

GENÉTICA E BIOLOGIA MOLECULAR PARA O ENSINO MÉDIO E FUNDAMENTAL

Curso de Extensão na área de Biologia para professores do Ensino Médio e Fundamental

Autoras:

Cristina Maia – Equipe de Biologia/Extensão – Consórcio CEDERJ
Denise Lannes – Professora Adjunta/Instituto de Bioquímica Médica/UFRJ

Consultora:

Silvia Regina Turcinelli – Centro de Biologia Molecular e Engenharia Genética (CBMEG)/UNICAMP

Ao cursista

Se para nós, que aparentemente, temos uma certa intimidade com estes termos e seus significados, tudo parece um tanto complexo, imagine para os nossos estudantes que além de serem “obrigados” a compreendê-los ainda passam pelo “fogo cruzado” que é estabelecer relações entre os mesmos.

Ao mesmo tempo em que conceitos básicos ainda causam uma certa confusão, muitas informações novas chegam até nós por meio da mídia e acabamos tendo que dar explicações, algumas vezes muito mais profundas do que esperávamos, quando os alunos, instigados pela forma como as notícias são veiculadas, vêm nos questionar...

Portanto, pensamos ser esta uma boa hora para trazer os conceitos básicos para serem discutidos e utilizados em sala de aula como fundamentos, tentando entender a enorme quantidade de informação nova produzida em tão curto espaço de tempo.

A Biologia Molecular não é nada além do que o estudo em nível molecular das questões relacionadas à hereditariedade e à evolução dos organismos vivos. Aí podemos incluir toda a Genética, inclusive o conhecimento relacionado ao DNA e seus mecanismos de ação. Questões envolvendo engenharia genética, clones, transgênicos, vacinas de DNA, vírus de RNA, bibliotecas genômicas, clonagem, células tronco, terapia gênica, Projetos Genoma (café, cana-de-açúcar, eucalipto, *Xylella fastidiosa*) e Projeto Genoma Humano/Projeto Genoma do Câncer utilizam como base tanto os conhecimentos de Biologia Molecular quanto os da Genética clássica.

Certamente, nestas poucas páginas, não esgotaremos o assunto, mesmo porque esse não é o nosso objetivo. Nossa intenção é fornecer a você, caro professor, espaço para ler e, principalmente, discutir sobre este assunto tão novo e já com tanta história para contar!

Seja bem-vindo e divirta-se com a gente!

HISTÓRIA DA CIÊNCIA – DA GENÉTICA À BIOLOGIA MOLECULAR

No último século temos assistido uma corrida científica, particularmente na área de Biologia Molecular. Hoje, vemos a todo o momento, principalmente na mídia, notas envolvendo temas tais como terapia gênica e transgênicos entre outros. Muitos vêem a Engenharia Genética como um novo campo, mas de fato as técnicas utilizadas hoje são resultado da união de vários conhecimentos produzidos pelas mais diferentes áreas do saber e muita pesquisa a qual vem sendo realizada ao longo de mais de 125 anos. A linha do tempo aqui apresentada mostra descobertas chave que culminaram no Projeto Genoma Humano, um esforço internacional, o qual visava a decifrar a seqüência de três bilhões de pares de bases de subunidades de DNA que se encontram nos cromossomos humanos.

1865 - Herança Mendeliana



Gregor Mendel publicou os resultados dos seus trabalhos realizados com ervilhas do tipo *Pisum sativum*. Após várias gerações de cruzamentos Mendel foi capaz de postular suas regras gerais de herança genética. Ele propôs que havia “discretas unidades” de hereditariedade (que hoje chamamos de genes) que eram transmitidas de geração para geração, mesmo que algumas características não fossem expressas em todas as gerações, elas voltavam a aparecer.

O trabalho de Mendel passou a ter grande reconhecimento no meio científico apenas a partir do início do século XX. Atualmente, sabe-se que as teorias de Mendel são apenas parcialmente válidas. No entanto, é unicamente dele o mérito de ter provocado o primeiro grande salto na história da ciência quanto à formulação das teorias sobre os mecanismos que regem a transmissão de características hereditárias.

1869 - Isolado o DNA



Miescher isolou o DNA pela primeira vez. A descoberta do DNA ocorreu em 1869 e foi feita pelo bioquímico alemão Johann Friedrich Miescher. Ele queria determinar os componentes químicos do núcleo celular e utilizava glóbulos brancos provenientes do pus em sua pesquisa. A escolha desta célula deveu-se à disponibilidade e tamanho do núcleo. Analisando os núcleos, Miescher descobriu a presença de um composto de natureza ácida que era desconhecido até o momento. Era rico em fósforo e em nitrogênio, desprovido de enxofre e resistente à ação da pepsina (enzima proteolítica). Esse composto, que aparentemente era constituído de moléculas grandes, foi denominado, por Miescher, nucleína.

Miescher

1880 a 1890 – Das Bases Nitrogenadas ao Ácido Nucléico

Em 1880, um outro pesquisador alemão, Albrecht Kossel, demonstrou que a nucleína continha bases nitrogenadas em sua estrutura, explicando o fato da nucleína ser rica em nitrogênio. Nove anos depois, Richard Altmann, que era aluno de Miescher, obteve a nucleína com alto grau de pureza, comprovando sua natureza ácida e dando-lhe, então, o nome de ácido nucléico.

1882 – Cromossomos – Quem são?

O alemão Walter Flemming descobriu corpos com formato de bastão dentro do núcleo das células, que denominou "cromossomos".

1890 – A sutil diferença que faz toda a diferença: Uracila ou Timina?

Em 1890, foi descoberto em levedura (fermento biológico) um outro tipo de ácido nucléico, que possuía uracila ao invés de timina e ribose ao invés da desoxirribose. Dessa maneira, foram caracterizados dois tipos de ácidos nucléicos, de acordo com o glicídio que possuíam:

- ácido ribonucléico (RNA)
- ácido desoxirribonucléico (DNA)

1902 – "Partículas da hereditariedade"

O norte-americano Walter Sutton e o alemão Theodor Boveri deram início à teoria cromossômica da hereditariedade (as "partículas" da hereditariedade estariam localizadas nos cromossomos).

1909 – Genótipo e Fenótipo: Afinal quem é quem?

O dinamarquês Wilhelm Johannsen introduziu o termo "gene" para descrever a unidade mendeliana da hereditariedade. Ele também utilizou os termos "genótipo" e "fenótipo" para diferenciar as características genéticas de um indivíduo de sua aparência externa.

1912 – Dos Ácidos Nucléicos aos Nucleotídeos

Em 1912, Phoebus Levine e Walter Jacobs concluíram que o componente básico dos ácidos nucleicos era uma estrutura composta por uma unidade que se constituía numa base nitrogenada ligada a uma pentose, e esta por sua vez, ligada a um fosfato. Esta unidade foi denominada de nucleotídeo.

Um ácido nucleico seria então uma molécula composta por vários nucleotídeos unidos entre si, ou seja, um polinucleotídeo.

1915 – Genes dispostos linearmente nos cromossomos

O norte-americano Thomas Hunt Morgan e seus alunos Alfred Sturtevant, Hermann Joseph Muller e Calvin Bridges publicam o livro "O Mecanismo da Hereditariedade Mendeliana", no qual relatam experimentos com drosófilas, as moscas-das-frutas, e mostram que os genes estão linearmente dispostos nos cromossomos.

1927 - Danos genéticos podem ser hereditários?

Hermann J. Muller provou que os raios-X podiam causar mutações que passavam de uma geração para outra. Submetendo drosófilas a raios-X, observou que a frequência das mutações aumentava cerca de cem vezes em relação à população não exposta.

1928 – Transformação – Que “bicho” é esse? E afinal, transformar o quê? Em quê? Para quê?

Durante muito tempo, as proteínas foram consideradas como as mais prováveis detentoras da hereditariedade, mas um experimento realizado em 1928 daria início à derrocada desta hipótese. Este experimento envolvia a inoculação de bactérias causadoras de pneumonia em camundongos e seu propósito era, simplesmente, descobrir meios de se controlar a doença em humanos.

Foi Frederick Griffith que realizou uma série de experimentos que forneceram evidências que a informação genética está contida em uma molécula específica e não nas proteínas.

Griffith estava tentando encontrar uma vacina contra *Streptococcus pneumoniae*, uma bactéria que causa pneumonia em mamíferos. Ele sabia que: existiam duas cepas distinguíveis de pneumococcus: uma que produzia colônias lisas (S - do inglês smooth) e outra que produzia colônias rugosas (R - do inglês rough). Células da cepa lisa são encapsuladas com uma capa de polissacarídeos, enquanto que as células da cepa rugosa não possuem esta cápsula. Estes dois fenótipos alternativos (S e R) são geneticamente herdados.

Ele realizou quatro conjuntos de experimentos:

- Experimento 1: Griffith injetou células vivas da cepa S de *Streptococcus pneumoniae* em camundongos.

Resultado: Os camundongos morreram de pneumonia.

Conclusão: A cepa encapsulada é patogênica.

- Experimento 2: camundongos foram injetados com células vivas da cepa R de *S. pneumoniae*.

Resultado: Os camundongos permaneceram saudáveis.

Conclusão: as cepas de bactéria que não possuíam a cápsula de polissacarídeos não eram patogênicas.

- Experimento 3: camundongos foram injetados com células da cepa S de pneumococos mortas por calor.

Resultado: os camundongos permaneceram saudáveis.

Conclusão: a cápsula de polissacarídeo não causa pneumonia por que ela ainda está presente nas bactérias mortas pelo calor – que neste estado são não patogênicas.

- Experimento 4: células da cepa S mortas pelo calor foram misturadas com células vivas da cepa R e injetadas em camundongos.

Resultado: os camundongos desenvolveram pneumonia e morreram. Amostras de sangue dos camundongos mortos continham células de pneumococos do tipo S vivas.

Conclusão: células de pneumococos do tipo R adquiriram das células do tipo S a habilidade de sintetizar a cápsula de polissacarídeo.

Griffith cultivou células do tipo S isoladas dos camundongos mortos. Porque as bactérias produziram células filhas encapsuladas, ele concluiu que o novo trato adquirido era hereditário. Esse fenômeno é agora chamado de transformação (assimilação de um material genético externo por uma célula).

1931 – DNA e RNA: Ácidos Nucléicos recebem seu “RG” definitivo!

O russo Phoebus Aaron Levene, trabalhando nos EUA, estuda a estrutura química dos ácidos nucleicos e identifica seus componentes básicos. Os termos "ácido desoxirribonucléico" e "ácido ribonucléico" (RNA) se tornam de uso comum.

1941 - "One gene – One enzyme" – Será mesmo?

Os trabalhos decisivos sobre a função do gene foram apresentados por Beadle e Tatum que propuseram a teoria "um gene – uma enzima".

As idéias principais do trabalho realizado por esses autores foram:

- Todos os processos bioquímicos dos organismos estão sob controle genético.
- Os processos bioquímicos ocorrem numa seqüência de reações individuais.
- Cada reação simples é controlada por um gene simples.
- Cada gene atua por intermédio do controle e produção de uma enzima específica.

Na atualidade esta teoria apresenta as seguintes falhas:

- Um gene pode especificar a síntese de uma cadeia polipeptídica que não apresenta nenhuma função enzimática (Ex.: Hemoglobina).
- Uma enzima pode ser constituída por mais de uma cadeia polipeptídica (Ex.: RNA polimerase é constituída por várias cadeias e, conseqüentemente, está sob o controle de vários genes).
- Um gene pode controlar a atividade de uma enzima especificada por outro gene (Ex.: sítio operadores, repressores, etc.).

1943 – Mutações = Eventos Randômicos: Estaria então nascendo aqui a nossa “Biologia Molecular”?

Para saber mais sobre eventos randômicos, pesquise em:

- http://contanatura.weblog.com.pt/arquivo/2004/11/biblioteca_mini_3.html
- <http://atlas.sct.embrapa.br/pdf/cct/v15/cc15n302.pdf>

A Biologia Molecular nasceu em novembro de 1943 com a publicação de um artigo num número da revista Genetics (publicado em 1944), assinado por Salvadore Luria e Max Delbrück com o título: 'Mutations of bacteria from virus sensitivity to virus resistance' (Genetics.1943. vol:28, page:491).

Este artigo demonstra que a resistência (hereditária) de uma bactéria particular (Escherichia coli tipo B) a um vírus específico (alpha, hoje em dia chamado T1) é uma propriedade adquirida pela bactéria antes de entrar em contato com o vírus. Dito de outra forma: o fenótipo hereditário não resulta da “adaptação” da bactéria pós-contato com o vírus, mas sim de uma mutação genética prévia.

Essa demonstração revelou-se fundamental na história da Biologia. É a prova formal que a teoria da evolução das espécies proposta por Darwin é correta na essência, enquanto que Lamarck, e a hereditariedade dos caracteres adquiridos, ficaram definitivamente enterradas.

1944 – DNA: Enfim ... A famosa molécula da hereditariedade!

Qualquer estudante com um mínimo de informação em biologia sabe que as características genéticas da grande maioria dos seres vivos são transmitidas de geração a geração pelo ácido desoxirribonucléico (DNA). No entanto, a primeira demonstração do papel central desempenhado por essa molécula na hereditariedade ocorreu há apenas seis décadas, e não foi aceita de imediato.

Depois da experiência realizada em 1928 pelo microbiólogo inglês Frederick Griffith mostrando que bactérias capazes de causar uma doença podiam, mesmo depois de mortas, ‘passar’ essa capacidade para bactérias vivas que a tinham perdido, começou a corrida para entender como isto poderia ocorrer.

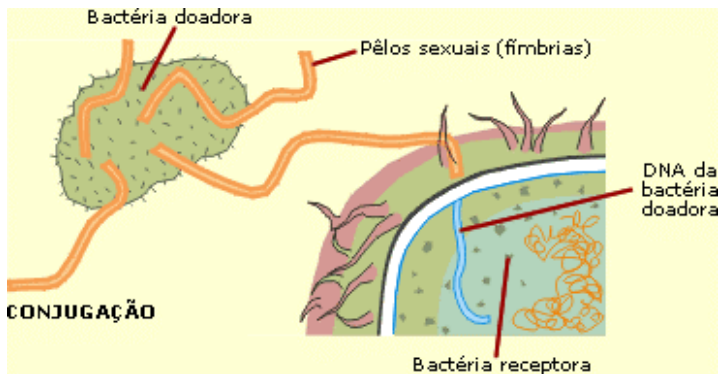
Esse enigma só seria decifrado em 1944, quando um trabalho de três médicos norte-americanos – Oswald T. Avery, Colin M. MacLeod e Maclyn McCarty – demonstrou que a molécula que continha as informações transmitidas de geração a geração era o ácido desoxirribonucléico (DNA).

Assim, Oswald T. Avery, Colin M. MacLeod e Maclyn McCarty identificaram que o DNA é a molécula da hereditariedade.

1946 – Conjugação bacteriana: “Sexo das bactérias” – Mas até as bactérias?

Lederberg and Tatum demonstraram a troca de material genético entre bactérias. O processo foi chamado de conjugação bacteriana e consiste em transferência de genes de uma bactéria doadora para uma receptora.

Na conjugação bacteriana duas bactérias unem-se temporariamente por meio de uma ponte citoplasmática. Em uma das células, denominada "doadora", ocorre a duplicação de parte do cromossomo. Essa parte duplicada separa-se e, por intermédio da ponte citoplasmática, passa para outra célula, denominada "receptora", unindo-se ao cromossomo dessa célula receptora. Esta ficará, então, com constituição genética diferente daquela das duas células iniciais. Essa bactéria "recombinante" pode apresentar divisão binária, dando origem a outras células iguais a ela.



Amabis e Martho

1950 – Transposons: O DNA “pula” de um lugar a outro – É a Natureza se adaptando e ainda trazendo benefícios ante as adversidades...

Transposons são seqüências de DNA móveis que podem se autoreplicar em um determinado genoma.

Um transposon pode ser inserido em outros genomas, vindo a conferir ao hospedeiro uma vantagem seletiva, como, por exemplo, a resistência a antibióticos.

Barbara McClintock descreveu estes elementos genéticos que trocavam de posição no genoma do milho e que podiam também causar mutações. Aos 80 anos, ela foi laureada com o prêmio Nobel de 1983 pela descoberta dos elementos genéticos móveis.

1952 – Hereditariedade - Hershey & Chase

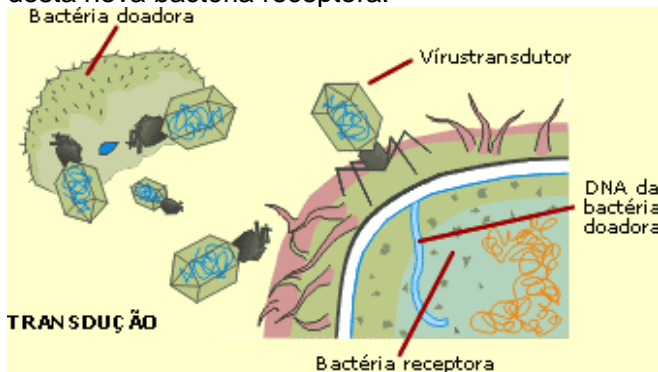
Após os experimentos de Frederick Griffith, em 1928, era necessária uma demonstração convincente de que o DNA – e não as proteínas – era, realmente, o material responsável pela hereditariedade.

Esta confirmação veio por meio do uso de um vírus bacteriófago (T2). Supunha-se que a infecção do fago (vírus) na bactéria se daria na introdução de informações que permitiriam sua posterior reprodução. O fago tem uma estrutura extremamente simples, resumindo-se ao envelope viral protéico preenchido com o seu DNA. Utilizou-se um tipo de marcação radioativa para a cabeça protéica do fago, e outra para o DNA. O próximo procedimento foi infectar células de *Escherichia coli* com culturas de fagos diferentes. Depois do tempo necessário para a infecção, as células bacterianas eram recuperadas e centrifugadas a fim de que pudessem ser liberadas dos “fantasmas” (estrutura protéica da cabeça do fago vazia). A radioatividade era então medida. Nas culturas de fagos marcados com material para identificar o DNA, a radioatividade aparecia ou dentro da célula ou na prole de fagos, fornecendo evidências de que o DNA penetrava nas células. Por outro lado, a radiação oriunda do material que marcou a capa protéica estava sempre presente nos fantasmas dos fagos, mostrando que a proteína do fago não penetrava na célula de *E. coli*. Com este experimento, demonstrava-se que a informação hereditária era transmitida pelo DNA, e não pela proteína.

1952 – Transdução: O vírus é a estrela da vez...

Ainda em 1952, Lederberg and Zinder descreveram a transdução, transferência de informações genéticas por vírus.

Transdução é um dos mecanismos de transferência gênica, no qual DNA bacteriano é transferido de uma linhagem para outra por meio de um vírus bacteriófago. O DNA é incorporado pelo fago (vírus) em uma bactéria doadora na qual ele está se replicando e após a infecção de uma nova linhagem este DNA é liberado dentro desta nova bactéria receptora.

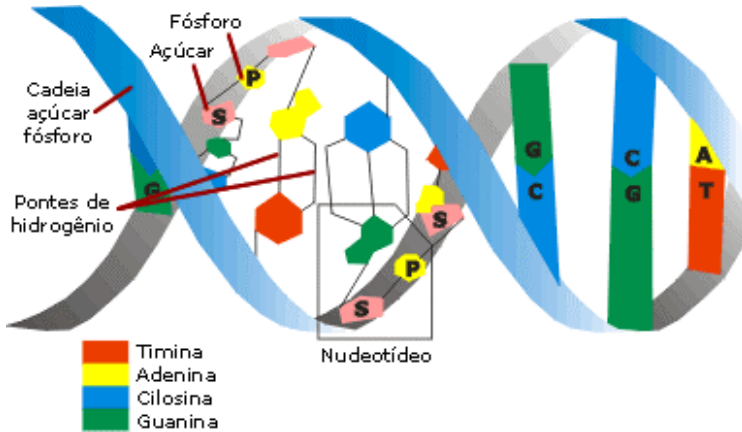


Amabis e Martho

1953 – O modelo da dupla hélice para o DNA... Um marco histórico!

Crick and Wilkins, junto com Watson, propuseram o modelo da dupla hélice do DNA. Watson e Crick identificaram a estrutura em dupla hélice do DNA após analisar uma imagem da molécula por difração de raios X

realizada por Rosalind Franklin. Crick, Wilkins, e Watson receberam o prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1962.



1954 – O Cromossomo é “circular”!?

Jacob e Wollman realizaram experiências que esclareceram o mecanismo de conjugação bacteriana e apresentaram evidências da natureza circular do cromossomo de *Escherichia coli* analisando os resultados destas experiências.

1958 – Replicação do DNA

Com relação ao mecanismo da replicação do DNA, os trabalhos de Meselson e Sthal confirmam a hipótese de Watson e Crick que cada dupla hélice filha teria um filamento parental e outro recém-sintetizado, ou seja, a replicação do DNA é feita de modo semiconservativo.

Final da década de 1950 – DNA polimerase: Uma ferramenta imprescindível até hoje!

No final da década de 1950, Arthur Kornberg identificou e purificou a enzima DNA polimerase. Verificou-se que a replicação do DNA era auxiliada por inúmeros tipos de enzimas e fatores, mais tarde revelados, tais como: DNA topoisomerases, helicases, proteínas de proteção contra degradação do DNA quando na forma monofilamentar (SSB), ligases, primases etc. (KORNBERG, 1980).

1961 – RNA e a síntese de proteínas.

O sul-africano Sydney Brenner, o francês François Jacob e Matthew Meselson descobrem que um tipo de RNA (o RNA mensageiro, ou mRNA) leva a informação genética "inscrita" na dupla hélice para a maquinaria celular que produz proteínas. Francis Crick e Jacques Monod tiveram também participação nessa descoberta.

O norte-americano Marshall Nirenberg anuncia a comprovação experimental de que uma seqüência de bases específicas, uma seqüência de aminoácidos revela o conteúdo da primeira "palavra" do chamado código genético (três bases uracila correspondem ao aminoácido fenilalanina).

1962 – A Recombinação entre os Genes... Até onde eles vão?

Uma idéia mais compatível com a estrutura do DNA, recém-proposta por Watson e Crick, veio com Benzer, por meio do estudo de mutantes do fago T4. Segundo ele, os genes seriam compostos de pequenas unidades, os “recons”, em que a recombinação poderia ocorrer entre eles, mas não dentro deles. A idéia anterior era de que o gene seria a menor unidade de recombinação. Benzer criou ainda os termos “muton” (menor unidade de mutação) e “cístron” (menor unidade de função).

1966 – O Código Genético: As “Palavras” estão aí ... O desafio agora é: Como decifrá-las?

Grupos de pesquisa liderados por Marshall Nirenberg e pelo indiano Har Gobind Khorana decifram, com outros pesquisadores dos EUA, da Inglaterra e da França, a série completa de "palavras" do código genético.

1968 – Enzimas de restrição: Sem elas seria impossível tentar compreender uma molécula tão complexa e imensa como o DNA de uma só vez...

Daniel Nathans e Hamilton Smith, dos EUA, e Werner Arber, da Suíça, descrevem as nucleases de restrição, enzimas que reconhecem e cortam seqüências curtas específicas de DNA em pontos determinados.

1970 - Transcriptase Reversa: O vírus é novamente a estrela da vez!

Temin and Baltimore identificaram a transcriptase reversa em RNA de vírus. A transcriptase reversa é uma enzima que utiliza a fita única de RNA como modelo para a produção de uma fita de DNA, que seria complementar àquele RNA. Esta descoberta demonstrou a possibilidade de novas informações sobre DNA e RNA. Temin, Baltimore, e Dulbecco receberam o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia em 1975.

1972 – Splicing: Um verdadeiro “Manual de Instruções” que facilita a nossa vida

É sabido que o DNA contém as informações necessárias para o funcionamento dos organismos. Esse “manual de instruções”, porém, precisa ser interpretado pelas células, por meio de um mecanismo que envolve diversas – e complexas – etapas. Um papel fundamental nesse mecanismo cabe a um processo denominado splicing, sem o qual as instruções não poderiam ser lidas. O splicing não só organiza tais instruções, eliminando partes que

não interessam, mas ainda permite selecioná-las, de modo que o mesmo gene forneça diferentes instruções para as células.

Até a pouco tempo atrás, pensava-se que os genes celulares eram compostos por arranjos contínuos de nucleotídeos. Somente em 1977 descobriu-se a existência de genes interrompidos. Assim, quando se olhava o DNA, percebia-se que o gene possuía mais nucleotídeos do que aqueles encontrados no mRNA (necessários para a produção de proteínas).

Hoje, sabe-se que os transcritos primários de RNA contêm a cópia de toda seqüência presente no DNA e que algumas partes dessa seqüência são recortadas dessa molécula de forma a produzir o RNA funcional.

As seqüências que são retiradas do transcrito primário foram chamadas de íntrons e aquelas que permaneceram como parte do RNA funcional, exons.

O splicing consiste na retirada dos íntrons de um RNA precursor, de forma a produzir um mRNA maduro funcional.

Este processo foi descrito pela primeira vez por Mertz e Davis em 1972.

1972 – DNA Recombinante: Aqui começa o verdadeiro fascínio dos cientistas!

O norte-americano Paul Berg obteve as primeiras moléculas de DNA recombinante, unindo DNA de diferentes espécies e inserindo esse DNA híbrido em uma célula hospedeira. Junto com Gilbert e Sanger, Berg recebeu o Nobel de Química em 1980.

1975 – Southern Blotting: O DNA começa a ser visto pelo “avesso”.

Southern descreveu um novo instrumento analítico envolvendo a transferência de fragmentos de DNA por capilaridade por gel de agarose para membrana resultando em réplica exata do fragmento de DNA isolado. Detecta polimorfismo de DNA ou mutação.

1976 – Insulina Humana: A Biologia Molecular começa a incomodar e ao mesmo tempo trazer benefícios à sociedade...

Criada a primeira companhia de engenharia genética, a Genentech. Produz a primeira proteína humana em uma bactéria geneticamente modificada e, em 1982, comercializa a primeira droga recombinante, insulina humana.

1977 – Íntrons: Quem são eles e o que eles fazem?

Os britânicos Chow and Roberts e o norte-americano Phil Sharp descrevem, independentemente, que genes de organismos eucarióticos (e não procarióticos) são interrompidos por regiões chamadas íntrons, que não especificam aminoácidos para a formação de proteínas. Roberts e Sharp ganharam o Nobel em Medicina e Fisiologia de 1993.

1977 – Seqüenciamento de DNA: “As Palavras” começam a ser colocadas em ordem!

Gilbert and Sanger desenvolveram métodos independentes para determinar um nucleotídeo na seqüência de DNA. Sanger e seus companheiros utilizaram o método desenvolvido por eles para determinar a seqüência completa de nucleotídeos de um vírus bacteriófago. Este foi o primeiro genoma a ser seqüenciado. Junto com Berg, Gilbert and Sanger receberam o Prêmio Nobel em Química de 1980.

1980 – Início da comercialização: Política x Ciência x Sociedade

David Botstein, Ronald Davis, Mark Skolnick e Ray White, dos EUA desenvolveram uma técnica baseada no uso de enzimas de restrição para fragmentar o DNA. A técnica foi importante para o Projeto Genoma Humano.

A Suprema Corte dos EUA decide que formas de vida alteradas podem ser patenteadas.

Kits de Biologia molecular começaram a ser produzidos por indústrias de biotecnologia.

1985 – DNA fingerprint: O RG do DNA agora com impressão digital!

O britânico Alec Jeffreys publica artigo em que descreve técnica de identificação que ficou conhecida como "impressão digital" por DNA ("DNA fingerprint"), que permitiu a elucidação mais precisa de vários crimes.

1985 – PCR: De um simples (muito simples) fragmento a bilhões de cópias!

Publicado artigo do norte-americano Kary Mullis que descreve o método PCR (reação em cadeia de polimerase, em inglês), que possibilita a obtenção rápida de bilhões de cópias de um segmento específico de DNA. Mullis ganhou o Nobel em Química em 1993.

1985 – Terapia Gênica: A primeira “luz no fim do túnel” para as mais diferentes e cruéis enfermidades que arrasam seus portadores e suas famílias...

Os NIH dos EUA aprovaram diretrizes gerais para a realização de experimentos com terapia genética em seres humanos.

1988 – Patente: Uma novidade para os cientistas?

Nos EUA, Philip Leder e Timothy Stewart obtiveram primeira patente para um animal geneticamente modificado, um camundongo altamente suscetível ao câncer de mama.

1989 – Instituto Nacional para Pesquisa do Genoma Humano

Criação nos EUA do Instituto Nacional para Pesquisa do Genoma Humano (NHGRI), chefiado por James Watson, para determinar toda a seqüência do DNA que compõe os cromossomos humanos.

1990 – Projeto Genoma Humano: Um salto impensável para Watson e Crick!

Início formal do Projeto, um esforço para "find all the genes on every chromosome in the body and to determine their biochemical nature" – descrever todos os genes encontrados no cromosomas do corpo humano e determinar sua natureza bioquímica.

1990 – Utilizando a Terapia Gênica: Vislumbra-se um primeiro fio de esperança!

Pela primeira vez é utilizada, com sucesso, a terapia genética, em uma menina de quatro anos com um tipo de deficiência no sistema imunológico chamado ADA.

1995 – Haemophilus influenza seqüenciada

Craig Venter, Smith, Fraser e companheiros publicam, pela primeira vez o genoma completo de um organismo não viral, a bactéria Haemophilus influenza.

1996 – Dolly: Para muitos cientistas... Um segundo marco histórico!

Nascimento da ovelha Dolly, primeiro mamífero clonado a partir de uma célula de um animal adulto pelo Instituto Roslin (Escócia) e pela empresa PPL Therapeutics. Só em fevereiro do ano seguinte o feito foi divulgado. Dolly morreria de envelhecimento precoce em fevereiro de 2003.

1996 – Mapeamento genético completo do camundongo.

1998 – Caenorhabditis elegans: O primeiro multicelular e seu genoma!

O britânico John Sulston e o norte-americano Robert Waterstone seqüenciaram o genoma do verme C. elegans, primeiro organismo multicelular a ter o seu DNA transcrito.

1999 – Primeiro cromossomo humano seqüenciado

Pesquisadores do Projeto Genoma Humano publicaram o seqüenciamento completo do DNA encontrado no cromossomo 22.

2000 – Genoma Humano! - Mas ainda é apenas um rascunho

Pesquisadores do consórcio público Projeto Genoma Humano e da empresa privada norte-americana Celera anunciam o rascunho do genoma humano, que seria publicado em fevereiro de 2001.

2000 – Genoma da Xylella fastidiosa: O “amarelinho” dos cítricos e os cientistas brasileiros pela primeira vez na capa da Revista Nature!

No Brasil, pesquisadores paulistas anunciam o seqüenciamento do genoma da bactéria Xylella fastidiosa, a causadora da doença do amarelinho em cítricos. O artigo foi destacado na capa da revista "Nature".

Atividade Extra

Hipócrates já dizia...

Por mais surpreendente que possa parecer, **um dos grandes obstáculos para se compreender a natureza é a incapacidade de se formular a pergunta apropriada.** Os filósofos e pesquisadores gregos na antiguidade já sabiam que o questionamento a ser feito era a chave para desvendar os muitos mistérios que percorriam suas mentes já naquela época. Muitas questões precisavam de respostas. Uma delas era a questão da hereditariedade.

“Qual é a natureza da hereditariedade?” Era a grande questão a ser respondida.

Desde Hipócrates (~410 a.C.), na Grécia antiga, esta questão vem povoando a imaginação de muitos estudiosos. Hipócrates, considerado o Pai da Medicina, poderia também ser aceito como um dos Pais da Genética. Por volta do ano 410 a.C., ele propôs a pangênese como uma hipótese para explicar a hereditariedade. A pangênese admitia que a hereditariedade baseava-se na produção de partículas por todas as partes do corpo e na transmissão dessas partículas para a descendência no momento da concepção. Darwin iria adotar essa mesma hipótese muitos séculos depois, tendo a pangênese permanecido como a única teoria geral de hereditariedade até o final do século XIX. Hipócrates propôs também o conceito de hereditariedade de caracteres adquiridos.

Por sua vez, um pouco mais tarde, Aristóteles (~350 a.C.), embora admitisse que a hipótese de Hipócrates estivesse correta em alguns pontos, criticou outros e propôs novas reflexões que até hoje são consideradas no estudo da hereditariedade.

Aristóteles admitia a existência de uma base física da hereditariedade no sêmen produzido pelos pais. Esse ponto, tão óbvio nos dias de hoje, foi fundamental para todo trabalho posterior na área. Essa idéia permitiu que se deixasse de atribuir à hereditariedade uma base sobrenatural ou emocional e se passasse a pensá-la como resultado da transmissão de algum tipo de substância pelos pais. Naquela época (350 a.C.), cerca de quatro séculos antes de nossa era, sabia-se muito pouco a respeito da natureza do sêmen. Aristóteles usou o termo “sêmen” como nós usamos gametas atualmente e não para designar a secreção dos machos que contém os espermatozoides. O papel dos gametas na reprodução só foi estabelecido em meados do século XIX. Estes e muitos outros argumentos levaram Aristóteles a rejeitar a pangênese e a perguntar: “Por que não admitir diretamente que o sêmen... origina o sangue e a carne, ao invés de afirmar que o sêmen é ele próprio tanto sangue quanto carne?”

Durante os séculos XVIII e XIX, o procedimento padrão de se procurar informações a respeito de hereditariedade era por meio de cruzamentos e retrocruzamentos (experimentos de **retrocruzamento** são realizados até os dias

de hoje apenas entre espécies pertencentes ao reino vegetal e espécies do reino animal consideradas “cobaias” (drosófilas e camundongos), por questões éticas e de co-sanguinidade). Eram feitos cruzamentos entre indivíduos com estados contrastantes das características e a descendência era analisada. Até hoje esse é um dos procedimentos mais poderosos para se obter informações a respeito de hereditariedade.

Mas a questão promordial - “Qual é a natureza da hereditariedade?” - continuou sem resposta durante muitos séculos. Pouco progresso foi feito no campo da hereditariedade até o final do século XIX. Assim, poucas coisas relevantes no campo do estudo da hereditariedade aconteceram no período entre Aristóteles (384-322 a.C.) e Gregor Mendel (1822-1884), mas nesse período foram estabelecidas as bases da investigação científica.

Os experimentos mais famosos de Mendel foram realizados com ervilhas de jardim, no monastério onde vivia. Foi a partir dessas experiências que ele estabeleceu as leis que hoje levam seu nome: Mendel realizou centenas de cruzamentos entre plantas de características diferentes, porém da mesma espécie, anotando os resultados e observando que certas características das plantas resultantes de sucessivos cruzamentos predominavam em proporção constante.

Ele concluiu que, ao contrário de outros organismos que se reproduzem sexualmente, as plantas das ervilhas produzem sua prole por meio da união de gametas – células reprodutivas, ou seja, espermatozoides no homem e óvulos na mulher.

Embora a questão da hereditariedade seja bem mais complicada do que o cruzamento de ervilhas, Mendel descobriu um princípio genético fundamental: a existência de características como a cor das flores que, segundo ele, é devida a um par de unidades elementares de hereditariedade, hoje conhecidas como genes.

As famosas Leis de Mendel:

1. A primeira lei também é conhecida por princípio da segregação dos caracteres, em que as células sexuais, femininas ou masculinas, devem conter apenas um fator para cada característica transmitida.

2. A segunda lei trata do princípio da transferência dos caracteres, isto é, cada característica hereditária é transmitida independentemente das demais.

3. Na terceira lei, Mendel formulou os conceitos da dominância, em que os seres híbridos apresentam um caráter dominante que encobre segundo determinadas proporções o chamado caráter recessivo.

Mendel apresentou seu trabalho para uma sociedade de ciência natural local em 1865 em um artigo intitulado “Experiments with Plant Hybrids.”

Para ver o trabalho original de Mendel (em inglês) acesse:

http://www.geocities.com/joab_br/mendel/gm-65.pdf

Em 1900, pesquisas independentes realizadas por outros pesquisadores confirmaram os resultados de Mendel. Observando os trabalhos ao longo do tempo, notamos uma pequena mudança a cada passo do estudo da hereditariedade, incluindo e questionando as hipóteses e os postulados propostos ao longo da história do conhecimento.

Proposição não evidente nem demonstrável que se admite como princípio de um sistema dedutível, de uma operação lógica ou de um sistema de normas práticas. (Novo Dicionário Aurélio)

Qualquer seleção de proposições pode constituir um conjunto de postulados. O termo ‘postulado’ só tem significado se relacionado com um processo de investigação.

http://blogexperimental.blogs.sapo.pt/arquivo/2004_05.html

Os postulados não precisam ser comprovados experimentalmente. Pelo contrário, são proposições que podem levar a construção de teorias.

QUESTÕES

1. Identifique e descreva os paradigmas quebrados durante este período por Aristóteles e depois por Mendel.
2. Considerando estas informações discuta a importância da quebra de paradigmas na Ciência.

Paradigmas

Como diz Popper (Karl Raimund Popper – 1902/1994, filósofo da ciência, nascido na Áustria e naturalizado inglês): “cada problema surge da descoberta de que algo não está de acordo com nosso suposto conhecimento; ou, examinado em termos lógicos, da descoberta de uma contradição interna entre nosso suposto conhecimento e os fatos.”

As hipóteses provisórias são, então, submetidas a testes que ofereçam as mais severas condições para a crítica. Mas os únicos testes possíveis são aqueles que, eventualmente podem mostrar que a hipótese é falsa. **Não existe maneira em ciência de se mostrar que uma hipótese é correta ou verdadeira.** Assim, as hipóteses científicas se credenciam por meio de **testes de falseabilidade**. Isso quer dizer que **em ciência, podemos ter certeza quando estamos errados, mas nunca poderemos ter a certeza de estarmos certos.**

Segundo Bombassaro (Luis Carlos Bombassaro, professor de filosofia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul): “Especialmente em ciência, aquele que julga ter encontrado uma resposta conclusiva dá mostras não

somente de seu fracasso, mas também do fracasso da própria ciência. Aquele que for incapaz de transpor os limites do pensamento dogmático, impostos pela educação científica formal, e não aceitar o jogo do pensamento crítico está longe de fazer ciência, pois não poderá resistir à constante transformação das teorias, à mudança conceitual e ao cada vez mais célere avanço do conhecimento.”

A contribuição de Thomas Kuhn (1922/1996 - físico e filósofo americano)

No livro *The Structure of Scientific Revolutions*, publicado em 1962, Thomas Kuhn defendeu a idéia de que o progresso em ciência se dá em duas etapas que poderíamos caracterizar como ajustes e mudanças drásticas, ou, para ser mais atual, por um equilíbrio pontuado. Kuhn salienta que, de tempos em tempos, ocorre uma revolução na maneira como os cientistas vêem seus problemas de pesquisa e os tipos das observações e experimentos que devem realizar. Alguma grande idéia, audaz e insólita, os leva a ver os dados existentes sob uma nova perspectiva, sugerindo um novo programa de pesquisa. Estas grandes idéias são, na terminologia de Kuhn, **paradigmas** – “as realizações científicas reconhecidas universalmente que durante um certo tempo fornecem modelos de problemas e soluções para uma comunidade de cientistas.”

Quer saber mais sobre isso? Acesse:

<http://dreyfus.ib.usp.br/bio201/texto1.pdf>

Atividade Extra

Eram os genes astronautas?

O nome “**gene**”, não caiu do céu. É uma criação humana, para dar conta de um novo tipo de pensamento.

Ele foi criado pelo biólogo dinamarquês Wilhelm Johannsen, em 1909, para denominar os “pares de fatores” de Mendel e as ‘gêmulas’, unidades da hereditariedade criadas pelo naturalista inglês Charles Darwin (1809-1882), adotadas no lugar dos ‘determinantes’ criado pelo biólogo alemão August Weismann (1834-1914), que, por sua vez, substituíram ‘pangenes’ propostos pelo geneticista holandês Hugo de Vries (1848-1935) que se inspirou em Hipócrates para cunhar o termo.

Etimologicamente, o nome gene origina-se de *génos*, radical do verbo grego *gígnesthai*, que significa “nascer”. Assim, *génos* pode ser entendido como “origem”, “o que gera”, “o que produz”. Desde Mendel até os dias atuais, as definições de gene têm se modificado. Os “Genes”, que no início eram “Pares de Fatores” mendelianos, constituíam-se, desta forma, em objetos construídos, sendo sua existência material só entendida dentro de uma teoria.

Com essa nova palavra, evitava-se o preconceito e assim abria-se a possibilidade do avanço do conhecimento científico nessa área. Gene é a palavra que abre a possibilidade para uma revolução – revolução no sentido utilizado pelo filósofo norte-americano Thomas Kuhn (1922-1996), em que novas premissas (paradigmas ou teorias) requerem a modificação das antigas teorias e a reavaliação dos fatos conhecidos. Essa não é uma mudança fácil ou simples. A ela se opõe a comunidade científica estabelecida, pois são os integrantes dessa comunidade os criadores das teorias vigentes a serem testadas, até que apresentem fraquezas reconhecidas pelos cientistas.

O conceito original continua válido. *Genes são entidades responsáveis pela transmissão das características de uma geração a outra.*

Estes pares de fatores começaram a ganhar materialidade com a teoria cromossômica de herança, como “contas em um colar”, até que a elucidação da estrutura do DNA lhes deu um corpo molecular. É assim, que estes pares de fatores ganham materialidade. **A perspectiva molecular parecia destinada a uma menor instabilidade.**

Contudo, ao contrário de correntes filosóficas que, de um modo geral, permanecem fechadas em suas verdades primeiras, **as ciências estão abertas, sujeitas a novos fatos.** Estes vêm e denunciam que os genes apresentam um comportamento mais complexo do que se podia sonhar.

A decifração do código genético, na década de 1960, trouxe novas e instigantes questões: “Toda seqüência de DNA é um gene? Qual é o papel do DNA que não codifica proteínas? Na molécula de DNA, onde começa e onde termina um gene?”

A existência de inúmeros processos moleculares passa a inviabilizar a aceitação passiva de definições de gene baseadas em seqüências definidas de DNA ou a partir de uma visão estática, ou mesmo única, para o gene. Estas visões não mais se sustentam, sendo reformuladas diante de uma nova realidade.

Gene também já foi definido, mais recentemente, como *uma seqüência de DNA que codifica (transcreve) moléculas funcionais de RNA.* O “início” de um gene é definido por uma região do DNA chamada **região promotora** ou simplesmente **promotor**, na qual há uma seqüência de bases (iniciadora) que marca o início da transcrição.

O término do processo é definido por outra seqüência de bases - **região terminadora.** Há grandes seqüências de DNA localizadas entre os genes e que nunca são transcritas. Algumas delas participam da ativação e da desativação dos genes e do controle da transcrição.

Mas será que estas definições e explicações satisfazem todas as dúvidas referentes à presença de estruturas com funções ainda não definidas? Qual o papel do DNA que não codifica proteínas? Toda seqüência de DNA é um gene? Onde começa e onde termina um gene?

Acredita-se, então, que esta situação pode ser melhor compreendida de duas formas:

1. Com a adoção de uma lógica que permita uma visão mais ampla e aberta, que reconheça o gene como um processo, que assuma a contradição e a totalidade, a mediação recíproca e o movimento; que enxergue a realidade dos fenômenos e não das coisas. Em síntese, uma lógica dialética;

2. Percebendo que o gene volta às suas origens, ou seja, só pode ser entendido como objeto construído racionalmente. Sua real existência é dependente dos modelos teóricos que lhe dão sentido. Fora destes modelos este objeto não se sustenta. Sua utilidade teórica se dissipa.

Todos esses termos, considerados à época, conceituais, estavam ligados de alguma forma a teorias da hereditariedade preformacionistas. A teoria do preformacionismo já não era mais coerente com o conhecimento da época de Johannsen.

O preformacionismo sugeria que as gerações de novos seres se formavam a partir de pequenos seres (microscópicos ou não) pré-formados que apenas cresceriam dando origem a seres maduros. Este conceito se manteve até o início do século XIX, quando ainda era defendido por Charles Darwin.

QUESTÃO

Discuta sobre a importância da criação do termo GENE para o avanço do conhecimento científico na área.

Atividade Extra

Atividade: O show não pode parar...

O DNA é a molécula que carrega a informação genética. Para que isto possa ocorrer sem grandes riscos de erros, estas informações devem ser passadas ao longo das gerações de seres e para cada célula do organismo e suas mais diferentes funções.

Refleta e responda mentalmente: que processo ou quais processos permite(m) que estas informações contidas no DNA passem de uma célula para outra, de geração para geração, perpetuando as espécies e ainda mantendo a maioria das características e funções intactas?

Ainda que possa parecer, esta não é uma pergunta muito difícil, mas envolve todo um processo que parece ter sua razão de ser, ou seja, até que alguém demonstre algo diferente, pois estamos trabalhando com conceitos baseados em modelos...

A formação de novas moléculas de DNA deve garantir a integridade das informações que elas carregam. Por isso cada etapa desta replicação deve ser revista. E para garantir que as informações originais não se percam este processo é semi-conservativo. A replicação onde ocorre separação das duas fitas de uma molécula parental de DNA, exposição das bases nitrogenadas e subsequente formação de duas novas moléculas em dupla-hélice é conhecida como **semi-conservativa**, pois cada nova molécula irá conter um filamento parental e outro recém sintetizado.

A replicação de uma molécula de DNA tem início nas **origens de replicação (ori=seqüências específicas de nucleotídeos reconhecidas por enzimas)**.

Bactérias possuem apenas uma ori. Os Eucariontes apresentam centenas ou milhares de oris em cada cromossomo.

A replicação, mesmo que de uma seqüência de DNA (genoma) **linear** relativamente pequena, como o de alguns tipos de vírus, por exemplo, costuma se iniciar a partir de um ponto interno no genoma.

O DNA **circular** das bactérias também se replica a partir de um único ponto (e, necessariamente, interno).

Seqüências de DNA (genomas) maiores apresentam múltiplas origens de replicação. Para cada lado da origem a replicação avança, de tal forma que duas "forquilhas" acabam se encontrando.

Antes de mais nada, para que todo o processo se inicie, a dupla hélice de DNA precisa girar e desenrolar-se. Nesta etapa entram em ação as DNA-topoisomerasas, enzimas capazes de "fazer o DNA girar". Após essa etapa, é necessário que ele "se desenrole"... Entram em ação as **helicases**.

OBS. Para prevenir a degradação das fitas que ficam abertas e expostas, mesmo que por um pequeno intervalo de tempo, atuam as **SSBs** (proteínas que se ligam a fitas simples de DNA).

Fitas abertas, bases expostas, entram em ação as DNA polimerases.

Inicia-se, então a síntese de uma nova fita complementar para cada fita original. Uma contínua e outra descontínua, formada a partir de fragmentos de bases chamados de **Fragmentos de Okazaki**. A ligação de todos os *fragmentos de okazaki* ocorre através da ação da **DNA ligase**.

OBS. Erros que por ventura vierem a ocorrer durante o processo de ligação *fragmentos de okazaki* são corrigidos pela **DNA polimerase**.

Cada vez que um trecho suficientemente longo de **DNA fita simples** está disponível, inicia-se a síntese de um novo *Fragmento de Okazaki*, de dentro para fora da forquilha. Após sua síntese uma enzima liga o fragmento recém sintetizado ao fragmento sintetizado anteriormente.

Esta forma engenhosa a síntese das novas fitas de DNA é sempre feita no sentido 5'→3'.

Lembre-se: Cada uma das duas fitas de uma molécula de DNA é utilizada individualmente como *molde*, e cada uma das duas fitas novas sintetizadas estará ligada ao seu molde.

O início da síntese das fitas novas se faz a partir do ponto de origem de replicação (*ori*), onde o DNA se abre para que a cópia das novas fitas possa “começar a agir”.

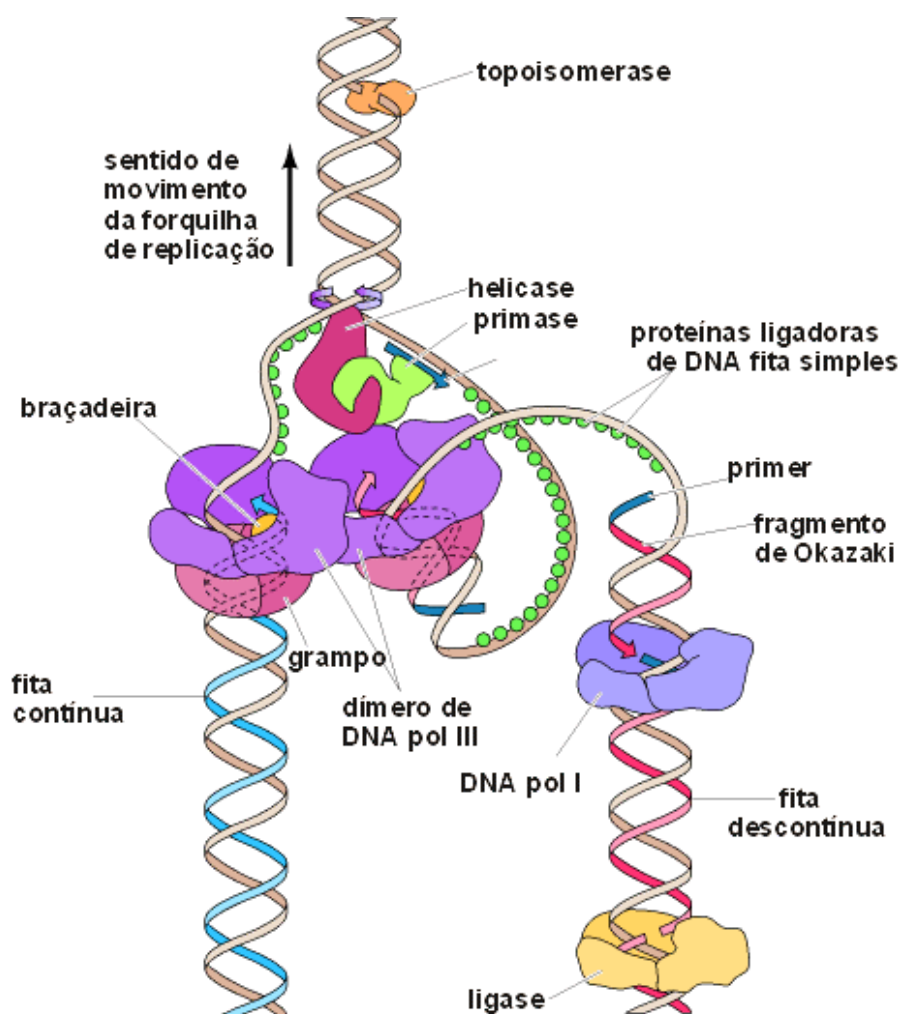
O processo requer um fragmento curto de DNA ou RNA, com a extremidade 3'OH livre, em fita simples ligado à fita molde, onde a enzima começará a “encaixar” os nucleotídeos. Esse fragmento, chamado de **primer ou iniciador**, é sintetizado por uma outra enzima, a **primase**.

A consequência final deste mecanismo de adição de *primers ou iniciadores* antes da extensão das fitas novas é que haverá **trechos de RNA entre longos segmentos de DNA na fita descontínua**. E mesmo na fita contínua haverá pelo menos um *primer de RNA* seguido de toda a fita feita com DNA. **Será esta a situação final do DNA fita dupla replicado?**

É evidente que não. **Heterohíbridos RNA-DNA não são estáveis**. Eles têm que ser retirados do DNA maduro. Para isto entra em ação a **atividade corretora da enzima DNA polimerase I** (até agora vínhamos falando de uma DNA polimerase sem citar sua denominação completa, que é **DNA polimerase III**).

A **DNA polimerase I** reconhece “defeitos ou erros” diversos no DNA, inclusive a presença de RNA, mesmo que pareado ao DNA (neste caso a base nitrogenada Timina é substituída pela Uracila). Através de uma atividade **exonucleotídica 5'-3'**, a **DNA polimerase I** retira o primer, ao mesmo tempo em que, empregando a hidroxila livre da extremidade 3' do Fragmento de Okazaki já sintetizado e situado na extremidade 5' do sítio reparado, resintetiza o espaço deixado, desta vez com DNA. Por fim a **enzima ligase** completa a ligação entre os fragmentos de Okazaki.

A figura a seguir mostra um modelo de replicação mais completo do que os habitualmente representados nos livros. É preciso entender aqui que a forquilha não existe de fato, mas sim no contexto de uma **replicação bidirecional**, em que **duas forquilhas**, apontando em **sentidos opostos**, se abrem e permitem a replicação do DNA.



http://150.161.28.140/professores/ppa/biolmol/aula2_DNAestrutrep.htm

Figura: Representação da forquilha de replicação, onde estão mostradas as principais enzimas e cofatores que formam o complexo de replicação (replicossomo): **DNA polimerase III** (duas moléculas), **RNA primase** e **helicase**. A **helicase** é uma **topoisomerase**, responsável pela **abertura da forquilha**. As duas **DNA polimerase III** mostradas trabalham de fato em conjunto, na mesma direção; para isto a fita de DNA que é replicada descontinuamente forma uma alça e a **DNA polimerase III** nesta fita periodicamente "larga" a fita e retoma o serviço num ponto mais interno. (figura extraída do livro *The Cell: A molecular Approach*, de J. Cooper, Sinauer Assoc. Co., disponível on-line no [Bookshelf](#) do NCBI)

Ora, a **primase não adiciona primers no início dos cromossomos lineares**. Sendo assim, de que forma se replicam as **pontas dos cromossomos**?

Sabemos que **cromossomos têm muitas origens de replicação**, mas o "problema da ponta" persiste. Se não é possível adicionar um primer, então **as pontas dos cromossomos vão sendo encurtadas, porque não seria possível replicá-las**. Isto de fato acontece: na **fita descontínua, sintetizada a partir do molde de DNA simples parental**, um primer é adicionado um pouco antes do final do molde pela **DNA primase**, após a síntese do fragmento de Okazaki correspondente, o **primer é retirado**, sobrando um pequeno trecho a ser recomposto. **Se isto não ocorrer, e de fato não ocorre, a fita simples de DNA será eliminada e o DNA ficará mais curto um pouco. Ao longo de múltiplas replicações a tendência seria desaparecer o cromossomo!**

Os eucariotos, que têm cromossomos lineares, possuem uma enzima, chamada **telomerase**, que **adiciona uma seqüência de bases definida**, repetindo muitas vezes esta operação, **cada vez que detecta um encurtamento significativo da extremidade de um cromossomo**. Neste processo a integridade do cromossomo é garantida. **Por isso também as extremidades de todos os cromossomos de uma mesma espécie eucariota são iguais e formadas pelos telômeros.**

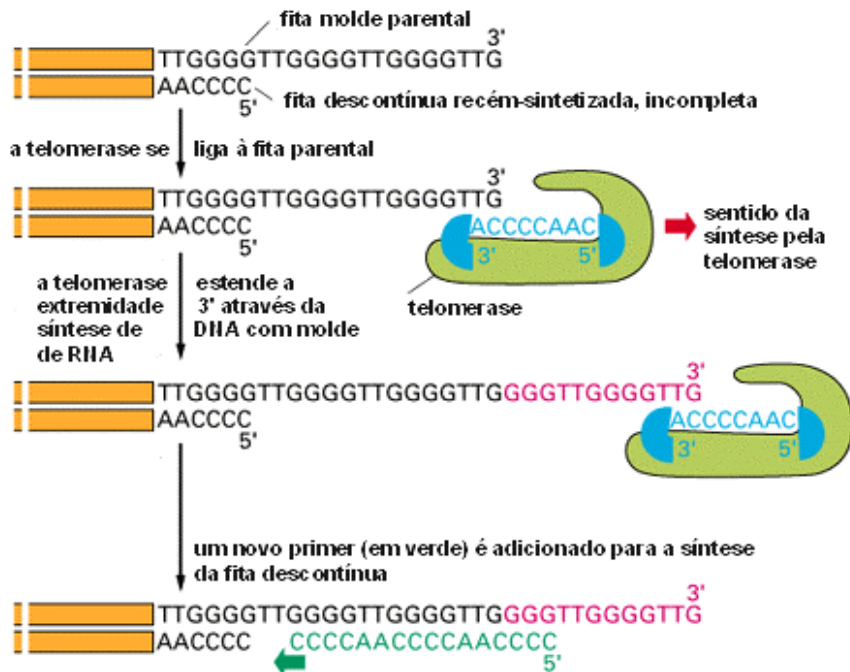


Figura: Replicação telomérica: a figura identifica as reações envolvidas na formação de seqüências ricas em G (base Guanina), que formam as extremidades dos cromossomos (telômeros). A **fita incompleta é sempre descontínua**, recém sintetizada e iniciada num **primer de RNA**, já retirado na figura. Como indicado, a **telomerase** é um **complexo RNA-proteína** que têm um molde de RNA para a síntese de uma **seqüência de DNA rica em G**. Estas repetições têm a seqüência GGGTGG em *Tetrahymena* (um protozoário ciliado), GGGTTA em humanos e G₁₋₃A em *Saccharomyces*. A **telomerase apenas alonga a fita contínua, pela adição de um número variado de telômeros**. A **fita descontínua é então parcialmente completada pela DNA polimerase, que tem a primase como uma de suas subunidades** (figura baseada no livro *Molecular Biology of the Cell*, Alberts e cols., Garland Publ, também disponível no [Bookshelf](#) do NCBI).

Sobre as TOPOISOMERASES: (to convert = to isomerize)

Grupo de enzimas capazes de alterar topologicamente uma versão de DNA em outra. As **topoisomerasas** alteram o número de “linkages” do DNA, ou seja, o número de vezes que as cadeias ou fitas do DNA se espiralizam uma sobre a outra. (Lembre-se o modelo do DNA dupla hélice é “retorcido” sobre si mesmo várias e várias vezes, caso contrário não caberia dentro de uma célula qualquer).

Existem dois tipos de topoisomerasas: **Topoisomerase I e Topoisomerase II**.

Vale lembrar aqui que em alguns procariontes (caso específico das bactérias. Melhor exemplo já estudado até hoje: *E. coli*) a molécula de DNA é superespiralizada (DNA supercoil).

Nesse caso, para que as fitas se separem para o início do processo de replicação temos mais um “problema”, a superespiralização da molécula.

É aí que entra a **Topoisomerase II Procariótica**, também chamada de **DNA GIRASE**.

A GIRASE utiliza energia do ATP para “desespiralizar” o DNA, ou seja “girá-lo” ao contrário, para a esquerda, ou mais corretamente chamando, transformar o **DNA supercoil** em **DNA supercoil negativo**.

Em eucariontes a Topoisomerase II não é capaz de fazer isso sozinha, precisando de outras proteínas agindo conjuntamente.

Lembre-se que em eucariontes tudo é sempre mais complicado.

Essa ação da topoisomerase II (girase) é contrabalançada pela topoisomerase I.

Se a **topoisomerase II** é responsável por “girar o DNA ao contrário”, a **topoisomerase I** é responsável pelo **relaxamento** dessa “torção negativa” do DNA, caso contrário, ele se retorceria sobre si mesmo indefinidamente e a molécula ficaria eternamente “virada ao contrário”, ou seja, para a esquerda (supercoil negativo). Por esse motivo a topoisomerase I não necessita da energia do ATP. Ela entra em ação sempre que é necessário para “frear” a topoisomerase II.

Há um equilíbrio entre as duas topoisomerasas (I e II). Como elas estão diretamente envolvidas no início da replicação e por consequência na transcrição pode ocorrer um desequilíbrio. Como as bactérias se reproduzem com muita freqüência (ciclo de vida curto) **podem ocorrer mutações no gene TopA** que é quem expressa a proteína topoisomerase I, restabelecendo, através de mutantes, novamente os níveis desejáveis entre as duas topoisomerasas.

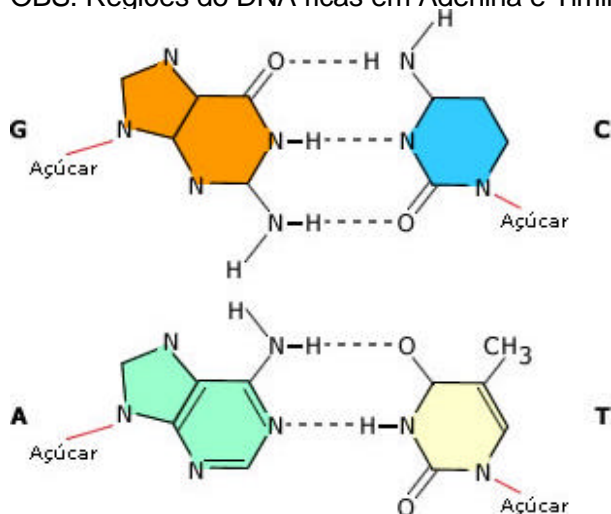
Esse processo ainda não é muito bem conhecido pela ciência, mas a bactéria, muito diferentemente e superior a nós mesmos, o faz sem maiores problemas.

Para que este processo tenha início as pontes de hidrogênio deverão se separar e, para que isto ocorra, uma série de fatores devem ser levados em consideração. Além da estrutura da própria molécula e de fatores externos como pH, temperatura e umidade, existem as enzimas que atuam na replicação da molécula de DNA.

As pontes ou ligações de hidrogênio que ligam as duas fitas do DNA são ligações covalentes “fracas”, ou seja, desnaturam-se facilmente, isso significa que se separam e religam-se novamente com muita facilidade. Tal fato justifica a complementaridade das fitas, ou seja, na replicação apenas uma das fitas é utilizada (fita molde), a outra permanece intacta. Caso ocorram erros durante o processo, uma das fitas ficará resguardada, daí a grande vantagem de serem duas fitas. As ligações, então, desnaturam e não se quebram, além disso, o processo tem que ser muito rápido (DNA não pode ficar muito tempo com as fitas abertas) e freqüente (“ligar e religar sem quebrar”). Essa desnaturação pode ocorrer com aumento de temperatura ou concentração de sal. Dessa forma tudo se encaixa: concentração de temperatura e/ou sal x interações hidrofóbicas x polaridade oposta x água. Qualquer desequilíbrio de um desses fatores é o sinal de que está na hora das fitas se abrirem para nova produção de fitas complementares.

Além disso, primeiro: ligações de covalentes de hidrogênio são doadoras naturais de hidrogênio (H+) e segundo: todos os nucleotídeos possuem uma extremidade hidroxila (OH-).

OBS. Regiões do DNA ricas em Adenina e Timina desnaturam -se mais facilmente. (duas ligações de hidrogênio).



Conseqüências:

Antiparalelismo: As pontes de hidrogênio só podem ser formadas adequadamente se as fitas forem antiparalelas, ou seja, complementares, mas não idênticas.

Os esqueletos açúcar/fosfato das duas fitas são antiparalelos, o que significa polaridade química oposta.

A estrutura em hélice, então, será estabilizada graças a vários fatores, entre eles:

- ligações covalentes que formam cada fita;
- interações hidrofóbicas entre as bases;
- ligações de hidrogênio entre as bases;
- Forças de Van der Waals devido ao empilhamento das bases;
- Interação de cátions com esqueleto açúcar fosfato.

Forças de Van der Waals = Força de atração não específica entre dois átomos com capacidade de fecharem-se sobre si mesmos (“atração fatal”). Não levando-se em conta a carga (positiva/negativa) dos mesmos, mas sim a proximidade entre as moléculas.

Reunindo estas informações, RESPONDA:

Por que é imprescindível garantir que as informações originais não se percam durante o processo de replicação?

Quer saber mais? Acesse:

Textos bastante didáticos sobre síntese e processamento de RNA:

<http://www.icb.ufmg.br/~lbcd/prodabi3/grupos/grupo1/index.htm>

Atividade Extra

Cromossomos... Quem somos?

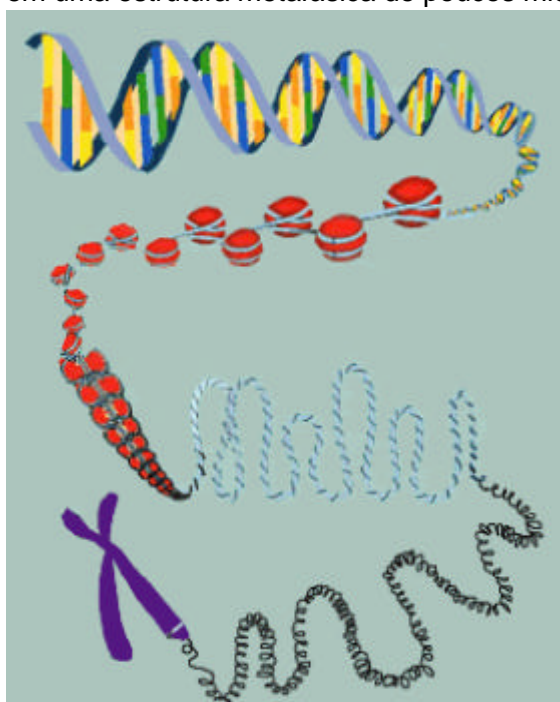
Os cromossomos de procariotos e eucariotos são bem diferenciados. Inclusive na sua organização dentro da célula. A organização da célula eucariótica favorece a divisão celular. Neste período deve ocorrer a mitose em células somáticas (com algumas exceções).

Os procariotos são monoploides, enquanto muitos dos animais e vegetais superiores são diplóides, tendo dois conjuntos de genes, um de cada progenitor. Há também várias plantas poliplóides, carregando várias cópias do genoma. A informação genética da maioria dos procariotos é armazenada em um único cromossomo.

Eucariotos possuem cromossomos são organizados de maneira particular. Na composição química da cromatina constam proteínas, DNA e RNA (este último em menor quantidade). As proteínas são de duas classes: (1) proteínas básicas, chamadas **histonas**; e (2) proteínas ácidas, chamadas de **proteínas cromossômicas não-histônicas**. As histonas desempenham um importante papel na estruturação do cromossomo. Tanto que sua proporção no núcleo é de 1:1 (peso/peso) em relação ao próprio DNA. Cada cromossomo é uma molécula de DNA. Ou seja, cada "perna" (cromátide) do cromossomo é formada por uma fita dupla de DNA e proteínas.

A estrutura da cromatina dos eucariotos é composta de subunidades repetidas chamadas **nucleossomos**. Estes consistem de um segmento de DNA de 146 pares de nucleotídeos de comprimento, enrolado em torno da superfície um tanto cilíndrica do octâmero de histonas, produzindo uma estrutura aproximadamente elipsóide.

Pelo menos cinco níveis de condensação são necessários para empacotar o DNA no cromossomo de eucariotos em uma estrutura metafásica de poucos micros de comprimento, como indicado na figura abaixo:



<http://www.biociencia.org/genetica/citogenetica.htm>

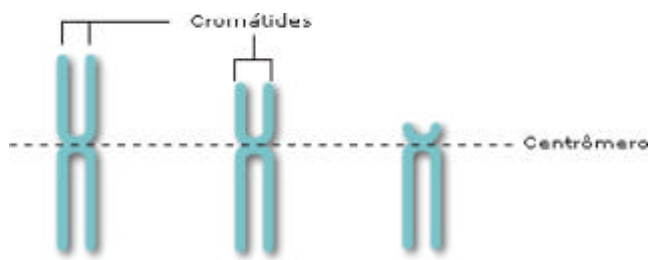
1. empacotamento do DNA como uma espiral em nucleossomos de aproximadamente de 10nm de diâmetro. Este passo envolve um octâmero de histonas (**b**).
2. estrutura de solenóide, um segundo nível de espiralamento, produzindo uma fibra de 30nm (**c**).
3. "loops" de solenóides, ligados a um esqueleto central protéico. Esta estrutura tem aproximadamente 300nm de diâmetro (**d**).
4. "loops" do esqueleto protéico, formando uma estrutura gigante, super enrolada, com 700nm (**e**).
5. Por fim, na sua máxima condensação, a cromátide cromossômica conta com cerca de 1400nm de diâmetro (**f**).

O estudo dos cromossomos, sua estrutura e sua herança denomina-se citogenética. A ciência da citogenética humana moderna data de 1956, quando Tjio e Levan criaram técnicas eficazes para análise dos cromossomos e estabeleceram que o número normal de cromossomos, na espécie humana, é de 46.

Cada cromossomo mitótico apresenta uma região estrangulada denominada *centrômero* ou *constricção primária* que é um ponto de referência citológico básico dividindo os cromossomos em dois braços: **p** (de *petti*) para o braço curto e **q** para o longo. Os braços são indicados pelo número do cromossomo seguido de p ou q; por exemplo, 11p é o braço curto do cromossomo 11.

Além da constricção primária descrita como centrômero, certos cromossomos apresentam estreitamentos que aparecem sempre no mesmo lugar: São as constricções secundárias.

De acordo com a posição do centrômero, distinguem-se alguns tipos gerais de cromossomos:



Metacêntrico Submetacêntrico Acrocêntrico
<http://www.virtual.epm.br/cursos/genetica/htm/base.htm>

Diferenças na divisão celular entre procariotos e eucariotos

Procariotos	Eucariotos
O tempo de replicação é relativamente curto	O tempo de replicação é mais longo devido a complexidade dos cromossomos eucarióticos que estão envoltos nas histonas.
Uma "bolha" de replicação (bidirecional)	Várias "bolhas" de replicação (bidirecional)
Existem três tipos de DNA polimerases: I, II e III (Enzimas responsáveis por organizar a duplicação de DNA.).	Existem quatro tipos de DNA polimerases: a, b, g e d.

Nas células procarióticas, o cromossomo é formado por uma única molécula de um ácido nucléico, denominado ácido desoxirribonucléico, o DNA.

Nestas células, os cromossomos encontram-se imersos no próprio citoplasma formando uma estrutura denominada nuclóide. As células procarióticas não apresentam organelas membranosas, como ocorre com as eucarióticas.

As bactérias apresentam um cromossomo circular, que é constituído por uma única molécula de DNA bicatenário (dupla hélice, altamente resistente à degradação), tendo sido também chamado de corpo cromatínico. É possível, às vezes, evidenciar mais de um cromossomo numa bactéria em fase de crescimento, uma vez que a sua divisão precede a divisão celular. O cromossomo bacteriano contém todas as informações necessárias à sobrevivência da célula e é capaz de auto-replicação.

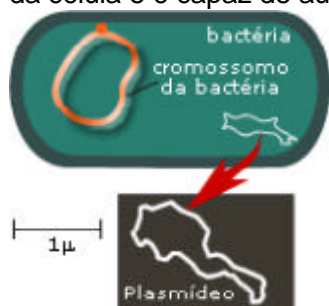


Figura: DNA bacteriano (cromossomo e plasmídeo)

PLASMÍDEOS

Existem ainda no citoplasma de muitas bactérias, moléculas menores de DNA, também circulares, cujos genes não codificam características essenciais, porém muitas vezes conferem vantagens seletivas à bactéria que as possui. Estes elementos extracromossômicos, denominados plasmídeos são autônomos, isto é, são capazes de autoduplicação independente da replicação do cromossomo e podem existir em número variável no citoplasma bacteriano.

Em células eucarióticas, observamos a presença de membranas internas que organizam o material nuclear em seu interior.

Para iniciar a divisão celular a célula eucariótica passa por uma fase de preparação chamada de Intérfase. O tempo de duração desta fase varia de célula para célula.

É composta pela sucessão de três fases: G_1 , S e G_2 .

O tempo de duração da fase G_1 é o principal fator para determinar o tempo da intérfase.

G_1 = Intervalo de tempo entre o final da mitose e o início da fase S

"G de gap = intervalo"

É um intervalo de tempo entre o final da mitose e o início da fase S.

A duração deste intervalo varia de acordo com o tipo celular:

- Células embrionárias = G_1 é praticamente inexistente
- Células diferenciadas = G_1 é variável

As células quiescentes, isto é, células que não estão se dividindo, estão num estado especial de G_1 que chamamos de G_0 .

Fase G_0

"G de gap = intervalo"

Nesta fase as células são menores porque suas moléculas de proteínas e RNA são degradadas, mas não são rapidamente ressintetizadas, as atividades enzimáticas e o transporte transmembrana também estão mais lentos. Células em cultura necessitam de fatores de crescimento para que possam proliferar, estes fatores se encontram no soro.

Estas células em cultura também podem estar na fase G_0 de duas maneiras;

- Quando as células são cultivadas em baixa concentração de soro no meio de cultura
- Quando atingem a densidade de saturação

Existem três pontos críticos que servem como marcadores desta fase G_1 , que são denominados de pontos críticos de Competência (C), Entrada (V) e Progressão (R).

São pontos que a célula precisa ultrapassar para entrar na fase S (síntese de DNA)

1. No ponto C ocorre:

- Mudança na estrutura da cromatina
- Aumento no transporte de nutrientes através da membrana
- Produção de novos mRna

Na presença do fator de crescimento PDGF (*platelet derived growth factor*) a célula passa o ponto crítico C e segue até o ponto V.

2. No ponto V ocorre:

- Síntese de macromoléculas
- Alta atividade enzimática
- Alto número de polissomas

Na presença do fator de crescimento EGF (*epidermal growth factor*) a célula passa o ponto crítico V e segue até o ponto R.

3. No ponto R ocorre:

- Síntese de proteínas e enzimas necessárias para síntese do DNA
- Síntese de proteínas regulatórias

Na presença do fator de crescimento IGF-1 (*insulin-like growth factor*) a célula passa o ponto crítico R, que é o último ponto de restrição de G_1 , e segue para a fase S (Síntese de DNA).

S = Fase de Síntese de DNA

Nesta fase ocorre a replicação do DNA.

O tempo de duração é de, em média, 8 horas.

O núcleo é induzido a entrar na fase S por sinais citoplasmáticos, ou seja, o citoplasma induz o núcleo a replicar o seu DNA.

Após a fase S, a célula passa por um segundo intervalo de tempo que é considerado a terceira fase da intérfase, que chamamos de fase G_2 .

G_2 = Intervalo de tempo entre o final da fase S e o início da mitose

"G de gap = intervalo"

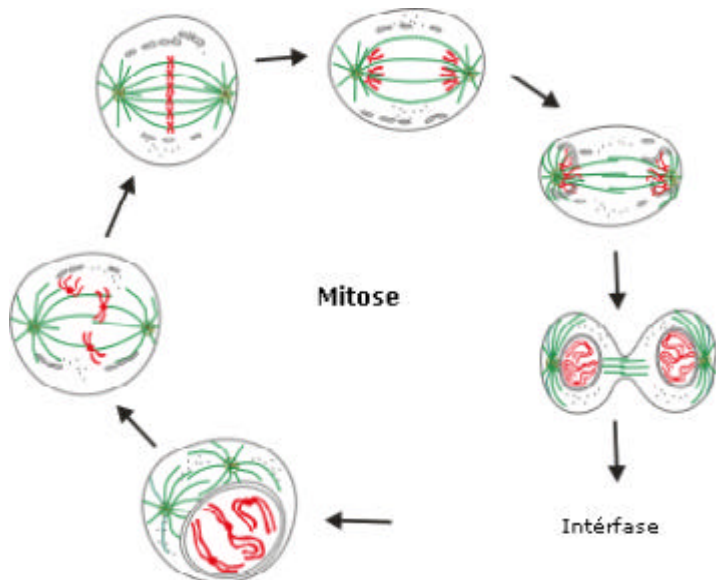
É o segundo intervalo de tempo da intérfase.

Um núcleo que completa a fase S e entra na fase G_2 condensa seus cromossomos e segue para a mitose. É um período de preparação para produção de fatores cruciais que disparam a *mitose*.

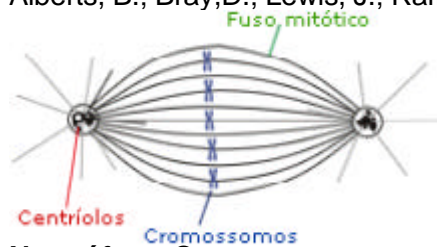
Mitose

Mitose é o processo pelo qual as células eucarióticas dividem seus cromossomos entre duas células filhas. Este processo dura, em geral, 90 a 120 minutos e é dividido em quatro etapas:

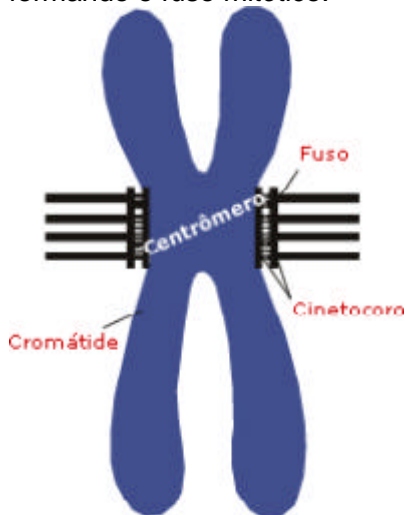
Resumo das fases da mitose



Molecular Biology of the Cell
 Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J.



Na prófase: Os cromossomos, que foram duplicados durante a fase S da intérfase, se condensam. O número de cromossomos varia de espécie para espécie, mas em humanos o número de cromossomos diplóides é 46. Os microtúbulos citoplasmáticos são desarranjados e a célula se prepara para a reorganização destes microtúbulos formando o fuso mitótico.



O cromossomo mitótico consiste em duas cromátides que estão conectadas por uma região denominada de centrômero. Na superfície deste centrômero existem dois cinetocoros, um deles está associado à cromátide. O outro cinetocoro está associado ao fuso mitótico e é por meio dele que resulta a movimentação cromossomal. Desorganização do envelope nuclear.

A célula segue para a metáfase

Durante a metáfase:

Alguns dos microtúbulos que formam os aparatos do fuso se prendem aos cinetocoros formando o fuso mitótico. Os cromossomos iniciam uma série de movimentos que resultam num alinhamento de todos os cromossomos na região equatorial do fuso.

É uma fase onde a célula se prepara para a anáfase.

Na anáfase:

É o momento onde as cromátides iniciam a migração para cada pólo da célula, em direção aos centríolos, provocando a separação das cromátides irmãs.

Acredita-se que a força que movimenta as cromátides tem origem por intermédio da polimerização de proteínas dos microtúbulos (actina, miosina e tubulina).

Término da anáfase e início da telófase.

Durante a telófase:

Separação completa das cromátides irmãs para cada pólo da célula.

Reconstituição do envelope nuclear ao redor dos cromossomos.

Descondensação dos cromossomos.

Dissolução do aparato mitótico.

Formação de uma constrição ao nível da zona equatorial da célula-mãe, que vai progredindo e termina por dividir o citoplasma e suas organelas em duas partes iguais.

Neste ponto a célula termina a fase de divisão celular (Mitose) e entra na fase de replicação do DNA (Intérfase) iniciando um novo ciclo.

Na interfase, por microscopia, não visualizamos modificações tanto no citoplasma quanto no núcleo. As células, porém estão em franca atividade, sintetizando os componentes que irão constituir as células filhas.

QUESTÃO

Qual a vantagem de ter o DNA organizado em cromossomos?

Quer saber mais? Vá para:

http://www.educacional.com.br/catalogo/catalogo_lista.asp?id=168&pg=1

Atividade Verde

Atividade: Mutatis mutante

Um ponto que geralmente não é mencionado nos modelos de replicação, e que tem uma importância relativa na compreensão de certas limitações das técnicas de genética molecular, é a atividade revisora da DNA polimerase III bacteriana (e das DNA pol em geral, sejam elas eucariotas ou procaríotas).

Na natureza existem formas alternativas das quatro bases nitrogenadas que formam o DNA, chamadas **formas tautoméricas** (formas isoméricas de compostos orgânicos). A frequência com que estas bases ocorrem é baixa, porém muitas ordens de grandeza acima da frequência de erros admissíveis no DNA (lembre-se que a adição de uma base errada na seqüência de um gene é uma mutação, que pode ter conseqüências importantes para o portador do gene mutante). **Cada vez que uma dessas bases tautoméricas é empregada, provoca um erro de pareamento. Se ela não for retirada antes da próxima replicação, uma mutação será introduzida no DNA. Por isso, as DNA polimerases (I, II e III, em *Escherichia coli* e muitos outros procaríotas, a e b em eucariotos) têm a capacidade de rever, imediatamente após a adição, se o pareamento da base adicionada com a base da fita molde foi correto.**

Qualquer erro de pareamento é refletido pela alteração na estrutura da dupla hélice. Esta alteração deve fluir por um canal iônico da própria DNA polimerase. **Se a hélice estiver alterada a DNA polimerase pára, volta na direção 3'-5' despolimerizando a cadeia recém sintetizada e, após algumas dezenas ou até centenas de bases, recomeça o trabalho.**

Pode parecer um processo pouco econômico, mas lembre-se que a **integridade da informação genética está em jogo e, portanto, a preservação das características e funções de todas as células de uma mesma espécie.**

Outra enzima comum e essencial no processo é a **DNA ligase (polinucleotídeo ligase) que liga os nucleotídeos após a correção feita pela DNA polimerase I.**

As mutações são enganos mais do que possíveis, são prováveis, uma vez que, durante a replicação ocorre a reposição de mais de 1000 bases por minuto na fita nova que está sendo formada.

As mutações podem ocorrer naturalmente e incluem todas mudanças imagináveis na seqüência de DNA.

As mutações que apresentam apenas um efeito muito sutil no produto gênico final, como as mutações para sensibilidade à temperatura, são, freqüentemente, **uma simples troca de uma base por outra.**

Entretanto, **algumas mutações naturais destroem completamente a função de um gene.** Essas mudanças mais drásticas incluem não somente mudanças de bases, inserções ou deleções de uma base, mas também, **extensas inserções e deleções e mesmo rearranjos grosseiros na estrutura cromossômica.**

Tais mudanças podem ser causadas, por exemplo, pela inserção de um **transposon**, o qual tipicamente transfere, ou seja, "muda de lugar" algumas centenas de pares de bases de um mesmo DNA ou ainda, insere algumas centenas de pares de bases de um DNA estranho numa seqüência codificadora de um gene, ou por ações aberrantes do processo de recombinação celular.

Mutações cromossômicas

Alterações estruturais:

✓ **Deleções:** neste processo, ocorre **perda de fragmentos do cromossomo**, que podem constituir um ou muitos genes. Podem se originar por **simples quebra** ou **eliminação cromossômicas**. Várias deleções nos seres humanos são conhecidas, e talvez a mais estudada seja a que determina a **Síndrome do Cri du chat** ou **Síndrome do miado de gato**. Esta síndrome é ocasionada por uma **deleção no braço curto de um dos cromossomos nº 5**.

✓ **Duplicações:** ocorrem quando **um segmento cromossômico aparece mais de duas vezes em uma célula diplóide normal**. O segmento pode estar ligado a um cromossomo ou como um fragmento separado. Por intermédio da **segregação destes cromossomos nos gametas**, as duplicações podem ser transmitidas às gerações subsequentes.

✓ **Inversões:** acontecem quando **partes dos cromossomos tornam-se destacadas (quebra cromossômica), giram 180° e são reinseridas** de modo que **os genes ficam em ordem inversa**. Algumas inversões resultam do *embarçamento* dos filamentos durante a prófase meiótica. **As inversões podem incluir o centrômero (inversões pericêntricas) ou não incluir o centrômero (inversões paracêntricas)**.

✓ **Translocações:** ocorrem quando **parte de um cromossomo torna-se separada e se liga a uma parte de um cromossomo não homólogo**. As translocações podem ser de dois tipos: **SIMPLES** – quando o **fragmento quebrado de um cromossomo se insere em outro não homólogo** – ou **RECÍPROCA** – **os segmentos cromossômicos são trocados entre dois cromossomos não homólogos**. Em humanos, as **TRANSLOCAÇÕES SIMPLES (mais comuns)** ocorrem entre os **cromossomos 14 e 21 (variação da Síndrome de Down)**. Outras translocações foram observadas. Na maioria dos casos existem numerosas anomalias fenotípicas, e geralmente ocorre um aborto espontâneo, ou morte poucos meses após o nascimento. Um exemplo pode ser a **leucemia mielógena crônica**, na qual ocorre uma **translocação** entre os **cromossomos 22 e 9**.

✓ **Transposições:** refere-se à **troca de segmentos cromossômicos de um local do cromossomo para outro**. Geralmente não há grandes alterações, pois o conteúdo genômico não é alterado, porém o pareamento pode ser difícil durante a divisão celular.

✓ **Fusão e fissão cêntricas:** nestes casos, **o número cromossômico pode aumentar ou diminuir sem que ocorra variação na quantidade de DNA**. Isso ocorre devido à **quebra** do cromossomo na altura do **centrômero**, dando origem a **dois cromossomos acrocêntricos (fissão)**, ou ao **processo inverso (fusão)**. Estes processos são mais comumente observados em espécies próximas ao homem, como os primatas, que têm seu número cromossômico variado pela ocorrência de **mais cromossomos acrocêntricos**, ou **mais metacêntricos**. Na espécie humana geralmente não se observa a existência de síndromes ou patologias ocasionadas por este tipo de alteração estrutural/numérica, porém casos de portadores de anomalias, que não desenvolvem o fenótipo por não ter alteração no conteúdo genômico, são observados. Ex: portador de fusão entre dois de seus cromossomos acrocêntricos.

Alterações numéricas:

✓ **Euploidia:** refere-se ao **conteúdo genômico total do indivíduo**, ou seja, **todos os seus cromossomos são duplicados (DIPLOIDIA – condição normal) ou todos são triplicados (triploidia)** e assim por diante. Em **humanos**, um indivíduo **haplóide** (com conjunto cromossômico sem homólogos) não é viável e em alguns poucos casos observam-se as demais poliploidias. Seres humanos completamente triploides são muito raros e os poucos casos conhecidos são os abortos espontâneos ou natimortos. Alguns vivem por poucas horas. Em todos os casos há malformações múltiplas e grosseiras. Avalia-se que aproximadamente 15% de todos os fetos espontaneamente abortados são triploides e tetraploides. A poliploidia em humanos, seja completa ou em mosaïcismo, leva a profundas anomalias e morte.

✓ **Aneuploidia:** é a situação em que **o número de cromossomos não é um múltiplo exato do número haplóide característico da espécie**.

Mutações Gênicas

Durante a **replicação** (dita semiconservativa) do **material genético**, a enzima a **DNA polimerase** liga os nucleotídeos às novas fitas de DNA. Durante esse processo, podem ocorrer erros adicionando nucleotídeos diferentes aos do DNA molde, o que provocará mutações.

Todos os seres vivos sofrem um certo número de mutações, como resultado de funções celulares normais ou interações aleatórias com o ambiente. Tais mutações são denominadas espontâneas.

A incidência do número de mutações poderá elevar-se através da ação de determinados compostos, **agentes mutagênicos** e por consequência, as modificações por eles causadas, denominadas **mutações induzidas**.

Tipos de Mutação Gênica:

Mutação pontual ou extensa.

- ✓ As mutações **pontuais** podem ser: **substituições de bases, inserções de bases ou deleções de bases.**
- ✓ As mutações (ou modificações) **extensas** incluem **deleções, duplicações, inserções e rearranjos.**

Possíveis causas para mutações:

- ✓ **Tautomerismo de base:** são **pareamentos errôneos**, por **falha no reparo da DNA polimerase, no arranjo do DNA.** Ao invés de haver o pareamento adenina-timina e guanina-citosina, pode ocorrer adenina-citosina e timina-guanina.
- ✓ **Radiação ionizante:** na maioria dos estudos, **a frequência de mutações de ponto é diretamente proporcional à dose de irradiação** (raios X, raios gama e raios cósmicos).
- ✓ **Radiação ultravioleta:** são **absorvidos** pelas **purinas e pirimidinas**, formando **hidratos de pirimidinas e dímeros de pirimidinas** (dimerização da timina – onde duas timinas próximas, de uma mesma fita de DNA, ligam-se, prejudicando o ajuste da dupla fita).
- ✓ **Acridinas:** **estes compostos se intercalam entre a dupla fita**, causando a **inserção ou deleção** de um ou mais pares de bases. Há alteração no módulo de leitura do DNA.
- ✓ **Alquilas:** há **transferência de grupos metil ou etil** para os sítios reativos das bases e dos fosfatos da cadeia de DNA.

Mas lembre-se que a **Teoria Sintética da Evolução ou Neodarwinismo** está fundamentada em dois mecanismos: **a mutação e a recombinação gênica.**

O mecanismo de **recombinação gênica** ocorre em organismos que se reproduzem **sexuadamente**.

O mecanismo de **recombinação gênica** mais importante em bactérias é a **conjugação bacteriana**. Na conjugação bacteriana duas bactérias unem-se temporariamente através de uma **ponte citoplasmática**. Em uma das células, denominada "doadora" ou "macho", ocorre a **duplicação de parte do cromossomo**. Essa **parte duplicada separa-se** e, através da ponte citoplasmática, passa para outra célula, denominada "receptora" ou fêmea, **unindo-se ao cromossomo dessa célula receptora.**

Esta célula ficará, então, com constituição genética diferente daquela das duas células iniciais. Essa bactéria "recombinante" pode apresentar divisão binária, dando origem a outras células iguais a ela.

Processo semelhante pode ser também observado em fungos e outros organismos sexuados como resultado da **segregação ao acaso de cromossomos, durante a formação de gametas, ou da segregação mitótica.** É o resultado da **troca recíproca de DNA entre cromátides homólogos**, durante a prófase da **meiose I.**

Para saber mais sobre “meiose” acesse o endereço:

<http://www.virtual.epm.br/cursos/genetica/htm/meiose.htm>

Agora procure imaginar se em meio a tantos acontecimentos concomitantes não houvesse ninguém responsável pela revisão dos “passos e etapas” ??

Que “mar de mutações” poderiam ser todos os seres do universo ??

QUESTÕES

1. *Esta atividade revisora é um mecanismo extremamente sofisticado que **não ocorre no RNA.** Discuta este diferencial na atuação da polimerase de DNA e na polimerase de RNA.*
2. *Relacione as mutações e a evolução da espécie.*

Quer saber mais? Acesse:

- **Aula sobre Mutações e Reparo de DNA**

http://www.rge.fmrp.usp.br/cursos/med1/mutacao_reparo.pdf

Ademilson Espencer E. Soares

- **Tipos de mutações e como ocorrem**

<http://www.virtual.epm.br/cursos/genetica/htm/mutacao.htm>

Site da Escola Paulista de Medicina (EPM)

Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP)

- **Genética e evolução de populações**

<http://www.microbiologia.ufrj.br/Gen%20e%20evolu%20E7%20de%20popula%20E7%20F5es.pdf>

Fernando Portela Câmara – IMPPG - UFRJ

- **Alterações cromossômicas e mutações gênicas**

<http://www.biociencia.org/genetica/alterhumana.htm>

Karine Kavalco, 1999

- **Os tipos de mutações nucleotídicas**

<http://www.biociencia.org/evolucao/evolucaomol.htm>

Eliane Evanovich

- **Exame simples de líquidos do corpo pode ajudar a detectar o câncer**

<http://boasaude.uol.com.br/lib/showdoc.cfm?libdocid=2953&fromcomm=1&commrr=src>

FONTE: *Science* 2000; 287:2017-2019.

Publicado em Bibliomed Saúde em 04/04/2000

Atividade Azul (Genes)

São os genes astronautas?!?

Será que o nome “gene” vai para o espaço? Há muita discussão, mas esta viagem definitiva parece que ainda vai demorar a acontecer.

Durante muito tempo, as proteínas foram consideradas como as mais prováveis detentoras da hereditariedade, mas um experimento realizado em 1928 daria início à derrocada desta hipótese. Este experimento envolvia a inoculação de bactérias causadoras de pneumonia em camundongos e seu propósito era, a princípio, descobrir meios de se controlar a doença em humanos. Griffith – o realizador do experimento – acabou observando que havia algum fator que agiria no lugar das proteínas.

Em 1940, Beadle e Tatum postularam que um gene seria o responsável pela produção de uma enzima. Já se sabia que a síntese de proteínas nas células ocorria nos ribossomos; contudo, o processo pelo qual isto se dava ainda era desconhecido.

O ‘gene’ das leis de Mendel existe, sem dúvida, mas é um tipo raro de gene, sempre que presente se expressa fenotipicamente da mesma maneira. Os genes mais freqüentes são aqueles de penetrância incompleta e expressividade variável. O que parece duvidoso é aceitar uma representação de gene que o identifique como uma seqüência de DNA que, contínua e unicamente, codifique uma proteína particular. Vários produtos gênicos podem ser gerados a partir de um único “gene” mediante processos de cortes e reunião de formas alternativas de um mesmo transcrito primário. Desta forma “vários genes” são possíveis em diferentes estágios de expressão gênica.

Essa sobreposição pode ocorrer quando um gene faz parte do outro, gerando proteínas, em parte, iguais. Assim, a mesma seqüência é compartilhada entre duas proteínas não-homólogas, ou seja, é traduzida em mais de uma região de leitura. É possível ainda que, tendo mais de uma fase de leitura potencial, a mesma seqüência gere diferentes proteínas pela sobreposição destas diferentes fases. Por fim, no processamento alternativo ou diferencial (splicing), ocorrem padrões alternativos de expressão gênica por meio de trocas na via de conexão entre exons. **Assim, um simples gene pode gerar uma variedade de produtos a partir de um único mRNA.**

Newton¹ (1987) afirma que o gene seria uma “seqüência de DNA responsável pela síntese (transcrição e tradução) – não apenas codificação (do DNA - o conjunto de moléculas que está presente no interior das células e que contém a codificação das características de cada organismo) – de uma ou mais cadeias polipeptídicas, desde que não se atribuam a essa seqüência conotações rígidas estritas de complementação”. Acentua que genes ditos interrompidos devem englobar, além de exons, os seus introns. Coloca, ainda, que, como os genes sobrepostos produzem mais que uma cadeia polipeptídica, deve-se fazer a inversão no sentido “uma cadeia polipeptídica – um gene”.

1. NEWTON, S.M.C. O que é o gene. COSTA, S.O.P. (ed.). In: *Genética molecular e de microorganismos*. São Paulo: Manole, 1987.

Dentro de uma lógica formal aristotélica estes dois aspectos do mesmo fenômeno (o gene em si e os seus mecanismos de expressão) podem e devem ser mantidos separados. Permanecem dentro desta lógica aquelas definições que mantêm o gene imobilizado na forma de seqüências de DNA. A manutenção disso acarreta, contudo, que os problemas aqui expostos não se resolvem.

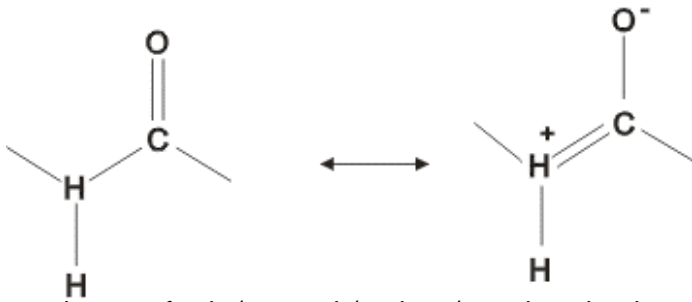
Todos estes processos dificultam uma definição de gene somente como seqüências definidas dentro do DNA ou baseada em grupos de complementação. Assim, logo após uma fase em que o gene parecia ganhar materialidade – a partir dos trabalhos de Watson & Crick –, ele parece agora voltar a uma fase similar àquela do seu nascimento – nos trabalhos de Mendel –, ou seja, parece estar sofrendo um processo de desmaterialização, no sentido de estar sendo cada vez mais relativizado diante destes maliciosos processos moleculares.

O gene, então, só pode ser corretamente entendido como uma construção teórica e não mais como um objeto palpável.

“A hierarquia das coisas é mais complexa do que a hierarquia dos homens” (Gaston Bachelard, *A Filosofia do Não*: 1984).

Cadeias polipeptídicas

Uma ligação peptídica é a união do grupo amino (-NH₂) de um amino ácido com o grupo carboxila (-COOH) de outro amino ácido, por intermédio da formação de uma amida.



quark.qmc.ufsc.br/qmcweb/artigos/proteinas.html

Exons

Os transcritos primários de RNA contêm a cópia de toda seqüência presente no DNA e que algumas partes dessa seqüência são recortadas dessa molécula de forma a produzir o RNA funcional.

As seqüências que são retiradas do transcrito primário foram chamadas de íntrons e aquelas que permaneceram como parte do RNA funcional, exons.

Íntrons

Os transcritos primários de RNA contêm a cópia de toda seqüência presente no DNA e que algumas partes dessa seqüência são recortadas dessa molécula de forma a produzir o RNA funcional.

As seqüências que são retiradas do transcrito primário foram chamadas de íntrons e aquelas que permaneceram como parte do RNA funcional, exons.

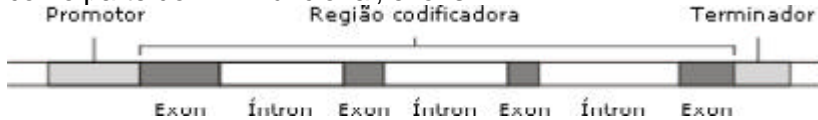


Figura 1: Estrutura de um gene de eucarioto.

<http://www.inf.unisinos.br/~mombach/ConceitosBasicosBM.pdf>

Splicing - Até a pouco tempo atrás, pensava-se que os genes celulares eram compostos por arranjos contínuos de nucleotídeos. Somente em 1977 descobriu-se a existência de *genes interrompidos*. Assim, quando se olhava o DNA, percebia-se que o gene possuía mais nucleotídeos do que aqueles encontrados no mRNA (necessários para a produção de proteínas).

Hoje, sabe-se que os transcritos primários de RNA contêm a cópia de toda seqüência presente no DNA e que algumas partes dessa seqüência são recortadas dessa molécula de forma a produzir o RNA funcional.

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

O *splicing*, um dos fenômenos biológicos mais conservados ao longo da evolução, está presente em praticamente todos os seres vivos com núcleo organizado (eucariontes). É um mecanismo altamente complexo e estruturado, que envolve a ligação, ao RNA, de uma série de componentes celulares. Em uma explicação simplificada, pode-se dividir o splicing em duas etapas: a retirada dos íntrons e a ligação dos exons.

Ainda se sabe pouco sobre a verdadeira função dos íntrons, mas já se conhece bastante sobre como essas seqüências são retiradas da molécula de RNA. Uma das etapas-chave no processo é o reconhecimento preciso das junções entre os íntrons e os exons (os sítios de *splicing* 5' e 3'). Isso é possível porque, perto dessas junções, existem seqüências altamente conservadas (seqüências 'consenso') que servem como sítios de união para componentes celulares responsáveis pelo processo de *splicing*.

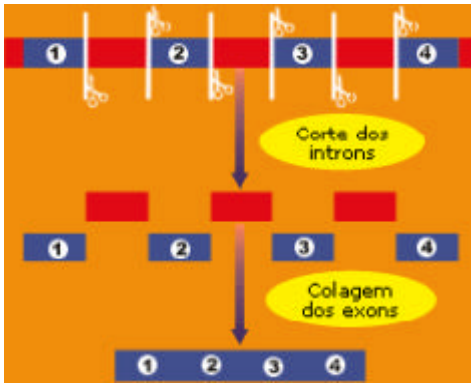


Figura: No processo de splicing, fatores específicos (representados por tesouras) reconhecem os sítios de corte do DNA, eliminando os íntrons (partes sem informação gênica – em laranja) e colando os exons (partes com informação gênica – em roxo) adjacentes, formando a fita de RNA mensageiro.

Síntese

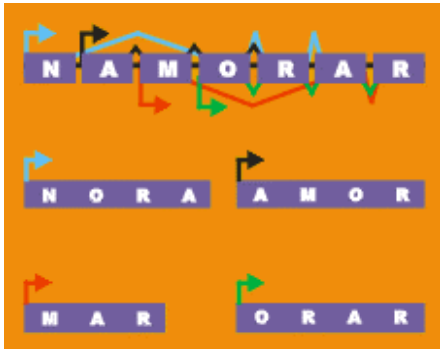
Toda a informação para o funcionamento do ser se encontra no nosso código genético que está contido numa molécula longa formada por duas cadeias complementares e antiparalelas, o ácido dextrorribonucléico (DNA). Ele é composto por quatro tipos diferentes de bases aminadas, adenina (A), timina (T), citosina (C) e guanina (G) e cada “gene” é formado por uma determinada seqüência destas bases.

Para que a informação contida no DNA seja transferida para as diversas funções celulares, essa molécula precisa primeiro ser copiada, em um processo denominado transcrição, que gera uma molécula-irmã, o ácido ribonucléico (RNA) (figura 1). O RNA contém a mesma informação genética presente no DNA, mas difere deste por ter uma só cadeia e por apresentar, no lugar da base timina (T), a uridina ou uracila (U). No entanto, o RNA só se torna funcional depois que os íntrons são retirados, em um processo conhecido como splicing - O splicing, um dos fenômenos biológicos mais conservados ao longo da evolução, está presente em praticamente todos os seres vivos com núcleo organizado (eucariontes). É um mecanismo altamente complexo e estruturado, que envolve a ligação, ao RNA, de uma série de componentes celulares. Em uma explicação simplificada, pode-se dividir o splicing em duas etapas: a retirada dos íntrons e a ligação dos exons.

Retirados os segmentos ‘extras’, os exons são ligados uns aos outros e o RNA, agora chamado de RNA mensageiro (mRNA), torna-se funcional, ou seja, pode ser traduzido por organelas celulares denominadas ribossomos. No processo de tradução, a ordem dos exons no mRNA serve como modelo para a montagem, nos ribossomos, das moléculas essenciais para nossa existência: as proteínas.

Por muitos anos o processamento do RNA foi visto apenas como um mecanismo inventado pela célula para se livrar dos íntrons, unir os exons e produzir assim um RNA mensageiro funcional, capaz de ser traduzido em uma proteína. À medida que mais e mais genes foram seqüenciados e analisados, percebeu-se que um número substancial deles originava mais de um tipo de mRNA. Mesmo produzidos a partir do mesmo gene, esses mRNAs podem conter diferenças na seqüência de bases que ser· traduzida pelos ribossomos, possibilitando a montagem de proteínas distintas, com funções também distintas e algumas vezes até antagônicas.

Como um mesmo “gene” pode originar diferentes mRNAs? A resposta está em um processo denominado splicing alternativo. Como em um jogo de palavras, onde cada exon seria uma letra, o processo permite realizar variadas combinações de exons para formar diferentes palavras (figura abaixo). Isso é possível porque cada exon contém a informação necessária para produzir uma parte da proteína. Além das combinações de exons, o corte dos exons em diferentes sítios também pode gerar diferenças nos mRNAs.

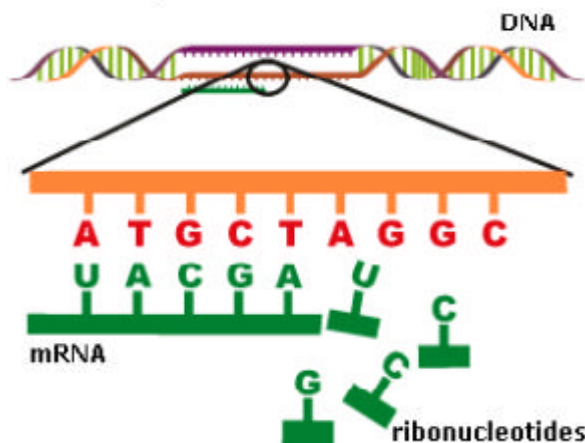


O splicing alternativo gera distintos RNA mensageiros a partir de um mesmo gene. A informação contida na palavra NAMORAR (que representa um gene) permite gerar outras palavras com diferentes sentidos,

dependendo da 'escolha' das letras (ou dos exons, no caso dos genes): NORA ('escolha' em azul), AMOR (em preto), MAR (em vermelho) e ORAR (em verde).

A participação do ácido ribonucléico (RNA) na síntese das proteínas foi primeiramente sugerida pelo francês Jean Louis Brachet (1909) e pelo sueco Torbjörn Oskar Caspersson (1910), na década de 1930. Eles observaram que células muito ativas na síntese de proteínas têm muito RNA no citoplasma. Em 1958, Crick lançou a idéia de que as proteínas seriam produzidas a partir de um molde de RNA, que era copiado do DNA. Crick sugeriu também a existência de moléculas adaptadoras, que ordenariam os aminoácidos sobre o molde de RNA.

Transcrição



Pelo fato dos promotores (seqüências regulatórias dos genes) possuírem seqüências de nucleotídeos comuns (conservadas), esta enzima as reconhece e liga-se a elas, dando início à síntese da molécula de mRNA (transcrição), o que explica como a enzima RNA polimerase consegue reconhecer o lugar onde se ligar. A molécula de RNA produzida pode ser um mRNA (RNA mensageiro), um rRNA (RNA ribossomal) ou um tRNA (RNA transportador). Uma molécula de RNA mensageiro contém a informação para produzir cadeias polipeptídicas que poderão originar proteínas.

Leia também: <http://www.inf.unisinos.br/~mombach/ConceitosBasicosBM.pdf>

Tabela 1: Códons com aminoácidos correspondentes ou especificando término da síntese.
<http://www.inf.unisinos.br/~mombach/ConceitosBasicosBM.pdf>

		2nd base in condon					
		U	C	A	G		
1st base in condon	U	Phe Phe Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	Tyr Tyr STOP STOP	Cys Cys STOP Trp	U C A G	3rd base in condon
	C	Leu Leu Leu Leu	Ser Ser Ser Ser	His His Gin Gin	Arg Arg Arg Arg	U C A G	
	A	Ile Ile Ile Met	Thr Thr Thr Thr	Asn Asn Lys Lys	Ser Ser Arg Arg	U C A G	
	G	Val Val Val Val	Ala Ala Ala Ala	Asp Asp Glu Glu	Gly Gly Gly Gly	U C A G	

A tradução acontece quando o tRNA forma as trincas com as informações trazidas da molécula de DNA pelo mRNA. É o processo de síntese de proteínas (construção da cadeia polipeptídica). Para isso é necessário que estruturas celulares chamadas ribossomos decodifiquem a mensagem contida na molécula de mRNA para uma cadeia de aminoácidos.

A decodificação está baseada em trincas de nucleotídeos, chamadas códons, que são usados para especificar o aminoácido. A correspondência entre uma trinca de nucleotídeos e um aminoácido é chamada de código genético (tabela 1).

Combinando os quatro nucleotídeos em trios obtém-se 64 combinações. Embora esse número seja superior aos 20 aminoácidos conhecidos, mais do que um códon pode representar um mesmo aminoácido. Dentre os códons possíveis, três não especificam aminoácidos, referem-se a sinais de terminação da síntese de uma cadeia de aminoácidos. Esses códons são chamados de códons de parada (stop codons). O código genético estabelece também um códon de início (start codon), pelo qual começa o processo de tradução do mRNA. Na maioria das proteínas o códon de início especifica o aminoácido metionina, que também está presente no interior das cadeias.

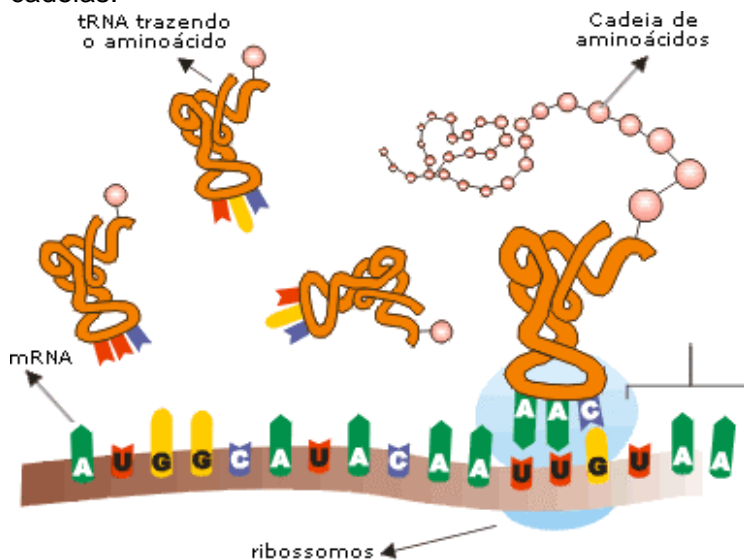


Figura: Processo de Tradução (síntese de proteínas)

Experimento de Griffith:

Griffith (1928) utilizou duas linhagens de bactérias, sendo que uma delas tinha suas células envolvidas por uma cápsula de polissacarídeo, gerando colônias de aspecto liso. A outra linhagem não possuía tal envoltório celular e gerava colônias de aspecto rugoso. A primeira linhagem, quando inoculada em camundongos, manifestava a doença, enquanto a segunda, não.

Posteriormente, Griffith inoculou os seus camundongos com a linhagem virulenta (de aspecto rugoso), **morta por meio de fervura**, e observou que estas não causavam mais a doença.

Em uma terceira inoculação, os camundongos receberam uma mistura de **células lisas mortas pelo calor e células rugosas vivas**.

Griffith observou, então, o desenvolvimento da pneumonia. Ao se extrair células ainda vivas destes camundongos, foi constatado que estas células apresentavam o **fenótipo liso virulento**.

Portanto, deveria haver algum agente, presente nas células mortas, capaz de transmitir sua informação de virulência para as células vivas, o que Griffith chamou de **princípio transformador**.

A substância indutora de transformação viria a ser purificada e sua natureza química seria reconhecida como sendo a do **ácido desoxirribonucléico (DNA)**. Este experimento não foi totalmente aceito à época, pois se questionou a possível contaminação protéica dos isolados de DNA. Tais questionamentos tinham origem, principalmente, no favoritismo da hipótese que apresentava as proteínas como portadoras do material hereditário.

QUESTÃO

As várias definições propostas para o termo GENE vêm perdendo o significado ao longo do tempo. Compare a proposta de conceituação e função de gene de Beadle e Tatum, em 1940, com as propostas mais recentes sobre o assunto.

Quer saber mais? Acesse:

- “Onde está o lugar do conceito de gene?” No endereço: http://www.ilea.ufrgs.br/episteme/portal/pdf/numero19/episteme19_artigo_solha_silva.pdf
- “Passeio pelos conceitos básicos de Biologia Molecular” (em inglês) No endereço: <http://gslc.genetics.utah.edu/units/basics/tour/>

Atividade Roxa (Proteínas)

Comer proteína da carne do porco faz você... virar porco?

Parece uma pergunta fora de propósito, mas quem produz o conhecimento também tem suas dúvidas. Se as proteínas também são constitutivas do nosso organismo, como podemos utilizá-las se as ingerimos já prontas? E se não utilizamos, de onde vêm as nossas proteínas, elemento tão importante no funcionamento de todo organismo vivo?

Em qualquer célula, a qualquer momento, somente alguns segmentos de DNA estão produzindo proteínas. Algumas células produzem proteínas de um gene, enquanto em outras células a síntese está ocorrendo em outro pedaço do DNA.

Portanto, lembre-se: uma célula sangüínea e uma célula nervosa, por exemplo, sintetizam muitas das suas proteínas de partes diferentes do DNA, e esse é o motivo de dois tipos celulares não se parecerem ou ainda de terem funções completamente diferentes.

Pense em todas as pessoas que você conhece e vê todo dia. Sua família, seus amigos, pessoas que moram ou trabalham com você. Ou mesmo pessoas que trabalham na mídia (rádio, TV). Então pense em todas as pessoas que moram nas vilas e cidades do Brasil. E também tente imaginar as pessoas que moram em outros países em todo o mundo. Existem mais de 5 bilhões de crianças, homens e mulheres que dividem o planeta com você. Se fôssemos colocados em uma fita, ela iria da Terra à Lua e de volta a Terra seis vezes. E o fato mais surpreendente é que nenhuma destas 5 bilhões de pessoas parece, pensa ou age exatamente como você. **VOCÊ É COMPLETAMENTE ÚNICO!!** E a razão pela qual você é diferente de todas as outras pessoas é porque a sua mistura de genes é levemente diferente dos outros. Muitos genes fazem as mesmas proteínas em todos os seres humanos. Na verdade 99,5% do seu DNA está exatamente na mesma ordem do DNA de todas as outras pessoas. Mas algumas partes do plano do seu DNA variam. Os genes para a cor dos seus olhos serem azuis, castanhos ou verdes. Os genes para a cor dos seus cabelos podem ter receitas para louro, castanho, preto ou ruivo. Nós todos somos diferentes uns dos outros devido às proteínas que as nossas células produzem.

Você possui mais de 200 tipos de células diferentes em seu corpo!!!

Além de serem constituintes fundamentais da estrutura celular, grande número de proteínas atua como enzimas, catalisando a maioria das reações químicas vitais. É por meio das proteínas, portanto, que os genes controlam praticamente todas as características fenotípicas dos seres vivos.

Aprendemos ao longo de nossa vida acadêmica que as células são responsáveis pela produção das proteínas (síntese) que utilizamos. Todas as proteínas são feitas de substâncias químicas chamadas aminoácidos. As milhares de proteínas diferentes no seu corpo são feitas de 20 aminoácidos diferentes unidos em todas as combinações possíveis.

Os aminoácidos são as unidades estruturais básicas das proteínas. Um alfa-aminoácido é constituído de um grupamento amina, uma carboxila, um átomo de hidrogênio e um radical R diferenciado, ligados a um átomo de carbono, que é chamado de carbono alfa por ser o adjacente ao grupamento carboxila (ácido). Eles diferem uns

dos outros por intermédio de suas cadeias laterais ou grupos R, os quais variam em estrutura, tamanho e carga elétrica, e influenciam a solubilidade do aminoácido em água. Neste caso o grupo R é representado por CH₃.

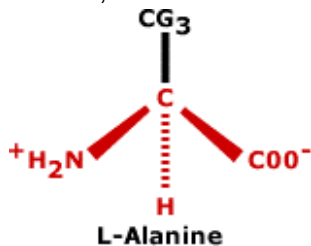


Figura: estrutura de um aminoácido

<http://www.icb.ufmg.br/~lbcd/grupo1/pag2.html>

QUESTÃO

Agora você pode responder tranquilamente aos seus alunos porque comer carne de porco, portanto ingerir proteínas de porco, não faz você virar um porco! Explique aqui por que isto não acontece.

Quer saber mais? Acesse:

- Atividade prática interessante envolvendo síntese de proteínas na sala de aula
<http://www.moderna.com.br/biologia/temasbio/TB07.pdf>
- Texto dos professores Amabis e Martho publicado pela editora Moderna: “Do Gene à Proteína”
<http://www.moderna.com.br/biologia/temasbio/TB06.pdf>
- Conceitos mais especificamente sobre proteínas
<http://www.icb.ufmg.br/~lbcd/grupo1/grupo1.html>
- Textos bastante didáticos sobre síntese e processamento de RNA
<http://www.icb.ufmg.br/~lbcd/prodabi3/grupos/grupo1/index.htm>

Atividade Rosa (DNA)

A estrela da vez

Durante a evolução da célula formou-se uma molécula, que hoje sabemos ser o ácido desoxirribonucléico (DNA ou ADN): molécula longa, formada pela junção de um grande número de nucleotídeos, e que contém a informação genética codificada.

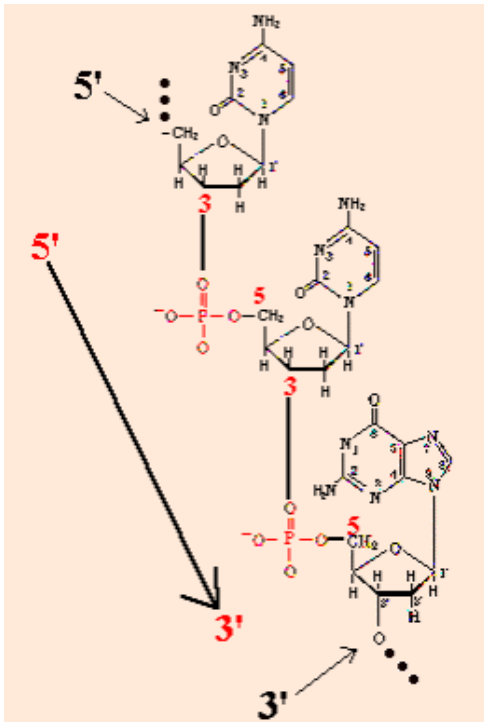
A molécula de DNA é constituída por dois polímeros (cadeias ou fitas) de nucleotídeos.

Cada nucleotídeo contém:

- 1 a 3 grupos fosfato (PO₄⁻) ligado ao carbono 5' do açúcar
- 1 açúcar de cinco carbonos (ou pentose) conhecido como 2'-desoxirribose
- 1 base nitrogenada ligada ao carbono 1' do açúcar. As bases podem ser:
 - Bases de anel duplo: Adenina e Guanina = Purinas.
 - Bases de anel único: Timina (Uracila no RNA) e Citosina = Pirimidinas.

Os nucleotídeos estão ligados por ligações fosfodiéster entre o grupo fosfato 5' de um nucleotídeo e o grupo hidroxila 3' de outro.

O nucleotídeo de uma das extremidades tem fosfato livre 5' e o nucleotídeo da outra apresenta um hidroxila 3' livre. Direcionamento 5' ? 3'.



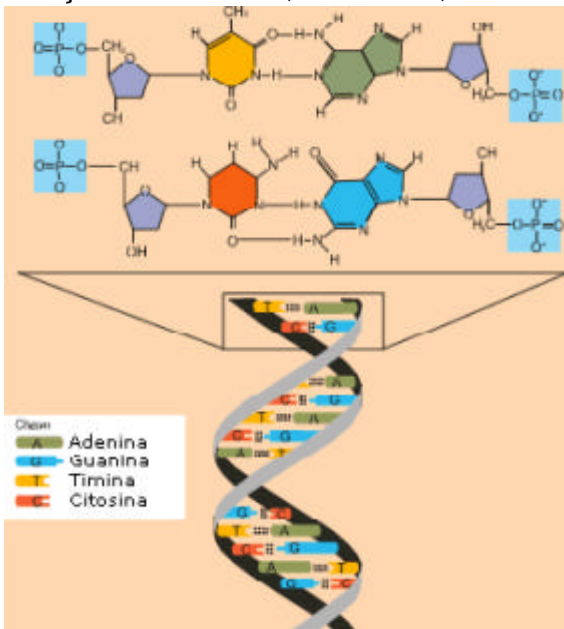
<http://www.virtual.epm.br/cursos/biomol/estrut/html/lignucl.htm>

Complementaridade entre as bases:

As cadeias que constituem a molécula de DNA são complementares, isto é, o emparelhamento se dá segundo determinado padrão, ou seja, a adenina sempre pareia com a timina e a citosina com a guanina. Entre adenina e timina, formam-se sempre duas pontes de hidrogênio e entre citosina e guanina três pontes de hidrogênio.

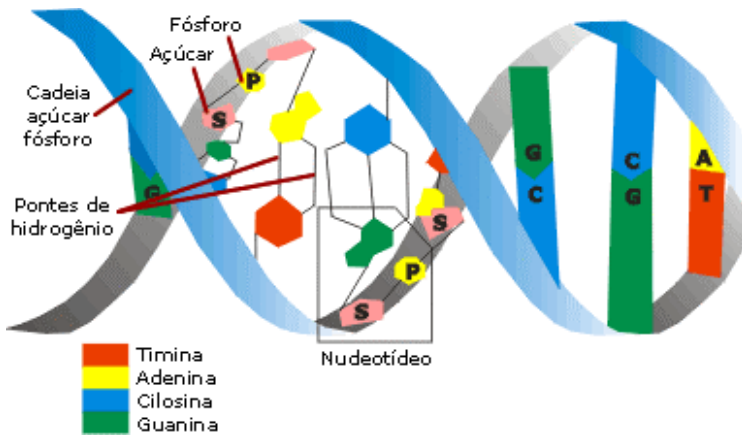
- Adenina estabelece duas ligações de hidrogênio com Timina;
- Citosina estabelece três ligações de hidrogênio com Guanina.

Relação molar A/T = 1,0 e C/G = 1,0.



http://www.corpohumano.hpg.ig.com.br/generalidades/quimica/quimica_11.html

No DNA as bases nitrogenadas estão no centro da molécula e os esqueletos açúcar-fosfato estão externos.



<http://www.educacaopublica.rj.gov.br/cursos/index.php#biologia>

O DNA é a molécula que transmite a informação genética e tem a capacidade de se autoduplicar. Uma cópia do DNA é passada para a célula-filha durante a divisão celular.

Cada molécula de DNA contém vários “genes” dispostos linearmente ao longo da molécula. Cada “gene” (ou seja lá o que for), *quando em atividade, é transcrito em moléculas de outros ácidos nucléicos denominados ribonucléicos, que comandarão a síntese de proteínas.*

Depois de identificadas a estrutura em dupla hélice e a constituição do DNA, uma série de questões surgiram. As primeiras delas relacionadas com a surpreendente estrutura da molécula.

QUESTÕES

1. *Identifique ao menos três vantagens nesta estrutura em dupla hélice.*
2. *É importante que as ligações que unem as duas fitas do DNA sejam do tipo ponte de hidrogênio? Por quê?*

Relembrando – Nos endereços a seguir você encontrará informações e conceitos básicos sobre Genética e Biologia Molecular.

- **Bases da genética e biologia molecular**

Em inglês, mas muito simples e super legal!
<http://gslc.genetics.utah.edu>

- **Tópicos do site “O DNA vai à escola”**

1. Estudando genética - abordam diferentes conceitos de genética, com o objetivo de relembrar aquilo que você já sabe.
<http://www.odnavaiaescola.com/topicos.htm>
2. índice geral do site - O DNA vai à Escola tem como objetivo auxiliar na compreensão do público em relação à biomedicina, proporcionando materiais de consulta e informação por meio de oficinas, conferências, encontros, e atividades educacionais e capacitando os indivíduos quanto ao seu senso crítico.
<http://www.odnavaiaescola.com>

- **Conceitos básicos em Biologia Molecular**

Informações básicas sobre: DNA, RNA, Genoma, Gene e Cromossomo, duplicação de DNA e síntese de proteínas colocadas de forma simples e correta.
<http://www.inf.unisinos.br/~mombach/ConceitosBasicosBM.pdf>

- **Portal de apoio às disciplinas de graduação em Genética Molecular (C. Biológicas) e Genética (Medicina) da UFPE, à disciplina de Genética Molecular do Curso de Pós-Graduação em Genética da UFPE e às disciplinas de Biologia Molecular e Genética Molecular do Curso de Doutorado do CCB/UFPE. Inclui animações sobre diversos temas da área. Exige o QuickTime.** <http://www.biolmol.cjb.net>

- **Temas de Biologia**

Desenvolvidos pelos professores Amabis e Martho – Professores da área de Genética da USP e autores de livros didáticos de Biologia de Ensino Médio e Fundamental.

1. Prática de síntese de proteínas
2. Teoria de síntese de proteínas
3. Identificação de pessoas pelo DNA

- **Sobre estrutura e tipos de cromossomos de procariontos e eucariontos**

É um site pequeno, simples e com informações interessantes que farão você relembrar este assunto.

<http://www.biociencia.org/genetica/citogenetica.htm>

Bibliografia comentada

1. O século do gene

Autor: Evelyn Fox Keller

Belo Horizonte, Crisálida/Sociedade Brasileira de Genética (2a. ed.), 208 pp.

“Evelyn Keller tem a habilidade perturbadora de fazer pensar de novo, do princípio, sobre coisas que você pensava já ter entendido”. Com essa afirmação, o geneticista norte-americano Richard Lewontin, da Universidade de Harvard e um dos melhores especialistas em genética de populações, resume a importância do livro escrito por Keller, uma professora de história e filosofia do Instituto de Tecnologia de Massachusetts (MIT) e também uma cientista. No Brasil, o livro foi muito bem traduzido e prefaciado por Nelson Vaz. O livro começa com a origem da palavra gene, uma história pouco conhecida, mas muito importante pelas lições de filosofia da ciência nela contidas. A obra de Keller é um magnífico livro de história da biologia do século XX em apenas quatro capítulos. A contribuição mais importante é a visão crítica, lastreada em fatos concretos, do determinismo genético. A idéia de que as características dos seres vivos são determinadas por unidades hereditárias chamadas genes (determinismo genético), é demolida elegantemente, assim como o conceito de programa genético.

<http://cienciahoje.uol.com.br/controlPanel/materia/view/359>

2. O citoplasma e o núcleo no desenvolvimento da hereditariedade

Autor: Rogério Parentoni, do Departamento de Ecologia, da Universidade Federal de Minas Gerais.

O conteúdo deste livro vem resumido em três tópicos: (1) O gene-partícula não existe; (2) O cromossomo funciona como um todo; (3) O citoplasma desempenha papel mais importante do que o núcleo nos fenômenos hereditários. Essas afirmações, defendidas hoje por Lewontine Keller, entre outros, foram propostas em 1941 por Salvador de Toledo Piza Júnior, professor de zoologia e anatomia comparada da Universidade de São Paulo. Na época, suas idéias foram consideradas extravagantes. Hoje, elas abrem novos caminhos.

<http://cienciahoje.uol.com.br/controlPanel/materia/view/359>

3. O monge no jardim

O gênio esquecido e redescoberto de Gregor Mendel, o pai da genética.

Autor: Robin Marantz Henig (tradução: Ronaldo Sérgio de Biasi)

Rio de Janeiro, Ed. Rocco. 2001.

"Um cientista do século XX aprisionado no século XIX". É assim que a jornalista científica americana Robin Marantz Henig define em seu livro O monge no jardim o cientista Gregor Mendel, hoje aclamado como pai da genética. As experiências com ervilhas de Mendel mostraram como características de uma geração são transmitidas às seguintes e fundamentaram a formulação de leis gerais da hereditariedade. Seu trabalho, porém, não teve reconhecimento imediato e só teve impacto 35 anos mais tarde, quando o cientista já havia morrido.

Livro conta como monge formulou leis da hereditariedade a partir do estudo de ervilhas.

4. O DNA

Autor: Marcelo Leite

Coleção Folha Explica

São Paulo, Publifolha, 2003, 104 p.

O autor apresenta descobertas recentes que mudaram a visão dos geneticistas sobre o papel do DNA e mostra como a engenharia genética seria incapaz de ditar comportamentos aos seres humanos.

5. Thompson & Thompson / Genética Médica

AUTOR: NUSSBAUM, ROBERT L. - MCINNES, RODERICK R. - WILLARD, HUNTINGTON F.

Guanabara Koogan editora, 6ª edição. 2002.

Princípios clássicos da genética humana com a moderna genética molecular, demonstrando as aplicações clínicas desse conhecimento no diagnóstico e tratamento de uma ampla gama de distúrbios genéticos. Novas informações sobre:

- defeitos do desenvolvimento;
- genética das doenças complexas;
- genética do câncer;
- as bases moleculares e bioquímicas da genética;
- o Projeto do Genoma Humano;

6. Fundamentos de Biologia Molecular

Autor: Malacinski, George M.

Guanabara Koogan editora, 4a EDIÇÃO. 2005.

Além dos assuntos básicos da área de Genética e Biologia Molecular, o livro traz ainda questões como: A Genômica e a Proteômica, Transposons, Plasmídeos e Bacteriófagos, DNA Recombinante e Engenharia Genética: Moldagem Molecular dos Genes, A expansão da Biologia Molecular, um adendo para sua revisão de Biologia Molecular e revê fundamentos químicos importantes para compreender a Biologia Molecular.

7. **Bases da Biologia Celular e Molecular**

Autores: De Robertis, Eduardo M.F. - Hib, José
Guanabara Koogan editora, 3a EDIÇÃO. 2001.

Conceitos básicos. Os temas são apresentados de maneira concisa e didática, numerados, o que permite agilizar sua busca e facilita a sua integração. Foram simplificados com a introdução de diagramas simples e de fácil interpretação.

8. **Genética**

Autores: Eldson J. Gardner & D. Peter Snustad
Editora Guanabara

Livro de genética geral, tradicional e clássica que possui apenas alguns capítulos de genética e biologia molecular: Dê uma boa olhada nos capítulos de molecular, são introdutórios do assunto e completamente básicos, básicos mesmo!!!

9. **Biotecnologia Simplificada**

Autores: Aluizio Borém, Fabrício R. Santos.
Suprema Gráfica e Editora, 1a edição. 2001. 250p.

Aborda as mais importantes aplicações da biotecnologia, necessitando, por parte do leitor, apenas conhecimento elementar de genética. Este livro foi escrito de forma a permitir que tanto leigos quanto conhecedores da genética entendam a biotecnologia, de forma desmistificada.

10. **O DNA Recombinante**

Autores: James D. Watson, Michael Gilman, Jan Witkowski e Mark Zoller

Tradutores: equipe de professores de várias instituições, sob a coordenação do professor Elio Hideo Babá (UFOP). Tradução da segunda edição.

Editora da UFOP, 2a edição. 1998. 624 p.

1.^a Parte: Desenvolvimento da Tecnologia do DNA Recombinante

2.^a Parte: Análise dos Genes Clonados

3.^a Parte: Novas Estratégias para se Estudar as Funções dos Genes

4.^a Parte: Análise de Importantes Processos Biológicos Utilizando a Metodologia do DNA Recombinante

5.^a Parte: Aplicação do DNA Recombinante na Biotecnologia

6.^a Parte: O Impacto do DNA Recombinante na Genética Humana

<http://www.ufop.br/ulthora/dna/livrodna.htm>