

Conceitos Básicos de Biologia Molecular

Marcílio C. P. de Souto

DIMAp/UFRN



Tópicos

- Introdução
 - Célula e macro-moléculas
 - Proteínas e Ácidos nucleicos
- Ácidos Nucleicos
 - Componentes
 - DNA x RNA
 - Estabilidade do DNA e Flexibilidade do RNA
 - Estrutura do DNA
- Dogma Central da Biologia Molecular
 - Replicação
 - Transcrição
 - Tradução



Indústria de Informação

- A Fábrica
- O Manual de Instruções
- O Dogma Central
- Os Operários
- Erros de Programação

A Célula
DNA
DNA-RNA- Proteínas
Proteínas
Doenças



Biologia Molecular

- Retrata o estudo das células e moléculas
- Em particular: genoma dos organismos
 - Conjunto de informações genéticas



Codificadas em moléculas de DNA



A Célula

- A célula é a unidade fundamental da vida
 - Todos os seres vivos, animais e vegetais, são constituídos de células
 - Cada célula é envolvida por membrana e preenchida por uma solução aquosa
 - É capaz de criar cópias de si mesma pelo crescimento e divisão celular
 - Em resumo, uma boa definição para célula é:
 - "unidade que constitui os seres vivos e, em geral, definida como a menor porção de matéria viva dotada de autoduplicação independente"
 - Os vírus não podem ser considerados células, pois dependem do parasitismo para se reproduzir, utilizando-se da maquinaria da célula hospedeira (seres acelulares)
- Organização estrutural das células
 - Procarióticas
 - Eucarióticas



Moléculas nas Células (1/2)

- Dos vários tipos de moléculas presentes na célula, as de nosso interesse serão as macro-moléculas conhecidas como
 - **Proteínas** – cadeia de aminoácidos
 - **Ácidos nucléicos** (DNA e RNA) – cadeia de nucleotídeos
- A sequência dos monômeros que forma essas moléculas dá identidade e funcionalidade a ambos os grupos
 - Mudanças na sequência de aminoácidos ou de nucleotídeos poderá inativar completamente a ação biológica desses compostos
 - Por isso, esses tipos de moléculas são denominadas **moléculas informacionais**



Moléculas nas Células (2/2)

- A forma e o funcionamento de qualquer célula são decorrentes direto ou indiretamente da presença de um arsenal de proteínas
- As proteínas são macromoléculas informacionais sintetizadas sob o comando de instruções específicas presentes nos ácidos nucleicos (genes)
 - Alterações nos genes podem acarretar em mudanças na conformação e na atuação das nossas proteínas
 - De maneira simplista, cada gene (parte funcional do DNA) codifica uma proteína

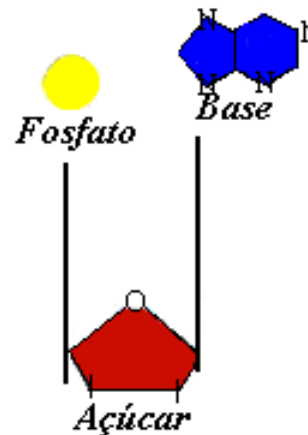


Ácidos Nucléicos

- Toda a informação que uma célula necessita durante a sua vida e a de seus descendentes, está organizada em forma de código nas fitas dos **ácidos nucléicos**
 - Constituem os armazenadores e transmissores de informação nos seres vivos
- Esta informação traduzida em proteínas permite que a célula execute todo o trabalho necessário à sobrevivência do organismo
- Existem dois tipos de ácidos nucléicos
 - Ácido desoxirribonucléico ou **DNA** e ácido ribonucléico ou **RNA**
 - Ambos são polímeros lineares de **nucleotídios** conectados entre si via ligações **covalentes** denominadas ligações fosfodiéster

Nucleotídeos

- Os nucleotídeos, unidades básicas dos ácidos nucleicos, são constituídos de
 - Uma **base nitrogenada** (anel heterocíclico de átomos de carbono e nitrogênio)
 - Uma **pentose** (açúcar com cinco carbonos)
 - Um **grupo fosfato** (molécula com um átomo de fósforo cercado por 4 oxigênios)

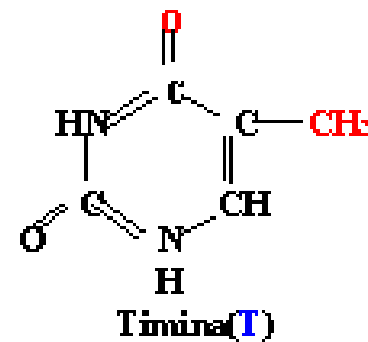
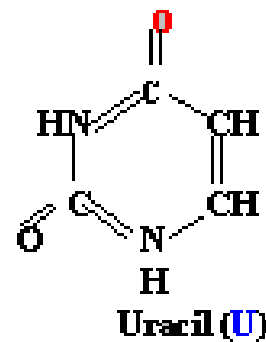
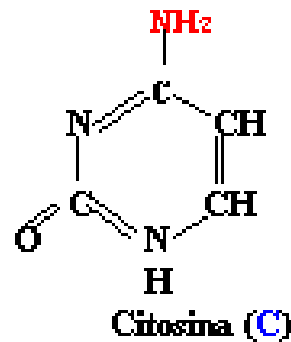
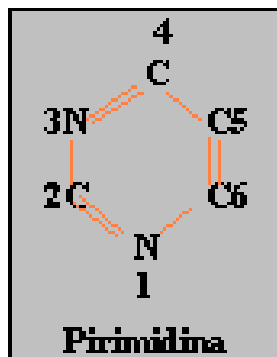
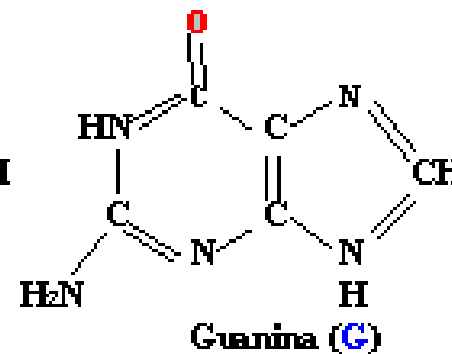
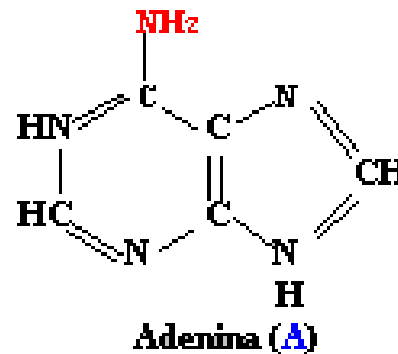
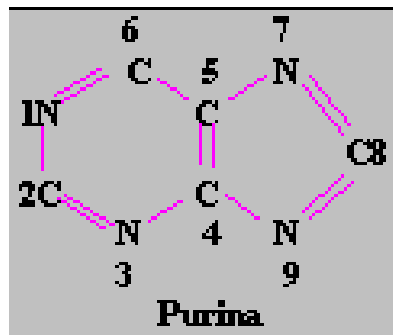




Bases Nitrogenadas (1/2)

- As bases nitrogenadas são de dois tipos:
 - **Púricas**: Adenina (A) e Guanina (G)
 - **Pirimídicas**: Timina (T), Citosina (C) e Uracil (U)
- As purinas são constituídas de dois anéis fundidos de 5 e 6 átomos e as pirimidinas de um único anel de 6 átomos
- Apenas quatro tipos diferentes de bases são encontrados em um dado polímero de ácido nucléico
 - No **DNA** as bases constituintes são **A**, **G**, **C**, e **T** enquanto no **RNA** são **A**, **G**, **C**, e **U**
 - **Uracila** e **Timina** são moléculas bastante relacionadas, diferindo apenas pelo grupo metila encontrado no átomo C5 do anel pirimídico da Timina

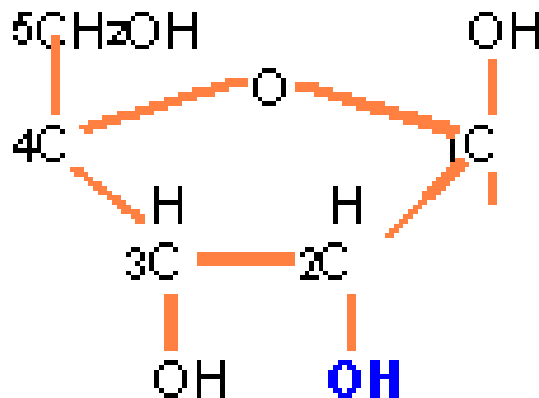
Bases Nitrogenadas (2/2)



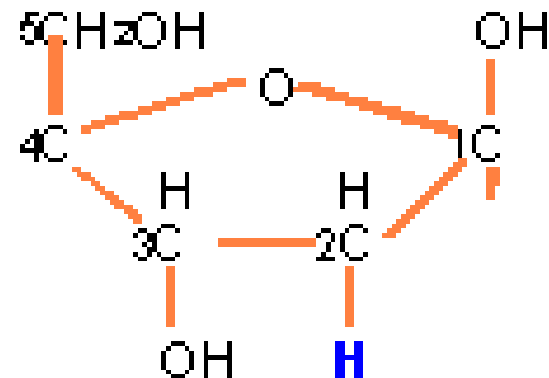
Resíduos de Açúcar (1/2)

- Dois tipos de pentoses são encontrados nos ácidos nucleicos
 - **Ribose** e **desoxirribose**
 - Diferem uma da outra pela presença ou ausência do grupo hidroxila no C 2' da pentose. É baseado nesta característica que os ácidos nucleicos recebem o nome RNA (ribose) ou DNA (desoxirribose)

Ribose

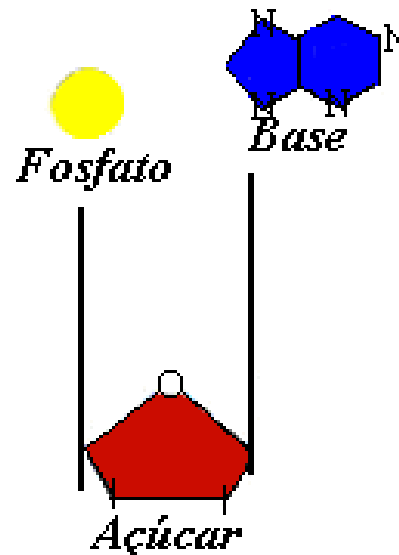


Desoxirribose



Resíduos de Açúcar (2/2)

- A pentose é o elo de ligação entre a base e o grupo fosfato
 - De um lado, o Nitrogênio 9 das purinas ou o Nitrogênio 1 das pirimidinas liga-se ao C1' da pentose e, de outro lado, o grupo carboxila do átomo de C5' da pentose participa da ligação éster com o grupo fosfato





DNA x RNA

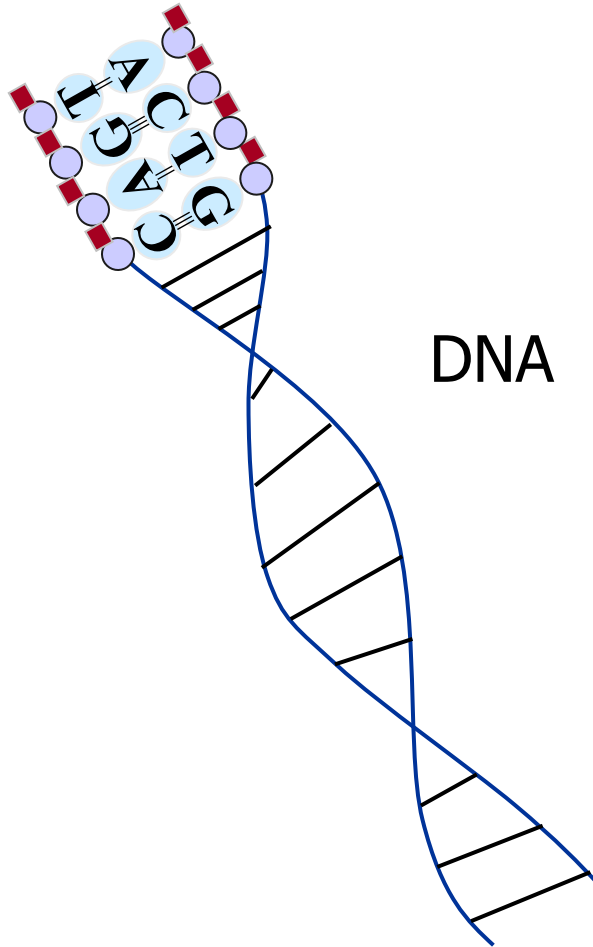
- As diferenças entre RNA e DNA não se restringem aos tipos de monômeros constituintes
 - Na maioria das vezes o **DNA** apresenta-se como uma **longa hélice dupla** com uma estrutura secundária regular e simples
 - Os **RNAs** são, geralmente, moléculas de **fita única** bem menores que o DNA
 - Apresentando uma enorme diversidade de estruturas secundárias
 - Estas características estruturais estão relacionadas às funções destas duas macromoléculas na célula



Estrutura do DNA (1/2)

- A molécula de DNA é uma dupla hélice cujas cadeias estão unidas por **pontes de hidrogênio** estabelecidas entre purinas e pirimidinas complementares
- Adenina sempre pareia com Timina ($A = T$) e Guanina com Citosina ($G = C$)
- O modelo de dupla hélice , proposto por Watson e Crick (1953), pautava-se
 - Nas fotografias de difração de raio X das fibras de DNA feitas por Rosalind Franklin no laboratório de Maurice Wilkins (Cavendish Institute, Cambridge, UK)
 - E nas razões entre as bases, descritas por Chargaff

Estrutura do DNA (2/2)



DNA



Estabilidade do DNA

- A estabilidade e regularidade estrutural da molécula de DNA, deve-se principalmente ao fato dos anéis de desoxirribose não possuírem grupos hidroxila no C 2'
 - Os grupos hidroxila tanto do C2' como C3' são muito reativos
 - Podem participar de uma série de ligações pouco usuais permitindo uma variedade enorme de conformações para a molécula de ácido nucléico
 - Isto não seria uma característica desejável para uma molécula que tem armazenado e transmitido a informação genética durante estes milhões de anos de evolução
 - O exercício de tal função exige estabilidade e regularidade

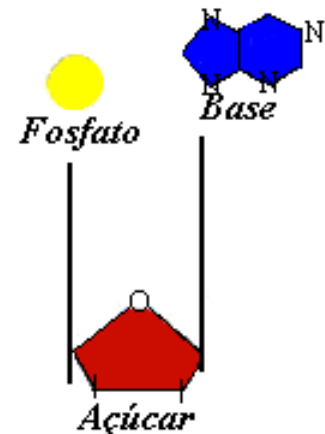


Flexibilidade do RNA

- O RNA, constituído de riboses é muito mais reativo e flexível que o DNA
- Além disto, o fato de ser fita simples permite um emparelhamento **intramolecular** de bases, gerando estruturas bastante complexas
 - Ao adquirir diferentes conformações numa estrutura tridimensional, as moléculas de RNA podem, inclusive, apresentar sítios ativos que catalisem reações químicas da mesma forma que as enzimas protéicas
- A grande flexibilidade dos RNAs que lhes permite executar uma atividade fundamental na célula
 - Interpretar o código contido na linguagem de nucleotídeos e descodificá-lo para a linguagem de aminoácidos
 - A molécula de RNA é o intermediário no fluxo de informações dentro da célula, do DNA às proteínas

Mais Detalhes: Estrutura do DNA

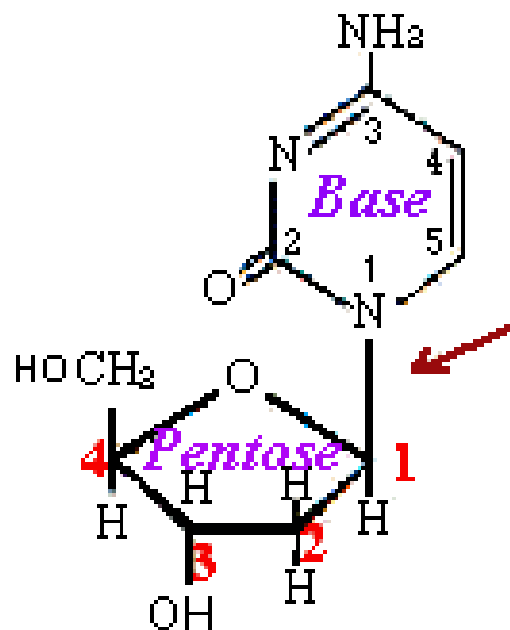
- A molécula de DNA é constituída por uma seqüência de **nucleotídeos**, que por sua vez é formado por três diferentes tipos de moléculas
 - Uma desoxirribose
 - Um grupo fosfato
 - Uma base nitrogenada: A, T, C, e G



A orientação das ligações entre as três moléculas constituintes dos nucleotídeos é essencial para se determinar o sentido da dupla fita de DNA

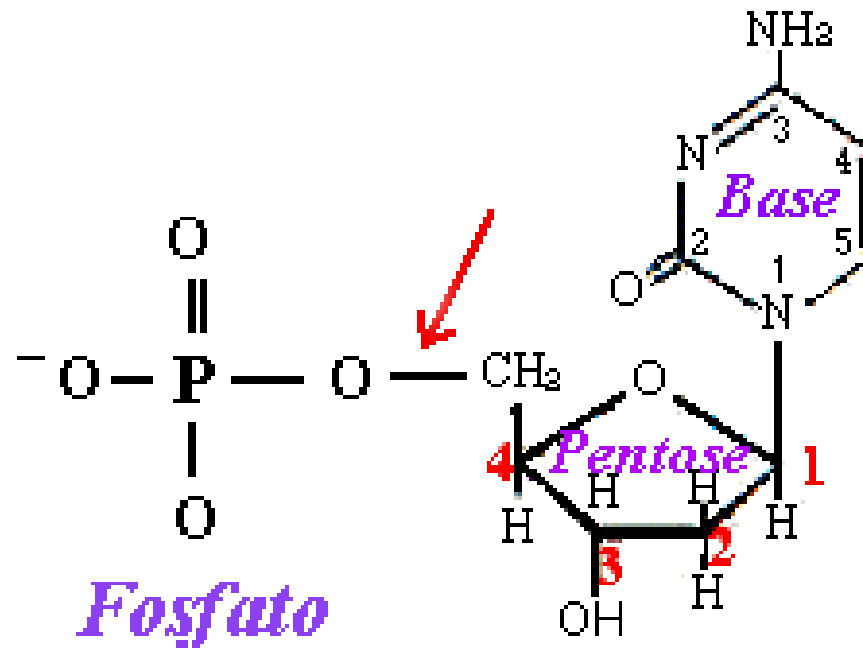
Ligação entre a Base e a Pentose

- Esta ligação é feita covalentemente através de uma ligação N-glicosídica com a hidroxila ligada ao carbono-1 da pentose.



Ligação entre o Fosfato e a Pentose

- Esta ligação é feita através de uma ligação fosfodiéster com a hidroxila ligada ao carbono-5 da pentose

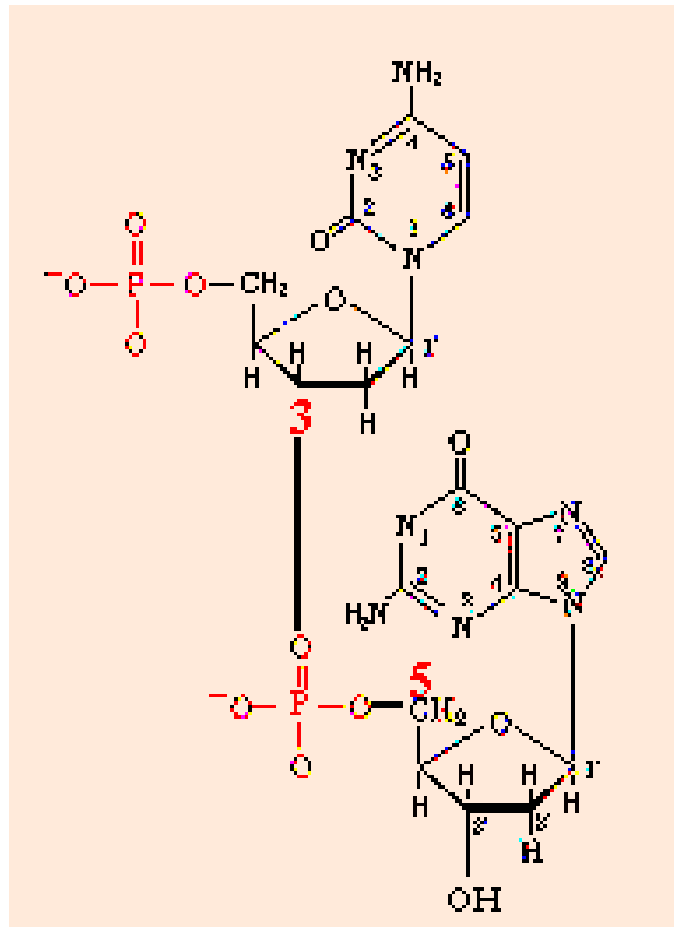




Ligação entre os Nucleotídeos (1/4)

- Para a formação da molécula de DNA é necessário que ocorra a ligação entre os nucleotídeos
 - Os nucleotídeos estão ligados covalentemente por ligações fosfodiéster formando entre si pontes de fosfato
 - O grupo hidroxila do carbono-3 da pentose do primeiro nucleotídeo se liga ao grupo fosfato ligado a hidroxila do carbono-5 da pentose do segundo nucleotídeo através de uma ligação fosfodiéster

Ligação entre os Nucleotídeos (2/4)

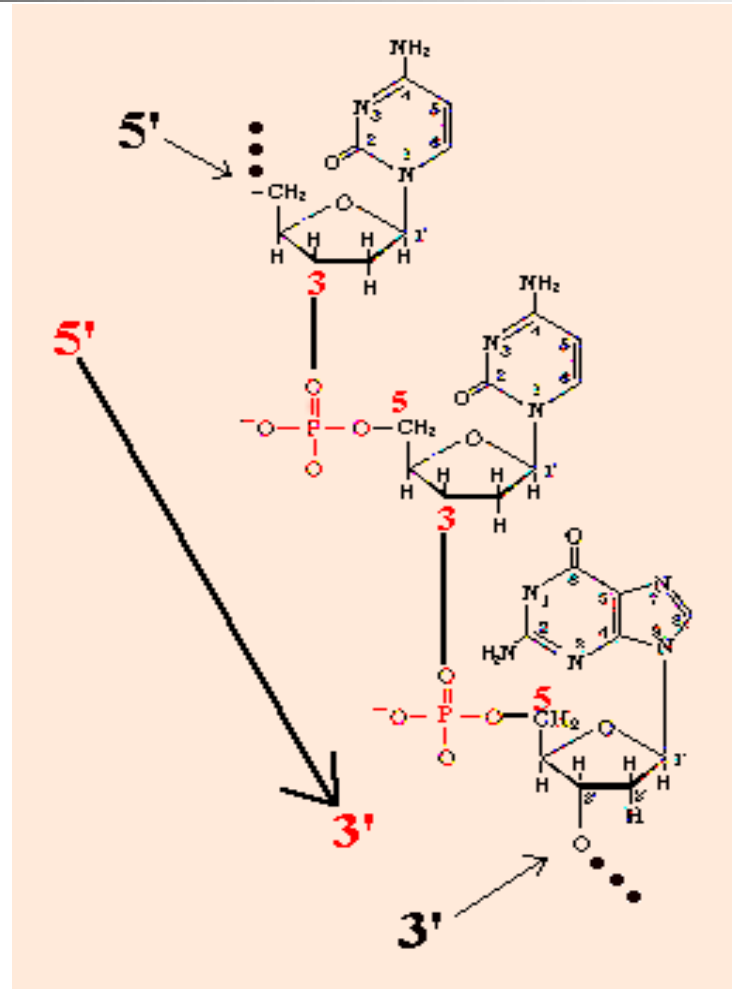




Ligação entre os Nucleotídeos (3/4)

- Devido a esta formação a cadeia de DNA fica com uma direção determinada
 - Em uma extremidade temos livre a hidroxila do carbono-5 da primeira pentose e na outra temos livre a hidroxila do carbono-3 da última pentose
- Isto determina que o crescimento do DNA se faça na **direção de 5' para 3'**

Ligação entre os Nucleotídeos (4/4)

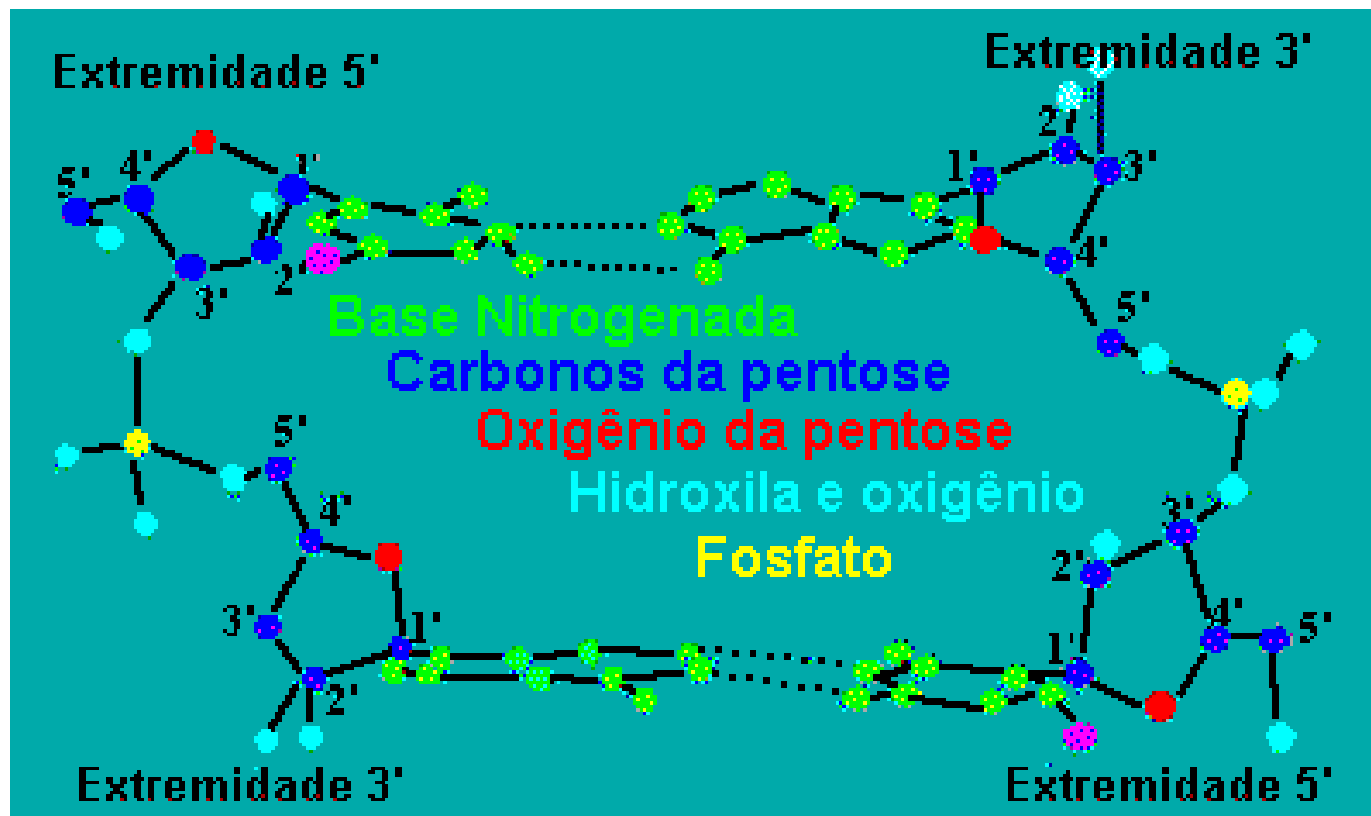




Estrutura 3-D do DNA (1/2)

- Sabendo-se como são feitas as ligações entre os nucleotídeos, formando assim a fita de DNA, podemos analisar a estrutura tridimensional do DNA
- James Watson e Francis Crick (1953) postularam um modelo tridimensional para a estrutura do DNA baseando-se em estudos de difração de raio-X
 - Duas cadeias helicoidais de DNA, enroladas ao longo de um mesmo eixo, formando uma dupla hélice de sentido rotacional à direita
 - Na dupla hélice as duas fitas de DNA estão em direção opostas, isto significa que são anti-paralelas.
 - O termo anti-paralelas deve-se ao fato de que uma das fitas tem a direção exata da sua síntese (5'---3') enquanto que a outra está invertida (3'----5').
 - Esta conformação em fitas anti-paralelas levará à necessidade de mecanismos especiais para a replicação do DNA

Estrutura 3-D do DNA (2/3)





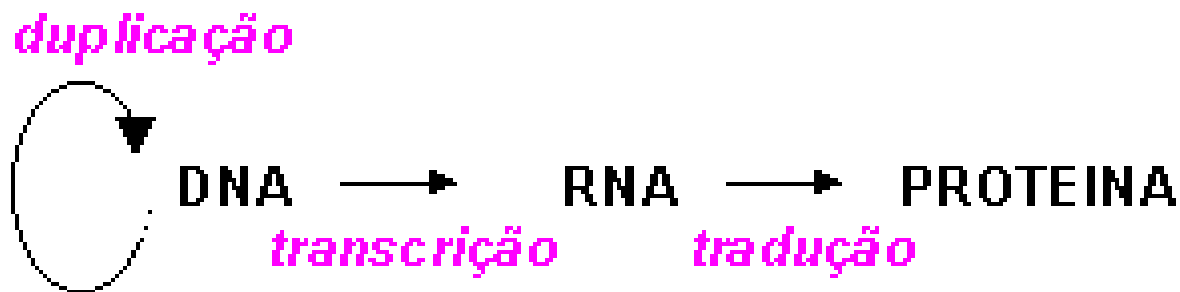
Estrutura 3-D do DNA (3/3)

- Com base na estrutura de dupla hélice do DNA e nas características de hidrofobicidade das moléculas, a estrutura do DNA fica da seguinte forma
 - O grupo fosfato e o açúcar (**parte hidrofílica**) - estão localizados na parte externa da molécula
 - As bases nitrogenadas (**parte hidrofóbica**) - estão localizadas na parte interna da molécula
 - O pareamento das bases de cada fita se dá de maneira padronizada, sempre uma purina com uma pirimidina, especificamente: **adenina com timina** e **citossina com guanina**
 - A proximidade destas bases possibilita a formação de **pontes de hidrogênio**
 - Adenina forma duas pontes de hidrogênio com a timina e a citossina forma três pontes com a guanina



O Dogma Central e os Moldes (1/4)

- Desde meados da década de 50 já se pensava na hipótese do **DNA** constituir-se num **molde** para a **síntese** de moléculas de **RNA**
- Os **RNAs**, por sua vez, devido a sua mobilidade e flexibilidade acoplar-se-iam aos ribossomos e dirigiriam a **síntese de proteínas**
- Baseado neste raciocínio, Francis Crick propôs em 1956 o dogma central da biologia, salientando o **fluxo unidirecional** da informação: do DNA à proteína





O Dogma Central e os Moldes (2/4)

- Para compreender este fluxo utilizamos a idéia de **moldes**
- O DNA serviria de molde para
 - A síntese de novas moléculas de DNA (**duplicação**)
 - A síntese de moléculas de RNA (**transcrição**)
- Algumas destas moléculas de RNA, que denominamos **RNA mensageiros (mRNA)**, poderiam servir de molde para
 - A síntese de proteínas (**tradução**), que ocorre nos ribossomos
- Nesta proposta, **jamaís** as **proteínas** servem de **molde** à síntese de **ácidos nucléicos** ou de outras moléculas de **proteína**
- Esta hipótese tem sido confirmada no decorrer de quase quatro décadas de pesquisa

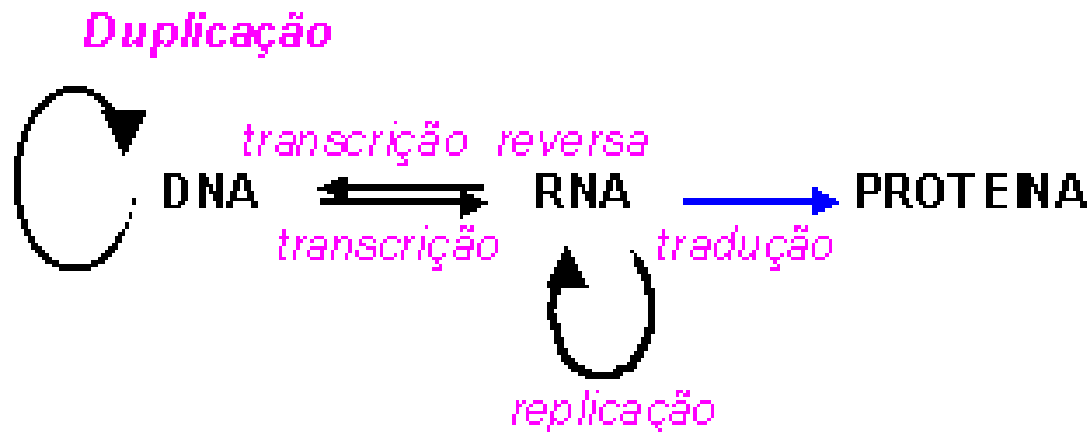


O Dogma Central e os Moldes (3/4)

- A proposta original foi ampliada nos últimos anos com a descoberta, em 1970, da enzima **transcriptase reversa**
 - Foi esclarecido que é possível sintetizar DNA utilizando-se RNA como molde
- Um pouco antes disto, por volta de 1965, foi demonstrado que o RNA também podia servir de molde à síntese de outras moléculas de RNA
 - Isto foi possível graças ao isolamento da enzima **replicase** codificada por um vírus infeccioso cuja informação genética está contida numa molécula simples de RNA

O Dogma Central e os Moldes (4/4)

- Estes novos conhecimentos permitiram que o dogma central se ampliasse sem, contudo, perder a unidirecionalidade, ou seja, de ácido nucléico para proteína



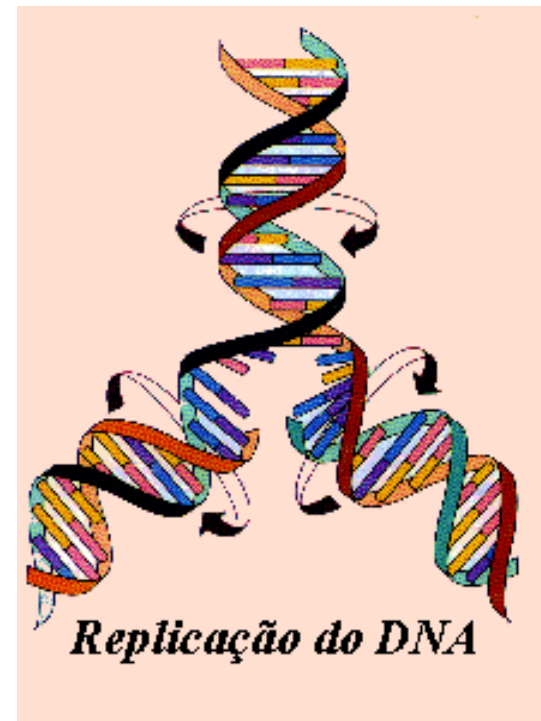


Síntese de Ácidos Nucléicos

- A síntese "in vivo" de uma molécula de ácido nucléico depende sempre da existência de um **molde complementar** e de **máquinas protéicas** específicas que adicionem os monômeros ao polímero nascente
- Como funcionaria um molde?
 - No caso dos ácidos nucléicos a **complementaridade de bases** permite facilmente a utilização de moldes
 - Esta complementaridade está baseada no fato de que é possível estabelecer pontes de hidrogênio entre G e C , A e T ou A e U, ou seja, purinas emparelham com pirimidinas
 - A síntese dos ácidos nucléicos ocorre com a adição de nucleotídios ao terminal 3'-OH da cadeia nascente de sorte que a síntese é sempre no sentido 5'→3'
 - Durante a síntese de DNA as enzimas envolvidas são **DNA polimerases** enquanto na síntese de RNA as enzimas envolvidas são **RNA polimerases**

Replicação do DNA

- **Replicação** do DNA é o processo de auto-duplicação do material genético mantendo assim o padrão de herança ao longo das gerações
- Teoria semi-conservativa
 - Cada fita do DNA é duplicada formando uma fita híbrida, isto é, a fita velha pareia com a fita nova formando um novo DNA; de uma molécula de DNA formam-se duas outras iguais a ela. Cada DNA recém formado possui uma das cadeias da molécula mãe, por isso o nome semi-conservativa





Transcrição: Antecedentes Históricos (1/2)

- Ao se desvendar a estrutura da molécula de DNA o princípio da replicação pôde ser visualizado sem dificuldades
- No entanto, a forma com que as proteínas eram geradas a partir desta molécula informacional ainda constituía um mistério
- Em 1954, o astrofísico George Gamow, tomando conhecimento dos trabalhos de Watson & Crick, sobre estrutura e replicação do DNA, propôs que os quatro tipos de bases seqüencialmente dispostos na molécula de DNA constituiriam as letras de um código
 - Este código comandaria a seqüência dos aminoácidos nas proteínas
- A questão inicial era descobrir como o sistema de 4 bases estava organizado para sinalizar aos 20 tipos de aminoácidos que participam das proteínas



Transcrição: Antecedentes Históricos (2/2)

- De 1954 a 1966, intensas discussões e experimentações foram realizadas por todos aqueles que se interessavam pelo assunto
 - Particularmente Crick, que já postulava a existência de uma **molécula intermediária** para estabelecer a complementaridade necessária entre as bases dos ácidos nucleicos e os aminoácidos das proteínas
- Finalmente, os trabalhos realizados por Nirenberg & Leder (1964) e por Khorana e colaboradores (1966), desvendaram por completo o **código genético**
 - Cada aminoácido correspondia a um ou mais **códons** (cada uma das possíveis combinações das quatro bases, três a três)



RNA e Síntese de Proteínas

- Apesar de já estar claramente demonstrado que o material genético era o DNA
 - Inicialmente não havia conhecimento sobre qualquer conexão entre o processo de síntese protéica que ocorre no citoplasma e a molécula de DNA presente no núcleo
- Paulatinamente sedimentava-se a idéia de que o molde para a síntese de proteínas era RNA e não DNA, baseado em evidências tais como
 - Existência de um tipo de RNA que transportava aminoácidos (tRNA)
 - Ocorrência de síntese protéica nos ribossomos localizados no citoplasma da célula eucariótica, portanto, separado do DNA, que se encontra no núcleo



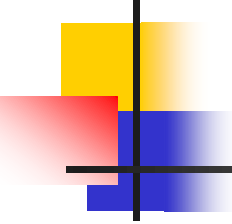
Hibridização

- Utilizando a técnica de **hibridização**, Hall & Spiegelman (1961) demonstraram que o DNA agia como molde para a síntese de **moléculas instáveis de RNA** e que havia uma correlação entre o aumento de RNA instável e síntese protéica
- Hibridização
 - Quando um DNA dupla fita é desnaturado pelo calor (90oC), suas hélices se separam devido ao rompimento das pontes de hidrogênio entre as bases
 - Se a solução contendo DNA desnaturado for resfriada lentamente, as duas hélices, complementares entre si, voltam a se anelar (**hibridizar**)
 - Ou seja, os segmentos complementares conseguem "se encontrar", refazendo a dupla hélice



mRNA, Genes e Ribossomos

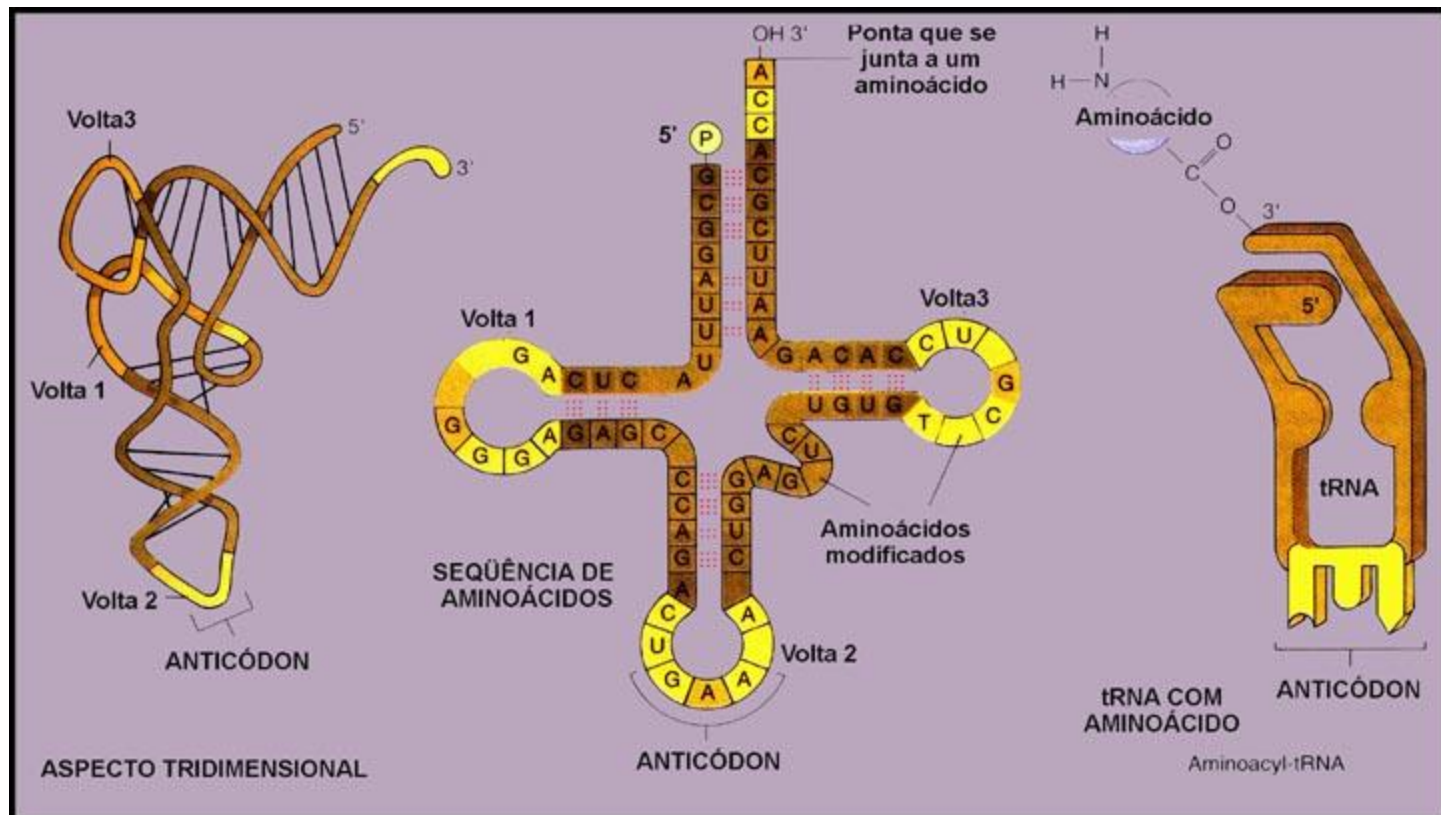
- Em trabalho publicado em 1961 (Brenner et al) assumiu-se, definitivamente, que a espécie instável de RNA, era responsável por carregar a mensagem contida na molécula de DNA até os ribossomos
 - Denominada **RNA mensageiro** (mRNA)
- Finalmente estabelecia-se uma conexão entre genes e proteínas
 - Via uma molécula instável de RNA, cuja síntese e degradação podia ser perfeitamente regulada pela célula em resposta a suas necessidades



Tipos RNAs (1/2)

- As células possuem muitos tipos diferentes de moléculas de RNA que executam trabalhos diversos
 - Os tipos de RNA que participam do processo de síntese protéica são: RNA mensageiro (mRNA), RNA transportador (tRNA) e RNA ribossômico (rRNA)
- Os três tipos de RNA, rRNA, tRNA e mRNA participam do processo de síntese protéica
- Os mRNA contêm a mensagem que será traduzida em proteína, de sorte que a seqüência de bases no mRNA determina a seqüência dos aminoácidos no polipeptídio
- Os tRNA carregam os aminoácidos específicos para cada códon
- O local de síntese protéica é o ribossomo, um complexo ribonucleoprotéico onde rRNAs associam-se à proteínas específicas

Tipos RNAs (2/2)



Transcrição do DNA (1/2)

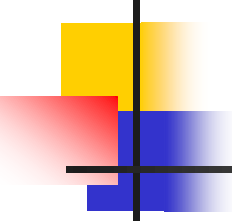
- A síntese dos diferentes tipos de RNA, a partir de um molde de DNA, usando as regras da complementaridade, é um processo denominado **Transcrição do DNA**
 - A informação genética contida num segmento do DNA, é reescrita em uma fita simples de RNA
 - Esta fita apresenta uma seqüência de ribonucleotídios complementar a uma das fitas da dupla hélice de DNA (**fita molde**) e idêntica à seqüência da outra fita (**fita codificadora**), com substituição de T por U



Transcrição do DNA (2/2)

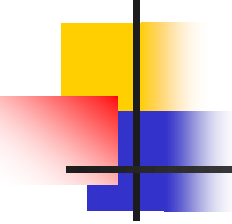


- Quando se escreve uma sequência de nucleotídeos correspondente a um gene, sempre é representada a fita codificadora
- A sequência é sempre escrita no sentido 5' → 3'



A Unidade de Transcrição (1/3)

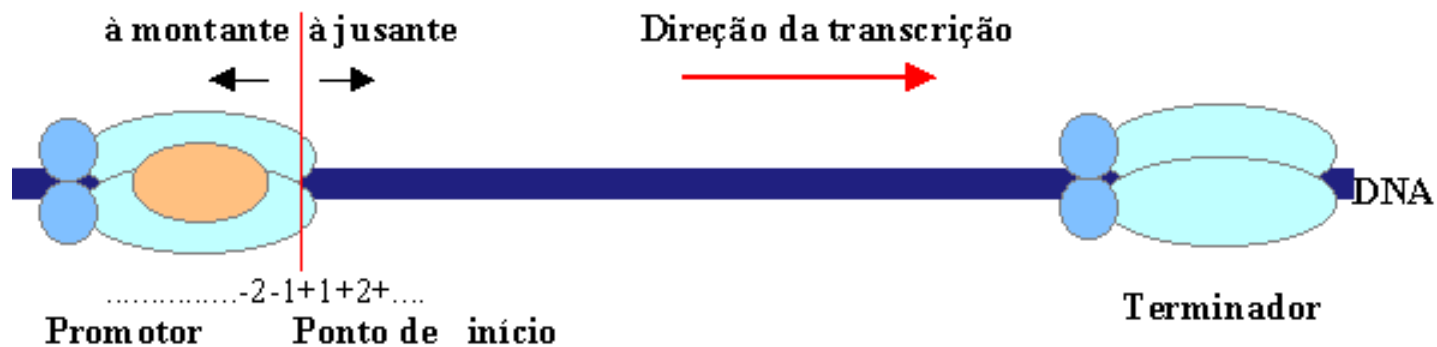
- A síntese de qualquer dos tipos de molécula de RNA é catalisada pela enzima RNA polimerase
- Os processos de transcrição e replicação do DNA apresentarem várias características em comum, mas são fundamentalmente diferentes
 - Durante a replicação, o cromossomo inteiro é copiado, produzindo-se fitas filhas idênticas às originais
 - Durante a transcrição, apenas segmentos selecionados de uma das fitas do DNA são utilizados como molde
 - Resultando na transcrição apenas dos genes necessários em um determinado momento da vida do organismo
 - Transcrever regiões não-gênicas ou genes cujos produtos não são necessários num determinado momento, seria uma perda de tempo e de energia
 - Ou seja, o processo de transcrição deve ser bastante seletivo e as enzimas e proteínas reguladoras que dele participam devem ser capazes de distinguir sinais que demarquem as seqüências de interesse, ou seja, onde começar e onde terminar a transcrição de um segmento



A Unidade de Transcrição (2/3)

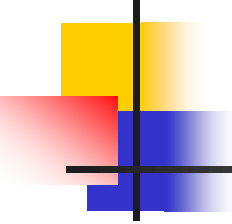
- A transcrição de um segmento se inicia quando a **RNA polimerase** reconhece e liga-se a seqüências específicas de nucleotídeos em uma região especial, no início do gene, denominada **promotor**
- Além destas seqüências, o promotor engloba o **ponto de início**
 - Primeiro par de bases a ser transcrito em RNA
- A partir daí a RNA polimerase move-se ao longo do molde, sintetizando RNA, até alcançar uma outra seqüência específica que sinaliza o **término** da transcrição
- Assim, a **unidade de transcrição** estende-se do ponto de início (+1) no promotor, até o **terminador**

A Unidade de Transcrição (3/3)



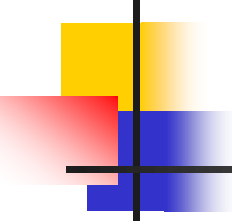
Diz-se que as seqüências que antecedem o ponto de início localizam-se à montante (**upstream**) e as que o sucedem localizam-se à jusante (**downstream**)

A posição das bases é numerada nos dois sentidos, a partir do ponto de início, ao qual se atribui o valor +1. Os valores aumentam (valor positivo) à jusante e diminuem (valor negativo) à montante



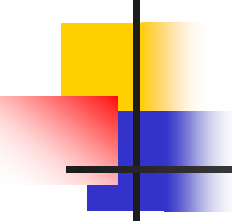
Reconhecimento do Promotor

- O processo de transcrição pode ser subdividido em quatro momentos fundamentais
 - Reconhecimento do promotor, iniciação, alongamento e terminação
 - Cada uma destas fases está sujeita à modulação via diversos mecanismos reguladores
 - Para que este processo ocorra é necessário, antes de mais nada, que a RNA polimerase identifique sinais específicos no DNA, os quais direcionarão a transcrição de genes específicos no momento adequado
 - A região do gene que contém estas seqüências de reconhecimento é o promotor
 - Uma enorme variedade de sinais pode ser encontrada nas regiões promotoras de diferentes genes. É por este motivo que os promotores são locais extremamente importantes no controle da expressão gênica



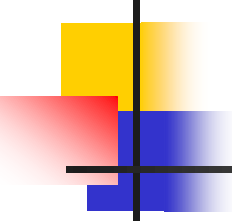
Processamento Pós-Transcricional (1/4)

- O produto imediato da transcrição, o **transcrito primário** não é, necessariamente, uma entidade funcional
 - Para se tornar funcional, a maioria deles precisa sofrer uma série de modificações que podem envolver adição ou remoção de nucleotídeos ou ainda, modificação de alguns nucleosídeos específicos
- Tanto o mRNA como o tRNA ou rRNA podem ser alterados de diferentes formas para se transformarem num RNA funcional
- O conjunto das modificações sofrida pelo transcrito primário é conhecido por processamento **pós-transcricional**



Processamento Pós-Transcricional (2/4)

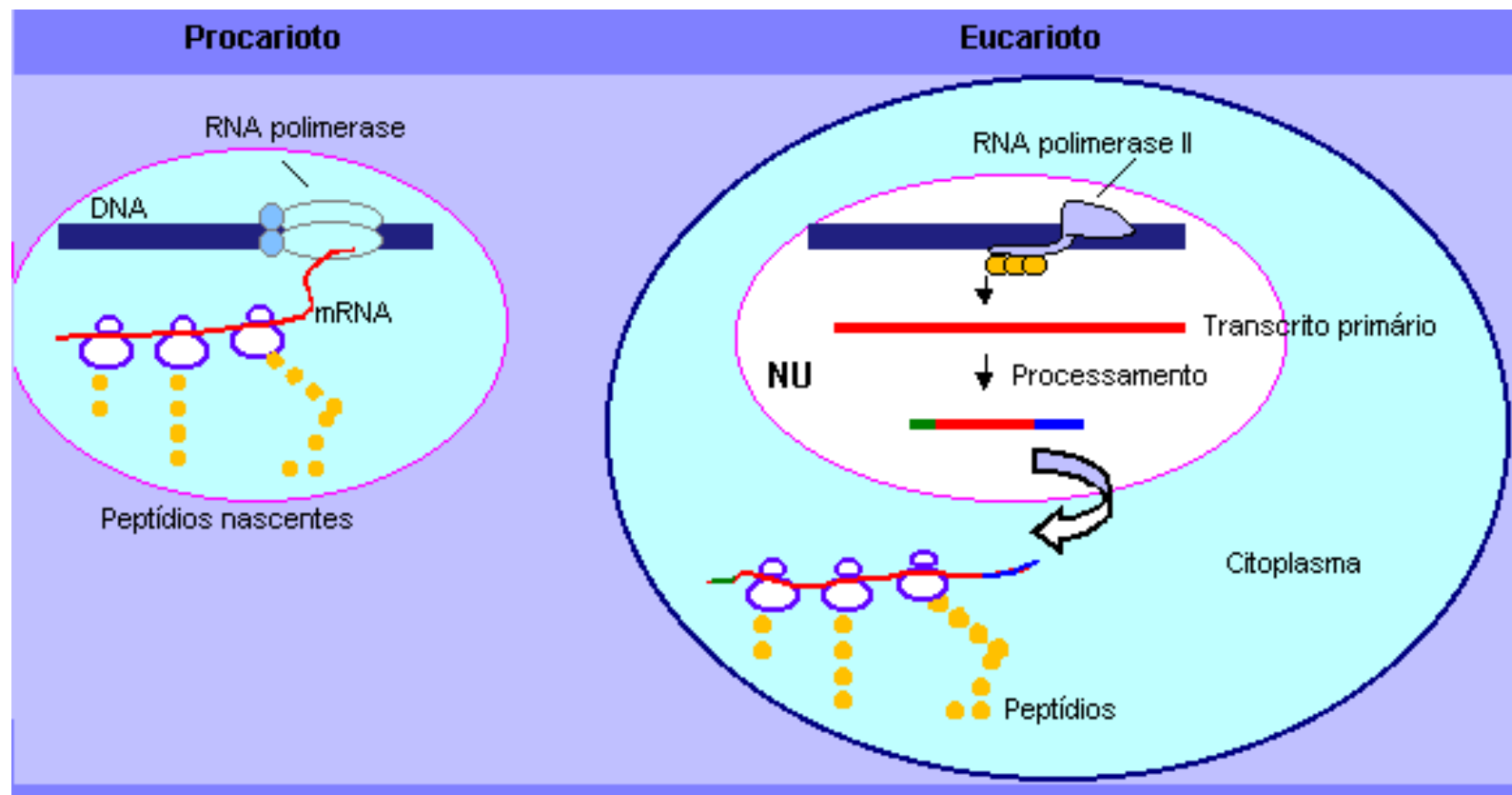
- A ausência de compartimentalização do genoma em **procariotos** permite que os processos de transcrição e tradução sejam acoplados de formas que, antes mesmo de terminar a transcrição a tradução já se inicia
 - Uma das consequências disto é que, em geral, os mRNAs de procariotos não sofreriam modificações
- Nos **eucariotos**, os processos de transcrição e tradução estão temporal e espacialmente isolados
 - A transcrição do DNA ocorre no núcleo e a tradução no citoplasma
 - Os transcritos primários que originarão mRNAs, na sua migração do núcleo para o citoplasma, sofrem extensiva modificação antes de atravessarem a barreira imposta pela carioteca

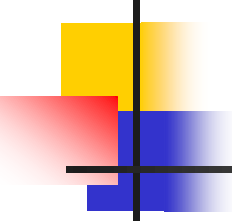


Processamento Pós-Transcricional (3/4)

- As modificações que podem ocorrer nos transcritos nucleares são, basicamente de três tipos:
 - Coroamento ("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
- Transcritos originados na mitocôndria ou cloroplastos não sofreriam tais modificações, comportando-se de forma similar aos de bactérias

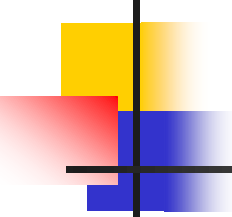
Processamento Pós-Transcricional (4/4)





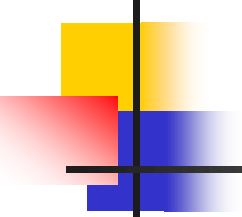
Splicing do mRNA (1/2)

- Uma das características do genoma de eucariotos é que os genes podem ser **fragmentados**. O que significa isto?
 - Num segmento do DNA, correspondente a um gene que codifica uma determinada proteína, são encontradas
 - **Regiões codificadoras** (**exons**) alternando-se com regiões **não-codificadoras** (**introns**)
 - O transcrito resultante não é funcional e só poderá ser traduzido se for devidamente montado, descartando-se os introns e unindo-se os exons em seqüência ordenada
 - Este tipo de modificação do transcrito primário é denominado "**splicing**" (cortar e colar; montagem)
 - Ocorre dentro do núcleo
 - O transcrito processado e pronto para migrar para o citoplasma, recebe o nome de **RNA mensageiro**



Splicing do mRNA (2/2)

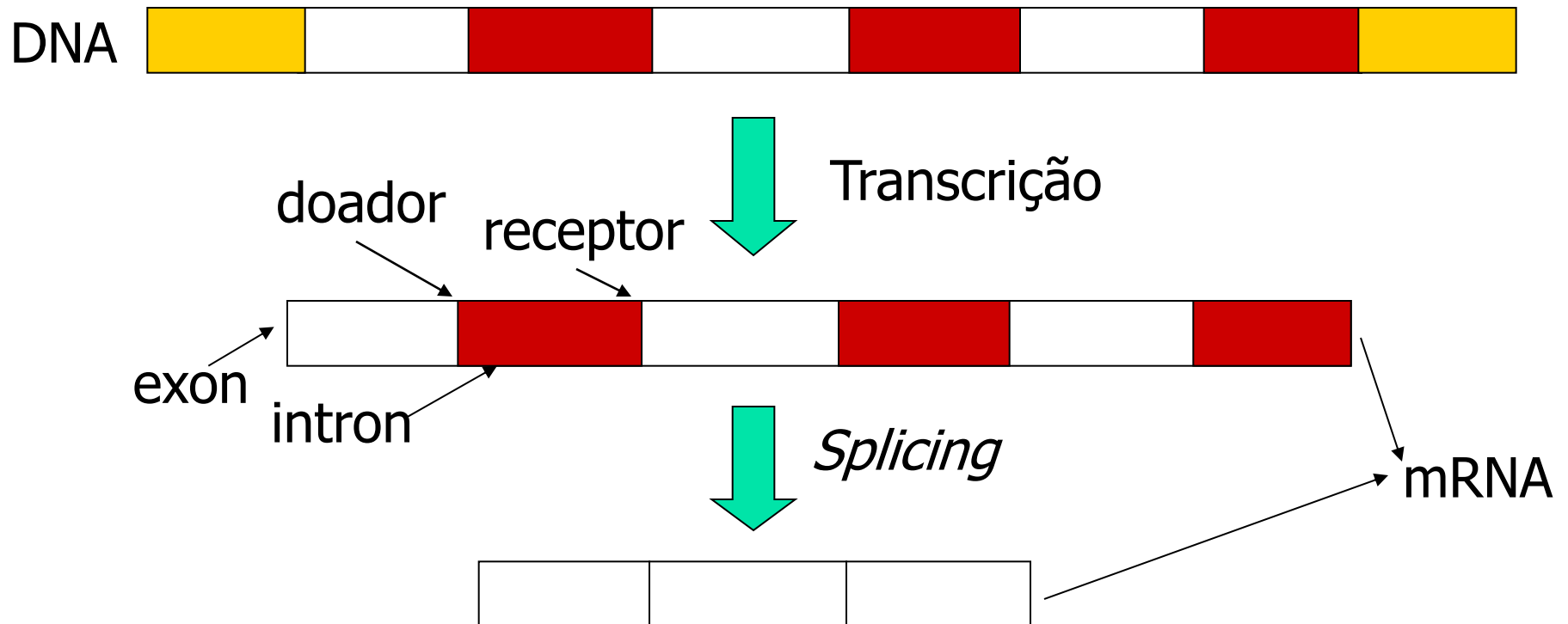
- A descoberta de que os genes de eucariotos poderiam ser interrompidos ou fragmentados, foi realizada por Philip Sharp & Richard Roberts, em 1977, tendo lhes valido o prêmio Nobel de 1993
- Posteriormente, foram detectados genes interrompidos também em bactérias, porém como um evento raro tanto nos genomas individuais como no próprio domínio Bacteria
- Segmentos não codificadores são muito frequentes no genoma eucariótico
 - Ao contrário do que ocorre nas bactérias, onde os genes estão mais compactamente organizados
 - Em eucariotos as **distâncias intergênicas** são grandes e, dentro dos próprios genes a frequência de introns é alta. Em geral, os introns são muito mais extensos que os exons
- O processo de **remoção dos introns** e **união dos exons** ocorre via reações altamente específicas, em **pontos de junção definidos**, de sorte a garantir que a mensagem contida na sequência de nucleotídeos dos exons não seja alterada durante a montagem



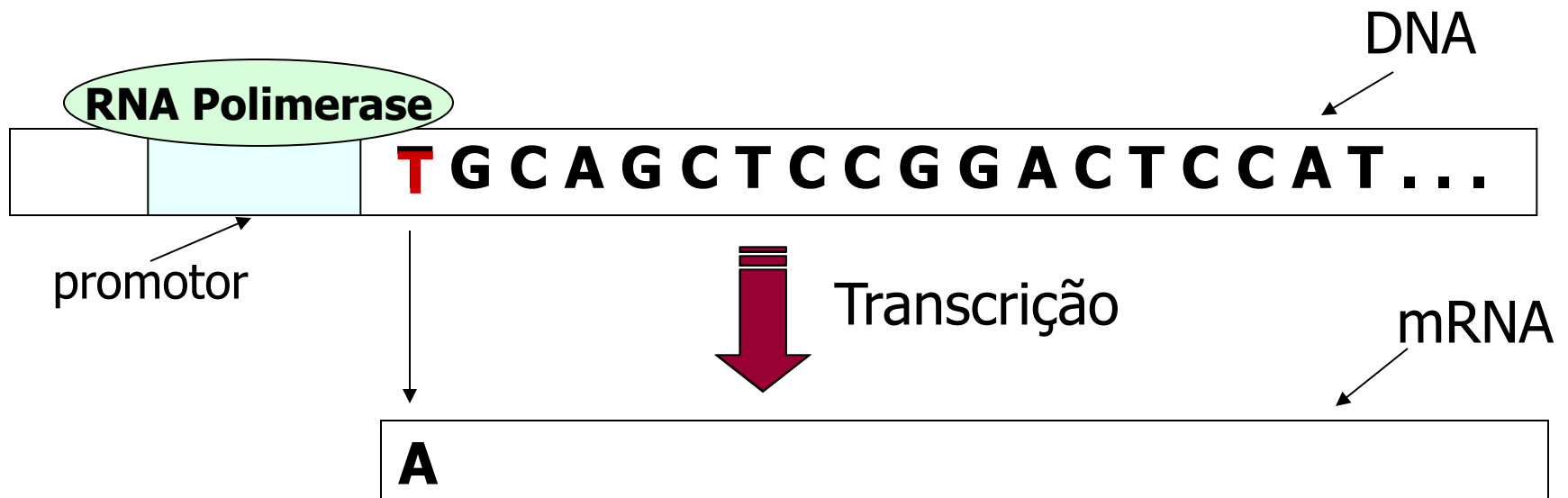
Sítios de *splicing* (1/2)

- Exons:
 - Seqüências expressas (traduzidas em proteínas)
- Introns:
 - Seqüências intercaladas que são eliminadas na tradução
- Sítios de *splicing* (*splice-junctions*)
 - Fronteiras onde ocorrem junções de exons e introns
 - Doadoras: bordas exon-intron
 - Receptoras: bordas intron-exon

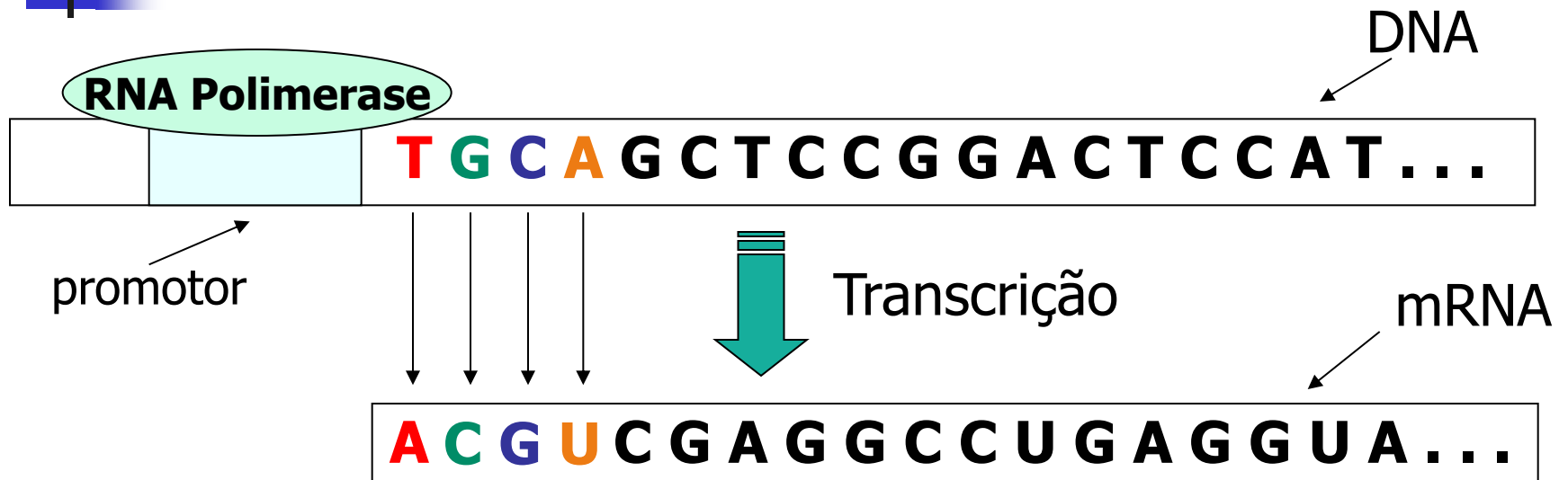
Sítios de *splicing* (2/2)



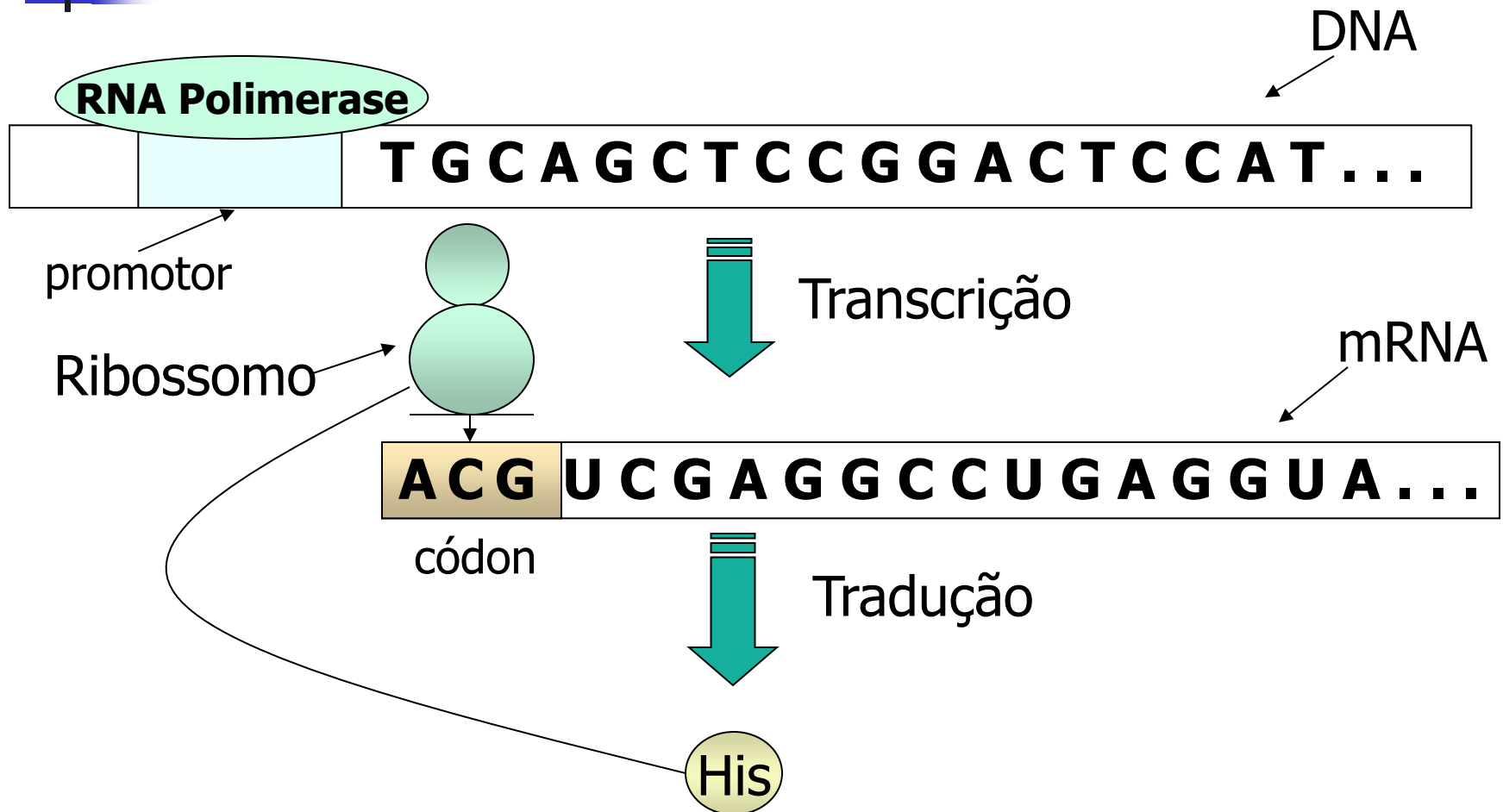
Expressão Gênica – Transcrição (1/2)



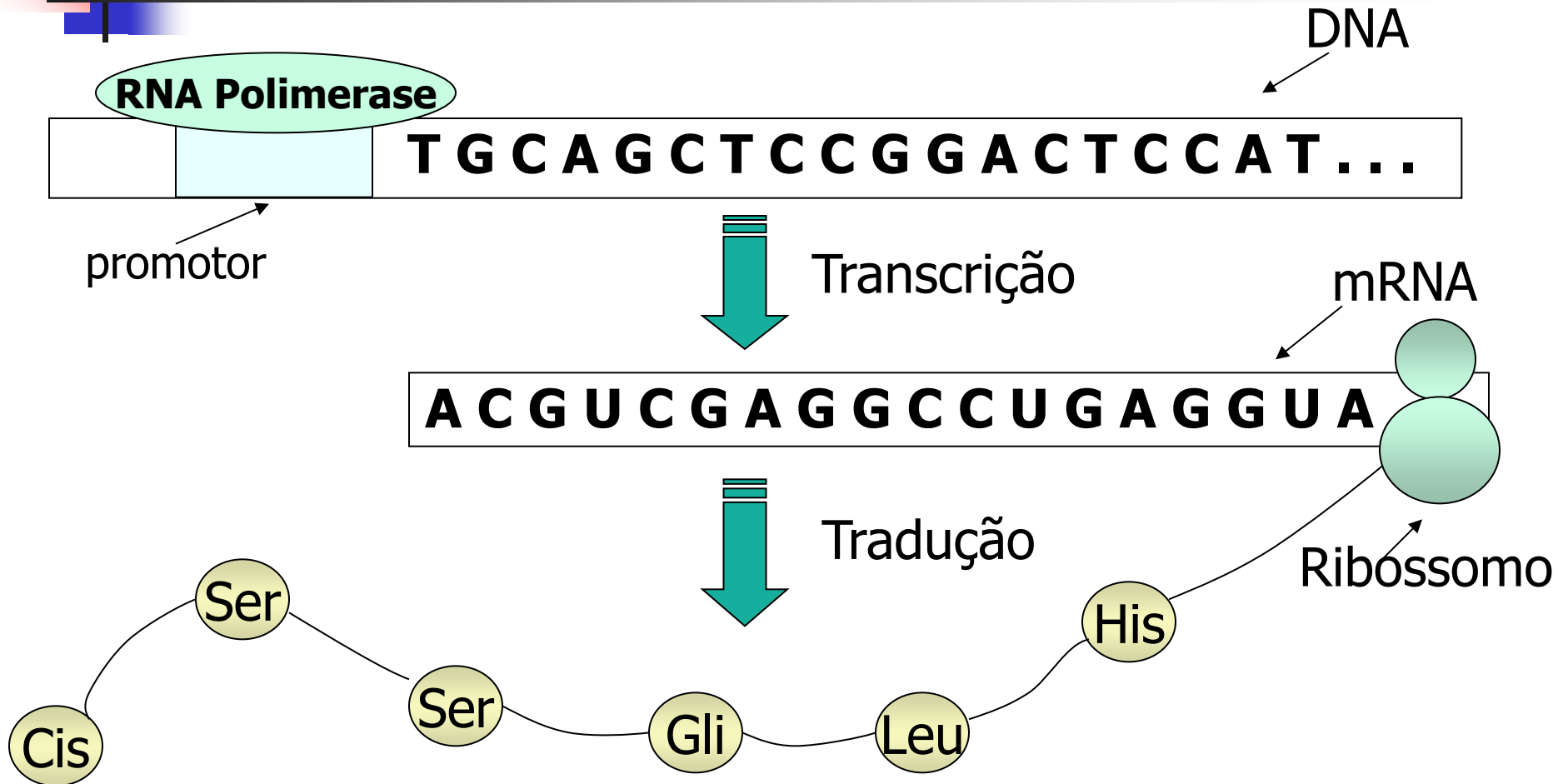
Expressão Gênica – Transcrição (2/2)

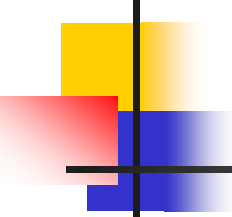


Expressão Gênica – Tradução (1/2)



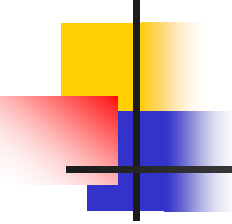
Expressão Gênica – Tradução (2/2)





Código Genético (1/4)

- Toda a atividade celular depende da presença de proteínas
- A função das proteínas depende da sua conformação tridimensional que, por sua vez, é determinada por uma seqüência de aminoácidos
- Quem contém a informação para especificar a seqüência de aminoácidos das diferentes proteínas é o DNA
- No entanto, os genes (DNA) não codificam diretamente as proteínas, fazendo isto por meio de uma molécula mensageira (mRNA)
- A unidade básica (**códon**) do código para um aminoácido consiste em uma seqüência de três pares de bases nucleotídicas (**códon de trincas**)
 - O código genético também inclui seqüências para o início (**códon iniciador**) e para o término (**códon finalizador**) da região codificadora
 - O código genético é universal: os mesmos códons são utilizados por diferentes organismos



Código Genético (2/4)

- Código Genético ⇒ mapeamento dos códons nos aminoácidos
 - 64 códons
 - 20 aminoácidos
- } aminoácidos mapeados por mais de um códon
-
- ↓
- Degeneração do código genético
- 3 códons de parada

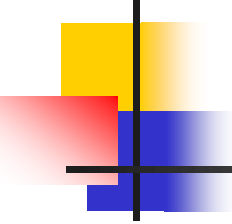
Código Genético (3/4)

2ª base no códon

1ª base no códon

	U	C	A	G	
U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr Parada Parada	Cys Cys Parada Trp	U C A G
C	Leu Leu Leu Leu	Pro Pro Pro Pro	His His Gln Gln	Arg Arg Arg Arg	U C A G
A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G
G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G

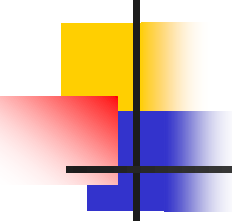
3ª base no códon



Código Genético (4/4)

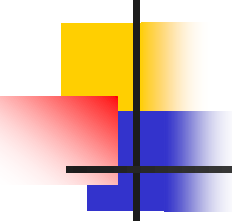
- Visto que o código genético tem redundância, é possível que diferentes seqüências nucleotídicas codifiquem a mesma seqüência de aminoácidos
 - Essas diferenças limitam-se a uma ou, quando muito, a duas posições da trinca de uma dado códon

UUA	CCU	AUU	AAA	CGG
Leu	Pro	Ile	Lis	Arg
CUG	CCG	AUA	AAG	CGA



As células

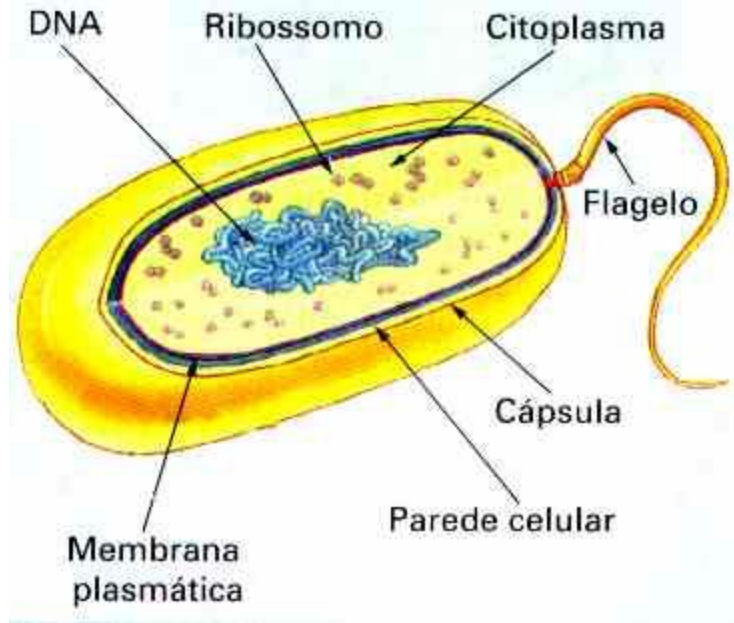
- A célula é a unidade fundamental da vida
 - Todos os seres vivos, animais e vegetais, são constituídos de células
 - Cada célula é envolvida por membrana e preenchida por uma solução aquosa
 - É capaz de criar cópias de si mesma pelo crescimento e divisão celular
 - Em resumo, uma boa definição para célula é:
 - "unidade que constitui os seres vivos e, em geral, definida como a menor porção de matéria viva dotada de autoduplicação independente"
 - Os vírus não podem ser considerados células, pois dependem do parasitismo para se reproduzir, utilizando-se da maquinaria da célula hospedeira (seres acelulares)
- Organização estrutural das células
 - Procarióticas
 - Eucarióticas



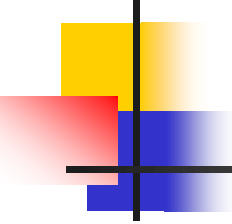
Células Procarióticas (1/2)

- Não possuem envoltório nuclear (carioteca)
- São pobres em membranas, pequenas e simples
 - Possuem membrana celular circundada por uma parede celular rígida
 - Não possuem núcleo e nem organelas membranosas (mitocôndrias, retículo endoplasmático, complexo de Golgi).
 - O citoplasma não se apresenta dividido em compartimentos, como ocorre nas células eucarióticas
 - Possuem DNA livre no citoplasma (um único cromossomo em forma circular)
- Os organismos formados por células procarióticas (procariontes) são sempre unicelulares
- São representadas pelas bactérias, incluindo as cianobactérias, que também são chamadas de cianofíceas e algas azuis
 - A célula procariótica mais estudada é a bactéria **Escherichia coli**, devido à sua simplicidade estrutural, rapidez de multiplicação e por não ser patogênica. É encontrada no trato gastrointestinal humano

Células Procarióticas (2/2)

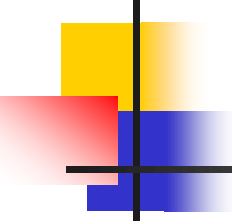


Célula procariótica de bactéria



Células Eucarióticas (1/3)

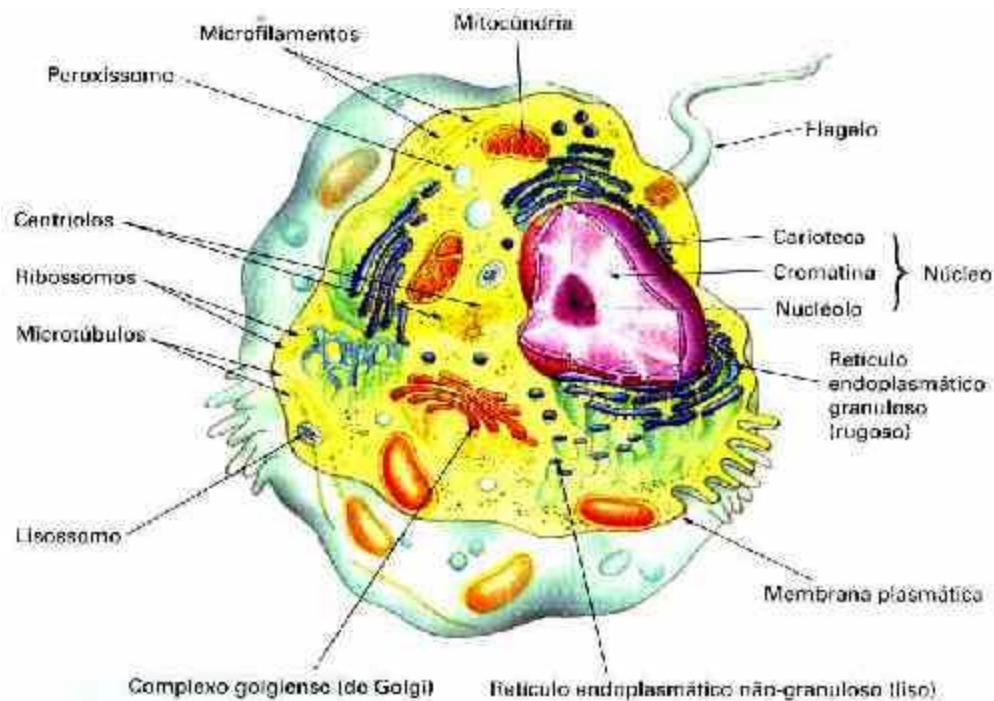
- Possuem citoplasma (revestido pela membrana plasmática) e núcleo (revestido pelo envoltório nuclear), entre os quais há um fluxo constante de moléculas, nos dois sentidos.
- Muitas reações metabólicas ocorrem dentro de compartimentos estruturais, isoladas, já que os eucariontes contêm membranas internas envolvendo organelas
 - Por exemplo, as mitocôndrias e o complexo de Golgi, bem como o retículo endoplasmático.
 - Além de aumentar a eficiência, essa separação de atividades permite que as células eucarióticas atinjam maior tamanho, sem prejuízo de suas funções
- Os organismos constituídos por células eucarióticas (eucariontes) podem ser unicelulares ou pluricelulares
- São eucarióticas as células de animais, vegetais, fungos, protozoários e muitas algas



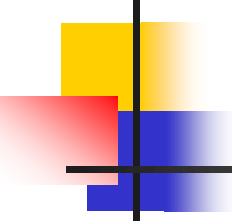
Células Eucarióticas (2/3)

- As diferentes funções da célula se distribuem entre as organelas no interior desta. Tomando uma célula eucariótica animal como modelo
 - O **núcleo da célula** é o lugar onde o DNA cromossômico fica armazenado, ou seja, a informação que a célula precisa para se manter e se dividir
 - Esse material genético é representado pela cromatina (composta pelos cromossomos - moléculas de DNA associadas a proteínas histônicas)
 - Os **ribossomos** participam da síntese de proteínas (tradução do mRNA)
 - As **mitocôndrias** são responsáveis pela respiração celular (produção de ATP, que é a energia que a célula utiliza para seu metabolismo)
 - O **retículo endoplasmático rugoso** (REG) possui ribossomos aderidos à sua membrana e tem importante papel na síntese e transporte de proteínas.
 - O **complexo de Golgi** tem a função de envolver os produtos da célula em vesículas e transportá-los, tanto dentro da célula como para o meio extracelular

Células Eucarióticas (3/3)



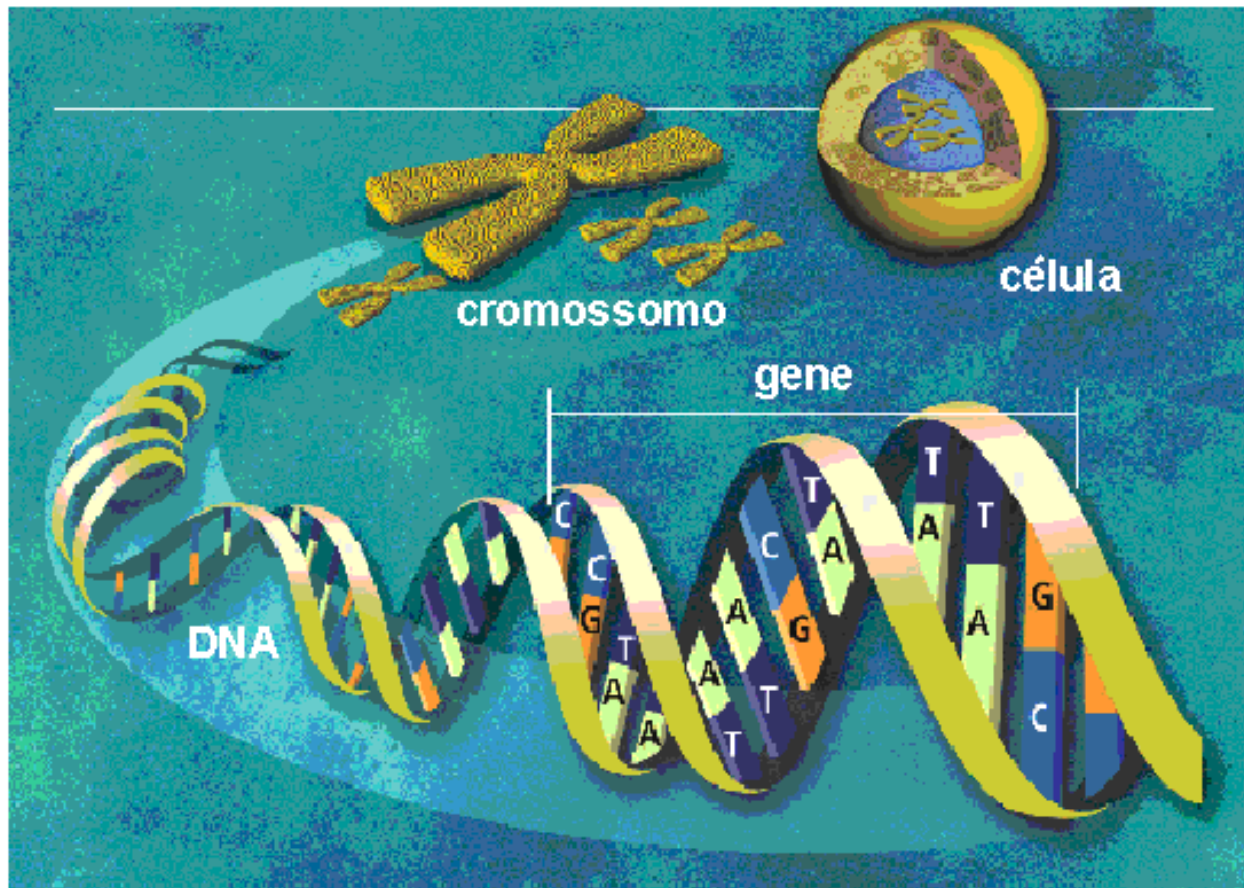
Célula Eucariótica animal



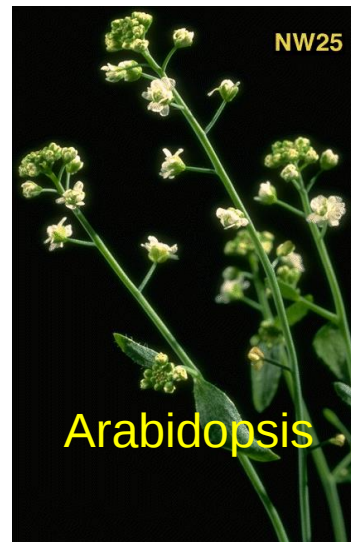
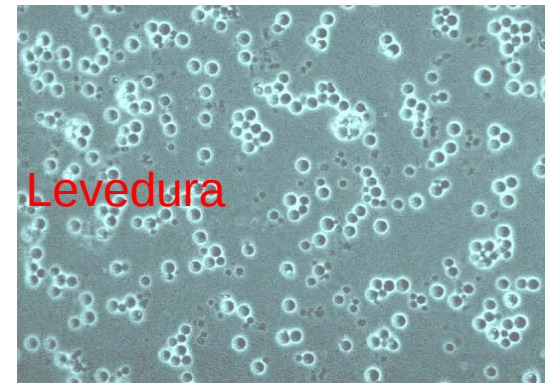
Cromossomos (1/2)

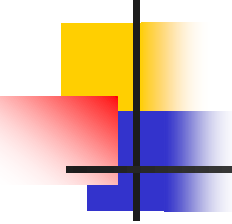
- Os cromossomos contêm os genes que por sua vez são formados por DNA
- Estes genes permitem a transmissão das informações genéticas de geração a geração
- Nas células **procarióticas**, o cromossomo é uma **única molécula de DNA**
 - Os cromossomos encontram-se imersos no próprio citoplasma formando uma estrutura denominada nuclóide
- Nas células eucarióticas, o cromossomo é formado por DNA associado a moléculas de histona, que são proteínas básicas
 - Nas células eucarióticas os cromossomos encontram-se separados do citoplasma pela membrana nuclear ou carioteca, em uma estrutura denominada núcleo
 - A presença de carioteca é uma característica típica das células eucarióticas, que as distingue das procarióticas

Cromossomo (2/2)



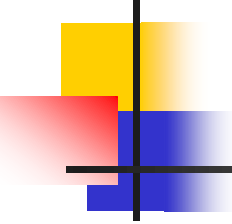
Organismos Modelo





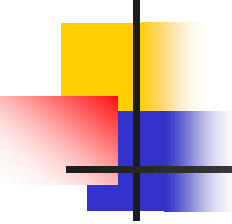
Tamanho de Genomas

Organismo	Genoma	Data	Genes Est.
<i>H.influenzae</i>	1.8 Mb	1995	1.740
<i>S.cerevisiae</i>	12.1 Mb	1996	6.034
<i>C.elegans</i>	97 Mb	1998	19.099
<i>A.thaliana</i>	100 Mb	2000	25.000
<i>D.melanogaster</i>	180 Mb	2000	13.061
<i>M.musculus</i>	3000 Mb	-	Desc.
<i>H.sapiens</i>	3000 Mb	2003	35.000



Revisão

- Genes são as instruções para construção de proteínas
- o RNA carrega as instruções do núcleo para o citosol onde a proteína é sintetizada (células eucarióticas)
- As Proteínas são as moléculas trabalhadoras da célula
 - Moléculas versáteis
 - catálise
 - rigidez estrutural
 - permeabilidade da membrana
 - sinalização celular
 - Motilidade
 - controle da função dos genes
- Tudo isto requer hardware, software, armazenamento, integração....



Referências

- P. Passarge (2004). *Genética: texto e atlas*. Segunda Edição. Artmed.
- M. Christina M. Bonato. *Moldes, Módulos e Forma: do DNA às Proteínas*. (acesso em 31/12/2004)
<http://www.biologianaweb.com/Livro2/Moldes.htm>