

TORTORA  
FUNKE  
CASE

# MICRO BIOLOGIA

12<sup>a</sup> EDIÇÃO





## Na clínica

Como enfermeira(o) de um hospital militar nos Estados Unidos, você é responsável pelo tratamento dos membros feridos nos conflitos recentes do Oriente Médio. Você observa que ferimentos infectados por *Acinetobacter baumannii* não estão respondendo aos

antibióticos. Os Centers for Disease Control and Prevention informam que os genes de resistência a antibióticos encontrados em *A. baumannii* são os mesmos encontrados em *Pseudomonas*, *Salmonella* e *Escherichia*. Os genes de resistência à cefalosporina estão localizados no cromossomo, a resistência à tetraciclina é codificada por um plasmídeo e a resistência à estreptomicina está associada a um transposon.

*Dica: leia sobre recombinação genética nas páginas 225 a 230.*

# 8

## Genética microbiana

**P**raticamente todas as características microbianas sobre as quais você leu nos capítulos iniciais são controladas ou influenciadas pela hereditariedade.

As características hereditárias dos micróbios incluem sua forma, características estruturais, seu metabolismo, sua capacidade de locomoção e de interação com outros organismos. Os organismos individuais transmitem essas características à sua prole através dos genes.

O desenvolvimento da resistência a antibióticos nos microrganismos é frequentemente carregado em plasmídeos, como os apresentados na fotografia, que são prontamente transferidos entre as células bacterianas. Eles são responsáveis pela emergência de *Staphylococcus aureus* resistentes à meticilina e do surgimento recente de *Klebsiella pneumoniae* resistentes a carbapenems. A emergência de *S. aureus* resistentes à vancomicina (VRSA, de *vancomycin-resistant S. aureus*) constitui uma séria ameaça à assistência aos pacientes. Neste capítulo, você aprenderá como os VRSA adquiriram essa característica.

As doenças emergentes são outra razão da importância de se conhecer a genética. Novas doenças são o resultado da mudança genética em alguns organismos existentes; por exemplo, *E. coli* O157:H7 adquiriu os genes codificadores da toxina Shiga, de *Shigella*.

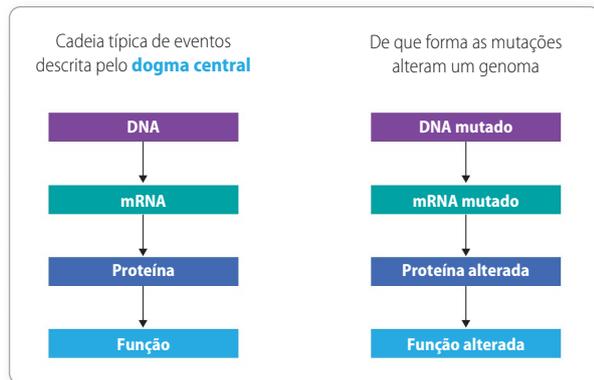
Atualmente, os microbiologistas estão utilizando a genética para descobrir relações de parentesco entre os organismos, para explorar as origens de microrganismos, como dos vírus HIV e *influenza* H1N1, e para estudar como os genes são expressos.

O **Panorama**, na página seguinte, destaca os princípios fundamentais da genética, os quais são explicados em mais detalhes ao longo do capítulo.

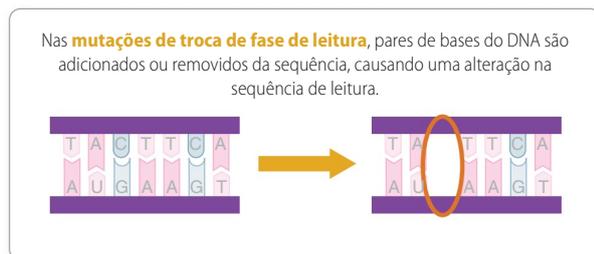
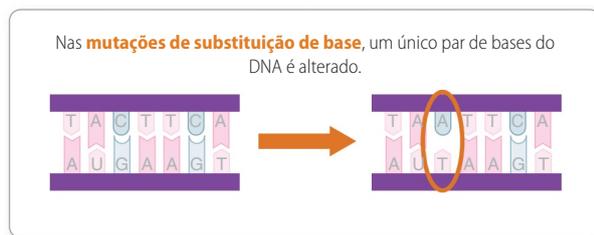
DNA plasmidial de *E. coli*.

**A genética é a ciência da hereditariedade. Ela inclui o estudo dos genes: como eles são replicados, expressos e transferidos de uma geração a outra.**

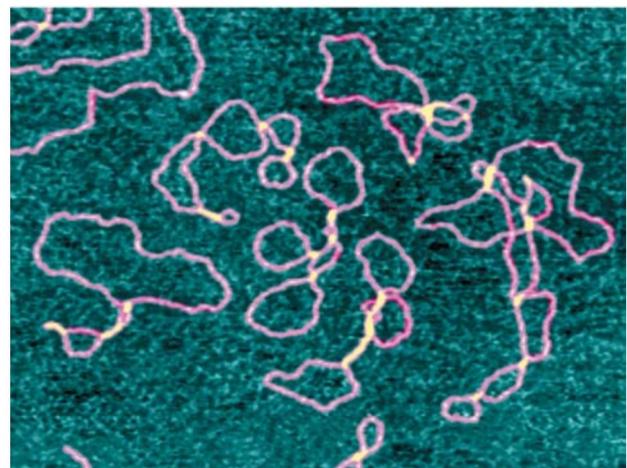
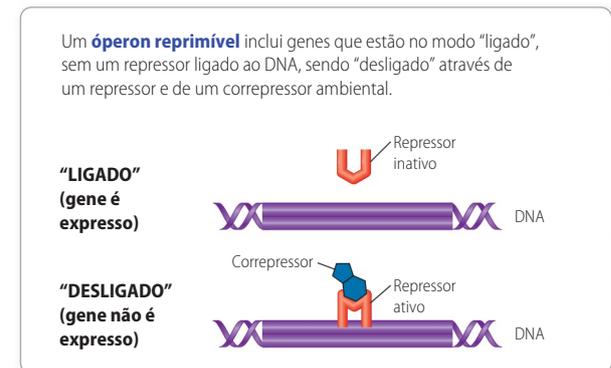
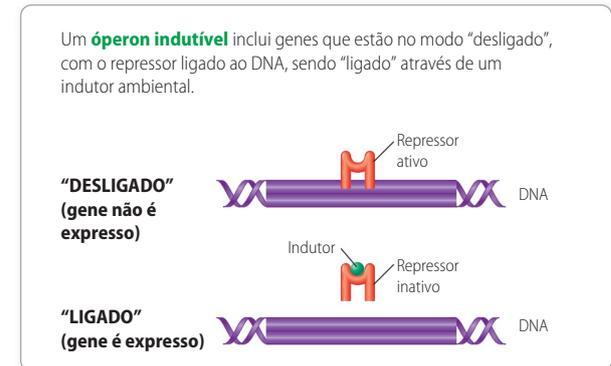
O **dogma central** da biologia molecular descreve como, em geral, o DNA é transcrito em RNA mensageiro, o qual, por sua vez, é traduzido em proteínas que realizam as funções celulares vitais. As mutações introduzem alterações nesse processo – levando ao ganho ou à perda de funções.



As mutações podem ser provocadas por **substituições de base** ou **mutações de troca de fase de leitura**.



A expressão gênica bacteriana pode ser regulada por óperons, os quais podem ser **indutíveis** ou **repressíveis**.



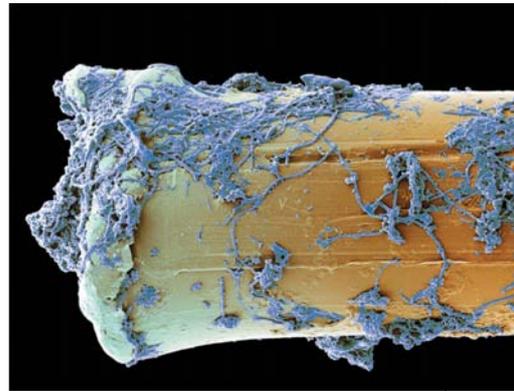
Microfotografia de força atômica mostrando moléculas de DNA AFM 7 nm

**A alteração de genes bacterianos e/ou da expressão gênica pode causar doenças, impedir o tratamento de doenças ou ser manipulada para o benefício humano.**



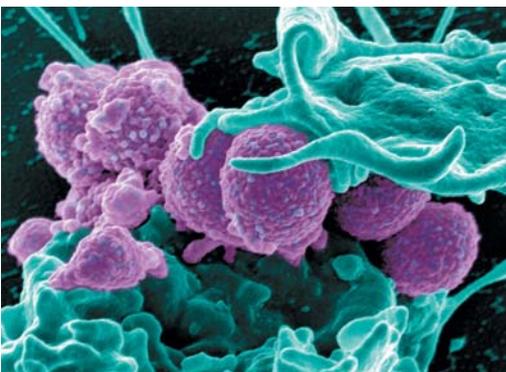
MET 0,4 μm

**Doença:** muitas doenças bacterianas são causadas pela presença de proteínas tóxicas que danificam os tecidos humanos. Essas proteínas tóxicas são codificadas por genes bacterianos. *Vibrio cholerae*, mostrado abaixo, produz uma enterotoxina que provoca diarreia e uma desidratação severa, que pode ser fatal se não for tratada.



MEV 5 μm

**Biofilmes:** os biofilmes, como o que pode ser observado aqui se desenvolvendo na cerda de uma escova de dente, são produzidos pela alteração da expressão de um gene bacteriano quando as populações são grandes o suficiente. Várias espécies de *Streptococcus*, incluindo *S. mutans*, formam biofilmes em dentes e gengivas, contribuindo para o desenvolvimento da placa e da cárie dentária.



MEV 0,3 μm

**Resistência a antibióticos:** mutações no genoma bacteriano consistem em um dos primeiros passos em direção ao desenvolvimento da resistência a antibióticos. Esse processo ocorreu com *Staphylococcus aureus*, o qual atualmente é resistente a antibióticos β-lactâmicos, como a penicilina. A meticilina foi introduzida para tratar *S. aureus* resistentes à penicilina. *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA, de *methicillin-resistant S. aureus*), mostrados abaixo, em roxo, correspondem hoje a uma das principais causas de infecções associadas aos cuidados da saúde.



**Biotecnologia:** os cientistas podem alterar o genoma dos microrganismos, inserindo genes capazes de produzir proteínas humanas utilizadas no tratamento de doenças. A insulina, utilizada no tratamento do diabetes, é produzida dessa forma.

**CONCEITOS-CHAVE**

- A expressão do DNA leva à função celular pela produção de proteínas.
- A expressão do DNA pode ser controlada por óperons.
- Mutações alteram as sequências do DNA.
- Mutações no DNA podem alterar a função bacteriana.

## Estrutura e função do material genético

### OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 8-1** Definir *genética, genoma, cromossomo, gene, código genético, genótipo, fenótipo e genômica*.
- 8-2** Descrever como o DNA serve de informação genética.
- 8-3** Descrever o processo da replicação do DNA.
- 8-4** Descrever a síntese proteica, incluindo a transcrição, o processamento do RNA e a tradução.
- 8-5** Comparar a síntese proteica em procariotos e eucariotos.

A **genética** é a ciência da hereditariedade. Ela inclui o estudo dos genes: como eles carregam a informação, como eles são replicados e transferidos para as gerações subsequentes de células ou entre organismos e como a expressão de suas informações determina as características de um organismo. A informação genética em uma célula é chamada de **genoma**. O genoma de uma célula inclui seus cromossomos e plasmídeos. Os **cromossomos** são estruturas contendo DNA que transportam fisicamente a informação hereditária; os cromossomos contêm os genes. Os **genes** são segmentos de DNA (exceto em alguns vírus, nos quais eles são constituídos de RNA\*) que codificam produtos funcionais. Em geral, esses produtos são proteínas, mas também podem ser RNAs (RNA ribossomal, RNA transportador ou microRNA).

Vimos, no Capítulo 2, que o DNA é uma macromolécula composta de unidades repetidas, denominadas *nucleotídeos*. Cada nucleotídeo consiste em uma nucleobase (adenina, timina, citosina ou guanina), uma desoxirribose (um açúcar-pentose) e um grupo fosfato (ver Figura 2.16, p. 44). O DNA dentro de uma célula existe como longos filamentos de nucleotídeos, retorcidos em pares, formando uma dupla-hélice. Cada filamento tem uma fileira alternando açúcar e grupos fosfato (seu *arcabouço de açúcar-fosfato*) e uma base nitrogenada aderida a cada açúcar no arcabouço. As duas cadeias são mantidas unidas por ligações de hidrogênio existentes entre as bases nitrogenadas. Os **pares de bases** sempre ocorrem de modo específico: a adenina sempre parecia com a timina, e a citosina sempre parecia com a guanina. Devido a esse pareamento específico de bases, a sequência de bases de uma fita de DNA determina a sequência da outra fita. As duas fitas de DNA são, portanto, *complementares*.

A estrutura do DNA ajuda a explicar as duas características principais do armazenamento da informação biológica. Primeiro, a sequência linear de bases fornece a informação real. A informação genética é codificada pela sequência de bases ao longo do DNA, de modo muito similar à forma como nossa linguagem escrita utiliza uma sequência linear de letras para formar palavras e sentenças. A linguagem genética, entretanto, utiliza um alfabeto contendo somente quatro letras – os quatro tipos de nucleobases no DNA (ou RNA). Contudo, mil dessas quatro

bases, o número contido em um gene de tamanho médio, podem ser arranjadas de  $4^{1000}$  formas diferentes. Esse número astronômico explica como os genes podem apresentar variações suficientes para fornecer toda a informação que uma célula necessita para crescer e realizar suas funções. O **código genético**, o grupo de regras que determina como uma sequência de nucleotídeos é convertida na sequência de aminoácidos de uma proteína, será discutido em mais detalhes posteriormente neste capítulo.

Segundo, a estrutura complementar permite a duplicação precisa do DNA durante a divisão celular. Cada célula-filha recebe uma das fitas parentais originais, assegurando, então, que uma das fitas funcionará corretamente.

Grande parte do metabolismo celular está relacionada à tradução da mensagem genética dos genes em proteínas específicas. Um gene normalmente codifica uma molécula de RNA mensageiro (mRNA), que, por fim, resulta na formação de uma proteína. Quando a molécula final que um gene codifica (p. ex., uma proteína) foi produzida, dizemos que o gene foi *expresso*. O fluxo da informação genética, fluindo do DNA para o RNA e dele para as proteínas, pode ser demonstrado da seguinte forma:



Essa teoria foi chamada de **dogma central** por Francis Crick, em 1956, quando ele propôs pela primeira vez que a sequência de nucleotídeos em um DNA determina a sequência de aminoácidos de uma proteína.



**ASM:** embora o dogma central seja universal em todas as células, o processo difere em procariotos e eucariotos, como veremos neste capítulo.

## Genótipo e fenótipo

O **genótipo** de um organismo é a sua constituição genética – todo o seu DNA; a informação que codifica todas as características específicas do organismo. O genótipo representa as propriedades *potenciais*, mas não as propriedades em si. O **fenótipo** refere-se às propriedades *reais, expressas*, como a capacidade do organismo de realizar uma reação química em particular. O fenótipo, então, é a manifestação do genótipo.

De certo modo, o fenótipo de um organismo é a coleção de suas proteínas, uma vez que a maioria das propriedades de uma célula deriva de estruturas e funções das proteínas. Nos micróbios, a maioria das proteínas é *enzimática* (catalisa reações particulares) ou *estrutural* (participa em grandes complexos funcionais, como as membranas ou os flagelos). Mesmo os fenótipos que dependem de macromoléculas estruturais, como lipídeos ou polissacarídeos, baseiam-se indiretamente nas proteínas. Por exemplo, a estrutura de uma molécula de lipídeo complexo ou polissacarídeo resulta das atividades catalíticas das enzimas que sintetizam, processam e degradam essas moléculas. Assim, afirmar que os fenótipos se baseiam em proteínas é uma simplificação útil.

## DNA e cromossomos

As bactérias geralmente têm um único cromossomo circular consistindo em uma única molécula circular de DNA com

\*N. de R.T. Na verdade, são bem mais do que “alguns vírus”. A maior parte dos vírus conhecidos (entre 70 e 80% deles) possui RNA como ácido nucléico hereditário.



**Figura 8.1** Um cromossomo procarionótico.

**P** O cromossomo é quantas vezes maior do que a célula de  $2\ \mu\text{m}$ ?

proteínas associadas. O cromossomo é dobrado, forma uma alça e está aderido à membrana plasmática em um ou vários pontos. O DNA de *E. coli* tem cerca de 4,6 milhões de pares de bases e tem aproximadamente 1 mm de comprimento – é 1.000 vezes maior do que toda a célula (**Figura 8.1**). Contudo, o cromossomo ocupa apenas cerca de 10% do volume da célula, uma vez que o DNA está retorcido ou *superenovelado*.

O genoma completo não consiste em genes consecutivos. Regiões não codificantes, chamadas de **repetições curtas em tandem** (STRs, de *short tandem repeats*), ocorrem na maioria dos genomas, incluindo no de *E. coli*. As STRs são sequências repetitivas de 2 a 5 sequências de bases. Elas são utilizadas no *fingerprinting* de DNA (“impressão digital do DNA”, discutido na p. 254).

Atualmente, as sequências de bases completas dos cromossomos podem ser determinadas. Computadores são utilizados na busca por *janelas abertas de leitura*, isto é, regiões do DNA que provavelmente codificam uma proteína. Como você verá posteriormente, essas janelas são sequências de bases entre códon de início (*start codons*) e de término (*stop codons*). O sequenciamento e a caracterização molecular dos genomas são denominados **genômica**. O uso da genômica no rastreamento do vírus do Oeste do Nilo é descrito no quadro Foco clínico, na página 215.

## O fluxo da informação genética

A replicação do DNA possibilita o fluxo de informação genética de uma geração para a seguinte. Isso é chamado de **transferência vertical de genes**. Como mostrado na **Figura 8.2**, o DNA de uma célula se replica antes da divisão celular, de modo que cada célula-filha recebe um cromossomo idêntico ao da célula original. Dentro de cada célula realizando metabolismo,

a informação genética contida no DNA flui de outro modo: ela é transcrita em mRNA e, então, traduzida em proteína. Descreveremos os processos de transcrição e tradução mais adiante neste capítulo.

### TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Apresente uma aplicação clínica da genômica. **8-1**
- ✓ Por que o pareamento de bases no DNA é importante? **8-2**

## Replicação do DNA

Na replicação do DNA, uma molécula de DNA de dupla-fita “parental” é convertida em duas moléculas-filhas idênticas. A estrutura complementar das sequências de bases nitrogenadas na molécula de DNA é a chave para a compreensão da replicação do DNA. Como as bases ao longo das duas fitas do DNA dupla-hélice são complementares, uma fita pode agir como molde para a produção da outra (**Figura 8.3a**).

A replicação do DNA requer a presença de diversas proteínas celulares que direcionam uma determinada sequência de eventos. As enzimas envolvidas na replicação do DNA e em outros processos estão listadas na **Tabela 8.1**. Quando a replicação se inicia, o superenovelamento é relaxado pela *topoisomerase* ou *girase*. As duas fitas de DNA parental são desenroladas pela *helicase* e separadas uma da outra em um pequeno segmento de DNA após o outro. Os nucleotídeos livres presentes no citoplasma da célula são pareados às bases expostas da fita simples de DNA parental. Onde a timina está presente na fita original, somente a adenina pode se fixar na nova fita; onde a guanina

### Caso clínico: onde há fumaça...

Marcel DuBois, homem de 70 anos e avô de 12 netos, desliga o telefone silenciosamente. O seu médico acabou de notificá-lo sobre os resultados de seu teste de DNA de fezes, que ele havia realizado na Clínica Mayo na semana anterior. O médico de Marcel sugeriu essa nova ferramenta de triagem não invasiva para o câncer colorretal, uma vez que Marcel não estava confortável com a colonoscopia e sempre adiava o procedimento. O teste de DNA de fezes, entretanto, utiliza amostras de fezes, as quais contêm células que foram eliminadas do revestimento do colo. O DNA dessas células é testado para a presença de marcadores de DNA que podem indicar a presença de pólipos pré-cancerosos ou tumores cancerosos. Marcel marca uma consulta com seu médico para a tarde seguinte.

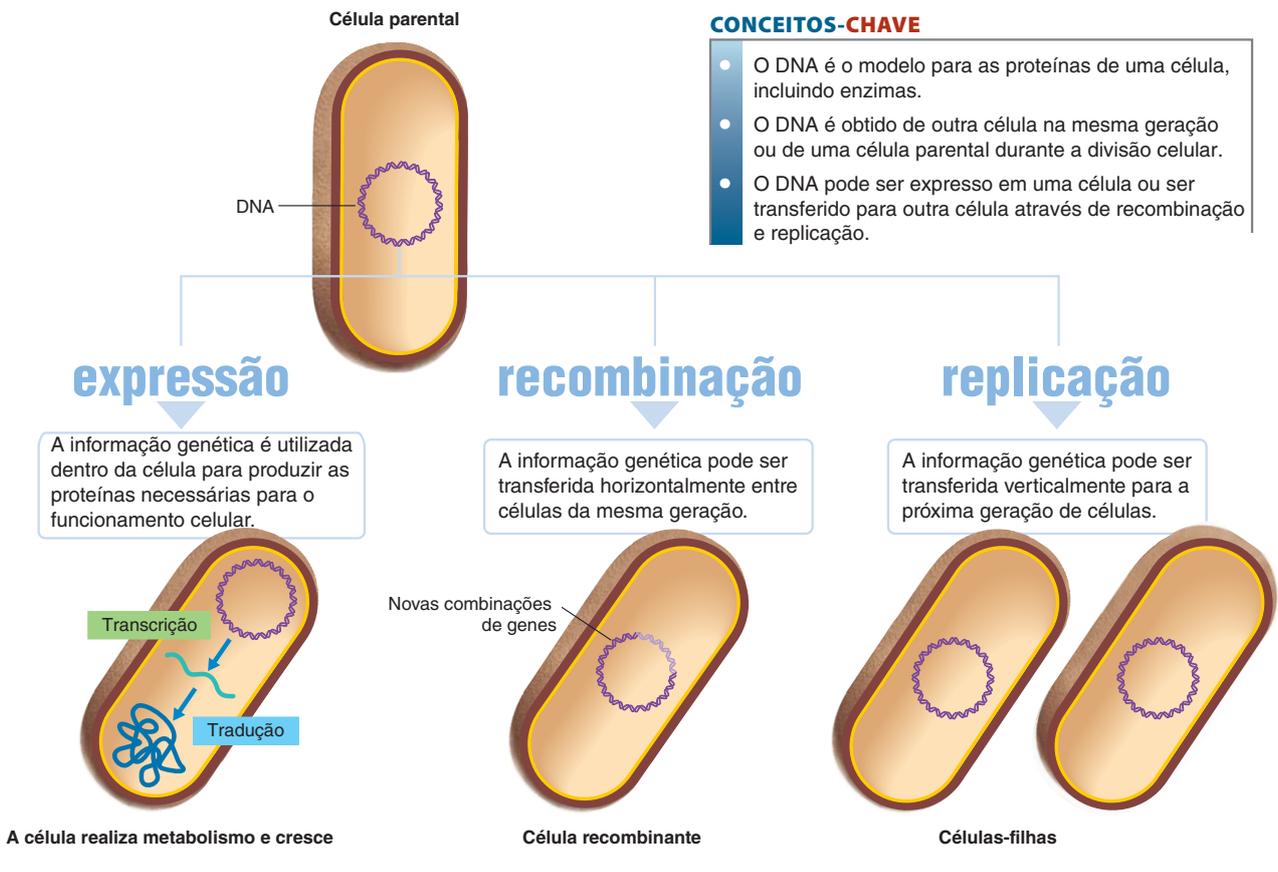
No consultório, o médico explica para Marcel e sua esposa, Janice, que o teste de DNA de fezes detectou a presença de pólipos colorretais serrilhados. Esse tipo de pólipo é geralmente difícil de ser visualizado através da colonoscopia, uma vez que não é proeminente e pode apresentar-se da mesma cor que a parede do colo.

**Como o DNA pode mostrar se uma pessoa tem câncer? Leia mais para descobrir.**

# 8.2

FIGURA DE BASE

## O fluxo da informação genética



está presente na fita parental, somente a citosina pode se fixar, e assim por diante. Quaisquer bases incorretamente pareadas são removidas e substituídas pelas enzimas de replicação. Uma vez alinhado, o nucleotídeo recém-adicionado é unido à fita em crescimento por uma enzima denominada **DNA-polimerase**. Então, o DNA parental se desenrola mais um pouco para permitir a adição do próximo nucleotídeo. O ponto no qual a replicação ocorre é denominado *forquilha de replicação*.

À medida que a forquilha de replicação se move ao longo da fita parental, cada uma das fitas simples desenroladas se combina ou pareja com novos nucleotídeos. A fita original e a fita-filha recém-sintetizada se enovelam. Uma vez que cada nova molécula de DNA dupla-fita contém uma fita original (conservada) e uma fita nova, o processo de replicação é descrito como **replicação semiconservativa**.

Antes de examinarmos em mais detalhes a replicação do DNA, discutiremos a estrutura do DNA (ver, na Figura 2.16 da p. 44, uma visão geral). É importante compreender que as fitas

de DNA pareadas estão orientadas em direções opostas umas em relação às outras. Os átomos de carbono do componente açúcar de cada nucleotídeo são numerados de 1' (pronuncia-se "um linha") a 5'. Para que as bases pareadas fiquem ao lado uma da outra, os açúcares que compõem uma fita estão de cabeça para baixo uns em relação aos outros. A extremidade que tem uma hidroxila ligada ao carbono 3' é chamada de extremidade 3' da fita de DNA; a extremidade que tem um fosfato ligado ao carbono 5' é chamada de extremidade 5' da fita de DNA. A forma como as duas fitas se encaixam determina que a direção 5'-3' de uma fita é contrária à direção 5'-3' da outra fita (Figura 8.3b). Essa estrutura do DNA afeta o processo de replicação, pois as DNA-polimerases podem adicionar novos nucleotídeos somente à extremidade 3'. Portanto, à medida que a forquilha de replicação se movimenta ao longo do DNA parental, as duas novas fitas devem crescer em direções diferentes.

A replicação do DNA necessita de uma grande quantidade de energia. Essa energia é fornecida pelos nucleotí-

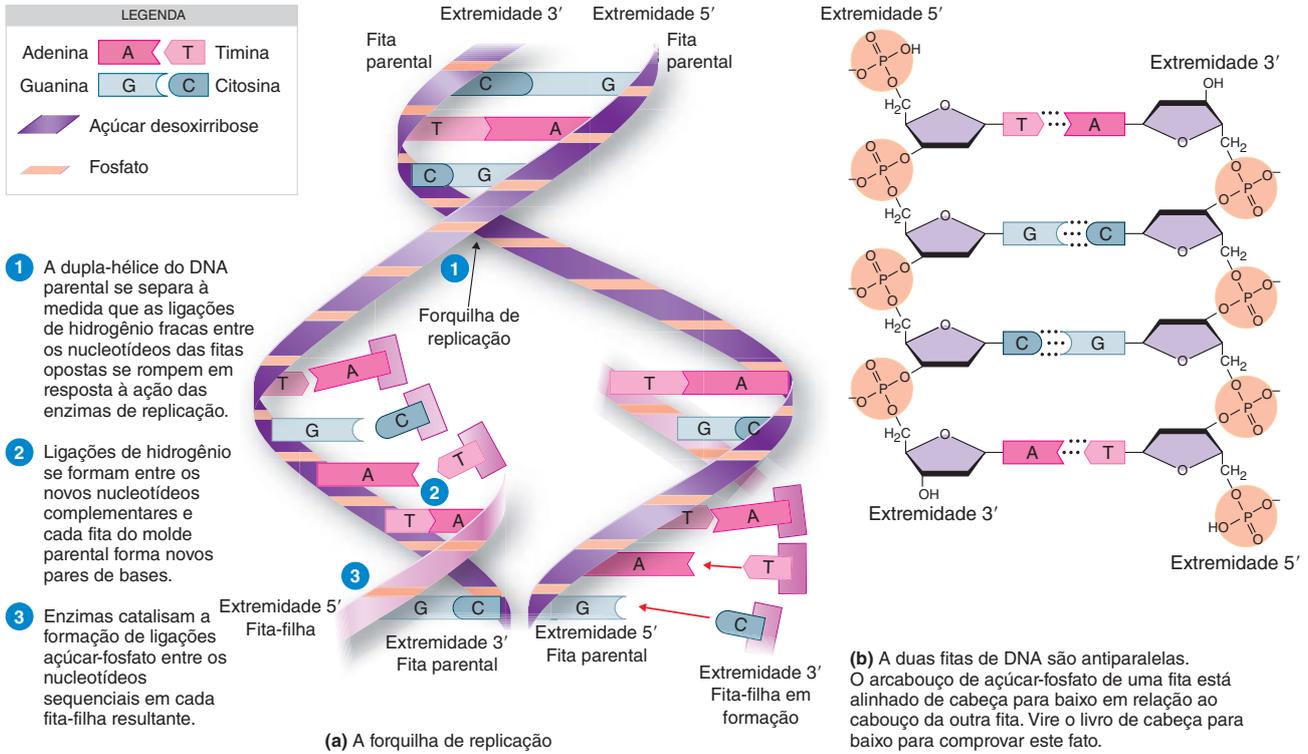
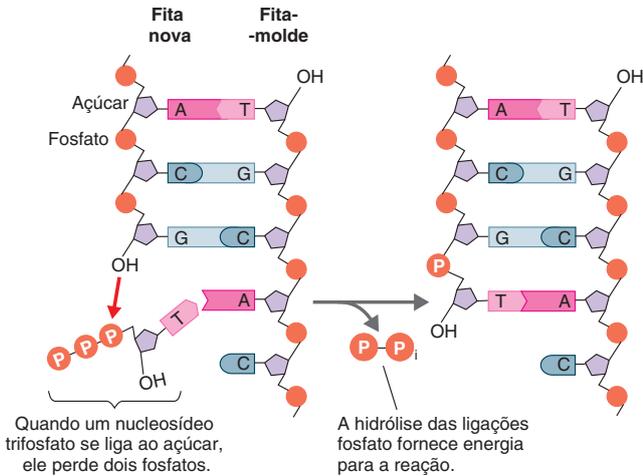


Figura 8.3 Replicação do DNA.

**P** Qual a vantagem da replicação semiconservativa?

Tabela 8.1 Enzimas importantes na replicação, expressão e reparo do DNA

<b>DNA-girase</b>	Relaxa o superenovelamento à frente da forquilha de replicação
<b>DNA-ligase</b>	Forma ligações covalentes que unem as fitas de DNA; fragmentos de Okazaki e novos segmentos no reparo por excisão
<b>DNA-polimerases</b>	Sintetiza DNA; corrige e repara o DNA
<b>Endonucleases</b>	Cliva o arcabouço de DNA em uma fita de DNA; facilita o reparo e inserções
<b>Exonucleases</b>	Cliva o DNA em uma extremidade exposta; facilita o reparo
<b>Helicase</b>	Desenrola a dupla-fita de DNA
<b>Metilase</b>	Adiciona um grupo metil a bases selecionadas no DNA recém-sintetizado
<b>Fotoliase</b>	Utiliza energia da luz visível para separar dímeros de pirimidina induzidos pela luz UV
<b>Primase</b>	Uma RNA-polimerase que sintetiza iniciadores de RNA a partir de um molde de DNA
<b>Ribozima</b>	Enzima de RNA que remove os íntrons e une os éxons
<b>RNA-polimerase</b>	Produz cópias de RNA a partir de um molde de DNA
<b>snRNP</b>	Complexo RNA-proteína que remove os íntrons e une os éxons
<b>Topoisomerase</b>	Relaxa o superenovelamento à frente da forquilha de replicação; separa círculos de DNA ao final da replicação
<b>Transposase</b>	Cliva o arcabouço do DNA, produzindo fitas simples de "extremidades coesivas"



**Figura 8.4** Adicionando um nucleotídeo ao DNA.

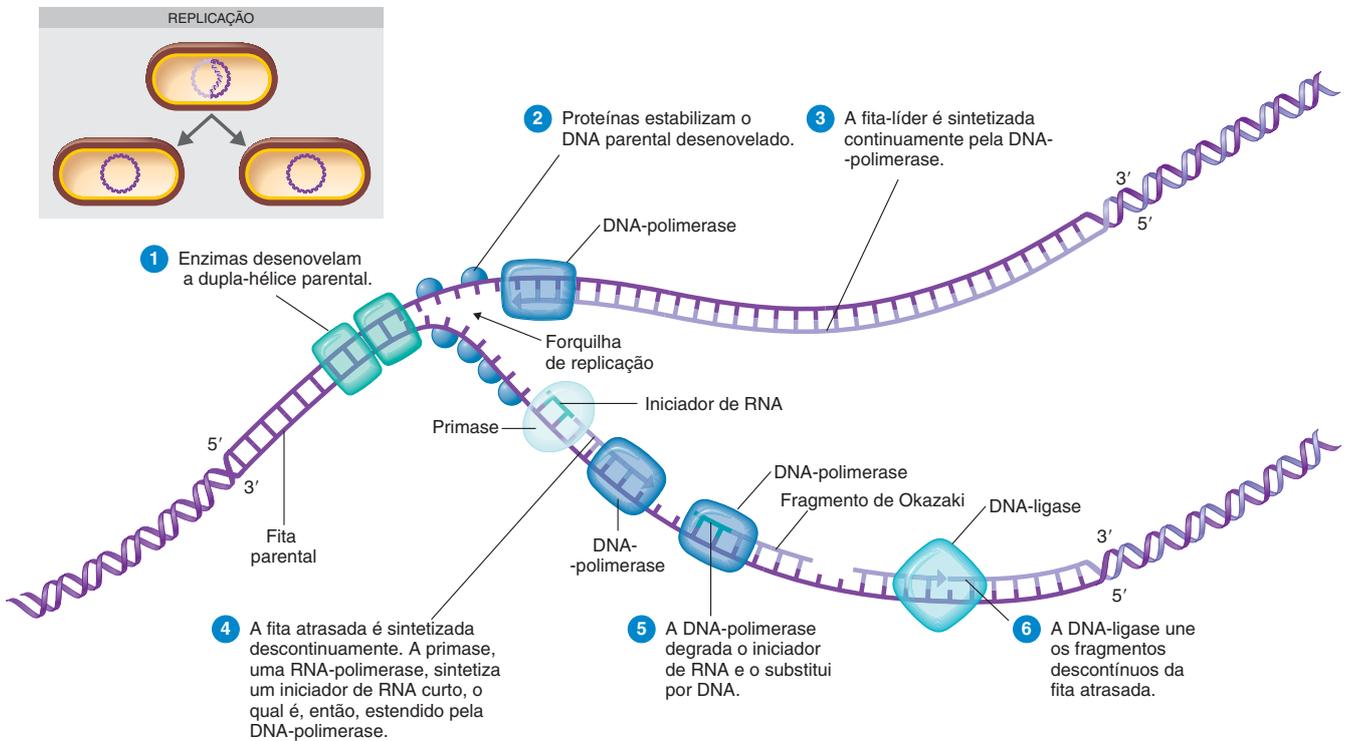
**P** Por que uma fita está “de cabeça para baixo” em relação à outra fita? Por que ambas as fitas não podem se alinhar no mesmo sentido?

tídeos, que são, na verdade, nucleosídeos trifosfatos. Você já sabe sobre o ATP; a única diferença entre o ATP e o nucleotídeo adenina no DNA é o componente açúcar. A desoxirribose é o açúcar nos nucleosídeos utilizados para sintetizar o DNA, e os nucleosídeos trifosfatos com ribose são usados para sintetizar o RNA. Dois grupos fosfato são removidos para adicionar o nucleotídeo à fita de DNA em crescimento; a hidrólise do nucleosídeo é exergônica e fornece energia para criar as novas ligações na fita de DNA (**Figura 8.4**).

A **Figura 8.5** fornece mais detalhes sobre as muitas etapas que ocorrem nesse processo complexo.

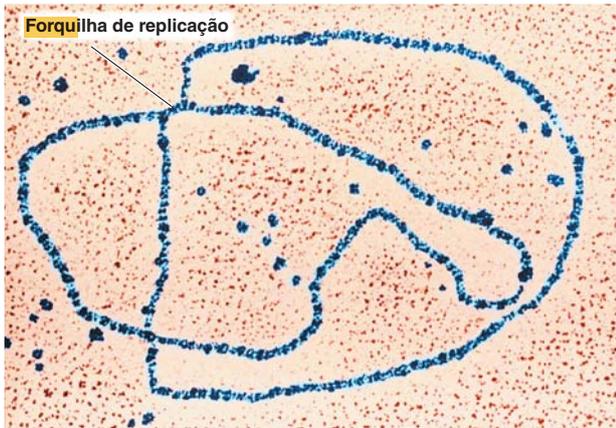
A replicação do DNA de algumas bactérias, como a *E. coli*, acontece *bidirecionalmente* ao redor do cromossomo (**Figura 8.6**). Duas forquilha de replicação movem-se em direções opostas, para longe da origem de replicação. Como o cromossomo bacteriano é um círculo fechado, as forquilha, enfim, se encontram quando a replicação é concluída. As duas alças precisam ser separadas por uma topoisomerase. Muitas evidências mostram uma associação entre a membrana plasmática bacteriana e a origem de replicação. Após a duplicação, se cada cópia da origem se liga à membrana em um polo oposto, então cada célula-filha recebe uma cópia da molécula de DNA – isto é, um cromossomo completo.

A replicação do DNA é um processo impressionantemente acurado. Em geral, erros são cometidos em uma taxa de apenas 1 em cada 10 bilhões de bases incorporadas. Essa precisão em

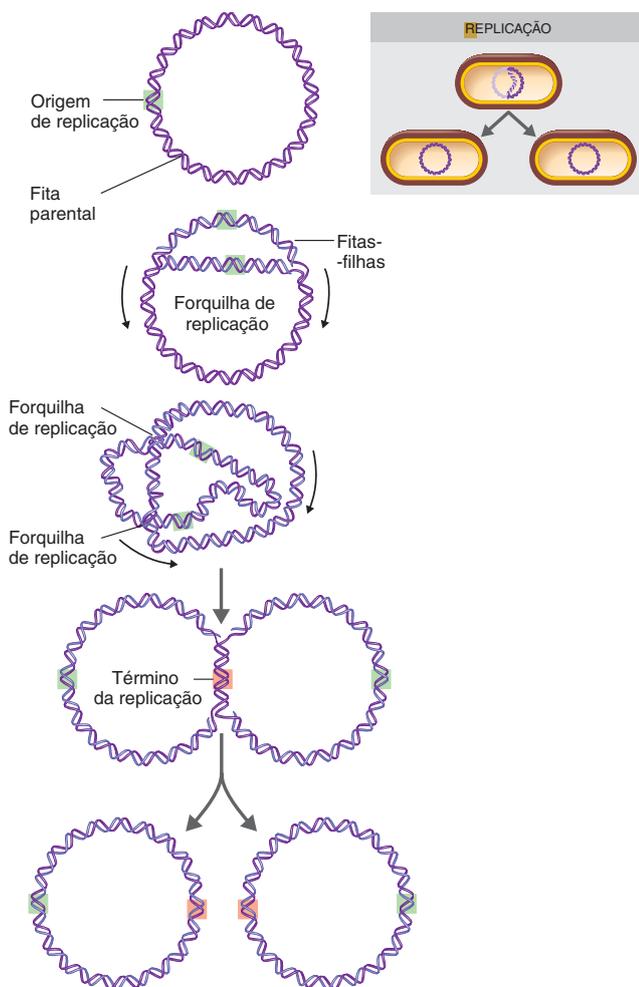


**Figura 8.5** Resumo dos eventos na forquilha de replicação do DNA.

**P** Por que uma fita de DNA é sintetizada descontinuamente?

(a) Um cromossomo de *E. coli* em processo de replicação

MEV 20 nm



(b) Replicação bidirecional de uma molécula de DNA circular bacteriano

**Figura 8.6 Replicação de DNA bacteriano.****P** O que é a origem de replicação?

boa parte ocorre devido à capacidade de *correção* (*proofreading*) da DNA-polimerase. À medida que cada base nova é adicionada, a enzima avalia se a estrutura de pareamento formada está correta. Caso contrário, a enzima remove a base inapropriada e a substitui pela correta. Desse modo, o DNA pode ser replicado de maneira precisa, permitindo que cada cromossomo-filho possa ser praticamente idêntico ao DNA parental.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

✓ Descreva a replicação do DNA, incluindo as funções da DNA-girase, da DNA-ligase e da DNA-polimerase. **8-3**

**RNA e a síntese proteica**

Como a informação no DNA é utilizada para produzir as proteínas que controlam as atividades celulares? No processo de *transcrição*, a informação genética contida no DNA é copiada, ou transcrita, em uma sequência de bases complementares de RNA. A célula usa, então, a informação codificada nesse RNA para sintetizar proteínas específicas pelo processo de *tradução*. Analisaremos em mais detalhes como esses dois processos ocorrem na célula bacteriana.

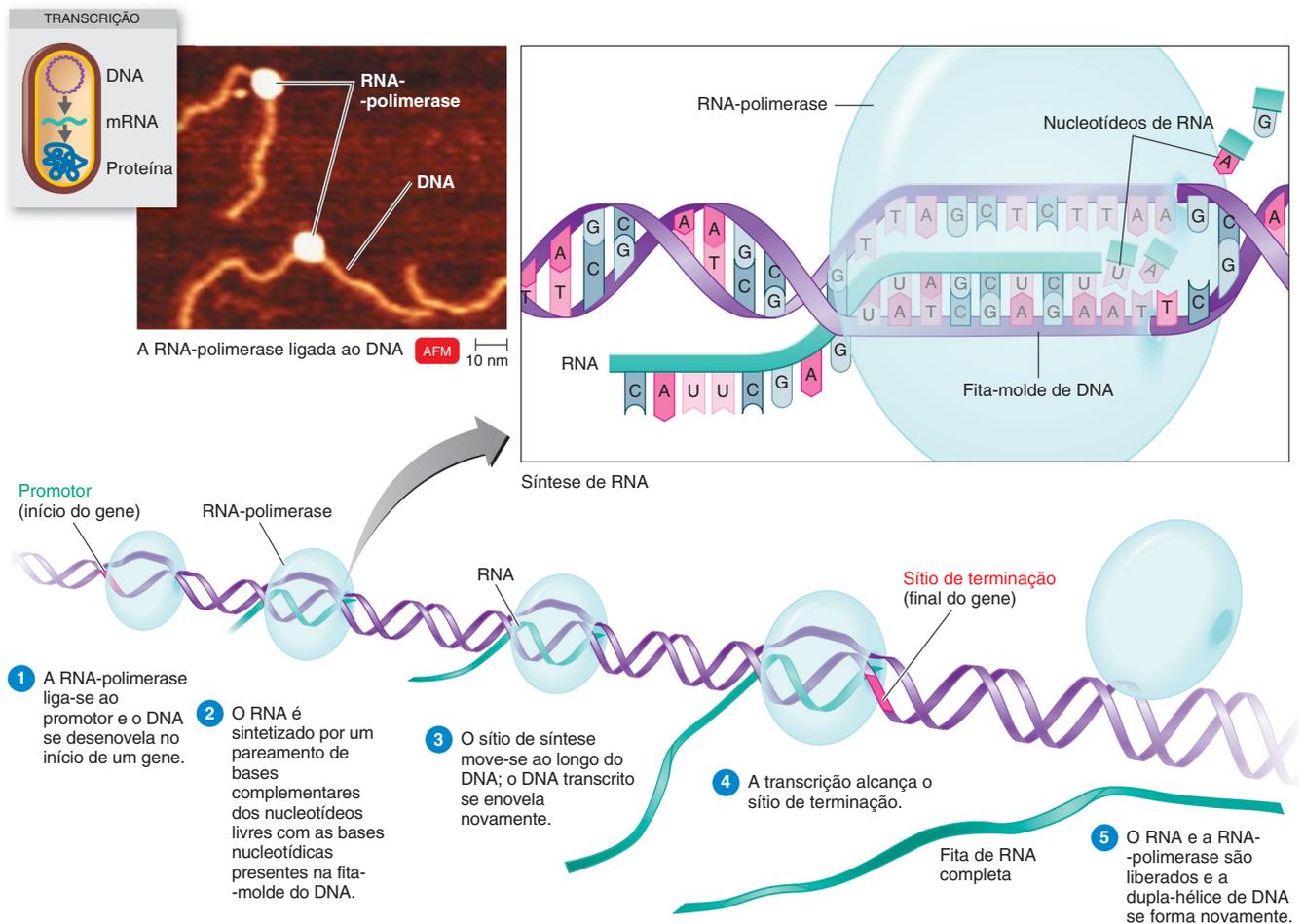
**Transcrição em procariontos**

**Transcrição** é a síntese de uma fita complementar de RNA a partir de um molde de DNA. Discutiremos aqui a transcrição em células procarióticas. A transcrição em eucariotos será discutida na página 211.

O **RNA ribossomal (rRNA)** é parte integral dos ribossomos, a maquinaria celular para a síntese proteica. O RNA transportador também está envolvido na síntese proteica, como veremos posteriormente. O **RNA mensageiro (mRNA)** transporta a informação codificada para produzir proteínas específicas do DNA aos ribossomos, onde as proteínas são sintetizadas.

Durante a transcrição, uma fita de mRNA é sintetizada utilizando uma porção específica do DNA da célula como molde. Em outras palavras, a informação genética estocada na sequência de bases nitrogenadas do DNA é reescrita, de modo que a mesma informação apareça na sequência de bases do mRNA.

Como na replicação do DNA, uma guanina (G) no molde de DNA determina uma citosina (C) no mRNA sendo sintetizado, e uma C no molde de DNA determina uma G no mRNA. Da mesma forma, uma timina (T) no molde de DNA determina uma adenina (A) no mRNA. Contudo, uma adenina no molde de DNA determina uma uracila (U) no mRNA, uma vez que o RNA contém uracila, em vez de timina. (A uracila tem uma estrutura química ligeiramente diferente da timina, mas o pareamento de bases ocorre da mesma maneira.) Se, por exemplo, a porção-molde de DNA apresentar a sequência de bases 3'-ATGCAT, a fita de mRNA recém-sintetizada apresentará a sequência de bases complementar 5'-UACGUA.



**Figura 8.7 O processo de transcrição.** O diagrama de orientação indica a relação entre a transcrição e o fluxo global de informação genética em uma célula.

### P Quando a transcrição cessa?

O processo de transcrição requer uma enzima, denominada *RNA-polimerase*, e um suprimento de nucleotídeos de RNA (**Figura 8.7**). A transcrição começa quando a RNA-polimerase se liga ao DNA em um local denominado **promotor**. Somente uma das duas fitas de DNA serve como molde para a síntese de RNA para um determinado gene. Como o DNA, o RNA é sintetizado na direção 5' → 3'. A síntese de RNA continua até que a RNA-polimerase atinja uma região no DNA denominada **sítio de terminação**.

A transcrição permite que a célula produza cópias de curta duração dos genes, que podem ser utilizadas como uma fonte direta de informação para a síntese proteica. O mRNA atua como um intermediário entre a forma de armazenamento permanente (o DNA) e o processo que usa a informação (a tradução).

### Tradução

Vimos como a informação genética no DNA é transferida ao mRNA durante a transcrição. Agora, veremos como o mRNA

serve de fonte de informação para a síntese proteica. A síntese proteica é chamada de **tradução**, pois envolve a decodificação da “linguagem” dos ácidos nucleicos e a conversão desta em uma “linguagem” de proteínas.

A linguagem do mRNA está em forma de **códons**, grupos de três nucleotídeos, como AUG, GGC ou AAA. A sequência de códons em uma molécula de mRNA determina a sequência de aminoácidos que estarão na proteína a ser sintetizada. Cada códon “codifica” um aminoácido específico. Este é o código genético (**Figura 8.8**).

Os códons são escritos em termos de sua sequência de bases no mRNA. Observe, na Figura 8.8, que existem 64 códons possíveis, mas apenas 20 aminoácidos. Isso significa que a maioria dos aminoácidos é sinalizada por diversos códons alternativos, uma situação denominada **degeneração** do código. Por exemplo, a leucina tem seis códons e a alanina tem quatro. A degeneração permite uma determinada quantidade de leituras

incorretas ou mutações no DNA, sem afetar a proteína final que será produzida.

Dos 64 códons, 61 são códons codificadores e 3 são códons de término (sem sentido). Os **códons codificadores** codificam os aminoácidos, e os **códons de término** (também chamados de *códons de parada*) não o fazem. Em vez disso, os códons de término – UAA, UAG e UGA – assinalam o fim da síntese da molécula de proteína. O códon de início que inicia a síntese da molécula de proteína é AUG, que também é o códon da metionina. Nas bactérias, o códon de início AUG codifica a formilmetionina, em vez da metionina encontrada em outras partes da proteína. A metionina iniciadora é com frequência removida posteriormente, de forma que nem todas as proteínas contêm metionina.

Durante a tradução, os códons de um mRNA são “lidos” sequencialmente; e, em resposta a cada códon, o aminoácido apropriado é adicionado a uma cadeia em crescimento. O local de tradução é o ribossomo, e as moléculas de **RNA transportador (tRNA)** reconhecem os códons específicos e transportam os aminoácidos requeridos.

Cada molécula de tRNA tem um **anticódon**, uma sequência de três bases que é complementar ao códon. Dessa maneira, uma molécula de tRNA pode realizar o pareamento de bases com o seu códon associado. Cada tRNA também pode transportar em sua outra extremidade o aminoácido codificado pelo códon que o tRNA reconhece. As funções do ribossomo são direcionar a ligação ordenada dos tRNAs aos códons e organizar os aminoácidos trazidos em uma cadeia, produzindo por fim, uma proteína.

A **Figura 8.9** mostra os detalhes da tradução. As duas subunidades ribossomais, um tRNA com o anticódon UAC e a molécula de mRNA a ser traduzida, juntamente com diversos fatores proteicos adicionais, são montados. Esse complexo coloca o códon iniciador (AUG) na posição correta para permitir o início da tradução. Depois que o ribossomo conecta os dois primeiros aminoácidos por uma ligação peptídica, a primeira molécula de tRNA deixa o ribossomo, que, então, se move ao longo do mRNA até o códon seguinte. À medida que os aminoácidos corretos são alinhados um por um, ligações peptídicas são formadas entre eles, resultando em uma cadeia polipeptídica. (Ver também Figura 2.14, p. 42.) A tradução termina quando um dos três códons de término é alcançado no mRNA. O ribossomo, então, se separa em suas duas subunidades, e o mRNA e a cadeia polipeptídica recém-sintetizada são liberados. O ribossomo, o mRNA e os tRNAs tornam-se, então, disponíveis para serem novamente utilizados.

O ribossomo move-se ao longo do mRNA na direção 5' → 3'. Esse movimento do ribossomo permite a exposição do códon de início. Ribossomos adicionais podem, então, se unir ao processo e iniciar a síntese de proteínas. Desse modo, normalmente há uma série de ribossomos unidos a um único mRNA, todos em vários estágios de síntese proteica. Nas células procarióticas, a tradução do mRNA em proteína pode começar antes mesmo de a transcrição estar completa (**Figura 8.10**). Como o mRNA é produzido no citoplasma em procariotos, os

		Segunda posição				
		U	C	A	G	
U	UUU	UCU } Fen	UCA } Ser	UAU	UGU } Cis	U
	UUC			UAC		UGC
	UUA	UCA		UAA término	UGA término	A
	UUG	UCG		UAG término	UGG Trp	G
C	CUU	CCU } Leu	CCA } Pro	CAU	CGU } Arg	U
	CUC			CAC		CGC
	CUA	CAA		CGA	A	
	CUG	CCG		CAG	CGG	G
A	AUU	ACU } Ile	ACC } Tre	AAU	AGU } Ser	U
	AUC			AAC		AGC
	AUA	ACA		AAA	AGA	A
	AUG Met/início	ACG		AAG	AGG	G
G	GUU	GCU } Val	GCC } Ala	GAU	GGU } Gli	U
	GUC			GAC		GGC
	GUA	GCA		GAA	GGA	A
	GUG	GCG		GAG	GGG	G

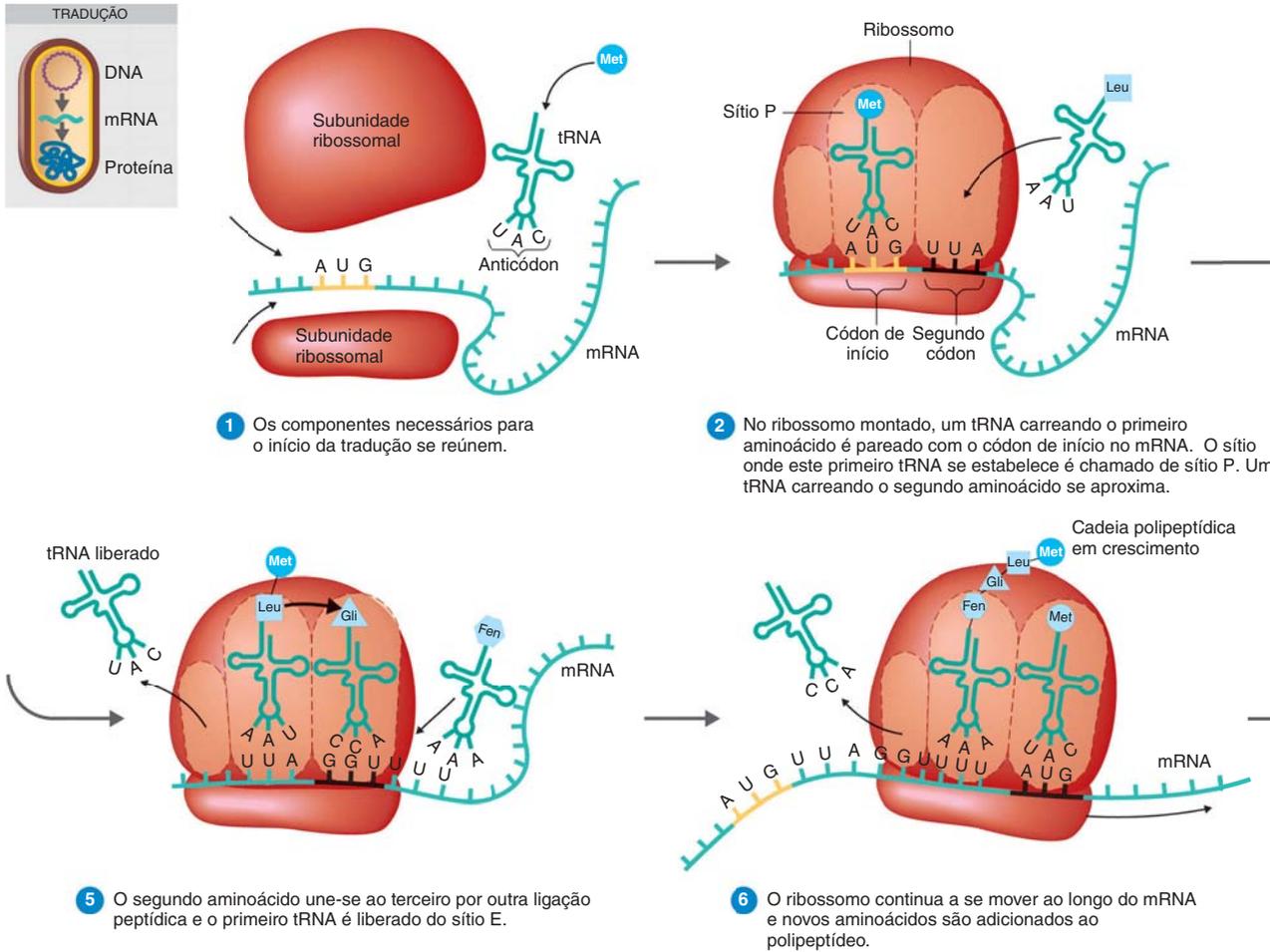
**Figura 8.8 O código genético.** Os três nucleotídeos em um códon de mRNA são designados, respectivamente, como primeira posição, segunda posição e terceira posição do códon no mRNA. Cada grupo de três nucleotídeos especifica um aminoácido em particular, representado por uma abreviação de três letras (ver Tabela 2.5, p. 41). O códon AUG, o qual especifica o aminoácido metionina, também determina o início da síntese proteica. A palavra término identifica os códons sem sentido que sinalizam o fim da síntese proteica.

**P** Qual é a vantagem apresentada pela degeneração do código genético?

códons de início de um mRNA sendo transcrito estão disponíveis aos ribossomos antes mesmo de a molécula completa ter sido sintetizada.

### Transcrição em eucariotos

Nas células eucarióticas, a transcrição acontece no núcleo. O mRNA precisa ser completamente sintetizado e transportado através da membrana nuclear para o citoplasma antes do início da transcrição. Além disso, o RNA começa a ser processado antes de deixar o núcleo. Nas células eucarióticas, as regiões dos genes que codificam as proteínas são frequentemente interrompidas por DNA não codificante. Dessa forma, os genes eucarióticos são compostos de **éxons**, as regiões *expressas* do DNA, e de **íntrons**, as regiões *intervenientes* do DNA que não codificam proteína. No núcleo, a RNA-polimerase sintetiza uma molécula, chamada de transcrito de RNA, que con-



**Figura 8.9 O processo de tradução.** O objetivo geral da tradução é produzir proteínas utilizando mRNAs como fonte de informação biológica. O ciclo complexo de eventos ilustrado aqui mostra o papel principal do tRNA e dos ribossomos na decodificação desta informação. O ribossomo atua como o sítio onde a informação codificada pelo mRNA é decodificada, bem como, o local onde os aminoácidos individuais são conectados em cadeias polipeptídicas. As moléculas de tRNA atuam como os verdadeiros “tradutores” – uma extremidade de cada tRNA reconhece um códon de mRNA específico, enquanto a outra extremidade carrega o aminoácido codificado por aquele códon. (Continua)

**P** Por que a tradução é interrompida?

têm cópias dos íntrons. Partículas denominadas **pequenas ribonucleoproteínas nucleares (snRNPs, de small nuclear ribonucleoproteins)** removem os íntrons e conectam os éxons. Em alguns organismos, os íntrons agem como ribozimas que catalisam sua própria remoção (**Figura 8.11**).

\* \* \*

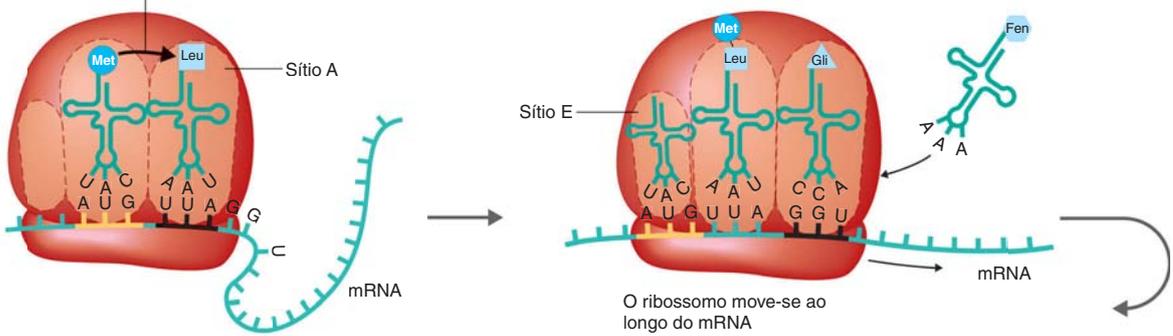
Em resumo, os genes são unidades de informação biológica codificada pela sequência de bases nucleotídicas no DNA. Um gene é expresso, ou transformado em um produto dentro da célula, pelos processos de transcrição e tradução. A informação genética transportada no DNA é transferida para uma molécula tempo-

rária de mRNA pela transcrição. A seguir, durante a tradução, o mRNA dirige a montagem dos aminoácidos em uma cadeia polipeptídica: um ribossomo se fixa ao mRNA, os tRNAs enviam os aminoácidos ao ribossomo, conforme orientado pela sequência de códons do mRNA, e o ribossomo monta os aminoácidos na cadeia que será a proteína recém-sintetizada.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

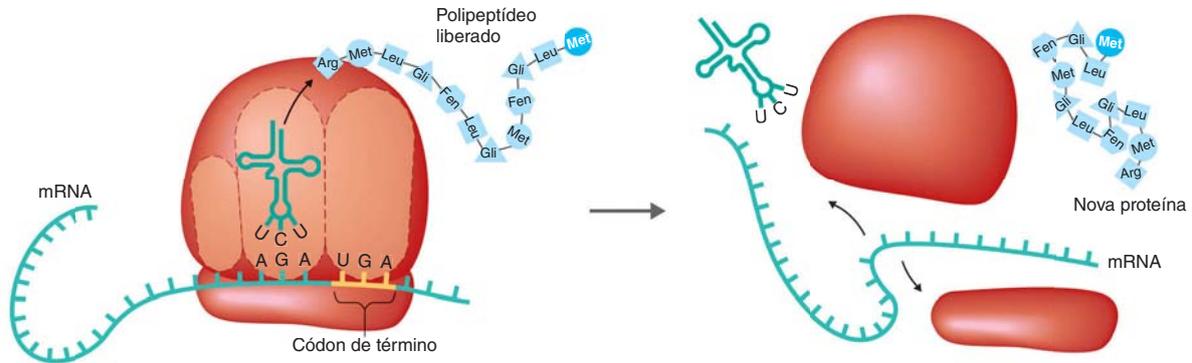
- ✓ Qual o papel do promotor, do sítio de terminação e do mRNA na transcrição? **8-4**
- ✓ Como a produção de mRNA em eucariotos difere do processo em procaríotos? **8-5**

Formação da ligação peptídica



3 O segundo códon do mRNA se para com um tRNA carregando o segundo aminoácido no sítio A. O primeiro aminoácido se une ao segundo por uma ligação peptídica. Isso liga o polipeptídeo ao tRNA no sítio P.

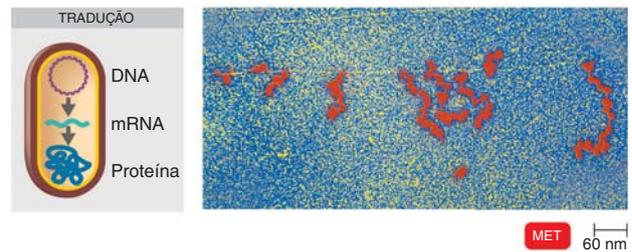
4 O ribossomo move-se ao longo do mRNA até que o segundo tRNA esteja no sítio P. O próximo códon a ser traduzido é conduzido ao sítio A. O primeiro tRNA ocupa agora o sítio E.



7 Quando o ribossomo atinge um códon de término, o polipeptídeo é liberado.

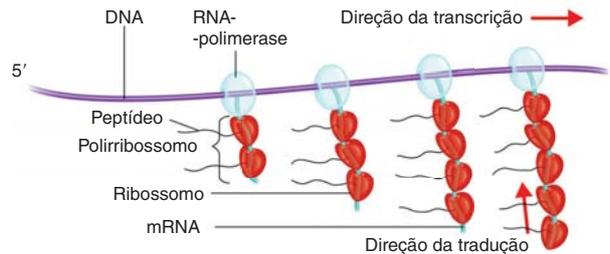
8 Finalmente, o último tRNA é liberado e o ribossomo desfaz. O polipeptídeo liberado forma uma nova proteína.

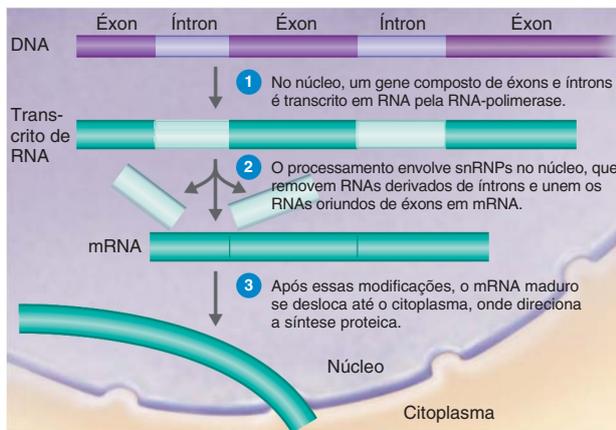
Figura 8.9 (Continuação)



**Figura 8.10 Transcrição e tradução simultâneas em bactérias.** Muitas moléculas de mRNA são sintetizadas simultaneamente. As moléculas mais longas de mRNA foram as primeiras a serem transcritas no promotor. Observe os ribossomos ligados ao mRNA recém-formado. A micrografia mostra um polirribossomo (muitos ribossomos) em um único gene bacteriano.

**P** Por que a tradução pode se iniciar antes do término da transcrição em procarionotos, mas não em eucarionotos?





**Figura 8.11** Processamento do RNA em células eucarióticas.

**P** Por que o transcrito de RNA não pode ser utilizado para a tradução?

## A regulação da expressão gênica bacteriana

### OBJETIVOS DO APRENDIZADO

- 8-6** Definir *operon*.
- 8-7** Explicar a regulação pré-transcricional da expressão gênica em bactérias.
- 8-8** Explicar a regulação pós-transcricional da expressão gênica.

As maquinarias genética e metabólica de uma célula são integradas e interdependentes. A célula bacteriana realiza uma quantidade enorme de reações metabólicas (ver Capítulo 5). A característica comum de todas as reações metabólicas é que elas são catalisadas por enzimas, que, por sua vez, são proteínas sintetizadas por transcrição e tradução. A inibição por retroalimentação impede que uma célula realize reações químicas desnecessárias (Capítulo 5, p. 116) e interrompe as enzimas que já foram sintetizadas. Examinaremos agora os mecanismos que impedem a síntese de enzimas que não são necessárias.

Como a síntese proteica requer uma grande quantidade de energia, as células poupam energia, produzindo apenas aquelas proteínas necessárias em um período específico. A regulação da expressão gênica é influenciada por sinais moleculares internos e externos. Analisaremos a seguir como as reações químicas são reguladas pelo controle da expressão gênica.

Muitos genes, talvez 60 a 80%, não são regulados, mas são, em vez disso, *constitutivos*, ou seja, seus produtos são constantemente produzidos em uma velocidade fixa. Em geral, esses genes, os quais se encontram efetivamente ligados durante todo o tempo, codificam enzimas que a célula necessita em quantidades muito grandes para realizar seus principais processos vitais. As enzimas da glicólise são exemplos. A produção de ou-

tras enzimas é regulada de modo que elas estejam presentes somente quando necessário. O *Trypanosoma*,\* o protozoário parasito que causa a doença do sono africana, tem centenas de genes que codificam glicoproteínas de superfície. Cada célula do protozoário liga somente um gene de glicoproteína por vez. Como o sistema imune do hospedeiro destrói parasitos que possuem um determinado tipo de molécula de superfície, os parasitos que expressam glicoproteínas de superfície diferentes podem continuar a crescer.

## Controle pré-transcricional

Dois mecanismos de controle genético, conhecidos como repressão e indução, regulam a transcrição do mRNA e, consequentemente, a síntese de enzimas a partir dele. Esses mecanismos controlam a formação e as quantidades de enzimas na célula, e não a atividade das enzimas.

### Repressão

O mecanismo regulador que inibe a expressão gênica e diminui a síntese das enzimas é denominado **repressão**. A repressão normalmente é uma resposta à abundância de um produto final de uma via metabólica; ela causa uma redução na velocidade da síntese das enzimas que levam à formação daquele produto. A repressão é mediada por proteínas reguladoras, denominadas **repressoras**, que bloqueiam a capacidade da RNA-polimerase de iniciar a transcrição dos genes reprimidos. A condição-padrão de um gene reprimível é *ligado*.

### Indução

O processo que ativa a transcrição de um gene ou genes é a **indução**. Uma substância que inicia a transcrição de um gene é chamada de **indutor**, e as enzimas que são sintetizadas na presença de indutores são chamadas de *enzimas indutíveis*. Os genes requeridos para o metabolismo da lactose na *E. coli* são um exemplo bem conhecido de sistema indutível. Um desses genes codifica a enzima  $\beta$ -galactosidase, que degrada o substrato lactose em dois açúcares simples, glicose e galactose. ( $\beta$  refere-se ao tipo de ligação que une a glicose e a galactose.) Se a *E. coli* é colocada em um meio onde a lactose não está presente, o organismo quase não contém  $\beta$ -galactosidase; contudo, quando a lactose é adicionada ao meio, as células bacterianas produzem grande quantidade da enzima. Na célula, a lactose é convertida no composto relacionado, alolactose, que é o indutor desses genes; assim, a presença de lactose induz a célula indiretamente a sintetizar mais enzima. A circunstância-padrão de um gene indutível é *desligado*.

## O modelo operon de expressão gênica

Os detalhes do controle da expressão gênica por indução e repressão são descritos pelo modelo operon, formulado na década de 1960 por François Jacob e Jacques Monod. O modelo mostra a indução de enzimas do catabolismo da lactose em *E. coli*. Além da  $\beta$ -galactosidase, essas enzimas incluem a lac permease, que está envolvida no transporte de lactose para den-

\*N. de R.T. No Brasil, este gênero de protozoário é importante por ser o causador da Doença de Chagas.



**ASM: a regulação da expressão gênica é influenciada por sinais e/ou pistas moleculares internos e externos.**

## FOCO CLÍNICO

## Rastreando o vírus do Oeste do Nilo

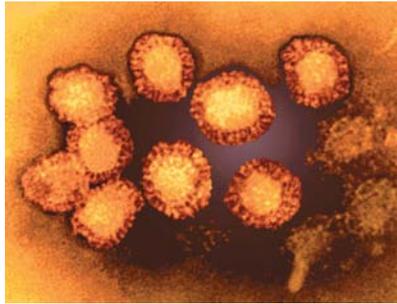
No verão de 1999, o Departamento de Saúde da Cidade de Nova York identificou um grupo de seis pacientes que apresentava encefalite. Paralelamente, autoridades de saúde locais observaram um aumento nas taxas de mortalidade entre os pássaros da cidade de Nova York. Nenhuma bactéria foi cultivada do sangue ou do líquido cerebrospinal dos pacientes. Vírus transmissíveis por mosquitos são uma causa provável de encefalite asséptica durante o verão.

Os arbovírus, vírus transmissíveis por artrópodes, são disseminados entre hospedeiros vertebrados suscetíveis por artrópodes hematófagos, como os mosquitos.

Em seguida, foi realizado um sequenciamento do ácido nucleico de amostras isoladas de pássaros nos Centers for Disease Control and Prevention (CDC). A comparação das sequências de ácidos nucleicos obtidas com sequências depositadas em bases de dados indicou que os vírus eram intimamente relacionados ao vírus do Oeste do Nilo

(WNV, de *West Nile virus*), que nunca havia sido isolado no hemisfério ocidental.

Em 2007, o WNV foi encontrado em pássaros em todos os Estados, à exceção do Alasca e do Havaí. Em 2009, o CDC considerou o vírus do Oeste do Nilo endêmico nos Estados Unidos.



Vírus do Oeste do Nilo

MET 40 nm

Este flavivírus do Velho Mundo foi isolado pela primeira vez em 1937, no distrito do Oeste do Nilo, em Uganda. No início da década de 1950, os cientistas identificaram surtos

de encefalite pelo WNV em seres humanos no Egito e em Israel. Inicialmente considerado um arbovírus de pouca importância, o WNV emergiu como um importante problema de saúde pública e veterinária no sul da Europa, na bacia do Mediterrâneo e na América do Norte.

Pesquisadores analisaram o genoma do vírus em busca de pistas sobre sua disseminação ao redor do mundo. O genoma dos flavivírus consiste em um RNA de fita simples, senso positivo, composto por 10.948 pares de bases. (O RNA senso positivo pode atuar

como mRNA e ser traduzido.) O vírus adquiriu diversas mutações e os pesquisadores estão em busca de pistas nessas mutações para determinar a trajetória desse vírus.

1. Utilizando as porções dos genomas (mostradas abaixo) que codificam proteínas virais, você pode determinar o quanto estes vírus são similares? Você consegue entender a sua dispersão ao redor do mundo?

**Determine os aminoácidos codificados e agrupe os vírus com base na porcentagem de similaridade com a amostra Uganda.**

2. Com base nos aminoácidos, existem dois grupos denominados clados.

**Você consegue identificar esses dois grupos?**

3. As amostras da América do Norte e da Austrália acumularam mais mutações, por isso, devem ser mais recentes.

**Calcule a porcentagem de diferença entre os nucleotídeos para determinar como os vírus estão relacionados dentro do seu clado.**

4. Embora possam ser observados grupos ou clados geneticamente relacionados, a disseminação real do vírus permanece indefinida.

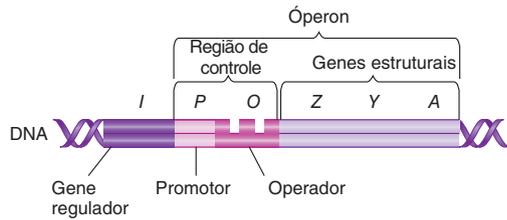
Fonte: adaptado de dados do CDC.

<b>Austrália</b>	A	C	C	C	C	G	U	C	C	A	C	C	C	U	U	U	C	A	A	U	U
<b>Egito</b>	A	A	U	C	G	A	U	C	A	U	C	U	U	C	G	U	C	G	A	U	C
<b>França</b>	A	A	U	C	G	A	U	C	A	U	C	G	U	C	G	U	C	G	A	U	C
<b>Israel</b>	A	U	C	C	A	U	U	C	A	U	C	C	U	C	A	U	C	G	A	U	U
<b>Itália</b>	A	U	C	C	A	C	U	C	A	U	C	C	U	C	G	U	C	G	A	U	U
<b>Quênia</b>	A	U	C	C	A	C	U	C	A	U	C	C	U	C	G	U	C	G	A	U	U
<b>México</b>	A	A	C	C	C	U	U	C	C	U	C	C	C	C	U	U	C	G	A	U	U
<b>Estados Unidos</b>	A	A	C	C	C	C	U	C	C	U	C	C	C	C	U	U	C	G	A	U	U
<b>Uganda</b>	A	U	A	C	G	A	U	C	A	U	G	C	U	C	G	U	C	C	A	U	C

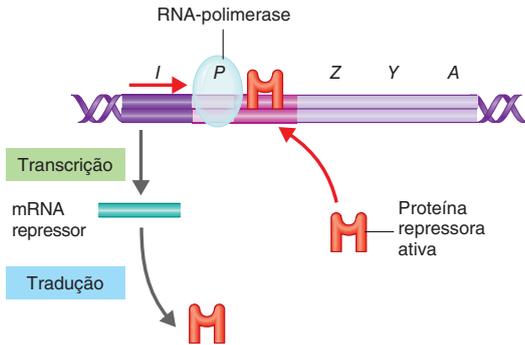
tro da célula, e a transacetilase, que metaboliza outros dissacarídeos que não a lactose.

Os genes para as três enzimas envolvidas na captação e na utilização da lactose estão em sequência no cromossomo bacteriano e são regulados em conjunto (Figura 8.12). Esses genes, que

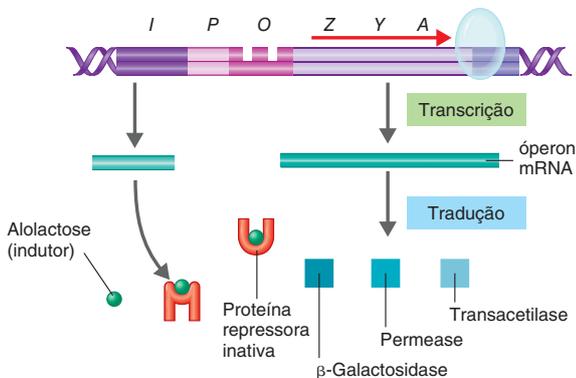
determinam as estruturas de proteínas, são denominados *genes estruturais*, para diferenciá-los de uma região controladora adjacente no DNA. Quando a lactose é introduzida no meio de cultura, os genes estruturais *lac* são todos transcritos e traduzidos rápida e simultaneamente. Veremos agora como ocorre essa regulação.



**1 Estrutura do operon.** O operon consiste em um sítio promotor (P) e um sítio operador (O) e em genes estruturais que codificam para a proteína em questão. O operon é regulado pelo produto do gene regulador (I).



**2 Repressor ativo, operon desligado.** A proteína repressora liga-se ao operador, impedindo a transcrição do operon.



**3 Repressor inativo, operon ligado.** Quando o indutor alolactose se liga à proteína repressora, o repressor inativado não pode mais bloquear a transcrição. Os genes estruturais são transcritos, resultando na produção das enzimas necessárias para o catabolismo da lactose.

**Figura 8.12 Um operon indutível.** As enzimas que degradam a lactose são produzidas na presença da lactose. Em *E. coli*, os genes para as três enzimas estão no operon *lac*. A  $\beta$ -galactosidase é codificada pelo gene *lacZ*. O gene *lacY* codifica a lac permease e o *lacA* codifica a transacetilase, cuja função no metabolismo da lactose ainda é incerta.

**P** O que promove a transcrição de uma enzima indutível?

Na região de controle do operon *lac* há dois segmentos de DNA relativamente curtos. Um, o promotor, é o segmento onde a RNA-polimerase inicia a transcrição. O outro é o **operador**, que atua como um semáforo de trânsito, sinalizando para parar

ou prosseguir com a transcrição dos genes estruturais. Um conjunto de sítios operadores e promotores e os genes estruturais que eles controlam definem um **operon**; portanto, a combinação dos três genes estruturais *lac* e as regiões de controle adjacentes é denominada operon *lac*.

Um gene regulador, denominado *gene I*, codifica uma proteína repressora que liga ou desliga os operons indutíveis e repressíveis. O operon *lac* é um **operon indutível** (ver Figura 8.12). Na ausência da lactose, a proteína repressora liga-se fortemente ao sítio do operador, prevenindo a transcrição. Se a lactose está presente, o repressor liga-se ao metabólito da lactose, em vez de se ligar ao sítio operador, e as enzimas que degradam a lactose são transcritas.

Nos **operons repressíveis**, os genes estruturais são transcritos até que sejam desligados (Figura 8.13). Os genes para as enzimas envolvidas na síntese do triptofano são regulados desse modo. Os genes estruturais são transcritos e traduzidos, levando à síntese do triptofano. Quando um excesso de triptofano está presente, ele atua como um **correpessor**, ligando-se à proteína repressora. A proteína repressora pode, então, ligar-se ao operador, interrompendo a síntese adicional de triptofano.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

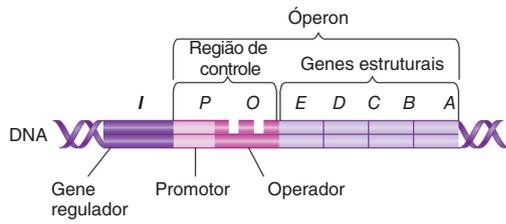
✓ Utilize a via metabólica abaixo para responder às questões que se seguem. **8-6**



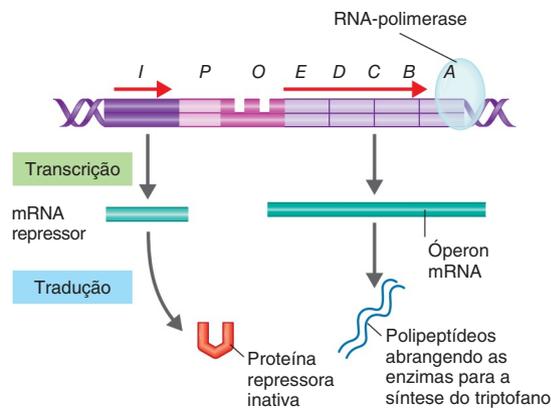
- Se a enzima *a* é indutível e não está sendo sintetizada no presente momento, uma proteína (1) \_\_\_\_\_ deve estar firmemente ligada ao sítio (2) \_\_\_\_\_. Quando o indutor está presente, ele se ligará ao (3) \_\_\_\_\_ de modo que (4) \_\_\_\_\_ possa ocorrer.
- Se a enzima *a* é reprimível, o produto final C, chamado de (1) \_\_\_\_\_, promove a ligação da (2) \_\_\_\_\_ ao (3) \_\_\_\_\_. O que causa a desrepressão?

**Regulação positiva**

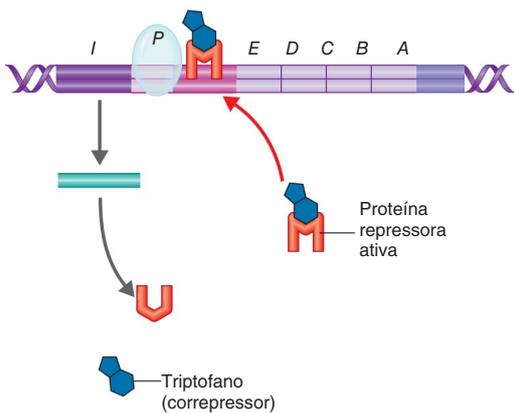
A regulação do operon da lactose também depende do nível de glicose no meio, que, por sua vez, controla o nível intracelular da pequena molécula **AMP cíclico (cAMP)**, uma substância derivada do ATP que atua como um sinal de alarme celular. As enzimas que metabolizam a glicose são constitutivas e as células crescem em sua velocidade máxima, tendo a glicose como sua fonte de carbono, pois podem utilizá-la de modo mais eficiente (Figura 8.14). Quando a glicose não está mais disponível, o cAMP se acumula na célula. O cAMP se liga ao sítio alostérico da **proteína ativadora catabólica (CAP, de catabolic activator protein)**. A CAP liga-se, então, ao promotor *lac*, que inicia a transcrição, facilitando a ligação entre a RNA-polimerase e o promotor. Portanto, a transcrição do operon *lac* requer tanto a presença de lactose quanto a ausência de glicose (Figura 8.15).



**1 Estrutura do operon.** O operon consiste em um sítio promotor (P) e um sítio operador (O) e em genes estruturais que codificam para a proteína em questão. O operon é regulado pelo produto do gene regulador (I).



**2 Repressor inativo, operon ligado.** O repressor está inativo e a transcrição e a tradução prosseguem, levando à síntese do triptofano.



**3 Repressor ativo, operon desligado.** Quando o correpessor triptofano liga-se à proteína repressora, o repressor ativado liga-se ao operador, impedindo a transcrição do operon.

**Figura 8.13 Um operon reprimível.** O triptofano, um aminoácido, é produzido por enzimas anabólicas codificadas por cinco genes estruturais. O acúmulo de triptofano reprime a transcrição desses genes, impedindo a síntese adicional de triptofano. O operon *trp* de *E. coli* é mostrado aqui.

**P** O que promove a transcrição de uma enzima reprimível?

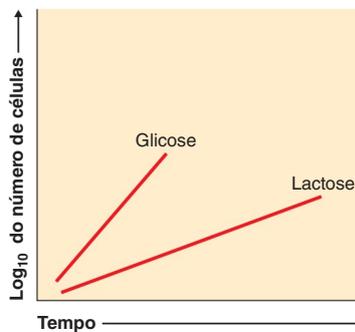
O cAMP é um exemplo de *alarmona*, um sinal de alarme químico que promove a resposta celular ao estresse ambiental ou nutricional. (Nesse caso, o estresse é a falta de glicose.) O mesmo mecanismo envolvendo o cAMP permite que a célula utilize outros açúcares. A inibição do metabolismo das fontes alternativas de carbono pela glicose é denominada **repressão catabólica** (ou *efeito glicose*). Quando a glicose está disponível, o nível de cAMP na célula é baixo e, conseqüentemente, a CAP não está ligada.

**Controle epigenético**

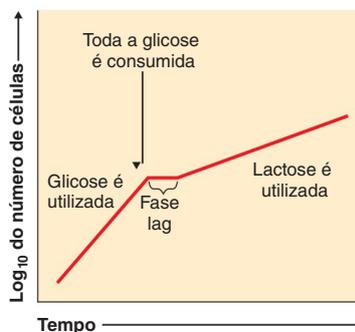
Células eucarióticas e bacterianas podem desligar genes através da metilação de determinados nucleotídeos – isto é, pela adição de um grupo metil (—CH<sub>3</sub>). Os genes metilados (desligados) são transferidos às células-filhas. Ao contrário das mutações, isso não é permanente e os genes podem ser religados em uma geração futura. Isso é chamado de *herança epigenética* (*epigenética* = em genes). A epigenética pode explicar por que as bactérias se comportam de maneira diferente em biofilmes (ver quadro na p. 54).

**Controle pós-transcricional**

Alguns mecanismos reguladores interrompem a síntese proteica após a transcrição. Moléculas de RNA de fita simples de aproximadamente 22 nucleotídeos, chamadas de **microRNAs (miRNAs)**, inibem a produção de proteínas em células eucarióticas. Em seres humanos, os miRNAs produzidos durante o



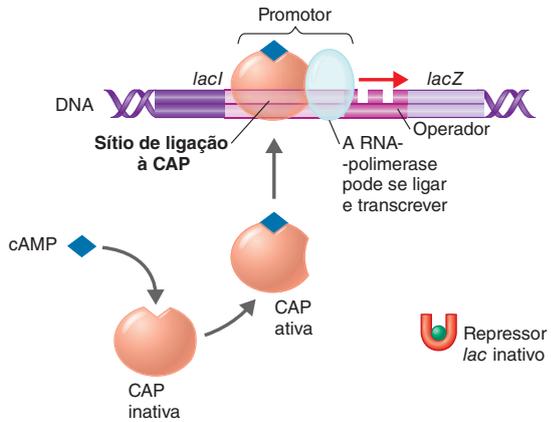
**(a)** As bactérias crescem mais rapidamente utilizando a glicose como única fonte de carbono do que quando utilizam a lactose.



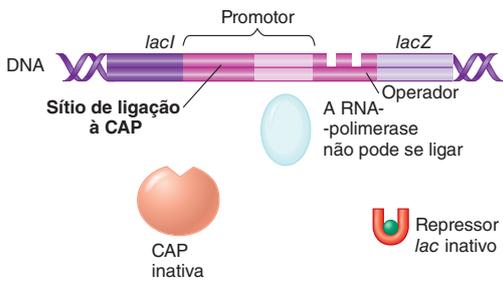
**(b)** Bactérias crescendo em um meio contendo glicose e lactose inicialmente consomem a glicose e, em seguida, após uma curta fase lag, consomem a lactose. Durante a fase lag, o cAMP intracelular aumenta, o operon *lac* é transcrito, mais lactose é transportada para a célula, e a β-galactosidase é sintetizada para degradar a lactose.

**Figura 8.14 Velocidade de crescimento da bactéria *E. coli* utilizando glicose e lactose.**

**P** Quando glicose e lactose estão presentes, por que as células utilizam primeiro a glicose?



(a) Lactose presente, glicose escassa (alto nível de cAMP). Se a glicose está escassa, o alto nível de cAMP ativa a CAP e o operon lac produz grandes quantidades de mRNA para a digestão da lactose.



(b) Lactose presente, glicose presente (baixo nível de cAMP). Quando a glicose está presente, o cAMP está escasso e a CAP é incapaz de estimular a transcrição.

Figura 8.15 Regulação positiva do operon lac.

**P** A transcrição do operon lac ocorre na presença de lactose e glicose? E na presença de lactose e na ausência de glicose? E na presença de glicose e na ausência de lactose?

desenvolvimento permitem que diferentes células produzam diferentes proteínas. As células do coração e as células da pele têm os mesmos genes, porém as células de cada órgão produzem diferentes proteínas, devido aos miRNAs produzidos em cada tipo de célula durante o desenvolvimento. Em bactérias, RNAs curtos similares possibilitam que a célula enfrente estresses ambientais, como baixas temperaturas ou danos oxidativos. Um miRNA se pareia com um mRNA complementar, formando um RNA dupla-fita. Esse RNA dupla-fita é enzimaticamente degradado, de modo que a proteína codificada pelo mRNA não é produzida (Figura 8.16). A ação de outro tipo de RNA, o siRNA, é similar e será discutida na página 251.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

- ✓ Qual o papel do cAMP na regulação da expressão gênica? **8-7**
- ✓ Como o miRNA interrompe a síntese proteica? **8-8**

**Alterações no material genético**

**OBJETIVOS DO APRENDIZADO**

- 8-9** Classificar as mutações por tipo.
- 8-10** Descrever duas maneiras pelas quais as mutações podem ser reparadas.
- 8-11** Descrever o efeito dos mutágenos sobre a taxa de mutação.
- 8-12** Delinear os métodos de seleção direta e indireta de mutantes.
- 8-13** Identificar a finalidade e descrever a metodologia do teste de Ames.

O DNA de uma célula pode ser alterado por meio de mutações e transferência horizontal de genes. Mudanças no DNA resultam em variações genéticas que podem impactar a função microbiana (p. ex., formação de biofilme, patogenicidade e resistência a antibióticos). A sobrevivência e a reprodução das bactérias com um novo genótipo podem ser favorecidas por ambientes naturais e influenciadas por seres humanos, e resultam em uma enorme diversidade de microrganismos. A sobrevivência de novos genótipos é chamada de **seleção natural**.

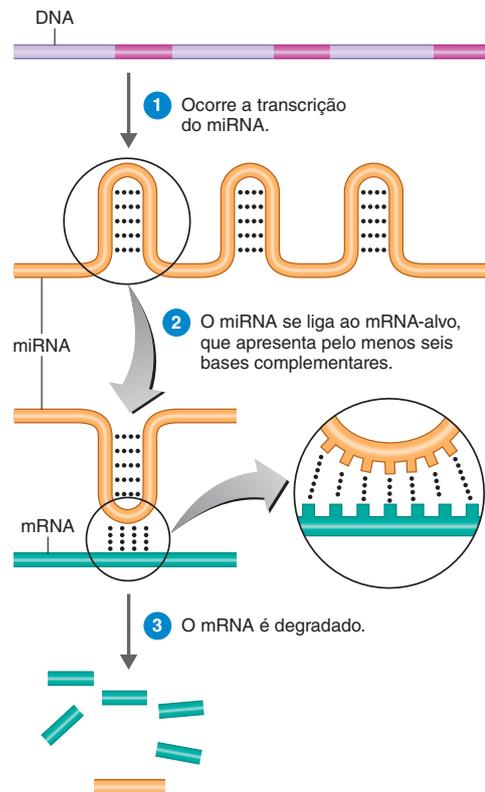
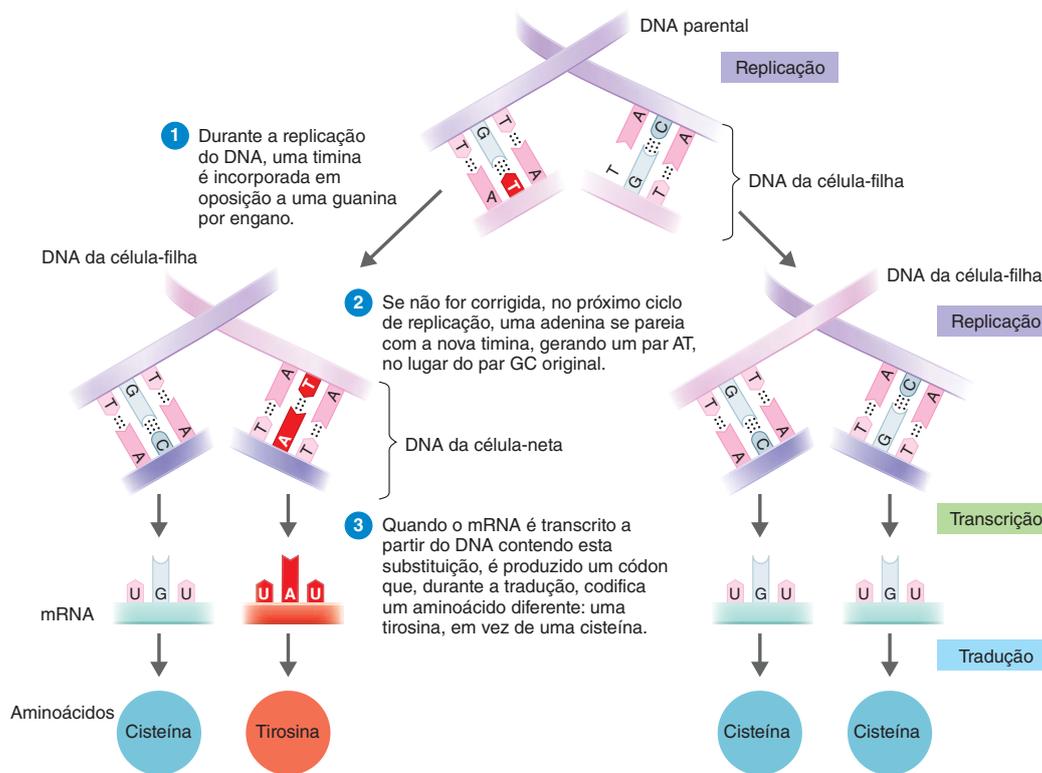


Figura 8.16 Os microRNAs controlam uma ampla variedade de atividades nas células.

**P** Em mamíferos, alguns miRNAs se hibridizam com RNA viral. O que aconteceria se uma mutação ocorresse no gene do miRNA?



**Figura 8.17 Substituições de bases.** Essa mutação leva à produção de uma proteína alterada em uma célula-neta.

**P** Uma substituição de base sempre resulta em um aminoácido diferente?

## Mutação

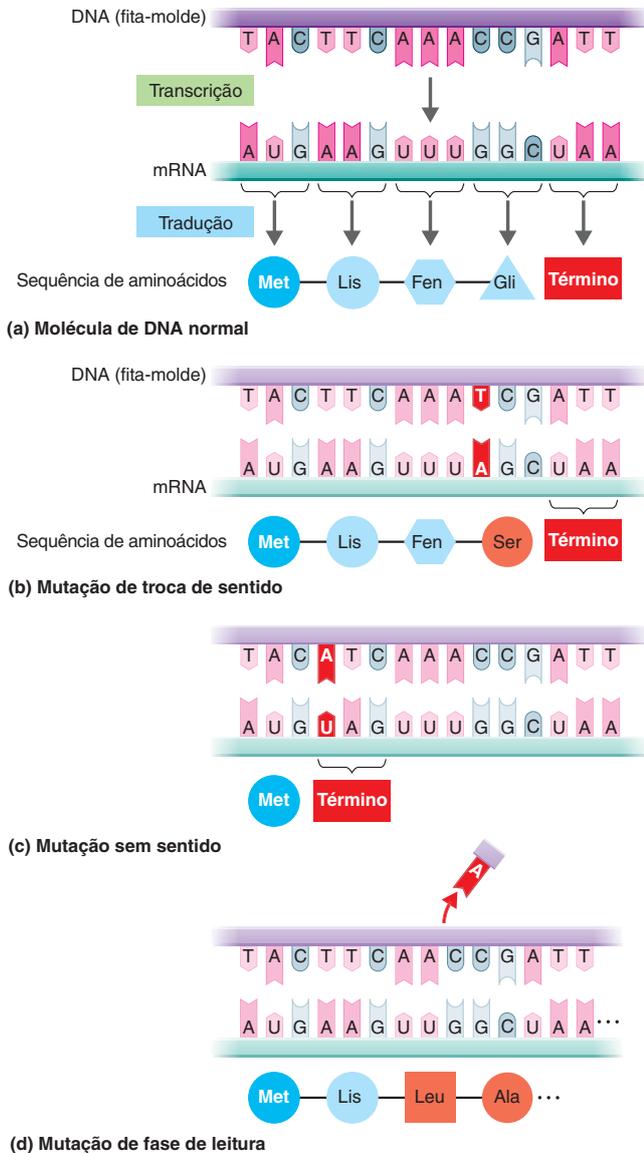
A **mutação** é uma alteração permanente na sequência de bases do DNA. Essa alteração, muitas vezes, poderá acarretar uma mudança no produto codificado pelo gene em questão. Por exemplo, quando o gene para uma enzima sofre mutação, a enzima codificada pelo gene pode se tornar inativa ou menos ativa, pois sua sequência de aminoácidos foi alterada. Essa alteração no genótipo pode ser desvantajosa, ou mesmo letal, se a célula perder uma característica fenotípica de que ela necessita. Contudo, uma mutação pode ser benéfica se, por exemplo, a enzima alterada codificada pelo gene mutante tiver uma atividade nova ou intensificada que beneficie a célula.

## Tipos de mutações

Muitas mutações simples são silenciosas (neutras); a alteração na sequência de bases do DNA não causa alterações na atividade do produto codificado pelo gene. As mutações silenciosas comumente ocorrem quando um nucleotídeo é substituído por outro no DNA, em especial em uma localização correspondente à terceira posição do códon do mRNA. Devido à degeneração do código genético, o novo códon resultante ainda pode codificar o mesmo aminoácido. Ainda que um aminoácido seja alterado, a função da proteína pode não se modificar se o aminoácido não estiver em uma porção vital da proteína, ou for muito semelhante quimicamente ao aminoácido original.

O tipo mais comum de mutação envolvendo um único par de bases é a **substituição de bases** (ou *mutação pontual*), em que uma única base em um ponto na sequência do DNA é substituída por uma base diferente. Quando o DNA se replica, o resultado é a substituição de um par de bases (Figura 8.17). Por exemplo, AT pode ser substituído por GC, ou CG por GC. Se a troca de bases ocorrer dentro de um gene que codifica uma proteína, o mRNA transcrito a partir do gene transportará uma base incorreta naquela posição. Quando o mRNA é traduzido em proteína, a base incorreta pode causar a inserção de um aminoácido incorreto na proteína. Se a substituição de base resultar na substituição de um aminoácido na proteína sintetizada, essa alteração no DNA é conhecida como **mutação de troca de sentido** (*missense*) (Figura 8.18a e Figura 8.18b).

Os efeitos dessas mutações podem ser drásticos. Por exemplo, a anemia falciforme é causada por uma única alteração no gene da globina, o componente proteico da hemoglobina. A hemoglobina é responsável principalmente pelo transporte de oxigênio dos pulmões aos tecidos. Uma única alteração de um A para um T em um sítio específico resulta na mudança de um ácido glutâmico para uma valina na proteína. Isso faz a molécula de hemoglobina alterar a sua forma em condições de baixo oxigênio, o que, por sua vez, altera a morfologia das hemácias. As hemácias deformadas não se movem bem nos capilares e podem restringir o fluxo sanguíneo, causando danos aos órgãos.



**Figura 8.18** Tipos de mutações e seus efeitos nas sequências de aminoácidos das proteínas.

**P** O que aconteceria se a base 9 em (a) fosse alterada para uma C?

Ao criar um códon de término (sem sentido, ou *nonsense*) no meio de uma molécula de mRNA, algumas substituições de base impedem efetivamente a síntese de uma proteína funcional completa; somente um fragmento é sintetizado. Assim, uma substituição de base que resulta em um códon sem sentido é denominada **mutação sem sentido** (Figura 8.18c).

Além das mutações de pares de bases, existem também alterações no DNA, denominadas **mutações de troca de leitura** (*frameshift*), em que um ou alguns pares de nucleotídeos são removidos ou inseridos no DNA (Figura 8.18d). Essas mutações podem alterar a “fase de leitura da tradução”, isto é, os agrupamentos de três nucleotídeos reconhecidos como códons pelo

tRNA durante a tradução. Por exemplo, a deleção de um par de nucleotídeos no meio de um gene causa alterações em muitos aminoácidos a jusante do local da mutação original. As mutações de troca de fase de leitura quase sempre resultam em uma longa sequência de aminoácidos alterados e na produção de uma proteína inativa a partir do gene que sofreu mutação. Na maioria dos casos, um códon sem sentido será finalmente encontrado, e assim, encerrará a tradução.

Ocasionalmente, ocorrem mutações em que números significativos de bases são adicionados (inseridos) em um gene. A doença de Huntington, por exemplo, é um distúrbio neurológico progressivo causado por bases extras inseridas em um gene específico.

As substituições de base e as mutações de troca de fase de leitura podem ocorrer espontaneamente devido a erros ocasionais realizados durante a replicação do DNA. Essas **mutações espontâneas** aparentemente ocorrem na ausência de quaisquer agentes causadores de mutações.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

➤ Como uma mutação pode ser benéfica? 8-9

**Mutágenos**

**Mutágenos químicos**

Agentes no ambiente, como certas substâncias químicas e a radiação, que produzem mutações direta ou indiretamente, são denominadas **mutágenos**. No mundo microbiano, determinadas mutações resultam na resistência a antibióticos (ver quadro no Capítulo 26, p. 756).

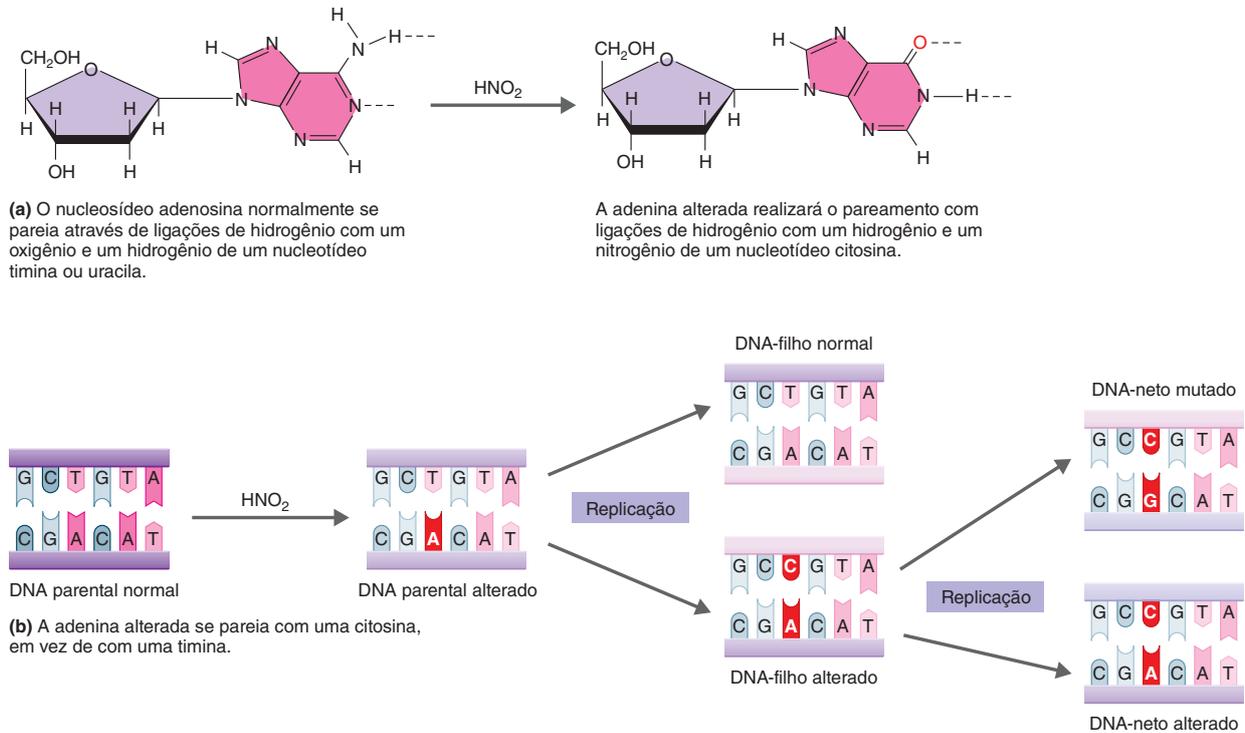
Uma das muitas substâncias químicas sabidamente mutagênica é o ácido nitroso. A **Figura 8.19** mostra como a exposição do DNA ao ácido nitroso pode converter a base adenina, de forma que ela se pareie com a citosina, em vez de com a timina usual. Quando o DNA contendo essas adeninas modificadas se replica, uma molécula-filha do DNA terá uma sequência de pa-

**Caso clínico**

O DNA de uma pessoa pode sofrer mutações. Um nucleotídeo inadequado no DNA produz uma mutação, que pode alterar a função do gene. O câncer é um crescimento celular anormal provocado por mutações. Essas mutações podem ser hereditárias.

No carro, Marcel e sua esposa, Janice, rumam do consultório médico para casa, enquanto recapitulam o histórico familiar de Marcel. O irmão de Marcel, Robert, faleceu de câncer de colo há 10 anos, mas Marcel sempre foi a imagem da saúde. Mesmo aos 70 anos, ele nunca pensou em se aposentar de sua churrascaria em Memphis, nos Estados Unidos, restaurante em que ele era sócio de seu irmão até o óbito de Robert.

**Quais fatores podem ter contribuído para o câncer de colo de Marcel?**



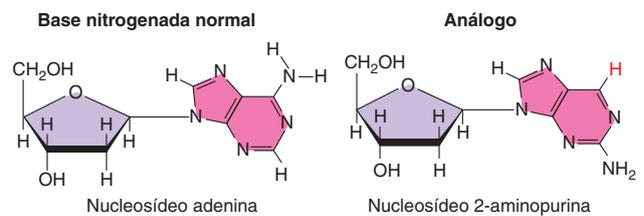
**Figura 8.19** A oxidação de nucleotídeos produz um mutágeno. O ácido nitroso emitido no ar pela queima dos combustíveis fósseis oxida a adenina.

**P** O que é um mutágeno?

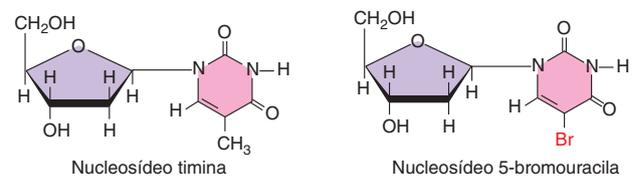
res de bases diferente do DNA parental. Por fim, alguns pares de bases AT da célula-mãe serão alterados para pares de bases GC na célula-neta. O ácido nitroso realiza uma alteração de pares de bases específica no DNA. Assim como todos os mutágenos, ele altera o DNA em localizações aleatórias.

Outro tipo de mutágeno químico é o **análogo de nucleosídeo**. Essas moléculas são estruturalmente similares às bases nitrogenadas normais, mas possuem propriedades de pareamento de bases levemente alteradas. Exemplos, como a 2-aminopurina e a 5-bromouracila, são mostrados na **Figura 8.20**. Quando os análogos de nucleosídeo são oferecidos às células em crescimento, eles são incorporados aleatoriamente no DNA celular no lugar das bases normais. Então, durante a replicação do DNA, os análogos causam erros no pareamento de bases. As bases incorretamente pareadas serão copiadas durante a replicação subsequente do DNA, resultando em substituições de pares de bases nas células da progênie. Alguns fármacos antivirais e antitumorais são análogos a nucleosídeos, incluindo a AZT (azidotimidina), um dos principais fármacos utilizados no tratamento da infecção pelo HIV.

Ainda, outros mutágenos químicos causam pequenas deleções ou inserções, que podem resultar em mutações de fase de leitura. Por exemplo, em certas condições, o benzopireno, que está presente na fumaça e na fuligem, é um mutágeno de *troca de fase de leitura* efetivo. A aflatoxina – produzida por *Aspergillus flavus*, um bolor que cresce em amendoins e grãos – é um mu-



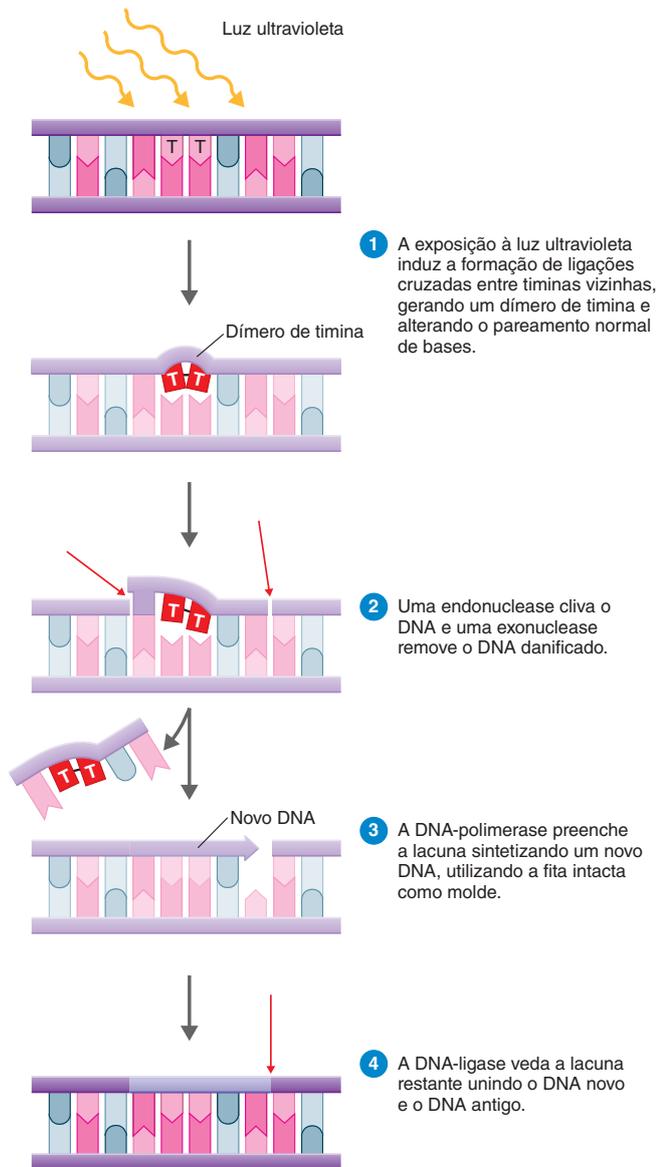
(a) A 2-aminopurina é incorporada ao DNA no lugar de uma adenina, mas pode se parear com uma citosina, de forma que um par AT se torna um par CG.



(b) A 5-bromouracila é utilizada como droga anticâncer, pois ela é confundida com a timina pelas enzimas celulares, mas se pareia com a citosina. Na próxima replicação do DNA, um par AT se torna um par GC.

**Figura 8.20** Análogos de nucleosídeos e as bases nitrogenadas que eles substituem. Um nucleosídeo é fosforilado e o nucleotídeo resultante é utilizado na síntese de DNA.

**P** Por que esses fármacos destroem as células?



**Figura 8.21** A criação e o reparo de um dímero de timina causado por luz ultravioleta. Após exposição à luz UV, timinas vizinhas formam ligações cruzadas, resultando em um dímero de timina. Na ausência de luz visível, o mecanismo de reparo por excisão de nucleotídeos é utilizado em uma célula para reparar o dano.

**P** Como as enzimas de reparo “sabem” qual é a fita incorreta?

tágeno de troca de fase de leitura, assim como os corantes de acridina utilizados experimentalmente contra infecções por herpes-vírus. Os mutágenos de troca de fase de leitura geralmente possuem o tamanho e as propriedades químicas corretos para se inserir entre os pares de base da dupla-hélice de DNA. Eles podem funcionar deslocando levemente as duas fitas do DNA, deixando um intervalo ou uma protuberância em uma das fitas.

Quando as fitas de DNA deslocadas são copiadas durante a síntese de DNA, uma ou mais bases podem ser inseridas ou deletadas no novo DNA de dupla-fita. De modo interessante, mutágenos de troca de fase de leitura frequentemente são agentes cancerígenos potentes.

### Radiação

Os raios X e os raios gama são formas de radiação que são mutágenos potentes, devido à sua capacidade de ionizar átomos e moléculas. Os raios penetrantes da radiação ionizante fazem os elétrons saltarem de suas camadas habituais (ver Capítulo 2). Esses elétrons bombardeiam outras moléculas e causam mais dano, e muitos dos íons e radicais livres resultantes (fragmentos moleculares com elétrons não pareados) são altamente reativos. Alguns desses íons oxidam bases no DNA, resultando em erros na replicação e no reparo do DNA que produzem mutações (ver Figura 8.19). Uma consequência ainda mais grave é a ruptura das ligações covalentes no arcabouço de açúcar-fosfato do DNA, que causa rupturas físicas nos cromossomos.

Outra forma de radiação mutagênica é a luz ultravioleta (UV), um componente não ionizante da luz solar comum. Contudo, o componente mais mutagênico da luz UV (comprimento de onda de 260 nm) é retido pela camada de ozônio da atmosfera. O efeito mais importante da luz UV direta sobre o DNA é a formação de ligações covalentes nocivas entre bases pirimídicas. As timinas adjacentes em uma fita de DNA podem fazer ligações cruzadas, formando dímeros de timina. Esses dímeros, a menos que reparados, podem causar graves danos ou morte celular, pois a célula não pode transcrever ou replicar corretamente este DNA.

As bactérias e outros organismos têm enzimas que podem reparar o dano induzido pela luz ultravioleta. As **fotolases**, também conhecidas como *enzimas de reparo em presença da luz*, utilizam energia da luz visível para separar o dímero novamente nas duas timinas originais. O **reparo por excisão de nucleotídeos**, mostrado na **Figura 8.21**, não é restrito ao dano induzido por luz UV; ele também pode reparar as mutações de outras causas. As enzimas retiram as bases incorretas e preenchem o intervalo com DNA recém-sintetizado, que é complementar à fita correta. Por muitos anos, biólogos questionaram como a base incorreta poderia ser distinguida da base correta se esta não era fisicamente distorcida como um dímero de timina. Em 1970, Hamilton Smith respondeu a essa questão com a descoberta das **metilases**. Essas enzimas adicionam um grupo metil às bases selecionadas imediatamente após a produção da fita de DNA. Uma endonuclease de reparo, então, cliva a fita não metilada.

A exposição à luz UV em seres humanos, como no bronzeamento excessivo, provoca a formação de um grande número de dímeros de timina nas células da pele. Os dímeros não reparados podem resultar em câncer de pele. Os seres humanos que têm xeroderma pigmentosa, condição hereditária que resulta em aumento da sensibilidade à luz UV, possuem um defeito no reparo por excisão de nucleotídeos; consequentemente, eles têm um risco maior de câncer de pele.

## A frequência de mutação

A **taxa de mutação** é a probabilidade de um gene sofrer mutação quando a célula se divide. A taxa normalmente é apresentada como uma potência de 10 e, como as mutações são muito raras, o expoente é sempre um número negativo. Por exemplo, se existe uma chance em um milhão de um gene sofrer mutação quando a célula se divide, a taxa de mutação é de  $1/1.000.000$ , a qual é expressa como  $10^{-6}$ . Erros espontâneos na replicação do DNA ocorrem em taxas muito baixas, talvez apenas em um em cada  $10^9$  pares de bases replicados (taxa de mutação de uma em um bilhão). Como um gene médio tem cerca de  $10^3$  pares de bases, a taxa de mutação espontânea é de cerca de uma a cada  $10^6$  (um milhão) genes replicados.

As mutações normalmente ocorrem de modo relativamente aleatório ao longo de um cromossomo. A ocorrência de mutações aleatórias em baixa frequência é um aspecto essencial da adaptação das espécies ao seu ambiente, pois a evolução requer que a diversidade genética seja gerada aleatoriamente e em taxas reduzidas. Por exemplo, em uma população bacteriana de tamanho significativo – digamos, maior que  $10^7$  células – algumas novas células mutantes sempre serão produzidas a cada geração. A maioria das mutações é nociva e suscetível de ser removida do conjunto de genes quando a célula individual morre, ou quando são neutras. Contudo, algumas mutações podem ser benéficas. Por exemplo, uma mutação que confere resistência aos antibióticos é benéfica a uma população de bactérias que seja regularmente exposta a antibióticos. Uma vez que essa característica tenha surgido por mutação, as células que transportam o gene mutado têm uma maior probabilidade de sobreviver e se reproduzir, contanto que o ambiente permaneça o mesmo. Em pouco tempo, a maioria das células na população terá o gene; uma alteração evolutiva terá ocorrido, embora em pequena escala.

Um mutágeno geralmente aumenta a taxa de mutação espontânea, que é de cerca de uma a cada  $10^6$  genes replicados, por um fator de 10 a 1.000 vezes. Em outras palavras, na presença de um mutágeno, a taxa normal de  $10^{-6}$  mutações por gene replicado torna-se uma taxa de  $10^{-5}$  a  $10^{-3}$  por gene replicado. Os mutágenos são usados experimentalmente para aumentar a produção de células mutantes, para a utilização em pesquisas sobre as propriedades genéticas dos microrganismos e para objetivos comerciais.

### TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✔ Como as mutações podem ser reparadas? **8-10**
- ✔ Como os mutágenos afetam a taxa de mutação? **8-11**

## Identificando mutantes

Os mutantes podem ser detectados por seleção ou teste para um fenótipo alterado. Independentemente da utilização de um mutágeno, as células mutantes com mutações específicas sempre serão raras, comparadas a outras células na população. O problema é detectar esse evento raro.

Os experimentos geralmente são realizados com bactérias, pois elas se reproduzem rapidamente; assim, um grande número

de organismos (mais de  $10^9$  por mililitro de caldo nutriente) pode facilmente ser utilizado. Além disso, como as bactérias, em geral, têm apenas uma cópia de cada gene por célula, os efeitos de um gene mutado não são mascarados pela presença de uma versão normal do gene, como em muitos organismos eucarióticos.

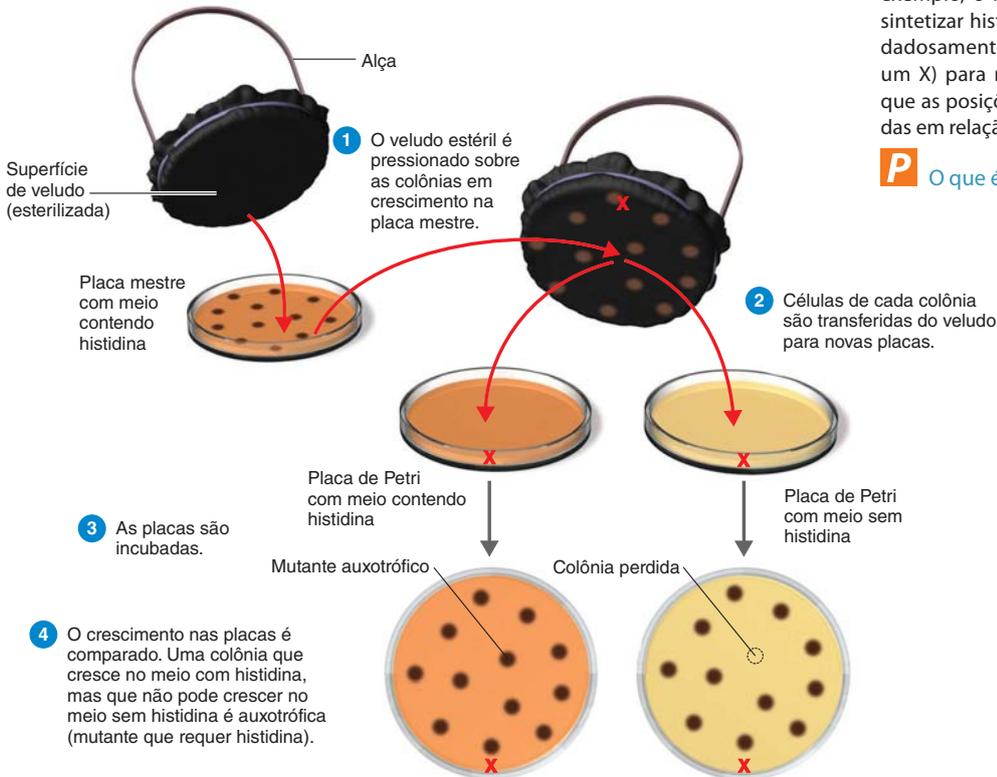
A **seleção positiva (direta)** envolve a detecção das células mutantes pela rejeição das células parentais não mutadas. Por exemplo, suponha que estivéssemos tentando descobrir bactérias mutantes resistentes à penicilina. Quando as células bacterianas são plaqueadas em um meio contendo penicilina, o mutante pode ser identificado diretamente. As poucas células na população que são resistentes (mutantes) crescerão e formarão colônias, ao passo que as células parentais normais, sensíveis à penicilina, não poderão crescer.

Para identificar mutações em outros tipos de genes, a **seleção negativa (indireta)** pode ser usada. Esse processo seleciona uma célula que não pode realizar certa função, utilizando a técnica de **placas em réplica**. Por exemplo, suponha que desejássemos utilizar placas em réplica para identificar uma célula bacteriana que perdeu a capacidade de sintetizar o aminoácido histidina (**Figura 8.22**). Primeiro, cerca de 100 células bacterianas são inoculadas em uma placa de ágar. Essa placa, denominada placa mestre, contém um meio contendo histidina em que todas as células crescerão. Após 18 a 24 horas de incubação, cada célula se reproduz para formar uma colônia. Então, um carimbo de material estéril, como látex, papel filtro ou veludo, é pressionado sobre a placa mestre, e algumas das células de cada colônia aderem-se ao veludo. A seguir, o veludo é pressionado sobre duas (ou mais) placas estéreis. Uma placa contém um meio sem histidina e a outra contém um meio com histidina em que as bactérias originais, não mutantes, podem crescer. Qualquer colônia que crescer no meio com histidina na placa mestre, mas que não puder sintetizar sua própria histidina, não será capaz de crescer no meio sem histidina. A colônia mutante pode, então, ser identificada na placa mestre. É claro que, como os mutantes são muito raros (mesmo aqueles induzidos por mutágenos), muitas placas precisam ser selecionadas com essa técnica para isolar um mutante específico.

A placa em réplica é um meio muito efetivo de isolar mutantes que necessitam de um ou mais fatores novos de crescimento. Qualquer microrganismo mutante com uma necessidade nutricional que esteja ausente no parental é conhecido como **auxotrófico**. Por exemplo, um organismo auxotrófico pode não ter a enzima necessária para sintetizar um aminoácido específico e, portanto, necessita daquele aminoácido como fator de crescimento em seu meio nutriente.

## Identificando carcinógenos químicos

Muitos mutágenos conhecidos foram reconhecidos como carcinógenos, substâncias que causam câncer em animais, incluindo os seres humanos. Nos últimos anos, substâncias químicas no ambiente, no local de trabalho e na dieta foram implicadas como causa de câncer em seres humanos. Procedimentos de experimentação animal são demorados e dispendiosos, assim algumas



**Figura 8.22 Placas em réplica.** Neste exemplo, o mutante auxotrófico não pode sintetizar histidina. As placas devem ser cuidadosamente marcadas (nesta figura, com um X) para manter a orientação, de modo que as posições das colônias sejam conhecidas em relação à placa mestre original.

**P** O que é um auxotrófico?

metodologias mais rápidas e menos onerosas para uma triagem preliminar de potenciais carcinógenos, que não utilizam animais, foram desenvolvidas. Uma dessas, denominada **teste de Ames**, utiliza bactérias como indicadores de carcinógenos.

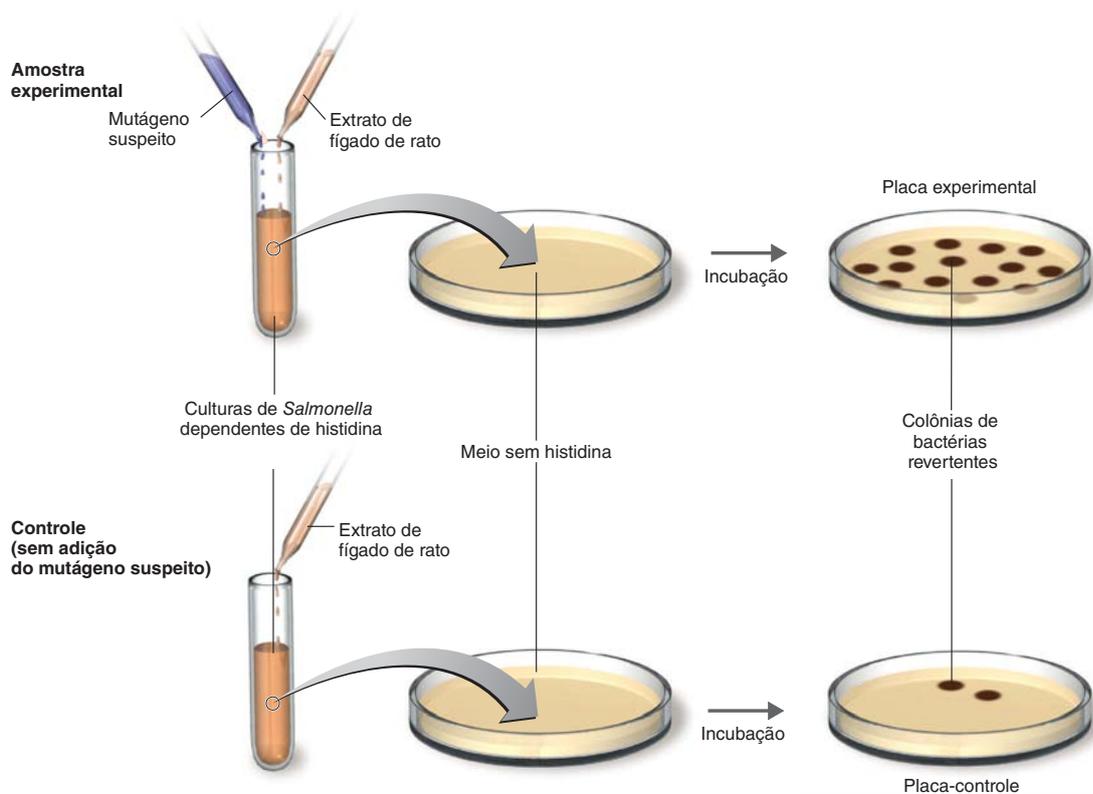
O teste de Ames baseia-se na observação de que a exposição de bactérias mutantes a substâncias mutagênicas pode causar novas mutações que revertem o efeito (a alteração no fenótipo) da mutação original; essas mutações são chamadas de *reversões*. Especificamente, o teste mensura a reversão de auxotróficos para histidina de *Salmonella* (as chamadas células  $his^-$ , mutantes que perderam a capacidade de sintetizar a histidina) em células capazes de sintetizar a histidina ( $his^+$ ) após tratamento com um mutágeno (Figura 8.23). As bactérias são incubadas tanto na presença quanto na ausência da substância a ser testada. Uma vez que as enzimas animais devem ativar muitos químicos em formas que são quimicamente reativas para que a atividade mutagênica ou carcinogênica apareça, a substância química a ser testada e as bactérias mutantes são incubadas junto com extrato de fígado de rato, uma fonte rica em enzimas de ativação. Se a substância a ser testada for mutagênica, ela provocará a reversão das bactérias  $his^-$  em bactérias  $his^+$  em uma taxa maior do que a taxa de reversão espontânea. O número de revertentes observados fornece uma indicação do grau que uma substância é mutagênica e, assim, possivelmente carcinogênica.

## Caso clínico

Nem todas as mutações são hereditárias; algumas são induzidas por genotoxinas, isto é, substâncias químicas que danificam o material genético das células. Marcel não está acima de seu peso, faz questão de passar algum tempo com a família e nunca fumou. Desde a década de 1970, os pesquisadores estão cientes de que pessoas que consomem carne cozida e produtos derivados de carne são mais suscetíveis ao desenvolvimento de câncer de colo. As substâncias químicas suspeitas de causarem câncer são aminas aromáticas, que se formam durante o cozimento a altas temperaturas.

Marcel é proprietário de sua churrascaria em Memphis há mais de 50 anos. Ele é o tipo de empregador que coloca a “mão na massa” e está sempre na cozinha supervisionando o preparo dos pratos. Toda a sua carne de churrasco é submetida ao calor alto e, então, assada a fogo lento durante horas. Marcel é considerado um especialista nessa técnica, mas agora parece que sua profissão está relacionada à sua doença.

**Qual teste pode ser utilizado para determinar se uma substância química é genotóxica?**



- 1 São preparadas duas culturas de bactérias de *Salmonella* que perderam a capacidade de sintetizar histidina (dependentes de histidina).
- 2 O mutágeno suspeito é adicionado somente à amostra experimental; extrato de fígado de rato (um ativador) é adicionado a ambas as amostras.
- 3 Cada amostra é vertida sobre uma placa contendo meio sem histidina. As placas são, então, incubadas a 37°C por 2 dias. Apenas as bactérias cujo fenótipo dependente de histidina sofreu uma reversão para o fenótipo capaz de sintetizar histidina formarão colônias.
- 4 Os números de colônias nas placas experimental e controle são comparados. A placa-controle pode apresentar alguns revertentes espontâneos capazes de sintetizar histidina. As placas testadas apresentarão um aumento no número de revertentes capazes de sintetizar histidina se a substância química testada for, de fato, um mutágeno e potencial carcinógeno. Quanto maior a concentração de mutágeno utilizada, mais colônias revertentes resultarão.

**Figura 8.23** O teste de mutação gênica reversa de Ames.

**P** Todos os mutágenos causam câncer?

O teste pode ser usado de muitas formas. Vários mutágenos potenciais podem ser testados qualitativamente ao se colocar as substâncias químicas individuais em pequenos discos de papel em uma única placa inoculada com bactérias. O teste de Ames é rotineiramente utilizado na avaliação de novas substâncias químicas e de poluentes do ar e da água.

Cerca de 90% das substâncias que tiveram o seu papel mutagênico evidenciado pelos testes de Ames também mostraram ser carcinogênicas em animais. Do mesmo modo, as substâncias mais mutagênicas, de maneira geral, demonstraram-se as mais carcinogênicas.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

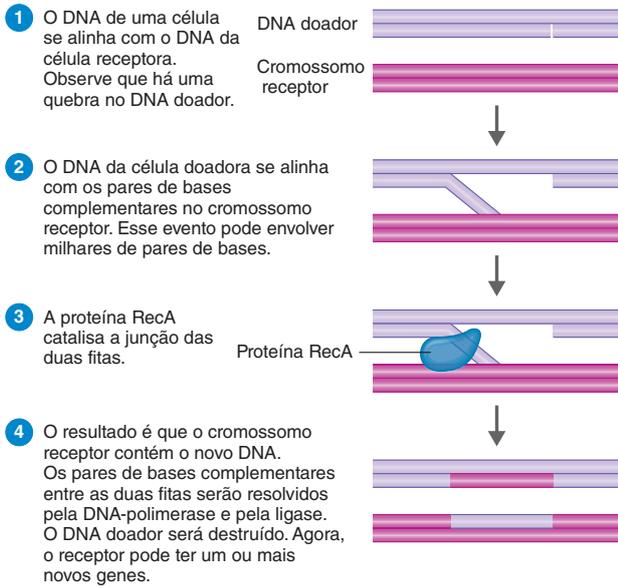
- ✓ Como você isolaria uma bactéria resistente a antibióticos? E uma bactéria sensível a antibióticos? **8-12**
- ✓ Qual o princípio por trás do teste de Ames? **8-13**

## Transferência genética e recombinação

**OBJETIVOS DO APRENDIZADO**

- 8-14** Diferenciar as transferências horizontal e vertical de genes.
- 8-15** Comparar os mecanismos de recombinação genética nas bactérias.
- 8-16** Descrever as funções de plasmídeos e transposons.

A **recombinação genética** refere-se à troca de genes entre duas moléculas de DNA para formar novas combinações de genes em um cromossomo. A **Figura 8.24** mostra um tipo de mecanismo de recombinação genética. Se uma célula capturar DNA exógeno



**Figura 8.24** Recombinação genética por *crossing over*. DNA exógeno pode ser inserido em um cromossomo através da quebra e religamento deste cromossomo. Esse processo pode inserir um ou mais genes no cromossomo. Uma fotografia da proteína RecA é mostrada na Figura 3.11a, página 61.

### **P** Que tipo de enzima quebra o DNA?

(chamado de DNA doador na figura), parte dele pode inserir-se no cromossomo da célula – processo denominado **crossing over** (**entrecruzamento**) – e alguns dos genes carregados pelos cromossomos serão trocados. O DNA se recombinou, então o cromossomo carrega agora uma parte do DNA doador.

Se A e B representam o DNA de indivíduos diferentes, como eles se aproximam um do outro o suficiente para se recombinarem? Em eucariotos, a recombinação genética é um processo ordenado, que normalmente ocorre como parte do ciclo sexuado do organismo. O *crossing over* geralmente ocorre durante a formação das células reprodutivas, de forma que elas contêm DNA recombinante. Em bactérias, a recombinação genética pode ocorrer de diversas formas, discutidas nas próximas seções.

Assim como a mutação, a recombinação genética contribui para a diversidade genética de uma população, que é a fonte da variação evolutiva. Nos organismos altamente evoluídos, como nos micróbios atuais, a recombinação provavelmente é mais benéfica do que a mutação, já que a recombinação apresenta uma menor probabilidade de destruir a função de um gene e pode reunir combinações de genes que permitem ao organismo realizar uma nova função importante.

A principal proteína que constitui os flagelos da *Salmonella* também é uma das proteínas mais importantes que



**ASM:** variações genéticas podem impactar funções microbianas (p. ex., na formação de biofilmes, patogenicidade e resistência a drogas).

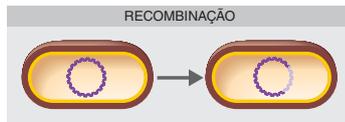
induzem nosso sistema imune a responder. Contudo, essas bactérias têm a capacidade de produzir duas proteínas flagelares diferentes. Como nosso sistema imune monta uma resposta contra as células que contêm uma forma da proteína flagelar, os organismos que produzem a segunda forma não são afetados. O tipo de proteína flagelar produzido é determinado por um evento de recombinação que, aparentemente, ocorre de modo um tanto aleatório no DNA cromossômico. Portanto, ao alterar a proteína flagelar produzida, a *Salmonella* pode evitar as defesas do hospedeiro.

A **transferência vertical de genes** ocorre quando os genes são passados de um organismo para seus descendentes. As plantas e os animais transmitem seus genes por essa forma de transmissão. As bactérias podem passar seus genes não somente para seus descendentes, mas também lateralmente, para outros micróbios da mesma geração. Esse fenômeno é conhecido como **transferência horizontal de genes** (ver Figura 8.2). A transferência horizontal de genes entre bactérias ocorre de diversas formas. Em todos os mecanismos, a transferência envolve uma **célula doadora**, que doa parte de seu DNA total a uma **célula receptora**. Uma vez transferida, parte do DNA do doador geralmente é incorporada ao DNA do receptor; o restante é degradado por enzimas celulares. A célula receptora que incorpora o DNA doador em seu próprio DNA é denominada *recombinante*. A transferência de material genético entre as bactérias não é um evento frequente, podendo ocorrer em apenas 1% ou menos de toda uma população. Examinaremos em detalhes os tipos específicos de transferência genética.

## Transformação em bactérias

Durante o processo de **transformação**, os genes são transferidos de uma bactéria para outra como DNA “nu” em solução. Esse processo foi demonstrado pela primeira vez há mais de 70 anos, embora não tenha sido compreendido na ocasião. Não somente a transformação mostrou que o material genético poderia ser transferido de uma célula bacteriana para outra, mas o estudo desse fenômeno acabou levando à conclusão de que o DNA é o material genético. O experimento inicial sobre a transformação foi realizado em 1928 por Frederick Griffith, na Inglaterra, trabalhando com duas linhagens de *Streptococcus pneumoniae*. Uma delas, uma linhagem virulenta, tem uma cápsula polissacarídica que previne a fagocitose. A bactéria cresce e causa pneumonia. A outra, uma linhagem avirulenta, não tem a cápsula e não causa doença.

Griffith estava interessado em determinar se injeções de bactérias mortas pelo calor da linhagem encapsulada poderiam ser utilizadas para vacinar camundongos contra pneumonia. Como ele esperava, as injeções de bactérias encapsuladas vivas mataram os camundongos (**Figura 8.25a**); as injeções de bactérias não encapsuladas vivas (**Figura 8.25b**) ou de bactérias encapsuladas mortas (**Figura 8.25c**) não mataram os camundongos. Entretanto, quando as bactérias encapsuladas mortas foram misturadas a bactérias não encapsuladas vivas, e a mistura foi injetada nos camundongos, muitos deles morreram. No sangue dos camundongos mortos, Griffith encontrou bactérias encapsuladas vivas. O material hereditário (genes) das bactérias mortas



- 1 Bactérias encapsuladas vivas foram injetadas em um camundongo.



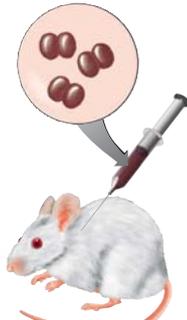
- 2 O camundongo morreu.



- 3 Colônias de bactérias encapsuladas foram isoladas do camundongo morto.

(a)

- 1 Bactérias não encapsuladas vivas foram injetadas em um camundongo.



- 2 O camundongo permaneceu saudável.



- 3 Algumas colônias de bactérias não encapsuladas foram isoladas do camundongo; fagócitos destruíram as bactérias não encapsuladas.

(b)

- 1 Bactérias encapsuladas mortas pelo calor foram injetadas em um camundongo.



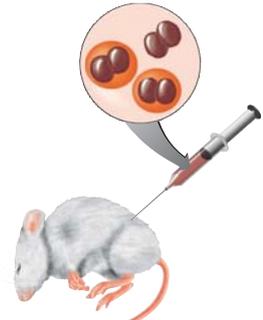
- 2 O camundongo permaneceu saudável.



- 3 Nenhuma colônia foi isolada do camundongo.

(c)

- 1 Bactérias não encapsuladas vivas e bactérias encapsuladas mortas pelo calor foram injetadas em um camundongo.



- 2 O camundongo morreu.



- 3 Colônias de bactérias encapsuladas foram isoladas do camundongo morto.

(d)

**Figura 8.25** Experimento de Griffith demonstrando uma transformação genética.

(a) Bactérias encapsuladas vivas causaram doença e morte quando injetadas em um camundongo.

(b) Bactérias não encapsuladas vivas são rapidamente destruídas pelas defesas fagocíticas do hospedeiro; assim, o camundongo permaneceu saudável após a injeção.

(c) Após serem mortas pelo calor, as bactérias encapsuladas perderam a capacidade de causar doença.

(d) Contudo, a combinação de bactérias não encapsuladas vivas e bactérias encapsuladas mortas pelo calor (nenhuma delas, isoladamente, causa doença) causou doença. De alguma forma, as bactérias não encapsuladas vivas foram transformadas pelas bactérias encapsuladas mortas, de modo que elas adquiriram a capacidade de formar uma cápsula e, portanto, provocar doença. Experimentos subsequentes provaram que o fator de transformação era o DNA.

**P** Por que as bactérias encapsuladas mataram o camundongo, ao passo que as bactérias não encapsuladas não o fizeram? O que provocou a morte do camundongo em (d)?

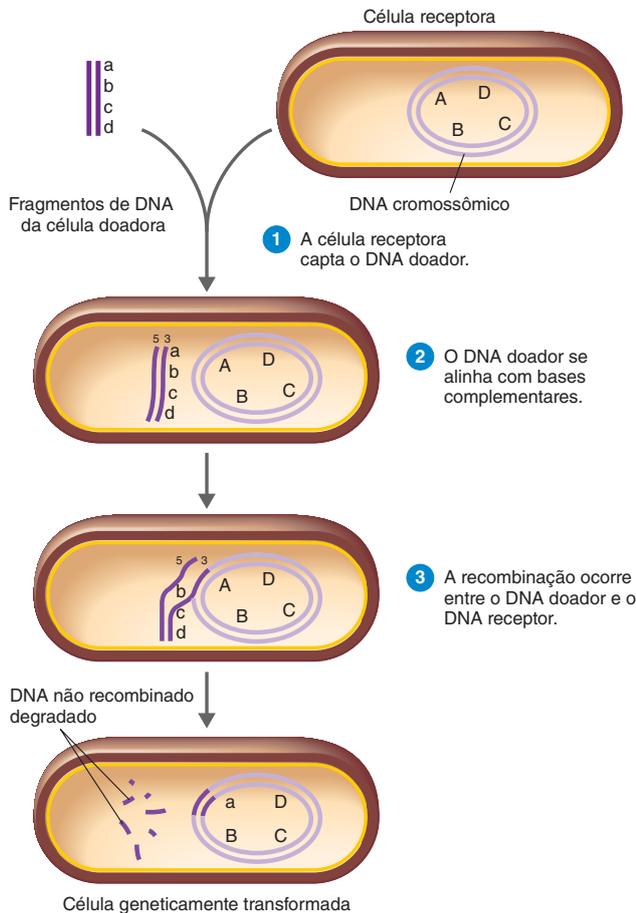
havia entrado nas células vivas, modificando-as geneticamente, de modo que sua progênie se apresentava encapsulada e, portanto, era virulenta (Figura 8.25d).

Investigações posteriores, com base na pesquisa de Griffith, revelaram que a transformação bacteriana poderia ser realizada sem os camundongos. Um caldo foi inoculado com bactérias não encapsuladas vivas. Bactérias encapsuladas mortas foram, então, adicionadas ao caldo. Após a incubação, descobriu-se que a cultura continha bactérias vivas que eram encapsuladas e virulentas. As bactérias não encapsuladas foram transformadas; elas adquiriram uma nova característica hereditária incorporando genes das bactérias encapsuladas mortas.

O próximo passo foi extrair vários componentes químicos das células mortas, para determinar qual componente causou a transformação. Esses experimentos cruciais foram realizados nos Estados Unidos por Oswald T. Avery e colaboradores, Colin M.

MacLeod e Maclyn McCarty. Após anos de pesquisa, eles anunciaram, em 1944, que o componente responsável pela transformação do *S. pneumoniae* inofensivo em linhagens virulentas era o DNA. Seus resultados forneceram uma das indicações conclusivas de que o DNA, realmente, é o carreador da informação genética.

Desde a época do experimento de Griffith, informações consideráveis foram reunidas sobre a transformação. Na natureza, algumas bactérias, talvez após morte e lise celular, liberam seu DNA no ambiente. Então, outras bactérias podem encontrar o DNA e, dependendo da espécie em particular e das condições de crescimento, captar fragmentos do DNA e integrá-los em seus próprios cromossomos por recombinação. Uma proteína, denominada RecA (ver Figura 3.11a, p. 61), liga-se ao DNA celular e, então, ao DNA doador, causando a troca de fitas. Uma célula receptora com essa nova combinação de genes é um tipo de híbrido, ou célula recombinante (Figura 8.26). Todos os descendentes



**Figura 8.26 O mecanismo de transformação genética em bactérias.** Alguma similaridade é necessária para que o DNA doador e o DNA receptor se alinhem. Os genes *a*, *b*, *c* e *d* podem ser mutações dos genes *A*, *B*, *C* e *D*.

### **P** Que tipo de enzima cliva o DNA doador?

dessa célula recombinante serão idênticos a ela. A transformação ocorre naturalmente entre poucos gêneros de bactérias, incluindo *Bacillus*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Acinetobacter* e determina as linhagens dos gêneros *Streptococcus* e *Staphylococcus*.

Mesmo que só uma pequena porção do DNA de uma célula seja transferida ao receptor, a molécula que deve atravessar a parede e a membrana celular do receptor ainda é muito grande. Quando uma célula receptora se encontra em um estado fisiológico em que pode captar o DNA doador, é descrita como competente. A **competência** resulta de alterações na parede celular que a tornam permeável a moléculas grandes de DNA.

## Conjugação em bactérias

Outro mecanismo pelo qual o material genético é transferido de uma bactéria para outra é denominado **conjugação**. A conjugação é mediada por um tipo de *plasmídeo*, um fragmento

circular de DNA que se replica de modo independente do cromossomo da célula (discutido na p. 230). Entretanto, os plasmídeos diferem dos cromossomos bacterianos, pois os genes que eles transportam normalmente não são essenciais para o crescimento da célula sob condições normais. Os plasmídeos responsáveis pela conjugação são transmissíveis entre as células durante a conjugação.

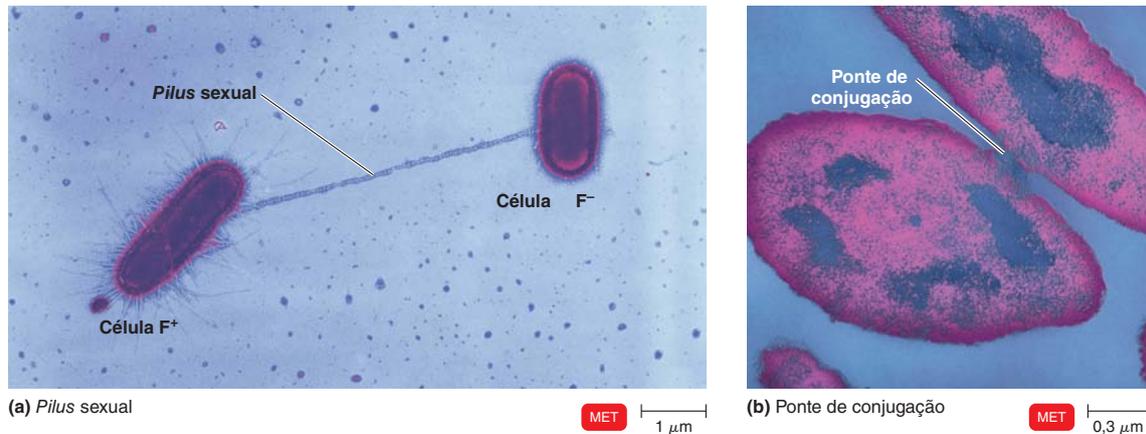
A conjugação difere da transformação em dois aspectos principais. Primeiro, a conjugação requer o contato direto célula a célula. Segundo, as células em conjugação geralmente devem ser de tipos opostos de acasalamento; as células doadoras devem transportar o plasmídeo, e as células receptoras normalmente não. Em bactérias gram-negativas, o plasmídeo transporta genes que codificam a síntese de *pili sexuais*, projeções da superfície da célula doadora que entram em contato com a receptora e auxiliam a unir as duas células em contato direto (Figura 8.27a). As células bacterianas gram-positivas produzem moléculas aderentes de superfície que fazem as células entrarem em contato direto umas com as outras. No processo de conjugação, o plasmídeo é replicado durante a transferência de uma cópia do filamento simples do DNA plasmidial para o receptor, onde o filamento complementar é sintetizado (Figura 8.27b).

## Resolução do caso clínico

O teste de Ames permite uma triagem rápida da genotoxicidade das substâncias químicas. As bactérias *Salmonella* mutantes *his<sup>-</sup>*, utilizadas no teste de Ames, foram estriadas sobre placas de ágar glicose e sais mínimos. Um disco de papel saturado com 2-aminofluoreno (2-AF), uma amina aromática, é colocado na cultura. Por exemplo, a figura mostra que a reversão da mutação *his<sup>-</sup>* permitiu o crescimento das *Salmonella*. Isso indica que a substância química é mutagênica e, portanto, potencialmente carcinogênica. Existem estudos indicando que o 2-AF atestado por enzimas é mais prejudicial do que o 2-AF isoladamente, sugerindo que a interação entre dieta e microbiota intestinal é mais provável de causar câncer do que apenas a dieta. Variações na dieta produzem poucas alterações em relação aos tipos de bactérias no intestino, porém induzem mudanças drásticas na atividade metabólica dessas bactérias. A detecção de pólipos colorretais serrilhados por meio do teste de DNA de fezes de Marcel possibilitou um diagnóstico precoce do câncer colorretal. Os pólipos ofensivos foram encontrados e removidos, e Marcel foi submetido a uma quimioterapia para a eliminação de qualquer célula cancerosa remanescente em seu colo.



zudem mudanças drásticas na atividade metabólica dessas bactérias. A detecção de pólipos colorretais serrilhados por meio do teste de DNA de fezes de Marcel possibilitou um diagnóstico precoce do câncer colorretal. Os pólipos ofensivos foram encontrados e removidos, e Marcel foi submetido a uma quimioterapia para a eliminação de qualquer célula cancerosa remanescente em seu colo.



**Figura 8.27** Conjugação bacteriana.

**P** O que é uma célula  $F^+$ ?

Como a maioria dos trabalhos experimentais sobre conjugação foi realizada em *E. coli*, descreveremos o processo neste organismo. Na *E. coli*, o **fator F (fator de fertilidade)** foi o primeiro plasmídeo observado a ser transferido entre as células durante a conjugação. Doadoras carregando fatores F (células  $F^+$ ) transferem o plasmídeo a receptoras (células  $F^-$ ), que, como resultado, tornam-se células  $F^+$  (Figura 8.28a). Em algumas células transportando fatores F, o fator se integra ao cromossomo, convertendo a célula  $F^+$  em uma **célula Hfr** (alta frequência de recombinação, de *high frequency of recombination*) (Figura 8.28b). Quando a conjugação ocorre entre uma célula Hfr e uma célula  $F^-$ , o cromossomo da célula Hfr (com seu fator F integrado) se replica e uma fita parental do cromossomo é transferida para a célula receptora (Figura 8.28c). A replicação do cromossomo Hfr se inicia no meio do fator F integrado, e um pequeno fragmento do fator F conduz os genes cromossômicos para a célula  $F^-$ . Normalmente, o cromossomo se rompe antes de ser transferido por completo. Uma vez dentro da célula receptora, o DNA doador pode se recombinar com o DNA receptor. (O DNA doador que não estiver integrado será degradado.) Portanto, pela conjugação com uma célula Hfr, uma célula  $F^-$  pode adquirir novas versões de genes cromossômicos (assim como na transformação). Contudo, ela permanece uma célula  $F^-$ , uma vez que não recebeu um fator F completo durante a conjugação.

A conjugação é utilizada para mapear a localização de genes em um cromossomo bacteriano (Figura 8.29). Os genes para a síntese de treonina (*tre*) e leucina (*leu*) são os primeiros no sentido horário a partir do 0. Suas localizações foram determinadas por experimentos de conjugação. Suponha que uma conjugação é permitida por somente 1 minuto entre uma linhagem Hfr, que é  $his^+$ ,  $pro^+$ ,  $tre^+$  e  $leu^+$ , e uma linhagem  $F^-$ , que é  $his^-$ ,  $pro^-$ ,  $tre^-$  e  $leu^-$ . Se  $F^-$  adquirir a capacidade de sintetizar a treonina, então o gene *tre* está localizado no início do cromossomo, entre 0 e 1 minuto. Se após 2 minutos a célula  $F^-$  se tornar  $tre^+$  e  $leu^+$ , a ordem desses dois genes no cromossomo deve ser *tre*, *leu*.

## Transdução em bactérias

Um terceiro mecanismo de transferência genética entre bactérias é a **transdução**. Nesse processo, o DNA bacteriano é transferido de uma célula doadora a uma célula receptora dentro de um vírus que infecta bactérias, denominado **bacteriófago**, ou **fago**. (Os fagos serão discutidos posteriormente, no Capítulo 13.)

Para compreender como a transdução funciona, consideremos o ciclo de vida de um tipo de fago transdutor de *E. coli*; esse fago realiza uma **transdução generalizada** (Figura 8.30).

Durante a reprodução dos fagos, o DNA fágico e as proteínas são sintetizados pela célula bacteriana hospedeira. O DNA do fago deve ser empacotado dentro do capsídeo proteico que o recobre. Entretanto, o DNA bacteriano, o DNA plasmidial ou até mesmo o DNA de outro vírus podem ser empacotados dentro de um capsídeo proteico fágico.

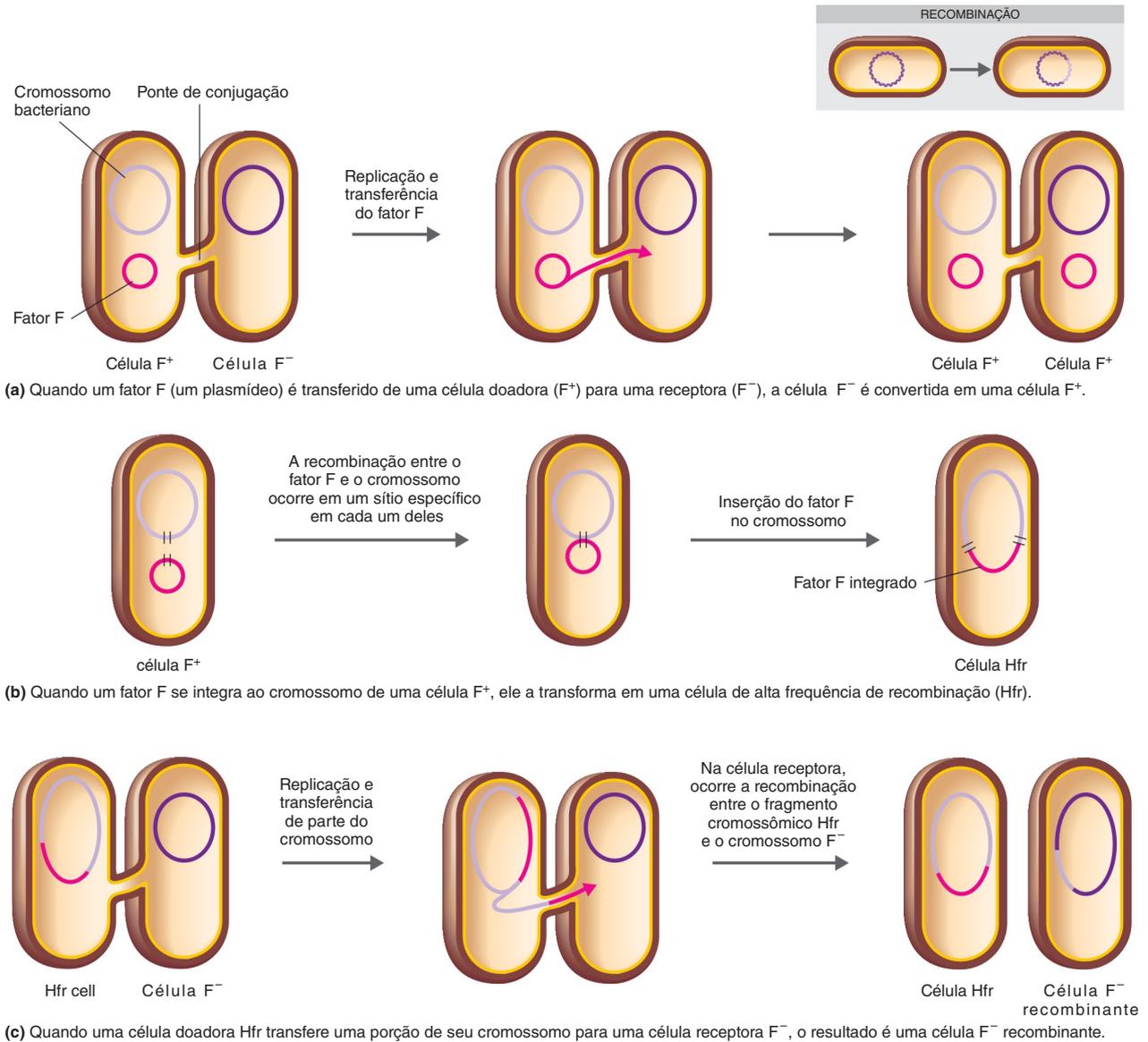
Todos os genes contidos dentro de uma bactéria infectada por um fago transdutor generalizado têm probabilidades iguais de serem empacotados em um revestimento de fago e transferidos. Em outro tipo de transdução, chamado de **transdução especializada**, apenas determinados genes bacterianos são transferidos (ver p. 372). Em um tipo de transdução especializada, o fago codifica determinadas toxinas produzidas por seus hospedeiros bacterianos, como a toxina diftérica para *Corynebacterium diphtheriae* e a toxina eritrogênica para *Streptococcus pyogenes*, e a toxina Shiga para *E. coli* O157:H7.

### TESTE SEU CONHECIMENTO

- ✓ Diferencie as transferências vertical e horizontal de genes. **8-14**
- ✓ Compare a conjugação entre os seguintes pares:  $F^+ \times F^-$ ,  $Hfr \times F^-$ . **8-15**

## Plasmídeos e transposons

Os plasmídeos e os transposons são elementos genéticos que fornecem mecanismos adicionais para a modificação genética. Eles ocorrem nos organismos procarióticos e eucarióticos, mas



**Figura 8.28** Conjugação em *E. coli*.

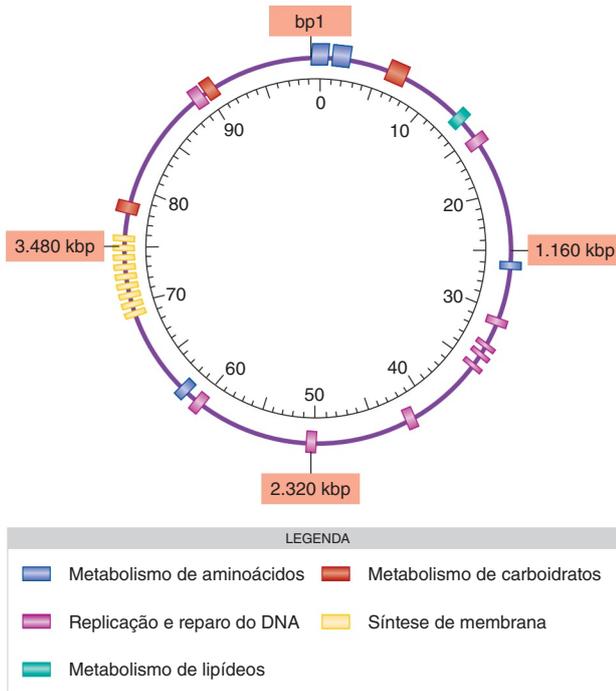
**P** As bactérias se reproduzem durante a conjugação?

a presente discussão será centrada em seu papel na alteração genética em procaríotos.

**Plasmídeos**

Lembre-se, do Capítulo 4 (p. 90), que os plasmídeos são fragmentos de DNA circulares, autorreplicativos, que contêm genes e cerca de 1 a 5% do tamanho do cromossomo bacteriano (Figura 8.31a). Eles são encontrados principalmente em bactérias, mas também em alguns microrganismos eucarióticos, como *Saccharomyces cerevisiae*. O fator F é um **plasmídeo conjugativo** que transporta os genes para os *pili* sexuais e para a transferência do plasmídeo para outra célula. Embora os plasmídeos geralmente sejam dispensáveis, em certas condições os genes transportados pelos plas-

mídeos podem ser cruciais para a sobrevivência e o crescimento da célula. Por exemplo, os **plasmídeos de dissimilação** codificam enzimas que ativam o catabolismo de certos açúcares e hidrocarbonetos incomuns. Algumas espécies de *Pseudomonas* podem utilizar substâncias exóticas, como o tolueno, a cânfora e os hidrocarbonetos do petróleo, como fontes principais de carbono e energia, pois possuem enzimas catabólicas codificadas por genes transportados em plasmídeos. Essas capacidades especializadas permitem a sobrevivência dos microrganismos em ambientes muito diversos e desafiadores. Devido à sua capacidade de degradar e detoxificar uma variedade de compostos incomuns, muitos deles estão sendo estudados para um possível uso na limpeza de resíduos ambientais. (Ver quadro Aplicações, no Capítulo 2, p. 31.)



**Figura 8.29 Mapa genético do cromossomo de *E. coli*.** Este mapa é construído pela observação de células recombinantes após conjugação. Os números dentro do círculo indicam o número de minutos necessários para a transferência dos genes durante o acasalamento entre duas células; os números nos quadros coloridos indicam o número de pares de bases. 1 kpb = 1.000 pares de bases.

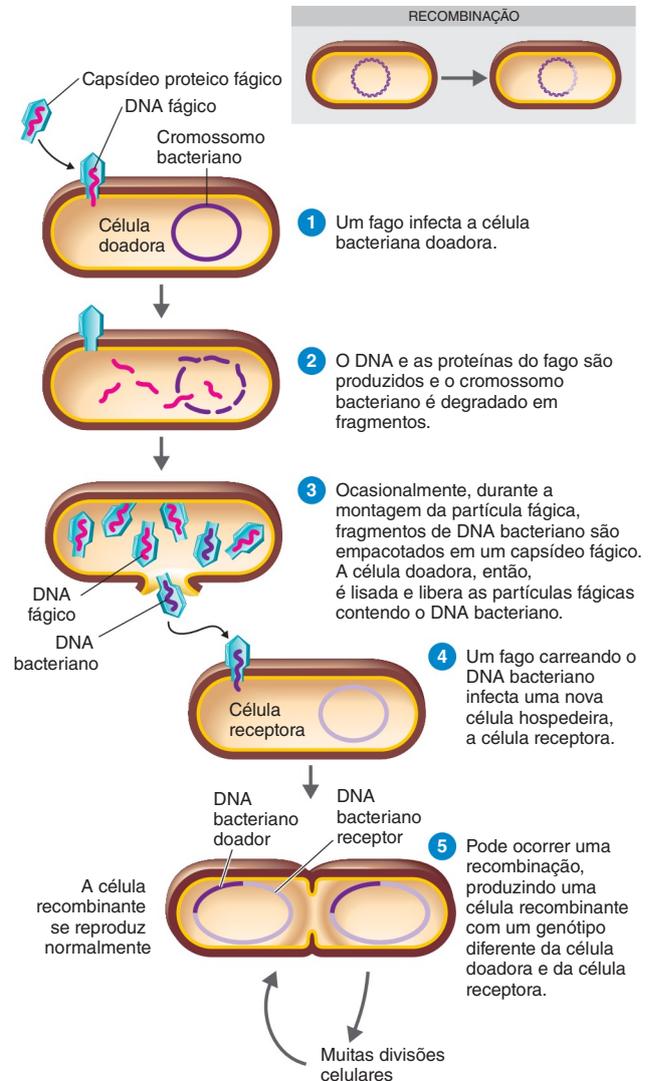
**P** Quantos minutos de conjugação seriam necessários para a transferência dos genes para a síntese de membrana localizados neste cromossomo?

Outros plasmídeos codificam proteínas que aumentam a patogenicidade de uma bactéria. A linhagem de *E. coli*, que causa a diarreia infantil e a diarreia do viajante, transporta plasmídeos que codificam a produção de toxinas e permitem a fixação bacteriana às células intestinais. Sem esses plasmídeos, a *E. coli* é um residente inofensivo do intestino grosso; com eles, é patogênica. Outras toxinas codificadas por plasmídeos incluem a toxina esfoliativa do *Staphylococcus aureus*, a neurotoxina do *Clostridium tetani* e as toxinas do *Bacillus anthracis*. Outros plasmídeos contêm genes para a síntese de **bacteriocinas**, proteínas tóxicas que destroem outras bactérias. Esses plasmídeos foram encontrados em muitos gêneros bacterianos, sendo marcadores úteis para a identificação de certas bactérias em laboratórios clínicos.

Os **fatores R (fatores de resistência)** são plasmídeos com significativa importância médica. Foram descobertos no Japão, no final da década de 50, após várias epidemias de disenteria. Em algumas dessas epidemias, o agente infeccioso era resistente ao antibiótico usual. Após o isolamento, descobriu-se também que o patógeno era resistente a uma série de antibióticos diferentes. Além disso, outras bactérias normais dos pacientes (como a *E. coli*) também demonstraram ser resistentes. Os pes-

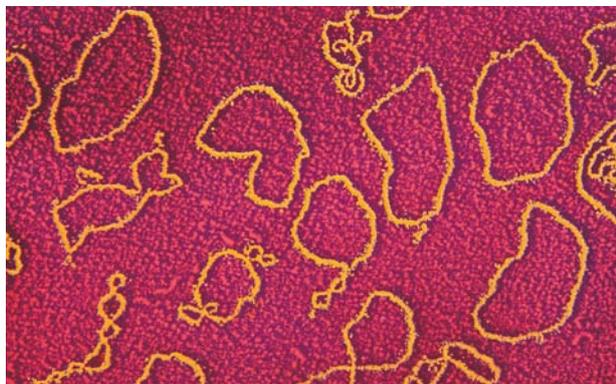
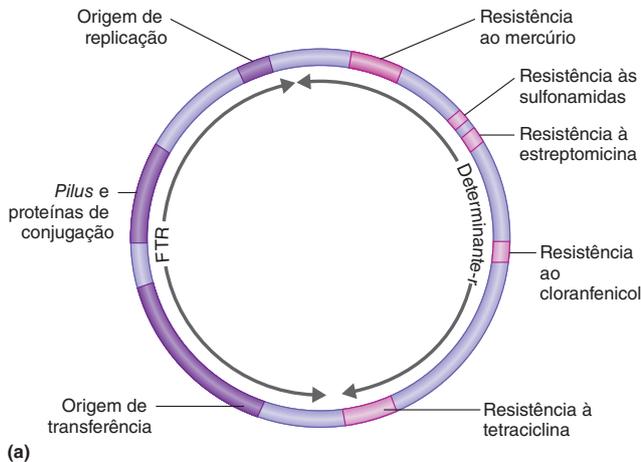
quisadores logo descobriram que essas bactérias adquiriram resistência por meio da disseminação de genes de um organismo para outro. Os plasmídeos que mediam essa transferência são os fatores R.

Os fatores R transportam genes que conferem à célula hospedeira resistência a antibióticos, metais pesados ou toxinas celulares. Muitos fatores R contêm dois grupos de genes. Um grupo é denominado **fator de transferência de resistência (FTR)** e inclui genes para replicação do plasmídeo e conjugação. O outro grupo, o **determinante r**, inclui os genes de resistência; ele codifica a produção de enzimas que inativam determinados fármacos ou substâncias tóxicas (Figura 8.31a). Diferentes fatores R, quando presentes na mesma célula, podem se recombinar para



**Figura 8.30 Transdução por um bacteriófago.** Aqui é apresentada uma transdução generalizada, na qual qualquer DNA bacteriano pode ser transferido de uma célula para outra.

**P** Como a bactéria *E. coli* poderia adquirir o gene da toxina Shiga?



(b) MEV 20 nm

**Figura 8.31 Fator R, um tipo de plasmídeo.** (a) Um diagrama de um fator R, o qual apresenta duas partes: o FTR contém genes necessários para a replicação do plasmídeo e sua transferência por conjugação, e o determinante r carrega genes de resistência a quatro antibióticos diferentes e para o mercúrio; os números são pares de bases  $\times 1.000$ . (b) Plasmídeos de bactérias *E. coli*.

**P** Por que os fatores R são importantes no tratamento de doenças infecciosas?

produzir fatores R com novas combinações de genes em seus determinantes r.

Em alguns casos, o acúmulo de genes de resistência dentro de um único plasmídeo, é notável. Por exemplo, a Figura 8.31a mostra um mapa genético do plasmídeo de resistência R100. Nesse plasmídeo, são carregados genes de resistência para sulfonamidas, estreptomicina, cloranfenicol e tetraciclina, bem como genes para a resistência ao mercúrio. Esse plasmídeo, em particular, pode ser transferido entre uma série de gêneros entéricos, incluindo *Escherichia*, *Klebsiella* e *Salmonella*.

Os fatores R representam problemas bastante críticos no tratamento de doenças infecciosas com antibióticos. O uso disseminado de antibióticos na medicina e na agricultura (ver quadro no Capítulo 20, p. 573) levou à sobrevivência preferencial (seleção) de bactérias com fatores R; assim, as populações de bactérias resistentes crescem cada vez mais. A transferência de resistência entre as células bacterianas de uma população, e até mesmo entre as bactérias de diferentes gêneros, também contribui para o problema. A capacidade de se reproduzir sexuadamente com membros de sua própria espécie define uma espécie eucariótica. Contudo, uma espécie bacteriana pode conjugar e transferir plasmídeos para outras espécies. *Neisseria* pode ter adquirido seu plasmídeo produtor de penicilinase de *Streptococcus*, e *Agrobacterium* pode transferir plasmídeos para células vegetais (ver Figura 9.20, p. 257). Plasmídeos não conjugativos podem ser transferidos de uma célula para outra ao se introduzirem em um plasmídeo conjugativo ou em um cromossomo, ou por transformação quando são liberados de uma célula morta. A inserção é possível devido a uma sequência de inserção, que será discutida em breve.

Os plasmídeos são uma ferramenta importante na engenharia genética, discutida no Capítulo 9 (pp. 242-243).

### Transposons

Os **transposons** são pequenos segmentos de DNA que podem se mover (ser “transpostos”) de uma região de uma molécula de DNA para outra. Esses fragmentos de DNA têm de 700 a 40 mil pares de bases de comprimento.

Na década de 1950, a geneticista estadunidense Barbara McClintock descobriu transposons no milho, porém, eles ocorrem em todos os organismos e têm sido estudados mais cuidadosamente em microrganismos. Eles podem se mover de um local para outro no mesmo cromossomo, ou para outro cromossomo ou plasmídeo. Como você pode imaginar, o movimento frequente dos transposons pode ter um efeito devastador dentro de uma célula. Por exemplo, à medida que os transposons se movem nos cromossomos, eles podem se inserir *dentro* dos genes, tornando-os inativos. Felizmente, a ocorrência da transposição é relativamente rara. A frequência da transposição é comparável à taxa de mutação espontânea que ocorre nas bactérias – isto é, de  $10^{-5}$  a  $10^{-7}$  por geração.

Todos os transposons contêm a informação para sua própria transposição. Como mostrado na **Figura 8.32a**, os transposons mais simples, também denominados **sequências de inserção (SI)**, contêm somente um gene que codifica uma enzima (*transposase*, que catalisa a clivagem e a remontagem do DNA que ocorrem na transposição) e sítios de reconhecimento. Os *sítios de reconhecimento* são sequências curtas do DNA repetidas e invertidas, que a enzima reconhece como sítios de recombinação entre o transposon e o cromossomo.

Os transposons complexos também transportam outros genes não conectados ao processo de transposição. Por exemplo,

os transposons bacterianos podem conter genes para enterotoxinas ou para a resistência a antibióticos (Figura 8.32b). Plasmídeos, como os fatores R, frequentemente são compostos de um conjunto de transposons (Figura 8.32c).

Os transposons com genes de resistência a antibióticos são de interesse prático, mas não existe limitação nos tipos de genes que os transposons podem ter. Portanto, os transposons fornecem um mecanismo natural para o movimento de genes de um cromossomo para outro. Além disso, como podem ser transportados entre células em plasmídeos ou vírus, eles também podem se disseminar de um organismo para outro ou até mesmo de uma espécie para outra. Por exemplo, a resistência à vancomicina foi transferida de *Enterococcus faecalis* para *Staphylococcus aureus* através de um transposon denominado Tn1546. Os transposons são, então, mediadores potencialmente poderosos na evolução dos organismos.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

✓ Quais tipos de genes os plasmídeos carregam? **8-16**

**Genes e evolução**

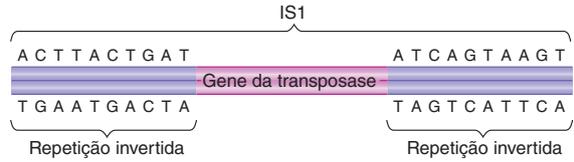
**OBJETIVO DO APRENDIZADO**

**8-17** Discutir como a mutação genética e a recombinação fornecem material para a ocorrência da seleção natural.

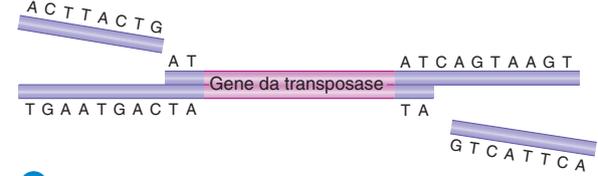
Vimos como a atividade dos genes pode ser controlada pelos mecanismos reguladores internos das células e como os genes em si podem ser alterados ou redistribuídos por mutação, transposição e recombinação. Todos esses processos fornecem diversidade aos descendentes das células. A diversidade fornece o material bruto para a evolução, e a seleção natural fornece a sua força motriz. A seleção natural atuará em diversas populações para assegurar a sobrevivência dos indivíduos aptos àquele ambiente específico. Os diferentes tipos de microrganismos que existem hoje são o resultado de uma longa história de evolução. Os microrganismos têm continuamente sido modificados devido a alterações em suas propriedades genéticas e à aquisição de adaptações a muitos habitats diferentes. Veja, no quadro sobre resistência a antibióticos, no Capítulo 26, página 573, um exemplo de seleção natural.

**TESTE SEU CONHECIMENTO**

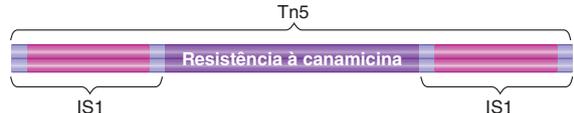
✓ A seleção natural significa que o ambiente favorece a sobrevivência de alguns genótipos. De onde vem a diversidade nos genótipos? **8-17**



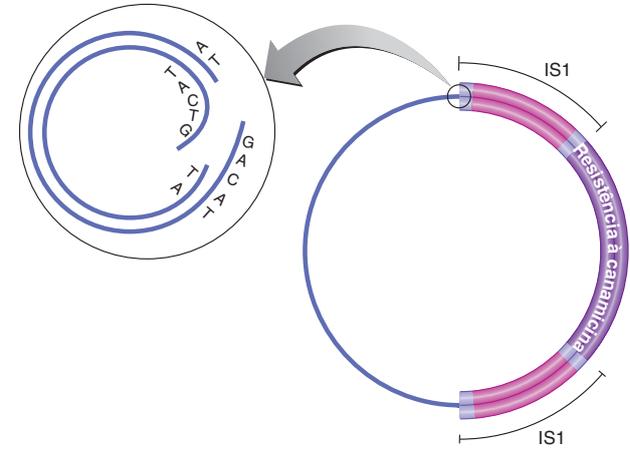
(a) Uma sequência de inserção (SI), o transposon mais simples, contém um gene para a transposase, a enzima que catalisa a transposição. O gene da transposase está ligado em cada extremidade a sequências de repetição invertidas (RI) que atuam como sítios de reconhecimento para o transposon. A SI1 é um exemplo de uma sequência de inserção, mostrada aqui com sequências RI simplificadas.



1 A transposase cliva o DNA, produzindo extremidades coesivas.



(b) Os transposons complexos carregam outros materiais genéticos além do gene da transposase. O exemplo mostrado aqui, o Tn5, carrega o gene de resistência à canamicina e possui cópias completas da sequência de inserção SI1 em cada extremidade.



2 As extremidades coesivas do transposon e o DNA-alvo se anelam.

(c) Inserção do transposon Tn5 no plasmídeo R100.

**Figura 8.32 Transposons e inserção.**

**P** Por que os transposons muitas vezes são chamados de “genes saltadores”?

## Resumo para estudo

### Estrutura e função do material genético (pp. 204-214)

1. Genética é o estudo do que são os genes, como eles transportam informação, como sua informação é expressa e como eles são replicados e passados às gerações seguintes ou a outros organismos.
2. O DNA nas células existe como hélice de dupla-fita; as duas fitas são mantidas unidas por ligações de hidrogênio entre pares de bases nitrogenadas específicas: AT e CG.
3. Um gene é um segmento de DNA, uma sequência de nucleotídeos, que codifica um produto funcional, geralmente uma proteína.
4. O DNA em uma célula é duplicado antes que a célula se divida; então, cada célula-filha receberá a mesma informação genética.

### Genótipo e fenótipo (p. 204)

5. O genótipo é a composição genética de um organismo, seu complemento integral de DNA.
6. O fenótipo é a expressão dos genes: as proteínas da célula e as propriedades que elas conferem ao organismo.

### DNA e cromossomos (pp. 204-205)

7. O DNA em um cromossomo existe como uma longa dupla-hélice, associada a várias proteínas que regulam a atividade genética.
8. Genômica é a caracterização molecular dos genomas.

### O fluxo da informação genética (p. 205)

9. Após a divisão celular, cada célula-filha recebe um cromossomo que é virtualmente idêntico ao parental.
10. A informação contida no DNA é transcrita em RNA e traduzida em proteínas.

### Replicação do DNA (pp. 205-209)

11. Durante a replicação do DNA, as duas fitas da dupla-hélice se separam na forquilha de replicação, e cada fita é usada como um molde pelas DNA-polimerases para sintetizar duas fitas novas de DNA, de acordo com as regras do pareamento de bases complementares.
12. O resultado da replicação do DNA é a produção de duas fitas novas de DNA, cada qual apresentando uma sequência de bases complementar a uma das fitas originais.
13. Como cada molécula de DNA de dupla-fita contém uma fita original e uma fita nova, o processo de replicação é denominado semiconservativo.
14. O DNA é sintetizado em uma direção designada 5' → 3'. Na forquilha de replicação, a fita-líder é sintetizada continuamente, e a fita atrasada, descontinuamente.
15. A DNA-polimerase verifica as novas moléculas de DNA e remove as bases pareadas incorretamente antes de continuar a síntese do DNA.

### RNA e síntese proteica (pp. 209-214)

16. Durante a transcrição, a enzima RNA-polimerase sintetiza uma fita de RNA a partir de uma das fitas do DNA de dupla-fita, que serve como molde.
17. O RNA é sintetizado a partir de nucleotídeos contendo as bases A, C, G e U, que se pareiam com as bases da fita de DNA a ser transcrita.
18. A RNA-polimerase liga-se ao promotor; a transcrição se inicia no sítio AUG; a região do DNA que determina o término da transcrição é chamada de sítio de terminação; o RNA é sintetizado na direção 5' → 3'.

19. Tradução é o processo no qual a informação contida na sequência de bases de nucleotídeos do mRNA é utilizada para ditar a sequência de aminoácidos de uma proteína.
20. O mRNA se associa aos ribossomos, que consistem em rRNA e proteína.
21. Os segmentos de três bases do mRNA que especificam os aminoácidos são denominados códons.
22. O código genético refere-se às relações entre a sequência de bases nucleotídicas do DNA, os códons correspondentes do mRNA e os aminoácidos que os códons codificam.
23. Aminoácidos específicos encontram-se aderidos a moléculas de tRNA. Outra porção do tRNA tem um grupo de três bases, denominado anticódon.
24. O pareamento de bases dos códons e anticódon no ribossomo resulta na captação de aminoácidos específicos para o local da síntese proteica.
25. O ribossomo move-se ao longo da fita de mRNA à medida que os aminoácidos se associam, formando um polipeptídeo em crescimento; o mRNA é lido na direção 5' → 3'.
26. A tradução termina quando o ribossomo atinge um códon de término (*stop codon*) no mRNA.

### A regulação da expressão gênica bacteriana

(pp. 214-218)

1. A regulação da síntese proteica no nível genético é eficiente em termos de energia, pois as proteínas são sintetizadas somente quando necessário.
2. Os genes constitutivos são expressos a uma taxa fixa. Exemplos são os genes para as enzimas da glicólise.

### Controle pré-transcricional (pp. 214-217)

3. Quando as células são expostas a um produto final específico, a síntese das enzimas relacionadas àquele produto é reprimida.
4. Na presença de certas substâncias químicas (indutores), as células sintetizam mais enzimas. Esse processo é denominado indução.
5. Nas bactérias, um grupo de genes estruturais regulados coordenadamente com funções metabólicas relacionadas, além dos sítios promotor e operador que controlam sua transcrição, é denominado óperon.
6. No modelo óperon para um sistema indutível, um gene regulador codifica a proteína repressora.
7. Quando o indutor está ausente, o repressor liga-se ao operador, e nenhum mRNA é sintetizado.
8. Quando o indutor está presente, este liga-se ao repressor, de modo que ele não pode se ligar ao operador; portanto, o mRNA é produzido, e a síntese da enzima é induzida.
9. Em sistemas repressíveis, o repressor requer um correpressor, a fim de ligar-se ao sítio operador; portanto, o correpressor controla a síntese da enzima.
10. A transcrição de genes estruturais para enzimas catabólicas (como a β-galactosidase) é induzida pela ausência de glicose. O AMP cíclico e a CAP devem se ligar a um promotor na presença de um carboidrato alternativo.
11. Nucleotídeos metilados não são transcritos no controle epigenético.

**Controle pós-transcricional** (pp. 217-218)

- Os microRNAs se associam ao mRNA; o RNA de dupla-fita resultante é destruído.

**Alterações no material genético** (pp. 218-225)

- As mutações e a transferência horizontal de genes podem alterar o genótipo de uma bactéria.

**Mutação** (p. 219)

- A mutação é uma alteração na sequência de bases nitrogenadas do DNA; essa alteração modifica o produto codificado pelo gene mutado.
- Muitas mutações são neutras, algumas são desvantajosas e outras são benéficas.

**Tipos de mutações** (pp. 219-220)

- Uma substituição de base ocorre quando um par de bases no DNA é substituído por um par diferente.
- Alterações no DNA podem resultar em mutações de troca de sentido (*missense*; que causam substituições de aminoácidos) ou sem sentido (*nonsense*; que criam códons de término – *stop codons*).
- Em uma mutação de troca de fase de leitura (*frameshift*), um ou alguns pares de bases são deletados ou adicionados ao DNA.
- As mutações espontâneas ocorrem sem a presença de um mutágeno.

**Mutágenos** (p. 220-222)

- Os mutágenos são agentes ambientais que causam alterações permanentes no DNA.
- Os mutágenos químicos incluem os mutágenos de pares de bases, os análogos de nucleosídeos e os mutágenos de troca de fase de leitura.
- A radiação ionizante causa a formação de íons e radicais livres que reagem com o DNA; isso resulta em substituições de base ou rompimento do arcabouço de açúcar-fosfato.
- A radiação ultravioleta (UV) não é ionizante; ela causa ligações entre as timinas vizinhas.

**A frequência de mutação** (p. 223)

- A taxa de mutação é a probabilidade de um gene sofrer mutação quando uma célula se divide; a taxa é expressa como 10 elevado a uma potência negativa.
- As mutações normalmente ocorrem de modo aleatório ao longo de um cromossomo.
- Uma taxa baixa de mutações espontâneas é benéfica, fornecendo a diversidade genética necessária para a evolução.

**Identificando mutantes** (p. 223)

- Os mutantes podem ser detectados por seleção ou teste para um fenótipo alterado.
- A seleção positiva envolve a seleção de células mutantes e a rejeição de células não mutadas.
- A placa réplica é usada para a seleção negativa – para detectar, por exemplo, auxotróficos que têm necessidades nutricionais que a célula parental (não mutada) não tem.

**Identificando carcinógenos químicos** (pp. 223-225)

- O teste de Ames é um exame rápido e de custo relativamente baixo para identificar possíveis carcinógenos químicos.

- O teste presume que uma célula mutante pode reverter para uma célula normal na presença de um mutágeno e que muitos mutágenos são carcinógenos.

**Transferência genética e recombinação** (pp. 225-233)

- A recombinação genética, o rearranjo dos genes a partir de grupos separados de genes, normalmente envolve o DNA de organismos diferentes; ela contribui para a diversidade genética.
- No *crossing over*, os genes de dois cromossomos são recombinados em um novo cromossomo, que contém alguns genes de cada cromossomo original.
- A transferência vertical de genes ocorre durante a reprodução quando os genes são passados de um organismo para seus descendentes.
- A transferência horizontal de genes nas bactérias envolve a transferência de um fragmento do DNA da célula de um doador para um receptor.
- Quando parte do DNA do doador é integrada ao DNA do receptor, a célula resultante é denominada recombinante.

**Transformação em bactérias** (pp. 226-228)

- Durante este processo, os genes são transferidos de uma bactéria para outra como DNA “nu” em solução.

**Conjugação em bactérias** (pp. 228-229)

- Este processo requer o contato entre células vivas.
- Um tipo de célula doadora genética é uma  $F^+$ ; células receptoras são  $F^-$ . As células  $F^-$  contêm plasmídeos chamados de fatores  $F$ ; estes são transferidos para as células  $F^-$  durante a conjugação.

**Transdução em bactérias** (p. 229)

- Neste processo, o DNA é passado de uma bactéria para outra em um bacteriófago, sendo, então, incorporado ao DNA do receptor.
- Na transdução generalizada, quaisquer genes bacterianos podem ser transferidos.

**Plasmídeos e transposons** (p. 229-233)

- Os plasmídeos são moléculas de DNA circulares autorreplicativas, que transportam genes que geralmente não são essenciais para a sobrevivência da célula.
- Existem vários tipos de plasmídeos, incluindo plasmídeos conjugativos, plasmídeos de dissimilação, plasmídeos que transportam genes para toxinas ou bacteriocinas e fatores de resistência.
- Os transposons são pequenos segmentos de DNA que podem se mover de uma região para outra do mesmo cromossomo, ou para um cromossomo diferente ou para um plasmídeo.
- Os transposons complexos podem transportar qualquer tipo de gene, incluindo genes de resistência a antibióticos, sendo, portanto, considerados um mecanismo natural de transposição de genes de um cromossomo para outro.

**Genes e evolução** (p. 233)

- A diversidade é a pré-condição para a evolução.
- A mutação e a recombinação genética fornecem uma diversidade de organismos, e o processo de seleção natural permite o crescimento daqueles mais bem adaptados a um determinado ambiente.

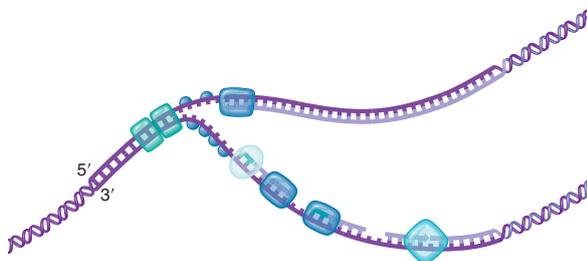
## Questões para estudo

Consulte as respostas das questões de Conhecimento e compreensão, no guia de Respostas, na parte final do livro-texto.

### Conhecimento e compreensão

#### Revisão

1. Descreva brevemente os componentes do DNA e explique suas relações funcionais com o RNA e as proteínas.
2. **DESENHE** Identifique e marque cada um dos seguintes na região do DNA em replicação: forquilha de replicação, DNA-polimerase, iniciador de RNA, fitas parentais, fita-líder, fita atrasada, a direção da replicação em cada uma das fitas e a extremidade 5' de cada fita.



3. Correlacione os seguintes exemplos de mutágenos.

Coluna A	Coluna B
_____ a. Mutágeno que é incorporado ao DNA no lugar de uma base normal.	1. Mutágeno de troca de fase de leitura.
_____ b. Mutágeno que induz a formação de íons altamente reativos.	2. Análogo de nucleosídeo.
_____ c. Mutágeno que altera a adenina para que ela se pareie com a citosina.	3. Mutágeno de pares de bases.
_____ d. Mutágeno que provoca inserções.	4. Radiação ionizante.
_____ e. Mutágeno que induz a formação de dímeros de pirimidina.	5. Radiação não ionizante.

4. O que se segue é um código para uma fita de DNA.

DNA	3' A T A T _ _ _ T T T _ _ _ _ _ _ _ _ _ _
	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19
mRNA	_____ C G U _____ U G A
tRNA	_____ U G G
Aminoácido	Met _____

ATAT, sequência do promotor.

- a. Utilizando o código genético fornecido na Figura 8.8, preencha os intervalos para completar o segmento de DNA mostrado.
- b. Preencha as lacunas e complete a sequência de aminoácidos codificada por esta fita de DNA.
- c. Escreva o código da fita complementar de DNA completado na parte (a).
- d. Qual seria o efeito se T fosse substituído por C na base 10?
- e. Qual seria o efeito se G fosse substituído por A na base 11?

- f. Qual seria o efeito se G fosse substituído por T na base 14?
  - g. Qual seria o efeito se C fosse inserido entre as bases 9 e 10?
  - h. Como a radiação UV afetaria esta fita de DNA?
  - i. Identifique uma sequência sem sentido nesta fita de DNA.
5. Quando o ferro não se encontra disponível, as bactérias *E. coli* podem interromper a síntese de todas as proteínas, como o superóxido dismutase e a succinato desidrogenase, que necessitam de ferro. Descreva um mecanismo para esta regulação.
  6. Identifique em que momento (antes da transcrição, após a transcrição, antes da tradução, após a tradução) cada um dos seguintes mecanismos reguladores atuam.
    - a. O ATP se associa a uma enzima, alterando a sua forma.
    - b. Um RNA curto, complementar ao mRNA, é sintetizado.
    - c. Ocorre a metilação do DNA.
    - d. Um indutor se associa a um repressor.
  7. Qual sequência é o melhor alvo para ser danificado pela radiação UV: AGGCAA, CTTTGA ou GUAAAU? Por que todas as bactérias não são destruídas ao serem expostas à luz solar?
  8. Você recebe culturas com as seguintes características:
 

Cultura 1: F<sup>+</sup>, genótipo A<sup>+</sup> B<sup>+</sup> C<sup>+</sup>

Cultura 2: F<sup>-</sup>, genótipo A<sup>-</sup> B<sup>-</sup> C<sup>-</sup>

    - a. Indique os genótipos possíveis de uma célula recombinante resultante da conjugação das culturas 1 e 2.
    - b. Indique os genótipos possíveis de uma célula recombinante resultante da conjugação das duas culturas após a célula F<sup>+</sup> ter se tornado Hfr.
  9. Por que a mutação e a recombinação são importantes no processo de seleção natural e evolução dos organismos?
  10. **NOMEIE** Normalmente um organismo comensal no intestino humano, esta bactéria se tornou patogênica após adquirir um gene de toxina de uma bactéria *Shigella*.

### Múltipla escolha

Correlacione os seguintes termos com as definições nas questões 1 e 2.

- a. Conjugação.
  - b. Transcrição.
  - c. Transdução.
  - d. Transformação.
  - e. Tradução.
1. A transferência de DNA de uma célula doadora a uma receptora por um bacteriófago.
  2. A transferência de DNA de um doador para um receptor como DNA nu em solução.
  3. A inibição por retroalimentação se difere da repressão, pois esse tipo de inibição:
    - a. é menos preciso.
    - b. é de ação mais lenta.
    - c. interrompe a ação das enzimas preexistentes.
    - d. interrompe a síntese de novas enzimas.
    - e. todas as alternativas.
  4. As bactérias podem adquirir resistência a antibióticos por todas as alternativas que se seguem, *exceto por*:
    - a. mutação.
    - b. inserção de transposons.
    - c. conjugação.
    - d. snRNPs.
    - e. transformação.

5. Suponha que você inoculou três frascos de caldo de sais mínimos com *E. coli*. O frasco A contém glicose. O frasco B contém glicose e lactose. O frasco C contém lactose. Após algumas horas de incubação, você testa os frascos para a presença de  $\beta$ -galactosidase. Qual(is) frasco(s) você prevê que terá(ão) esta enzima?
- A.
  - B.
  - C.
  - A e B.
  - B e C.
6. Os plasmídeos se diferem dos transposons, pois os plasmídeos:
- tornam-se inseridos nos cromossomos.
  - são autorreplicados fora do cromossomo.
  - movem-se de um cromossomo para outro.
  - transportam genes para resistência a antibióticos.
  - nenhuma das alternativas.

Utilize as seguintes alternativas para responder às questões 7 e 8.

- Repressão catabólica.
  - DNA-polimerase.
  - Indução.
  - Repressão.
  - Tradução.
7. O mecanismo pelo qual a presença de glicose inibe o óperon *lac*.
8. O mecanismo pelo qual a lactose controla o óperon *lac*.
9. Duas células-filhas têm maior probabilidade de herdar da célula parental qual das alternativas abaixo?
- Uma alteração em um nucleotídeo no mRNA.
  - Uma alteração em um nucleotídeo no tRNA.
  - Uma alteração em um nucleotídeo no rRNA.
  - Uma alteração em um nucleotídeo no DNA.
  - Uma alteração em uma proteína.
10. Qual das seguintes alternativas *não* é um método de transferência horizontal de genes?
- Fissão binária.
  - Conjugação.
  - Integração de um transposon.
  - Transdução.
  - Transformação.

## Análise

- Os análogos de nucleosídeo e a radiação ionizante são usados no tratamento do câncer. Esses mutágenos podem causar câncer; assim, como você supõe que eles sejam usados para tratar a doença?
- A replicação do cromossomo da *E. coli* leva de 40 a 45 minutos, mas o organismo tem um tempo de geração de 26 minutos. Como a célula tem tempo para sintetizar cromossomos completos para cada célula-filha?
- Pseudomonas* tem um plasmídeo contendo o óperon *mer*, o qual inclui o gene para a redutase mercúrica. Essa enzima catalisa a redução do íon mercúrico  $Hg^{2+}$  para a forma não carregada do mercúrio,  $Hg^0$ . O  $Hg^{2+}$  é muito tóxico para as células; o  $Hg^0$  não é.
  - Na sua opinião, qual é o indutor para esse óperon?
  - A proteína codificada por um dos genes *mer* liga-se ao  $Hg^{2+}$  no periplasma e o conduz para dentro da célula. Por que uma célula captaria uma toxina?
  - Qual a importância do óperon *mer* para *Pseudomonas*?

## Aplicações clínicas e avaliação

- A ciprofloxacina, a eritromicina e o aciclovir são usados para tratar infecções microbianas. A ciprofloxacina inibe a DNA-girase. A eritromicina liga-se à frente do sítio A, na subunidade 50S de um ribossomo. O aciclovir é um análogo da guanina.
  - Quais etapas na síntese proteica são inibidas por cada fármaco?
  - Qual fármaco é mais efetivo contra bactérias? Por quê?
  - Quais fármacos terão efeitos nas células hospedeiras? Por quê?
  - Utilize o índice para identificar qual a doença para a qual o aciclovir é mais utilizado. Por que ele é mais eficiente do que a eritromicina no tratamento dessa doença?
- O HIV, o vírus que causa a Aids, foi isolado de três indivíduos, e as sequências de aminoácidos do capsídeo viral foram determinadas. Das sequências de aminoácidos mostradas a seguir, dois vírus são mais estreitamente relacionados. Quais são eles? Como essas sequências de aminoácidos podem ser usadas para identificar a fonte de um vírus?

### Paciente Sequência de aminoácidos do capsídeo viral

Asn	Gln	Tre	Ala	Ala	Ser	Lis	Asn	Ile	Asp	Ala	Leu
Asn	Leu	His	Ser	Asp	Lis	Ile	Asn	Ile	Ile	Leu	Leu
Asn	Gln	Tre	Ala	Asp	Ser	Ile	Val	Ile	Asp	Ala	Leu

- O herpes-vírus humano 8 (HHV-8, de *human herpesvirus-8*) é comum em certas partes da África, do Oriente Médio e do Mediterrâneo, mas é raro fora desses lugares – a não ser em pacientes com Aids. Análises genéticas indicam que a amostra africana não está se alterando, ao passo que a amostra ocidental está acumulando alterações. Usando os fragmentos dos genomas do HHV-8 (mostrados a seguir) que codificam uma das proteínas virais, quais são as semelhanças entre esses dois vírus? Qual é o mecanismo responsável pelas alterações? Qual a doença causada pelo HHV-8?

<b>Ocidental</b>	3'-ATGGAGTTCTTCTGGACAAGA
<b>Africana</b>	3'-ATAAACTTTTCTTGACAACG