

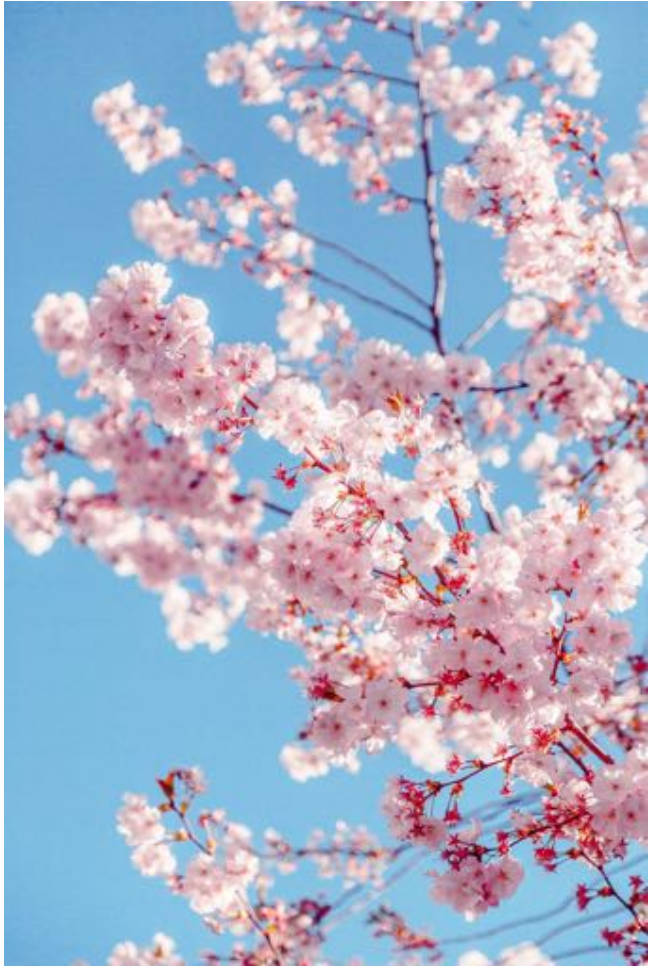
Revisão: O Dogma Central da Biologia Molecular

Aula 3

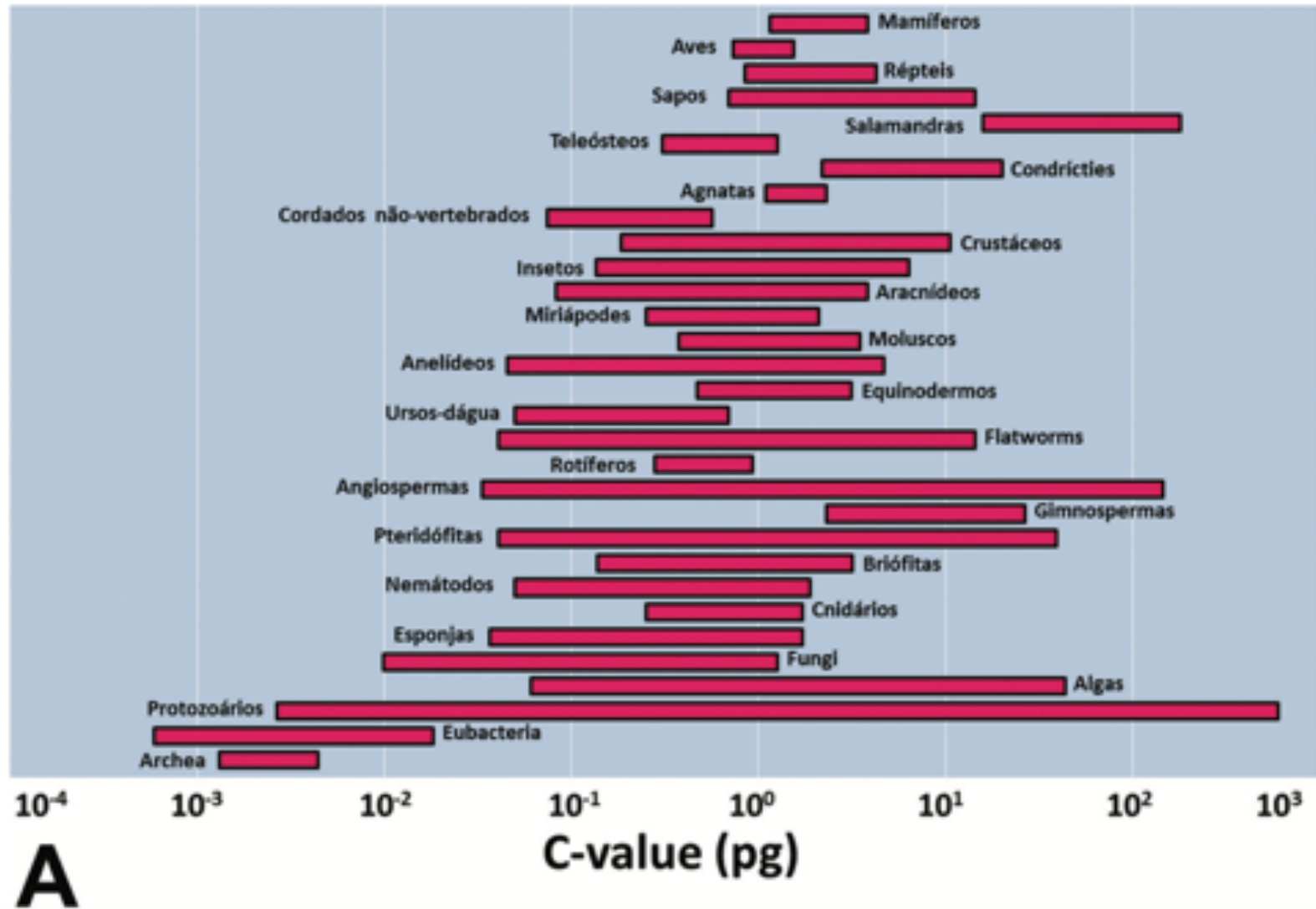


Genética molecular (LGN0232)

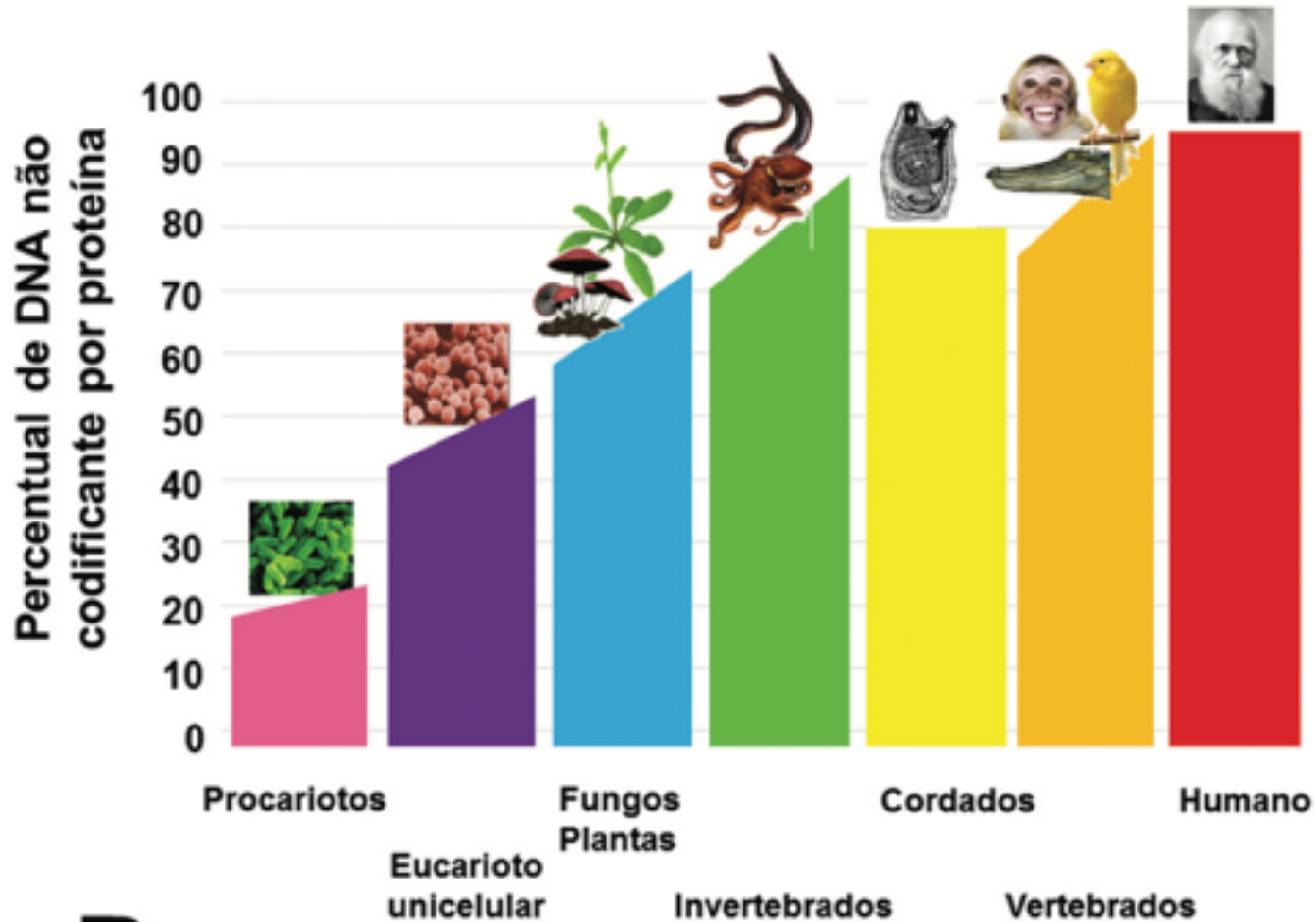
Profa. Maria Letícia Bonatelli
Departamento de Genética
mlbonatelli@usp.br



COMPARAÇÃO DE GENOMAS








PORCENTAGEM DO GENOMA QUE NÃO CODANTE



B

NÚMERO DE GENES EM EUCARIOTOS

Tabela 1. Comparações entre tamanho e genes codificadores de proteínas em diferentes genomas eu e procariotos.

Organismo	Número de cromossomos/ plasmídeos	Tamanho do genoma (Mpb)	Número de genes	Referência
<i>Homo sapiens</i> 	23/0	3×10^9	~ 25.000	1 (HGPI)
<i>Arabidopsis thaliana</i> 	5/0	125×10^6	~ 27.500	2 (TAIR)
<i>Mus musculus</i> 	21/0	$2,7 \times 10^9$	~35.000	3 (MGR)
<i>Drosophila melanogaster</i> 	4/0	139×10^6	~ 15.000	4 (FlyBase)
<i>Caenorhabditis elegans</i> 	6/0	100×10^6	~ 21.000	5 (GGSP)

MAS O QUE É UM GENE?





DEFINIÇÃO DE GENE

- ❑ Um **gene** → unidade da informação genética que controla a síntese de polipeptídios ou uma molécula de RNA estrutural

mRNA → polipeptídeo

tRNA e rRNA → RNA estrutural

- ❑ Gene inclui as regiões 5' e 3' não codificantes, que estão envolvidas na regulação da transcrição e tradução, e todos os íntrons dentro do gene

GENE TÍPICO DE PROCARIOTOS

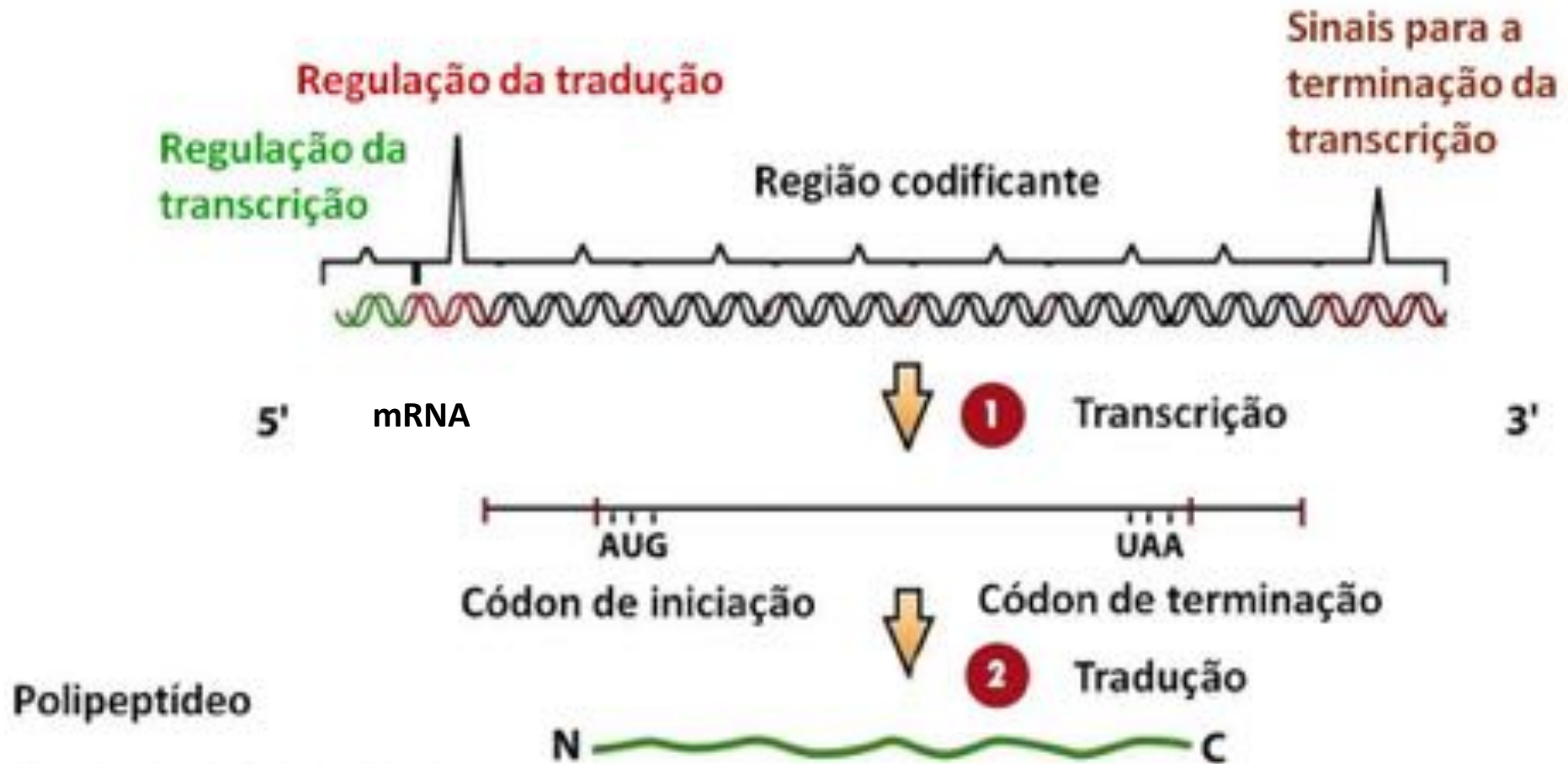


Figure 14-1b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

GENE TÍPICO DE EUCARIOTOS

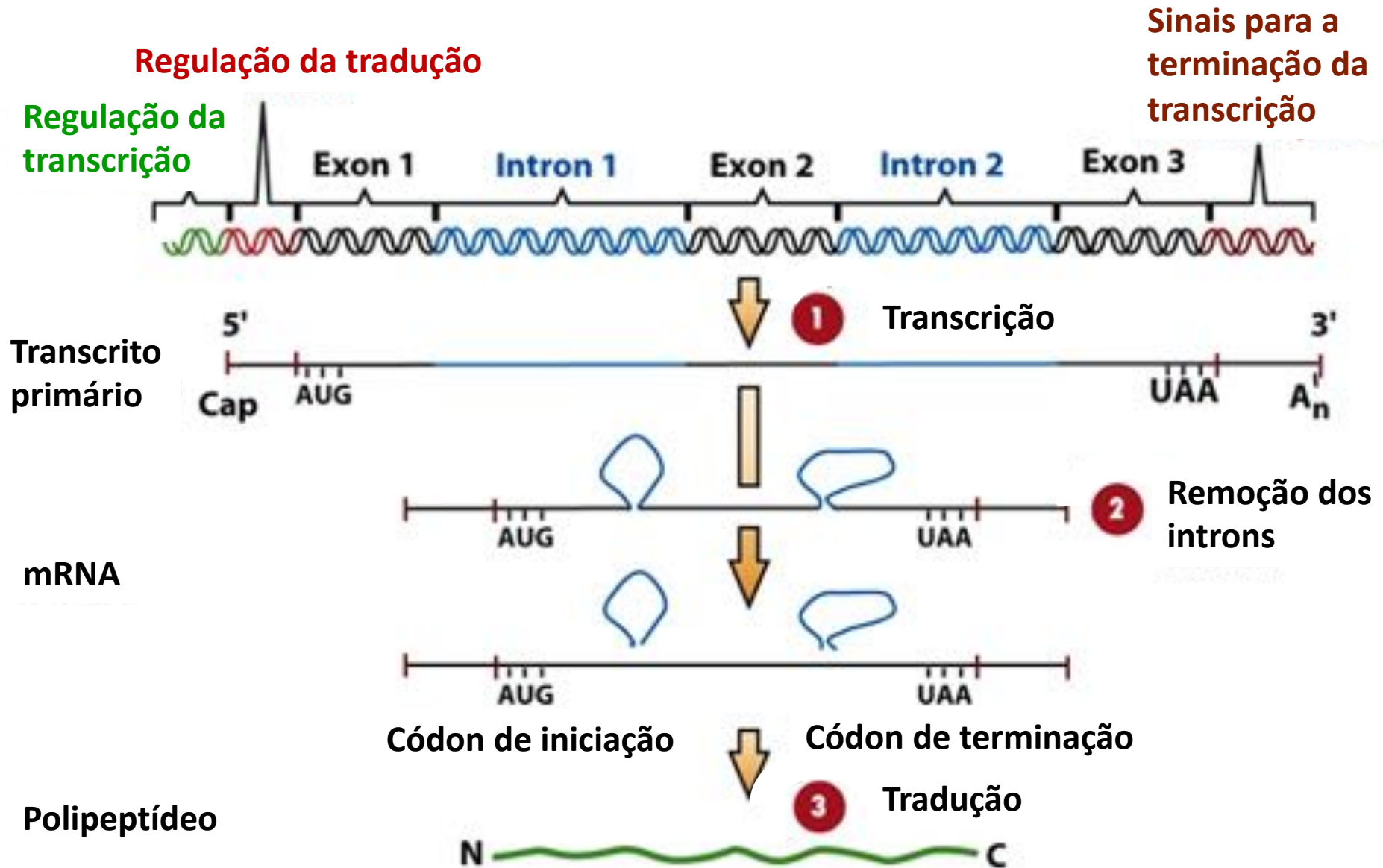
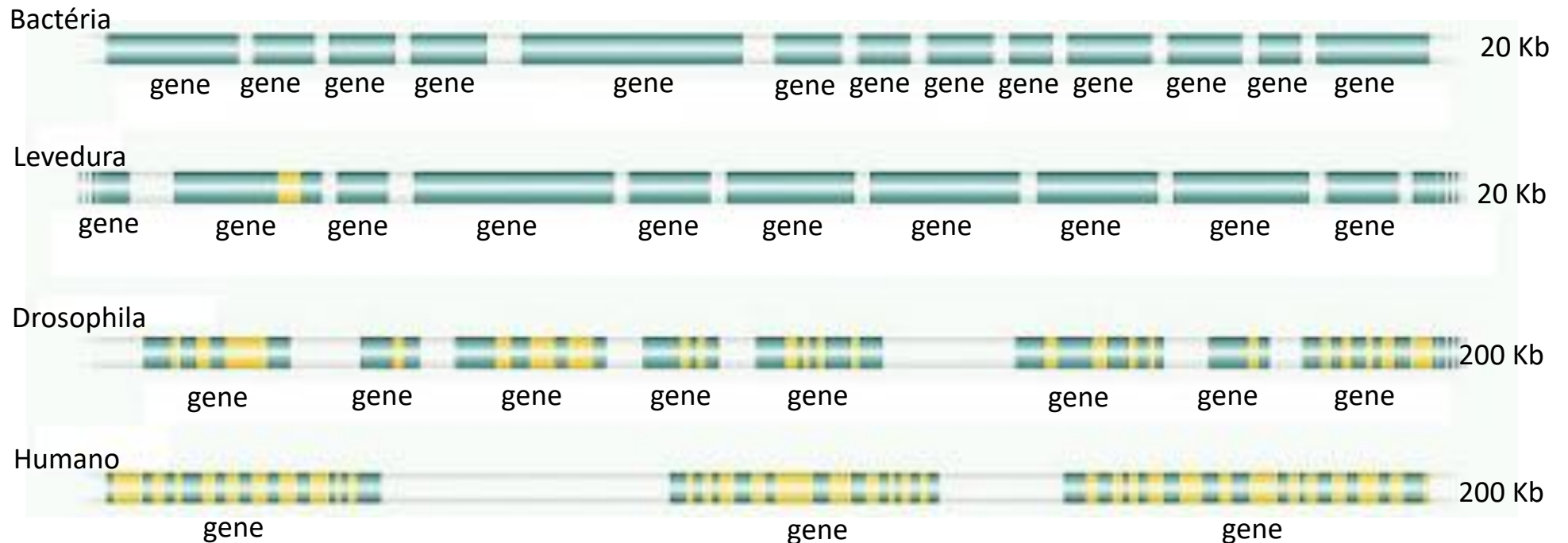


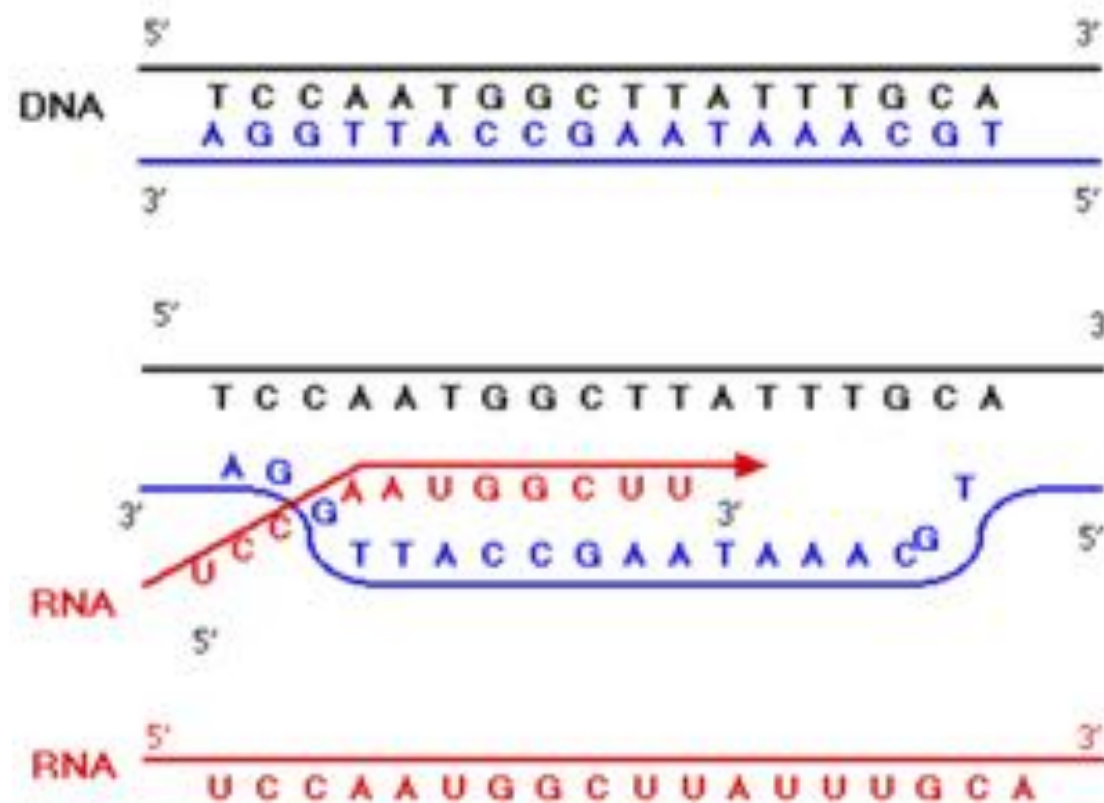
Figure 14-1b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

GENES NA MOLÉCULA DE DNA



Grande variação nos tamanho dos genes geradas pela presença dos introns!

TRANSCRIÇÃO



- ❑ 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

- Processo pelo qual uma molécula de RNA é sintetizada a partir da informação contida na sequência de nucleotídeos de uma molécula de DNA fita dupla.

(5') CGCTATAGCGTTT(3') **DNA fita codificadora**

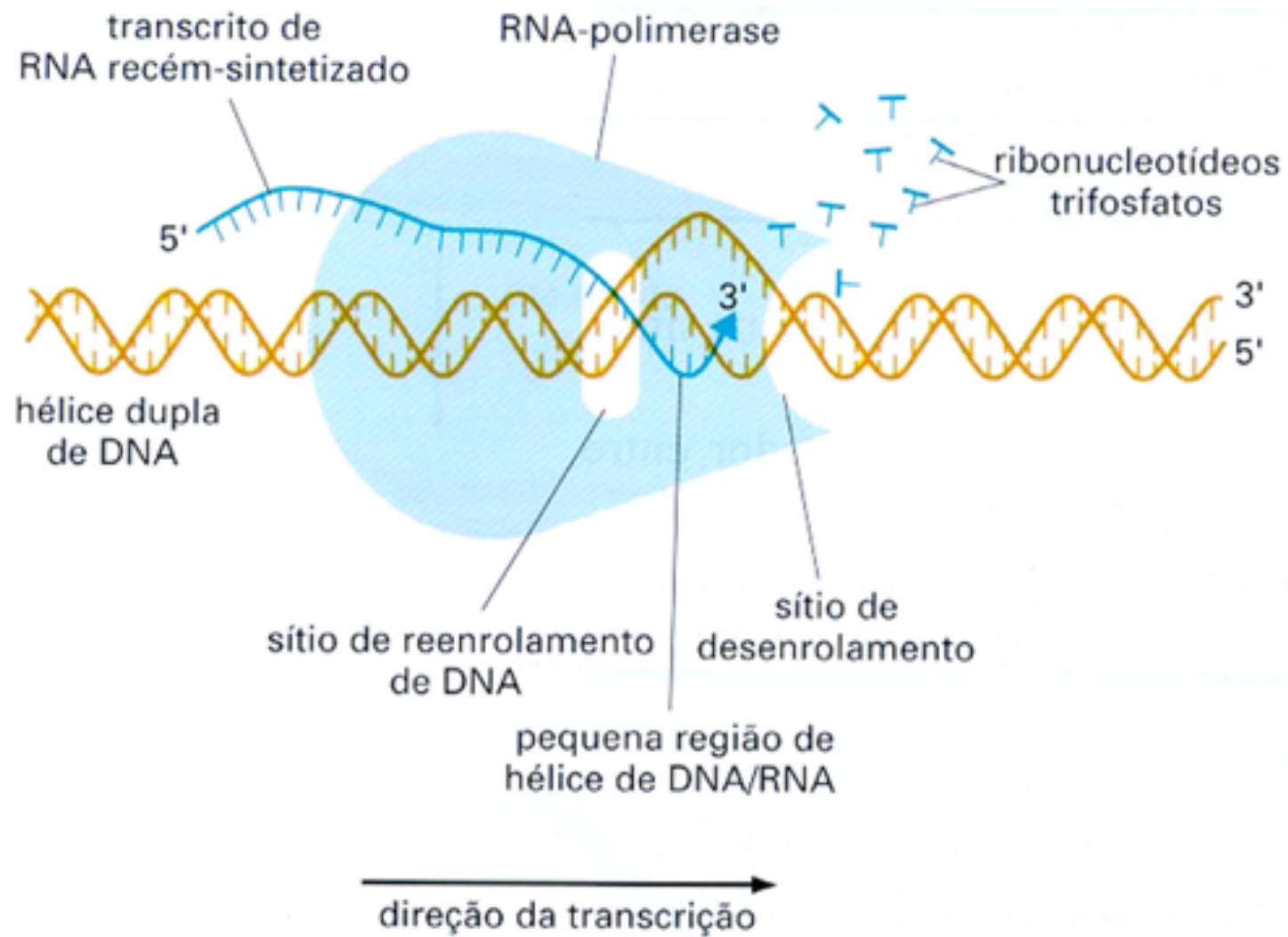
(3') GCGATATCGCAAA(5') **DNA fita molde**

(5') CGCUAUAGCGUUU(3') **RNA transcrito**

Nomenclatura:

- DNA fita codificadora (senso)
- DNA fita molde (anti-senso)

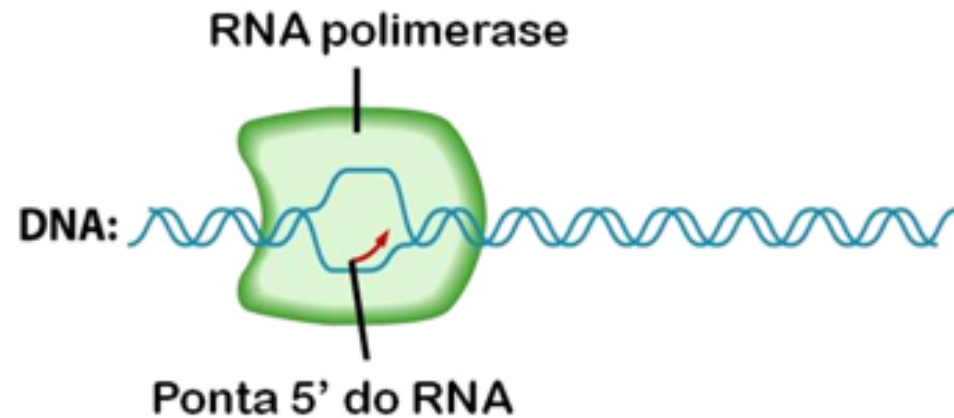
ENZIMA RNA POLIMERASE



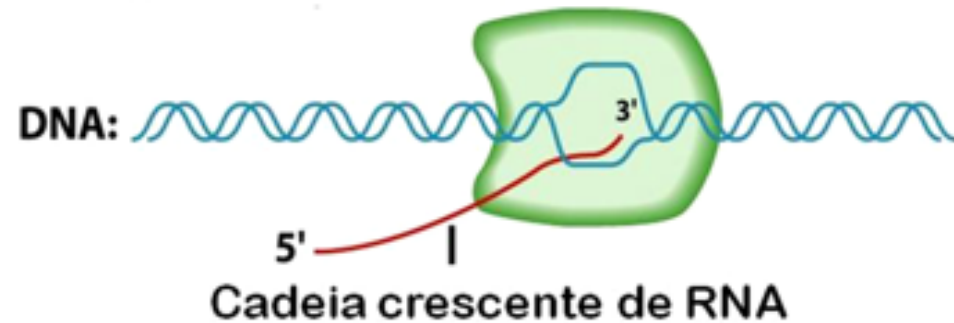
(Alberts et al., 1999)

ETAPAS DA TRANSCRIÇÃO

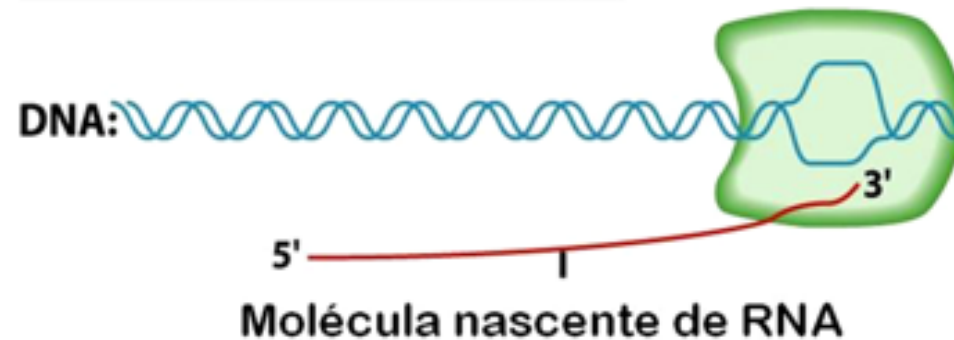
1 Iniciação da cadeia de RNA



2 Alongamento da cadeia de RNA

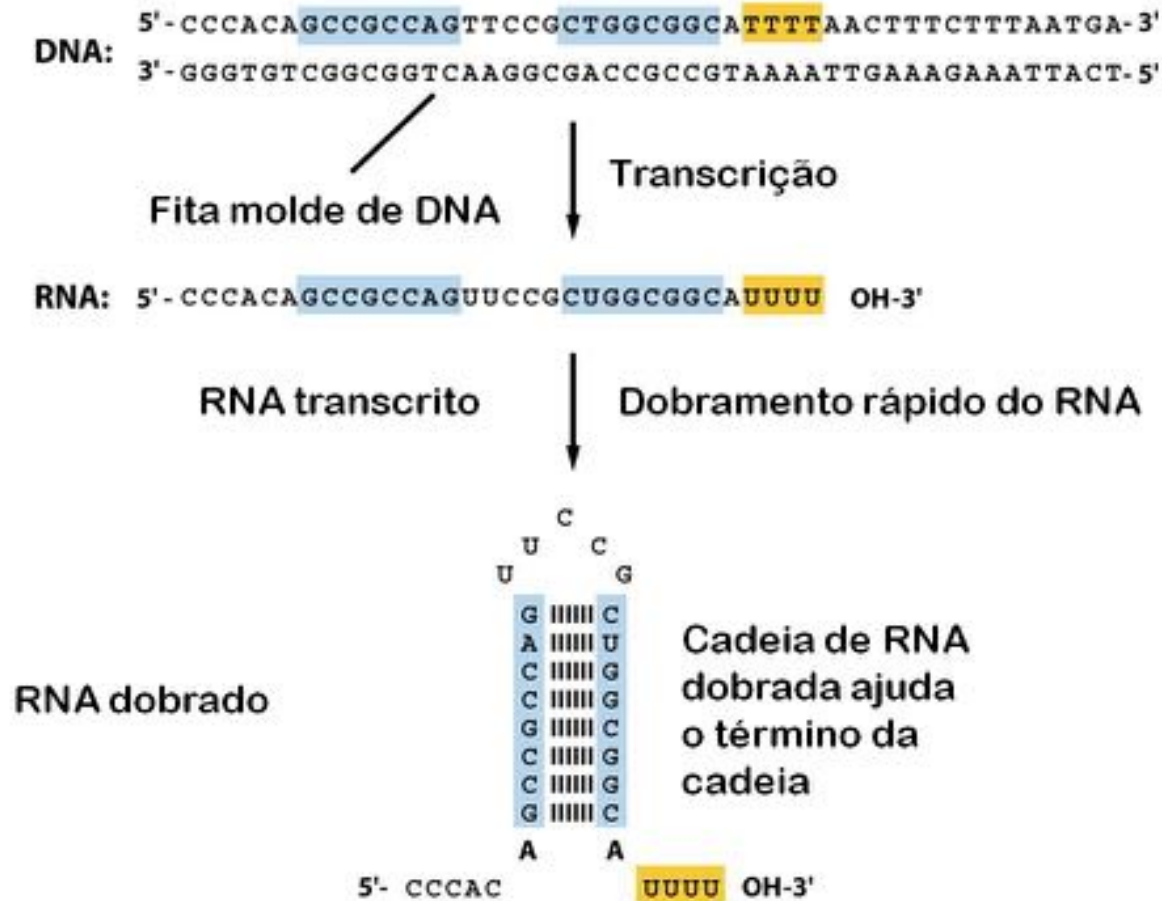


3 Término da cadeia de RNA



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;



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 **seqüências específicas** de nucleotídeos → **promotores**;
7. RNA polimerase termina a transcrição em **seqüências específicas** de nucleotídeos → **terminadores (finalizadores)**.

Revisão: O Dogma Central da Biologia Molecular

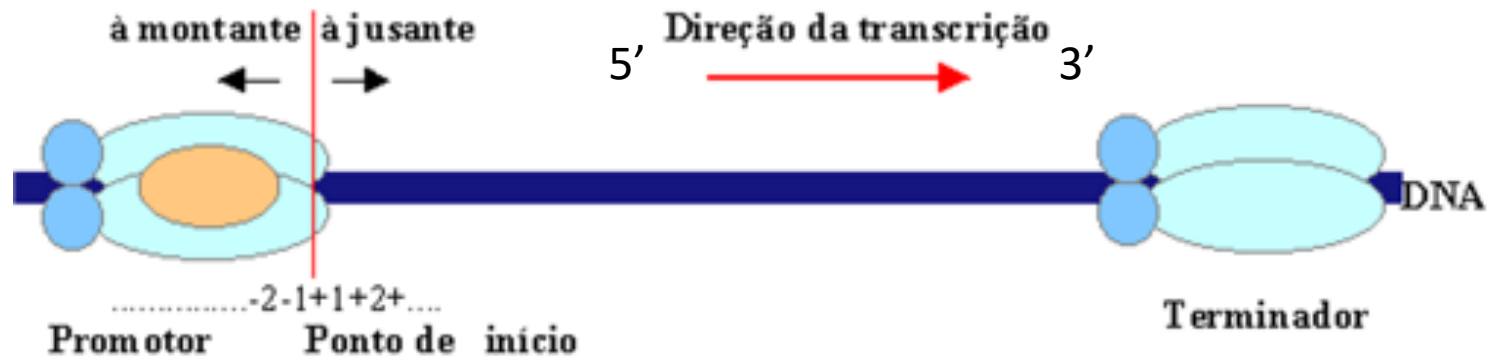
Aula 3



Genética molecular (LGN0232)

Profa. Maria Letícia Bonatelli
Departamento de Genética
mlbonatelli@usp.br

REGIÃO PROMOTORA DE UM GENE

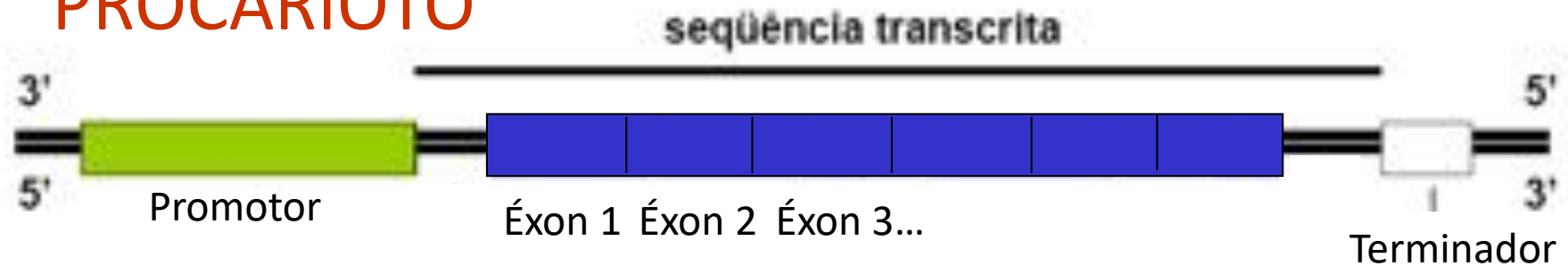


- ❑ Diz-se que as sequências que antecedem o ponto de **início da transcrição** localizam-se à montante (*upstream*) e as que o sucedem localizam-se à jusante (*downstream*);
- ❑ A posição das bases é numerada nos dois sentidos, a partir do ponto de início da transcrição, ao qual se atribui o **valor +1**. Os valores aumentam (valor positivo) à jusante e diminuem (valor negativo) à montante.

EM SÍNTESE...

REGIÕES CHAVE DO DNA NA TRANSCRIÇÃO

PROCARIOTO

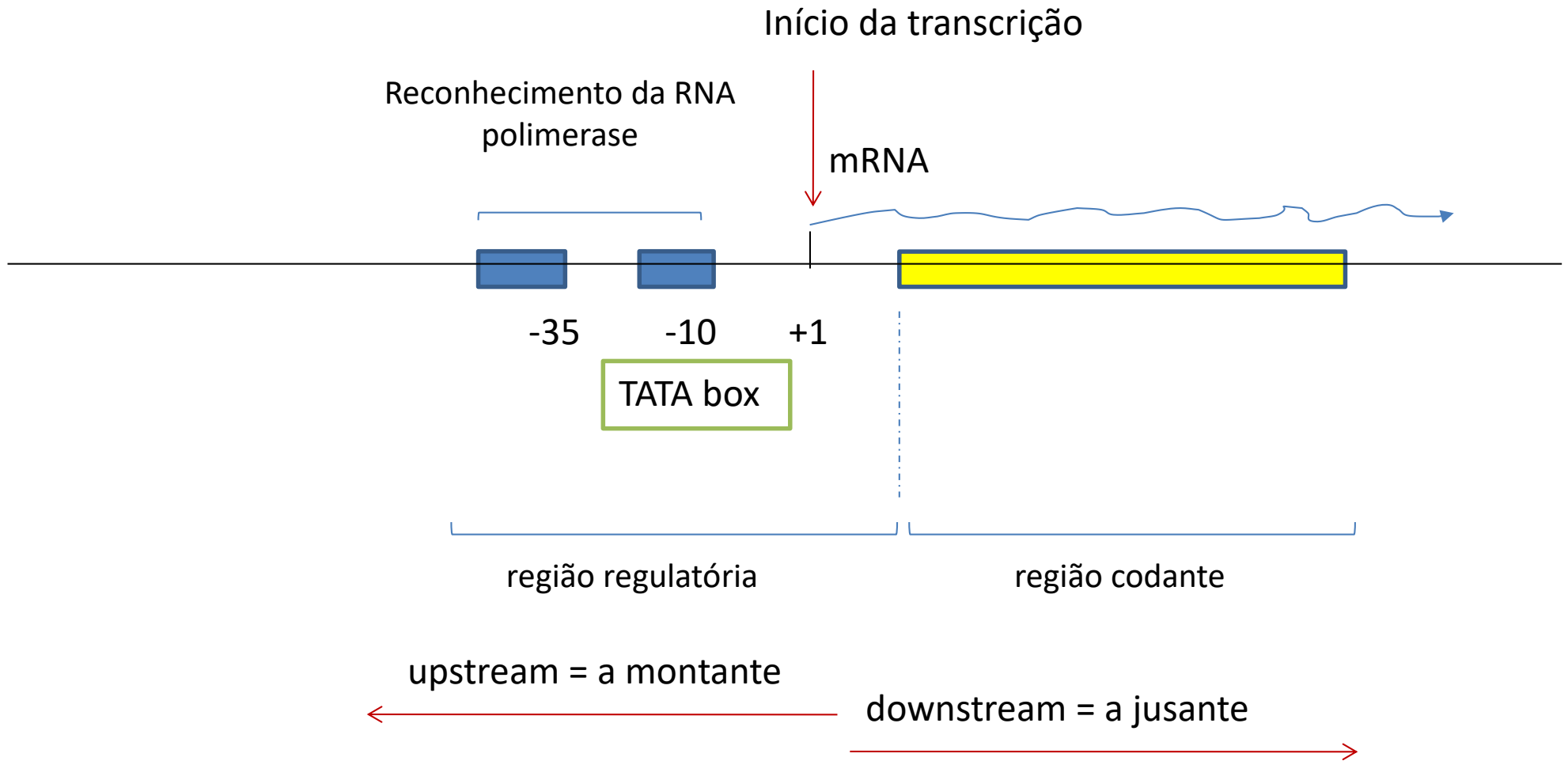


EUCARIOTO



<http://www.dnai.org/a/index.html>

ESTRUTURA DO PROMOTOR EM PROCARIOTOS

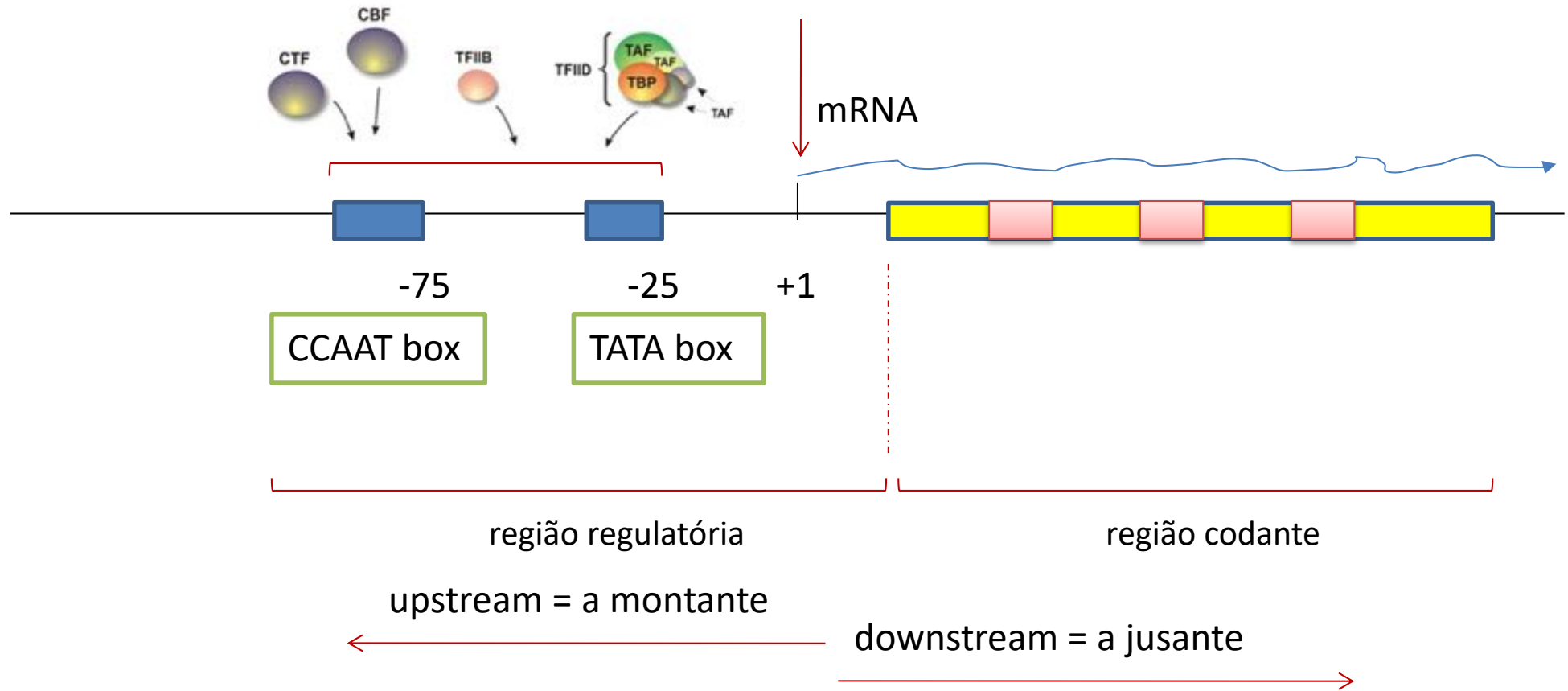


ESTRUTURA DO PROMOTOR EM EUCARIOTOS

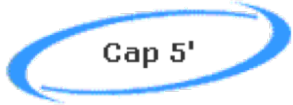
Reconhecimento da RNA polimerase

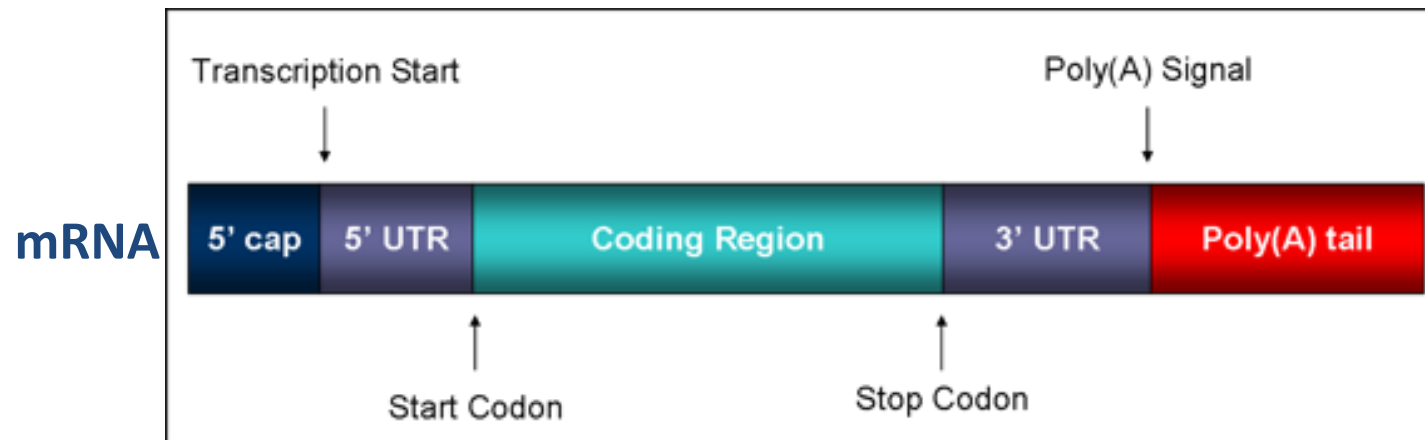
FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Início da transcrição



PROCESSAMENTO DO RNA (TRANSCRITO) PRIMÁRIO EM EUKARIOTOS

- 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.



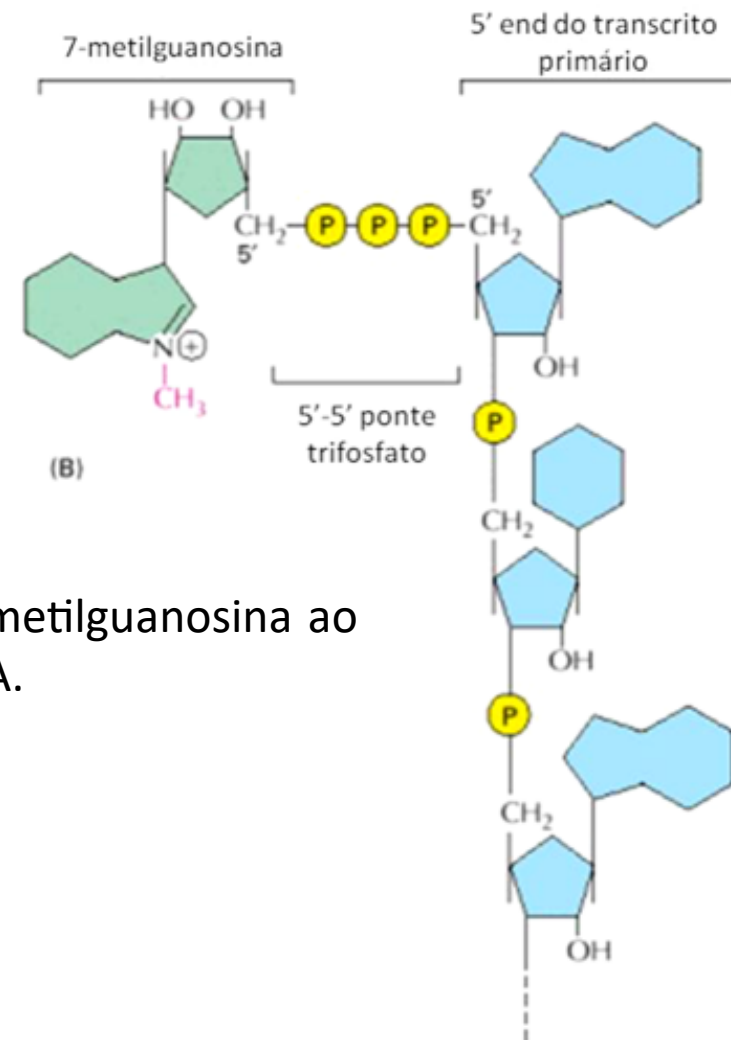
PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO

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 cerca de 200 resíduos de adenilato (AMP)

FUNÇÕES:

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

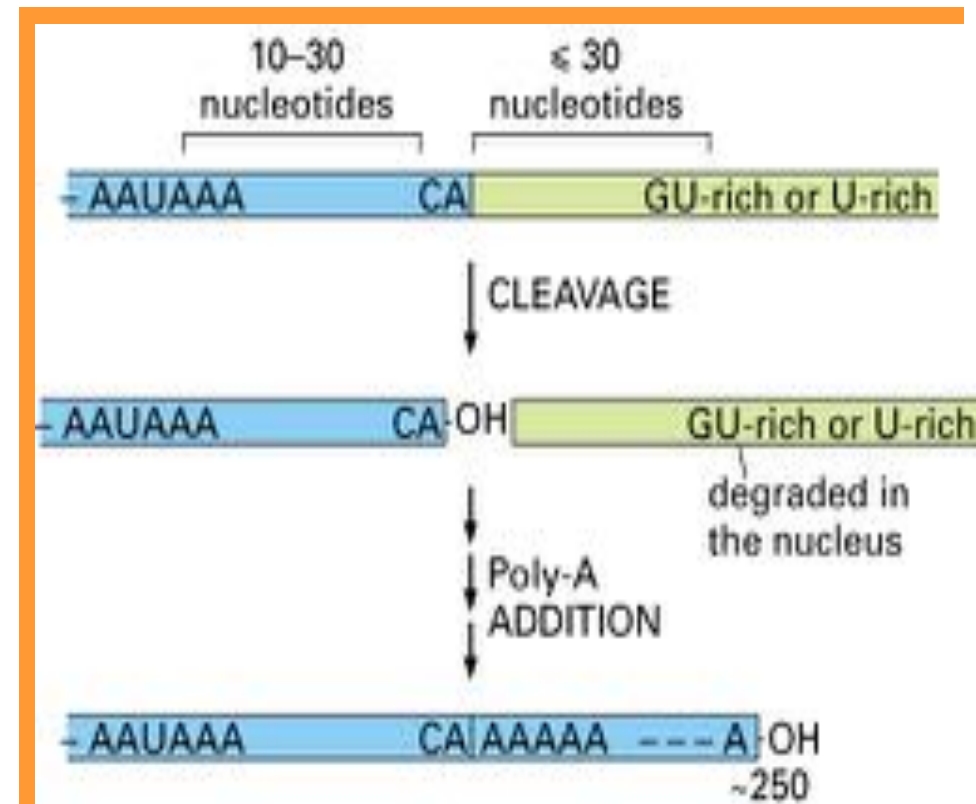
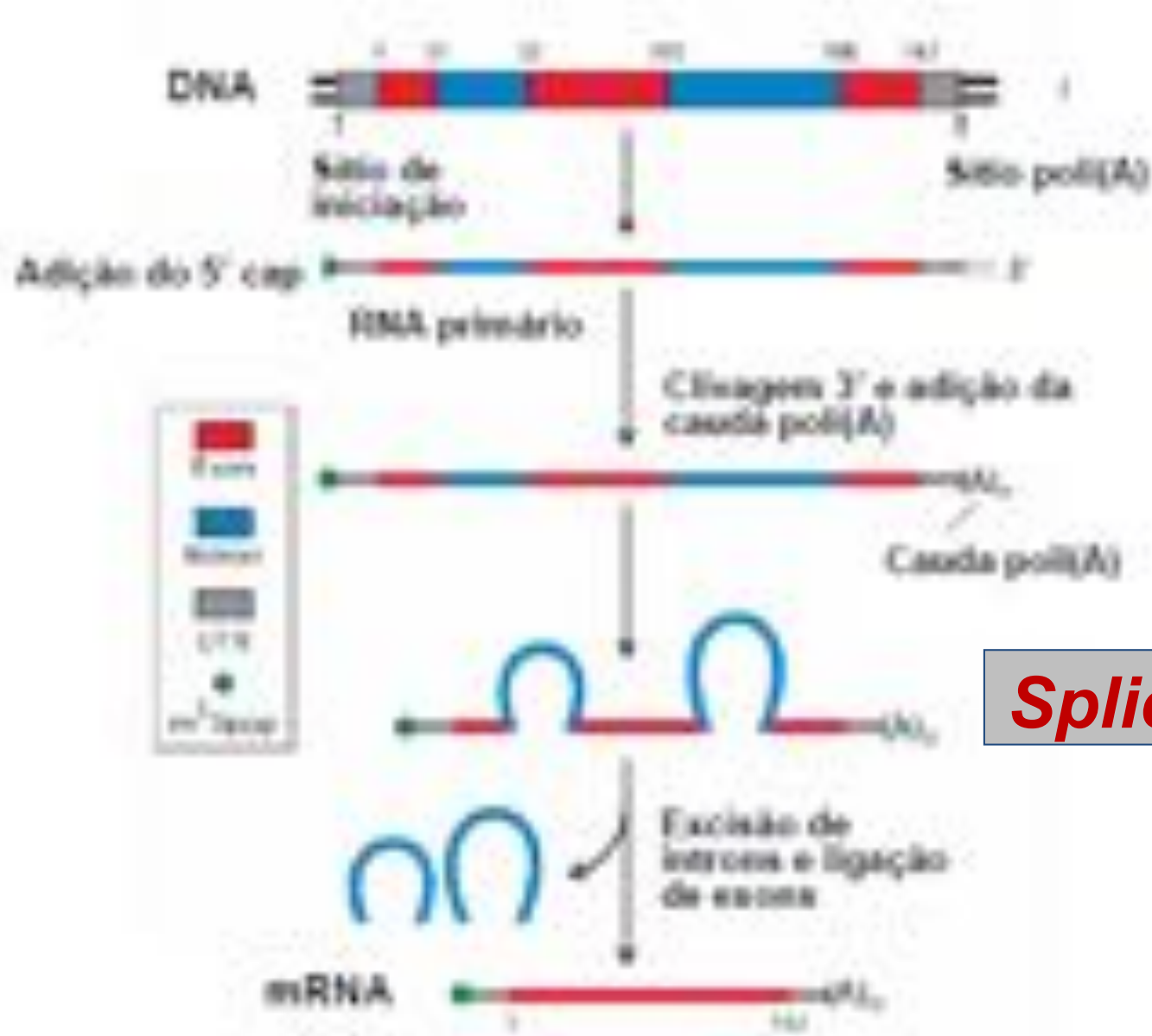
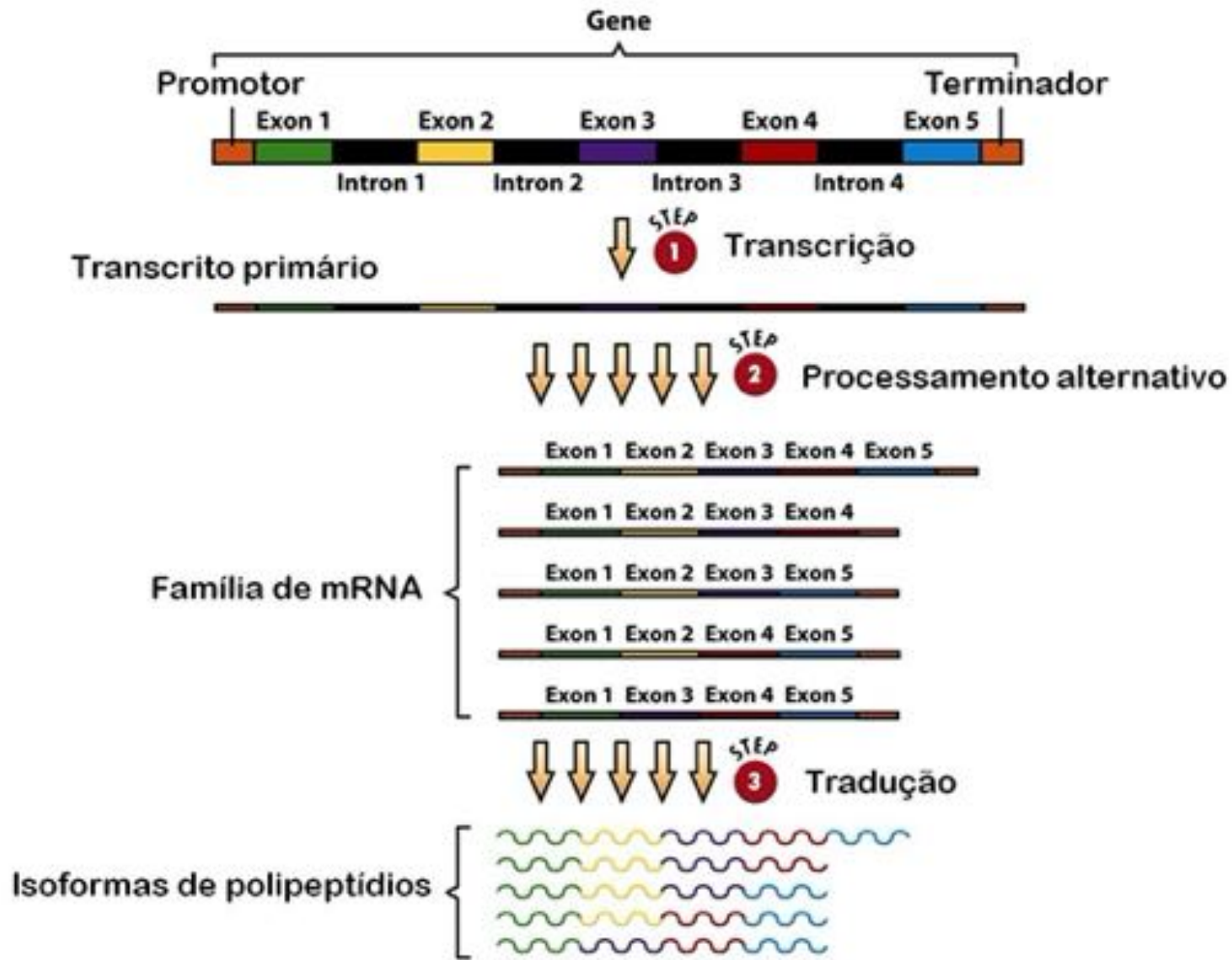


Figure 6-37. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO

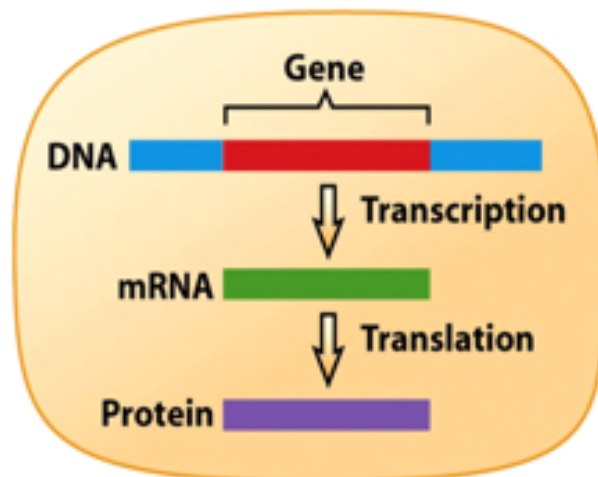


ISOFORMAS DE PROTEÍNAS

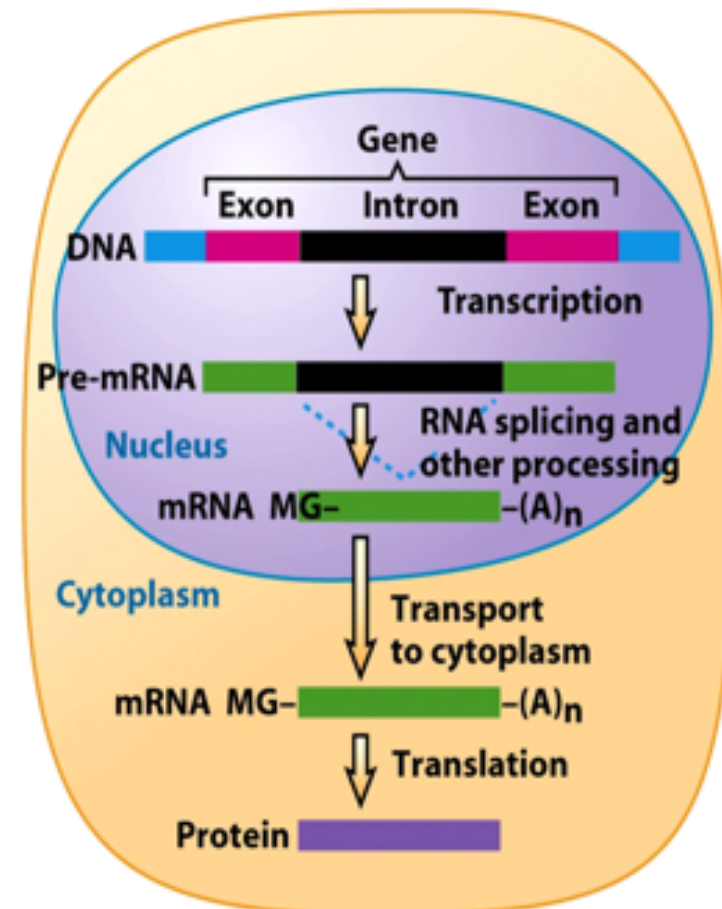


TRANSCRIÇÃO

- ✓ 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.



(a) Prokaryotes.



(b) Eukaryotes.

Revisão: O Dogma Central da Biologia Molecular

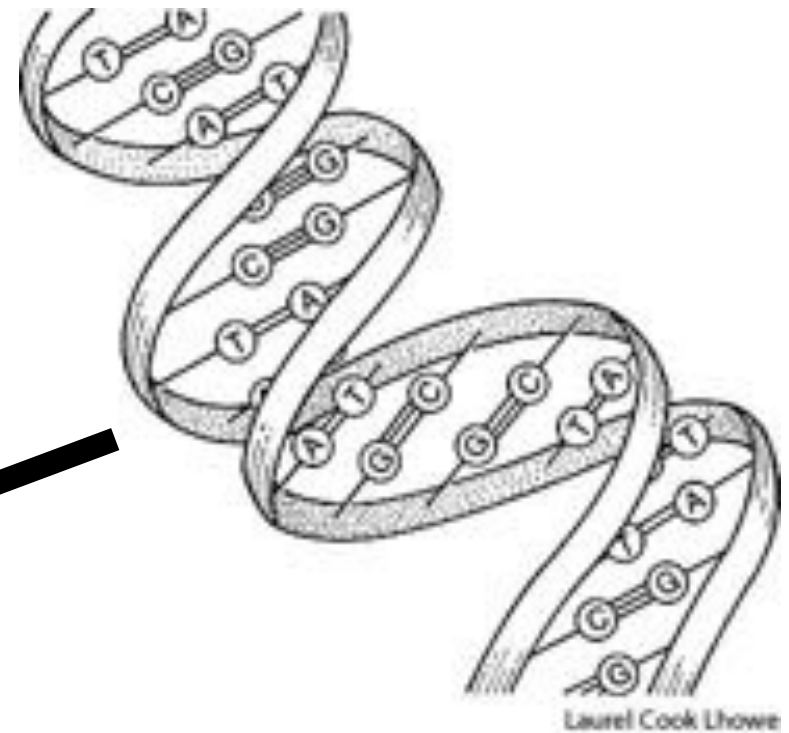
Aula 3



Genética molecular (LGN0232)

Profa. Maria Letícia Bonatelli
Departamento de Genética
mlbonatelli@usp.br

TRADUÇÃO



Interpretação

```
AAGTCCTTTTAAATAAATAATTCTAGCTATATTTGCAAC  
GTTGGAAAATTAGCTATTCTAATGTTATCGAAAGAAGAA  
CACAGTTACTTASTTTCTCGGCAAACATATCAAAATGA  
GAAGGTGAAAGAGTGGCATAATGATAAGCAAATCTGAAA  
ATTTTTGGTATAATAATCTTGATTGAAATTTGAATGGA  
GTAGGCTTACCAAATGTTGGTAAATCAACCTTATTTAAC  
ATTATCCTTTTGGCACTATTGATCCCAATGTTGGTATGG  
GACAGAATTGATTACACCTAAAAAACAGTTCGACAAC  
AAAGGTGCTTCTAGAGGGGAAGGTCTAGGAAATAAATTT  
TTCATGTGGTACGTGCTTTTGATGATGAAAATGTCATGC  
TCCTATAGCAGATATTGACACTATTAATCTTGAATTAAT  
TATGCCCGTGTGAAAAAATGGCACGAACTCAAAAAGAT  
AAAAGATTAACCTGTTTTGGAAGATGGGAAATCAGCTA  
AGTTGTTAAAGGTCTCTTTTTATTAACAACATAAACCTGT  
GTTGCTAATCTAGATGGTATTGATTATGTCAAACAATT  
TAGTTGTTATCTCAGCGCGTGCAGAAGAAGAAATTCAG  
GGAAGCTATCGGTCTTACTGAATCAGGCGTTGATAAATT  
GGAACCTATTTACAGCAGGTGAAAAGAGGTTCTGTGCT  
AAGCTGCTGGTATTATCCATTGAGATTTTGAAGAGGTT
```

Código genético

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.

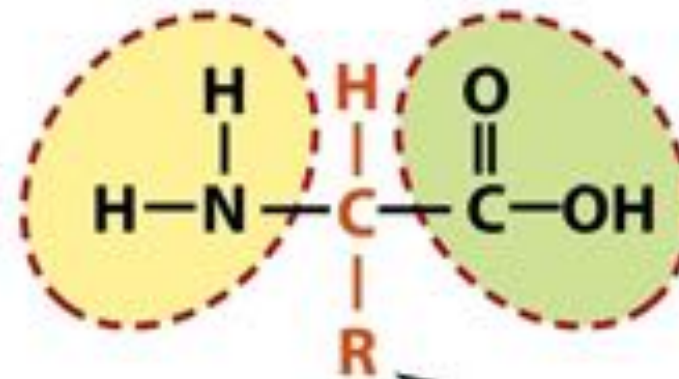
ESTRUTURA DA PROTEÍNA

Aminoácidos (20 tipo):

- grupo amino;
- grupo carboxila;
- grupo lateral.

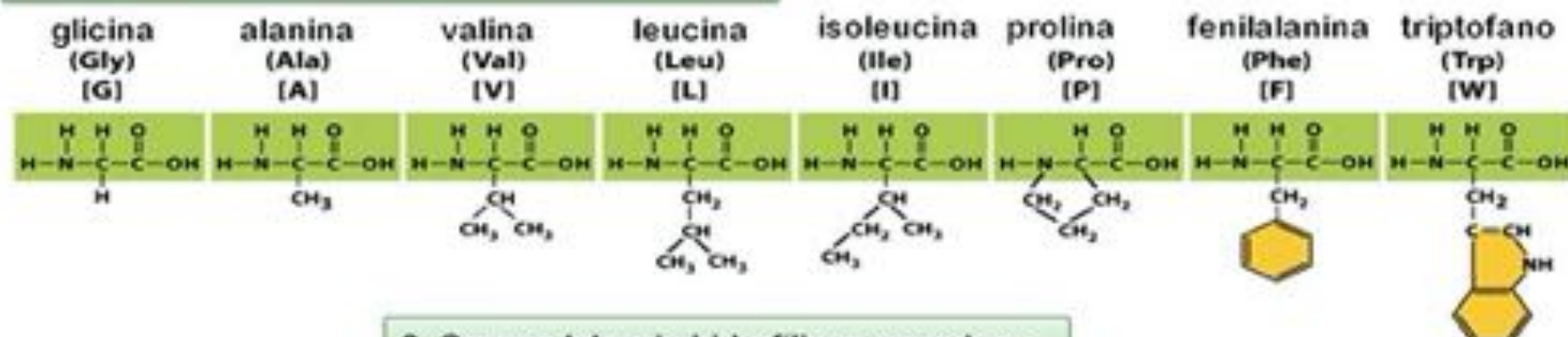
Grupo amino

Grupo carboxila

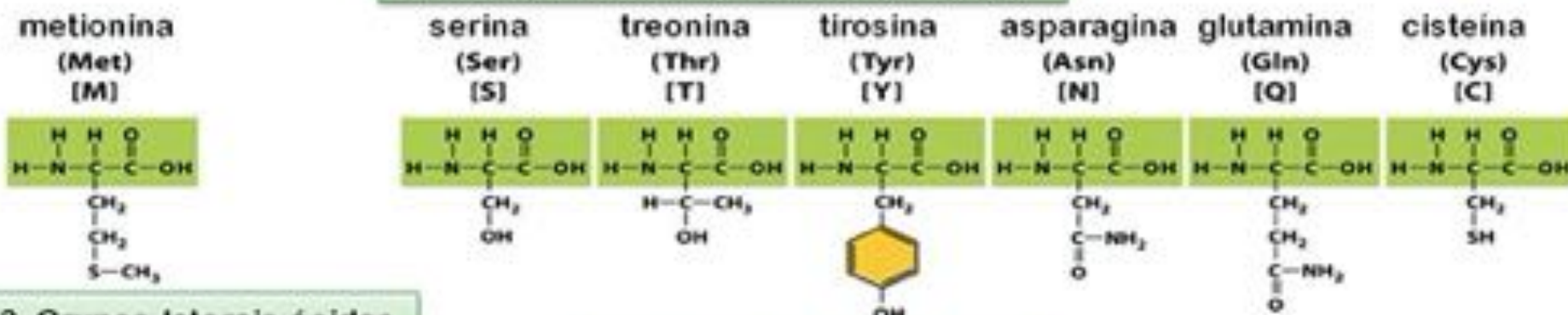


Grupo Lateral (R)

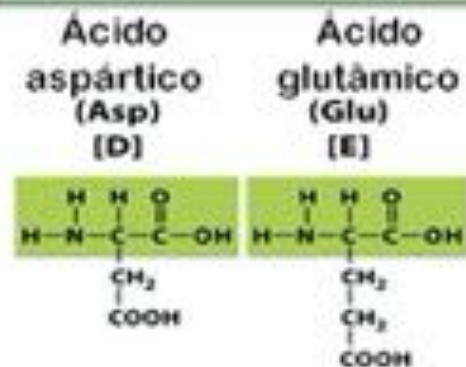
1. Grupos laterais hidrofóbicos ou não polares



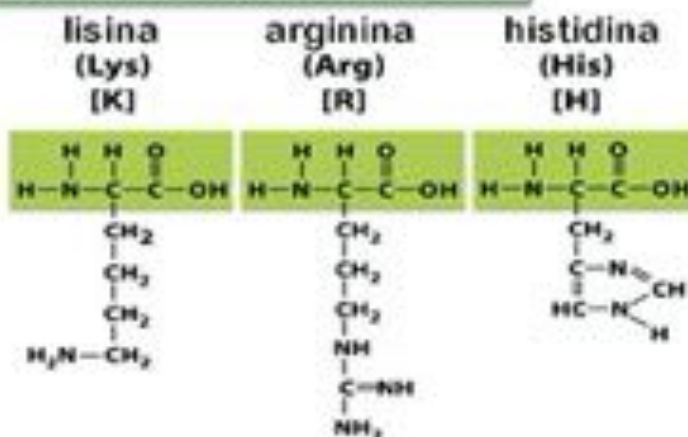
2. Grupos laterais hidrofílicos ou polares



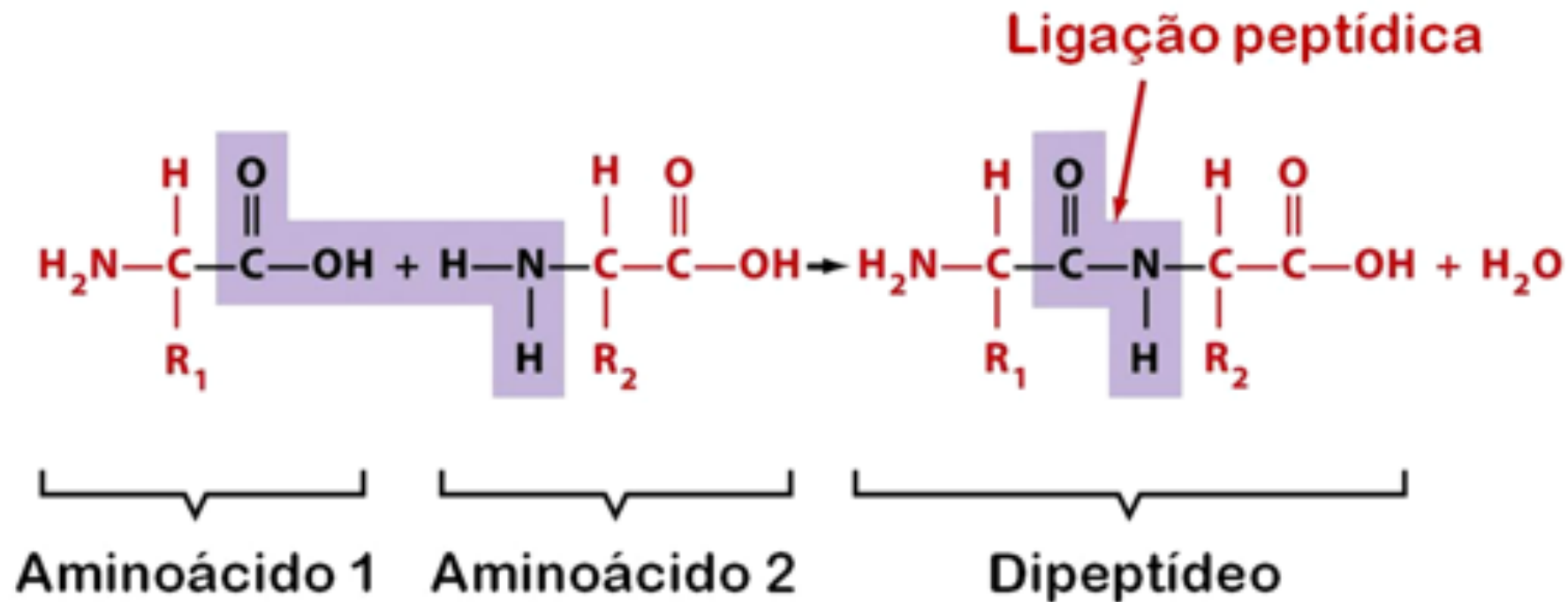
3. Grupos laterais ácidos



4. Grupos laterais básicos

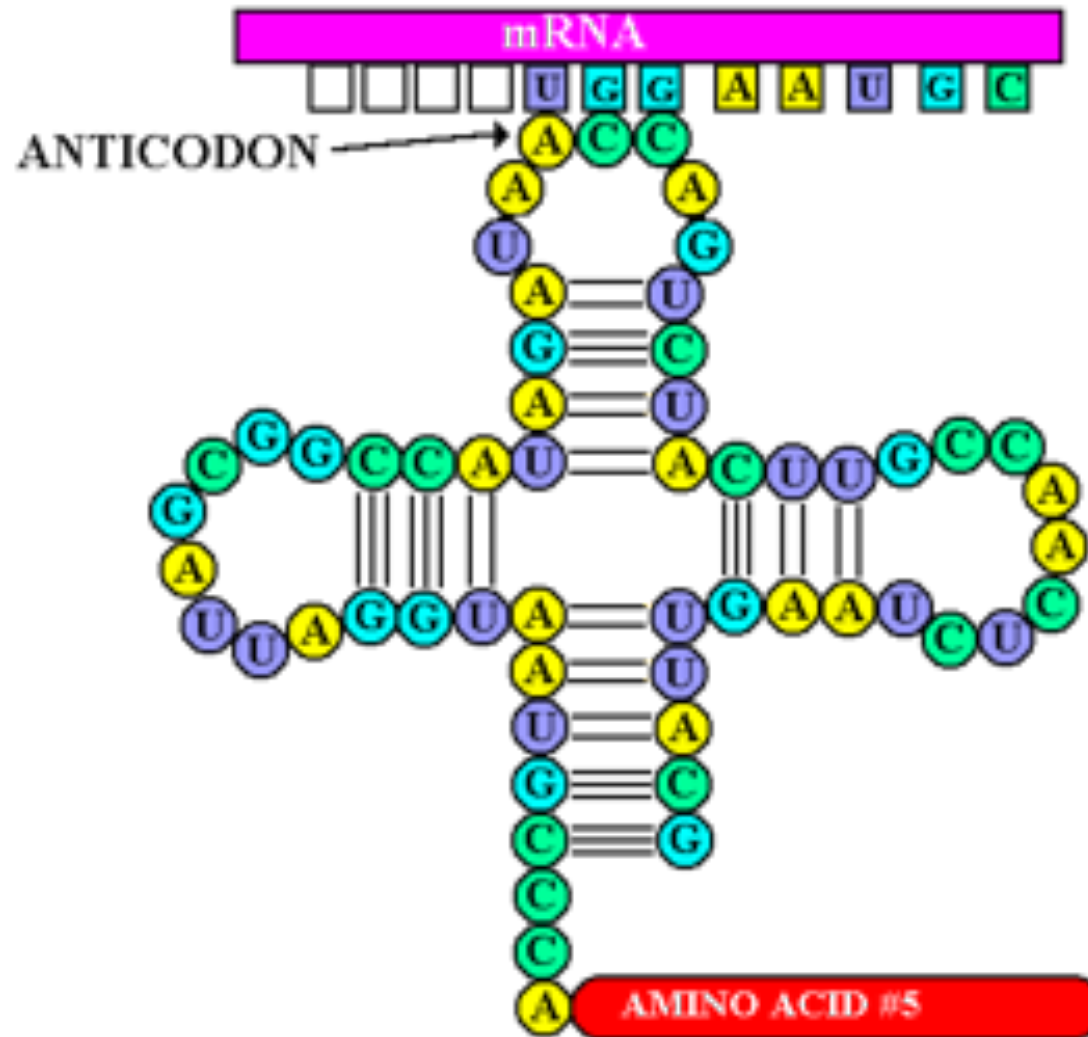


LIGAÇÃO PEPTÍDICA



Proteína - Direção de síntese

CÓDON E ANTICÓDON



GCA	AGA						GGA			UUA					AGC				GUA					
GCC	AGG						GGC		AUA	UUG					AGU				GUC				UAA	
GCG	CGA	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	GGG	CAC	AUC	CUA	AAA		UUC	CCA	UCA	ACA			GUG			UAG		
GCU	CGC	GAU	AAU	UGU	GAG	CAG	GGU	CAU	AUU	CUC	AAG	AUG	UUU	CCG	UCC	ACC		UAC	GUU	UGG	UAU	UGA		
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop				
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V					

Figure 7-24 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

**A leitura
correta do
código
genético
pelo
ribossomo é
vital!!!**

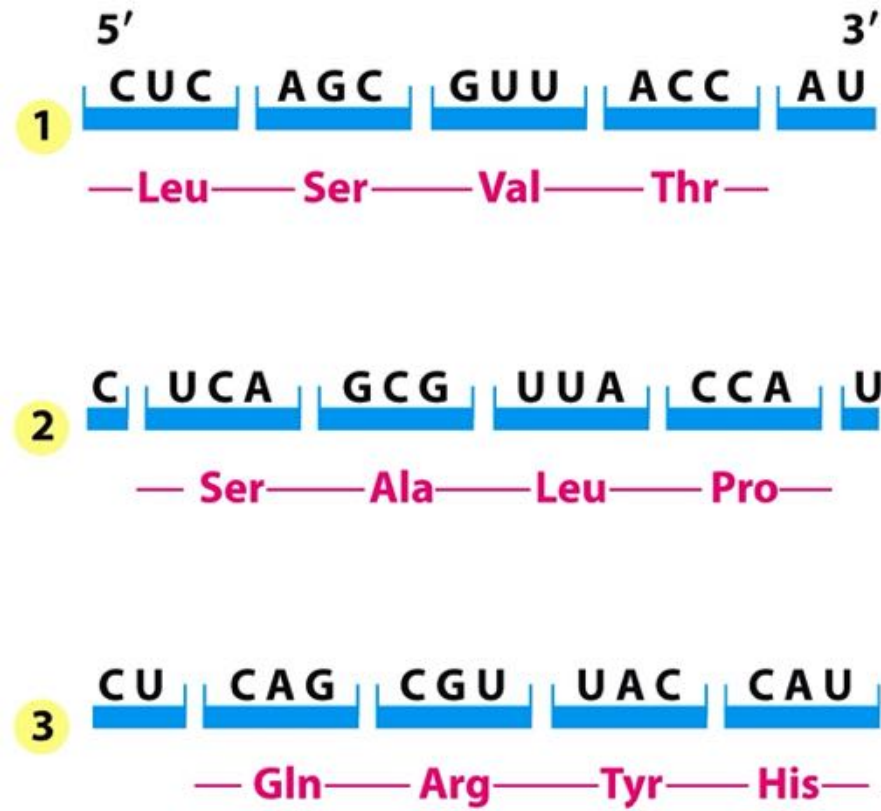


Figure 7-25 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

SINAIS PARA O INÍCIO DA TRADUÇÃO

PROCARIOTO

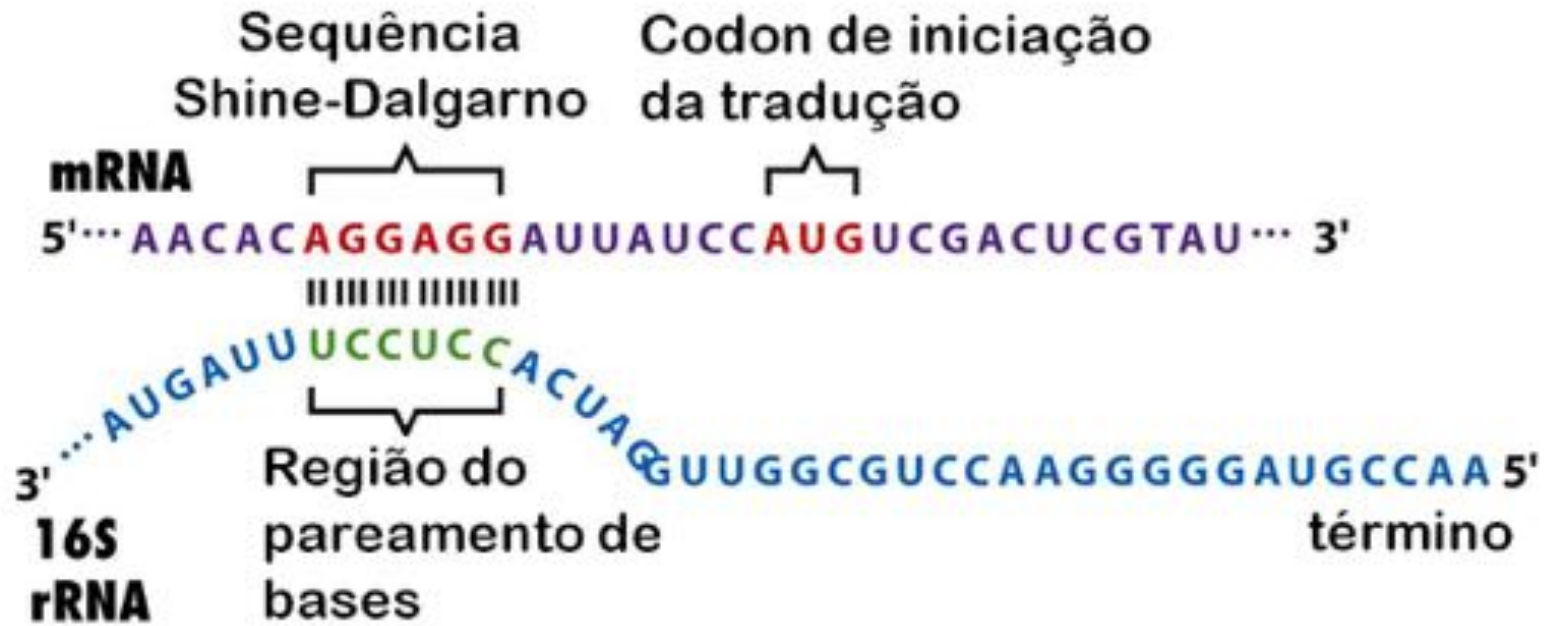
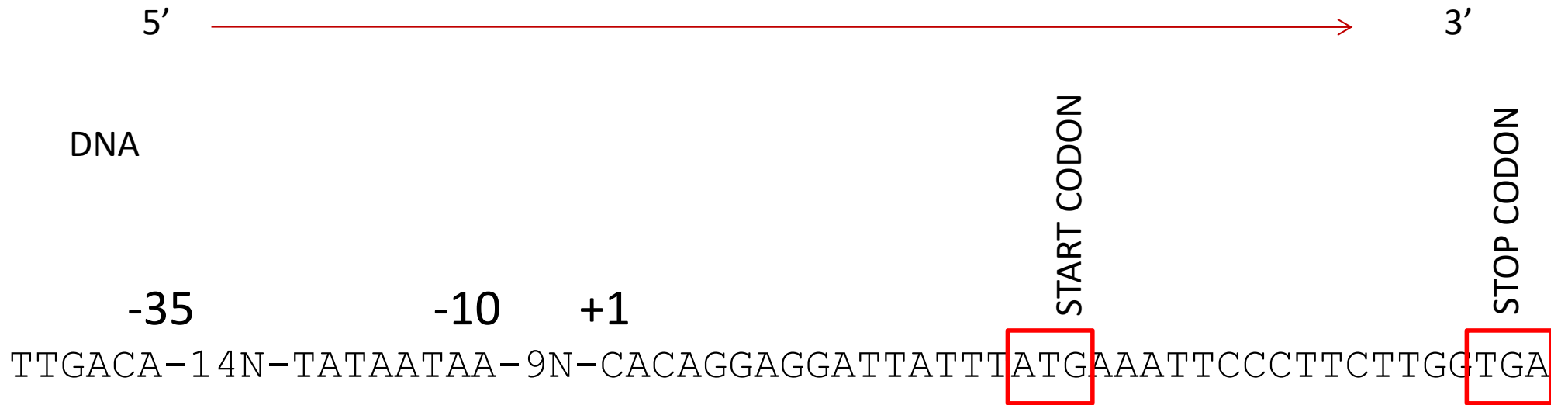


Figure 12-16 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

EUCARIOTO



START E STOP CODONS



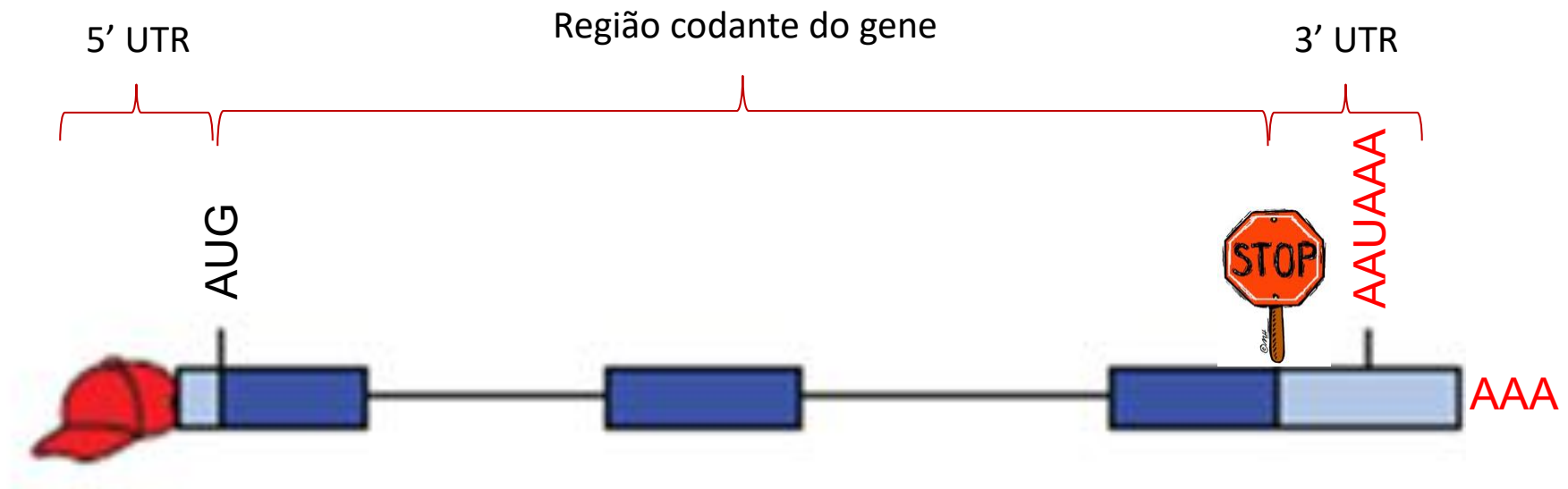
PROTEINA

MET LYS PHE PRO SER TRY



START E STOP CODONS

Delimitam a região codante (região que é transcrita e traduzida)



START E STOP CODONS

Start codon

- PROCARIOTOS – 90% das vezes **AUG** é o codon de iniciação mas também **AUA, GUG ou UUG** podem ser encontrados;
- EUCARIOTOS – **AUG** é quase sempre o codon de iniciação.

Stop codon

UAA, UAG, UGA – sempre sinal para o término da tradução

TRADUÇÃO: INÍCIO E FIM

TTCATACTTGGTTAAGACCTTTACAAGCCGACCAACGTGGTGAC
AGTGTCGTCCTTTACGCACCGAATCCCTTTATCATTGAATTAGT
AGAAGAGCGATACTTAGGACGTCTTCGG**ATG**GAATCTTGGTCCC
GTTGCCTGGAACGTCTTGAAACTGAATTCCCGCCAGAAGATGTT
CATACTTGGTTAAGACCTTTACAAGCCGACCAACGTGGTGACAG
TGTCGTCCTTTACGCACCGAATCCCTTTATCATATTGAATTAGT
AGAAGAGCGATACTTAGGACGTCTTCGGGAATTGTTATCCTATT
TCTCAGGAATACGTGAAGTAGTCCTTGCAATTGGCTCACGACCT
AAAACAACAGAACTACCCGTACCAGTAGACACTACAGGACGTTT
GTCTTCAACAGTCCCATTTAACGGAAATCTCGACACACACTATA
ACTT**TGA**TAATTTTGTTGAGGGACGAAGCAATCAACTCGCTCGT
GCTGCAGCTTGGCAAGCGGCACAGAAACCGGGAGACCGTACTCA
CAACCCTCTATTGCTCTATGGTGGGACTGGTTTGGGTAAAACCC
ATTTAATGTTTGCTGCAGGTAACGTAATGCGGCAAGTAAACCCA
ACTTATAAAGTAATGTATCTTCGTTTCGGAACAGTTTTTCAGCGC
CATGATAAGAGCGTACAAGATAAAAAGTATGGATCATAAGGGTAA

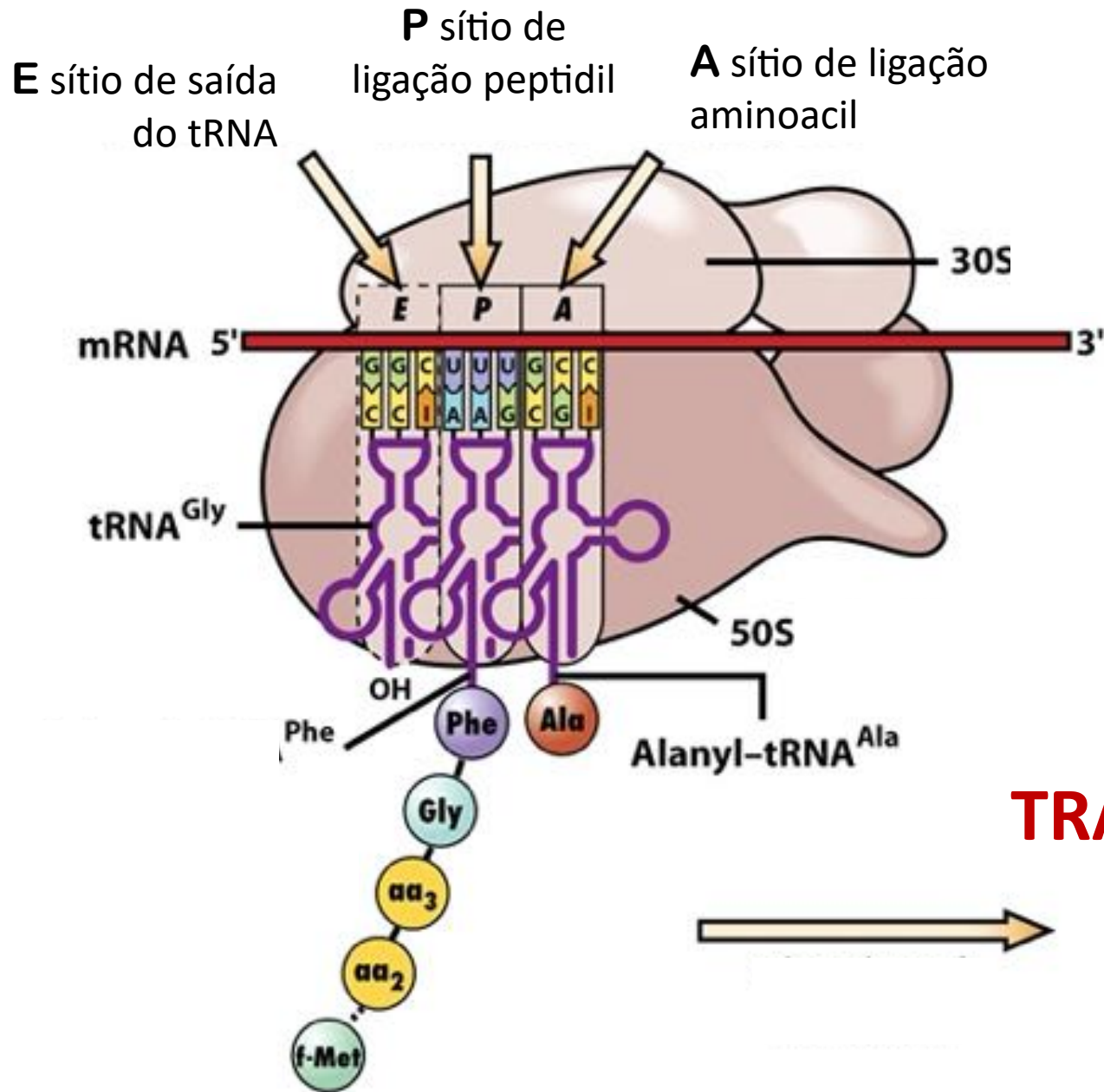


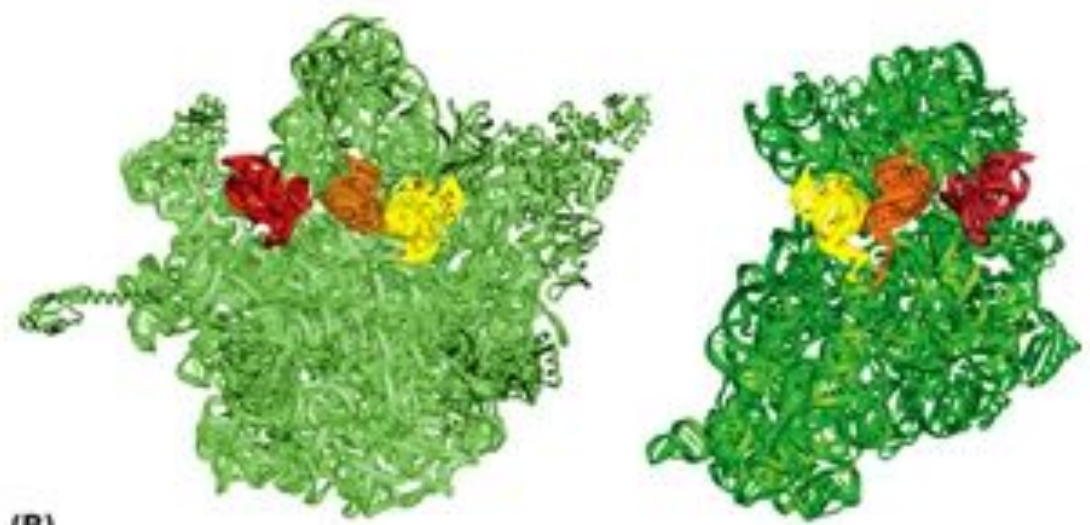
Figure 12-14a Principles of Genetics, 4/e
 © 2006 John Wiley & Sons



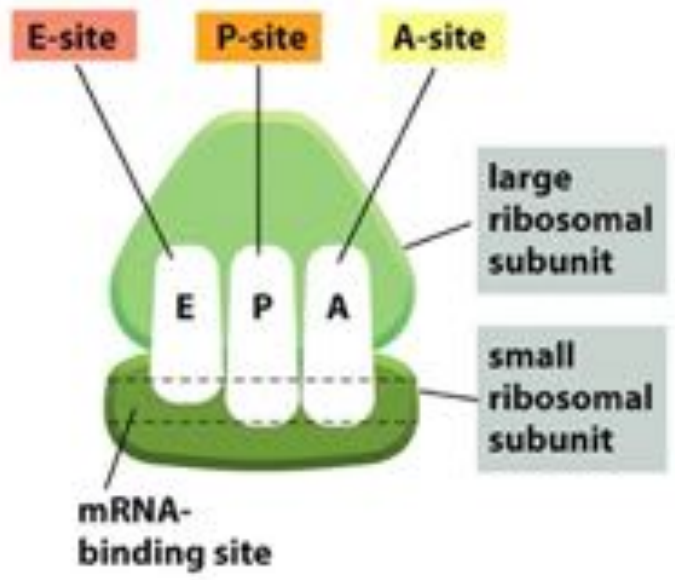
(A)



(C)



(B)



(D)

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

Eucariotos

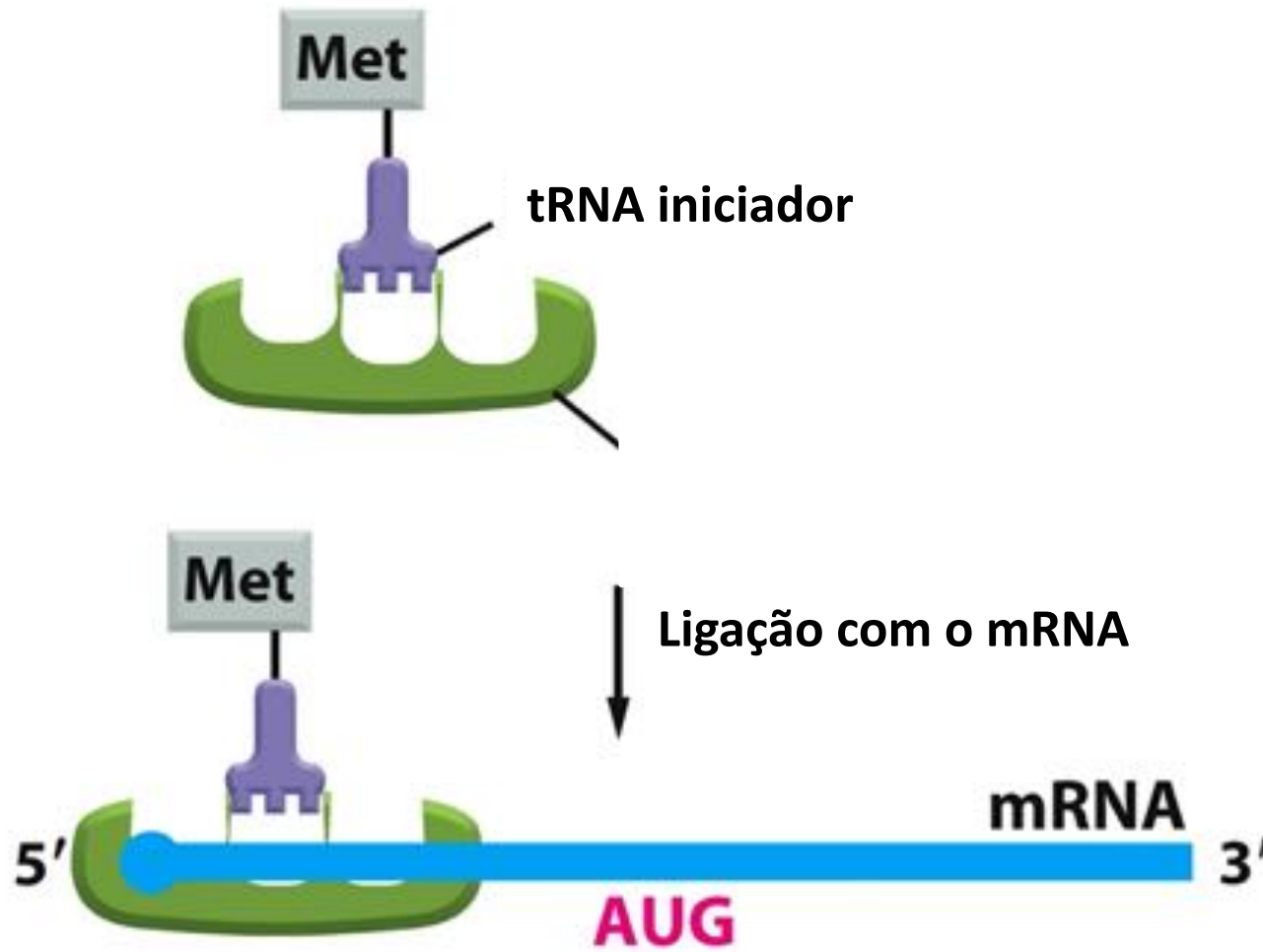


Figure 7-35 part 1 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

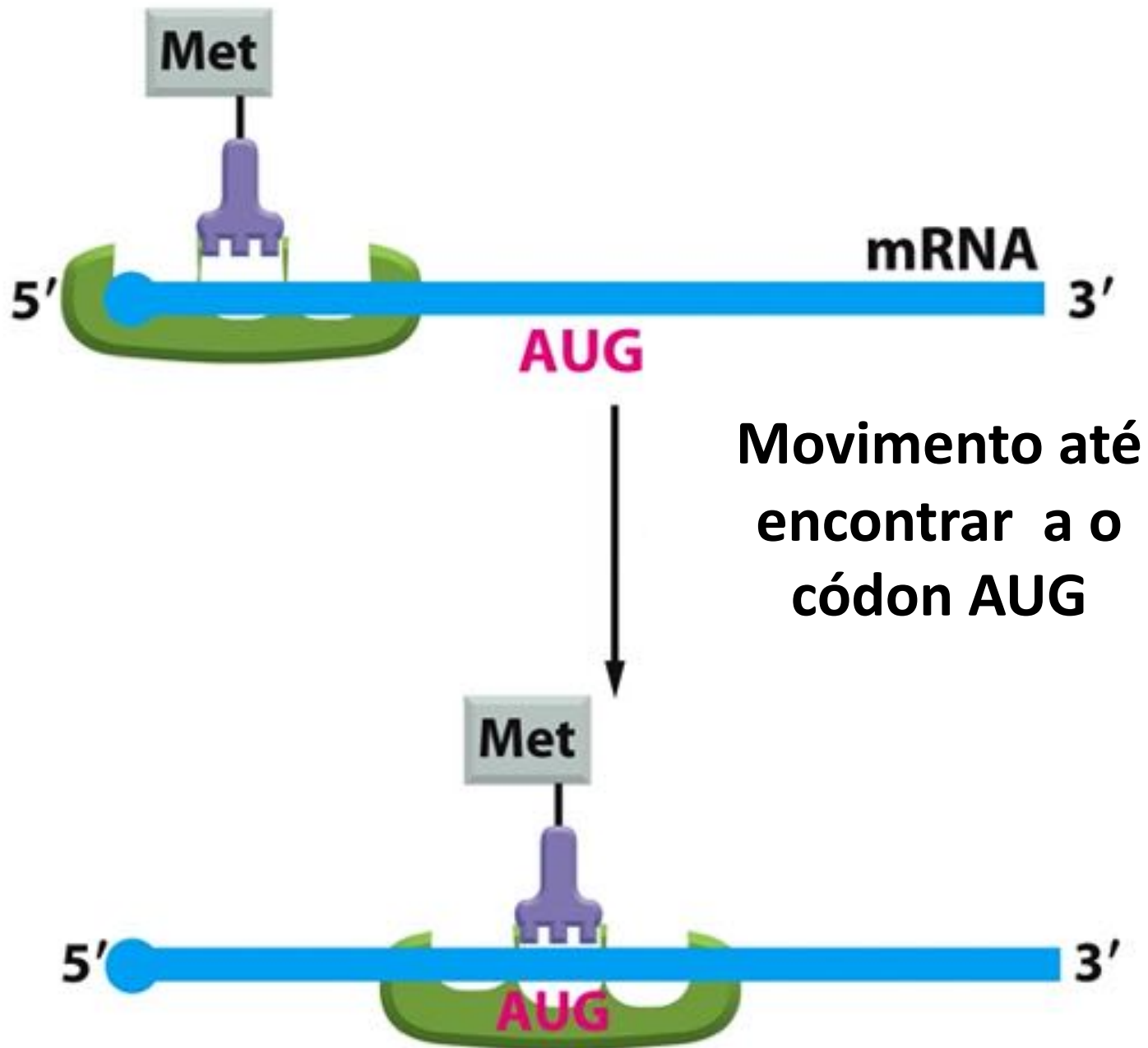


Figure 7-35 part 2 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

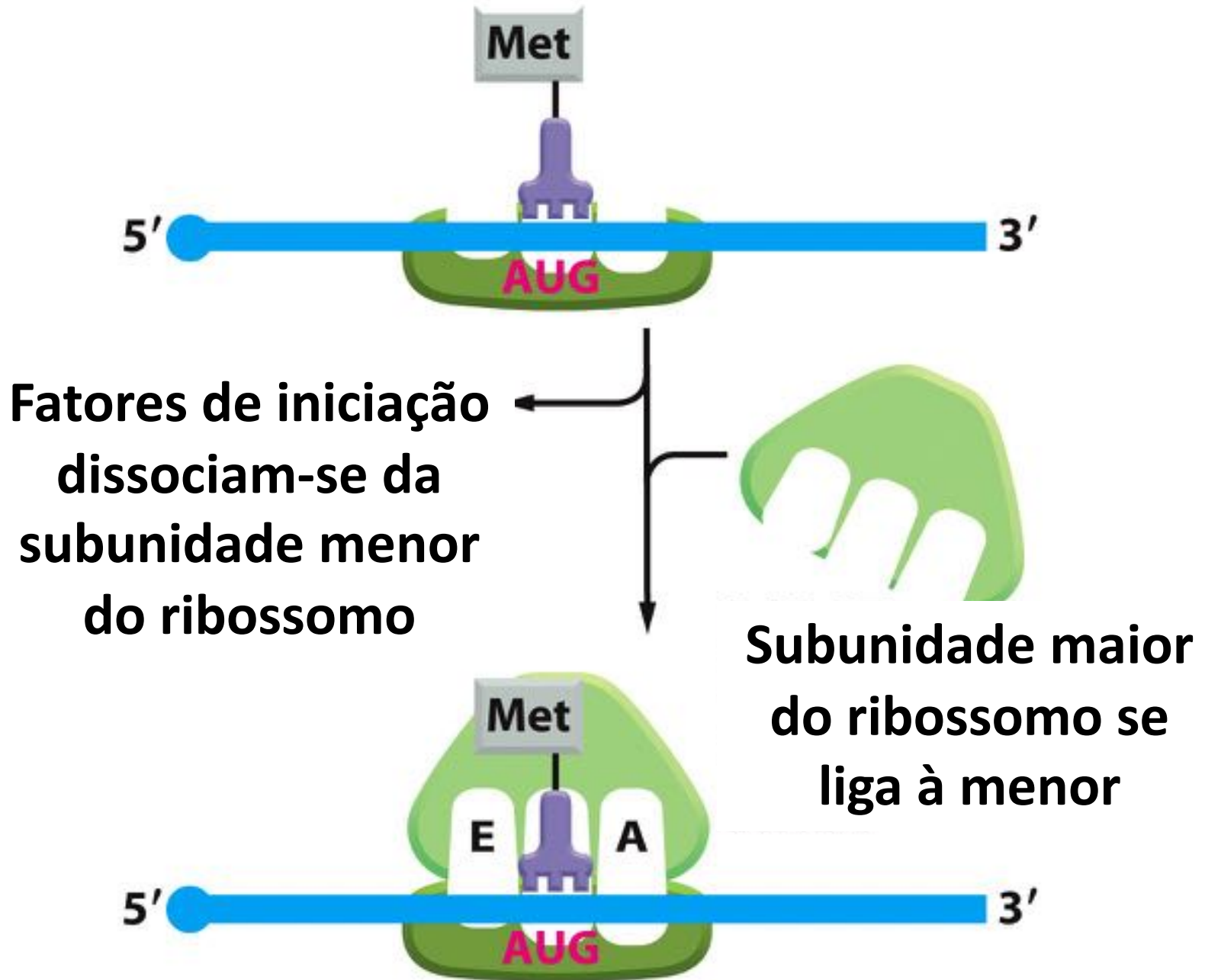


Figure 7-35 part 3 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

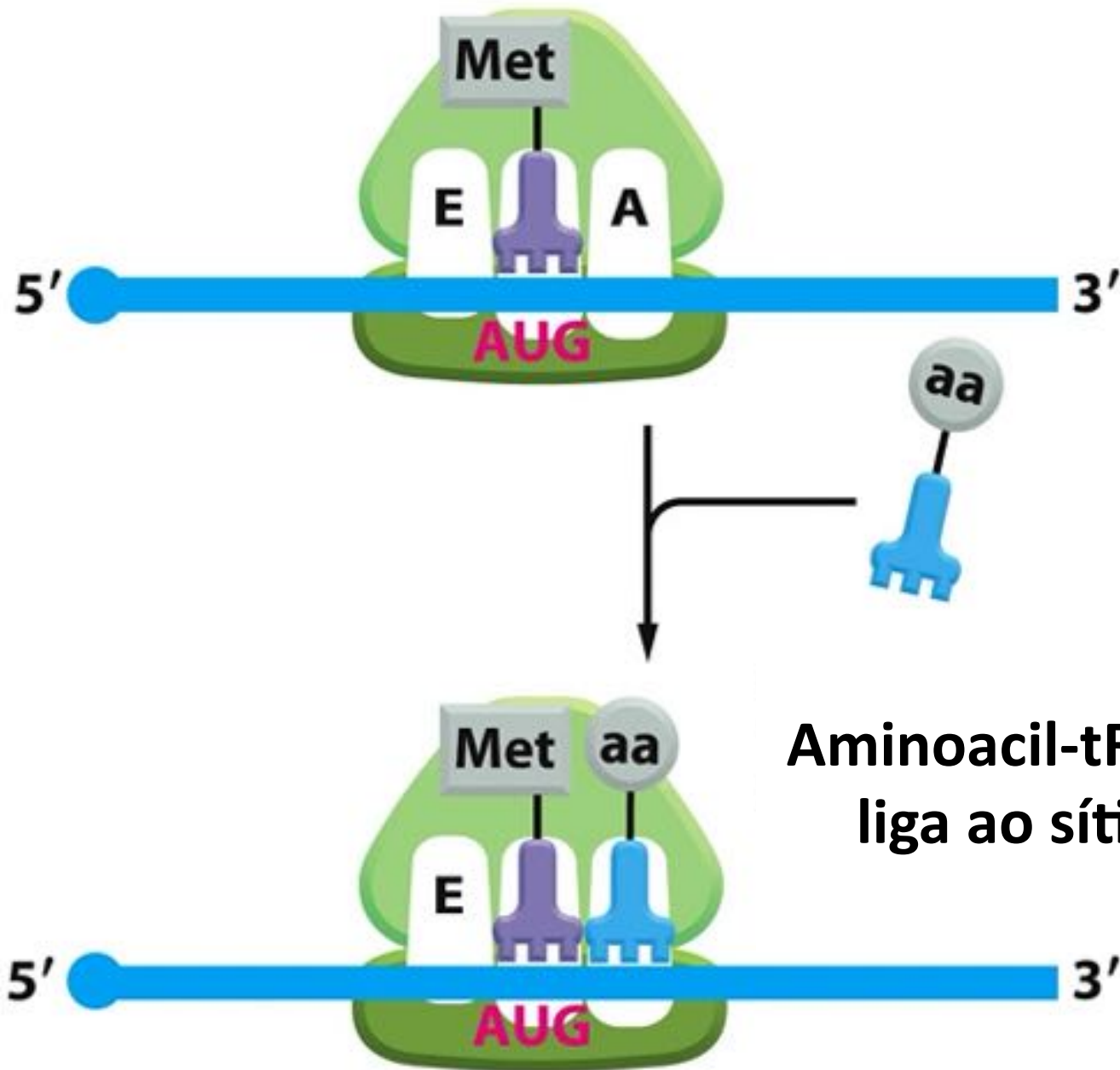


Figure 7-35 part 4 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

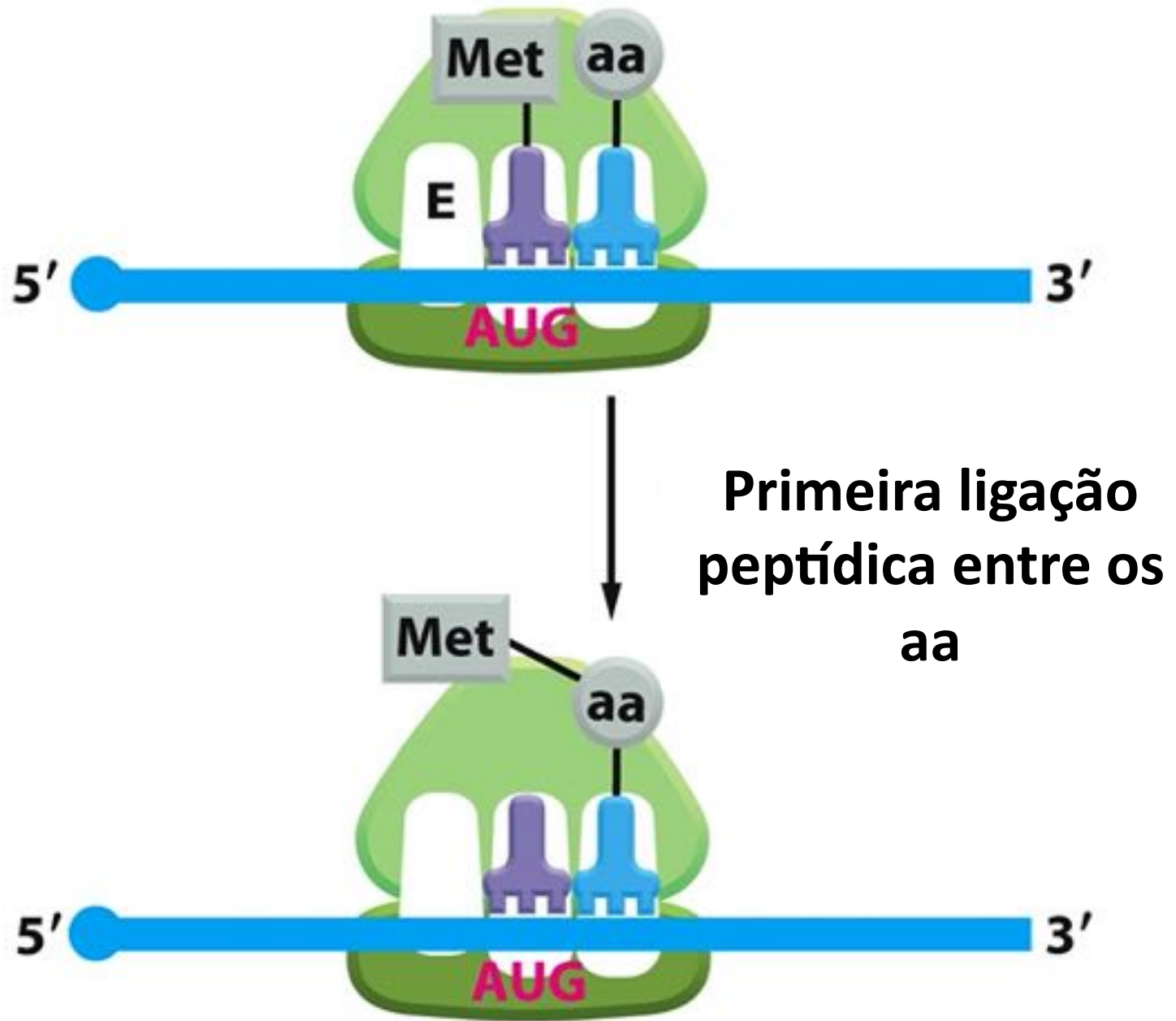


Figure 7-35 part 5 of 5 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

Procariotos

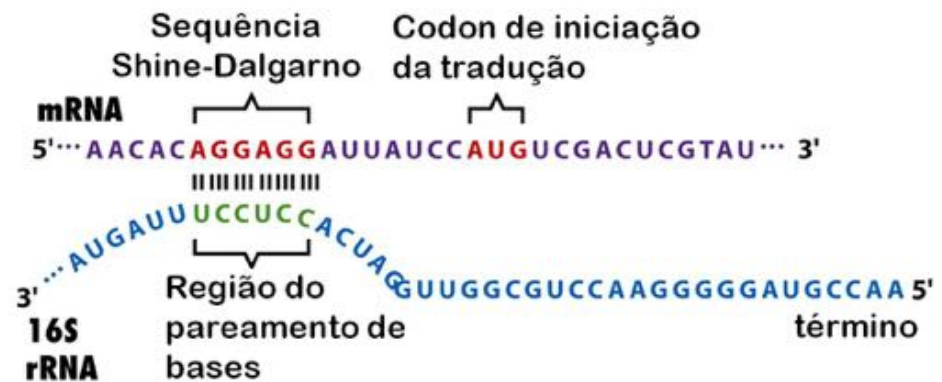
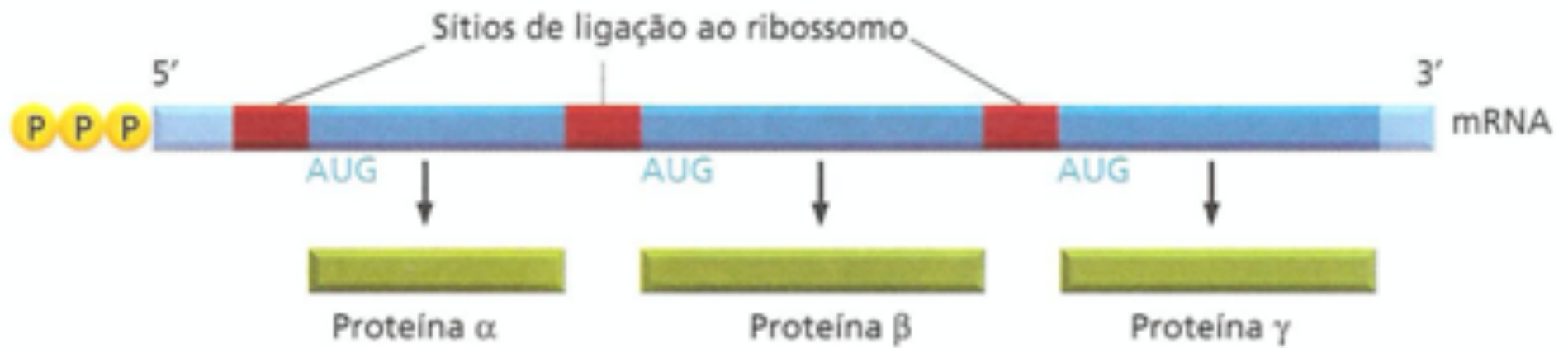
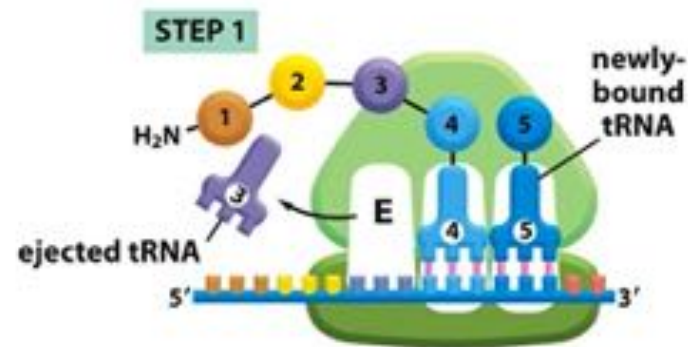
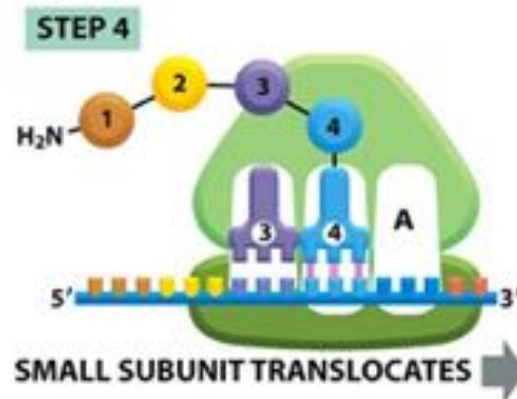
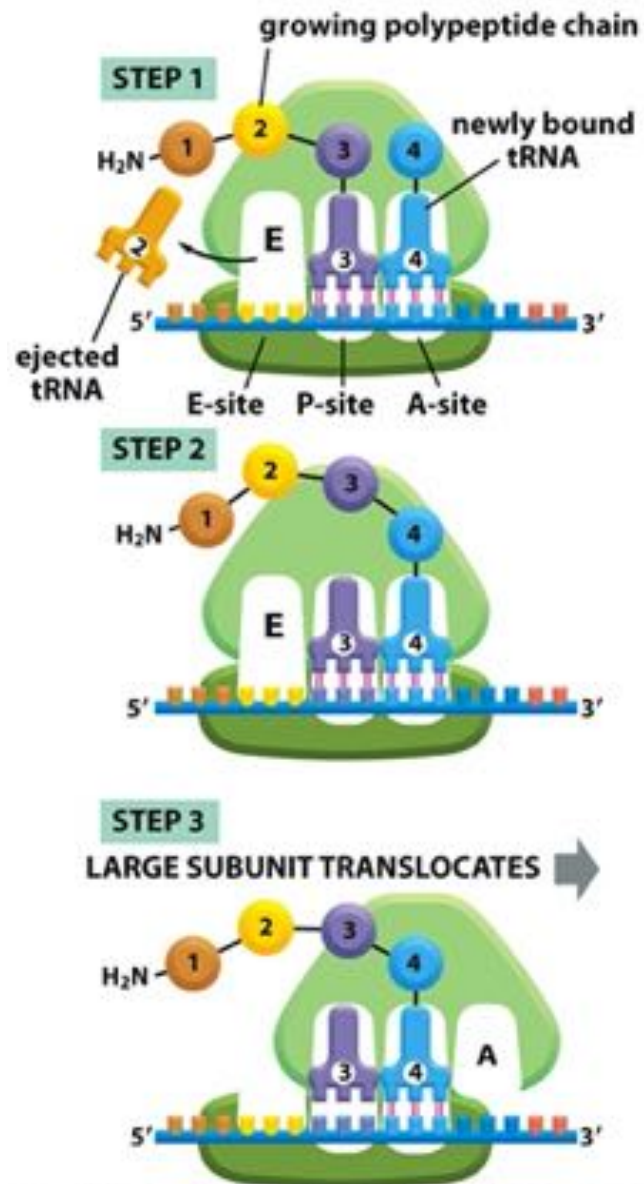


Figure 12-16 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

E continuamente....



Vários fatores controlam a continuação da tradução!

Figure 7-33 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

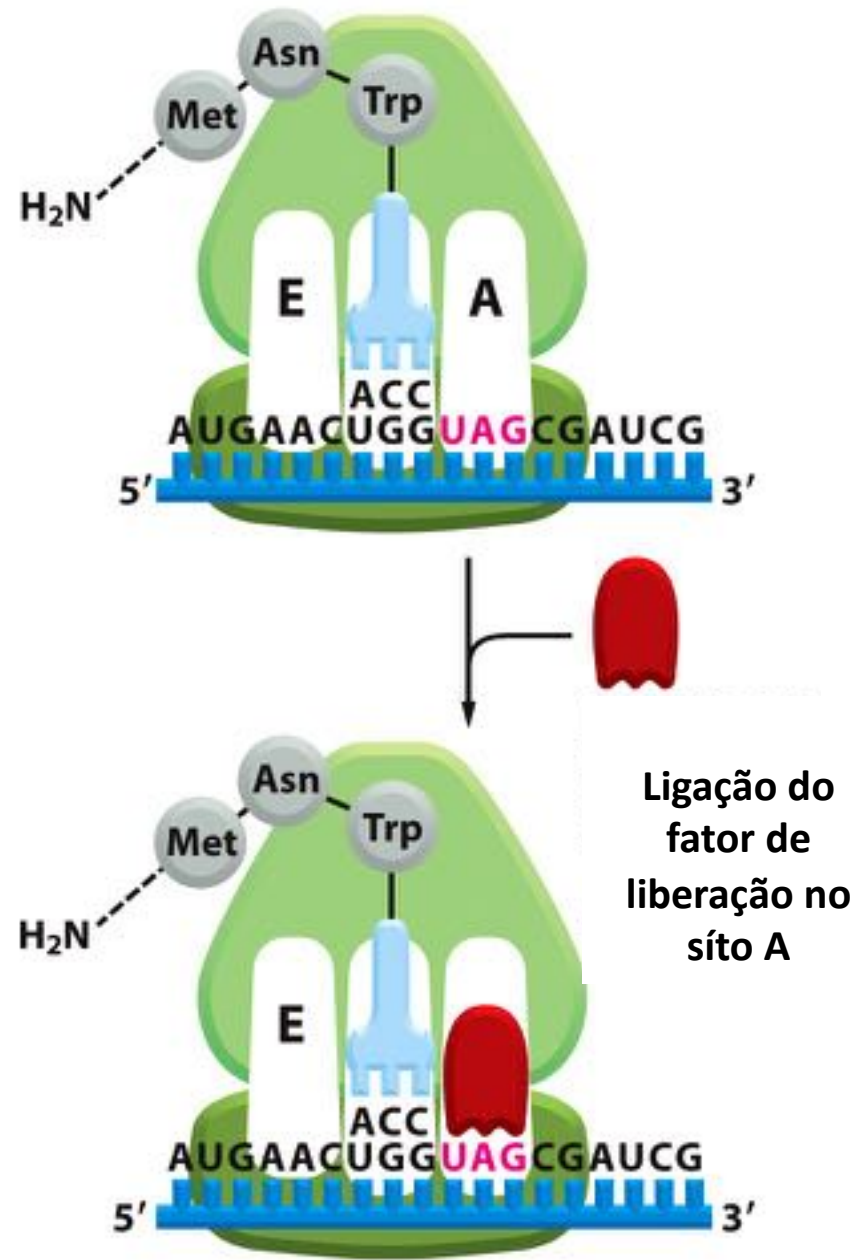
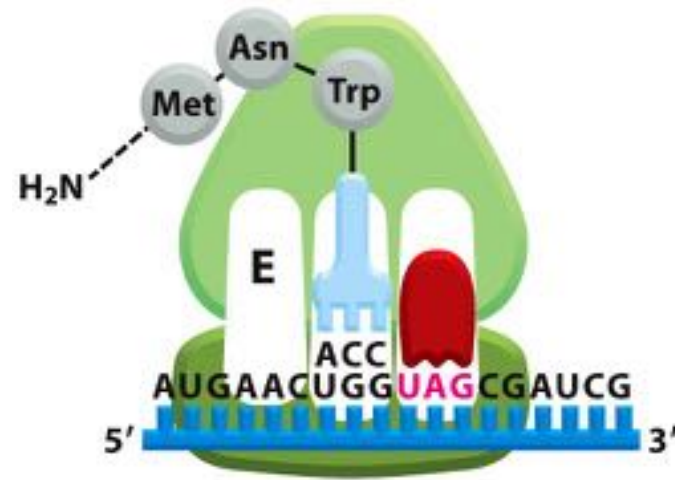


Figure 7-37 part 1 of 3 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)



Terminação

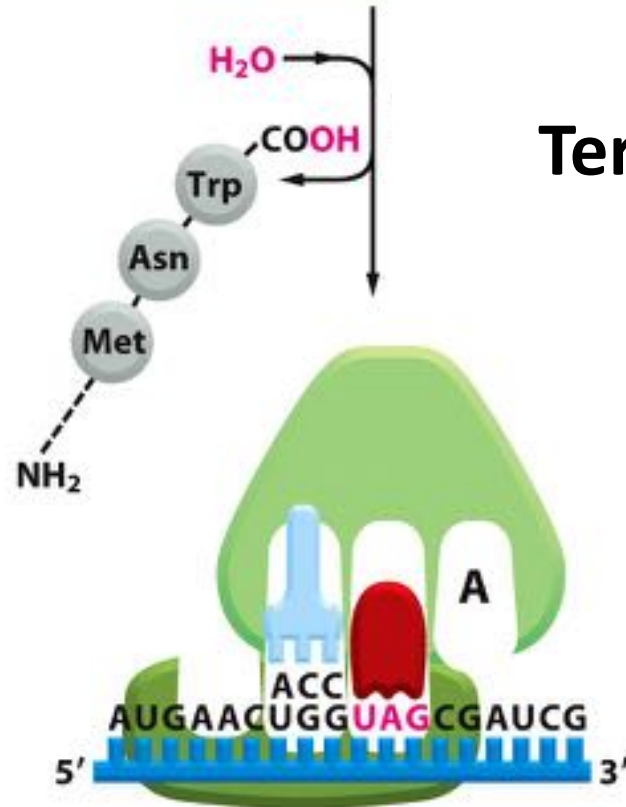


Figure 7-37 part 2 of 3 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

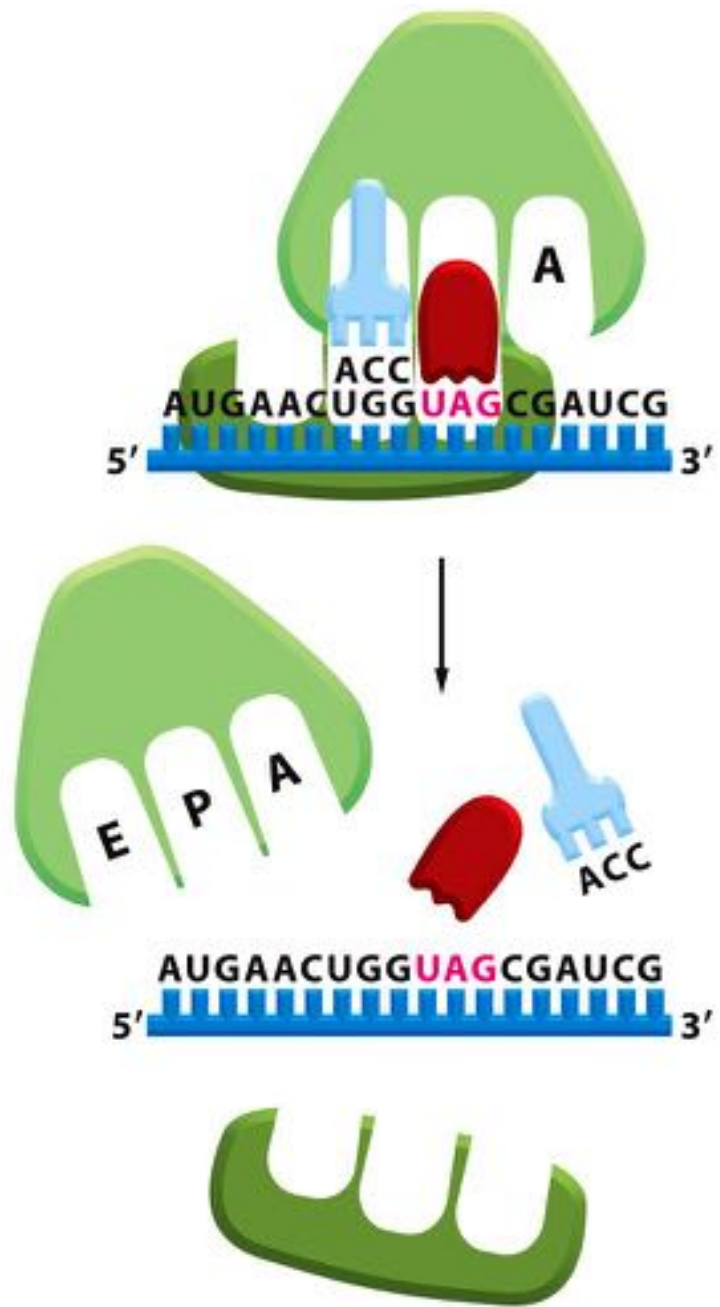
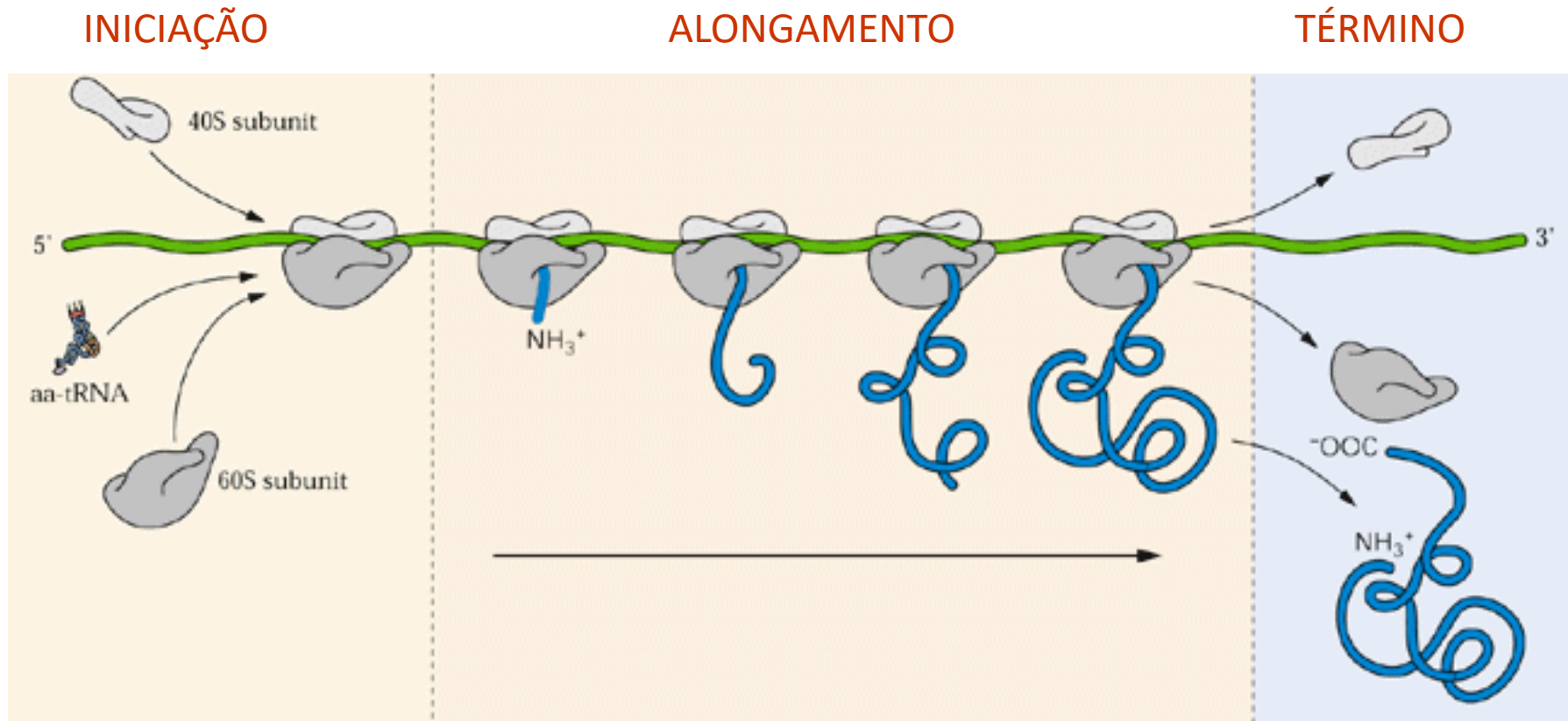


Figure 7-37 part 3 of 3 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

TRADUÇÃO

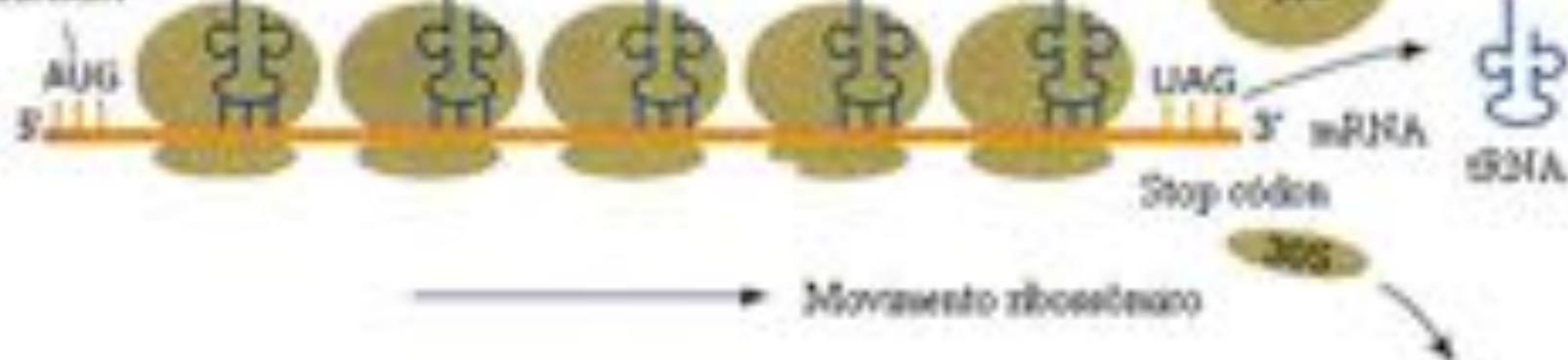


DOBRAMENTO DE PROTEÍNAS



5 ribossomos lendo o
mesmo RNA
sequencialmente

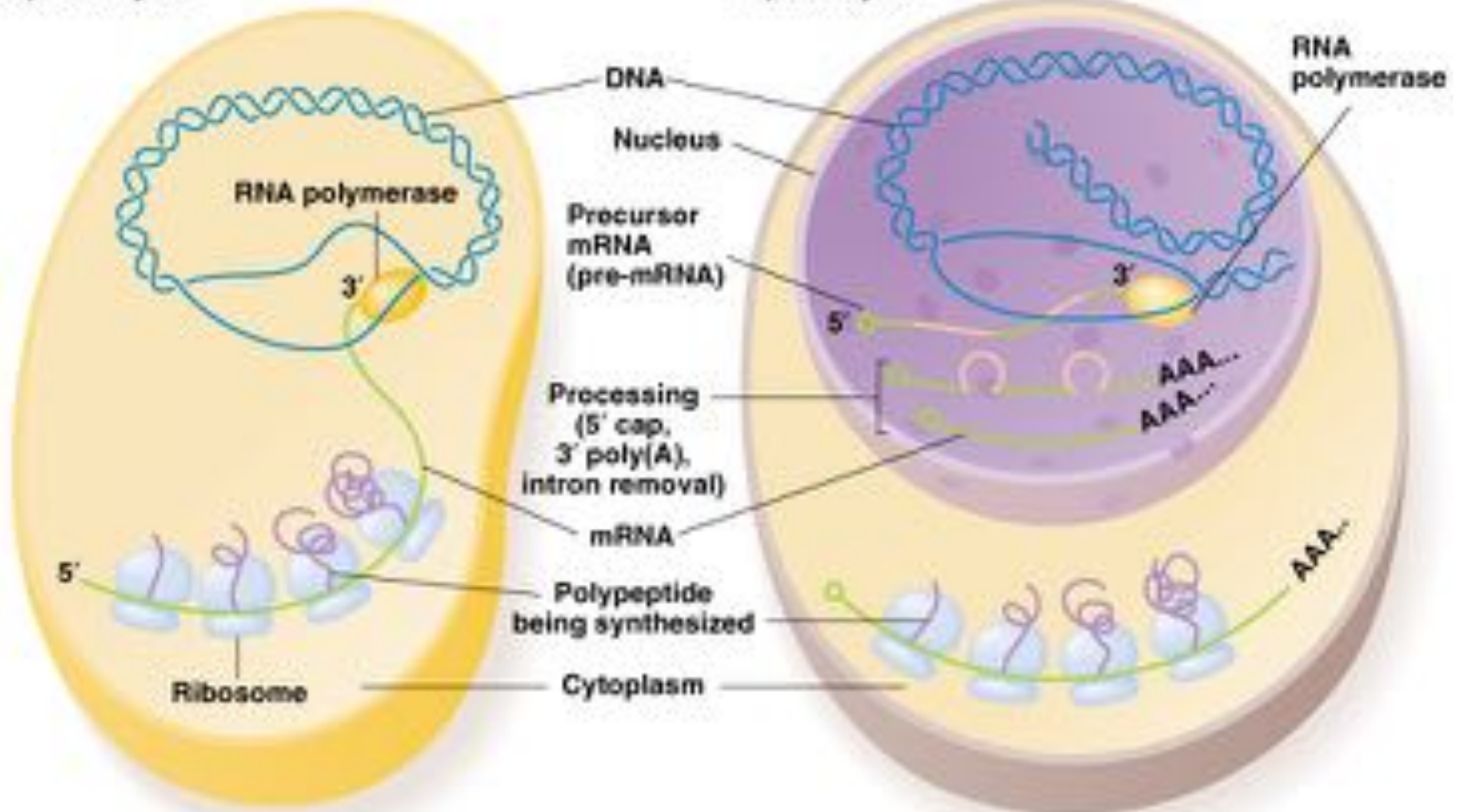
códon
iniciador



VISÃO GERAL

a) Prokaryote

b) Eukaryote

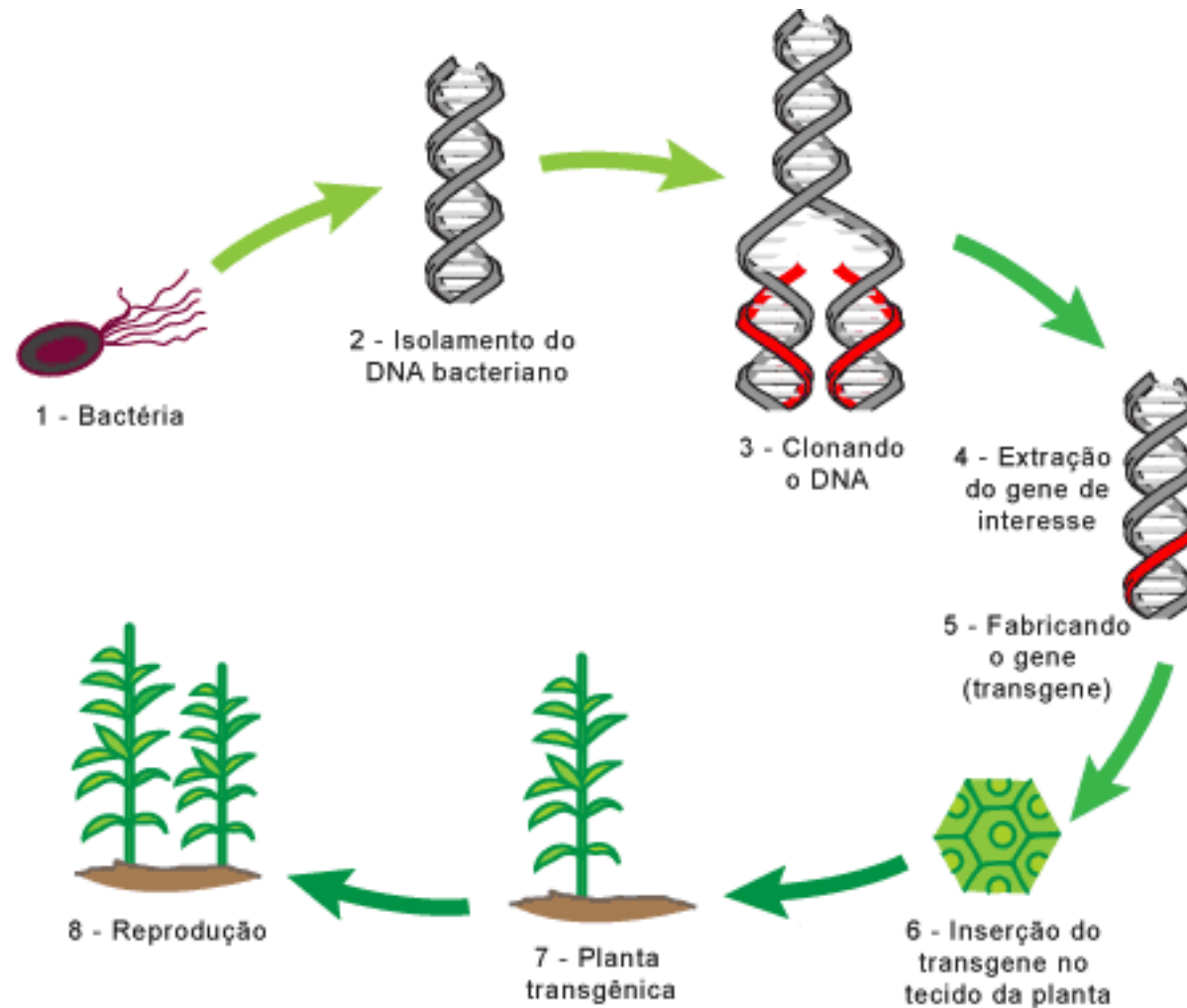


Animação: <http://www.youtube.com/watch?v=983lhh20rGY&feature=related>

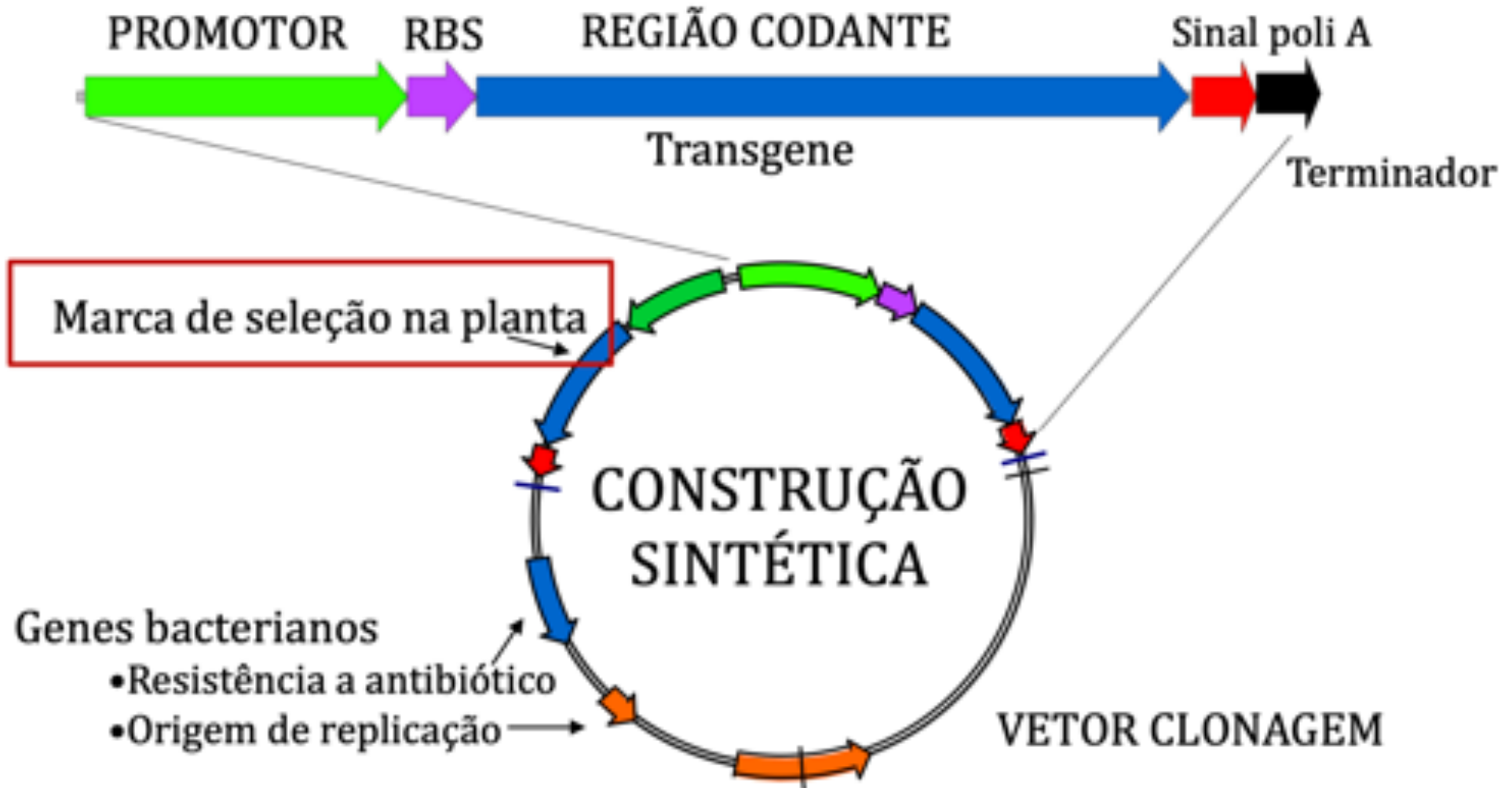
APLICANDO O CONHECIMENTO...



OBTENÇÃO DE ORGANISMOS GENETICAMENTE MODIFICADOS



CONSTRUÇÃO TRANSGÊNICOS



Vídeo dos processos

Diferença entre RNA e DNA com Amoeba Sisters:

https://www.youtube.com/watch?v=JQByjprj_mA

Versão simplificada do DNA à Proteína:

https://www.youtube.com/watch?v=H_82vthxqLk

Replicação: <https://www.youtube.com/watch?v=zVaPUThUdWw>

Transcrição em eucariotos:

<https://www.youtube.com/watch?v=qlwrhUrvX-k>

Transcrição e tradução com a Amoeba Sisters:

<https://www.youtube.com/watch?v=oefAl2x2CQM>

Ps: Todos os vídeos possuem legenda – ou em português ou em inglês.
Quando em inglês, basta habilitar a tradução para português.

ESTUDO DIRIGIDO

1. Diferenças fundamentais entre DNA e RNA;
2. Estrutura e função do DNA;
3. Principais características da dupla hélice do DNA;
4. Principais tipos e funções dos RNAs;
5. Definição de gene;
6. Diferença na estrutura dos genes de eucariotos e procariotos;
7. Região promotora e sua importância para a transcrição em eucariotos e procariotos;
8. Região codante: start codon e stop codon;
9. Processo de tradução.

