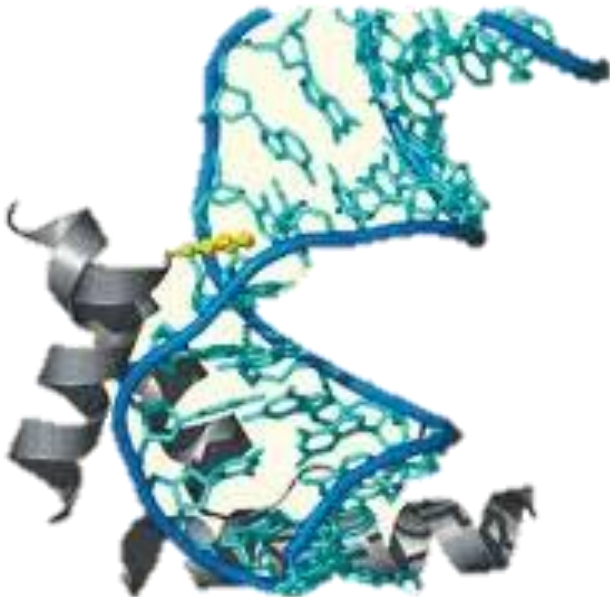


NATUREZA DO GENE E TRANSCRIÇÃO

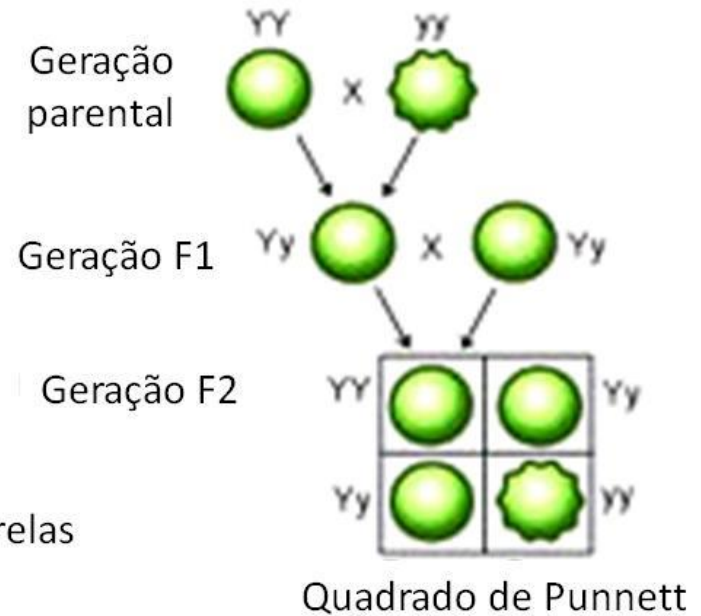
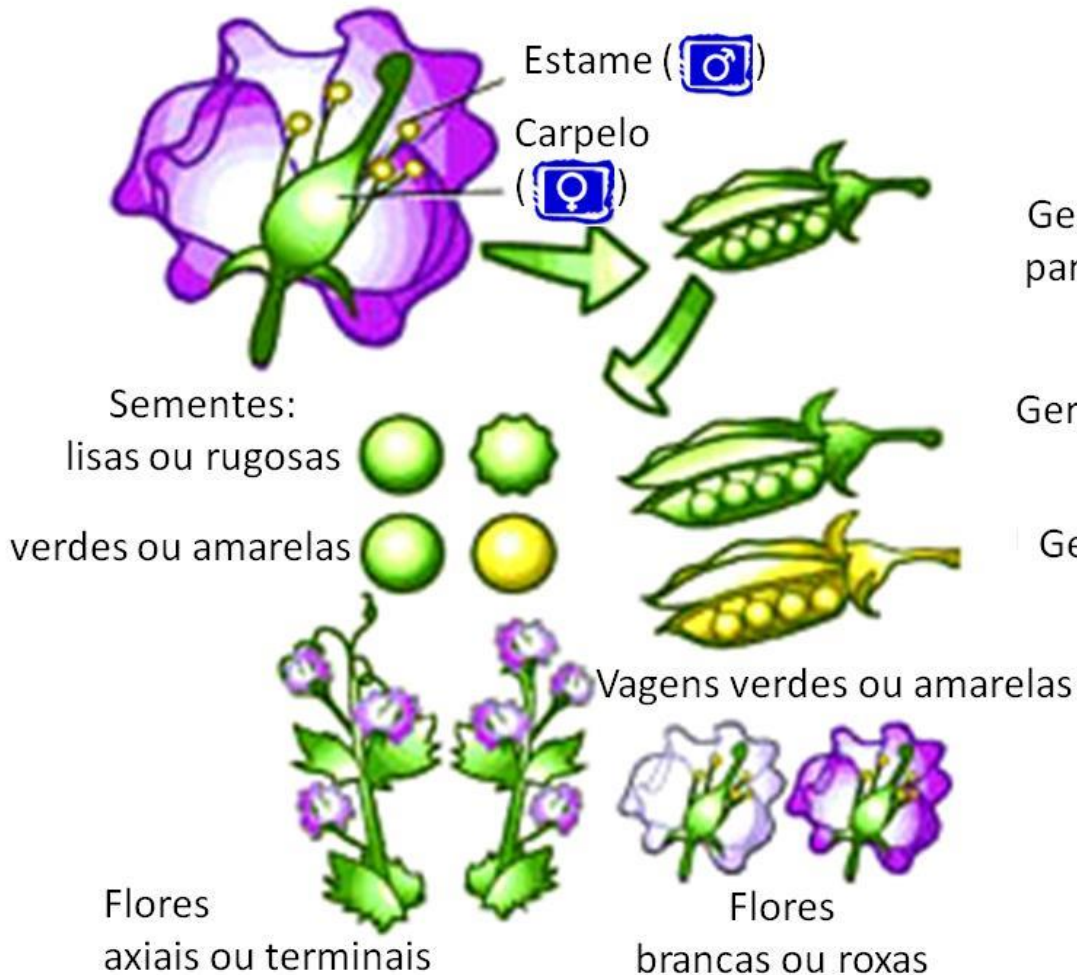
Aula teórica 5

LGN0114 – Biologia Celular



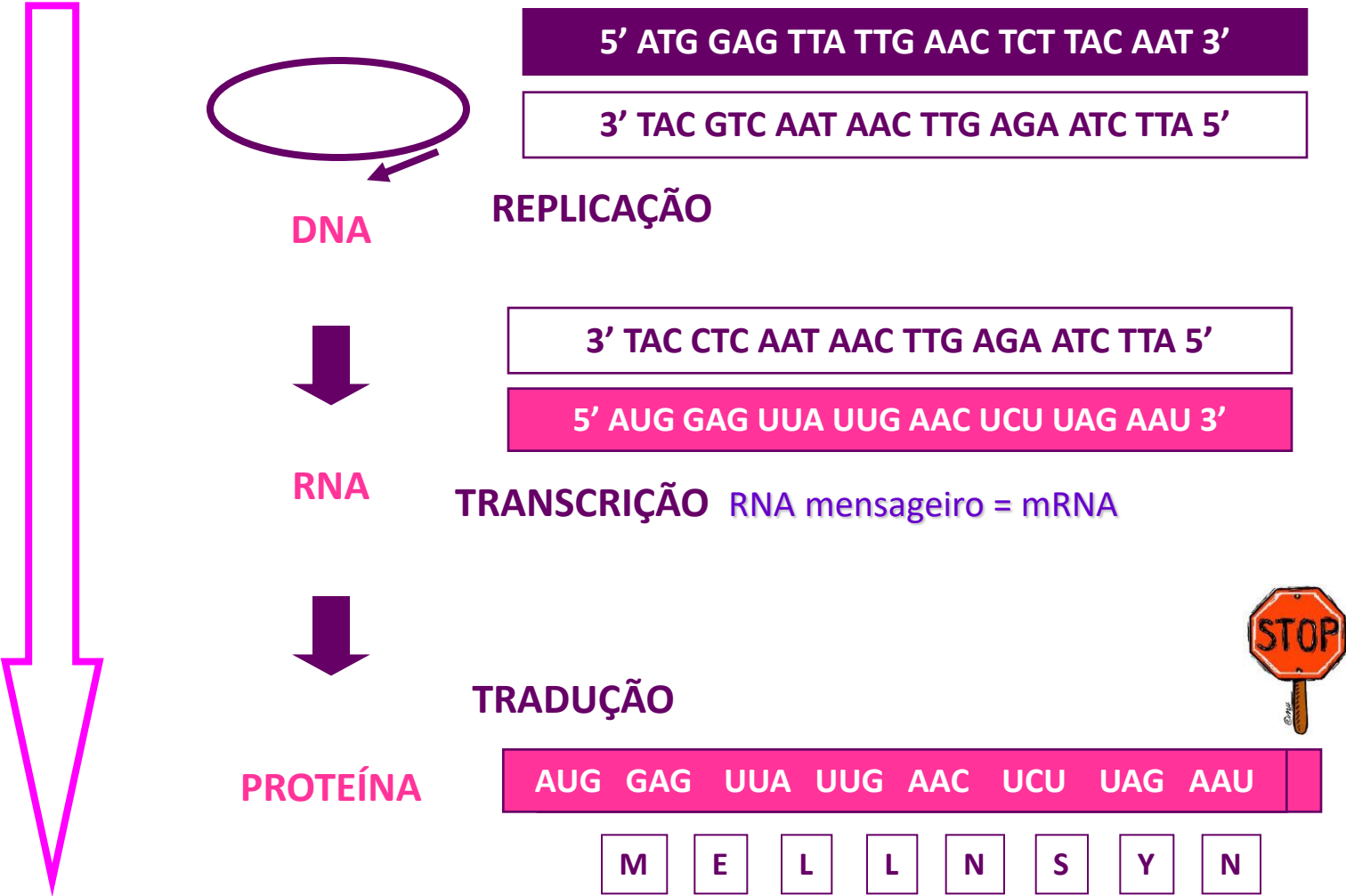
Maria Carolina Quecine
Departamento de Genética
mquecine@usp.br

MENDEL: FATORES CONSTANTES QUE CONTROLAM CARACTERÍSTICAS FENOTÍPICAS



Leis de Mendel (1866)

FLUXO DA INFORMAÇÃO GENÉTICA



MAS NÃO É TÃO SIMPLES...

Gene → efeito fenotípico

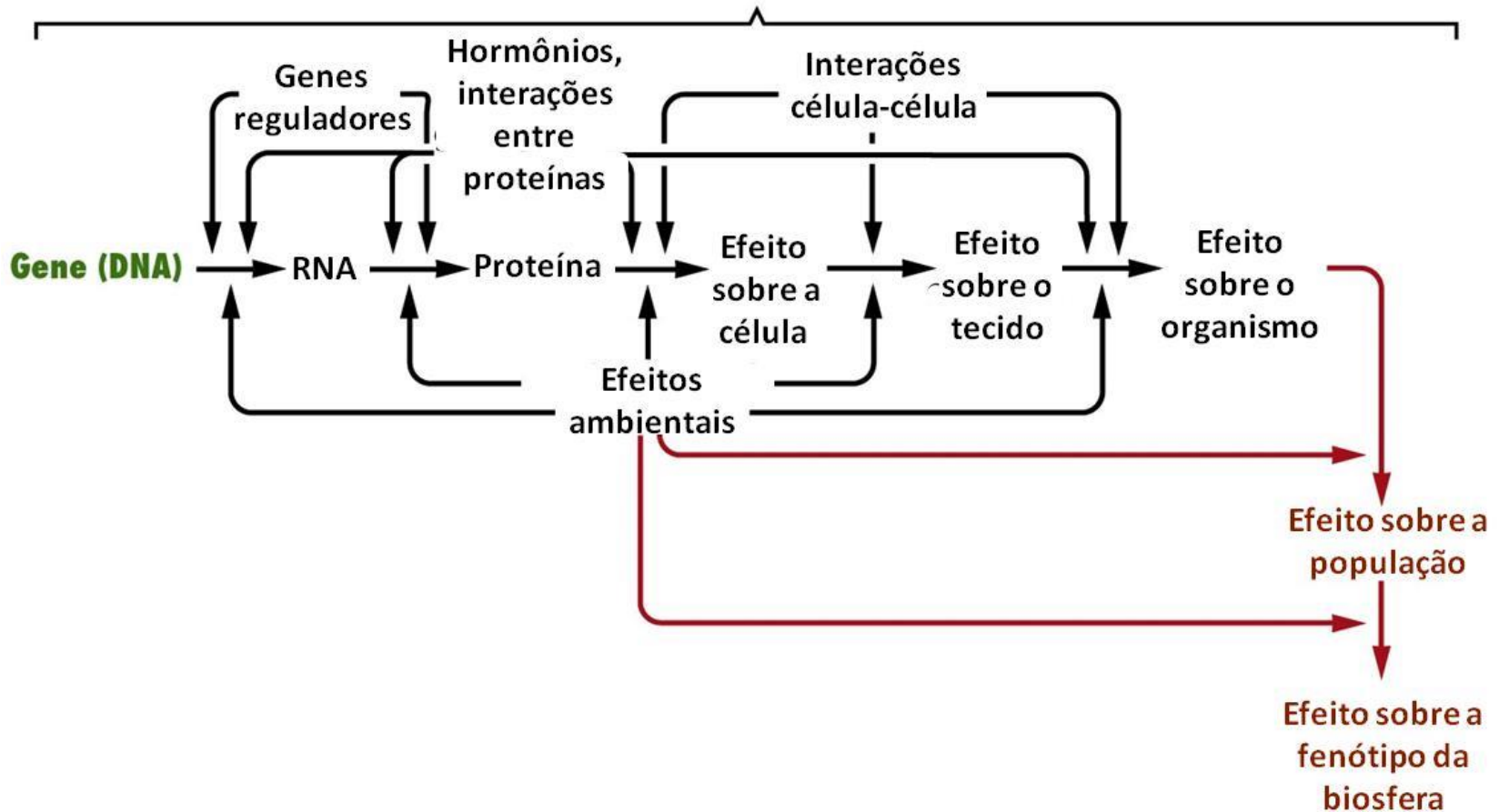


Figure 14-2 Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

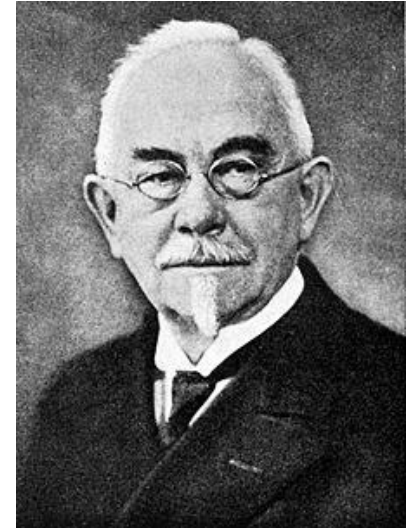
MAS O QUE É UM GENE?



DEFINIÇÃO DE GENE

Wilhelm Johannsen

1909 → gene



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

mRNA → polipeptídeo

tRNA e rRNA → RNA estrutural

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

What is a gene, post-ENCODE? History and updated definition

Mark B. Gerstein,^{1,2,3,9} Can Bruce,^{2,4} Joel S. Rozowsky,² Deyou Zheng,² Jiang Du,³ Jan O. Korbelt,^{2,5} Olof Emanuelsson,⁶ Zhengdong D. Zhang,² Sherman Weissman,⁷ and Michael Snyder^{2,8}

“A gene is a union of genomic sequences encoding a coherent set of potentially overlapping functional products”

HISTÓRICO DA DEFINIÇÃO DE GENE

Gene é uma unidade discreta de hereditariedade;

Gene é um locus distinto;

Gene codifica uma proteína;

Gene é uma molécula física;

Gene é uma unidade de transcrito;

Gene é um quadro aberto de leitura (ORF);

SERÁ?

Table 1. Phenomena complicating the concept of the gene

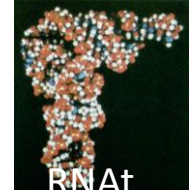
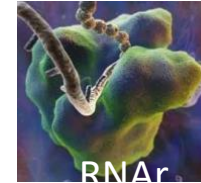
Phenomenon	Description	Issue
<i>Gene location and structure</i> Intronic genes	A gene exists within an intron of another (Henikoff et al. 1986)	Two genes in the same locus
Genes with overlapping reading frames	A DNA region may code for two different protein products in different reading frames (Contreras et al. 1977)	No one-to-one correspondence between DNA and protein sequence
Enhancers, silencers	Distant regulatory elements (Spilianakis et al. 2005)	DNA sequences determining expression can be widely separated from one another in genome. Many-to-many relationship between genes and their enhancers.
<i>Structural variation</i> Mobile elements	Genetic element appears in new locations over generations (McClintock 1948)	A genetic element may be not constant in its location
Gene rearrangements/structural variants	DNA rearrangement or splicing in somatic cells results in many alternative gene products (Early et al. 1980)	Gene structure is not hereditary, or structure may differ across individuals or cells/tissues
Copy-number variants	Copy number of genes/regulatory elements may differ between individuals (Iafate et al. 2004; Sebat et al. 2004; Tuzun et al. 2005)	Genetic elements may differ in their number
<i>Epigenetics and chromosome structure</i> Epigenetic modifications, imprinting	Inherited information may not be DNA-sequence based (e.g., Dobrovic et al. 1988); a gene's expression depends on whether it is of paternal or maternal origin (Sager and Kitchin 1975)	Phenotype is not determined strictly by genotype
Effect of chromatin structure	Chromatin structure, which does influence gene expression, only loosely associated with particular DNA sequences (Paul 1972)	Gene expression depends on packing of DNA. DNA sequence is not enough to predict gene product.
<i>Post-transcriptional events</i> Alternative splicing of RNA	One transcript can generate multiple mRNAs, resulting in different protein products (Bergert et al. 1977; Gelinas and Roberts 1977)	Multiple products from one genetic locus; information in DNA not linearly related to that on protein
Alternatively spliced products with alternate reading frames	Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encodes two unrelated proteins (Quelle et al. 1995)	Two alternative splicing products of a pre-mRNA produce protein products with no sequence in common
RNA trans-splicing, homotypic trans-splicing	Distant DNA sequences can code for transcripts ligated in various combinations (Borst 1986). Two identical transcripts of a gene can trans-splice to generate an mRNA where the same exon sequence is repeated (Takahara et al. 2000).	A protein can result from the combined information encoded in multiple transcripts
RNA editing	RNA is enzymatically modified (Eisen 1988)	The information on the DNA is not encoded directly into RNA sequence
<i>Post-translational events</i> Protein splicing, viral polyproteins	Protein product self-cleaves and can generate multiple functional products (Vila-Komaroff et al. 1975)	Start and end sites of protein not determined by genetic code
Protein trans-splicing	Distinct proteins can be spliced together in the absence of a trans-spliced transcript (Handa et al. 1996)	Start and end sites of protein not determined by genetic code
Protein modification	Protein is modified to alter structure and function of the final product (Wold 1981)	The information on the DNA is not encoded directly into protein sequence
<i>Pseudogenes and retrogenes</i> Retrogenes	A retrogene is formed from reverse transcription of its parent gene's mRNA (Vanin et al. 1980) and by insertion of the DNA product into a genome	RNA-to-DNA flow of information
Transcribed pseudogenes	A pseudogene is transcribed (Zheng et al. 2005, 2007)	Biochemical activity of supposedly dead elements

RNAs MAIS BEM ESTUDADOS...

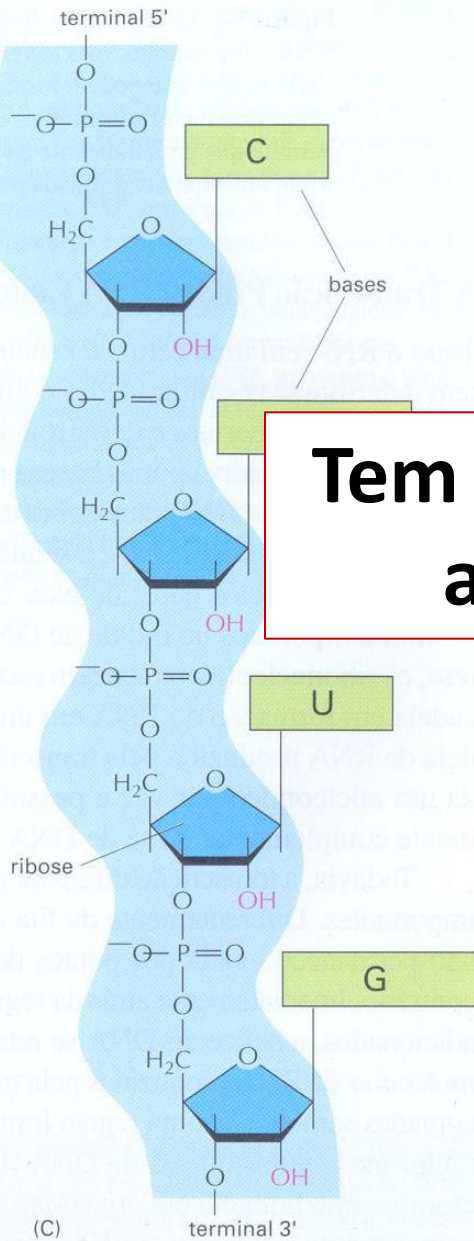
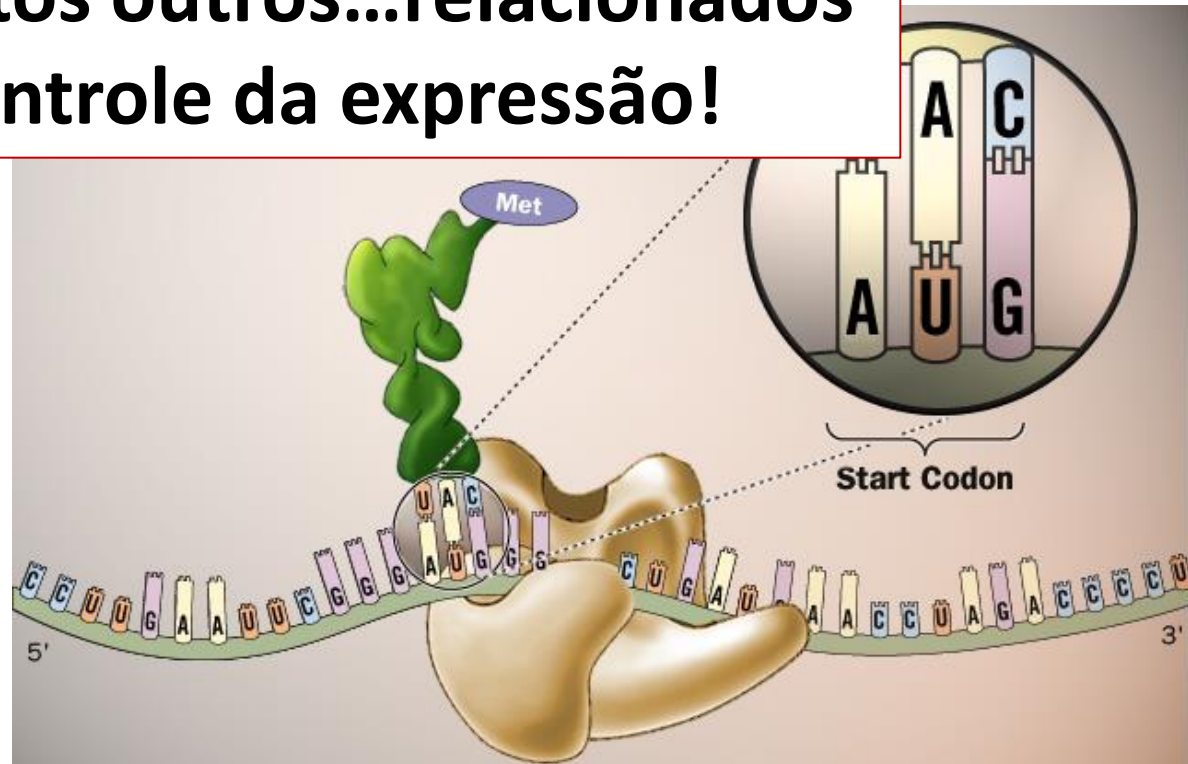
Polímero de 4 tipos de ribonucleotídeos unidos por ligação fosfodiéster, existente como fita simples



RNAm

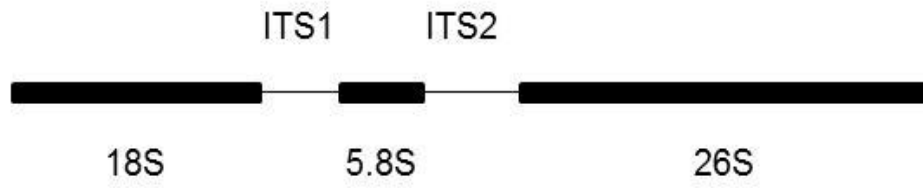


Tem muitos outros...relacionados ao controle da expressão!

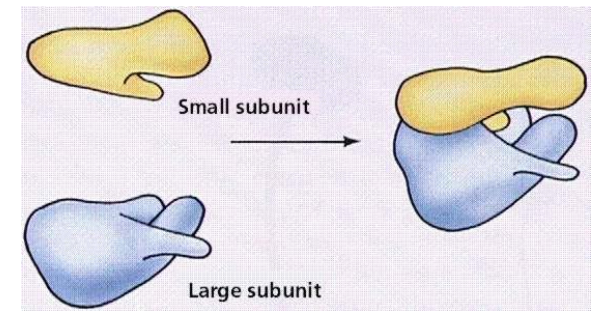


ORGANIZAÇÃO DO AGREGADO GÊNICO DO rRNA DO rRNA

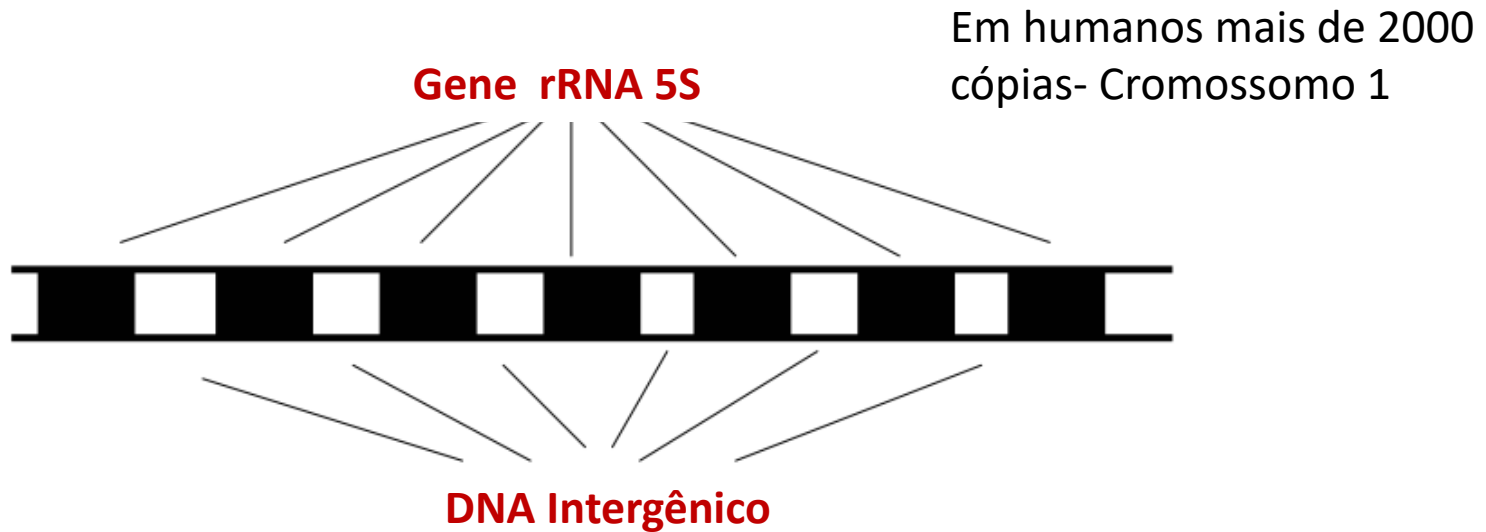
Eucariotos



Procariotos



Mais de 200 cópias em *tandem*!



Gene 45S (28 - 5.8 -18S)

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



Em humanos aproximadamente 13,4 kb

Aproximadamente 80% do RNA produzido pelas células é de rRNA

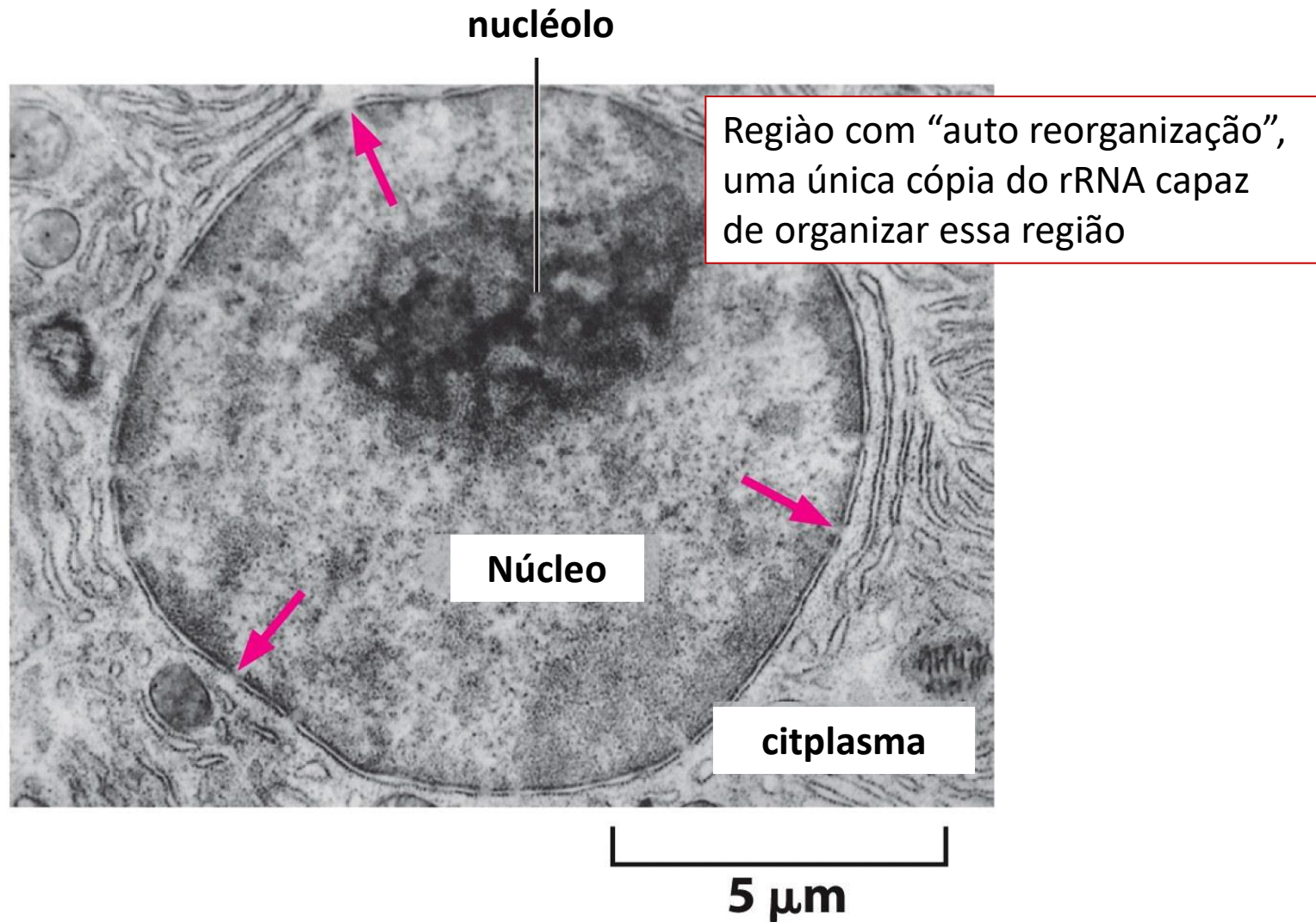
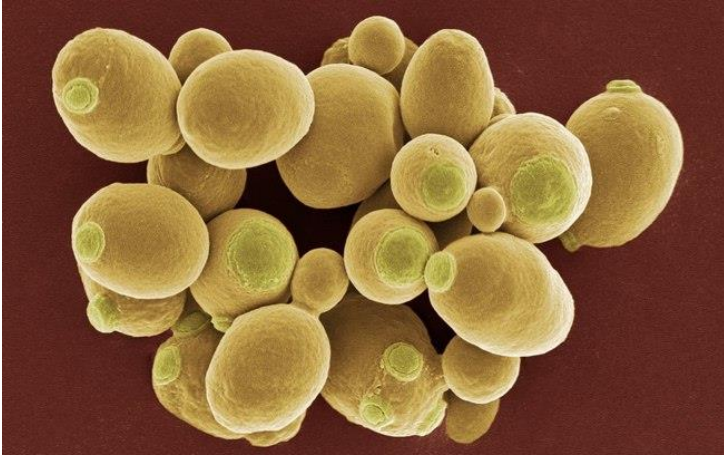


Figure 7-14 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

S. cerevisiae



Pré-rRNA – processado no nucléolo.

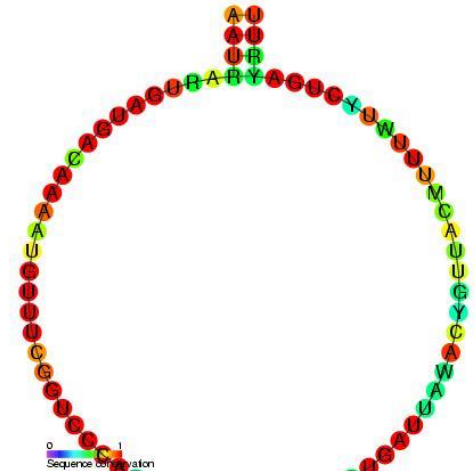
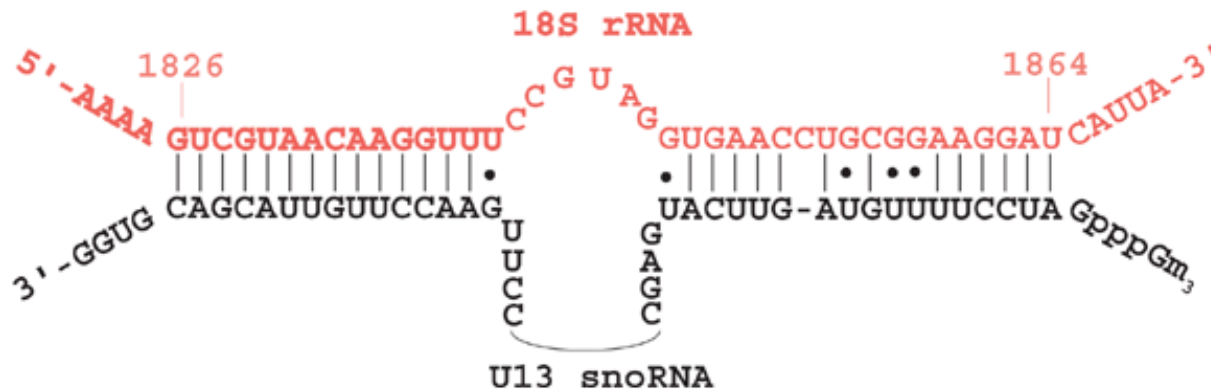
Transcrição – 20 minutos

Ribonucleoproteínas pré-ribossômicas (pré-rRNPs)

10 segundos para processamento

Aproximadamente 40 unidades de ribossomos por segundo

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



MONTANDO A MAQUINÁRIA DE TRADUÇÃO

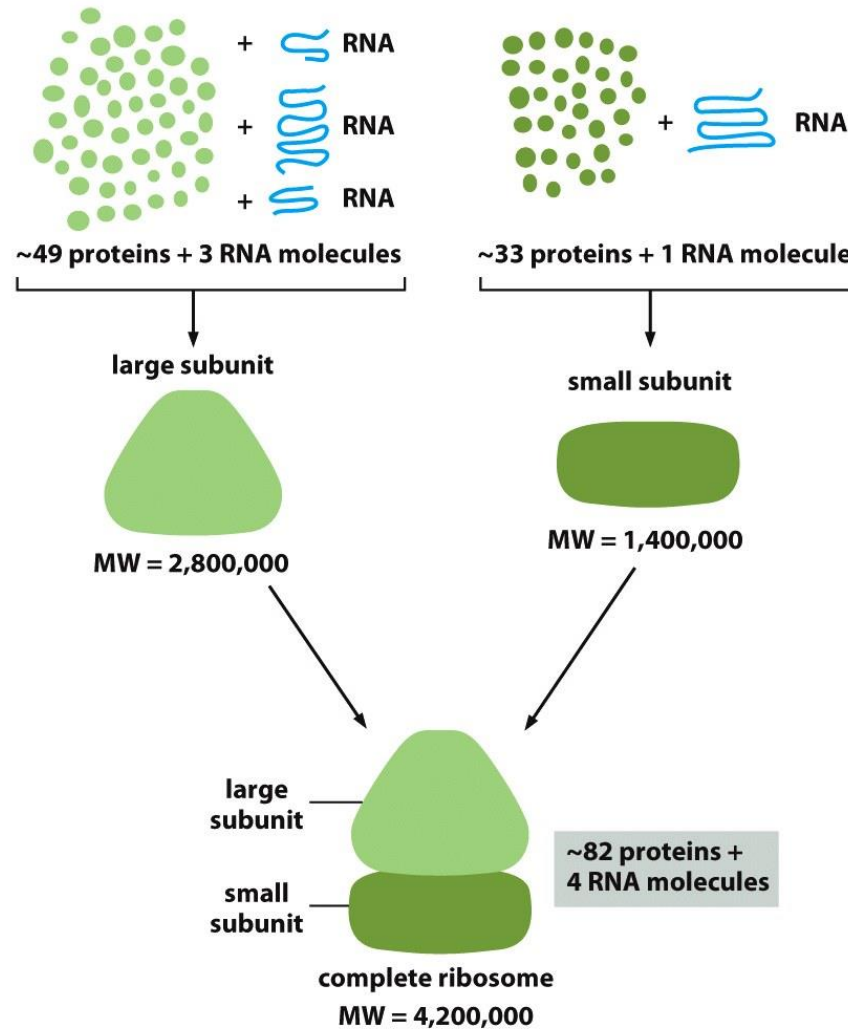


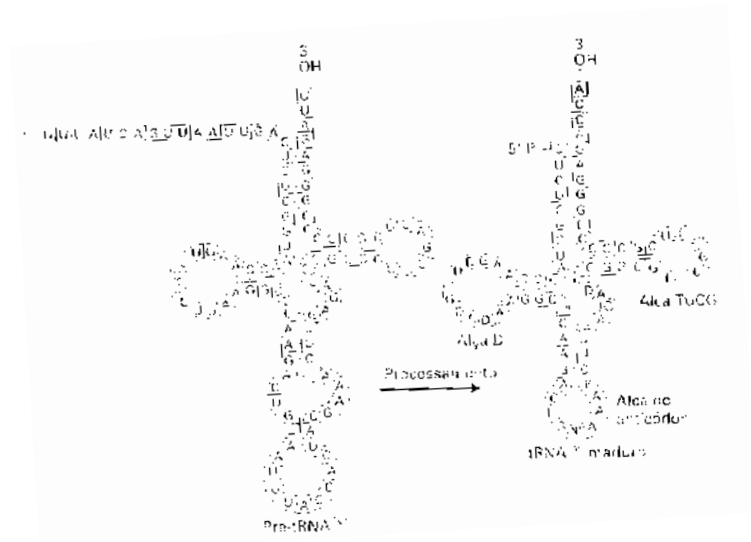
Figure 7-31 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

PROCESSAMENTO DO tRNA

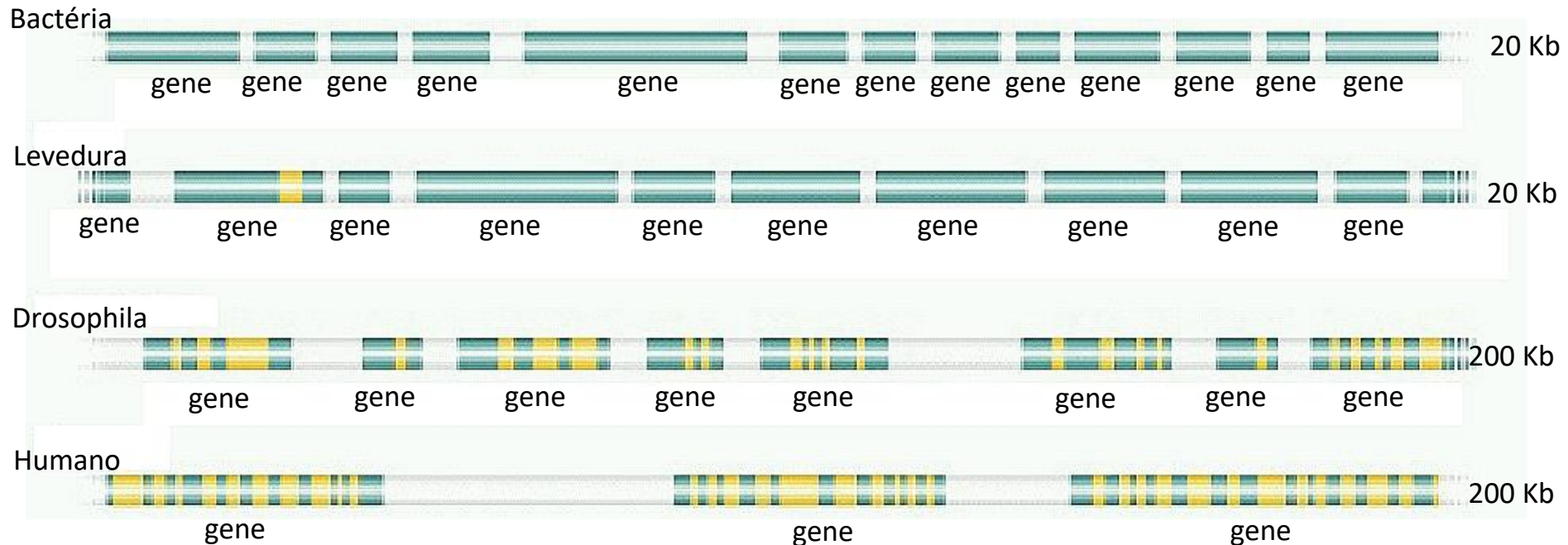
- 1- Substituição do residuo U' da extremidade 3' por CCA
- 2- Grupamentos metila e isopentenil de purinas e metilação no OH (2') de diferentes bases
- 3 - Conversão de uridinas em pseudourinas e/ou di-hidrouridinas

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

**Altamente conservado:
importância evolutiva**



RNA MENSAGEIRO (mRNA)



A disposição depende da arquitetura genômica do organismo!

GENE TÍPICO DE PROCARIOTOS (mRNA)

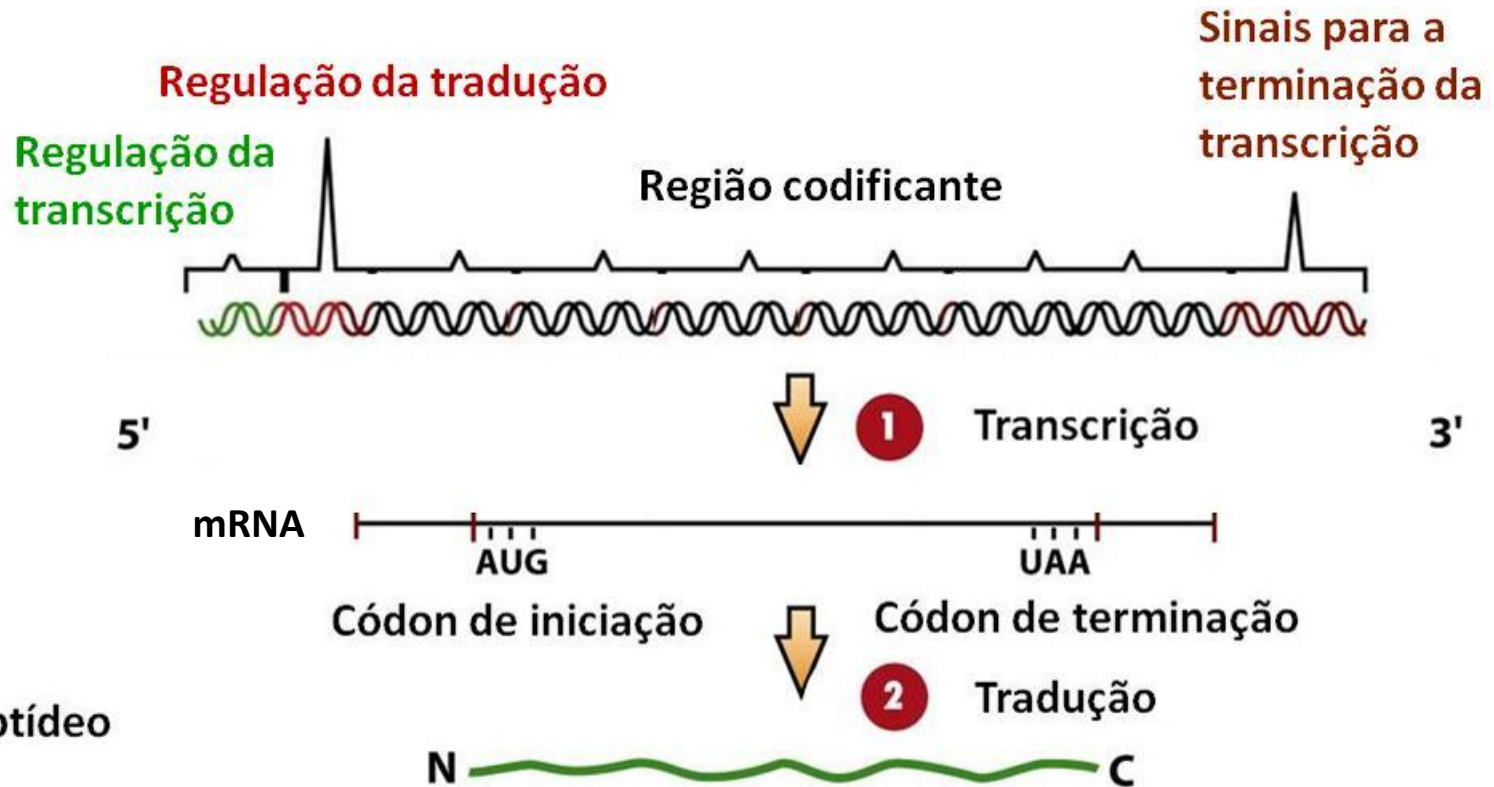
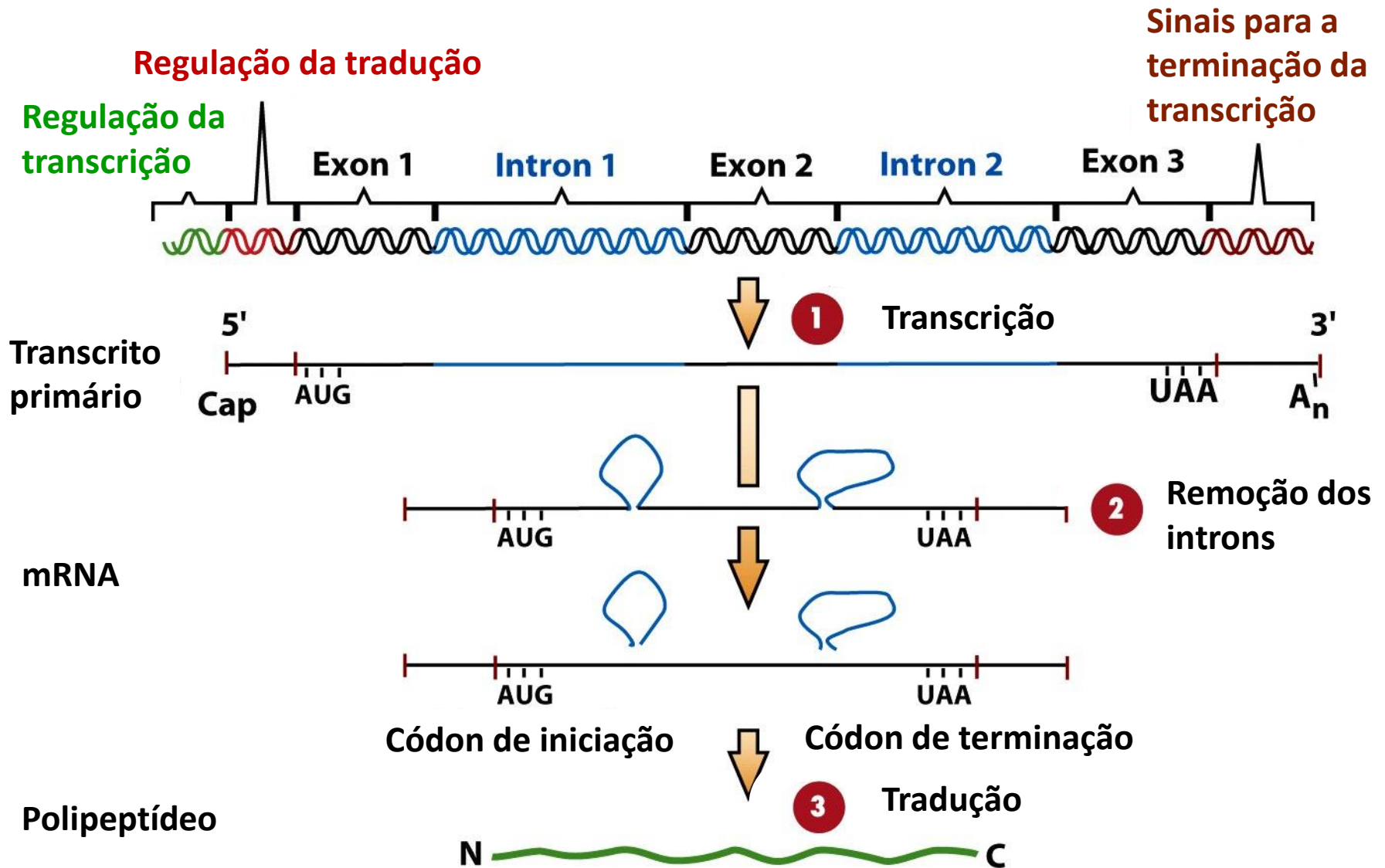


Figure 14-1b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

GENE TÍPICO DE EUCARIOTOS (mRNA)

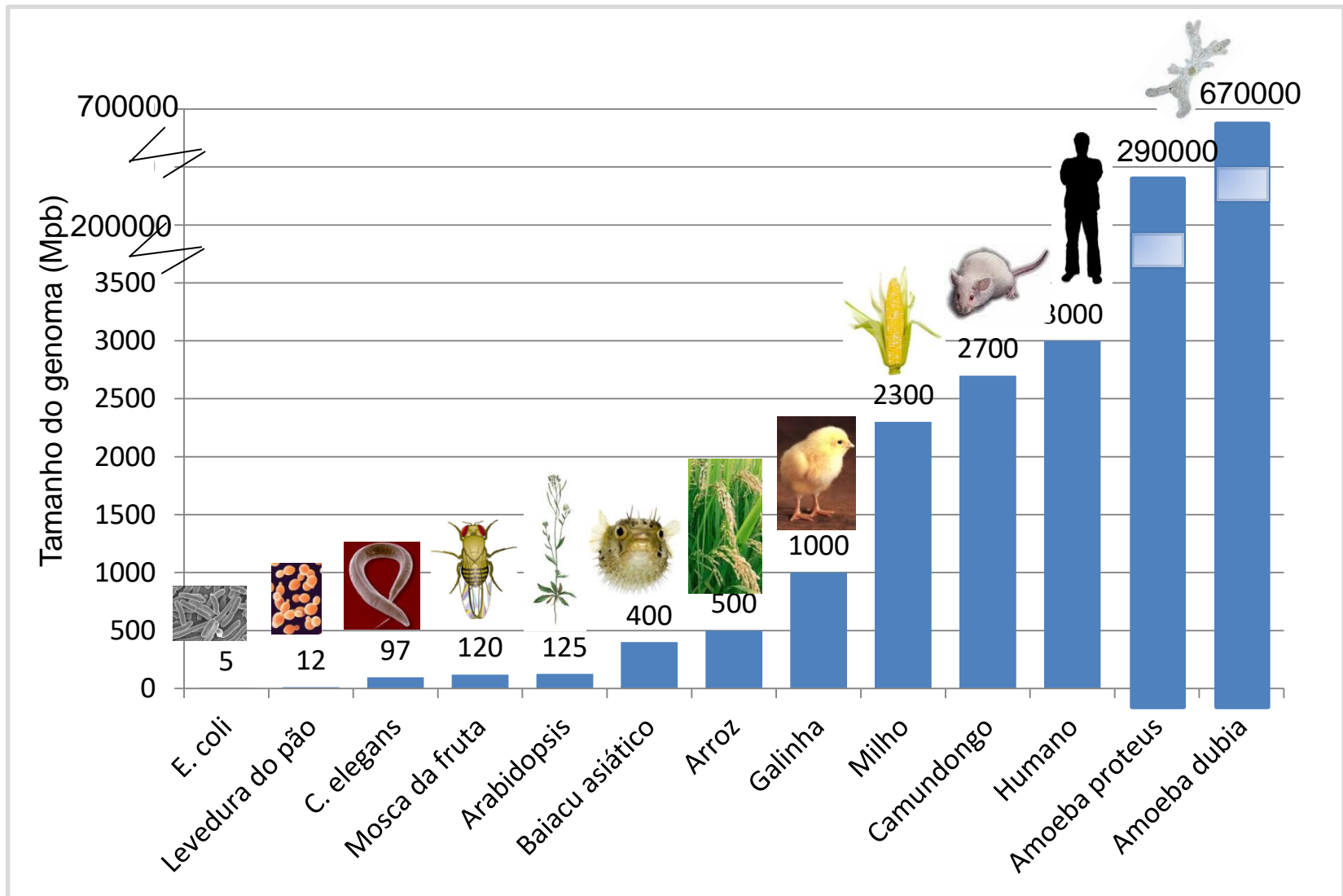


NÚMERO DE GENES EM EUCARIOTOS

Espécies	Genoma (Mb)	Genes
<i>D. melanogaster</i>	165	~12.000
<i>S. cerevisiae</i>	13	~6.000
<i>C. elegans</i>	97	~20.000
<i>H. sapiens</i>	3.300	~30.000



COMPARAÇÃO NO TAMANHO DE GENOMAS



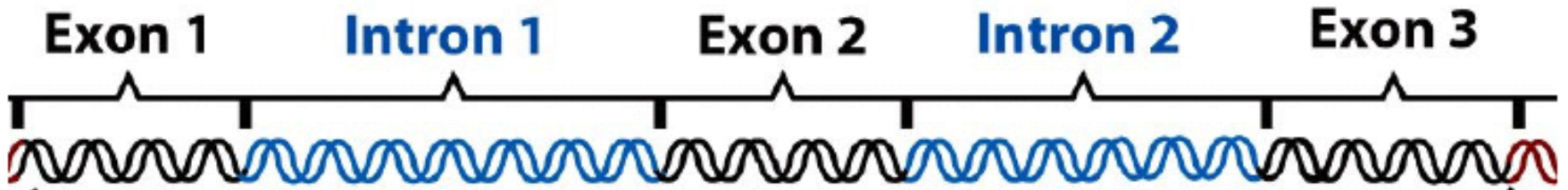
A complexidade de um organismo não é diretamente proporcional ao tamanho do genoma; alguns organismos unicelulares possuem muito mais DNA que os humanos.

CIDADES X DESERTOS

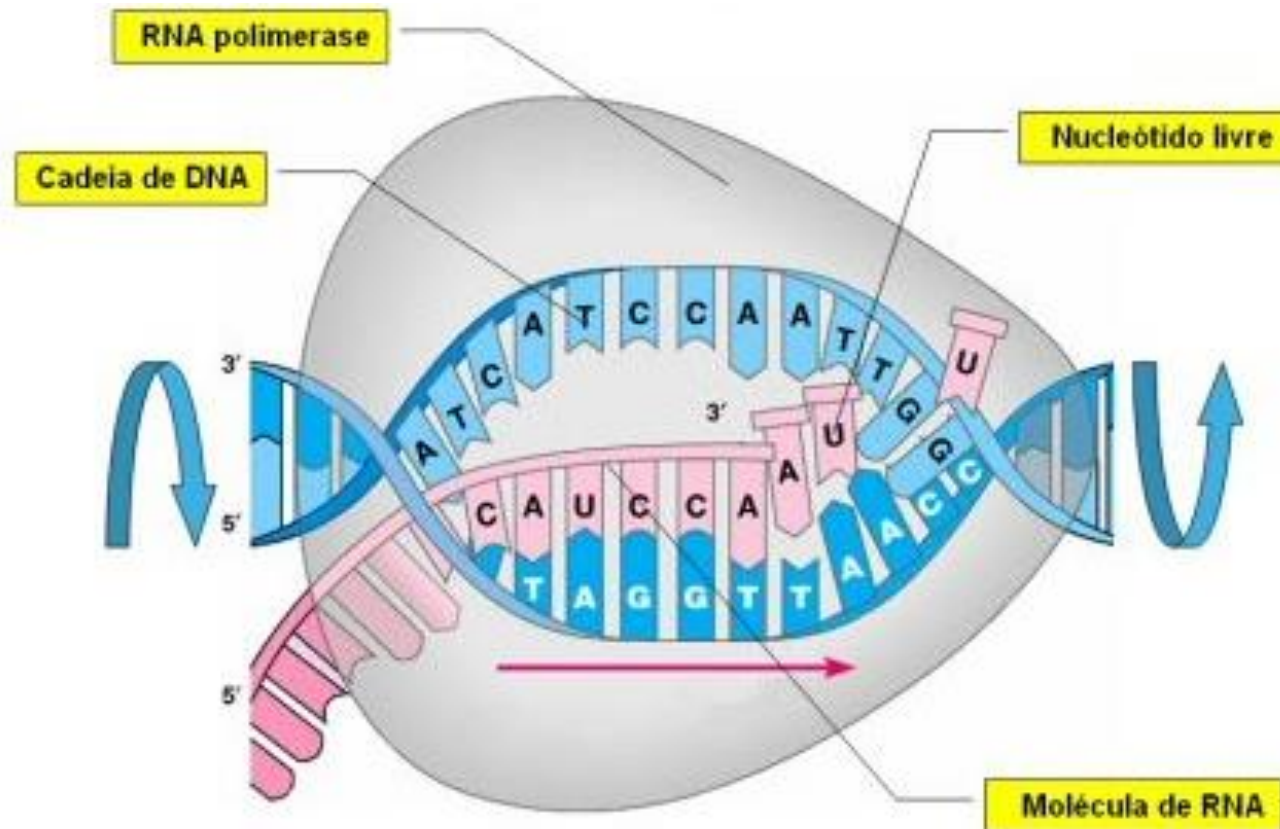
EXONS (CODIFICAM PROTEÍNA)



INTRONS

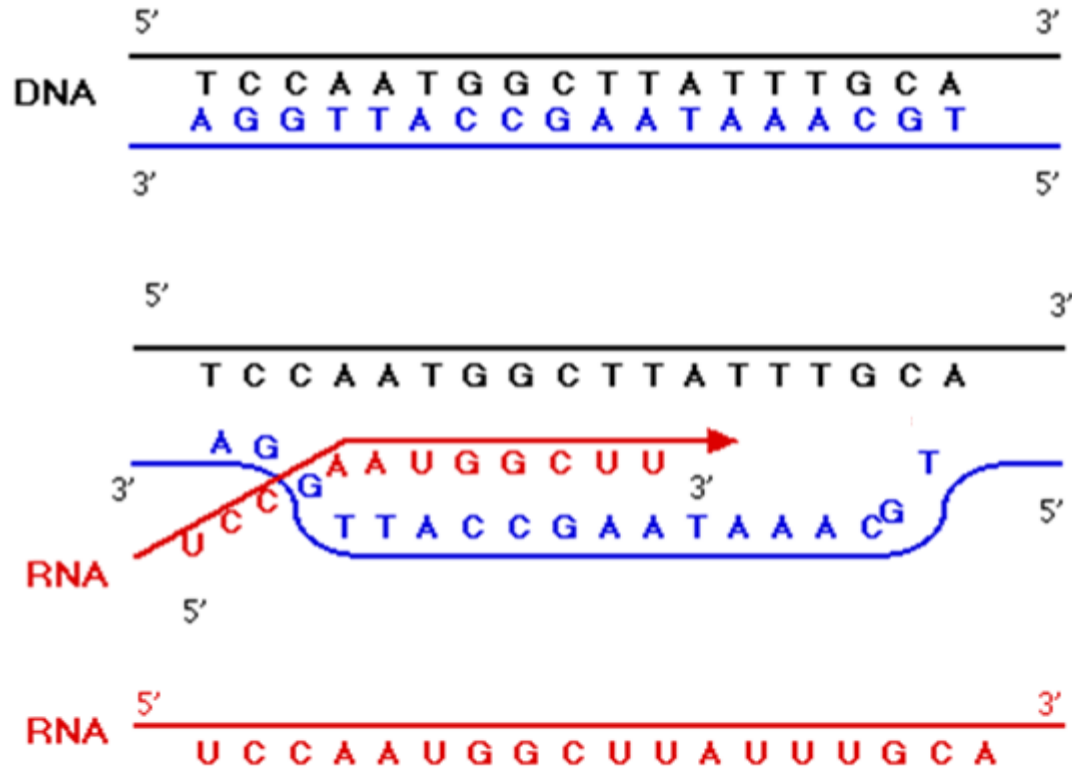


POR QUE É PRECISO CONHECER A ESTRUTURA DE GENES DE PROCARIOTOS E EUCARIOTOS?



TRANSCRIÇÃO = SÍNTESE DE mRNA

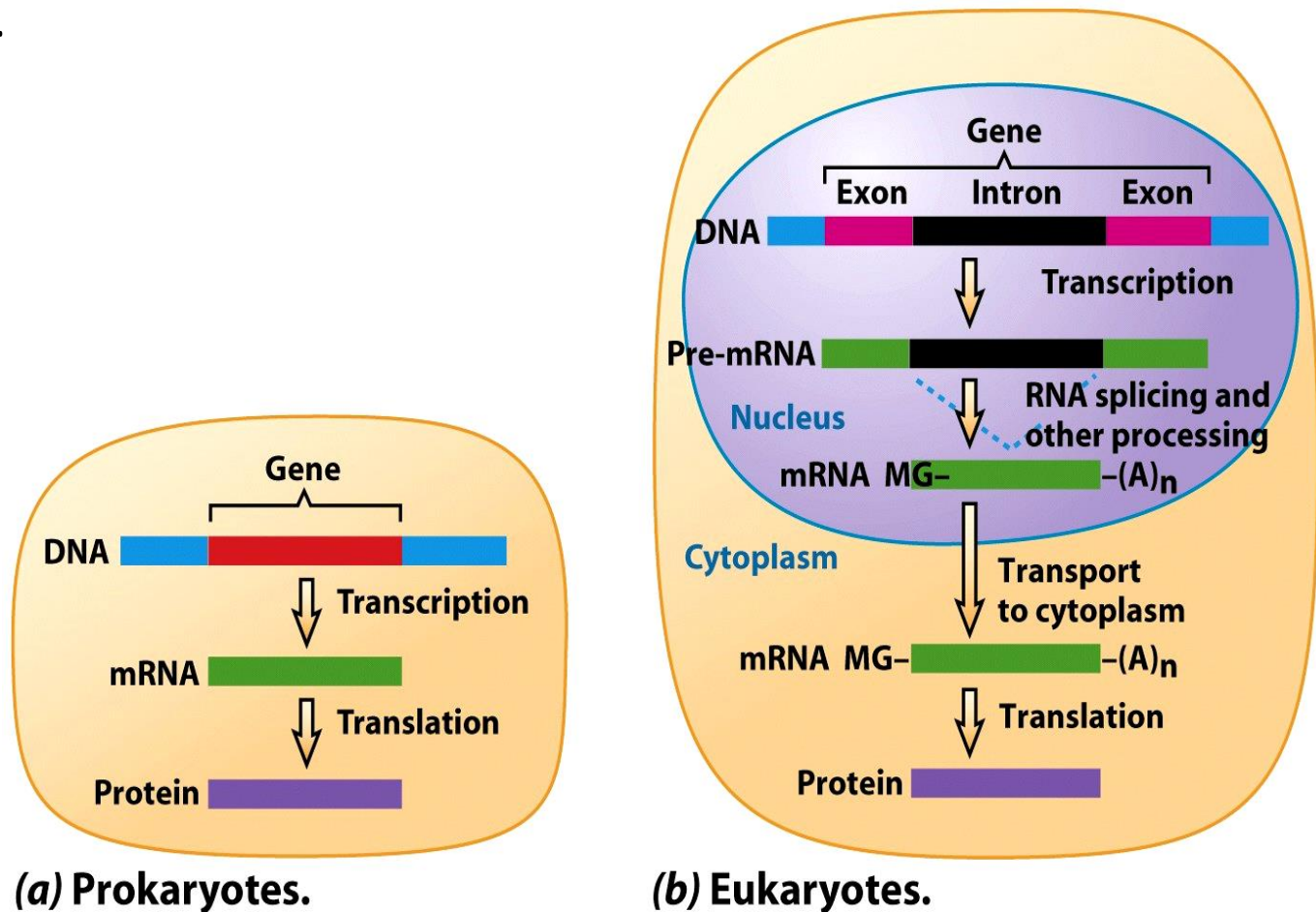
TRANSCRIÇÃO



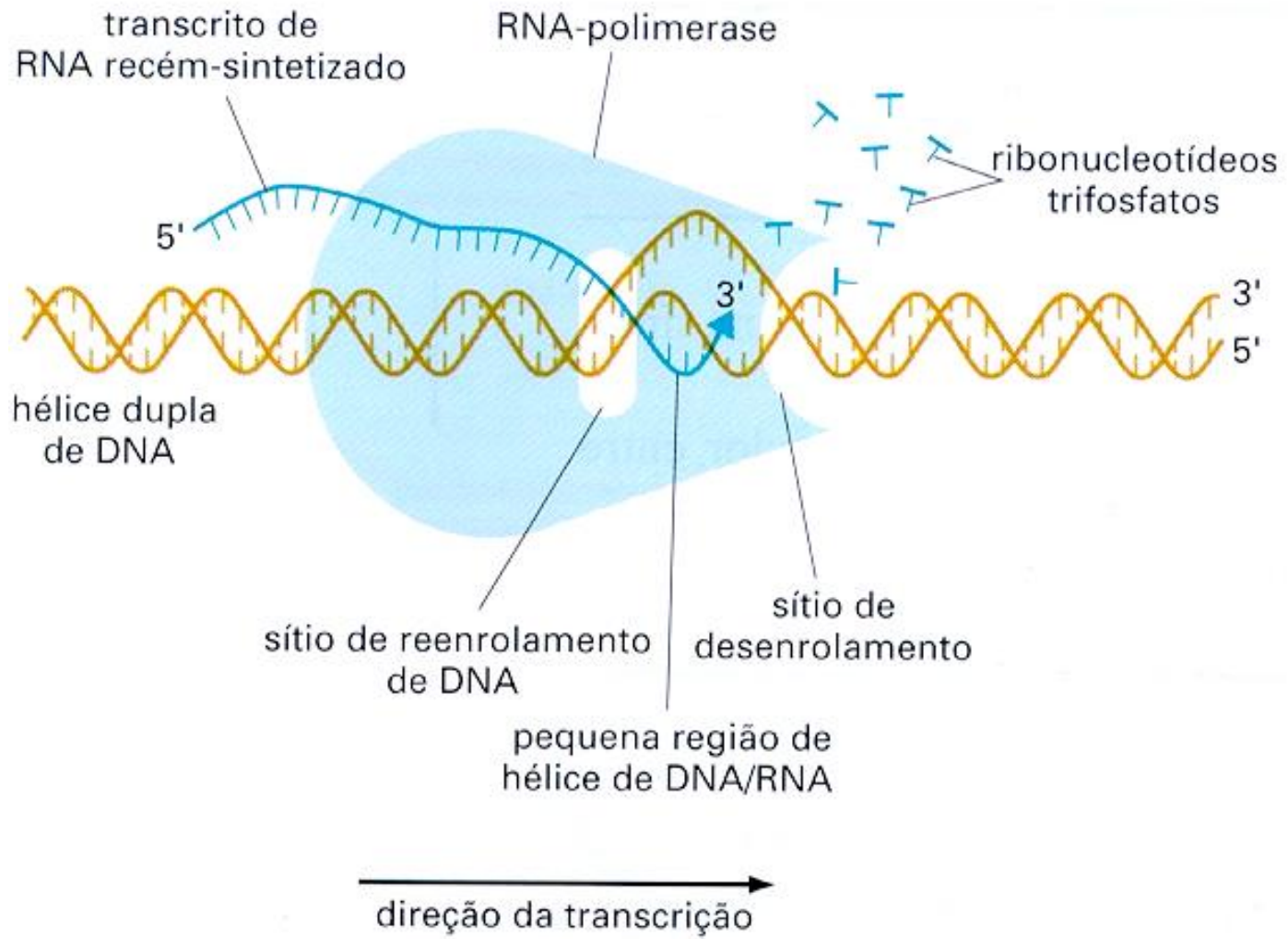
- ❑ A informação genética contida num segmento do DNA é reescrita em uma fita simples de RNA;
- ❑ Esta fita apresenta uma sequência de ribonucleotídeos complementar a uma das fitas da dupla hélice de DNA (**molde**) e idêntica à sequência da outra fita (**codificadora**), com substituição de T por U.

TRANSCRIÇÃO

- ✓ Nos **eucariotos** a transcrição ocorre no núcleo, enquanto a tradução ocorre no citoplasma.
- ✓ Já nos **procariontos** tal separação celular não existe, sendo os dois processos acoplados.



ENZIMA RNA POLIMERASE



RNA POLIMERASE

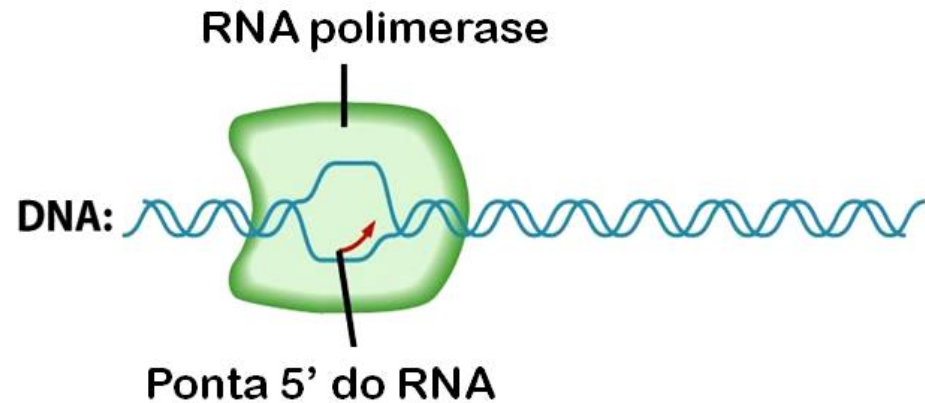
- ❑ Reconhece e se liga à sequências específicas de DNA (**promotor**);
- ❑ Desnatura o DNA expondo a sequência de nucleotídeos a ser copiada;
- ❑ Mantém as fitas de DNA separadas na região de síntese;
- ❑ Mantém o híbrido DNA:RNA estável
- ❑ Renatura o DNA na região imediatamente posterior à da síntese;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

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

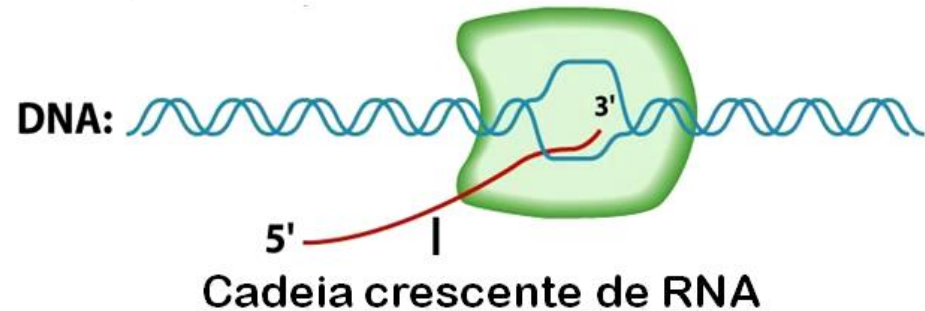
Proteínas que auxiliam o processo de transcrição **no reconhecimento do promotor.**

ETAPAS DA TRANSCRIÇÃO

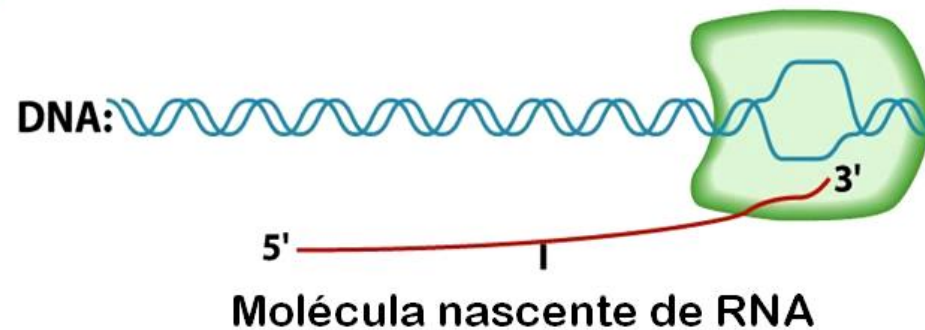
1 Iniciação da cadeia de RNA



2 Alongamento da cadeia de RNA



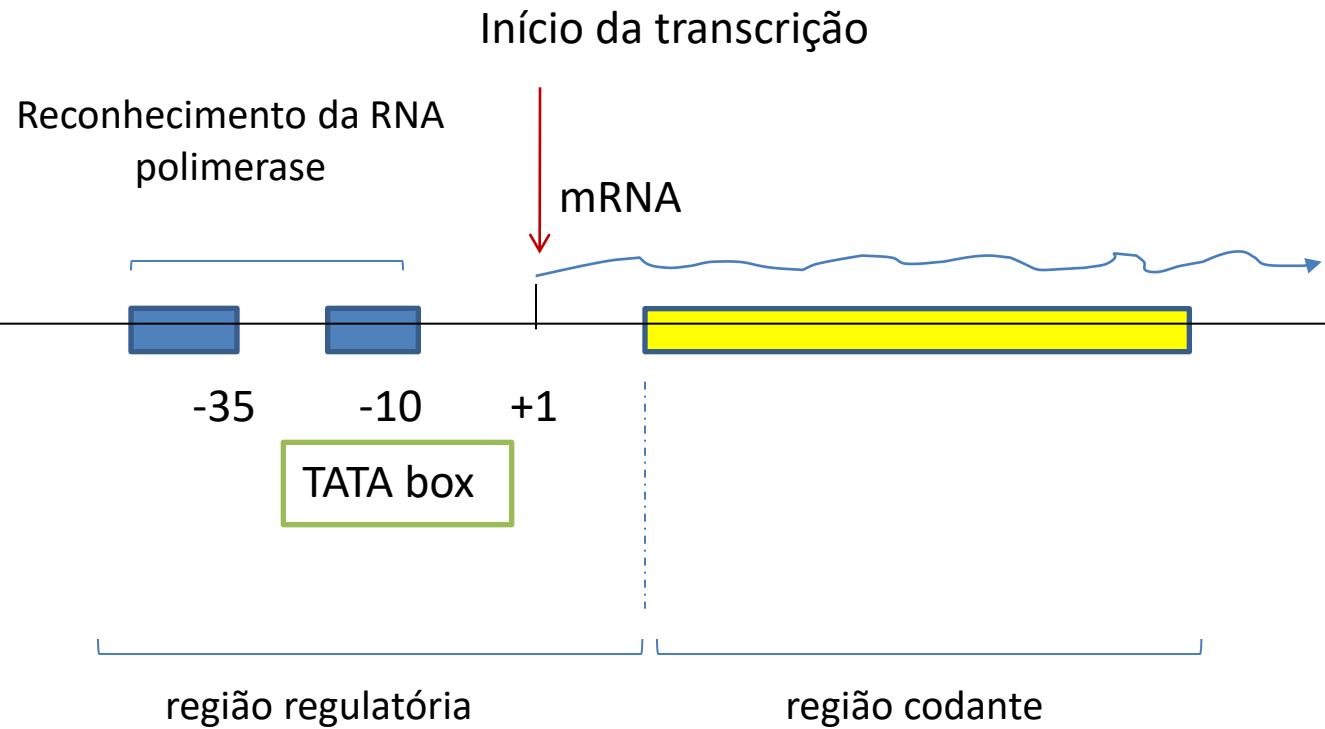
3 Término da cadeia de RNA



CARACTERÍSTICAS GERAIS DA SÍNTESE DE RNA

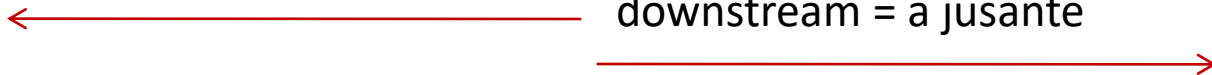
1. Os precursores são **ribonucleotídeos**;
2. Apenas **1 fita de DNA** é utilizada como **molde** para a síntese de RNA complementar;
3. As cadeias de RNA são sintetizadas **sem** a necessidade de um filamento *primer* preexistente (atuação da **RNA polimerase**);
4. Síntese é **complementar ao DNA**, no entanto **A → U**;
5. Polimerização sentido **5' → 3'**;
6. RNA polimerase inicia a transcrição em **sequências específicas** de nucleotídeos → **promotores**;
7. RNA polimerase termina a transcrição em **sequências específicas** de nucleotídeos → **terminadores (finalizadores)**.

ESTRUTURA DO PROMOTOR EM PROCARIOTOS



upstream = a montante

downstream = a jusante

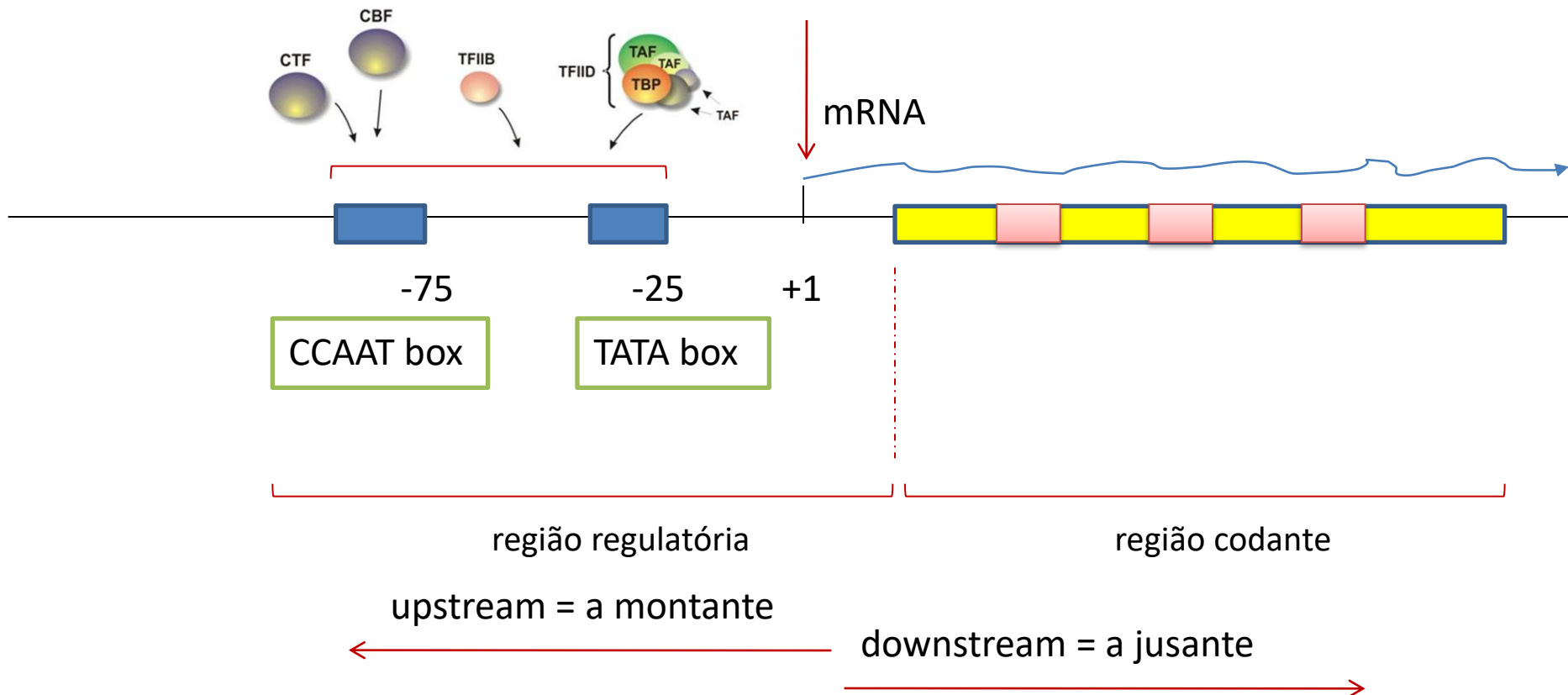


ESTRUTURA DO PROMOTOR EM EUCARIOTOS

Reconhecimento da RNA polimerase

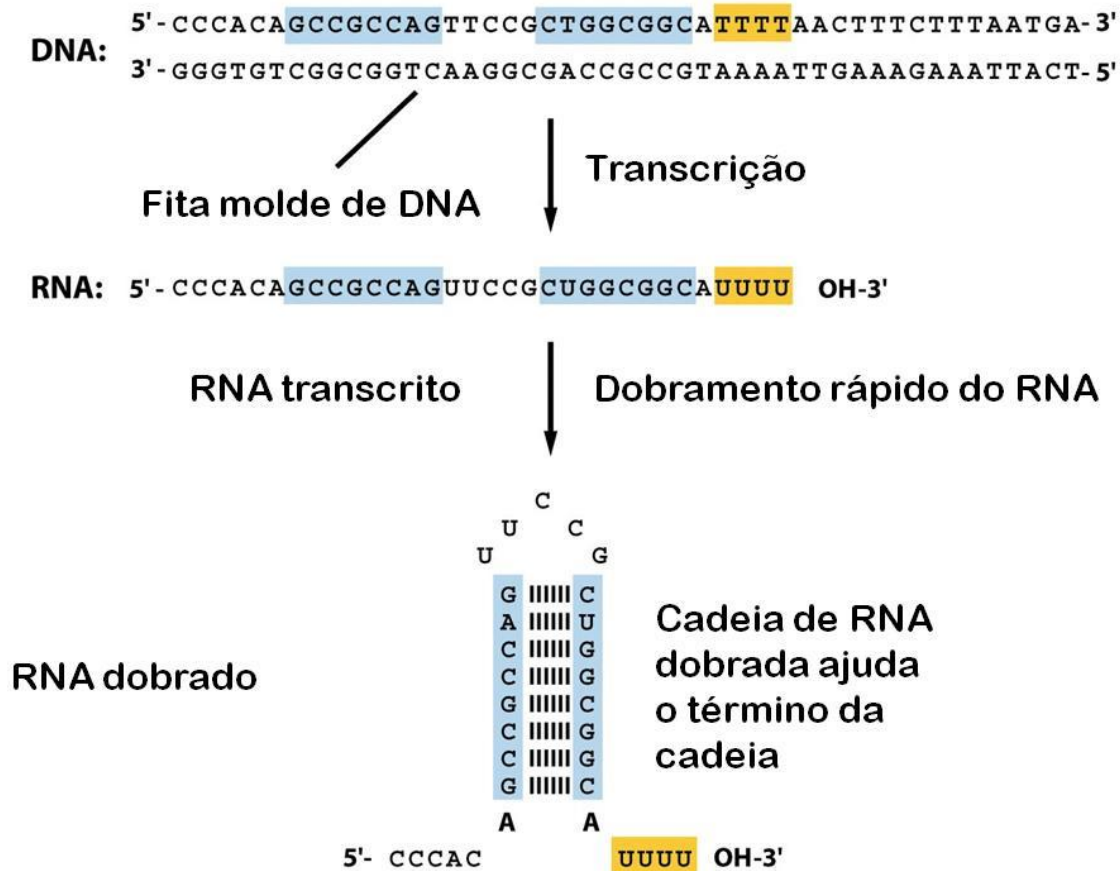
FATORES DE TRANSCRIÇÃO

Início da transcrição



TERMINO DA TRANSCRIÇÃO

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



GENE TÍPICO DE PROCARIOTOS

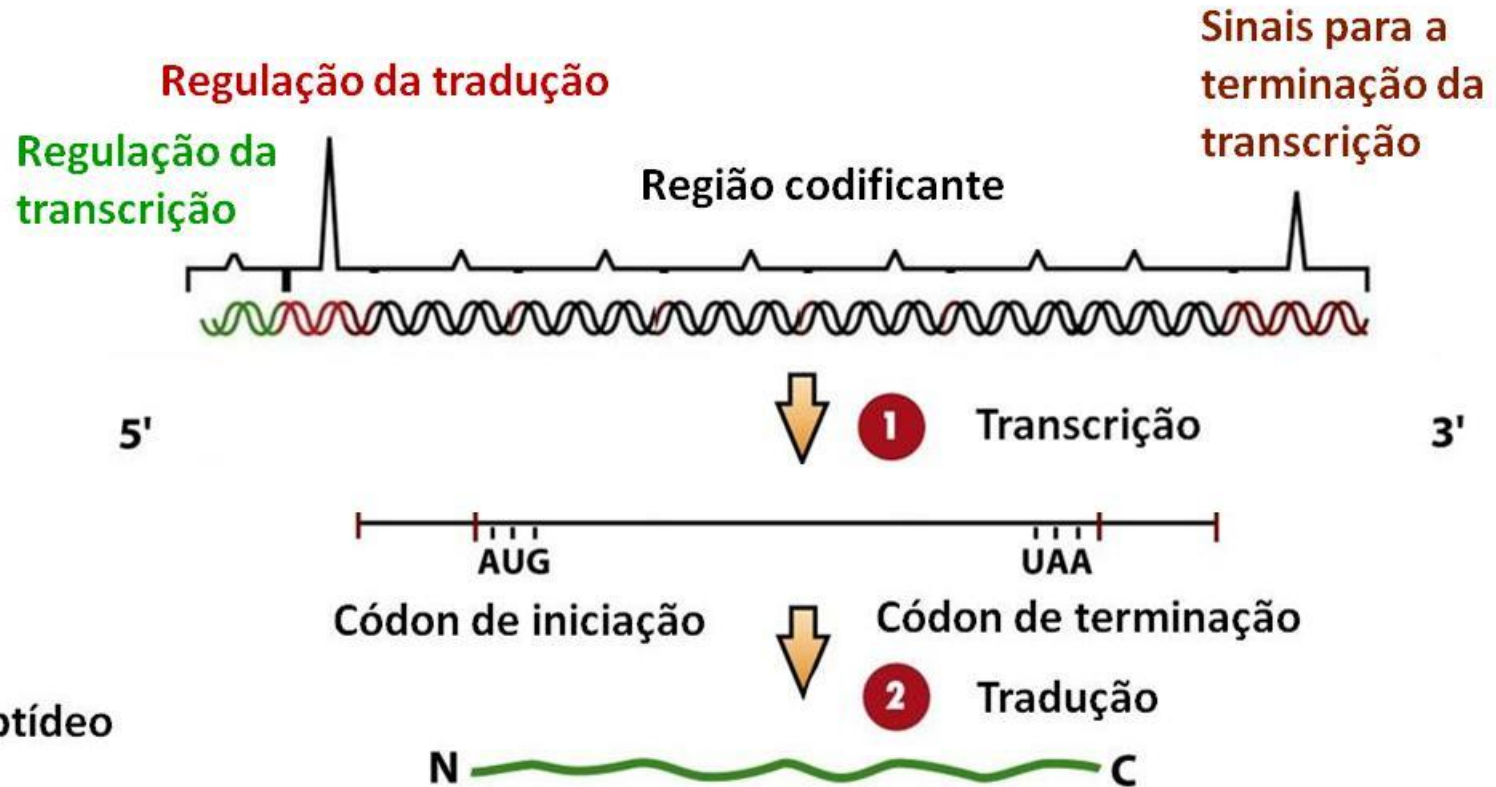
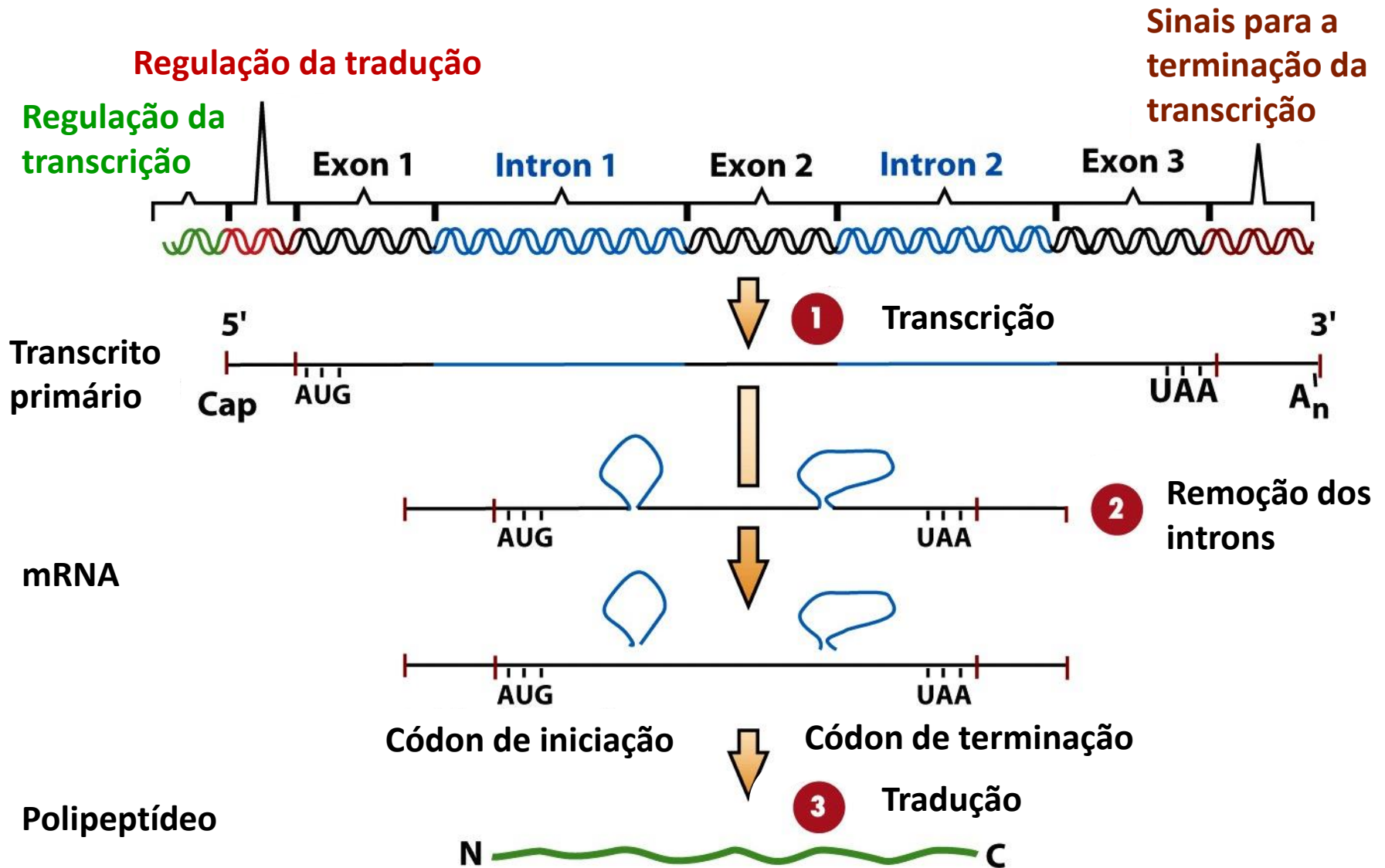


Figure 14-1b Principles of Genetics, 4/e
© 2006 John Wiley & Sons

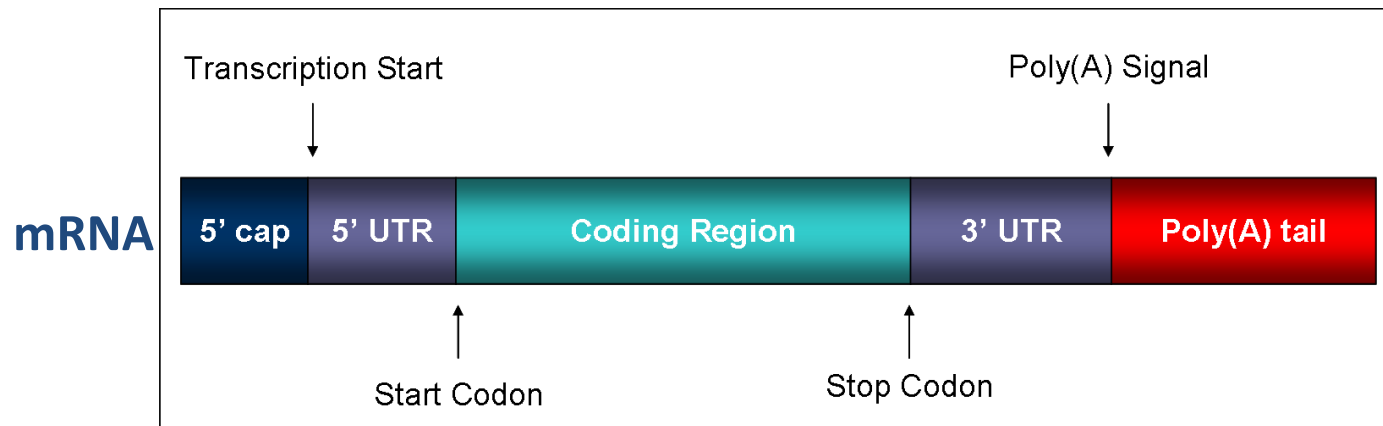
NÃO HÁ PROCESSAMENTO DE mRNA EM PROCARIOTOS!!!

GENE TÍPICO DE EUCARIOTOS



PROCESSAMENTO DO RNA (TRANSCRITO) PRIMÁRIO EM EUKARIOTOS

- As modificações que podem ocorrer nos transcritos nucleares são basicamente de três tipos:
 - Capeamento ("capping") do terminal 5';
 - Poliadenilação do terminal 3';
 - Montagem de segmentos codificadores ("*splicing*").
- Este conjunto de modificações no transcrito nuclear originará o mRNA, pronto para migrar para o citoplasma.



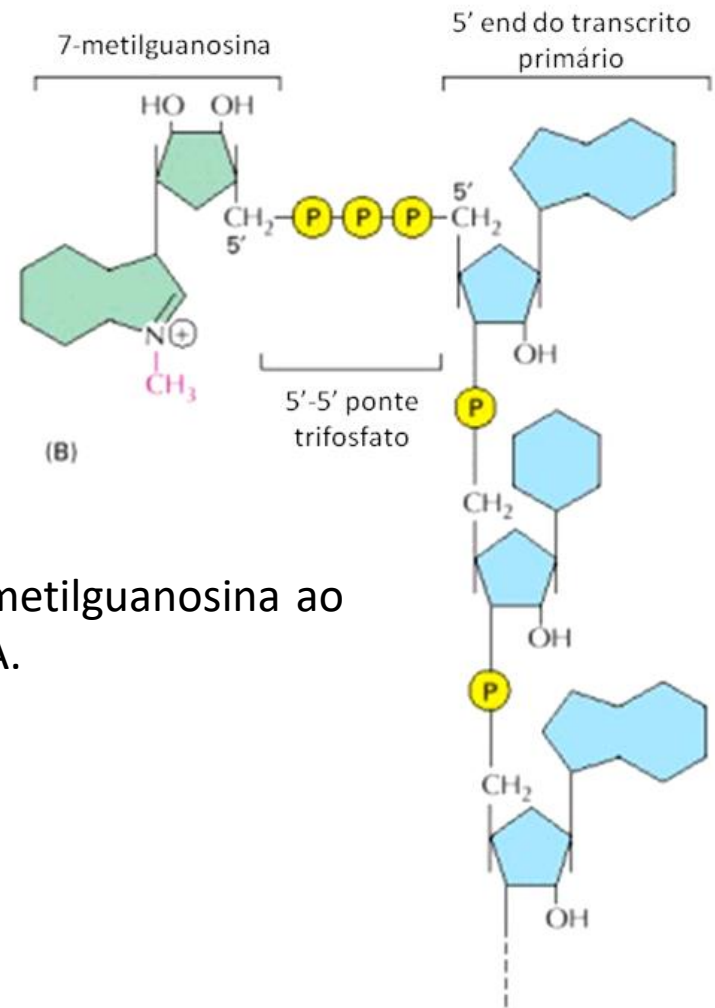
PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO

Capeamento:

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

FUNÇÕES:

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



PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO

Poliadenilação:

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

FUNÇÕES:

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

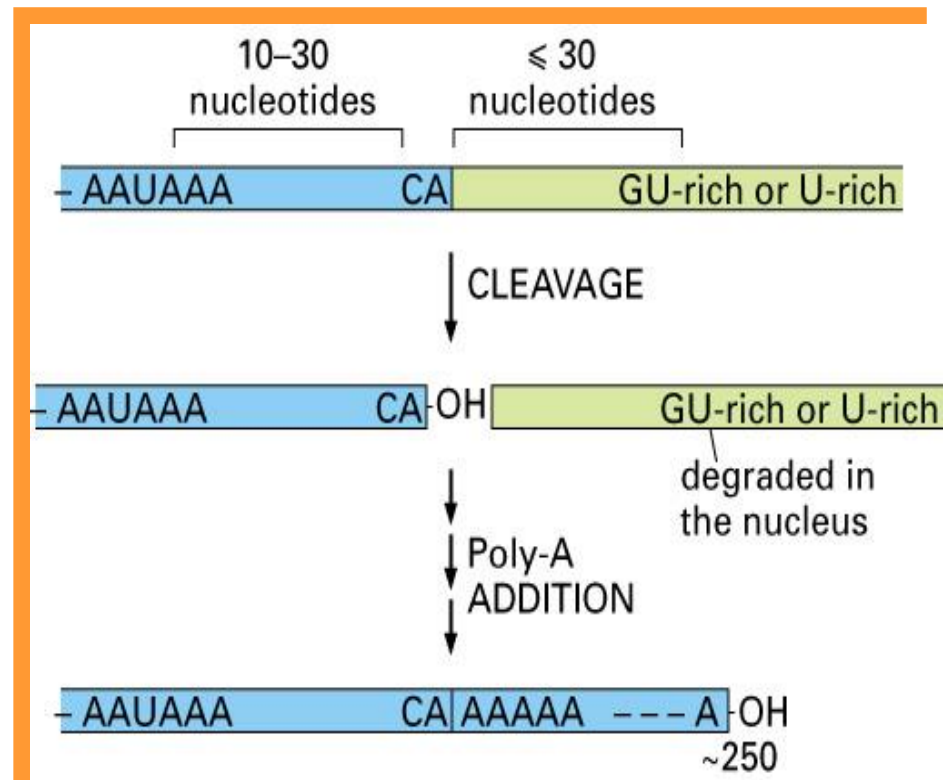
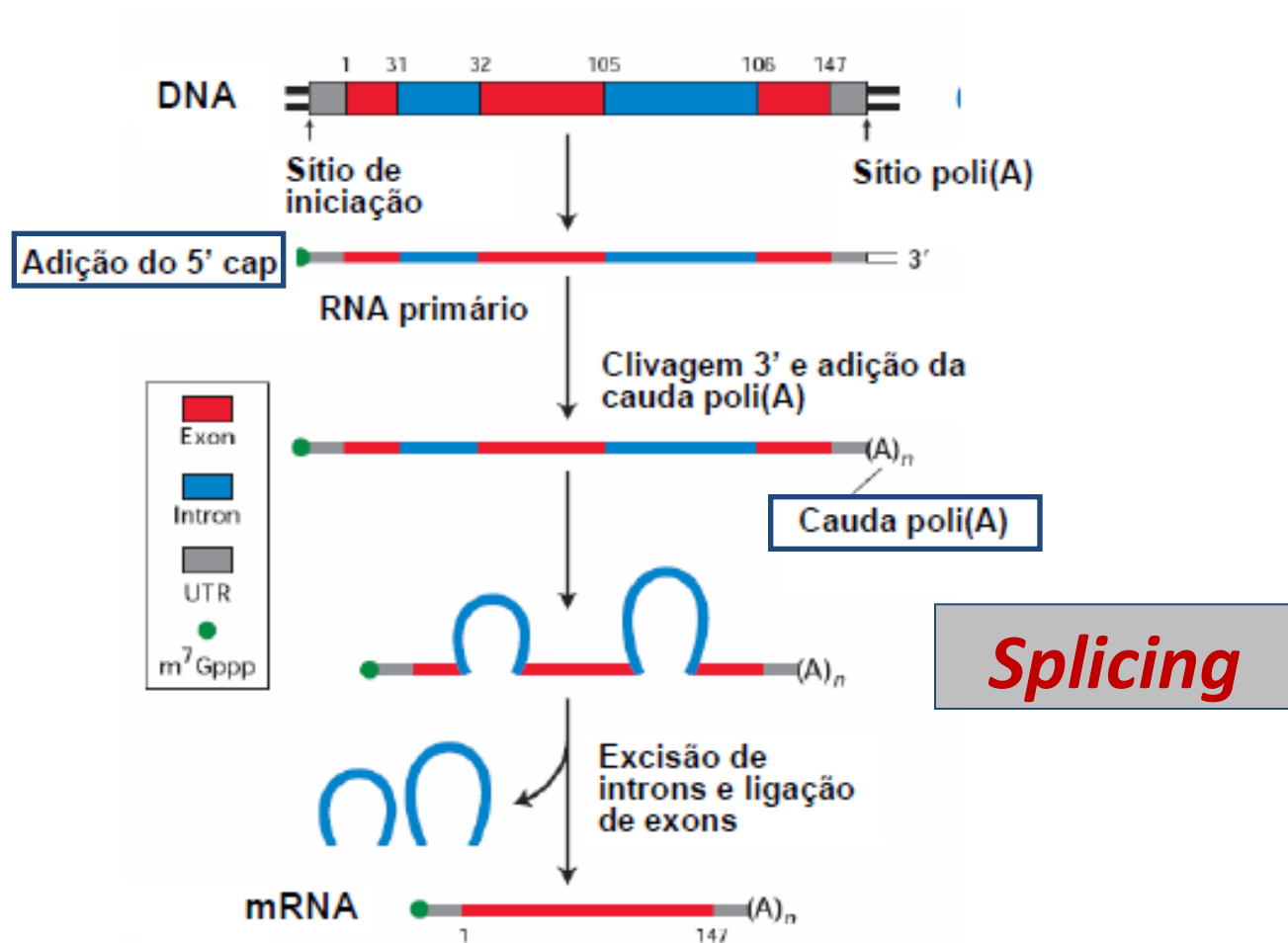


Figure 6-37. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

PROCESSAMENTO DO RNA PRIMÁRIO



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

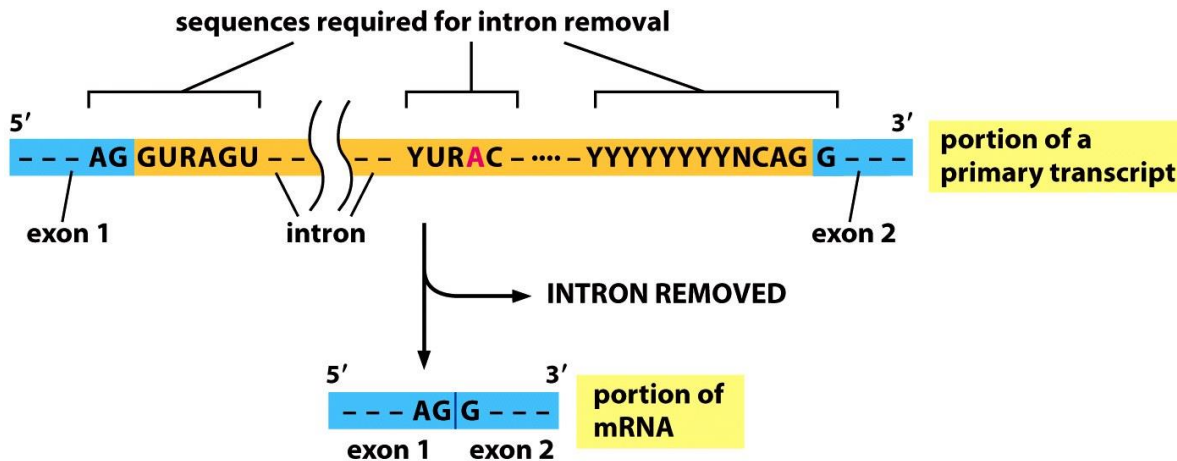


Figure 7-19 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

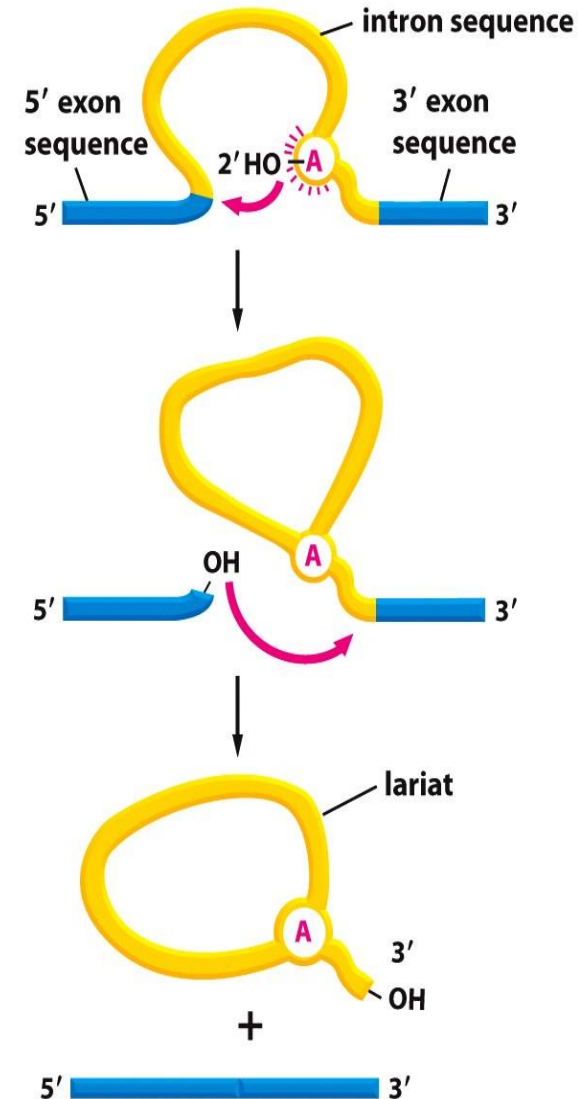
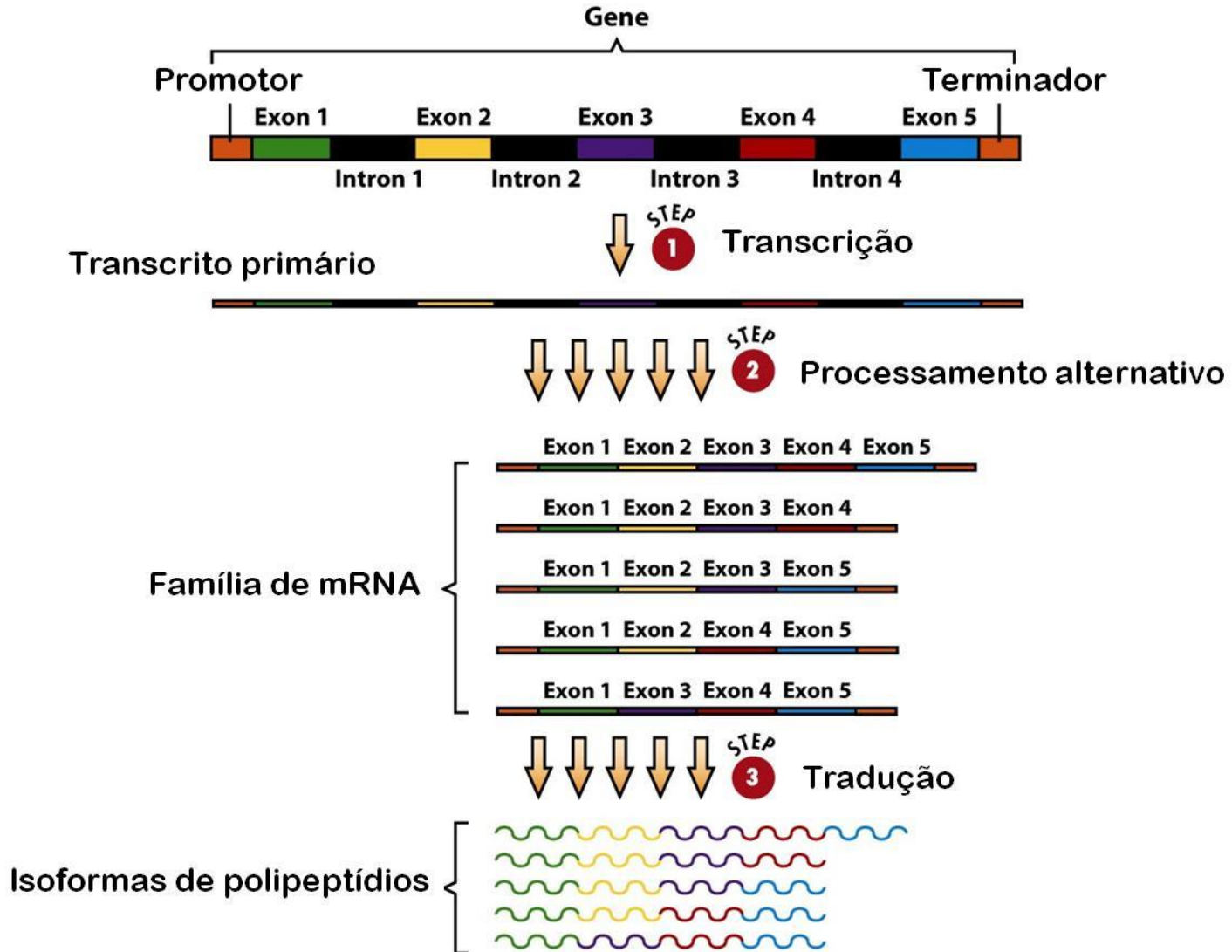
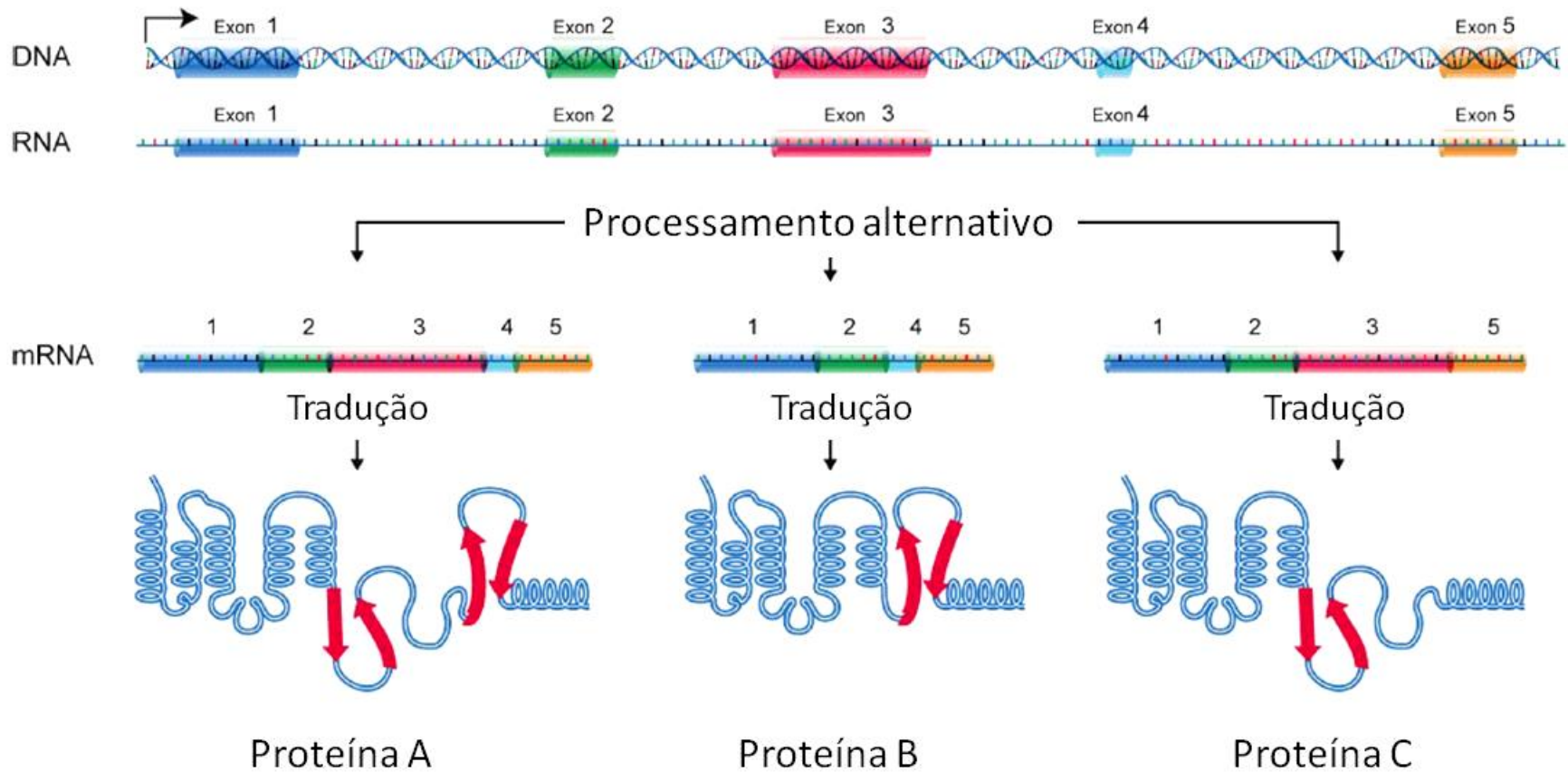


Figure 7-20 Essential Cell Biology 3/e (© Garland Science 2010)

ISOFORMAS DE PROTEÍNAS

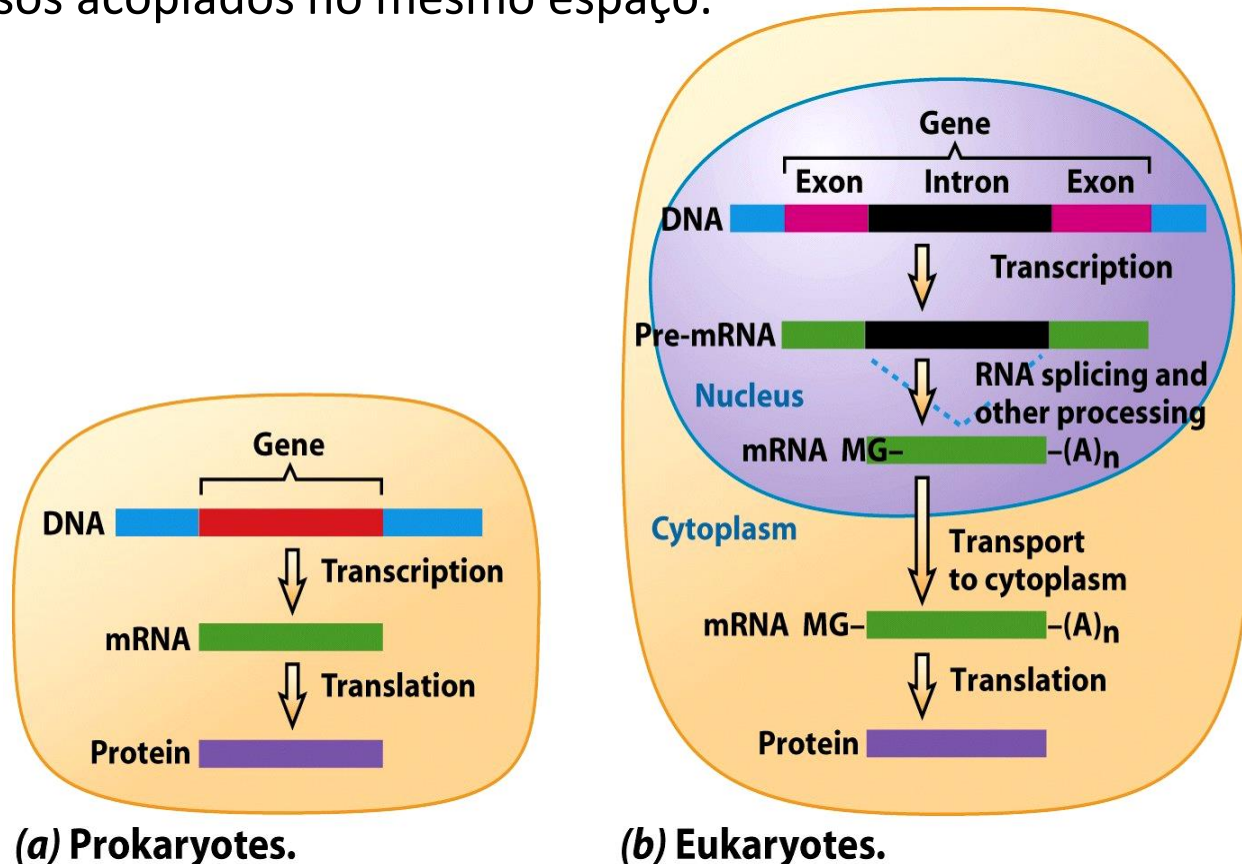


SPLICING ALTERNATIVO GERANDO DIVERSAS PROTEÍNAS



TRANSCRIÇÃO: VISÃO GERAL

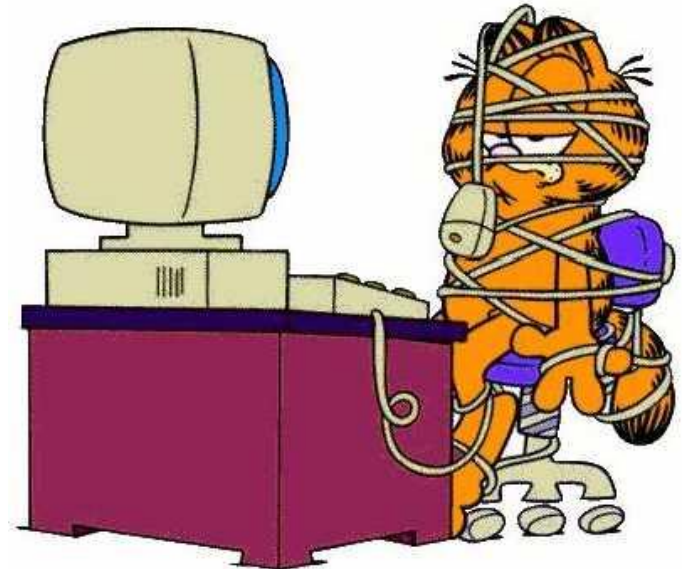
- ✓ Nos eucariotos a transcrição ocorre no núcleo, enquanto a tradução ocorre no citoplasma;
- ✓ Já nos procariotos tal separação celular não existe, sendo os dois processos acoplados no mesmo espaço.



VISUALIZANDO O PROCESSO...

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

http://www.youtube.com/watch?v=-ygpqVr7_xs&feature=related



ESTUDO DIRIGIDO

1. Definição de gene e suas regiões;
2. Diferença na estrutura dos genes de eucariotos e procariotos;
3. Região promotora e sua importância para a transcrição em eucariotos e procariotos;

Capítulo 7 – Do DNA a proteína: como as células leem o genoma (páginas 231- 245)

Alberts, B.; Bray, D.; Hopkin, K.; Johnson, A.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Walter, P. 2011. ***Fundamentos da Biologia Celular***. 3ª Edição brasileira. Artmed, Porto Alegre

