

Tema 16: EXPRESIÓN DA INFORMACIÓN XENÉTICA

□ Natureza química do material xenético

• EXPERIMENTO DE F. GRIFFITH E PRINCIPIO DO FACTOR TRANSFORMANTE:

Demonstrou que as bacterias poden transferir moléculas portadoras de información xenética a outras.

Fixo un experimento con dúas cepas de bacterias: a cepa S (virulenta) e a cepa R (inocua). Se inxectaba a un rato bacterias S, este morría; se inxectaba bacterias R ou S mortas, o rato vivía; se inxectaba unha mestura de bacterias R vivas e S mortas, o rato morría e o seu sangue presentaba grandes cantidades de bacterias S vivas.

Chegou á conclusión de que unha transformación (enxiada polo factor transformante), fixera que unha substancia das bacterias S pasase a R.

Durante décadas, os científicos pensaron que as moléculas portadoras da información xenética eran as proteínas, pero foron Oswald T. Avery, Colin M. Macleod e Madlyn McCarty (e, posteriormente, Alfred D. Hershey e Martina Chase) os que demostraron que o axente transformante era o ADN.

□ Relación entre xenotipo e fenotipo

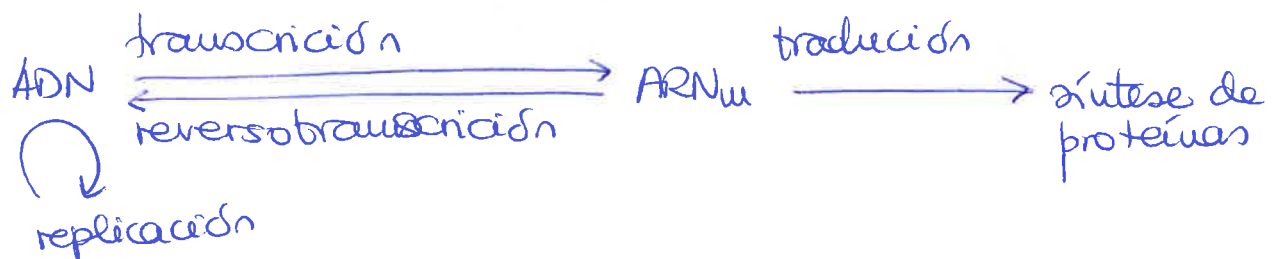
Na década dos 40, J. Beadle e E. Tatum demostraron que existía relación entre os xenes e as enzimas, e formularon a hipótese un xene - unha enzima: a función dun xene é controlar a produción dunha enzima.

Posteriormente, a hipótese foi modificada: aínda que todas as enzimas son proteínas, non todas as proteínas son enzimas (un xene - unha proteína); e moitas proteínas constan de dúas ou máis cadeas polipeptídicas (un xene - un polipéptido).

Os xenes son secuencias de ADN necesarias para sintetizar ARN ou polipéptidos.

□ Fluxo da información xenética

F. Crick postulou o dogma central da bioloxía molecular:



A información xenética flúe do ADN ao ARN e deste ao polipéptido. A expresión da información xenética dos xenes lévase a cabo mediante transcrición e tradución.

A información de moitos xenes non se utiliza para a síntese de polipéptidos, senón que os produtos da súa transcrición son ac. ribonucleicos que non son traducidos: ARNr ou ARNt.

A rebotranscrición é a síntese de ADN a partir de ARN, catalizada por reversotranscritases dos retrovirus.

□ Transcrição

É a síntese de ARN mediante a polimerização de ribonucleótidos que formam uma sequência complementar à dupla das cadeas de ADN.

Para que se produza a transcrição necessita-se:

- ADN como modelo
- ATP, GTP, CTP e UTP
- Enzimas ARN polimerase

As febras de ARN sempre se sintetizam na direcção $5' \rightarrow 3'$, complementarias à cadeia $3' \rightarrow 5'$ de ADN.

● ARN POLIMERASES

Realizam a transcrição de todos os tipos de ARN. Reconhecem os nucleótidos e catalizam a formação dos enlaces fosfodiéster para formar a cadeia de ARN.

● ETAPAS

1) Iniciación: a ARN polimerase unese à dobre hélice de ADN numa sequência específica (promotor), que contém uns nucleótidos que indicam o punto de inicio da síntese de ARN.

O promotor adrega um punto de união para a ARN polimerase e marca cal das 2 cadeas de ADN se utilizarã como patrão.

2) Elongación: tras unirse ao promotor, a ARN polimerase abre a dobre hélice e separa as cadeas dum tramo curto, preto de 14 bases (burbulla de transcripción).

A burbulla desprázase ao longo da cadeia molde de ADN no sentido $3' \rightarrow 5'$, engadindo a ARN polimerase os ribonucleótidos até que reconeça un sinal de finalización.

3) A ARN polimerase reconece secuencias de terminación na cadeia molde de ADN, áltase e libera o ARN transcrito (nas eucariotas é un precursor).

• EN CÉLULAS PROCARIOTAS

Posúen só un tipo de ARN polimerase, o recoñecemento do promotor pola ARN polimerase depende dunha subunidade da enzima (factor σ), os xenes son continuos, a ARN polimerase sintetiza un ARN transcrito primario que é xa un ARNm maduro e pódese utilizar directamente para a tradución, os ARNm conteñen a información de un só xene (poli-cistronicos) e a medida que se sintetiza ARNm un ribosoma pode adherirse ao extremo 5' e sintetizar unha cadea polipeptídica.

• EN CÉLULAS EUCARIOTAS

Posúen 3 tipos de ARN polimerase, o recoñecemento do promotor pola ARN polimerase depende dun conxunto de proteínas (complexo de iniciación), os xenes son descontinuos ou fragmentados (a secuencia que codifica a cadea polipeptídica está interrompida por secuencias non codificantes chamadas intróns; as codificantes son os exóns), a ARN polimerase II sintetiza un precursor de ARNm con intróns e exóns (transcrito primario) e que debe sufrir unha maduración para formar ARNm maduro (modificación do extremo 5' coa adición de metilguanósina, adición de un de 100 nucleótidos de adenina no extremo 3' e eliminación de intróns), os ARNm conteñen a información dun só xene (monocistronicos), a transcripción ocorre no núcleo e o ARNm debe exportarse ao citoplasma para ser traducido.

• CARACTERÍSTICAS DA TRANSCRIÇÃO

- É seletiva: só se transcrevem fragmentos de ADN com informação genética.
- É monocatenária: só se transcreve a cadeia de ADN 3'→5'.
- É reiterativa: um xeme pode ser transcrito simultaneamente por várias ARN polimerases.

□ Código genético

É o conjunto de regras que determina a correspondência entre a sequência de nucleótidos do ARNm e a sequência de aminoácidos de uma proteína.

George Gamow decidiu que os codões, que codificavam os aminoácidos, eram tripletes de nucleótidos: $4(\text{bases})^3 > 20$ aminoácidos.

* CARACTERÍSTICAS DO CÓDIGO GENÉTICO:

- É degenerado: a maior parte dos aminoácidos estão codificados por mais de um codão.
- Não é ambíguo: nenhum triplete codifica mais de um aminoácido.
- Está em clave de ARNm.
- Há 3 codões de terminação: UAA, UAG e UGA.
- O codão AUG (Met) é o codão de iniciação.
- Os codões que especificam um aminoácido compartilham geralmente os dois primeiros nucleótidos.
- É universal; só se atoparam exceções em codões de fungos e protistas.

□ Tradução

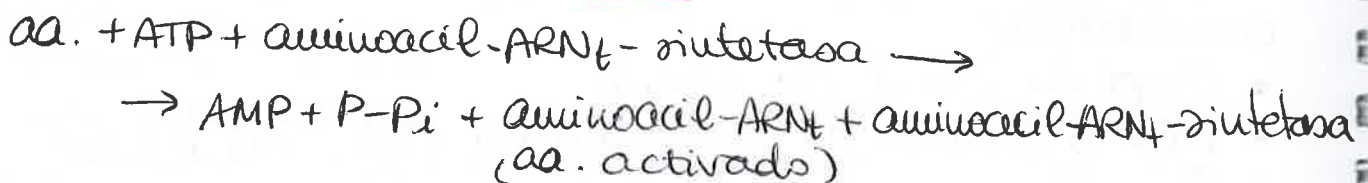
É o processo no que a informação genética contida no ARNm especifica a síntese de uma proteína.

São necessários:

- ARN_t: relaciona cada aminoácido ao códon apropriado do ARNm.
- ARNm: transporta a informação genética transcrita desde o ADN em forma de códon.
- ARN_r (e, em consequência, ribossomas): forma os ribossomas, onde se sintetiza a proteína.
- Enzimas de activação: unem o aminoácido ao seu ARN_t determinado.
- factores proteicos: ajudam à tradução do ARNm.

● FASES:

1) Activação de aminoácidos: o aminoácido une-se ao seu ARN_t específico, graças ao catalizador aminoacil-ARN_t-sintetase:



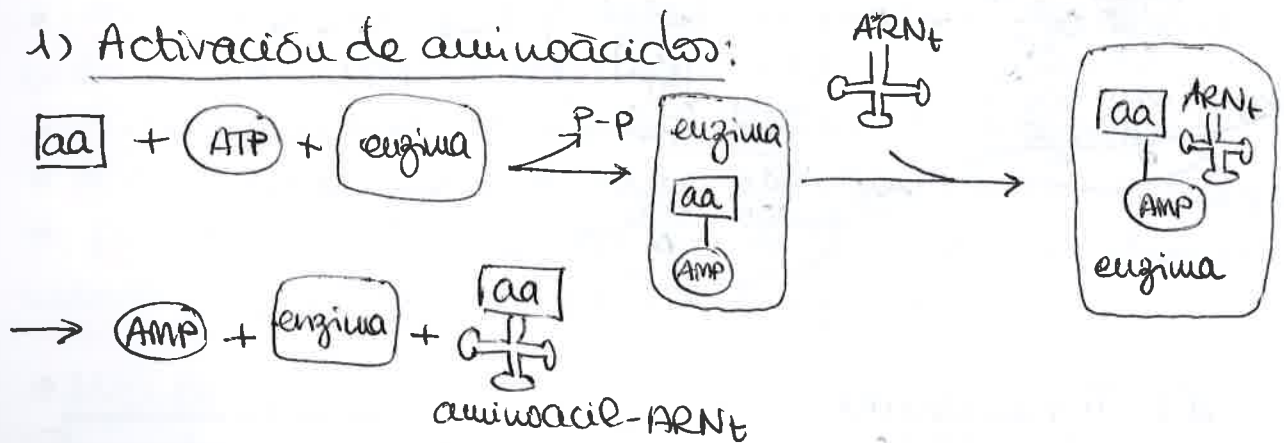
2) Iniciacão da tradução: o ARNm com o seu primeiro códon AUG une-se ao ribossoma. Associa-se o aa.-ARN_t com o seu anticódon UAC, que trae o aminoácido metionina. A eles associa-se a subunidade maior, formando-se o complexo ribossomal.

3) Elongação: O complexo ribossomal tem um centro A (acceptor de novos aminoácidos) e o centro P (centro peptídico, onde se situa o primeiro aminoacil-ARN_t). O AUG e o seu aa.-ARN_t estão em P e o

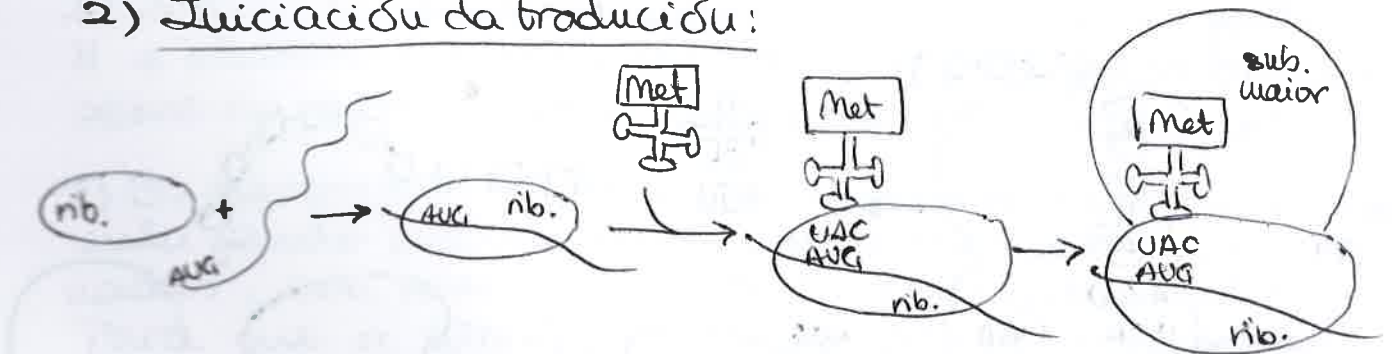
segundo triplete no seu aa. - ARN_t em centro A.
 O primeiro aminoácido une-se ao segundo em A, o centro P queda livre e o A com dipeptidil-ARN_t.
 O ARN_t velho abandona o ribossoma e o centro P é agora ocupado pelo dipeptidil-ARN_t, enquanto o A é ocupado por um novo aa. - ARN_t. O dipeptidil une-se ao novo aminoácido de xeito que em P queda um ARN_t que sairá do ribossoma e em A formase um tripeptidil-ARN_t que irá ao centro P.
 Este processo sucede ininterruptamente ajudado polos factores de elongación.

4) Terminación: no P existirá un polipeptidil-ARN_t e no A un novo codón. O proceso termina cando o novo codón do A é un dos tres tripletes de stop.
 O proceso é catalizado polos factores de terminación. Un ARNm pode ser traducido por varios ribosomas un detrás doutro (polirribosoma).

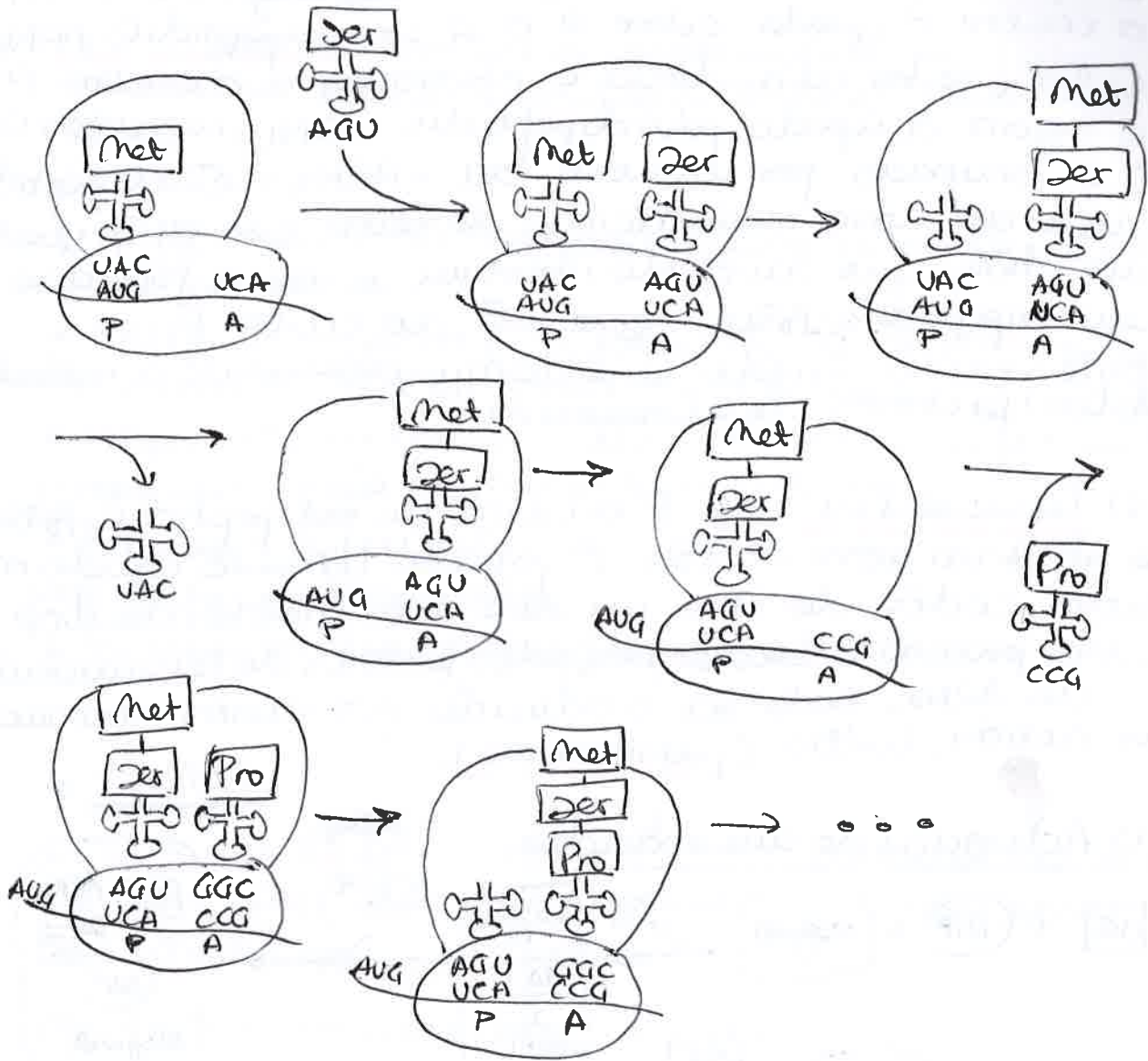
1) Activación de aminoácidos:



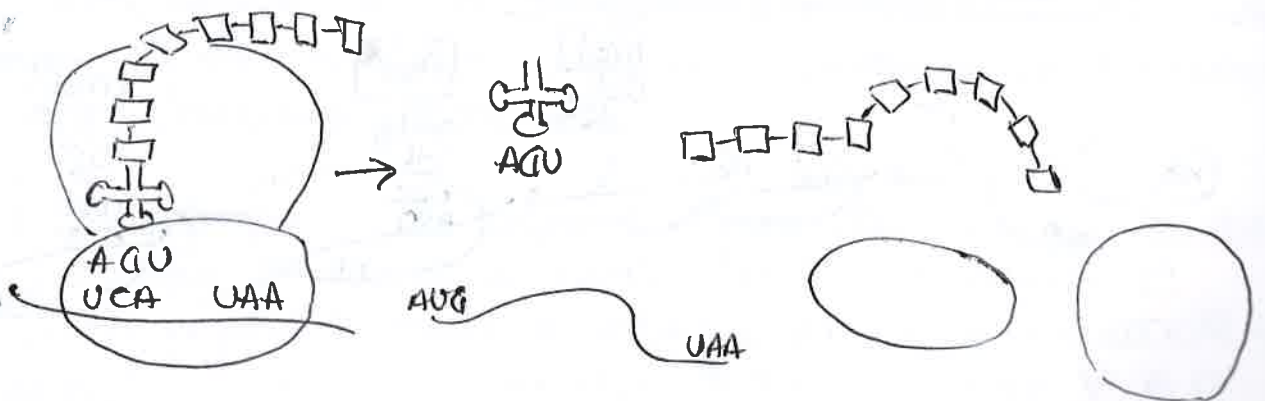
2) Iniciación da tradución:



3) Elongación:



4) Terminación:



□ Replicação / duplicação do ADN

É um processo que permite conter às células filhas a mesma informação genética que a mãe. A partir de uma molécula de ADN obtêm-se 2 moléculas filhas idênticas à molécula original.

É semiconservativa porque cada uma das duas filhas conserva uma das febras da original, mas a outra é sintetizada de novo, segundo Messelson e Stahl.

• ENZIMAS IMPLICADAS

- Helicasas: desentrelaçamento da dobre hélice mediante ruptura de pontes de H.
- Topoisomerasas: xiram as moléculas de ADN segundo se vão replicando.
- ARN-polimerasa: une nucleótidos de ARN em direcção $5' \rightarrow 3'$.
- ADN-polimerasa: une nucleótidos de ADN em direcção $5' \rightarrow 3'$ (papel autocorrector).
- Ribonucleasa: elimina nucleótidos de ARN.
- ADN-ligasa: une fragmentos de ADN já sintetizados.
- Proteínas SSB: estabilizam o ADN monocatenário enquanto se completa a replicação.

• MECANISMO

Proposto por Watson e Crick.

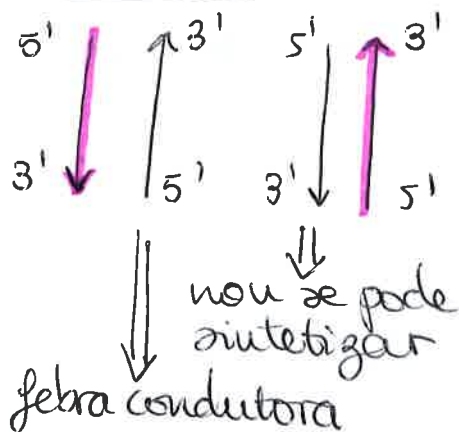
- 1) Separam-se as duas cadeias rompendo-se as pontes de H e deixando livres as bases; cada febra original serve de padrão para a síntese da sua complementar.
- 2) Os desoxinucleótidos atópanse ceibos e vause enlazando mediante a união das bases nitrogenadas, com ADN-polimerasa como catalizador. Para que a ADN-polimerasa possa incorporar o primeiro nucleótido é necessário que actue um

cebador (fragmento de ARN chamado primer, sintetizado pela ARN-polimerase primária).

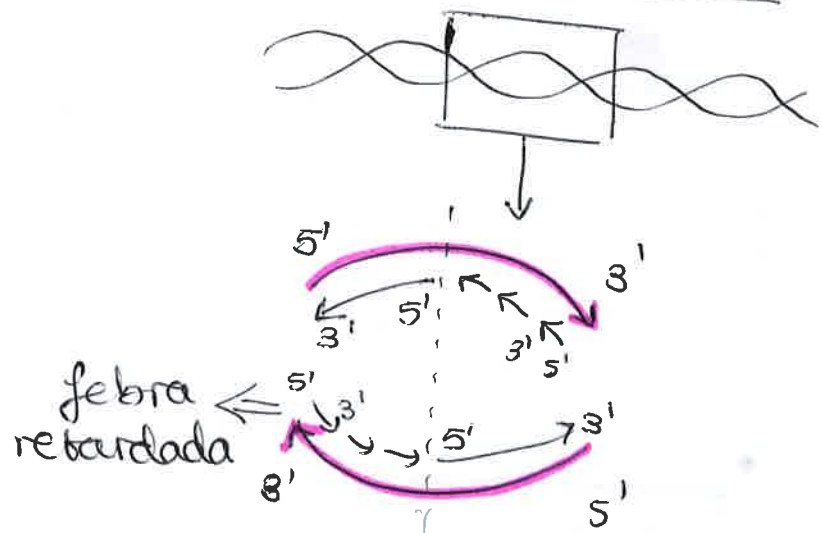
3) Uma vez replicada a febra filha, degrada-se o ARN-primer, quedando formada a molécula de ADN.

As 2 cadeias de ADN são antiparalelas. A ADN-polimerase só consegue nucleotídeos em direcção $5' \rightarrow 3'$, pelo que este mecanismo só explica a síntese de uma cadeia. A replicação da outra explica o Okazaki, proponendo que a cadeia duplicar-se de forma descontínua por fragmentos de Okazaki (50 nucleotídeos de ARN e 1000-2000 de ADN)

SEN A TEORÍA DE OKAZAKI I



SEGUNDO OKAZAKI:



- CARACTERÍSTICAS DA REPLICACIÓN
- Semiconservativa
- Descontínua: sintetizada a fragmentos
- Bidireccional: 2 horquillas de replicación
- Multifocal: existen varios "ollos" de replicación simultáneos.

• MECANISMOS DE CORRECCIÓN

- Autocorrección da ADN-polimerasa: a medida que se replica a cadea.
- Corrección postreplicativa: realizada por enzimas ao terminar a replicación.

• IMPORTANCIA BIOLÓXICA

A reprodución ten por obxecto producir organismos idénticos ós proxenitores. A replicación do ADN fai que a información xenética dunha célula vai pase fielmente ás células fillas.

Técnica PCR

A técnica da PCR (Polymerase Chain Reaction) é a replicación de ADN *in vitro*, que permite facilmente e de maneira rápida facer millóns de copias de ADN. Quéntase a molécula para desnaturalizala e separar as cadeas; despois, cópiase cada unha delas pola ADN-polimerasa, que engade nucleótidos.

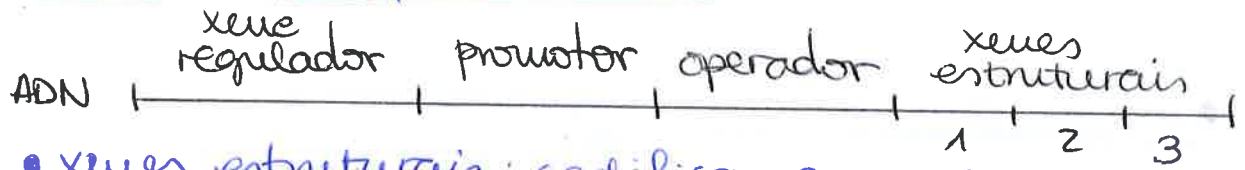
□ Regulación da expresión xénica

Todos os tipos celulares dun organismo pluricelular posúen a mesma información xenética. As diferenzas estruturais entre eles débense a que cada célula expresa unicamente os xenes que necesita para realizar as súas funcións.

• PROCARIOTAS

As bacterias regulan a expresión de moitos dos seus xenes en función das fontes de alimento dispoñibles, a través de mecanismos que actúan durante a transcrición.

Os xenes que codifican as enzimas implicadas nunha vía metabólica dispóñense xuntos no cromosoma bacteriano e forman un complexo funcional chamado operón, descrito por François Jacob e Jacques Monod.



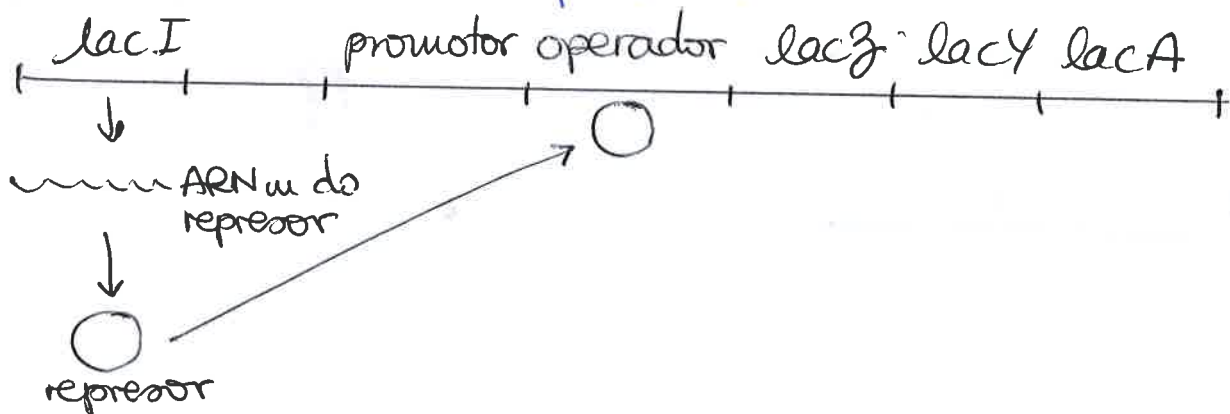
- xenes estruturais: codifican as enzimas.
- promotor: sitio do ADN onde se une a ARN polimerasa para comezar a transcrición.
- operador: rexión do ADN (unida ao promotor) onde se une unha proteína que actúa como represor.
- xene regulador: codifica o represor.

* TIPOS DE OPERÓNS:

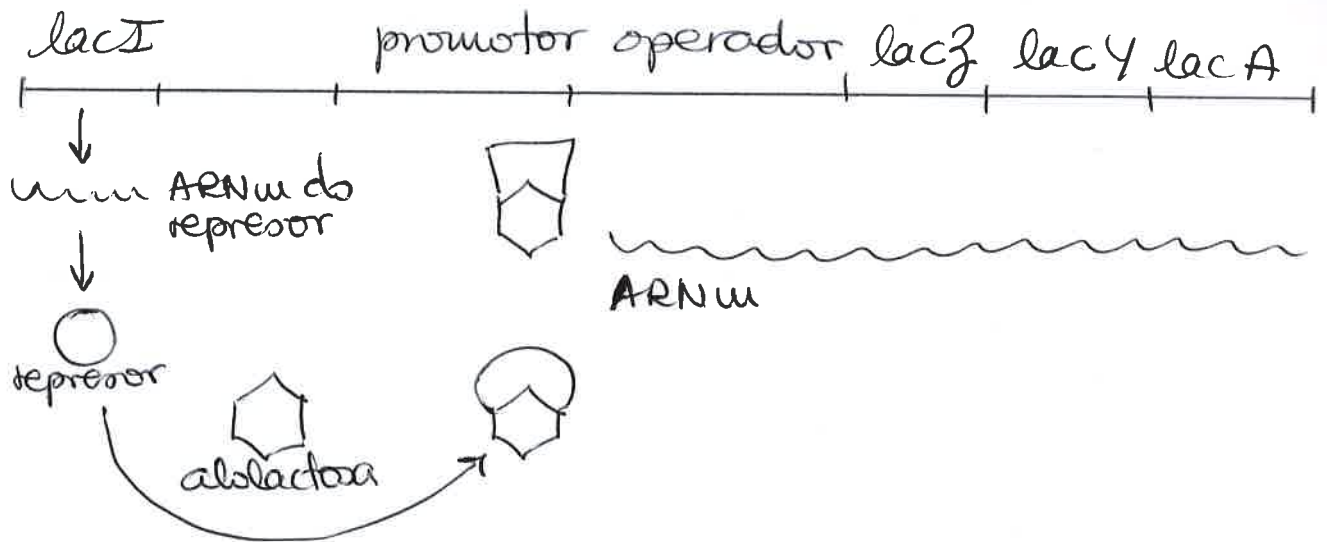
- Inducibles: inactivos ata que son activados por un indutor.
- Reprimibles: activos ata que son inactivados por un corepresor.

* OPERÓN INDUCIBLE: OPERÓN LAC:

Cando a lactosa non está presente sintetízase o represor, que se une ao operador. Desactivase a transcrición do operón lac.



Quando a lactose está presente, inativa-se o repressor, pois a alolactose une-se a ele e inativa-o, evitando que este se una ao operador. Ativa-se a transcrição do operador lac.



• EUCARIOTAS

O controle da expressão gênica é muito mais complexo, pelos seguintes motivos:

- Maior quantidade de informação genética.
- Informação genética repartida em várias moléculas de ADN.
- ADN associado a proteínas.
- Separação física entre a transcrição e a tradução.
- Os transcritos primários processam-se antes de ser transportados e traduzidos.
- O mRNA é mais estável, pelo que há muitos controlos de tradução.

A regulação da expressão gênica em eucariotas exerce-se mediante mecanismos durante e depois da transcrição.

preguntas importantes:

- 1 - Saber os científicos que demonstraram que o ADN é portador da informação genética.
- 2 - Fluxo da informação genética nos seres vivos.
- 3 - Conceito de gene ao longo da história.
- 4 - Replicação: características, enzimas, processo e técnica PCR.
- 5 - Transcrição: definição, enzimas, características, etapas, conceito de reversotranscrição.
- 6 - Tradução: definição, mecanismo, função da aminoacil-ARNt-sintetase, papel dos distintos tipos de ARN.
- 7 - Conceitos de códon e anticódon.
- 8 - Características do código genético e utilizar o código genético para passar aminoácidos a ADN e vice-versa.
- 9 - Regulação da expressão gênica: operon lac, características de eucariotas e regulação hormonal.