



Universidade de São Paulo
Instituto de Química

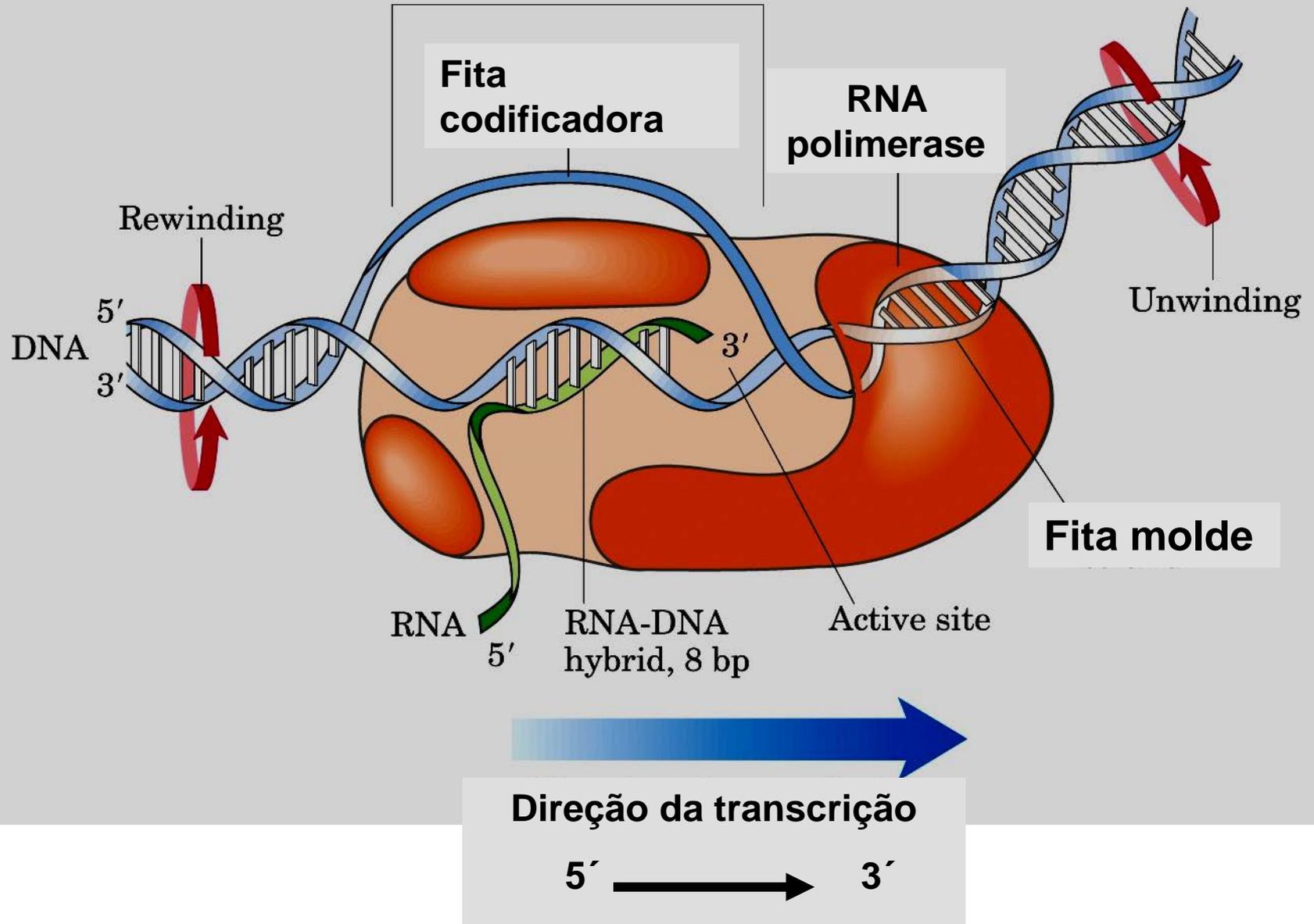
Expressão gênica

Prof. João Carlos Setubal

Expressão gênica

- Expressão de um **gene**
 - é a criação do mRNA **maduro desse gene**, pelo processo de **transcrição**, já apresentado
- Em geral é seguido pela expressão da **proteína correspondente**
 - criação de uma **proteína funcional**
 - no processo de síntese proteica já visto

Bolha de transcrição



Transcrição e expressão

- Ao descrevermos o processo de transcrição, nos preocupamos apenas com os passos principais que levam de um gene no genoma (DNA) a uma molécula de RNA
- A transcrição é apenas **um passo** no processo **mais geral** de expressão gênica

Ideia geral dos passos da expressão gênica

1. estímulo (externo ou interno)
2. gene X precisa ser “ativado”
3. ativação do gene é iniciada
4. ocorre a transcrição de X; mRNA de X foi produzido
5. eventuais controles/alterações pós-transcricionais, que podem modificar a expressão de X

Ativação e repressão

- Um gene pode ser **ativado (induzido)**
 - ele **não** estava sendo expresso e passa a ser expresso
- Ou **reprimido**
 - Ele estava sendo expresso e **deixa de ser** expresso; ou não estava sendo expresso e continua sem ser expresso

Fatos

- **Diferentes tecidos** ou órgãos do corpo expressam **diferentes genes**
 - fígado, cérebro, pele, pâncreas, gengiva, etc
- Um mesmo tecido ou órgão do corpo pode expressar/reprimir **diferentes genes** em **diferentes situações**
 - quando o nível de açúcar no sangue sobe, o pâncreas expressa insulina
 - **Diabetes** é a doença em que o pâncreas não consegue expressar insulina em níveis suficientes (tipo 1)
 - ou as células do corpo não respondem à presença da insulina (tipo 2)

Perguntas fundamentais

- **O que causa** a ativação ou repressão de um gene?
- **Quanto** de um gene é expresso numa dada condição?

Expressão gênica constitutiva

é a expressão de genes que devem ser expressos em **todos** os tipos de células. Por exemplo: expressão da RNA polimerase

X

Expressão gênica regulada

é a expressão de genes que são específicos de um tecido ou tipo de célula. **Regulação** é nome para processos internos da célula para o controle deste tipo de expressão

Indução ↑

Repressão ↓

Níveis de Controle da Expressão Gênica

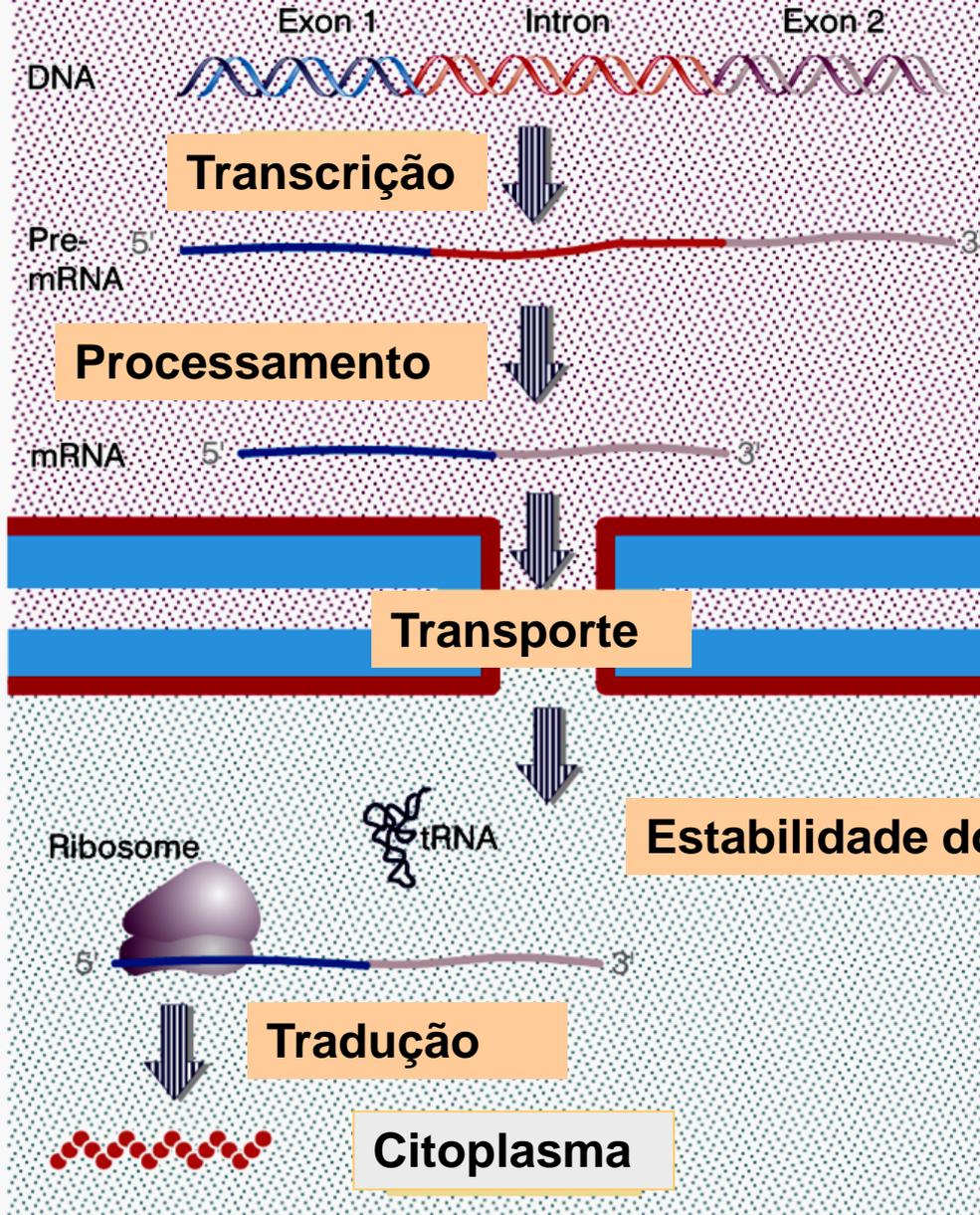
- Remodelamento da cromatina (E)
- Início da Transcrição (E e P)
- Processamento do Transcrito (E)
- Transporte do mRNA para o citoplasma (E)
- Estabilidade do transcrito (E e P)
- Tradução do mRNA (E e P)

E= Eucariotos

P= Procariotos

Núcleo

Remodelamento da cromatina



Etapas em que a expressão gênica em eucariotos pode ser regulada

Estabilidade do transcrito

Tradução

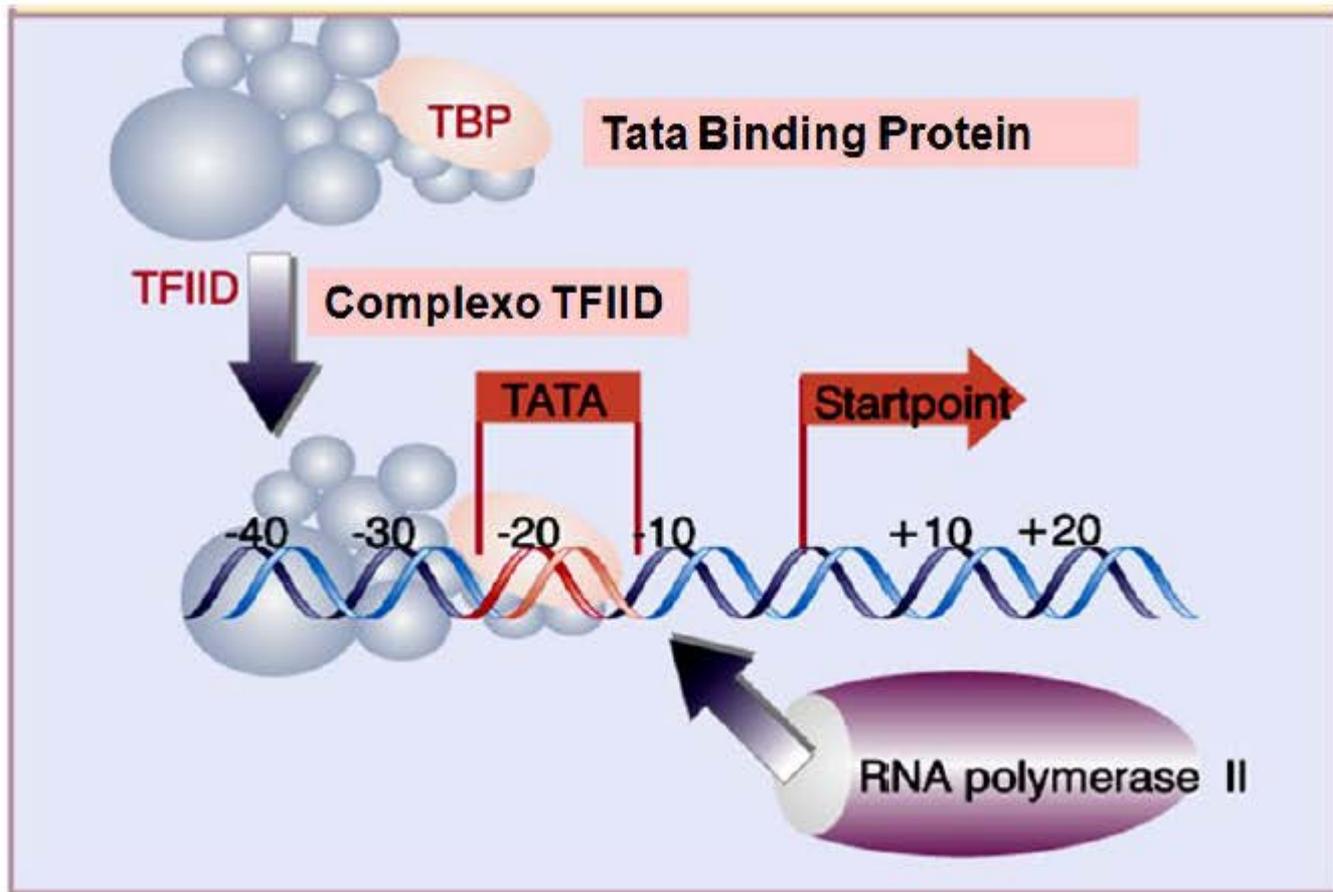
Citoplasma

Sinais que Regulam a Expressão Gênica: eucariotos

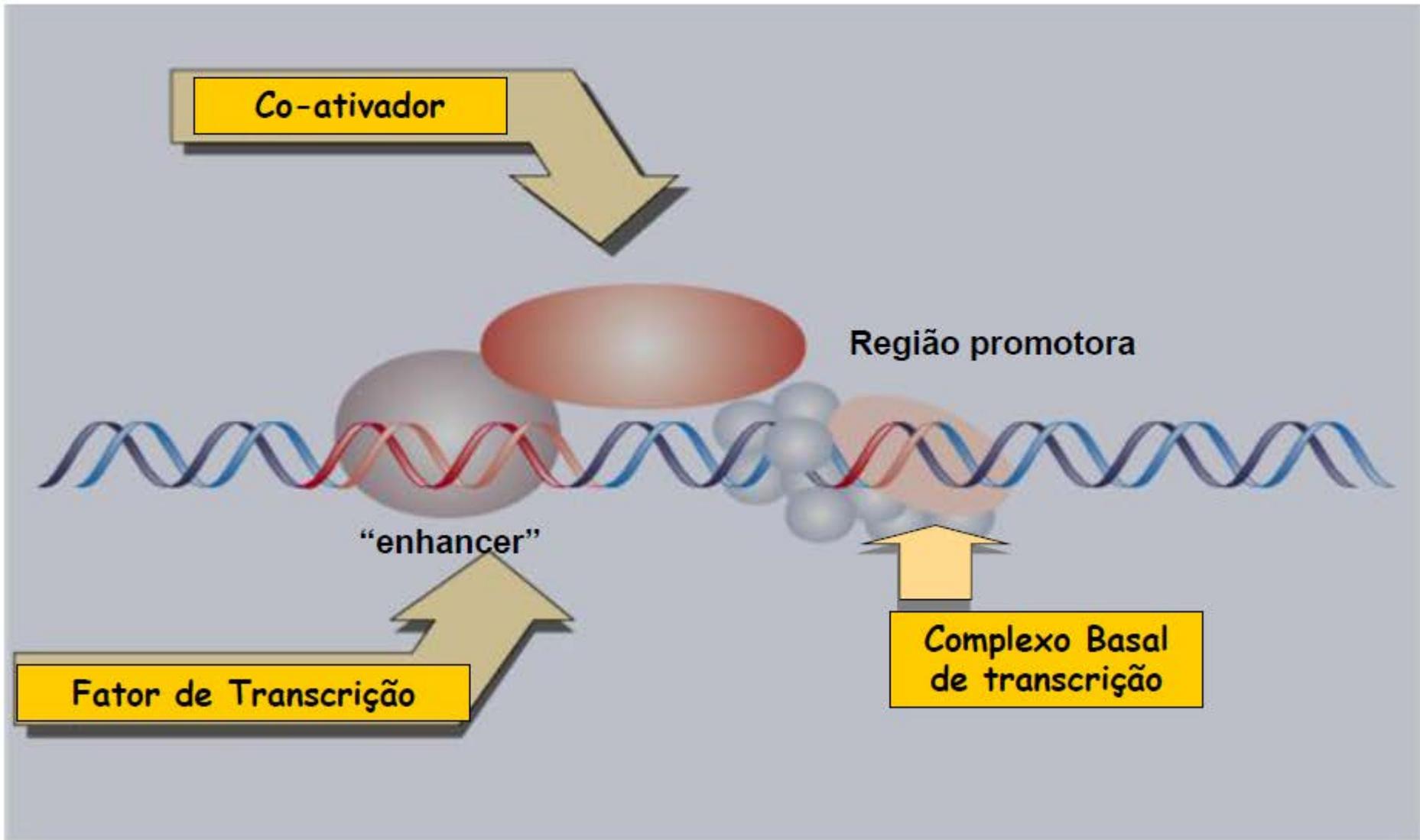
- **Hormônios**
- **Neurotransmissores**
- **Fatores de Crescimento**
- **Fatores de Diferenciação Celular**
- **Contato célula-célula**
- **Odores**
- **Alterações nutricionais**
- **Alterações ambientais (ex: osmolaridade, temperatura)**
- **Luz**
- **Temperatura**
- **Toque mecânico**
- **Etc.....**

A transcrição dos genes eucarióticos se inicia pela formação de um Complexo Basal de transcrição na região promotora do gene

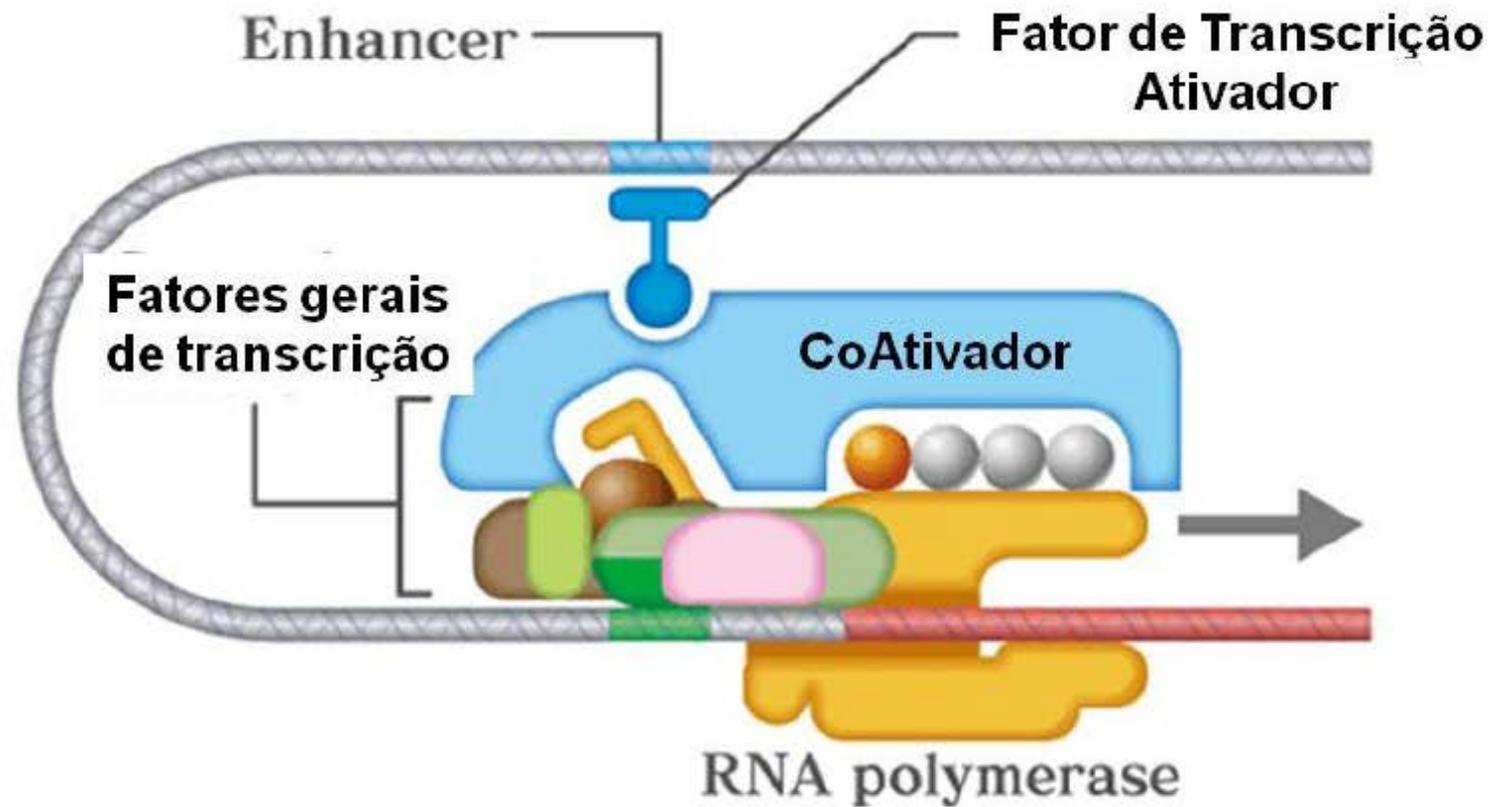
Fatores gerais de transcrição + RNA Polimerase = **Complexo Basal de Transcrição**

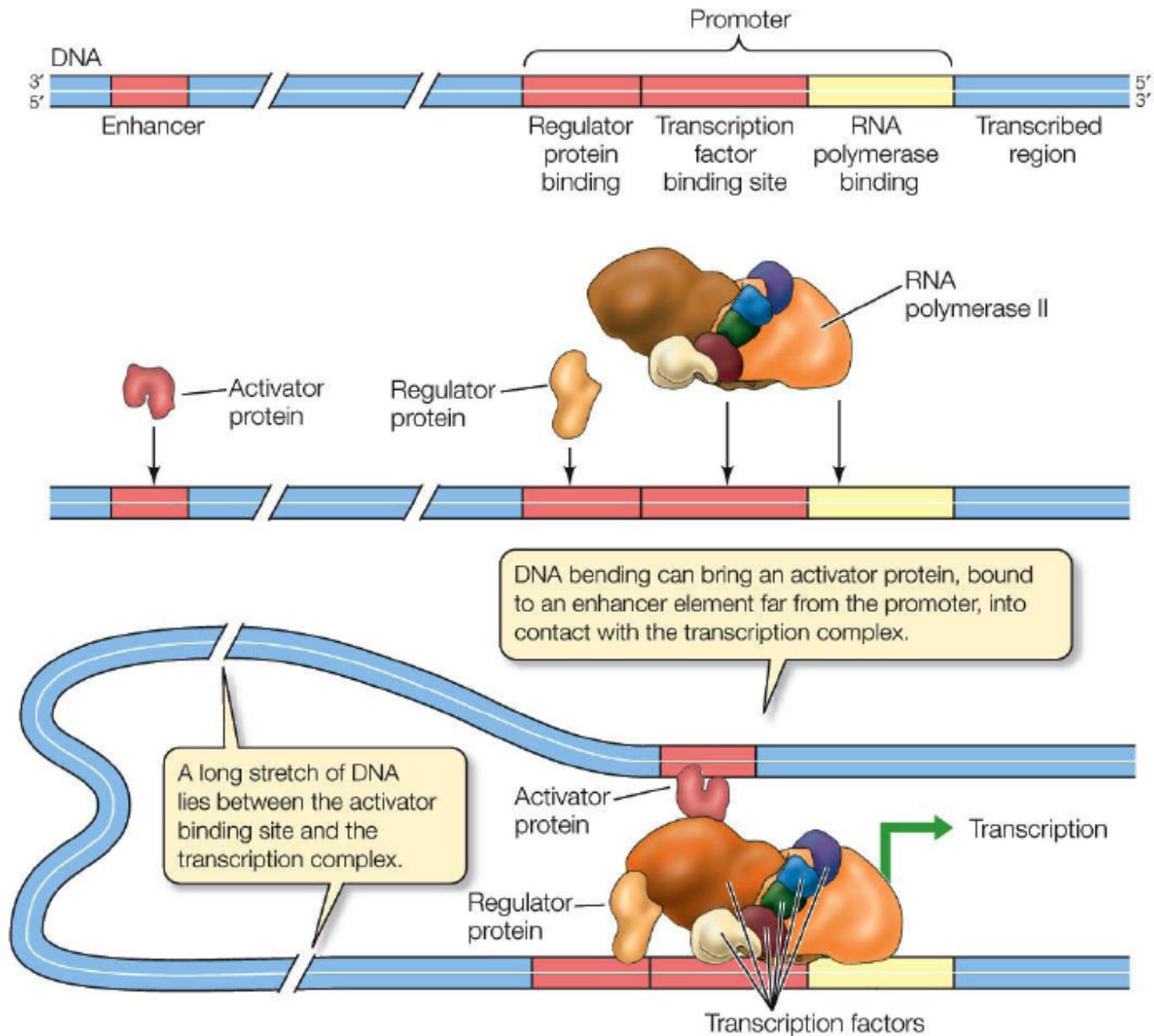


O **complexo basal de transcrição** sofre regulação de **fatores de transcrição** específicos que se ligam a regiões ativadoras (“enhancers”) e interagem através de **proteínas co-ativadoras**



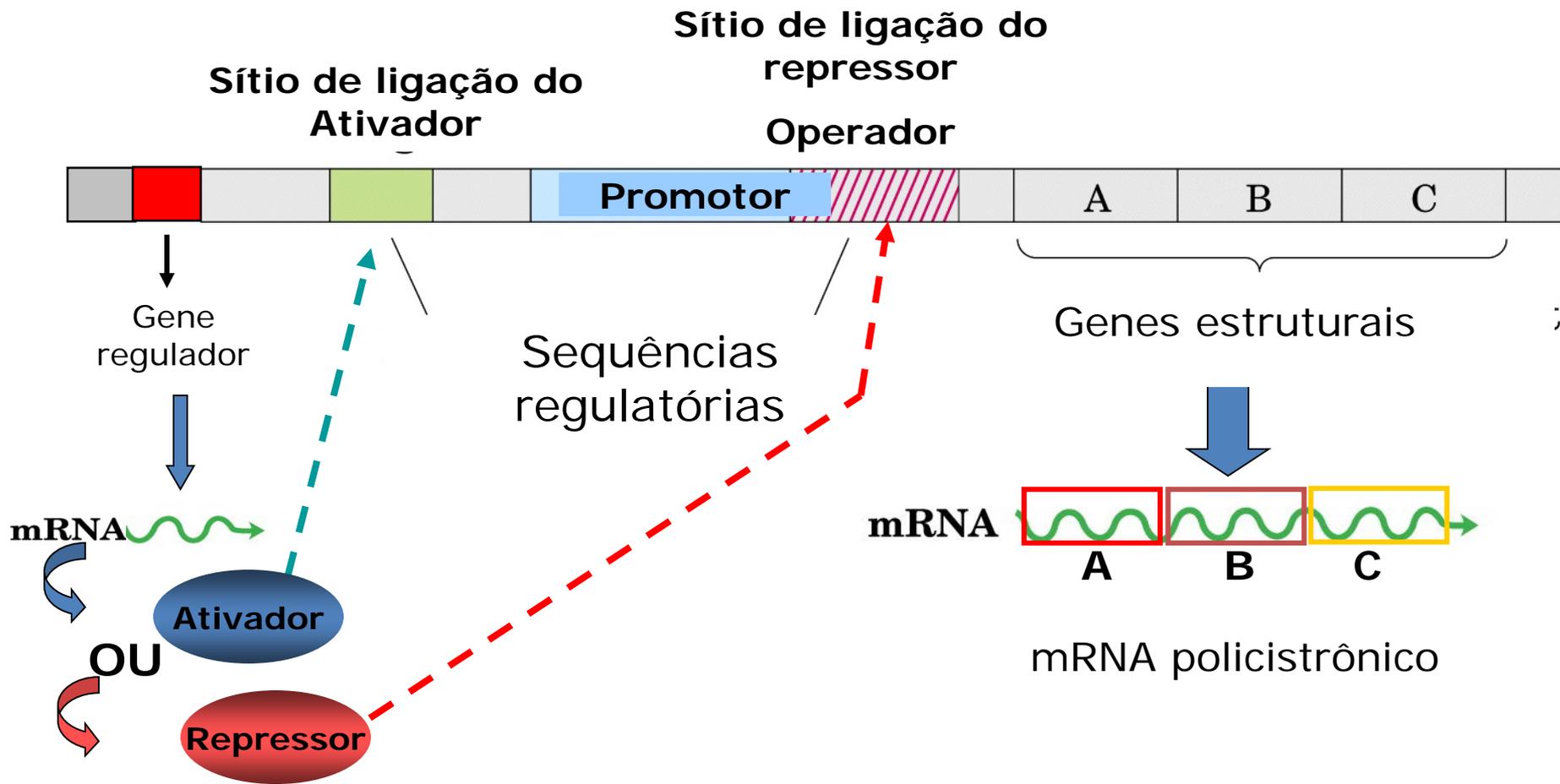
Ativação do complexo basal de transcrição por elementos regulatórios ativadores





LIFE 8e, Figure 14.14

As bactérias tem um mecanismo simples de coordenar a expressão de genes que estão relacionados: estes genes estão organizados em uma unidade transcricional chamada operon



Transcritoma

Conjunto de todas as moléculas de RNA (transcritos) em uma célula, tecido ou organismo em uma dada condição fisiológica ou patológica

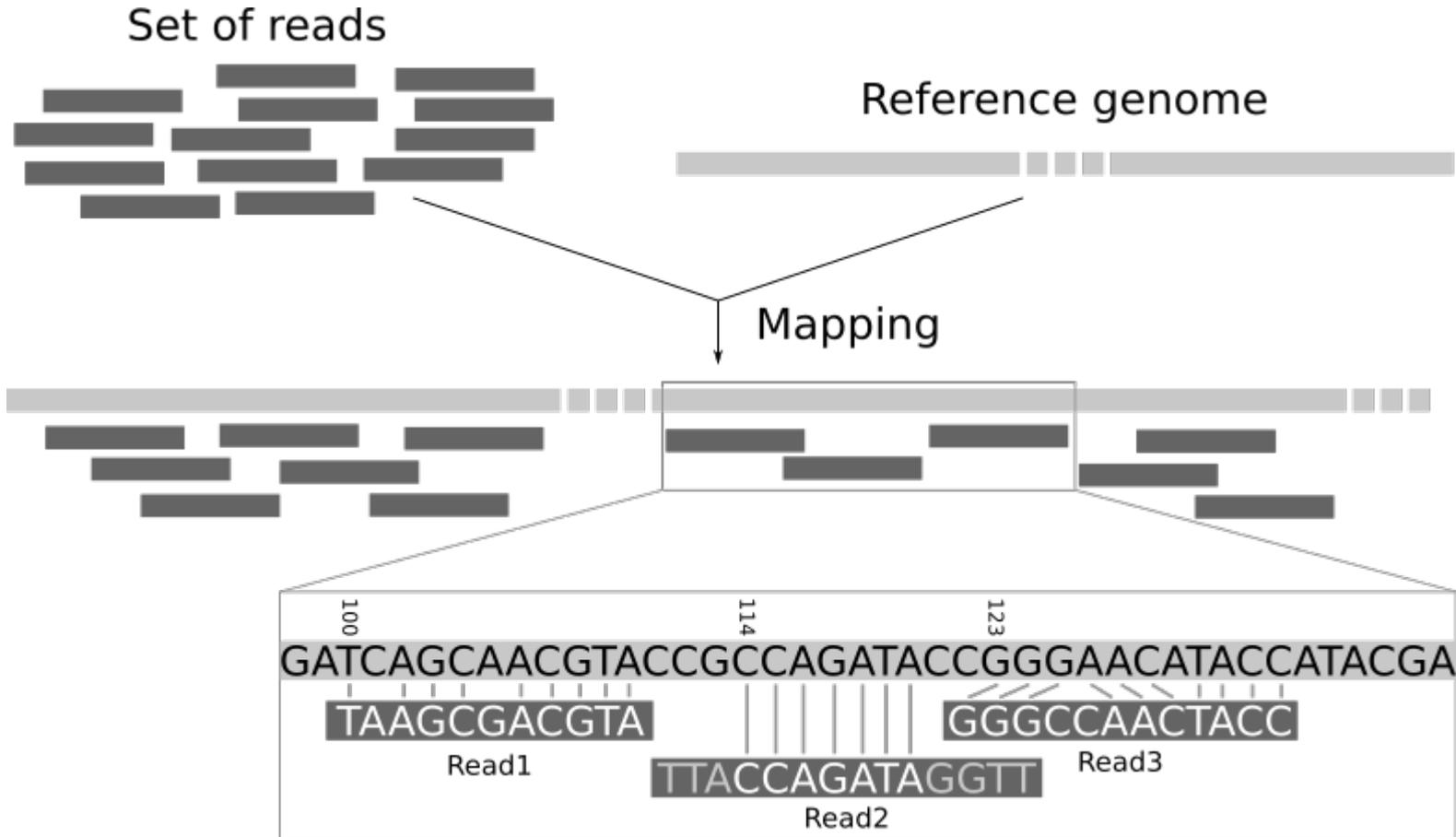
Como se obtém um transcriptoma

- Por **sequenciamento** (RNA-seq)
- Num experimento, extrai-se **todo o RNA** do pool de células
- Faz-se um **enriquecimento** para RNAs que **não sejam ribossomais**
 - os RNA ribossomais não participam do processo de expressão
 - Estamos interessados nos mRNA, ncRNA (non coding) e outros tipos de RNA não ribossomais
- Usa-se **transcrição reversa** para gerar **cDNA**
- O cDNA é sequenciado

Os dados precisam ser processados computacionalmente

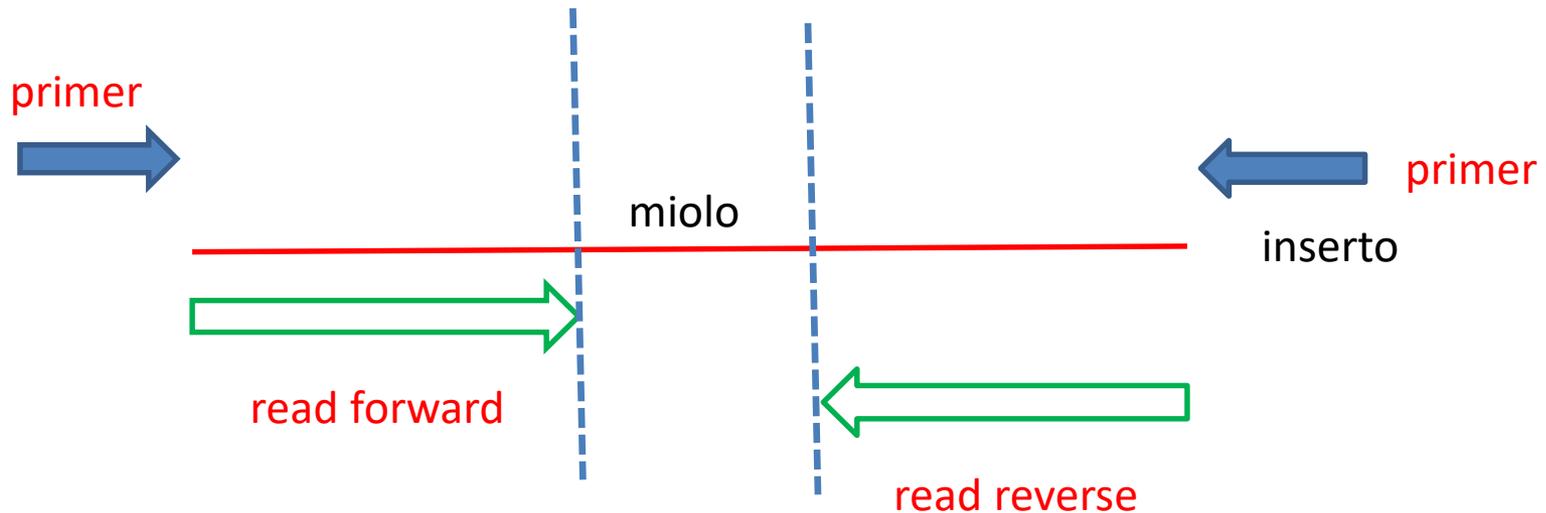
- Máquinas sequenciadoras nos fornecem em geral milhões de *reads*
 - um read é um fragmento de cDNA
 - o tamanho do read depende da tecnologia de sequenciamento
 - no caso de Illumina, costumam ter entre 150 e 400 bp
- obtidos os reads, estes devem ser mapeados no genoma do organismo de interesse (se existir)

Mapeamento no genoma



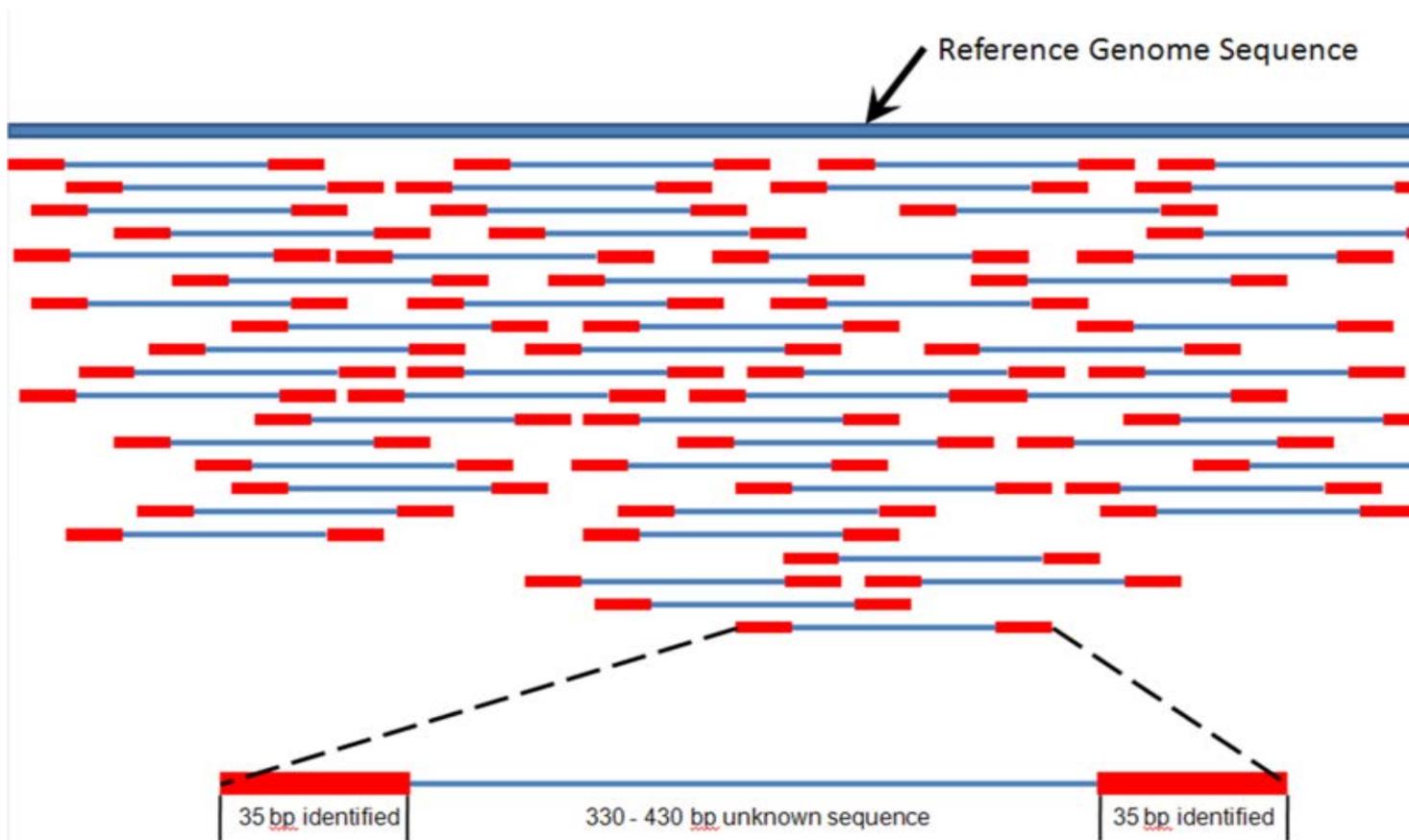
Reads pareados ou paired-end reads

- Os reads podem ser **paired-end** ou **single-end**



Nesta ilustração, temos paired-end, e o “miolo” do inserto não é sequenciado

Mapeamento com reads pareados

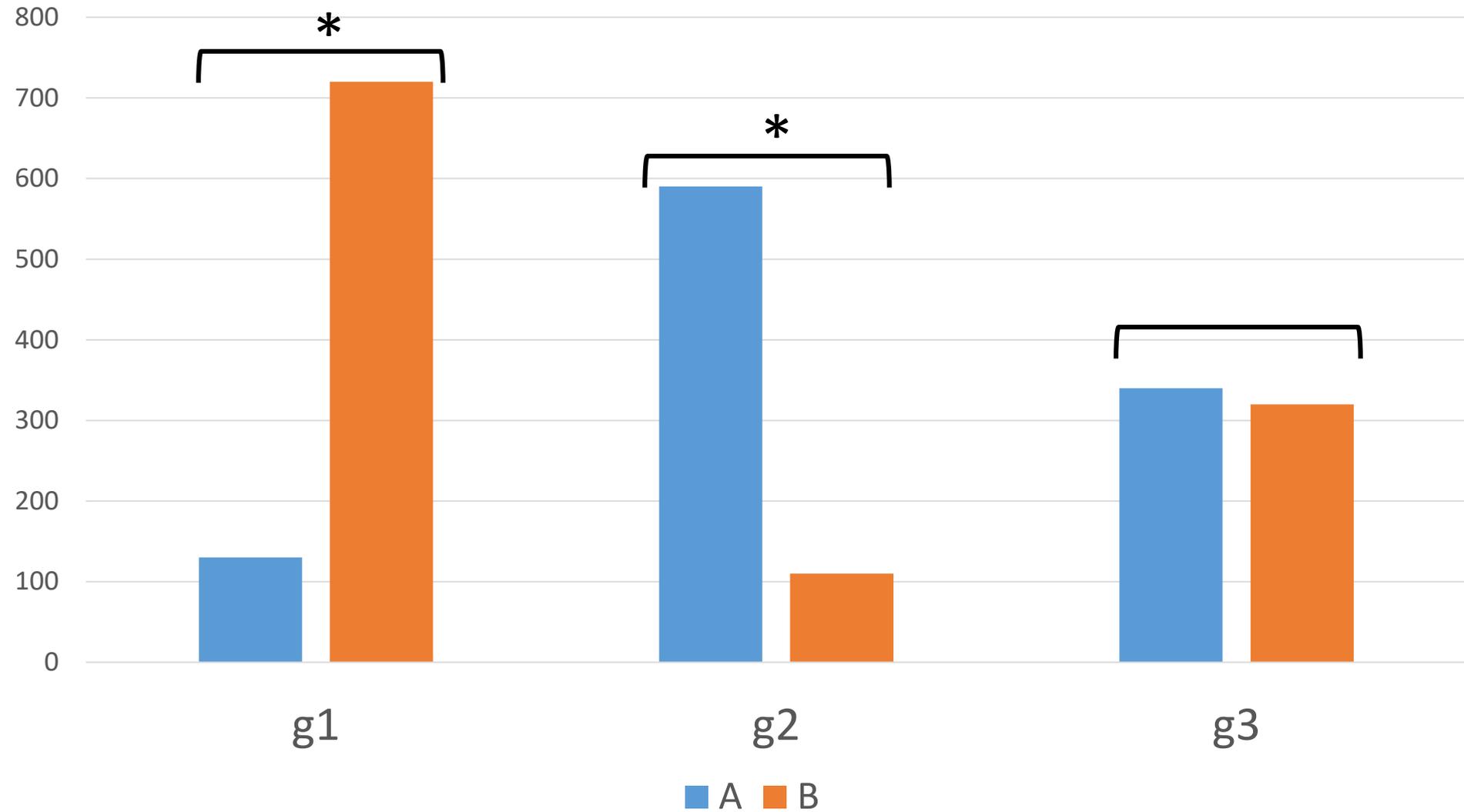


- Usa-se **quantidade de reads** para inferir **abundância de transcritos**
 - **Quantificação da expressão**
- Após essa quantificação, diversos processamentos podem ser feitos
- Principal: **expressão diferencial**

Expressão diferencial de genes

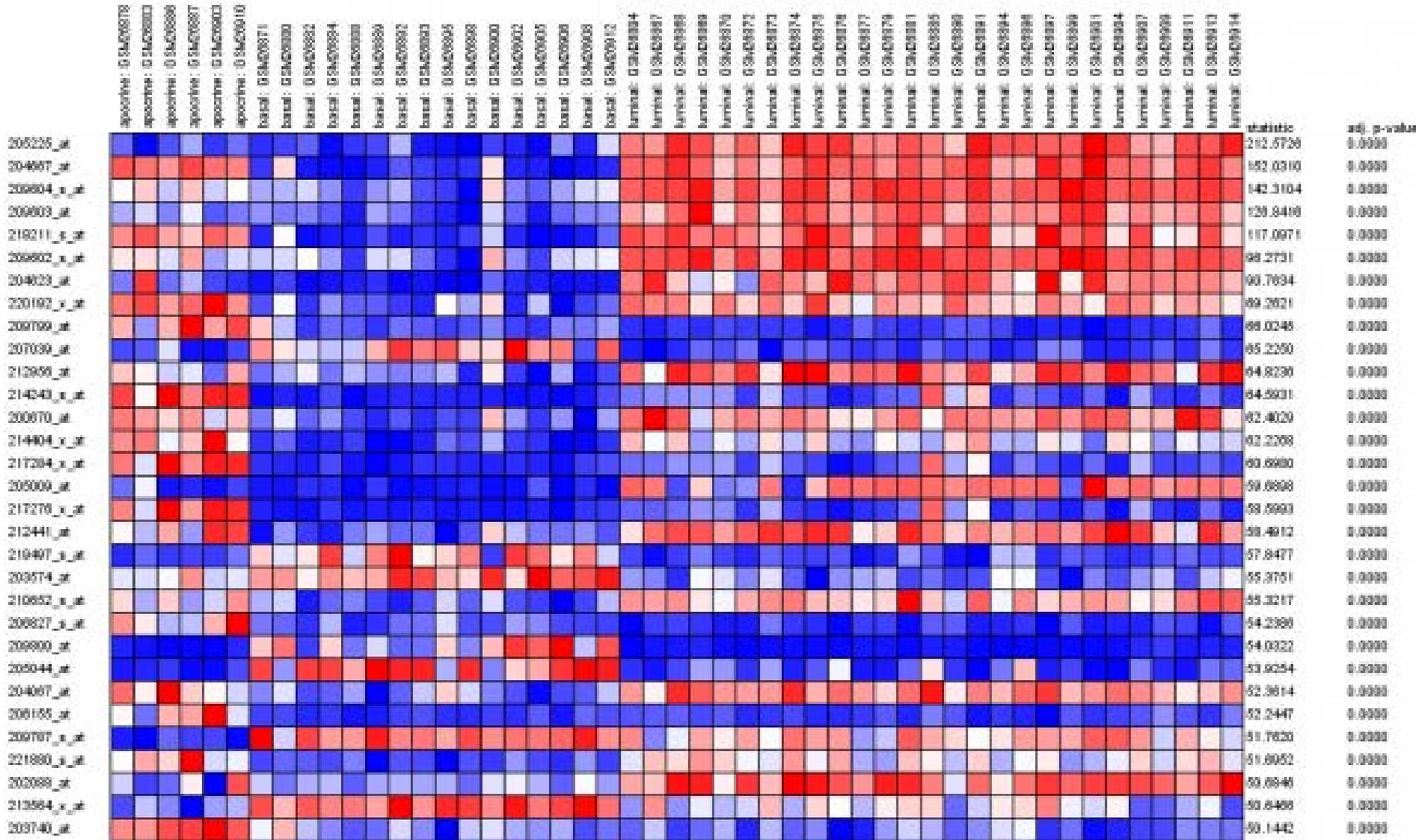
- **Design experimental**
 - comparação da condição X com condição Y (Y pode ser um controle)
- Queremos saber quais genes são **mais (ou menos) expressos** em X quando comparado com Y
- X poderia ser um tumor
- Y poderia ser um tecido normal (do mesmo órgão)
- Fazendo isso, obtemos pistas sobre quais genes estão ativados (ou reprimidos) na condição X em relação a Y

Expressão diferencial de genes em condições A e B



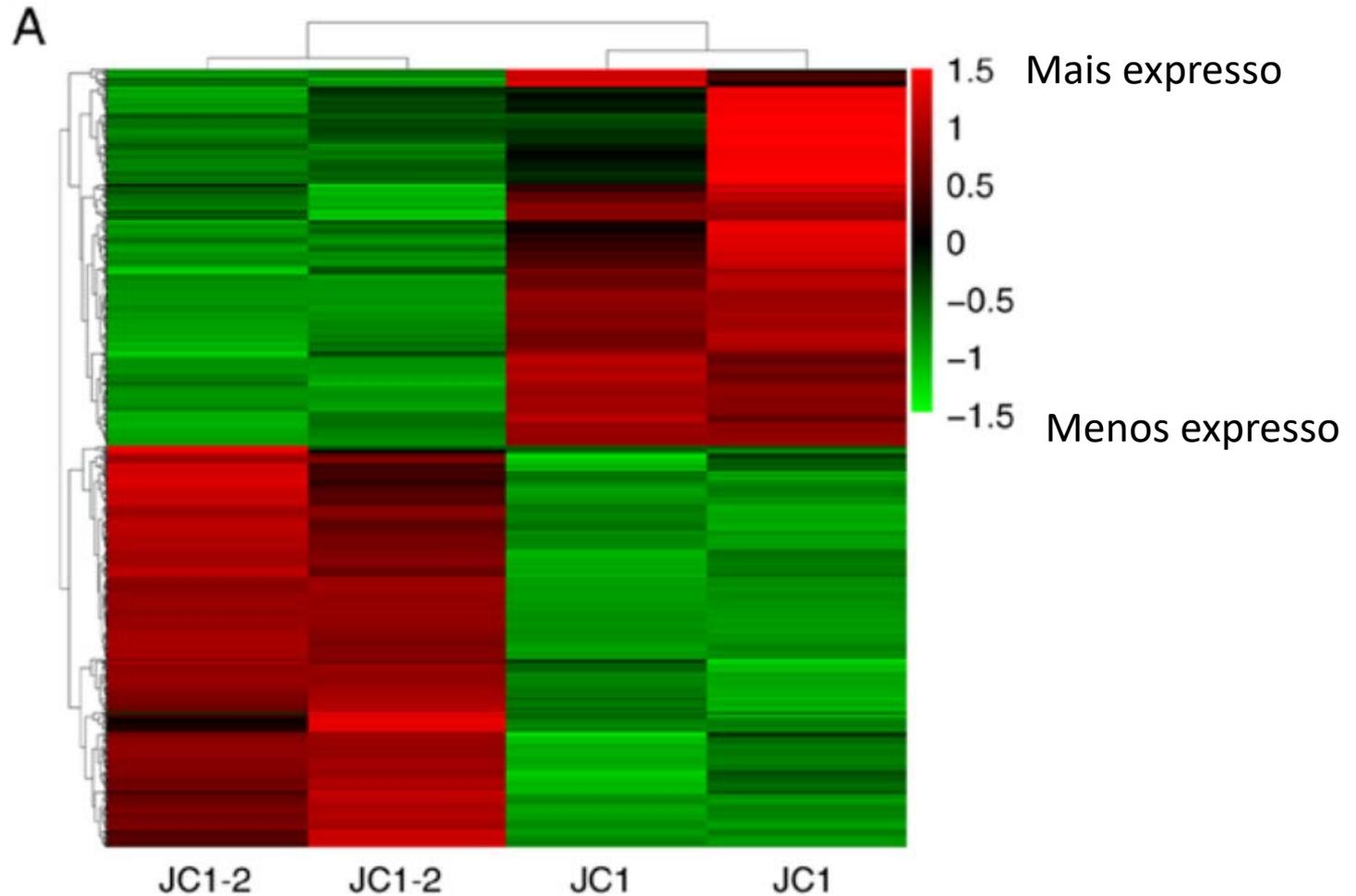
eixo Y: quantificação normalizada da expressão; * = estatisticamente significativo

Mapa de calor (heatmap)



cancer em camundongos

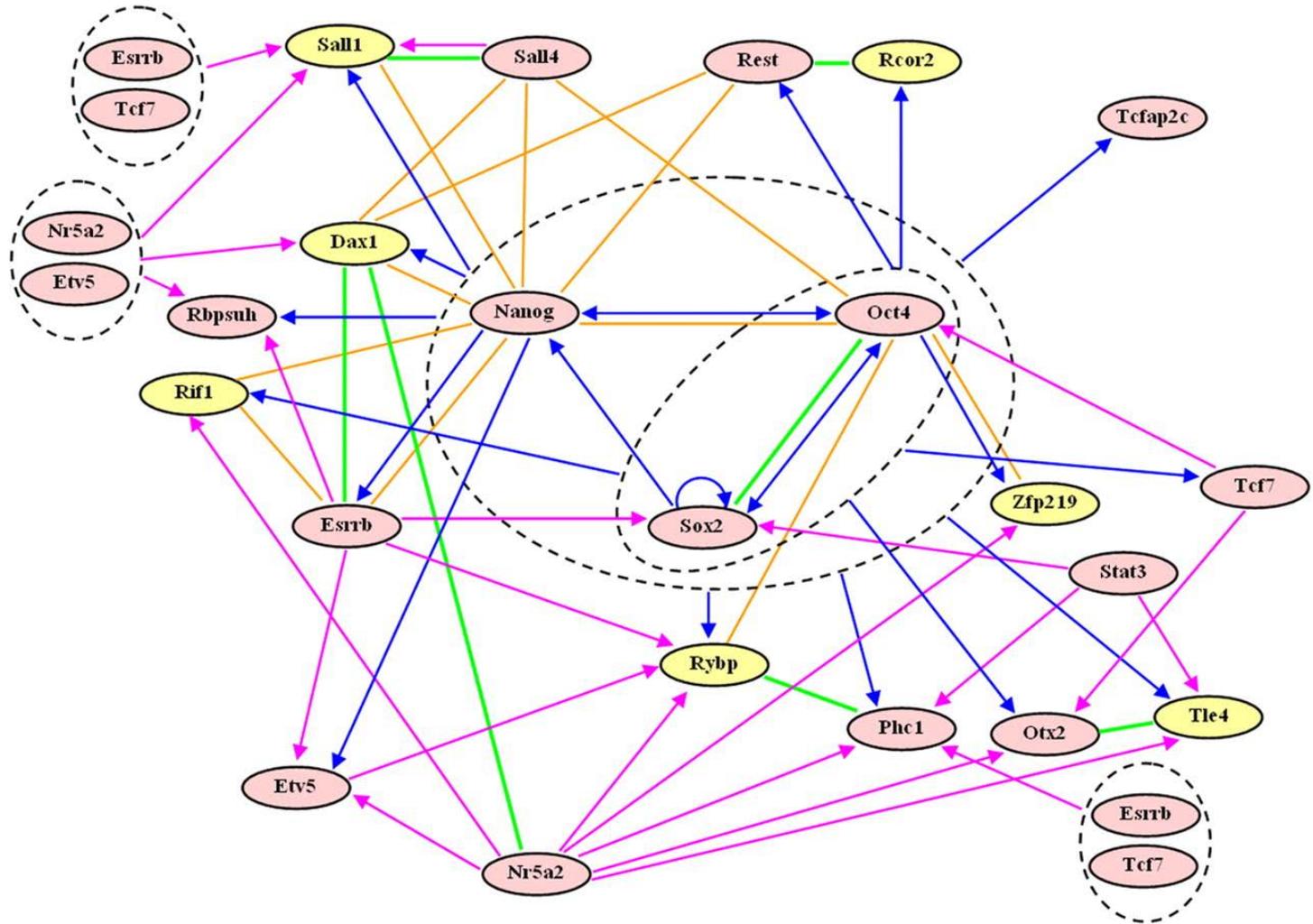
JC1 é a célula normal e JC1-2 é a célula com tumor



Chave para mapa de calor

- Um mapa de calor é uma tabela ou matriz
- nas **colunas** geralmente temos amostras ou pacientes
- nas **linhas** geralmente temos genes
- uma célula da matriz tem um valor; esse é o valor da **expressão** do gene (linha) em relação a uma referência, naquela amostra ou naquele paciente (coluna)
- a referência pode ser a média dos valores de expressão de todos os genes
- valor positivo significa **mais expresso (em geral denotado por vermelho)** do que a media
- valor negativo significa **menos expresso (em geral denotado por azul ou verde)** do que a media
- se um grupo de genes se comporta da mesma forma (por exemplo, eles todos estão relativamente **mais** expressos), é razoável pensar que esse grupo faz parte de algum mecanismo do fenômeno celular que está sendo estudado. Isto permite criar **redes de co-expressão**
- Se adicionamos informação sobre quais genes regulam quais outros genes, obteremos **redes de regulação**

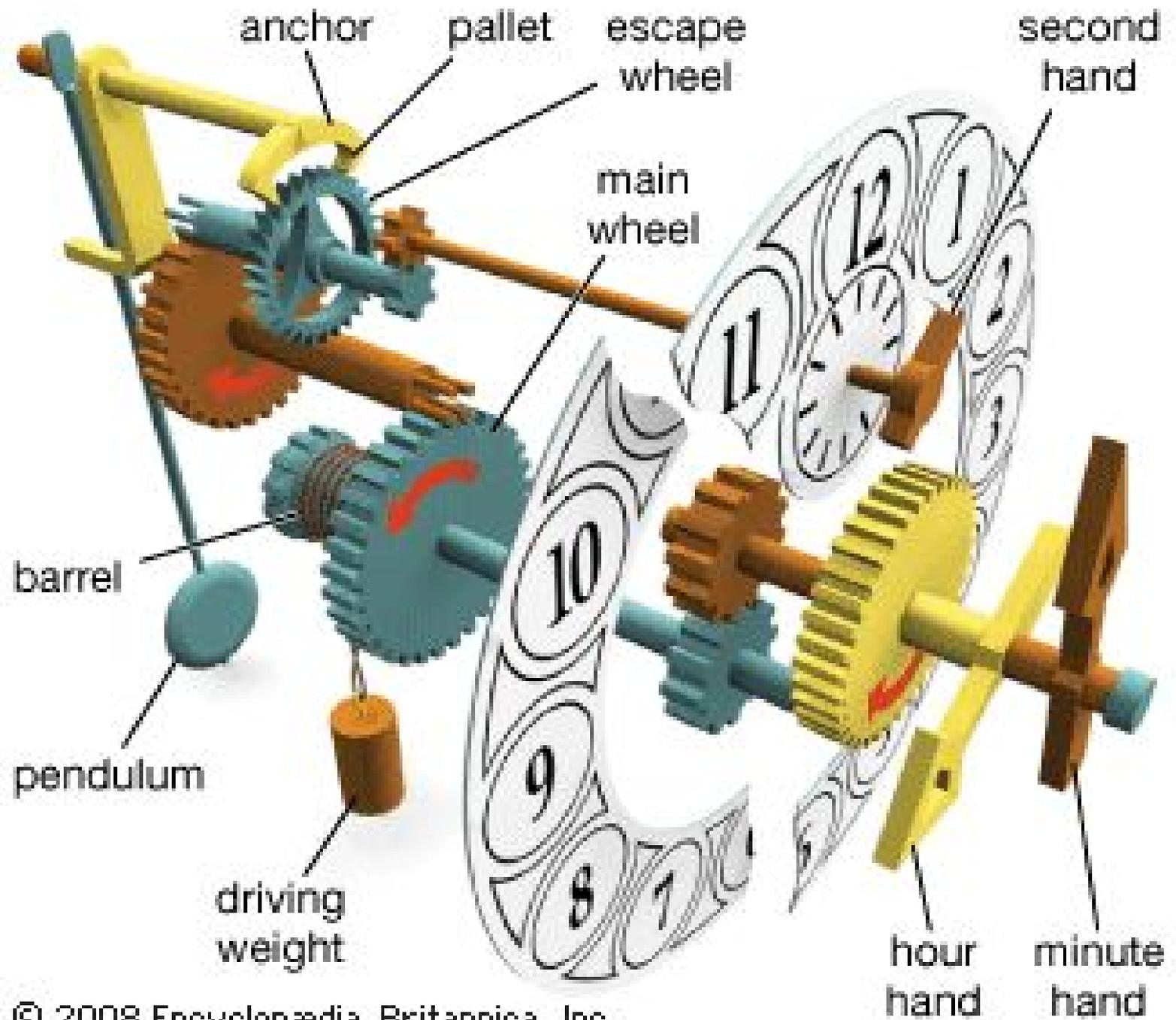
A regulatory network in mouse ESC anchored on the master regulators Oct4, Sox2, and Nanog.



Zhou Q et al. PNAS 2007;104:16438-16443

Uma rede de regulação

- pode ser entendida como um mapa do mecanismo de funcionamento da célula para um determinado fenômeno de interesse
- Ao estudar biologia celular por meio de RNA-seq, estamos tentando decifrar esse mecanismo – há uma analogia com entender como funciona por exemplo um relógio



redes gênicas podem ser complexas

