

## GENÉTICA MOLECULAR

As descobertas genéticas ou a aplicação dos conceitos genéticos na nossa vida cotidiana estão diariamente na mídia e algumas das descobertas mais marcantes têm ocorrido no campo da genética médica. Atualmente os geneticistas compreendem a base metabólica de centenas de distúrbios hereditários, conhecem os genes defeituosos que resultam em várias doenças herdadas, estudam aspectos de nosso comportamento e de nossa personalidade que são controlados por nossa constituição genética, pesquisam o papel que os genes possam ter em comportamentos tais como alcoolismo e sexualidade e já sabem há algum tempo que genes defeituosos estão na origem de alguns distúrbios mentais. Hoje em dia, de posse de poderosos instrumentos de análise genética molecular os pesquisadores estão voltados para identificar os genes que, quando defeituosos, tornam os indivíduos mais suscetíveis a estas doenças.

A genética molecular também está fornecendo novos meios de tratar doenças. Durante décadas, diabéticos receberam insulina obtida de animais, geralmente porcos. Hoje, a insulina é produzida em bactérias que possuem o gene da insulina humana. O hormônio do crescimento humano, antes isolado de cadáveres, também é produzido em bactérias e é utilizado para tratar crianças que não produzem quantidades suficientes do hormônio. Muitas outras proteínas de importância médica, hoje, são rotineiramente produzidas em bactérias que foram transformadas com o gene humano apropriado.

As pesquisas genéticas também são realizadas no campo da nutrição e técnicas moleculares são utilizadas para acentuar a qualidade e a produção de alimentos (alimentos geneticamente modificados).

As descobertas das pesquisas genéticas iniciaram inúmeros aspectos comerciais na indústria de biotecnologia. As empresas que fabricam produtos farmacêuticos e testes diagnósticos, ou que fornecem serviços tais, como perfis de DNA, têm contribuído para o crescimento econômico mundial.

Algumas formas de câncer são familiares ou hereditárias e outras ocorrem esporadicamente entre todos os membros de uma população. Entretanto, todos os cânceres são doenças genéticas no sentido de que são causadas por mudanças na informação genética que é transmitida para as células filhas. A evidência disponível indica que todos os cânceres resultam do acúmulo de danos aos genes que controlam ou influenciam a multiplicação celular, a diferenciação celular e os processos correlatos. Embora existam centenas de tipos diferentes de câncer, todos têm uma coisa em comum: a perda do controle normal da multiplicação celular. Os genes mutantes que causam um risco aumentado de câncer, estão sendo identificados e estudados intensamente. À medida que aprendemos mais sobre o funcionamento destes genes em situações normais e anormais, chegamos mais perto de tratamentos terapêuticos eficazes.

A ciência forense tem utilizado as técnicas de genética molecular em assuntos legais. O DNA isolado de uma pequena amostra de tecido, às vezes de um só espermatozoide, leucócito ou folículo piloso, recuperada da cena de um crime, pode ser submetida a uma detalhada análise molecular e os resultados podem ser utilizados para identificar ou excluir o suspeito.

A terapia gênica (introdução de genes normais nas células de pacientes com genes defeituosos) oferece grandes promessas para o tratamento eficaz de doenças herdadas. A terapia gênica tem sido utilizada em conjunto com outros tratamentos, porém os genes introduzidos foram expressos por apenas um curto período de tempo. Embora existam motivos para se esperar que a terapia gênica seja finalmente bem-sucedida no tratamento de distúrbios genéticos, os resultados

## 2. Genética Molecular

atuais indicam que são necessárias mais pesquisas para se determinar como e porque os genes são desligados logo após entrarem em novas células hospedeiras.

O Projeto Genoma Humano tem como objetivos mapear e sequenciar toda o material genético de humanos e de alguns outros organismos geneticamente importantes. O conhecimento da estrutura de toda a informação genética dos humanos e de outros organismos terá profundos efeitos na sociedade. Esta informação terá efeitos acentuadas na capacidade dos cientistas de diagnosticar e criar tratamentos eficazes para as doenças humanas. Assim, esta informação deverá ter impacto positivo na saúde humana. Entretanto, também criará complexos problemas morais, éticos e legais que deverão ser enfrentados pelas pessoas.

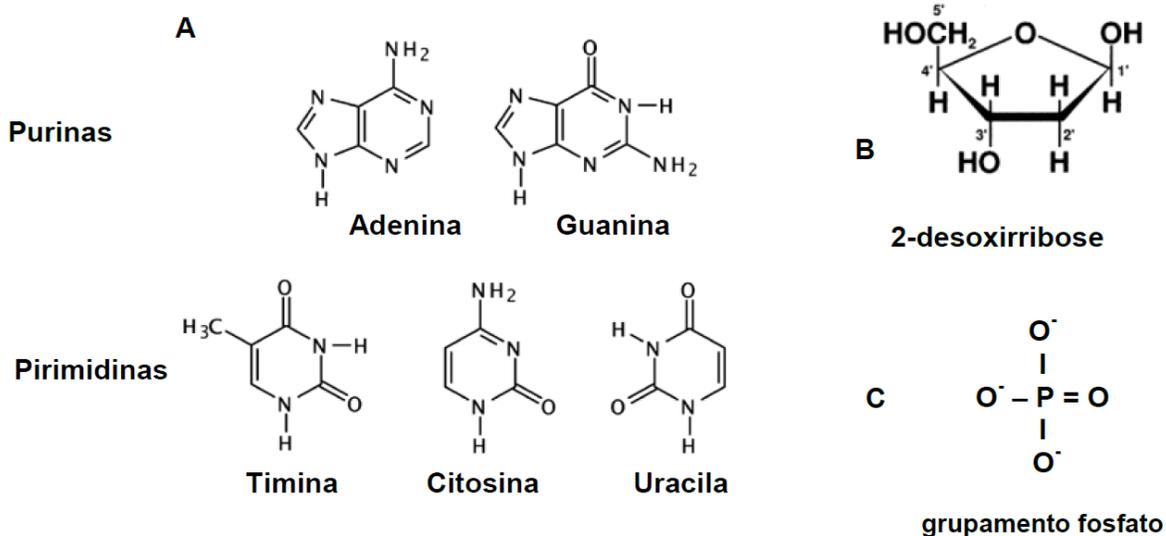
## UNIDADE 1

### COMPOSIÇÃO QUÍMICA E ESTRUTURA DO MATERIAL GENÉTICO

Em 1968, Johann Friedrich Miescher isolou uma substância ácida tratando, células do pus de bandagens usadas para cobrir feridas humanas, com pepsina, que é uma enzima proteolítica que pode ser isolada do estômago de porcos. Essa substância foi denominada de nucleína; apresentava grandes quantidades de nitrogênio e fósforo e, na época, a sua importância não pode ser avaliada. A existência de cadeias polinucleotídicas, os principais componentes do material ácido, só foi documentada na década de 1940. O papel dos ácidos nucleicos na estocagem e transmissão de informações genéticas só foi estabelecido em 1944 e a estrutura da dupla hélice só foi descoberta em 1953 e muitos geneticistas estavam relutantes em aceitar a ideia de que os ácidos nucleicos, e não as proteínas, tinham a informação genética, pois os ácidos nucleicos exibiam menos variabilidade estrutural que as proteínas.

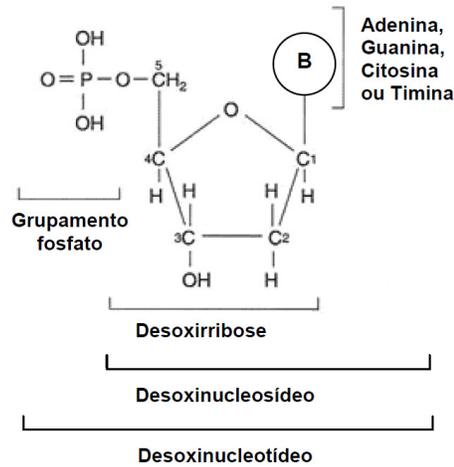
O DNA é formado de monômeros denominados de **nucleotídeos**. Cada nucleotídeo é formado por uma base nitrogenada, um açúcar e um resíduo de ácido fosfórico ligados de forma covalente. As bases nitrogenadas podem ser de dois tipos: **pirimidinas** e **purinas** (Figura 1). As pirimidinas: citosina (C), timina (T) e uracila (U), apresentam um anel aromático e as purinas: adenina (A) e guanina (G), são compostas de dois anéis aromáticos. O açúcar é uma pentose, a **2-desoxirribose** que estabelece uma ligação glicosídica entre o seu carbono C-1' e o nitrogênio N-1 das pirimidinas ou o nitrogênio N-9 das purinas, portanto uma **ligação N-glicosídica**. O **ácido fosfórico** se liga ao carbono C-5' da pentose através de uma ligação éster. O composto formado apenas por uma das bases nitrogenadas e a pentose, ligados de forma covalente, é denominado de **nucleosídeo** (Figura 2).

Figura 1 – (A) Bases nitrogenadas, (B) açúcar e (C) grupamento fosfato.



Fonte: Pessoa, H.L.F.

Figura 2 – Estrutura de nucleotídeo e nucleosídeo. B = Base nitrogenada

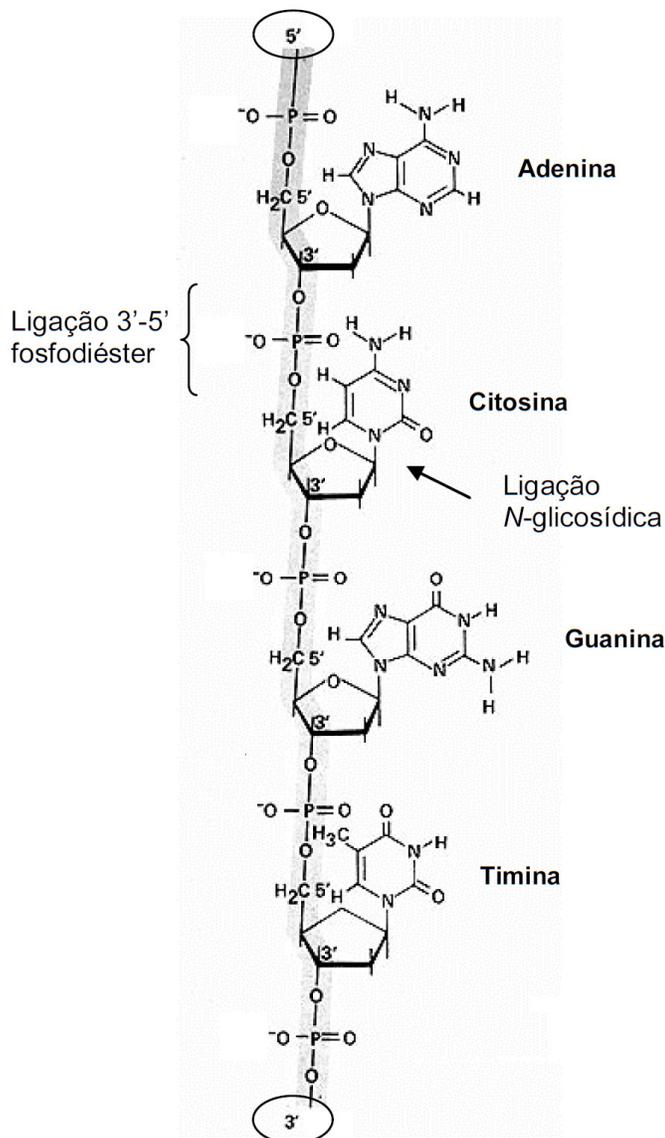


Os ácidos nucleicos são produzidos a partir da polimerização de nucleotídeos. A ligação entre esses monômeros envolve a formação de duas ligações éster pelo ácido fosfórico com os grupos hidroxila dos carbonos C3' e C5' de nucleotídeos adjacentes que é denominada **ligação 3', 5'- fosfodiéster**. A cadeia resultante, **esqueleto açúcar-fosfato** ou **hélice**, apresenta polaridade, com uma extremidade 5' que possui o grupo fosfato, e a outra extremidade 3' que apresenta a hidroxila livre. As bases nitrogenadas se posicionam em eixos perpendiculares ao esqueleto açúcar-fosfato. A característica mais importante da estrutura dos ácidos nucleicos é a sequência de bases nitrogenadas (Figura 3).

Análises da composição química do DNA de muitos organismos diferentes, realizadas por Erwin Chargaff e colaboradores (1949-1953), demonstraram que a concentração de timina era sempre igual à de adenina e a concentração de citosina era sempre igual à de guanina. Seus resultados também mostraram que a concentração total de pirimidinas era sempre igual à de purinas o que sugeria uma inter-relação entre essas bases nitrogenadas. Em contraste, a quantidade de pares A-T e C-G variava amplamente nos DNAs de espécies diferentes. Estudos cristalográficos de raios X sobre a estrutura do DNA realizados por Maurice Wilkins, Rosalind Franklin e seus colaboradores, indicaram que o DNA era uma estrutura bifilamentar altamente ordenada com subestruturas repetidas espaçadas em 0,34 nm (1 nm = 10<sup>-6</sup>mm), com 10 pares de bases por volta que se estendem ao longo do seu comprimento.

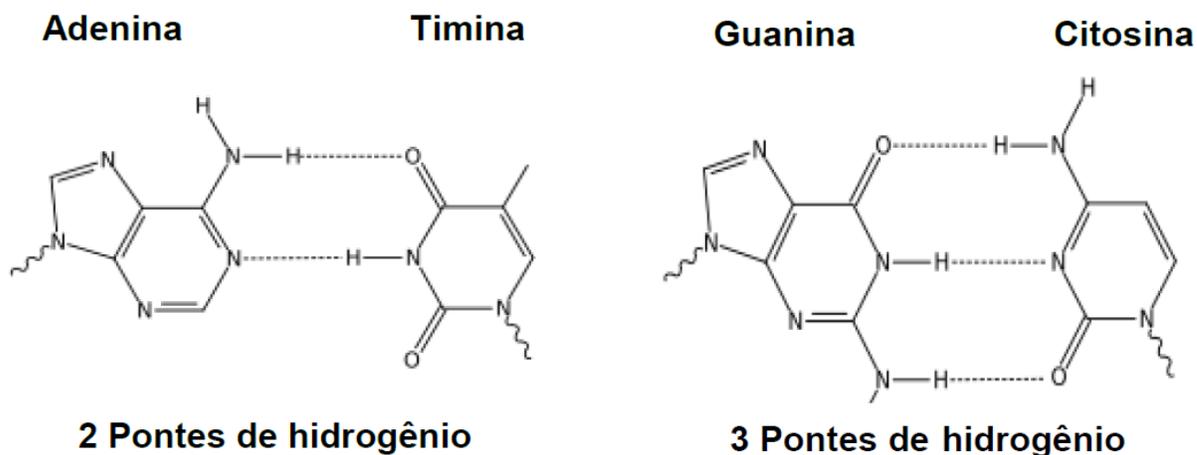
Baseando-se nos dados químicos de Chargaff, nos dados de difração de raios X de Maurice Wilkins e Rosalind Franklin (1949) e nas deduções a partir da construção do modelo James Dewey Watson e Francis Crick propuseram que o DNA se apresenta como uma **dupla hélice** enrolada em uma espiral dextrógira (**α-hélice**). Os dois filamentos polinucleotídicos são mantidos juntos em sua configuração helicoidal por **pontes de hidrogênio** que se estabelecem entre as bases nitrogenadas de filamentos opostos. Em suas configurações estruturais estáveis, adenina e timina formam duas pontes de hidrogênio e guanina e citosina formam três pontes de hidrogênio (Figura 4).

Figura 3 – Filamento polinucleotídico.



Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessoa, H.L.F.

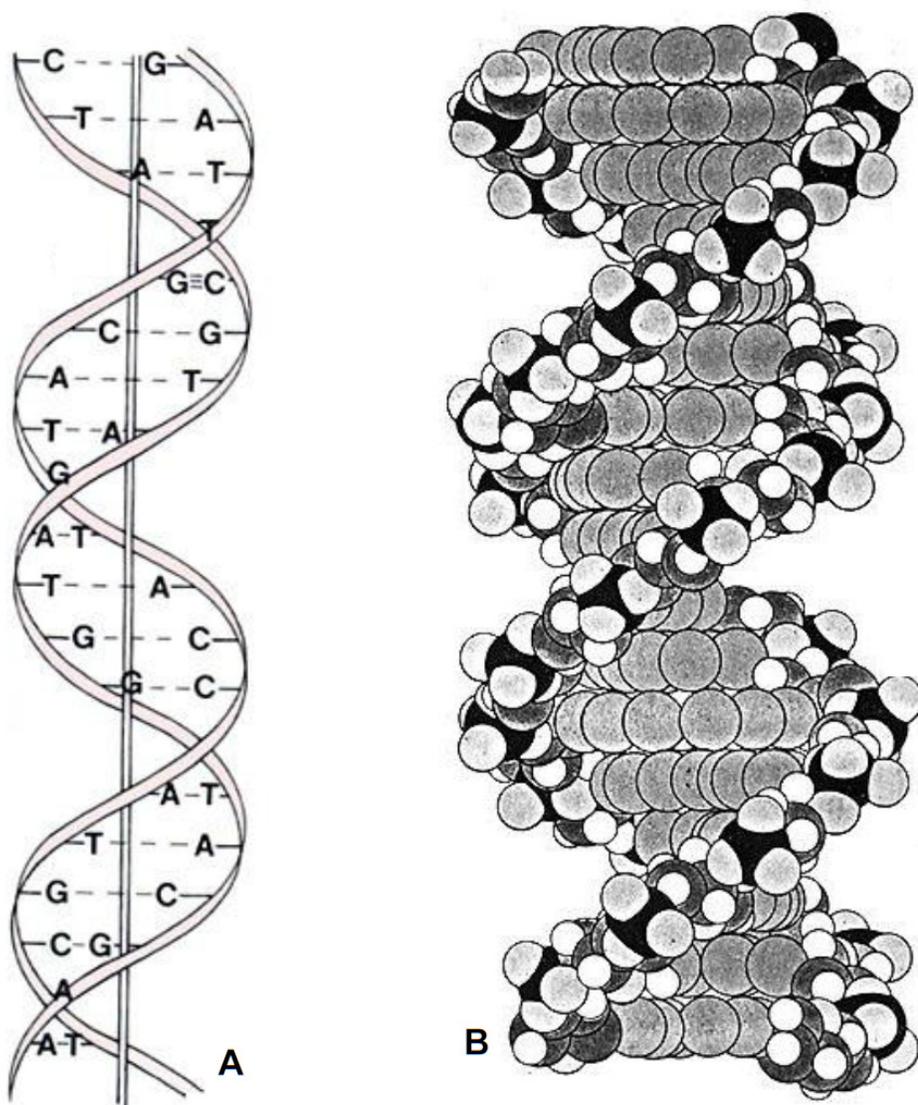
Figura 4 – Pareamento de bases nitrogenadas complementares.



Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessoa, H.L.F.

Os dois filamentos ou fitas de uma dupla hélice de DNA são denominados de **complementares** e, devido ao pareamento específico podemos determinar a sequência de bases de um filamento a partir da sequência conhecida do filamento complementar. Os esqueletos açúcar-fosfato dos dois filamentos complementares são **antiparalelos**, por apresentarem polaridade oposta que tem um papel importante na replicação, transcrição e recombinação do DNA (Figura 5).

**Figura 5 – Dupla hélice de DNA (A) Modelo estrutural e (B) Modelo molecular.**

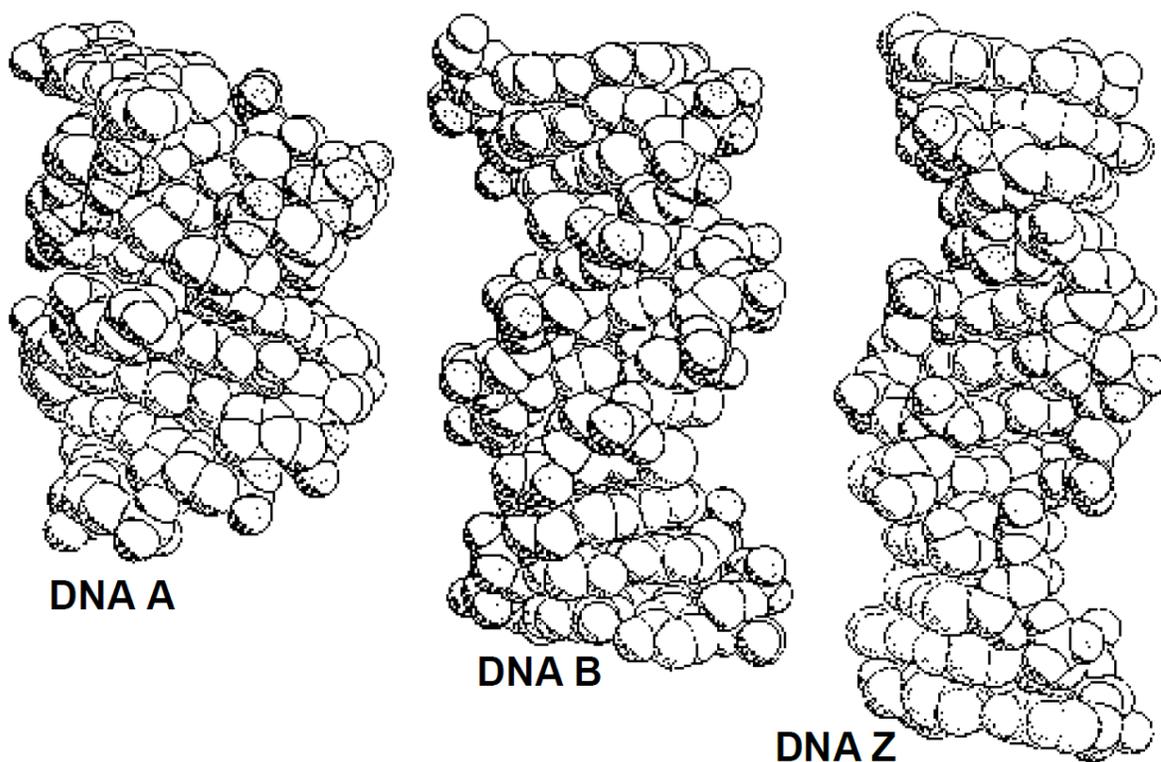


Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessoa, H.L.F.

A estabilidade da dupla hélice de DNA se deve, em parte, ao grande número de pontes de hidrogênio entre os pares de base de filamentos opostos e em parte às **ligações hidrofóbicas** (ou forças de empilhamento) entre pares de bases adjacentes. Os lados planares dos pares de bases são relativamente não-polares e portanto tendem a ser insolúveis em água (hidrofóbicos), o que contribui para uma considerável estabilidade das moléculas de DNA presentes nos protoplasmas aquosos das células vivas.

As moléculas de DNA, sob condições fisiológicas (solução aquosa com baixa concentração de sais), existem na conformação B (**DNA B**) apresentando 0,20 nm de diâmetro. Entretanto como elas exibem uma considerável flexibilidade conformacional, a sua estrutura pode se modificar em função da natureza das moléculas com as quais elas interagem. O **DNA A** existe em altas concentrações de sais ou em estado parcialmente desidratado, se apresenta como uma hélice dextrógira com 11 pares de nucleotídeos por volta e é uma dupla hélice mais curta e grossa com 0,23 nm de diâmetro. O **DNA Z** ocorre em duplas hélices levógiras, onde os pares de bases C:G e G:C se alternam, apresentam 12 pares de bases por volta e um diâmetro de 0,18 nm. A ocorrência do DNA Z em células vivas ainda é incerta (Figura 6).

Figura 6 - Moléculas de DNA nas conformações A, B e Z.



Fonte: [www.cbs.dtu.dk/staff/dave/roanoke/a\\_b\\_z\\_dna.gif](http://www.cbs.dtu.dk/staff/dave/roanoke/a_b_z_dna.gif)

## UNIDADE 2 REPLICAÇÃO DO DNA

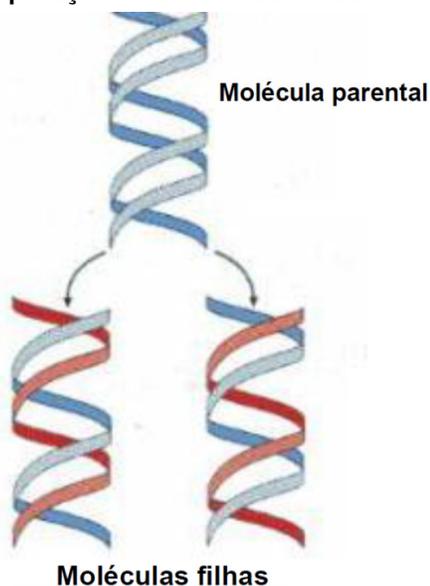
Todos os organismos devem duplicar o seu DNA com extrema precisão e em altas taxas (até mil nucleotídeos por segundo), antes de cada divisão celular.

O DNA que existe na natureza pode se apresentar de diversas formas, tais como: fitas simples e duplas, e os dois podem existir tanto na forma linear como na circular. Como muitos DNAs se apresentam como dupla hélice, pode-se apresentar algumas das características gerais da replicação que se aplicam para DNAs lineares e circulares. Descreveremos o processo de replicação em procariontes e, mais especificamente, em *Escherichia coli*, organismo no qual ele foi mais bem estudado.

Todas as vezes que uma célula se divide para produzir células filhas, o DNA precisa se duplicar ou replicar dando origem a uma nova molécula de DNA com a mesma sequência de bases existente na original, assegurando, assim, que as funções que executam serão perpetuadas na sua descendência.

A replicação do DNA envolve a separação das duas fitas parentais e a produção de duas novas fitas, tendo as parentais como **molde**. Cada nova molécula de DNA contém uma fita parental e uma fita recém-sintetizada, caracterizando a replicação **semiconservativa** (Figura 7). O processo de replicação é complexo e envolve a participação de várias proteínas e enzimas que atuam de forma coordenada para garantir uma fidelidade considerável.

**Figura 7 – Replicação semiconservativa da molécula de DNA.**



Fonte: [http://e-portfolio-biologia.blogspot.com/2008/10/replicao-do-dna\\_12.html](http://e-portfolio-biologia.blogspot.com/2008/10/replicao-do-dna_12.html) modificado por Pessôa, H.L.F.

A separação dos dois filamentos de DNA é realizada pela enzima **DNA helicase**. Esta enzima desenrola as duas fitas que compõem a dupla-hélice, quebrando as pontes de hidrogênio estabelecidas entre as bases complementares de cada uma das fitas.

As regiões de fita simples são estabilizadas pelas **proteínas de ligação de fita simples (SSB)** que protegem essas regiões de sofrer hidrólise pelas nucleases.

De modo a aliviar a tensão provocada pela torção da cadeia dupla durante o seu desenrolar pela helicase, a enzima **DNA topoisomerase I** se associa com a cadeia parental a montante da helicase. Esta enzima cataliza quebras transitórias das ligações fosfodiéster em um dos filamentos fornecendo um eixo de rotação que permite que os segmentos de DNA em lados opostos da quebra girem independentemente, com o filamento intacto servindo como eixo. As topoisomerases I são extremamente eficientes pois armazenam a energia resultante da clivagem das ligações fosfodiéster para serem reaproveitadas para recompor o filamento.

Já foram descritas 5 DNA polimerases de *E. coli*, as DNA polimerases II, IV e V não são necessárias para a replicação e estão envolvidas em mecanismos de reparo de danos ao DNA.

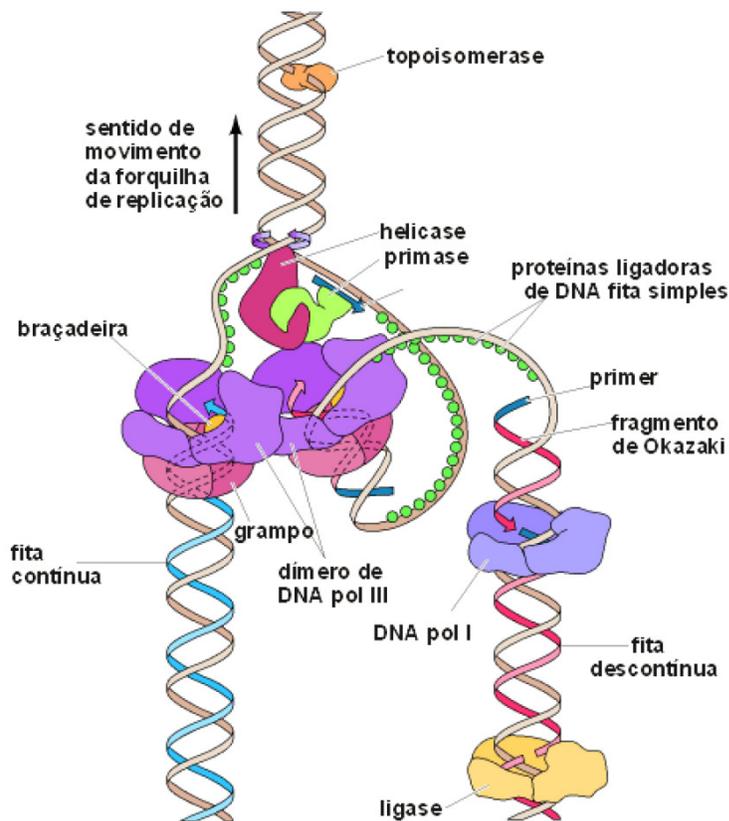
As **DNA polimerases** catalisam a adição de nucleotídeos ao filamento em crescimento da extremidade 5' para a 3'. No terminal 5' do açúcar há um grupo fosfato e no 3' existe uma hidroxila livre onde se estabelece a ligação fosfodiéster com o nucleotídeo que está sendo incorporado. Observou-se que as DNA polimerases não são capazes de catalizar a síntese desde o início, elas necessitam de um pequeno filamento de nucleotídeos, um oligonucleotídeo **iniciador**, ao qual ela adiciona os nucleotídeos seguintes. Esse oligonucleotídeo iniciador é de RNA, copiado de forma complementar à fita molde de DNA pela **RNA primase**. As DNA polimerases, para realizarem o processo de polimerização, necessitam também dos quatro desoxirribonucleotídeos trifosfato (dTTP, dATP, dGTP e dCTP) e de  $Mg^{2+}$ .

A **DNA polimerase III** é um complexo enzimático com 10 subunidades responsável pela polimerização 5'→3' da fita de DNA recém-formada. Esta holoenzima apresenta, ainda, a atividade 3'→5' exonucleásica que permite que nucleotídeos incorretos adicionados sejam prontamente removidos, um por vez, durante a replicação e substituídos por nucleotídeos corretos, mecanismo de **revisão e reparo**.

A **DNA polimerase I** tem a função de reparar e remendar o DNA danificado e para tanto apresenta as atividades; polimerásica 5'→3' e exonucleásica 3'→5' e 5'→3', esta última permite que vários nucleotídeos sejam removidos durante o reparo.

Durante o processo de replicação do DNA, uma das fitas novas é formada **continuamente** na direção 5'→3' (**fita líder**) e a outra de maneira **descontínua** e no sentido inverso para manter a mesma direção 5'→3' (**fita retardatária**). A fita descontínua é replicada através de **fragmentos de Okasaki** (1000 a 2000 nucleotídeos). Cada um desses fragmentos apresenta, além do DNA recém sintetizado, um RNA iniciador que será substituído por desoxirribonucleotídeos pela DNA polimerase I e a **DNA ligase** reconstituirá a nova fita. O filamento líder possui apenas um RNA iniciador que também será substituído pela DNA polimerase I (Figura 8).

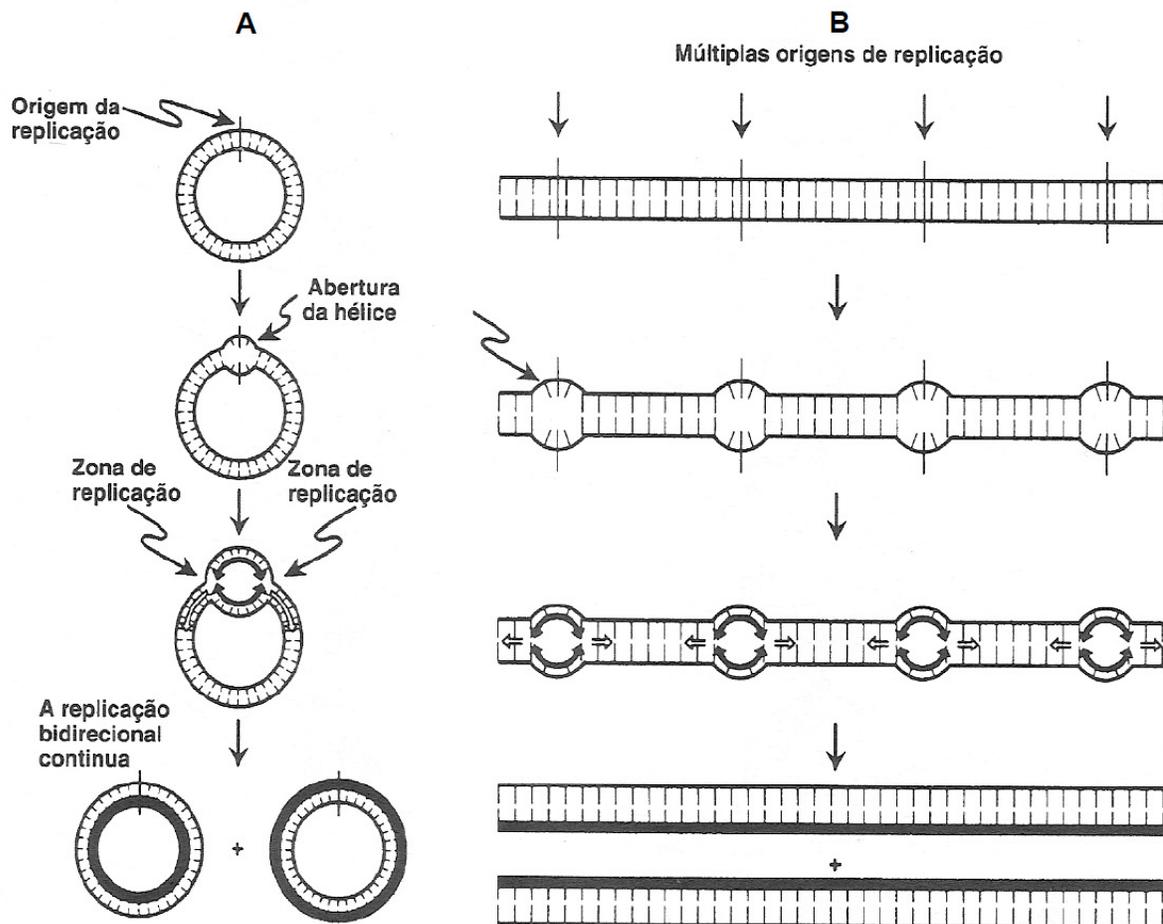
Figura 8 – A replicação semiconservativa do DNA



Fonte: [www.enq.ufsc.br/.../genetica/DNA.html](http://www.enq.ufsc.br/.../genetica/DNA.html)

A replicação do DNA se inicia em um ponto específico da dupla hélice denominado de **origem de replicação** e prossegue em direções opostas gerando a formação de duas **forquilhas de replicação**. A medida que a replicação avança as forquilhas se distanciam e ocorre a formação de uma **bolha de replicação**. No DNA circular dos procariontes existe apenas uma origem de replicação e se forma uma única bolha enquanto que nos eucariontes existem várias origens de replicação e, portanto, se formam várias bolhas. A única origem de replicação presente em *E. coli*, chamada de **OriC**, apresenta 245 nucleotídeos e contém duas sequências diferentes repetidas conservadas, uma delas é rica em A:T o que facilita a separação dos filamentos e a outra possui sítios de ligação para uma proteína importante para a formação da bolha de replicação (Figura 9).

Figura 9 – Replicação em procariontes (A) e eucariontes (B).



Fonte: Champe, P.C.; Harvey, R.A.; Ferrier, D.R. modificado por Pessoa, H.L.F.

A compreensão do mecanismo de replicação em eucariontes não é tão extensa em razão de sua maior complexidade. Embora muitos princípios sejam os mesmos, a replicação eucariótica é mais complicada em três aspectos básicos: existem várias origens de replicação, o tempo deve ser controlado de acordo com o tempo de divisão celular e há mais proteínas e enzimas envolvidas.

## UNIDADE 3

### TRANSCRIÇÃO DA INFORMAÇÃO GENÉTICA

Embora a maioria dos genes codifique proteínas, os produtos finais de alguns genes são moléculas de RNA. Várias destas moléculas de RNA têm papéis essenciais na síntese de proteínas. Uma vez que os genes controlam as estruturas dos RNAs e das proteínas, nos questionamos como as sequências de pares de nucleotídeos nas moléculas de DNA especificam as sequências de nucleotídeos no RNA e aminoácidos em moléculas proteicas.

A transcrição é a síntese de uma molécula de ácido ribonucleico (RNA) complementar a um filamento molde de ácido desoxirribonucleico (DNA). Os RNAs produzidos nas células procarióticas e eucarióticas são moléculas de uma única fita composta de nucleotídeos de adenina, guanina, citosina e uracila unidos por ligações fosfodiéster que apresentam estruturas secundárias, incluindo regiões de dupla fita intramoleculares que são importantes para suas funções.

As enzimas responsáveis pela síntese dos RNAs são denominadas de **RNA polimerases**. Todos os RNAs são sintetizados na direção 5' para 3' e todas as RNA polimerases são capazes de iniciar a síntese de RNA. Nas células procarióticas existe apenas um tipo de RNA polimerase e a mais estudada é a de *E. coli* que é composta de duas subunidades  $\alpha$ , uma subunidade  $\beta$  e outra  $\beta'$ , que interagem entre si para formar um complexo. Quando o fator  $\sigma$  (sigma) se junta ao complexo, a polimerase ganha especificidade e é capaz de se ligar aos sítios corretos de iniciação no DNA e começar a transcrição. As células eucarióticas possuem três RNA polimerases: I (sintetiza os RNAr), II (sintetizam os RNAm) e a III (sintetizam pequenos RNAs incluindo os RNAt).

As três classes de moléculas de RNA são encontradas em células procarióticas e eucarióticas: **RNA ribossômico (RNAr)**, **RNA de transferência (RNAt)** e **RNA mensageiro (RNAm)**.

Os RNAm representam a classe mais heterogênea de RNAs encontrada nas células, variando em tamanho de 500 a mais de 6000 nucleotídeos, eles carregam a informação genética, definindo a sequência de todas as proteínas da célula. Após a sua síntese, as extremidades dos RNAm eucarióticos são modificadas de maneira específica. Todos os RNAm eucarióticos possuem um “cap” de nucleotídeo guanina metilada na sua extremidade 5', unido por uma ligação trifosfato 5'-5'. Na extremidade 3' ocorre a adição de vários (30-100) resíduos de timina formando uma cauda de poli A (Figura 10).

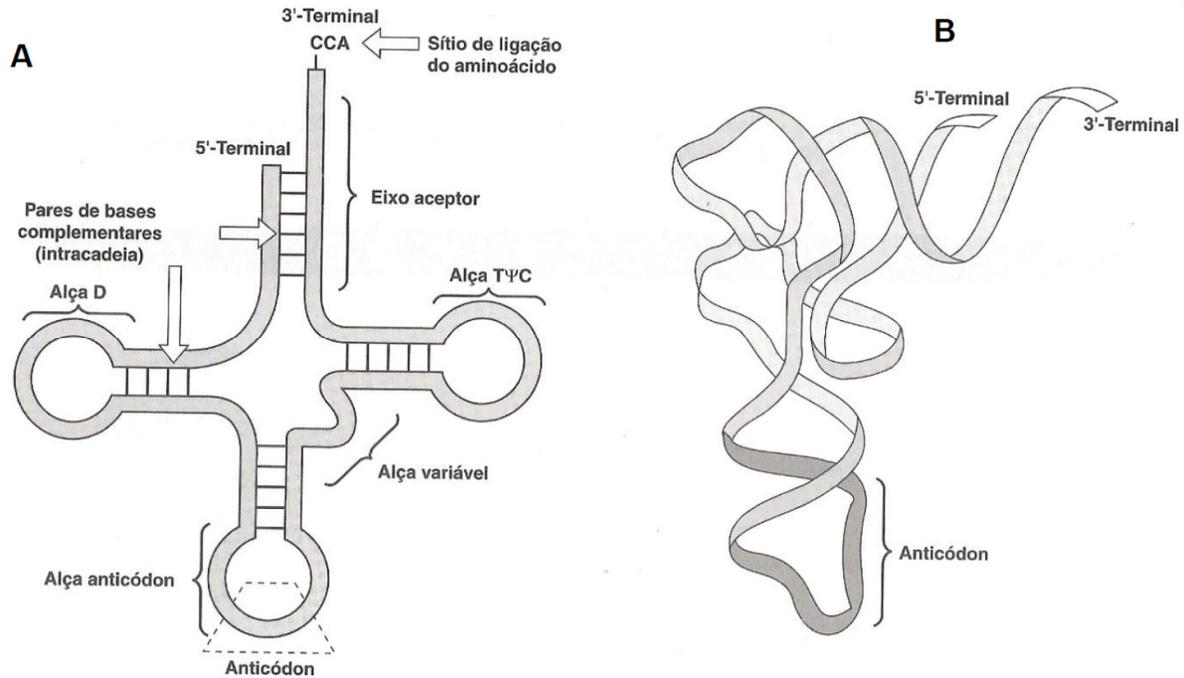


Fonte: Pessoa, H.L.F.

Nos eucariontes os RNAm são sintetizados como grandes precursores, composto de **éxons** (sequências codificadoras) e **íntrons** (sequências intervenientes ou não codificadoras) que precisam ser processados (**splicing**) antes de se tornarem funcionais. Esse processamento normalmente envolve a remoção dos íntrons e a ligação dos éxons. Atualmente, sabemos que os íntrons interrompem a maioria, mas não todos, os genes eucarióticos, raros genes de alguns vírus de procariontes e de uma arqueobactéria, porém o seu significado biológico ainda é incerto. Especula-se que eles possam regular a expressão de genes uma vez que a presença de grandes íntrons diminui a taxa de acúmulo de transcritos em uma célula. O fato de que os íntrons acumulam mutações novas muito mais rapidamente que os éxons indica que sua sequência de nucleotídeos não é muito importante. Especula-se que a estrutura éxon-íntron dos genes eucarióticos é resultado da evolução de novos genes através da fusão de genes ancestrais com um único éxon e se assim for os íntrons podem ser apenas vestígios do processo evolutivo. De maneira alternativa os íntrons podem conferir uma vantagem seletiva aumentando a taxa com a qual as sequências codificantes em éxons diferentes de um gene podem se reassociar por recombinação, acelerando assim o processo de evolução. Portanto, diferentes íntrons podem ter diferentes papéis e muitos íntrons podem não ter nenhum significado biológico. Como muitos genes eucarióticos não contém íntrons, acredita-se que essas regiões não sejam necessárias para a expressão gênica normal.

Os RNAt procarióticos e eucarióticos são semelhantes em tamanho e em estrutura. Eles apresentam estruturas secundárias, extensas e vários ribonucleotídeos modificados. Todos os RNAt se apresentam como uma estrutura dobrada com quatro alças distintas, denominada de trevo de quatro folhas, onde a alça do anticódon é a estrutura responsável pelo reconhecimento do códon complementar de uma molécula de RNAm. Outra estrutura proeminente encontrada em todas as moléculas de RNAt, é o eixo acceptor, formado pelo pareamento de bases encontradas no final de suas extremidade 5' e 3'. As três últimas bases encontradas no final da extremidade 3' se mantêm não pareadas e possuem sempre a mesma sequência: 5'-CCA- na qual se liga o aminoácido. Essas moléculas funcionam como adaptadores que levam os aminoácidos para o local de síntese de proteínas (Figura 11).

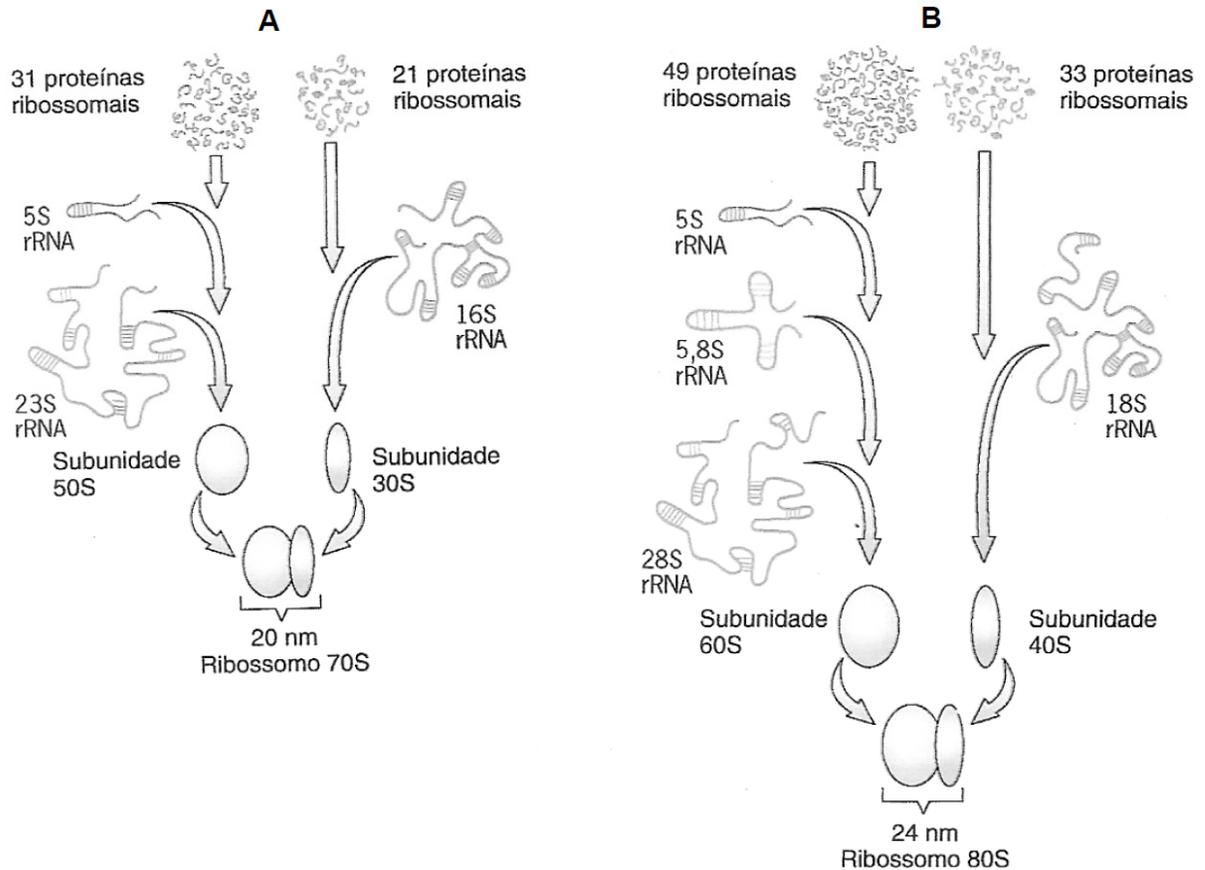
**Figura 11 – Estrutura do RNA de transferência (RNAt) (A) plana (B) tridimensional.**



**Fonte: Champe, P.C.; Harvey, R.A.; Ferrier, D.R.**

As moléculas de RNAr dos procariontes são de três tamanhos diferentes (16S, 23S e 5S) e a dos eucariontes são de quatro tipos (18S, 28S, 5,8S e 5S) que realiza a síntese de proteínas. Os RNAr eucarióticos são sintetizados como um único transcrito com tamanho de 45 S que é processado em RNAr 28S, 18S, 5,8S e 5S. Os RNAs 28S, 5,8S e 5S se associam a proteínas ribossômicas para formar a subunidade maior do ribossomo e o RNAr 18S se associa com outras proteínas específicas para formar a subunidade menor do ribossomo e estas subunidades interagem para formar um ribossomo funcional (Figura 12).

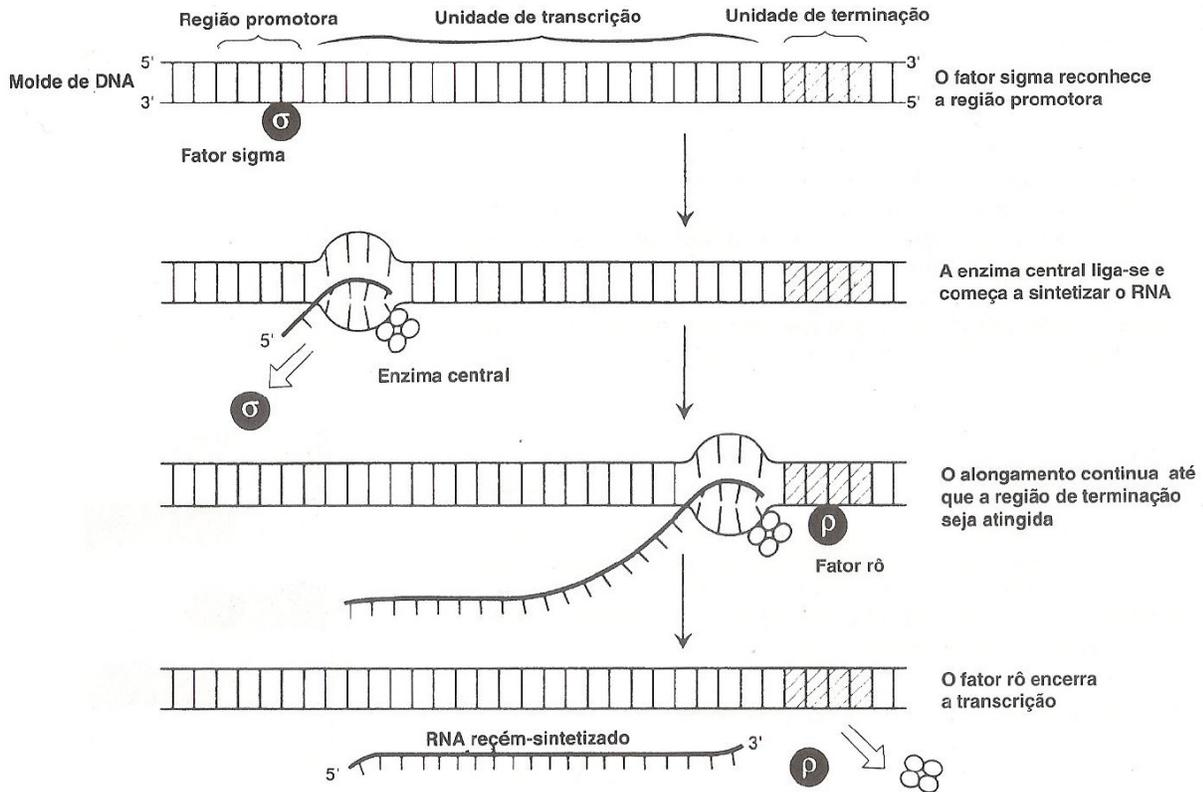
**Figura 12 – Composição macromolecular dos ribossomos (A) procarióticos e (B) eucarióticos.**



Fonte: Snustad, D.P.; Simmons, J.

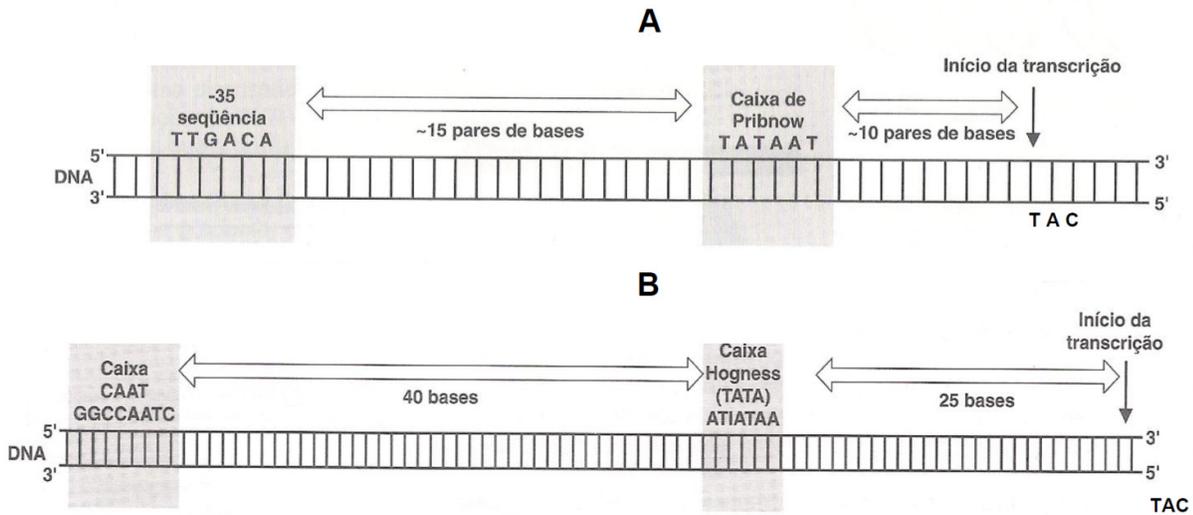
O processo de transcrição dos RNAs pode ser dividido em três fases: iniciação, alongamento e terminação (Figura 13). Durante a iniciação ocorre a ligação de uma RNA polimerase a região no DNA que determina que aquele gene especificamente será transcrito, a região do **promotor**. As sequências do promotor reconhecidas pela RNA polimerase são: na posição -10 a Caixa de Pribnow e a sequência -35 (procariotes) e na posição -25 a Caixa de Hogness e a Caixa CAAT (eucariotes) (Figura 14). Durante o alongamento, a RNA polimerase começa a sintetizar um RNA complementar ao molde de DNA e o fator sigma é liberado. Quando um sinal de terminação é atingido ocorre a liberação do RNA e da enzima que poderá catalizar outros processos de transcrição. Alternativamente uma proteína adicional, o fator rô pode ser necessário para a liberação do RNA transcrito.

**Figura 13 – Transcrição da informação genética.**



Fonte: Champe, P.C.; Harvey, R.A.; Ferrier, D.R. modificado por Pessoa, H.L.F.

**Figura 14 – Regiões promotoras de (A) procariontes e (B) eucariontes.**



Fonte: Champe, P.C.; Harvey, R.A.; Ferrier, D.R. modificado por Pessoa, H.L.F.

## UNIDADE 4

### TRADUÇÃO DA INFORMAÇÃO GENÉTICA

A síntese de proteínas ou tradução corresponde à etapa final da transferência de informação genética, armazenada no DNA, para as moléculas de proteínas, que são os principais componentes estruturais e funcionais das células vivas. Durante a tradução essa informação, expressa em um RNA, é utilizada para comandar a síntese de uma proteína. O processo de tradução envolve três componentes principais: o RNA mensageiro (RNAm) que contém a informação necessária para direcionar a síntese de proteínas, o RNA de transferência (RNAt) que carregam os aminoácidos que serão incorporados à proteína e os ribossomos que reúnem o RNAm e o RNAt, de modo a permitir que o aminoácido correto seja incorporado à proteína. A tradução começa próximo à extremidade 5', que corresponde ao terminal amino da proteína e prossegue em direção à extremidade 3' do RNA, que corresponde ao terminal carboxila da proteína.

A mensagem genética está contida em um **código triplo, não sobreposto, sem vírgulas, degenerado e universal** (Figura 15). Somente uma combinação das quatro bases existentes no RNA (A, T, C e U) três a três pode gerar o número de combinações ou códons (64) necessários para codificar cada um dos 20 aminoácidos que podem ocorrer nas proteínas. Nenhuma base é compartilhada entre códons consecutivos. O ribossomo move-se ao longo de três bases por vez e como não existe qualquer base interveniente entre os códons, o código é denominado sem vírgulas. O código é degenerado, porque mais de um códon podem codificar o mesmo aminoácido e universal, porque é o mesmo seja em bactérias ou no homem. Três códons (UAA, UAG e UGA) não especificam aminoácido e são utilizados como sinais para interromper a síntese de uma proteína. O códon AUG, que especifica somente a metionina, tem um duplo papel: ele codifica a metionina em qualquer lugar em que ele se encontre no RNA e também marca o início da síntese proteica.

**Figura 15 – O código genético**

#### O CÓDIGO GENÉTICO

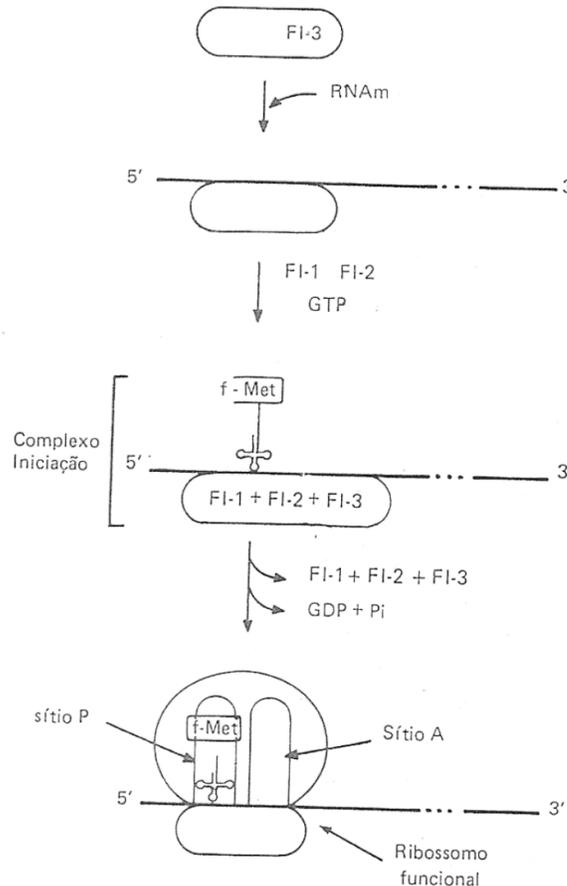
	U	C	A	G	
U	UUU } fen UUC } UUA } leu UUG }	UCU } UCC } ser UCA } UCG }	UAU } tir UAC } UAA – UAG –	UGU } cis UGC } UGA – UGG : trp	U C A G
C	CUU } CUC } leu CUA } CUG }	CCU } CCC } pro CCA } CCG }	CAU } his CAC } CAA } gln CAG }	CGU } CGC } arg CGA } CGG }	U C A G
A	AUU } AUC } ile AUA } AUG : met	ACU } ACC } tre ACA } ACG }	AAU } asn AAC } AAA } lis AAG }	AGU } ser AGC } AGA } arg AGG }	U C A G
G	GUU } GUC } val GUA } GUG }	GCU } GCC } ala GCA } GCG }	GAU } asp GAC } GAA } glu GAG }	GGU } GGC } gli GGA } GGG }	U C A G

Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P.

A tradução é um processo dinâmico que envolve a interação de enzimas, RNAt, ribossomos e RNAm de maneiras específicas para produzir uma molécula de proteína capaz de desempenhar uma função celular específica. Esse processo é normalmente dividido em três etapas: iniciação, alongamento e terminação.

A iniciação da síntese de proteínas ocorre quando um ribossomo (ambas as subunidades) é acoplado ao RNAm e o sítio P é ocupado por uma molécula de metionina – RNAt. Este complexo é formado pela ação de proteínas conhecidas como fatores de iniciação. Em procariontes três fatores de iniciação (IF-1, IF-2 e IF-3) participam do processo e em eucariontes existem pelo menos 12 fatores de iniciação diferentes. O complexo de iniciação se forma justaposto à extremidade 5' da região codificadora do RNAm e a *N*-formil metionina (fmet) é o primeiro aminoácido incorporado em todas as proteínas bacterianas. A montagem do complexo de iniciação é dirigida pela hidrólise de GTP eo movimento deste complexo ao longo do RNAm é dirigido pela hidrólise de ATP (Figura 16).

**Figura 16 – Esquema demonstrando a etapa de iniciação da síntese de proteínas.**

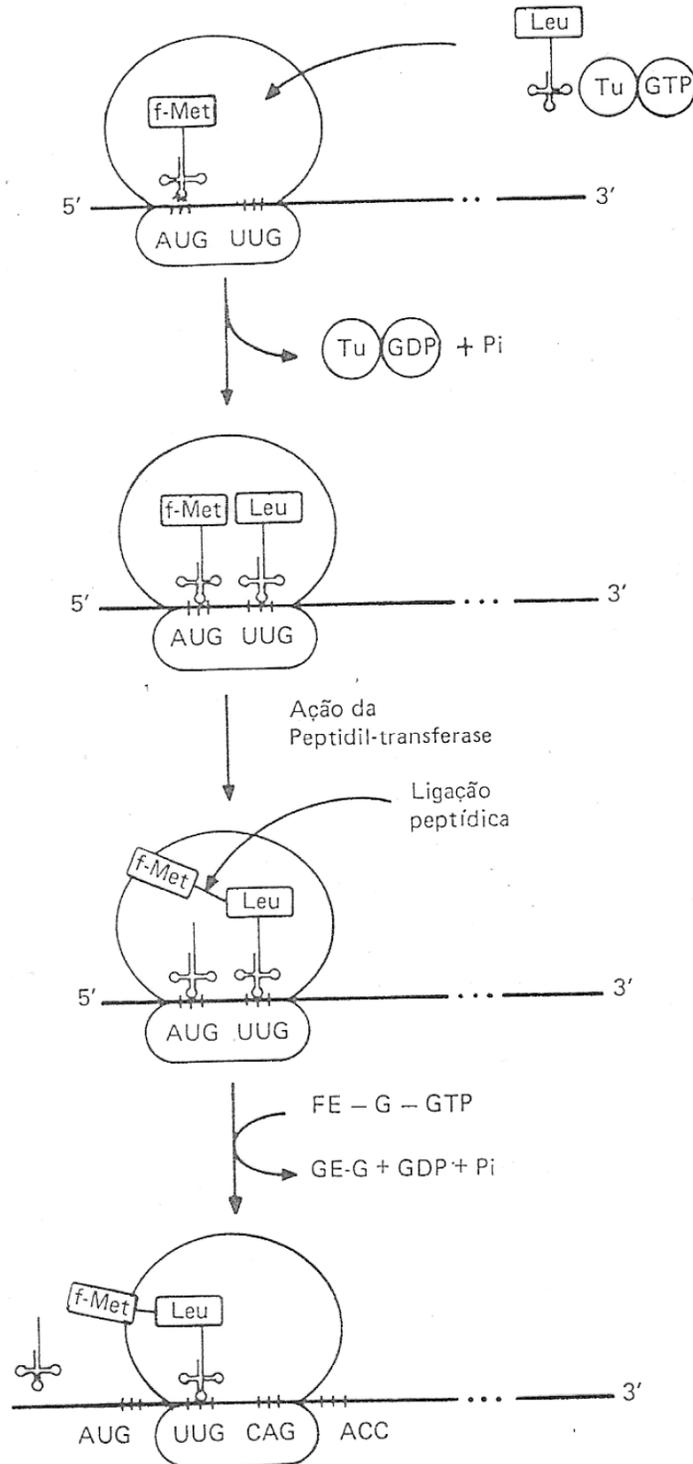


**Fonte: Pessoa, H.L.F.**

O alongamento começa com a ligação de um RNAt, carregado com um aminoácido, ao **sítio A** do ribossomo. Em seguida, a peptidiltransferase cataliza a formação de uma ligação peptídica entre o aminoácido do sítio A e o aminoácido do final da cadeia peptídica crescente no **sítio P**. Participam deste processo dois fatores de alongamento (Tu e FE-G) e ocorre a hidrólise de GTP. A cadeia peptídica está agora transitoriamente ligada ao sítio A. o ribossomo é então

movido um códon abaixo no RNAm e a cadeia peptídica nascente no sítio A se move para o sítio P. Todo o processo recomeça para a adição do próximo aminoácido. Esta fase é idêntica tanto em células procarióticas e eucarióticas mas os fatores de alongamento são diferentes (Figura 17).

**Figura 17 - Esquema demonstrando a etapa de alongamento da síntese de proteínas.**

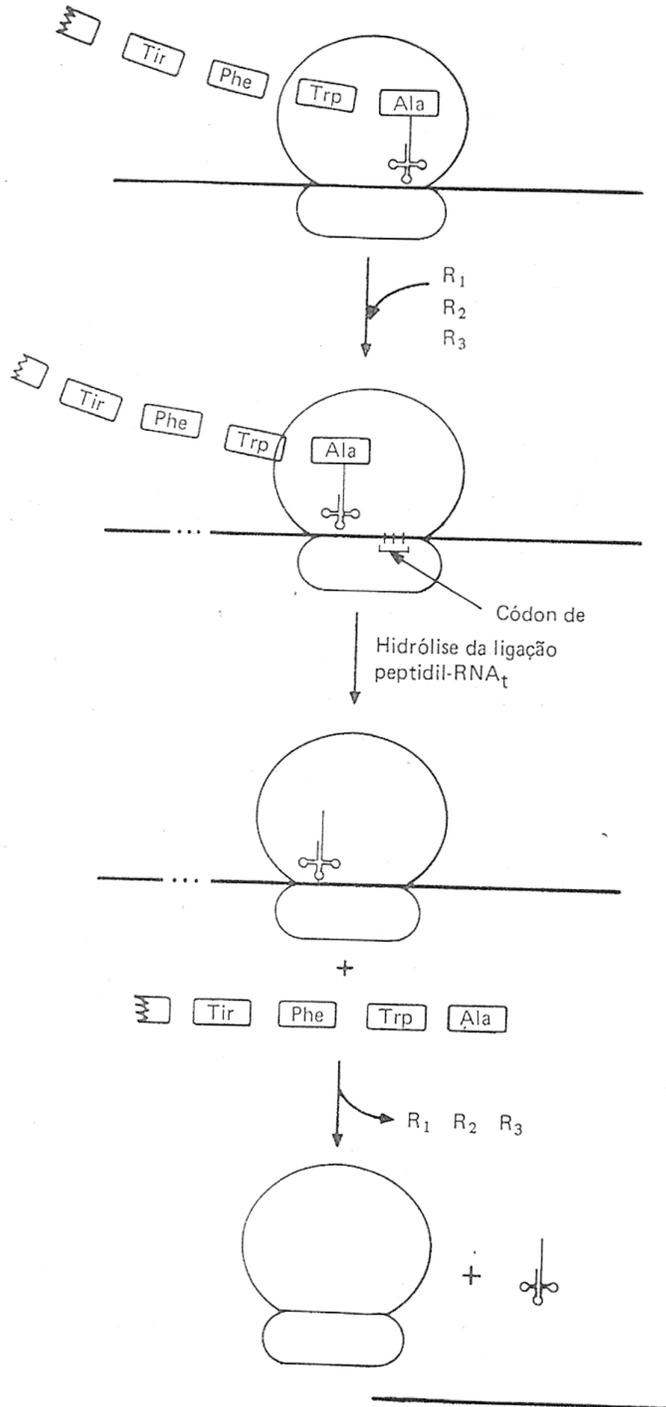


Fonte: Pessoa, H.L.F.

## 2. Genética Molecular

A terminação da tradução se dá quando o sítio A do ribossomo atinge um dos códons de terminação do RNAm. Três fatores protéicos denominados de fatores de liberação ( $R_1$ ,  $R_2$  e  $R_3$ ) reconhecem estes e fazem com que a proteína que está unida à última molécula do RNAt, no sítio P, seja liberada. Este processo é uma reação dependente de energia obtida pela hidrólise de GTP. Após a liberação da proteína recém-sintetizada, as subunidades ribossômicas, o RNAt e o RNAm, se dissociam umas das outras (Figura 18).

**Figura 18 - Esquema demonstrando a etapa de terminação da síntese de proteínas.**



Fonte: Pessoa, H.L.F.

## UNIDADE 5

### REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA EM PROCARIONTES

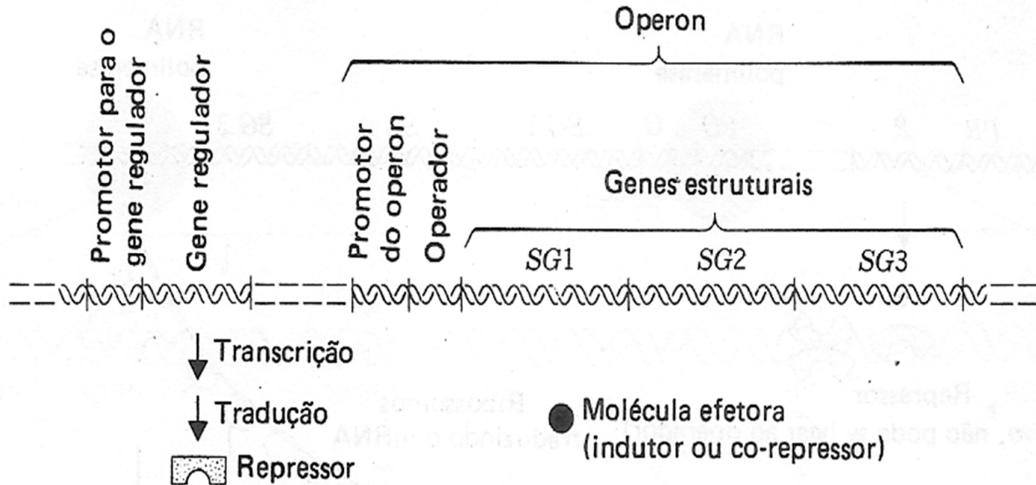
Alguns produtos gênicos que participam das funções de manutenção celular, tais como: transcrição, tradução e produção de energia, são componentes essenciais de quase todas as células vivas. Os genes que codificam esses produtos estão continuamente sendo expressos na maioria das células e são denominados de **genes constitutivos**. Outros produtos gênicos são necessários para o crescimento celular somente sob certas condições ambientais. A existência de **mecanismos regulatórios** que possibilitam a síntese de tais produtos gênicos, apenas quando e onde são necessários, faz com que esses organismos apresentem uma vantagem seletiva em relação aos organismos que não os possuem.

A expressão gênica em procariontes é regulada em vários níveis diferentes: transcrição, processamento do RNAm, renovação do RNAm, tradução e pós-tradução. Entretanto, os mecanismos regulatórios com os maiores efeitos no fenótipo atuam no nível da transcrição.

A regulação da expressão gênica, **indução** ou **repressão**, pode ser feita por mecanismos de controle tanto positivos como negativos. Ambos os mecanismos envolvem a participação de **genes reguladores**, que codificam produtos que regulam a expressão de outros genes. Os produtos do gene regulador são chamados de **ativadores**, pois ativam a expressão gênica e **repressores**, uma vez que reprimem a expressão gênica. O produto do gene regulador atua ligando-se a um **sítio de ligação da proteína reguladora (RBS)** ou **operador** adjacente ao **promotor** do(s) **gene(s) estrutural(ais)** que codificam enzimas ou proteínas estruturais. A ligação da proteína reguladora ao RBS depende da presença ou ausência de **moléculas efetoras** na célula que são em geral moléculas pequenas, tais como: aminoácidos, açúcares e metabólitos semelhantes. As moléculas efetoras envolvidas na indução da expressão gênica, são chamadas de **indutores** e as envolvidas na repressão de **co-repressores**.

As moléculas efetoras ligam-se a produtos do gene regulador e causam mudanças na estrutura tridimensional destas proteínas, denominadas de **transições alostéricas**, resultando frequentemente em alterações na sua atividade. No caso de ativadores e repressores, as transições alostéricas alteram a sua habilidade de se ligar aos RBS adjacentes aos promotores dos genes estruturais que eles controlam.

O modelo do **óperon** foi desenvolvido para explicar a regulação dos genes que codificam as enzimas necessárias para o uso de lactose em *E. coli*, onde a transcrição de um conjunto de genes estruturais contíguos regulados por dois elementos controladores. Um destes elementos, o gene regulador, codifica um repressor, que, sob condições apropriadas, se liga ao segundo elemento, o **operador**. O operador é sempre contíguo ao(s) gene(s) estrutural(ais) cuja expressão ele regula. Quando o repressor está ligado ao operador, ele impede estericamente que a RNA polimerase transcreva os genes estruturais do óperon. A transcrição é iniciada em promotores que precedem os genes estruturais na extremidade 5' e são contíguos à regiões operadoras. Sendo assim, as regiões operadoras estão geralmente situadas entre os promotores e os genes estruturais que eles regulam (Figura 19).

Figura 19 – Componentes do operon. SG1 = *lac Z*, SG2 = *lac Y* e SG3 = *lac A*.

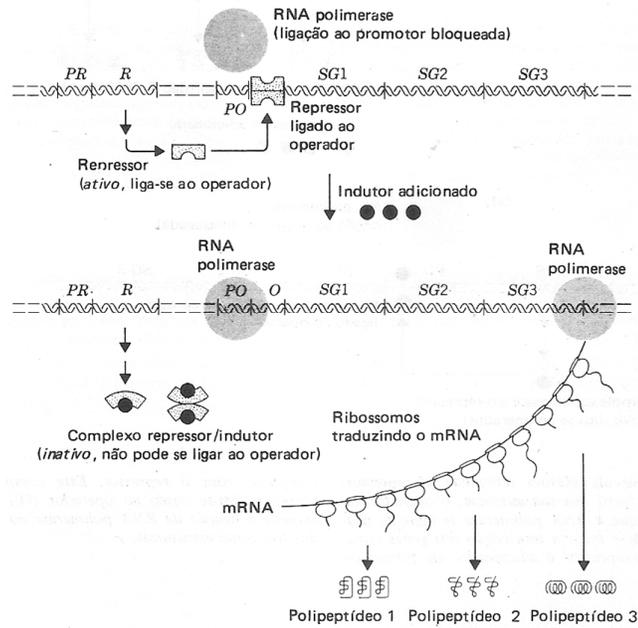
Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P.

O óperon *lac* é um óperon indutível composto por um promotor (P), um operador (O) e três genes estruturais, *lacZ*, *lacY* e *lacA* que codificam as enzimas  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosídeo permease e  $\beta$ -galactosídeo transacetilase, respectivamente. Os genes estruturais só se expressam na presença de lactose. O gene regulador *I* codifica um repressor de 360 aminoácidos, entretanto a sua forma ativa é um tetrâmero contendo quatro formas ativas do produto gênico *I*. Na ausência do indutor, o repressor liga-se à sequência do operador, impedindo que a RNA polimerase catalise a transcrição dos genes estruturais. Algumas poucas moléculas dos produtos gênicos são sintetizadas sem que tenha havido a indução do óperon, o que é essencial, uma vez que, quem induz o óperon é a alolactose que é produzida pela  $\beta$ -galactosidase a partir da lactose. A alolactose se liga ao repressor liberando o operador e induzindo a transcrição dos genes *lacZ*, *lacY* e *lacA* (Figuras 20 e 21).

Nos procariontes e eucariontes a transcrição é o evento primário do processo de transcrição gênica assim como o nível mais fundamental para a regulação gênica. A transcrição de genes eucarióticos é iniciada no promotor e necessita de várias proteínas acessórias ou **fatores de transcrição basal**. Cada uma destas proteínas liga-se a uma sequência no promotor para facilitar o alinhamento da RNA polimerase com o filamento molde de DNA.

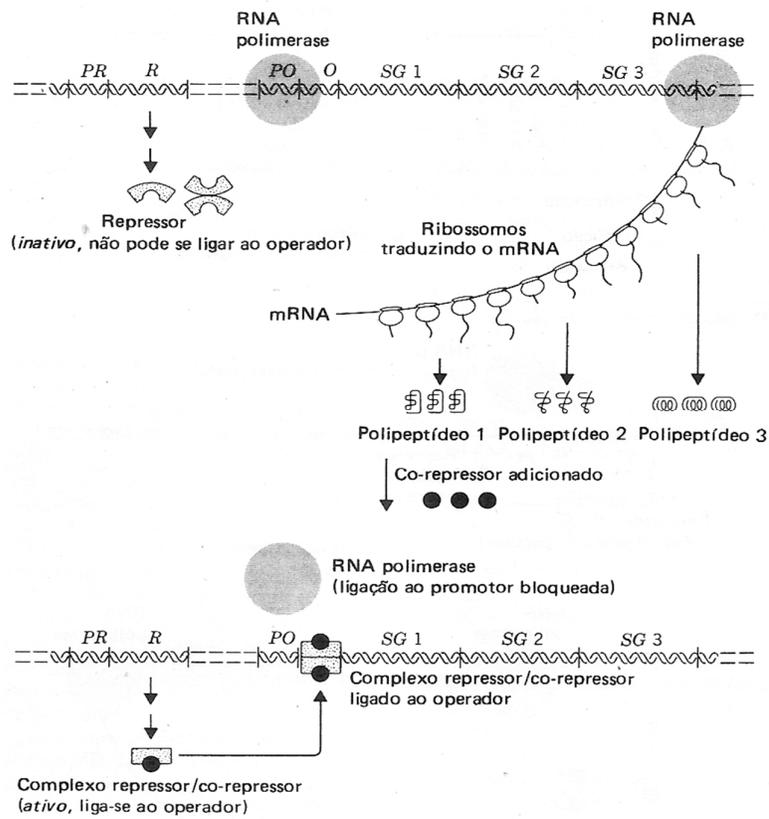
A transcrição dos genes eucarióticos também é controlada por uma variedade de **fatores especiais de transcrição**, tais como os envolvidos na regulação do calor, luz e genes indutíveis por hormônios. Estes fatores ligam-se a elementos de resposta, ou mais geralmente, a sequências chamadas de **acentuadores** situados na vizinhança do gene. Os fatores especiais de transcrição que se ligam aos acentuadores podem interagir com os fatores de transcrição basal e com a RNA polimerase regulando a atividade transcripcional de um gene.

**Figura 20 – Regulação do operon por indução. Polipeptídeo 1 =  $\beta$  - galactosidase, polipeptídeo 2 =  $\beta$  - galactosídeo permease e polipeptídeo 3 =  $\beta$  - galactosídeo transacetilase.**



Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P.

**Figura 21 – Regulação do operon por repressão.**



Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P.

## UNIDADE 6 MUTAÇÃO GÊNICA

A mutação é a fonte básica de toda variabilidade genética; e é sobre ela que a evolução atua. A recombinação apenas rearranja essa variabilidade genética em combinações novas e a seleção natural ou artificial simplesmente preserva as combinações mais bem adaptadas às condições ambientais existentes. Sem a mutação, todos os genes existiriam apenas numa forma. Os alelos não existiriam e, portanto, a análise genética não seria possível. O mais importante, os organismos não seriam capazes de evoluir e se adaptar às mudanças ambientais. A mutação, portanto, é um fenômeno importante. Algum nível de mutação é essencial para promover uma variabilidade genética, permitindo que os organismos se adaptem aos novos ambientes. Ao mesmo tempo, se as mutações ocorressem muito frequentemente, elas desestabilizariam totalmente a transmissão da informação genética de uma geração para a outra.

Muitas mutações envolvem mudanças num único par de bases, a substituição de um par de bases por outro ou a duplicação ou deleção de um único par de bases. Tais mutações são referidas como **mutações de ponto**.

As mutações podem ser **espontâneas** quando ocorrem sem uma causa conhecida e são resultantes de erros metabólicos herdados como os que ocorrem durante a replicação do DNA. As mutações **induzidas** são aquelas que resultam da exposição de organismos a agentes mutagênicos, tais como: a radiação ionizante, a luz ultravioleta ou os vários agentes químicos que reagem com o material genético.

As mutações espontâneas ocorrem raramente, embora as frequências observadas variem de gene para gene e de organismo para organismo. Em procariontes, a frequência de mutação espontânea está entre  $10^{-8}$  e  $10^{-9}$  mutações detectáveis por par de nucleotídeos por geração, enquanto que, em eucariontes, esta estimativa é de  $10^{-7}$  a  $10^{-9}$ . O tratamento com agentes mutagênicos pode aumentar a frequência de mutação em várias ordens de magnitude. As mutações devem causar alguma modificação fenotípica detectável para que a sua presença seja reconhecida. Os efeitos das mutações no fenótipo variam desde alterações tão pequenas que só podem ser detectadas por técnicas genéticas ou bioquímicas especiais, passando por modificações grosseiras na morfologia até as letais.

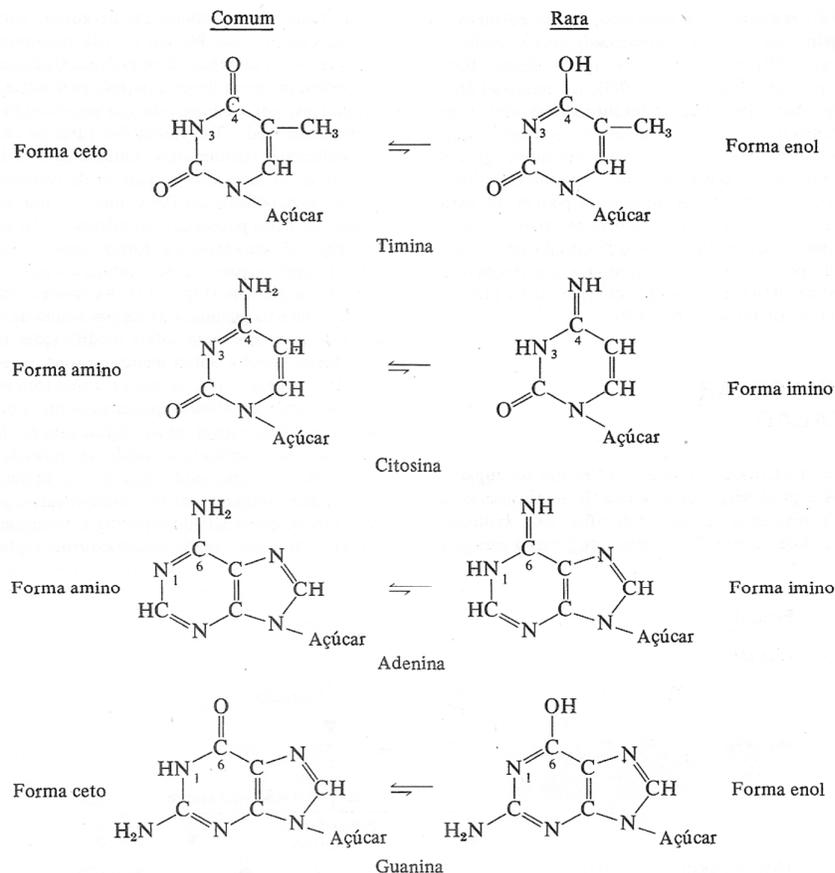
As mutações podem ser **recessivas** ou **dominantes** e podem ocorrer em qualquer célula e em qualquer estágio do ciclo celular. O efeito imediato da mutação é a sua capacidade de produzir uma mudança fenotípica e são determinadas por sua dominância, pelo tipo de célula em que ocorre e pela época em que ocorre em relação ao ciclo de vida do organismo. Na mutação somática só será perpetuada nas células somáticas que descendem da célula original na qual a mutação ocorreu. Se as mutações dominantes ocorrem nas células germinativas, os seus efeitos podem ser expressos na progênie imediatamente. Se as mutações são recessivas, seus efeitos são frequentemente obscurecidos no diploide. As **mutações germinativas**, assim como as **mutações somáticas**, podem ocorrer em qualquer estágio no ciclo reprodutivo do organismo, mas são mais comuns em alguns estágios do que em outros.

### BASE MOLECULAR DA MUTAÇÃO

A estrutura das bases nitrogenadas não é estática. Os átomos de hidrogênio podem mover-se de uma posição para outra, nas purinas e pirimidinas e tais flutuações químicas são

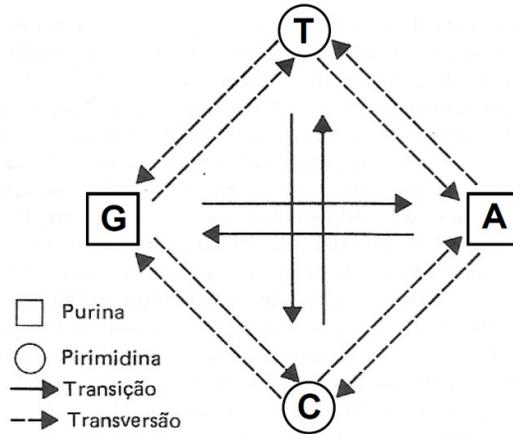
denominadas de **modificações tautoméricas** (Figura 22). As formas mais estáveis das bases nitrogenadas são mais comuns e a timina sempre se pareia com a adenina e a citosina com a guanina. As formas ceto mais estáveis da timina e da guanina e as formas amino da adenina e da citosina podem raramente sofrer modificações tautoméricas para as formas enol e imino menos estáveis, respectivamente. Espera-se que as bases em suas formas tautoméricas menos estáveis existam apenas por curtos períodos de tempo. Entretanto, se a base estiver na sua forma rara no momento da incorporação em uma cadeia de DNA nascente, o pareamento pode ser modificado e gerar pares adenina-citosina e timina-guanina. Essas mutações resultantes de modificações nas bases do DNA envolvem a substituição de uma purina em um filamento de DNA por outra purina e a substituição de uma pirimidina no filamento complementar por outra pirimidina. Essas substituições de pares de bases são chamadas de **transições**. As substituições de um purina por uma pirimidina e vice-versa são chamadas de **transversões** (Figura 23). Muitos compostos químicos tais como: bases análogas, agentes desaminantes, agentes alquilantes e agentes hidroxilantes são capazes de aumentar a frequência de pareamento errado gerando transições e transversões.

**Figura 22 – Formas tautoméricas das quatro bases comuns no DNA.**



**Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P.**

**Figura 23 - Transições e transversões. T = timina, C = citosina, G = guanina e A = adenina.**

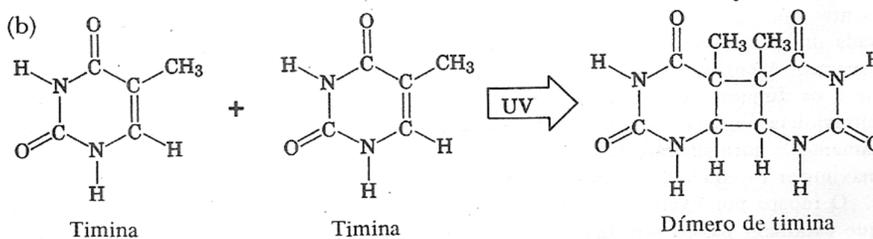


**Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessôa, H.L.F.**

Um outro tipo de mutação de ponto, envolve a adição ou a deleção de um ou de alguns pares de bases. As adições e deleções de pares de bases são referidas coletivamente como **mutações que modificam a estrutura de leitura**, porque elas alteram a estrutura de leitura de todas as trincas de pares de bases no gene depois do ponto onde ocorreu a mutação. Os agentes intercalantes se intercalam entre os pares de base no DNA aumentando a rigidez, alterando a conformação da dupla hélice e promovendo leves enrolamentos na molécula, o que leva à adição ou deleção de um ou mais pares de base.

A radiação ultravioleta (UV) a 254 nm é prontamente absorvida por muitas moléculas orgânicas, tais como purinas e pirimidinas no DNA, que então entram em um estado mais reativo ou excitado. Os raios UV penetram muito pouco nos tecidos, portanto apenas as camadas de células epidérmicas são expostas aos efeitos da UV. Entretanto, a luz ultravioleta é um potente mutágeno para organismos unicelulares. O principal efeito mutagênico da UV é a **dimerização da timina** (Figura 24) que perturba a estrutura das duplas hélices de DNA e interferem na precisão da duplicação do DNA.

**Figura 24 – Formação de dímeros de timina.**



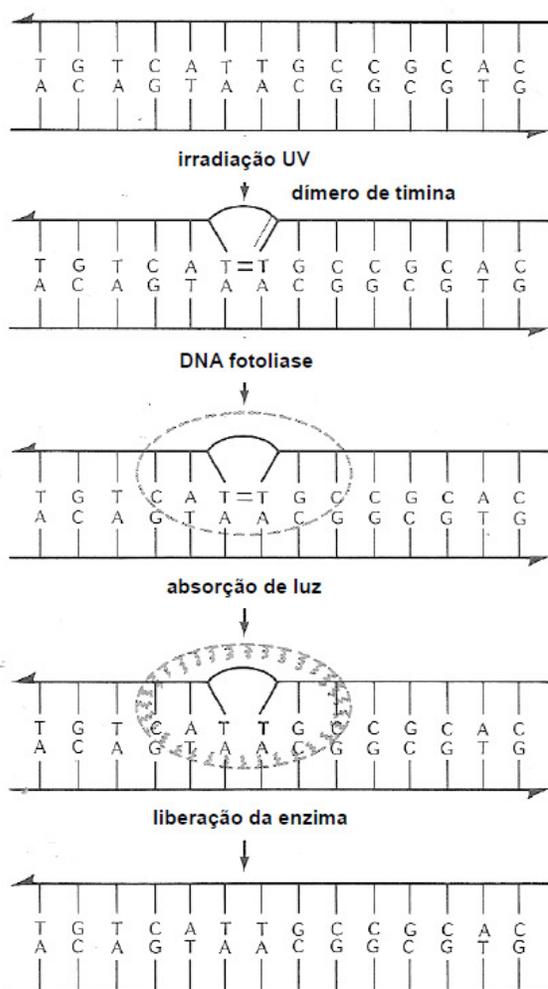
**Fonte: Snustad, D.P.; Simmons, J.**

A existência de vários mecanismos de reparo, desde bactérias até o homem, atesta a importância de manter as mutações tanto somáticas quanto germinativas em um nível tolerável. *E. coli* possui, pelo menos 5 mecanismos distintos de reparo e os mamíferos parecem possuir todos os mecanismos de reparo encontrados em *E. coli* exceto a fotorreativação e mais alguns outros que não estão presentes em *E. coli*.

O reparo de dímeros de timina por **fotorreativação** é realizado por uma enzima ativada por luz chamada de fotoliase. A DNA fotoliase liga-se a dímeros de timina no DNA e usa energia da luz azul para clivar as ligações covalentes reparando a região lesada do DNA (Figura 25).

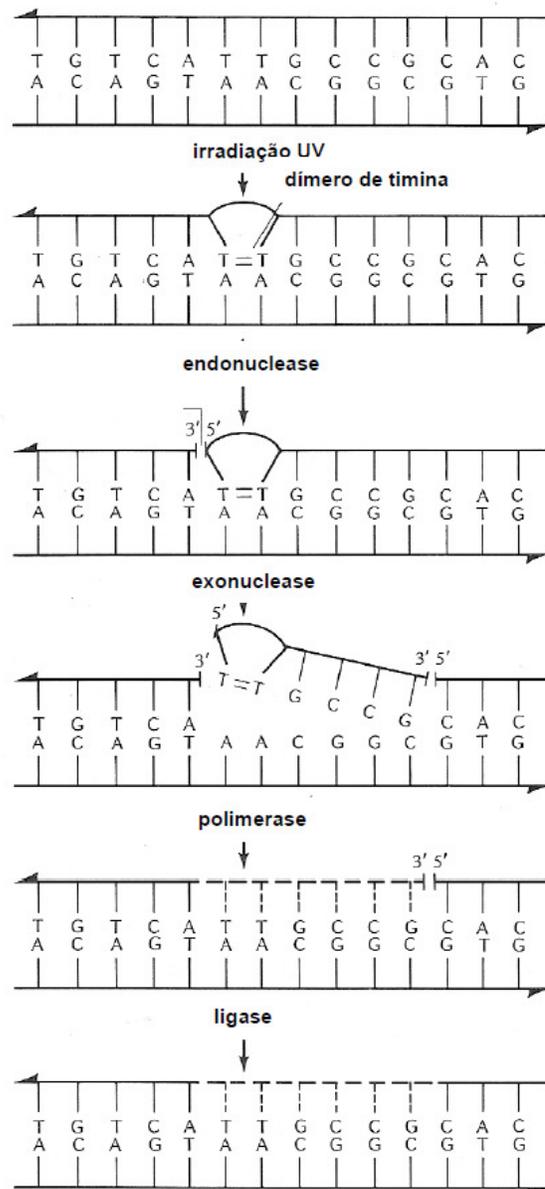
No reparo de dímeros de timina por **excisão**, uma endonuclease de reparo ou um complexo multienzimático reconhece, se liga e retira a(s) base(s) danificadas do DNA. Uma DNA polimerase preenche o espaço usando o filamento de DNA complementar não danificado como molde. A enzima DNA liga-se a ela nas quebras deixadas pela DNA polimerase para completar o processo de reparo (Figura 26).

**Figura 25 – Reparo de dímeros de timina por fotorreativação.**



Fonte: Strickberger, M. W. modificado por Pessoa, H.L.F.

**Figura 26 – Reparo dos dímeros de timina por excisão.**

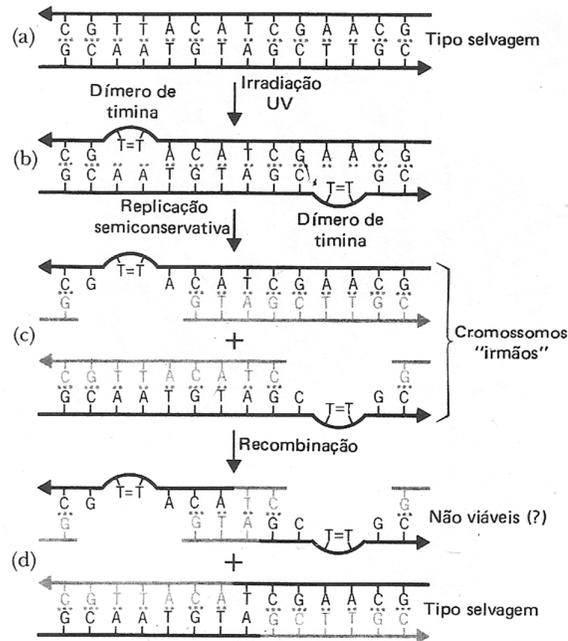


Fonte: Strickberger, M. W. modificado por Pessoa, H.L.F.

## 2. Genética Molecular

Na ausência dos mecanismos de reparo por fotorreativação e por excisão um outro sistema de reparo de DNA, chamado de **reparo pós-replicação**, atua. Quando a DNA polimerase III encontra um dímero de timina em um filamento molde, seu progresso é bloqueado. A DNA polimerase reinicia a síntese de DNA em alguma posição além do dímero, deixando um espaço no filamento nascente oposto ao dímero no filamento molde (Figura 27).

**Figura 27 – Reparo dos dímeros de timina por recombinação pós-replicação.**



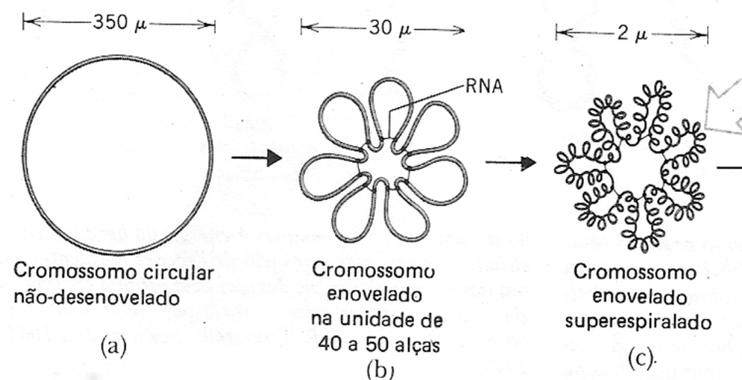
Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessoa, H.L.F.

## UNIDADE 7

### ESTRUTURA DA CROMATINA E DOS CROMOSSOMOS

Os genomas eucarióticos apresentam níveis de complexidade que não são encontrados em procariontes. O genoma da bactéria *E. coli* com cerca de 1100  $\mu\text{m}$ , em seu estado funcional, está altamente condensado e é denominado de **genoma condensado**. A molécula de DNA circular é organizada em 50 a 100 domínios ou alças, cada um deles é negativamente superelícoidizado de forma independente (Figura 28). Tanto o RNA quanto a proteína são componentes do genoma dobrado e a retirada do RNA, através do tratamento do cromossomo com RNase (enzima que degrada RNA), irá desdobrar o genoma eliminando parcialmente a organização da molécula em alças. A maioria dos eucariontes é diploide e, embora tenham apenas cerca de 2 a 25 vezes mais genes do que a *E. coli*, que possui 2500 a 3500 genes, eles têm muito mais DNA. A maior parte deste DNA não contém genes, pelo menos não genes codificantes de proteínas ou moléculas de DNA.

**Figura 28 – Estrutura do cromossomo de *E. coli*.**



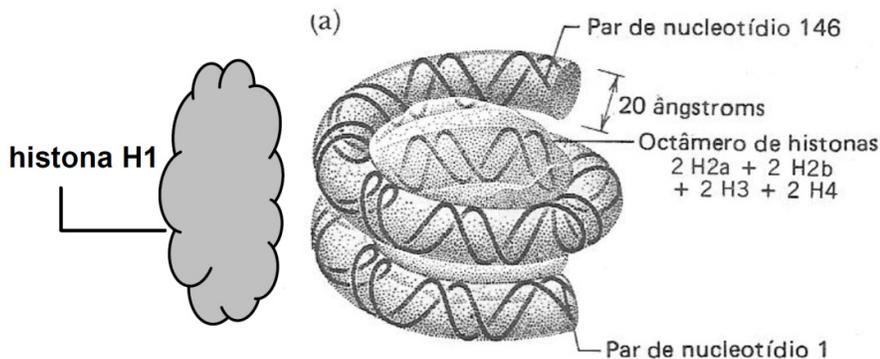
**Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessôa, H.L.F.**

A cromatina interfásica é um agregado irregular de DNA, proteínas e RNA. As proteínas são de duas classes principais: proteína básicas (de carga positiva em pH neutro) chamadas **histonas** e um grupo de proteínas heterogêneas, amplamente ácidas (de carga negativa em pH neutro) coletivamente chamadas de **proteínas cromossômicas não-histonas**.

As histonas estão presentes na cromatina de todos os eucariontes superiores em quantidades equivalentes às do DNA sugerindo uma interação entre essas moléculas. As histonas de todos os animais e plantas são de cinco tipos, denominadas de **H1, H2a, H2b, H3 e H4**, estão presentes em quase todos os tipos de células, nas proporções molares de 1 H1 para 2 de cada uma dos demais tipos. As histonas são altamente conservadas em todos os tipos de células de um organismo e mesmo entre espécies muito divergentes sugerindo que elas são importantes na estrutura da cromatina. A fração proteica de não-histona da cromatina consiste em um grande número de proteínas heterogêneas, que varia de composição entre tipos celulares diferentes do mesmo organismo. Sendo assim, estas proteínas provavelmente não têm papéis centrais na condensação do material genético, mas podem desempenhar algum papel na expressão de genes específicos.

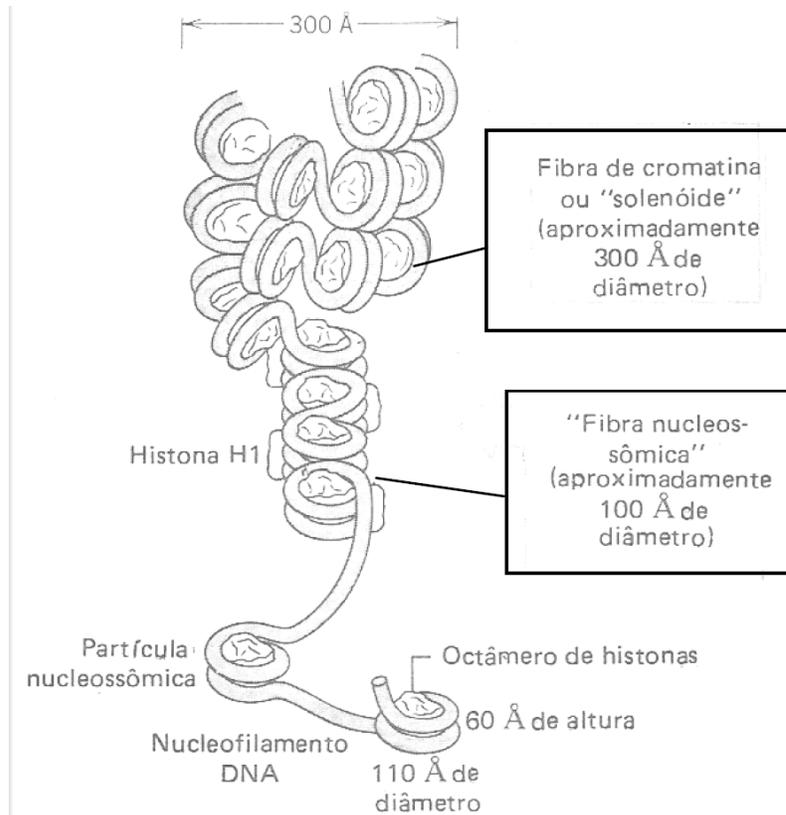
Quando a cromatina isolada é examinada pela microscopia eletrônica, observa-se que ela consiste em uma série de contas elipsoidais unidas por finos filamentos. Esta estrutura epipsoidal ou subunidade cromossômica é chamada de **nucleossomo** ( $\varnothing = 100 \text{ \AA}$ ) e os finos filamentos ( $\varnothing = 20 \text{ \AA}$ ) são de **DNA ligador** (Figura 29). Sua estrutura, invariante em todos os eucariontes, consiste em 146 pares de nucleotídeos de DNA e duas moléculas de cada das histonas H2a, H2b, H3 e H4. O octâmero de histonas forma uma partícula central ao redor do qual o DNA, 146 pb dá uma quase duas voltas ao seu redor. A subunidade completa de cromatina consiste de; nucleossomo, DNA ligador, uma média de uma molécula de histona H1 e negativamente proteínas cromossômicas não-histona associadas. O tamanho do DNA ligador varia entre os tipos celulares e entre as espécies. In vivo, os nucleossomos provavelmente estão justapostos uns sobre os outros, sem regiões ligadoras detectáveis, formando a **fibra nucleossômica**. Se esta fibra é enrolada em uma super-hélice há o aparecimento de uma estrutura tipo **solenóide** ( $\varnothing = 300 \text{ \AA}$ ) denominada de **fibra de cromatina** (Figura 30). As eletromicrografias de cromossomos metafásicos isolados dos quais as histonas foram removidas, revelam um **arcabouço** ou **esqueleto**, composto de proteínas cromossômicas não-histonas, que é rodeado por um enorme halo de DNA. Entretanto, é necessário pelo menos um nível maior de compactação para converter os solenóides na estrutura tridimensional que chamamos de **cromossomo** ( $\varnothing = 700 \text{ \AA}$ ). Muitos estudos citogenéticos mostram que os cromossomos parecem estar helicoidizados e para tanto a melhor evidência sugere que os solenóides se dispõem em alças ligadas ao arcabouço central que também têm uma forma de espiral formando uma grande super-hélice (Figura 31). Essas alças parecem se ligar em regiões especiais ao longo do DNA chamadas **regiões de ligação ao arcabouço** (SARs).

Figura 29 – estrutura do nucleossomo.



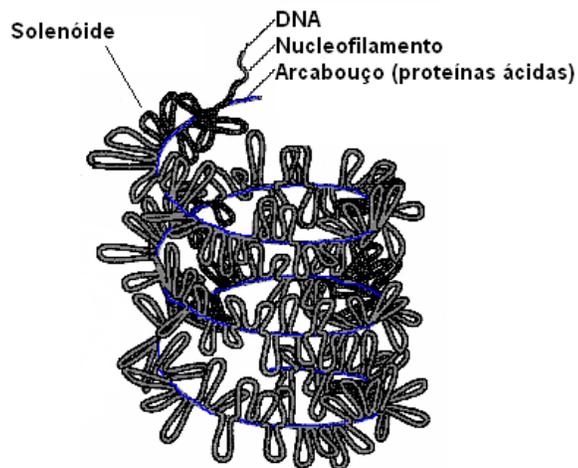
Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessoa, H.L.F.

Figura 30 – Estrutura do solenóide.



Fonte: Gardner, E.J.; Snustad, D.P. modificado por Pessoa, H.L.F.

Figura 31 – Modelo de helicoidização cromossômica.



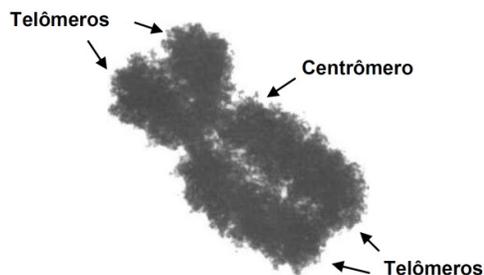
Fonte: Snustad, D.P.; Simmons, J. modificado por Pessoa, H.L.F.

Os cromossomos estão envolvidos em duas atividades celulares principais: **(a)** a transmissão da informação genética de célula a célula e de geração a geração e **(b)** a liberação ordenada dessa informação para controlar o funcionamento celular e o desenvolvimento. Visto ao microscópio óptico, o cromossomo replicado é formado por duas **cromátides irmãs** que são duas cópias idênticas do cromossomo parental unidas por um **centrômero** ou **constrição primária** que pode variar de posição em diferentes cromossomos. No centrômero existe o **cinetócoro**, uma

## 2. Genética Molecular

estrutura proteica que atua na movimentação do cromossomo durante a multiplicação celular. As extremidades cromossômicas são denominadas de **telômero** (Figura 32).

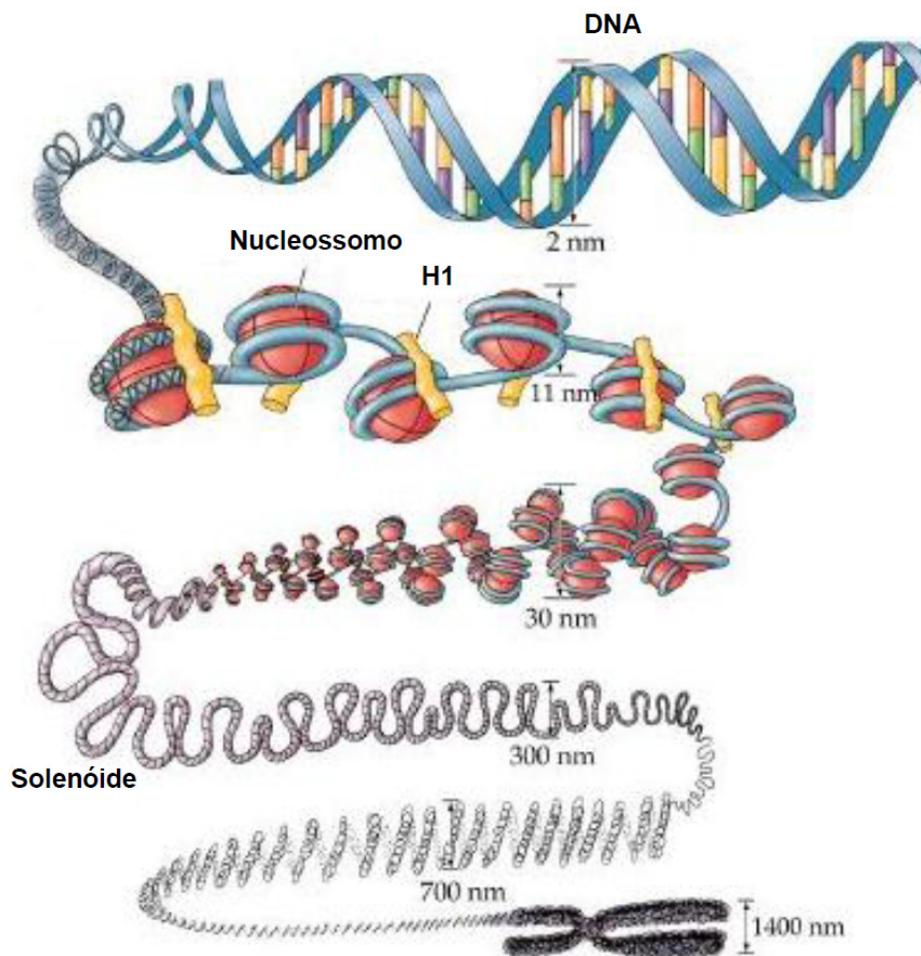
**Figura 32 - Cromossomo metáfase.**



Fonte: [www.guia.hew.nom.br](http://www.guia.hew.nom.br) modificado por Pessoa, H.L.F.

Na Figura 33 vocês podem observar uma representação esquemática do processo de condensação cromossômica.

**Figura 33 – Representação esquemática do processo de condensação cromossômica.**



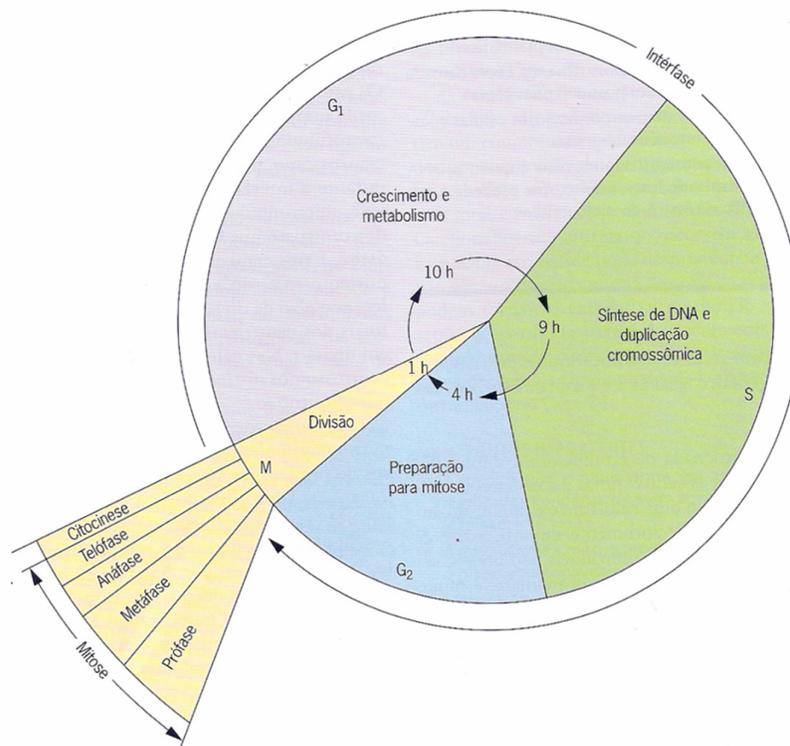
Fonte: [www.maisbiologia.blogspot.com](http://www.maisbiologia.blogspot.com) modificado por Pessoa, H.L.F.

## UNIDADE 8 O CICLO CELULAR

Para que um organismo cresça, seja ele unicelular ou multicelular, a sua massa celular deve aumentar, deve haver uma duplicação do material genético e deve ocorrer um processo de multiplicação o que assegura que cada célula filha receba da célula mãe um complemento igual de material genético para garantir a sua perpetuação. Esta sucessão de eventos que ocorre durante a vida da célula é denominada de **ciclo celular**.

Após a multiplicação, as células crescem e aumentam a sua massa celular em uma fase denominada de **G<sub>1</sub>** (gap = intervalo) onde ocorrem atividades metabólicas associadas ao crescimento e preparação do DNA para replicação. A fase subsequente é denominada de **S** (síntese) onde o material genético de cada cromossomo é replicado ficando cada cromossomo com duas cromátides irmãs ligadas pelo centrômero. Em seguida, a célula entra em outra fase de crescimento, **G<sub>2</sub>**, onde ocorrem os preparativos para a multiplicação mitótica, denominada de **M**, que a parte final do ciclo celular. As fases G<sub>1</sub>, S e G<sub>2</sub> fazem parte da **interfase** (Figura 34).

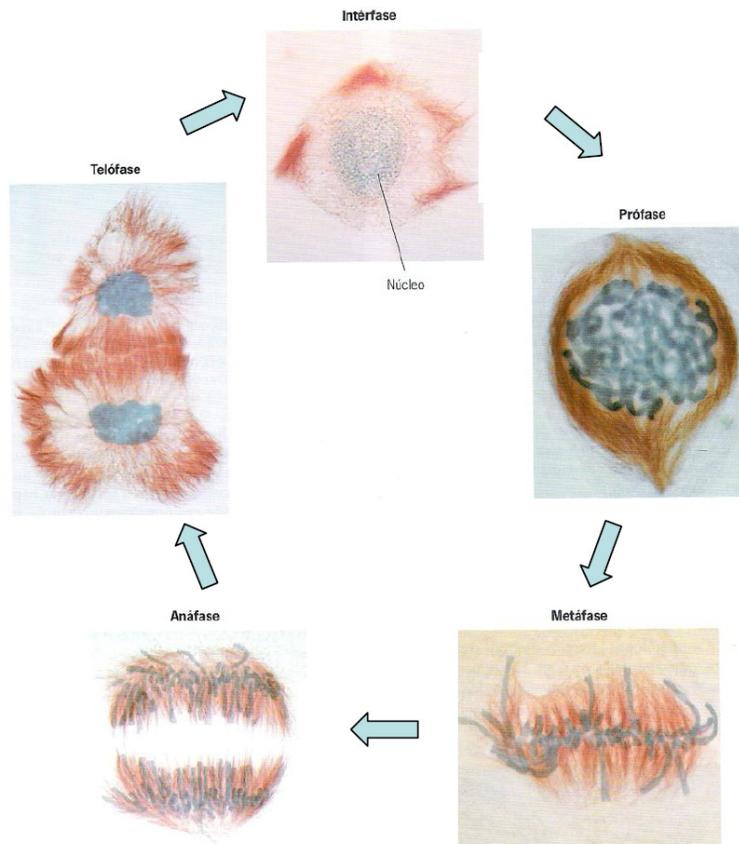
**Figura 34 - O Ciclo celular eucarótico.**



Fonte: Snustad, D.P.; Simmons, J.

A capacidade de uma célula para se reproduzir é talvez a propriedade mais fundamental da vida. A multiplicação celular através da **mitose** (Figura 35), que ocorre em todas as células eucarióticas, é o processo pelo qual uma célula reproduz a si mesma e os organismos multicelulares crescem. A principal característica da mitose é que as células filhas são idênticas entre si e à célula mãe. A célula parental e as células filhas são **diploides (2n)** ou seja, possuem duas cópias de cada tipo de cromossomo.

**Figura 35 - Principais estágios da mitose em lírio Haemanthus.**



**Fonte: Snustad, D.P.; Simmons, J. modificado por Pessoa, H.L.F.**

A mitose consiste em dois processos relacionados; a multiplicação do núcleo e a **citocinese** que corresponde às mudanças que ocorrem no citoplasma e que incluem a duplicação da célula. A mitose é um processo contínuo, mas para facilitar o seu entendimento ela é subdividida em cinco fases sequenciais: interfase, prófase, metáfase, anáfase e telófase. Cada fase é definida pela estrutura e comportamento dos cromossomos. A prófase e a telófase são comumente longas enquanto que a metáfase e a anáfase são geralmente curtas.

Os primeiros sinais de que a mitose vai começar, é o aparecimento do **centrossomo**, uma organela de localização central que é o centro primário de organização dos microtúbulos e atua como polo do fuso durante a mitose em animais. Os microtúbulos que se irradiam do centrossomo, organizam e coordenam o movimento dos cromossomos durante a multiplicação mitótica da célula. O centrossomo é duplicado pela célula durante a interfase, de modo que cada célula filha recebe um ao final do processo de divisão. O centrossomo da maioria das células animais tem um par de centríolos em seu centro e eles se duplicam antes da replicação. À medida que a mitose começa, o centrossomo se parte em dois e os microtúbulos se irradiam ficando cada par de centríolos no interior de um **âster**.

No início da **prófase**, os cromossomos, ainda bem distendidos, se separam e são movimentados, pelos microtúbulos, para polos opostos da célula. Ao final da prófase, os cromossomos se apresentam altamente condensados como entidades distintas. As duas cromátides de cada cromossomo são mantidas juntas pelo centrômero. Os cinetócoros se ligam aos microtúbulos que guiam os movimentos dos cromossomos. Os centrossomos se deslocam

para polos opostos da célula e uma rede de microtúbulos interconecta estes pólos, formando o **fuso mitótico**. O envoltório nuclear e o nucléolo se fragmentam e se dispersam no citoplasma. Cada uma das cromátides irmãs se associam a um polo diferente do fuso apesar dos centrômeros ainda permanecerem juntos.

Na **metáfase**, os cromossomos condensados, compostos por cromátides irmãs se localizam no centro da célula ou **placa equatorial**, entre os dois pólos. As cromátides metafásias são altamente helicoidizadas e distintas o que facilita as contagens cromossômicas precisas assim como análises estruturais.

Na **anáfase**, as cromátides que compõem cada cromossomo se separam e se movem para polos opostos da célula, devido ao encurtamento dos microtúbulos. Cada cromátide mantém o seu centrômero e passa a ser considerada como um cromossomo. As cromátides se alongam devido a uma diminuição da helicoidização e se movem para os polos do fuso.

Na **telófase**, o movimento cromossômico se completa e os microtúbulos se desmontam. O envoltório nuclear é reconstituído ao redor de cada núcleo filho, o nucléolo começa a reaparecer, os cromossomos ficam mais distendidos e a mitose termina. A mitose garante que cada célula filha tenha a mesma informação genética que a célula mãe.

A **citocinese** divide o citoplasma para as duas células filhas. As células animais que apresentam acamadas externas flexíveis fazem isso através de uma constrição mediana que depois separa as duas células. A superfície ao redor da região equatorial da célula migra para o centro e fraciona a célula em duas partes. As células vegetais com suas rígidas paredes celulares formam uma estrutura denominada placa celular entre as células filhas sobre a qual paredes de celulose são depositadas de ambos os lados.

O processo de mitose geralmente requer algumas horas ou vários dias, dependendo do tipo de organismo e das condições ambientais. Podem ocorrer variações no processo descrito em fungos e eucariontes unicelulares.

A **meiose** é um processo no qual o número cromossômico **diploide (2n)** é reduzido à metade no estado **haploide (n)** durante a formação dos gametas. Nas células diploides, cada cromossomo tem um homólogo e em cada par de homólogos um cromossomo é contribuição do espermatozoide (origem paterna) e o outro é contribuição do ovócito (origem materna). Ao final da meiose, cada célula tem um membro de um par de homólogos e é, portanto, haploide. A meiose garante um número cromossômico constante de geração a geração.

A meiose apresenta duas divisões sucessivas. A primeira (meiose I), chamada de **divisão reducional** reduz o número de cromossomos pela metade e a segunda (meiose II) denominada de **divisão equacional** separa cromátides irmãs que irão para quatro núcleos diferentes. Sendo assim, quatro núcleos haploides resultam da divisão meiótica de um núcleo diploide. As principais diferenças entre a meiose nos animais e nas plantas envolvem os processos de formação do fuso e a citocinese.

O primeiro estágio da meiose é uma longa e complexa prófase constituída de cinco subestágios sequenciais: leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese.

No **leptóteno**, regiões cromossômicas denominadas de **cromômeros**, onde há maior condensação, se tornam visíveis ao microscópio óptico, esses se espessam e se unem para formar estruturas filamentosas. Os telômeros dos cromossomos estão ligados ao envoltório nuclear e esta ligação parece ter um papel importante no pareamento subsequente dos cromossomos homólogos.

No **zigóteno**, os cromossomos homólogos se alinham lado a lado (ponto a ponto) para formar os **bivalentes**, pares de cromossomos fortemente associados. Este processo de pareamento entre homólogos é chamado **sinapse**. Como os cromossomos já se replicaram, cada bivalente contém quatro moléculas de DNA, uma em cada cromátide. Portanto, um par de cromossomos homólogos é um complexo de quatro filamentos, ou **tétrade**. Em algumas espécies a sinapse começa pelas pontas dos cromossomos e se espalha para as regiões medianas. A sinapse é acompanhada da formação de uma estrutura proteica entre os cromossomos pareados denominada de **complexo sinaptonêmico**. O papel deste complexo no pareamento dos cromossomos e nos subsequentes eventos meióticos ainda não está totalmente compreendido e alguns tipos celulares ele nem mesmo aparece.

No **paquíteno**, os cromossomos duplicados continuam a se condensar e podem ser visualizados ao microscópio óptico. Durante o paquíteno, as cromátides irmãs dos cromossomos pareados podem se romper e os pedaços quebrados podem ser trocados (**crossing-over**).

No **diplóteno**, os cromossomos pareados separam-se um pouco, entretanto eles permanecem em contato íntimo onde fizeram o *crossing*. Estes pontos de contato são chamados de **quiasmas** e cada um deles envolve apenas duas das quatro cromátides na tétrade.

Na **diacinese**, os cromossomos condensam-se mais, a membrana nuclear fragmenta-se e um fuso acromático se forma. Os microtúbulos do fuso se ligam aos cinetócoros dos cromossomos. Os cromossomos ainda mantidos juntos pelos quiasmas movem-se para a região central da célula.

Durante a **metáfase I**, os cromossomos pareados migram para polos opostos do fuso o que garante que quando a célula se dividir, um membro de cada par irá para cada pólo. Os quiasmas que unem os bivalentes afastam-se dos centrômeros para as pontas dos cromossomos. Este fenômeno, chamado terminalização, reflete a crescente repulsão entre os membros de cada par cromossômico.

Durante a **anáfase I**, ocorre a disjunção cromossômica mediada pelo fuso que age em cada um dos bivalentes da célula. Quando os cromossomos separados atingem os polos opostos, a primeira divisão meiótica chega ao fim.

Durante a **telófase I**, o fuso é desfeito, as células filhas são separadas umas das outras por membranas, os cromossomos se descondensam e um núcleo é formado ao redor dos cromossomo em cada uma das células filhas. Em algumas espécies, a descondensação dos cromossomos é incompleta, não há a formação de núcleos e as células filhas entram imediatamente na segunda divisão meiótica. As células produzidas pela meiose I contêm o número haploide de cromossomos. Cada cromossomo ainda é formado por duas cromátides irmãs, que podem não ser, geneticamente idênticas porque podem ter trocado material com outros cromossomos durante a prófase I.

Durante a **meiose II**, os cromossomos condensam-se e se ligam a um novo fuso acromático (**prófase II**). Eles então se movem para posições no plano equatorial da célula (**metáfase II**) e seus centrômeros se dividem para permitir que as cromátides irmãs se movam para polos opostos (**anáfase II**). Na **telófase II** as cromátides separadas, agora chamadas cromossomos, atingem os polos e núcleos filhos se formam ao redor deles. Cada núcleo filho contém um conjunto haploide de cromossomos. A meiose II é semelhante a uma mitose porém seus produtos são haploides e as células não são geneticamente idênticas (Figura 36).

Figura 36 – Estágios da meiose emna planta *Lilium regale*.

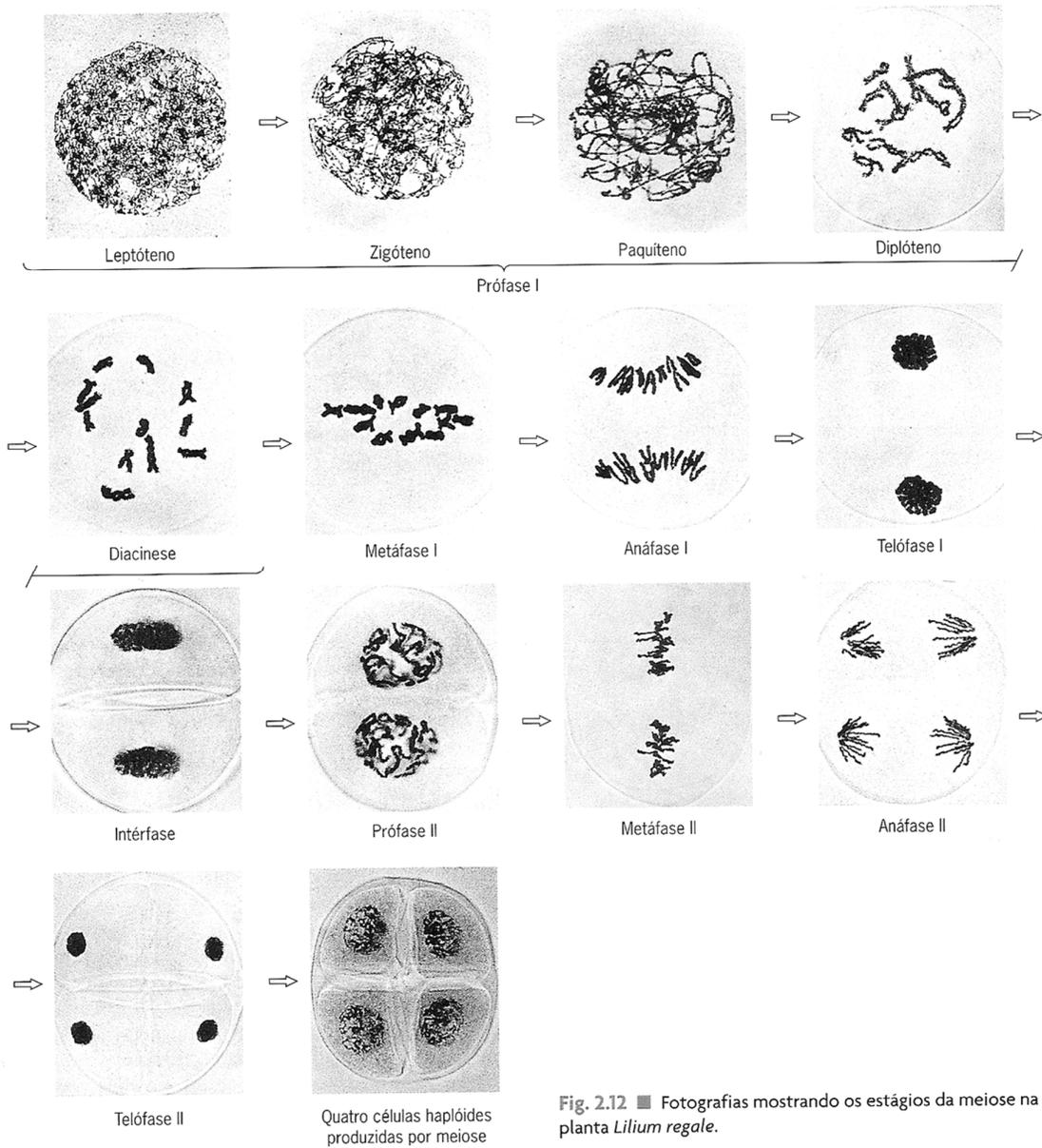


Fig. 2.12 ■ Fotografias mostrando os estágios da meiose na planta *Lilium regale*.

Fonte: Snustad, D.P.; Simmons, J.

## BIBLIOGRAFIA

FARRELL, S.O.; CAMPBELL, M.K. **Bioquímica**. 5ª ed. São Paulo, Thomson, 2007.

CHAMPE, P.C.; HARVEY, R.A.; FERRIER, D.R. **Bioquímica Ilustrada**. 4ª ed. Rio Grande do Sul, Artmed, 2009.

SNUSTAD, D.P. **Fundamentos de Genética**. 4ª ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008.

GRIFFITHS, A.J.F. **Introdução a Genética**. 9 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2009.