

QBQ1354 - Biologia Molecular 2023

Introdução à Biologia Molecular

Fluxo da Informação gênica

Professor
Eduardo M. Reis

QBQ1354 - Biologia Molecular 2023

Química - Noturno

DOCENTE:

Prof. Eduardo Reis, emreis@iq.usp.br, ramal 2173, sala 1200 - Bloco 12 inferior.

MONITORES:

Arthur Zanetti Nunes Fernandes (arthurznf@usp.br) e Catherine Tiemi Krambeck Nakatsugawa (catherinetiemi@usp.br)

HORÁRIO E SALAS:

2^{as}. das 21 às 22:40 hs e 4^{as}. feiras das 19 às 20:40 hs

Aulas Expositivas/Exercícios: - Sala 604 - Bloco 6 inferior

Atividades Teórico-práticas: Sala Multi-mídia, Bloco 1 superior

Atividades práticas no laboratório: LBBM, Bloco 7 superior

ORGANIZAÇÃO DO CURSO:

O Curso envolve aulas expositivas seguidas de um período para resolução e discussão de exercícios, atividades teórico-práticas em computadores da sala multimídia e atividades práticas no laboratório didático (LBBM). Utilizando as informações das aulas expositivas e dos livros texto recomendados, os alunos deverão resolver os exercícios. Os exercícios serão discutidos em sala de aula com acompanhamento do professor e monitor.

Nas aulas práticas serão realizadas experiências que envolvem algumas técnicas utilizadas na Biologia Molecular. Os alunos serão divididos em grupos e cada grupo deverá apresentar um **RELATÓRIO** contendo os resultados obtidos e a resolução das questões correspondentes. Só serão aceitos relatórios de alunos que realizaram as aulas práticas. **POR RAZÕES DE SEGURANÇA, O USO DO AVENTAL NAS AULAS PRÁTICAS É OBRIGATÓRIO.**

AVALIAÇÃO:

A avaliação será feita através da média ponderada das notas obtidas nas quatro provas (P1, P2, P3 e P4) e relatórios das aulas práticas, de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Nota final} = \frac{[(P1 \times 2) + (P2 \times 2) + (P3 \times 2) + P4 \times 2] + (\text{média relatórios práticas} \times 1)}{9}$$

Os exercícios propostos deverão ser entregues resolvidos e poderão somar pontos na média final, conforme a regra:

80% ou mais dos exercícios entregues: 0,5 ponto

50 a <80% dos exercícios entregues: 0,3 ponto

<50% dos exercícios entregues: 0 ponto

A matéria das provas será **CUMULATIVA**. Os alunos que não atingirem média $\geq 5,0$, porém atingirem média $\geq 3,0$ e 75% de frequência poderão realizar a prova de recuperação.

A FREQUÊNCIA OBRIGATÓRIA MÍNIMA ÀS AULAS É DE 75%

Bibliografia recomendada

Os livros da lista estão disponíveis para a comunidade USP na **Minha Biblioteca USP** (<https://usp.minhabiblioteca.com.br/#/>).

Para acessar, é necessário criar uma conta e estar conectado ao VPN USP (<https://www.aguia.usp.br/portfolio/servicos/conexao-remota>).

- **Genética Molecular Básica** (2017) C.F. Menck & M. Van Sluys. GEN/Guanabara Koogan. 1ª edição.
<https://usp.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788527732208/epubcfi/6/2%5B%3Bvnd.vst.idref%3Dcover%5D!/4/2/2%5Bvst-image-button-170142%5D%400:0>
- **Princípios de Bioquímica de Lehninger** (2011) D. Nelson & M. Cox. 5ª. Edição
<https://usp.minhabiblioteca.com.br/books/9788582715345>
- **Biologia Molecular do Gene** (2014) J. Watson et al. 7a. edição
<https://usp.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582712092/pageid/0>

18 Aulas Expositivas/Exercícios:

Sala 03 - Bloco 6 inferior

6 Atividades práticas no laboratório:

LBBM, Bloco 7 superior

2 Atividades Teórico-práticas:

Sala Multi-mídia, Bloco 1 superior

4 provas

CRONOGRAMA QBQ1354 – 2023			
07/ago	Segunda-feira	Sala 604	Aula 1 - Introdução à Biologia Molecular, Fluxo da Informação
09/ago	Quarta-feira	Sala 604	Aula 2 - Estrutura e Função dos Ácidos Nucleicos - Exercício 2
14/ago	Segunda-feira	Sala 604	Aula 3 - Replicação do DNA - Exercício 3
16/ago	Quarta-feira	LBBM	Prática 1: Extração de DNA de bactéria
21/ago	Segunda-feira	Sala 604	Aula 4 - Reação em cadeia da polimerase (PCR) - Exercício 4
23/ago	Quarta-feira	Sala 604	Aula 5 – Mutação e Reparo do DNA - Exercícios 5
28/ago	Segunda-feira	LBBM	Prática 2: Análise de genótipo pela técnica de PCR
30/ago	Quarta-feira	LBBM	Prática 2 (cont.): Análise de produtos de PCR por separação e
			Semana da Pátria – Não haverá aula
11/set	Segunda-feira	Sala 604	Discussão de dúvidas
13/set	Quarta-feira	Sala 604	Prova 1
18/set	Segunda-feira	Sala 604	Aula 6 – Elementos genéticos móveis e recombinação genética
20/set	Quarta-feira	LBBM	Prática 3: Transformação bacteriana. Purificação de DNA plas
	25 e 27/set		Semana da Química – Não haverá aula
02/out	Segunda-feira	LBBM	Prática 3 (cont.): Eletroforese de DNA em gel de agarose Análise de eficiência de transformação
04/out	Quarta-feira	Sala 604	Aula 7 - Sequenciamento de DNA - Exercício 7
09/out	Segunda-feira	Sala Multimídia	Aula 8 - Análise de seqüências de DNA - Exercício 8
11/out	Quarta-feira	Sala 604	Aula 9 - Estrutura gênica e Transcrição de RNA - Exercício 9
16/out	Segunda-feira	Sala 604	Discussão de dúvidas
18/out	Quarta-feira	Sala 604	Prova 2
23/out	Segunda-feira	Sala 604	Aula 10 - Controle da Expressão Gênica em Procariontos - Exercício 10
25/out	Quarta-feira	LBBM	Prática 4: Indução de Beta-galactosidase com IPTG
30/out	Segunda-feira	Sala 604	Aula 11 - Código Genético - Exercício 11
01/nov	Quarta-feira	Sala 604	Aula 12 – Tradução/modificação de proteínas - Exercício 12
06/nov	Segunda-feira	Sala Multimídia	Aula 13 - Análise de seqüências de DNA, RNA e Proteína - Exe
08/nov	Quarta-feira	Sala 604	Aula 14 – Controle da Expressão Gênica em Eucariotos I - Exe
13/nov	Segunda-feira	Sala 604	Aula 15 – Controle da Expressão Gênica em Eucariotos II - Exe
15/nov	Quarta-feira		feriado (República)
20/nov	Segunda-feira	Sala 604	Discussão de dúvidas
22/nov	Quarta-feira	Sala 604	Prova 3
27/nov	Segunda-feira	Sala 604	Aula 16 - Processamento de RNA em Eucariotos - Exercício 16
29/nov	Quarta-feira	Sala 604	Aula 17 – Epigenética e Imprinting genômico - Exercício 17
04/dez	Segunda-feira	Sala 604	Aula 18 - RNA de interferência - Exercício 18
06/dez	Quarta-feira	Sala 604	Aula 19 - Edição de genomas (tecnologia CRISPR-Cas9) – exer
11/dez	Segunda-feira	Sala 604	Aula 20 - Biologia Sintética - Exercício 20
13/dez	Quarta-feira	Sala 604	Discussão de dúvidas

AVALIAÇÃO:

A avaliação será feita através da média ponderada das notas obtidas nas **quatro provas (P1, P2, P3 e P4) e relatórios das aulas práticas**, de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{Nota final} = \frac{[(P1 \times 2) + (P2 \times 2) + (P3 \times 2) + P4 \times 2] + (\text{média relatórios práticas} \times 1)}{9}$$

Os exercícios propostos deverão ser entregues resolvidos e poderão somar pontos na média final, conforme a regra:

80% ou mais dos exercícios entregues: 0,5 ponto

50 a <80% dos exercícios entregues: 0,3 ponto

<50% dos exercícios entregues: 0 ponto

A matéria das provas será **CUMULATIVA**. Os alunos que não atingirem média $\geq 5,0$, porém atingirem média $\geq 3,0$ e 75% de frequência poderão realizar a prova de recuperação.

A FREQUÊNCIA OBRIGATÓRIA MÍNIMA ÀS AULAS É DE 75%

Informações e materiais das aulas disponíveis na página da disciplina em edisdisciplinas.usp.br

QBQ1354 - Biologia Molecular (2022)

<https://edisdisciplinas.usp.br/course/view.php?id=103054>

Entrega de relatórios de aulas práticas através do edisciplinas

O que é Biologia Molecular ?

Sub-área da Química que concentra o estudo da **síntese, estrutura e função de biomoléculas**

Organização e metabolismo de células e tecidos

Estrutura e função de:

- Proteínas
- Ácidos nucleicos (DNA, RNA)
- Carboidratos
- Lipídios

Bioquímica

Genética

Genes

Biologia Molecular

Sub-área da biologia que estuda os fenômenos de **hereditariedade e variabilidade em uma população.**

Estudo dos mecanismos e processos moleculares fundamentais envolvendo a utilização e transmissão da informação genética

Processos e Mecanismos fundamentais da Biologia Molecular

- Estrutura e Função dos Ácidos Nucleicos (DNA e RNA)
- Replicação do DNA
- Mutação e Reparo do DNA
- Estrutura gênica, Transcrição e Processamento de RNA
- Código Genético e Tradução de proteínas
- Controle da expressão gênica
- Epigenética

Tecnologias e Aplicações

- Reação em cadeia da polimerase (PCR)
- Sequenciamento de DNA
- RNA de interferência
- Edição de genomas (tecnologia CRISPR-Cas9)
- Biologia Sintética

Por que um químico precisa saber biologia molecular ?

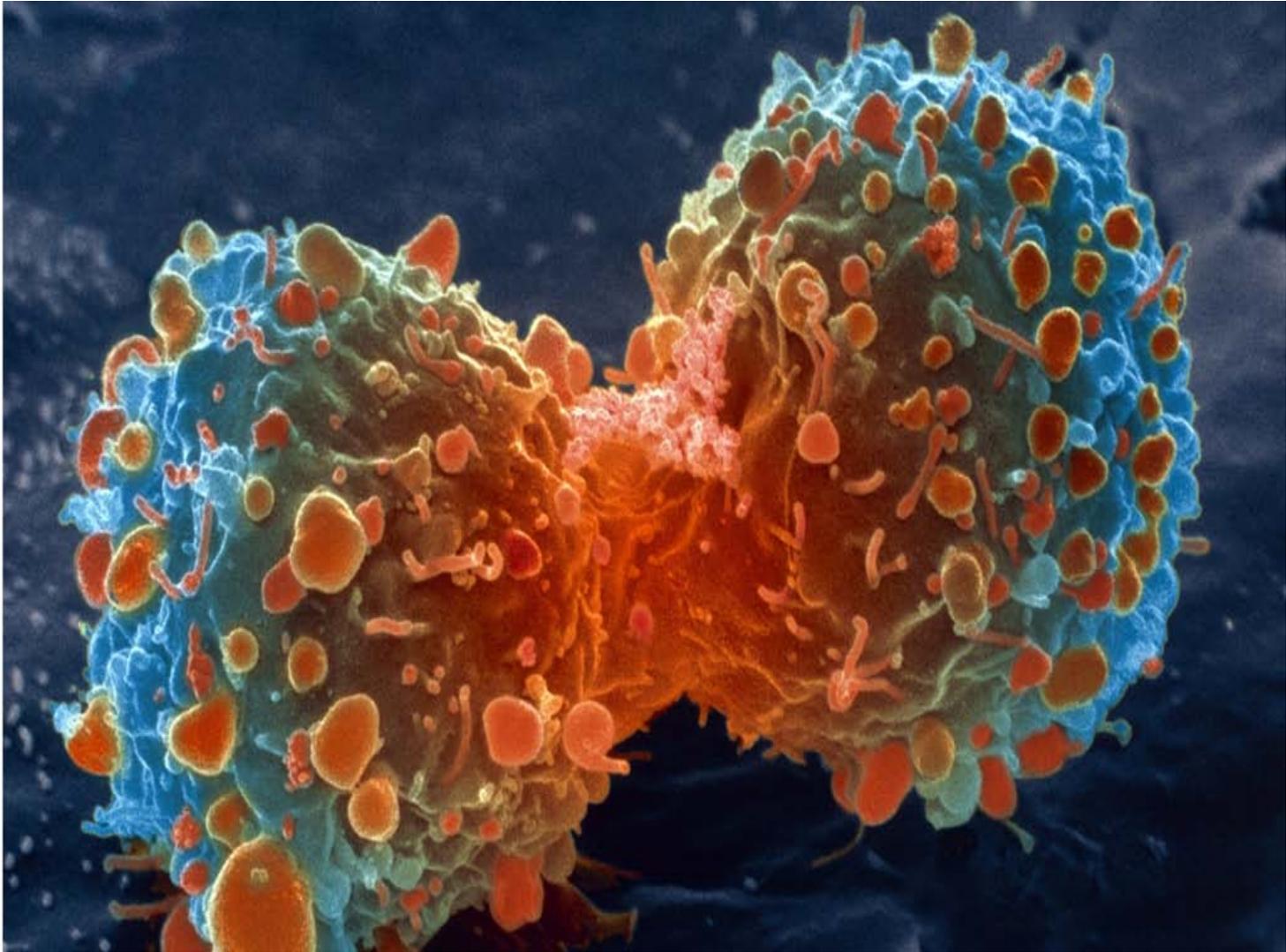
Formação multidisciplinar para atuar de forma competitiva em áreas estratégicas para o desenvolvimento como:

Ambiente, **Energia**, **Saúde**, **Novos Materiais**, **Alimentos**.

Alguns exemplos:

- Biocatálise
- Biofármacos
- Biofotocélulas para produção de energia
- Diagnóstico molecular de doenças e melhoramento na agroindústria
- Biotecnologia ambiental (Biosensores para monitoramento ambiental, Bioremediação de solos)

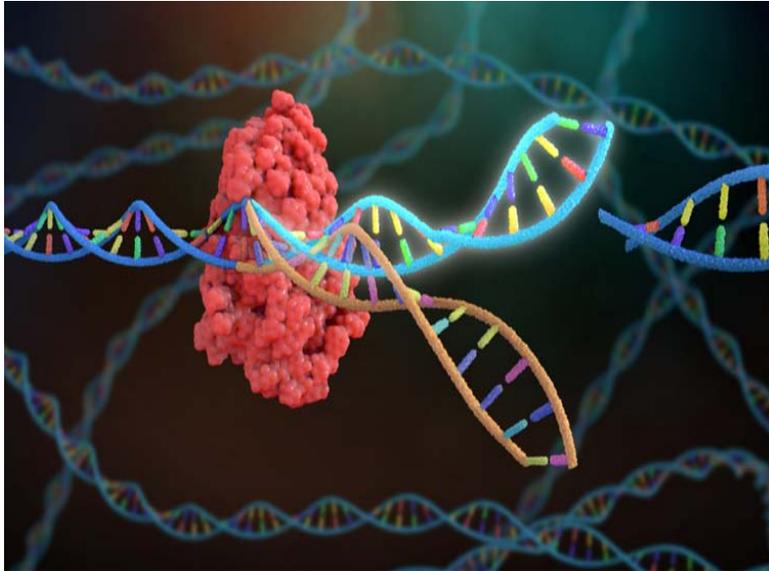
Como mutações causam câncer?



O que são transgênicos? Como são feitos? Quais seus riscos?



Edição de genomas com CRISPR o que é?
Qual a relação com OGMs?
Aplicação na agricultura?



CRISPR– técnica de edição gênica

OGM – organismo geneticamente modificado

TIMPs – inovação em modificação genética



Terapia gênica? Designer babies?
Já podemos fazer? Devemos temer?

FDA approves first test of CRISPR to correct genetic defect causing sickle cell disease

By [Robert Sanders](#), Media relations | MARCH 30, 2021

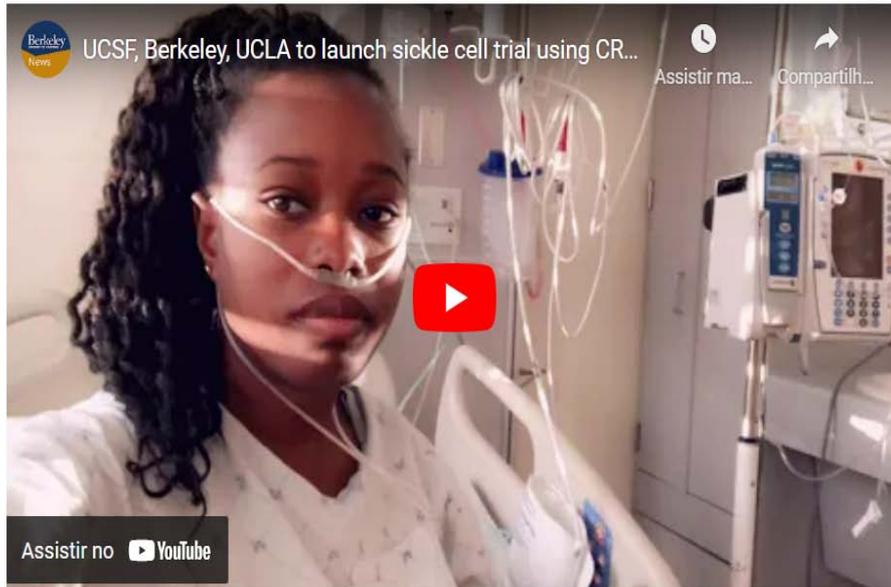
[Tweet](#)

[Share 5K](#)

[Reddit](#)

[Email](#)

[Print](#)

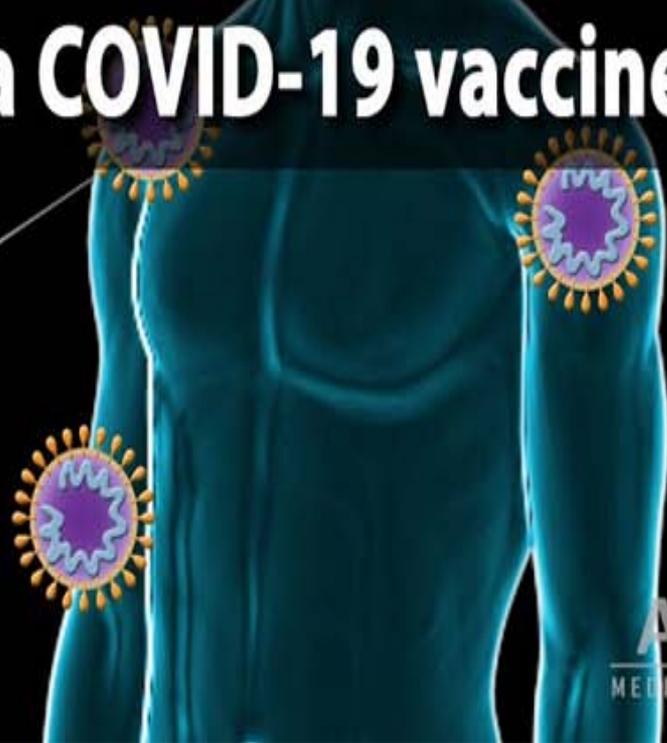
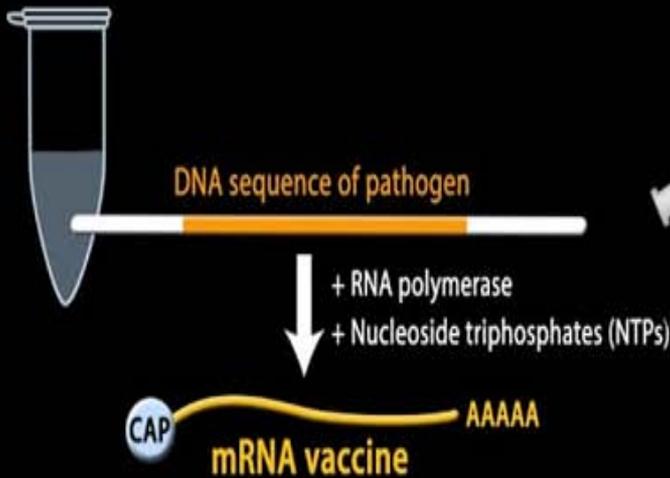


Como funcionam? Quais os desafios para seu desenvolvimento? Como a química de materiais contribuiu?



mRNA Vaccines

(basis of Pfizer, Moderna COVID-19 vaccines)



Como descobrimos isso? Que técnicas e princípios de Biologia Molecular foram usados?

All modern humans have Neanderthal DNA, new research finds



By **Katie Hunt**, CNN

Updated 1600 GMT (0000 HKT) January 30, 2020



Got allergies? You can blame the Neanderthals 01:31

More From CNN



New species of sea isopod discovered in Gulf of...

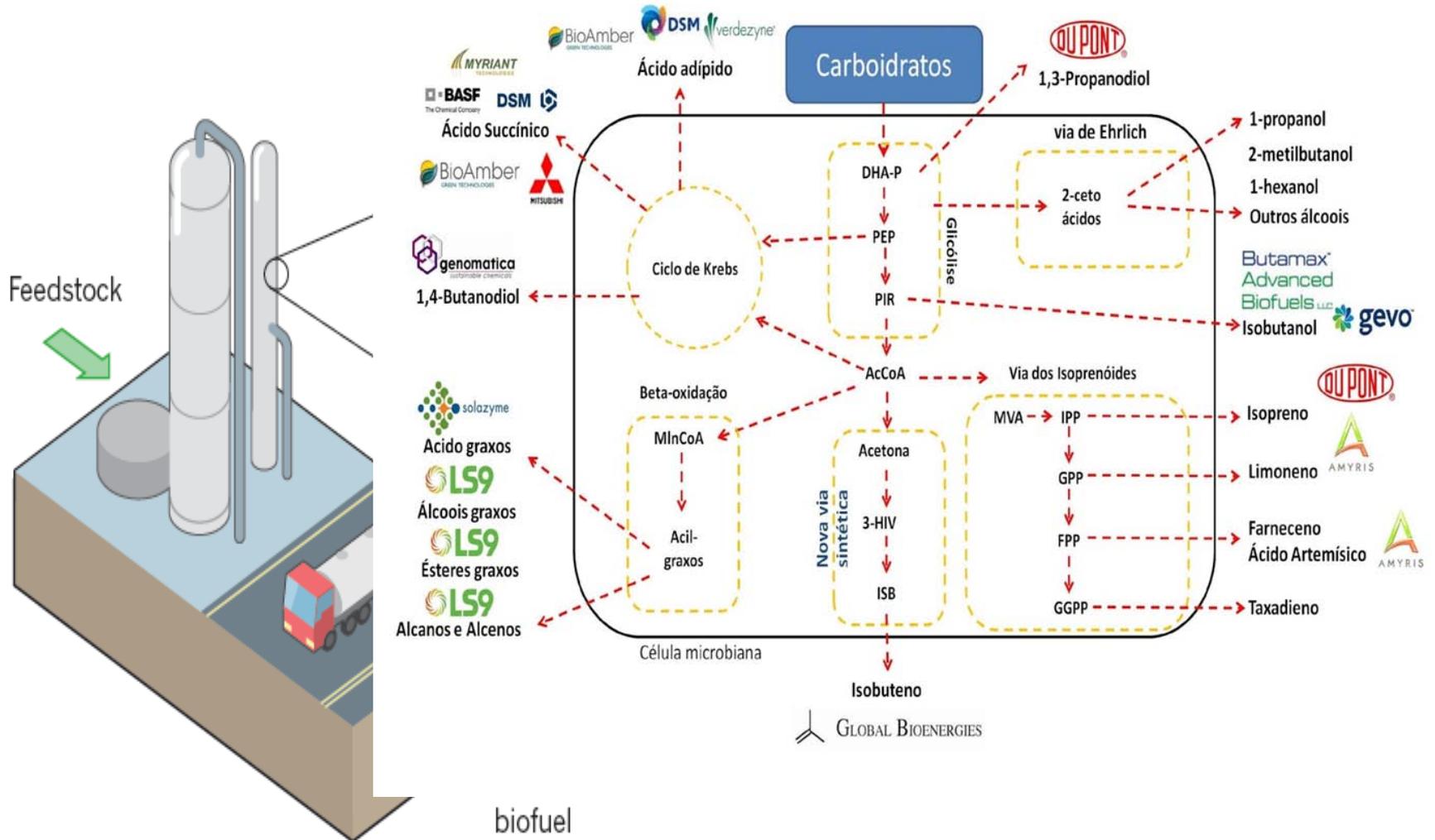


18 children are killed in Egypt

Global Data Week 2022 - 100% Chegou a hora de termos conversa

Global Data Week 2022 - 100% Chegou a hora de termos conversa

O que é **biologia sintética**? Podemos usá-la para substituir os derivados de petróleo?



<http://www.extremetech.com/extreme/134672-harvard-cracks-dna-storage-crams-700-terabytes-of-data-into-a-single-gram>

Harvard cracks DNA storage, crams 700 terabytes of data into a single gram

By Sebastian Anthony on August 17, 2012 at 10:22 am | [274 Comments](#)



Seriam necessários 233 discos rígidos de 3 TB, com peso total de 133 kg para armazenar a mesma quantidade de dados que cabem em 1 grama de DNA

Share This Article

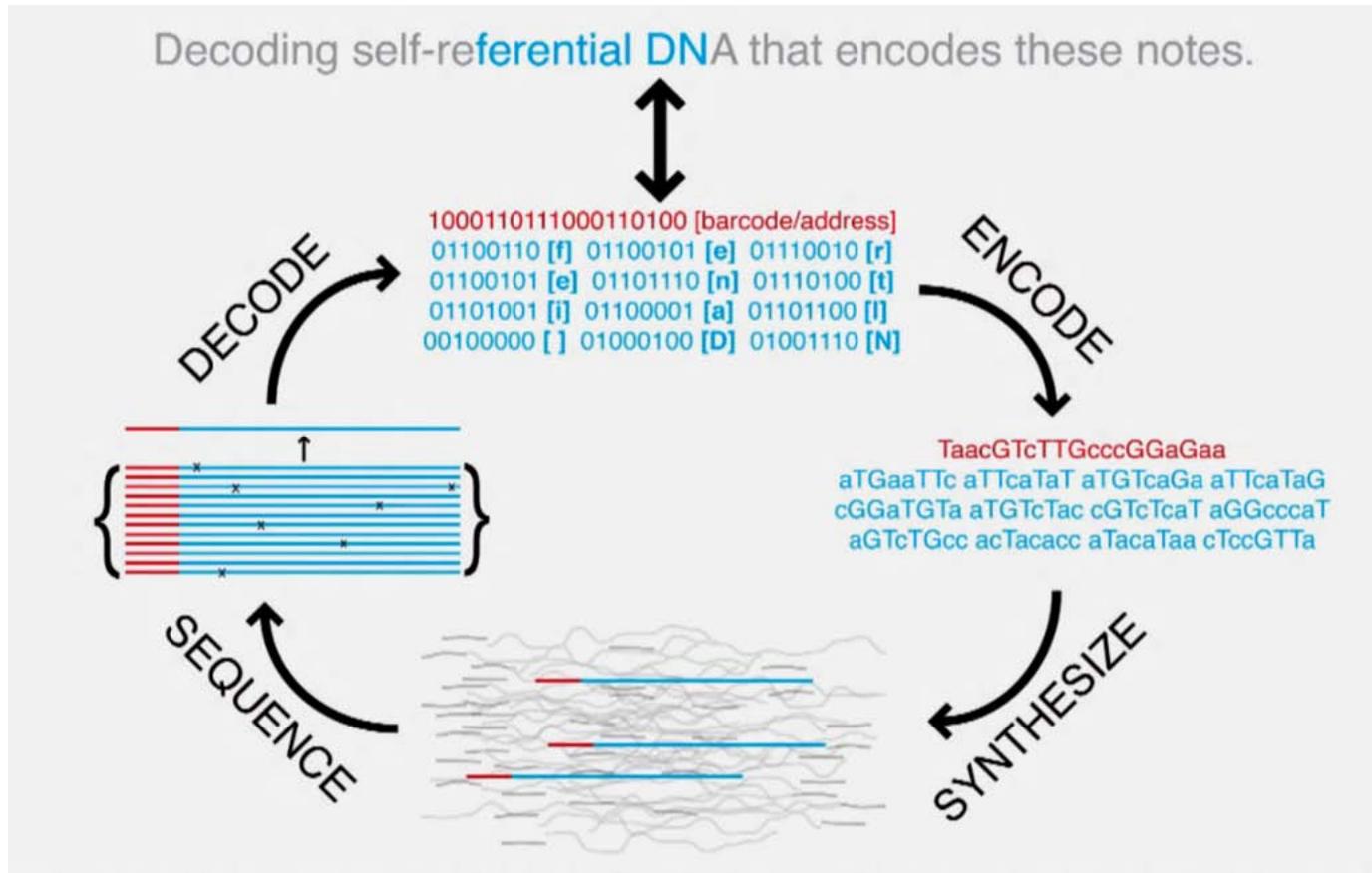


A bioengineer and geneticist at Harvard's Wyss Institute have successfully stored 5.5 petabits of data — around 700 terabytes — in a single gram of DNA, smashing the previous DNA data density record by a thousand times.

“Next-Generation Digital Information Storage in DNA”

George M. Church, Yuan Gao, Sriram Kosuri, Science 28 September 2012: Vol. 337 no. 6102 p. 1628

Armazenamento de informação em DNA síntese e leitura de sequencias de DNA em escala massiva



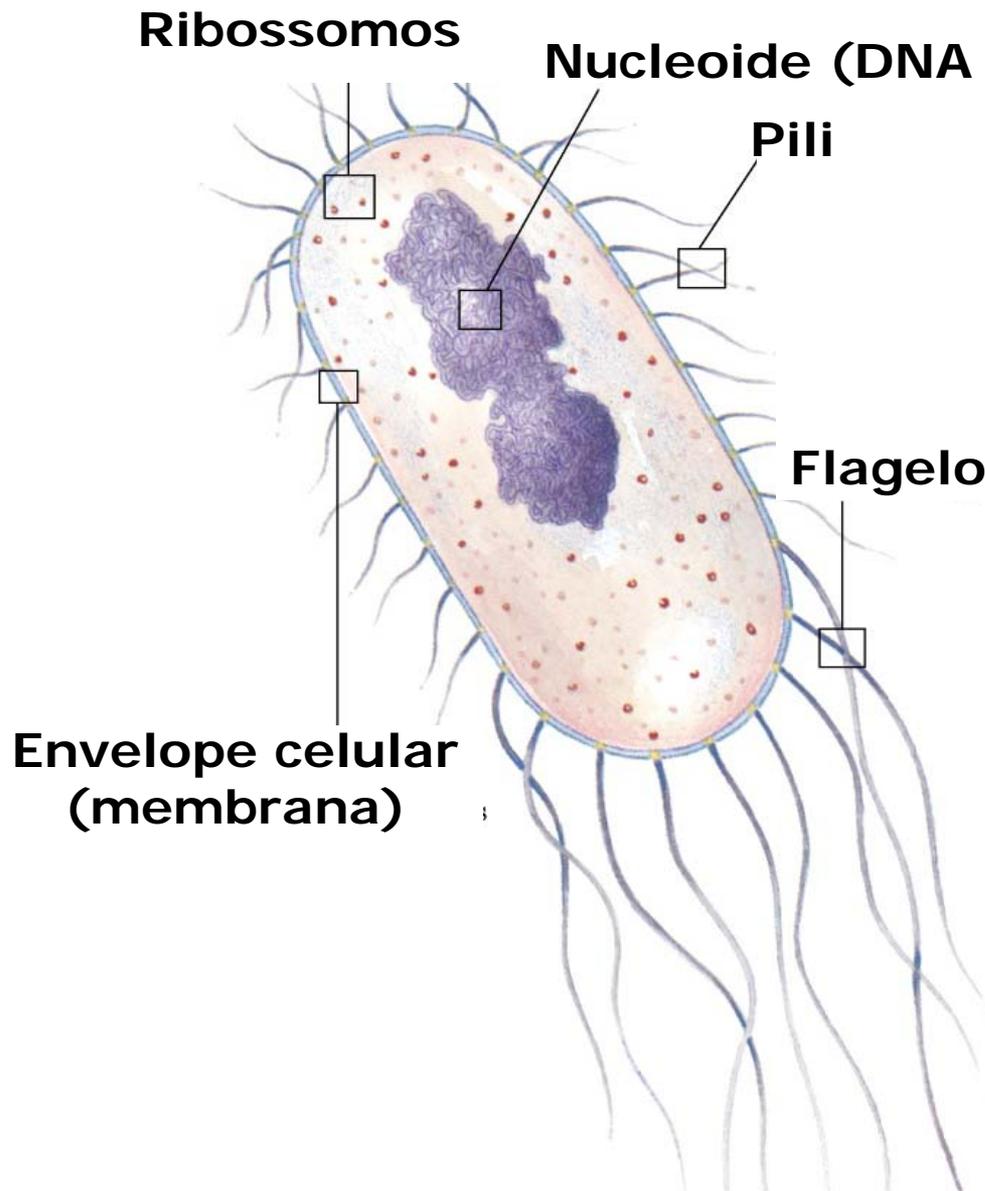
“Next-Generation Digital Information Storage in DNA”

George M. Church, Yuan Gao, Sriram Kosuri, Science 28 September 2012: Vol. 337 no. 6102 p. 1628

AQUI
sua pergunta
favorita

Fluxo da informação genética nos sistemas biológicos

Célula procariótica (bactérias)

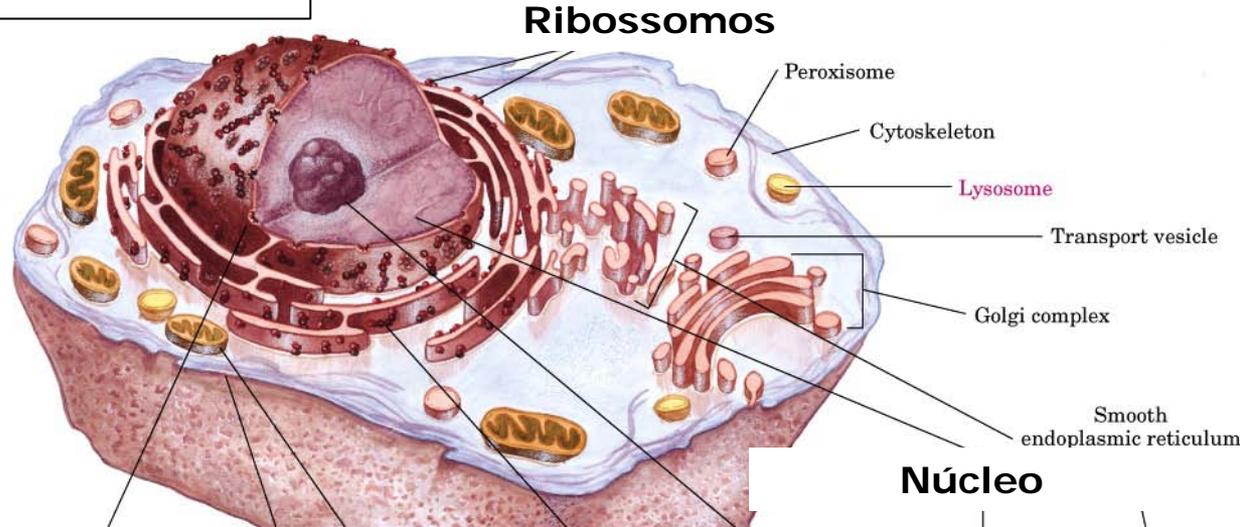


Não tem organelas (núcleo, mitocôndrias, etc)

Material genético na forma de um cromossomo único, circular fechado compactado no nucleóide (não compartimentalizado)

Célula eucariótica

Célula animal

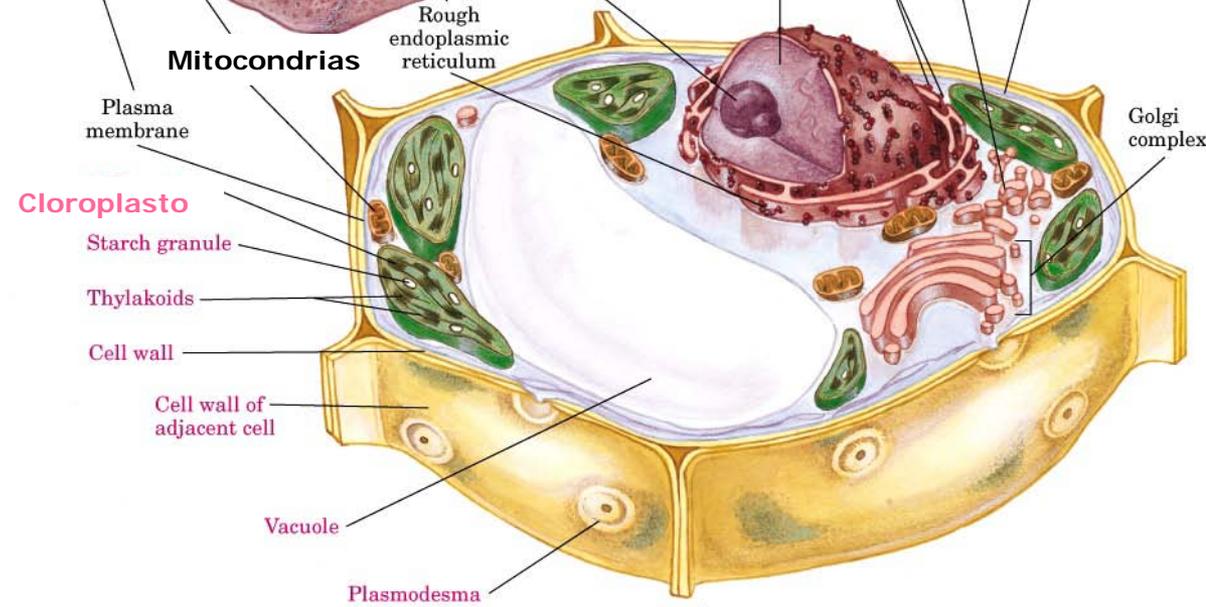


Organelas (núcleo, mitocondrias, cloroplastos, etc)

Material genético compactado no núcleo na forma de cromossomos lineares

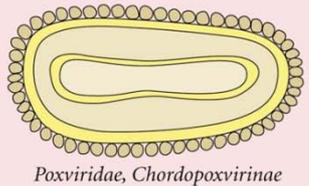
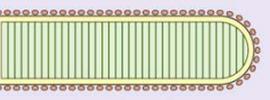
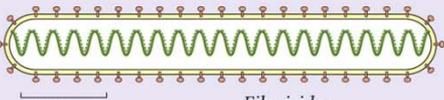
Envelope nuclear

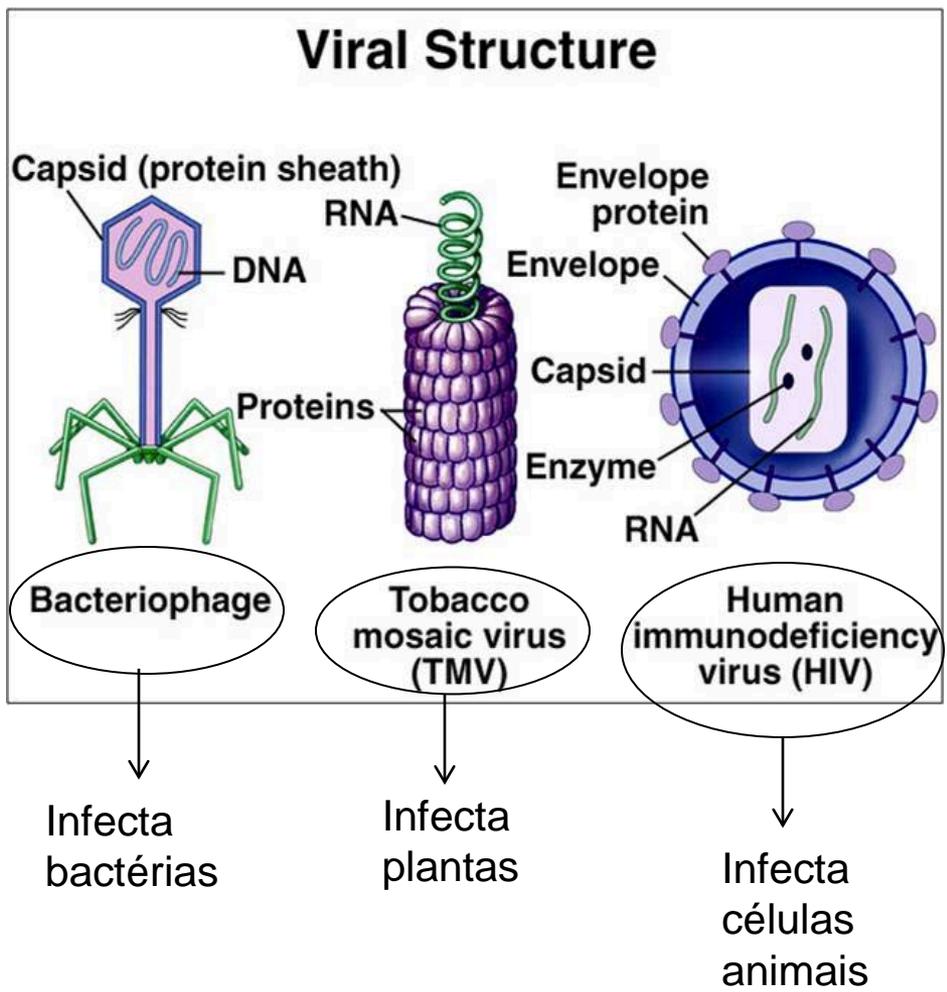
(a)



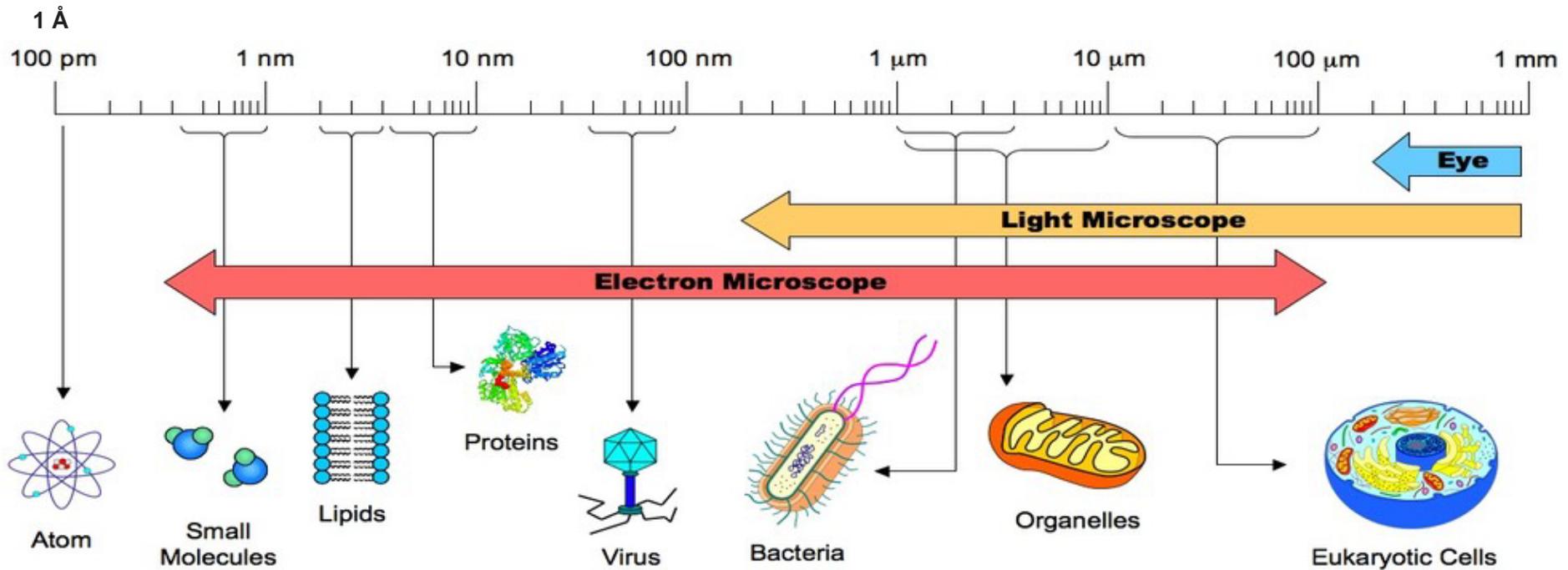
Célula vegetal

Vírus dependem de células para sua replicação e metabolismo

	Enveloped	Nonenveloped
DNA	<p>dsDNA</p>  <p><i>Poxviridae, Chordopoxvirinae</i></p>  <p><i>Herpesviridae</i></p>  <p><i>Hepadnaviridae</i></p>	<p>dsDNA</p>  <p><i>Adenoviridae</i></p>  <p><i>Papovaviridae</i></p> <p>ssDNA</p>  <p><i>Parvoviridae</i></p>
RNA	<p>ssRNA</p>  <p><i>Coronaviridae</i></p>  <p><i>Paramyxoviridae</i></p>  <p><i>Bunyaviridae</i></p>  <p><i>Togaviridae</i></p>  <p><i>Orthomyxoviridae</i></p>  <p><i>Arenaviridae</i></p>  <p><i>Togaviridae</i></p>  <p><i>Flaviviridae</i></p>  <p><i>Retroviridae</i></p>  <p><i>Rhabdoviridae</i></p>  <p><i>Filoviridae</i></p> <p>100 nm</p>	<p>dsRNA</p>  <p><i>Reoviridae</i></p>  <p><i>Birnaviridae</i></p> <p>ssRNA</p>  <p><i>Picornaviridae</i></p>  <p><i>Caliciviridae</i></p>



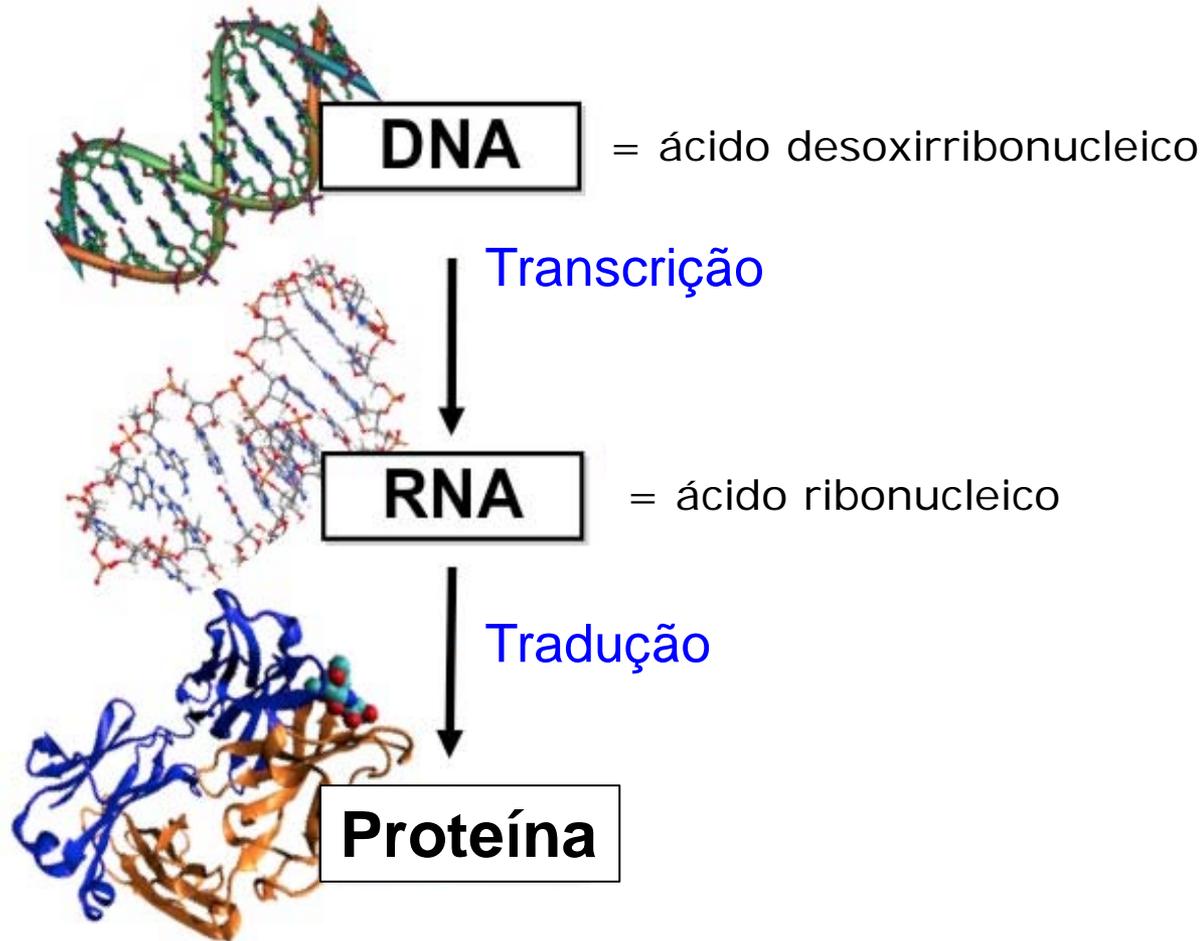
Tamanhos relativos e escala de materiais biológicos



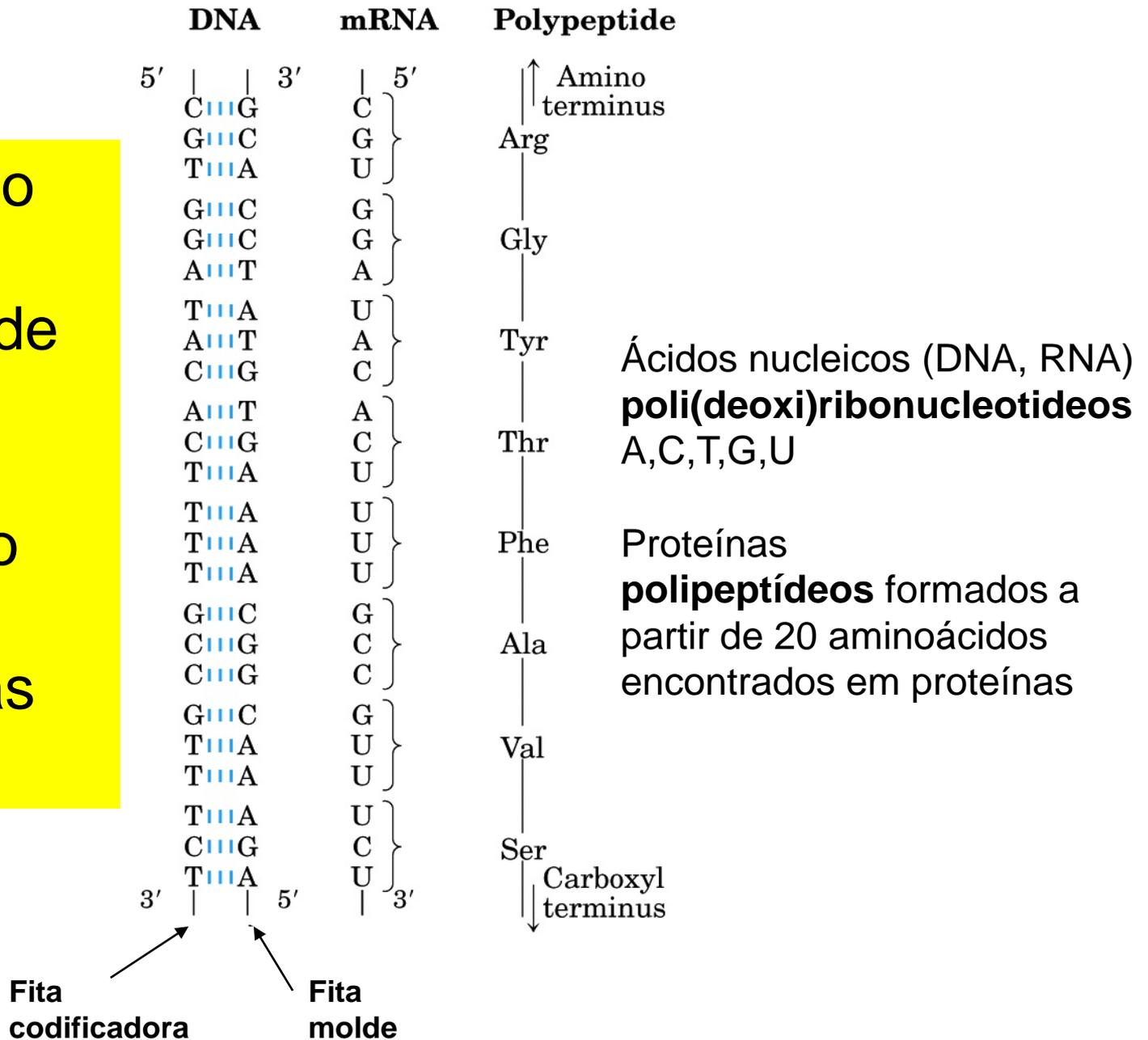
Um cromossomo humano tem em média 5 cm de comprimento !

Dogma central da biologia molecular

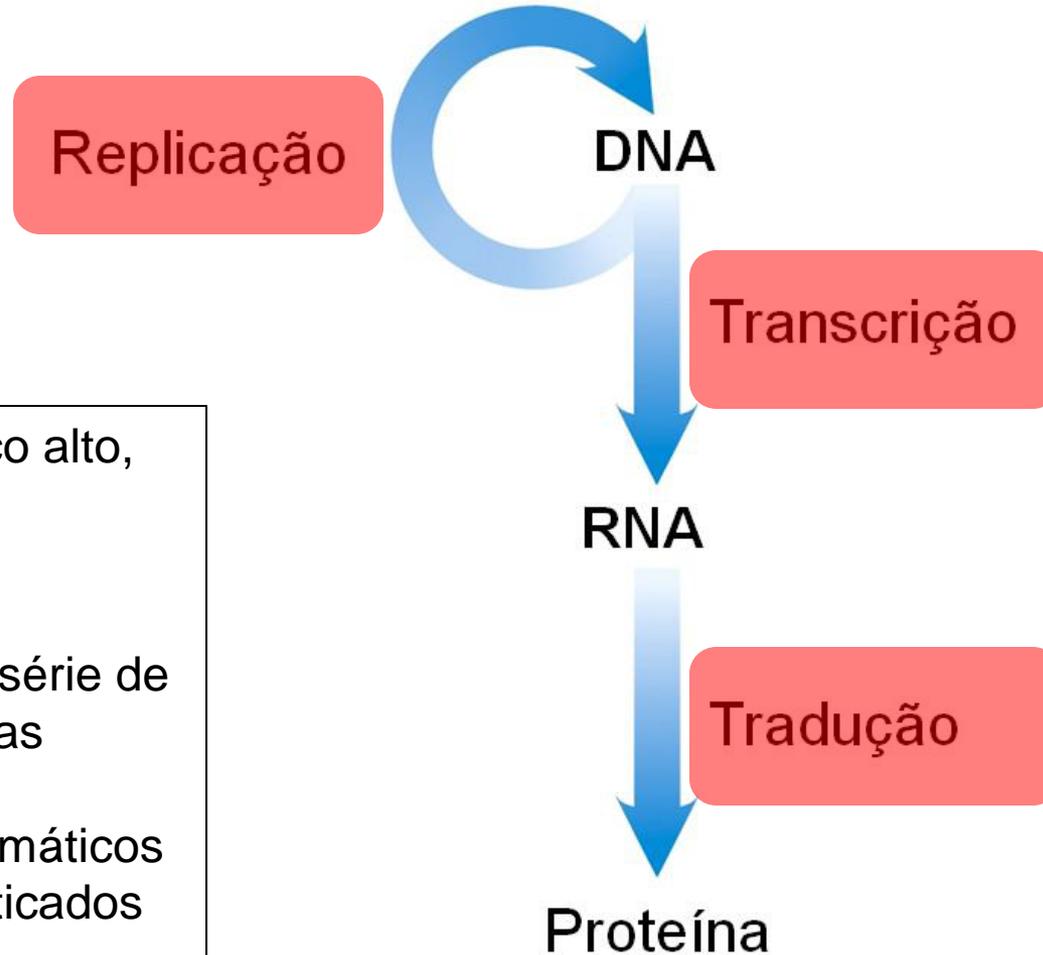
O DNA é o repositório da informação genética e o fluxo da informação genética se dá de forma **unidirecional**



A informação genética flui através de um código que armazenado em biomoléculas poliméricas



Processos envolvidos no fluxo da informação genética

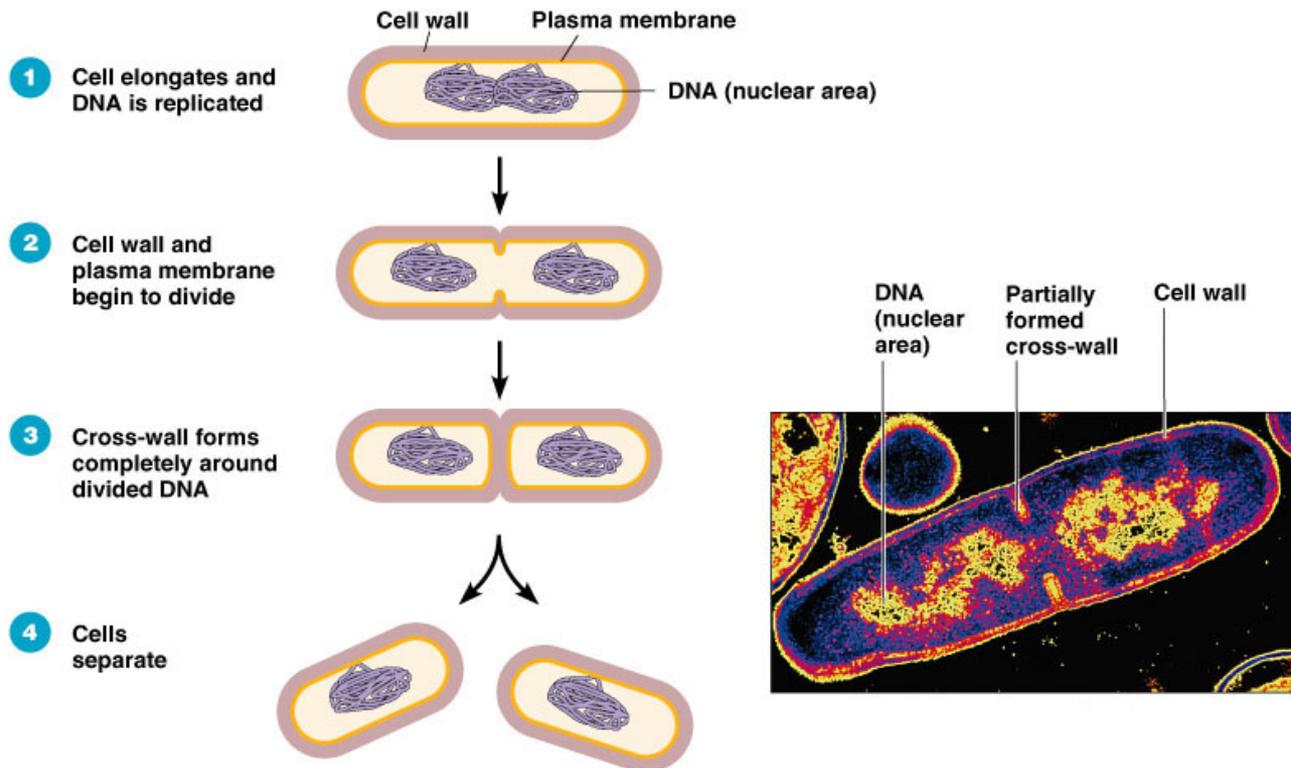


- Custo energético alto, extremamente controlados
- Envolvem uma série de reações químicas catalisadas por complexos enzimáticos altamente sofisticados

Replicação

DNA → DNA

- Processo que resulta na **duplicação do material genético** armazenado no DNA
- Antecede a divisão celular
- Reações de síntese de DNA catalizadas por enzimas (**DNA polimerases**)



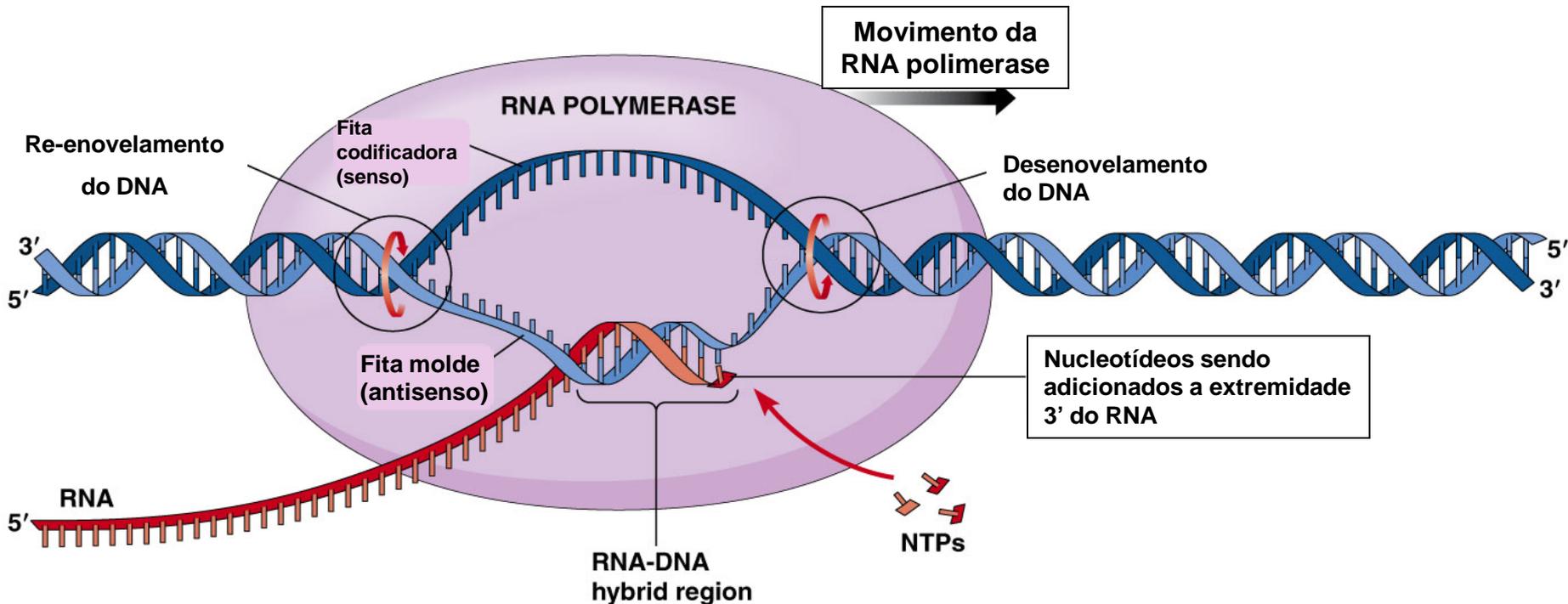
(a) A diagram of the sequence of cell division.

(b) A thin section of a cell of *Bacillus licheniformis* starting to divide.

Transcrição

DNA → RNA

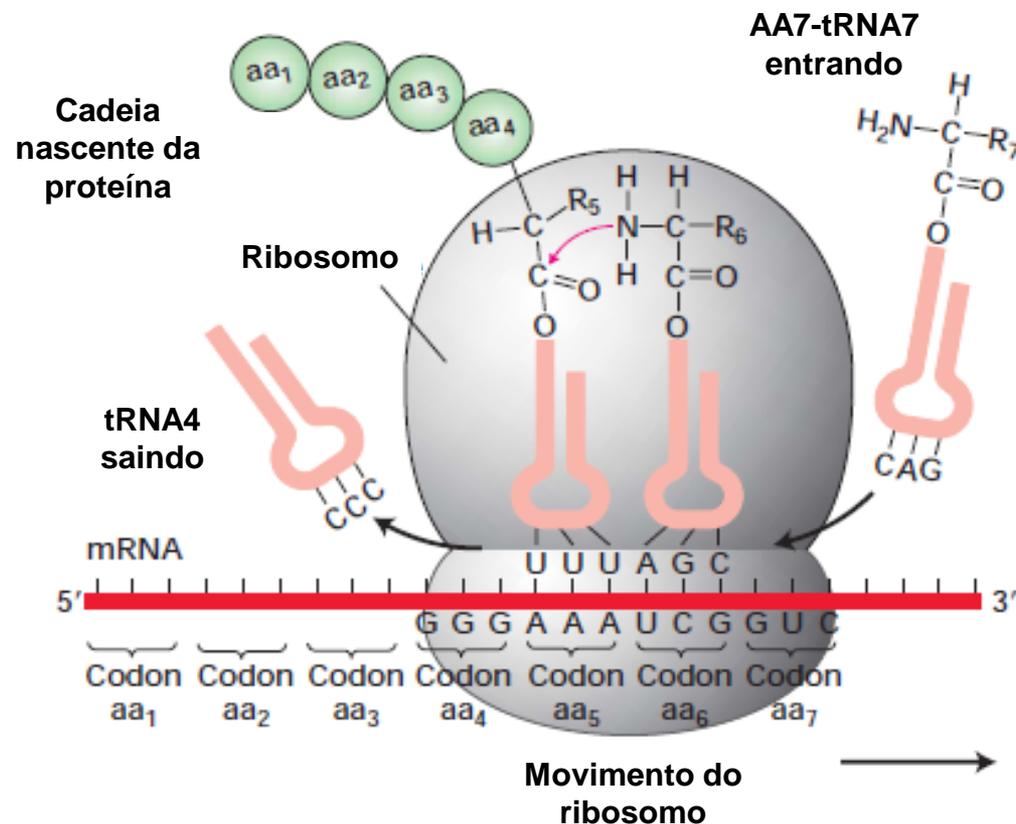
- Síntese de RNA utilizando trechos do DNA como molde.
- Processo de **mobilização da informação genética**.
- Resulta na produção de RNAs com diferentes funções, incluindo RNAs mensageiros.
- Catalizada por **RNA polimerases**



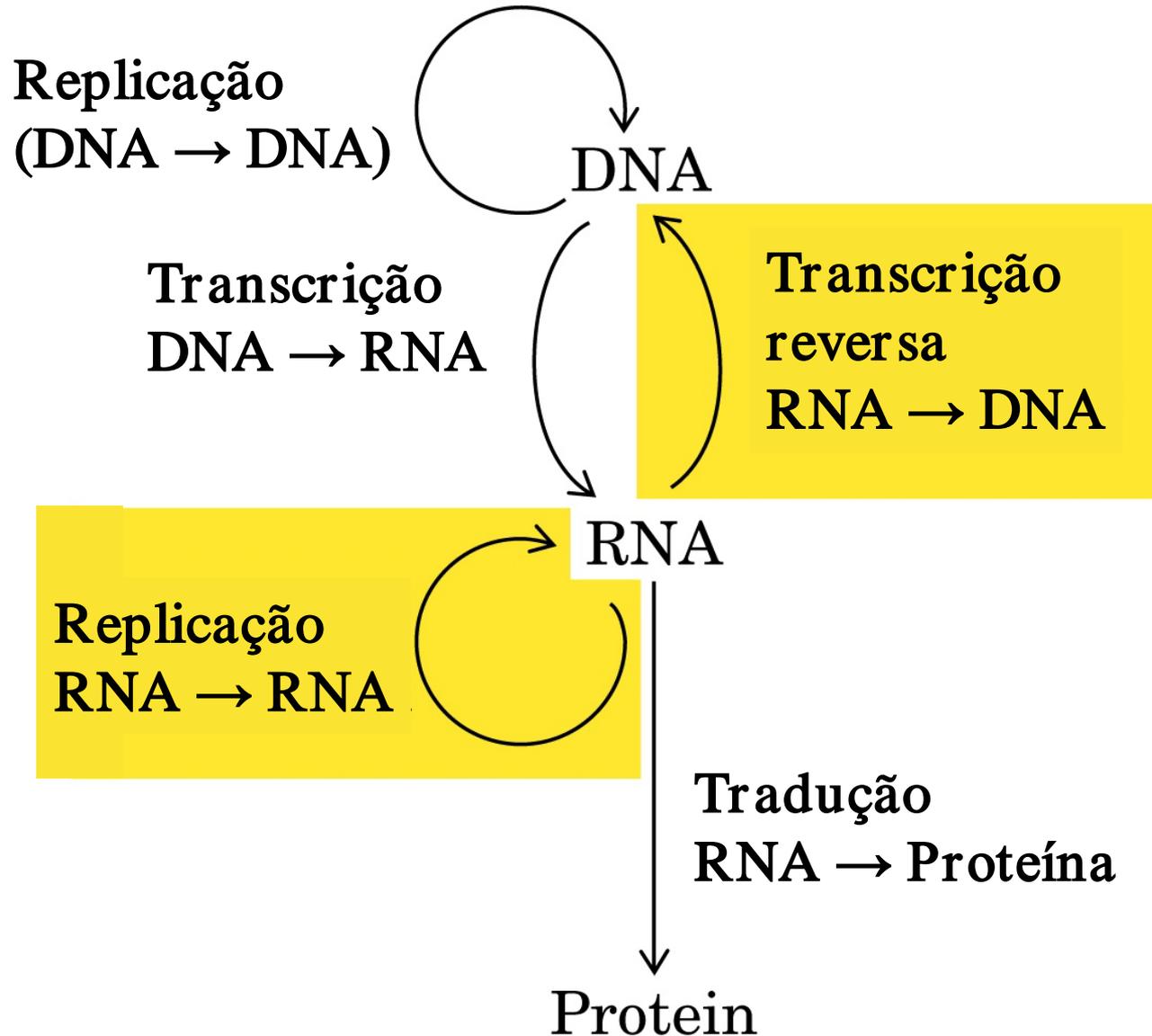
Tradução

RNA → Proteína

- Processo de **decodificação da informação genética**.
- Síntese de polipeptídeos a partir da informação contida na sequência **dos RNAs mensageiros**
- **RNAs transportadores** fazem a leitura e decodificação do código genético
- Catalizada por componentes dos **ribossomos**



O estudo dos vírus de RNA revelou novos aspectos do fluxo da informação genética

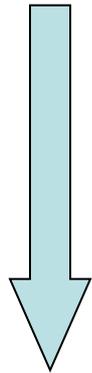


Infecção celular por Retrovírus (ex. HIV)

Fluxo da informação: RNA → DNA

RNA simples fita

Replicação

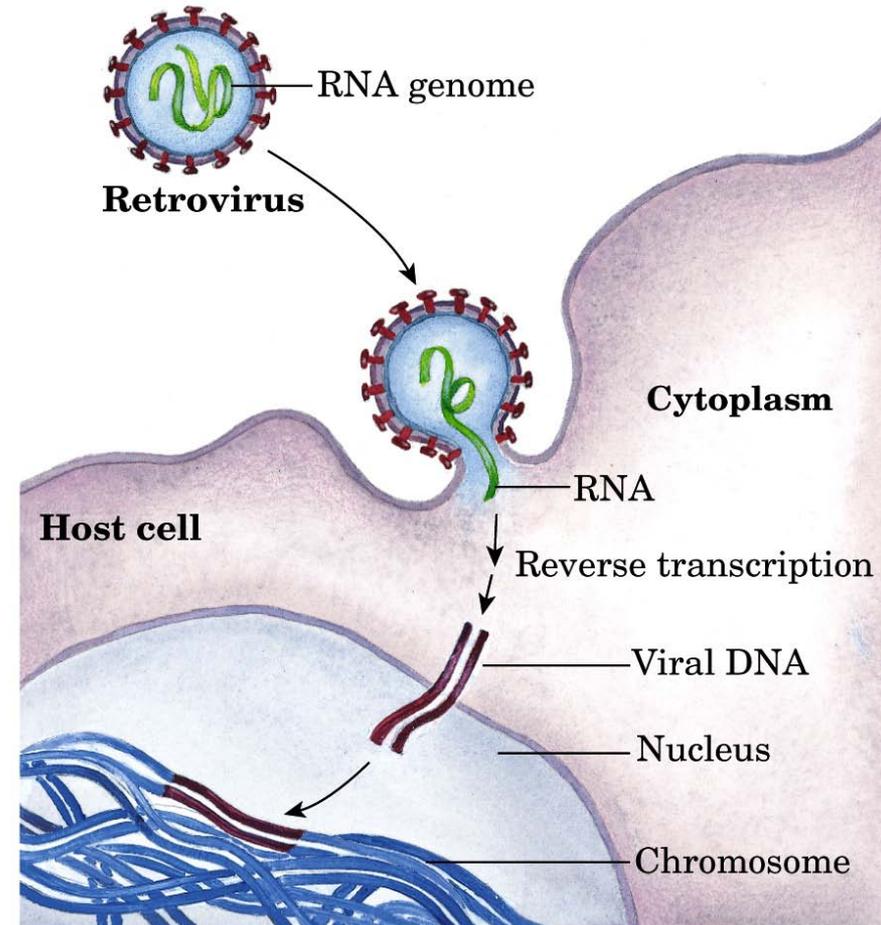


Transcriptase Reversa
(DNA polimerase)

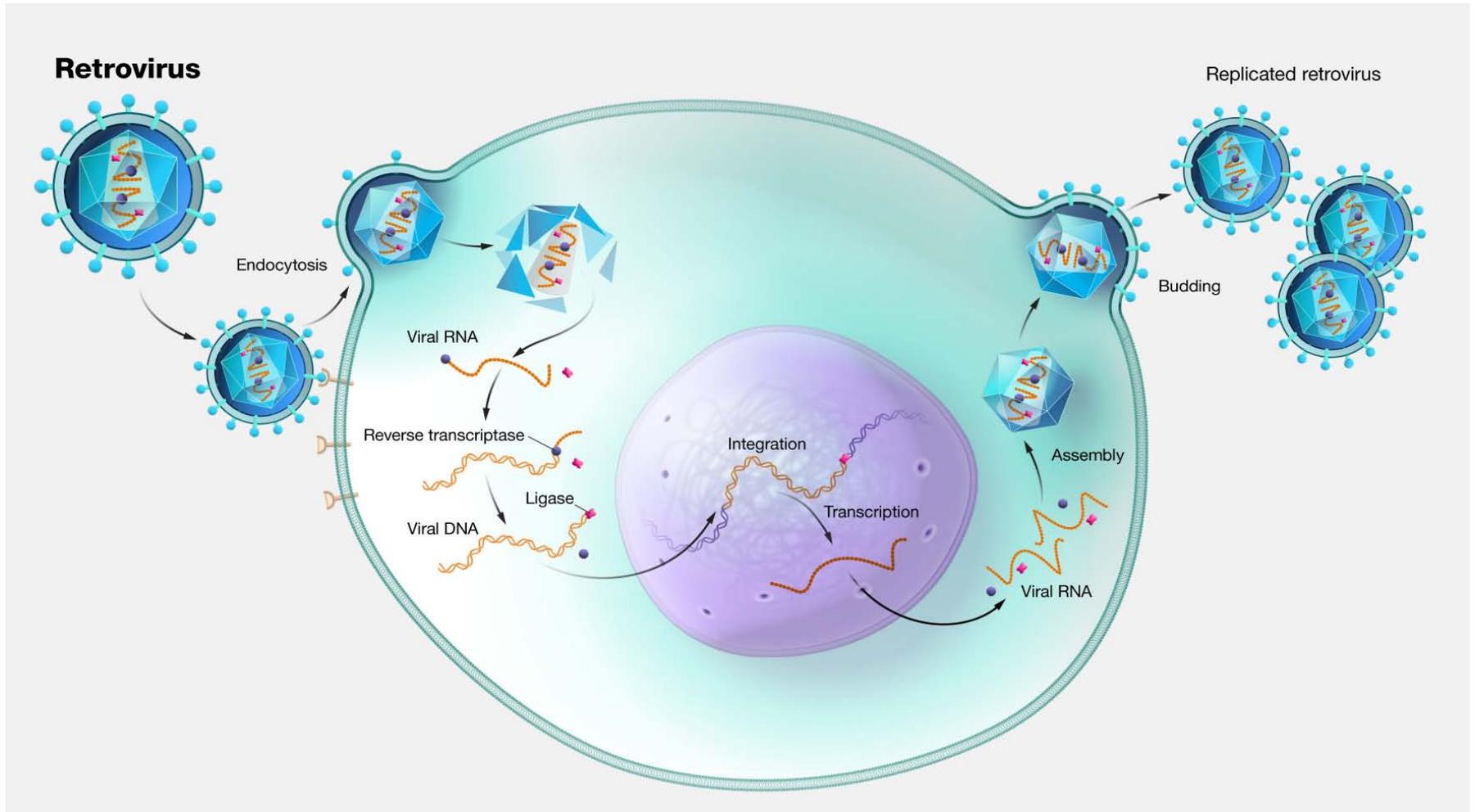
DNA dupla fita

1) A transcriptase reversa e outros genes que codificam para proteínas do capsídeo estão codificados no RNA do vírus e são traduzidos pela maquinaria da célula hospedeira.

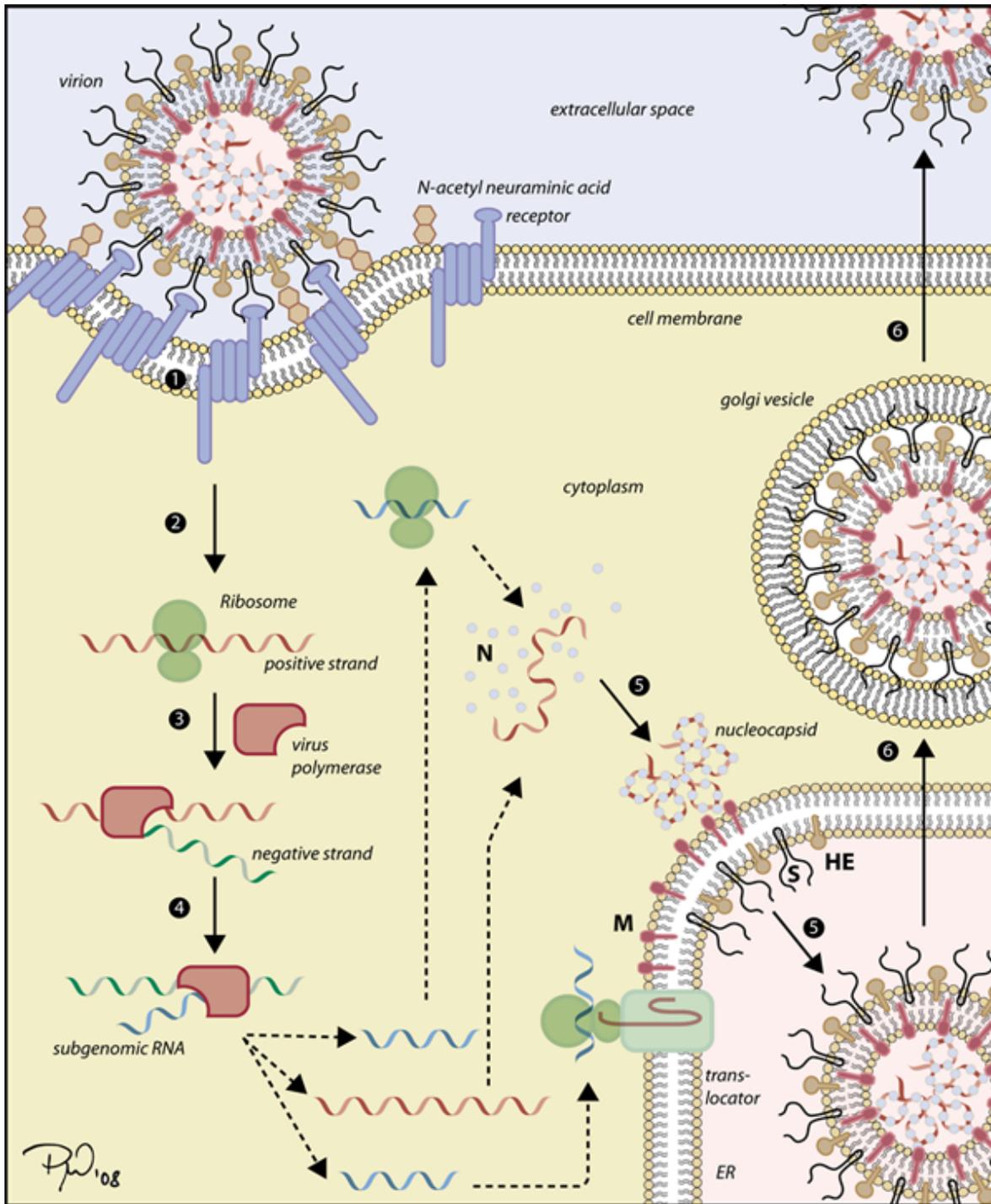
2) O DNA viral sintetizado pela transcriptase reversa se integra no genoma da célula hospedeira.



3) A replicação de retrovírus envolve a transcrição do genoma viral integrado no genoma da célula hospedeira: Genoma de RNA e RNAs mensageiros codificam proteínas virais



Replication of Coronavirus



1 With their S-protein, coronaviruses bind on cell surface molecules such as the metalloprotease »amino-peptidase N«. Viruses, which accessorially have the HE-protein, can also bind on N-acetyl neuraminic acid that serves as a co-receptor.

2 So far, it is not clear whether the virus get into the host cell by fusion of viral and cell membrane or by receptor mediated endocytosis in that the virus is in-corporated via an endosome, which is subsequently acidified by proton pumps. In that case, the virus have to escape destruction and transport to the lysosome.

3 Since coronaviruses have a single positive stranded RNA genome, they can directly produce their proteins and new genomes in the cytoplasm. At first, the virus synthesize its RNA polymerase that only recognizes and produces viral RNAs. This enzyme synthesize the minus strand using the positive strand as template.

4 Subsequently, this negative strand serves as template to transcribe smaller subgenomic positive RNAs which are used to synthesize all other proteins. Furthermore, this negative strand serves for replication of new positive stranded RNA genomes.

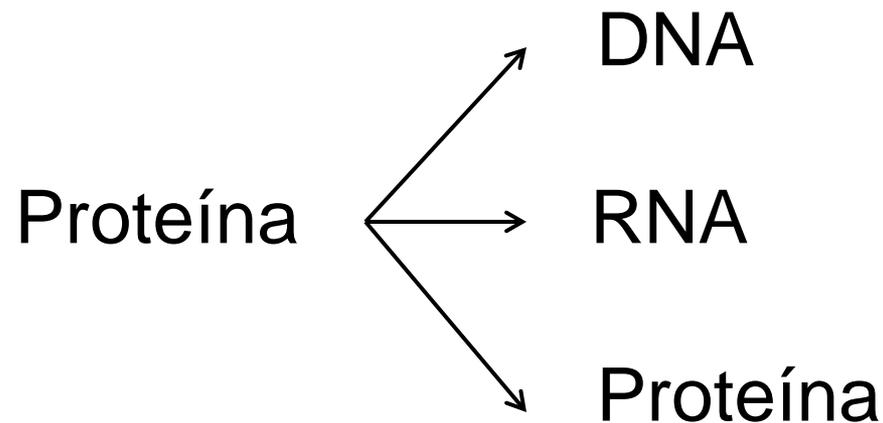
5 The protein N binds genomic RNA and the protein M is integrated into the membrane of the endoplasmic reticulum (ER) like the envelope proteins S and HE. After binding, assembled nucleocapsids with helical twisted RNA budd into the ER lumen and are encased with its membrane.

6 These viral progeny are finally transported by golgi vesicles to the cell membrane and are exocytosed into the extracellular space.

Not drawn to scale! Not all cellular compartments and enzymes are shown. Colors: positive strand RNA (red), negative strand RNA (green), subgenomic RNAs (blue).

Based on: Lai MM, Cavanagh D (1997). The molecular biology of coronavirus. Adv. Virus Res (48) 1-100.

Tipos de transferência de informação genética não previstas pelo Dogma Central da Biologia Molecular



As proteínas são apenas recipientes da informação genética

Alguns mecanismos moleculares aumentam a complexidade do fluxo de informação genética

- Modificações epigenéticas no DNA
- Processamento e edição de RNAs
- Modificações pós-tradução de proteínas