

Biologia molecular

histórico

noções básicas

estrutura de ácidos nucleicos

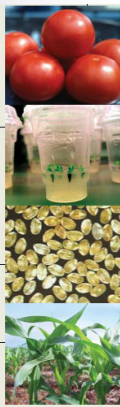
estrutura e papel da cromatina

Histórico da Biologia Molecular

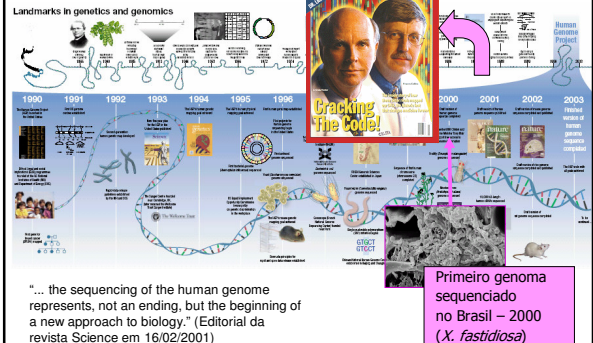
- Descoberta da "nucleína" - F. Miescher, 1871
- O DNA como responsável pela informação genética - F. Griffith, 1928
Avery, MacLeod e McCarty, 1944
- Hipótese "um gene-uma enzima" - Beadle e Tatum, 1941
- Elucidação da estrutura do DNA - Watson e Crick, 1953
- Elucidação do Código Genético - Vários, 1966
- Primeiro experimento de clonagem de DNA - 1973
- Descoberta da técnica de sequenciamento - Sanger, 1976
- Descoberta da técnica de PCR - Mullis, 1980
- Lançamento do projeto genoma humano - DOE e NIH, 1990
- Primeiro alimento transgênico comercializado - 1994
- Primeiro genoma sequenciado (*H. influenzae*) - 1995
- Primeiro cromossomo humano sequenciado (Chr 22) - 1999
- Publicação do rascunho do genoma humano - Venter and Collins, 2001

Biologia molecular & Biotecnologia

- **Tomate:** batizado como Flavr Savr, foi o primeiro produto alimentício geneticamente modificado a chegar ao mercado norte-americano, em 1994. "Neste caso, a modificação teve o objetivo de fazer com que o tomate durasse mais tempo no mercado". Uma alteração genética retardou o processo de amadurecimento da fruta precocemente, eliminando as perdas durante o transporte e aumentando a durabilidade para o consumidor.
- **Soja:** a primeira variedade de soja GM, a Roundup Ready (RR), passou da menção de um gene na planta, originário de uma bactéria encontrada no solo, a Agrobacterium sp. Essa alteração possibilita a sobrevivência de várias herbicidas na lavoura por apenas um, o glifosato, evitando assim tanto para o agricultor quanto para o consumidor. "Da bomba à raça de cachorro, que todos os produtos levam algum componente à base de soja", comenta o professor da USP. Vale lembrar que, enquanto no Brasil ainda não há liberação para o produto GM, nos Estados Unidos e no Canadá já está à venda o óleo de soja com alto teor de ácido oleico, um ácido graxo muito importante para a redução do potencial de doenças cardiovasculares na população.
- **Arroz dourado:** ainda em desenvolvimento, esta variedade do produto é enriquecida com pro vitamina A e pode ser útil no combate a cegueira causada pela carência desse composto orgânico. Estima-se que, no mundo, 126 milhões de crianças tenham tal deficiência na alimentação. O arroz dourado certamente contribuirá para a diminuição do problema.
- **Milho:** no Brasil, a Embrapa está desenvolvendo uma variedade de milho com mais amido, um amido mais saudável, facilmente absorvido e rico em ácidos à base de milho e soja. A utilização em larga escala desse tipo de grão resultará no aumento nutricional da dieta da população e na redução do custo do ração feita de milho.



A era genômica na Biologia Molecular



Genoma humano: o que descobrimos

- 3164,7 x 106 pb
- total de genes estimados: 25.000
- tamanho médio dos genes: 3.000 pb (o maior gene: distrofina - 2,4 X 106 bp)
- Cromossomo 1: maior número de genes (2968) cromos. Y: menor número de genes (231)
- função desconhecida de mais de 50% dos genes
- menos de 2% do genoma codifica proteínas
- complexidade de proteínas não tem correlação com tamanho do genoma (só 2 x mais genes do que *Drosophila*)
- > 50% dos genes codifica mais de uma proteína (processamento alternativo do mRNA)
- 99,9% identidade entre os indivíduos

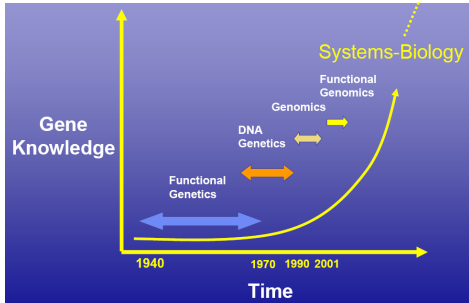


Genoma humano: o que ainda não sabemos

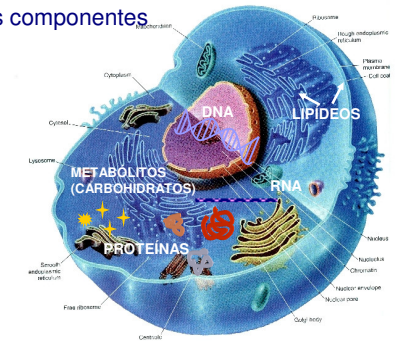
- Número exato, localização e função de todos os genes
- Regulação da expressão gênica → na diferenciação celular
- Estrutura e organização dos cromossomos
- Quase tudo sobre as sequências não codificantes: tipos, quantidade, distribuição, conteúdo informacional e funções *
- Número total de proteínas
- Interações proteicas, organização de complexos multi-proteicos
- Confirmação experimental das funções preditas
- Correlação entre SNPs (polimorfismos de única base entre indivíduos) com doenças: predição de susceptibilidade a doenças
- Identificação de genes envolvidos com doenças multigênicas

* ENCODE: análise de 1% do genoma (30Mb) de sequências não codificadoras

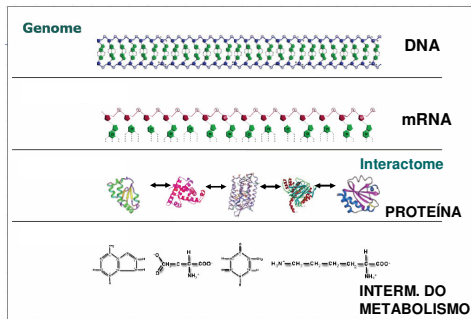
A biologia molecular e a evolução do conhecimento biológico



A arquitetura celular e seus componentes

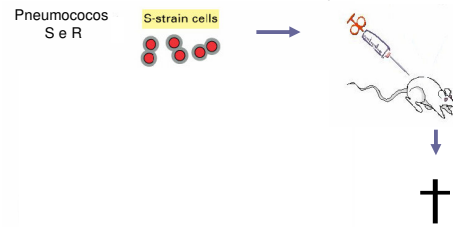


As novas áreas de estudo: os “omas”

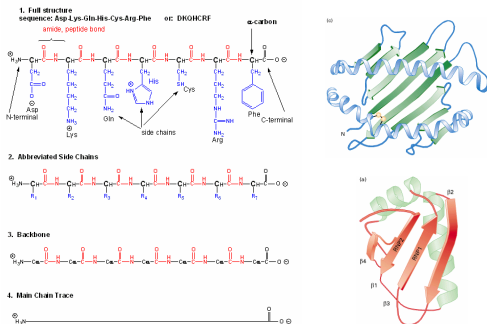


O experimento que demonstrou ser o DNA a molécula responsável pela informação genética

Avery, MacLeod e McCarty, 1944



Estrutura de Proteínas



O código genético

Sequência de bases (4)

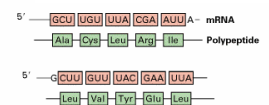
Sequência de aminoácidos (20)

5' A G U codon U A C mRNA 3'

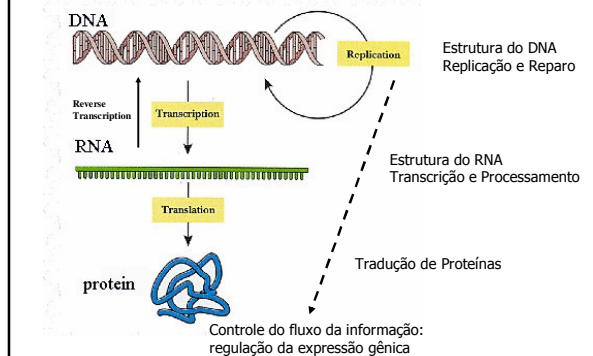
1 ^a base	2 ^a base				3 ^a base
	U	C	A	G	
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
Phe	Ser	Tyr	Cys	U	C
Leu	Ser	STOP	STOP	Trp	A
Leu	Ser	STOP	STOP	Trp	G
Leu	Pro	His	Arg	Arg	U
Leu	Pro	His	Arg	Arg	C
Leu	Pro	Gln	Arg	Arg	A
Leu	Pro	Gln	Arg	Arg	G
Ile	Thr	Asn	Ser	Ser	U
Ile	Thr	Lys	Arg	Arg	C
Ile	Thr	Lys	Arg	Arg	A
Met	Met	Lys	Arg	Arg	G
Val	Ala	Asp	Gly	Gly	U
Val	Ala	Asp	Gly	Gly	C
Val	Ala	Glu	Gly	Gly	A
Val	Ala	Glu	Gly	Gly	G

4³ = 64 trincas:

61 códons de aminoácidos
3 códons de parada

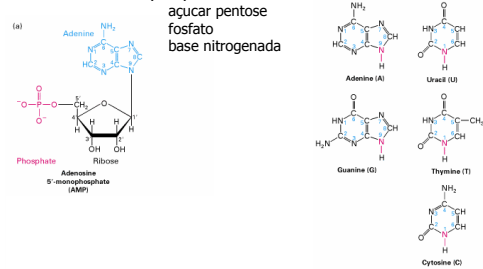


O dogma central da Biologia Molecular

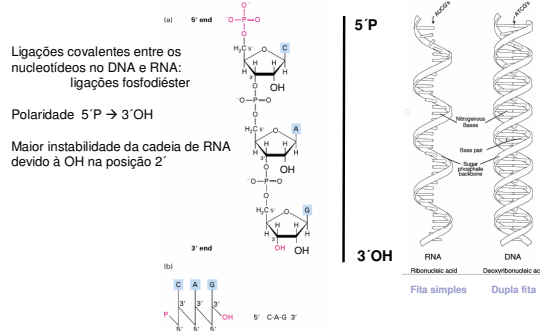


Estrutura do DNA e RNA: componentes principais

Monômeros de ribonucleotídeos (RNA) ou desoxirribonucleotídeos (DNA):

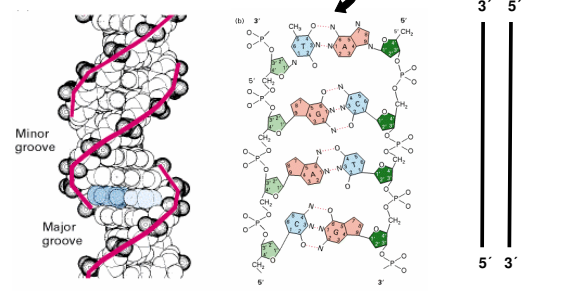


Cadeia polinucleotídica do DNA e RNA



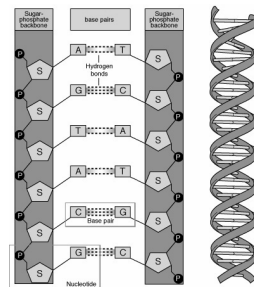
A estrutura da dupla hélice do DNA

Ligações de H entre as cadeias: A=T e C≡G



Propriedades da dupla fita de DNA

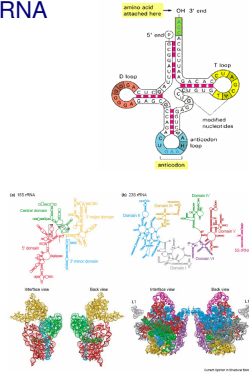
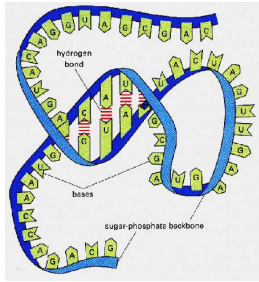
- duas cadeias anti-paralelas
- hélices com giro p/ direita, ~10 nt/volta
- interior hidrofóbico (bases nitrogenadas)
- exterior hidrofílico (açúcar), negativo
- ligações covalentes (entre o açúcar e o P) e interações fracas (ligações de H e inter. hidrofóbicas entre as bases)
- diâmetro de 20 Å (10⁻¹⁰ m)
- Comprimento variável (medido em pb, kb, Mb, etc)



Estimativas de tamanho de genomas

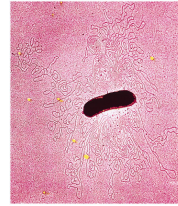
organism	estimated size	estimated gene number	
<i>Homo sapiens</i> (human)	2900 million bases	~30,000	← 94 cm
<i>Rattus norvegicus</i> (rat)	2,750 million bases	~30,000	
<i>Mus musculus</i> (mouse)	2500 million bases	~30,000	
<i>Drosophila melanogaster</i> (fruit fly)	180 million bases	13,600	
<i>Arabidopsis thaliana</i> (plant)	125 million bases	25,500	
<i>Caenorhabditis elegans</i> (roundworm)	97 million bases	19,100	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast)	12 million bases	6300	← 4 mm
<i>Escherichia coli</i> (bacteria)	4.7 million bases	3200	← 1.4 mm
<i>H. influenzae</i> (bacteria)	1.8 million bases	1700	

Estruturas secundárias no RNA

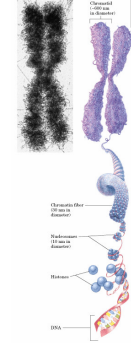


Empacotamento do DNA nas células

E. coli



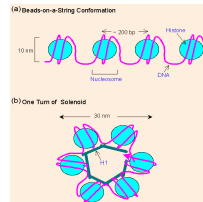
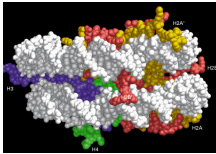
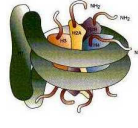
eucariotos



Estrutura da cromatina em eucariotos

Empacotamento de nucleossomos
octâmero de histonas:

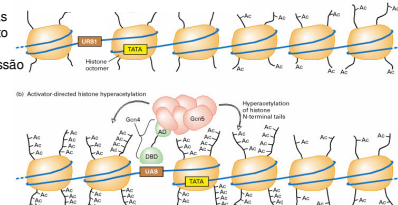
2X H2A H3
H2B H4



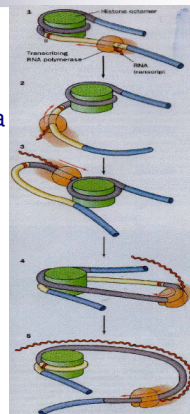
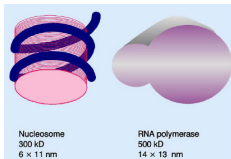
Papel estrutural e regulatório da cromatina

- Papel estrutural: empacotamento do DNA no núcleo
- papel regulatório: controle do acesso da maquinaria de transcrição:
histonas acetilases
histonas desacetilases

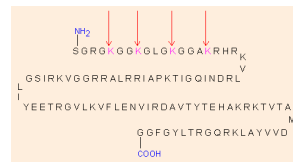
Acetilação de histonas
→ descompactamento
da cromatina
→ ativação da expressão
gênica



Modelo de deslocamento da maquinaria de transcrição (RNA polimerase) na cromatina



Diminuição das cargas positivas das histonas por acetilação de Lys



Menor interação DNA-histona

Ativação do gene

