



Universidade de São Paulo  
Instituto de Química

QBQ0317 - 2020

Aula 12

# Regulação da Expressão Gênica em Eucariotos

As informações do **genoma** devem ser expressas  
**como, onde e quando** cada um dos genes  
é necessário

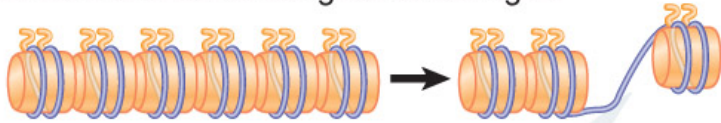


## **Transcritoma**

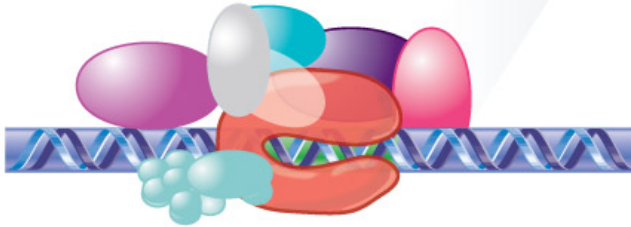
Conjunto de todas moléculas de RNA (transcritos)  
de uma célula, tecido ou organismo em uma dada  
condição, em um dado instante

Control of transcription initiation: used for most genes

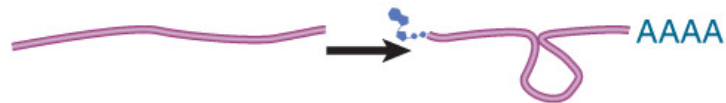
Local structure of the gene is changed



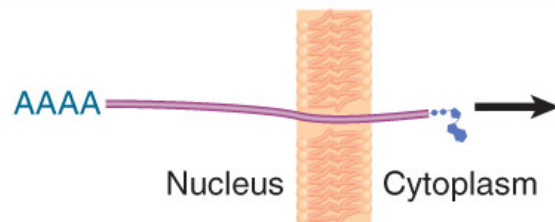
General transcription apparatus binds to promoter



RNA is modified and processed:  
can control expression of alternative products from gene



mRNA is exported from nucleus to cytoplasm



mRNA is translated and degraded



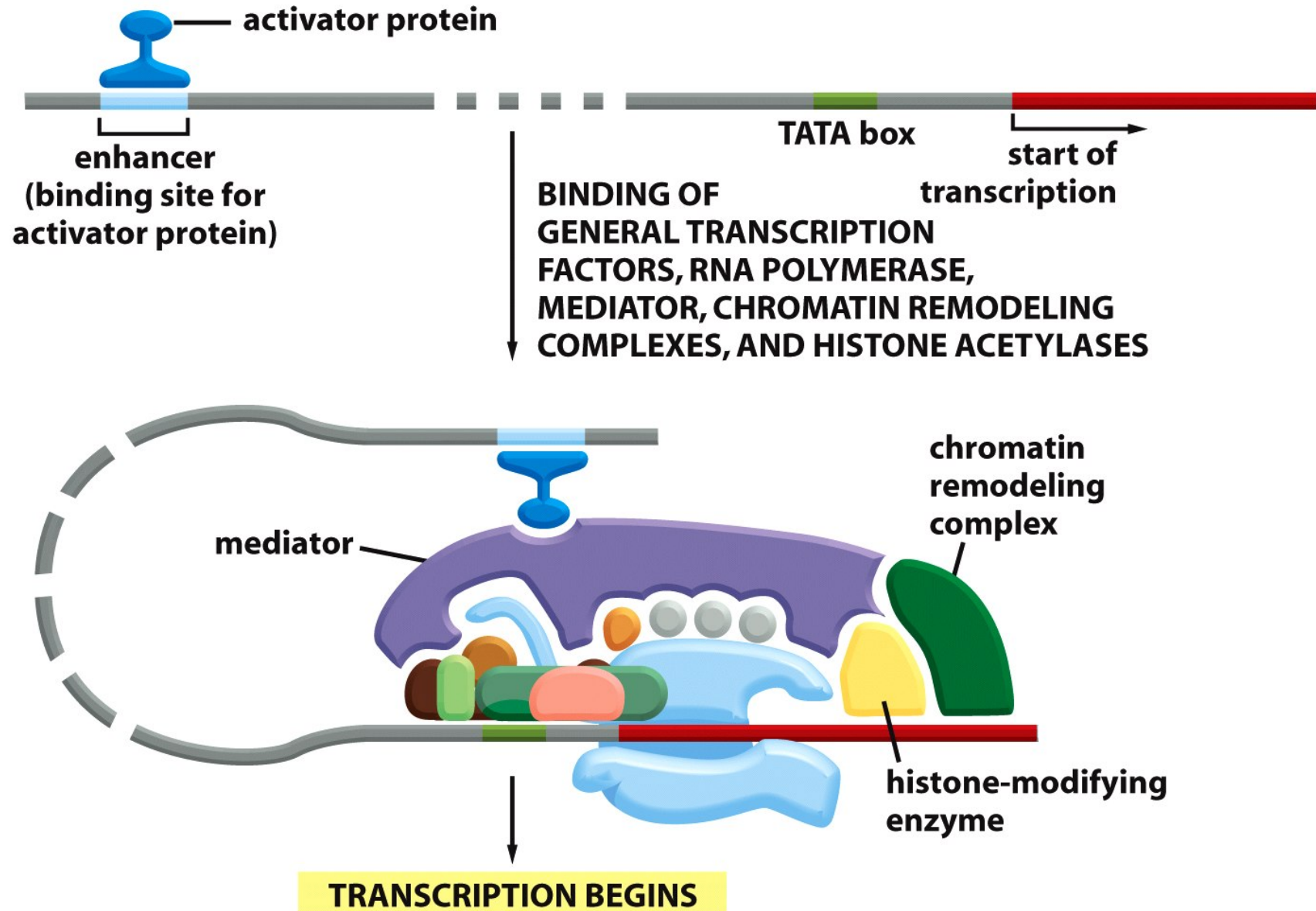
# Controle da expressão gênica em eucariotos

- Ativação da transcrição
  - remodelamento da cromatina
  - início de transcrição
- Processamento e transporte do RNA
- Tradução e degradação do RNA
- Mecanismos pós-tradução
  - estabilidade, transporte e modificação de proteínas

# Regulação da transcrição

- Proteínas que se ligam ao DNA:
  - Ativadores
  - Repressores
- Remodelamento da cromatina
  - DNA tem que estar descondensado para que a transcrição ocorra

# Proteínas envolvidas na ativação da transcrição em eucariotos

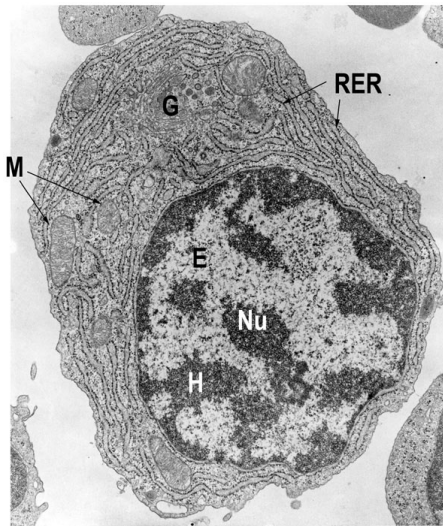


# Proteínas envolvidas na ativação da transcrição em eucariotos

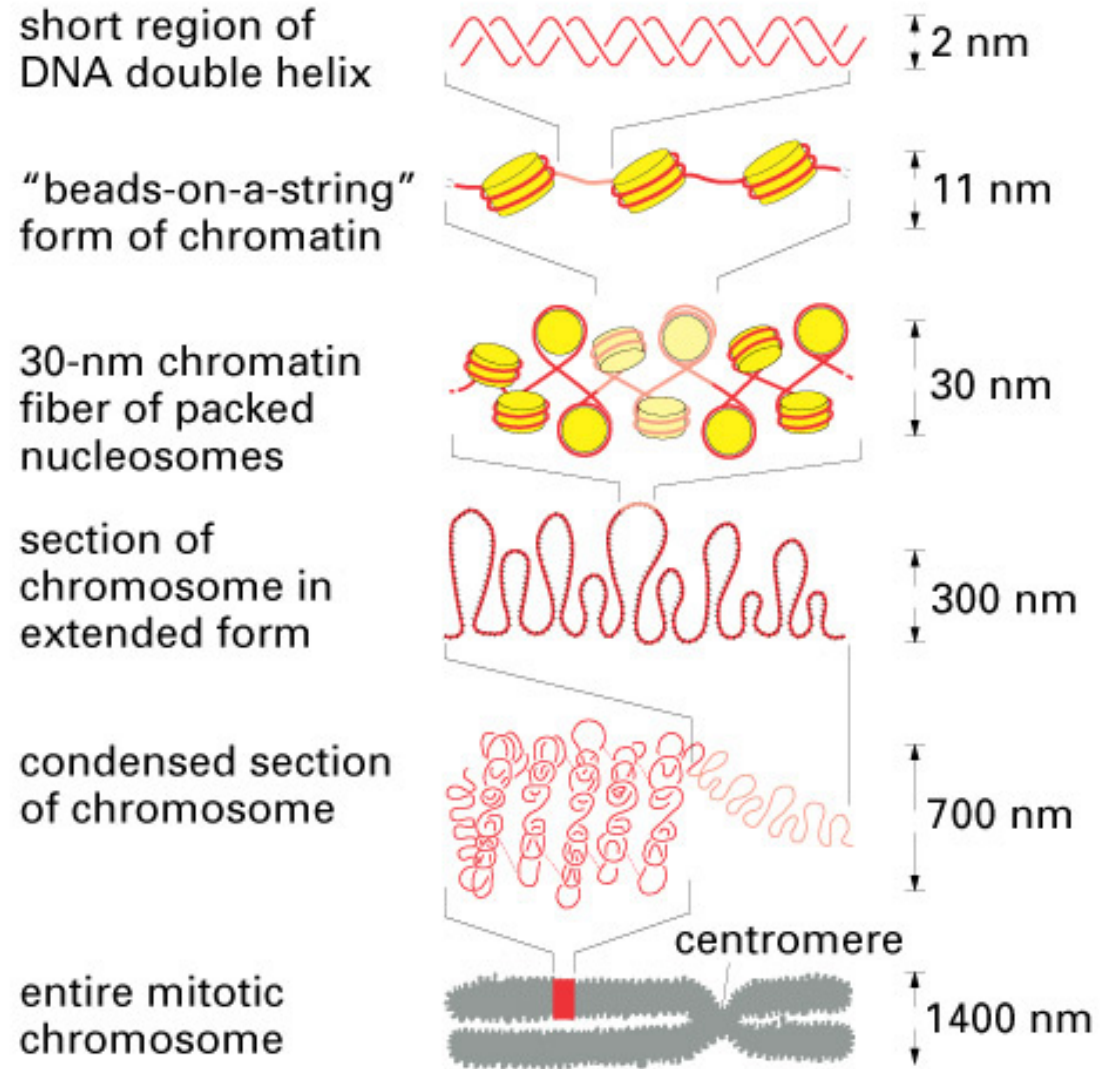
- Proteínas que fazem modificação/remodelamento de cromatina
- Fatores de transcrição basal
  - Requeridos para todos os promotores
- Ativadores
  - ligam DNA (seq. ativadoras ou enhancers)
  - transcrição só inicia quando estão presentes
  - modulam frequência de início da transcrição
- Co-ativadores
  - não ligam DNA
  - interações proteína-proteína



# Cromatina deve estar relaxada para que ocorra a transcrição

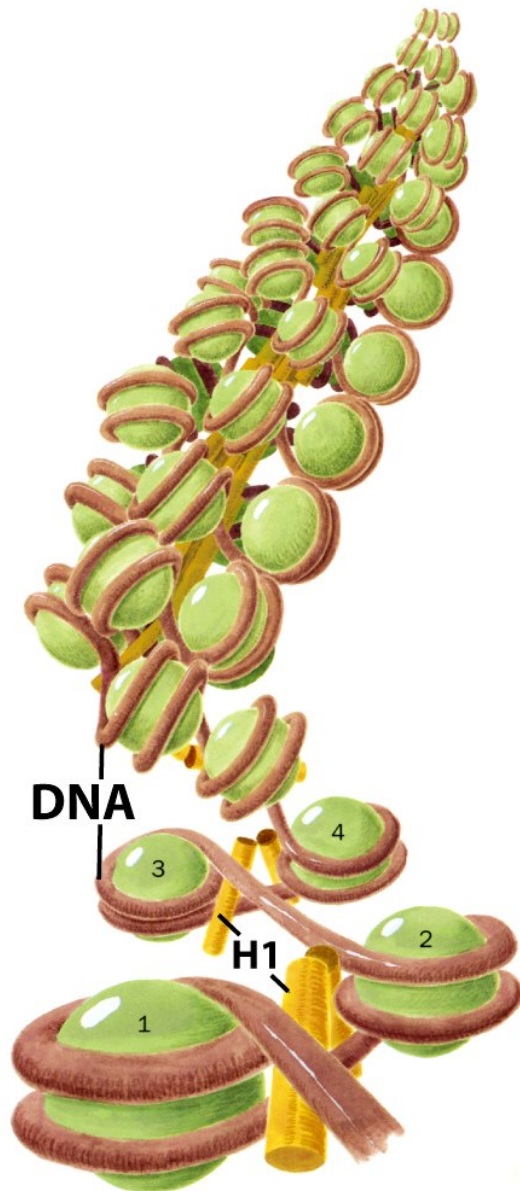


Nu-nucleus, E-euchromatin, H-heterochromatin, M-mitochondria, RER-rough endoplasmic reticulum, G-golgi complex



**NET RESULT: EACH DNA MOLECULE HAS BEEN PACKAGED INTO A MITOTIC CHROMOSOME THAT IS 10,000-FOLD SHORTER THAN ITS EXTENDED LENGTH**

# Como a cromatina se modifica para expor o DNA?

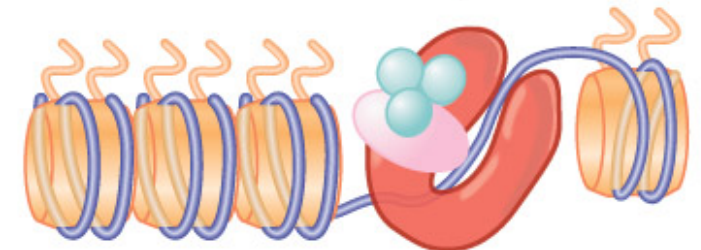
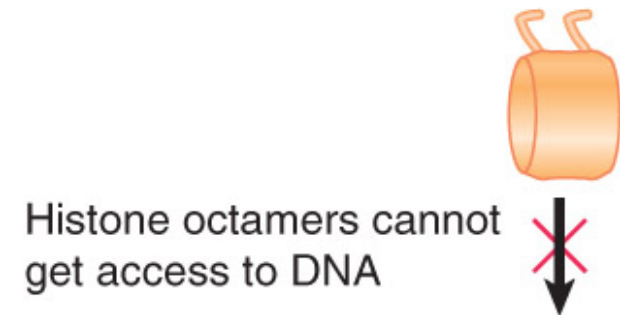
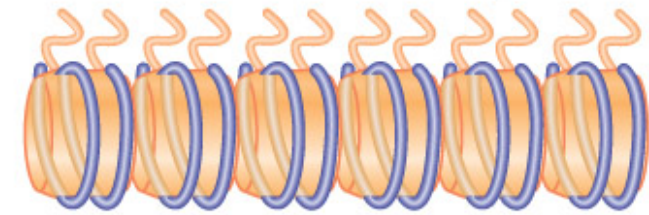
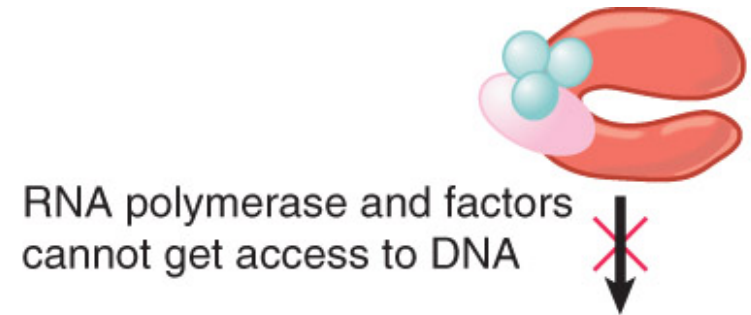


- Fibras de 30nm são transcricionalmente inativas
- Nucleossomos
  - Inibem a transcrição
  - Boqueiam acesso da RNAP ao promotor
  - Dificultam o alongamento da transcrição
- Nucleossomos precisam “abrir passagem” para o complexo de transcrição



# Nucleossomos e aparato de transcrição são mutuamente excludentes

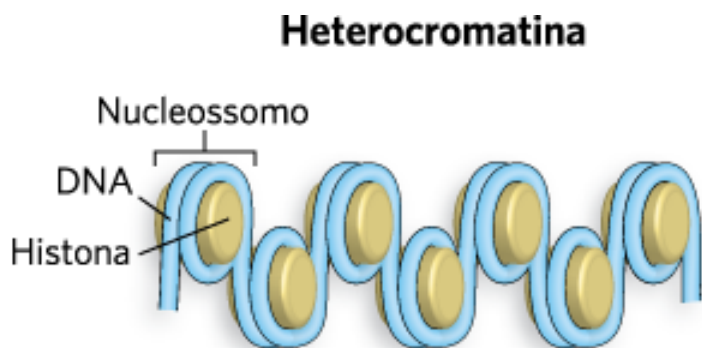
Histonas são proteínas com cargas positivas



# Remodelamento da Cromatina

## Heterocromatina

DNA transcricionalmente silenciado



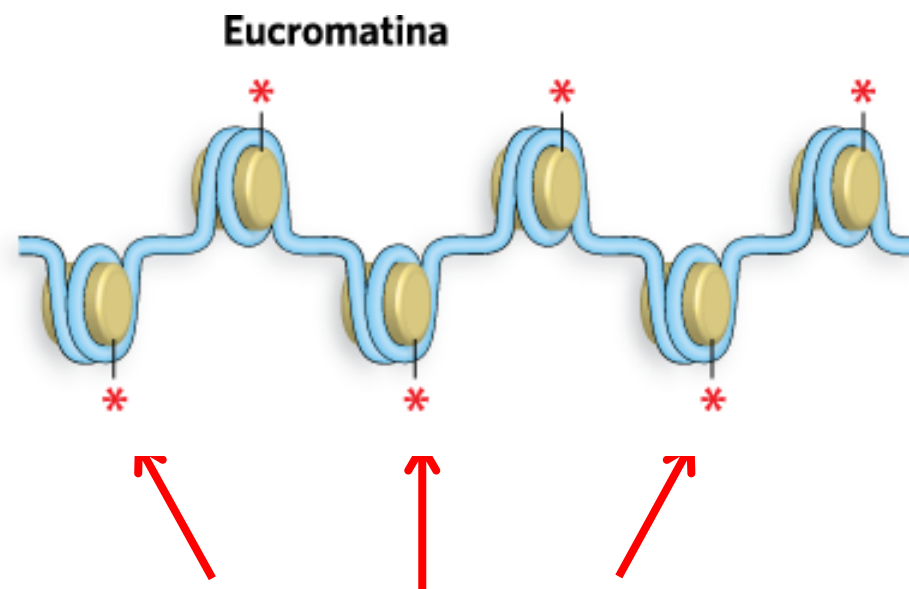
Complexos coativadores  
Perda de H1  
Modificações de histonas  
(como acetilação,  
fosforilação e desmetilação)



Desacetilação, desfosforilação  
e metilação de histonas  
Complexos correpressores

## Eucromatina

DNA acessível a maquinaria de transcrição

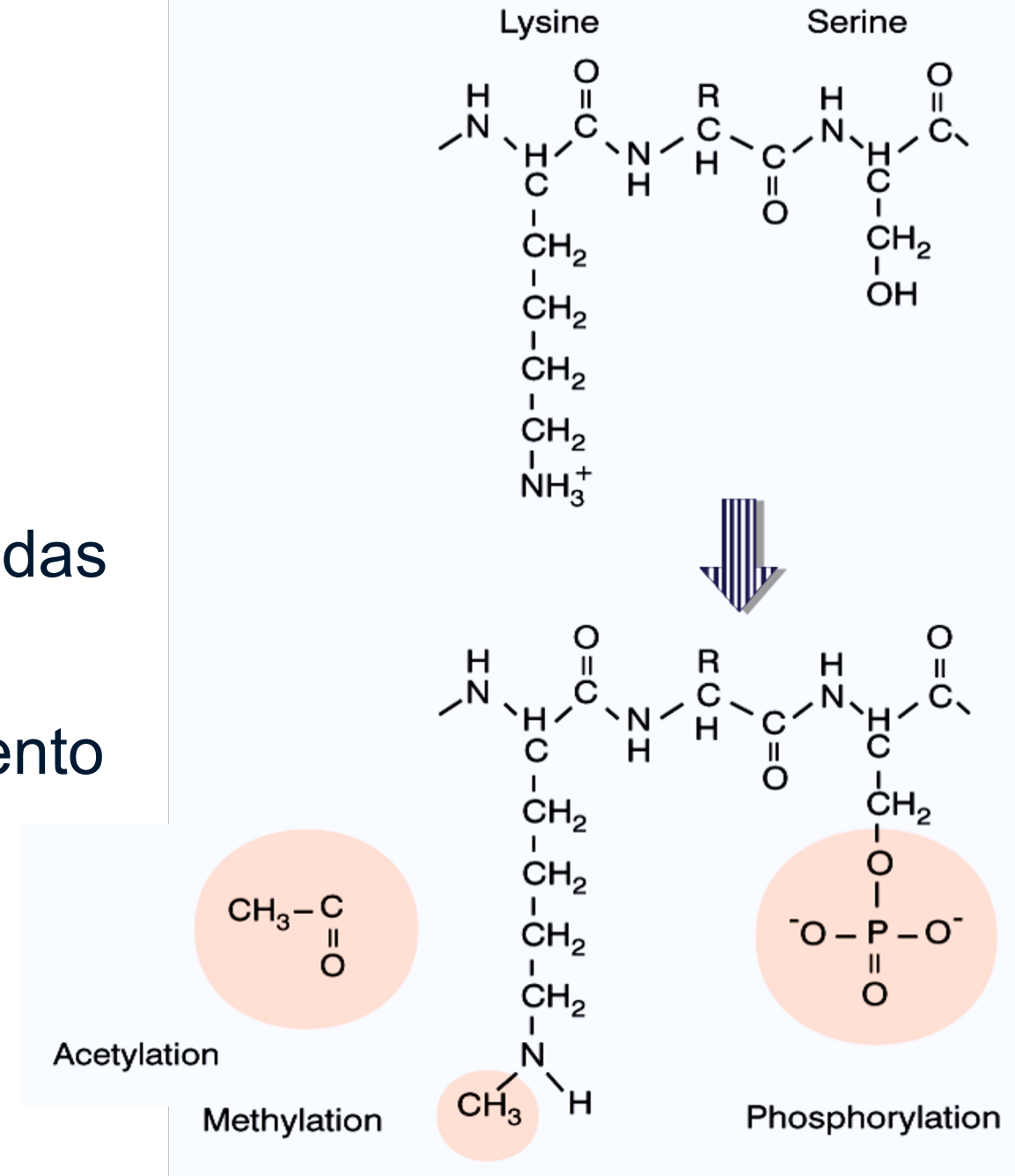


Modificações nas histonas



# Modificações pós-tradução em histonas

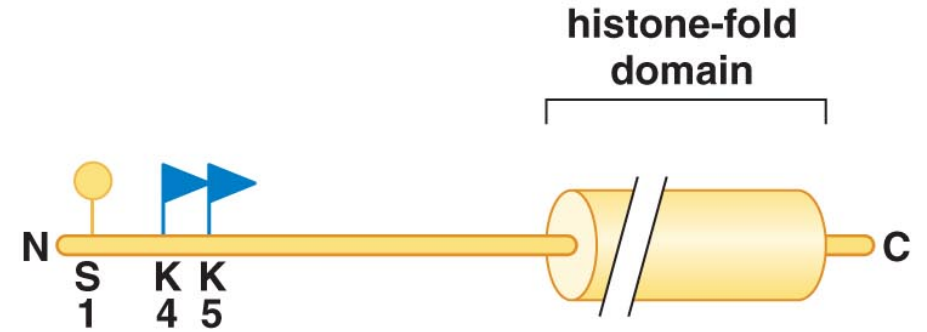
- Realizadas por enzimas de remodelamento da cromatina
- Alteram a carga positiva líquida das histonas
- Criam domínios de reconhecimento por outras proteínas
- Reversíveis



# Modificações pós-tradução em histonas



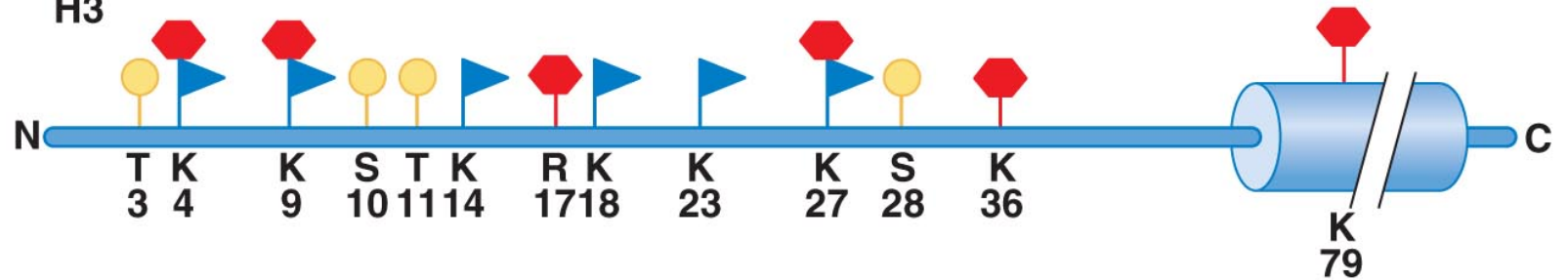
H2A



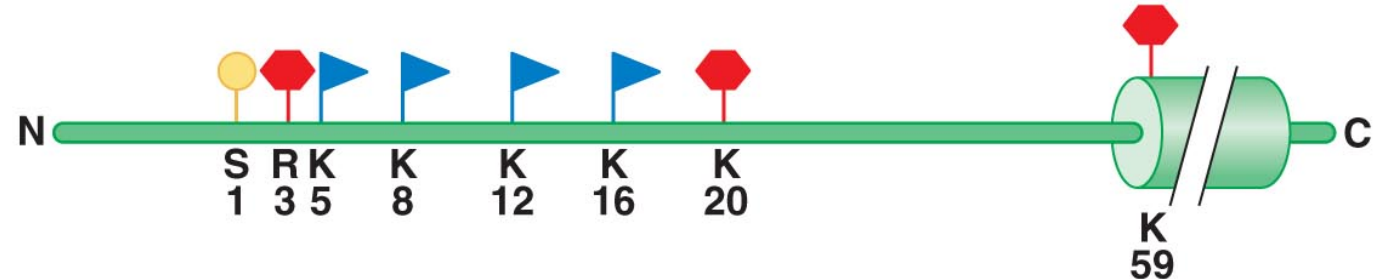
H2B



H3



H4

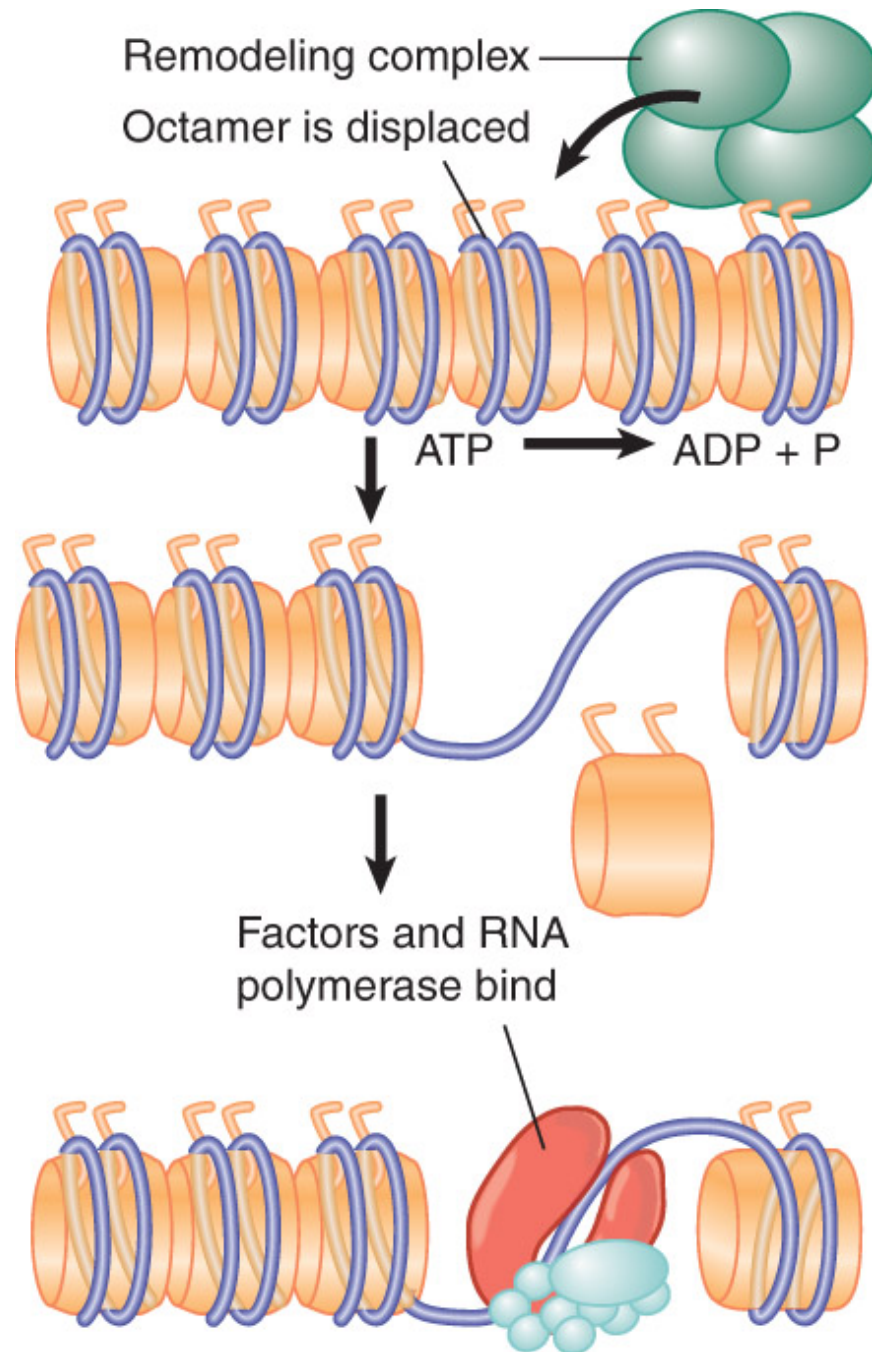


# Modificação de histonas

- Eventos essenciais no remodelamento da cromatina e, portanto, na expressão gênica
- Localizada (promotores) ou em vastas regiões do cromossomo
- Acetilação (K), Metilação (K, R), Fosforilação (S, T)
- Vários sítios (principalmente H3 e H4; H1)
- Atividade de modificação pode estar associada a complexos de ativadores de transcrição



# Remodelamento da Cromatina



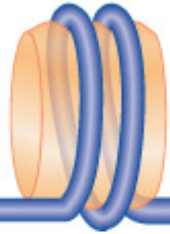
- Reorganização dos nucleossomos para ativação da transcrição
- Processo ativo
  - quebra de ATP
- Grandes complexos proteicos envolvidos

Promoter

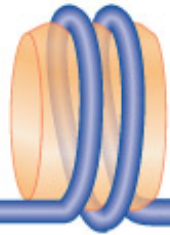
Terminator



Nucleosome assembled at specific location



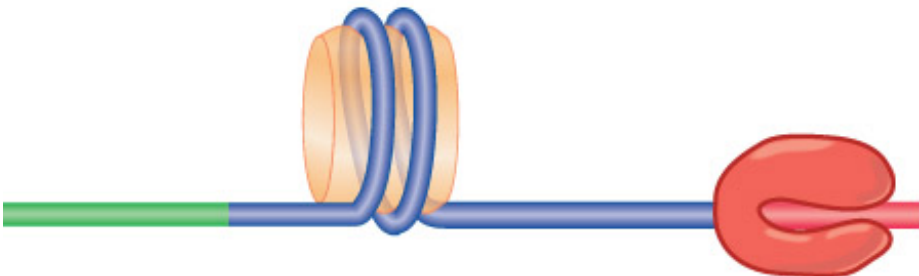
RNA polymerase binds at promoter



RNA polymerase transcribes up to terminator



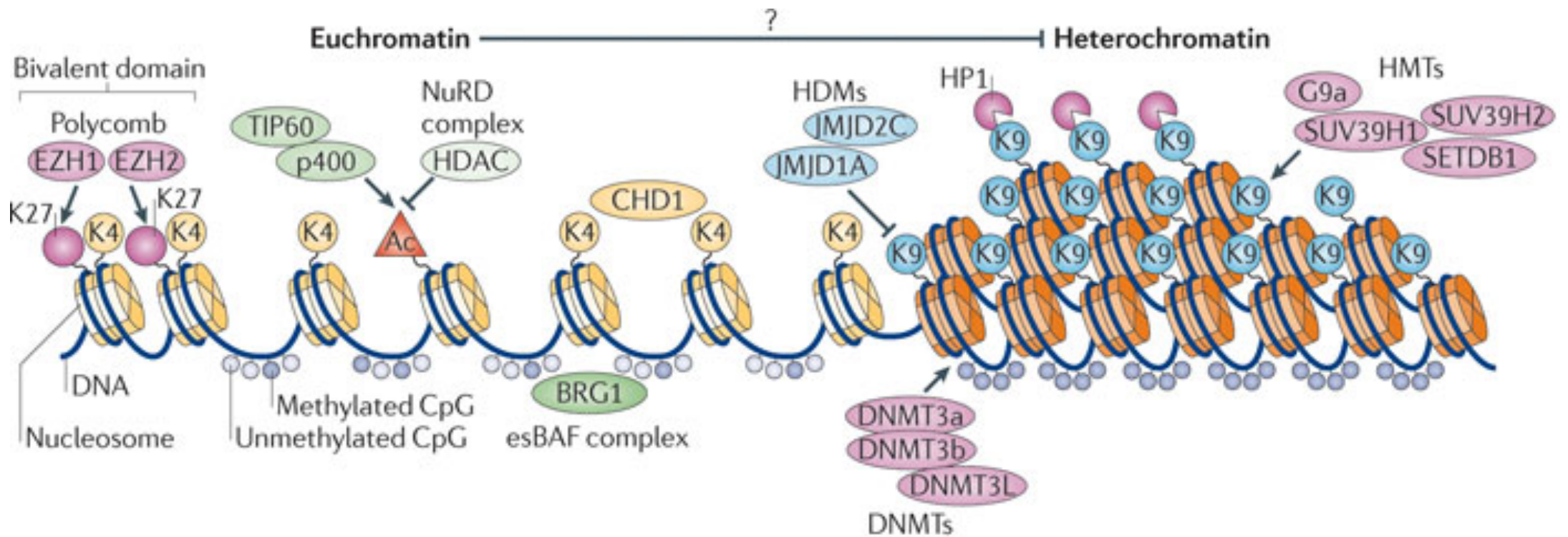
Nucleosome is found at new position



# Transcrição desloca nucleossomos

- Remodelamento:
  - Nucleossomos saem e voltam para posição ligeiramente diferente

# A cromatina é dinâmica



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Muitas proteínas diferentes participam do remodelamento

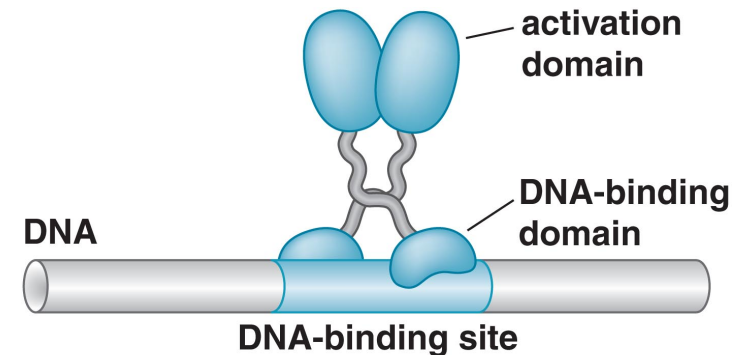
Como a célula pode regular seu transcrito?

# Sinais que modulam a expressão gênica em células eucarióticas

- Hormônios
- Neurotransmissores
- Fatores de crescimento
- Fatores de diferenciação celular
- Contato célula-célula
- Odores
- Alterações nutricionais
- Alterações ambientais (ex: temperatura)
- Luz
- Toque mecânico
- e outros.....

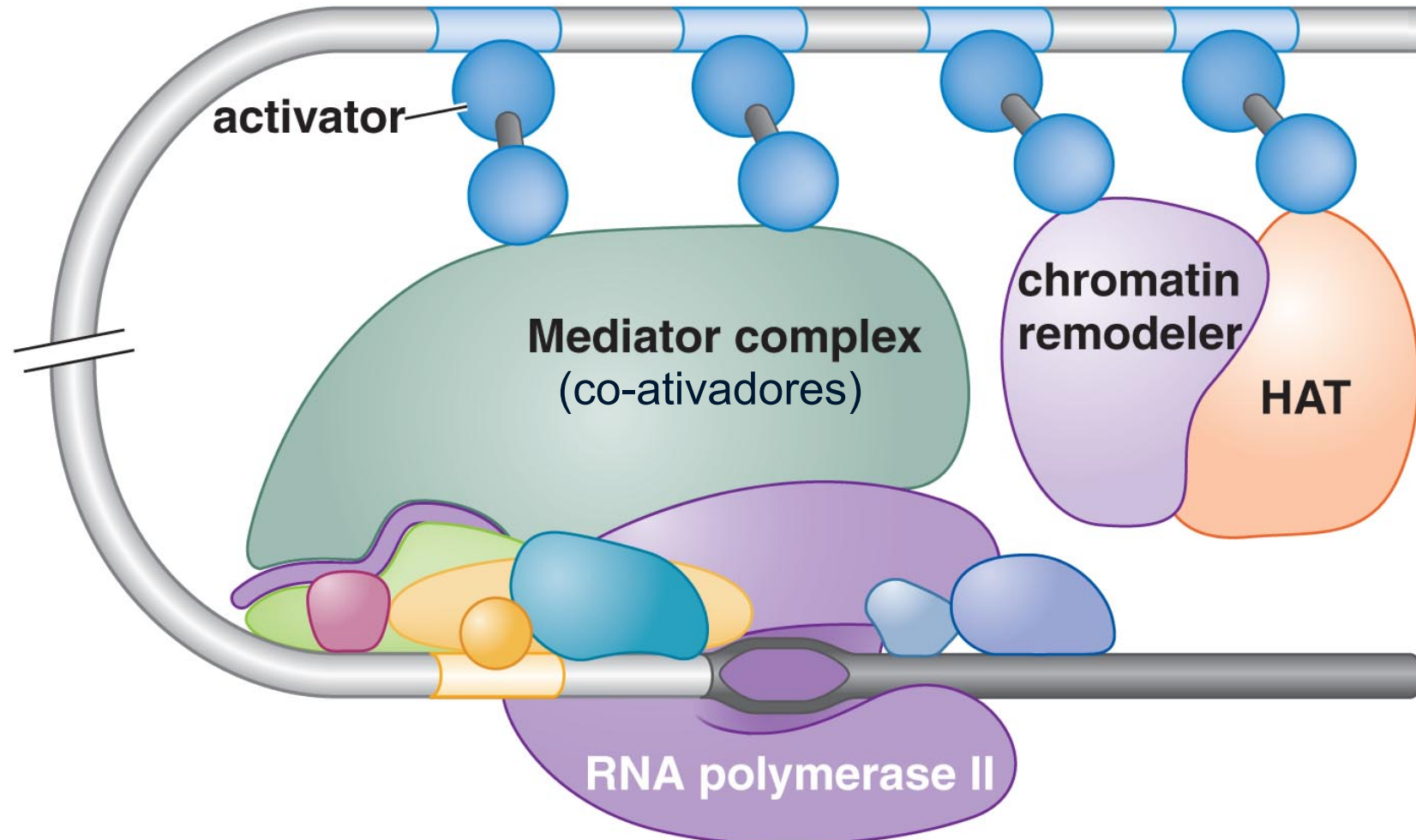
# Ativadores de transcrição

- Ligam DNA (sequências ativadoras/enhancers)
- Transcrição só inicia quando estão presentes
- Modulam frequência de início da transcrição
- Estrutura modular: vários domínios
- Podem ligar moléculas sinalizadoras
- Podem sofrer modificação pós-traducional

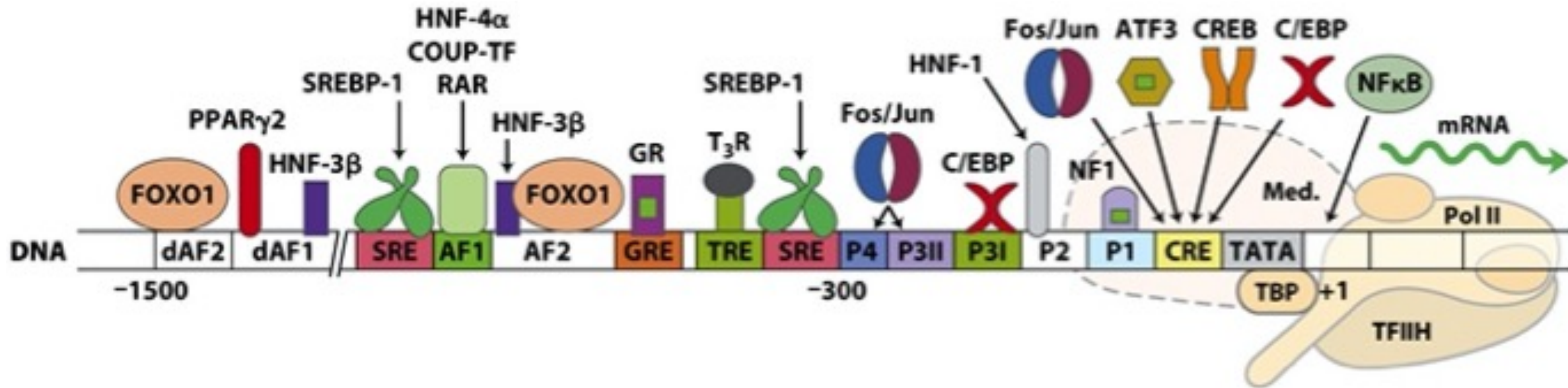




# Ativadores e outros componentes necessários para o início da transcrição da RNAP II



# Como os fatores de transcrição são “escolhidos” para ativar a transcrição?



Gene da fosfoenolpiruvato carboxiquinase

reação da gliconeogênese

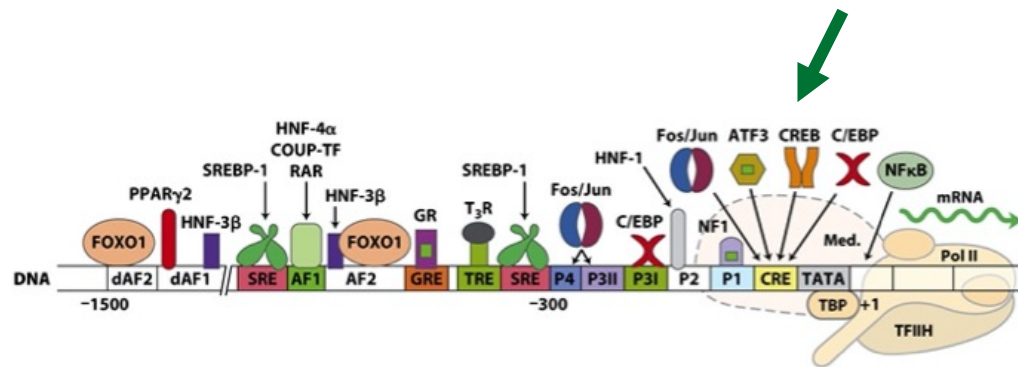




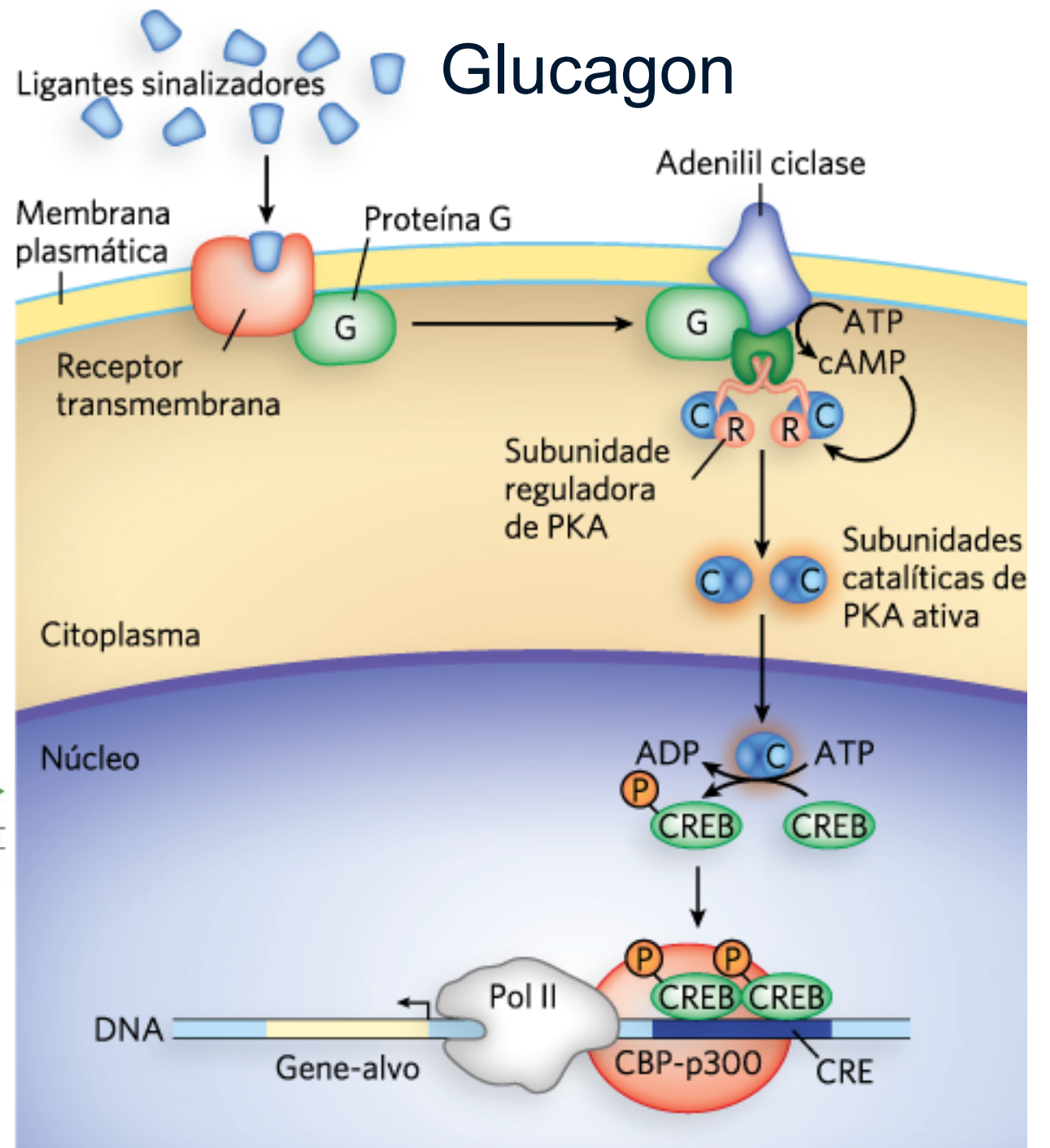
# Vias de transdução de sinais

- Um sinal recebido por um receptor é transmitido a outros componentes celulares
- Resulta numa resposta ao sinal recebido
  - Modificação de proteínas, geralmente por fosforilação
  - Interações proteína-proteína ou proteína-moléculas pequenas
  - **Modulação da expressão gênica**
- Pode ter vários passos intermediários
- Resposta permite a adaptação da célula ao sinal

# Via da PKA ativa o fator de transcrição CREB por fosforilação

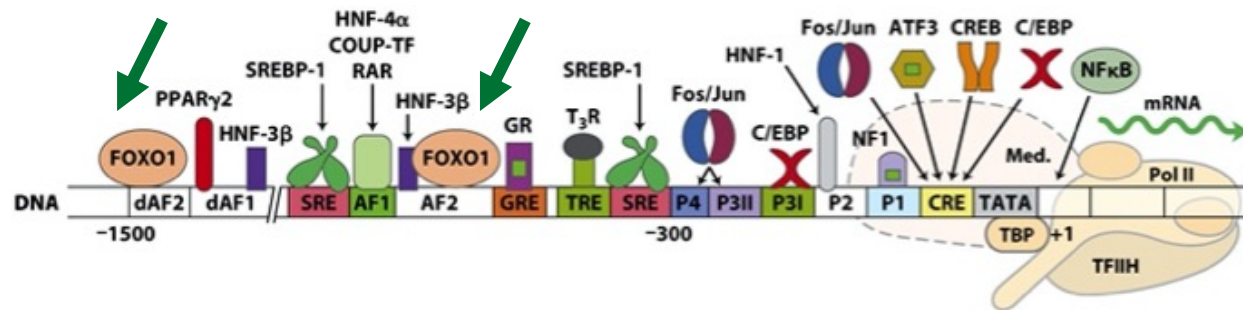


Glucagon ativa transcrição da PEP carboxiquinase





# Via da PKB desativa o fator de transcrição FOXO1 por fosforilação



Insulina **não** ativa a transcrição da PEP carboxiquinase

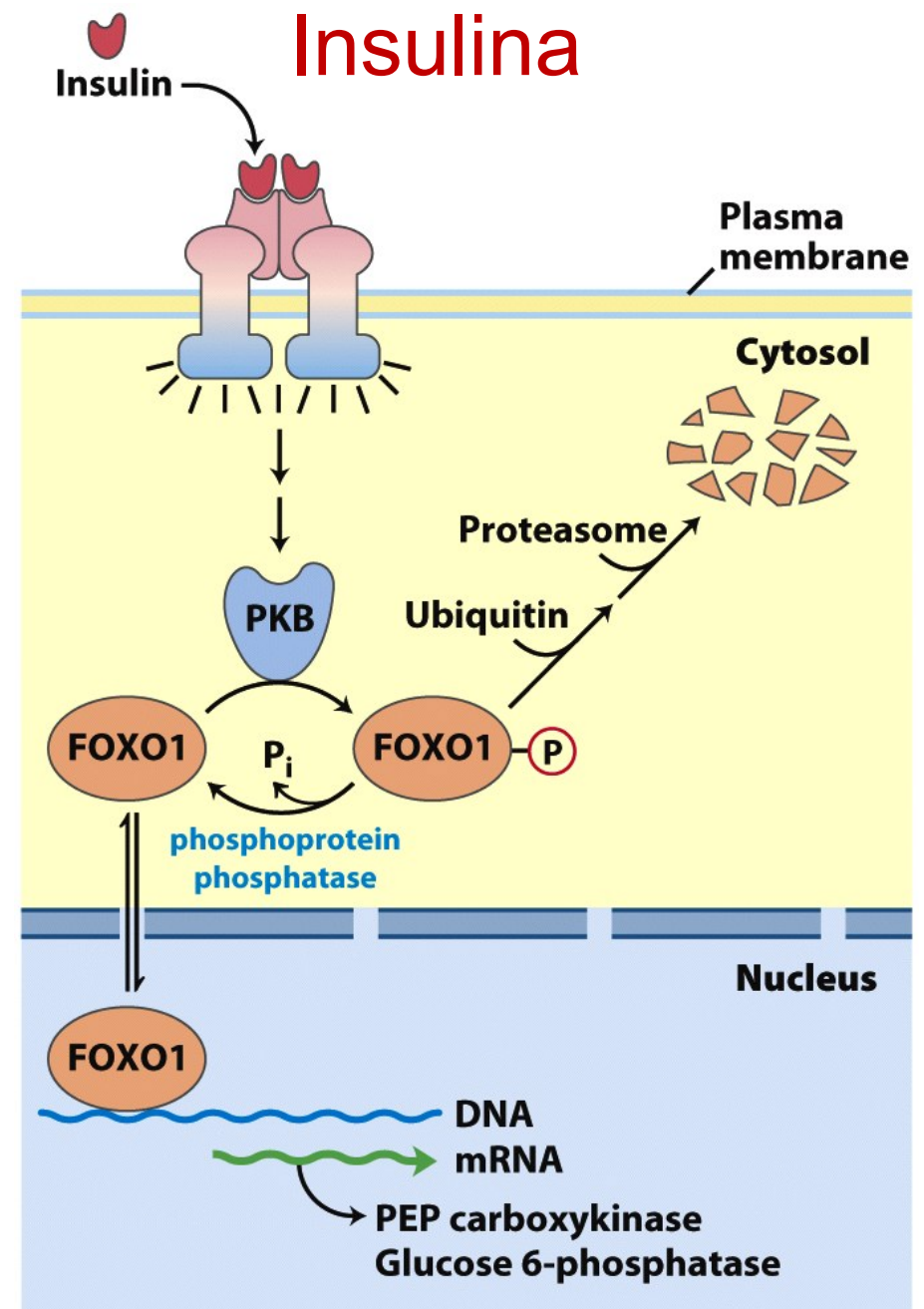
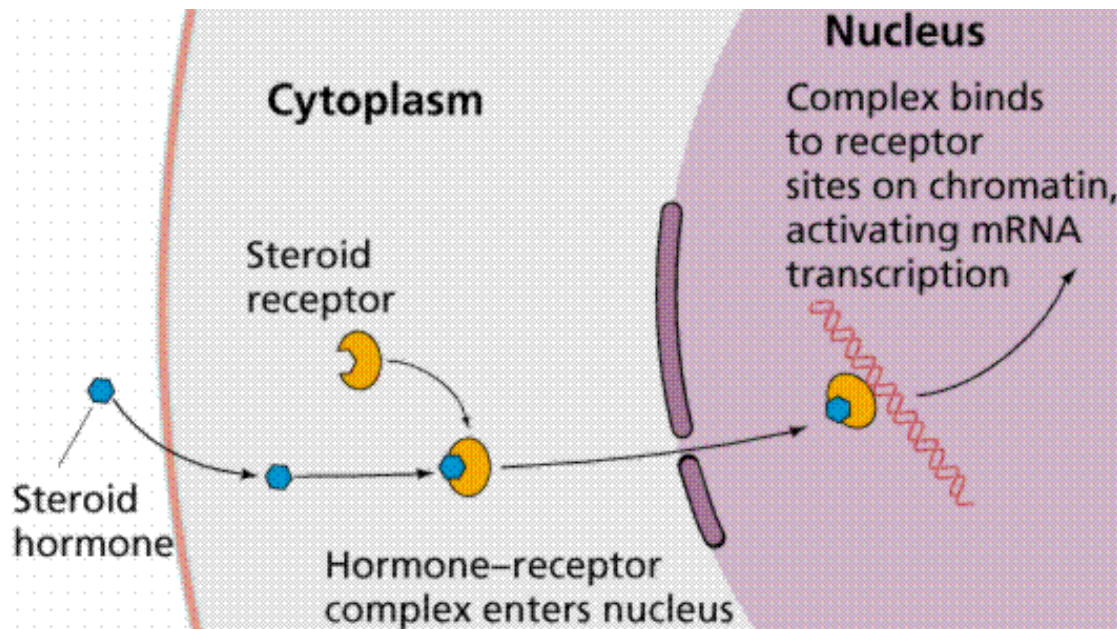


Figure 15-22  
 Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
 © 2008 W. H. Freeman and Company



# Receptores de hormônios esteróides são ativadores de transcrição

- Hormônios hidrofóbicos atravessam membrana plasmática e se ligam ao receptor
- Receptor translocado para o núcleo, onde liga HRE



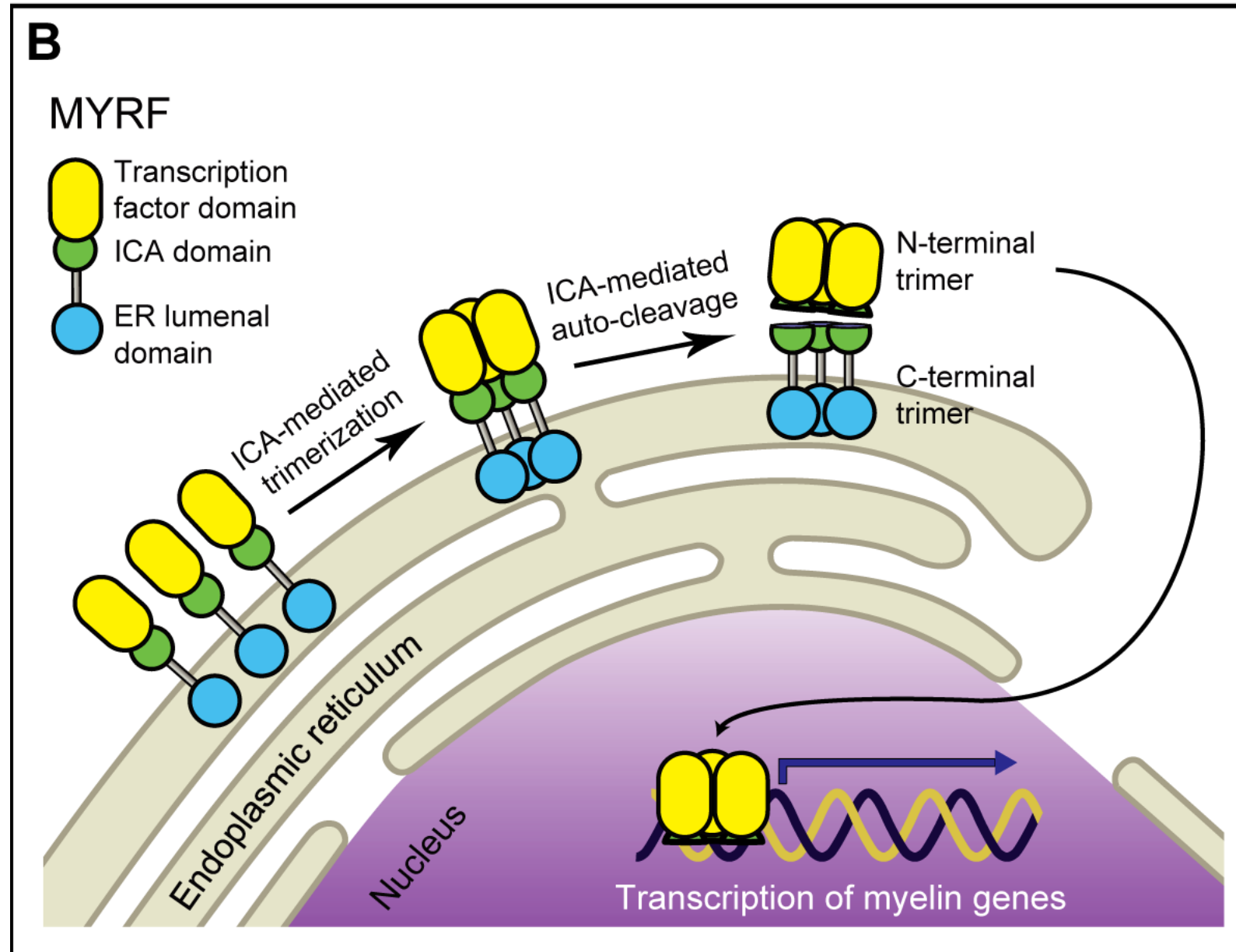
Hormone Response Elements (HREs) Bound by Steroid-Type Hormone Receptors	
Receptor	Consensus sequence bound*
Androgen	GG(A/T)ACAN <sub>2</sub> TGTTCT
Glucocorticoid	GGTACAN <sub>3</sub> TGTTCT
Retinoic acid (some)	AGGTCAN <sub>5</sub> AGGTCA
Vitamin D	AGGTCAN <sub>3</sub> AGGTCA
Thyroid hormone	AGGTCAN <sub>3</sub> AGGTCA
RX <sup>†</sup>	AGGTCANAGGTCANAG GTCANAGGTCA

\*N represents any nucleotide.

<sup>†</sup>Forms a dimer with the retinoic acid receptor or vitamin D receptor.

Table 28-4  
Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition  
© 2008 W. H. Freeman and Company

# Ativação de um fator de transcrição por proteólise



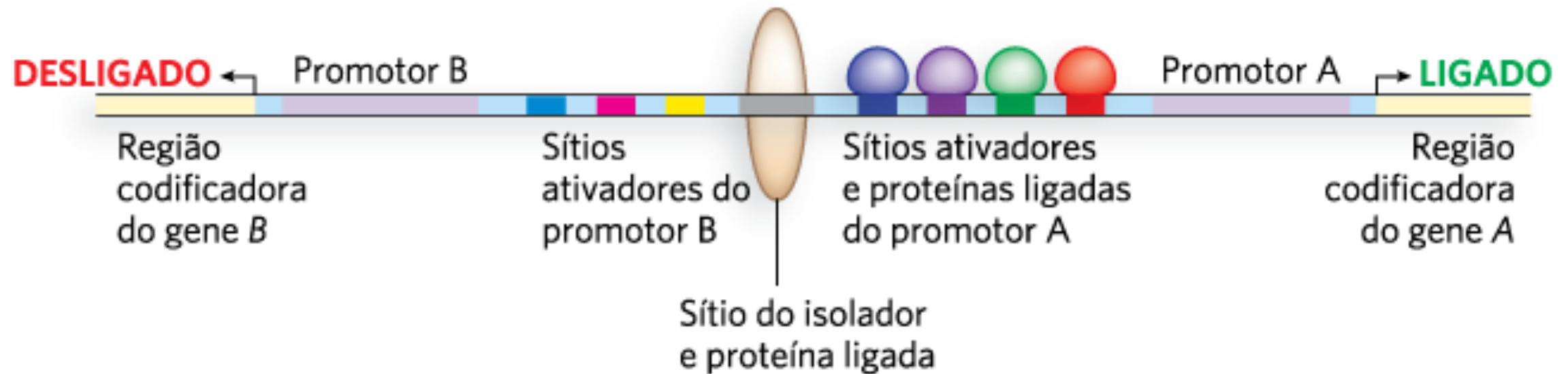
- myelin regulatory factor, MYRF
- Mielinização de células do sistema nervoso central

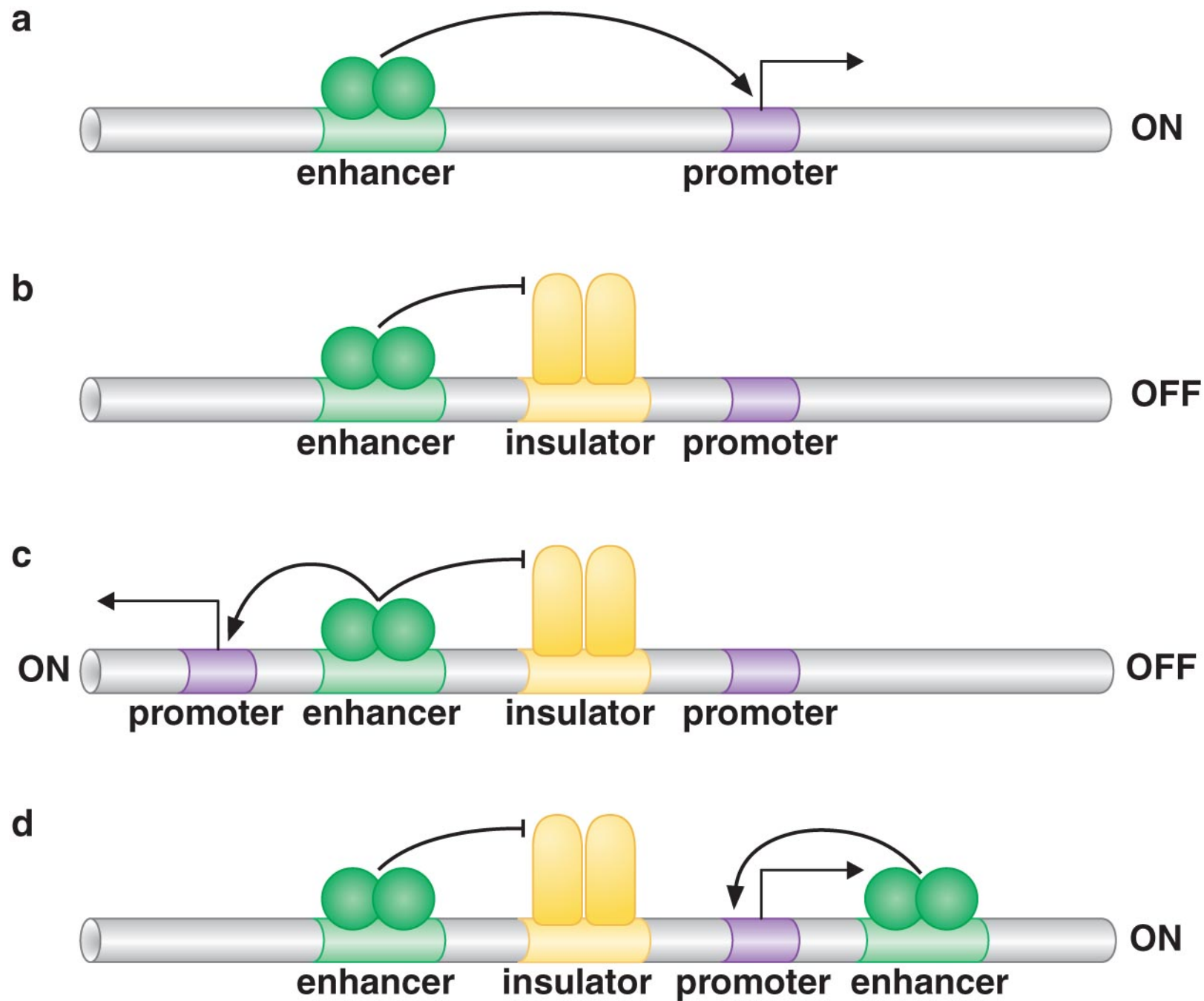
# Como os enhancers ativam os promotores certos?

- Se os enhancers ficam longe dos genes, eles poderiam interferir na regulação da transcrição de genes em qualquer posição
- *Insulators* ou isoladores
  - sequência no DNA que liga proteína e impede a comunicação cruzada entre os promotores que são ativados por fatores ativadores comuns.

# Isoladores e proteínas que se ligam a isoladores

O isolador impede a comunicação cruzada entre os reguladores dos promotores A e B.



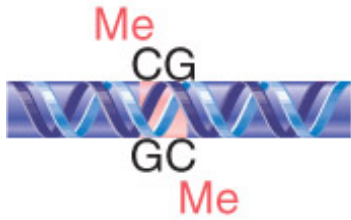


# Mais uma camada de regulação: Epigenética

- Modificações herdadas, mas que não alteram a sequência do DNA
  - metilação do DNA
  - manutenção da heterocromatina



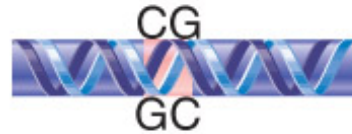
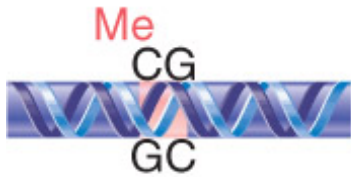
Methylated allele



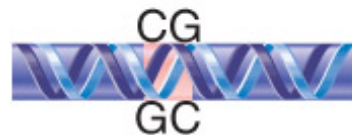
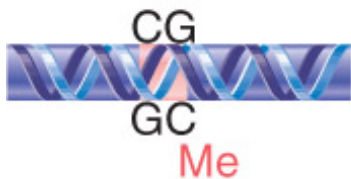
Nonmethylated allele



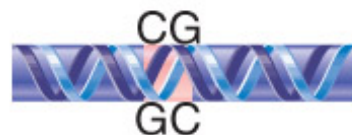
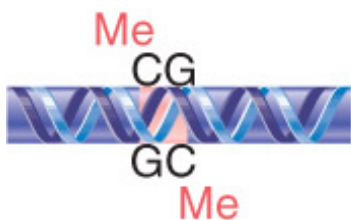
Replication



+



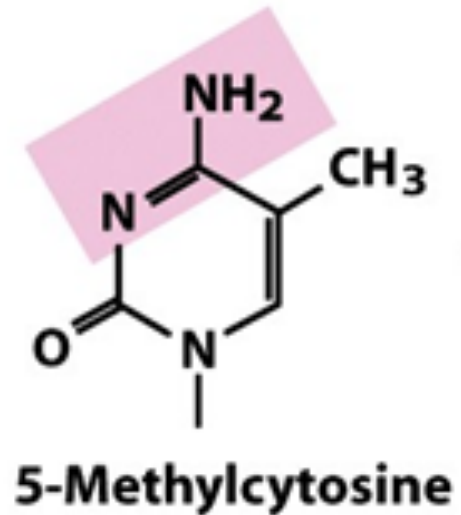
Methylation



# Metilação do DNA

- Ilhas CpG
  - regiões ricas em G onde as citosinas são metiladas

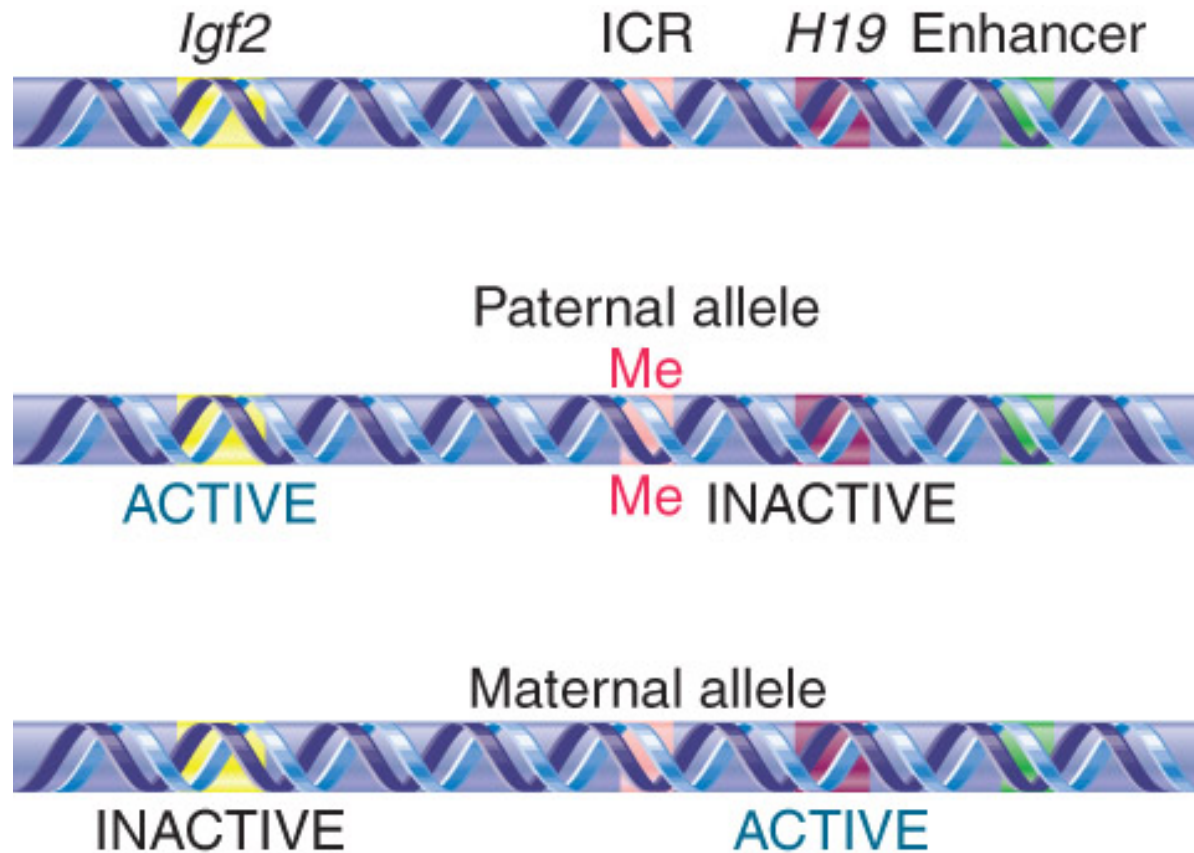
- Enzimas DNA metiltransferases



# Metilação pode controlar a transcrição

- Promotores metilados podem ser mais ou menos ativos
  - geralmente menos ativos
- Metilação pode bloquear efeito de enhancers

# Imprinting



- Alelos herdados do pai ou mãe têm atividade diferente
- ICR: (imprinting control locus)
  - impede ação do enhancer em *Igf2* quando não metilado

# Metilação de DNA e histonas se relacionam

- Eventos de metilação de DNA e histonas são característicos de heterocromatina
- Metilação de H3 recruta DNA metilase
- Ilhas CpG metiladas são alvos de metilases de histonas
- De modo geral, metilação leva à inativação da expressão

# Além do início de transcrição, regulação também pode se dar nos níveis de:

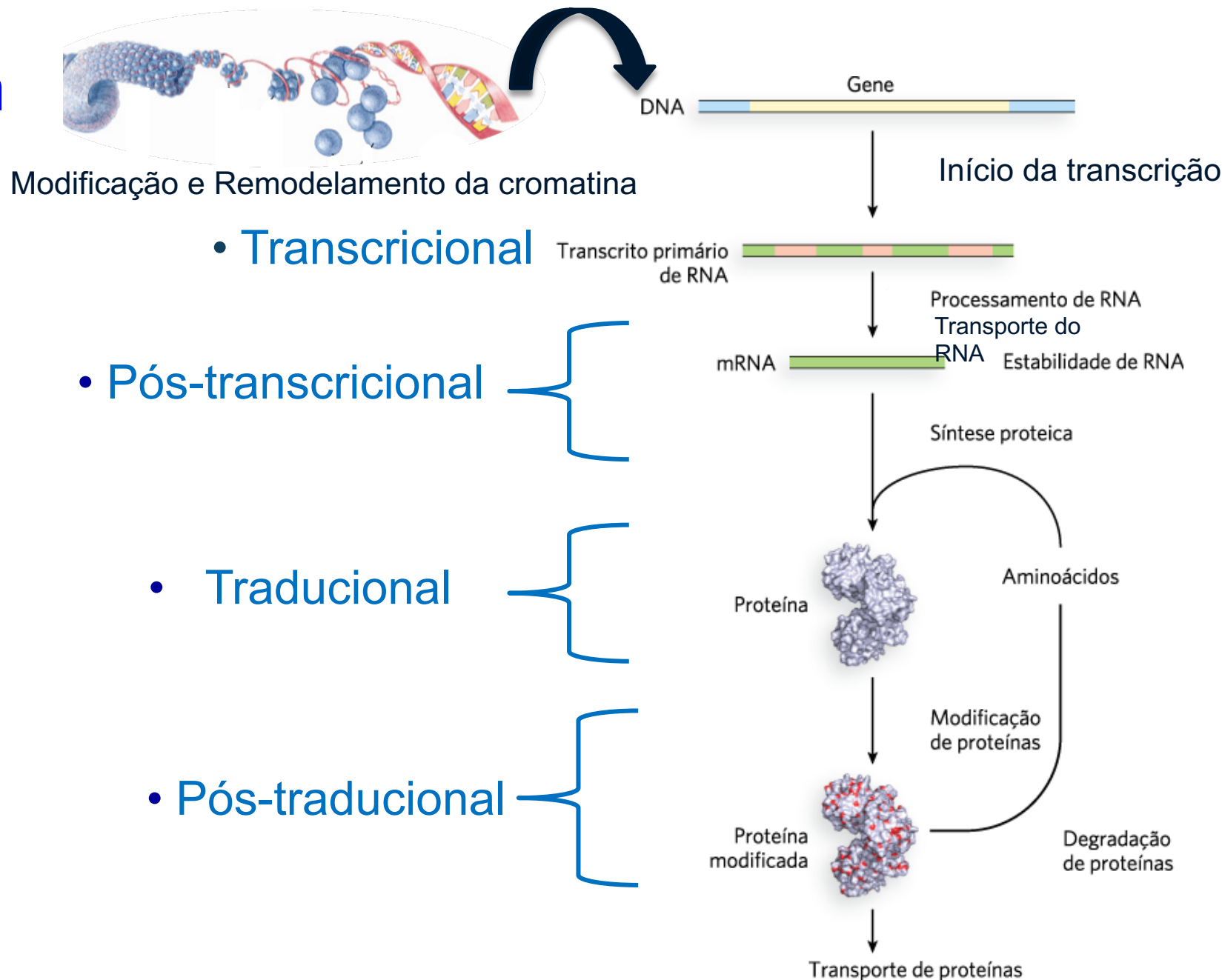
- Escolha das variantes de splicing e de poliadenilação alternativas
- Transporte do mRNA para o citoplasma
- Estabilidade do mRNA
  - RNAs regulatórios: miRNA, sRNA
- Taxa da tradução
- Estabilidade/degradação da proteína
- Controle da atividade da proteína
  - modificações pós-traducionais



Slides extras



# Níveis de Controle da Expressão Gênica em Eucariotos



## Início de transcrição e a estrutura da cromatina são relacionados

- Regiões de **euromatina** são mais acessíveis
- Ativadores de transcrição podem ser **modificadores de histonas**, alterando o padrão de condensação da cromatina
- Complexos de **remodelamento** podem ligar RNA polimerase (pode ser considerados co-ativadores)

# Co-ativadores

- Intermediários entre ativadores e complexo de iniciação
- Não ligam DNA
- Interações proteína-proteína
- Complexo *mediator*
  - 20 a 30 polipeptídeos
  - podem atuar junto a repressores de transcrição

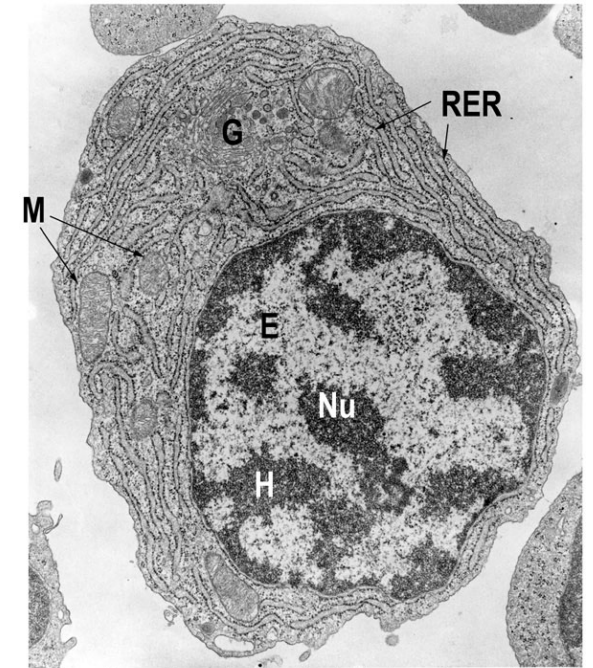
# Estados da cromatina

- **Heterocromatina**

- altamente condensada
- inativa
- metilação de DNA e histonas
- constitutiva (centrômeros, regiões repetidas, etc)
- condicional (tipo celular/fase do ciclo)

- **Eucromatina**

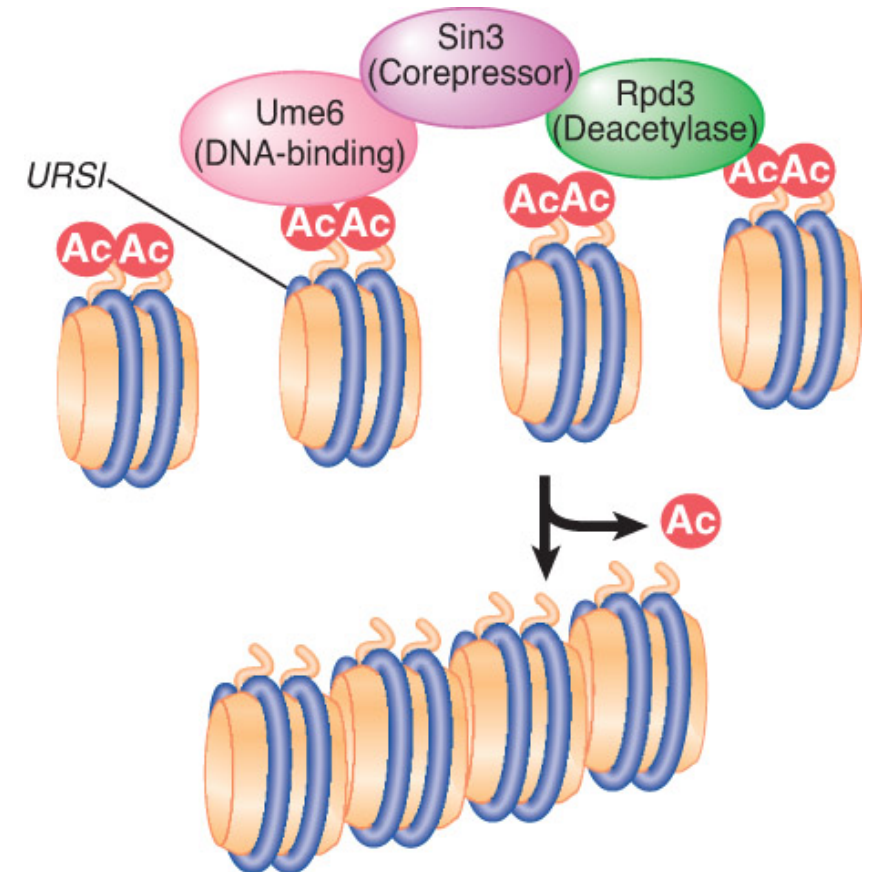
- menos condensada (nucleossomos se mantêm)
- transcritionalmente ativa



Nu-nucleus, E-euchromatin, H-heterochromatin, M-mitochondria, RER-rough endoplasmic reticulum, G-golgi complex

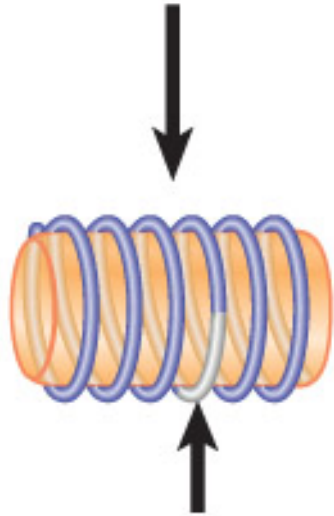
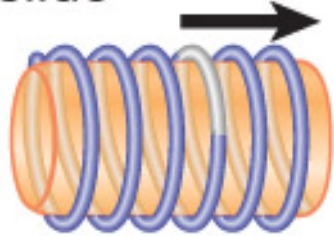
# Acetilação de histonas

- Acetiladas após síntese, desacetiladas quando formam nucleossomo
- Acetiladas novamente para ativação do promotor
- $\epsilon$ -amino de lisinas (+  $\rightarrow$  -)
  - Diminui afinidade pelo DNA  
 $\rightarrow$  descondensação da cromatina



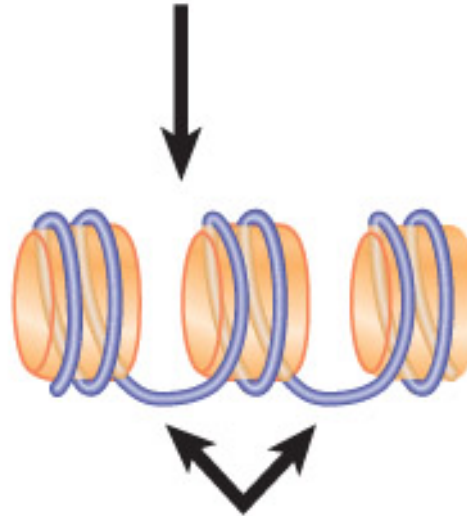
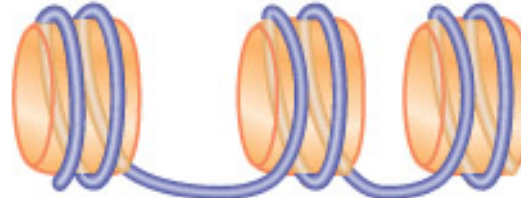
# Ação dos complexos de remodelamento

Nucleosomes slide



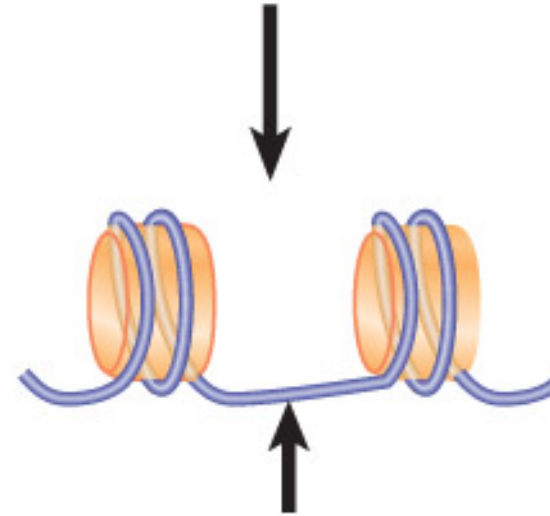
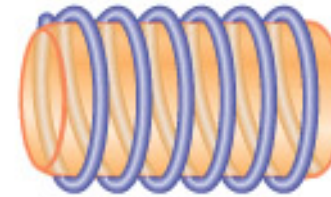
Sequence changes position

Spacing adjusted



Spacing becomes even

Nucleosome is displaced

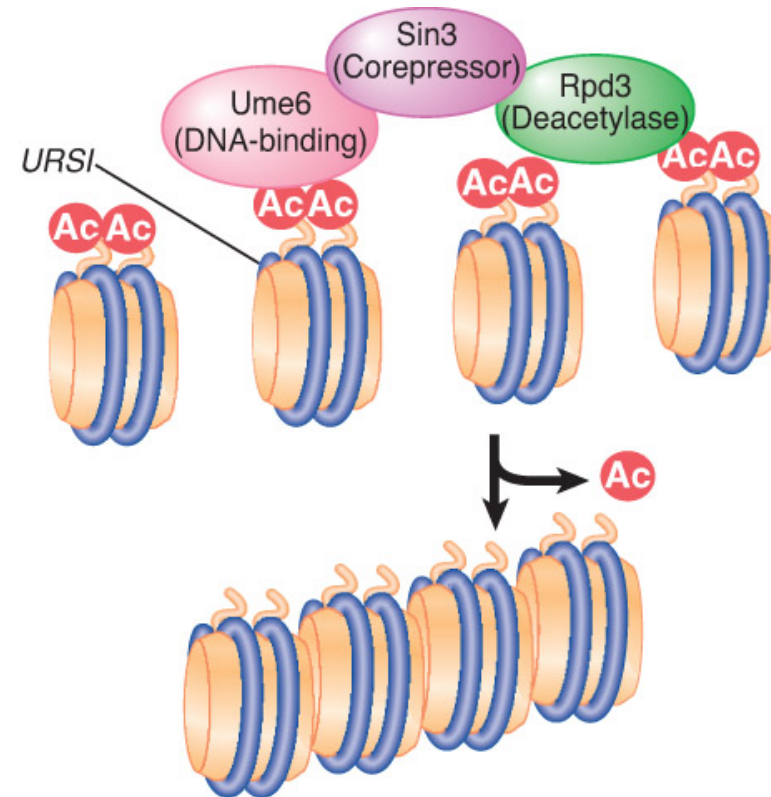


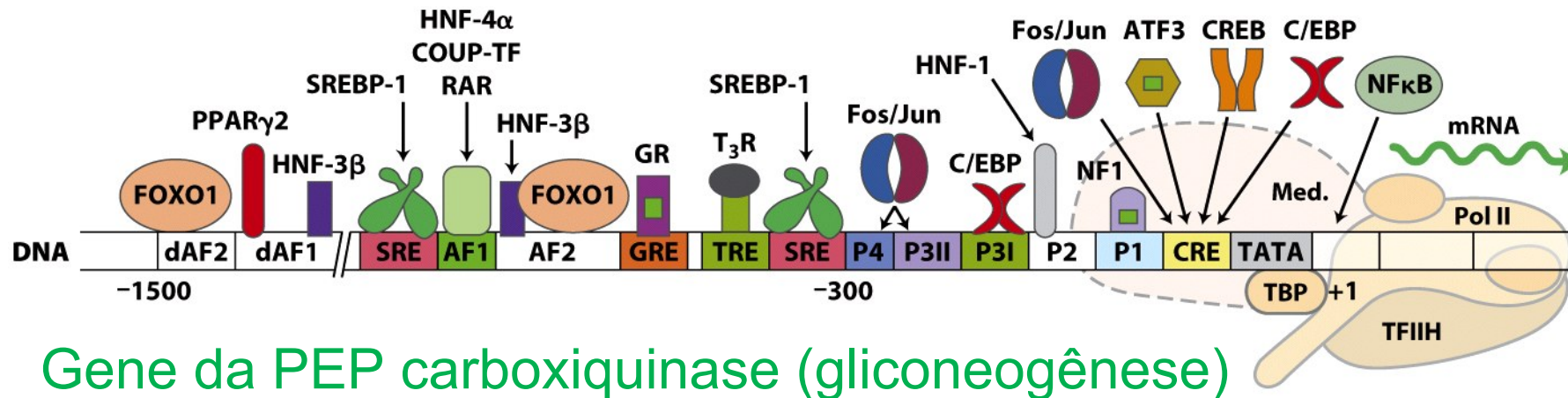
Gap of free DNA



# Desacetilação/repressão

- Em linhas gerais:
  - Acetilação está relacionada com regiões transcricionalmente **ativas**
  - Menor condensação





## Gene da PEP carboxiquinase (gliconeogênese)

### Transcription factors

FOXO1	forkhead box other 1
PPAR $\gamma$ 2	peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ 2
HNF-3 $\beta$	hepatic nuclear factor-3 $\beta$
SREBP-1	sterol regulatory element binding protein-1
HNF-4 $\alpha$	hepatic nuclear factor-4 $\alpha$
COUP-TF	chicken ovalbumin upstream promoter-transcription factor
RAR	retinoic acid receptor
GR	glucocorticoid receptor
T <sub>3</sub> R	thyroid hormone receptor
C/EBP	CAAT/enhance binding protein
HNF-1	hepatic nuclear factor-1
NF1	nuclear factor 1
ATF3	activating transcription factor 3
CREB	cAMP regulatory element binding protein
NF $\kappa$ B	nuclear factor $\kappa$ B
TBP	TATA-box binding protein
Med.	mediator
TFIIH	transcription factor IIH

### Response elements and regulatory binding sites in promoter

dAF2	distal accessory factor 2
dAF1	distal accessory factor 1
SRE	sterol regulatory element
AF1	accessory factor 1
AF2	accessory factor 2
GRE	glucocorticoid regulatory element
TRE	thyroid hormone regulatory element
CRE	cAMP regulatory element

Um gene pode ser controlado por múltiplos ativadores de transcrição

Figure 15-23

Lehninger Principles of Biochemistry, Fifth Edition

© 2008 W. H. Freeman and Company

# Ilhas CpG



- Próximas de promotores
- Podem ser metiladas ou não
- ~20.000 no genoma humano