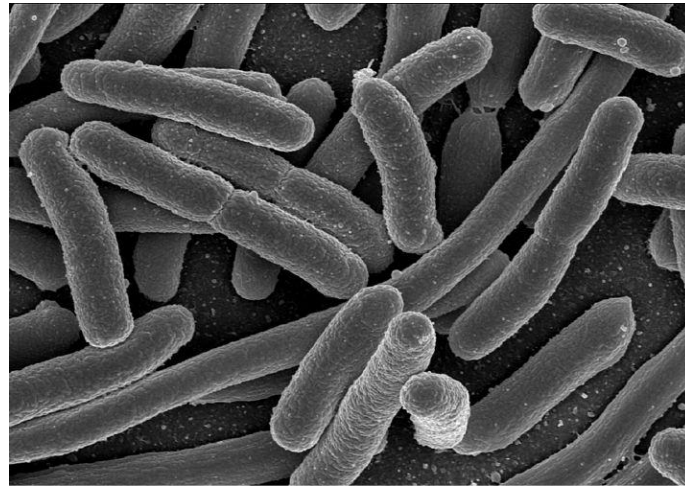


QBQ 136 Biologia Molecular

REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM PROCARIOTOS



Scanning electron micrograph of *Escherichia coli*, grown in culture and adhered to a cover slip. Credit: NIAID

Expressão Gênica

- Um gene A está sendo expresso quando:
 - O gene A está sendo transcrito para formar RNAm;
 - O RNAm está sendo traduzido para formar proteína;
 - As proteínas formadas estão corretamente enoveladas e funcionais na célula.
- As células são extremamente seletivas em relação a que genes serão expressos, e em que quantidade e quando serão expressos.

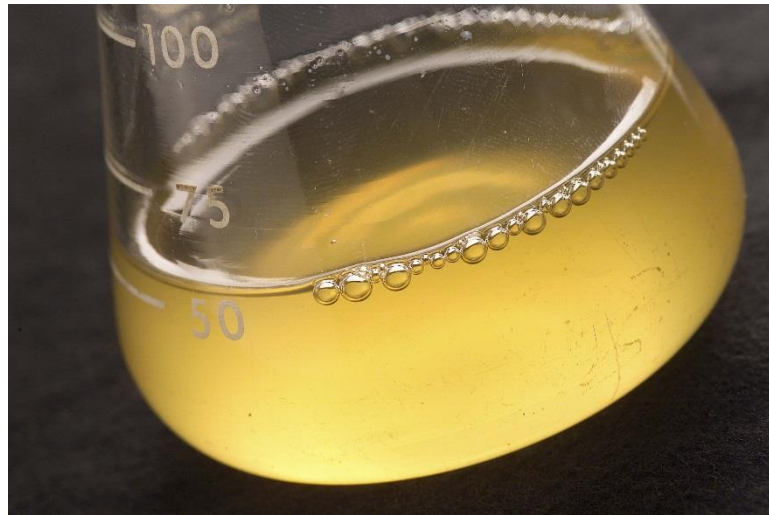
Expressão Gênica

- Alguns genes são expressos de maneira constitutiva (são expressos da mesma maneira o tempo todo).
- Muitos outros genes são regulados e sua expressão pode ser induzida ou reprimida.

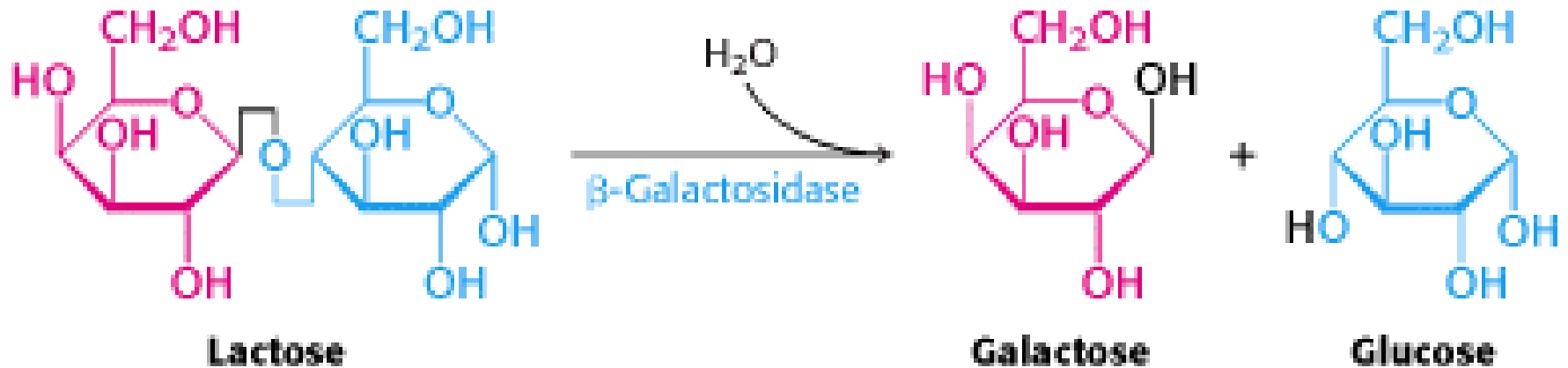


Regulação da expressão gênica em procariotos

A regulação da expressão gênica permite que a bactéria responda a alterações no ambiente, como a presença ou ausência de nutrientes...



Na ausência de glicose no meio, a *E.coli* pode utilizar a lactose como fonte de carbono e energia. Para isto, requer a lactose permease (codificada pelo gene *lacY*), que transporta a lactose para dentro da célula, e a enzima β -galactosidase (codificada pelo gene *lacZ*), que quebra a lactose em glicose e galactose.



↑ Lactose: ativa expressão destes genes

↑ Glicose: inibe a expressão destes genes

Como lactose e glicose regulam a expressão de genes em *E.coli*?

OPERONS

Em 1961, François Jacob e Jacques Monod propuseram o modelo de **operon** na regulação de genes em bactérias



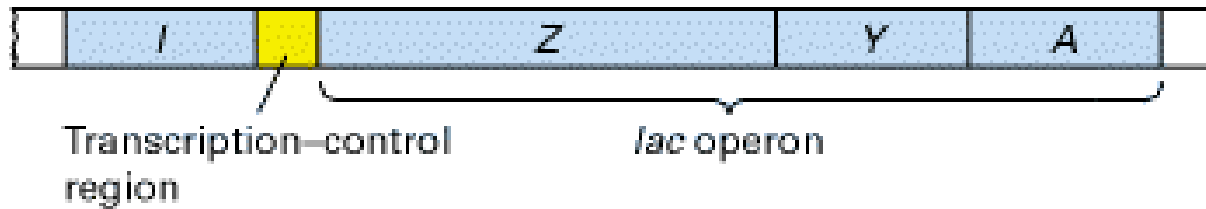
The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1965

Genes bacterianos são organizados em **OPERONS**, que são unidades de transcrição onde vários genes, de funções relacionadas, são regulados conjuntamente.

OPERON *LAC*: transporte e o metabolismo da lactose

OPERON *TRP*: produção do aminoácido triptofano

OPERON LAC



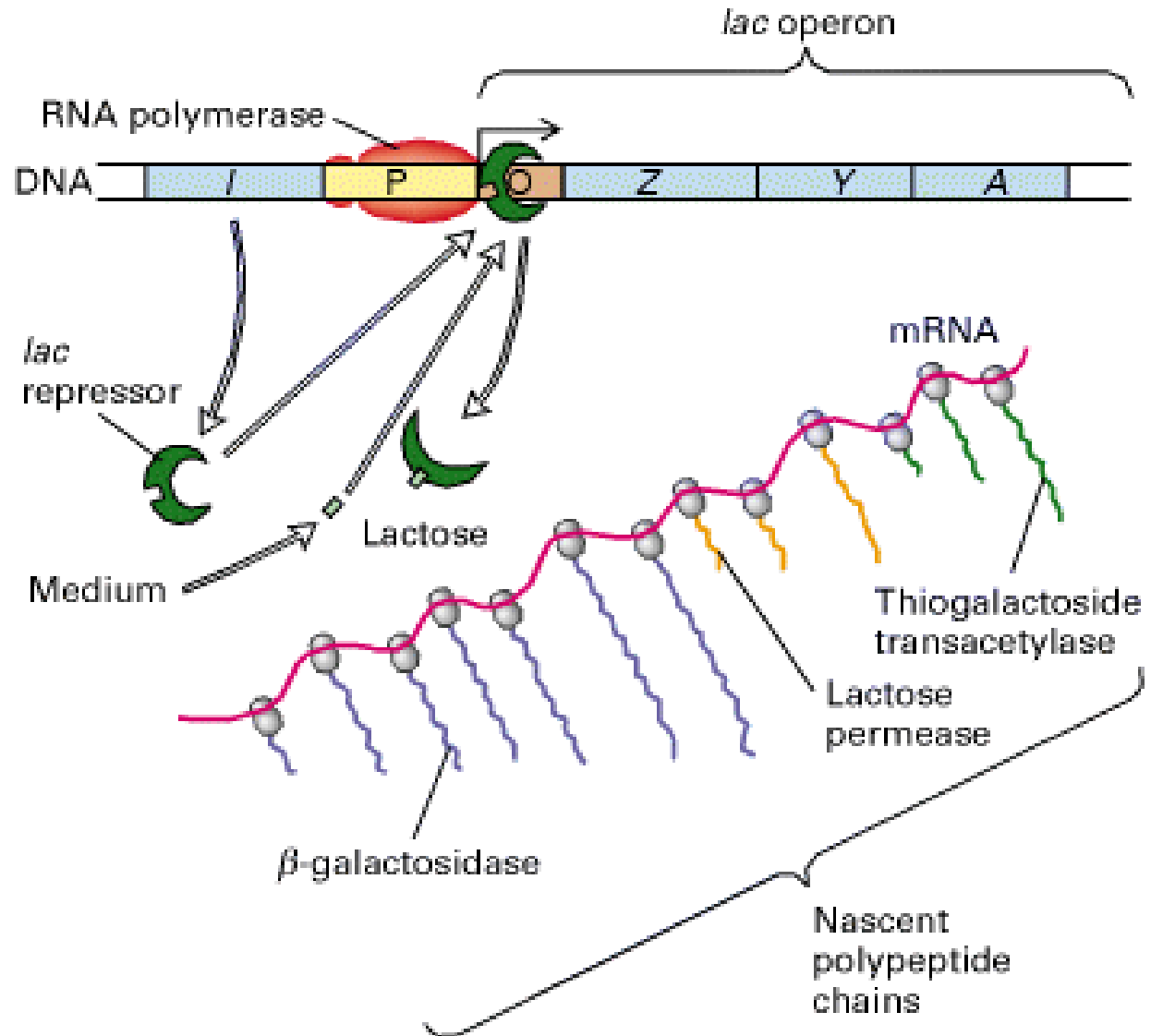
O operon lac é **induzido** pela lactose

Jacob e Monod, 1960's

OPERON LAC

Controle negativo da transcrição do operon pelo repressor lac

O = operador
P = promotor



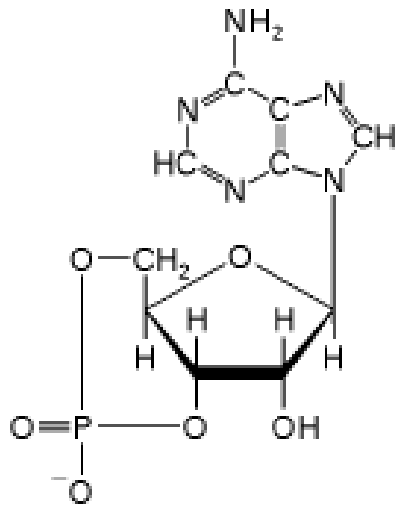
OPERON LAC

Controle positivo da transcrição do operon pela cAMP-CAP

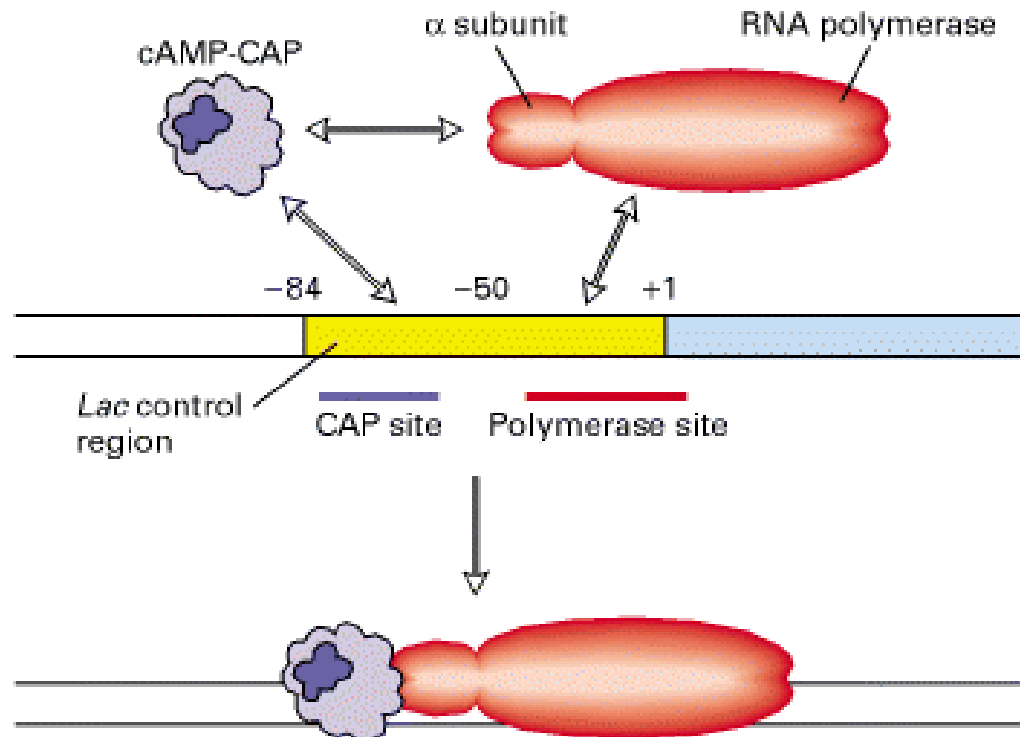
(Catabolite Activator Protein)

↑ Glicose ↓ AMPc

↓ Glicose ↑ AMPc

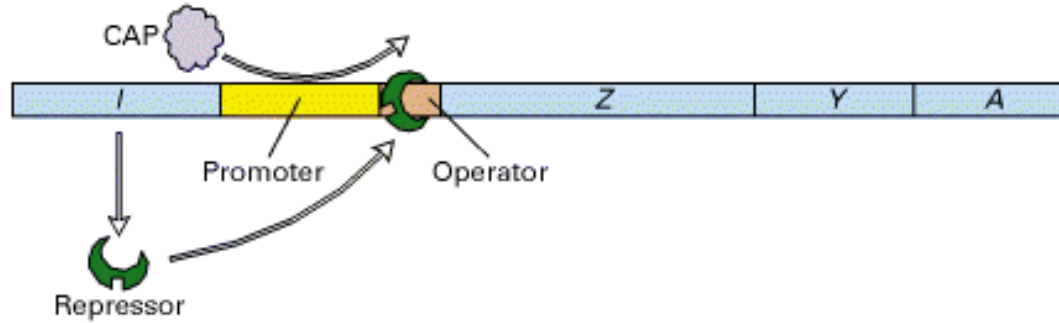


AMPc

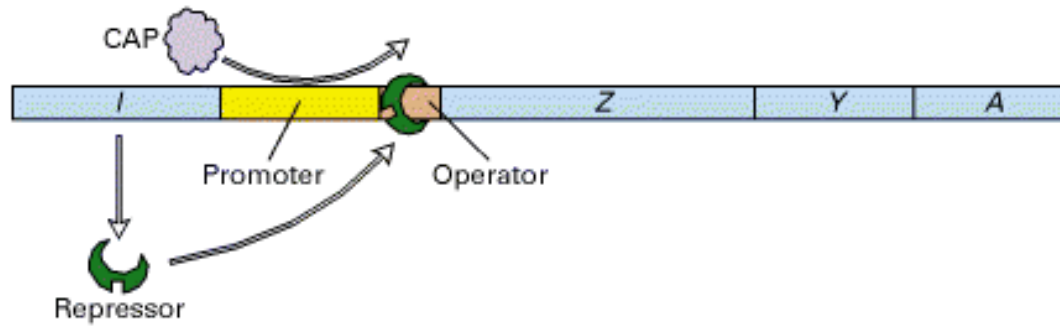


Controle dual do operon *lac*

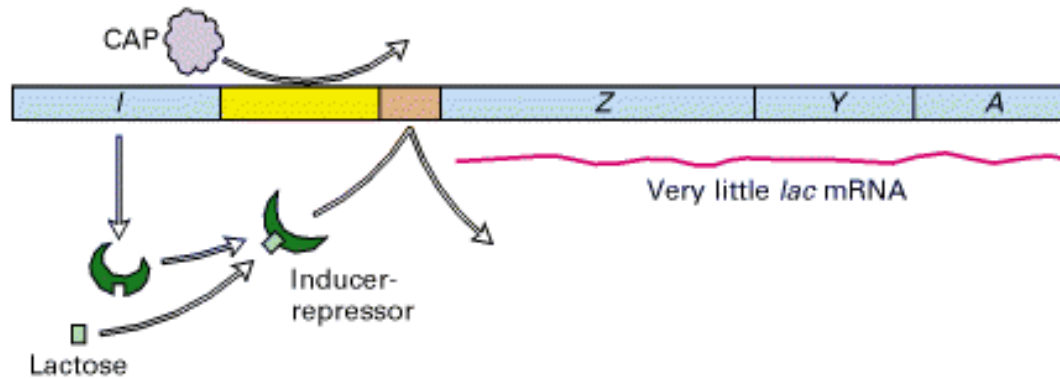
(a) Glucose present (cAMP low); no lactose



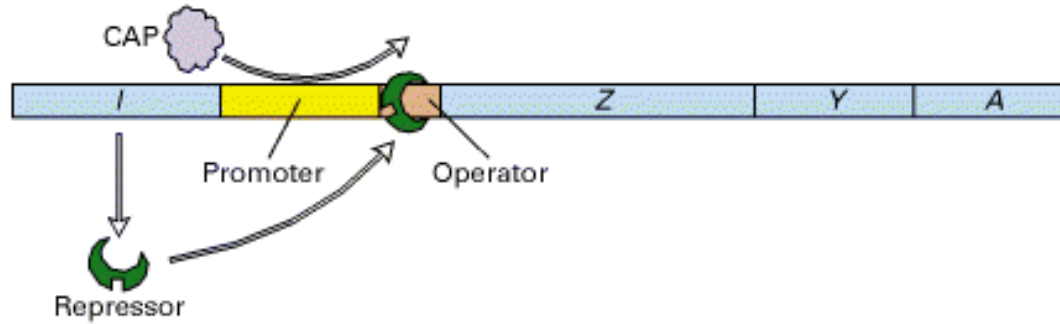
(a) Glucose present (cAMP low); no lactose



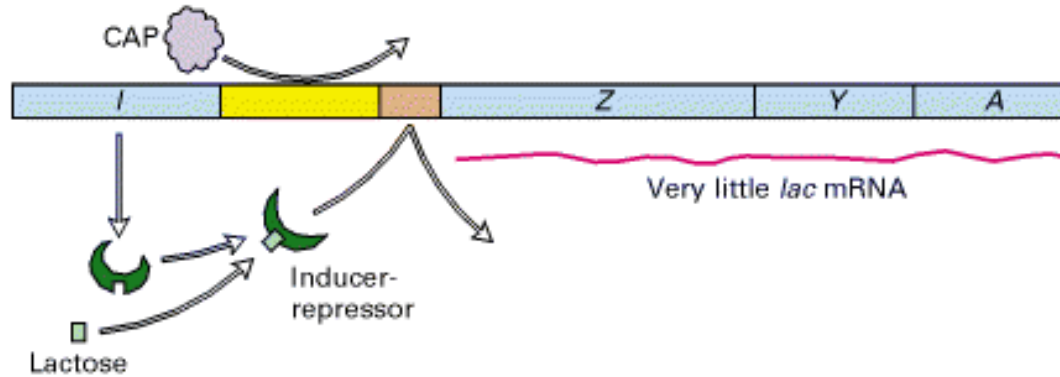
(b) Glucose present (cAMP low); lactose present



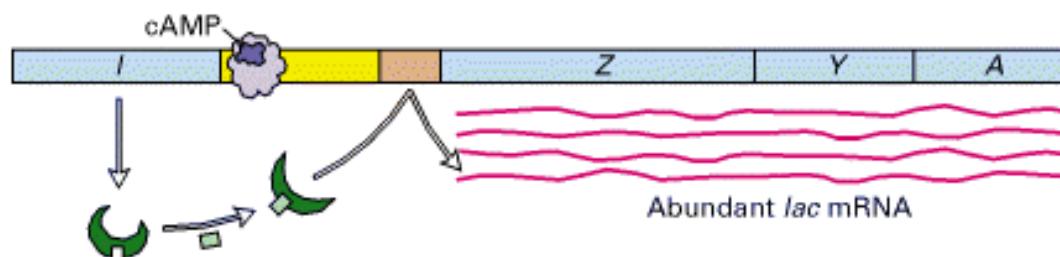
(a) Glucose present (cAMP low); no lactose



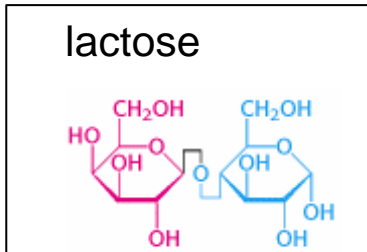
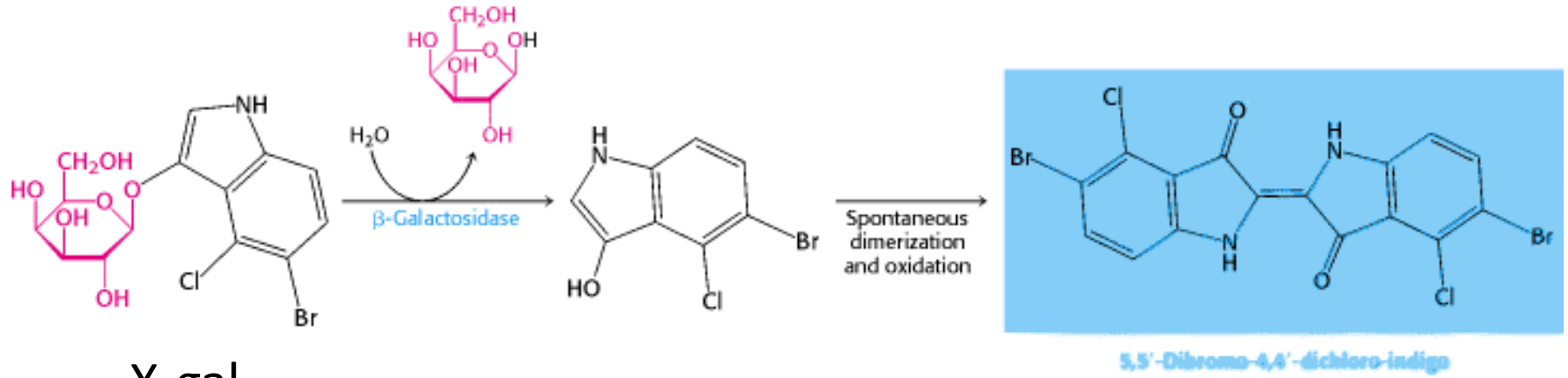
(b) Glucose present (cAMP low); lactose present



(c) No glucose present (cAMP high); lactose present



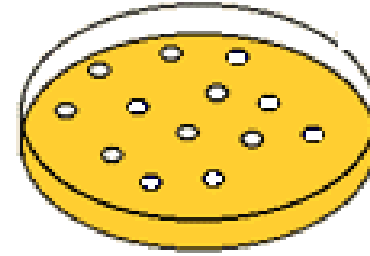
Método colorimétrico para detecção da expressão de β -galactosidase



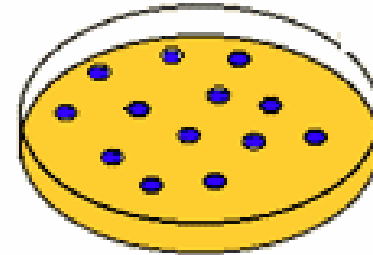
Método colorimétrico para detecção da expressão de β -galactosidase

E.coli selvagem plaqueada em:

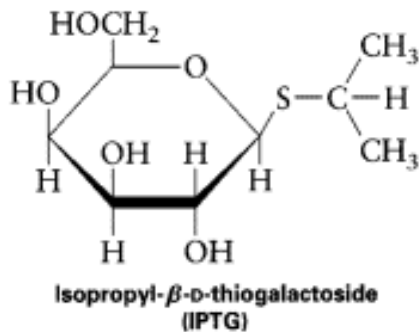
X-gal + glicose \longrightarrow colônias brancas



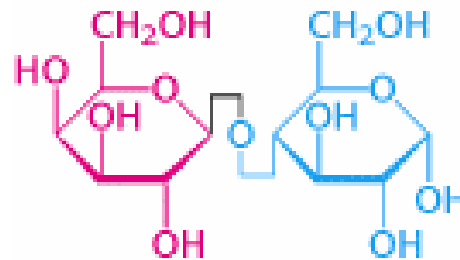
X-gal + lactose (ou IPTG) \longrightarrow colônias azuis



Indutores do operon lac

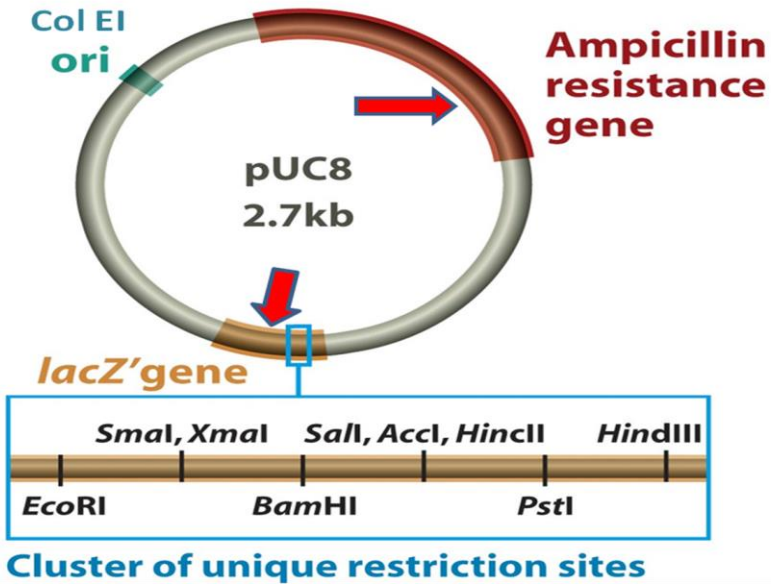


IPTG



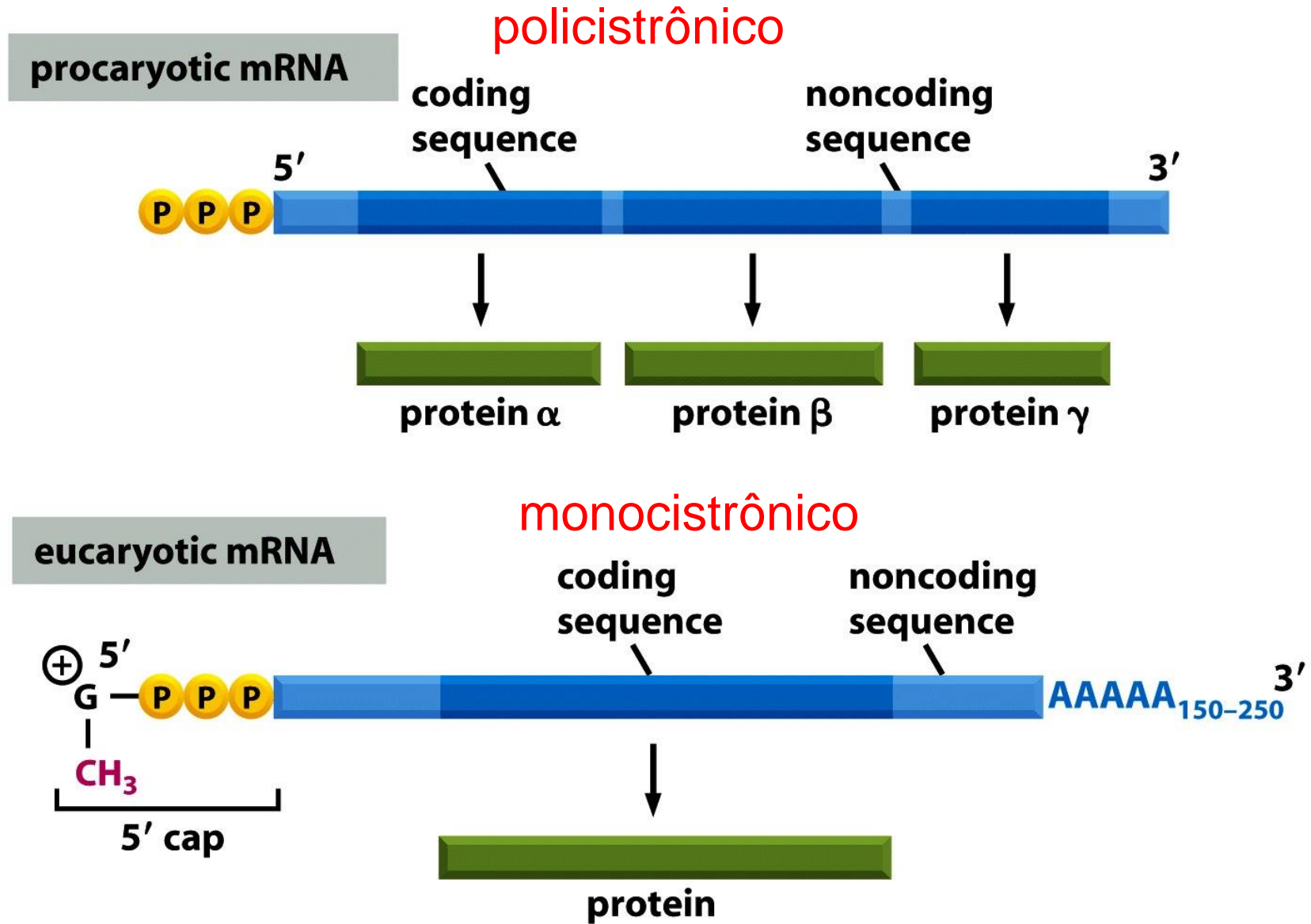
lactose

Triagem azul/branca para seleção de plasmídeos recombinantes



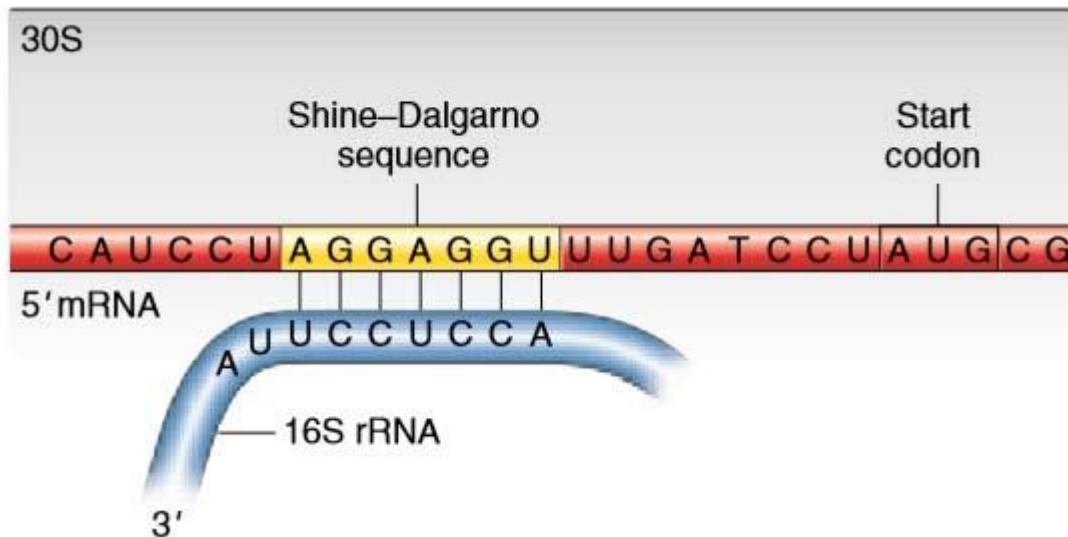
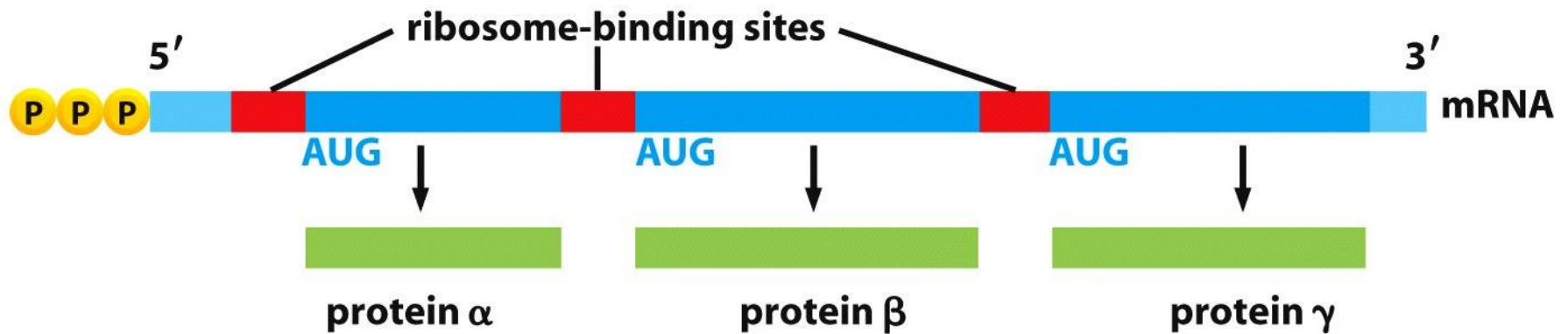
<https://maxanim.com/genetics/the-lac-operon-induction/>

Comparação entre os mRNAs procarióticos e eucarióticos

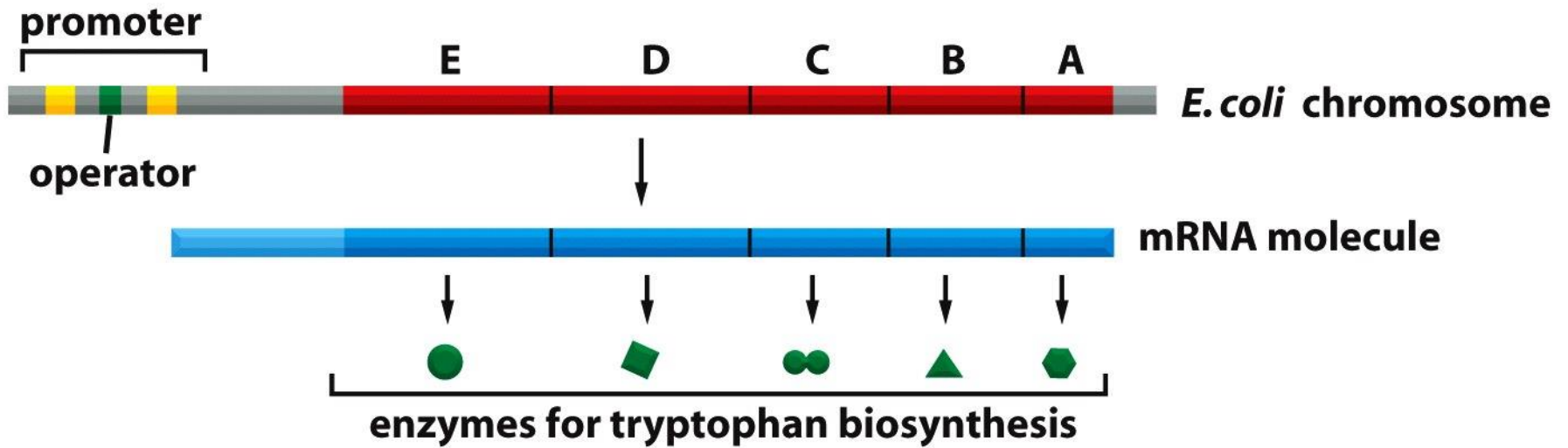


Início de tradução em procariotos

(sequências Shine-Dalgarno)

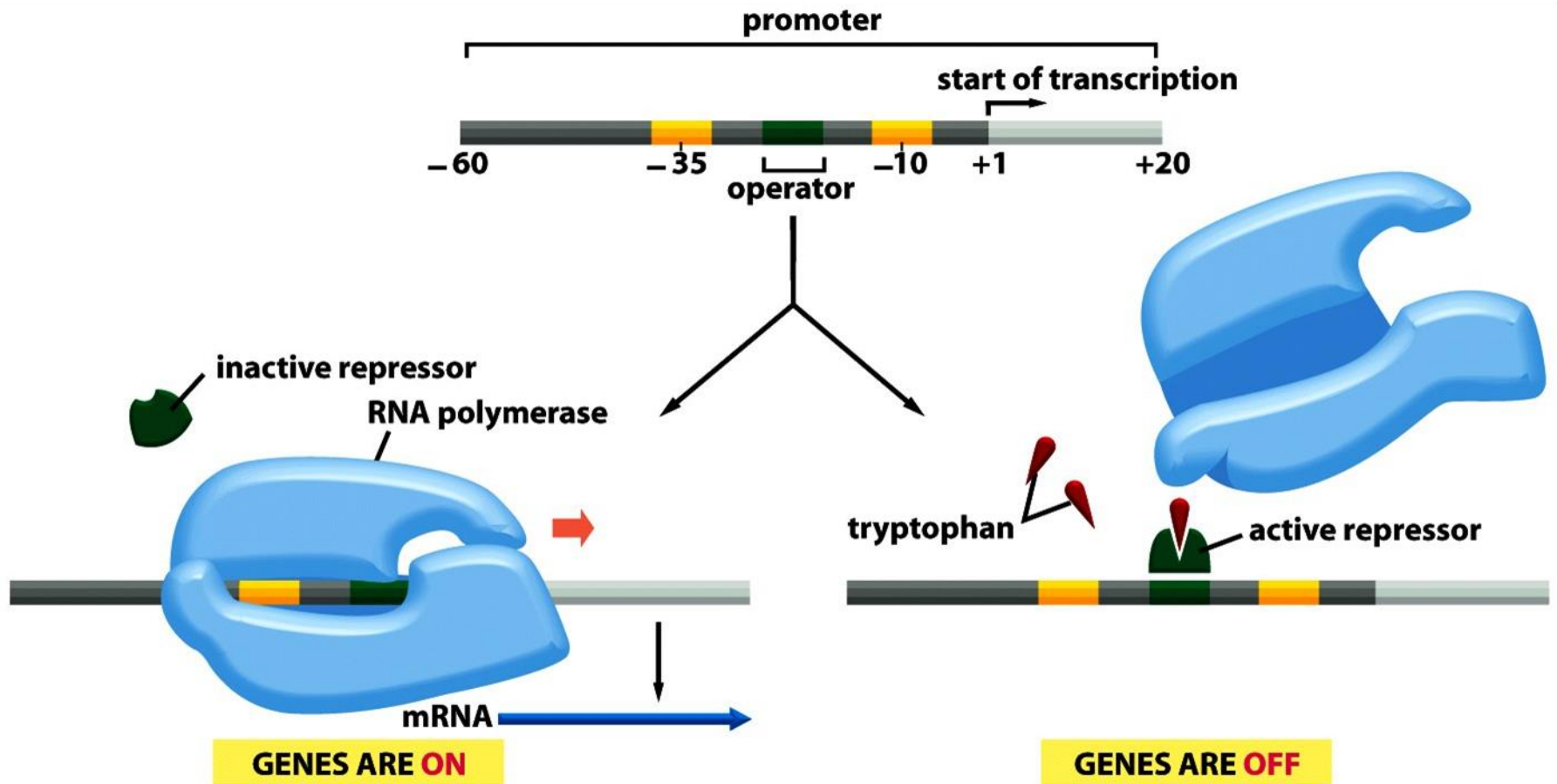


OPERON TRP



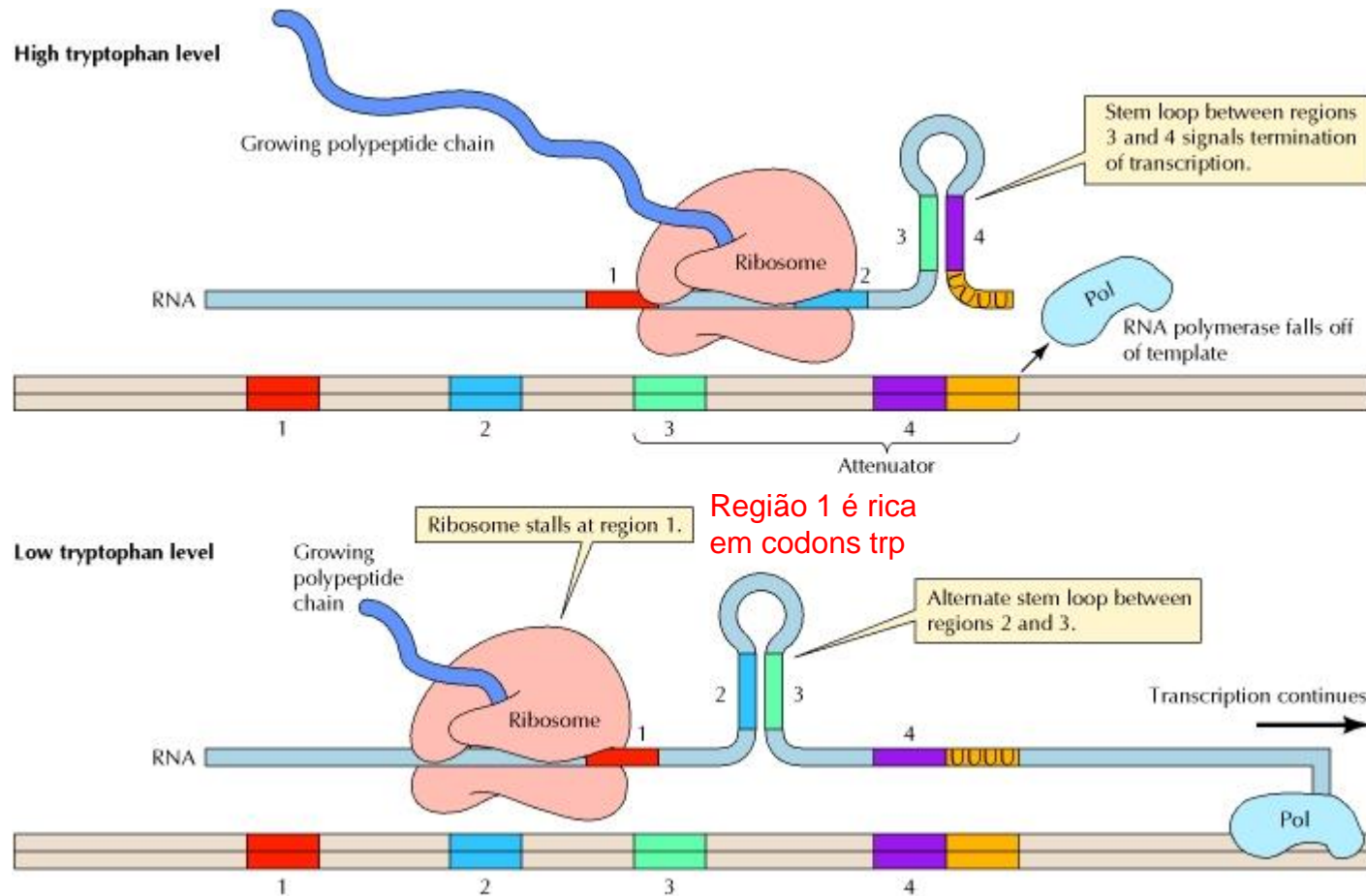
OPERON TRP

Controle negativo da transcrição do operon pelo repressor Trp

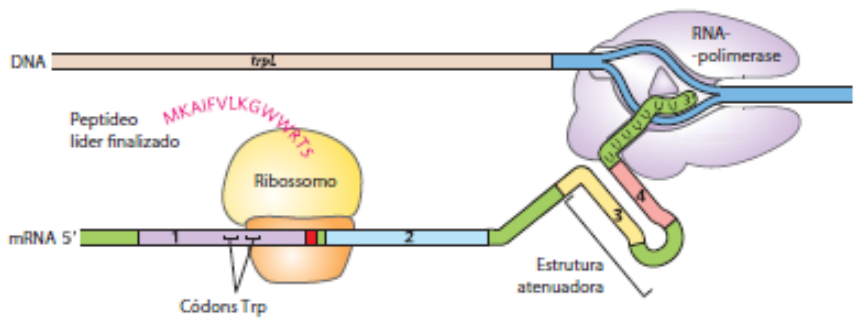
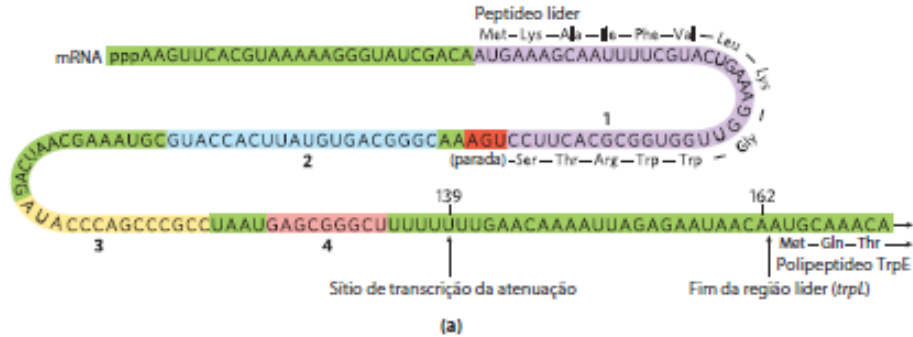


OPERON TRP

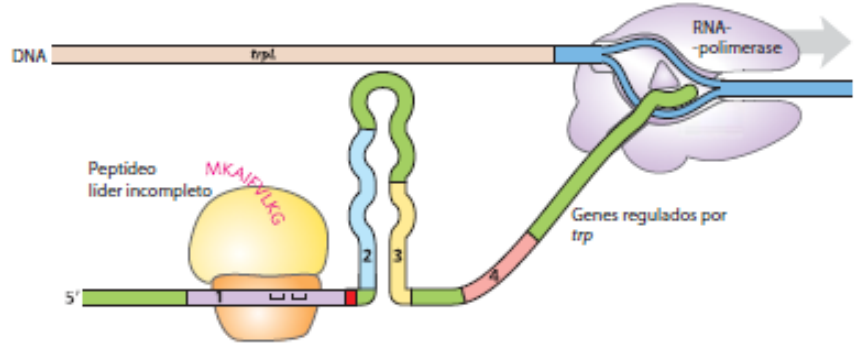
Controle de transcrição do operon *trp* por atenuação



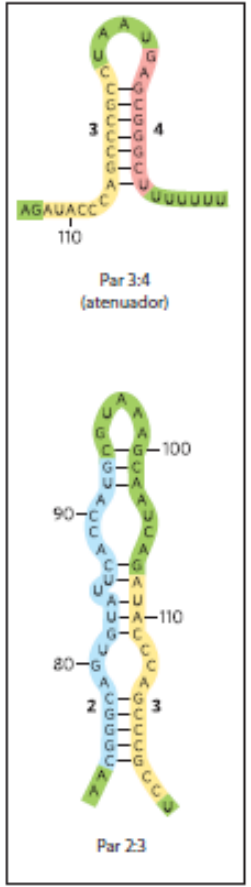
Outro esquema mostrando o Controle de transcrição do operon *trp* por atenuação



Quando os níveis de triptofano estão altos, o ribossomo rapidamente traduz a sequência 1 (fase de leitura aberta codificando o peptídeo líder) e bloqueia a sequência 2 antes da sequência 3 ser transcrita. A transcrição continua e leva à atenuação na estrutura atenuadora semelhante a um terminador formada pelas sequências 3 e 4.



Quando os níveis de triptofano estão baixos, o ribossomo pausa nos códons Trp na sequência 1. A formação da estrutura pareada entre as sequências 2 e 3 impede a atenuação, pois a sequência 3 não está mais disponível para formar a estrutura do atenuador com a sequência 4. A estrutura 2:3, ao contrário do atenuador 3:4, não impede a transcrição.



REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM EUCARIOTOS

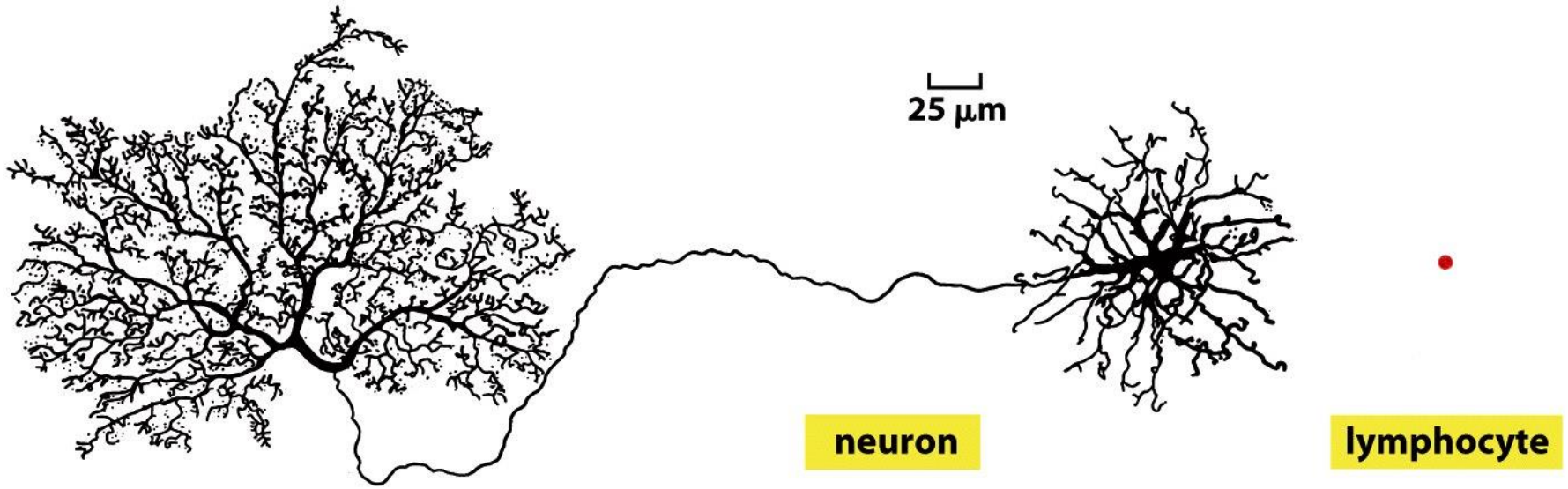


Figure 7-1 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

A regulação da transcrição em eucariotos é mais complexa que em procariotos

- Proteínas regulatórias podem se ligar bem distantes do promotor;
- A RNA pol II depende de fatores gerais de transcrição para iniciar a transcrição;
- Empacotamento do DNA na forma de cromatina permite mecanismos de regulação que não ocorrem nos procariotos.

FATORES DE TRANSCRIÇÃO

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

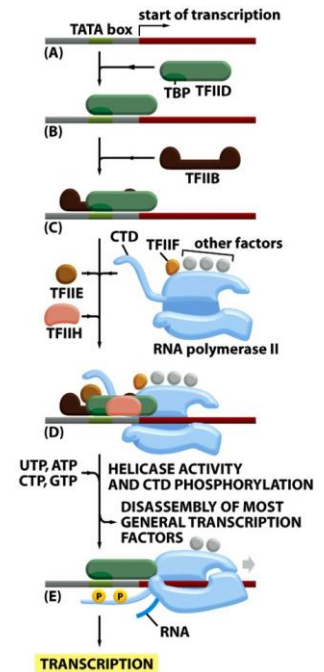
Necessários para a expressão de todos os genes e portanto presentes em todas as células.

2- Fatores de transcrição específicos:

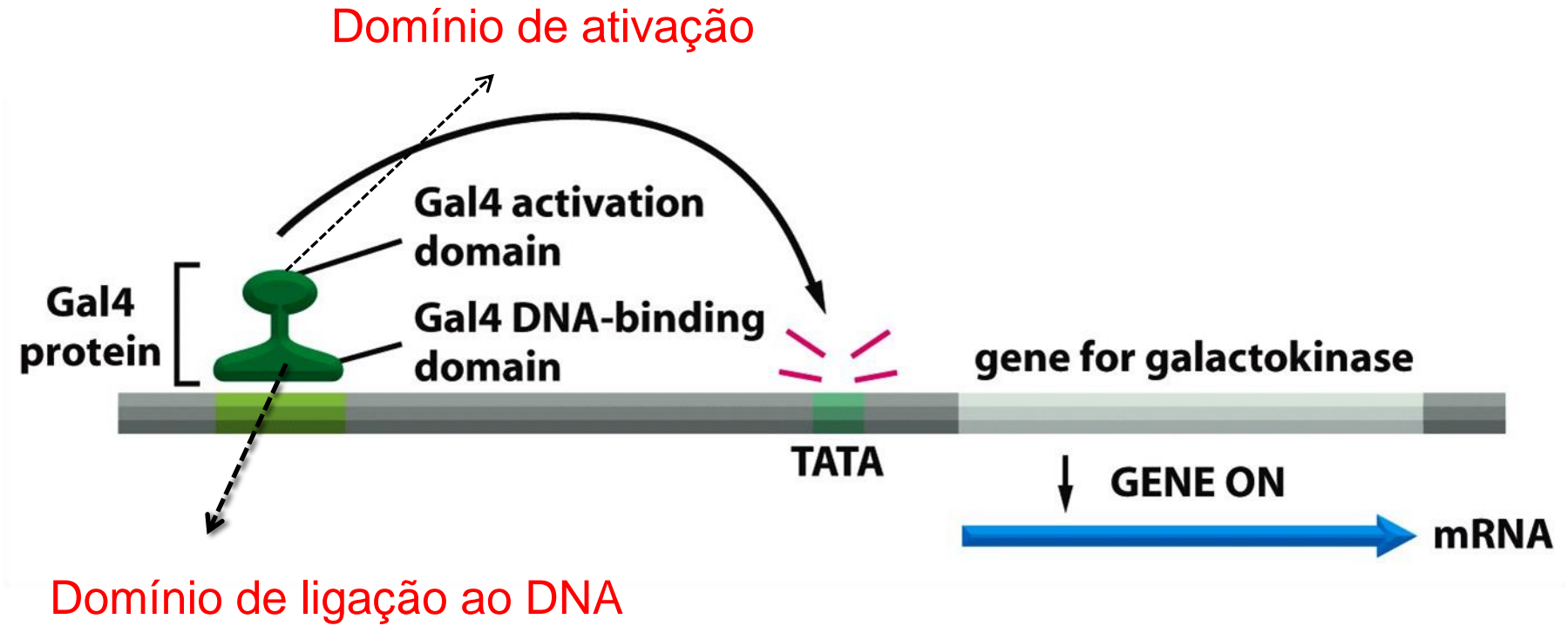
Responsáveis pela transcrição de genes que codificam proteínas restritas para um determinado tipo ou momento celular.

- a) Ativadores
- b) Repressores

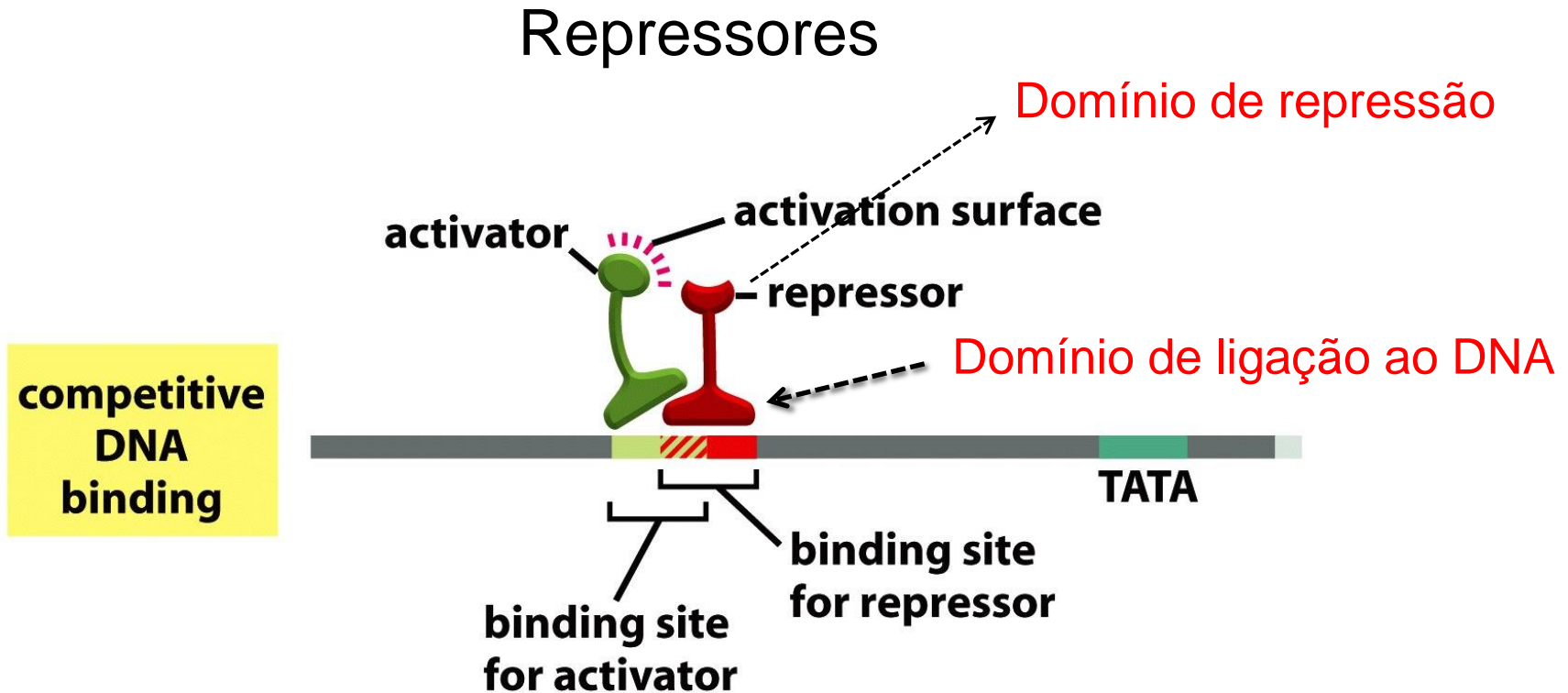
Fatores gerais de transcrição



FATORES DE TRANSCRIÇÃO

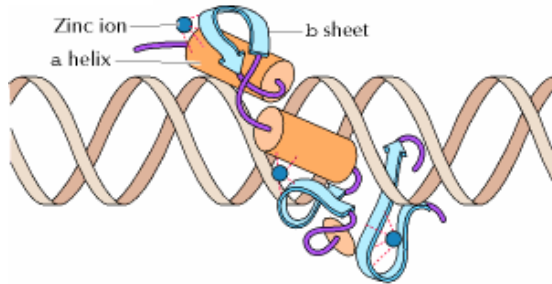


FATORES DE TRANSCRIÇÃO

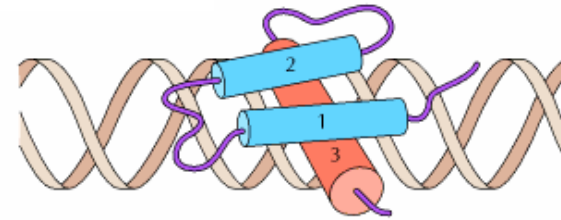


Domínios presentes em proteínas que se ligam ao DNA

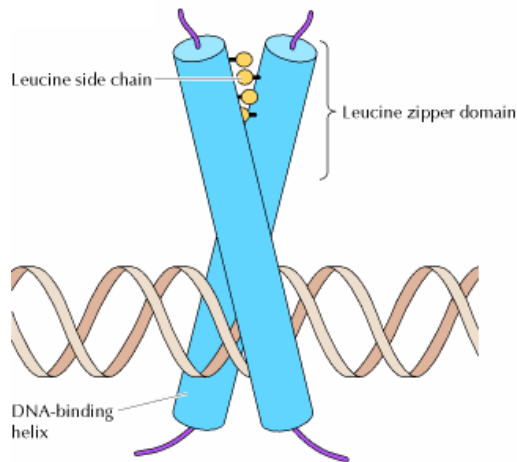
Dedos de zinco (*Zinc fingers*)



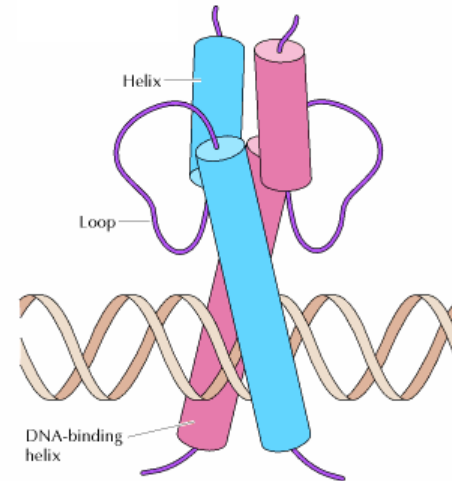
Hélice-volta-hélice (*helix-turn-helix*) Homeodomínio



Zíper de leucina (*leucine zipper*)



Hélice-alça-hélice (*helix-loop-helix*)



Fatores de transcrição e seus sítios de ligação no DNA

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

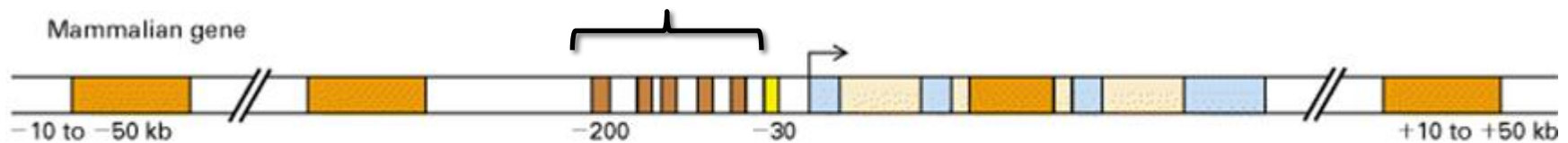
	NAME	DNA SEQUENCE RECOGNIZED*
Yeast	Gal4	CGGAGGACTGTCCTCCG GCCTCCTGACAGGAGGC
	Mat α 2	CATGTAATT GTACATTAA
	Gcn4	ATGACTCAT TACTGAGTA
<i>Drosophila</i>	Kruppel	AACGGGTAA TTGCCCAATT
	Bicoid	GGGATTAGA CCCTAATCT
Mammals	Sp1	GGGCGG CCCGCC
	Oct1 Pou domain	ATGCAAAT TACGTTTA
	GATA1	TGATAG ACTATC
	MyoD	CAAATG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

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

Região regulatória de um gene eucariótico

(elementos regulatórios em *cis*)

Elementos localizados próximos ao promotor
(100 a 200 pb a 5' do início de transcrição)

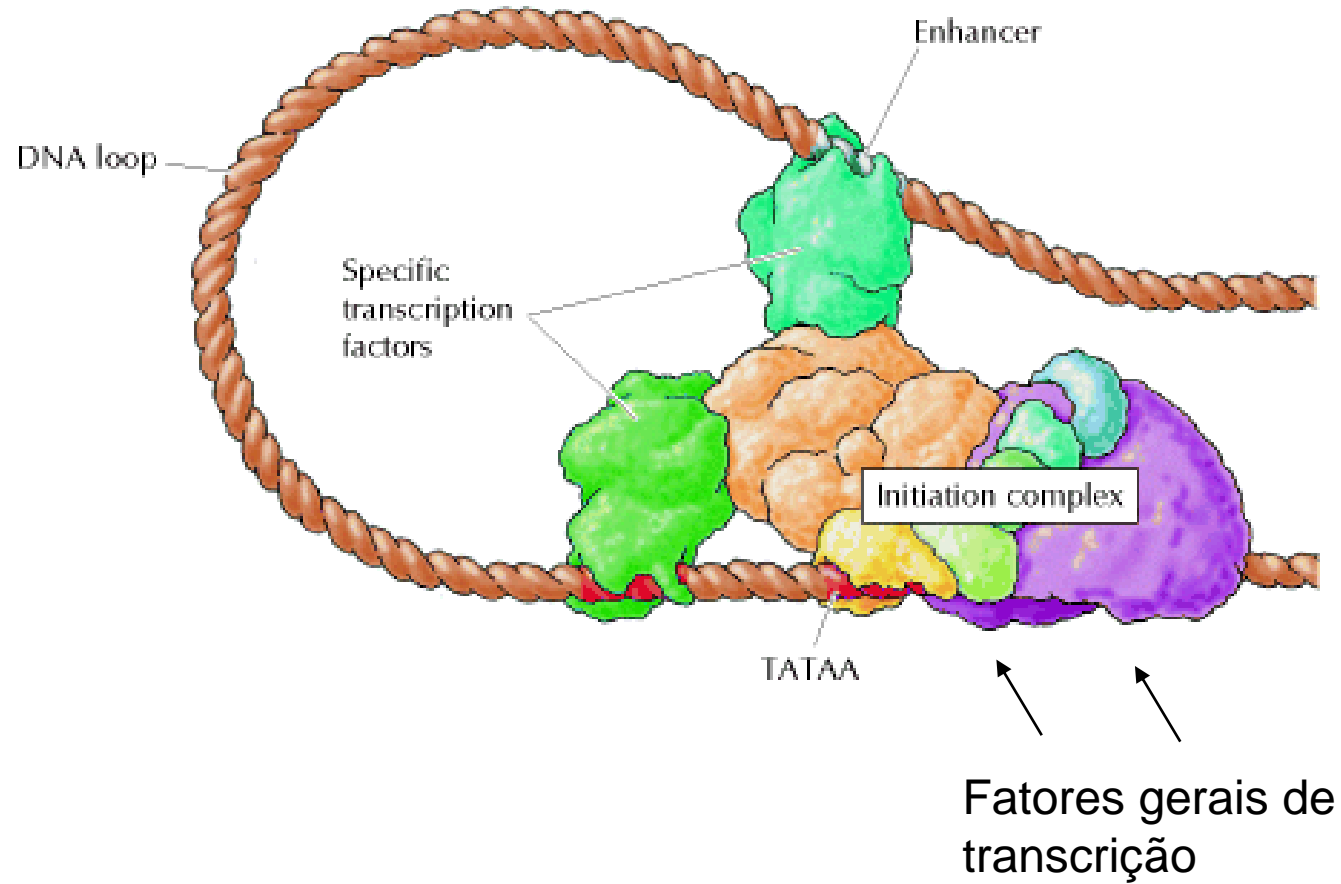


Enhancers

(localizados distantes
dos promotores)

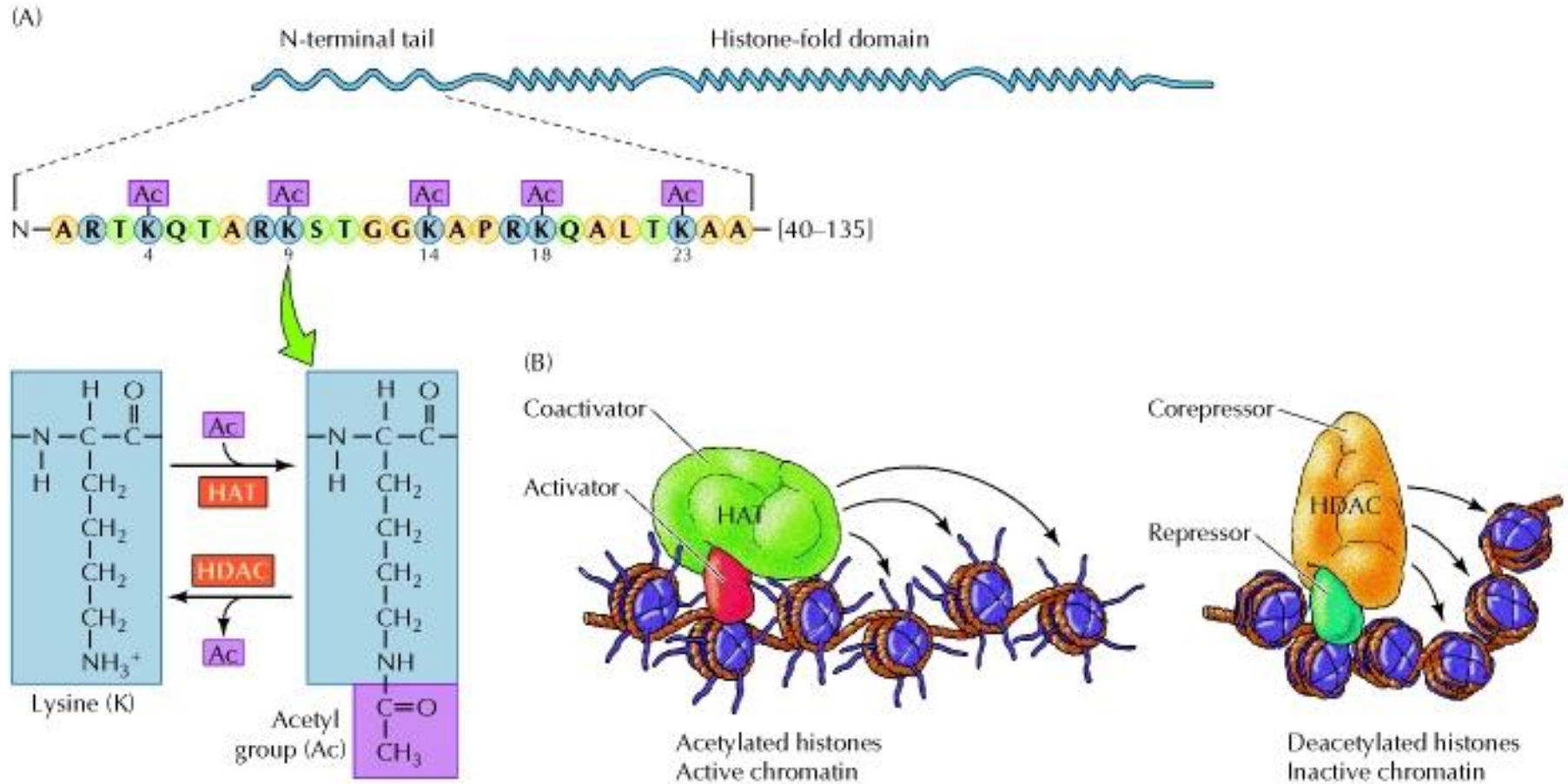


Enhancers



Modificações das histonas

Acetilação e desacetilação de histonas

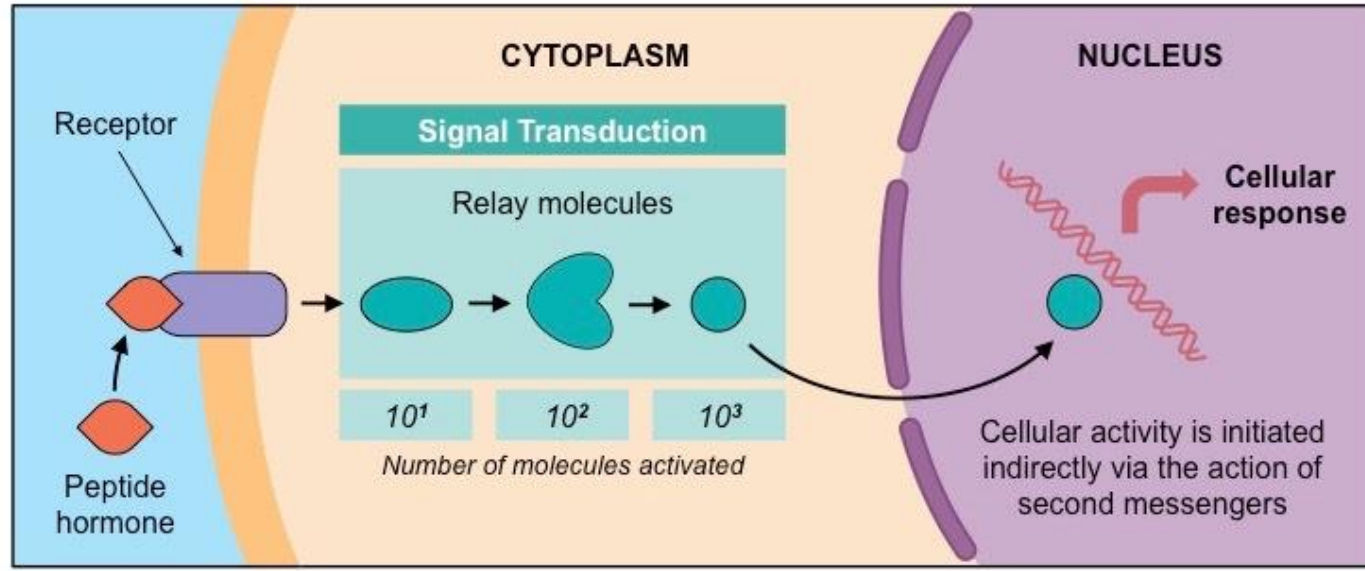
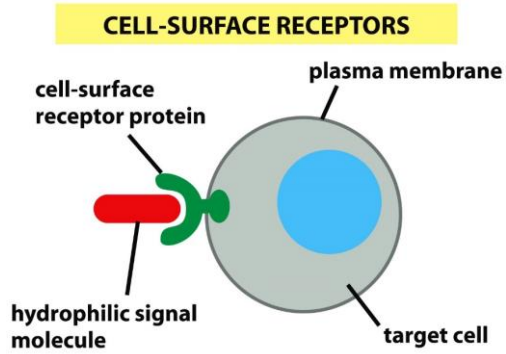


HAT= Histona acetil transferase

HDAC= Histona deacetilase

Hormônios podem regular a expressão gênica

Hormônios peptídicos



Hormônios esteróides (lipossolúveis)

