

Conceitos Básicos de Biologia Molecular

Células de Procariotos (bactérias) e Eucariotos (todos os outros seres vivos)

As células são consideradas as unidades vitais de vida. Nelas realizam-se a maior parte dos processos metabólicos dos seres vivos e nelas está contido o material genético (DNA).

As células são constituídas por uma membrana envolvente, que separa sua massa interior (chamada de citoplasma) do ambiente onde está inserida. Apesar de ser considerada impermeável (não permite que o meio externo misture-se ao meio interno) a membrana celular contém alguns poros por onde determinadas substâncias entram e saem da célula, mantendo-se assim uma interação com o ambiente, de onde recebe os nutrientes para desenvolver-se e para onde expele substâncias.

A organização interna de uma célula divide o mundo dos seres vivos em dois domínios de organismos: eucariotos e procariotos. Nas células dos eucariotos são encontrados compartimentos internos bem definidos como o núcleo e organelas (como por exemplo a mitocôndria, que também contém DNA, diferente do DNA nuclear). Já as células de procariotos não possuem compartimentos internos e em particular não possuem núcleo. Nas células de organismos eucariotos o material genético reside no núcleo, e nas células dos procariotos o material genético permanece livre no citoplasma.

A propriedade fundamental de uma célula está na sua capacidade de crescer e replicar-se, gerando células descendentes contendo cópias do seu material genético. Isso é resultado de uma série de processos metabólicos desencadeados dentro da célula.

DNA, RNA, Genoma, Gene e Cromossomo

O DNA é uma molécula fita dupla que armazena as informações relativas ao desenvolvimento e divisão das células. A informação genética contida na molécula de DNA na célula de um ser vivo compreende o seu genoma. Um gene é uma pequena parte codificante do genoma, responsável pela determinação dos traços hereditários dos organismos vivos. Em sua estrutura, os genes possuem uma região chamada de promotor, que é responsável por sua ativação(=expressão). Um promotor é um segmento de DNA que tem função regulatória. Além do promotor, os genes possuem em sua estrutura, uma região codificadora e uma terminadora, como esboçado na Figura 1. A região codificadora é o segmento do gene que contém a informação usada para sintetizar uma proteína e a terminadora é o segmento de DNA que sinaliza o final da síntese da molécula de mRNA. Os genes de procariotos também possuem um promotor e uma outra região regulatória chamada operador, mas a grande maioria dos seus genes estão organizados na forma de operon, que refere-se a uma seqüência de genes adjacentes sob o controle transcricional do mesmo promotor (Figura 2). Os genes das bactérias, com exceção das arqueobactérias, não possuem introns.

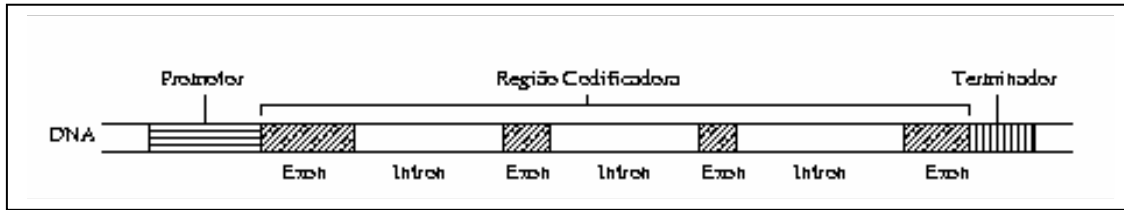


Figura 1: Estrutura de um gene de eucarioto. Genes de procarioto (em geral) não possuem introns.

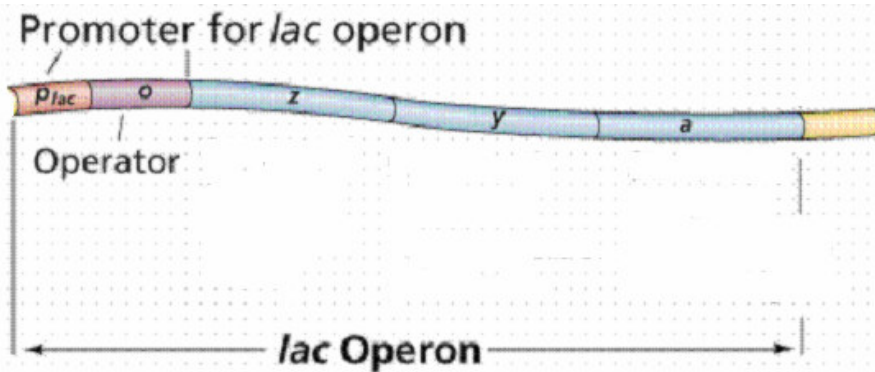


Figura 2: Estrutura de um operon de procariotos

Na natureza há dois tipos de ácidos nucleicos: DNA ou ácido desoxiribonucleico e RNA ou ácido ribonucleico. Analogamente a um sistema de comunicação, essas informações são mantidas dentro da célula em forma de código, que no caso denomina-se código genético.

Em sua estrutura primária, os ácidos nucleicos (DNA e RNA) podem ser vistos como uma cadeia linear composta de unidades químicas simples chamadas nucleotídeos. Um nucleotídeo é um composto químico e possui três partes: um grupo fosfato, uma pentose (molécula de açúcar com cinco carbonos) e uma base orgânica (Figura 3). Nas moléculas de DNA a pentose é uma desoxiribose enquanto que nas moléculas de RNA a pentose é uma ribose. A base orgânica, também conhecida como base nitrogenada, é quem caracteriza cada um dos nucleotídeos, sendo comum o uso tanto do termo seqüência de nucleotídeos quanto o termo seqüência de bases. As bases são adenina (A), guanina (G), citosina (C), timina (T) e uracila (U), sendo as duas primeiras chamadas de purinas e as três últimas chamadas de pirimidinas. No DNA são encontradas as bases A, G, C e T. No RNA encontra-se a base U ao invés da base T.

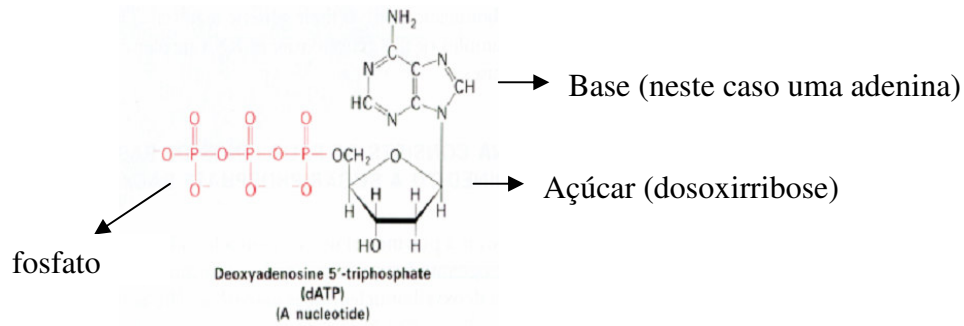


Figura 3. Exemplo da estrutura de um nucleotídeo

A ligação entre os nucleotídeos (ligações fosfodiéster) de uma cadeia linear é feita entre o grupo químico chamado hidroxil (OH) ligado ao terceiro carbono da pentose de um nucleotídeo, e o fosfato do nucleotídeo seguinte ligado ao carbono 5 da pentose do mesmo (Figura 4). Por convenção, as seqüências são representadas na orientação 5' → 3'.

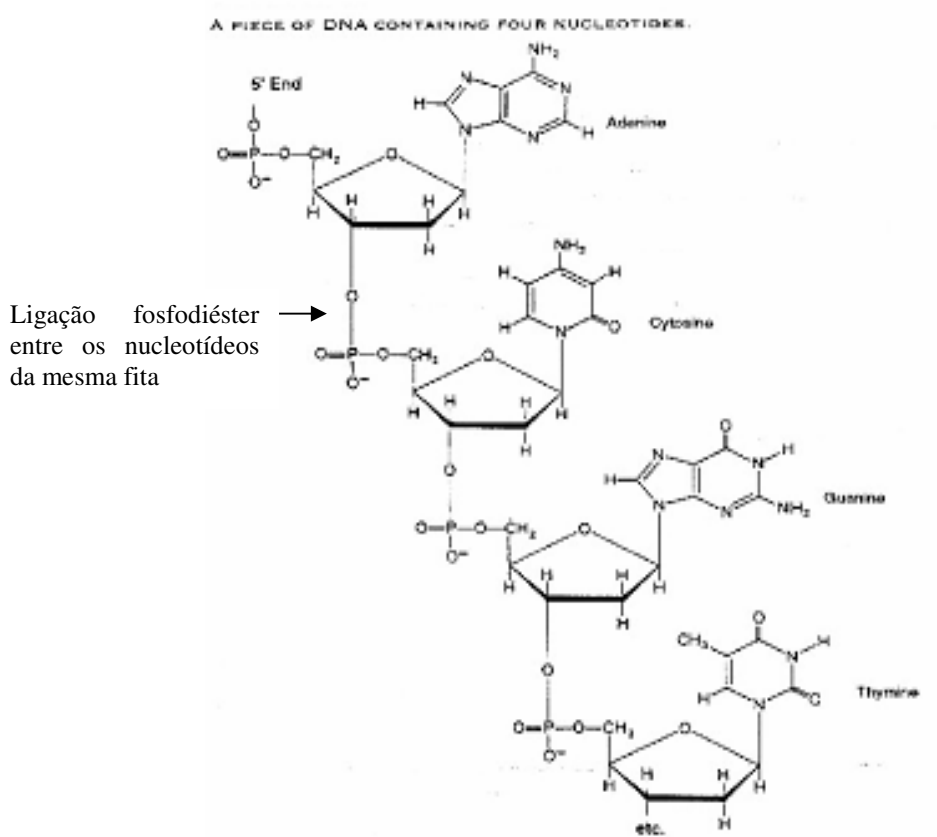


Figura 4. Representação das ligações entre os nucleotídeos da mesma fita.

Moléculas de DNA compõem-se de duas fitas, que ligam-se entre si formando uma estrutura helicoidal, conhecida como hélice dupla. As duas fitas unem-se pela ligação regular das bases de seus nucleotídeos. A base

A sempre liga-se a base T (por 2 pontes de hidrogênio) e a base G sempre liga-se a base C (por 3 pontes de hidrogênio)(Figura 5). As duas fitas são anti-paralelas, ou seja, as fitas possuem orientação 5' → 3' opostas uma em relação a outra.

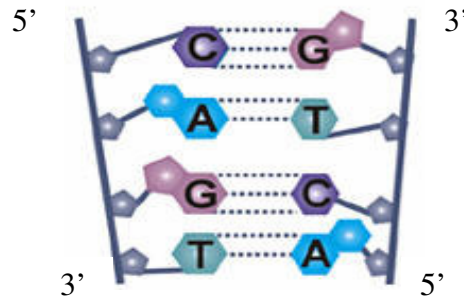


Figura 5

No momento da divisão celular* a célula duplica seu DNA e forma estruturas altamente compactadas chamadas cromossomos.

*vamos considerar apenas o processo de mitose, onde a divisão celular origina uma outra célula geneticamente igual à que lhe deu origem.

Os genomas dos procariotos e eucariotos possuem algumas diferenças importantes. Uma das diferenças está relacionada ao número de cromossomos presentes em cada célula. Uma célula de procarioto possui apenas um cromossomo, enquanto que em uma célula eucariótica esse número pode ser por exemplo, 23 pares de cromossomos (46 cromossomos) para uma célula humana. O número de cromossomos em eucariotos muda entre as espécies. Outra diferença se refere à organização dos genes entre os genomas de procariotos e eucariotos. Além dos genes, os cromossomos possuem regiões intergênicas, que não possuem nenhuma função particularmente conhecida e são chamadas "lixo de DNA" (junk DNA). Nos procariotos os genes compreendem quase todo o cromossomo, havendo poucas e em geral curtas regiões intergênicas. Em números, isso poderia ser aproximadamente colocado na proporção de 90% de genes e 10% de regiões intergênicas. No caso dos eucariotos (principalmente os superiores) o volume de genes é bem menor em relação às regiões intergênicas, numa proporção contrária a dos procariotos. No caso de um humano, menos que 5% do genoma é compreendido pelos genes.

Duplicação ou Replicação do DNA

A síntese de uma nova cadeia de DNA nas células, também conhecido como polimerização, duplicação ou replicação se faz a partir de uma fita simples de DNA molde e da regra de pareamento de bases complementares, de onde uma fita nova é gerada a partir do encadeamento dos nucleotídeos com base complementar aos nucleotídeos da fita molde.

Os principais agentes envolvidos nesse processo são enzimas especiais chamadas polimerases. Enzimas que fazem a síntese de DNA são chamadas de polimerases de DNA (ou DNA polimerase). Essas enzimas encarregam-se de adicionar um a um os nucleotídeos à fita nova, bastando que haja na sua extremidade 3' um grupo hidroxil (OH) livre, onde é ligado o próximo nucleotídeo pelo seu grupo fosfato (lembrar da figura 4). É importante, então, notar que a síntese de uma fita nova de DNA acontece na direção 5' → 3' (Figura 6).

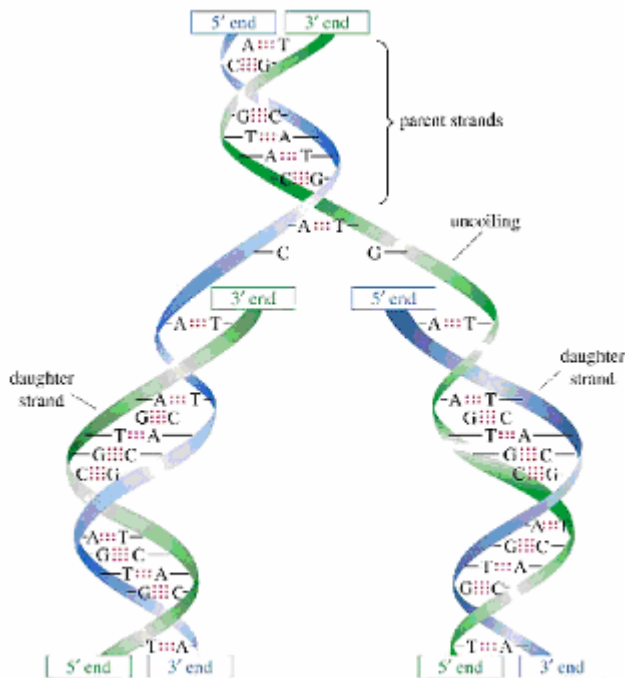


Figura 6

Na replicação, cada uma das fitas de uma molécula de DNA é usada individualmente como molde, e cada uma das duas fitas novas sintetizadas estará ligada à sua molde. O início da síntese das fitas novas se faz a partir de um ponto no DNA chamado origem de replicação, onde o DNA se abre para que a cópia das novas fitas possa iniciar. O processo requer que haja um fragmento curto de DNA ou RNA (também 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", é sintetizado por uma outra enzima (Figura 7). Há várias enzimas que atuam ao longo do processo de replicação do DNA, cada uma realizando uma determinada tarefa.

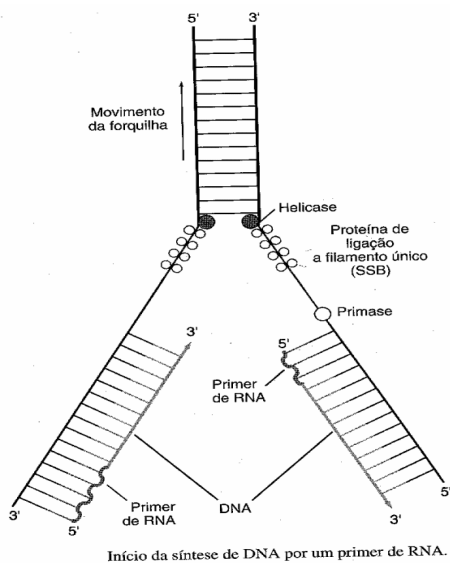


Figura 7. Processo de replicação do DNA

Transcrição e Tradução (as etapas necessárias para a síntese das proteínas)

A transcrição é um processo de decodificação da mensagem contida num gene para uma fita de RNA (Figura 8) e é realizado por uma enzima chamada RNA polimerase. Pelo fato dos promotores (seqüências regulatórias dos genes) possuírem seqüências de nucleotídeos comuns (conservadas), esta enzima as reconhece e liga-se nelas, 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 que é 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 proteínas.

A tradução é o processo de síntese ou fabricação de proteínas (construção da cadeia de aminoácidos). Para a fabricação das proteínas é necessário que estruturas celulares chamadas ribossomos decodifiquem a mensagem contida na molécula de mRNA (RNA mensageiro) para uma cadeia de aminoácidos. A decodificação está baseada em trinças de nucleotídeos, chamadas codons, que são usados para especificar o aminoácido. A correspondência entre uma trinca de nucleotídeos e um aminoácido é chamada de código genético (apresentada na Tabela 1). Combinando os 4 nucleotídeos em triplas obtém-se 64 combinações. Embora esse número seja superior aos 20 aminoácidos existentes, mais do que um codon pode representar um mesmo aminoácido. Dentre os codons possíveis, 3 não especificam aminoácidos, e referem-se a sinais de terminação da síntese de um cadeia de aminoácidos. Esses codons são chamados de codons de parada (stop codons). O código genético estabelece também um codon de início (start codon), pelo qual começa o processo de tradução do mRNA. Na maioria das proteínas o codon de início especifica o aminoácido metionina, que também está presente no interior das cadeias.

Sumariamente, o processo de tradução é realizado da seguinte maneira: ao combinar-se com os ribossomos, o mRNA tem sua seqüência de codons lida, e para cada codon o respectivo tRNA é atraído até os ribossomos, e pela complementariedade de bases é feita a ligação entre o codon (do mRNA) e o anticodon (do tRNA), liberando o aminoácido carregado pelo tRNA que é então ligado à cadeia crescente do polipeptídeo. Moléculas de tRNA ou RNA transportador (=transfer RNA) agem como adaptadores entre a seqüência codificante dos nucleotídeos do mRNA e o aminoácido que é codificado. Uma ponta dessa molécula carrega o aminoácido e uma outra ponta consiste de uma seqüência de três nucleotídeos conhecida como anticodon. A síntese da proteína é encerrada quando os ribossomos encontram um codon de parada no mRNA (Figura 9).

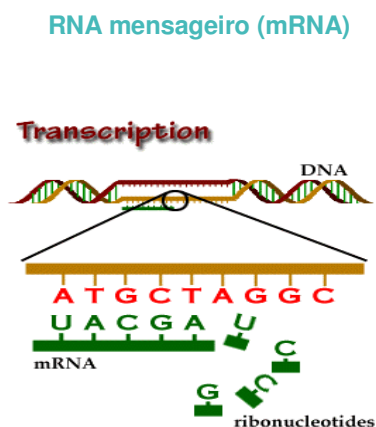


Figura 8

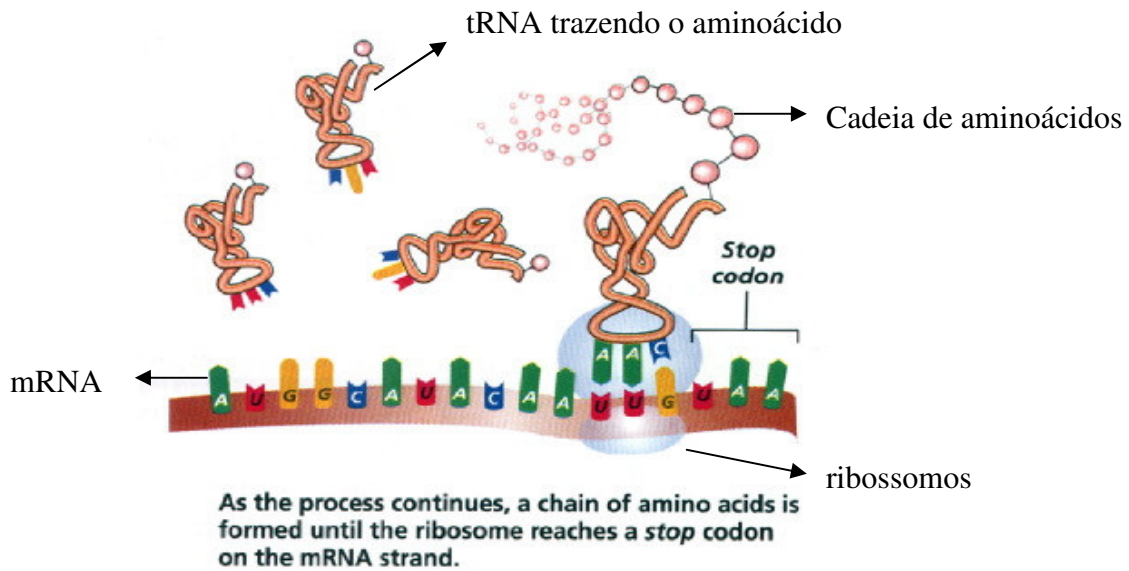


Figura 9. Processo de Tradução (síntese de proteínas)

Tabela 1. Trinças (ou codons) com o aminoácido correspondente, ou especificando término de síntese da proteína.

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

Os processos de transcrição e tradução dos procariotos e eucariotos apresentam diferenças entre si. Dentre essas diferenças há duas principais. A primeira é que em procariotos o processo de tradução de um mRNA inicia-se antes que a transcrição do mesmo tenha se encerrado (a transcrição e a tradução ocorrem concomitantemente) (Figura 10). Já nos eucariotos, a tradução é iniciada somente após a finalização da

transcrição, e nesse caso o mRNA sai do núcleo para o citoplasma onde é realizada a tradução. A segunda diferença é que nos eucariotos o mRNA sofre modificações antes de ser traduzido. O produto da transcrição (o mRNA), chamado de transcrito primário, sofre mudanças e somente após estas mudanças este mRNA agora "maduro" pode ser transportado do núcleo da célula para o citoplasma onde ocorrerá o processo de tradução. Uma mudança importante sofrida pelo mRNA antes de sair do núcleo é a retirada dos introns. Os introns são pequenos pedaços de um gene que são transcritos mas não participam do processo de tradução. Somente participarão da montagem da proteína os pedaços de um gene chamados de exons (Figura 11).

Figura 10

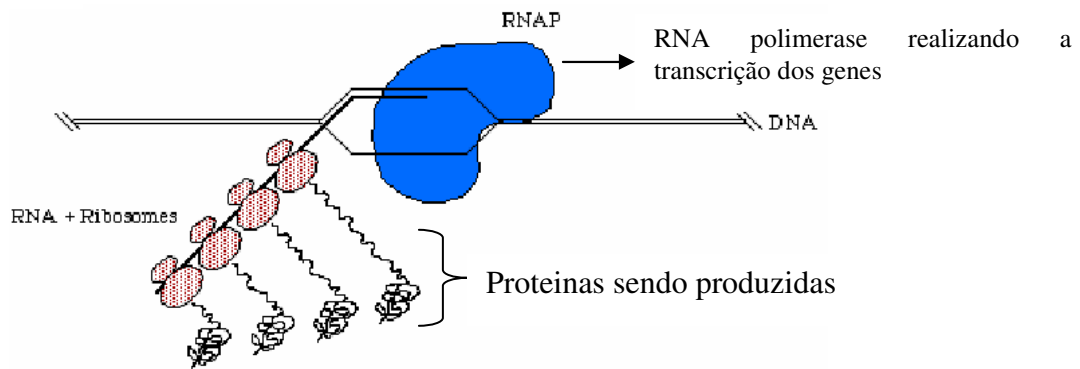
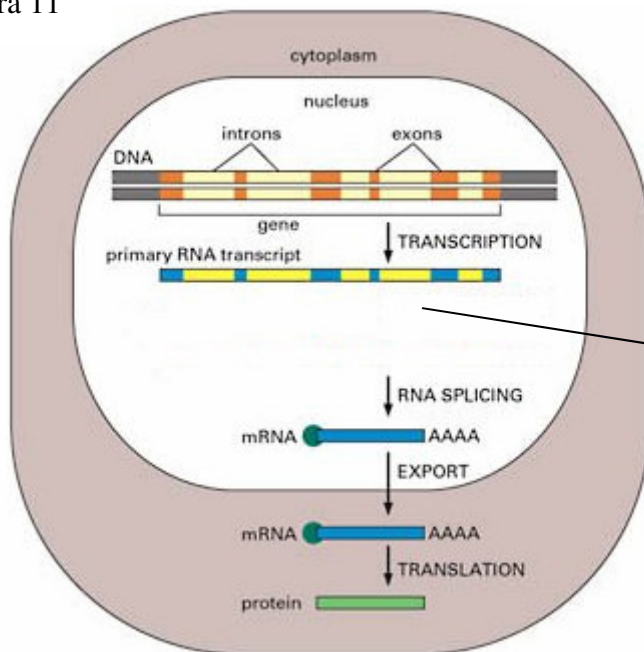


Figura 11



Os introns (pedaços amarelos) são retirados do mRNA antes do mesmo ser transportado para o citoplasma onde ocorrerá a tradução (montagem da cadeia de aminoácidos da proteína). Só os exons (pedaços azuis do transcrito primário) é que serão usados para montar a proteína.

Além das duas grandes diferenças acima, uma diferença mais peculiar é que em eucariotos, um transcrito contém apenas o produto de um único gene, já em procariotos, um transcrito pode conter mais de um gene pelo

fato da grande maioria dos genes de procariotos estarem organizados na forma de operons.

Um outro aspecto referente à produção de proteínas é o conceito de "ORF" (open reading frame). Um quadro de leitura que inicie com um codon de início e que não seja encerrado prematuramente por um codon de parada é denominado de open reading frame ou ORF (Figura 12). Embora seja comum na prática o uso dos termos ORF e gene indistintamente, é importante frisar sua diferença. Toda região codificadora de um gene é uma ORF, mas nem toda ORF é um gene.

A sequência que é traduzida em proteína possui uma fase de leitura que inicia com **start códon (AUG=metionina)** até terminar com **stop códon**.

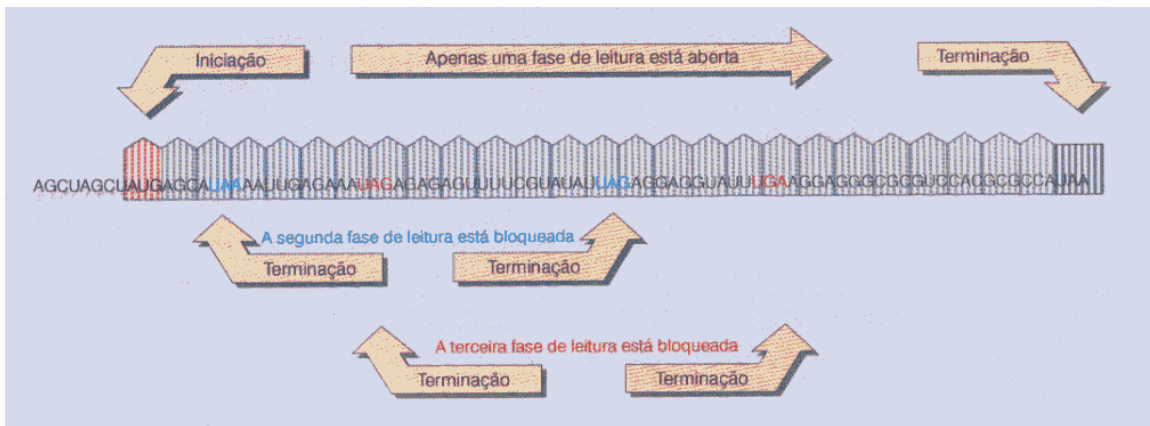


Figura 12. Esquema de uma ORF