

## REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA

### **META**

Apresentar dos principais mecanismos reguladores da expressão gênica em Eucariotos e Procariotos.

### **OBJETIVOS**

Ao final desta aula, o aluno deverá:

conhecer os mecanismos gerais de regulação utilizados por Procariotos e Eucariotos;  
relacionar as diferenças entre os mecanismos utilizados pelas duas categorias de organismos;  
entender a importância dos mecanismos apresentados para a sobrevivência dos organismos.

### **PRÉ-REQUISITOS**

Para alcançar os objetivos propostos o aluno deverá rever as aulas de estrutura e funcionamento do DNA (Transcrição e tradução), como também utilizar a bibliografia indicada para aprofundar seus conhecimentos.

### INTRODUÇÃO

Cada célula que compõe nossos órgãos e tecidos contém o mesmo complemento de DNA – conhecido como genoma pessoal. Para nossas células tornarem-se célula da pele ao invés de célula capilar, certos genes tem que ser ligados ou desligados. Este processo de comutação da expressão gênica é denominado regulação gênica. Alguns genes, como os das proteínas ribossomiais, devem ser continuamente expressos em todas as células para manter a produção de proteínas. Outros genes, no entanto, estão ativos somente em células ou tecidos específicos. P. ex. o gene da opicina, o qual codifica a proteína que ajuda a recepção de cor no olho, só está expresso nas células da retina do olho.

Todos esses processos são precisamente regulados separadamente e em conjunto para que os organismos se desenvolvam obedecendo suas necessidades diárias e temporais.

O controle da expressão gênica em organismos cujo material genético é o DNA é um processo coordenado e muito preciso. O metabolismo celular, as respostas dos indivíduos ao ambiente, a expressão dos genes responsáveis por cada período do desenvolvimento, todos dependem de uma regulação conjunta e orquestrada.

Cada organismo vivo tem a capacidade de ligar e desligar seus genes em momentos diferentes do seu ciclo de vida e sob certas condições. Isto ocorre continuamente em nossos corpos sem a nossa interferência e, mesmo, consciência. Este processo de regulação gênica é similar em todos os organismos, aumentando em complexidade à medida que subimos na cadeia evolutiva. Na maioria dos organismos esta regulação ocorre no nível da transcrição do DNA, durante a síntese do RNAm.

Para compreender a regulação precisamos primeiro entender a estrutura dos genes em Procariotos e Eucariotos.

### ESTRUTURA DO GENE

A estrutura geral dos genes de Procariotos e Eucariotos é muito semelhante, uma vez que nos dois casos há seqüências reguladoras que antecedem a região codificante e seqüências terminadoras que delimitam o final do gene. Assim um gene, seja qual for sua origem, tem início e fim (figura1).

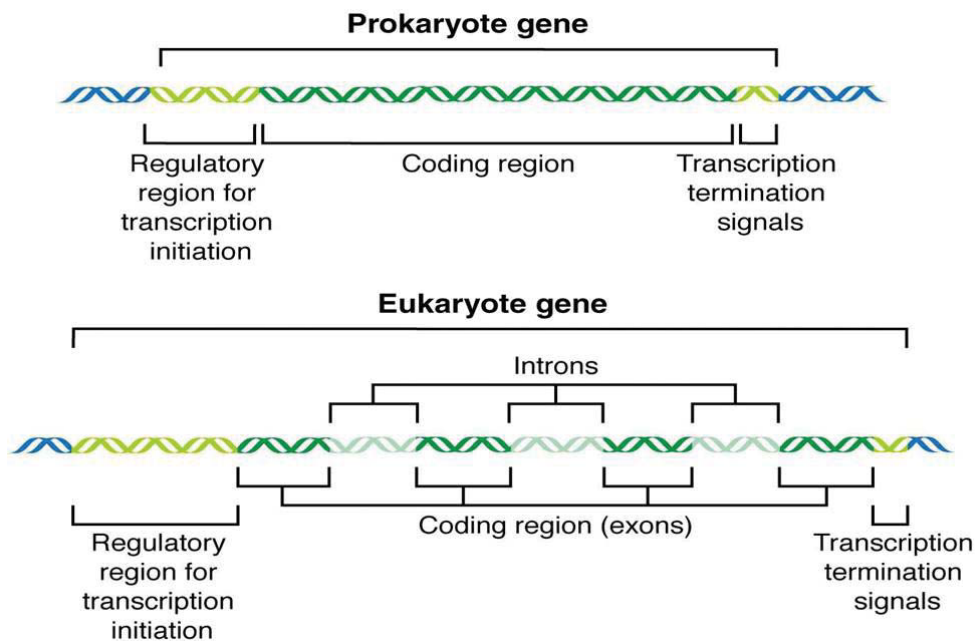


Figura1.

Nos Procariotos, a estrutura é mais simples e contém uma região codificante inteira, sem interrupção. Evolutivamente, essa estrutura mostrou-se a mais eficiente para um grupo de organismos que não tem divisão entre núcleo e citoplasma, e seu DNA está mergulhado em seu citoplasma, em um local denominado Nucleóide (figura 2).

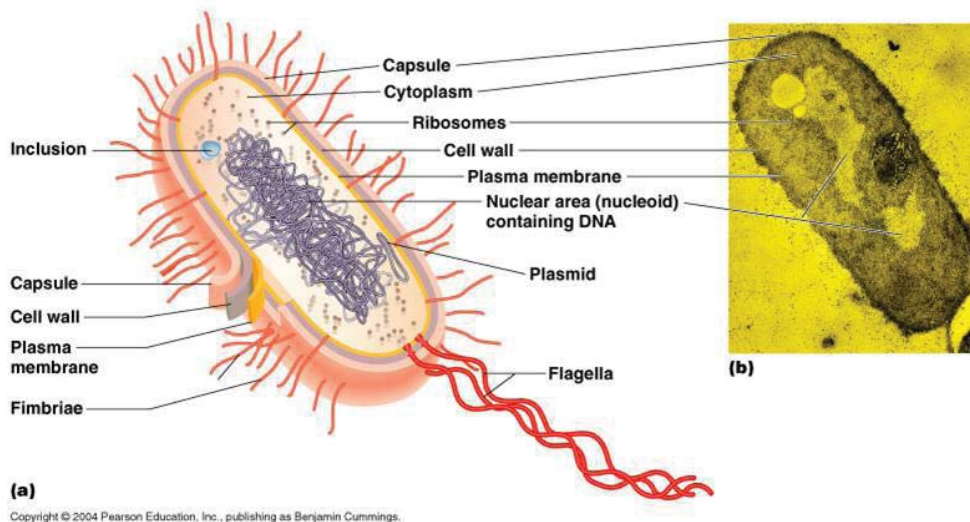


Figura 2.

Nesse ambiente, a expressão gênica (transcrição e tradução) ocorre ao mesmo tempo, já que esse organismo unicelular está mergulhado em seu meio e precisa dar respostas rápidas para sua sobrevivência (ver figura 3).

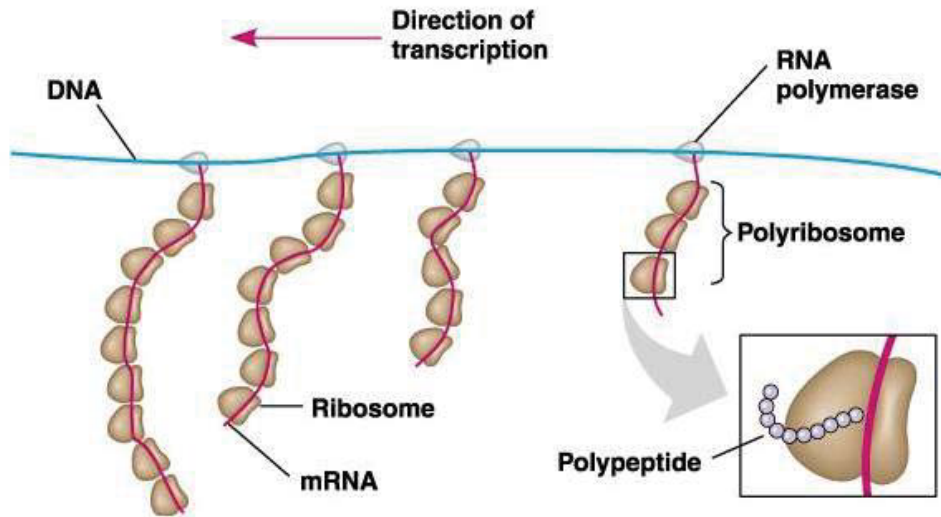


Figura 3.

Nos eucariotos, havendo 2 compartimentos separados, há divisão de trabalho entre núcleo e citoplasma. Figura 4

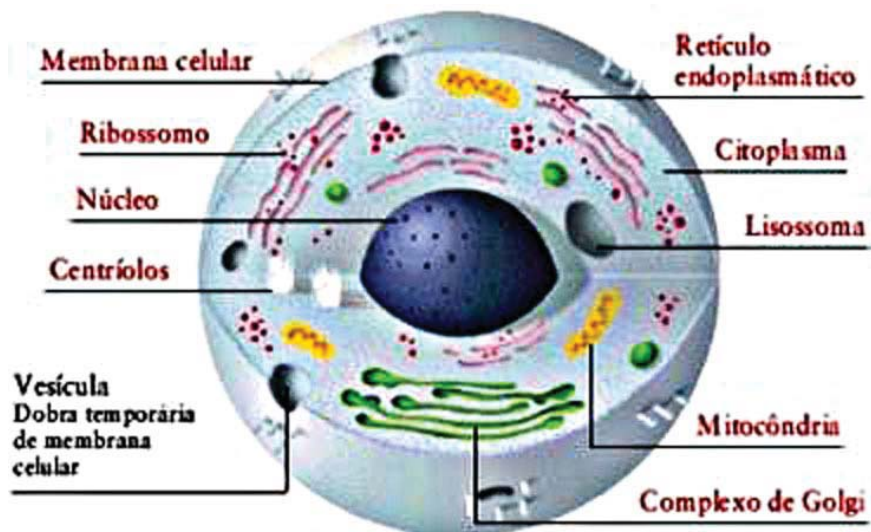


Figura 4.

Além disso, um mesmo DNA está presente em diversos tipos celulares, tornando a expressão dos genes tecido-específico. Não se espera, em indivíduos normais, que uma proteína essencial ao sistema nervoso seja produzida no fígado! Figura 5

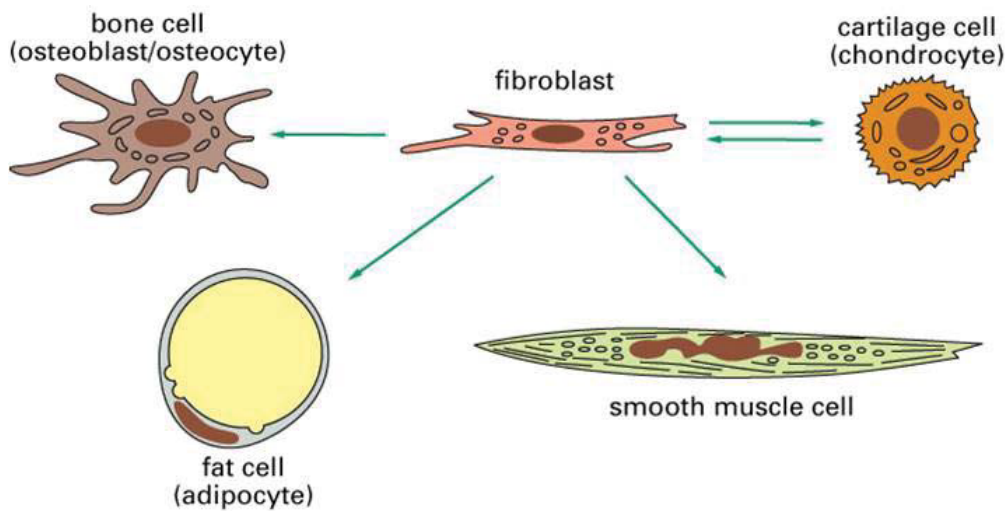


Figura 5.

Diferentes categorias de genes se expressam durante a vida de um organismo eucarioto. As principais são:

- Genes de manutenção (housekeeping) Expressos em todas as células. São responsáveis pela rotina metabólica comum a todas as células.
- Outros genes se expressam à medida que a célula entra em um período de diferenciação.
- Alguns são expressos todo o tempo em células diferenciadas. P. ex. Uma célula do plasma expressa continuamente os genes para anticorpos.
- Alguns são expressos somente em condições de mudança do ambiente extracelular. P. ex., a chegada de um hormônio pode ligar ou desligar certos genes.

A expressão gênica ocorre, então, em vários níveis. (Figura 6).

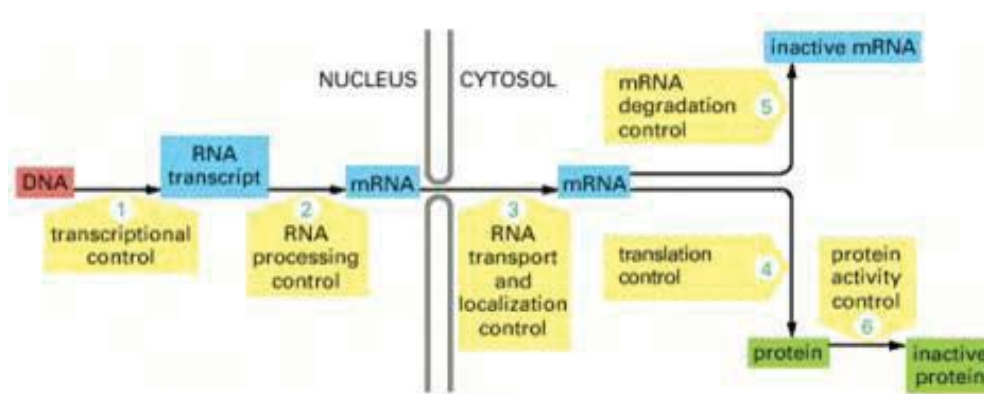


Figura 6.

Geralmente, na maioria dos organismos o controle da expressão gênica se dá na transcrição, o que é compreensível, pois é melhor parar o processo antes da produção da mensagem que depois!

### **CATEGORIAS DE MECANISMOS REGULADORES**

I. Ligação e Repressão da ação gênica em resposta a mudanças ambientais-  
Procariotos.

- Funcionam como interruptores, pois ligam e desligam genes de acordo com as respostas dos procariotos as mudanças ambientais, ajustando seu metabolismo rapidamente ao crescimento e reprodução.

II. Circuitos Pré-programados de expressão gênica - Eucariotos.

Em eucariotos, a expressão de genes funciona de maneira semelhante aos procariotos, mas devido aos diferentes tipos celulares e as diferentes fases do desenvolvimento o ligar e desligar de genes obedece a uma programação, que se inicia no zigoto, continua durante a vida dos indivíduos e, mesmo na morte, o circuito tem seu papel.

### **REGULAÇÃO GÊNICA EM PROCARIOTOS: CONSTITUTIVA, INDUZÍVEL E REPRESSÍVEL**

Como todos os organismos, procariotos como as bactérias, possuem genes constitutivos, ou de manutenção, que produzem proteínas ribossômicas, RNAt, e outros, que mantêm o metabolismo ativo. Outros genes são “sazonais”, ou seja, só são ligados quando em resposta a condições ambientais.

Em seu metabolismo elas sintetizam aminoácidos, vitaminas, carboidratos etc. Durante seu crescimento elas podem usar qualquer carboidrato: glicose, sacarose, galactose ou lactose como fonte de energia. Se há glicose, ela a usa em seu metabolismo sem ligar ou ativar nenhum gene temporário. Mas se a lactose for a única fonte de carbono, ela sintetiza 3 enzimas, a  $\beta$ -galactosideo permease e a  $\beta$ -galactosidase, que metabolizam a lactose.

A  $\beta$ -galactosideo permease carrega lactose do meio externo para dentro da bactéria.

A  $\beta$ -galactosidase cataliza a quebra da lactose em glicose e galactose, açúcares de maior energia.

$\beta$ -galactosideo transacetilase, função ainda desconhecida.

Para quebrar a lactose, a bactéria utiliza um sistema de indução e repressão gênicas, ou seja, quando não há glicose, o açúcar de maior energia, ela utiliza lactose que esteja disponível, ligando genes para quebrá-lo e, quando o açúcar não estiver mais disponível, desligando-os. A presença

da lactose induz a célula bacteriana a produzir as enzimas necessárias para quebrá-la; então a lactose é o Indutor da expressão gênica. Os genes das enzimas são induzíveis.

A indução ocorre no nível da transcrição. Ela altera a taxa da síntese de enzimas, mas não a atividade delas.

A regulação da expressão gênica (indução, ou ativação de genes e a repressão, ou o desligamento de genes) é feita por genes reguladores, que atuam por meio de mecanismos de controle positivo e negativo (ver figura 7).

Nos mecanismos de controle positivo, o produto do gene regulador é necessário para ligar a expressão de um ou mais genes estruturais (que produzem proteínas).

Nos mecanismos de controle negativo, o produto do gene regulador é necessário para desligar a expressão dos genes estruturais.

Os produtos do gene regulador são chamados de ativadores, ligando genes no controle positivo, e repressores desligando genes no controle negativo.

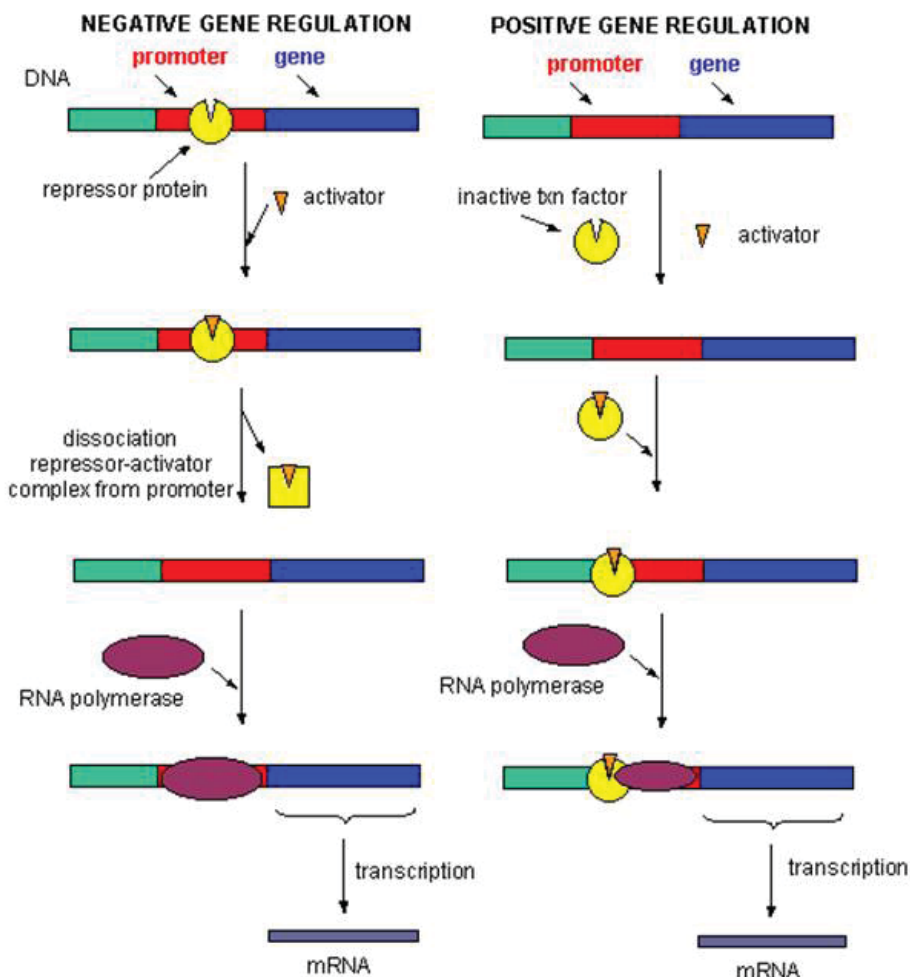


Figura 7.

## O MODELO DO OPERON

Em 1961, dois cientistas, François Jacob e Jacques Monod propuseram um modelo, para explicar a utilização de lactose por *E. coli*: o Modelo do Operon. Nesse modelo, um conjunto de genes reguladores e estruturais, agindo coordenados, controla a produção de enzimas responsáveis pela degradação da Lactose.

Os genes que constituem o Operon são:

### I P O Z Y A

I (produz uma proteína repressora) – na ausência de Lactose, o operon está desligado por tal proteína. A proteína repressora produzida pelo gene I se liga ao operador, impedindo a ligação da RNA polimerase.

Obs: Lembre que, em qualquer gene, a expressão gênica começa quando a RNA polimerase se liga ao promotor do gene e sintetiza um RNA que contem a região a região codificante do gene (ver Aula de transcrição)

P (Promotor) – o promotor é a seqüência que é reconhecida pela RNA polimerase, onde se inicia a transcrição. Ela antecede a região codificante dos genes.

O (Operador) – Seqüência que faz parte da região promotora e é responsável pela ligação da proteína repressora, impedindo a transcrição. Quando o operador está desreprimido, a RNA polimerase passa por ele em direção ao genes estruturais (ZYA).

Z - produz enzima B-galactosidase, que quebra a lactose em glicose e galactose.

Y - produz a enzima  $\beta$ -galactosideo Permease, transporta via membrana, a lactose do meio externo para dentro da célula bacteriana.

A - produz a enzima  $\beta$ -galactosideo transacetilase – participa do controle positivo do operon.

## CONTROLE DA EXPRESSÃO GÊNICA EM PROCARIOTOS: O PAPEL DO PROMOTOR

A região promotora de qualquer gene localiza-se a 5', antes da região codificante, controlando a ligação da RNA polimerase, quando os genes precisam ser transcritos. Numa analogia, se a RNA polimerase fosse um carteiro, o promotor é o endereço do gene!

Por convenção, os nucleotídeos que vêm antes da região codificante são enumerados com sinal negativo e a partir da região codificante com sinal positivo (figura 8).



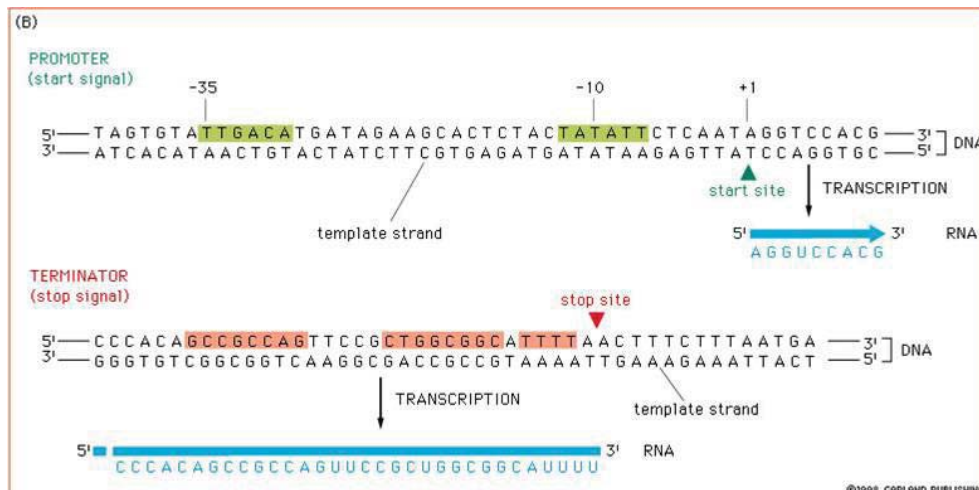


Figura 8.

Em procariotos, o promotor possui duas regiões conservadas evolutivamente (que estão presentes em diferentes espécies e chamadas seqüências de consenso), que precedem a região codificante: a seqüência a cerca de 10 nucleotídeos da região codificante (-10) chamada TATA Box e a seqüência -35 (TTGACA). Essas seqüências podem variar de gene para gene, mas alguns nucleotídeos se repetem em diferentes genes.

A subunidade sigma da RNA polimerase reconhece primeiro a região -35 e depois desliza em direção a -10.

A seqüência -10 é rica em A-T e facilita o desenrolamento localizado do DNA, necessário para a síntese de uma nova cadeia de RNA.

No modelo operon, o indutor da transcrição de seus genes é a Alo-lactose derivada da lactose em uma relação catalizada pela B-galactosidase, o qual se associa ao repressor e inibe-o, deixando o promotor livre para a interação com a RNA polimerase e conseqüente transcrição do gene (Jacob e Monod, 1961).

Veja vídeos sobre o funcionamento do Operon Lac no link indicado nas referencias bibliograficas

## AÇÃO DO OPERON POR CONTROLE NEGATIVO

Como já dito, o Operon Lac é induzível, pois seus genes só são transcritos na presença de Lactose. Na sua ausência, a proteína reguladora de I deixa o sitio O reprimido.

Quando a Lactose está presente, ela liga-se ao repressor, muda sua conformação e ele sai do operador. A liberação deste sítio faz com que a RNA polimerase se ligue ao operador e inicie a transcrição dos genes Z, Y e A, que serão em seguida traduzidos nas 3 enzimas: B-galactosidase, B-galactosideo permease e B-galactosideo transacetilase.

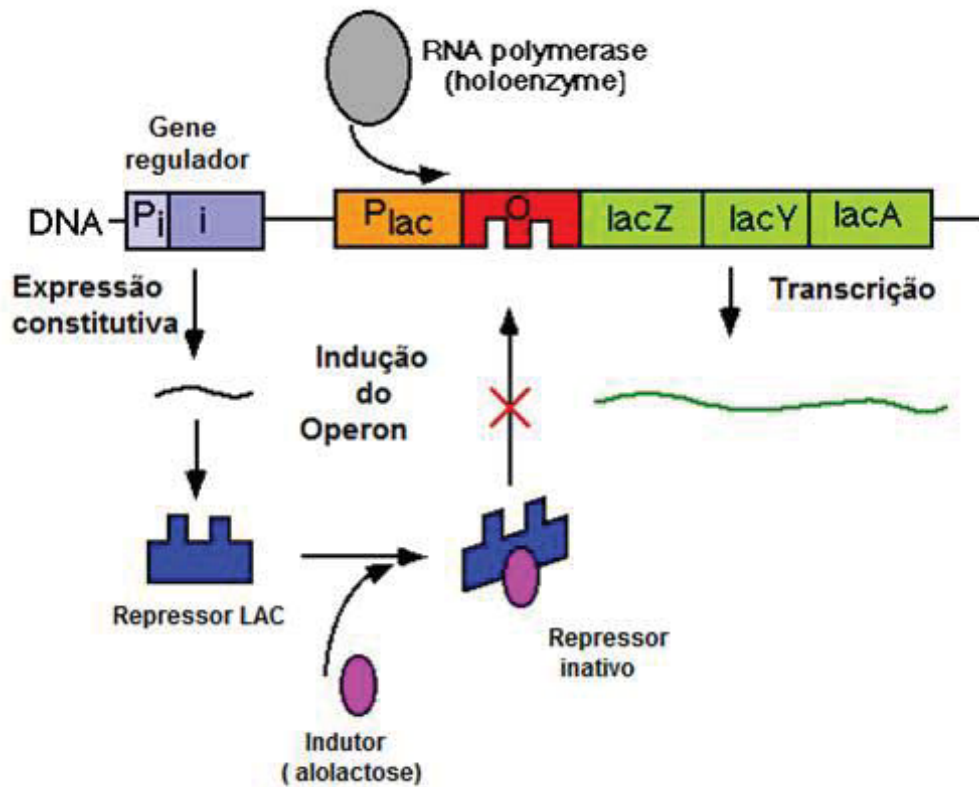


Figura 9.

## ACÇÃO DO OPERON LAC POR CONTROLE POSITIVO

Pode acontecer de estarem presentes na célula bacteriana tanto Glicose quanto Lactose, e a glicose é degradada preferencialmente. A presença da glicose impede a indução do Operon Lac, ou outros operons envolvidos no catabolismo dos carboidratos. Esse fenômeno é chamado repressão catabólica e assegura que a glicose seja metabolizada quando presente, preferencialmente a outras fontes de energia menos eficientes.

A repressão catabólica do operon Lac e outros são mediadas por uma proteína reguladora, chamada CAP (proteína ativadora de catabólito) e uma pequena molécula de AMP cíclico (AMPC), que só funcionam juntas, em um complexo:CAP-AMPC.

O promotor Lac contém dois sítios de ligação separados, um para RNA-pol e outro para o complexo CAP-AMPC.

A glicose em grandes impede a formação do AMPC, por que ela impede a adenilciclase de formá-lo, Mas, a medida que a glicose é degradada, a concentração de AMPC vai aumentando e ele pode então se ligar a CAP, formando o complexo. Esse complexo se liga então ao promotor Lac e amplia o numero de RNAm e, conseqüentemente enzimas para degradar a lactose.

Uma pergunta comum é: se a lactose está presente, o operon está desreprimido e está produzindo as enzimas; então, porque precisa do complexo CAP-AMPc?

A resposta é que o promotor Lac é dito “fraco”, pois ele não se liga (ou encaixa) eficientemente a RNAPol, e a produção de enzimas quando só a lactose está presente é de cerca de 2%. Quando o complexo CAP-AMPc se liga ao operador ele aumenta a eficiência de ligação do promotor fazendo com que o encaixe seja perfeito e a produção de proteínas aumente muito.

Alem do Operon Lac, outros operons estão presentes em *E. coli* (Arabinose, Trptofano e outros). O modelo do Operon Lac foi essencial para compreendermos como genes são ligados e desligados. Essa compreensão ajudou a entender mecanismos similares em Eucariotos, como veremos em seguida.

## REGULAÇÃO GÊNICA EM EUCARIOTOS

Vimos anteriormente que a expressão de genes eucariotos é regulada por circuitos pré-programados, onde toda as células de organismos multicelulares tem o mesmo DNA mas, com exceção dos genes constitutivos, cada gene atua de maneira espacial e temporal. P. ex. as Hemoglobinas do adulto humano só são produzidas depois que a hemoglobina fetal diminui sua quantidade, aos 6 meses de vida.

Em humanos, dos 25.000 a 30.000 genes codificados pelo Projeto Genoma, cerca de 3% codifica proteínas. No entanto, o número de proteínas produzidas excede largamente o número de genes. Este fato pode ser explicado tendo em consideração o seguinte:

Os genes de eucariotos são interrompidos! Em um segmento de DNA correspondente a um gene que codifica uma determinada proteína, encontra-se regiões codificadoras (chamadas Exons) alternando-se com regiões não-codificadoras- os introns (figura 10).

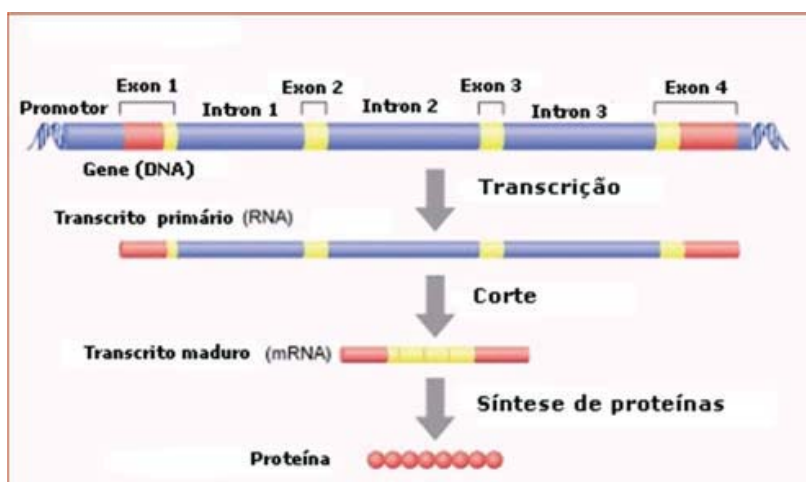


Figura 10.

O transcrito resultante não é funcional e só poderá ser traduzido se for devidamente “montado”, descartando-se os introns 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.

Os exons codificam seqüências de aminoácidos, designadas domínios, que podem fazer parte de mais do que uma proteína. Diferentes combinações de exons formam diferentes proteínas.

A regulação em eucariotos tem várias características a considerar:

1. Núcleo e citoplasma em eucariotos estão separados por membrana, sendo o trabalho compartimentalizado também. No núcleo produz-se RNA, que é montado na maneira de um RNAm ; este vai para o citoplasma (retículo endoplasmático) para ser traduzido;
2. Como já visto na aula de transcrição, eucariotos têm 3 tipos de RNA polimerase: I, II e III, para cada tipo de RNA;
3. Há modificações pós-transcricionais: retirada dos introns e modificação das extremidades 5' e 3' do RNAm;
4. A regulação da expressão gênica sofre a ação de sinais intra e extracelulares.
5. As proteínas reguladoras que controlam a transcrição são os fatores de transcrição, muitos deles com domínios característicos para interagir com o DNA.

### MONTAGEM ALTERNATIVA DE RNA

A maioria dos genes eucarióticos tem introns. Cada um deles precisa ser removido para que o RNAm contenha apenas a seqüência codificante que será traduzida em aminoácidos.

A formação do RNAm é feita por enzimas específicas (Spliceossomos), que corta os introns separadamente ou em conjunto. Quando um corte de introns leva um exon junto, a recomposição forma uma proteína diferente, ampliando o leque das alternativas que um RNAm pode formar, como mostra a figura 11 ao lado:

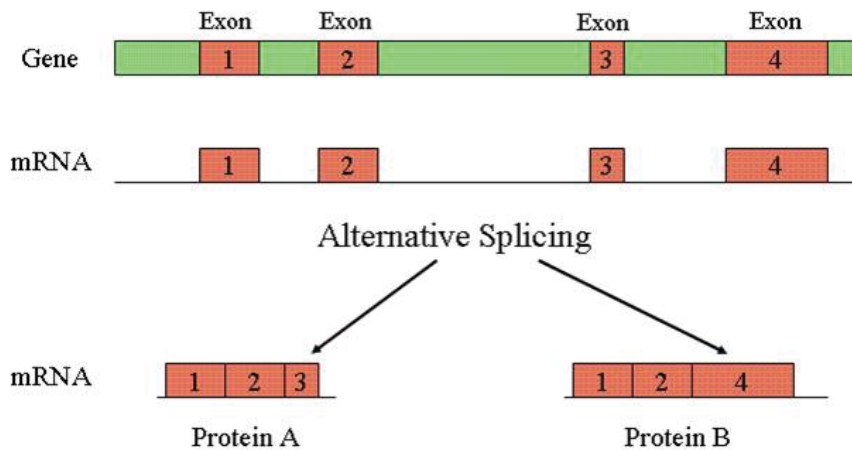


Figura 11.

O controle da expressão gênica em eucariotos é mais complexo do que em bactéria, pois a passagem do núcleo para o citoplasma, a resposta a sinais ambientais internos e externos e a comunicação celular impõem a ação coordenada de todos os elementos envolvidos.

## CONTROLE DO PROMOTOR E ELEMENTOS PRÓXIMOS

Boa parte desse controle se dá no promotor e nas regiões proximais a ele. Uma vez que em diferentes tipos celulares diferentes genes se expressam, a estrutura do promotor tem que refletir esse critério espacial.

Como em bactérias o promotor tem que sinalizar o início do gene para a RNA polimerase, assim como a regulação a distância, por meio de elementos proximais a ele.

### PROMOTOR

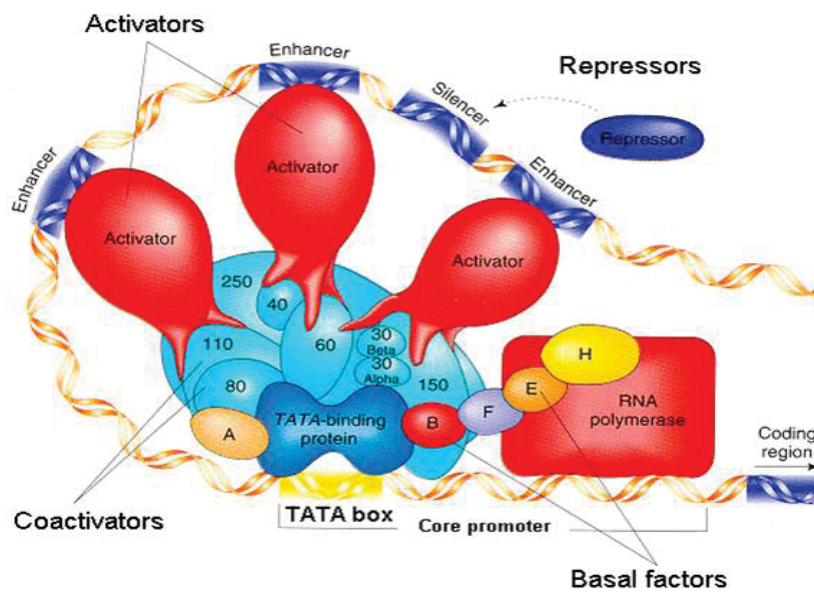
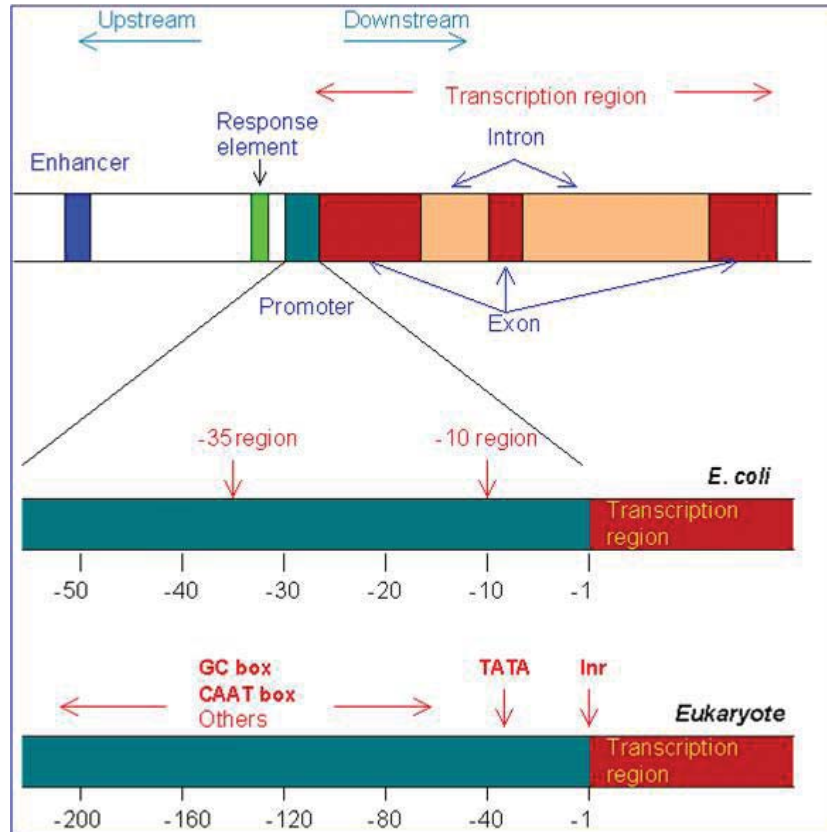
Como já visto em bactérias, contém seqüências de consenso (-35 e -10) que sinalizam o início da transcrição para a RNA pol. Aqui, no entanto, a seqüência -35 assume diferentes arranjos, pois é mais tecido específica, ou seja, cada gene em cada tecido pode ter uma seqüência um pouco diferente para identificar onde ele está (coração, pele, etc).

### ENHANCER (AMPLIFICADOR)

Seqüência que está acima (upstream) do promotor, a milhares de nucleotídeos distante dele e que tem a função de ser a região onde os fatores de transcrição se ligam para ampliar a produção de RNA. Por isso, os fatores de transcrição que se ligam a ele são chamados ativadores de transcrição.

## SILENCIADOR

Outra seqüência de nucleotídeos que age a distancia do promotor e, ligando-se a fatores de transcrição, silenciando genes. Os fatores de transcrição que se ligam ao silenciador são chamados repressores.



As figuras 12 e 13 ilustram esses elementos.

## REGULAÇÃO GÊNICA POR HORMÔNIOS

Dois categorias de hormônios são importantes na regulação gênica em eucariotos:

1. Hormônios esteróides (progesterona e estrogênio) – moléculas pequenas lipossolúveis, que atravessam a membranas celulares.

Quando entram na célula interagem com receptores hormonais, no citoplasma ou núcleo, formando um complexo, e interage com o DNA, se comportando como fatores de transcrição. (figura 14).

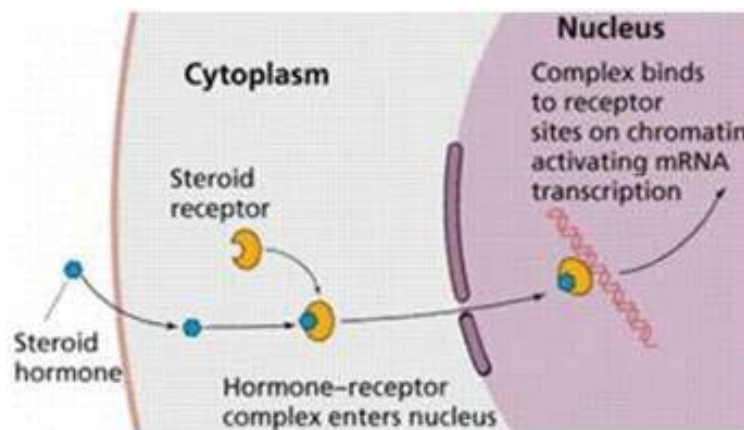


Figura 14

## CONCLUSÃO

Os mecanismos apresentados nesse capítulo demonstram as diferentes estratégias utilizadas por organismos pro e eucariotos para expressar ou reprimir genes ou conjuntos de genes em resposta ao seu ciclo de vida e as exigências do ambiente.

Embora os mecanismos em cada categoria de organismo sigam os mesmos princípios, o nível de complexidade de cada um deles obedece as relações de cada organismo com seu meio, como vimos no uso da lactose por bactérias e o papel dos hormônios em eucariotos.

## RESUMO

Os mecanismos citados neste capítulo são representativos de uma gama de outros existentes em Procariotos e Eucariotos. A compreensão desses mecanismos tem ajudado a entender a complexidade de estratégias utilizadas pelos organismos para responder as diferentes demandas do seu ambiente.





## ATIVIDADES

1. A célula muscular cardíaca e a esquelética têm a mesma origem porém são diferentes, tanto do ponto de vista estrutural como funcional. Ao longo do processo de diferenciação das células do mesmo organismo ocorre
  - a) duplicação de alguns genes.
  - b) perda dos genes não expressos.
  - c) expressão diferencial dos genes.
  - d) indução de mutações específicas.
  - e) recombinação entre genes ativados.
2. No operon LAC de *E. coli*, qual é a função de cada um dos seguintes genes ou sítios:
  - a) regulador
  - b) operador
  - c) promotor
  - d) gene estrutural Z
  - e) gene estrutural Y?



## AUTOAVALIAÇÃO

Após estudar esta aula, consigo:

1. Explicar qual (is) as diferença(s) entre a regulação gênica de procariotos e eucariotos?
2. Em relação ao Operon LAC, responda:
  - a) Qual a diferença repressores e indutores;
  - b) Como se diferencia controle positivo e controle negativo na regulação gênica?;
3. Foi demonstrado experimentalmente que a maioria das sequências altamente repetitivas de DNA de cromossomos eucariotos não são transcritas. O que isto indica a respeito da função deste tipo de DNA?

## REFERÊNCIAS

- ALBERTS B, JOHNSON A, LEWIS J, et al - **Molecular Biology of the Cell**. 4th edition. New York: Garland Science; 2002.
- GRIFFITS, A. J. F. e Col – **Introdução à genética** – Editora Guanabara Koogan, 9a edição, Rio de Janeiro, RJ, 2008.
- SNUSTAD, D. P. – **Fundamentos de Genética** - Editora Guanabara Koogan, 6a edição, Rio de Janeiro, RJ, 2008.