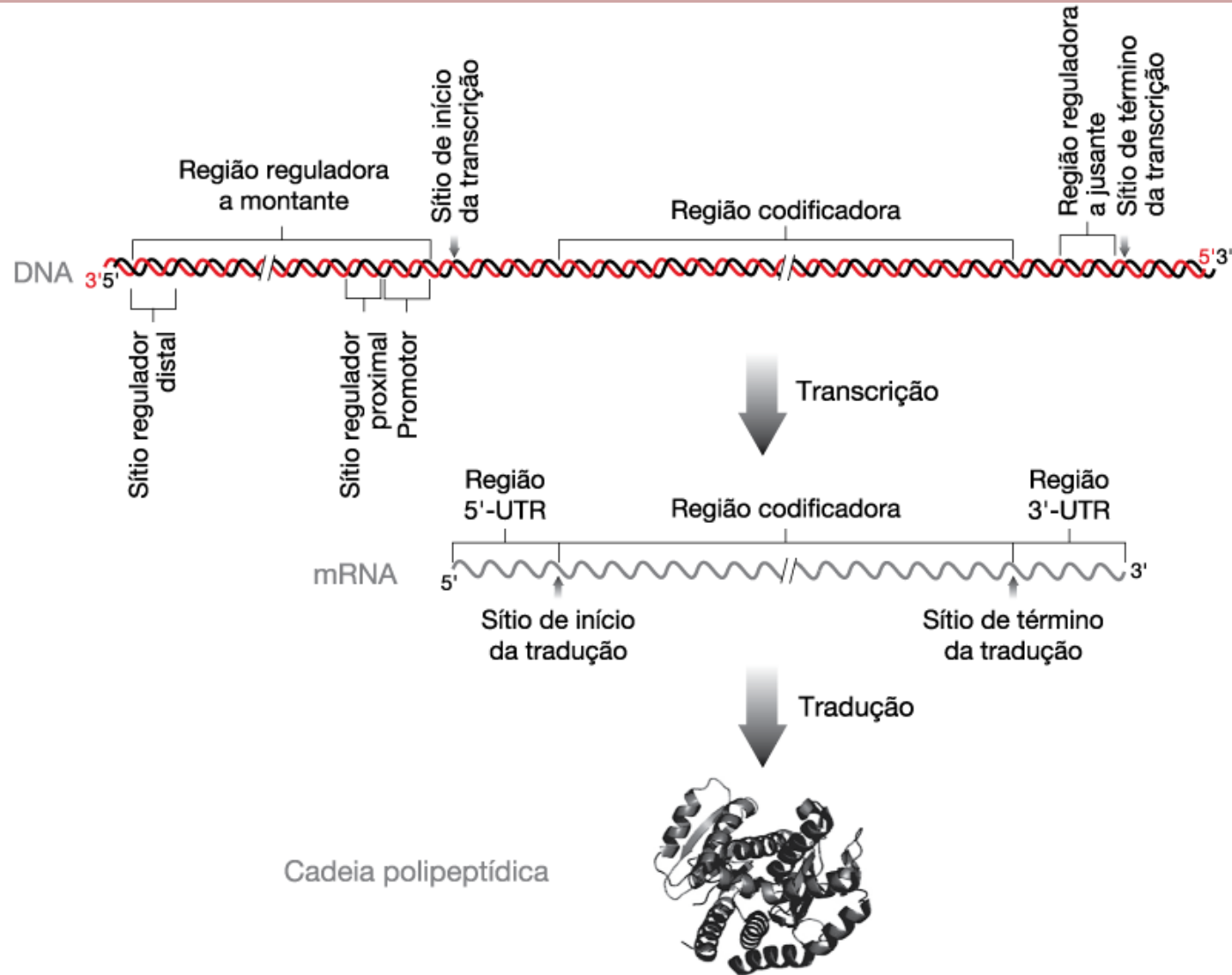


Qual a estrutura de um gene que codifica proteínas

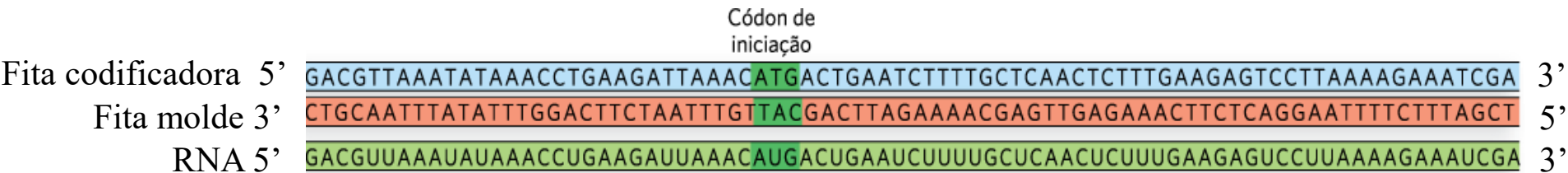


Funcionalmente, um gene é maior do que a região que codifica a proteína

Qual é a fita a ser lida pela RNA polimerase??

Qual destas fitas a RNA polimerase “lê” durante a síntese de RNA?

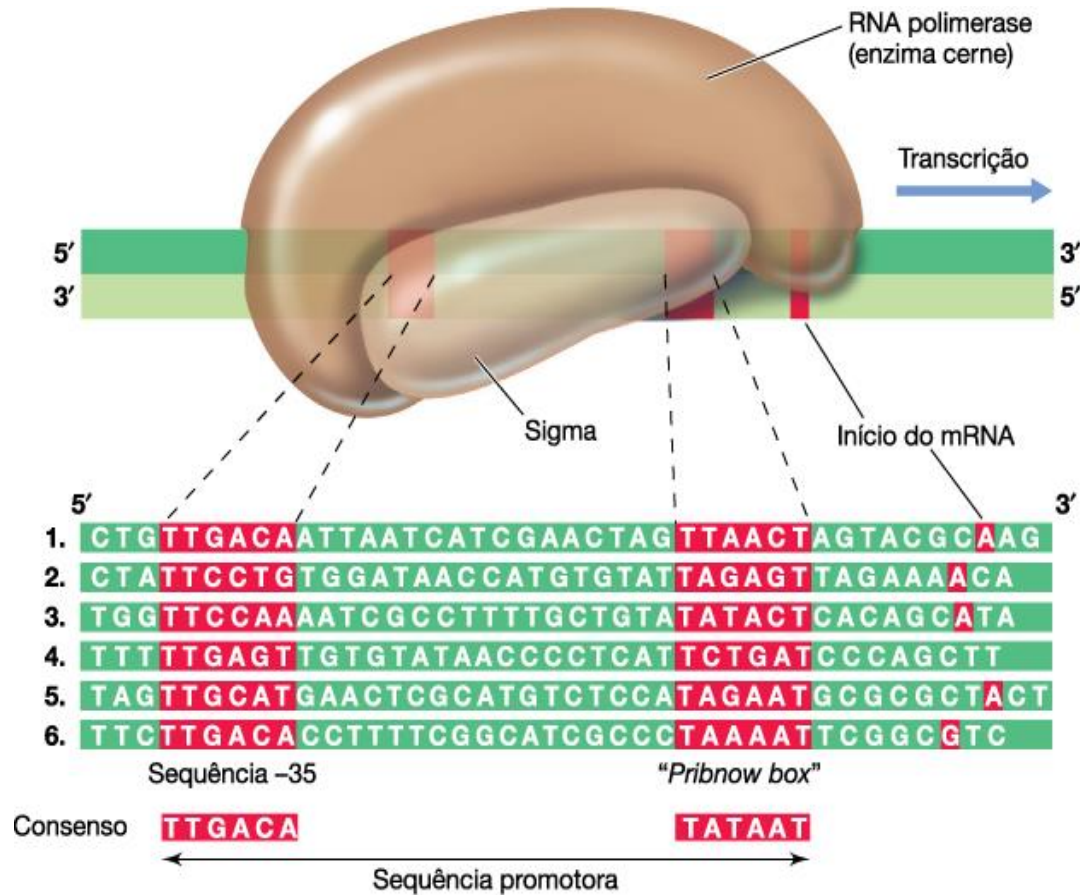
Em qual sentido a RNA polimerase “lê” esta fita?



Por definição, sempre que se apresenta a sequência de um gene, é mostrada apenas a **fita codificadora** (aquela que é semelhante ao RNA), a não ser que explicitamente detalhado no texto.

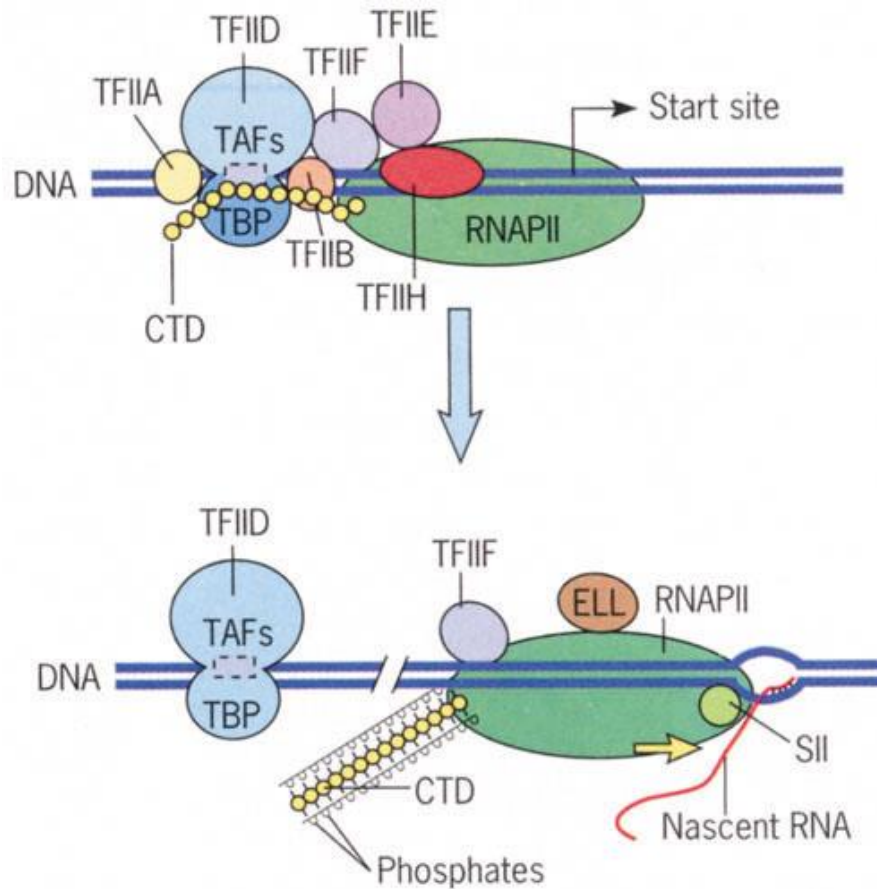
Fita molde é aquela lida pela RNA polimerase

Fatores Sigma



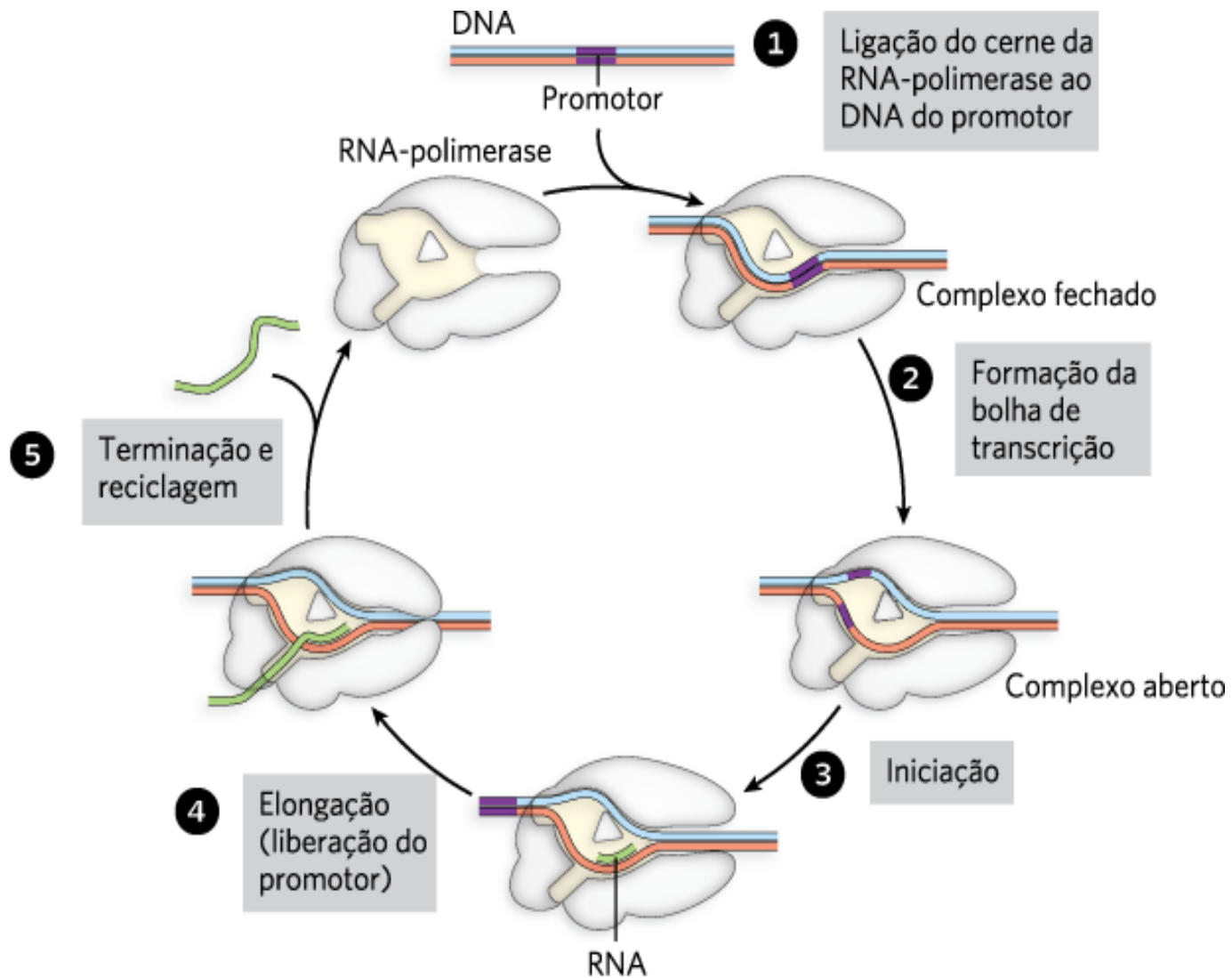
Fatores sigma reconhecem sequências nas regiões -35 e -10, e promovem uma ligação específica da RNA polimerase, posicionando-a para o início de transcrição

A RNA Polimerase é fosforilada em seu Domínio C-terminal (CTD)



Esta fosforilação é mediada pelo fator TFIIH, e converte a RNA polimerase em uma enzima altamente processiva, que deixa os fatores de transcrição para trás e começa a fase de elongação.

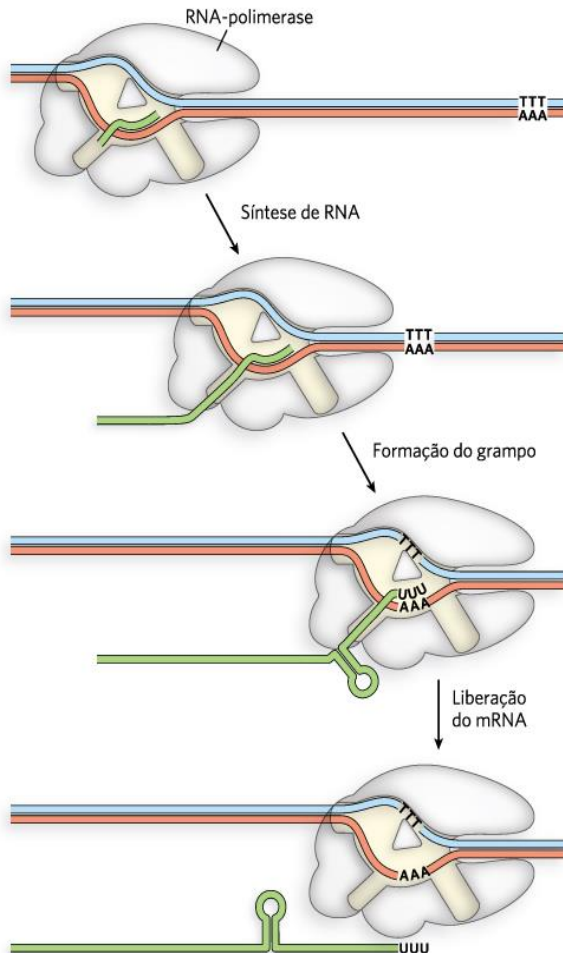
A transcrição - Procariotos



Término da transcrição - Procariotos

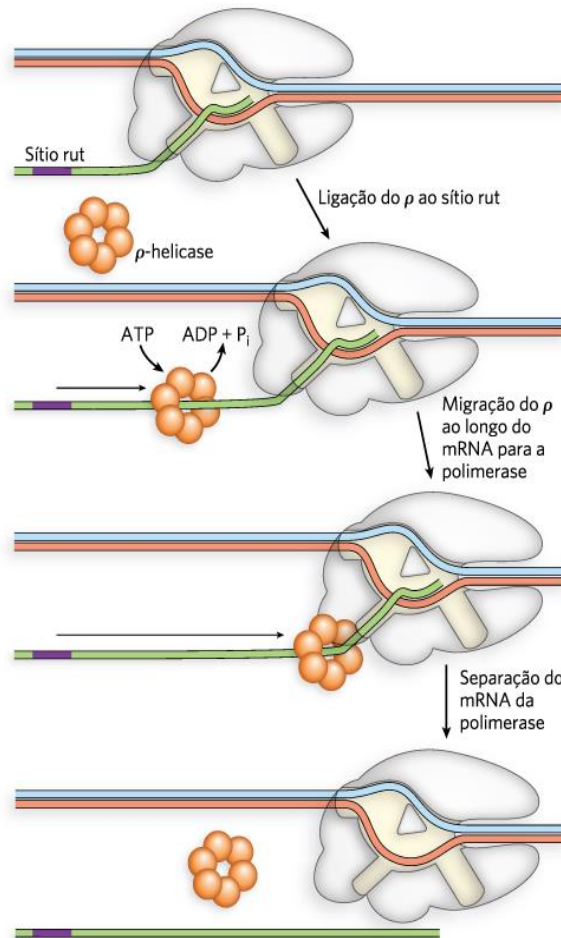
Terminação intrínseca ou independente de Rho

(a) Terminação independente de ρ



Terminação dependente de Rho

(b) Terminação dependente de ρ



Visão geral da transcrição mediada pela RNA Pol II

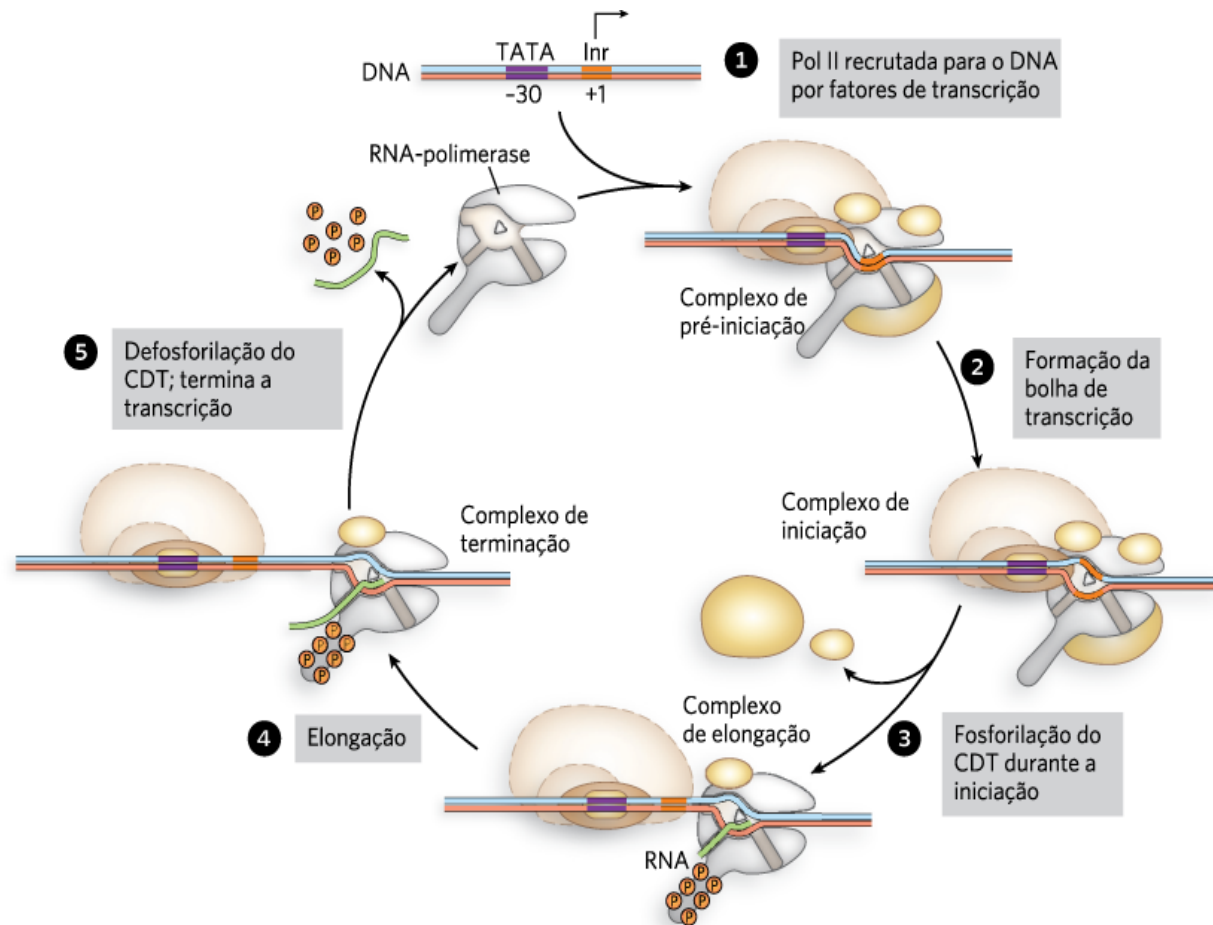
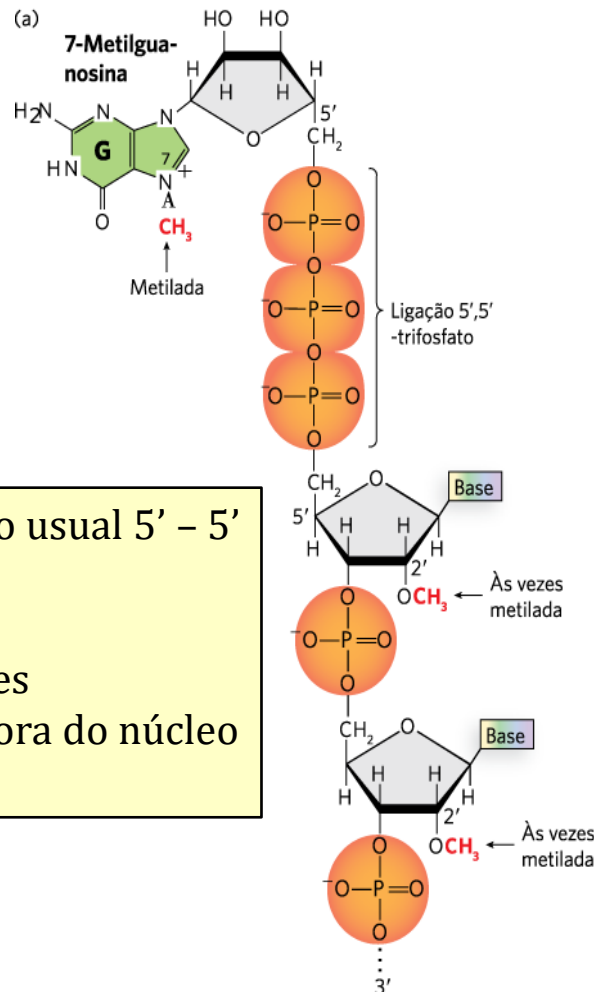


FIGURA 15-22 Transcrição nos promotores da Pol II. As fases da transcrição pela Pol II — montagem, iniciação, elongação e terminação — estão associadas a proteínas características, conforme descrito no texto. A montagem organizada e a dissociação dos fatores conduzem o processo adiante.

Pós - transcrição - processamento

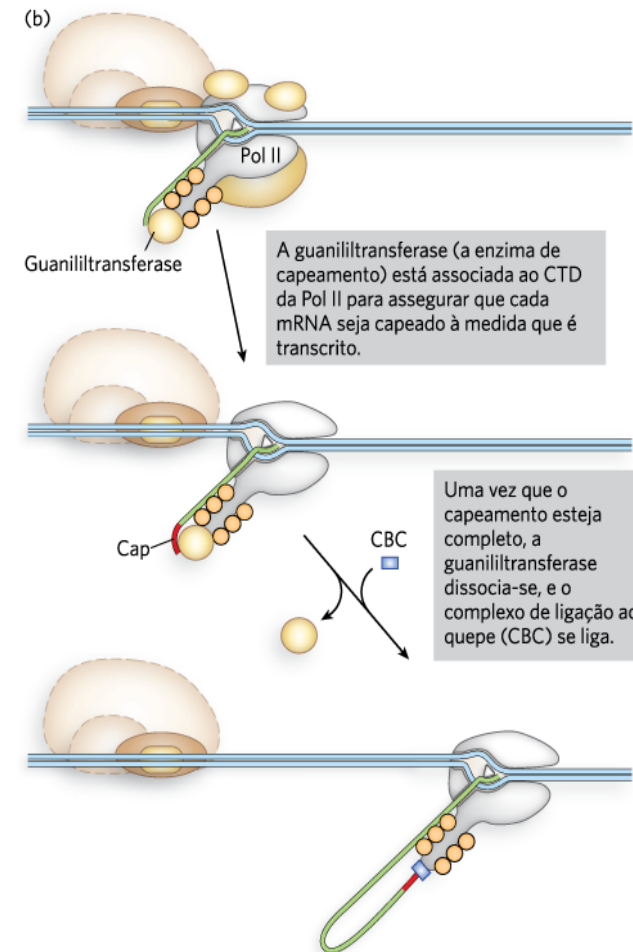
Adição do quepe (cap) de 5-metilguanossina na extremidade 5' do mRNA



Adicionado por uma ligação não usual 5' – 5'

Funções do quepe:

- Proteção contra exonucleases
- Auxilia no transporte para fora do núcleo
- Papel no início da tradução



Pós - transcrição - processamento

Adição do cauda poli(A) na extremidade 3' do RNA

- Endonuclease cliva o RNA após a sequência AAUAAA
- Poli(A) Polimerase adiciona em torno de 250 adenosinas sem a necessidade de molde
- Proteínas que se ligam à cauda poli(A) protegem o RNA da degradação

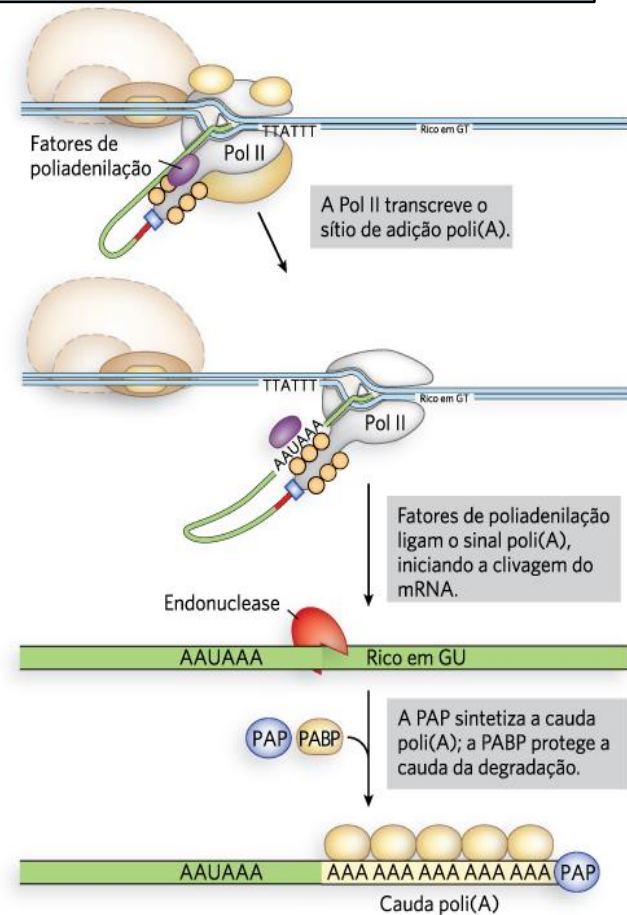


FIGURA 16-4 Adição da cauda poli(A) 3' ao transcrito. Fatores de poliadenilação estão associados à Pol II durante a transcrição. Após a transcrição da sequência 5'-AAUAAA, essas proteínas transferem-se para o transcrito e ajudam a recrutar fatores de clivagem e proteína de ligação poli(A) (PABP) antes de se dissociarem. A cauda poli(A) é sintetizada pela poliadenilato polimerase (PAP).

Pós - transcrição - processamento

Adição do cauda poli(A) na extremidade 3' do RNA

Considerando que 80% do RNA celular é composto pelos rRNAs, como a presença da cauda poli(A) facilita o estudo de RNAs mensageiros?

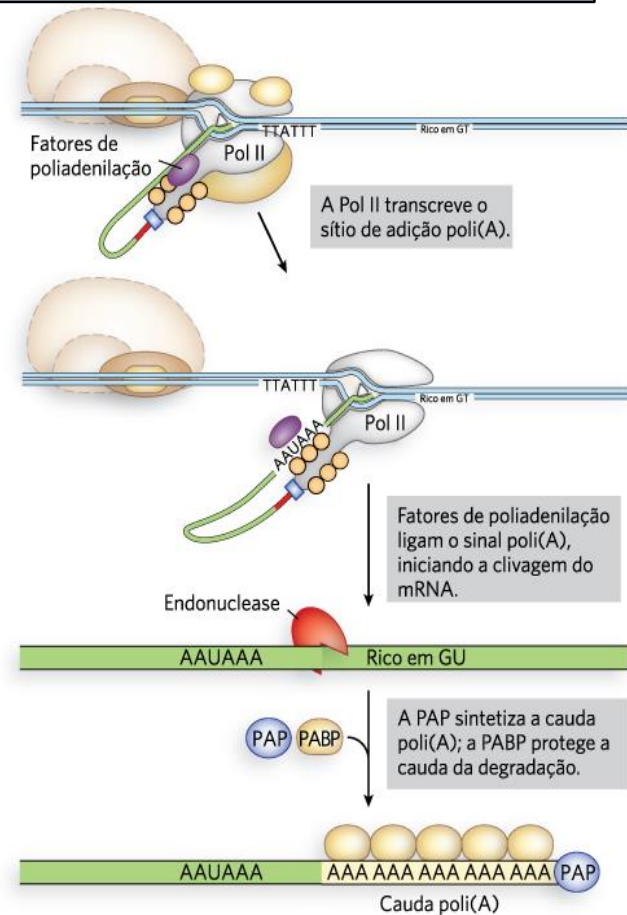
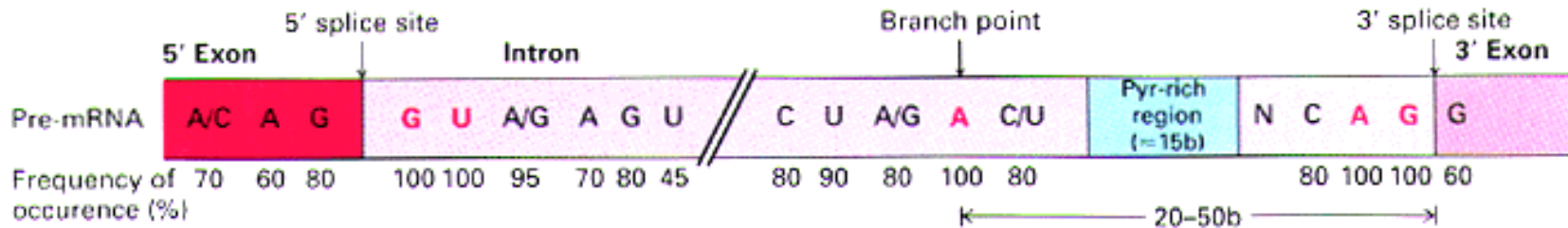


FIGURA 16-4 Adição da cauda poli(A) 3' ao transcrito. Fatores de poliadenilação estão associados à Pol II durante a transcrição. Após a transcrição da sequência 5'-AAUAAA, essas proteínas transferem-se para o transcrito e ajudam a recrutar fatores de clivagem e proteína de ligação poli(A) (PABP) antes de se dissociarem. A cauda poli(A) é sintetizada pela poliadenilato polimerase (PAP).

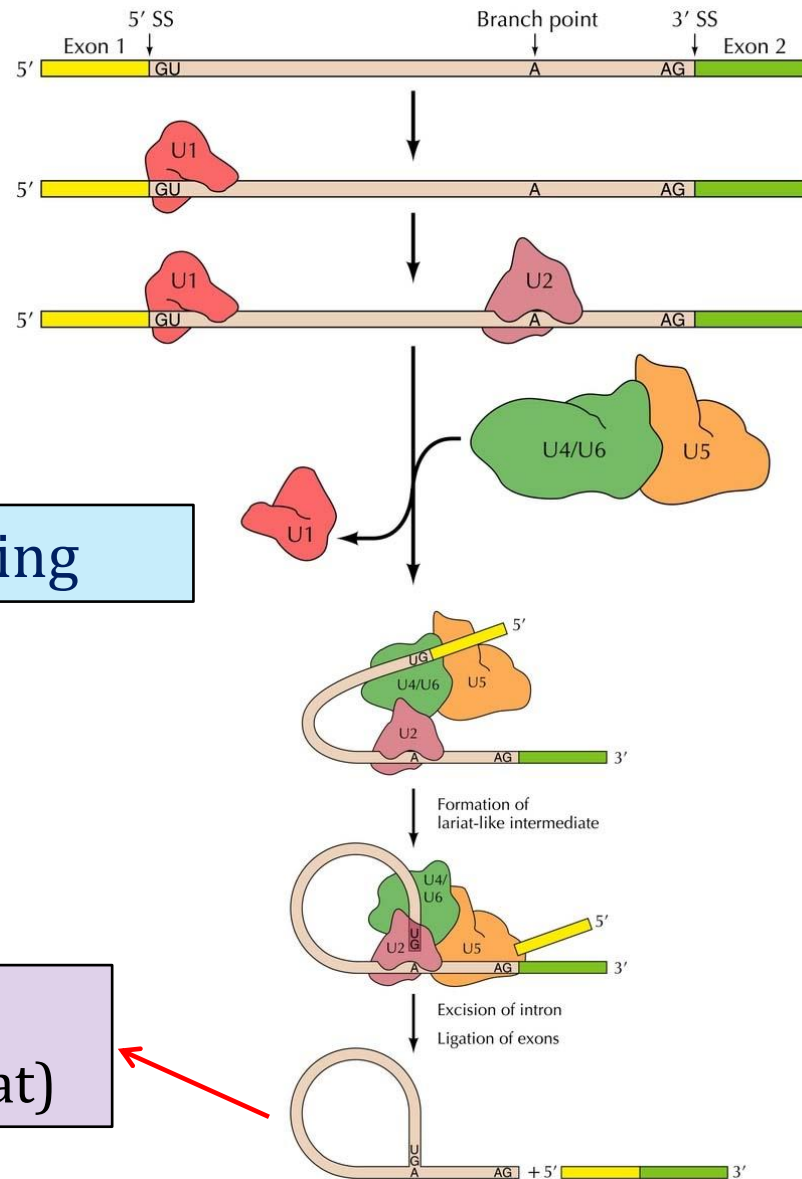
Pós - transcrição - processamento

Juntando os éxons: como os íntrons são reconhecidos e removidos?



- O processo de remoção dos íntrons é conhecido como **splicing**
- O splicing é mediado por pequenos RNAs chamados **snRNAs** e proteínas a eles associadas.
- Estes complexos são chamados de **SNRPs**
- O conjunto de snRNPs e outras proteínas envolvidas no splicing é chamado de **spliceossomo**

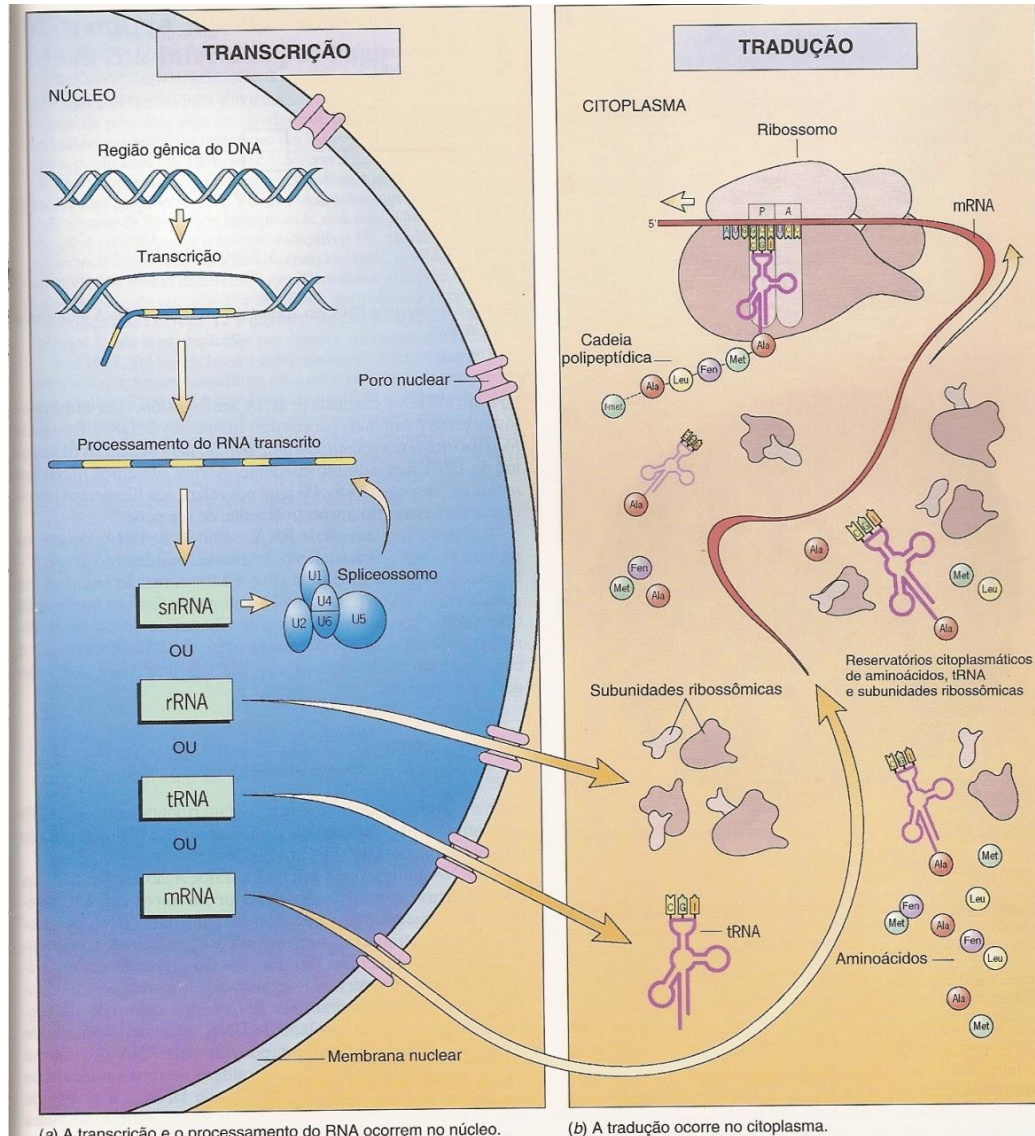
Pós - transcrição - processamento



Mecanismo de splicing

Remoção do íntron na forma de um “laço” (lariat)

Processo de transcrição e tradução são compartimentalizados em células eucarióticas.



Expressão Gênica - Tradução

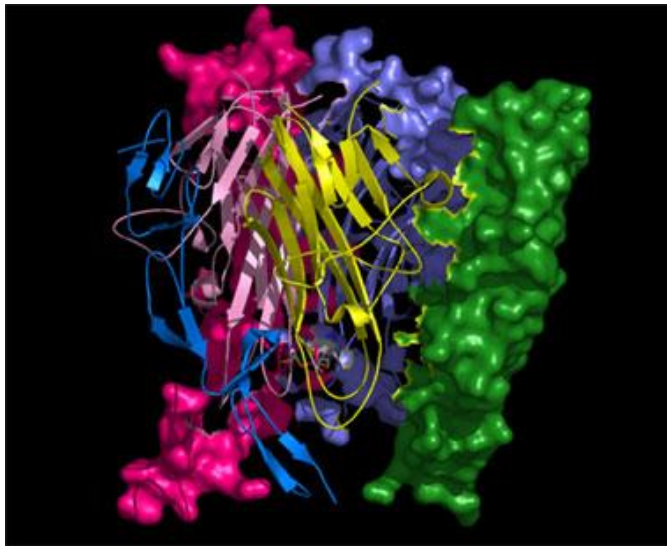


O que é a tradução, quando se está falando em expressão de genes?

O que existe em comum?



Bolo de chocolate

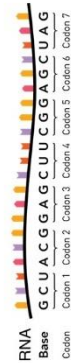
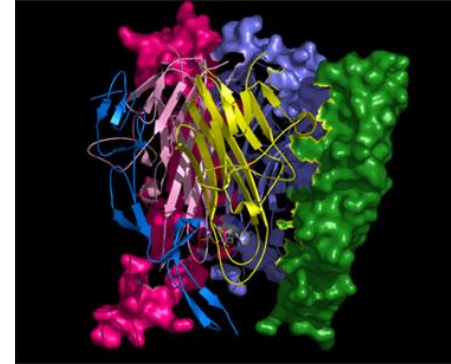


Síntese de Proteínas



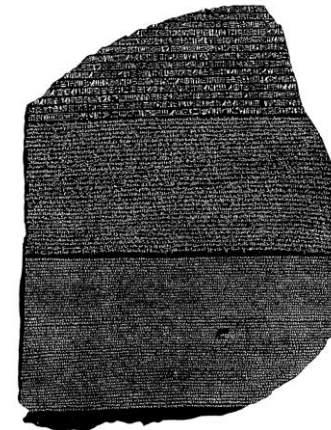
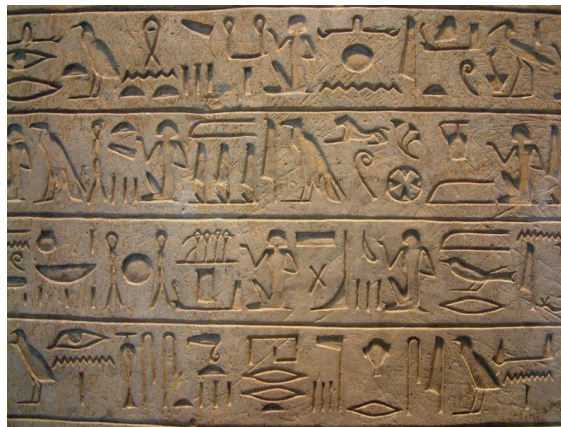
Hieróglifos egípcios

O que existe em comum?



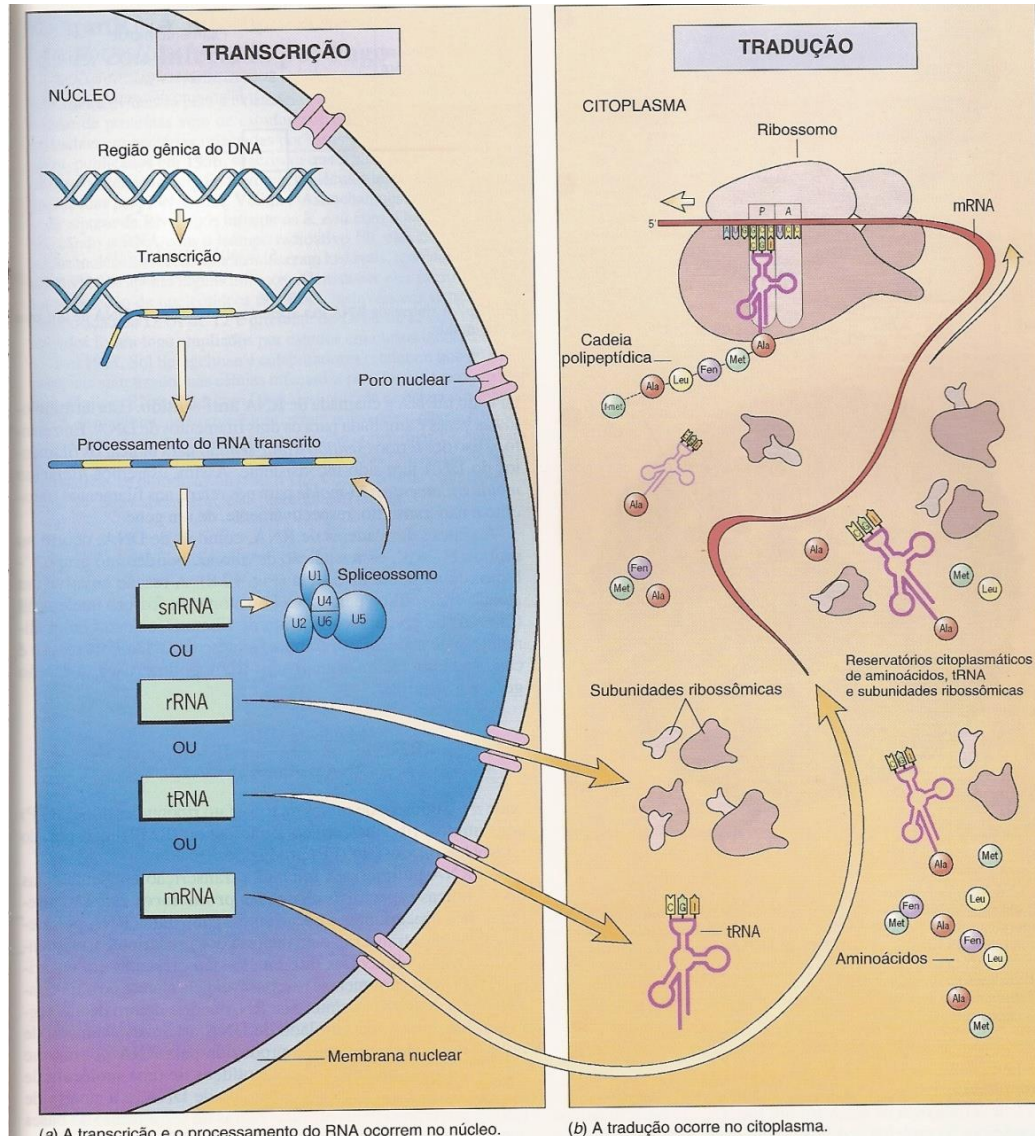
Receita de Bolo de chocolate

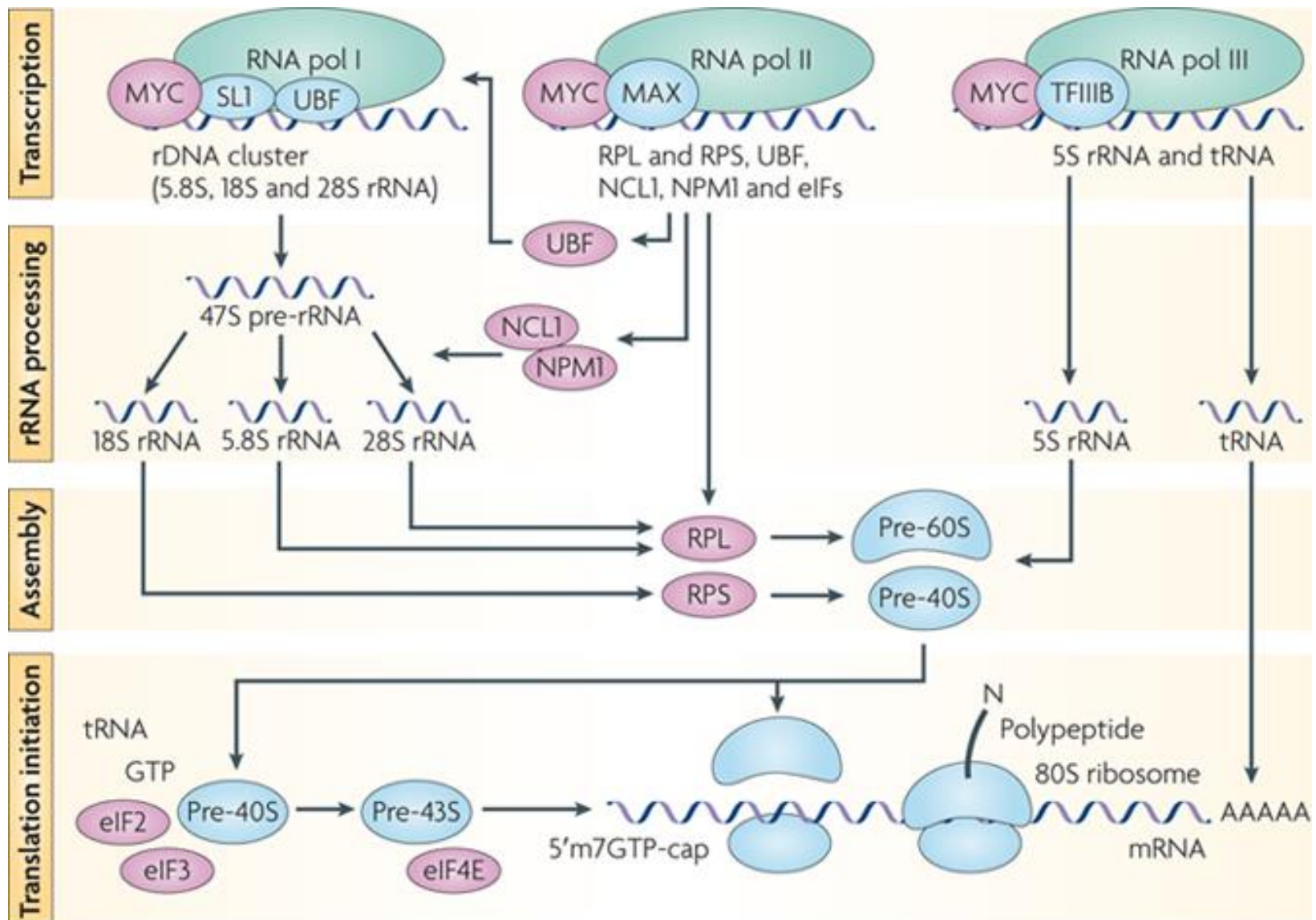
RNA mensageiro para Síntese de Proteínas



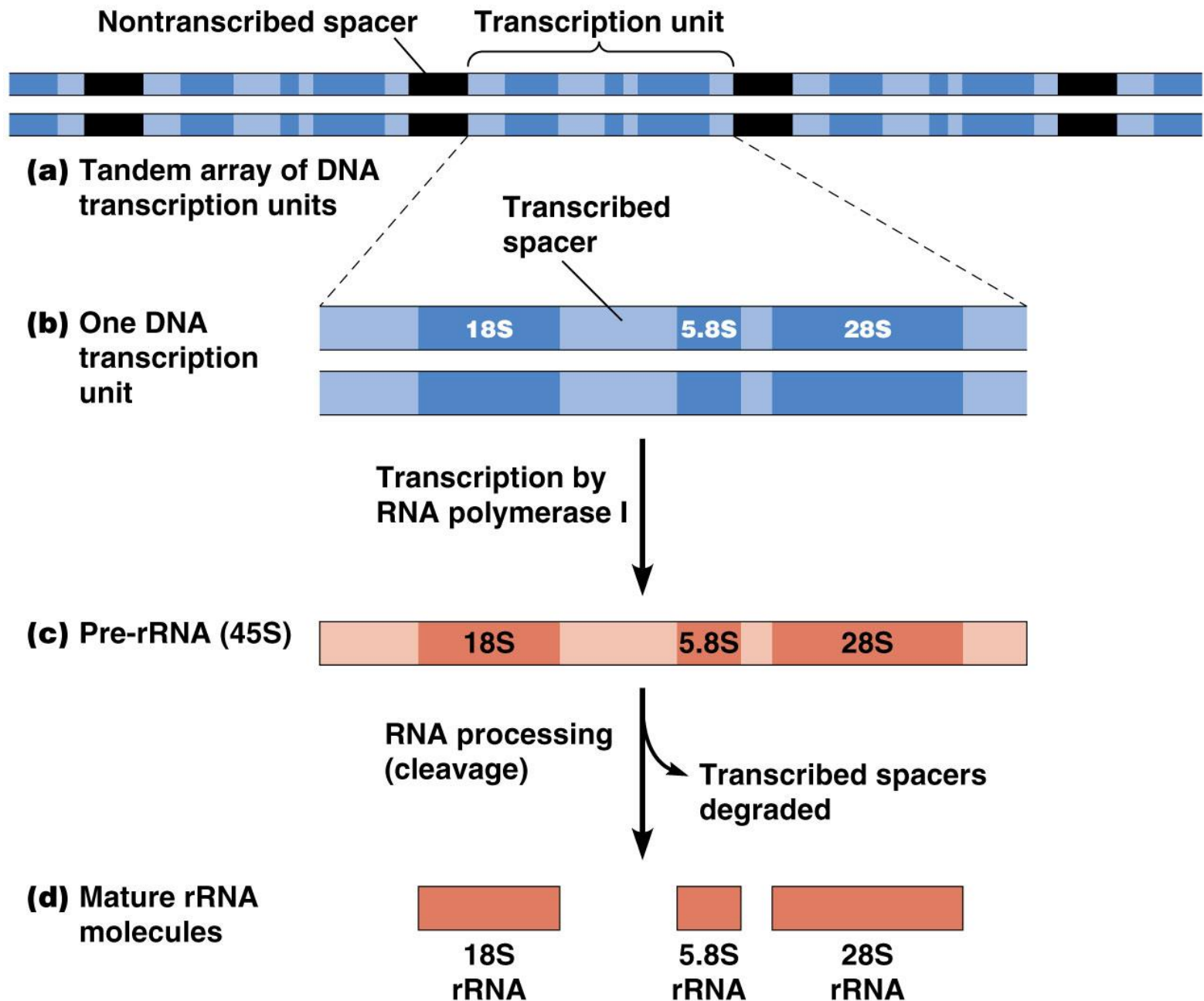
Hieróglifos egípcios - Pedra de Roseta
Jean F. Champollion

Processo de transcrição e tradução são compartimentalizados em células eucarióticas.

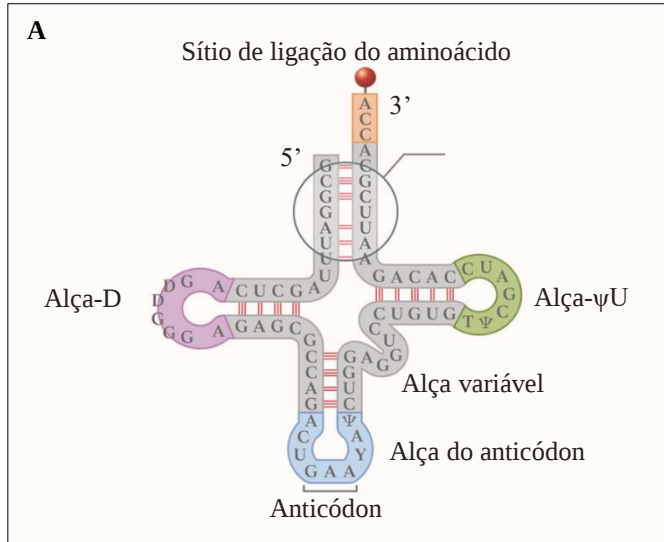




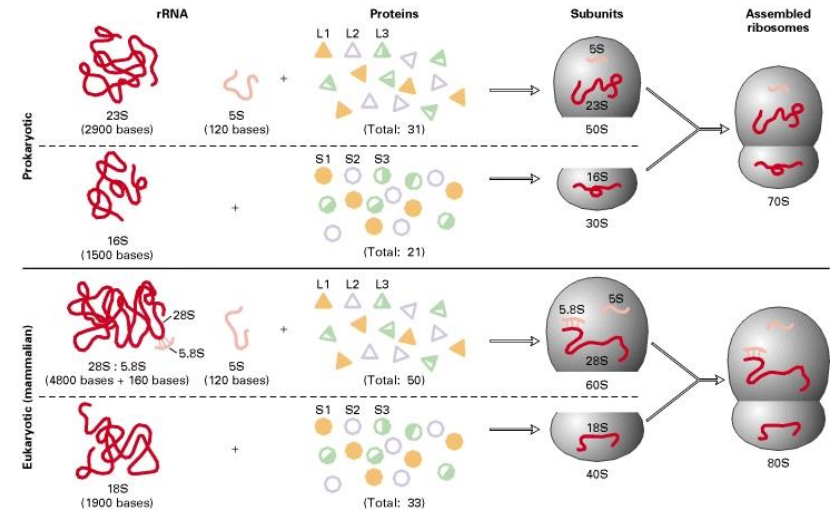
Transcrição de RNAs envolvidos na síntese de proteínas



RNAs envolvidos na tradução



RNA de transferência (tRNA)



RNAs ribossômicos (rRNA)



RNA mensageiro (mRNA) - Eucariotos



RNA mensageiro (mRNA) - procariotos

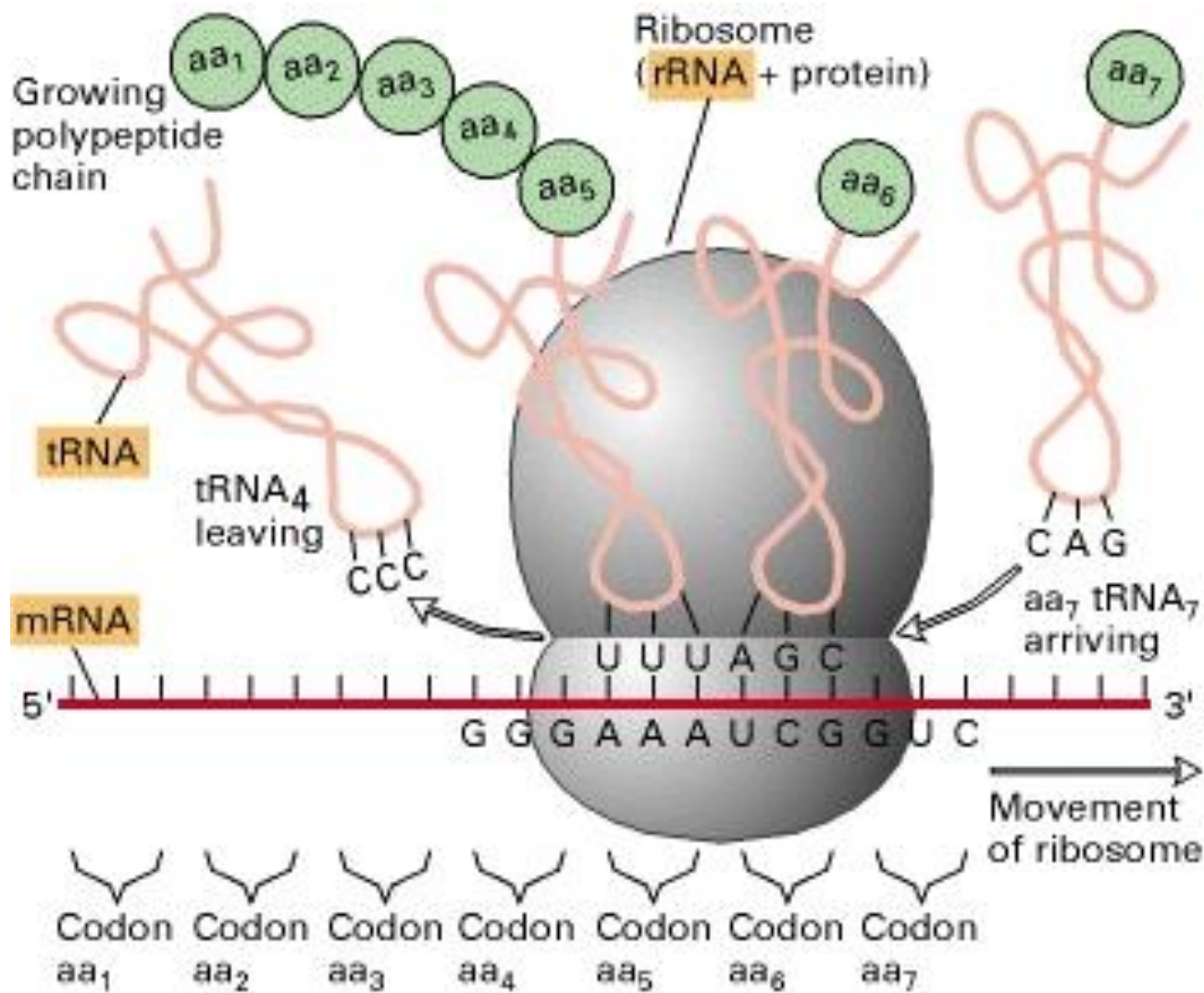
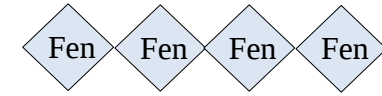
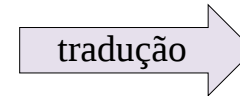
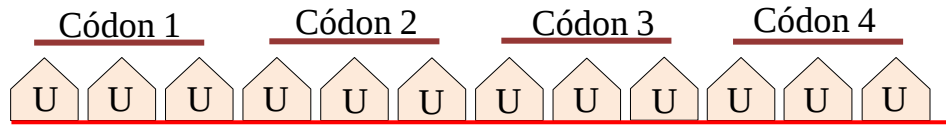


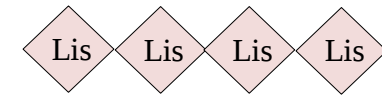
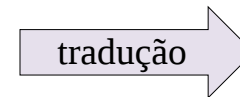
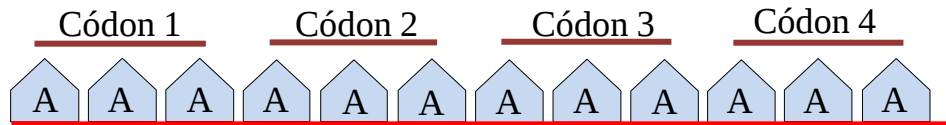
Figura 4-17. O papel dos três RNA na síntese proteica

Outros RNAs também contribuem para a expressão

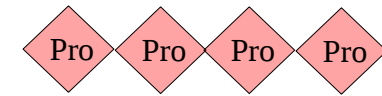
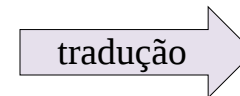
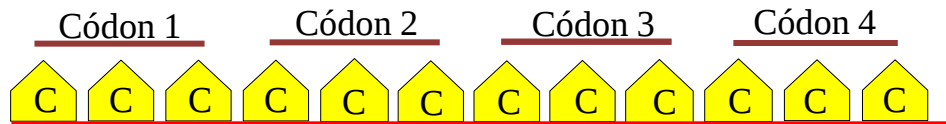
O código genético é lido de 3 em 3 bases (Códon)



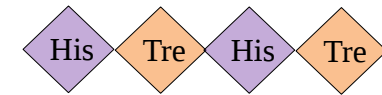
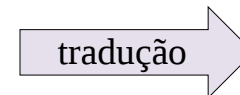
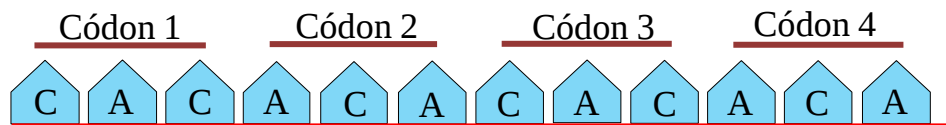
Poli-fenilalanina



Poli-lisina



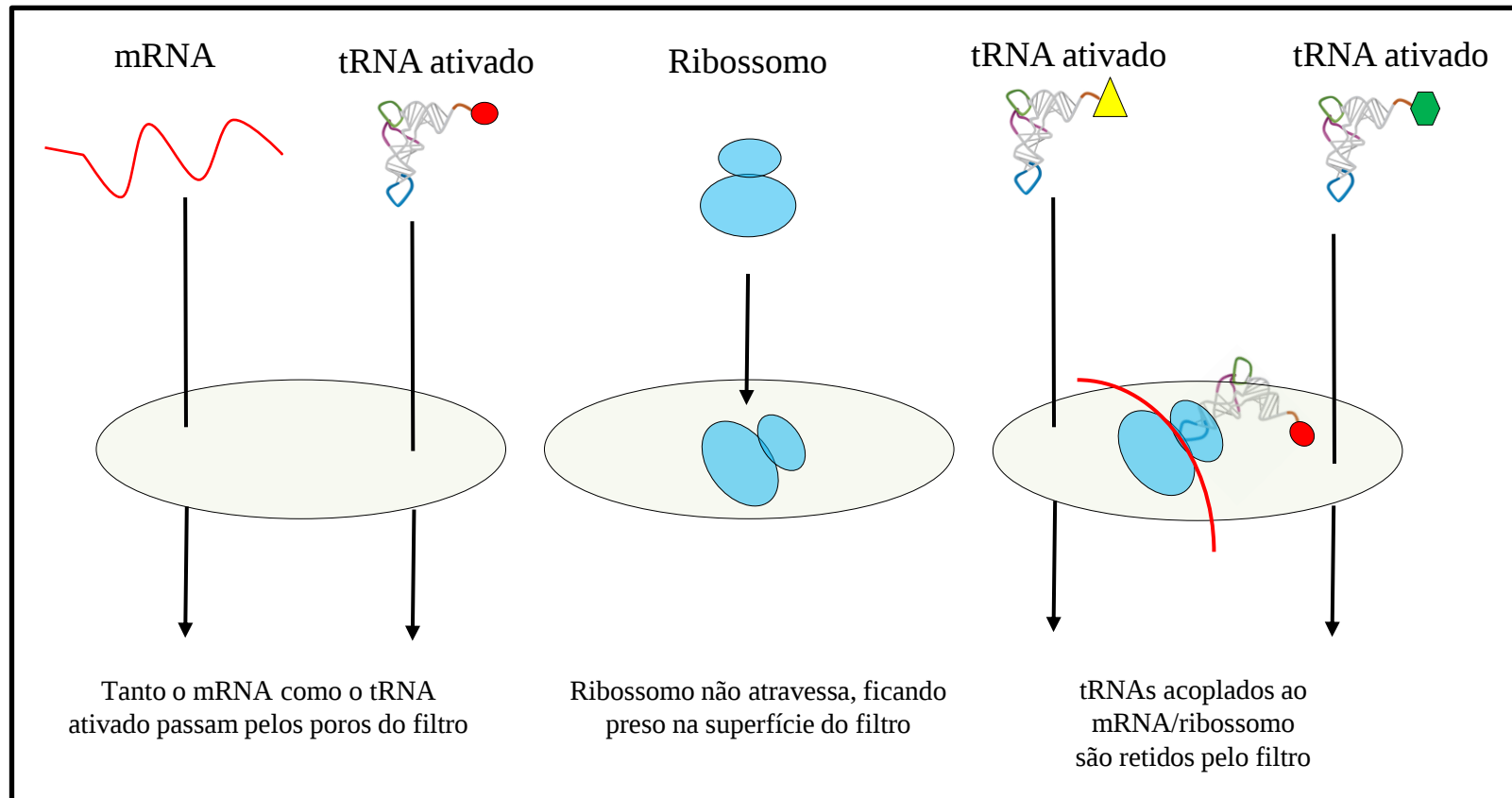
Poli-prolina



Poli-histidina - treonina

Experimentos de Nirenberg & Matthaei com mini-mRNAs trinucleotídeos sintéticos que ajudaram a decifrar o código genético

O código genético é lido de 3 em 3 bases (Códon)



Técnica de ativação do tRNA desenvolvida por Nirenberg & Leder para decifrar todo o código genético

		Segunda letra									
		U		C		A		G			
Primeira letra	U	UUU	Fenilalanina	UCU	Serina	UAU	Tirosina	UGU	Cisteína	U	Terceira letra
		UUC		UCC		UAC		UGC		C	
		UUA	Leucina	UCA		UAA	Parada	UGA	Parada	A	
		UUG		UCG		UAG		UGG	Triptofano	G	
	C	CUU	Leucina	CCU	Prolina	CAU	Histidina	CGU	Arginina	U	
		CUC		CCC		CAC		CGC		C	
		CUA		CCA		CAA	Glutamina	CGA		A	
		CUG		CCG		CAG		CGG		G	
	A	AUU	Isoleucina	ACU	Treonina	AAU	Asparagina	AGU	Serina	U	
		AUC		ACC		AAC		AGC		C	
		AUA	Metionina	ACA		AAA	Lisina	AGA	Arginina	A	
		AUG		ACG		AAG		AGG		G	
	G	GUU	Valina	GCU	Alanina	GAU	Ácido	GGU	Glicina	U	
		GUC		GCC		GAC	Aspártico	GGC		C	
		GUA		GCA		GAA	Ácido	GGA		A	
		GUG		GCG		GAG	Glutâmico	GGG		G	

O código genético (RNA a Aminoácidos)

Exercício 1

		Segunda letra									
		U		C		A		G			
Primeira letra	U	UUU	Fenilalanina	UCU	Serina	UAU	Tirosina	UGU	Cisteína	U	Terceira letra
		UUC		UCC		UAC		UGC		C	
		UUA	Leucina	UCA		UAA	Parada	UGA	Parada	A	
		UUG		UCG		UAG		UGG	Triptofano	G	
	C	CUU	Leucina	CCU	Prolina	CAU	Histidina	CGU	Arginina	U	
		CUC		CCC		CAC		CGC		C	
		CUA		CCA		CAA	Glutamina	CGA		A	
		CUG		CCG		CAG		CGG		G	
	A	AUU	Isoleucina	ACU	Treonina	AAU	Asparagina	AGU	Serina	U	
		AUC		ACC		AAC		AGC		C	
		AUA	Metionina	ACA		AAA	Lisina	AGA	Arginina	A	
		AUG		ACG		AAG		AGG		G	
	G	GUU	Valina	GCU	Alanina	GAU	Ácido	GGU	Glicina	U	
		GUC		GCC		GAC	Aspártico	GGC		C	
		GUA		GCA		GAA	Ácido	GGA		A	
		GUG		GCG		GAG	Glutâmico	GGG		G	

A) Indicar a tradução da sequência de RNA abaixo em aminoácidos, nos três quadros de leitura possível (use o código genético apresentado no final desses exercícios). Este quadro de leitura é na verdade a parte interna de uma proteína grande. Qual desses quadros de leitura é provavelmente o correspondente para essa proteína? Por que?

5'-AGUCUAGGCACUGA-3'

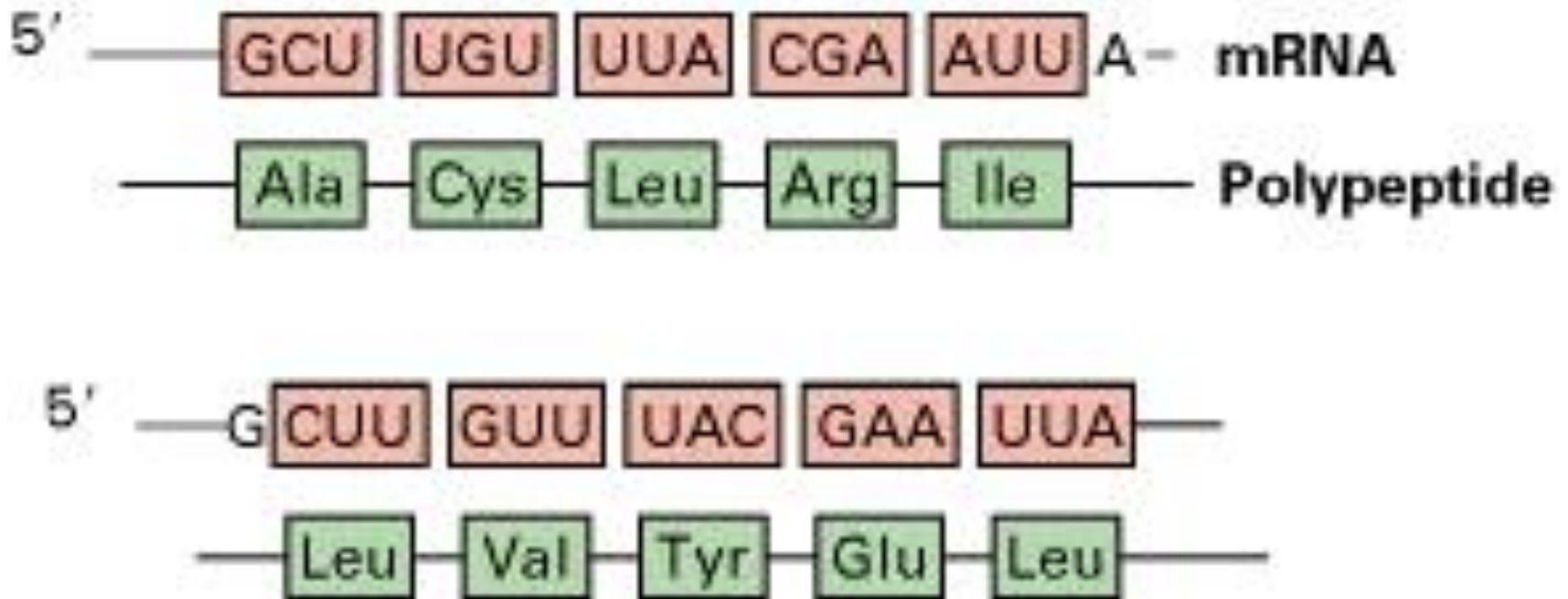
Tabela 4-3. Códonos não usuais em genes nucleares e mitocondriais

Códon	Código Universal	Código não usual	Ocorrência
UGA	Stop	Trp	<i>Mycoplasma, Spiroplasma</i> , mitocôndria de várias espécies
CUG	Leu	Thr	Mitocôndria de leveduras
UAA, UAG	Stop	Gln	<i>Acetabularia, Tetrahymena, Paramecium</i> , etc.
UGA	Stop	Cys	<i>Euplotes</i> (Ciliado)

S. Osawa et al., 1992, Microbiol. Rev. **56**:229.

“Codon usage” : códonos mais comuns para cada espécie
: importante na predição de genes

O código genético não é sobreposto



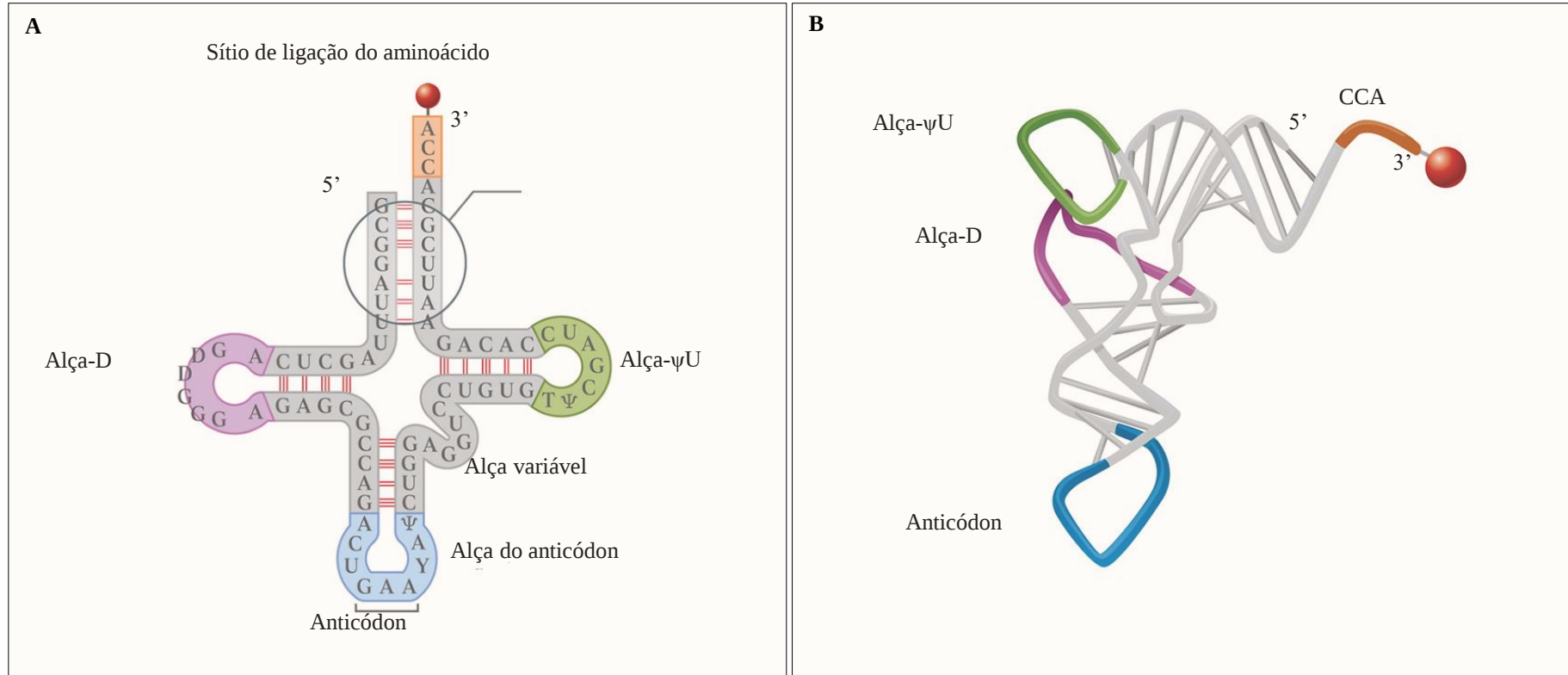
O código genético pode ser lido de até 3 formas diferentes
Evento raro

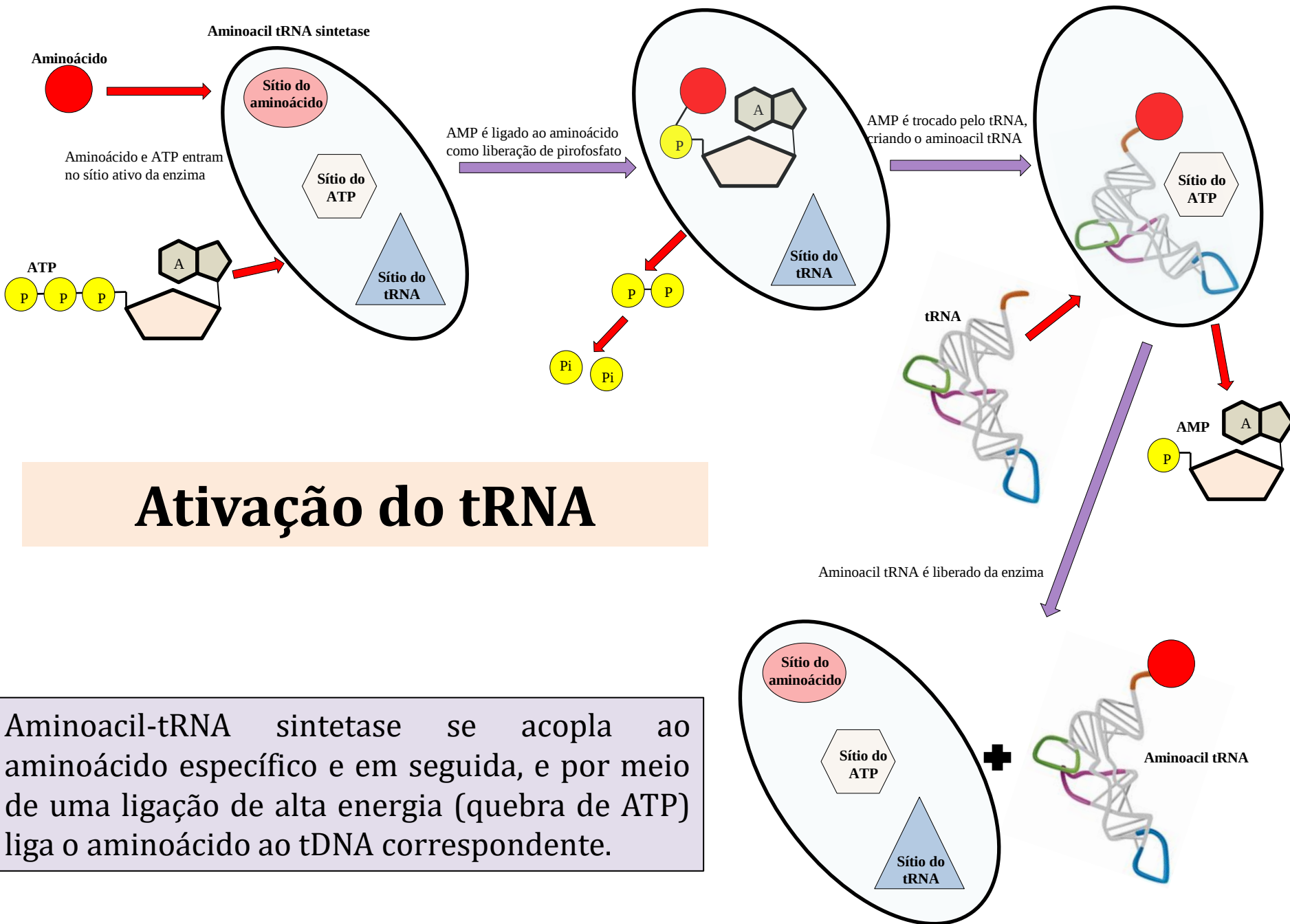
Pode ocorrer em eucariotos, procariotos e vírus onde uma mesma sequência pode gerar mRNA diferentes

Exercício 2

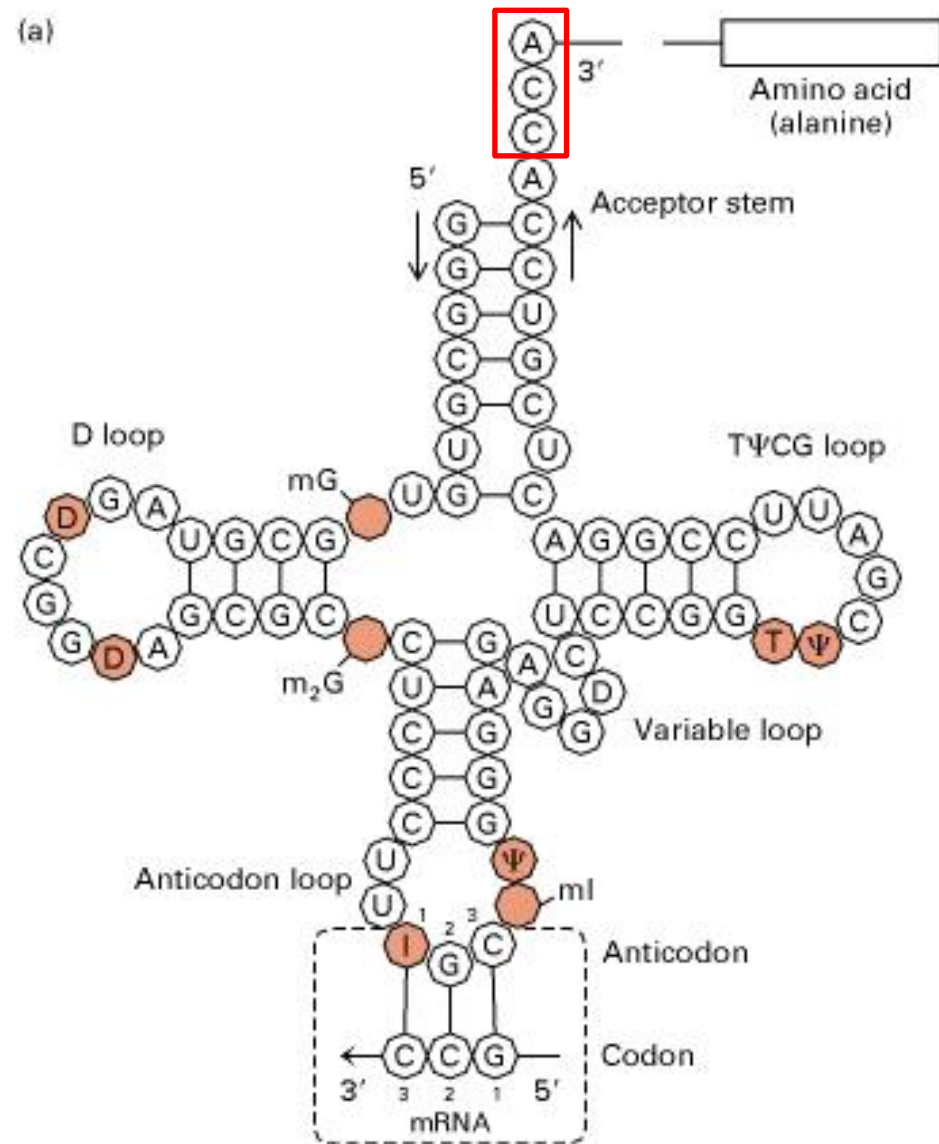
- A) Quais das mutações abaixo você diria que pode ser mais deletéria para a função gênica. Explique porque:
1. Inserção de um único nucleotídeo próximo do final da sequencia codificadora.
 2. Remoção de um único nucleotídeo do início da sequencia codificadora.
 3. Deleção de 3 nucleotídeos no meio da sequencia codificadora..
 4. Substituição de um único nucleotídeo por outro no meio da sequencia codificadora.
 5. Deleção de 4 nucleotídeos no meio da sequencia codificadora.

RNA transportador (tRNA)





RNA transportador (tRNA)



- As bases do tRNA são variáveis de forma a dar especificidade ao aminoácido.
- A extremidade 3' apresenta a sequência CCA, onde será acoplado o Aminoácido;
- As bases podem ser modificadas em regiões específicas do tRNA.

D: dihydrouridina

I: inosina

T: ribotimidina

Ψ: pseudouridina

m: grupo metil



If these bases are in **first**, or wobble, position of anticodon

C	A	G	U	I	
G	U	C	A	C	then the tRNA may recognize codons in mRNA having these bases in third position
		U	G	A	

If these bases are in **third**, or wobble, position of codon of an mRNA

C	A	G	U	
G	U	C	A	then the codon may be recognized by a tRNA having these bases in first position of anticodon
I	I	U	G	



➤ A 1ª e 2ª posição do códon e 2ª e 3ª do anticódon formam pareamento Watson-Crick

➤ A 1ª Posição do tRNA é chamada de posição oscilante ou variável (wobble)

➤ Pareamento não usual.

➤ O tRNA reconhece mais de um códon;

➤ O códon reconhece mais de um tRNA.

RNA Ribossômico (rRNA)

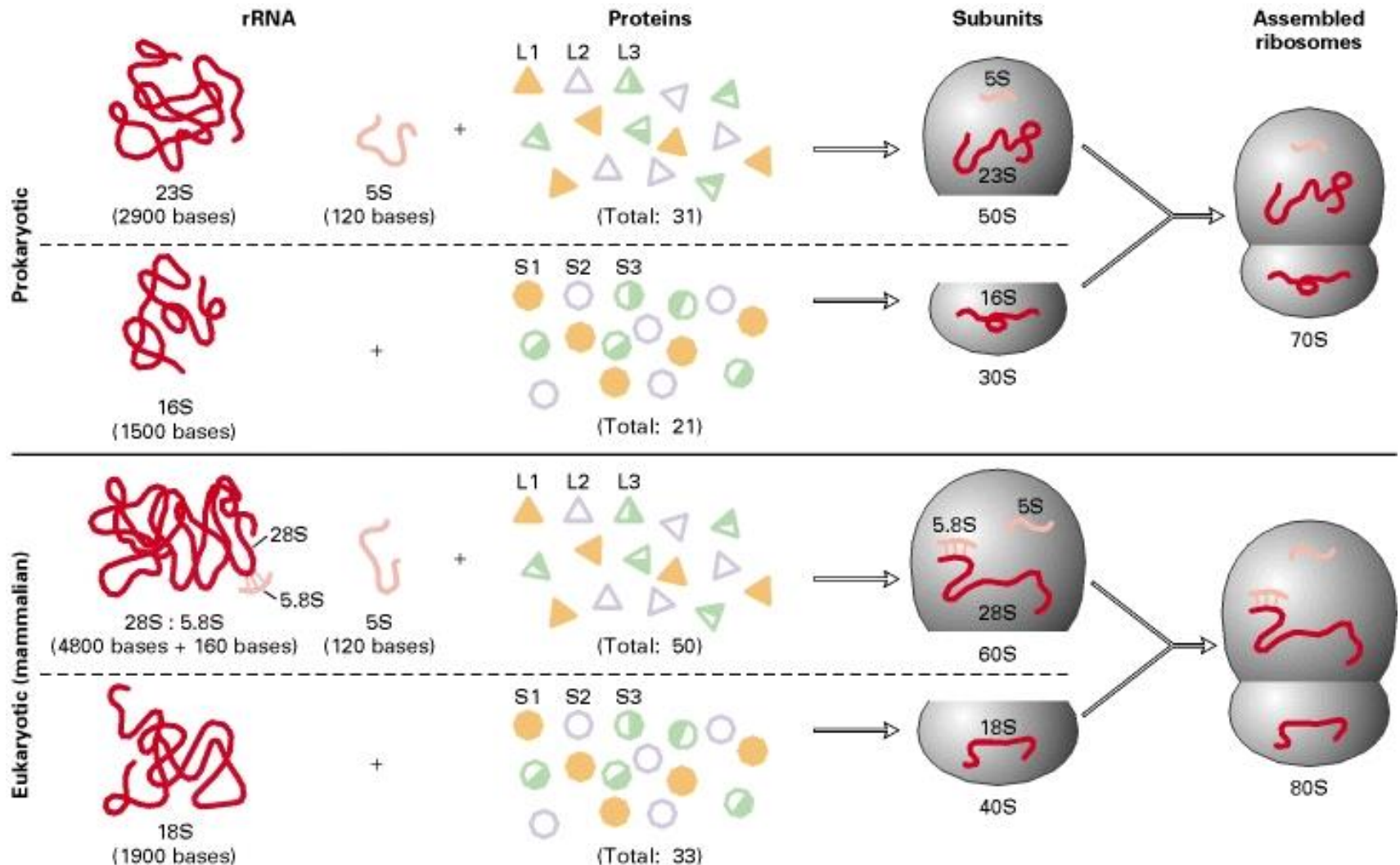
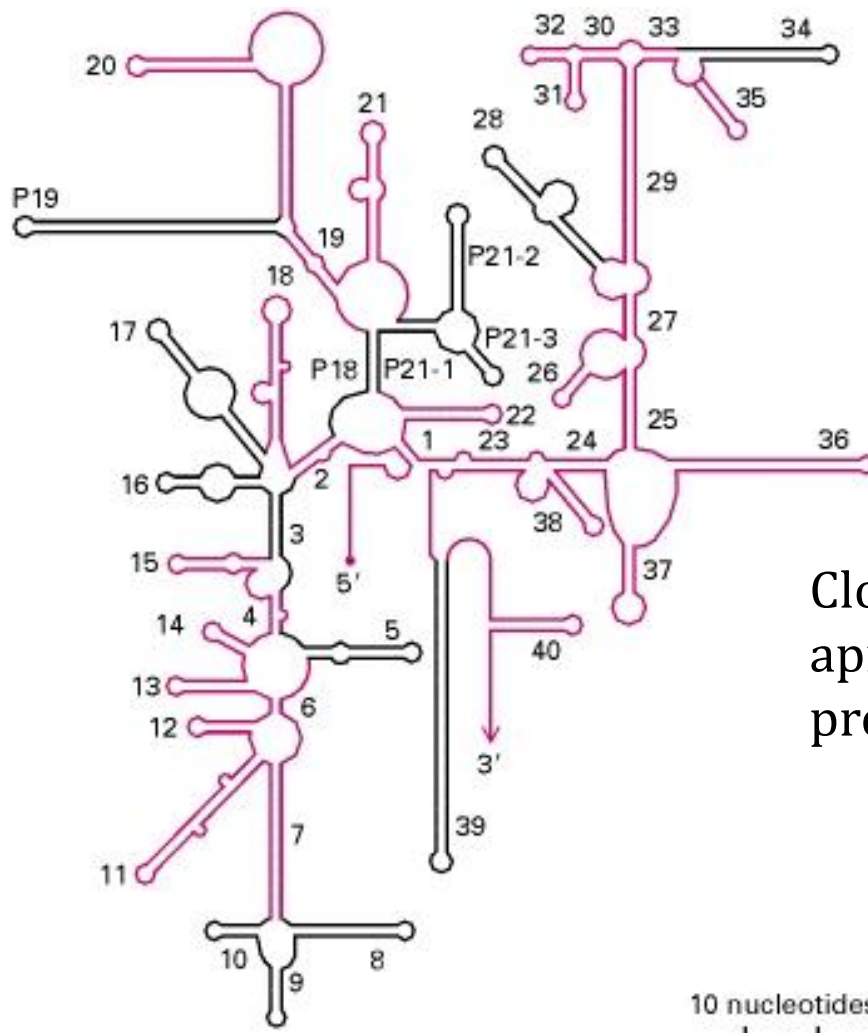


Table 4-22. Componentes dos ribossomos eucarióticos e procarióticos

Similaridades funcional e estrutural sugerem origem evolutiva comum

Svedberg (S): medida de coeficiente de sedimentação de macromoléculas.



Cloroplastos e mitocôndrias também apresentam 16S rRNA – Origem procariótica

Figure 4-33. Estrutura secundária da subunidade 16S do rRNA de bactérias

- A molécula do rRNA apresenta regiões variáveis e conservadas.
- Permite estudos evolutivos.
- Estruturalmente são muito similares entre diferentes espécies.