

LGN5809 - Genética Molecular

MECANISMOS BÁSICOS DA GENÉTICA MOLECULAR: DO GENE À PROTEÍNA

Maria Carolina Quecine
Departamento de Genética
mquecine@usp.br

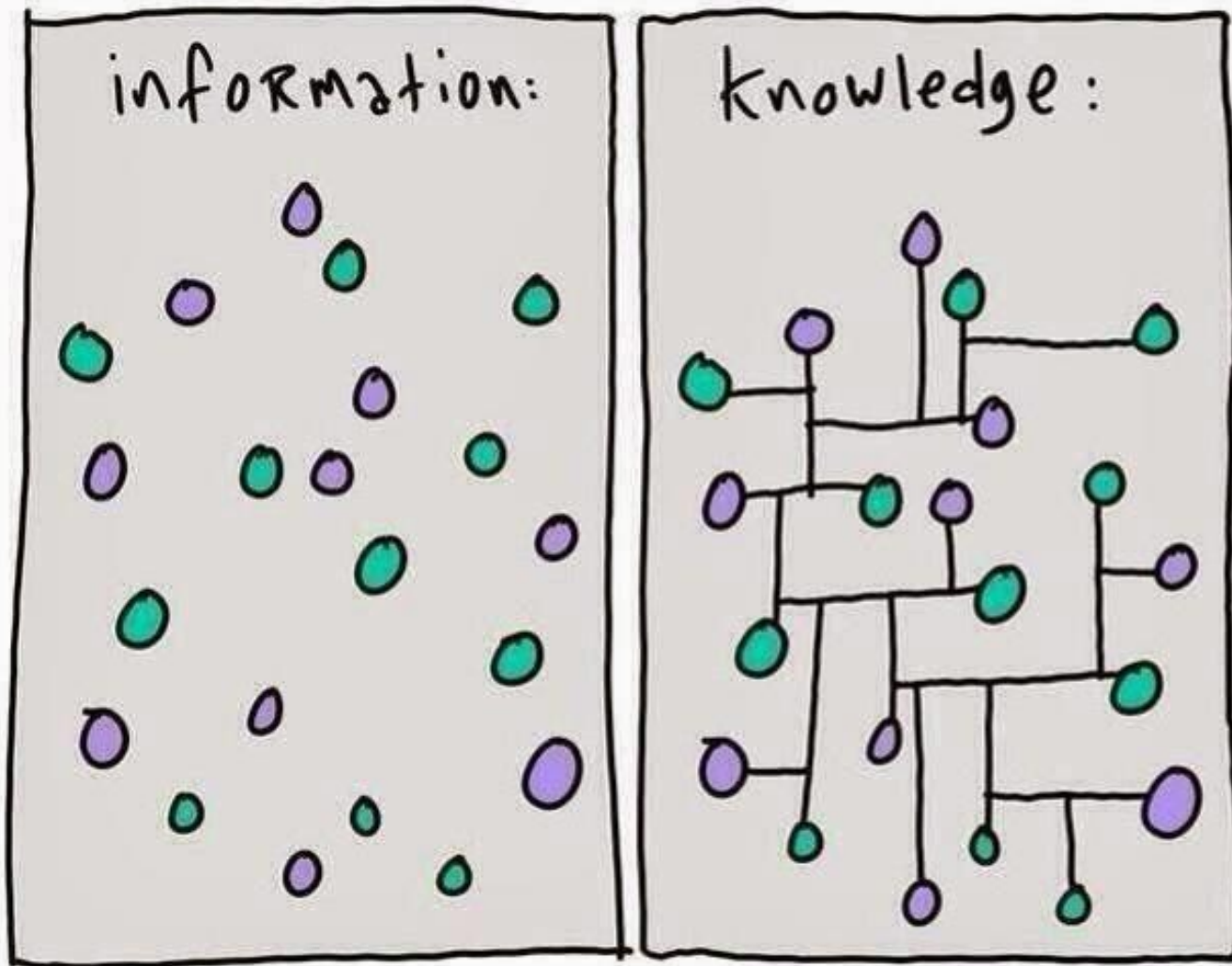
SUMÁRIO

- Fluxo da informação genética;
- Relembrando a molécula de DNA;
- O processo de replicação;
- O processo de transcrição;
- Maturação de RNAs;
- O processo de tradução;
- Próxima aula.

Apenas 0,1 % do genoma é responsável pela diferença entre dois humanos



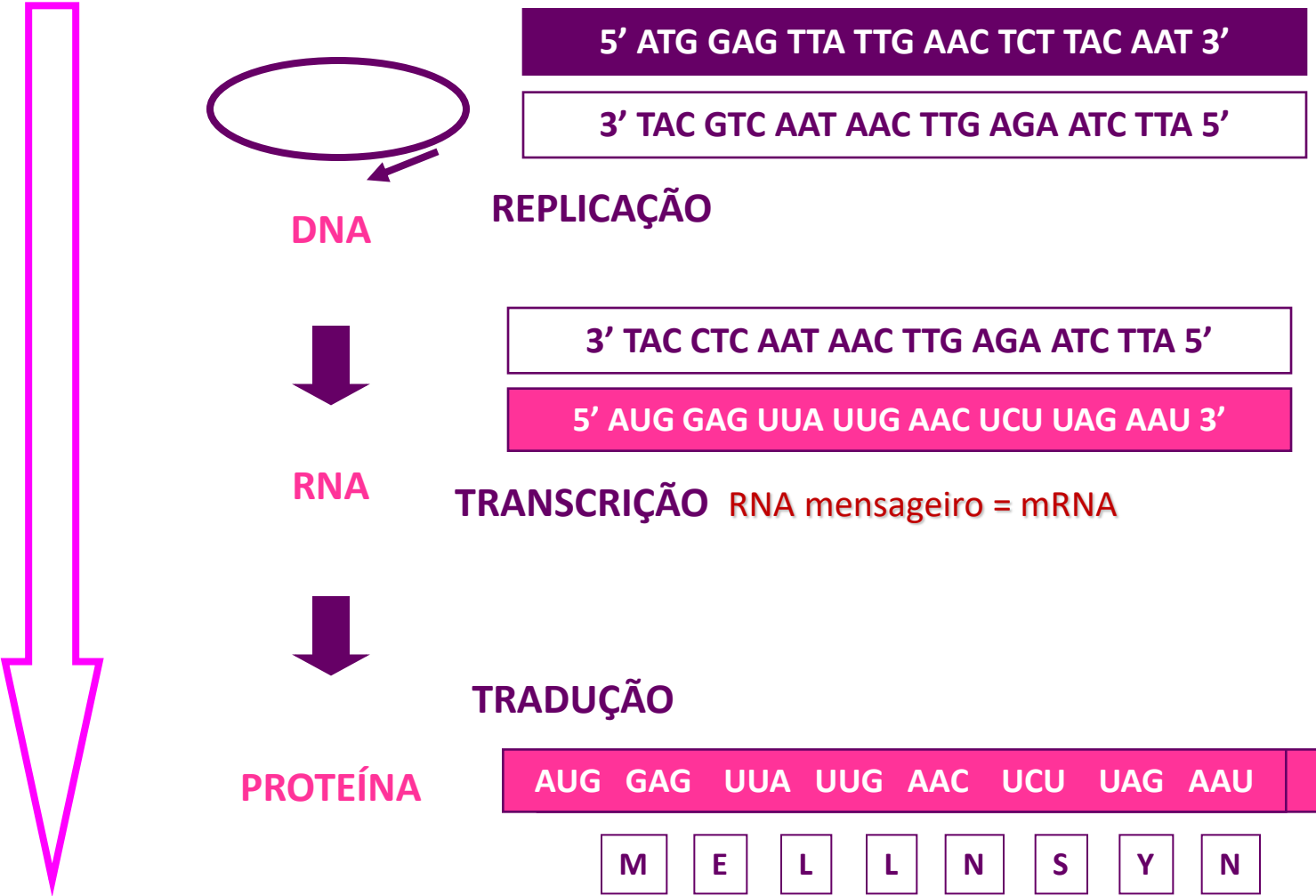
O segredo é entender como essa informação é processada!



@gapingvoid

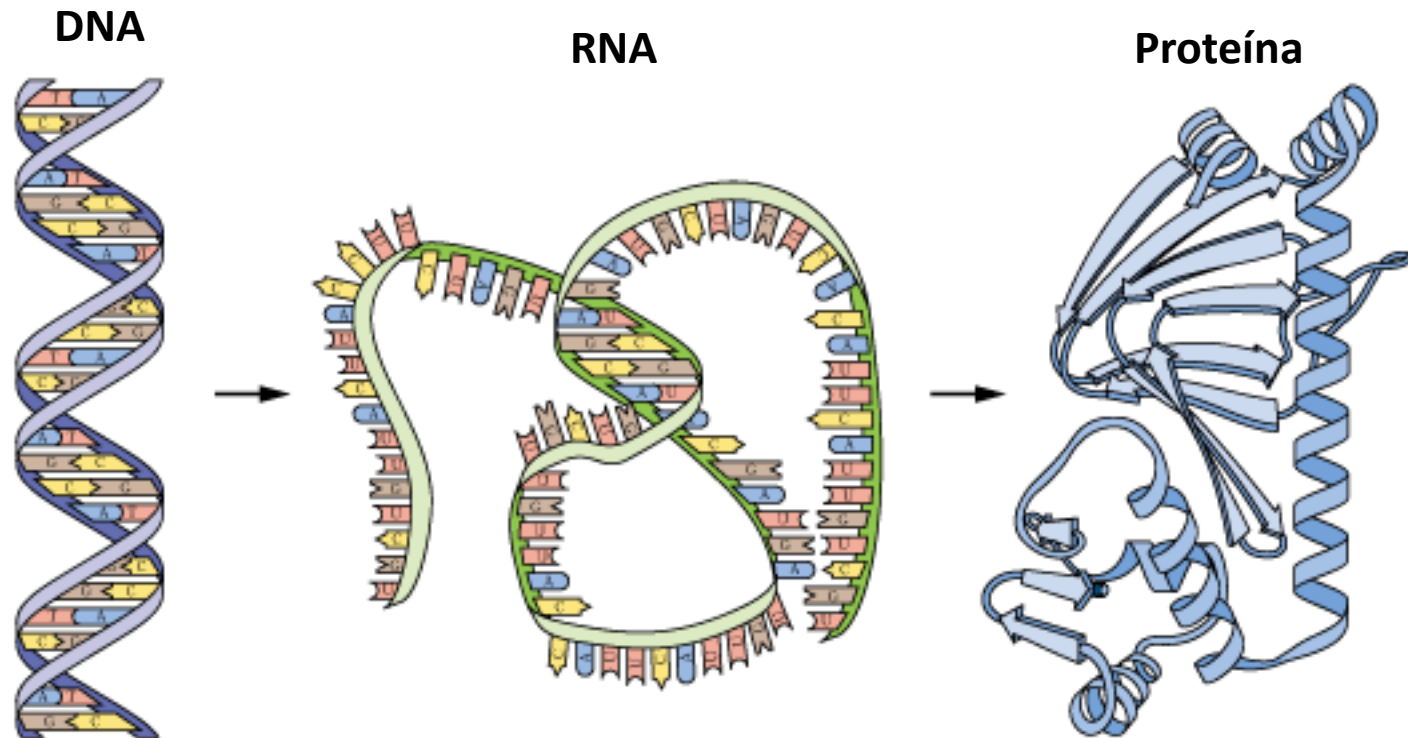
A informação está TODA contida no próprio genoma, mas como interpreta-la corretamente?

FLUXO DA INFORMAÇÃO GENÉTICA



DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA

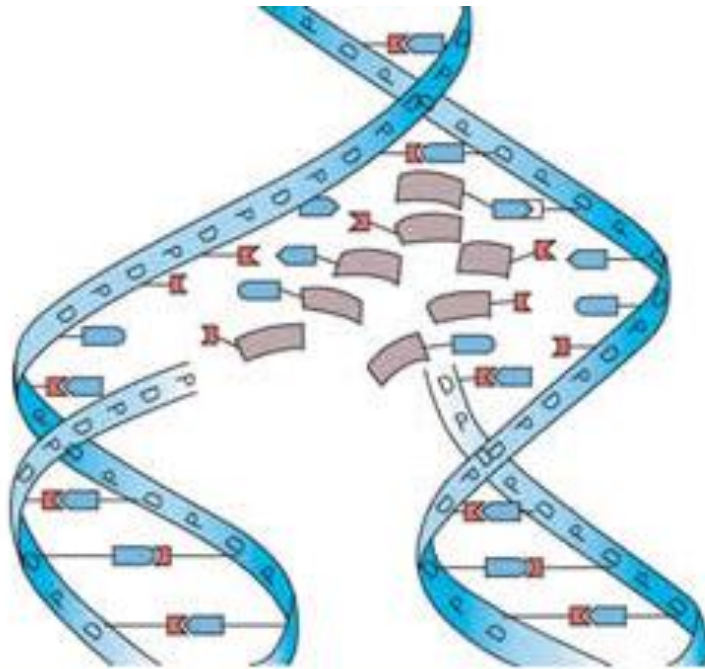
A informação genética, armazenada nos cromossomos, é transferida às células filhas através da **replicação do DNA**, sendo expressa através da **transcrição em mRNA** e **traduzida** subsequentemente em cadeias polipeptídicas.



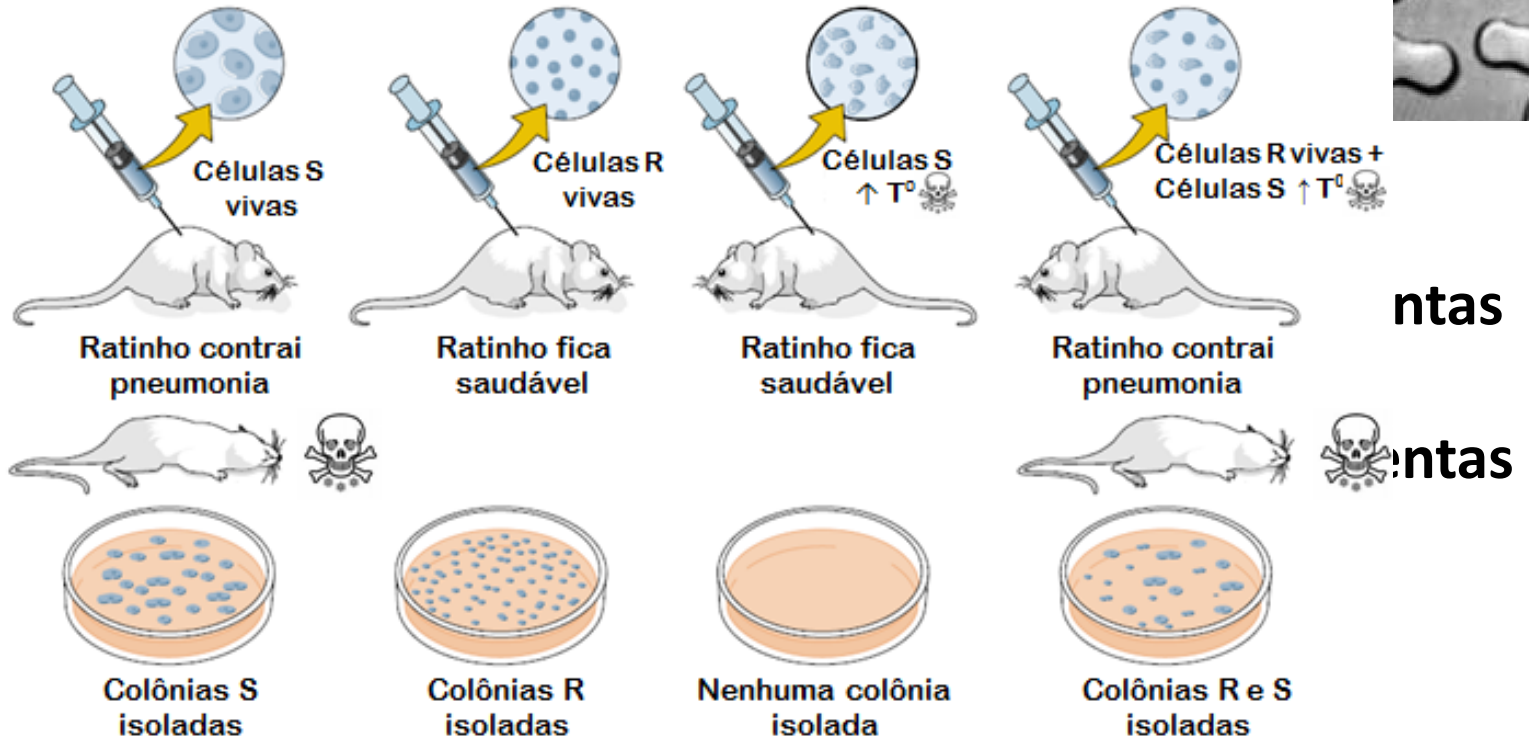
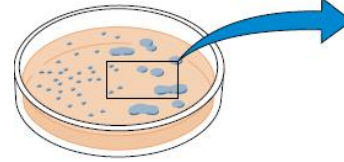
ÁCIDOS NUCLEICOS

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

ENTENDO A MOLÉCULA DE DNA



1928 - Frederick Griffith



QUAL É O PRINCÍPIO TRANSFORMANTE?

STUDIES ON THE CHEMICAL NATURE OF THE SUBSTANCE
INDUCING TRANSFORMATION OF PNEUMOCOCCAL TYPES

INDUCTION OF TRANSFORMATION BY A DESOXYRIBONUCLEIC ACID FRACTION
ISOLATED FROM PNEUMOCOCCUS TYPE III

BY OSWALD T. AVERY, M.D., COLIN M. MACLEOD, M.D., AND
MACLYN McCARTY,* M.D.

(From the Hospital of The Rockefeller Institute for Medical Research)

PLATE 1

(Received for publication, November 1, 1943)

TABLE II

The Inactivation of Transforming Principle by Crude Enzyme Preparations

Crude enzyme preparations	Enzymatic activity			
	Phosphatase	Tributyrim esterase	Depolymer- ase for desoxyribo- nucleate	Inactivation of trans- forming principle
Dog intestinal mucosa.....	+	+	+	+
Rabbit bone phosphatase.....	+	+	-	-
Swine kidney ".....	+	-	-	-
Pneumococcus autolysates.....	-	+	+	+
Normal dog and rabbit serum.....	+	+	+	+

A DESCOBERTA DA ESTRUTURA DO DNA: DE MENDEL A WATSON & CRICK

1865



SBQ

<http://qnint.s bq.org.br>

(A) Gregor Mendel e seu jardim no monastério, onde realizou os experimentos de **cruzamento com plantas de ervilhas**, os quais levaram-no a desenvolver suas teorias da hereditariedade. (B) Hugo De Vries; em 1900, ele e seus colaboradores redescobriram os trabalhos de Mendel e formularam as leis da hereditariedade.

A DESCOBERTA DA ESTRUTURA DO DNA: DE MENDEL A WATSON & CRICK



SBQ



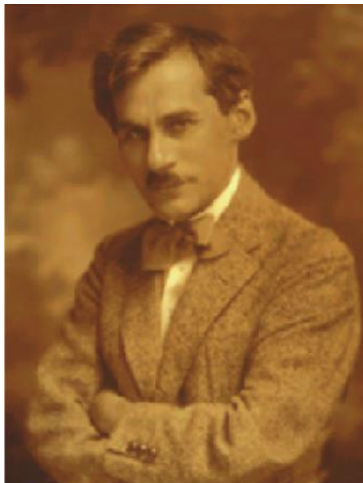
<http://qnint.s bq.org.br>

1868

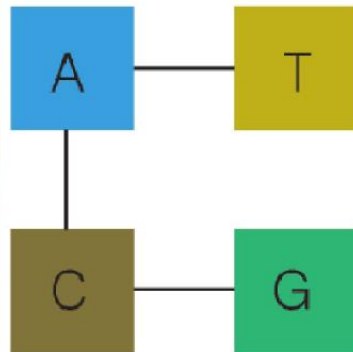
Primeiros estudos de DNA em células de leucócitos de bandagens cirúrgicas.

Substância contendo fósforo: Nucleína

Friedrick Miescher



SBQ



<http://qnint.s bq.org.br>

1910

Composição química da nucleína.

Hipótese do tetranucleotídeo

Phoebius A. Levene

A DESCOBERTA DA ESTRUTURA DO DNA: DE MENDEL A WATSON & CRICK



Erwin Chargaff

1950

Análise da composição em bases nitrogenadas do DNA de diversas espécies.

Regras de Chargaff

✓ quantidade relativa de um dado nucleotídeo pode ser diferente entre as espécies, mas sempre $A = T$ e $G = C$.

✓ razão 1:1 entre bases púricas e pirimídicas em todos os organismos estudados - $A + G = T + C$.

✓ quantidade relativa de cada par AT ou GC pode variar bastante de organismo para organismo - razão $A+T/G+C$ é característica da espécie analisada.



CHARGAFF ESTABELECEU PROPORÇÕES ENTRE AS BASES NITROGENADAS

Quadro 11.1 Propriedades Molares das Bases* em DNAs de Várias Fontes

Organismo	Tecido	Adenina	Timina	Guanina	Citosina	$\frac{A + T}{G + C}$
<i>Escherichia coli</i> (K12)	—	26,0	23,9	24,9	25,2	1,00
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	—	29,8	31,6	20,5	18,0	1,59
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	—	15,1	14,6	34,9	35,4	0,42
Levedura	—	31,3	32,9	18,7	17,1	1,79
<i>Paracentrotus lividus</i> (ouriço-do-mar)	Espermatozóides	32,8	32,1	17,7	18,4	1,85
Arenque	Espermatozóides	27,8	27,5	22,2	22,6	1,23
Rato	Medula óssea	28,6	28,4	21,4	21,5	1,33
Humanos	Timo	30,9	29,4	19,9	19,8	1,52
Humanos	Fígado	30,3	30,3	19,5	19,9	1,53
Humanos	Espermatozóides	30,7	31,2	19,3	18,8	1,62

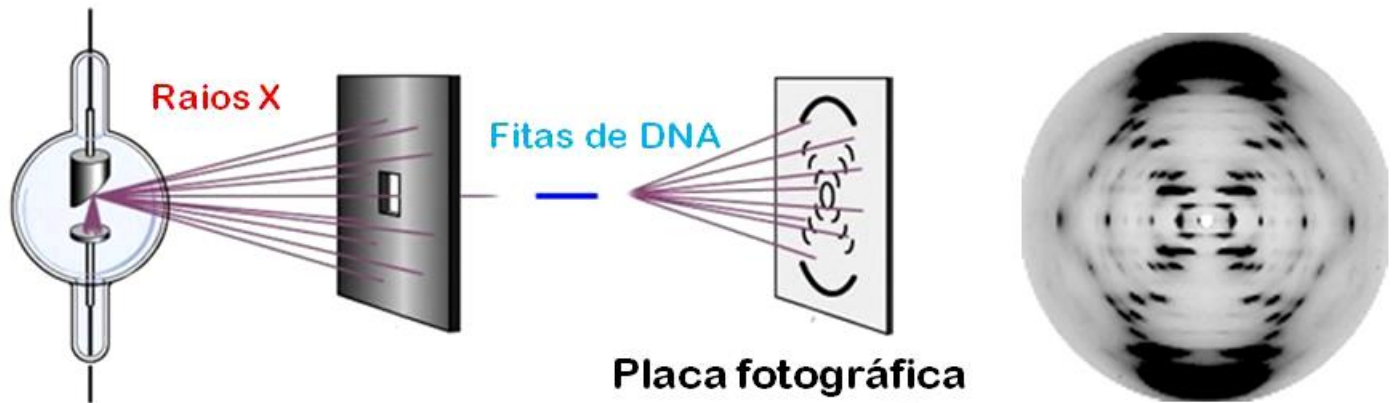
* Definidas como moles de constituintes nitrogenados por 100 g de átomos de fosfato no hidrolisado.
 FONTE: E. Chargaff e J. Davidson, eds., *The Nucleic Acids*. Academic Press, 1955.

A DESCOBERTA DA ESTRUTURA DO DNA: DE MENDEL A WATSON & CRICK



1951- 1953 - Esforços para obter fibras de DNA altamente orientadas para estudos de cristalografia de raio – X (King’s College, Londres).

1953 - Franklin obteve uma excelente fotografia de difração de raio-X.



Rosalind
Franklin



Maurice Wilkins

Molécula helicoidal.

Purinas e Pirimidinas separadas por 0,34 nm.

Grupos fosfatos externos ao eixo.

Hélice constituída por duas fitas.

A DESCOBERTA DA ESTRUTURA DO DNA: DE MENDEL A WATSON & CRICK

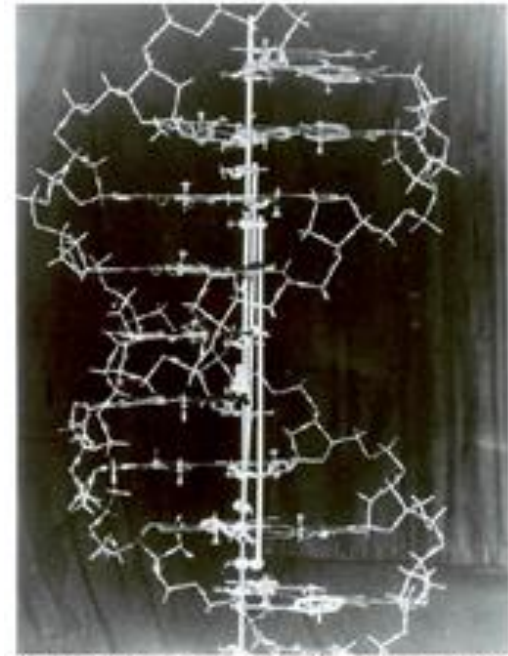


Courtesy of Cold Spring Harbor Laboratory Archives. Noncommercial, educational use only.

James Watson e Francis Crick

1953 - Modelo da molécula de DNA

(A partir dos dados de difração de raio-X de Rosalin Franklin e das regras de Chargaff).



Estrutura em dupla hélice do DNA

A DESCOBERTA DA ESTRUTURA DO DNA: DE MENDEL A WATSON & CRICK

1962 - Prêmio Nobel: Watson, Crick e Wilkins



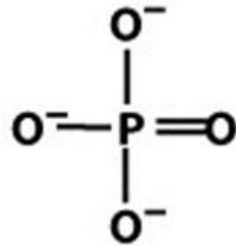
Courtesy of Cold Spring Harbor Laboratory Archives and Svenska Prisa Photo, Stockholm, Sweden.
Noncommercial, educational use only.

1958 - Rosalind Franklin falece de
câncer de ovário.

As regras não permitem entregar um
prêmio Nobel pós-morte

COMPONENTES DOS NUCLEOTÍDEOS

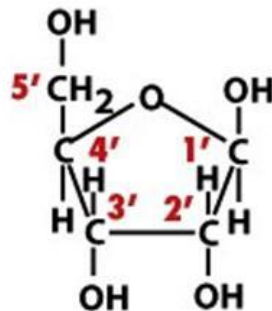
(1)
Um
grupamento
fosfato:



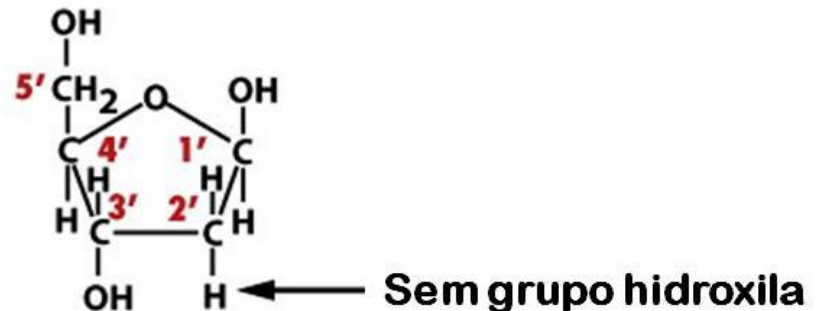
Carbono 5

(2)
pentoses
(açúcares
de 5
carbonos)

(a) RNA:
Ribose



(b) DNA:
2-Desoxirribose

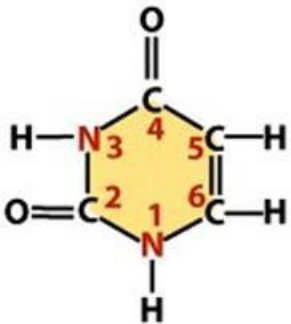


Carbono 2

COMPONENTES DOS NUCLEOTÍDEOS

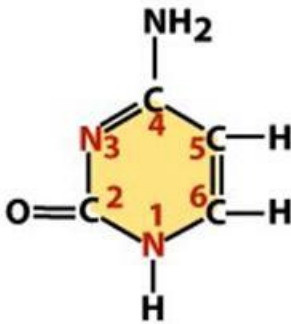
(3)
Uma base
cíclica
contendo
Nitrogênio

(a) RNA

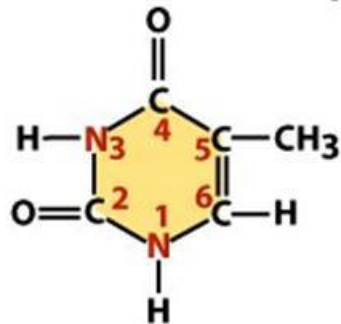


Uracila

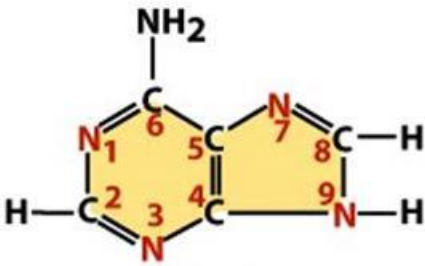
(b) DNA e RNA (c) DNA



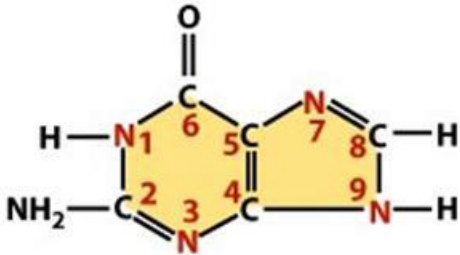
Citosina



Timina



Adenina



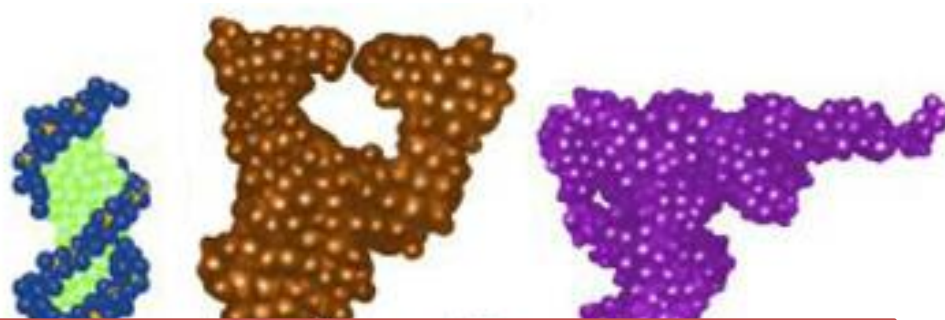
Guanina

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

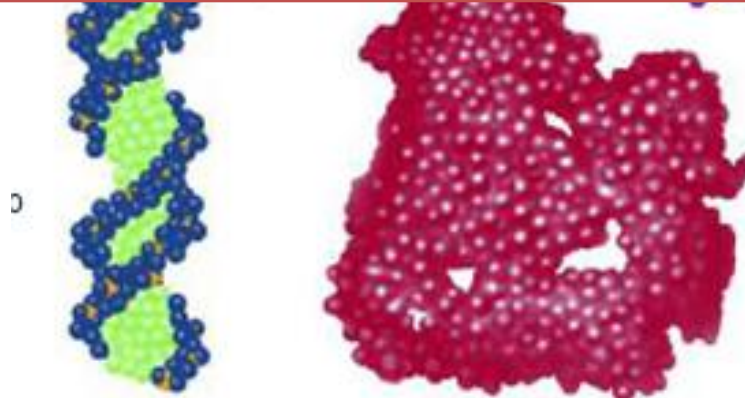
DNA E RNA – MOLÉCULAS DE INFORMAÇÃO

DNA – Descoberto pelo bioquímico alemão Johann Friedrich Miescher (1869);

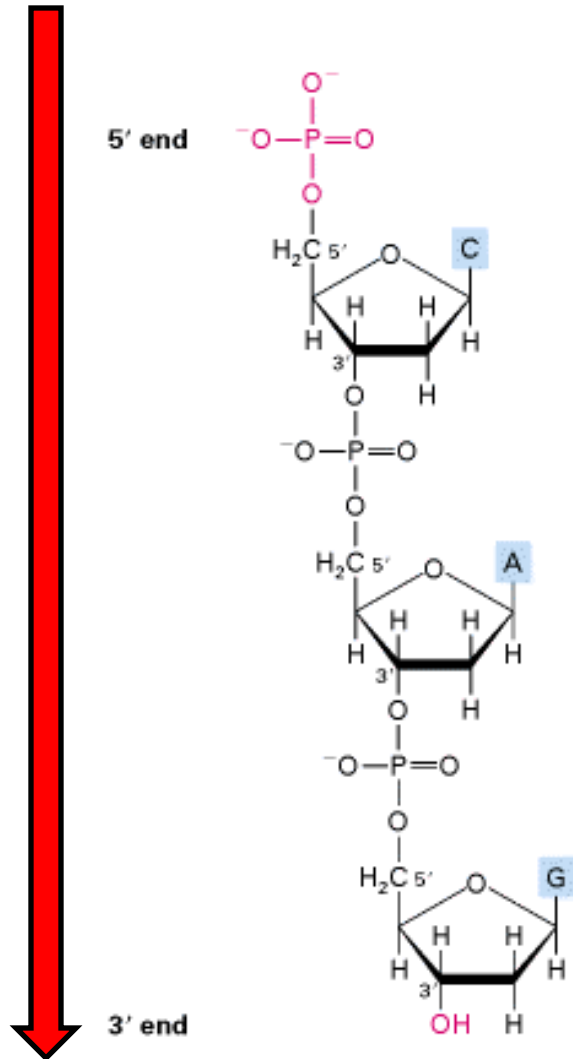
RNA - Descoberto em levedura (1890).



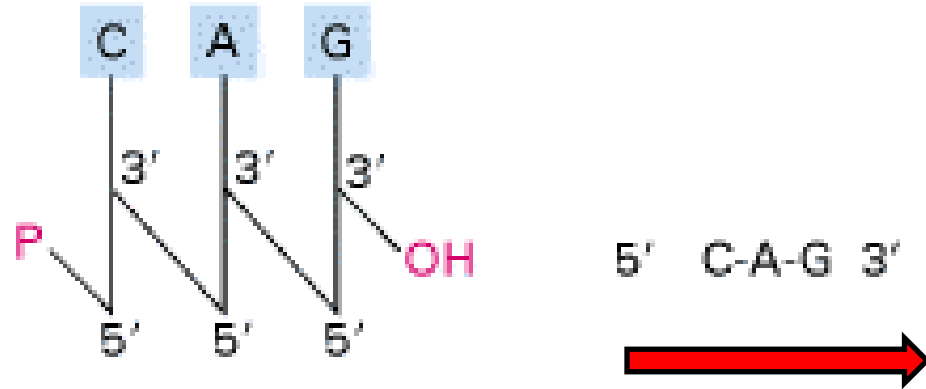
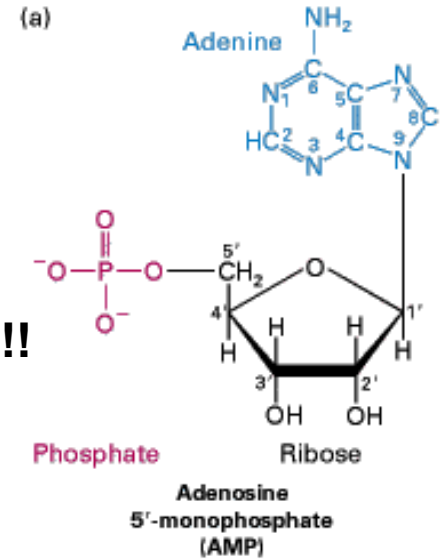
Diferenças estruturais



Ligações fosfodiéster - polarização 5' – 3'



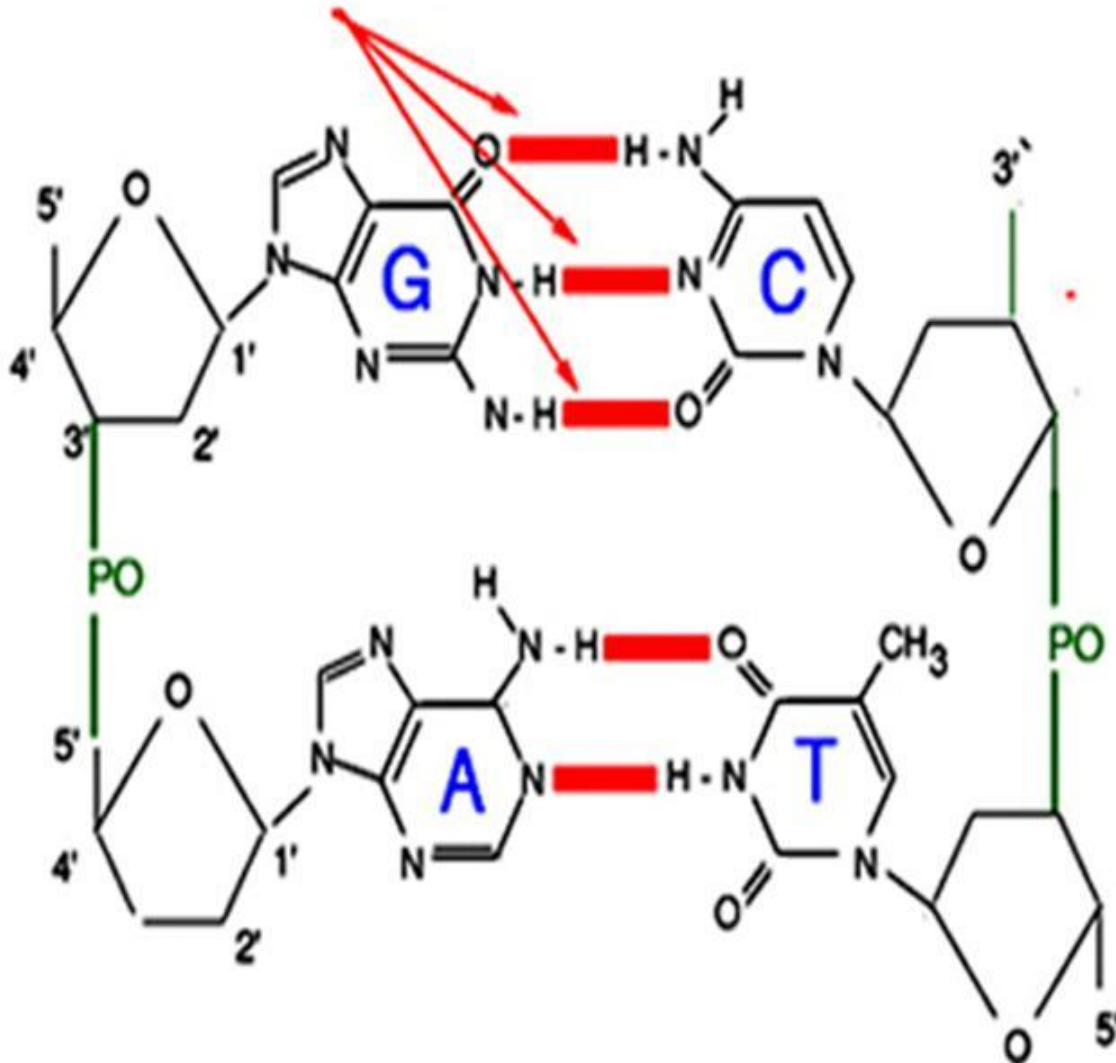
**Adenosina trifosfato!!!
SIM ATP!!!!**



- entre o carbono 3' do nucleotídeo de “cima” e o carbono 5' do nucleotídeo de “baixo”.

DNA – FITA DUPLA!

Pontes de hidrogênio



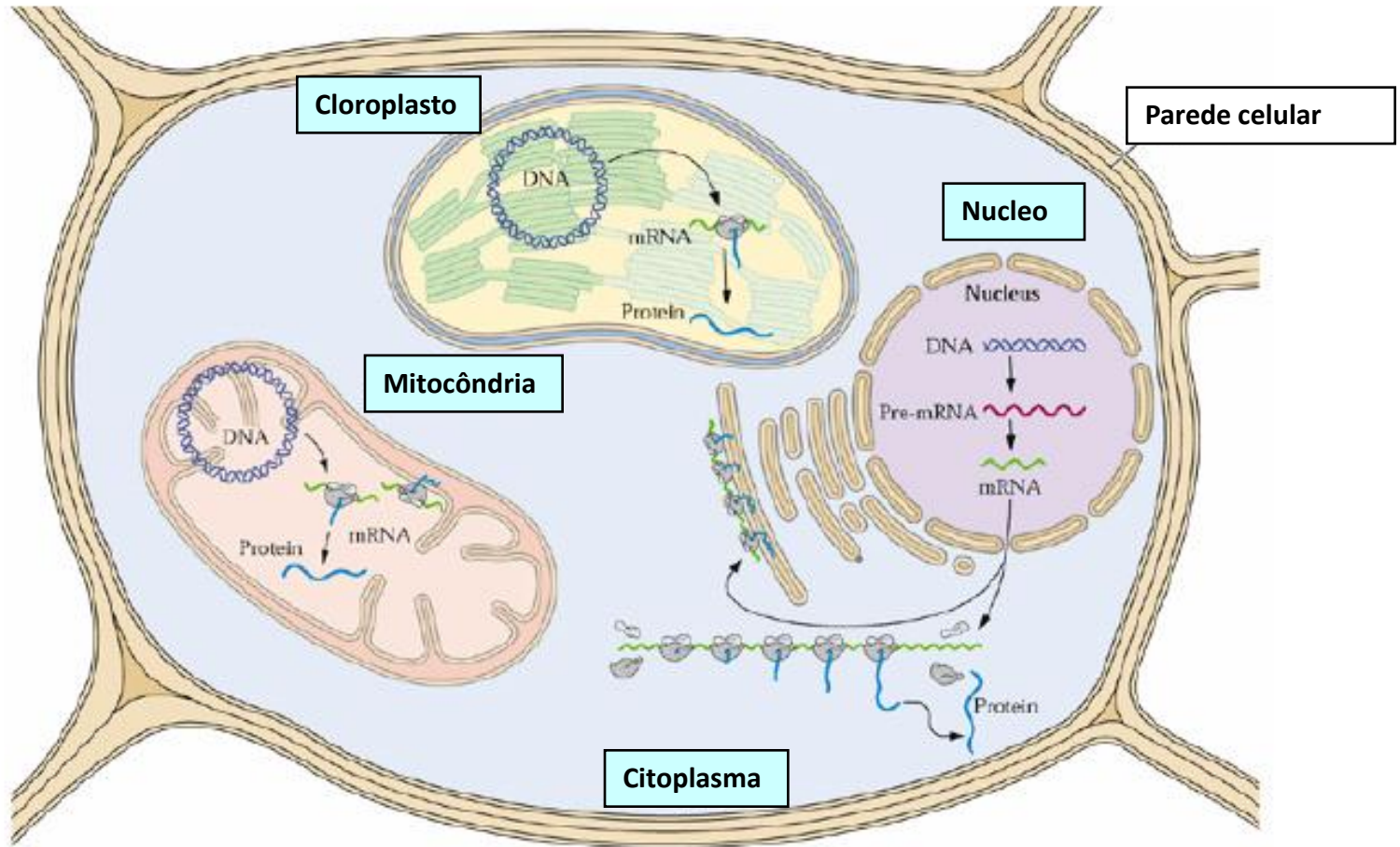
*Entre o **carbono 3'** (grupo OH-) do nucleotídeo de “cima” e o **carbono 5'** (grupo fosfato) do nucleotídeo de “baixo”.

Ligações fosfodiéster 3' – 5'

CARACTERÍSTICAS DA DUPLA HÉLICE

- ✓ Contém duas fitas de polinucleotídeos (“corrimão”) antiparalelas;
- ✓ O esqueleto de cada fita é formado por desoxirribose e fosfato;
- ✓ O grupo fosfato ligado ao carbono 5’ de uma desoxirribose se liga **covalentemente** ao terminal hidroxila do carbono 3’ da próxima unidade;
- ✓ As purinas e pirimidinas estão voltadas para dentro da hélice;
- ✓ Cada base forma **pontes de H** com uma base oposta a ela, formando um par de bases;
- ✓ 3,4 Å separam os planos (“degraus”), aos quais bases adjacentes estão localizadas;
- ✓ A dupla hélice faz uma volta completa com 10 nucleotídeos (34 Å);
- ✓ Existem em média 25 pontes de H dentro de cada volta completa da hélice, promovendo uma estabilidade de ligação tão forte como uma ligação covalente;
- ✓ O diâmetro da hélice é cerca de 20 Å;

3 Genomas em planta: cromossomal, plastidial e mitocondrial



THE REPLICATION OF DNA IN *ESCHERICHIA COLI**

BY MATTHEW MESELSON AND FRANKLIN W. STAHL

GATES AND CRELLIN LABORATORIES OF CHEMISTRY,† AND NORMAN W. CHURCH LABORATORY OF CHEMICAL BIOLOGY, CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY, PASADENA, CALIFORNIA

Communicated by Max Delbrück, May 14, 1958

Introduction.—Studies of bacterial transformation and bacteriophage infection¹⁻⁵ strongly indicate that deoxyribonucleic acid (DNA) can carry and transmit hereditary information and can direct its own replication. Hypotheses for the mechanism of DNA replication differ in the predictions they make concerning the distribution among progeny molecules of atoms derived from parental molecules.⁶

Radioisotopic labels have been employed in experiments bearing on the distribution of parental atoms among progeny molecules in several organisms.⁶⁻⁹ We anticipated that a label which imparts to the DNA molecule an increased density might permit an analysis of this distribution by sedimentation techniques. To this end, a method was developed for the detection of small density differences among

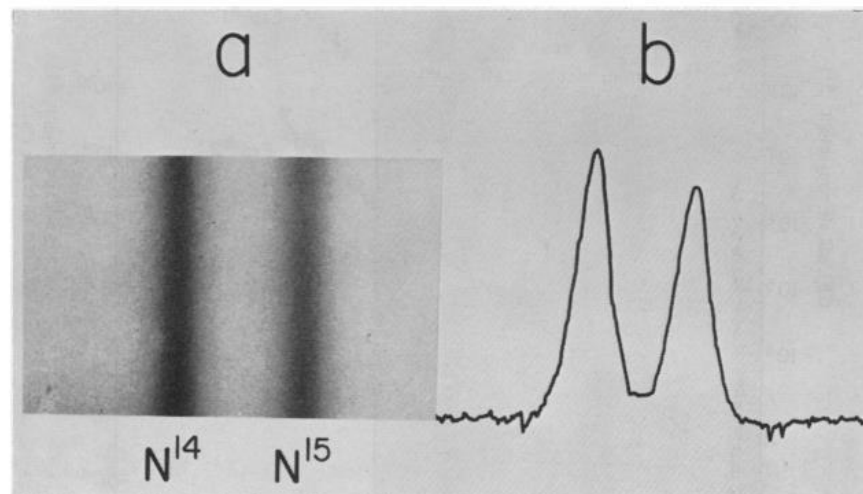
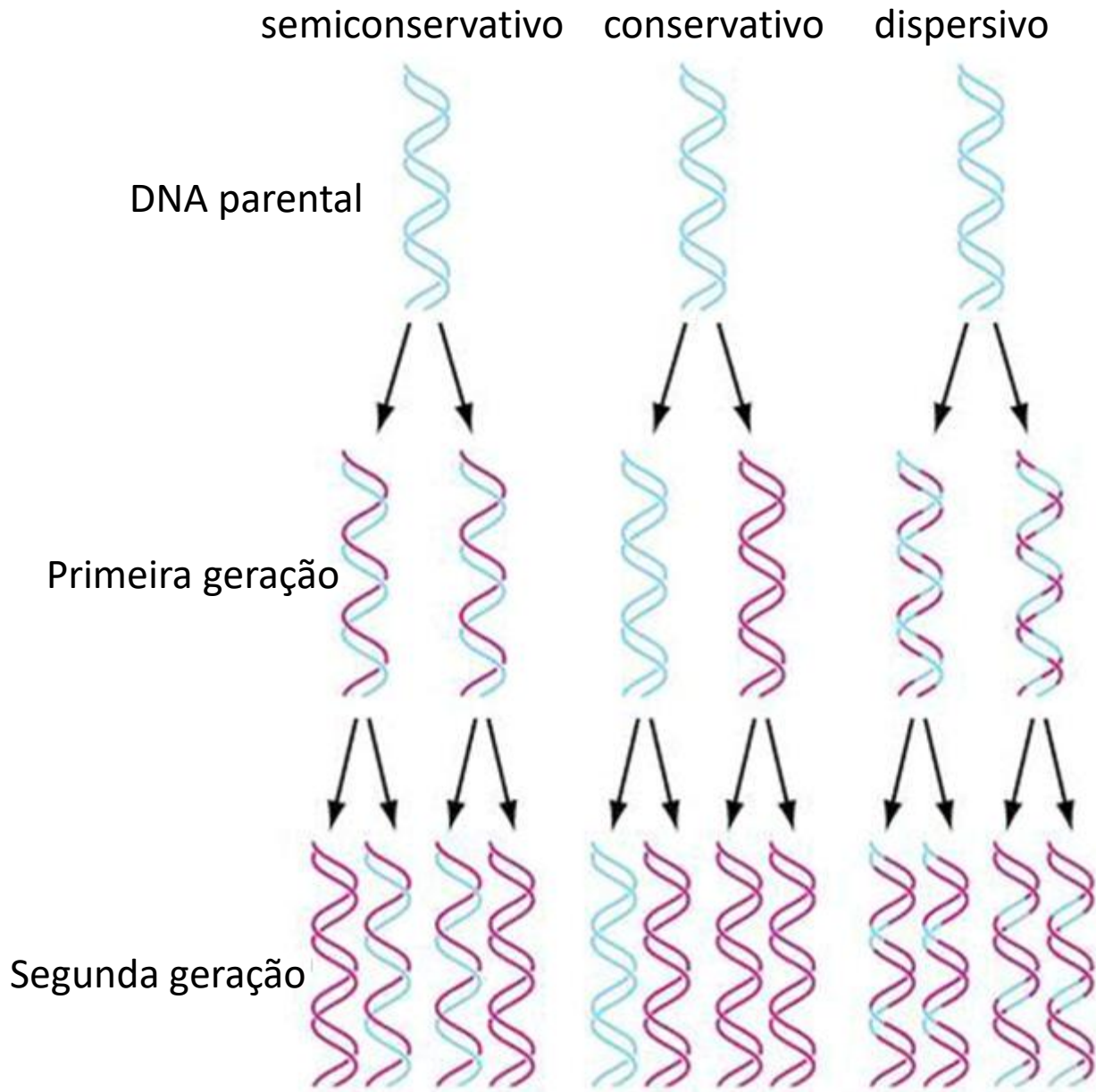


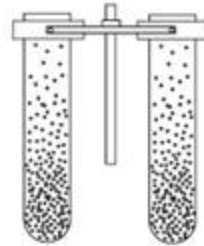
FIG. 2—*a*: The resolution of N^{14} DNA from N^{15} DNA by density-gradient centrifugation. A mixture of N^{14} and N^{15} bacterial lysates, each containing about 10^8 lysed cells, was centrifuged in CsCl solution as described in the text. The photograph was taken after 24 hours of centrifugation at 44,770 rpm. *b*: A microdensitometer tracing showing the DNA distribution in the region of the two bands of Fig. 2*a*. The separation between the peaks corresponds to a difference in buoyant density of $0.014 \text{ gm. cm.}^{-3}$.

REPLICAÇÃO DO DNA

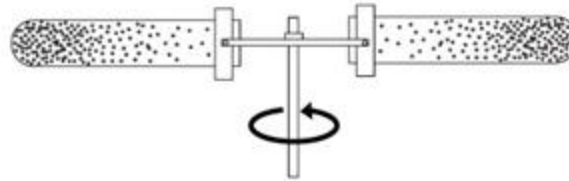


EXPERIMENTO DE MESELSON-STAHN

Solução gradiente de CsCl 6M e a adição de uma mistura de DNAs contendo ^{14}N e ^{15}N



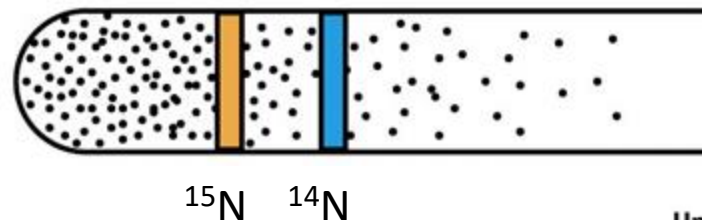
Centrifuga a 50.000 rpm por 48-72 horas



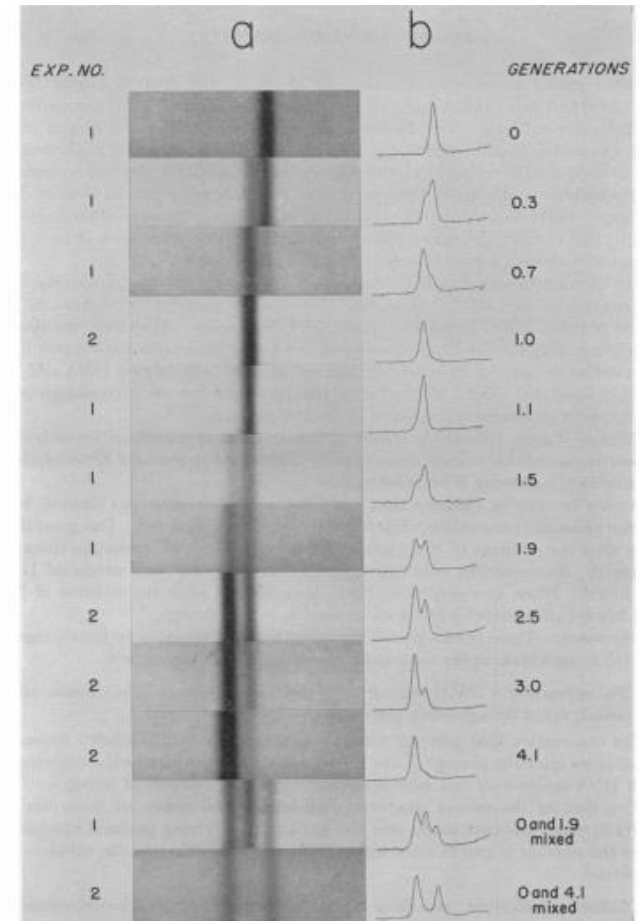
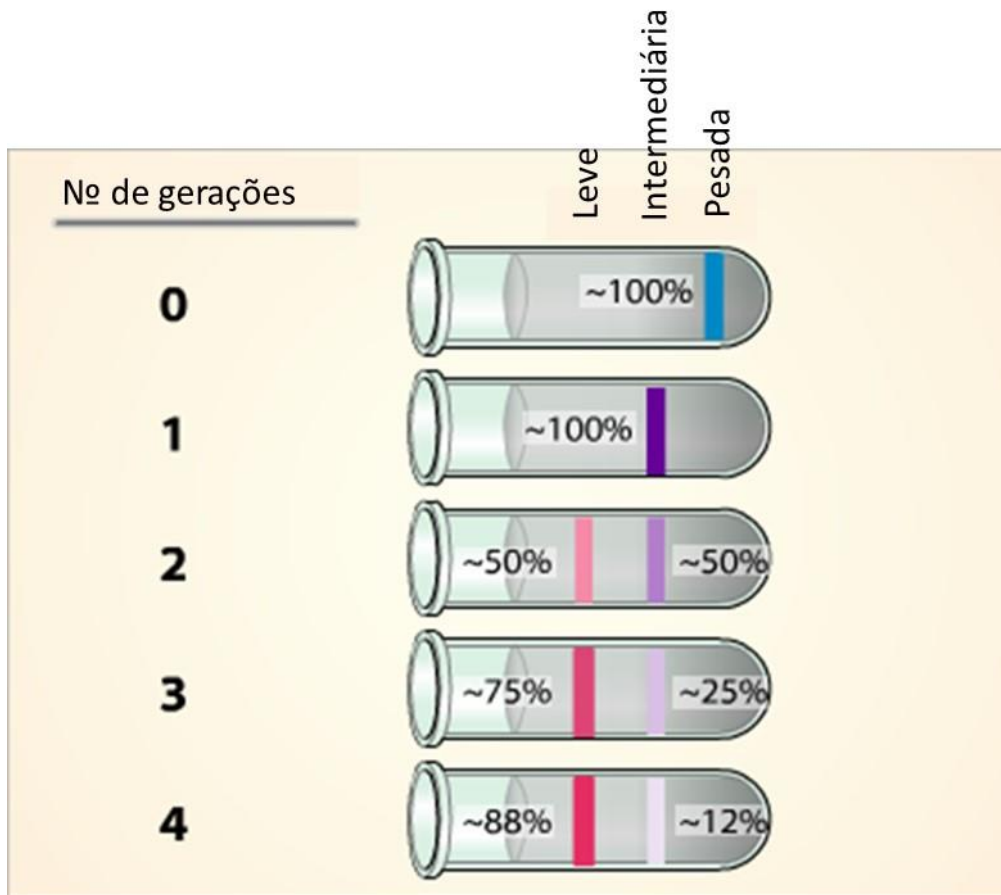
Um equilíbrio é estabelecido entre

← Força centrífuga e

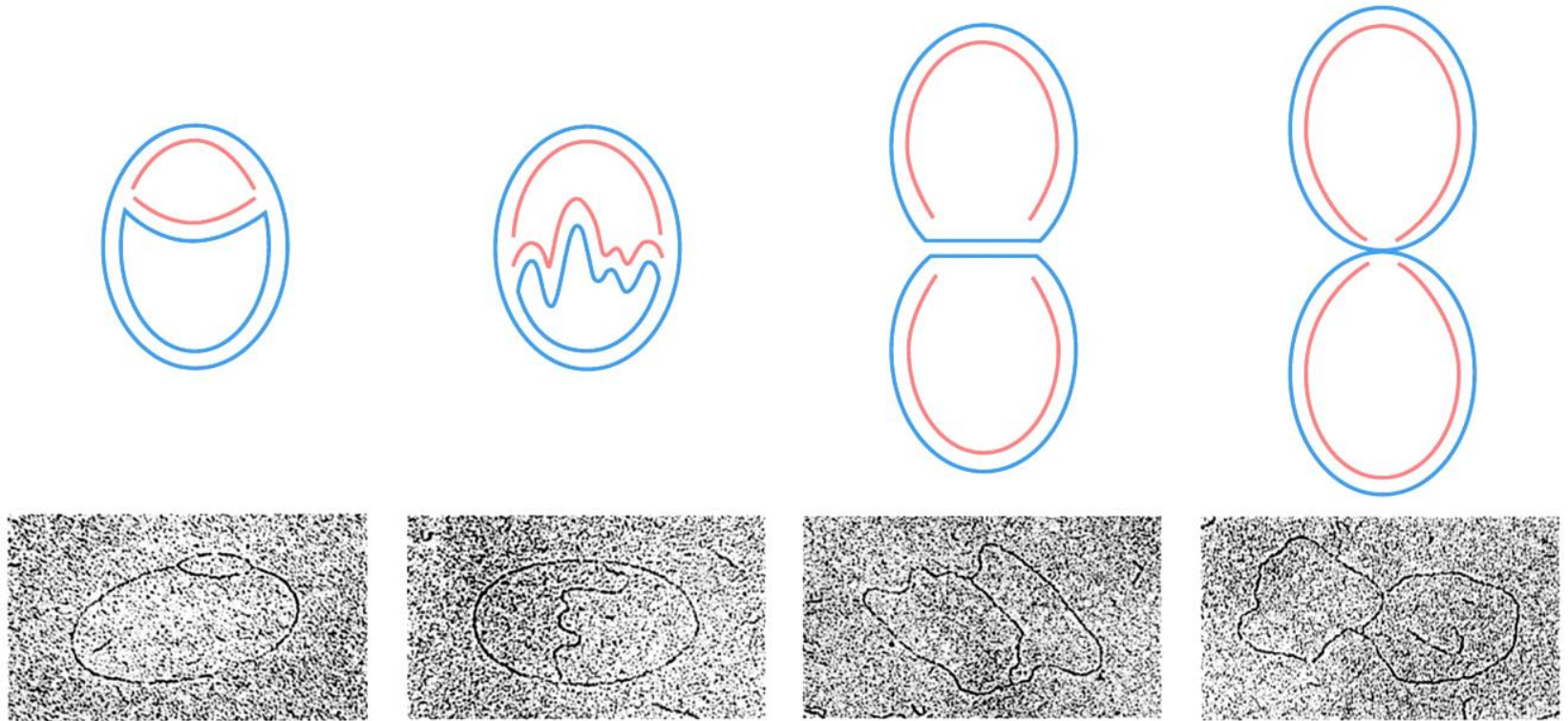
Difusão →



EXPERIMENTO DE MESELSON-STAHN



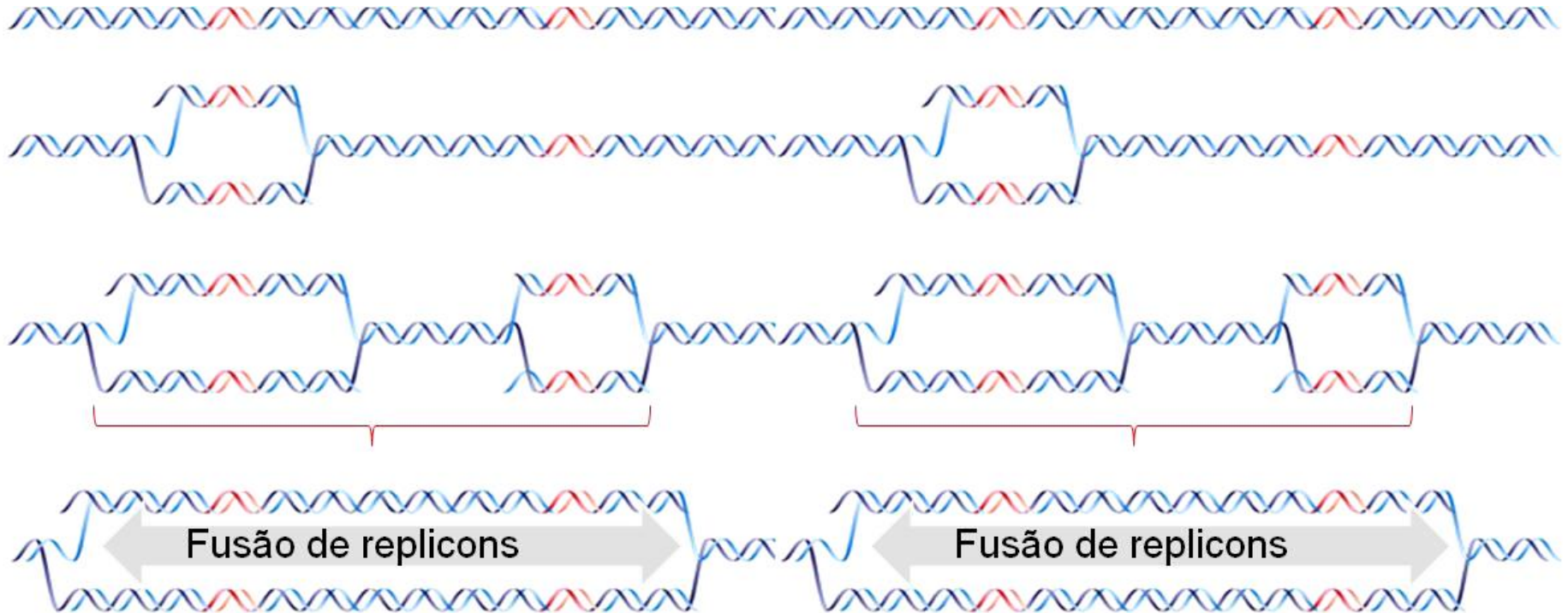
A REPLICAÇÃO DO CROMOSSOMO CIRCULAR



A replicação é bidirecional

- A velocidade da forquilha de replicação de procarioto é cerca de 30.000 pb/min
- 1 único replicon

A replicação do cromossomo linear de eucarioto



- A velocidade da forquilha de replicação de eucarioto é cerca de 3.000 pb/min;
- Os replicons de eucariotos têm cerca de 40-100 kb e são iniciados em tempos diferentes. (não sabemos todos os fatores que determinam qual origem e em que momento ela fica ativa - O *timing* da replicação pode, por ex. ser determinado pela atividade do gene: genes mais transcritos são replicados primeiro).

PONTOS IMPORTANTES SOBRE AS DNA POLIMERASES

- ✓ A síntese de DNA é catalisada por enzimas chamadas DNA-polimerases;
- ✓ Todas as DNA-polimerases precisam de um filamento primer, que é ampliado, e um filamento molde que é copiado;
- ✓ Todas as DNA-polimerases tem necessidade absoluta de uma 3'-OH livre do filamento primer, e toda a síntese de DNA ocorre no sentido 5' → 3';
- ✓ As atividades de exonuclease 3' → 5' das DNA-polimerases revisam filamentos nascentes à medida que eles são sintetizados, removendo quaisquer nucleotídeos malpareados nas pontas 3' dos filamentos primer.

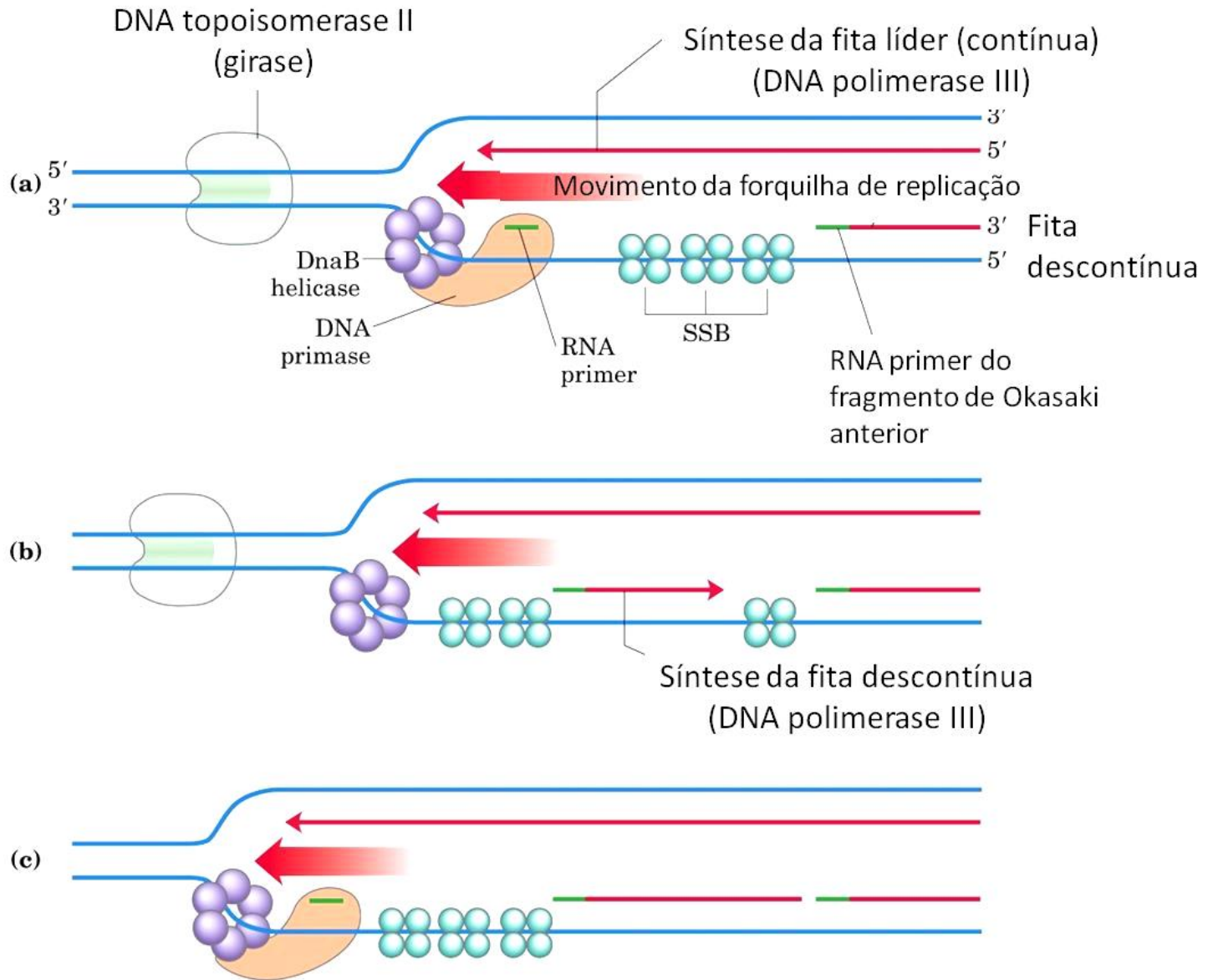
PROTEÍNAS PRESENTES NA ORIGEM DE REPLICAÇÃO

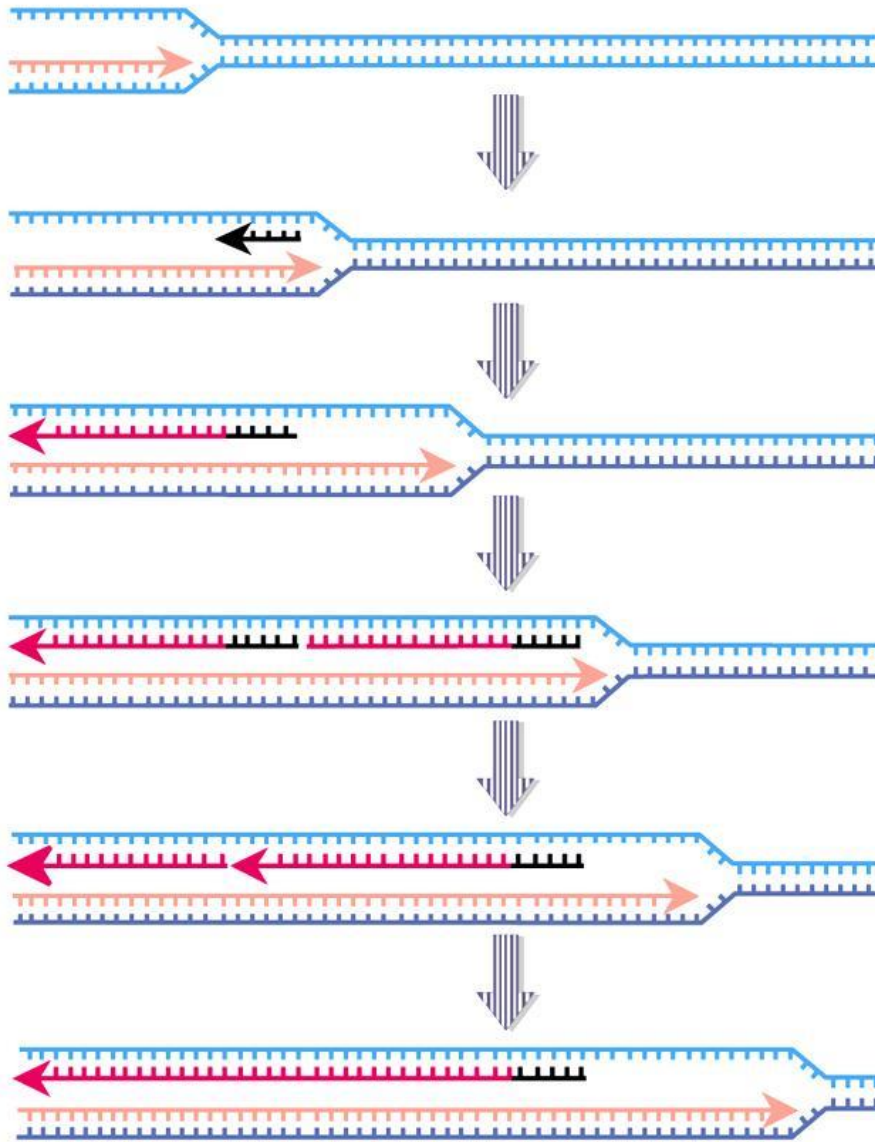
Helicase	Desenrola o DNA
DNA girase (topoisomerase)	Alivia a tensão de torção gerada pela abertura da dupla-fita
Primase	Sintetiza os primers de RNA
DNA polimerases	Polimerização do DNA, retirada dos primers e reparo do DNA
Single strand binding (SSB)	Liga a fita simples de DNA
DNA ligase	Une os fragmentos de Okasaki

REPLICAÇÃO DO DNA

- Se a replicação é semi-conservativa e a polimerização deve ser sempre no sentido $5' \rightarrow 3'$
- Mas o DNA é antiparalelo ou seja, uma fita ocorre no sentido $5' \rightarrow 3'$ e a outra no sentido $3' \rightarrow 5'$
- Como ocorre então a replicação nos dois sentidos?







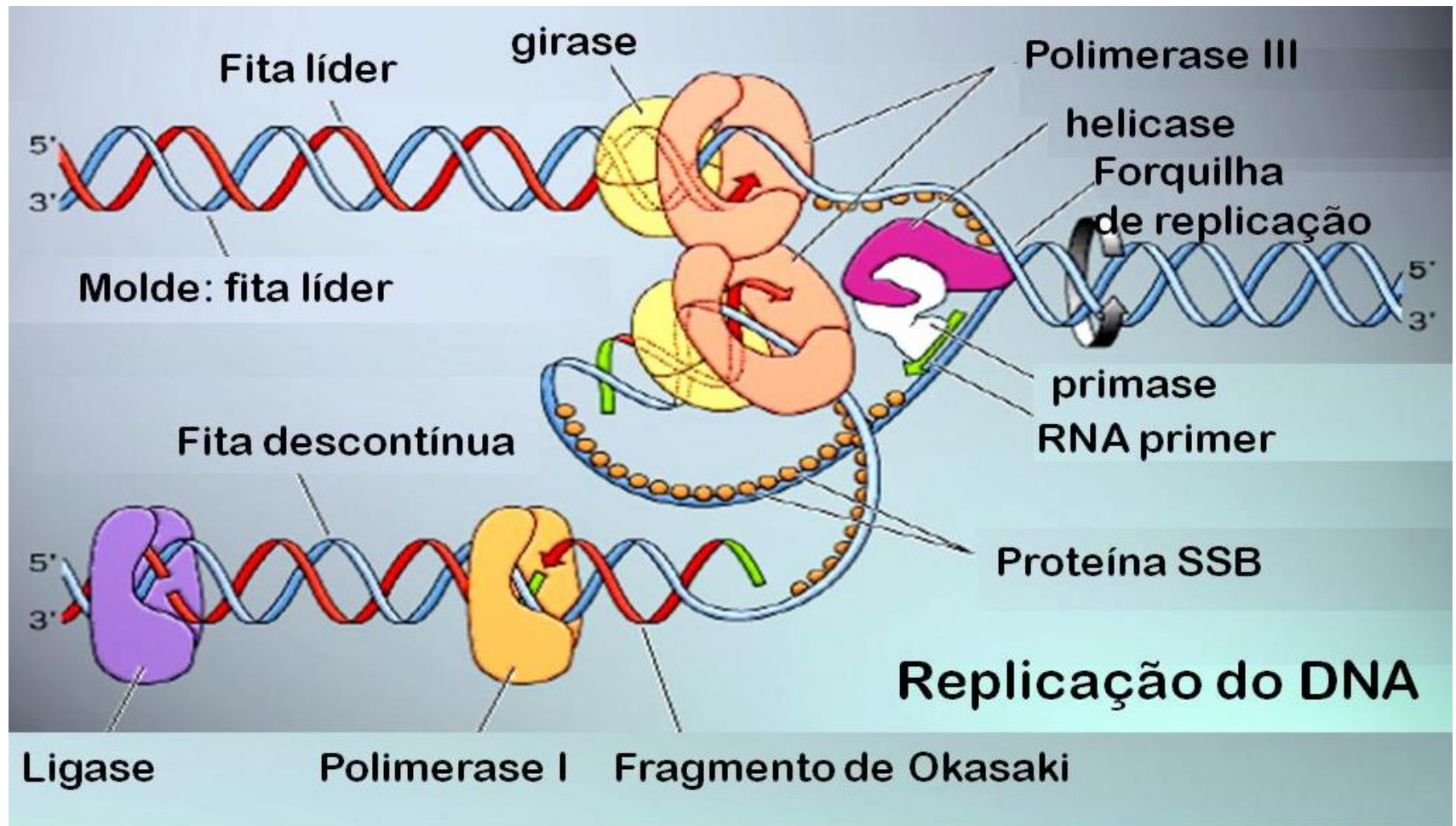
● Fragmentos de Okasaki ocorrem na fita descontínua

● 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



A replicação em eucariotos

REPLICAÇÃO DO DNA EM EUCARIOTOS

- ✓ É similar a procariotos, semiconservativa e bidirecional. Existe uma fita LÍDER e outra DESCONTÍNUA com fragmentos de Okazaki. Se inicia nas bolhas de replicação (MÚLTIPLAS FORQUILHAS);
- ✓ Várias origens de replicação (genoma de humanos e outros mamíferos contêm cerca de 10.000 mil origens de replicação distribuídas pelos cromossomos a intervalos de 30.000 a 300.000 pares de bases);
- ✓ Atuam enzimas similares as das células de procariotos;
- ✓ Nos fragmentos de Okasaky, os *primers* de RNA são removidos por uma Rnase e não por uma DNA polimerase de reparo;
- ✓ A finalização da replicação é feita com a formação de estruturas nas terminações do cromossomo, os telômeros;
- ✓ Os telômeros são replicados com a ajuda das telomerasas .

REPLICAÇÃO DAS PONTAS DO CROMOSSOMO

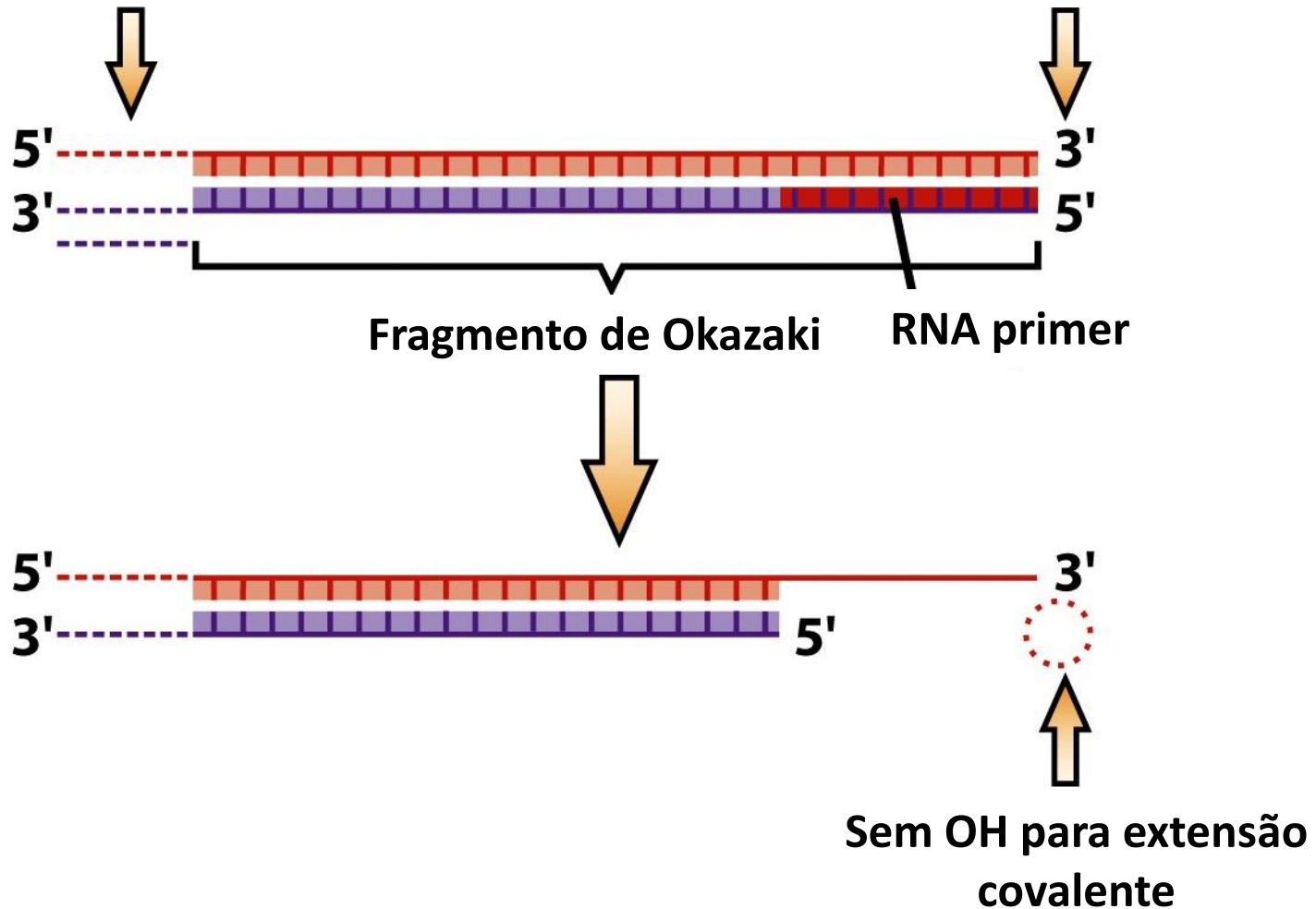
- DNA polimerase não pode replicar o segmento terminal do DNA do filamento descontínuo de um cromossomo linear;
- TELOMERO: tem uma estrutura única que favorece um mecanismo simples para a adição de telômeros feita pela enzima **telomerase** contendo RNA

Repetições dos telômeros de humanos:

TTAGGG

Próximo ao centrômero

Fim do cromossomo





a telomerase se liga à fita parental



a telomerase estende a extremidade 3' através da síntese de DNA com molde de RNA



um novo primer (em verde) é adicionado para a síntese da fita descontínua



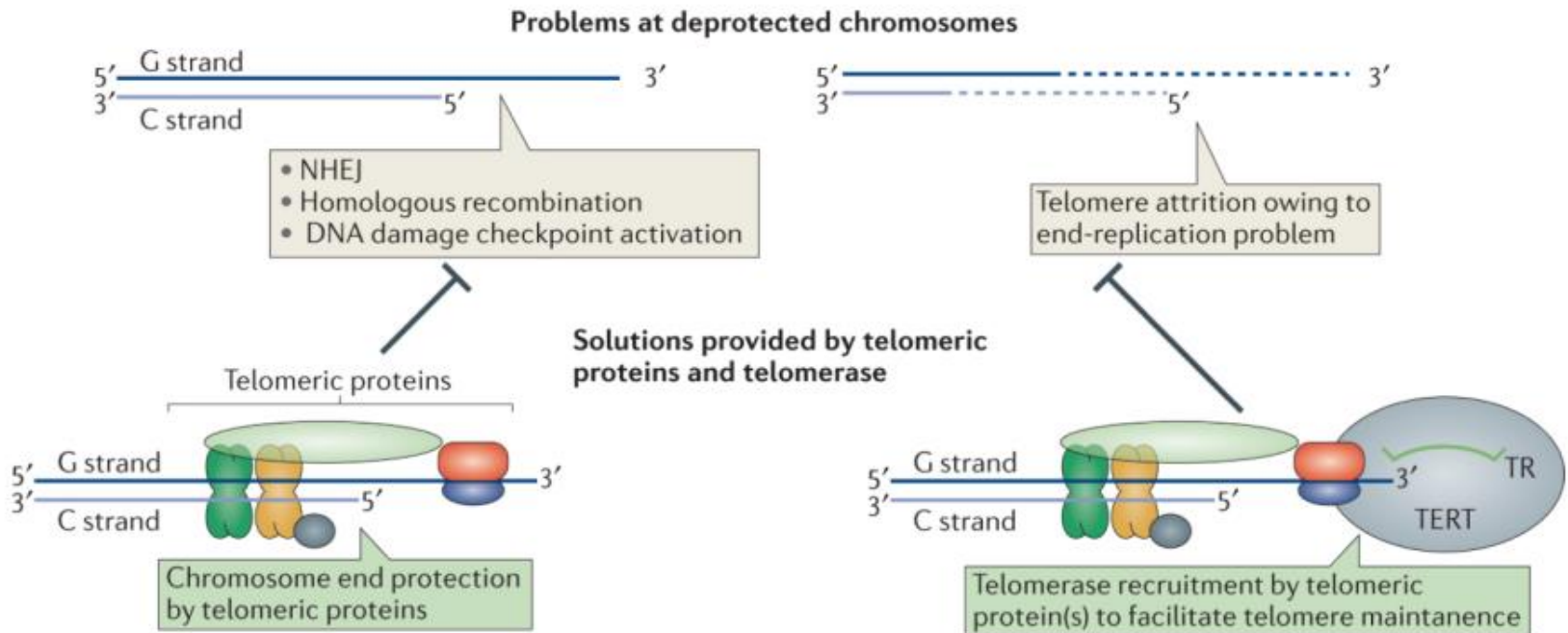
Published in final edited form as:

Nat Rev Mol Cell Biol. 2013 February ; 14(2): 69–82. doi:10.1038/nrm3505.

Finding the end: recruitment of telomerase to the telomere

Jayakrishnan Nandakumar and Thomas R. Cech

Howard Hughes Medical Institute, Dept. of Chemistry and Biochemistry, BioFrontiers Institute, University of Colorado, Boulder, CO 80309-0596 U.S.A.



Controle quantitativo e temporal das moléculas “subsequentes” ao DNA

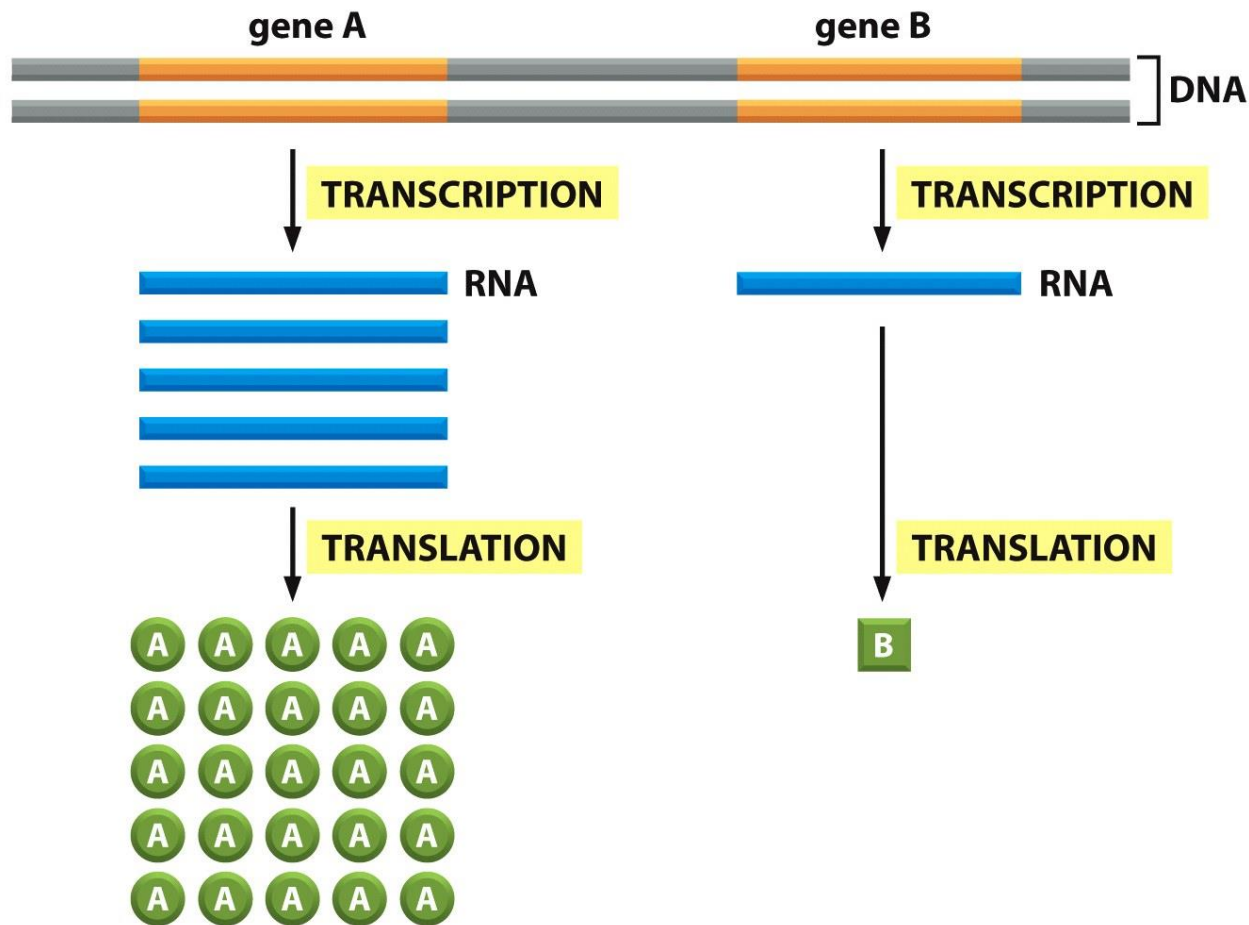


Figure 7-2 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

TRANSCRIÇÃO

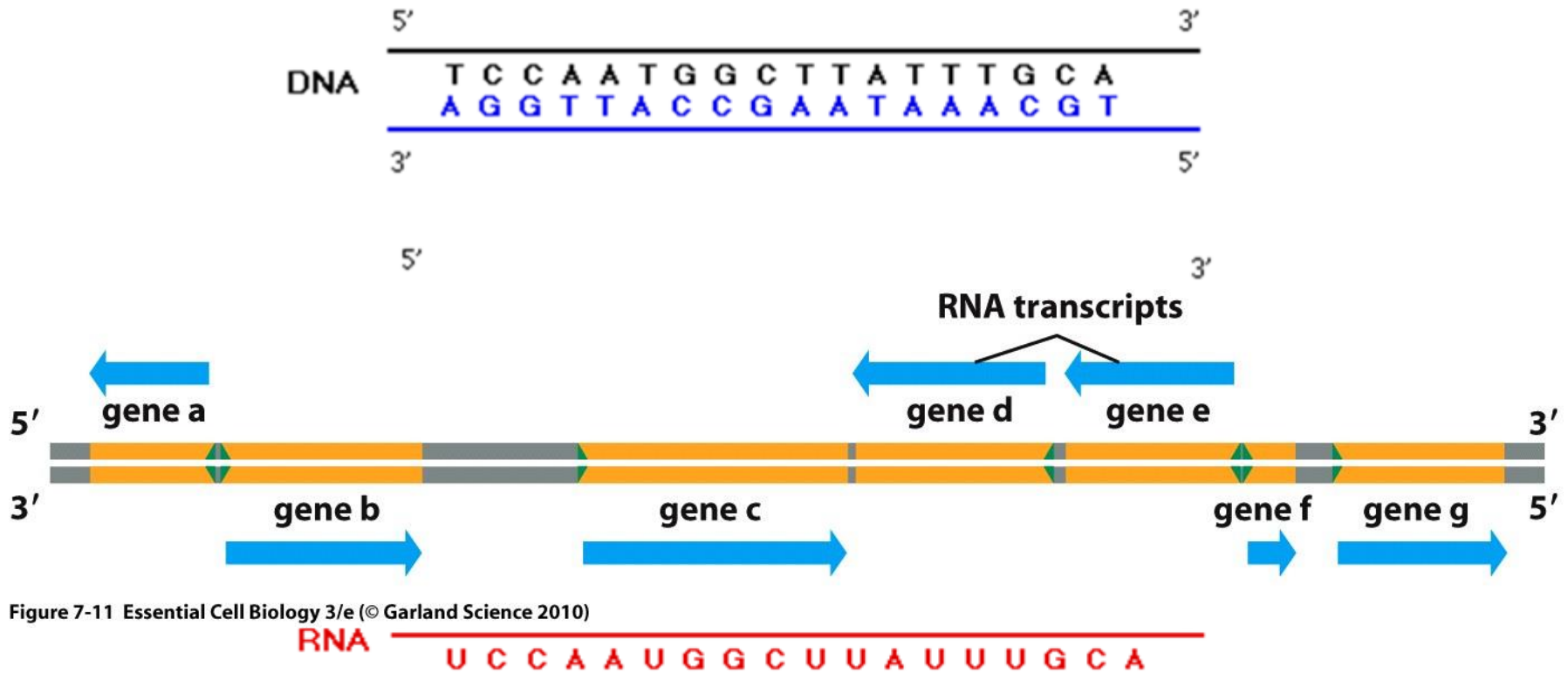


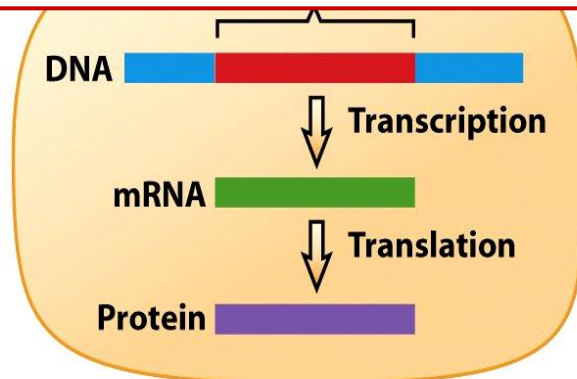
Figure 7-11 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

- ❑ 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.

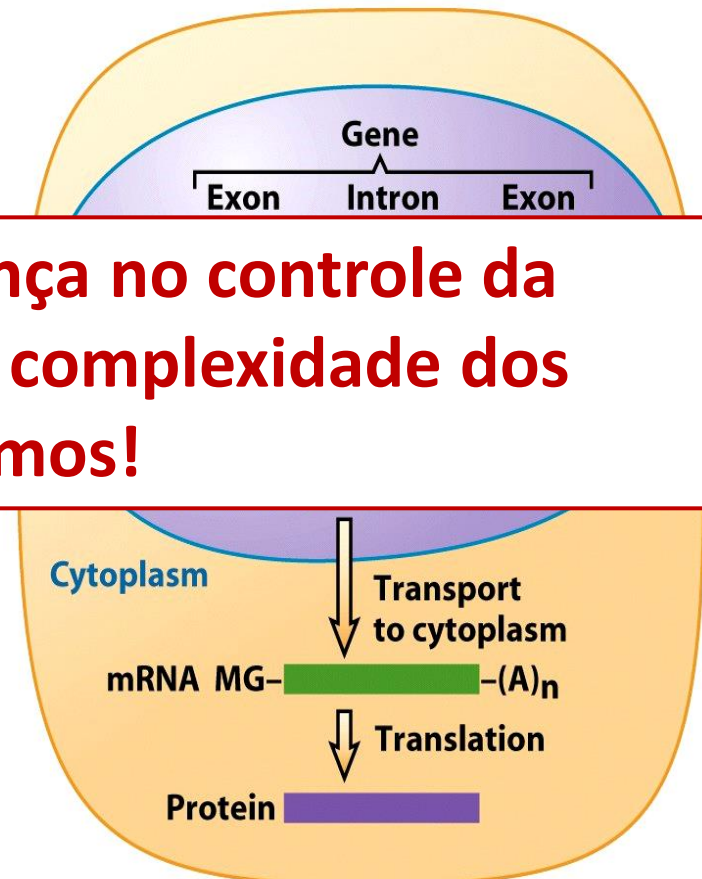
TRANSCRIÇÃO

- ✓ 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.

Isso faz toda a diferença no controle da expressão de genes e complexidade dos organismos!

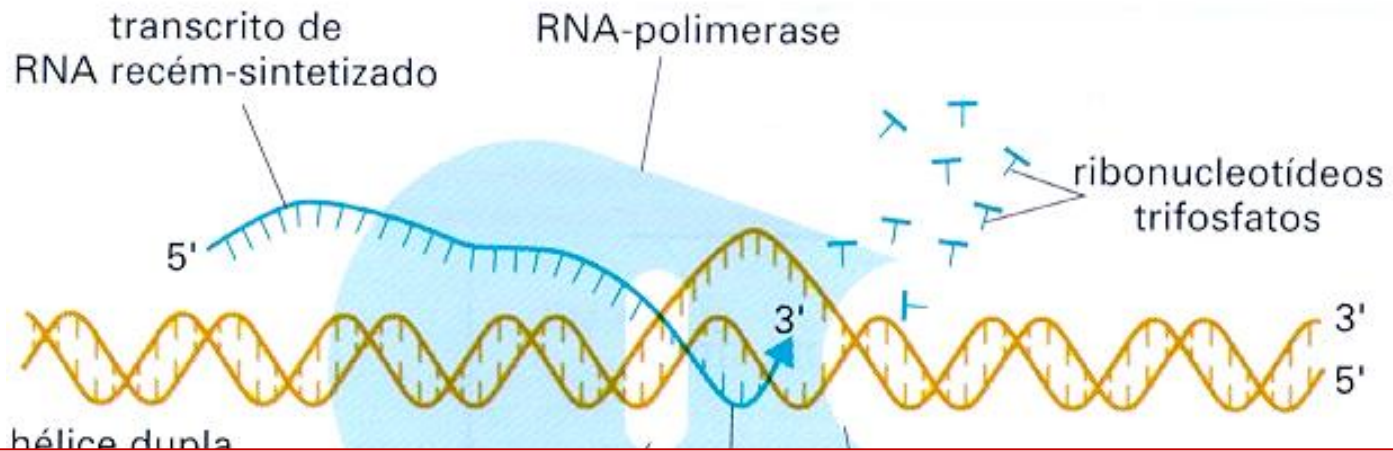


(a) Prokaryotes.

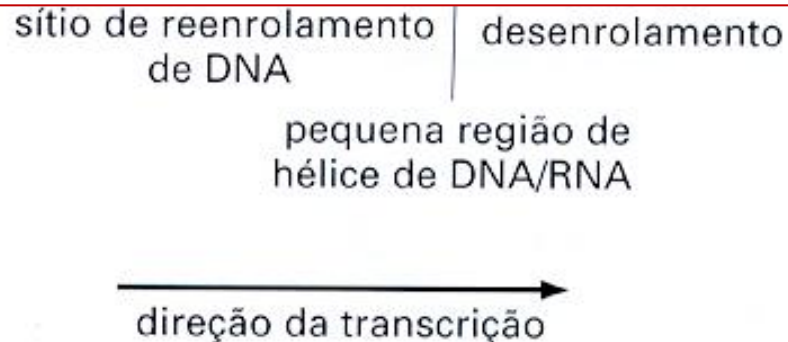


(b) Eukaryotes.

ENZIMA RNA POLIMERASE – UMA ENZIMA POLIVALENTE!!!



Um *core* comum para todos os organismos dos cinco reinos!

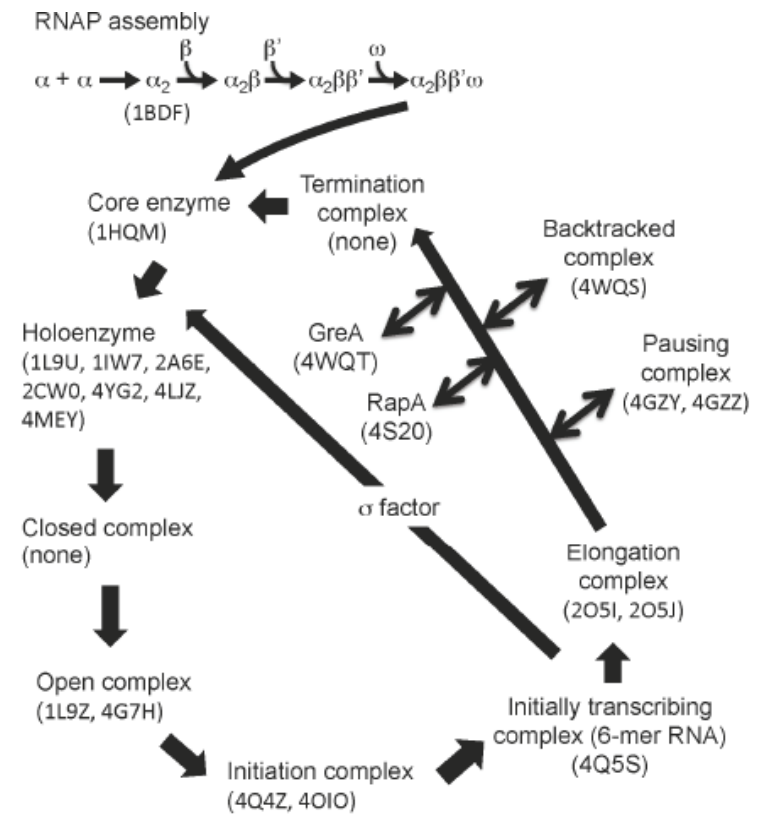


RNA POLIMERASE

- ❑ Reconhece e se liga à sequências específicas de DNA (**promotor**);
- ❑ Desnatura o DNA expondo a sequência de nucleotídeos a ser copiada;
- ❑ Mantém as fitas de DNA separadas na região de síntese;
- ❑ Mantém o híbrido DNA:RNA estável
- ❑ Renatura o DNA na região imediatamente posterior à da síntese;
- ❑ Sozinha, ou com o auxílio de algumas proteínas específicas, termina a síntese do RNA.

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Proteínas que auxiliam o processo de transcrição **no reconhecimento do promotor.**



Biomolecules **2015**, *5*, 848–864; doi:10.3390/biom5020848

OPEN ACCESS

biomolecules

ISSN 2218-273X

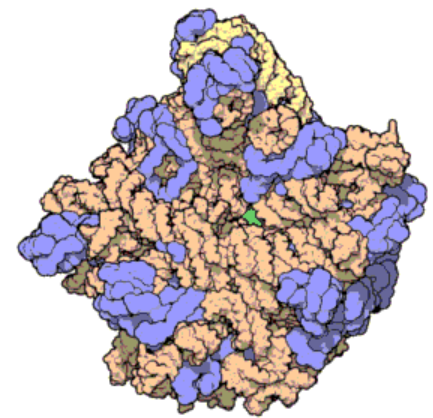
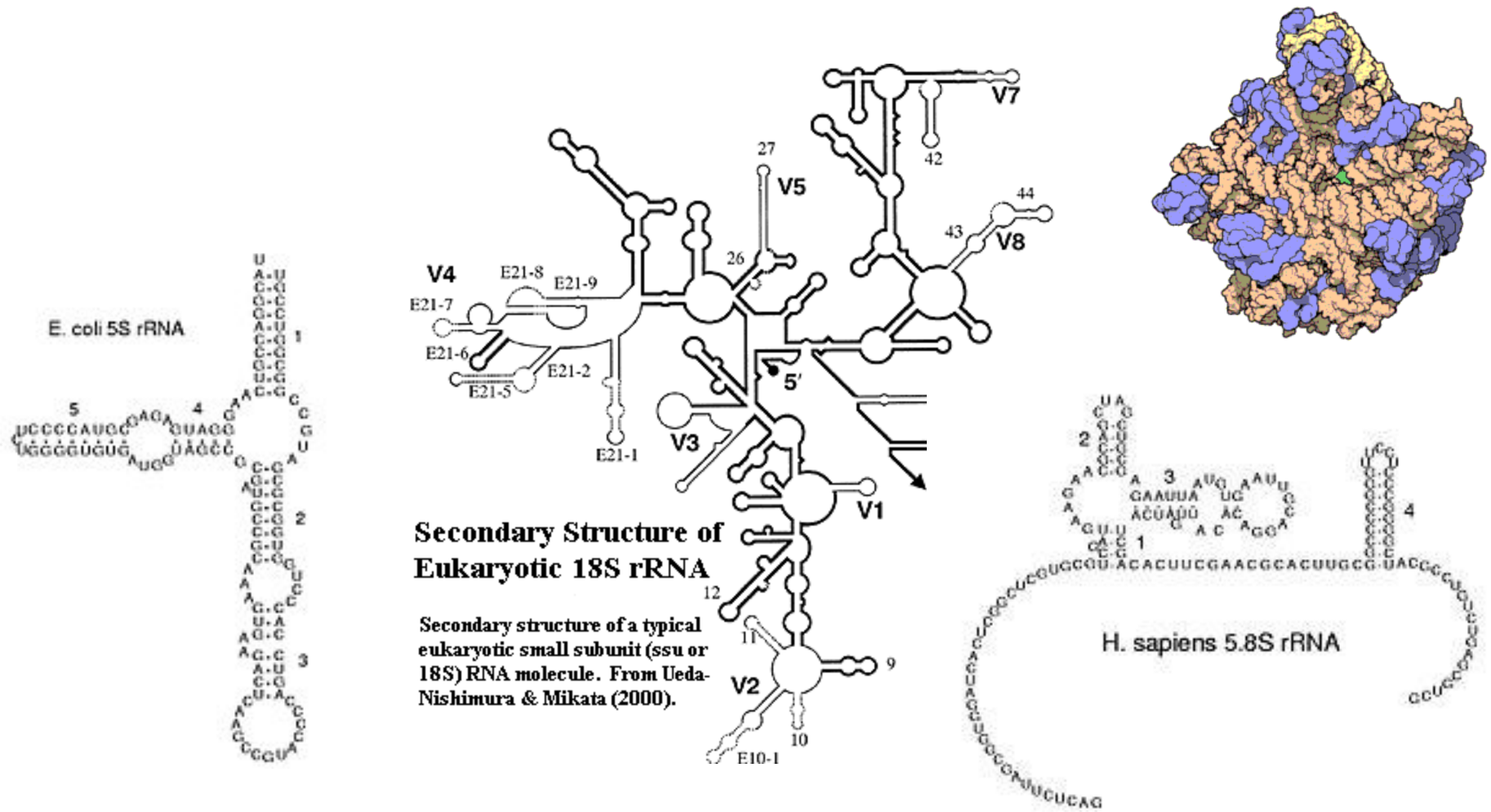
www.mdpi.com/journal/biomolecules/

Review

Structural Biology of Bacterial RNA Polymerase

Katsuhiko S. Murakami

Nas células eucarióticas existem quatro RNA polimerases, uma para cada tipo de RNA a sintetizar: polimerase I (rRNA), II (mRNA), e III (tRNA e snRNA - pequenas RNA nucleares) e IV (transcrição dos genes do DNA mitocondrial).



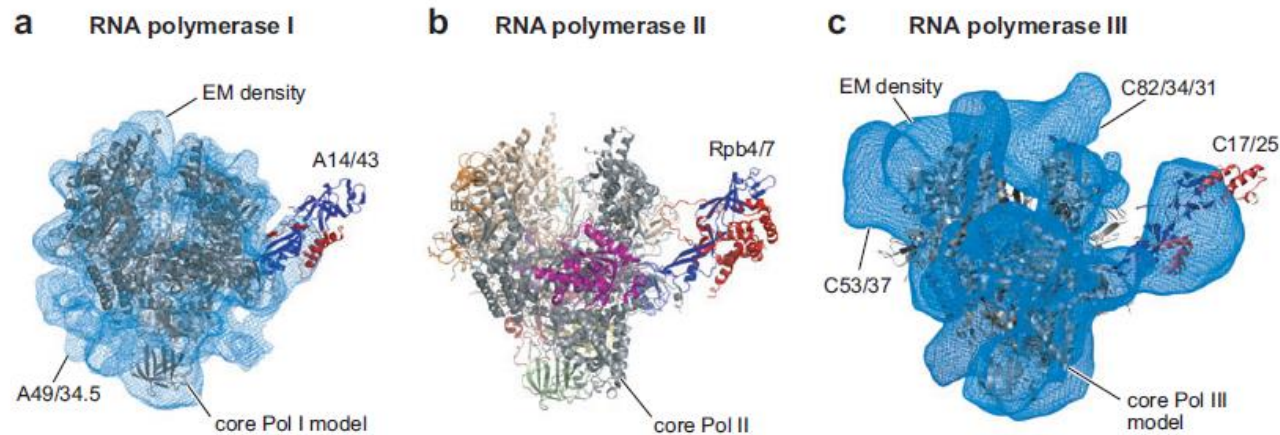
Secondary Structure of Eukaryotic 18S rRNA

Secondary structure of a typical eukaryotic small subunit (ssu or 18S) RNA molecule. From Ueda-Nishimura & Mikata (2000).

Structure of Eukaryotic RNA Polymerases

P. Cramer, K.-J. Armache, S. Baumli, S. Benkert, F. Brueckner, C. Buchen, G.E. Damsma, S. Dengl, S.R. Geiger, A.J. Jasiak, A. Jawhari, S. Jennebach, T. Kamenski, H. Kettenberger, C.-D. Kuhn, E. Lehmann, K. Leike, J.F. Sydow, and A. Vannini

Gene Center Munich and Center for Integrated Protein Science CIPSM, Department of Chemistry and Biochemistry, Ludwig-Maximilians-Universität München, 81377 Munich, Germany; email: cramer@lmb.uni-muenchen.de

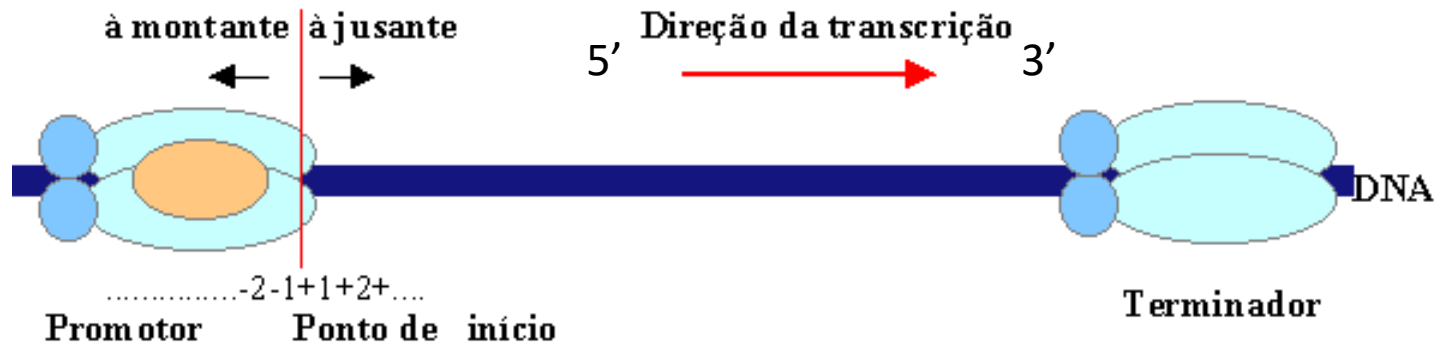


Essas enzimas são co-reguladas por proteínas acessório específicas relacionadas à transferência de sinais por ativadores transcricionais.

CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SÍNTESE DE RNA

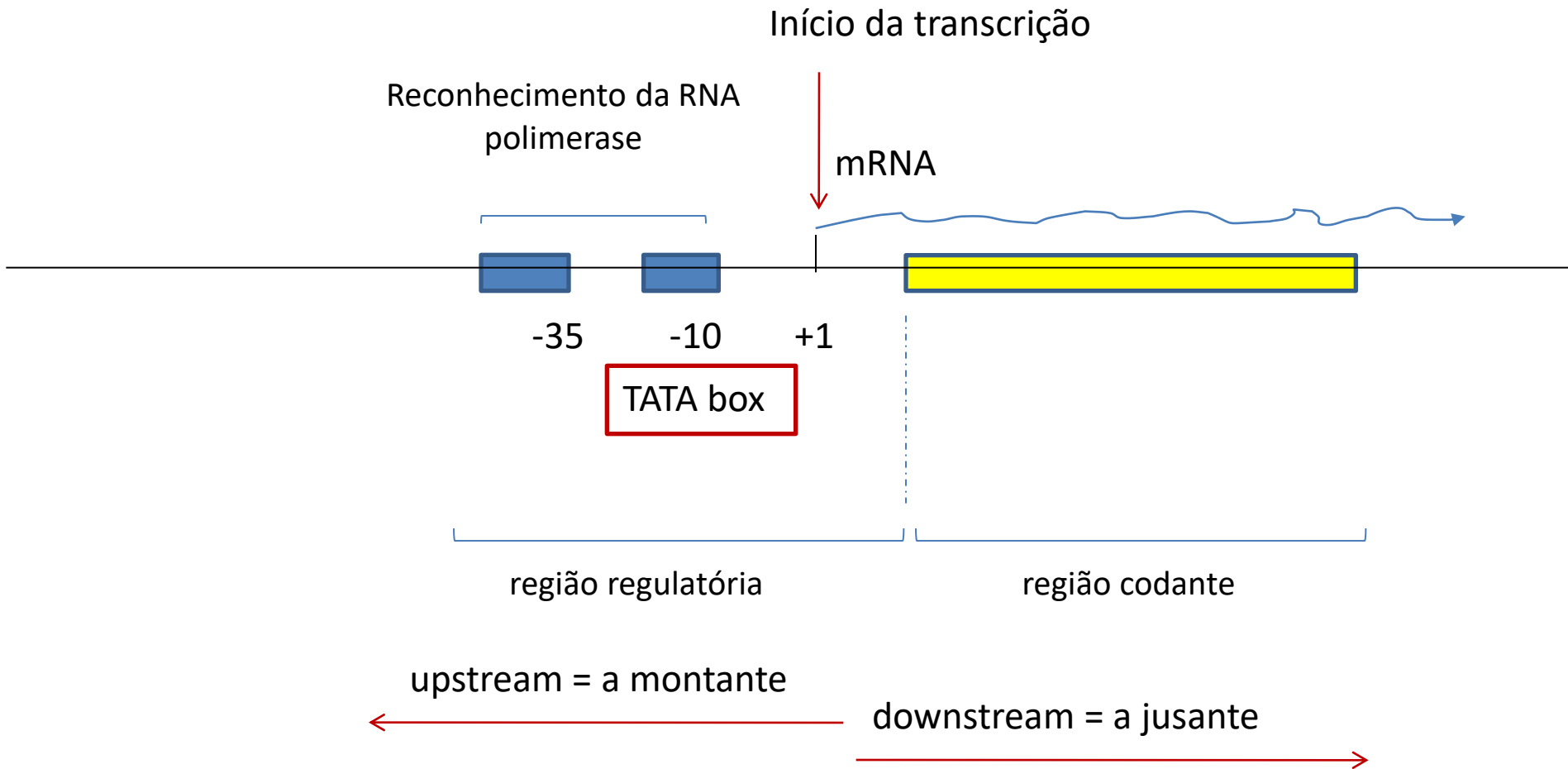
1. Os precursores são **ribonucleotídeos**;
2. Apenas **1 fita de DNA** é utilizada como **molde** para a síntese de RNA complementar;
3. As cadeias de RNA são sintetizadas **sem** a necessidade de um filamento *primer* preexistente (atuação da **RNA polimerase**);
4. Síntese é **complementar ao DNA**, 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.

ESTRUTURA DO PROMOTOR EM PROCARIOTOS

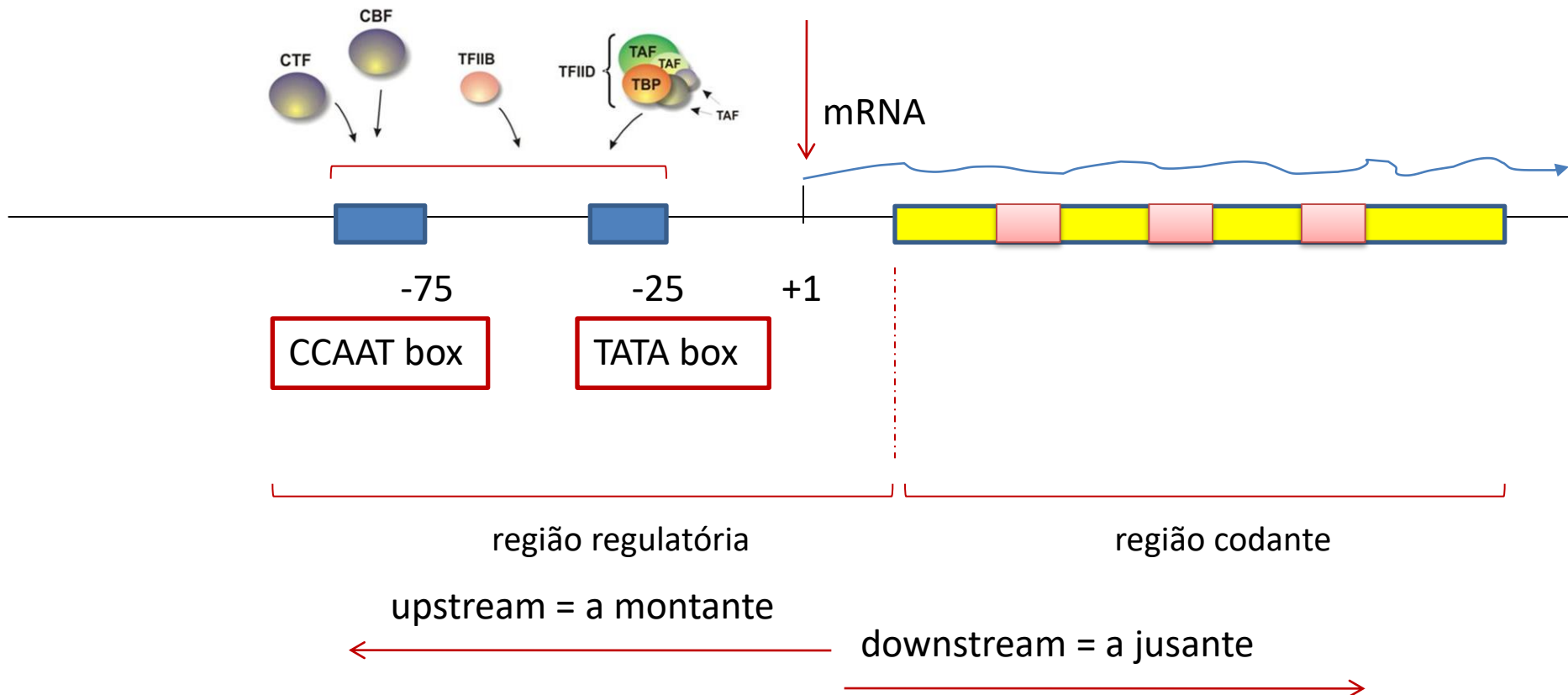


ESTRUTURA DO PROMOTOR EM EUCARIOTOS

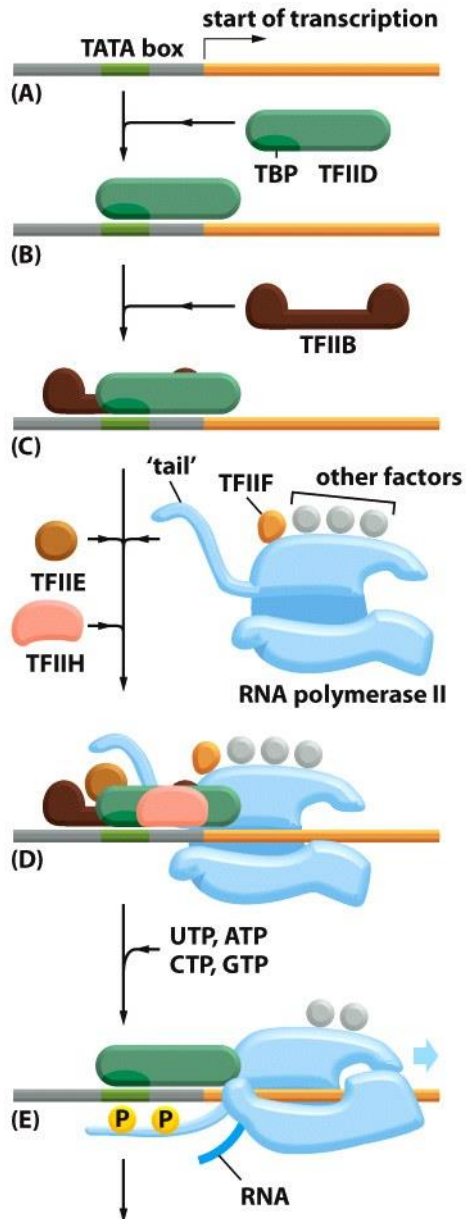
Reconhecimento da RNA polimerase

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Início da transcrição



AÇÃO DOS FATORES DE INICIAÇÃO



TRANSCRIPTION

Figure 7-12 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

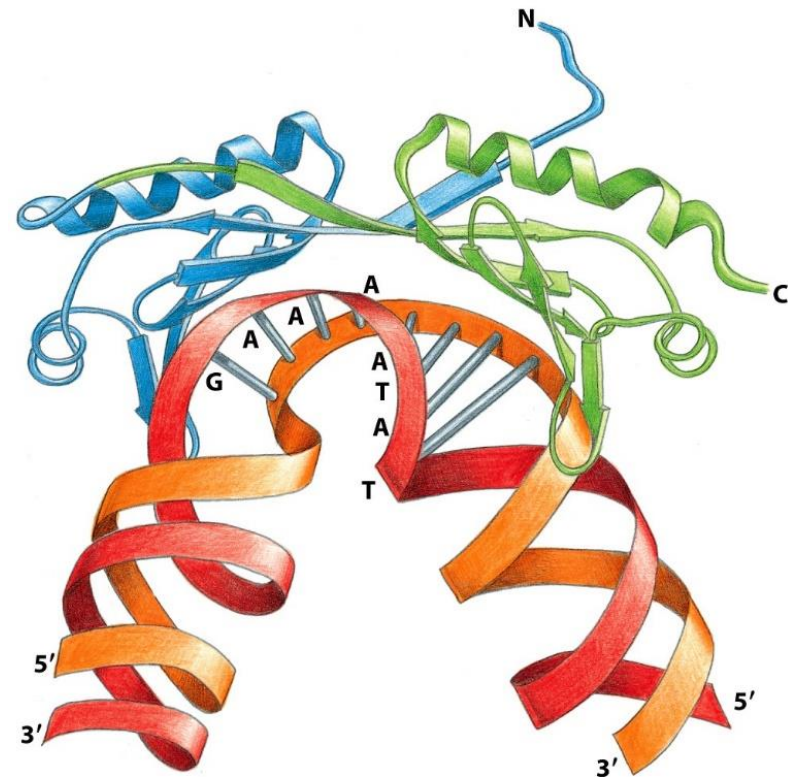
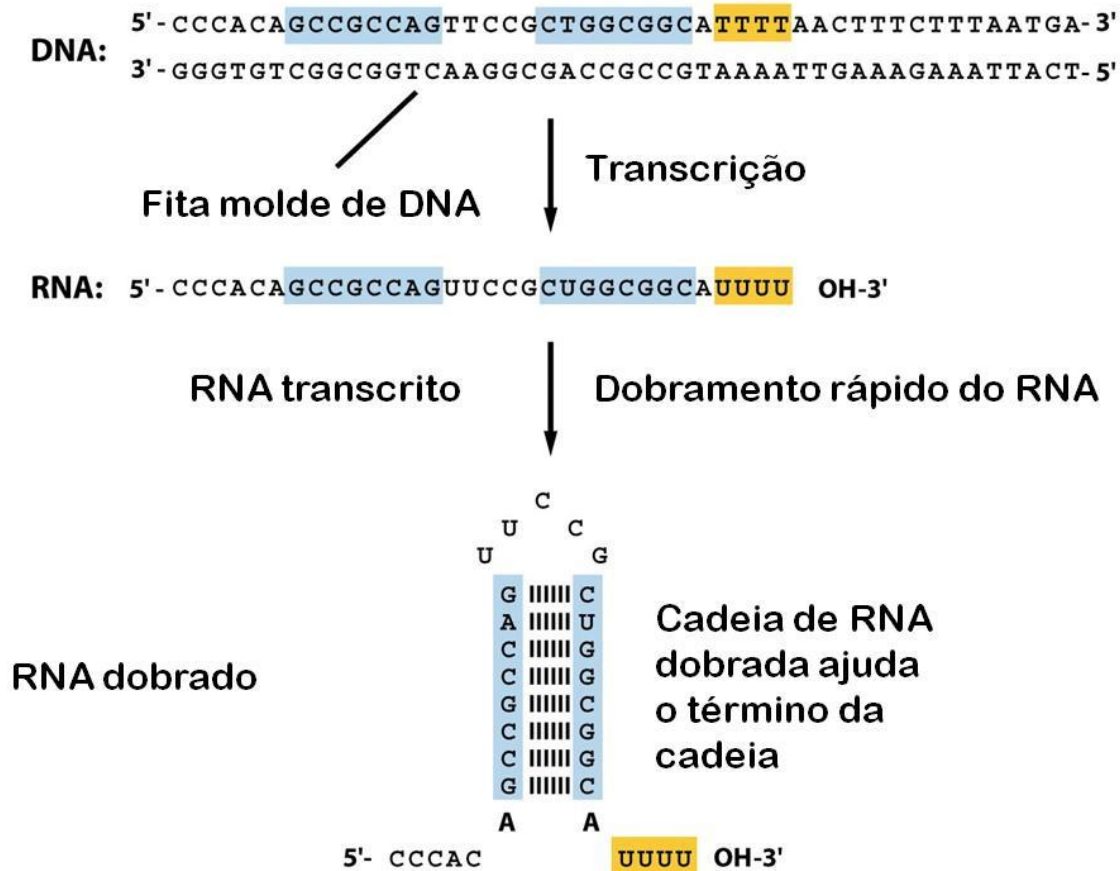


Figure 7-13 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

TERMINO DA TRANSCRIÇÃO

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

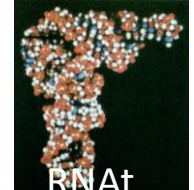
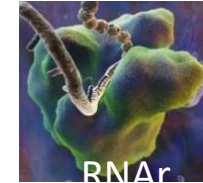


RNAs ENVOLVIDOS NA TRADUÇÃO...

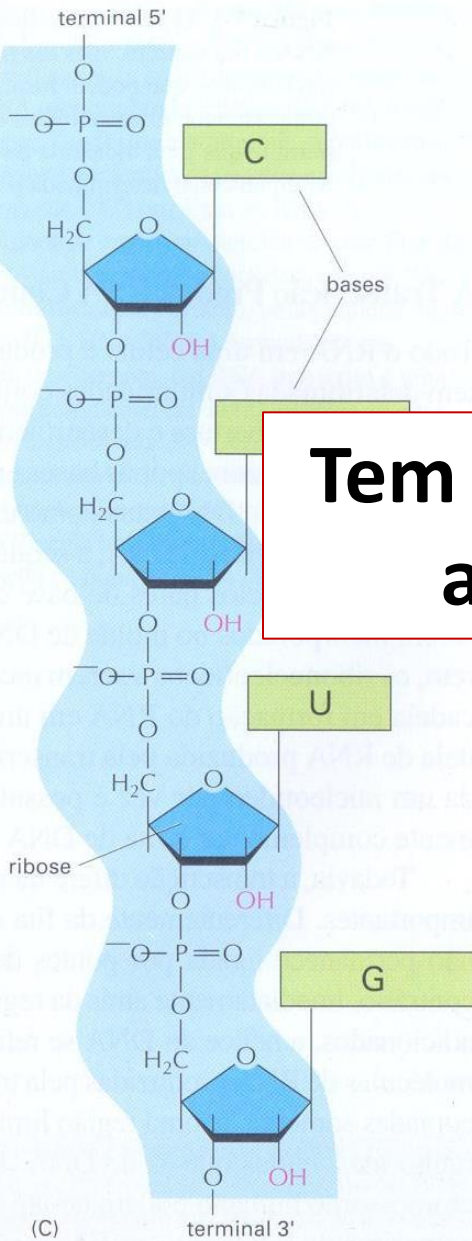
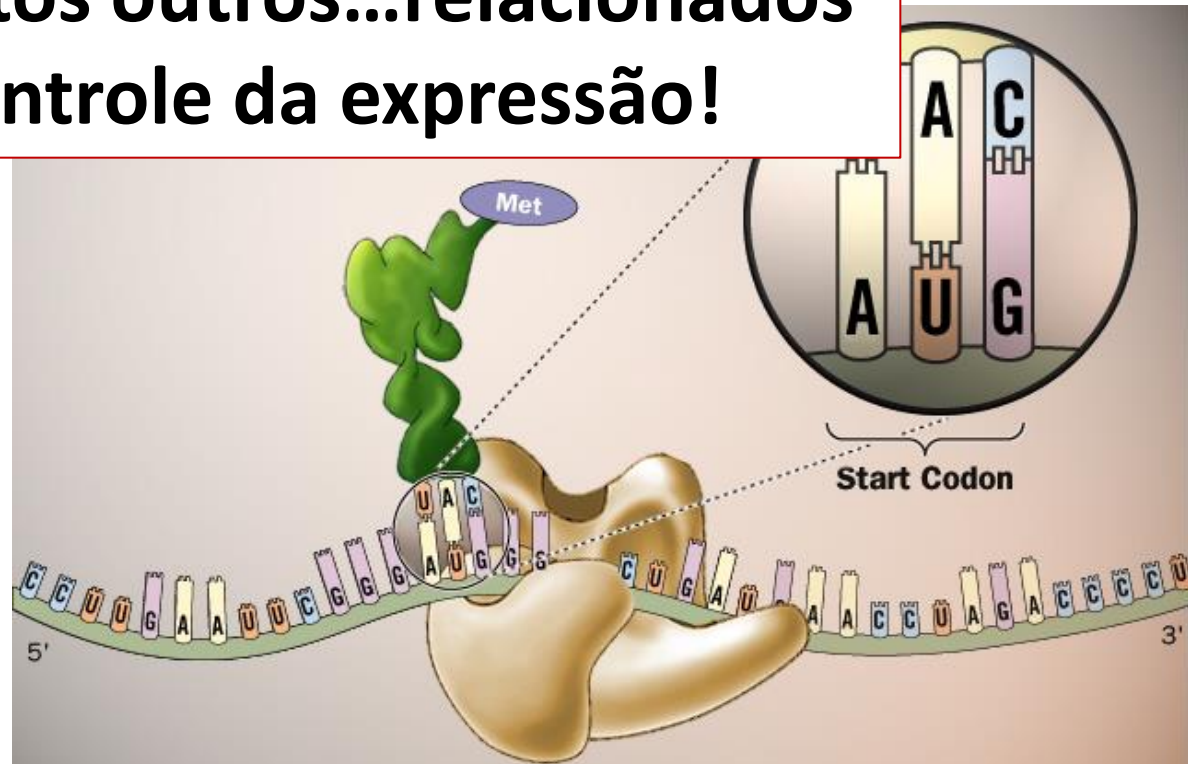
Polímero de 4 tipos de ribonucleotídeos unidos por ligação fosfodiéster, existente como fita simples



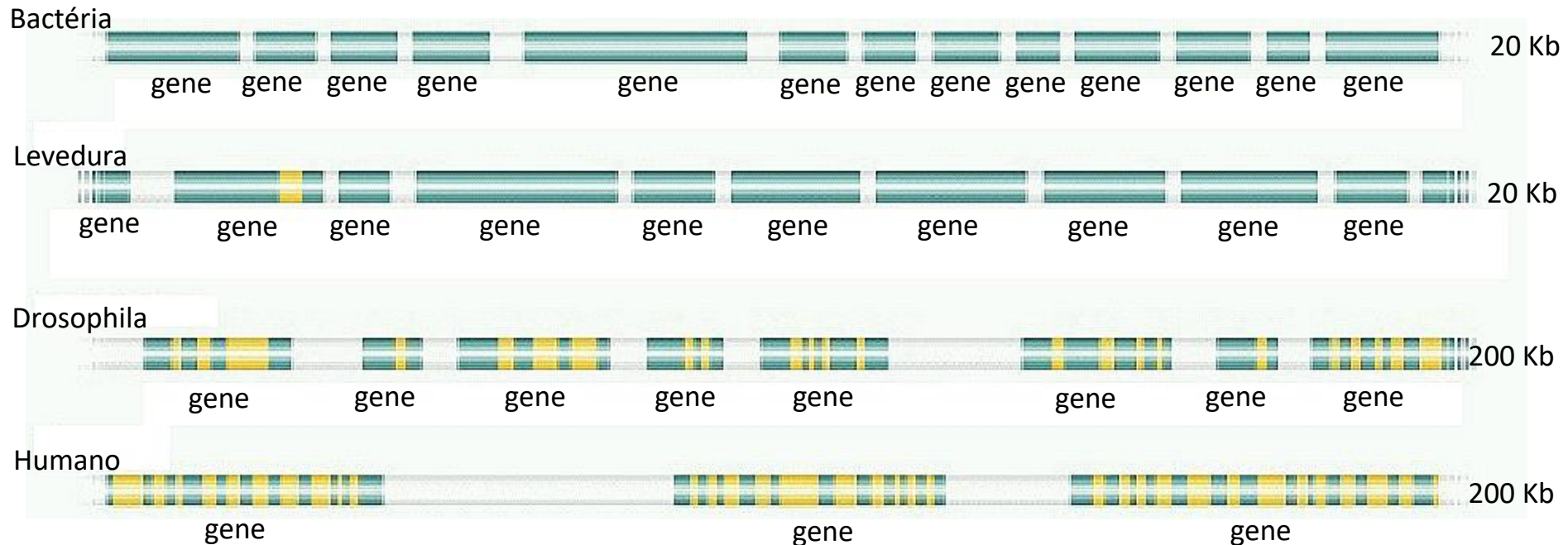
RNA_m



Tem muitos outros...relacionados ao controle da expressão!



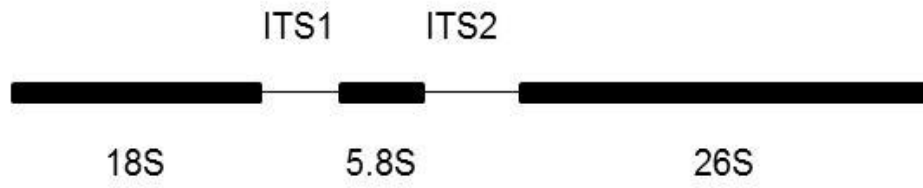
RNA MENSAGEIRO (mRNA)



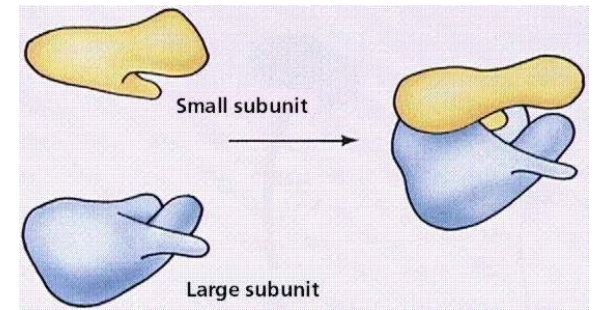
A disposição depende da arquitetura genômica do organismo!

ORGANIZAÇÃO DO AGREGADO GÊNICO DO rRNA DO rRNA

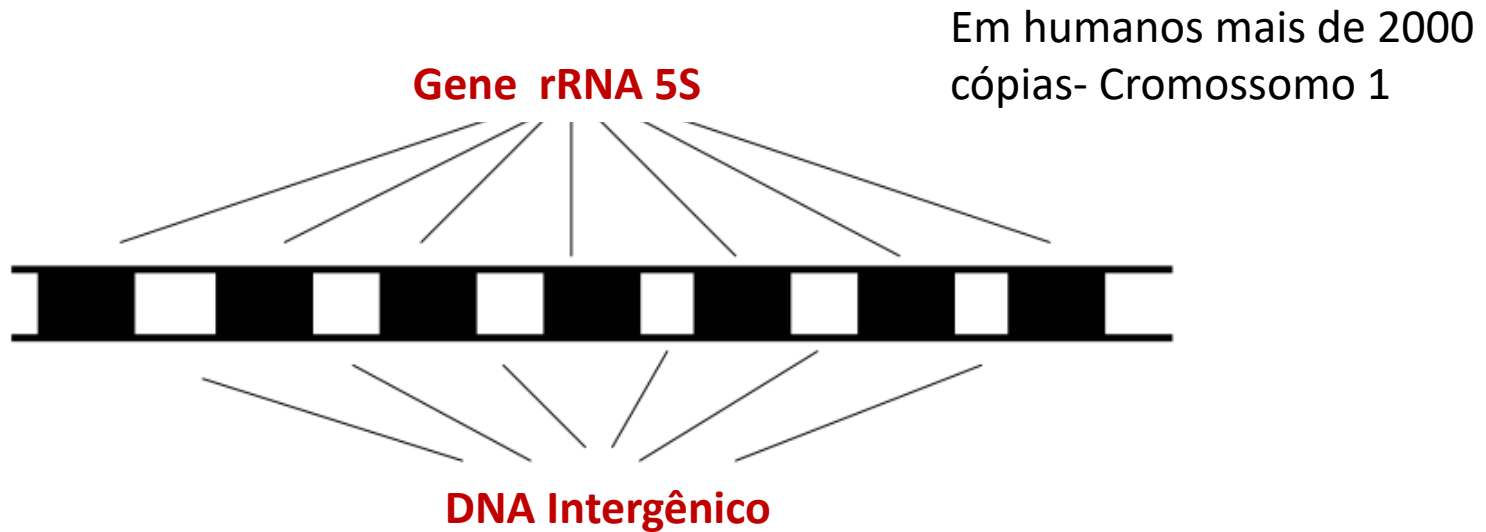
Eucariotos



Procariotos



Mais de 200 cópias em *tandem*!



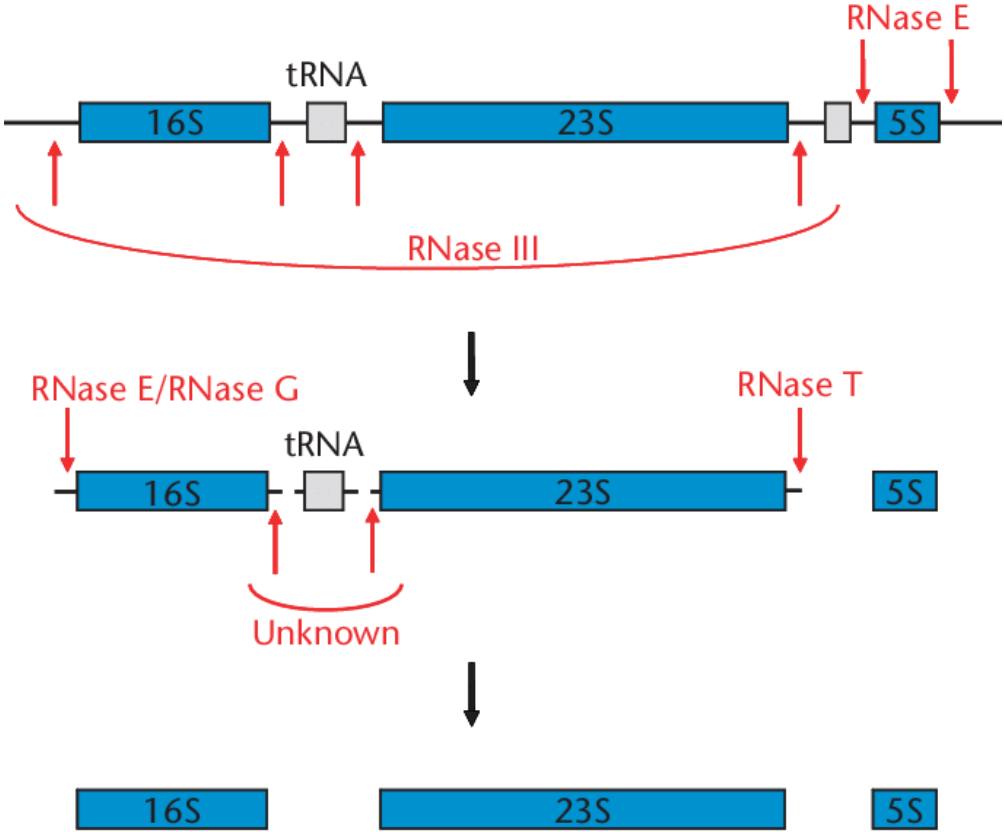
Gene 45S (28 - 5.8 -18S)

Em humanos 50 a 70 cópias por cromossomo (13,14,15,21,22)



Em humanos aproximadamente 13,4 kb

Em bactérias ...



scientific reports

OPEN

Comparison of rRNA depletion methods for efficient bacterial mRNA sequencing

Anika Wahl^{1,2}, Christopher Huptas² & Klaus Neuhaus^{1,3}

Check for updates

Aproximadamente 80% do RNA produzido pelas células é de rRNA

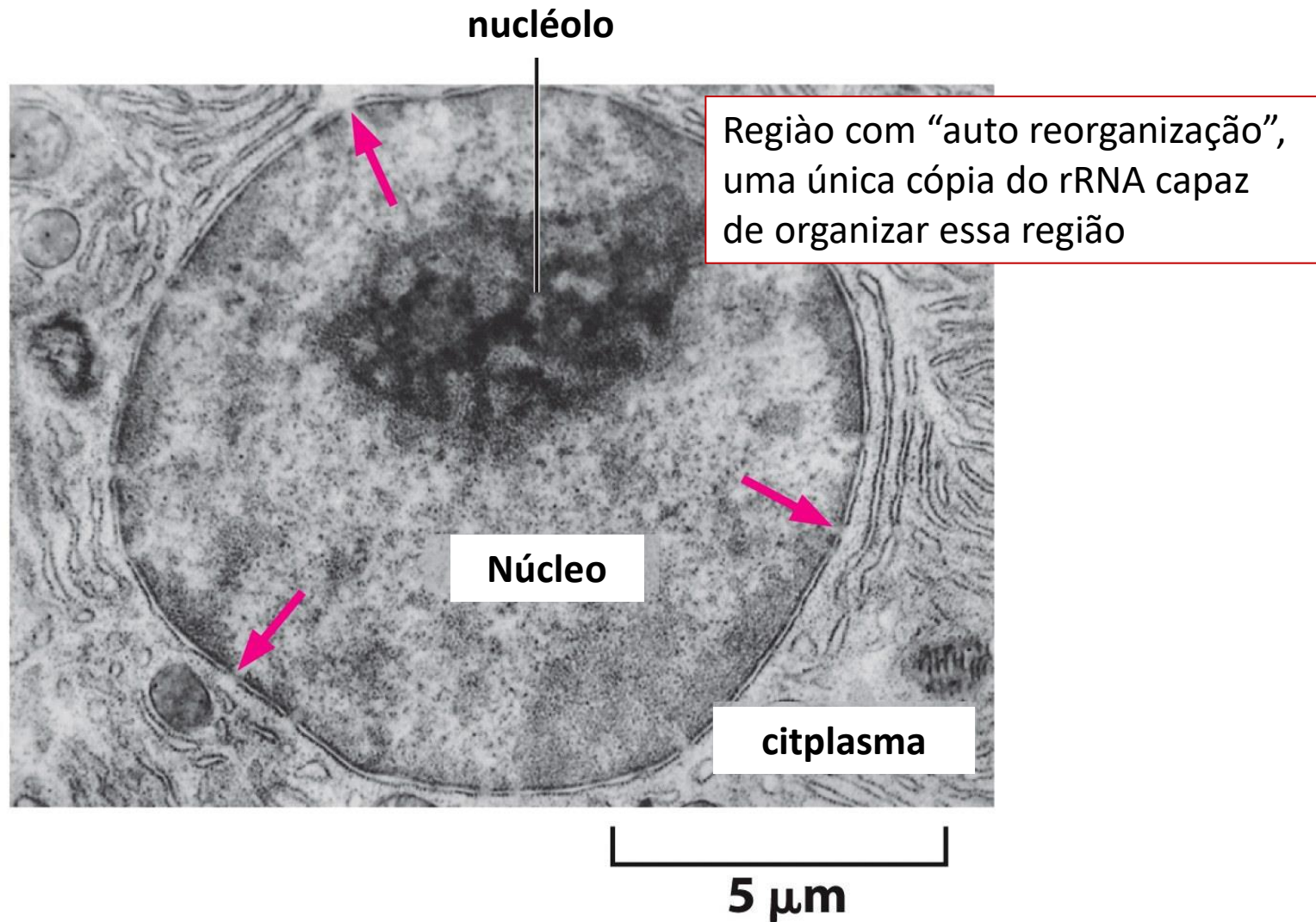
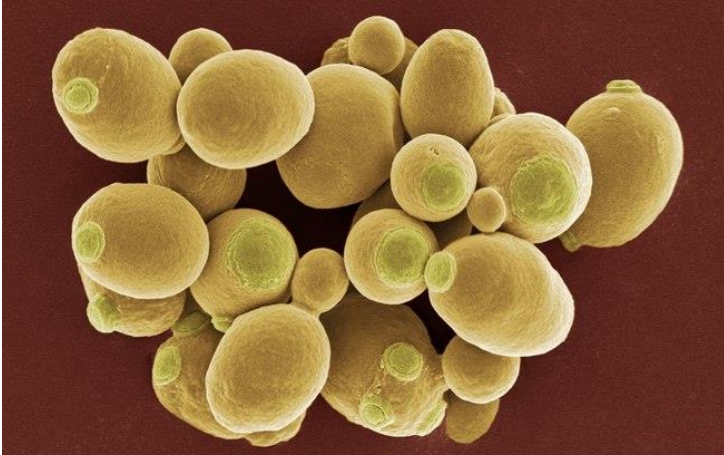


Figure 7-14 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

S. cerevisiae



Pré-rRNA – processado no nucléolo.

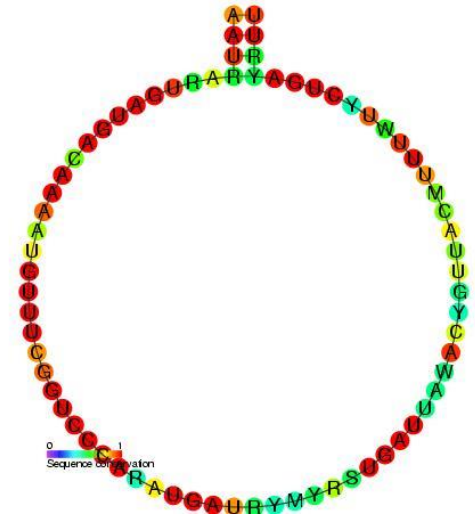
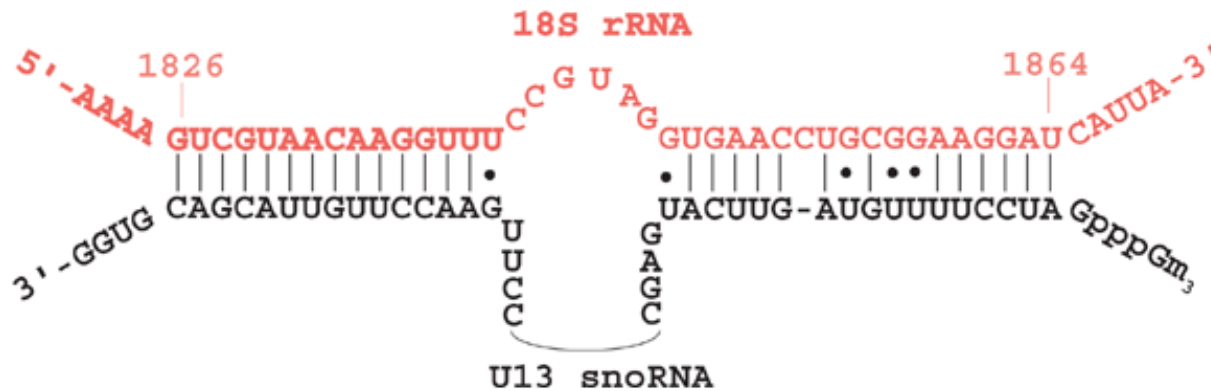
Transcrição – 20 minutos

Ribonucleoproteínas pré-ribossômicas (pré-rRNPs)

10 segundos para processamento

Aproximadamente 40 unidades de ribossomos por segundo

snoRNA – (60 a 1000 pb) – alguns provenientes de introns.
muitas vezes de mRNA não funcionais!



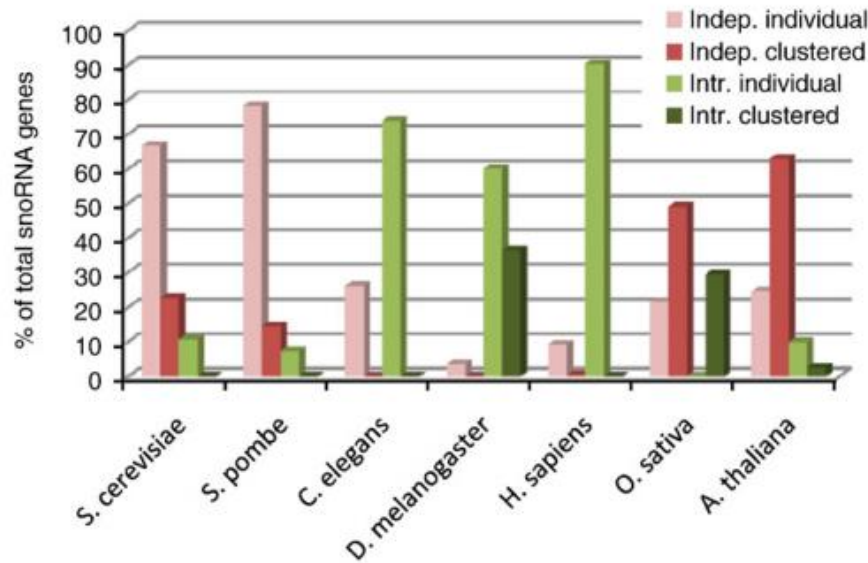


Minireview

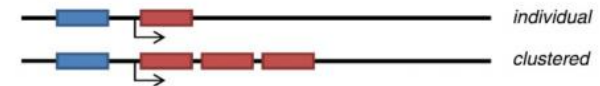
Eukaryotic snoRNAs: A paradigm for gene expression flexibility

Giorgio Dieci^{*}, Milena Preti¹, Barbara Montanini

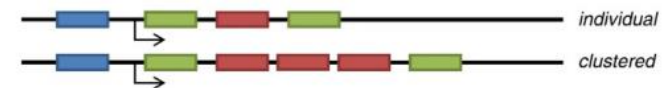
Dipartimento di Biochimica e Biologia Molecolare, Università degli Studi di Parma, Viale G.P. Usberti 23/A, 43100 Parma, Italy



Independent



Intronic



Pol III - dependent

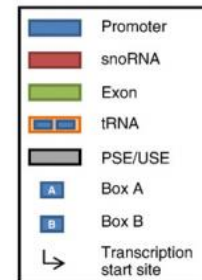


Fig. 2. Distinctive snoRNA gene organizations in eukaryotic genomes. The plot, based on Table 1 data, reports the frequency of occurrence of the different types of snoRNA gene organization in each of the genomes indicated on the x axis.

Plant snoRNAs: functional evolution and new modes of gene expression

John W.S. Brown¹, Manuel Echeverria² and Liang-Hu Qu³

¹Gene Expression Programme, Scottish Crop Research Institute, Invergowrie, Dundee DD2 5DA, UK

²Laboratoire Génomique et Développement des Plantes, UMR CNRS 5096, Université de Perpignan, 66860 Perpignan, France

³Key Laboratory of Gene Engineering of the Ministry of Education, Biotechnology Research Centre, Zhongshan University, Guangzhou 510275, People's Republic of China

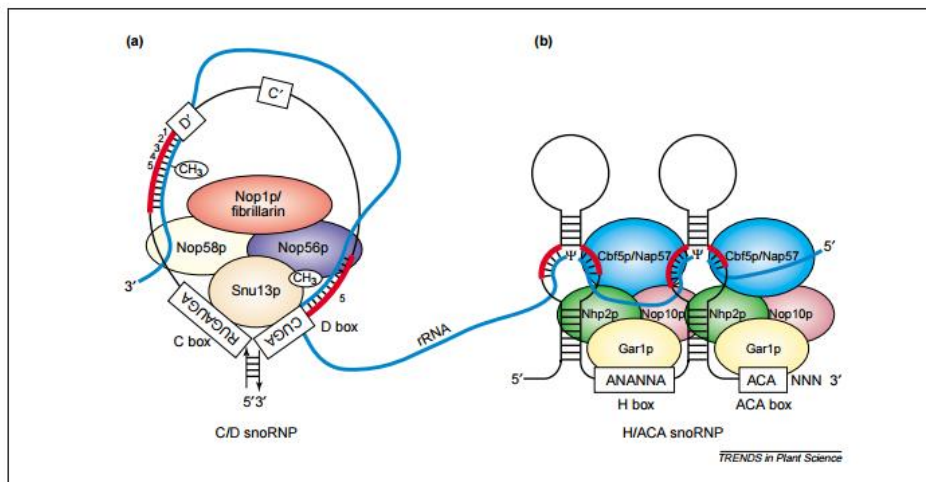


Table 1. rRNA modification in eukaryotes and prokaryotes

Organism	Methylated nucleotides	Known box-C/D snoRNAs	Pseudouridines	Known box-H/ACA snoRNAs	Methylase	Pseudouridine synthase
<i>Escherichia coli</i>	4 [2]	0	10	0	Specific methylases	Specific synthases
Archaea	67	46 [7]	4	ND	Nop1p h [14]	ND
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	~55 [2]	41 [35]	~45 [2]	19	Nop1p [1,14]	Cbf5p [19]
<i>Homo sapiens</i>	~107 [2]	47	93	13	Fibrillarin [9-11]	NAP57 [9-11]
<i>Arabidopsis</i>	~120 ^a	97	>100 ^a	2 ^b	AtFib [22]	AtNAP57 [23]

Abbreviations: ND, not determined; snoRNA, small nucleolar RNA.

^aThe number of modified residues in *Arabidopsis* is estimated based on data obtained in wheat and *Acer* [16,17].

^bSeveral box-H/ACA snoRNAs have now been isolated (A. Hüttenhofer, pers. commun.).

MONTANDO A MAQUINÁRIA DE TRADUÇÃO

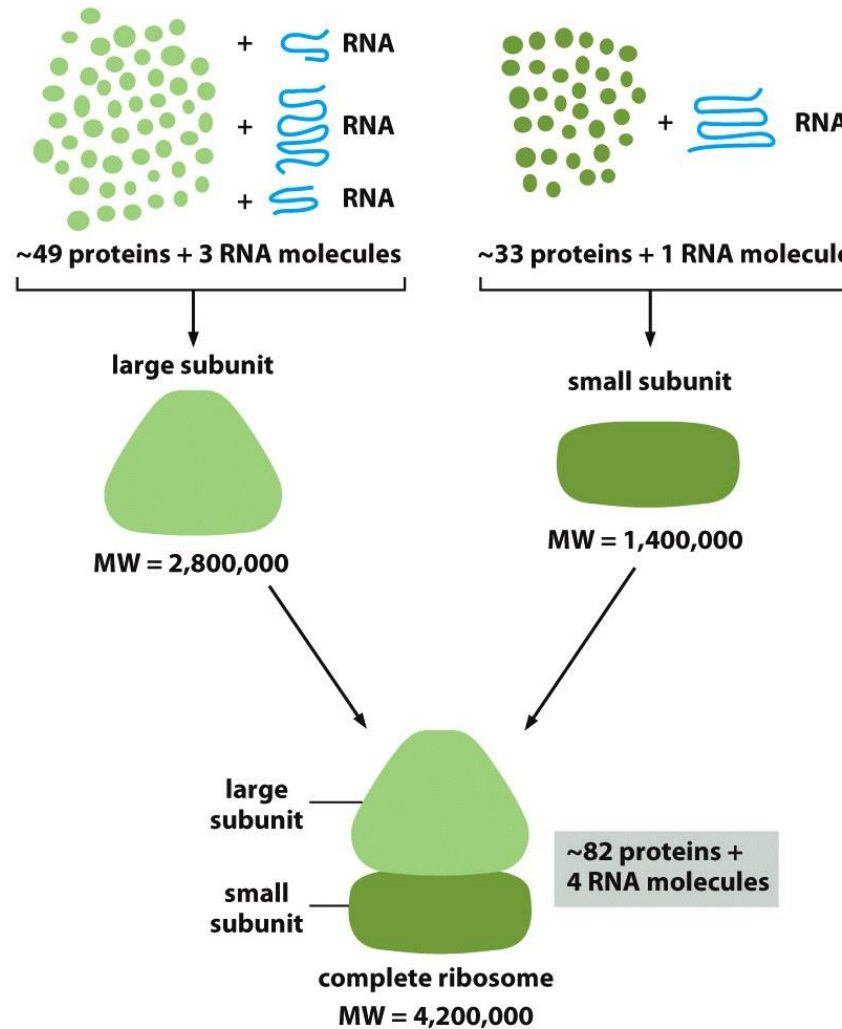


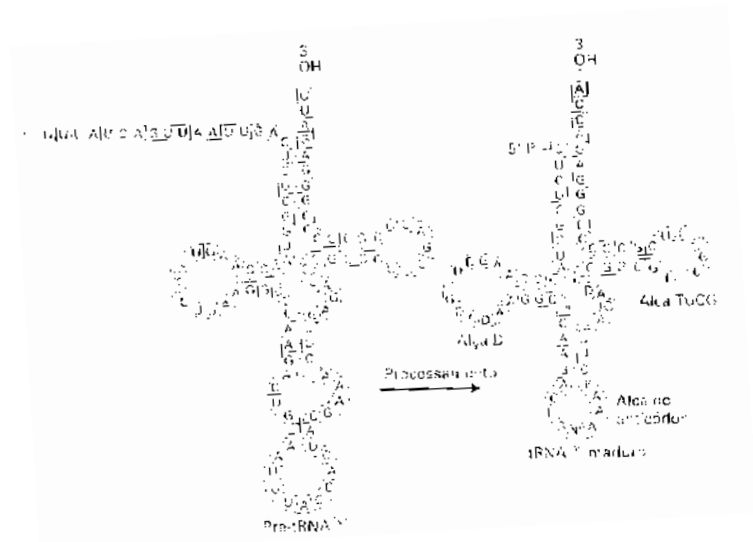
Figure 7-31 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

PROCESSAMENTO DO tRNA

- 1- Substituição do residuo U' da extremidade 3' por CCA
- 2- Grupamentos metila e isopentenil de purinas e metilação no OH (2') de diferentes bases
- 3 - Conversão de uridinas em pseudourinas e/ou di-hidrouridinas

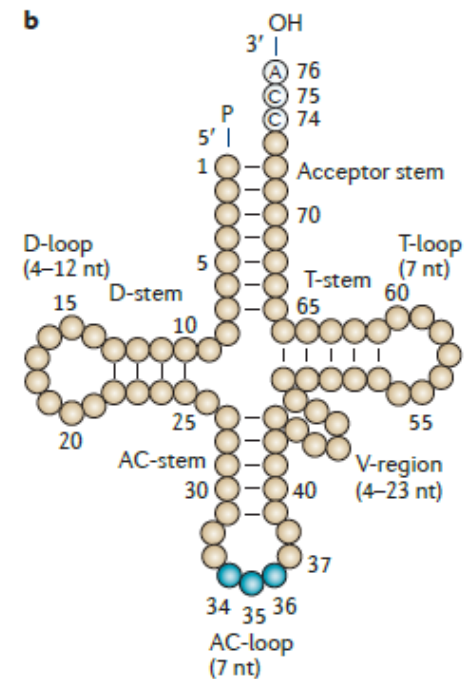
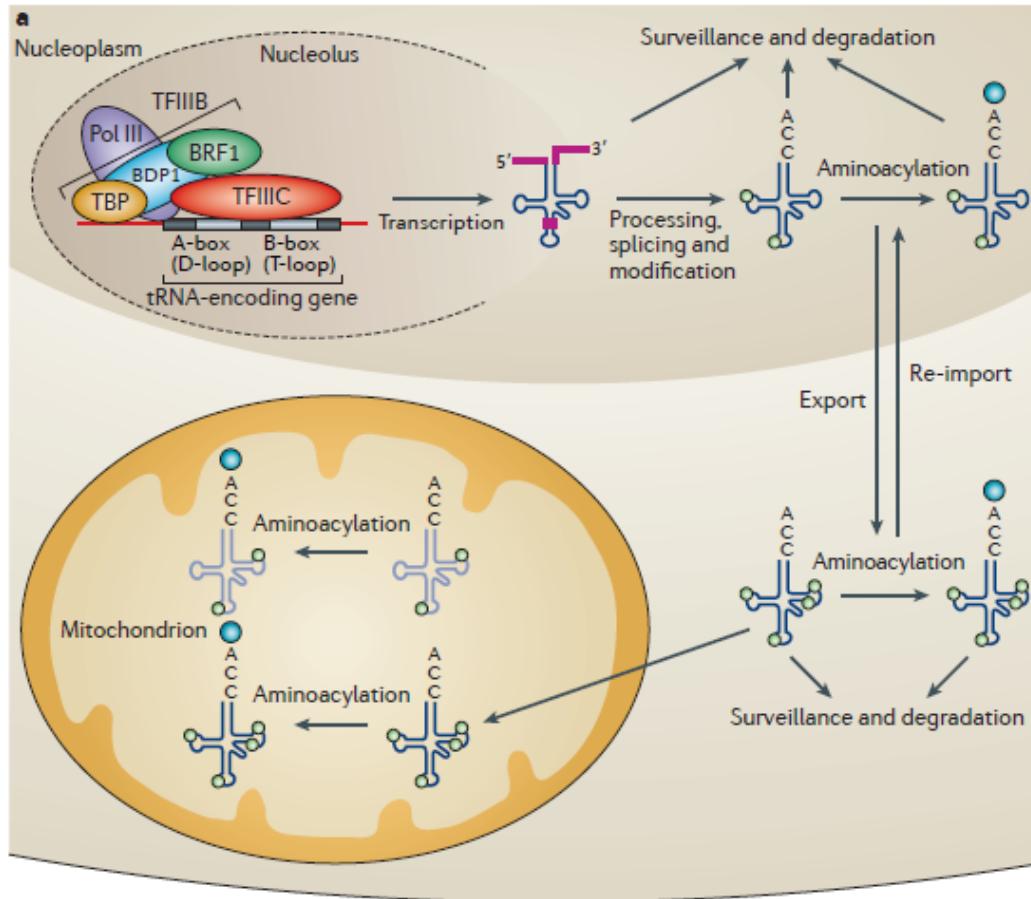
Também ocorre *splicing* – mas não mediado por RNA!

**Altamente conservado:
importância evolutiva**



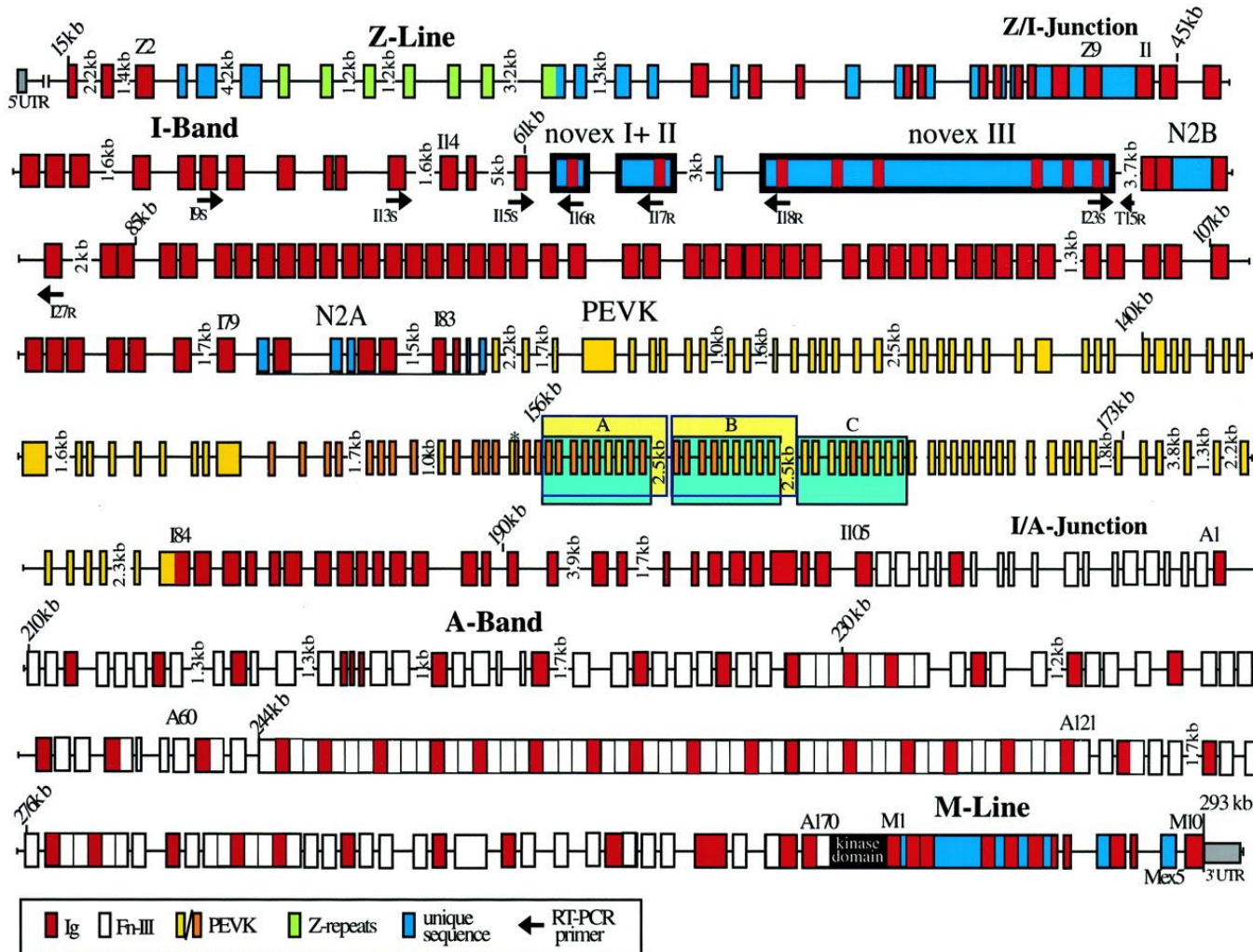
Emerging roles of tRNA in adaptive translation, signalling dynamics and disease

Sebastian Kirchner^{1,2} and Zoya Ignatova^{1,3}



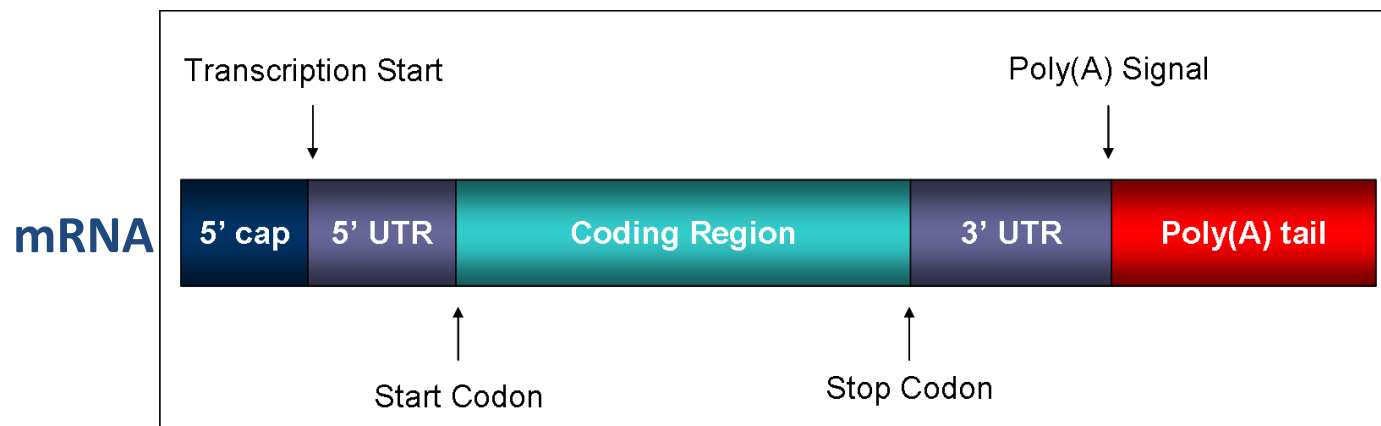
E o RNA mensageiro?

RNA polimerase II - 1kb por minuto – aproximadamente 30 minutos!!



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**.



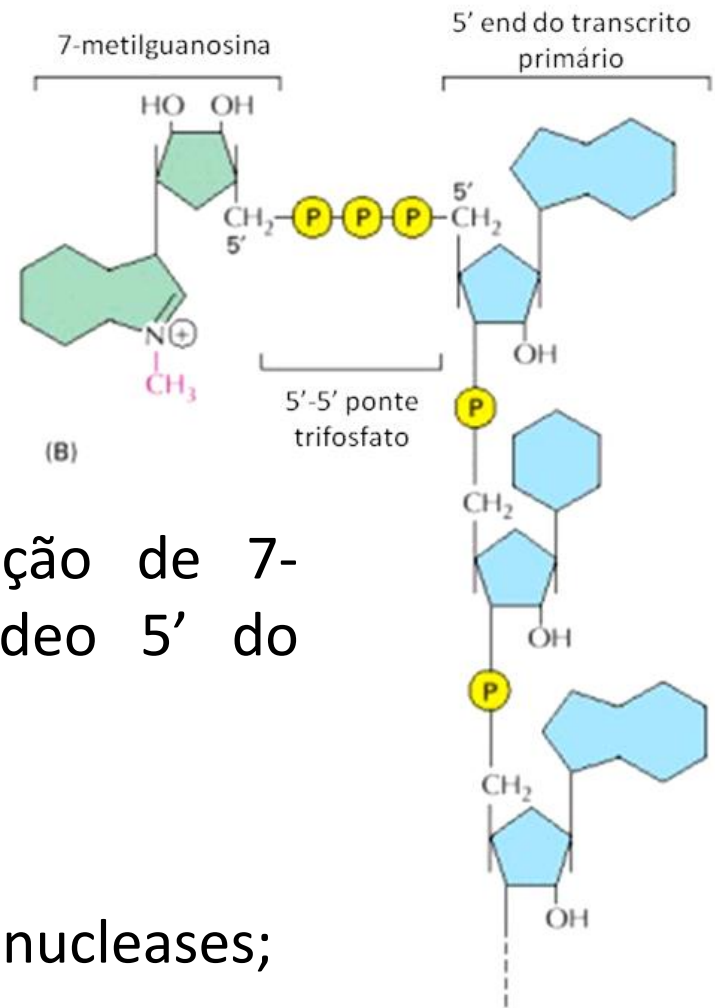
PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO

Capeamento:

Logo após a transcrição, há a ligação de 7-metilguanósina ao primeiro nucleotídeo 5' do transcrito de RNA.

FUNÇÕES:

- . Proteger o transcrito do ataque de exonucleases;
- . Facilitar transporte para citoplasma;
- . Auxilia o encaixe dos ribossomos no mRNA.



PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO

Poliadenilação:

Após o término da transcrição – clivagem terminal do RNA;
Adição de aproximadamente 200 resíduos de adenilato (AMP)

FUNÇÕES:

- . Facilitar transporte para o citoplasma;
- . Estabilizar o mRNA;
- . Facilitar a tradução.

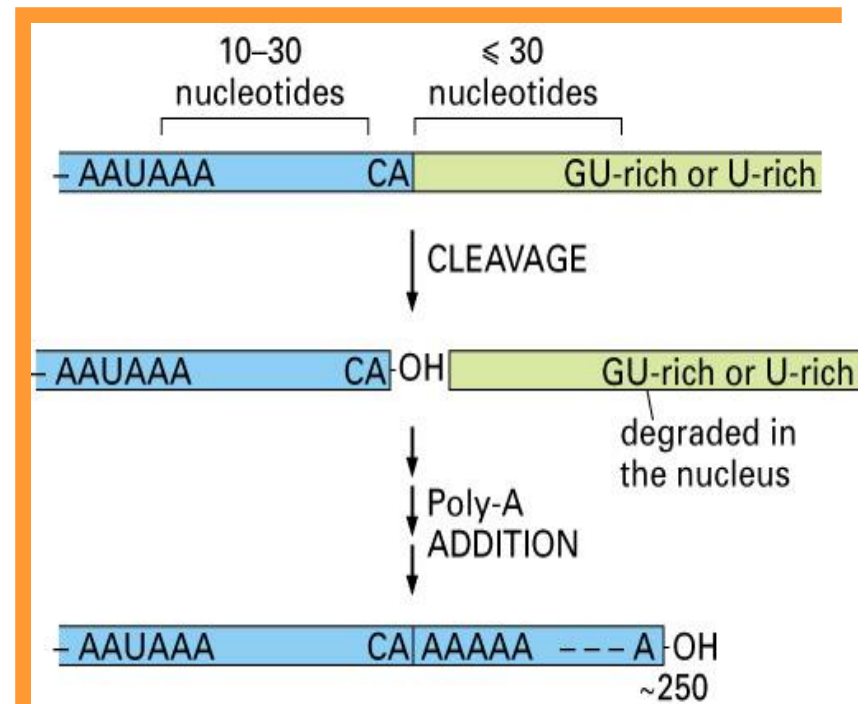
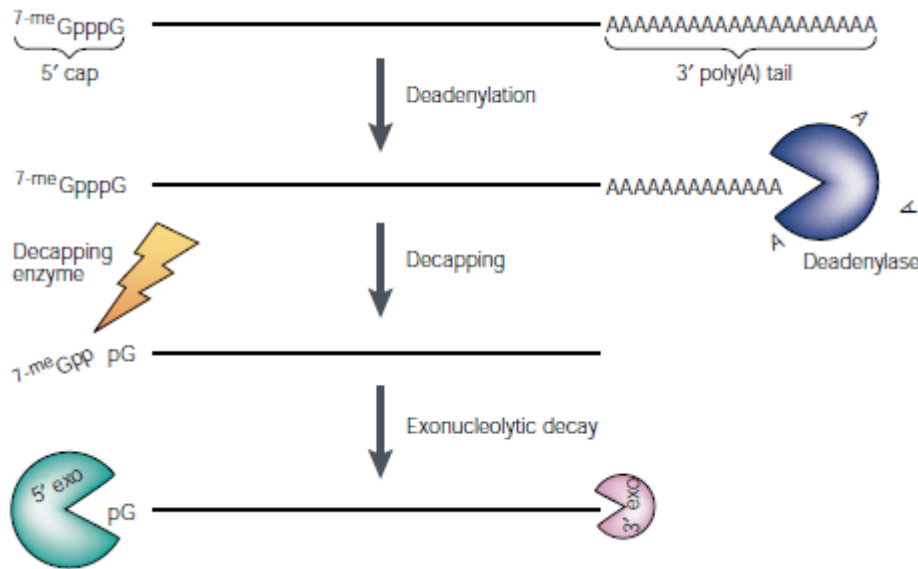
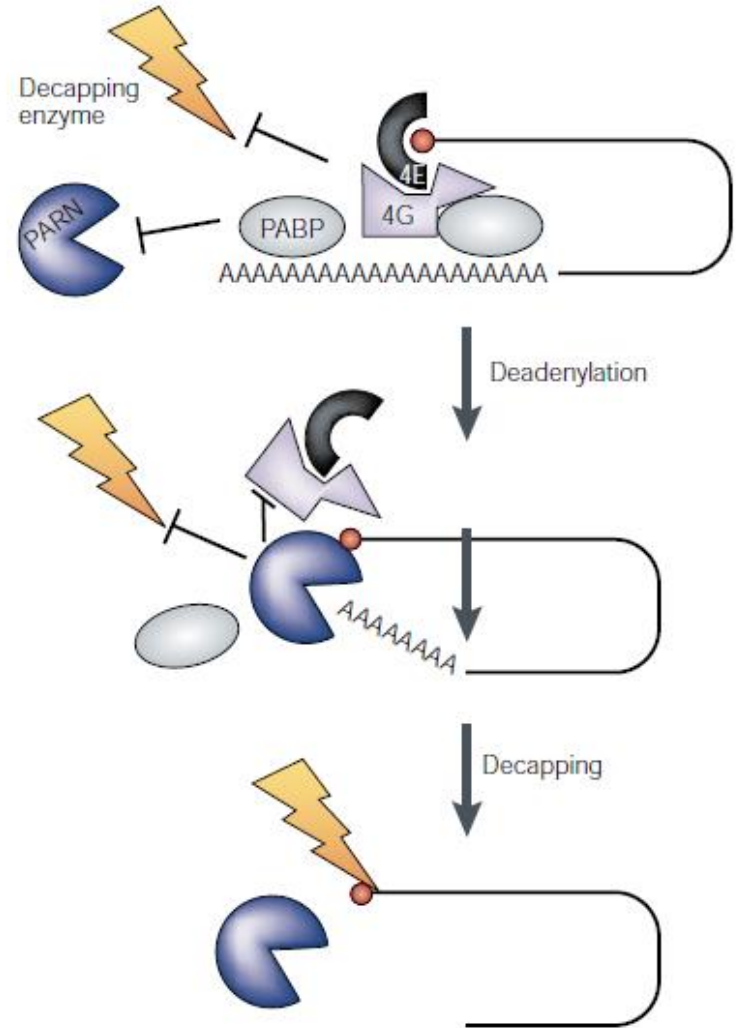


Figure 6–37. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

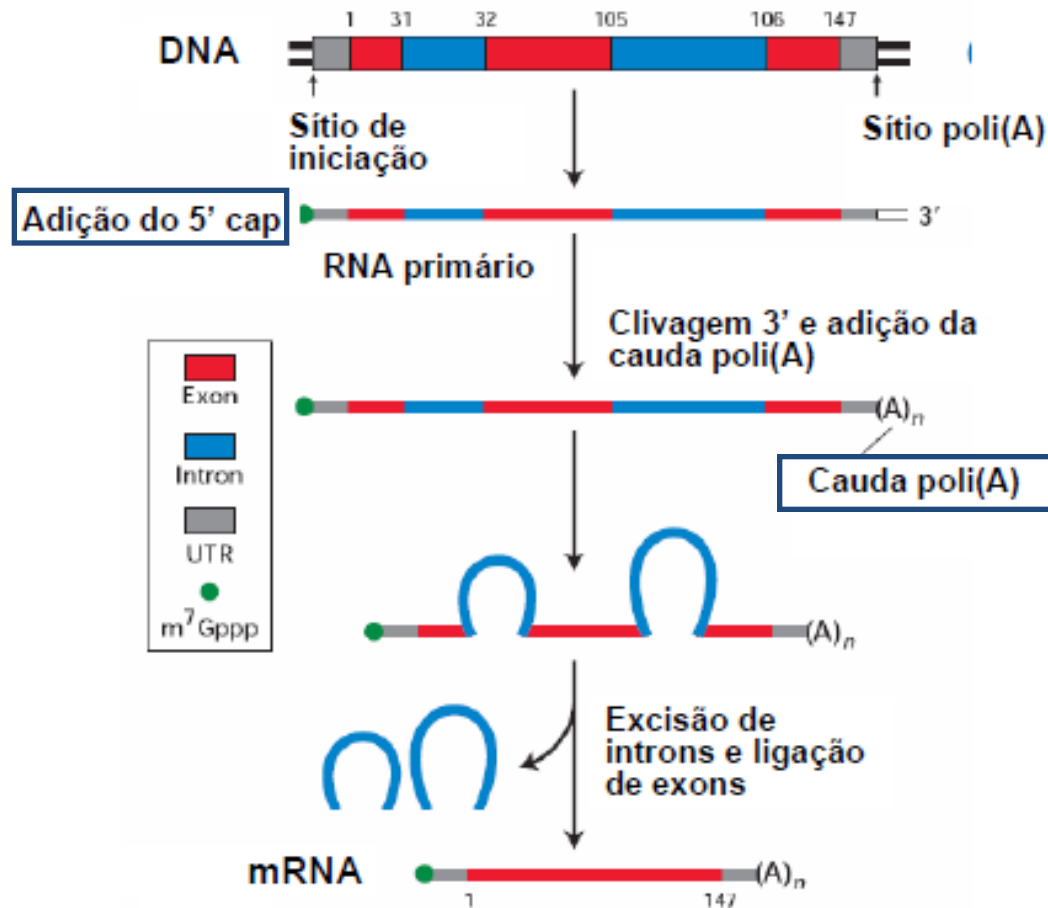
THE CAP-TO-TAIL GUIDE TO mRNA TURNOVER

Carol J. Wilusz, Michael Wormington*† and Stuart W. Peltz*†*



PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO

Splicing



Sequências específicas e snRNA (small nuclear RNA – pequenos RNA nucleares) auxiliam junto a proteínas (RPN) na retirada do introns

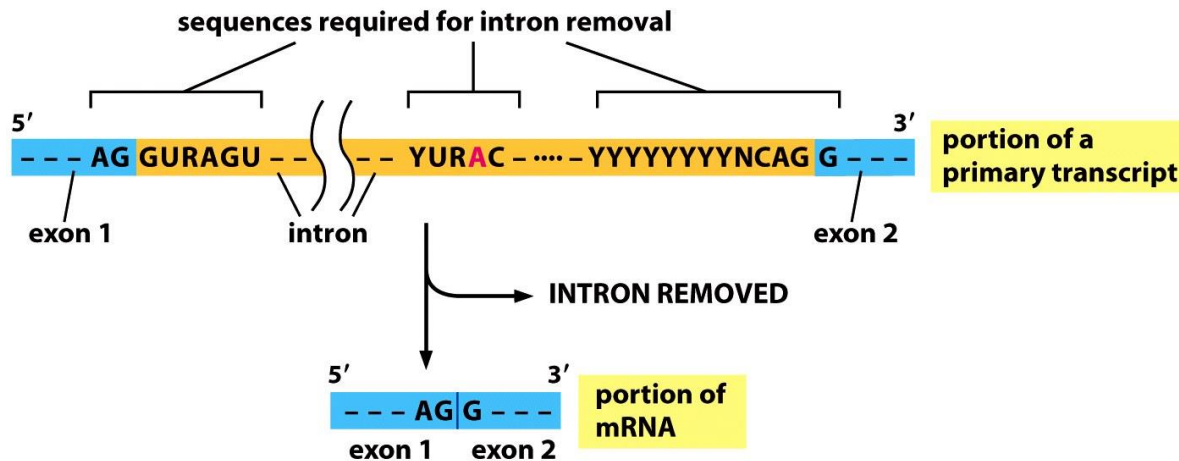


Figure 7-19 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

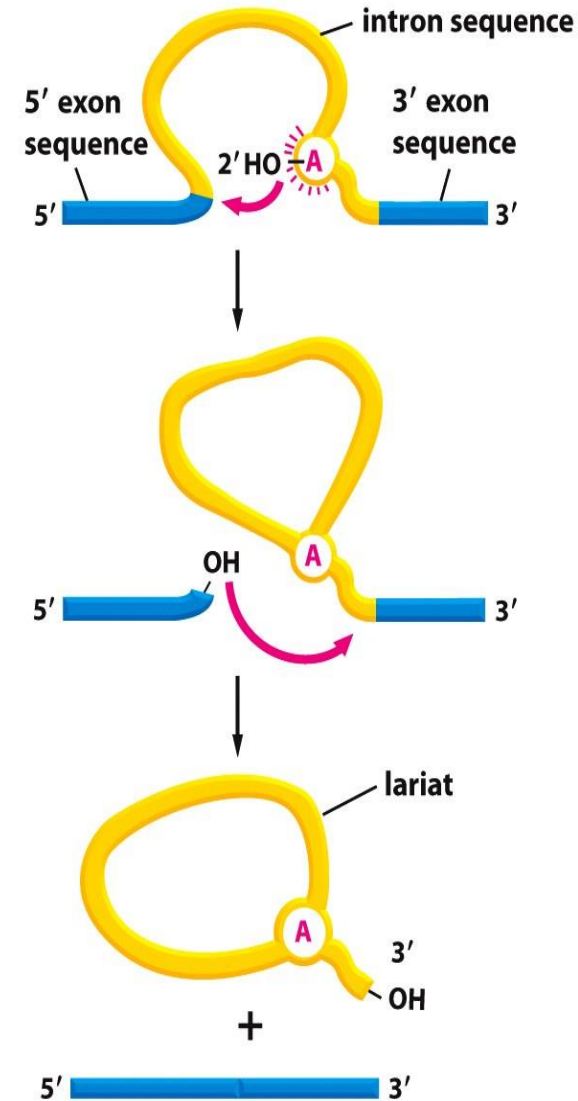
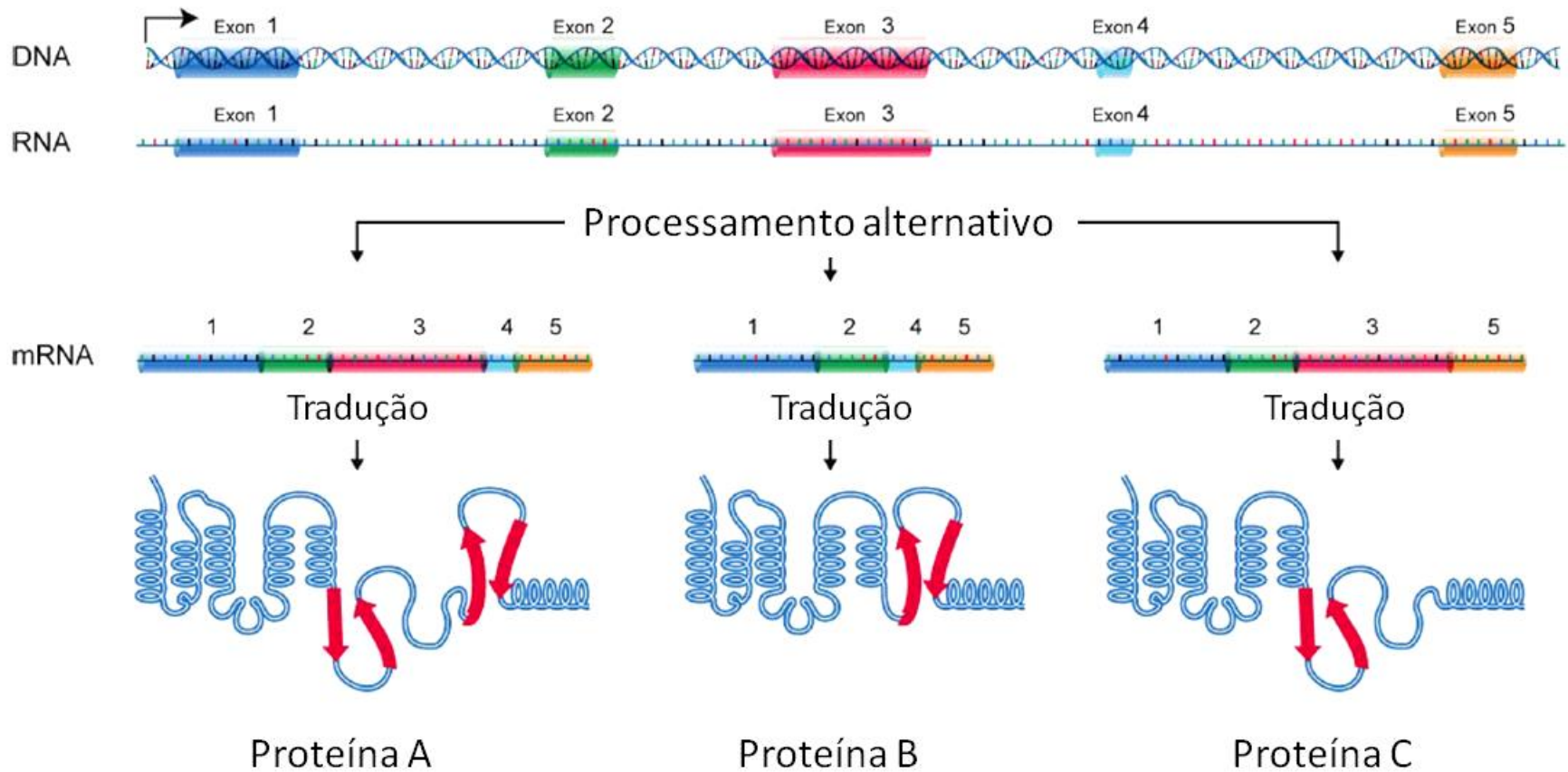


Figure 7-20 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)




SPLICING ALTERNATIVO GERANDO DIVERSAS PROTEÍNAS



REVIEWS



Nascent RNA analyses: tracking transcription and its regulation

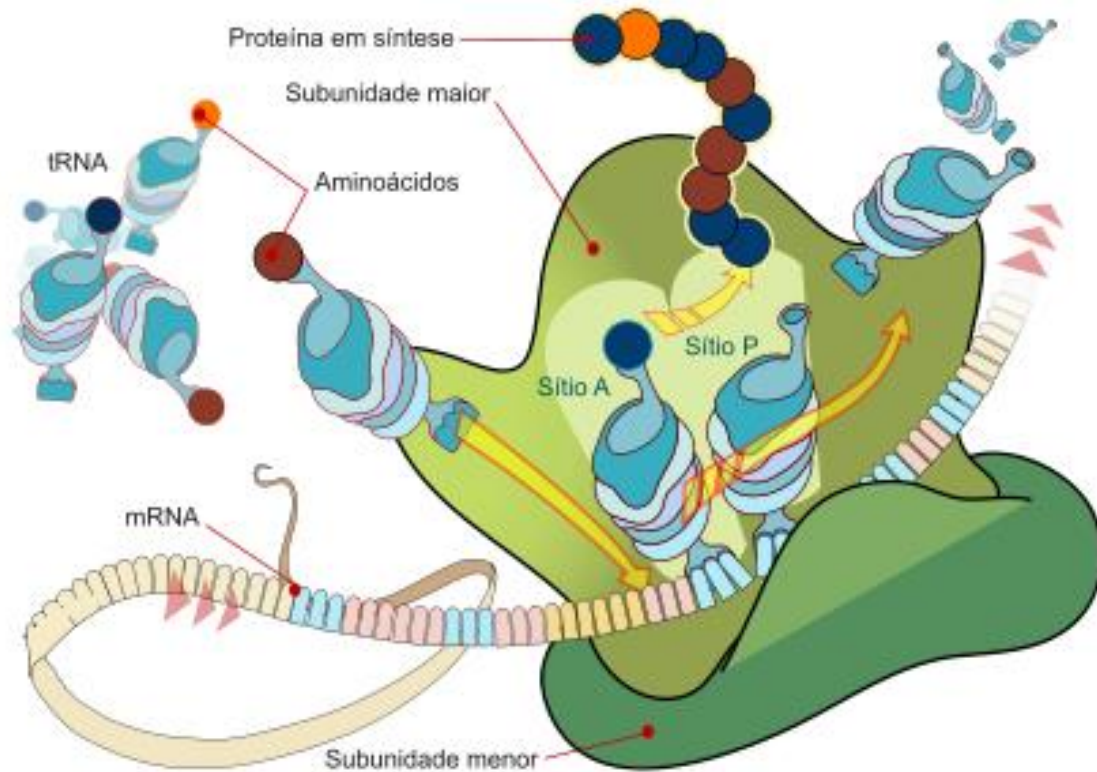
Erin M. Wissink ^{1,3}, Anniina Vihervaara ^{1,3}, Nathaniel D. Tippens^{1,2} and John T. Lis ^{1*}

Abstract | The programmes that direct an organism's development and maintenance are encoded in its genome. Decoding of this information begins with regulated transcription of genomic DNA into RNA. Although transcription and its control can be tracked indirectly by measuring stable RNAs, it is only by directly measuring nascent RNAs that the immediate regulatory changes in response to developmental, environmental, disease and metabolic signals are revealed. Multiple complementary methods have been developed to quantitatively track nascent transcription genome-wide at nucleotide resolution, all of which have contributed novel insights into the mechanisms of gene regulation and transcription-coupled RNA processing. Here we critically evaluate the array of strategies used for investigating nascent transcription and discuss the recent conceptual advances they have provided.

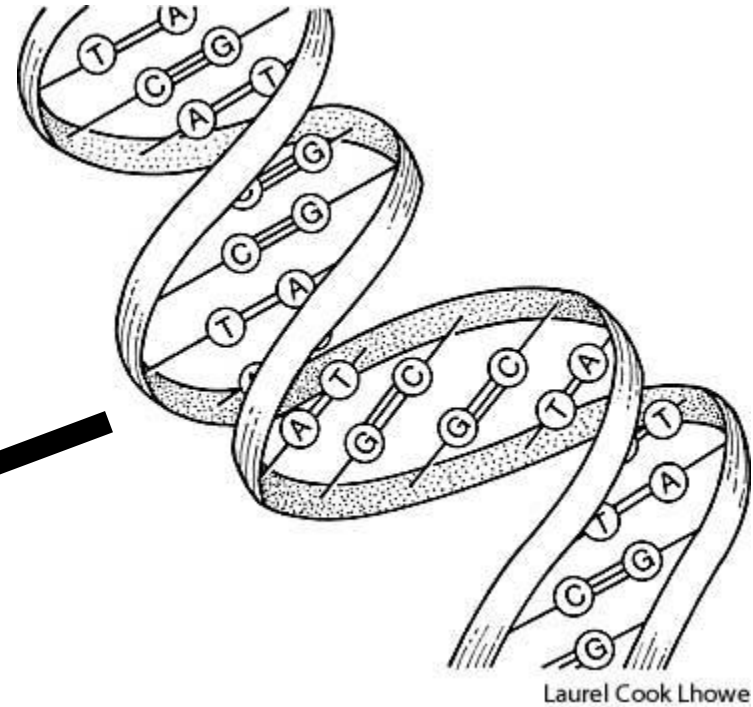
Vamos fazer um glossário....

TRADUÇÃO

Processo altamente conservado no qual as proteínas são sintetizadas a partir dos moldes de mRNA com auxílio de RNA estruturais.



TRADUÇÃO



Interpretação

```
AAGTCCTTTTAAATAAATAATTCTAGCTATATTTGCAAC
GTTGGAAAATTAGCTATTCTAATGTTATCGAAAGAAGAA
CACAGTTACTTAGTTTCTCGGCAAATATATCAAAATGA
GAAGGTGAAAGAGTGGCATAATGATAAGCAAATCTGAAA
ATTTTTGGTATAATAATCTTGATTGAAATTTGAATGGA
GTAGGCTTACCAAATGTTGGTAAATCAACCTTATTTAAC
ATTATCCTTTTGC GACTATTGATCCCAATGTTGGTATGG
GACAGAATTGATTACACCTAAAAAACAGTTCCGACAAC
AAAGGTGCTTCTAGAGGGGAAGGTCTAGGAAATAAATTT
TTCATGTGGTACGTGCTTTTGTGATGAAAATGTCATGC
TCCTATAGCAGATATTGACACTATTAATCTTGAATTAAT
TATGCGCGTGTGAAAAAATGGCACGAACTCAAAAAGAT
AAAAGATTAACCTGTTTTGGAAGATGGGAAATCAGCTA
AGTTGTTAAAGGTCTCTTTTTATTAACAACCTAACCTGT
GTTGCTAATCTAGATGGTATTGATTATGTCAAACAAATT
TAGTTGTTATCTCAGCGCGTGCAGAAGAAGAAATTTAG
GGAAGCTATCGGTCTTACTGAATCAGGCGTTGATAAATT
GGAACCTATTTTACAGCAGGTGAAAAAGAGGTTCTGTCT
AAGCTGCTGGTATTATCCATTGAGATTTTAAAAGAGGTT
```

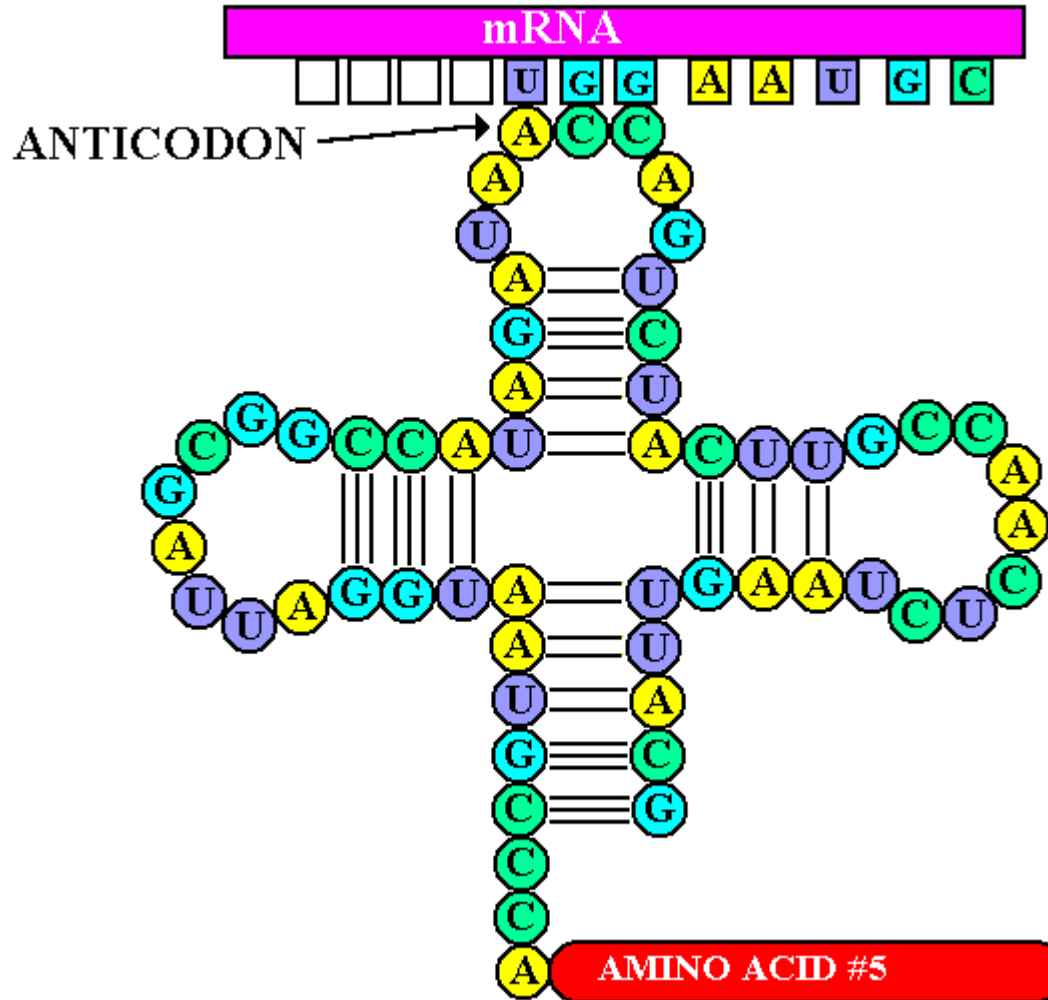
Colocar em outra linguagem!!

Met -Lys -Trp...

CARACTERÍSTICAS GERAIS DA TRADUÇÃO

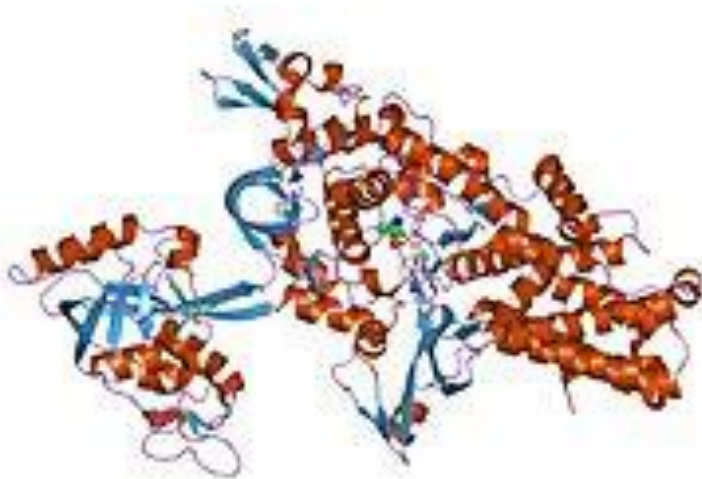
- ✓ Todos os RNAs mensageiros são lidos na direção 5'-3';
- ✓ As cadeias polipeptídicas são sintetizadas da extremidade amina (NH_3) para a carboxila terminal (COOH) – ligação peptídica;
- ✓ A tradução é realizada nos ribossomos, com os RNA transportadores como adaptadores entre o molde de mRNA e os aminoácidos;
- ✓ Cada aminoácido é especificado por três bases (códon) no mRNA – código genético universal.

CÓDON E ANTICÓDON

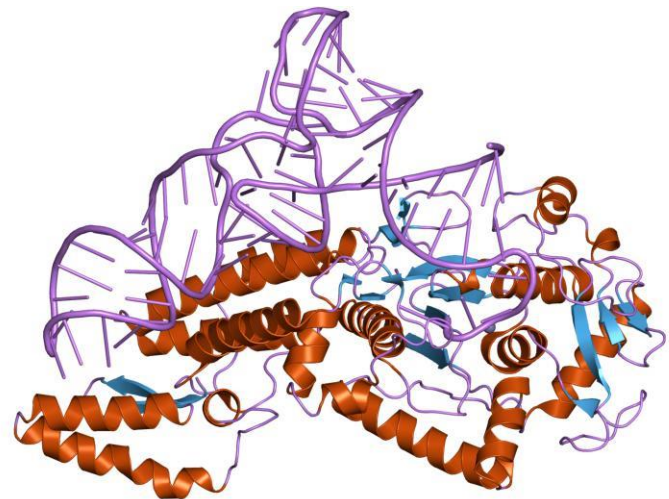


As aminoacil - tRNA sintetases:

- Para que uma molécula de tRNA se ligue ao aminoácido correto são necessárias 20 enzimas diferentes que reconheçam, especificamente, aminoácidos e seus tRNAs compatíveis.
- Cada enzima liga um aminoácido específico a seu tRNA correspondente e é capaz de reconhecer diferentes tRNAs para o mesmo aminoácido. Estas enzimas ligam o aminoácido à hidroxila 3' livre da adenosina terminal do tRNA.



LeuRS



ProRS

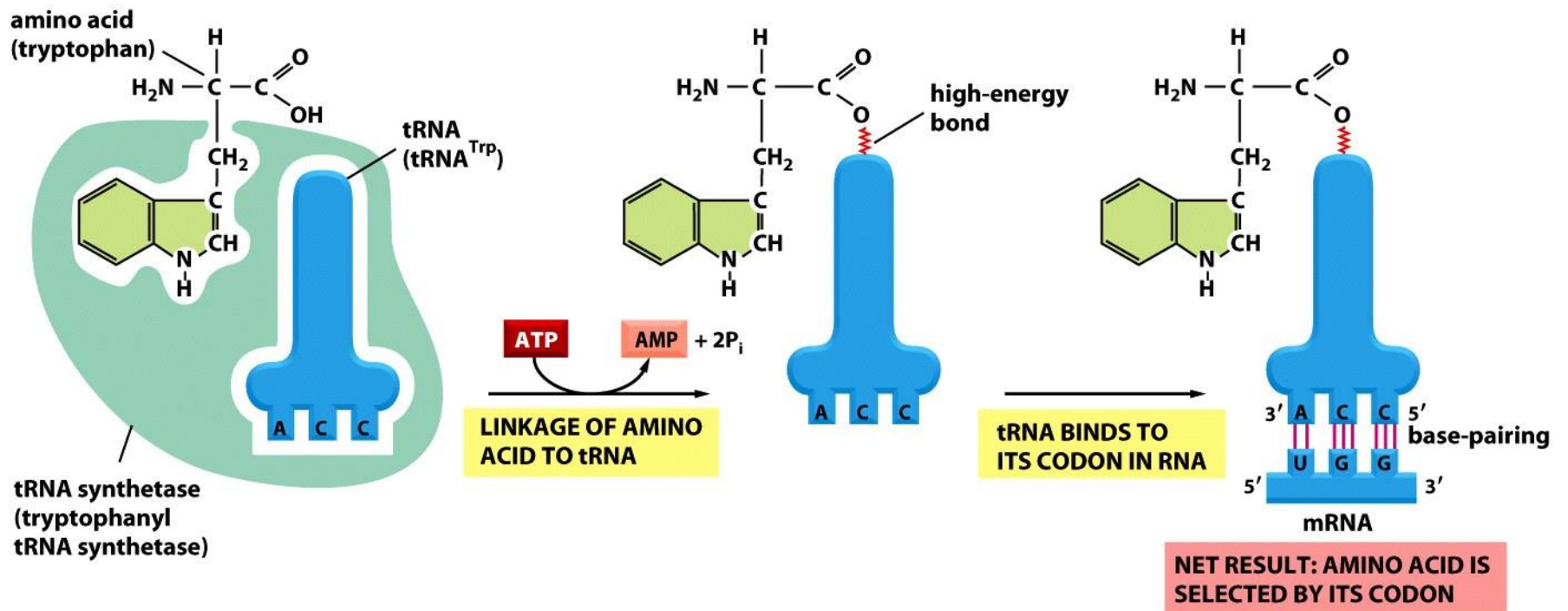


Figure 7-29 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

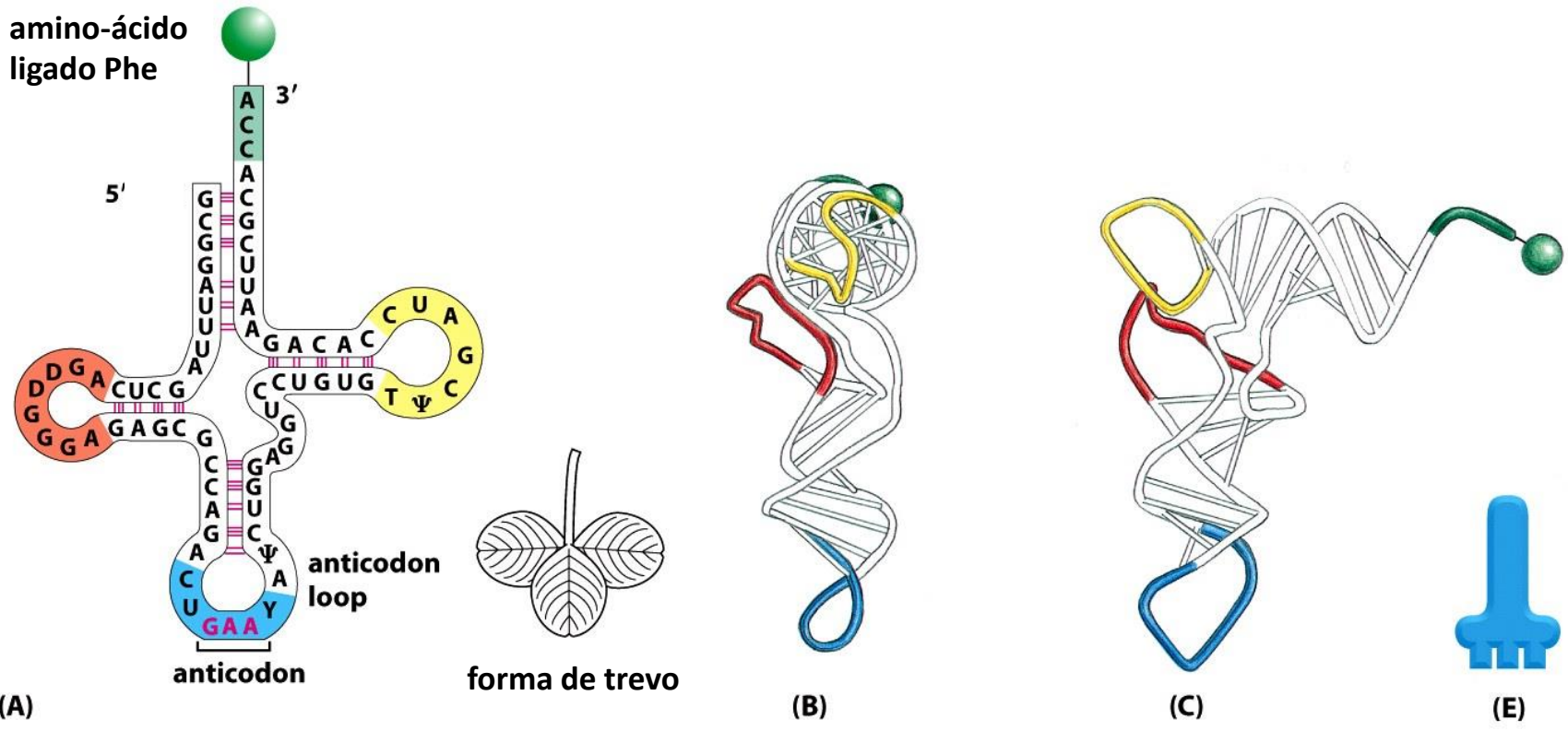


Figure 7-28 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

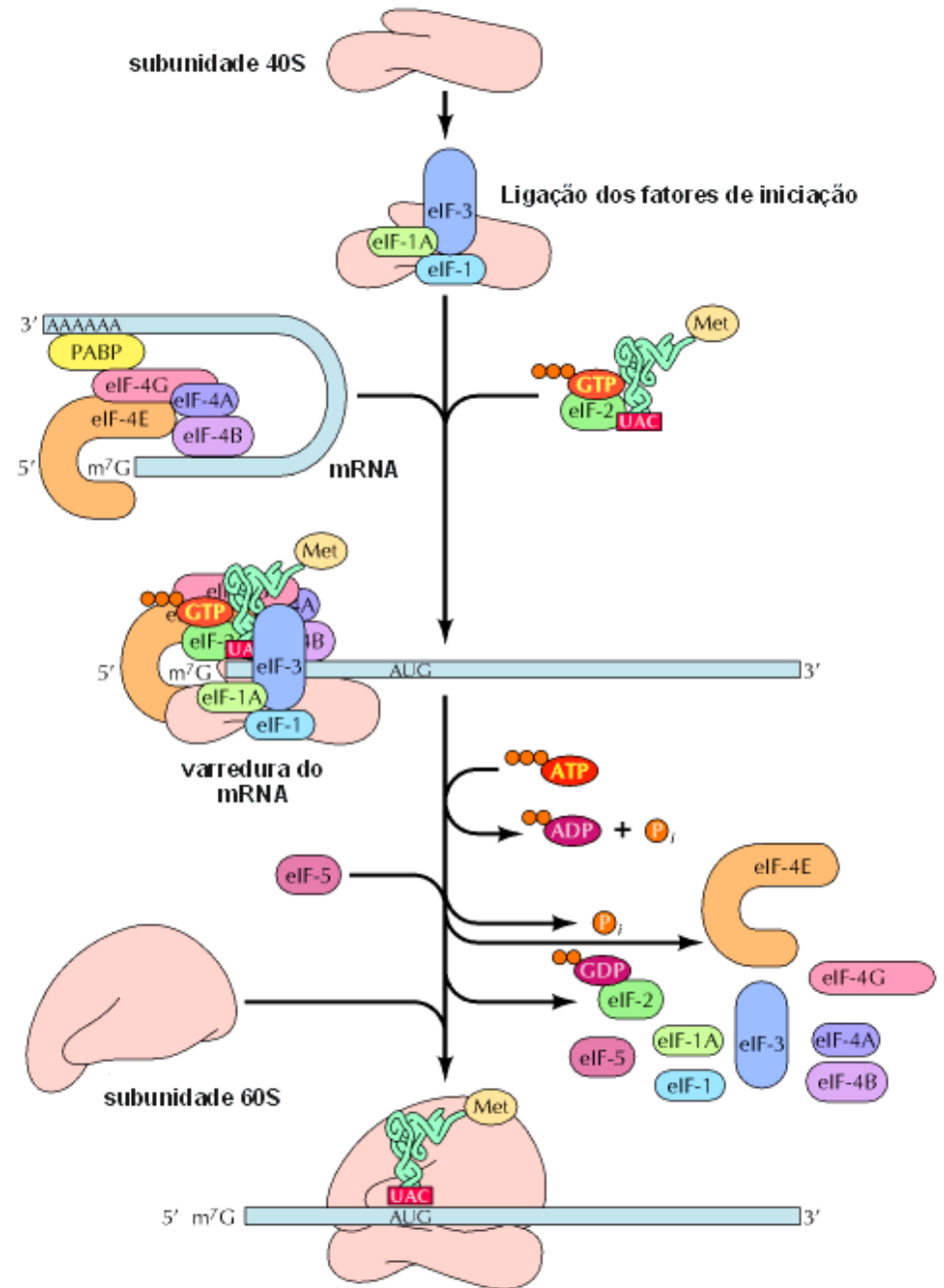
O CÓDIGO GENÉTICO É REDUNDANTE!

Amino acid	3-Letter code	1-Letter code	Codons
Alanine	Ala	A	GCC, GCU, GCG, GCA
Arginine	Arg	R	CGC, CGG, CGU, CGA, AGA, AGG
Asparagine	Asn	N	AAU, AAC
Aspartic acid	Asp	D	GAU, GAC
Cysteine	Cys	C	UGU, UGC
Glutamic acid	Glu	E	GAA, GAG
Glutamine	Gln	Q	CAA, CAG
Glycine	Gly	G	GGU, GGC, GGA, GGG
Histidine	His	H	CAU, CAC
Isoleucine	Ile	I	AUU, AUC, AUA
Leucine	Leu	L	UUA, UUG, CUA, CUG, CUU, CUC
Lysine	Lys	K	AAA, AAG
Methionine	Met	M	AUG
Phenylalanine	Phe	F	UUC, UUU
Proline	Pro	P	CCU, CCC, CCA, CCG
Serine	Ser	S	UCU, UCC, UCA, UCG, AGU, AGC
Threonine	Thr	T	ACU, ACC, ACA, ACG
Tyrosine	Tyr	Y	UAU, UAC
Tryptophan	Trp	W	UGG
Valine	Val	V	GUU, GUC, GUA, GUG
"Stop"	—	—	UAA, UAG, UGA

start codon -iniciador

stop codon -terminador

**Vários
polipeptideos
auxiliam o início da
tradução!**



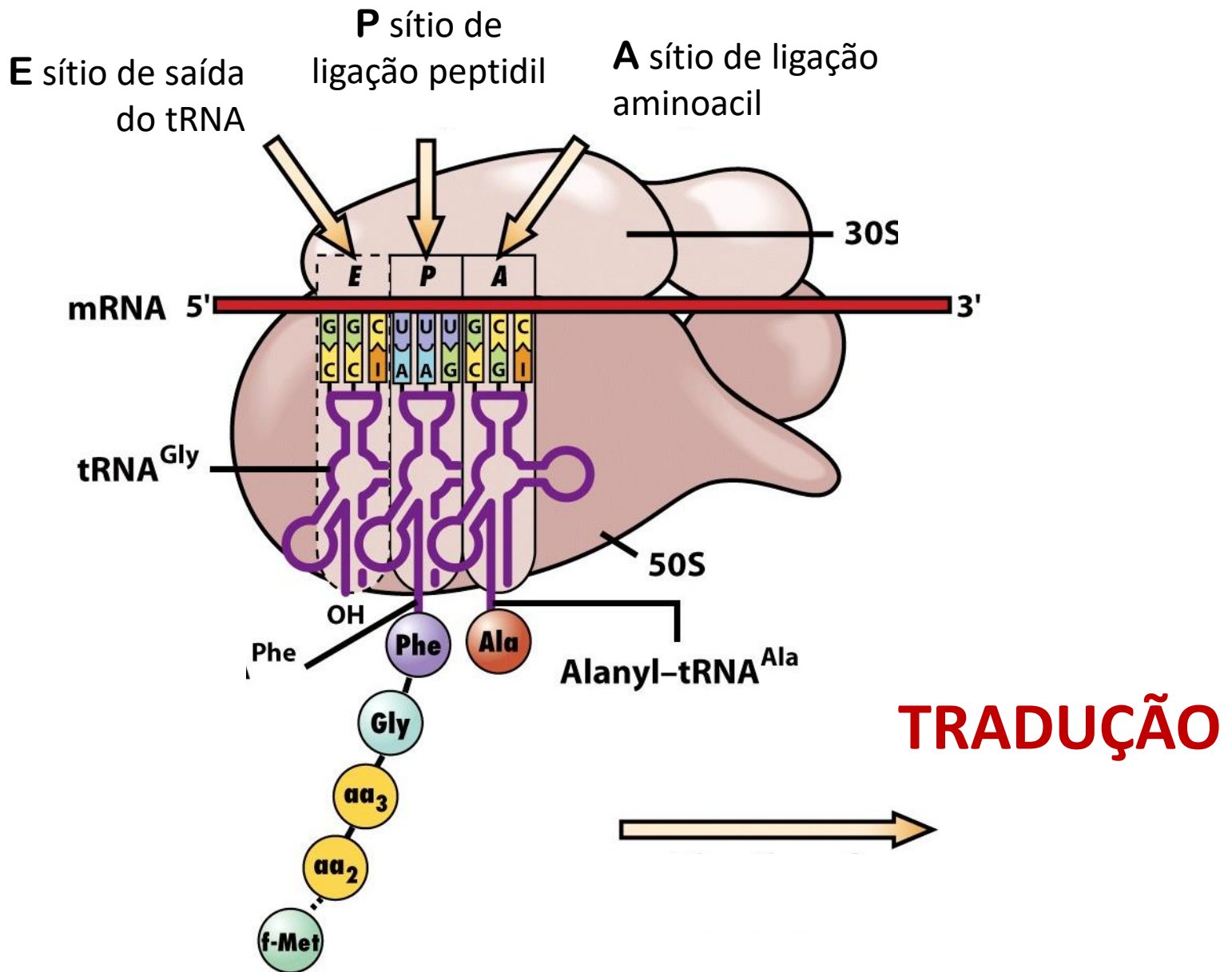
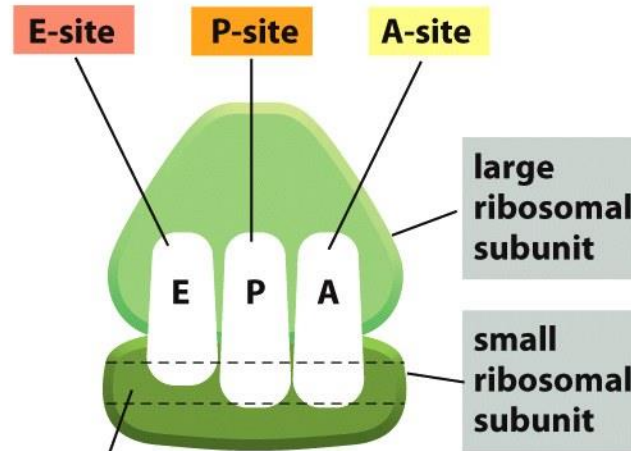
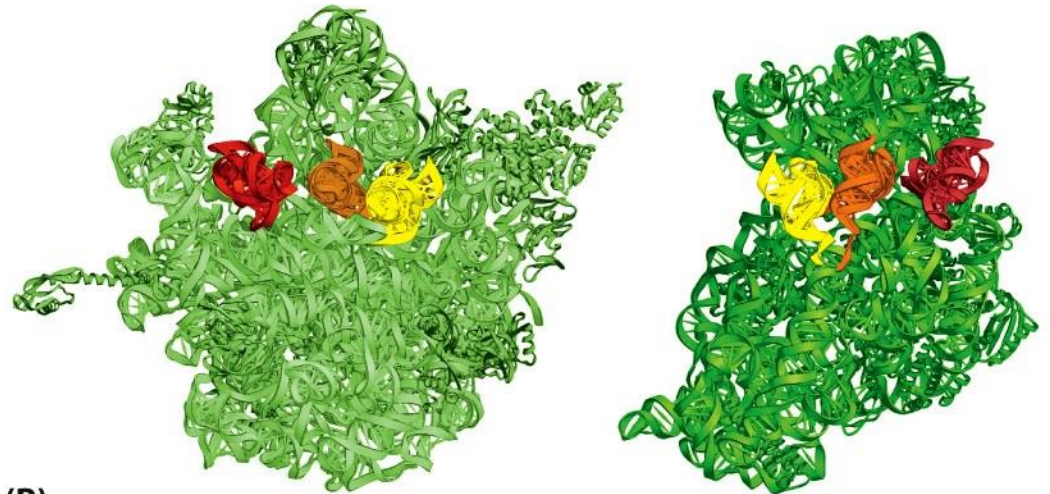
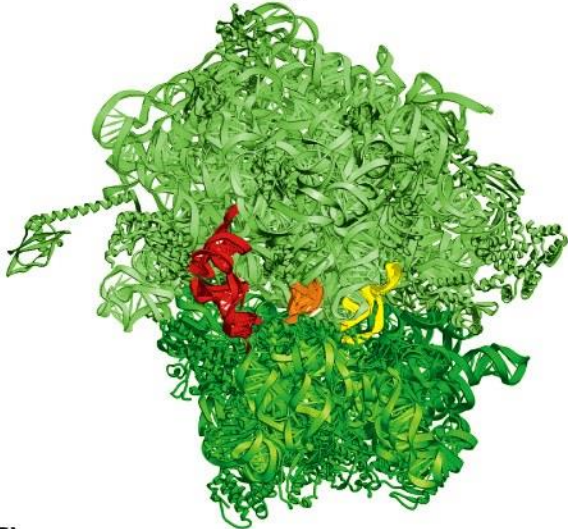
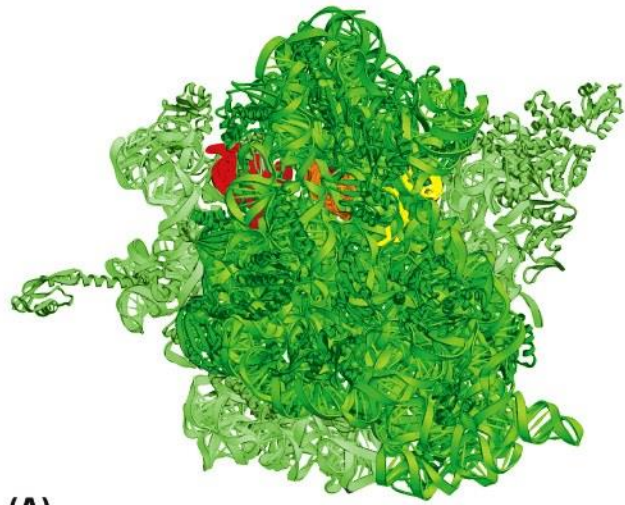


Figure 12-14a Principles of Genetics, 4/e
 © 2006 John Wiley & Sons



(D)

Figure 7-32 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

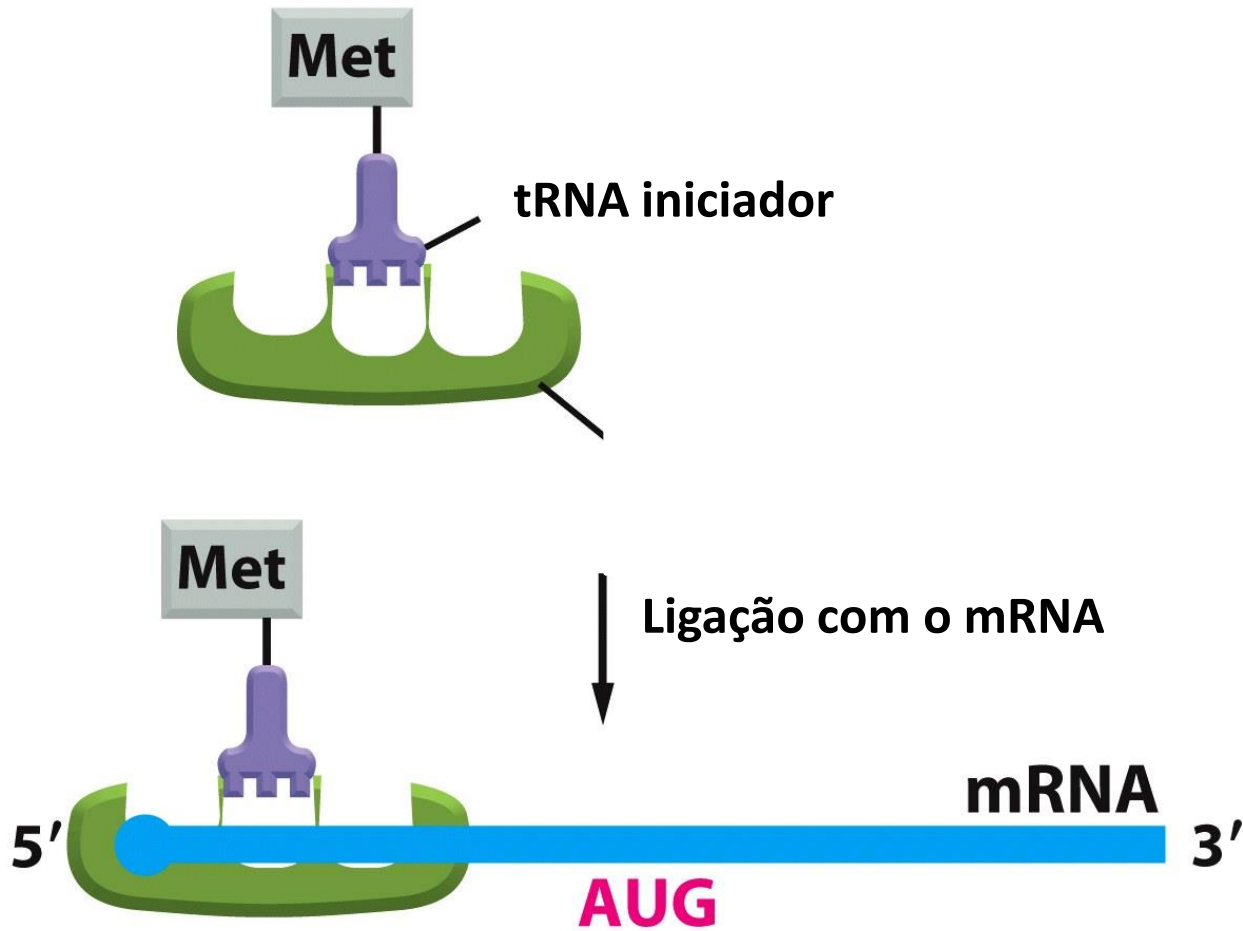


Figure 7-35 part 1 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

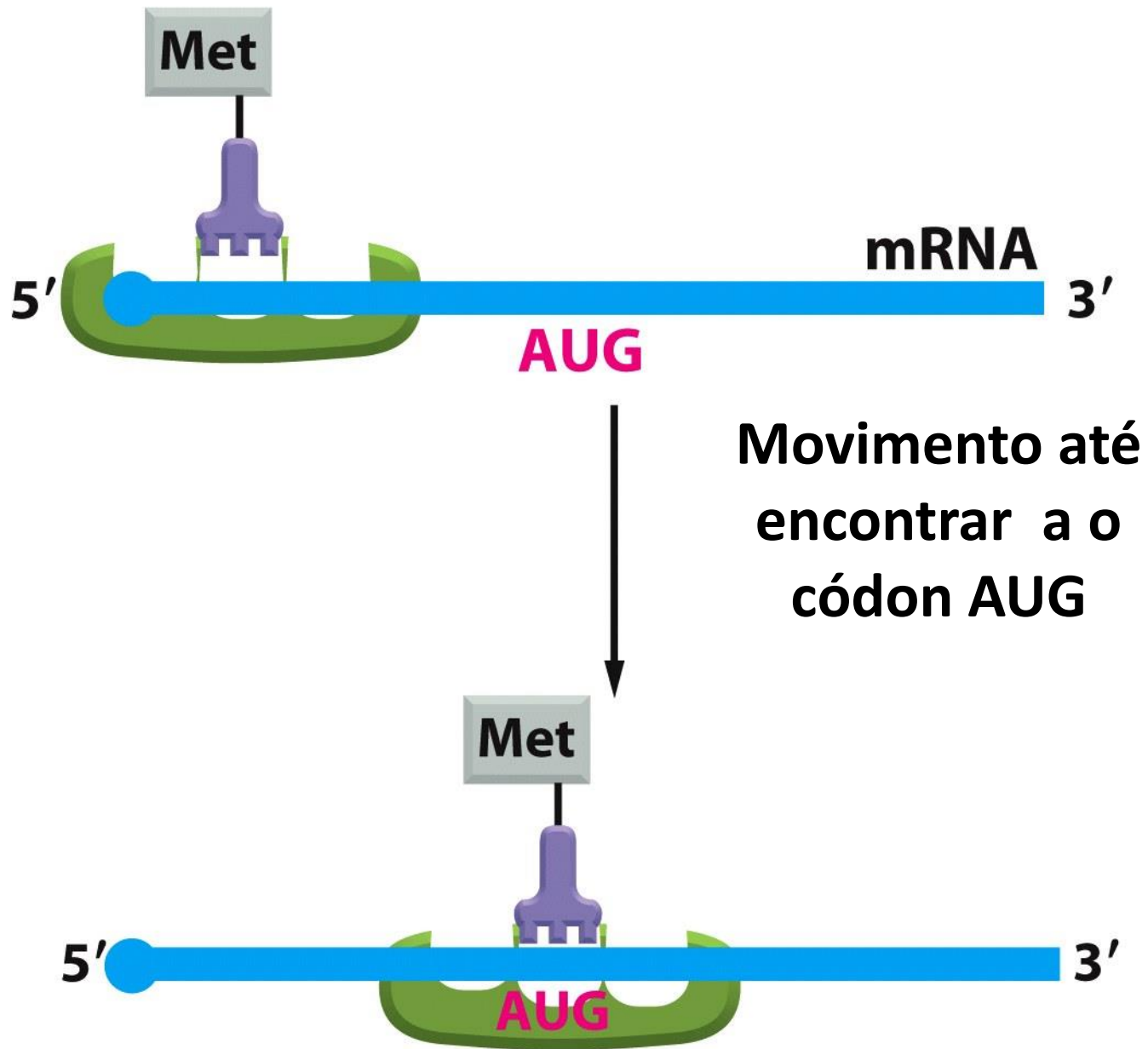


Figure 7-35 part 2 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

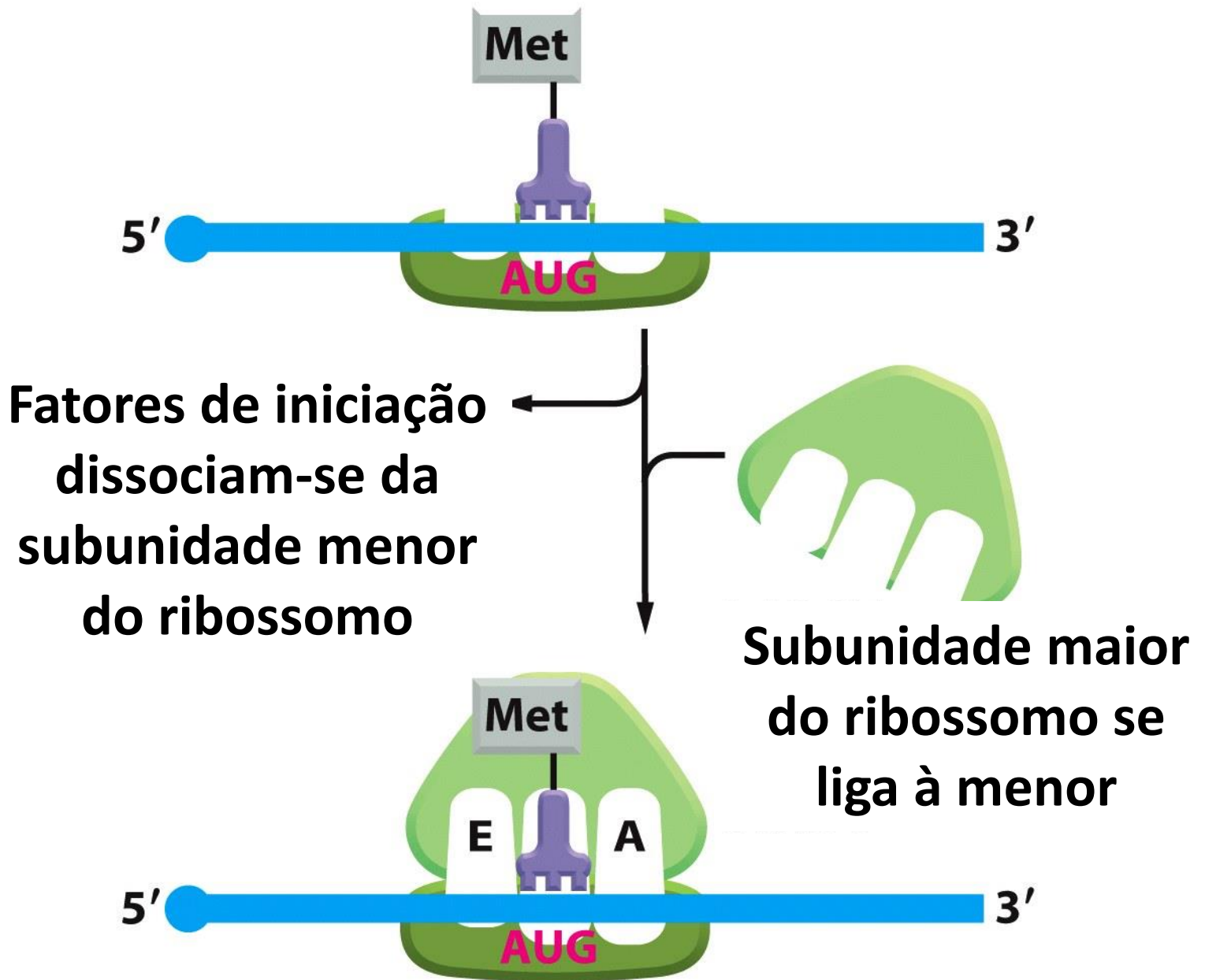


Figure 7-35 part 3 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

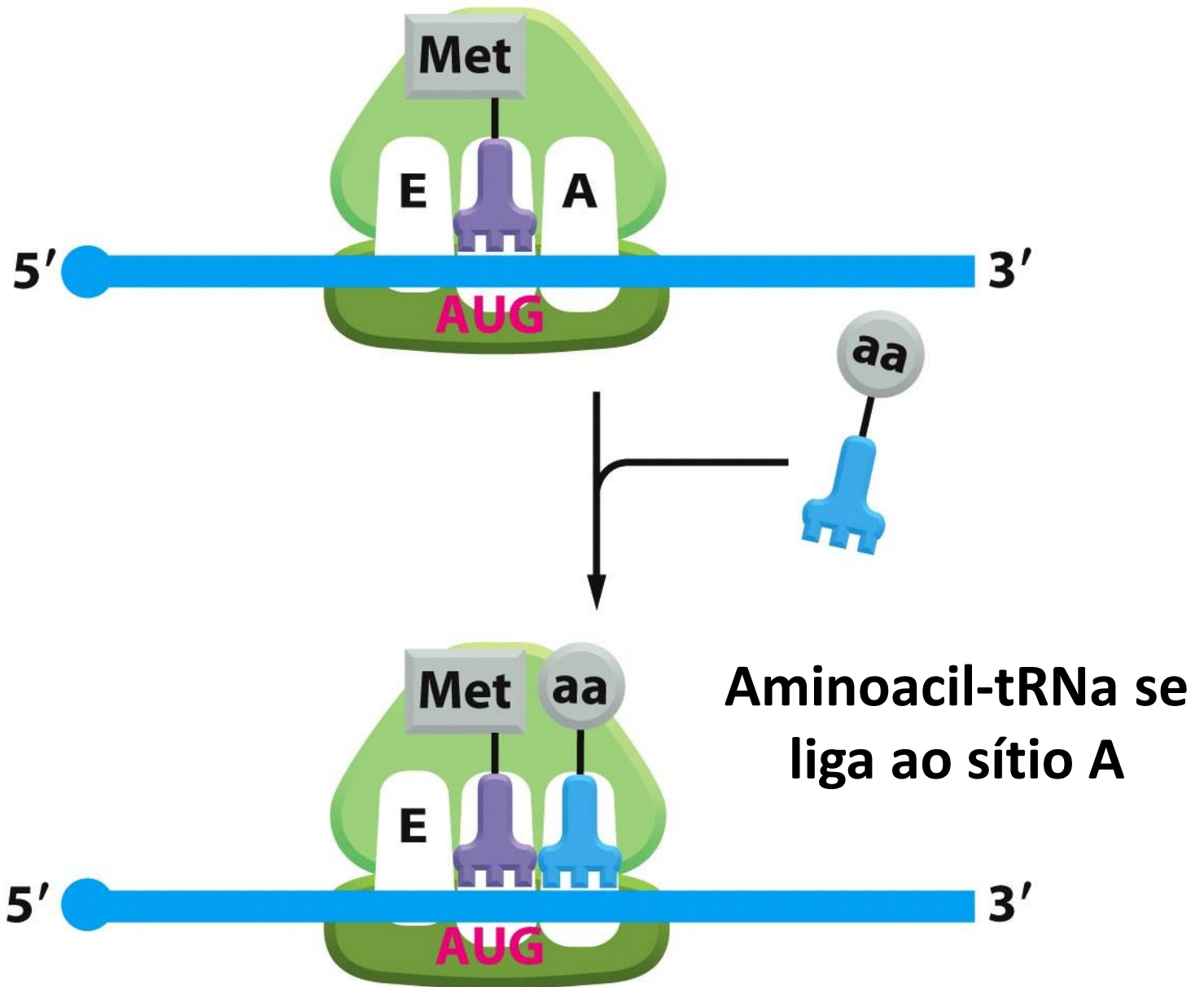


Figure 7-35 part 4 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

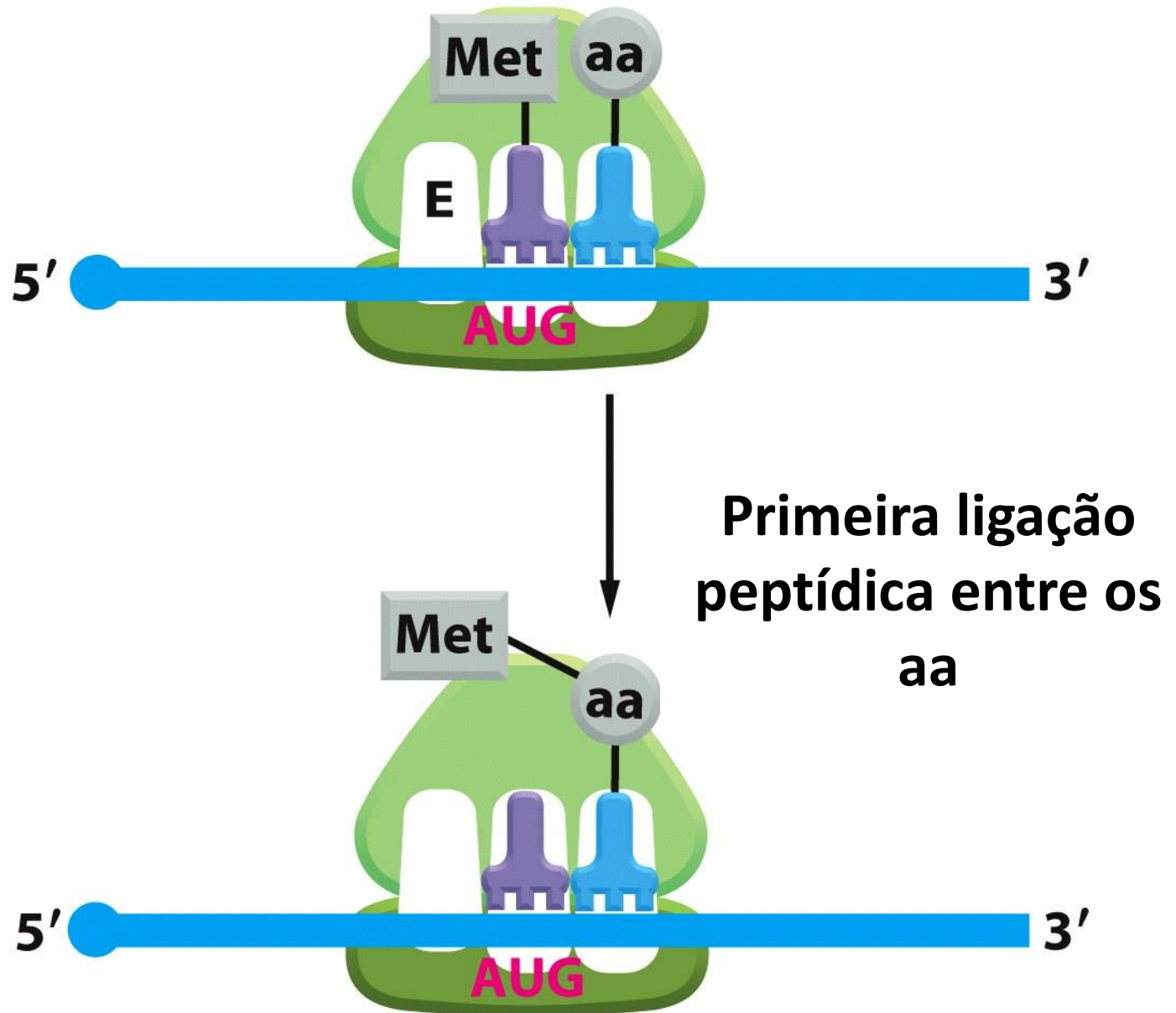
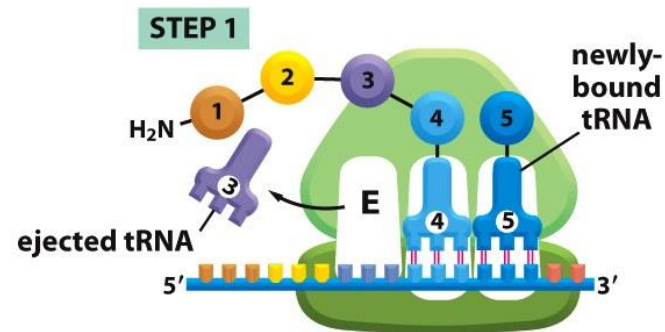
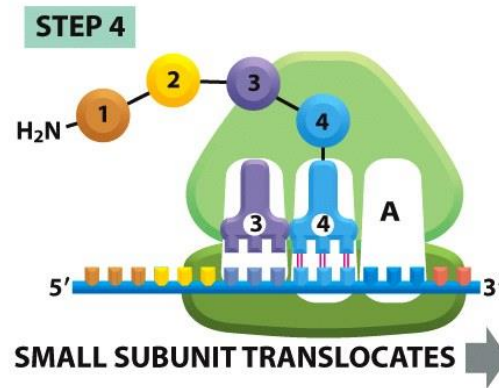
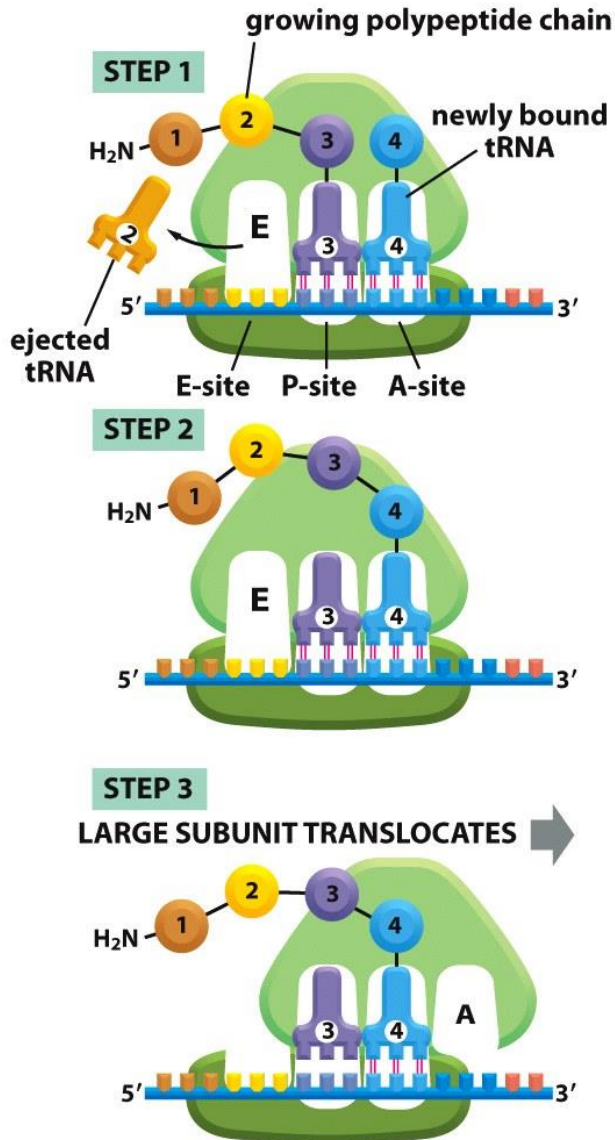


Figure 7-35 part 5 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

E continuamente...



Vários fatores controlam a continuação da tradução!

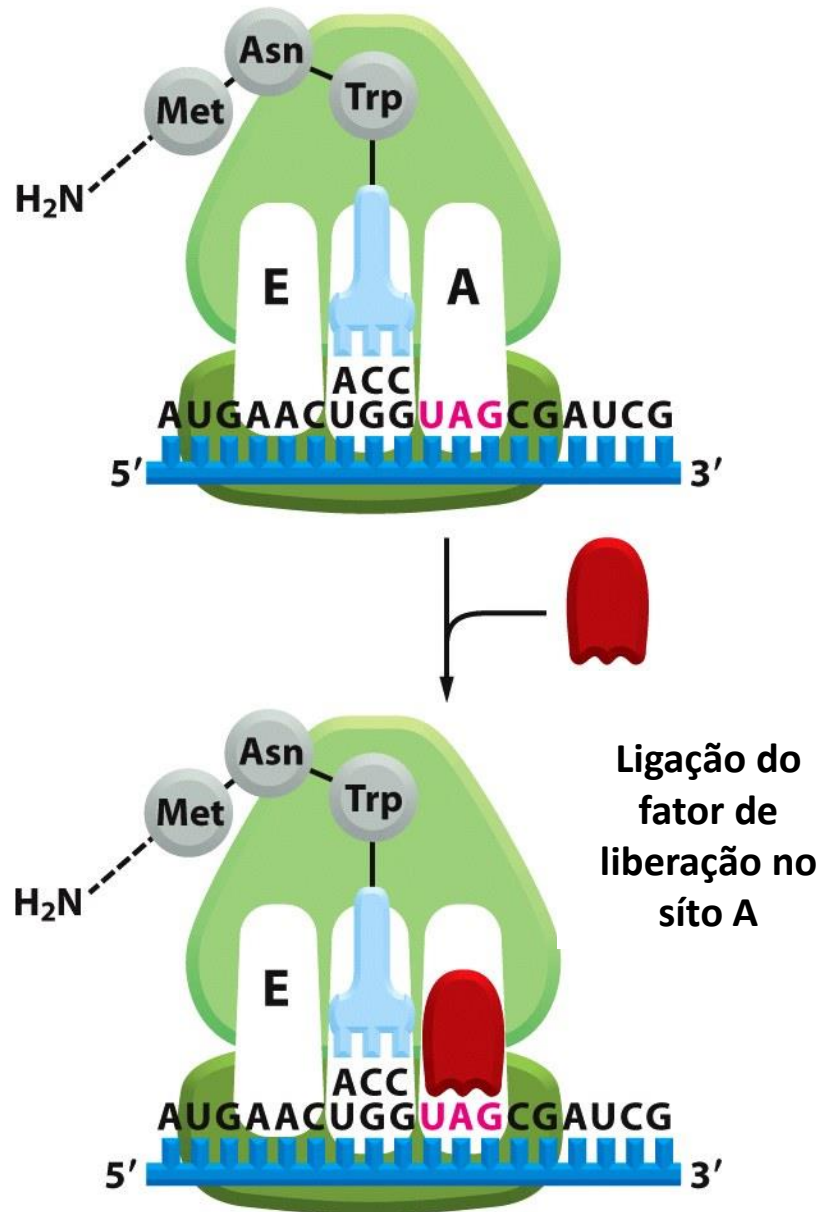
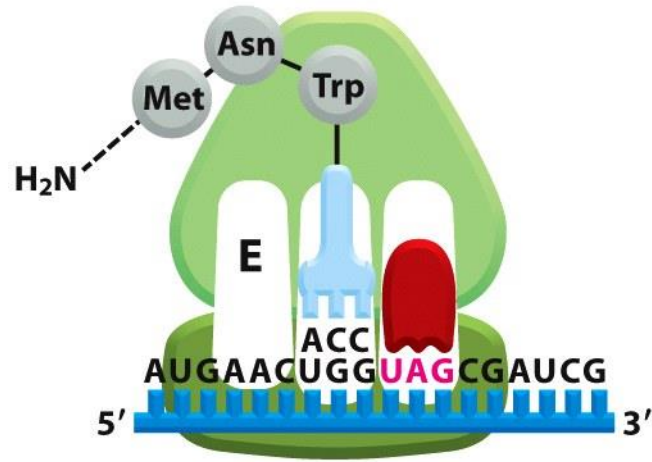


Figure 7-37 part 1 of 3 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)



Terminação

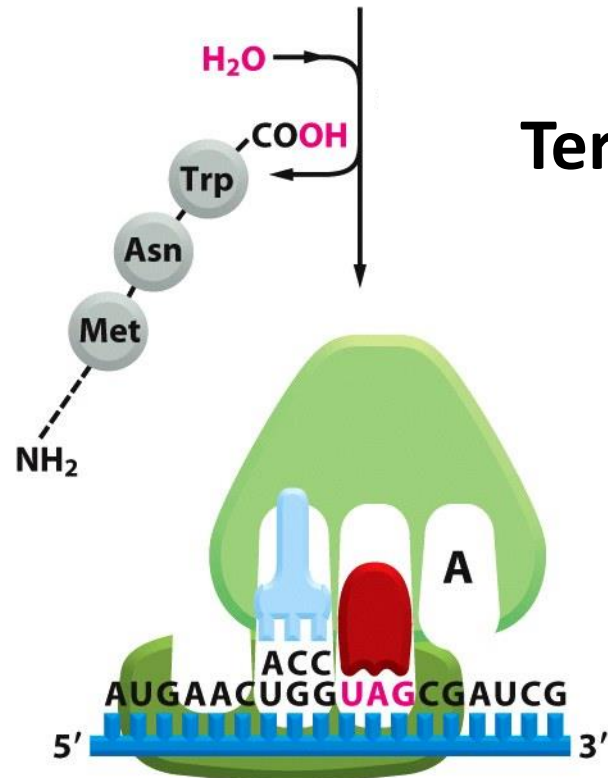


Figure 7-37 part 2 of 3 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

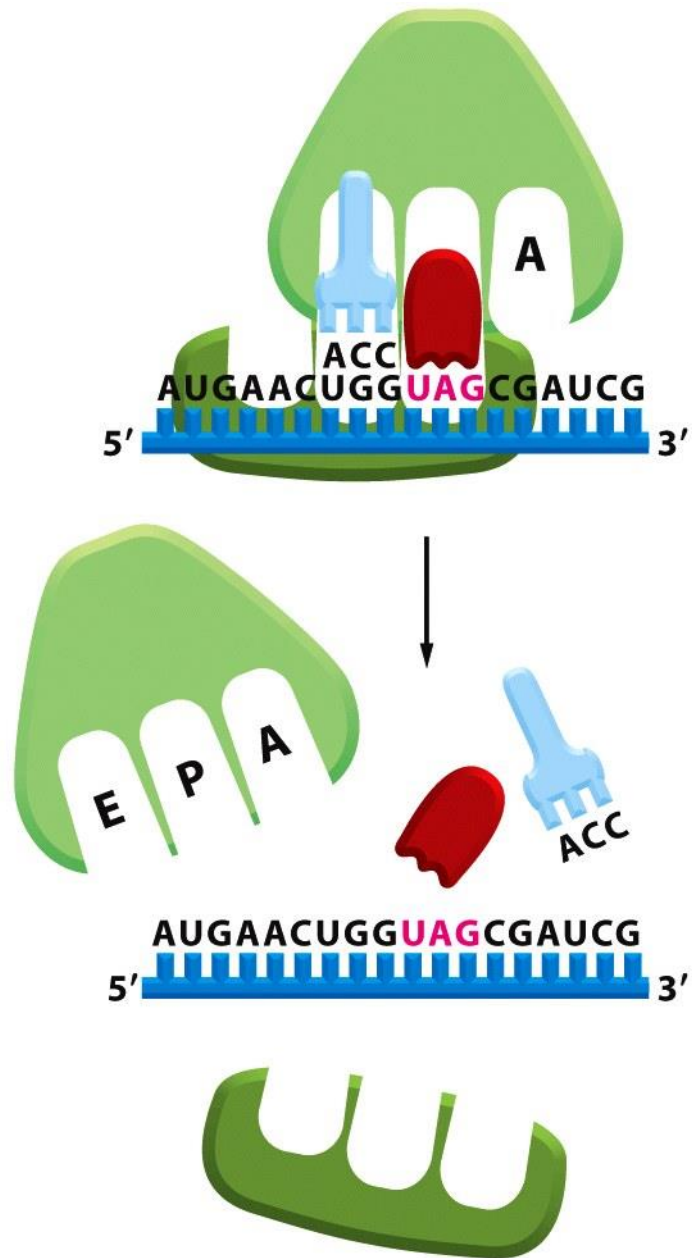
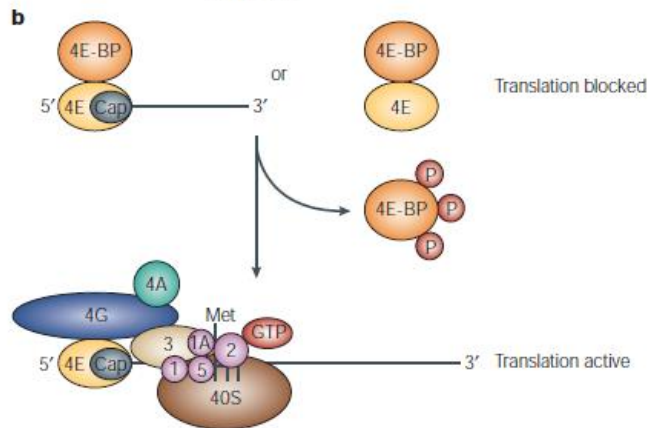
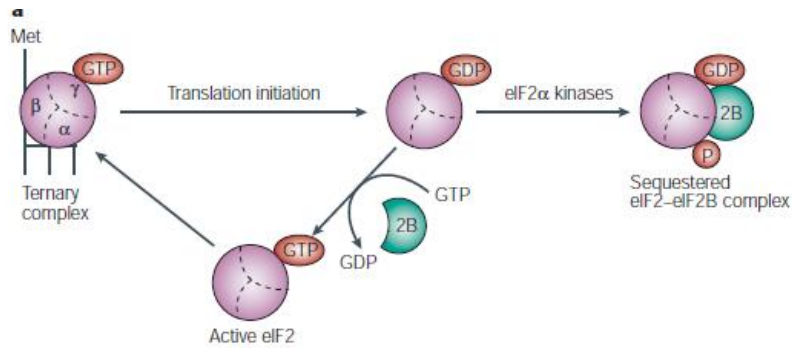
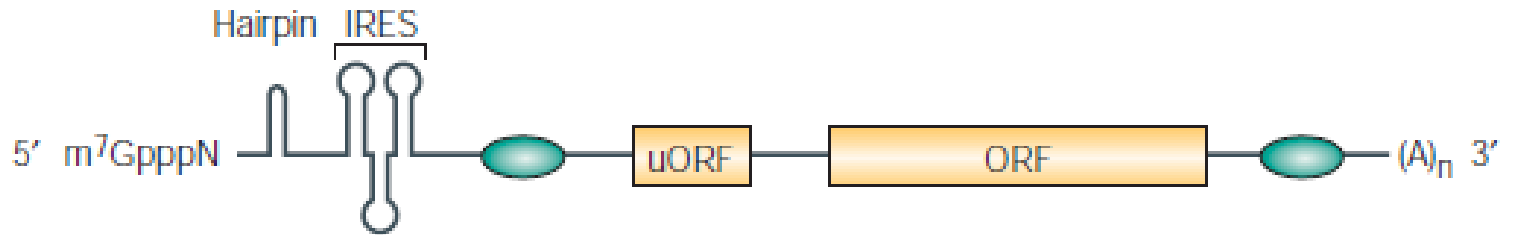


Figure 7-37 part 3 of 3 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)



MOLECULAR MECHANISMS OF TRANSLATIONAL CONTROL

Fátima Gebauer and Matthias W. Hentze†*

Interferência de microRNAs mais comum em complexos polirribossômicos!

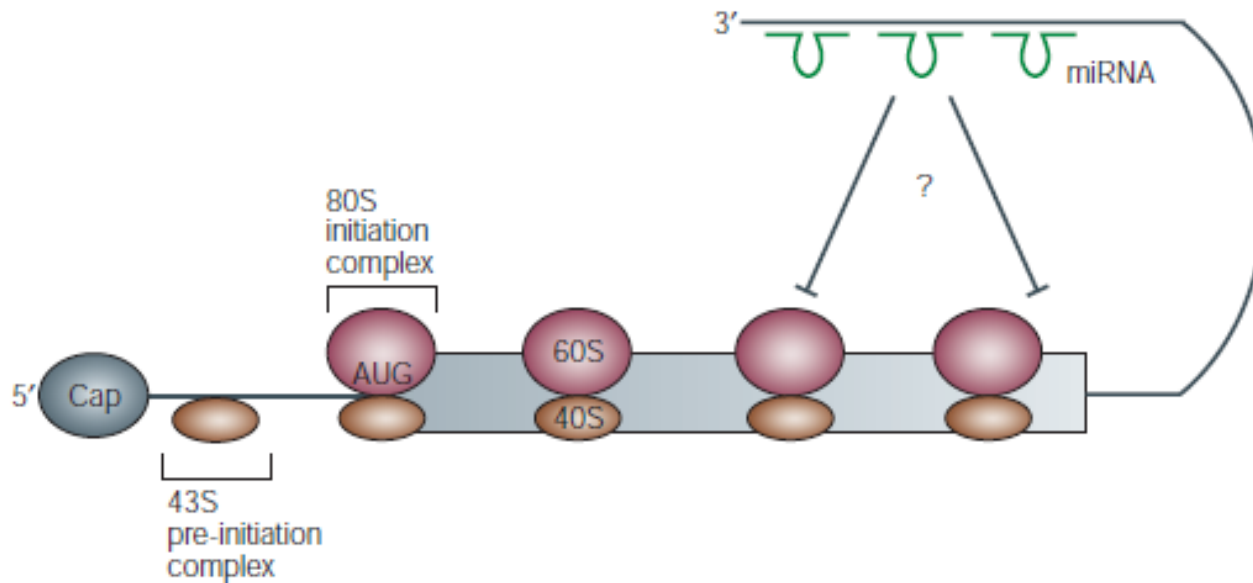
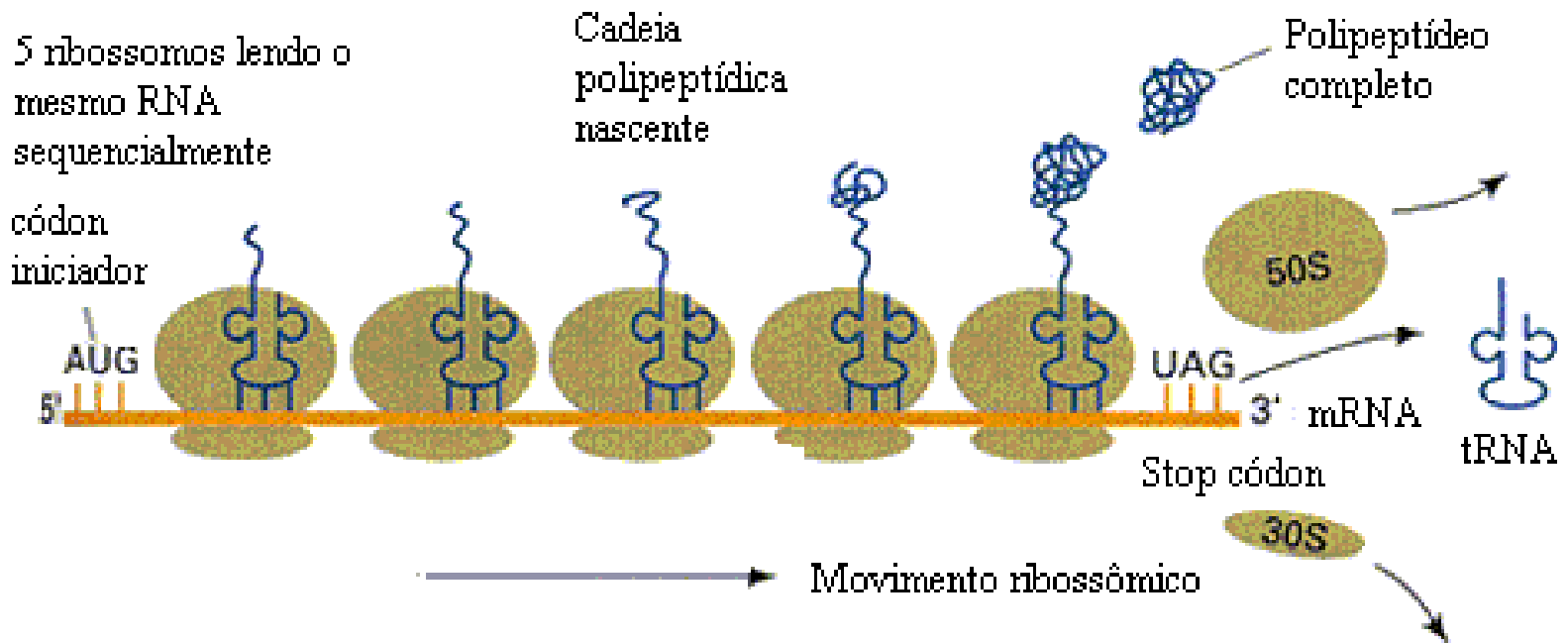
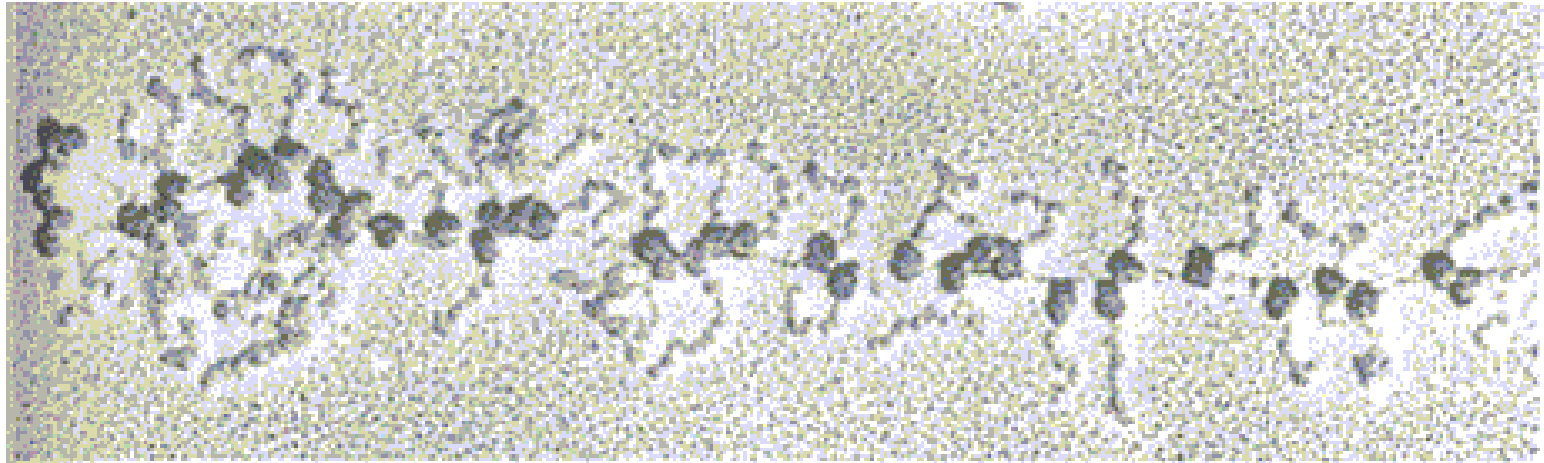
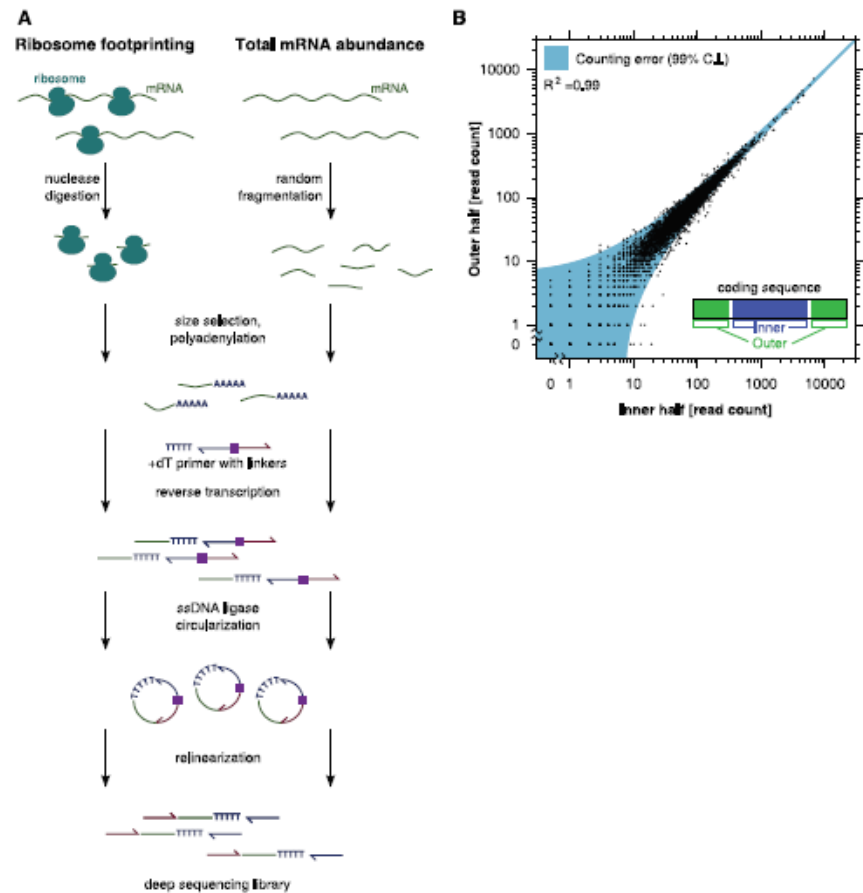


Figure 6 | **Translational control by micro RNAs.** Micro RNAs (miRNAs; shown in green) engage in imperfect base-pairing interactions with the 3' untranslated region (UTR) and cause translational arrest. At present, evidence indicates that this occurs in polysomal complexes after the initiation of polypeptide synthesis.



Genome-Wide Analysis in Vivo of Translation with Nucleotide Resolution Using Ribosome Profiling

Nicholas T. Ingolia,* Sina Ghaemmaghami,† John R. S. Newman, Jonathan S. Weissman



**QUEM VEIO PRIMEIRO RNA OU O
DNA?**



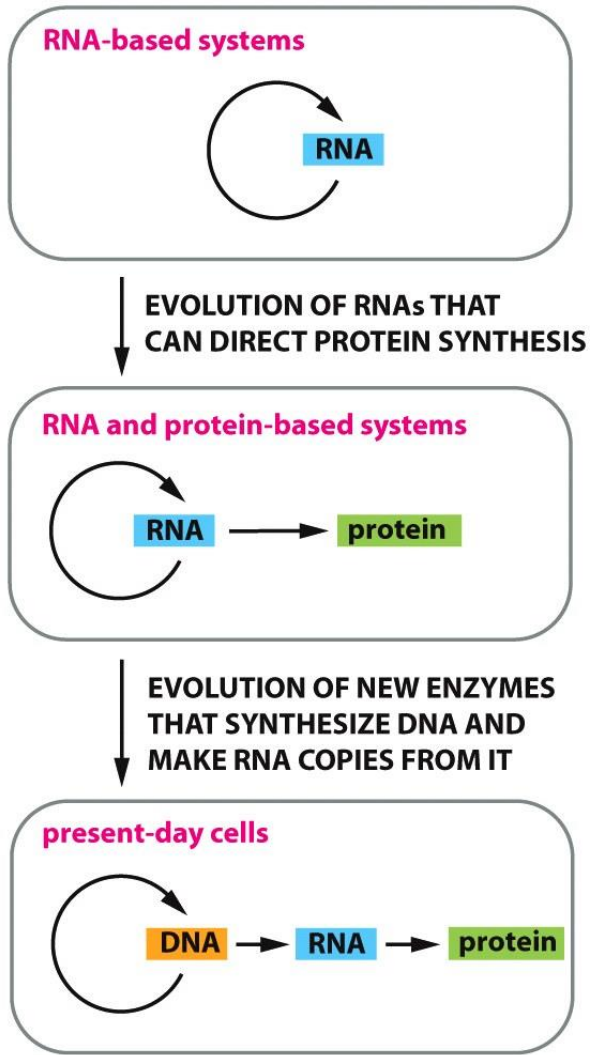


Figure 7-46 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

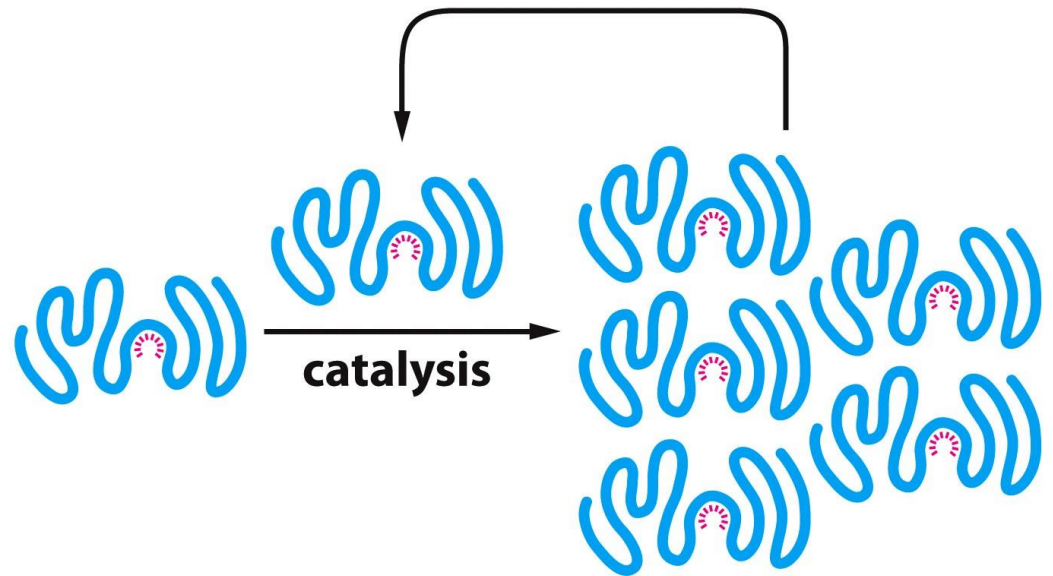


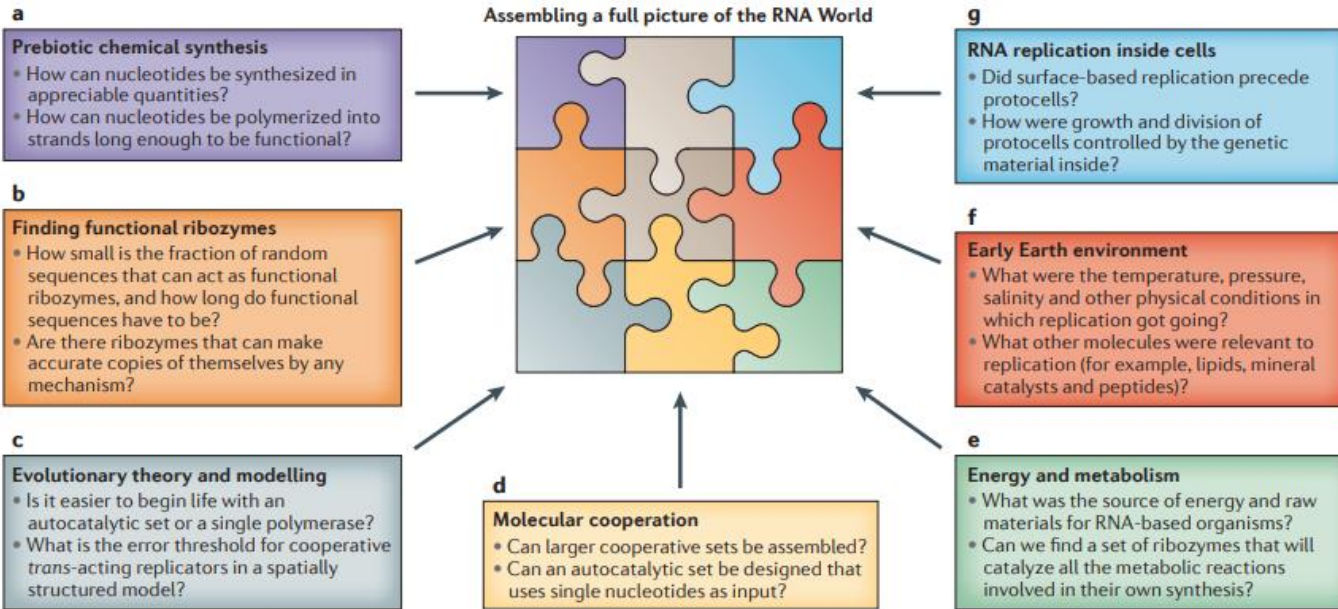
Figure 7-45 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

TABLE 7-4 BIOCHEMICAL REACTIONS THAT CAN BE CATALYZED BY RIBOZYMES

ACTIVITY	RIBOZYMES
RNA cleavage, RNA ligation	self-splicing RNAs
DNA cleavage	self-splicing RNAs
Peptide bond formation in protein synthesis	ribosomal RNA
DNA ligation	<i>in vitro</i> selected RNA
RNA splicing	self-splicing RNAs, RNAs of the spliceosome (?)
RNA polymerization	<i>in vitro</i> selected RNA
RNA phosphorylation	<i>in vitro</i> selected RNA
RNA aminoacylation	<i>in vitro</i> selected RNA
RNA alkylation	<i>in vitro</i> selected RNA
C–C bond rotation (isomerization)	<i>in vitro</i> selected RNA

Table 7-4 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

Assembling a full picture of the RNA World



REVIEWS

NON-CODING RNA

The RNA World: molecular cooperation at the origins of life

Paul G. Higgs¹ and Niles Lehman²

Abstract | The RNA World concept posits that there was a period of time in primitive Earth's history — about 4 billion years ago — when the primary living substance was RNA or something chemically similar. In the past 50 years, this idea has gone from speculation to a prevailing idea. In this Review, we summarize the key logic behind the RNA World and describe some of the most important recent advances that have been made to support and expand this logic. We also discuss the ways in which molecular cooperation involving RNAs would facilitate the emergence and early evolution of life. The immediate future of RNA World research should be a very dynamic one.

First li
been b

LIFE 3 June 2020

Article


Selective prebiotic formation of RNA pyrimidine and DNA purine nucleosides

<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2330-9>

Received: 12 December 2019

Accepted: 16 April 2020

Published online: 3 June 2020

 Check for updatesJianfeng Xu^{1,6}, Václav Chmela^{1,6}, Nicholas J. Green¹, David A. Russell¹, Mikołaj J. Janicki², Robert W. Góra², Rafał Szabla^{3,4}, Andrew D. Bond⁵ & John D. Sutherland^{1✉}

The nature of the first genetic polymer is the subject of major debate¹. Although the ‘RNA world’ theory suggests that RNA was the first replicable information carrier of the prebiotic era—that is, prior to the dawn of life^{2,3}—other evidence implies that life may have started with a heterogeneous nucleic acid genetic system that included both RNA and DNA⁴. Such a theory streamlines the eventual ‘genetic takeover’ of homogeneous DNA from RNA as the principal information-storage molecule, but requires a selective abiotic synthesis of both RNA and DNA building blocks in the same local primordial geochemical scenario. Here we demonstrate a high-yielding, completely stereo-, regio- and furanosyl-selective prebiotic synthesis of the purine deoxyribonucleosides: deoxyadenosine and deoxyinosine. Our synthesis uses key intermediates in the prebiotic synthesis of the canonical pyrimidine ribonucleosides (cytidine and uridine), and we show that, once generated, the pyrimidines persist throughout the synthesis of the purine deoxyribonucleosides, leading to a mixture of deoxyadenosine, deoxyinosine, cytidine and uridine. These results support the notion that purine deoxyribonucleosides and pyrimidine ribonucleosides may have coexisted before the emergence of life⁵.

der in

ig

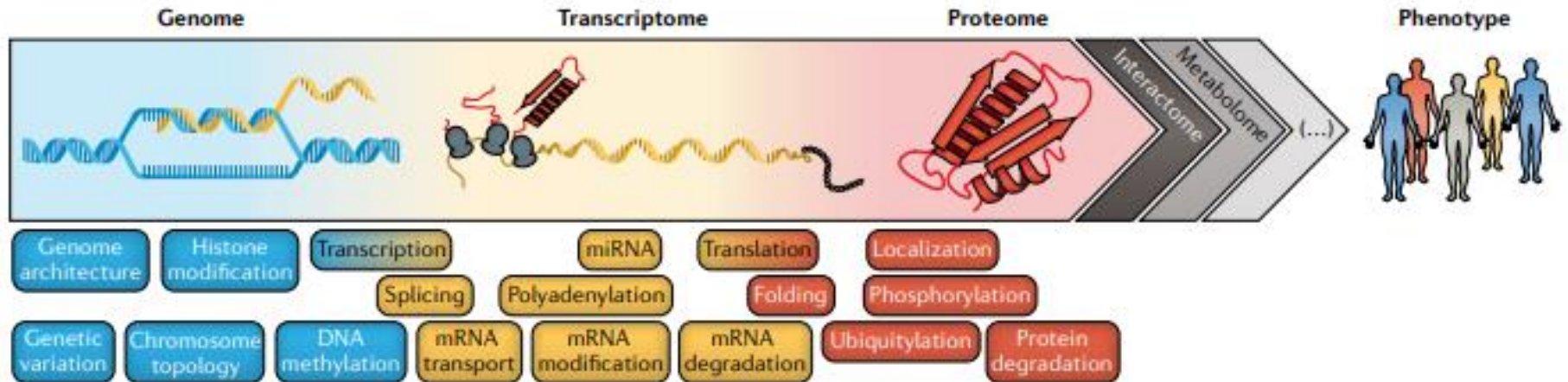
ermany.

REVIEWS

Check for updates

mRNAs, proteins and the emerging principles of gene expression control

Christopher Buccitelli¹ and Matthias Selbach^{1,2}✉



12 de Abril - Aula “Arquitetura Genômica: Dos Genes Ao Genoma” – no horário da aula 9:00 horas

Apresentação:

O que é Whole Exome Sequencing (WES),
Genome wide association study (GWAS) X
Transcriptome wide association study (TWAS) e
quais são suas aplicações?