

Regulação da expressão gênica em bactérias e em eucariotos

CCM0121 – Biologia II

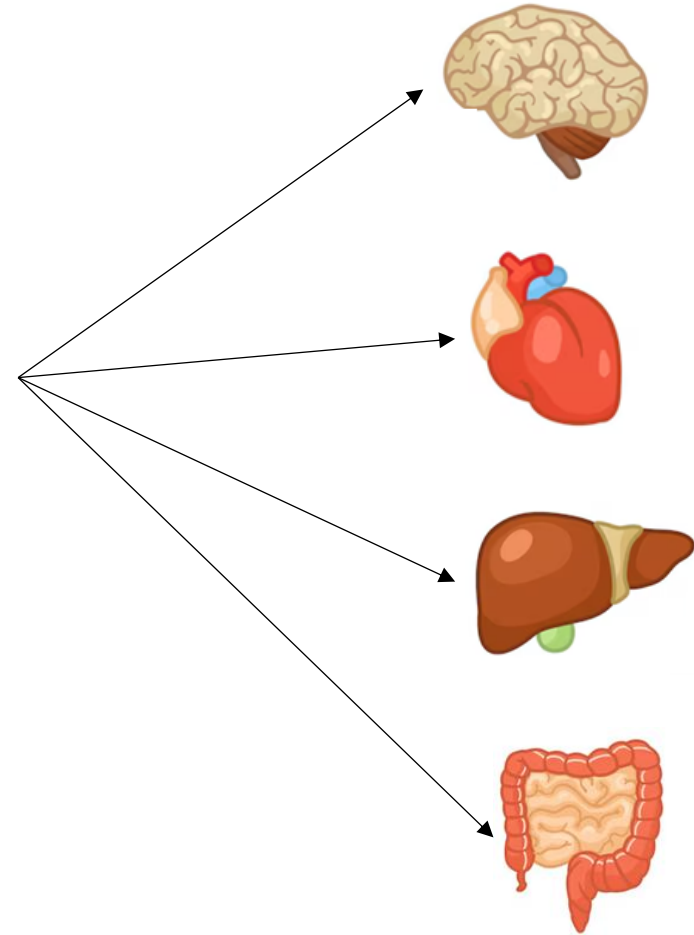
Evandro de Souza

evandro@iq.usp.br

É o que permite a existência da vida multicelular (complexa)

Pense nas diferentes células do seu corpo – todas possuem o mesmo DNA

A precisa escolha de quais genes serão expressos é o que permite que neurônios sejam neurônios e não células secretoras de ácido gástrico

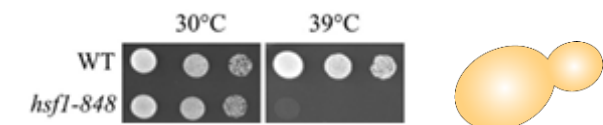
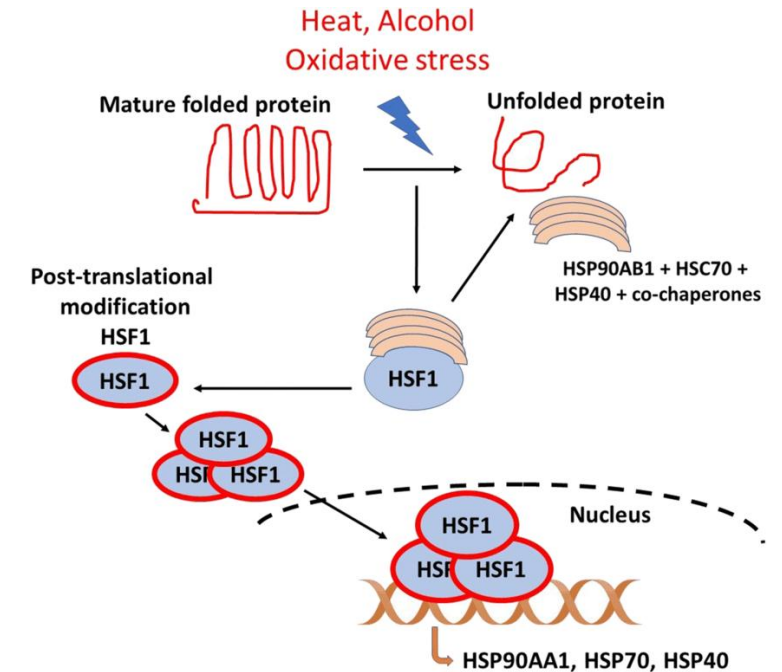
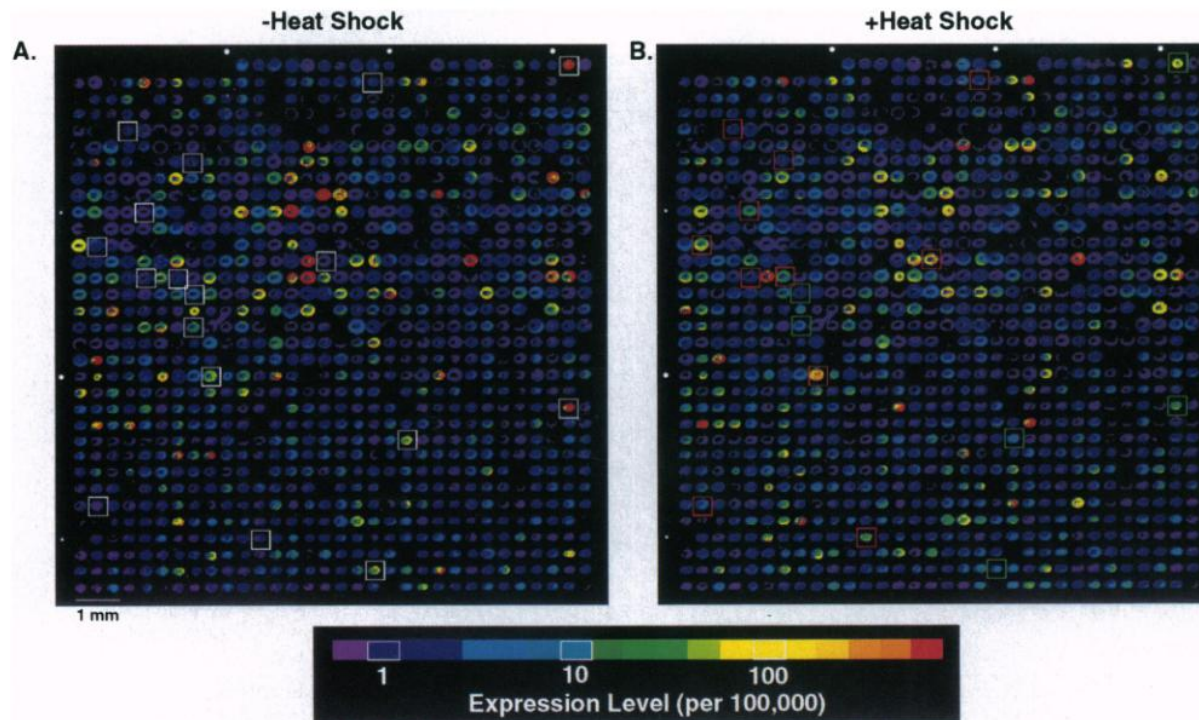


Controle da expressão gênica = adaptação ao ambiente

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 93, pp. 10614–10619, October 1996

Parallel human genome analysis: Microarray-based expression monitoring of 1000 genes

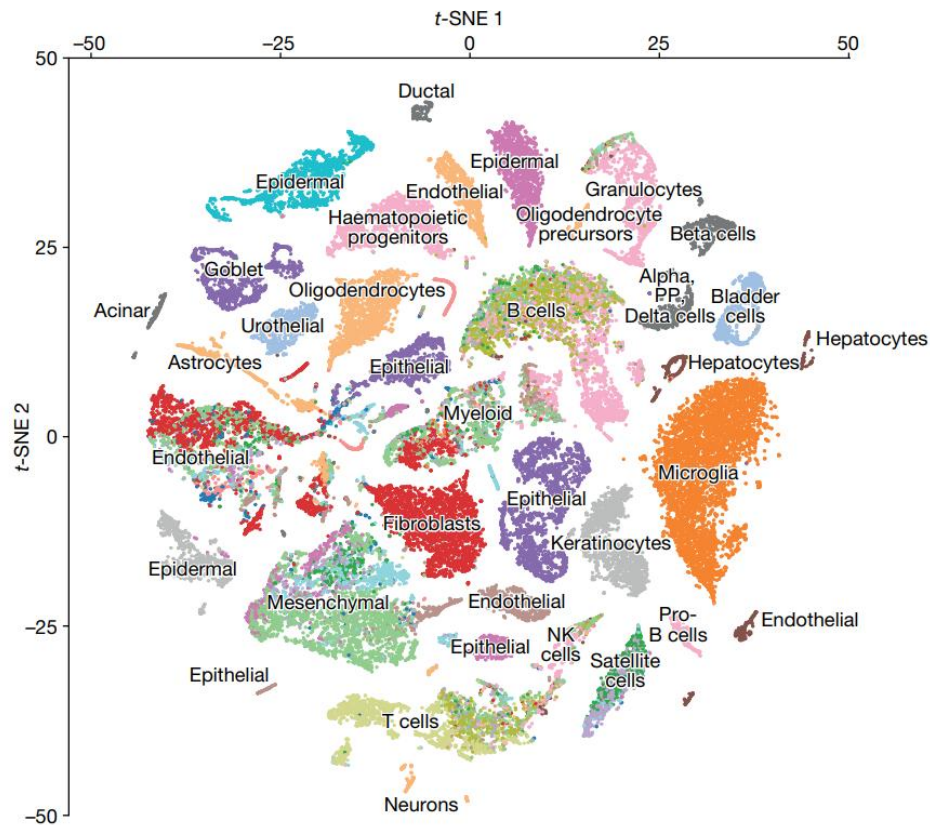
MARK SCHENA^{*†}, DARI SHALON[‡], RENU HELLER^{*}, ANDREW CHAI^{*}, PATRICK O. BROWN[§], AND RONALD W. DAVIS^{*}



Chau et al, 2023, PNAS

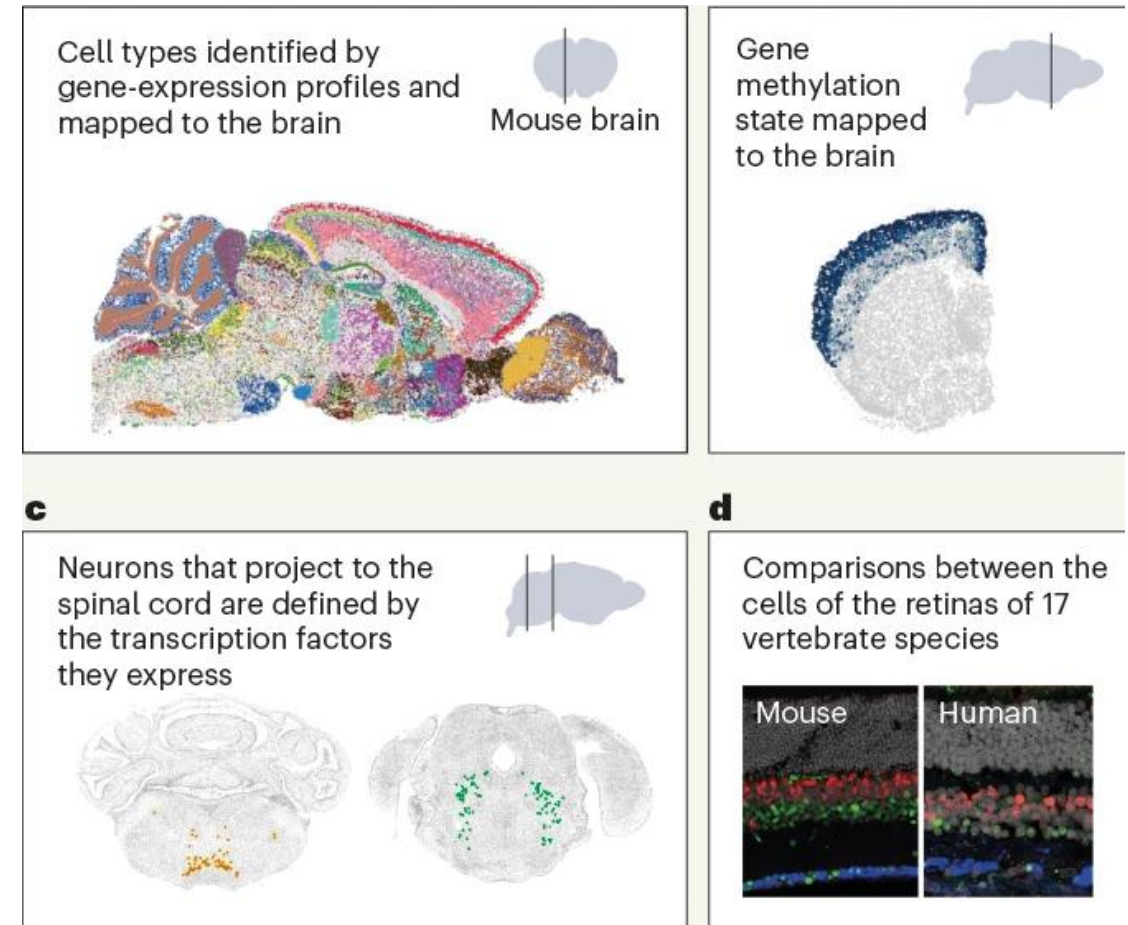
Estado da arte

Single-cell RNAseq



The Tabula Muris Consortium, Nature, 2021

Spatial transcriptomics



Tosches & Lee, Nature, 2023

Entendimento da regulação é fundamental para entender a vida



VOLUME 388 | ISSUE 6746 | 1 MAY 2025

RESEARCH ARTICLES

Metabolic signaling of ceramides through the FPR2 receptor inhibits adipocyte thermogenesis

DY HUI LIN, CHUANGJUN MA, KUI CAI, LULU GUO, XUEMEI WANG, LIN LV, CHAO ZHANG, JUN LIN, DAOLAI ZHANG, CHUAN YE, [...] JIN-PENG SUN

01 MAY 2025

A symbiotic filamentous gut fungus ameliorates MASH via a secondary metabolite–CerS6–ceramide axis

RY SHIANG ZHOU, MENG LI, PENGCHENG WANG, CHENGHAO GUO, JINXIN ZHANG, XI LUO, YU CHEN FAN, EN QIANG CHEN, XINGSHUN QI, JIUNJIN CHEN, [...]

CHANGTAO JIANG (+7 authors) • 01 MAY 2025

Volume 641 Issue 8061, 1 May 2025



Perception of viral infections and initiation of antiviral defence in rice

Viral coat proteins are perceived by the RING1–IBR–RING2-type ubiquitin ligase, initiating the first step of the natural antiviral response in rice.

Yu Huang, Jialin Yang ... Yi Li

Prohormone cleavage prediction uncovers a non-incretin anti-obesity peptide

Computational drug discovery is used to identify a 12-mer peptide derived from DRNP2 with potent anti-obesity effects that are independent of leptin, glucagon-like peptide 1 receptor and melanocortin 4 receptor.

Laetitia Coassolo, Niels B. Danneskiold-Samsøe ... Katrin J. Svensson

STING agonist-based ER-targeting molecules boost antigen cross-presentation

STING agonist-based endoplasmic reticulum-targeting molecules can be conjugated directly onto antigens to deliver them to the cross-presentation pathway, improving CD8⁺ T cell responses against tumours and viruses.

Xiaofeng Wang, Zhangping Huang ... Ji Wang

O que é expressão gênica?

Um gene A está sendo expresso quando:

- Está sendo transcrito para formar RNAm;
- O RNAm está sendo traduzido para formar proteína;
- As proteínas formadas estão corretamente enoveladas e funcionais na célula.

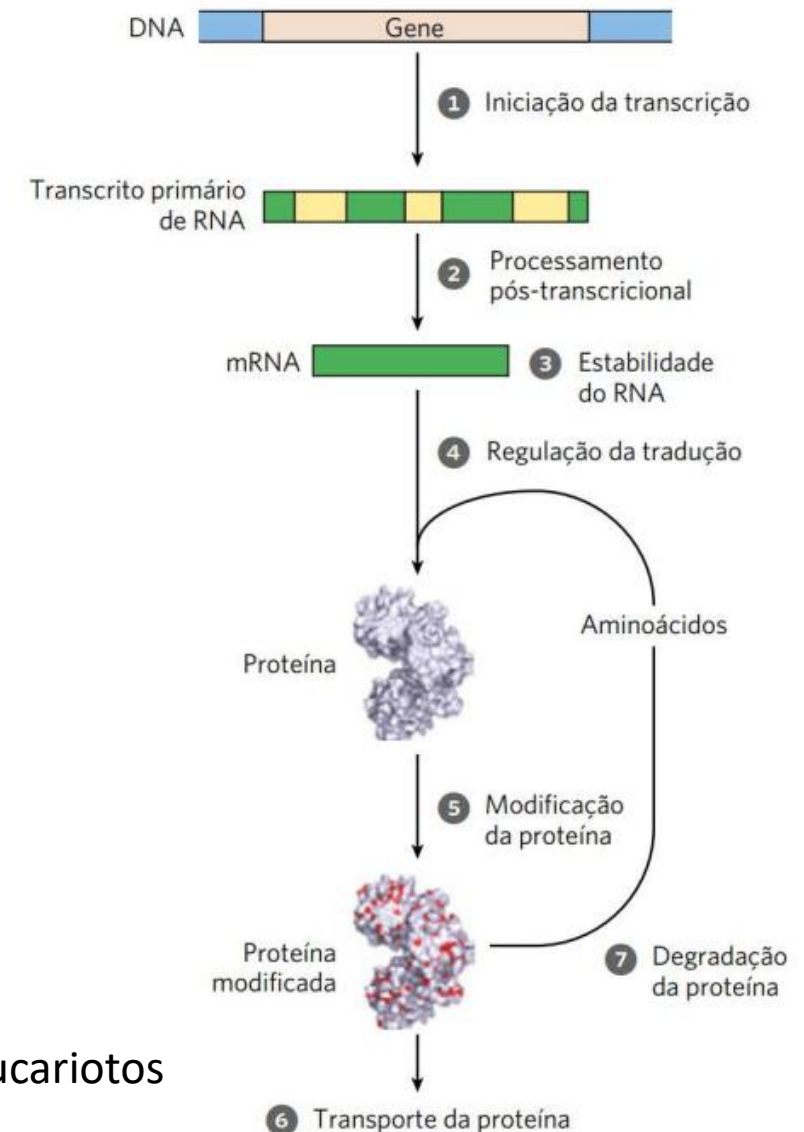
Objetivos da aula:

1) Estudar dois casos clássicos de regulação da expressão gênica em bactérias

*Regulação dos genes do metabolismo de lactose

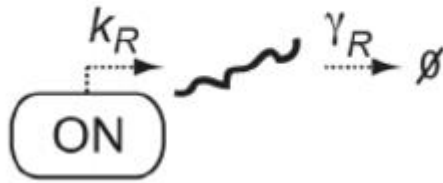
*Regulação dos genes do metabolismo de triptofano

2) Estudar de forma geral os diferentes tipos de regulação da expressão gênica em eucariotos

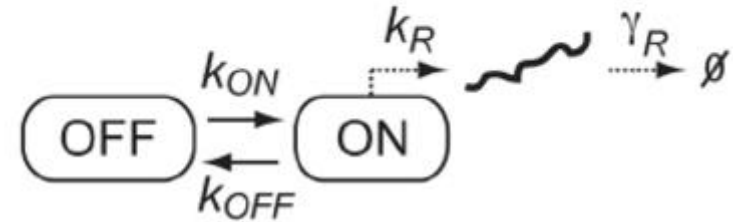


Genes constitutivos vs regulados

A Constitutive gene expression



B Regulated gene expression

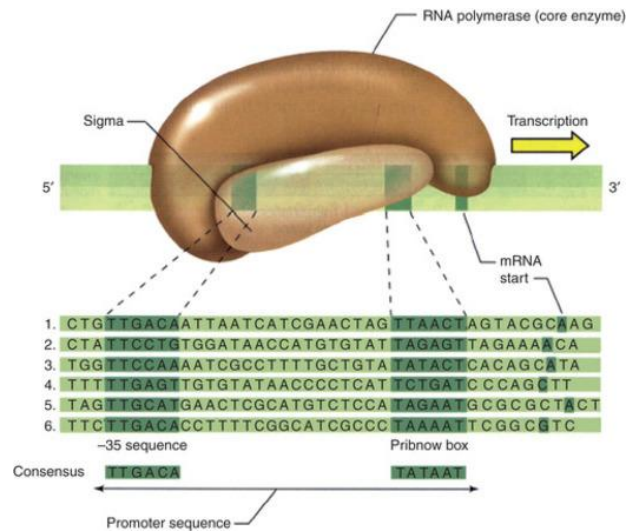


Housekeeping genes (e.g., genes do citoesqueleto)

Expressão muda com certas variações ambientais

Em bactérias, possuem regiões -10 / -35 próximo do consenso

Muda = genes podem ser tanto induzidos (ativados) ou reprimidos (inibidos)



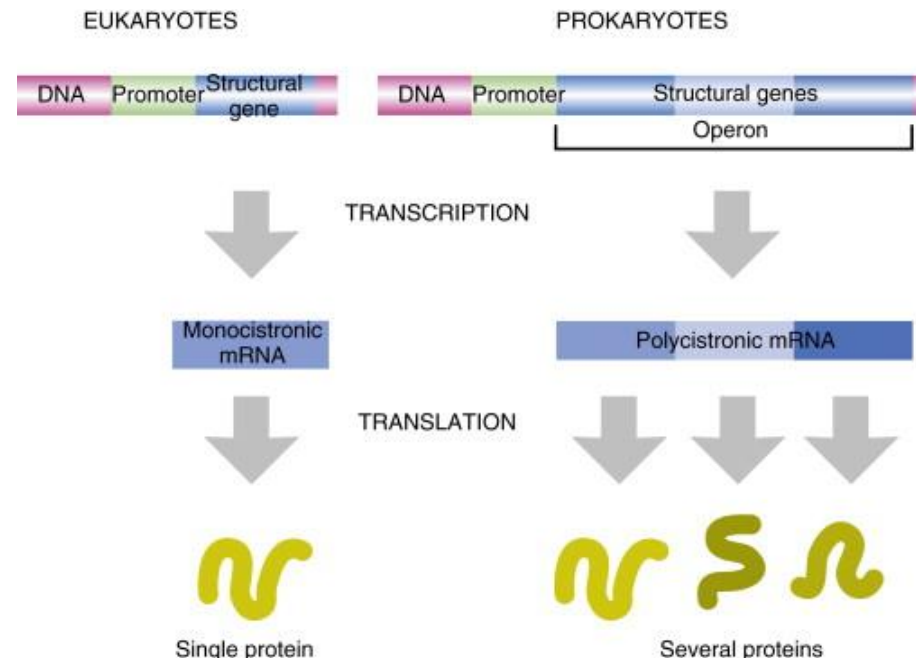
Algumas informações sobre genes bacterianos

A maior parte do controle da expressão genica em bactérias se dá a nível transcricional

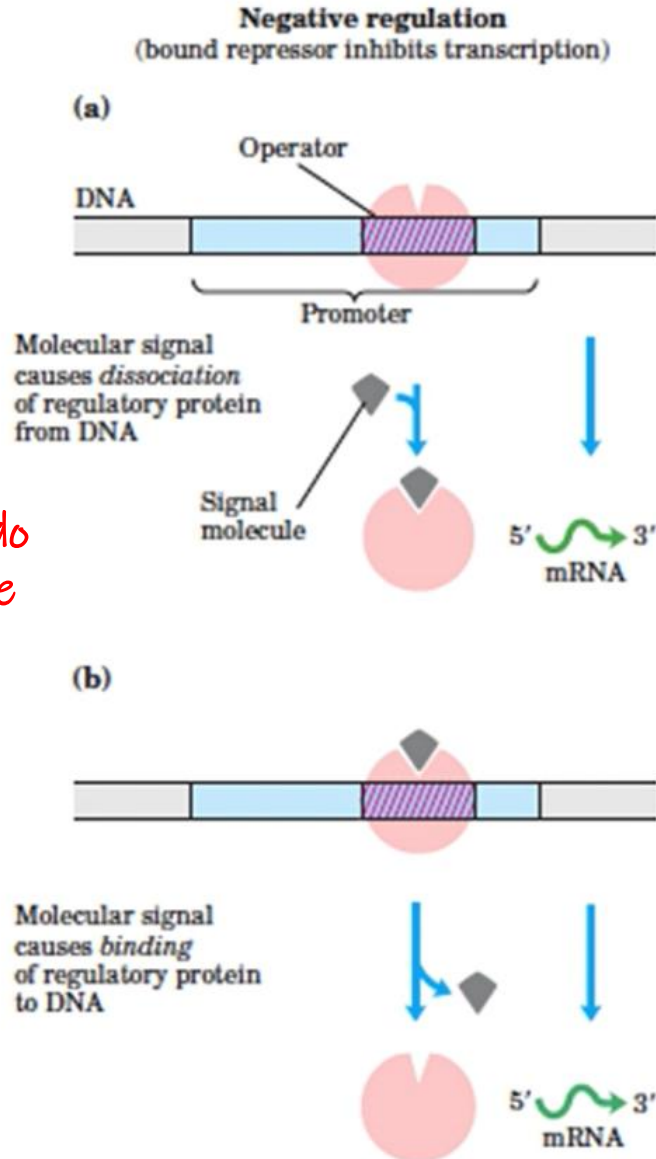
Cistron: Unidade funcional de um gene que codifica uma única cadeia polipeptídica (proteína)

Policistrônico: Tipo de RNA mensageiro (mRNA) que contém vários **cistrons**, ou seja, codifica mais de uma proteína.

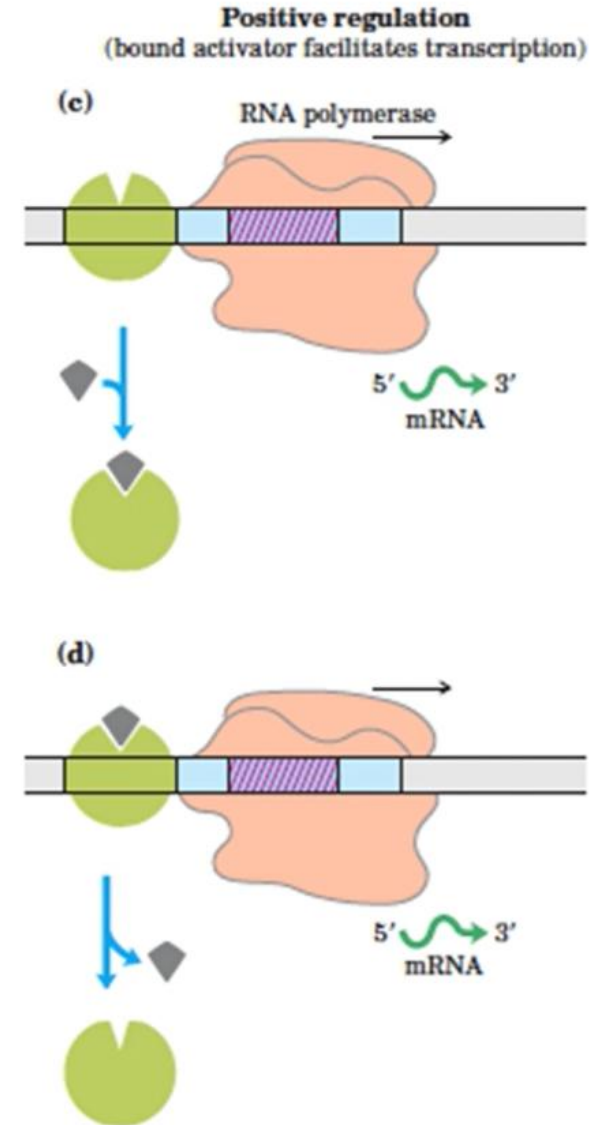
Operon: Conjunto de genes organizados em sequência no DNA, que são transcritos juntos a partir de um único promotor, formando um mRNA **policistrônico**.



Exemplos de regulação



Um repressor ligado ao operador impede a transcrição

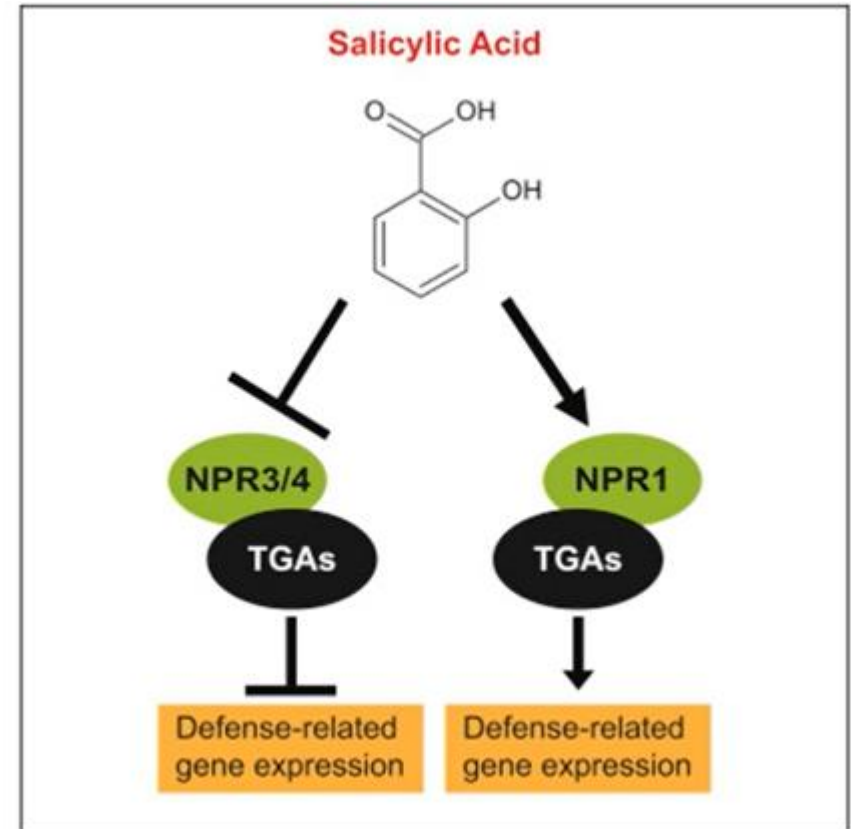


Um ativador ligado ao DNA facilita a transcrição

O mesmo sinal pode regular genes de forma distinta

Cell

Opposite Roles of Salicylic Acid Receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in Transcriptional Regulation of Plant Immunity

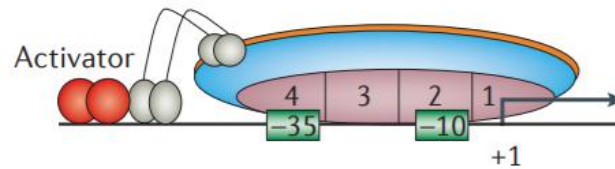


Mecanismos de modulação da transcrição

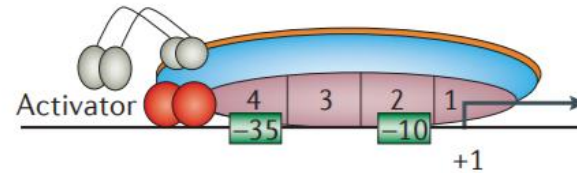
Recrutamento da RNA polimerase ou
Mudança conformacional

b Activation

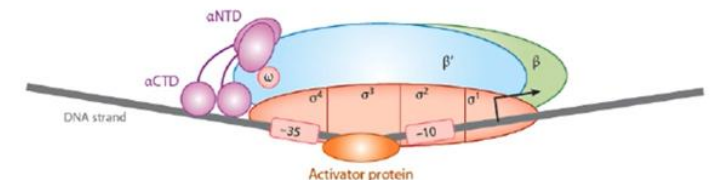
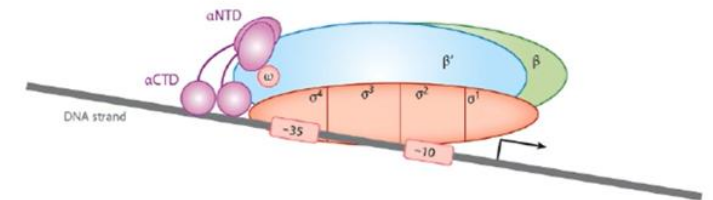
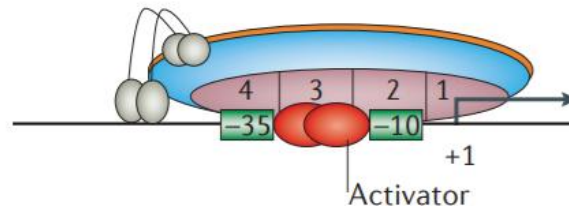
Class I activation



Class II activation



Activation by a promoter conformation change

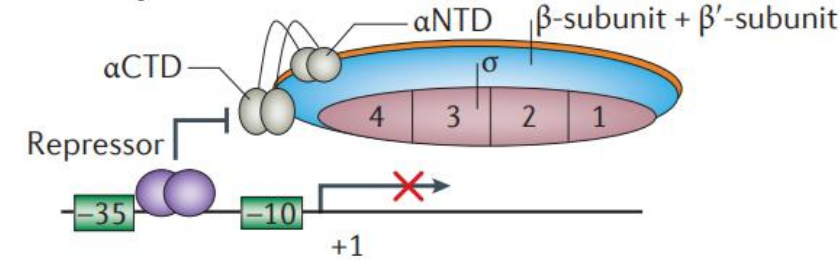


Mecanismos de modulação da transcrição

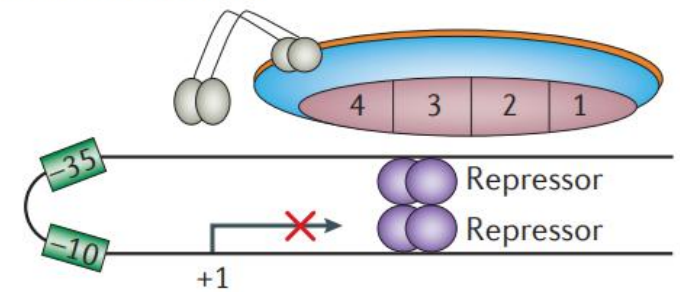
Inibição: Impedimento do acesso da RNA polimerase

a Repression

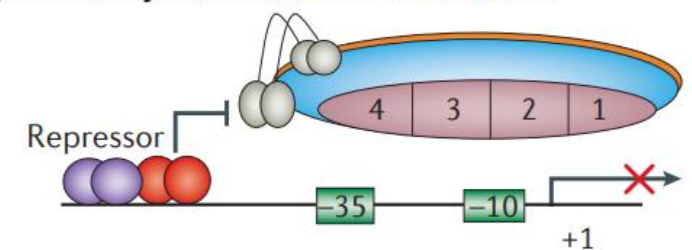
Repression by steric hindrance



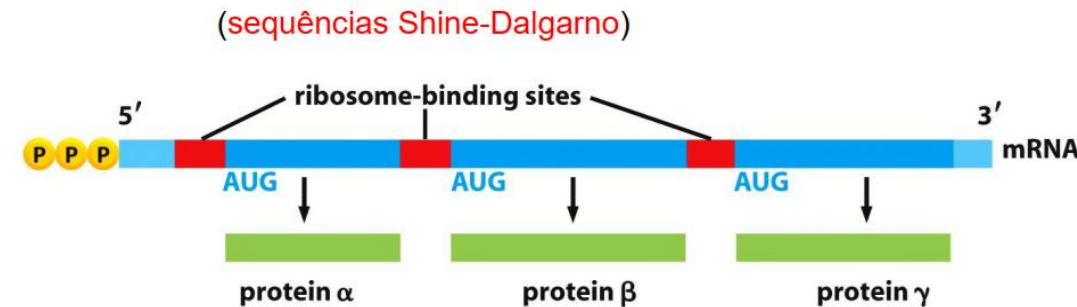
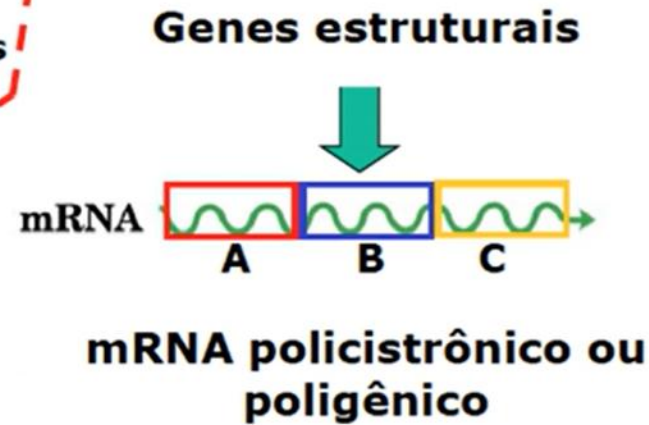
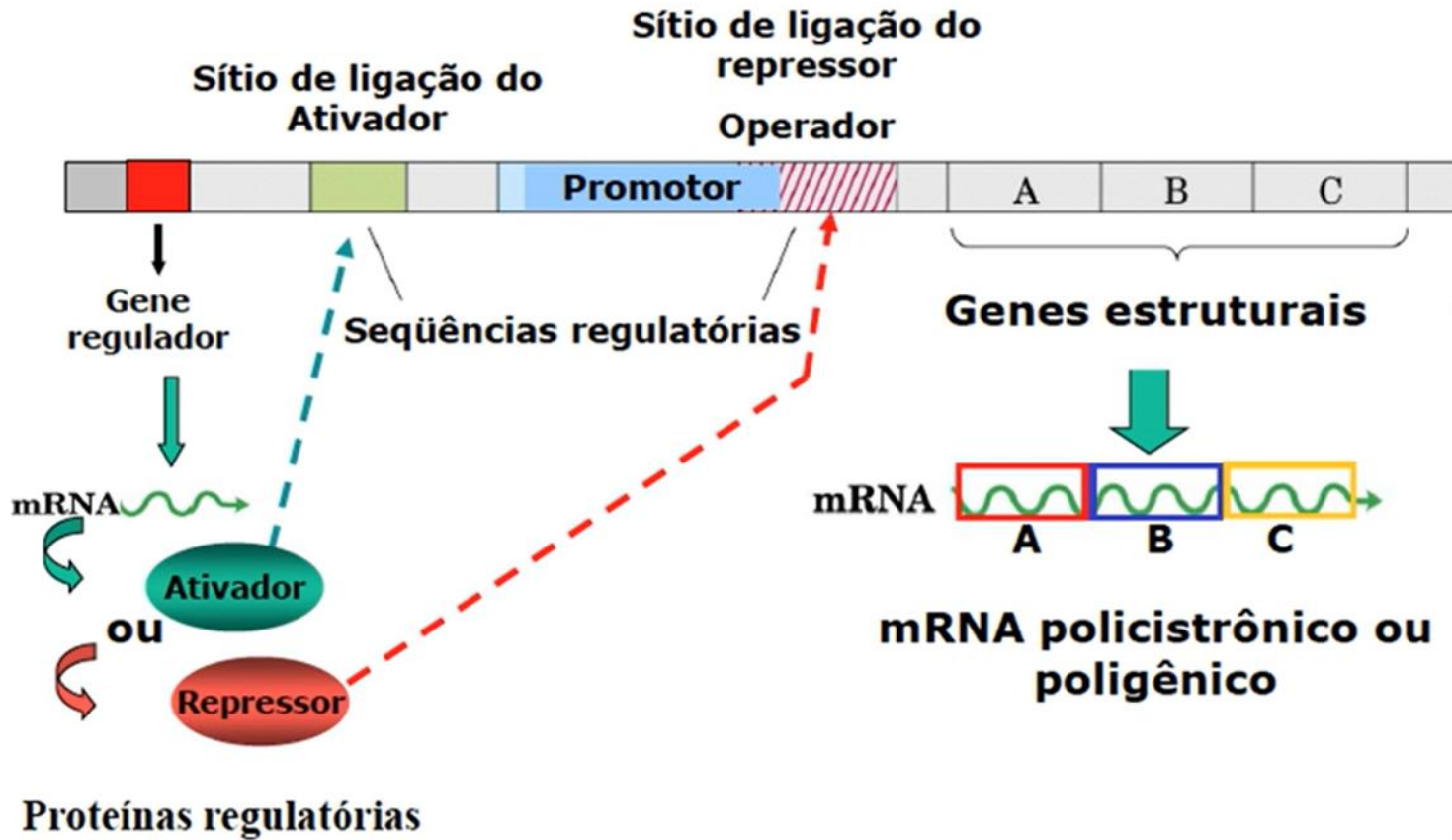
Repression by looping



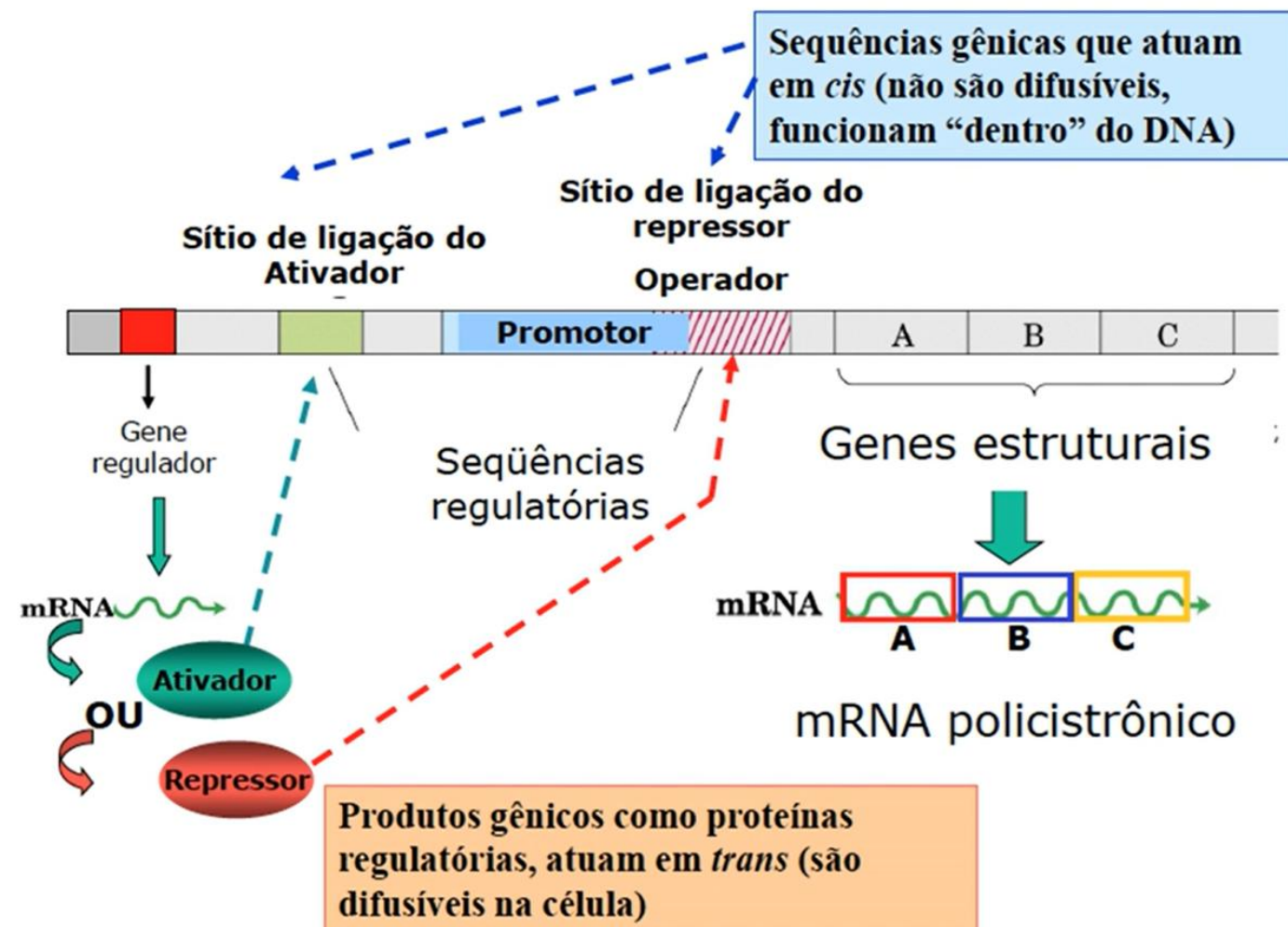
Repression by modulation of an activator



Genes correlacionados são organizados em Operons



Conceito de regulação: cis vs trans



Termo	O que é?	Onde atua	Exemplo:
cis	Sequência de DNA	No DNA que o gene é regulado	Promotor Enhancer
trans	Proteína/RNA (produto de outro gene)	podem regular genes distantes do gene do qual foram transcritos	Fator de Transcrição

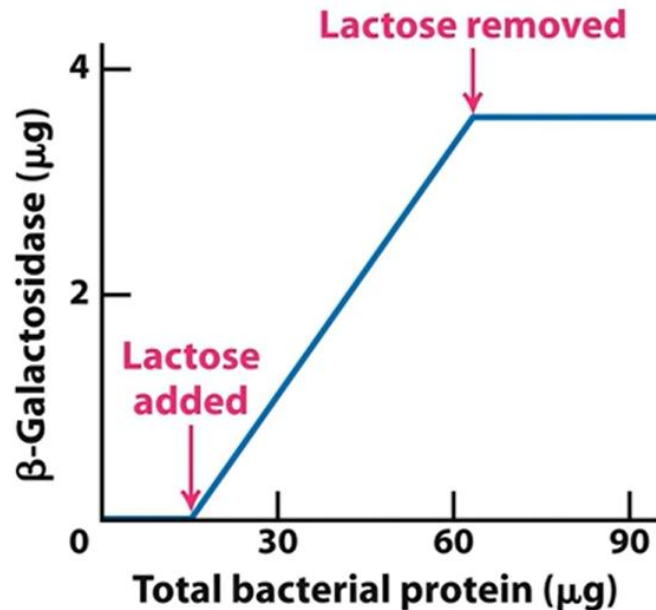
Cis-regulação: Elemento regulador (como promotor, enhancer) está fisicamente próximo ao gene que ele regula

Trans-regulação: Elemento regulador está separado fisicamente do gene que ele regula e geralmente age via um produto difusível (como uma proteína ou um RNA regulatório)

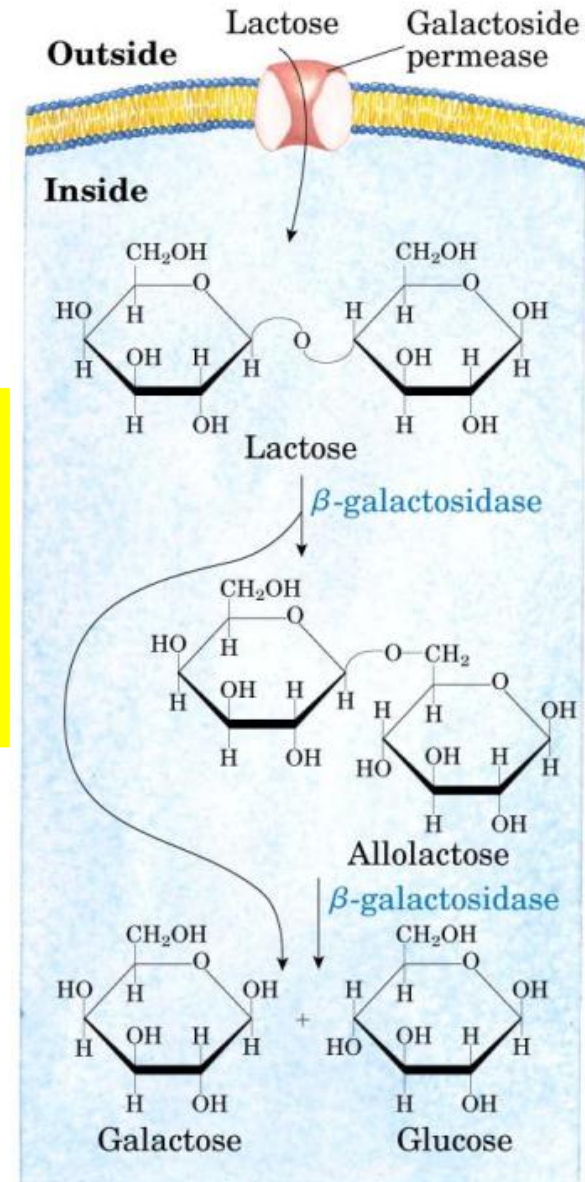
O operon Lac

Prêmio Nobel (Medicina, 1965):
François Jacob e Jacques Monod

“pela demonstração de que os níveis de enzimas celulares são reguladas ao nível de transcrição por um mecanismo de feedback controlado pelos níveis do substrato das mesmas enzimas”



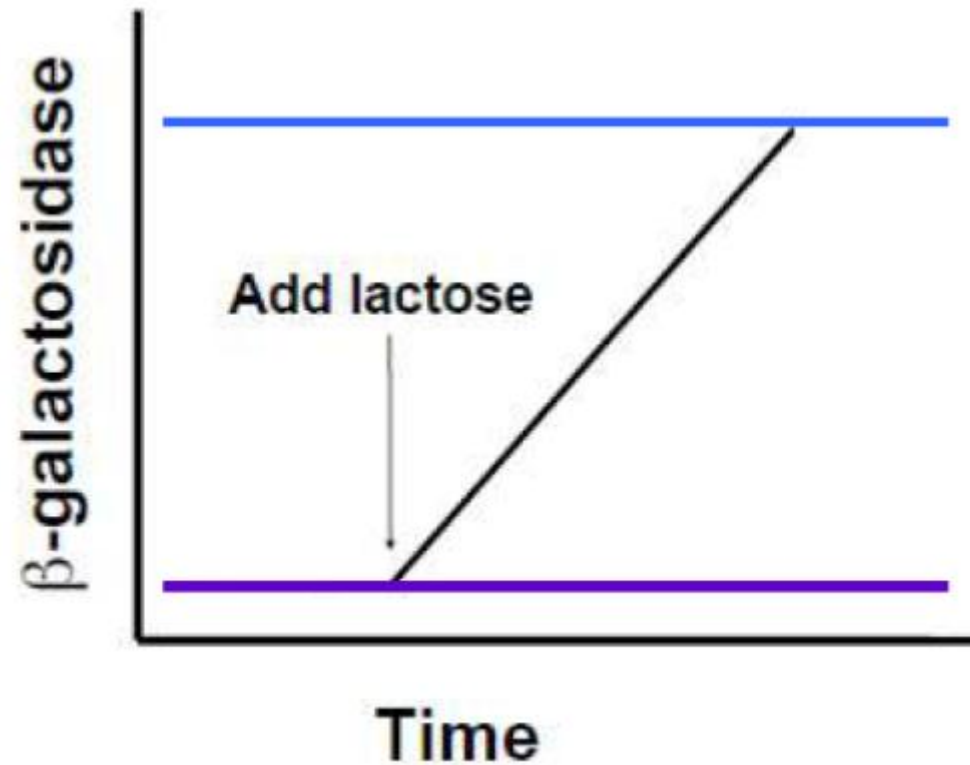
Rota de utilização da lactose como fonte de carbono pelas células



Ligação glicosídica β 1-4

Ligação glicosídica β 1-6

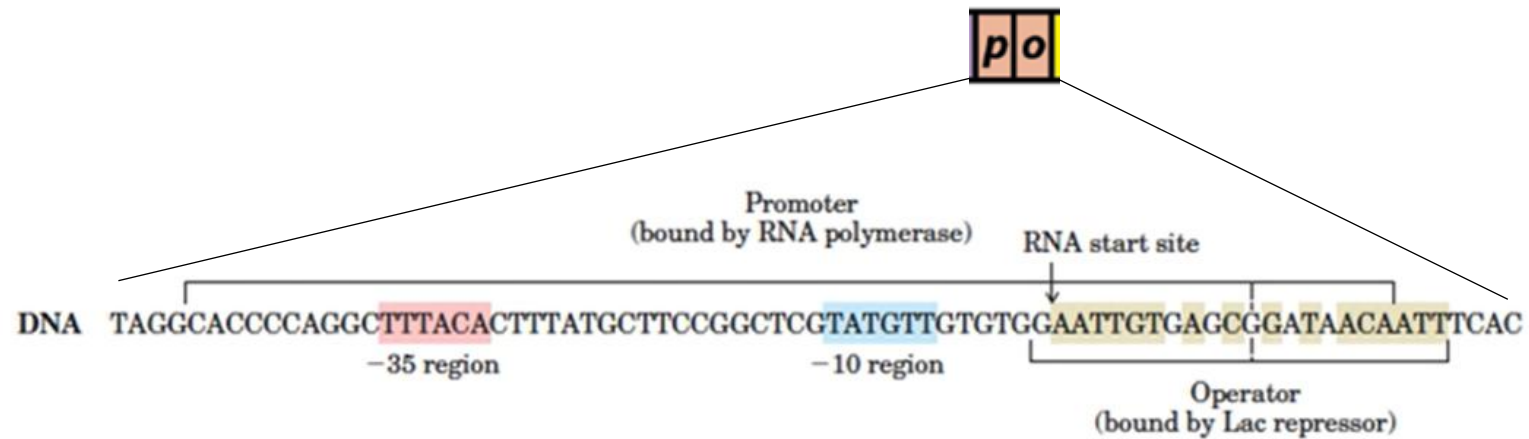
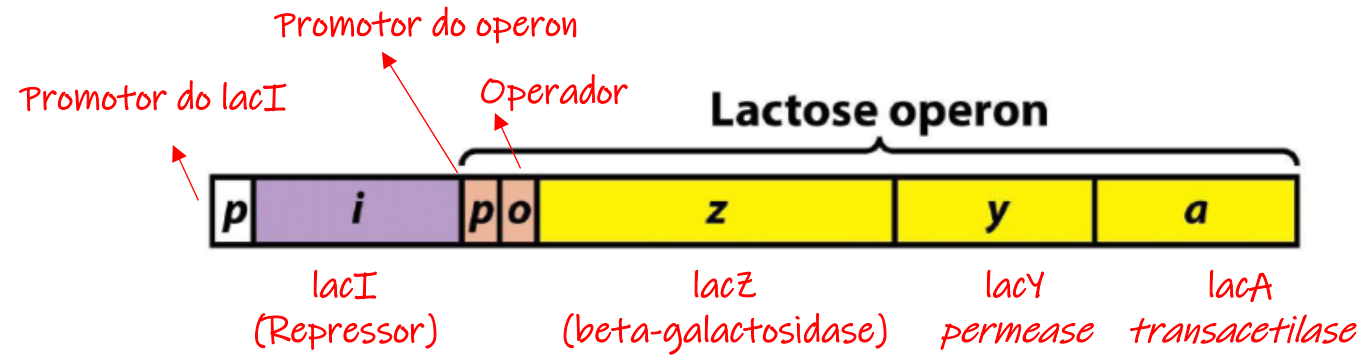
O operon Lac



Isolaram mutantes que não tinham mesma resposta de indução:

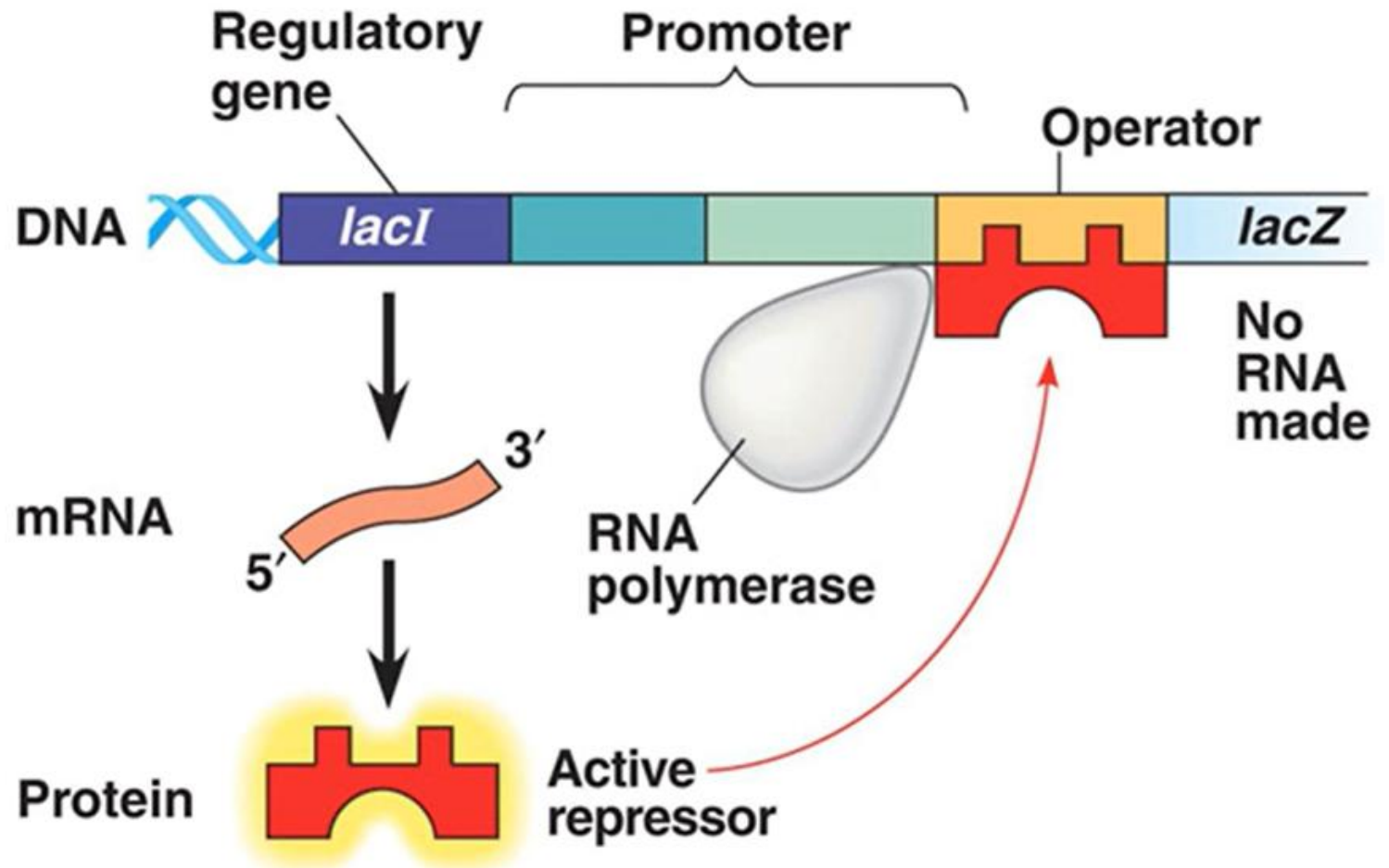
- 1) Mutantes que mesmo na presença de lactose não produziam mais beta-galactosidade – **não indutíveis**
- 2) Mutantes que produziam beta-galactosidade independente da presença de lactose - **constitutivos**

O operon Lac



O operon Lac: Ausência de lactose

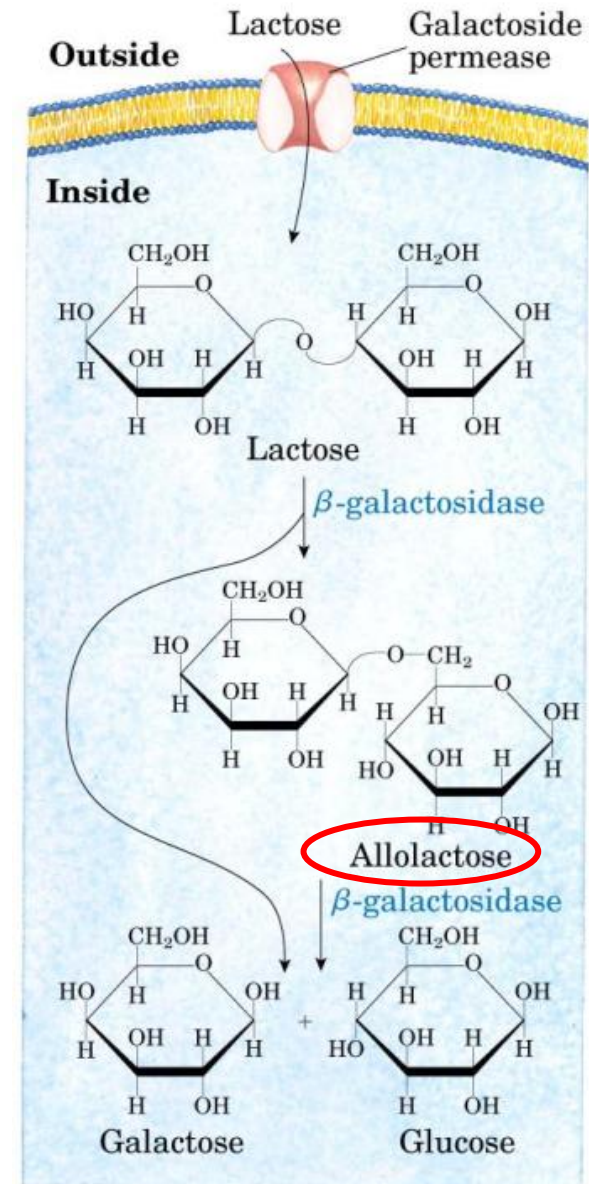
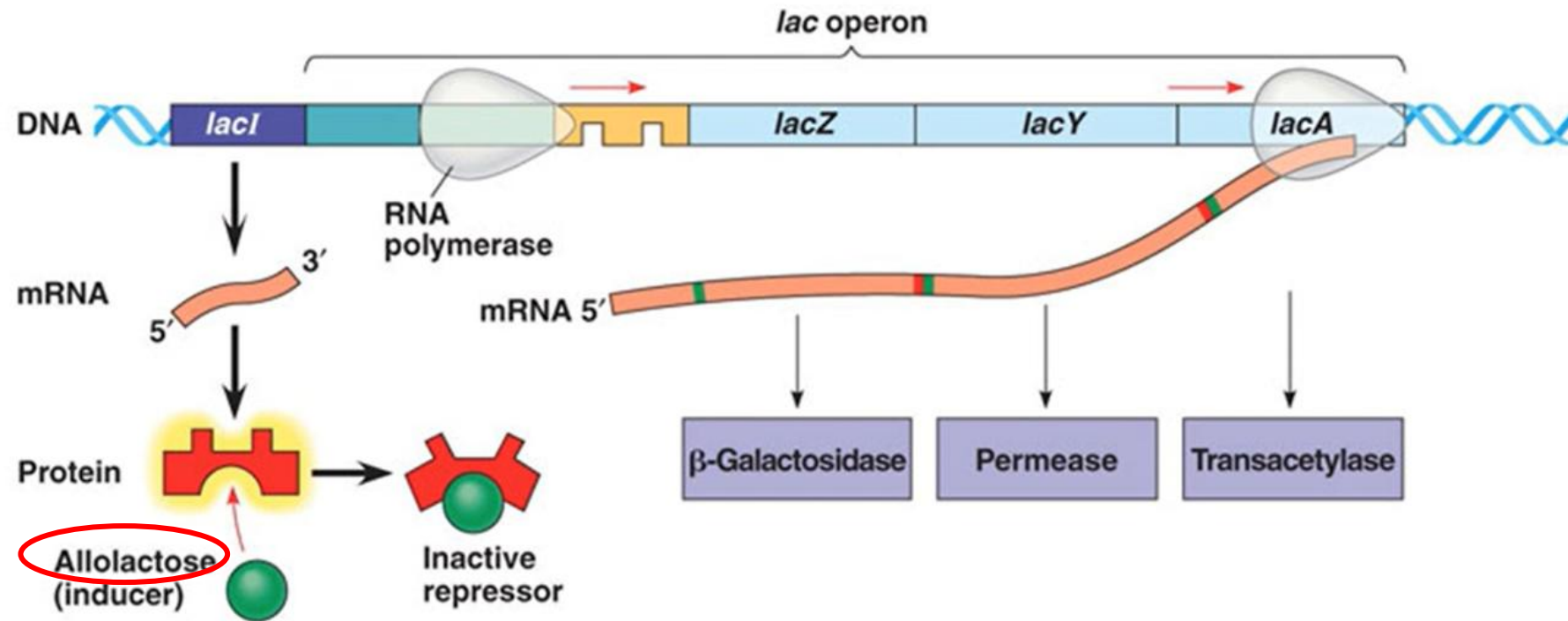
(a) Lactose absent, repressor active, operon off



lacI (Repressor) está livre e se liga a uma região no DNA chamada operador impedindo a transcrição do Operon Lac

O operon Lac: Presença de lactose

(b) Lactose present, repressor inactive, operon on



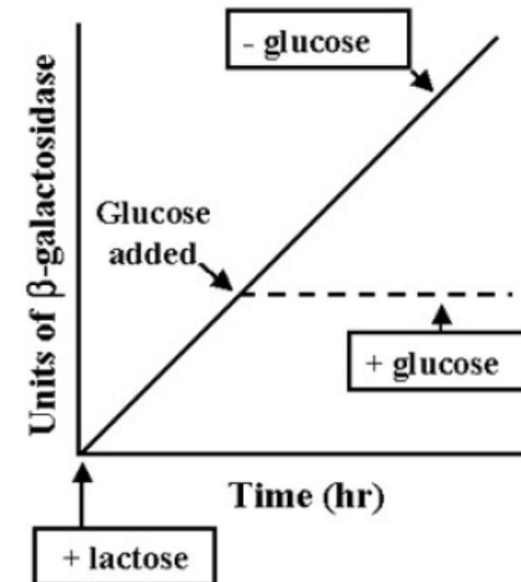
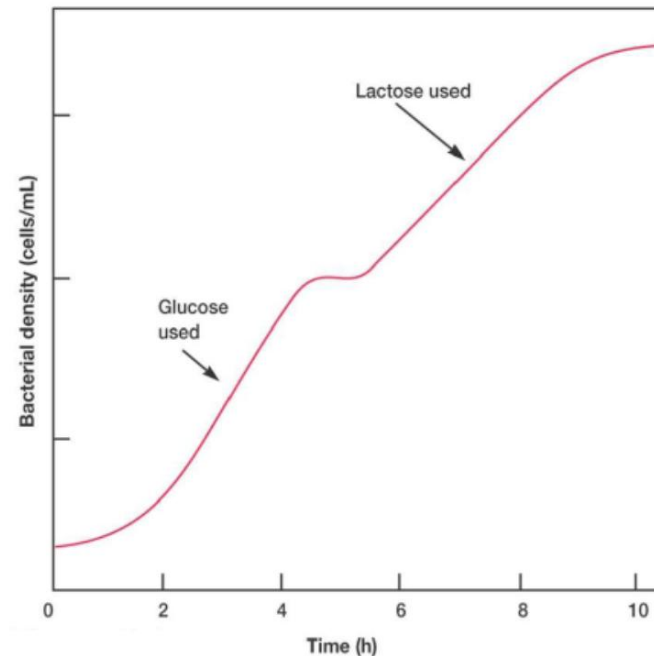
Na presença de lactose (tecnicamente, alolactose) LacI não se ligará ao operador;
Operon Lac é transcrito

Um segundo tipo de regulação do Operon Lac por glicose

Glicose é a fonte de carbono preferencial da *E. coli*

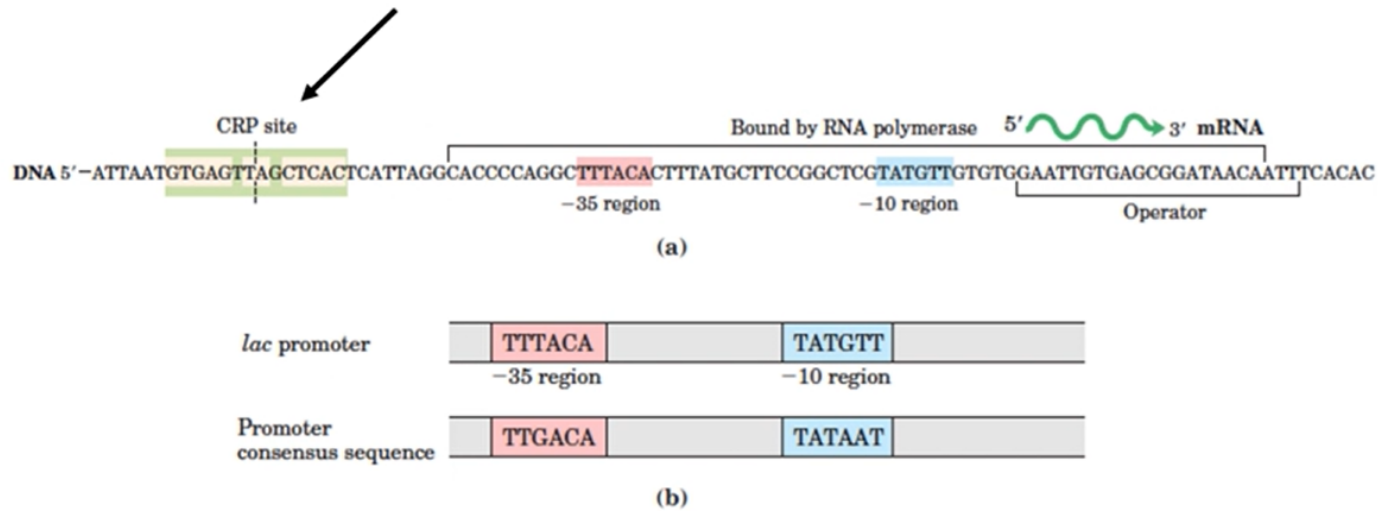
As enzimas que metabolizam lactose (e outros açúcares) não são as mesmas da glicose

Repressão catabólica: A presença de glicose sinaliza para reprimir o operon Lac

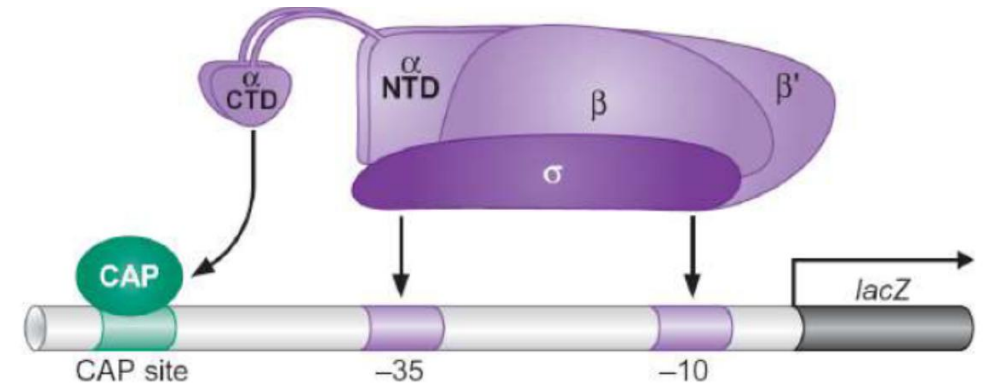


Um segundo tipo de regulação do Operon Lac por glicose

Sítio de ligação da proteína ligadora de cAMP (cAMP receptor protein)



O promotor Lac é um promotor fraco, que precisa de um ativador para promover a ligação de RNA Pol



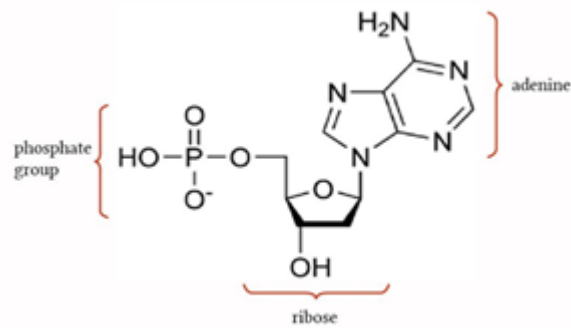
CRP == CAP

cAMP Receptor Protein == Catabolite Activator Protein

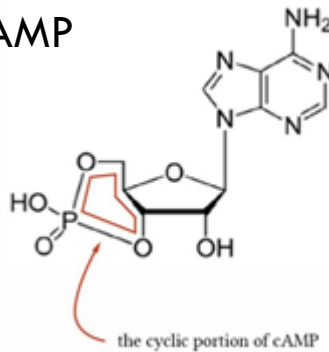
Proteína precisa de cAMP para se ligar ao DNA

Qual a relação de cAMP e níveis de glicose?

AMP



cAMP



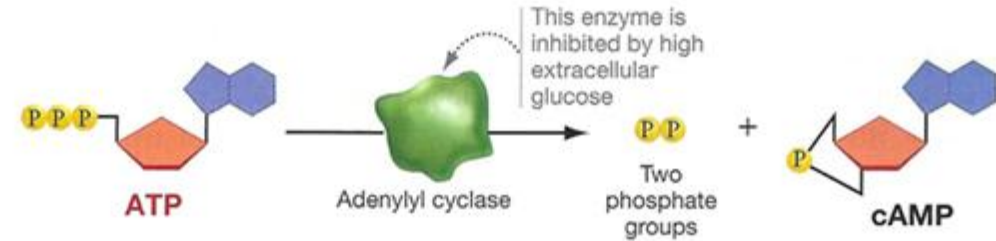
Em *E. coli*, produção de cAMP só ocorre quando não há glicose:

Alta glicose → Baixo cAMP

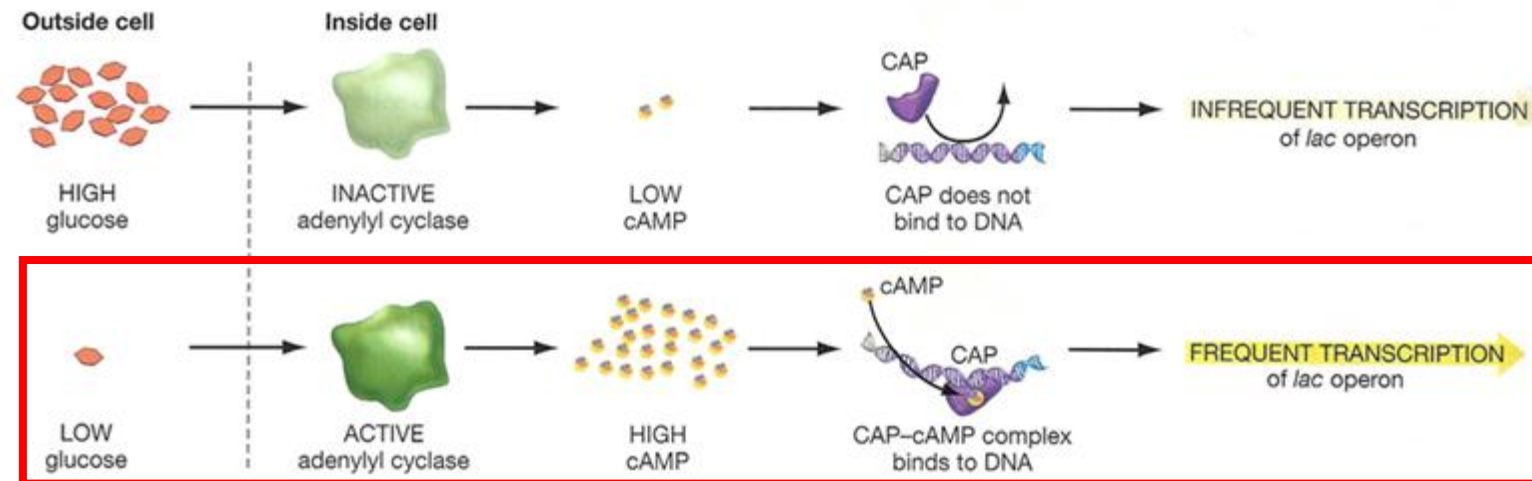
Baixa glicose → Alto cAMP

CAP só liga ao DNA quando falta glicose !

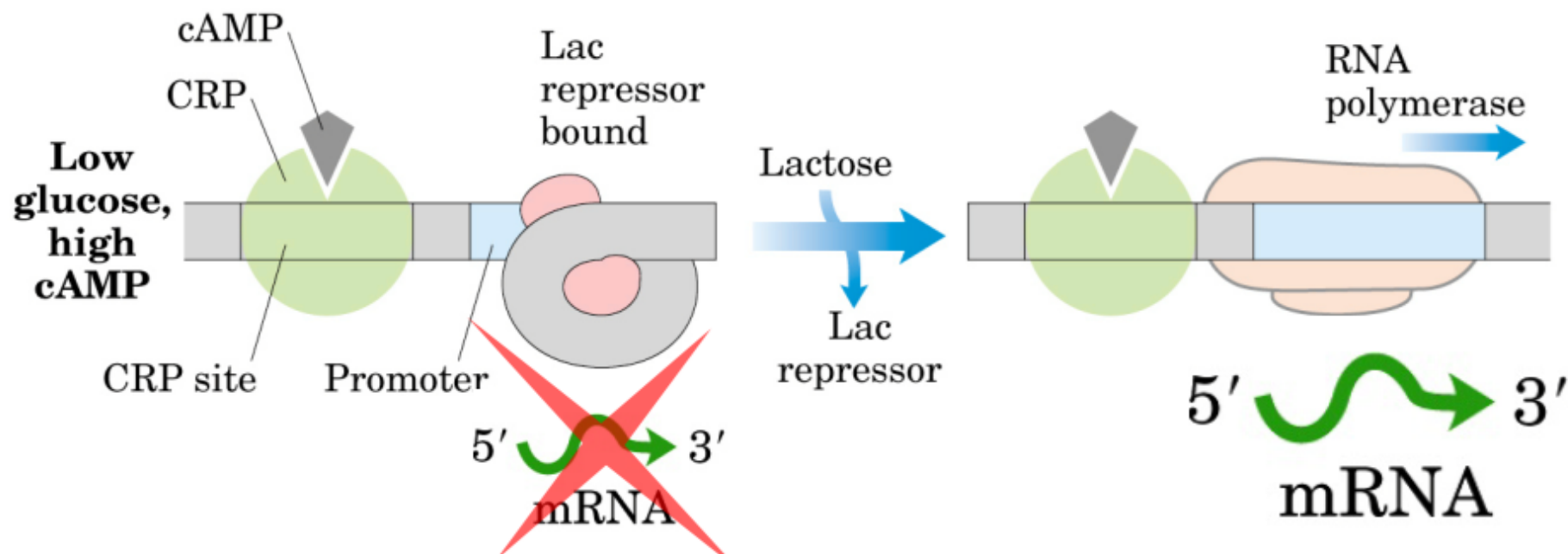
(a) The enzyme adenylyl cyclase catalyzes production of cAMP from ATP.



(b) The amount of cAMP and the rate of transcription of the *lac* operon are inversely related to the concentration of glucose.



Operon *Lac* é controlado simultaneamente por regulação negativa (repressor Lac) e positiva (CRP)



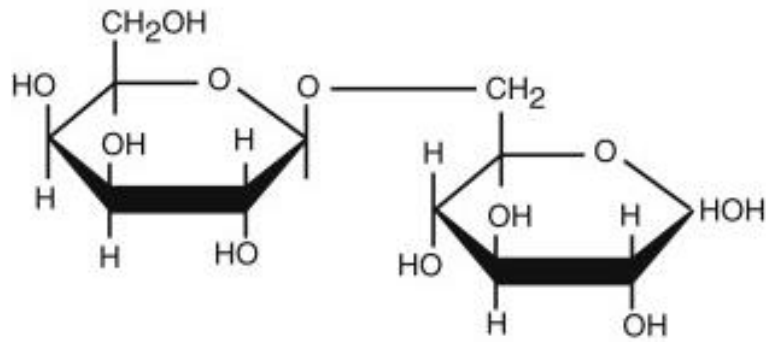
Conceito de Regulon

REGULONS: conjunto de operons com reguladores comuns e que permitem a expressão coordenada de genes relacionados a uma mesma via metabólica.

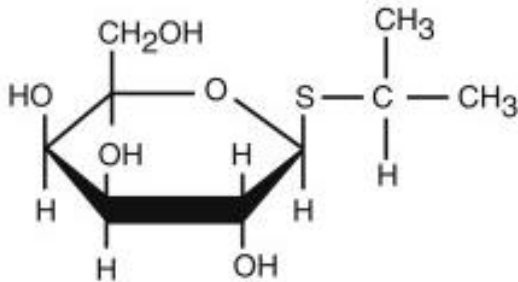
Regulon (e.g., Crp-cAMP) regula vários operons distantes entre si

O regulon Crp-cAMP é um regulador global bacteriano, controlando a expressão de mais de 100 genes em resposta aos níveis de glicose. Além do operon lac, ele regula diversos outros operons, incluindo: Operon ara (arabinose), Operon gal (galactose), Operon mal (maltose/maltodextrinas), etc.

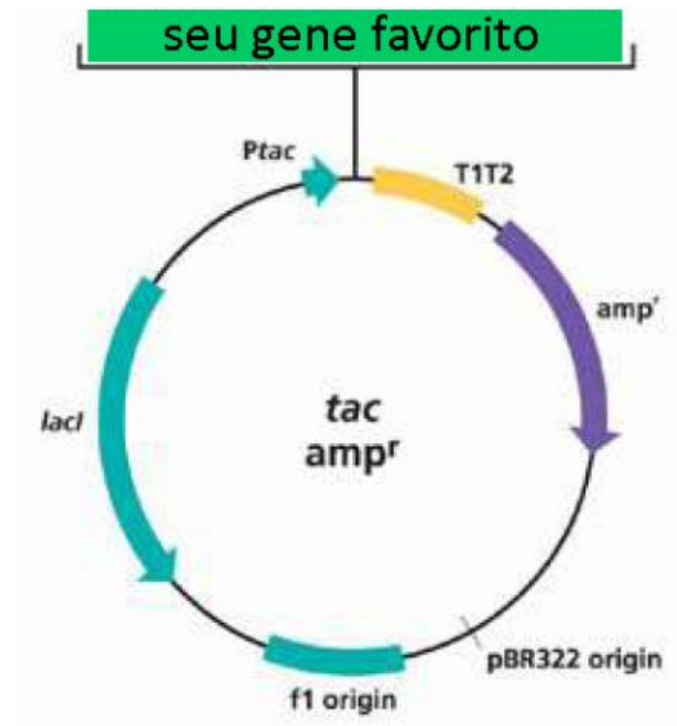
Aplicação do estudo do operon Lac



ALLO-LACTOSE



ISOPROPYL- β -D-THIOGALACTOSIDE
(IPTG)



+ IPTG – expressão *ON*
- IPTG – expressão *OFF*

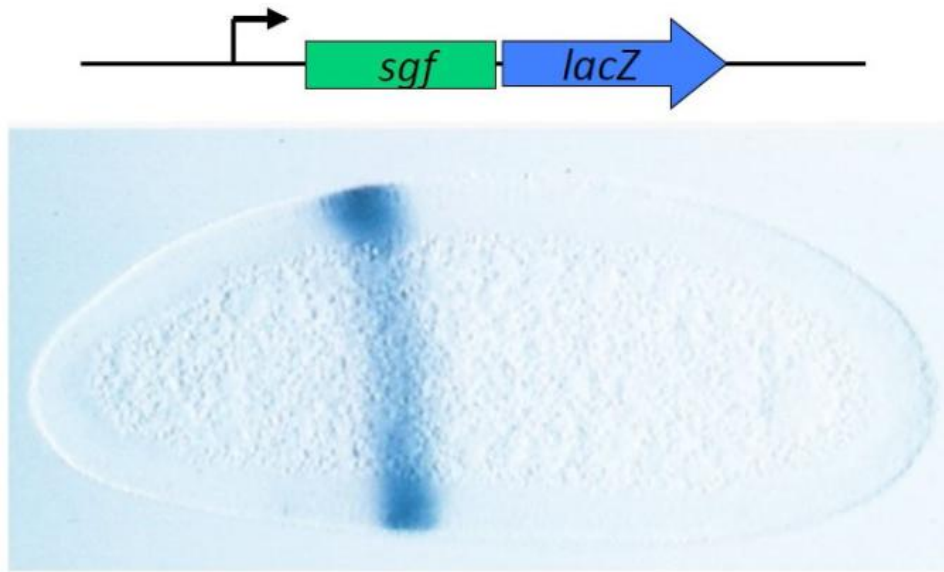
Vetores de expressão indutível

O IPTG se encaixa no sítio de ligação do repressor LacI de forma muito eficiente, imitando o papel da allo-lactose. Porém, IPTG não é degradado pela β -galactosidase e seu efeito como indutor é sustentado

Aplicação do estudo do operon Lac

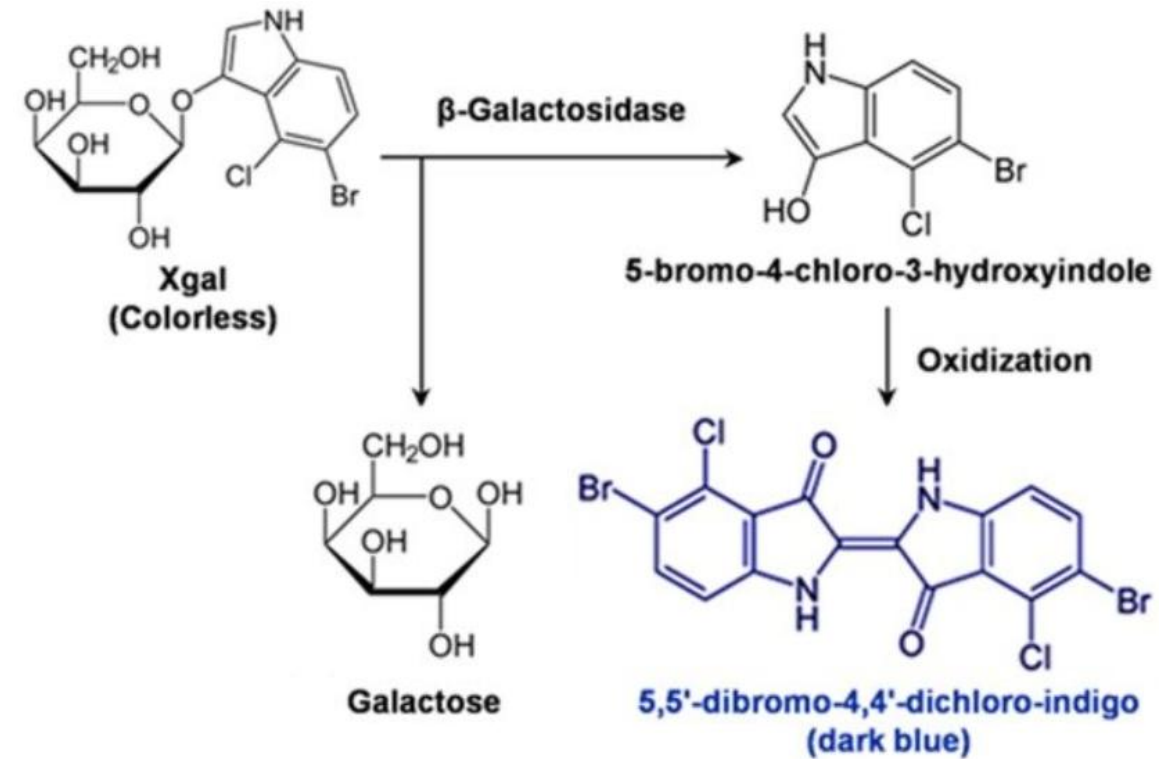
Ferramentas geradas pelo estudo operon *lac*

Fusões gênicas

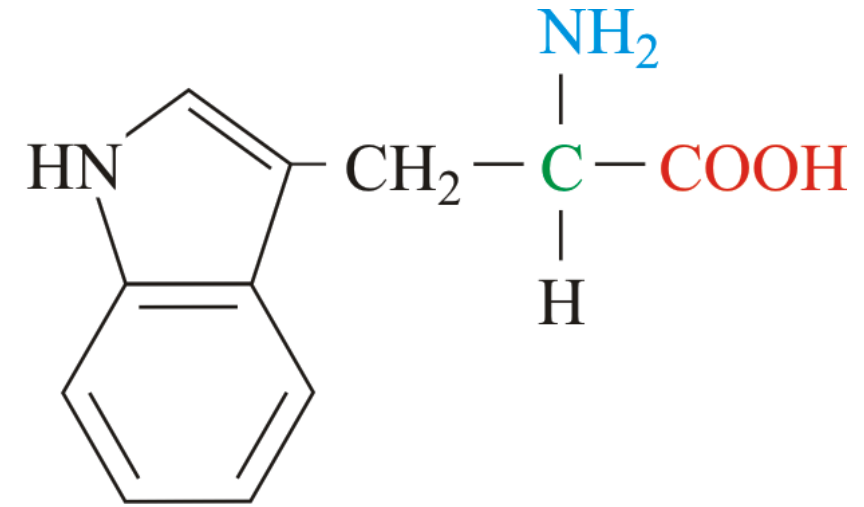


Um gene expresso em uma faixa de células de um embrião de *Drosophila* visualizado com *lacZ*

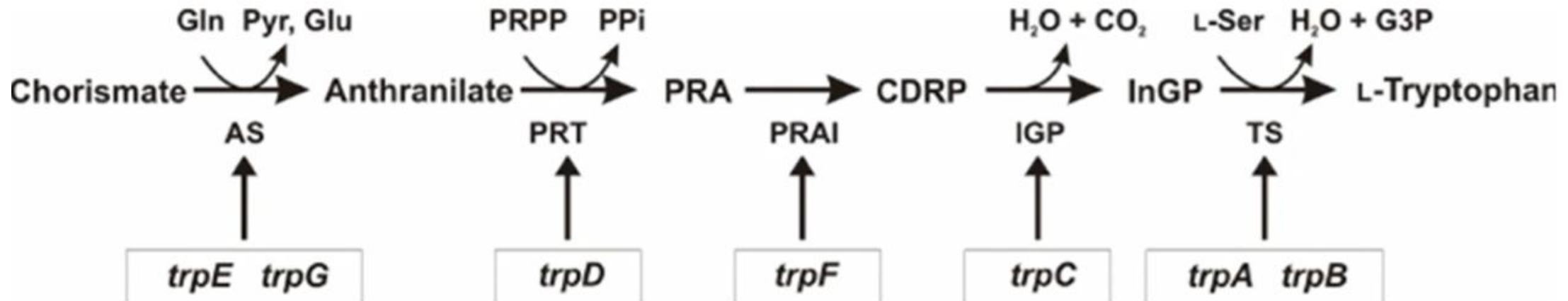
lacZ é o que chamamos de um “gene repórter”



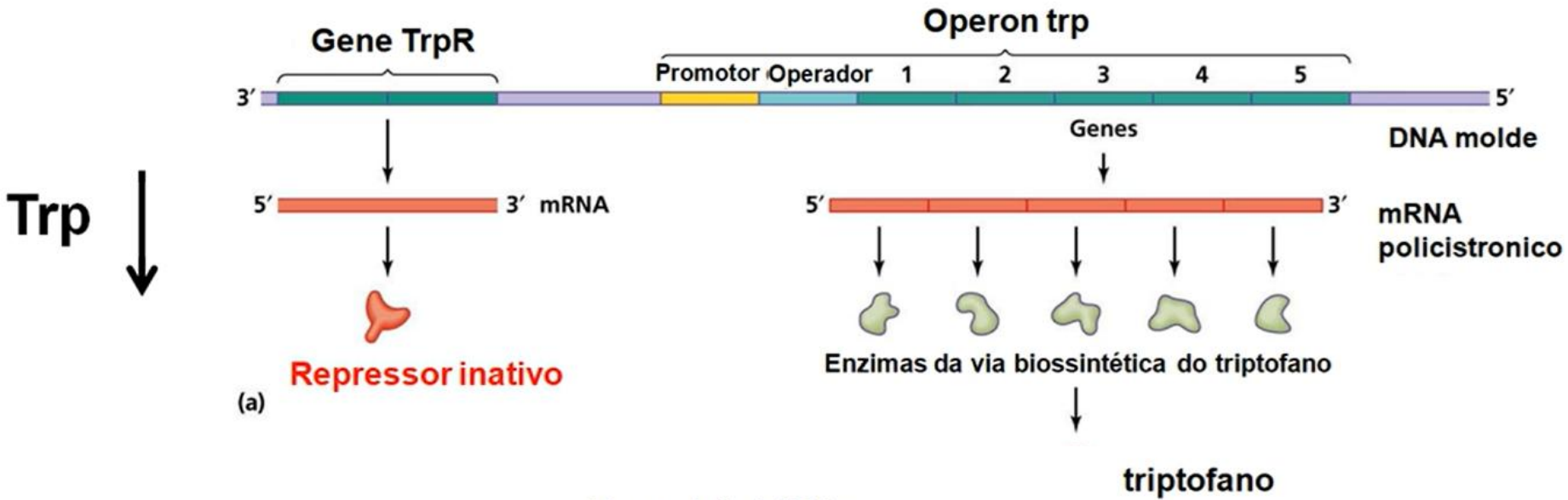
Operon Trp (Triptofano)



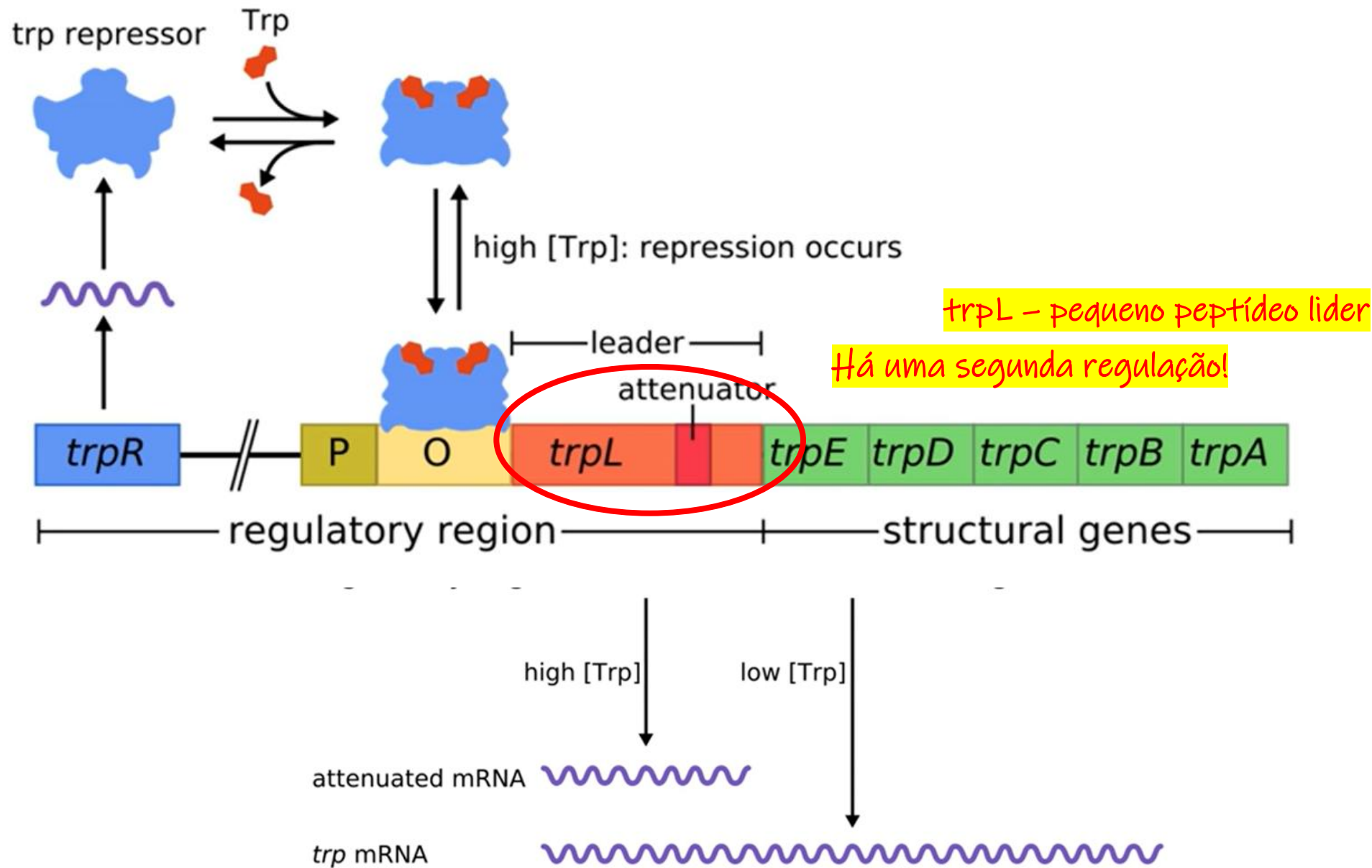
biossíntese de triptofano envolve os produtos de 7 genes



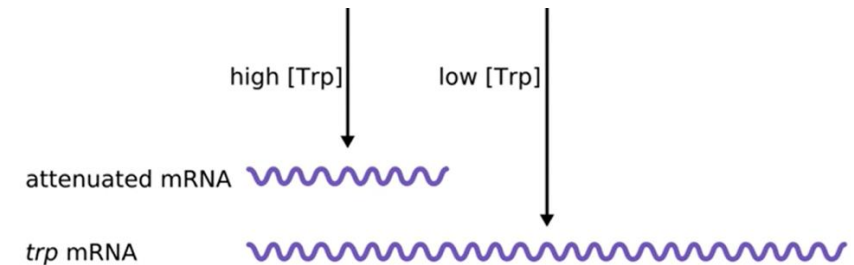
Operon Trp (Tryptofano)



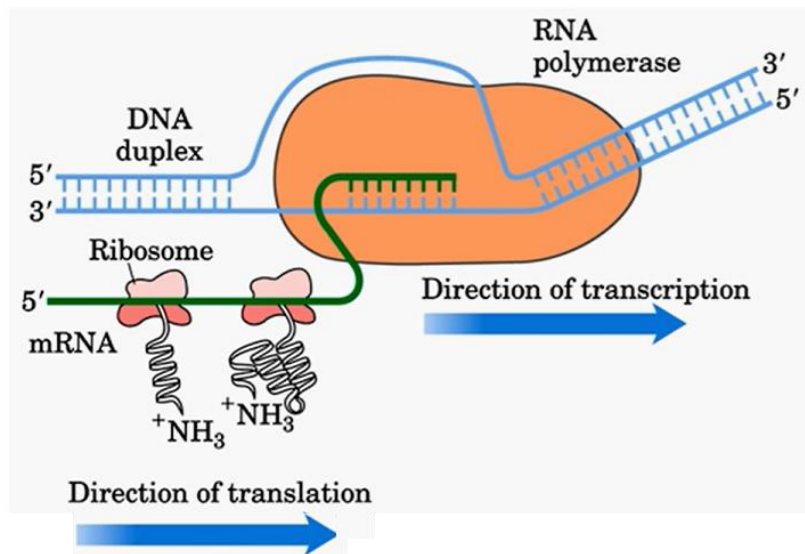
Operon Trp (Tryptofano)



Muitos operons envolvidos na **biossíntese de aminoácidos** são regulados por **atenuação da transcrição**.



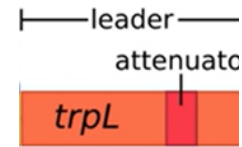
Mecanismo possível em procariotos porque a transcrição e tradução são processos acoplados



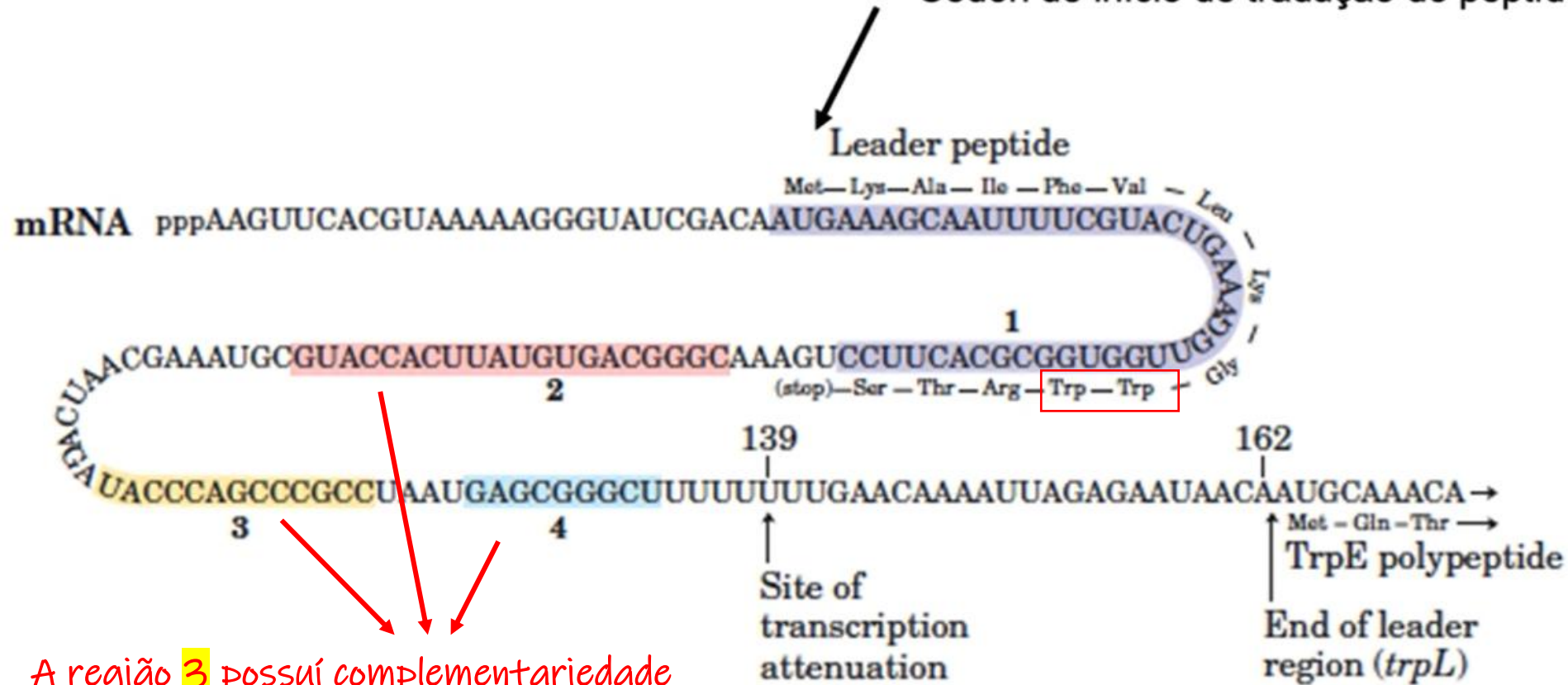
O ribossomo, ao traduzir o peptídeo líder (trpL) enquanto o mRNA ainda está sendo transcrito, determina se a transcrição continuará ou será interrompida, dependendo da disponibilidade de triptofano

Operon Trp (Tryptofano): Controle pelo repressor

Sequência do mRNA da região líder (TrpL)



Códon de início de tradução do peptídeo líder



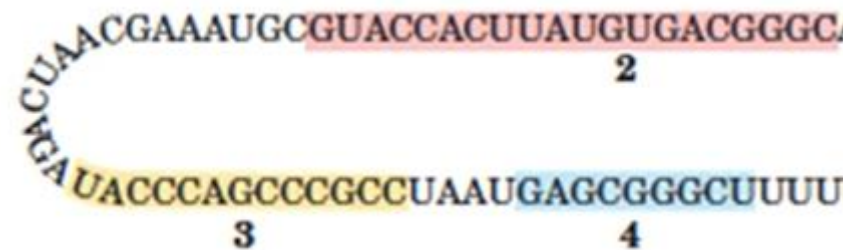
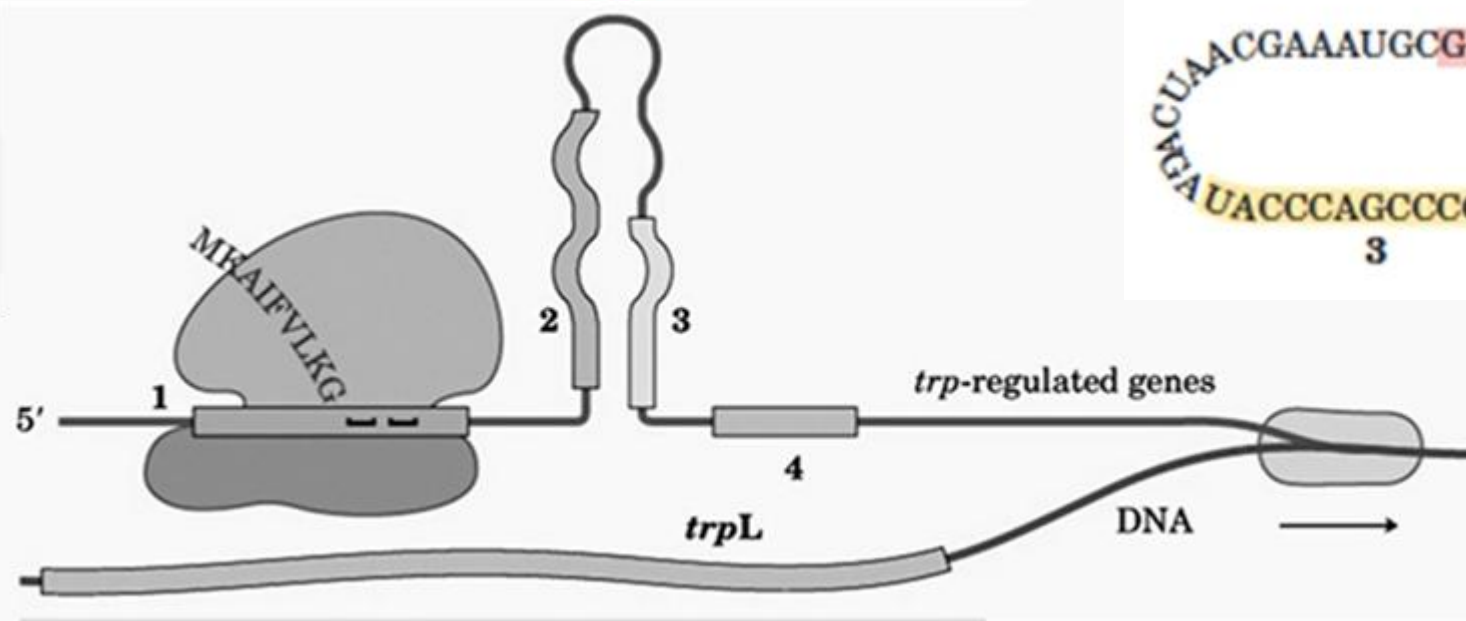
A região 3 possui complementariedade com as regiões 2 e 4

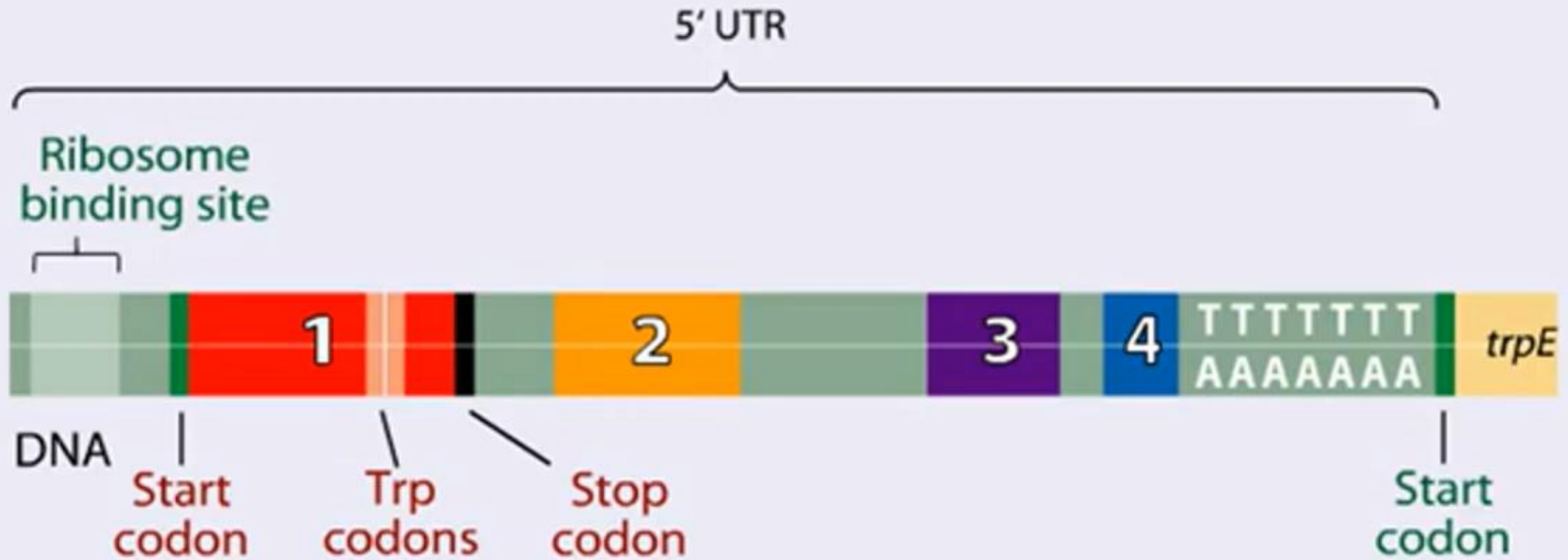
(a)

↓ Trp

Transcrição não é interrompida

- Tradução lenta do peptídeo líder;
- Formação de grampo entre região 2 e 3
- Transcrição progride

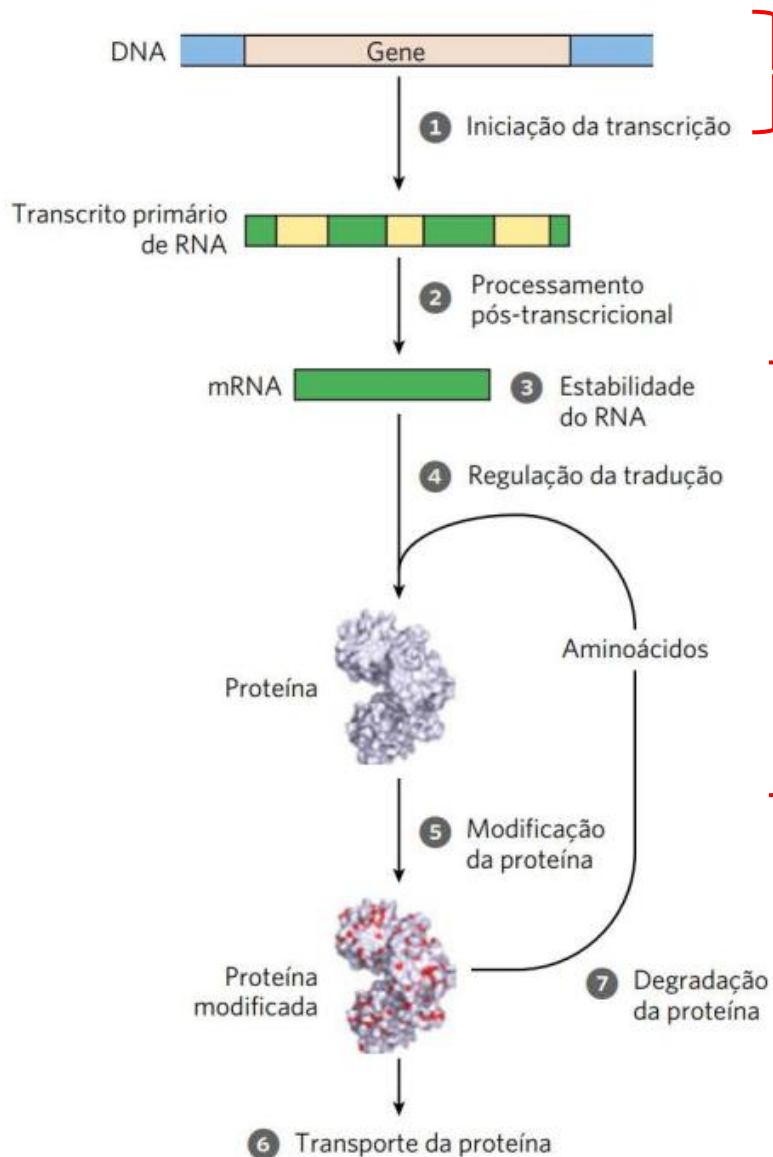




Regulação da expressão gênica em eucariotos

Novas camadas de complexidade:

DNA é organizado em cromatina associada a proteínas histonas



Transcrição e tradução não estão acoplados. mRNA é processado, transportado p/ o citosol para ser traduzido

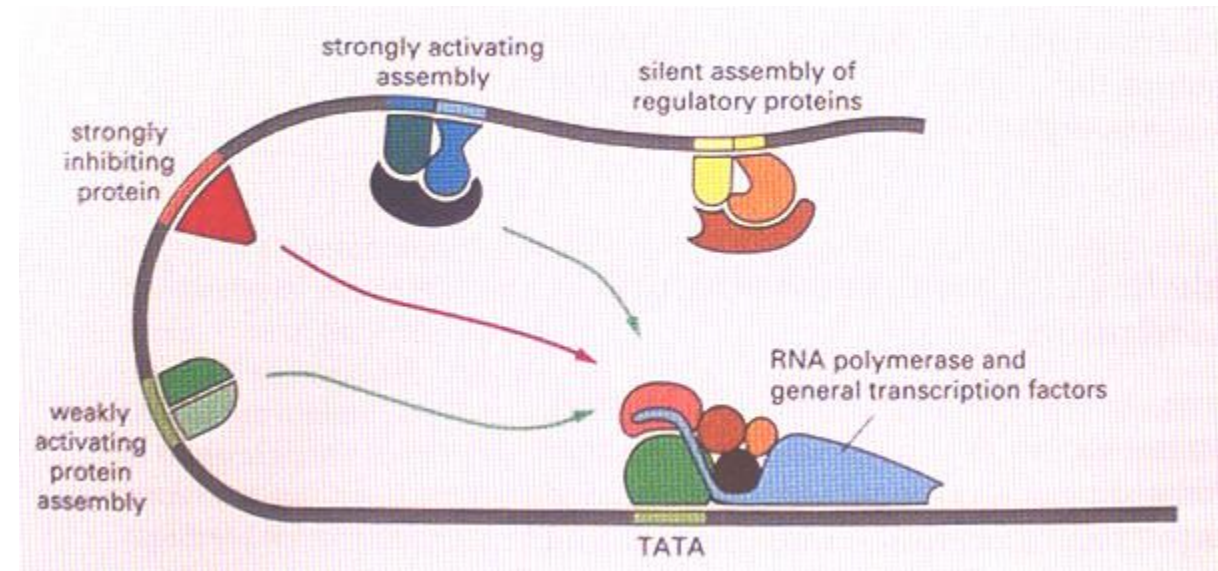
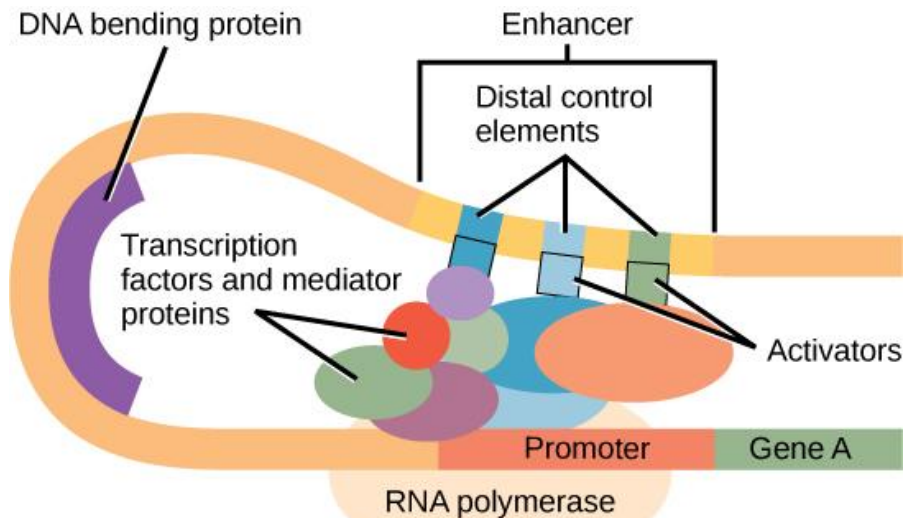
Relembrando fatores de transcrição em eucariotos

1- Fatores de transcrição basais ou fatores gerais de transcrição:

Necessários para a expressão de todos os genes transcritos pela RNA pol II.

2- Fatores de transcrição específicos:

Responsáveis pela transcrição regulada. a) Ativadores b) Repressores



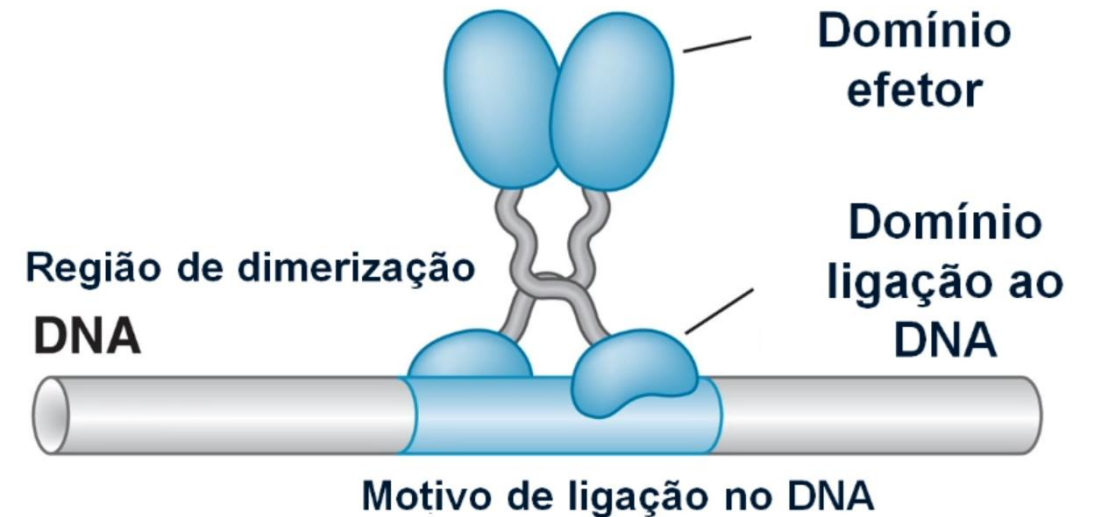
Fatores de transcrição reconhecem sequências no DNA

Table 7–1 Some Gene Regulatory Proteins and the DNA Sequences That They Recognize

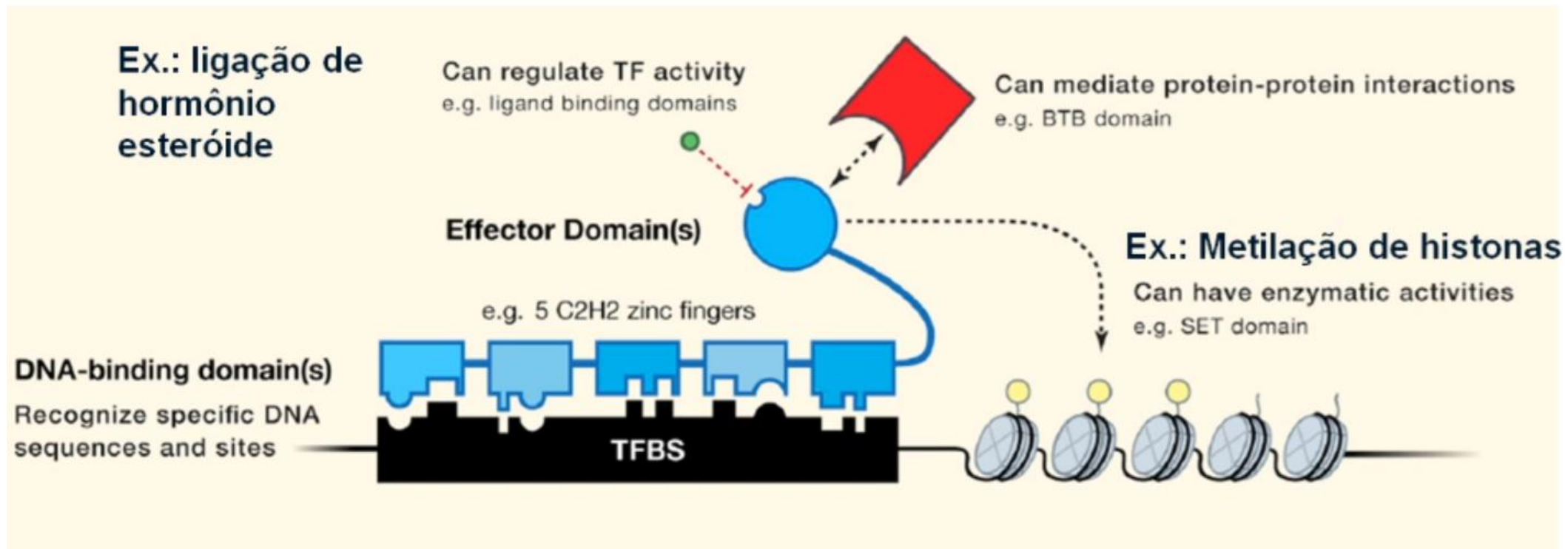
	NAME	DNA SEQUENCE RECOGNIZED*
Yeast	Gal4	CGGAGGACTGTCCTCCG GCCTCCTGACAGGAGGC
	Mat α 2	CATGTAATT GTACATTAA
	Gcn4	ATGACTCAT TACTGAGTA
<i>Drosophila</i>	Kruppel	AACGGGTAA TTGCCCAATT
	Bicoid	GGGATTAGA CCCTAATCT
Mammals	Sp1	GGGCGG CCCGCC
	Oct1 Pou domain	ATGCAAAT TACGTTTA
	GATA1	TGATAG ACTATC
	MyoD	CAAATG GTTTAC
	p53	GGGCAAGTCT CCCGTTCAGA

*For convenience, only one recognition sequence, rather than a consensus sequence (see Figure 6–12), is given for each protein.

Estrutura modular dos fatores de transcrição: vários domínios



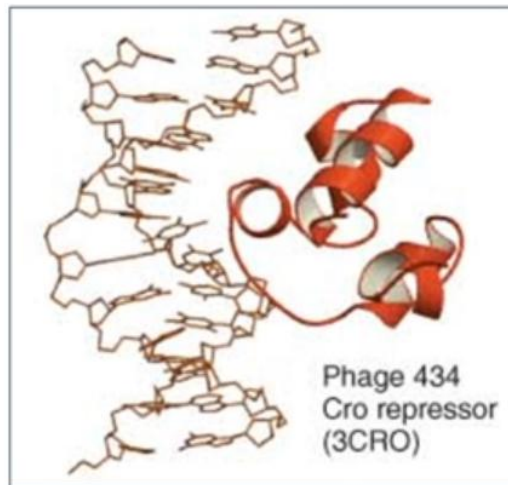
Domínios efetores de FTs podem ter múltiplas funções



Fatores de transcrição formam estruturas no **domínio de ligação** que se ligam a sequencias consenso (5 a 15 bp) na fenda maior (“major groove”) do DNA

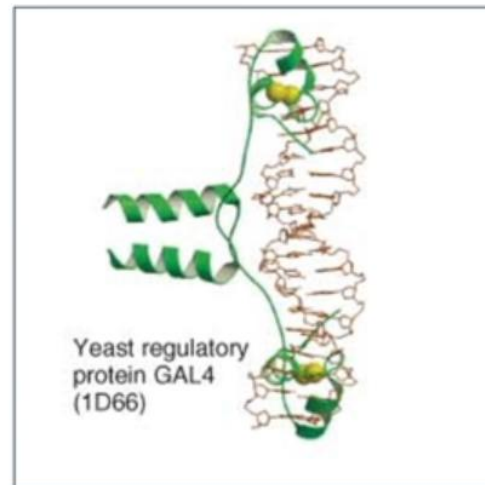
domínios estruturais frequentes em FTs

Homeodomínio



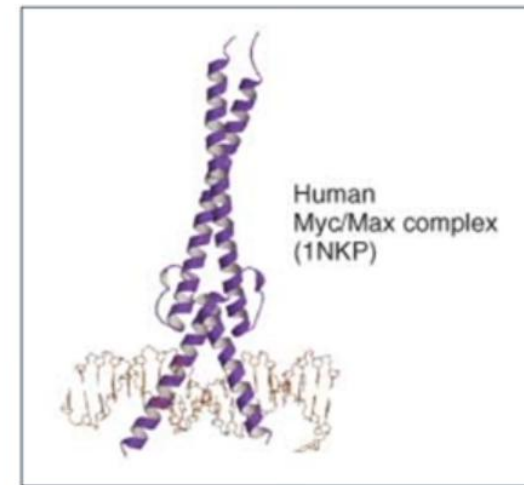
- Composto por uma hélice alfa-volta-hélice alfa
- Controla a expressão de genes envolvidos no desenvolvimento corporal (genes homeóticos)

“Dedos de zinco”



- Contem resíduos cisteína e histidina que coordenam com íons zinco formando hélices alfa que intercalam no DNA.
- presentes em receptores de hormônios esteróides

“Zipper de leucina”

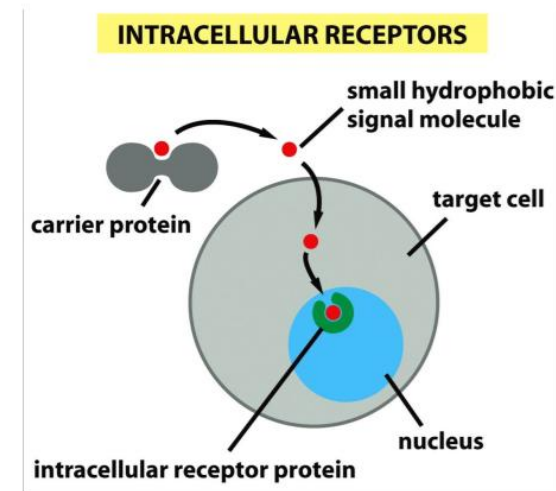
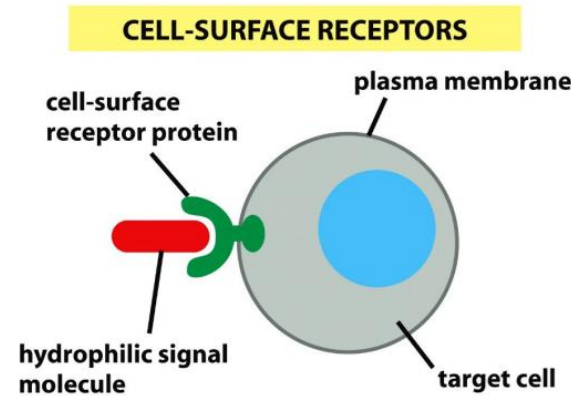


- Dímeros contendo hélices anfipáticas com resíduos de leucina na interface de dimerização.

Conectando fisiologia e regulação da expressão gênica

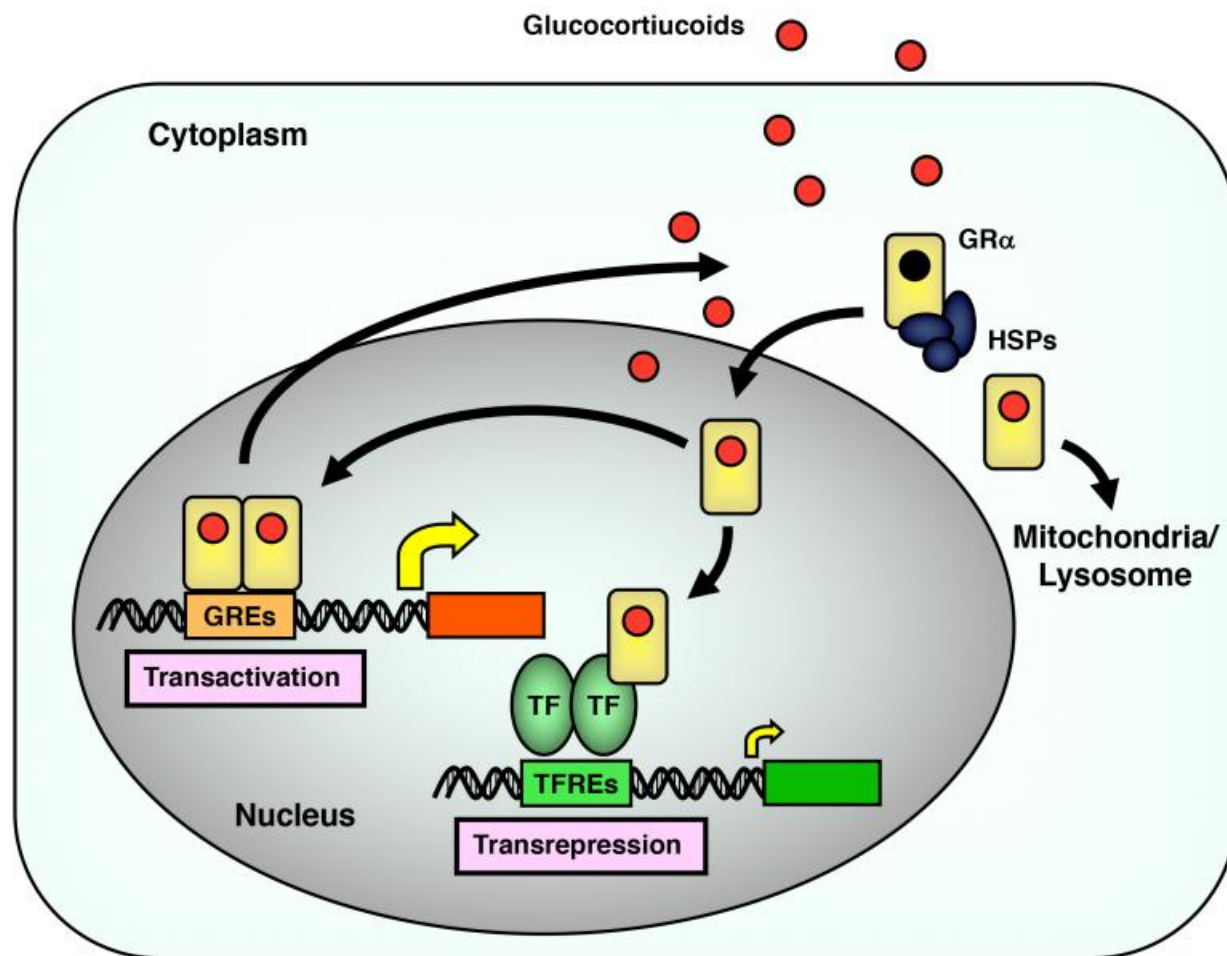
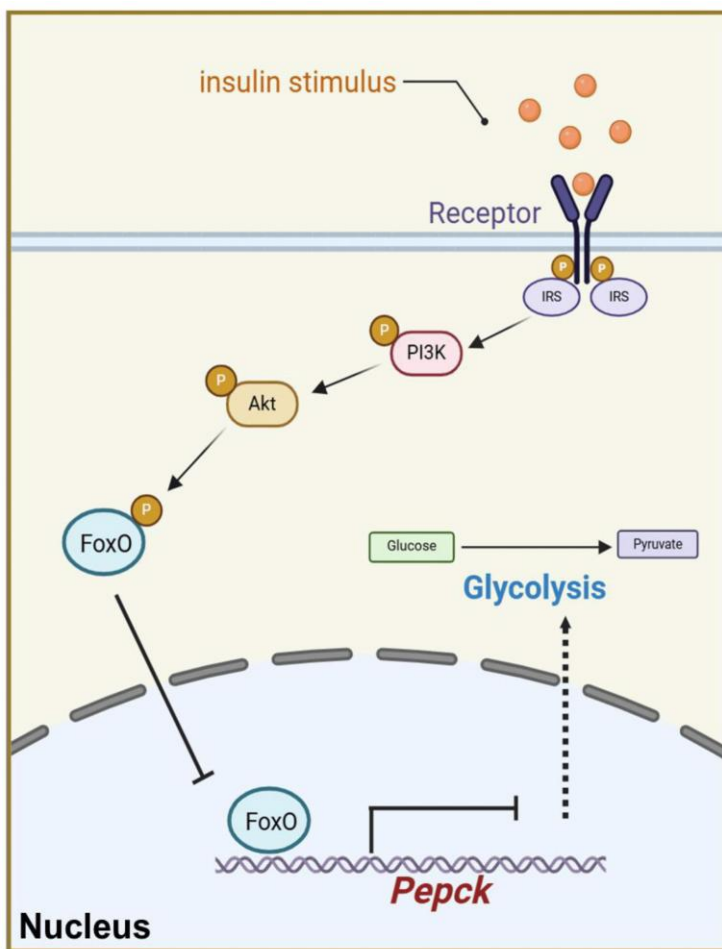
Sinais que modulam a Expressão Gênica em células eucarióticas

- Hormônios
- Neurotransmissores
- Fatores de Crescimento
- Fatores de Diferenciação Celular
- Contato célula-célula
- Odores
- Alterações nutricionais
- Alterações ambientais (ex: temperatura)
- Luz
- Toque mecânico
- e outros.....



Exemplo: Hormônios

Hormônios são moléculas sinalizadoras produzidas por glândulas ou tecidos especializados, que atuam em células-alvo específicas para regular processos fisiológicos e bioquímicos, incluindo o controle da expressão gênica, por meio da ativação de receptores celulares.



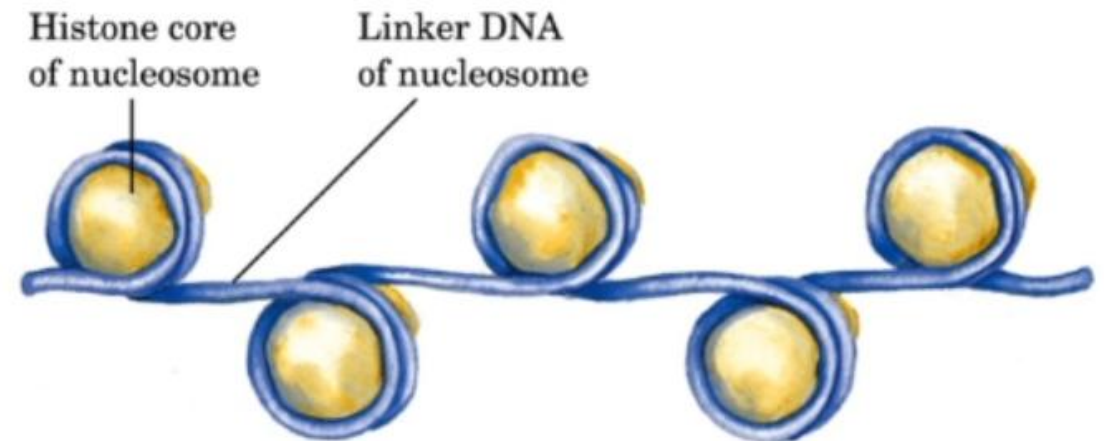
Organização do DNA em eucariotos

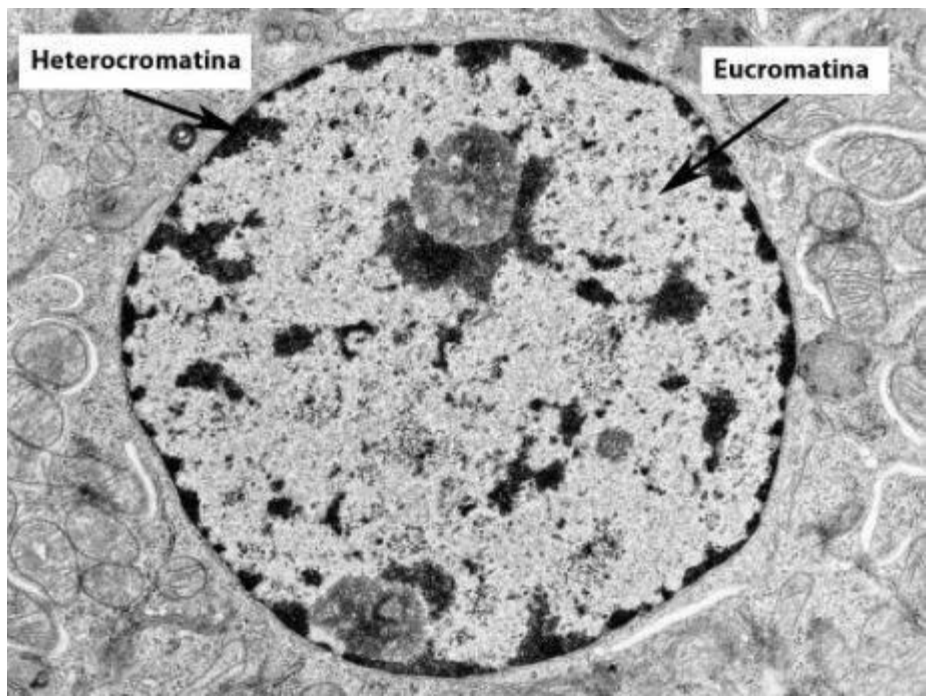
Nas células eucarióticas, o DNA cromosomal está associado a proteínas na **cromatina** formando **nucleosomos**

Types and Properties of Histones

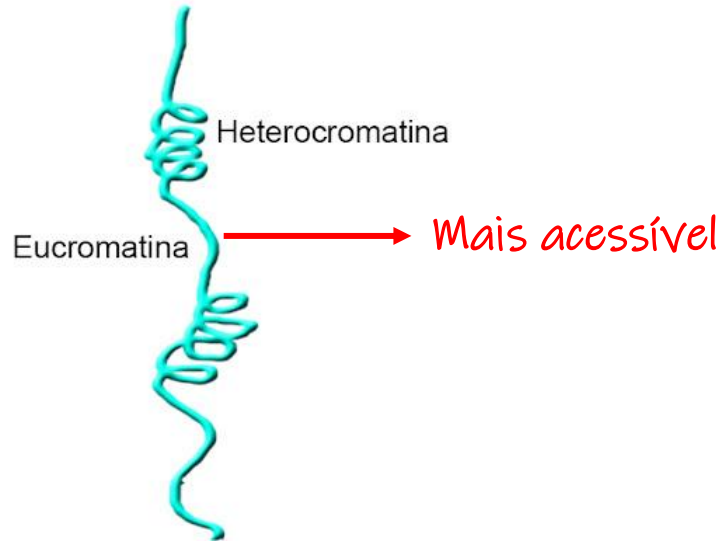
Histone	Molecular weight	Number of amino acid residues	Content of basic amino acids (% of total)	
			Lys	Arg
H1*	21,130	223	29.5	1.3
H2A*	13,960	129	10.9	9.3
H2B*	13,774	125	16.0	6.4
H3	15,273	135	9.6	13.3
H4	11,236	102	10.8	13.7

*The sizes of these histones vary somewhat from species to species. The numbers given here are for bovine histones.

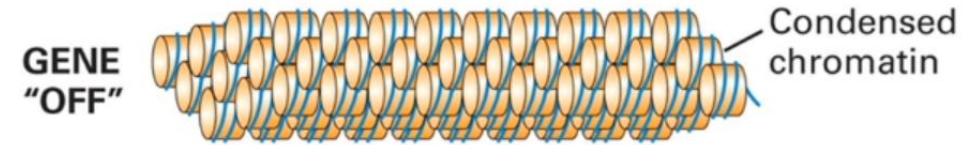




Cromossomo interfásico
com regiões de eucromatina
e heterocromatina



Nucleossomos atuam como inibidores gerais da transcrição



- Inibem acesso da polimerase ao promotor
- Dificultam progressão da RNAP uma vez que transcrição é iniciada

Existem complexos proteicos que "afrouxam" e reorganizam os nucleossomos no caminho da RNAP:

Complexos de remodelamento da cromatina

Estado de compactação da cromatina altera a acessibilidade da maquinaria de transcrição ao DNA

DNA transcricionalmente silenciado

Heterocromatina

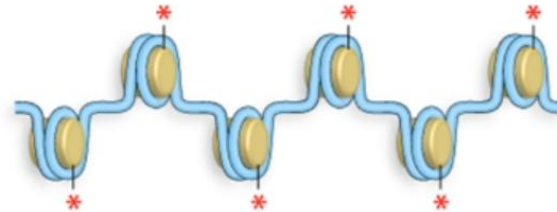


Complexos coativadores
Perda de H1
Modificações de histonas
(como acetilação,
fosforilação e metilação)

Desacetilação, desfosforilação
e demetilação de histonas
Complexos correpressores

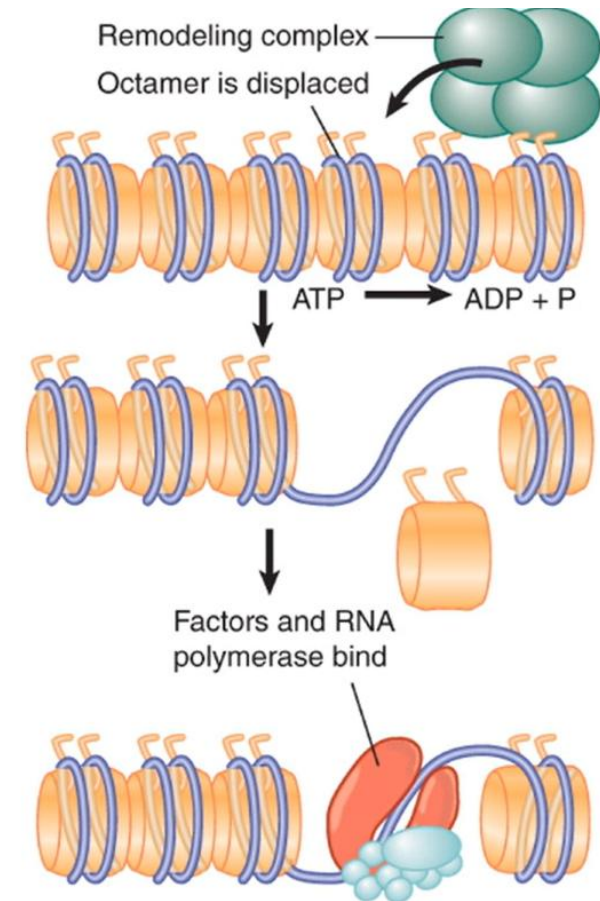
DNA acessível a maquinaria de transcrição

Eucromatina



Modificações nas histonas

Remodelamento da Cromatina é um processo dinâmico

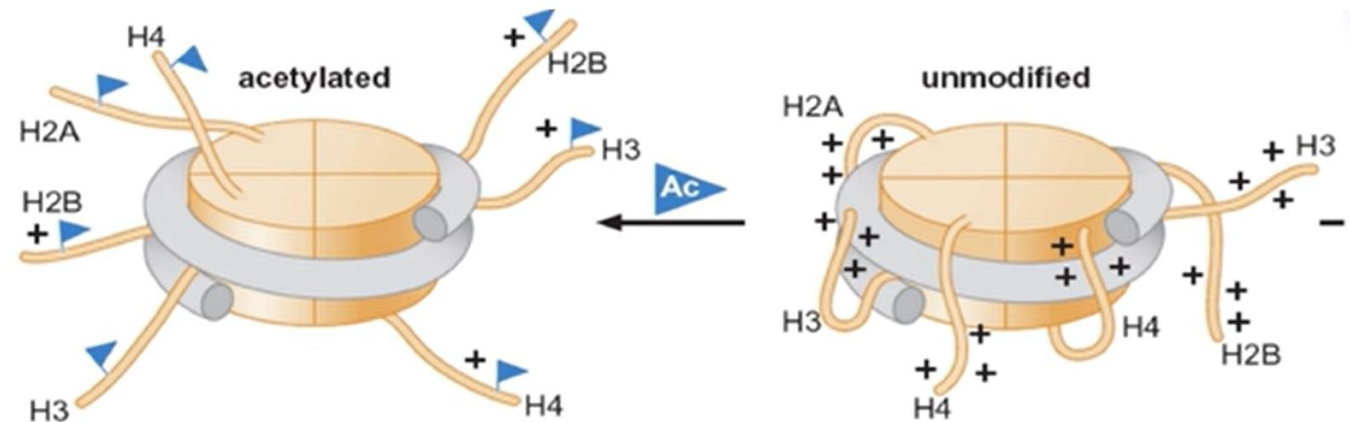
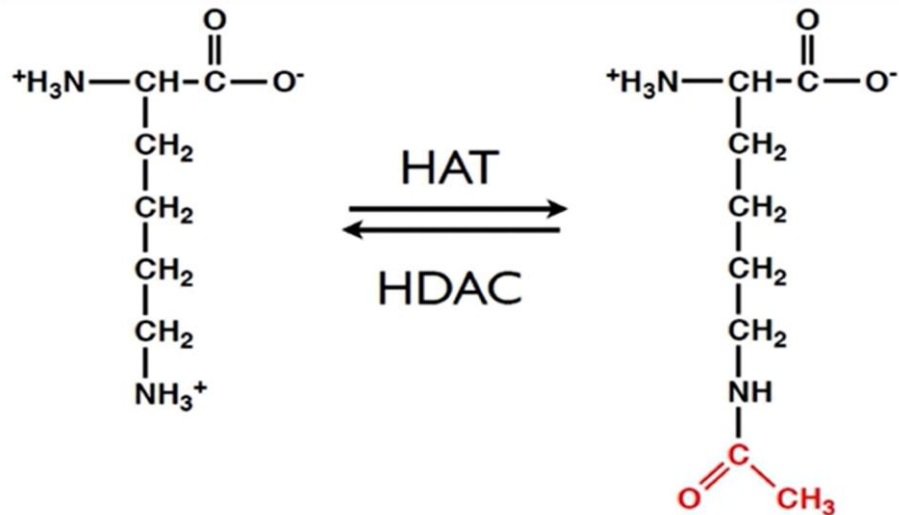
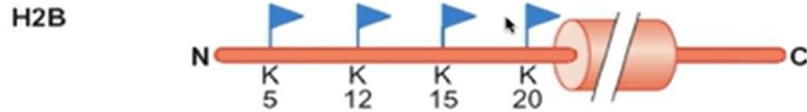


Modificações pós-traducionais de histonas

-Acetilação (Lisina), Metilação (Lisina, Arginina), Fosforilação (Serina, Treonina)

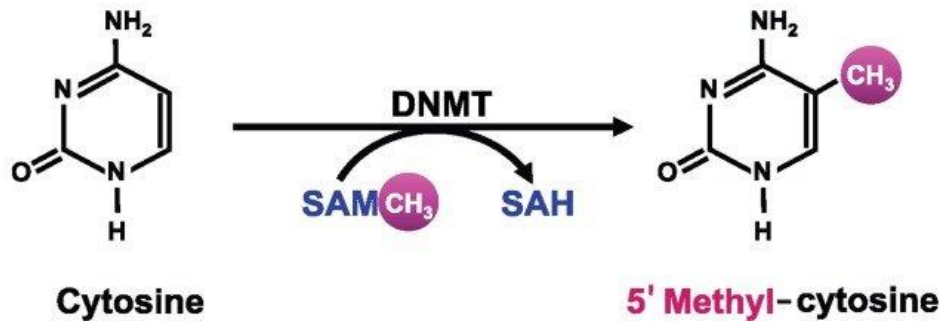
-Vai afetar a interação da histona com o DNA, deixando o DNA mais ou menos compactado

Acetilação



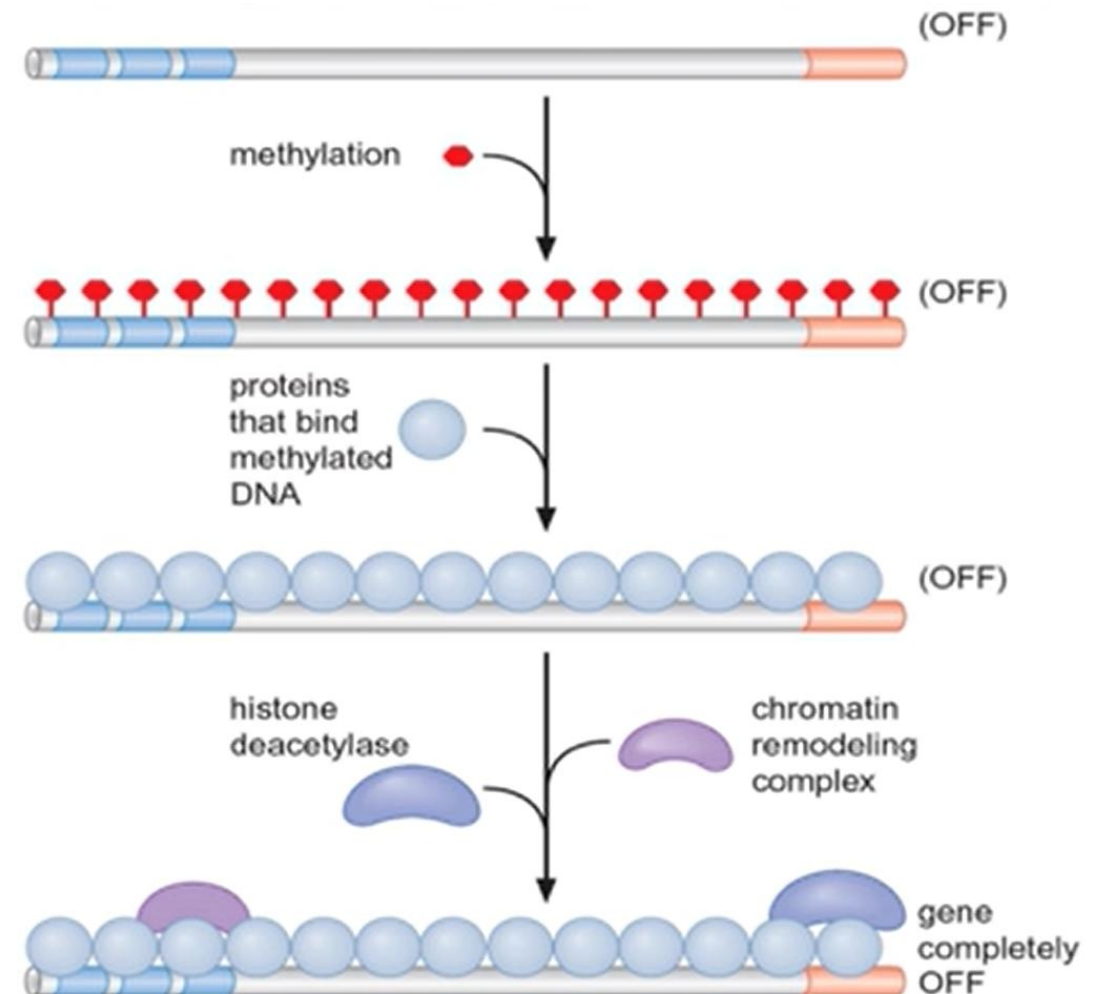
Metilação do DNA

A metilação ocorrerá em resíduos de citosina no DNA, particularmente em regiões ricas em dinucleotídeos CG (também chamadas de ilhas CpG) e leva ao silenciamento gênico



Mecanismos de inibição da expressão gênica:

- A metilação afeta a interação de proteínas (TFs) ao DNA
- Podem promover recrutamento de histonas deacetilases que vão compactar o DNA

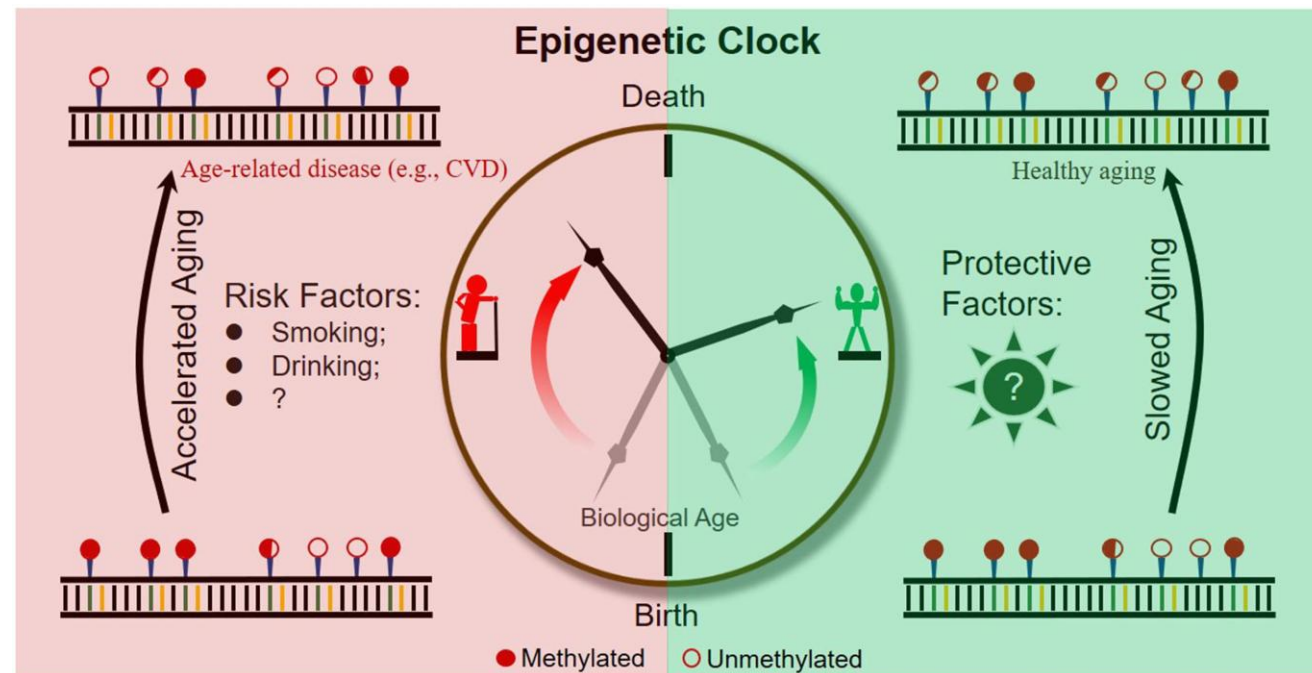
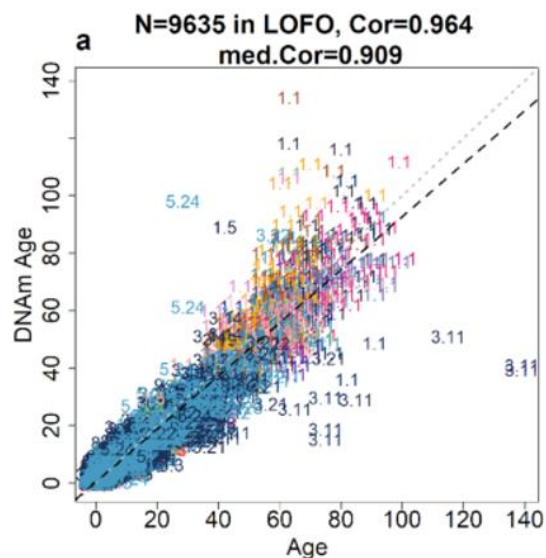


Metilação do DNA vs idade biológica



Steve Horvath

Verificou que há um padrão de metilação associado ao envelhecimento



Com isso, a gente verifica um conceito: O padrão de metilação é influenciado por estímulos ambientais

Genética vs epigenética

Gêmeos idênticos, univitelinos

Mesmo DNA, “fenótipos” diferentes



Figure 7-87 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Epigenética

Epi, do grego, acima, além

Aterações na expressão gênica que ocorrem **sem modificações na sequência do DNA**.

Ex: metilação do DNA, modificações de histonas e regulação por RNAs não codificantes

Influenciam quais genes são ativados/silenciados, podendo ser estáveis e, em alguns casos, herdáveis entre gerações

Mini documentário sobre epigenética: <https://youtu.be/M4boKud1MRk>