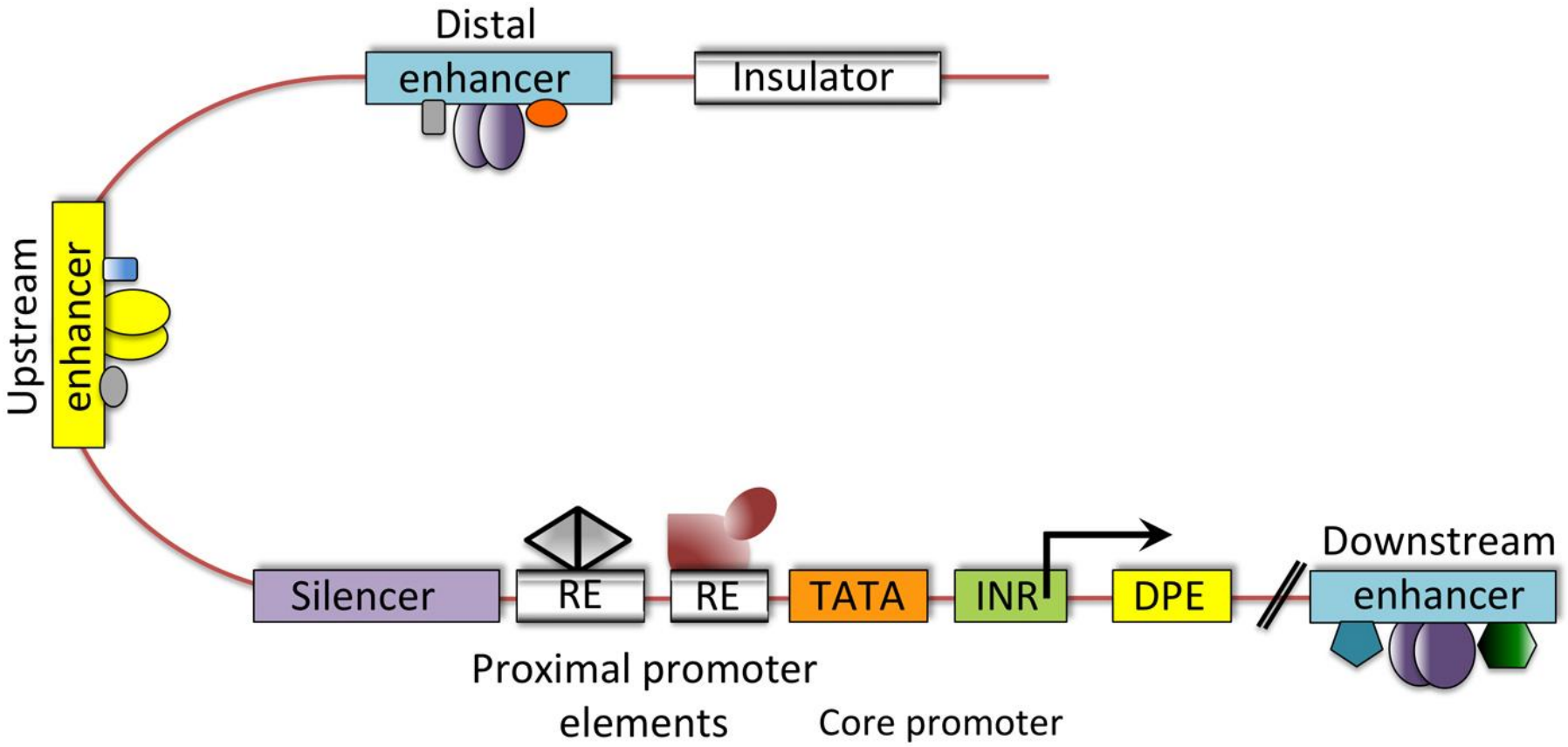
Elementos regulatórios: *Enhancers*



“Enhanceossomo” – complexo de fatores de transcrição que regulam a expressão de um determinado gene.

Regulação da expressão gênica

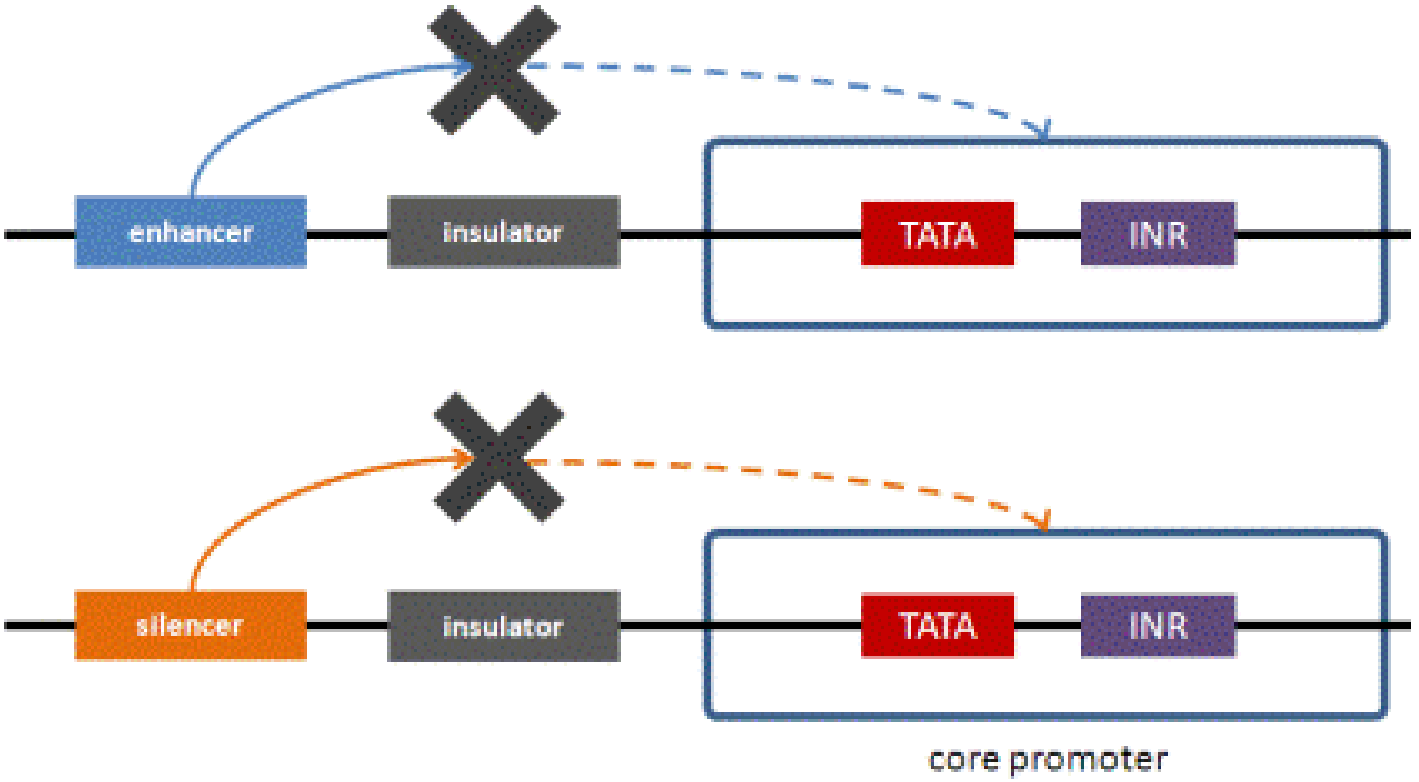
Elementos regulatórios à distância: *Enhancers* e *insulators*



Regulação da expressão gênica

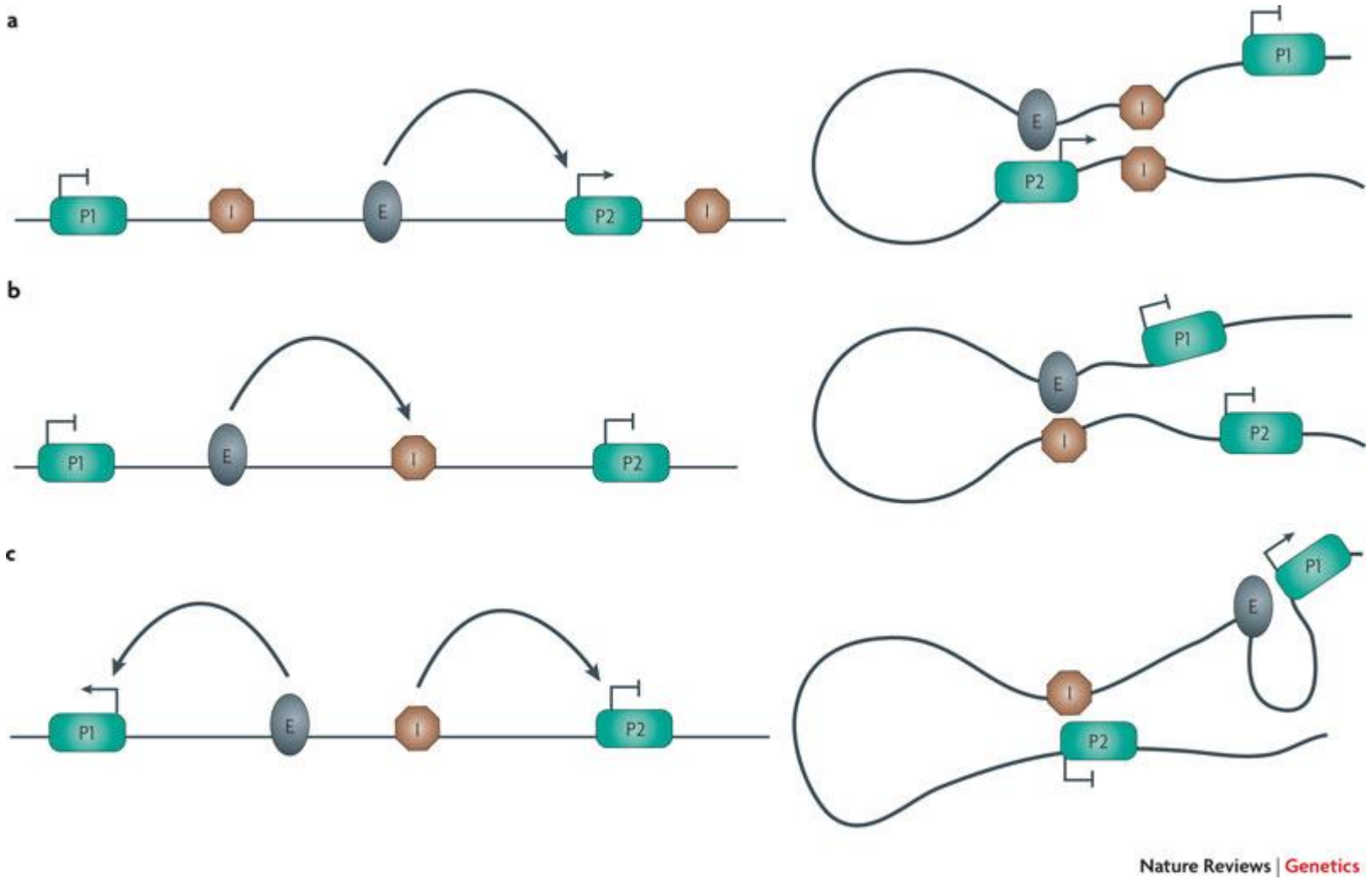
Elementos regulatórios: *Insulators*

Sequência de nucleotídeos que age como barreira entre um enhancer (ou silenciador) e um promotor.



Regulação da expressão gênica

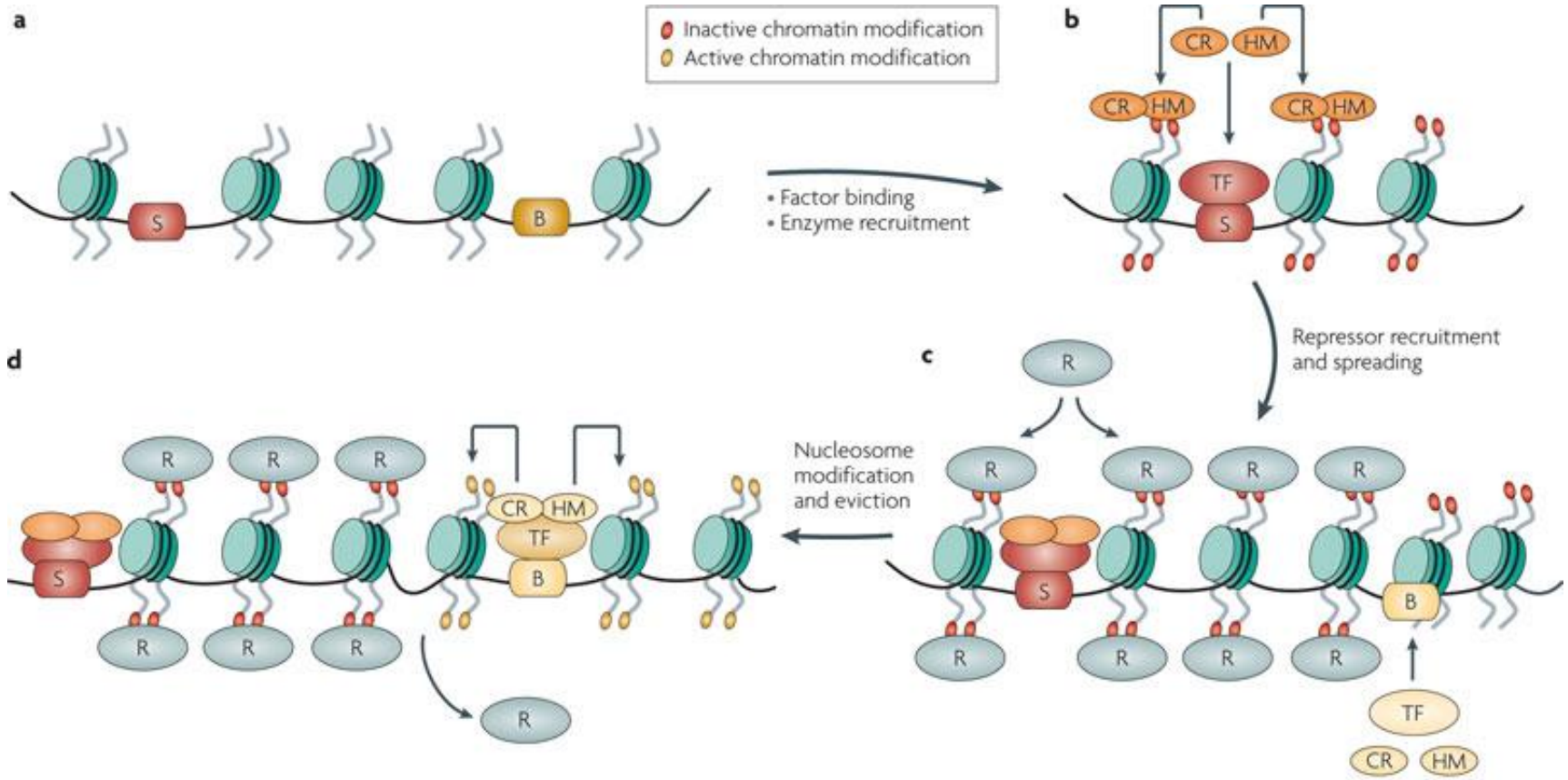
Elementos regulatórios: *Insulators vs Enhancers*



Regulação da expressão gênica

Elementos regulatórios: *Insulators*

Também tem que ser regulados!!!!



Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina

Cromatina

- transcrição

Eucromatina

+ transcrição

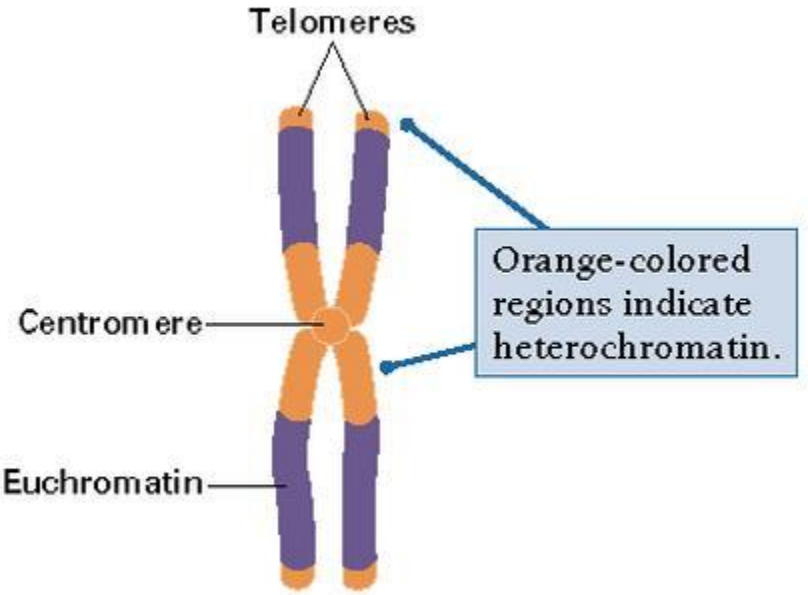
Heterocromatina

Facultativa

(cromossomo X)

Constitutiva

(Centrômero, telômero, regiões do cromossomo Y)

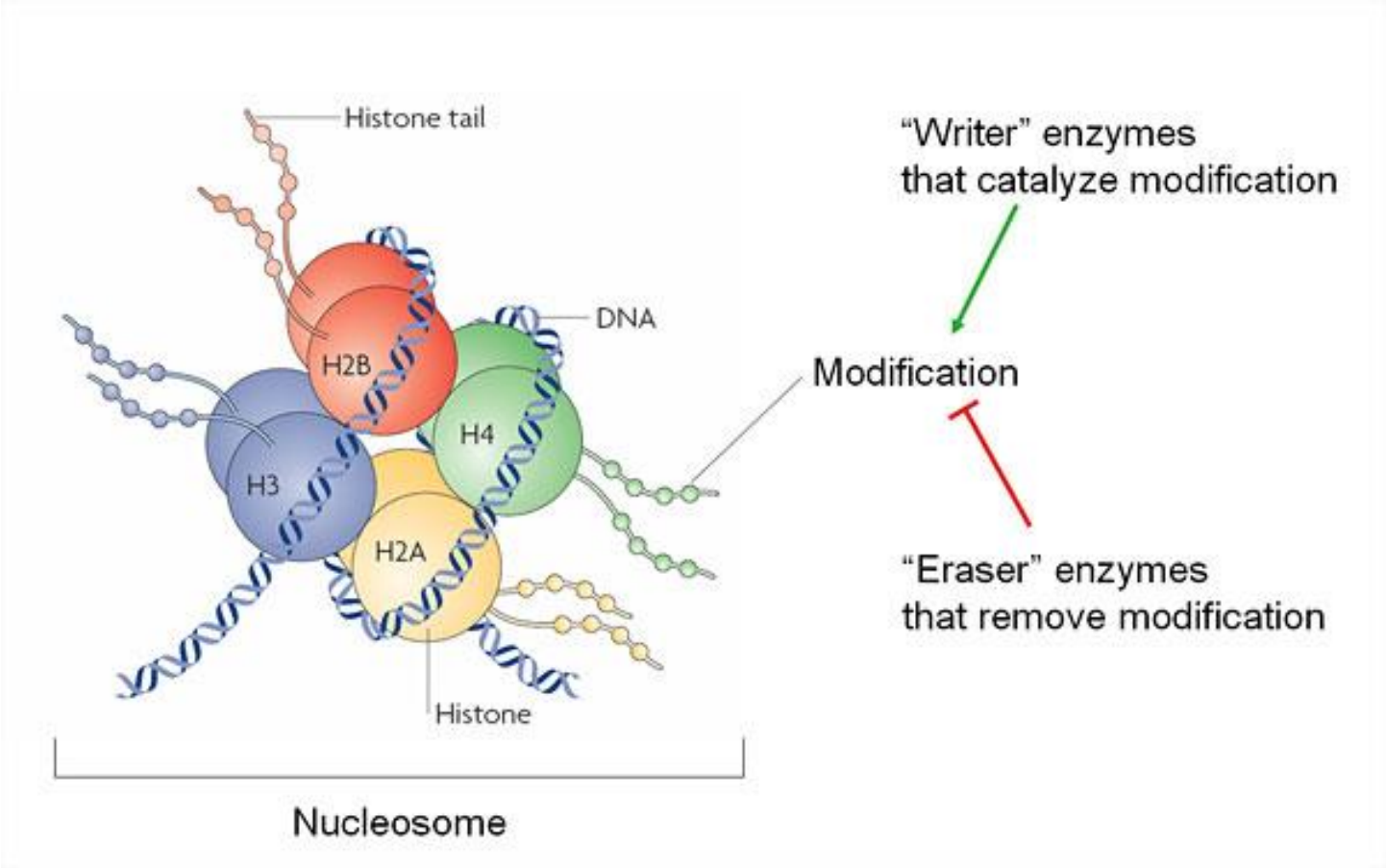


- O grau de compactação de cromatina determina a acessibilidade da maquinaria de transcrição aos genes.

Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina

- O grau de compactação de cromatina é regulada por alterações póstraducionais nas caudas das histonas.



Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina

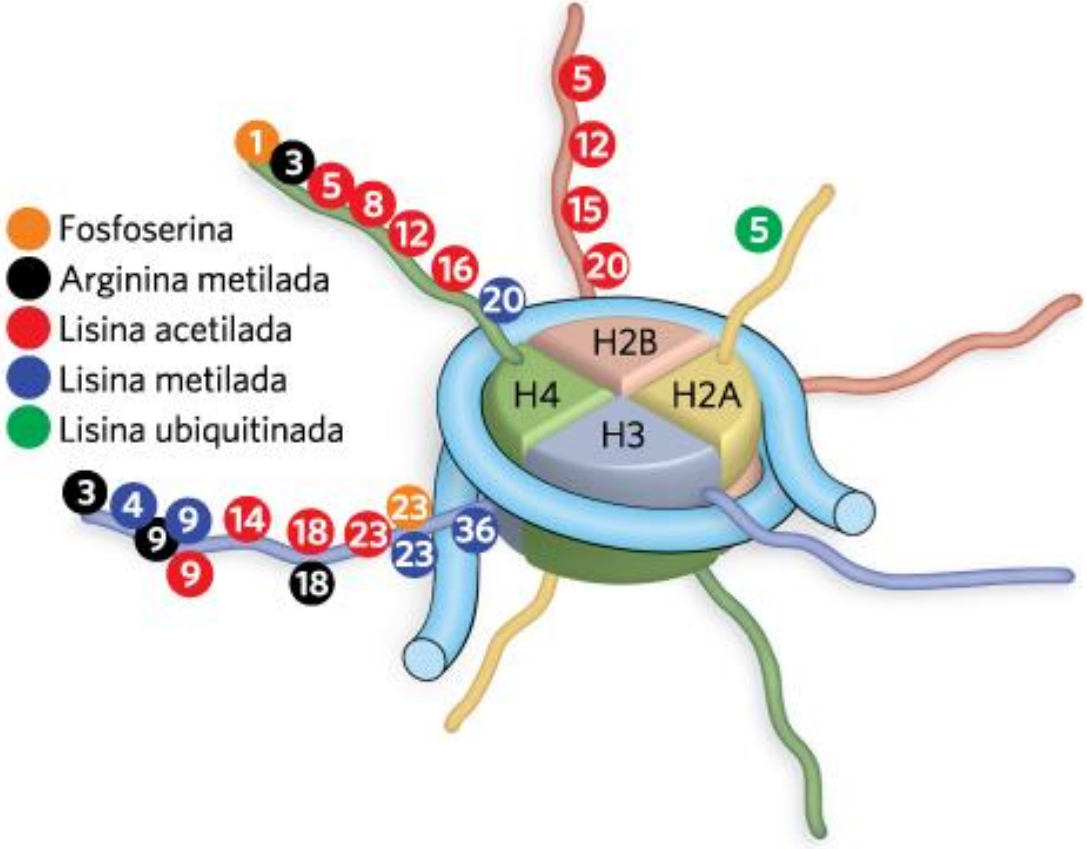
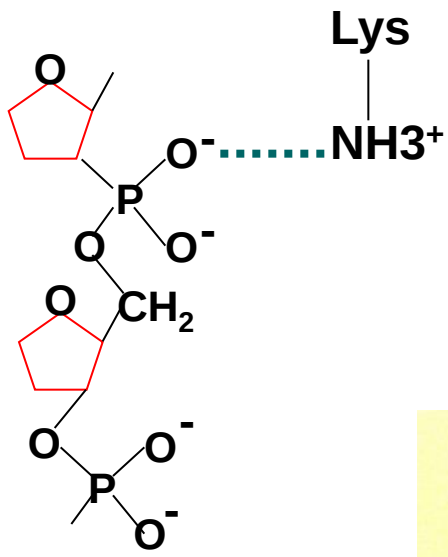


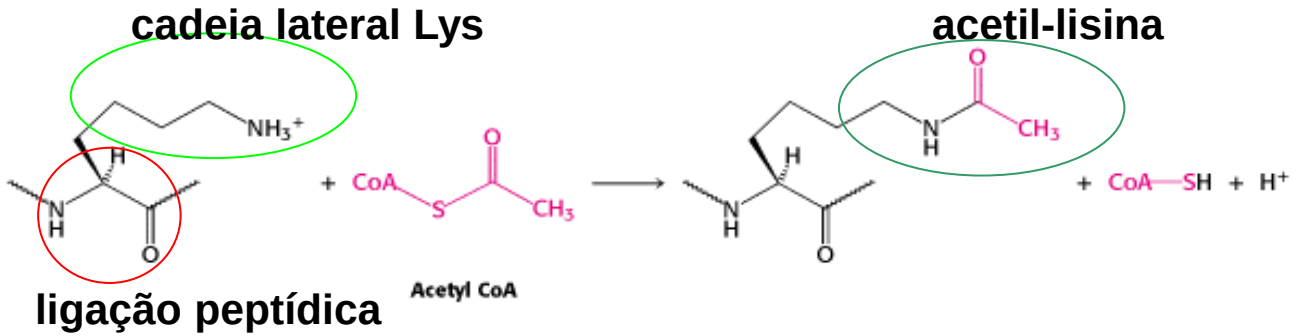
FIGURA 10-25 Modificações nas caudas N-terminais dos nucleossomos por pequenas moléculas. Representam-se as modificações em apenas uma cauda de cada tipo das histonas do núcleo. Indicam-se os números dos aminoácidos.

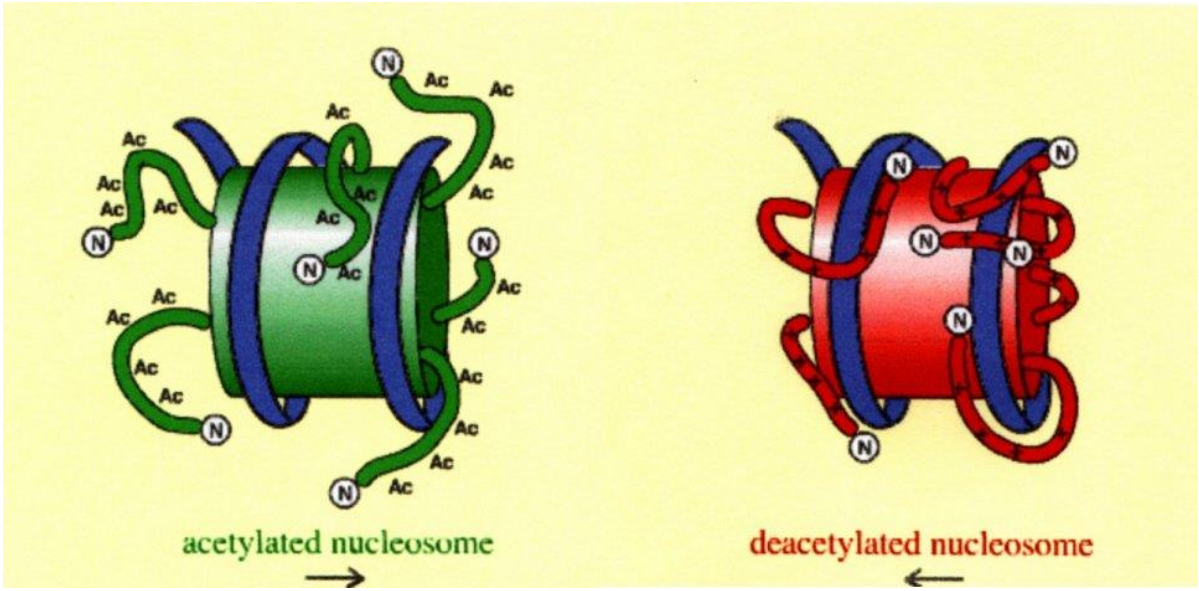
Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina

- A **acetilação** é mediada por Histona Acetil Transferases (HATs)

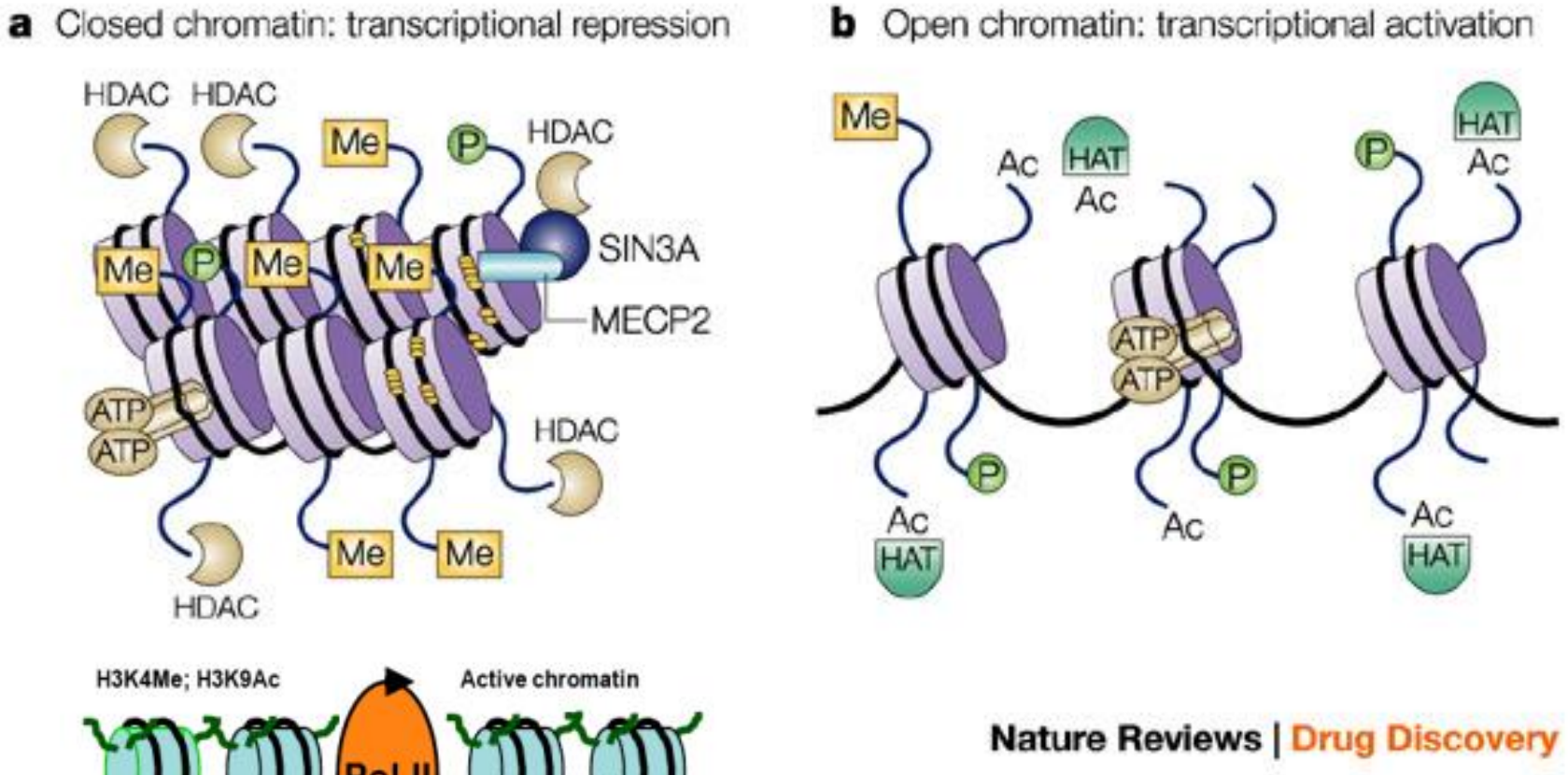






Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina

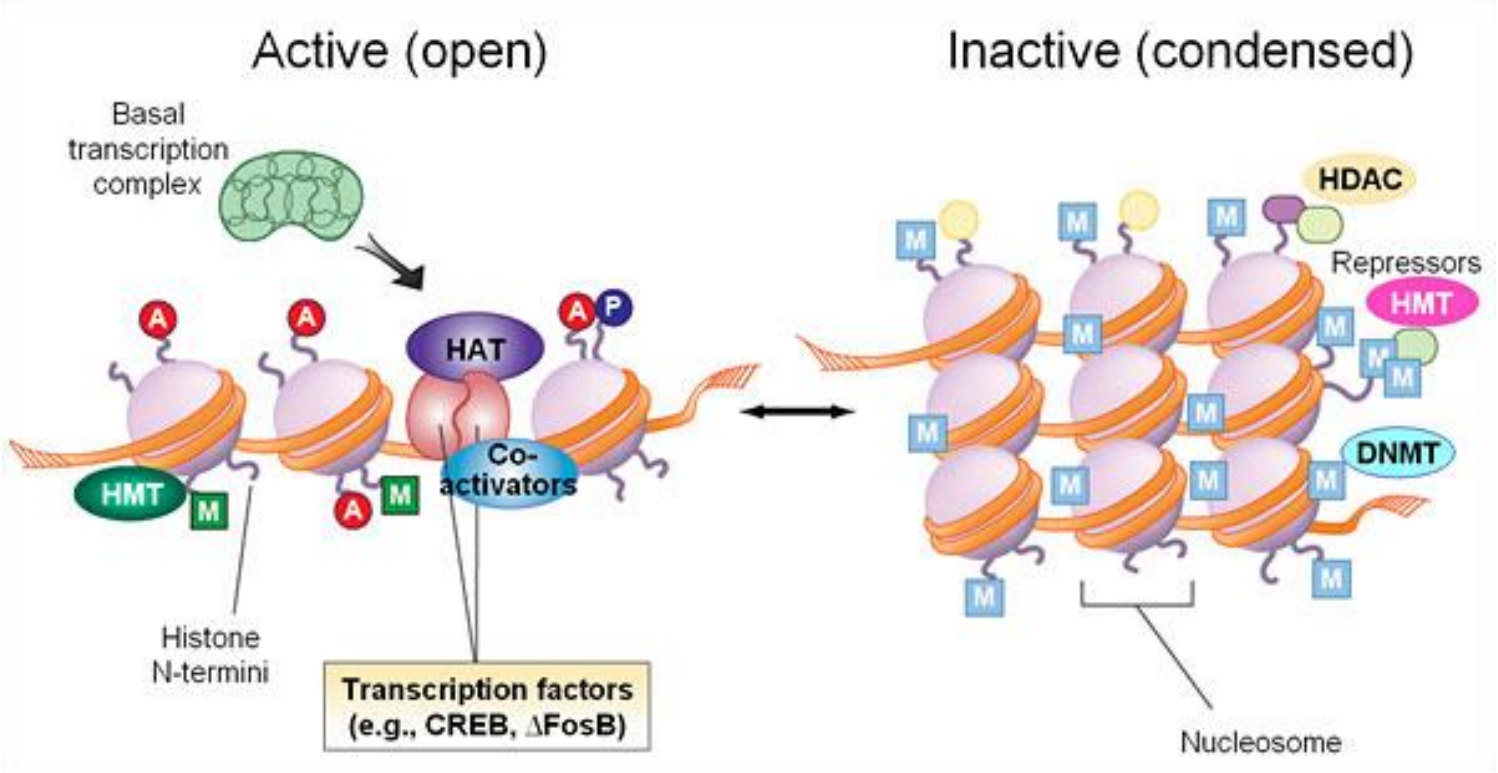


Em geral:

- a **acetilação** de histonas possibilita a transcrição (HAT vs HDAC).
- a **metilação** inibe a transcrição.

Regulação da expressão gênica

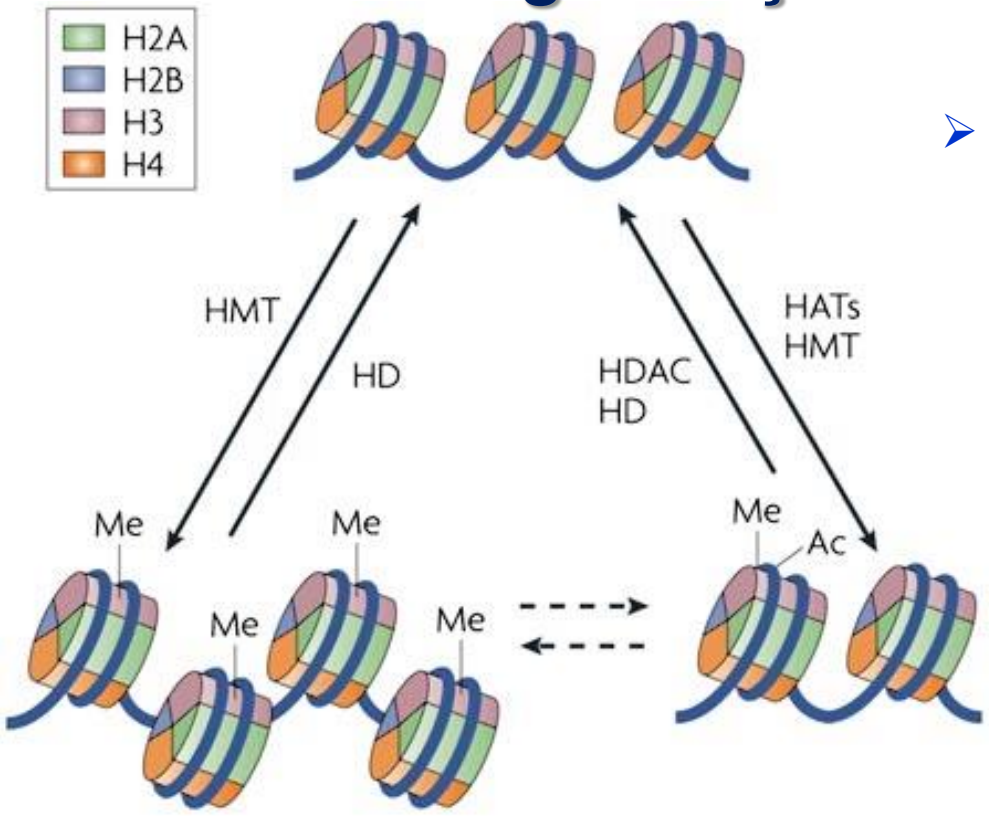
Organização da cromatina



- A atividade transcricional de determinada região da cromatina depende da combinação de modificações na caudas das histonas dessa região: "**O código das histonas**".

Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina



Examples of histone modifications

Heterochromatin
- H3K9me2,3
- H3K27me3
- H4K20me3

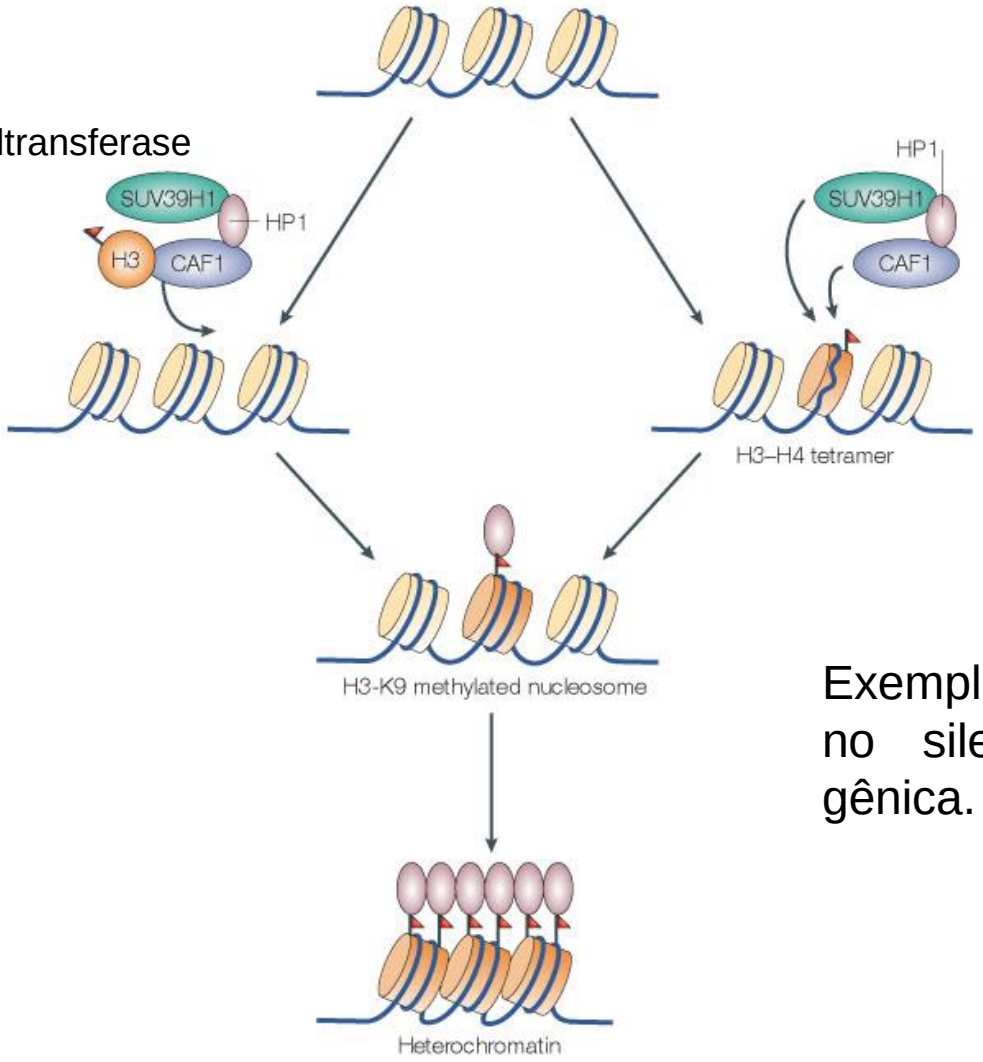
Euchromatin
- H3K4me2,3
- H3K9ac, H3K14ac
- H4K5ac, H4K8ac
- H2AK5ac, H2BK12ac
- H2BK15ac

Nature Reviews | Microbiology

- **Código de histonas**: as modificações nas caudas das histonas determinan a formação de eucromatina ou heterocromatina.

Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina



heterochromatin-binding protein

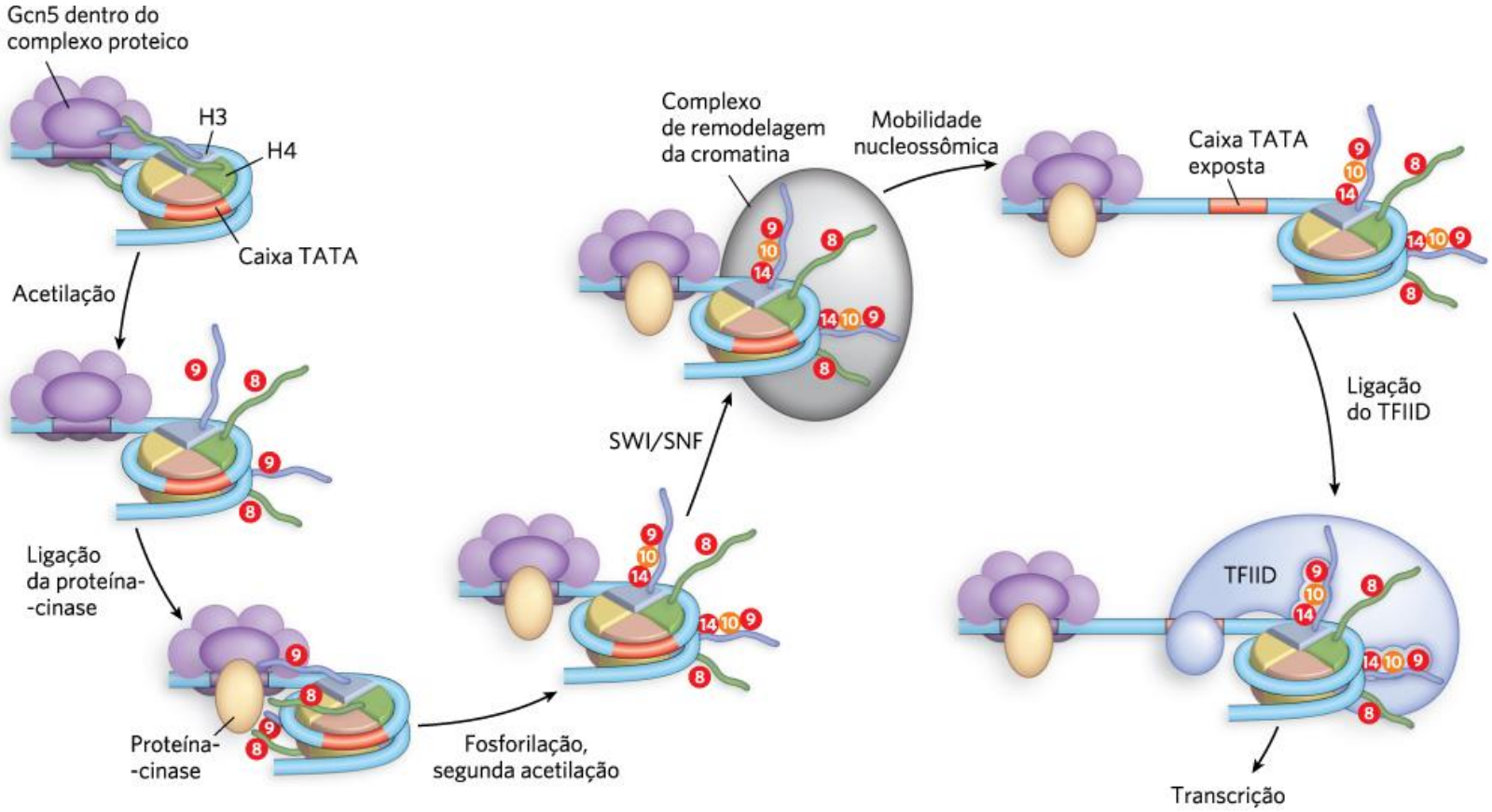
chromatin-assembly factor-1

Exemplo: Envolvimento da **H3-K9** no silenciamento da expressão gênica.

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Regulação da expressão gênica

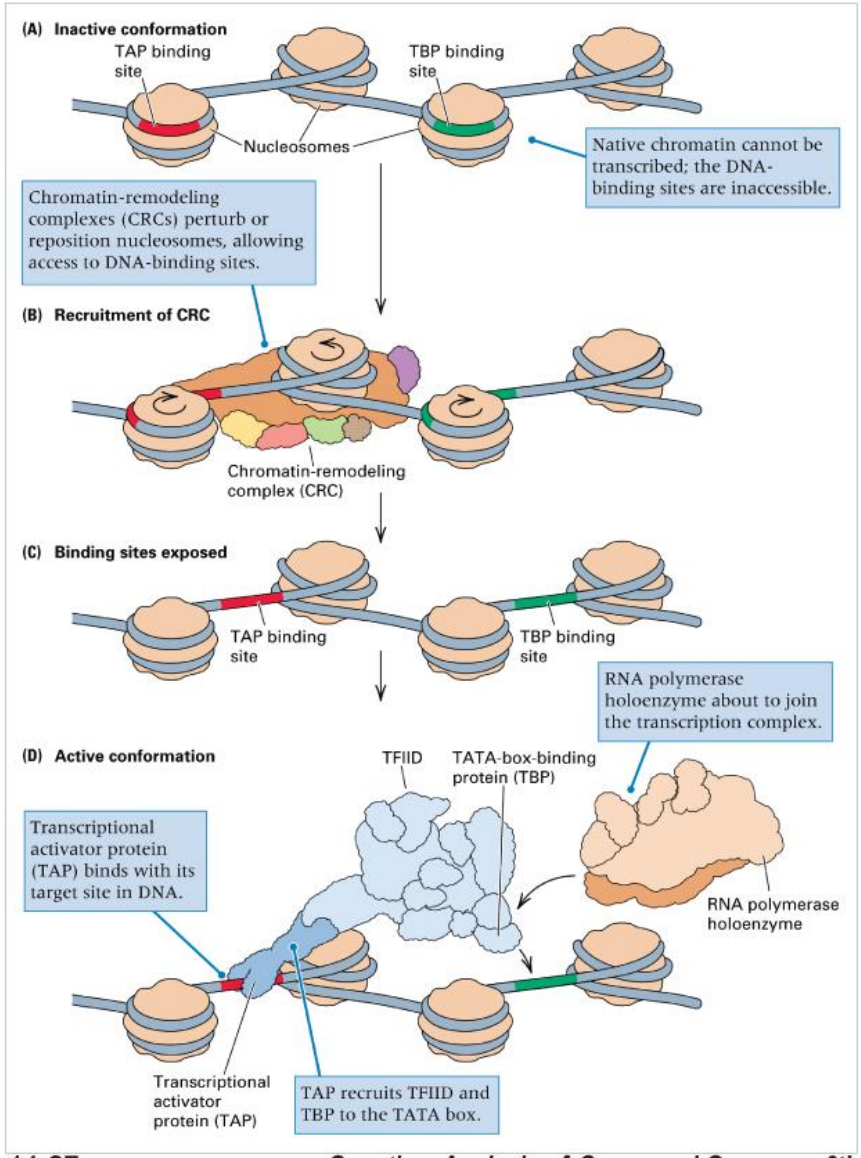
Organização da cromatina



- Alterações nas caudas das histonas e a ação de **complexos remodeladores da cromatina** permitem o acesso da maquinaria de transcrição a promotores específicos.

Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina

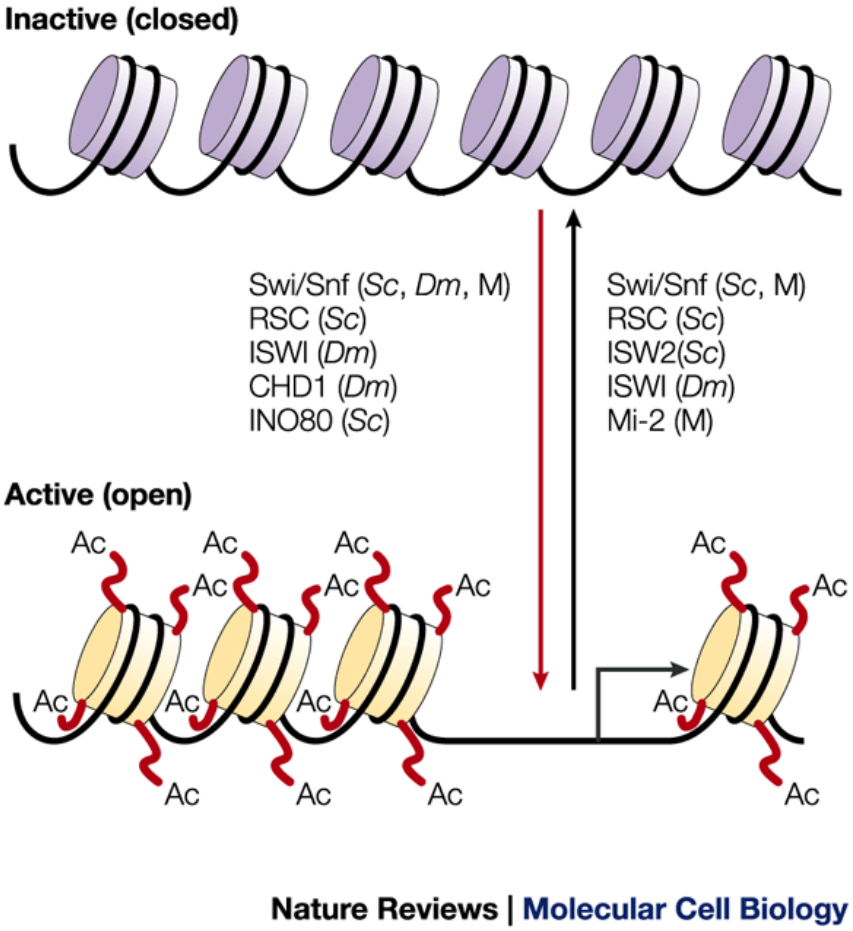


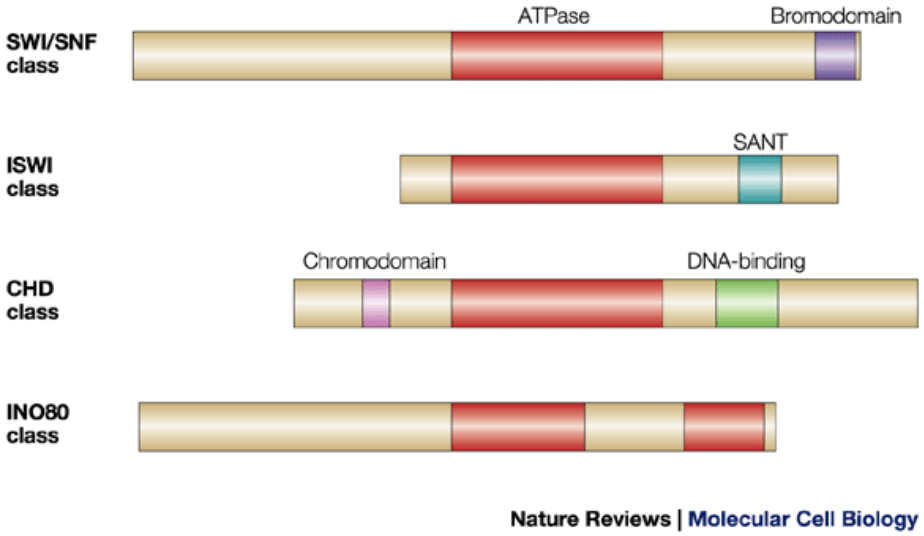
- Os **complexos remodeladores da cromatina** podem reposicionar, deslocar ou retirar nucleossomos de regiões específicas do genoma, favorecendo a transcrição.

Figure 11.27 *Genetics: Analysis of Genes and Genomes*, 6th Edition

Regulação da expressão gênica

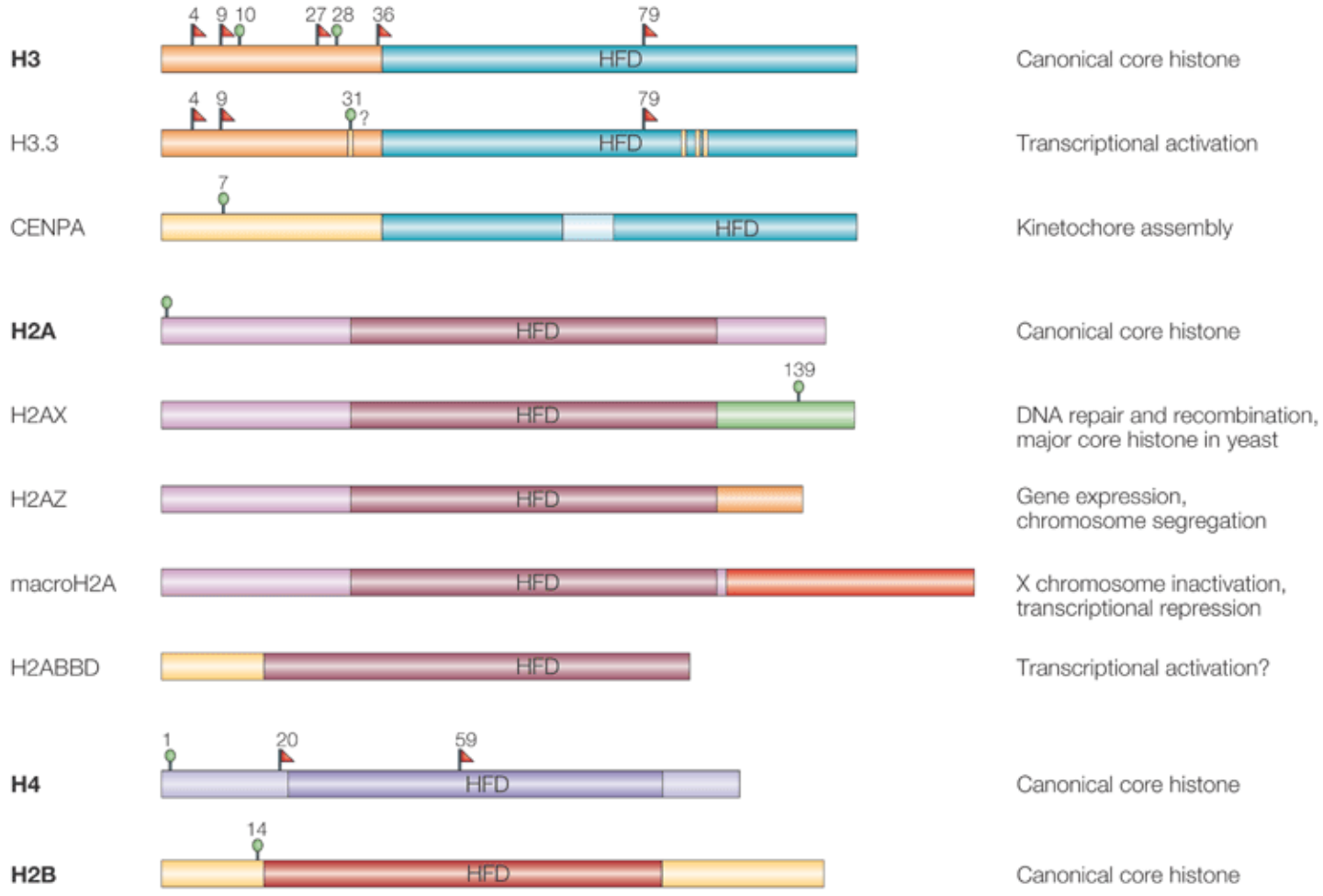
Complexos remodeladores da cromatina





Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina

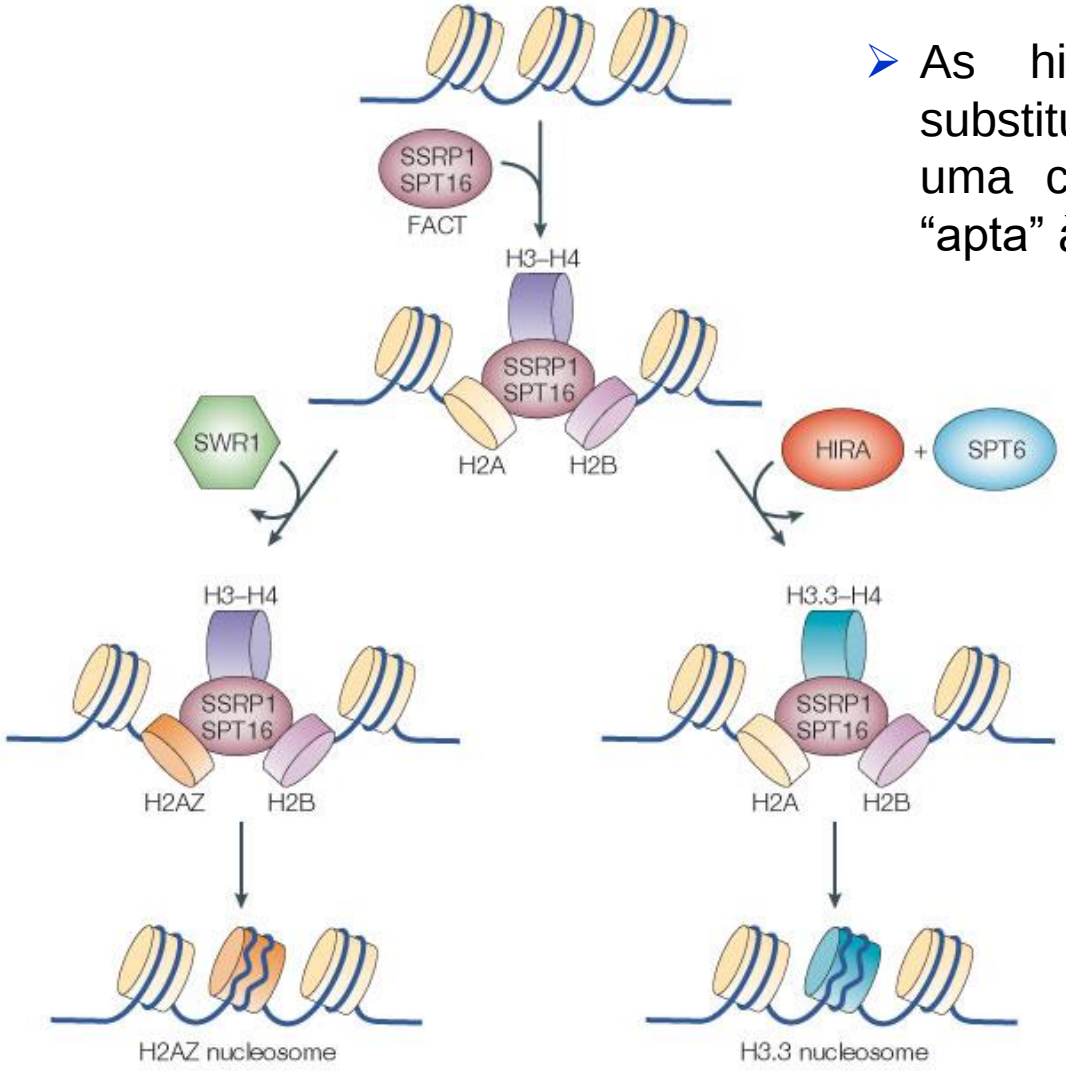


Nature Reviews | Molecular Cell Biology

- Variantes de histonas podem ter funções específicas.

Regulação da expressão gênica

Organização da cromatina



- As histonas principais podem ser substituídas por variantes que permitam uma conformação da cromatina mais "apta" à transcrição.

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Regulação da expressão gênica

Resumindo...

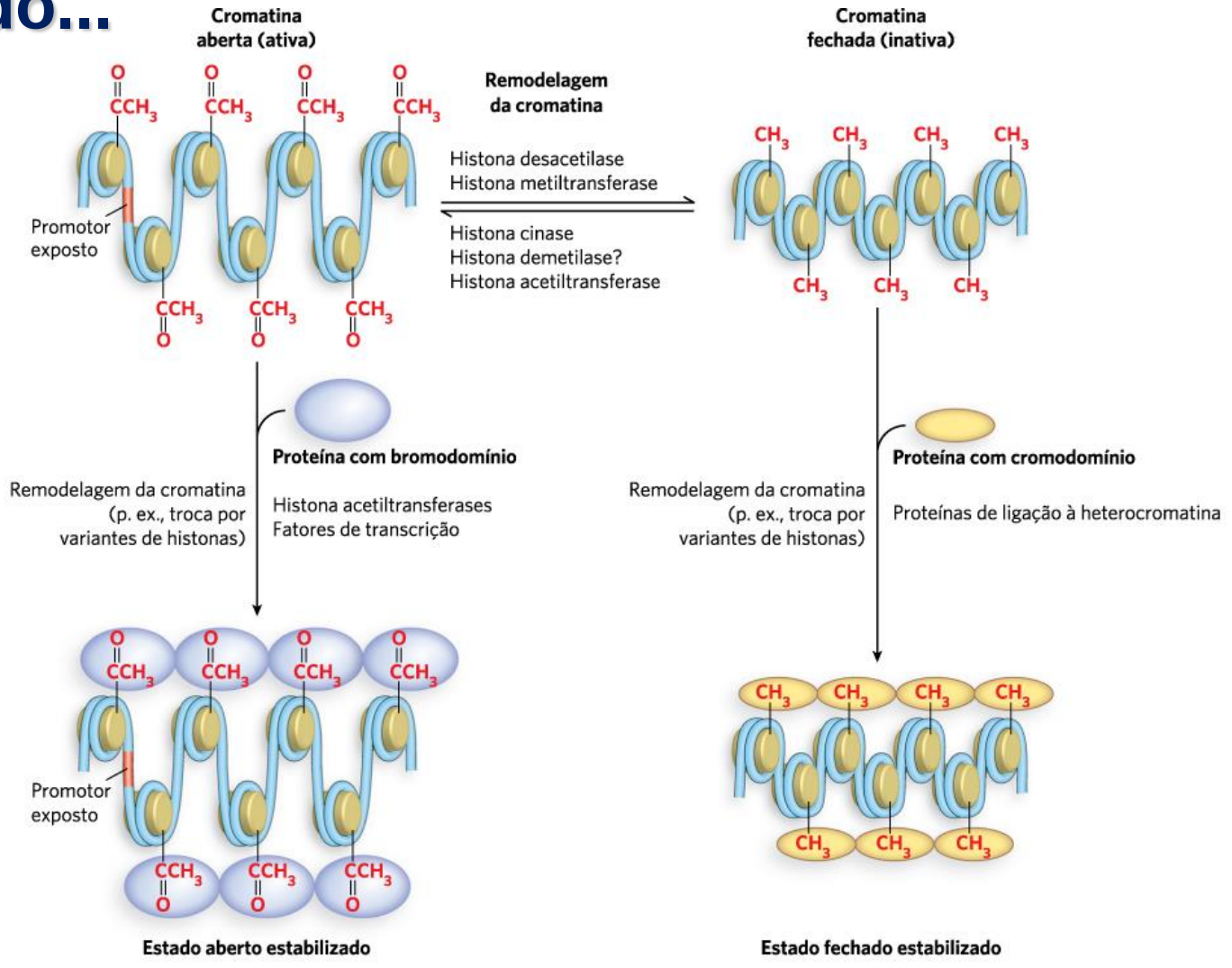


FIGURA 10-26 Bromodomínios e cromodomínios. A estrutura da cromatina é tornada mais aberta ou mais fechada por diversas modificações realizadas pelos diferentes tipos de enzimas mostrados na figura e explicados no texto. Os nucleossomos acetilados (canto superior esquerdo) são reconhecidos pelas proteínas com bromodomínios e auxiliam na estabilização do estado aberto da cromatina (canto inferior esquerdo). As histonas metiladas (canto superior direito) são reconhecidas por proteínas com cromodomínios que auxiliam na estabilização do estado fechado (canto inferior direito).

Regulação da expressão gênica

Cromatina: Propagação de marcas epigenéticas

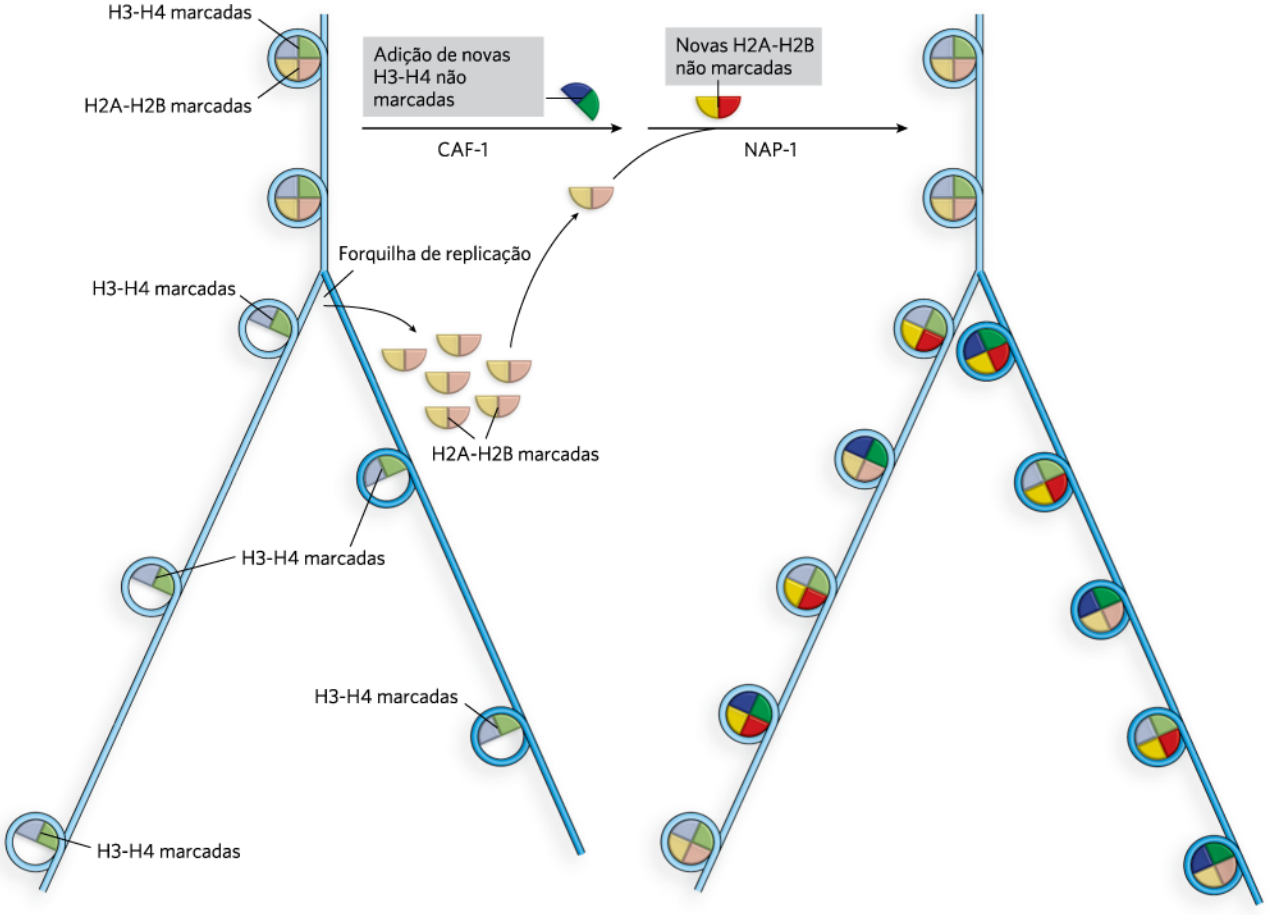


FIGURA 10-29 Conservação do padrão de modificação das histonas durante a replicação do DNA. Após a replicação do DNA, as duas fitas de DNA não possuem as histonas H2A-H2B, e os heterotetrâmeros H3-H4 são distribuídos entre as duas novas fitas (à esquerda). Os heterotetrâmeros originais (marcados) ligam-se rapidamente às duas fitas--filhas, junto com os heterotetrâmeros H3-H4 novos (não marcados) (à direita). Os heterodímeros H2A-H2B novos (não marcados) e originais (marcados) são reorganizados aleatoriamente sobre as fitas-filhas contendo os heterotetrâmeros H3-H4 novos e originais. As marcas epigenéticas são, a seguir, propagadas para os nucleossomos adjacentes nas duas fitas-filhas, preservando o padrão de modificação de histonas do DNA original.

Regulação da expressão gênica

Cromatina: Propagação de marcas epigenéticas

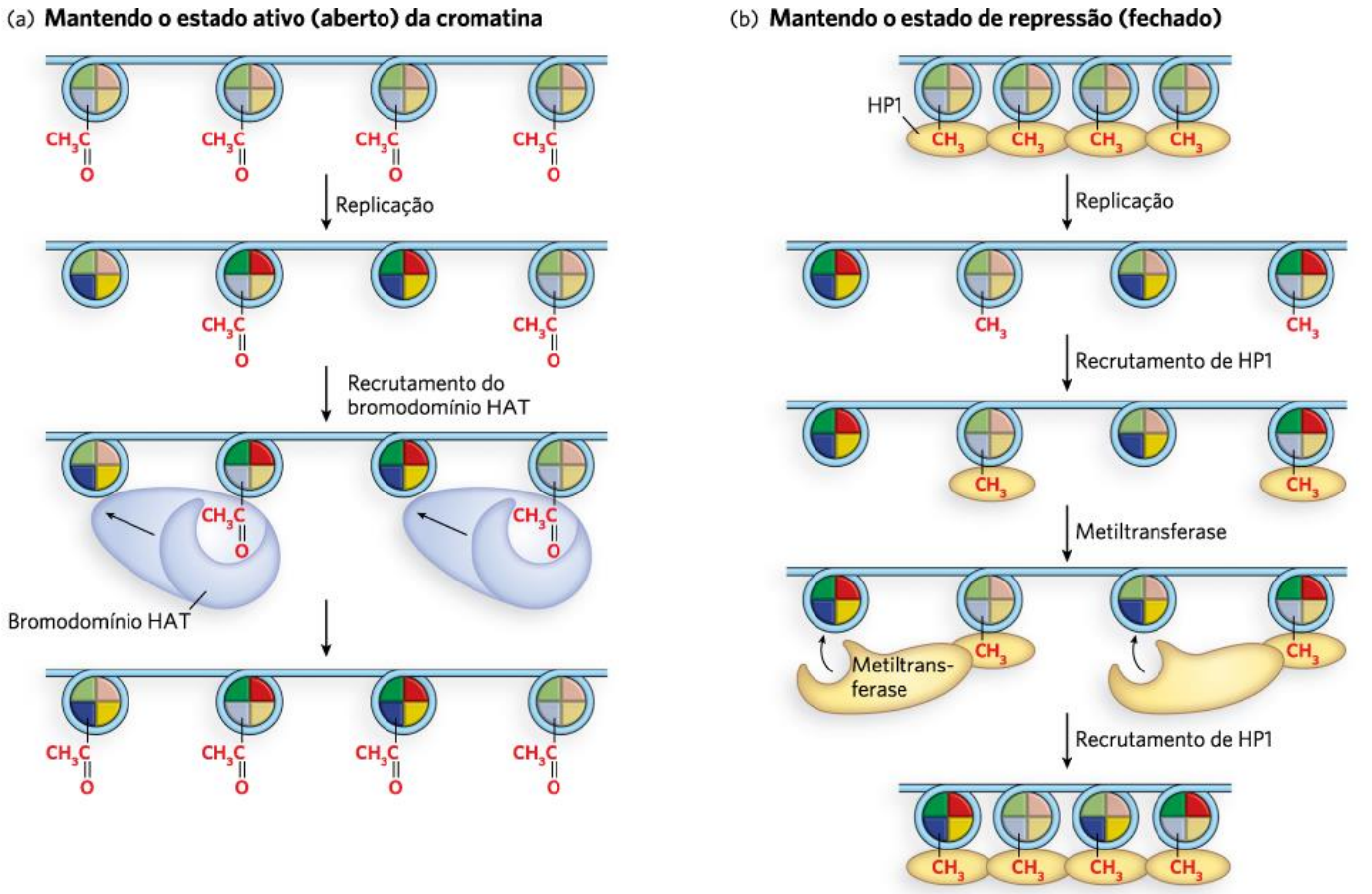


FIGURA 10-30 Propagação de estados epigenéticos após a replicação. (a) O estado aberto pode ser propagado pela ligação ao complexo contendo o bromodomínio que também contém uma subunidade HAT, que então acetila os mesmos resíduos nas proximidades dos octâmeros de histonas. (b) O estado fechado pode ser propagado pela ligação a HP1, que se associa às histonas originais após a replicação e está relacionada com o estado de repressão da heterocromatina fortemente condensada. HP1 contém um cromodomínio que se liga a resíduos de lisina metilados nas histonas, e também atrai uma metiltransferase para propagar o padrão de metilação original na proximidade das novas histonas.

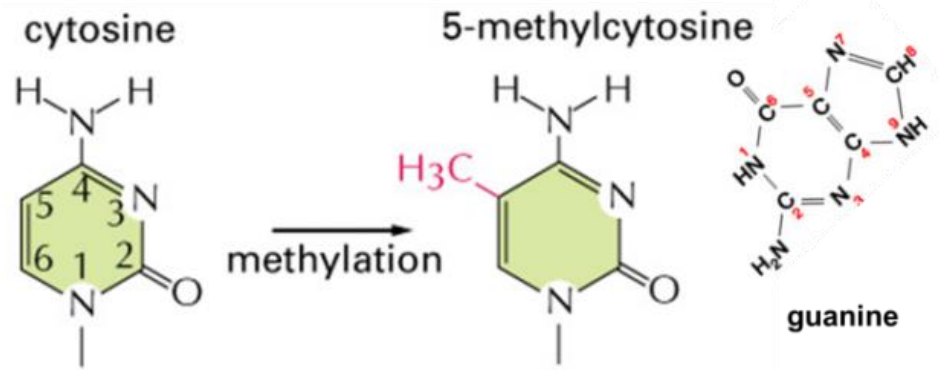
Regulação da expressão gênica

Metilação do DNA

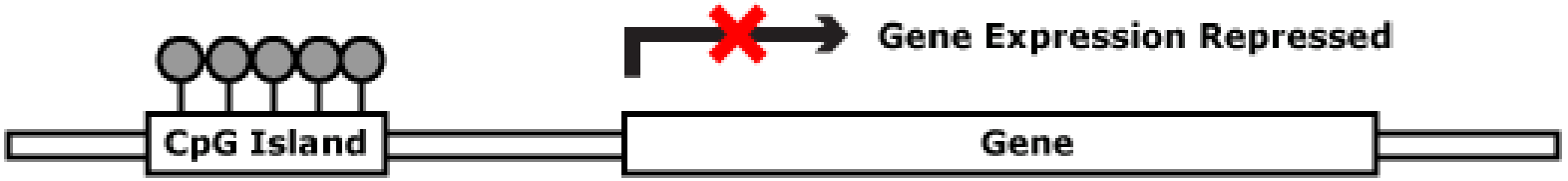
- **Metilação** de Citosinas em dinucleotídeos CpG. **Ilhas CpG** distribuídas de forma heterogênea pelo genoma, em geral, em promotores de genes.

5' CpG 3'
| |
3' GpC 5'



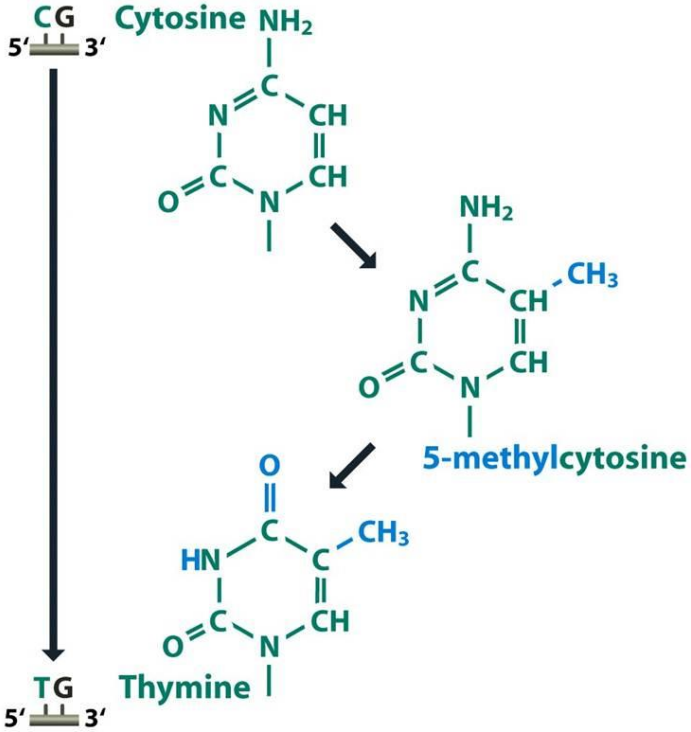




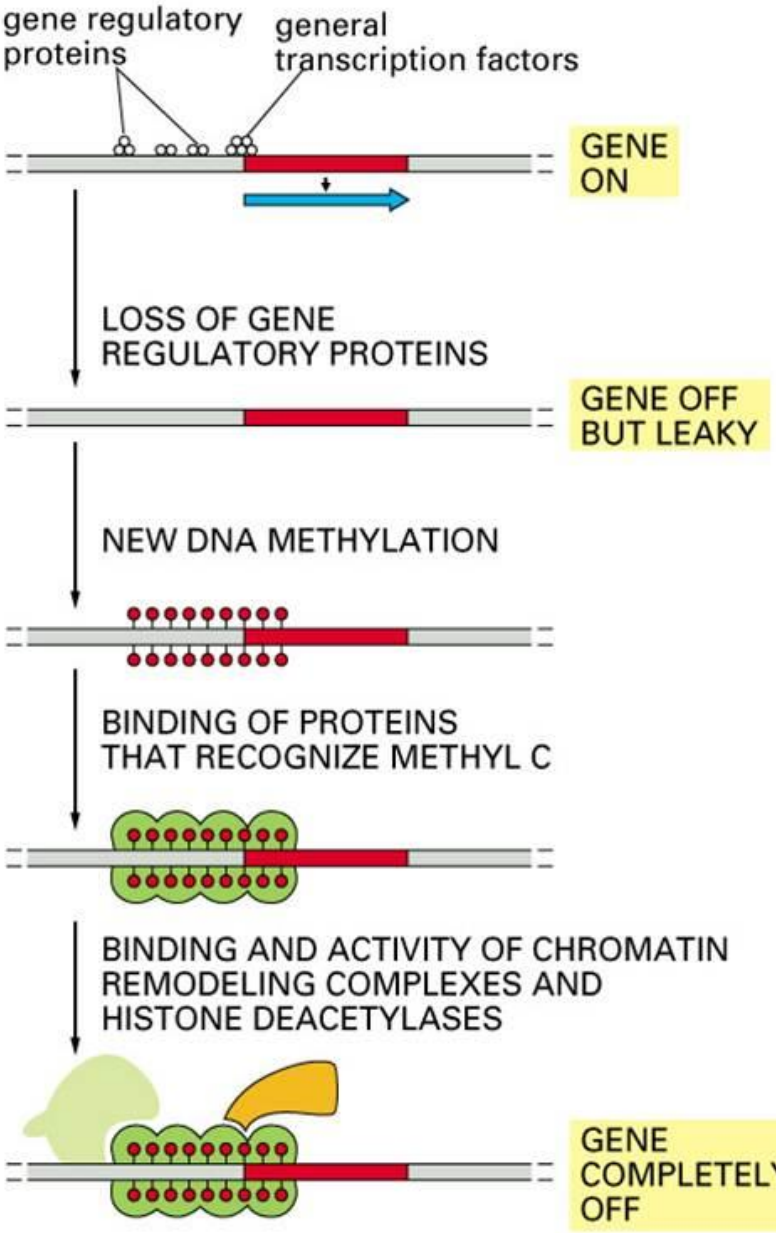


Regulação da expressão gênica

Metilação do DNA

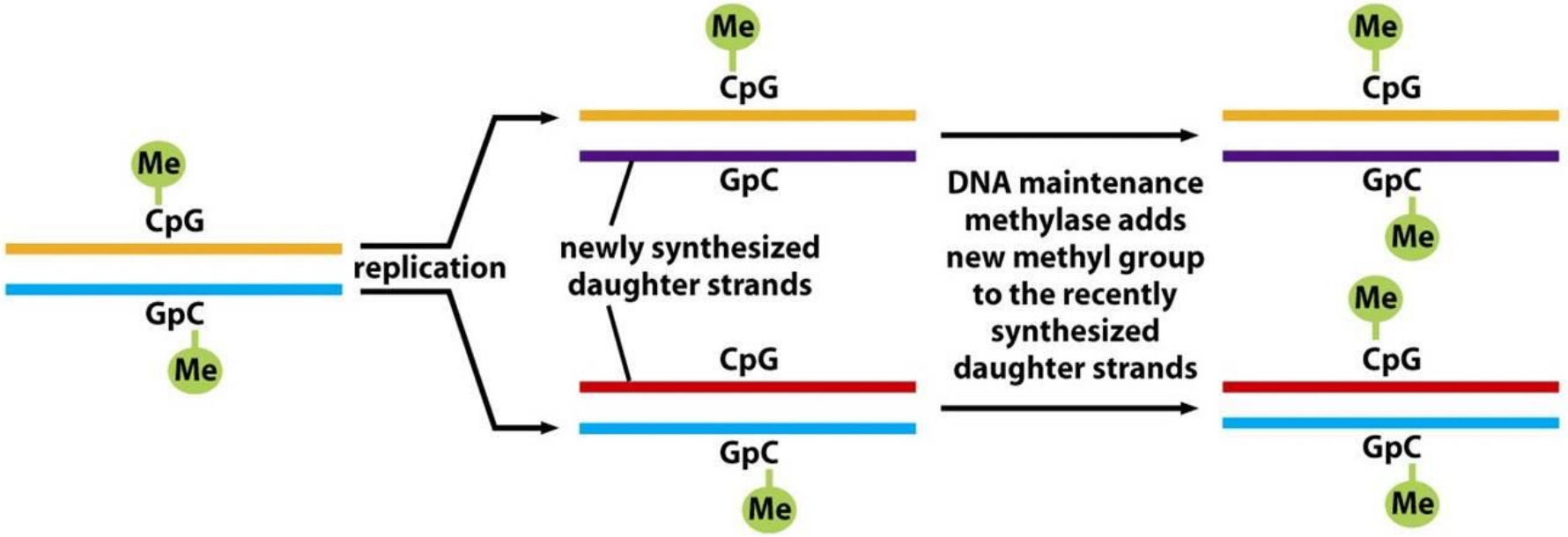


- **Ilhas CpG** distribuídas de forma heterogênea pelo genoma, em geral, em promotores de genes.



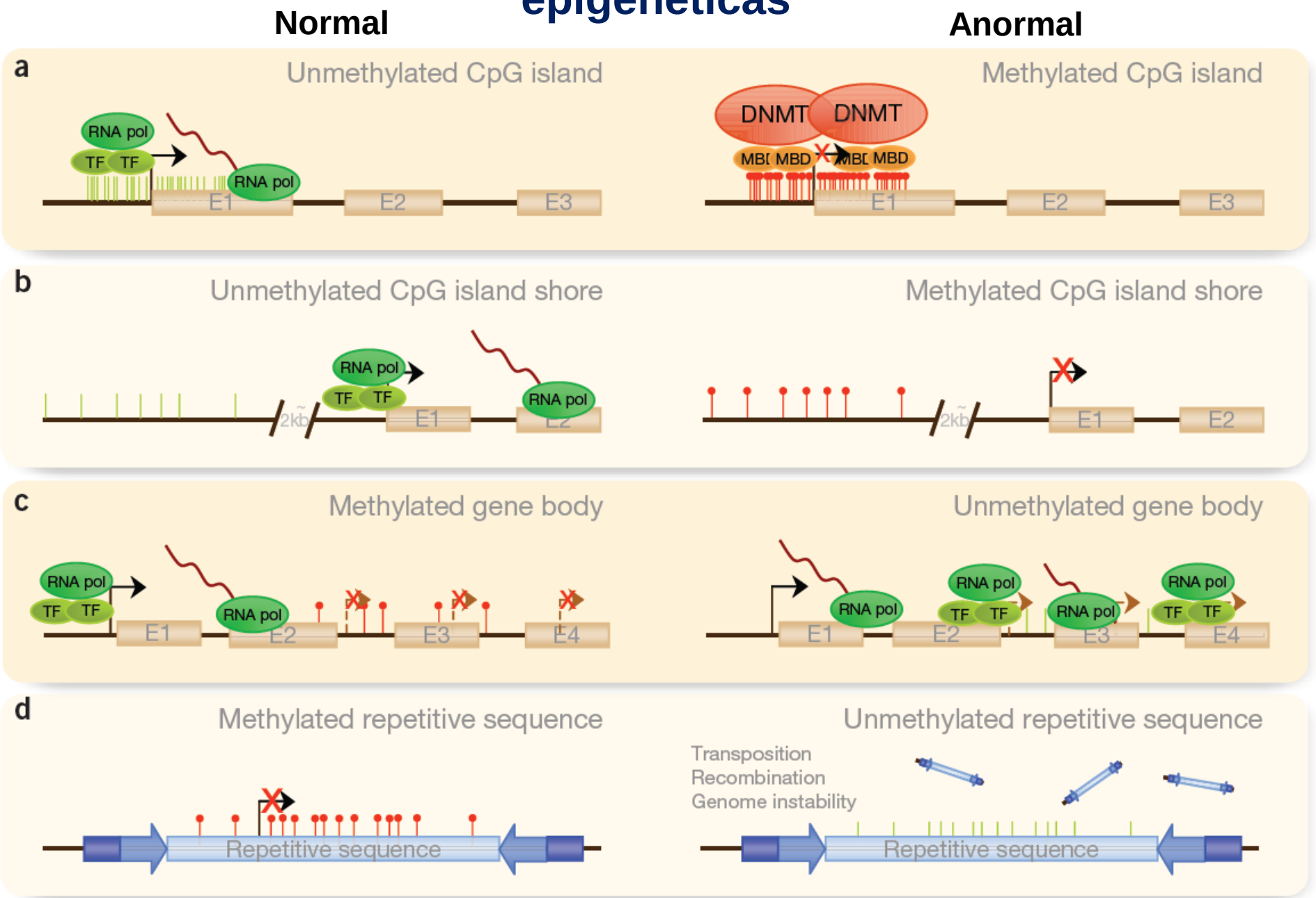
Regulação da expressão gênica

Metilação do DNA: propagação das marcas epigenéticas



- A transmissão do padrão de metilação do DNA às células filhas é essencial para manter a expressão gênica normal.

Metilação do DNA: Alterações no padrão de marcas epigenéticas



Não percam o próximo capítulo...

- Vias de transdução e sinais! Quem controla a atividade dos fatores de transcrição!
- RNA regulatórios! Coisas estranhas acontecem no mundo do pequeno!
- Temos proteína!!! E daí? Quem disse que vão funcionar. Tradução não é tudo!
- E outros eventos importantes, em...

Regulação da expressão gênica II: Reloaded!!!

e up-graded!!!

NÃO PERCAM!!!