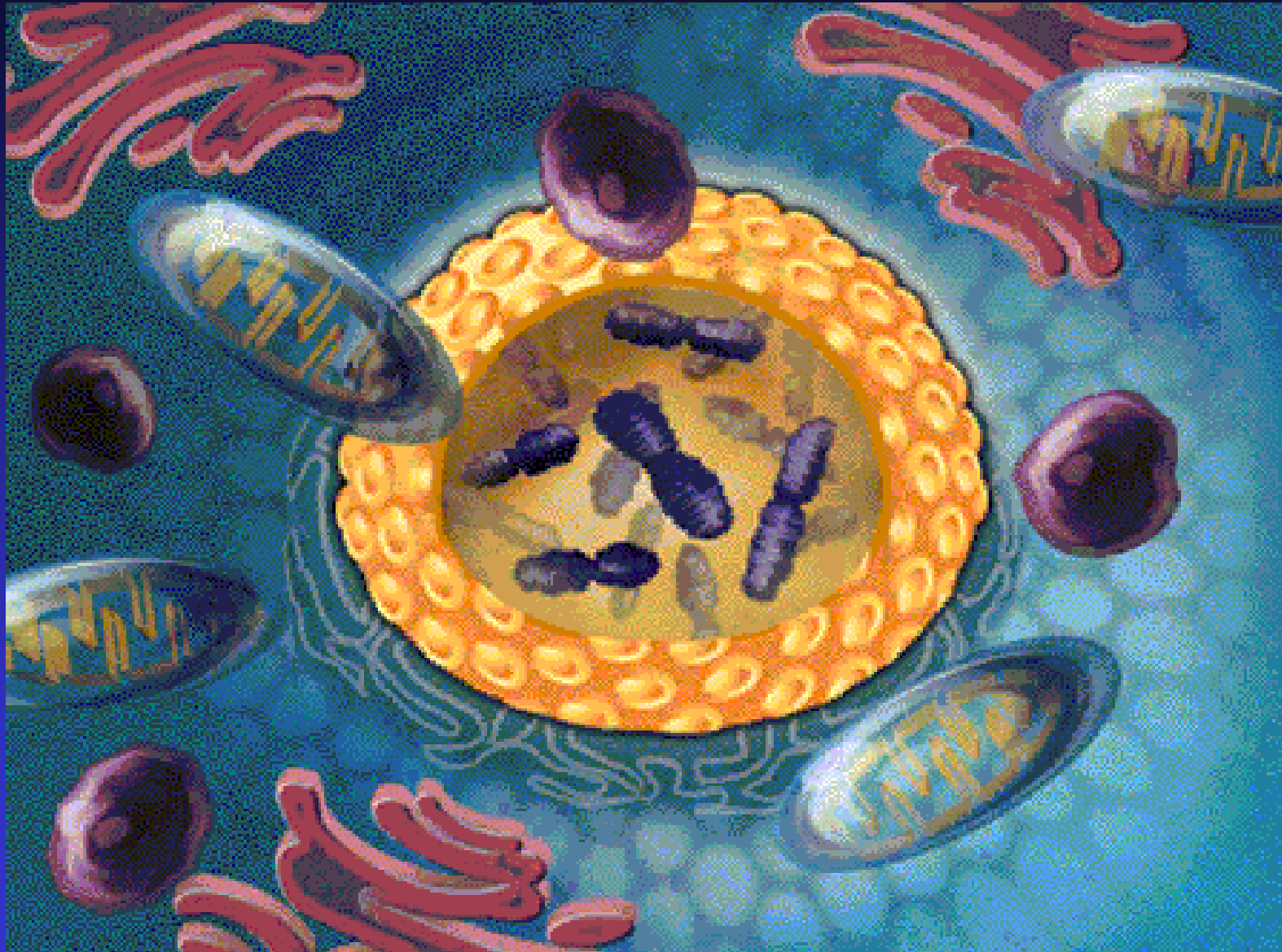


O Exercício Físico no contexto da Biologia Molecular

Edilamar Menezes de Oliveira
Ursula Paula Renó Soci
Cleber Rene Alves
Rafael Gimenes

Laboratório de Bioquímica da EEFE/USP

O que é Biologia Molecular?



Mendel - 1860

Ervilhas

Conceito de gene

Funções:

Genotípica/Replicação

Fenotípica/Expressão

Gênica

Evolutiva/Mutação

Nucleína – Johan

Frederick

1910 –

características físicas que constituíam o fenótipo eram determinadas pela combinação de genes do genótipo

1928 Ligação do DNA á

Hereditariedade Fred Griffith

mistura de bactérias patogênicas mortas com não patogênicas vivas geravam pneumonia em animais - fator transformante que fazia células não patogênicas em patogênicas

1951- Chargaff – EUA – DNA composto de diferentes quantidades das bases nitrogenadas C=G e A=T. piri=pur

1952 - Maurice Wilkins & Rosalid Franklin - DNA com estrutura helicoidal com 20 Å de diâmetro – cristalografia de difração de raios X.

1860

1952

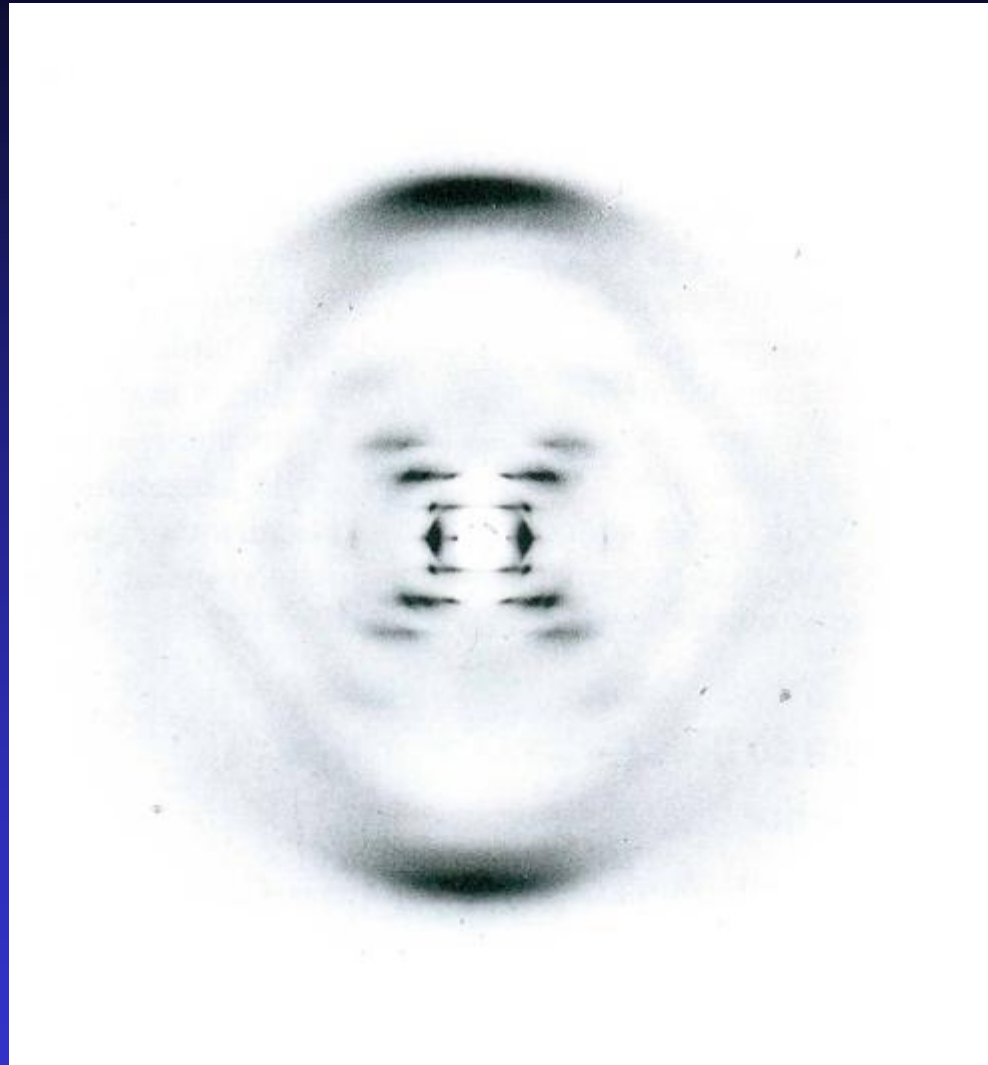
Princípios de Mendel - 1900

Ligação de mecanismos nucleares à herança genética....Ponto Inicial da genética molecular
Núcleos em eucariotos e visualização cromossomos

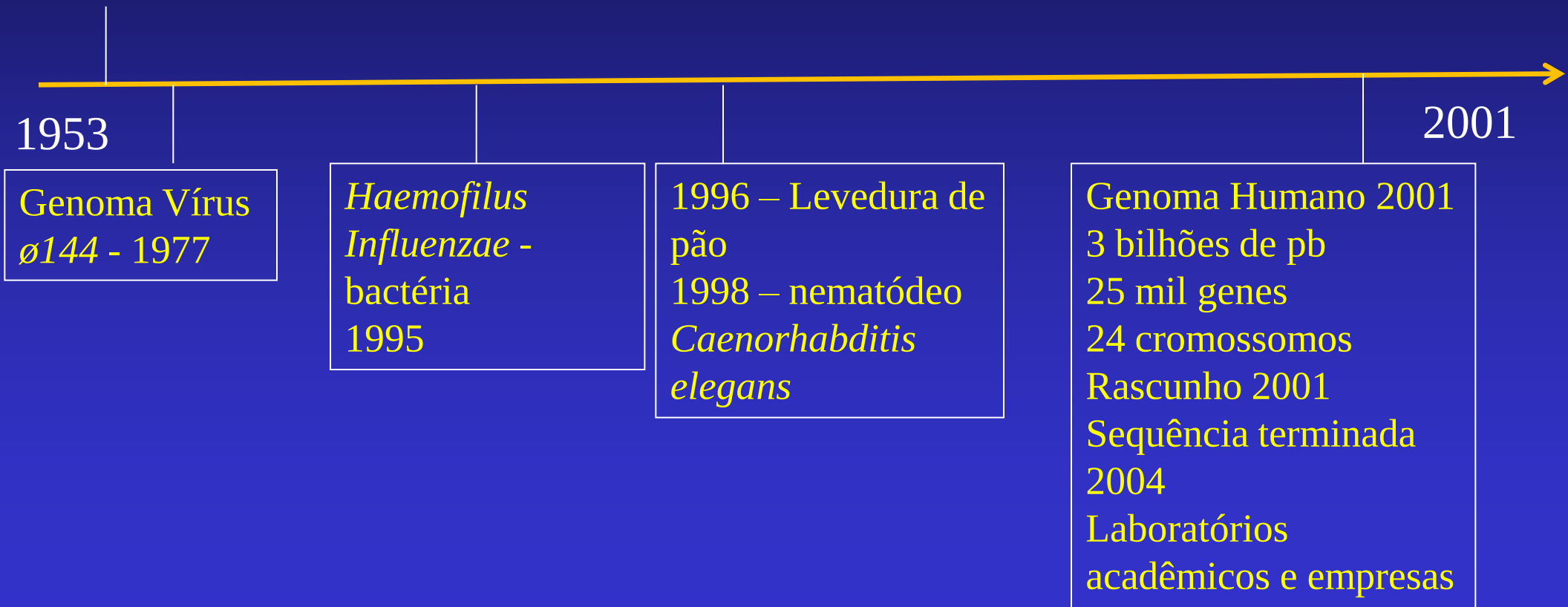
1920 - Determinada natureza química das moléculas nucleares : ac. nucléicos
Genes se localizam no interior dos cromossomos
Corante para DNA Robert Feugen, Cromossomos formados de DNA e proteínas (empacotamento)

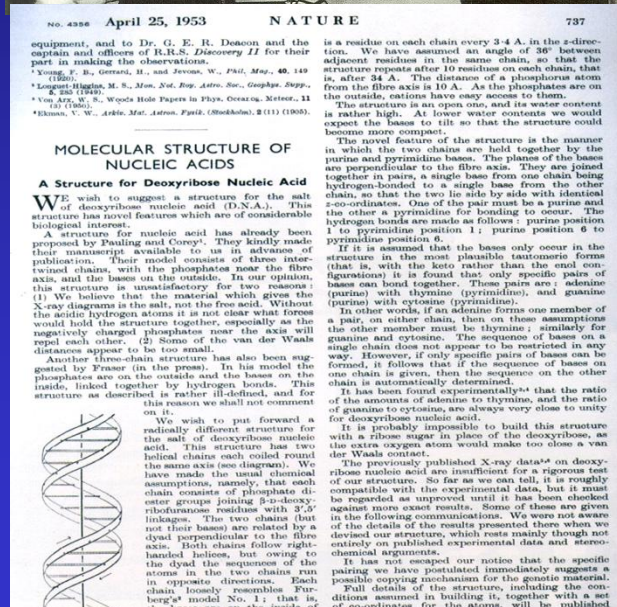
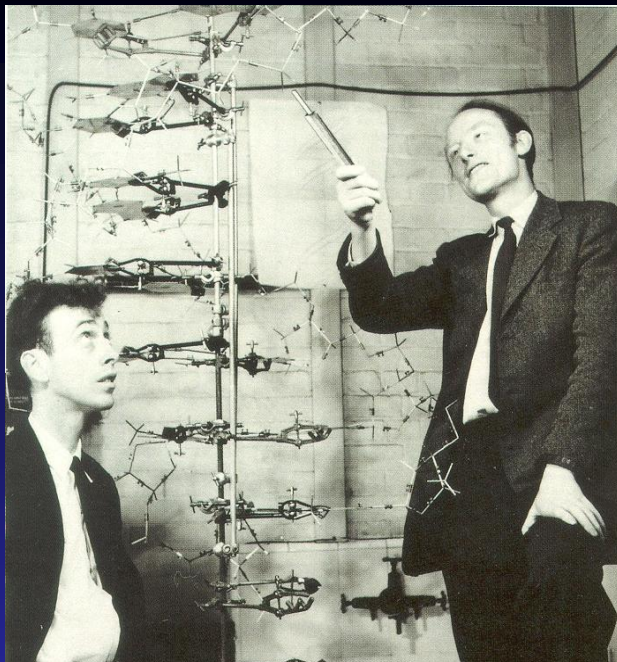
1944 - Fator transformante DNA bacteriano – tratou lisado com proteases, rnases e dnases e apenas o tratado com Dnase perdia sua propriedade transformante – Avery – EUA.

1952 – Prova Final do DNA como constituinte dos genes Hershey & Chase – EUA
Proteínas e DNA de vírus foram marcados com radiação infectaram bactérias, a infecção envolvia a inserção do DNA mas não de suas capsulas de proteína



1953 - Dupla Hélice – Watson & Krick - A complementariedade dos dois filamentos - adenina em um filamento faz pontes de hidrogenio com timina no outro filamento e guanina em um filamento faz pontes de hidrogenio com citosina no outro filamento - sugeriu claramente um mecanismo pelo qual o material genetico podia ser duplicado e transferido de células parentais para células filhas. Prêmio nobel de medicina

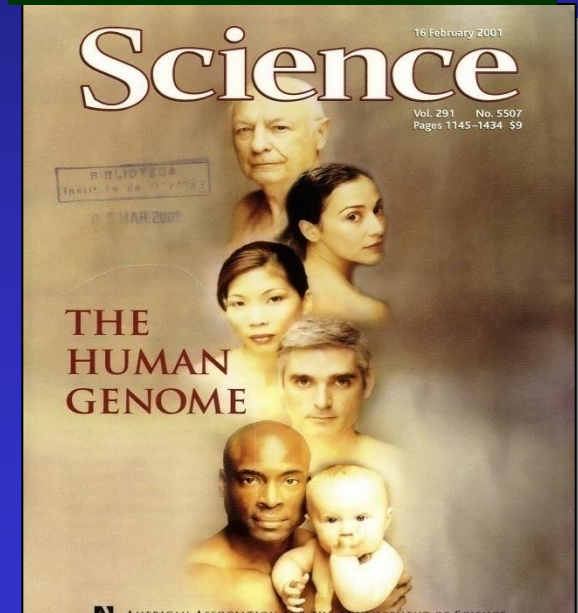




~ 1/2 SÉCULO



Nature, 15 / 02 / 2001



Science, 16 / 02 / 2001

Nature, 25 / 04 / 1953

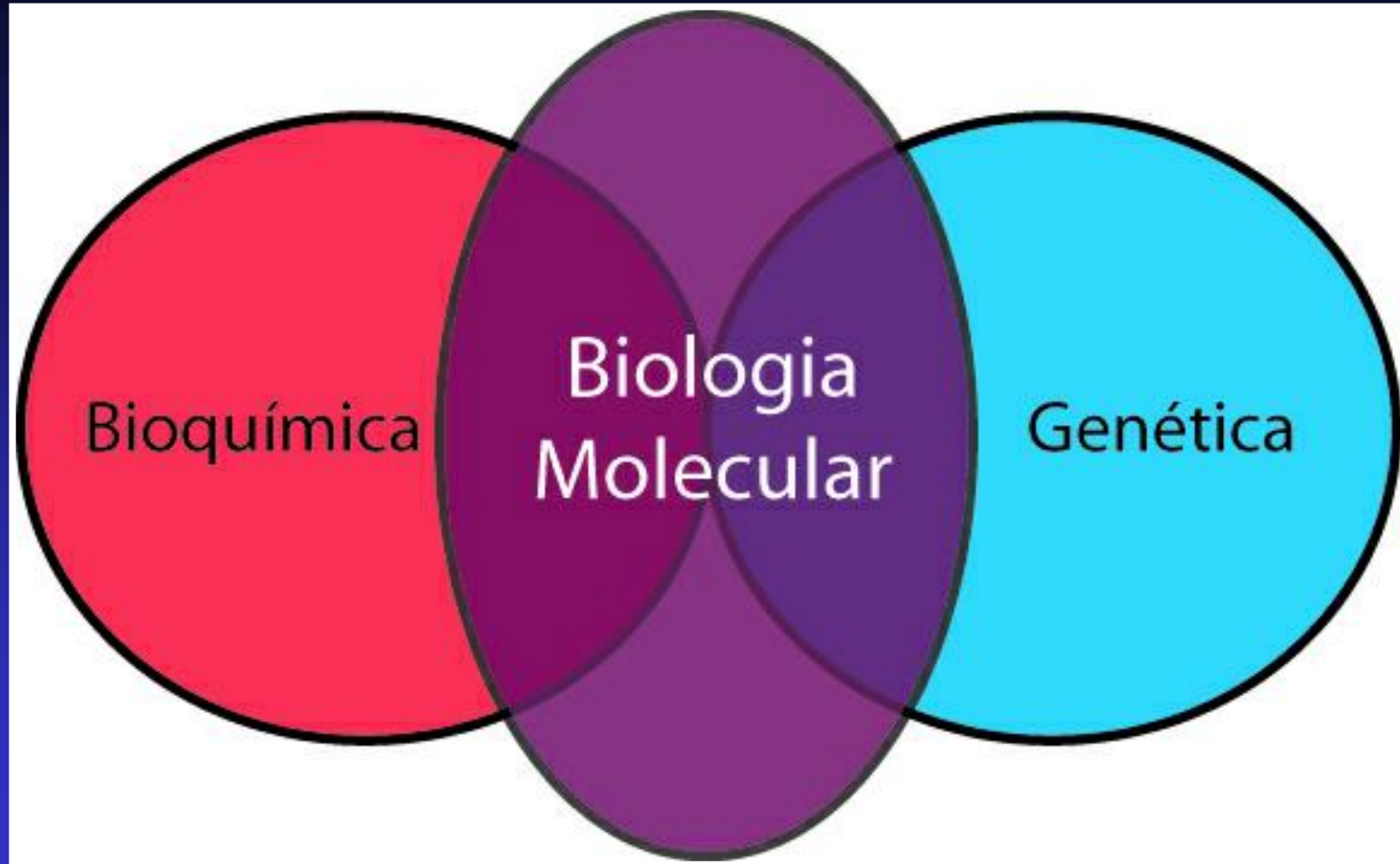
- O termo biologia molecular foi proposto por Warren Weaver, da Fundação Rockefeller, em um artigo na revista *Science*, de 1938, propondo a compreensão dos fenômenos biológicos pelo conhecimento das estruturas das moléculas e das interações e alterações destas.

- Gradualmente foi sendo utilizado para designar mais especificamente as pesquisas relacionadas aos genes, mas apenas em 1953 é que se percebeu de forma dramática esta correlação estrutura-função, com a proposição da dupla hélice.

(WEAVER, 1970; NOUVEL, 2001; MENECHINI, 2003)

Biologia Molecular

- É o estudo da Biologia com foco no estudo da estrutura e função do material genético e seus produtos de expressão, as proteínas
- Investiga as interações entre os diversos sistemas celulares, incluindo a relação entre DNA, RNA e síntese protéica.



Dogma central da Biologia Molecular

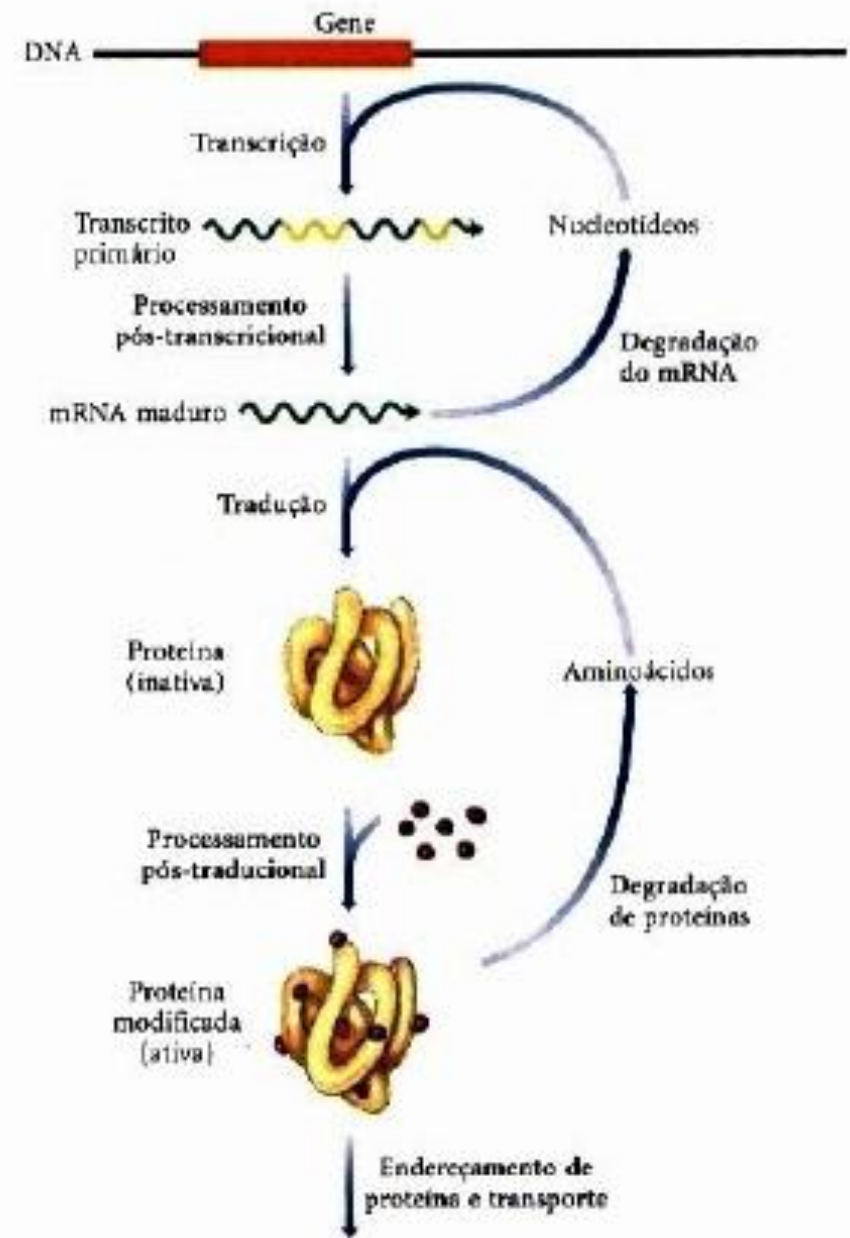
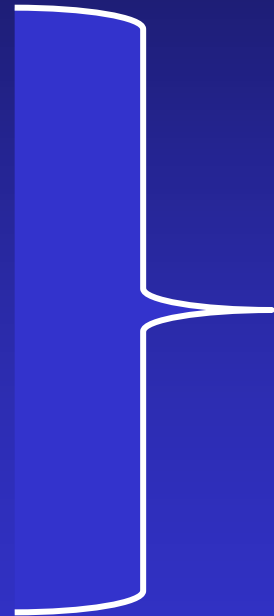


Figura 28-1 – Sete processos que afetam a concentração estacionária de uma proteína. Cada processo possui vários pontos de regulação potencial.

Moléculas de Informação

- DNA

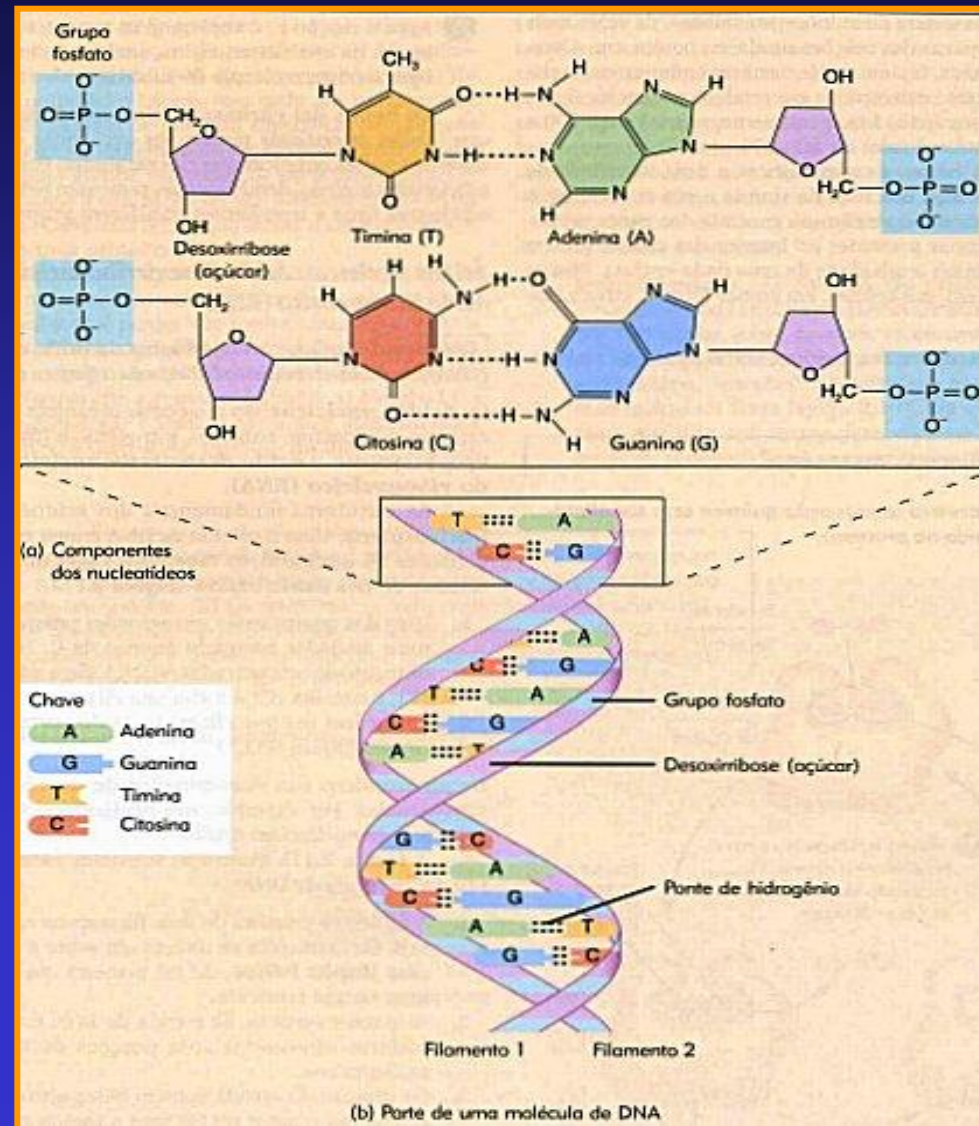
- RNA



Ácidos Nucléicos
(Nucleotídeos)

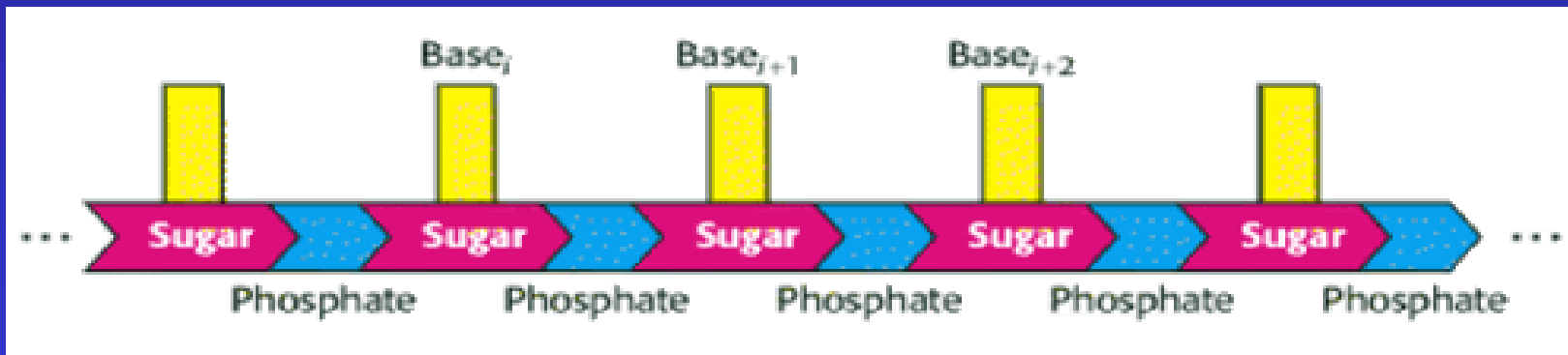
Processos essenciais:
Fonte de energia (ATP)
Coenzimas (CoA)
Reguladores Fisiológicos AMP
Síntese de DNA/RNA

Estrutura Química dos Ácidos Nucléicos



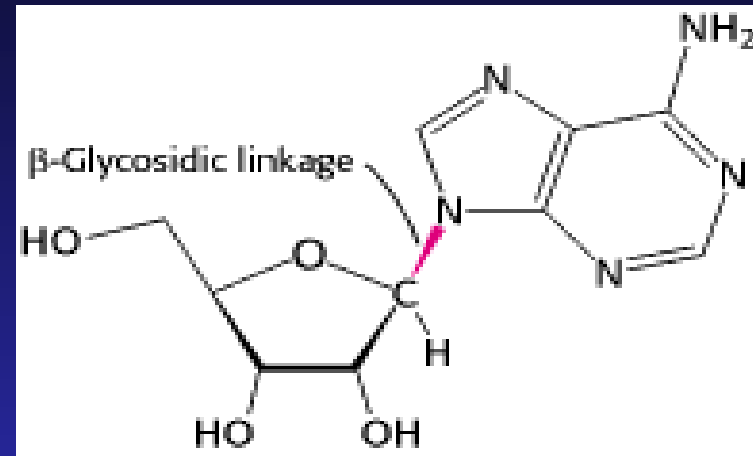
Ácidos Nucleicos

- DNA e RNA
 - Portadores de informação genética
 - Polímeros lineares feitos de unidades monoméricas (nucleotídeos) compostas de: uma ose, uma base e um fosfato

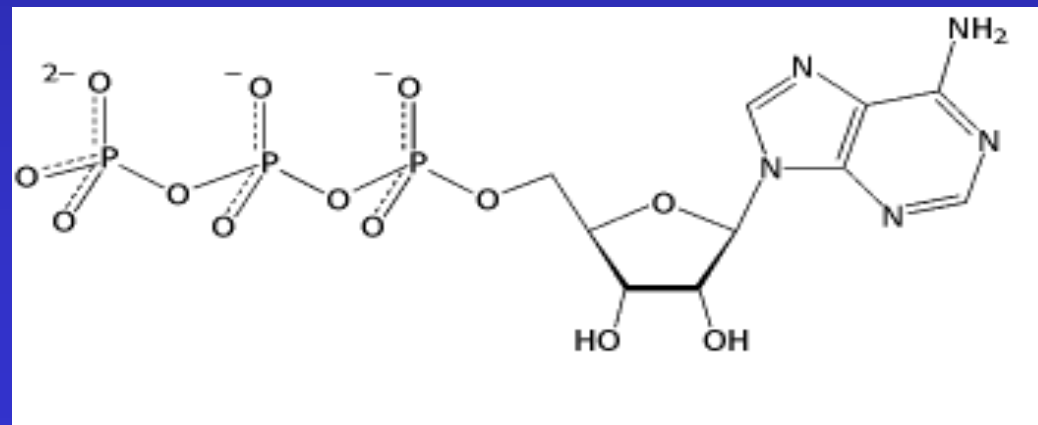


Estrutura

- Nucleosídeo →
Uma base ligada
a uma ose

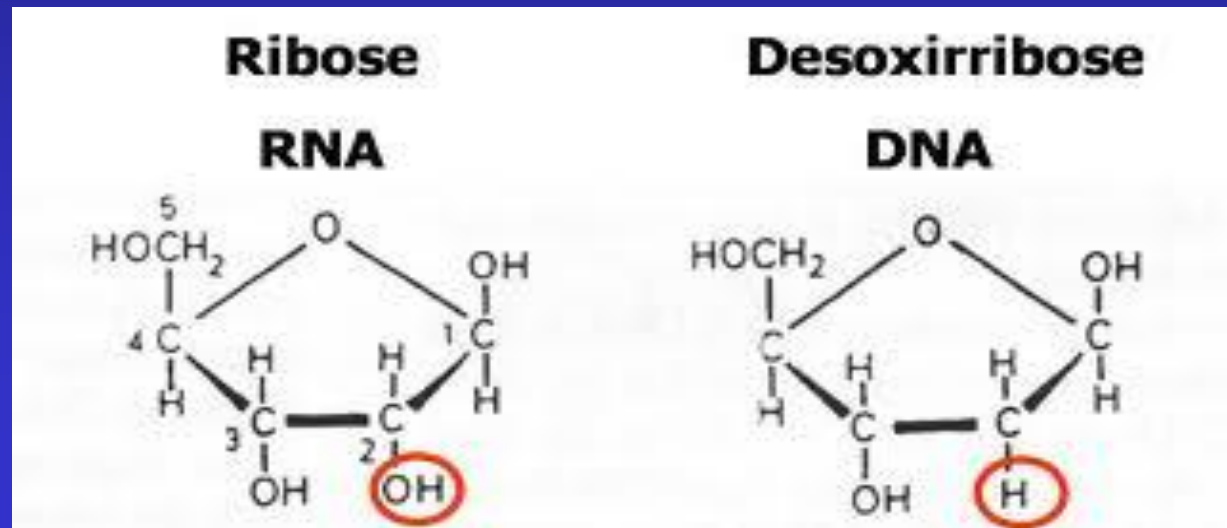


- Nucleotídeo → Um nucleosídeo unido a um ou mais
grupamentos fosfato por uma ligação éster

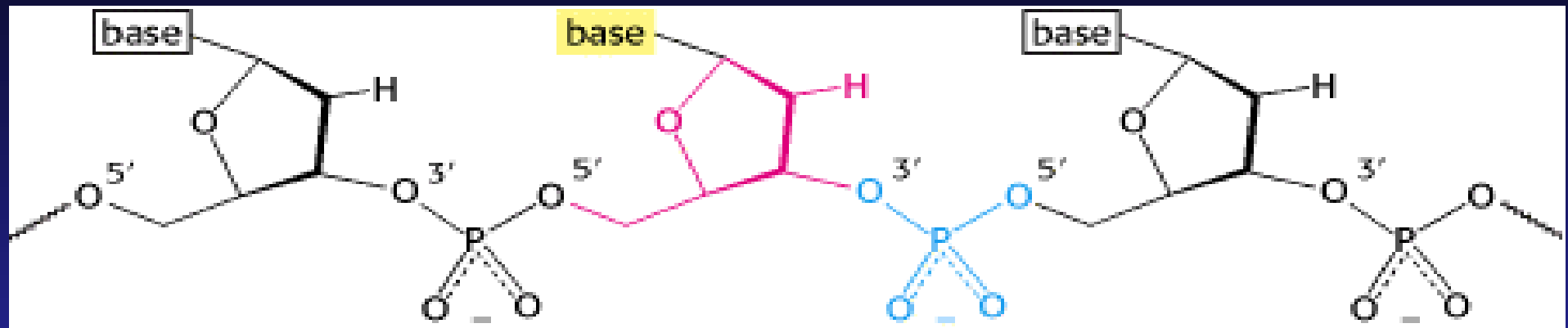


Diferença entre RNA e DNA

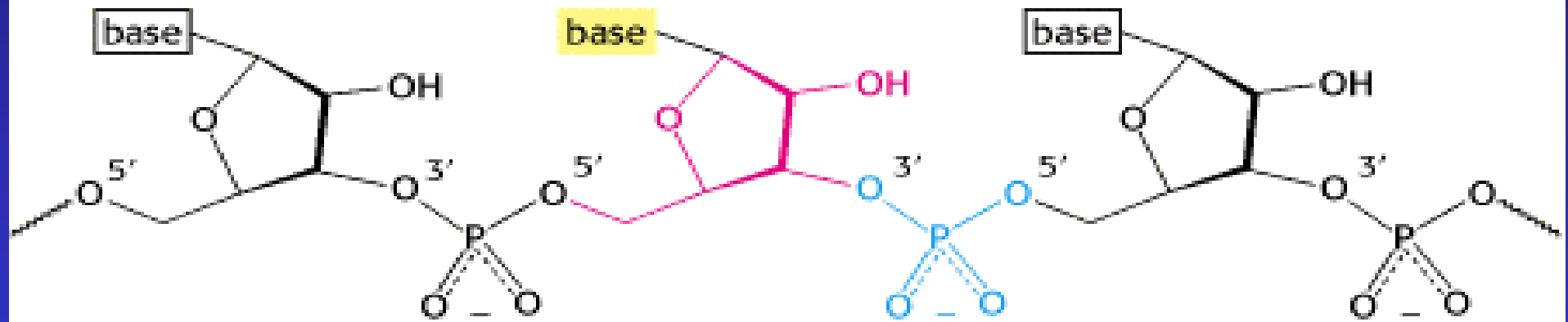
- Diferem no componente ose
 - Ose do DNA → Desoxirribose → O carbono 2' da ose não tem o oxigênio que está ligado ao carbono 2' da ribose
 - Ose do RNA → Ribose



- Diferem em uma das bases
 - As oses são ligadas umas às outras por pontes fosfodiéster
 - A cadeia de oses ligadas é chamada de arcabouço, ou espinha dorsal do ácido nucleico
 - O arcabouço é constante no DNA e RNA, mas as bases variam de um monômero para o seguinte
 - Duas das bases são derivadas da purina: Adenina e Guanina
 - só no DNA
 - só no RNA
 - Duas da pirimidina: Citosina e Timina ou Uracila
 - só no DNA
 - só no RNA

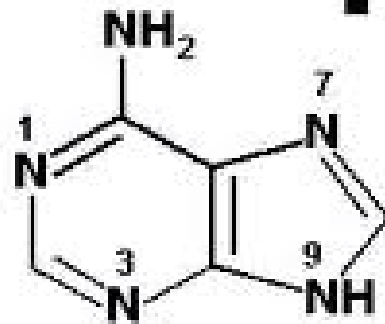


DNA

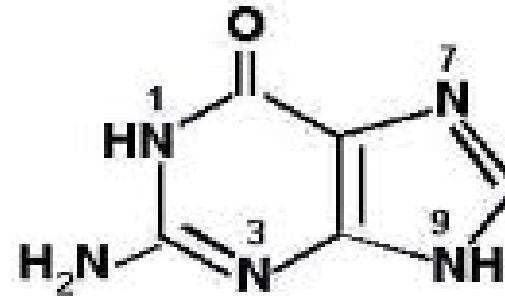


RNA

Purinas

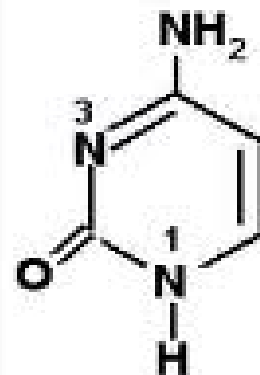


ADENINA

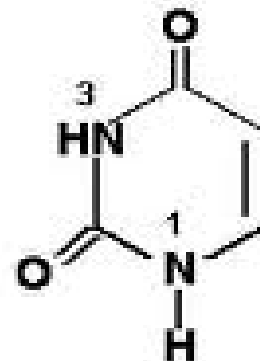


GUANINA

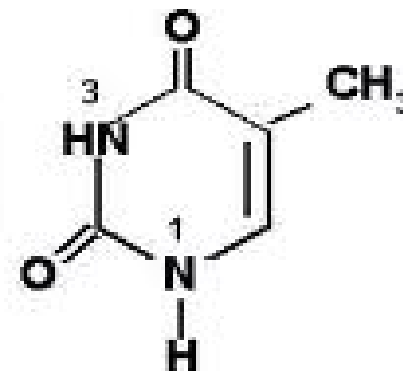
Pirimidinas



CITOSINA



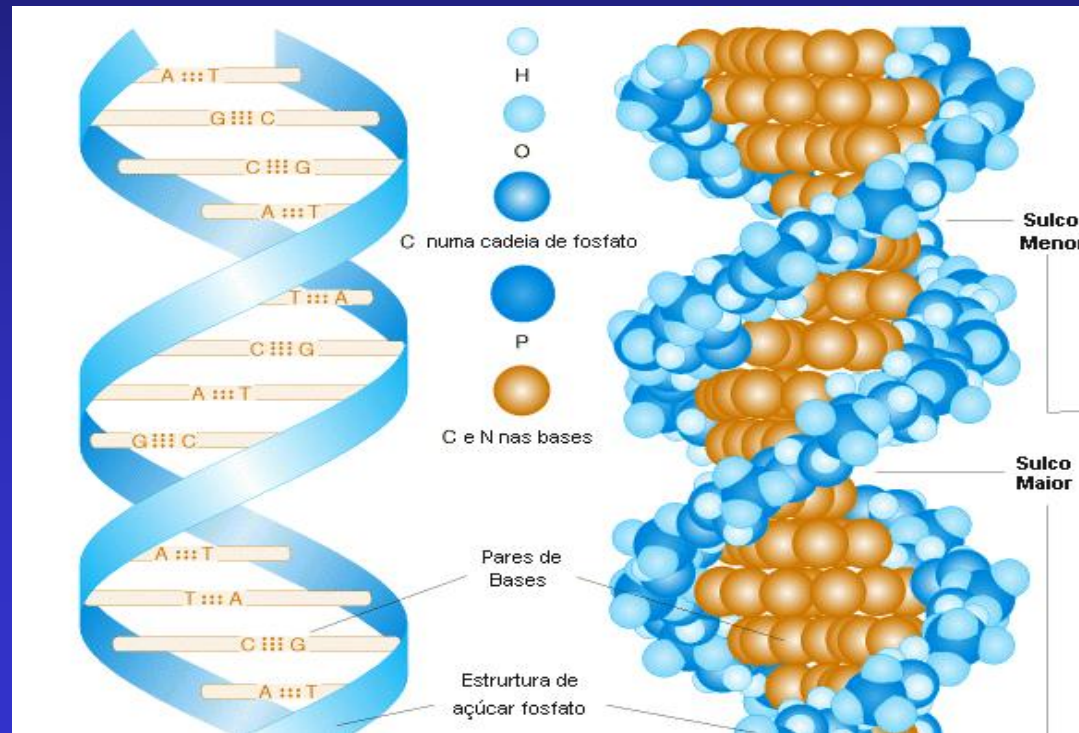
URACILA



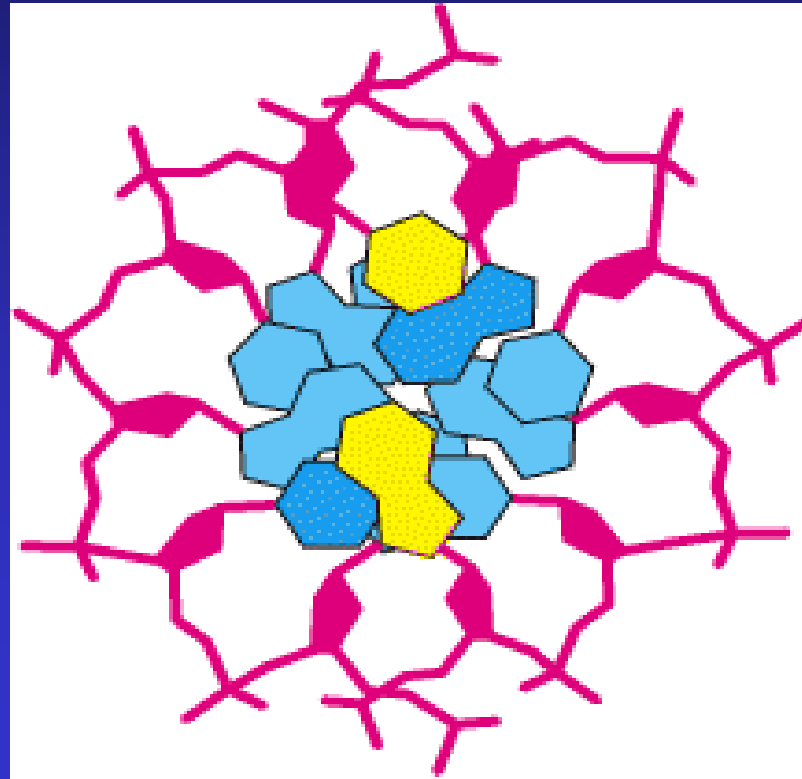
TIMINA

Dupla Hélice

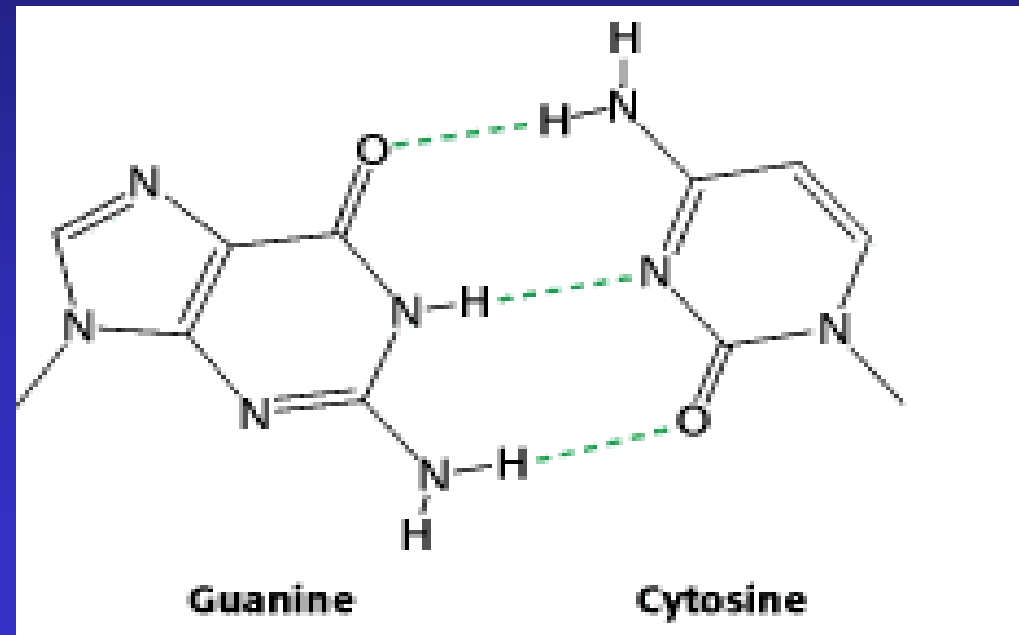
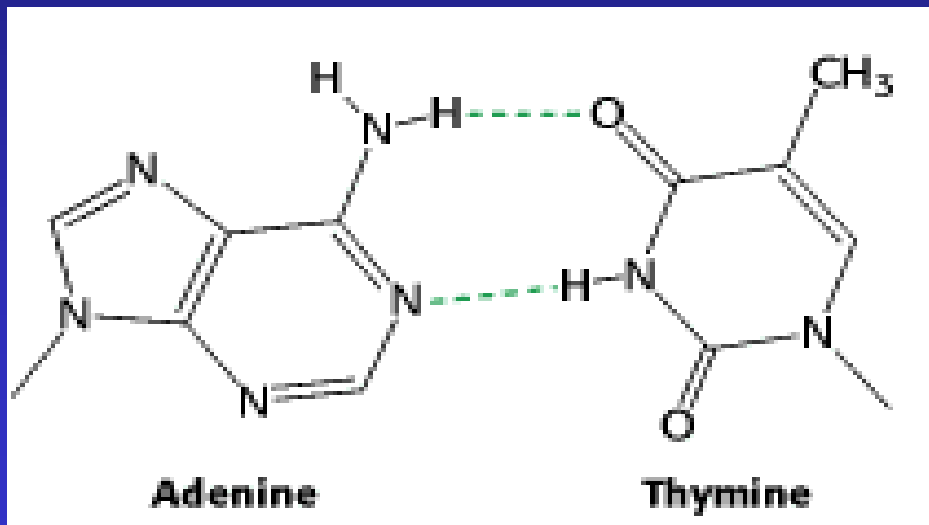
- Um par de cadeias de ácidos nucleicos com sequências complementares pode formar uma estrutura em dupla hélice
 - Duas cadeias polinucleotídicas helicoidais estão enroladas em torno de um eixo comum



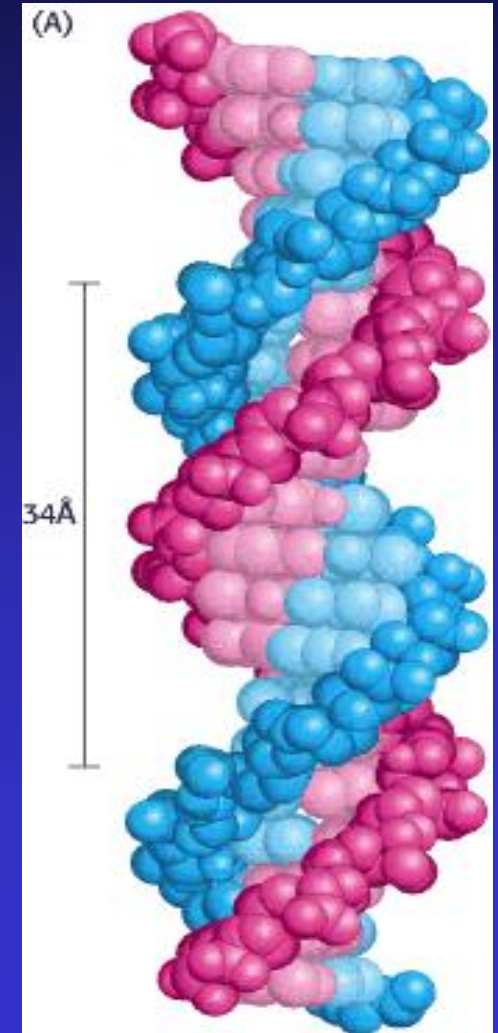
- As bases purínicas e pirimidínicas estão do lado de dentro da hélice, enquanto os arcabouços ose-fosfato estão do lado de fora



- As duas cadeias são mantidas juntas por pontes de hidrogênio entre os pares de bases.
- A Adenina está sempre pareada com a Timina; A Guanina está sempre pareada com a Citosina



- O aspecto mais importante da dupla hélice de DNA é a especificidade do pareamento das bases.
 - A adenina deve se parear com a timina e a guanina com a citosina, devido a fatores estéricos e de pontes de hidrogênio



Fatores Estéricos

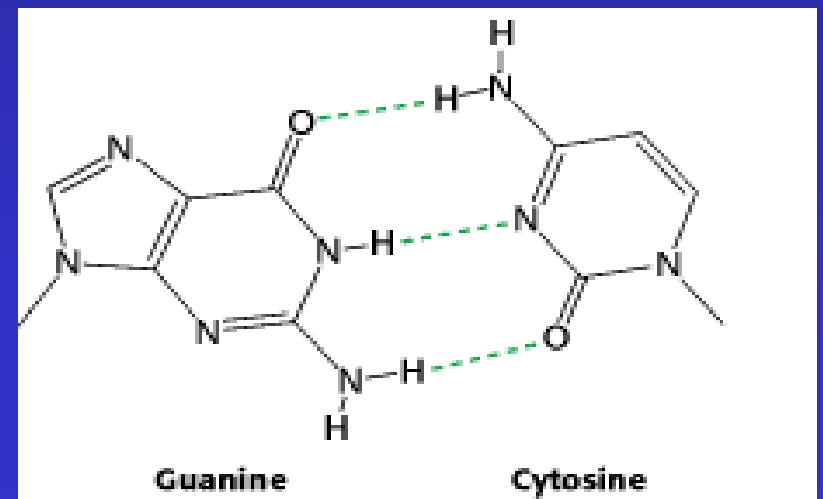
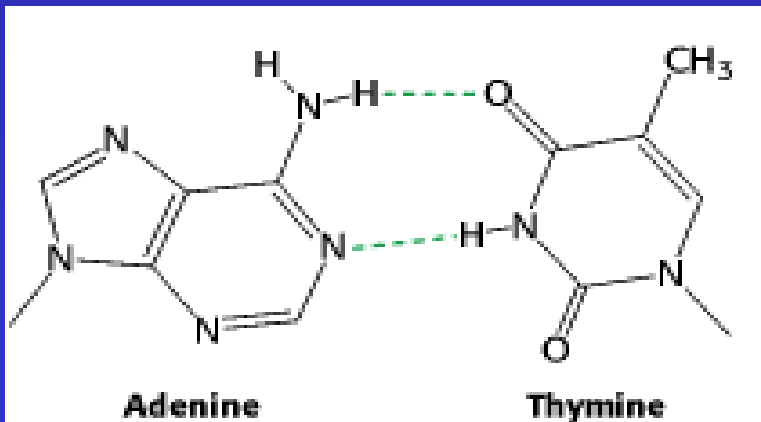
- A restrição estérica é imposta pela natureza helicoidal do arcabouço ose-fosfato
 - Ligações glicosídicas que estão associadas a um par de bases estão sempre separadas em $10,8\text{\AA}$
 - Um par de bases purina-pirimidina se ajusta perfeitamente nesse espaço
 - Duas purinas: falta espaço
 - Duas pirimidinas: sobra espaço, impossibilitando a formação de pontes de hidrogênio

Fatores das Pontes de Hidrogênio

- O pareamento de bases é ainda mais restrito pelas exigências das pontes de hidrogênio.
 - Os átomos de hidrogênio nas bases purínicas e pirimidínicas têm posições bem definidas
 - A adenina não pode se parear com a citosina: haveria 2 hidrogênios próximos em uma das posições de ponte, e nenhum na outra
 - Mesmo caso para a guanina e timina

Fatores das Pontes de Hidrogênio

- Entretanto, a adenina forma 2 pontes de hidrogênio com a timina e a guanina forma 3 pontes com a citosina
- As orientações e distâncias dessas pontes são ideais para se obter uma forte atração entre as bases



Conceitos básicos de genética e biologia molecular

Genética: Conceitos Básicos

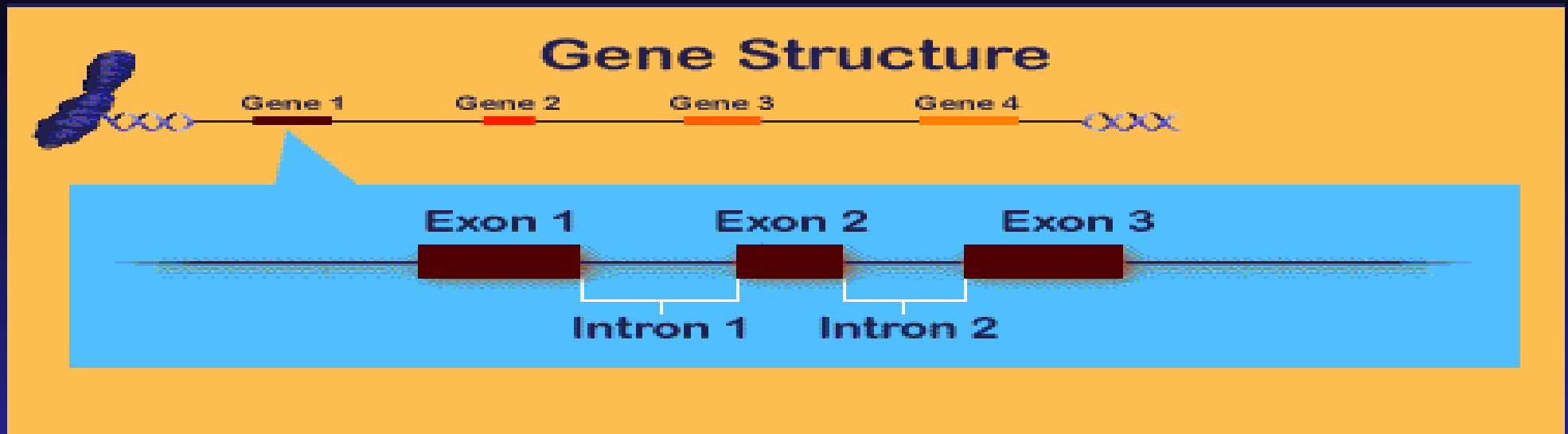
- **Genótipo:** combinação total dos milhares de genes do corpo. Determinam o potencial genético de cada pessoa.
- **Fenótipo:** é qualquer característica detectável de um organismo (i.e. estrutural, bioquímica, fisiológica e comportamental) determinada pela interação entre o seu genótipo e o meio.

genótipo + ambiente → fenótipo

Genética: Conceitos Básicos

- **Gene:** é a unidade fundamental da hereditariedade. Cada gene é formado por uma sequência específica de ácidos nucleicos (DNA) que pode codificar uma cadeia polipeptídica.





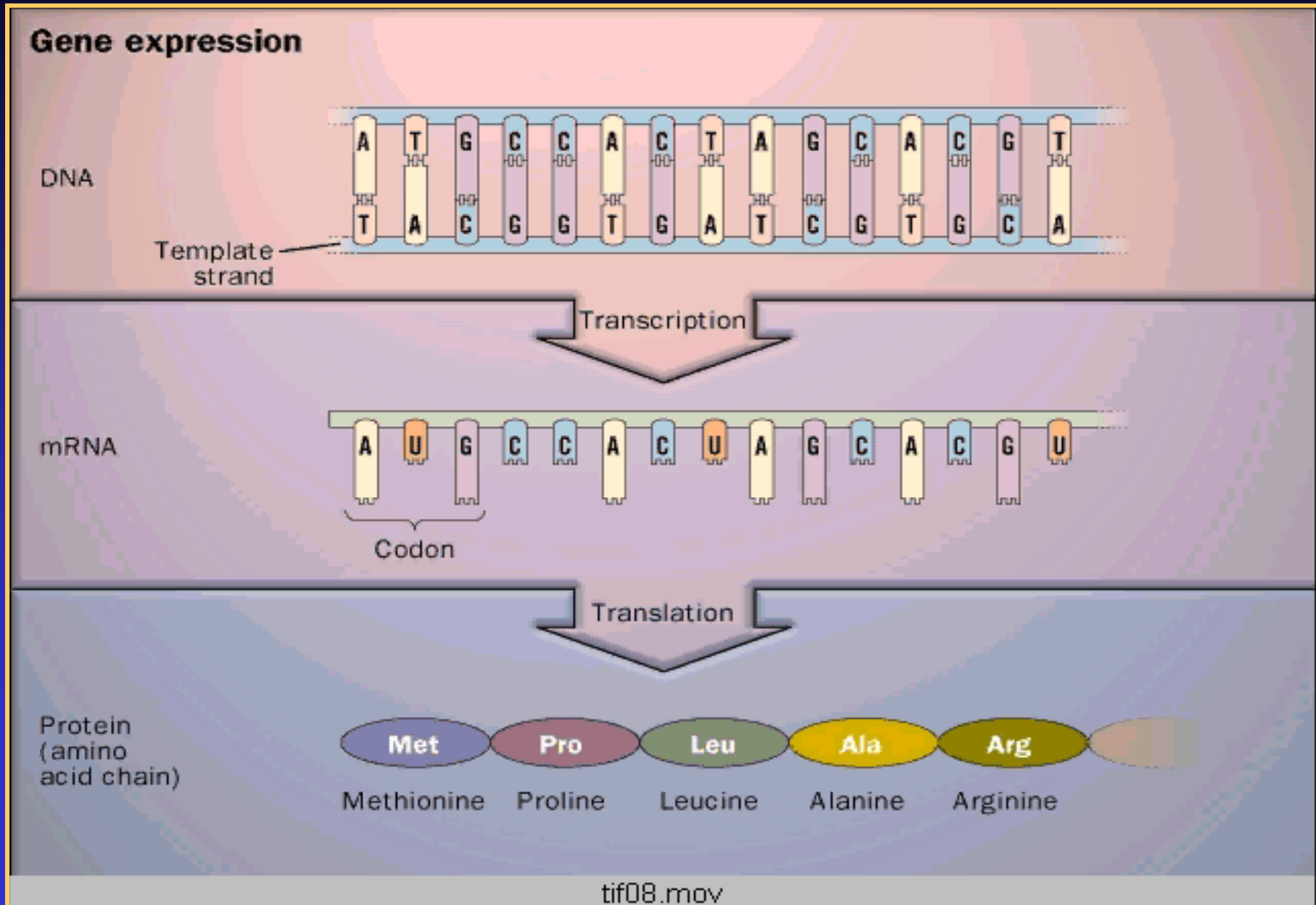
ÍNTRON (retirado)

Região não codificante de um gene eucarioto que é transcrito na molécula de RNA, mas é removido no processamento ou "splicing" quando o mRNA é editado ou sofre maturação.

ÉXON (não retirado)

Região codificante de um gene eucarioto que é transcrito na molécula de RNA, mas não removido no processamento ou "splicing" quando o mRNA é editado ou sofre maturação – codifica a sequência de aa da cadeia a ser traduzida.

Dogma da Biologia Molecular



Transcrição

É a produção, a partir de uma molécula de DNA, de um segmento fita única de RNA com uma sequência de bases complementar a uma das fitas do DNA.

Genética: Conceitos Básicos

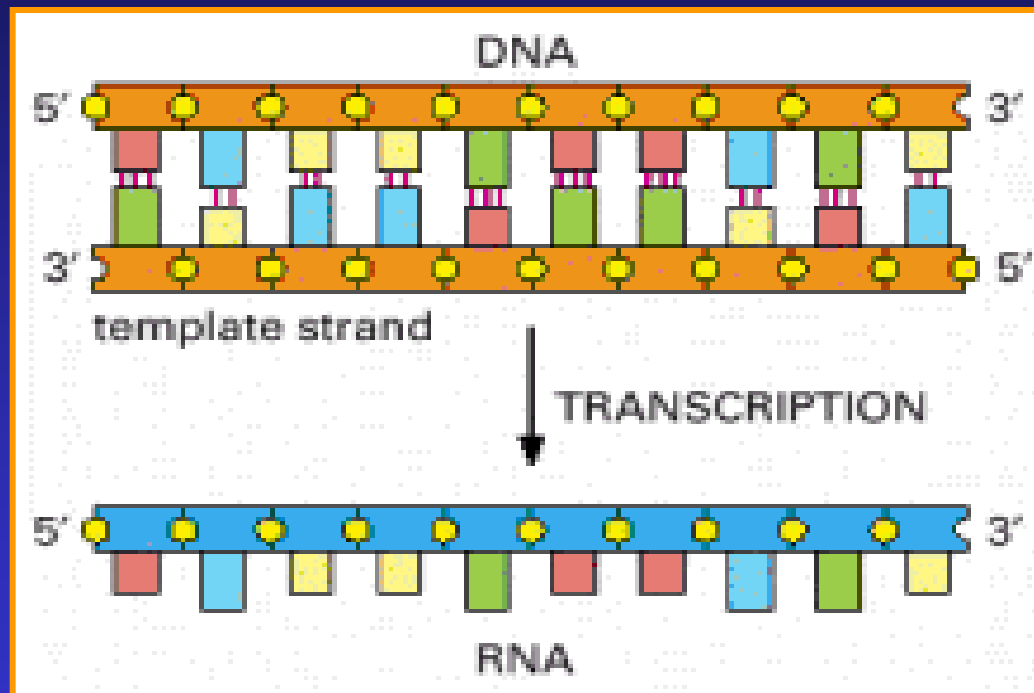
- **RNA (ácido ribonucléico):** é um polímero de nucleotídeos, geralmente em cadeia simples. O RNA é constituído por uma pentose (Ribose), por um grupo fosfato e uma base nitrogenada que pode ser adenina (A), guanina (G), citossina (C) e uracila (U).

- DNA

- RNAPolimerase

- Nucleotídeos

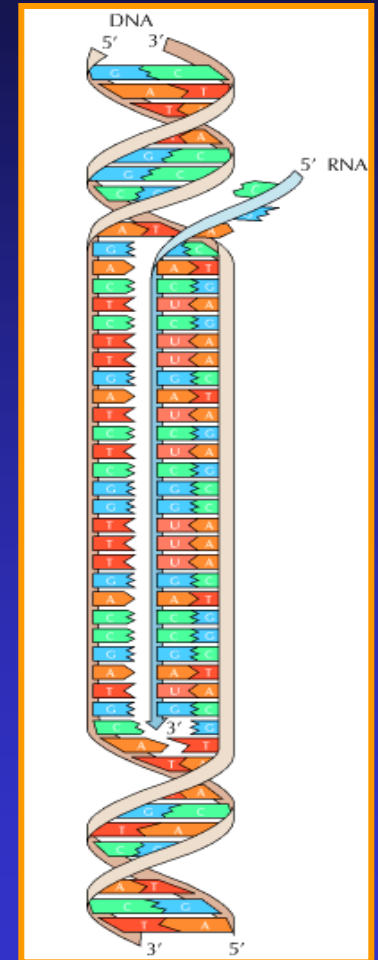
A transcrição produz um RNA complementar a uma das fitas do DNA



Riboses - U

Transcrição

- ✓ Qdo uma proteína em particular é necessária, a sequência nucleotídica será inicialmente copiada em RNA
- ✓ Cópias do RNA serão-molde para conduzir a síntese protéica
- ✓ Catalizada pela RNA polimerase II

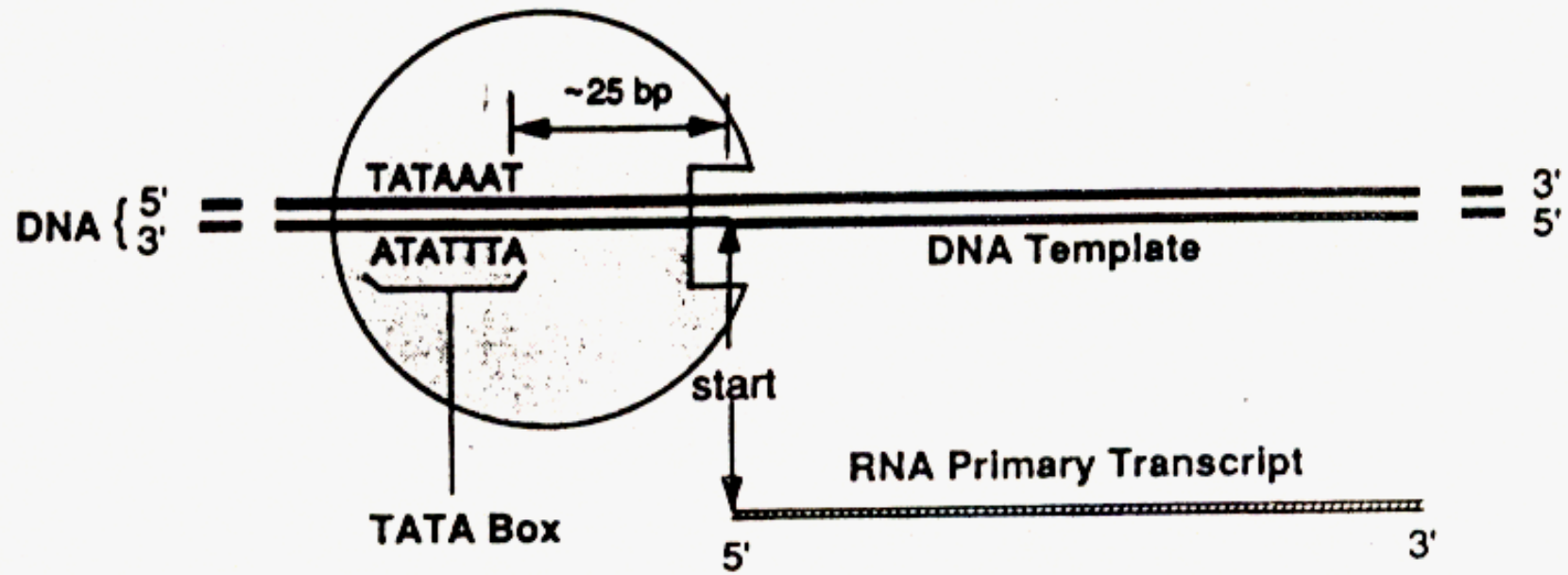


RNA Polimerase II

- Polimerase II
- Fita não molde do DNA perde seu formato helicoidal e se desenrola
- Ribonucleotídeos - A, G, U e C e Mg^{2+} como cofator
- Subunidade sigma



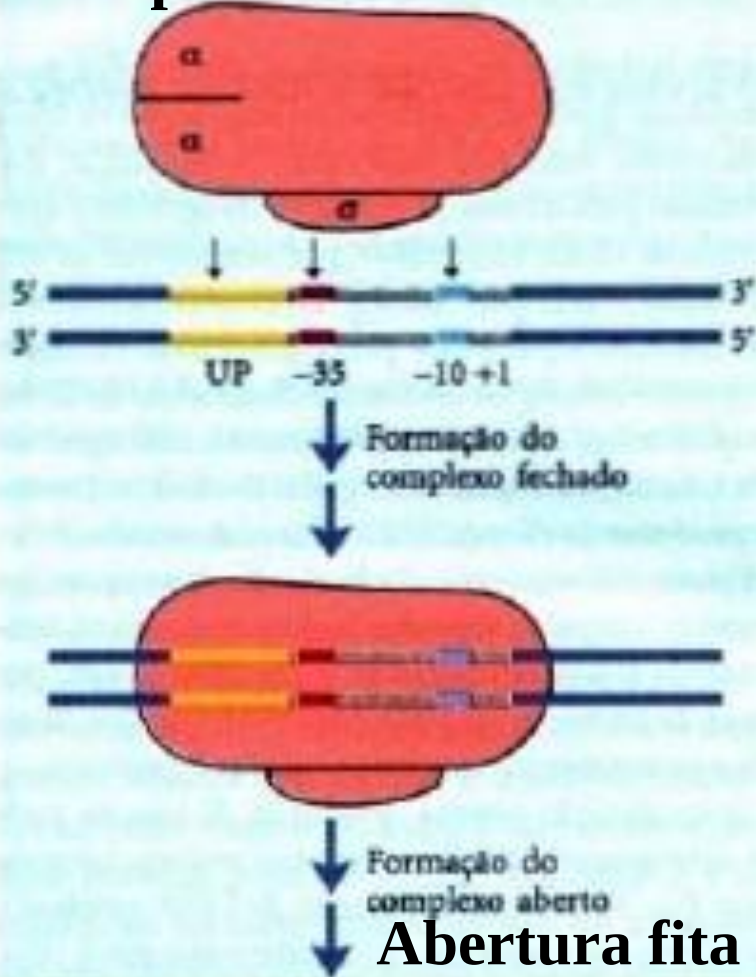
Figura 26-4 – A estrutura da RNA polimerase da *E. coli* e suas funções na transcrição. A polimerase possui seis subunidades. As subunidades α (duas cópias), β , β' e σ possuem pesos moleculares de 36.500, 151.000, 155.000 e 11.000, respectivamente. A subunidade σ não é requerida para a atividade *in vitro*, e sua função não é conhecida. A subunidade σ funciona apenas no reconhecimento do promotor e não está presente durante a fase de alongamento da transcrição. Os vários tipos de subunidades σ reconhecem seqüências reguladoras diferentes. O principal tipo é o σ^{70} , refletindo seu M_r de 70.000. Acredita-se que o sítio ativo para a síntese do RNA seja formado pelas subunidades β e β' .



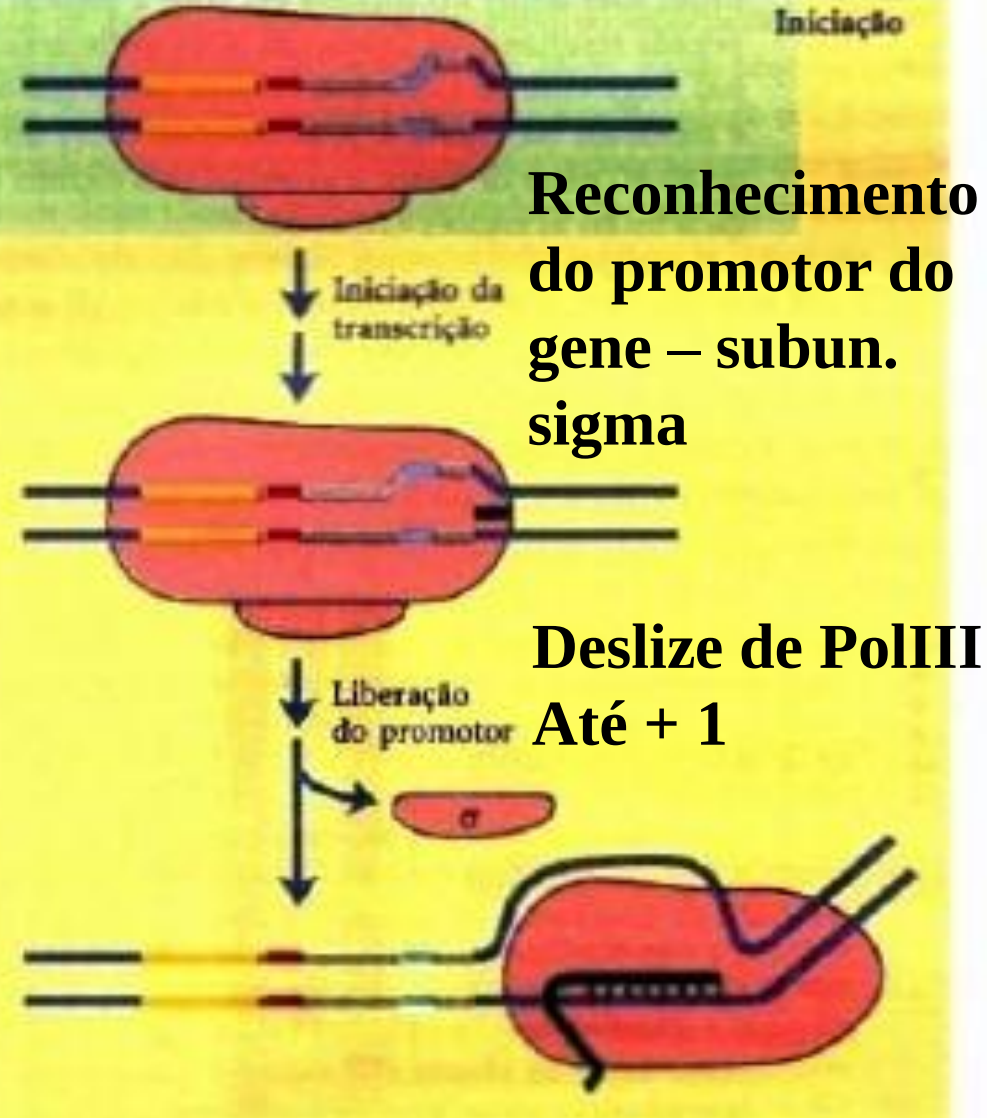
Iniciação da Transcrição

Acoplamento da PolIII a Promotor

Ligação



Iniciação



DNA
desenrolado e
Fmolde forma
híbrido com
mRNA dentro
PolII

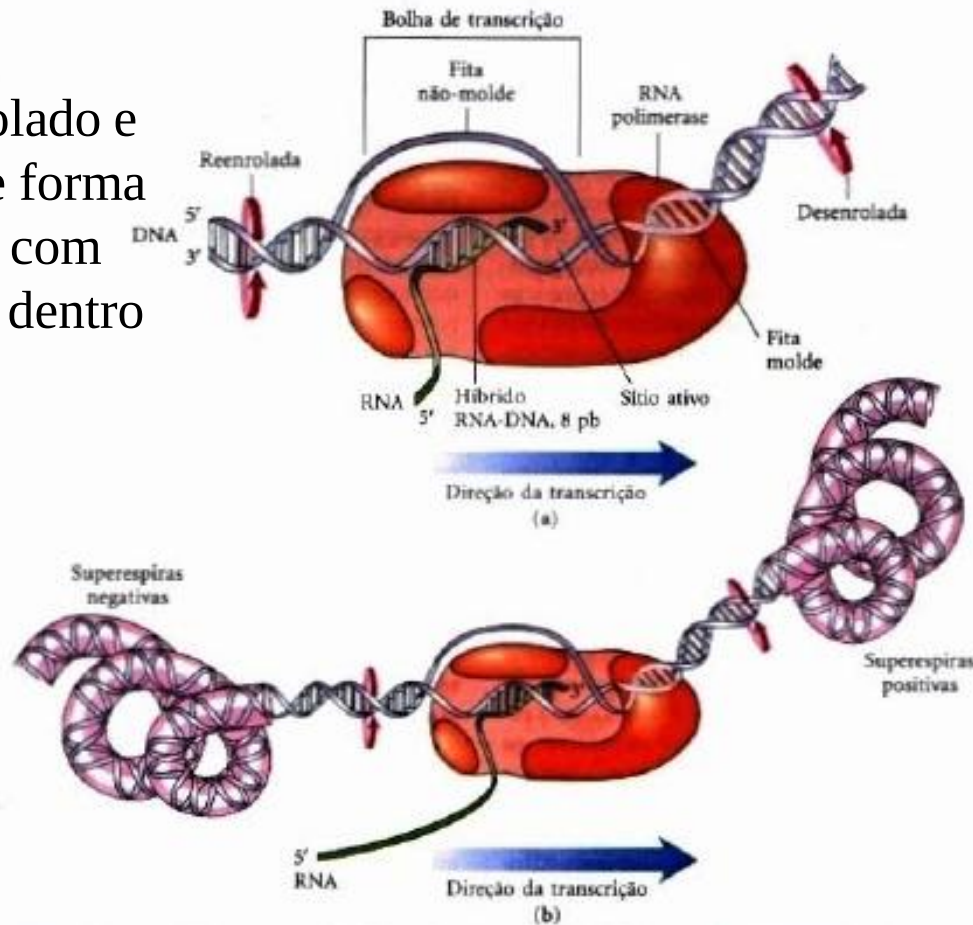


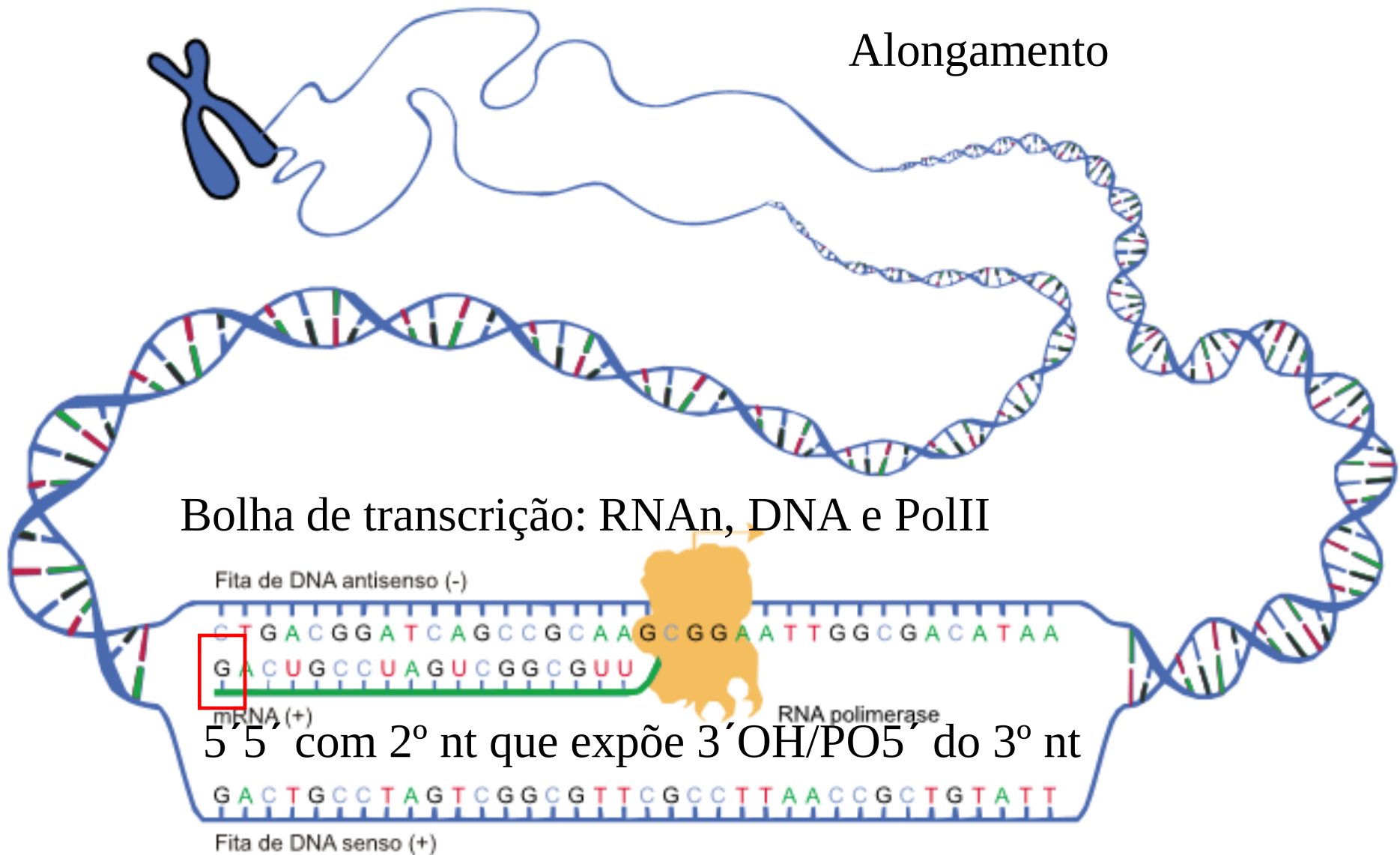
Figura 26-1 – Transcrição pela RNA polimerase na *E. coli*. Para sintetizar uma fita de RNA complementar a uma das duas fitas de DNA em uma dupla hélice, o DNA é transitoriamente desenrolado. (a) Cerca de 17 pares de bases são desenrolados em um determinado momento. A bolha de transcrição se move da esquerda para a direita, como mostrado, mantendo passo com a síntese do RNA. O DNA é desenrolado na frente e reenrolado atrás, à medida que o RNA é transcrito. As setas vermelhas indicam a direção na qual o DNA e o híbrido curto RNA-DNA devem rodar para permitir esse processo. À medida que o DNA é desenrolado o híbrido RNA-DNA é deslocado e a fita de RNA é expelida. A RNA polimerase está em íntimo contato com o DNA à frente da bolha de transcrição, bem como com as fitas de DNA separadas e o RNA dentro e imediatamente atrás da bolha. A pegada da polimerase abarca cerca de 35 pares de bases do DNA durante o alongamento. (b) Superespiralamento do DNA provocado pela transcrição. Superespiras positivas formam-se na frente da bolha de transcrição e superespiras negativas formam-se atrás.

**RNA Polimerases
em Eucariotos**
I – RNA pré
ribossômico
II – mRNAs e
especiais
III- tRNA, rRNA 5S
e especiais

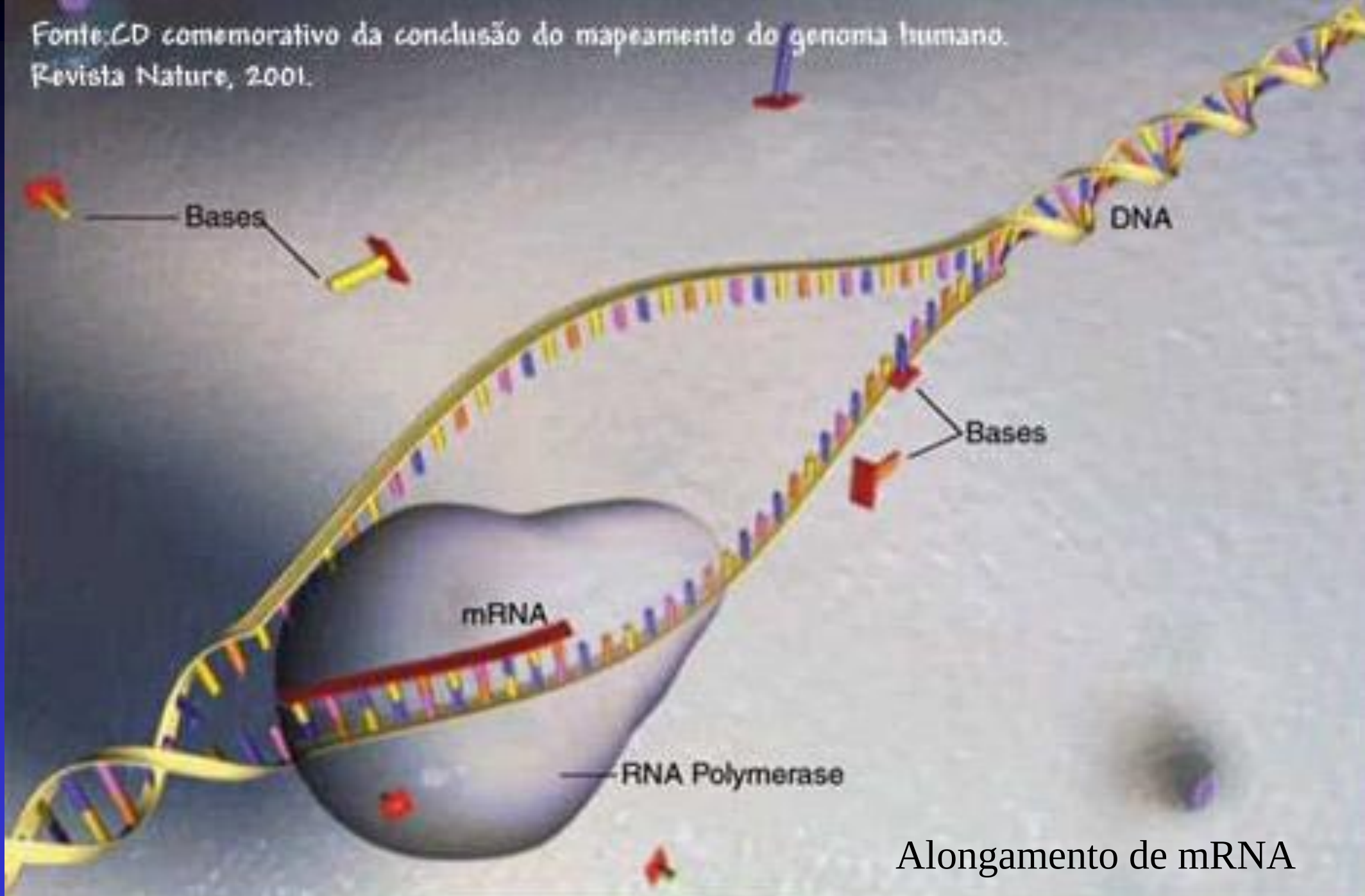
Regiões
promotoras/enhancers
Fatores de
crescimento
(diferença)

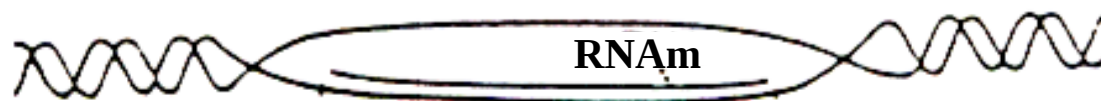
Alongamento

Bolha de transcrição: RNAn, DNA e PolII



Fonte: CD comemorativo da conclusão do mapeamento do genoma humano.
Revista Nature, 2001.





DNA

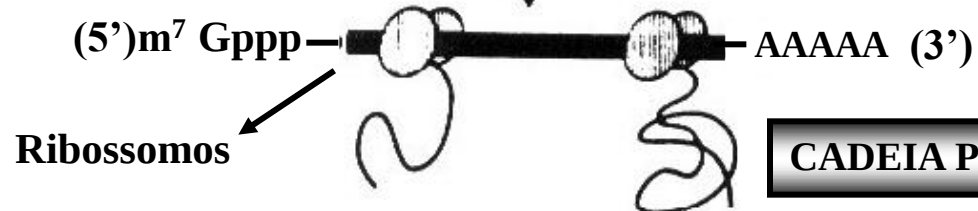
TRANSCRIÇÃO



NÚCLEO

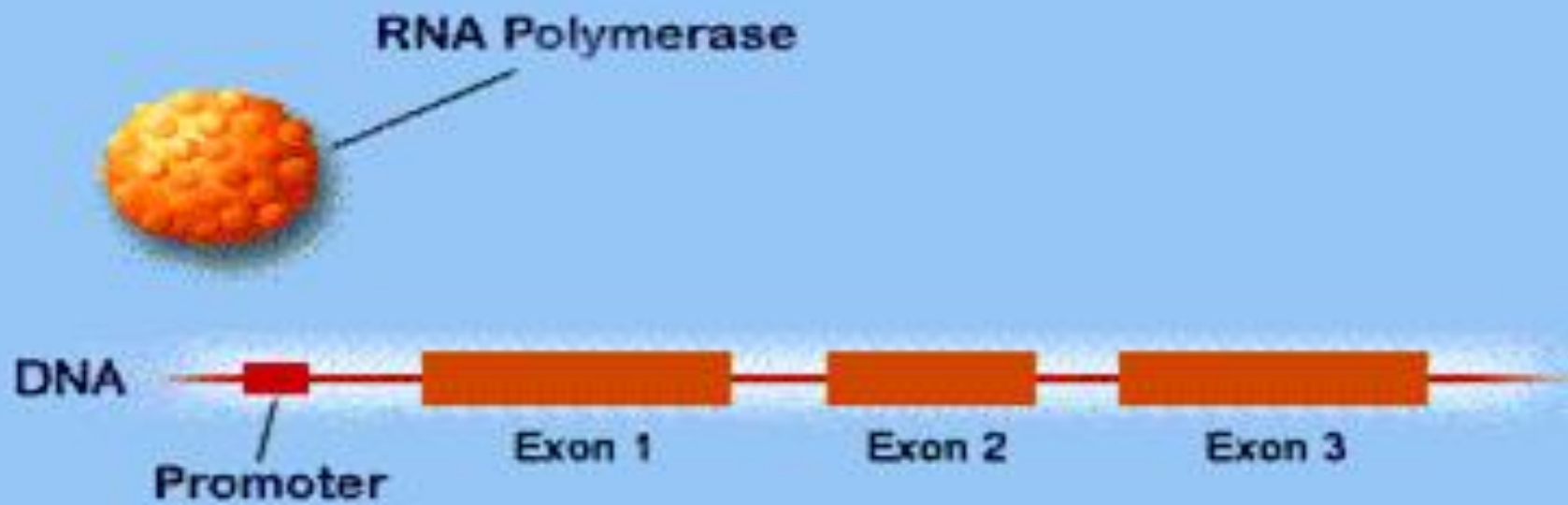
CITOPLASMA

TRADUÇÃO

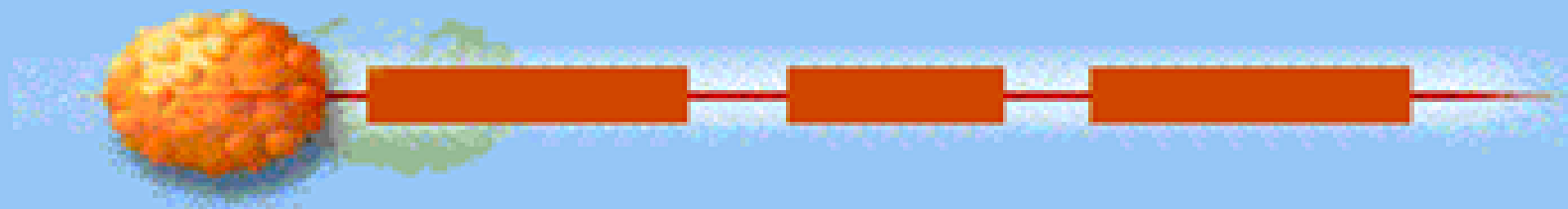


CADEIA POLIPEPTÍDICA

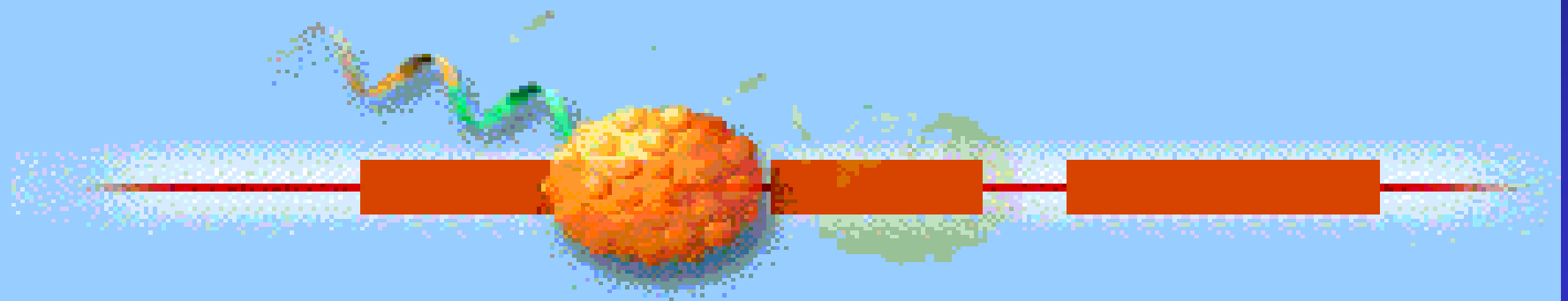
Transcription



Transcription



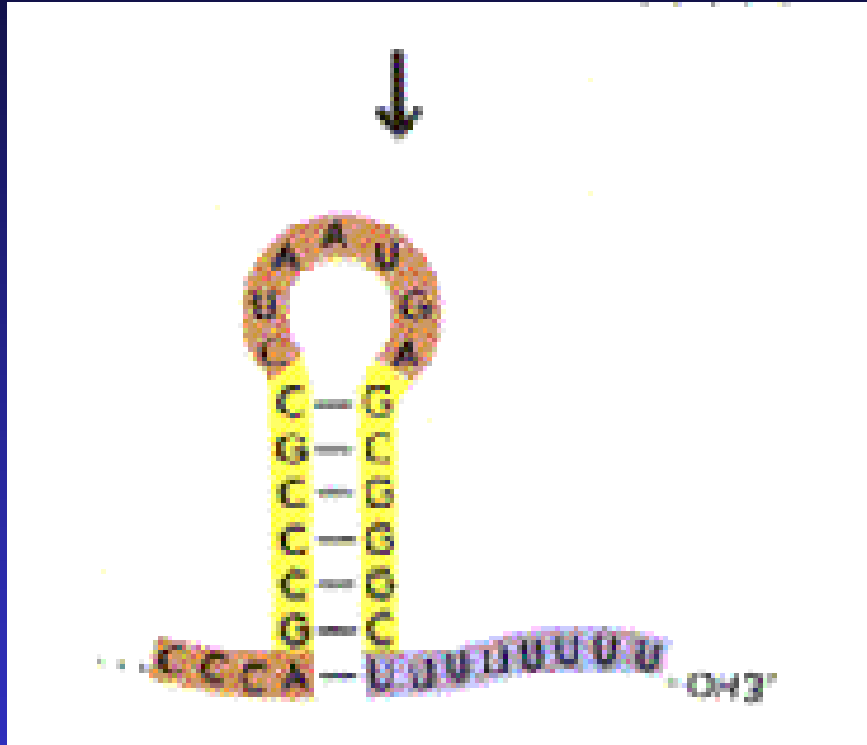
Transcription



Transcription



Fim da Transcrição

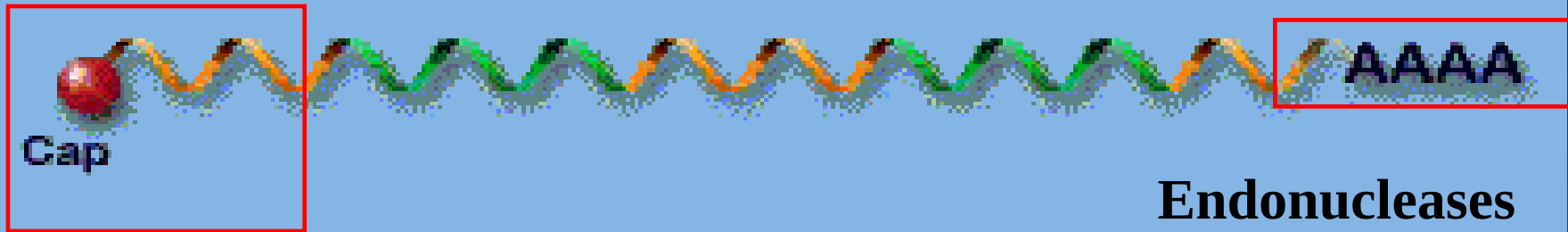


Sinal

- Rho – rompe hélice híbrida entre mRNA e DNA
- Ligações fosfodiester cessam
- Híbrido DNA/RNA se separa
- Re-enovelamento DNA
- Liberação Polimerase II

Maturação do mRNA

Polyadenylation

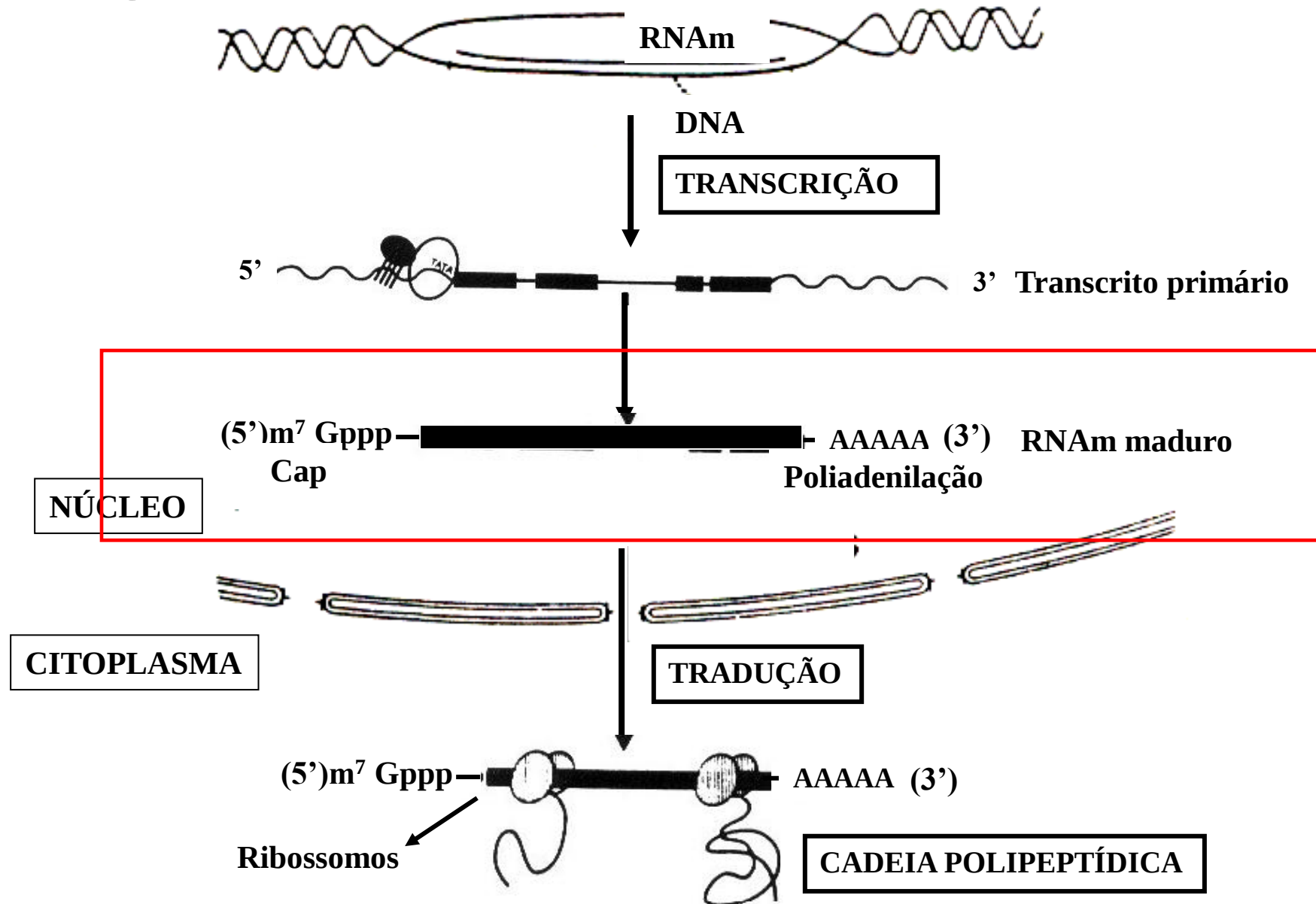


Cap

CH₃ no 7° N

Endonucleases
PoliApolimerase

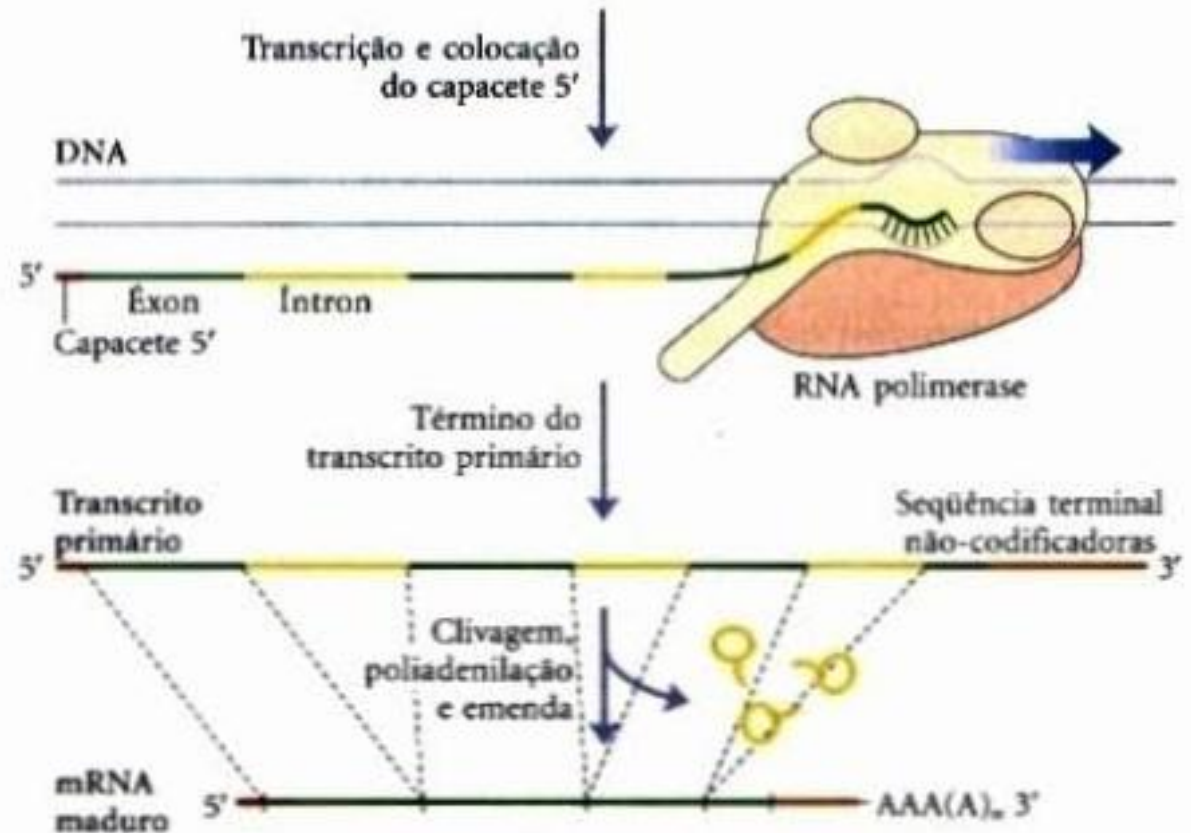
Splicing - núcleo



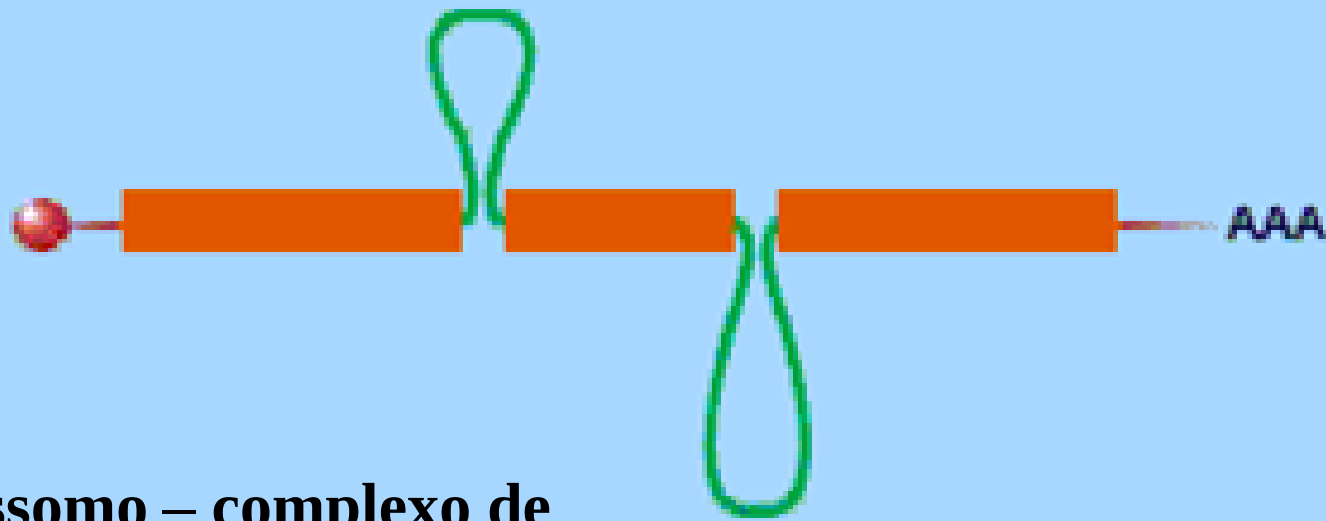
Processamento do RNA - Splicing

Retirada Introns
Emenda dos Exons
Spliceossomo - Núcleo

Figura 26-11 – Formação do transcrito primário e seu processamento durante a maturação do mRNA em uma célula eucariótica. O capacete 5' (em vermelho) é adicionado antes que a síntese do transcrito primário esteja completa. Uma sequência não-codificadora, que se segue ao último éxon, é mostrada em laranja. A emenda pode ocorrer antes ou depois das etapas de clivagem e poliadenilação. Todos os processos representados aqui estão localizados dentro do núcleo.

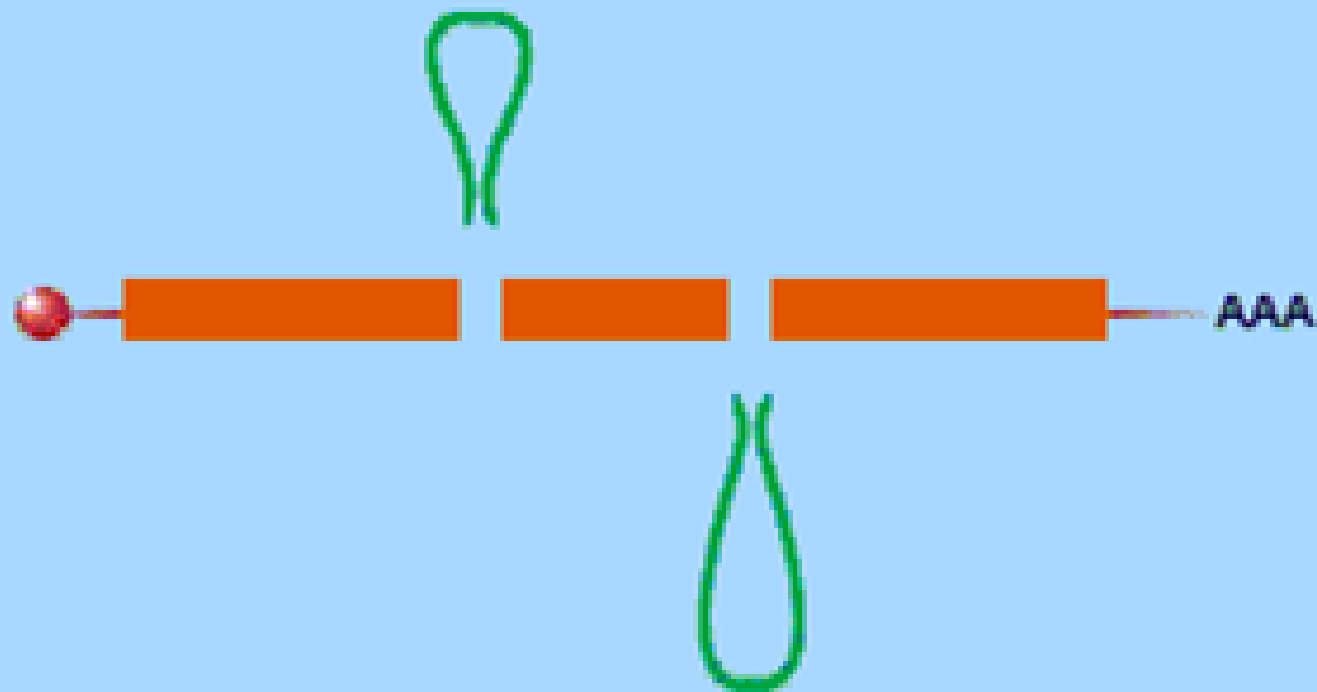


Splicing



**Spliceossomo – complexo de
RNAs e proteínas regulatórios e enzimas
Reconhece Intron - GU início e AG fim**

Splicing



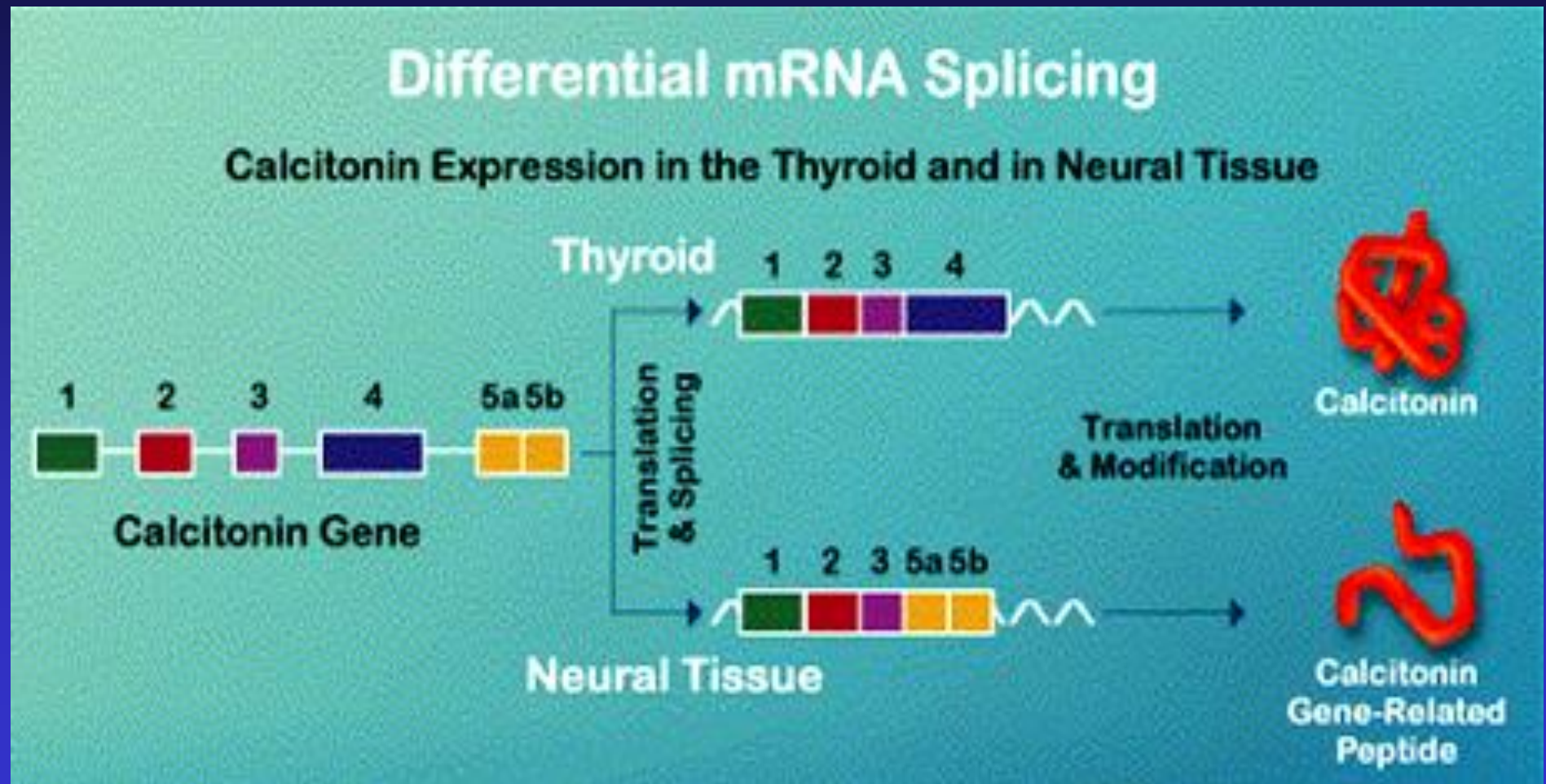
Splicing



Splicing



Splicing alternativo - mRNA = Isoformas

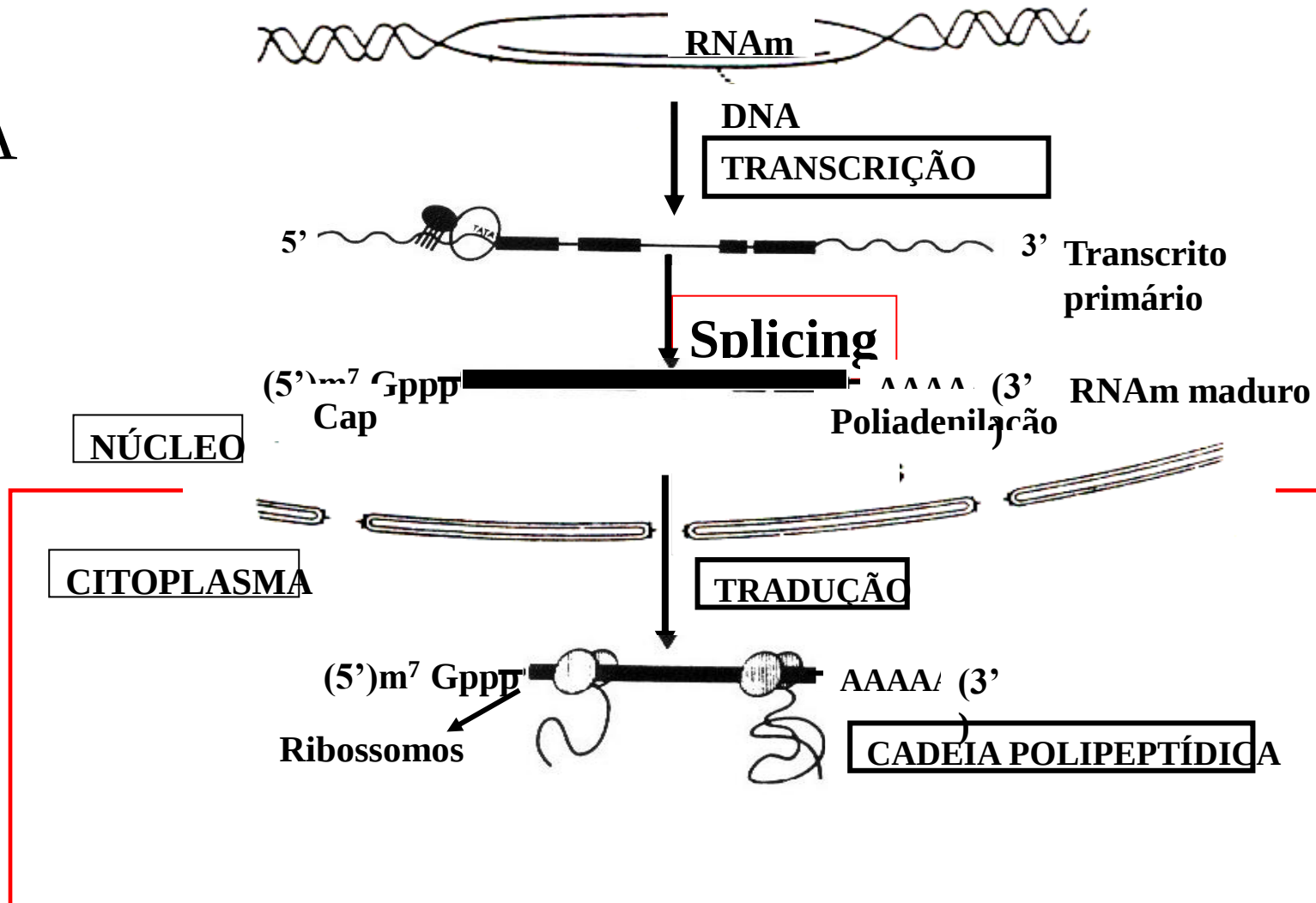


Tradução – Síntese Protéica

Ribossomos

tRNA

mRNA

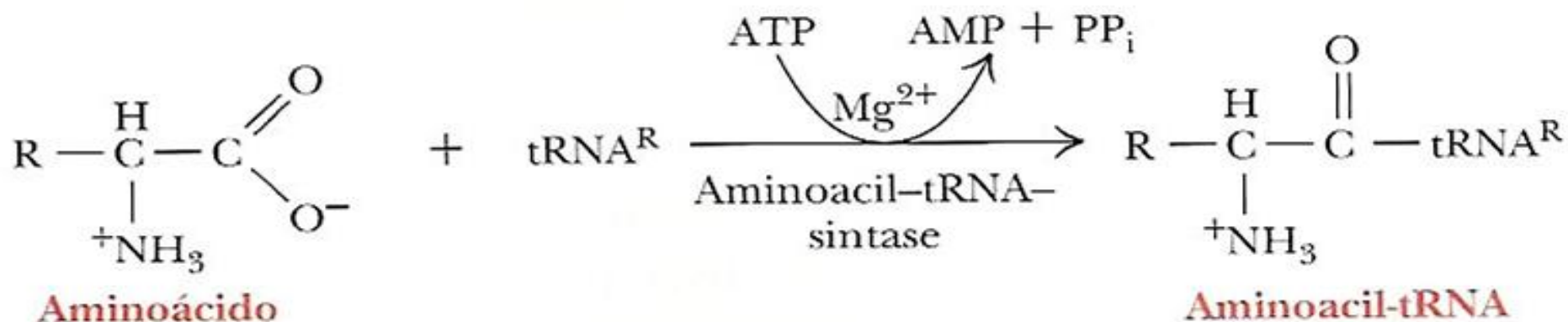


Tradução

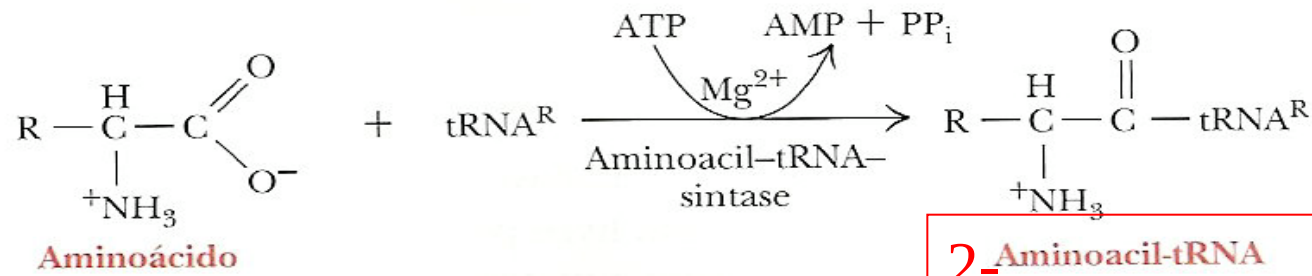
mRNA e tRNA – ordem dos aa na cadeia nascente

Ribossomo – estrutura onde ocorre a síntese

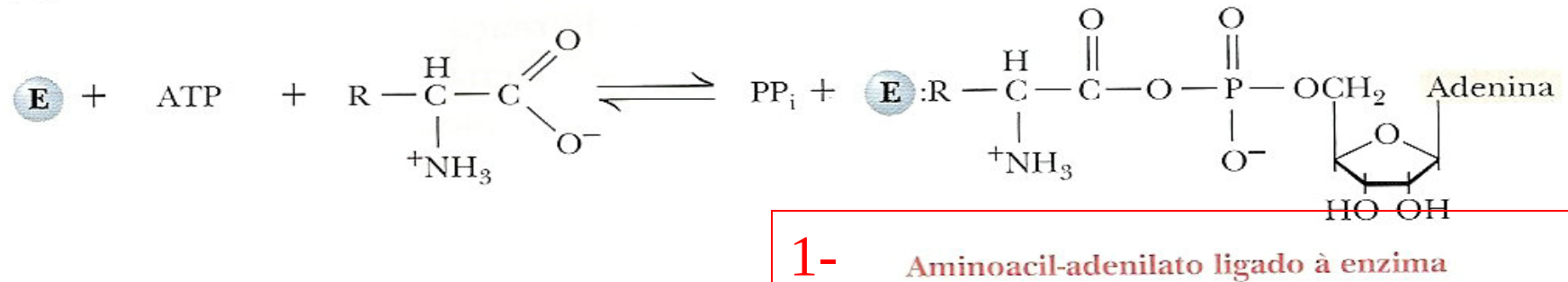
Ativação dos aa - Reação da aminoacil-tRNA-sintase

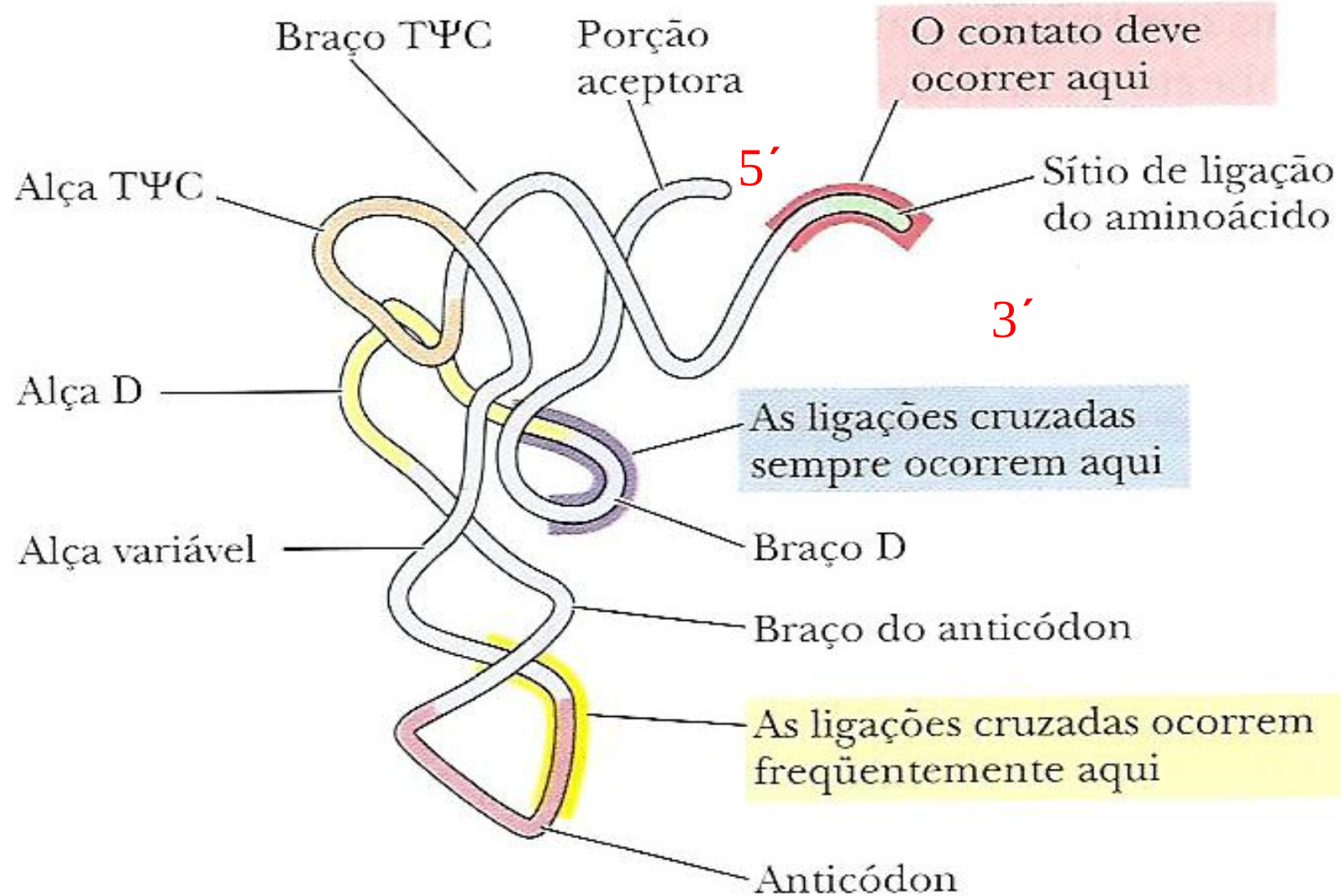


(a)

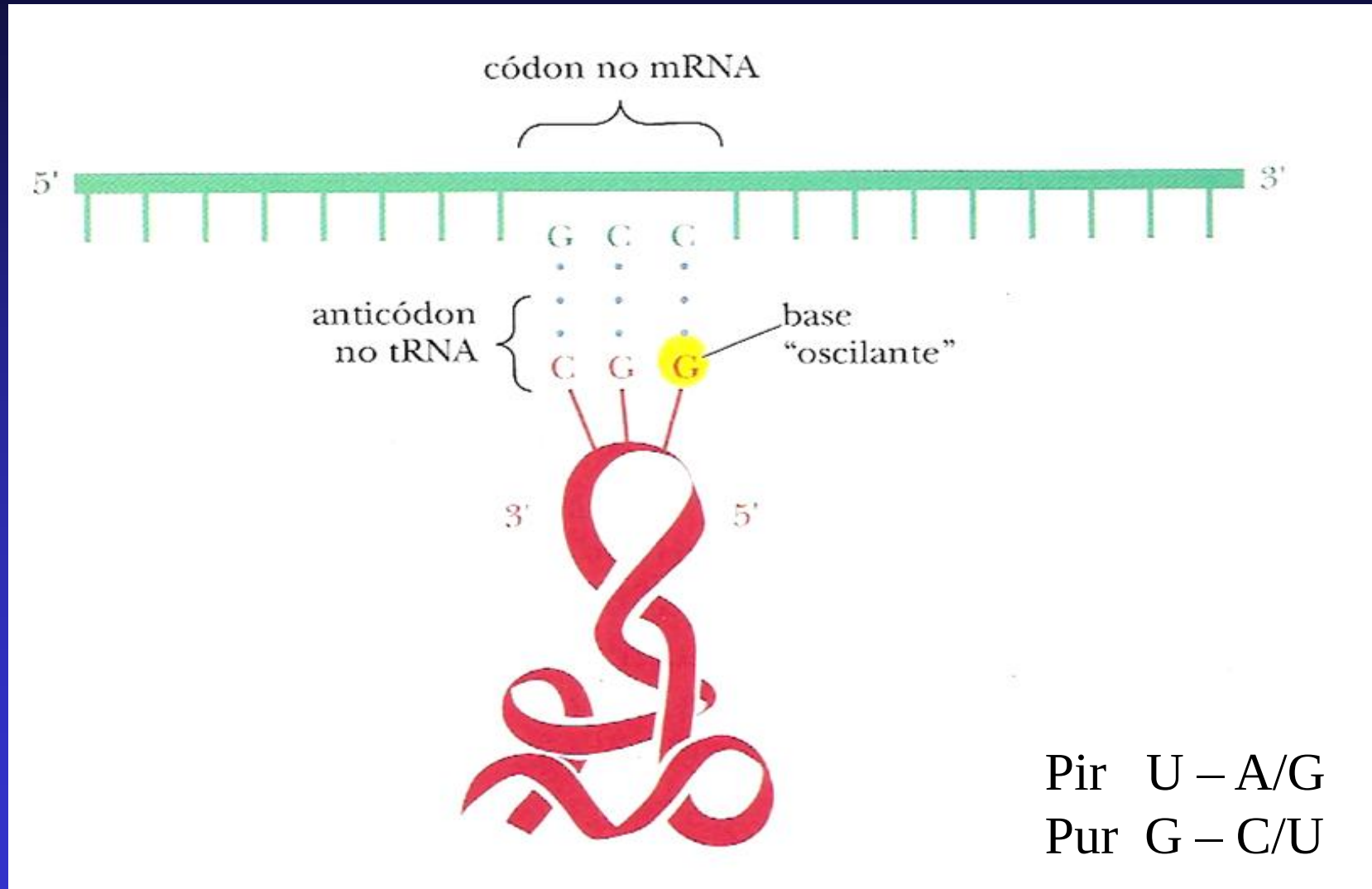


(b)





Tradução – Síntese Protéica



O código genético é degenerado

$4^3 = 64$ combinações

20 aminoácidos

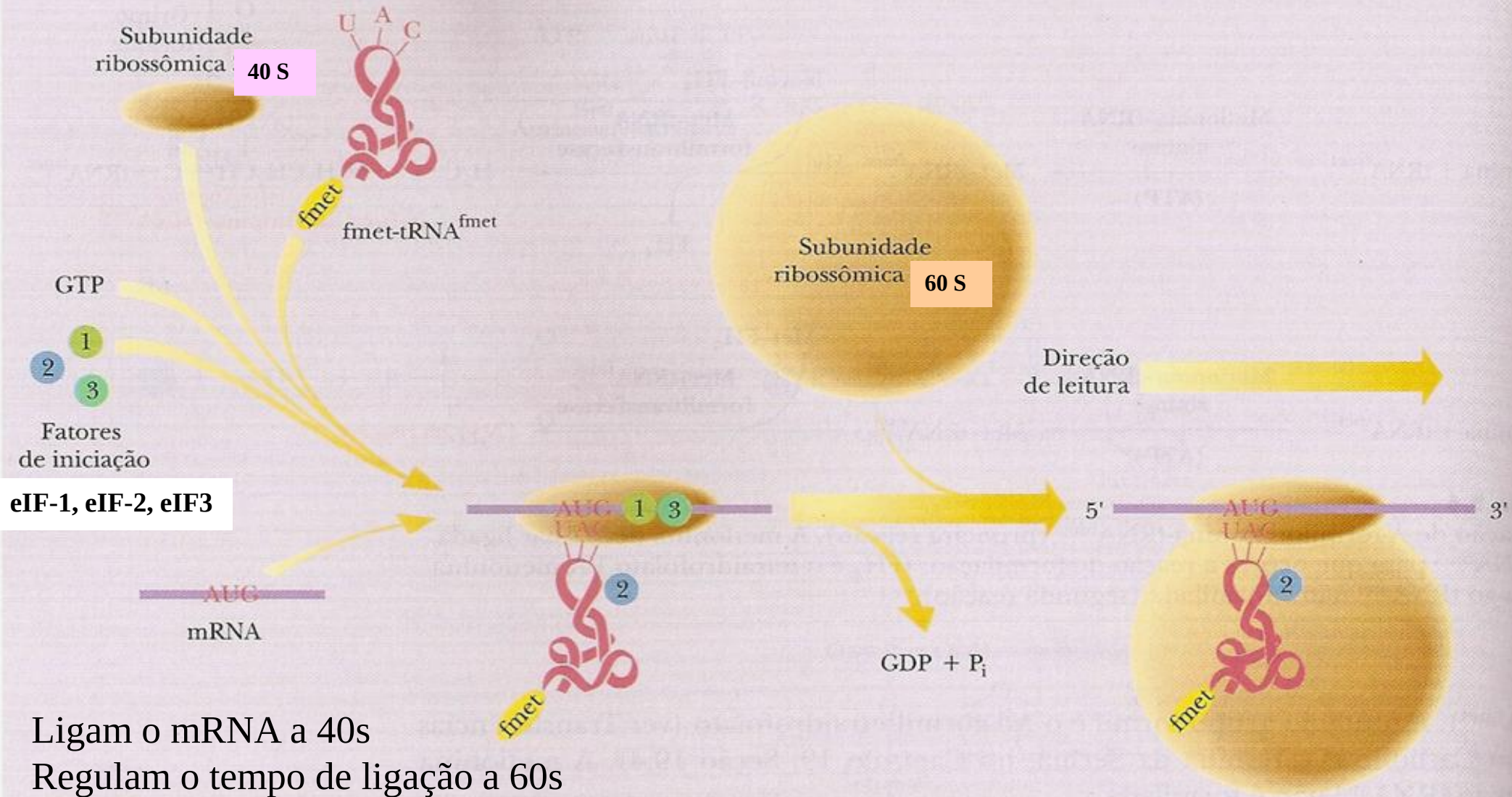
GCA	AGA									UUA					AGC					
GCC	AGG						GGA		AUA	UUG				CCA	AGU				GUA	UAA
GCG	CGA						GGC	CAC	AUC	CUA		AAA		CCC	UCA	ACA			GUC	UAG
GCU	CGC	GAC	AAC	UGC	GAA	CAA	GGU	CAU	AUU	CUC	AAU	AUG	UUC	CCG	UCC	ACG	UGG	UAC	GUG	UGA
	CGU	GAU	AAU	UGU	GAG	CAG				CUU	AAG		UUU	CCU	UCU	ACU		UAU	GUU	
Ala	Arg	Asp	Asn	Cys	Glu	Gln	Gly	His	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Pro	Ser	Thr	Trp	Tyr	Val	stop
A	R	D	N	C	E	Q	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V	

		Second Base				
		U	C	A	G	
First Base	U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
		UUC	UCC	UAC	UGC	C
		UUA Leu	UCA	UAA Stop	UGA Stop	A
		UUG	UCG	UAG Stop	UGG Trp	G
C		CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
		CUC	CCC	CAC	CGC	C
		CUA	CCA	CAA Gln	CGA	A
		CUG	CCG	CAG	CGG	G
A		AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
		AUC	ACC	AAC	AGC	C
		AUA	ACA	AAA Lys	AGA Arg	A
		AUG Met / Start	ACG	AAG	AGG	G
G		GUU Val	GCU Ala	CAU Asp	GGU Gly	U
		GUC	GCC	GAC	GGC	C
		GUA	GCA	GAA Glu	GGA	A
		GUG	GCG	GAG	GGG	G

20 aminoácidos e
códons possíveis: 61
codificantes
e 3 de terminação

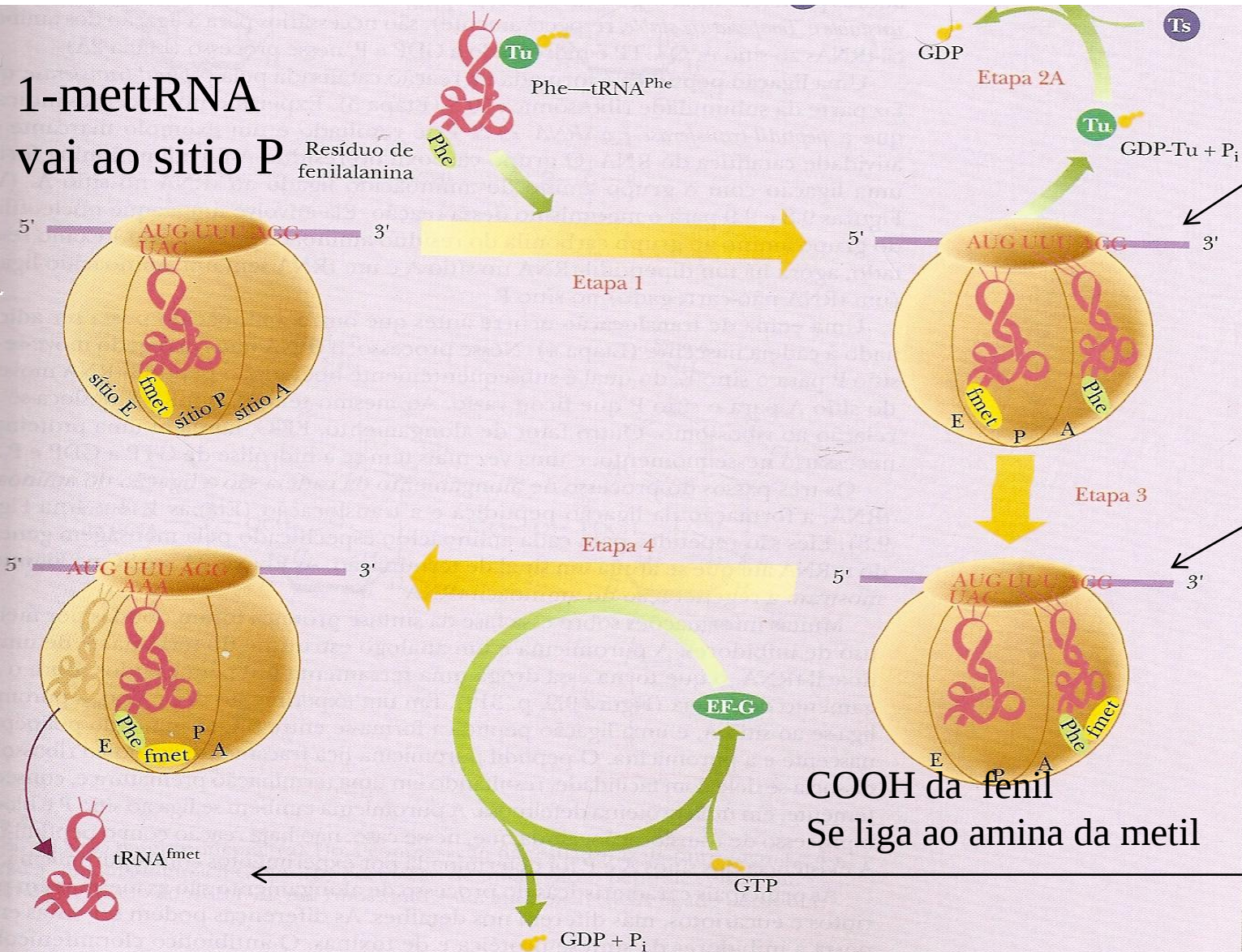
DNA – desliza em zonas de repetição dentro do gene , pulam base ao replicar e aí formam mRNA na transcrição que forma um stop codon, indevido parando a síntese daquele mRNA

Formação de um complexo de iniciação



Alongamento

1-mettRNA
vai ao sitio P

Resíduo de
fenilalanina

2- No sitio A se liga
o 2º aa del tRNA

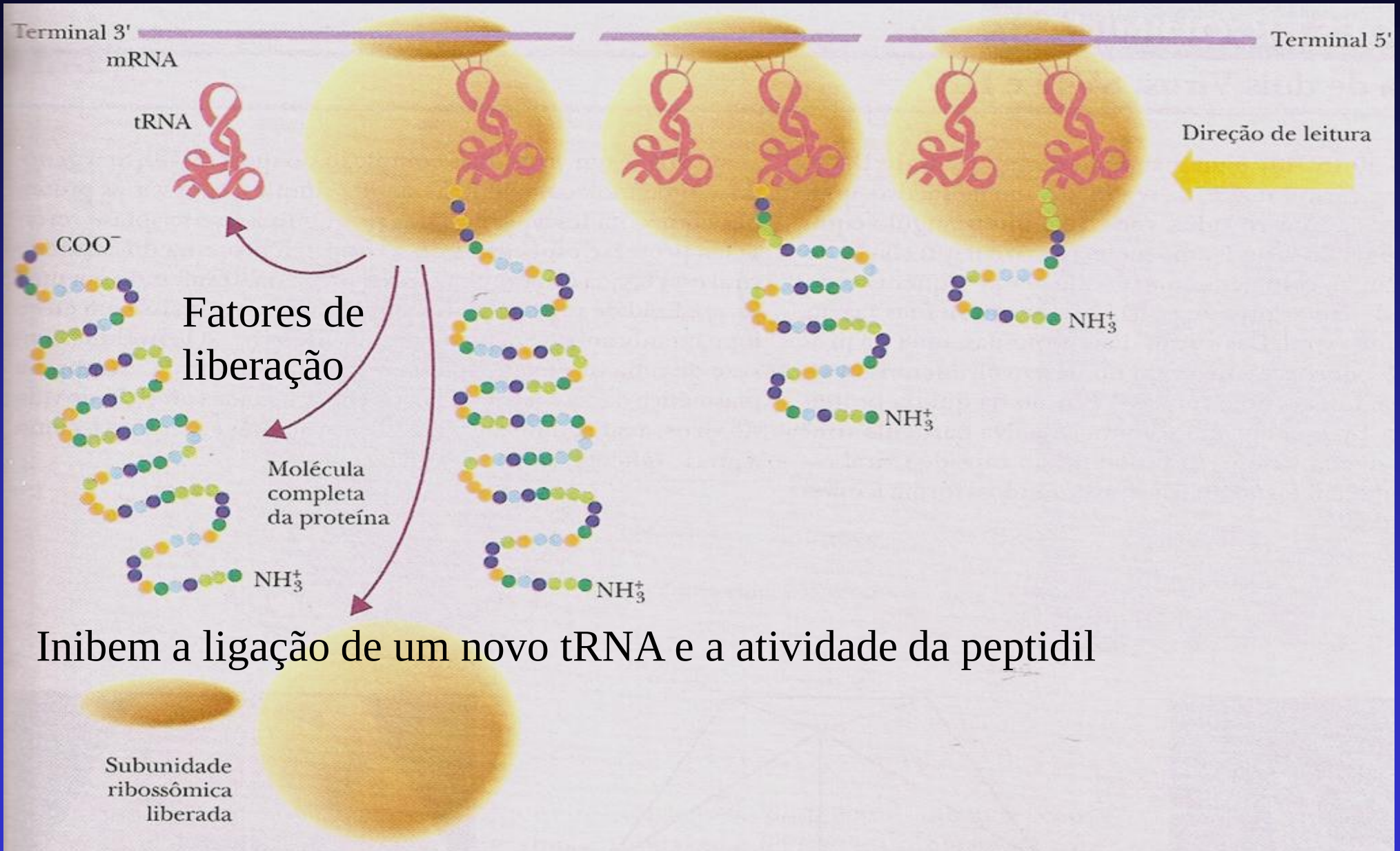
3- 1ª ligação peptídica
é formada sit A –
peptidiltransferase
(baixo p/ cima)

4 -Translocação

- tRNA_{avazio} vai p/ E
- 2º aa ciltRNA vai p/sítio P

Sítio A recebe um novo tRNA_{aaacil}

Síntese de proteína



		Second Base				
		U	C	A	G	
First Base	U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
		UUC	UCC	UAC	UGC	C
		UUA Leu	UCA	UAA Stop	UGA Stop	A
		UUG	UCG	UAG Stop	UGG Trp	G
	C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
		CUC	CCC	CAC	CGC	C
		CUA	CCA	CAA Gln	CGA	A
		CUG	CCG	CAG	CGG	G
	A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
		AUC	ACC	AAC	AGC	C
		AUA	ACA	AAA Lys	AGA Arg	A
		AUG Met / Start	ACG	AAG	AGG	G
	G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
		GUC	GCC	GAC	GGC	C
		GUA	GCA	GAA Glu	GGA	A
		GUG	GCG	GAG	GGG	G

Translation

Ribosome



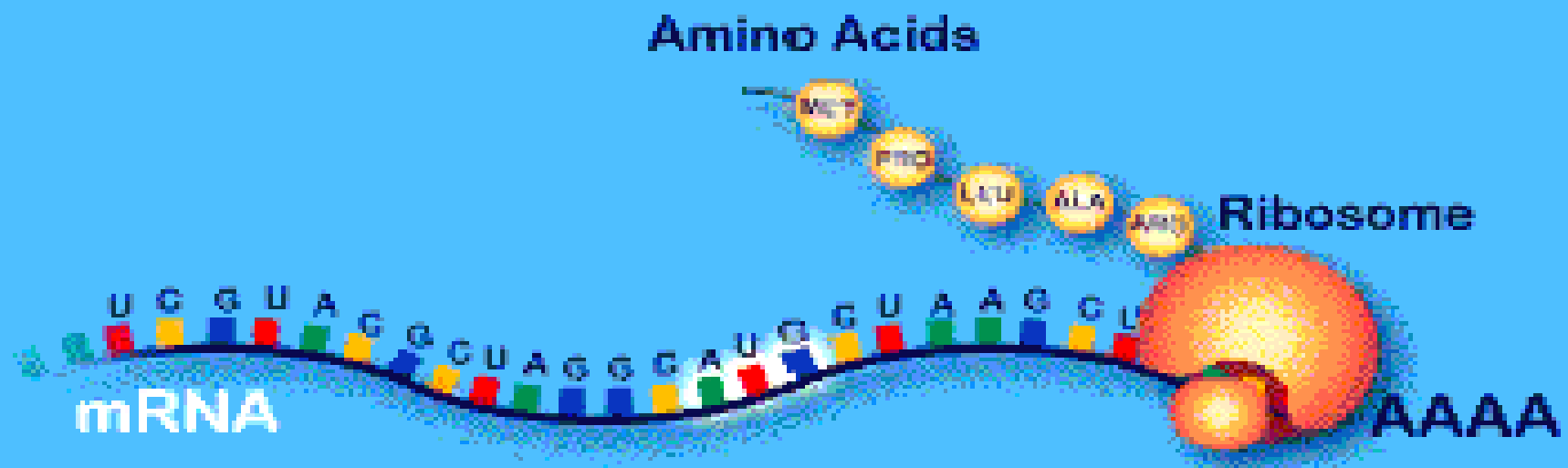
mRNA

AAA

Translation

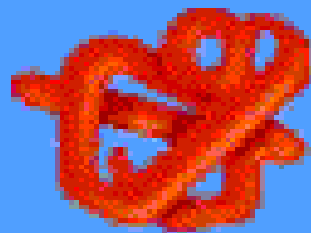


Translation

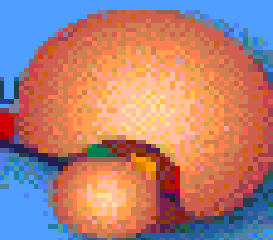


Translation

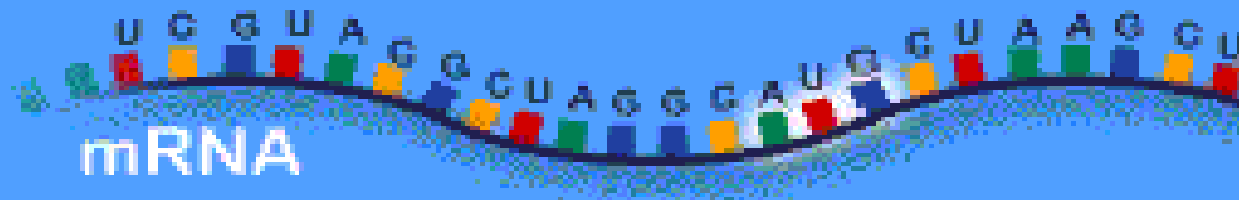
Protein



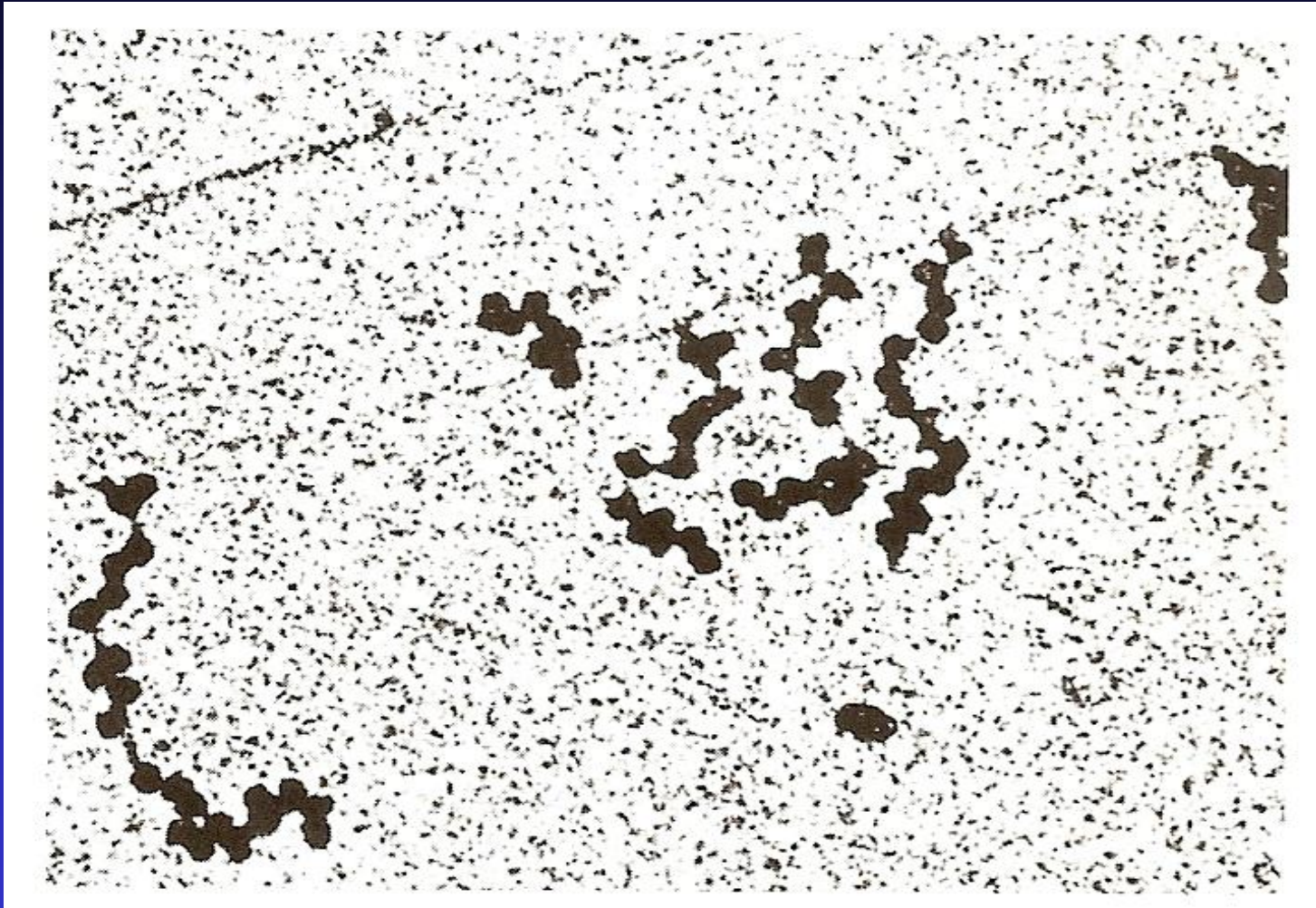
Ribosome



mRNA

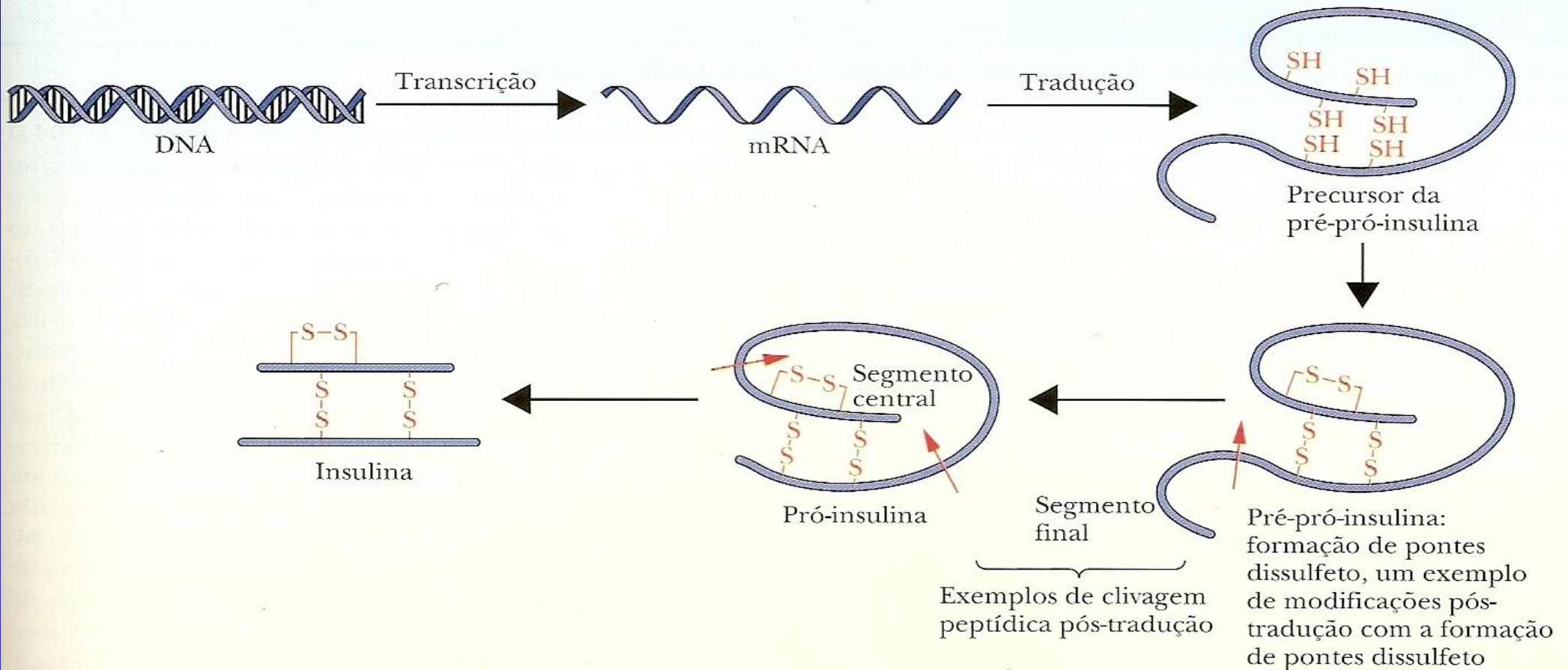


Micrografia eletrônica mostrando o acoplamento transcrição-tradução



Pontos escuros são ribossomos, arranjados em grupos sobre uma fita de mRNA. Várias moléculas de mRNA foram transcritas de uma fita de DNA (linha diagonal do centro para o canto superior direito da figura)

Modificação pós tradução - Síntese da Insulina



Aminoácidos

Ácido Aspártico (Asp)

Ácido Glutâmico (Glu)

Alanina (Ala)

Arginina (Arg)

Asparagina (Asn)

Cisteína (Cys)

Fenilalanina (Phe)

Glicina (Gly)

Glutamina (Gln)

Histidina (His)

Isoleucina (Ile)

Leucina (Leu)

Lisina (Lys)

Metionina (Met)

Prolina (Pro)

Serina (Ser)

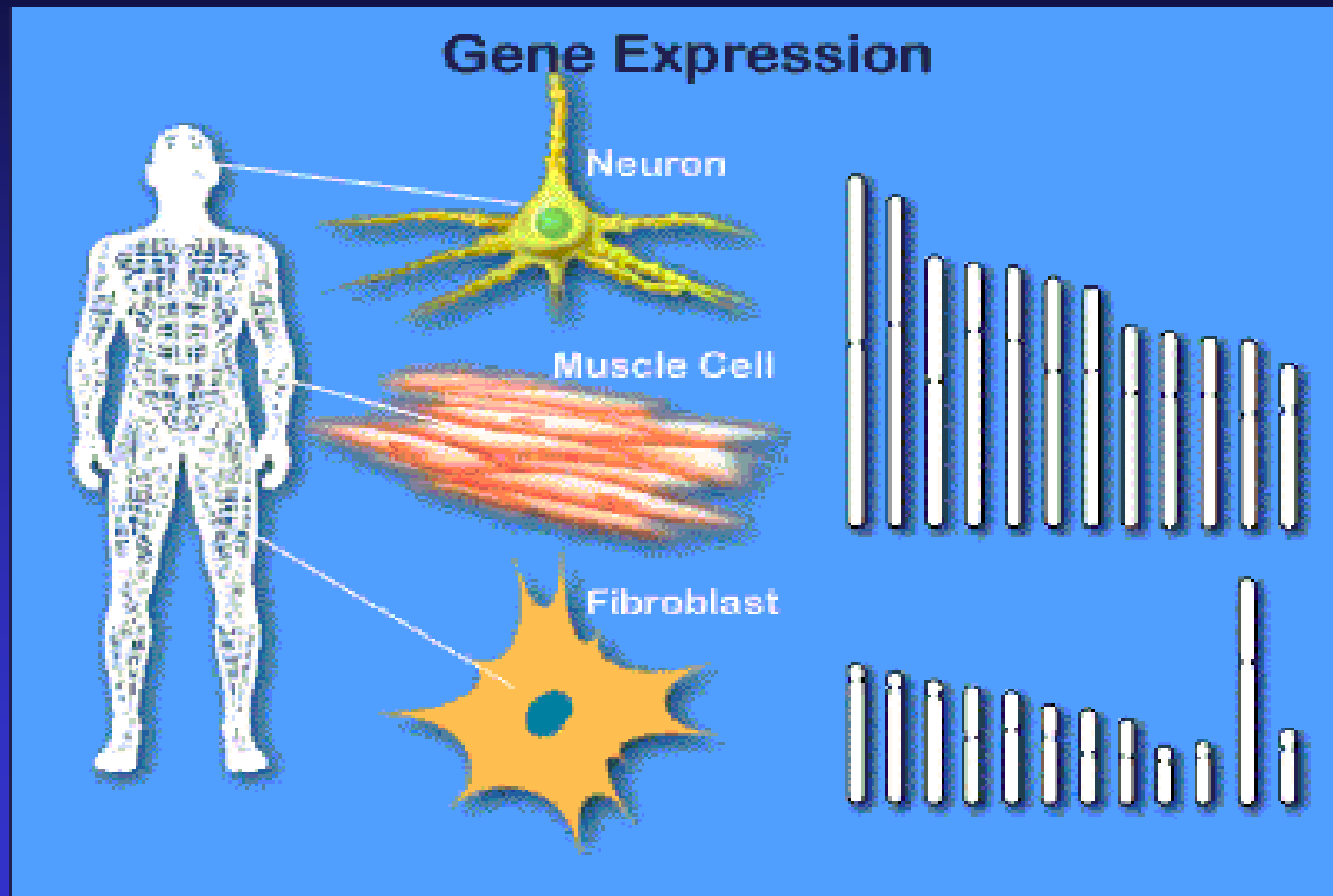
Tirosina (Tyr)

Treonina (Thr)

Triptofano (Trp)

Valina (Val)

Diferentes proteínas são expressas em diferentes células de acordo com suas funções

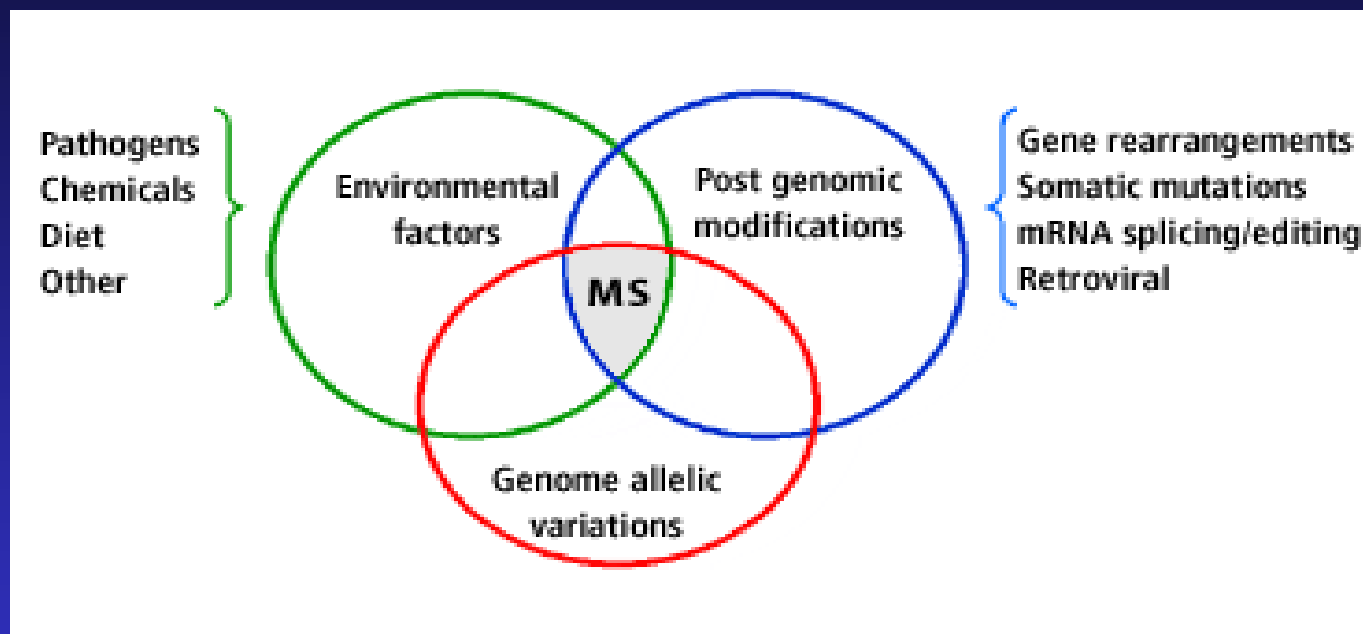


A sequência do DNA nuclear é quase 99,9% idêntica entre quaisquer 2 seres humanos. A pequena fração de sequências de DNA restante é responsável pela variação genética entre os humanos.

Todos os indivíduos de uma espécie têm os mesmos genes,
mas com variações.



Estas variações podem ser devida a fatores genéticos e/ou fatores ambientais.



→ **Mutações.**

Treinamento - expressão de genes – adaptação

Genótipo do Indivíduo – favorecimento do desempenho

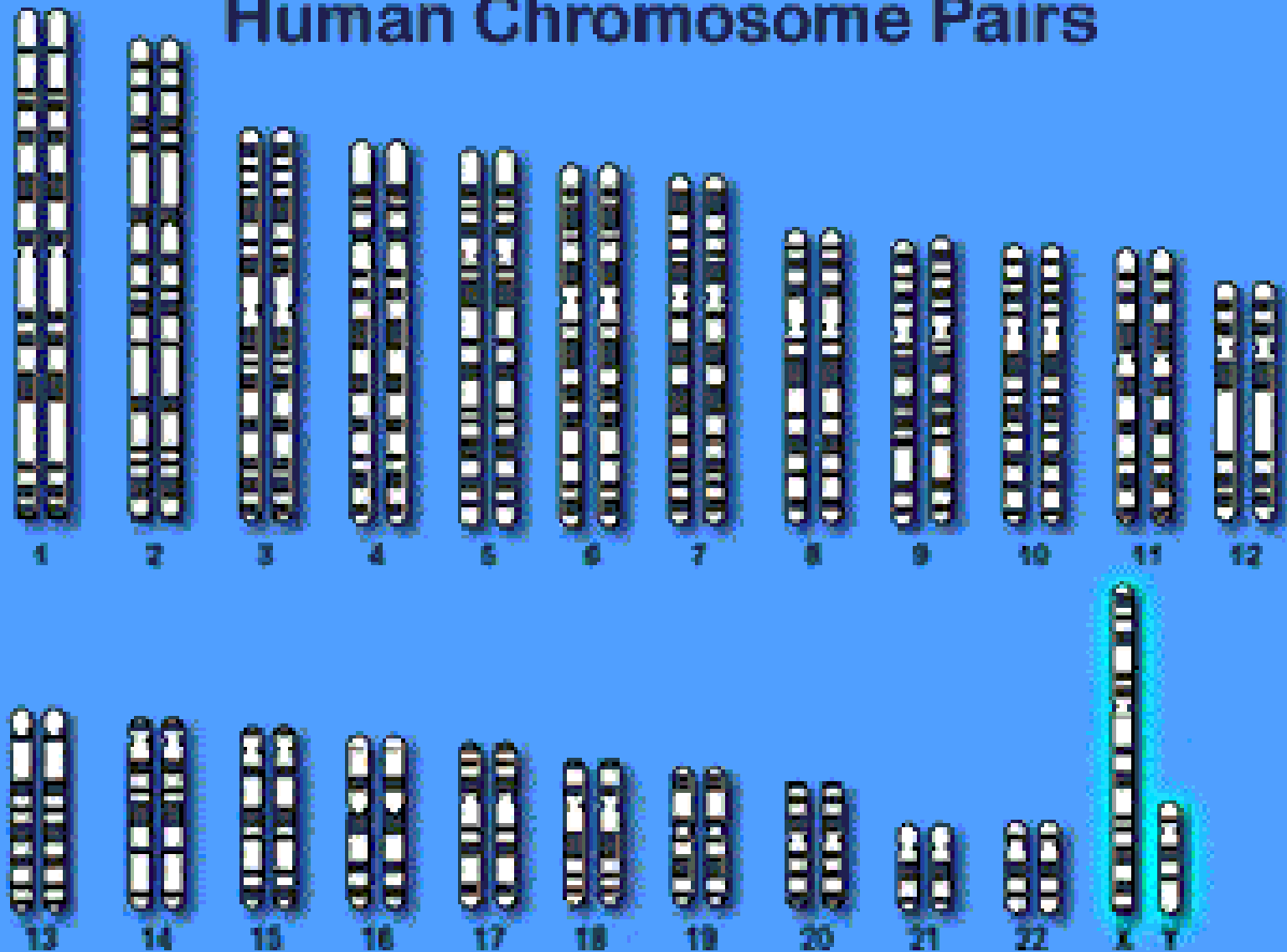
O GENÓTIPO É CAPAZ DE INFLUENCIAR O
CONDICIONAMENTO FÍSICO E A RESPOSTA O TREINAMENTO

O TREINAMENTO BEM ADMINISTRADO É CAPAZ DE
MODULAR A EXPRESSÃO
DE PROTEÍNAS PRODUZINDO SÍNTESE
E REGULANDO SUA EXPRESSÃO
NO SENTIDO DE UM FENÓTIPO MAIS ADAPTADO

FIM

Slides extra

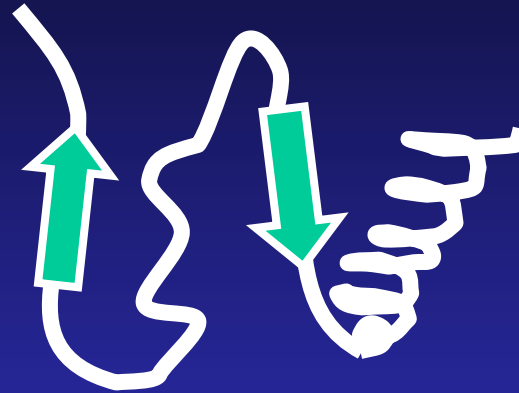
Human Chromosome Pairs



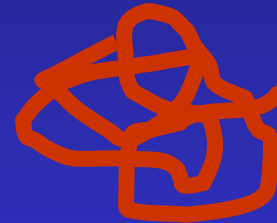
Estrutura
primária



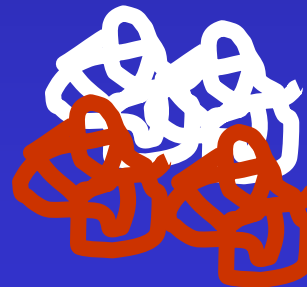
Estrutura
secundária



Estrutura
terciária



Estrutura
quartenária



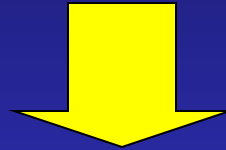
Exercício regular

lipídios

diabetes mellitus

obesidade

hipertensão



Respostas variáveis



Mediadas por variações genéticas

Pesquisas com exercício X Genes : Hoje



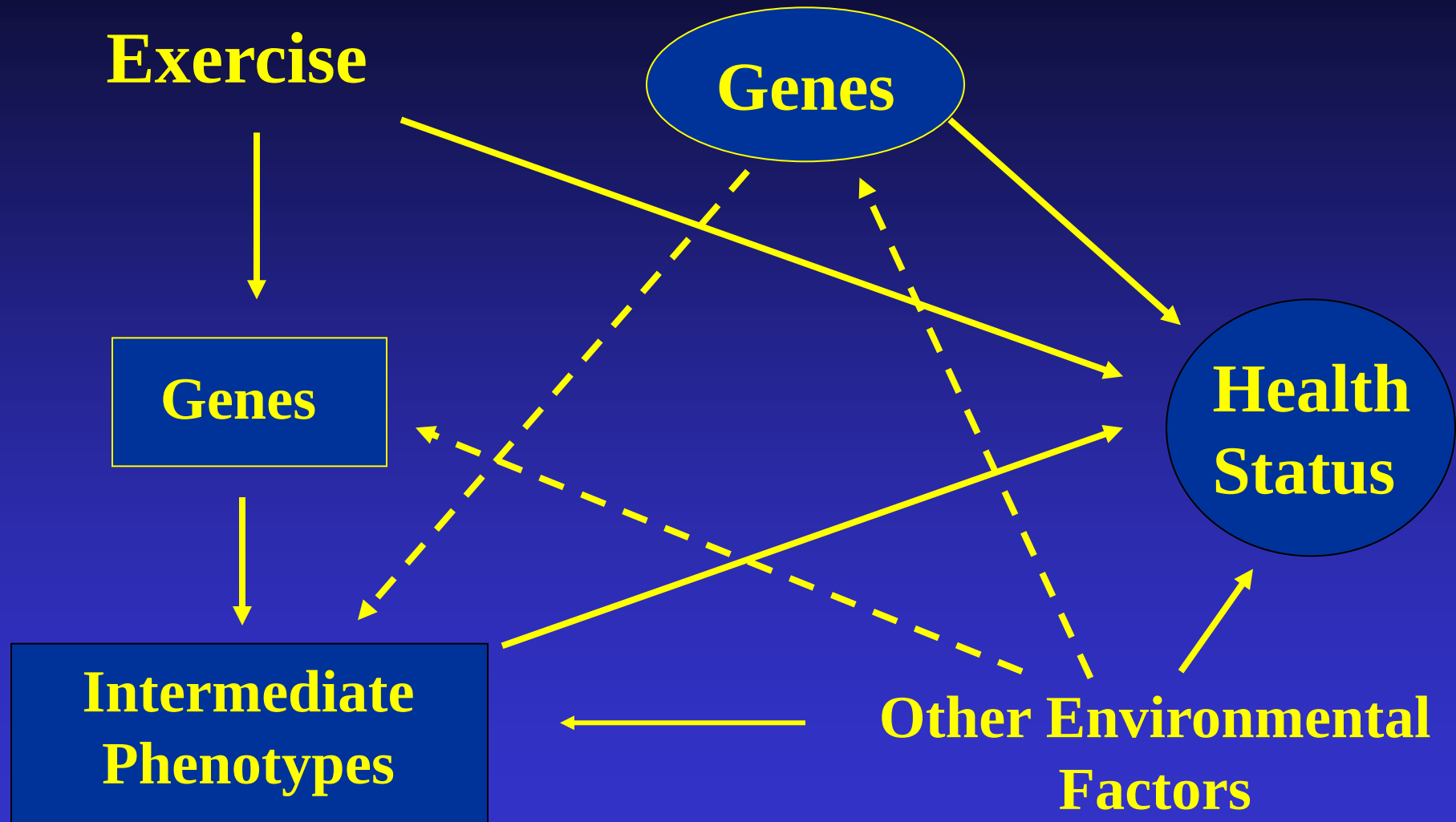
- Investigações de genes que podem ser influenciados diretamente pelo exercício

Ex.: massa muscular; densidade óssea, etc

- Investigações sobre doenças que são influenciadas por efeitos genéticos ou exercício

Ex.: hipertensão (indivíduos sedentários e exercício)

Model of gene-exercise interaction



Intervenções gene-exercício



Um mesmo ambiente (exercício)



Produz efeitos diferenciais em indivíduos geneticamente diferentes

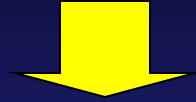
- Efeitos do exercício agudo levando a morte súbita em indivíduos com defeitos genéticos que levam cardiomiopatia hipertrófica ou anormalidades da artéria coronária.

*Sports Med*26: 335-50, 1998.

Várias estratégias são usadas para detectar genes nos quais seus efeitos podem ser alterados pelo exercício



Limitado número de trabalhos investigam



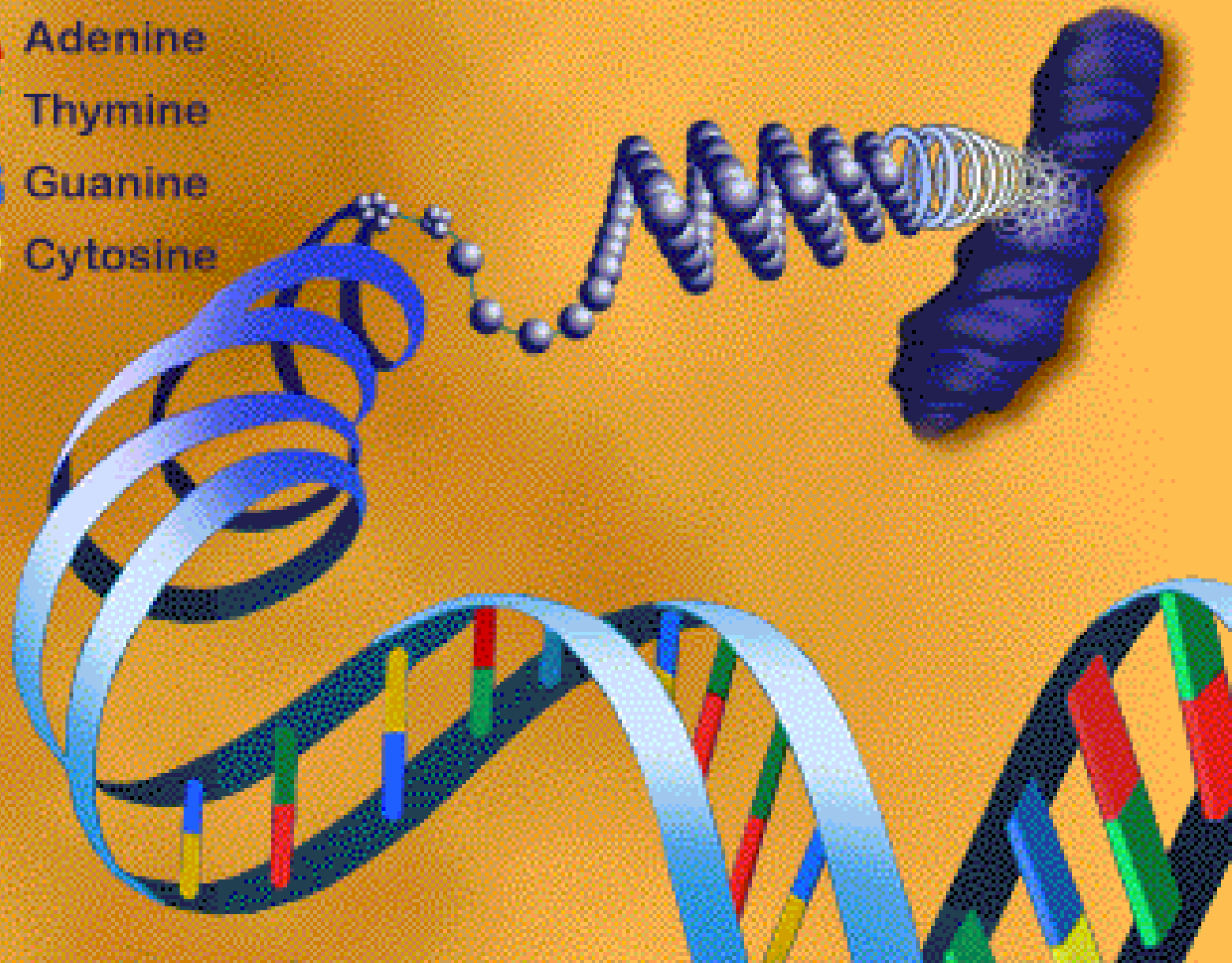
Bases genéticas do exercício

ou

Níveis de atividade física como um fenótipo por si só

Nenhum gene foi descrito para níveis de atividade física, porém genes relacionados com metabolismo podem predispor o indivíduo a ser mais ou menos ativo

- A** Adenine
- T** Thymine
- G** Guanine
- C** Cytosine



5'

3'

G

C

A

A

T

C

T

A

C

G

T

T

A

G

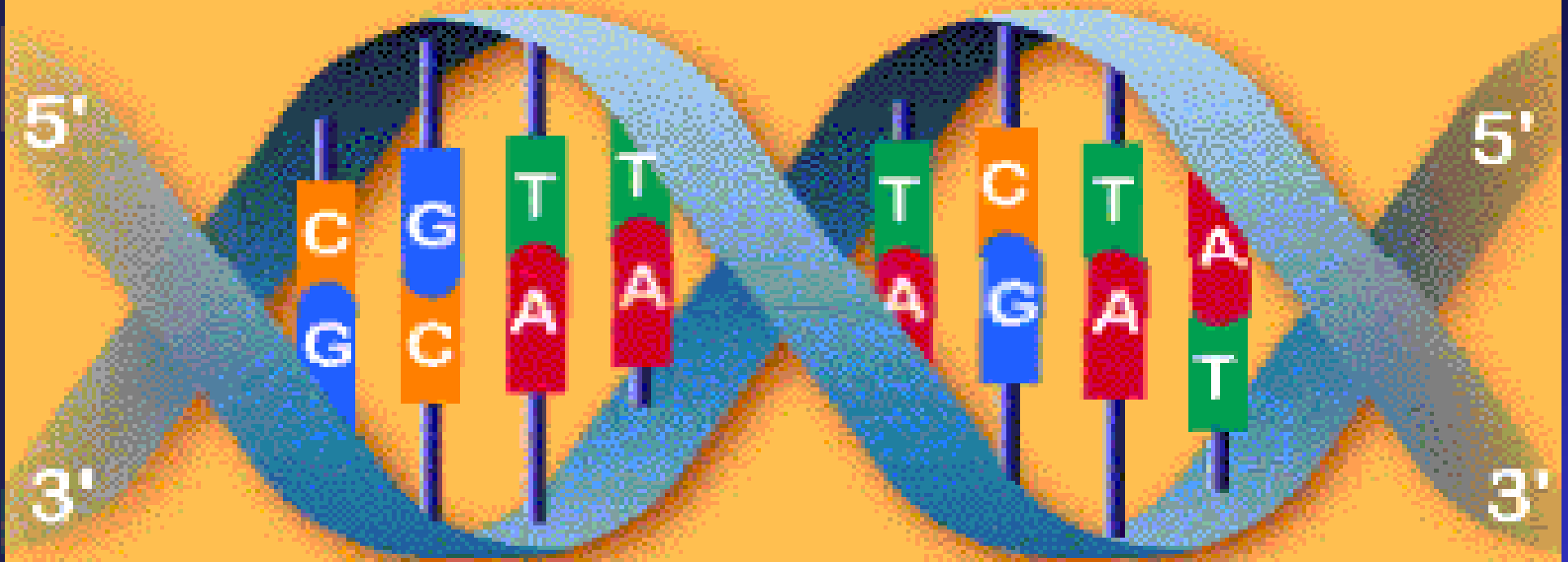
A

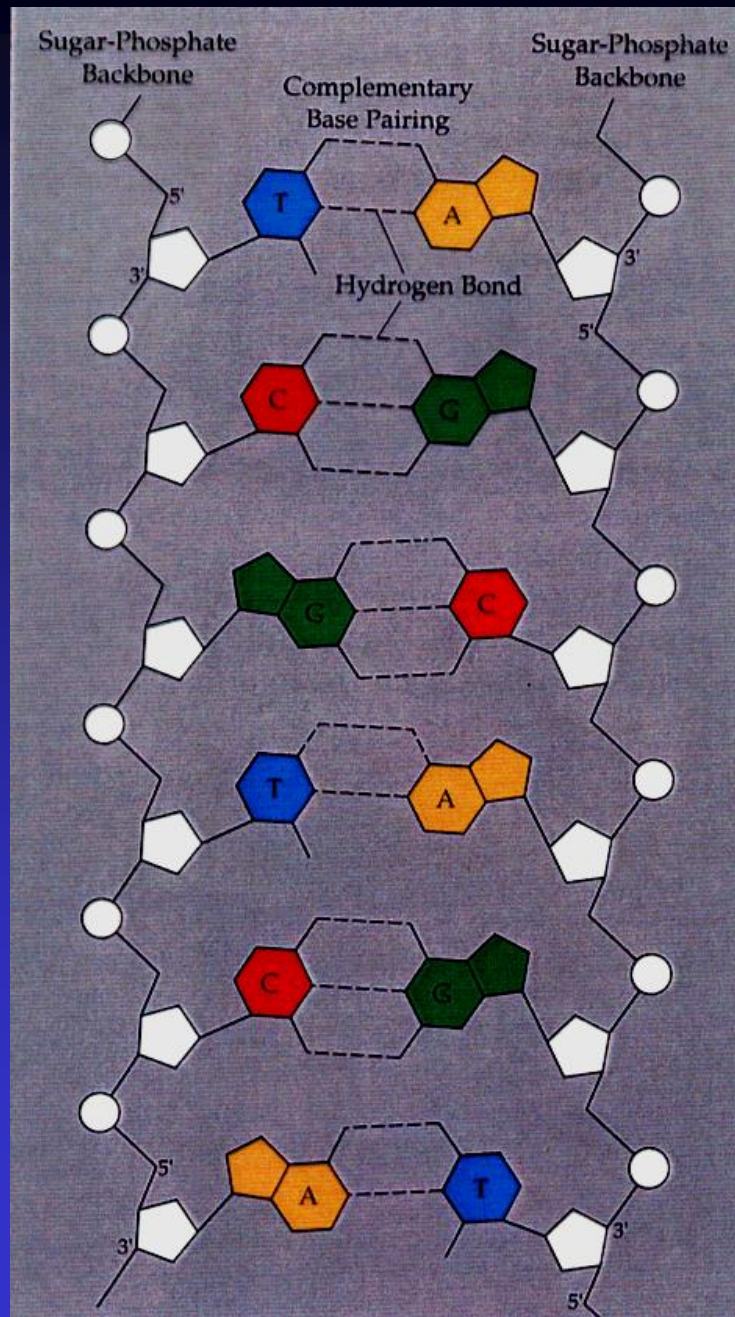
T

3'

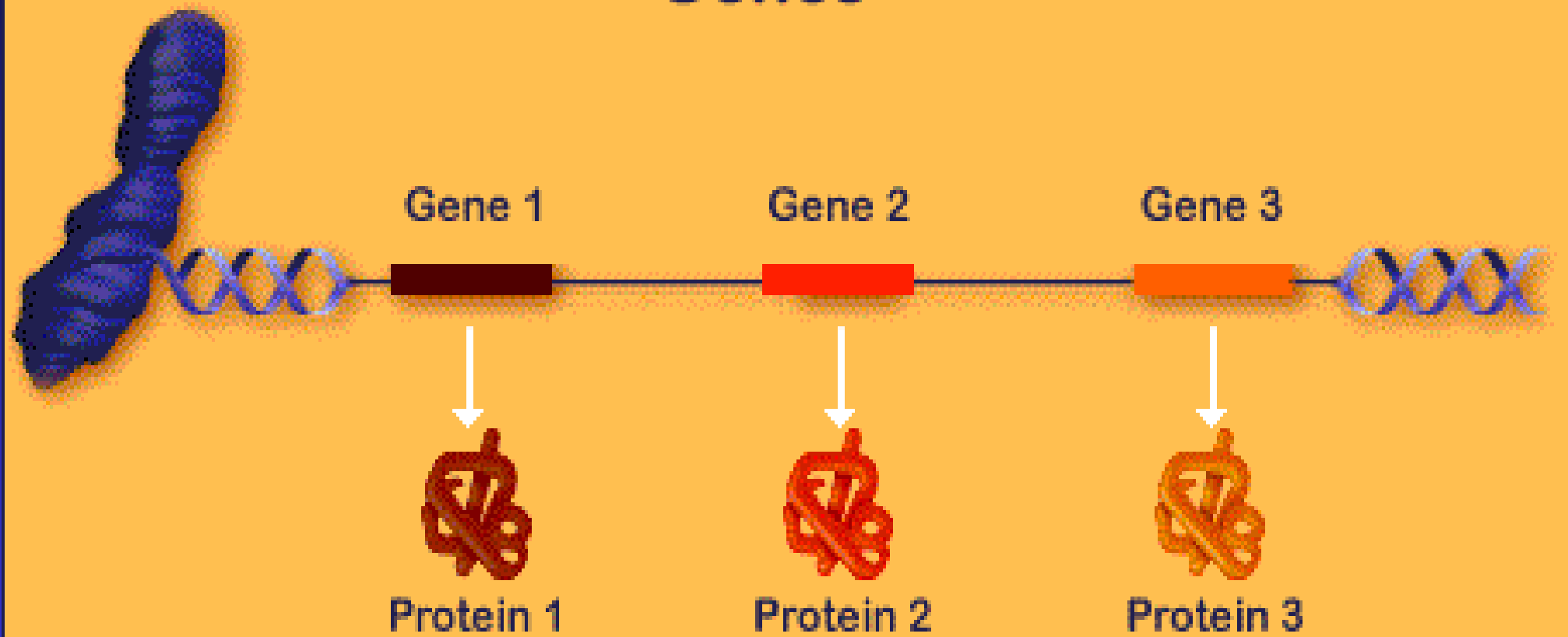
5'



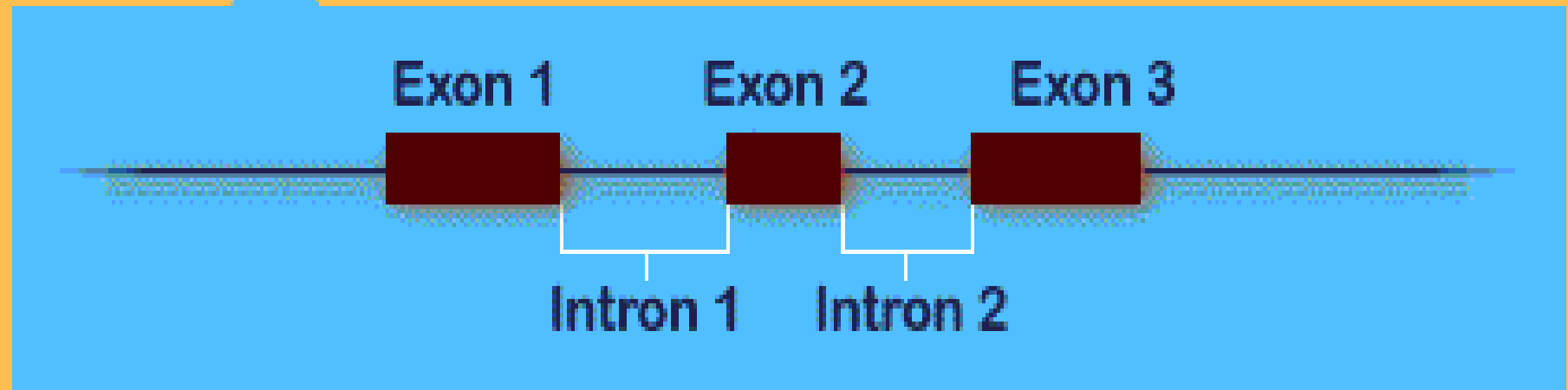




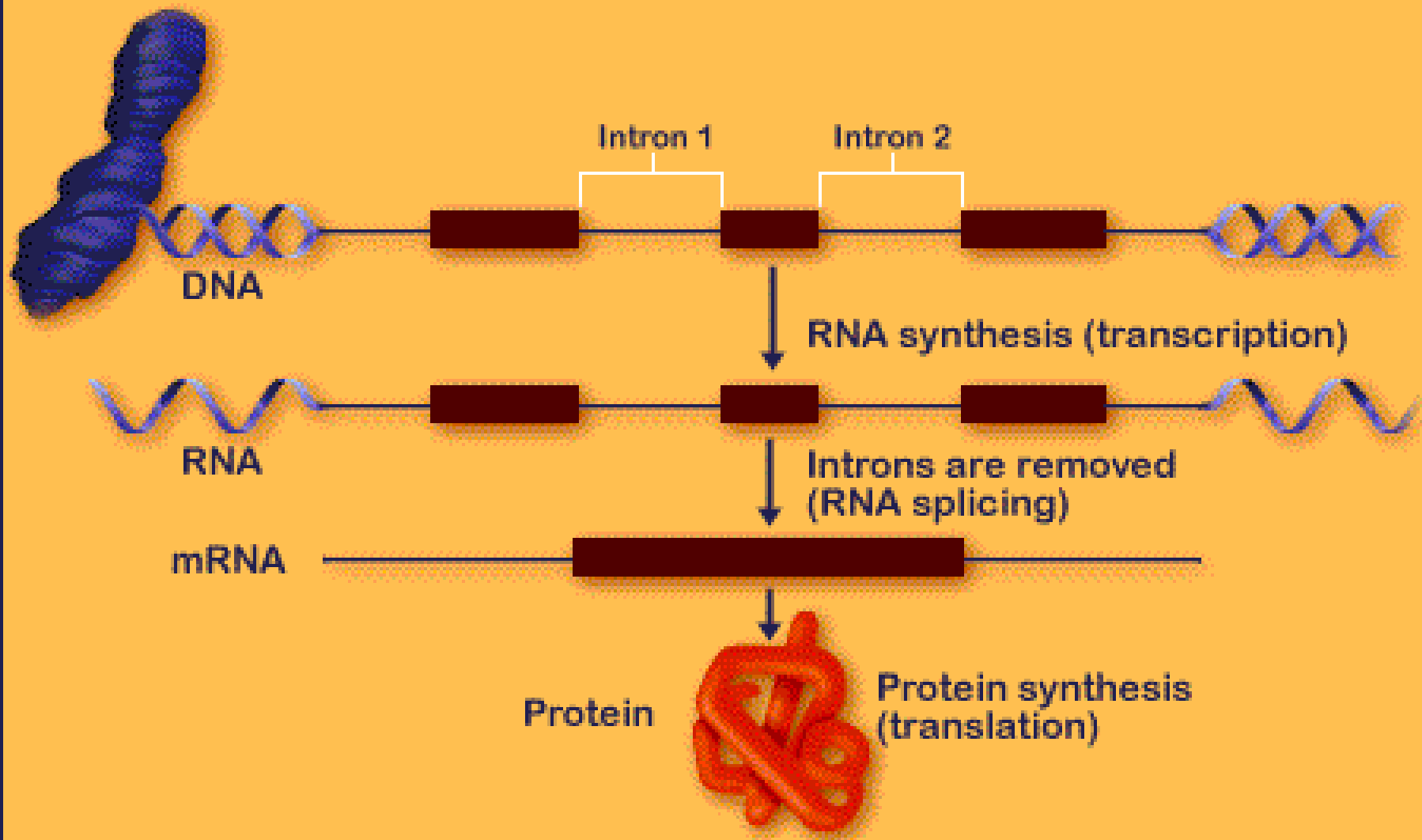
Genes



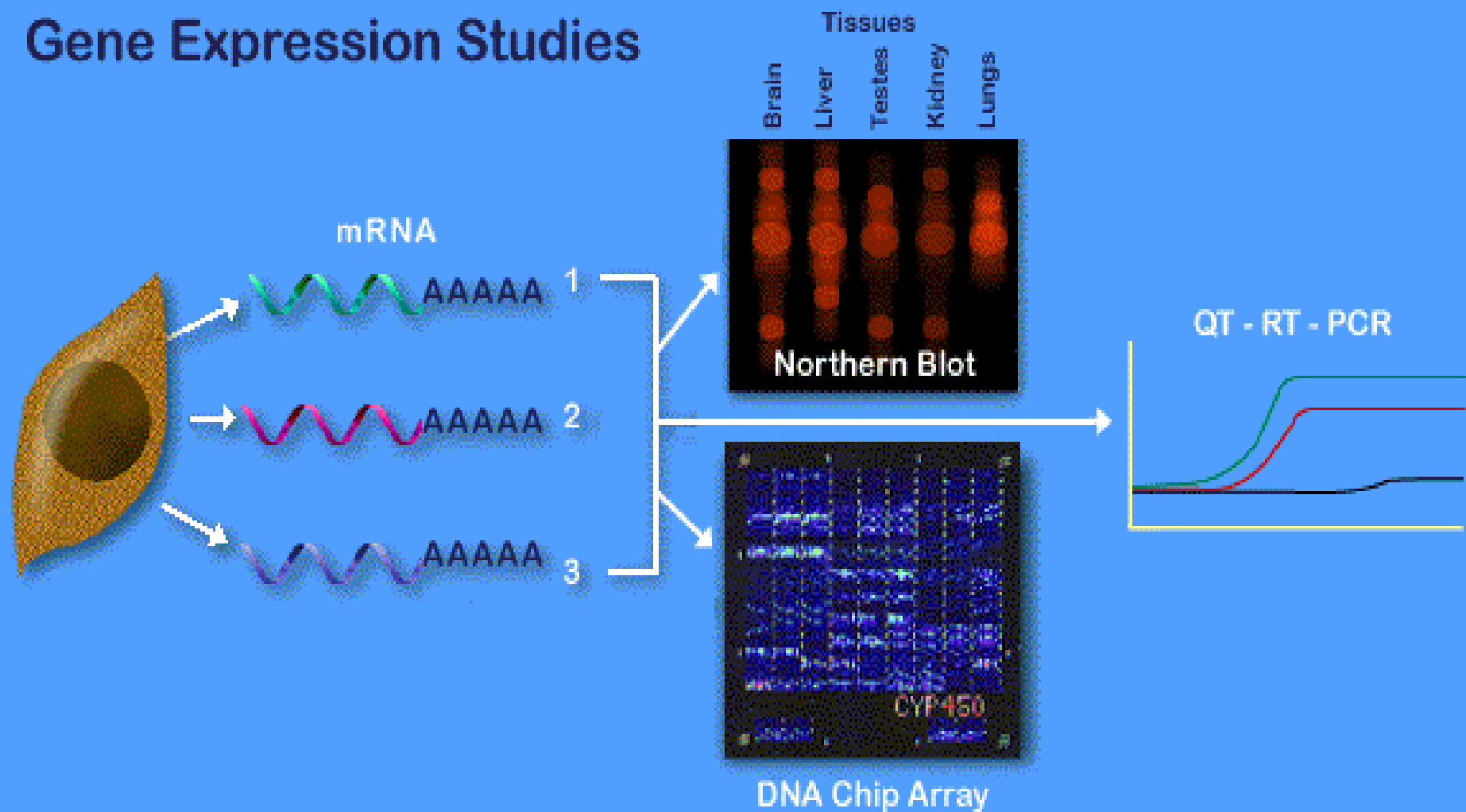
Gene Structure



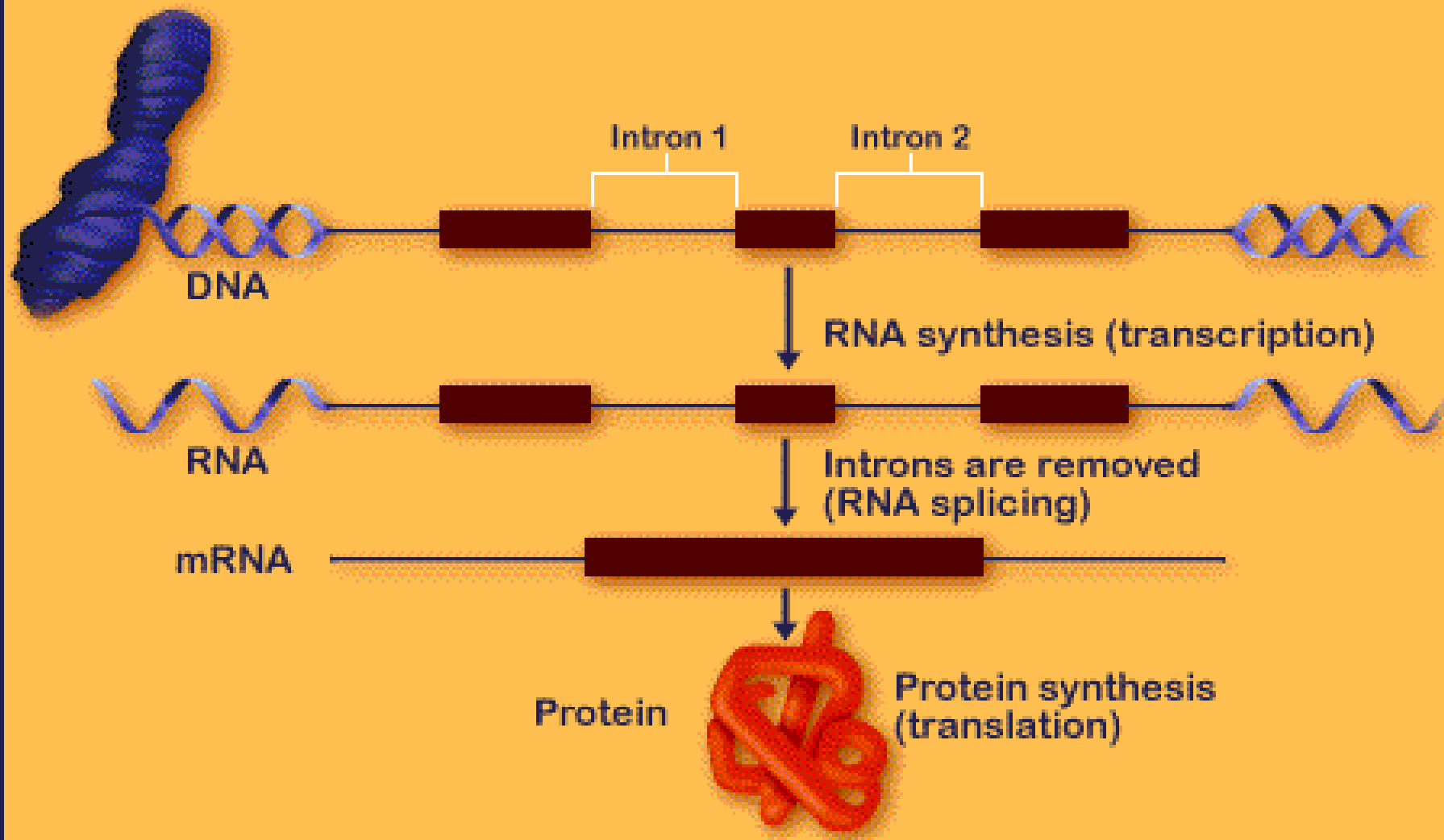
Transcription & Translation



Gene Expression Studies



Transcription & Translation



Translation

Ribosome



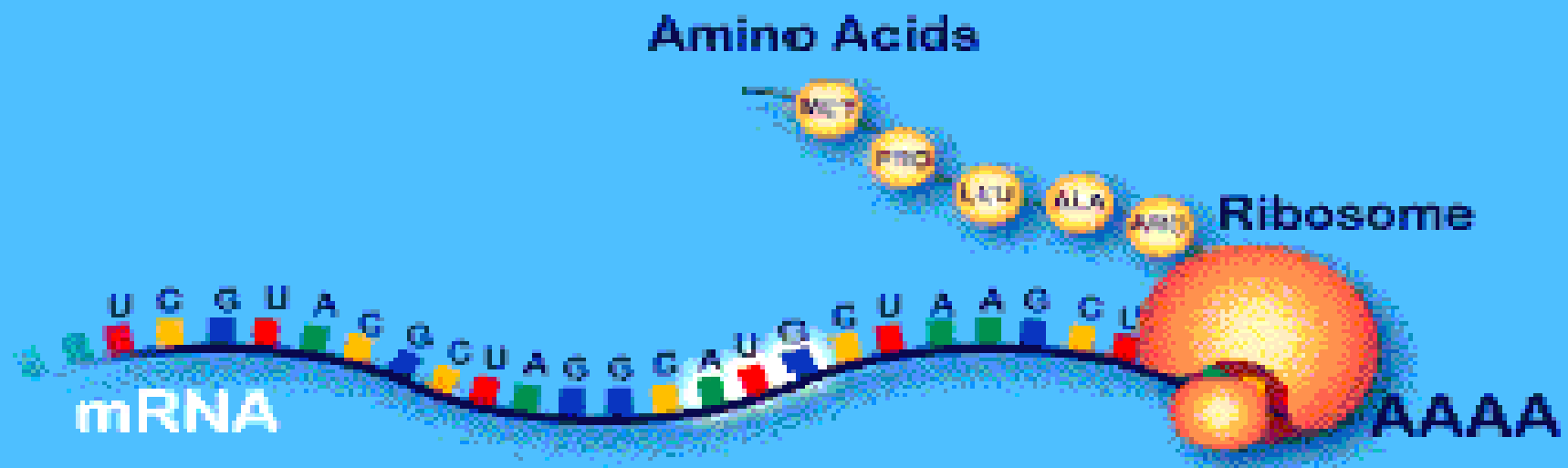
mRNA

AAA

Translation

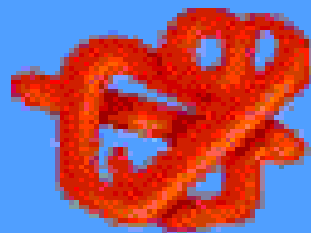


Translation

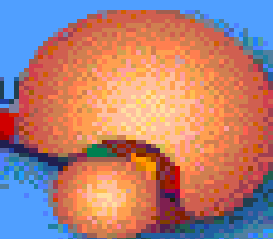


Translation

Protein



Ribosome



mRNA



AAAA