

Mapa Genoma Brasil



Coleta e Registro de Dados em Medicina Genômica

Livro 3

Projeto Mapa Genoma Brasil

BP - A Beneficência Portuguesa de São Paulo

Gerente Executivo PROADI SUS:

Dante Dianezi Gambardella

Coordenadora Projeto Mapa Genoma Brasil

Mariana Beraldo da Costa Saad

Coordenador Projeto Qualificação e Treinamento

José Pereira de Souza

Assessoria Técnica

Erika Maria Monteiro Santos

Autor

Pablo De Nicola

Equipe Qualificação e Treinamento

Amanda Aparecida Franca De Nobrega

Cristiane da Fonseca Amancio

Daniel Dias Macario

Denise De Andrade Saavedra

Fernando Alves Alencar de Moura

Luanda Guimarães da Silva

Lucas Campacci



Esta obra é disponibilizada nos termos da Licença Creative Commons – Atribuição – Não Comercial – Compartilhamento pela mesma licença 4.0 Internacional. É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte.



Apresentação

Olá, prezado(a) colega,

Convido você a estudar o conteúdo do curso, concebido para fornecer informações que possibilitem seu ingresso no projeto “Saúde de precisão: correlação entre perfil genômico, epidemiológico, clínico e familiar em câncer e doenças cardiovasculares”, do Proadi.

Neste livro, discutiremos os fundamentos essenciais da genética e da genômica, incluindo tópicos como estrutura celular, genoma, genes, processo do DNA ao RNA, síntese de proteínas e controle da expressão gênica.

Agradeço a oportunidade de compartilhar esses conceitos com vocês.

Pablo De Nicola

Bons estudos!

Índice

1 Conceitos básicos em genética e genômica 05

O Genoma 06

Os Genes 07

Do DNA ao RNA 10

Do RNA às Proteínas 12

Proteínas 13

Controle da Expressão Gênica 13

O DNA 14

Referências 17

Dicas

- O sumário é interativo, permitindo que você seja direcionado para o tópico desejado com um clique.
- Além disso, ao clicar no logo do Mapa Genoma Brasil no topo da página, você retornará ao sumário.

1. Conceitos básicos em genética e genômica

Nos últimos 10 anos, a disponibilidade de sequenciamento do genoma humano e o progresso nas tecnologias de sequenciamento do DNA ampliaram o conhecimento sobre as doenças. As novas descobertas estão transformando o campo da oncologia em múltiplos níveis. Os mapas genômicos, por exemplo, estão redesenhando a diversidade tumoral, movendo-a da classificação histológica para uma classificação com base genética. O sucesso dos medicamentos contra o câncer desenhados para atingir as alterações moleculares subjacentes à tumorigênese provou que as alterações genéticas somáticas são alvos legítimos para o tratamento.

De modo similar, a genotipagem do tumor está permitindo ações que levam ao melhor tratamento para os tumores dos pacientes, o que conhecemos como medicina de precisão personalizada. Também podemos citar as alterações específicas no DNA tumoral, que representam biomarcadores para a detecção e o monitoramento da doença.

As análises em andamento de múltiplos genomas do câncer identificarão alvos adicionais cuja exploração farmacológica resulta em novas abordagens terapêuticas. A cardiologia também passa por transformações, uma consequência do reconhecimento dos genes associados ao desenvolvimento de doenças e do sequenciamento de nova geração (SNG), que permite a avaliação de múltiplos genes.

Para compreendermos esses conceitos e suas implicações no desenvolvimento, no prognóstico e no tratamento de neoplasias e doenças cardiovasculares, é necessário definir alguns conceitos básicos de biologia molecular, celular e genética.



Dica do Professor

Cada vez mais, os tratamentos de câncer são direcionados a alterações genéticas, com a introdução de terapia segmentada, o que tem levado a um sucesso maior nas últimas décadas.

O Genoma

Todas as funções necessárias ao funcionamento das células estão armazenadas no genoma. Cada célula no corpo humano carrega uma cópia do genoma, que contém aproximadamente 20 mil genes, os quais são responsáveis por armazenar o código para a produção das proteínas, que são as unidades funcionais das células.

O genoma contém, no núcleo das células humanas somáticas — que formam os tecidos, com exceção das células

germinativas —, 46 cromossomos, divididos em 23 pares (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016), dos quais 22 são chamados de autossomos, numerados do maior para o menor, e um, de cromossomos sexuais, sendo dois cromossomos X para as mulheres e um X e um Y, para os homens.

Cada cromossomo tem um conjunto de genes, e esse mesmo conjunto está disposto no outro par, algo que chamamos de cromossomo homólogo. Os humanos têm dois cromossomos: um herdado do pai e outro, da mãe. (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016). A imagem 1 apresenta um cariótipo com os 22 autossomos e os cromossomos sexuais.

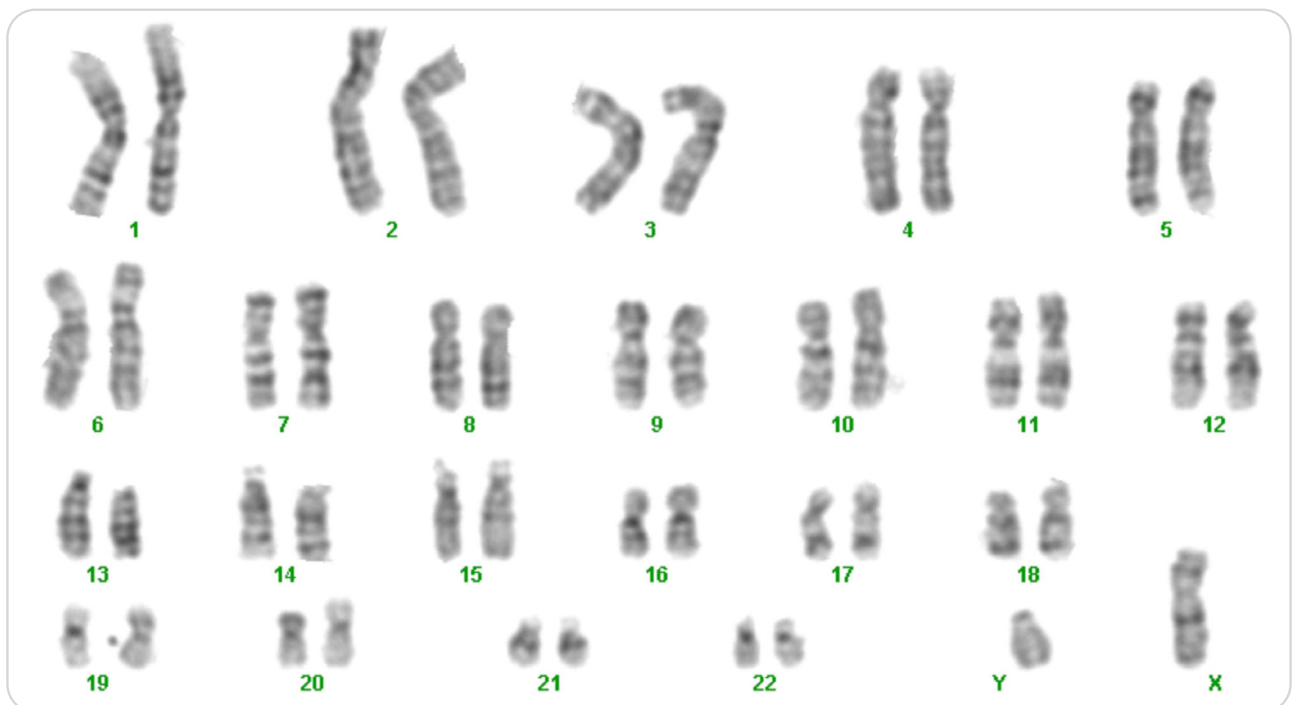


Imagem -1 Cariótipo de um indivíduo do sexo masculino. Fonte: Instituto Bernabeu.
Disponível em: <https://www.flickr.com/photos/institutobernabeu/5208812116>.

Você sabia?

O genoma pode ser dividido em genes, pseudogenes e DNA não codificante. Apenas uma porção dele codifica proteínas (aproximadamente 2%), e há muitos pseudogenes (0,5%), a maioria de íntrons e DNA intergênico.



Os Genes

Os genes são segmentos ou regiões de DNA que ocupam um local específico em determinado cromossomo, chamado locus, o qual contém as instruções para a fabricação de uma proteína. O locus do gene é o mesmo para todos os seres humanos (Alberts et al., 2008). A imagem 2 mostra o cromossomo com o DNA empacotado.

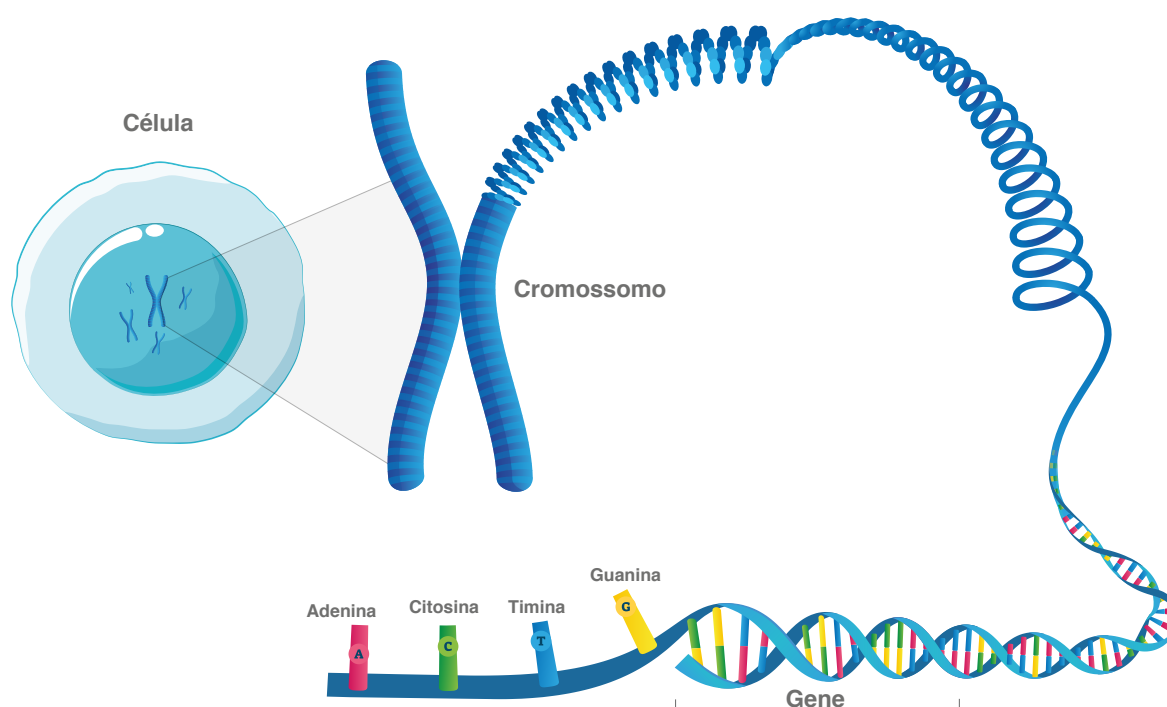


Imagem 2 - A célula, o cromossomo e o gene.

Você sabia?

A estrutura dupla-hélice do DNA foi descrita por dois pesquisadores: James Watson e Francis Crick, que ganharam com Maurice Wilkins o Nobel de Medicina em 1962.

A identificação da estrutura do DNA só foi possível com a contribuição de Rosalind Franklin, que trabalhou com imagens da difração de raios x e faleceu em 1958, aos 37 anos, com câncer de ovário. A polêmica sobre a descrição do DNA pode ser vista em: <https://www.youtube.com/watch?v=8XTXucBuJhs>



Um gene pode ser dividido em regiões com funções específicas. A região chamada de promotor é responsável pela “ativação” do gene, levando à produção da proteína. Os íntrons são regiões que não codificam aminoácidos. Já regiões que codificam os aminoácidos são chamadas de éxons. Os primeiros fazem parte da sequência do gene, mas, quando formado o RNA mensageiro (mRNA), não entram na sequência dele e, portanto, não estarão representados na proteína.

Em geral, alterações de genes nos íntrons não são capazes de alterar a proteína, pois, como mostra a imagem 3, eles não ficam representados na tradução da proteína. No entanto, a depender do local e do tipo de alteração no DNA, os íntrons podem embaralhar a forma como a proteína é montada, prejudicando a formação da proteína.

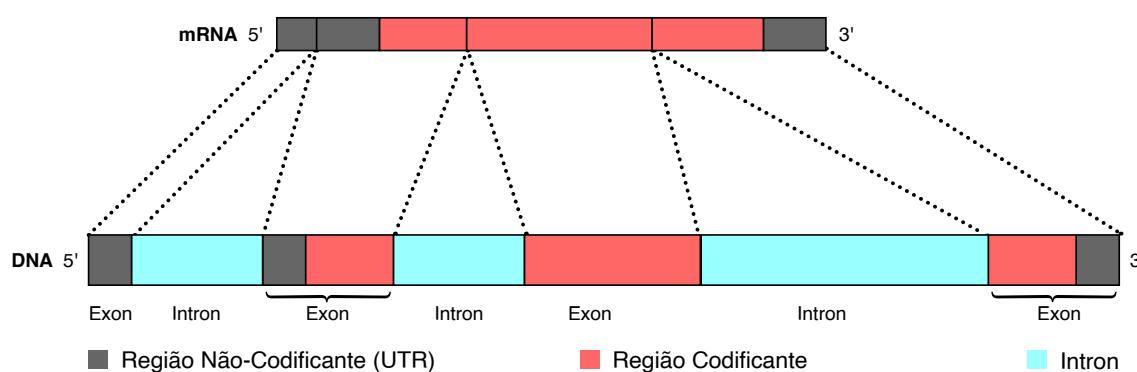


Imagem 3 - Estrutura do Gene. Nota: Observe que o gene é formado por éxons e íntrons. Os segundos não fazem parte do mRNA, portanto não serão codificados em aminoácidos.

O exame chamado Exoma fará o sequenciamento de todos os éxons, deixando de fazer a avaliação dos íntrons.

A estrutura do DNA permite a transmissão, de forma precisa, da informação genética de uma célula para as outras. Além disso, também possibilita a produção dos aminoácidos e a organização das proteínas, que será discutida a seguir (Alberts et al., 2008; Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016; Pierce, 2003).

Como mencionado, o DNA tem uma estrutura de dupla hélice na qual há duas fitas complementares entre si. Assim, a sequência de uma das fitas é exatamente complementar à outra, algo essencial para a transmissão da informação genética. Durante os processos de divisão celular, esse tipo de estrutura garante que a informação genética seja transmitida de forma igual para as células seguintes (Alberts et al., 2008; Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016; Pierce, 2003).

Para saber mais

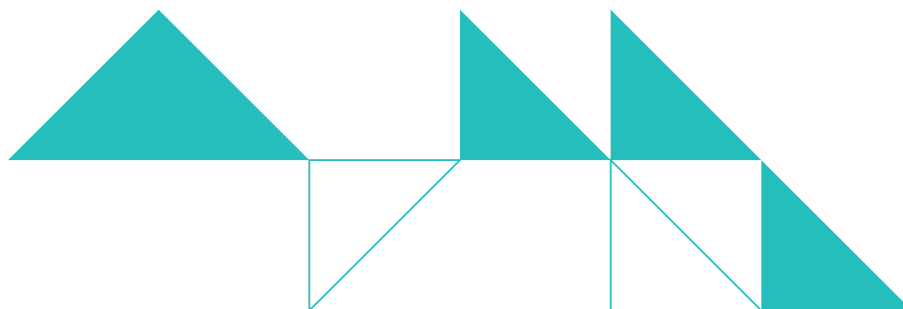
Quer entender a diferença entre mitose e meiose?

Veja o vídeo: <https://bit.ly/4daZx6A>



Onde aplico esse conhecimento?

Os quimioterápicos podem ser classificados quanto à ação nos ciclos celulares específico e não específicos. Os primeiros agem em determinada fase do ciclo celular, ao passo que os segundos agem na fase M, causando dano celular quando a célula passa pelo processo de divisão.



Do DNA ao RNA

As características do nosso organismo e seu funcionamento ocorrem pela expressão das proteínas. O DNA não é capaz de ser codificado em proteína diretamente, necessitando de uma molécula intermediária: o RNA (Alberts et al., 2008).

O processo por meio do qual a informação genética é transmitida do DNA para o RNA é denominado “transcrição”. A

informação armazenada no código genético é transmitida do DNA de um gene para o mRNA (Turnpenny, 2017).

O RNA tem estrutura semelhante ao DNA, que é formado por açúcar e nucleotídeo. No entanto, no RNA, o açúcar é a ribose e a uracila (U) substitui a timina. As três demais bases são as mesmas.

A imagem 4 apresenta as diferenças entre as estruturas do DNA e do RNA (Alberts et al., 2008).

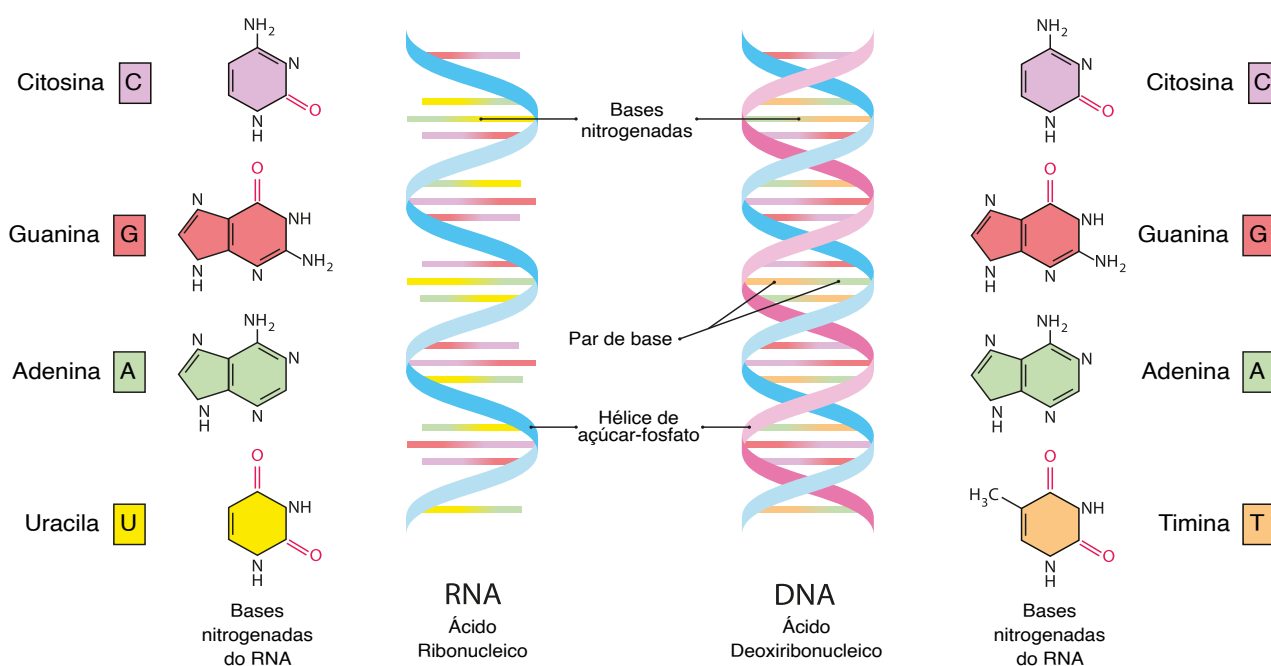


Imagem 4 - Estrutura do RNA e do DNA. Nota: O RNA não tem a base timina (T), e sim uracila.

Antes de ser processado em mRNA, que funciona como base para a síntese proteica, todos os nucleotídeos entre o local inicial e o final de transcrição de um gene são transcritos em pré-mRNA pela enzima RNA polimerase. Durante e após a transcrição, os íntrons não codificantes no precursor pré-mRNA são excisados, ao passo que os éxons codificantes não contíguos são unidos para formar um mRNA menor e maduro, antes de este ser transportado para o ribossomo no citoplasma para a translação (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016).

No citoplasma, outra molécula importante é o RNA transportador (tRNA), que funciona como elo entre o código genético do mRNA e os aminoácidos. Cada tRNA se liga a um aminoácido particular, a quem carrega ao ribossomo, adicionando-o à cadeia de polipeptídeo na posição específica, de acordo com as instruções do mRNA.

A imagem 5 mostra o tRNA (Pierce, 2003).

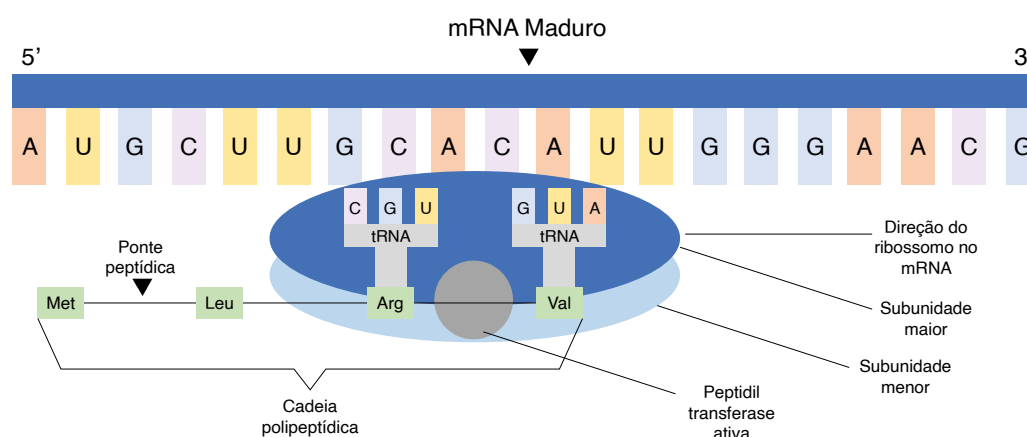
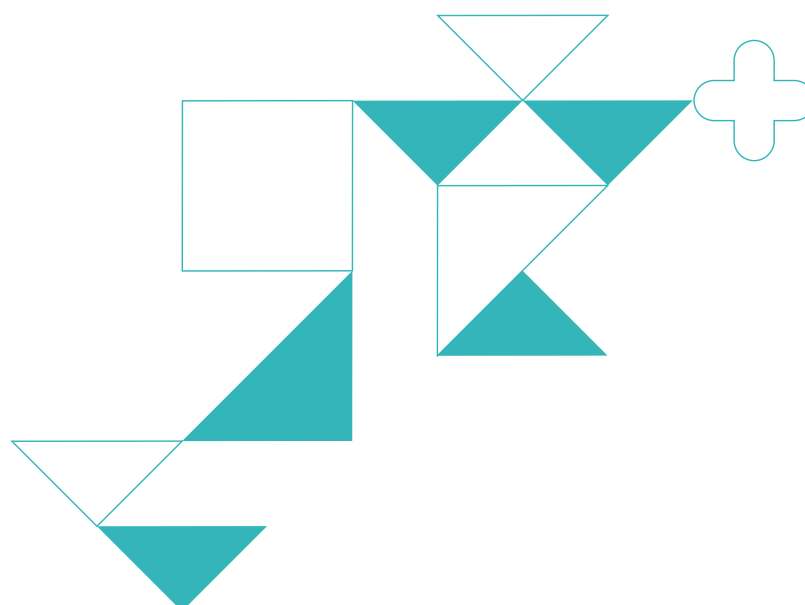


Imagem 5 - mRNA maduro fornecendo orientação para a tradução, que ocorre com a ajuda do tRNA.



Do RNA às Proteínas

O RNA é processado e dá origem às proteínas, num processo denominado “tradução”. O mRNA recém-processado é transportado do núcleo para o citoplasma, onde se associa aos ribossomos, local em que ocorre a síntese proteica. Os ribossomos são compostos por duas subunidades de tamanhos diferentes, que, por sua vez, contam com quatro tipos de subunidades distintas de moléculas de RNA ribossomal (rRNA) e muitas proteínas ribossomais (Turnpenny, 2017.)

Para compreender como o RNA é traduzido em proteínas, é necessário definir o que é o código genético, que consiste numa sequência de nucleotídeos do DNA ou do RNA. Há quatro letras no código, cada uma correspondendo a uma das bases:

A (adenina), G (guanina), C (citosina) e T (timina). No RNA, o T é substituído pelo U (uracila). O código genético é uma sequência de três bases. Cada aminoácido é codificado pela sequência de três nucleotídeos consecutivos: o códon.

O código genético é degenerado — há 64 códons diferentes, mas apenas 20 aminoácidos. Dessa forma, alguns códons são sinônimos e codificam um mesmo aminoácido. O primeiro é o iniciador, geralmente é o AUG. Ao ler o códon inicial, os outros são lidos em grupos de três e os aminoácidos são adicionados. Três códons em particular (UAA, UAG e UGA) funcionam como códigos de terminação (stop códons), que sinalizam o final da proteína. Dessa forma, ao identificar um desses códons finalizadores, não há mais adição de aminoácidos (Pierce, 2003), como mostra a imagem 6.

	U	C	A	G	
U	UUU-Fenilalanina UUC-Fenilalanina UUA-Leucina UUG-Leucina	UCU-Serina UCC-Serina UCA-Serina UCG-Serina	UAU-Tirosina UAC-Tirosina UAA-Parada UAG-Parada	UGU-Cisteína UGC-Cisteína UGA-Parada UGG-Triptofano	U C A G
C	CUU-Leucina CUC-Leucina CUA-Leucina CUG-Leucina	CCU-Prolina CCC-Prolina CCA-Prolina CCG-Prolina	CAU-Histidina CAC-Histidina CAA-Glutamina CAG-Glutamina	CGU-Arginina GCG-Arginina CGA-Arginina CGG-Arginina	U C A G
A	AUU-Isoleucina AUC-Isoleucina AUA-Isoleucina AUG-Metiorina	ACU-Treonina ACC-Treonina ACA-Treonina ACG-Treonina	AAU-Aspargina AAC-Aspargina AAA-Usina AAG-Usina	AGU-Serina AGC-Serina AGA-Arginina AGG-Arginina	U C A G
G	GUU-Valina GUC-Valina GUA-Valina GUG-Valina	CGU-Alanina GCC-Alanina GCA-Alanina GCG-Alanina	GAU-ác. aspártico GAC-ác. aspártico GAA-ác. glutâmico GAG-ác. glutâmico	GGU-Glicina GGC-Glicina GGA-Glicina GGG-Glicina	U C A G

Imagem 6 - Código genético universal – um aminoácido é determinado pela sequência de três nucleotídeos.

Controle da Expressão Gênica

O RNA, então, é processado em proteínas durante a tradução. Esse processo ocorre no ribossomo, que pode ser imaginado como uma máquina sintetizadora de proteínas, cuja síntese pode ser dividida em quatro estágios: ligação dos aminoácidos ao tRNA; iniciação, na qual os componentes para a tradução são reunidos nos ribossomos; alongamento, na qual os aminoácidos são reunidos, um de cada vez, para o crescimento da cadeia de polipeptídeos; e terminação, na qual a síntese termina no códon finalizador e os componentes da tradução são liberados do ribossomo (Pierce, 2003).

Proteínas

As proteínas são estruturas complexas formadas por uma sequência de aminoácidos. Após o processamento no ribossomo, elas são “dobradas” para formar uma estrutura estável. Depois de estabilizadas, podem ser modificadas para exercer suas funções e agrupadas em famílias, que são proteínas parecidas, mas com funções distintas (Alberts et al., 2008). É a interação da proteína com outras moléculas que determina as características biológicas. Assim, uma proteína pode se ligar a um vírus, a outras proteínas com a mesma função ou a proteínas com funções diferentes. Essas substâncias são chamadas de ligantes (Alberts et al., 2008).

Como um gene, que é uma sequência de DNA escondida no núcleo de uma célula, sabe quando deve se expressar? Como esse gene causa a produção de uma sequência de aminoácidos chamada proteína? Como diferentes tipos de células sabem quais tipos de proteínas devem fabricar? As respostas a essas perguntas estão no estudo da expressão gênica.

Os genes não podem controlar um organismo por conta própria; eles devem interagir e responder ao ambiente do organismo. Alguns deles são constitutivos ou sempre “ligados”, independentemente das condições ambientais. Esses genes estão entre os elementos mais importantes do genoma de uma célula e controlam a capacidade do DNA de se replicar, se expressar e se reparar. Eles também controlam a síntese de proteínas e grande parte do metabolismo central de um organismo.

Em contrapartida, genes regulados são necessários apenas ocasionalmente. Mas como esses genes são “ligados” e “desligados”? Que moléculas específicas controlam quando eles são expressos? Para eucariotos, as diferenças célula-célula são determinadas pela expressão de diferentes conjuntos de genes. Por exemplo, um óvulo fertilizado indiferenciado parece e age de modo bem diferente de uma célula da pele, um neurônio ou uma célula muscular graças às diferenças nos genes que cada célula expressa.

Uma célula cancerosa age de maneira

diferente de uma célula normal pelo mesmo motivo: expressa genes distintos e usando a análise de microarrays. Os cientistas podem usar essas diferenças para auxiliar no diagnóstico e na seleção do tratamento adequado do câncer (Alberts et al., 2008; Pierce, 2003).

Assim, essas diferenças são possíveis por meio da regulação gênica (ou controle da expressão dos genes), e, como referido acima, as células expressam apenas uma parte de seus genes, podendo modificar essa expressão de acordo com o ambiente (Alberts et al., 2008; Pierce, 2003).

Podemos comparar a expressão gênica com a iluminação de uma residência. A necessidade de iluminação nos cômodos é distinta. Enquanto na sala se utiliza determinado tipo de lâmpada, nos quartos a iluminação não precisa ser tão intensa e, portanto, deve ser diferente. A regulação da expressão gênica pode ocorrer por alterações no processamento do DNA ou por modificações após a composição da proteína.

O DNA

Em 1869, o químico suíço Friedrich Miescher identificou o que chamou de “nucleína” dentro dos núcleos dos glóbulos brancos humanos. O termo foi posteriormente alterado para ácido nucleico e, depois, para ácido desoxirribonucleico ou DNA (PRAY, 2008). O DNA é um nucleotídeo formado por duas partes: um açúcar (denominado desoxirribose) com um grupo fosfato e uma base. As bases são de quatro tipos:

citosina e timina (bases pirimidinas), guanina e adenina (bases purinas).

Cada uma delas recebe uma letra: citosina (C), timina (T), guanina (G) e adenina (A), como indicam Alberts et al. (2008) e Pierce (2003). Cada açúcar é ligado via grupo fosfato, o que dá origem a uma cadeia com os nucleotídeos em sequência.

A estrutura do DNA é uma dupla hélice composta de duas fitas complementares, na qual as citosinas de uma fita pareiam com as guaninas da outra e as timinas pareiam com as adeninas, respectivamente (Alberts et al., 2008; Pierce, 2003), como mostra a imagem 7.



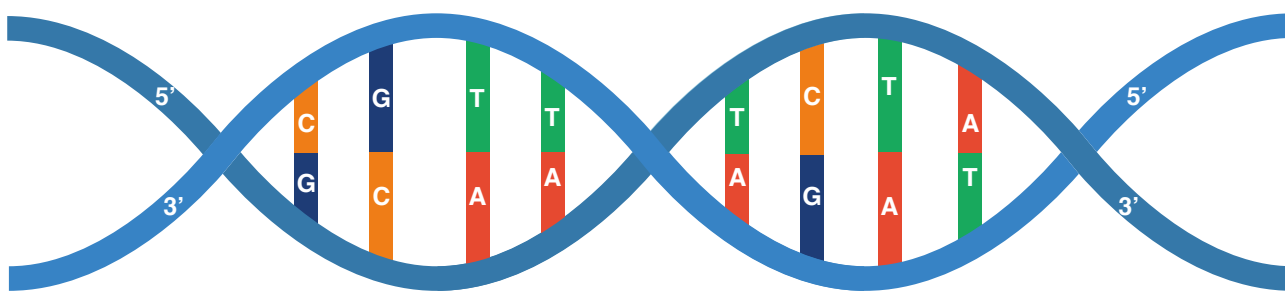


Imagem 7 - Estrutura do DNA. Nota: Dupla fita do DNA. Ao lado, os nucleotídeos citosina (C) e guanina (G), que são ligados por três pontes de hidrogênio, e timina (T) e adenina (A), que são ligados por duas pontes de hidrogênio.

Existem dois tipos de divisões celulares: mitose e meiose. A primeira ocorre nas células somáticas, nas quais as células do corpo crescem e se diferenciam, resultando em duas células filhas, com conteúdo genético idêntico. A segunda ocorre apenas nas células germinativas e resulta na formação das células reprodutivas (gametas), que terão 23 cromossomos (22 autossomos e um cromossomo sexual). Enquanto as células somáticas são denominadas diploides, os gametas são haploides (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016).

A mitose é essencial para o crescimento celular, de modo que a estrutura do DNA acima descrita precisa ser multiplicada. A essa multiplicação damos o nome de replicação, durante a qual a fita dupla de DNA se abre, permitindo a duplicação. Dessa forma, o conteúdo do DNA é mantido. Esse processo é semiconservativo, uma vez que permite que o conteúdo do DNA seja passado para as células-filha (Alberts et al., 2008). A imagem 8 apresenta a mitose.

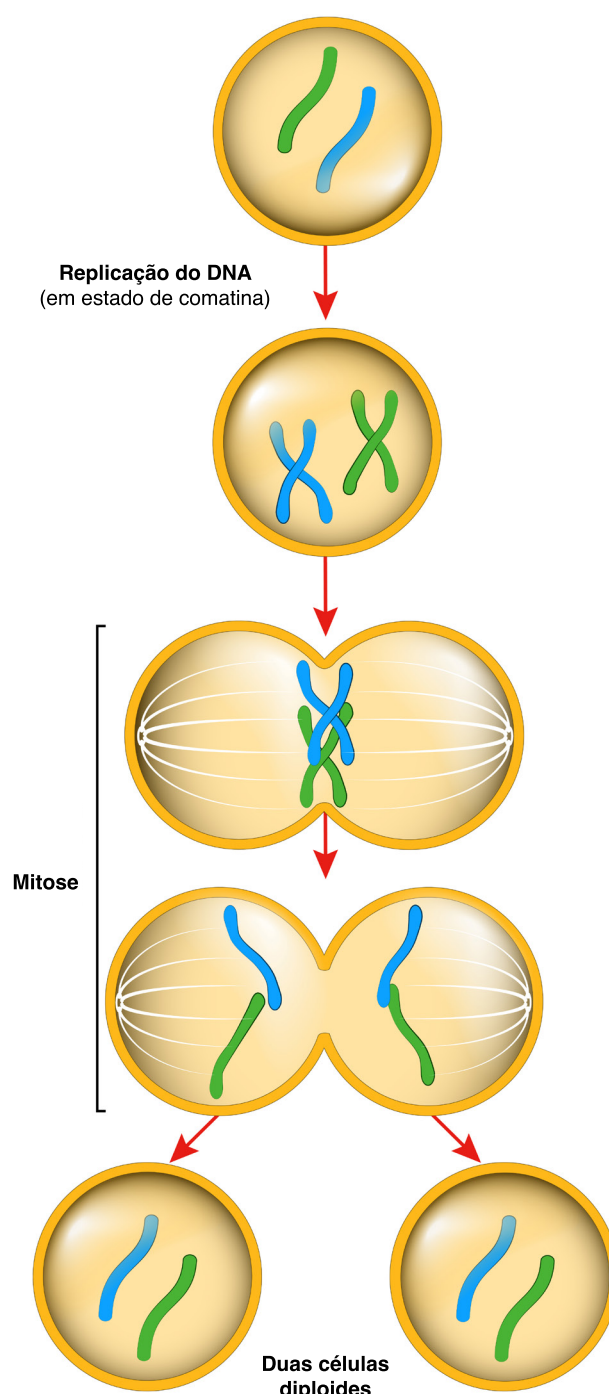


Imagem 8 - Representação da mitose.

A mitose é o processo de divisão celular das células somáticas, resultando em duas células com conteúdo genético idêntico. O período entre duas sucessivas mitoses é denominado intérfase, em que a célula permanece a maior parte do tempo.

Após a mitose, a célula entra na fase denominada G1, na qual não há síntese do DNA. Em algumas células, essa fase dura de 10 a 12 horas; em outras, dias ou até anos. Há ainda aquelas que permanecem em G1, numa fase de não divisão celular denominada G0, ao passo que outras, como hepatócitos, podem entrar em G0, mas, após um dano ao órgão, entra em G1 e continuar no ciclo (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016).

A célula é controlada por uma série de checkpoints que determinam cada passo na mitose. Esses pontos avaliam como está a produção da nova fita do DNA. Caso haja algum problema, o ciclo é interrompido até o reparo, que, se não acontecer, mata a célula, num processo conhecido como apoptose (Nussbaum, McInnes, & Willard, 2016).

Depois da fase G1 ocorre a S, chamada de fase de síntese. Nela, que dura de 6 a 8 horas, se dá a duplicação do DNA. Ao final, a célula apresenta duas cópias do genoma. Após a fase S, a célula entra na G2, em que os ácidos ribonucleicos e as proteínas são produzidos, fazendo-a dobrar de tamanho antes da próxima mitose. As fases G1, S e G2, juntas, constituem a intérfase, que dura de 16 a 24 horas, enquanto a mitose dura de uma a duas horas. Na mitose, ocorre a separação dos cromossomos para a formação das duas células com conteúdo genético idêntico.



Você sabia?

As canalopatias resultam de alterações em genes que codificam os canais iônicos ou as proteínas que regulam esses canais. O indivíduo com canalopatia tem risco aumentado de arritmias cardíacas e morte súbita.



Referências

ALBERTS B, JOHNSON A. et al. Molecular biology of the cell. 5.ed. New York: Garland Science, 2008.

ALMEIDA CA, BARRY SA. Cancer: basic science and clinical aspects. Oxford: Wiley-Blackwell, 2010.

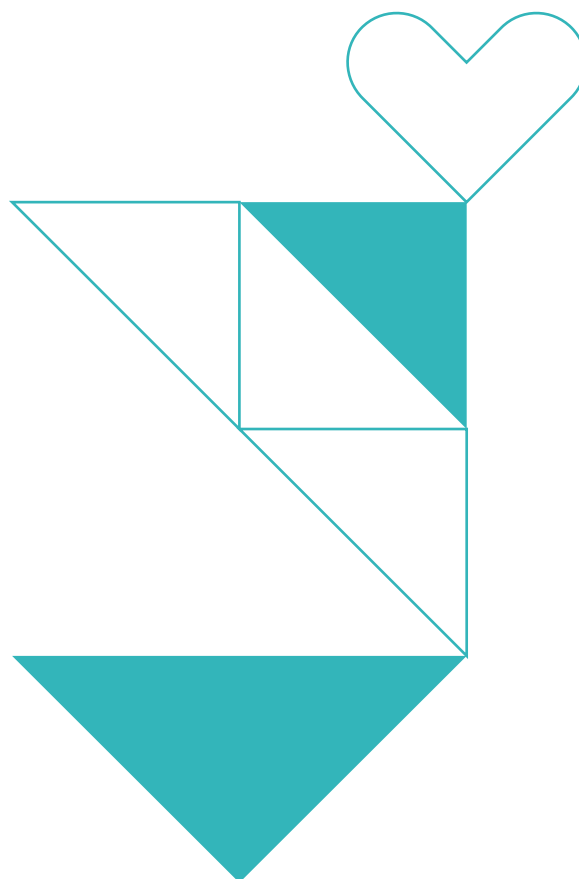
NUSSBAUM RL, MCINNESS RR, WILLARD FH. Thompson & Thompson genetics in medicine. 8.ed. Filadelfia: Saunders Elsevier, 2016.

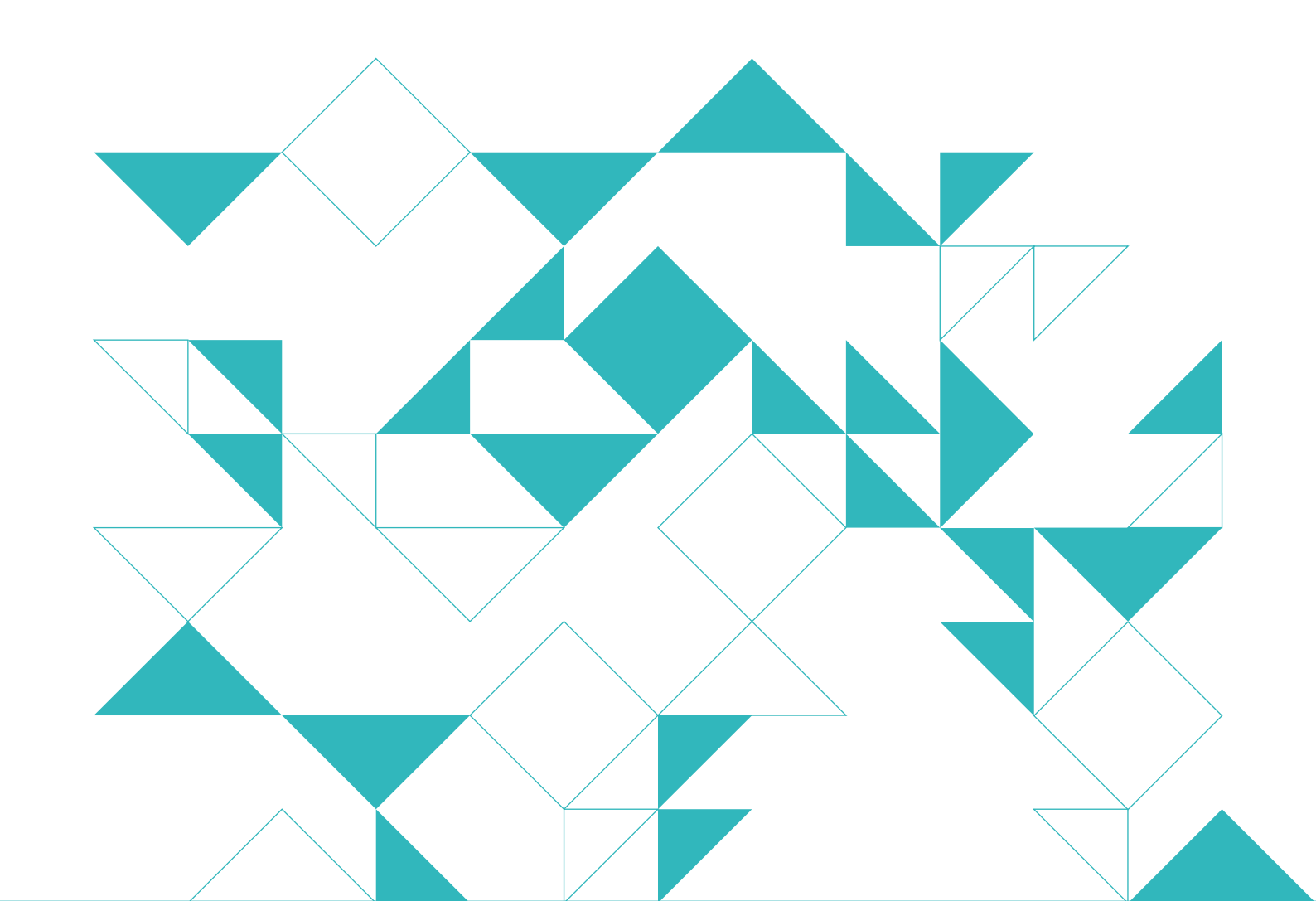
PIERCE BA. Genetics: a conceptual approach. New York: W.H. Freeman, 2003.

PRAY L. Discovery of DNA structure and function: Watson and Crick. Nature Education 2008;1:1-6.

ROSE AB. Introns as Gene Regulators: A Brick on the Accelerator. Front Genet 2019;9:1-6.

TURNPENNY P. Emery's Elements of Medical Genetics.15.ed. Elsevier, 2017.





Rua Maestro Cardim, 769
01323-900 Bela Vista São Paulo
Tel. 11 3505 1000

/bporgbr
bp.org.br