

GENÉTICA MICROBIANA

META

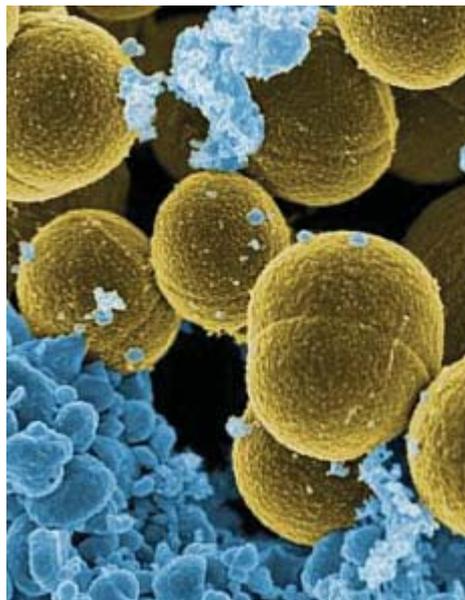
Introduzir os conceitos da Genética microbiana, essenciais na compreensão de mecanismos biológicos realizados pelos microrganismos.

OBJETIVOS

Ao final desta aula, o aluno deverá
conhecer conceitos de Genética de microrganismos
definir genética e transcriptômica
entender a importância da Genética na atualidade
relacionar a questão do genótipo e fenótipo dos microrganismos
reconhecer a atuação dos geneticistas nas diversas áreas da microbiologia
entender a importância dos estudos genéticos em modelos microbianos
descrever os principais eventos de síntese
reconhecer os principais tipos de mutações e reparos do DNA
conhecer a técnica do DNA recombinante

PRÉ-REQUISITOS

Para acompanhar melhor esta aula, você deverá revisar temas como a origem da vida, síntese de proteínas, divisão celular, estrutura básica dos ácidos nucleicos.



A crescente resistência das bactérias aos antibióticos representa um grave problema de saúde pública. Isto ocorre porque ao longo da sua história, as bactérias vão acumulando alterações no DNA (mutações) que por vezes se traduzem na aquisição de resistência aos antibióticos. Acima, imagem de bactérias.

(Fontes: <http://www.cienciahoje.pt>)

INTRODUÇÃO

Podemos afirmar que todas as características dos microrganismos são controladas ou influenciadas pela hereditariedade. A hereditariedade influi na sua forma e características estruturais, seu metabolismo, sua capacidade de se locomover ou de se sua capacidade de interagir com outros organismos - talvez até causando doenças. Os organismos individuais transmitem essas características à sua descendência através dos seus genes, as unidades do material hereditário que contêm a informação que determino essas características.

Devemos entender a genética de microrganismos para compreender uma série de conceitos em Microbiologia. Muitos antibióticos atuam inibindo etapas na síntese protéica. Saber como a informação biológica dos genes passa para as proteínas pode nos ajudar a compreender como funcionam alguns antibióticos, permitindo assim que possamos desenvolver novos medicamentos utilizados no tratamento.

Um microrganismo pode se tornar patogênico de várias formas, e todas depende da informação genética. Os micróbios virulentos de algum modo obtiveram um gene ou conjunto de genes que impedem os mecanismos naturais ou artificiais de defesa

Novas doenças são o resultado de alterações genéticas em algum organismo existente. Atualmente os biólogos estão usando a genética para tentar descobrir a relação entre os organismos e a origem da vida na terra. A genética moderna pode auxiliar no diagnostico, prognostico e tratamento de doenças infecciosas, no desenvolvimento de vacinas e de outras novas biotecnologias a partir da técnica do DNA recombinante.



A vacina contra a hepatite B desenvolvida no Butantan, da mesma forma que as importadas utilizadas atualmente, é uma vacina recombinante, isto é, a tecnologia utilizada na sua fabricação é a engenharia genética, mais especificamente a recombinação de DNA.
(Fontes: <http://imagem.vilamulher.com.br>)

ESTRUTURA E FUNÇÃO DO MATERIAL GENÉTICO

Os acadêmicos devem estar atentos a importância dos conceitos gerais e básicos que definem o que é a Genética, genoma, cromossomo, gene, código genético, genótipo, fenótipo, genômica, proteômica e outros. A Genética é a ciência da hereditariedade; ela inclui o estudo dos genes, como eles transportam a informação genética, como são replicados e passados para as gerações subseqüentes de um microrganismo para outros ou transmitidos entre microrganismos, e como a expressão da sua informação dentro de um microrganismo pode determinar suas características particulares. A informação genética de um microrganismo é chamada de genoma. O genoma é organizado em cromossomos. Os cromossomos são estruturas contendo DNA que transportam fisicamente a informação hereditária; os cromossomos contêm os genes. Os genes são segmentos de DNA (exceto em alguns vírus, em que eles são feitos de RNA) que codificam os produtos funcionais, as proteínas. Vimos anteriormente que o DNA é uma macromolécula composta de unidades repetidas denominadas nucleotídeos. Cada nucleotídeo consiste de uma base nitrogenada (adenina, timina, citosina ou guanina), uma desoxirribose (um açúcar pentose) e um grupo fosfato. O DNA dentro de uma célula microbiana existe como longos filamentos torcidos de nucleotídeos, em pares, para formar uma dupla hélice. Cada filamento tem uma corda de grupos alternados de açúcar e fosfato e uma base nitrogenada aderida a cada açúcar na estrutura. Os dois filamentos são mantidos juntos por pontes de hidrogênio entre suas bases nitrogenadas. Os pares de bases sempre ocorrem de um modo específico: a adenina sempre faz par com a timina, e a citosina sempre faz par com a guanina. Devido a esse pareamento específico de bases, a seqüência de bases de uma fita de DNA determina a seqüência da outra fita. Portanto, as duas fitas de DNA são complementares.

A estrutura do DNA ajuda a explicar duas características primárias do armazenamento de informação biológica:

Primeiro, a seqüência linear de bases fornece a informação real. A informação genética é codificada pela seqüência de bases ao longo da fita de DNA, de modo similar a como nossa linguagem escrita usa uma seqüência linear de letras para formar palavras e frases. A linguagem genética, contudo, usa um alfabeto com somente quatro letras os quatro tipos de bases nitrogenadas no DNA ou RNA. Porém, mil dessas quatro bases, o número contido em um gene de tamanho médio, podem ser distribuídas de 41000 formas diferentes. Esse número astronomicamente grande explica como os genes podem ser variados o suficiente para fornecer toda a informação que um microrganismo necessita para multiplicar-se e realizar suas funções. O código genético é o conjunto de regras que determinam como uma

seqüência de nucleotídeos é convertida na seqüência de aminoácidos de uma proteína.

Segundo, a estrutura complementar permite a duplicação precisa do DNA durante a divisão celular. Assim com o DNA se você sabe a seqüência da uma fita, também sabe a seqüência da fita complementar.

Boa parte do metabolismo está relacionada à tradução da mensagem genética dos genes em proteínas específicas. Um gene normalmente codifica uma molécula de RNA mensageiro (mRNA), que finalmente resulta na formação de uma proteína. Alternativamente, o produto do gene pode ser um RNA ribossômico (rRNA) ou um RNA de transferência (tRNA). Todos estes tipos de RNA estão envolvidos no processo da síntese protéica. Quando a molécula final que um gene codifica foi produzida, dizemos que o gene foi expresso.

GENÓTIPO E FENÓTIPO

O genótipo de um microrganismo é sua composição genética, a informação que codifica todas as características particulares do organismo. O genótipo representa as propriedades potenciais, mas não as propriedades em si. O fenótipo refere-se às propriedades reais, capacidades e funcionalidades. O fenótipo, então, é a manifestação do genótipo.

Em termos moleculares, o genótipo de um organismo é sua coleção de genes, todo o seu DNA e um fenótipo é sua coleção de proteínas. A maioria das propriedades da célula deriva das estruturas e funções de suas proteínas. Nos micróbios, a maioria das proteínas é enzimática (catalisam reações particulares) ou estrutural (participam em grandes complexos funcionais como as membranas ou ribossomos). Mesmo os fenótipos que dependem de outras macromoléculas estruturais que não as proteínas (como os lipídeos ou polissacarídeos) baseiam-se indiretamente nas proteínas. Por exemplo, a estrutura de uma molécula de lipídeo complexo ou polissacarídeo resulta das atividades catalíticas das enzimas que sintetizam, processam e degradam aquelas moléculas. Portanto, embora não seja totalmente preciso dizer que os fenótipos são devidos somente a proteínas, essa é uma simplificação útil.

DNA e Cromossomos

As bactérias possuem comumente um único cromossomo circular consistindo de uma única molécula circular de DNA com proteínas associadas. O cromossomo é recurvado e dobrado e está aderido à membrana plasmática em um ou vários pontos. O DNA da *E. coli*, a espécie bacteriana mais estudada tem cerca de 4,6 milhões de pares de bases e possui cerca de 1 mm de comprimento - mil vezes maior que toda a célula. Contudo, o cromossomo ocupa apenas cerca de 10% do volume celular uma vez que o DNA é torcido por uma enzima denominada topoisomerase II ou DNAGirase.



A localização dos genes no cromossomo bacteriano é determinada por experimentos envolvendo a transferência de genes de uma célula para outra. Esses processos serão discutidos mais adiante nesse capítulo. O consequente mapa do cromossomo bacteriano é marcado em minutos que correspondem a quando os genes são transferidos de uma célula doadora para uma célula receptora.

Em anos recentes, as seqüências completas de base de vários cromossomos bacterianos foram determinadas. O seqüenciamento e a caracterização molecular são denominados de genômica. As questões genéticas mais importantes que estão sendo indagadas presentemente dizem respeito a como as células usam a informação genética disponível,

O FLUXO DA INFORMAÇÃO GENÉTICA

A replicação do DNA possibilita o fluxo de informação genética de uma geração para a seguinte. O DNA de uma célula se replica antes da divisão celular, de modo que cada célula filha recebe um cromossomo idêntico ao da original. Dentro de cada célula realizando metabolismo, a informação genética contida no DNA também flui de outro modo: ela é transcrita em mRNA e então traduzida em proteína.

REPLICAÇÃO DO DNA

Na replicação do DNA, uma molécula de DNA "parental" de dupla fita é convertida em duas moléculas idênticas. A estrutura complementar das seqüências de bases nitrogenadas na molécula de DNA é a chave para a compreensão da replicação do DNA. Como as bases ao longo das duas fitas de DNA de dupla hélice são complementares, uma fita pode agir como molde para a produção da outra

A replicação do DNA requer a presença de diversas proteínas celulares, que dirigem uma seqüência particular de eventos. Quando a replicação começa, as duas fitas de DNA parental são desenroladas e separadas uma da outra em um segmento pequeno de DNA após o outro. Os nucleotídeos livres presentes no citoplasma da célula são pareados com as bases expostas do DNA parental de fita simples. Onde a timina está presente na fita original, somente a adenina pode se encaixar na nova fita; onde a guanina está presente na fita original, somente a citosina pode se encaixar, e assim por diante. Quaisquer bases incorretamente pareadas são removidas e substituídas pelas enzimas de replicação. Uma vez alinhado, o nucleotídeo recém-adicionado é unido à fita de DNA em crescimento por uma enzima denominada DNA polimerase. Então, o DNA parental se desenrola mais um pouco para permitir a adição do próximo nucleotídeo. O ponto em que a replicação ocorre é denominado forquilha de replicação.

À medida que a forquilha de replicação move-se ao longo do DNA parental, cada uma das fitas simples desenroladas se combina com novos nucleotídeos. A fita original e a fita recém-sintetizada se enrolam novamente. Como cada dupla fita nova da molécula de DNA contém uma fita original, conservada, e uma fita nova, o processo de replicação é descrito como replicação semiconservativa.

Antes de examinar em mais detalhe a replicação do DNA. É importante compreender o conceito de que as fitas de DNA pareadas estão orientadas em direções opostas uma a outra. Observe na Figura 2.16 que os átomos de carbono do componente açúcar de cada nucleotídeo são numerados de 1' (pronunciado "um primo") a 5'. Para que as bases pareadas fiquem ao lado uma da outra, os componentes açúcares em uma fita estão de cabeça para baixo em relação ao outro. A extremidade que tem uma hidroxila aderida ao carbono 3' é denominada extremidade 3' da fita do DNA; a extremidade que tem um fosfato aderido ao carbono 5' é chamada de extremidade 5'. A forma como as duas fitas se encaixa decreta que a direção 5' ~ 3' de uma fita vai ao encontro da direção 5' - 3' da outra fita. Essa estrutura de DNA afeta o processo de replicação, pois as DNA polimerases podem acrescentar novos nucleotídeos somente à extremidade 3'. Portanto, enquanto a forquilha de replicação se movimenta ao longo do DNA parental, as duas novas fitas devem crescer em direções diferentes.

A replicação do DNA necessita de uma grande quantidade de energia. Essa energia é fornecida pelos nucleotídeos, que são, na verdade, nucleosídeos trifosfatos. A única diferença entre o ATP e o nucleotídeo adenina no DNA é o componente açúcar. A desoxirribose é o açúcar nos nucleosídeos usados para sintetizar o DNA, e nucleosídeos trifosfatos com ribose são usados para sintetizar o RNA. Dois grupos fosfatos são retirados para que se acrescente nucleotídeo na fita de DNA em crescimento. A hidrólise do nucleosídeo é exergônica e fornece energia para criar novas ligações na fita do DNA.

Uma vez que o DNA parental esteja desenrolado e estabilizado, a forquilha de replicação se forma em um local denominado a origem da replicação. Uma nova fita de DNA, denominado fita líder, é sintetizada continuamente à medida que a DNA polimerase se move em direção à forquilha de replicação, produzindo DNA na direção 5' - 3'.

Lembre-se que a DNA polimerase só pode acrescentar novos nucleotídeos na extremidade 3', então um pedaço curto de RNA, denominado primer ou iniciador de RNA, é necessário para iniciar a síntese. A DNA polimerase pode então acrescentar nucleotídeos na extremidade 3' do RNA. Conseqüentemente, a fita complementar do DNA novo é sintetizado em peças de cerca de mil nucleotídeos, chamados de fragmentos de Okazaki, à medida que a DNA polimerase se move para longe da forquilha de replicação. A DNA polimerase remove o iniciador de RNA e a enzima DNA ligase une os fragmentos de DNA recém sintetizados.

A replicação do DNA de algumas bactérias, como a *E. coli*, segue bi-direcionalmente ao redor do cromossomo. Duas forquilhas de replicação movem-se em direções opostas, para longe da origem de replicação. Como o cromossomo bacteriano é uma alça fechada, as forquilhas de replicação acabam se encontrando quando a replicação está completa. Muitas evidências mostram uma associação entre a membrana plasmática bacteriana e a origem da replicação. Após a replicação, se cada cópia da origem se ligasse à membrana em pólos opostos, então cada célula filha receberia uma cópia da molécula de DNA - isto é, um cromossomo completo.

A replicação do DNA é um processo surpreendentemente preciso. Tipicamente, os erros são cometidos em uma taxa de somente 1 em cada 10¹⁰ bases incorporadas. Essa precisão é devida em boa parte à capacidade de contraprova da DNA polimerase. À medida que cada base nova é adicionada, a enzima avalia se essa forma a estrutura correta de pares de base complementares. Caso contrário, a enzima remove a base inadequada e a substitui pela correta. Desse modo, a replicação do DNA pode ser realizada precisamente, permitindo que cada cromossomo filho seja realmente idêntico ao DNA parental



RNA E SÍNTESE DE PROTEÍNAS

No processo de transcrição, a informação genética do DNA é copiada, ou transcrita, em uma seqüência complementar de bases no RNA. A célula então utiliza a informação codificada nesse RNA para sintetizar proteínas específicas, através do processo de tradução. Examinaremos agora como ocorrem estes dois processos, em uma célula bacteriana:

A transcrição é a síntese de uma fita complementar de RNA a partir de um molde de DNA. Nós apresentaremos a transcrição nas células procarionóticas aqui; já a transcrição nos eucariotos será discutida mais a diante.

Existem três tipos de RNA nas células bacterianas:

RNA mensageiro, RNA ribossômico e RNA de transferência. O RNA ribossômico forma uma parte integral dos ribossomos, a máquina celular para a síntese protéica. O RNA de transferência também está envolvido na síntese protéica, como veremos posteriormente. O RNA mensageiro (mRNA) transporta a informação codificada para produzir proteínas específicas do DNA aos ribossomos, onde as proteínas são sintetizadas.

Durante a transcrição, a fita de mRNA é sintetizada utilizando um gene específico - uma porção do DNA da célula como um molde. Em outras palavras, a informação genética armazenada na seqüência de bases nitrogenadas do DNA é reescrita assim que a mesma informação aparece na seqüência de bases do mRNA. Como na replicação do DNA, um G no molde de DNA determina um C no mRNA que está sendo feito; um C no molde de DNA determina um G no mRNA; e um T no molde de DNA determina um A no mRNA. Contudo, um A no molde de DNA determina uma uracila (U) no mRNA; pois o RNA contém U no lugar de T. (U tem uma estrutura química levemente diferente de T, mas produz pares de bases do mesmo modo.).

O processo de transcrição requer uma enzima denominada RNA polimerase e um suprimento de nucleotídeos RNA. A transcrição começa quando:

A RNA polimerase liga-se ao DNA em um local denominado promotor. Somente uma das duas fitas de DNA serve como molde para a síntese de RNA para um dado gene. Como o DNA, o RNA é sintetizado na direção 5' - 3'.

A RNA polimerase monta os nucleotídios livres em uma cadeia nova, utilizando o pareamento complementar de bases como guia.

À medida que a cadeia nova de RNA é formada a RNA polimerase se move ao longo do DNA.

A síntese de RNA continua até que a RNA polimerase atinja um local no DNA denominado terminador.

Quando isto acontece, a RNA polimerase e o mRNA recém-formado, de fita simples, são liberados do DNA.

O processo de transcrição permite que a célula produza cópias de curta duração dos genes, que podem ser usadas como fonte direta de informação

para a síntese protéica. O RNA mensageiro atua como um intermediário entre a forma de armazenamento permanente, o DNA, e o processo que usa a informação, a tradução.

TRADUÇÃO

A síntese protéica é denominada tradução, pois envolve a decodificação da "linguagem" dos ácidos nucléicos e a conversão daquela informação na "linguagem" das proteínas.

A linguagem do mRNA está em forma de códons, grupos de três nucleotídeos, como AUG, GGC ou AAA. A seqüência de códons em uma molécula de mRNA determina a seqüência de aminoácidos que estarão na proteína a ser sintetizada. Cada códon "codifica" um aminoácido particular. Este é o código genético.

Os códons são escritos em termos de sua seqüência de bases no mRNA. Observe que existem 64 códons possíveis, mas somente 20 aminoácidos. Isso significa que a maioria dos aminoácidos é assinalada por vários códons alternativos, uma situação referida como degeneração do código. Por exemplo, a leucina tem seis códons e a alanina tem quatro códons. A degeneração permite que ocorra certa quantidade de alteração, ou mutação, no DNA sem afetar a proteína produzida.

Dos 64 códons, 61 são códons senso e 3 são códons antisenso. Os códons senso codificam os aminoácidos, e os códons anti-senso (também denominados stop códons ou códons de parada) não o fazem. Em vez disso, os códons anti-senso - UAA, UAG e UGA - assinalam o fim da síntese da molécula de proteína. O códon de iniciação, que inicia a síntese da molécula de proteína, é AUG, que também é o códon da metionina. Nas bactérias, o AUG de iniciação codifica a formilmetionina ao invés da metionina encontrada em outras partes da proteína. A metionina iniciadora freqüentemente é removida; assim, nem todas as proteínas começam com metionina.

Os códons de mRNA são convertidos em proteína pelo processo de tradução. Os códons de um mRNA são "lidos" seqüencialmente e, em resposta a cada códon, o amino ácido apropriado é montado em uma cadeia crescente. O local de tradução é o ribossomo, e as moléculas de RNA de transferência (tRNA) reconhecem os códons específicos e transportam os aminoácidos requeridos.

Cada molécula de tRNA possui um anticódon, uma seqüência de três bases que é complementar ao códon. Desse modo, uma molécula de tRNA pode fazer pares de bases com seu códon associado. Cada tRNA também pode transportar em sua outra extremidade o aminoácido codificado pelo códon que o tRNA reconhece. As funções do ribossomo são dirigir ordenadamente a ligação do tRNA ao códon e montar os aminoácidos em uma cadeia, produzindo finalmente uma proteína.

Os componentes necessários são montados: as duas subunidades ribossômicas, um tRNA com o anticódon UAC e a molécula de mRNA a ser traduzida, junto com vários fatores protéicos adicionais. Isso coloca o códon iniciador (AUG) na posição correta para permitir o início da tradução.

O primeiro tRNA liga-se ao códon de iniciação, trazendo com ele o aminoácido metionina. Quando o tRNA que reconhece o segundo códon se move para sua posição no ribossomo, o primeiro aminoácido é transferido pelo ribossomo. Após o ribossomo se unir a dois aminoácidos por uma ligação peptídica, a primeira molécula de tRNA sai do ribossomo. O ribossomo então se move ao longo do mRNA até o códon seguinte.

À medida que os aminoácidos corretos são alinhados um a um, ligações peptídicas são formadas entre eles, resultando em uma cadeia polipeptídica.

A tradução termina quando um dos três codons anti-senso no mRNA é atingido.

Quando o ribossomo chega neste códon, ele se separa em suas duas subunidades, e o rRNA e a cadeia polipeptídica recém-sintetizada são liberados. O ribossomo, o mRNA e os tRNAs tornam-se, então, disponíveis para serem usados novamente.

O ribossomo se move ao longo do mRNA na direção 5' - 3'. À medida que um ribossomo se move ao longo do mRNA, logo permite a exposição do códon de iniciação. Os ribossomos adicionais podem então se unir e começar a sintetizar proteína. Desse modo, normalmente há uma série de ribossomos unidos a um único mRNA, todos em vários estágios de síntese protéica. Nas células procarióticas, a tradução do mRNA em proteína pode começar antes mesmo de a transcrição estar completa. Como o mRNA é produzido no citoplasma, os códons de iniciação de um mRNA que estão sendo transcritos estão disponíveis aos ribossomos antes mesmo que a molécula integral de mRNA seja feita. Portanto, a tradução pode começar antes que a transcrição esteja completa.

Nas células eucarióticas, a transcrição acontece no núcleo. Porém, o mRNA precisa ser completamente sintetizado e transportado através da membrana nuclear para o citoplasma antes da transcrição poder iniciar. Além disso, o RNA começa a ser processado antes de deixar o núcleo. Nas células eucarióticas, as regiões dos genes que codificam as proteínas são freqüentemente interrompidas pelo DNA não-codificador. Dessa forma, os genes eucarióticos são compostos de éxons, as regiões do DNA expressas, e de íntrons, as regiões interventoras do DNA que não codificam a proteína.

No núcleo de uma célula eucariótica, a RNA polimerase sintetiza uma molécula de RNA que contém éxons e íntrons denominada RNA transcrito.

Esse RNA longo é então processado pelas ribozimas, que removem o RNA derivado do íntron, unindo ao RNA derivado do éxon para produzir um mRNA.

O mRNA resultante deixa o núcleo para ser usado pelo rRNA e pelo tRNA na síntese protéica uma molécula temporária de mRNA pela tran-

scrição. A seguir, durante a tradução, o mRNA dirige a montagem dos aminoácidos em uma cadeia polipeptídica: o mRNA se fixa a um ribossomo, os tRNAs enviam os aminoácidos ao ribossomo conforme orientado pela sequência de códons do mRNA, e o ribossomo monta os aminoácidos na cadeia que será a proteína recém-sintetizada

A REGULAÇÃO DA EXPRESSÃO GÊNICA BACTERIANA

As máquinas, genética e metabólica da célula são integradas e interdependentes. Como já estudamos as células bacterianas realizam um número enorme de reações metabólicas. A característica comum de todas as reações metabólicas é que elas são catalisadas por enzimas. A inibição por retroalimentação impede uma célula de fazer reações químicas desnecessárias. A inibição por retroalimentação interrompe as enzimas que já foram sintetizadas. Examinaremos agora os mecanismos para prevenir a síntese de enzimas que não são necessárias. Vimos que os genes, por meio da transcrição e da tradução, dirigem a síntese das proteínas, muitas das quais servem como enzimas - as próprias enzimas usadas no metabolismo celular. Como a síntese de proteínas requer um gasto tremendo de energia, a regulação da síntese proteica é importante para a economia energética celular. A célula conserva energia produzindo somente aquelas proteínas necessárias em um momento específico.

Muitos genes, talvez 60 a 80%, não são regulados, mas são, ao invés, constitutivos, significando que seus produtos são constantemente produzidos em uma velocidade fixa. Normalmente esses genes, que estão ligados efetivamente todo o tempo, codificam as enzimas de que a célula necessita em quantidades muito grandes para seus principais processos vitais; as enzimas da glicólise são exemplos. A produção de outras enzimas é regulada, de modo que elas estejam presentes somente quando necessário.

REPRESSÃO E INDUÇÃO

Dois mecanismos de controle genético, conhecidos repressão e indução, regulam a transcrição do mRNA e, conseqüentemente, a síntese de enzimas a partir dele. Esses mecanismos controlam a formação e as quantidades de enzimas na célula, e não a atividade das enzimas. O mecanismo regulador que inibe a expressão gênica e diminui a síntese das enzimas é denominado repressão. A repressão normalmente é uma resposta à abundância de um produto final de uma rota metabólica; ela causa uma redução na velocidade da síntese das enzimas que levam à formação daquele produto. A repressão é mediada por proteínas reguladoras denominadas repressoras, que bloqueiam a capacidade da RNA polimerase de iniciar a transcrição dos genes reprimidos.

O processo que ativa a transcrição de um gene ou genes é a indução. Uma substância que atua induzindo a transcrição de um gene é denominada indutora, e as enzimas que são sintetizadas na presença de indutores são enzimas induzíveis. Os genes requeridos para o metabolismo da lactose na *E. coli* são um exemplo bem conhecido de sistema induzível. Um desses genes codifica a enzima, B-galactosidase, que divide o substrato lactose em dois açúcares simples, glicose e galactose. Se a *E. coli* é colocada em um meio em que não há lactose, o organismo quase não contém B-galactosidase; contudo, quando a lactose é adicionada ao meio, as células bacterianas produzem grande quantidade da enzima. Na célula, a lactose é convertida no composto relacionado alolactose, que é o indutor destes genes; assim, a presença de lactose induz a célula indiretamente a sintetizar mais enzima. Essa resposta, que está sob controle genético, é denominada indução enzimática.

Na região de controle do operon lac há dois segmentos de DNA relativamente curtos. Um, o promotor, é a região do DNA onde a RNA polimerase inicia a transcrição.

O outro é o modelo operon de expressão gênica. Os detalhes do controle da expressão gênica por indução e repressão são descritos pelo modelo operon. Além da B-galactosidase, essas enzimas incluem a permease, que está envolvida no transporte de lactose para dentro da célula, e a transacililase, que metaboliza outros dissacarídeos que não a lactose.

Os genes para as três enzimas envolvidas na captação e utilização da lactose estão em seqüência no cromossomo bacteriano e são regulados em conjunto. Quando a lactose é introduzida no meio de cultura, os genes estruturais lac são todos transcritos e traduzidos rápida e simultaneamente. Veremos agora como ocorre esta regulação.

O operador, que é como um semáforo, que sinaliza para parar ou prosseguir com a transcrição dos genes estruturais. Um conjunto de sítios operadores e promotores, e os genes estruturais que eles controlam, são o que define um operon; portanto, a combinação dos três genes estruturais lac e as regiões de controle adjacentes é denominada operon lac.

Junto ao operon lac do DNA bacteriano, está um gene re⁻gulador denominado gene I, que codifica uma proteína repressora.

Quando a lactose está ausente, a proteína repressora ligase fortemente ao sítio do operador. Essa ligação impede a RNA polimerase de transcrever os genes estruturais adjacentes; conseqüentemente, nenhum mRNA é feito e as enzimas não são sintetizadas.

Porém, quando a lactose está presente, parte dela é transportada para dentro das células e convertida no indutor alolactose. O indutor liga-se à proteína repressora e a altera, de modo que ela não possa se unir ao sítio operador. Na ausência de uma proteína repressora ligada ao operador, a RNA polimerase pode transcrever os genes estruturais em mRNA, que

é então traduzido em enzimas. É por isto que, na presença de lactose, as enzimas são produzidas. Diz-se que a lactose induz a síntese das enzimas, e o operon lac é denominado um operon indutível.

Em operons repressíveis, os genes estruturais são transcritos até que sejam desligados ou reprimidos.

A regulação do operon da lactose também depende do nível de glicose no meio que, por sua vez, controla o nível intracelular da molécula pequena AMP cíclico (AMPc), uma substância derivada do ATP que serve como sinal de alarme celular. As enzimas que metabolizam a glicose são constitutivas, e as células crescem em sua velocidade máxima tendo a glicose como sua fonte de carbono, pois podem usá-la de modo mais eficiente. Quando a glicose não está mais disponível, o AMPc se acumula na célula. O AMPc se liga ao sítio alostérico da proteína receptora (PRC) do AMPc. A PRC então se liga ao promotor lac, que inicia a transcrição ao facilitar a ligação entre a RNA polimerase e o promotor. Portanto, a transcrição do operon lac requer tanto a presença de lactose quanto a ausência de glicose

MUTACÃO: ALTERAÇÃO NO MATERIAL GENÉTICO

Uma mutação é uma alteração na seqüência de bases do DNA. Essa alteração na seqüência de bases de um gene algumas vezes causa uma alteração no produto codificado por aquele gene. Por exemplo, quando o gene para uma enzima sofre mutação, a enzima codificada pelo gene pode se tornar inativa ou menos ativa, pois sua seqüência de aminoácidos foi alterada. Essa alteração no genótipo pode ser desvantajosa, ou mesmo letal, se a célula perder uma característica fenotípica de que ela necessita. Contudo, uma mutação pode ser benéfica se, por exemplo, a enzima alterada codificada pelo gene mutante possuir uma atividade nova ou intensificada que beneficie a célula.

Muitas mutações simples são silenciosas (neutras); a alteração na seqüência de bases do DNA não causa alterações na atividade do produto codificado pelo gene. As mutações silenciosas comumente ocorrem quando um nucleotídeo é substituído por outro no DNA, especialmente em uma localização correspondente à terceira posição do códon do mRNA. Devido à degeneração do código genético, o novo códon resultante ainda pode codificar o mesmo aminoácido. Mesmo se um aminoácido for alterado, a função da proteína pode não se modificar se o aminoácido não estiver em uma porção vital da proteína, ou for muito semelhante quimicamente ao aminoácido original.

O tipo mais comum de mutação envolvendo um único par de bases é a substituição de bases. Uma única base em um ponto na seqüência do

DNA é substituída por uma base diferente. Quando o DNA se replica, o resultado é uma substituição de um par de bases. Quando o mRNA for traduzido em proteína, a base incorreta poderá causar a inserção de um aminoácido incorreto na proteína (mutação missense).

Ao criar um códon de parada (anti-senso) no meio de uma molécula de mRNA, algumas substituições de base impedem efetivamente a síntese de uma proteína funcional completa; somente um fragmento é sintetizado. Assim, uma substituição de base que resulta em um códon anti-senso é denominada uma mutação anti-senso.

Além das mutações de pares de bases, existem também alterações no DNA denominadas mutações de troca de fase de leitura, em que um ou alguns pares de nucleotídeos são deletados ou inseridos no DNA. Essa mutação pode alterar a fase de leitura da tradução isto é, os agrupamentos de três nucleotídeos reconhecidos como códons pelo tRNA durante a tradução.

Ocasionalmente, ocorrem mutações em que números significativos de bases são adicionados (inseridos) em um gene. A doença de Huntington, por exemplo, é um distúrbio neurológico progressivo causado por bases extra inseridas em um gene particular. A razão para essas inserções ocorrerem nesse gene em particular ainda está sendo estudada.

Os agentes no ambiente, como certos produtos químicos e a radiação, que produzem mutações direta ou indiretamente, são denominados mutagênicos. Quase todos os agentes que podem reagir química ou fisicamente com o DNA potencialmente causam mutações. Uma ampla variedade de substâncias químicas, muitas das quais são comuns na natureza ou nas residências, são mutagênicos conhecidos. Muitas formas de radiação, incluindo os raios X e a luz ultravioleta, também são mutagênicas.

TRANSFERÊNCIA GENÉTICA E RECOMBINAÇÃO

Em eucariotos, a recombinação genética é um processo ordenado, que normalmente ocorre como parte do ciclo sexual do organismo. A recombinação geralmente acontece durante a formação das células reprodutivas, de modo que essas células contem DNA recombinante. Em bactérias, a recombinação genética pode acontecer de diversas formas.

Assim como a mutação, a recombinação genética contribui para a diversidade genética de uma população, que é a fonte da variação evolutiva. Em organismos altamente evoluídos como os micróbios de hoje em dia, a recombinação é mais provavelmente benéfica que a mutação, pois a recombinação tem menos chance de destruir a função de um gene e pode unir combinações de genes que permitem ao organismo realizar uma importante nova função.

A transferência gênica vertical ocorre quando os genes são passados de um organismo para seus descendentes. As plantas e os animais transmitem

seus genes através dessa forma de transmissão. As bactérias podem passar seus genes não somente para seus descendentes, como literalmente para outros micróbios da mesma geração. Esse fenômeno é conhecido como transferência gênica horizontal. A transferência gênica horizontal entre bactérias ocorre de muitas formas. Em todos os mecanismos, a transferência envolve uma célula doadora que dá uma porção de seu DNA total para uma célula receptora. Uma vez transferido, parte do DNA do doador geralmente é incorporada ao DNA do receptor; o restante é degradado por enzimas celulares. A célula receptora que incorpora o DNA doador em seu próprio DNA é denominada de recombinante. A transferência de material genético entre as bactérias não é um evento freqüente; pode ocorrer em apenas 1 % ou menos de toda uma população.

TRANSFORMAÇÃO EM BACTÉRIAS

Durante o processo de transformação, os genes são transferidos de uma bactéria para outra como DNA “nu” em solução. Não somente a transformação mostrou que o material genético poderia ser transferido de uma célula bacteriana para outra, mas o estudo deste fenômeno acabou por levar à conclusão de que o DNA é o material genético. O experimento inicial sobre a transformação foi realizado em 1928 por Frederick Griffith, na Inglaterra, enquanto ele estava trabalhando com duas linhagens de *Streptococcus pneumoniae*. Uma delas, uma linhagem virulenta (patogênica), tem uma cápsula de polissacarídeo que previne a fagocitose. As bactérias crescem e causam pneumonia. A outra, uma linhagem avirulenta, não possui cápsula e não causa doença.

Griffith estava interessado em determinar se as injeções de bactérias mortas pelo calor da linhagem encapsulada poderiam ser usadas para vacinar camundongos contra a pneumonia. Como ele esperava, as injeções de bactérias vivas encapsuladas mataram os camundongos; as injeções de bactérias não-encapsuladas vivas ou de bactérias encapsuladas mortas não mataram os camundongos. Contudo, quando as bactérias encapsuladas mortas foram misturadas com bactérias não-encapsuladas vivas e injetadas nos camundongos, muitos dos camundongos morreram. No sangue dos camundongos mortos, Griffith encontrou bactérias encapsuladas vivas. O material hereditário (genes) das bactérias mortas havia penetrado nas células vivas e alterado as mesmas, de modo que sua progênie era encapsulada, e assim, virulenta.

As investigações subseqüentes com base na pesquisa de Griffith revelaram que a transformação bacteriana poderia ser realizada sem camundongos. Um caldo foi inoculado com bactérias não-encapsuladas vivas. Bactérias encapsuladas mortas foram então adicionadas ao caldo. Após a incubação, descobriu-se que a cultura continha bactérias vivas encapsula-

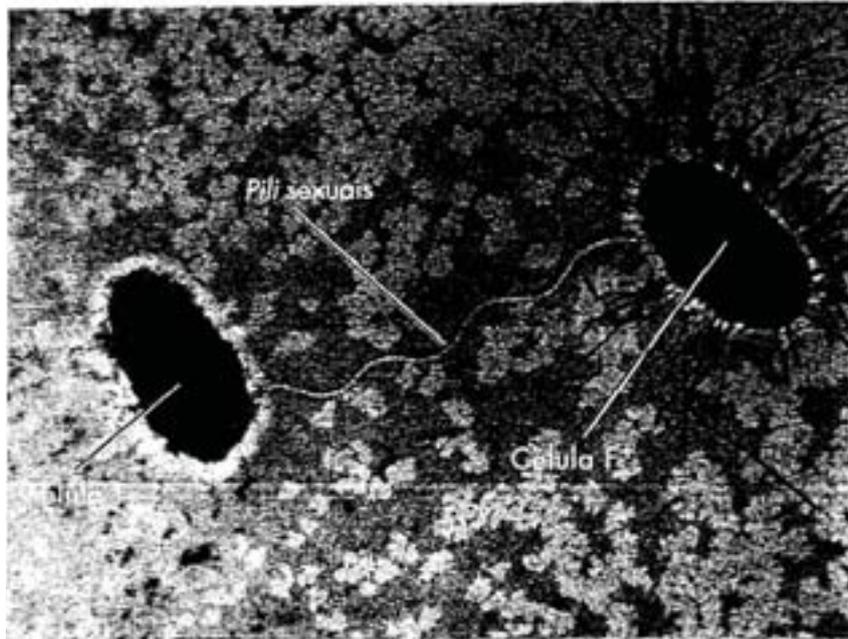
das virulentas. As bactérias não-encapsuladas foram transformadas; elas adquiriram uma nova característica hereditária incorporando os genes das bactérias encapsuladas mortas. Desde a época do experimento de Griffith, informações consideráveis foram reunidas sobre a transformação. Na natureza, algumas bactérias, talvez após a morte e lise celular, liberam seu DNA no ambiente. Então, outras bactérias podem encontrar o DNA e, dependendo da espécie e condições de crescimento, captar fragmentos do DNA e os integrar em seus próprios cromossomos por recombinação. Uma célula receptora com essa nova combinação de genes é um tipo de híbrido, ou célula recombinante. Todos os descendentes desta célula recombinante serão idênticos a ela. A transformação ocorre naturalmente entre muito poucos gêneros de bactérias

A transformação funciona melhor quando as células doadoras e receptoras são intimamente relacionadas. Mesmo que somente uma pequena porção do DNA de uma célula seja transferida ao receptor, a molécula que deve passar através da parede e da membrana celular do receptor ainda é muito grande. Quando uma célula receptora está em um estado fisiológico em que pode captar o DNA doador, é descrita como competente.

CONJUGAÇÃO EM BACTÉRIAS

Outro mecanismo pelo qual o material genético é transferido de uma bactéria para outra é conhecido como conjugação. A conjugação é mediada por um tipo de plasmídeo, um fragmento circular de DNA que se replica independente do cromossomo da célula. Contudo, os plasmídeos se diferem dos cromossomos bacterianos, pois os genes que eles normalmente transportam não são essenciais ao crescimento da célula sob condições normais. Os plasmídeos responsáveis pela conjugação são transmissíveis entre as células durante a conjugação.

A conjugação se difere da transformação em dois aspectos. Primeiro, a conjugação requer o contato direto célula a célula. Segundo, as células em conjugação geralmente devem ser de tipos opostos de acasalamento; as células doadoras devem transportar o plasmídeo, e as células receptoras normalmente não. Em bactérias gram-negativas, o plasmídeo transporta genes que codificam a síntese de pili sexuais, projeções da superfície da célula doadora que entram em contato com a receptora e auxiliam a unir as duas células em contato direto. As células bacterianas gram-positivas produzem moléculas de superfície aderentes, que fazem as células entrarem em contato direto umas com as outras. No processo de conjugação, o plasmídeo é replicado durante a transferência de uma cópia do filamento simples do DNA do plasmídeo para o receptor, onde o filamento complementar é sintetizado. Normalmente, o cromossomo se rompe antes de ser transferido completamente. Uma vez dentro da célula receptora, o DNA do doador pode se recombinar com o DNA do receptor.



Transdução em Bactérias

Um terceiro mecanismo de transferência genética entre bactérias é a transdução. Nesse processo, o DNA bacteriano é transferido de uma célula doadora para uma célula receptora dentro de um vírus que infectam bactérias, denominado bacteriófago ou fago.

Para compreender como a transdução funciona, vamos considerar o ciclo de vida de um tipo de fago:

1. No processo de infecção, o fago fixa-se à parede celular da bactéria doadora e injeta seu DNA na bactéria.
2. O DNA do fago age como um molde para a síntese de novos DNAs de fagos e também dirige a síntese do revestimento protéico dos fagos. Durante o desenvolvimento do fago dentro da célula infectada, o cromossomo bacteriano é fragmentado pelas enzimas do fago, e
3. Pelo menos alguns fragmentos de DNA bacteriano são erroneamente empacotados dentro do revestimento protéico do fago. (Mesmo o DNA de plasmídeos ou DNA de outros vírus que estão dentro da célula podem receber revestimentos de proteína do fago.) As partículas de fago resultantes transportam então o DNA bacteriano, ao invés do DNA do fago.
4. Quando as partículas de fago liberadas infectam posteriormente uma nova população de bactérias, os genes bacterianos são transferidos para as células receptoras recém-infectadas, em baixa frequência.
5. A transdução do DNA celular por um vírus pode levar à recombinação entre o DNA da célula hospedeira doadora e o DNA da célula hospedeira receptora. O processo da transdução generalizada é típico de bacteriófagos como o fago PI de *E. coli* e o fago P22 de *Salmonella*.

Todos os genes contidos dentro de uma bactéria infectada por um fago transdutor generalizado têm probabilidades iguais de serem empacotados em um revestimento de fago e transferidos. Em outro tipo de transdução, denominado transdução especializada, somente certos genes bacterianos são transferidos. Em um tipo de transdução especializada, o fago codifica certas toxinas produzidas por seus hospedeiros bacterianos. Além da mutação, transformação e conjugação, a transdução é outro mecanismo pelo qual as bactérias adquirem novos genótipos.

PLASMÍDEOS E TRANSPOSONS

Os plasmídeos e os transposons são elementos genéticos que fornecem mecanismos adicionais para a alteração genética. Eles ocorrem em organismos procarióticos e eucarióticos, mas esta discussão focaliza seu papel na alteração genética em procariotos.

PLASMÍDEOS

Lembrem-se os plasmídeos são fragmentos de DNA que são auto-replicantes, circulares, contendo genes, com cerca de 1 a 5% do tamanho do cromossomo bacteriano. Eles são encontrados principalmente em bactérias, mas também em alguns microrganismos eucarióticos, como *Saccharomyces cerevisiae*. O fator F é um plasmídeo conjugativo que transporta os genes dos pili sexuais e da transferência do plasmídeos para outra célula. Embora os plasmídeos geralmente sejam dispensáveis, em certas condições os genes transportados pelos plasmídeos podem ser cruciais para a sobrevivência e o crescimento da célula.

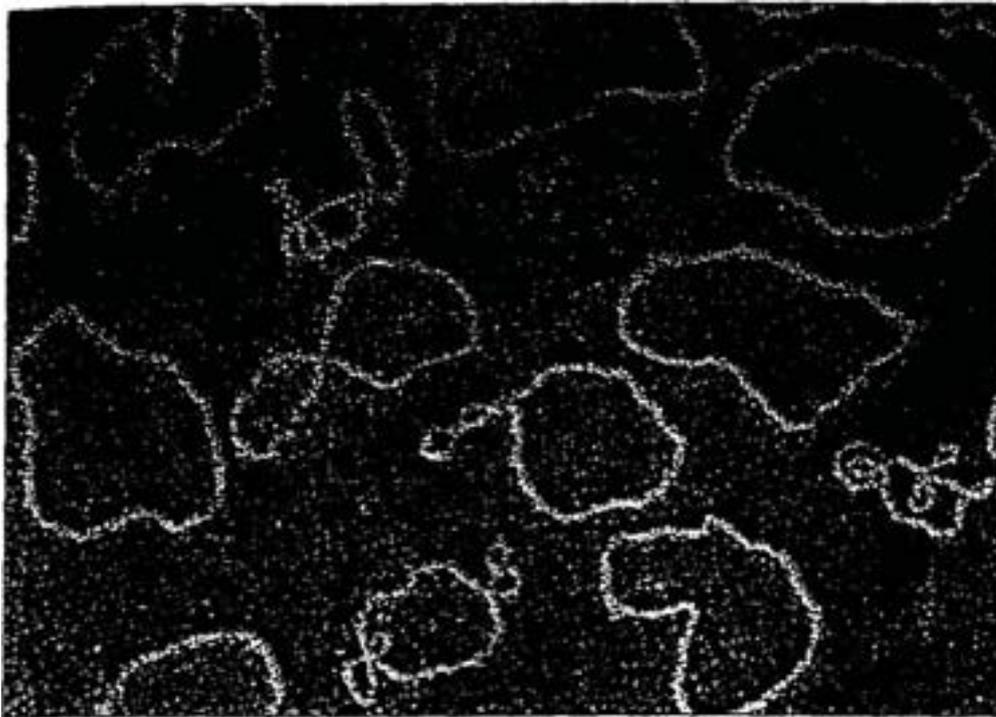
Outros plasmídeos codificam proteínas que aumentam a patogenicidade de uma bactéria. A linhagem de *E. coli* que causa a diarreia infantil e a diarreia do viajante transporta plasmídeos que codificam toxinas e a fixação bacteriana às células intestinais. Sem esses plasmídeos, a *E. coli* é um residente inofensivo do intestino grosso; com eles, é patogênica. Outras toxinas codificadas por plasmídeos incluem a toxina esfoliativa do *Staphylococcus aureus*, a neurotoxina do *Clostridium tetani* e as toxinas do *Bacillus anthracis*. Outros plasmídeos contêm genes para a síntese de bacteriocinas, proteínas tóxicas que matam outras bactérias. Esses plasmídeos foram encontrados em muitos gêneros bacterianos, e são marcadores úteis para a identificação de certas bactérias em laboratórios clínicos. Os fatores R (fatores de resistência) são plasmídeos que possuem importância média significativa. Eles foram descobertos no Japão, no final da década de 50, após várias epidemias de disenteria. Em algumas dessas epidemias, o agente infeccioso era resistente ao antibiótico costunheiro. Após o isolamento, descobriu-se também que o patógeno era resistente para. uma série de antibióticos. Além disso, outras

bactérias normais dos pacientes (como a *E. coli*) também demonstraram ser resistentes. Os pesquisadores logo descobriram que estas bactérias adquiriram por meio da disseminação de genes de um organismo para outro. Os plasmídeos que mediarão essa transferência: são os fatores R.

Os fatores R transportam genes que conferem à célula hospedeira resistência a antibióticos, metais pesados ou toxinas celulares.

Os fatores R apresentam problemas muito sérios no tratamento de doenças infecciosas com antibióticos. O uso disseminado de antibióticos em medicina e agricultura (muitos tipos de rações animais contêm antibióticos) levou à sobrevivência preferencial (seleção) de bactérias com fatores R; assim, as populações de bactérias resistentes crescem cada vez mais. A transferência de resistência entre as células bacterianas de uma população, e até mesmo entre as bactérias de diferentes gêneros, também contribui para o problema. A capacidade de se reproduzir sexualmente com membros de sua própria espécie define um eucarioto. Contudo, uma espécie bacteriana pode se conjugar e transferir plasmídeos para outras. Plasmídeos não-conjugativos podem ser transferidos de uma célula para outra ao se introduzirem em um plasmídeo conjugativo ou em um cromossomo, ou através de transformação quando são liberados de uma célula morta.

Os plasmídeos são um instrumento importante na engenharia genética.



TRANSPOSONS

Os transposons são pequenos segmentos de DNA que podem se mover de uma região de uma molécula de DNA para outra. Esses fragmentos de DNA possuem de 700 a 40.000 pares de bases de comprimento.

Eles podem se mover de um local para outro no mesmo cromossomo, ou para outro cromossomo ou plasmídeo. Como você pode imaginar, o movimento freqüente dos transposons poderia produzir o caos dentro de uma célula. Por exemplo, à medida que os transposons se movem nos cromossomos, eles podem se inserir dentro dos genes, tomando-os inativos. Felizmente, a ocorrência da transposição é relativamente rara. A freqüência da transposição é comparável a mutação espontânea que ocorre nas bactérias - isto é, de 10^{-5} a 10^{-7} por geração.

Todos os transposons contêm a informação para sua própria transposição. Os transposons mais simples, também denominados seqüências de inserção, contêm somente um gene que codifica uma enzima e sítios de reconhecimento. Os sítios de reconhecimento são seqüências curtas invertidas de repetição do DNA, que a enzima reconhece como sítios de recombinação entre o transposon e o cromossomo.

Os transposons complexos também transportam outros genes não conectados com o processo de transposição. Por exemplo, os transposons bacterianos podem conter genes para enterotoxinas ou para a resistência a antibióticos. Os fatores R são freqüentemente compostos de um conjunto de, transposons.

Os transposons com genes de resistência a antibióticos são de interesse prático, mas não existe limitação nos tipos de genes que os transposons podem ter. Portanto, os transposons fornecem um mecanismo natural para o movimento de genes de um cromossomo para outro. E mais, como eles podem ser transportados entre células em plasmídeos ou vírus, eles também podem se disseminar de um organismo - ou mesmo de uma espécie - para outro. Potencialmente, os transposons são mediadores poderosos da evolução nos organismos

GENES E EVOLUÇÃO

Vimos como a atividade dos genes pode ser controlada pelos mecanismos reguladores internos da célula e como os genes em si podem ser alterados ou redistribuídos pela mutação, transposição e recombinação. Todos esses processos fornecem diversidade aos descendentes das células. A diversidade fornece o material bruto para a evolução, e a seleção natural a perpetua. A seleção natural atuará em diversas populações para assegurar a sobrevivência dos indivíduos aptos àquele ambiente específico. Os diferentes tipos de microrganismos que existem hoje em dia são o resultado de uma

longa história de evolução. Os microrganismos têm se alterado continuamente devido a alterações em suas propriedades genéticas e à aquisição de adaptações a muitos habitats diferentes

TÉCNICA DO DNA RECOMBINANTE

A recombinação ocorre normalmente nos microrganismos. Nas décadas de 70 e 80 os cientistas desenvolveram técnicas artificiais para fazer DNA recombinante. Essas técnicas são chamadas de tecnologias do DNA recombinante.

Um gene de um animal vertebrado inclusive do homem pode ser inserido no DNA de uma bactéria ou um gene de um vírus pode ser inserido em uma levedura. Em muitos casos, pode-se fazer o receptor expressar o gene, que pode codificar um produto comercialmente útil. Assim, bactérias com genes da insulina humana estão agora sendo utilizado para produzir insulina para o tratamento do diabetes, e uma vacina para a hepatite B está sendo produzida em levedura portadora do gene que codifica parte do vírus causador da doença (a levedura produz uma proteína do capsídeo viral). Os cientistas esperam que essa abordagem se torne útil para a produção de vacinas contra outros agentes infecciosos, eliminando a necessidade de usar vírus completos, como nas vacinas convencionais.

As novas técnicas de DNA recombinante também podem ser utilizadas para produzir milhares de cópias da mesma molécula de DNA – para amplificar o DNA, gerando assim DNA suficiente para vários tipos de experimentos e análises. Essa técnica tem aplicação prática na identificação de microrganismos, como os vírus, que não podem ser cultivados.

A metodologia apresenta várias etapas preparatórias para obtenção do gene de interesse: bioprospecção, identificação, amplificação e purificação do gene de interesse.

O gene de interesse é inserido no DNA do vetor *in vitro*. O vetor pode ser um plasmídeo, um vírus, fagomídeo ou um cromossomo artificial de levedura. É utilizada uma molécula auto-replicativa.

A seguir, o DNA do vetor recombinante é introduzido em uma célula, como uma bactéria, levedura, célula vegetal ou animal, onde possa multiplicar-se.

A célula contendo o vetor recombinante é então multiplicada em cultura para formar um clone de muitas células geneticamente idênticas, cada um dos quais carregando a mesma informação genética. Esse clone de células, portanto, contem muitas cópias do gene de interesse.

A etapa final varia de acordo com o interesse, se é o próprio gene ou o seu produto.

São muitas as vantagens das novas biotecnologias derivadas da técnica do DNA recombinante. Entretanto podemos destacar a produção de biomoléculas em larga escala como sendo a principal. Biomoléculas como

proteínas utilizadas nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêutica, na produção de imunógenos e vacinas, sistemas de diagnóstico e outras são extremamente importantes. Atualmente podemos citar ainda várias técnicas e biotecnologias que avançaram com a técnica do DNA recombinante: a clonagem gênica e total, a produção de mutantes transgênicos, as técnicas de seqüenciamento genético e outras.



ATIVIDADES

1. Qual a função principal do material genético DNA e RNA?
2. Defina: Genótipo e Fenótipo.
3. Como se caracteriza os “cromossomos” bacterianos?
4. Descreva as principais etapas da replicação do DNA e do RNA.
5. O que é a tradução do DNA?
6. O que são operons?
7. Qual a relação entre mutação genética e evolução?
8. O que é transformação em Bactérias?
9. Defina: conjugação, transdução, plasmídeos e transposons.
10. Qual a importância da técnica do DNA recombinante?

COMENTÁRIO SOBRE AS ATIVIDADES

1. O material genético possui função vital aos microrganismos e determina a produção de todos os fatores necessários à vida. O DNA e o RNA possuem diferentes funções. É importante que o acadêmico saiba sobre sua estrutura e função e como ocorre seu funcionamento.
2. O Genótipo e o Fenótipo representam o conjunto de informações que caracterizam os microrganismos. Sua divisão facilita a compreensão das diferentes estruturas morfológicas e possíveis funções metabólicas.
3. É importante a caracterização dos cromossomos bacterianos e como podemos compreender o seu funcionamento e evolução.
4. As principais etapas da replicação do DNA e do RNA são fundamentais para a herança e a expressão gênica em todos os seres vivos. Os acadêmicos devem entender as etapas e mecanismos envolvidos nos processos.
5. O DNA armazena a informação genética (herança genética). Mas as informações devem poder ser utilizadas para as diversas funções da célula. Como podemos entender este fenômeno?
6. Todos os mecanismos de expressão dos genes são complexos e possuem diversas estruturas envolvidas. Devemos conhecer a forma particular que as bactérias realizam esta regulação.

7. Será que organismos cujos genomas são muito estáveis e com pouca variabilidade estão mais sujeitos a extinção? Quais as suas chances de sucesso evolutivo?
8. Diversos mecanismos de transferência genética entre organismos foram descobertos. Uma bactéria transformada é a mesma coisa de uma bactéria modificada geneticamente (OGM).
9. É muito importante conhecer a conjugação, transdução, plasmídeos e transposons. Pesquise também artigos científicos e discuta com seu tutor.
10. Descobrimos que podemos “cortar e colar” fragmentos de DNA. Assim podemos transferir fragmentos genéticos de um microrganismo para o outro. Qual a importância de tal possibilidade e sua aplicação?

CONCLUSÃO

Atualmente podemos citar poucas ciências que experimentaram um desenvolvimento na ordem que a Genética apresentou nos últimos vinte anos. A Genética a ciência da hereditariedade passou de uma ciência básica e extremamente teórica para uma ciência especialmente aplicada e experimental. Vários foram os fatores que contribuíram para este maravilhoso desenvolvimento. A formação de recursos humanos na área, o desenvolvimento da química fina e dos processos de ultra purificação de sais e solventes orgânicos, desenvolvimento de equipamentos e programas de informática entre outros. As bases teóricas da replicação do DNA foram comprovadas em ensaios de laboratório e possibilitaram a obtenção de moléculas de DNA em larga escala. Com possibilidade inesgotável de matéria prima foi possível realizar ensaios laboratoriais em grande quantidade. Questões como a possibilidade de bioprospecção gênica e produção em larga escala de seus produtos (proteínas) estimularam diversas e importantes iniciativas. O surgimento da técnica do DNA recombinante e suas aplicações em biotecnologias também estimularam a iniciativa privada ao investimento na nova Genética a “Engenharia Genética”. A aplicação dos novos conhecimentos na resolução de problemas ate mesmo fora das ciências biológicas aconteceu após o seqüenciamento total do genoma do ser humano. Buscar explicações e ou compreensão de distúrbios sociais e ou comportamentais: a base genética do alcoolismo, tabagismo, agressividade, homossexualidade e outras. Devemos estar atentos as possibilidades deste novo campo sem esquecer no universo de informações que ainda necessitam resposta em busca da melhoria da qualidade de vida do homem e da sustentabilidade do planeta. Diante do exposto os acadêmicos do ensino superior devem estar preparados para atuarem utilizando esta nova linguagem a linguagem da Biologia Molecular.



RESUMO

A Genética é a ciência da hereditariedade; estuda os genes, como eles transportam a informação genética, como são replicados e passados para as gerações subseqüentes de um microrganismo para outros ou transmitidos entre microrganismos, e como a expressão da sua informação dentro de um microrganismo pode determinar suas características particulares. A informação genética de um microrganismo é chamada de genoma. O genoma é organizado em cromossomos. A informação genética é codificada pela seqüência de bases ao longo da fita de DNA. O código genético é o conjunto de regras que determinam como uma seqüência de nucleotídeos é convertida na seqüência de aminoácidos de uma proteína. Boa parte do metabolismo está relacionada à tradução da mensagem genética dos genes em proteínas específicas. Um gene normalmente codifica uma molécula de RNA mensageiro (mRNA), que finalmente resulta na formação de uma proteína. Alternativamente, o produto do gene pode ser um RNA ribossômico (rRNA) ou um RNA de transferência (tRNA). O genótipo de um microrganismo é sua composição genética, a informação que codifica todas as características particulares do organismo. O fenótipo refere-se às propriedades reais, capacidades e funcionalidades. O fenótipo, então, é a manifestação do genótipo. A replicação do DNA necessita de diversas enzimas, outras proteínas celulares e energia fornecida pelas bases nitrogenadas. A replicação do DNA de algumas bactérias, como a *E. coli*, segue bidirecionalmente ao redor do cromossomo. Duas forquilhas de replicação movem-se em direções opostas, para longe da origem de replicação. Como o cromossomo bacteriano é uma alça fechada, as forquilhas de replicação acabam se encontrando quando a replicação está completa. É um processo surpreendentemente preciso. Essa precisão é devida em boa parte à capacidade de contraprova da DNA polimerase. No processo de transcrição, a informação genética do DNA é copiada, ou transcrita, em uma seqüência complementar de bases no RNA. A célula então utiliza a informação codificada nesse RNA para sintetizar proteínas específicas, através do processo de tradução. Uma mutação é uma alteração na seqüência de bases do DNA. Essa alteração na seqüência de bases de um gene algumas vezes causa uma alteração no produto codificado por aquele gene. Os agentes no ambiente, como certos produtos químicos e a radiação, que produzem mutações direta ou indiretamente, são denominados mutagênicos. Em eucariotos, a recombinação genética é um processo ordenado, que normalmente ocorre como parte do ciclo sexual do organismo. A recombinação geralmente acontece durante a formação das células reprodutivas, de modo que essas células contem DNA recombinante. Em bactérias, a recombinação genética pode acontecer de diversas formas. Na transformação, os genes são transferidos de uma bactéria para outra como DNA "nu" em solução. A conjugação é

mediada por um tipo de plasmídeo, um fragmento circular de DNA que se replica independente do cromossomo da célula. A conjugação se difere da transformação em dois aspectos. Primeiro, a conjugação requer o contato direto célula a célula. Segundo, as células em conjugação geralmente devem ser de tipos opostos de acasalamento; as células doadoras devem transportar o plasmídeo, e as células receptoras normalmente não. Um terceiro mecanismo de transferência genética entre bactérias é a transdução. Nesse processo, o DNA bacteriano é transferido de uma célula doadora para uma célula receptora dentro de um vírus que infecta bactéria, denominado bacteriófago ou fago. Além da mutação, transformação e conjugação, a transdução é outro mecanismo pelo qual as bactérias adquirem novos genótipos. A diversidade genética obtida pela mutação, transformação, conjugação e transdução fornece o material bruto para a evolução, e a seleção natural a perpetua. Foram desenvolvidas técnicas artificiais para fazer o DNA se recombinar. Essas técnicas são chamadas de tecnologias do DNA recombinante. Um gene heterólogo pode ser inserido no DNA de uma bactéria, levedura, vegetal ou animal. Pode-se fazer o receptor expressar o gene heterólogo, que pode codificar um produto comercialmente útil (Biotecnologia) Os cientistas esperam que essa abordagem se torne útil para a produção de vacinas contra agentes infecciosos, eliminando a necessidade de usar antígenos naturais vivos, como nas vacinas convencionais. São muitas as vantagens das novas biotecnologias recombinantes. A produção de biomoléculas em larga escala como a produção de proteínas utilizadas nas indústrias de alimentos, cosméticos, farmacêutica, na produção de imunógenos e vacinas, sistemas de diagnóstico e outras são extremamente importantes. Atualmente podemos citar ainda várias técnicas e biotecnologias que avançaram com a técnica do DNA recombinante: a clonagem gênica e total, a produção de mutantes transgênicos, as técnicas de seqüenciamento genético e outras.

REFERÊNCIAS

- BLACK, J. G. Microbiologia: fundamentos e perspectivas. 4^a. Ed. Guanabara Koogan, 2002.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; PAKER, J. Microbiologia de Brock. 10^a ed. São Paulo: Printece Hall do Brasil, 2004.
- MURRAY, P. R.; ROSENTHAL, K. S.; KOBAYASHI, G. S. PFALLER, M.A. Microbiologia Médica. 4^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbiologia. 8^a ed. São Paulo: Artmed, 2005.