

VIDA

A Ciência da Biologia

Volume I: Célula e Hereditariedade



SADAVA · HELLER · ORIANS · PURVES · HILLIS



8ª Edição

Equipe de Tradução

Carla Denise Bonan (caps. 1-3)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS. Professora adjunta do Departamento de Biologia Celular e Molecular da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Carlos Alexandre Sanchez Ferreira (caps. 11-12)

Mestre em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS. Doutor em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS. Professor adjunto e diretor da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Cláudia Calegare Marques (caps. 34-39)

Mestre em Ecologia pela UnB. Doutora em Biologia Animal pela UFRGS. Professora substituta do Departamento de Zoologia da UFRGS.

Débora Vom Endt (caps. 26-28)

Mestre em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS. Doutora em Biologia Molecular Vegetal pela Universidade de Leiden, Holanda. Professora da UERGS.

Elke Bromberg (caps. 54-55)

Mestre em Ciências: Fisiologia Geral pela USP. Doutora em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Gaby Renard (caps. 9, 14, 16, glossário)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS.

Guendalina Turcato Oliveira (cap. 57)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Isabel Cristina da Costa Rossi (cap. 47)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Isabel Cristina Ribas Werlang (iniciais, caps. 10, 29, 33, apêndices, respostas às questões, créditos, índice)

Mestre e Doutoranda em Biologia Celular e Molecular pela UFRGS.

Jacqueline Moraes Cardone (caps. 13, 30-32)

Mestre e Doutora em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS. Pós-doutoranda no Centro de Biotecnologia da UFRGS.

José Artur Bogo Chies (caps. 4-5, 18)

Mestre em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS. Doutor em Sciences de La Vie Spécialité en Immunologie - Université de Paris VI (Pierre et Marie Curie). Professor associado do Departamento de Genética da UFRGS.

Léder Leal Xavier (caps. 46, 50)

Mestre em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Doutor em Bioquímica pela UFRGS. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Marilene Porawski Garrido (caps. 48-49)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Fisiologia pela UFRGS. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Monica Ryff Moreira Roca Vianna (caps. 51-52)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS. Pós-doutorado no Montreal Neurological Institute, Canadá. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Nadja Schroder (caps. 53, 56)

Mestre e Doutora em Bioquímica pela UFRGS. Pós-Doutora em Neurobiologia pela Universidade da Califórnia, Irvine, USA. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Nelson Jurandi Rosa Fagundes (caps. 21-23)

Pós-Graduado (Especialização *Lato Sensu*) em Bioinformática, LNCC. Mestre e Doutor em Genética e Biologia Molecular pela UFRGS. Pós-doutorando do Departamento de Genética da UFRGS.

Paulo Luiz de Oliveira (caps. 6-8, 40-45)

Biólogo. Doutor em Agronomia pela Universität Hohenheim, Stuttgart, República Federal da Alemanha. Professor titular aposentado do Departamento de Ecologia do Instituto de Biociências da UFRGS.

Rafael Guimarães da Silva (caps. 20, 24-25)

Mestre e Doutor em Bioquímica pela UFRGS. Pós-doutorando no Department of Biochemistry of the Albert Einstein College of Medicine, NYC.

Rui Fernando Felix Lopes (caps. 15, 17, 19)

Mestre em Ciências Veterinárias pela UFRGS. Doutor em Zootecnia pela UFRGS. Professor associado do Departamento de Ciências Morfológicas no Instituto de Ciências Básicas da Saúde da UFRGS.

David
SADAVA

The Claremont Colleges,
Claremont, California

H. Craig
HELLER

Stanford University,
Stanford, California

Gordon H.
ORIAN

Emeritus,
The University of Washington,
Seattle, Washington

William K.
PURVES

Emeritus,
Harvey Mudd College,
Claremont, California

David M.
HILLIS

University of Texas,
Austin, Texas

VIDA A Ciência da Biologia

Volume I: Célula e Hereditariedade

8ª Edição

Consultoria, supervisão e revisão técnica desta edição:

Gaby Renard (caps. 1-5, 9-25)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS.

Giancarlo Pasquali (caps. 26-32)

Especialista em Biotecnologia Moderna pelo Centro de Biotecnologia da UFRGS.

Doutor em Biologia Molecular Vegetal pela Universidade de Leiden, Holanda.

Professor adjunto do Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia do Instituto de Biociências da UFRGS.

Pesquisador do Centro de Biotecnologia da UFRGS.

Júlio César Bicca-Marques (caps. 34-39)

Mestre em Ecologia pela UNB. PhD em Antropologia Biológica pela University of Illinois at Urbana-Champaign, EUA.

Professor titular da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Monica Ryff Moreira Roca Vianna (caps. 46-57)

Mestre e Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica pela UFRGS.

Pós-doutorado no Montreal Neurological Institute, Canadá. Professora adjunta da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Paulo Luiz de Oliveira (caps. 6-8, 40-45)

Biólogo. Doutor em Agronomia pela Universität Hohenheim, Stuttgart, República Federal da Alemanha.

Professor titular aposentado do Departamento de Ecologia do Instituto de Biociências da UFRGS.

Rafael Guimarães da Silva (caps. 1-5, 9-25)

Mestre e Doutor em Bioquímica pela UFRGS.

Pós-doutorando no Department of Biochemistry of the Albert Einstein College of Medicine, NYC.

Roberto Esser dos Reis (cap. 33)

Doutor em Zoologia pela USP. Pós-Doutor pela University of Michigan.

Professor titular da Faculdade de Biociências da PUCRS.

Versão impressa
desta obra: 2009



2009

Obra originalmente publicada sob o título *Life: The Science of Biology*, 8th Edition
ISBN 978-0-7167-7876-9

First published in the United States by Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
Originalmente publicado nos Estados Unidos por Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.
Copyright © 2008 by Sinauer Associates, Inc. All Rights Reserved. Todos os direitos reservados.

Capa: *Mário Röhmelt*

Preparação de original: *Tiago Cargini*

Leitura final: *Henrique de Oliveira Guerra*

Supervisão editorial: *Leticia Bispo de Lima*

Editoração eletrônica: *Techbooks*



V648 Vida [recurso eletrônico] : a ciência da biologia / David Sadava ...
[et al.] ; tradução Carla Denise Bonan ... [et al.] – 8. ed. –
Dados eletrônicos. – Porto Alegre : Artmed, 2009.
v. 1. Célula e hereditariedade

Editado também como livro impresso em 2009.
ISBN 978-85-363-2050-2

1. Biologia. 2. Citologia. 3. Hereditariedade. 4. Ecologia. 5.
Genética. 6. Botânica. 7. Evolução. I. Sadava, David.

CDU 573

Catálogo na publicação: Renata de Souza Borges CRB-10/1922

Reservados todos os direitos de publicação, em língua portuguesa, à
ARTMED® EDITORA S.A.
Av. Jerônimo de Ornelas, 670 - Santana
90040-340 Porto Alegre RS
Fone (51) 3027-7000 Fax (51) 3027-7070

É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte,
sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação,
fotocópia, distribuição na Web e outros), sem permissão expressa da Editora.

SÃO PAULO
Av. Angélica, 1091 - Higienópolis
01227-100 São Paulo SP
Fone (11) 3665-1100 Fax (11) 3667-1333

SAC 0800 703-3444

IMPRESSO NO BRASIL
PRINTED IN BRAZIL

Sobre os Autores



Craig Heller

Gordon Orians

Bill Purves

David Sadava

David Hillis

David Sadava é professor de Biologia da Pritzker Family Foundation no Keck Science Center de Claremont McKenna, Pitzer e Scripps, três das Faculdades de Claremont. Duas vezes ganhador do prêmio Huntoon, por distinguir-se como professor, Dr. Sadava tem ministrado cursos de introdução à biologia, biotecnologia, bioquímica, biologia celular, biologia molecular, biologia vegetal e biologia do câncer. Ele é pesquisador visitante em oncologia médica no City of Hope Medical Center. Dr. Sadava é autor/coautor de cinco livros-texto em biologia celular e biologia vegetal, genes e biotecnologia para agricultura. Sua pesquisa resultou em mais de 50 artigos, muitos dos quais têm como coautores alunos de graduação, em tópicos que vão desde a bioquímica vegetal à farmacologia de analgésicos narcóticos e doenças genéticas humanas. Durante os últimos 15 anos, Dr. Sadava e colaboradores têm investigado a resistência a múltiplas drogas em células de carcinoma de pulmão de pequenas células com a finalidade de compreender e reverter esse desafio clínico. Seus trabalhos atuais estão voltados para novos agentes anticâncer provenientes de plantas.

Craig Heller é Lorry I. Lokey/Business Wire Professor de Ciências Biológicas e Biologia Humana na Universidade de Stanford. Obteve seu Ph.D. no Departamento de Biologia da Universidade de Yale em 1970. Dr. Heller ministra aulas em cursos de biologia em Stanford desde 1972, foi Diretor do Programa em Biologia Humana, coordenador do Departamento de Ciências Biológicas e pesquisador associado. É membro da Associação Americana para o Progresso da Ciência e coordenador do prêmio Walter J. Gores de excelência em ensino. Sua pesquisa está focada na neurobiologia do sono e ritmos circadianos, hibernação de mamíferos, regulação da temperatura corporal e fisiologia da atividade física humana. Tem realizado pesquisas sobre o sono de cangurus, focas e ursos em hibernação, bem como sobre atletas em exercício. Um de seus recentes estudos sobre os efeitos da temperatura na atividade física humana está descrito no início do Capítulo 46.

Gordon Orians é professor emérito de Biologia da Universidade de Washington. Obteve seu Ph.D. na Universidade da Califórnia, Berkeley, em 1960, sob a orientação de Frank Pitelka. Dr. Orians foi eleito para a Academia Nacional de Ciências e para a Academia Americana de Artes e Ciências, e é membro externo da Academia Real de Artes e Ciências da Holanda. Foi Presidente da Organização para Estudos Tropicais, 1988-1994, e Presidente da Sociedade Ecológica da Amé-

rica, 1995-1996. Dr. Orians foi contemplado com o Prêmio Distinção por Serviços Prestados do Instituto Americano de Ciências Biológicas. Autoridade em ecologia, biologia da conservação e evolução, sua pesquisa em ecologia comportamental, interações planta-herbívoros, estrutura de comunidades e política ambiental tem proporcionado que viaje pelos seis continentes. Agora, Dr. Orians dedica seu tempo para escrever e se envolver em atividades relacionadas a políticas ambientais.

Bill Purves é professor emérito de Biologia, fundador e coordenador do Departamento de Biologia no Harvey Mudd College em Claremont, Califórnia. Obteve seu Ph.D. na Universidade de Yale em 1959, sob a orientação de Arthur Galston. Membro da Associação Americana para o Progresso da Ciência, Dr. Purves tem atuado como líder do Grupo de Ciências da Vida na Universidade de Connecticut, Storrs, e como coordenador do Departamento de Ciências Biológicas, Universidade da Califórnia, Santa Bárbara, onde foi agraciado com o Prêmio Harold J. Plous por excelência em ensino. Seu interesse em pesquisa sempre esteve focalizado na regulação hormonal do crescimento de plantas. Ele aposentou-se prematuramente em 1995, após lecionar introdução à biologia durante 34 anos consecutivos, com o objetivo de concentrar seus esforços na pesquisa direcionada em aprendizagem e educação da ciência. Atualmente, Dr. Purves participa do desenvolvimento de uma escola técnica virtual, com a responsabilidade de desenvolver um currículo baseado em raciocínio científico e ciências da saúde.

David Hillis é Centennial Professor da Alfred W. Roark em Biologia Integrativa e Diretor do Centro para Biologia Computacional e Bioinformática da Universidade do Texas em Austin, onde também coordena a Escola de Ciências Biológicas. Dr. Hillis ministra cursos de introdução à biologia, genética, evolução, sistemática e biodiversidade. Foi eleito membro da Academia Americana de Artes e Ciências, agraciado com o prêmio John D. and Catherine T. MacArthur e tem atuado como Presidente da Sociedade para o Estudo da Evolução e da Sociedade de Biólogos Sistemáticos. Seus interesses em pesquisa contemplam muito da biologia da evolução, incluindo estudos experimentais de vírus em desenvolvimento, estudos empíricos da evolução molecular natural, aplicações de filogenética, análise de biodiversidade e modelagem da evolução. Dr. Hillis está particularmente interessado em ensinar e pesquisar as aplicações práticas da biologia da evolução.

*Aos nossos estudantes, em especial aos mais de 30.000 para quem,
coletivamente, ensinamos introdução à biologia.*

Revisores da 8ª Edição

Revisores entre as edições (Ecologia e parte sobre animais)

May Berenbaum, University of Illinois,
Urbana-Champaign
Carol Boggs, Stanford University
Judie Bronstein, University of Arizona
F. Lynn Carpenter, University of California,
Irvine
Dan Doak, University of California, Santa
Cruz
Jessica Gurevitch, SUNY, Stony Brook
Margaret Palmer, University of Maryland
Marty Shankland, University of Texas, Austin

Membros do Comitê de Aconselhamento

Heather Addy, University of Calgary
Art Buikema, Virginia Polytechnic Institute
and State University
Jung Choi, Georgia Technical University
Rolf Christoffersen, University of California,
Santa Barbara
Alison Cleveland, Florida Southern
University
Mark Decker, University of Minnesota
Ernie Dubrul, University of Toledo
Richard Hallick, University of Arizona
John Merrill, Michigan State University
Melissa Michael, University of Illinois
Deb Pires, University of California, Los
Angeles
Sharon Rogers, University of Nevada, Las
Vegas
Marty Shankland, University of Texas, Austin

Revisores dos originais

John Alcock, Arizona State University
Charles Baer, University of Florida
Amy Baird, University of Texas, Austin
Patrice Boily, University of New Orleans
Thomas Boyle, University of Massachusetts,
Amherst
Mirjana Brockett, Georgia Institute of
Technology
Arthur Buikema, Virginia Polytechnic
Institute and State University
Hilary Callahan, Barnard College
David Champlin, University of Southern
Maine
Chris Chanway, University of British
Columbia
Mike Chao, California State University, San
Bernardino
Rhonda Clark, University of Calgary

Elizabeth Connor, University of
Massachusetts, Amherst
Deborah A. Cook, Clark Atlanta University
Elizabeth A. Cowles, Eastern Connecticut
State University
Joseph R. Cowles, Virginia Polytechnic
Institute and State University
William L. Crepet, Cornell University
Martin Crozier, Wayne State University
Donald Dearborn, Bucknell University
Mark Decker, University of Minnesota
Michael Denbow, Virginia Polytechnic
Institute and State University
Jean DeSaix, University of North Carolina,
Chapel Hill
William Eldred, Boston University
Andy Ellington, University of Texas, Austin
Gordon L. Fain, University of California, Los
Angeles
Kevin M. Folta, University of Florida
Stu Feinstein, University of California, Santa
Barbara
Miriam Goldbert, College of the Canyons
Kenneth M. Halanych, Auburn University
Susan Han, University of Massachusetts,
Amherst
Tracy Heath, University of Texas, Austin
Shannon Hedtke, University of Texas, Austin
Mark Hens, University of North Carolina,
Greensboro
Albert Herrera, University of Southern
California
Barbara Hetrich, University of Northern
Iowa
Ere Hillis, University of California, Berkeley
Jonathan Hillis, Austin, Texas
Hopi Hoekstra, University of California, San
Diego
Kelly Hogan, University of North Carolina,
Chapel Hill
Carl Hopkins, Cornell University
Andrew Jarosz, Michigan State University
Norman Johnson, University of
Massachusetts, Amherst
Walter Judd, University of Florida
David Julian, University of Florida
Laura Katz, Smith College
Melissa Kosinski-Collins, Massachusetts
Institute of Technology
William Kroll, Loyola University of Chicago
Marc Kubasak, University of California Los
Angeles
Josephine Kurdziel, University of Michigan
John Latto, University of California, Berkeley
Brian Leander, University of British
Columbia
Jennifer Leavey, Georgia Institute of
Technology,

Arne Lekven, Texas A&M University
Don Levin, University of Texas, Austin
Rachel Levin, Amherst College
Thomas Lonergan, University of New
Orleans
Blase Maffia, University of Miami
Meredith Mahoney, University of Texas,
Austin
Charles Mallery, University of Miami
Ron Markle, Northern Arizona University
Mike Meighan, University of California,
Berkeley
Melissa Michael, University of Illinois,
Urbana-Champaign
Jill Miller, Amherst College
Subhash Minocha, University of New
Hampshire
Thomas W. Moon, University of Ottawa
Richard Moore, Miami University of Ohio
John Morrissey, Hofstra University
Leonie Moyle, University of Indiana
Mary Anne Nelson, University of New
Mexico
Dennis O'Connor, University of Maryland,
College Park
Robert Osuna, SUNY, Albany
Cynthia Paszkowski, University of Alberta
Diane Pataki, University of California, Irvine
Ron Patterson, Michigan State University
Craig Peebles, University of Pittsburgh
Debra Pires, University of California, Los
Angeles
Greg Podgorski, Utah State University
Chuck Polson, Florida Institute of
Technology
Donald Potts, University of California, Santa
Cruz
Jill Raymond, Rock Valley College
Ken Robinson, Purdue University
Sharon L. Rogers, University of Nevada, Las
Vegas
Laura Romano, Denison University
Pete Ruben, Utah State University, Logan
Albert Ruesink, Indiana University
Walter Sakai, Santa Monica College
Mary Alice Schaeffer, Virginia Polytechnic
Institute and State University
Daniel Scheirer, Northeastern University
Stylianios Scordilis, Smith College
Kevin Scott, University of Calgary
Jim Shinkle, Trinity University
Denise Signorelli, Community College of
Southern Nevada
Thomas Silva, Cornell University
Jeffrey Tamplin, University of Northern Iowa
Steve Theg, University of California, Davis
Sharon Thoma, University of Wisconsin,
Madison

Jeff Thomas, University of California, Los Angeles
 Christopher Todd, University of Saskatchewan
 John True, SUNY, Stony Brook
 Mary Tyler, University of Maine
 Fred Wasserman, Boston University
 John Weishampel, University of Central Florida
 Elizabeth Willott, University of Arizona
 David Wilson, University of Miami
 Heather Wilson-Ashworth, Utah Valley State College

Revisores de acuidade

John Alcock, Arizona State University
 John Anderson, University of Minnesota
 Brian Bagatto, University of Akron
 Lisa Baird, University of San Diego
 May Berenbaum, University of Illinois, Urbana-Champaign
 Gerald Bergtrom, University of Wisconsin, Milwaukee
 Stewart Berlocher, University of Illinois, Urbana-Champaign
 Mary Bisson, SUNY, Buffalo
 Arnold Bloom, University of California, Davis
 Judie Bronstein, University of Arizona
 Jorge Busciglio, University of California, Irvine
 Steve Carr, Memorial University of Newfoundland
 Thomas Chen, Santa Monica College
 Randy Cohen, California State University, Northridge
 Reid Compton, University of Maryland, College Park
 James Courtright, Marquette University
 Jerry Coyne, University of Chicago
 Joel Cracraft, American Museum of Natural History
 Joseph Crivello, University of Connecticut, Storrs
 Gerrit De Boer, University of Kansas, Lawrence
 Arturo DeLozanne, University of Texas, Austin
 Stephen Devoto, Wesleyan University
 Laura DiCaprio, Ohio University
 John Dighton, Rutgers Pinelands Field Station
 Jocelyne DiRuggiero, University of Maryland, College Park
 W. Ford Doolittle, Dalhousie University
 Emanuel Epstein, University of California, Davis
 Gordon L. Fain, University of California, Los Angeles

Lewis J. Feldman, University of California, Berkeley
 James Ferraro, Southern Illinois University
 Cole Gilbert, Cornell University
 Elizabeth Godrick, Boston University
 Martha Groom, University of Washington
 Kenneth M. Halanych, Auburn University
 Mike Hasegawa, Purdue University
 Mark Hens, University of North Carolina, Greensboro
 Richard Hill, Michigan State University
 Franz Hoffman, University of California, Irvine
 Sara Hoot, University of Wisconsin, Milwaukee
 Carl Hopkins, Cornell University
 Alfredo Huerta, Miami University
 Michael Ibbas, The Ohio State University
 Walter Judd, University of Florida
 Laura Katz, Smith College
 Manfred D. Laubichler, Arizona State University
 Brian Leander, University of British Columbia
 Mark V. Lomolino, SUNY College of Environmental Science and Forestry
 Jim Lorenzen, University of Idaho
 Denis Maxwell, University of Western Ontario
 Brad Mehrtens, University of Illinois, Urbana-Champaign
 John Merrill, Michigan State University
 Allison Miller, Saint Louis University
 Clara Moore, Franklin and Marshall College
 Julie Noor, Duke University
 Theresa O'Halloran, University of Texas, Austin
 Norman R. Pace, University of Colorado
 Randall Packer, George Washington University
 Walt Ream, Oregon State University
 Eric Richards, Washington University
 Steve Rissing, The Ohio State University
 R. Michael Roberts, University of Missouri, Columbia
 Pete Ruben, Simon Fraser University
 David A. Sanders, Purdue University
 Mike Shankland, University of Texas, Austin
 Jeff Silberman, University of Arkansas
 Margaret Silliker, DePaul University
 Dee Silverthorn, University of Texas, Austin
 M. Suzanne Simon-Westendorf, Ohio University
 Alastair G.B. Simpson, Dalhousie University
 John Skillman, California State University, San Bernardino
 Frederick W. Spiegel, University of Arkansas
 John J. Stachowicz, University of California, Davis
 Heven Sze, University of Maryland
 E.G. Robert Turgeon, Cornell University

Mary Tyler, University of Maine
 Mike Wade, Indiana University
 Leslie Winemiller, Texas A&M University
 Mimi Zolan, Indiana University

Revisores do apêndice “A Árvore da Vida”

John Abbott, University of Texas, Austin
 Joseph Bischoff, National Center for Biotechnology Information
 Ruth Buskirk, University of Texas, Austin
 David Cannatella, University of Texas
 Joel Cracraft, American Museum of Natural History
 Scott Federhen, National Center for Biotechnology Information
 Carol Hotton, National Center for Biotechnology Information
 Robert Jansen, University of Texas
 Brian Leander, University of British Columbia
 Detlef Leipe, National Center for Biotechnology Information
 Beryl Simpson, University of Texas, Austin
 Richard Stenberg, National Center for Biotechnology Information
 Edward Theriot, University of Texas
 Sean Turner, National Center for Biotechnology Information

Autores dos suplementos*

Dany Adams, The Forsyth Institute
 Erica Bergquist, Holyoke Community College
 Ian Craine, University of Toronto
 Ernest Dubrul, University of Toledo
 Edward Dzialowski, University of North Texas
 Donna Francis, University of Massachusetts, Amherst
 Jon Glase, Cornell University
 Lindsay Goodloe, Cornell University
 Celine Muis Griffin, Quinn's University
 Nancy Guild, University of Colorado at Boulder
 Norman Johnson, University of Massachusetts, Amherst
 Ames Knapp, Holyoke Community College
 Jennifer Knight, University of Colorado, Boulder
 David Kurjiaka, University of Arizona
 Richard McCarty, Johns Hopkins University
 Betty McGuire, Cornell University
 Nancy Murray, Evergreen State College
 Deb Pires, University of California
 Catherine Ueckert, Northern Arizona University
 Jerry Waldvogel, Clemson University

*Os suplementos originais não estão disponíveis para a edição em língua portuguesa. Consulte www.artmed.com.br (área do professor) para saber sobre os materiais complementares exclusivos desta edição.

Prefácio

Como cientistas atuantes, trabalhando com uma ampla variedade de biologia básica e aplicada, sentimos-nos afortunados por fazer parte de um campo que, além de fascinante, modifica-se rapidamente. Isso é percebido não somente desde o tempo em que começamos nossas carreiras – podemos verificar esse fato todos os dias quando abrimos um jornal ou revista científica. Como educadores, tanto de estudantes de nível introdutório como do avançado, desejamos transmitir nosso entusiasmo sobre a natureza dinâmica da biologia.

Esta nova edição do *Vida* parece, e é, um pouco diferente de suas antecessoras. No planejamento da 8ª edição, detivemo-nos em três objetivos fundamentais. O primeiro foi manter e reforçar o que tem funcionado desde o passado – com ênfase não somente no que conhecemos, mas também no que iremos conhecer; a incorporação de novas descobertas excitantes; um projeto gráfico que se diferencia por sua beleza e clareza; somado a um tema unificador. É como deve ser todo livro-texto de biologia, em que o tema é a evolução pela seleção natural, uma ideia de 150 anos que mais do que nunca mantém unido o mundo vivo. Tivemos um grande auxílio nesta tentativa por meio de um novo autor, David Hillis: seu conhecimento e ideias foram inestimáveis no desenvolvimento de nossos capítulos que tratam de evolução, filogenia e diversidade, e eles permeiam o restante do livro.

Nosso segundo objetivo foi fazer de *Vida* um livro mais acessível pedagogicamente. A partir de um novo visual até a inclusão de vários recursos de aprendizagem em cada capítulo (veja Novos aspectos pedagógicos), temos trabalhado para fazer com que nossa escrita seja fácil de entender, assim como estimulante.

Terceiro, entre as edições, sete ecologistas diferentes avaliaram os textos – todos os quais ensinam introdução à biologia – para fornecer críticas detalhadas da unidade de Ecologia. Como resultado de suas extensas sugestões, a Parte 7, Ecologia, apresenta uma nova organização (veja As 9 partes). Um dos sete ecologistas, May Berenbaum, concordou em se juntar ao time de autores de *Vida* para a próxima edição. Os outros seis parceiros são reconhecidos em “Revisores da 8ª Edição”.

Características que permaneceram

Como já mencionado acima, comprometemo-nos a combinar uma apresentação de ideias centrais de biologia com a ênfase de introduzir nossos leitores no processo do questionamento científico. Tendo sido pioneiros na ideia de descrever experimentos utilizando figuras especialmente desenhadas para isso, continuamos a desenvolver esse método nesta edição, com 96 figuras de **EXPERIMENTOS** (28% a mais do que na 7ª edição). Cada figura segue uma estrutura: Hipótese, Método, Resultado e Conclusão. Muitas incluem Pesquisa Adicional, que faz com os estudantes imaginem um experimento que explora uma questão relacionada.

Um recurso complementar são as figuras de **MÉTODO DE PESQUISA**, descrevendo muitos experimentos de campo e métodos de laboratório utilizados para a realização da pesquisa.

Outro recurso bastante apreciado – que introduzimos dez anos atrás, quando da 5ª edição de *Vida* – são as **LEGENDAS EM BALÃO** utilizadas em nossas figuras. Sabemos que muitos estudantes aprendem de maneira visual. As legendas em balão trazem explicações de processos complexos diretamente para dentro da ilustração, permitindo que o leitor capte a informação sem ter que ir e voltar repetidamente entre a figura e a legenda.

Vida é o único livro de introdução à biologia para cientistas que inicia cada capítulo com uma história. Estas **HISTÓRIAS DE ABERTURA**, a maioria das quais é nova nesta edição, têm o propósito de intrigar estudantes enquanto os auxilia a ver como o assunto biológico do capítulo está relacionado ao mundo à sua volta.

Novos aspectos pedagógicos

Existem diversos elementos novos nos capítulos da 8ª edição. Cada um deles foi projetado como uma ferramenta de estudo para auxiliar o estudante a entender o conteúdo. Na página de abertura de cada capítulo, **NESTE CAPÍTULO** introduz, em poucas linhas, o que será abordado, e os **DESTAQUES DO CAPÍTULO** contêm os títulos das seções, todos numerados e na forma de perguntas que estimulam o questionamento científico.

Cada seção de um capítulo termina com uma **RECAPITULAÇÃO**. Este elemento-chave resume os conceitos importantes da seção, apresentando duas ou três questões para estimular a revisão.

O **RESUMO DO CAPÍTULO** apresenta os termos-chave em negrito introduzidos e definidos no capítulo. Mantivemos as referências marcadas para figuras-chave.

As 9 partes

Reorganizamos o livro em 9 partes. A Parte 1 apresenta o livro, com o capítulo de abertura em biologia tratando-a como uma ciência estimulante, começando com um projeto estudantil e mostrando como a evolução une o mundo. Esse capítulo é seguido por outros que relacionam aspectos da química básica à vida. Tentamos manter este material agrupado, relacionando-o a teorias sobre a origem da vida, destacando também a descoberta de água em nosso sistema solar.

Na Parte 2, Células e Energia, apresentamos uma visão integrada das funções estruturais e bioquímicas de células. As discussões de bioquímica são frequentemente desafiadoras para os estudantes; por essa razão reestruturamos tanto o texto quanto as ilustrações para maior clareza. Essas discussões são apresentadas no contexto das últimas descobertas sobre a origem da vida e evolução das células.

A Parte 3, Hereditariedade e o Genoma, inicia com a continuidade em nível celular e então apresenta os princípios de genética e a identificação do DNA como o material genético. Novos exemplos, como a genética da cor de pelos em cães, estimulam a curiosidade. Estes seguem por capítulos sobre expressão gênica e sobre genomas procariotos e eucariotos. Muitas descobertas têm sido feitas nesse novo campo da genômica, desde o rastreamento do vírus da gripe aviária até genomas de gatos selvagens, como da chita.

A Parte 4, Biologia Molecular: O Genoma em Ação, reforça os princípios básicos das genéticas clássica e molecular aplicando-as em diversos tópicos, como sinalização celular, biotecnologia e medicina. Utilizamos muitos experimentos e exemplos de biologia aplicada para ilustrar esses conceitos, que incluem as mais recentes informações sobre genoma humano e o campo emergente da biologia de sistemas. O capítulo sobre defesas naturais agora inclui uma discussão sobre alergia.

Na Parte 5, Os Padrões e os Processos da Evolução, ocorreram atualizações em diferentes âmbitos. Enfatizamos a importância da biologia evolutiva como uma base para a comparação e o entendimento de todos os aspectos da biologia, bem como descrevemos diversas aplicações

práticas de biologia evolutiva que serão familiares e relevantes ao dia a dia da maioria dos estudantes.

Estudos experimentais de evolução recentes são descritos e explicados, a fim de auxiliar os estudantes no entendimento de que a evolução é um processo que podemos observar e que ocorre a todo momento. Os capítulos sobre filogenética e evolução molecular foram completamente reescritos para refletir os últimos avanços nesses campos de estudo. Outras mudanças refletem nosso crescente conhecimento da história da vida na Terra e dos mecanismos de evolução que resultaram em toda a biodiversidade.

A Parte 6, A Evolução da Diversidade, contempla informações atuais relativas à filogenia, que continua a enfatizar os grupos unidos pela história evolutiva, e não as taxas definidas de modo clássico. Essa ênfase é, agora, embasada por um apêndice da Árvore da Vida que mapeia claramente e descreve todos os grupos discutidos no texto, fazendo com que os estudantes possam verificar facilmente nomes desconhecidos e ver como estão posicionados no contexto maior de vida. Discutimos, então, aspectos de filogenia que ainda estão em estudo ou sob debate (dentre os principais grupos de eucariotos, plantas e animais, por exemplo).

A Parte 7, Ecologia, inicia com um novo capítulo que descreve o escopo da pesquisa ecológica e discute recentes avanços do nosso entendimento sobre os padrões de distribuição de vida na Terra. O próximo capítulo, também novo, combina Comportamento e Ecologia Comportamental. Ele mostra como as decisões que os organismos tomam durante suas vidas influenciam tanto a sua sobrevivência como o seu sucesso reprodutivo, e também a dinâmica das populações e a estrutura das comunidades ecológicas. O capítulo sobre Ecologia de Populações explica como os ecologistas são capazes de marcar e seguir organismos individuais na vida selvagem para determinar seu sucesso de sobrevivência e reprodutivo. Após Ecologia de Comunidades consta o capítulo sobre Ecossistemas e Ecologia Global, que mostra como os ecologistas estão expandindo o escopo de seus estudos para acompanhar o funcionamento do ecossistema global. Essa discussão leva, naturalmente, ao capítulo final dessa parte, Biologia da Conservação, que descreve como os ecologistas e os biólogos de conservação trabalham para reduzir o número de espécies que estão se tornando extintas como resultado de atividades humanas.

Na Parte 8, Angiospermas: Forma e Função, apresentamos muitas descobertas interessantes. Estas incluem os receptores de auxina, giberelina, brassinoesteroides, assim como o grande progresso nas informações relativas ao florígeno. Atualizamos o conhecimento de vias de transdução de sinal e de ritmos circadianos em plantas. A sempre forte interferência de desafios ambientais a plantas foi ampliada com novas figuras de Experimentos sobre defesas de plantas contra herbívoros, confirmando que a nicotina auxilia as plantas de tabaco na resistência contra alguns insetos.

A Parte 9, Animais: Forma e Função, trata de como os animais vivem. Apesar de darmos atenção especial à fisiologia humana, a encaixamos em uma revisão de fisiologia animal comparativa. Nosso foco é a fisiologia dos sistemas, porém também introduzimos os mecanismos moleculares e celulares. Por exemplo, nossas explicações de fenômenos do sistema nervoso – se eles são potenciais de ação, sensação, aprendizagem ou sono – são discutidas em termos das propriedades de canais iônicos. As ações de hormônios são explicadas no que diz respeito aos mecanismos moleculares. A atividade atlética máxima é explicada em termos dos sistemas de energia celular que operam. Durante a Parte 9 tentamos ajudar o estudante a fazer conexões de todos os níveis de biologia, desde o nível molecular até comportamental, e perceber a relevância da fisiologia para a saúde e para a doença. Os mecanismos de controle e regulação são de extrema importância em cada capítulo.

As muitas pessoas que devemos agradecer

Uma das coisas mais sensatas de um conselho, mesmo quando este é dado a um autor de livro-texto, é “ser apaixonado sobre o seu tema, mas não colocar seu ego na página”. Considerando todas as pessoas que nos ajudaram durante o processo de criação deste livro, este conselho não poderia ser melhor. Estamos em dívida com muitas pessoas que nos ajudaram de um modo valioso a fazer deste livro o que ele é. Primeiro, e muito importante, são os nossos colegas, biólogos de mais de 100 instituições. Alguns eram leitores da edição anterior e sugeriram muitas melhorias. Outros revisaram nossos rascunhos de capítulos em detalhe, incluindo sugestões de como melhorar as ilustrações. Ainda outros atuaram como revisores de acuidade quando o livro estava quase completo. Nossos editores criaram um grupo de conselheiros de coordenadores de cursos introdutórios. Eles nos aconselharam em uma variedade de temas, desde o conteúdo e *design* do livro até elementos de impressão e suplementos. Todos eles estão listados em “Revisores da 8ª Edição”.

Precisávamos de um novo olho editorial para esta edição, e fomos afortunados a trabalhar com Carol Pritchard-Martinez como editora de desenvolvimento. Com uma mente elevada por anos de experiência, ela foi muito importante quando escrevemos e revisamos. Elizabeth Morales, nossa artista, fez sua 2ª edição conosco. Desta vez, ela revisou extensivamente quase todas as artes anteriores e transformou nossos rascunhos em uma nova e bonita arte. Esperamos que você concorde que nosso programa de arte permanece esclarecedor e elegante. Mais uma vez, tivemos sorte em ter Norma Roche como a editora de cópias. Seu pulso firme e o histórico enciclopédico de nossos muitos capítulos fizeram nossa prosa mais definida e mais acurada. Nesta edição, Norma juntou-se à meiga e capaz Maggie Brown. Susan McGlew coordenou as centenas de revisões que descrevemos acima. David McIntyre foi o verdadeiro editor de fotografia. Ele não só encontrou mais de 500 novas fotografias, incluindo muitas por ele produzidas, que enriqueceram o conteúdo e a apresentação do livro, mas também programou, realizou e fotografou o experimento mostrado na Figura 42.1. O novo e elegante projeto gráfico do livro é criação de Jeff Johnson, que também produziu a capa. Carol Wigg, pela oitava vez em oito edições, revisou o processo de editoração. Sua influência espalha-se por todo o livro – ela criou ícones, deu forma e melhorou as histórias que abrem os capítulos, interagiu com David McIntyre na concepção de muitos temas de fotos e manteve olhos de água em cada detalhe de texto, arte e fotografias.

W. H. Freeman continua a trazer uma grande audiência para *Vida*. A diretora associada de Marketing Debbie Clare, especialistas regionais, coordenadores regionais e uma forte equipe de vendas são embaixadores efetivos e transmissores competentes das características de nosso livro. Dependemos de sua experiência e energia para nos mantermos informados em como *Vida* é visto por seus leitores.

Por fim, estamos em dívida com Andy Sinauer. Assim como nós, seu nome está na capa do livro, e ele realmente se importa com o que está dentro dele.

DAVID SADAVA

CRAIG HELLER

GORDON ORIAN

BILL PURVES

DAVID HILLIS

Parte 1 ■ A Ciência e os Blocos Construtores da Vida

- 1 Estudando a Vida 2
- 2 A Química da Vida 20
- 3 Macromoléculas e a Origem da Vida 38

Parte 2 ■ Células e Energia

- 4 Células: As Unidades de Trabalho da Vida 68
- 5 A Dinâmica Membrana Celular 96
- 6 Energia, Enzimas e Metabolismo 118
- 7 Rotas Celulares que Captam Energia Química 138
- 8 Fotossíntese: Energia da Luz Solar 160

Parte 3 ■ Hereditariedade e o Genoma

- 9 Cromossomos, Ciclo Celular e Divisão Celular 180
- 10 Genética: Mendel e Além 206
- 11 O DNA e a Sua Função na Hereditariedade 232
- 12 Do DNA à Proteína: Do Genótipo ao Fenótipo 256
- 13 A Genética dos Vírus e dos Procariotos 282
- 14 O Genoma Eucariótico e Sua Expressão 306

Parte 4 ■ Biologia Molecular: O Genoma em Ação

- 15 Sinalização e Comunicação Celular 332
- 16 O DNA Recombinante e a Biotecnologia 352
- 17 Sequenciamento do Genoma, Biologia Molecular e Medicina 374
- 18 Imunologia: Expressão Gênica e Sistemas de Defesa Natural 400
- 19 Expressão Diferencial de Genes no Desenvolvimento 426
- 20 Desenvolvimento e Mudança Evolutiva 448

Parte 5 ■ Os Padrões e os Processos da Evolução

- 21 A História da Vida na Terra 464
- 22 Os Mecanismos da Evolução 486
- 23 As Espécies e Sua Formação 508
- 24 A Evolução dos Genes e Genomas 524
- 25 Reconstruindo e Usando Filogenias 542

Parte 6 ■ A Evolução da Diversidade

- 26 Bacteria e Archaea: Os Domínios Procarióticos 560
- 27 A Origem e a Diversificação dos Eucariotos 582
- 28 Plantas sem Sementes: Do Mar para a Terra 610
- 29 A Evolução das Plantas com Sementes 630
- 30 Fungos: Recicladores, Patógenos, Parasitas e Parceiros de Plantas 650
- 31 As Origens dos Animais e a Evolução dos Planos Corporais 670
- 32 Animais Protostomados 690
- 33 Os Animais Deuterostomados 716

Parte 7 ■ Ecologia

- 34 A Ecologia e a Distribuição da Vida 744
- 35 Comportamento e Ecologia Comportamental 772
- 36 Ecologia de Populações 798
- 37 Ecologia de Comunidades 816
- 38 Ecossistemas e Ecologia Global 836
- 39 Biologia da Conservação 858

Parte 8 ■ Angiospermas: Forma e Função

- 40 O Corpo da Planta 880
- 41 Transporte em Plantas 900
- 42 Nutrição Vegetal 916
- 43 Regulação do Crescimento Vegetal 932
- 44 Reprodução em Angiospermas 954
- 45 Respostas das Plantas aos Desafios Ambientais 972

Parte 9 ■ Animais: Forma e Função

- 46 Fisiologia, Homeostasia e Termorregulação 990
- 47 Hormônios Animais 1010
- 48 Reprodução Animal 1032
- 49 Desenvolvimento Animal: Dos Genes aos Organismos 1056
- 50 Neurônios e Sistema Nervoso 1078
- 51 Sistemas Sensoriais 1100
- 52 O Sistema Nervoso dos Mamíferos: Estrutura e Funções Superiores 1120
- 53 Efetores: Como os Animais Conseguem Fazer as Coisas 1140
- 54 Trocas Gasosas em Animais 1160
- 55 Sistemas Circulatórios 1180
- 56 Nutrição, Digestão e Absorção 1204
- 57 Balanço de Água, Íons e Excreção de Nitrogênio 1228

Esta página foi deixada em branco intencionalmente.

Sumário Detalhado

Parte 1 ■ A Ciência e os Blocos Construtores da Vida

1 Estudando a Vida 2

1.1 O que é biologia? 3

- Os organismos vivos consistem em células 4
- A diversidade da vida decorre da evolução por seleção natural 5
- A informação biológica está contida em uma linguagem genética comum a todos os organismos 7
- As células usam nutrientes para fornecer a energia e construir novas estruturas 7
- Os organismos vivos controlam o ambiente interno 7
- Os organismos vivos interagem uns com os outros 9
- As descobertas na biologia podem ser generalizadas 9

1.2 Como está relacionada toda a vida na Terra? 10

- A vida surgiu a partir de matéria não viva por meio da evolução química 10
- A evolução biológica começou quando as células se formaram 11
- A fotossíntese mudou o curso da evolução 11
- As células eucarióticas evoluíram a partir dos procariotos 11
- A multicelularidade surgiu e as células se especializaram 12
- Os biólogos podem delinear a árvore evolutiva da vida 12

1.3 Como os biólogos investigam a vida? 13

- A observação é uma importante habilidade 13
- O método científico combina observação e lógica 14
- Bons experimentos têm o potencial de descartar hipóteses 14
- Métodos estatísticos são ferramentas científicas essenciais 15
- Nem todas as formas de questionamento são científicas 16

1.4 Como a biologia influencia a política pública? 16



2 A Química da Vida 20

2.1 Quais elementos químicos constituem os organismos vivos? 21

- Um elemento é constituído de somente um tipo de átomo 21
- Prótons: seu número identifica um elemento 22
- Nêutrons: seu número difere entre os isótopos 23
- Elétrons: seu comportamento determina a ligação química 23

2.2 Como os átomos se ligam para formar as moléculas? 25

- Ligações covalentes consistem em pares de elétrons compartilhados 25
- Ligações covalentes múltiplas 27
- As ligações iônicas são formadas por atração elétrica 27
- Pontes de hidrogênio podem se formar dentro ou entre moléculas com ligações covalentes polares 29
- Substâncias polares e apolares: cada uma interage melhor com o seu próprio tipo 29

2.3 Como os átomos mudam de parceiros nas reações químicas? 30

2.4 Quais propriedades da água a tornam tão importante na biologia? 31

- A água tem estrutura única e propriedades especiais 31
- A água é o solvente da vida 32
- Soluções aquosas podem ser ácidas ou básicas 33
- O pH é a medida da concentração de íons hidrogênio 34
- Os tampões minimizam a mudança de pH 34
- A química da vida começou na água 34

Uma visão geral e uma previsão 36

3 Macromoléculas e a Origem da Vida 38

3.1 Que tipos de moléculas caracterizam os organismos vivos? 39

- Os grupos funcionais conferem propriedades específicas às moléculas 39
- Os isômeros têm arranjos diferentes dos mesmos átomos 40
- As estruturas das macromoléculas refletem suas funções 40
- A maioria das macromoléculas forma-se por condensação e degrada-se por hidrólise 41

3.2 Quais são as estruturas químicas e as funções das proteínas? 42

- Os aminoácidos são os blocos construtores das proteínas 42
- As ligações peptídicas formam o esqueleto de uma proteína 43
- A estrutura primária de uma proteína é a sua sequência de aminoácidos 44
- A estrutura secundária de uma proteína requer pontes de hidrogênio 45
- A estrutura terciária de uma proteína é formada pela curvatura e pelo dobramento 46
- A estrutura quaternária de uma proteína consiste em subunidades 46
- A forma e a química da superfície contribuem para a especificidade das proteínas 46
- As condições ambientais afetam a estrutura proteica 48
- As chaperoninas ajudam a formar as proteínas 48

3.3 Quais são as estruturas químicas e funções dos carboidratos? 49

- Os monossacarídeos são açúcares simples 49
- As ligações glicosídicas unem monossacarídeos 50
- Os polissacarídeos armazenam energia ou fornecem materiais estruturais 51
- Os carboidratos modificados quimicamente contêm grupos funcionais adicionais 53

3.4 Quais são as estruturas químicas e funções dos lipídeos? 54

- As gorduras e os óleos armazenam energia 55
- Os fosfolipídeos formam membranas biológicas 55
- Nem todos os lipídeos são triglicerídeos 56

3.5 Quais são as estruturas químicas e funções dos ácidos nucleicos? 57

- Os nucleotídeos são os blocos construtores dos ácidos nucleicos 57
- A singularidade de um ácido nucleico reside na sua sequência de nucleotídeos 59
- O DNA revela relações evolucionárias 60

- Os nucleotídeos têm outros papéis importantes 60

3.6 Como começou a vida na Terra? 61

- A vida poderia ter vindo de fora da Terra? 61
- A vida se originou na Terra? 61
- A evolução química pode ter conduzido à polimerização 62
- O RNA pode ter sido o primeiro catalisador biológico 62
- Experimentos invalidaram a geração espontânea da vida 63

Parte 2 ■ Células e Energia

4 Células: As Unidades de Trabalho da Vida 68

4.1 Quais características das células as tornam a unidade fundamental da vida? 69

- O tamanho da célula é limitado pela razão entre área de superfície e volume 69
- Microscópios são necessários para a visualização das células 70
- As células estão delimitadas por uma membrana plasmática 72
- As células podem ser procarióticas ou eucarióticas 72

4.2 Quais são as características das células procarióticas? 72

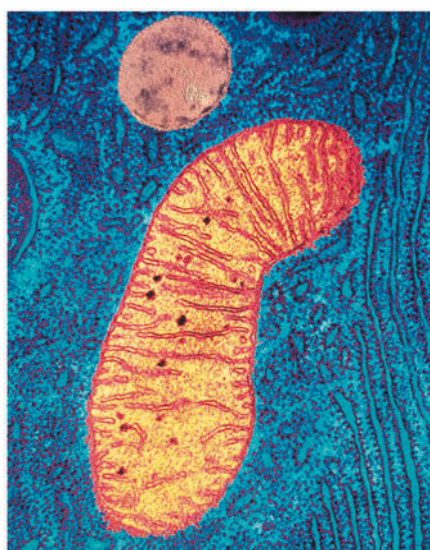
- Células procarióticas compartilham determinadas características 72
- Algumas células procarióticas possuem características especializadas 73

4.3 Quais são as características das células eucarióticas? 74

- A compartimentalização é a chave para o funcionamento da célula eucariótica 74
- As organelas podem ser estudadas por microscopia ou podem ser isoladas para análises químicas 75
- Algumas organelas processam informações 75
- O sistema de membranas internas é um grupo de organelas inter-relacionadas 79
- Algumas organelas processam energia 82
- Diversas outras organelas são envolvidas por uma membrana 83
- O citoesqueleto é importante para a estrutura celular 86

4.4 Quais são as funções das estruturas extracelulares? 90

- A parede celular das plantas é uma estrutura extracelular 90



- A matriz extracelular sustenta as funções teciduais em animais 91

4.5 Como originaram-se as células eucarióticas? 92

- A teoria da endossimbiose nos sugere como evoluíram os eucariotos 92
- Tanto procariotos quanto eucariotos ainda estão em evolução 92

5 A Dinâmica Membrana Celular 96

5.1 Qual é a estrutura de uma membrana biológica? 97

- A membrana é constituída principalmente de lipídeos 97
- As proteínas de membrana estão assimetricamente distribuídas 99
- As membranas são dinâmicas 100

- Carboidratos de membrana são sítios de reconhecimento 101

5.2 Qual o envolvimento da membrana plasmática na adesão e no reconhecimento celulares? 102

- Reconhecimento e adesão celulares envolvem proteínas da superfície celular 102
- Três tipos de junções celulares conectam células adjacentes 102

5.3 O que são os processos passivos do transporte de membrana? 105

- A difusão é um processo de movimento aleatório que tende a um estado de equilíbrio 105
- Difusão simples ocorre através da bicamada fosfolipídica 106
- Osmose é a difusão de água através de membranas 106
- A difusão pode ser auxiliada por canais proteicos 108
- Proteínas carreadoras auxiliam a difusão através da ligação a diferentes materiais 110

5.4 Como as substâncias atravessam membranas em sentido contrário ao gradiente de concentração? 111

- O transporte ativo é direcionado 111
- O transporte ativo primário e o secundário contam com fontes de energia diferentes 111

5.5 Como moléculas grandes entram e saem de uma célula? 113

- Macromoléculas e partículas penetram na célula via endocitose 113
- A endocitose mediada por receptores é extremamente específica 113
- A exocitose transporta material para fora da célula 114

5.6 Que outras funções são desempenhadas pelas membranas? 114

6 Energia, Enzimas e Metabolismo 118

6.1 Que princípios físicos fundamentam as transformações biológicas de energia? 119

Existem dois tipos básicos de energia e de metabolismo 119

Primeira lei da termodinâmica: a energia não é criada nem destruída 120

Segunda lei da termodinâmica: a desordem tende a aumentar 120

As reações químicas liberam ou consomem energia 122

O equilíbrio químico e a energia livre estão relacionados 123

6.2 Qual é o papel do ATP na energética bioquímica? 123

A hidrólise de ATP libera energia 124

O ATP une reações exergônica e endergônica 124

6.3 O que são enzimas? 125

Para uma reação prosseguir, deve ser superada uma barreira energética 126

As enzimas ligam moléculas reagentes específicas 126

As enzimas reduzem a barreira da energia de ativação, mas não afetam o equilíbrio 127

6.4 Como as enzimas trabalham? 128

A estrutura molecular determina a função da enzima 129

Para funcionar, algumas enzimas requerem outras moléculas 129

A concentração do substrato afeta a taxa de reação 130

6.5 Como são reguladas as atividades das enzimas? 131

As enzimas podem ser reguladas por inibidores 131

As enzimas alostéricas controlam sua atividade através da mudança de configuração 132

Os efeitos alostéricos regulam o metabolismo 133

As enzimas são afetadas pelo ambiente 133

7 Rotas Celulares que Captam Energia Química 138

7.1 De que forma a oxidação da glicose libera energia química? 139

As células capturam energia enquanto metabolizam glicose 139

Uma visão geral: utilização de energia da glicose 140

As reações redox transferem elétrons e energia 140

A coenzima NAD é um transportador-chave de elétrons em reações redox 141

7.2 Quais são as rotas aeróbias do metabolismo da glicose? 142

As reações da glicólise investidoras em energia requerem ATP 142

As reações da glicólise produtoras de energia rendem NADH + H⁺ e APT 144

A oxidação do piruvato une a glicólise e o ciclo do ácido cítrico 144

O ciclo do ácido cítrico completa a oxidação da glicose a CO₂ 145

O ciclo do ácido cítrico é regulado pelas concentrações de materiais iniciadores 147

7.3 Como a energia é produzida a partir da glicose na ausência de oxigênio? 147

7.4 Como a oxidação da glicose forma ATP? 148

A cadeia transportadora transporta elétrons e libera energia 149

A difusão de prótons está unida à síntese de ATP 150

7.5 Por que a respiração celular produz muito mais energia do que a fermentação? 153

7.6 Como as rotas metabólicas são correlacionadas e controladas? 154

O catabolismo e o anabolismo envolvem interconversões de monômeros biológicos 154

O catabolismo e o anabolismo integram-se 155

As rotas metabólicas constituem sistemas regulados 155

8 Fotossíntese: Energia da Luz Solar 160

8.1 O que é fotossíntese? 161

A fotossíntese envolve duas rotas 162

8.2 Como a fotossíntese converte a energia da luz em energia química? 163

A luz se comporta como partícula e onda 163

A absorção de um fóton excita uma molécula do pigmento 163

Existe uma correlação entre os comprimentos de onda absorvidos e a atividade biológica 163

A fotossíntese utiliza energia absorvida por diversos pigmentos 164

A absorção da luz resulta em alteração química 165

A clorofila excitada no centro de reação atua como um agente redutor 166

A redução leva ao transporte de elétrons 166

O transporte não cíclico de elétrons produz ATP e NADPH 166

O transporte cíclico de elétrons produz ATP, mas não NADPH 168

A quimiosmose é a fonte do ATP produzido na fotofosforilação 168

8.3 Como a energia química é usada para sintetizar carboidratos? 169

Experimentos com radioisótopos marcados revelaram as etapas do ciclo de Calvin 169

O ciclo de Calvin-Benson é formado por três processos 170

A luz estimula o ciclo de Calvin 172

8.4 Como as plantas se adaptam às ineficiências da fotossíntese? 172

A rubisco catalisa a reação da RuBP com O₂ e CO₂ 172

As plantas C₄ podem desviar a fotorrespiração 173

As plantas CAM também usam PEP carboxilase 175

8.5 Como a fotossíntese conecta-se a outras rotas metabólicas nas plantas? 175



Parte 3 ■ Hereditariedade e o Genoma

9 Cromossomos, Ciclo Celular e Divisão Celular 180

9.1 Como as células procarióticas e eucarióticas se dividem? 181

Os procariotos se dividem por fissão binária 181

As células eucarióticas dividem-se por mitose ou meiose 182

9.2 Como a divisão celular eucariótica é controlada? 184

As ciclinas e outras proteínas acionam eventos no ciclo celular 184

Os fatores de crescimento podem estimular a divisão celular 186

9.3 O que ocorre durante a mitose? 187

DNA eucariótico é empacotado em cromossomos muito compactados 187

Visão geral: A mitose segrega as cópias exatas da informação genética 188

Os centrosomos determinam o plano da divisão celular 188

As cromátides se tornam visíveis e o fuso se forma durante a prófase 189

Os movimentos dos cromossomos são altamente organizados 189

O núcleo se forma novamente durante a telófase 191

Citocinese é a divisão do citoplasma 192

9.4 Qual é o papel da divisão celular nos ciclos de vida sexuais? 193

A reprodução por mitose resulta em constância genética 193

A reprodução por meiose resulta em diversidade genética 193

O número, a forma e o tamanho dos cromossomos em metáfase constituem o cariótipo 195

9.5 O que ocorre quando uma célula sofre meiose? 195

A primeira divisão meiótica reduz o número de cromossomos 197

A segunda divisão meiótica separa as cromátides 199

As atividades e os movimentos dos cromossomos durante a meiose resultam na diversidade genética 199

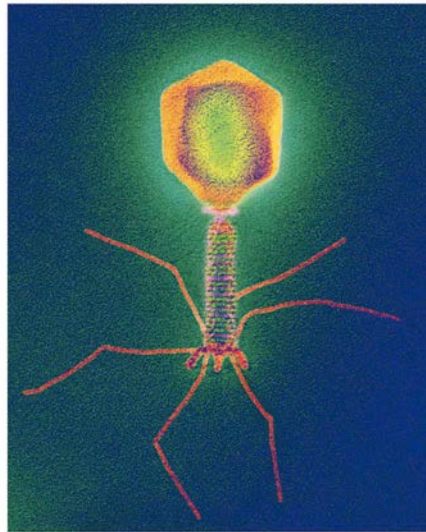
Erros meióticos levam a estruturas e números cromossômicos anormais 199

Os poliploides podem apresentar dificuldades na divisão celular 200

9.6 Como as células morrem? 202

10 Genética: Mendel e Além 206

10.1 Quais são as Leis Mendelianas de herança? 207



Mendel trouxe novos métodos para experimentos de herança 208

Mendel delineou um cuidadoso plano de pesquisa 208

Os primeiros experimentos de Mendel envolveram cruzamentos monohíbridos 209

Alelos são formas diferentes de um gene 211

A primeira lei de Mendel diz que as duas cópias de um gene segregam 211

Mendel verificou sua hipótese por meio de um cruzamento teste 213

A segunda lei de Mendel estabelece que cópias de genes diferentes segregam de maneira independente 213

Quadros de Punnett ou cálculos de probabilidade: uma escolha de métodos 214

As leis de Mendel podem ser observadas em genealogias humanas 216

10.2 Como os alelos interagem? 217

Novos alelos são alcançados por meio de mutação 217

Muitos genes apresentam alelos múltiplos 218

A dominância nem sempre é completa 218

Na codominância, ambos os alelos em um locus são expressos 219

Alguns alelos apresentam efeitos fenotípicos múltiplos 219

10.3 Como os genes interagem? 219

O vigor híbrido resulta de novas combinações e interações genéticas 220

O ambiente afeta a ação dos genes 220

A maioria dos fenótipos complexos determina-se por múltiplos genes e pelo ambiente 221

10.4 Qual é a relação entre genes e cromossomos? 222

Genes no mesmo cromossomo estão ligados 223

Genes podem ser trocados entre cromátides 223

Geneticistas podem construir mapas de cromossomos 224

A ligação é revelada por estudos dos cromossomos sexuais 225

Genes em cromossomos sexuais são herdados de maneiras especiais 226

Humanos apresentam muitos caracteres ligados ao sexo 227

10.5 Quais são os efeitos de genes localizados fora do núcleo? 228

11 O DNA e a Sua Função na Hereditariedade 232

11.1 Qual a evidência de que o gene é DNA? 233

O DNA de um tipo de bactéria transforma geneticamente outro tipo 233

O princípio transformante é o DNA 234

Experimentos com replicação viral confirmam que o DNA é o material genético 235

Células eucarióticas também podem ser transformadas geneticamente por DNA 237

11.2 Qual é a estrutura do DNA? 238

A composição química do DNA era conhecida 238

Watson e Crick descreveram a dupla-hélice 238

Quatro aspectos principais definem a estrutura do DNA 239

A estrutura de dupla-hélice do DNA é essencial para a sua função 241

11.3 Como o DNA é replicado? 241

Três maneiras de replicação do DNA pareciam ser possíveis 241

Meselson e Stahl demonstraram que a replicação do DNA é semiconservativa 241

Existem duas etapas na replicação do DNA 242

O DNA é alinhado por meio de um complexo de replicação 243

As DNA-polimerases adicionam nucleotídeos à cadeia em crescimento 245

Os telômeros não são totalmente replicados 247

11.4 Como os erros no DNA são reparados? 249**11.5 Quais são algumas das aplicações de nosso conhecimento da estrutura do DNA e da replicação? 250**

A reação em cadeia da polimerase produz múltiplas cópias de DNA 250

A sequência de nucleotídeos do DNA pode ser determinada 251

12 Do DNA à Proteína: Do Genótipo ao Fenótipo 256**12.1 Qual é a evidência de que genes codificam proteínas? 257**

Experimentos com mofo de pão estabeleceram que genes determinam enzimas 257

Um gene determina um polipeptídeo 258

12.2 Como a informação flui dos genes para as proteínas? 260

O RNA é diferente do DNA 260

A informação flui em uma direção quando os genes são expressados 260

Vírus de RNA são exceções ao dogma central 261

12.3 Como a informação contida no DNA transcrito produz RNA? 261

As RNA-polimerases compartilham características comuns 262

A transcrição ocorre em três etapas 262

A informação da síntese de proteínas encontra-se no código genético 263

Biólogos usaram mensageiros artificiais para decifrar o código genético 265

12.4 Como o RNA é traduzido em proteínas? 265

Os RNA transportadores carregam aminoácidos específicos e ligam-se a códons específicos 266

As enzimas ativadoras ligam os tRNA e os aminoácidos corretos 267

O ribossomo é a bancada para a tradução 268

A tradução ocorre em três etapas 268

A formação de polissomos aumenta a taxa de síntese proteica 270

12.5 O que acontece aos polipeptídeos após a tradução? 272

Sequências sinais nas proteínas as direcionam para seus destinos celulares 272

Muitas proteínas são modificadas depois da tradução 274

12.6 O que são mutações? 274

Mutações pontuais são alterações em nucleotídeos únicos 275

Mutações cromossômicas são alterações extensivas no material genético 276

Mutações podem ser espontâneas ou induzidas 277

As mutações são a matéria-prima da evolução 277

13 A Genética dos Vírus e dos Procariotos 282**13.1 Como os vírus se reproduzem e transmitem genes? 283**

Vírus não são células 283

Os vírus reproduzem-se somente com o auxílio de células vivas 284

O bacteriófago se reproduz por meio de um ciclo lítico ou um ciclo lisogênico 284

Vírus de animais apresentam diversos ciclos reprodutivos 287

Muitos vírus de plantas espalham-se com o auxílio de vetores 289

13.2 Como a expressão gênica é regulada em vírus? 289**13.3 Como os procariotos trocam genes? 290**

A reprodução de procariotos resulta em clones 290

As bactérias apresentam diversas maneiras de recombinar seus genes 291

Plasmídeos são cromossomos extra sem bactérias 293

Elementos transponíveis movem genes entre plasmídeos e cromossomos 295

13.4 Como a expressão gênica é regulada em procariotos? 296

A regulação da transcrição gênica conserva energia 296

Um único promotor pode controlar a transcrição de genes adjacentes 296

Óperons são unidades de transcrição em procariotos 297

O controle operador-repressor induz a transcrição no óperon *lac* 297

O controle operador-repressor reprime a transcrição no óperon *trp* 298

A síntese proteica pode ser controlada aumentando a eficiência do promotor 299

13.5 O que aprendemos a partir do sequenciamento de genomas procariotos? 300

O sequenciamento de genomas procariotos apresenta muitos benefícios 301

A definição dos genes requeridos para a vida celular levará a uma vida artificial? 302

14 O Genoma Eucariótico e sua Expressão 306**14.1 Quais são as características do genoma eucariótico? 307**

Organismos modelo revelam as características dos genomas eucarióticos 308

Genomas eucariotos contêm várias sequências repetitivas 311

14.2 Quais são as características dos genes eucarióticos? 313

Genes codificantes para proteínas contêm sequências não codificantes 313

Famílias gênicas são importantes na evolução e especialização celular 315

14.3 Como os transcritos de genes eucarióticos são processados? 316

O transcrito primário de um gene que codifica uma proteína é modificado em ambas as extremidades 316

Um mecanismo de corte e de junção (splicing) remove introns do transcrito primário 316

14.4 Como é regulada a transcrição de genes eucarióticos? 318

Genes específicos podem ser transcritos de forma seletiva 318

A expressão gênica pode ser regulada por alterações na estrutura da cromatina 322

A amplificação seletiva de genes resulta em mais moldes para a transcrição 324

14.5 Como a expressão de genes eucarióticos é regulada após a transcrição? 324

Diferentes mRNA podem ser produzidos a partir do mesmo gene por corte e junção alternativos 324

A estabilidade do mRNA pode ser regulada 325

Pequenos RNA podem degradar mRNA 325

RNA pode ser editado para modificar a proteína codificada 326

14.6 Como a expressão de genes é controlada durante e após a tradução? 326

A iniciação e extensão da tradução podem ser reguladas 326

Controles pós-traducionais regulam a longevidade das proteínas 327

Parte 4 ■ Biologia Molecular: O Genoma em Ação

15 Sinalização e Comunicação Celular 332

15.1 O que são sinais e como as células respondem a eles? 333

- As células recebem sinais do ambiente físico e de outras células 333
- Uma via de transdução de sinal envolve um sinal, um receptor, a transdução e os efeitos 334

15.2 Como os receptores de sinais iniciam uma resposta celular? 336

- Os receptores têm sítios de ligação específicos para seus sinais 336
- Os receptores classificam-se pela localização 336

15.3 Como acontece a transdução dos sinais na célula? 339

- As cascatas de proteínas-quinases amplificam uma resposta de ligação ao receptor 339
- Segundos mensageiros podem estimular cascatas de proteínas-quinases 340
- Segundos mensageiros podem ser derivados de lipídeos 341
- Os íons cálcio estão envolvidos em muitas vias de transdução de sinal 343
- O óxido nítrico pode atuar como segundo mensageiro 344
- A transdução de sinal é extremamente regulada 345

15.4 Como as células são alteradas em resposta aos sinais? 345

- Os canais de íon abrem em resposta a sinais 345
- Atividades enzimáticas se modificam em resposta a sinais 346
- Sinais podem iniciar a transcrição de genes 347

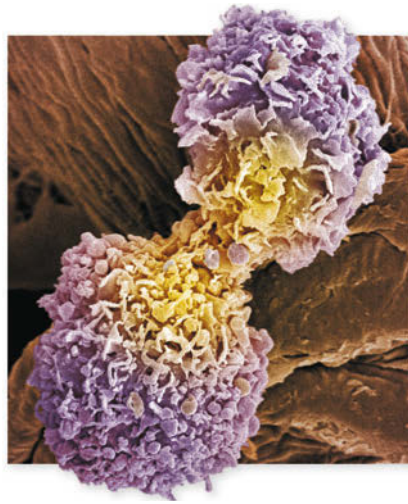
15.5 Como as células se comunicam diretamente? 348

- As células animais comunicam-se por meio de junções *gap* 348
- As células vegetais comunicam-se por meio de plasmodesmos 348

16 O DNA Recombinante e a Biotecnologia 352

16.1 Como as moléculas grandes de DNA são analisadas? 353

- As endonucleases de restrição clivam o DNA em sequências específicas 353
- A eletroforese em gel separa os fragmentos de DNA 354
- O *fingerprinting* de DNA utiliza análise de restrição e eletroforese 355
- O projeto de código de barras do DNA tem por objetivo identificar todos os organismos na Terra 356



16.2 O que é DNA recombinante? 358

16.3 Como os novos genes são inseridos em células? 359

- Os genes podem ser introduzidos em células procarióticas e eucarióticas 359
- Vetores carregam o novo DNA para dentro das células hospedeiras 359
- Genes repórteres identificam células hospedeiras contendo o DNA recombinante 361

16.4 Quais são as fontes de DNA usadas na clonagem? 362

- As bibliotecas gênicas fornecem coleções de fragmentos de DNA 362
- Bibliotecas de cDNA são construídas a partir de transcritos de mRNA 363
- O DNA pode ser sintetizado quimicamente no laboratório 363
- Mutações no DNA podem ser criadas no laboratório 363

16.5 Que outras ferramentas são utilizadas para manipular DNA? 364

- Os genes podem ser desativados por recombinação homóloga 364
- O RNA antissenso e o RNA de interferência podem prevenir a expressão de genes específicos 365
- Os chips de DNA podem revelar mutações no DNA e expressão de RNA 365

16.6 O que é biotecnologia? 367

- Os vetores de expressão podem transformar células em fábricas de proteínas 367
- As proteínas para uso medicinal podem ser produzidas por biotecnologia 368
- A manipulação de DNA está mudando a agropecuária 369
- Há uma preocupação pública em relação à biotecnologia 371

17 Sequenciamento do Genoma, Biologia Molecular e Medicina 374

17.1 Como proteínas com defeito causam doenças? 375

- As mutações genéticas podem tornar as proteínas disfuncionais 375
- As doenças priônicas são alterações da conformação de proteínas 378
- A maioria das doenças é provocada tanto por genes quanto pelo ambiente 379
- Doenças humanas de fundo genético apresentam diversos padrões de herança 379

17.2 Que tipos de alterações de DNA levam a doenças? 380

- Uma maneira para identificar um gene é começar com sua proteína 380
- As deleções cromossômicas podem levar aos genes e ao isolamento da proteína 381
- Os marcadores genéticos podem indicar o caminho para genes importantes 381
- As mutações causadoras de doenças podem envolver qualquer número de pares de bases 382
- A expansão de repetições de trincas de nucleotídeos demonstra a fragilidade de alguns genes humanos 382
- Alterações de DNA em machos e fêmeas podem ter consequências diferentes 383

17.3 De que modo a triagem genética detecta doenças? 384

- A triagem de fenótipos anormais pode fazer uso da expressão de proteínas 384
- O teste do DNA é a maneira mais precisa para detectar genes anormais 384

17.4 O que é câncer? 386

- As células cancerosas diferem de suas homólogas normais 386
- Alguns cânceres são causados por vírus 387
- A maioria dos cânceres é causada por mutações genéticas 387
- Dois tipos de genes alteram-se em muitos cânceres 388
- Vários eventos devem ocorrer para transformar uma célula normal em célula maligna 389

17.5 Como são tratadas as doenças genéticas? 391

- As doenças genéticas podem ser tratadas modificando o fenótipo 391
- A terapia gênica oferece a esperança de tratamentos específicos 391

17.6 O que temos aprendido a partir do Projeto Genoma Humano? 393

- Há duas abordagens para o sequenciamento do genoma 393
- A sequência do genoma humano contém muitas surpresas 393
- A sequência do genoma humano tem muitas aplicações 395
- O uso da informação genética levanta questões éticas 395
- O proteoma é mais complexo que o genoma 395
- A biologia de sistemas integra dados de genômica e proteômica 396

18 Immunologia: Expressão Gênica e Sistemas de Defesa Natural 400**18.1 Quais os principais sistemas de defesa dos animais? 401**

- O sangue e tecidos linfóides desempenham importantes papéis nos sistemas de defesa 402
- Os glóbulos brancos desempenham diversas funções de defesa 402
- Proteínas do sistema imune ligam-se a patógenos ou sinalizam para outras células 403

18.2 Quais são as características das defesas inespecíficas? 404

- Barreiras e agentes locais defendem o organismo contra invasores 404
- Outras defesas inespecíficas incluem proteínas especializadas e processos celulares 405
- A inflamação é uma resposta coordenada direcionada contra infecções ou lesões 406
- Uma via de sinalização celular estimula as defesas do organismo 407

18.3 Como se desenvolve a imunidade específica? 407

- Quatro características definem a resposta imune específica 407
- Dois tipos de resposta imune específica interagem no organismo 408
- Alterações genéticas e seleção clonal dão origem à resposta imune específica 408
- Imunidade e memória imunológica resultam da seleção clonal 409
- As vacinas são uma aplicação prática da memória imunológica 409
- Os animais distinguem o próprio do não próprio e toleram seus próprios antígenos 410

18.4 O que é a resposta imune humoral? 411

- Algumas células B desenvolvem-se em plasmócitos 411
- Diferentes anticorpos compartilham uma estrutura comum 411

- Existem cinco classes de imunoglobulinas 412
- Anticorpos monoclonais são extremamente úteis 413

18.5 O que é a resposta imune celular? 414

- Os receptores de células T são encontrados em dois tipos de células T 414
- O MHC codifica proteínas que apresentam antígenos para o sistema imune 415
- As células T auxiliares e as proteínas do MHC de classe II contribuem para a resposta imune humoral 417
- As células T citotóxicas e as proteínas do MHC de classe I contribuem para a resposta imune celular 417
- As moléculas do MHC controlam a tolerância ao próprio 417

18.6 Como os animais produzem tantos anticorpos diferentes? 418

- A diversidade dos anticorpos é consequência do rearranjo de DNA e de outras mutações 418
- A região constante envolve-se na comutação (troca) de classe 419

18.7 O que acontece quando o sistema imune falha? 420

- A hipersensibilidade leva a reações alérgicas 420
- Doenças autoimunes são causadas por reações contra antígenos próprios 421
- A AIDS é um distúrbio de imunodeficiência 421

19 Expressão Diferencial de Genes no Desenvolvimento 426**19.1 O que são os processos de desenvolvimento? 427**

- O desenvolvimento continua por determinação, diferenciação, morfogênese e crescimento 427
- Os destinos da célula tornam-se cada vez mais restritos 428

19.2 A diferenciação celular é irreversível? 429

- Células vegetais normalmente são totipotentes 429
- Entre os animais, as células de embriões precoces são totipotentes 430
- As células somáticas de animais adultos conservam o genoma completo 431
- Os sinais do ambiente podem induzir a diferenciação das células-tronco pluripotentes 432
- Células-tronco embrionárias são agentes terapêuticos possivelmente eficazes 433

19.3 Qual é o papel da expressão gênica na diferenciação celular? 435

- A transcrição diferencial de genes constitui a marca principal da diferenciação celular 435
- Ferramentas de biologia molecular são usadas para investigar o desenvolvimento 435

19.4 Como é determinado o destino celular? 436

- A segregação citoplasmática pode determinar polaridade e destino celular 436
- Indutores passando de uma célula para outra podem determinar os destinos celulares 437

19.5 Como a expressão gênica determina o padrão de formação? 439

- Alguns genes determinam morte celular programada durante o desenvolvimento 439
- As plantas têm genes de identidade de órgãos 440
- Gradientes de morfógenos fornecem informação posicional 441
- Na mosca-das-frutas, uma cascata de fatores de transcrição estabelece a segmentação do corpo 442
- Os genes contendo homeobox codificam os fatores de transcrição 445

20 Desenvolvimento e Mudança Evolutiva 448**20.1 Como um conjunto de ferramentas moleculares governa o desenvolvimento? 449**

- Genes de desenvolvimento em organismos diversos assemelham-se, mas produzem resultados diferentes 449

20.2 Como mutações com grandes efeitos mudam apenas uma parte do corpo? 451

- Interruptores genéticos governam como o conjunto de ferramentas moleculares é utilizado 451

- Modularidade permite diferenças nos padrões temporal e espacial de expressão gênica 451

20.3 Como diferenças entre espécies podem se desenvolver? 453**20.4 Como o ambiente modula o desenvolvimento? 454**

- Organismos respondem a sinais que preveem o futuro com precisão 454
- Alguns sinais que preveem corretamente o futuro podem nem sempre ocorrer 456
- Organismos não respondem a sinais pouco relacionados com futuras condições 456

Organismos podem não ter respostas apropriadas a novos sinais ambientais 457

20.5 Como genes de desenvolvimento restringem a evolução? 457
Evolução atua pela mudança do que já existe 457

Genes conservados de desenvolvimento podem levar à evolução paralela 458

Parte 5 ■ Os Padrões e os Processos da Evolução

21 A História da Vida na Terra 464

21.1 Como os cientistas datam eventos antigos? 465

Os radioisótopos fornecem uma forma para datar rochas 466
Os métodos de datação com radioisótopos foram ampliados e melhorados 467

21.2 Como os continentes e o clima da Terra modificaram-se ao longo do tempo? 468

O oxigênio aumentou regularmente na atmosfera da Terra 468
O clima da Terra tem oscilado entre as condições quente/úmido e frio/seco 470
Os vulcões têm, ocasionalmente, alterado a história da vida 471
Eventos externos desencadearam mudanças na Terra 471

21.3 Quais são os principais eventos da história da vida? 471

Diversos processos contribuem para a escassez de fósseis 472
A vida no Pré-Cambriano era pequena e aquática 472
A vida expandiu-se rapidamente durante o período Cambriano 472
Vários grupos de organismos se diversificaram 473
A diferenciação geográfica aumentou durante a era Mesozoica 476
A biota moderna evoluiu durante o Cenozoico 477
Três faunas principais dominaram a vida na Terra 479

21.4 Por que a taxa evolutiva difere entre diferentes grupos de organismos? 479

“Fósseis vivos” podem ser encontrados atualmente 479
As mudanças evolutivas foram graduais na maioria dos grupos 479
Às vezes, a taxa de mudança evolutiva é rápida 480
As taxas de extinção também variaram enormemente 480

22 Os Mecanismos da Evolução 486

22.1 Quais fatos formam a base do nosso entendimento sobre a evolução? 487

A adaptação possui dois significados 489



A genética de populações fornece apoio para a teoria de Darwin 489
A maioria das populações varia geneticamente 490
A mudança evolutiva pode ser medida em frequências alélicas e genotípicas 491
Sob certas condições, a estrutura genética de uma população não muda ao longo do tempo 492
Desvios do equilíbrio de Hardy-Weinberg mostram que a evolução está ocorrendo 493

22.2 Quais são os mecanismos da mudança evolutiva? 494

A mutação gera variação genética 494
O fluxo gênico pode alterar as frequências alélicas 494
A deriva genética pode causar grandes mudanças em populações pequenas 494
Cruzamentos não aleatórios modificam as frequências genotípicas 495

22.3 Quais mecanismos evolutivos resultam em adaptação? 497

A seleção natural produz resultados variáveis 497
A seleção sexual influencia o sucesso reprodutivo 498

22.4 Como a variação genética é mantida nas populações? 501

Mutações neutras podem-se acumular nas populações 501
A recombinação sexual amplifica o número de genótipos possíveis 501
A seleção dependente de frequência mantém a variação genética das populações 501
A variação ambiental favorece a variação genética 502
Grande parte da variação genética pode ser mantida em subpopulações geograficamente distintas 503

22.5 Quais são as restrições da evolução? 503

Os processos do desenvolvimento limitam a evolução 504
Relações de custo-benefício limitam a evolução 504
Na evolução, os resultados de curto e longo prazo podem ser diferentes 504

22.6 Como os humanos têm influenciado a evolução? 505

23 As Espécies e Sua Formação 508

23.1 O que é uma espécie? 509

Podemos reconhecer e identificar muitas espécies pela sua aparência 509
As espécies se formam ao longo do tempo 510

23.2 Como novas espécies surgem? 511

A especiação alopatrica requer isolamento genético quase completo 511
A especiação simpátrica ocorre sem barreiras físicas 513

23.3 O que ocorre quando espécies recém-formadas entram em contato? 515

As barreiras pré-zigóticas operam antes da fertilização 515
Barreiras pós-zigóticas operam após a fertilização 516
Zonas híbridas podem se formar se o isolamento reprodutivo for incompleto 517

23.4 Por que as taxas de especiação variam? 518

23.5 Por que radiações adaptativas ocorrem? 520

24 A Evolução dos Genes e Genomas 524

24.1 O que os genomas podem revelar sobre evolução? 525

- A evolução de genomas resulta na diversidade biológica 525
- Genes e proteínas são comparados pelo alinhamento de sequência 526
- Modelos de evolução de sequências são utilizados para calcular a divergência evolutiva 527
- Estudos experimentais examinam a evolução molecular diretamente 527

24.2 Quais são os mecanismos da evolução molecular? 530

- Boa parte da evolução é neutra 531
- A seleção positiva ou estabilizadora pode ser detectada no genoma 532
- O tamanho do genoma e sua organização também evoluem 533
- Novas funções podem surgir por duplicação gênica 534
- Algumas famílias de genes evoluem pela evolução em concerto 535

24.3 Quais são algumas aplicações da evolução molecular? 536

- Dados moleculares de sequências são utilizados para determinar a história evolutiva de genes 537
- A evolução gênica é utilizada para estudar a função de proteínas 538
- A evolução *in vitro* produz novas moléculas 538
- A evolução molecular é utilizada para estudar e combater doenças 538

25 Reconstruindo e Usando Filogenias 542

25.1 O que é filogenia? 543

- Toda a vida conecta-se pela história evolutiva 544
- Comparações entre espécies requerem uma perspectiva evolutiva 544

25.2 Como são construídas as árvores filogenéticas? 545

- A parcimônia fornece a explicação mais simples para dados filogenéticos 546
- Filogenias são reconstruídas a partir de muitas fontes de dados 547

- Modelos matemáticos expandem o poder da reconstrução filogenética 548
- A precisão de métodos filogenéticos pode ser testada 549
- Estados ancestrais podem ser reconstruídos 550
- Relógios moleculares adicionam uma dimensão de tempo 550

25.3 Como os biólogos utilizam as árvores filogenéticas? 551

- Filogenias ajudam-nos a reconstruir o passado 551
- Filogenias permitem-nos comparar e contrastar organismos vivos 552
- Biólogos usam filogenia para prever o futuro 553

25.4 Como a filogenia está relacionada à classificação? 554

- A filogenia é a base para a classificação biológica moderna 555
- Vários códigos de nomenclatura biológica governam o uso de nomes científicos 555

Parte 6 ■ A Evolução da Diversidade

26 Bacteria e Archaea: Os Domínios Procarióticos 560

26.1 De que maneira o mundo vivo começou a se diversificar? 561

- Os três domínios diferem em aspectos significativos 561

26.2 Onde são encontrados os procariotos? 563

- Os procariotos geralmente formam comunidades complexas 563

26.3 Quais são algumas das chaves do sucesso dos procariotos? 565

- Os procariotos possuem paredes celulares distintas 565
- Os procariotos possuem distintos modos de locomoção 566
- Os procariotos reproduzem-se assexuadamente, mas pode ocorrer recombinação genética 566
- Alguns procariotos se comunicam 566
- Os procariotos possuem rotas metabólicas surpreendentemente diversas 567

26.4 Como podemos determinar a filogenia dos procariotos? 569

- O tamanho dificulta o estudo da filogenia dos procariotos 569
- As sequências nucleotídicas dos procariotos revelam suas relações evolutivas 569
- A transferência gênica lateral pode complicar os estudos filogenéticos 570



- A grande maioria das espécies procarióticas nunca foi estudada 570
- As mutações são a fonte mais importante da variação procariótica 571

26.5 Quais são os principais grupos de procariotos conhecidos? 571

- Os espiroquetas locomovem-se por meio de filamentos axiais 571
- As clamídias são parasitas extremamente pequenos 572
- Algumas bactérias gram-positivas com alto conteúdo de GC são valiosas fontes de antibióticos 572

- As cianobactérias são importantes fotoautotróficos 573
- Nem todas as bactérias gram-positivas com baixo conteúdo de GC são gram-positivas 573
- As proteobactérias constituem um grupo grande e diverso 574
- Archaea difere em vários aspectos importantes em relação a Bacteria 575
- Muitos Crenarchaeota vivem em lugares quentes e ácidos 576
- Os Euryarchaeota vivem em muitos lugares surpreendentes 577
- Korarchaeota e Nanoarchaeota não são tão bem conhecidos 577

26.6 Como os procariotos afetam seus ambientes? 578

- Os procariotos são personagens importantes na ciclagem de elementos 578
- Os procariotos vivem na superfície e no interior de outros organismos 579
- Uma pequena minoria de bactérias é patogênica 579

27 A Origem e a Diversificação dos Eucariotos 582

27.1 Como os eucariotos microbianos afetam o mundo ao seu redor? 583

- Tanto a filogenia quanto a morfologia dos eucariotos microbianos ilustram a sua diversidade 583

O fitoplâncton é o produtor primário da cadeia alimentar marinha 584

Alguns eucariotos microbianos são endossimbiontes 585

Alguns eucariotos microbianos são mortais 585

Nós continuamos a contar com produtos de antigos eucariotos microbianos marinhos 586

27.2 Como surgiram as células eucarióticas? 588

A célula eucariótica moderna surgiu em várias etapas 588

Os cloroplastos são aprimoramentos da endossimbiose 589

Ainda não podemos esclarecer a presença de alguns genes procarióticos em eucariotos 590

27.3 Como os eucariotos microbianos diversificaram-se? 591

Os eucariotos microbianos apresentam diferentes estilos de vida 591

Os eucariotos microbianos possuem diversos meios de locomoção 591

Os eucariotos microbianos empregam vacúolos de diferentes maneiras 591

As superfícies celulares dos eucariotos microbianos são diversas 592

27.4 Como os eucariotos microbianos se reproduzem? 593

Alguns eucariotos microbianos apresentam reprodução sem sexo, e sexo sem reprodução 593

Muitos ciclos de vida de eucariotos microbianos caracterizam-se por alternância de gerações 593

As clorofíceas representam exemplos de diversos ciclos de vida 594

Os ciclos de vida de alguns eucariotos microbianos requerem mais de uma espécie hospedeira 595

27.5 Quais são os principais grupos de eucariotos? 596

Os alveolados possuem bolsas sob suas membranas plasmáticas 596

Os estramenópilas possuem dois flagelos irregulares, um com pelos 598

As algas vermelhas possuem um pigmento fotossintetizante acessório distintivo 601

Clorofíceas, carófitas e plantas terrestres contêm clorofilas *a* e *b* 602

Os diplomonados e os parabasalídeos são Excavata sem mitocôndrias 603

Os heterolobóceos alternam entre formas ameboides e formas com flagelos 603

Os euglenídeos e os cinetoplastídeos possuem mitocôndrias e flagelos distintivos 603

Os foraminíferos criaram vastos depósitos de calcário 604

As radiolárias possuem pseudópodos delgados e firmes 605

Os amebozoários utilizam pseudópodos em forma de lóbulos para a locomoção 605

28 Plantas sem Sementes: Do Mar para a Terra 610

28.1 Como as plantas terrestres surgiram? 611

Há dez grupos principais de plantas terrestres 611

As plantas terrestres surgiram de um clado de algas verdes 612

28.2 Como as plantas colonizaram e conquistaram a superfície terrestre? 613

Adaptações para viver na terra distinguem plantas terrestres de algas verdes 613

As plantas avasculares geralmente vivem onde há disponibilidade de água 614

Os ciclos de vida das plantas terrestres caracterizam-se por alternância de gerações 614

Os esporófitos de plantas avasculares são dependentes dos gametófitos 616

28.3 Que características distinguem as plantas vasculares? 616

Tecidos vasculares transportam água e materiais dissolvidos 617

As plantas vasculares têm evoluído por quase meio bilhão de anos 618

As primeiras plantas vasculares não apresentavam raízes ou folhas 619

As plantas vasculares ramificaram-se 619

As raízes podem ter evoluído de ramos aéreos (galhos) 619

As pteridófitas e as plantas com sementes possuem folhas verdadeiras 620

A heterosporia surgiu entre as plantas vasculares 621

28.4 Quais são os clados principais de plantas sem sementes? 622

As hepáticas podem representar o mais antigo clado sobrevivente de plantas 622

As antocerófitas possuem estômatos, cloroplastos distintivos e esporófitos sem talos 622

Os mecanismos de transporte de água e açúcar surgiram nos musgos 623

Algumas plantas vasculares possuem tecido vascular, mas não sementes 624

Os lycopódeos são irmãos das outras plantas vasculares 624

As cavalinhas, as psilófitas e as samambaias constituem um clado 625

29 A Evolução das Plantas com Sementes 630

29.1 Como as plantas com sementes tornaram-se a vegetação dominante de hoje? 631

Características do ciclo de vida das plantas com sementes protegem gametas e embriões 631

A semente é um pacote complexo e bem protegido 633

Uma mudança na anatomia possibilita o crescimento de plantas com sementes a grandes estaturas 634

29.2 Quais são os principais grupos de gimnospermas? 634

A relação entre gnetófitas e coníferas é tema de pesquisa contínua 635

As coníferas possuem cones, mas nenhum gameta móvel 636

29.3 Quais aspectos distinguem as angiospermas? 638

As estruturas sexuais das angiospermas são as flores 638

A estrutura da flor evoluiu ao longo do tempo 640

As angiospermas coevoluíram com os animais 641

O ciclo de vida das angiospermas apresenta dupla fertilização 642

As angiospermas produzem frutos 643

29.4 Como as angiospermas foram originadas e se diversificaram? 645

O clado basal das angiospermas é uma questão controversa 645

A origem das angiospermas permanece um mistério 646

29.5 Como as plantas sustentam o nosso mundo? 647

As plantas com sementes são a nossa primeira fonte de alimento 647

As plantas com sementes são fontes de medicamentos desde os tempos antigos 647

30 Fungos: Recicladores, Patógenos, Parasitas e Parceiros de Plantas 650

30.1 Como os fungos prosperam em praticamente todos os ambientes? 651

O corpo de um fungo multicelular é composto por hifas 651

Os fungos estão em contato íntimo com o ambiente 652

Os fungos exploram muitas fontes de nutrientes 653

O balanço nutricional e a reprodução dos fungos 654

30.2 Como os fungos são benéficos para outros organismos? 655

Os fungos sapróbicos removem o lixo da Terra e contribuem para o ciclo do carbono do planeta 655

As relações mutualísticas são benéficas para ambos os parceiros 655

Os líquens podem crescer onde as plantas não podem 655

As micorrizas são essenciais para a maioria das plantas 657

Os fungos endofíticos protegem algumas plantas contra patógenos, herbívoros e estresse 658

Alguns fungos servem de alimento para as formigas que os cultivam 658

30.3 Como os ciclos de vida dos fungos diferem uns dos outros? 659

Os fungos reproduzem-se tanto sexuadamente quanto assexuadamente 659

A condição dicariótica é exclusiva dos fungos 662

Os ciclos de vida de alguns fungos parasíticos requerem dois hospedeiros 662

Os “fungos imperfeitos” não possuem uma fase sexuada 663

30.4 Como distinguimos os grupos de fungos? 663

Os quitrídeos são os únicos fungos com flagelos 663

Os zigomicetos reproduzem-se sexuadamente pela fusão de dois gametângios 664

Os glomeromicetos formam micorrizas arbusculares 665

A estrutura reprodutiva dos ascomicetos é o asco 665

A estrutura reprodutiva dos basidiomicetos é o basídio 667

31 As Origens dos Animais e a Evolução dos Planos Corporais 670

31.1 Que evidências indicam que os animais são monofiléticos? 671

A monofilia dos animais sustenta-se por seqüências gênicas e morfologia 671

Os padrões de desenvolvimento mostram relações evolutivas entre os animais 672

31.2 Quais são as características dos planos corporais dos animais? 674

A maioria dos animais apresenta simetria 674

A estrutura da cavidade corporal influencia o movimento 674

A segmentação aperfeiçoa o controle do movimento 675

Os membros otimizam a locomoção 676

31.3 Como os animais obtêm seus alimentos? 676

Os filtradores capturam presas pequenas 676

Os herbívoros alimentam-se de plantas 677

Os predadores capturam e dominam presas grandes 678

Os parasitas vivem dentro ou sobre outros organismos 679

31.4 Como se diferem os ciclos de vida dos animais? 679

Todos os ciclos de vida possuem pelo menos um estágio de dispersão 680

Nenhum ciclo de vida pode maximizar todas as vantagens 680

Os ciclos de vida dos parasitas evoluem para facilitar a dispersão e superar as defesas do hospedeiro 681

31.5 Quais são os principais grupos de animais? 682

As esponjas são animais pouco organizados 683

Os ctenóforos são diploblásticos e radialmente simétricos 684

Os cnidários são carnívoros especializados 685

32 Animais Protostomados 690

32.1 O que é um protostomado? 691

Os trocóforos, os lofóforos e a clivagem espiral evoluíram entre os lofotrocozoários 692

Os ecdisozoários precisam trocar seus exoesqueletos 693

Os quetognatas mantiveram algumas características ancestrais de desenvolvimento 694

32.2 Quais são os principais grupos de lofotrocozoários? 695

Os ectoproctos vivem em colônias 695

Os vermes chatos, os rotíferos e os nemertinos são parentes estruturalmente diversos 695

Os foronídeos e os braquiópodes usam lofóforos para extrair comida da água 697

Os anelídeos e os moluscos são grupos irmãos 698

Os anelídeos possuem corpos segmentados 698

Os moluscos passaram por dramática radiação evolutiva 700

32.3 Quais são os principais grupos de ecdisozoários? 702

Vários grupos marinhos possuem relativamente poucas espécies 702

Os nematódeos e seus parentes são abundantes e diversos 703

32.4 Por que os artrópodes dominam a fauna da Terra? 705

As linhagens relacionadas aos artrópodes possuem apêndices carnosos e não articulados 705

As patas articuladas surgiram nos trilobitas 706

Os crustáceos são diversificados e abundantes 706

Os insetos são os artrópodes dominantes nas áreas terrestres 708

Os miriápodes possuem muitas patas 712

A maioria dos quelicerados possui quatro pares de patas 712

Uma visão geral da evolução dos protostomados 714

33 Os Animais Deuterostomados 716

33.1 O que é um deuterostomado? 717

33.2 Quais são os principais grupos de equinodermos e hemicordados? 718

Os equinodermos apresentam um sistema vascular de água 719

Os hemicordados apresentam um plano corporal composto de três partes 721

33.3 Que novas características evoluíram nos cordados? 722

Os adultos da maioria dos urocordados e cefalocordados são sésseis 722

Uma nova estrutura dorsal de sustentação substitui a notocorda nos vertebrados 723

O plano corporal dos vertebrados pode sustentar grandes animais 724

Nadadeiras e bexigas natatórias melhoraram a estabilidade e o controle da locomoção 725

33.4 Como os vertebrados colonizaram a terra? 728

Barbatanas articuladas deram mais sustentação aos peixes 728

Os anfíbios adaptaram-se à vida na Terra 728

Os amniotas colonizaram ambientes secos 730

Os répteis adaptaram-se à vida em muitos habitats 731

Os crocodilianos e as aves compartilham a sua ancestralidade com os dinossauros 731

A evolução de penas permitiu que as aves voassem 733

Os mamíferos radiaram após a extinção dos dinossauros 734

A maioria dos mamíferos pertence ao grupo dos térios 735

33.5 Quais traços caracterizam os primatas? 737

Os ancestrais humanos evoluíram para uma locomoção bípede 738

Os cérebros humanos tornaram-se maiores quando as mandíbulas tornaram-se menores 740

Os humanos desenvolveram uma complexa linguagem e cultura 741

Parte 7 ■ Ecologia

34 A Ecologia e a Distribuição da Vida 744

34.1 O que é ecologia? 745

34.2 Como os climas estão distribuídos na Terra? 746

A energia solar direciona os climas globais 746

A circulação oceânica global é determinada pelos padrões de vento 747

Os seres vivos precisam se adaptar às alterações em seu ambiente 747

34.3 O que é um bioma? 748

A tundra é encontrada em altas latitudes e em montanhas altas 750

As árvores perenifólias dominam a maioria das florestas boreais 751

As florestas temperadas decíduas mudam com as estações 752

As pradarias temperadas estão difundidas 753

Os desertos frios são altos e secos 754

Os desertos quentes ocorrem por volta dos 30° de latitude 755

O clima do bioma chaparral é seco e agradável 756

As caatingas e as savanas tropicais têm climas semelhantes 757

As florestas tropicais decíduas ocorrem em planícies quentes 758

As florestas tropicais perenifólias são ricas em espécies 759

A distribuição dos biomas não é determinada apenas pelo clima 760

34.4 O que é uma região biogeográfica? 760

Três avanços científicos mudaram o campo da biogeografia 761

Uma única barreira pode dividir a distribuição de muitas espécies 765

O intercâmbio biótico segue a fusão de porções de terra 766

A vicariância e a dispersão influenciam a maioria dos padrões biogeográficos 767

34.5 Como a vida está distribuída nos ambientes aquáticos? 767

As correntes criam regiões biogeográficas nos oceanos 767

Ambientes de água doce podem ser ricos em espécies 768

35 Comportamento e Ecologia Comportamental 772

35.1 Quais as perguntas que os biólogos fazem sobre o comportamento animal? 773

35.2 Como os genes e o ambiente interagem para moldar o comportamento? 774



Experimentos podem diferenciar as influências ambientais e genéticas sobre o comportamento 774

O controle genético do comportamento é adaptativo sob muitas condições 776

A estampagem ocorre em um momento específico do desenvolvimento 777

Alguns comportamentos resultam de intrincadas relações entre herança genética e aprendizagem 777

Os hormônios influenciam o comportamento em momentos determinados geneticamente 778

35.3 Como as respostas comportamentais ao ambiente influenciam o valor adaptativo? 779

A escolha do local para viver influencia a sobrevivência e o sucesso reprodutivo 779

Defender um território tem benefícios e custos 780

Os animais escolhem os alimentos 781

A escolha de parceiros influencia o valor adaptativo 784

As respostas aos estímulos ambientais devem ocorrer na hora certa 784

Os animais precisam encontrar os seus caminhos no ambiente 786

35.4 Como os animais se comunicam? 788

Os sinais visuais são rápidos e versáteis 789

Os sinais químicos são duráveis 789

Os sinais auditivos comunicam bem à distância 789

Os sinais táteis podem comunicar mensagens complexas 789

Os sinais elétricos podem transmitir mensagens em águas escuras 789

35.5 Por que a sociabilidade evoluiu em alguns animais? 790

A vida em grupo confere benefícios e, também, impõe custos 790

O cuidado parental pode evoluir para sistemas sociais mais complexos 791

O altruísmo pode evoluir por meio de sua contribuição ao valor adaptativo inclusivo de um animal 791

35.6 Como o comportamento influencia as populações e as comunidades? 793

A seleção de habitat e de alimento influencia a distribuição dos seres vivos 793

A territorialidade influencia a estrutura da comunidade 793

Os animais sociais podem atingir altas densidades populacionais 793

36 Ecologia de Populações 798

36.1 Como os ecólogos estudam as populações? 799

Os ecólogos utilizam vários tipos de artifícios para localizar os indivíduos 799

As densidades populacionais podem ser estimadas através de amostras 800

As taxas de natalidade e mortalidade podem ser estimadas a partir de dados de densidade populacional 801

36.2 Como as condições ecológicas afetam as bionomias? 803

36.3 Quais os fatores que influenciam as densidades populacionais? 805

Todas as populações têm potencial para um crescimento exponencial 805

O crescimento populacional é limitado pelos recursos e interações bióticas 805

A densidade populacional influencia as taxas de natalidade e mortalidade 806

Vários fatores explicam porque algumas espécies são mais comuns do que outras 807

36.4 Como os ambientes variáveis espacialmente influenciam a dinâmica populacional? 810

Muitas populações vivem em manchas de habitat separadas 810

Eventos ocorridos em sítios distantes podem influenciar as densidades populacionais locais 810

36.5 Como podemos manejar as populações? 812

Características demográficas determinam os níveis de exploração sustentável 812

Informações demográficas são utilizadas para controlar populações 812

Podemos manejar nossa própria população? 813

37 Ecologia de Comunidades 816

37.1 O que são comunidades ecológicas? 817

Comunidades são conjuntos variáveis de espécies 817

Os seres vivos de uma comunidade utilizam várias fontes de energia 818

37.2 Que processos influenciam a estrutura das comunidades? 820

A predação e o parasitismo são universais 821

A competição é comum, pois todas as espécies compartilham recursos 824

O comensalismo e o amensalismo são interações comuns 825

A maioria das espécies participa de interações de mutualismo 826

37.3 Como as interações entre as espécies produzem as cascatas tróficas? 827

Um predador pode afetar muitas espécies diferentes 827

Espécies-chave têm efeitos de ampla distribuição 828

37.4 Como as perturbações afetam as comunidades ecológicas? 829

Sucessão é uma mudança em uma comunidade após a perturbação 829

A riqueza de espécies é maior sob níveis de perturbação intermediários 831

A facilitação e a inibição influenciam a sucessão 831

37.5 O que determina a riqueza de espécies em comunidades ecológicas? 832

A riqueza de espécies influencia-se pela produtividade 832

A riqueza de espécies e a produtividade influenciam a estabilidade do ecossistema 832

38 Ecossistemas e Ecologia Global 836

38.1 Quais são os compartimentos do ecossistema global? 837

Os oceanos recebem materiais vindos do ambiente terrestre e da atmosfera 838

A água se movimenta rapidamente através de lagos e rios 838

A atmosfera regula a temperatura próxima à superfície da Terra 840

Os ambientes terrestres cobrem cerca de um quarto da superfície da Terra 840

38.2 Como a energia flui através do ecossistema global? 841

A energia solar guia os processos nos ecossistemas 841

As atividades humanas modificam o fluxo de energia 842

38.3 Como é o ciclo de materiais através do ecossistema global? 843

A água transfere materiais entre os compartimentos 843

O fogo é um importante condutor de elementos 844

O ciclo do carbono tem sido alterado pelas atividades industriais 845

Perturbações recentes no ciclo do nitrogênio têm efeitos adversos sobre os ecossistemas 848

A queima de combustíveis fósseis afeta o ciclo do enxofre 849

O ciclo global do fósforo não tem um componente atmosférico 850

Outros ciclos biogeoquímicos também são importantes 851

Os ciclos biogeoquímicos interagem 852

38.4 Quais serviços são fornecidos pelos ecossistemas? 853

38.5 Quais são as opções de manejo sustentável dos ecossistemas? 855



39 Biologia da Conservação 858

39.1 O que é biologia da conservação? 859

A biologia da conservação é um campo científico normativo 859

A biologia da conservação visa a prevenção da extinção de espécies 860

39.2 Como os biólogos preveem as mudanças na biodiversidade? 861

39.3 Quais são os fatores que ameaçam a sobrevivência das espécies? 863

As espécies estão ameaçadas pela fragmentação, degradação e perda de habitat 863

A sobre-exploração levou muitas espécies à extinção 864

Predadores, competidores e patógenos invasores ameaçam muitas espécies 865

A rápida mudança climática pode causar a extinção de espécies 866

39.4 Quais são as estratégias utilizadas pelos biólogos da conservação? 867

Áreas protegidas preservam o habitat e previnem a sobre-exploração 867

Ecossistemas degradados podem ser restaurados 868

Padrões de alteração precisam, algumas vezes, ser restaurados 869

Novos habitats podem ser criados 870

Utilizamos mercados para influenciar a exploração das espécies 870

O fim do comércio é crucial para salvar algumas espécies 871

O controle das invasões de espécies exóticas é importante 871

A biodiversidade pode ser lucrativa 872

Um estilo de vida comedido ajuda a preservar a biodiversidade 873

Programas de reprodução em cativeiro podem manter poucas espécies 875

A herança de Samuel Plimsoll 875

Parte 8 ■ Angiospermas: Forma e Função

40 O Corpo da Planta 880

40.1 Como o corpo da planta é organizado? 881

- As raízes fixam a planta ao substrato e absorvem água e minerais 882
- Os caules sustentam gemas, folhas e flores 883
- As folhas são os sítios primários da fotossíntese 883
- Os sistemas de tecidos sustentam as atividades das plantas 884

40.2 Como as células vegetais são únicas? 885

- As paredes celulares podem ser estruturalmente complexas 885
- As células de parênquima são vivas quando desempenham suas funções 885
- As células de colênquima proporcionam suporte flexível enquanto vivas 886
- As células de esclerênquima proporcionam sustentação rígida 886
- As células do xilema transportam água e íons minerais das raízes para os caules e as folhas 886
- As células do floema translocam carboidratos e outros nutrientes 888

40.3 Como os meristemas constroem o corpo da planta? 888

- As plantas e os animais crescem diferentemente 889
- A hierarquia de meristemas gera um corpo vegetal 890
- O meristema apical da raiz origina a coifa e os meristemas primários 891
- Os produtos dos meristemas primários da raiz se tornam tecidos desse órgão 892
- Os produtos dos meristemas primários do caule tornam-se tecidos desse órgão 893
- Muitos caules e raízes de eudicotiledôneas passam por crescimento secundário 894

40.4 Como a anatomia foliar sustenta a fotossíntese? 896

41 Transporte em Plantas 900

41.1 Como as células vegetais absorvem água e solutos? 901

- Por osmose, a água desloca-se através de uma membrana 901
- As aquaporinas facilitam o deslocamento de água através de membranas 903
- A absorção de íons minerais exige proteínas de transporte de membrana 903



A água e os íons passam para o xilema via apoplasto e simplasto 904

41.2 Como a água e os íons minerais são transportados no xilema? 905

- Os experimentos refutam o transporte no xilema pela ação de bombeamento de células vivas 905
- A pressão de raiz não é responsável pelo transporte no xilema 906
- O mecanismo transpiração-coesão-tensão é responsável pelo transporte no xilema 906
- Uma câmara de pressão mede a tensão na seiva do xilema 907

41.3 Como os estômatos controlam a perda de água e a absorção de CO₂? 909

- As células-guarda controlam o tamanho da abertura estomática 909
- A transpiração de plantas de lavoura pode ser diminuída 910

41.4 Como as substâncias são translocadas no floema? 911

- O modelo de fluxo de pressão parece explicar a translocação no floema 912
- O modelo de fluxo de pressão foi testado experimentalmente 912
- Os plasmodesmas permitem a transferência de material entre células 913

42 Nutrição Vegetal 916

42.1 Como as plantas obtêm nutrientes? 917

- Os organismos autótrofos formam seus próprios compostos orgânicos 917

Como um organismo fixo encontra nutrientes? 918

42.2 Que nutrientes minerais as plantas requerem? 918

- Os sintomas de deficiência revelam nutrição inadequada 919
- Vários elementos essenciais desempenham múltiplos papéis 920
- Experimentos foram delineados para identificar elementos essenciais 920

42.3 Quais são os papéis do solo? 921

- A estrutura dos solos é complexa 921
- Os solos formam-se pela desagregação da rocha 922
- Os solos são a fonte da nutrição vegetal 922
- Os fertilizantes e o calcário são usados na agricultura 923
- As plantas afetam a fertilidade e o pH do solo 923

42.4 Como o nitrogênio vai do ar até as células vegetais? 924

- Os fixadores de nitrogênio tornam possível todas as outras vidas 924
- A nitrogenase catalisa a fixação de nitrogênio 925
- Algumas plantas e bactérias atuam em conjunto para fixar nitrogênio 925
- A fixação biológica de nitrogênio nem sempre atende às necessidades agrícolas 925
- As plantas e as bactérias participam no ciclo global do nitrogênio 926

42.5 Solo, ar e luz solar atendem às necessidades de todas as plantas? 928

- As plantas carnívoras suplementam sua nutrição mineral 928
- As plantas parasíticas aproveitam-se de outras plantas 928

43 Regulação do Crescimento Vegetal 932

43.1 Como se processa o desenvolvimento vegetal 933

- Vários hormônios e fotorreceptores regulam o crescimento vegetal 933
- As rotas de transdução de sinal estão envolvidas em todos os estágios do desenvolvimento vegetal 934
- A semente germina e forma uma plântula 934
- A planta floresce e frutifica 934
- A planta entra em senescência e morre 934
- Nem todas as sementes germinam sem estímulos 935

- A dormência da semente proporciona vantagens adaptativas 935
- A germinação da semente começa com a absorção de água 936
- O embrião precisa mobilizar suas reservas 936

43.2 O que realizam as giberelinas? 937

- Doença da “plântula louca” levou à descoberta das giberelinas 937
- As giberelinas têm muitos efeitos sobre o crescimento e desenvolvimento vegetais 938

43.3 O que realiza a auxina? 939

- O fototropismo levou à descoberta da auxina 939
- O transporte de auxina é polar e requer proteínas carreadoras 939
- A luz e a gravidade influenciam na direção do crescimento vegetal 941
- A auxina afeta o crescimento vegetal de várias maneiras 941
- Análogos da auxina como herbicidas 943
- A auxina promove o crescimento atuando nas paredes celulares 943
- A auxina e as giberelinas são reconhecidas por mecanismos similares 944

43.4 O que citocininas, etileno, ácido abscísico e brassinosteroides realizam? 945

- As citocininas são ativas desde a semente até a senescência 945
- O etileno é um hormônio gasoso que acelera a senescência foliar e o amadurecimento do fruto 946
- Ácido abscísico é o “hormônio do estresse” 947



- Os brassinosteroides são hormônios mediadores dos efeitos da luz 947

43.5 Como os fotorreceptores participam da regulação do crescimento vegetal? 948

- Os fitocromos atuam como mediadores dos efeitos das luzes vermelha e vermelho-distante 948
- Os fitocromos têm muitos efeitos sobre o crescimento e o desenvolvimento vegetais 949
- Os múltiplos fitocromos têm papéis diferentes no desenvolvimento 949
- Os criptocromos, a fototropina e a zeaxantina são receptores de luz azul 950

44 Reprodução em Angiospermas 954

44.1 Como ocorre a reprodução sexuada nas angiospermas? 955

- A flor é a estrutura das angiospermas para a reprodução sexuada 956
- As angiospermas têm gametófitos microscópicos 957
- A polinização possibilita a fecundação na ausência de água líquida 957
- Algumas angiospermas fazem “seleção de parceiro” 958
- Um tubo polínico descarrega gametas masculinos no saco embrionário 958
- As angiospermas realizam fertilização dupla 958
- Os embriões desenvolvem-se dentro de sementes 959
- Alguns frutos ajudam na dispersão das sementes 960

44.2 O que determina a transição do estado vegetativo para o estado de florescimento? 961

- Os meristemas apicais podem tornar-se meristemas de inflorescências 961
- Uma cascata de expressão gênica leva ao florescimento 961
- Os estímulos fotoperiódicos podem iniciar o florescimento 962
- As plantas variam em suas respostas aos diferentes estímulos fotoperiódicos 962
- O comprimento da noite é o estímulo fotoperiódico-chave na determinação do florescimento 963
- Os ritmos circadianos são mantidos por um relógio biológico 964
- Os fotorreceptores estabelecem o relógio biológico 965
- O estímulo ao florescimento origina-se em uma folha 965
- Em algumas plantas, o florescimento requer um período de temperatura baixa 967

44.3 Como as angiospermas reproduzem-se assexuadamente? 968

- Existem muitas formas de reprodução assexuada 968
- A reprodução vegetativa tem uma desvantagem 969
- A reprodução vegetativa é importante na agricultura 969

45 Respostas das Plantas aos Desafios Ambientais 972

45.1 Como as plantas lidam com os patógenos? 973

- As plantas vedam partes infectadas para restringir o dano 973
- Algumas plantas possuem defesas químicas potentes contra patógenos 974
- A resposta hipersensitiva constitui uma estratégia de refreamento localizada 974
- A resistência sistêmica adquirida constitui uma forma de “imunidade” a longo prazo 975
- Alguns genes de plantas pareiam com genes de patógenos 975
- As plantas desenvolvem imunidade específica a vírus de RNA 976

45.2 Como as plantas lidam como herbívoros? 976

- O pastejo aumenta a produtividade de algumas plantas 976
- Algumas plantas produzem defesas químicas contra herbívoros 977
- Alguns metabólitos secundários desempenham múltiplos papéis 977
- Algumas plantas precisam de ajuda 978
- Muitas defesas dependem de sinalização extensiva 978
- A tecnologia do DNA recombinante pode conferir resistência a insetos 978
- Por que as plantas não se autovenenam? 980

- As plantas nem sempre vencem 980

45.3 Como as plantas lidam com os extremos climáticos? 981

- Algumas folhas têm adaptações especiais a ambientes secos 981
- As plantas têm outras adaptações a um suprimento hídrico limitado 982
- Em solos saturados de água, o oxigênio é escasso 982
- As plantas têm maneiras de enfrentar temperaturas extremas 983

45.4 Como as plantas lidam com o sal e os metais pesados? 984

- A maioria das halófitas acumula sal 984
- Halófitas e xerófitas têm algumas adaptações semelhantes 984
- Alguns habitats são sobrecarregados com metais pesados 985

Parte 9 ■ Animais: Forma e Função

46 Fisiologia, Homeostasia e Termorregulação 990

46.1 Por que os animais devem regular seus ambientes internos? 991

- Um ambiente interno possibilita a existência de animais multicelulares complexos 991
- A homeostasia requer regulação fisiológica 992
- Os sistemas fisiológicos são compostos de células, tecidos e órgãos 993
- Os órgãos são constituídos de múltiplos tecidos 995

46.2 Como a temperatura afeta os sistemas vivos? 996

- Q_{10} é uma medida de sensibilidade à temperatura 996
- Os animais podem se aclimatar às variações sazonais de temperatura 997

46.3 Como os animais alteram suas trocas de calor com o meio ambiente? 997

- Como os endotérmicos produzem tanto calor? 997
- Ectotérmicos e endotérmicos respondem de forma diferente às mudanças de temperatura 998
- O balanço energético reflete adaptações para regulação de temperatura corpórea 999
- Ambos ectotérmicos e endotérmicos controlam o fluxo sanguíneo para a pele 1000
- Alguns peixes aumentam a temperatura corpórea conservando o calor metabólico 1000
- Alguns ectotérmicos regulam a produção de calor 1001

46.4 Como os mamíferos regulam sua temperatura corporal? 1002

- As taxas de metabolismo basal relacionam-se com o tamanho corpóreo do animal e com a temperatura do ambiente 1002
- Os endotérmicos respondem ao frio através da produção de calor ou da redução da perda de calor 1003
- A evaporação da água pode dissipar calor, mas com um custo 1004
- O termostato dos vertebrados utiliza informação de retroalimentação 1004
- A febre ajuda a combater infecções 1005
- Desligando o termostato 1006

47 Hormônios Animais 1010

47.1 O que são hormônios e como eles atuam? 1011

- Hormônios podem agir localmente ou à distância 1011



- A comunicação hormonal surgiu cedo na evolução 1012
- Hormônios oriundos da cabeça controlam a muda de insetos 1012
- O hormônio juvenil controla o desenvolvimento em insetos 1013
- Hormônios podem ser divididos em três grupos químicos 1014
- Receptores de hormônios são encontrados na superfície da célula ou no seu interior 1014
- A ação hormonal depende da natureza da célula-alvo e seus receptores 1015

47.2 Como os sistemas nervoso e endócrino interagem? 1016

- A hipófise conecta funções nervosas e endócrinas 1016
 - A hipófise anterior é controlada por hormônios hipotalâmicos 1018
 - Vias de retroalimentação negativa controlam a secreção hormonal 1019
- #### 47.3 Quais são os principais hormônios e glândulas endócrinas dos mamíferos? 1019
- A Tireoxina controla o metabolismo celular 1019
 - A disfunção da tireoide causa bócio 1021
 - A calcitonina reduz o cálcio sérico 1021
 - O paratormônio eleva os níveis de cálcio no sangue 1021
 - A Vitamina D é um hormônio 1022
 - O PTH reduz os níveis de fosfato do sangue 1023
 - A insulina e o glucagon regulam a glicose do sangue 1023
 - A somatostatina é o hormônio do cérebro e do intestino 1023
 - A glândula adrenal são duas glândulas em uma 1023
 - Os esteroides sexuais são produzidos pelas gônadas 1025

- As mudanças no controle da produção de esteroides sexuais desencadeiam a puberdade 1025
- A melatonina está envolvida nos ritmos biológicos e na fotoperiodicidade 1026
- A lista dos hormônios é longa 1026

47.4 Como estudamos os mecanismos de ação hormonal? 1026

- Hormônios podem ser detectados e medidos com imunoensaio 1027
- Um hormônio pode agir através de muitos receptores 1028
- Um hormônio pode agir através de diferentes vias de sinalização intracelular 1029

48 Reprodução Animal 1032

48.1 Como os animais se reproduzem sem sexo? 1033

- Brotamento e regeneração produzem novos indivíduos por mitose 1033
- Partenogênese é o desenvolvimento de ovos não fertilizados 1034

48.2 Como os animais se reproduzem sexuadamente? 1035

- Gametogênese produz óvulos e espermatozoides 1035
- A fertilização é a união do espermatozoide com o óvulo 1037
- O acasalamento promove o encontro do óvulo com o espermatozoide 1039
- Um único corpo pode funcionar como macho e fêmea 1040
- A evolução do sistema reprodutor dos vertebrados é paralela à conquista do ambiente terrestre 1040
- O sistema reprodutivo conforme o local em que o embrião se desenvolve 1041

48.3 Como funcionam os sistemas reprodutivos masculino e feminino? 1042

- Os órgãos sexuais masculinos produzem e liberam o sêmen 1042
- A função sexual masculina é controlada por hormônios 1045
- Os órgãos sexuais femininos produzem os óvulos, recebem os espermatozoides e nutrem o embrião 1045
- O ciclo ovariano produz um óvulo maduro 1046
- O ciclo uterino prepara o ambiente para o óvulo fertilizado 1047
- Hormônios controlam e coordenam os ciclos ovariano e uterino 1047
- A gravidez mantém-se pelos hormônios produzidos nas membranas extraembrionárias 1048
- O parto inicia-se por estímulos hormonais e mecânicos 1048

48.4 Como é possível controlar a fertilidade e manter a saúde sexual? 1049

- A resposta sexual humana consiste em quatro fases 1049
- Humanos utilizam uma variedade de métodos para controlar a fertilidade 1050
- Técnicas reprodutivas ajudam a solucionar problemas de infertilidade 1052
- Comportamento sexual transmite muitas doenças 1053

49 Desenvolvimento Animal: Dos Genes aos Organismos 1056

49.1 Como a fertilização ativa o desenvolvimento? 1057

- O espermatozoide e o óvulo fazem contribuições diferentes para o zigoto 1057
- A reorganização no citoplasma do ovo inicia o estágio de determinação 1058
- A clivagem redistribui o citoplasma 1058
- A clivagem em mamíferos é singular 1059
- Blastômeros específicos geram tecidos e órgãos específicos 1061

49.2 Como a gastrulação produz múltiplas camadas de tecidos? 1062

- A invaginação do polo vegetal caracteriza a gastrulação no ouriço-do-mar 1063
- A gastrulação na rã inicia no crescente cinzento 1064
- O lábio dorsal do blastóporo organiza a formação do embrião 1064
- Os mecanismos moleculares do organizador envolvem múltiplos fatores de transcrição 1065
- O organizador muda sua atividade ao migrar do lábio dorsal 1067
- A gastrulação em répteis e aves é uma adaptação para ovos com vitelo 1067
- Os mamíferos placentários não têm vitelo, mas mantêm o padrão de gastrulação de aves e répteis 1068

49.3 Como se desenvolvem os órgãos e os sistemas de órgãos? 1068

- O cenário é determinado pelo lábio dorsal do blastóporo 1068
- A segmentação corporal desenvolve-se durante a neurulação 1069
- Os genes Hox controlam o desenvolvimento ao longo do eixo anteroposterior 1069

49.4 Qual a origem da placenta? 1070

- As membranas extraembrionárias são formadas com a contribuição de todas as camadas germinativas 1070
- Em mamíferos as membranas extraembrionárias formam a placenta 1071

- As membranas extraembrionárias fornecem um meio de detecção de doenças genéticas 1072

49.5 Quais são os estágios de desenvolvimento humano? 1072

- O embrião torna-se feto no primeiro trimestre 1072
- O feto cresce e amadurece durante o segundo e terceiro trimestre 1073
- O desenvolvimento continua ao longo da vida 1074

50 Neurônios e Sistema Nervoso 1078

50.1 Quais células são exclusivas do sistema nervoso? 1079

- As redes neurais variam em complexidade 1079
- Os neurônios são a unidade funcional do sistema nervoso 1080
- As células gliais também são componentes importantes dos sistemas nervosos 1082

50.2 Como os neurônios geram e conduzem sinais 1082

- Conceitos elétricos simples são a base da função neuronal 1083
- O potencial de membrana pode ser medido com eletrodos 1083
- Bombas iônicas e canais geram potenciais de membrana 1083
- Os canais iônicos e suas propriedades agora podem ser estudados diretamente 1086
- Canais iônicos com portões alteram o potencial de membrana 1086
- Mudanças súbitas nos canais de Na^+ e K^+ geram os potenciais de ação 1087
- Potenciais de ação são conduzidos ao longo do axônio sem redução no sinal 1089
- Potenciais de ação podem saltar ao longo dos axônios 1090

50.3 Como neurônios se comunicam com outras células 1091

- A junção neuromuscular é uma sinapse química modelo 1091
- A chegada de um potencial de ação causa a liberação do neurotransmissor 1091
- A membrana pós-sináptica responde ao neurotransmissor 1092
- Sinapses entre os neurônios podem ser excitatórias ou inibitórias 1093
- A célula pós-sináptica soma os estímulos excitatórios e inibitórios 1093
- Sinapses podem ser rápidas ou lentas 1094
- Sinapses elétricas são rápidas, mas não integram adequadamente a informação 1094
- A ação de um neurotransmissor depende do receptor ao qual ele se liga 1094

- Os receptores de glutamato podem estar envolvidos no aprendizado e na memória 1095

- Para desligar as respostas, as sinapses devem ter os neurotransmissores retirados 1096

51 Sistemas Sensoriais 1100

51.1 Como células sensoriais convertem estímulos em potenciais de ação? 1101

- Proteínas receptoras sensoriais atuam como canais iônicos 1101
- A transdução sensorial envolve alterações nos potenciais de membrana 1102
- A sensação depende do neurônio que é estimulado pelo potencial de ação da célula sensorial 1103
- Muitos receptores adaptam-se à estimulação repetida 1103

51.2 Como sistemas sensoriais detectam estímulos químicos 1103

- Artrópodes fornecem bons exemplos para o estudo da quimiorrecepção 1104
- O olfato é o sentido que percebe odores 1104
- O órgão vomeronasal percebe feromônios 1105
- A gustação é o sentido do paladar 1105

51.3 Como sistemas mecanorreceptores detectam forças mecânicas? 1106

- Muitas células diferentes respondem ao toque e à pressão 1106
- Mecanorreceptores são encontrados em músculos, tendões e ligamentos 1107
- Sistemas auditivos usam células pilosas para perceber ondas sonoras 1108
- Células pilosas fornecem informações sobre movimento 1110

51.4 Como sistemas sensoriais detectam luz? 1112

- Rodopsinas são responsáveis pela fotorrecepção 1112
- Invertebrados apresentam uma variedade de sistemas visuais 1113
- Olhos capazes de formar imagens evoluíram de forma independente em vertebrados e cefalópodes 1114
- A retina de vertebrados percebe e processa informação visual 1116

52 O Sistema Nervoso dos Mamíferos: Estrutura e Funções Superiores 1120

52.1 Como o sistema nervoso dos mamíferos está organizado? 1121

- A organização funcional do sistema nervoso baseia-se no fluxo e no tipo de informação 1121

- O SNC dos vertebrados se desenvolve a partir do tubo neural embrionário 1122
- A medula espinhal transmite e processa informações 1123
- O sistema reticular alerta o prosencéfalo 1124
- O centro do prosencéfalo controla motivações fisiológicas, instintos e emoções 1124
- Regiões do telencéfalo interagem para produzir consciência e controle de comportamentos 1125

52.2 Como a informação é processada por circuitos neuronais? 1128

- O sistema nervoso autônomo controla processos fisiológicos involuntários 1128
- Os padrões de luz que incidem na retina são integrados no córtex visual 1128
- Células corticais recebem estímulos dos dois olhos 1132

52.3 As funções superiores podem ser entendidas em termos celulares? 1133

- O sono e o sonho se refletem em padrões elétricos no córtex cerebral 1133
- Parte dos processos de aprendizado e de memória pode estar localizada em áreas encefálicas específicas 1135
- Habilidades linguísticas são localizadas no hemisfério cerebral esquerdo 1136
- O que é consciência? 1137

53 Efeitos: Como os Animais Conseguem Fazer as Coisas 1140

53.1 Como os músculos se contraem? 1141

- Filamentos deslizantes provocam a contração do músculo esquelético 1141
- As interações actina-miosina fazem os filamentos deslizar 1143
- As interações actina-miosina são controladas por íons cálcio 1144
- O músculo cardíaco faz o coração bater 1146
- O músculo liso provoca contrações lentas de muitos órgãos internos 1146
- Os abalos de músculos esqueléticos são somados em contrações graduais 1148

53.2 O que determina a força e a resistência musculares? 1149

- Os tipos de fibras musculares determinam resistência e força 1149
- Um músculo tem um comprimento ótimo para gerar a tensão máxima 1150
- O exercício aumenta a força e a resistência musculares 1150
- O suprimento de ATP do músculo limita o desempenho 1150

53.3 Que papéis os sistemas esqueléticos desempenham no movimento? 1152

- Um esqueleto hidrostático consiste em fluidos em uma cavidade muscular 1152
- Exoesqueletos são estruturas rígidas externas 1152
- Endoesqueletos vertebrados dão suporte aos músculos 1153
- Os ossos desenvolvem-se a partir do tecido conjuntivo 1154
- Os ossos que têm uma articulação comum podem funcionar como alavancas 1155

53.4 Quais são alguns outros tipos de efetores? 1156

- Cromatóforos permitem que um animal modifique sua cor ou padrão 1156
- As glândulas secretam compostos químicos para defesa, comunicação ou atividade predatória 1157
- Órgãos elétricos geram eletricidade utilizada para sensibilidade, comunicação, defesa ou ataque 1157
- Órgãos que emitem luz usam enzimas que produzem luminosidade 1157

54 Trocas Gasosas em Animais 1160

54.1 Que fatores físicos governam as trocas gasosas respiratórias? 1161

- A difusão é direcionada por diferenças de concentração 1161
- A Lei de Fick aplica-se a todos os sistemas de trocas gasosas 1162
- O ar é um meio respiratório melhor que a água 1162
- Temperaturas elevadas criam problemas respiratórios para animais aquáticos 1162
- A disponibilidade de O₂ diminui com a altitude 1162
- O CO₂ é perdido por difusão 1163

54.2 Quais adaptações maximizam as trocas gasosas respiratórias? 1164

- Órgãos respiratórios têm grandes áreas superficiais 1164
- Transporte de gases para as superfícies de trocas e otimização dos gradientes de pressão parcial 1164
- Insetos apresentam condutos de ar por todo corpo 1164
- As brânquias dos peixes usam o fluxo contracorrente para maximizar a troca gasosa. 1165
- Aves utilizam a ventilação unidirecional para maximizar as trocas gasosas 1166
- A ventilação periódica origina um espaço morto que limita a eficiência das trocas gasosas 1167

54.3 Como funcionam os pulmões humanos? 1168

- Secreções do trato respiratório auxiliam a ventilação 1170
- Os pulmões são ventilados por alterações de pressão na cavidade torácica 1170

54.4 Como o sangue transporta os gases respiratórios? 1172

- A hemoglobina liga-se reversivelmente com o O₂ 1172
- A mioglobina mantém uma reserva de oxigênio 1173
- A afinidade da hemoglobina pelo oxigênio é variável 1173
- O dióxido de carbono é transportado como íons bicarbonato no sangue 1174

54.5 Como a respiração é regulada? 1175

- A respiração é controlada pelo tronco encefálico 1175
- A regulação da respiração requer informações de retroalimentação 1175

55 Sistemas Circulatórios 1180

55.1 Por que os animais precisam de um sistema circulatório? 1181

- Alguns animais não possuem sistema circulatório 1181
- Os sistemas circulatórios abertos movimentam o fluido intersticial 1182
- Os sistemas circulatórios fechados movem sangue através de um sistema de vasos sanguíneos 1182

55.2 Como evoluíram os sistemas circulatórios dos vertebrados? 1183

- Os peixes têm corações com duas câmaras 1183
- Os anfíbios têm corações tricavitários 1184
- Os répteis têm um controle extraordinário das circulações sistêmica e pulmonar 1184
- As aves e os mamíferos apresentam circuitos pulmonares e sistêmicos totalmente separados 1185

55.3 Como funciona o coração dos mamíferos? 1186

- O sangue flui do coração direito para os pulmões, para o coração esquerdo e para o corpo 1186
- O batimento cardíaco origina-se no músculo cardíaco 1188
- Um sistema de condução coordena a contração do músculo cardíaco 1189
- Propriedades elétricas dos músculos ventriculares sustentam a contração cardíaca 1190
- O ECG registra a atividade elétrica do coração 1191

55.4 Quais são as propriedades do sangue e dos vasos sanguíneos? 1191

- Os glóbulos vermelhos transportam gases respiratórios 1191
- As plaquetas são essenciais para a coagulação sanguínea 1192
- O plasma é uma solução complexa 1192
- O sangue circula pelo corpo em um sistema de vasos sanguíneos 1193
- Substâncias são trocadas nos leitos capilares por filtração, osmose e difusão 1193
- O sangue flui de volta para o coração pelas veias 1195
- Vasos linfáticos conduzem o fluido intersticial de volta para o sangue 1196
- Doenças vasculares são assassinas 1196

55.5 Como o sistema circulatório é controlado e regulado? 1197

- A autorregulação equilibra o fluxo sanguíneo local à necessidade local 1197
- A pressão arterial é controlada e regulada por mecanismos hormonais e neurais 1197
- O controle cardiovascular em mamíferos mergulhadores conserva o oxigênio 1199

56 Nutrição, Digestão, e Absorção 1204**56.1 Quais os requerimentos alimentares dos animais? 1205**

- A energia pode ser medida em calorias 1205
- Orçamentos energéticos revelam como um animal utiliza suas fontes 1206
- Fontes de energia podem ser armazenadas no organismo 1207
- Os alimentos fornecem esqueletos carbônicos para a biossíntese 1208
- Os animais necessitam elementos minerais para uma variedade de funções 1209
- Os animais precisam obter vitaminas a partir dos alimentos 1209
- Deficiências de nutrientes resultam em doenças 1210

56.2 Como os animais ingerem e digerem os alimentos? 1211

- O alimento dos herbívoros é geralmente baixo teor energético e de difícil digestão 1211
- Os carnívoros precisam detectar, capturar e matar sua presa 1211
- Espécies de vertebrados possuem dentes característicos 1212
- Os animais digerem seu alimento no meio extracelular 1212
- Tubos digestivos possuem uma abertura em cada extremidade 1213

Enzimas digestivas quebram as moléculas complexas dos alimentos 1213

56.3 Como funciona o sistema gastrointestinal em vertebrados? 1214

- O trato gastrointestinal dos vertebrados consiste em camadas teciduais concêntricas 1214
- A atividade mecânica move o alimento através do trato gastrointestinal e auxilia na digestão 1215
- A digestão química inicia na boca e no estômago 1216
- O que provoca a úlcera estomacal? 1217
- O estômago gradualmente libera seus conteúdos ao intestino delgado 1218
- Grande parte da digestão química ocorre no intestino delgado 1218
- Os nutrientes são absorvidos no intestino delgado 1219
- Os nutrientes absorvidos vão para o fígado 1220
- A água e os íons são absorvidos no intestino grosso 1220
- O problema da celulose 1220

56.4 Como o fluxo de nutrientes é controlado e regulado? 1221

- Hormônios controlam muitas funções digestivas 1222
- O fígado direciona o tráfego de moléculas combustíveis 1222
- A regulação do consumo de alimentos é importante 1223

56.5 Como os animais lidam com as toxinas ingeridas? 1225

- O organismo não é capaz de metabolizar muitas toxinas sintéticas 1225
- Algumas toxinas são retidas e concentradas 1225

57 Balanço de Água, Íons e Excreção de Nitrogênio 1228**57.1 Qual o papel dos órgãos excretórios na manutenção da homeostasia? 1229**

- A água entra e sai das células por osmose 1229
- Órgãos excretórios controlam a osmolaridade dos fluidos extracelulares por filtração, secreção e reabsorção 1230
- Animais podem ser osmoconformadores ou osmorreguladores 1230
- Animais podem ser conformadores iônicos ou reguladores iônicos 1231

57.2 Como os animais excretam os produtos tóxicos do metabolismo de nitrogênio? 1231

- Os animais excretam nitrogênio de diferentes formas 1231
- A maior parte das espécies produz mais do que um tipo de produto nitrogenado 1232

57.3 Como funciona o sistema excretório dos invertebrados? 1233

- Os protonefrídios dos platelmintos excretam água e conservam sais 1233
- Os metanefrídios dos anelídeos processam fluido celômico 1233
- Os túbulos de Malpighi dos insetos dependem de transporte ativo 1234

57.4 Como os vertebrados mantêm o balanço de sais e de água? 1234

- Peixes marinhos devem conservar água 1235
- Anfíbios terrestres e répteis devem evitar a dessecação 1235
- Aves e mamíferos podem produzir urina altamente concentrada 1235
- O néfron é a unidade funcional do rim dos vertebrados 1235
- O sangue é filtrado nos glomérulos 1236
- Os túbulos renais convertem o filtrado glomerular em urina 1237

57.5 Como os rins dos mamíferos produzem urina concentrada? 1237

- Os rins produzem urina e a bexiga a armazena 1237
- O néfron tem uma organização regular 1237
- A maior parte do filtrado glomerular é reabsorvida no túbulo contorcido proximal 1239
- A alça de Henle cria um gradiente de concentração ao redor do tecido 1239
- A permeabilidade à água nos túbulos renais depende de canais de água 1240
- A reabsorção de água no início do túbulo contorcido distal 1240
- A urina é concentrada no ducto coletor 1240
- Os rins ajudam a regular o balanço ácido-básico 1241
- A falência renal é tratada com diálise 1241

57.6 Quais mecanismos regulam as funções renais? 1243

- Os rins mantêm as taxas de filtração glomerular 1243
- A osmolaridade e a pressão sanguínea são reguladas pelo ADH 1243
- O coração produz um hormônio que influencia a função renal 1244

Apêndice A: A Árvore da Vida 1247**Apêndice B: Algumas Medidas Utilizadas em Biologia 1253****Glossário G-1****Respostas às Questões A-1****Créditos C-1****Índice I-1**

A person is rappelling down a thick, moss-covered tree branch. The person is wearing a blue shirt, dark pants, and a red helmet. They are secured with yellow and black ropes. The background is a dense, green forest with a blueish tint, suggesting a high-altitude or tropical environment. The tree branches are gnarled and have some red flowers or fruits.

PARTE 1

A Ciência e os Blocos Construtores da Vida

Por que as rãs estão coaxando?

Em agosto de 1995, um grupo de estudantes do ensino médio de Minnesota, em uma viagem de campo, caminhava através de alguns pântanos locais quando descobriu uma horda de rãs jovens com patas deformadas, extras ou faltantes. O achado dos estudantes foi divulgado na mídia nacional e chamou a atenção do público para o declínio da população de anfíbios, tópico já em estudo por muitos cientistas.

Existem várias razões possíveis para os problemas que os anfíbios enfrentam. A poluição da água é uma possibilidade óbvia, pois esses animais se reproduzem e vivem os estágios iniciais de vida em pequenos lagos e córregos. A chuva ácida resultante da poluição atmosférica também poderia afetar seus ambientes aquáticos. A radiação ultravioleta poderia causar a existência de rãs “mutantes”? O aquecimento global afeta os anfíbios de forma adversa? Alguma doença está atacando esses animais? Existem evidências para fundamentar cada uma dessas possibilidades, e não há uma única resposta. Por exemplo: um estudante de graduação trouxe uma possível resposta para as questões mencionadas e neste processo for-

neceu aos cientistas um conjunto de novas perspectivas sobre o tema.

Em 1996, o estudante de segundo ano da Universidade de Stanford, Pieter Johnson, foi apresentado a uma coleção de rãs do Pacífico com patas extras crescendo dos seus corpos. Ele decidiu direcionar seu projeto de pesquisa para a busca do que causava essas deformidades. As rãs vieram de um pequeno lago em uma região de agricultura próxima a minas de mercúrio abandonadas; assim, duas causas possíveis para as deformidades eram os agentes químicos usados na agricultura e os metais pesados provenientes das minas antigas.

Pieter aplicou o *método científico*. Com base no que sabia e em sua pesquisa bibliográfica, propôs uma explicação lógica para as rãs monstruosas – poluição aquática ambiental – e elaborou um experimento para testar a ideia. O experimento comparou lagos onde existiam rãs deformadas com lagos onde as rãs eram normais e testou a presença ou ausência de poluentes. Como frequentemente acontece na ciência, a explicação proposta, ou *hipótese*, foi invalidada. Entretanto, esse trabalho de campo conduziu a uma nova hipótese: as deformidades seriam causadas por um parasita. Pieter realizou experimentos laboratoriais, e

os resultados fundamentaram a conclusão de que um determinado tipo de parasita está presente em alguns lagos. Esses parasitas se alojam nos girinos e interrompem o desenvolvimento das patas traseiras das rãs adultas. A pesquisa de Pieter não explicou o declínio global dos anfíbios, mas esclareceu um tipo de problema que os

As rãs estão apresentando graves problemas Estas rãs do Pacífico (*Hyla regilla*) preservadas exibem deformações múltiplas nas suas patas traseiras. Deformidades semelhantes foram encontradas em rãs de diferentes regiões do mundo.





Um biólogo no trabalho Como estudante do segundo ano da graduação, Pieter Johnson estudou numerosos lagos onde habitavam as rãs do Pacífico, tentando descobrir por que alguns lagos tinham tantas rãs deformadas.

anfíbios apresentam. A ciência geralmente progride a pequenos, mas sólidos passos.

Os biólogos utilizam métodos científicos para investigar os processos da vida em todos os níveis, desde as moléculas até os ecossistemas. Alguns desses processos acontecem em milionésimos de segundo, já outros se estendem por milhões de anos. O objetivo dos biólogos é compreender como organismos ou grupos de organismos funcionam e, às vezes, eles usam esse conhecimento de formas práticas e benéficas.

NESTE CAPÍTULO examinamos as características mais comuns dos organismos vivos e colocamos essas características no contexto dos mais importantes princípios que fundamentam a biologia. Posteriormente, oferecemos uma breve descrição geral de como a vida evoluiu e como os diferentes organismos na Terra estão relacionados. Então focamos os assuntos de questionamento biológico e o método científico.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

1.1 O que é biologia?

1.2 Como está relacionada toda a vida na Terra?

1.3 Como os biólogos investigam a vida?

1.4 Como a biologia influencia a política pública?

1.1 O que é biologia?

Biologia é o ramo da ciência que estuda os seres vivos. Os biólogos definem “seres vivos” como todos os diversos organismos descendentes de um ancestral unicelular que surgiu há quase 4 bilhões de anos. Devido a sua ancestralidade comum, os organismos vivos compartilham muitas características não encontradas no mundo inanimado. A maioria dos organismos vivos:

- consiste em uma ou mais células;
- contém informação genética;
- usa a informação genética para se reproduzir;
- é geneticamente relacionada e evoluiu;
- pode converter moléculas obtidas a partir do seu ambiente em novas moléculas biológicas;
- pode extrair energia do ambiente e usá-la para o trabalho biológico;
- pode regular seu ambiente interno.

Essa lista pode servir como guia básico sobre os principais temas e para unificar os princípios da biologia encontrados neste livro. Uma lista simples, entretanto, contradiz a incrível complexidade e diversidade da vida. Algumas formas de vida podem não dispor de todas essas características ao mesmo tempo. Por exemplo, a semente de uma planta do deserto pode permanecer por muitos anos sem extrair energia do ambiente, converter moléculas, regular seu ambiente interno ou reproduzir; mas a semente ainda está viva.

E os vírus? Embora não consistam em células, provavelmente evoluíram de organismos celulares, e muitos biólogos os consideram organismos vivos. Os vírus não realizam funções fisiológicas por si só, mas parasitam para que o maquinário das células hospedeiras faça essas funções por eles – incluindo a reprodução. Além de possuírem informação genética, eles certamente evoluem (como sabemos, a evolução do vírus da gripe exige mudanças anuais nas vacinas criadas para combatê-los). Os vírus estão vivos? O que você acha?

Este livro explora as características da vida, como essas características variam entre os organismos, como elas evoluem e como funcionam juntas para permitir que os organismos sobrevivam e se reproduzam. A *evolução* é o tema central da biologia e, portanto, também deste livro. Por meio da reprodução e da sobrevivência diferencial, os sistemas vivos evoluem e se adaptam aos diversos ambientes da Terra. Os processos de evolução geraram a enorme diversidade que vemos hoje como vida no planeta (**Figura 1.1**).

Os organismos vivos consistem em células

As células e os seus processos químicos são tópicos da Parte 2 deste livro. Alguns organismos são *unicelulares*, constituídos por uma única célula que realiza todas as funções da vida, enquanto outros são *multicelulares*, formados por um conjunto de células especializadas em diferentes funções.

A descoberta das células foi possível devido à invenção do microscópio, na última década do século XVI, por Zaccharias e Hans Janssen, pai e filho holandeses que fabricavam óculos. Os primei-

ros biólogos a melhorar essa tecnologia e a usá-la para estudar organismos vivos foram Anthony van Leeuwenhoek (holandês) e Robert Hooke (inglês), no final do século XVII. Foi van Leeuwenhoek que descobriu nas gotas de água organismos unicelulares e fez outras descobertas que ajudaram a melhorar, progressivamente, seus microscópios após um longo período de pesquisa. Hooke conduziu estudos semelhantes: a partir de observações de tecidos vegetais (usando cortiça, para ser mais específico), ele concluiu que os tecidos eram constituídos de unidades repetitivas chamadas de *células* (Figura 1.2).



Figura 1.1 As muitas faces da vida Os processos de evolução têm permitido que milhões de organismos diversos habitem a Terra hoje. Archaea (A) e bactéria (B) são organismos unicelulares. As três diferentes bactérias em (B) representam as três formas (bastonetes ou bacilos; hélices; esferas ou cocos) frequentemente vistas nestes organismos, descritos no Capítulo 26. (C) Os organismos unicelulares que apresentam maior complexidade são comumente chamados de protistas. Os protistas são analisados no Capítulo 27. (D) Os Capítulos 28 e 29 tratam dos vegetais multicelulares. Os outros grupos de organismos multicelulares são (E) os fungos, discutidos no Capítulo 30, e (F, G) os animais, descritos nos Capítulos 31 a 33.

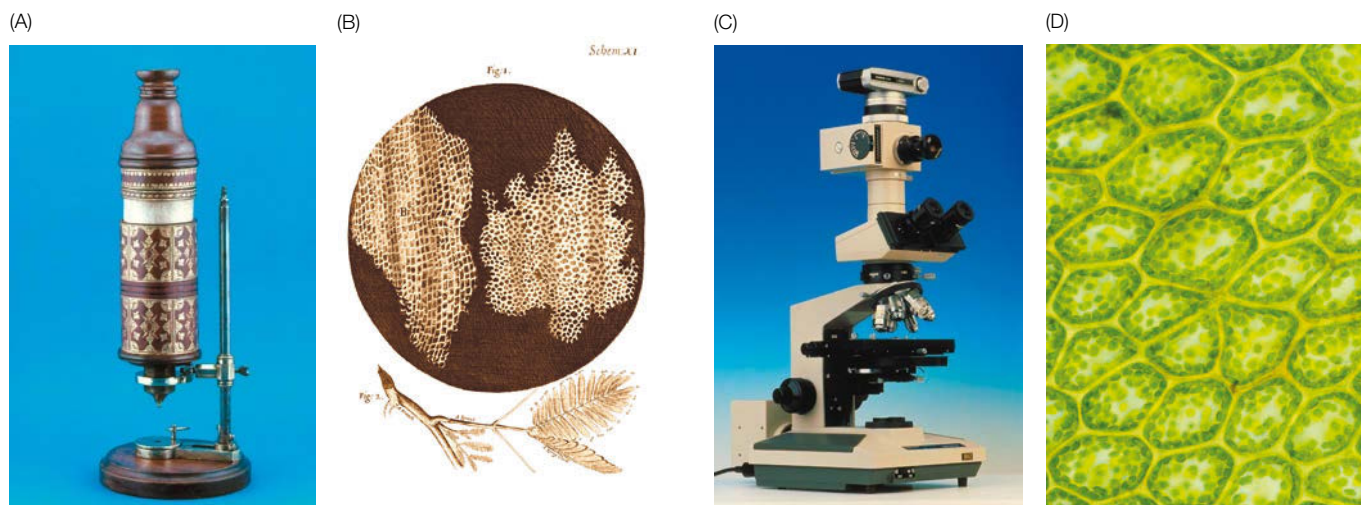


Figura 1.2 Toda a vida consiste em células (A) O desenvolvimento de microscópios, tais como o instrumento de Robert Hooke, revelou o mundo microbiano para os cientistas do século dezesse- te. (B) Hooke foi o primeiro a propor o conceito de células, baseado nas suas observações de finas fatias de tecido vegetal (cortiça) em microscópio. (C) Uma moderna versão do microscópio óptico. (D) Uma moderna micrografia revela a complexidade de células em uma folha.

Em 1676, Hooke escreveu que van Leeuwenhoek tinha observado “um número grande de pequenos animais em seus excrementos, os quais eram abundantes quando ele estava sofrendo de algum desconforto, e muito poucos ou nenhum quando ele estava bem”. Essa simples observação representa a descoberta das bactérias.

Mais de uma centena de anos passaram antes de os estudos com células avançarem significativamente. Em 1838, Matthias Schleiden, biólogo alemão, e Theodor Schwann, da Bélgica, estavam jantando juntos e discutindo seus trabalhos com tecidos vegetais e animais, respectivamente. Estavam impressionados com as semelhanças nas suas observações e concluíram que os elementos estruturais de plantas e animais eram essencialmente os mesmos. Formularam sua conclusão, a **teoria celular**, que define:

- As células são as unidades estruturais básicas e fisiológicas de todos os organismos vivos.
- As células são entidades distintas e os blocos construtores dos organismos mais complexos.

Entretanto, Schleiden e Schwann não entendiam a origem das células. Pensavam que as células emergiam pela auto-organização de matérias não vivas, como os cristais formados em uma solução de sal. Essa conclusão estava de acordo com a visão prevalente do momento, na qual a vida surge a partir de matérias não vivas por geração espontânea – camundongos a partir de roupas sujas, larvas a partir de carne morta e insetos a partir de misturas de palha e poças d’água. O debate sobre se a vida poderia ou não surgir da matéria não viva continuou até 1859, quando a Academia Francesa de Ciências patrocinou uma disputa do melhor experimento para provar ou refutar a geração espontânea. O prêmio foi vencido pelo grande cientista francês Louis Pasteur – seu experimento provando que a vida deve estar presente para que possa ser gerada está descrito na Figura 3.30. A visão de Pasteur sobre os microrganismos o levou a propor a teoria dos germes das doenças e a explicar o papel dos organismos unicelulares na fermentação do vinho e da cerveja. Ele também criou um método de preservação de leite por aquecimento para matar microrganismos, processo hoje conhecido por pasteurização.

Hoje, prontamente aceitamos que as células provêm de células preexistentes. Além disso, compreendemos que as propriedades funcionais dos organismos derivam de suas células. Também compreendemos que as células de todos os tipos compartilham muitos mecanismos essenciais, porque elas compartilham um ancestral comum de bilhões de anos atrás. Portanto, adicionamos mais elementos à teoria celular:

- Todas as células provêm de células preexistentes.
- Todas as células são semelhantes em composição química.
- A maioria das reações químicas da vida ocorre dentro das células.
- Conjuntos completos de informação genética são replicados e repassados durante a divisão celular.

Ao mesmo tempo em que Schleiden e Schwann construía- m as fundações para a teoria celular, Charles Darwin começava a compreender como os organismos sofrem mudanças evolucionárias.

A diversidade da vida decorre da evolução por seleção natural

A **evolução por seleção natural**, como proposta por Charles Darwin, é talvez o mais importante princípio unificador da biologia e é o tópico da Parte 5 deste livro.

Darwin propôs que os organismos vivos descendem de ancestrais comuns e estão, portanto, relacionados uns aos outros. Ele não tinha a vantagem de conhecer os mecanismos de herança genética que você aprenderá na Parte 3, mas mesmo assim supôs que tais mecanismos existiam porque a prole se assemelhava aos pais de muitas maneiras. Esse simples fato é a base para o conceito de **espécie**. Embora a definição precisa de uma espécie seja complicada, em seu mais amplo uso, se refere a um grupo de

organismos que se assemelham (“são morfologicamente semelhantes”) e podem se reproduzir de forma bem-sucedida com um outro organismo.

Entretanto, a prole também difere dos seus genitores. Qualquer população de uma espécie de planta ou animal apresenta variação, e, se você selecionar os pares para reprodução com base em algum traço específico, esse traço tem mais probabilidade de estar presente na sua prole do que na população geral. Darwin reproduziu pombos e estava bem atento aos tipos extravagantes selecionados por padrões de penas, formas do bico e tamanhos do corpo incomuns. Ele percebeu que, se os humanos poderiam selecionar traços específicos, o mesmo processo poderia acontecer na natureza – daí o termo *seleção natural*.

Como a seleção poderia funcionar na natureza? Darwin postulou que diferentes probabilidades de sobrevivência e sucesso reprodutivo poderiam fazer esse trabalho. Ele raciocinou que a capacidade reprodutiva das plantas e animais, se não controlada, resultaria em um crescimento ilimitado da população na natureza; portanto, somente uma porcentagem da prole deve sobreviver

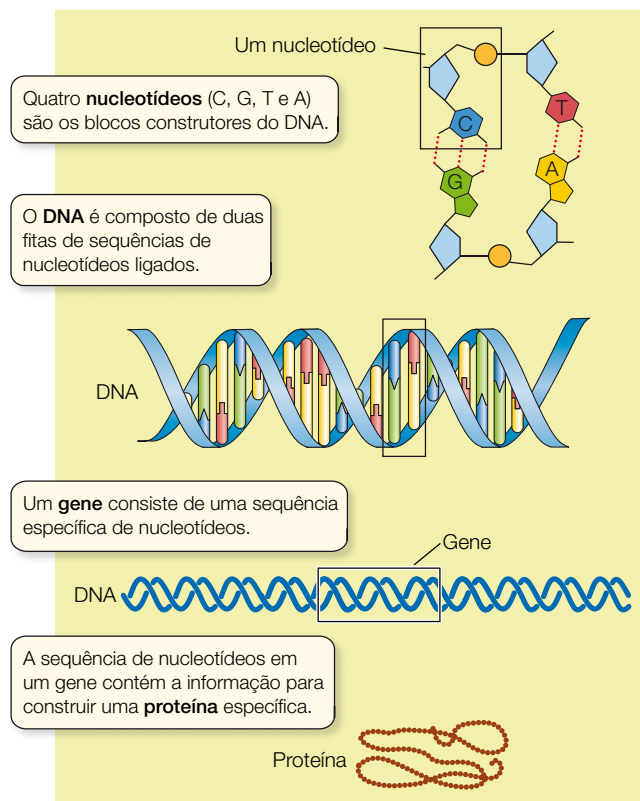
para reproduzir. Então, qualquer traço que confira um pequeno aumento na probabilidade de que seu possuidor sobreviverá e se reproduzirá seria fortemente favorecido e poderia se espalhar na população. Darwin chamou esse fenômeno de *seleção natural*.

Porque os organismos com certos traços sobrevivem e se reproduzem melhor sob conjuntos específicos de condições, a seleção natural conduz a **adaptações**: traços estruturais, fisiológicos ou comportamentais que aumentam as chances de um organismo sobreviver e reproduzir no seu ambiente (**Figura 1.3**). Os muitos ambientes diferentes e as comunidades ecológicas de organismos, que têm se adaptado ao longo da história evolucionária, têm conduzido a uma extraordinária quantidade de diversidade, a qual contemplaremos na Parte 6 deste livro.

Se todas as células provêm de células preexistentes e se todas as diversas espécies de organismos na Terra estão relacionadas por descendentes com modificação a partir de um ancestral comum, então qual é a fonte de informação que é passada de células-mãe para células-filha e de organismos genitores para a sua prole?



Figura 1.3 Adaptações ao ambiente As folhas de todas as plantas são especializadas em fotossíntese – a transformação da água e dióxido de carbono em moléculas estruturais maiores chamadas de carboidratos, acionada pela luz do sol. As folhas de diferentes plantas, entretanto, apresentam muitas adaptações diferentes aos seus ambientes individuais.



A informação biológica está contida em uma linguagem genética comum a todos os organismos

As instruções das células – ou “protótipos” para existência – estão contidas em seu **genoma**, que é o conjunto total de todas as moléculas de DNA na célula. As moléculas de **DNA** (ácido desoxirribonucleico) são longas sequências de quatro diferentes subunidades chamadas **nucleotídeos**. A sequência dos nucleotídeos contém a informação genética. Os segmentos específicos de DNA chamados de **genes** contêm a informação que a célula usa para produzir as proteínas (**Figura 1.4**). As **proteínas** representam muito da estrutura de um organismo e são as moléculas que coordenam as reações químicas no interior das células. Fazendo uma analogia, os nucleotídeos do DNA são como as letras de um alfabeto e as moléculas de proteína são as frases que elas escrevem. As combinações de proteínas que constituem estruturas e controlam processos bioquímicos são os parágrafos. As estruturas e os processos organizados em diferentes sistemas com tarefas específicas (tais como digestão ou transporte) são os capítulos do livro e o livro completo é o organismo. A seleção natural é a autora e a editora de todos os livros na biblioteca da vida.

Se você tivesse que escrever seu próprio genoma usando quatro letras para representar os nucleotídeos, escreveria um total de mais de 3 bilhões de letras. Se você usar o mesmo tipo de letras como estas neste livro, seu genoma preencheria cerca de mil volumes do tamanho deste.

Todas as células de um organismo multicelular contêm o mesmo genoma. Diferentes células têm diferentes funções e formam estruturas diversas. Portanto, diferentes tipos de células em um

Figura 1.4 O código genético é o protótipo da vida As instruções para a vida estão contidas na sequência de nucleotídeos nas moléculas de DNA. Sequências de DNA específicas constituem os genes, e a informação em cada gene fornece à célula as informações de que ela necessita para produzir uma proteína específica. O comprimento médio de um único gene humano é 16.000 nucleotídeos.

organismo devem expressar distintas partes do seu genoma. O controle da expressão gênica, que viabiliza o desenvolvimento e o funcionamento de um organismo complexo, é o principal foco da atual pesquisa biológica.

O genoma de um organismo consiste em milhares de genes. Se a sequência de nucleotídeos de um gene for alterada, é provável que a proteína que ele codifica seja alterada. Alterações de genes são chamadas de *mutações*. As mutações ocorrem espontaneamente; elas também podem ser induzidas por fatores externos, incluindo agentes químicos e radiação. A maioria das mutações é deletéria, mas, ocasionalmente, uma mudança nas propriedades de uma proteína altera sua função, de forma a melhorar o funcionamento do organismo sob as condições ambientais encontradas. Tais mutações benéficas são a matéria-prima da evolução.

As células usam nutrientes para fornecer a energia e construir novas estruturas

Os organismos vivos adquirem substâncias chamadas *nutrientes* a partir do ambiente. Os nutrientes suprem os organismos com energia e matéria-prima para construir estruturas biológicas. As células obtêm moléculas de nutrientes e as quebram em unidades químicas menores. Fazendo isso, elas podem capturar a energia contida nas ligações químicas das moléculas de nutrientes e usar essa energia para diferentes tipos de trabalho. Um tipo de trabalho celular é a construção, ou *síntese*, de novas moléculas e estruturas a partir de unidades químicas menores. Por exemplo, estamos todos familiarizados com o fato de que os carboidratos ingeridos hoje podem ser depositados no organismo como gordura amanhã (**Figura 1.5A**). Outro tipo de trabalho que as células fazem é o mecânico – por exemplo, moléculas se movimentando de uma localização celular para outra, ou mesmo o movimento de células ou tecidos completos, como no caso dos músculos (**Figura 1.5B**).

Os organismos vivos controlam o ambiente interno

A vida depende de milhares de reações bioquímicas que ocorrem dentro das células. Essas reações requerem materiais que se movem para dentro ou para fora das células de maneira controlada. Dentro das células, as reações estão ligadas de forma que os produtos de uma serão as matérias-primas da próxima. Para essa complexa rede de reações ser propriamente integrada, as velocidades das reações dentro de uma célula devem ser precisamente controladas. Uma grande proporção das atividades celulares está direcionada para a regulação de múltiplas reações químicas continuamente em andamento no seu interior.

Os organismos compostos de mais de uma célula têm um *ambiente interno* que não é celular. Isto é, suas células são banhadas em fluidos extracelulares, a partir dos quais recebem nutrientes e para os quais excretam seus dejetos. As células de organismos multicelulares são especializadas em contribuir de alguma forma para a manutenção do ambiente interno. Entretanto, com a evo-

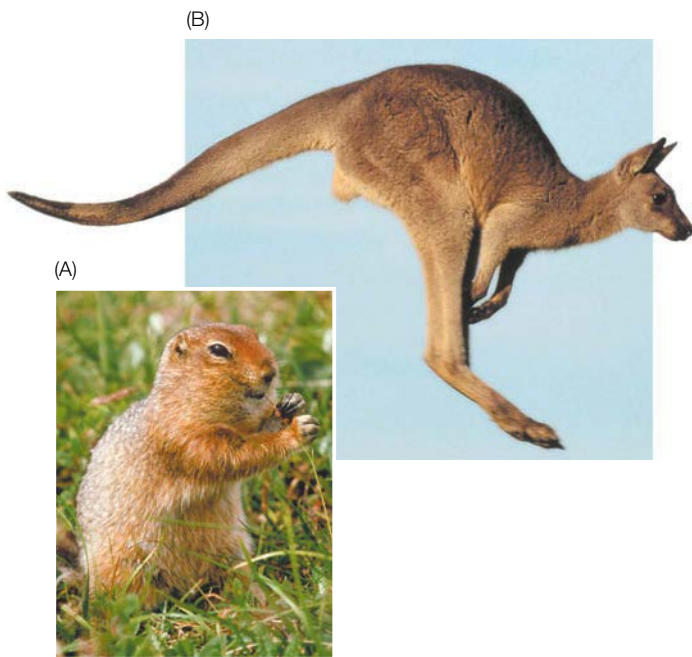
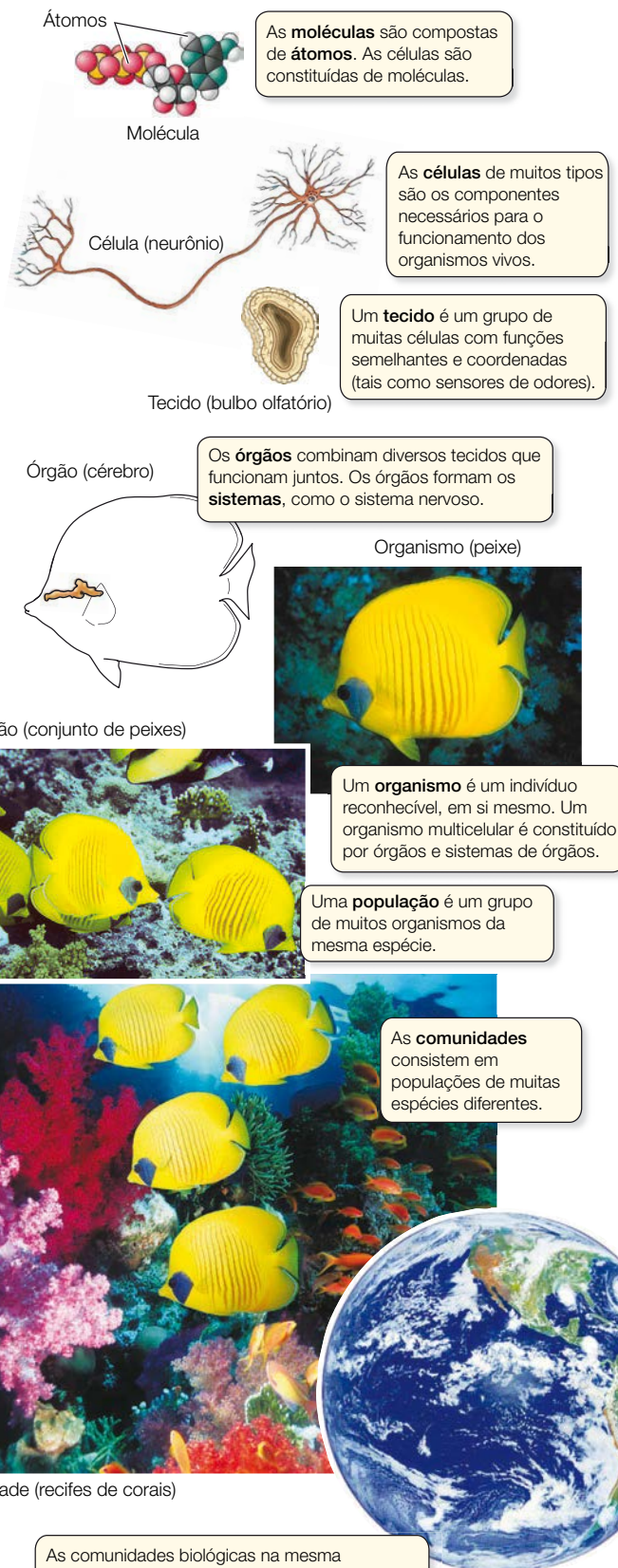


Figura 1.5 A energia a partir dos nutrientes pode ser armazenada ou usada imediatamente (A) As células deste esquilo do Ártico degradam carboidratos complexos de plantas e convertem suas moléculas em gorduras, que são armazenadas no corpo do animal para fornecer o suprimento de energia nos meses frios. (B) As células deste canguru estão degradando moléculas do alimento e usando a energia em suas ligações químicas para fazer trabalho mecânico – neste caso, pular.



lução de funções especializadas, estas perdem muitos dos papéis exercidos por organismos unicelulares e, portanto, dependem do ambiente interno para os trabalhos essenciais. A interdependência dos diferentes tipos de células em um organismo multicelular pode ser expressa no famoso lema dos Três Mosqueteiros: “Um por todos e todos por um!”.

Para cumprir tarefas especializadas, conjuntos de células semelhantes são organizados em *tecidos*. Por exemplo, uma única célula muscular não pode gerar muita força, mas, quando muitas se combinam para formar o tecido de um músculo em contração, força e movimento consideráveis podem ser gerados (ver Figura 1.5B). Os diferentes tipos de tecidos são organizados para formar *órgãos* que cumprem demandas específicas. Os órgãos familiares incluem o coração, o cérebro e o estômago. Os órgãos cujas funções são inter-relacionadas podem ser agrupados em *sistemas de órgãos*. Os papéis das células, dos tecidos, dos órgãos

Figura 1.6 A biologia é estudada em muitos níveis de organização As propriedades da vida emergem quando o DNA e outras moléculas são organizados em células. A energia flui por todos os níveis biológicos demonstrados aqui.

(A)



(B)



Figura 1.7 Conflito e cooperação Os organismos da mesma espécie interagem uns com os outros de várias formas. (A) Elefantes marinhos territoriais defendem extensões de praia de outros machos. Um único macho que controla uma extensão de praia é capaz de se acasalar com muitas fêmeas (veja ao fundo) que vivem ali. (B) Membros de uma colônia de suricatos estão comumente relacionados uns aos outros. Suricatos cooperam de muitas formas, tais como controlando a presença de predadores e dando um sinal de alerta se um deles aparecer.

e dos sistemas de órgãos são todos integrados para *organismos* multicelulares (Figura 1.6). A biologia dos organismos é o assunto das Partes 8 e 9 deste livro.

Como a Figura 1.6 demonstra, os organismos individuais não vivem em isolamento e a hierarquia da biologia continua além deste nível.

Os organismos vivos interagem uns com os outros

Os organismos interagem com os ambientes externos tão bem quanto com os ambientes internos. Os organismos individuais interagem entre si e fazem parte de uma *população* que, por sua vez, relaciona-se com populações de diferentes organismos.

Os organismos interagem de muitas formas diferentes. Por exemplo, alguns animais são *territoriais* e por isso tentam prevenir outros indivíduos de sua espécie da exploração do recurso que eles defendem, seja alimento, ninhos ou parceiros (Figura 1.7A). Os animais também podem *cooperar* com membros de suas espécies, formando unidades sociais, tais como uma colônia de cupins, um cardume de peixes ou uma colônia de suricatos (Figura 1.7B). Essas interações entre indivíduos têm resultado na evolução de comportamentos sociais, como a comunicação.

As interações das populações de muitas espécies diferentes formam uma *comunidade*, e tais relações são uma força evolucionária importante. As adaptações que dão a um indivíduo de uma espécie vantagens em obter membros de uma outra espécie como alimento (e o inverso, adaptações que reduzem as chances de um indivíduo de se tornar alimento) são primordiais na história evolucionária. Organismos de diferentes espécies podem competir pelos mesmos recursos, resultando em seleção natural para adaptações especializadas que permitam certos indivíduos explorarem esses recursos mais eficientemente do que os demais.

Em uma dada localidade geográfica, as comunidades interagem formando *ecossistemas*. Os organismos no ecossistema podem modificar o ambiente de várias formas que afetam outros organismos. Por exemplo, em alguns ambientes terrestres, as plantas dominantes modificam bastante as condições ambientais nas quais animais e outras plantas devem viver. As formas nas quais as espécies relacionam-se umas com as outras e com seu ambiente é assunto da *ecologia*, o tópico da Parte 7 deste livro.

As descobertas na biologia podem ser generalizadas

Como toda a vida está relacionada a descendentes provenientes de um ancestral comum, e compartilha um código genético e consiste em blocos de construção semelhantes – as células –, o conhecimento obtido a partir de investigações de um tipo de organismo pode, com cuidado, ser generalizado para outros organismos. Portanto, os biólogos podem usar **sistemas-modelo** de pesquisa, sabendo da possibilidade de estenderem seus achados a outros organismos e aos humanos. Por exemplo, nosso conhecimento básico das reações químicas nas células origina-se da pesquisa sobre bactérias, mas é aplicável a todas as células, incluindo as células humanas. De modo semelhante, a bioquímica da fotossíntese – o processo em que as plantas usam a luz do sol para produzir moléculas biológicas – foi amplamente estudada por meio de experimentos em *Chlorella* (um tipo de alga; ver Figura 8.12). Aprendemos muito do que sabemos sobre os genes que controlam o desenvolvimento de plantas a partir de trabalhos acerca de uma única espécie (ver Capítulo 19). O conhecimento de como os animais se desenvolvem provém de estudos sobre o ouriço-do-mar, sobre os anfíbios, sobre as aves, sobre os nematoides e sobre as moscas-das-frutas. Recentemente, a descoberta do principal gene controlador da cor da pele humana foi obtida com base em um estudo do peixe-zebra. Ser capaz de generalizar a partir de sistemas-modelo é uma ferramenta poderosa.

1.1 RECAPITULAÇÃO

Os organismos vivos são constituídos de células, evoluem por seleção natural, contêm informação genética, obtêm energia a partir do seu ambiente e a utilizam para fazer trabalho biológico, controlar seu ambiente interno e interagir uns com os outros.

- Você pode descrever a relação entre a evolução por seleção natural e o código genético? Ver p. 5-7.
- Você compreende por que os resultados da pesquisa biológica de uma espécie podem ser generalizados para outras espécies muito diferentes? Ver p. 9.

Agora que fizemos uma revisão sobre as principais características da vida, que serão exploradas com profundidade neste livro, podemos perguntar como e quando a vida surgiu primeiramente. Na próxima seção, descrevemos a história da vida tendo em vista as suas formas mais simples até os organismos mais complexos e diversos que habitam nosso planeta hoje.

1.2 Como está relacionada toda a vida na Terra?

O que os biólogos entendem quando dizem que todos os organismos são *geneticamente relacionados*? Eles querem dizer que todas as espécies na Terra compartilham de um *ancestral comum*. Se duas espécies são semelhantes, como os cães e os lobos, provavelmente possuem um ancestral comum em um passado bastante recente. O ancestral comum de duas espécies diferentes – como cachorros e cervos – viveu provavelmente no passado distante. E se dois organismos são muito diferentes – como um cão e um molusco – então devemos voltar para um passado ainda mais distante para encontrar o seu ancestral comum. Como podemos dizer o quanto distante viveu o ancestral comum de qualquer organismo? Em outras palavras, como descobrimos as relações evolucionárias entre os organismos?

Por muitos anos, os biólogos investigaram a história da vida por meio do estudo do *registro fóssil* – os restos preservados dos organismos que viveram em um passado distante (Figura 1.8). Com base no conhecimento produzido pelos geólogos sobre as idades dos fósseis e sobre a natureza dos ambientes nos quais eles vivem, os biólogos inferiram as relações evolucionárias entre organismos vivos e fósseis ao comparar suas semelhanças e diferenças anatômicas. O desenvolvimento de modernos métodos moleculares para comparar genomas, descrito no Capítulo 24, tem permitido aos biólogos estabelecer, de forma mais precisa, os graus de relação entre organismos vivos e usar esta informação para nos ajudar a interpretar os registros fósseis.

Em geral, quanto maiores forem as diferenças entre os genomas das duas espécies, mais distante o ancestral comum. Usando técnicas moleculares, os biólogos estão explorando questões fundamentais sobre a vida na Terra. Quais foram as formas mais precoces de vida? Como organismos simples deram origem à enorme diversidade de organismos vivos hoje? Podemos reconstruir a árvore genealógica de toda a vida?

A vida surgiu a partir de matéria não viva por meio da evolução química

Os geólogos estimam que a Terra tenha cerca de 5 bilhões de anos. No primeiro bilhão de anos, o planeta não era um local muito favorável para a vida. A vida provavelmente surgiu apenas no final desse período, ou cerca de quatro bilhões de anos atrás. Se compa-



Figura 1.8 Os fósseis fornecem uma visão da vida passada Os mais proeminentes dos muitos organismos fossilizados nesta amostra de pedra são amonoides, um grupo extinto de moluscos cujos parentes vivos incluem os cefalópodes. Os amonoides se desenvolveram entre 200 milhões e 60 milhões de anos atrás; este grupo específico de fósseis tem cerca de 185 milhões de anos.

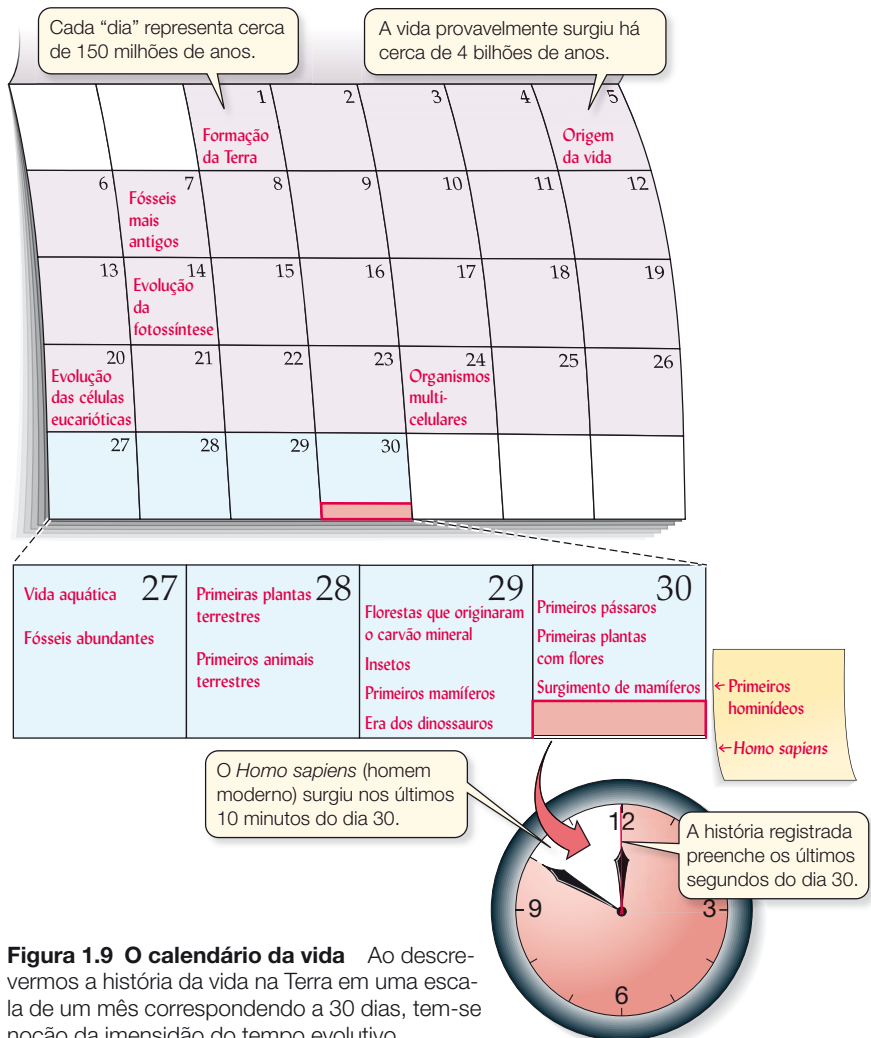


Figura 1.9 O calendário da vida Ao descrevermos a história da vida na Terra em uma escala de um mês correspondendo a 30 dias, tem-se noção da imensidão do tempo evolutivo.

rássemos a história da Terra como um calendário de 30 dias, este evento ocorreria aproximadamente no final da primeira semana (Figura 1.9).

Quando consideramos como a vida pode ter surgido da matéria não viva, devemos considerar as propriedades da jovem atmosfera terrestre, oceanos e clima, que eram muito diferentes quando comparadas com as dos dias atuais. Os biólogos postulam que as moléculas complexas surgiram através de uma associação física de agentes químicos naquele ambiente. Os experimentos que simularam as condições da Terra, naquela época, confirmaram que a geração de moléculas complexas sob tais condições é possível, até mesmo provável. Entretanto, o passo crítico para a evolução da vida teria sido o aparecimento de moléculas que poderiam se reproduzir e também servir como modelos para a síntese de moléculas maiores com formas complexas, mas estáveis. A variação das formas dessas moléculas grandes e estáveis (descrita no Capítulo 3) permitiu a elas participar em um crescente número e tipos de interações com outras moléculas: as reações químicas.

A evolução biológica começou quando as células se formaram

O segundo passo crítico na origem da vida foi a delimitação de moléculas biológicas complexas em *membranas*, que as mantinham próximas e aumentavam a frequência com que elas interagiam. Moléculas semelhantes a gorduras foram os ingredientes críticos: como estas não são solúveis em água, elas formam filmes parecidos com membranas. Esses filmes tendem a formar *vesículas* esféricas, as quais poderiam manter as organizações de outras moléculas biológicas. Os cientistas afirmam que há cerca de 3,8 bilhões de anos, esse processo natural de formação de membranas resultou nas primeiras células com habilidade de se replicar – um evento que marcou o início da evolução biológica.

Dois milhões de anos após as células se originarem, todos os organismos consistiam somente de uma célula. Esses primeiros organismos unicelulares eram (e são, desde que inúmeros de seus descendentes existem de forma similar ainda hoje) os **procariotos**. A estrutura da célula procariótica consiste de DNA e outros metabólitos delimitados por uma membrana.

Esses procariotos antigos estavam confinados nos oceanos, onde havia abundância de moléculas complexas que eles poderiam usar como matéria-prima e fonte de energia. O oceano protegia esses organismos dos efeitos deletérios da luz ultravioleta, que era intensa naquela época, porque não havia oxigênio na atmosfera e, portanto, sem a proteção da camada de ozônio.

A fotossíntese mudou o curso da evolução

A soma total de todas as reações químicas que ocorrem dentro de uma célula constitui o **metabolismo** celular. Para abastecer seu metabolismo, os procariotos obtinham moléculas diretamente do seu ambiente, degradando estas pequenas moléculas para liberar a energia contida nas suas ligações químicas. Muitas espécies mais recentes de procariotos ainda funcionam desta maneira e de forma muito bem-sucedida.

Um passo extremamente importante que mudaria a natureza da vida na Terra ocorreu há cerca de 2,5 bilhões de anos com a evolução da **fotossíntese**. As reações químicas da fotossíntese (explicadas no Capítulo 8) transformam a energia da luz solar em uma forma de energia capaz de ativar a síntese de grandes moléculas biológicas. Essas moléculas grandes se tornam os blocos construtores das células; elas também podem ser

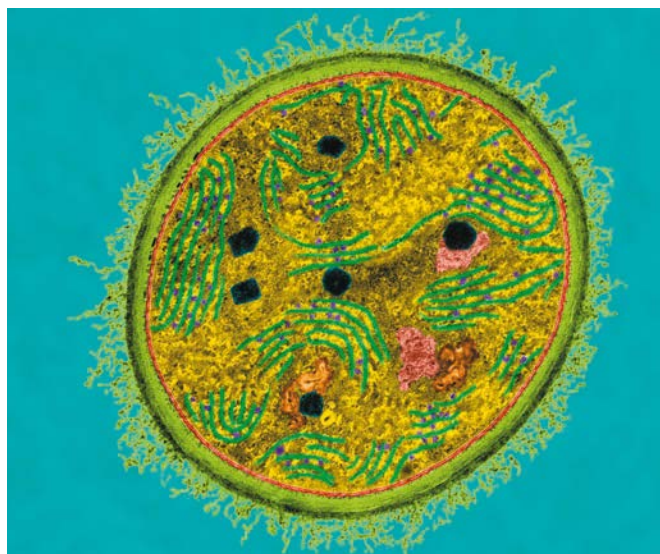


Figura 1.10 Os organismos fotossintéticos mudaram a atmosfera da terra Esta moderna cianobactéria pode ser muito parecida com os procariotos fotossintéticos antigos que introduziram o oxigênio na atmosfera terrestre.

quebradas para fornecer energia metabólica. Uma vez que os processos que capturam energia fornecem alimento para outros organismos, a fotossíntese é a base de uma significativa parte da vida na Terra hoje.

As células fotossintéticas antigas eram provavelmente semelhantes aos procariotos dos dias atuais, chamados de *cianobactérias* (Figura 1.10). Ao longo do tempo, os procariotos fotossintéticos se tornaram tão abundantes que vastas quantidades de gás oxigênio – O_2 , produto da fotossíntese – começaram lentamente a se acumular na atmosfera. O O_2 foi venenoso para muitos dos procariotos que viveram naquele tempo. Entretanto, aqueles organismos que toleraram o O_2 foram capazes de proliferar, já que a presença de oxigênio abriu vários caminhos para a evolução. O metabolismo baseado no uso de O_2 , chamado de *metabolismo aeróbico*, é mais eficiente do que o *metabolismo anaeróbico* (que não usa oxigênio), que caracterizava os organismos mais antigos. O metabolismo aeróbico permitiu que as células crescessem mais e hoje é usado pela maioria dos organismos da Terra.

Por milhões de anos, as vastas quantidades de oxigênio liberados pela fotossíntese formaram a camada de ozônio (O_3) na atmosfera. Com o aumento da camada de ozônio, foi interceptada muito da letal radiação solar ultravioleta. Somente nos últimos 800 milhões de anos, a presença de uma densa camada de ozônio permitiu que os organismos deixassem a proteção dos oceanos e vivessem na superfície terrestre.

As células eucarióticas evoluíram a partir dos procariotos

Outro importante passo na história da vida foi a evolução das células com discretos compartimentos intracelulares chamados de **organelas**, capazes de realizar funções celulares especializadas. Esse evento aconteceu em torno de 3 semanas no nosso calendário da história da Terra (ver Figura 1.9). Uma dessas organelas, o *núcleo*, surgiu para conter a informação genética da célula. O

núcleo tem a aparência de um denso cerne, dando a estas células o seu nome: **eucariotos** (do grego *eu*, “verdadeiro”, e *karyon*, “cerne”), o que as distingue das células de procariotos, que não possuem compartimentos internos (*pro*, “antes”).

Hipóteses indicam que as organelas se originaram de células que ingeriram outras menores (ver Figura 4.26). Por exemplo, a organela especializada em conduzir a fotossíntese, o *cloroplasto*, poderia ter se originado de um procarioto fotossintético ingerido por um eucarioto maior. Se as células maiores não quebraram o provável objeto alimentar, poderia ter evoluído uma associação na qual o procarioto ingerido fornecesse os produtos da fotossíntese e a célula hospedeira, um bom ambiente para o seu parceiro menor.

A multicelularidade surgiu e as células se especializaram

Há aproximadamente 1 bilhão de anos, todos os organismos que existiam – procariotos ou eucariotos – eram unicelulares. Outro importante passo evolucionário ocorreu quando alguns eucariotos falharam em se separar após a divisão celular, permanecendo ligados uns aos outros. A permanente associação das células possibilitou que algumas células se especializassem em certas funções, como reprodução, enquanto outras se especializassem em outras finalidades, como a absorção de nutrientes e sua distribuição para células vizinhas. Essa **especialização celular** permitiu aos eucariotos multicelulares aumentarem seu tamanho e se tornarem mais eficientes na obtenção de recursos e na adaptação a ambientes específicos.

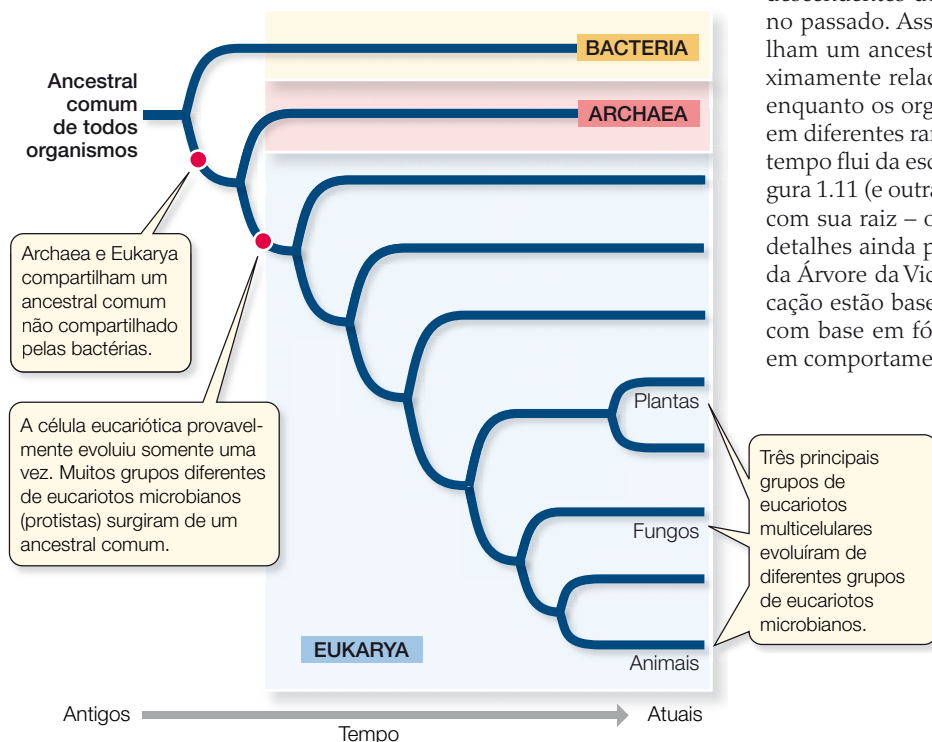


Figura 1.11 A árvore da vida O sistema de classificação usado neste livro divide os organismos terrestres em três domínios: Bacteria, Archaea e Eukarya. Os ramos não marcados em azul representam vários grupos de eucariotos microbianos, comumente conhecidos como “protistas”. (Ver Apêndice A para uma versão mais detalhada da árvore.)

Os biólogos podem delinear a árvore evolutiva da vida

Se todas as atuais espécies de organismos no planeta são descendentes de um único tipo de organismo unicelular que viveu há quase 4 bilhões de anos, como elas se tornaram tão diferentes?

Já que indivíduos dentro de uma população se acasalam aleatoriamente, mudanças funcionais e estruturais podem evoluir dentro daquela população, mas esta permanecerá uma espécie. Entretanto, se algum evento isola alguns membros de um grupo de outros, diferenças funcionais e estruturais entre eles podem se acumular ao longo do tempo. Em resumo, as vias evolucionárias dos dois podem divergir para o ponto onde seus membros não podem mais se reproduzir entre eles. Transformaram-se em espécies diferentes. Esse processo evolucionário, chamado *espeiação*, é detalhado nos Capítulos 22 e 23.

Os biólogos dão a cada espécie um nome científico formado por dois nomes latinizados (*binomial*). O primeiro nome identifica o gênero da espécie – um grupo de espécies que compartilha um ancestral comum recente. O segundo é o nome da espécie. Por exemplo, o nome científico da espécie humana é *Homo sapiens*: *Homo* é o nosso gênero e *sapiens* é a nossa espécie. Os nomes científicos geralmente se referem a alguma característica da espécie. *Homo* deriva da palavra latina para “homem” e *sapiens* deriva da palavra latina para “inteligente” ou “racional”.

Em torno de 30 milhões de espécies de organismos podem existir na Terra hoje. Algumas espécies viviam no passado, mas atualmente estão extintas. Milhões de eventos de espeiação criaram essa vasta diversidade, e o desdobramento desses eventos pode ser diagramado como uma “árvore evolucionária”, demonstrando a ordem na qual as populações se dividem e, finalmente, evoluem em novas espécies. Uma árvore evolucionária traça os descendentes dos ancestrais que viveram em diferentes tempos no passado. Assim, os organismos de qualquer ramo compartilham um ancestral na base daquela linha. Os grupos mais proximamente relacionados são colocados juntos no mesmo ramo; enquanto os organismos mais distantemente relacionados estão em diferentes ramos. Neste livro, adotamos a convenção de que o tempo flui da esquerda para a direita, de modo que a árvore na Figura 1.11 (e outras árvores neste livro) se posiciona sobre seu lado, com sua raiz – o ancestral de toda a vida – na esquerda. Muitos detalhes ainda precisam ser esclarecidos, mas os aspectos gerais da Árvore da Vida foram determinados. Seus padrões de ramificação estão baseados em um rico conjunto de evidências obtido com base em fósseis, em estruturas, em processos metabólicos, em comportamento e em análises moleculares de genomas.

Não existem fósseis para nos ajudar a determinar as divisões anteriores na linhagem da vida, já que aqueles organismos unicelulares não possuíam partes que poderiam ser preservadas como fósseis. Entretanto, evidências moleculares têm sido usadas para separar os organismos vivos em três **domínios** principais: Bacteria, Archaea e Eukarya (Figura 1.11). Os organismos de cada domínio têm evoluído separadamente de organismos em outros domínios por mais de um bilhão de anos.

Os organismos dos domínios **Archaea** e **Bacteria** são procariotos. Archaea e Bacteria diferem tão fundamentalmente entre si nos seus processos metabólicos que acredita-se que eles se separaram em linhagens evolutivas distintas muito antes.

Membros do terceiro domínio – **Eukarya** – possuem células eucarióticas. Os três principais grupos de eucariotos multicelulares – plantas, fungos e animais – evoluíram a partir de *eucariotos microbianos*, geralmente referidos como *protistas*. O protista fotossintético, que deu origem às plantas, era completamente distinto do ancestral dos animais e fungos, como pode ser visto pelo padrão de ramificação da Figura 1.11.

Algumas bactérias, algumas archaea, alguns protistas e a maioria das plantas são capazes de fazer fotossíntese. Esses organismos são chamados de *autotróficos* (autoalimentadores). As moléculas biológicas que eles produzem são o alimento primário para quase todos os outros organismos vivos.

Os fungos incluem mofo, cogumelos, leveduras e outros organismos semelhantes, sendo todos *heterotróficos* (alimentam-se de outras fontes), ou seja, eles precisam de uma fonte de moléculas sintetizadas por outros organismos, que são quebradas para obter energia para os seus processos metabólicos. Os fungos degradam moléculas de alimento ricas em energia no seu ambiente e, então, absorvem os produtos do processo para suas células. Alguns fungos são importantes decompositores de resíduos e corpos mortos de outros organismos.

Como os fungos, os animais são heterotróficos, mas, ao contrário dos fungos, eles ingerem sua fonte de alimento, então degradam o alimento no trato digestivo. Os animais ingerem outras formas de vida, inclusive plantas, fungos e outros animais. Suas células absorvem os produtos da degradação e obtêm energia destes produtos.

1.2 RECAPITULAÇÃO

A primeira vida celular na Terra foi procariótica e surgiu há cerca de 4 bilhões de anos. A complexidade dos organismos que existem hoje é o resultado de diversos eventos evolucionários importantes, incluindo a evolução da fotossíntese, das células eucarióticas e da multicelularidade. As relações genéticas de todos os organismos podem ser demonstradas como uma ramificação da Árvore da Vida.

- Você pode explicar o significado evolutivo de fotossíntese? Ver p. 11.
- O que os domínios da vida representam? Quais são os principais grupos de eucariotos? Ver p. 12 e Figura 1.11.

Em fevereiro de 1676, Robert Hooke recebeu uma carta do físico Isaac Newton. Nessa carta, Newton comentou com Hooke, “Se eu vi mais longe, foi por estar em pé sobre os ombros dos gigantes”. Todos estamos sobre os ombros de gigantes, construindo com base na pesquisa dos cientistas do passado. No final deste curso, você saberá mais sobre evolução do que Darwin poderia saber e conhecerá infinitamente mais sobre células do que Schleiden e Schwann sabiam. Veremos os métodos que os biólogos usam para expandir nosso conhecimento a respeito da vida.

1.3 Como os biólogos investigam a vida?

Os biólogos usam muitas ferramentas e métodos na sua pesquisa, mas independentemente dos métodos utilizados, os biólogos adotam duas abordagens básicas para suas investigações sobre a vida: observar o mundo e conduzir experimentos.

A observação é uma importante habilidade

Os biólogos têm observado o mundo ao seu redor, mas hoje suas habilidades para observar são bastante aumentadas por tecnologias sofisticadas, como microscópios eletrônicos, chips de DNA, imagens por ressonância magnética e satélites de posicionamento global. Os avanços na tecnologia têm sido responsáveis pela maioria dos progressos na biologia. Por exemplo, há certo tempo era extremamente difícil e se despendia muito tempo para decifrar a sequência de nucleotídeos que constituem um gene. Novas tecnologias permitiram aos biólogos realizar o sequenciamento completo do genoma humano em apenas 13 anos (1990-2003). Os cientistas agora usam esses métodos rotineiramente, sequenciando os genomas dos organismos (incluindo os que causam sérias doenças) em alguns dias. Exploraremos algumas dessas tecnologias e o que aprendemos a partir delas na Parte 4 deste livro.

Nossa habilidade de observar as distribuições dos organismos, como os peixes nos oceanos ao redor do mundo, também melhorou significativamente. Há pouco tempo, pesquisadores poderiam colocar marcas físicas nos peixes e então esperavam que algum pescador pescasse um desses peixes e enviasse de volta a marca, o que poderia ao menos revelar até onde o peixe chegou. Hoje, dispositivos eletrônicos de registro ligados ao peixe podem registrar continuamente não só onde o peixe está, mas também a que profundidade ele nada nos diferentes períodos do dia e a salinidade e temperatura da água ao seu redor (**Figura 1.12**). Em determinados intervalos, esses dispositivos encaminham informações para um satélite, que são retransmitidas para os pesquisadores. Assim, estamos adquirindo muito conhecimento sobre a distribuição da vida nos oceanos.



Figura 1.12 Rastreamento de atuns A bióloga marinha Bárbara Block prende uma etiqueta com registro computadorizado de dados (ver figura menor) em um atum-azul. O uso de tais etiquetas permite acompanhar os atuns de forma individual, onde quer que eles viajem nos oceanos do mundo.

O método científico combina observação e lógica

As observações conduzem a questionamentos que são respondidos pelos cientistas por meio de observações adicionais e de experimentos. A abordagem conceitual, que fundamenta o planejamento e a condução da maioria das modernas investigações científicas, é chamada de **método científico**. Trata-se de poderosa ferramenta, também chamada de método hipotético-dedutivo (H-P), cuja abordagem conceitual fornece uma forte fundamentação para produzir avanços no conhecimento biológico. O método científico tem cinco passos:

- fazer as *observações*;
- formular *questões*;
- formular *hipóteses* ou tentativas de responder às questões;
- realizar *predições* com base nas hipóteses;
- *testar* as predições, fazendo observações adicionais ou realizando experimentos.

Uma vez que uma questão tenha sido proposta, o cientista usa a *lógica indutiva* para propor uma resposta provável para a questão. A resposta provável é chamada de **hipótese**. Por exemplo, no início deste capítulo, você ficou sabendo que Pieter Johnson observou rãs anormais em certos lagos. A primeira questão estimulada por essa observação foi: existe algo nesses lagos que induziram as rãs a desenvolverem anormalidades anatômicas extremas?

Ao formular uma hipótese, os cientistas utilizam os fatos que já conheciam para elaborar uma ou mais respostas possíveis para a questão. Pieter sabia que provavelmente existiam contaminantes nos lagos onde as rãs deformadas foram encontradas, porque pesticidas eram intensamente usados na agricultura da região. Além disso, a mineração de mercúrio já tinha sido feita na região, e as minas abandonadas poderiam ser fonte de metais pesados encontrados na água. Ele também sabia que existiam lagos vizinhos com rãs normais. A sua primeira hipótese, portanto, foi de que os contaminantes na água causaram mutações nos ovos das rãs.

O próximo passo, no método científico, é aplicar uma diferente forma de lógica – a *lógica dedutiva* – para fazer predições baseadas em hipóteses. Com base nas suas hipóteses, Pieter deduziu (1) que encontraria contaminantes nos lagos com rãs anormais; e (2) que os ovos desses lagos produziam rãs anormais quando mantidos em laboratório.

Bons experimentos têm o potencial de descartar hipóteses

Uma vez que as deduções são feitas com base em uma hipótese, os **experimentos** podem ser desenvolvidos para testar essas deduções. Os experimentos mais informativos são aqueles que têm a habili-

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: Algum fator ambiental está causando anormalidades nas patas de rãs do Pacífico (*Hyla regilla*).

MÉTODO

1. Identificar uma área teste de pequenos lagos em uma área onde as rãs anormais foram encontradas (terra cultivável no Condado de Santa Clara, Califórnia).
2. Coletar e analisar amostras de água dos lagos.
3. Pesquisar os organismos nos lagos.
4. Procurar correlações entre a presença das anormalidades nas rãs e as características dos lagos.



Pata deformada

RESULTADOS

As rãs do Pacífico foram encontradas em 13 dos 35 lagos. Aquelas com anormalidades nos membros foram encontradas em 4 dos 13 lagos. As análises e pesquisa dos 13 lagos com rãs não revelaram diferença na poluição da água, mas revelaram a presença de lesmas infestadas com um parasita do gênero *Ribeiroia* nos 4 lagos com rãs anormais.



	Resíduos de pesticidas na água?	Metais pesados na água?	Contaminantes industriais na água?	Lesmas na água?	<i>Ribeiroia</i> na água?	Larvas de <i>Ribeiroia</i> nas rãs?
Lagos com rãs normais	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Lagos com rãs anormais	Não	Não	Não	Sim	Sim	Sim

CONCLUSÃO: A infecção pelo parasita *Ribeiroia* pode causar anormalidades no desenvolvimento das patas de rãs do Pacífico.

Figura 1.13 Experimentos comparativos procuram diferenças entre grupos Pieter Johnson analisou as diferenças entre os lagos, nos quais rãs deformadas estavam presentes *versus* lagos próximos, em que não existiam rãs deformadas. Tais comparações podem resultar em valiosas descobertas.

dade de demonstrar que a dedução está errada. Se a dedução está errada, a hipótese deve ser questionada, modificada ou rejeitada.

As duas deduções iniciais de Pieter Johnson provaram estar erradas. Ele analisou rãs e outros organismos em 35 lagos na região onde os anfíbios deformados tinham sido encontrados e mediu os agentes químicos na água. Treze dos lagos eram o habitat das rãs do Pacífico, mas ele encontrou rãs deformadas em somente quatro deles. Para a surpresa de Pieter, a análise das amostras da água não revelou altas quantidades de pesticidas, agentes químicos industriais ou metais pesados nos lagos com rãs deformadas. Surpreendentemente, quando coletou ovos naqueles lagos e os manteve no laboratório, ele sempre obtinha rãs normais. A hipótese original de que contaminantes causaram mutações nos ovos das rãs tinha sido rejeitada. Uma nova hipótese foi formulada e novos experimentos foram conduzidos.

Existem dois tipos de experimentos gerais e Pieter usou ambos:

- Em um **experimento comparativo**, deduzimos que existirá uma diferença entre as amostras ou grupos com base em nossa hipótese. Então testamos se a diferença prevista existe ou não.
- Em um **experimento controlado**, também comparamos amostras ou grupos, mas, neste caso, começamos o experimento com grupos tão semelhantes quanto possível. Deduzimos com base

nas quatro hipóteses que algum fator ou *variável* desempenhou um papel no fenômeno que estamos investigando. Então usamos algum método para manipular aquela variável em um grupo “experimental”, enquanto deixamos o grupo “controle” inalterado. Dessa forma, testamos se a manipulação criou a diferença prevista entre os grupos experimental e de controle.

EXPERIMENTOS COMPARATIVOS Experimentos comparativos são valiosos quando não sabemos ou não podemos controlar as variáveis críticas. Pieter Johnson realizou um experimento comparativo quando testou a água nos lagos (Figura 1.13). O seu desafio foi encontrar algumas variáveis que diferiam entre os lagos com rãs normais e anormais. Sem encontrar diferenças na química da água nos dois tipos de lagos, ele rejeitou a hipótese de que contaminantes ambientais estivessem causando mutações nas rãs. Então, ele comparou os dois tipos de lagos para observar quais variáveis *eram* diferentes entre eles.

Pieter constatou que uma espécie de lesma aquática estava presente nos lagos com rãs anormais, mas ausente nos lagos com rãs normais. As lesmas aquáticas eram hospedeiras de muitos parasitas. A nova hipótese era de que um parasita infectando as lesmas era, de alguma forma, responsável pelas deformidades das rãs. Para testar essa hipótese, ele realizou experimentos controlados.

EXPERIMENTOS CONTROLADOS Em experimentos controlados, uma variável é manipulada enquanto outras são mantidas constantes. A variável manipulada é chamada de *variável independente* e a resposta, que é medida, configura-se na *variável dependente*. Um bom experimento controlado não é fácil de planejar, porque variáveis biológicas são tão inter-relacionadas que é difícil isolar apenas um fator.

Muitos parasitas possuem complexos ciclos de vida com diversos estágios, cada um dos quais exige um específico animal hospedeiro. Pieter analisou a possibilidade de que algum parasita, que usava lesmas aquáticas como um de seus hospedeiros, estava infectando as rãs e causando as deformidades. Pieter encontrou um parasita com este tipo de ciclo de vida: um pequeno platelminto chamado *Ribeiroia*, presente nos lagos onde as rãs deformadas foram encontradas.

No experimento controlado de Pieter, a variável independente era a presença ou ausência da lesma e do parasita (Figura 1.14). Ele controlou todas as outras variáveis pela coleta de ovos das rãs e os manteve no laboratório. Dividiu os girinos resultantes em dois grupos e os colocou em tanques separados. Introduziu as lesmas e os parasitas em metade dos tanques (grupo experimental) e deixou os outros tanques (grupo-controle) livres de lesmas e parasitas. Sua variável dependente era a frequência de anormalidades nas rãs que se desenvolveram sob diferentes condições. Ele constatou que 85% das rãs nos tanques experimentais com *Ribeiroia* desenvolveram anormalidades, mas isso não ocorreu com nenhuma das rãs nos demais tanques. Assim, os resultados de Pieter fundamentaram sua hipótese, e ele poderia investigar como os parasitas causaram as anormalidades nas rãs em desenvolvimento.

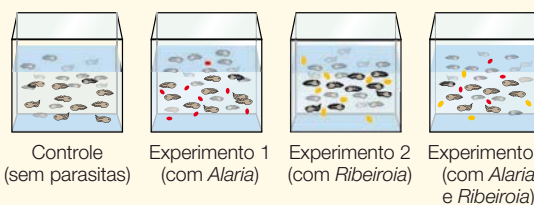
A Ribeiroia usa três hospedeiros nos lagos da Califórnia: lesmas, rãs e pássaros predatórios, como garças. Para o parasita completar seu ciclo de vida e se reproduzir, deve ser capaz de se mover de uma rã para um pássaro. As deformidades dos membros que *Ribeiroia* causa podem realmente tornar as rãs infectadas mais fáceis de serem capturadas pelos pássaros predatórios.

EXPERIMENTO

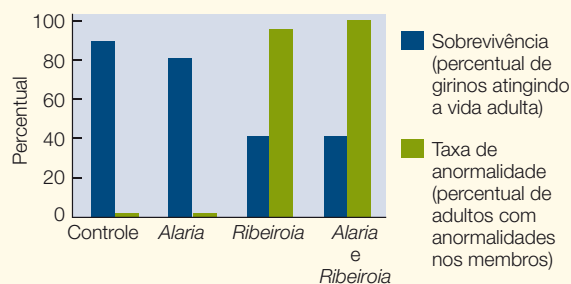
HIPÓTESE: A infecção dos girinos das rãs do Pacífico pelo parasita *Ribeiroia* causa anormalidades no desenvolvimento dos membros.

MÉTODO

1. Coletar ovos de *Hyla regilla* de um local sem registro de rãs anormais.
2. Deixar os ovos eclodirem no aquário do laboratório. Aleatoriamente dividir números iguais dos girinos resultantes em grupos controles e experimentais.
3. Deixar o grupo-controle se desenvolver normalmente. Submeter os grupos experimentais a infecção com *Ribeiroia*, um parasita diferente (*Alaria*) e uma combinação de ambos os parasitas.
4. Acompanhar o desenvolvimento dos girinos. Contar e avaliar as rãs adultas resultantes.



RESULTADOS



CONCLUSÃO: *Ribeiroia* causa anormalidades no desenvolvimento dos membros em rãs do Pacífico.

Figura 1.14 Experimentos controlados manipulam uma variável A variável que Johnson manipulou foi a presença e a ausência de duas espécies de platelmintos. Outras condições dos experimentos permaneceram constantes.

Métodos estatísticos são ferramentas científicas essenciais

Se estivermos realizando experimentos comparativos ou controlados, ao final, temos de decidir se existe uma diferença entre as amostras, indivíduos, grupos ou populações no estudo. Como decidimos se uma diferença medida é suficiente para confirmar ou não uma hipótese? Em outras palavras, como decidimos, de forma objetiva, que a diferença medida é significativa?

A significância pode ser medida por métodos estatísticos. Os cientistas usam a estatística porque eles reconhecem que a variabilidade é ubíqua. Os testes estatísticos analisam esta variação e calculam a probabilidade de que as diferenças observadas possam

ser devido à variação aleatória. Os resultados dos testes estatísticos são, portanto, probabilidades. Um teste estatístico começa com uma **hipótese nula** – premissa de que não existe diferença. Quando as observações quantificadas, ou **dados**, são coletados, os métodos estatísticos são aplicados para calcular a probabilidade de que a hipótese nula esteja correta.

Mais especificamente, os métodos estatísticos nos dizem a probabilidade de obter os mesmos resultados, por acaso, mesmo se a hipótese nula fosse verdadeira. Colocado de outra forma, precisamos eliminar, na medida do possível, a chance de que quaisquer diferenças demonstradas nos dados sejam, meramente, o resultado de variação aleatória nas amostras testadas. Os cientistas geralmente concluem que as diferenças que eles medem são significativas se os testes estatísticos demonstram que a *probabilidade de erro* (a probabilidade de que os resultados possam ser explicados por acaso) é de 5 % ou menos. Em experimentos particularmente críticos, como testes de segurança de uma nova droga, os cientistas exigem probabilidades muito mais baixas de erro, de 1 % ou mesmo 0,1 %.

Nem todas as formas de questionamento são científicas

A ciência é um dos empenhos humanos que está ligada a certos padrões de prática. Outras áreas do conhecimento compartilham com a ciência a prática de fazer observações e questionamentos, mas os cientistas se distinguem pelo que fazem com suas observações e como respondem às suas questões. Dados, sujeitos a apropriada análise estatística, são críticos no teste de hipóteses. O método científico é a mais poderosa forma que os humanos elaboraram para aprender sobre o mundo e como ele funciona. As explicações científicas para os processos naturais são objetivas e confiáveis porque a hipótese proposta *deve ser testável e deve ter o potencial de ser rejeitada* por observações diretas e experimentos. Os cientistas claramente descrevem os métodos que eles usaram para testar as hipóteses de forma que outros profissionais possam repetir suas observações ou experimentos. Nem todos os experimentos são repetidos, mas resultados surpreendentes ou controversos são sempre sujeitos à verificação independente. Todos os cientistas ao redor do mundo compartilham esse processo integral de testar e rejeitar hipóteses, dessa forma contribuindo para um corpo comum do conhecimento científico.

Se você entender os métodos da ciência, poderá distinguir ciência de não ciência. Arte, música, literatura são atividades que contribuem para a qualidade da vida humana, mas não são ciência, pois não usam o método científico para estabelecer o que é um fato. Religião não é ciência, embora as religiões tenham pretendido historicamente explicar eventos naturais, indo desde padrões incomuns do clima para prejuízos na colheita até doenças humanas e aflições mentais. Muitos desses fenômenos, que uma vez eram misteriosos, agora apresentam explicações em termos de princípios científicos.

O poder da ciência deriva da objetividade descomprometida e da absoluta dependência das evidências que provêm de *observações reprodutíveis e quantificáveis*. Uma explicação religiosa ou espiritual de um fenômeno natural pode ser coerente e satisfazer uma pessoa ou um grupo que mantém esta visão, mas não é testável e, portanto, não é ciência. Invocar uma explicação sobrenatural (tais como um “designer inteligente”, sem nenhuma ligação conhecida) é se afastar do mundo da ciência.

A ciência descreve os fatos sobre como o mundo funciona, não como “deveria ser”. Diversos dos recentes avanços científicos que têm contribuído muito para o bem-estar humano também despertam muitas questões éticas. Desenvolvimentos na genética e biologia do desenvolvimento, por exemplo, agora nos permitem selecionar o sexo das nossas crianças, usar células-tronco para reparar os nossos corpos e modificar o genoma humano. Embora o conhecimento científico nos permita fazer esses procedimentos, a ciência não pode nos dizer se devemos ou não fazê-los, nem como devemos regulá-los.

Tomar decisões prudentes sobre esses tópicos exige uma clara compreensão das implicações da informação científica disponível. O sucesso em uma cirurgia depende de um preciso diagnóstico, assim como o sucesso no gerenciamento ambiental. Entretanto, para tomar decisões adequadas sobre política pública, também precisamos empregar o melhor raciocínio ético possível na decisão sobre quais resultados deveríamos buscar. Para um futuro brilhante, a sociedade necessita de boa ciência e de boa ética, bem como de um público educado, que compreenda a importância de ambas e a importante diferença entre elas.

1.3 RECAPITULAÇÃO

O método científico do questionamento começa com a formulação de hipóteses baseadas em observações e dados. Experimentos comparativos e controlados são desenvolvidos para testar hipóteses.

- Você pode explicar a relação entre uma hipótese e um experimento? *Ver p.14.*
- Quais aspectos caracterizam as questões que podem ser respondidas somente usando uma abordagem comparativa? *Ver p.14 e Figura 1.3.*
- O que é controlado em um experimento controlado? *Ver p.15 e Figura 1.14.*
- Você compreende por que os argumentos devem ser fundamentados por dados quantificáveis e reprodutíveis com o objetivo de serem considerados científicos? *Ver p. 16.*

A vasta quantidade do conhecimento científico acumulado ao longo dos séculos da civilização humana nos permite compreender e manipular aspectos do mundo natural de uma forma que nenhuma outra espécie pode. Estas habilidades nos são apresentadas com desafios, oportunidades e, acima de tudo, responsabilidades. Vamos ver como o conhecimento da biologia pode afetar o desenvolvimento da política pública.

1.4 Como a biologia influencia a política pública?

O estudo da biologia tem tido relevantes implicações para a vida humana. A agricultura e a medicina são duas importantes atividades que dependem do conhecimento biológico. Nossos ancestrais inconscientemente aplicavam os princípios da biologia quando domesticavam plantas e animais. As pessoas também especulavam sobre as causas das doenças e buscavam métodos para combatê-las desde os tempos antigos. Antes de as suas causas serem

conhecidas, as pessoas reconheciam que as doenças poderiam ser transmitidas de um indivíduo para outro. O isolamento dos infectados era praticado desde que os registros escritos se tornaram disponíveis, mas a maioria das então chamadas curas não era efetiva até os cientistas encontrarem o que causava as enfermidades.

Hoje, graças ao deciframento dos genomas e à habilidade para manipulá-los, existem diversas novas possibilidades para melhor controle das enfermidades humanas e produtividade na agricultura. Ao mesmo tempo, essas capacidades têm levantado importantes questões públicas e éticas. Quanto e de que forma deveríamos modificar a genética dos humanos e de outras espécies? Quanto importa se nossos cultivos e animais domesticados são alterados por tradicionais experimentos de reprodução ou por transferência gênica? Quais regras deveriam governar a liberação de organismos modificados geneticamente no ambiente? A ciência sozinha não pode fornecer respostas para essas questões, mas decisões políticas prudentes devem ser baseadas em informação científica precisa.

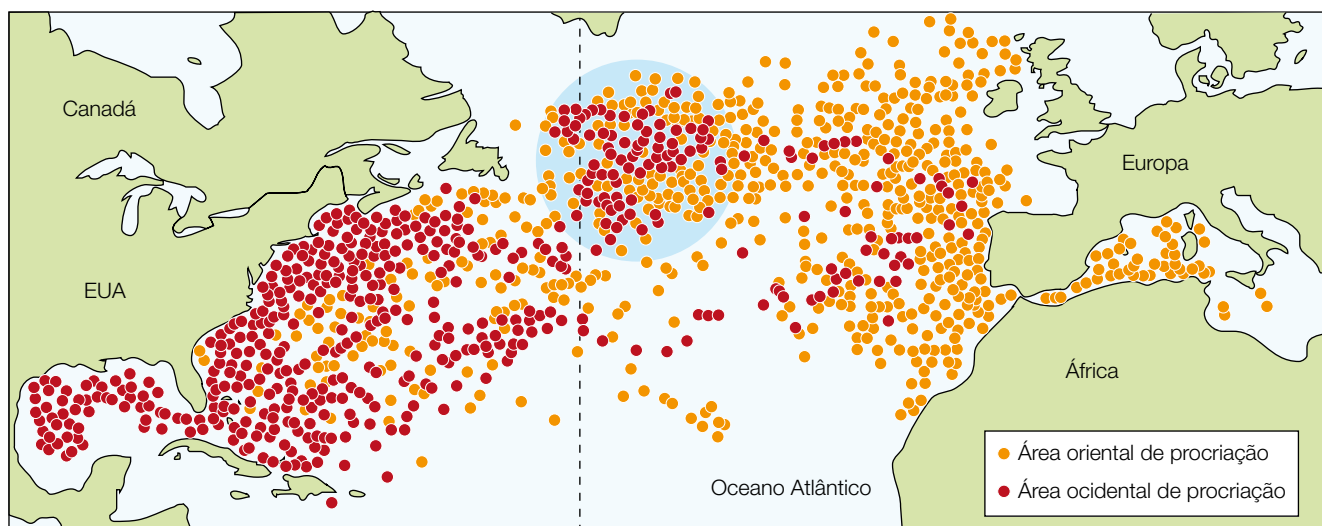
Outra razão para estudar biologia é compreender os efeitos do aumento da população humana. Nosso uso de recursos naturais está colocando sob estresse a habilidade dos ecossistemas terrestres de continuar a produzir os bens e os serviços dos quais nossas sociedades dependem. As atividades humanas estão mudando o clima global, causando a extinção de um grande número de espécies e disseminando novas doenças enquanto facilitam o ressurgimento de doenças antigas. A rápida disseminação dos vírus da SARS (síndrome respiratória aguda severa) e do Nilo Ocidental, por exemplo, foi facilitada pelos modernos modos de transporte, e o recente ressurgimento da tuberculose é resultado da evolução das bactérias resistentes a antibióticos. O conhecimento biológico é vital para determinar as causas dessas mudanças e para elaborar políticas sensatas para lidar com elas. Uma compreensão da biologia também ajuda as pessoas a apreciar a maravilhosa diversidade dos organismos vivos que fornece bens e serviços para a humanidade e, também, enriquece nossas vidas estética e espiritualmente.

Cada vez mais os biólogos são chamados para orientar as agências governamentais a respeito de leis, regras e regulamentações sobre como a sociedade lida com o crescente número de problemas e desafios que tem ao menos uma parcial base bio-

lógica. Como um exemplo do valor do conhecimento científico para avaliação e formulação de políticas públicas, vamos retornar ao estudo de rastreamento do atum-azul, introduzido na Seção 1.3. Antes desse estudo, os cientistas e pescadores sabiam que os atuns-azuis tinham uma região de reprodução no oeste do Golfo do México e um campo de reprodução mais ao leste do Atlântico, no Mar Mediterrâneo. A pesca exagerada colocava em risco a população reprodutora do oeste. Considerou-se que os peixes dos dois grupos reprodutores tinham regiões de alimentação separadas geograficamente, bem como campos de reprodução separados. Então, uma comissão internacional desenhou uma linha no meio do Oceano Atlântico e estabeleceu cotas mais restritas no lado oeste da linha. O objetivo era permitir que a população desse ponto se recuperasse. Entretanto, novos dados revelaram que de fato as populações de atuns-azuis do leste e do oeste se misturavam livremente nas regiões de alimentação (e, portanto, para pesca) através de todo o Atlântico Norte (Figura 1.15). Assim, um peixe pego no lado leste da linha poderia ser da população de reprodução do oeste, de modo que a política estabelecida se revelou inapropriada para atingir o objetivo pretendido.

Ao longo deste livro, acompanharemos com você a satisfação de estudar os organismos vivos e ilustrar a rica variedade de métodos que os biólogos usam para determinar por que o mundo desses seres parece e funciona como tal. O mais importante motivador da maioria dos biólogos é a curiosidade. Muitas pessoas são fascinadas pela riqueza e diversidade da vida, por isso querem aprender mais sobre os organismos e como eles interagem uns com os outros. A curiosidade humana pode até mesmo ser vista

Figura 1.15 O atum-azul não reconhece as linhas desenhadas nos mapas por comissões internacionais. Considerou-se que as populações reprodutoras ocidentais (pontos vermelhos) e orientais (pontos dourados) do atum-azul também se alimentavam nos respectivos lados do Oceano Atlântico. Por isso, cotas separadas de pesca foram estabelecidas para qualquer um dos lados de 45° de longitude (linha pontilhada). Acreditava-se que isso permitiria que população em risco do oeste pudesse se recuperar. Entretanto, os dados de rastreamento demonstraram que os dois grupos se misturavam livremente, especialmente nas águas de intensa pesca, no Atlântico Norte (círculo azul); então, de fato, a política estabelecida não protegia a população do oeste.



como adaptativa, e poderia ter sido selecionada se indivíduos motivados a aprender sobre seus arredores provavelmente tivessem sobrevivido e se reproduzido melhor, na média, do que seus parentes menos criativos!

Existe um vasto número de questões para as quais não temos respostas, e novas descobertas normalmente criam questões que ninguém pensou em perguntar antes. Talvez você finalmente participe e responda a uma ou mais dessas questões.

RESUMO DO CAPÍTULO

1.1 O que é biologia?

Biologia é o estudo da vida em todos os níveis de organização, desde as moléculas até a biosfera.

A **teoria celular** define que toda a vida consiste em células e todas as células provêm de outras preexistentes.

Todos os organismos vivos estão relacionados uns aos outros através de descendentes com modificações. A **evolução** por **seleção natural** é responsável pela diversidade de **adaptações** encontrada em organismos vivos.

As instruções para a célula estão contidas no seu **genoma**, que consiste em moléculas de DNA, formadas por sequências de **nucleotídeos**. Os específicos segmentos de DNA, chamados de **genes**, contêm a informação que a célula usa para produzir as **proteínas**. [Rever a Figura 1.4.](#)

As células são as unidades estruturais e fisiológicas básicas da vida. A maioria das reações químicas vitais ocorre nas células. Os organismos vivos controlam seu ambiente interno. Eles também interagem com outros organismos da mesma espécie e de espécies diferentes. Os biólogos estudam a vida em todos esses níveis de organização. [Rever a Figura 1.6.](#)

O conhecimento biológico obtido com base em um **sistema-modelo** pode ser generalizado para outras espécies.

1.2 Como está relacionada toda a vida na Terra?

Biólogos usam fósseis, semelhanças e diferenças anatômicas e comparações moleculares dos genomas para reconstruir a história da vida. [Rever a Figura 1.9.](#)

A vida surgiu primeiramente por evolução química. A evolução biológica começou com a formação das células.

A **fotossíntese** foi um importante passo evolutivo porque mudou a atmosfera da Terra e forneceu um meio de capturar energia a partir da luz solar.

Os organismos mais antigos eram **procariotos**; os organismos com células mais complexas, chamados de **eucariotos**,

surgiram posteriormente. As células eucarióticas têm compartimentos intracelulares separados chamados de **organelas**, incluindo um **núcleo** que contém o seu material genético.

As relações genéticas das **espécies** podem ser representadas como uma árvore evolutiva. As espécies são agrupadas em três **domínios**: **Bacteria**, **Archaea** e **Eukarya**. Os domínios Bacteria e Archaea consistem em procariotos unicelulares. O domínio Eukarya contém os eucariotos microbianos (protistas), plantas, fungos e animais. [Rever Figura 1.11.](#)

1.3 Como os biólogos investigam a vida?

O **método científico** usado na maioria das investigações biológicas envolve cinco passos: fazer as observações, formular as perguntas, formular as hipóteses, realizar as predições e testar essas predições.

As **hipóteses** são tentativas de respostas a questões. As predições são construídas com base em uma hipótese e testadas com observações adicionais e dois tipos de **experimentos**: **experimento comparativo** e **experimento controlado**. [Rever Figuras 1.13 e 1.14.](#)

Os métodos estatísticos são aplicados aos **dados** para estabelecer se as diferenças observadas são ou não significativas, ou se elas poderiam ser esperadas por acaso. Esses métodos começam com a **hipótese nula**, de que não há diferenças.

A ciência pode nos dizer como o mundo funciona, mas não pode nos dizer o que devemos ou não fazer.

1.4 Como a biologia influencia a política pública?

Decisões prudentes relacionadas à política pública devem ter base em informação científica precisa. Os biólogos são frequentemente chamados para orientar agências governamentais sobre a solução de importantes problemas que tenham algum componente biológico.

PARA DISCUSSÃO

1. Mesmo se conhecêssemos as sequências de todos os genes de um organismo unicelular e conseguíssemos que esses genes fossem expressos em tubo de ensaio, ainda assim não poderíamos criar um desses organismos. Na sua opinião, por que isso acontece? Com base nesse fato, o que você acha da afirmação de que o genoma contém toda a informação para uma espécie?
2. Se alguém falasse que as girafas desenvolvem longos pescoços porque elas os esticam para atingir folhas mais altas nas árvores, como você ajudaria esta pessoa a pensar sobre as girafas de forma mais acurada, em termos de evolução por seleção natural?
3. Em uma recente descoberta dos genes que controlam a cor da pele no peixe-zebra, por que os biólogos consideram que os mesmos genes podem ser responsáveis pela cor da pele em humanos?
4. Por que é tão importante na ciência o planejamento e a realização de testes capazes de provar que uma hipótese é falsa?
5. Quais aspectos caracterizam as questões que podem ser respondidas somente pelo uso de uma abordagem comparativa?
6. Em que situações do seu dia a dia você aplica o método científico para resolver problemas?

PARA INVESTIGAÇÃO

1. As anormalidades das rãs no estudo de Pieter Johnson estavam associadas à presença de um parasita. Como você investigaria a forma com que os parasitas induziram a formação de rãs deformadas? Dica: quando os girinos foram expostos aos parasitas *após* começarem a desenvolver os membros, eles não demonstraram anormalidades.
2. Assim como todas as células vêm de células preexistentes, as mitocôndrias – organelas celulares que convertem a energia do alimento em uma forma de energia capaz de fazer trabalho biológico – provêm de mitocôndrias preexistentes. As células não sintetizam mitocôndrias a partir da informação genética em seus núcleos. Que investigações você poderia desenvolver para compreender a natureza da mitocôndria?

CAPÍTULO 2 A Química da Vida

Onde existe água, pode existir vida

Em julho de 2005, a nave espacial *Cassini*, lançada oito anos atrás pela NASA, voou 168 quilômetros acima do polo sul de Enceladus, uma das luas de Saturno. Ao se aproximar desse pequeno e frígido corpo, os instrumentos da *Cassini* registraram informações sobre os compostos químicos na atmosfera, enquanto sua câmera obtinha fotografias. Retornando à Terra, os cientistas tiveram uma grande surpresa ao observar esses dados. As fotografias demonstravam uma imensa nuvem de vapor de água, partículas de gelo e água líquida que jorrava da lua como os gêiseres do Parque Yellowstone. Uma vez que a temperatura em Enceladus é de cerca de -200°C , a água da superfície congelaria e se tornaria sólida; assim a fonte da pluma deve ser um reservatório de água líquida abaixo da superfície, provavelmente aquecido pelo magma.

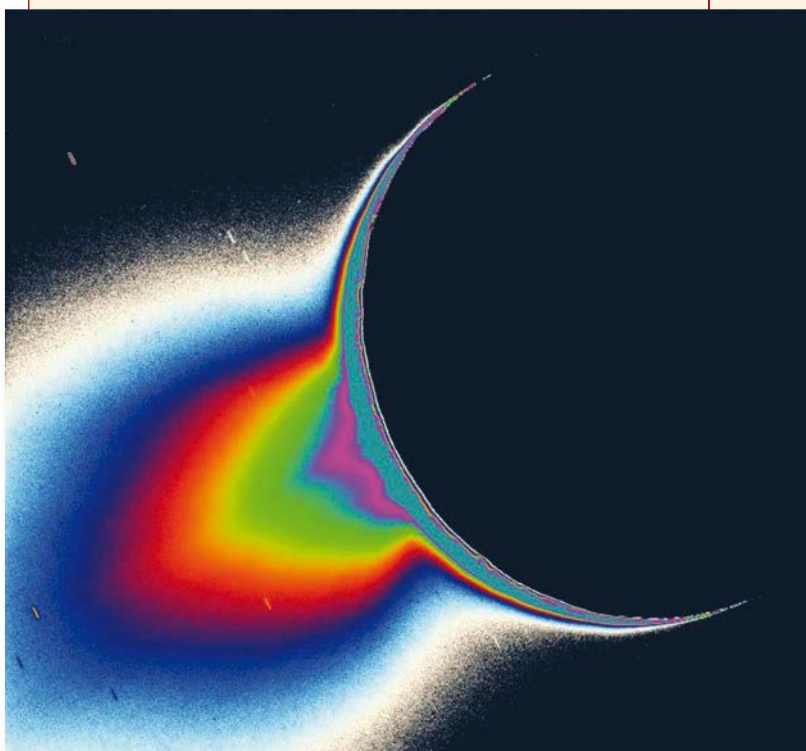
Enquanto isso, um pouco mais próximo de casa, dois veículos robóticos procuravam água em Marte. Um deles aterrisou no que as fotografias indicavam ser o grande leito de um lago seco. Com as instruções de cientistas na Terra, o veículo desenterrou e analisou amostras de solo marciano, encontrando um mineral chamado hematite, frequentemente considerado um sinal químico da presença de água. Além disso, havia

resíduo de sal, sugerindo que a água tinha evaporado. Essas descobertas dos geólogos despertaram o interesse dos biólogos, porque onde existe água, pode existir vida.

Colocando de outra forma, há uma boa razão para acreditar que a vida, como a conhecemos, não possa existir sem água. Os animais e as plantas não poderiam sobreviver nas massas terrestres da Terra, até que as adaptações evoluíssem, permitindo-lhes reter a água que compõe cerca de 70% dos seus corpos. Os organismos aquáticos não necessitam de mecanismos de retenção de água, o que levou os biólogos a concluir que a vida se originou em ambiente aquoso. O local não precisava ser os lagos, rios e oceanos com os quais estamos familiarizados. Foram encontrados organismos vivos em fontes quentes a temperaturas acima de ponto de ebulição usual da água, em um lago abaixo do gelo Antártico, na água capturada a 3 km abaixo da superfície terrestre, na água retirada a 5 km abaixo da superfície do mar, nas águas extremamente ácidas e salinas ou mesmo na água que resfria o interior dos reatores nucleares.

A atenção dos biólogos está focalizada não somente na presença da água, mas naquilo que está dissolvido na água. Uma importante descoberta da biologia é que os organismos vivos são compostos dos mesmos elementos químicos que compõem a vasta porção de matéria não viva do universo. Essa visão *mecanicista* – de que a vida é quimicamente baseada e obedece às leis universais da química e da física – é relativamente nova na história. Até o século XIX, uma “força vital” (do latim *vitalis*, “de vida”), distinta das forças mecânicas

Gêiseres em uma lua congelada Imagens a partir da nave espacial *Cassini*, melhoradas com coloração gerada em computador, demonstram grandes nuvens de água e vapor de água sendo espargidas a partir da superfície polar no sul da lua de Saturno, Enceladus. Os cientistas acreditam que esses jatos sejam de gêiseres que emergem de reservatórios de água líquida, aquecida por atividade vulcânica, que podem estar logo abaixo da superfície congelada dessa lua.





Procurando água O veículo robótico Opportunity, demonstrado aqui em uma maquete da NASA, foi enviado a Marte para procurar evidências de água. Os instrumentos do veículo encontraram resíduos de sal e outras evidências de água evaporada nas rochas e areia de uma região que parece ter sido o fundo de um grande lago.

que governam a física e a química, era considerada a responsável pela vida. Muitas pessoas ainda assumem que existe uma força vital, mas a perspectiva mecanística tem permitido grandes avanços nas ciências biológicas; é a pedra fundamental da agricultura e da medicina modernas. A busca por vida em Marte e a descrição da vida aqui na Terra começam pela química.

NESTE CAPÍTULO introduzimos os constituintes da matéria: os átomos. Examinamos sua variedade, suas propriedades e a sua capacidade de se combinar com outros átomos. Então consideramos como a matéria se modifica. Além das mudanças do estado (sólido para líquido e deste para o gasoso), as substâncias sofrem reações químicas que transformam sua composição e suas propriedades características. Finalmente, examinamos a estrutura e as propriedades da água e sua relação com ácidos e bases químicas.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 2.1** Quais elementos químicos constituem os organismos vivos?
- 2.2** Como os átomos se ligam para formar as moléculas?
- 2.3** Como os átomos mudam de parceiros nas reações químicas?
- 2.4** Quais propriedades da água a tornam tão importante na biologia?

2.1 Quais elementos químicos constituem os organismos vivos?

Toda a matéria é composta de **átomos**. Os átomos são minúsculos – mais de um trilhão (10^{12}) deles poderia preencher a superfície do ponto no final desta frase. Cada átomo consiste em um **núcleo** denso positivamente carregado, ao redor do qual um ou mais **elétrons** carregados negativamente se movem (**Figura 2.1**). O núcleo contém um ou mais **prótons** e pode conter um ou mais **nêutrons**. Os átomos e suas partículas componentes têm volume e massa, propriedades de toda a matéria. A *massa* mede a quantidade de matéria presente; quanto maior a massa, maior é a quantidade de matéria.

A massa de um próton serve como unidade padrão de medida, chamada de **unidade de massa atômica (u)** ou *dalton* (em homenagem ao químico inglês John Dalton). Um único próton ou nêutron tem massa de cerca de 1 dalton (Da), a qual é $1,7 \times 10^{-24}$ (0,0000000000000000000000017g). A massa de um elétron é 9×10^{-28} g (0,0005 Da). Como a massa de um elétron é muito menor quando comparada com a de um próton ou a de um nêutron, a contribuição dos elétrons para a massa de um átomo pode geralmente ser ignorada quando medidas e cálculos são feitos. São os elétrons, entretanto, que determinam como os átomos interagirão nas reações químicas; eles serão discutidos amplamente neste capítulo.

Cada próton tem carga elétrica positiva, definida como unidade +1 de carga. Um elétron tem carga negativa igual e oposta àquela do próton; assim a carga de um elétron é a unidade -1. O nêutron, como o seu nome sugere, é eletricamente neutro, então sua carga é 0. Cargas diferentes (+/-) se atraem, enquanto cargas iguais (+/+, -1-1) se repelem. Os átomos são eletricamente neutros porque o número de elétrons em um átomo é igual ao número de prótons.

Um elemento é constituído de somente um tipo de átomo

Um **elemento** é uma substância pura que contém somente um tipo de átomo. O elemento hidrogênio consiste apenas em átomos de hidrogênio; o elemento ferro consiste somente em átomos de ferro. Os átomos de cada elemento têm certas características ou propriedades que os distinguem dos de outros elementos. Os mais de 100 átomos encontrados no universo estão organizados na *tabela periódica* (**Figura 2.2**). Esses elementos não são encontrados em quantidades iguais. As estrelas têm hidrogênio e hélio abundantes.

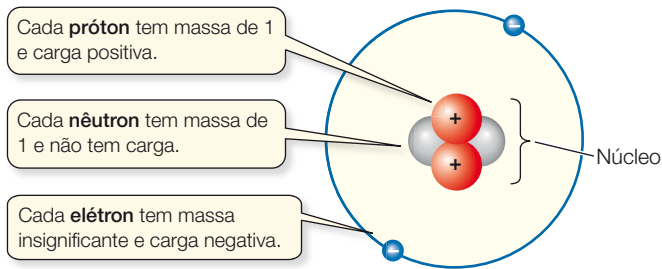


Figura 2.1 O átomo de hélio Esta representação de um átomo de hélio é chamada de modelo de Bohr. Ela exagera o espaço ocupado pelo núcleo. Na realidade, embora o núcleo constitua virtualmente toda a massa atômica, ele ocupa apenas cerca de 1/10.000 do volume do átomo.

Uma dessas 6 elementos será nossa primeira preocupação aqui, mas os outros elementos encontrados nos organismos vivos são importantes também. Sódio e potássio, por exemplo, são essenciais para a função nervosa; cálcio pode atuar como um sinal biológico; iodo é um componente de um hormônio vital; e magnésio e molibdênio são essenciais para as plantas (magnésio como parte de seu pigmento clorofila e molibdênio por incorporar nitrogênio em substâncias biologicamente úteis).

Prótons: seu número identifica um elemento

Um elemento difere dos outros pelo número de prótons em cada um dos seus átomos. Esse **número atômico** é único para cada elemento e não muda. Um átomo de hélio sempre possui 2 prótons e um átomo de oxigênio sempre tem 8 prótons; assim os números atômicos de hélio e oxigênio são 2 e 8, respectivamente.

A crosta terrestre e a superfície de planetas vizinhos são constituídas por metade de oxigênio, 28% de silício, 8% de alumínio e 2 a 5% de cada um destes elementos: sódio, magnésio, potássio, cálcio e ferro, e contém quantidades muito menores dos outros elementos.

Cerca de 98% da massa de todo organismo vivo (bactéria, nabo ou seres humanos) é composta de apenas 6 elementos: carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio, fósforo e enxofre. A química

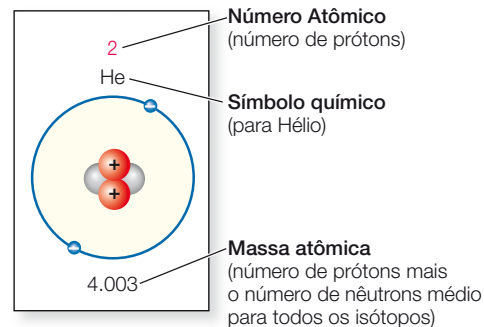


Figura 2.2 A tabela periódica A tabela periódica agrupa os elementos de acordo com suas propriedades físicas e químicas. Os elementos de 1 a 92 ocorrem na natureza; elementos com números atômicos acima de 92 foram criados em laboratório.

Os seis elementos marcados em amarelo constituem 98% da massa da maioria dos organismos vivos.

As colunas verticais contêm os elementos com propriedades similares.

Os elementos marcados em laranja estão presentes em pequenas quantidades em muitos organismos.

As massas em parênteses indicam elementos instáveis que se decompõem rapidamente para formar outros elementos.

Os elementos sem símbolo químico estão ainda sem denominação.

1 H 1.0079																	2 He 4.003						
3 Li 6.941	4 Be 9.012																	5 B 10.81	6 C 12.011	7 N 14.007	8 O 15.999	9 F 18.998	10 Ne 20.179
11 Na 22.990	12 Mg 24.305																	13 Al 26.982	14 Si 28.086	15 P 30.974	16 S 32.06	17 Cl 35.453	18 Ar 39.948
19 K 39.098	20 Ca 40.08	21 Sc 44.956	22 Ti 47.88	23 V 50.942	24 Cr 51.996	25 Mn 54.938	26 Fe 55.847	27 Co 58.933	28 Ni 58.69	29 Cu 63.546	30 Zn 65.38	31 Ga 69.72	32 Ge 72.59	33 As 74.922	34 Se 78.96	35 Br 79.909	36 Kr 83.80						
37 Rb 85.4778	38 Sr 87.62	39 Y 88.906	40 Zr 91.22	41 Nb 92.906	42 Mo 95.94	43 Tc (99)	44 Ru 101.07	45 Rh 102.906	46 Pd 106.4	47 Ag 107.870	48 Cd 112.41	49 In 114.82	50 Sn 118.69	51 Sb 121.75	52 Te 127.60	53 I 126.904	54 Xe 131.30						
55 Cs 132.905	56 Ba 137.34	71 Lu 174.97	72 Hf 178.49	73 Ta 180.948	74 W 183.85	75 Re 186.207	76 Os 190.2	77 Ir 192.2	78 Pt 195.08	79 Au 196.967	80 Hg 200.59	81 Tl 204.37	82 Pb 207.19	83 Bi 208.980	84 Po (209)	85 At (210)	86 Rn (222)						
87 Fr (223)	88 Ra 226.025	103 Lr (260)	104 Rf (261)	105 Db (262)	106 Sg (266)	107 Bh (264)	108 Hs (269)	109 Mt (268)	110 (269)	111 (272)	112 (277)	113 (285)	114 (289)	115 (289)	116 (289)	117 (293)	118 (293)						
Série dos lantanídeos		57 La 138.906	58 Ce 140.12	59 Pr 140.9077	60 Nd 144.24	61 Pm (145)	62 Sm 150.36	63 Eu 151.96	64 Gd 157.25	65 Tb 158.924	66 Dy 162.50	67 Ho 164.930	68 Er 167.26	69 Tm 168.934	70 Yb 173.04								
Série dos actinídeos		89 Ac 227.028	90 Th 232.038	91 Pa 231.0359	92 U 238.02	93 Np 237.0482	94 Pu (244)	95 Am (243)	96 Cm (247)	97 Bk (247)	98 Cf (251)	99 Es (252)	100 Fm (257)	101 Md (258)	102 No (259)								

Junto com um definitivo número de prótons, todo o elemento, exceto o hidrogênio, tem um ou mais nêutrons no seu núcleo. O **número de massa** de um átomo é o número total de prótons e nêutrons no seu núcleo. O núcleo de um átomo de carbono contém 6 prótons e 6 nêutrons em seu núcleo e um número de massa de 12. O oxigênio tem 8 prótons e 8 nêutrons e um número de massa de 16. O número de massa é essencialmente a massa do átomo em daltons.

Cada elemento tem seu próprio símbolo químico de uma ou duas letras. Por exemplo, H representa hidrogênio, C é usado para carbono e O para oxigênio. Alguns símbolos se originam de outras línguas: Fe (do Latim *ferrum*) representa ferro, Na (Latim, *natrium*) para sódio, e W (Alemão, *wolfram*) para tungstênio.

No texto, imediatamente precedendo o símbolo para um elemento, o número atômico é escrito na parte inferior esquerda e o número de massa na parte superior esquerda. Assim, hidrogênio, carbono e oxigênio são escritos como ^1_1H , $^{12}_6\text{C}$ e $^{16}_8\text{O}$, respectivamente.

Nêutrons: seu número difere entre os isótopos

Em alguns elementos, o número de nêutrons no núcleo atômico não é constante. **Isótopos** do mesmo elemento possuem o mesmo e definitivo número de prótons, mas diferem no seu número de nêutrons. Vários elementos têm diversos isótopos. Os isótopos do hidrogênio demonstrados na **Figura 2.3** têm nomes especiais, mas os isótopos da maioria dos elementos não têm nomes distintos. Os isótopos naturais de carbono, por exemplo, são ^{12}C (6 nêutrons no núcleo), ^{13}C (7 nêutrons) e ^{14}C (8 nêutrons). Note que todos os três (pronunciados “carbono-12”, “carbono-13” e “carbono-14”) têm 6 prótons, então todos são carbonos. A maioria dos átomos de carbono é ^{12}C , cerca de 1,1% é ^{13}C e uma fração minúscula é ^{14}C . A massa atômica de um elemento ou **peso atômico** é a média dos números de massa de uma amostra representativa dos átomos do elemento, com todos os isótopos nas suas proporções que existem normalmente. O peso atômico do carbono, levando em consideração todos os seus isótopos e suas abundâncias, é assim calculado em 12,011.

A maioria dos isótopos é estável. Mas alguns, chamados **radioisótopos**, são instáveis e espontaneamente liberam energia na forma de radiação α (alpha), β (beta) ou γ (gama) a partir do núcleo atômico. Conhecido como *decomposição radioativa*, esta liberação de energia transforma o átomo original. Essas trans-

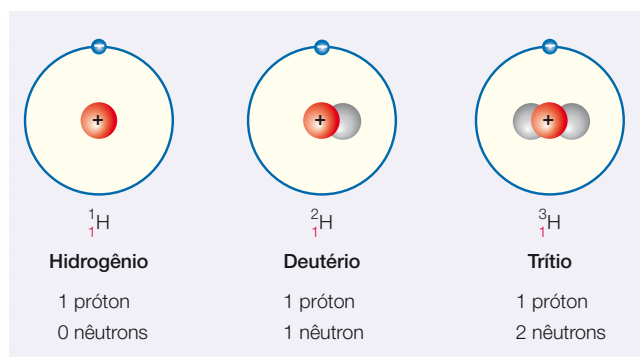


Figura 2.3 Os isótopos têm números de nêutrons diferentes Os isótopos de hidrogênio têm um próton no núcleo, que os define como hidrogênio. Os diferentes números de massa refletem os diferentes números de nêutrons.

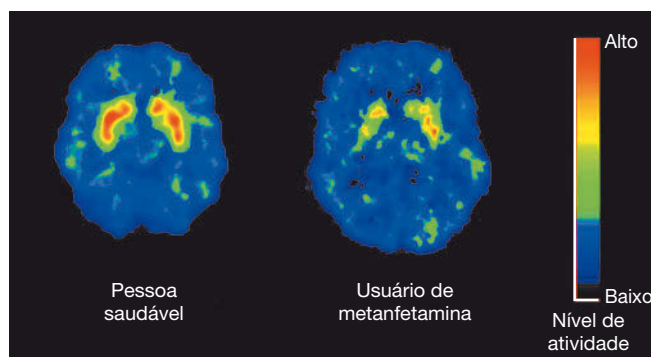


Figura 2.4 Marcando o cérebro Um açúcar marcado radioativamente detecta diferenças entre a atividade cerebral de uma pessoa saudável e de uma pessoa que faz uso abusivo de metanfetaminas. Quanto mais ativa é uma região cerebral, mais açúcar ela absorve. O cérebro saudável (esquerda) demonstra mais atividade na região envolvida na memória (a área vermelha) do que o cérebro de um usuário da droga.

formações podem se estender para uma mudança no número de prótons, então o átomo original é agora um elemento diferente. A energia liberada pelo decaimento pode interagir com substâncias vizinhas. Os cientistas podem incorporar substâncias sensíveis à radiação em instrumentos que permitem detectar a presença de radioisótopos. Por exemplo, se um verme terrestre recebe alimento no qual um radioisótopo foi adicionado, seu caminho através do solo pode ser acompanhado por um simples contador Geiger. Se um radioisótopo é incorporado em uma molécula, ele age como uma marca ou etiqueta, permitindo aos pesquisadores e médicos rastrear aquela molécula e identificar quaisquer mudanças que ela sofre no corpo (**Figura 2.4**). Os radioisótopos são usados também para datar fósseis, aplicação descrita na Seção 21.1.

Embora os radioisótopos sejam úteis na pesquisa e na medicina, mesmo baixa dose de radiação que eles emitem possui o potencial de danificar moléculas e células. Entretanto, esses efeitos deletérios são algumas vezes usados como vantagem; por exemplo, a radiação γ do ^{60}Co (cobalto-60) utiliza-se, na prática médica, para destruir células cancerígenas.

Elétrons: seu comportamento determina a ligação química

O número característico de elétrons em cada átomo de um elemento determina como seus átomos reagirão com outros átomos. Os biólogos estão interessados na forma que as mudanças químicas ocorrem nas células vivas. Quando consideram os átomos, interessam-se primariamente nos elétrons porque o seu comportamento explica de que forma as *reações* químicas ocorrem. Essas reações frequentemente causam alteração na composição química das substâncias. As reações normalmente envolvem mudanças na distribuição dos elétrons entre os átomos.

A localização de um dado elétron em um átomo, em qualquer tempo, é impossível de determinar. Podemos somente descrever um volume de espaço dentro do átomo onde o elétron provavelmente se encontra. A região do espaço onde o elétron está, em pelo menos 90% do tempo, é o **orbital** de elétrons. Os orbitais têm formas características e orientações, e um dado orbital pode ser ocupado por no máximo dois elétrons. Assim, qual-

quer átomo maior que o hélio (número atômico 2) possui elétrons em dois ou mais orbitais. Os orbitais são preenchidos em uma sequência específica, em séries conhecidas como **camadas de elétrons** ou *níveis de energia* ao redor do núcleo (**Figura 2.5**).

- **Primeira camada:** A camada de elétrons mais interna consiste em apenas um orbital, chamado de orbital s. Um átomo de hidrogênio com um elétron na sua primeira camada (${}^1_1\text{H}$); o hélio com 2 (${}^2_2\text{He}$). Os átomos de todos os outros elementos têm duas ou mais camadas para acomodar orbitais para elétrons adicionais.
- **Segunda camada:** A segunda camada contém quatro orbitais (um orbital s e 3 orbitais p) e, portanto, mantém oito elétrons.
- **Camadas adicionais:** Elementos com mais de 10 elétrons têm 3 ou mais camadas de elétrons. Quanto mais distante uma camada está do núcleo, maior é o nível de energia para um elétron ocupar aquela camada (ou seja, o elétron carregado negativamente necessita absorver maior quantidade de energia para superar a atração do núcleo positivamente carregado e permanecer naquela camada).

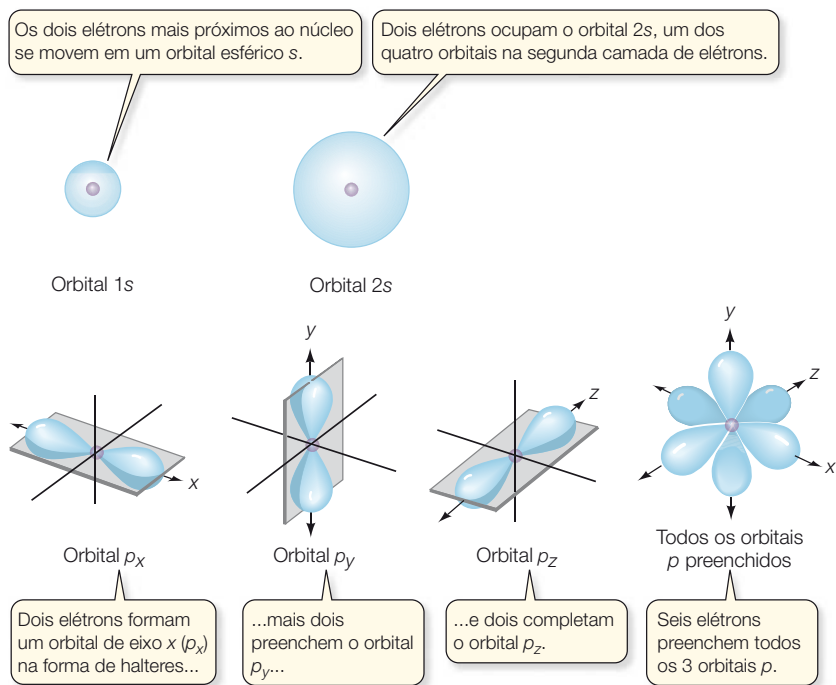
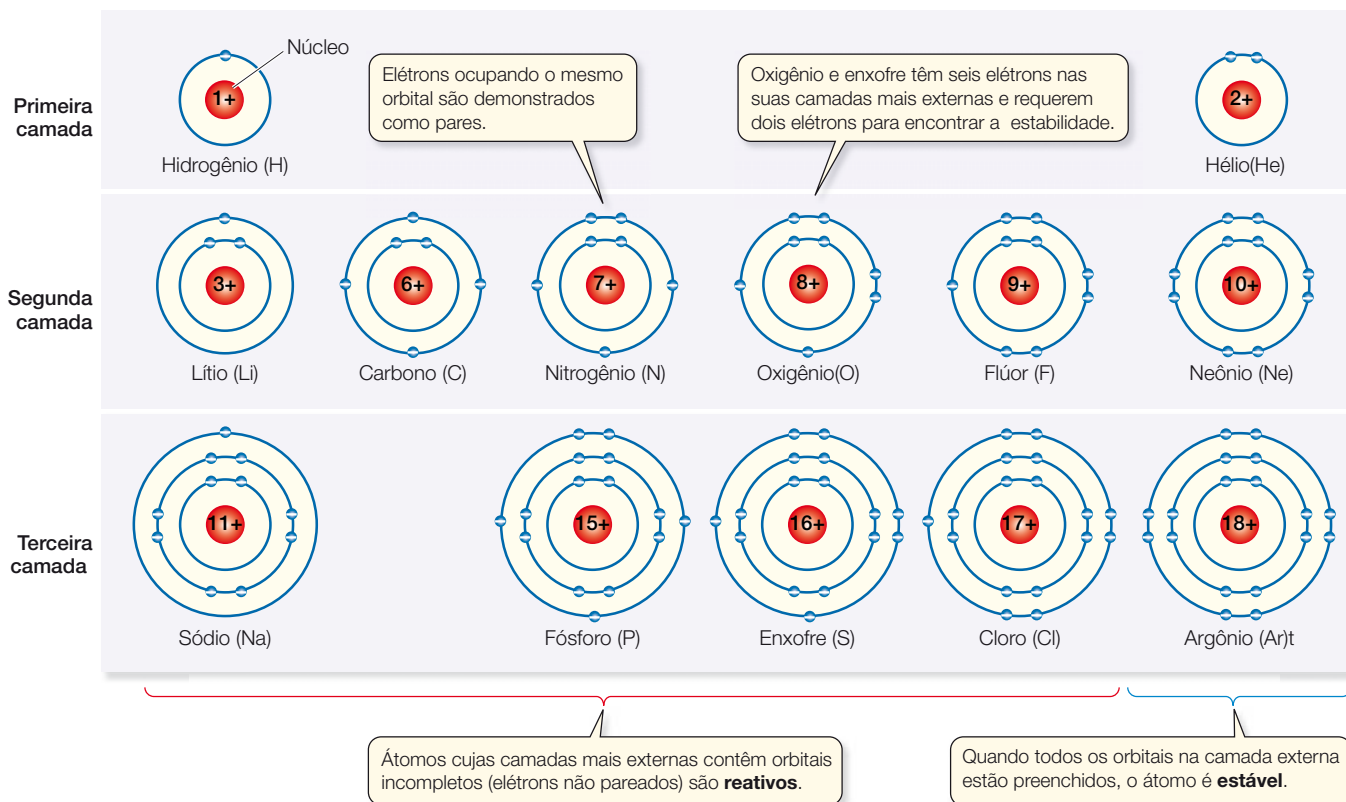


Figura 2.5 Orbitais dos elétrons Cada orbital mantém no máximo dois elétrons. Os orbitais s têm nível de energia mais baixo e se preenchem com elétrons antes dos orbitais p.

Figura 2.6 As camadas de elétrons determinam a reatividade dos átomos Cada orbital contém no máximo dois elétrons e cada camada pode ter um número específico máximo de elétrons. Cada camada deve ser preenchida antes que os elétrons se movam para outra. O nível de energia dos elétrons é maior nas camadas mais distantes do núcleo. Um átomo com elétrons não pareados na sua camada mais externa pode reagir (formar ligações) com outros átomos.



Os orbitais *s* se preenchem com elétrons primeiro, e seus elétrons têm o mais baixo nível de energia. Camadas subsequentes contêm diferentes números de orbitais, mas as mais externas normalmente mantêm somente oito elétrons. Em qualquer átomo, a camada de elétrons mais externa (a camada de valência) determina como o átomo combina com outros átomos – ou seja, como esse se comporta quimicamente. Quando uma camada de valência com quatro orbitais contém oito elétrons, não existem elétrons desemparelhados e o átomo é *estável* – não reagirá com outros átomos (**Figura 2.6**). Exemplos de elementos estáveis quimicamente são hélio, neônio e argônio.

A vida na Terra é baseada na química do carbono. Como o silício compartilha muitas propriedades químicas com carbono, os cientistas e os escritores de ficção científica têm especulado sobre a possibilidade e a provável natureza de uma forma de vida baseada em silício.

Os átomos instáveis ou reativos têm elétrons não pareados em suas camadas externas. Dessa forma, podem atingir a estabilidade tanto por compartilhar elétrons com outros átomos como por perder ou ganhar um ou mais elétrons. Em qualquer caso, os átomos envolvidos estão ligados em associações estáveis chamadas de **moléculas**. A tendência dos átomos em moléculas estáveis terem oito elétrons nas camadas mais externas é conhecida como a *regra do octeto*. Muitos dos átomos em moléculas biologicamente importantes – por exemplo, o carbono (C) e o nitrogênio (N) – seguem esta regra. Uma exceção importante é o hidrogênio (H), que atinge a estabilidade quando dois elétrons ocupam sua única camada (consistindo apenas em um orbital *s*).

2.1 RECAPITULAÇÃO

O mundo vivo é composto do mesmo conjunto de elementos químicos como o resto do universo. A estrutura de um átomo – com seu núcleo de prótons e nêutrons e sua característica configuração de elétrons em orbitais ao redor do núcleo – determina suas propriedades.

- Você pode descrever o arranjo de prótons, nêutrons e elétrons em um átomo? *Rever Figura 2.1.*
- Você pode usar a tabela periódica para identificar algumas das diferenças e similaridades na estrutura atômica entre elementos distintos (por exemplo, oxigênio, carbono e hélio)? Você compreende como a configuração da camada de valência influencia a posição de um elemento na tabela periódica? *Ver p. 22-24 e Figuras 2.2 e 2.6.*
- Você compreende como a ligação pode ajudar um átomo reativo a atingir a estabilidade? *Ver p. 25 e Figura 2.6.*

Introduzimos os atores individuais no palco bioquímico – os átomos. Demonstramos como os níveis de energia dos elétrons direcionam a “busca atômica pela estabilidade”. A seguir, descreveremos os diferentes tipos de ligações químicas que podem conduzir a estabilidade, unindo os átomos em estruturas moleculares com propriedades diferentes.

2.2 Como os átomos se ligam para formar as moléculas?

Ligação química é força atrativa que une dois átomos em uma molécula. Existem diversos tipos de ligações químicas (**Tabela 2.1**). Nesta seção, começaremos com as *ligações covalentes*, fortes ligações que resultam do compartilhamento de elétrons. Posteriormente, examinaremos as *ligações iônicas*, que se formam quando um átomo ganha ou perde elétrons para obter estabilidade. Então, consideraremos outros tipos de interações mais fracas, incluindo pontes de hidrogênio, muito importantes para a biologia.

Ligações covalentes consistem em pares de elétrons compartilhados

Uma **ligação covalente** se forma quando dois átomos atingem números eletrônicos estáveis nas camadas mais externas por meio do *compartilhamento* de um ou mais pares de elétrons. Considere dois átomos de hidrogênio em estreita proximidade, cada um deles com um único elétron não pareado na sua única camada (**Figura 2.7**). Cada núcleo carregado positivamente *atrai* o elétron não pareado carregado negativamente do *outro átomo*, mas essa atração é balanceada pela *atração* de cada elétron *pele seu próprio núcleo*. Assim, os dois elétrons não pareados se tornam compartilhados, preenchendo as camadas de ambos os átomos. A atração compartilhada une os dois átomos de hidrogênio em uma ligação covalente, e uma molécula de gás hidrogênio estável (H_2) forma-se.

Um **composto** é uma molécula constituída de átomos de dois ou mais elementos ligados em razão fixa. O gás metano (CH_4), a água (H_2O) e o açúcar de mesa (sacarose, $C_{12}H_{22}O_{11}$) são exemplos de compostos. Os símbolos químicos identificam os diferentes

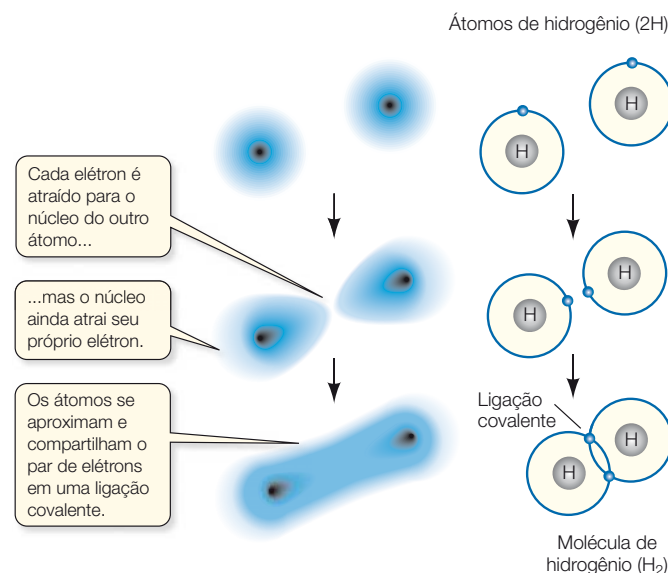


Figura 2.7 Elétrons são compartilhados em ligações covalentes Dois átomos de hidrogênio podem se combinar a fim de formar uma molécula de hidrogênio. Uma ligação covalente se constitui quando os orbitais de elétrons dos dois átomos se sobrepõem.

TABELA 2.1 Ligações químicas e interações

NOME	BASE DA INTERAÇÃO	ESTRUTURA	ENERGIA DE LIGAÇÃO ^a (KCAL/MOL)
Ligação covalente	Compartilhamento de pares de elétrons		50–110
Ligação iônica	Atração de cargas opostas		3–7
Ponte de hidrogênio	Compartilhamento de átomo de H		3–7
Interação hidrofóbica	Interação de substâncias apolares na presença de substâncias polares (especialmente água)		1–2
Interação de van der Waals	Interação de elétrons de substâncias apolares		1

^a Energia de Ligação é a quantidade de energia necessária para separar dois átomos ligados ou interagindo sob condições fisiológicas.

elementos em um composto e os números em subscripto indicam quantos átomos de cada elemento estão presentes. Cada composto tem um **peso molecular** (massa molecular) que é a soma dos pesos atômicos de todos os átomos na molécula. Observando a tabela periódica na Figura 2.2, podemos calcular os pesos moleculares destes três compostos como 16, 18 e 342, respectivamente. Os pesos moleculares estão geralmente relacionados ao tamanho da molécula.

Considere os elétrons envolvidos em uma ligação covalente no gás metano. O átomo de carbono nesse composto apresenta seis elétrons: dois elétrons preenchem a camada interna e quatro ocupam a camada externa. Como a camada externa pode conter até oito elétrons, este átomo pode compartilhar elétrons com até quatro outros átomos – *pode formar quatro ligações covalentes* (Figura 2.8A). Quando um átomo de carbono reage com quatro átomos de hidrogênio, forma-se o metano. Graças ao compartilhamento de elétrons, a camada externa do átomo de carbono do metano é preenchida com oito elétrons; a camada mais externa de cada um dos quatro átomos de hidrogênio é também preenchida. Quatro ligações covalentes – quatro pares de elétrons compartilhados – mantêm a molécula de metano.

A Figura 2.8B demonstra diversas formas de representar a estrutura molecular do metano. A Tabela 2.2 demonstra as capacidades de ligação covalente de alguns elementos biologicamente significativos.

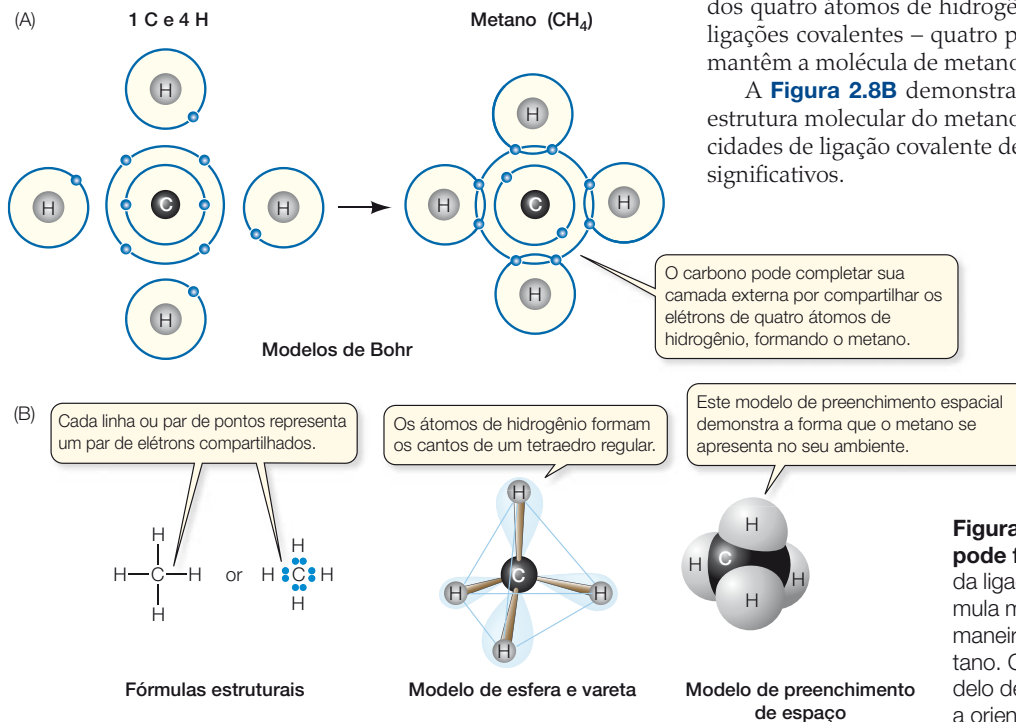


Figura 2.8 Uma ligação covalente pode formar compostos (A) Formação da ligação covalente no metano, cuja fórmula molecular é CH₄. (B) Três diferentes maneiras de representar a estrutura do metano. O modelo de esfera e vareta e o modelo de preenchimento espacial demonstra a orientação espacial das ligações.

TABELA 2.2 Capacidades das ligações covalentes de alguns elementos biologicamente importantes

ELEMENTO	NÚMERO USUAL DE LIGAÇÕES COVALENTES
Hidrogênio (H)	1
Oxigênio (O)	2
Enxofre (S)	2
Nitrogênio (N)	3
Carbono (C)	4
Fósforo (P)	5

FORÇA E ESTABILIDADE As ligações covalentes são muito fortes, o que significa que é necessária muita energia para serem quebradas. A energia térmica que as moléculas biológicas ordinariamente apresentam sob condições fisiológicas (ou seja, o ambiente químico e físico encontrado em tecidos vivos) é menor que 1% daquela necessária para quebrar as ligações covalentes. Então, as moléculas biológicas, cuja maioria está unida por ligações covalentes, são muito estáveis, como o são suas estruturas tridimensionais e os espaços que elas ocupam. A maioria das estruturas bioquímicas, variando desde os músculos que você está usando para mover os olhos quando lê este livro, até o papel em que ele está impresso, baseia-se na estabilidade das ligações covalentes.

ORIENTAÇÃO Para um dado par de elementos – por exemplo, o carbono ligado ao hidrogênio –, o comprimento, o ângulo e a direção das ligações covalentes são consistentemente os mesmos, independente da molécula maior da qual uma ligação particular é parte. Os quatro orbitais preenchidos ao redor do núcleo carbônico do metano, por exemplo, são sempre distribuídos no espaço de forma que os hidrogênios ligados definem os cantos de um tetraedro regular, com o carbono no centro (ver Figura 2.8B). A estrutura tridimensional formada pelo carbono e quatro hidrogênios é a mesma em uma proteína maior e complicada e em uma simples molécula de metano. Essa propriedade das ligações covalentes torna possível a previsão da estrutura biológica. As formas das moléculas contribuem para as suas funções biológicas, como veremos na Seção 3.1.

Ligações covalentes múltiplas

Uma ligação covalente pode ser representada por uma linha entre os símbolos químicos para os átomos ligados:

- Uma *ligação simples* envolve o compartilhamento de um único par de elétrons (por exemplo, H–H ou C–H).
- Uma *ligação dupla* envolve o compartilhamento de quatro elétrons (dois pares) (C=O).
- Uma *ligação tripla* – seis elétrons compartilhados – são raras, mas existe uma no gás nitrogênio (N≡N), o principal componente do ar que respiramos.

COMPARTILHAMENTO DESIGUAL DE ELÉTRONS Se dois átomos do mesmo elemento estão ligados covalentemente, existe um compartilhamento igual dos pares de elétrons na camada externa. Entretanto, quando os dois átomos são de diferentes ele-

mentos, o compartilhamento não é necessariamente igual. Um núcleo pode exercer força atrativa maior sobre o par de elétrons do que o outro núcleo e, então, o par tende a estar mais próximo daquele átomo.

A força atrativa que um núcleo atômico exerce sobre os elétrons é sua **eletronegatividade**. A eletronegatividade do núcleo depende de quantas cargas positivas ele dispõe (núcleos com mais prótons são mais positivos e, dessa forma, mais atrativos aos elétrons) e da distância entre um elétron e o núcleo (quanto mais próximo é o elétron, maior é a atração da eletronegatividade). Quanto mais próximos dois átomos são em eletronegatividade, mais parecido será seu compartilhamento de elétrons. A **Tabela 2.3** demonstra as eletronegatividades de alguns elementos importantes em sistemas biológicos.

Se dois átomos encontram-se próximos entre si em eletronegatividade, eles compartilharão elétrons igualmente, na chamada *ligação covalente apolar*. Dois átomos de oxigênio, por exemplo, ambos com eletronegatividade de 3,5, compartilharão elétrons igualmente. O mesmo acontece com dois átomos de hidrogênio (ambos com eletronegatividade de 2,1). Todavia, quando ligações de hidrogênio com oxigênio formam água, os elétrons envolvidos são compartilhados desigualmente: eles tendem a estar mais próximos do núcleo do oxigênio porque este é o mais eletronegativo dos dois. Quando elétrons direcionam-se para um núcleo mais do que para outro, o resultado é uma *ligação covalente polar* (**Figura 2.9**).

Devido ao seu desigual compartilhamento de elétrons, o terminal de oxigênio da ligação hidrogênio-oxigênio tem uma carga levemente negativa (simbolizada δ^- e denominada “delta negativo”, significando uma unidade parcial de carga) e a terminação de hidrogênio possui uma carga levemente positiva (δ^+). A ligação é **polar**, pois essas cargas opostas são separadas nas duas terminações ou polos da ligação. As cargas parciais que resultam das ligações covalentes polares produzem moléculas polares ou regiões polares de moléculas grandes. As ligações polares influenciam bastante as interações entre as moléculas que as contêm.

As ligações iônicas são formadas por atração elétrica

Quando um dos átomos que interage é muito mais eletronegativo que o outro, pode ocorrer a completa transferência de um ou mais elétrons. Considere o sódio (eletronegatividade 0,9) e o cloro (3,1): um átomo de sódio tem somente um elétron na sua

TABELA 2.3 Algumas eletronegatividades

ELEMENTO	ELETRONEGATIVIDADE
Oxigênio (O)	3,5
Cloro (Cl)	3,1
Nitrogênio (N)	3,0
Carbono (C)	2,5
Fósforo (P)	2,1
Hidrogênio (H)	2,1
Sódio (Na)	0,9
Potássio (K)	0,8

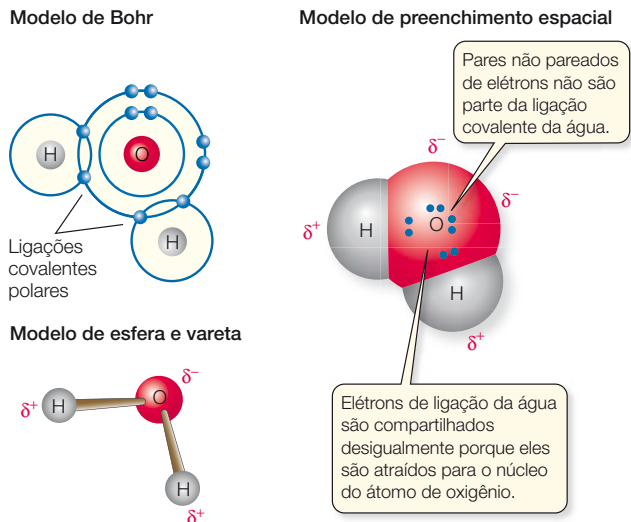


Figura 2.9 As ligações covalentes da água são polares Estas três representações ilustram ligações covalentes polares na água (H_2O). Quando os átomos com diferentes eletronegatividades, tais como oxigênio e hidrogênio, formam uma ligação covalente, os elétrons são deslocados mais em direção a um núcleo do que em outro. Uma molécula mantida unida por tal ligação covalente polar apresenta cargas (δ) parciais nas extremidades. Na água, os elétrons compartilhados são deslocados em direção ao núcleo do átomo de oxigênio.

camada externa; esta condição é instável. Um átomo de cloro tem sete elétrons na camada externa; outra condição instável. Já que a eletronegatividade do cloro é muito maior que a do sódio, qualquer elétron envolvido na ligação tenderá a estar muito mais próximo do núcleo do cloro – tão perto que ocorre uma completa transferência do elétron mais externo do sódio para a camada externa do cloro (**Figura 2.10**). Essa reação entre sódio e cloro torna os átomos resultantes mais estáveis. O resultado são *dois íons*.

Os íons são partículas eletricamente carregadas que se formam quando átomos ganham ou perdem um ou mais elétrons:

- O íon sódio (Na^+), em nosso exemplo, possui unidade de carga +1 porque apresenta um elétron a menos em relação aos prótons. A camada eletrônica mais externa do sódio está completa com oito elétrons, então o íon é estável. Íons positivamente carregados são chamados de **cátions**.
- O íon cloreto (Cl^-) possui uma unidade de carga -1 porque tem um elétron a mais em relação aos prótons. Esse elétron adicional dá ao Cl^- uma camada mais externa estável de oito elétrons. Íons carregados negativamente são chamados de **ânions**.

Alguns elementos podem formar íons com cargas múltiplas por perderem ou ganharem *mais de um* elétron. Exemplos são Ca^{+2} (íon cálcio, um átomo de cálcio que perdeu dois elétrons) e Mg^{+2} (íon magnésio). Dois elementos biologicamente importantes podem produzir mais de um íon estável: ferro origina Fe^{+2} (íons ferrosos) e Fe^{+3} (íon férrico) e cobre origina Cu^+ (íon cuproso) e Cu^{+2} (íon cúprico). Os grupos de átomos ligados covalentemente que possuem carga elétrica são chamados de *íons complexos*; exemplos incluem NH_4^+ (íon amônio), SO_4^{-2} (íon sulfato) e PO_4^{-3} (íon fos-

fato). A carga de um íon irradia-se em todas as direções. Uma vez formados, os íons são geralmente estáveis e elétrons não são ganhos nem perdidos.

As **ligações iônicas** são formadas por atração elétrica entre íons orientados por cargas opostas. Os íons podem formar ligações que resultam em compostos sólidos estáveis (referidos pelo termo geral de *saís*), tais como o cloreto de sódio (NaCl) e o fosfato de potássio (K_3PO_4). No cloreto de sódio – conhecido como o sal de mesa – cátions e ânions são mantidos por ligações iônicas. Nos sólidos, as ligações iônicas são fortes, porque os íons estão próximos. Entretanto, quando os íons são dispersos em água, a distância entre eles pode ser maior; a força de sua atração é bastante reduzida. Sob as condições que existem na célula, uma atração iônica é geralmente um décimo mais fraca que uma ligação covalente apolar (ver Tabela 2.1).

Os íons podem interagir com moléculas polares, desde que possuam cargas elétricas. Tal interação resulta quando um sal, como o NaCl , se dissolve em água. Moléculas de água ao redor dos íons individuais os separam (**Figura 2.11**). Os íons cloreto negativamente carregados atraem o polo positivo das moléculas da água; o polo negativo das moléculas está, por sua vez, orientado em direção aos íons sódio positivamente carregados. A polaridade da água confere outras propriedades, como veremos.

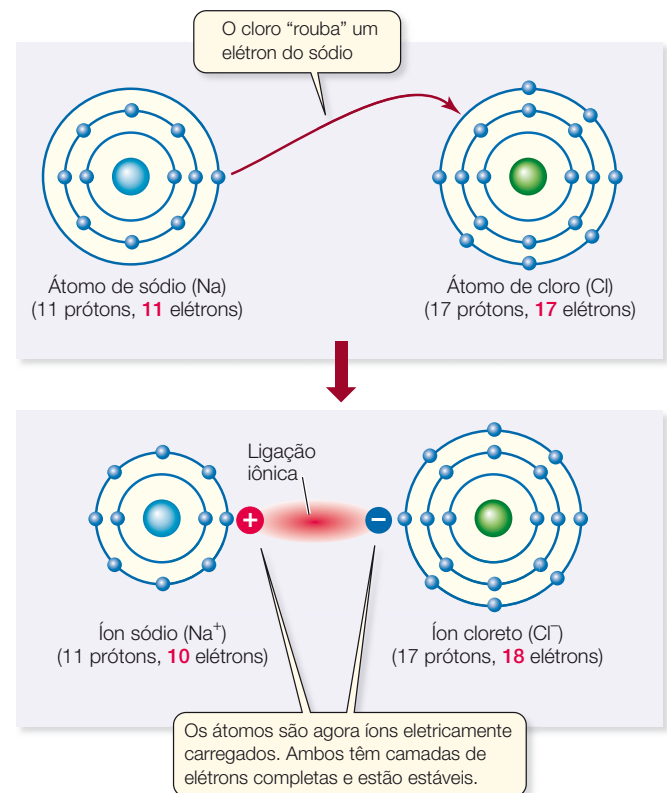
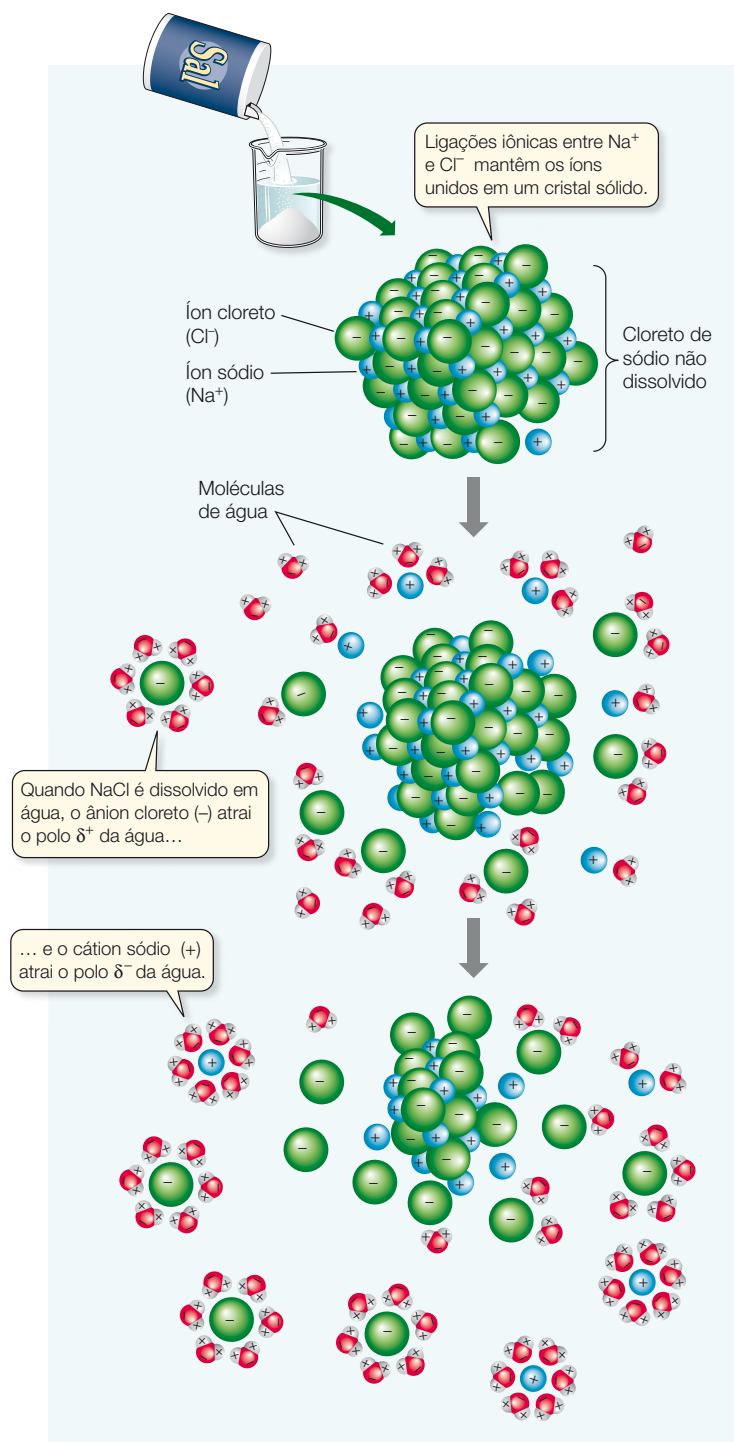


Figura 2.10 Formação de íons de sódio e de cloro Quando um átomo de sódio reage com um de cloro, o cloro, mais eletronegativo, preenche sua camada externa por “roubar” um elétron do sódio. Dessa forma, o átomo de cloro se transforma em um íon cloreto negativamente carregado (Cl^-). O átomo de sódio, ao perder o elétron, se torna um íon sódio positivamente carregado (Na^+).



Pontes de hidrogênio podem se formar dentro ou entre moléculas com ligações covalentes polares

Na água líquida, o átomo de oxigênio carregado negativamente (δ^-) de uma molécula de água é atraído para os átomos de hidrogênio positivamente carregados (δ^+) de outra molécula de água (Figura 2.12A). A ligação resultante dessa atração é chamada **ponte de hidrogênio**. As pontes de hidrogênio não são restritas a moléculas de água; elas podem também formar-se entre um

Figura 2.11 Moléculas de água circundam os íons

Quando um sólido iônico se dissolve na água, grupos de moléculas de água rodeiam cátions e ânions, bloqueando sua reassociação em um sólido, formando uma solução.

átomo muito eletronegativo e um átomo de hidrogênio ligado covalentemente a um diferente átomo eletronegativo, como demonstrado na Figura 2.12B. Uma ponte de hidrogênio é mais fraca que a maioria das ligações iônicas porque é feita de cargas parciais (δ^+ e δ^-). Possui cerca de um décimo (10%) da força de uma ligação covalente entre um átomo de hidrogênio e um átomo de oxigênio (ver Tabela 2.1). Entretanto, quando muitas pontes de hidrogênio se formam, elas têm força considerável e influenciam muito a estrutura e as propriedades das substâncias. Posteriormente, neste capítulo, veremos como as pontes de hidrogênio entre as moléculas de água contribuem para muitas das propriedades que a tornam tão significativa para os sistemas vivos. As pontes de hidrogênio também desempenham papéis importantes na determinação e manutenção das formas tridimensionais de moléculas grandes, como DNA e proteínas (ver Seção 3.5).

Substâncias polares e apolares: cada uma interage melhor com o seu próprio tipo

Assim como as moléculas de água podem interagir com outras por meio de pontes de hidrogênio induzidas por polaridade, qualquer molécula polar pode interagir com outras moléculas polares por meio de atrações fracas (δ^+ e δ^-) de pontes de hidrogênio. Se uma molécula polar interage com a água dessa maneira, ela é chamada de **hidrofílica** ("afinidade pela água").

E as moléculas apolares? As moléculas apolares tendem a interagir com outras moléculas apolares. Por exemplo, o carbono (eletronegatividade 2,5) forma ligações

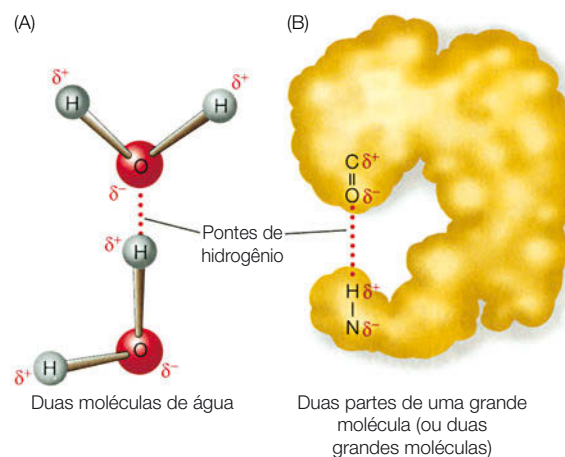


Figura 2.12 Pontes de hidrogênio podem se formar entre ou dentro das moléculas

(A) Uma ponte de hidrogênio entre duas moléculas configura-se em uma atração entre cargas negativas de uma molécula e cargas positivas dos átomos de hidrogênio de uma segunda molécula. (B) Pontes de hidrogênio podem se formar entre moléculas grandes, bem como entre diferentes partes de uma mesma molécula grande.

apolares com hidrogênio (eletronegatividade 2,1). A *molécula de hidrocarboneto* resultante – molécula com somente átomos de hidrogênio e carbono – é apolar, e na água tende a se agregar com outras moléculas apolares mais do que com a água polar. Tais moléculas apolares são chamadas de **hidrofóbicas** (“odeiam a água”) e as interações entre elas são chamadas de *interações hidrofóbicas*.

É importante compreender que as substâncias hidrofóbicas não “odeiam” realmente a água: podem formar interações fracas, uma vez que as eletronegatividades de carbono e hidrogênio não são exatamente as mesmas. Mas essas interações são muito mais fracas do que as pontes de hidrogênio entre as moléculas de água, então as substâncias apolares se mantêm entre si.

As interações hidrofóbicas entre substâncias apolares aumentam por **forças de van der Waals**, que ocorrem quando dois átomos de uma molécula apolar estão muito próximos. Essas breves interações resultam de variações aleatórias na distribuição eletrônica em uma molécula, o que cria uma distribuição de cargas opostas na molécula adjacente. Embora uma única interação de van der Waals seja breve e fraca em um dado lugar, a soma de muitas interações ao longo de uma grande molécula apolar pode produzir substancial atração.

2.2 RECAPITULAÇÃO

Ligações químicas unem átomos para formar moléculas. Ligações covalentes fortes são importantes em estabelecer estruturas biológicas, como as interações iônicas na formação de um sal. Polaridade e interações hidrofóbicas fracas permitem que as moléculas interajam.

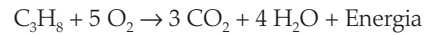
- Como as eletronegatividades de dois átomos resultam em compartilhamento desigual de elétrons em moléculas polares? Ver p. 27 e Figura 2.9.
- Você pode explicar porque uma ligação covalente é mais forte que uma ligação iônica? Ver p. 27-28 e Tabela 2.1.
- O que é uma ponte de hidrogênio e como ela é importante em sistemas biológicos? Ver p. 29 e Figura 2.12.

A ligação de átomos em moléculas não é necessariamente uma união permanente. A dinâmica da vida envolve constante mudança, mesmo ao nível molecular. Vamos ver como as moléculas interagem umas com as outras – como são quebradas, como encontram novos parceiros e quais podem ser as consequências dessas mudanças.

2.3 Como os átomos mudam de parceiros nas reações químicas?

Uma **reação química** ocorre quando os átomos se combinam ou mudam seus parceiros de ligação. Considere a reação de combustão que ocorre na chama de um fogão à base de propano. Quando o propano (C_3H_8) reage com o gás oxigênio (O_2), os átomos de carbono se ligam aos átomos de oxigênio e não aos de hidrogênio, e os átomos de hidrogênio se ligam ao oxigênio, em vez de ao carbono (Figura 2.13). Como os átomos ligados covalentemente mudam de parceiros, a composição da ma-

téria muda e o gás oxigênio e o propano se convertem em dióxido de carbono e água. Essa reação química pode ser representada pela equação



Reagentes → Produtos

Nessa equação, o propano e oxigênio são **reagentes** e o dióxido de carbono e água são os **produtos**. Neste caso, a reação é completa: todo o propano e oxigênio são usados para formação dos dois produtos. A flecha simboliza a direção da reação química. Os números precedendo as fórmulas moleculares indicam quantas moléculas são usadas ou produzidas.

Nessa e em todas as outras reações químicas, a *matéria não é criada nem destruída*. O número total de átomos de carbono na esquerda (3) é igual ao número total de átomos de carbono na direita (3). Em outras palavras, a equação é *equilibrada*. Entretanto, existe outro aspecto dessa reação: o calor e a luz da chama do fogão revelam que a reação de propano e oxigênio libera grande quantidade de energia. A **energia** é definida como a capacidade de produzir trabalho, mas em um nível mais intuitivo pode ser considerada como a capacidade para mudança. As reações químicas não criam ou tampouco destroem energia, mas *mudanças na forma de energia* geralmente acompanham as reações químicas.

Na reação entre propano e oxigênio, grande quantidade de energia na forma de calor foi liberada. Essa energia estava presente nas ligações covalentes dos gases em outra forma, chamada *energia química potencial*. Nem todas as reações liberam energia; sem dúvida, muitas reações químicas precisam de energia suprida do ambiente; parte dessa energia suprida é armazenada como energia química potencial nas ligações formadas nos produtos. Veremos nos próximos capítulos de que forma as reações que liberam energia e as reações que precisam de energia podem estar ligadas.

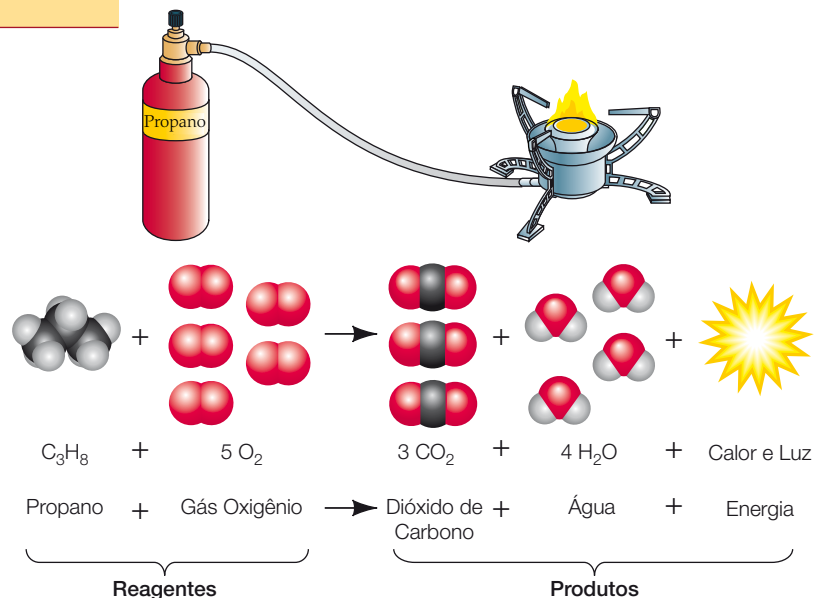


Figura 2.13 Parceiros de ligação e energia podem mudar em uma reação química Uma molécula de propano reage com cinco moléculas de gás oxigênio a fim de produzir três moléculas de dióxido de carbono e quatro moléculas de água. Essa reação libera energia na forma de calor e luz.

Muitas reações ocorrem em células vivas, e algumas têm muito em comum com a combustão do propano. O combustível é outro – é o açúcar glicose, em vez do propano –, e as reações procedem por meio de muitos passos intermediários que permitem que a energia liberada, a partir da glicose, seja captada e colocada em uso pela célula. Mas os produtos são os mesmos: dióxido de carbono e água. Essas reações, que estudaremos em detalhes no Capítulo 7, são a chave para a origem da vida tendo por base moléculas mais simples.

2.3 RECAPITULAÇÃO

Reações químicas envolvem a produção e a quebra das ligações entre os átomos. Muitos desses processos envolvem mudanças na forma de energia.

- Quais são os componentes de uma reação química? Ver Figura 2.13.
- Você compreende como a forma da energia pode mudar durante uma reação química?

Apresentaremos e discutiremos as mudanças energéticas, reações de oxidação-redução e diversos outros tipos de reações químicas prevalentes em sistemas vivos na Parte 2 deste livro. Primeiramente, entretanto, devemos compreender as propriedades únicas da substância em que a maioria das reações químicas ocorre: a água.

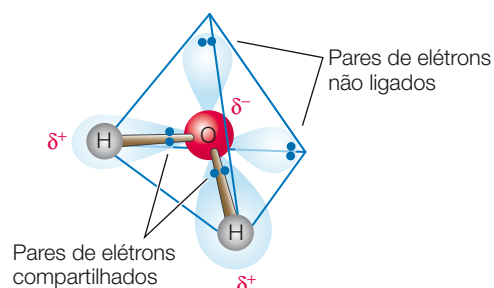
2.4 Quais propriedades da água a tornam tão importante na biologia?

Do mesmo modo que a maioria da matéria, a água pode existir em três estados: sólido (gelo), líquido ou gasoso (vapor). Como mencionamos no começo deste capítulo, a água líquida é provavelmente o meio em que a vida se originou e foi nela que a vida na Terra evoluiu, nos primeiros bilhões de anos. Nesta seção, exploraremos como a estrutura e as interações das moléculas de água a tornam essencial para a vida.

A água tem estrutura única e propriedades especiais

A molécula de H₂O apresenta características químicas únicas. Conforme já aprendemos, a água é uma molécula polar que pode formar pontes de hidrogênio. Além disso, os quatro pares de elétrons

na camada externa do átomo de oxigênio se repelem, produzindo uma forma tetraédrica:



Estas características químicas explicam algumas das propriedades interessantes da água, tais como a habilidade do gelo flutuar, as temperaturas de fusão e congelamento da água, de armazenar calor e de se formar gotas de água.

O GELO FLUTUA No seu estado sólido (gelo), moléculas de água individuais são unidas por pontes de hidrogênio. Cada molécula de água liga-se por meio de pontes de hidrogênio com quatro outras moléculas de água em uma estrutura rígida e cristalina (Figura 2.14). Embora as moléculas sejam mantidas com firmeza no lugar, elas não são tão fortemente empacotadas como as da água líquida. Em outras palavras, a *água sólida é menos densa que a água líquida*, motivo pelo qual o gelo flutua.

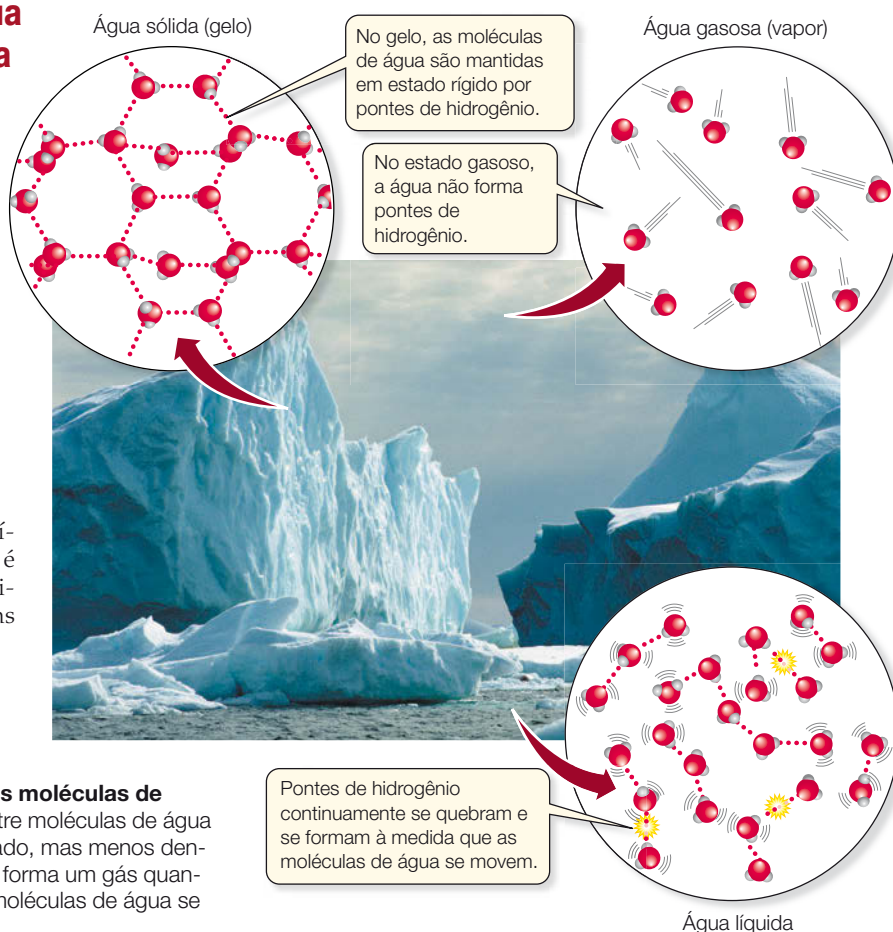


Figura 2.14 As pontes de hidrogênio mantêm as moléculas de água unidas As pontes de hidrogênio existem entre moléculas de água nos estados líquido e sólido. O gelo é mais estruturado, mas menos denso que a água líquida, por isso o gelo flutua. A água forma um gás quando suas pontes de hidrogênio são quebradas e as moléculas de água se distanciam.

Imagine as consequências biológicas se o gelo afundasse na água. Um lago congelaria a partir do fundo, tornando-se um sólido bloco de gelo e matando a maioria dos organismos vivos. Uma vez que todo o lago estivesse congelado, sua temperatura poderia cair bem abaixo do ponto de congelamento da água. Na verdade, o gelo flutua, formando uma camada isolante protetora no topo do lago, reduzindo o fluxo de calor para o ar gelado da superfície. Assim, peixes, plantas e outros organismos no lago não estão sujeitos a temperaturas menores que 0°C, o ponto de congelamento da água pura. A recente descoberta do satélite *Global Surveyor* de água líquida abaixo do gelo polar marciano, criou especulações de que a vida poderia existir lá.

FUSÃO, CONGELAMENTO E CAPACIDADE DE AQUECIMENTO Comparado com muitas outras substâncias de mesmo tamanho molecular, o gelo adquire grande quantidade de calor para derreter, porque as pontes de hidrogênio devem ser quebradas para que a água mude do estado sólido para o líquido. No processo oposto – congelamento – grande quantidade de energia é perdida quando a água transforma-se do estado líquido para o sólido.

A água contribui para a surpreendente estabilidade das temperaturas encontradas nos oceanos e em outros grandes corpos de água ao longo do ano. As mudanças de temperatura das massas litorâneas são também moderadas por grandes porções de água. Além disso, ela ajuda a minimizar as variações na temperatura atmosférica do planeta. Esta característica moderadora é resultado da alta *capacidade de aquecimento* da água líquida, que, por sua vez, resulta do seu alto calor específico. O **calor específico** de uma substância é a quantidade de energia, na forma de calor, necessária para aumentar a temperatura de 1 g de determinada substância em 1°C. O aumento da temperatura da água líquida gasta uma quantidade relativamente grande de calor, porque muito da energia é usada para quebrar as pontes de hidrogênio que mantêm o líquido unido. Comparada com outras pequenas moléculas líquidas, a água possui um alto aquecimento específico.

A água também tem um alto **calor de vaporização**, ou seja, muita energia é necessária para mudar a água do estado líquido para o estado gasoso (o processo de *evaporação*). Novamente, grande parte da energia de aquecimento é usada para romper pontes de hidrogênio. Esse calor deve ser absorvido do ambiente em contato com a água. A evaporação tem um efeito de resfriamento no ambiente – seja para uma folha, uma floresta ou uma massa de terra inteira. Esse efeito explica porque o suor resfria o corpo humano; como o suor evapora na pele, ele usa parte do calor corporal adjacente.

COESÃO E TENSÃO SUPERFICIAL Na água líquida, moléculas individuais são livres para se movimentarem. As pontes de hidrogênio, entre as moléculas, continuamente se formam e se rompem. Os químicos estimam que isto ocorra cerca de um trilhão de vezes por minuto em uma única molécula de água, tornando-a uma estrutura dinâmica. Em média, uma molécula de água formará 3,4 pontes de hidrogênio com outras moléculas do mesmo tipo. Essas pontes de hidrogênio explicam a *força coesiva* da água líquida. Essa força coesiva ou **coesão** é definida como a capacidade de moléculas de água em resistir de se separar umas das outras quando colocadas sob tensão. A força coesiva da água permite que estreitas colunas do líquido se movam por mais de 100 metros de altura, das raízes para as folhas das árvores. Quando a água evapora das folhas, a coluna inteira se move para cima, em resposta ao chamado das moléculas no topo.



Figura 2.15 Tensão superficial Gotículas de água formam “gotas” na superfície da folha porque as pontes de hidrogênio mantêm juntas as moléculas de água.

É difícil determinar a superfície de água líquida exposta ao ar, pois as moléculas de água na camada superficial são unidas por pontes de hidrogênio a outras abaixo delas (**Figura 2.15**). Essa *tensão superficial* da água permite que um recipiente seja preenchido levemente acima da sua borda sem transbordar e que insetos caminhem na superfície de um lago.

Existem pelo menos 20 trilhões de galáxias no universo e uma média de 100 bilhões de estrelas em cada galáxia. As análises de probabilidade desses números sugerem que muitos planetas desconhecidos devam existir e que alguns provavelmente possuam água; sendo assim, a possibilidade de vida é uma hipótese plausível.

A água é o solvente da vida

O corpo humano constitui-se em mais de 70% de água pelo peso, excluindo os minerais contidos nos ossos. A água é o componente dominante de virtualmente todos os organismos vivos, e a maioria das reações ocorre nesse ambiente aquoso.

Uma **solução** é produzida quando uma substância (o **soluto**) é dissolvida em um líquido (o **solvente**). Se o solvente for água, então é uma *solução aquosa*. Grande parte das importantes moléculas dos sistemas biológicos são polares e, portanto, solúveis em água. Muitas reações bioquímicas relevantes ocorrem em soluções aquosas. Os biólogos estudam o que acontece nessas reações, em termos da natureza dos reagentes e dos produtos e em termos de suas quantidades.

■ **Análises qualitativas** avaliam substâncias dissolvidas em água e as reações químicas que ocorrem. Por exemplo, investigariam os passos envolvidos e os produtos formados durante a combustão da glicose em tecidos vivos. As análises qualitativas configuraram-se no assunto de alguns dos próximos capítulos.

- *Análises quantitativas* determinam concentrações ou a quantidade de uma substância em uma dada quantidade de solução. Por exemplo, procurariam descrever quanto de certo produto forma-se durante a combustão de uma dada quantidade de glicose. O que segue é uma breve introdução de alguns dos termos químicos quantitativos que você verá neste livro.

Fundamental para o pensamento quantitativo, na química e na biologia, é o conceito de mol. Um **mol** é a quantidade de uma substância (em gramas), a massa da qual é numericamente igual ao seu peso molecular. Então, um mol de açúcar de mesa ($C_{12}H_{22}O_{11}$) pesa 342 g; um mol de íon sódio (Na^+) pesa 23 g; e um mol de gás hidrogênio (H_2) pesa 2 g.

Análises quantitativas não produzem contagem direta de moléculas. Os químicos usam uma constante que relaciona o peso de qualquer substância ao número de moléculas dela. Essa constante é chamada de **número de Avogadro**, que é $6,02 \times 10^{23}$ moléculas por mol. Isso permite aos químicos trabalharem com moles de substâncias (que podem ser pesadas em laboratório) ao invés de moléculas reais (as quais são muito numerosas para serem contadas). Considere 34,2 g de açúcar de mesa, $C_{12}H_{22}O_{11}$. Isso é um décimo de um mol, ou como Avogadro coloca, $6,02 \times 10^{22}$ moléculas.

Se você tiver problema para compreender a ideia de um mol, pense no conceito de mol da forma que você compreende a ideia de uma dúzia: compramos uma dúzia de ovos ou uma dúzia de biscoitos, sabendo que conseguiremos 12 de qualquer um que comprarmos, mesmo que eles não pesem igual, nem ocupem a mesma quantidade de espaço.

Quando um médico injeta certa concentração molar de uma droga na circulação de um paciente, um cálculo aproximado pode ser feito do número real de moléculas de droga que vão interagir com as células. Da mesma forma, um químico pode dissolver um mol de açúcar em água para fazer 1 litro de solução, sabendo que o mol contém $6,02 \times 10^{23}$ moléculas de açúcares individuais. Esta solução – 1 mol de uma substância dissolvida em água para fazer 1 litro – é chamada de uma solução 1 molar (1 M).

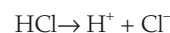
As muitas moléculas dissolvidas na água dos tecidos vivos não estão presentes em nada próximo a concentrações de 1 molar. A maioria está na faixa micromolar – milionésimos de um mol por litro (μM). Algumas, tais como moléculas dos hormônios, são ainda menos concentradas. Enquanto essas molaridades parecem indicar concentrações muito baixas, lembre que mesmo uma solução de 1 μM possui $6,02 \times 10^{17}$ moléculas de soluto por litro.

Soluções aquosas podem ser ácidas ou básicas

Quando algumas substâncias se dissolvem em água, elas liberam *íons hidrogênio* (H^+), prótons carregados positivamente. Íons hidrogênio podem se ligar a outras moléculas e mudar suas propriedades. Por exemplo, os prótons na “chuva ácida” podem danificar as plantas, e você, provavelmente, experimentou o excesso de íons hidrogênio que conhecemos como “indigestão ácida”.

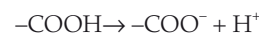
Aqui examinaremos as propriedades dos **ácidos**, que liberam H^+ e **bases** que aceitam H^+ . Distinguiremos entre os ácidos e bases fortes e fracas, e forneceremos uma medida quantitativa para determinar a concentração de H^+ nas soluções: a escala de pH.

ÁCIDOS LIBERAM H^+ , BASES ACEITAM H^+ Quando o ácido clorídrico (HCl) é adicionado à água, ele se dissolve, liberando os íons H^+ e Cl^- :



Como sua concentração de H^+ aumentou, tal solução é ácida. Assim como a reação de combustão de propano e oxigênio demonstrada na Figura 2.13, a dissolução de HCl, para formar íons, é uma reação *completa*. HCl é, portanto, chamado de um *ácido forte*.

Os ácidos são substâncias que *liberam* íons H^+ em solução. HCl é um ácido, assim como o H_2SO_4 (ácido sulfúrico). Uma molécula de ácido sulfúrico pode se ionizar para produzir dois H^+ e um SO_4^{2-} . Os compostos biológicos que contêm $-COOH$ (grupo carboxila) são também ácidos, pois:



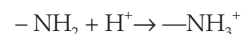
Entretanto, nem todos os ácidos se ionizam completamente na água. Por exemplo, se o ácido acético é adicionado à água, ao final da reação existirão dois íons, mas parte do ácido acético original permanecerá como tal. Como a reação *não é completa*, o ácido acético é um *ácido fraco*.

As bases são substâncias que *aceitam* H^+ na solução. Assim como com os ácidos, existem bases fortes e fracas. Se o NaOH (hidróxido de sódio) é adicionado à água, ele se dissolve e ioniza, liberando íons OH^- e Na^+ :

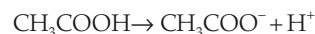


Como a concentração de OH^- aumenta e OH^- absorve H^+ , para formar água, tal solução é *básica*. Como essa reação é completa, NaOH é uma *base forte*.

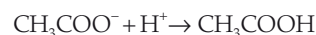
As bases fracas incluem o íon bicarbonato (HCO_3^-), que pode aceitar um íon H^+ e produzir ácido carbônico (H_2CO_3) e amônia (NH_3), que pode aceitar um H^+ e se transformar em um íon amônio (NH_4^+). Compostos biológicos que contêm $-NH_2$ (grupo amino) são também bases, pois



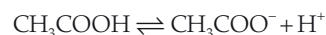
REAÇÕES ÁCIDO-BASE PODEM SER REVERSÍVEIS Quando o ácido acético é dissolvido em água, duas reações acontecem. Primeiro, o ácido acético forma seus íons:



Então, uma vez que os íons são formados, eles constituem novamente o ácido acético:



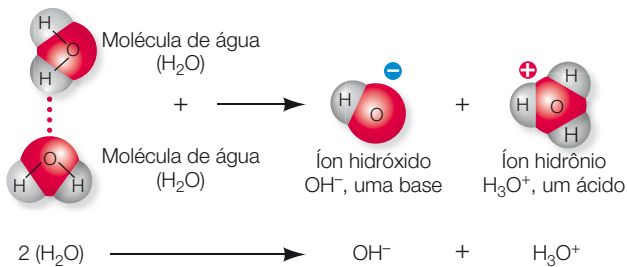
Esse par de reações é reversível. Uma **reação reversível** pode proceder em qualquer direção – esquerda para direita e direita para esquerda – dependendo das relativas concentrações iniciais de reagentes e produtos. A fórmula de uma reação reversível pode ser escrita usando uma flecha dupla:



Em termos de ácidos ou bases, existem dois tipos de reações, dependendo da extensão da reversibilidade:

- A ionização de ácidos e bases fortes é virtualmente irreversível.
- A ionização de ácidos e bases fracas é de alguma forma reversível.

A ÁGUA É UM ÁCIDO FRACO A molécula de água possui uma pequena, mas significativa tendência a se ionizar a um íon hidróxido (OH⁻) e um íon hidrogênio. Duas moléculas de água participam nesta reação. Uma das duas moléculas “captura” um íon hidrogênio da outra, formando um íon hidróxido e um hidrônio:



O íon hidrônio é, de fato, um íon hidrogênio ligado a uma molécula de água. Para simplificar, os bioquímicos tendem a usar uma representação modificada da ionização da água:



A ionização da água é importante para todas as criaturas vivas. Este fato pode ser surpreendente, já que somente cerca de uma molécula de água em 500 milhões é ionizada em um dado período. Mas ficaremos menos surpresos se pensarmos na abundância nos organismos vivos e na natureza reativa do H⁺, produzido por ionização.

O pH é a medida da concentração de íons hidrogênio

As soluções são ácidas ou básicas; os compostos ou íons podem ser ácidos ou bases. Podemos medir o quanto uma solução é ácida ou básica por meio da concentração de H⁺ em moles por litro, ou *molaridade* (ver p. 33). Aqui estão alguns exemplos:

- Água pura tem uma concentração de H⁺ de 10⁻⁷ M.
- Uma solução de 1 M de HCl tem uma concentração de H⁺ de 1 M (lembre que todo o HCl se dissolve em seus íons).
- Uma solução de 1 M de NaOH tem uma concentração de 10⁻¹⁴ M.

Essa é uma ampla faixa de números para se analisar (pense nos decimais!). É mais fácil trabalhar com o *logaritmo* da concentração de H⁺, porque os logaritmos compreendem esta faixa: o log₁₀ de 100, por exemplo é 2, e o log₁₀ de 0.01 é -2. Como a maioria das concentrações de H⁺ nos organismos vivos é menor do que 1, convertamos esses números negativos em positivos, usando o *negativo* do logaritmo da concentração molar de H⁺ (designado por colchetes: [H⁺]). Esse número é chamado de **pH** da solução.

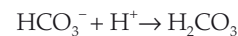
Desde que a concentração de H⁺ da água pura é 10⁻⁷ M, seu pH é -log(10⁻⁷) = -(-7) ou 7. Um logaritmo negativo menor significa um número maior. Em termos práticos, um pH mais baixo significa uma concentração de H⁺ maior ou alta acidez. Em 1 M de HCl, a concentração de H⁺ é 1 M, então o pH é o logaritmo negativo de 1 (-log10⁰), ou 0. O pH do NaOH 1 M é o logaritmo negativo de 10⁻¹⁴ ou 14.

Uma solução com pH menor de 7 é ácida – contém mais íons H⁺ do que OH⁻. Uma solução com pH 7 é neutra e com pH maior que 7 é básica. A **Figura 2.16** demonstra os valores de pH de algumas substâncias comuns.

Os tampões minimizam a mudança de pH

A manutenção de estabilidade interna – *homeostase* – é uma característica de todos os organismos vivos, estendendo-se ao pH. Como mencionamos anteriormente, quando o H⁺ é adicionado a muitas moléculas, eles mudam suas propriedades, mantendo a estabilidade. A manutenção da estabilidade interna pode ser obtida pelos tampões: soluções que mantêm o pH relativamente constante, mesmo quando quantidades substanciais de um ácido ou base são adicionadas ao sistema. Como isso pode funcionar?

O **tampão** é uma solução de um ácido fraco e sua base correspondente – por exemplo, o ácido carbônico (H₂CO₃) e íons bicarbonato (HCO₃⁻). Se um ácido é adicionado a uma solução contendo este tampão, nem todos os íons H⁺ provenientes daquele ácido ficam em solução. Ao invés disso, muitos deles se combinam com os íons bicarbonato para produzir mais ácido carbônico. Essa reação gasta alguns dos íons H⁺ em solução e diminui o efeito acidificante do ácido adicionado:



Se uma base é adicionada, a reação se reverte essencialmente. Algumas moléculas de ácido carbônico se ionizam para produzir íons bicarbonato e mais H⁺, o que contrabalança parte da base adicionada. Dessa forma, o tampão minimiza os efeitos de um ácido ou base adicionado sobre o pH. Isso acontece no sangue, onde o sistema de tamponamento é importante na prevenção de mudanças significativas no pH, que poderiam prejudicar a habilidade do sangue de transportar o oxigênio vital para os tecidos. Uma determinada quantidade de ácido ou base causa mudança menor no pH em solução tamponada do que não tamponada (**Figura 2.17**).

Como você explica o alívio? A parede estomacal constantemente secreta ácido clorídrico, tornando ácido o conteúdo estomacal. Excessivo ácido estomacal inibe a digestão e causa desconforto, mas pode ser aliviado por ingerir um sal como NaHCO₃ (bicarbonato de sódio), que age como tampão.

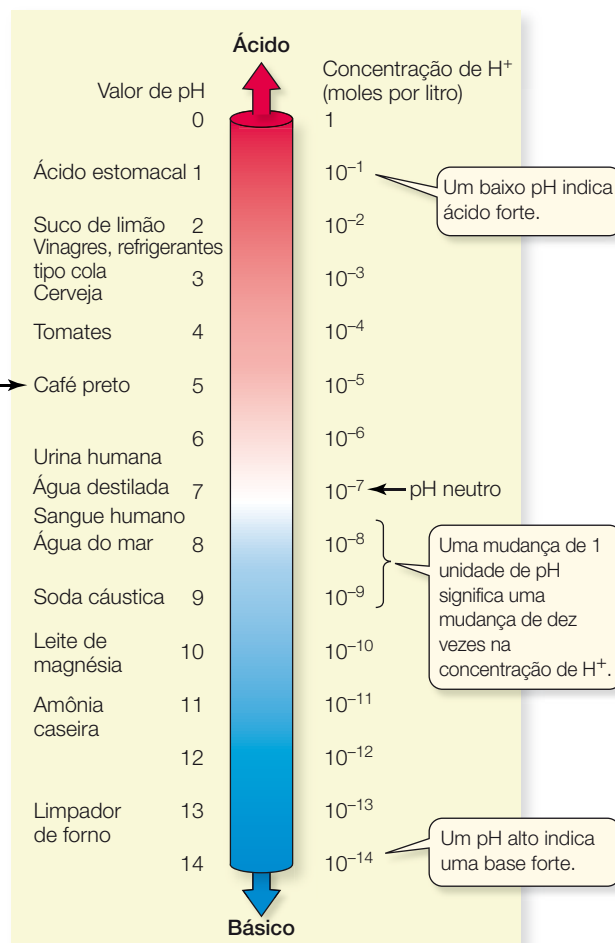
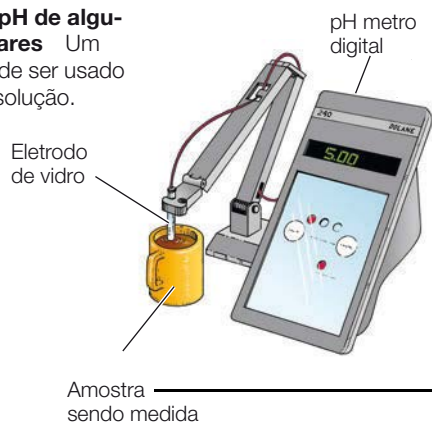
Os tampões ilustram um importante princípio químico das reações reversíveis, chamada *lei de ação das massas*. A adição de reagente de um lado de um sistema reversível desloca a reação na direção que utiliza aquele composto. No caso dos tampões, a adição de ácido desloca a reação em uma direção; a adição de base desloca a reação em outra direção.

A química da vida começou na água

Como enfatizamos ao longo deste capítulo, a presença de água em um planeta – Marte, Terra ou qualquer outro – é um pré-requisito necessário para a vida como a conhecemos. Os astrônomos acreditam que nosso sistema solar começou a se formar há 4,6 bilhões de anos, quando uma estrela explodiu para formar o sol e cerca de 500 corpos chamados de planetesimais. Esses planetesimais colidiram com outros para formar os planetas mais internos, incluindo Terra e Marte. Os primeiros sinais químicos indicando a presença de vida na Terra parecem ter cerca de 4 bilhões de anos. Foram necessários 600 milhões de anos, durante o período geológico chamado de Hadeano, para as condições químicas da Terra se tornarem adequadas para a vida. O ponto-chave para essas condições foi a presença de água.

Figura 2.16 Valores de pH de algumas substâncias familiares

Um instrumento eletrônico pode ser usado para medir o pH de uma solução.



A Terra antiga provavelmente tinha muita água na atmosfera. Contudo, o novo planeta era quente, e esta água evaporou para o espaço. Quando a Terra esfriou, foi possível que a água permanecesse na superfície, mas de onde veio essa água? Uma visão comum é que os cometas – aglomerações perdidas de poeira e gelo que orbitaram no sol desde que os planetas se formaram – colidiram com a Terra e Marte repetidamente e trouxeram não somente água, mas outros componentes químicos vitais, como o nitrogênio. Assim que os planetas esfriaram, os compostos químicos, das suas crostas, se dissolveram na água e reações químicas simples poderiam ter acontecido. Algumas dessas reações poderiam conduzir à vida, mas impactos por grandes cometas e meteoritos rochosos teriam liberado energia para aquecer os oceanos em desenvolvimento quase até a ebulição, destruindo, assim, qualquer vida recente. Na Terra, esses grandes impactos finalmente diminuíram, e a vida ganhou um suporte cerca de 3,8 a 4 bilhões de anos atrás. A prebiótica Hadeana tinha acabado. A Archeana começou e há vida na Terra desde então.

Na Seção 3.6, retomaremos a questão de como a vida pode ter surgido de compostos químicos inanimados.

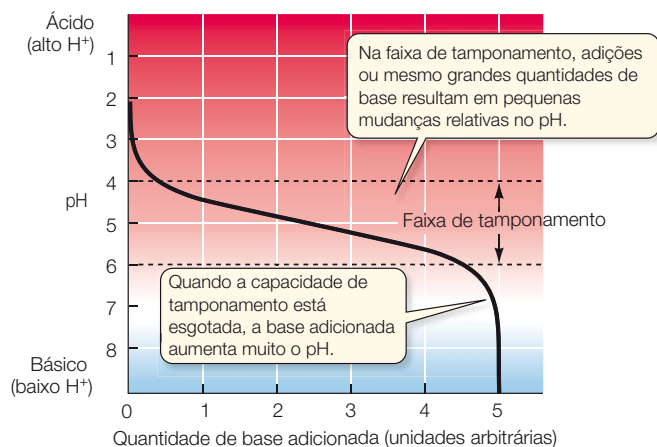


Figura 2.17 Os tampões minimizam as mudanças de pH Com crescentes quantidades de base adicionada, a inclinação geral de um gráfico de pH é descendente. Dentro de uma faixa de tamponamento, entretanto, a inclinação é gradual. Em valores muito altos ou muito baixos de pH, onde o tampão é ineficaz, as inclinações são muito íngremes.

2.4 RECAPITULAÇÃO

A maior parte da química da vida ocorre na água, que tem propriedades moleculares que a tornam desejável para seus importantes papéis bioquímicos. Uma propriedade especial da água é a sua habilidade de se ionizar (liberar íons hidrogênio). A presença de íons hidrogênio em solução pode mudar as propriedades das moléculas biológicas.

- Quais são algumas das propriedades biologicamente importantes da água que surgem da sua estrutura molecular? Ver p. 31-32 e Figura 2.14.
- Você compreende o que é uma solução e por que chamamos a água de “solvente da vida”? Ver p.32-33.
- Você observa a relação entre íons hidrogênio, ácidos e bases? E pode explicar o que mede uma escala de pH? Ver p. 33-34 e Figura 2.16.
- Você pode explicar como um tampão funciona e por que o tamponamento é importante para os organismos vivos? Ver p. 34 e Figura 2.17.

Uma visão geral e uma previsão

Agora que descobrimos as principais propriedades dos átomos e moléculas, vamos revisá-las e ver como serão aplicadas no próximo capítulo, que tem como foco as principais moléculas dos sistemas biológicos.

- *As moléculas variam quanto ao tamanho* Algumas são pequenas, tais como H_2 e CH_4 . Outras são maiores, como molécula do açúcar de mesa ($C_{12}H_{22}O_{11}$), que tem 45 átomos. Ainda outras, especialmente proteínas, como a hemoglobina (o transportador de oxigênio nos eritrócitos), são gigantes, algumas vezes, contendo dezenas de milhares dos átomos.
- *Todas as moléculas têm uma forma tridimensional específica* Por exemplo, a orientação dos orbitais de ligação ao redor do átomo de carbono dá à molécula de metano (CH_4) a forma de um regular tetraedro (ver Figura 2.8B). Moléculas maiores têm formas complexas que resultam dos números e tipos de áto-

mos presentes e as formas nas quais elas estão ligadas. Algumas moléculas grandes, como a hemoglobina, possuem formas compactas em formato de esfera. Outras, como a proteína chamada queratina, que compõe seu cabelo, possuem estruturas longas e fortes em forma de corda. Suas formas estão relacionadas aos papéis que essas moléculas desempenham nas células vivas.

- *As moléculas são caracterizadas por certas propriedades químicas* que determinam seus papéis biológicos. Os químicos usam as características de composição, estrutura (forma tridimensional), reatividade e solubilidade, a fim de distinguir uma amostra pura de uma molécula de uma amostra de uma molécula diferente. A presença de certos grupos de átomos pode conferir distintas propriedades químicas para uma molécula.

Entre as moléculas pequenas discutidas neste capítulo e o mundo das células vivas, estão as macromoléculas. Estas moléculas gigantes – proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos – são o assunto do próximo capítulo.

RESUMO DO CAPÍTULO

2.1 Quais elementos químicos constituem os organismos vivos?

A matéria é composta de átomos. Cada **átomo** consiste em um **núcleo** positivamente carregado constituído de **prótons** e **nêutrons**, rodeados por **elétrons** com cargas negativas. [Rever a Figura 2.1.](#)

O número de prótons no núcleo define um **elemento**. Existem muitos elementos no universo, mas somente alguns deles constituem a maioria dos organismos vivos. [Rever a Figura 2.2.](#)

Isótopos de um elemento diferem nos seus números de nêutrons. Os **radioisótopos** são radioativos, emitindo radiação quando se decompõem.

Os elétrons distribuem-se em **camadas**, que são volumes de espaço definido por específicos números de orbitais. Cada **orbital** contém o máximo de dois elétrons. [Rever a Figura 2.6.](#)

Ao perder, ganhar ou compartilhar elétrons para se tornar mais estável, um átomo pode se combinar com outros átomos a fim de formar **moléculas**.

2.2 Como os átomos se ligam para formar as moléculas?

Uma **ligação química** é uma força atrativa que liga dois átomos em uma molécula. [Rever a Tabela 2.1.](#)

Um **composto** é uma molécula constituída de átomos de dois ou mais elementos ligados em uma razão fixa, tais como a água (H_2O) ou o açúcar de mesa ($C_6H_{12}O_6$).

As **ligações covalentes** constituem-se em ligações fortes formadas quando dois átomos compartilham um ou mais pares de elétrons. [Rever a Figura 2.7.](#)

Quando dois átomos de eletronegatividade desigual se unem, uma ligação covalente **polar** é formada. As duas extremidades ou polos da ligação têm cargas parciais ($\delta+$ ou $\delta-$). [Rever a Figura 2.9.](#)

Os **íons** são corpos eletricamente carregados que se formam quando um átomo ganha ou perde um ou mais elétrons. **Ânions** e **cátions** são íons com carga negativa e positiva, respectivamente.

As **ligações iônicas** são atrações elétricas entre íons carregados opostamente. São fortes em sólidos (saís), mas enfraquecem quando os íons são separados uns dos outros em solução. [Rever a Figura 2.10.](#)

As **pontes de hidrogênio** são atrações elétricas que se formam entre um átomo de hidrogênio $\delta+$ em uma molécula e um átomo $\delta-$ em outra molécula (ou em outra parte de uma molécula grande). Pontes de hidrogênio são abundantes na água.

Moléculas apolares interagem muito pouco com moléculas polares, incluindo a água. São atraídas a outras por ligações fracas chamadas **forças de van der Waals**.

2.3 Como os átomos mudam de parceiros nas reações químicas?

Em uma **reação química**, os átomos se combinam e mudam seus parceiros de ligação. Os **reagentes** são convertidos em **produtos**.

Algumas reações químicas liberam **energia** como um de seus produtos; outras podem ocorrer somente se energia é fornecida para os reagentes.

Nem a matéria nem a energia é criada ou destruída em uma reação química, ainda que ambas mudem de forma. [Rever a Figura 2.13.](#)

Algumas reações químicas, especialmente na biologia, são reversíveis. Ou seja, os produtos formados podem ser convertidos novamente aos seus reagentes.

Nas células vivas, as reações químicas acontecem em múltiplos passos, de forma que a energia liberada pode ser capturada para atividades celulares.

2.4 Quais propriedades da água a tornam tão importante na biologia?

A estrutura molecular da água e sua capacidade de formar pontes de hidrogênio conferem propriedades únicas e significativas para a vida. [Rever a Figura 2.14.](#)

RESUMO DO CAPÍTULO

O elevado **calor específico** da água significa que ela ganha ou perde grande porção de calor quando muda seu estado. O alto **calor de evaporação** assegura o efetivo resfriamento quando a água evapora.

A **coesão** das moléculas de água refere-se a sua capacidade de resistir à separação de outras moléculas.

As **soluções** são produzidas quando substâncias sólidas (**solutos**) se dissolvem em um líquido (**o solvente**). A água é o solvente fundamental para a vida.

Os **ácidos** são solutos que liberam íons hidrogênio em solução aquosa. As **bases** aceitam íons hidrogênio.

O **pH** de uma solução é o logaritmo negativo da sua concentração de hidrogênio. Os valores mais baixos que pH 7 indicam que solução é ácida; valores acima de pH 7 indicam solução básica. **Rever a Figura 2.16.**

Os **tampões** são misturas de ácidos e bases fracas que limitam a mudança no pH de uma solução, no momento em que os ácidos e as bases são adicionados.

QUESTÕES

- O número atômico de um elemento é:
 - Igual ao número de nêutrons em um átomo.
 - Igual ao número de prótons em um átomo.
 - Igual ao número de prótons menos o número de nêutrons.
 - Igual ao número de nêutrons mais o número de prótons.
 - Depende do isótopo.
- O peso atômico (massa atômica) de um elemento é:
 - Igual ao número de nêutrons em um átomo.
 - Igual ao número de prótons em um átomo.
 - Igual ao número de elétrons em um átomo.
 - Igual ao número de nêutrons mais o número de prótons.
 - Depende das relativas abundâncias de seus elétrons e nêutrons.
- Qual das seguintes afirmativas sobre os isótopos de um elemento *não* é verdadeira?
 - Todos têm o mesmo número atômico.
 - Todos têm o mesmo número de prótons.
 - Todos têm o mesmo número de nêutrons.
 - Todos têm o mesmo número de elétrons.
 - Todos têm propriedades químicas idênticas.
- Qual das seguintes afirmativas sobre ligações covalentes *não* é verdadeira?
 - Uma ligação covalente é mais forte que uma ponte de hidrogênio.
 - Uma ligação covalente pode formar-se entre átomos do mesmo elemento.
 - Somente uma ligação covalente pode formar-se entre dois átomos.
 - Uma ligação covalente resulta do compartilhamento de elétrons por dois átomos.
 - Uma ligação covalente pode formar-se entre átomos de diferentes elementos.
- Interações hidrofóbicas:
 - São mais fortes que pontes de hidrogênio.
 - São mais fortes que ligações covalentes.
 - Pode manter dois íons unidos.
 - Pode manter duas moléculas apolares unidas.
 - São responsáveis pela tensão superficial de água.
- Qual das seguintes afirmativas sobre a água *não* é verdadeira?
 - Ela libera grande quantidade de calor quando muda do estado líquido para o vapor.
 - Sua forma sólida é menos densa que sua forma líquida.
 - É o solvente mais efetivo de moléculas polares.
 - É tipicamente a substância mais abundante em um organismo vivo.
 - Participa de algumas reações químicas importantes.
- A reação $\text{HCl} \rightarrow \text{H}^+ + \text{Cl}^-$ no estômago humano é um exemplo de:
 - Clivagem de uma ligação hidrofóbica.
 - Formação de uma ponte de hidrogênio.
 - Elevação do pH do estômago.
 - Formação de íons por dissolução de um ácido.
 - Formação de ligações covalentes polares.
- A ponte de hidrogênio entre duas moléculas de água se origina porque a água é:
 - Polar.
 - Apolar.
 - Um líquido.
 - Pequena.
 - Hidrofóbica.
- Quando o sal de mesa (NaCl) é adicionado à água,
 - Uma ligação covalente é quebrada.
 - Uma solução ácida é formada.
 - Os íons Na^+ e Cl^- são separados.
 - Na^+ é atraído aos átomos de hidrogênio da água.
 - Moléculas de água rodeiam os átomos de Na (mas não Cl).
- Os três elementos mais abundantes em uma célula epitelial humana são:
 - Cálcio, carbono e oxigênio.
 - Carbono, hidrogênio e oxigênio.
 - Carbono, hidrogênio e sódio.
 - Carbono, nitrogênio e potássio.
 - Nitrogênio, hidrogênio e argônio.

PARA DISCUSSÃO

- Usando a informação na tabela periódica (Figura 2.2), desenhe um modelo Bohr (ver Figura 2.8) de dióxido de silício, demonstrando elétrons compartilhados em ligações covalentes.
- Compare uma ligação covalente entre dois átomos de hidrogênio e uma ponte de hidrogênio entre os átomos de hidrogênio e oxigênio com respeito aos elétrons envolvidos, o papel da polaridade e a força da ligação.
- Escreva uma equação descrevendo a combustão de glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) para produzir dióxido de carbono e água.
- O pH do estômago humano é cerca de 2, enquanto o pH do intestino delgado é em torno de 10. Quais são as concentrações de íon hidrogênio (H^+) no interior destes órgãos?

PARA INVESTIGAÇÃO

Você esperaria que a composição de elementos da crosta terrestre fosse a mesma daquela do corpo humano? Como poderia descobrir isso?

CAPÍTULO 3 Macromoléculas e a Origem da Vida

Que doçura

Algumas vezes um cientista tem sorte. Em 1989, uma companhia de açúcar britânica estava procurando por usos não tradicionais para seu produto e queria saber se o açúcar poderia ser quimicamente modificado para produzir outras substâncias úteis. Como frequentemente acontece na indústria, a companhia buscou a experiência dos cientistas universitários. Um professor na Universidade de Londres sabia modificar o açúcar de mesa (sacarose, $C_{12}H_{22}O_{11}$), por meio da substituição de átomos de hidrogênio e oxigênio com outros elementos. O professor designou a um estudante de pós-graduação o trabalho de produzir açúcar com átomos de cloro no lugar de alguns grupos OH (hidroxila).

A ideia do professor era testar cada nova molécula para o possível uso como material inicial para outros compostos. Porém, o estudante de pós-graduação Shahikant Phadnis respondeu ao pedido do docente de testar uma molécula, provando-a. Para sua surpresa, a nova molécula – $C_{12}H_{19}O_8Cl_3$ – era doce. Na verdade, era muitas vezes mais doce que o açúcar. Mas, ao contrário do açúcar, ela não poderia ser usada pelo corpo como alimento energético. Logo, Phadnis descobriu um novo adoçante artificial, hoje conhecido como sucralose.

A demanda comercial para adoçantes artificiais é enorme. Cerca de um terço de toda a população na Europa, nas Américas e Austrália con-

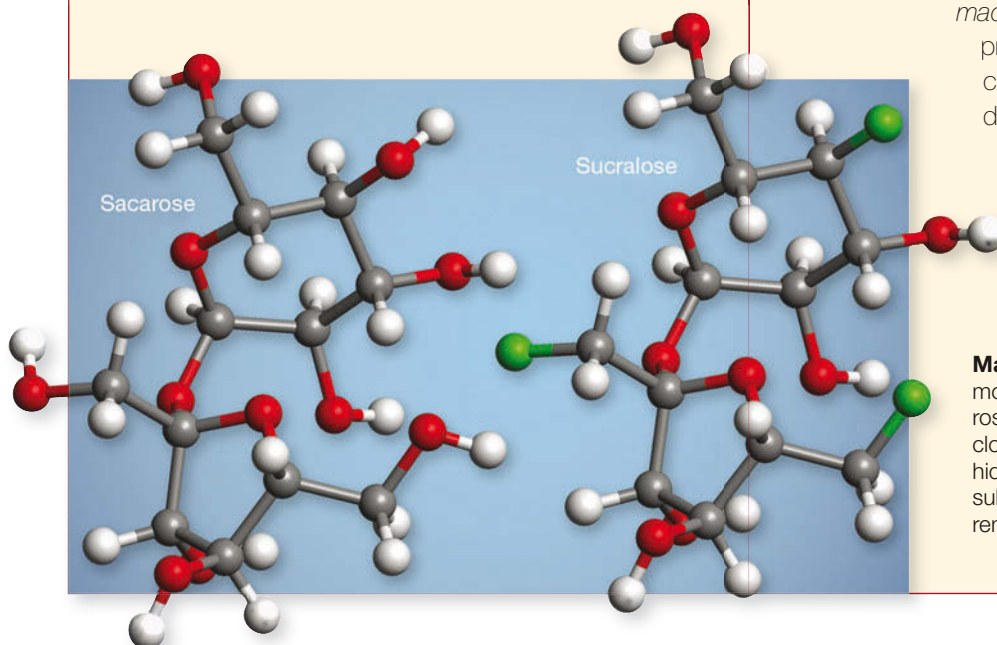
some alimentos e bebidas com baixas calorias. Algumas pessoas, como os diabéticos, devem restringir a ingestão de açúcar para evitar sérias consequências para a saúde. Pessoas lutando contra a obesidade querem reduzir a ingestão de açúcar, a principal fonte de calorias. Ainda, outros estão sujeitos à cárie dentária por bactérias orais que se alimentam de açúcar. Com a sucralose, todas essas pessoas podem comer tortas. Usada em centenas de produtos, é vendida isoladamente como substituto do açúcar, empacotada em amarelo sob a marca “Splenda”.

O açúcar comum tem duas importantes propriedades químicas que afetam aos que o ingerem. Primeiro, liga-se de forma não covalente a certas proteínas nas papilas gustativas da língua. A sucralose se liga às papilas gustativas com ainda mais eficiência, por isso seu sabor doce é intenso. Segundo, as moléculas de açúcar têm uma estrutura tridimensional que permite sua ligação a moléculas digestivas no corpo, que o degradam para a obtenção de energia e o convertem em outras substâncias (incluindo gordura). É na sua segunda propriedade química que a sucralose difere significativamente do açúcar comum. A sucralose não se liga a moléculas digestivas e passa inalterada através do corpo.

A sacarose e o primo artificial sucralose são carboidratos, um dos quatro principais tipos de grandes moléculas que caracterizam os sistemas vivos. Essas

macromoléculas, que também incluem proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos, diferem de forma significativa das moléculas pequenas e íons descritos no Capítulo 2. Primeiro, o que não é surpresa, são moléculas grandes com pesos moleculares variando

Mais doce que açúcar Sucralose, uma modificação da molécula biológica sacarose (açúcar de mesa), tem átomos de cloro (verde) no lugar de alguns dos grupos hidroxila da sacarose. Essa modificação resulta em propriedades químicas que conferem sabor doce, mas sem valor nutricional.





Um substituto para o açúcar Sucralose pode ser usada no lugar do açúcar em produtos de panificação, permitindo que pessoas em dieta ou com diabetes usufruam dos alimentos doces.

de centenas (sacarose) a bilhões de Daltons (alguns ácidos nucleicos).

Segundo, essas moléculas contêm átomos de carbono e, então, pertencem a um grupo conhecido como compostos *orgânicos*. Terceiro, elas são unidas por ligações covalentes, que conferem importante estabilidade estrutural e formam a base de algumas de suas funções. Finalmente, carboidratos, proteínas, lipídeos e ácidos nucleicos são exclusivos ao mundo vivo. Essas classes moleculares não ocorrem na natureza inanimada. Você não encontrará proteínas nas pedras – e se encontrar, pode ter certeza que vieram de algum organismo vivo.

NESTE CAPÍTULO descrevemos as propriedades biológicas e químicas das proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos. Vemos do que esses blocos construtores da vida são constituídos, de que forma estão organizados e que papéis desempenham nos organismos vivos. Terminamos o capítulo com algumas ideias de como essas moléculas se originaram quando a vida começou.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 3.1** Que tipos de moléculas caracterizam os organismos vivos?
- 3.2** Quais são as estruturas químicas e as funções das proteínas?
- 3.3** Quais são as estruturas químicas e as funções dos carboidratos?
- 3.4** Quais são as estruturas químicas e as funções dos lipídeos?
- 3.5** Quais são as estruturas químicas e as funções dos ácidos nucleicos?
- 3.6** Como começou a vida na Terra?

3.1 Que tipos de moléculas caracterizam os organismos vivos?

Quatro tipos de moléculas são características dos organismos vivos: proteínas, carboidratos, lipídeos e ácidos nucleicos. A maioria dessas *moléculas biológicas* consiste em grandes **polímeros** (*poli*, “muitos”; *mer*, “unidade”) constituídos por ligações covalentes entre moléculas menores, chamadas de **monômeros** (Tabela 3.1). Os monômeros que constituem cada tipo de molécula biológica têm estruturas químicas similares. Assim, cadeias de monômeros de açúcares similares quimicamente (*sacarídeos*) formam os diferentes carboidratos; milhares de diferentes proteínas são formadas a partir de combinações de vinte *aminoácidos*, que compartilham semelhanças químicas.

Polímeros com pesos moleculares excedendo 1.000 são comumente considerados **macromoléculas**. As proteínas, os polissacarídeos (carboidratos grandes) e os ácidos nucleicos dos sistemas vivos certamente se enquadram nessa categoria. O modo como essas macromoléculas funcionam e interagem com outras moléculas depende das propriedades dos grupos químicos nos monômeros, os *grupos funcionais*.

Os grupos funcionais conferem propriedades específicas às moléculas

Certos pequenos grupos de átomos, chamados de **grupos funcionais**, são consistentemente encontrados em uma variedade de diferentes moléculas biológicas. Você encontrará repetidamente diversos grupos funcionais no seu estudo da biologia (Figura 3.1). Cada grupo funcional tem propriedades específicas e quando se liga a uma molécula maior, confere-lhe estas propriedades. Por exemplo, o *grupo hidroxila* é polar e atrai moléculas de água. Pequenas moléculas contendo o grupo hidroxila geralmente se dissolvem facilmente na água. O átomo de oxigênio no *grupo cetona* é altamente eletronegativo e pode atrair o átomo de hidrogênio mantido por um outro átomo eletronegativo (tal como o nitrogênio), formando uma ponte de hidrogênio. O consistente comportamento químico desses grupos funcionais nos ajuda a compreender as propriedades das moléculas que os contêm.

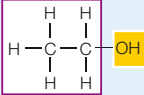
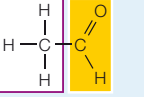
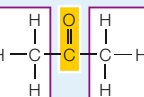
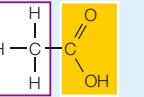
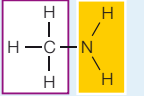
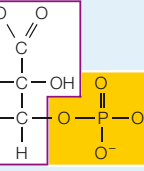
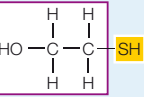
Grupo funcional	Classe de compostos	Fórmula estrutural	Exemplo
Hidroxila —OH ou HO—	Álcoois	$\text{R}-\text{OH}$	 Etanol
Aldeído —CHO	Aldeídos	$\text{R}-\text{C}(=\text{O})\text{H}$	 Acetaldeído
Cetona —CO—	Cetonas	$\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{R}$	 Acetona
Carboxila —COOH	Ácidos carboxílicos	$\text{R}-\text{C}(=\text{O})\text{OH}$	 Ácido acético
Amino —NH ₂	Aminas	$\text{R}-\text{N}(\text{H})_2$	 Metilamina
Fosfato —OPO ₃ ²⁻	Fosfatos orgânicos	$\text{R}-\text{O}-\text{P}(=\text{O})(\text{O}^-)_2$	 3-Fosfoglicerato
Sulfidril —SH	Tióis	$\text{R}-\text{SH}$	 Mercaptoetanol

Figura 3.1 Certos grupos funcionais importantes para os sistemas vivos Os sete grupos funcionais demonstrados aqui (ressaltados em amarelo) são os mais comuns encontrados em moléculas importantes biologicamente. R representa o “restante” da molécula, que pode ser qualquer um entre um grande número de esqueletos de carbono ou outros grupos químicos.

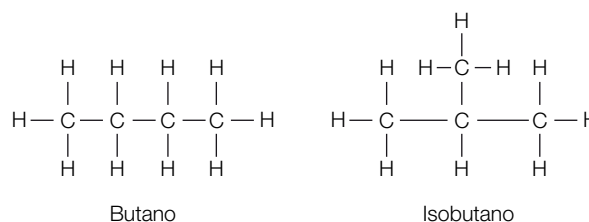
TABELA 3.1 Os blocos construtores dos organismos

MONÔMERO	POLÍMERO COMPLEXO (MACROMOLÉCULA)
Aminoácido	Polipeptídeo (proteína)
Monossacarídeo (açúcar)	Polissacarídeo (carboidrato)
Nucleotídeo	Ácido nucleico

Os isômeros têm arranjos diferentes dos mesmos átomos

Os **isômeros** são moléculas que têm a mesma fórmula química – os mesmos tipos e números de átomos – mas os átomos são arranjados diferentemente. (O prefixo “iso” significando “igual” é encontrado em muitos termos biológicos.) Dos diferentes tipos de isômeros, consideraremos dois: os isômeros estruturais e os isômeros ópticos.

Os **isômeros estruturais** diferem na forma em que seus átomos são ligados. Considere duas moléculas simples, cada uma composta de 4 carbonos e 10 átomos de hidrogênio ligados covalentemente, ambos com a fórmula C_4H_{10} . Esses átomos podem estar ligados de duas maneiras diferentes, resultando em duas formas diferentes da molécula:



As relações das ligações diferentes de butano e isobutano são distinguidas nas suas fórmulas estruturais, e as duas moléculas têm diferentes propriedades químicas.

Os **isômeros ópticos** ocorrem quando um átomo de carbono possui quatro átomos ou grupos diferentes ligados a ele. Esse padrão permite duas formas de fazer as ligações, uma a imagem espelhada da outra (Figura 3.2). Tal átomo de carbono é chamado de *carbono assimétrico*, e as duas moléculas resultantes são isômeros ópticos uns dos outros. Você pode visualizar suas mãos direita e esquerda como isômeros ópticos. Assim como uma luva é específica para uma determinada mão, algumas moléculas bioquímicas, que podem interagir com um isômero óptico de um composto, são incapazes de se “encaixar” com outro.

As estruturas das macromoléculas refletem suas funções

Os quatro tipos de macromoléculas biológicas estão presentes, aproximadamente, na mesma proporção em todos os organismos vivos (Figura 3.3). Uma proteína com certa função em uma macieira provavelmente tem um emprego similar nos seres humanos porque sua química é a mesma, independente de onde é encontrada. Uma importante vantagem dessa *unidade bioquímica* é que os organismos podem adquirir os compostos bioquímicos necessários ingerindo outros organismos. Quando você come uma maçã, as moléculas ingeridas incluem carboidratos, lipídeos e proteínas que podem ser transformadas em variedades especiais daquelas moléculas necessárias para os humanos.

Cada tipo de macromolécula realiza determinada combinação de funções, como armazenamento de energia, suporte estrutural, proteção, catálise (acelerando uma reação química), transporte, defesa, regulação, movimento e hereditariedade. Esses papéis não são necessariamente exclusivos. Por exemplo, tanto os carboidratos como as proteínas podem desempenhar papéis estruturais, sustentando e protegendo tecidos e órgãos. Entretanto, somente os ácidos nucleicos se especializam no armazenamento da informação. Essas macromoléculas funcionam como material hereditário, transportando traços individuais e das espécies de uma geração para outra.

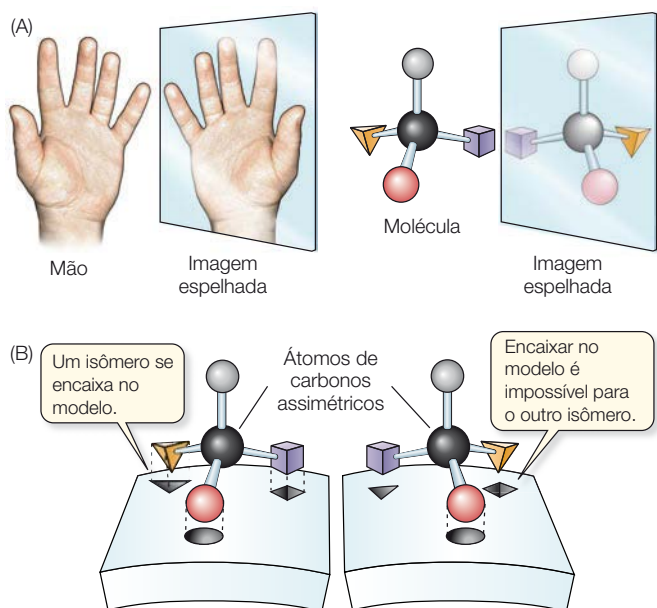


Figura 3.2 Isômeros ópticos (A) Isômeros ópticos são imagens espelhadas. (B) Isômeros ópticos moleculares resultam quando quatro átomos ou grupos diferentes estão ligados a um único átomo de carbono. Se um modelo (representando uma molécula biológica grande) é projetado para combinar os grupos em um átomo de carbono, os grupos naquele isômero de imagem espelhada não podem ser movimentados para preencher o mesmo modelo.

As funções das macromoléculas relacionam-se diretamente às suas formas tridimensionais e às sequências e propriedades químicas de seus monômeros. Algumas macromoléculas se doam em formas esféricas compactas com superfícies características que as tornam solúveis em água, capazes de profundas interações com outras moléculas. Algumas proteínas e carboidratos formam sistemas fibrosos longos que fornecem força e rigidez às células e aos organismos. Ainda, outras organizações de proteínas finas e longas podem contrair e produzir movimento.

Sendo as macromoléculas tão grandes, podem conter muitos grupos funcionais diferentes (ver Figura 3.1). Por exemplo, uma grande proteína pode conter grupos funcionais carregados, po-

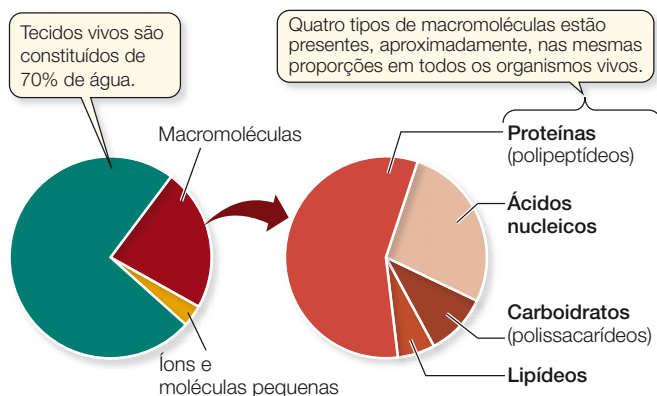


Figura 3.3 Substâncias encontradas em tecidos vivos As substâncias aqui demonstradas são componentes não minerais do tecido vivo (os ossos seriam um exemplo de um componente mineral).

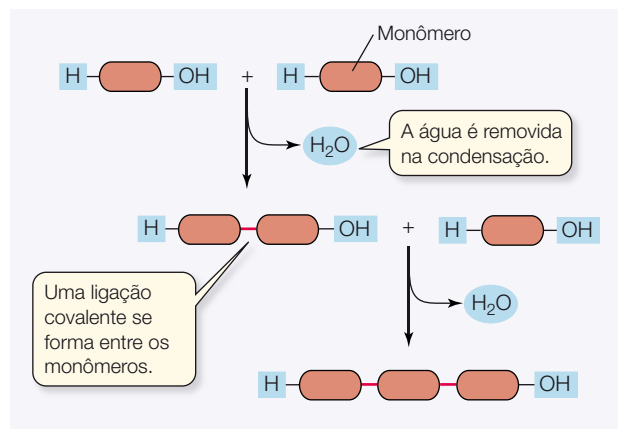
lares e hidrofóbicos que conferem propriedades específicas a determinados locais em uma macromolécula. Como veremos, essa diversidade de propriedades determina as formas das macromoléculas e suas interações com outras macromoléculas e com moléculas menores.

A maioria das macromoléculas forma-se por condensação e degrada-se por hidrólise

Os polímeros são construídos de monômeros por uma série de reações chamadas de **reações de condensação** (às vezes chamadas de reações de *desidratação*; ambas as palavras referem-se à perda de água). As reações de condensação resultam em monômeros ligados covalentemente. Essas reações liberam uma molécula de água para cada ligação covalente formada (Figura 3.4A). As reações de condensação que produzem os diferentes tipos de polímeros diferem em detalhes, mas em todos os casos, os polímeros se formam somente se energia for adicionada ao sistema. Em sistemas vivos, moléculas específicas ricas em energia suprem essa demanda.

O oposto de uma reação de condensação é a **reação de hidrólise** (*hidro-*, “água”; *-lise*, “quebra”). As reações de hidrólise digerem polímeros e produzem monômeros. A água reage com as ligações que mantêm o polímero unido, e os produtos são os monômeros livres. Os elementos (H e O) da H₂O tornam-

(A) Condensação



(B) Hidrólise

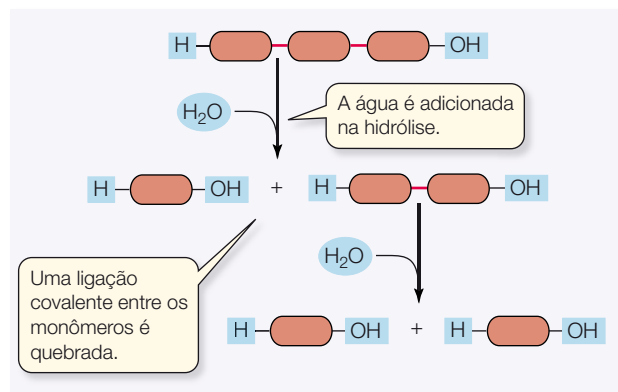


Figura 3.4 Condensação e hidrólise de polímeros (A) Uma reação de condensação liga monômeros à polímeros. (B) Uma reação de hidrólise quebra polímeros em monômeros individuais.

-se parte dos produtos (Figura 3.4B). Assim, as ligações entre os monômeros podem ser formadas e quebradas no interior dos tecidos vivos.

3.1 RECAPITULAÇÃO

Os quatro tipos de moléculas grandes que distinguem os tecidos vivos são proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos. Essas moléculas biológicas transportam grande variedade de funções que sustentam a vida. A maioria delas são polímeros, construídos a partir de subunidades monoméricas ligadas. Polímeros muito grandes são chamados de macromoléculas.

- Você percebe como os grupos funcionais podem afetar a estrutura e a função das macromoléculas? (Mantenha essa questão em mente enquanto lê o restante deste capítulo.) Ver p. 39 e Figura 3.1.
- Por que a unidade bioquímica, observada nas proporções dos quatro tipos de macromoléculas presentes em todos os organismos, é importante para a vida? Ver p. 40 e Figura 3.3.
- Como os monômeros se ligam para formar os polímeros? Como os polímeros são convertidos em monômeros novamente? Ver p. 41-42 e Figura 3.4.

As reações de condensação e hidrólise são universais nos sistemas vivos e, como veremos no fim deste capítulo, seu papel na construção dos polímeros configurou-se em importante passo na origem da vida em ambiente aquoso. Nós começamos nosso estudo dos blocos construtores da vida com um grupo diverso de polímeros, as proteínas.

3.2 Quais são as estruturas químicas e as funções das proteínas?

As funções das **proteínas** incluem suporte estrutural, proteção, transporte, catálise, defesa, regulação e movimento. As subunidades monoméricas das proteínas são os vinte **aminoácidos**. Entre as funções das macromoléculas listadas anteriormente, somente duas – o armazenamento de energia e a hereditariedade – não são normalmente realizadas pelas proteínas.

As proteínas variam em tamanho desde pequenas, como o hormônio insulina, com peso molecular de 5.733 e 51 aminoácidos, até moléculas enormes, como a proteína muscular titina, que tem um peso molecular de 2.993.451 e 26.926 aminoácidos. Cada uma dessas proteínas consiste em uma única cadeia de aminoácidos (uma cadeia polipeptídica), dobrada em uma forma tridimensional específica.

Muitas proteínas possuem mais de uma cadeia polipeptídica. Por exemplo, a proteína transportadora de oxigênio hemoglobina apresenta quatro cadeias dobradas separadamente e mantidas juntas para tornar a proteína funcional. Segundo veremos posteriormente neste livro, as proteínas podem se associar, formando “máquinas multiproteicas” a fim de desempenhar tarefas complexas como a síntese de DNA.

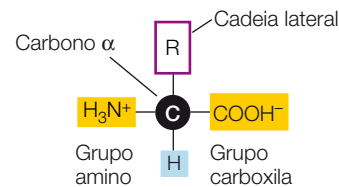
A *composição* de uma proteína se refere às relativas quantidades de diferentes aminoácidos nela contidos. A variação na *precisa sequência* de aminoácidos de cada cadeia polipeptídica é a fonte da diversidade nas estruturas e nas funções das proteínas.

Para compreender os muitos papéis das proteínas descritos ao longo deste livro, devemos primeiro explorar a estrutura proteica. Primeiro, examinaremos as propriedades dos aminoácidos e de que maneira eles se ligam para formar cadeias polipeptídicas. Então, analisaremos sistematicamente a estrutura das proteínas e veremos como uma cadeia linear de aminoácidos é consistentemente dobrada em uma forma tridimensional específica e compacta. Finalmente, veremos de que modo essa estrutura tridimensional fornece um ambiente químico e físico que influencia o modo com que outras moléculas interagem com a proteína.

Os aminoácidos são os blocos construtores das proteínas

Os aminoácidos têm um grupo funcional carboxila e um grupo funcional amino (ver Figura 3.1) ligados ao mesmo átomo de carbono, chamado de carbono α . Nos valores de pH comumente encontrados nas células, os dois grupos são ionizados: o grupo carboxila perdeu um íon hidrogênio e o grupo amino ganhou um. Por possuírem ambos os grupos, carboxila e amino, os *aminoácidos são simultaneamente ácidos e bases*.

Ligados ao átomo de carbono α estão ainda um átomo de hidrogênio e uma **cadeia lateral** ou **grupo R**, designado pela letra R:



O carbono α dos aminoácidos é assimétrico, porque está ligado a quatro diferentes átomos ou grupos de átomos. Portanto, os aminoácidos existem em duas formas isoméricas, chamadas de D-aminoácidos e L-aminoácidos. D e L são abreviações para os termos latinos direita (*dextro*) e esquerda (*levo*). Somente os L-aminoácidos são comumente encontrados na maioria dos organismos, e sua presença é uma importante “assinatura” química da vida.

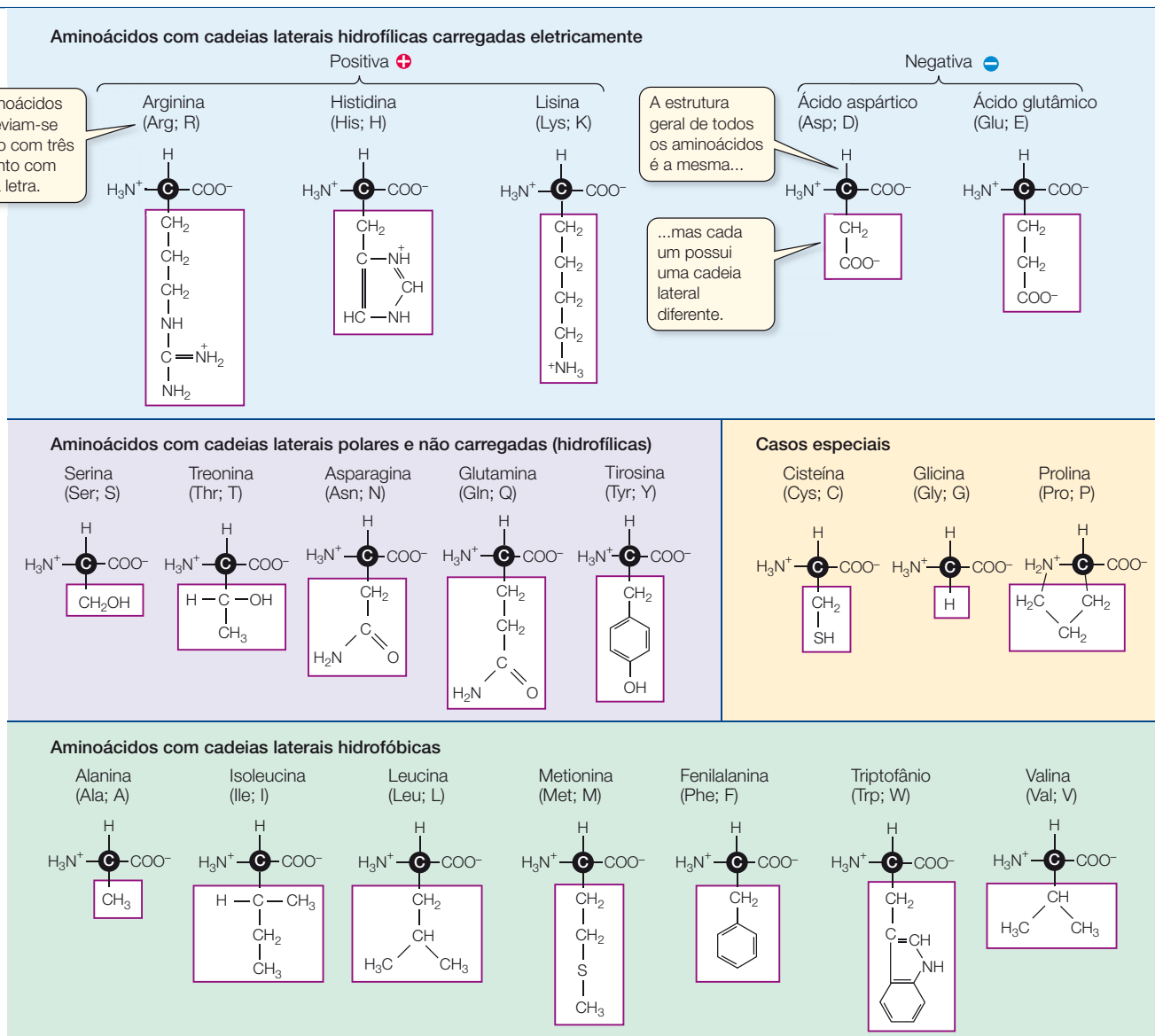
As cadeias laterais dos aminoácidos também contêm grupos funcionais importantes na determinação da estrutura tridimensional e na função da macromolécula proteica. As cadeias laterais são realçadas em branco na Tabela 3.2. Como ela demonstra, os vinte aminoácidos encontrados em organismos vivos são agrupados e distinguidos por suas cadeias laterais:

- Os cinco aminoácidos que dispõem de cadeias laterais eletricamente carregadas (+1, -1), atraem água (são hidrofílicos) e íons de carga oposta de todos os tipos.
- Os cinco aminoácidos que dispõem de cadeias laterais polares (δ^+ , δ^-) tendem a formar pontes de hidrogênio com a água e com outras substâncias polares ou carregadas. Esses aminoácidos são hidrofílicos.
- Os sete aminoácidos dispõem de cadeias laterais hidrocarbonetos apolares ou hidrocarbonetos levemente modificados. No ambiente aquoso da célula, as cadeias laterais hidrofóbicas podem-se agrupar no interior da proteína. Esses aminoácidos são hidrofóbicos.

Três aminoácidos – cisteína, glicina e prolina – configuram casos especiais, embora suas cadeias laterais sejam geralmente hidrofóbicas.

- A cadeia lateral da *cisteína*, com um grupo terminal $-SH$, pode reagir com outra cadeia lateral desse aminoácido para formar

TABELA 3.2 Os vinte aminoácidos



uma ligação covalente, chamada **ponte dissulfeto** (– S – S –) (**Figura 3.5**). As pontes dissulfeto ajudam a determinar de que forma uma cadeia de proteína se dobra. Quando a cisteína não é parte de uma ponte dissulfeto, sua cadeia lateral é hidrofóbica.

- A cadeia lateral da *glicina* consiste em um único átomo de hidrogênio; é pequena o suficiente para caber no interior de uma molécula proteica, onde uma cadeia lateral maior não caberia.
- A *prolina* difere de outros aminoácidos, pois possui um grupo amino modificado faltando um hidrogênio no seu nitrogênio, o que limita sua habilidade de fazer pontes de hidrogênio. Além disso, o sistema de anéis da prolina limita a rotação sobre seu carbono α , então a prolina é frequentemente encontrada nas curvas ou voltas de uma proteína.

As ligações peptídicas formam o esqueleto de uma proteína

Quando os aminoácidos se polimerizam, o grupo carboxila e o grupo amino, ligados ao carbono α , são os grupos reativos. O grupo carboxila de um aminoácido reage com o grupo amino de outro, sofrendo uma reação de condensação que cria uma **ligação peptídica**. A **Figura 3.6** fornece uma descrição simplificada desse processo. (Nos sistemas vivos, outras moléculas devem ativar os aminoácidos para que essa reação ocorra e existem passos intermediários no processo. Examinaremos esses passos na Seção 12.4).

Assim como uma frase começa com letra maiúscula e termina com ponto, as cadeias polipeptídicas seguem uma ordem linear. A “letra maiúscula” química, marcando o início de uma cadeia poli-

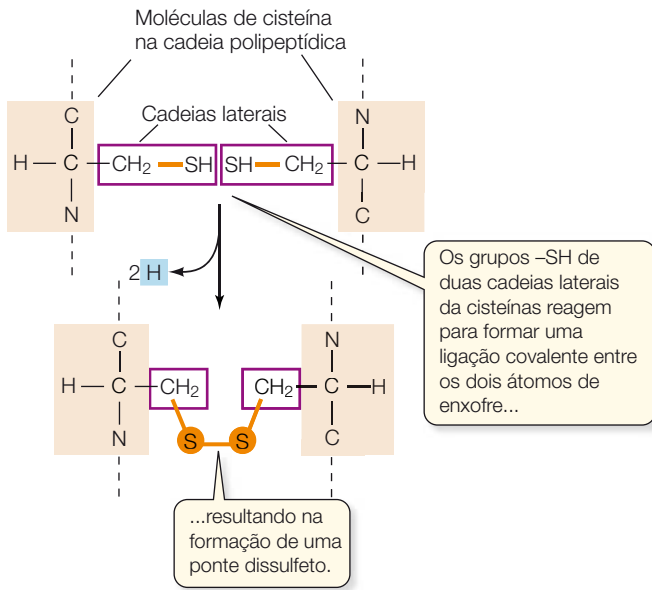


Figura 3.5 Uma ponte dissulfeto Duas moléculas de cisteína em uma cadeia polipeptídica podem formar uma ponte dissulfeto (–S–S–).

A estrutura primária de uma proteína é a sua sequência de aminoácidos

Existem quatro níveis da estrutura de proteínas: primária, secundária, terciária e quaternária. A sequência precisa de aminoácidos em um polipeptídeo constitui a **estrutura primária** de uma proteína (**Figura 3.7A**). O esqueleto peptídico da cadeia polipeptídica consiste em uma sequência repetitiva –N–C–C–, constituída do átomo de N do grupo amino, o átomo de carbono α e o átomo de C do grupo carboxila de cada aminoácido.

Os cientistas têm deduzido a estrutura primária de muitas proteínas. As abreviaturas de uma letra para aminoácidos (ver Tabela 3.2) são usadas para registrar a sequência de aminoácidos de uma proteína. Aqui, por exemplo, estão os primeiros vinte aminoácidos (de um total de 124) da proteína ribonuclease de um bovino:

KETAAAKFERQHMDSTSAA

peptídica, é o grupo amino do primeiro aminoácido na cadeia, conhecido como *N-terminal*. A “pontuação” química, que marca o final da cadeia, é o grupo carboxila do último aminoácido, o *C-terminal*. Todos os outros grupos amino e carboxila (exceto aqueles nas cadeias laterais) estão envolvidos na formação da ligação peptídica, logo não existem na cadeia como grupos intactos “livres”. Os bioquímicos se referem à orientação de polipeptídeos como “N → C” ou “amino a carboxila”.

A ligação peptídica dispõe de duas características importantes na estrutura tridimensional das proteínas:

- Diferente de muitas ligações covalentes simples, nas quais os grupos em qualquer lado das ligações são livres para girar no espaço, a ligação C-N é relativamente rígida. Os átomos adjacentes (os carbonos α dos dois aminoácidos adjacentes, demonstrados em preto na Figura 3.6) em uma ligação peptídica não são livres para girar totalmente, e essa falta de flexibilidade limita o dobramento da cadeia polipeptídica.
- O oxigênio ligado ao carbono (C=O) no grupo carboxila apresenta uma leve carga negativa (δ^-), enquanto o hidrogênio ligado ao nitrogênio é levemente positivo (δ^+). Essa assimetria de carga favorece as pontes de hidrogênio, no interior da própria molécula proteica e com outras moléculas, contribuindo para a estrutura e a função de muitas proteínas.

Antes exploramos o significado dessas características, agora precisamos examinar a importância da ordem dos aminoácidos.

O número teórico de proteínas diferentes é enorme. Considerando que existem vinte aminoácidos diferentes, poderiam existir $20 \times 20 = 400$ dipeptídeos distintos (dois aminoácidos ligados), e $20 \times 20 \times 20 = 8.000$ tripeptídeos diferentes (três aminoácidos ligados). Imagine esse processo de multiplicação por vinte estendido a uma proteína feita de cem aminoácidos (considerada uma proteína pequena). Poderiam existir 20^{100} proteínas pequenas, cada uma com sua própria estrutura primária distinta. Qual é a dimensão do número 20^{100} ? Não existem tantos elétrons no universo inteiro!

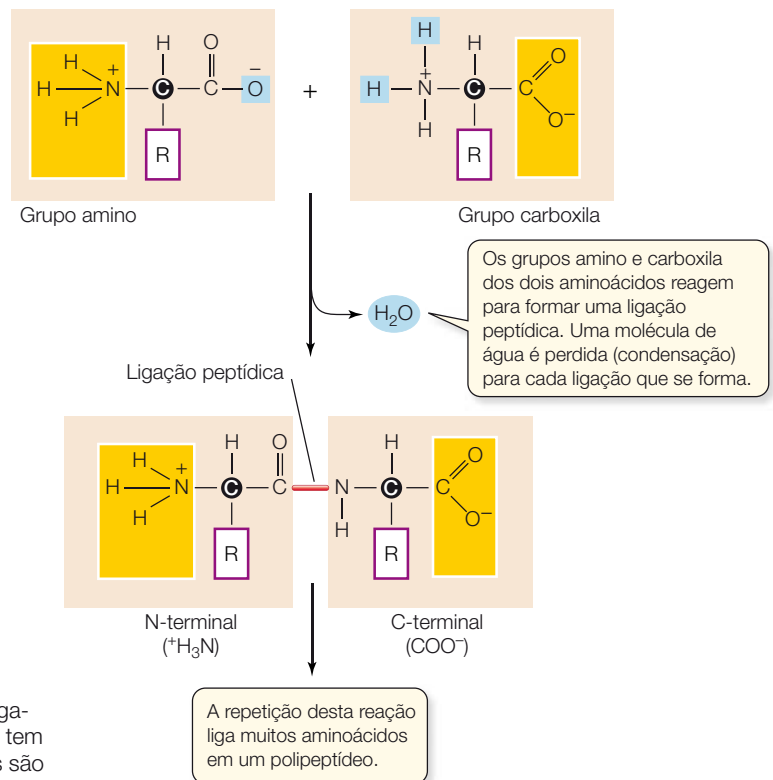


Figura 3.6 Formação das ligações peptídicas Nos organismos vivos, a reação conduzindo a uma ligação peptídica tem muitos passos intermediários, mas os reagentes e produtos são os mesmos, conforme demonstrado neste diagrama simplificado.

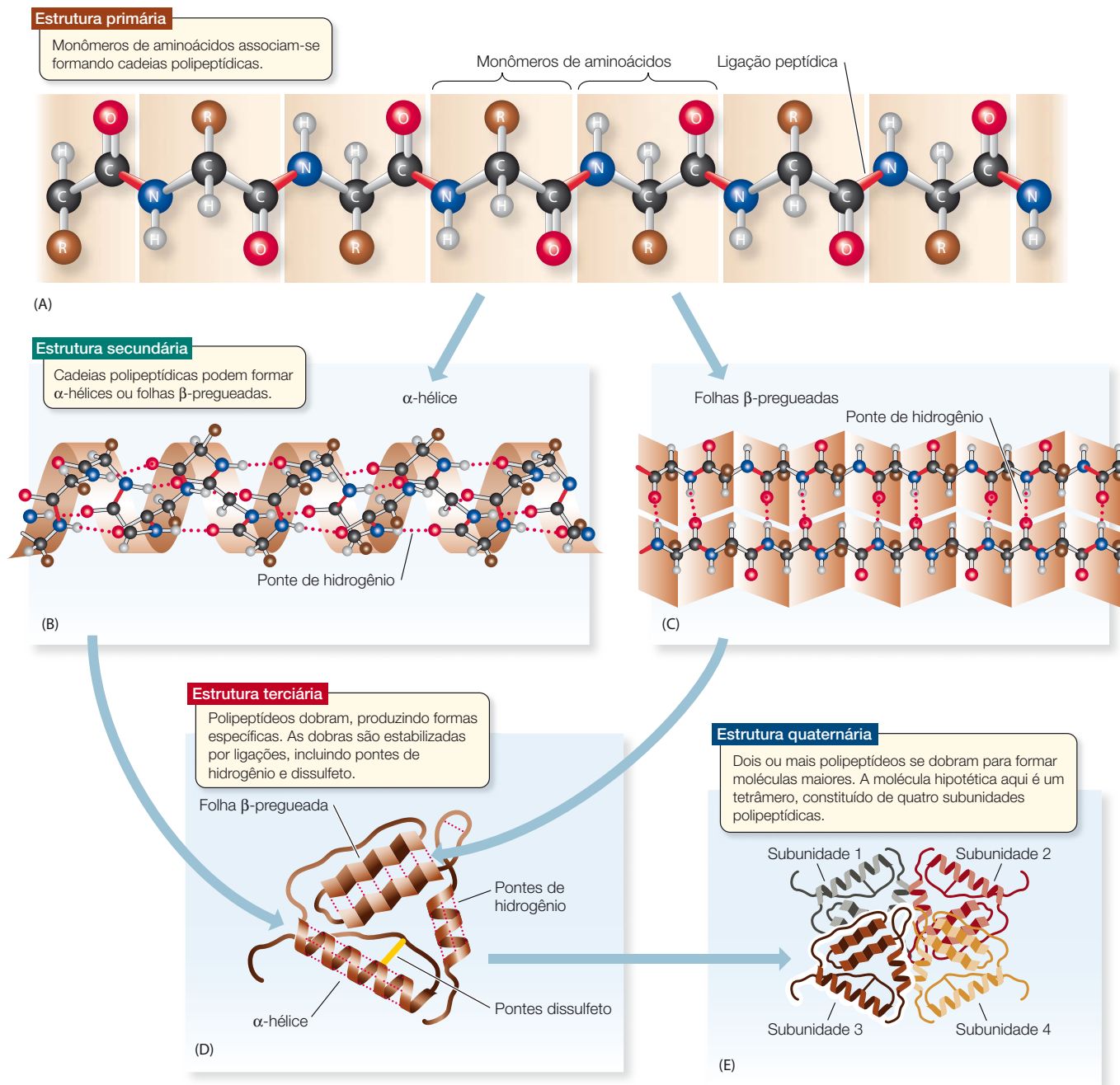


Figura 3.7 Os quatro níveis de estrutura proteica A estrutura secundária, a terciária e a quaternária surgem a partir da estrutura primária da proteína.

Nos níveis mais elevados da estrutura proteica, o enovelamento e o dobramento locais fornecem à molécula sua forma funcional final, mas todos esses níveis derivam da estrutura primária, ou seja, a precisa localização dos aminoácidos específicos na cadeia polipeptídica. As propriedades associadas à sequência precisa de aminoácidos determinam como a proteína pode enrolar-se e dobrar-se, adotando assim uma estrutura estável específica que a distingue de todas as outras.

A estrutura primária é determinada por ligações covalentes. O próximo nível de estrutura proteica é determinado por pontes de hidrogênio mais fracas.

A estrutura secundária de uma proteína requer pontes de hidrogênio

A **estrutura secundária** de uma proteína consiste em padrões espaciais regulares e repetidos em diferentes regiões de uma cadeia

polipeptídica. Existem dois tipos básicos de estrutura secundária, ambos determinados pelas pontes de hidrogênio, entre os resíduos de aminoácidos, que constituem a estrutura primária.

α -HÉLICE A α -hélice é uma espiral voltada para a direita “torcida” na mesma direção que a rosca de um parafuso padrão (Figura 3.7B). Os grupos R se estendem para fora do esqueleto polipeptídico da hélice. O enovelamento resulta das pontes de hidrogênio entre o hidrogênio levemente positivo, do N—H de um aminoácido, e o oxigênio levemente negativo, do C=O de outro. Quando esse padrão de pontes de hidrogênio é estabelecido repetidamente sobre um segmento da proteína, ele estabiliza o enovelamento. A presença de aminoácidos com grupos R grandes que distorcem a hélice ou, de outra forma, previnem a formação das pontes de hidrogênio necessárias, manterão a α -hélice na forma de cadeia linear.

A estrutura secundária em α -hélice é comum em proteínas estruturais fibrosas insolúveis, chamadas queratinas, que constituem o cabelo, os cascos e as penas. O cabelo pode ser esticado porque a elasticidade exige que somente as pontes de hidrogênio da α -hélice, não as ligações covalentes, sejam rompidas; quando a tensão sobre o cabelo é liberada, as pontes de hidrogênio e a hélice se reconstituem.

FOLHA β -PREGUEADA Uma **folha β -pregueada** é formada de duas ou mais cadeias polipeptídicas quase distendidas completamente e alinhadas. A folha é estabilizada por pontes de hidrogênio entre os grupos N—H de uma cadeia e os grupos C=O de outra (Figura 3.7C). A folha β -pregueada pode se formar entre cadeias polipeptídicas separadas, como na teia da aranha, ou entre diferentes regiões de um mesmo polipeptídeo inclinado sobre si mesmo. Muitas proteínas contêm regiões tanto da α -hélice quanto da folha β -pregueada na mesma cadeia polipeptídica.

As proteínas unidas podem ser muito fortes. A teia de aranha, por exemplo, é mais forte que o Kevlar, o polímero artificial usado em roupas à prova de balas. Os usos potenciais da teia de aranha (se pudesse ser purificada em quantidades suficientemente grandes) incluem airbags para automóveis e suturas cirúrgicas.

A estrutura terciária de uma proteína é formada pela curvatura e pelo dobramento

Em muitas proteínas, a cadeia polipeptídica é dobrada em pontos específicos e então dobrada para trás e para frente, resultando na **estrutura terciária** da proteína (Figura 3.7D). Embora as α -hélices e as folhas β -pregueadas contribuam para a estrutura terciária, somente partes da macromolécula geralmente têm essas estruturas secundárias, e regiões grandes consistem em estruturas terciárias únicas para uma proteína particular. A estrutura terciária resulta em uma macromolécula com uma definida forma tridimensional. As superfícies externas da macromolécula apresentam grupos funcionais capazes de interagir quimicamente com outras moléculas na célula. Estas podem ser outras proteínas (como na estrutura quaternária, conforme veremos abaixo) ou pequenas moléculas (como nas enzimas, ver Seção 6.4).

Enquanto as pontes de hidrogênio entre os grupos N—H e C=O dentro e entre as cadeias são responsáveis pela estrutura secundária, as interações entre os grupos R – as cadeias laterais dos aminoácidos – determinam a estrutura terciária. Descrevemos as

várias interações fortes e fracas entre os átomos na Seção 2.2 (Tabela 2.1). Muitas dessas interações envolvem-se na determinação da estrutura terciária:

- **Pontes dissulfeto** covalentes podem se formar entre cadeias laterais específicas de cisteína (ver Figura 3.5), mantendo um polipeptídeo dobrado no lugar.
- Cadeias laterais **hidrofóbicas** podem se agregar no interior da proteína, distante da água, dobrando o polipeptídeo no processo.
- **Forças de van der Waals** podem estabilizar interações próximas entre as cadeias laterais hidrofóbicas.
- **Interações iônicas** podem ocorrer entre cadeias laterais carregadas positivamente e negativamente, enterradas no fundo de uma proteína, distante da água, formando uma **ponte salina**.
- **Pontes de hidrogênio** entre as cadeias laterais também estabilizam dobramentos nas proteínas.

Uma descrição completa da estrutura terciária da proteína especifica a posição de cada átomo na molécula no espaço tridimensional em relação a todos os outros átomos. Tal descrição é disponível para a proteína lisozima (Figura 3.8). As primeiras estruturas terciárias levaram anos até serem decifradas, mas hoje dezenas de novas estruturas são publicadas a cada semana. Graças a inúmeros avanços isso têm sido possível. Dentre eles destacamos: nossa habilidade de produzir grandes quantidades de proteínas específicas por meio da biotecnologia e o uso de computadores para analisar os dados atômicos.

Não esqueça de que as estruturas terciária e secundária derivam da estrutura primária da proteína. Se a lisozima é aquecida lentamente, a energia do calor rompe somente as interações fracas e causa apenas o rompimento da estrutura terciária. Contudo, a proteína retorna à estrutura terciária normal quando resfriar, demonstrando que toda a informação necessária para especificar a forma única de uma proteína está contida na estrutura primária.

A estrutura quaternária de uma proteína consiste em subunidades

Muitas proteínas funcionais contêm duas ou mais cadeias polipeptídicas, chamadas **subunidades**, cada uma delas dobrada na sua própria e especial estrutura terciária. A **estrutura quaternária** das proteínas resulta das formas com que essas subunidades se ligam e interagem (ver Figura 3.7E).

A hemoglobina ilustra a estrutura quaternária (Figura 3.9). Interações hidrofóbicas, forças de van der Waals, pontes de hidrogênio e ligações iônicas ajudam a unir as quatro subunidades, a fim de formarem a molécula da hemoglobina. A função da hemoglobina é transportar o oxigênio nos eritrócitos. Como ela liga uma molécula de O₂, as quatro subunidades movem suas posições relativas levemente, mudando a estrutura quaternária. As ligações iônicas são rompidas, expondo as cadeias laterais que aumentam a ligação de moléculas de O₂ adicionais. A estrutura muda novamente quando a hemoglobina libera suas moléculas de O₂ nas células do corpo.

A forma e a química da superfície contribuem para a especificidade das proteínas

A forma e a estrutura específicas de uma proteína permitem-na se ligar *não covalentemente* a outra molécula (frequentemente chamada de **ligante**), que por sua vez permite que ocorram outros eventos biológicos importantes. Aqui estão apenas alguns poucos

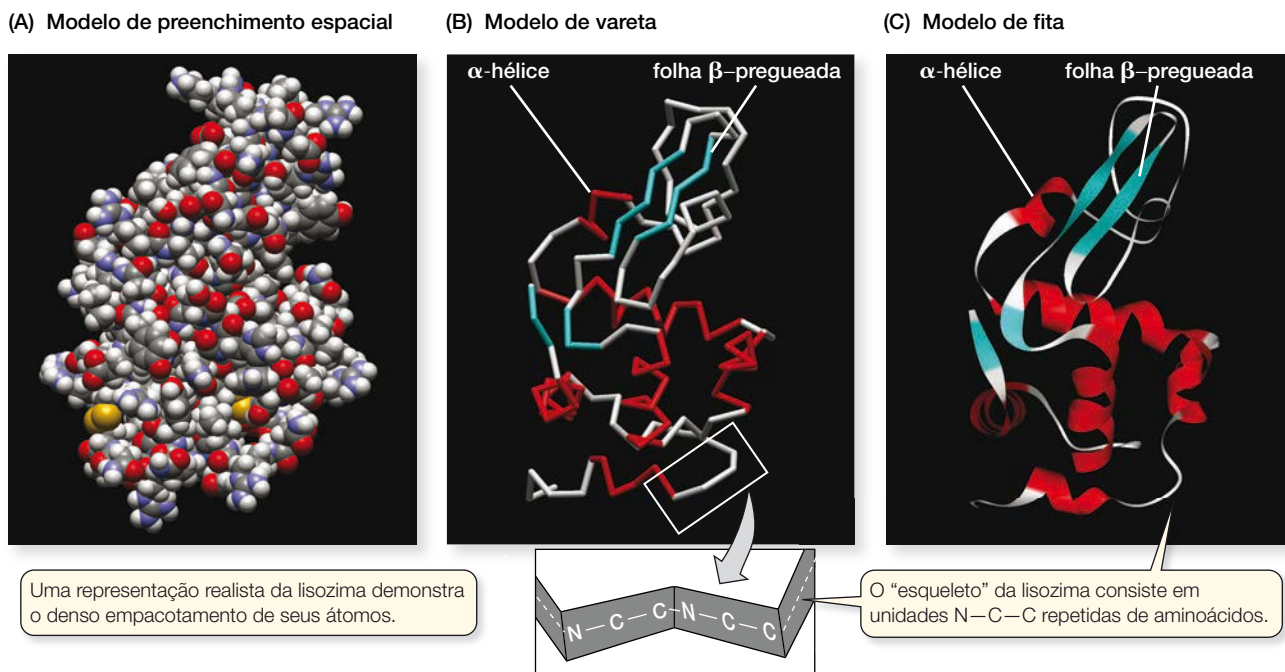


Figura 3.8 Três representações da lisozima Representações moleculares diferentes enfatizam aspectos diversos de sua estrutura terciária. Estas três representações da lisozima estão orientadas similarmente.

exemplos do modo que a proteína funciona de acordo com a sua estrutura:

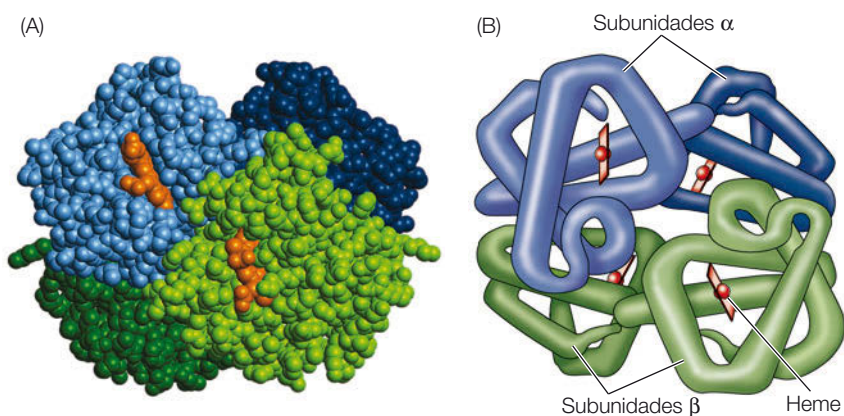
- Duas células adjacentes podem se unir, porque proteínas se sobressaem de cada uma das células, interagindo umas com as outras (junções celulares; ver Seção 5.2).
- Uma substância pode entrar em uma célula por ligação a uma proteína transportadora na membrana da superfície celular (transporte nas membranas; ver Seção 5.3).
- Uma reação química pode ser acelerada quando um tipo de proteína, enzima, se liga aos reagentes (interações enzima-substrato; ver Seção 6.3).
- Sinalizadores químicos, como os hormônios, podem se ligar a proteínas na superfície externa da célula (proteínas receptoras; ver Seção 15.1 e o Capítulo 47).

- Proteínas de defesa (anticorpos) podem reconhecer a forma de um vírus e ligar-se a ele (resposta imune; ver Capítulo 18).

A especificidade biológica da função proteica depende de duas propriedades gerais da proteína: sua forma e a química dos seus grupos de superfície expostos.

- *Forma.* Quando uma molécula pequena colide e se liga a uma proteína muito maior, é como uma bola de beisebol sendo pega por um apanhador. A luva do apanhador apresenta uma forma que se adapta a bola e a preenche ao redor. Assim como uma bola de pingue-pongue ou hóquei não são desenhadas para caber na luva de beisebol, uma dada molécula se ligará a uma proteína somente se existir um "encaixe" entre suas duas formas tridimensionais. A necessidade do correto "encaixe" se torna mais específica após a ligação inicial.
- *Química.* Os grupos funcionais na superfície de uma proteína promovem interações químicas com outras substâncias (**Figura 3.10**). Esses grupos são as cadeias laterais dos aminoácidos expostos e são, portanto, propriedade da estrutura primária da proteína.

Figura 3.9 Estrutura quaternária de uma proteína A hemoglobina consiste em quatro subunidades dobradas que se reúnem na estrutura quaternária aqui demonstrada. Nestas duas representações gráficas cada tipo de subunidade tem uma cor diferente. Os grupos heme contêm ferro e são os sítios transportadores de oxigênio.



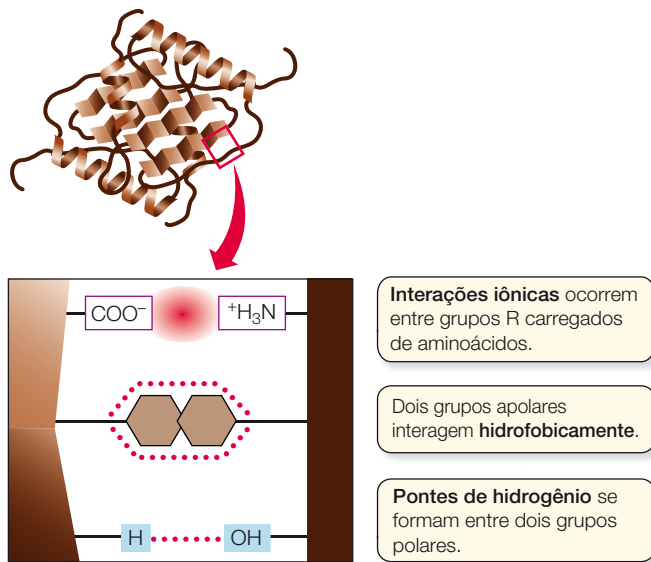


Figura 3.10 Interações não covalentes entre polipeptídeos e outras moléculas Interações não covalentes permitem à proteína ligar-se fortemente a outra molécula com propriedades específicas ou a interação de regiões dentro de uma proteína.

Veja as estruturas dos vinte aminoácidos na Tabela 3.2, notando as propriedades dos grupos R. Os grupos hidrofóbicos expostos podem se ligar a grupos apolares similares no ligante. Os grupos R carregados podem se ligar a grupos de carga oposta no ligante. Os grupos R polares com grupo hidroxila ($-OH$) podem formar uma ponte de hidrogênio com o ligante. Esses três tipos de interações – hidrofóbicas, iônicas e pontes de hidrogênio – são fracas quando isoladas, mas fortes quando juntas. Então, a exposição de grupos R de aminoácidos apropriados na superfície da proteína permite a ocorrência da ligação específica de um ligante.

As condições ambientais afetam a estrutura proteica

Por ser determinada por forças fracas, a estrutura tridimensional das proteínas é sensível a condições ambientais. Circunstâncias que não romperiam ligações covalentes, mas enfraqueceriam as interações não covalentes que determinam a estrutura secundária e terciária, podem afetar a forma de uma proteína e assim, sua função.

- **Aumentos na temperatura** causam movimentos moleculares mais rápidos e podem quebrar pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas.
- **Alterações no pH** podem mudar o padrão de ionização dos grupos amino e carboxila nos grupos R dos aminoácidos, rompendo assim o padrão de atrações e repulsões iônicas.
- **Altas concentrações de substâncias polares**, como ureia, podem romper as pontes de hidrogênio, cruciais para a estrutura da proteína. Substâncias apolares podem também romper a estrutura normal da proteína.

A perda da estrutura terciária normal chama-se **desnaturação** e é sempre acompanhada pela perda da função biológica normal da proteína (Figura 3.11). A desnaturação é geralmente irreversível, porque os aminoácidos internalizados podem agora ser ex-

postos na superfície e vice-versa, produzindo uma nova estrutura ou moléculas diferentes para se ligarem à proteína. O cozimento de um ovo desnatura suas proteínas e, como você sabe, é irreversível. Entretanto, conforme vimos anteriormente no caso da lisozima, a desnaturação pode ser reversível em laboratório. Se for permitido que a proteína esfrie ou que os desnaturantes químicos sejam removidos, a proteína retorna a sua forma “nativa” e a sua função normal.

As chaperoninas ajudam a formar as proteínas

Em duas ocasiões, a cadeia polipeptídica corre o perigo de interagir com um ligante errado. A primeira é após a desnaturação. Além disso, uma proteína recém-sintetizada e ainda não dobrada completamente pode apresentar uma superfície que se liga a uma molécula errada. Na célula, uma proteína pode algumas vezes se dobrar incorretamente à medida que é sintetizada, com sérias consequências. Por exemplo, na doença de Alzheimer, proteínas com dobramento incorreto se acumulam no cérebro e se ligam umas às outras, formando fibras nas áreas cerebrais controladoras da memória, humor e reconhecimento espacial.

Os sistemas vivos limitam interações proteicas inadequadas por produzirem uma classe de proteínas chamada, apropriadamente, de **chaperoninas** (do inglês *chaperones* – acompanhantes ou professores que nos bailes escolares tentam prevenir “interações inadequadas” entre os estudantes). As chaperoninas foram primeiramente identificadas nas moscas-das-frutas como proteínas de “choque térmico”, que previnem a desnaturação de proteínas por agrupá-las quando a temperatura das moscas aumentava.

Algumas chaperoninas trabalham prendendo proteínas em risco iminente de fazer ligações inadequadas em uma “gaiola” (Figura 3.12). Essa gaiola é composta de subunidades idênticas e trata-se, por si só, de um bom exemplo de estrutura proteica quaternária. Dentro da gaiola, a proteína-alvo se dobra na forma correta e então é liberada no momento e no local apropriados.

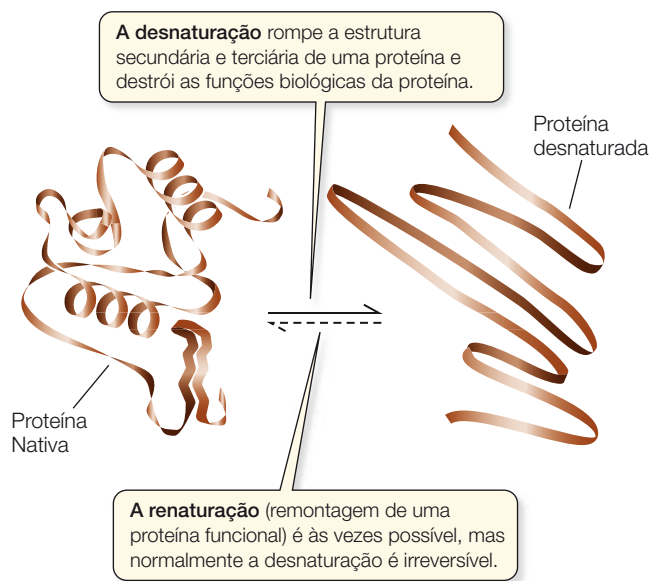
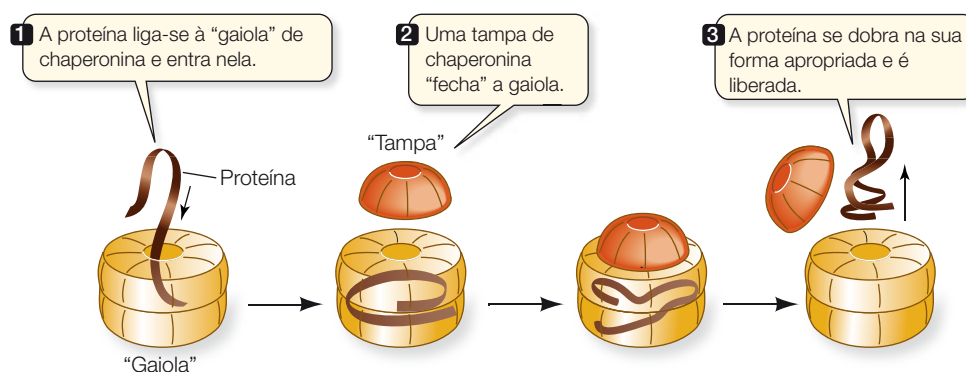


Figura 3.11 Desnaturação é a perda da estrutura terciária e da função da proteína Agentes que podem causar desnaturação incluem temperaturas altas e certos compostos químicos.

Figura 3.12 As chaperoninas protegem as proteínas de ligações inapropriadas Chaperoninas cercam as proteínas novas ou desnaturadas e previnem a interação com um ligante errado.



3.2 RECAPITULAÇÃO

As proteínas são polímeros de aminoácidos. Sua sequência de aminoácidos determina sua estrutura primária; as estruturas secundárias, terciárias e quaternárias surgem por interações entre os aminoácidos. A forma tridimensional de uma proteína determina finalmente sua função.

- Você pode descrever os atributos do grupo R de um aminoácido que o tornaria hidrofóbico? E hidrofílico? Ver p. 42 e Tabela 3.2.
- Você pode fazer um esboço e explicar de que forma dois aminoácidos se unem para formar uma ligação peptídica? Ver p. 43 e Figura 3.6.
- Você pode descrever os quatro níveis estruturais das proteínas e como eles são todos finalmente determinados pela estrutura primária (ou seja, sua sequência de aminoácidos)? Ver p. 44-46 e Figura 3.7.
- Você compreende as diferentes formas que os fatores ambientais, como temperatura e pH, podem afetar as estruturas fracas, que conferem a uma proteína sua específica forma e função? Ver p. 48.

3.3 Quais são as estruturas químicas e funções dos carboidratos?

Os **carboidratos** são moléculas com átomos de carbono ligados a átomos de hidrogênios e grupos hidroxila (H—C—OH). Eles possuem dois principais papéis bioquímicos:

- Carboidratos são uma fonte de energia que pode ser liberada de forma a ser usada pelos tecidos corporais.
- Carboidratos servem como *esqueletos de carbono* que podem ser rearranjados, a fim de formarem novas moléculas importantes para as estruturas e para as funções biológicas.

Alguns carboidratos são relativamente pequenos, com pesos moleculares menores do que 100. Outros são verdadeiras macromoléculas, com pesos moleculares de centenas de milhares.

Existem quatro categorias de carboidratos biologicamente importantes:

- **Monossacarídeos** (*mono-*, "um"; *sacarídeo*, "açúcar"), tais como glicose, ribose ou frutose, são açúcares simples. Eles são os monômeros a partir dos quais os carboidratos maiores são construídos.
- **Dissacarídeos** (*di-*, "dois") consistem em dois monossacarídeos unidos por ligações covalentes.
- **Oligossacarídeos** (*oligo-*, "diversos") constituídos de diversos monossacarídeos (3 a 20).
- **Polissacarídeos** (*poli-*, "muitos"), tais como amido, glicogênio e celulose, são polímeros grandes compostos de centenas ou milhares de unidades de monossacarídeos.

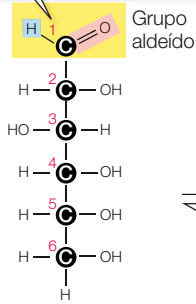
A fórmula-geral dos carboidratos, CH_2O , dá as relativas proporções de carbono, hidrogênio e oxigênio em um monossacarídeo (ou seja, as proporções desses átomos são 1:2:1). Em dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos, essas concentrações diferem levemente da fórmula-geral, pois dois hidrogênios e um oxigênio perdem-se durante as reações de condensação que os formam.

Os monossacarídeos são açúcares simples

As plantas verdes produzem monossacarídeos por meio da fotossíntese, e os animais os adquirem direta ou indiretamente a partir das plantas. Todas as células vivas contêm o monossacarídeo **glicose**. Elas usam glicose como fonte de energia, quebrando-a em uma série de reações que liberam a energia armazenada e produzem água e dióxido de carbono. A glicose existe em duas formas, a cadeia linear e o anel. A estrutura em anel predomina em mais de 99% das circunstâncias biológicas, pois é mais estável sob condições fisiológicas. Existem também duas formas da estrutura em anel chamada de α -glicose e β -glicose, que diferem somente na posição do -H e -OH ligados ao carbono 1 (**Figura 3.13**). As formas α e β se interconvertem e existem em equilíbrio quando dissolvidas em água.

Diferentes monossacarídeos contêm números variados de carbonos. (Usa-se a convenção-padrão para numerar os carbonos, demonstrada na Figura 3.13, ao longo deste livro.) A maioria dos monossacarídeos encontrados nos sistemas vivos pertence à série D dos isômeros ópticos (lembre também que só os L-aminoácidos ocorrem nas proteínas – existe uma incrível especificidade na biologia!). Alguns monossacarídeos são isômeros estruturais, com os mesmos tipos e números de carbonos, mas arranjos diferentes pela ligação. Por exemplo, as **hexoses** (*hex-*, "seis"), um grupo de isômeros estruturais, possuem a fórmula $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$. In-

Os números em vermelho indicam a convenção padrão para a numeração dos carbonos.

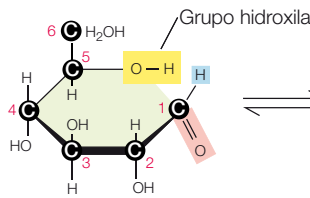


Cadeia na forma linear

A cadeia da glicose na forma linear tem um grupo aldeído no carbono 1.

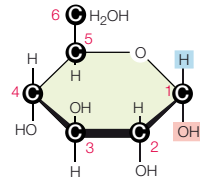
Figura 3.13 Glicose: de uma forma para outra

Todas as moléculas de glicose apresentam a fórmula $C_6H_{12}O_6$, mas suas estruturas variam. Quando dissolvidas em água, as formas em “anel” α e β da glicose se interconvertem.



Forma intermediária

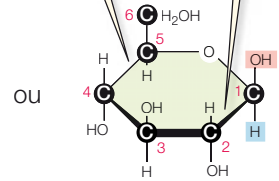
Uma reação entre este grupo aldeído e o grupo hidroxila no carbono 5 dá origem ao anel.



α -D-glicose

Dependendo da orientação do grupo aldeído quando o anel fecha, qualquer das duas moléculas α -D-glicose ou β -D-glicose formam-se.

A linha escura indica que as ligações da molécula se estendem na sua direção; as ligações mais brandas se estendem para trás da página.



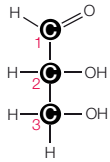
β -D-glicose

cluídas entre as hexoses encontram-se a glicose, a frutose (assim chamada porque foi a primeira encontrada nas frutas), a manose e a galactose (Figura 3.14).

As **pentoses** (*pente-*, “cinco”) são açúcares de cinco carbonos. Duas pentoses são de particular importância biológica: a ribose e desoxirribose, que formam parte dos esqueletos dos ácidos

nucleicos RNA e DNA, respectivamente (ver Seção 3.5). Essas duas pentoses não são isômeros, pois falta um átomo de oxigênio no carbono 2 da desoxirribose (*de-*, “ausente”). A ausência desse átomo de oxigênio é uma importante distinção entre RNA e DNA.

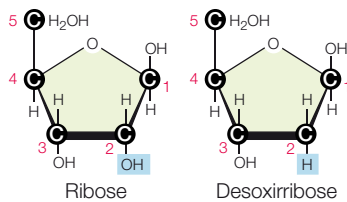
Açúcar de três carbonos



Gliceraldeído

O gliceraldeído é o menor monossacarídeo e existe somente na forma de cadeia linear.

Açúcares de cinco carbonos (pentoses)

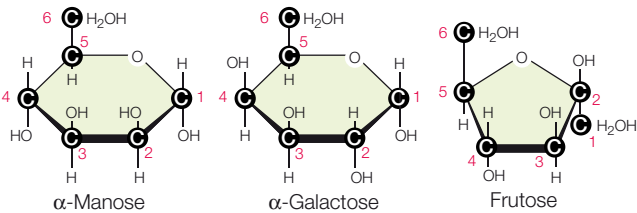


Ribose

Desoxirribose

Ribose e desoxirribose apresentam cinco carbonos, mas propriedades químicas e papéis biológicos muito diferentes.

Açúcares de seis carbonos



α -Manose

α -Galactose

Frutose

Estas hexoses são isômeros estruturais. Todas têm a fórmula $C_6H_{12}O_6$, mas cada uma com propriedades químicas distintas.

As ligações glicosídicas unem monossacarídeos

Os dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos constroem-se a partir de monossacarídeos covalentemente ligados por reações de condensação, formando as **ligações glicosídicas**. Uma única ligação glicosídica entre dois monossacarídeos forma um dissacarídeo. Por exemplo, uma molécula de sacarose representa um dissacarídeo formado por uma molécula de glicose e uma de frutose, enquanto a lactose (açúcar do leite) contém glicose e galactose. A sacarose, o açúcar de mesa comum na dieta humana, constitui o principal dissacarídeo nas plantas.

O dissacarídeo maltose apresenta duas moléculas de glicose, mas não é o único que pode ser formado por duas glicoses. Quando as moléculas de glicose formam uma ligação glicosídica, a ligação será de um dos dois tipos, α ou β , dependendo se a molécula que ligou seu carbono 1 é α -D-glicose ou β -D-glicose (ver Figura 3.13). Uma ligação α com o carbono 4 de uma segunda molécula de glicose origina a maltose, enquanto uma ligação β produz a celobiose (Figura 3.15). A maltose e a celobiose são isômeros estruturais, ambas com a fórmula $C_{12}H_{22}O_{11}$. Entretanto, são compostos diferentes com propriedades diferentes. Sofrem reações químicas distintas e são reconhecidos por enzimas diferentes. Por exemplo, a maltose pode ser hidrolisada em seus monossacarídeos no corpo humano, enquanto a celobiose não pode. Certos microrganismos têm a química necessária para degradar a celobiose.

Figura 3.14 Os monossacarídeos são açúcares simples

Os monossacarídeos são constituídos por um número variável de carbonos. Algumas hexoses são isômeros estruturais, com o mesmo número e tipo de carbonos, mas arranjados diferentemente. A frutose, por exemplo, é uma hexose, mas forma um anel de cinco lados como as pentoses.

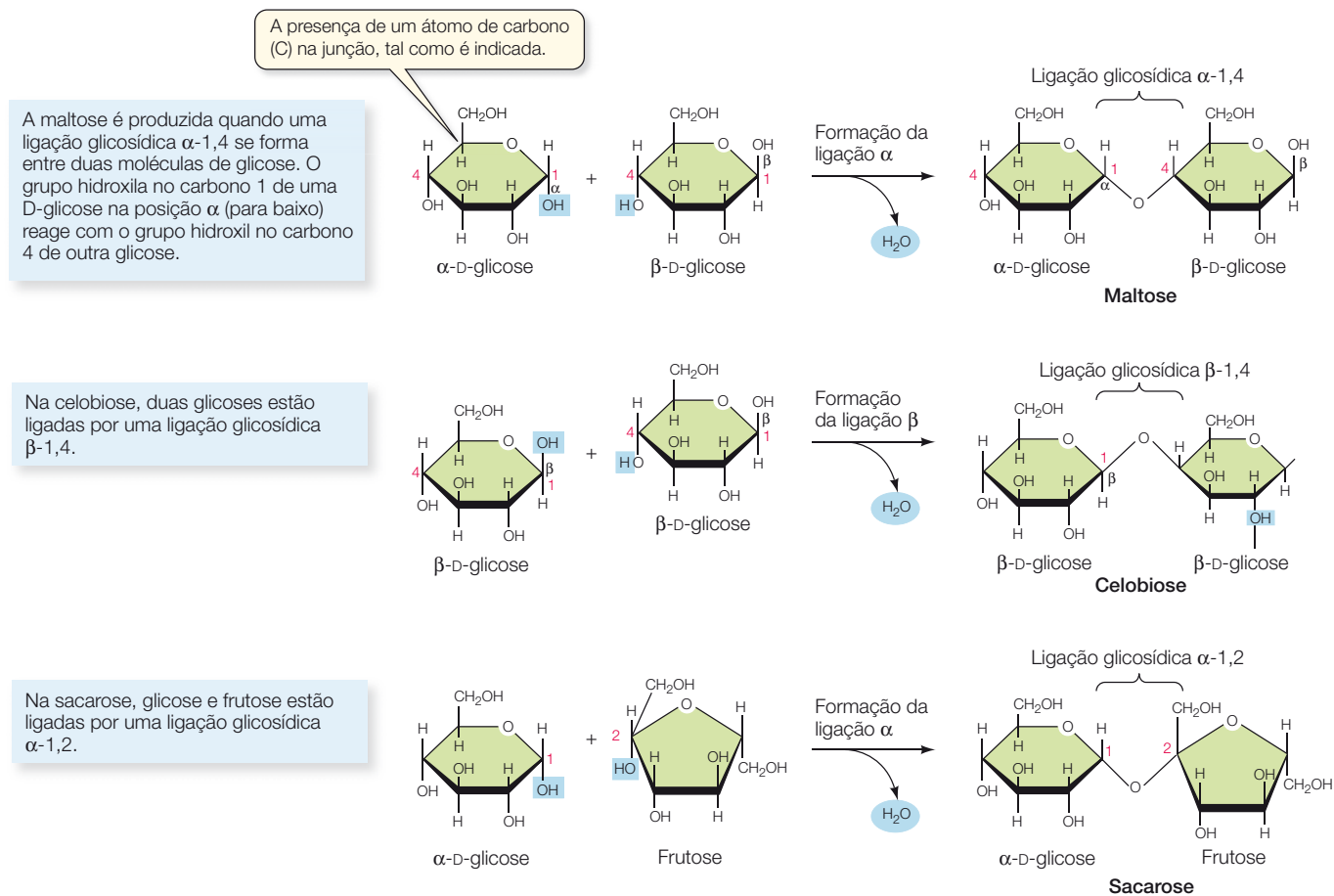


Figura 3.15 Os dissacarídeos são formados por ligações glicosídicas As ligações glicosídicas entre dois monossacarídeos criam dissacarídeos muito diferentes. O tipo de dissacarídeo formado depende de quais monossacarídeos estão ligados, do local (qual átomo de carbono está ligado) e da forma (α ou β) da ligação.

Os oligossacarídeos contêm vários monossacarídeos conectados por ligações glicosídicas em diversos pontos. Muitos oligossacarídeos têm grupos funcionais adicionais, que lhes conferem propriedades especiais. Estão frequentemente ligados de forma covalente a proteínas e lipídeos na superfície celular externa, onde servem como sinais de reconhecimento celular. Os grupos sanguíneos humanos (como os tipos sanguíneos ABO) obtêm sua especificidade pelas cadeias de oligossacarídeos.

Os polissacarídeos armazenam energia ou fornecem materiais estruturais

Os polissacarídeos são cadeias gigantes de monossacarídeos conectados por ligações glicosídicas (Figura 3.16).

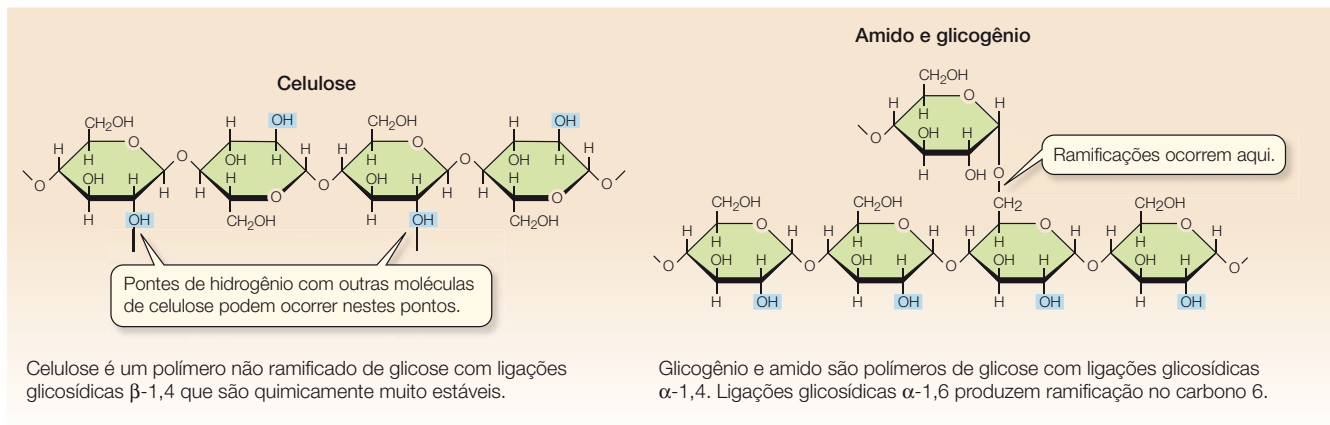
- O *amido* é um polissacarídeo de glicose com ligações glicosídicas na orientação α .
- O *glicogênio* é um polissacarídeo de glicose altamente ramificado.
- A *celulose* é também um polissacarídeo de glicose, mas seus monossacarídeos individuais estão conectados por ligações glicosídicas na orientação β .

O **amido** compreende uma família de moléculas gigantes de estrutura amplamente similar. Enquanto todos os amidos são grandes polímeros de glicose com ligações α (ver a Figura 3.16A), os amidos diferentes podem ser distinguidos pela quantidade de ramificações nos carbonos 1 e 6 (Figura 3.16B). Alguns amidos de plantas não se ramificam, como a amilose das plantas; outros são moderadamente ramificados, como a amilopectina. O amido se liga prontamente à água e, quando ela é removida, o amido não ramificado tende a formar pontes de hidrogênio entre as cadeias de polissacarídeos, que então se agregam.

O pão se torna duro pois quando ele seca as cadeias de polissacarídeos no amido se agregam. Adicionando água e aquecendo levemente, as cadeias se separam e o pão se torna mais macio.

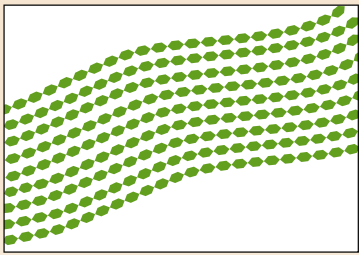
O **glicogênio** armazena glicose no fígado e nos músculos de animais. O amido e o glicogênio servem como compostos armazenadores de energia para plantas e animais, respectivamente. Esses polissacarídeos são prontamente hidrolisados a monômeros de glicose, os quais, por sua vez, podem ser posteriormente degradados para liberar sua energia. Se a glicose é realmente necessária como combustível, por que deve ser armazenada em forma de polímero? A razão é que mil moléculas de glicose exerceriam mil vezes a pressão osmótica, causando a entrada de água nas células

(A) Estrutura molecular



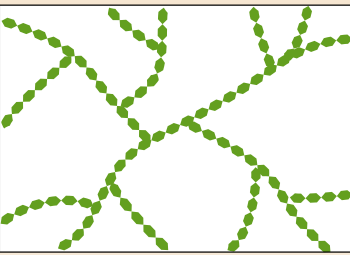
(B) Estrutura macromolecular

Linear (celulose)



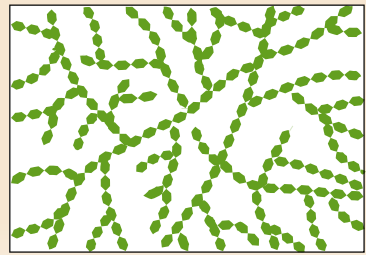
Moléculas de celulose paralelas formam pontes de hidrogênio para formar fibrilas finas.

Ramificada (amido)



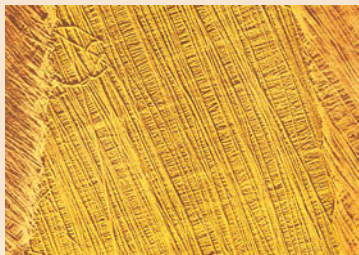
A ramificação limita o número de pontes de hidrogênio que podem se formar na molécula do amido, tornando o amido menos compacto que a celulose.

Altamente ramificada (glicogênio)

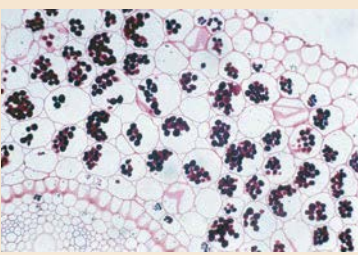


A quantidade elevada de ramificações no glicogênio torna seus depósitos sólidos mais compactos que o amido.

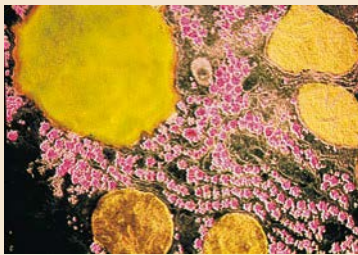
(C) Polissacarídeos nas células



Camadas de fibras de celulose, vistas nesta micrografia eletrônica, dão grande força às paredes celulares vegetais.



Marcados em vermelho nesta micrografia, os depósitos de amido têm forma granular no interior das células.



Corados em rosa nesta micrografia, vemos os depósitos de glicogênio no fígado humano.

Figura 3.16 Polissacarídeos representativos Celulose, amido e glicogênio demonstram níveis diferentes de ramificação e compactação em polissacarídeos.

(ver Seção 5.3) Se não fosse pelos polissacarídeos, vários organismos gastariam muito tempo e energia eliminando o excesso de água de suas células.

A **celulose** é o componente predominante das paredes celulares vegetais e o composto orgânico mais abundante da Terra. O

amido pode ser degradado mais ou menos facilmente pelas ações de compostos químicos ou de enzimas. A celulose, entretanto, é quimicamente mais estável devido a suas ligações glicosídicas β. Assim, o amido é um bom meio de armazenamento, podendo ser facilmente degradado, a fim de fornecer glicose para as reações produtoras de energia, enquanto a celulose constitui um excelente material estrutural que pode resistir a condições ambientais severas sem alterações.

Os carboidratos modificados quimicamente contêm grupos funcionais adicionais

Alguns carboidratos são modificados quimicamente por adição de grupos funcionais, tais como fosfato e grupos amino (Figura 3.17). Por exemplo, o carbono 6 na glicose pode ser oxidado a partir de -CH₂OH para um grupo carboxila (-COOH), produzindo ácido glicurônico. Ou um grupo fosfato pode ser adicionado a um ou mais grupos -OH. Alguns desses açúcares-fosfatos, tais como frutose 1,6-bifosfato, são importantes inter-

mediários nas reações de energia celulares, que discutiremos no Capítulo 7.

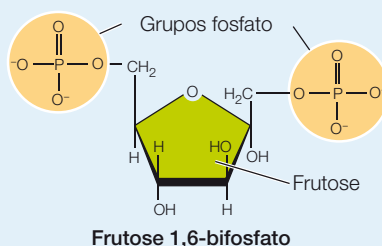
Quando um grupo amino é substituído por um grupo -OH, *amino-açúcares* como a glicosamina e a galactosamina são produzidos. Esses compostos são importantes na matriz extracelular (ver Seção 4.4), onde formam partes de glicoproteínas envolvidas na manutenção da união dos tecidos. A galactosamina é o principal componente da cartilagem, material que forma capas nas terminações de ossos e enrijece as orelhas e o nariz. Um derivado da glicosamina produz o polímero *quitina*, que é o principal polissacarídeo estrutural nos esqueletos de insetos e muitos crustáceos (tais como caranguejos e lagostas), bem como na parede celular dos fungos.

Fungos, insetos e crustáceos constituem mais de 80% das espécies já descritas. Assim, a quitina, que sustenta seus corpos, é uma das substâncias mais abundantes do planeta.

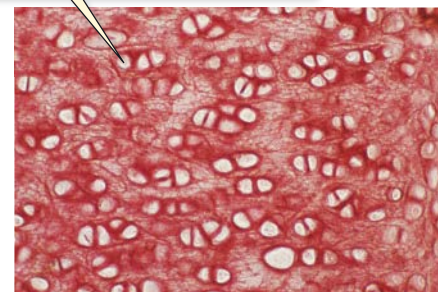
Figura 3.17 Carboidratos quimicamente modificados Grupos funcionais adicionados modificam a forma e as propriedades de um carboidrato.

(A) Açúcar Fosfato

A frutose 1,6-bifosfato está envolvida nas reações que liberam energia a partir da glicose (Os números no seu nome referem-se aos carbonos da ligação do fosfato; *bi* - indica que dois fosfatos estão presentes)



A galactosamina é um componente importante da cartilagem, tecido conectivo em vertebrados.

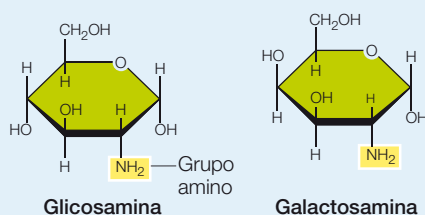


Os esqueletos externos dos insetos são constituídos de quitina.



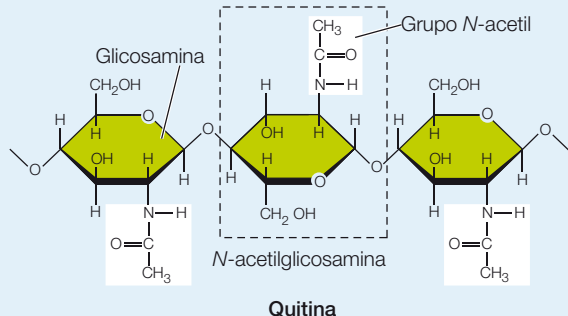
(B) Amino-Açúcares

Os monossacarídeos glicosamina e galactosamina são amino-açúcares com um grupo amino no lugar de um grupo hidroxila.



(C) Quitina

A quitina é um polímero de N-acetilglicosamina; Grupos N-acetil fornecem pontos adicionais para pontes de hidrogênio entre os polímeros.



3.3 RECAPITULAÇÃO

Carboidratos são compostos de carbono, hidrogênio e oxigênio em uma razão geral de 1:2:1. Eles fornecem energia e estrutura para as células e são precursores de numerosas moléculas biológicas importantes. Os monossacarídeos podem ser conectados por ligações glicosídicas para formar dissacarídeos, oligossacarídeos e polissacarídeos.

- Você pode desenhar a estrutura química de um dissacarídeo formado por dois monossacarídeos? Ver Figura 3.15.
- Quais qualidades dos polissacarídeos amido e glicogênio os tornam úteis para o armazenamento de energia? Ver p. 51 e Figura 3.16.
- Olhando as moléculas de celulose na Figura 3.16A, você pode ver onde um grande número de pontes de hidrogênio está presente na estrutura linear da celulose demonstrada na Figura 3.16B? Você compreende por que esta estrutura é tão forte?

Vimos agora de que forma os monômeros de aminoácidos formam os polímeros de proteínas e como os monômeros sacarídicos constituem os polímeros de carboidratos. Agora analisaremos os lipídeos, que são especiais entre as quatro classes de moléculas biológicas grandes no sentido de que não são, estritamente falando, polímeros.

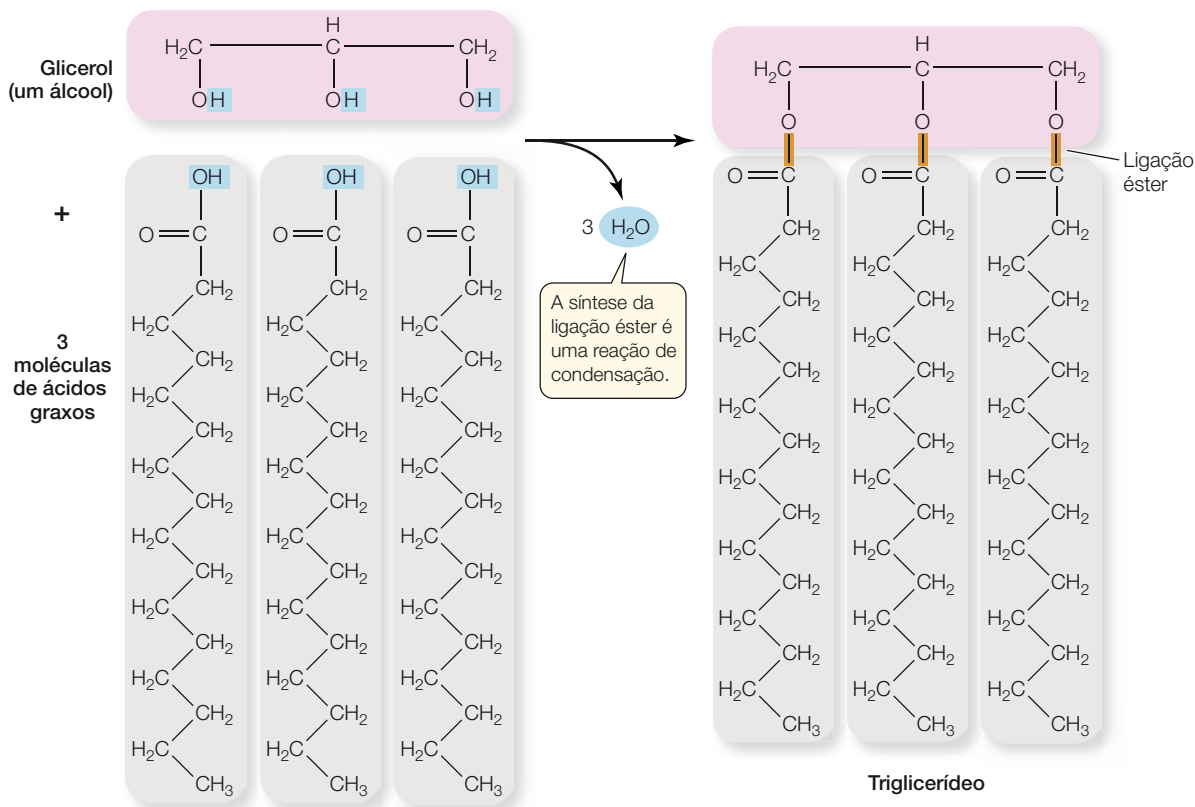
3.4 Quais são as estruturas químicas e funções dos lipídeos?

Os **lipídeos** são hidrocarbonetos insolúveis em água, devido às suas muitas ligações covalentes apolares. Como vimos na Seção 2.2, moléculas de hidrocarbonetos apolares são hidrofóbicas e agregam-se preferencialmente entre elas, distantes da água, que é polar. Quando as moléculas apolares estão suficientemente próximas, forças de van der Waals fracas, mas aditivas, as unem. Esses enormes macromoleculares agregados não são polímeros no sentido químico estrito, já que suas moléculas de lipídeos individuais não se encontram covalentemente ligadas. Entretanto, eles podem ser considerados polímeros de suas unidades lipídicas individuais.

Diferentes tipos de lipídeos desempenham diversos papéis nos organismos vivos:

- As gorduras e os óleos armazenam energia.
- Os fosfolipídeos desempenham papéis estruturais importantes nas membranas celulares.
- Os carotenoides ajudam as plantas a capturar energia solar.
- Os esteroides e os ácidos graxos modificados desempenham papéis regulatórios como hormônios e vitaminas.
- A gordura serve como isolante térmico no corpo dos animais.
- Um revestimento lipídico envolve os nervos e age como isolante elétrico.
- Óleo ou ceras na superfície da pele, pelo e penas repelem a água.

Figura 3.18 Síntese de um triglicerídeo Em organismos vivos, a reação que forma os triglicerídeos é mais complexa, mas o resultado final está demonstrado aqui.



As gorduras e os óleos armazenam energia

Quimicamente, as gorduras e os óleos são *triglicerídeos*, também conhecidos como *lipídeos simples*. Os triglicerídeos sólidos em temperatura ambiente (20°C) são chamados de **gorduras**, e os líquidos em temperatura ambiente são chamados de **óleos**. Dois tipos de blocos construtores compõem os triglicerídeos: *ácidos graxos* e *glicerol*. O **glicerol** é uma molécula pequena com três grupos hidroxila (–OH) (logo é um álcool). Os **ácidos graxos** são uma longa cadeia hidrocarbonada apolar e um grupo funcional polar carboxila (–COOH). Um **triglicerídeo** contém três moléculas de ácidos graxos e uma molécula de glicerol. O grupo carboxila de um ácido graxo pode reagir com o grupo hidroxila do glicerol, resultando em uma ligação covalente chamada de **ligação éster** e água. (Figura 3.18).

Os três ácidos graxos numa molécula de triglicerídeo não necessitam ter todos o mesmo comprimento de cadeia carbonada ou estrutura:

- Em ácidos graxos **saturados**, todas as ligações entre os átomos de carbono em uma cadeia hidrocarbonada são ligações simples – não existem ligações duplas. Ou seja, todas as conexões são saturadas com átomos de hidrogênio (Figura 3.19A). Essas moléculas de ácidos graxos são relativamente rígidas e lineares, e se adaptam fortemente umas às outras, como os vários lápis de uma caixa.
- Em ácidos graxos **insaturados**, a cadeia de hidrocarbonetos contém uma ou mais duplas ligações. O ácido oleico, por exemplo, é um ácido graxo *monoinsaturado* com uma dupla ligação próxima ao meio da cadeia hidrocarbonada, que causa uma dobra na molécula (Figura 3.19B). Alguns ácidos graxos têm mais de uma ligação dupla e dobras múltiplas; eles são ácidos graxos *poliinsaturados*. Essas dobras previnem as moléculas de gordura insaturada de interagirem fortemente.

As dobras nas moléculas de ácidos graxos são importantes na determinação da fluidez e do ponto de fusão de um lipídeo. Os triglicerídeos das gorduras animais tendem a ter muitos ácidos graxos saturados de cadeia longa, interagindo fortemente; essas gorduras são em geral sólidas à temperatura ambiente e têm um alto ponto de fusão. Os triglicerídeos das plantas, como óleo de milho, tendem a ter ácidos graxos insaturados ou curtos. Devido a essas dobras, esses ácidos graxos interagem de forma menos compacta e apresentam um baixo ponto de fusão; esses triglicerídeos são normalmente líquidos em temperatura ambiente.

Gorduras e óleos são excelentes armazenadores de energia. Em 1900, o engenheiro alemão Rudolf Diesel usou óleo de amendoim para fazer funcionar um de seus primeiros motores de automóvel, e recentemente houve o ressurgimento da tecnologia do biodiesel. Uma bem sucedida aplicação converte o óleo de cozinha usado em “combustível de batatas fritas”.

Os fosfolipídeos formam membranas biológicas

Os lipídeos e a água não interagem; quando água e lipídeos se misturam, formam duas fases distintas. Muitas substâncias biologicamente importantes – íons, açúcares e aminoácidos livres – solúveis em água mostram-se insolúveis em lipídeos.

Como os triglicerídeos, os **fosfolipídeos** contêm ácidos graxos ligados ao glicerol por ligações ésteres. Em fosfolipídeos, entretanto, qualquer um dos diversos compostos contendo fosfato substitui um dos ácidos graxos (Figura 3.20A). O grupo funcional

fosfato tem carga elétrica negativa, então essa porção da molécula é hidrofílica, atraindo moléculas polares de água. Já os dois ácidos graxos são hidrofóbicos, agregando-se distantes da água.

Em ambiente aquoso, os fosfolipídeos se organizam em fila de forma que as “caudas” hidrofóbicas e apolares interajam fortemente, e as “cabeças” contendo fosfato fiquem voltadas para fora, onde atuam com a água. Os fosfolipídeos assim formam uma **bicamada**, uma folha com duas moléculas de espessura, da qual a água é excluída (Figura 3.20B). As membranas biológicas têm esse tipo de estrutura em bicamada lipídica; dedicaremos todo o Capítulo 5 às suas funções biológicas.

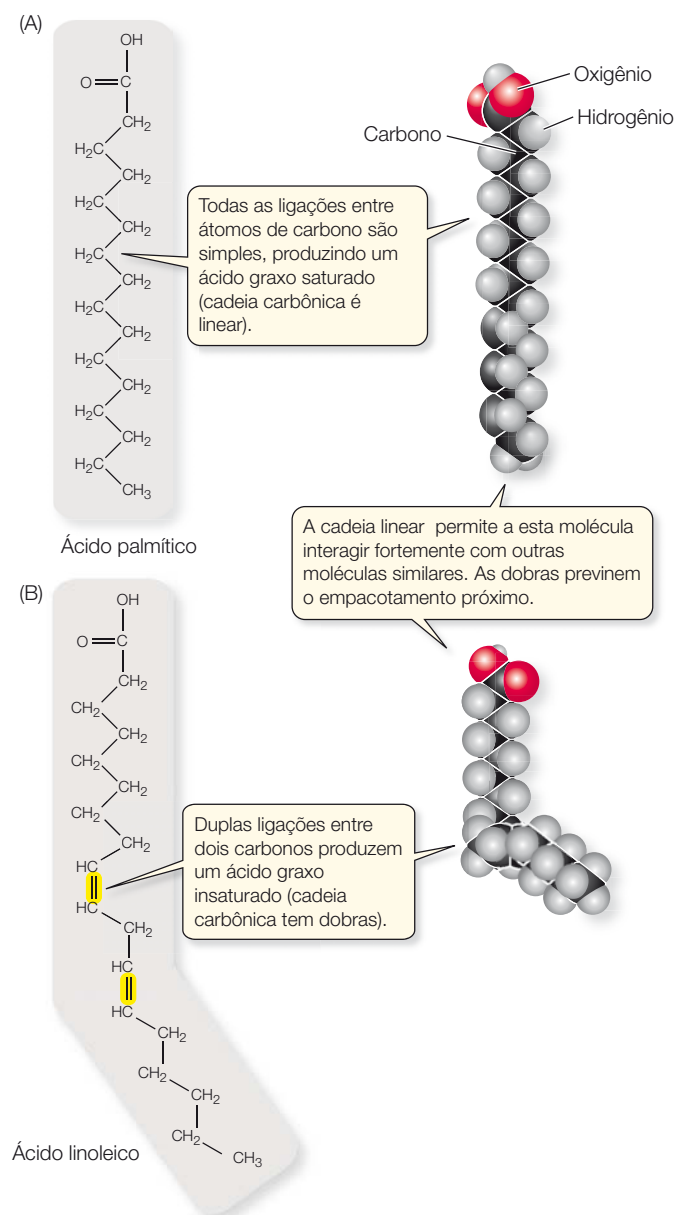


Figura 3.19 Ácidos graxos saturados e insaturados (A) A cadeia hidrocarbonada linear de um ácido graxo saturado permite à molécula interagir fortemente com outras moléculas similares. (B) Em ácidos graxos insaturados, dobras na cadeia previnem empacotamento próximo. Note a convenção nos modelos moleculares de preenchimento espacial aqui demonstrados: cinza, H; vermelho, O; preto, C.

(A) Fosfatidilcolina

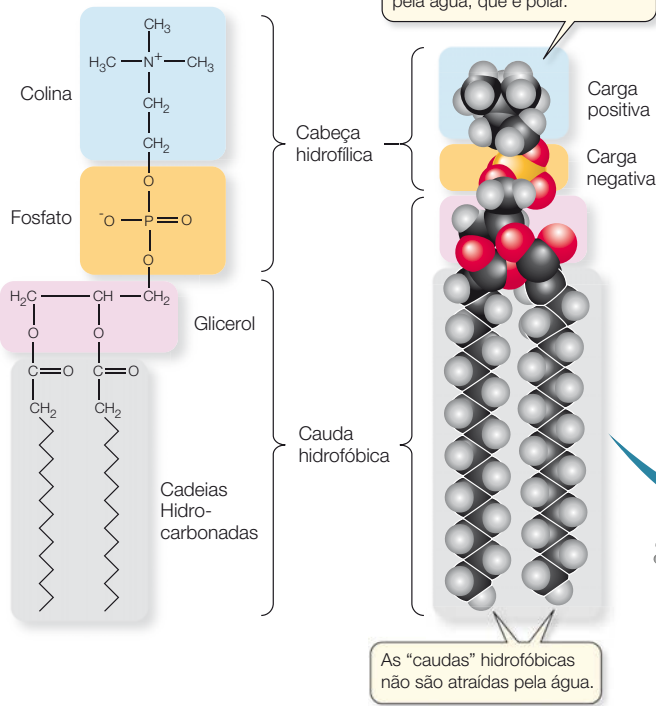
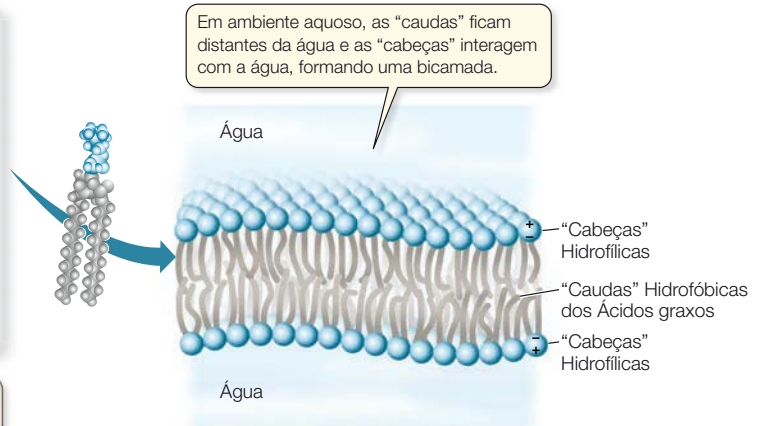


Figura 3.20 Fosfolipídeos (A) Fosfatidilcolina (lecitina) demonstra a estrutura de uma molécula de fosfolipídeo. Em outros fosfolipídeos, os aminoácidos serina, o açúcar álcool inositol ou outros compostos substituem a colina. (B) Em ambiente aquoso, as interações hidrofóbicas unem as "caudas" de fosfolipídeos no interior de uma bicamada de fosfolipídeo. As "cabeças" hidrofílicas estão voltadas para fora em ambos os lados da bicamada, onde interagem com as moléculas de água ao redor.

(B) Bicamada de fosfolipídeo



Nem todos os lipídeos são triglicerídeos

Certas classes de lipídeos não se baseiam na estrutura glicerol-ácido graxo. Por serem constituídas amplamente de carbono e hidrogênio e serem apolares, estas moléculas ainda classificam-se como lipídeos.

CAROTENOIDES Os *carotenoides* são uma família de pigmentos absorventes de luz encontrados nas plantas e nos animais. O beta-caroteno (β -caroteno) é um pigmento que fixa a energia solar nas folhas durante a fotossíntese. Nos humanos, uma molécula de β -caroteno pode ser degradada em duas moléculas de vitamina A (Figura 3.21), a partir das quais produzimos o pigmento rodop-

sina, necessário para a visão. Os carotenoides são responsáveis pelas cores das cenouras, dos tomates, das abóboras, das gemas de ovo e da manteiga.

ESTEROIDES Os *esteroides* são uma família de compostos orgânicos cujos anéis múltiplos compartilham carbonos (Figura 3.22). O esteroide colesterol é um importante constituinte das membranas. Outros esteroides funcionam como hormônios, sinais químicos que transportam mensagens de uma parte do corpo para outra (ver Capítulo 47). Sintetizado no fígado, o colesterol é o material inicial para a produção de testosterona e de outros hormônios esteroides, bem como de sais biliares que ajudam a emulsificar gorduras da dieta, o que permite que possam ser digeridas. O colesterol é absorvido de alimentos como leite, manteiga e gorduras animais.

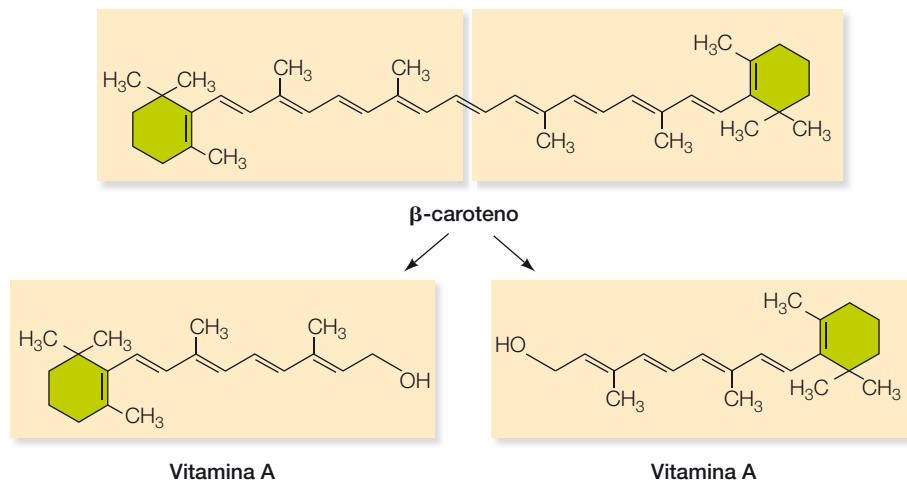
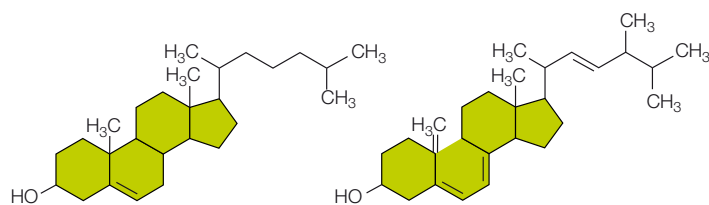
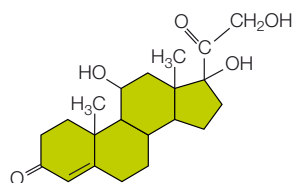


Figura 3.21 O β -caroteno é fonte de vitamina A O carotenoide β -caroteno é simétrico ao redor da sua dupla ligação central; quando a ligação é quebrada o resultado são duas moléculas de vitamina A. A fórmula estrutural simplificada usada aqui é a taquigrafia química padrão para moléculas orgânicas grandes com muitos átomos de carbono. Fórmulas estruturais estão simplificadas por omitir o C (indicando um átomo de carbono) nas intersecções das linhas representando ligações covalentes. Átomos de hidrogênio (H) para preencher todos os sítios de ligação disponíveis em cada C são considerados.

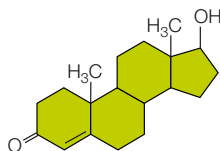


O **colesterol** é um constituinte de membranas e é a fonte de hormônios esteroides.

A **vitamina D₂** pode ser produzida na pele pela ação da luz sobre um derivado do colesterol.



O **cortisol** é um hormônio secretado pelas glândulas adrenais.

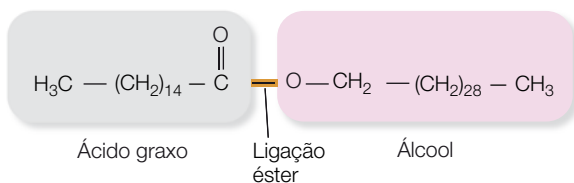


A **testosterona** é um hormônio sexual masculino.

Figura 3.22 Todos os esteroides têm a mesma estrutura em anel Os esteroides demonstrados aqui, todos importantes em vertebrados, compõem-se de carbono e hidrogênio e são altamente hidrofóbicos. Entretanto, pequenas variações químicas, como a presença ou ausência de um grupo hidroxila, podem produzir enormes diferenças funcionais entre estas moléculas.

VITAMINAS As **vitaminas** são moléculas pequenas não sintetizadas no corpo e devem ser adquiridas de fontes dietéticas (ver Capítulo 56). Por exemplo, a vitamina A é formada a partir do β -caroteno encontrado em vegetais verdes e amarelos (Figura 3.21). Em humanos, a deficiência de vitamina A causa perda de turgidez na pele, nos olhos e nas superfícies corporais internas; crescimento e desenvolvimento retardado; e cegueira noturna, sintoma de diagnóstico para a deficiência. As vitaminas D, E e K também são lipídeos.

CERAS O brilho do cabelo humano não existe somente para propósitos cosméticos. Glândulas na pele secretam uma camada de cera que repele a água e mantém o cabelo flexível. Os pássaros que vivem próximos à água têm uma camada de cera semelhante sobre suas penas. As folhas brilhantes do azevinho, comuns nos feriados de inverno, têm também essa camada. Finalmente, as abelhas fabricam os favos a partir de cera. Todas as ceras têm a mesma estrutura básica: são formadas por uma ligação éster entre um ácido graxo saturado de cadeia longa e um álcool de cadeia longa saturado. O resultado é uma molécula muito longa, com 40 a 60 grupos CH_2 . Por exemplo, aqui está a estrutura da cera da abelha:



A estrutura altamente apolar contribui para a impermeabilidade da cera à água.

3.4 RECAPITULAÇÃO

Os lipídeos são moléculas apolares compostas amplamente de carbono e hidrogênio. São importantes no armazenamento de energia e estruturas biológicas. As membranas celulares contêm fosfolipídeos, compostos de ácidos graxos hidrofóbicos ligados ao glicerol e a um grupo fosfato hidrofílico.

- Você pode desenhar as estruturas moleculares de ácidos graxos e glicerol e demonstrar como eles se ligam para formar um triglicerídeo? Ver p. 55 e Figura 3.18.
- Qual é a diferença entre gorduras e óleos? Ver p. 55.
- Você pode explicar como a natureza polar dos fosfolipídeos resulta na formação da bicamada? Ver p. 55 e Figura 3.20.
- Por que os esteroides e algumas vitaminas são classificados como lipídeos? Ver p. 56-57.

Embora todas as grandes moléculas discutidas neste capítulo sejam encontrados apenas nos organismos vivos, a classe final de moléculas biológicas que discutiremos é especialmente ligada ao mundo vivo. A função dos ácidos nucleicos não é nada menos que a transmissão do “protótipo” da vida para cada novo organismo.

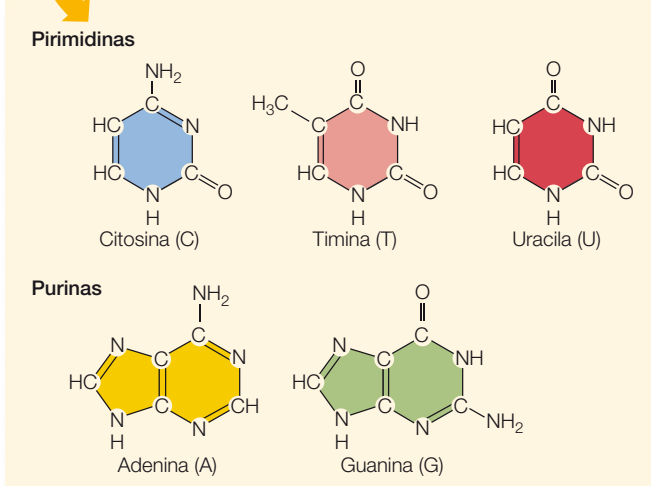
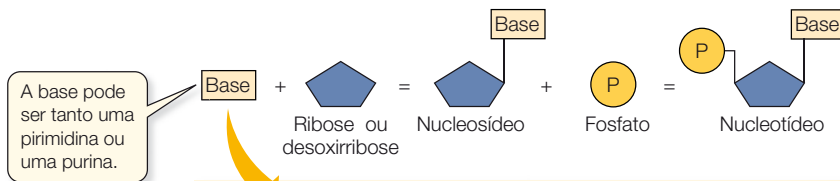
3.5 Quais são as estruturas químicas e funções dos ácidos nucleicos?

Os **ácidos nucleicos** são polímeros especializados no armazenamento, na transmissão e no uso da informação genética. Existem dois tipos de ácidos nucleicos: o **DNA** (ácido desoxirribonucleico) e o **RNA** (ácido ribonucleico). O DNA é uma macromolécula que codifica a informação hereditária e a passa de geração a geração. Por meio de um RNA intermediário, a informação codificada no DNA é também usada para especificar a sequência de aminoácidos das proteínas. A informação flui de DNA para DNA na reprodução, mas nas atividades não reprodutivas da célula, a informação flui de DNA para RNA e para proteínas, que, finalmente, desempenham suas funções vitais.

Os nucleotídeos são os blocos construtores dos ácidos nucleicos

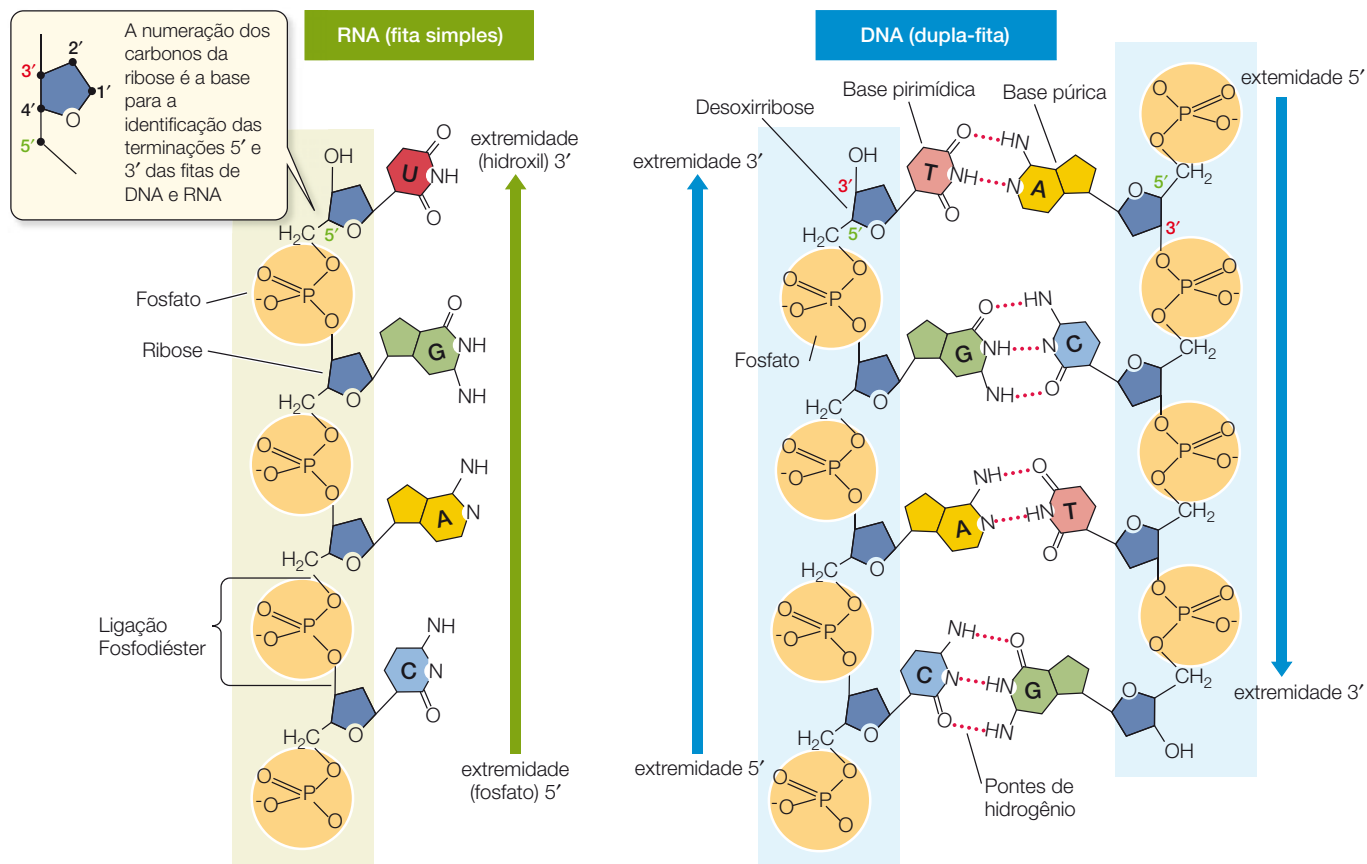
Os ácidos nucleicos são compostos de monômeros chamados **nucleotídeos**, cada um dos quais consiste em um açúcar pentose, um grupo fosfato e uma **base** contendo nitrogênio. As bases dos ácidos nucleicos têm uma das duas formas químicas: uma estrutura em um anel único chamada de **pirimidina** ou uma estrutura de anéis fundidos chamada de **purina** (Figura 3.23). (As moléculas que consistem em um açúcar pentose e de uma base nitrogenada, mas sem grupo fosfato, são chamadas *nucleosídeos*). No DNA, o açúcar pentose é a **desoxirribose**, a qual difere da **ribose** encontrada no RNA por um átomo de oxigênio (ver Figura 3.14.)

Figura 3.23 Os nucleotídeos têm três componentes Um nucleotídeo consiste em um grupo fosfato, um açúcar pentose (ribose ou desoxirribose) e uma base contendo nitrogênio, todos unidos por ligações covalentes. As bases nitrogenadas têm duas diferentes formas químicas: as purinas com dois anéis fundidos e as pirimidinas, mais pequenas, com um único anel.



Tanto no RNA quanto no DNA, o esqueleto da molécula consiste em açúcares pentoses e fosfatos alternados (açúcar – fosfato – açúcar – fosfato). As bases estão ligadas aos açúcares e se projetam a partir da cadeia (**Figura 3.24**). Os nucleotídeos são unidos por **ligações fosfodiésteres**, entre o açúcar de um nucleotídeo e o fosfato do próximo (“di-éster” refere-se às duas ligações formadas por grupos –OH reagindo com grupos fosfato

Figura 3.24 Distinguindo as características de DNA e RNA O RNA é geralmente uma fita simples. O DNA geralmente consiste em duas fitas correndo em direções opostas.



No RNA, as bases são ligadas à ribose. As bases em RNA são as purinas adenina (A) e guanina (G) e as pirimidinas citosina (C) e uracila (U).

No DNA, as bases estão ligadas à desoxirribose, e a base timina (T) é encontrada, em vez de uracila; pontes de hidrogênio entre purinas e pirimidinas unem as duas fitas de DNA.

ácidos). Os grupos fosfato ligam o carbono 3 de um açúcar pento- se ao carbono 5 do açúcar adjacente.

A maioria das moléculas de RNA consiste em somente uma única cadeia polinucleotídica. O DNA, entretanto, comumente apresenta dupla-fita: tem duas cadeias polinucleotídicas unidas por pontes de hidrogênio entre as suas bases nitrogenadas. As duas fitas de DNA correm em direções opostas. Você pode ver o que isso significa desenhando uma flecha através do grupo fosfato, a partir do carbono 5 até o carbono 3 na próxima ri-bose. Fazendo isso em ambas as fitas de DNA na Figura 3.24, as flechas apontarão em direções opostas. Essa orientação *antiparalela* é necessária para as fitas completarem-se no espaço tridimensional.

A singularidade de um ácido nucleico reside na sua sequência de nucleotídeos

Somente quatro bases nitrogenadas – e assim apenas quatro nucleotídeos – encontram-se no DNA. As bases do DNA e suas abreviações são **adenina (A)**, **citossina (C)**, **guanina (G)** e **timina (T)**. Uma chave para a **compreensão** das estruturas e das funções dos ácidos nucleicos é o princípio do **pareamento de bases complementares**. Na dupla-hélice do DNA, a adenina e a timina pareiam-se sempre (A-T), e a citossina e a guanina pareiam-se sempre (C-G).

O pareamento das bases é complementar devido a três fatores: os locais correspondentes para pontes de hidrogênio em cada base; a geometria do esqueleto açúcar-fosfato, que traz bases opostas próximas umas das outras; e os tamanhos moleculares das bases pareadas. A adenina e a guanina são purinas; a timina e a citossina são pirimidinas. O pareamento de uma purina grande com uma pirimidina pequena assegura consistência e estabilidade para a molécula em dupla-fita do DNA.

O RNA é constituído de quatro diferentes monômeros, mas seus nucleotídeos diferem daqueles encontrados no DNA. No RNA, os nucleotídeos são denominados *ribonucleotídeos* (aqueles no DNA são *desoxirribonucleotídeos*). Eles contêm ribose mais do que desoxirribose e, ao invés da base timina, o RNA usa a base **uracila (U)**. As outras três bases são as mesmas do DNA (**Tabela 3.3**).

Embora o RNA esteja geralmente em fita simples, pontes de hidrogênio complementares entre os ribonucleotídeos desempenham papéis importantes em determinar as formas tridimensionais de alguns tipos de moléculas de RNA (**Figura 3.25**). O pareamento de bases complementares pode também ocorrer

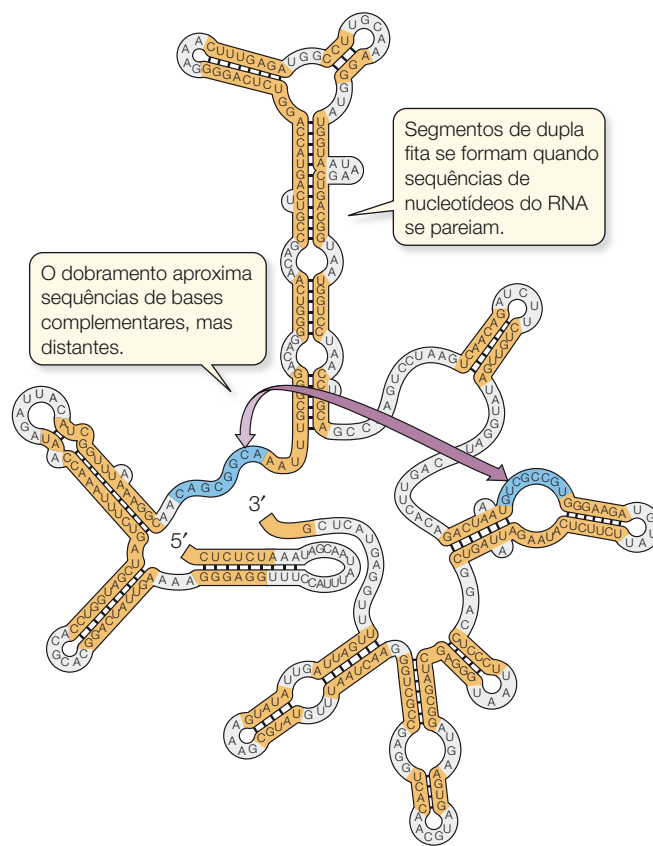


Figura 3.25 Pontes de hidrogênio no RNA Quando uma fita simples de RNA se dobra sobre si, pontes de hidrogênio podem estabilizá-la em formato tridimensional.

entre ribonucleotídeos e desoxinucleotídeos. No RNA, a guanina e a citossina pareiam (G-C) como no DNA, mas a adenina pareia com a uracila (A-U). A adenina em uma fita de RNA pode parear tanto com a uracila (em outra fita de RNA) como com a timina (em uma fita de DNA).

O DNA é uma molécula puramente *informativa*. A informação no DNA é codificada nas sequências de bases carregadas nas suas fitas – a informação codificada na sequência TCAG é diferente daquela na sequência CCAG. O RNA é o intermediário entre DNA e proteínas. O dogma central da biologia molecular é que o DNA codifica para a produção de RNA, e o RNA codifica para a produção de proteínas, como visto no Capítulo 12.

A aparência física tridimensional do DNA é marcadamente uniforme. O segmento demonstrado na **Figura 3.26** poderia ser de qualquer molécula de DNA. As variações no DNA – a diferente sequência de bases – são estritamente internas. Por meio de pontes de hidrogênio, as cadeias polinucleotídicas complementares pareiam e se dobram para formar uma **dupla-hélice**. Quando comparada com as complexas e variadas estruturas terciárias das proteínas, essa uniformidade torna-se surpreendente. Mas esse contraste estrutural faz sentido em termos de funções dessas duas classes de macromoléculas. Conforme vimos na Seção 3.2, as formas singulares e diferentes das proteínas permitem que essas macromoléculas reconheçam moléculas-“alvo” específicas. A singular forma tridimensional de cada proteína coincide com pelo menos uma porção da superfície de suas moléculas-alvo. Em outras palavras, a diversidade estrutural nas moléculas às quais as

TABELA 3.3 Distinguindo RNA de DNA

ÁCIDO NUCLEICO	AÇÚCAR	BASE
RNA	Ribose	Adenina
		Citossina
		Guanina
		Uracila
DNA	Desoxirribose	Adenina
		Citossina
		Guanina
		Timina

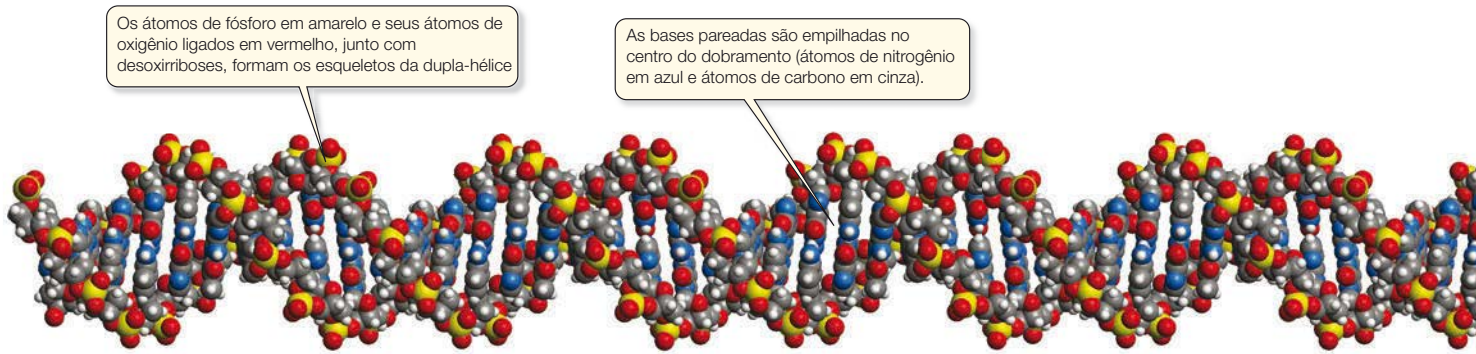


Figura 3.26 A dupla-hélice do DNA Os esqueletos das duas fitas em uma molécula de DNA dobram-se em uma dupla-hélice. Neste modelo, os pequenos átomos brancos representam hidrogênios.

proteínas se ligam requer diversidade correspondente na estrutura das proteínas. Diversidade estrutural também é necessária no DNA. Entretanto, a diversidade de DNA encontra-se com maior clareza na estrutura de sua sequência de bases do que na forma física da molécula.

O DNA revela relações evolucionárias

Desde que o DNA transporta a informação hereditária entre gerações, uma série de moléculas teóricas de DNA com mudanças nas suas sequências de bases estendem-se através das linhagens de todos os organismos até o início dos tempos evolucionários.

Espécies vivas proximamente relacionadas deveriam ter sequências de bases mais similares do que espécies, consideradas por outros critérios, mais distantes. Detalhes de como os cientistas utilizam essas informações são discutidos no Capítulo 25.

A elucidação e o exame das sequências de bases de DNA confirmaram muitas das relações evolucionárias que têm sido inferidas a partir das comparações mais tradicionais das estruturas corporais ou dos estudos da bioquímica e da fisiologia. Por exemplo, o parente vivo mais próximo dos humanos (*Homo sapiens*) é o chimpanzé (gênero *Pan*) e, de fato, o DNA do chimpanzé compartilha mais de 98% da sua sequência de bases do DNA com o DNA humano. Frequentemente, os cientistas usam análises de DNA para elucidar relações evolucionárias quando estudos de estrutura não são possíveis ou não são conclusivos. Por exemplo, estudos de DNA revelaram uma relação próxima entre o estorninho e um outro pássaro (*Mimus polyglottos*) que não era esperada com base na suas anatomias ou comportamentos.

Os nucleotídeos têm outros papéis importantes

Os nucleotídeos são mais do que apenas os blocos construtores dos ácidos nucleicos. Conforme descreveremos em capítulos posteriores, existem diversos nucleotídeos com outras funções:

- ATP (adenosina trifosfato) age como transportador de energia em muitas reações bioquímicas (ver Seção 6.2).
- GTP (guanosina trifosfato) serve como fonte de energia, especialmente na síntese proteica. Possui também papel na transferência da informação do ambiente para as células (ver Seção 15.2).
- AMPc (adenosina monofosfato cíclico), nucleotídeo especial com uma ligação adicional entre o açúcar e os grupos fosfato, é essencial em muitos processos, incluindo as ações de hormônios e a transmissão da informação pelo sistema nervoso (ver Seção 15.3).

3.5 RECAPITULAÇÃO

Os ácidos nucleicos DNA e RNA são polímeros de nucleotídeos. A sequência de nucleotídeos no DNA transporta a informação usada pelo RNA a fim de especificar a estrutura primária da proteína. A informação genética no DNA é passada de geração a geração e pode ser estudada para compreender relações revolucionárias.

- Você pode descrever as diferenças-chave entre DNA e RNA? E entre purinas e pirimidinas? Ver p. 57-59, Figura 3.23 e Tabela 3.3.
- Você compreende como as purinas e pirimidinas pareiam em ligações complementares entre nucleotídeos? Ver p.59 e Figura 3.24.
- Como pode existir uma imensa diversidade de moléculas de DNA mesmo parecendo estruturalmente similares? Ver p. 59-60.

Vimos que os ácidos nucleicos RNA e DNA possuem o protótipo da vida, e que a herança dessas macromoléculas se origina do começo do tempo evolucionário. Mas de onde os ácidos nucleicos vieram? Como os blocos construtores da vida originalmente surgiram?

3.6 Como começou a vida na Terra?

Conforme vimos no Capítulo 2, os organismos vivos são compostos dos mesmos elementos atômicos que o universo inanimado – os 92 elementos da tabela periódica que ocorrem naturalmente (ver Figura 2.2). Mas os arranjos desses átomos em moléculas são especiais nos sistemas biológicos. Você não encontrará moléculas biológicas em matéria inanimada (a menos que elas venham de um organismo que já foi vivo).

Como começou a vida na Terra, ou onde, é impossível saber com certeza. Existem duas teorias científicas prevalentes para a origem da vida na Terra:

- As moléculas da vida chegaram na Terra por fontes extraterrestres.
- A vida é o resultado da evolução química na Terra.

A vida poderia ter vindo de fora da Terra?

Como mencionado no Capítulo 2, tem-se pensado que os cometas trouxeram para a Terra a maioria da água geradora de vida. Recentemente, tem-se tornado aparente que diversos meteoritos de Marte aterrissaram na Terra e que alguns desses meteoritos apresentavam algumas moléculas possivelmente características da vida.

Em 1984, uma pedra do tamanho de uma bola de softbol* foi encontrada no gelo, na região de Allan Hills, na Antártida. ALH 84001, como veio a ser chamado, tratava-se de um meteorito de Marte (Figura 3.27). Sabemos isso porque a composição dos gases encontrados dentro da pedra era idêntica à atmosfera marciana, que é diferente da atmosfera terrestre. Análises minerais e de determinação de datas, por meio de compostos radioativos, indicaram que o ALH 84001 tinha 4,5 bilhões de anos e foi removido da superfície de Marte 16 há milhões de anos, aterrissando na Terra recentemente, há cerca de 13.000 anos.

Os cientistas encontraram água escondida abaixo da superfície do meteorito marciano. Essa descoberta não era surpreendente, considerando que as observações da superfície demonstravam



Figura 3.27 Havia vida aqui? O meteorito ALH 84001, que veio de Marte e aterrissou na Antártida, contém diversas características da vida.

* N de T. O diâmetro da bola de softbol é maior que a de beisebol (30,4 cm contra 22,8 cm), esportes “irmãos” por suas características, mas com regras próprias. O softbol é considerado um beisebol *light*.

que água líquida foi abundante uma vez em Marte (ver Capítulo 2). Como a água é essencial para a vida, os cientistas buscaram no meteorito outros sinais da sua presença. Suas análises revelaram duas substâncias relacionadas aos sistemas vivos. Primeiro, moléculas de carbonos simples, chamadas hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, estavam presentes em pequenas quantidades; essas substâncias podem ser formadas por organismos vivos. Segundo, cristais de magnetite, um mineral de óxido de ferro produzido por muitos organismos vivos na Terra, foi encontrado no interior da pedra.

O ALH 84001 não foi o único visitante do espaço a demonstrar sinais químicos de vida. Em fragmentos de um meteorito que caiu ao redor da cidade de Murchinson, Austrália, em 1969, foram constatadas moléculas que são exclusivas de seres vivos, incluindo purinas, pirimidinas e aminoácidos. Embora a presença dessas moléculas nas pedras pode sugerir que essas pedras abrigavam vida, isso não prova que existiam seres vivos nas pedras quando elas aterrissaram na Terra.

A maioria dos cientistas acha difícil acreditar que um organismo em um meteorito sobreviveria aos milhares de anos viajando através do espaço e ao intenso calor na passagem pela atmosfera terrestre. Todavia, existe evidência de que o calor dentro de alguns meteoritos pode não ter sido tão severo. Quando a pedra pouco magnetizada é aquecida, ela reorienta seu campo magnético para alinhar com o campo magnético ao redor dela. No caso do ALH 84001, isto teria sido o campo magnético da Terra, que teria afetado o meteorito à medida que ele se aproximou de nosso planeta. Medidas cuidadosas indicam que a reorientação ocorreu na superfície da pedra, mas não ocorreu no interior. Os cientistas que obtiveram essas medidas, Benjamim Weiss e Joseph Kirschvink, do California Institute of Technology, concluíram que dentro do ALH 84001 a temperatura nunca foi superior a 40°C durante a sua viagem para a Antártida. Essa evidência torna mais plausível uma longa viagem interplanetária dos organismos vivos.

A vida se originou na Terra?

Terra e Marte tiveram água e outras moléculas que poderiam, sob condições corretas, formar as grandes moléculas únicas para a vida. A segunda teoria da origem da vida na Terra, a **evolução química**, sustenta que condições na Terra primitiva conduziram à emergência dessas moléculas. Os cientistas têm tentado reconstituir aquelas condições primitivas.

No início do século XX, pesquisadores propuseram que existia pouco gás oxigênio (O₂) na primeira superfície terrestre. O gás oxigênio se acumulou em quantidade por cerca de 2,5 bilhões de anos, como um subproduto da fotossíntese realizada por formas de vida unicelulares (hoje, o oxigênio constitui 21% de nossa atmosfera). Na década de cinquenta, Stanley Miller e Harold Urey criaram uma atmosfera experimental contendo os gases que eles acreditavam terem estado presentes na atmosfera primitiva da Terra: hidrogênio, amônia, metano e vapor de água. Através desses gases, eles passaram uma faísca para simular o relâmpago, então resfriaram o sistema de forma que os gases condensassem e coletassem uma solução aquosa, ou “oceano” (Figura 3.28). Em poucos dias, o sistema continha numerosas moléculas complexas, incluindo aminoácidos, purinas e pirimidinas – alguns dos blocos construtores da vida.

Em ciência, um experimento e seus resultados devem ser constantemente reinterpretados, repetidos e refinados à medida que mais conhecimento se acumula. Os resultados de Miller-Urey têm sofrido diversos refinamentos:

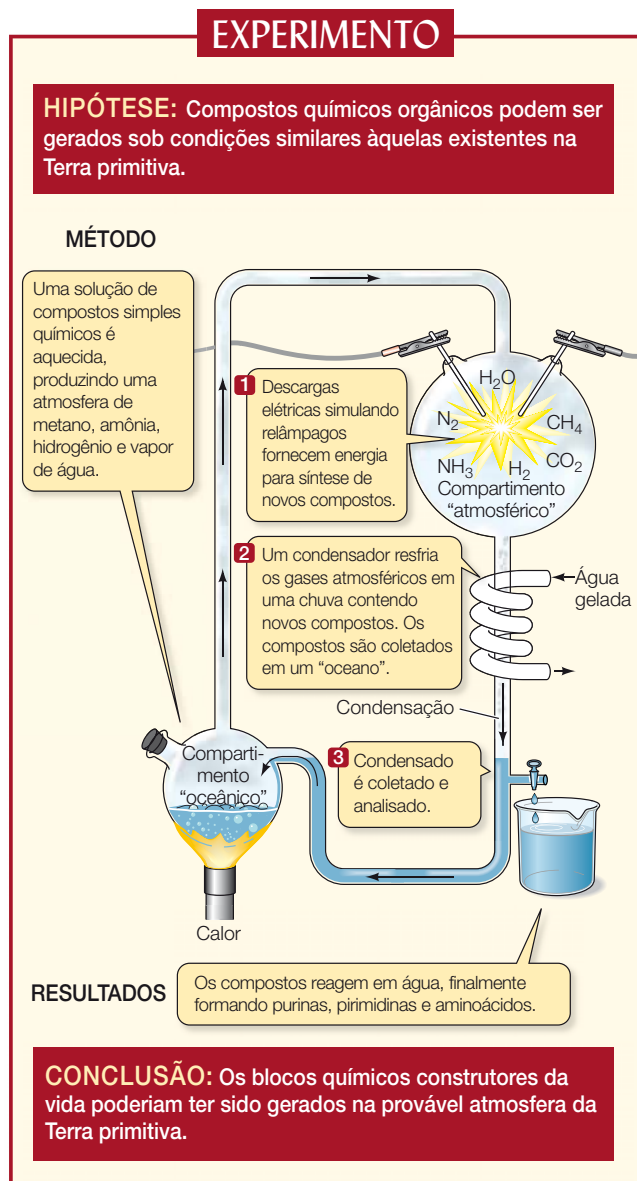


Figura 3.28 Síntese de moléculas prebióticas em uma atmosfera experimental O experimento de Miller-Urey simulou condições atmosféricas possíveis na Terra primitiva e obteve alguns dos blocos construtores dos sistemas biológicos.

PESQUISA ADICIONAL: Se o O_2 estivesse presente na atmosfera neste experimento, que resultados você preveria?

- Os aminoácidos em seres vivos são sempre L-isômeros (ver Figura 3.2 e p. 40). Entretanto, uma mistura de D- e L-isômeros apareceu nos aminoácidos formados nos ensaios de Miller-Urey. Experimentos recentes demonstraram que processos naturais poderiam ter selecionado os L-aminoácidos desta mistura. Alguns minerais, especialmente pedras baseadas em calcita, possuem estruturas em cristal únicas que seletivamente se ligam a aminoácidos D ou L, separando os dois. Tais pedras eram abundantes na Terra primitiva.

- As visões dos cientistas sobre a atmosfera original da Terra mudaram desde que Miller e Urey fizeram seu experimento. Existe abundante evidência de importantes erupções vulcânicas há 4 bilhões de anos, que teriam liberado dióxido de carbono (CO_2), nitrogênio (N_2), sulfeto de hidrogênio (H_2S) e dióxido de enxofre (SO_2) para a atmosfera. Experimentos usando esses gases, além daqueles do experimento original, produziram muitas moléculas.

A evolução química pode ter conduzido à polimerização

O experimento de Miller-Urey e outros que o seguiram forneceram um plausível cenário para a formação dos blocos construtores da vida. O próximo passo seria a condensação desses monômeros em polímeros (ver Figura 3.4). Isso induz um problema principal, porque na água os polímeros pequenos tendem a se hidrolisar em monômeros.

Os cientistas utilizam-se de sistemas-modelo para tentar simular condições (a maioria com baixo conteúdo de água), sob as quais os polímeros poderiam ser feitos:

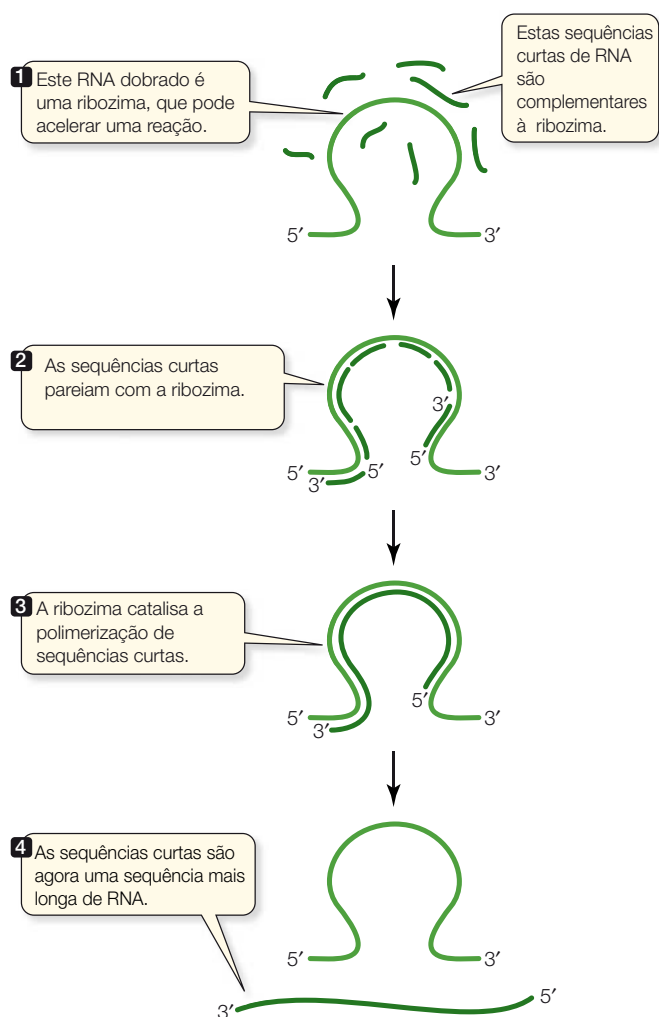
- Superfícies de minerais sólidos**, como a argila finamente dividida, tem grande área de superfície, e os silicatos dentro dos minerais podem ter sido catalíticos (acelerado as reações) para as moléculas primitivas baseadas em carbono.
- As rachaduras hidrotérmicas** no fundo do oceano, onde água quente emerge a partir da crosta terrestre, contêm metais tais como ferro e níquel. Demonstrou-se que esses metais em laboratório catalisam a polimerização de aminoácidos na ausência de oxigênio.
- Piscinas de água quente** na beira dos oceanos, por evaporação, podem ter concentrado monômeros até o ponto em que a polimerização foi favorecida (a hipótese da "sopa primordial").

Independente da forma com que os estágios primitivos da evolução química ocorreram, eles resultaram na emergência de monômeros e polímeros que provavelmente permaneceram inalterados em suas estruturas e funções gerais por 3,8 bilhões de anos.

O RNA pode ter sido o primeiro catalisador biológico

A estrutura tridimensional de uma molécula de RNA dobrada apresenta uma superfície singular para o ambiente externo (ver Figura 3.25). Essas superfícies são tão específicas quanto as das proteínas. Assim como as formas das proteínas as permitem funcionar como catalisadores, acelerando reações que ordinariamente ocorrem muito devagar para serem biologicamente úteis, as formas tridimensionais e outras propriedades químicas de certas moléculas de RNA as permitem funcionar como catalisadores.

Os experimentos de Miller-Urey e outros na química pré-biótica produziram tanto aminoácidos quanto nucleotídeos. Os organismos podem sintetizar RNA e proteínas a partir desses monômeros. Todavia, se a síntese de proteína requer DNA e RNA e a síntese de ácidos nucleicos requer proteínas (enzimas), confrontamo-nos com uma questão do tipo ovo e galinha: quando a vida se originou, quem veio primeiro, as proteínas ou os ácidos nucleicos? A descoberta de RNAs catalíticos forneceu uma solução para esse dilema. Os RNAs catalíticos, chamados **ribozimas**, podem catali-



sar reações nos seus próprios nucleotídeos, bem como em outras substâncias celulares.

Dado que o RNA pode ser informacional (na sua sequência de nucleotídeos) e catalítico (devido à sua habilidade de criar formas únicas tridimensionais; ver Figura 3.25), tem sido hipotetizado que a vida primitiva existiu em um “mundo de RNA” – um mundo antes do DNA. Pensa-se que quando o RNA foi primeiramente feito, poderia ter agido como catalisador para sua própria replicação e o RNA para a síntese de proteínas. O DNA poderia eventualmente ter evoluído a partir do RNA. Algumas evidências laboratoriais suportam esse cenário:

- RNAs de diferentes sequências foram colocados em um tubo teste para se replicarem por si só. Tais ribozimas autorreplicativas aceleram a síntese de RNA em 7 milhões de vezes.
- No tubo teste, uma ribozima pode catalisar a organização de RNA curtos em uma molécula maior – o início de um modelo de RNA para a síntese de proteínas (Figura 3.29).
- Hoje, nos organismos vivos, a formação de ligações peptídicas (ver Figura 3.6) é catalisada por uma ribozima.

Figura 3.29 Um catalisador primitivo para a vida Esta reconstrução de laboratório demonstra que a ribozima (uma molécula de RNA dobrada) pode catalisar a polimerização de diversas cadeias de RNA curtas em uma molécula maior. Tal processo poderia ser um precursor para copiar ácidos nucleicos, essencial para sua duplicação e expressão.

- Em certos vírus chamados de retrovírus, existe uma enzima chamada transcriptase reversa, que catalisa a síntese de DNA a partir de RNA.

Enquanto essas evidências sugerem que o RNA poderia ter sido o primeiro polímero, cientistas estão longe de achar explicações plausíveis para as origens de outras moléculas grandes características da vida, como polissacarídeos, proteínas e lipídeos.

Experimentos invalidaram a geração espontânea da vida

A ideia de que a vida se originou de matéria não viva é agora novidade. De fato, muitas culturas e religiões têm descrições de tais eventos. Durante a Renascença (período de 1450 a 1700, que marcou o nascimento da ciência moderna), a maioria das pessoas pensava que ao menos algumas formas de vida surgiram repetidamente e diretamente de matéria inanimada, ou em decomposição, por geração espontânea. Por exemplo, sugeriu-se que os camundongos surgiam de roupas suadas colocadas em luz difusa; sapos vinham de solo úmido e moscas eram produzidas a partir da carne. Alguns cientistas, como o físico e poeta italiano Francesco Redi, entretanto, duvidaram dessas propostas. Redi afirmou que as moscas surgiam não por uma misteriosa transformação de carne em decomposição, mas de outras moscas e de ovos postos sobre a carne. Em 1668, Redi realizou um experimento científico, conceito relativamente novo naquele tempo, para testar sua hipótese. Ele dispôs diversos frascos contendo pedaços de carne.

- Um frasco continha carne exposta ao ar e às moscas.
- Um segundo frasco continha carne em um recipiente coberto com um fino tecido de forma que a carne era exposta ao ar, mas não às moscas.
- A carne no terceiro frasco estava em um recipiente vedado e, dessa forma, não estava exposta ao ar ou às moscas.

Como já hipotetizamos, Redi encontrou larvas, que então se transformaram em moscas, somente no primeiro frasco. O achado demonstrou que as larvas poderiam ocorrer apenas onde as moscas estavam presentes. A ideia de que um organismo complexo como uma mosca poderia aparecer de novo, a partir de uma substância não viva na carne ou a partir de “alguma coisa” no ar foi deixada de lado.

Com o advento do microscópio de Leeuwenhook em 1660, um vasto novo mundo biológico foi desvendado. Sob a observação microscópica, constatou-se que praticamente todo ambiente na Terra era virtualmente rico em pequenos organismos, como as bactérias. Alguns cientistas acreditavam que esses organismos cresceram espontaneamente a partir de seus ricos ambientes químicos. Experimentos do grande cientista francês Louis Pasteur invalidaram essa ideia, demonstrando que os microrganismos surgiam somente de outros microrganismos, e que um ambiente sem vida permanecia assim, a não ser que fosse contaminado com criaturas vivas (Figura 3.30).

Figura 3.30 Invalidando a geração espontânea da vida Os clássicos experimentos de Louis Pasteur demonstraram que, sob as condições hoje existentes na Terra, uma solução inanimada permanece sem vida, a menos que um organismo vivo a contamine.

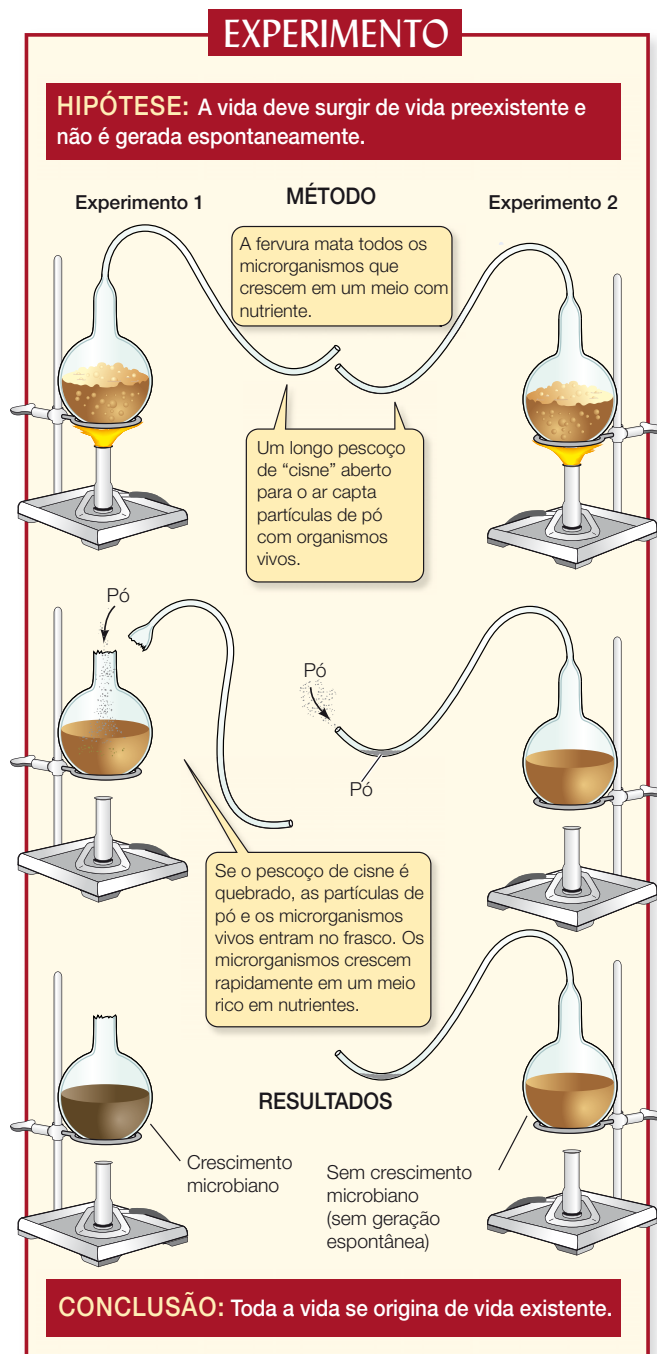
Os experimentos de Pasteur provaram que a vida não pode surgir de matéria não viva, mas os experimentos de Miller-Urey indicaram que isso pode ocorrer – ao menos ao nível molecular. De que forma podemos conciliar os resultados desses dois experimentos? Tenha em mente que os constituintes atmosféricos e planetários da Terra atualmente são muito diferentes daqueles da época prebiótica. O oxigênio na atmosfera atual degradaria muitas moléculas tão logo elas fossem formadas, e as fontes de energia que podem ter impulsionado aquelas reações químicas iniciais não mais dominam nosso planeta.

3.6 RECAPITULAÇÃO

Os compostos químicos da vida se originaram em qualquer lugar no universo ou poderiam ter evoluído na Terra. Sinais químicos de vida nos meteoritos de Marte tornam a primeira ideia plausível. Experimentos de laboratório suportam a segunda hipótese.

- Qual evidência experimental indica que a evolução química da vida poderia ter acontecido na Terra? Ver p. 61-62 e Figura 3.28.
- Você compreende o que é a polimerização? Revisando as macromoléculas descritas neste capítulo, você entende por que este processo químico é tão importante? Ver p. 62 e Figura 3.29.
- O experimento de Francesco Redi, descrito na página 63, é um dos mais antigos exemplos conhecidos do método científico. Você vê todos os elementos do método, como descrito na Seção 1.3, nesse experimento? Esses elementos estão presentes nos experimentos demonstrados nas Figuras 3.28 e 3.30?

As diversas formas de vida na Terra são compostas de blocos construtores químicos, incluindo átomos, pequenas moléculas e moléculas biológicas grandes. Mas, a partir dessa base molecular, emerge a célula: a estrutura que fundamenta a vida como a conhecemos hoje. É a célula que perpetua a vida. A célula é a base para a crença de Pasteur de que “toda a vida se origina da vida”. O próximo capítulo descreve a estrutura e função das células vivas.



RESUMO DO CAPÍTULO

3.1 Que tipos de moléculas caracterizam os organismos vivos?

As **macromoléculas** são **polímeros** construídos pela formação de ligações covalentes entre moléculas menores chamadas **monômeros**. As macromoléculas nos organismos vivos incluem polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos.

Os **grupos funcionais** são pequenos grupos de átomos consistentemente encontrados em uma variedade de diferentes macromoléculas. Os grupos funcionais têm propriedades químicas particulares, que eles conferem a qualquer molécula maior da qual fazem parte. [Rever Figura 3.1.](#)

Isômeros ópticos e estruturais têm os mesmos tipos e números de átomos, mas diferem nas suas estruturas e propriedades. [Rever Figura 3.2.](#)

As muitas funções de macromoléculas estão diretamente relacionadas a suas formas tridimensionais, que por sua vez resultam das sequências e propriedades químicas de seus monômeros.

Os monômeros são unidos por **reações de condensação**, que liberam uma molécula de água para cada ligação formada. As **reações de hidrólise** usam água para quebrar polímeros em monômeros. [Rever Figura 3.4.](#)

3.2 Quais são as estruturas químicas e as funções das proteínas?

As funções das proteínas incluem suporte, proteção, catálise, transporte, defesa, regulação e movimento.

Os **aminoácidos** são os monômeros a partir dos quais as proteínas são construídas. As propriedades dos aminoácidos dependem das suas **cadeias laterais** ou **grupos R**, que podem ser carregadas, polares ou hidrofóbicas. [Rever Tabela 3.2.](#)

As **ligações peptídicas** unem covalentemente aminoácidos a suas cadeias polipeptídicas. Essas ligações se formam por reações de condensação entre os grupos carboxila e amino. [Rever Figura 3.6.](#)

A **estrutura primária** de uma proteína é a sequência de aminoácidos da cadeia. Essa cadeia é dobrada em uma **estrutura secundária**, que em diferentes partes da proteína pode ser uma **α -hélice** ou uma **folha β -pregueada**. [Rever Figura 3.7A-C.](#)

Pontes dissulfeto e interações não covalentes entre aminoácidos permitem que a cadeia polipeptídica se dobre em uma **estrutura terciária** tridimensional e que cadeias múltiplas interajam em uma **estrutura quaternária**. [Rever Figura 3.7D, E.](#)

A forma e a estrutura específicas de uma proteína permitem a ela se ligar não covalentemente a outras moléculas frequentemente chamadas de **ligantes**.

Calor, alterações de pH ou certos compostos químicos podem resultar em **desnaturação** da proteína, que envolve a perda da estrutura terciária e/ou secundária, bem como da sua função biológica. [Rever Figura 3.11.](#)

As **chaperoninas** auxiliam o dobramento das proteínas, prevenindo interações com ligantes inadequados. [Rever Figura 3.12.](#)

3.3 Quais são as estruturas químicas e as funções dos carboidratos?

Os **carboidratos** contêm carbono ligado a átomos de hidrogênio e oxigênio em uma razão de 1:2:1 ou $(\text{CH}_2\text{O})_n$.

Os **monossacarídeos** são monômeros que constituem os carboidratos. **Hexoses**, como a **glicose**, são monossacarídeos de seis átomos de carbono; **pentoses** possuem cinco carbonos. [Rever Figura 3.14.](#)

As **ligações glicosídicas** de orientação espacial α ou β ligam monossacarídeos covalentemente em unidades maiores, como **dissacarídeos**, **oligosacarídeos** e **polissacarídeos**. [Rever Figura 3.15.](#)

O **amido** armazena energia em plantas. O amido e o **glicogênio** são formados por ligações α -glicosídicas entre monômeros de glicose e são distinguidos pela quantidade de ramificação que apresentam. Eles podem ser facilmente quebrados para liberar a energia armazenada.

A **celulose**, um polímero de glicose muito estável, é o componente principal das paredes celulares das plantas.

3.4 Quais são as estruturas químicas e as funções dos lipídeos?

Gorduras e **óleos** são **triglicerídeos**, compostos de três **ácidos graxos** covalentemente ligados a uma molécula de **glicerol** por **ligações ésteres**. [Rever Figura 3.18.](#)

Os ácidos graxos **saturados** têm uma cadeia hidrocarbonada sem duplas ligações. As cadeias hidrocarbonadas de ácidos graxos **insaturados** têm uma ou mais duplas ligações que inclinam a cadeia, tornando mais difícil a interação entre essas. [Rever Figura 3.19.](#)

Os **fosfolipídeos** têm uma “cauda” hidrocarbonada hidrofóbica e uma “cabeça” de fosfato hidrofílica. Na água, as interações das caudas hidrofóbicas e das cabeças hidrofílicas de fosfolipídeos geram uma **bicamada fosfolipídica**, com duas moléculas de espessura. Os grupos polares estão direcionados para fora, onde interagem com a água ao redor. As caudas estão empacotadas no interior da bicamada. [Rever Figura 3.20.](#)

3.5 Quais são as estruturas químicas e as funções dos ácidos nucleicos?

A função única dos **ácidos nucleicos** – **DNA** e **RNA** – é o armazenamento da informação; eles formam o material hereditário que passa o dado genético para a próxima geração.

Os ácidos nucleicos são polímeros de nucleotídeos. Um **nucleotídeo** consiste em um grupo fosfato, um açúcar pentose (**ribose** em RNA e **desoxirribose** em DNA), e uma **base** nitrogenada. [Rever 3.23.](#)

No DNA, as bases nucleotídicas são **adenina**, **guanina**, **citossina** e **timina**. **Uracila** substitui timina no RNA. Os nucleotídeos são unidos por **ligações fosfodiéster** entre o açúcar de um nucleotídeo e o fosfato do próximo.

RNA apresenta fita simples. DNA é uma **dupla fita** na qual existe **pareamento das bases complementares**, baseado nas pontes de hidrogênio entre adenina e timina (A-T) e entre guanina e citossina (G-C). As duas fitas da dupla-hélice do DNA correm em direções opostas. [Rever Figuras 3.24 e 3.26.](#)

O conteúdo de informação de DNA e RNA reside nas suas **sequências de bases**.

3.6 Como começou a vida na Terra?

A **evolução química** propôs que condições na Terra primitiva poderiam ter produzido macromoléculas que distinguem os organismos vivos. [Rever Figura 3.28.](#)

Porque pode formar uma estrutura tridimensional, o RNA pode agir como uma **ribozima**, uma superfície de RNA em que as reações químicas procedem em uma taxa rápida. [Rever Figura 3.29.](#)

Experimentos têm descartado a contínua geração espontânea da vida. [Rever Figura 3.30.](#)

QUESTÕES

- A molécula mais abundante na célula é:
 - Um carboidrato.
 - Um lipídeo.
 - Um ácido nucleico.
 - Uma proteína.
 - A água.
- Todos os lipídeos são:
 - Triglicerídeos.
 - Polares.
 - Hidrofílicos.
 - Polímeros de ácidos graxos.
 - Mais solúveis em solventes apolares que em água.
- Todos os carboidratos:
 - São polímeros.
 - São açúcares simples.
 - Consistem em um ou mais açúcares simples.
 - São encontrados em membranas biológicas.
 - São mais solúveis em solventes apolares que em água.
- Quais dos itens a seguir não é um carboidrato?
 - Glicose
 - Amido
 - Celulose
 - Hemoglobina
 - Desoxirribose
- Todas as proteínas:
 - São enzimas.
 - Consistem em uma ou mais cadeias polipeptídicas.
 - São aminoácidos.
 - Têm estruturas quaternárias.
 - São mais solúveis em solventes apolares do que na água.
- Quais das seguintes afirmações sobre a estrutura primária de uma proteína não é verdadeira?
 - Ela pode ser ramificada.
 - É determinada pela estrutura do DNA correspondente.
 - É única para aquela proteína.
 - Ela determina a estrutura terciária da proteína.
 - Ela é a sequência de aminoácidos na proteína.
- O aminoácido leucina:
 - É encontrado em todas as proteínas.
 - Não pode formar ligações peptídicas.
 - É hidrofóbico.
 - É hidrofílico.
 - É idêntico ao aminoácido lisina.
- A estrutura quaternária de uma proteína:
 - Consiste em quatro subunidades – então o nome quaternária.
 - Não está relacionada à função da proteína.
 - Pode ser tanto alfa quanto beta.
 - Depende da ligação covalente entre as subunidades.
 - Depende da estrutura primária das subunidades.
- Todos os ácidos nucleicos:
 - São polímeros de nucleotídeos.
 - São polímeros de aminoácidos.
 - Estão em dupla fita.
 - Estão em dupla-hélice.
 - Contêm desoxirribose.
- Quais das seguintes afirmações sobre reações de condensação *não* é verdadeira?
 - A síntese de proteínas resulta a partir delas.
 - A síntese de polissacarídeos resulta a partir delas.
 - A síntese de ácidos nucleicos resulta a partir delas.
 - Elas consomem água como reagente.
 - Diferentes reações de condensação produzem diferentes tipos de macromoléculas.

PARA DISCUSSÃO

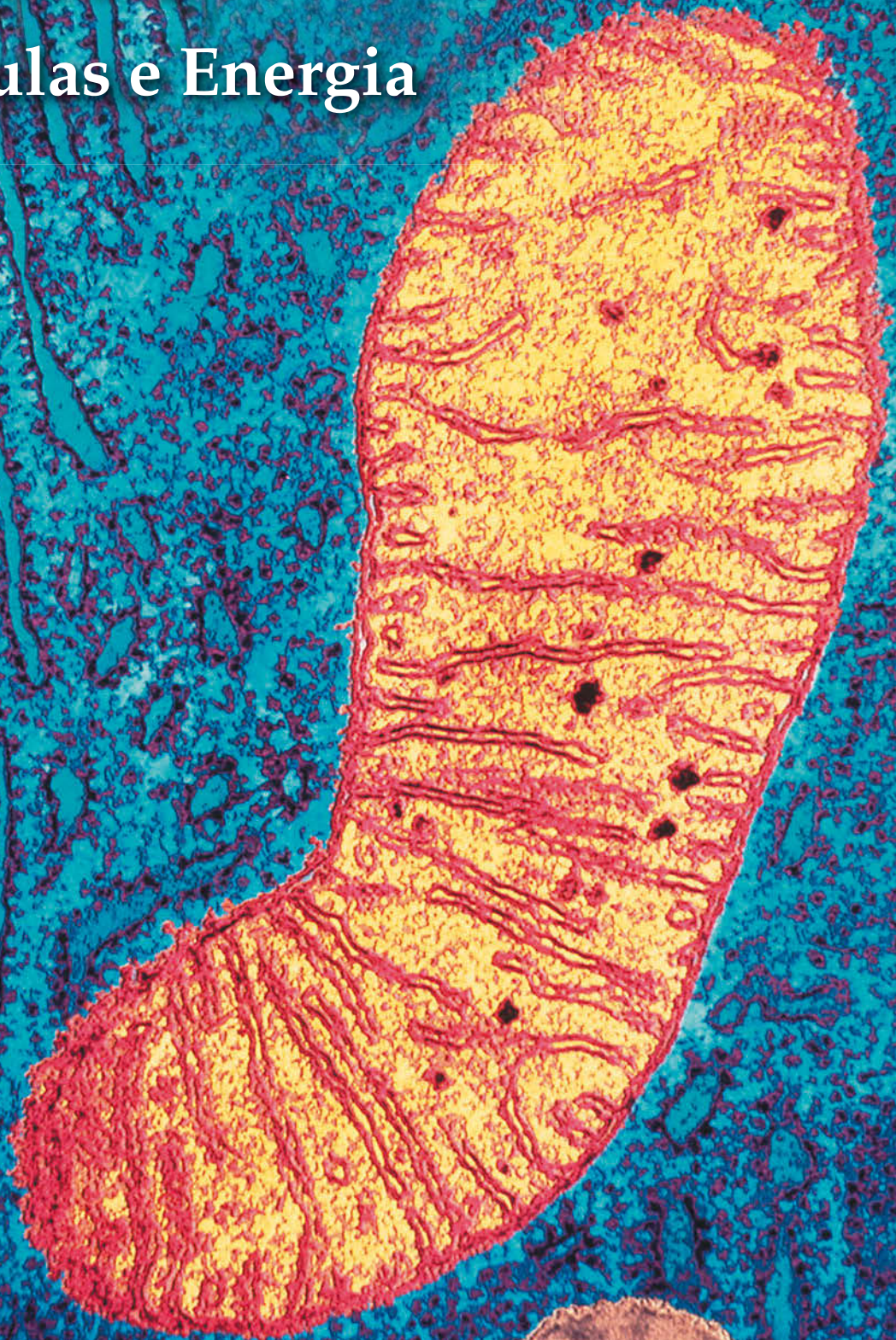
- Suponha que, em uma dada proteína, uma lisina é substituída por ácido aspártico (Tabela 3.2). Essa mudança ocorre na estrutura primária ou secundária? Como isso pode resultar em uma mudança na estrutura terciária? E na estrutura quaternária?
- Se existem vinte aminoácidos diferentes normalmente encontrados nas proteínas, quantos dipeptídeos diferentes existem? Quantos tripeptídeos? Quantos diferentes trinucleotídeos? Quantos RNAs de fita simples compostos de duzentos nucleotídeos?
- Por que o RNA pode ter precedido as proteínas na evolução das macromoléculas biológicas?

PARA INVESTIGAÇÃO

- O experimento de Miller-Urey (ver Figura 3.28) demonstrou que era possível os aminoácidos serem formados a partir de gases, que se supunha existirem na atmosfera terrestre primitiva. Esses aminoácidos foram dissolvidos em água. Tendo em vista o que você sabe sobre a polimerização de aminoácidos para proteínas (ver Figura 3.6), como planejaria experimentos para demonstrar que as proteínas podem ser formadas nas condições dos primórdios da Terra? Que propriedades você esperaria nessas proteínas?
- A interpretação do experimento de Pasteur (ver Figura 3.30) depende da inativação de microrganismos pelo calor. Agora sabemos que alguns microrganismos podem sobreviver a temperaturas muito altas. Como isso alteraria a interpretação do experimento de Pasteur? Que experimentos você faria para inativar esses micróbios?

PARTE 2

Células e Energia



A mais antiga evidência de vida?

Charles Darwin enfrentava um dilema. Em seu notável livro, *A origem das espécies*, havia proposto a teoria da seleção natural a fim de explicar o gradual aparecimento e desaparecimento de diferentes formas de organismos. No entanto, percebera que o registro fóssil, no qual baseara sua teoria, era incompleto, especialmente no que dizia respeito às formas de vida iniciais. Na época de Darwin – metade do século XIX – os mais antigos fósseis conhecidos pertenciam a organismos complexos encontrados em rochas datadas de aproximadamente 550 milhões de anos (período Cambriano). Teriam organismos mais simples existido antes deste período? E, no caso de resposta afirmativa, onde estariam os fósseis correspondentes? Esses fósseis certamente forneceriam uma ligação com a origem da vida.

As condições na Terra eram provavelmente adequadas para o aparecimento de vida há 4 bilhões de anos, aproximadamente 600 milhões de anos após o início da formação do planeta. No entanto, na virada do século XX, os mais antigos fósseis conhecidos correspondiam a agregados de algas (organismos aquáticos fotossintéticos simples) com idade aproximada de 1 bilhão de anos – ainda bastante distante da origem da vida. Seria mesmo possível encontrar fósseis ainda mais antigos? Rochas mais velhas são geralmente de natureza ígnea – formadas em processos de altas temperaturas tais como erupções vulcânicas – e a ação

geológica tem alterado-as drasticamente através de milênios. Desta forma, é pouco provável que qualquer fóssil celular tenha conseguido ser preservado nessas condições extremas.

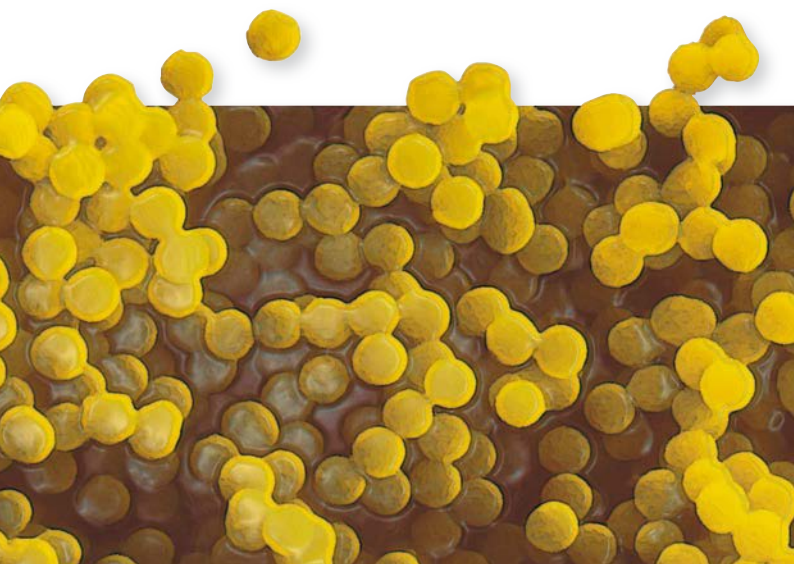
A descoberta de evidências mais antigas de vida foi possível apenas na década de 1990. Neste período, em alguns poucos locais da superfície da Terra, cientistas descobriram um fenômeno – algumas rochas relativamente inalteradas com 3,5 bilhões de anos de idade. Em uma destas amostras de rochas derivadas da Austrália, o geólogo J. William Schopf observou que algumas cadeias e agregados se assemelhavam de modo surpreendente às cianobactérias contemporâneas (bactérias “azuis”). Schopf teria de provar que essas cadeias haviam estado vivas e que não correspondiam a simples marcas deixadas por reações químicas. Ele e seus colegas partiram em busca de evidências químicas de fotossíntese.

O uso de dióxido de carbono na fotossíntese é um marcador de vida e deixa uma assinatura química característica – uma relação específica de isótopos de carbono ($C^{13}:C^{12}$) nos carboidratos resultantes. Schopf mostrou que o material australiano continha esta assinatura. O exame microscópico dessas cadeias revelou subestruturas características de sistemas vivos que dificilmente seriam resultantes de meras reações químicas. As evidências do trabalho de Schopf sugeriram que a amostra australiana continha os remanescentes de um organismo vivo ancestral.

Além de confirmarem a presença da vida em um período mais precoce, os fósseis de Schopf sugerem que a vida requer não apenas um conjunto correto de macromoléculas, mas também compartimentalização. As macromoléculas da vida desempenham funções específicas,

A mais antiga evidência de vida? Este fóssil do oeste australiano tem 3,5 bilhões de anos. Sua forma é similar às modernas cianobactérias filamentosas (no detalhe).





Uma “célula” primordial obtida em laboratório A mistura de aminoácidos e lipídeos em experimentos que simulam as condições prebióticas na Terra resulta em estruturas semelhantes a células, denominadas proteinoides. Essas estruturas são delimitadas por uma membrana em bicamada e podem realizar algumas reações químicas.

pois estão envolvidas por estruturas que as separam, tanto umas das outras quanto do ambiente externo. Essa *compartimentalização*, apresentada sob a forma de células, é também observada nas organelas que caracterizam as células eucarióticas. Mas, de que forma ela se desenvolveu?

Os cientistas tentaram recriar a origem das células em laboratório. Em tais experimentos de modelização, agregados de moléculas dão origem a estruturas arredondadas similares a células. Esses compartimentos químicos podem realizar algumas reações bioquímicas e também intercambiar materiais com o ambiente. Colocando em paralelo os resultados obtidos em experimentos de química prebiótica e a hipótese do “Mundo de RNA” descrita na Seção 3.6, esses experimentos sugerem que algo semelhante a estes agregados deve corresponder às primeiras células que existiram.

NESTE CAPÍTULO examinamos a estrutura e algumas funções do “compartimento vivo” conhecido como célula. Iniciamos com a teoria celular (a base da biologia celular), e a seguir examinamos as células simples de organismos unicelulares conhecidos por procariotos. Após, focamos a célula eucariótica, mais complexa, e seus diversos compartimentos internos, cada qual responsável por funções específicas na célula.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 4.1** Quais características das células as tornam a unidade fundamental da vida?
- 4.2** Quais são as características das células procaríóticas?
- 4.3** Quais são as características das células eucarióticas?
- 4.4** Quais são as funções das estruturas extracelulares?
- 4.5** Como originaram-se as células eucarióticas?

4.1 Quais características das células as tornam a unidade fundamental da vida?

Da mesma forma que os átomos são as unidades formadoras na química, *as células são os blocos para a construção da vida*. A **teoria celular** foi descrita na Seção 1.1 como o primeiro princípio unificador da biologia. Recorde as três premissas da teoria celular:

- As células são as unidades fundamentais da vida.
- Todos os organismos são compostos por células.
- Todas as células originam-se a partir de células preexistentes.

As células contêm água e outras moléculas pequenas e grandes que examinamos nos dois capítulos anteriores. Cada célula contém pelo menos 10.000 diferentes tipos de moléculas, a maioria delas presente em múltiplas cópias. As células utilizam essas moléculas para transformar matéria e energia, para interagir com o ambiente e para sua própria reprodução.

A teoria celular apresenta três importantes implicações:

- O estudo da biologia celular corresponde, em certo sentido, ao estudo da vida. Os princípios que delineiam o funcionamento da única célula de uma bactéria são similares àqueles que governam as aproximadamente 60 trilhões de células do nosso organismo.
- A vida é contínua. Todas as células de seu organismo provêm de uma única célula, um óvulo fertilizado, que se originou da fusão de duas células, um espermatozoide e um óvulo de seus pais, cujas células também se originaram de óvulos fertilizados, e assim por diante.
- A origem da vida na Terra foi marcada pela origem das primeiras células.

O tamanho da célula é limitado pela razão entre área de superfície e volume

A maioria das células possui tamanho pequeno. O volume das células varia de 1 a 1.000 micrômetros cúbicos (μm^3) (**Figura 4.1**). Existem algumas exceções: os ovos de aves são, de uma forma relativa, imensos e células individuais de vários tipos de algas e bactérias são suficientemente grandes para serem visualizadas a olho nu. Além disso, apesar dos neurônios (células nervosas) possuírem um volume que se encontra dentro do espectro “normal”, eles frequentemente apresentam projeções estreitas que podem se estender por metros, transportando sinais de uma região para outra de um grande animal.

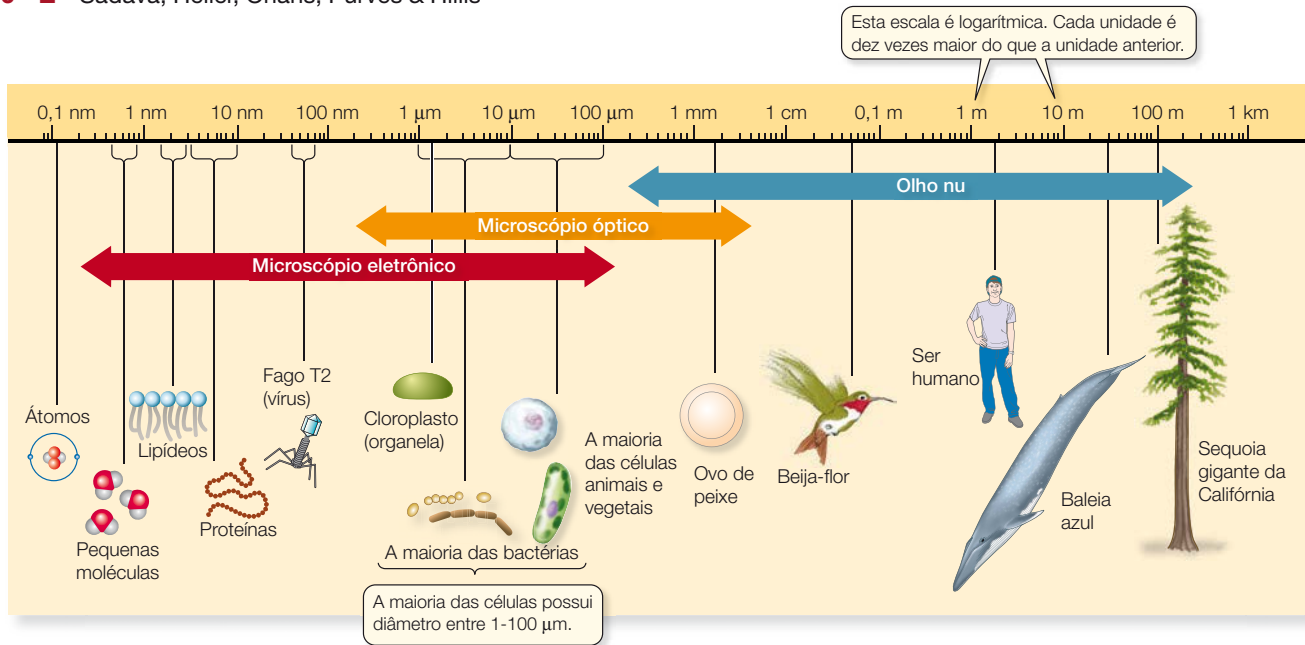


Figura 4.1 A escala da vida Esta escala logarítmica apresenta o tamanho relativo entre moléculas, células e organismos multicelulares.

As células geralmente são minúsculas. Aproximadamente 2.000 células da pele, alinhadas lado a lado, caberiam no comprimento desta página.

O tamanho celular pequeno resulta de uma necessidade prática derivada da alteração da **razão entre a área de superfície e o volume** de um dado objeto conforme este aumenta de tamanho. Conforme um objeto cresce de volume, sua área de superfície também se amplia, mas não na mesma proporção (**Figura 4.2**). Este fenômeno tem grande significância biológica devido a dois pontos:

- O **volume** de uma célula determina a quantidade de atividade química passível de ser desempenhada por unidade de tempo.
- A **área de superfície** da célula determina a quantidade de substâncias que ela pode incorporar a partir do ambiente externo e a quantidade de produtos indesejados que pode liberar para o ambiente.

À medida que a célula aumenta de volume, sua atividade química, e, portanto, sua taxa de produção de resíduos e necessidade por recursos, aumenta de forma mais rápida do que sua área de superfície. Além disso, as células precisam frequentemente redistribuir as substâncias para diferentes regiões em seu interior; ou seja, quanto menor a célula, mais facilmente esta tarefa será realizada. Isto explica porque grandes organismos são compostos por muitas células pequenas: essas devem possuir um volume pequeno para manter uma razão eficiente entre área de superfície e volume e, simultaneamente, possuir um volume interno ideal. A extensa

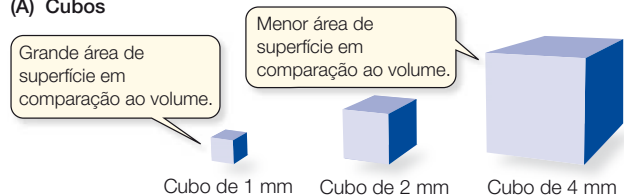
Figura 4.2 Porque as células são pequenas Seja em forma de cubo (A) ou esfera (B), conforme um objeto cresce, seu volume aumenta mais rapidamente do que a área de sua superfície. As células devem manter uma grande relação de área de superfície x volume para que possam funcionar. Este fato explica porque grandes organismos devem ser compostos de muitas células pequenas ao invés de umas poucas células grandes.

área de superfície representada pela grande quantidade de pequenas células que compõe um organismo pluricelular permite que este desempenhe as várias funções diferentes necessárias para a sobrevivência.

Microscópios são necessários para a visualização das células

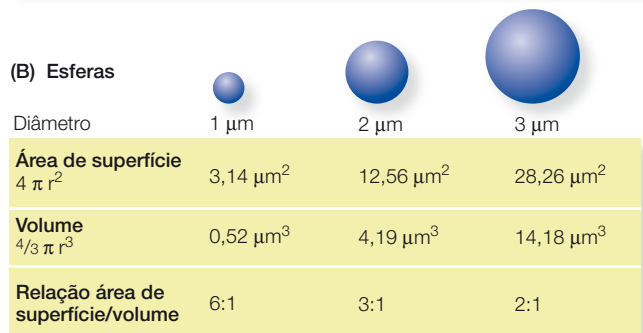
O menor objeto que uma pessoa pode discernir com clareza possui aproximadamente 0,2 mm (200µm) de tamanho. Essa medi-

(A) Cubos

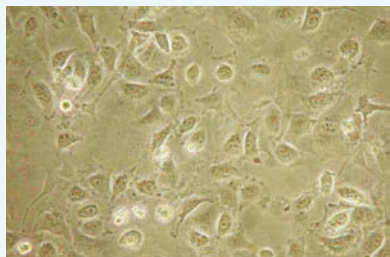


	Cubo de 1 mm	Cubo de 2 mm	Cubo de 4 mm
Área de superfície	6 lados x 1 ² = 6 mm ²	6 lados x 2 ² = 24 mm ²	6 lados x 4 ² = 96 mm ²
Volume	1 ³ = 1 mm ³	2 ³ = 8 mm ³	4 ³ = 64 mm ³
Relação área de superfície/volume	6:1	3:1	1,5:1

(B) Esferas



MÉTODOS DE PESQUISA



140 μm

Na **microscopia de campo claro**, a luz passa diretamente através destas células humanas. A não ser que pigmentos naturais estejam presentes, existe pouco contraste e detalhes não são distinguíveis.



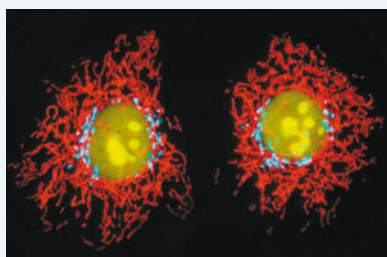
30 μm

Na **microscopia de contraste de fase**, o contraste da imagem é aumentado pela ênfase em diferenças no índice de refração (a capacidade de curvatura da luz), salientando desta forma regiões claras e escuras na célula.



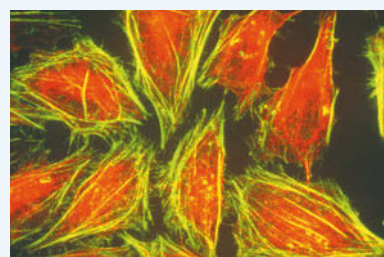
30 μm

A **microscopia de contraste diferencial de interferência** usa dois feixes de luz polarizada. As imagens combinadas dão a impressão que as células estão projetando uma sombra lateralmente.



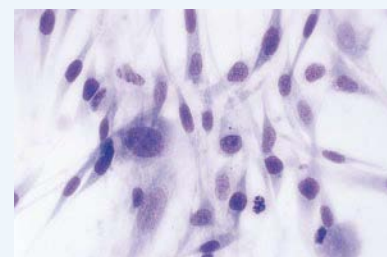
20 μm

Na **microscopia de fluorescência**, uma substância natural da célula ou um corante fluorescente que se liga especificamente a um material da célula é estimulado por um feixe de luz e a luz fluorescente de maior comprimento de onda é diretamente observada, a partir do pigmento.



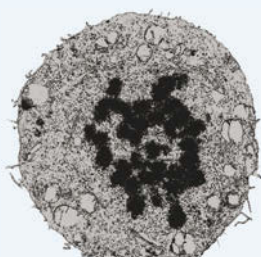
20 μm

A **microscopia confocal** utiliza materiais fluorescentes, mas adiciona um sistema que focaliza tanto a luz estimuladora quanto a luz emitida; dessa maneira, um único plano através da célula é visto. O resultado é uma imagem bidimensional mais nítida do que a obtida a partir da microscopia de fluorescência padrão.



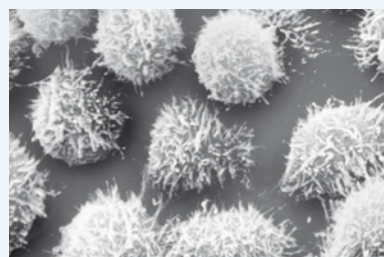
30 μm

Na **microscopia de campo claro corado**, um corante aumenta o contraste e revela detalhes que de outro modo não seriam visualizados. Os corantes diferem enormemente em relação à sua composição química e à sua capacidade de ligação aos componentes celulares, assim, existe um amplo espectro de escolhas.



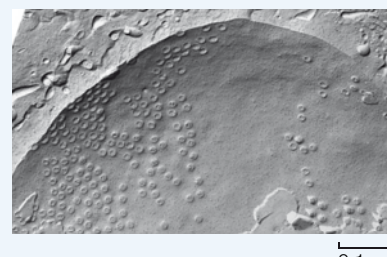
10 μm

Na **microscopia eletrônica de transmissão (TEM)**, um feixe de elétrons é focado sobre o objeto através de magnetos. Os objetos aparecerão mais escuros se absorverem os elétrons. Se os elétrons passarem através dos objetos, serão detectados em uma tela fluorescente.



20 μm

A **microscopia eletrônica de varredura (SEM)**, direciona elétrons para a superfície da amostra, onde eles fazem com que outros elétrons sejam emitidos. Estes elétrons são então visualizados em uma tela. É possível obter a imagem da superfície do objeto de forma tridimensional.



0,1 μm

Na **microscopia de criofatura**, após congelamento, uma lâmina é usada para abrir as células rachando-as. A rachadura frequentemente passa pela membrana plasmática e membranas internas. As "saliências" que podem ser observadas correspondem geralmente a grandes proteínas inseridas no interior das membranas.

Figura 4.3 Visualizando células As duas linhas superiores desta figura ilustram algumas técnicas usadas em microscopia óptica. As três imagens da linha inferior foram criadas a partir de microscópios eletrônicos. Todas estas imagens correspondem a uma linhagem específica de células denominada HeLa. A história destas células, bem como de seu amplo espectro de usos na pesquisa, está descrita no início do Capítulo 9.

da é referida como **resolução**: a distância entre dois objetos que permite que o olho distinga os objetos como separados. Se eles estivessem mais próximos, seriam percebidos como uma única mancha. Em sua maioria, as células são muito menores do que

200 μm, sendo assim invisíveis ao olho humano. Os **microscópios** aumentam a resolução de tal forma que as células e suas estruturas possam ser observadas (**Figura 4.3**).

Existem dois tipos básicos de microscópios:

- O **microscópio óptico** usa lentes de vidro e luz visível para formar uma imagem ampliada de um objeto. Possui resolução de aproximadamente 0,2 μm, 1.000 vezes maior do que a do olho humano. Essa resolução permite a visualização do tamanho e estrutura das células e de algumas estruturas celulares internas. As estruturas internas são difíceis de serem visualizadas sob luz visível, de modo que frequentemente as células são

tratadas com reagentes químicos e seus componentes, marcados com diferentes corantes, para salientar determinadas estruturas.

- O *microscópio eletrônico* usa eletromagnetos para focar um feixe de elétrons, de forma semelhante ao uso das lentes de vidro para focar o feixe de luz em um microscópio óptico. Considerando que não é possível visualizarmos elétrons, o microscópio eletrônico então os direciona para uma tela fluorescente ou para um filme fotográfico a fim de gerar uma imagem visível. A resolução dos microscópios eletrônicos é de aproximadamente 0,2 nm, aproximadamente 1.000.000 vezes maior do que a do olho humano. Essa resolução permite a distinção de detalhes de diferentes estruturas subcelulares.

Diversas técnicas têm sido desenvolvidas para aumentar a imagem das células que vemos sob microscopia óptica e eletrônica.

As células estão delimitadas por uma membrana plasmática

Cada célula está delimitada por uma membrana, que a separa do ambiente ao seu redor, criando um compartimento segregado (mas não isolado). A **membrana plasmática** é composta por uma bicamada fosfolipídica, com as “cabeças” hidrofílicas dos lipídios direcionadas para o interior aquoso da célula, em um dos lados da membrana, e para o ambiente extracelular, no lado oposto (ver Figura 3.20). Proteínas e outras moléculas encontram-se inseridas entre os lipídeos. A maior parte do Capítulo 5 será consagrada ao detalhamento da estrutura e função da membrana plasmática, mas podemos resumir suas funções da seguinte forma:

- A membrana plasmática permite que a célula mantenha um *ambiente interno relativamente constante*. Um ambiente interno constante autoregulável (estado denominado *homeostase*) é uma característica-chave da vida, que será discutida em detalhes no Capítulo 46.
- A membrana plasmática atua como *barreira seletivamente permeável*, evitando que algumas substâncias a atravessem, ao mesmo tempo em que permite o trânsito de outras, tanto para dentro quanto para fora da célula.
- Como a célula faz limite com o ambiente externo, a membrana plasmática é importante para a *comunicação com as células adjacentes* e para a *recepção de sinais provenientes do ambiente*. Essas funções serão descritas no Capítulo 15.
- A membrana plasmática frequentemente apresenta proteínas que se projetam de seus limites e são responsáveis *pela ligação e aderência a células adjacentes*.

As células podem ser procarióticas ou eucarióticas

Como aprendemos na Seção 1.2, os biólogos classificam o conjunto de seres vivos em três domínios: Archaea, Bacteria e Eukarya. Os organismos pertencentes a Archaea e Bacteria são coletivamente denominados de **procariotos**, pois apresentam em comum uma organização *procariótica* de suas células. As células procarióticas caracteristicamente não possuem compartimentos internos delimitados por membrana. As primeiras células eram provavelmente similares, em nível de sua organização, aos procariotos modernos.

A organização da célula eucariótica, por outro lado, é típica dos membros pertencentes ao domínio Eukarya (**eucariotos**), no qual estão incluídos os protistas, as plantas, os fungos e os animais. O material genético (DNA) das células eucarióticas está contido em um compartimento especial delimitado por membrana denominado de **núcleo**. As células eucarióticas também contêm outros

compartimentos delimitados por membrana, nos quais ocorrem reações químicas específicas.

4.1 RECAPITULAÇÃO

A teoria celular é um princípio unificador da biologia. A razão entre área de superfície e o volume limita o tamanho das células. Tanto células procarióticas quanto eucarióticas estão delimitadas por uma membrana plasmática, no entanto, as células procarióticas não possuem compartimentos internos delimitados por membrana.

- Por que podemos dizer que a biologia celular incorpora todos os princípios da vida? Ver p. 69.
- Você é capaz de explicar por que as células são pequenas? Ver p. 70 e Figura 4.2.

Tanto procariotos quanto eucariotos têm prosperado há várias centenas de milhões de anos, e muitas histórias de sucesso evolutivo originaram-se a partir de ambos tipos de organização celular. Vamos inicialmente discutir a organização das células procarióticas.

4.2 Quais são as características das células procarióticas?

Os procariotos podem utilizar maior amplitude de fontes de energia do que qualquer outro tipo de organismo vivo e habitar em ambientes extremos, tais como fontes termais ou águas extremamente salinas. Enquanto estivermos examinando as células procarióticas nesta seção, lembre-se que existe um número enorme de espécies procarióticas e que podemos distinguir Bacteria e Archaea de diferentes formas. Essas diferenças, assim como a extensa diversidade de organismos que compõe esses dois domínios serão o objeto de discussão do Capítulo 26.

As células procarióticas são geralmente menores do que as eucarióticas, variando de $0,25 \times 1,2 \mu\text{m}$ a $1,5 \times 4 \mu\text{m}$. Cada indivíduo procarioto é composto por uma única célula, mas diferentes tipos de procariotos são frequentemente encontrados formando cadeias, pequenos agregados ou mesmo grandes agregados que contêm centenas de indivíduos. Nesta seção consideraremos inicialmente as características que as células dos domínios Bacteria e Archaea possuem em comum. A seguir, examinaremos características estruturais encontradas em apenas alguns procariotos.

Células procarióticas compartilham determinadas características

Todas as células procarióticas apresentam a mesma estrutura básica (**Figura 4.4**):

- A membrana plasmática delimita a célula, regulando o transporte de materiais para dentro e para fora da célula e separando-a do seu ambiente.
- O **nucleoide** contém o material hereditário (DNA) da célula.

O restante do material delimitado pela membrana plasmática é denominado de **citoplasma**. O citoplasma é composto por dois componentes: o citosol, mais fluido, e partículas insolúveis em suspensão, incluindo os ribossomos.

- O **citosol** consiste principalmente em água com íons em solução, moléculas pequenas e macromoléculas solúveis, tais como proteínas.

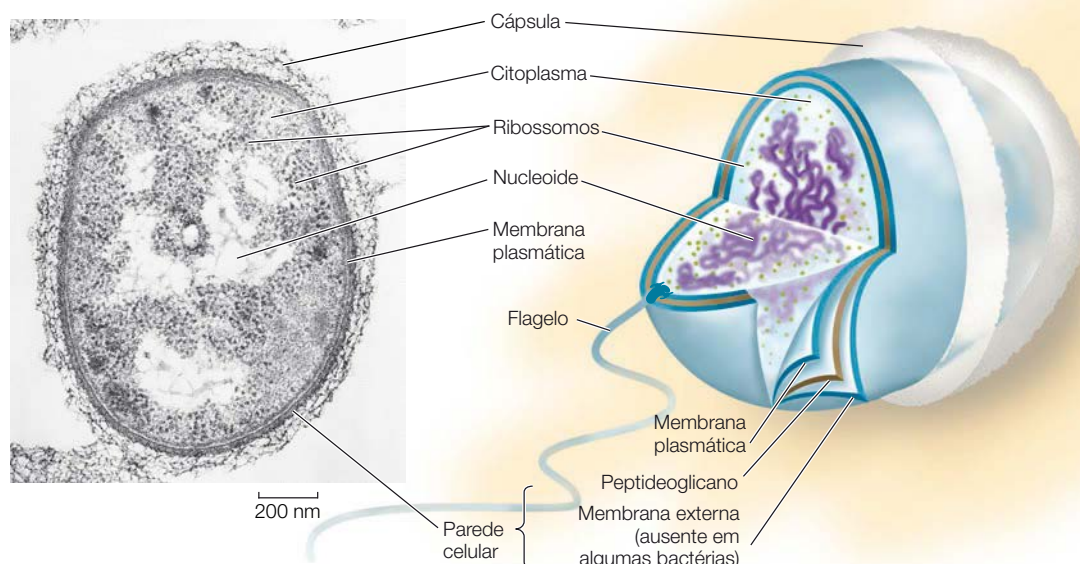


Figura 4.4 Uma célula procariótica A bactéria *Pseudomonas aeruginosa* ilustra as estruturas típicas compartilhadas por todas as células procarióticas. Essa bactéria também possui estruturas de proteção em uma membrana externa que apenas alguns procariotos possuem. O flagelo e a cápsula são também estruturas restritas a apenas alguns procariotos.

- Os **ribossomos** são complexos de RNA e proteínas, de aproximadamente 25 nm de diâmetro. Eles são os locais de síntese de proteína.

O citoplasma não é uma região estática. Ao contrário, as substâncias desse compartimento encontram-se constantemente em movimento. Por exemplo, uma proteína padrão move-se ao longo da célula completa em um minuto, encontrando diversas moléculas em seu percurso.

Apesar de estruturalmente menos complicadas do que as células eucarióticas, as procarióticas são funcionalmente complexas e desempenham milhares de reações bioquímicas.

Algumas células procarióticas possuem características especializadas

Conforme evoluíram, algumas células procarióticas desenvolveram estruturas especializadas que conferiram vantagem seletiva para aquelas que as possuíam. Estas estruturas incluem: parede celular protetora, membrana interna para a compartimentalização de determinadas reações químicas e flagelos para a movimentação celular através de um ambiente aquoso. Essas características são ilustradas nas Figuras 4.4 e 4.5.

PAREDES CELULARES A maioria dos procariotos possui uma parede celular localizada *externamente* à membrana plasmática. A sua rigidez sustenta a célula e determina a sua forma. As paredes celulares da maioria das bactérias, mas não das archaea, contêm *peptidoglicano*, um polímero de amino-açúcares, interligado por ligações covalentes que dão origem a uma única molécula gigante que circunda toda a célula. Em algumas bactérias, outra camada – a membrana externa (uma membrana fosfolipídica rica em po-

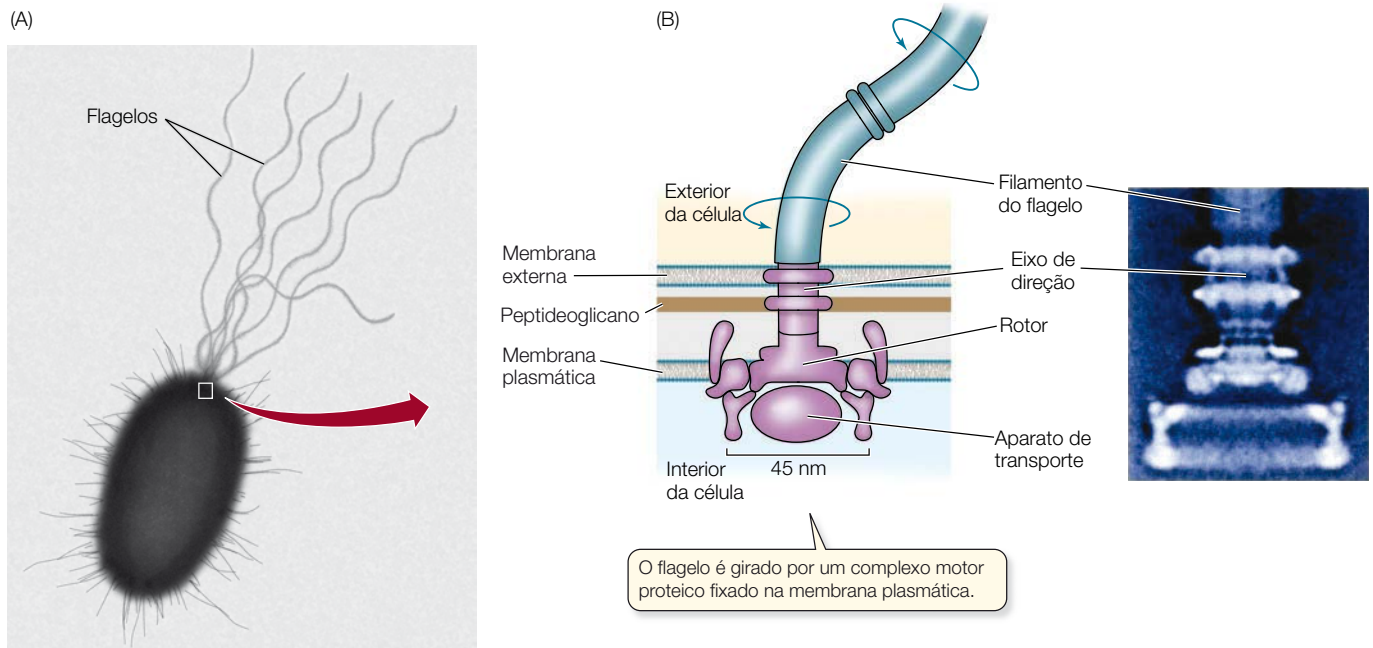
lissacarídeos) – envolta a camada de peptidoglicanos. Diferentemente da membrana plasmática, essa membrana externa não se comporta como uma eficiente barreira de permeabilidade.

Quando bactérias patogênicas como *Salmonella*, *Shigella* e *Neisseria* infectam humanos, fragmentos de lipopolissacarídeo de suas membranas, denominados endotoxinas, são liberados na corrente sanguínea. Entre outros efeitos desastrosos, essas moléculas induzem febre e interferem na coagulação sanguínea, levando a sangramento excessivo (hemorragia).

Fechando a parede celular, em algumas bactérias, existe uma camada de muco, composta principalmente de polissacarídeos e conhecida como *cápsula*. A cápsula de certas bactérias pode protegê-las contra o ataque das células brancas do sangue de animais infectados. Auxilia na proteção da célula contra o ressecamento e, em alguns casos ajuda a adesão da bactéria a outras células. Diversos procariotos não têm cápsula, e aqueles que a têm podem sobreviver mesmo que venham a perdê-la, o que demonstra que essa estrutura não é essencial para a vida procariótica.

Como você verá mais tarde neste capítulo, a célula vegetal eucariótica também possui parede celular, a qual, no entanto, difere tanto em composição quanto em estrutura das paredes celulares procarióticas.

MEMBRANAS INTERNAS Alguns grupos de bactérias – as cianobactérias e alguns outros – realizam fotossíntese. Nessas bactérias fotossintetizadoras, a membrana plasmática dobra-se no citoplasma, que formam um sistema de membranas internas que contém os componentes necessários para a fotossíntese. O desenvolvimento da fotossíntese, a qual necessita da presença de membranas, foi um evento importante no início da evolução da vida na Terra. Outros procariotos contêm dobramentos de membrana interna que permanecem conectados à plasmática. Essas reentrâncias podem atuar na divisão celular ou em diversas reações liberadoras de energia.



FLAGELOS E PILI Alguns procariotos nadam por meio do uso de apêndices denominados flagelos (Figura 4.5A). Um flagelo único, constituído por uma proteína denominada *flagelina*, assemelha-se em certos momentos a um saca-rolhas. Um complexo de proteínas motoras gira o flagelo em torno de seu próprio eixo como uma hélice, impelindo a célula. O motor proteico está ancorado à membrana plasmática e, em algumas bactérias, à membrana externa da parede celular (Figura 4.5B). Sabemos que o flagelo é responsável pelo movimento de uma célula, pois, se ele é removido, a célula torna-se incapaz de movimento.

Os *pili* projetam-se a partir da superfície de alguns grupos de bactérias. Menores do que os flagelos, essas estruturas semelhantes a um fio de cabelo auxiliam a aderência da bactéria a outras quando estas trocam material genético e a aderência a células animais visando proteção e alimentação.

CITOESQUELETO Alguns procariotos, especialmente bactérias do tipo bastonete, possuem uma estrutura interna filamentosa e helicoidal imediatamente abaixo da membrana plasmática. As proteínas que compõem esta estrutura são similares, em termos de sequência de aminoácidos, à actina das células eucarióticas e, visto que a actina é parte do citoesqueleto dessas células (ver Seção 4.3), foi sugerido que os filamentos helicoidais nos procariotos estejam desempenhando um papel de manutenção da forma celular.

4.2 RECAPITULAÇÃO

Organismos procariotos podem utilizar diferentes fontes de energia e viver em ambientes extremos. Diferentemente das células eucarióticas, as células procarióticas não possuem compartimentos internos.

- Que estruturas estão presentes em todas as células procarióticas? Ver p. 72-73 e Figura 4.4.
- Descreva a estrutura e função de uma estrutura especializada de uma célula procariótica, tal como a parede celular, a cápsula ou o flagelo. Ver p. 73-74.

Figura 4.5 O flagelo procariótico (A) O flagelo contribui para o movimento e adesão de células procarióticas. (B) Estruturas do complexo de proteínas em anel ancorado na membrana plasmática de uma unidade motora, que gira o flagelo e impele a célula.

As células animais, vegetais, de fungos e protistas são em geral maiores e estruturalmente mais complexas do que as células de organismos procariotos. Que estruturas específicas caracterizam a célula eucariótica?

4.3 Quais são as características das células eucarióticas?

As células eucarióticas geralmente possuem dimensões superiores a 10 vezes o tamanho das células procarióticas; por exemplo, as células esféricas de levedura possuem diâmetro de 8 μm . Da mesma forma que as células procarióticas, as eucarióticas possuem membrana plasmática, citoplasma e ribossomos. No entanto, além dessas organizações compartilhadas, as células eucarióticas possuem compartimentos dentro do citoplasmas, cujos conteúdos estão separados do citosol por uma membrana.

A compartimentalização é a chave para o funcionamento da célula eucariótica

Alguns dos compartimentos das células eucarióticas foram caracterizados como verdadeiras fábricas que produzem produtos específicos. Outros são usinas de força que utilizam energia existente sob determinada forma e a convertem em outra mais útil. Esses compartimentos envoltos em membranas, assim como outras estruturas (tais como os ribossomos) que não apresentam membranas, mas que possuem forma e função características, são denominados de **organelas**. Cada uma dessas organelas desempenha funções específicas em uma célula. Essas funções são definidas de acordo com as reações químicas que cada organela é capaz de realizar.

- O **núcleo** contém a maior parte do material genético (DNA) da célula. A replicação desse material e os primeiros passos da decodificação da informação genética acontecem no núcleo.
- A **mitocôndria** é uma usina de força e um parque industrial, onde a energia estocada em cadeias de carboidratos e ácidos graxos converte-se em uma forma mais útil e acessível para a célula (ATP).
- O **retículo endoplasmático** e o **complexo de Golgi** são compartimentos em que algumas proteínas sintetizadas pelos ribossomos são empacotadas e encaminhadas para suas posições adequadas na célula.
- Os **lisossomos** e **vacúolos** são sistemas digestivos celulares nos quais moléculas grandes são hidrolisadas gerando monômeros adequados ao uso.
- Os **cloroplastos** (encontrados em apenas alguns tipos de células) realizam a fotossíntese.

A membrana que circunda cada organela desempenha duas funções essenciais: primeiro, mantém as moléculas da organela separadas das outras na célula, com as quais estas poderiam reagir inadequadamente; segundo, ela atua como regulador de trânsito, permitindo que matérias primas importantes penetrem na organela e promovendo a liberação de seus produtos ao citoplasma. A evolução da compartimentalização foi um importante passo no desenvolvimento das células, permitindo a especialização e a formação dos órgãos e tecidos de um organismo multicelular complexo.

As organelas podem ser estudadas por microscopia ou podem ser isoladas para análises químicas

As organelas celulares foram inicialmente detectadas por meio de visualização em microscopia óptica e eletrônica. O uso de corantes direcionados para macromoléculas específicas permitiu que biólogos celulares determinassem a composição química das organelas (ver Figura 4.20, a qual ilustra uma única célula corada para a identificação de três diferentes proteínas).

Outra maneira de analisar as células é por meio de sua dissociação. O **fracionamento celular** tem início pela destruição da membrana plasmática, o que permite que os componentes citoplasmáticos sejam coletados em tubo de ensaio. As diferentes organelas podem ser separadas tendo-se como base seu tamanho ou sua densidade (Figura 4.6). A seguir, análises bioquímicas podem ser realizadas em organelas isoladas. As técnicas de microscopia e de fracionamento celular se complementam, fornecendo uma visão completa da estrutura e função de cada organela.

A microscopia de células vegetais e animais revelou que muitas das organelas são idênticas em ambos tipos celulares. Isso pode ser observado na Figura 4.7, a qual ilustra as principais diferenças entre células eucarióticas e a procariótica esquematizada na Figura 4.4.

Algumas organelas processam informações

Os organismos vivos dependem de informações apropriadas e exatas – sinalização interna, sinais ambientais e instruções estocadas – para responder adequadamente a alterações nas condições e manter um ambiente interno constante. Na célula, a informação é estocada sob a forma de sequências de nucleotídeos nas moléculas de DNA. A maior parte do DNA das células eucarióticas localiza-se no núcleo. Essa informação é traduzida da linguagem de DNA para a linguagem de proteínas nos ribossomos. Esse processo será descrito detalhadamente no Capítulo 12.

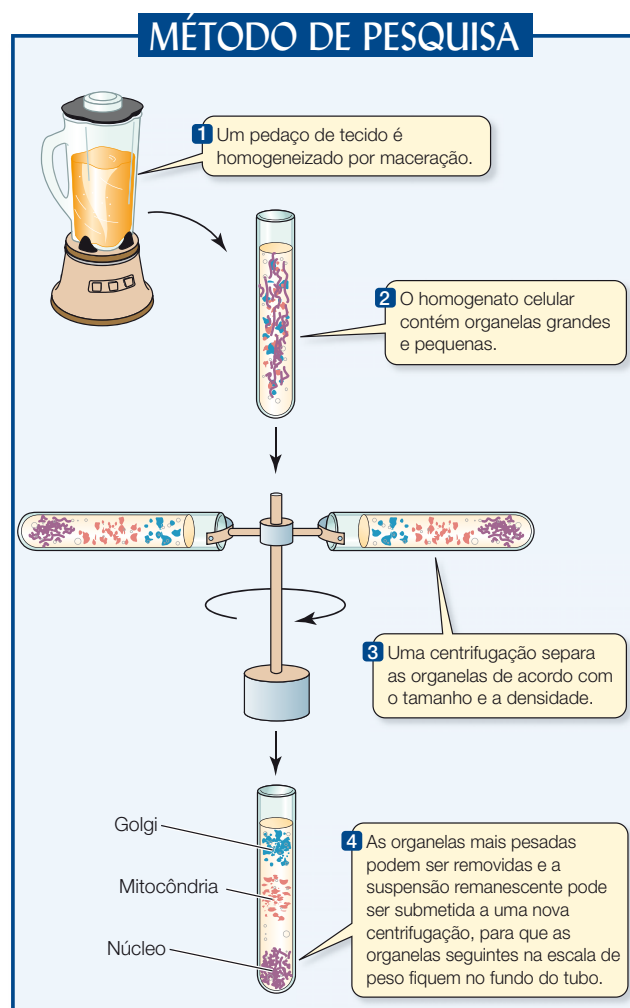


Figura 4.6 Fracionamento celular As organelas de uma célula podem ser separadas umas das outras após ruptura da célula e centrifugação.

NÚCLEO O **núcleo** único é geralmente a maior organela de uma célula (Figura 4.8; ver também a Figura 4.6), na maioria das células animais apresenta aproximadamente 5 μm de diâmetro – substancialmente maior do que grande parte das células dos procaríotos. O núcleo desempenha diversas funções na célula:

- É o local da replicação do DNA.
- É a região de controle genético das atividades celulares.
- Uma região dentro do núcleo, o **nucléolo**, dá início à montagem dos ribossomos, a partir do RNA, e de proteínas específicas.

O núcleo é circundado por duas membranas, que em conjunto formam o **envelope nuclear**. As duas membranas desse envelope estão separadas por 10-20 nm e são perfuradas por aproximadamente 3.500 **poros nucleares**, de aproximadamente 9 nm de diâmetro, os quais conectam o interior do núcleo ao citoplasma. Nesses poros, a membrana externa do envelope nuclear é contínua à interna. Os poros compõem-se por mais de 100 diferentes proteínas, que interagem hidrofobicamente. Cada poro é circundado por um complexo do poro composto por oito grandes agregados proteicos organizados sob a forma de um octógono,

UMA CÉLULA ANIMAL

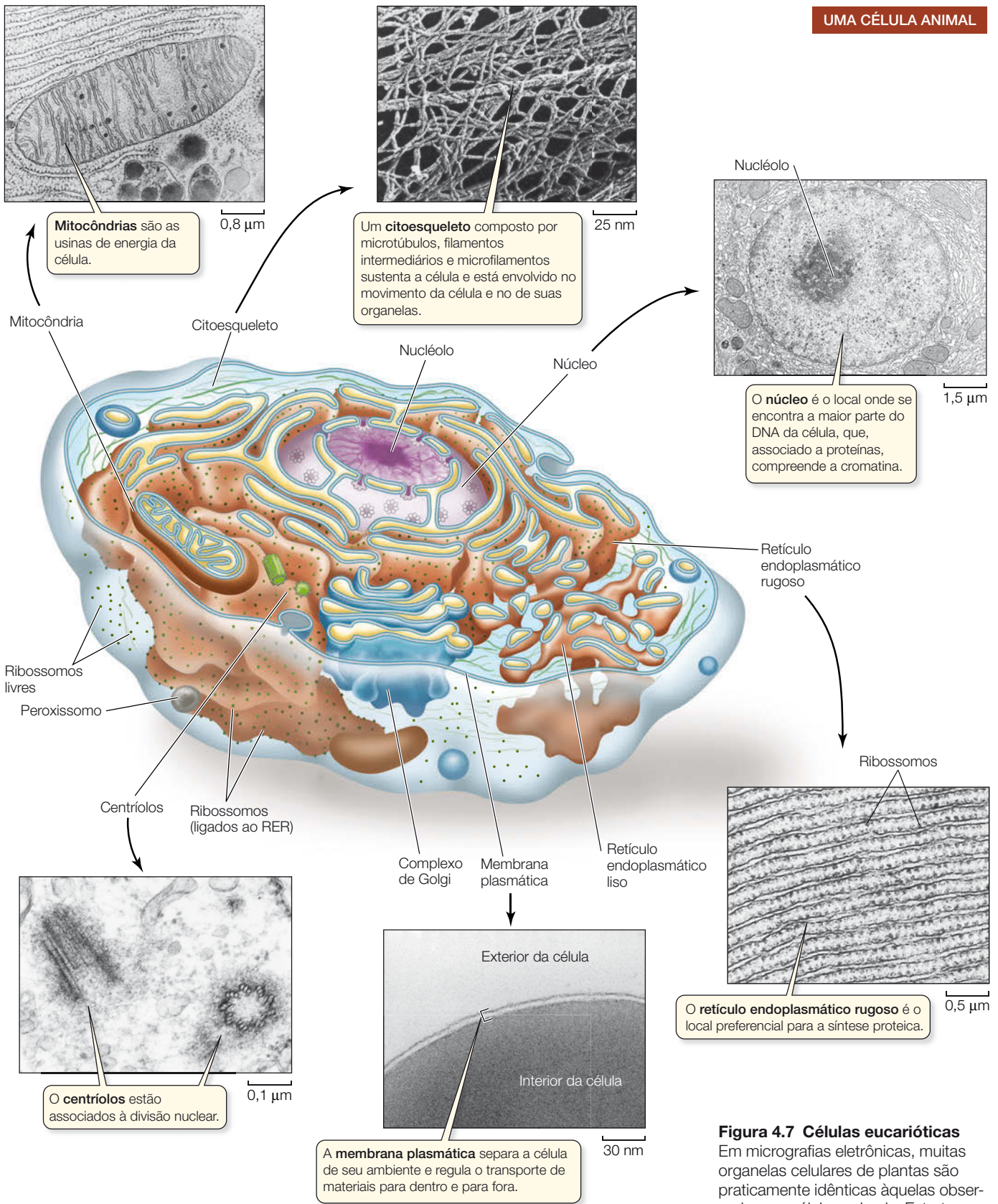
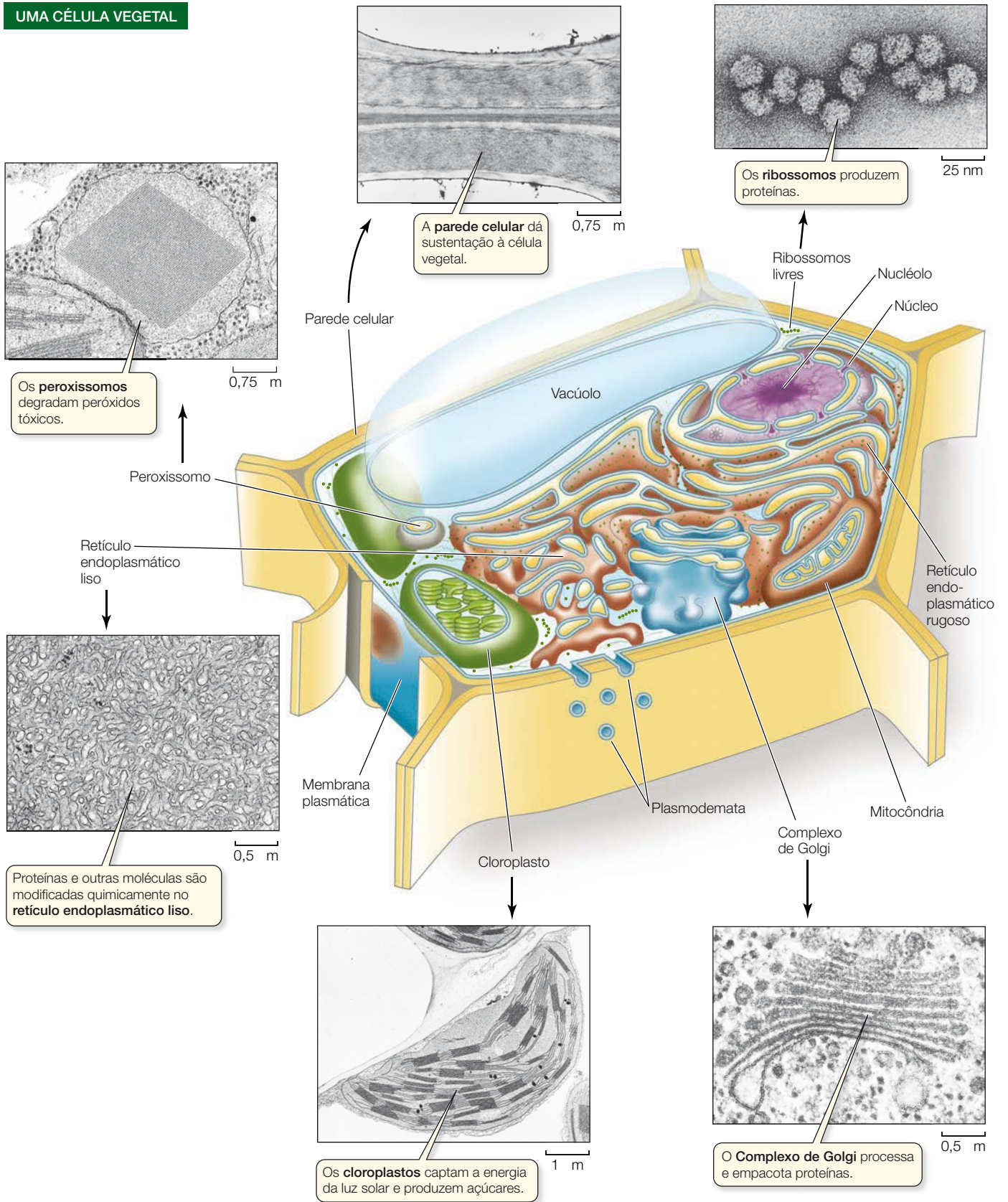
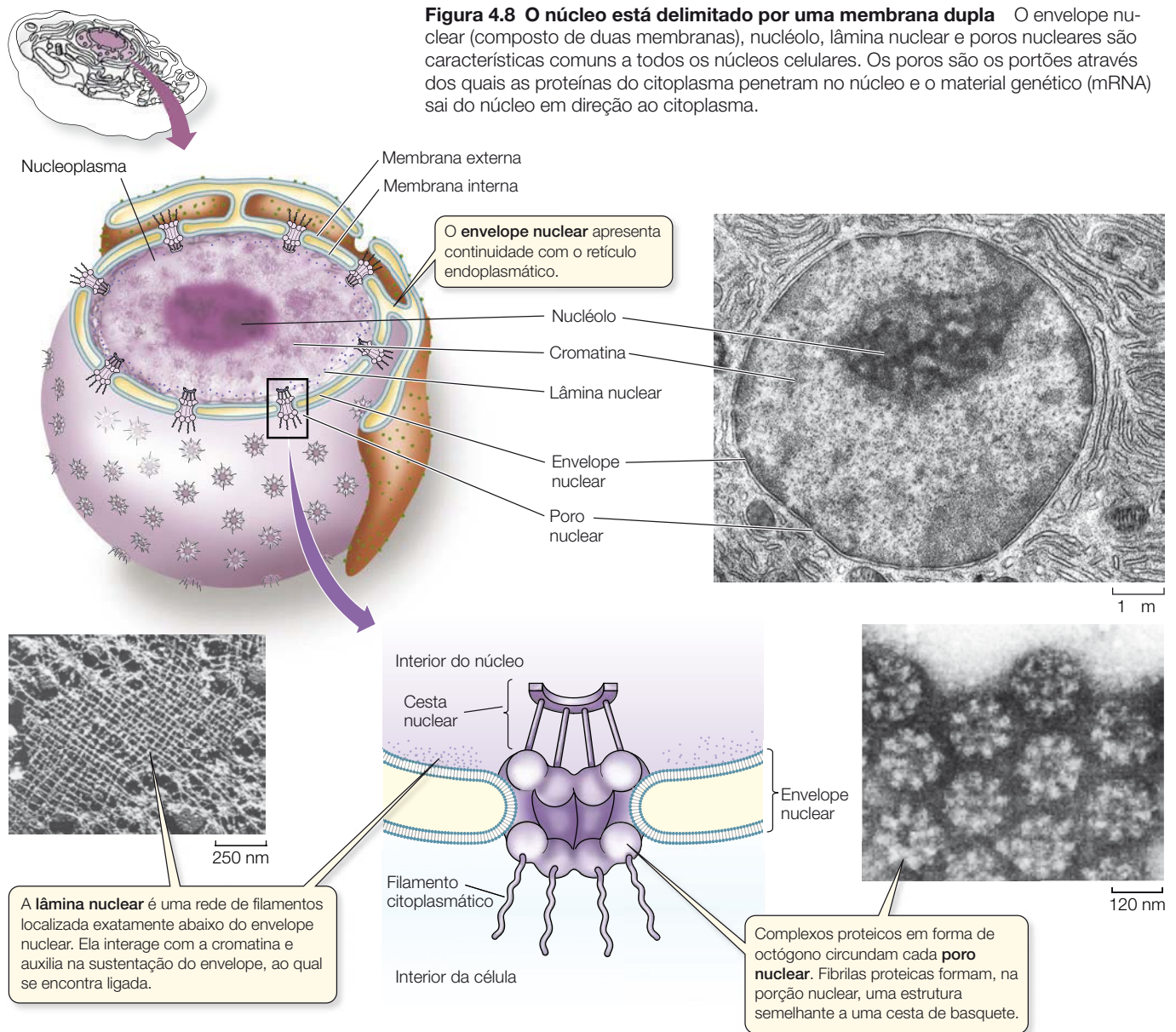


Figura 4.7 Células eucarióticas
 Em micrografias eletrônicas, muitas organelas celulares de plantas são praticamente idênticas àquelas observadas em células animais. Estruturas celulares específicas de vegetais incluem a parede celular e os cloroplastos. Células animais contêm centríolos, não encontrados em vegetais.

UMA CÉLULA VEGETAL





no ponto de contato entre as membranas internas e externas (ver Figura 4.8).

A atuação do poro nuclear pode ser comparada ao funcionamento de uma catraca na entrada de um evento esportivo. Da mesma forma que crianças passam por baixo da catraca, pequenas substâncias, como íons e moléculas de tamanho inferior a 10.000 daltons, difundem através do poro. Moléculas maiores (até 50.000 Da) também podem difundir através do poro, no entanto, necessitam de mais tempo para esse procedimento. No entanto, moléculas maiores, como diferentes proteínas montadas no citoplasma e importadas para o núcleo, comportam-se como adultos na catraca: não podem entrar se não possuírem um “tíquete”. No caso das proteínas a serem importadas, o bilhete é uma sequência curta de aminoácidos que faz parte da proteína. Sabemos que essa pequena sequência faz parte da *signal de localização nuclear* devido a diferentes linhas de evidência:

- A sequência sinal existe na maioria das proteínas nucleares, mas não em proteínas que permanecem no citoplasma.

- Se a sequência sinal for removida de uma proteína, essa proteína permanecerá no citoplasma.
- Se a sequência sinal for adicionada a uma proteína que normalmente se posiciona no citoplasma, ela se moverá para o interior do núcleo.
- Alguns vírus possuem uma sequência sinal que permite sua penetração no núcleo; vírus que não possuem sequência sinal não são capazes de penetrar no núcleo sob a forma de partícula viral.

Como a sequência sinal promove a passagem através do poro nuclear? Aparentemente, ela possui uma estrutura tridimensional que permite sua ligação não covalente a uma das proteínas do poro, que atua como *receptor*. A ligação induz uma alteração no formato tridimensional do receptor de forma que ocorre o estiramento do poro, permitindo a importação de grandes proteínas.

Em regiões específicas, a membrana externa do envelope nuclear cria reentrâncias em direção ao citoplasma e apresenta

Figura 4.9 Cromatina e cromossomos

(A) Quando uma célula não está em divisão, o DNA nuclear está agregado a proteínas, formando a cromatina, dispersa no núcleo. (B) A cromatina na célula em divisão é empacotada em corpos densos chamados cromossomos.

continuidade com a membrana de outra organela, o retículo endoplasmático (descrito em breve). No interior do núcleo, o DNA se associa a proteínas para formar um complexo fibroso denominado *cromatina*. A cromatina consiste em filamentos extremamente longos e finos. Antes da divisão da célula, a cromatina se agrega a fim de formar estruturas definidas e facilmente visíveis, denominadas cromossomos (**Figura 4.9**).

A cromatina está imersa em água e substâncias solubilizadas, coletivamente denominadas de *nucleoplasma*. No interior do nucleoplasma, uma rede de proteínas aparentemente estruturais denominada de *matriz nuclear*, organiza a cromatina. Na periferia do núcleo a cromatina encontra-se conectada a uma rede de proteínas, denominada *lâmina nuclear*, formada por meio da polimerização de proteínas chamadas de *lamínas*, em filamentos. A lâmina nuclear mantém o formato do núcleo através de sua ligação simultânea à cromatina e ao envelope nuclear.

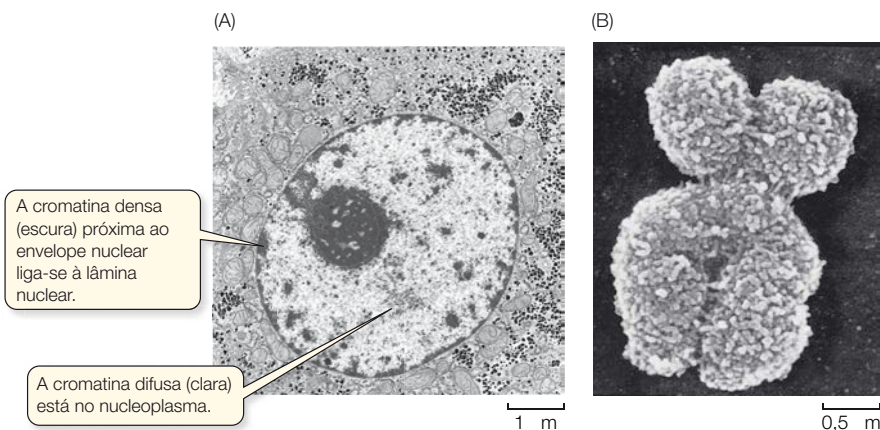
Ao longo da maior parte do ciclo de vida da célula, o envelope nuclear permanece como estrutura estável. No entanto, quando a célula sofre divisão, o envelope celular é quebrado em pedaços de membrana contendo os complexos do poro a eles ligados. O envelope é reconstruído quando a distribuição do DNA replicado para as células filhas está completa (ver Seção 9.3). Ainda não compreendemos exatamente de que modo ocorre essa fascinante reconstrução do envelope.

RIBOSSOMOS Nas células dos procariotos, os **ribossomos** fluem livremente no citoplasma. Entretanto, nas células eucarióticas, eles se encontram em dois locais: no citoplasma, livres ou ligados à superfície do retículo endoplasmático; e no interior de mitocôndrias e cloroplastos. Em cada uma dessas localizações, os ribossomos representam os sítios onde ocorre a síntese de proteínas direcionada pelos ácidos nucleicos. Apesar de parecerem pequenos em comparação com as células que os abrigam, os ribossomos compreendem uma grande maquinaria composta de várias dúzias de diferentes moléculas.

Os ribossomos dos procariotos e eucariotos são similares no que se refere a serem constituídos de duas subunidades de tamanhos distintos. Os ribossomos eucarióticos são relativamente maiores, mas a estrutura dos ribossomos procarióticos é mais conhecida. Quimicamente, os ribossomos contêm um tipo especial de RNA denominado *RNA ribossomal (rRNA)*, ao qual mais de cinquenta tipos diferentes de moléculas de proteínas ligam-se não covalentemente.

O sistema de membranas internas é um grupo de organelas inter-relacionadas

Grande parte do volume de algumas células eucarióticas encontra-se ocupado por um extenso **sistema de membranas internas**. Esse sistema inclui dois componentes principais, o retículo endoplasmático e o complexo de Golgi. A continuidade entre o envelope nuclear e o sistema de membranas internas é visível sob microscopia eletrônica. Pequenas porções de material envolvidas



por membrana, denominadas *vesículas*, aparentemente trafegam entre os diversos componentes do sistema de membranas internas. Esse sistema apresenta várias estruturas, mas todas essencialmente são compartimentos, sendo separados do citoplasma através de suas membranas. As membranas e materiais nesse sistema se movem entre as várias organelas.

RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO Micrografias eletrônicas revelaram a existência de uma rede de membranas interconectadas que se ramifica através do citoplasma de uma célula eucariótica, formando tubos e bolsas achatadas. Esse conjunto de membranas é denominado de **retículo endoplasmático**, ou **RE**. O compartimento interno do RE, conhecido como *lúmen*, está separado e se distingue do citoplasma que o circunda (**Figura 4.10**). O RE pode englobar até 10% do volume interno de uma célula, e seu dobramento resulta em uma área de superfície várias vezes maior que a área de superfície da membrana plasmática.

O **retículo endoplasmático rugoso (RER)** é o RE que se encontra crivado por ribossomos, temporariamente ligados às membranas externas de suas bolsas achatadas.

- Atuando como um compartimento, o RER segrega do citoplasma certas proteínas recentemente sintetizadas e as transporta para outras posições na célula.
- Enquanto se encontram no interior do RER, as proteínas podem ser quimicamente modificadas, de forma a alterar suas funções e eventual destino.

Nos ribossomos ligados ao RER, ocorre a síntese de proteínas que atuam externamente ao citosol – ou seja, proteínas que devem ser exportadas da célula, incorporadas em membranas, ou movidas para o interior de organelas do sistema de membranas internas. Estas proteínas penetram no lúmen do RER conforme são sintetizadas. Como no posicionamento nuclear, isso é alcançado por uma sequência de aminoácidos na proteína que atua semelhante a um sinal de localização RER. Uma vez no lúmen do RER, essas proteínas sofrem diversas alterações, a formação de pontes dissulfeto e o dobramento visando uma estrutura terciária adequada, por exemplo (ver Figura 3.7D).

Algumas proteínas recebem grupos carboidratos no RER, tornando-se desta forma *glicoproteínas*. No caso das proteínas direcionadas para os lisossomos, os grupos carboidrato integram o sistema de “endereçamento”, que garante que as proteínas corretas sejam encaminhadas para este tipo de organela.

O **retículo endoplasmático liso (REL)** é mais tubular (menor ocorrência de bolsas achatadas) do que o RER e não possui

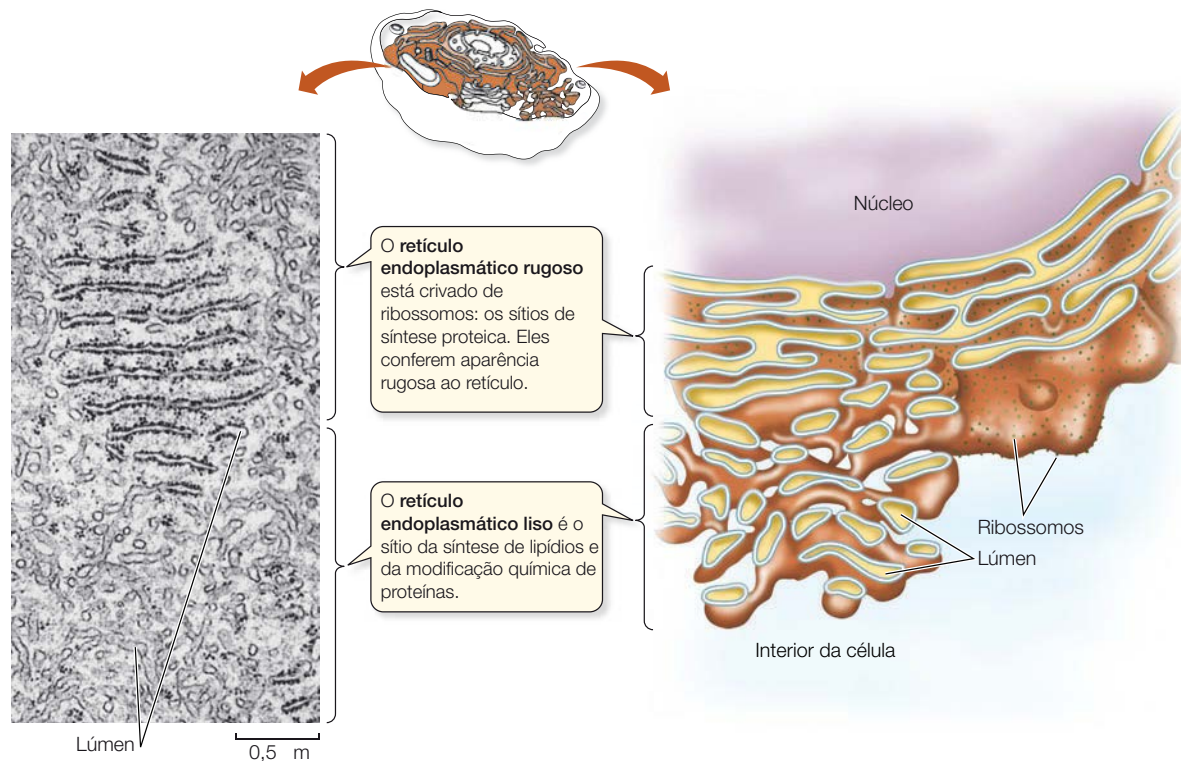


Figura 4.10 Retículo endoplasmático A micrografia eletrônica de transmissão, à esquerda, mostra um corte bidimensional através das estruturas tridimensionais ilustrada no desenho. Em células vivas normais, as membranas do RE jamais apresentam extremidades abertas; elas definem conjuntos de compartimentos fechados em relação ao citoplasma que os circunda.

ribossomos (ver Figura 4.10). No interior do lúmen do REL são modificadas algumas proteínas que foram sintetizadas no RER. Além disso, o REL desempenha três importantes funções:

- É o responsável pela modificação química de pequenas moléculas internalizadas pela célula, especialmente drogas e pesticidas.
- É o sítio de hidrólise do glicogênio em células animais.
- É o sítio de síntese de lipídeos e esteroides.

Em geral, as células que sintetizam grande quantidade de proteínas para exportação estão repletas de retículo endoplasmático. Exemplos dessa situação incluem as células de glândulas que secretam enzimas digestivas e as células brancas sanguíneas que secretam anticorpos. Em contraste, as que realizam pouca síntese proteica (células de estocagem, por exemplo) contêm menos RE. As células do fígado, que modificam moléculas que penetram no organismo pelo sistema digestivo, possuem um REL abundante.

O COMPLEXO DE GOLGI A aparência exata do **complexo de Golgi** (cujo nome deriva de seu descobridor, Camillo Golgi) varia de uma espécie para outra, mas quase sempre consiste em bolsas membranosas e achatadas denominadas *cisternas*, empilhadas como pratos, e em pequenas vesículas delimitadas por membrana (Figura 4.11). O complexo como um todo atinge aproximadamente 1 m de comprimento.

O complexo de Golgi desempenha diferentes funções:

- Recebe proteínas provenientes do RE e pode modificá-las.
- Concentra, empacota e seleciona as proteínas antes de enviá-las para suas destinações celulares ou extracelulares específicas.
- Sintetiza alguns polissacarídeos da parede celular vegetal.

Em células de vegetais, protistas, fungos e diversos animais invertebrados, as pilhas de cisternas se apresentam como unidades individuais espalhadas pelo citoplasma. Em células de vertebrados, geralmente algumas destas pilhas formam um complexo de Golgi único maior e mais complexo.

O complexo de Golgi parece possuir três porções funcionalmente distintas: uma porção inferior, uma porção central e uma porção superior. As cisternas inferiores, que constituem a região *cis* do complexo, localizam-se à proximidade do núcleo ou de uma porção de RER (ver Figura 4.11). As cisternas superiores, que constituem a região *trans*, localizam-se próximas à superfície da célula. As cisternas centrais perfazem a região *medial*. (Os termos *cis*, *trans* e *medial* derivam de palavras latinas que significam, respectivamente, “no mesmo lado”, “em lados opostos” e “no meio”.) Essas três porções do complexo de Golgi contêm diferentes enzimas que desempenham funções distintas.

O complexo de Golgi recebe proteínas provenientes do RE, empacota-as e encaminha-as para seus destinos. Visto que frequentemente não existe continuidade direta de membranas entre o RE e o complexo de Golgi, é necessário questionar de que forma uma proteína consegue transitar de uma organela para outra. Poderia simplesmente sair do RE, passar pelo citoplasma e penetrar no complexo de Golgi. No entanto, esse procedimento estaria expondo a proteína a interações com outras moléculas no citoplasma. Por outro lado, uma segregação do citoplasma poderia ser alcançada se uma parcela de RE pudesse “brotar”, formando vesículas envoltas em membrana que contivessem a proteína – e é exatamente isto que acontece (ver Figura 4.11). Como veremos na Seção 5.1, muitas das moléculas que se encontram em uma

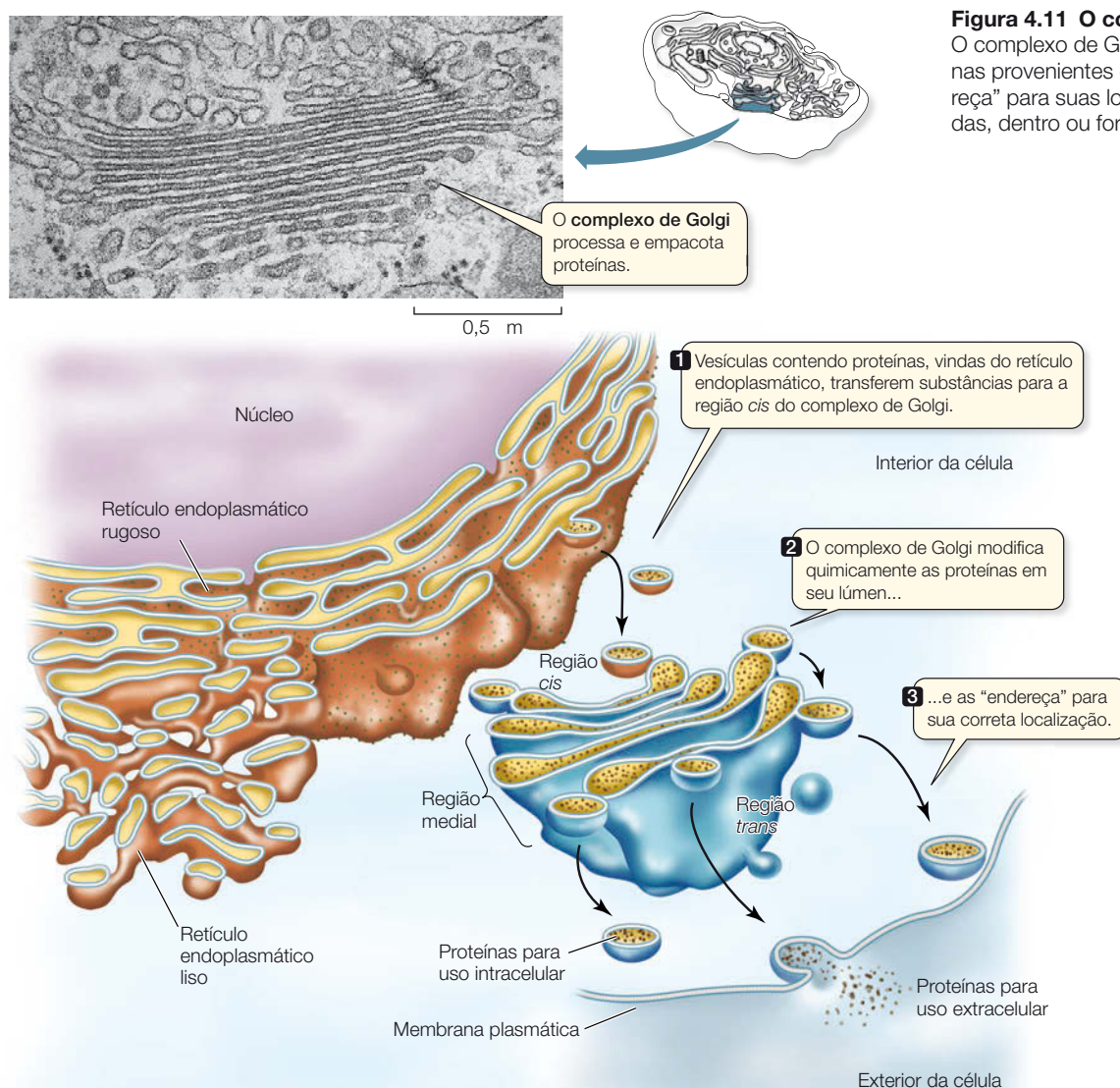


Figura 4.11 O complexo de Golgi

O complexo de Golgi modifica proteínas provenientes do RE e as "endereça" para suas localizações adequadas, dentro ou fora da célula.

membrana não estão ligadas entre elas (encontram-se "ombro-a-ombro" e não "de mãos-dadas"). Assim, uma membrana biológica não pode ser classificada como estrutura sólida, ordenada, mas como limite fluido e flexível. Porções de uma membrana podem facilmente brotar ou fusionarem-se a outra membrana.

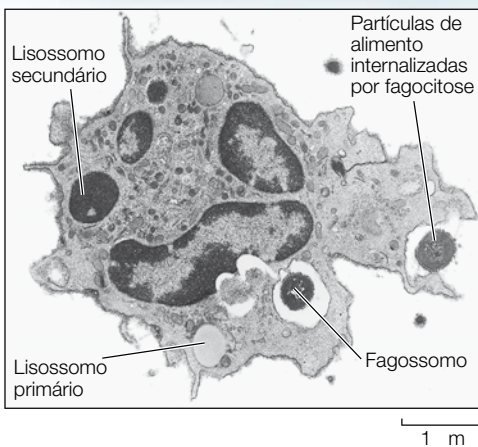
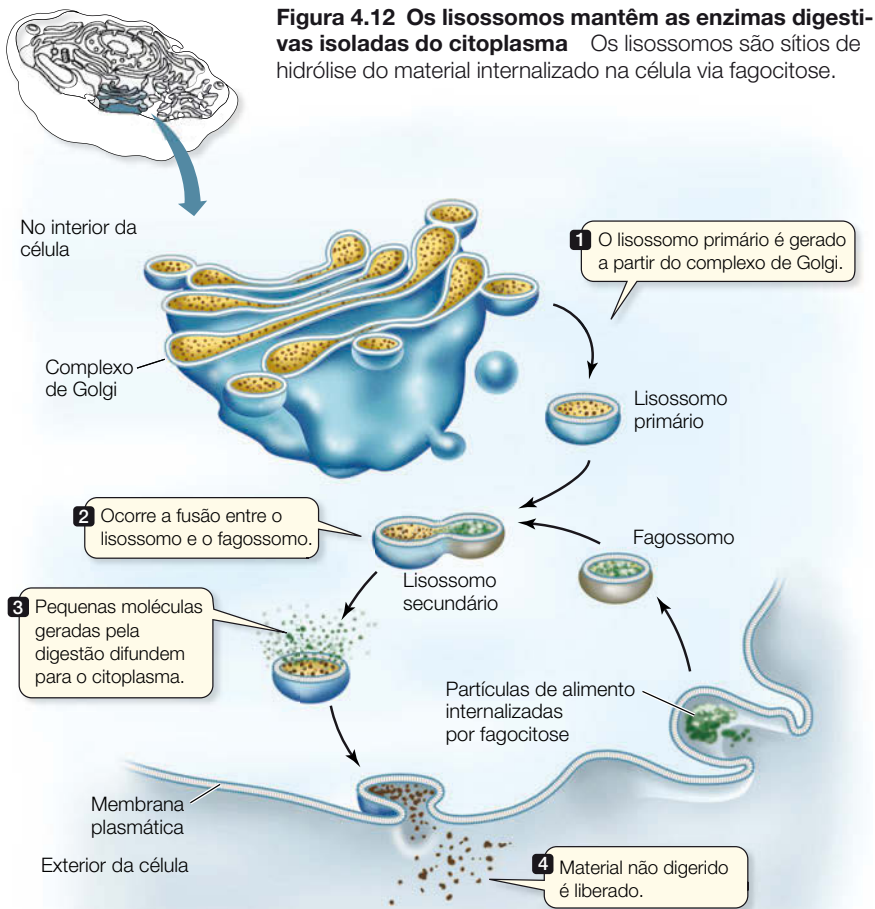
Proteínas trafegam do RE até o complexo de Golgi em segurança, envolvidas em uma vesícula. Quando chegam, elas se fundem com a membrana do complexo de Golgi, liberando sua carga. Outras pequenas vesículas podem se mover entre as cisternas, transportando proteínas, e algumas proteínas parecem mover-se de uma cisterna para a seguinte através de estreitos canais. O brotamento de vesículas da região *trans* permite o transporte de seu conteúdo, retirando-o do complexo de Golgi (ver Figura 4.11).

LISOSSOMOS Do complexo de Golgi se originam organelas denominadas de **lisossomos**. Essas organelas contêm enzimas digestivas e correspondem a sítios onde macromoléculas – proteínas, polissacarídeos, ácidos nucleicos e lipídeos – são hidrolisadas em monômeros (ver Figura 3.4). Os lisossomos possuem aproximadamente 1 μ m de diâmetro, são circundados por uma

membrana única e apresentam um interior isento de qualquer estrutura e que pode ser densamente corado (Figura 4.12). Dependendo da necessidade, podem existir dezenas de lisossomos em uma única célula.

Os lisossomos são os locais de quebra (digestão) de nutrientes e outros materiais captados pela célula. Esses materiais penetram na célula através de um processo denominado *fagocitose* (*fago*, "comer"; *citose*, "celular"), no qual há a formação de uma invaginação na membrana plasmática, que gradualmente se aprofunda e engloba o material encontrado no exterior da célula. Essa invaginação torna-se uma pequena vesícula que se libera da membrana plasmática e move rumo ao citoplasma sob a forma de um *fagossomo*, contendo alimento ou outro material (ver Figura 4.12). O fagossomo se funde a um *lisossomo primário* dando origem a um *lisossomo secundário*, no qual ocorre a digestão.

O efeito dessa fusão pode ser comparado à liberação de um bando de raposas famintas em um galinheiro: as enzimas do lisossomo secundário rapidamente hidrolisam as partículas de alimento. Essas reações são favorecidas pelo ambiente levemente ácido do interior do lisossomo, onde o pH é menor do que o exis-



tente no citoplasma circundante. Os produtos da digestão difundem através da sua membrana, fornecendo matéria-prima para outros processos celulares. Os lisossomos secundários “usados”, que contêm partículas não digeridas, movem-se rumo à membrana plasmática, fusionam-se a esta e liberam o conteúdo não digerido no ambiente.

Os lisossomos são também o local onde as células digerem material próprio, em um processo denominado *autofagia*. A autofagia é um processo contínuo no qual organelas, tais como mitocôndrias, são englobadas pelos lisossomos e hidrolisadas em monômeros, que saem do lisossomo, através da membrana, para o citoplasma onde podem ser reutilizados.

Aparentemente células vegetais não contêm lisossomos, mas o vacúolo central de uma célula vegetal (que será descrito posteriormente) pode apresentar uma capacidade de atuação equivalente, pois, assim como os lisossomos, contêm diversas enzimas digestivas.

Doenças fatais de depósito lisossomal podem ocorrer quando os lisossomos apresentam defeitos de funcionamento e moléculas que deveriam ser digeridas acumulam em seu interior, ao invés de serem degradadas.

Algumas organelas processam energia

A célula utiliza energia para sintetizar os materiais que necessita em atividades como crescimento, reprodução e movimento. A energia é transformada de uma forma para outra nas mitocôndrias (encontradas em células eucarióticas) e nos cloroplastos (encontrados em células eucarióticas que captam energia da luz solar). Em contraste, transformações de energia em células procarióticas estão associadas a enzimas ligadas à superfície interna da membrana plasmática ou a extensões da membrana plasmática que se projetam em direção ao citoplasma.

MITOCÔNDRIAS Em células eucarióticas, a quebra de moléculas combustíveis, como glicose, tem início no citosol. As moléculas resultantes dessa degradação parcial penetram nas **mitocôndrias**, cuja função primária é converter a energia química potencial dessas moléculas combustíveis em uma forma de energia passível de uso pela célula: uma molécula de ATP (adenosina trifosfato) rica em energia. A produção de ATP nas mitocôndrias, a partir de moléculas combustíveis e oxigênio molecular (O_2) é denominada de *respiração celular*.

Uma mitocôndria típica apresenta tamanho um pouco inferior a 1,5 μ m de diâmetro e 2-8 μ m de largura – o tamanho aproximado de diversas bactérias. O número de mitocôndrias por célula varia de uma única gigante retorcida em alguns protistas unicelulares a algumas centenas de milhares em grandes células tipo óvulo. Uma célula hepática humana padrão contém mais de mil mitocôndrias. As células que necessitam grande quantidade de energia química tendem a apresentar maior quantidade de mitocôndrias por unidade de volume.

As mitocôndrias possuem duas membranas. A *membrana externa*, lisa e protetora, oferece pouca resistência ao movimento de substâncias entre o exterior e o interior da mitocôndria. Imediatamente abaixo da membrana externa existe a *membrana interna*, que apresenta invaginações múltiplas, e desta forma possui uma área de superfície muito mais extensa do que a externa (**Figura 4.13**). Estas invaginações tendem a ser bastante regulares, originando reentrâncias organizadas semelhante a prateleiras de um armário denominadas *cristas*.

Inseridos na membrana mitocondrial interna encontram-se diversos complexos proteicos grandes, que participam na respira-

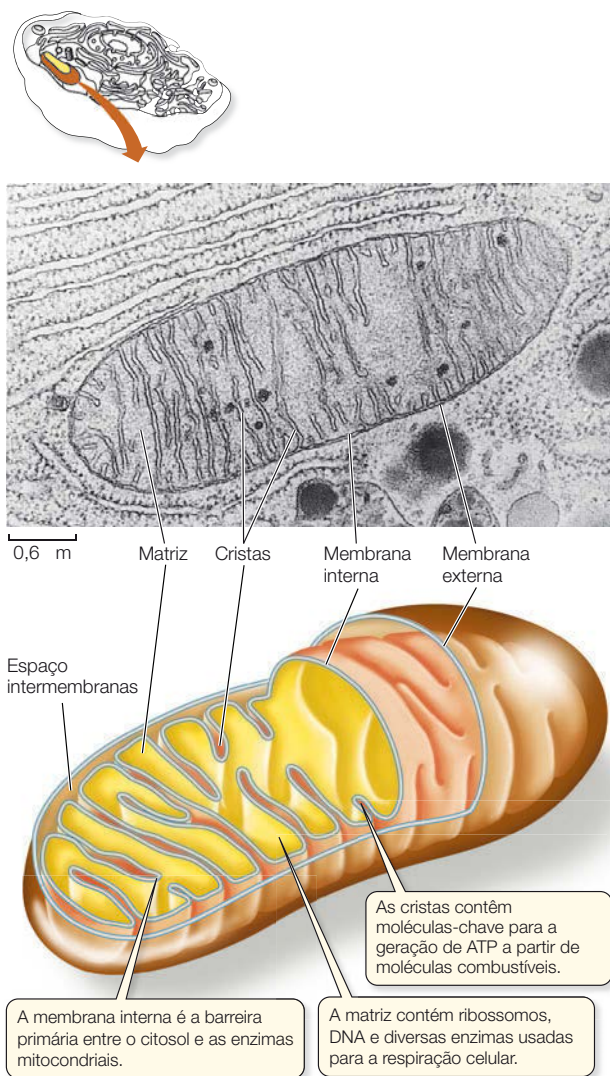


Figura 4.13 Uma mitocôndria converte energia a partir de moléculas combustíveis em ATP A micrografia eletrônica refere-se a um corte bidimensional feito em uma organela tridimensional. Como o desenho enfatiza, as cristas são extensões da membrana interna da mitocôndria.

ção celular. A membrana interna exerce um controle muito maior do que o da membrana externa sobre a entrada e a saída de materiais no espaço por ela delimitado. O espaço delimitado pela membrana interna é denominado de *matriz mitocondrial*. Além de diversas enzimas, a matriz contém alguns ribossomos e DNA que são usados para a elaboração de certas proteínas necessárias para a respiração celular. Veremos no Capítulo 7 de que forma as diferentes partes da mitocôndria trabalham em conjunto para a respiração celular.

PLASTÍDEOS Uma classe de organelas – os *plastídeos* – é produzida apenas em células vegetais e em determinados protistas. Existem vários tipos de plastídeos com diferentes funções.

Cloroplastos contêm o pigmento verde *clorofila* e são os locais onde ocorre fotossíntese (Figura 4.14). Na fotossíntese, a energia da luz é convertida na energia química presente em ligações

entre átomos. As moléculas formadas pela fotossíntese fornecem alimento tanto para organismos fotossintéticos quanto para organismos que se alimentam destes. Direta ou indiretamente, a fotossíntese é a fonte de energia para a maior parte dos seres vivos existentes no mundo.

Os cloroplastos apresentam tamanho e forma variáveis (Figura 4.15). Assim como a mitocôndria, o cloroplasto é envolto por duas membranas. Além disso, existe uma série de membranas internas cuja estrutura e organização varia de um grupo de organismos fotossintetizadores para outro. Aqui, nos concentraremos nos cloroplastos de plantas com flores. Mesmo os cloroplastos desse grupo apresentam alguma variação, mas o padrão representado na Figura 4.14 é representativo.

As membranas internas dos cloroplastos se assemelham a pilhas de pães árabes. Essas pilhas, denominados *grana* (singular *granum*), consistem em uma série de compartimentos circulares achatados, firmemente sobrepostos, denominados **tilacoides**. Além de fosfolipídeos e proteínas, a membrana dos tilacoides contém clorofila e outros pigmentos que captam luz para a fotossíntese (veremos como isso acontece na Seção 8.2). Os tilacoides de cada *granum* podem estar conectados aos de outros *grana*, tornando o interior de um cloroplasto uma rede altamente desenvolvida de membranas, assemelhando-se muito ao RE.

O fluido no qual os grana estão suspensos é chamado de *estroma*. Assim como a matriz mitocondrial, o estroma cloroplástico contém ribossomos e DNA, que são usados na síntese de algumas, mas não de todas, proteínas que compõem o cloroplasto.

Células animais não produzem cloroplastos, no entanto algumas contêm cloroplastos funcionais. Esses cloroplastos ou são adquiridos por meio da digestão parcial de plantas verdes ou estão contidos no interior de algas unicelulares que vivem dentro dos tecidos animais. A coloração verde de alguns corais e anêmonas marinhas provém de cloroplastos de algas que vivem junto a estes animais (ver Figura 4.15C). Neste caso, os animais retiram parte de sua alimentação da fotossíntese realizada por seus “hóspedes” portadores de cloroplastos. Tal relacionamento íntimo entre dois organismos diferentes é chamado de *simbiose*.

Outros tipos de plastídeos desempenham funções diferentes daquelas realizadas pelos cloroplastos:

- Os *cromoplastos* contêm pigmentos vermelhos, laranja e/ou amarelos e dão coloração a órgãos de plantas, como as flores (Figura 4.16A). A função química dos cromoplastos na célula ainda não está compreendida, mas a coloração que eles conferem a diferentes pétalas e frutos provavelmente é um convite a animais visitarem as flores, assim auxiliando na polinização, ou a comer os frutos, assim colaborando com a dispersão de sementes. (Por outro lado, coloração alaranjada não parece ser vantajosa para a raiz da cenoura.)
- *Leucoplastos* são depósitos para o estoque de amido e gordura (Figura 4.16B).

Diversas outras organelas são envolvidas por uma membrana

Os **peroxissomos** são organelas que recolhem os peróxidos tóxicos (como o peróxido de hidrogênio, H_2O_2) que são inevitáveis subprodutos das reações químicas celulares. Estes peróxidos são quebrados ou digeridos com segurança dentro dos peroxissomos sem se misturarem com outras porções da célula. Os peroxissomos são organelas pequenas, de diâmetro aproximado entre 0,2 e 1,7 μm . Eles possuem uma membrana única e uma região interna granular que contém enzimas especializadas (Figura 4.17).

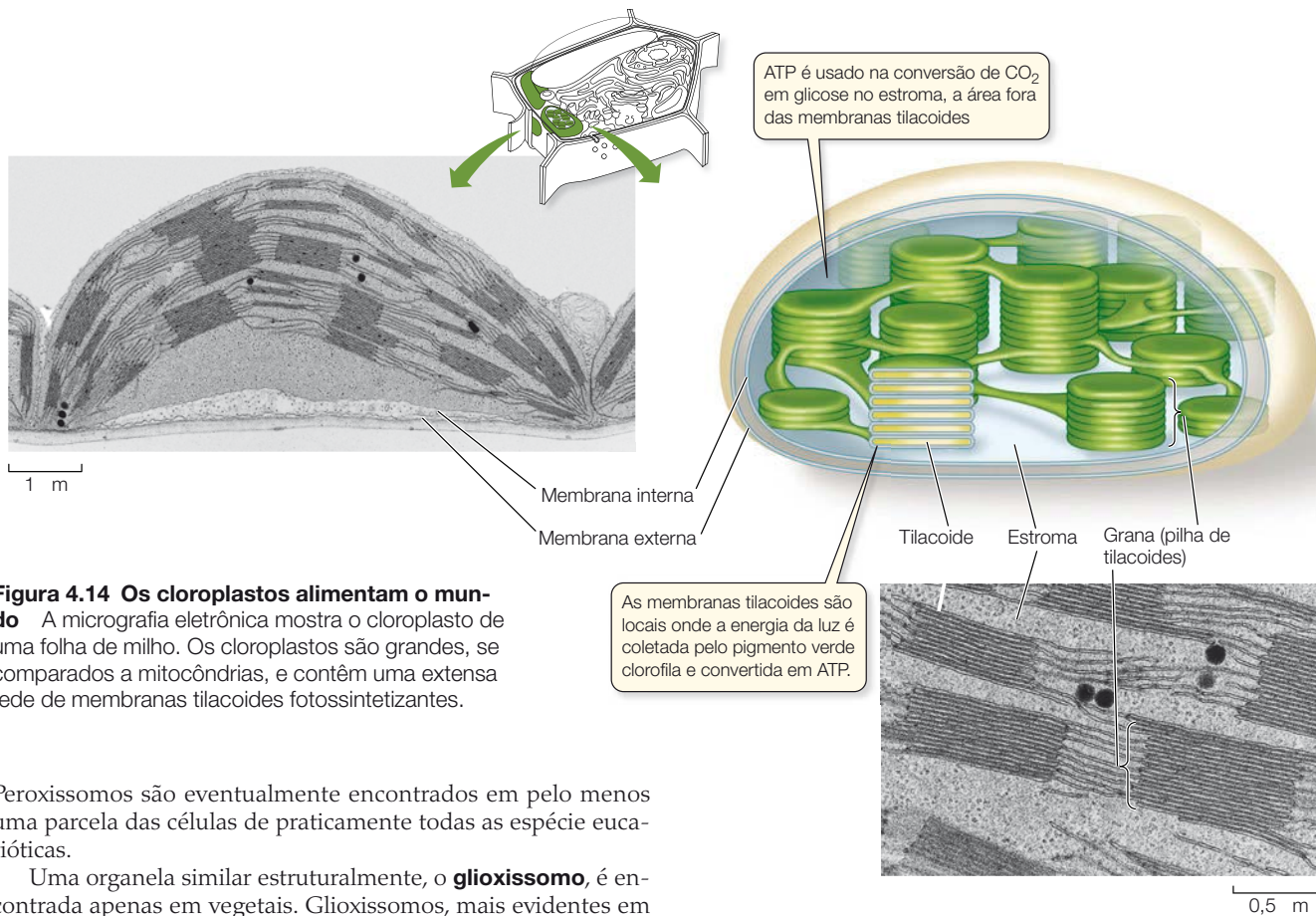


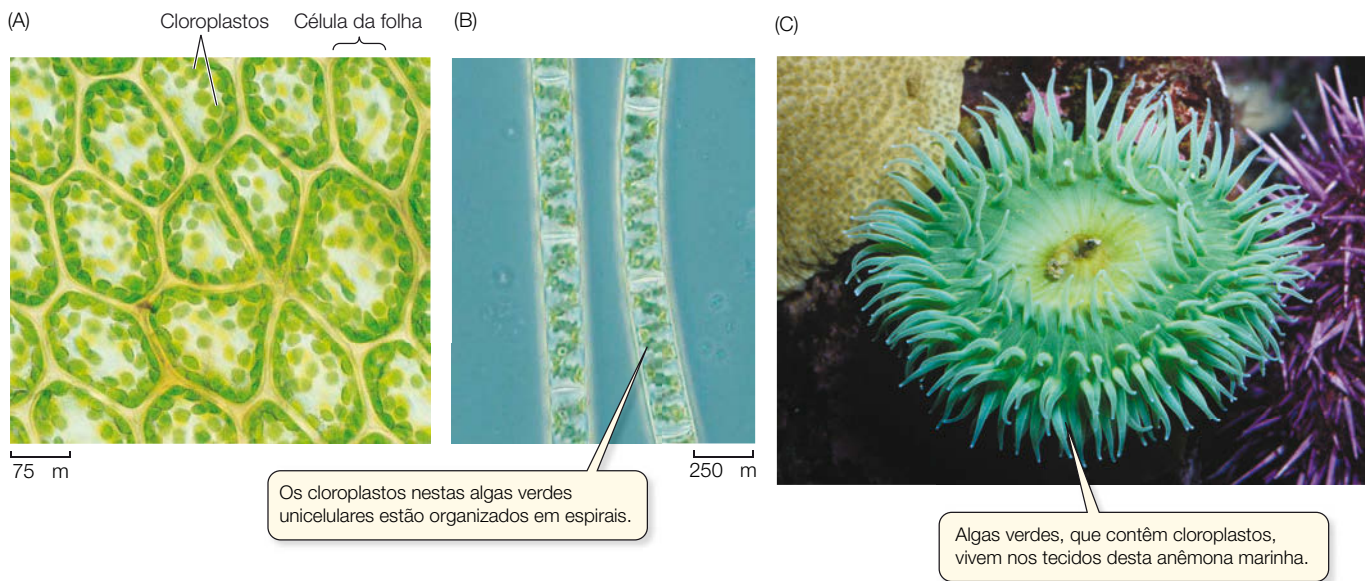
Figura 4.14 Os cloroplastos alimentam o mundo A micrografia eletrônica mostra o cloroplasto de uma folha de milho. Os cloroplastos são grandes, se comparados a mitocôndrias, e contêm uma extensa rede de membranas tilacoides fotossintetizantes.

Peroxisomos são eventualmente encontrados em pelo menos uma parcela das células de praticamente todas as espécies eucarióticas.

Uma organela similar estruturalmente, o **glioxissomo**, é encontrada apenas em vegetais. Glioxissomos, mais evidentes em vegetais jovens, são locais onde lipídeos estocados convertem-se em carboidratos que serão transportados para células em crescimento.

Diversas células eucarióticas, e particularmente aquelas de vegetais e protistas, contêm **vacúolos** delimitados por membranas preenchidos com soluções aquosas que possuem diferentes substâncias dissolvidas (**Figura 4.18**). Os vacúolos vegetais desempenham várias funções:

Figura 4.15 Tornando-se verdes (A) Em plantas verdes, os cloroplastos estão concentrados nas células das folhas. (B) As algas verdes são fotossintetizantes e suas células estão repletas de cloroplastos. (C) Os animais não produzem cloroplastos, mas em um acordo simbiótico, uma anêmona marinha recebe alimento de uma alga verde unicelular que vive em seus tecidos.



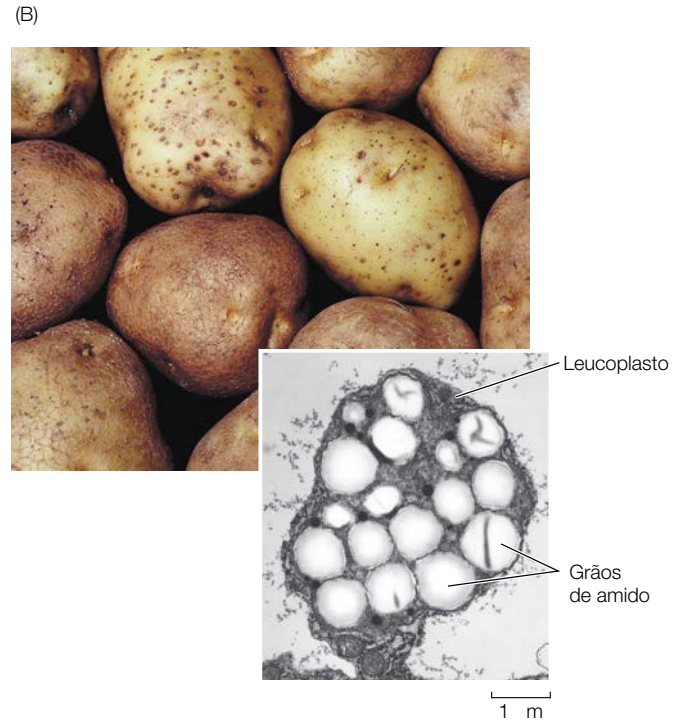


Figura 4.16 Cromoplastos e leucoplastos (A) Pigmentos coloridos estocados nos cromoplastos de flores desta papoula podem atrair insetos polinizadores. (B) Leucoplastos nas células de uma batata estão cheios de grãos de amido.

■ **Estocagem:** Células vegetais produzem uma série de subprodutos tóxicos e rejeitos, muitos simplesmente estocados no seu interior. Por serem venenosos ou não palatáveis, estes materiais estocados evitam que certos animais se alimentem destas plantas e, assim, contribuem para a sobrevivência da planta.

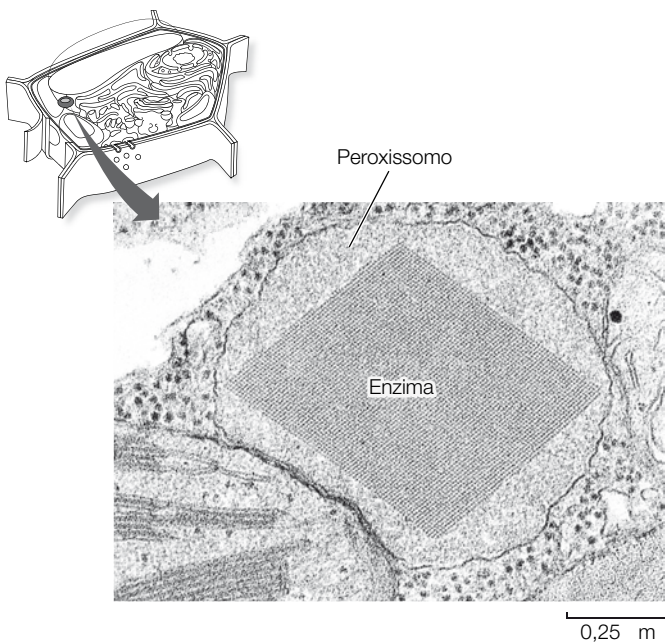


Figura 4.17 Um peroxissomo Em forma de diamante, um cristal composto por uma enzima quase preenche todo este peroxissomo arredondado numa célula foliar. A enzima catalisa uma das reações que degrada peróxidos tóxicos no peroxissomo.

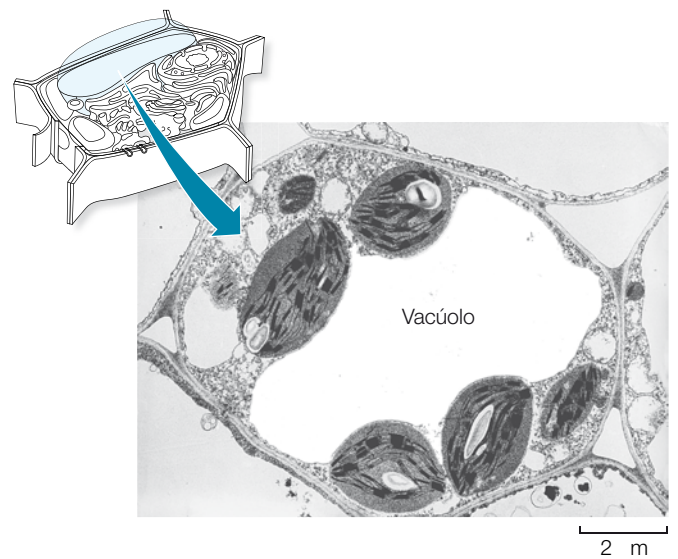


Figura 4.18 Os vacúolos em uma célula vegetal são geralmente grandes O grande vacúolo central desta célula é característico de células vegetais maduras. Vacúolos menores são visíveis nas suas extremidades.

- **Estrutura:** Em diferentes plantas, enormes vacúolos compreendem mais de 90% do volume celular e crescem à medida que a célula cresce. Devido à presença de solutos no vacúolo, ocorre entrada de água, fazendo-o inchar como um balão. As células vegetais possuem uma parede rígida, que resiste ao inchaço do vacúolo, fornecendo um *turgor*, ou resistência, que auxilia na sustentação da planta.
- **Reprodução:** Alguns pigmentos (especialmente azuis e rosas) nas pétalas e frutos de plantas com flores estão acondicionados em vacúolos. Esses pigmentos – as *antocianinas* – são estímulos visuais que auxiliam na atração de animais que colaboram na polinização ou na dispersão de sementes.
- **Digestão:** Em algumas plantas, vacúolos nas sementes contêm enzimas que hidrolisam proteínas da semente em monômeros, que podem ser usados como alimento pelo embrião da planta em desenvolvimento.

Vacúolos de alimentos encontram-se em alguns grupos de eucariotos simples, evolutivamente antigos – protistas unicelulares e organismos multicelulares simples tais como esponjas, por exemplo – que não possuem sistema digestivo. Nestes organismos, as células englobam partículas de alimento via fagocitose, originando vacúolos de alimentos. A fusão deste tipo de vacúolo com um lisossomo resulta em digestão, e pequenas moléculas deixam o primeiro e penetram no citoplasma, para serem utilizadas ou distribuídas em outras organelas.

Vacúolos contrácteis encontram-se em diversos protistas de água doce. Sua função consiste em eliminar o excesso de água que penetra na célula em decorrência do desbalanço da concentração de solutos entre o interior celular e o ambiente aquático. O vacúolo contráctil expande conforme a água penetra e, então, abruptamente se contrai, forçando a água rumo ao exterior da célula através de uma estrutura especial em poro.

O citoesqueleto é importante para a estrutura celular

Além de suas diversas organelas delimitadas por membrana, o citoplasma eucariótico contém um conjunto de longas fibras finas denominado citoesqueleto. O citoesqueleto desempenha diversos papéis importantes:

- Sustenta a célula e mantém sua forma.
- Fornece movimento a diferentes tipos celulares.
- Posiciona as organelas dentro da célula.
- Algumas de suas fibras atuam como rotas ou suportes para proteínas motoras, que movimentam organelas no interior da célula.
- Interage com estruturas extracelulares auxiliando na ancoragem da célula a seu local adequado.

De que forma sabemos que as fibras estruturais do citoesqueleto podem desempenhar todas estas funções dinâmicas? A observação de uma estrutura individual sob microscopia e a observação do funcionamento de uma célula viva que contenha a estrutura em questão pode nos dar informações sugestivas, no entanto, em ciência, *uma mera correlação não pode ser considerada relação de causa e efeito*. Em biologia celular, existem duas formas de mostrar que a estrutura ou processo “A” leva à função “B”:

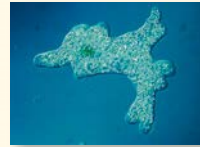
- **Inibição:** Utilize uma droga que inibe A e veja se B ainda ocorre. Em caso negativo, A é provavelmente um fator causador de B. A **Figura 4.19** ilustra um experimento com esse tipo de

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: Os movimentos da célula ameboide são causados pelo citoesqueleto.

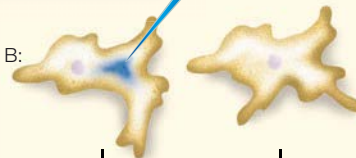
MÉTODO

Amoeba proteus é um eucarioto unicelular que se move por meio de extensões de sua membrana.



A droga citocalasina B é uma droga que despolimeriza microfilamentos (que fazem parte do citoesqueleto).

Amoeba tratada com Citocalasina B:



Controle: *Amoeba* não tratada.

RESULTADOS

A *Amoeba* tratada adquire aparência circular e não se move.



A *Amoeba* não tratada continua a apresentar movimento.

CONCLUSÃO: Microfilamentos do citoesqueleto são essenciais para o movimento de células ameboides.

Figura 4.19 Demonstrando causa e consequência na biologia

Uma substância que sabidamente inibe uma estrutura (neste caso a citocalasina B, uma droga que inibe a formação de microfilamentos) é aplicada com o objetivo de descobrir se ela também inibe uma função (no caso, o movimento em uma *Amoeba*). **PESQUISA ADICIONAL:** A droga colchicina despolimeriza microtúbulos. Como você demonstraria que estes componentes do citoesqueleto não estão envolvidos no movimento celular de uma *Amoeba*?

droga (um *inibidor*) que demonstra relação de causa e efeito envolvendo citoesqueleto e movimento celular.

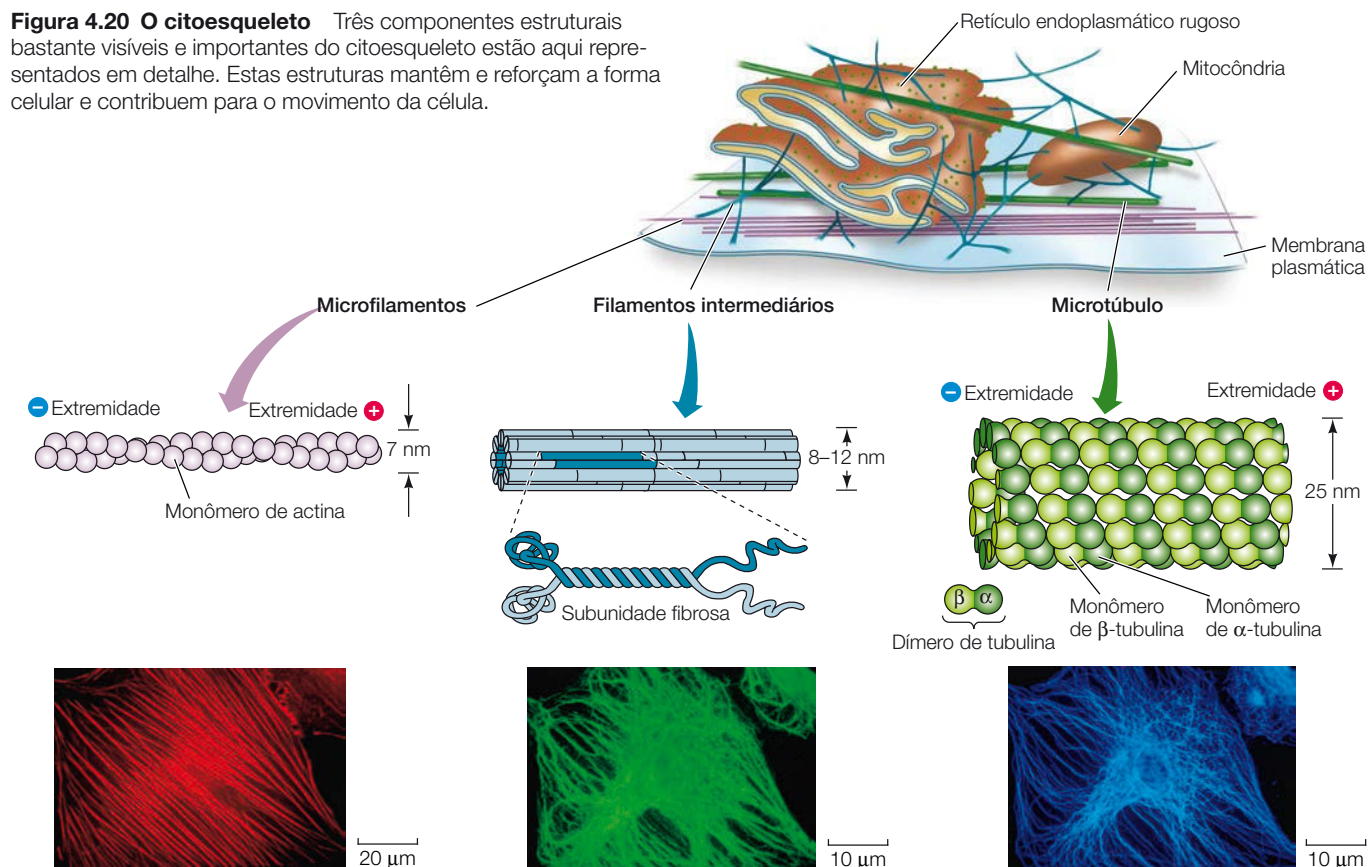
- **Mutação:** Observe uma célula onde o gene (ou os genes) para A estejam ausentes e veja se B ainda ocorre. Em caso negativo, A é provavelmente o fator causador de B. A Parte 3 deste livro descreve diversos experimentos que utilizam esta abordagem genética.

MICROFILAMENTOS Microfilamentos podem ocorrer como filamentos individuais, em feixes ou em redes (tramas). Eles possuem um diâmetro de aproximadamente 7 nm e alcançam vários micrômetros de comprimento, provavelmente. Os microfilamentos desempenham dois papéis principais:

- Auxiliam a locomoção de partes da célula ou da sua totalidade.
- Determinam e estabilizam a forma celular.

Os microfilamentos são montados a partir de *actina*, proteína que ocorre sob diferentes formas e que apresenta diversas funções, especialmente em animais. A actina encontrada nos microfilamen-

Figura 4.20 O citoesqueleto Três componentes estruturais bastante visíveis e importantes do citoesqueleto estão aqui representados em detalhe. Estas estruturas mantêm e reforçam a forma celular e contribuem para o movimento da célula.



(A) Microfilamentos

- São formados por fitas da proteína actina e frequentemente interagem com outras proteínas.
- Alteram a forma celular e conduzem movimentos celulares, tais como contração, a corrente citoplasmática e o "estrangulamento" que ocorre durante a divisão celular.
- Em conjunto, microfilamentos e fitas de miosina determinam a ação muscular.

(B) Filamentos intermediários

- São formados de proteínas fibrosas firmemente organizadas em estruturas semelhantes a um cabo-de-aço (ou corda) que estabilizam a estrutura celular e auxiliam a manutenção de sua forma.
- Alguns filamentos intermediários unem células adjacentes, enquanto outros formam a lâmina nuclear.

(C) Microtúbulos

- São longos cilindros ocos formados de diversas moléculas da proteína tubulina. A tubulina consiste em duas subunidades, α -tubulina e β -tubulina.
- Os microtúbulos são alongados ou encurtados através da adição ou retirada de dímeros de tubulina.
- O encurtamento dos microtúbulos movimenta os cromossomos.
- Interações entre microtúbulos levam ao movimento das células.
- Os microtúbulos servem como "trilhas" para o transporte de vesículas.

tos (também conhecidos como filamentos de actina) é extensivamente dobrada e possui extremidades "mais" e "menos" distintas.

Essas extremidades interagem com outros monômeros de actina para formar longas cadeias em dupla hélice (Figura 4.20A). A polimerização da actina em microfilamentos é reversível e estes podem desaparecer nas células, reduzidos a monômeros de actina livre.

Nas células musculares de animais, os filamentos de actina associam-se a outra proteína, a "proteína motora" miosina, e as interações entre essas duas tornam-se responsáveis pela contração muscular (descrita na Seção 53.1). Em células não musculares, filamentos de actina estão associados a alterações localizadas no formato das células. Por exemplo, microfilamentos estão envolvidos em um movimento de fluxo do citoplasma denominado *corrente citoplasmática* e nas contrações de "estrangulamento", que dividem as células animais em duas células filhas. Os microfilamentos também estão implicados na formação de extensões celulares denominadas *pseudópodes* (*pseudo*, "falso"; *podes*, "pés"), que permitem a movimentação de algumas células.

Em determinados tipos celulares, os microfilamentos formam uma rede logo abaixo da membrana plasmática. Proteínas de ligação à actina promovem a interligação dos microfilamentos, formando uma estrutura rígida que sustenta a célula. Por exemplo, microfilamentos sustentam as estreitas microvilosidades que revestem o intestino humano, conferindo-lhe maior área de superfície para absorver os nutrientes (Figura 4.21).

FILAMENTOS INTERMEDIÁRIOS Existem pelo menos cinquenta tipos diferentes de **filamentos intermediários**, muitos deles específicos para algumas poucas células. Os filamentos intermediários geralmente se acomodam em seis classes moleculares (baseadas na sequência de aminoácidos) e compartilham a mesma estrutura geral, sendo compostos por proteínas fibrosas da família das queratinas, similar à proteína que compõe o cabelo e as unhas. Essas proteínas estão organizadas em uma estrutura resistente, semelhante a um cabo, com um diâmetro de 8 a 12 nm (Figura 4.20B). Os filamentos intermediários desempenham duas funções principais:

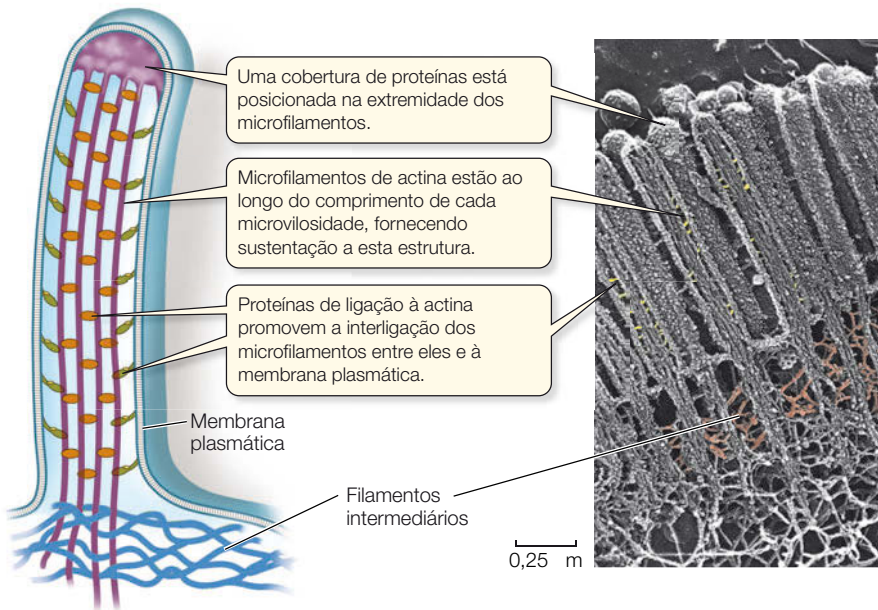


Figura 4.21 Microfilamentos de sustentação As células que revestem o intestino apresentam pequenas projeções denominadas microvilosidades, sustentadas por microfilamentos. As microvilosidades aumentam a área de superfície das células, facilitando a absorção de pequenas moléculas.

Em vegetais, os microtúbulos auxiliam no controle da organização das fibras de celulose da parede celular. Microfotografias eletrônicas de vegetais frequentemente mostram microtúbulos localizados logo abaixo da membrana plasmática de células, formando ou estendendo suas paredes celulares. A alteração experimental da orientação destes microtúbulos leva a uma mudança similar da parede celular e, conseqüentemente, a um novo formato da célula.

Em diversas células os microtúbulos servem de vias para as **proteínas motoras**, moléculas especializadas que usam energia para alterar sua conformação e se mover. As proteínas se ligam aos microtúbulos e podem mover-se sobre eles, transportando materiais a diferentes pontos da célula. Os microtúbulos são também essenciais no processo de distribuição dos cromossomos entre as células filhas durante a divisão celular. Eles ainda se encontram intimamente relacionados aos apêndices celulares móveis: cílios e flagelos.

Visto que os microtúbulos são essenciais para um adequado alinhamento cromossômico durante a divisão celular, drogas como a colchicina e o taxol, que interrompem a dinâmica dos microtúbulos, também afetam a divisão celular. Se estas drogas puderem ser direcionadas para células cancerosas – cuja divisão é acelerada – poderão ser úteis para o tratamento desta doença.

- Estabilizam a estrutura da célula.
- Resistem à tensão.

Em algumas células, filamentos intermediários irradiam a partir do envelope nuclear e auxiliam a manter o posicionamento do núcleo e de outras organelas na célula. As lamínas da lâmina nuclear são filamentos intermediários. Outros tipos de filamentos intermediários ajudam na manutenção da estrutura de um complexo conjunto de microfilamentos nas microvilosidades das células intestinais (ver Figura 4.21). Ainda, há outros que estabilizam e auxiliam a manter a rigidez dos tecidos de superfície corporal por meio da conexão entre “pontos de adesão”, denominados *desmosomos*, entre células adjacentes (ver Figura 5.7B).

MICROTÚBULOS Microtúbulos são longos cilindros ocos, não ramificados, de aproximadamente 25 nm de diâmetro e que alcançam vários micrômetros de comprimento. Os microtúbulos desempenham dois papéis na célula:

- Formam um esqueleto interno rígido em algumas células.
- Atuam como via de sustentação sobre a qual proteínas motoras podem mover estruturas no interior da célula.

Microtúbulos são montados de moléculas da proteína *tubulina*. A tubulina é um *dímero* – uma molécula composta de dois monômeros. Os polipeptídeos monômeros que compõem um dímero de tubulina são denominados de α -tubulina e β -tubulina. Treze cadeias de dímeros de tubulina circundam a cavidade central do microtúbulo (Figura 4.20C). As duas extremidades de um microtúbulo são diferentes: uma é designada extremidade mais (+) e a outra extremidade menos (-). Os dímeros de tubulina podem ser rapidamente adicionados ou retirados, principalmente na extremidade mais, prolongando ou encurtando o microtúbulo. Essa capacidade de rapidamente alterar o comprimento torna os microtúbulos *estruturas dinâmicas*. Tal propriedade dinâmica pode ser observada em células animais, pois frequentemente ocorre em partes da célula que alteram sua forma.

Muitos microtúbulos irradiam a partir de uma região da célula denominada *centro organizador de microtúbulos*. A polimerização destes túbulos resulta em uma estrutura rígida, ao passo que a despolimerização dos túbulos leva ao seu colapso.

CÍLIOS E FLAGELOS Diversas células eucarióticas possuem flagelos, cílios ou ambas estruturas. Essas organelas semelhantes a chicotes puxam ou empurram a célula, impulsionando-a através de um ambiente aquoso, ou movimentam o fluido circundante sobre a superfície da célula. Tanto cílios quanto flagelos eucarióticos (bastante distintos dos flagelos procarióticos) organizam-se a partir de microtúbulos especializados e possuem estrutura interna idêntica, apesar de diferirem em relação a seu comprimento e padrão de batimentos:

- *Cílios* são mais curtos do que os flagelos e geralmente estão presentes em grande quantidade (Figura 4.22A). Batem de forma rígida em uma direção e retornam flexionados na outra (como o braço de um nadador), de forma que a volta da braçada não desfaz o trabalho da braçada propulsora.
- *Flagelos* eucarióticos são mais longos do que os cílios e geralmente encontram-se isolados ou em pares. Ondas de curvatura se propagam de uma extremidade a outra de um flagelo, formando uma ondulação semelhante ao movimento de uma cobra.

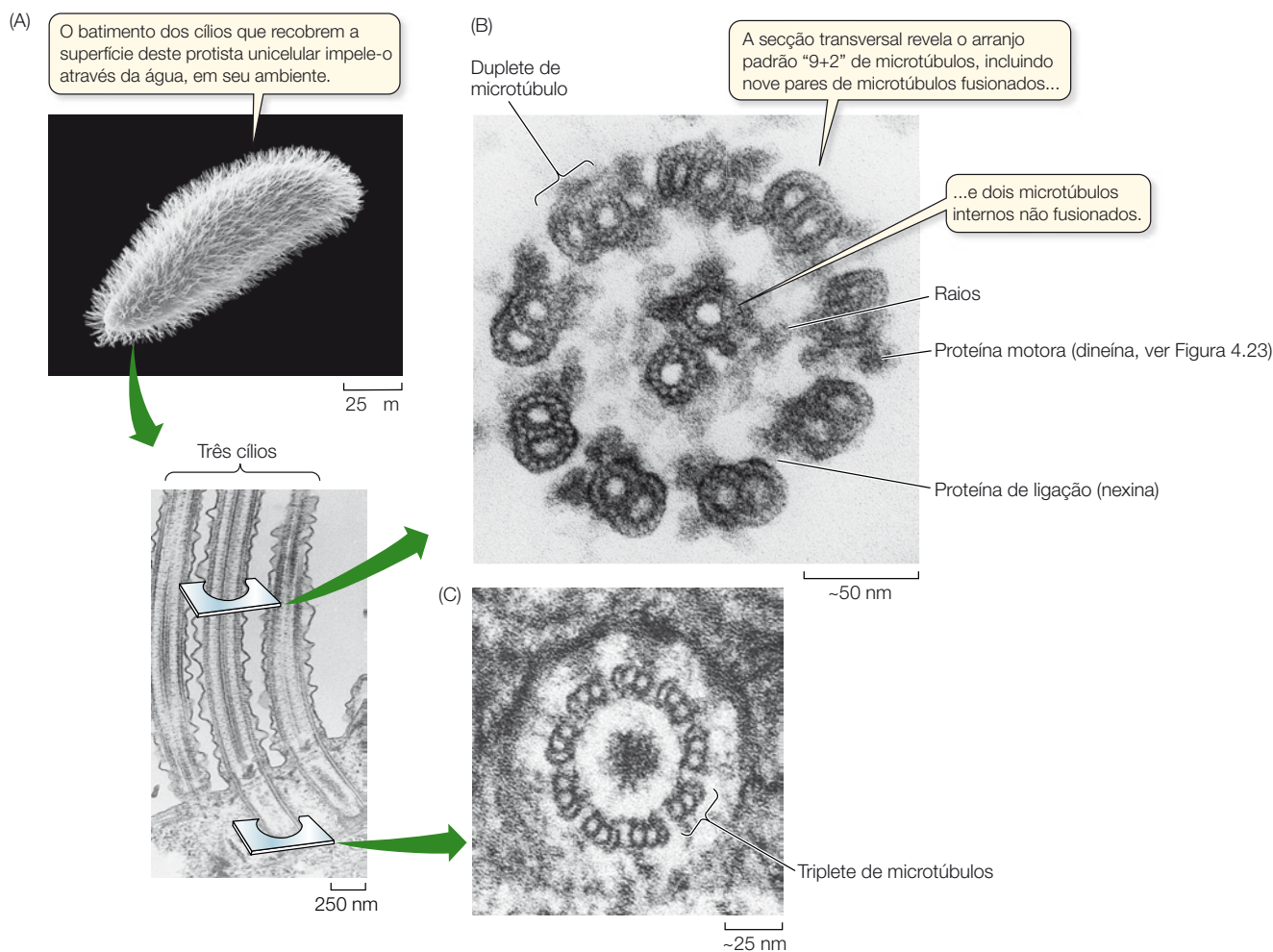


Figura 4.22 O deslizamento de microtúbulos provoca o batimento dos cílios (A) Este organismo eucariótico unicelular (um protista ciliado) pode coordenar o batimento de seus cílios, permitindo um movimento rápido. (B) Uma secção transversal de um cílio ilustra o arranjo de microtúbulos e proteínas. (C) Secção de um corpo basal.

Em secção transversal, um cílio ou flagelo eucariótico característico está envolvido pela membrana plasmática e contém um arranjo de microtúbulos no padrão "9 + 2". Como a [Figura 4.22B](#) ilustra, nove pares de microtúbulos fusionados – denominados *dupletes* – formam um cilindro externo e um par de microtúbulos não fusionados preenche o centro da estrutura. Semelhante a uma roda de bicicleta, um raio parte de um microtúbulo de cada duplete e conecta o duplete ao centro da estrutura.

No citoplasma, na base de cada flagelo eucariótico ou cílio, encontra-se uma organela denominada *corpo basal*. Os nove dupletes de microtúbulos se propagam para o interior do corpo basal. No corpo basal, cada duplete é acompanhado por outro microtúbulo, formando nove conjuntos de três microtúbulos. Os microtúbulos centrais, não fusionados, do cílio, não se propagam para o interior do corpo basal ([Figura 4.22C](#)).

Os **centríolos** são praticamente idênticos aos corpos basais dos cílios e flagelos. Os centríolos encontram-se nos centros organizadores de microtúbulos de todos eucariotos, com exceção de plantas com semente e de alguns protistas. Sob microscopia óptica, um centríolo parece uma partícula pequena sem estruturas específicas, no entanto, a observação em microscopia eletrônica

revela que ele é composto por um feixe preciso de microtúbulos, organizados em nove conjuntos, cada um de três microtúbulos fusionados. Os centríolos estão envolvidos na formação do fuso mitótico, ao qual os cromossomos se ancoram (ver [Figura 9.9](#)).

PROTEÍNAS MOTORAS Os nove dupletes de microtúbulos dos cílios e flagelos estão conectados por proteínas. O movimento dos dois resulta do deslizamento de um duplete de microtúbulos em relação aos outros. Esse deslizamento é dirigido por uma proteína motora denominada *dineína*, capaz de alterar sua estrutura tridimensional. Todas as proteínas motoras atuam por meio de alterações conformacionais reversíveis movidas pela energia de ATP. Moléculas de dineína ligadas a um duplete de microtúbulos se conectam a um duplete de microtúbulos vizinho. Conforme as moléculas de dineína sofrem alterações conformacionais, elas movimentam o duplete de microtúbulos em relação ao conjunto adjacente ([Figura 4.23A](#)).

Outra molécula motora, a *cinesina*, transporta vesículas carregadas de proteínas para distintas partes da célula. A cinesina e proteínas motoras similares ligam-se a uma vesícula ou a outra organela e "caminham" sobre um microtúbulo por meio de alterações em sua conformação. Esse processo é conduzido por uma região da proteína de aproximadamente 350 aminoácidos similar à miosina, a proteína motora que se liga e promove o movimento dos filamentos de actina nos músculos. Lembre-se que os microtúbulos possuem extremidades mais e menos. A dineína movimenta organelas em direção à extremidade menos, ao passo que a cinesina movimenta sua carga rumo à extremidade mais ([Figura 4.23B](#)).

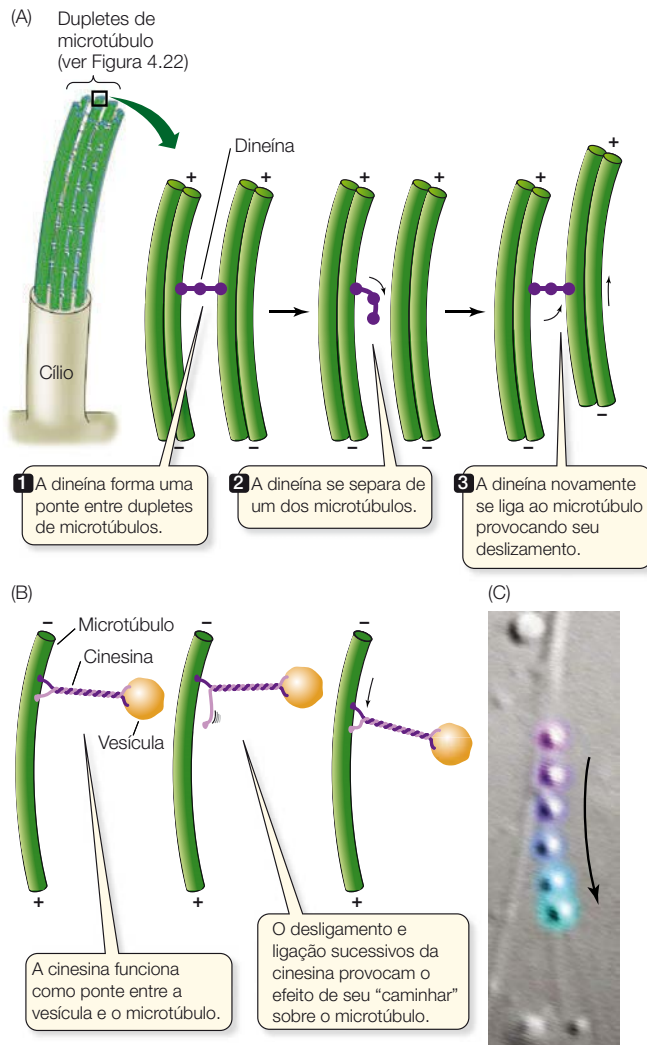


Figura 4.23 Proteínas motoras transportam vesículas ao longo de microtúbulos (A) A proteína motora dineína permite que dupletes de microtúbulos deslizem uns sobre os outros nos cílios e flagelos. (B) A cinesina transporta vesículas ou organelas para diferentes partes da célula através de movimento sobre os "trilhos" de microtúbulos. A cinesina transporta sua carga da extremidade "menos" rumo à extremidade "mais" de um microtúbulo; a dineína trabalha de forma semelhante, mas transporta sua carga da extremidade "mais" rumo à extremidade "menos". (C) Impulsionada pela cinesina, uma vesícula (colorida) se move ao longo de um microtúbulo em *Dictyostelium*, um protista. A sequência de tempo (micrografias realizadas em intervalos de meio segundo) está ilustrada pelo gradiente de cores, do púrpura ao azul.

4.4 Quais são as funções das estruturas extracelulares?

Apesar da membrana plasmática representar uma barreira funcional entre o interior e o exterior de uma célula, diversas estruturas são produzidas por elas e, então, secretadas para fora da membrana plasmática, onde desempenham papéis essenciais na proteção, suporte e adesão das células. Considerando que essas estruturas se encontram fora dos limites da membrana plasmática, elas são denominadas *extracelulares*. A parede celular dos peptidoglicanos das bactérias é um exemplo de estrutura extracelular. Em eucariotos, outras estruturas extracelulares – as paredes celulares de vegetais e a matriz extracelular encontrada entre as células animais – desempenham funções similares. Ambas estruturas são constituídas por dois componentes: uma macromolécula fibrosa predominante e um meio de consistência semelhante a um gel.

A parede celular das plantas é uma estrutura extracelular

A **parede celular** das células vegetais é uma estrutura semirrígida, externa à membrana plasmática (Figura 4.24). Ela consiste em fibras de celulose (ver Figura 3.16) inseridas em outros polissacarídeos complexos e proteínas. A parede celular desempenha três funções principais nas plantas:

- Fornece sustentação para a célula e limita seu volume pela manutenção de sua rigidez.
- Atua como barreira contra infecções por fungos ou outros organismos que podem provocar doenças.
- Contribui para o formato da planta através de seu crescimento que acompanha a expansão das células vegetais.

Devido a suas paredes celulares espessas, as células vegetais observadas sob microscopia óptica parecem completamente isoladas umas das outras. No entanto, a observação através de microscopia eletrônica revela que essa é apenas uma situação aparente. O citoplasma das células vegetais adjacentes está conectado por numerosos canais revestidos por membrana plasmática, denominados **plasmodesmatas**, que possuem aproximadamente 20 a 40 nm de diâmetro, estendendo-se através das paredes de células vizinhas (ver Figura 15.20). Os plasmodesmatas permitem a difusão de água, íons, pequenas moléculas, RNA e proteínas entre as células conectadas, assegurando concentrações uniformes destas substâncias.

4.3 RECAPITULAÇÃO

O grande marco das células eucarióticas é a compartimentalização. Organelas delimitadas por membrana processam informação, transformam energia, formam compartimentos internos para o transporte de proteínas e realizam a digestão intracelular. O citoesqueleto interno desempenha diversas funções estruturais.

- Cite algumas vantagens relativas à compartimentalização em organelas. Ver p. 74-75.
- Quais são as diferenças entre o retículo endoplasmático rugoso e o liso? Ver p. 79-80 e Figura 4.10.
- Descreva como as proteínas motoras e os microtúbulos movimentam materiais dentro da célula. Ver p. 88-90 e Figura 4.23.

Todas as células interagem com o ambiente e as diversas células eucarióticas, que fazem parte de um organismo pluricelular, devem interagir umas com as outras. A membrana plasmática desempenha um papel essencial nessas interações, mas outras estruturas externas à membrana também envolvem-se nesse processo.

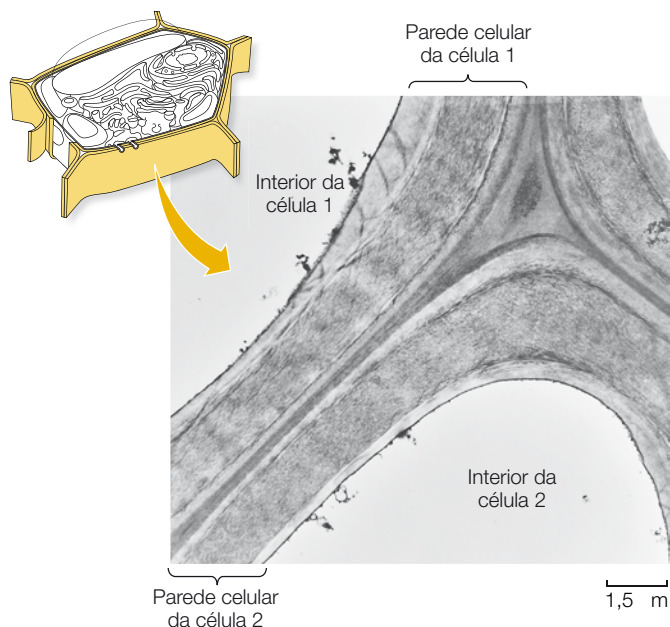


Figura 4.24 A parede celular vegetal A parede celular semirrígida dá sustentação às células vegetais.

A matriz extracelular sustenta as funções teciduais em animais

As células de animais não possuem a parede celular semirrígida característica dos vegetais, no entanto, muitas células animais estão circundadas por, ou em contacto com, uma **matriz extracelular**. Essa matriz é composta por proteínas fibrosas, como o **colá-**

geno (a proteína mais abundante em mamíferos e que constitui 25% da proteína total do corpo humano), uma matriz de glicoproteínas denominadas proteoglicanas, consistindo essencialmente em açúcares, e um terceiro grupo de proteínas que conectam as proteínas fibrosas e a matriz de proteoglicanas de estrutura gelatinosa (**Figura 4.25**). Essas proteínas, em conjunto a outras substâncias específicas de determinados tecidos do corpo, são secretadas pelas células presentes na matriz ou próximas a ela.

São diversas as funções da matriz extracelular:

- Mantém as células unidas em tecidos.
- Contribui com as propriedades físicas das cartilagens, da pele e de outros tecidos.
- Auxilia a filtrar materiais que passam entre diferentes tecidos.
- Auxilia a orientar os movimentos celulares durante o desenvolvimento embrionário e o reparo tecidual.
- Atua na sinalização química entre as células.

No corpo humano, alguns tecidos como os do cérebro apresentam pouca quantidade de matriz extracelular, ao passo que outros tecidos como ossos e cartilagens apresentam grandes quantidades. As células dos ossos estão imersas em uma matriz extracelular que consiste essencialmente em colágeno e fosfato de cálcio. Essa matriz confere aos ossos rigidez característica. Células epiteliais, que revestem as cavidades do organismo, unem-se formando uma camada que se apoia sobre uma *lâmina basal* ou *membrana de base*, um tipo de matriz extracelular (ver Figura 4.25).

Algumas matrizes extracelulares compõem-se, em parte, por um enorme proteoglicano. Uma única molécula deste proteoglicano consiste em várias centenas de cadeias polissacarídeas covalentemente ligadas a aproximadamente uma centena de proteínas, que, por sua vez, estão ancoradas a um enorme polissacarídeo. O peso molecular deste proteoglicano pode exceder 100 milhões Da; a molécula ocupa um espaço equivalente ao tamanho de uma célula procariótica inteira.

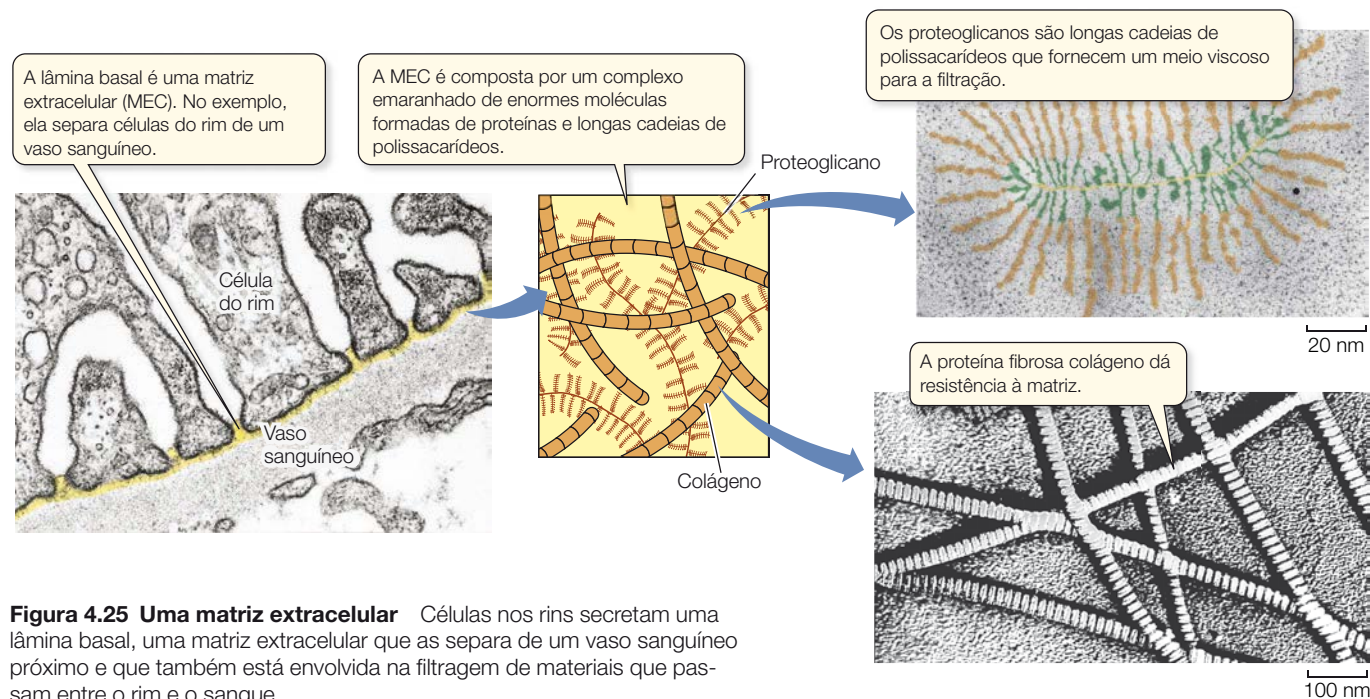


Figura 4.25 Uma matriz extracelular Células nos rins secretam uma lâmina basal, uma matriz extracelular que as separa de um vaso sanguíneo próximo e que também está envolvida na filtragem de materiais que passam entre o rim e o sangue.

4.4 RECAPITULAÇÃO

Estruturas extracelulares são produzidas pelas células e secretadas para o exterior da membrana plasmática. Em sua maioria, essas estruturas têm um componente fibroso e um meio semelhante a um gel.

- Você compreende as funções da parede celular vegetal e da matriz extracelular em animais?

4.5 Como se originaram as células eucarióticas?

Começamos este capítulo descrevendo algumas das primeiras evidências de células procarióticas na Terra, que datam de aproximadamente 3,5 bilhões de anos. O mundo dos seres vivos era inteiramente procariótico há até cerca de 1,5 bilhões de anos, quando as primeiras células eucarióticas surgiram. Esse foi um evento fundamental na história da vida, à medida que a compartimentalização – a marca principal das células eucarióticas – permitiu a ágil evolução de novas funções bioquímicas.

A teoria da endossimbiose nos sugere como evoluíram os eucariotos

Os primeiros procariotos provavelmente absorviam seu alimento diretamente do ambiente. A seguir, alguns tornaram-se fotossintetizadores (ver Figura 1.10). Outros, no entanto, se nutriam de procariotos menores englobando-os (Figura 4.26). Agora, suponha que um pequeno procarioto fotossintetizador fosse ingerido por um organismo maior, mas não fosse digerido. Em vez disso, o organismo fotossintético sobreviveria, capturado dentro do citoplasma da célula maior. Suponha ainda que o procarioto ingerido apresentasse taxa de divisão semelhante à do organismo maior, de tal forma que gerações sucessivas da célula maior conteriam a prole da menor. Essa relação de **endossimbiose** (*endo*, “dentro”; *simbiose*, “vida em conjunto”) teria beneficiado os dois organismos: a célula menor procriaria a maior com monossacarídeos produzidos a partir da fotossíntese, e a célula maior protegeria a célula pequena. Ao longo do tempo evolutivo, o procarioto fotossintetizador deve ter evoluído originando os cloroplastos atuais.

Evidências e argumentos semelhantes apoiam a proposição de que as mitocôndrias descendem de procariotos com capacidade respiratória que foram englobados por outros maiores. O benefício desta relação endossimbiótica deve ter envolvido a capacidade do procarioto englobado em detoxificar o oxigênio molecular (O_2), que estava aumentando na atmosfera da Terra como um dos resultados da fotossíntese.

Essa **teoria da endossimbiose** da evolução eucariótica foi inicialmente sugerida no século XIX, mas foi expandida, trabalhada e mais acreditada devido ao trabalho de Lynn Margulis, nos anos de 1980. Os cloroplastos e as mitocôndrias dos eucariotos possuem o tamanho aproximado das células procarióticas. Essas organelas também contêm seus próprios DNA e ribossomos, sintetizando alguns de seus próprios componentes. No entanto, elas não são independentes do controle nuclear. A ampla maioria de suas proteínas é codificada pelo DNA nuclear e sintetizada no citoplasma da célula, sendo a seguir importada pela organela. É possível que, ao longo do tempo, os procariotos menores que deram origem às organelas tenham perdido gradualmente parte substancial de seu DNA para o núcleo da célula maior.

Muitas evidências circunstanciais contribuem a favor da teoria da endossimbiose:

- Em uma escala de tempo evolutiva (ou seja, milhões de anos), existe evidência para o movimento de DNA entre organelas, na célula eucariótica.
- Existem diversas similaridades bioquímicas entre cloroplastos e bactérias fotossintetizadoras.
- O sequenciamento de DNA mostrou similaridades entre o DNA de cloroplastos atuais e o de um procarioto fotossintetizador.

Tanto procariotos quanto eucariotos ainda estão em evolução

Os procariotos atuais contêm uma série de estruturas presentes nas células eucarióticas, tais como citoesqueleto, ribossomos e uma membrana plasmática. É provável que estas estruturas tenham evoluído gradativamente. A química compartilhada entre todos os seres vivos, descrita no Capítulo 3, sugere que células eucarióticas tenham evoluído de procariotos. Por exemplo, tanto procariotos quanto eucariotos:

- usam ácidos nucleicos como material genético;
- usam os mesmos vinte aminoácidos em suas proteínas; e
- usam açúcares D e aminoácidos L.

Conforme descrito na p. 73, diversos procariotos modernos apresentam invaginações e dobramentos em suas membranas internas. Acredita-se que, ao longo de um período de tempo evolutivo, tais invaginações gradualmente se fecham formando compartimentos, o que teria levado à formação do retículo endoplasmático, complexo de Golgi e dos lisossomos. As células procarióticas atuais apresentam seu material genético em uma região central denominada nucleóide (ver Figura 4.4). Durante a reprodução celular, este DNA adere à membrana plasmática. Se a membrana, auxiliada por microfilamentos, se dobrar sobre o DNA empacotando-o, a célula terá eficientemente compartimentalizado seu DNA em um núcleo.

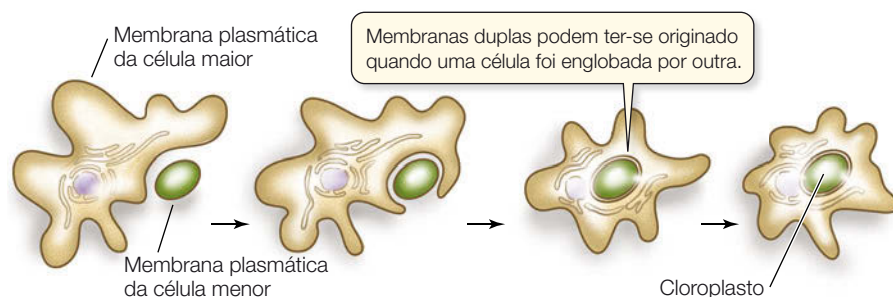


Figura 4.26 A teoria da endossimbiose
Os cloroplastos podem ser descendentes de um pequeno procarioto fotossintetizador englobado por outra célula maior.

4.5 RECAPITULAÇÃO

As células eucarióticas originaram-se muito tempo após as células procarióticas. A teoria da endossimbiose sugere uma forma com que as células eucarióticas teriam evoluído de ancestrais procarióticos.

- Você é capaz de descrever algumas das evidências que sugerem que as células eucarióticas tenham evoluído a partir de células procarióticas?
- Quais evidências sugerem que as mitocôndrias e os cloroplastos foram, em algum momento, células procarióticas independentes?

A fluidez da membrana plasmática indubitavelmente desempenha papel essencial na compartimentalização das células eucarióticas. Microfilamentos do citoesqueleto formam uma armação que sustenta a membrana, no entanto, lembre-se que esses microfilamentos podem sofrer contração. A contração dos microfilamentos ligados a uma membrana pode modificá-la e dar-lhe uma nova forma, como uma faixa de borracha. A dupla membrana que envolve mitocôndrias e cloroplastos pode também ter-se originado através de endossimbiose. A membrana externa teria vindo da membrana plasmática da célula que englobou e a interna pode ser proveniente da membrana plasmática da célula englobada. Essa estrutura – a membrana plasmática que circunda e delimita a célula – é tão interessante e importante que dedicaremos todo o Capítulo 5 a seu detalhamento.

RESUMO DO CAPÍTULO

4.1 Quais características das células as tornam a unidade fundamental da vida?

Todas as células provêm de uma célula preexistente.

As células são pequenas, pois a **área de superfície** da célula deve ser grande quando comparada a seu **volume** para que sejam possíveis as trocas com o ambiente. [Rever a Figura 4.2.](#)

Todas as células delimitam-se por uma membrana plasmática seletivamente permeável que as separa do ambiente externo.

Apesar de determinados processos bioquímicos, moléculas e estruturas serem compartilhados por todos os tipos de células, duas de suas categorias principais – **procarióticas e eucarióticas** – são facilmente distinguíveis.

4.2 Quais são as características das células procarióticas?

As células procarióticas não apresentam compartimentalização interna, mas possuem uma região **nucleoide** que contém o DNA e um citoplasma com **citossol, ribossomos**, proteínas e pequenas moléculas. Alguns procariotos possuem estruturas protetoras adicionais, como parede celular, membrana externa e a cápsula. [Rever Figura 4.4.](#)

Alguns procariotos possuem membranas com dobramentos, que podem representar membranas fotossintetizadoras, e alguns apresentam flagelos ou pili. [Rever Figura 4.5.](#)

4.3 Quais são as características das células eucarióticas?

As células eucarióticas são maiores do que células procarióticas e contêm diversas organelas delimitadas por membrana. As membranas que envelopam as **organelas** asseguram a compartimentalização de suas funções. [Rever Figura 4.6.](#)

O **núcleo** contém a maior parte do DNA da célula e controla a síntese proteica. Os **ribossomos** são sítios de síntese proteica. [Rever Figura 4.8.](#)

O **sistema de membranas internas** – que consiste no **retículo endoplasmático** e no **complexo de Golgi** – é composto por

uma série de compartimentos delimitados por membranas. Ele segrega as proteínas e as modifica. Os **lisossomos** contêm diversas enzimas de digestão. [Rever Figuras 4.10, 4.11 e 4.12.](#)

As mitocôndrias e os cloroplastos processam energia. As **mitocôndrias** estão presentes na maioria dos organismos eucarióticos e contêm as enzimas necessárias para a respiração celular. As células de eucariotos fotossintetizadores possuem **cloroplastos** que captam a energia da luz para a fotossíntese. [Rever Figuras 4.13 e 4.14.](#)

Vacúolos são bastante comuns em diversas células vegetais e consistem em um compartimento delimitado por membrana repleto de água e substâncias dissolvidas.

Os **microfilamentos, filamentos intermediários e microtúbulos**, do citoesqueleto, fornecem à célula sua forma, resistência e movimento.

4.4 Quais são as funções das estruturas extracelulares?

A **parede celular** vegetal consiste basicamente em celulose. As paredes celulares são perfuradas por **plasmodesmatas** que unem o citoplasma de células adjacentes.

Em animais, a **matriz extracelular** consiste em diferentes tipos de proteínas, tais como **colágeno** e **proteoglicanos**. [Rever Figura 4.25.](#)

4.5 Como se originaram as células eucarióticas?

A **teoria da endossimbiose** postula que organelas como mitocôndrias e cloroplastos originaram-se quando procariotos maiores englobaram, mas não digeriram, procariotos menores. Benefícios mútuos permitiram que esta relação simbiótica fosse mantida, e as células menores evoluíram dando origem às organelas eucarióticas observadas atualmente. [Rever Figura 4.26.](#)

Invaginações da membrana plasmática podem ter levado à formação de algumas organelas delimitadas por membrana, tais como o sistema de membranas internas e o núcleo.

QUESTÕES

1. Que estrutura está presente tanto em células procarióticas quanto em células eucarióticas vegetais?
 - a. Cloroplastos
 - b. Parede celular
 - c. Núcleo
 - d. Mitocôndria
 - e. Microtúbulos
2. O principal fator que limita o tamanho da célula é:
 - a. a concentração de água no citoplasma.
 - b. a necessidade de energia.
 - c. a presença de organelas delimitadas por membrana.
 - d. a razão entre a área de superfície e o volume.
 - e. a composição da membrana plasmática.
3. Qual dos seguintes postulados a respeito das mitocôndrias *não* é verdadeiro?
 - a. A membrana mitocondrial interna dobra-se formando as cristas.
 - b. As mitocôndrias geralmente apresentam diâmetro igual a 1 μ m ou menor.
 - c. As mitocôndrias são verdes, pois contêm clorofila.
 - d. Moléculas combustíveis provenientes do citosol são oxidadas nas mitocôndrias.
 - e. ATP é sintetizado nas mitocôndrias.
4. Qual postulado a respeito dos plastídeos é *verdadeiro*?
 - a. São encontrados em procariotos.
 - b. São circundados por uma membrana única.
 - c. São os sítios de respiração celular.
 - d. São encontrados apenas nos fungos.
 - e. Contêm diversos tipos de pigmentos ou polissacarídeos.
5. Se todos os lisossomos de uma célula fossem repentinamente rompidos, qual seria o resultado esperado mais provável?
 - a. As macromoléculas do citosol começariam a ser degradadas.
 - b. Ocorreria maior síntese proteica.
 - c. O DNA presente no interior das mitocôndrias sofreria degradação.
 - d. Mitocôndrias e cloroplastos entrariam em divisão.
 - e. Não ocorreria alteração no funcionamento celular.
6. O complexo de Golgi é:
 - a. encontrado apenas em animais.
 - b. encontrado em procariotos.
 - c. o apêndice responsável pela locomoção da célula no ambiente.
 - d. um sítio de rápida produção de ATP.
 - e. o modificador e empacotador das proteínas.
7. Qual destas organelas *não* é delimitada por uma ou mais membranas?
 - a. Ribossomo
 - b. Cloroplasto
 - c. Mitocôndria
 - d. Peroxissomo
 - e. Vácuolo
8. O citoesqueleto consiste em:
 - a. cílios, flagelos e microfilamentos.
 - b. cílios, microtúbulos e microfilamentos.
 - c. paredes celulares internas.
 - d. microtúbulos, filamentos intermediários e microfilamentos.
 - e. microtúbulos calcificados.
9. Microfilamentos:
 - a. compõem-se de polissacarídeos.
 - b. compõem-se de actina.
 - c. permitem a movimentação de cílios e flagelos.
 - d. compõem o fuso que auxilia o movimento dos cromossomos.
 - e. mantêm o posicionamento do cloroplasto no interior da célula.
10. Qual postulado sobre a parede celular vegetal *não* é verdadeiro?
 - a. Os polissacarídeos são seus componentes químicos principais.
 - b. Ela se encontra externamente à membrana plasmática.
 - c. Ela fornece sustentação para a célula.
 - d. Ela isola completamente células adjacentes umas das outras.
 - e. Ela é semirrígida.

PARA DISCUSSÃO

1. A droga vincristina é utilizada no tratamento de diversos tipos de câncer. Acredita-se que ela atue pela indução da despolimerização de microtúbulos. O uso de vincristina apresenta diversos efeitos colaterais, tais como a perda de células em divisão e problemas neuronais. Explique por que ocorrem estes efeitos colaterais?
2. Através de quantas membranas deve passar uma molécula durante um percurso do interior de um cloroplasto para o de uma mitocôndria? E se o percurso fosse do interior de um lisossomo para o exterior da célula? E no caso de passagem de um ribossomo para outro?
3. Relacione a existência de membranas duplas nos cloroplastos e mitocôndrias com a teoria endossimbiótica de origem destas organelas. Que outras evidências dão apoio a essa teoria?
4. Compare a matriz extracelular de células animais com a parede celular vegetal no que diz respeito à sua composição em termos de componentes fibrosos e não fibrosos, rigidez e conectividade das células.

PARA INVESTIGAÇÃO

A via de proteínas recém sintetizadas através da célula pode ser rastreada por meio de um experimento de “caça à pulsação”. Proteínas são marcadas com um isótopo radioativo (a “pulsação”) e permite-se que a célula as processe por períodos variáveis de tempo. O posicionamento das proteí-

nas radioativas é então determinado através do isolamento das organelas celulares e quantificação de sua radioatividade. Como este método poderia ser utilizado e que resultados se esperaria no caso de (A) uma enzima lisossomal? (B) uma proteína que é liberada da célula?

CAPÍTULO 5 A Dinâmica Membrana Celular

Desastre na membrana plasmática

Em seu primeiro encontro, Paulo e Ana compartilharam um almoço exótico que incluiu frutos de palmeira enlatados. Na manhã seguinte, ambos foram subitamente acometidos pelo pior evento de diarreia, náusea e vômito que qualquer um dos dois jamais havia sofrido. Eles deram entrada no hospital em estado de choque, agarrando-se à vida, com pressão sanguínea extremamente baixa e batimentos cardíacos irregulares. A análise microbiológica de amostras fecais rapidamente revelou a razão de seus problemas: *Vibrio cholerae*, a bactéria causadora do cólera. A infecção foi rastreada como tendo sua origem nos frutos de palmeira, que haviam sido processados em El Salvador – local onde a presença dessa bactéria é confirmada desde o início dos anos 1990, quando ocorreu uma epidemia de cólera que abarcou a América Central e a América do Sul. O cólera se dissemina no momento em que uma pessoa não infectada ingere a bactéria, geralmente através de água contaminada com fezes de um indivíduo infectado. No presente caso, a água contaminada deve ter sido utilizada na irrigação ou processamento dos frutos de palmeira.

Até meados do século XIX, não havia conhecimento disponível sobre a causa dessa terrível doença, ou

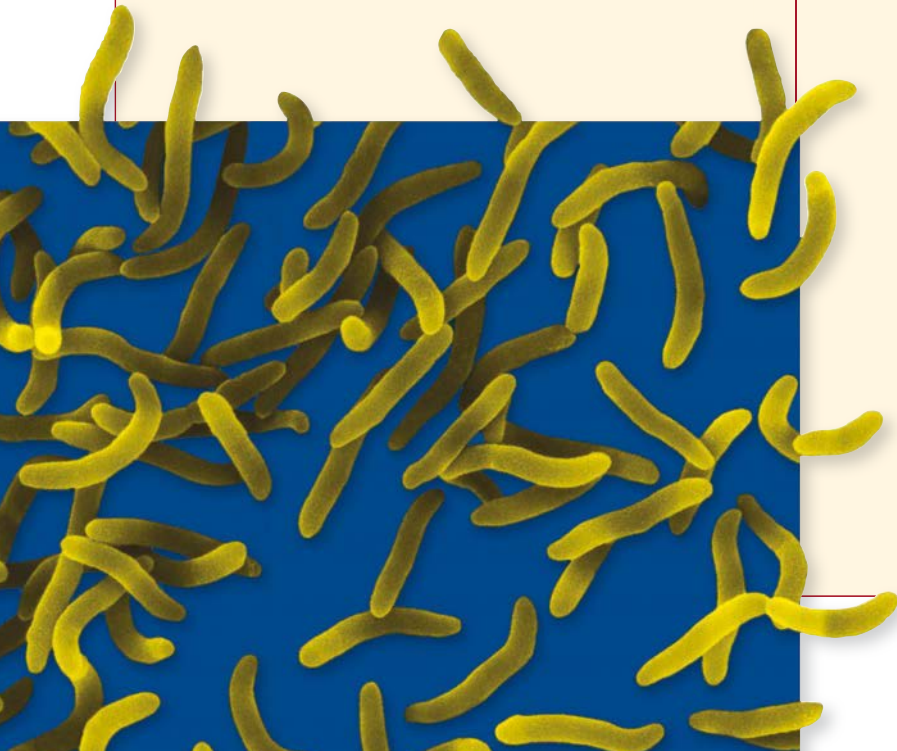
mesmo sobre os mecanismos de sua disseminação. Então, em 1854, o médico John Snow conectou uma série de casos de cólera, no centro de Londres, a uma única bomba de água. Quando o cabo da bomba de água foi removido, cessaram os casos de cólera. Aproximadamente 30 anos após esse incidente, em Berlim, Robert Koch examinou sob o microscópio amostras de água contaminada por cólera e isolou o *Vibrio cholerae*. Essas descobertas aparentemente simples, ligando uma doença a uma causa específica, auxiliaram o estabelecimento da ciência médica conhecida como *epidemiologia*, o estudo da disseminação das doenças entre populações e como elas podem ser controladas.

Nossos atuais conhecimentos permitem que discorramos mais a respeito do cólera, inclusive sobre os eventos físicos que se abateram sobre Ana e Paulo, após a ingestão dos frutos de palmeira contaminados. A maior parte das bactérias por eles ingeridas sucumbiu no ambiente ácido do estômago. No entanto, algumas bactérias sobreviveram através de sua ligação à membrana das células do intestino delgado e liberaram proteínas tóxicas. Essas toxinas penetraram nas células saudáveis atuando de duas formas sobre a membrana plasmática. Elas inativaram determinadas proteínas da membrana que “bombeiam” íons sódio para o interior da célula e, simultaneamente, abriram canais da membrana que normalmente permaneceriam fechados, permitindo que íons cloreto extravasassem do interior da célula para o intestino.

As membranas plasmáticas saudáveis que delimitam as células intestinais agem como “portões”, mantendo concentrações de Na^+ e Cl^- mais altas no *interior* das células em relação ao *exterior*, no intestino. Essa necessária diferença de concentrações foi invertido e houve perda de Na^+ e Cl^- das células e acúmulo no intestino.

Por meio de um processo denominado de osmose, esse balanço invertido de íons

Vibrio cholerae Esta bactéria provoca alterações na membrana das células do intestino humano, provocando o cólera, doença de poder ser tratada, é potencialmente fatal.





O tratamento do cólera No início da década de 1990, houve uma epidemia de cólera no Peru que se disseminou para outros países da América do Sul e Central, alcançando mais de um milhão de casos ao longo de um período de três anos. Na foto, um médico da Organização Mundial da Saúde administra terapia de reidratação oral para uma criança peruana.

fez com que fosse drenada água do interior de outras células do organismo e que essa água fosse direcionada para o intestino, provocando diarreia severa e desidratação potencialmente fatal. Felizmente, o tratamento do cólera é eficiente: os médicos administram terapia de reidratação oral para reposição dos íons e da água perdida. Paulo e Ana receberam doses de uma solução balanceada especial de NaCl (sal) e glicose (açúcar), e os dois conseguiram se recuperar.

O cólera é uma ameaça séria em regiões que apresentam condições sanitárias inadequadas, e sempre que alguma catástrofe natural (um furacão, ou terremoto) altera o fornecimento de água potável. Felizmente a terapia de reidratação é barata, segura, rápida e eficiente – resultante de nosso conhecimento a respeito do funcionamento das membranas biológicas.

NESTE CAPÍTULO abordamos a estrutura e funcionamento das membranas biológicas. As membranas são estruturas dinâmicas e desempenham suas funções fisiológicas vitais, permitindo que as células interajam umas com as outras e com as moléculas de seu ambiente. Descrevemos os aspectos estruturais dessas interações nesse capítulo. As membranas regulam ainda quais moléculas e íons podem penetrar ou sair de uma célula. A sua permeabilidade seletiva é uma característica importante da vida.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 5.1** Qual é a estrutura de uma membrana biológica?
- 5.2** Qual o envolvimento da membrana plasmática na adesão e no reconhecimento celulares?
- 5.3** O Que são os processos passivos do transporte de membrana?
- 5.4** Como as substâncias atravessam membranas em sentido contrário ao gradiente de concentração?
- 5.5** Como moléculas grandes entram em uma célula e saem dela?
- 5.6** Que outras funções são desempenhadas pelas membranas?

5.1 Qual é a estrutura de uma membrana biológica?

A organização física e o funcionamento de todas as membranas biológicas dependem de seus constituintes: lipídeos, proteínas e carboidratos. Os lipídeos estabilizam a integridade física da membrana e criam uma barreira efetiva que impede a rápida passagem de materiais hidrofílicos, como água e íons. Além disso, a bicamada fosfolipídica funciona como um “lago” lipídico, no qual uma variedade de proteínas “flutua” (**Figura 5.1**). Esse modelo-geral é conhecido como **modelo do mosaico fluido**.

As proteínas inseridas na bicamada fosfolipídica desempenham diferentes funções, tais como o transporte de materiais através da membrana e a recepção de sinais químicos provenientes do ambiente externo à célula. Cada membrana possui um conjunto de proteínas adequado à função especializada desempenhada pela célula ou organela que ela reveste.

Os carboidratos associados às membranas encontram-se ligados a moléculas de lipídeos ou proteínas. Nas membranas plasmáticas, eles se encontram voltados para o exterior, onde se estendem em direção ao ambiente, para longe das células. De forma semelhante às proteínas, carboidratos são essenciais para o reconhecimento de moléculas específicas.

A membrana é constituída principalmente de lipídeos

Os lipídeos das membranas biológicas constituem-se geralmente de fosfolipídeos. Lembre, segundo descrito na Seção 2.2, que alguns compostos são hidrofílicos (“gostam de água”) ao passo que outros são hidrofóbicos (“fogem da água”) e da Seção 3.4, que descreve que uma molécula de fosfolipídeo possui regiões de ambos os tipos:

- **Regiões hidrofílicas:** A região de “cabeça” que contém fósforo de um fosfolipídeo é eletricamente carregada e, desta forma, se associa a moléculas polares de água.
- **Regiões hidrofóbicas:** As longas “caudas” de ácidos graxos não polares de um fosfolipídeo se associam a outros materiais não polares, mas não são solúveis em água ou capazes de se associarem a substâncias hidrofílicas.

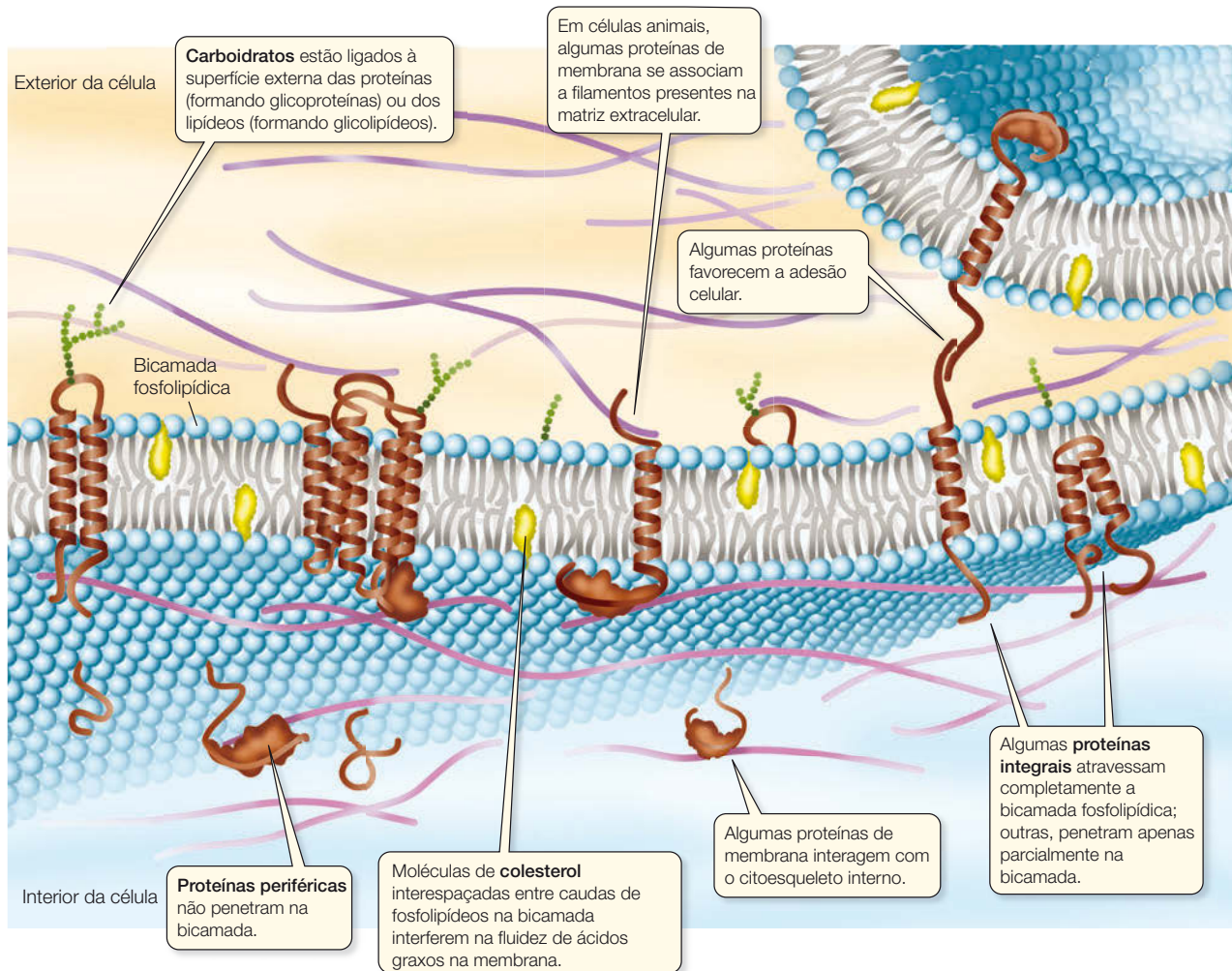


Figura 5.1 O modelo do mosaico fluido A estrutura molecular geral das membranas biológicas consiste em uma bicamada fosfolipídica contínua na qual estão inseridas proteínas. (As “fitas” púrpura representam elementos estruturais da célula e da matriz extracelular.)

Devido a essas propriedades, a forma sob a qual os fosfolípidos podem coexistir com a água é através da formação de uma *bicamada*, na qual as “caudas” de ácidos graxos de ambas camadas interagem e as “cabeças” polares são posicionadas para o ambiente aquoso externo (**Figura 5.2**).

A produção de bicamadas artificiais com a mesma organização das membranas naturais é facilmente alcançada em laboratório. Além disso, pequenas falhas ou buracos em uma bicamada fosfolipídica fecham-se espontaneamente. Essa capacidade dos lipídeos de associarem-se uns aos outros e de manterem uma organização sob a forma de uma bicamada auxilia a fusão de membranas biológicas durante a formação de vesículas, durante a fagocitose e em outros processos relacionados.

Todas as membranas biológicas apresentam estrutura semelhante, no entanto, as de diferentes células ou organelas podem diferir consideravelmente em sua *composição* lipídica:

- Os fosfolípidos podem diferir em termos do tamanho da cadeia de ácidos graxos, grau de insaturação (ligações duplas) dos nossos ácidos e presença de grupos polares (que contêm fosfato).

- O colesterol pode representar até 25% do conteúdo lipídico de uma membrana. Quando presente, é importante para a integridade da membrana, e a maior parte do colesterol das membranas não é perigoso para a nossa saúde. Uma molécula de colesterol encontra-se geralmente situada próxima de um ácido graxo insaturado (ver **Figura 5.1**).

Você pode limpar barro de suas mãos com água pura, no entanto não é capaz de livrar-se de gordura dessa mesma forma, pois ela não é solúvel em água. As moléculas do sabão possuem uma extremidade solúvel em água e outra solúvel em gordura, o que torna possível a eliminação de gordura através de lavagem com água e sabão.

A bicamada fosfolipídica estabiliza a estrutura total da membrana deixando-a flexível e não rígida. Simultaneamente, os ácidos graxos dos fosfolípidos tornam o interior hidrofóbico da membrana relativamente *fluido* – fluidez semelhante a da graxa para engrenagens. Essa fluidez permite que algumas moléculas se movam lateralmente (para os lados) sobre o plano da membrana. Uma molécula de fosfolípido pode deslocar-se na membrana plasmática de uma extremidade da célula até a oposta em aproximadamente um segundo! Por outro lado, raramente uma

Figura 5.2 Uma bicamada fosfolipídica separa duas regiões aquosas As oito moléculas de fosfolípeos representadas ilustram uma pequena secção transversal de uma membrana em bicamada.

molécula fosfolipídica de uma das faces da dupla camada irá para a face oposta, trocando de lugar com outra. Para que tal troca acontecesse, a porção polar de cada uma das moléculas deveria atravessar o interior hidrofóbico da membrana. Visto que o intercâmbio de fosfolípeos entre as duas faces é raro, as metades interna e externa da bicamada devem ser bastante diferentes no que diz respeito aos tipos de fosfolípeos que contêm.

A fluidez da membrana é afetada pela sua composição lipídica e pela sua temperatura. Geralmente, ácidos graxos de cadeias menores, ácidos graxos insaturados e pouco colesterol levam a membranas mais fluidas. Uma adequada fluidez de membrana é essencial para diferentes funções desempenhadas por ela. Visto que as moléculas movem-se de forma mais lenta e que a fluidez diminui em temperaturas reduzidas, as funções da membrana apresentam redução em organismos que não conseguem manter seus corpos aquecidos. Para resolver esse problema, alguns organismos simplesmente alteram a composição lipídica de suas membranas quando em condições de baixa temperatura, substituindo ácidos graxos saturados por insaturados e usando ácidos graxos com caudas mais curtas. Essas alterações são utilizadas como parte dos mecanismos de sobrevivência de plantas, animais que hibernam e bactérias, durante o inverno.

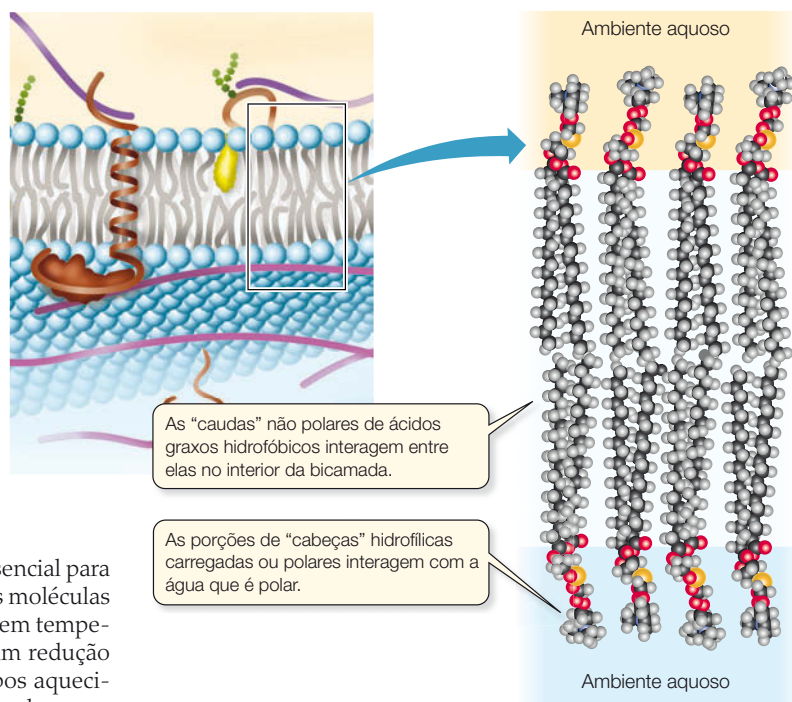
As proteínas de membrana estão assimetricamente distribuídas

Todas as membranas biológicas contêm proteínas. Tipicamente, as membranas plasmáticas possuem uma molécula proteica para cada vinte e cinco moléculas de fosfolípeo. No entanto, essa relação varia dependendo da função da membrana. Na membrana interna das mitocôndrias, especializada no processamento de energia, existe uma proteína para cada quinze lipídeos. Em contraste, na mielina, membrana que envolve alguns neurônios (células nervosas) e que usa as propriedades dos lipídeos para atuar como isolante elétrico, existe apenas uma proteína para cada setenta lipídeos.

Diversas proteínas de membrana inserem-se na bicamada fosfolipídica ou a atravessam (ver Figura 5.1). Da mesma forma que os fosfolípeos, essas proteínas possuem tanto regiões hidrofílicas quanto hidrofóbicas.

- **Regiões hidrofílicas:** Sequências de aminoácidos com cadeias laterais hidrofílicas (ver Tabela 3.2) dão a determinadas regiões da proteína uma característica polar. Essas regiões, ou *domínios*, interagem com água, posicionando-se para fora, no ambiente aquoso extracelular ou citoplasmático.
- **Regiões hidrofóbicas:** Sequências de aminoácidos com cadeias laterais hidrofóbicas dão a outras regiões da proteína uma característica não polar. Esses domínios interagem com cadeias de ácidos graxos no interior da bicamada fosfolipídica, distantes da água.

Um método especial de preparo para microscopia eletrônica, denominado de **criofratura**, revela as proteínas inseridas na bicamada fosfolipídica das membranas celulares (Figura 5.3). Os



nódulos que podem ser visualizados, projetando-se a partir do interior dessas membranas, não são observados em bicamadas lipídicas puras.

De acordo com o modelo de mosaico fluido, as proteínas e lipídeos de uma membrana são independentes uns dos outros e *interagem apenas de forma não covalente*. As extremidades polares das proteínas podem interagir com as extremidades polares dos lipídeos, e as regiões não polares de ambos os tipos de moléculas podem interagir hidrofobicamente.

Existem dois tipos básicos de proteínas de membrana:

- **Proteínas integrais de membrana** possuem domínios hidrofóbicos e penetram na bicamada fosfolipídica. Várias dessas proteínas possuem longas regiões hidrofóbicas em α -hélice (ver Seção 3.2) que atravessam a porção central da bicamada. Suas extremidades hidrofílicas se estendem rumo ao ambiente aquoso em ambos os lados da membrana (Figura 5.4).
- **Proteínas periféricas de membrana** não possuem domínios hidrofóbicos e não se inserem na bicamada. Ao invés disso, elas apresentam regiões carregadas ou polares que interagem com regiões semelhantes, em porções expostas de proteínas integrais de membrana ou com as cabeças polares de moléculas fosfolipídicas (ver Figura 5.1).

Algumas proteínas de membrana estão covalentemente ligadas a ácidos graxos ou a outros grupos de lipídeos. Essas proteínas classificam-se como um tipo especial de proteína integral, visto que seu componente lipídico hidrofóbico permite que elas se insiram em uma bicamada fosfolipídica.

As proteínas estão *assimetricamente distribuídas* nas superfícies interna e externa de uma membrana. Proteínas integrais de membrana que se projetam para ambos os lados da membrana, denominadas de **proteínas transmembrana**, apresentam “faces” diferentes em cada uma das duas superfícies da membrana. Esse tipo de proteína possui domínios específicos no lado externo da membrana, diferentes tanto dos domínios localizados no seu interior quanto dos domínios presentes na sua face interna. Pro-

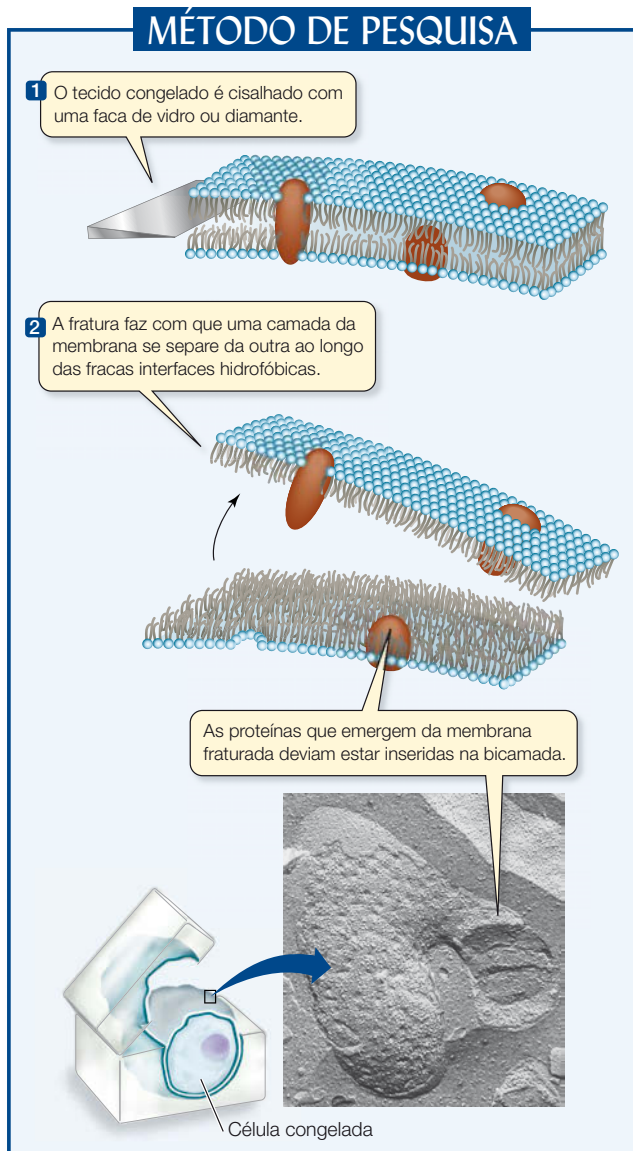


Figura 5.3 Proteínas de membrana reveladas pela técnica de criofatura A membrana de um cloroplasto de espinafre foi inicialmente congelada e então manipulada para a separação das duas faces da bicamada.

teínas periféricas de membrana localizam-se em um dos lados da membrana ou no lado oposto, jamais em ambos. Esse arranjo confere diferentes propriedades às duas faces da membrana. Como veremos, em breve, essas diferenças terão grande significância funcional.

Da mesma forma que os lipídeos, diversas proteínas de membrana podem movimentar-se de forma relativamente livre na bicamada fosfolipídica. Experimentos que usam técnicas de *fusão celular* ilustram nitidamente essa migração. Quando duas células são fusionadas, uma única membrana contínua se forma, envolvendo ambas as células, e algumas proteínas de cada uma destas se distribuem uniformemente ao longo da nova membrana.

Apesar de diversas proteínas migrarem livremente na membrana, outras não são capazes desse movimento e parecem estar “ancoradas” a uma região específica. Essas regiões da membrana podem ser comparadas a um curral de cavalos em uma fazenda: os animais movimentam-se livremente no interior da área cercada, mas não podem sair dela. Por exemplo, a proteína que reconhece um sinal químico derivado de neurônios, na membrana plasmática de uma célula muscular, é normalmente encontrada apenas em sítios onde um neurônio entra em contato com a célula muscular. Existem dois mecanismos através dos quais o movimento de proteínas na membrana pode sofrer restrição:

- O citoesqueleto pode possuir componentes posicionados exatamente abaixo da face interna da membrana, que estejam conectados a proteínas de membrana que se projetam para o interior do citoplasma.
- *Balsas lipídicas*, grupos de lipídeos em um estado semissólido (não muito fluido), prendem proteínas em uma região determinada. Esses lipídeos possuem uma composição diferente daquela dos fosfolipídeos que os circundam; por exemplo, eles podem ter cadeias extremamente longas de ácidos graxos.

As membranas são dinâmicas

As membranas reorganizam-se constantemente, transformando-se de um tipo em outro, fusionando e fragmentando-se (**Figura 5.5**).

- Em eucariotos, *fosfolipídeos* são sintetizados na superfície do retículo endoplasmático liso e são rapidamente distribuídos para as membranas de toda a célula.
- *Proteínas de membrana* inserem-se no retículo endoplasmático rugoso conforme são sintetizadas nos ribossomos.
- *Membranas funcionais* também se movem dentro de células eucarióticas. Porções de retículo endoplasmático rugoso brotam sob a forma de vesículas e unem-se à face *cis* do complexo de Golgi. De forma rápida – frequentemente em menos de uma hora – esses segmentos de membrana encontram-se em regiões *trans* do complexo de Golgi, a partir do qual brotam para unir-se à membrana plasmática.

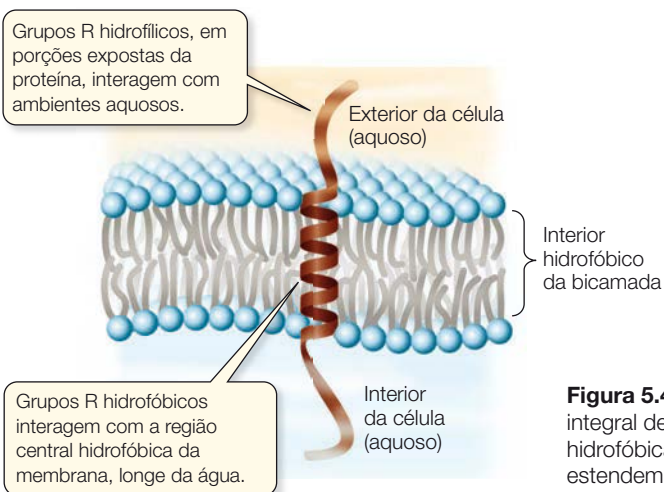


Figura 5.4 Interações de proteínas integrais de membrana Uma proteína integral de membrana é mantida nesta através do arranjo das cadeias laterais hidrofóbicas e hidrofílicas de seus aminoácidos. As extremidades hidrofílicas se estendem em direção ao exterior aquoso da célula e ao citoplasma interno; a região central lipídica da membrana é hidrofóbica.

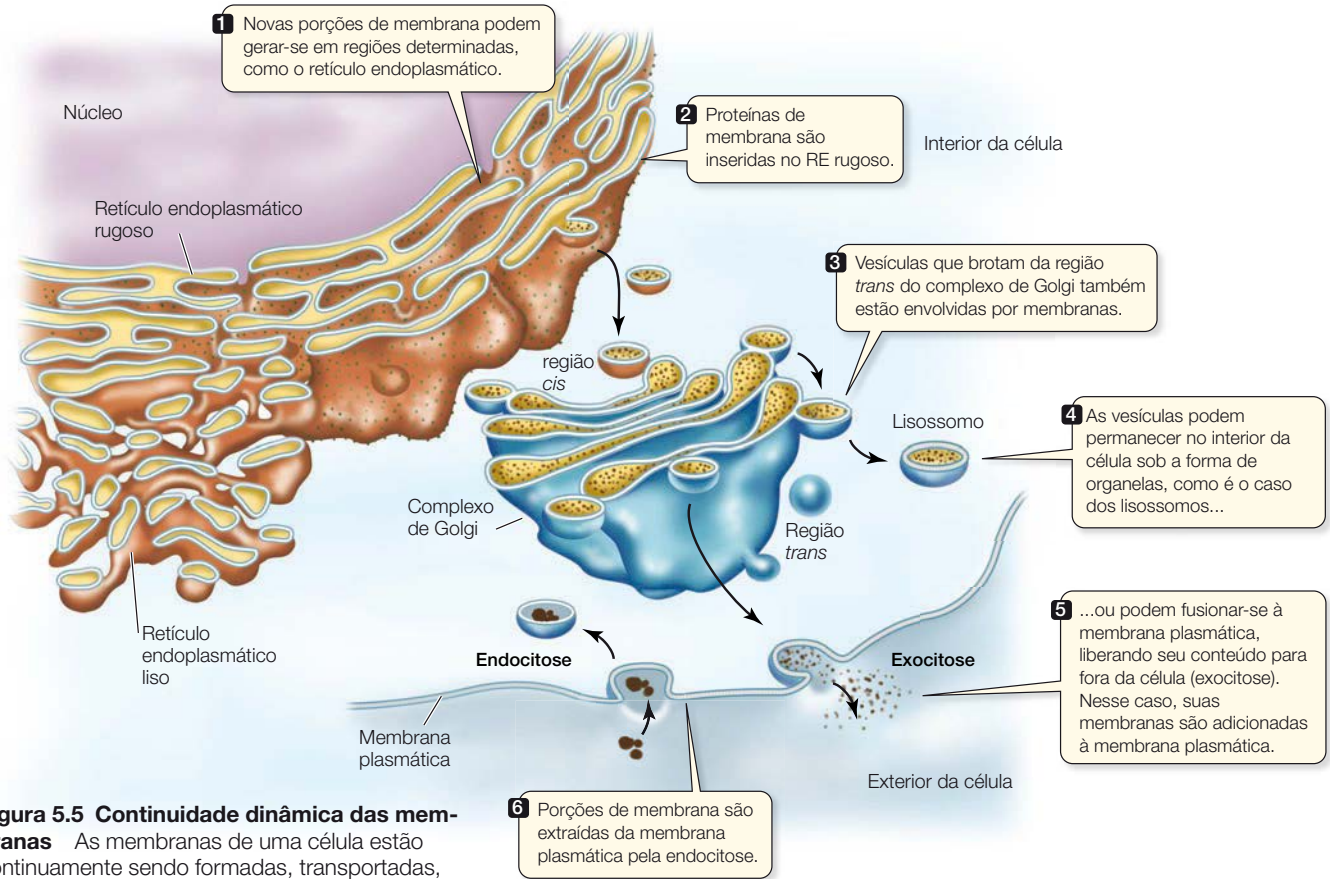


Figura 5.5 Continuidade dinâmica das membranas As membranas de uma célula estão continuamente sendo formadas, transportadas, fusionadas e degradadas.

■ Adições à membrana plasmática provenientes da fusão com vesículas derivadas do complexo de Golgi são contrabalançadas pela remoção de membrana em processos como a fagocitose, fornecendo uma via de reciclagem através da qual o compartimento interno das membranas é suprido.

Visto que todas as membranas assemelham-se sob microscopia eletrônica e, considerando-se que existe uma rápida interconversão entre as diversas membranas, seria de se esperar que todas as membranas subcelulares fossem quimicamente idênticas. No entanto, isso não ocorre, pois existem enormes diferenças químicas mesmo entre as pertencentes a uma única célula. As membranas sofrem alterações químicas quando participam da formação de determinadas organelas. No complexo de Golgi, por exemplo, as membranas da face *cis* assemelham-se bastante às membranas do retículo endoplasmático, no que diz respeito à composição química, mas aquelas da face *trans* são mais semelhantes à membrana citoplasmática. À medida que uma vesícula é formada, o conteúdo de proteínas e lipídeos de sua membrana é selecionado, da mesma forma que seu conteúdo interno, de maneira a assemelhar-se com a membrana da vesícula alvo.

Carboidratos de membrana são sítios de reconhecimento

Além de lipídeos e proteínas, muitas membranas possuem quantidades significativas de carboidratos. Os carboidratos localizam-se na superfície externa da membrana e servem como locais de reconhecimento para outras células e moléculas (ver Figura 5.1).

Os carboidratos associados à membrana devem estar covalentemente ligados a lipídeos ou a proteínas:

- **Glicolipídeos** consistem em um carboidrato covalentemente ligado a um lipídeo. As unidades carboidrato dos glicolipídeos frequentemente se estendem para fora da membrana plasmática, onde servem como sinais de reconhecimento para interações entre células. Por exemplo, o carboidrato de alguns glicolipídeos sofre alterações se a célula torna-se cancerosa. Essas alterações podem permitir que células brancas sanguíneas reconheçam as células cancerosas levando à sua destruição.
- **Glicoproteínas** consistem em um carboidrato covalentemente ligado a uma proteína. Os carboidratos associados são cadeias de oligossacarídeos, geralmente não excedendo um tamanho de quinze unidades monossacarídeos. As glicoproteínas possibilitam que a célula seja reconhecida por outras células e proteínas.

Um “alfabeto” de monossacarídeos sobre as membranas pode ser usado para gerar uma série de mensagens. Lembre-se que na Seção 3.3, falamos que moléculas de açúcar podem ser constituídas a partir de três a sete carbonos, conectados entre eles em diferentes sítios, formando oligossacarídeos lineares ou ramificados, com uma grande diversidade de estruturas tridimensionais. Um oligossacarídeo com estrutura determinada de uma célula pode ligar-se a uma estrutura espelhada de uma célula adjacente. Esse tipo de ligação fornece a base para a adesão célula-célula.

5.1 RECAPITULAÇÃO

O modelo do mosaico fluido se aplica tanto à membrana plasmática quanto às membranas das organelas. As proteínas de membrana possuem regiões hidrofílicas e hidrofóbicas, que afetam seu posicionamento e função na membrana. Carboidratos que se ligam a lipídeos e proteínas na face externa da membrana atuam como sítios de reconhecimento.

- Você é capaz de perceber por que o termo “modelo do mosaico fluido” representa uma descrição das membranas biológicas? Ver p. 98-99.
- Você compreende como a existência de regiões hidrofóbicas e hidrofílicas dos fosfolipídeos levam à estruturação de uma membrana em bicamada? Ver Figuras 5.1 e 5.2.
- Você é capaz de diferenciar uma proteína integral de membrana de uma proteína periférica? Ver p. 98 e Figura 5.1.
- Você pode explicar como as membranas plasmáticas são montadas e degradadas? Ver p. 100 -101 e Figura 5.5.

Agora que compreendemos a estrutura das membranas biológicas, vamos analisar de que forma seus componentes funcionam. No restante deste capítulo, abordamos a membrana que circunda células individuais: a membrana plasmática. Inicialmente veremos como ela permite que células inicialmente isoladas se agrupem para a formação de tecidos.

5.2 Qual o envolvimento da membrana plasmática na adesão e no reconhecimento celulares?

Alguns organismos, como as bactérias, são *unicelulares*, ou seja, o organismo completo consiste em uma única célula. Outros, como plantas e animais, são *pluricelulares* – compostos de muitas células. Geralmente essas células apresentam-se agrupadas em conjuntos especializados de células com funções semelhantes, denominados *tecidos*. O seu corpo possui aproximadamente sessenta trilhões de células organizadas em diferentes tipos de tecidos (como músculo, tecido nervoso ou pele).

Dois processos permitem que as células organizem-se em grupos:

- **Reconhecimento celular**, no qual uma célula especificamente liga-se a outra de um tipo determinado.
- **Adesão celular**, pela qual a conexão entre duas células é reforçada.

Ambos os processos envolvem a membrana plasmática. Eles são mais facilmente estudados se as células de um determinado tecido forem separadas umas das outras e, a seguir, permitir-se que elas voltem a aderir. Organismos simples fornecem um bom modelo em relação a tecidos complexos de espécies maiores. O estudo de esponjas, por exemplo, revelou de que forma as células se associam umas às outras.

Uma esponja é um animal marinho pluricelular que possui um plano corpóreo simples (ver Seção 31.5). As suas células se conectam, mas podem ser mecanicamente separadas passando-se o animal repetidas vezes através de uma peneira de tela fina (**Figura 5.6A**). Ao longo desse processo, o que era um animal único se torna uma suspensão de centenas de células individuais em

água marinha. De modo extraordinário, se a suspensão celular for agitada durante algumas horas, as células se chocarão umas com as outras e aderirão sob a mesma forma da esponja original! *As células se reconhecem e aderem umas com as outras.*

Existem muitas espécies diferentes de esponjas. Se células dissociadas a partir de duas espécies são colocadas em um mesmo recipiente, elas flutuam e se chocam entre elas, no entanto, só ocorrerá adesão entre células da mesma espécie. No final, serão formadas duas esponjas, semelhantes às originais do início do experimento.

Tais processos de reconhecimento e adesão celulares em tecido específico e em espécie específica são essenciais para a formação e manutenção dos tecidos e organismos pluricelulares. Imagine o seu próprio organismo. O que mantém as células musculares associadas aos seus pares e a pele sob a forma de pele? A adesão celular específica é uma característica tão óbvia em um organismo complexo, que facilmente passa despercebida. Você verá diversos exemplos de adesão celular específica ao longo desse livro; a seguir, descreveremos os princípios gerais desse processo. Como observará, o reconhecimento e a adesão celulares dependem de proteínas da membrana plasmática.

Reconhecimento e adesão celulares envolvem proteínas da superfície celular

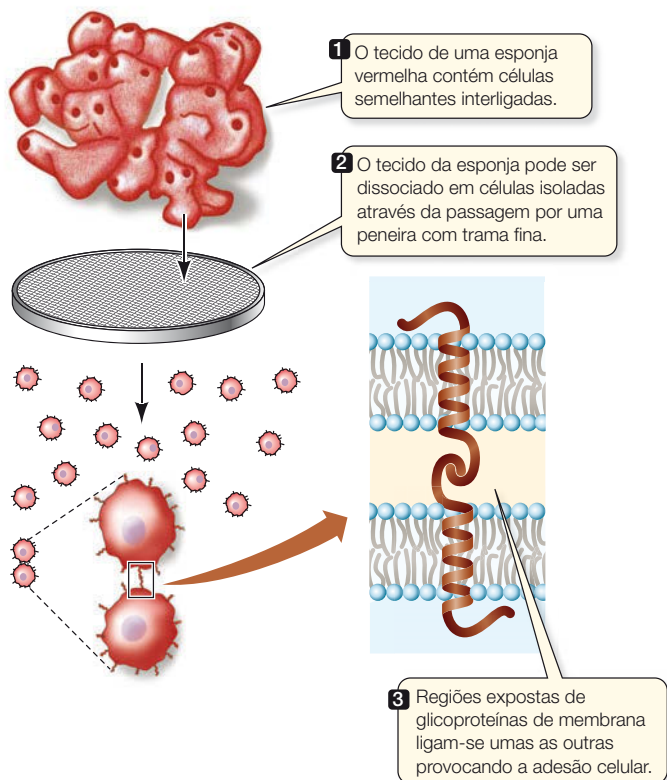
A molécula responsável pelo reconhecimento e adesão celulares em esponjas trata-se de uma grande glicoproteína integral de membrana (onde açúcares representam 80% de seu conteúdo) que se encontra parcialmente inserida na membrana plasmática, com o carboidrato apontando para fora e exposto ao ambiente (e para as outras células da esponja). Como vimos na Seção 3.2, uma proteína não apenas possui forma específica, mas também grupos químicos específicos expostos em sua superfície, onde podem interagir com outras substâncias, inclusive com outras proteínas. Ambas as características mencionadas permitem ligar-se a outras moléculas específicas. As células da esponja na Figura 5.6A encontram novamente seus pares através do reconhecimento de grupos químicos expostos em suas glicoproteínas de membrana. Na maioria das células vegetais, a membrana plasmática encontra-se coberta por uma espessa parede celular, no entanto, também essa estrutura possui proteínas de adesão que permitem às células se ligarem umas às outras.

Na maioria dos casos, a ligação celular em um tecido é **homotípica**; ou seja, a mesma molécula existe em ambas as células e suas superfícies expostas ligam-se uma com a outra. No entanto, ainda ocorre a ligação **heterotípica** (ligação de células via proteínas diferentes). Nesse caso, *diferentes* grupos químicos em *diferentes* moléculas de superfície apresentam afinidade uns pelos outros. Por exemplo, quando o espermatozoide de um mamífero encontra o óvulo, diferentes proteínas, sobre esses dois tipos de células, apresentam superfícies com complementaridade de ligação. De forma semelhante, algumas algas formam células reprodutivas masculinas e femininas (análogas aos espermatozoides e óvulos) de aparência similar, que possuem flagelos que as impulsionam em direção às outras células. Células masculinas e femininas são capazes de se reconhecerem através de proteínas heterotípicas presentes em seus flagelos (**Figura 5.6B**).

Três tipos de junções celulares conectam células adjacentes

Em um organismo pluricelular complexo as proteínas de reconhecimento celular permitem a ligação entre tipos específicos de células. Frequentemente, ambas as células contribuem com material na formação das estruturas adicionais de membrana que as

(A) Ligação homotípica



(B) Ligação heterotípica

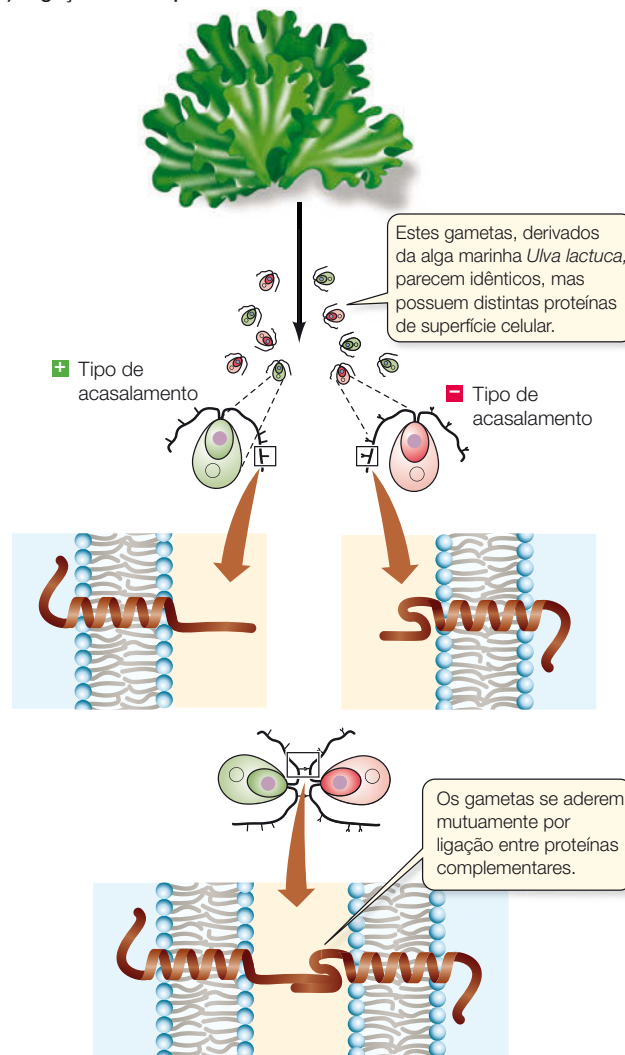


Figura 5.6 Reconhecimento e adesão celulares (A) Na maioria dos casos (inclusive na agregação de células animais para a formação de tecidos), a ligação de proteínas é homotípica: moléculas da mesma proteína existem na superfície de duas células do mesmo tipo e se aderem entre si. (B) Ligação heterotípica ocorre entre duas proteínas diferentes, mas complementares.

conectam. Essas estruturas especializadas, denominadas **junções celulares**, são mais evidentes se visualizadas em micrografias eletrônicas de *tecidos epiteliais*, camadas de células que revestem as cavidades do organismo ou que cobrem as superfícies corpóreas. Examinaremos três tipos de junções celulares que permitem que elas façam contato físico direto e se conectem umas às outras: junções apertadas, desmossomos e junções gap.

AS JUNÇÕES APERTADAS VEDAM TECIDOS **Junções apertadas** tratam-se de estruturas especializadas que unem células epiteliais adjacentes. Resultam da mútua ligação de proteínas específicas sobre as membranas plasmáticas de duas células epiteliais, que formam uma série de conexões que circundam cada uma (**Figura 5.7A**). Encontradas no revestimento do lúmen (cavidade) de órgãos como o intestino, as junções apertadas desempenham dois papéis:

- Evitam que as substâncias se movimentem nos espaços existentes entre as células. Assim, toda substância que penetra no organismo a partir do lúmen do intestino deve passar através das células epiteliais que formam a junção apertada.
- Delimitam regiões funcionalmente distintas na membrana, restringindo a migração de proteínas e fosfolipídeos entre essas regiões. Dessa forma, as proteínas e fosfolipídeos da região *apical* (parte superior) da célula – direcionada para o lúmen

– podem ser diferentes daquelas existentes nas regiões *basolaterais* (*basal*, inferior; *lateral*, do lado) – viradas para outras direções que não a do lúmen da cavidade corpórea em questão –, das células que possuem as junções.

Forçando materiais a entrarem nas células e permitindo diferentes áreas da mesma célula expressarem diferentes proteínas de diferente funções, as junções apertadas ajudam a assegurar o movimento direcional dos materiais no organismo.

OS DESMOSSOMOS MANTÊM A UNIÃO ENTRE AS CÉLULAS

Os **desmossomos** conectam membranas plasmáticas adjacentes. Os desmossomos mantêm células adjacentes firmemente unidas atuando como uma espécie de rebite (**Figura 5.7B**). Cada desmossomo possui uma estrutura densa denominada *placa* na face citoplasmática da membrana plasmática. A essa placa estão ligadas moléculas especiais de adesão celular (CAMs, do inglês *cell adhesion molecules*), que se estendem da placa rumo à membrana plasmática de uma célula, pelo espaço celular, e através da membrana citoplasmática da célula adjacente, onde se conectam as proteínas da placa dessa outra célula.

A placa também liga-se a fibras no citoplasma. Essas fibras, que são filamentos intermediários do citoesqueleto (ver Figura

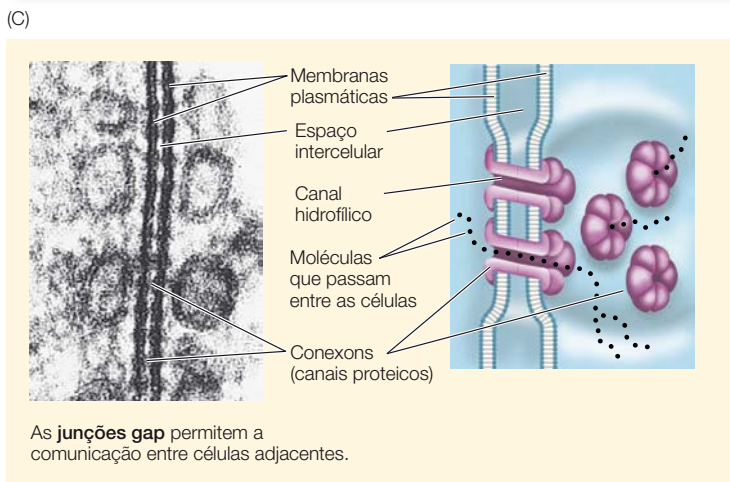
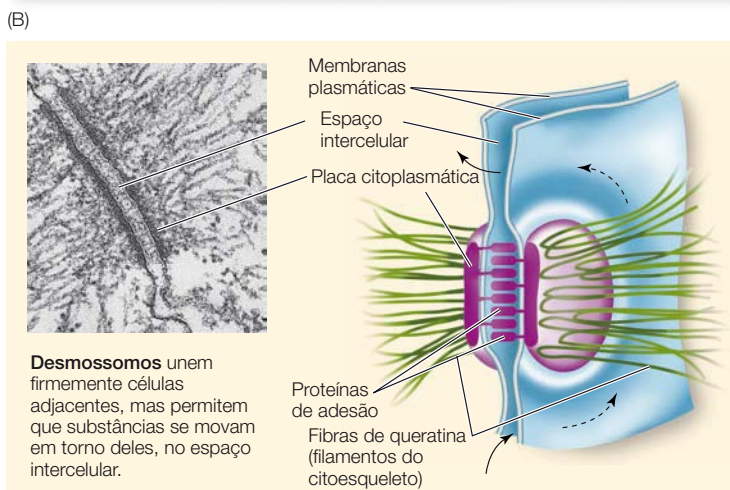
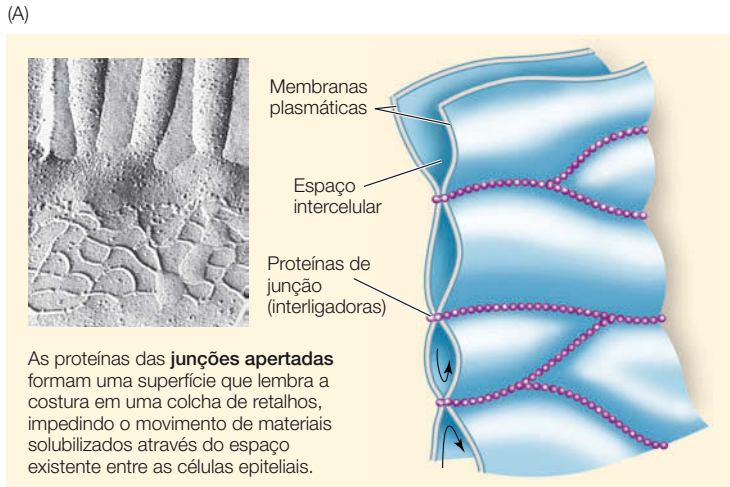
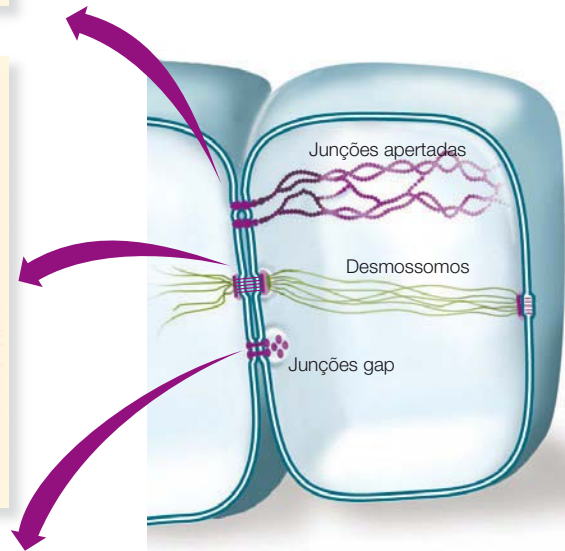


Figura 5.7 Junções mantêm unidas as células animais As junções apertadas (A) e os desmosomos (B) são abundantes em células epiteliais. Junções gap (C) encontram-se também em alguns tecidos nervosos e musculares, nos quais é importante uma rápida comunicação entre as células.



4.20), compõem-se de uma proteína denominada *queratina*. Essas fibras se estendem a partir de uma placa citoplasmática da célula, conectando-se à outra palca no lado oposto desta. Ancoradas dessa forma em ambos os lados da célula, essas fibras extremamente fortes conferem grande estabilidade mecânica aos tecidos epiteliais, que frequentemente sofrem grande pressão no

desempenho de seu papel de proteção da integridade da superfície do organismo.

AS JUNÇÕES GAP REPRESENTAM FORMAS DE COMUNICAÇÃO Ao passo que as junções apertadas e os desmosomos desempenham papéis mecânicos, as **junções gap** facilitam a comunicação entre as células. Cada junção gap é formada por um canal de proteínas especializadas, denominado *conexon*, que atravessa as membranas plasmáticas e o espaço intercelular de duas células adjacentes (Figura 5.7C). Pequenas moléculas e íons solúveis podem passar de uma célula para outra através dessas junções. Descreveremos seu funcionamento em maiores detalhes, bem como também será descrito o *plasmodesmata*, que desempenha papel semelhante em células vegetais, no Capítulo 15, quando da discussão a respeito da comunicação celular.

5.2 RECAPITULAÇÃO

Em organismos pluricelulares, as células se organizam em grupos através de dois processos, reconhecimento celular e adesão celular. Ambos os processos são mediados por proteínas integrais da membrana plasmática.

- Você é capaz de explicar a diferença entre reconhecimento celular e adesão celular? Ver p. 102.
- Os três tipos de junções celulares aqui descritos possuem diferentes efeitos sobre a passagem de substâncias entre as células e através do espaço intercelular. Descreva como cada tipo de junção atua sobre o “tráfego” molecular. Ver p. 103-104 e Figura 5.7.

Acabamos de examinar de que modo a estrutura da membrana responde por uma função primordial da membrana: a ligação das células entre elas. A seguir analisaremos um papel primordial das membranas: a regulação das substâncias que penetram em uma célula ou saem dela.

5.3 O que são os processos passivos do transporte de membrana?

As membranas biológicas permitem a passagem de algumas substâncias, mas impedem o trânsito de outras. Essa característica das membranas é referida como **permeabilidade seletiva**. A permeabilidade seletiva permite que a membrana determine quais substâncias poderão penetrar ou sair de uma célula ou organela.

Existem dois processos, fundamentalmente diferentes, através dos quais substâncias podem atravessar membranas biológicas:

- Os processos de *transporte passivo* não necessitam de qualquer energia externa para ocorrer.
- Os processos de *transporte ativo* necessitam de aporte de energia química a partir de uma fonte externa.

A presente seção abordará os processos passivos pelos quais as substâncias são capazes de entrar e sair das células. A energia para esses processos encontra-se nas próprias substâncias e na força motora gerada pela diferença de concentração da substância entre as duas faces da membrana. Os processos de transporte passivo incluem dois tipos de *difusão*: a *difusão simples*, através da bicamada fosfolipídica, e a *difusão facilitada*, através de canais proteicos ou via transportadores intermediários proteicos.

A difusão é um processo de movimento aleatório que tende a um estado de equilíbrio

Nada que existe em nosso mundo se encontra em absoluto repouso. Tudo está em movimento, mesmo que extremamente pequeno. Uma importante consequência desse movimento aleatório de moléculas é que todos os componentes de uma solução tendem a distribuir-se homogeneamente ao longo do sistema. Por exemplo, se uma gota de tinta cair em um grande recipiente com água, as moléculas de pigmento da tinta estarão inicialmente bastante concentradas. Sem a intervenção de alguém que misture a solução, as moléculas de pigmento da tinta se movimentarão de forma aleatória espalhando-se na água até finalmente a concentração do pigmento – e conseqüentemente a intensidade da coloração – ser exatamente a mesma em cada uma das gotas de água existen-

tes nesse recipiente. Uma solução na qual as partículas de soluto encontram-se uniformemente distribuídas é dita em equilíbrio, pois não deverão ocorrer alterações futuras em sua concentração. Estar em equilíbrio não significa que as partículas pararam de movimentar-se; apenas significa que elas se movem de tal forma que sua distribuição geral não é alterada.

A **difusão** é o processo de movimento aleatório em direção a um estado de equilíbrio. Apesar da movimentação de cada partícula ser completamente aleatória, o movimento *geral* das partículas é direcional até o momento em que se alcança o equilíbrio. A difusão é, então, *o somatório do movimento a partir de regiões de maior concentração para regiões de menor concentração* (Figura 5.8).

Em uma solução complexa (uma solução contendo vários solutos diferentes) a difusão de cada soluto é independente da difusão dos demais. A velocidade de difusão de uma substância depende de quatro fatores:

- O *diâmetro* de uma molécula ou íon: moléculas menores difundem mais rapidamente.
- A *temperatura* da solução: temperaturas mais elevadas levam a uma difusão mais rápida, pois os íons ou moléculas terão maior energia e, portanto, se moverão mais rápido.
- A *carga elétrica*, se existente, do material de difusão.
- O *gradiente de concentração* no sistema – ou seja, a diferença na concentração de soluto, ao longo da distância, em uma determinada direção: quanto maior for o gradiente de concentração, mais rapidamente a substância difundirá.

A DIFUSÃO NO INTERIOR DE CÉLULAS E TECIDOS Dentro de células, ou sempre que as distâncias forem muito pequenas, os solutos se distribuirão rapidamente através de difusão. Pequenas moléculas e íons podem mover-se de uma extremidade a outra de uma organela em um milissegundo (10^{-3} s, ou um milésimo de segundo). No entanto, a funcionalidade da difusão como sistema de transporte diminui drasticamente com o aumento da distância. Na ausência de agitação mecânica, a difusão através de uma distância de um centímetro pode demorar uma hora ou mais, e a difusão à distância de metros pode levar anos! A difusão não seria adequada para a distribuição de substâncias ao longo do comprimento do corpo humano (e muito menos em organismos de maior tamanho), mas dentro de nossas células ou através de camadas de uma ou duas células, a difusão é rápida o suficiente para promover a distribuição de pequenas moléculas e íons de forma quase que instantânea.

DIFUSÃO ATRAVÉS DE MEMBRANAS Em uma solução sem barreiras, todos os solutos difundem em velocidades determinadas pela temperatura, por suas propriedades químicas e pelo gradiente de concentração de cada soluto. No entanto, se uma membrana biológica divide a solução em dois compartimentos separados, o movimento dos diferentes solutos pode ser afetado pelas propriedades da membrana. Diz-se que a membrana é *permeável* para solutos que conseguem atravessá-la com maior ou menor facilidade, e *impermeável* para substâncias incapazes de atravessá-la.

As moléculas para as quais a membrana mostra-se impermeável permanecerão em compartimentos separados e a concentração dessas moléculas será potencialmente diferente entre os dois lados da membrana. Para as quais a membrana é permeável difundem de um compartimento para outro até que sua concentração se iguale em ambos os lados da membrana. O equilíbrio é atingido quando a concentração da substância que está difundindo é idêntica em ambos os lados da membrana permeável.

EXPERIMENTO

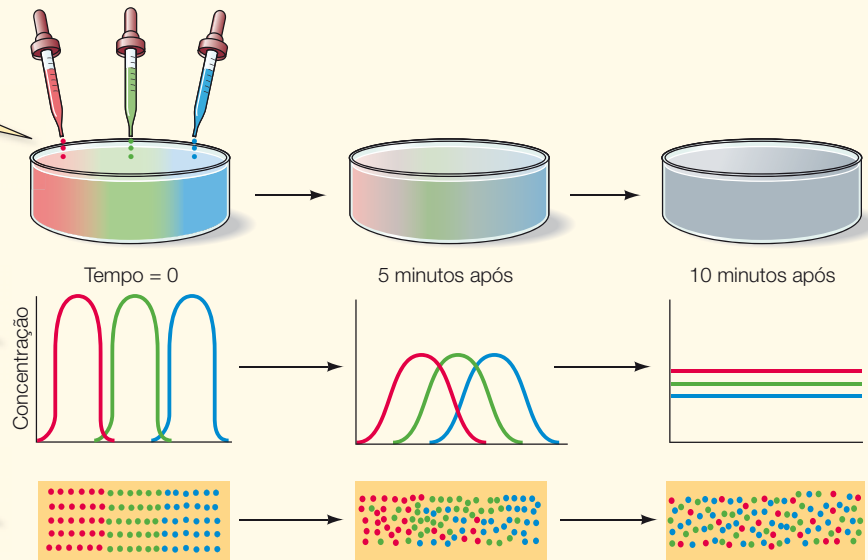
HIPÓTESE: A difusão resulta em uma distribuição uniforme dos solutos.

MÉTODO

Adicione quantidades iguais de três corantes sobre a água em repouso em um recipiente raso.

Colete amostras de diferentes pontos da solução e meça a quantidade de cada substância corante.

O número e a posição de moléculas de cada corante pode ser representado para visualização.



RESULTADOS

CONCLUSÃO: Cada soluto se distribui uniformemente e independentemente dos demais solutos, via difusão.

Figura 5.8 A difusão resulta em uma distribuição uniforme dos solutos Um experimento simples demonstra que solutos se movem de regiões de maior concentração para regiões de menor concentração até que seja alcançado o equilíbrio.

Moléculas individuais continuam a atravessar a membrana após o estabelecimento do equilíbrio, no entanto, números iguais desas se movem em cada sentido e, portanto, *não existe alteração* nas concentrações.

Difusão simples ocorre através da bicamada fosfolipídica

Na **difusão simples**, pequenas moléculas passam através da bicamada fosfolipídica da membrana. Uma molécula hidrofóbica, e portanto solúvel em lipídeos, penetra facilmente na membrana sendo assim capaz de passar através dela. Quanto mais solúvel em lipídeos for, mais rapidamente ela difundirá através da bicamada da membrana. Esse postulado é verdadeiro para um amplo espectro de pesos moleculares. Apenas a própria água e moléculas muito pequenas parecem desviar-se dessa regra, passando através de bicamadas muito mais rapidamente do que seria predito a partir de sua solubilidade em lipídeos.

Por outro lado, moléculas polares ou carregadas eletricamente, tais como aminoácidos, açúcares e íons não são capazes de atravessar facilmente a membrana por dois motivos:

- As células são compostas por água e se encontram nela; substâncias polares formam muitas pontes de hidrogênio com a água, e íons são envolvidos por moléculas de água, o que evita que eles “escapem” para a membrana.

- O interior da membrana é hidrofóbico, e substâncias hidrofílicas tendem a ser excluídas desse meio.

Considere dois tipos de moléculas de tamanhos equivalentes: uma proteína pequena composta de poucos aminoácidos, e um esteroide baseado em colesterol. A proteína, sendo polar, difundirá vagarosamente através da membrana, ao passo que o esteroide não polar difundirá facilmente pela membrana.

Osmose é a difusão de água através de membranas

Moléculas de água são suficientemente abundantes e pequenas para que possam se mover através de membranas por um processo de difusão denominado de **osmose**. Este processo totalmente passivo não utiliza energia metabólica e pode ser compreendido em termos de concentração de solutos. A osmose depende do *número*, e não do tipo, de partículas de soluto presente. Descreveremos esse processo usando como exemplos células vermelhas sanguíneas e células vegetais.

As células vermelhas sanguíneas estão normalmente em suspensão em um fluido denominado *plasma*, que contém sais, proteínas e outros solutos. O exame de uma gota de sangue sob microscopia óptica revela que essas células vermelhas possuem formato bicôncavo característico. Se adicionarmos água pura a essa gota de sangue, as células vermelhas rapidamente incharão e explodirão. De forma semelhante, se folhas de alface levemente murchas são colocadas em água pura, logo ficarão crocantes (crespas); pesando-se esse material antes e após o procedimento, poderemos mostrar que houve absorção de água. Por outro lado, se células vermelhas sanguíneas ou folhas frescas de alface

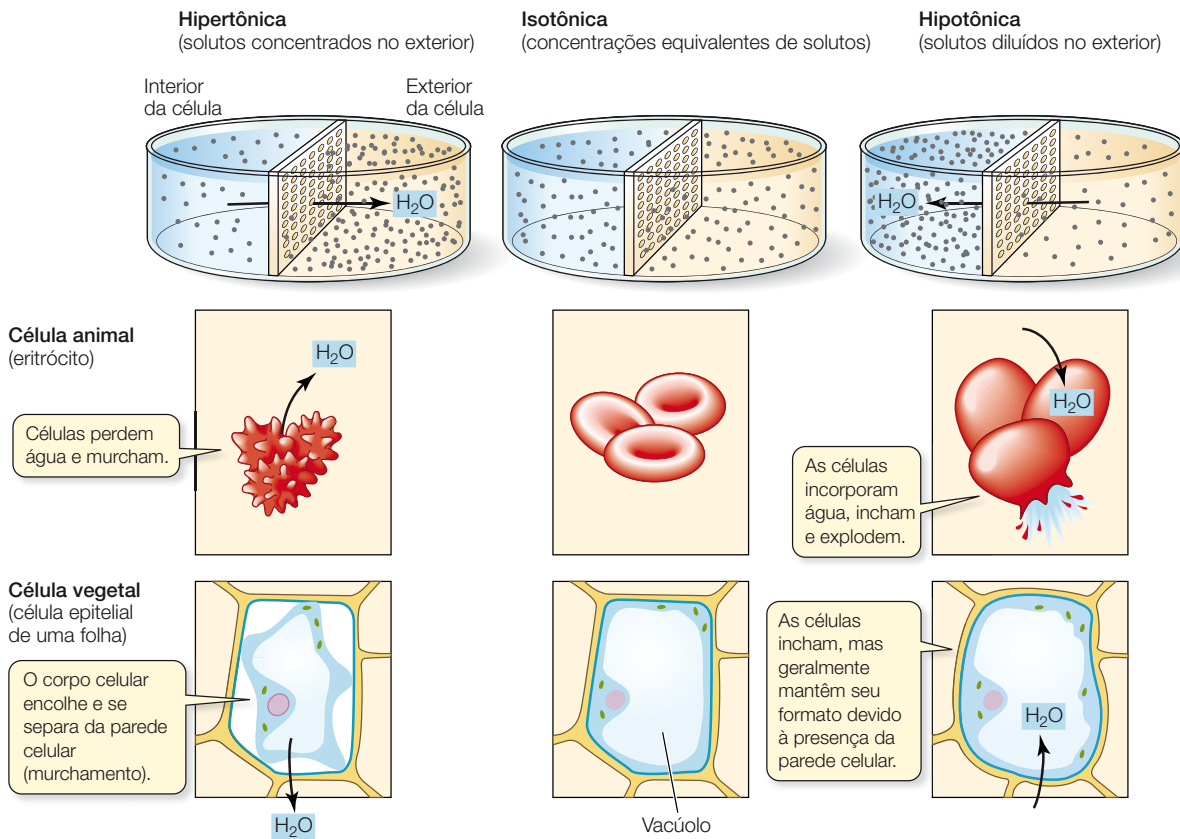


Figura 5.9 A osmose pode modificar o formato das células

Em uma solução isotônica (coluna central), células animais e vegetais mantêm consistentemente seus formatos característicos. Em uma solução hipotônica em relação a essas células (à direita), a água penetra nas células; um ambiente hipertônico em relação às células (à esquerda) drena água para fora delas.

forem colocadas em uma solução relativamente concentrada de sal ou açúcar, as folhas amolecerão (perderão água) e as células vermelhas sanguíneas irão encolher e murchar (ver Figura 5.9, à esquerda).

A partir da análise dessas observações, sabemos que a diferença na concentração de solutos entre uma célula e o ambiente que a circunda determina se a água passará do ambiente para a célula ou o contrário. Considerando outros fatores como idênticos, se duas soluções diferentes estão separadas por uma membrana que permite a passagem de água, mas não permite a passagem dos solutos, as moléculas de água atravessarão a membrana em direção à solução com maior concentração do soluto. Em outras palavras, a água difundirá da região de sua maior presença (com a menor concentração de solutos) para a região de sua menor presença (com maior concentração de soluto).

Três termos são usados para comparar a concentração de solutos entre duas soluções separadas por uma membrana (Figura 5.9):

- Soluções **isotônicas** apresentam iguais concentrações de solutos.
- Soluções **hipertônicas** possuem maior concentração de solutos do que a solução com a qual está sendo comparada.
- Soluções **hipotônicas** possuem menor concentração de solutos do que a solução com a qual está sendo comparada.

A água se move de uma solução hipotônica, através de uma membrana, para uma solução hipertônica.

Quando dizemos que “a água se move”, você deve considerar que estamos nos referindo ao movimento médio final da água. Tendo em vista sua abundância, a água está constantemente movendo-se através da membrana plasmática para dentro e para fora das células. O que realmente nos interessa aqui é saber se o movimento médio final é maior em uma direção do que em outra.

A concentração de solutos no ambiente determina a direção da osmose em células animais. Uma célula vermelha sanguínea adquirirá água de uma solução hipotônica em relação ao conteúdo celular. Ela explode, pois sua membrana plasmática é incapaz de suportar o inchaço. A integridade de células vermelhas sanguíneas (e de outras células sanguíneas) é absolutamente dependente da manutenção de uma concentração constante de solutos no plasma onde ela se encontra em suspensão: o plasma deve ser isotônico em relação a elas para que não explodam ou murchem. A regulação da concentração de solutos dos fluidos do corpo é, dessa forma, um importante processo para os organismos que não possuem paredes celulares.

Em contraste às células animais, as células de vegetais, archae, bactérias, fungos e de alguns protistas, possuem paredes celulares que limitam o volume das células e evitam que elas se rompam. Células com paredes robustas incorporam uma quantidade limitada de água e, ao fazerem isto, geram uma pressão interna contra a parede celular que evita a entrada de mais água. Essa pressão dentro da célula é denominada **pressão de turgor**. A pressão de turgor mantém as plantas eretas e atua como força direcionadora do crescimento das células vegetais. Essa pressão é um componente normal e essencial no crescimento das plantas. Se uma quantidade relativa de água é perdida pelas células, a pressão de turgor cai e a planta murcha.

A pressão de turgor em células vegetais alcança aproximadamente 7,3 Kg por centímetro quadrado – muitas vezes mais elevada do que a pressão em pneus de automóveis. Essa pressão é tão grande que se não existissem moléculas de adesão denominadas pectinas na parede das células vegetais, elas simplesmente se desagregariam umas das outras.

A difusão pode ser auxiliada por canais proteicos

Como vimos anteriormente, substâncias polares, como aminoácidos e açúcares, e substâncias carregadas, como íons, não difundem facilmente através de membranas. No entanto, podem atravessar a bicamada fosfolipídica hidrofóbica passivamente (ou seja, sem o aporte de energia) via dois caminhos:

- Proteínas integrais de membrana podem formar *canais* através dos quais essas substâncias passam.
- A ligação a uma proteína de membrana denominada de *proteína carreadora* pode acelerar a difusão dessas substâncias.

Ambos os processos são formas de **difusão facilitada**.

Canais proteicos de membrana possuem um poro central revestido com aminoácidos polares e água (para a ligação a substâncias carregadas permitindo que essas substâncias atravessem o canal) e aminoácidos não polares na parte exterior da proteína (fazendo com que esta fique inserida na bicamada fosfolipídica). O poro central pode abrir-se quando estimulado, permitindo que substâncias polares hidrofílicas passem pelo canal (**Figura 5.10**).

CANAIS IÔNICOS E O POTENCIAL DE MEMBRANA Os canais proteicos mais bem estudados são os **canais iônicos**. Conforme veremos mais tarde neste capítulo, o transporte de íons entre o interior e o exterior das células é importante para diferentes processos biológicos, desde a atividade elétrica do sistema nervoso até

a abertura de poros nas folhas, que permite a troca de gases com o ambiente. Centenas de canais iônicos já foram identificados, cada um deles específico para um íon em particular. Todos eles apresentam a mesma estrutura básica referente a um poro hidrofílico que permite a passagem de um íon específico através do canal.

Da mesma forma que uma cerca deve ter um portão, que pode estar aberto ou fechado, diversos canais iônicos são *controlados*: podem estar fechados ou abertos para a passagem dos íons. Um **canal controlado** abre quando algo que acontece leva a uma alteração na estrutura tridimensional da proteína. Dependendo do canal, esse estímulo pode variar da ligação a um sinalizador químico (canais *controlados por ligantes*; ver Figura 5.10) a uma carga elétrica provocada por alteração no balanço de íons (canal *controlado por voltagem*).

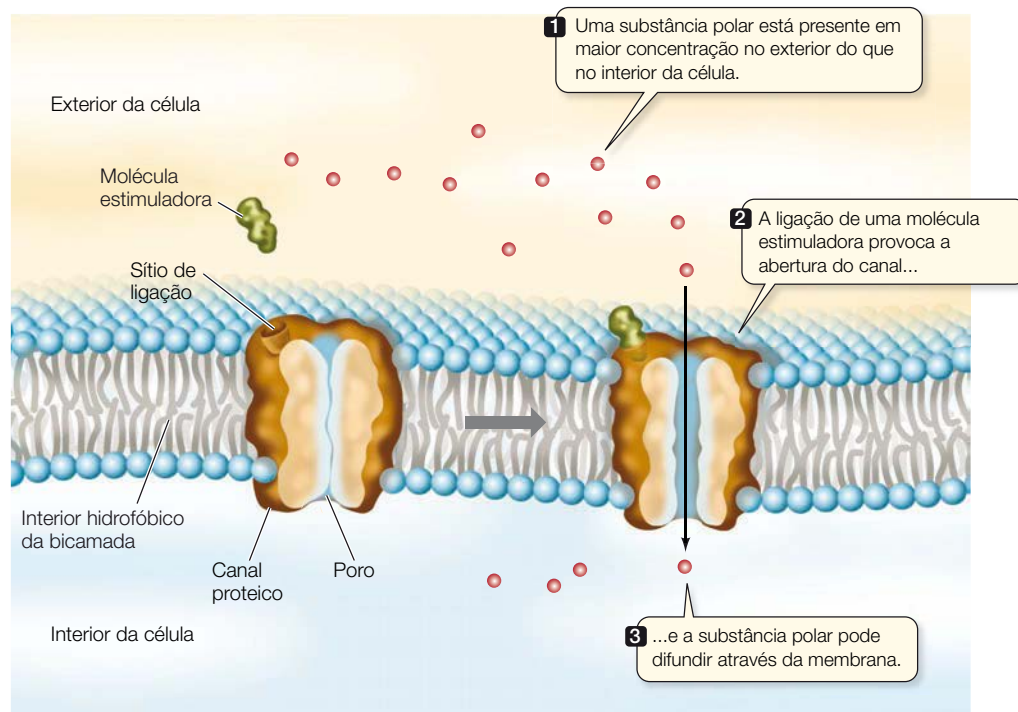
Quando um canal controlado por voltagem é aberto, milhões de íons podem atravessá-lo rapidamente, a cada segundo. A rapidez da sua passagem, e a direção (para dentro ou para fora da célula) de seu movimento, depende de dois fatores:

- O *gradiente de concentração* do íon entre o interior e o exterior da célula. Por exemplo, em células de animais, visto que existe transporte ativo (discutido a seguir) a concentração de íons de potássio (K^+) é geralmente muito maior no interior da célula que no exterior dela, de tal forma que K^+ tenderá a *difundir para fora da célula* através de canais de potássio abertos.
- Um *gradiente eletroquímico* é formado quando existe um desequilíbrio geral no que se refere a substâncias carregadas entre o interior e o exterior da célula – ou seja, através da membrana plasmática. Em células animais, há maior concentração de Cl^- e outros íons negativamente carregados (ânions) dentro da célula, em relação ao exterior. Essas substâncias negativamente carregadas não podem atravessar a membrana, de forma que existe uma tendência para que o K^+ *permaneça no interior da célula* para contrabalançar as cargas negativas e manter a neutralidade.

Assim, é o somatório dessas duas forças – difusão simples baseada em gradientes de concentração e alterações no balanço eletroquí-

Figura 5.10 Um canal proteico controlado abre em resposta a um estímulo

O canal proteico possui um poro de aminoácidos polares e água. Ele está ancorado no interior hidrofóbico da bicamada, através de seu revestimento externo de aminoácidos não polares. A proteína altera sua estrutura tridimensional quando uma molécula estimuladora se liga a ela, abrindo o poro de forma que substâncias hidrofílicas polares possam atravessá-lo.



mico – que determina a direção na qual um íon, como o K^+ , flui através de um canal proteico. Finalmente, alcança-se um equilíbrio em que a taxa de difusão dos íons através do canal e para fora da célula é balanceada pela taxa de entrada através do canal devido à atração elétrica. Obviamente, as concentrações relativas de K^+ em ambos os lados da membrana não serão iguais, como seria de se esperar caso a difusão fosse a única força envolvida nesse processo. Em contraposição, a atração de cargas elétricas mantém uma certa quantidade extra de K^+ no interior da célula. Isso promove um desequilíbrio de cargas através da membrana plasmática, pois existe mais K^+ no interior do que no exterior da célula. Esse desequilíbrio de cargas é denominado **potencial de membrana**.

O potencial de membrana está relacionado ao desequilíbrio da concentração de K^+ por meio da *equação de Nernst*:

$$E_K = 2,3 \frac{RT}{zF} \log \frac{[K]_o}{[K]_i}$$

onde R é a constante de gás, F é a constante de Faraday (ambas familiares para os estudantes de química), T é a temperatura e z é a carga no íon (+1). Resolvendo para $2,3 RT/zF$ a $20^\circ C$ (“temperatura ambiente”), a equação torna-se muito mais simples:

$$E_K = 58 \log \frac{[K]_o}{[K]_i}$$

onde E_K é o potencial de membrana (em milivolts, mV) que resulta da razão entre a concentração de K^+ no exterior da célula $[K]_o$ e no interior da célula $[K]_i$.

Medidas reais em células animais chegaram a um potencial de membrana total de aproximadamente -70 mV através da membrana, sendo o lado interno negativo em relação à face externa (ver Figura 50.7). As células possuem enorme quantidade de energia potencial estocada em seus potenciais de membrana. Na verdade, as células cerebrais que você está usando para ler este livro possuem energia potencial maior – aproximadamente 200.000 volts por centímetro – que as linhas elétricas de alta-voltagem que alimentam a sua lâmpada de leitura, que transportam aproximadamente 2 volts por centímetro.

Como você verá quando abordarmos a fisiologia animal e vegetal, a energia estocada no potencial de membrana das células é a base de diversos processos biológicos importantes. Retornaremos à equação de Nernst e suas aplicações na biologia no Capítulo 50.

A ESPECIFICIDADE DOS CANAIS IÔNICOS Como um canal iônico permite a passagem de um íon específico e não a passagem

de outros íons? Não é apenas uma questão de carga ou tamanho. Por exemplo, um íon sódio (Na^+), com um raio de $0,095$ nm, é menor do que um K^+ , que possui $0,130$ nm; e ambos carregam a mesma carga positiva. Mesmo assim, os canais de potássio permitem apenas a passagem de K^+ através da membrana e impedem a passagem do íon Na^+ menor. A elegante explicação foi recentemente descoberta quando Roderick MacKinnon determinou a estrutura de um canal de potássio a partir de uma bactéria (Figura 5.11).

Por serem carregados, tanto K^+ quanto Na^+ são atraídos por moléculas de água. Quando em solução, eles possuem “armaduras” dessa substância, mantidas pela atração de suas cargas positivas aos átomos de oxigênio negativamente carregados nas moléculas de água (ver Figura 2.11). Para poder atravessar um canal de membrana, o K^+ deve livrar-se da água à qual está conectado. O K^+ “desprovido de água” é então atraído por átomos de oxigênio do poro do canal proteico. No canal de potássio, os átomos de oxigênio localizam-se na base de uma região proteica em forma de funil. Os íons de K^+ se ajustam exatamente a esta base e, portanto, ficam em posição em que são atraídos mais fortemente pelos átomos de oxigênio do que pelas moléculas de água. Por sua vez, o íon de Na^+ , que é menor, fica um pouco mais distante dos átomos de oxigênio da base, mantendo sua “capa” de água. Dessa forma, o íon Na^+ não consegue penetrar no canal de potássio.

Conforme mencionado, a água atravessa a membrana plasmática em níveis muito mais altos do que se esperaria, considerando sua polaridade. Uma forma de a água conseguir fazer isso é por meio da hidratação de determinados íons, quando estes atravessam canais iônicos. Um total de até 12 moléculas de água pode recobrir um íon durante sua passagem através de um canal. Outro mecanismo que permite a rápida penetração da água nas células consiste na passagem através de canais de água, denominados **aquaporinas**. Canais proteicos que permitem a passagem de água foram caracterizados em diversas membranas, desde membranas de vacúolos em plantas, onde são importantes para a manutenção da pressão de turgor, até o rim de mamíferos, onde atuam na retenção de água que de outra forma seria perdida através da urina.

Diversas plantas, da mesma forma que alguns seres humanos, seguem o sol. Quando canais iônicos nas células que unem a folha ao caule abrem-se em resposta à luz solar, K^+ e Cl^- penetram nas células por difusão. A água seguirá esse mesmo caminho devido à osmose e as células do caule incharão, fazendo com que a folha gire em direção ao sol.

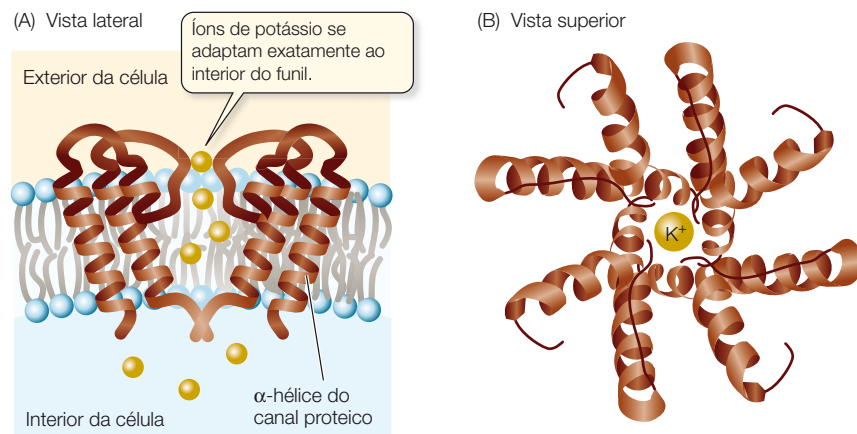


Figura 5.11 O canal de potássio Roderick MacKinnon determinou a estrutura do canal de K^+ altamente seletivo da bactéria *Streptomyces lividans*. (A) Íons de potássio atravessam o canal nesta vista lateral, atraídos pelos átomos de oxigênio das α -hélices do canal proteico. Esse é um sistema feito “sob medida” para K^+ ; outros íons não são capazes de atravessar esse canal. (B) Vista superior de um canal.

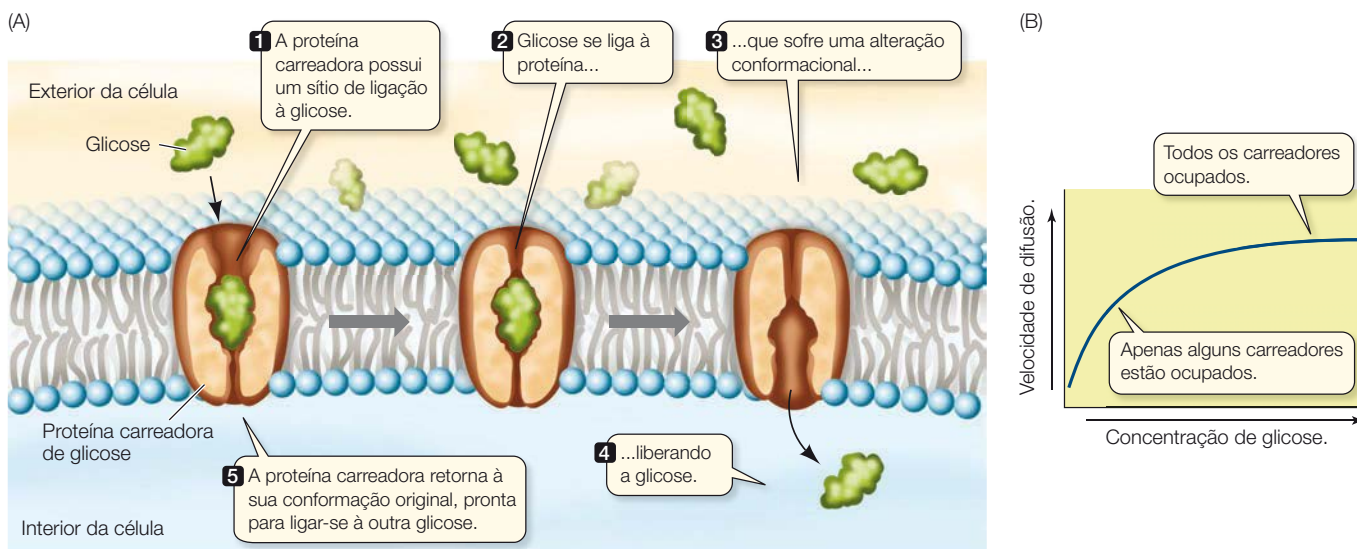


Figura 5.12 Uma proteína transportadora facilita a difusão O transportador de glicose é uma proteína transportadora que permite a entrada de glicose na célula em uma velocidade muito maior do que seria possível através de difusão simples. (A) O transportador se liga à glicose, carrega-a para a região interna da membrana, sofre uma alteração conformacional e libera a glicose no interior do citoplasma celular. (B) Sob baixas concentrações de glicose, nem todos os transportadores se ocupam, e uma elevação no número de moléculas de glicose aumenta a velocidade de difusão. Sob altas concentrações, todas as proteínas transportadoras estão em uso (o sistema está saturado) e a velocidade de difusão alcança um platô.

Proteínas transportadoras auxiliam a difusão através da ligação a diferentes materiais

Outra forma de difusão facilitada envolve não apenas a abertura de um canal, mas uma ligação da substância a ser transportada a proteínas da membrana. Essas denominam-se **proteínas transportadoras** e, da mesma forma que os canais proteicos, permitem difusão tanto dentro quanto para fora da célula. Proteínas transportadoras transportam moléculas polares, tais como açúcares e aminoácidos.

Por exemplo, a glicose é a principal fonte de energia para a maioria das células de mamíferos. As membranas dessas células contêm uma proteína transportadora – o transportador de glicose – que facilita a sua entrada nelas. A ligação da glicose a um sítio tridimensional específico existente sobre o transportador de glicose induz a uma alteração na conformação da proteína e à liberação de glicose na face citoplasmática da membrana (**Figura 5.12A**). Considerando-se que a glicose é quebrada quase que instantaneamente após sua entrada na célula, costuma existir um forte gradiente de concentração que favorece a sua entrada, devido a existência de uma concentração maior de glicose no exterior da célula, em relação a seu interior. O transportador permite que a molécula de glicose atravesse a membrana e penetre na célula muito mais rapidamente do que ocorreria por difusão simples.

O transporte por meio de proteínas transportadoras é diferente da difusão simples. Em ambos os processos a velocidade de movimento depende de um gradiente de concentração existente através da membrana. No entanto, no transporte mediado por transportador, há um ponto em que o aumento no gradiente de concentração não

é acompanhado por aumento na velocidade de difusão. Quando esse ponto é alcançado, diz-se que o sistema de difusão facilitada está **saturado** (**Figura 5.12B**). Pelo fato de existir um número limitado de moléculas de proteína transportadora por unidade de área na membrana, a velocidade de difusão alcança o máximo quando todas as moléculas transportadoras estão carregadas com moléculas do soluto. Em outras palavras, quando a diferença na concentração do soluto através da membrana é suficientemente alta, não existirão moléculas transportadoras livres em número necessário para transportar todas as moléculas de soluto disponíveis.

5.3 RECAPITULAÇÃO

Difusão é o movimento de íons ou moléculas de uma região de maior concentração para uma de menor concentração. A água pode difundir através de membranas celulares por um processo denominado de osmose. Canais proteicos, que podem ser abertos e fechados, e proteínas transportadoras auxiliam a difusão de substâncias polares e de substâncias carregadas.

- Que propriedades de uma substância determinam se, e quão rápido, ela será capaz de difundir através de uma membrana? Ver p. 105.
- Descreva a osmose e explique o significado dos termos hipertônico, hipotônico e isotônico. Ver p. 107 e Figura 5.9.
- Explique o mecanismo por meio do qual um canal proteico auxilia o processo de difusão. Ver p. 108-109 e Figura 5.10.

O transporte passivo permite que substâncias penetrem nas células a partir do ambiente, de forma que, quando é alcançado o equilíbrio, as concentrações de uma substância no interior da célula e na região exterior próxima à membrana serão iguais. No entanto, uma das grandes características dos seres vivos é a capacidade de ter uma composição bastante diferente da composição do ambiente. Para poder chegar a essa situação, os seres vivos devem algumas vezes movimentar substâncias no sentido contrário à tendência natural da difusão. Esse processo necessita de trabalho – gasto de energia – e é conhecido como **transporte ativo**.

5.4 Como as substâncias atravessam membranas em sentido contrário ao gradiente de concentração?

Em diferentes situações biológicas, uma pequena molécula ou um íon deve se mover através de uma membrana de uma região de menor concentração para uma de maior concentração. Nesses casos, a substância não pode deslocar-se via difusão. O movimento de qualquer substância através de uma membrana biológica *contra* um gradiente de concentração – denominado **transporte ativo** – requer gasto de energia química. As diferenças entre a difusão e o transporte ativo estão sumarizadas na **Tabela 5.1**.

O transporte ativo é direcionado

Três tipos de proteínas de membrana estão envolvidas no transporte ativo (**Figura 5.13**):

- **Uniportes** transportam uma única substância, ou soluto, em uma direção. Por exemplo, uma proteína de ligação a cálcio encontrada na membrana plasmática e no retículo endoplasmático de diversos tipos de células, transporta ativamente o Ca^{2+} para regiões onde esse íon já se encontra em altas concentrações, ou seja, até fora da célula e para dentro do retículo endoplasmático.
- **Simportes** transportam dois solutos na mesma direção. Por exemplo, a absorção de aminoácidos, a partir do intestino pelas células que o revestem, requer ligação simultânea de Na^+ e de um aminoácido à mesma proteína transportadora.
- **Antiportes** transportam dois solutos em direções opostas, um para o interior e outro para o exterior da célula. Por exemplo, diversas células possuem uma bomba de sódio-potássio que transporta Na^+ para fora da célula ao mesmo tempo em que movimentam K^+ para seu interior.

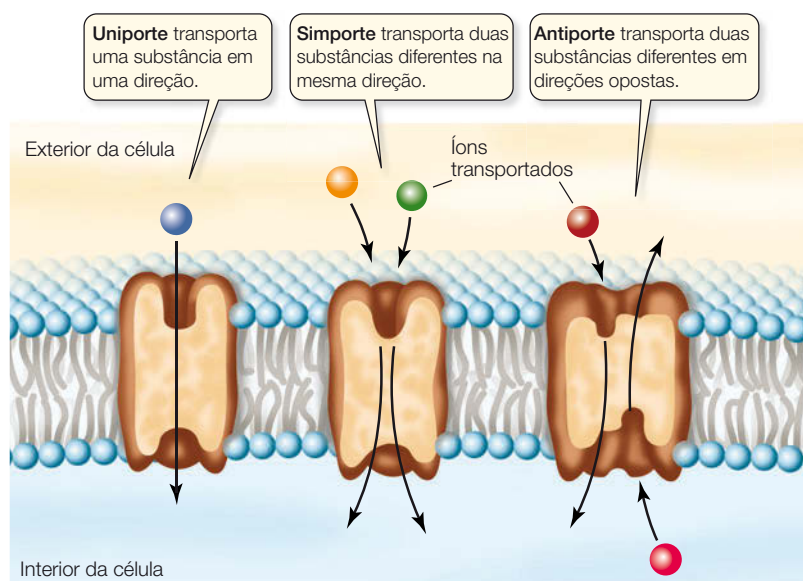


Figura 5.13 Três tipos de proteínas para o transporte ativo. Observe que em cada um dos três casos o transporte é direcional. Simporte e antiporte são exemplos de transporte acoplado.

TABELA 5.1 Mecanismos de transporte através de membrana

MECANISMO DE TRANSPORTE	ENERGIA EXTERNA NECESSÁRIA?	FORÇA DE MOVIMENTO	PROTEÍNA DE MEMBRANA NECESSÁRIA?	ESPECIFICIDADE
Difusão simples	Não	Com gradiente de concentração	Não	Não específico
Difusão facilitada	Não	Com gradiente de concentração	Sim	Específico
Transporte ativo	Sim	Hidrólise de ATP (contra o gradiente de concentração)	Sim	Específico

Simportes e antiportes são conhecidos como *transportadores acoplados*, pois movimentam duas substâncias ao mesmo tempo.

O transporte ativo primário e o secundário contam com fontes de energia diferentes

Existem dois tipos básicos de transporte ativo:

- O **transporte ativo primário** requer a participação direta da molécula de ATP, rica em energia.
- O **transporte ativo secundário** não usa ATP diretamente; ao invés disso, a energia é fornecida por um gradiente de concentração iônico estabelecido pelo transporte ativo primário.

No transporte ativo primário, a energia liberada pela hidrólise de ATP direciona o movimento de íons específicos contra um gradiente de concentração. (Os detalhes de como o ATP fornece energia para as células estão descritos na Seção 6.2). Por exemplo, vimos anteriormente que a concentração de íons potássio (K^+) dentro de um neurônio é muito maior que a concentração desse íon no fluido que banha o nervo, ao passo que a concentração de íons sódio (Na^+) é muito superior no fluido exterior. No entanto, uma proteína na membrana da célula nervosa continuamente bombeia Na^+ para fora do neurônio, e K^+ para dentro, contra gradientes de concentração, assegurando que esses sejam mantidos. Essa **bomba de sódio-potássio ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$)** está presente em todas as células animais. A bomba é uma glicoproteína integral de membrana. Ela quebra uma molécula de ATP e usa a energia liberada para trazer dois íons K^+ até dentro da célula e exportar três íons Na^+ (**Figura 5.14**). A bomba de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ é, portanto, um antiporte.

No transporte ativo secundário, o movimento de um soluto contra seu gradiente de concentração é obtido através do uso da energia “recuperada” de íons que se moveram através da membrana *na direção* de seus gradientes de concentração. Por exem-

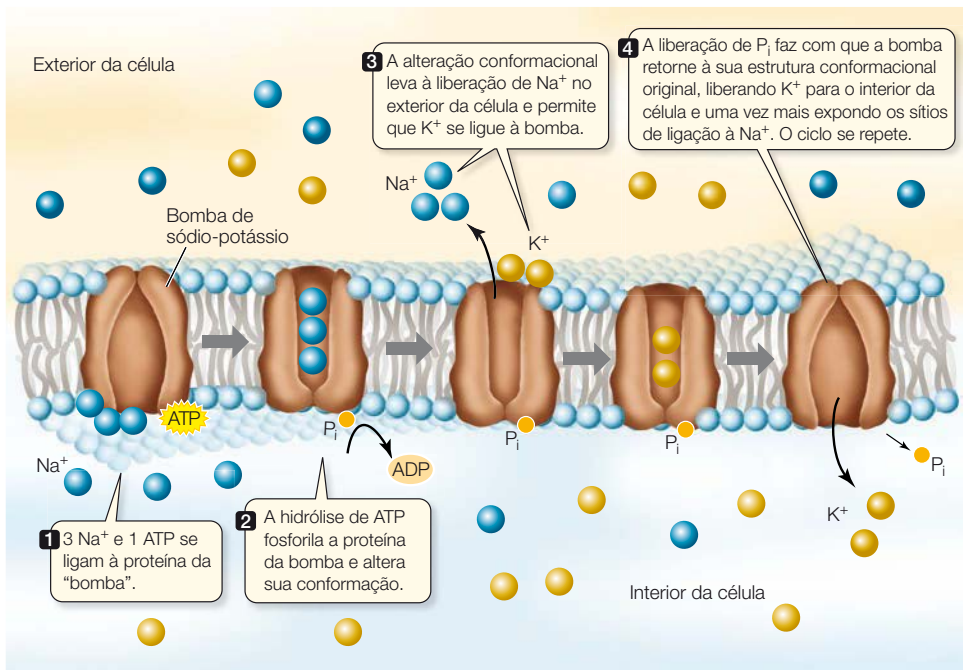


Figura 5.14 Transporte ativo primário: a bomba de sódio-potássio No transporte ativo, é usada energia para mover um soluto em sentido contrário a seu gradiente de concentração. Mesmo considerando-se que a concentração de Na^+ seja maior no exterior da célula e que a concentração de K^+ seja maior em seu interior, para cada molécula de ATP hidrolisado, dois K^+ serão bombeados para o interior da célula e três Na^+ para fora da célula. (A hidrólise de ATP libera energia e quebra a molécula de ATP em uma de ADP e um íon de fosfato inorgânico, P_i ; ver Seção 6.2.).

plo, visto que a bomba sódio-potássio estabelece um gradiente de concentração de íons sódio, a difusão passiva de alguns Na^+ de volta para o interior da célula pode fornecer energia para o transporte ativo secundário de glicose ao interior da célula (Figura 5.15). O transporte ativo secundário auxilia a incorporação de aminoácidos e açúcares, matérias-primas essenciais para a manutenção e crescimento celulares. Ambos os tipos de proteínas de transporte acoplado – simportes e antiportes – são usados para o transporte ativo secundário.

5.4 RECAPITULAÇÃO

O transporte ativo através de uma membrana é direcional e requer gasto de energia para movimentar solutos contra um gradiente de concentração. O transporte ativo permite que uma célula mantenha pequenas moléculas e íons em concentrações bastante distintas daquelas existentes no ambiente que a circunda.

- Por que o transporte ativo requer energia? Ver p. 111.
- Quais são as diferenças entre transporte ativo primário e transporte ativo secundário? Ver p. 111.
- Explique por que a bomba de sódio-potássio é um antiporte. Ver p. 111-112 e Figura 5.14.

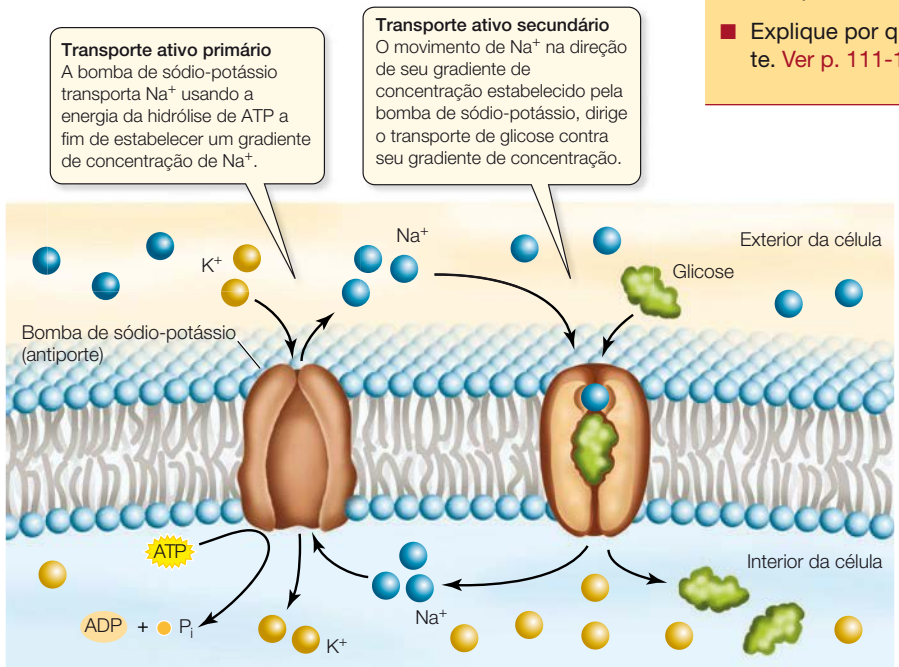


Figura 5.15 Transporte ativo secundário O gradiente de concentração de Na^+ estabelecido pelo transporte ativo primário (à esquerda) dá sustentação ao transporte ativo secundário de glicose (à direita). O movimento de glicose através da membrana contra seu gradiente de concentração é acoplado por uma proteína simporte ao movimento de Na^+ para o interior da célula.

Examinamos diversos mecanismos pelos quais íons e pequenas moléculas podem entrar e sair das células. Mas e quanto a moléculas grandes? Devido a seu tamanho, difundem muito lentamente e têm dificuldade em passar através da membrana. Um mecanismo completamente diferente é necessário para que grandes moléculas possam atravessar a membrana.

5.5 Como moléculas grandes entram em uma célula e saem dela?

Macromoléculas como proteínas, polissacarídeos e ácidos nucleicos são definitivamente muito grandes e carregadas (ou polares) para atravessarem as membranas biológicas. Na verdade, essa é uma característica favorável – imagine as consequências da existência de uma liberdade de difusão dessas moléculas para fora das células. Uma célula vermelha sanguínea não reteria sua hemoglobina! Por outro lado, as células devem eventualmente captar ou secretar grandes moléculas intactas. Conforme visto na Seção 4.3, esse processo pode ser realizado por meio de vesículas que formam invaginações a partir da membrana plasmática que penetram na célula (*endocitose*) ou que se fusionam à membrana plasmática e liberam seu conteúdo (*exocitose*).

Macromoléculas e partículas penetram na célula via endocitose

Endocitose é um termo-geral para designar um grupo de processos capazes de introduzir pequenas moléculas, macromoléculas, grandes partículas ou até mesmo pequenas células em uma célula eucariótica (Figura 5.16A). Existem três tipos de endocitose: *fagocitose*, *pinocitose* e *endocitose mediada por receptores*. Em todos esses tipos, a membrana plasmática forma invaginações (dobramentos para o interior da célula) em torno de materiais existentes no ambiente,

formando um espécie de pequeno bolso. Esse bolso aprofunda-se, formando uma vesícula. A vesícula separa-se da membrana plasmática e migra, com seu conteúdo, até o interior da célula.

- Na **fagocitose** (“alimentação celular”) uma parte da membrana plasmática engloba partículas grandes ou mesmo células inteiras. A fagocitose é usada por protistas unicelulares como processo de alimentação celular e por determinadas células brancas sanguíneas para a defesa do organismo através de englobamento de substâncias e células estranhas. O vacúolo de alimento ou fagossomo formado, geralmente se fundirá a um lisossomo, onde seu conteúdo sofrerá digestão (ver Figura 4.12).
- Na **pinocitose** (“ingestão celular de líquidos”) também são formadas vesículas. No entanto, essas vesículas são menores e o processo opera de forma a incorporar na célula pequenas quantidades de substâncias dissolvidas ou fluidos. Da mesma forma que a fagocitose, a pinocitose é relativamente inespecífica em relação ao material que se incorpora à célula. Por exemplo, a pinocitose ocorre constantemente no *endotélio*, a camada única de células que separa um fino capilar sanguíneo do tecido que o circunda, permitindo que as células rapidamente obtenham fluidos do sangue.
- Na **endocitose mediada por receptores**, reações específicas na superfície celular acionam a incorporação de materiais específicos.

Vamos agora olhar mais detalhadamente este último processo.

A endocitose mediada por receptores é extremamente específica

A endocitose mediada por receptores é usada por células animais para capturar macromoléculas específicas do ambiente. Esse processo depende de **receptores proteicos**, proteínas integrais de membrana que se ligam a moléculas específicas, no ambiente da célula. O processo de incorporação é semelhante ao que ocorre na endocitose não específica. No entanto, na endocitose mediada por receptores, proteínas receptoras localizadas em sítios particulares da superfície extracelular da membrana plasmática ligam-se a substâncias específicas. Esses sítios denominam-se *poços revestidos*, pois formam uma suave depressão na membrana plasmática e suas superfícies encontram-se revestidas por outras proteínas, como a *clatrina*.

Quando uma proteína receptora se liga ao ligante específico, o poço revestido sofre uma invaginação e forma uma *vesícula revestida* em torno da macromolécula ligada. Fortalecida e estabilizada pelas moléculas de clatrina, essa vesícula transporta a macromolécula até o interior da célula (Figura 5.17). Uma vez no interior da célula, a vesícula perde o revestimento de clatrina e pode fundir-se a um lisossomo, onde o material englobado é processado e liberado para o citoplasma. Devido a sua especificidade em relação a macromoléculas determinadas, a endocitose mediada por receptores é um método rápido e eficiente para a incorporação de substâncias que existem em baixas concentrações no ambiente celular.

A endocitose mediada por receptores consiste no método pelo qual o colesterol é internalizado pela maior parte

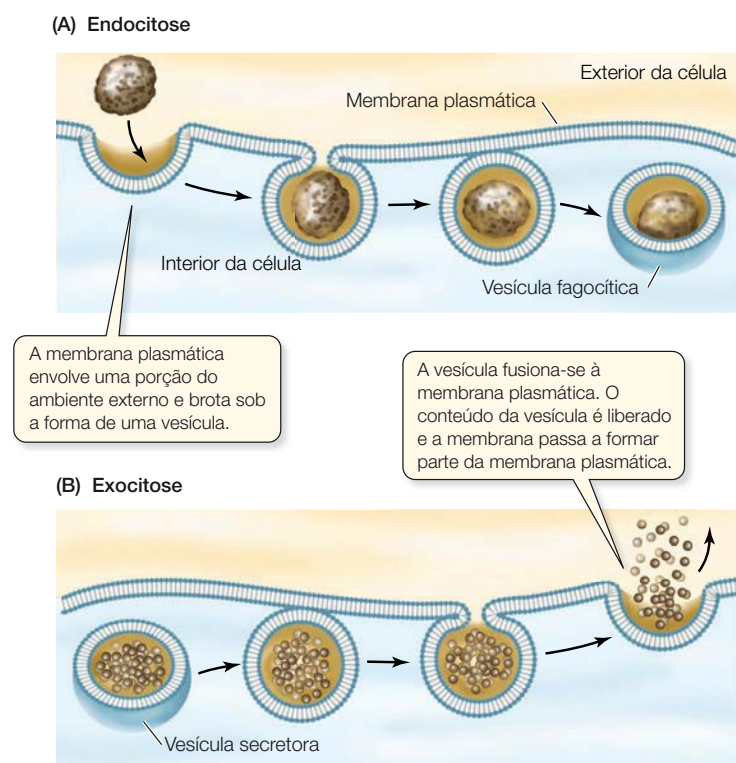


Figura 5.16 Endocitose e exocitose (A) Endocitose e (B) exocitose são usadas por células eucarióticas a fim de incorporar ou liberar substâncias para o ambiente externo.

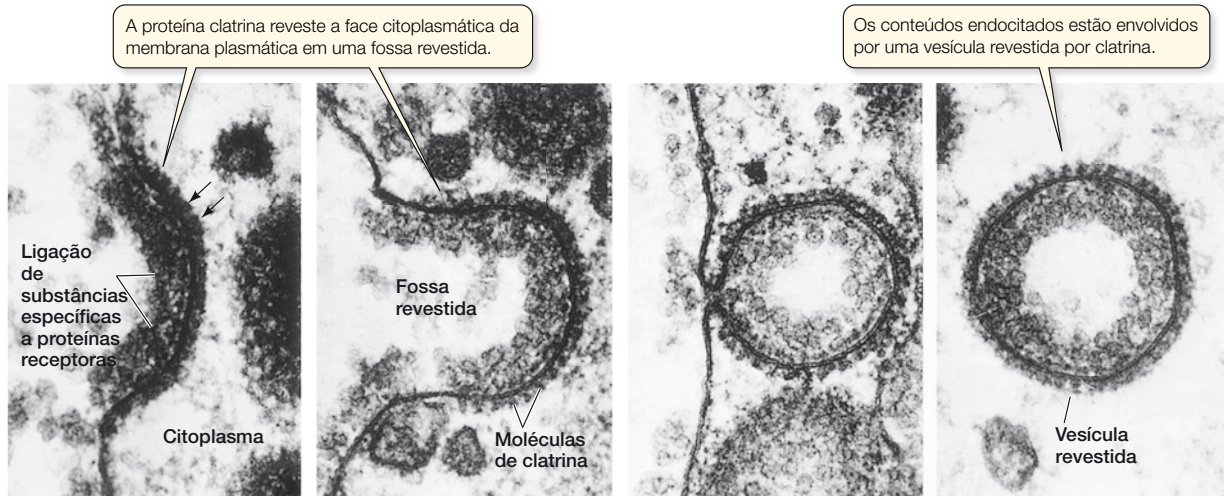


Figura 5.17 Formação de uma vesícula recoberta Na endocitose mediada por receptores, os receptores proteicos em uma fossa recoberta se ligam a macromoléculas específicas, que são a seguir carregadas para o interior da célula, em uma vesícula recoberta.

das células dos mamíferos. O colesterol e triglicerídeos insolúveis em água são empacotados pelas células do fígado em partículas de lipoproteínas secretadas na corrente sanguínea com a finalidade de fornecer lipídeos aos tecidos do organismo. Um tipo de partículas lipoproteicas, denominadas de *lipoproteínas de baixa densidade* ou LDLs (do inglês *low-density lipoproteins*), deve ser incorporado pelo fígado para reciclagem. Essa internalização ocorre através de endocitose mediada por receptores, iniciando-se com a ligação de LDLs a receptores proteicos presentes na superfície das células hepáticas. Uma vez englobada via endocitose, a partícula de LDL é liberada de seus receptores. Esses ficam restritos a uma região da vesícula que sofre brotamento e forma uma nova vesícula, a qual é então reciclada formando novamente parte da membrana plasmática. As partículas livres de LDL permanecem na vesícula original, que se funde a um lisossomo no qual o LDL é digerido e o colesterol torna-se disponível à célula.

Indivíduos acometidos pela doença genética *hipercolesterolemia familiar* apresentam níveis perigosamente altos de colesterol no sangue devido à existência de uma proteína receptora de LDL deficiente que evita a endocitose mediada por receptores do LDL no fígado.

A exocitose transporta material para fora da célula

Exocitose é o processo por meio do qual materiais empacotados em vesículas são secretados da célula, quando a membrana da vesícula se funde com a membrana plasmática (Figura 5.16B). O evento inicial desse processo é a ligação de uma proteína de membrana que se projeta da face citoplasmática de uma vesícula a uma proteína de membrana presente na face citoplasmática do sítio-alvo na membrana plasmática. As bicamadas fosfolipídicas de ambas as membranas se fundem, e desenvolve-se uma abertura para o exterior da célula. O conteúdo da vesícula é liberado no ambiente, e a membrana da vesícula é incorporada na membrana plasmática.

No Capítulo 4, a exocitose foi apresentada como o último passo no processamento de materiais englobados por fagocitose: a secreção de materiais não capazes de serem digeridos para o ambiente. A exocitose é também importante para a secreção de muitas substâncias diferentes, tais como enzimas digestivas do pâncreas, neurotransmissores a partir de neurônios e materiais para a construção da parede celular vegetal.

5.5 RECAPITULAÇÃO

A endocitose e a exocitose transportam moléculas muito grandes, carregadas ou polares para serem transportadas através da membrana via transporte ativo ou passivo. A endocitose pode ser específica, mediada por uma proteína receptora na membrana.

- Quais são as diferenças entre fagocitose e pinocitose? Ver p. 113.
- Descreva um exemplo de endocitose mediada por receptores? Ver p. 114 e Figura 5.17.

Já examinamos a estrutura das membranas biológicas e vimos como macromoléculas na superfície da membrana permitem que as células reconheçam e sofram adesão umas às outras, permitindo a formação de tecidos e órgãos. Também observamos como o trânsito de substâncias para o interior e para o exterior de uma célula é seletivamente regulado pela membrana. Essas são funções essenciais, mas não são as únicas tarefas das membranas biológicas. A seguir abordaremos brevemente outros papéis da membrana.

5.6 Que outras funções são desempenhadas pelas membranas?

Uma importante função da membrana é *manter materiais diferentes separados uns dos outros*. Lembre-se que na Seção 4.3 falamos que a membrana do RER é uma região de ligação para ribossomos. Proteínas recentemente sintetizadas passam dos ribossomos através da membrana do retículo endoplasmático para o interior do RER, onde são modificadas e encaminhadas para outras partes da célula. Esse sistema requer um compartimento individual que viabilize a separação dessas proteínas dos demais componentes da célula.

A membrana plasmática de determinados tipos de células, como neurônios, células musculares e alguns óvulos, responde de forma característica a cargas elétricas carregadas por íons. Essas membranas são, portanto, *eletricamente excitáveis*, o que lhes confere importantes propriedades especiais. Por exemplo, em neurônios, a membrana plasmática conduz impulsos nervosos de uma extremidade da célula para outra.

Outras atividades biológicas e propriedades associadas a membranas serão discutidas nos capítulos a seguir. Essas atividades têm sido essenciais para a especialização de células, tecidos e organismos ao longo da evolução. Três dessas atividades são especialmente importantes:

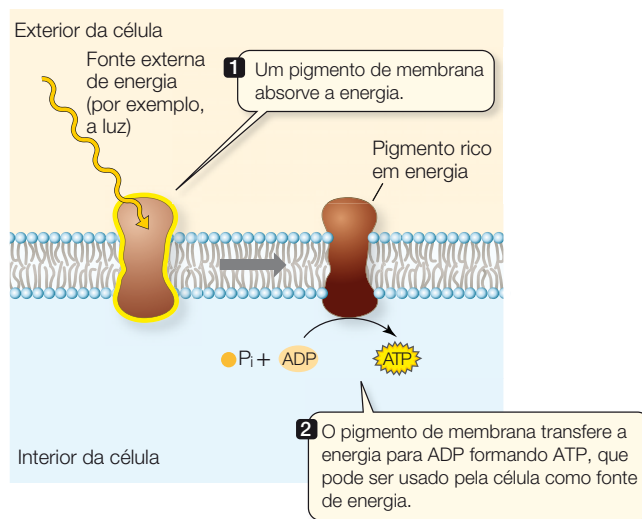
- **Algumas membranas de organelas auxiliam na transformação de energia.** As membranas de determinadas organelas são especializadas para o processamento de energia (Figura 5.18A). Por exemplo, a membrana interna da mitocôndria auxilia a converter a energia de moléculas combustíveis em energia sob a forma de ATP, e as membranas tilacoides dos cloroplastos participam na conversão da energia da luz em energia de ligações químicas. Esses importantes processos, essenciais para a vida da maioria dos organismos eucarióticos, são abordados em detalhe nos Capítulos 7 e 8.
- **Algumas proteínas de membrana organizam reações químicas.** Diversos processos celulares dependem de cascatas de reações catalisadas por enzimas, nas quais o produto de uma reação serve como reagente para a reação seguinte. Para que tais reações ocorram, todas as moléculas necessárias devem estar juntas. Em uma solução, por exemplo, moléculas de reagentes e enzimas distribuídas aleatoriamente, colidem entre si de forma aleatória; dessa forma, uma série completa de reações químicas só procederá de forma extremamente lenta. No entanto, se as diferentes enzimas estão ligadas a uma membrana seguindo uma ordem exata, o produto da reação poderá ser liberado próximo à enzima responsável pela próxima reação. Esse tipo de “linha de montagem” permite que as reações procedam de forma rápida e eficiente (Figura 5.18B).
- **Algumas proteínas de membrana processam informação.** Segundo vimos anteriormente, membranas biológicas podem possuir proteínas integrais de membrana que formam saliências ou possuir carboidratos que podem se ligar a substâncias específicas no ambiente. A união a um ligante específico pode servir como sinal para iniciação, modificação ou término de uma determinada função celular (Figura 5.18C). Nesse tipo de processamento de informação, a especificidade da ligação é essencial.

Vimos a função informativa de uma proteína receptora particular na endocitose do LDL e de sua carga específica de colesterol. Outro exemplo consiste na ligação de um hormônio, como a insulina, a receptores específicos sobre uma célula-alvo, como célula hepática, para induzir uma resposta nessa célula – nesse caso, a internalização de glicose. No Capítulo 15, abordaremos diversos outros exemplos do papel das proteínas de membrana no processamento

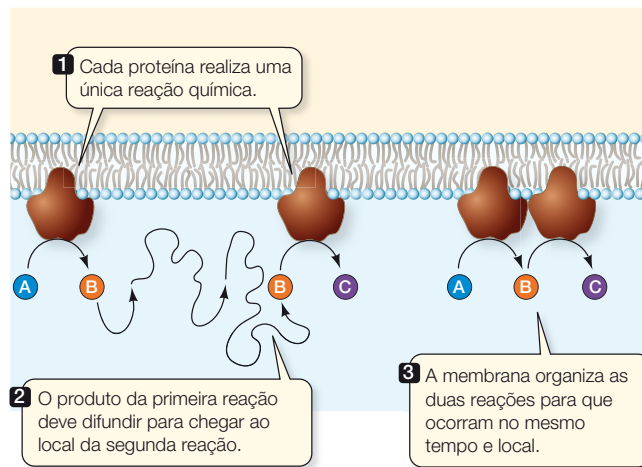
de informação, mas um bom exemplo nos leva de volta à abertura do presente capítulo – a história sobre o cólera.

A toxina do cólera interrompe o processamento da informação celular. A proteína tóxica possui duas subunidades, uma das quais liga-se a um glicolípido da superfície celular, provocando

(A) Transformação de energia



(B) Organização de reações químicas



(C) Processamento de informação

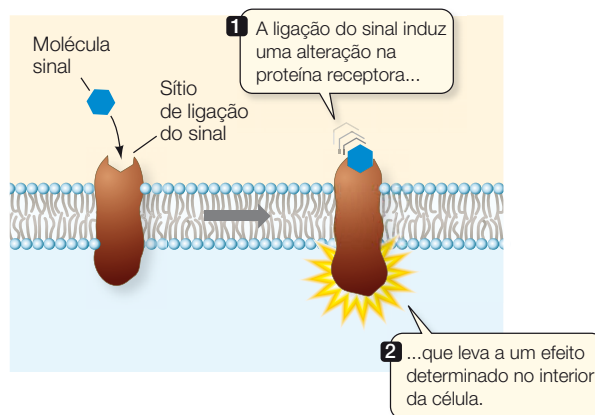


Figura 5.18 Outras funções da membrana (A) As membranas de organelas, como a mitocôndria e cloroplastos, são especializadas na transformação de energia. (B) Quando diversas reações bioquímicas devem ocorrer em uma sequência ordenada, a membrana pode eventualmente organizar as enzimas necessárias em uma espécie de “linha de montagem”, para assegurar que as reações ocorram umas próximas das outras. (C) As proteínas de membrana possuem função de processamento de informação. Os receptores nas membranas conduzem sinais do exterior, que geram alterações no interior da célula.

alteração na conformação e estrutura tridimensional da proteína tóxica, de forma que a segunda subunidade possa penetrar na célula. Essa subunidade atua como enzima modificadora da proteína periférica, denominada adenilato-ciclase, na superfície interna da membrana plasmática da célula. A adenilato-ciclase alterada abre canais de cloreto na membrana. O acúmulo de Cl^- e Na^+ no intestino é seguido por perda de água por osmose.

Antigamente, o cólera era quase invariavelmente letal, mesmo em regiões desenvolvidas do planeta. Mas essa situação mudou. Em 1997, uma epidemia de cólera surgiu entre os 90.000 ruandenses que viviam em campos de refugiados no Congo. A maior parte dos 1.521 indivíduos que faleceram em decorrência dessa epidemia não estava sob os cuidados dos serviços de saúde que atuavam nos campos. Todos os demais indivíduos foram salvos.

RESUMO DO CAPÍTULO

5.1 Qual é a estrutura de uma membrana biológica?

Membranas biológicas constituem-se de lipídeos, proteínas e carboidratos. O **modelo do mosaico fluido** da estrutura da membrana descreve uma bicamada fosfolipídica em cujo interior proteínas podem mover-se lateralmente.

As duas superfícies da membrana podem apresentar diferentes propriedades devido a diferenças em sua composição fosfolipídica, domínios expostos de **proteínas integrais de membrana** e **proteínas periféricas de membrana**. Algumas proteínas, denominadas **proteínas transmembrana**, a atravessam. [Rever Figura 5.1.](#)

Carboidratos ligados a proteínas, formando **glicoproteínas**, ou a fosfolipídeos, formando **glicolipídeos**, projetam-se da superfície externa da membrana plasmática e atuam como sinais de reconhecimento.

As membranas não são estruturas estáticas, mas encontram-se em constante formação, troca de fragmentos e degradação. [Rever Figura 5.5.](#)

5.2 Qual o envolvimento da membrana plasmática na adesão e no reconhecimento celulares?

A organização de células sob a forma de tecidos requer mútuo reconhecimento e adesão. O **reconhecimento celular** e a **adesão celular** dependem de proteínas integrais de membrana que se projetam a partir da superfície celular. A ligação pode ocorrer entre proteínas do mesmo tipo sobre duas células (**homotípica**) ou entre diferentes proteínas (**heterotípica**). [Rever Figura 5.6.](#)

Junções celulares conectam células adjacentes. As **junções apertadas** evitam a passagem de moléculas através de espaços entre as células e restringem a migração de proteínas de membrana sobre a superfície celular. Os **desmossomos** permitem que as células possam aderir fortemente umas às outras. **Junções gap** fornecem canais de comunicação entre células adjacentes. [Rever Figura 5.7.](#)

5.3 O que são os processos passivos do transporte de membrana?

As membranas exibem **permeabilidade seletiva** e regulam quais substâncias poderão passar através delas.

Substâncias podem difundir passivamente através de uma membrana via dois processos: **difusão simples**, através da bicamada fosfolipídica e **difusão facilitada**, através de **canais proteicos** ou por intermédio de **proteínas carreadoras**.

Um soluto difunde através de uma membrana, de uma região de maior concentração do dado soluto para outra de menor concentração desse mesmo soluto. O equilíbrio é alcançado quando as concentrações de soluto são idênticas em ambos os lados da membrana. [Rever Figura 5.8.](#)

Na **osmose**, a água difunde de regiões com maior concentração dessa substância para outras com menor concentração. **Aquaporinas** são canais de membrana para a difusão de água.

A maioria das células se encontra em ambiente **isotônico**, onde as concentrações de solutos são iguais em ambos os lados da membrana plasmática. Se uma solução que circunda uma célula é **hipotônica** em relação ao interior da célula, penetrará mais água na célula do que sairá. Em células vegetais, esse fenômeno leva à **pressão de**

turgor. Em solução hipertônica, há maior perda de água da célula, em relação à quantidade de água que entra. [Rever Figura 5.9.](#)

Canais iônicos são proteínas de membrana que permitem uma rápida difusão facilitada de íons através das membranas. Esses canais podem ser **canais controlados**, ou seja, podem ser abertos ou fechados por condições ou químicos específicos. A abertura ou fechamento de canais pode ser determinada por um **gradiente eletroquímico** formado por espécies diferentemente carregadas em faces opostas de uma membrana. [Rever Figura 5.10.](#)

Proteínas carreadoras se ligam a moléculas polares, como açúcares e aminoácidos, e as transportam através de membranas. A velocidade máxima referente a esse tipo de difusão facilitada é limitada pelo número de proteínas carreadoras (transportadoras) existentes na membrana; quando todas as proteínas carreadoras são utilizadas, o sistema encontra-se saturado, e uma elevação na concentração do soluto não levará a um aumento na taxa de difusão. [Rever Figura 5.12.](#)

5.4 Como as substâncias atravessam membranas em sentido contrário ao gradiente de concentração?

O **transporte ativo** requer o uso de energia química para o transporte de substâncias através da membrana, em sentido contrário a um gradiente de concentração. Proteínas de transporte ativo podem ser uniporte, simporte ou antiporte. [Rever Figura 5.13.](#)

No **transporte ativo primário**, a energia derivada da hidrólise de ATP é usada a fim de mover íons para dentro e para fora das células, contra seus gradientes de concentração. A **bomba de sódio-potássio** é um importante exemplo desse sistema. [Rever Figura 5.14.](#)

O **transporte ativo secundário** associa o movimento passivo de uma substância em seu gradiente de concentração ao de uma outra substância contra seu gradiente de concentração. A energia derivada do ATP é usada indiretamente para estabelecer um gradiente de concentração, que resulta no movimento da primeira substância do processo. [Rever Figura 5.15.](#)

5.5 Como moléculas grandes entram em uma célula e saem dela?

Endocitose é o transporte de macromoléculas, partículas grandes e células pequenas até o interior de células eucarióticas através da captura do material e formação de vesículas a partir da membrana plasmática. A **fagocitose** e a **pinocitose** são diferentes tipos de endocitose. [Rever Figura 5.16A.](#)

Na **endocitose mediada por receptores**, uma **proteína receptora** específica, sobre a membrana plasmática, liga-se a uma macromolécula determinada.

Na **exocitose**, materiais provenientes das vesículas são secretados da célula quando aquelas se fusionam à membrana plasmática. [Rever Figura 5.16B.](#)

5.6 Que outras funções são desempenhadas pelas membranas?

As membranas atuam como sítios de transformação de energia, organização de reações químicas e também em processos de reconhecimento e processamento inicial de sinais extracelulares. [Rever Figura 5.18.](#)

QUESTÕES

1. Que postulado sobre fosfolípidos de membrana *não* está correto?
 - a. Associam-se para formar bicamadas.
 - b. Possuem “caudas” hidrofóbicas.
 - c. Possuem “cabeças” hidrofílicas.
 - d. Conferem fluidez à membrana.
 - e. Podem facilmente mover-se de uma face para outra da membrana.
2. Quando uma molécula de hormônio se liga a uma proteína específica sobre a membrana plasmática, a proteína a qual ela se encontra ligada é denominada:
 - a. ligante.
 - b. clatrina.
 - c. receptor proteico.
 - d. proteína hidrofóbica.
 - e. molécula de adesão celular.
3. Que afirmação sobre proteínas de membrana *não* está correta?
 - a. Elas se estendem de um lado a outro da membrana.
 - b. Algumas podem atuar como canais para a passagem de íons através da membrana.
 - c. Muitas se encontram livres para migrar lateralmente sobre a membrana.
 - d. Seu posicionamento na membrana é determinado por sua estrutura terciária.
 - e. Algumas atuam na fotossíntese.
4. Que postulado sobre carboidratos de membrana *não* está correto?
 - a. A maioria encontra-se ligado a proteínas.
 - b. Alguns se encontram ligados a lipídeos.
 - c. São adicionados a proteínas no complexo de Golgi.
 - d. Apresentam pouca diversidade.
 - e. São importantes para reações de reconhecimento sobre a superfície celular.
5. Que afirmação sobre junções em células animais *não* está correto?
 - a. As junções apertadas são barreiras que evitam a passagem de moléculas entre as células.
 - b. Os desmossomos permitem firme aderência entre as células.
 - c. As junções gap bloqueiam a comunicação entre células adjacentes.
 - d. Os conexons constituem-se de proteínas.
 - e. As fibras associadas aos desmossomos constituem-se de proteínas.
6. Você está estudando como a proteína transferrina penetra nas células. Quando você examina as células onde houve incorporação de transferrina, identifica essa substância no interior de vesículas revestidas por clatrina. Assim, o mecanismo mais provavelmente responsável pela incorporação da transferrina é:
 - a. a difusão facilitada.
 - b. um antiporte.
 - c. a endocitose mediada por receptores.
 - d. uma junção gap.
 - e. um canal iônico.
7. Que postulado sobre canais iônicos *não* está correto?
 - a. Formam poros sobre a membrana.
 - b. São proteínas.
 - c. Todos os íons passam através do mesmo tipo de canal.
 - d. O movimento através de canais iônicos ocorre de regiões de maior concentração para regiões de menor concentração.
 - e. O movimento através de canais iônicos ocorre por difusão simples.
8. Tanto a difusão facilitada quanto o transporte ativo:
 - a. necessitam de ATP.
 - b. necessitam o uso de proteínas como carreadores.
 - c. transportam solutos em apenas uma direção.
 - d. apresentam um aumento de taxa não limitado e relativo ao aumento do gradiente de concentração.
 - e. dependem da solubilidade do soluto em lipídeos.
9. Tanto o transporte ativo primário quanto o secundário:
 - a. geram ATP.
 - b. estão baseados no movimento passivo de íons Na^+ .
 - c. incluem o movimento passivo de moléculas de glicose.
 - d. usam diretamente ATP.
 - e. podem transportar solutos contra seus gradientes de concentração.
10. Que afirmação sobre osmose *não* está correta?
 - a. Ela segue as leis da difusão.
 - b. Em tecidos animais, a água se move para o interior das células se elas são hipertônicas em relação a seu ambiente.
 - c. Células vermelhas sanguíneas devem ser mantidas em um plasma que seja hipotônico em relação às células.
 - d. Duas células com concentrações de soluto idênticas entre elas são isotônicas uma em relação a outra.
 - e. A concentração do soluto é o principal fator da osmose.

PARA DISCUSSÃO

1. O funcionamento muscular necessita que íons cálcio (Ca^{2+}) sejam bombeados para o interior de compartimentos subcelulares contra o gradiente de concentração. Que tipo de moléculas é necessário para que esse processo seja efetuado?
2. A Seção 27.5 descreverá as diatomáceas, protistas que possuem complexas estruturas vítreas em suas paredes celulares (ver Figura 27.1). Essas estruturas formam-se no interior do complexo de Golgi. Como essas estruturas chegam à parede celular sem que tenham a necessidade de atravessar uma membrana?
3. Organismos que vivem em água doce são quase sempre hipertônicos em relação a seu ambiente. Por que isso pode representar um grande problema? Como alguns organismos conseguem lidar com essa situação?
4. Compare a endocitose não específica com a endocitose mediada por receptores.
5. O aparecimento da membrana fosfolipídica foi importante para a origem das células. Descreva as propriedades mais importantes das membranas que podem ter permitido às células que as possuíam prosperarem em comparação com agregados moleculares sem membranas.

PARA INVESTIGAÇÃO

Sob determinadas condições experimentais, pode-se induzir a fusão entre células de duas espécies diferentes, unindo suas membranas plasmáticas, de forma bastante semelhante ao que ocorre quando uma vesícula se funde à membrana plasmática, durante a exocitose. Anticorpos marcados

com corantes fluorescentes podem ser usados para identificar proteínas específicas sobre a superfície celular. Como você poderia usar a fusão celular para investigar se proteínas de membrana são capazes de difundir ao longo do plano de uma membrana?

CAPÍTULO 6 Energia, Enzimas e Metabolismo

Sensibilidade ao álcool

Os convidados estavam em seus lugares às mesas; quando a noiva e o noivo entraram no salão, foram recebidos com aplausos entusiasmados. No primeiro de muitos brindes, as taças de champanhe foram erguidas. Porém, tão logo bebeu a primeira taça de espumante, Frank começou a se sentir mal. Com a face vermelha e os batimentos cardíacos acelerados, desculpou-se e retirou-se da recepção. Passaram-se horas até que ele voltasse ao normal. Frank sente-se mal sempre que ingere bebida alcoólica, mesmo em pequena quantidade.

Existem pessoas que podem beber muito álcool sem ficarem enjoadas, e há outras, iguais a Frank, que passam mal após o consumo de pequena quantidade. Essas diferenças individuais são constatadas em função da bioquímica do álcool ao ser ingerido. Tipicamente, no corpo, uma série de duas reações químicas transforma o álcool etílico (o álcool das bebidas) em acetato: primeiramente, o álcool etílico

transforma-se em acetaldeído e depois este é transformado em acetato.

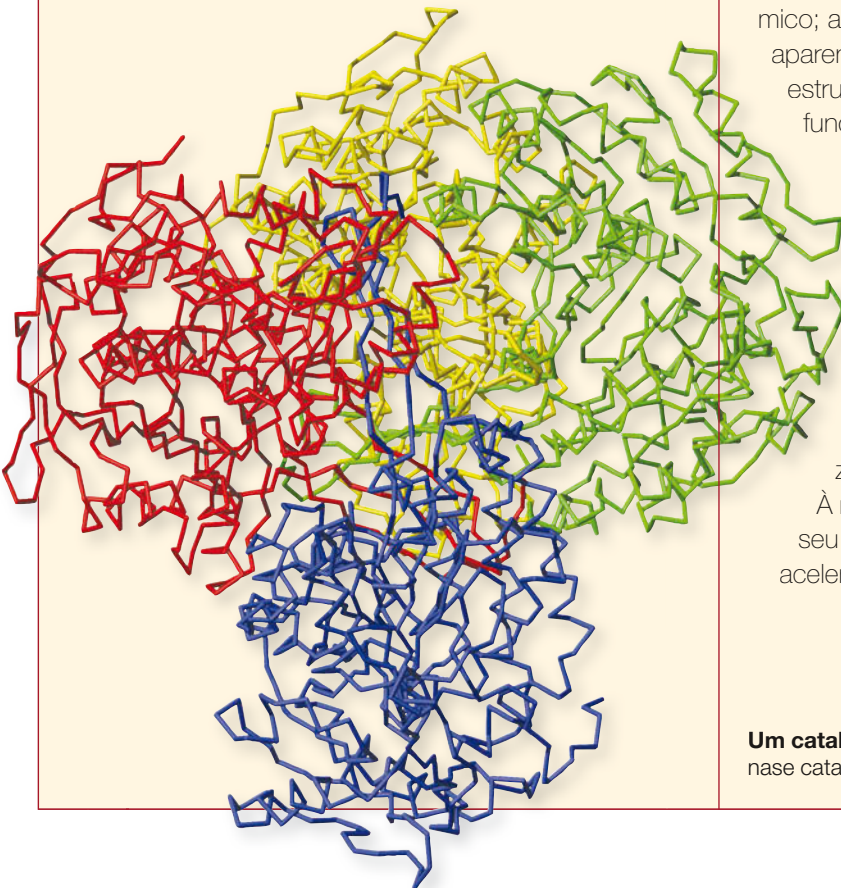
Essas reações constituem uma *rota metabólica*, na qual o produto da primeira reação, o acetaldeído, serve de matéria-prima para a segunda. Nenhuma reação pode ocorrer em amplitude apreciável sem ajuda. Cada reação necessita ser “acelerada” por um *catalisador* diferente – uma *enzima* específica.

Enzimas são proteínas, e cada proteína possui uma sequência de aminoácidos específica. A enzima que acelera a segunda reação no metabolismo do álcool é a aldeído-desidrogenase (ALDH, *aldehyde dehydrogenase*), que apresenta 517 aminoácidos. A maioria dos convidados à mesa com Frank tinha a mesma sequência de aminoácidos em sua ALDH. Nessa sequência típica, o 487^o aminoácido é o ácido glutâmico, cuja cadeia lateral tem carga negativa (ver Tabela 3.1). A ALDH dos outros convidados dobrou na estrutura tridimensional correta, e a enzima cumpriu sua tarefa – acelerar a conversão de acetaldeído em acetato. Nas células de Frank, entretanto, o aminoácido na posição 487 é a lisina, em vez de ácido glutâmico; a lisina tem uma carga *positiva*. Essa diferença aparentemente minúscula é suficiente para alterar a estrutura tridimensional da ALDH e interferir na sua função catalítica.

Devido ao seu defeito estrutural, a ALDH de Frank trabalha, mas apenas lentamente. Quando ele bebeu aquela pequena taça de champanhe, a primeira reação metabólica (a conversão de álcool em acetaldeído) ocorreu rapidamente, mas a segunda reação (a conversão de acetaldeído em acetato) não. E, enquanto o álcool provoca alguns efeitos agradáveis no corpo, os efeitos produzidos pelo acetaldeído não são tão prazerosos.

À medida que o acetaldeído se acumulou em seu corpo, Frank passou mal. Seu rubor facial e aceleração dos batimentos cardíacos foram conse-

Um catalisador para o álcool A enzima aldeído-desidrogenase catalisa um passo importante na decomposição do álcool.





Um precursor do mal-estar. Algumas pessoas exibem uma forma fracamente ativa da enzima aldeído-desidrogenase. Quando ingerem álcool, o aldeído se acumula em seus corpos, com efeitos prejudiciais.

quências de curto prazo típicos do acetaldeído; a longo prazo, ele pode causar anormalidades no cérebro e até alguns tipos de câncer.

Essa sequência atípica da ADLH, constatada no corpo de Frank, mostra como as diferenças individuais quanto à tolerância ao álcool não são necessariamente comportamentais, mas podem ser atribuídas a diferenças na bioquímica básica. (Assim, pense duas vezes antes de zombar de uma pessoa por ela ser “fraca para bebida alcoólica”.)

NESTE CAPÍTULO iniciamos nosso estudo sobre transformações bioquímicas enfocando o papel da energia. Após descrever os princípios físicos subjacentes às transformações de energia e como tais princípios se aplicam à biologia, veremos de que forma o ATP, um portador de energia, desempenha papel importante na célula. O restante do capítulo se ocupa da natureza, atividades e regulação de enzimas, que aceleram as transformações bioquímicas e sem as quais a vida não seria possível.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 6.1** Que princípios físicos fundamentam as transformações biológicas de energia?
- 6.2** Qual é o papel do ATP na energética bioquímica?
- 6.3** O que são enzimas?
- 6.4** Como as enzimas trabalham?
- 6.5** Como são reguladas as atividades das enzimas?

6.1 Que princípios físicos fundamentam as transformações biológicas de energia?

As reações metabólicas e os catalisadores são essenciais para a transformação bioquímica de energia pelos seres vivos. Seja em uma planta utilizando energia luminosa para produzir carboidratos ou em um gato transformando energia alimentar a fim de poder saltar (na expectativa de encontrar alimento de modo a obter mais energia), a transformação de energia é uma característica essencial de vida.

Os físicos definem **energia** como a capacidade de realizar trabalho. O *trabalho* ocorre quando uma força age sobre um objeto ao longo de uma distância. Em bioquímica, é mais adequado considerar a energia como *capacidade de mudança*. Nenhuma célula cria energia; todos os seres vivos precisam obter energia do ambiente. Na verdade, segundo uma das leis fundamentais da física, a energia não é criada nem destruída. No entanto, a energia pode ser *transformada* de um tipo em outro, e as células vivas realizam muitas dessas transformações. As transformações de energia estão vinculadas às alterações químicas que ocorrem nas células – a quebra de ligações químicas, o movimento de substâncias através de membranas e assim por diante.

Existem dois tipos básicos de energia e de metabolismo

Existem muitas formas de energia: química, elétrica, calorífica, luminosa e mecânica. Porém, todas as formas de energia podem ser consideradas como um dos dois tipos básicos:

- **Energia potencial** é a energia de estado ou posição – isto é, a energia armazenada. Ela pode ser armazenada de muitas maneiras: em ligações químicas, ou em forma de gradiente de concentração, ou mesmo como um desequilíbrio de carga elétrica (como no potencial de membrana descrito na Seção 5.3). Imagine um gato abaixado e com os músculos retesados, mantendo-se imóvel, prestes para saltar.
- **Energia cinética** é a energia de movimento – isto é, o tipo de energia que realiza trabalho. O gato saltando, à medida que parte da energia potencial armazenada em seus músculos retesados é convertida em contrações musculares.

As energias potencial e cinética podem se interconverter. A energia potencial nos músculos do gato encontra-se em ligações covalentes (energia química), enquanto a energia ci-



Figura 6.1 Conversões de energia e trabalho Um gato saltando ilustra a conversão entre energias potencial e cinética e a conversão de energia de uma forma (química) em outra (mecânica).

nética do gato saltando é mecânica (Figura 6.1). Você pode reconhecer muitos outros tipos de interconversões: a leitura deste livro, por exemplo, envolve a conversão da energia luminosa em energia química em seus olhos, e a energia química é convertida em energia elétrica nas células nervosas que transportam mensagens para o seu cérebro.

Em todos os organismos vivos, as reações químicas estão ocorrendo continuamente. O **metabolismo** é definido como a soma total dessas reações. Dois tipos de reações metabólicas ocorrem em todas as células de todos os organismos:

- As **reações anabólicas** (*anabolismo*) ligam moléculas simples, para formar moléculas mais complexas. A síntese de uma proteína, a partir de aminoácidos, é uma reação anabólica. As reações anabólicas requerem entrada de energia e a capturam nas ligações químicas que são formadas.
- As **reações catabólicas** (*catabolismo*) decompõem moléculas complexas em moléculas mais simples e liberam a energia armazenada em ligações químicas.

As reações catabólicas e anabólicas estão frequentemente ligadas. A energia liberada em reações catabólicas é muitas vezes usada para acionar reações anabólicas – isto é, para realizar trabalho biológico, a contração dos músculos de um gato saltando, por exemplo, ou atividades celulares, tal como o transporte ativo através de uma membrana.

Devido ao fato de os organismos vivos serem parte do universo físico, a **leis da termodinâmica** (*termo*, “energia”; *dinâmica*, “mudança”), que operam nas estrelas, também se aplicam às transformações de energia nas células.

Primeira lei da termodinâmica: a energia não é criada nem destruída

A primeira lei da termodinâmica estabelece que, em toda a conversão de energia, esta não é criada nem destruída. Uma outra maneira de expressar esta lei é: *em toda a conversão de energia de uma forma em outra, a energia total antes e depois da conversão é a mesma* (Figura 6.2A). Conforme você verá nos próximos dois capítulos, a energia potencial das ligações químicas de carboidratos pode ser convertida em energia potencial, na forma de ATP. Essa energia pode então ser transformada em energia cinética e usada para realizar trabalho mecânico, como a contração muscular.

Segunda lei da termodinâmica: a desordem tende a aumentar

A segunda lei da termodinâmica estabelece que, embora não possa ser criada nem destruída, quando a energia é convertida de uma forma em outra, parte dela torna-se indisponível para realizar trabalho (Figura 6.2B). Em outras palavras, nenhum processo físico ou reação química é 100% eficiente e nem toda a energia liberada pode ser convertida em trabalho. Parte dela é perdida para uma forma associada com desordem. Pense na desordem como um tipo de casualidade. Ela capta energia para impor ordem a um sistema. A menos que seja aplicada energia para impor ordem a um sistema, este estará disposto ou desordenado ao acaso. O seu quarto provavelmente seja uma boa analogia. Se você tem comportamento semelhante ao nosso quando estudantes, seu quarto apresenta certa desordem, e é preciso energia para organizá-lo. A segunda lei é aplicada a todas as transformações de energia, mas aqui focalizaremos as reações químicas em sistemas vivos.

NEM TODA A ENERGIA PODE SER USADA Em todo sistema, a energia total inclui a energia utilizável, que pode realizar trabalho, e a não utilizável, perdida para a desordem:

$$\text{energia total} = \text{energia utilizável} + \text{energia não utilizável}$$

Em sistemas biológicos, a energia total é chamada **entalpia (H)**. A energia utilizável, que pode realizar trabalho, é denominada **energia livre (G)**. A energia livre é a que as células requerem para todas as reações químicas de crescimento, divisão e manutenção da sanidade. A energia não utilizável é representada pela **entropia (S)**, que é a desordem do sistema, multiplicada pela *temperatura absoluta (T)*. Desse modo, o que está colocado acima com palavras, podemos representar de maneira mais precisa pela equação:

$$H = G + TS$$

Por estarmos interessados na energia utilizável, reformulamos a equação da seguinte forma:

$$G = H - TS$$

Por que você fica aquecido quando se exercita fisicamente? Seus músculos convertem energia química, obtida dos alimentos, em energia mecânica de contração muscular. Menos de 20% dessa conversão de energia é utilizada no exercício físico; o restante é perdida como calor.

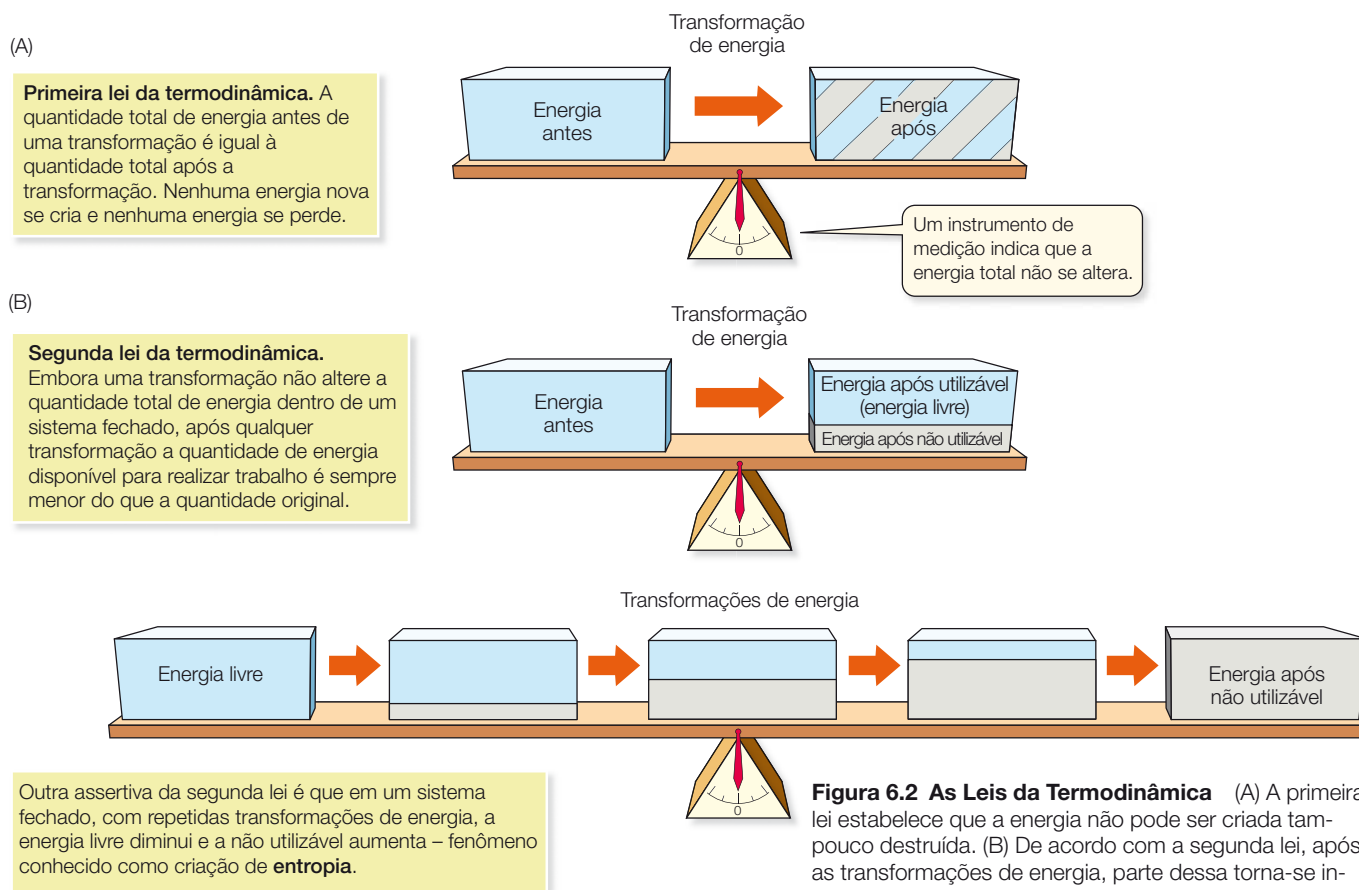


Figura 6.2 As Leis da Termodinâmica (A) A primeira lei estabelece que a energia não pode ser criada tampouco destruída. (B) De acordo com a segunda lei, após as transformações de energia, parte dessa torna-se indisponível para realizar trabalho.

Embora não possamos medir G , H ou S em valores absolutos, podemos determinar a *alteração* de cada uma sob temperatura constante. Tais alterações de energia são expressas em calorias (cal) ou joules (J).^{*} Uma mudança na energia é representada pela letra grega *delta* (Δ). A **mudança na energia livre** (ΔG) de qualquer reação química é igual à diferença ela livre entre os produtos e os reagentes,

$$\Delta G_{\text{reação}} = G_{\text{produtos}} - G_{\text{reagentes}}$$

Tal alteração pode ser positiva ou negativa; isto é, a energia livre dos produtos pode ser maior ou menor do que a energia livre dos reagentes. Se os produtos têm mais energia livre, deve ter havido alguma entrada de energia na reação (lembre que a energia não pode ser criada, de modo que parte da energia deve ter sido trazida de uma fonte externa).

A uma temperatura constante, ΔG é definida em termos da alteração na energia total (ΔH) e a alteração na entropia (ΔS):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

^{*} Uma *caloria* é a quantidade de energia calorífica necessária para elevar a temperatura de 1 grama de água pura de 14,5°C para 15,5°C. Um *joule* é uma medida de energia do sistema SI comumente usado. 1 J = 0,239 cal; inversamente, 1 cal = 4,184 J. Assim, 486 cal = 2,033 J ou 2033 kJ, por exemplo. Embora definida em termos de calor, a caloria e o joule são medidas para qualquer forma de energia – mecânica, elétrica ou química. Quando você compara dados de energia, sempre compara joules com joules e calorias com calorias.

Essa equação nos diz se a energia livre é liberada ou consumida por uma reação química:

- Se ΔG for negativo ($\Delta G < 0$), é liberada energia livre.
- Se ΔG for positivo ($\Delta G > 0$), é requerida (consumida) energia livre.

Se a energia livre necessária não está disponível, a reação não ocorre. O sinal e a magnitude de ΔG depende de dois fatores à direita da equação:

- ΔH : Em uma reação química, ΔH é a quantidade total de energia adicionada ao sistema ($\Delta H > 0$) ou liberada ($\Delta H < 0$).
- ΔS : Dependendo do sinal e da magnitude de ΔS , o termo integral, $T\Delta S$, pode ser negativo ou positivo, grande ou pequeno. Em outras palavras, em sistemas vivos a uma temperatura constante (sem alteração em T), a magnitude e o sinal de ΔG podem depender muito de alterações na entropia. Grandes alterações em entropia tornam ΔG mais negativo em valor, conforme mostrado pelo sinal de menos na frente do termo $T\Delta S$.

Se uma reação química aumentar a entropia, seus produtos são mais desordenados ou dispostos ao acaso do que seus reagentes. Se existirem mais produtos do que reagentes, como na hidrólise de uma proteína em seus aminoácidos, os produtos têm considerável liberdade de movimento. A desordem em uma solução de aminoácidos será grande em comparação à da proteína, em que as ligações peptídicas e outras forças evitam o movimento livre. Assim, na hidrólise, a mudança na entropia (ΔS) será positiva.

Se existirem menos produtos e eles tiverem movimentos mais limitados do que os reagentes, ΔS será negativo. Por exemplo, uma

proteína grande unida por ligações peptídicas é menos livre em seus movimentos do que uma solução de centenas ou milhares de aminoácidos, dos quais ela foi sintetizada.

A DESORDEM TENDE A AUMENTAR A segunda lei da termodinâmica estabelece também: *como resultado de transformações de energia, a desordem tende a aumentar*. Alterações químicas, alterações físicas e processos biológicos tendem a aumentar a entropia e, portanto, tendem à desordem ou à aleatoriedade (ver Figura 6.3B). Essa propensão ao aumento da desordem direciona processos físicos e reações químicas. Isso explica a razão de algumas reações avançarem em uma direção em vez de outra.

De que modo a segunda lei se aplica aos organismos? Considere o corpo humano, com suas estruturas altamente complexas construídas de moléculas simples. Esse aumento de complexidade parece estar em conflito com a segunda lei. Contudo, este não é o caso! Na construção de 1 kg do corpo humano aproximadamente 10 kg de materiais biológicos são metabolizados e, nesse processo, convertidos em CO_2 , H_2O e outras moléculas simples. Esse metabolismo cria muito mais desordem do que ordem em 1 kg de corpo, e as conversões requerem muita energia. *Para manter a ordem, a vida requer entrada constante de energia*. Não há conflito com a segunda lei da termodinâmica.

Após vermos que as leis da termodinâmica se aplicam aos seres vivos, agora voltaremos a considerar como elas são empregadas às reações bioquímicas.

As reações químicas liberam ou consomem energia

Lembre que as reações anabólicas tendem a aumentar a complexidade (ordem) na célula, enquanto as reações catabólicas desfazem a complexidade (criam a desordem). Conseqüentemente,

as reações anabólicas requerem energia, enquanto as catabólicas a liberam:

- As reações catabólicas podem decompor um reagente ordenado, como uma molécula de proteína, em produtos menores e distribuídos mais aleatoriamente, como os aminoácidos. As reações que desprendem energia livre ($-\Delta G$) denominam-se **exergônicas** (Figura 6.3A). Por exemplo:

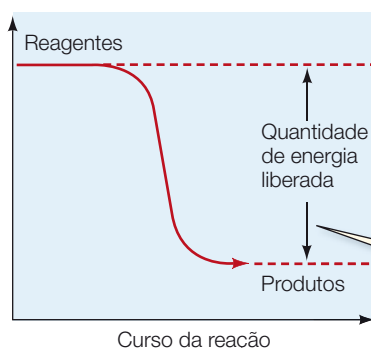
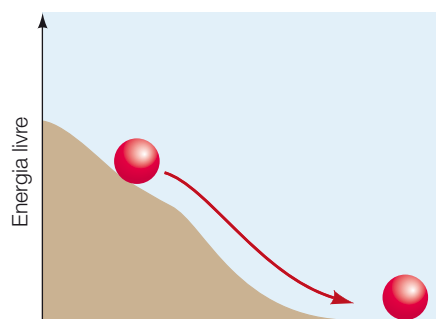
moléculas complexas \rightarrow energia livre + moléculas pequenas

- As reações anabólicas podem formar um único produto, tal como uma proteína (uma substância altamente ordenada), a partir de muitos reagentes menores, como os aminoácidos (menos ordenados). As reações que requerem ou consomem energia livre ($+\Delta G$) denominam-se **endergônicas** (Figura 6.3B). Por exemplo:

energia livre + moléculas pequenas \rightarrow moléculas complexas

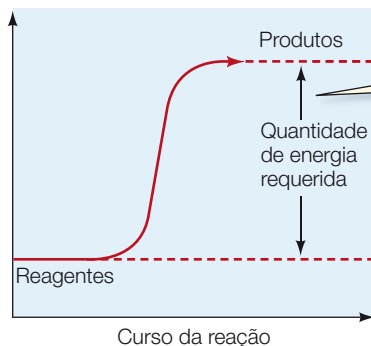
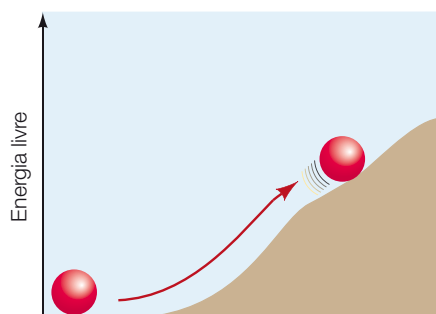
Em princípio, as reações químicas funcionam para frente e para trás. Por exemplo, se o composto A pode ser convertido no composto B ($A \rightarrow B$), então B, em princípio, pode ser convertido em A ($B \rightarrow A$), embora sob determinadas concentrações de A e B, somente um desses sentidos será favorecido. A reação global é resultante da competição entre reações para frente e inversa ($A \rightarrow B$). O aumento da concentração de A acelera a reação para frente e o da concentração de B favorece a reação inversa. A uma determinada concentração de A e B, as reações nos dois sentidos ocorrem com as mesmas taxas. Nessa concentração, não é observável qualquer mudança líquida no sistema, embora moléculas individuais sejam ainda formadas e rompidas. Esse balanço entre reações nos dois sentidos é conhecido por **equilíbrio químico**. O equilíbrio químico é estático, sem mudança líquida e um estado em que $\Delta G = 0$.

(A) Reação exergônica



Em uma reação exergônica, a energia é liberada à medida que os reagentes formam produtos com menos energia. ΔG é negativo.

(B) Reação endergônica



A energia deve ser adicionada para ocorrer uma reação endergônica, na qual os reagentes são convertidos em produtos com nível energético mais alto. ΔG é positivo.

Figura 6.3 Reações exergônicas e endergônicas (A) Em uma reação exergônica, os reagentes se comportam como uma bola descendo uma ladeira, havendo liberação de energia. (B) Uma bola não sobe a ladeira por si só. Para que ela se mova para cima é necessário adicionar energia livre, sendo promovida uma reação endergônica.

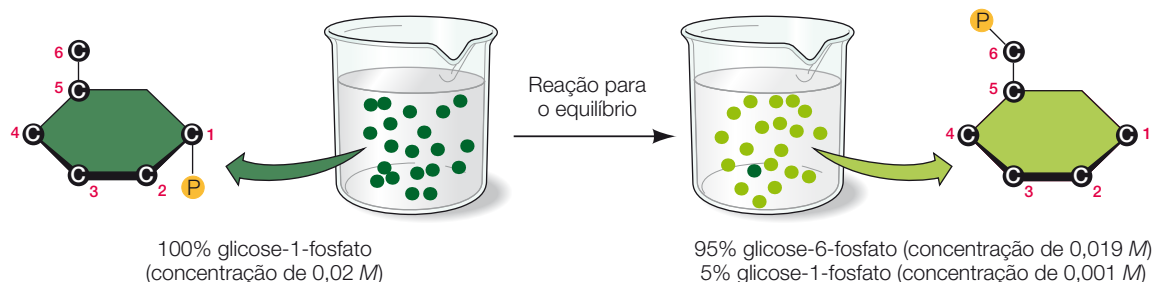


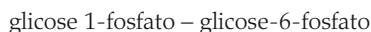
Figura 6.4 As reações químicas se dirigem para o equilíbrio Não importa que quantidades de glicose-1-fosfato e de glicose-6-fosfato são dissolvidas em água; quando o equilíbrio é alcançado, haverá sempre 95% da segunda e 5% da primeira.

O equilíbrio químico e a energia livre estão relacionados

Toda reação química se processa até um certo ponto, mas não necessariamente se completa. Em outras palavras, nem todos os reagentes presentes convertem-se em produtos. Cada reação tem um ponto de equilíbrio específico, relacionado à energia livre desprendida por ela sob condições específicas. Para compreender o princípio de equilíbrio, considere o exemplo que segue.

A maioria das células contém glicose 1-fosfato, que se converte no seu interior em glicose 6-fosfato. Imagine inicialmente uma solução aquosa de glicose 1-fosfato com uma concentração de 0,02 M (*M* emprega-se para concentração molar; ver Seção 2.4). A solução é mantida sob condições ambientais constantes (25°C e pH 7). Como a reação se desloca lentamente para o equilíbrio, a concentração do produto, glicose-6-fosfato, aumenta de 0 para 0,019 M, enquanto a concentração do reagente, glicose-1-fosfato, cai para 0,001 M. Nesse ponto, o equilíbrio é alcançado (**Figura 6.4**). A partir de então, a reação inversa, de glicose-6-fosfato para glicose-1-fosfato, processa-se com a mesma taxa da reação para frente (“para a direita”, como está representado).

No ponto de equilíbrio, essa reação tem uma razão produto/reagente de 19:1 (0,019/0,001), de modo que a reação para frente alcança 95% da trajetória a fim de se completar. Portanto, essa reação é exergônica. Esse resultado é obtido toda vez que o experimento está submetido às mesmas condições. A reação é descrita pela equação:



A mudança da energia livre (ΔG) em toda reação está diretamente relacionada ao seu ponto de equilíbrio. Quanto mais afastado esse ponto se situa da condição de reação completa, tanto mais energia livre é liberada. Numa reação exergônica, como a conversão de glicose-1-fosfato em glicose-6-fosfato, ΔG é um número *negativo* (nesse exemplo, $\Delta G = -1,7$ kcal/mol ou $-7,1$ kJ/mol).

Uma reação com ΔG grande e *positivo* se processa com dificuldade para a direita ($A \rightarrow B$). Todavia, se o produto está presente, tal reação dirige-se para trás ou “para a esquerda” ($A \rightarrow B$) (quase todo B é convertido em A). Um valor de ΔG próximo a zero é característico de uma reação facilmente reversível: reagentes e produtos têm quase as mesmas energias livres.

6.1 RECAPITULAÇÃO

As transformações energéticas bioquímicas são governadas por duas leis da termodinâmica. Essas mudanças podem liberar ou consumir energia; elas podem não se completar e, em vez disso, terminar em um ponto de equilíbrio.

- Você sabe as diferenças entre energia potencial e energia cinética? E entre anabolismo e catabolismo? **Ver p. 119 -120.**
- Você pode explicar as leis da termodinâmica e como elas se relacionam à biologia? **Ver p. 120 -122 e Figura 6.2.**
- Você sabe qual é a diferença entre reações endergônica e exergônica e a importância de ΔG ? **Ver p. 120 e Figura 6.3.**

Os princípios da termodinâmica que discutimos aplicam-se a todas as transformações de energia no universo, de modo que eles são muito eficazes e adequados. A seguir, eles serão aplicados às reações celulares que envolvem a moeda da energia biológica, o ATP.

6.2 Qual é o papel do ATP na energética bioquímica?

As células dependem de **adenosina trifosfato**, ou **ATP**, para a captura e a transferência da energia livre de que necessitam para realizar trabalho químico. O ATP atua como um tipo de “moeda de energia”. Isto é, da mesma forma que você pode ganhar dinheiro por um trabalho e depois gastá-lo em uma refeição, parte da energia livre liberada por certas reações exergônicas é capturada em ATP, que então pode liberar energia livre para acionar reações endergônicas.

O ATP, produzido pelas células de diferentes maneiras (que descreveremos nos próximos dois capítulos), é usado em muitos processos. O ATP não é uma molécula incomum. Na verdade, tem outro importante uso na célula: é um nucleotídeo que pode ser convertido em uma peça na construção de ácidos nucleicos. Porém, duas características o tornam especialmente útil para as células: ele libera uma quantidade relativamente grande de energia quando hidrolisado e pode *fosforilar* (doar um grupo fosfato para muitas moléculas diferentes). Examinaremos essas duas propriedades na discussão a seguir.

A hidrólise de ATP libera energia

Uma molécula de ATP consiste em uma base nitrogenada adenina unida à ribose (açúcar), que se liga a uma sequência de três grupos fosfato (**Figura 6.5A**). A hidrólise de ATP produz energia livre, bem como ADP (adenosina difosfato) e um íon fosfato inorgânico; o íon, HPO_4^{2-} , é comumente para P_i . Assim:

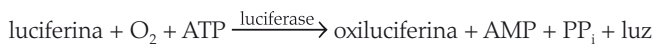


A importante propriedade dessa reação é ser exergônica, desprendendo energia livre. A mudança dessa energia (ΔG) é de aproximadamente $-7,3 \text{ kcal/mol}$ (-30 kJ/mol), sob condições definidas (temperatura, pH e concentração do soluto).

Dois características do ATP são responsáveis pela energia livre desprendida pela perda de um dos seus grupos fosfato:

- A energia livre da ligação P–O entre grupos fosfato (denominada uma ligação anidrido ácido fosfórico) é muito mais alta do que a energia da ligação H–O que se forma após a hidrólise. Assim, alguma energia utilizável é liberada pela hidrólise.
- Devido ao fato de os fosfatos serem carregados negativamente e, assim, se repelirem mutuamente, há captação de energia para aproximá-los, a fim de estabelecer uma ligação covalente que os una (por exemplo, adicionar um fosfato ao ADP para produzir ATP).

Bioluminescência – produção de luz por organismos vivos (**Figura 6.5B**) – trata-se de um exemplo de reação endergônica acionada pela hidrólise de ATP, assim como de interconversão de formas de energia (química para luminosa). A substância química que se torna luminescente é denominada luciferina (em alusão ao diabo, Lúcífer):



Esta reação e a enzima (luciferase) que a catalisa ocorrem em ampla variedade de organismos, além do comum vagalume. Essa variedade vai desde organismos marinhos até cogumelos. A luz é geralmente usada para evitar predadores ou como sinal para o acasalamento.

As empresas fabricantes de refrigerantes utilizam a luciferina e a luciferase – proteínas do vagalume – para detectar contaminação bacteriana. Onde há células vivas existe ATP, e as proteínas do vagalume emitem luz quando encontram ATP e oxigênio. Portanto, se o refrigerante brilhar, ele está contaminado.

O ATP une reações exergônica e endergônica

Como acabamos de ver, a *hidrólise de ATP é exergônica* e produz ADP, P_i e energia livre. A reação inversa, a *formação de ATP a partir de ADP e P_i* , é *endergônica* e consome muito mais energia livre do que a liberada pela hidrólise de ATP:



Muitas reações exergônicas na célula podem fornecer energia para converter ADP em ATP. Em eucariotos, a mais importante dessas

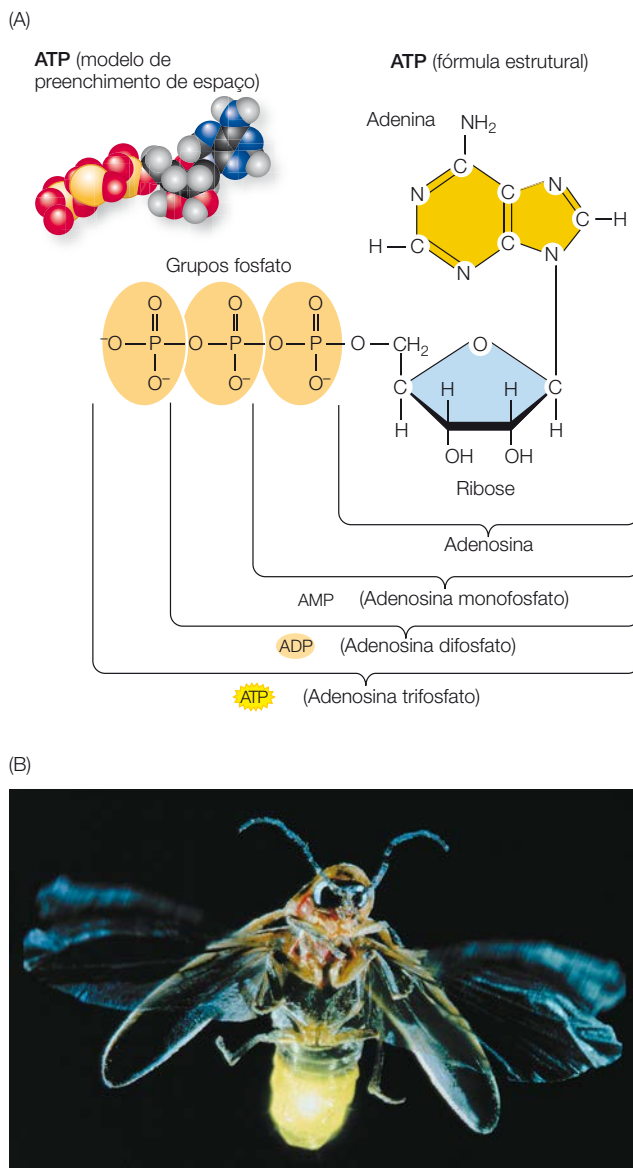


Figura 6.5 ATP (A) O ATP é mais rico em energia do que os seus correspondentes ADP e AMP. A hidrólise de ATP libera a energia armazenada na ligação P–O entre o segundo e terceiro fosfatos. (B) Os vagalumes empregam ATP para iniciar a oxidação de luciferina. Esse processo converte energia química em energia luminosa, emitindo luminosidade rítmica que sinaliza a presteza do inseto para o acasalamento. Nessa conversão, pouca energia é perdida na forma de calor.

reações é a respiração celular, na qual parte da energia liberada de moléculas combustíveis é capturada no ATP. A formação e a hidrólise de ATP constituem o que pode ser chamado “ciclo de ligação de energia”, em que o ADP adquire energia de reações exergônicas para se tornar ATP, que doa energia para reações endergônicas.

De que maneira esse ciclo de ATP capta e libera energia? Uma reação exergônica está unida (acoplada) à reação endergônica que forma ATP a partir de ADP e P_i (**Figura 6.6**). A *união de reações*

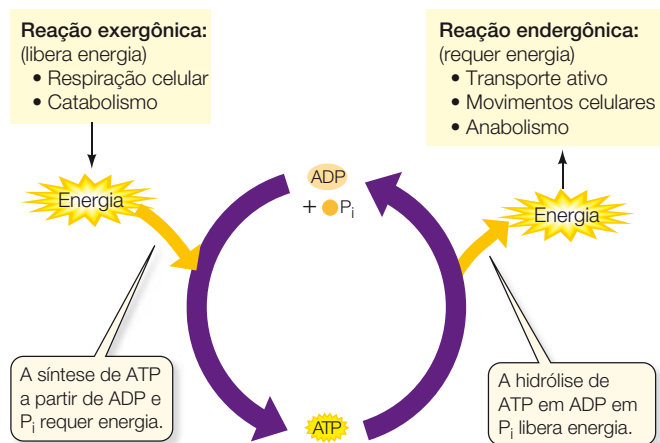


Figura 6.6 União de reações As reações celulares exergônicas liberam a energia necessária para produzir ATP a partir de ADP. A energia liberada na conversão de ATP de volta a ADP pode ser usada para abastecer reações endergônicas.

exergônica e endergônica é muito comum no metabolismo. Quando se forma, o ATP capta energia livre e a retém na forma de sua ligação P–O. O ATP então se difunde até outro local da célula, onde sua hidrólise desprende energia livre em via de acionar uma reação endergônica.

Um exemplo específico desse ciclo de união de energia está representado na **Figura 6.7**. A formação do aminoácido glutamato

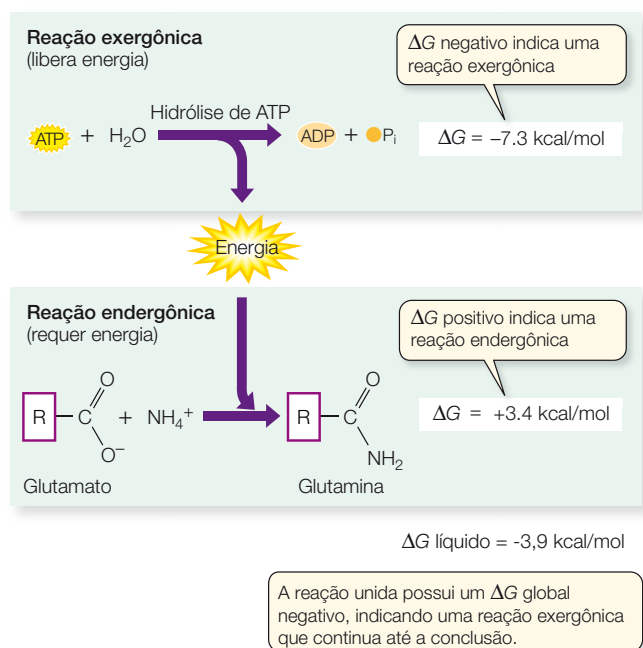


Figura 6.7 União da hidrólise de ATP à reação endergônica A síntese do aminoácido glutamina, a partir do glutamato e de um íon amônio, é uma reação endergônica que deve estar unida à hidrólise exergônica de ATP.

mina tem ΔG positivo (endergônica) e não ocorrerá sem fornecimento de energia livre da hidrólise de ATP, que possui ΔG negativo (exergônica). O ΔG global nas reações unidas é negativo (quando os dois ΔG s reúnem-se). Por isso, as reações se dão exergonicamente, quando elas estão unidas e a glutamina é sintetizada.

Uma célula ativa requer milhões de moléculas de ATP por segundo para acionar sua maquinaria bioquímica. Uma molécula de ATP é consumida, em média, dentro de um segundo após a sua formação. Uma pessoa mediana, em repouso, hidrolisa e produz cerca de 40 kg de ATP por dia – mais do que a massa de algumas pessoas! Isso significa que cada molécula de ATP sofre cerca de 10 mil ciclos de síntese e hidrólise a cada dia.

6.2 RECAPITULAÇÃO

O ATP é a “moeda de energia” das células. O ATP captura parte da energia livre despreendida por reações exergônicas, que pode então ser liberada pela hidrólise de ATP e usada no acionamento de reações endergônicas.

- Como o ATP armazena energia? Ver p. 124.
- Você consegue explicar o conceito de reações unidas? Ver p. 124-125 e Figura 6.7.

O ATP é sintetizado e utilizado muito rapidamente. Porém, essas reações bioquímicas não avançam tão rapidamente sem o auxílio de proteínas catalíticas, denominadas enzimas.

6.3 O que são enzimas?

Quando conhecemos a mudança em energia livre (ΔG) de uma reação, sabemos onde se situa seu ponto de equilíbrio: quanto mais negativo for ΔG , a reação avança em direção à sua conclusão. Todavia, ΔG nada revela sobre a **taxa** de uma reação – a velocidade com que ela se dirige ao equilíbrio. As reações que ocorrem nas células são tão lentas que não podem contribuir para a vida, a menos que as células façam algo a fim de acelerá-las. Este é o papel dos **catalisadores**: substâncias que aceleram uma reação sem serem permanentemente alteradas por ela. Um catalisador não provoca uma reação, mas apenas acelera a sua taxa para frente ou para trás, permitindo que ela atinja o equilíbrio de forma mais rápida.

Os catalisadores biológicos constituem-se, na maioria, proteínas denominadas **enzimas**. Nosso foco aqui são as proteínas, mas alguns catalisadores – talvez os primeiros na origem da vida – são moléculas de RNA, denominadas ribozimas (ver Seção 3.6). *Um catalisador biológico, seja proteína ou RNA, é uma estrutura em que a catálise química ocorre.* Ao longo do tempo, as proteínas evoluíram como catalisadores, provavelmente devido à sua grande diversidade na estrutura tridimensional e à variedade de funções químicas.

Nesta seção, identificaremos a barreira de energia que controla a taxa de reações químicas. Após, enfocaremos o papel das enzimas: de que modo elas interagem com reagentes específicos, diminuem a barreira de energia e permitem uma aceleração das reações. Na Seção 6.4, veremos como as enzimas contribuem para a união de reações.

Para uma reação prosseguir, deve ser superada uma barreira energética

Embora desprendendo uma grande quantidade de energia livre, a reação exergônica pode ocorrer muito lentamente. Algumas reações são lentas porque existe uma *barreira energética* entre reagentes e produtos. Considere o fogão a gás propano que descrevemos na Seção 2.3. A queima do propano ($C_3H_8 + 5O_2 \rightarrow 3CO_2 + 4H_2O + \text{energia}$) é uma reação exergônica – energia é liberada sob forma de calor e luz. Uma vez iniciada, a reação prossegue até a sua conclusão: todo o propano reage com o oxigênio, formando dióxido de carbono e vapor d'água.

Por liberar tanta energia, espera-se que a reação de queima do propano prossiga rapidamente, toda vez que ele for exposto ao oxigênio. Contudo, isso não acontece. A simples mistura de propano com o ar não produz reação. A queima do propano começa somente se for fornecida uma descarga elétrica – uma entrada de energia. (No caso do fogão, essa energia é fornecida riscando o fósforo). A necessidade dessa descarga elétrica para iniciar a reação mostra que existe uma barreira de energia entre os reagentes e os produtos.

Em geral, as reações exergônicas prosseguem apenas após ter sido superada a barreira energética, pela adição de pequena quantidade de energia. Assim, a barreira energética representa a quantidade de energia necessária para iniciar a reação, conhecida como **energia de ativação (E_a)** (Figura 6.8A). Retomemos o exemplo da bola descendo o morro, na Figura 6.3. A bola tem muita energia potencial no topo do morro. No entanto, se ficar retida em uma pequena depressão, não descenderá, mesmo que a reação seja exergônica. Para começar a descida, é necessária uma pequena quantidade de energia (energia de ativação) para tirá-la da depressão (Figura 6.8B).

Em uma reação química, a energia de ativação é aquela necessária para transformar os reagentes em formas moleculares instáveis, denominadas **espécies de estado de transição**. As espécies de estado de transição possuem energias livres mais altas do que as dos reagentes ou dos produtos. Suas ligações podem ser estendidas e, portanto, instáveis. Embora, para diferentes reações, a quantidade de energia de ativação varie, ela é frequentemente pequena, em comparação com a mudança na energia livre da reação. A energia de ativação que desencadeia uma reação é recuperada durante a fase “descendente”, de modo que não é uma parte da alteração da energia livre líquida, ΔG (ver Figura 6.8A).

De onde provém a energia de ativação? Em toda acumulação de reagentes nas temperaturas do ambiente ou do corpo, algumas moléculas movem-se em círculo e podem usar sua energia cinética para superar a barreira energética, entrar no estado de transição e reagir. Entretanto, nessas temperaturas, somente poucas moléculas têm energia suficiente para fazer isso; a maioria possui energia cinética insuficiente para ativação, de modo que a reação ocorre lentamente. Se o sistema for aquecido, todas as moléculas reagentes movem-se mais rapidamente e contêm mais energia cinética. Como a maioria delas teria energia excedente em relação à de ativação exigida, a reação seria acelerada.

Contudo, a adição de calor suficiente para aumentar a energia cinética média das moléculas não funcionaria em sistemas vivos. Tal abordagem não específica aceleraria todas as reações, incluindo as destrutivas, como a desnaturação de proteínas (ver Figura 3.11). Uma maneira mais efetiva de acelerar uma reação em um sistema vivo é diminuir a barreira da energia, por meio da aproximação dos reagentes. Em células vivas, as enzimas executam essa tarefa.

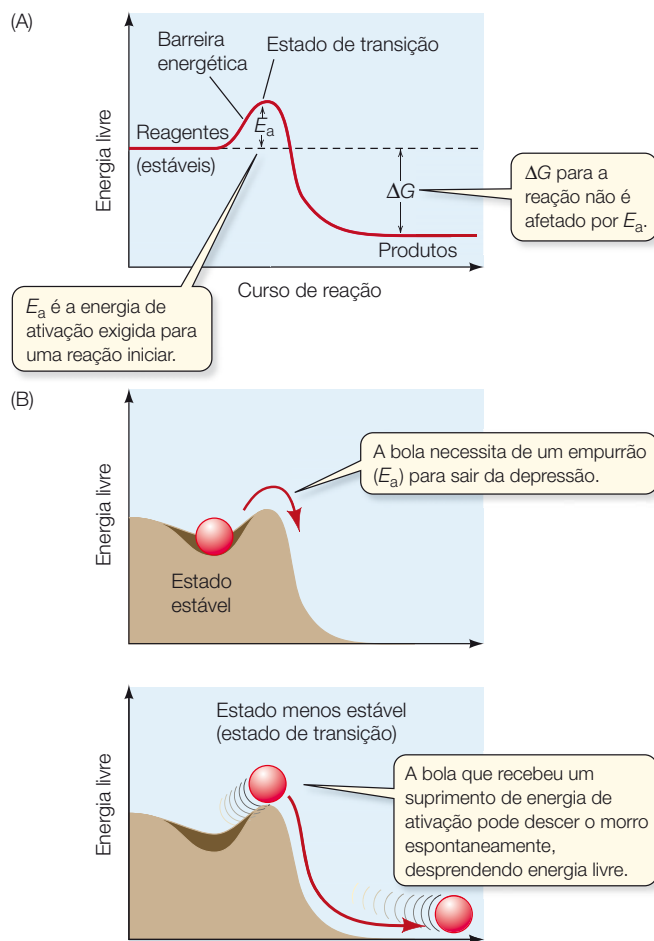


Figura 6.9 A energia de ativação inicia reações (a) Em toda reação química, um estado estável inicial deve tornar-se menos estável antes que seja possível a mudança. (b, c) Uma bola na encosta proporciona uma analogia física ao princípio bioquímico grafado em (a).

As enzimas ligam moléculas reagentes específicas

Os catalisadores aumentam a taxa das reações químicas. Os catalisadores *não biológicos* constituem-se, na maioria, *não específicos*. A platina pulverizada, por exemplo, catalisa virtualmente qualquer reação em que hidrogênio molecular (H_2) seja um reagente. Por outro lado, os catalisadores *biológicos* são, na maioria, *altamente específicos*. Essas moléculas complexas de proteína (enzimas) ou RNA (ribozimas) catalisam reações químicas relativamente simples. Uma enzima ou ribozima geralmente reconhece e se liga apenas a um ou a poucos reagentes intimamente relacionados, e catalisa somente a única reação química. Na discussão a seguir, enfocamos as enzimas, mas lembremos que regras similares de comportamento químico se aplicam igualmente às ribozimas.

Em uma reação catalisada por enzimas, os reagentes são denominados **substratos**. As moléculas do substrato se ligam a um sítio especial na superfície da enzima, chamado **sítio ativo**, onde ocorre a catálise (Figura 6.9). A especificidade de uma enzima resulta da exata forma tridimensional e da estrutura do seu sítio

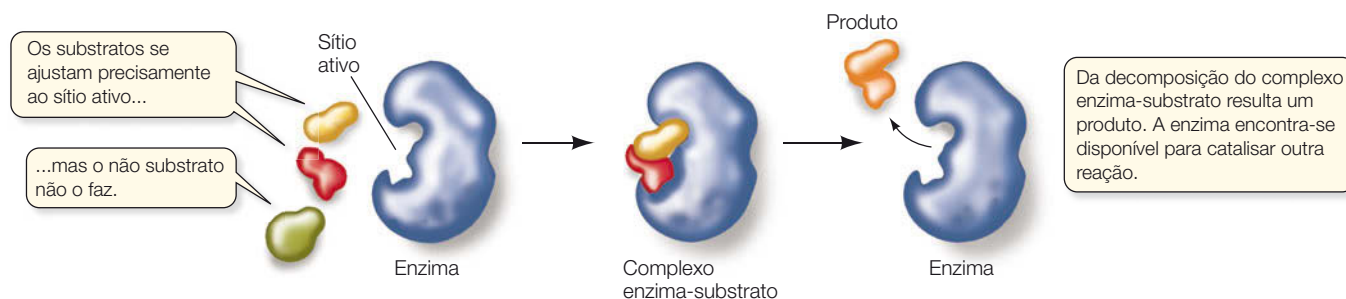


Figura 6.9 Enzima e substrato A enzima é um catalisador proteico com um sítio ativo capaz de ligar uma ou mais moléculas de substrato.

tio ativo, ao qual pode se ajustar apenas uma gama estreita de substratos. Outras moléculas – com formas, grupos funcionais e propriedades diferentes – não se ajustam e tampouco se ligam corretamente ao sítio ativo.

Os nomes das enzimas refletem a especificidade de suas funções e frequentemente terminam com o sufixo “ase”. A enzima RNA-polimerase, por exemplo, catalisa a formação de RNA, mas não DNA, e a enzima hexoquinase acelera a fosforilação de açúcares do tipo hexose, mas não do tipo pentose.

A ligação de um substrato a um sítio ativo produz um **complexo enzima-substrato (ES)**, mantido intacto por uma ou mais maneiras, ponte de hidrogênio, atração elétrica ou ligação covalente, por exemplo. O complexo enzima-substrato dá origem a produto e enzima livre:



onde E é a enzima, S é o substrato, P é o produto e ES é o complexo enzima-substrato. A enzima livre (E) apresenta-se com a mesma forma química tanto no final quanto no início da reação. Enquanto está ligada ao substrato, pode se alterar quimicamente, mas no final da reação retoma a forma inicial.

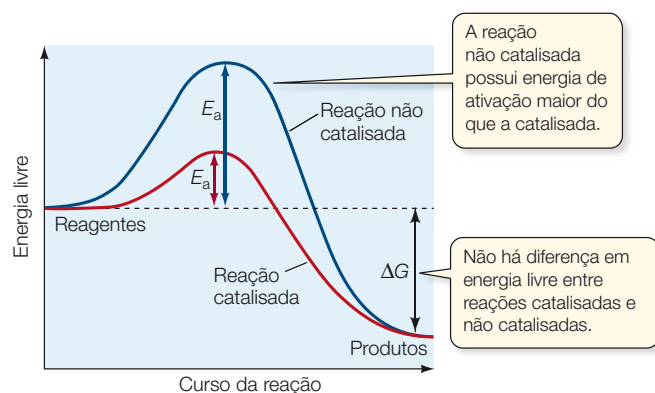


Figura 6.10 As enzimas reduzem a barreira da energia de ativação Embora a energia de ativação seja mais baixa na reação catalisada por enzima do que na não catalisada, a energia liberada é a mesma com ou sem catálise. Em outras palavras, E_a é mais baixa, mas ΔG não é alterado.

As enzimas reduzem a barreira da energia de ativação, mas não afetam o equilíbrio

Quando fazem parte de um complexo enzima-substrato, os reagentes requerem menos energia de ativação do que as espécies em estado de transição da reação não catalisada correspondente (**Figura 6.10**). Assim, a enzima reduz a barreira energética para a reação – ela oferece a esta uma rota mais fácil. Quando uma enzima reduz a barreira da energia, as reações se aceleram nos dois sentidos (para frente e no sentido inverso), de modo que a reação global catalisada por uma enzima avança em direção ao equilíbrio mais rapidamente do que a reação não catalisada. O equilíbrio final é o mesmo, com ou sem a enzima. De modo semelhante, a adição de uma enzima a uma reação não altera a diferença em energia livre (ΔG) entre os reagentes e os produtos.

A enzima lactato-desidrogenase, por exemplo, catalisa a reação altamente reversível

A cada ano, mais de 500 toneladas de enzimas do tipo protease são adicionadas aos detergentes empregados em lavanderia para decompor proteínas como as de manchas de pizza em sua blusa. Essas enzimas são produzidas por bactérias que crescem em enormes tanques de aço inoxidável.

As enzimas podem alterar substancialmente a taxa de uma reação. Por exemplo, se 600 moléculas de uma proteína com arginina como aminoácido terminal ficarem em solução, as moléculas de proteína tendem à desordem e as ligações peptídicas terminais se rompem, liberando as argininas (ΔS aumenta). Após sete anos, cerca da metade (300) dessas proteínas terá sofrido essa reação espontânea. Se a enzima carboxipeptidase a catalisar a reação, as trezentas argininas serão liberadas em meio segundo!

6.3 RECAPITULAÇÃO

O início de uma reação química requer um “empurrão” para superar a barreira de energia. As enzimas fornecem essa energia de ativação ligando-se a reagentes específicos (substratos).

- Como a estrutura das enzimas as torna específicas? Ver p. 126-127 e Figura 6.9.
- Você conhece a relação entre enzimas e o ponto de equilíbrio de uma reação? Ver p. 127.

Agora que entendemos a estrutura e a especificidade das enzimas, examinaremos de que forma elas trabalham para acelerar reações químicas entre as moléculas do substrato.

6.4 Como as enzimas trabalham?

As interações químicas ocorrem após a formação do complexo enzima-substrato. Essas interações contribuem diretamente na decomposição de ligações antigas e na formação de novas. Na catálise de uma reação, uma enzima pode usar um ou mais dos mecanismos a seguir:

- **As enzimas orientam substratos.** Enquanto estão livres em solução, os substratos experimentam rotações e saltos, podendo não ter a orientação própria para interagir quando colidem. Parte da energia de ativação necessária para iniciar uma reação é usada na união dos átomos específicos entre os quais as ligações se formam (Figura 6.11A). Por exemplo, para o acetil CoA e o oxaloacetato formarem o citrato (uma reação que é parte do metabolismo da glicose, conforme veremos na Seção 7.2), os dois substratos devem orientar-se de modo que o átomo de carbono do grupo metil da acetil CoA forme uma ligação covalente com o átomo de carbono do grupo carbonil do oxaloacetato. O sítio ativo da enzima citrato-sintase tem exatamente a forma correta para ligar essas duas moléculas, de modo que esses átomos são adjacentes.

- **As enzimas induzem tensão no substrato.** Uma vez ligado ao sítio ativo, as ligações do substrato podem ser submetidas a tensões pela enzima, levando-o a um estado de transição instável (Figura 6.11B). Por exemplo, a lisozima é uma enzima protetora que destrói bactérias invasoras, através da clivagem de cadeias de polissacarídeos em suas paredes celulares. O sítio ativo da lisozima “estica” as ligações do polissacarídeo bacteriano – um dos substratos da lisozima. A tensão torna as ligações do polissacarídeo instáveis e mais reativas ao outro substrato da lisozima, a água.

- **As enzimas adicionam temporariamente grupos químicos aos substratos.** As cadeias laterais (grupos R) de aminoácidos de uma enzima podem ser participantes diretos ao tornar seus substratos quimicamente mais ativos (Figura 6.11C).

- **Na catálise ácido-base,** as cadeias laterais ácidas ou básicas dos aminoácidos que formam o sítio ativo podem transferir H^+ para o substrato ou do substrato, desestabilizando uma ligação covalente no substrato e permitindo a sua decomposição.

- **Em catálise covalente,** um grupo funcional em uma cadeia lateral forma uma ligação temporária com uma porção do substrato.

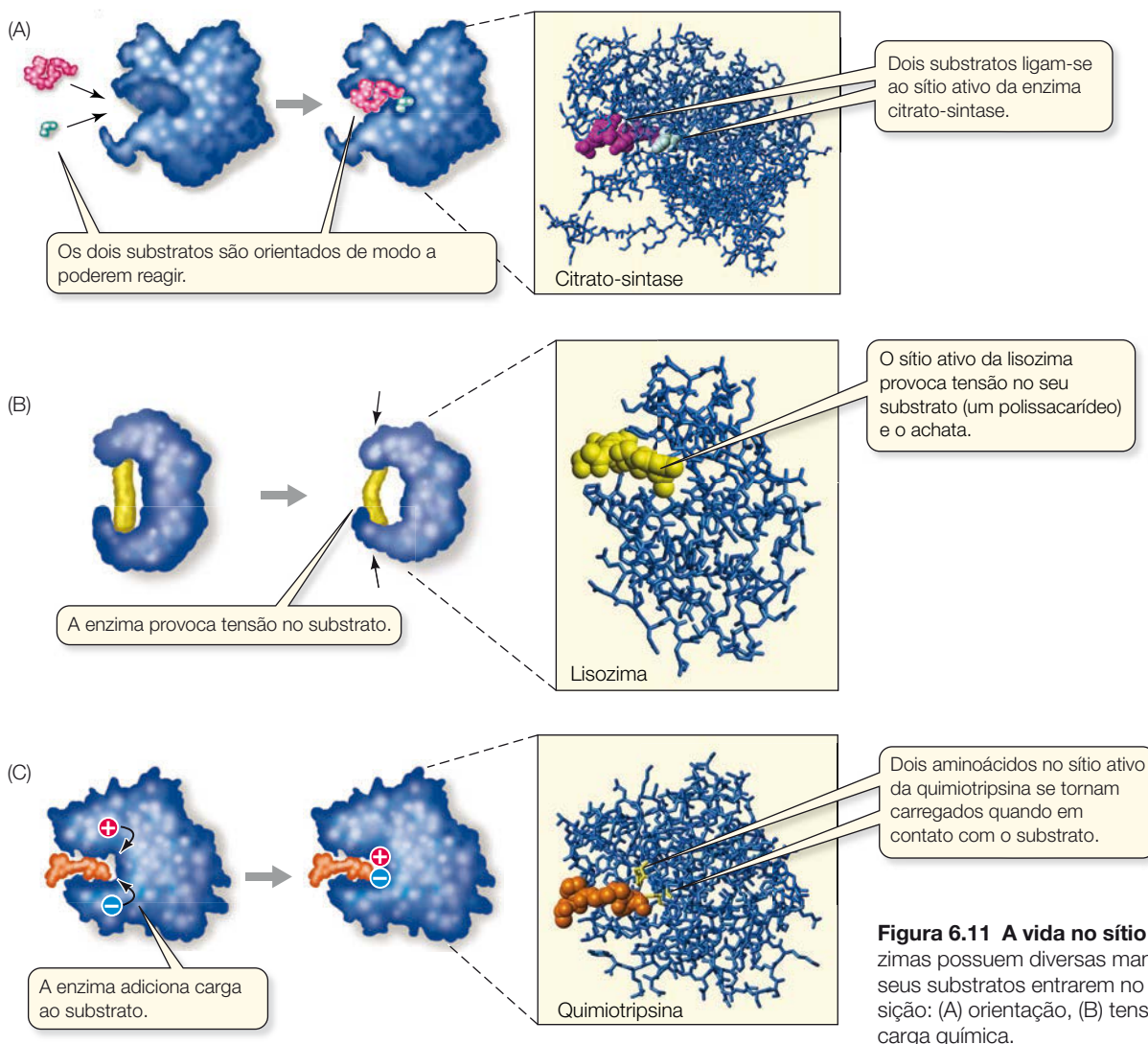


Figura 6.11 A vida no sítio ativo As enzimas possuem diversas maneiras de fazer seus substratos entrarem no estado de transição: (A) orientação, (B) tensão física e (C) carga química.

- *Em catálise de íon metálico*, íons como cobre, ferro e manganês, firmemente ligados a cadeias laterais da enzima, podem perder ou ganhar elétrons sem se desprender da enzima. Essa capacidade os torna participantes importantes em reações de oxidação-redução, que envolvem perda ou ganho de elétrons.

A estrutura molecular determina a função da enzima

As enzimas, na maioria, apresentam-se muito maiores do que os seus substratos. Uma enzima é, tipicamente, uma proteína que contém centenas de aminoácidos e pode consistir em uma única cadeia polipeptídica dobrada ou de várias subunidades. Seu substrato é geralmente uma molécula pequena. O sítio ativo da enzima é muitas vezes bem pequeno, não mais do que 6-12 aminoácidos. Duas perguntas surgem a partir dessas observações:

- Que características do sítio ativo permitem que ele reconheça e se ligue ao substrato?
- Qual é o papel do restante da enorme proteína?

O SÍTIO ATIVO É ESPECÍFICO PARA O SUBSTRATO A notável capacidade de uma enzima em selecionar o substrato correto depende de um ajustamento das formas moleculares e interações de grupos químicos no sítio ativo. A ligação do substrato a esse local depende dos mesmos tipos de forças que mantêm a estrutura terciária da enzima: pontes de hidrogênio, atração e repulsão de grupos carregados eletricamente e interações hidrofóbicas.

Em 1894, o químico alemão Emil Fischer comparou o ajustamento entre uma enzima e seu substrato ao de uma fechadura e a chave. O modelo de Fischer persistiu por mais de um século, com base apenas em evidência indireta para sustentá-lo. A primeira comprovação direta surgiu em 1965, quando David Phillips e seus colaboradores, no Instituto Real de Londres, conseguiram cristalizar a enzima lisozima e determinar sua estrutura terciária, usando a técnica da cristalografia por raio X (descrita na Seção 11.2). Observaram uma reenrância na lisozima, perfeitamente ajustada ao seu substrato (ver Figura 6.11B).

A ENZIMA MUDA DE FORMA QUANDO SE LIGA AO SUBSTRATO Conforme as proteínas, as enzimas não são estruturas imutáveis. As formas tridimensionais de muitas enzimas se alteram quando se ligam aos seus substratos. Essas mudanças de formas expõem o seu sítio ativo (ou sítios). Uma alteração de forma da enzima, causada pela ligação ao substrato, chama-se **ajuste induzido**.

Um exemplo de ajuste induzido observa-se na enzima hexoquinase, que catalisa a reação



O ajuste induzido conduz cadeias laterais reativas do sítio ativo da hexoquinase ao alinhamento com os substratos (**Figura 6.12**), facilitando seus mecanismos catalíticos. Igualmente importante, a dobra da hexoquinase em função de ajustar-se ao redor do substrato (glicose) elimina água do sítio ativo. Isso é essencial, pois as duas moléculas que se ligam ao sítio ativo são glicose e ATP. Se a água estivesse presente, o ATP seria hidrolisado em ADP e fosfato. Porém, com a água não está presente, a transferência de um fosfato, do ATP para a glicose, é favorecida.

O ajuste induzido, ao menos em parte, explica por que as enzimas são tão grandes. O restante da molécula pode ter dois papéis:

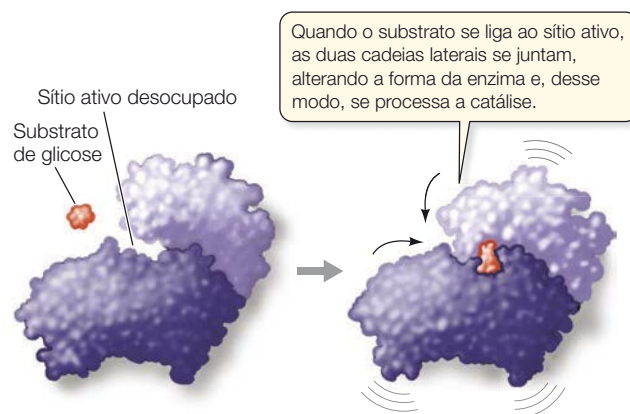


Figura 6.12 Algumas enzimas alteram a forma quando o substrato se liga a elas Alterações de forma resultam num ajuste induzido entre enzima e substrato, melhorando a capacidade catalítica da enzima. O ajuste induzido pode ser observado na enzima hexoquinase vista com e sem um de seus substratos, a glicose (seu outro substrato é o ATP).

- Fornece uma estrutura de modo que os aminoácidos do sítio ativo ficam posicionados corretamente em relação ao substrato.
- Participa das pequenas, mas significativas mudanças na forma e na estrutura da proteína, que resultam no ajuste induzido.

Para funcionar, algumas enzimas requerem outras moléculas

Quanto maiores e mais complexas, muitas enzimas requerem a presença de outros “parceiros” moleculares não proteicos, a fim de poderem funcionar (**Tabela 6.1**).

TABELA 6.1 Alguns exemplos de “parceiros” não proteicos de enzimas

TIPO DE MOLÉCULA	PAPEL EM REAÇÕES CATALISADAS
Cofatores	
Ferro (Fe^{+2} ou Fe^{+3})	Oxidação/redução
Cobre (Cu^{+} ou Cu^{+2})	Oxidação/redução
Zinco (Zn^{+2})	Auxilia ligação ao NAD
Coenzimas	
Biotina	Transporta $-\text{COO}^{-}$
Coenzima A	Transporta $-\text{CO}-\text{CH}_3$
ATP	Fornece energia
NAD	Transporta elétrons
FAD	Transporta elétrons
Grupos prostéticos	
Heme	Liga íons, O_2 e elétrons; contém ferro como cofator
Flavina	Liga elétrons
Retinal	Converte energia luminosa

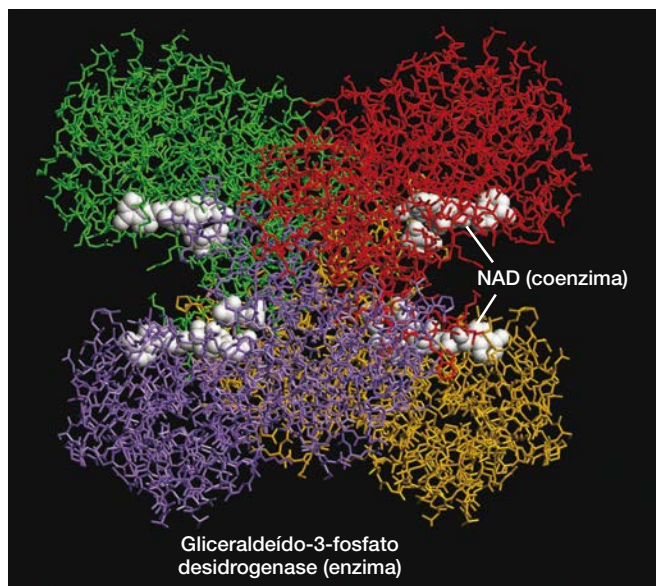


Figura 6.13 Enzima com coenzima Algumas enzimas requerem coenzimas para funcionar. Esta ilustração mostra os tamanhos relativos das quatro subunidades (vermelho, amarelo, verde e púrpura) da enzima gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase e sua coenzima, NAD (branco).

- Os **grupos prostéticos** tratam-se de átomos ou de agrupamentos moleculares não aminoácidos, permanentemente ligados às suas enzimas.
- Os **cofatores** tratam-se de íons inorgânicos, como cobre, zinco e ferro, que se ligam a certas enzimas e são essenciais no seu funcionamento.
- A **coenzimas** são moléculas dotadas de carbono necessárias para a atuação de uma ou mais enzimas. Geralmente, as coenzimas são relativamente pequenas quando comparadas com a enzima à qual elas temporariamente se ligam (**Figura 6.13**).

Os grupos prostéticos incluem, por exemplo, nucleotídeo flavina, ligados à enzima mitocondrial succinato-desidrogenase, que desempenha um papel importante na respiração celular (ver Seção 7.2). Embora não se trate de uma enzima, a hemoglobina é outro exemplo de proteína ligada a um grupo prostético – nesse caso, heme (ver Figura 3.9).

As coenzimas se movem de uma molécula de enzima para outra, adicionando ou removendo grupos químicos do substrato. Estas comportam-se como os substratos, no sentido que não estão permanentemente ligadas à enzima, mas devem colidir com a enzima e se unir ao seu sítio ativo. Além disso, uma coenzima muda quimicamente durante a reação e depois se separa da enzima para participar de outras reações.

O ATP e o ADP podem ser considerados coenzimas, pois eles são necessários em algumas reações, modificam-se por essas reações, bem como se ligam e se separam das enzimas que catalisam tais reações. No próximo capítulo, encontraremos outras coenzimas que funcionam em reações produtoras de energia mediante captação ou doação de elétrons ou átomos de hidrogênio. Em animais, algumas coenzimas são produzidas de *vitaminas* – substâncias que devem ser obtidas do alimento porque não podem ser sintetizadas pelo próprio organismo. Por exemplo, a vitamina B niacina é usada para formar a coenzima NAD.

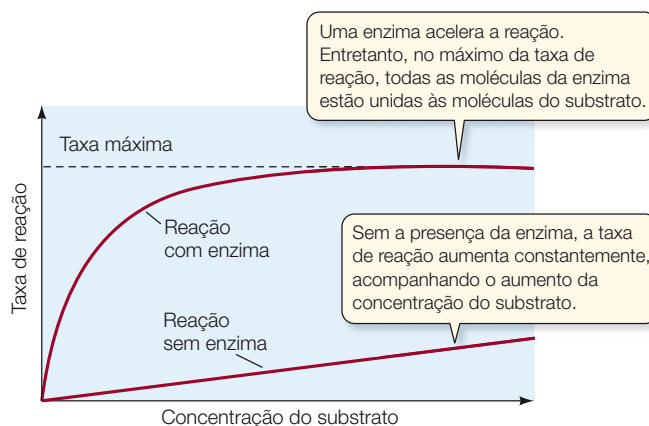


Figura 6.14 As enzimas aceleram as taxas de reação Por existir, geralmente, menos enzima do que substrato, a taxa de reação se estabiliza quando a enzima se torna saturada.

A concentração do substrato afeta a taxa de reação

Em uma reação do tipo $A \rightarrow B$, a taxa de reação não catalisada é diretamente proporcional à concentração de A. Quanto mais alta a concentração de substrato, maior é o número de reações por unidade de tempo. A adição da enzima apropriada, naturalmente, acelera a reação, mas também altera a forma da representação da taxa *versus* a concentração do substrato (**Figura 6.14**). Em princípio, a taxa da reação catalisada por enzima cresce à medida que aumenta a concentração do substrato, mas depois se estabiliza. Quando um aumento adicional da concentração do substrato não eleva significativamente a taxa de reação, alcança-se a taxa máxima.

Uma vez que a concentração de uma enzima é geralmente muito mais baixa do que a do seu substrato, observamos um fenômeno de *saturação*, similar àquele que ocorre na difusão facilitada (ver Figura 5.12B). Quando todas as moléculas da enzima estão ligadas às moléculas do substrato, ela está trabalhando o mais rápido possível – na sua taxa máxima. Não há ganho ao adicionar mais substrato, pois não há moléculas livres da enzima para atuar como catalisadores.

A taxa máxima de uma reação catalisada pode ser usada para medir a eficiência da enzima – isto é, quantas moléculas de substrato são convertidas em produto por unidade de tempo quando existe um excesso de substrato. Esse número de renovação (*turnover*) varia de uma molécula a cada dois segundos, para lisozima, até o espantoso valor de 40 milhões de moléculas por segundo, para a enzima catalase do fígado.

6.4 RECAPITULAÇÃO

As enzimas se alteram durante a reação que catalisam, frequentemente participando da própria reação, mudando a forma ou doando elétrons. Para funcionar, algumas delas requerem cofatores, coenzimas ou grupos prostéticos.

- Você poderia descrever três mecanismos de catálise por enzima? Ver p. 128. Figura 3.11.
- Você conhece o papel químico das coenzimas em reações enzimáticas? Ver p. 130.

Agora que sabemos mais sobre o trabalho das enzimas, podemos observar o que torna isso possível para o trabalho conjunto de uma infinidade de enzimas em um organismo complexo, cada uma específica para uma ou poucas reações.

6.5 Como são reguladas as atividades das enzimas?

Uma característica importante da vida é a *homeostase*, – manutenção de condições internas estáveis (ver Capítulo 46). A forma com que a célula mantém o ambiente interno relativamente constante enquanto milhares de reações químicas ocorrem ao mesmo tempo é uma coisa espantosa. Essas reações químicas organizam-se em *rotas metabólicas*, nas quais o produto de uma reação consiste no reagente para a próxima. A rota do metabolismo do álcool em humanos, descrita na abertura deste capítulo, é apenas uma de muitas que regulam o ambiente interno e se preparam para funções tão diversas, como o catabolismo da glicose e o anabolismo de aminoácidos. Essas rotas não existem isoladamente, mas interagem extensivamente; cada reação em cada rota é catalisada por uma enzima específica. Dentro de uma célula ou de um organismo, as enzimas controlam se uma rota metabólica funciona e quanto funciona. Se uma enzima na rota é inativa, aquele passo é interrompido, bem como todos os subsequentes.

O “fluxo” de substâncias químicas (por exemplo, um átomo de carbono) através dessas rotas interativas pode ser estudado, mas isto logo se complica, pois cada rota influencia outras. Algoritmos matemáticos para computador são usados a fim de modelarem essas rotas e mostrarem de que forma elas se entrelaçam em um sistema interdependente (**Figura 6.15**); tais modelos podem auxiliar a prever o que acontecerá se a concentração de uma ou outra molécula for alterada. Este campo novo da biologia, que possui numerosas aplicações, chama-se **biologia de sistemas**.

A regulação das taxas com que milhares de diferentes enzimas operam, contribui para a homeostase dentro de um organismo. Nesta seção, investigaremos o papel das enzimas na organização e regulação de rotas metabólicas. Nas células vivas, as enzimas ativam-se ou inibem-se de diversas maneiras; portanto, apenas a presença da enzima não garante que esteja funcionando. Existem também mecanismos que alteram a taxa em que algumas enzimas catalisam reações. Tais mecanismos tornam-as os pontos-alvo em que sequências inteiras de reações químicas podem ser reguladas. Por fim, examinaremos de que modo o ambiente – especificamente a temperatura e o pH – afeta a atividade enzimática.

As enzimas podem ser reguladas por inibidores

Diversos inibidores podem se ligar a enzimas, diminuindo a velocidade das taxas de reações catalisadas por elas. Alguns inibidores ocorrem naturalmente nas células; outros são artificiais. Os inibidores de ocorrência natural regulam o metabolismo; os inibidores artificiais podem ser empregados para tratar de doenças, eliminar pragas ou em laboratório e no estudo do funcionamento de enzimas. Alguns inibem irreversivelmente a enzima, ao se ligarem de forma permanente a ela. Outros apresentam efeitos reversíveis, ou seja, desvinculam-se da enzima. A retirada de um inibidor reversível natural aumenta a taxa catalítica da enzima.

INIBIÇÃO IRREVERSÍVEL Alguns inibidores irreversíveis se ligam covalentemente a cadeias laterais do sítio ativo de uma

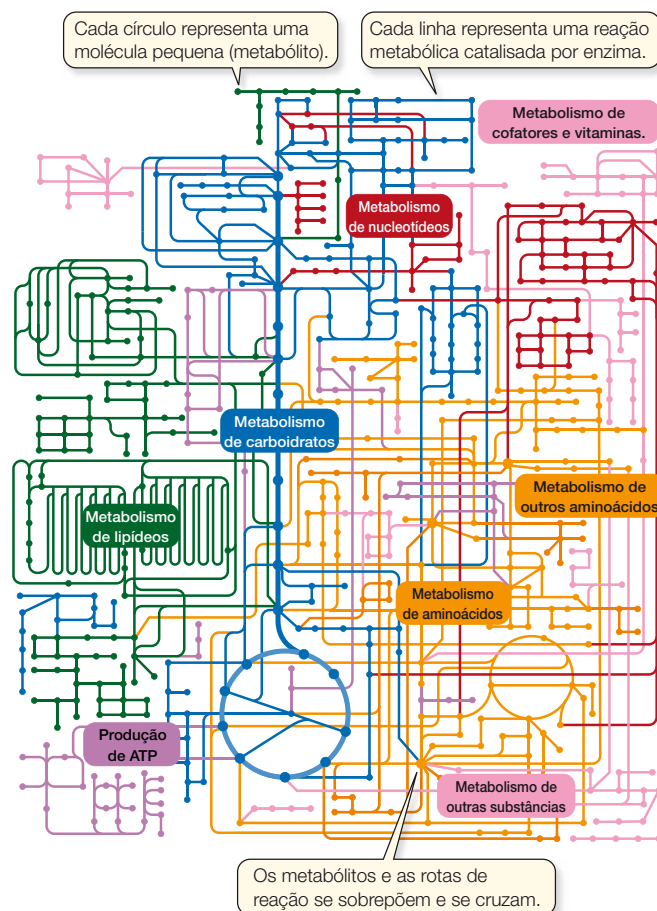


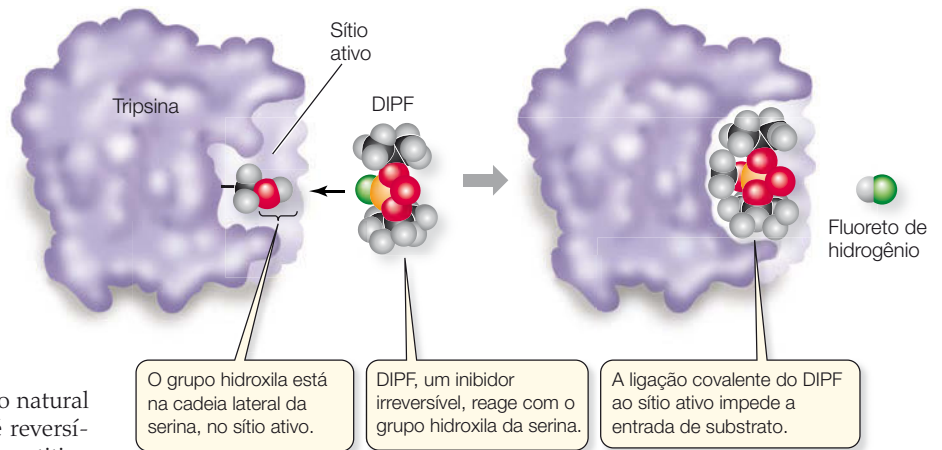
Figura 6.15 Rotas metabólicas As complexas interações de rotas metabólicas podem ser modeladas pelas ferramentas da biologia de sistemas. Nas células, as enzimas são os elementos principais que controlam essas rotas.

enzima. Com isso, a inativam permanentemente, ao destruir sua capacidade de interagir com seu substrato normal. Exemplo de inibidor irreversível é o DIFP (diisopropilfosforofluoridato), que reage com a serina (**Figura 6.16**). O DIFP é inibidor irreversível da acetilcolinesterase, cuja operação é essencial para o funcionamento normal do sistema nervoso. Devido à sua ação sobre a acetilcolinesterase, o DIFP e outros compostos similares classificam-se como *gases neurotóxicos*. Um deles, sarin, foi usado num atentado no metrô de Tóquio em 1995, resultando em centenas de pessoas hospitalizadas e uma dezena de mortes. O malathion, inseticida amplamente usado, é um derivado do DIFP que inibe apenas a acetilcolinesterase de insetos e não a de mamíferos.

INIBIÇÃO REVERSÍVEL Nem toda inibição é irreversível. Alguns inibidores são similares a um substrato natural específico da enzima, o suficiente para se ligarem de modo não covalente ao seu sítio ativo. No entanto, eles são suficientemente diferentes para que a enzima não catalise qualquer reação química. Enquanto tal molécula estiver ligada à enzima, o substrato natural não entra no sítio ativo; desse modo, o inibidor afeta efetivamente o tempo de reação da enzima, impedindo sua ação catalítica. Tais moléculas são denominadas **inibidores competitivos**, pois

Figura 6.16 Inibição irreversível

O DIPF forma uma ligação covalente estável com a cadeia lateral do aminoácido serina no sítio ativo da enzima tripsina, incapacitando, assim, irreversivelmente a enzima.



competem, pelo sítio ativo, com o substrato natural (Figura 6.17A). Nesses casos, a inibição é reversível. Quando a concentração do inibidor competitivo reduz-se, ele se separa do sítio ativo e a enzima se torna novamente ativa.

Os **inibidores não competitivos** se ligam à enzima em um local diferente do sítio ativo. Essa ligação pode causar modificação na sua forma, alterando o sítio ativo (Figura 6.17B). Nesse caso, o sítio ativo ainda se liga a moléculas do substrato, mas a taxa de formação do produto pode ser reduzida. Os inibidores não competitivos, da mesma forma que os competitivos, podem se tornar livres, de modo que seus efeitos são reversíveis.

Frank (ver p. 118) ficou enjoado ao beber uma única taça de champanhe porque a enzima aldeído-desidrogenase (ALDH, *aldehyde dehydrogenase*) não é funcional em seu corpo. Uma droga denominada *Antabuse* é um inibidor competitivo de ALDH. Essa droga é empregada no tratamento do alcoolismo, pois faz os alcoolistas se sentirem enjoados ao ingerir álcool.

As enzimas alostéricas controlam sua atividade através da mudança de configuração

A mudança na forma da enzima devido à ligação ao inibidor não competitivo é um exemplo de **alosteria** (*allo*, "diferente"; *stery*, "forma"). Nesse caso, a ligação do inibidor *induz* a proteína a mudar a sua configuração. O mais comum é que as enzimas já existam na célula em mais do que uma forma possível (Figura 6.18):

- A forma *ativa* da enzima tem a configuração própria para se ligar ao substrato.
- A forma *inativa* da enzima tem a configuração que não pode se ligar ao substrato, mas pode se ligar a um inibidor. A ligação de um inibidor a um local separado do sítio ativo (isto é, o lugar onde o substrato se liga) estabiliza a forma inativa, e tem menor probabilidade de se converter em forma ativa.

Figura 6.17 Inibição reversível (A) Um inibidor competitivo se liga temporariamente ao sítio ativo de uma enzima. (B) Um inibidor não competitivo se liga temporariamente a um local enzimático afastado do sítio ativo. Em ambos os casos, o funcionamento da enzima é impossibilitado somente enquanto o inibidor permanecer ligado.

- A forma ativa pode ser estabilizada pela ligação de um *ativador* a um terceiro sítio na enzima.

Semelhante à ligação do substrato, a ligação de inibidores e ativadores é altamente específica.

As enzimas reguladas alostericamente são, na maioria, proteínas com estrutura quaternária, ou seja, constituem-se de múltiplas subunidades polipeptídicas. O sítio ativo encontra-se presente em uma subunidade, denominada **subunidade catalítica**, enquan-

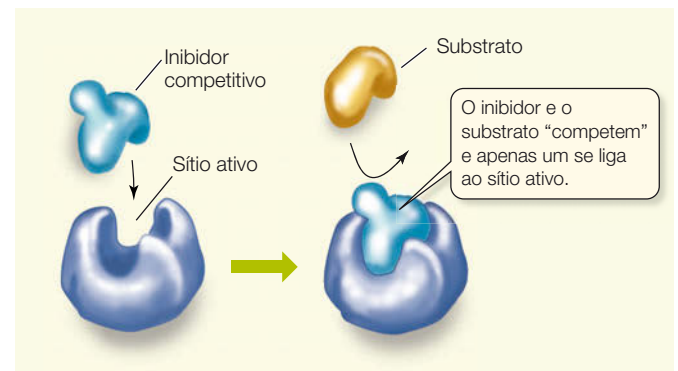
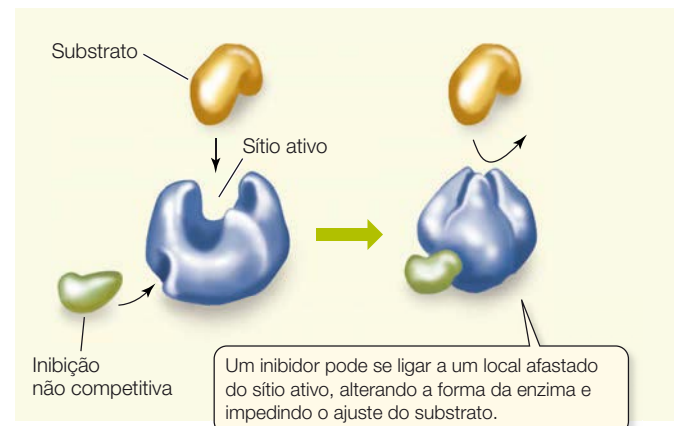
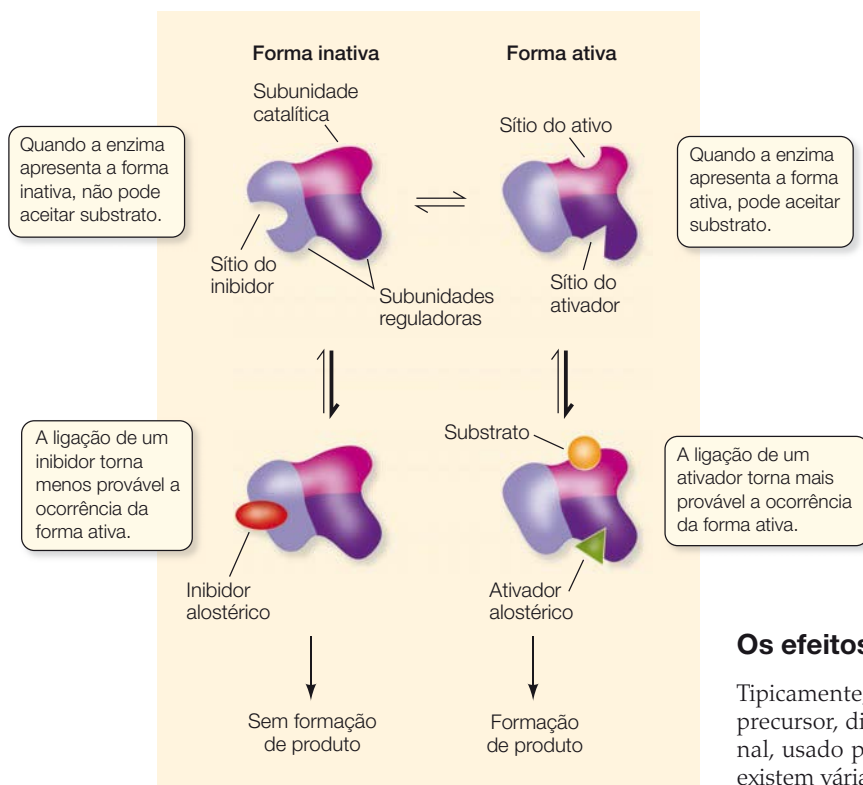
(A) Inibição competitiva**(B) Inibição não competitiva**

Figura 6.18 Regulação alostérica de enzimas

As formas ativa e inativa de uma enzima se interconvertem, dependendo da ligação das moléculas reguladoras a um local distante do sítio ativo.



Os efeitos alostéricos regulam o metabolismo

Tipicamente, as rotas metabólicas compreendem um material precursor, diversos produtos intermediários e um produto final, usado pela célula para alguma finalidade. Em cada rota, existem várias reações, cada uma formando um produto intermediário e catalisada por uma enzima diferente. Uma rota inicia pelo chamado **passo do comprometimento** (*commitment step*), significando que, uma vez ocorrida essa reação catalisada pela enzima, a “bola está rolando” e as outras conversões acontecerão em sequência, levando ao produto final. Porém, e se a célula não necessita daquele produto – se, por exemplo, o produto está disponível no seu ambiente em quantidades adequadas? Seria energeticamente dispendioso para a célula continuar produzindo algo de que não necessita.

Uma maneira de a célula resolver esse problema é bloqueando a rota metabólica. Isso realiza-se pelo produto final, que inibe alostericamente a enzima catalisadora do passo do comprometimento (**Figura 6.20**). Esse mecanismo é conhecido como **inibição por feedback** ou **inibição pelo produto final**. Quando o produto final encontra-se presente em alta concentração, parte dele se liga a um sítio alostérico da enzima do passo do comprometimento, tornando-a, assim, inativa. Em outros capítulos, descreveremos muitos outros exemplos de interações alostéricas.

As enzimas são afetadas pelo ambiente

As enzimas capacitam as células a executarem reações químicas e, rapidamente, a cumprirem processos complexos, sem o uso de extremos de temperatura e pH empregados por químicos em laboratório. No entanto, por causa de suas estruturas tridimensionais e da química de suas cadeias laterais nos seus sítios ativos, as enzimas são altamente sensíveis à temperatura e ao pH. Na Seção 3.2, descrevemos os efeitos gerais desses fatores ambientais sobre as proteínas. Aqui, examinaremos seus efeitos sobre a

to no(s) sítio(s) regulador(es) de ativadores e/ou inibidores estão diferentes sequências polipeptídicas, denominadas **subunidades reguladoras**.

As enzimas alostéricas e não alostéricas diferem muito quanto às taxas de reação quando a concentração do substrato é baixa. Essa relação é mostrada em gráficos de taxa de reação, tendo a concentração do substrato segundo variável independente. Para uma enzima não alostérica, o traçado mostra-se como o da **Figura 6.19A**. Inicialmente, a taxa de reação cresce fortemente com o aumento da concentração do substrato; após, a taxa máxima permanece constante à medida que o suprimento da enzima se torna saturado com substrato. A representação gráfica para muitas enzimas alostéricas é radicalmente diferente, tendo aparência *sigmoide* (forma de S) (**Figura 6.19B**). Sob baixas concentrações de substrato, mesmo em condição crescente, o aumento na taxa de reação é insignificante. Porém, dentro de uma certa faixa, é extremamente sensível a mudanças relativamente pequenas na concentração do substrato. Por causa dessa sensibilidade, as enzimas alostéricas são importantes na regulação de rotas metabólicas inteiras.

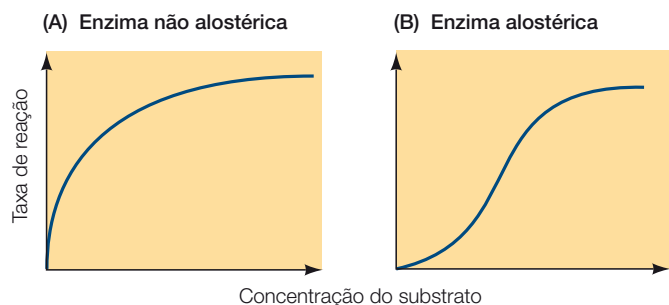
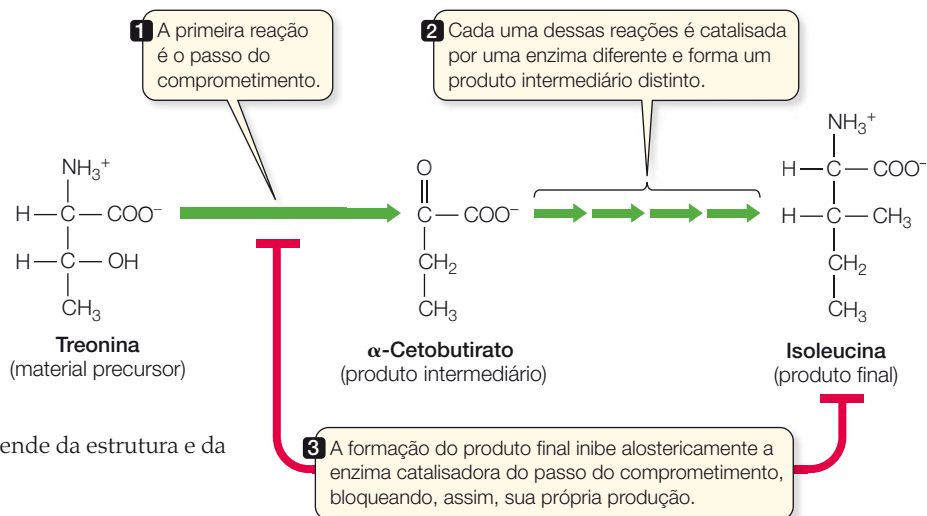


Figura 6.19 Alostéria e taxa de reação O modo como a taxa de uma reação catalisada por enzima se altera com o aumento da concentração do substrato depende se a enzima é regulada alostericamente.

Figura 6.20 Inibição por *feedback* de rotas metabólicas O passo do comprometimento catalisa-se por uma enzima alostérica que pode ser inibida pelo produto final da rota. A rota específica mostrada aqui é a síntese de isoleucina (um aminoácido) a partir da treonina em bactérias. Esta rota é típica de muitas reações biológicas catalisadas por enzimas.



função enzimática, que, naturalmente, depende da estrutura e da química da enzima.

O PH AFETA A ATIVIDADE ENZIMÁTICA As taxas da maioria das reações catalisadas por enzimas dependem do pH da solução em que ocorrem. Cada enzima é mais ativa a um pH específico; sua atividade decresce à medida que a solução fica mais ácida ou básica do que seu pH "ideal" (Figura 6.21).

Vários fatores contribuem para esse efeito. Um deles constitui na ionização de carboxila, amino e outros grupos, sobre o substrato ou a enzima. Em soluções neutras ou básicas, os grupos carboxila ($-\text{COOH}$) liberam H^+ , tornando-se grupos carboxilato carregados negativamente ($-\text{COO}^-$). De modo semelhante, os grupos amino ($-\text{NH}_2$) aceitam íons H^+ em soluções neutras ou ácidas, tornando-se grupos $-\text{NH}_3^+$ carregados positivamente (ver a discussão sobre ácidos e bases na Seção 2.4). Assim, em uma solução neutra, uma molécula com um grupo amino é atraída eletricamente por outra molécula que tem um grupo carboxila, porque ambos encontram-se ionizados e têm cargas opostas. Se, contudo, o pH muda, a ionização desses grupos pode se alterar. A um pH baixo (concentração alta de H^+), por exemplo, o excesso de H^+ pode reagir com $-\text{COO}^-$ para formar COOH . Se isso acontecer, o grupo não é mais carregado e não interage com outros grupos carregados na proteína; assim, a dobra da proteína é alterada. Se tal alteração ocorrer no sítio ativo de uma enzima, esta não pode mais ser capaz de se ligar ao seu substrato.

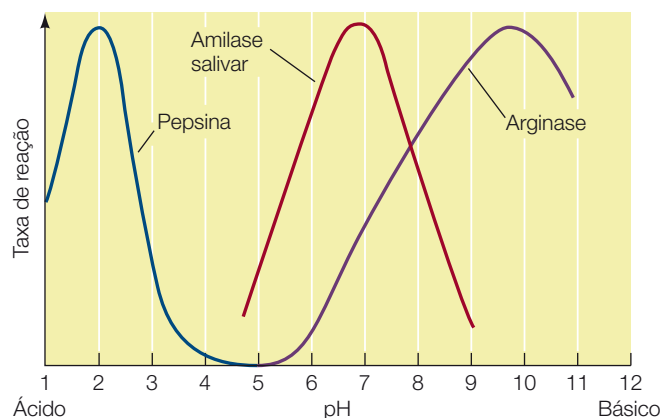


Figura 6.21 O pH afeta a atividade enzimática Cada enzima catalisa sua reação em taxa máxima em um pH específico. As curvas de atividade têm seu pico no valor de pH em que cada enzima é mais efetiva. A pepsina, por exemplo, é uma protease ativa no ambiente ácido do estômago.

A TEMPERATURA AFETA A ATIVIDADE ENZIMÁTICA Em geral, o aquecimento aumenta a taxa de uma reação catalisada por enzima, porque sob temperaturas mais altas, uma maior proporção das moléculas do reagente tem energia cinética suficiente para prover a energia de ativação da reação (Figura 6.22). No entanto, temperaturas demasiadamente altas inativam as enzimas, pois nessas condições as moléculas enzimáticas vibram e se torcem tão rapidamente que algumas das suas ligações covalentes se rompem. Quando a temperatura alta altera sua estrutura terciária, as enzimas se tornam desnaturadas e perdem sua função. Algumas desnaturam a temperaturas ligeiramente acima da do corpo humano, enquanto outras são estáveis mesmo nos pontos de ebulição ou de congelamento da água. De qualquer modo, todas as enzimas apresentam uma temperatura ótima para atuar.

Os organismos adaptam-se de várias maneiras a mudanças no ambiente. Uma dessas maneiras baseia-se em grupos de enzimas chamadas **isoenzimas**, que catalisam a mesma reação, mas têm distintas composições químicas e propriedades físicas. Isoenzimas diferentes, dentro de um determinado grupo, podem ter temperaturas ótimas distintas. A truta multicolor*, por exemplo,

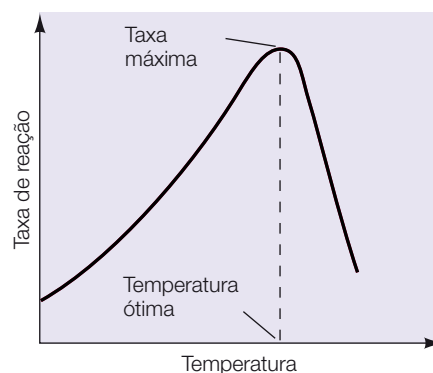


Figura 6.22 A temperatura afeta a atividade enzimática Cada enzima é mais ativa em uma temperatura ótima específica. Em temperaturas mais elevadas, a desnaturação reduz a atividade enzimática.

* N. de T. *Salmo irideus*, peixe encontrado nos Estados Unidos.

possui diversas isoenzimas da enzima acetilcolinesterase. Se uma truta multicor for transferida da água quente para outra próxima ao congelamento (2°C), ela produz uma isoenzima de acetilcolinesterase diferente da criada em temperaturas mais altas. A nova isoenzima apresenta uma temperatura ótima mais baixa, permitindo ao sistema nervoso do peixe funcionar normalmente em água mais fria.

Em geral, as enzimas adaptadas a temperaturas mais altas não desnaturam sob essas temperaturas, pois suas estruturas terciárias mantêm-se unidas por ligações covalentes, como as pontes dissulfeto, em vez de interações químicas mais fracas sensíveis ao aquecimento. Em humanos, as enzimas, na sua maioria, são mais estáveis a altas temperaturas do que as das bactérias que nos afetam, de modo que uma febre moderada tende a desnaturar as enzimas bacterianas, mas não as nossas.

6.5 RECAPITULAÇÃO

As taxas da maioria das reações catalisadas por enzimas são afetadas por substâncias químicas (tais como os inibidores) e por fatores ambientais (tais como a temperatura e o pH).

- Você poderia descrever as diferenças entre inibidores reversíveis e irreversíveis de enzimas? *Ver p. 131.*
- Como as enzimas alostéricas são reguladas? *Ver p. 131-133 e Figura 6.18.*
- Você conseguiria explicar o conceito de inibição por *feed-back*? Você poderia imaginar de que forma as reações mostradas na Figura 6.20 poderiam se ajustar a um diagrama de sistemas como o da Figura 6.15?

RESUMO DO CAPÍTULO

6.1 Que princípios físicos fundamentam as transformações biológicas de energia?

Energia é a capacidade de realizar trabalho. Em um sistema biológico, a energia utilizável denomina-se **energia livre (G)**. A energia inutilizável é a **entropia**, medida da desordem do sistema.

Energia potencial é a energia de estado ou posição; abrange a energia armazenada em ligações químicas. **Energia cinética** é a energia de movimento; trata-se do tipo de energia que pode realizar trabalho.

As **leis da termodinâmica** se aplicam aos organismos vivos. A primeira lei da termodinâmica estabelece que energia não pode ser criada ou destruída. A segunda lei estabelece que as transformações de energia diminuem a quantidade de energia disponível a fim de realizar trabalho (energia livre) e aumentam a desordem. *Rever Figura 6.2.*

A **mudança na energia livre (ΔG)** de uma reação determina seu ponto de equilíbrio químico, em que as reações para frente e no sentido inverso prosseguem no mesmo ritmo.

As **reações exergônicas** liberam energia livre e possuem ΔG negativo. As **reações endergônicas** consomem ou requerem energia livre e apresentam ΔG positivo. As reações endergônicas prosseguem apenas se for fornecida energia livre. *Rever Figura 6.3.*

Metabolismo é a soma total das reações bioquímicas (metabólicas) em um organismo. As **reações catabólicas** associam-se à decomposição de moléculas complexas e liberam energia (exergônicas). As **reações anabólicas** formam a complexidade na célula e são endergônicas.

6.2 Qual é o papel do ATP na energética bioquímica?

O **ATP (adenosina trifosfato)** serve como moeda de energia nas células. A hidrólise de ATP desprende uma quantidade relativamente grande de energia livre.

O ciclo do ATP une reações exergônica e endergônica, transferindo energia livre da reação exergônica para a endergônica. *Rever Figura 6.6.*

6.3 O que são enzimas?

A **taxa** de uma reação química independe do ΔG , mas é determinada pela **barreira energética**. As **enzimas** são proteínas

catalisadoras que afetam as taxas de reações biológicas através da diminuição da barreira energética, fornecendo a **energia de ativação** necessária para iniciar a reação.

Os **substratos** se ligam ao **sítio ativo** da enzima – o sítio de **catálise** – formando um **complexo enzima-substrato**. As enzimas são altamente específicas para seus substratos.

No sítio ativo, um substrato pode ser corretamente orientado, modificado quimicamente ou sofrer tensão. Como resultado, o substrato forma prontamente seu **estado de transição**, e a reação prossegue. *Rever Figura 6.9.*

6.4 Como as enzimas trabalham?

A ligação ao substrato provoca alteração na forma de muitas enzimas, expondo seu (s) sítio(s) ativo(s) e permitindo a catálise. Essa alteração de forma chama-se **ajuste induzido**. *Rever Figura 6.10.*

Algumas enzimas requerem outras substâncias, conhecidas como **cofatores**, para funcionar como catalisadoras. Os grupos prostéticos ligam-se permanentemente à enzima; as **coenzimas** não. As **coenzimas** podem ser consideradas substratos, à medida que se alteram pela reação e depois são liberadas da enzima.

A concentração do substrato afeta a taxa de uma reação catalisada por enzima.

6.5 Como são reguladas as atividades das enzimas?

O metabolismo é organizado em rotas em que o produto de uma reação é o reagente da reação seguinte. Cada reação da rota é catalisada por uma enzima.

A atividade da enzima sujeita-se à regulação. Alguns inibidores reagem irreversivelmente com enzimas; outros reagem de maneira reversível.

Os **reguladores alostéricos** se ligam a um local diferente do sítio ativo e estabilizam a forma ativa ou inativa de uma enzima. *Rever Figura 6.18.*

O produto final de uma rota metabólica pode inibir a enzima alostérica que catalisa o **passo do comprometimento** da rota. *Rever Figura 6.20.*

As enzimas são sensíveis ao seu ambiente. O pH e a temperatura afetam a atividade enzimática. *Rever Figuras 6.21 e 6.22.*

QUESTÕES

- As coenzimas diferem das enzimas por serem:
 - ativas apenas fora da célula.
 - polímeros de aminoácidos
 - moléculas menores, tais como as vitaminas.
 - específicas para uma reação.
 - sempre transportadores de fosfato altamente energético.
- Qual afirmação é verdadeira em relação à termodinâmica?
 - A energia livre é usada em uma reação exergônica.
 - A energia livre não pode ser usada para realizar trabalho.
 - A quantidade total de energia pode mudar após uma transformação química.
 - A energia livre pode ser energia cinética, mas não potencial.
 - A entropia tem tendência a aumentar.
- Em uma reação química,
 - a taxa depende do valor de ΔG .
 - a taxa depende da energia de ativação.
 - a alteração da entropia depende da energia de ativação.
 - a energia de ativação depende do valor de ΔG .
 - a alteração na energia livre depende da energia de ativação.
- Qual afirmação *não* é verdadeira para enzimas?
 - Geralmente consistem em proteínas.
 - Alteram a taxa da reação catalisada.
 - Alteram o ΔG da reação.
 - São sensíveis ao calor.
 - São sensíveis ao pH.
- O sítio ativo de uma enzima:
 - nunca muda de forma.
 - não forma ligações químicas com substratos.
 - pela sua estrutura, determina a especificidade da enzima.
 - parece uma massa amorfa se projetando da superfície da enzima.
 - altera o ΔG da reação.
- A molécula de ATP é
 - componente da maioria das proteínas.
 - altamente energética devido à presença de adenina.
 - requerida por muitas reações bioquímicas produtoras de energia.
 - catalisadora.
 - usada em algumas reações endergônicas para fornecer energia.
- Em uma reação catalisada por enzima,
 - o substrato não se altera.
 - a taxa decresce à medida que a concentração do substrato aumenta.
 - a enzima pode ser permanentemente alterada.
 - pode ser adicionada tensão a um substrato.
 - a taxa não é afetada pela concentração do substrato.
- Qual afirmação *não* é verdadeira em relação aos inibidores de enzimas?
 - Um inibidor competitivo se liga ao sítio ativo da enzima.
 - Um inibidor alostérico liga um sítio na forma ativa da enzima.
 - Um inibidor não competitivo se liga a um local diferente do sítio ativo.
 - A inibição não competitiva não pode ser completamente superada pela adição de mais substrato.
 - A inibição competitiva pode ser completamente superada pela adição de mais substrato.
- Qual afirmação *não* é verdadeira para inibição de enzimas por *feedback*?
 - É exercida através de efeitos alostéricos.
 - É dirigida à enzima que catalisa o primeiro passo comprometido em uma rota metabólica.
 - Afeta a taxa de reação, não a concentração da enzima.
 - Atua muito lentamente.
 - É um exemplo de inibição irreversível.
- Qual afirmação *não* é verdadeira para os efeitos da temperatura?
 - A elevação da temperatura pode reduzir a atividade de uma enzima.
 - A elevação da temperatura pode aumentar a atividade de uma enzima.
 - A elevação da temperatura pode desnaturar uma enzima.
 - Algumas enzimas são estáveis no ponto de ebulição da água.
 - Todas as enzimas têm a mesma temperatura ótima.

PARA DISCUSSÃO

1. O que torna possível o prosseguimento de reações endergônicas em organismos?
2. Considere duas proteínas: uma é enzima dissolvida no citosol; a outra é um canal iônico em sua membrana plasmática. Compare as estruturas das duas proteínas, indicando pelo menos duas diferenças importantes.
3. Represente o gráfico da energia livre *versus* o andamento de uma reação endergônica e o de uma reação exergônica. Inclua a energia de ativação em ambos os gráficos e indique E_a e ΔG em cada um deles.
4. Considere uma enzima sujeita à regulação alostérica. Se um inibidor competitivo (não um inibidor alostérico) for adicionado a uma solução contendo tal enzima, aumenta a razão de moléculas de enzima na forma ativa em relação àquelas na forma inativa. Explique essa observação.

PARA INVESTIGAÇÃO

Em humanos, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é uma toxina perigosa produzida como subproduto de várias rotas metabólicas. A acumulação de H_2O_2 é impedida através da sua conversão em H_2O (inofensiva), reação catalisada pela enzima denominada catalase. Os poluentes do ar podem

inibir essa enzima, tornando certos indivíduos suscetíveis a danos nos tecidos por ação do H_2O_2 . De que modo você investigaria se a catalase tem mecanismo alostérico ou não alostérico, e se os poluentes atuam como inibidores competitivos ou não competitivos?

Rotas Celulares que Captam Energia Química

Sobre camundongos e maratonas

Assim como o êxito em seu curso de biologia, a vitória em uma maratona importante só vem após trabalho árduo. Os músculos das pernas de maratonistas de elite contêm mais mitocôndrias do que os da maioria das pessoas. A energia química liberada pela hidrólise de ATP nessas mitocôndrias pode ser convertida em energia mecânica para movimentar os músculos.

As células do tecido muscular se reúnem em dois tipos de fibras. A maioria das pessoas possui proporções aproximadamente iguais de fibras de cada tipo. Todavia, nos maratonistas de topo, 90% dos músculos do corpo possuem as assim chamadas fibras *de contração lenta*. As células dessas fibras têm muitas mitocôndrias e utilizam oxigênio para decompor gorduras e carboidratos, formando ATP. Por outro lado, os músculos de velocistas são formados por aproximadamente 80% de fibras *de contração rápida*, que apresentam menos mitocôndrias. As fibras de contração rápida geram “explosões” de ATP na ausência de O_2 , mas o ATP é logo utilizado. Pesquisas extensivas com atletas mostram que o treinamento pode melhorar a eficiência da circulação do sangue nas fibras musculares, proporcionando mais oxigênio e até mesmo uma mudança

da relação entre fibras de contração rápida e fibras de contração lenta.

Agora entra o camundongo da maratona. Não se trata de um desenho animado ou jogo de computador, mas um camundongo bem real, programado geneticamente por Ron Evans, do *Salk Institute*, para expressar níveis altos da proteína PPAR δ em seus músculos. Essa proteína normalmente controla a decomposição de gordura em tecidos adiposos e também está presente em músculos de contração lenta, onde estimula a decomposição controlada de gorduras para produzir ATP. O camundongo de Evan foi concebido para decompor melhor as gorduras e, portanto, ser mais magro – mas o resultado dessa pesquisa trouxe um bônus inesperado. Com níveis altos de PPAR δ , houve aumento em fibras de contração lenta e decréscimo em fibras de contração rápida. Era como se, por um longo período, o camundongo tivesse sido treinado para maratona!

Os camundongos maratonistas são mais magros e mais hábeis do que os camundongos comuns. Mais magros, pois são eficientes na queima de gordura; e mais hábeis em termos de capacidade de correr por longas distâncias. Em uma roda giratória de exercício (ver ilustração a seguir), um camundongo normal pode correr por 90 minutos, aproximadamente meia milha (900 metros), antes de fatigar-se. Os camundongos

com aumento de PPAR δ podem percorrer distâncias quase duas vezes mais longas e duas vezes mais rápido – marcas de verdadeiros corredores de longas distâncias. Poderíamos também manipular genes a fim de aumentar o desempenho (e a queima de gordura) em humanos?

A engenharia genética de pessoas, se exequível, provavel-

Atletas maratonistas É necessário treinar muito para correr uma maratona. Como resultado de todo esse treinamento, os músculos das pernas têm aumento pronunciado de fibras de contração lenta, cujas células são ricas em mitocôndrias.





Camundongo maratonista Este camundongo pode percorrer uma distância muito maior do que a alcançada por um camundongo normal, porque seu metabolismo energético foi alterado geneticamente.

mente situa-se num futuro distante. Todavia, o implante de tecido muscular geneticamente alterado de fato não é uma ideia inconcebível, e já tem provocado preocupações quanto ao aumento inadequado do estado atlético. Mais provável, a curto prazo, é o uso de uma droga experimental denominada GW501516 (desenvolvida pela indústria Glaxo-Smith/Kline), que ativa a proteína PPAR δ . Ao utilizar a droga em camundongos normais, Evans e colaboradores alcançaram os mesmos resultados obtidos com camundongos geneticamente modificados. Por estimular a decomposição de gorduras, essa droga está sendo testada no tratamento da obesidade.

A energia armazenada no ATP é a que você sempre utiliza para suprir ações conscientes, correr uma maratona ou virar a página deste livro, por exemplo, e ações automáticas do seu corpo, como respirar ou contrair os músculos do coração.

NESTE CAPÍTULO descobrimos de que modo as células produzem energia utilizável, comumente na forma de ATP. Descrevemos a rota metabólica pela qual a glicose é oxidada, tanto na presença quanto na ausência de O₂. Concluímos o capítulo com uma abordagem geral sobre as relações entre as rotas metabólicas que utilizam e produzem as quatro classes de moléculas biologicamente importantes – carboidratos, gorduras, proteínas e ácidos nucleicos.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 7.1** De que forma a oxidação da glicose libera energia química?
- 7.2** Quais são as rotas aeróbias do metabolismo da glicose?
- 7.3** Como a energia é produzida a partir da glicose na ausência do oxigênio?
- 7.4** Como a oxidação da glicose forma ATP?
- 7.5** Por que a respiração celular produz muito mais energia do que a fermentação?
- 7.6** Como as rotas metabólicas são correlacionadas e controladas?

7.1 De que forma a oxidação da glicose libera energia química?

Os combustíveis são moléculas cuja energia armazenada pode ser liberada para utilização. A queima de madeira em uma fogueira libera energia na forma de calor e luz. Nas células, os combustíveis químicos liberam energia química que se emprega para produzir ATP, que, por sua vez, pode ser usado para acionar reações endergônicas.

Os organismos fotossintéticos utilizam energia da luz solar na síntese de seus próprios combustíveis, conforme descreveremos no Capítulo 8. Entretanto, nos organismos não fotossintéticos o combustível químico mais comum é a glicose (C₆H₁₂O₆), um açúcar. Outras moléculas, tais como as gorduras ou as proteínas, também podem fornecer energia, mas, para liberá-la, precisam ser convertidas em glicose ou em compostos intermediários nas diversas rotas do metabolismo da glicose.

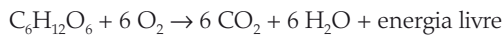
Nesta seção, examinamos de que modo as células obtêm energia da glicose através do processo químico de oxidação, que se cumpre através de uma série de rotas metabólicas. Vários princípios, alguns dos quais mencionados na Seção 6.5, governam as rotas metabólicas:

- Transformações químicas complexas na célula ocorrem em uma série de reações separadas que constituem uma rota metabólica.
- Cada reação de uma rota metabólica catalisa-se por uma enzima específica.
- As rotas metabólicas assemelham-se em todos organismos, de bactérias até humanos.
- Muitas rotas metabólicas são compartimentadas em eucariotos, com certas reações ocorrendo no interior de organelas específicas.
- Cada rota metabólica regula-se por enzimas-chave, que podem ser inibidas ou ativadas, determinando, assim, a velocidade das reações.

As células capturam energia enquanto metabolizam glicose

Conforme vimos na Seção 2.3, o processo familiar de combustão (queima) assemelha-se muito aos processos químicos que liberam energia em células. Se a glicose for queimada

numa chama, reage com o gás oxigênio (O_2), formando dióxido de carbono e água e liberando energia sob forma de calor. A equação equilibrada dessa reação de combustão é



A mesma equação emprega-se para o metabolismo da glicose em células. Os princípios do metabolismo citado acima também se aplicam a esse processo: o metabolismo da glicose constitui-se de uma rota em várias etapas; cada qual catalisada por uma enzima; o processo é compartimentado; e a rota fica sob controle enzimático.

A rota do metabolismo da glicose “captura” a energia armazenada de glicose em moléculas de ATP através da reação



A energia capturada no ATP pode ser usada para realizar trabalho celular, como o movimento de músculos ou o transporte ativo através de uma membrana, assim como a energia calorífica capturada da combustão pode ser empregada para efetuar trabalho.

A mudança em energia livre (ΔG) resultante da conversão completa de glicose e do O_2 em CO_2 e água, seja por combustão ou por metabolismo, é de -686 kcal/mol (-2.870 kJ/mol). Portanto, a reação global é altamente exergônica e pode acionar a formação endergônica de grande quantidade de ATP a partir de ADP e fosfato. As muitas etapas do metabolismo da glicose permitem que essa energia seja capturada em ATP.

Três processos metabólicos desempenham papéis importantes na utilização da glicose no fornecimento de energia da glicose: *glicólise*, *respiração celular* e *fermentação* (Figura 7.1). Todos os três envolvem rotas metabólicas constituídas de muitas e distintas reações químicas.

- A **glicólise** inicia o metabolismo da glicose em todas as células e produz duas moléculas de *piruvato*, constituído de três átomos de carbono. Uma pequena quantidade da energia armazenada na glicose é capturada em formas utilizáveis. A glicólise não usa O_2 .
- A **respiração celular** utiliza O_2 (portanto, é **aeróbia**) do ambiente e converte completamente cada molécula de piruvato em três moléculas de CO_2 , através de um conjunto de rotas metabólicas. Nesse processo, uma grande parte da energia armazenada nas ligações covalentes de piruvato é liberada e transferida para ADP e fosfato para formar ATP.
- A **fermentação** não envolve O_2 (portanto é **anaeróbia**). A fermentação converte piruvato em ácido láctico ou álcool etil (etanol), que são moléculas ainda relativamente ricas em energia. Por ser incompleta a decomposição da glicose, muito menos energia libera-se através da fermentação do que pela respiração celular.

Uma visão geral: utilização de energia da glicose

Os processos de utilização de energia em células empregam diferentes combinações de rotas metabólicas, dependendo da presença ou ausência de O_2 :

- Quando O_2 está disponível comoceptor final de elétrons, operam quatro rotas (Figura 7.2A). A **glicólise** ocorre primeiro, seguida pelas três rotas da respiração celular: **oxidação do piruvato**, **ciclo do ácido cítrico** (também denominado *ciclo de Krebs* ou *ciclo do ácido tricarbóxico*) e a **cadeia de transporte de elétrons** (ou ainda *cadeia respiratória*).
- Quando O_2 não está disponível, a oxidação do piruvato, o ciclo do ácido cítrico e a cadeia de transporte de elétrons não

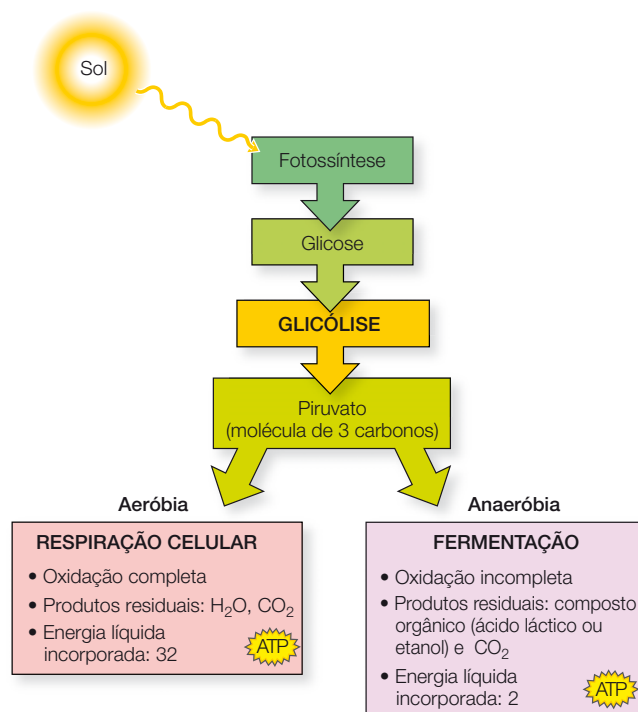


Figura 7.1 Energia para a vida Os organismos vivos obtêm sua energia dos compostos alimentícios produzidos pela fotossíntese. Eles convertem esses compostos em glicose, que metabolizam por meio da glicólise para produzir piruvato, um composto com três carbonos. As moléculas de piruvato são depois metabolizadas por fermentação (anaeróbia) ou por respiração celular (aeróbia). O resultado líquido é a energia “capturada” em moléculas de ATP, que fornecem energia às atividades de células vivas.

funcionam; além disso, o piruvato produzido pela glicólise metaboliza-se pela **fermentação** (Figura 7.2B).

Essas cinco rotas metabólicas, que consideraremos uma de cada vez, ocorrem em locais diferentes na célula (Tabela 7.1).

As reações redox transferem elétrons e energia

Conforme o descrito na Seção 6.2, a adição de grupos fosfato ao ADP, a fim de produzir ATP, é uma reação endergônica, que pode extrair e armazenar energia de reações exergônicas. Outra maneira de transferir energia se dá pela transferência de elétrons. Quando uma substância transfere um ou mais elétrons a outra substância, ocorre uma *reação de oxidação-redução* ou **reação redox**.

- **Redução** é o ganho de um ou mais elétrons por um átomo, íon ou molécula.
- **Oxidação** é a perda de um ou mais elétrons.

Embora a oxidação e a redução sejam sempre definidas para transporte de elétrons, podemos também adotar esses termos quando são ganhos ou perdidos átomos de hidrogênio (*não* íons hidrogênio), porque as transferências de átomos de hidrogênio envolvem transferências de elétrons ($H = H^+ + e^-$). Portanto, quando uma molécula perde átomos de hidrogênio, ela se torna oxidada.

A oxidação e a redução *sempre ocorrem juntas*: quando um material oxida-se, os elétrons que ele perde são transferidos a um outro material, reduzindo-o. Em uma reação redox, o reagente que se torna reduzido é um *agente oxidante* e o que se torna oxidado é

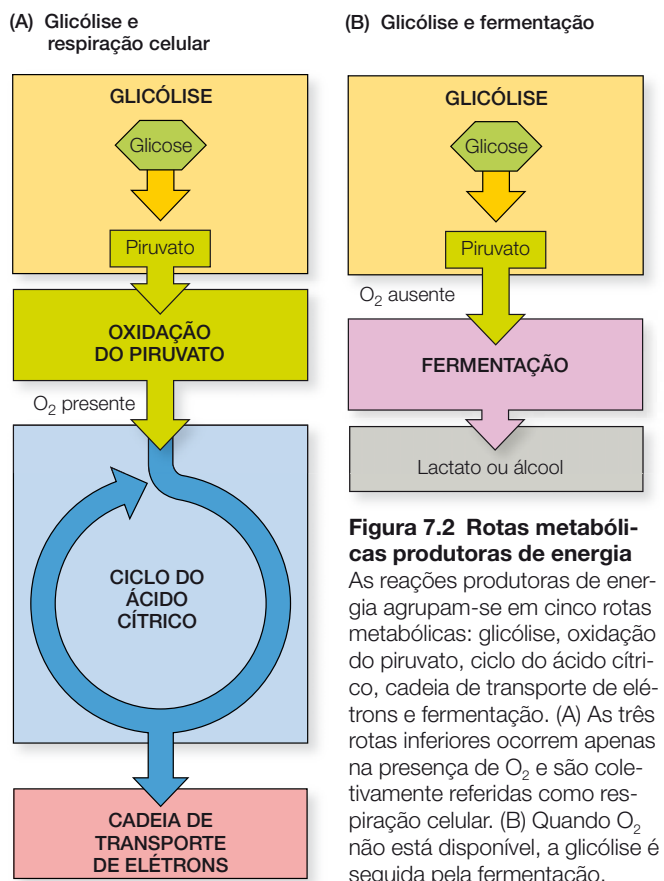


Figura 7.2 Rotas metabólicas produtoras de energia
As reações produtoras de energia agrupam-se em cinco rotas metabólicas: glicólise, oxidação do piruvato, ciclo do ácido cítrico, cadeia de transporte de elétrons e fermentação. (A) As três rotas inferiores ocorrem apenas na presença de O₂ e são coletivamente referidas como respiração celular. (B) Quando O₂ não está disponível, a glicólise é seguida pela fermentação.

um agente redutor (Figura 7.3). Na combustão e no metabolismo da glicose, esta é o agente redutor (doador de elétrons) e O₂ é o agente oxidante (aceptor de elétrons).

Em uma reação redox, a energia é transferida. Grande parte da energia originalmente presente no agente redutor se torna associada ao produto reduzido. (O restante permanece no agente

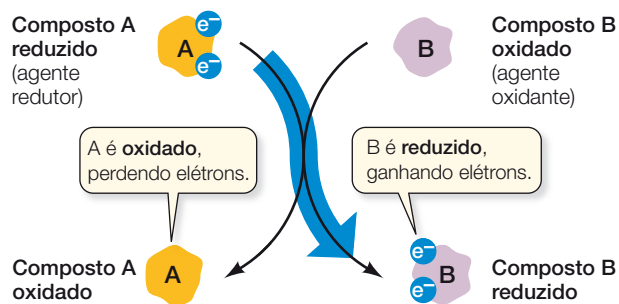


Figura 7.3 A oxidação e a redução estão acopladas Em uma reação redox, o reagente A é oxidado e o reagente B é reduzido. Nesse processo, A perde elétrons e B ganha elétrons. Os prótons podem ser transferidos junto com elétrons, assim o que realmente transfere-se (seta azul larga) são átomos de hidrogênio: $AH_2 + B \rightarrow A + BH_2$.

reductor ou se perde.) Conforme veremos, algumas das reações-chave da glicólise e da respiração celular são reações redox altamente exergônicas.

A coenzima NAD é um transportador-chave de elétrons em reações redox

Na Seção 6.4 descrevemos o papel das coenzimas, moléculas pequenas que auxiliam em reações catalisadas por enzimas. O ADP atua como coenzima, quando capta energia liberada em uma reação exergônica e a utiliza na formação de ATP (uma reação endergônica). De maneira similar, a coenzima **NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo)** atua como transportador de elétrons, neste caso em reações redox (Figura 7.4A).

NAD ocorre em duas formas quimicamente distintas, uma oxidada (NAD⁺) e a outra reduzida (NADH + H⁺) (Figura 7.4B). Essas formas participam em reações redox biológicas. A reação de redução

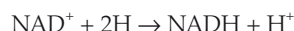
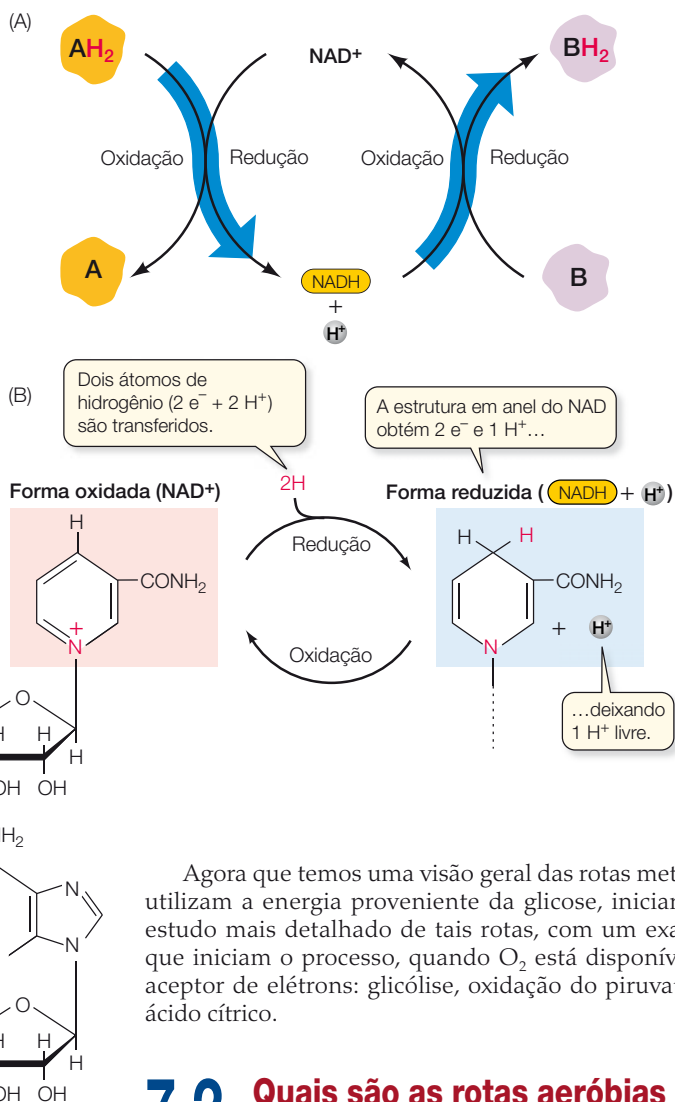


TABELA 7.1 Localizações celulares de rotas de energia em eucariotos e procariotos

	EUCARIOTOS	PROCARIOTOS
	Externamente à mitocôndria	No citoplasma
	Glicólise	Glicólise
	Fermentação	Fermentação
		Ciclo do ácido cítrico
	No interior da mitocôndria	Na membrana plasmática
	Membrana interna	Oxidação do piruvato
	Cadeia de transporte de elétrons	Cadeia de transporte de elétrons
	Matriz	
	Ciclo do ácido cítrico	
	Oxidação do piruvato	

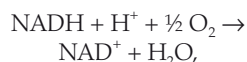


Figura 7.4 NAD é um transportador de energia em reações redox Graças à sua capacidade de transportar energia livre e elétrons, NAD consiste no principal transportador de energia em reações redox e um intermediário energético universal em células. (A) Cada seta preta curvada representa ou uma reação de oxidação ou uma reação de redução. A seta azul larga mostra o trecho de transferência de elétrons (compare com a Figura 7.2). (B) NAD^+ é a forma oxidada e NADH a forma reduzida de NAD. A porção não sombreada da molécula permanece inalterada pela reação redox.



equivale formalmente à transferência de dois átomos de hidrogênio ($2\text{H}^+ + \text{e}^-$). Entretanto, o que de fato se transfere é um *íon hidrido* (H^- , um próton e dois elétrons), deixando um próton livre (H^+). Essa notação destaca que a redução vem acompanhada por adição de elétrons.

O oxigênio é altamente negativo e prontamente aceita elétrons de NADH . A oxidação de $\text{NADH} + \text{H}^+$ pelo O_2 ,



é altamente exergônica, com ΔG de $-52,4 \text{ kcal/mol}$ (-219 kJ/mol). Observe que o agente oxidante aparece como " $\frac{1}{2} \text{O}_2$ ", em vez de " O ".*

Do mesmo modo que uma molécula de ATP pode ser imaginada um pacote com aproximadamente 12 kcal/mol (50 kJ/mol) de energia livre, NAD pode ser considerado um pacote de energia livre em feixes maiores (aproximadamente 50 kcal/mol ou 200 kJ/mol). NAD não se trata de um transportador de elétrons comum em células, mas não o único. Como você verá, um outro transportador, **FAD (flavina adenina dinucleotídeo)**, também transfere elétrons durante o metabolismo da glicose.

7.1 RECAPITULAÇÃO

Quando a glicose oxigena-se, a energia livre liberada é capturada no ATP. As cinco rotas metabólicas da célula se associam de maneiras diferentes de modo a produzir ATP, que fornece a energia a numerosas outras reações em células vivas.

- Que princípios governam as rotas metabólicas nas células? Ver p. 139.
- Você sabe como o acoplamento de oxidação e redução pode transferir energia de uma molécula para outra? Ver p. 140-141 e Figura 7.2.
- Você conhece os papéis de NAD e O_2 com respeito aos elétrons em uma reação redox? Ver p. 141-142 e Figura 7.3.

Agora que temos uma visão geral das rotas metabólicas que utilizam a energia proveniente da glicose, iniciaremos nosso estudo mais detalhado de tais rotas, com um exame das três que iniciam o processo, quando O_2 está disponível como um aceptor de elétrons: glicólise, oxidação do piruvato e ciclo do ácido cítrico.

7.2 Quais são as rotas aeróbias do metabolismo da glicose?

A glicólise ocorre no citosol. Ela converte glicose em piruvato, produz uma quantidade pequena de energia e não gera CO_2 . Na glicólise, algumas das ligações covalentes entre carbono e hidrogênio na sua molécula oxidam-se, liberando parte da energia armazenada nesse carboidrato. Após dez reações catalisadas por enzimas, os produtos finais da glicólise são duas moléculas de **piruvato** (ácido pirúvico), quatro moléculas de ATP e duas moléculas de NADH . A glicólise divide-se em dois estágios: reações investidoras em energia, que usam ATP, e reações produtoras de energia, que produzem ATP (Figura 7.5).

As reações da glicólise investidoras em energia requerem ATP

A Figura 7.5 permite acompanhar inteiramente a rota glicolítica.

As primeiras cinco reações são *endergônicas*. Isso significa que a célula está investindo energia livre na molécula de glicose, mais do que liberando energia dela. Em duas reações separadas (*reações 1 e 3* na Figura 7.5), a energia de duas moléculas de ATP é investida na ligação de dois grupos fosfato a uma molécula de glicose para formar frutose-1,6-bifosfato, que tem uma energia livre substancialmente mais alta do que a da glicose. Posterior-

* Essa notação enfatiza que o oxigênio molecular, O_2 , atua como o agente oxidante.

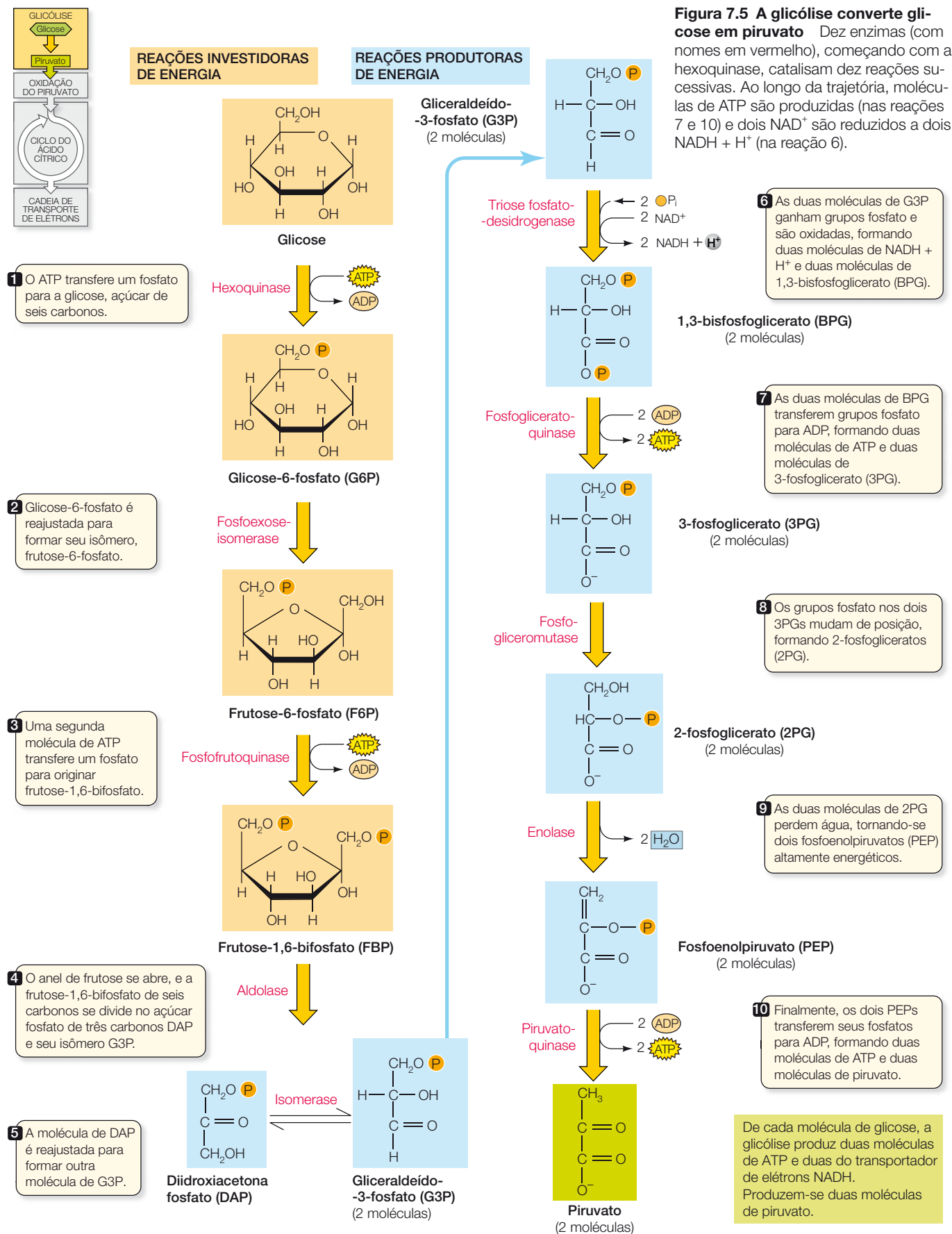


Figura 7.5 A glicólise converte glicose em piruvato Dez enzimas (com nomes em vermelho), começando com a hexoquinase, catalisam dez reações sucessivas. Ao longo da trajetória, moléculas de ATP são produzidas (nas reações 7 e 10) e dois NAD⁺ são reduzidos a dois NADH + H⁺ (na reação 6).

mente, esses grupos fosfato serão transferidos ao ADP a fim de formar novas moléculas de ATP.

Embora esses dois passos da glicólise usem ATP como um dos seus substratos, cada um é catalisado por uma enzima diferente e específica. A enzima hexoquinase catalisa a *reação 1*, na qual um grupo fosfato do ATP incorpora-se à molécula de glicose, formando glicose-6-fosfato. (*Quinase* é toda enzima que catalisa a transferência de um grupo fosfato do ATP para outro substrato.) Na *reação 2*, o anel de glicose de seis elementos é reorganizado em um anel de frutose de cinco elementos. Na *reação 3*, a enzima fosfofrutoquinase adiciona um segundo fosfato (tomado de outro ATP) ao anel de frutose, formando um açúcar de seis carbonos, frutose-1,6-bifosfato.

A *reação 4* abre o anel de açúcar de seis carbonos e o decompõe em duas moléculas de açúcar fosfato diferentes com três carbonos cada: diidroxiacetona fosfato e gliceraldeído-3-fosfato. Na *reação 5*, um daqueles produtos, diidroxiacetona fosfato, converte-se em uma segunda molécula do outro açúcar, gliceraldeído-3-fosfato (G3P, uma triose fosfato). Em resumo, no ponto médio da rota glicolítica aconteceram dois eventos:

- Duas moléculas de ATP foram investidas.
- A molécula de glicose (seis carbonos) converteu-se em duas moléculas de açúcar

As reações da glicólise produtoras de energia rendem NADH + H⁺ e APT

Na discussão que segue, lembre que *cada reação ocorre duas vezes para cada molécula de glicose*, porque cada molécula de glicose decompõe-se em duas moléculas de G3P. Este é o destino do G3P que agora nos interessa – sua transformação irá gerar NADH + H⁺ e ATP.

PRODUZINDO NADH + H⁺ A *reação 6* é catalisada pela enzima triose-fosfato-desidrogenase, e seu produto final é um fosfato éster, 1,3-bisfosfoglicerato (BPG). A reação 6 consiste em uma *oxidação*, sendo acompanhada por uma grande queda de energia livre – mais do que 100 kcal de energia por mol de glicose são liberadas nessa reação exergônica (**Figura 7.6**). Se essa grande queda de energia fosse simplesmente uma perda de calor, a glicólise não forneceria energia útil à célula. Entretanto, em vez de ser perdida através de calor, essa energia é *armazenada* na forma de energia química pela redução de duas moléculas de NAD⁺, criando duas moléculas de NADH + H⁺.

Uma vez que NAD⁺ encontra-se presente em quantidades pequenas na célula, precisa ser reciclado para permitir a continuação da glicólise; se nada do NADH for oxidado de volta a NAD⁺, a glicólise cessa. As rotas metabólicas que seguem a glicólise realizam essa oxidação, conforme veremos.

PRODUZINDO ATP Nas *reações 7-10* da glicólise, os dois grupos fosfato de BPG se transferem, um de cada vez, para moléculas de ADP, com um rearranjo. Mais do que 20 kcal (83,6 kJ/mol) de energia livre são armazenadas em ATP, para cada mol de BPG decomposta. Finalmente, sobram dois moles de piruvato a cada mol de glicose que ingressou na glicólise.

A transferência de grupos fosfato das moléculas doadoras para as de ADP, a fim de formar ATP, é catalisada por enzima, e denomina-se **fosforilação ao nível do substrato**. (*Fosforilação* consiste na adição de um grupo fosfato a uma molécula. A *fosforilação ao nível de substrato* se distingue da fosforilação oxidativa realizada pela cadeia de transporte de elétrons, que discutiremos mais tarde

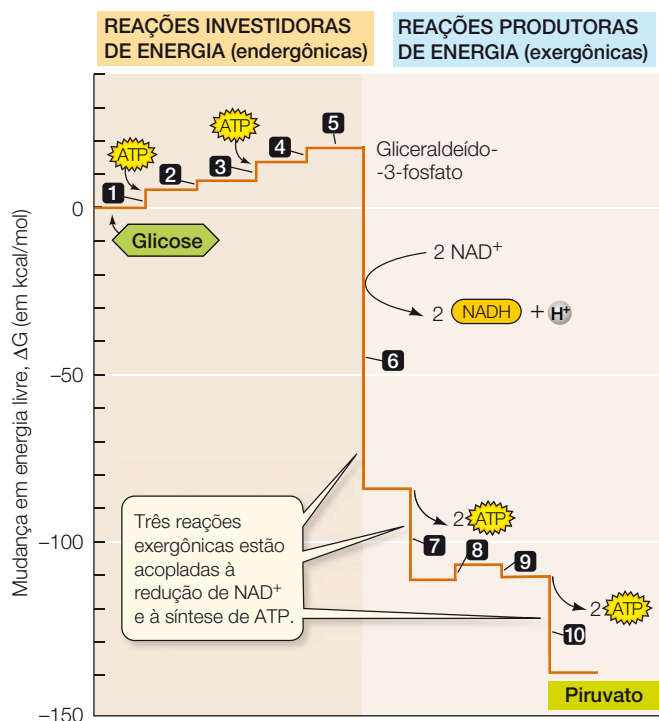


Figura 7.6 Mudanças na energia livre durante a glicólise Cada reação da glicólise resulta em mudança na energia livre. Localize na Figura 7.5 as reações numeradas (por exemplo, a reação 1 é catalisada pela hexoquinase).

Cada glicose produz:
2 Piruvatos
2 NADH + 2 H⁺
2 ATP

neste capítulo.) Na glicólise, a energia liberada pela oxidação é utilizada para formar NADH. Um exemplo de fosforilação ao nível de substrato ocorre na *reação 7*, em que a fosfoglicerato-quinase catalisa a transferência de um grupo fosfato de BPG para ADP, formando ATP. As reações 6 e 7 são exergônicas, embora uma quantidade substancial de energia seja consumida na formação de ATP.

Para resumir:

- As etapas da glicólise investidoras de energia usam a energia da hidrólise de duas moléculas de ATP por molécula de glicose.
- As etapas da glicólise liberadoras de energia produzem quatro moléculas de ATP por molécula de glicose.

Se O₂ está presente, a glicólise é seguida pelas três rotas da respiração celular.

A oxidação do piruvato une a glicólise e o ciclo do ácido cítrico

A oxidação do piruvato a acetato e sua conversão subsequente a **acetil CoA** é a ligação entre a glicólise e todas as outras reações da respiração celular (ver Figura 7.7). A coenzima A (CoA) é uma molécula complexa responsável pela ligação da molécula de acetato de dois carbonos. A formação de acetil CoA é uma reação de muitos passos, catalisada pelo *complexo piruvato desidrogenase*, enorme complexo multienzimático que se vincula à membrana mitocondrial interna. O piruvato se difunde na mitocôndria, onde ocorre uma série de reações acopladas:

1. O piruvato oxida-se, produzindo um grupo acetil de dois carbonos (acetato), e CO_2 é liberado.
2. Parte da energia dessa oxidação é capturada pela redução de NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$.
3. Um pouco da energia restante fica armazenado temporariamente pela combinação do grupo acetil com CoA:



O acetil CoA possui 7,5 kcal/mol (31,4 kJ/mol) mais energia do que o simples acetato. Este pode conceder o grupo acetil a moléculasceptoras, tanto quanto o ATP pode doar grupos fosfato a diversos aceptores. O acetil CoA doa seu grupo acetil ao oxaloacetato (um composto de quatro carbonos) para formar citrato (seis carbonos), o composto que inicia o ciclo do ácido cítrico, uma das mais importantes rotas de produção de energia.

O arsênico, clássico veneno no extermínio de roedores e nos romances policiais, inibe a piruvato-desidrogenase, decrescendo, assim, a produção de acetil CoA. A falta de acetil CoA cessa o ciclo do ácido cítrico e as células acabam “morrendo de fome”, por falta de ATP.

O ciclo do ácido cítrico completa a oxidação da glicose a CO_2

O acetil CoA é o ponto de partida para o ciclo do ácido cítrico. Essa rota de oito reações oxida completamente o grupo acetil de dois carbonos, produzindo duas moléculas de dióxido de carbono. A energia livre desprendida dessas é capturada por ADP e os transportadores de elétrons NAD e FAD. A **Figura 7.7** mostra a energética da rota. Além disso, lembre que a energia é liberada na oxidação e armazenada ou em ATP, FADH_2 ou $\text{NADH} + \text{H}^+$.

O ciclo do ácido cítrico mantém-se em *estado estacionário*, isto é, embora os compostos intermediários entrem e saiam do ciclo, as concentrações deles não mudam muito. Preste especial atenção às reações numeradas na **Figura 7.8**, durante a leitura dos próximos parágrafos.

A energia armazenada temporariamente no acetil CoA aciona a formação de citrato a partir de oxaloacetato (*reação 1*). Durante essa reação, a molécula de coenzima A é removida e pode ser reutilizada. Na *reação 2*, a molécula de citrato é rearranjada para formar isocitrato. Na *reação 3*, uma molécula de CO_2 e dois átomos de hidrogênio são removidos, convertendo isocitrato em α -cetoglutarato. Essa reação

produz grande queda em energia livre, parte da qual armazena-se em $\text{NADH} + \text{H}^+$.

A *reação 4* do ciclo do ácido cítrico, em que α -cetoglutarato é oxidado a acetil CoA, assemelha-se à oxidação de piruvato a acetil CoA e, como aquela reação, é catalisada por um complexo multi-enzimático. Na *reação 5*, parte da energia em succinil CoA é utilizada para produzir GTP (guanosina trifosfato) a partir de GDP e P_i , trata-se de um outro exemplo de fosforilação em nível de substrato. GTP é então usado a fim de formar ATP através de ADP.

Energia livre desprende-se na *reação 6*, em que o succinato, oriundo do succinil CoA na *reação 5*, é oxidado a fumarato. Nesse processo, dois hidrogênios são transferidos para uma enzima que contém o transportador FAD. Após um rearranjo molecular (*reação 7*), ocorre mais uma redução de NAD^+ , produzindo oxaloacetato a partir do malato (*reação 8*). Essas duas reações ilustram um mecanismo bioquímico comum: água (H_2O) é adicionada na *reação 7*, para formar um grupo $-\text{OH}$. Após, o H do grupo $-\text{OH}$ é removido na *reação 8*, reduzindo NAD^+ a $\text{NADH} + \text{H}^+$. O produto final, oxaloacetato, está pronto para combinar-se com outro grupo acetil do acetil CoA e dá continuidade ao ciclo. O ciclo do ácido cítrico opera duas vezes para cada molécula de glicose que entra na glicólise (e em cada piruvato que ingressa na mitocôndria).

Para resumir:

- As *entradas* consumidas no ciclo do ácido cítrico são acetato (na forma de acetil CoA), água e transportadores de elétron oxidados (NAD^+ e FAD).

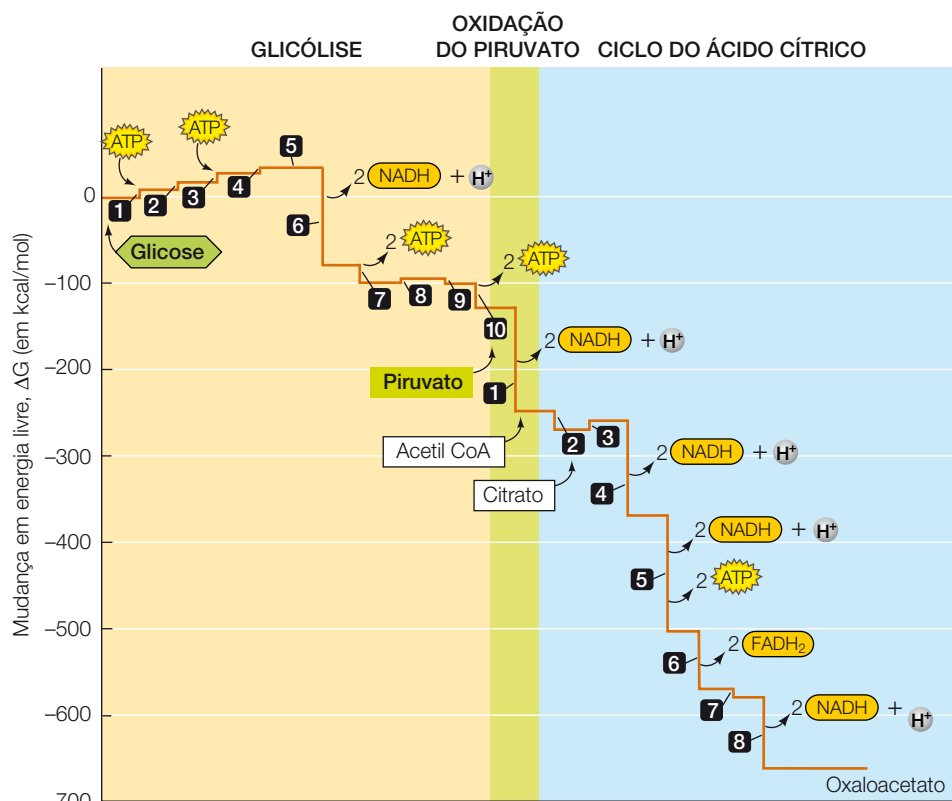
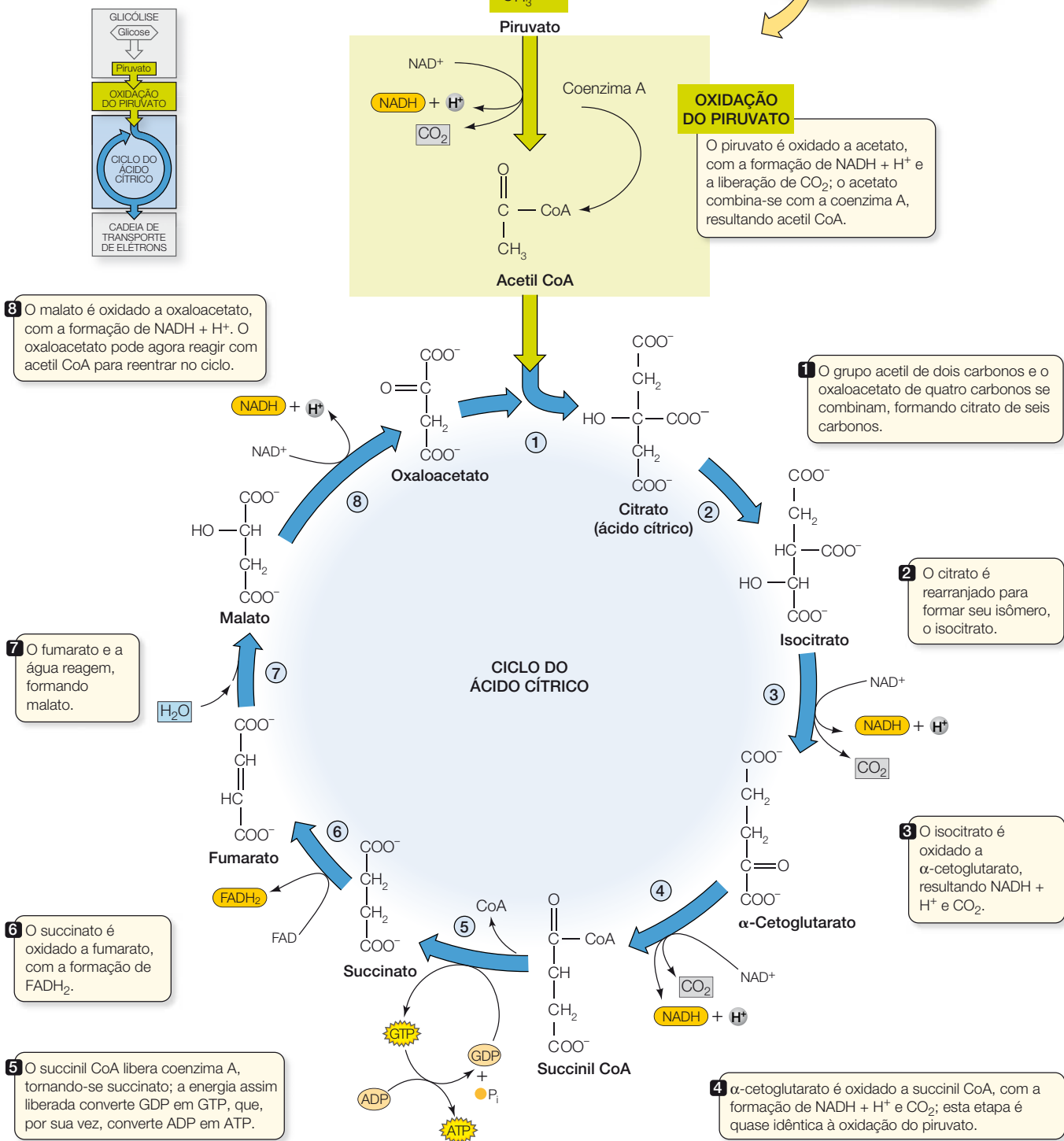


Figura 7.7 O ciclo do ácido cítrico desprende muito mais energia livre do que a glicólise Os transportadores de elétrons (NAD na glicólise, NAD e FAD no ciclo do ácido cítrico) são reduzidos, e ATP é gerado em reações acopladas a outras, produzindo as principais quedas de energia livre à medida que o metabolismo prossegue.

Cada molécula de glicose produz:
 6 CO_2
 10 $\text{NADH} + \text{H}^+$
 2 FADH_2
 4 ATP

Figura 7.8 Oxidação do piruvato e ciclo do ácido cítrico.

O piruvato se difunde O piruvato se difunde na mitocôndria e é oxidado a acetil CoA, que entra no ciclo do ácido cítrico. As reações 3, 4, 6 e 8 consomem os principais efeitos globais do ciclo – a captura de energia – ao transferir elétrons para NAD ou FAD. A reação 5 captura energia diretamente no ATP. Cada reação é catalisada por uma enzima específica, embora as enzimas não sejam mostradas nesta figura.



- As *saídas* são dióxido de carbono, transportadores de elétron reduzidos (NADH + H⁺ e FADH₂) e uma quantidade pequena de ATP. Globalmente, para cada grupo acetil, o ciclo do ácido cítrico remove dois carbonos como CO₂ e usa quatro pares de átomos de hidrogênio a fim de reduzir transportadores de elétron.

O ciclo do ácido cítrico é regulado pelas concentrações de materiais iniciadores

Vimos de que forma o piruvato, uma molécula de três carbonos, é completamente oxidado a CO₂ por piruvato-desidrogenase e o ciclo do ácido cítrico. Para que o ciclo reinicie, as moléculas iniciadoras – acetil CoA da oxidação da glicose e transportadores de elétron oxidados – devem outra vez estar presentes. Os transportadores de elétron reduziram-se durante o ciclo (tanto quanto na glicólise – ver reação 6 na Figura 7.5) e, por isso, não são capazes de aceitar elétrons oriundos de reações do ciclo do ácido cítrico, até que sejam *reoxidados*:



As oxidações desses transportadores de elétron ocorrem do mesmo modo que as reações redox acopladas, de maneira que outra molécula (chamada “X”) fica reduzida:

- NAD fica oxidado: $\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}^+ + \text{e}^-$
- Um aceptor de elétron fica reduzido: $\text{X} + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{XH}$

As células têm duas maneiras de executar isto:

- **Fermentação:** Se O₂ não está presente, “X” é piruvato, produto final da glicólise. No processo de reoxidação do NADH formado pela glicólise, o piruvato é reduzido a lactato ou álcool etílico. Esses são os produtos finais, de modo que o ciclo do ácido cítrico não pode ocorrer.
- **Fosforilação oxidativa:** Se O₂ está presente, “X” é O₂. O piruvato é totalmente oxidado a CO₂, e NADH e FADH₂ do ciclo do ácido cítrico são reoxidados de todo. A energia é liberada pela oxidação desses transportadores de elétron e disponibilizada na formação do ATP.

7.2 RECAPITULAÇÃO

A oxidação da glicose na presença de O₂ envolve glicólise, oxidação do piruvato e o ciclo do ácido cítrico. Na glicólise, a glicose converte-se em piruvato, com captura da energia resultante. No ciclo do ácido cítrico, o piruvato é completamente oxidado a CO₂ e mais energia é capturada na forma de transportadores de elétron reduzidos.

- Você poderia descrever a *produção líquida de energia da glicólise*, em termos de energia investida e energia produzida? Ver p. 144 e Figura 7.6.
- Que papel a oxidação do piruvato desempenha no ciclo do ácido cítrico? Ver p. 144-145 e Figura 7.8.
- Por que a reoxidação de NADH é crucial para a continuação do ciclo do ácido cítrico? Ver p. 147.

A oxidação do piruvato e o ciclo do ácido cítrico requerem a presença de O₂ como aceptor de elétron. Examinaremos agora a fermentação, rota metabólica que processa piruvato na ausência de oxigênio. A Seção 7.4 cobrirá a fosforilação oxidativa, que completa as transferências de elétrons da respiração celular aeróbia.

7.3 Como a energia é produzida a partir da glicose na ausência de oxigênio?

A fermentação, como a glicólise, ocorre no citosol. Sem a presença de O₂ para servir como um aceptor de elétrons, a fermentação utiliza NADH + H⁺ formado na glicólise na redução do piruvato (ou um de seus derivados metabólicos) e regenerar NAD⁺. Conforme vimos na Figura 7.5, NAD⁺ é exigido pela *reação 6* da glicólise, de modo que, uma vez reabastecido seu suprimento de NAD⁺ por fermentação, a célula pode metabolizar mais glicose.

Os organismos procarióticos são conhecidos por usar muitas rotas de fermentação diferentes. Contudo, compreendem-se melhor duas rotas curtas encontradas em muitas células diferentes: *fermentação do ácido láctico*, cujo produto final é o ácido láctico (lactato), e a *fermentação alcoólica*, cujo produto final é o álcool etílico.

O piruvato serve como aceptor de elétrons na **fermentação do ácido láctico (Figura 7.9)**, que ocorre em muitos microrganismos. Ela pode ocorrer também em algumas células musculares, especialmente durante atividade intensa. Segundo veremos no Capítulo 53, a contração muscular requer muita energia, que deve ser suprida pelo ATP. Porém, o fluxo de sangue não pode prover

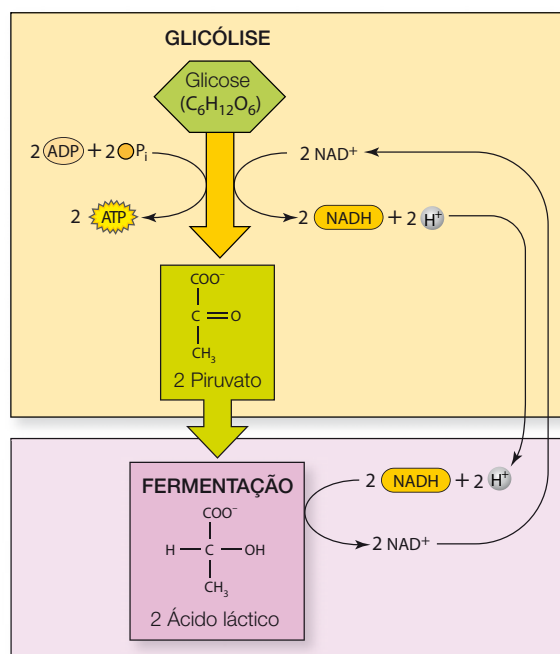


Figura 7.9 Fermentação do ácido láctico A glicólise produz piruvato, bem como ATP e NADH + H⁺, a partir da glicose. A fermentação do ácido láctico, usando NADH + H⁺ como agente redutor, reduz piruvato a ácido láctico (lactato).

O₂ suficiente durante contrações ativas. Para permitir que o tecido muscular continue a funcionar em estado aeróbio, as células musculares “trocam” para a fermentação do ácido láctico. A formação do ácido láctico se torna problema após períodos prolongados porque ele se ioniza, formando H⁺ e diminuindo o pH da célula, que reduz as atividades celulares (e causa câimbras).

A **fermentação alcoólica** ocorre em certas leveduras e algumas células vegetais sob condições anaeróbias. Esse processo requer duas enzimas para metabolizar o piruvato (**Figura 7.10**). Em primeiro lugar, o dióxido de carbono é removido do piruvato, produzindo o composto acetaldeído. Em segundo lugar, o acetaldeído é reduzido por NADH + H⁺, produzindo NAD⁺ e álcool etílico (etanol). As bebidas alcoólicas são feitas por meio da fermentação anaeróbia de células de levedura, empregando glicose de fontes vegetais, por exemplo, a uva (vinho) e a cevada (cerveja).

Bilhões e bilhões de microrganismos procarióticos vivem por meio da fermentação nos ambientes anaeróbios de órgãos digestivos de mamíferos, tais como o intestino delgado e o rúmen (“estômago” especializado encontrado em bovinos e outros mamíferos aparentados). Esses microrganismos podem contribuir decisivamente para a saúde e sobrevivência do mamífero “hospedeiro”.

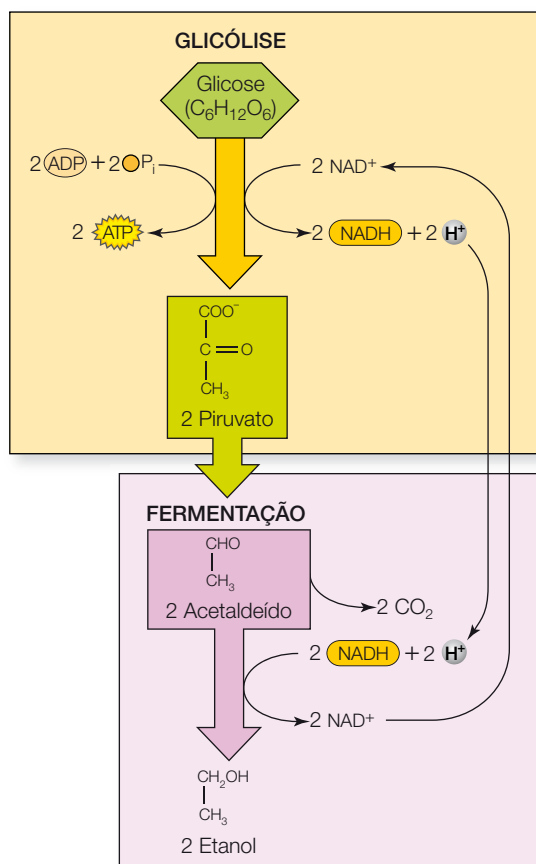


Figura 7.10 Fermentação alcoólica Na fermentação alcoólica, o piruvato proveniente da glicose converte-se em acetaldeído, e o CO₂ é liberado. O NADH + H⁺ da glicólise atua como agente redutor, reduzindo acetaldeído a etanol.

7.3 RECAPITULAÇÃO

Na ausência de O₂, as rotas da fermentação usam NADH + H⁺ formado na glicólise de modo a reduzir o piruvato ou seus derivados e regenerar NAD⁺. O produto energético da fermentação é baixo porque a glicose oxida-se apenas parcialmente.

■ Você sabe por que o reabastecimento de NAD⁺ é crucial para o metabolismo celular? Ver p. 11

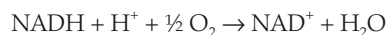
As rotas de fermentação foram a fonte de energia para grande parte da evolução nos primórdios da vida, já que a atmosfera inicial da Terra carecia de oxigênio livre. Porém, quando o O₂ está presente para aceitar elétrons, a reoxidação de NADH e FADH₂ resulta na síntese de grandes quantidades de ATP. Veremos agora como esse processo opera.

7.4 Como a oxidação da glicose forma ATP?

O processo geral de síntese de ATP, resultante da reoxidação de transportadores de elétrons na presença de O₂, denomina-se **fosforilação oxidativa**. Nesse processo, distinguem-se dois estágios:

1. **A cadeia de transporte de elétrons.** Os elétrons de NADH e FADH₂ passam através de uma série de transportadores de elétrons associados à membrana. O seu fluxo ao longo dessa cadeia transportadora consome o transporte ativo de prótons através da membrana mitocondrial interna, fora da matriz, criando um gradiente de concentração de prótons.
2. **Quimiosmose.** Os prótons se difundem de volta à matriz mitocondrial por meio de um canal de prótons, que conecta esta difusão à síntese de ATP.

Antes de prosseguir com os detalhes dessas duas rotas, devemos considerar algumas questões importantes: Por que a cadeia de transporte de elétrons deveria ter tantos componentes e processos complexos? Por que, por exemplo, as células não usam a seguinte etapa única?



A resposta é que essa reação seria fundamentalmente incontrolável. Ela seria extremamente exergônica – talvez como colocar uma banana de dinamite na célula. Não existe condição bioquímica para utilizar eficientemente tal explosão de energia e pô-la em uso fisiológico (ou seja, nenhuma reação metabólica é tão endergônica assim para consumir uma fração significativa daquela energia em uma única etapa). Com o intuito de controlar a liberação de energia durante a oxidação de glicose em uma célula, a evolução resultou na longa cadeia de transporte de elétrons: uma série de reações, cada uma liberando uma quantidade de energia pequena e manejável.

A cadeia transportadora transporta elétrons e libera energia

A cadeia de transporte de elétrons contém proteínas integrais grandes, proteínas móveis menores e ainda uma molécula de lipídeo menor (Figura 7.11):

- Quatro complexos proteicos grandes (I, II, III e IV) contendo transportadores de elétrons e enzimas associadas são proteínas integrais da membrana mitocondrial interna em eucariotos (ver Figura 4.13). Três delas são proteínas transmembrana (se estendem através dos dois lados da membrana).
- O **citocromo c** consiste em uma proteína periférica pequena que se encontra no espaço intermembrana, presa frouxamente à membrana mitocondrial interna.
- Um componente não proteico chamada de **ubiquinona** (abreviadamente, **Q**) é uma molécula pequena, não polar, que se move livremente no interior hidrofóbico da bicamada fosfolípida da membrana mitocondrial interna.

Conforme mostra a Figura 7.12, $\text{NADH} + \text{H}^+$ passa elétrons ao primeiro complexo proteico grande (I), denominado NADH-Q-reductase, que, por sua vez, transfere os elétrons à Q. O segundo complexo (II), succinato-desidrogenase, passa elétrons à Q a partir de FADH_2 , durante a formação do fumarato proveniente do succinato na reação 6 do ciclo do ácido cítrico (ver Figura 7.8).

Esses elétrons ingressam na cadeia mais tarde do que os provenientes de NADH .

O terceiro complexo (III), citocromo *c* redutase recebe elétrons de Q e os transfere ao citocromo *c*. O quarto complexo (IV), citocromo *c* oxidase, recebe elétrons do citocromo *c* e os passa ao oxigênio, que junto com esses elétrons extras ($\frac{1}{2}\text{O}_2$) toma dois íons hidrogênio (H^+) para formar H_2O .

Os transportadores de elétrons, da cadeia de transporte de elétrons (incluindo aqueles contidos nos três complexos proteicos transmembrana), diferem quanto ao grau de alteração que sofrem quando se tornam reduzidos. NAD^+ , por exemplo, aceita H^- (um íon hidrido – um próton e dois elétrons), permitindo o desprendimento do próton do outro átomo de hidrogênio, ou seja, o resultado é $\text{NADH} + \text{H}^+$ (ver Figura 7.3B). Outros transportadores, incluindo Q, ligam tanto prótons quanto elétrons, tornando-se QH_2 , por exemplo. Além de Q, a cadeia transporta apenas elétrons. Os elétrons, não os prótons, transferem-se de Q para o citocromo *c*. Um elétron oriundo de QH_2 reduz um íon ferro do citocromo, de Fe^{3+} a Fe^{2+} .

O que acontece com os prótons? O transporte de elétrons dentro de cada um dos três complexos proteicos transmembrana resulta, segundo veremos, no bombeamento de prótons através da membrana mitocondrial interna. O retorno daqueles prótons através da membrana conecta-se à formação de ATP. Portanto, a energia originalmente contida na glicose e em outras moléculas combustíveis é finalmente capturada na moeda energética celular,

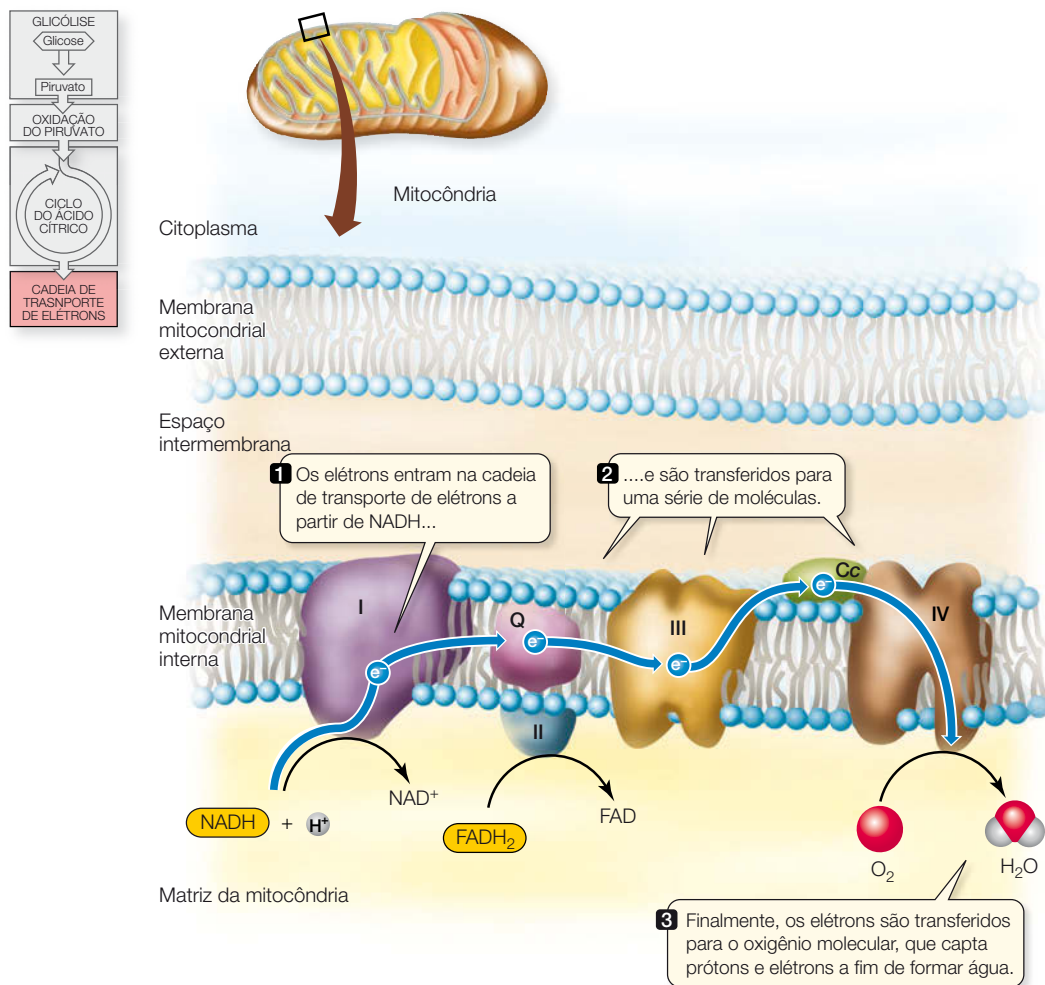


Figura 7.11 Oxidação de $\text{NADH} + \text{H}^+$ Os elétrons de $\text{NADH} + \text{H}^+$ passam pela cadeia de transporte de elétrons, uma série de complexos proteicos na membrana mitocondrial interna contendo transportadores de elétrons e enzimas. Os transportadores ganham energia livre quando se tornam reduzidos e a desprendem quando oxidados.

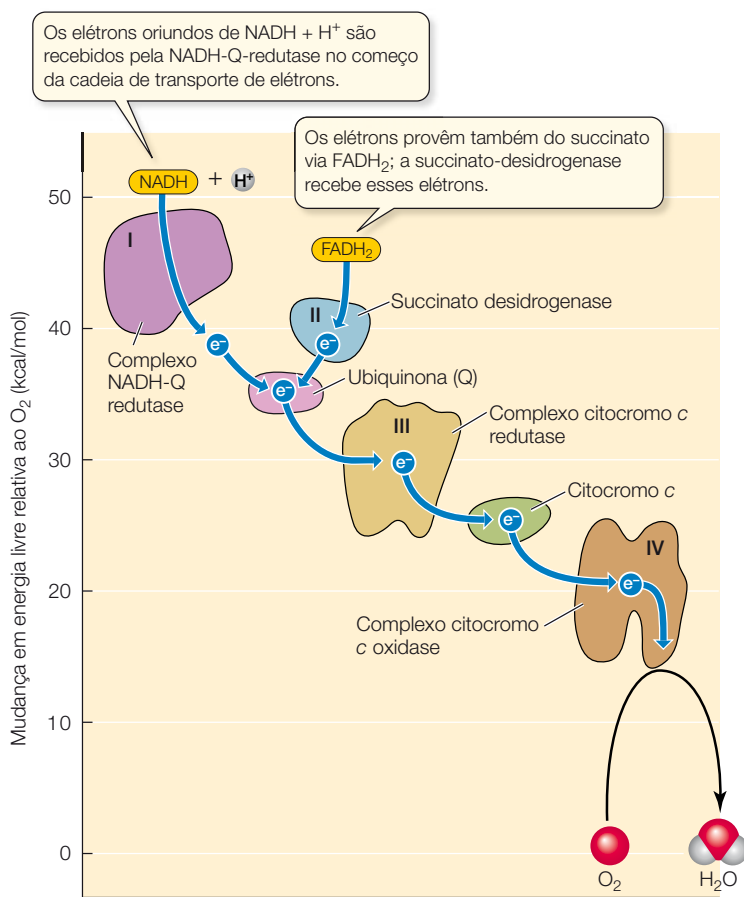


Figura 7.12 A cadeia de transporte de elétrons completa Os elétrons provenientes de duas fontes entram na cadeia, mas a partir do Q em diante eles seguem a mesma rota.

ATP. Para cada par de elétrons transportado ao longo da cadeia, de NADH + H⁺ até oxigênio, teoricamente formam-se aproximadamente três moléculas de ATP. Na verdade, o número exato: cerca de 2,5 ATP por NADH oxidado e 1,5 ATP por FADH oxidado.

A difusão de prótons está unida à síntese de ATP

Conforme mostra a Figura 7.11, todos os transportadores de elétrons e as enzimas da cadeia de transporte de elétrons, excetuando o citocromo *c*, encontram-se embebidos na membrana mitocondrial interna. Do funcionamento da cadeia de transporte de elétrons resulta o transporte ativo de prótons (H⁺) contra seu gradiente de concentração, através da membrana interna da mitocôndria, a partir da sua matriz para o espaço intermembrana. Isso ocorre porque os transportadores de elétrons contidos nos três grandes complexos proteicos transmembrana (I, III e IV) dispõem-se de tal modo que os prótons são capturados em um lado da membrana (na matriz mitocondrial) e transportados, junto com os elétrons, para o outro lado (o espaço intermembrana) (**Figura 7.13**). Portanto, os complexos proteicos transmembrana da cadeia de transporte de elétrons atuam como *bombas de prótons*. Devido à carga positiva nos prótons (H⁺), esse bombeamento cria não apenas uma diferença na concentração de pró-

tons, mas também diferença na carga elétrica, através da membrana mitocondrial interna, tornando a matriz mitocondrial mais negativa do que o espaço intermembrana. (Em outras palavras, o espaço intermembrana se torna mais ácido do que a matriz mitocondrial.)

Juntos, o gradiente de concentração de prótons e a diferença de carga constituem uma fonte de energia potencial denominada **força motora de prótons**. Essa força tende a acionar o retorno de prótons através da membrana, exatamente como a carga de uma bateria aciona o fluxo de elétrons, descarregando-a.

A conversão da força motora de prótons em energia cinética é impedida porque os prótons não podem atravessar a bicamada fosfolipídica hidrofóbica da membrana interna por simples difusão. No entanto, eles podem se difundir através da membrana passando por um canal de prótons específico, denominado **ATP-sintase**, que conecta o movimento de prótons à síntese de ATP. Essa conexão da força motora de prótons e da síntese de ATP chama-se **mecanismo quimiosmótico** ou **quimiosmose**.

MECANISMO QUIMIOSMÓTICO PARA A SÍNTESE DE ATP

O mecanismo quimiosmótico usa ATP-sintase para conectar a difusão de prótons à síntese de ATP. Esse mecanismo apresenta três partes:

1. O fluxo de elétrons, de um transportador de elétrons a outro na cadeia de transporte de elétrons, é uma série de reações exergônicas que ocorre na membrana mitocondrial interna.
2. Essas reações exergônicas acionam o bombeamento endergônico de H⁺ desde a matriz mitocondrial, atravessando a membrana interna e indo até o espaço intermembrana. Esse bombeamento estabelece e mantém um gradiente de H⁺.
3. A energia potencial do gradiente de H⁺ ou força motora de prótons é utilizada pela ATP-sintase. Essa proteína possui dois papéis: atua como canal que permite ao H⁺ difundir-se de volta ao interior da matriz e usa a energia daquela difusão para produzir ATP a partir de ADP e P_i.

A síntese de ATP é uma reação reversível e a ATP-sintase pode também atuar como ATPase, hidrolisando ATP a ADP e P_i:



Se a reação se dirigir para a direita, energia livre é despreendida e usada para bombear H⁺ para fora da matriz mitocondrial. Se a reação for para a esquerda, usa energia livre da difusão de H⁺ em direção ao interior da matriz para formar ATP. O que faz preferir a síntese de ATP? Existem duas respostas para essa pergunta:

- Logo que é produzido, o ATP deixa a matriz mitocondrial para ser usado em outro lugar da célula. Com isso, a sua concentração na matriz conserva-se baixa e a reação direciona-se para a esquerda.
- O gradiente de H⁺ mantém-se por transporte e bombeamento de elétrons. (Vale lembrar que os elétrons provêm da oxidação de NADH e FADH₂, que, por sua vez, são reduzidos pela oxidação da glicólise e do ciclo do ácido cítrico. Assim, uma razão para consumir alimento é reabastecer o gradiente de H⁺!)

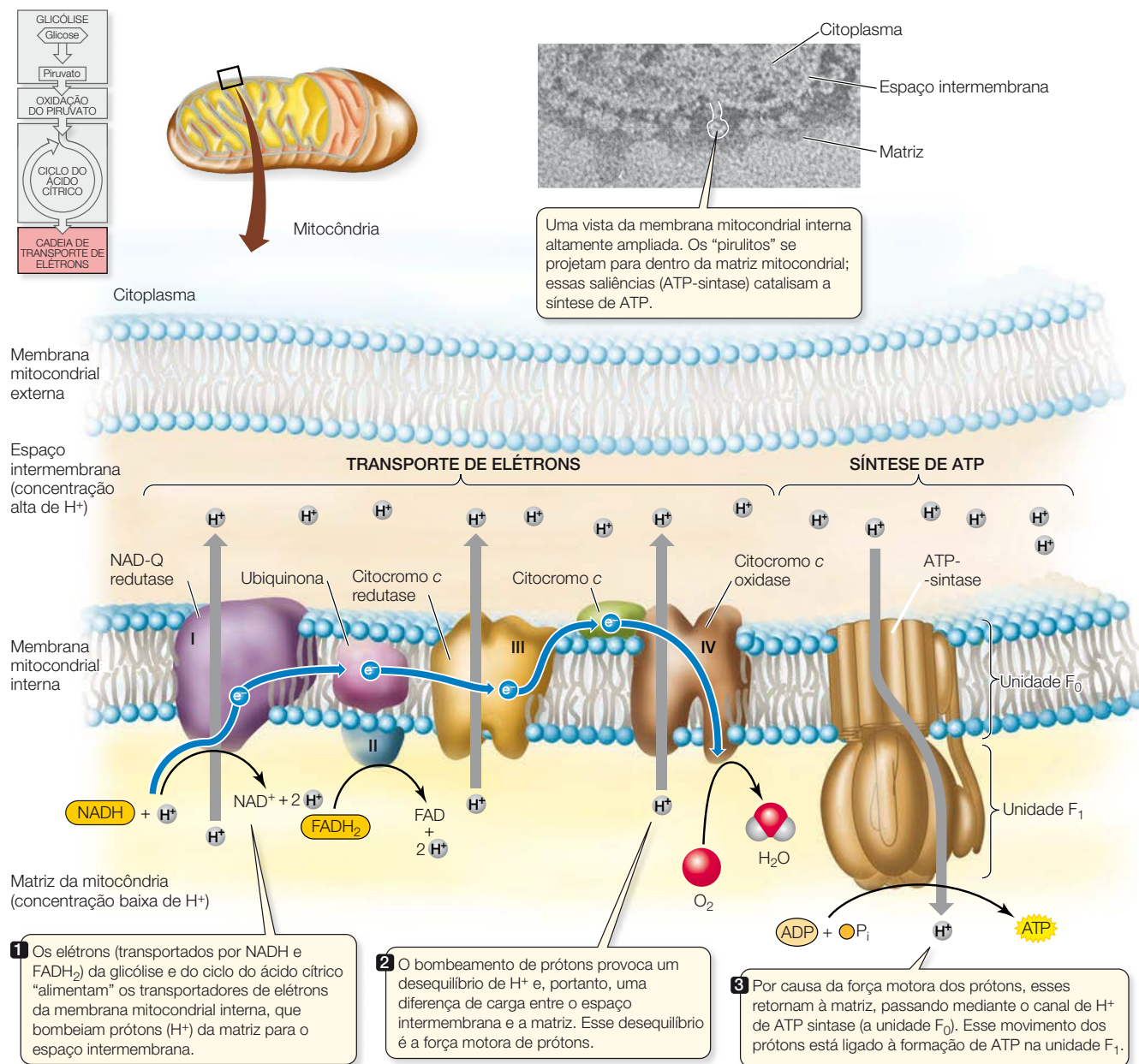


Figura 7.13 Um mecanismo quimiosmótico produz ATP À medida que os elétrons passam na cadeia de transporte de elétrons por meio de complexos proteicos transmembrana, os prótons são bombeados da matriz mitocondrial para dentro do espaço intermembrana. À medida que os prótons retornam à matriz mediante a ATP-sintase, forma-se ATP.

EXPERIMENTOS DEMOSTRAM A QUIMIOSMOSE Dois experimentos-chave têm demonstrado (1) que um gradiente de prótons (H⁺) através de uma membrana pode acionar a síntese de ATP; (2) que a enzima ATP-sintase é o catalisador dessa reação (Figura 7.14).

■ *No experimento 1*, testou-se a hipótese que a síntese de ATP é acionada pelo gradiente de H⁺ através da membrana mitocondrial interna. Nesse experimento, as mitocôndrias sem uma fonte alimentar foram "induzidas" a produzir ATP mediante a elevação da concentração de H⁺ em seu ambiente. Mitocôndrias isoladas foram expostas a uma concentração baixa de H⁺ e após subitamente colocadas em um meio com uma alta taxa de H⁺. A membrana mitocondrial externa, diferentemente da interna, é bastante permeável a H⁺, de modo que esses prótons

A cada dia, uma pessoa hidrolisa cerca de 10²⁵ moléculas de ATP a ADP. A grande maioria desse ADP é "reciclado" – convertido de volta a ATP – usando energia livre da oxidação da glicose.

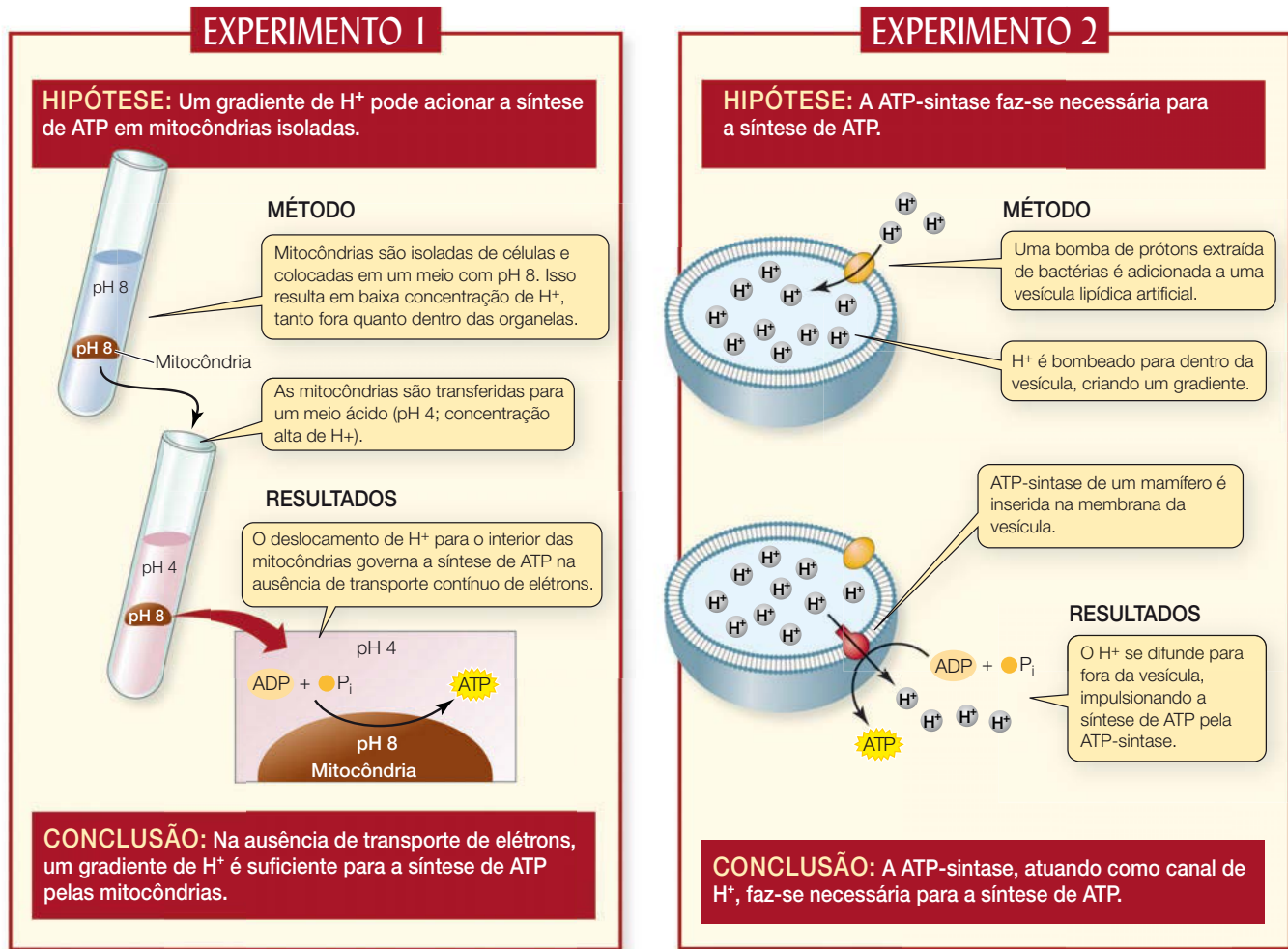


Figura 7.14 Dois experimentos demonstram o mecanismo quimiosmótico. Um gradiente de H^+ através de uma membrana é tudo que é necessário para acionar a síntese de ATP pela enzima ATP-sintase. Não importa se o gradiente de H^+ é produzido artificialmente, como nesses experimentos, ou pela cadeia de transporte de elétrons encontrada na natureza.

CONTINUAÇÃO DA PESQUISA: O que aconteceria no experimento 2, se fosse adicionada uma segunda ATP-sintase, orientada de maneira oposta àquela inserida originalmente na membrana?

se difundiram de forma rápida para o espaço intermembrana. Isto criou um gradiente artificial através da membrana interna, que as mitocôndrias usaram para produzir ATP a partir de ADP e P_i . Este resultado sustentou a hipótese, proporcionando forte evidência para o mecanismo quimiosmótico.

- No experimento 2, testou-se a hipótese que a enzima ATPase se liga a um gradiente de prótons para sintetizar ATP. Uma bomba de prótons isolada de uma bactéria foi adicionada a vesículas artificiais. Ao proporcionar uma fonte de energia apropriada, ocorreu o bombeamento de H^+ ao interior das vesículas, criando um gradiente de prótons. Se a ATP-sintase de mamíferos era depois inserida no interior das membranas dessas vesículas e a fonte de energia retirada, as vesículas produziam ATP, mesmo na ausência dos transportadores de elétrons habituais. Novamente, este resultado sustentou a hipótese, mostrando que a ATP-sintase é o fator de ligação.

DESVINCULANDO A DIFUSÃO DE PRÓTONS DA PRODUÇÃO DE ATP

Outra maneira de demonstrar o mecanismo quimiosmótico consiste em mostrar que a difusão de H^+ e formação de ATP devem estar *fortemente conectadas*, isto é, que os prótons precisam passar apenas pelo canal da ATP-sintase a fim de mover-se para dentro da matriz mitocondrial. Se um segundo tipo de canal de difusão de H^+ (não ATP-sintase) for inserido na membrana mitocondrial, a energia do gradiente de H^+ libera-se como calor, em vez de ser vinculada à síntese de ATP. Tais moléculas desvinculadas são usadas deliberadamente por alguns organismos para gerar calor em vez de ATP. Por exemplo, a proteína termogenina, naturalmente desvinculada, exerce um papel importante na regulação da temperatura de alguns mamíferos sob determinadas circunstâncias, especialmente em humanos recém-nascidos, que não dispõem de pelos para manter o aquecimento, e em animais hibernantes. Na Seção 46.4, descreveremos esse processo mais detalhadamente.

COMO TRABALHA A ATP-SINTASE: UM MOTOR MOLECULAR Agora que confirmamos a necessidade do gradiente de H^+ na síntese de ATP, permanece uma questão: como a enzima forma ATP a partir de ADP e P_i ? Esta certamente é uma questão essencial na biologia, à medida que ela fundamenta o metabolismo energético na maioria das células. Observe a estrutura da ATP sintase na Figura 7.13. Ela compõe-se de duas partes: a unidade F_o , uma região transmembrana que é o canal de H^+ , e a unidade F_1 , o “pirulito” das subunidades em interação que constitui o sítio ativo da síntese de ATP. Acredita-se que a ATP-sintase promova a conversão da energia potencial do gradiente de H^+ em energia cinética de movimento. As subunidades de F_1 giram, expondo o sítio ativo para a síntese de ATP.

7.4 RECAPITULAÇÃO

A energia proveniente da reoxidação de transportadores de elétrons é liberada em etapas pequenas pela cadeia de transporte de elétrons. Por meio da quimiosmose, essa energia é utilizada para sintetizar ATP.

- Você poderia descrever os papéis da oxidação e da redução na cadeia de transporte de elétrons? Ver Figuras 7.11-7.13.
- Você conhece a força motora de prótons e de que forma ela impulsiona a quimiosmose? Ver p. 150 e Figura 7.13.
- Você percebe como os dois experimentos descritos na Figura 7.14 demonstram o mecanismo quimiosmótico? Ver p. 151-152.

A fosforilação oxidativa captura grande quantidade de energia em ATP. O que a torna tão mais eficiente do que a fermentação?

7.5 Por que a respiração celular produz muito mais energia do que a fermentação?

A energia líquida total produzida pela glicólise via fermentação totaliza de duas moléculas de ATP por molécula de glicose oxidada. A produção máxima de ATP obtida de uma molécula de glicose por meio da glicólise, seguida pela respiração celular, é muito maior – cerca de 32 moléculas de ATP (Figura 7.15). (Para rever de onde provêm essas moléculas de ATP, ver as Figuras 7.5, 7.8 e 7.13.)

Por que as rotas metabólicas que operam na presença de O_2 produzem muito mais ATP? Lembre que a glicólise constitui apenas uma oxidação parcial da glicose, como na fermentação. A fermentação é uma oxidação incompleta da glicose. Muito mais energia permanece nos produtos finais da fermentação (ácido lático e etanol) do que no da respiração celular (CO_2). Na respiração celular, os transportadores (principalmente NAD^+) reduzem-se na oxidação do piruvato e no ciclo do ácido cítrico, depois são oxidados pela cadeia de transporte de elétrons. Esse processo é acompanhado pela produção de ATP pela quimiosmose (2,5 ATP para cada $NADH + H^+$ e 1,5 ATP para cada $FADH_2$). Em ambiente aeróbio, uma célula ou organismo com capacidade de metabolismo aeróbio estará em vantagem (em termos de disponibilidade de energia por molécula de glicose) em relação a um outro limitado à fermentação.

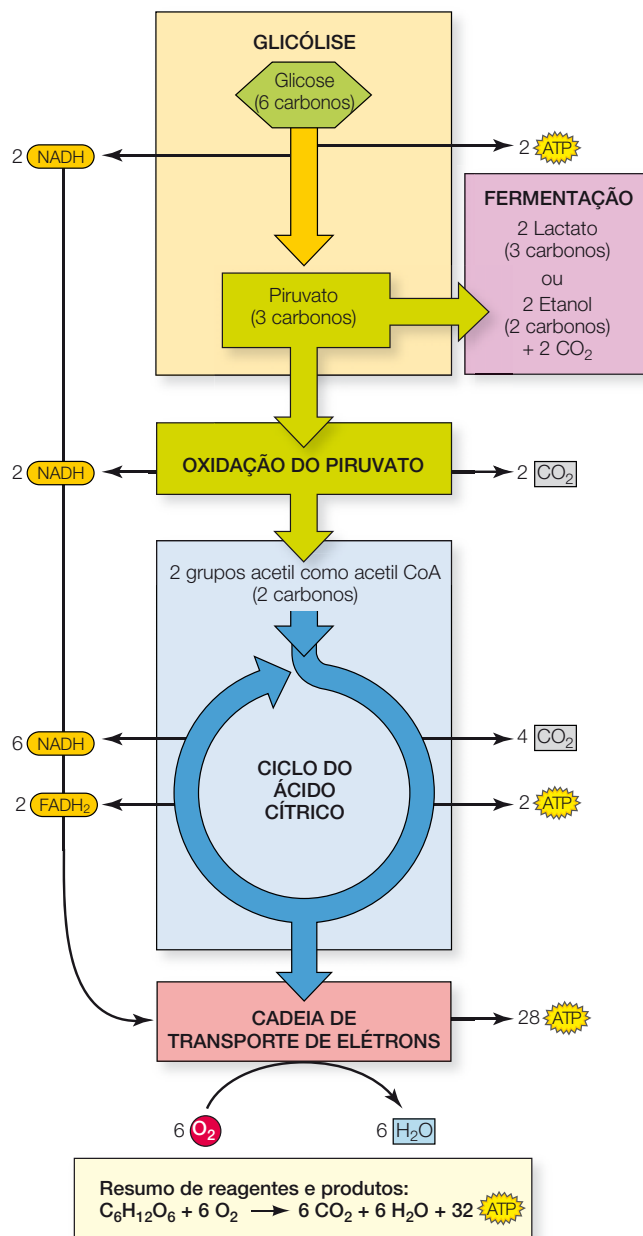


Figura 7.15 A respiração celular produz mais energia do que a glicólise Os transportadores de elétrons são reduzidos na oxidação do piruvato e no ciclo do ácido cítrico e, depois, oxidados na cadeia de transporte de elétrons. Essas reações produzem ATP via quimiosmose.

A produção total de ATP de uma molécula de glicose, obtida através de glicólise e de respiração celular, chega a 32. Entretanto, desse total subtraem-se dois – resultando uma produção líquida de 30 ATP – porque em algumas células animais a membrana mitocondrial interna é impermeável ao $NADH$ e um “pedágio” de um ATP deve ser pago para cada $NADH$ produzido na glicólise, que se move para a matriz mitocondrial.

7.5 RECAPITULAÇÃO

Os transportadores de elétrons da respiração celular permitem a oxidação completa da glicose. Portanto, a produção de energia a partir da glicose configura-se muito mais alta na presença de O_2 do que na sua ausência.

- Você poderia calcular a produção total de energia através da glicose, em células humanas na presença e na ausência de O_2 ? Ver p. 153 e Figura 7.15.

Agora que vimos de que forma as células produzem energia, podemos observar como ela se desloca nas interconexões entre rotas metabólicas da célula.

7.6 Como as rotas metabólicas são correlacionadas e controladas?

A glicólise e as rotas da respiração celular não operam isoladas do restante do metabolismo. Ao contrário, existe um intercâmbio, em que o tráfego bioquímico flui para dentro e para fora dessas rotas, para ou a partir da síntese e decomposição de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos graxos e outros constituintes. Os esqueletos de carbono entram nessas rotas por meio de outras moléculas que decompõe para liberar sua energia (catabolismo) e deixam essas rotas para formar os principais constituintes macromoleculares da célula (anabolismo). Essas reações estão resumidas na Figura 7.16.

O catabolismo e o anabolismo envolvem interconversões de monômeros biológicos

Um hambúrguer contém as três principais fontes de esqueletos de carbono para a pessoa que o consome: carboidratos, principalmente amido (um polissacarídeo); lipídeos, principalmente triglicerídeos (três ácidos graxos ligados ao glicerol); proteínas (polímeros de aminoácidos). Examinando a Figura 7.16, torna-se possível ver como cada um desses três tipos de macromoléculas pode ser usado no catabolismo ou no anabolismo.

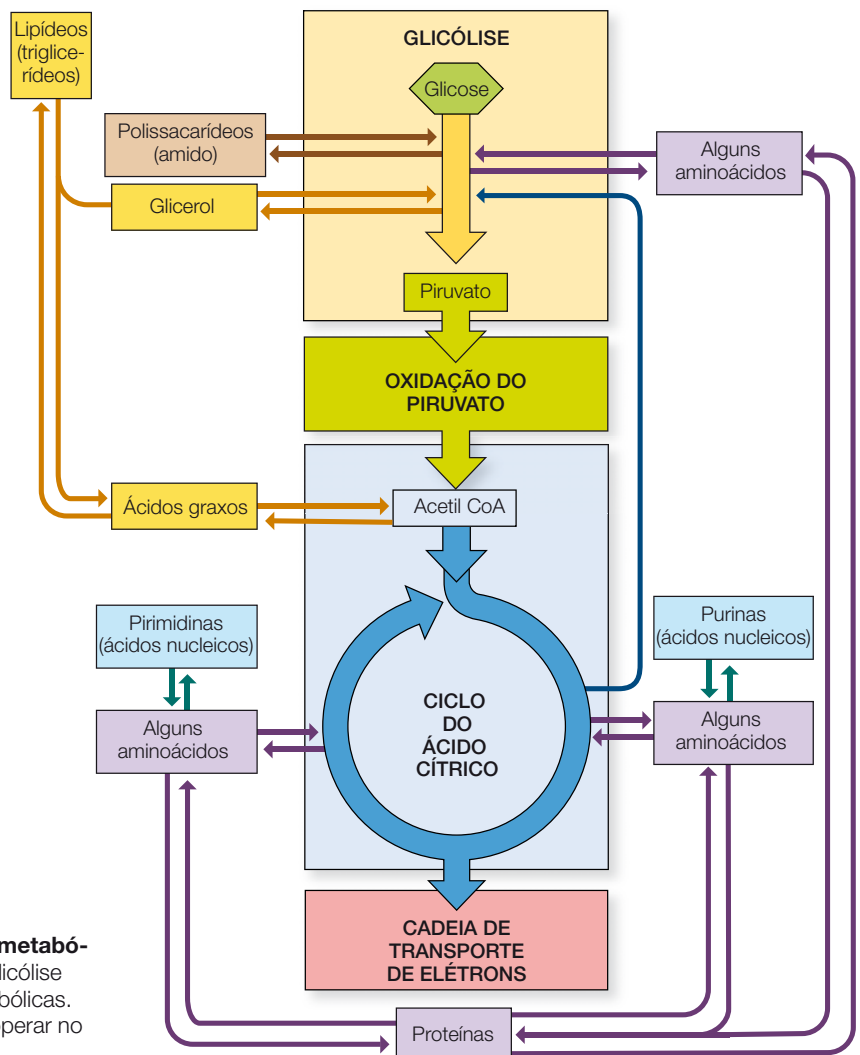
INTERCONVERSÕES CATABÓLICAS Polissacarídeos, lipídeos e proteínas podem ser decompostos a fim de fornecer energia:

- Os polissacarídeos são hidrolisados até glicose, que passa então pela glicólise e respiração celular, onde sua energia é capturada em NADH e ATP.

Figura 7.16 Relações entre as principais rotas metabólicas das células Observe a posição central da glicólise e do ciclo do ácido cítrico nessa rede de rotas metabólicas. Observe também que muitas dessas rotas podem operar no sentido contrário.

- Os lipídeos são decompostos em seus constituintes, glicerol e ácidos graxos. O glicerol é convertido em diidroxiacetona fosfato (DAP, *dihydroxyacetone phosphate*), um intermediário na glicólise; os ácidos graxos são convertidos em acetil CoA nas mitocôndrias. Após, em ambos os casos ocorrem oxidação a CO_2 e liberação de energia.
- As proteínas são hidrolisadas até seus aminoácidos constituintes. Os vinte aminoácidos diferentes suprem a glicólise ou o ciclo do ácido cítrico em pontos distintos. Um exemplo específico encontra-se na Figura 7.17, em que o aminoácido glutamato é convertido em α -cetogluturato, um intermediário no ciclo do ácido cítrico.

INTERCONVERSÕES ANABÓLICAS Muitas rotas catabólicas têm capacidade de operar de modo inverso. Isso significa que intermediários da glicólise e do ciclo do ácido cítrico, em vez de serem oxidados para formar CO_2 , podem ser reduzidos e usados na produção da glicose, num processo denominado **gliconeogênese** (que significa “nova formação de glicose”). Da mesma maneira, acetil CoA pode ser usado na formação de ácidos graxos. Os ácidos graxos mais comuns têm um número constante de carbonos: 14, 16 ou 18. Essas moléculas constituem-se pela adição de “unidades” de acetil CoA de dois carbonos, uma de cada



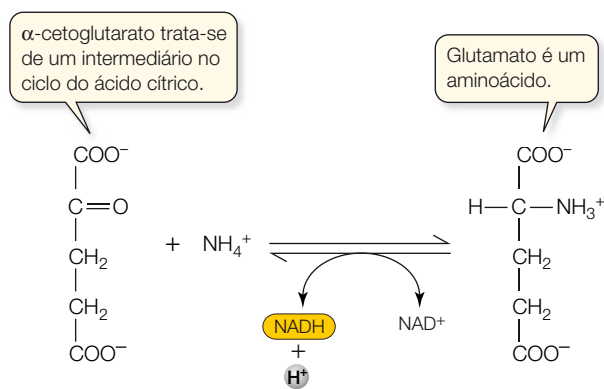


Figura 7.17 Unindo rotas metabólicas Essa reação, em que glutamato e α-cetogluturato se interconvertem, é catalisada pela enzima glutamato-desidrogenase.

vez, até que seja alcançado o comprimento apropriado da cadeia. Os aminoácidos podem ser formados por reações reversíveis, do mesmo modo que na Figura 7.17, podendo, então, ser polimerizados em proteínas.

Alguns intermediários do ciclo do ácido cítrico são usados na síntese de diversos constituintes celulares; α-cetogluturato, por exemplo, é um ponto de partida para purinas e oxaloacetato para pirimidinas, ambas constituintes dos ácidos nucleicos DNA e RNA. Também configura-se um ponto de partida na síntese de clorofila. O acetil CoA constitui diversos pigmentos, substâncias do crescimento vegetal, borracha e hormônios esteroides de animais, entre outras moléculas.

O catabolismo e o anabolismo integram-se

Um átomo de carbono de uma proteína do seu hambúrguer pode terminar em DNA, gordura ou CO₂, entre outros destinos. Como a célula “decide” qual a rota metabólica a ser seguida? Com todas essas possíveis interconversões, você poderia esperar que as concentrações celulares de diversas moléculas bioquímicas diferentes variassem bastante. Por exemplo, você poderia pensar que o nível de oxaloacetato em suas células depende da sua alimentação (algumas moléculas de alimento formam oxaloacetato) e do consumo do oxaloacetato (no ciclo do ácido cítrico ou na formação do aminoácido aspartato). Notavelmente, os níveis dessas substâncias que constituem o chamado “pool metabólico” – a soma de todas as moléculas bioquímicas em uma célula – são bem constantes. A célula regula as enzimas do catabolismo e do anabolismo para manter um equilíbrio. Essa *homeostase metabólica* só é perturbada em circunstâncias incomuns, como, por exemplo, na subnutrição.

A glicose constitui uma excelente fonte de energia. Observe na Figura 7.16 que lipídeos e proteínas podem servir também como fontes de energia. Qualquer uma dessas substâncias ou todas as três podem ser utilizadas para fornecer a energia de que seu corpo necessita. Na realidade, as coisas não são tão simples. As proteínas, por exemplo, possuem funções essenciais em seu corpo, como enzimas e elementos estruturais; não são armazenadas como fonte de energia, e o seu uso com essa finalidade poderia privá-lo de um catalisador em uma reação vital.

Os polissacarídeos e as gorduras (triglicerídeos) não têm tais papéis catalíticos. Todavia, os polissacarídeos, por serem um tanto polares, podem ligar-se à água. Por serem apolares, as gorduras não se ligam à água tanto quanto os polissacarídeos. Assim, na água, as gorduras pesam menos do que os polissacarídeos. Além

disso, as gorduras são mais reduzidas do que os carboidratos (apresentam mais pontes de C–H em vez de C–OH) e têm mais energia armazenada em suas ligações. Por essas duas razões, as gorduras constituem uma melhor maneira de armazenar energia do que os polissacarídeos. Não é surpresa, já que uma pessoa normal dispõe de aproximadamente o equivalente a um dia de energia alimentar armazenada na forma de glicogênio (um polissacarídeo), a energia alimentar de uma semana na forma de proteínas utilizáveis no sangue e a energia alimentar de mais de um mês armazenada na forma de gorduras.

O que acontece se alguém não se alimenta o necessário para produzir ATP e NADH suficientes para o anabolismo e as atividades biológicas? Essa situação pode ser o resultado de uma deliberada decisão de perder peso, mas também muitas pessoas forçam-se a proceder assim por não terem alimento suficiente disponível. Nos dois casos, as primeiras reservas de energia no corpo a serem usadas são os estoques de glicogênio em células dos músculos e do fígado. Essas reservas não perduram por muito tempo e em seguida utilizam-se as reservas de gordura.

O nível de acetil CoA aumenta à medida que os ácidos graxos são degradados. Entretanto, permanece um problema: já que os ácidos graxos não podem passar do sangue até o cérebro, este pode usar somente glicose como sua fonte de energia. Com a glicose já esgotada, o corpo necessita converter algo diferente a fim de produzir carboidrato para o cérebro. Essa gliconeogênese emprega principalmente aminoácidos, em grande parte provenientes da decomposição de proteínas. Sem ingestão suficiente de alimentos, são consumidas as proteínas (para glicose) e as gorduras (para energia). Após várias semanas de fome, as reservas de gordura esgotam-se e só restam proteínas como fonte de energia. Nesse ponto, proteínas essenciais, como as dos músculos e os anticorpos utilizados a fim de combater infecções, decompõem-se. A perda de tais proteínas pode levar a doenças graves e à morte.

As migrações sazonais entre o Canadá e a América do Sul de uma pequena ave canora da cabeça preta (*blackpoll warbler*) são supridas por 10 a 12 gramas de gordura, o que corresponde aproximadamente à sua massa corporal sem gordura. O glicogênio necessário de modo a suprir a mesma quantidade de energia teria massa dez vezes maior. Nesse caso, as aves não seriam capazes de voar (ou mesmo de caminhar).

As rotas metabólicas constituem sistemas regulados

Descrevemos as relações entre as rotas metabólicas e observamos que trabalham em conjunto para garantir a homeostase da célula e do organismo. Contudo, como a célula regula as conversões entre essas rotas mantendo os *pools* metabólicos constantes? No seu sentido mais simplificado, esse é um problema da biologia de sistemas (ver Figura 6.15).

Considere o que acontece com o amido em seu pãozinho de hambúrguer. No sistema digestório, o amido é hidrolisado a glicose, que entra no sangue para ser distribuída a todo o corpo. Entretanto, antes que isso aconteça, deve ser feita uma verificação reguladora: já existe no sangue glicose suficiente a fim de suprir as necessidades do corpo? Se existir, a glicose excedente converte-se em glicogênio e é armazenada no fígado. Se o alimento não proporcionar glicose suficiente, aquele glicogênio decompõe-se ou outras moléculas são utilizadas para produzir glicose pela gliconeogênese.

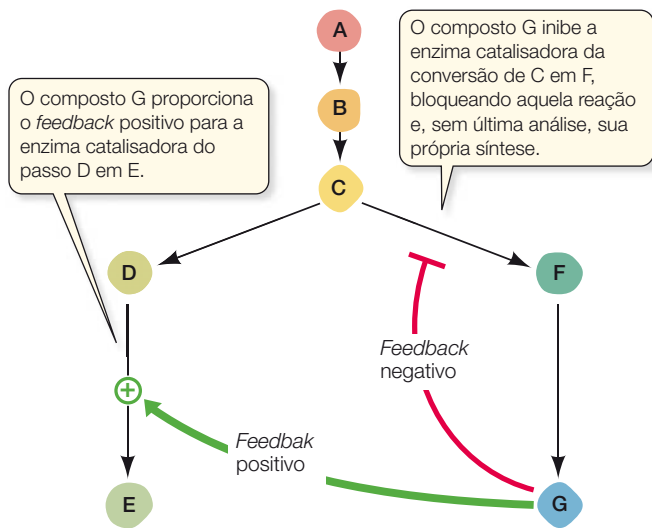


Figura 7.18 Regulação por feedback positivo e negativo A regulação alostérica desempenha um papel importante nas rotas metabólicas. A acumulação em excesso de alguns produtos pode suprimir a sua síntese ou estimular a síntese de outros produtos que requerem as mesmas matérias-primas.

O resultado final é que o nível de glicose no sangue permanece extraordinariamente constante. Na Parte 9 deste livro, descreveremos os detalhes de como isso acontece. Por ora, faz-se importante compreender que as interconversões de glicose englobam muitos passos, cada um catalisado por uma enzima, onde frequentemente se efetuam os controles.

A glicólise, o ciclo do ácido cítrico e a cadeia de transporte de elétrons regulam-se por controle alostérico das enzimas envolvidas. Conforme está descrito na Seção 6.5, em rotas metabólicas, a concentração alta dos produtos de uma reação posterior pode suprimir a ação de enzimas catalisadoras de outra inicial. Por outro lado, um excesso do produto de uma rota pode acelerar reações em outra rota, afastando matérias-primas da síntese do primeiro produto (**Figura 7.18**). Esses mecanismos de controle por feedback negativo e positivo são usados em muitos pontos das rotas de atuação energética, que se encontram resumidos na **Figura 7.19**.

■ *O principal ponto de controle na glicólise é a enzima fosfofrutoquinase (reação 3 na Figura 7.5). Essa enzima inibe-se alostericamente por ATP e ativa-se por ADP ou AMP. Enquanto a fermentação ocorre, produzindo uma quantidade relativamente pequena de ATP, a fosfofrutoquinase opera com eficiência máxima. Porém, quando começa a respiração celular, produzindo 16 vezes mais ATP do que a fermentação, o ATP abundante inibe alostericamente a enzima, e a conversão de frutose-6-fosfato em frutose-1,6-bifosfato diminui, bem como a taxa de utilização da glicose.*

■ *O principal ponto de controle no ciclo do ácido cítrico consiste na enzima isocitrato-desidrogenase, que converte isocitrato em α -cetoglutarato (reação 3 na Figura 7.8). NADH + H⁺ e ATP são inibidores por feedback dessa reação; ADP e NAD⁺ são ativadores. Se muito ATP está se acumulando ou se NADH + H⁺ está sendo produzido mais rapidamente do que pode ser usado pela cadeia de transporte de elétrons, a conversão de isocitrato prossegue mais lenta, e o ciclo do ácido cítrico cessa. Uma paralisação do ciclo do ácido cítrico causaria o acúmulo de grandes quantidades de isocitrato e de citrato, se a conversão de acetil CoA em citrato não se tornasse também mais lenta pela abundância de ATP e de NADH + H⁺. Um excesso de citrato atua como inibidor adicional por feedback, tornando lenta a reação da frutose-6-fosfato na glicólise. Em consequência, se o ciclo do ácido cítrico for desacelerado devido à abundância de ATP (e não por causa da falta de oxigênio), a glicólise faz-se igualmente cessada. Ambos os processos recomeçam quando o nível de ATP cai e eles tornam-se novamente necessários. O controle alostérico mantém o equilíbrio desses processos.*

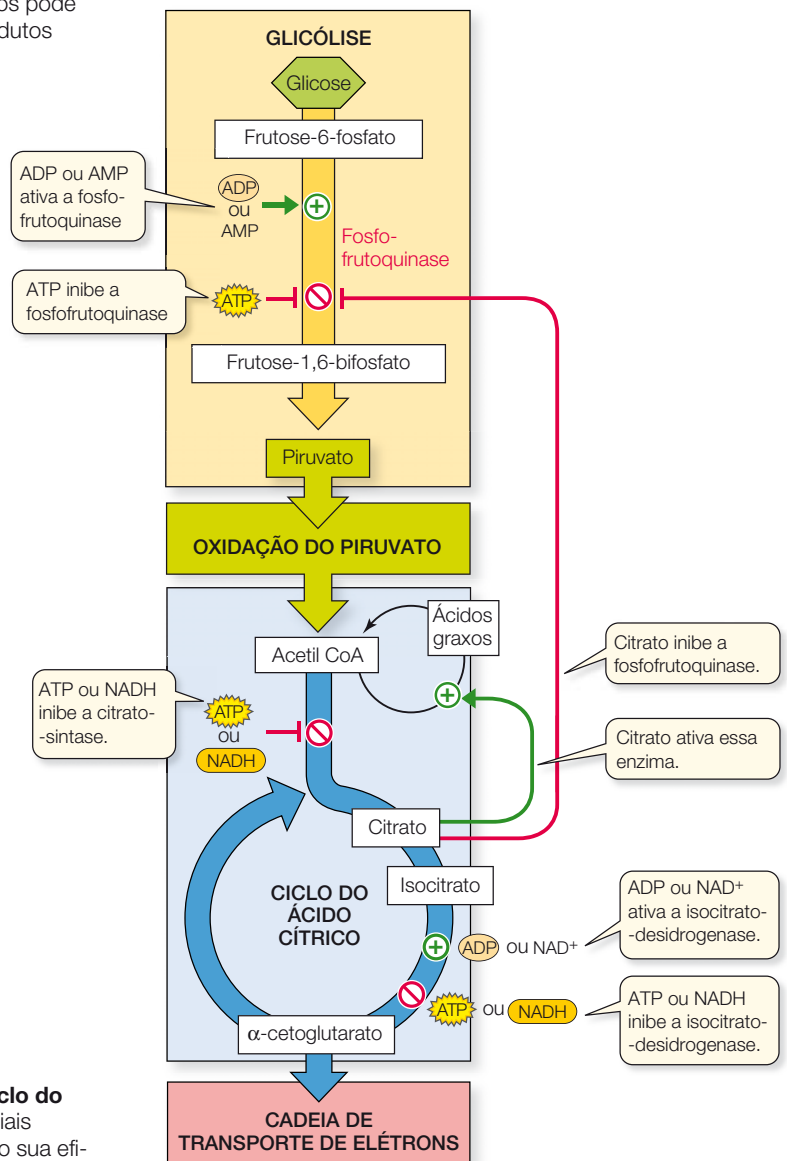


Figura 7.19 Regulação alostérica da glicólise e do ciclo do ácido cítrico O feedback alostérico controla passos iniciais cruciais da glicólise e do ciclo do ácido cítrico, aumentando sua eficiência e evitando a formação excessiva de intermediários.

- *Um outro ponto de controle envolve acetil CoA.* Se estiver sendo formado muito ATP e o ciclo do ácido cítrico cessar, a acumulação de citrato desvia o acetil CoA à síntese de ácidos graxos para armazenagem. Essa é a razão pela qual as pessoas que comem demais acumulam gordura. Posteriormente, esses ácidos graxos podem ser metabolizados a fim de produzir mais acetil CoA.
- *Um ponto de controle final ocorre na diferenciação celular.* Conforme ilustrado na abertura deste capítulo, por exemplo, uma única proteína, PPAR δ , parece controlar a proliferação de fibras musculares de contração lenta. Essas células, que possuem muitas mitocôndrias, catabolizam aerobiamente gorduras e carboidratos. O resultado é uma liberação constante de ATP, cuja hidrólise pode ser empregada para capacitar os músculos a uma atividade continuada. A corrida de longa distância é uma boa maneira de combater a obesidade.

7.6 RECAPITULAÇÃO

A glicose pode ser formada de intermediários da glicólise e do ciclo do ácido cítrico, mediante um processo denominado gliconeogênese. As rotas metabólicas de lipídeos e aminoácidos vinculam-se às do metabolismo da glicose. Existem enzimas-chave que unem e regulam as diversas rotas.

- Você poderia dar um exemplo de uma interconversão catabólica de um lipídeo, e de uma interconversão anabólica de uma proteína? *Ver p. 154 e Figura 7.16.*
- Você poderia explicar como a fosfofrutoquinase serve como um ponto de controle da glicólise? *Ver p. 156 e Figura 7.19.*
- O que aconteceria se não houvesse mecanismo alostérico para detectar o nível de acetil CoA?

RESUMO DO CAPÍTULO

7.1 De que forma a oxidação da glicose libera energia química?

À medida que um material é **oxidado**, os elétrons perdidos transferem-se a outro material, que, desse modo, é **reduzido**. Tais **reações redox** transferem grandes quantidades de energia.

Rever Figura 7.2.

A coenzima **NAD** é um transportador-chave de elétrons em reações redox biológicas. Ela existe em duas formas, uma oxidada (NAD⁺) e a outra reduzida (NADH + H⁺).

A **glicólise** opera na presença ou na ausência de O₂. Sob condições **aeróbias**, a **respiração celular** continua o processo da decomposição da glicose. Sob condições **anaeróbias**, ocorre a **fermentação**. *Rever Figura 7.4.*

As três rotas da respiração celular denominam-se **oxidação do piruvato**, o **ciclo do ácido cítrico** e a **cadeia de transporte de elétrons**.

7.2 Quais são as rotas aeróbias do metabolismo da glicose?

A glicólise consiste em dez reações catalisadas por enzimas que ocorrem no citosol. Duas moléculas de **piruvato** são produzidas para cada molécula de glicose parcialmente oxidada, proporcionando o material para o início da respiração celular e da fermentação. *Rever Figura 7.5.*

As primeiras cinco reações da glicólise requerem um investimento de energia; as últimas cinco produzem energia. O ganho líquido atinge duas moléculas de ATP.

A transferência de grupos fosfato para ADP, catalisada por enzima, denomina-se **fosforilação ao nível do substrato**.

A oxidação do piruvato sucede a glicólise e a liga ao ciclo do ácido cítrico. Nessa rota, o piruvato converte-se em **acetil CoA**.

Acetil CoA consiste no ponto de partida do ciclo do ácido cítrico. Ele reage com o oxaloacetato, produzindo citrato. Oito reações em série, catalisadas por enzimas, oxidam o citrato e regeneram o oxaloacetato, continuando o ciclo. *Rever Figura 7.8.*

7.3 Como a energia é produzida a partir da glicose na ausência de oxigênio?

Na ausência de O₂, a glicólise é seguida pela fermentação. Juntas, essas rotas oxidam parcialmente a glicose e geram produtos fi-

nais, tais como o **ácido láctico** ou o **etanol**, além de uma quantidade pequena de ATP. *Rever Figuras 7.9 e 7.10.*

7.4 Como a oxidação da glicose forma ATP?

A oxidação de transportadores de elétrons, na presença de O₂, libera energia que pode ser usada para formar ATP, em um processo denominado **fosforilação oxidativa**.

NADH e FADH₂, provenientes da glicólise, oxidação do piruvato e ciclo do ácido cítrico, oxidam-se pela cadeia de transporte de elétrons, regenerando NAD⁺ e FAD. O oxigênio (O₂) é o receptor final de elétrons e prótons, formando água (H₂O). *Rever Figura 7.11.*

A cadeia de transporte de elétrons não apenas move elétrons por meio de seus transportadores, mas também bombeia prótons através da membrana mitocondrial interna, criando uma **força motriz de prótons**.

Os prótons constituintes da força motriz de prótons podem retornar à matriz mitocondrial via **ATP-sintase**, que conecta esse movimento de prótons à síntese de ATP. Esse processo chama-se **quimiosmose**. *Rever Figura 7.13.*

7.5 Por que a respiração celular produz muito mais energia do que a fermentação?

Para cada molécula de glicose utilizada, a fermentação produz duas moléculas de ATP. Em comparação, a glicólise, operando com a oxidação do piruvato, o ciclo do ácido cítrico e a cadeia de transporte de elétrons, produz 32 moléculas de ATP por molécula de glicose. *Rever Figura 7.15.*

7.6 Como as rotas metabólicas são correlacionadas e controladas?

As **rotas catabólicas** de carboidratos, gorduras e proteínas alimentam rotas metabólicas produtoras de energia. *Rever Figura 7.16.*

As **rotas anabólicas** utilizam componentes intermediários das rotas produtoras de energia para sintetizar gorduras, aminoácidos e outros constituintes essenciais.

A formação de glicose a partir de intermediários glicolíticos e do ciclo do ácido cítrico denomina-se **gliconeogênese**.

As taxas da glicólise e do ciclo do ácido cítrico regulam-se por **feedback** alostérico, por armazenagem do excesso de acetil CoA e por diferenciação celular. *Rever Figura 7.19.*

QUESTÕES

- O papel do gás oxigênio em nossas células é
 - catalisar reações na glicólise.
 - produzir CO_2 .
 - formar ATP.
 - aceitar elétrons da cadeia de transporte de elétrons.
 - reagir com a glicose para decompor a água.
- A oxidação e a redução:
 - acarretam ganho ou perda de proteínas.
 - são definidas como a perda de elétrons.
 - são reações endergônicas.
 - sempre ocorrem juntas.
 - ocorrem somente sob condições aeróbias.
- NAD^+ :
 - é um tipo de organela.
 - é uma proteína.
 - está presente apenas em mitocôndrias.
 - é uma parte do ATP.
 - se forma na reação que produz etanol.
- A glicólise:
 - ocorre na mitocôndria
 - não produz ATP.
 - não tem conexão com a cadeia de transporte de elétrons.
 - é a mesma coisa que fermentação.
 - reduz duas moléculas de NAD^+ para cada molécula de glicose processada.
- A fermentação:
 - ocorre na mitocôndria.
 - ocorre em todas as células animais.
 - não necessita de O_2 .
 - requer ácido láctico.
 - impede a glicólise.
- Que afirmativa sobre o piruvato *não* é verdadeira?
 - É o produto final da glicólise.
 - Torna-se reduzido durante a fermentação.
 - É um precursor de acetil CoA.
 - É uma proteína.
 - Contém três átomos de carbono.
- O ciclo do ácido cítrico:
 - ocorre na mitocôndria.
 - não produz ATP.
 - não tem conexão com a cadeia de transporte de elétrons.
 - é a mesma coisa que fermentação.
 - reduz duas moléculas de NAD^+ para cada molécula de glicose processada.
- A cadeia de transporte de elétrons:
 - está localizada na matriz mitocondrial.
 - inclui proteínas integrais da membrana.
 - sempre produz ATP.
 - reoxida coenzimas reduzidas.
 - opera simultaneamente com a fermentação.
- Comparando com a fermentação, as rotas aeróbias do metabolismo da glicose produzem:
 - mais ATP.
 - piruvato.
 - menos prótons por bombeamento na mitocôndria.
 - menos CO_2 .
 - mais coenzimas oxidadas.
- Que afirmativa sobre a fosforilação oxidativa *não* é verdadeira?
 - É a formação de ATP pela cadeia de transporte de elétrons.
 - É efetuada pelo quimiosmose.
 - Requer condições aeróbias.
 - Ocorre na mitocôndria.
 - Suas funções podem ser igualmente bem desempenhadas pela fermentação.

PARA DISCUSSÃO

1. Trace a sequência de mudanças químicas que ocorre em tecido de mamíferos quando o suprimento de oxigênio cessa. A primeira alteração é que o sistema citocromo *c* oxidase se torna totalmente reduzido, pois elétrons podem ainda fluir do citocromo *c*, mas não há oxigênio para aceitar elétrons provenientes da citocromo *c* oxidase. Quais as etapas restantes?
2. Algumas células que utilizam as rotas aeróbias da glicose também podem crescer por meio da fermentação sob condições anaeróbias. Sabendo-se que a produção de ATP (por molécula de glicose) é mais baixa na fermentação, de que forma essas células podem funcionar tão eficientemente sob condições anaeróbias?
3. A droga antimicina A bloqueia o transporte de elétrons nas mitocôndrias. Explique o que aconteceria se o experimento 1 na Figura 7.14 fosse repetido na presença dessa droga.
4. Você ingere um hambúrguer que contém polissacarídeos, proteínas e lipídeos. Usando seu conhecimento sobre integração de rotas bioquímicas, explique como os aminoácidos nas proteínas e a glicose nos polissacarídeos podem resultar em gorduras.

PARA INVESTIGAÇÃO

Uma proteína presente na gordura de recém-nascidos separa a síntese de ATP do transporte de elétrons e, por outro lado, gera calor. Como você

investigaria a hipótese que essa proteína separadora adiciona um segundo canal de prótons à membrana mitocondrial?

A fonte final de energia

Se todos os carboidratos produzidos pela fotossíntese em um ano tivessem a forma de cubos de açúcar, haveria 300 quatrilhões deles. Se fossem dispostos em linha, esses cubos se estenderiam da Terra até Plutão. Isto representa uma imensa produção fotossintética!

Imagine o que aconteceria se a fotossíntese sobre a Terra fosse reduzida. Tal catástrofe aconteceu há cerca de 65 milhões de anos, quando um enorme meteorito caiu sobre a Terra, num local que hoje corresponde ao sul do México. Evidências geológicas sugerem que o impacto levantou uma imensa nuvem de poeira, obstaculizando a luz solar e reduzindo a fotossíntese – e, em consequência, o crescimento vegetal e a sobrevivência das espécies que dependem das plantas. O impacto possivelmente provocou a extinção dos dinossauros (entre outras espécies). A extinção desses animais, no entanto, beneficiou os primeiros mamíferos, que proliferaram na ausência da competição com os grandes

répteis. (Até mesmo você talvez não estivesse aqui, se a fotossíntese não tivesse sido reduzida de modo tão drástico há tantos milhões de anos.)

As plantas verdes, uma vez supridas de energia pela luz solar, utilizam as reações da fotossíntese para converter substâncias químicas simples – dióxido de carbono e água – em carboidratos. A emergência da fotossíntese constituiu um evento-chave na evolução da vida, integrando uma fonte de energia externa – a luz solar – ao mundo vivo. Usando energia solar na produção do seu próprio alimento, os organismos fotossintetizantes proporcionam à biosfera um ponto de ingresso da energia química. A maioria dos outros seres vivos depende dos organismos fotossintetizantes para obter matérias-primas do metabolismo, como a glicose e o oxigênio atmosférico.

Globalmente, a cada ano, as plantas fixam mais do que 10 bilhões de toneladas de carbono. Com isso, queremos dizer que, partindo de um gás simples (CO_2), as moléculas de carbono convertem-se em moléculas reduzidas mais complexas (carboidratos), disponibilizando o carbono para ser usado como alimento. Como seria de se imaginar, a “cadeia alimentar” da Terra exige grande atividade fotossintética. Na planície africana, são empregados 2,5 hectares de campo na conversão de CO_2 em matéria vegetal suficiente para sustentar o crescimento de uma única gazela.

Os seres humanos consomem uma vasta quantidade da produção fotossintética da Terra. Para determinar quanto, Mark Imhoff e colegas do NASA Center, em Maryland, estimaram a produtividade líquida dos organismos fotossintéticos do planeta – isto é, a quantidade de carbono que eles fixam menos a quantidade que eles usam no seu crescimento e reprodução. Uma vez estimado o carbono fixado disponível, os cientistas estimaram então o consumo de carboidratos pelos seres humanos. O consumo direto incluiu todos os carboidratos usados como alimento, combustível, fibra, ou madeira. O consumo indireto incluiu a remoção de safras

Produtores primários Cobrindo menos de 2% da superfície da Terra, as florestas tropicais consistem em dinamos fotossintéticos, produzindo cerca de um quinto do gás oxigênio existente na atmosfera.





Um desastre fotossintético Uma concepção artística do suposto impacto do meteorito há 65 milhões de anos. Em consequência, foi levantada uma nuvem de poeira, que sufocou a atmosfera e reduziu severamente a produção fotossintética no planeta.

que não utilizamos, queimadas para retirar a vegetação e terras modificadas para a expansão urbana.

A conclusão estarrecedora: os seres humanos se apropriam de um terço de todo o carbono fixado por ano, deixando dois terços para todo o restante da biosfera. Isto é incomparavelmente a maior razão de consumo por uma única espécie na história evolutiva conhecida. Podemos continuar consumindo indefinidamente essa enorme produção fotossintética? A Assembleia das Nações Unidas sobre Sustentabilidade, realizada em 2002, concluiu que precisamos estabelecer metas a fim de proteger nosso futuro fotossintético. Uma etapa inicial importante no exame da sustentabilidade ecológica é compreender a fotossíntese.

NESTE CAPÍTULO examinamos inicialmente de que modo a fotossíntese converte a energia da luz em energia química sob a forma de transportadores de elétrons reduzidos e ATP. Após, observaremos como essas duas fontes de energia química são usadas para impulsionar a síntese de carboidratos a partir do dióxido de carbono. Mostraremos como as relações entre esses dois processos são imperativas para o crescimento vegetal.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 8.1** O que é fotossíntese?
- 8.2** Como a fotossíntese converte a energia da luz em energia química?
- 8.3** Como a energia química é usada para sintetizar carboidratos?
- 8.4** Como as plantas se adaptam às ineficiências da fotossíntese?
- 8.5** Como a fotossíntese conecta-se a outras rotas metabólicas nas plantas?

8.1 O que é fotossíntese?

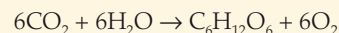
A **fotossíntese** (literalmente, “síntese utilizando a luz”) consiste em um processo metabólico pelo qual a energia da luz solar é capturada e utilizada na conversão de dióxido de carbono (CO_2) e água (H_2O) em carboidratos ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) e oxigênio (O_2) (**Figura 8.1**). No começo do século XIX, os cientistas descobriram as linhas gerais da fotossíntese e estabeleceram vários aspectos sobre o modo de trabalho do processo:

- A água para a fotossíntese em plantas terrestres provém principalmente do solo e deve deslocar-se das raízes até as folhas.
- As plantas absorvem dióxido de carbono e liberam água e O_2 , através de minúsculas aberturas nas folhas,* denominadas *estômatos* (ver Figura 8.1).
- A luz faz-se absolutamente necessária para a produção de oxigênio e de açúcares.

Em 1804, os cientistas resumiram a fotossíntese conforme segue:

dióxido de carbono + água + energia da luz \rightarrow açúcar + oxigênio

Em termos moleculares, esta equação parece ser o *inverso* da equação-geral da respiração celular (ver Seção 7.1). Mais exatamente, pode ser formulada assim:



Embora na essência sejam corretas, essas equações suscitam dúvidas a respeito do processo da fotossíntese, que, na verdade, *não* é o inverso da respiração celular. Quais são as reações da fotossíntese? Que papel a luz desempenha nessas reações? Como os carbonos se ligam para formar açúcares? E de onde o oxigênio provém: do CO_2 ou da H_2O ?

Quase um século se passou para que fosse determinada a fonte do O_2 liberado durante a fotossíntese. Um dos primeiros experimentos biológicos a utilizar radioisótopos traçou o fluxo de oxigênio em plantas. Samuel Ruben e Martin Kamen prepararam dois grupos de plantas para realizar fotossíntese (**Figura 8.2**). As plantas do primeiro grupo foram supridas com água contendo o isótopo de oxigênio ^{18}O e com CO_2 contendo apenas o isótopo de oxigênio comum, ^{16}O ; as plantas do

* N. de T. Tais aberturas podem ser encontradas também na epiderme de outros órgãos aéreos, além de folhas.

Figura 8.1 Os ingredientes para a fotossíntese Na formação de compostos orgânicos pela fotossíntese, uma planta utiliza luz solar, água do solo e dióxido de carbono procedente da atmosfera.

segundo grupo foram supridas de CO_2 marcado com ^{18}O e de água contendo somente ^{16}O . O oxigênio de cada grupo de plantas foi coletado e analisado. O oxigênio contendo ^{18}O era produzido em abundância pelas plantas que receberam água com ^{18}O marcado, mas *não* ocorreu o mesmo naquelas que receberam CO_2 com ^{18}O marcado.

Esses resultados mostraram que todo o oxigênio produzido durante a fotossíntese provém da água, conforme está expressa na equação:



A água aparece em ambos os lados da equação porque ela é usada como reagente (as 12 moléculas à esquerda) e liberada como produto (as 6 novas moléculas à direita). Esta equação considera todas as moléculas de água necessárias para todo o oxigênio produzido.

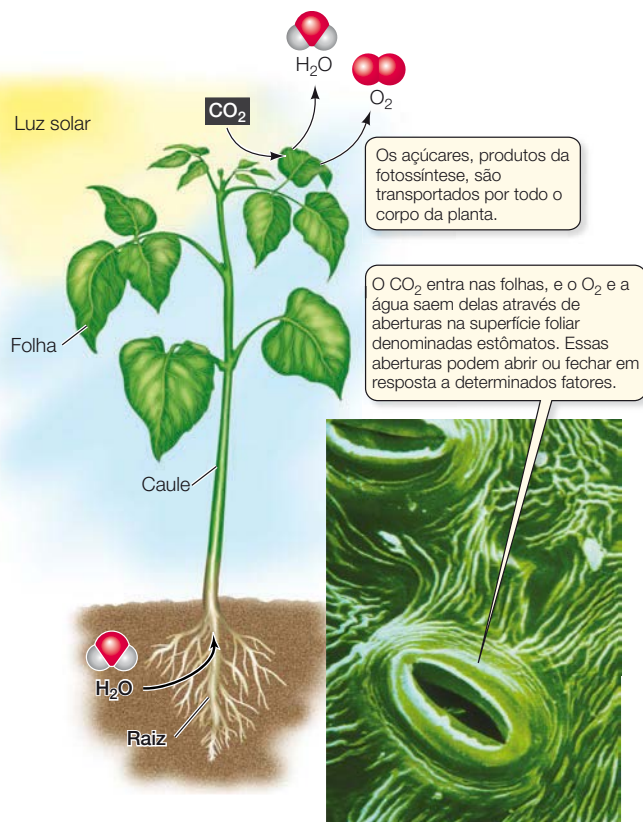
A fotossíntese envolve duas rotas

Nossa equação resume o processo global da fotossíntese, mas não os estágios pelos quais ela se completa. Como a glicólise e as outras rotas metabólicas que captam energia em células, a fotossíntese consiste em muitas reações. As reações da fotossíntese comumente dividem-se em duas rotas principais:

- As **reações dependentes da luz** são impulsionadas pela energia da luz. Esta rota converte energia da luz em energia química sob forma de ATP e um carreador de elétrons reduzido ($\text{NADPH} + \text{H}^+$).
- As **reações independentes da luz** não a usam diretamente, mas ATP, $\text{NADPH} + \text{H}^+$ (formados pelas reações dependentes da luz) e CO_2 para produzir açúcares. Existem três formas diferentes de rota independente da luz que reduz o CO_2 : *ciclo de Calvin*, *fotossíntese C_4* e *metabolismo ácido das crassuláceas*.

As reações independentes da luz às vezes denominam-se *reações no escuro*, pois não requerem energia da luz diretamente. Entretanto, tanto as reações dependentes quanto as independentes da luz cessam no escuro porque a síntese de ATP e a redução de NADP^+ requerem luminosidade. As reações de ambas as rotas prosseguem dentro do cloroplasto, mas ocorrem em partes diferentes dessa organela (**Figura 8.3**). As duas rotas ligam-se pela troca de ATP e ADP, e de NADP^+ e NADPH , sendo a taxa de cada conjunto de reações dependente da taxa do outro.

Figura 8.2 A água é a fonte do oxigênio produzido pela fotossíntese Como apenas as plantas que receberam água com isótopo de O_2 marcado liberaram este tipo de isótopo, o experimento demonstrou que a água é a fonte do oxigênio liberado durante a fotossíntese.



EXPERIMENTO

HIPÓTESE: O oxigênio liberado pela fotossíntese provém da água e não do CO_2 .

Experimento 1

H_2^{18}O , CO_2

MÉTODO

As plantas receberam água com isótopo marcado e CO_2 não marcado.



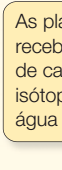
$^{18}\text{O}_2$

RESULTADOS

O oxigênio liberado era marcado.

Experimento 2

H_2O , C^{18}O_2



O_2

O oxigênio liberado era não marcado.

CONCLUSÃO: A água é a fonte do O_2 produzido pela fotossíntese.

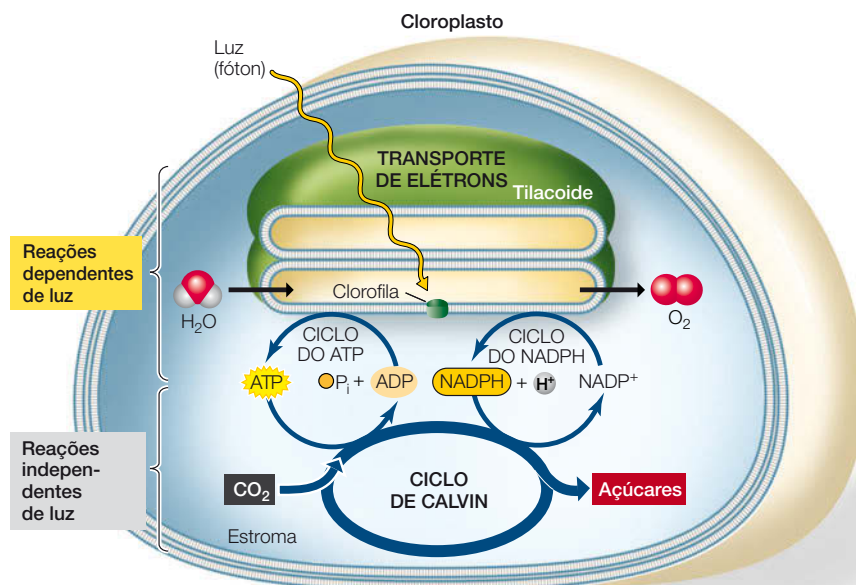


Figura 8.3 Uma visão geral da fotossíntese A fotossíntese compreende duas rotas: as reações dependentes da luz e as independentes. Essas ocorrem nos tilacoide e no estroma de cloroplastos, respectivamente.

8.1 RECAPITULAÇÃO

Na fotossíntese, as reações dependentes da luz convertem a energia da luz em energia química. As reações independentes da luz usam essa energia química para reduzir CO₂ a carboidratos.

- Você poderia explicar como sabemos que a água é a fonte do O₂ necessário para a fotossíntese? Ver p.162 e Figura 8.2.
- Na fotossíntese, qual é a relação entre as reações dependentes de luz e as independentes? Ver p. 162 e Figura 8.3.

Descreveremos, separadamente e em detalhe, as reações dependentes de luz e as independentes. Todavia, uma vez que essas duas rotas fotossintéticas suprem-se de energia da luz solar, começaremos pela discussão da natureza física de luz e das moléculas fotossintéticas específicas que capturam sua energia.

8.2 Como a fotossíntese converte a energia da luz em energia química?

A luz é fonte de energia e de informação. Em outros capítulos, exploraremos as suas muitas funções e dos pigmentos na transmissão de informação. Neste capítulo, enfocaremos a luz como fonte de energia.

A luz se comporta como partícula e onda

A luz é uma forma de **radiação eletromagnética**. Ela chega em pacotes separados denominados **fótons**. A luz também se comporta como se fosse propagada em ondas. A quantidade de ener-

gia contida em um único fóton é inversamente proporcional ao seu **comprimento de onda**: quanto mais curto o comprimento de onda, maior a energia dos fótons. Para ser ativo em um processo biológico, um fóton precisa ser absorvido por uma molécula receptiva e deve ter energia suficiente para executar o trabalho químico exigido.

A absorção de um fóton excita uma molécula do pigmento

Quando um fóton encontra uma molécula, acontece uma das três situações a seguir:

- O fóton pode saltar fora da molécula – *dispersado* ou *refletido*.
- O fóton pode atravessar a molécula – *transmitido*.
- O fóton pode ser *absorvido* pela molécula.

Nenhuma das duas primeiras situações causa qualquer mudança na molécula. No caso de **absorção**, entretanto, o fóton desaparece. Con-

tudo, sua energia não pode desaparecer, pois, de acordo com a primeira lei da termodinâmica, a energia não é criada nem destruída. Ao absorver um fóton, a molécula adquire a energia do fóton. Desse modo, eleva-se de um **estado básico** (com energia mais baixa) a um **estado excitado** (com energia mais alta) (**Figura 8.4A**).

A diferença, em energia livre, entre o estado excitado da molécula e o seu estado básico é aproximadamente igual à energia livre do fóton absorvido (uma pequena quantidade é perdida para a entropia). O aumento em energia impulsiona um dos elétrons dentro da molécula até uma órbita mais afastada do seu núcleo; esse elétron fica agora preso com menos firmeza (**Figura 8.4B**), tornando a molécula mais reativa quimicamente.

Existe uma correlação entre os comprimentos de onda absorvidos e a atividade biológica

O espectro eletromagnético (**Figura 8.5**) abrange a ampla gama de comprimentos de onda (λ , em consequência, de níveis de energia) que os fótons podem ter. Os comprimentos de onda específicos absorvidos por determinada molécula são característicos daquele tipo de molécula. As moléculas que absorvem comprimentos de onda no *espectro visível* – aquela região do espectro percebida como luz pelo olho humano – denominam-se **pigmentos**.

Quando um feixe de luz branca (que contém luz visível de *todos* os comprimentos de onda) incide sobre um pigmento, certos comprimentos de onda são absorvidos. Os comprimentos de onda restantes, dispersos ou transmitidos, fazem o pigmento mostrar-se colorido para nós. Se um pigmento, a clorofila, por exemplo, absorver luzes azuis e vermelhas, o que vemos é luz restante – neste caso é primariamente verde.

Se representarmos graficamente os comprimentos de onda de luz absorvida por um pigmento purificado, o resultado é um **espectro de absorção** para aquele pigmento. Se representarmos a

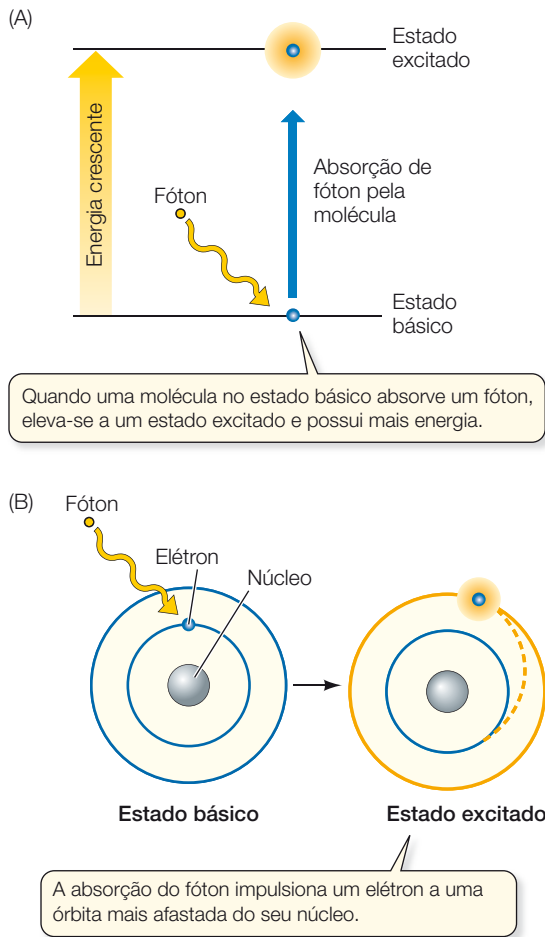


Figura 8.4 Excitando uma molécula (A) Quando absorve a energia de um fóton, uma molécula eleva-se de um estado básico a um estado excitado. (B) No estado excitado, um elétron é impulsionado a uma órbita mais distante, onde fica preso com menos firmeza.

atividade biológica de um organismo fotossintético em função dos comprimentos de onda de luz à qual ele está exposto, o resultado é um **espectro de ação**. A **Figura 8.6** apresenta o espectro de absorção de um pigmento, a clorofila *a*, isolado de folhas de uma planta, e o espectro de ação para a atividade fotossintética da mesma planta. Uma comparação dos dois espectros mostra que os comprimentos de onda nos quais a fotossíntese é máxima são os mesmos comprimentos de onda nos quais a clorofila *a* absorve luz.

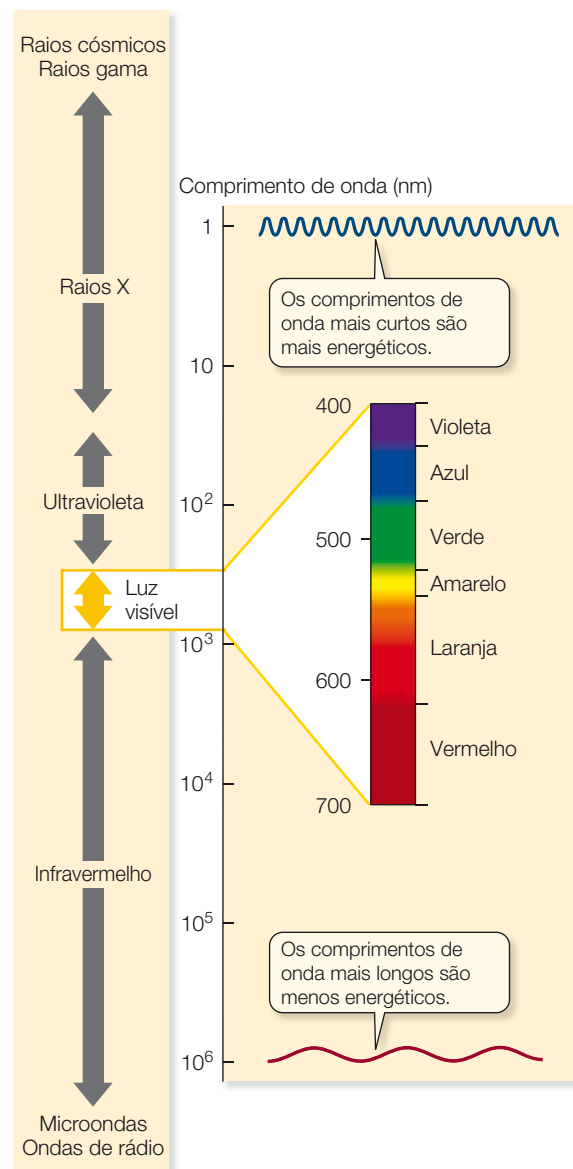
A fotossíntese utiliza energia absorvida por diversos pigmentos

A energia da luz usada pela fotossíntese não é absorvida apenas por um tipo de pigmento. Ao contrário, muitos pigmentos diferentes, com espectros de absorção distintos, absorvem a energia que é utilizada posteriormente pela fotossíntese. Em organismos fotossintéticos de todos os tipos (plantas, protistas e bactérias), esses pigmentos abrangem as *clorofilas*, as *carotenoides* e as *ficobilinas*.

Figura 8.5 O espectro eletromagnético A faixa do espectro eletromagnético visível ao olho humano como luz aparece em detalhe à direita.

CLOROFILAS Em plantas, duas clorofilas predominam: clorofila *a* e clorofila *b*. Esses dois pigmentos diferem pouco em sua estrutura molecular. Ambos têm uma complexa estrutura em anel, semelhante à do grupo heme da hemoglobina. No centro de cada anel de clorofila há um átomo de magnésio, e numa posição periférica do anel está unida a ele uma longa “cauda” hidrocarbonada, que pode prender a molécula de clorofila às proteínas integrais da membrana do tilacoide de um cloroplasto (**Figura 8.7**; rever a estrutura de um cloroplasto na Figura 4.14).

Um antigo livro de receitas romano advertia que *omne holus smaragdinum fit, si cum nitro coquatur* – ou seja, “Todas as plantas verdes ficarão com cor de esmeralda, se cozidas com *nitrum*”. *Nitrum* é uma forma natural de bicarbonato de sódio, que tampona a clorofila e a conserva verde-brilhante.



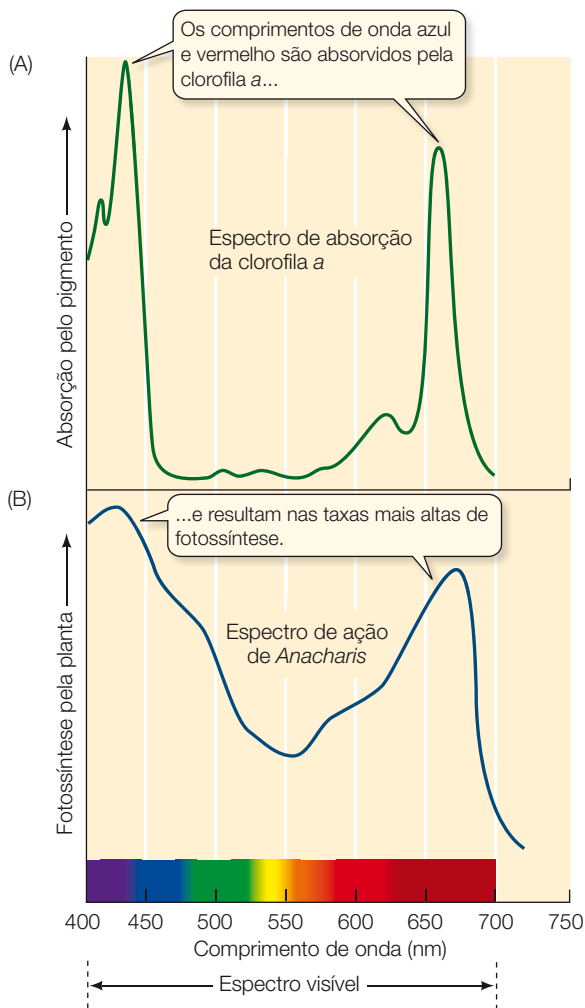


Figura 8.6 Absorção e espectros de ação O espectro de absorção (A) do pigmento purificado, a clorofila a, da planta aquática *Anacharis*, assemelha-se ao espectro de ação (B) obtido quando diferentes comprimentos de onda de luz incidem sobre a planta intacta e a taxa de fotossíntese é medida.

PIGMENTOS ACESSÓRIOS Observamos na Figura 8.6 que a clorofila absorve comprimentos de onda azul e vermelho, situados próximos às duas extremidades do espectro visível. Portanto, se apenas a clorofila fosse ativa na fotossíntese, muito do espectro visível não seria usado. Entretanto, todos os organismos fotossintéticos possuem **pigmentos acessórios**, que absorvem fótons com energia entre os comprimentos de onda vermelho e azul e em seguida transferem para as clorofilas uma porção dessa energia. Entre esses pigmentos acessórios estão os **carotenoides**, como o β -caroteno, que absorvem fótons nos comprimentos de onda azul e azul-verde e têm coloração amarela forte. As **ficobilinas**, encontradas em algas vermelhas e em cianobactérias, absorvem nos comprimentos de onda amarelo-verde, amarelo e laranja.

A absorção da luz resulta em alteração química

Qualquer molécula de pigmento pode se tornar excitada quando o seu espectro de absorção se combina com as energias de fótons

incidentes. Após absorver um fóton e alcançar um estado excitado (ver Figura 8.4), a molécula de pigmento retorna ao estado básico. Quando isso acontece, parte da energia absorvida pode ser emitida por meio de calor e o restante como energia luminosa ou **fluorescência**. Parte da energia da luz absorvida é perdida como calor; por isso, a fluorescência tem menos energia e comprimentos de onda mais longos do que a luz absorvida. Quando ocorre fluorescência, não há alterações químicas ou funções biológicas permanentes – não se realiza trabalho químico. Se não ocorrer fluorescência, a molécula de pigmento pode passar a energia absorvida a uma outra molécula, desde que esteja próxima, tenha a orientação correta e a estrutura apropriada para receber a energia.

Os pigmentos em organismos fotossintéticos estão dispostos como **sistemas antena** de absorção de energia. Nesses sistemas, os pigmentos são reunidos e fixados às proteínas da membrana do tilacoide de tal maneira que a energia de excitação de um fóton absorvido pode passar de uma molécula de pigmento no sis-

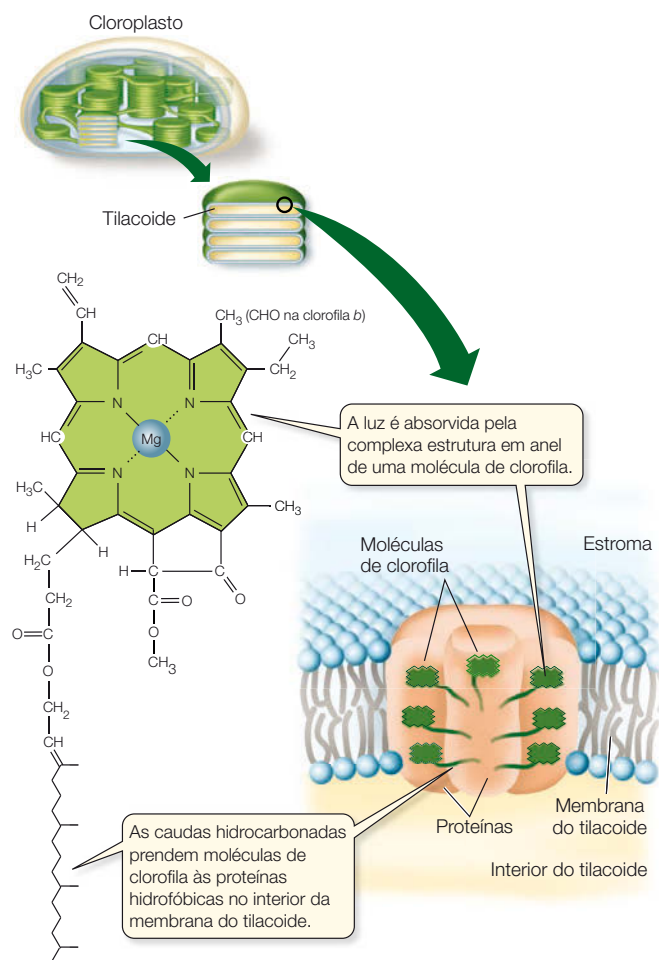


Figura 8.7 A estrutura molecular da clorofila A clorofila consiste em uma complexa estrutura em anel (área verde) com um átomo de magnésio no centro, mais uma “cauda” hidrocarbonada. A “cauda” prende a molécula de clorofila a uma proteína integral da membrana do tilacoide. As clorofilas a e b assemelham-se muito, diferindo pela substituição de um grupo metila (–CH₃) por um grupo aldeído (–CHO), na parte superior à direita.

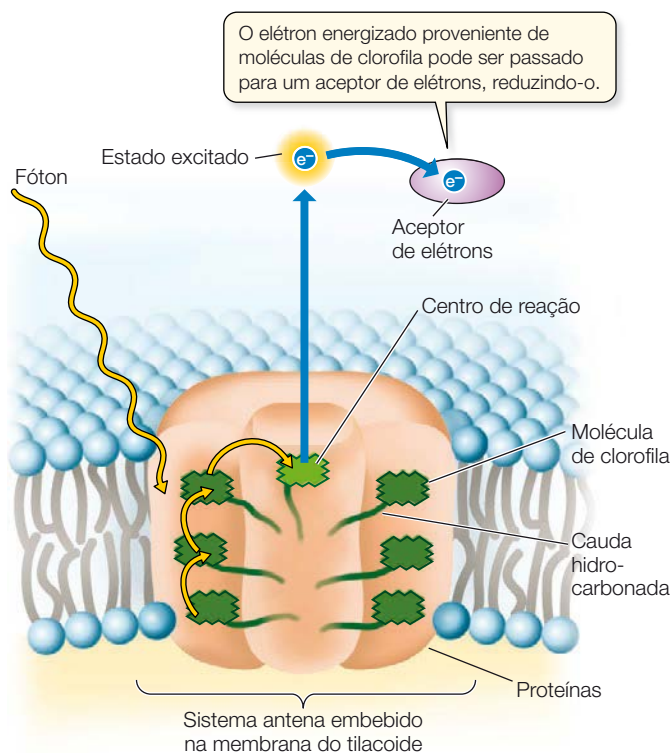


Figura 8.8 Transferência de energia e transporte de elétrons Em vez de ser perdida como fluorescência, a energia de um fóton pode ser transferida de uma molécula de pigmento para outra. Em um sistema antena, uma molécula de pigmento pode transferir energia por uma série de outras moléculas de pigmento para uma molécula de pigmento no centro de reação. Essa molécula pode se tornar suficientemente excitada para ceder seu elétron excitado, que pode então ser passado para um aceitador de elétrons.

tema para outra (Figura 8.8). A energia de excitação se desloca de pigmentos que absorvem comprimentos de onda mais curtos (energia mais alta) para pigmentos que absorvem comprimentos de onda mais longos (energia mais baixa). Portanto, a excitação termina na molécula de pigmento do sistema antena que absorve os comprimentos mais longos; essa molécula ocupa o **centro de reação** do sistema antena.

O centro de reação converte a energia da luz absorvida em energia química. É no centro de reação que uma molécula de pigmento absorve energia suficiente a ponto de realmente ceder seu elétron excitado (é oxidado quimicamente) e se tornar carregada positivamente. Em plantas, a molécula de pigmento no centro de reação é sempre uma molécula de clorofila *a*. Existem muitas outras moléculas de clorofila *a* no sistema antena, mas todas absorvem luz com comprimentos de onda mais curtos do que os da luz absorvida pela molécula no centro de reação.

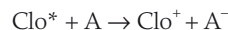
A clorofila excitada no centro de reação atua como um agente redutor

A clorofila tem dois papéis vitais na fotossíntese:

- Absorve a energia da luz e a transforma em energia química na forma de elétrons.
- Transfere esses elétrons a outras moléculas.

Após tratarmos do primeiro papel, examinaremos o segundo.

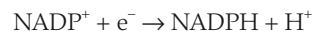
A fotossíntese capta energia química, utilizando a molécula de clorofila excitada no centro de reação como *agente redutor* (*doador de elétrons*) para reduzir um aceitador de elétrons estável (ver Figura 8.8). A clorofila no estado básico (Clo) é um agente redutor insignificante, ao contrário da clorofila excitada (Clo*). Para compreender a capacidade redutora de Clo*, lembre que, em uma molécula excitada, um dos elétrons movimenta-se rapidamente ao redor de uma órbita mais distante do seu núcleo. Já que se encontra preso com menos firmeza, esse elétron pode ser transportado, em uma reação redox, para um agente oxidante. Portanto, Clo* (mas não Clo) pode reagir com um agente oxidante A, em uma reação como esta:



Esta, então, trata-se da primeira consequência da absorção da luz pela clorofila: a clorofila se torna um agente redutor (Clo*) e participa de uma reação redox. (A Clo⁻ é um agente oxidante forte, conforme descrito abaixo.)

A redução leva ao transporte de elétrons

O agente oxidante A que se reduz pela Clo* é o primeiro de uma cadeia de transportadores de elétrons na membrana do tilacoide do cloroplasto que participa de um processo denominado *transporte de elétrons*. Essa série de reduções e oxidações energeticamente “morro abaixo” assemelha-se ao que ocorre na cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria (ver Seção 7.4). O aceitador final de elétrons é **NADP⁺ (nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato)**, que se reduz:



NADPH + H⁺, rico em energia, consiste em uma coenzima estável, reduzida. Sua forma oxidada é NADP⁺. Da mesma forma enquanto NAD⁺ une as rotas metabólicas da respiração celular, NADP⁺ une as duas rotas fossintéticas. NADP⁺ e NAD⁺ são muito semelhantes, sendo que o primeiro tem um grupo fosfato adicional ligado a cada ribose (ver Figura 7.4). Enquanto NAD⁺ participa do catabolismo, NADP⁺ é usado em reações anabólicas (sintéticas), como a síntese de carboidratos a partir do CO₂, que requer energia do poder redutor.

Na fotossíntese, existem dois sistemas diferentes de transporte de elétrons:

- O *transporte não cíclico de elétrons* produz NADPH + H⁺ e ATP.
- O *transporte cíclico de elétrons* produz apenas ATP.

Consideraremos esses dois sistemas antes de abordar o papel da quimiosmose na fosforilação – um processo muito semelhante à fosforilação oxidativa em mitocôndrias.

O transporte não cíclico de elétrons produz ATP e NADPH

No transporte não cíclico de elétrons, emprega-se a energia da luz para oxidar água, formando O₂, H⁺ e elétrons.

Quando a clorofila perde elétrons sob excitação pela luz, fica com “falha de elétrons” e, portanto, com a forte tendência a “agarrar” elétrons de uma outra molécula, a fim de repor as perdas. Em termos químicos, pois, Clo⁺ (ver acima) é um forte agente oxidante. Os elétrons de reposição provêm da água, quebrando as pontes

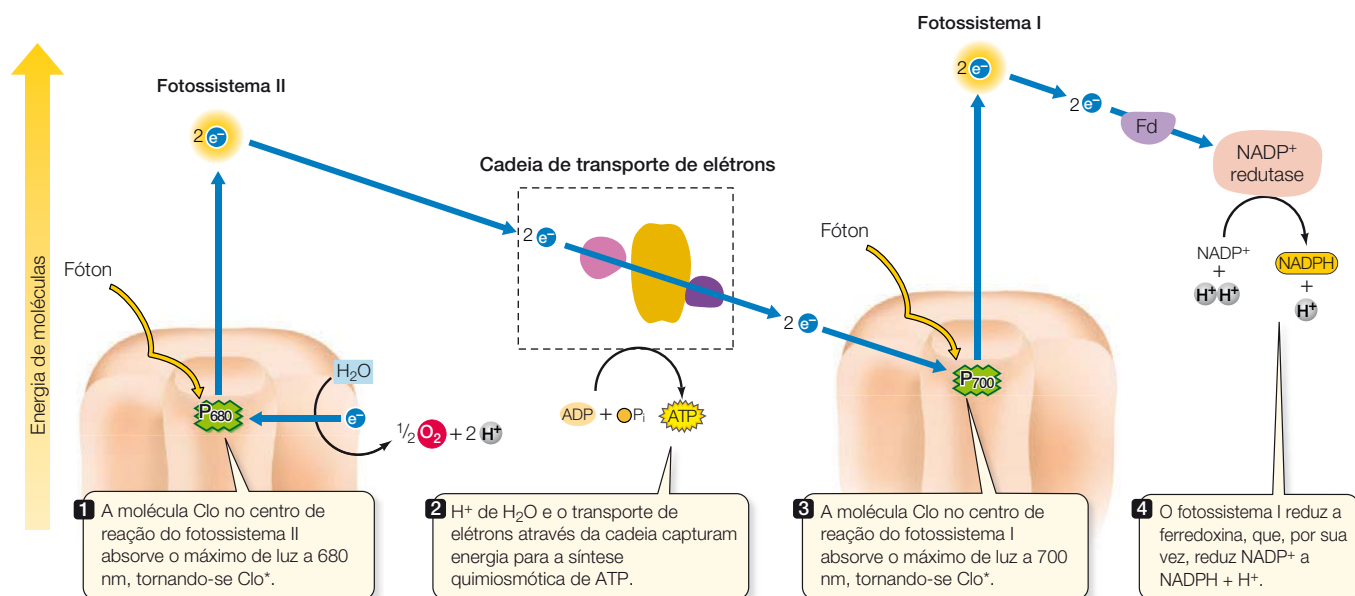


Figura 8.9 O transporte não cíclico de elétrons usa dois fotossistemas A energia de moléculas de clorofila excitadas nos centros de reação dos fotossistemas I e II permite que elétrons energizados reduzam carreadores, estabelecendo o transporte de elétrons. O termo “esquema Z” descreve a trajetória (setas azuis) de elétrons à medida que eles se deslocam através dos dois fotossistemas, usando o nível de energia segundo o eixo y do “gráfico”.

H–O–H. Como os elétrons são transportados da água para a clorofila e por fim para NADP⁺, eles passam por uma cadeia de carreadores de elétrons na membrana do tilacoide. Essas reações redox são exergônicas e parte da energia livre desprendida emprega-se finalmente na formação de ATP pela quimiosmose.

SÃO NECESSÁRIOS DOIS FOTOSSISTEMAS O transporte não cíclico de elétrons requer a participação de dois **fotossistemas** diferentes – grupos moleculares na membrana do tilacoide impulsionados pela luz, cada um consistindo em muitas moléculas de clorofila e de pigmentos acessórios ligados a proteínas em sistemas antena de absorção de energia *separados*.

- O **fotossistema I** usa energia da luz para reduzir NADP⁺ a NADPH + H⁺.
- O **fotossistema II** usa energia da luz para oxidar moléculas de água, produzindo elétrons, prótons (H⁺) e O₂.

O centro de reação do fotossistema I contém uma molécula de clorofila a P₇₀₀, assim chamada porque absorve melhor a luz com um comprimento de onda de 700 nm. O centro de reação do fotossistema II possui uma molécula de clorofila a P₆₈₀, assim chamada pois absorve o máximo de luz a 680 nm. Portanto, o fotossistema II requer fótons um tanto mais energéticos (isto é, com comprimentos de onda mais curtos) do que os exigidos pelo fotossistema I. Para manter o transporte não cíclico de elétrons, ambos os fotossistemas necessitam estar constantemente absorvendo luz e, assim, impulsionando elétrons para órbitas mais altas, de onde podem ser capturados por agentes oxidantes específicos. Os fotossistemas I e II se complementam, interagindo de uma maneira descrita em um modelo chamado de **esquema Z** (porque a trajetória dos elétrons, quando colocados ao longo de um eixo de nível energético crescente, lembra uma letra Z vista deitada; **Figura 8.9**).

TRANSPORTE DE ELÉTRONS: O ESQUEMA Z No modelo do esquema Z, que descreve as reações do transporte não cíclico de elétrons da água para NADP⁺, o fotossistema II precede o fotos-

sistema I. Quando o fotossistema II absorve fótons, os elétrons passam da P₆₈₀ para o aceptor primário de elétrons – o primeiro carreador na cadeia de transporte de elétrons – e P₆₈₀ é oxidada a P₆₈₀⁺. Os elétrons da oxidação da água transferem-se à P₆₈₀⁺, que readquire a forma reduzida P₆₈₀ e pode absorver mais fótons. Na cadeia de transporte de elétrons, os elétrons do fotossistema II passam por uma série de reações exergônicas acopladas indiretamente ao bombeamento de prótons através da membrana do tilacoide (conforme descrição na Figura 8.11). Esse bombeamento quimiosmótico cria um gradiente de prótons que produz energia para a síntese de ATP.

No fotossistema I, o centro de reação contendo P₇₀₀ se excita a P₇₀₀^{*}, que promove a redução de um agente oxidante denominado **ferredoxina** (Fd) e a produção de P₇₀₀⁺. A seguir, P₇₀₀⁺ retorna ao estado básico recebendo elétrons, passados através da cadeia de transporte de elétrons do fotossistema II.

Com essa explicação sobre a fonte dos elétrons que entram no fotossistema II, podemos agora considerar o destino dos elétrons oriundos do fotossistema I. Esses elétrons são usados na última etapa do transporte não cíclico de elétrons, em que empregam-se dois elétrons e dois prótons na redução de uma molécula de NADP⁺ a NADPH + H⁺.

Em resumo:

- O transporte não cíclico de elétrons extrai elétrons da água e os transfere finalmente a NADPH + H⁺, utilizando fótons absorvidos pelos fotossistemas I e II e resultando na síntese de ATP.
- O transporte não cíclico de elétrons produz NADPH + H⁺, ATP e O₂.

O transporte cíclico de elétrons produz ATP, mas não NADPH

O transporte não cíclico de elétrons produz ATP e NADPH + H⁺. Entretanto, conforme veremos, as reações da fotossíntese dependentes de luz usam mais ATP do que NADPH + H⁺. O **transporte cíclico de elétrons** ocorre em alguns organismos quando a razão de NADPH + H⁺ para NADP⁺ no cloroplasto é alta. Esse processo, que produz apenas ATP, denomina-se *cíclico* porque um elétron transportado de uma molécula de clorofila excitada no início *retorna ciclicamente à mesma molécula de clorofila* no final da cadeia de reações (**Figura 8.10**).

Antes de começar o transporte cíclico de elétrons, P₇₀₀ a molécula de clorofila do centro de reação do fotossistema I encontra-se no estado básico. Ela absorve um fóton e se torna P₇₀₀^{*}. A P₇₀₀^{*}, a seguir, reage com ferredoxina oxidada (Fd_{ox}) para produzir ferredoxina reduzida (Fd_{red}). A reação é exergônica, desprendendo energia livre. A ferredoxina reduzida (Fd_{red}) transfere seu elétron adicionado para um agente oxidante diferente, **plastoquinona (PQ)**, uma molécula orgânica pequena, que bombeia dois H⁺ de volta através da membrana do tilacoide. Portanto, Fd_{red} reduz PQ e PQ_{red} passa o elétron para a cadeia de transporte de elétrons via **plastocianina (PC)**, até completar seu ciclo pelo retorno à P₇₀₀^{*}, resultando em uma restauração de sua forma não carregada, P₇₀₀. Durante o tempo em que o elétron de P₇₀₀^{*} se desloca pela cadeia de transporte de elétrons e retorna para reduzir P₇₀₀⁺, toda a energia do fóton original foi liberada. Esse ciclo consiste em uma série de reações redox, todas exergônicas, e a energia liberada armazena-se sob forma de um gradiente de prótons que pode ser utilizado para produzir ATP.

A quimiosmose é a fonte do ATP produzido na fotofosforilação

A Seção 7.4 aborda o mecanismo quimiosmótico para formação de ATP na mitocôndria. Um mecanismo quimiosmótico similar funciona na **fotofosforilação**, a produção de ATP no cloroplasto,

impulsionada pela luz, a partir de ADP e P_i. Nos cloroplastos, o transporte de elétrons por meio da cadeia é acoplado ao transporte de prótons (H⁺) através da membrana do tilacoide, que resulta em um gradiente de prótons (**Figura 8.11**).

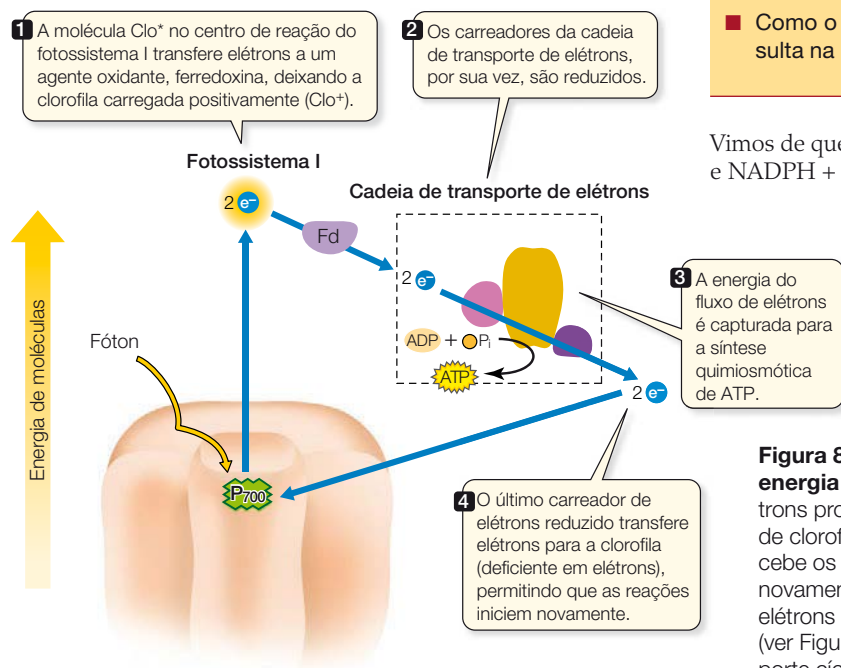
Cerca de 60% da sequência de aminoácidos na ATP-sintase do cloroplasto é a mesma da ATP-sintase mitocondrial em seres humanos – semelhança notável, dado que os vegetais e os animais tiveram seu ancestral comum mais recente há mais de um bilhão de anos.

Os carreadores de elétrons nas membranas do tilacoide orientam-se para que os prótons se movam do estroma – a matriz interna do cloroplasto – até o lúmen do tilacoide. Portanto, o lúmen do tilacoide se torna ácido em relação ao estroma. Essa diferença leva à difusão de H⁺ de volta para fora do lúmen do tilacoide, por meio de canais proteicos específicos na membrana do tilacoide. Esses canais são enzimas – ATP-sintases – que conectam a difusão de prótons à formação de ATP, exatamente como em mitocôndrias (ver Figura 7.14). Os mecanismos das duas enzimas também assemelham-se. A diferença é a sua orientação: em vegetais, mediante a ATP-sintase, os prótons fluem para fora do lúmen do tilacoide, mas em animais eles fluem *para dentro da* matriz mitocondrial.

8.2 RECAPITULAÇÃO

A conversão de energia luminosa em energia química ocorre quando pigmentos absorvem fótons. A energia luminosa transfere-se para elétrons, que atuam a fim de reduzir uma série de moléculas no cloroplasto.

- Como os cloroplastos absorvem e transferem energia luminosa? Ver p. 165 -166 e Figura 8.8.
- Você sabe como os elétrons são produzidos no fotossistema II e depois fluem para o fotossistema I? Ver p. 166 -167 e Figura 8.9.
- Como o transporte cíclico de elétrons no fotossistema I resulta na produção de ATP? Ver p. 168 e Figura 8.10.



Vimos de que forma a energia da luz impulsiona a síntese de ATP e NADPH + H⁺. Agora, voltaremos às reações da fotossíntese independentes da luz, que usam essas duas coenzimas ricas em energia para reduzir CO₂ e formar carboidratos.

Figura 8.10 O transporte cíclico de elétrons captura energia luminosa como ATP O transporte cíclico de elétrons produz ATP, mas não NADPH + H⁺. A mesma molécula de clorofila transfere elétrons que começam as reações e recebe os elétrons ao final das reações, para iniciar o processo novamente. O fotossistema I e as moléculas de transporte de elétrons são iguais aos do transporte não cíclico de elétrons (ver Figura 8.9). O fotossistema II não está envolvido no transporte cíclico de elétrons.

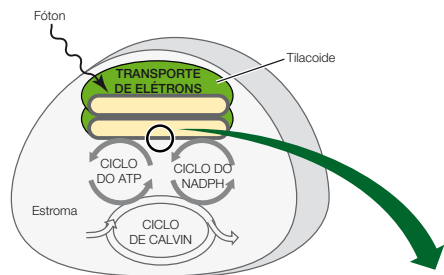
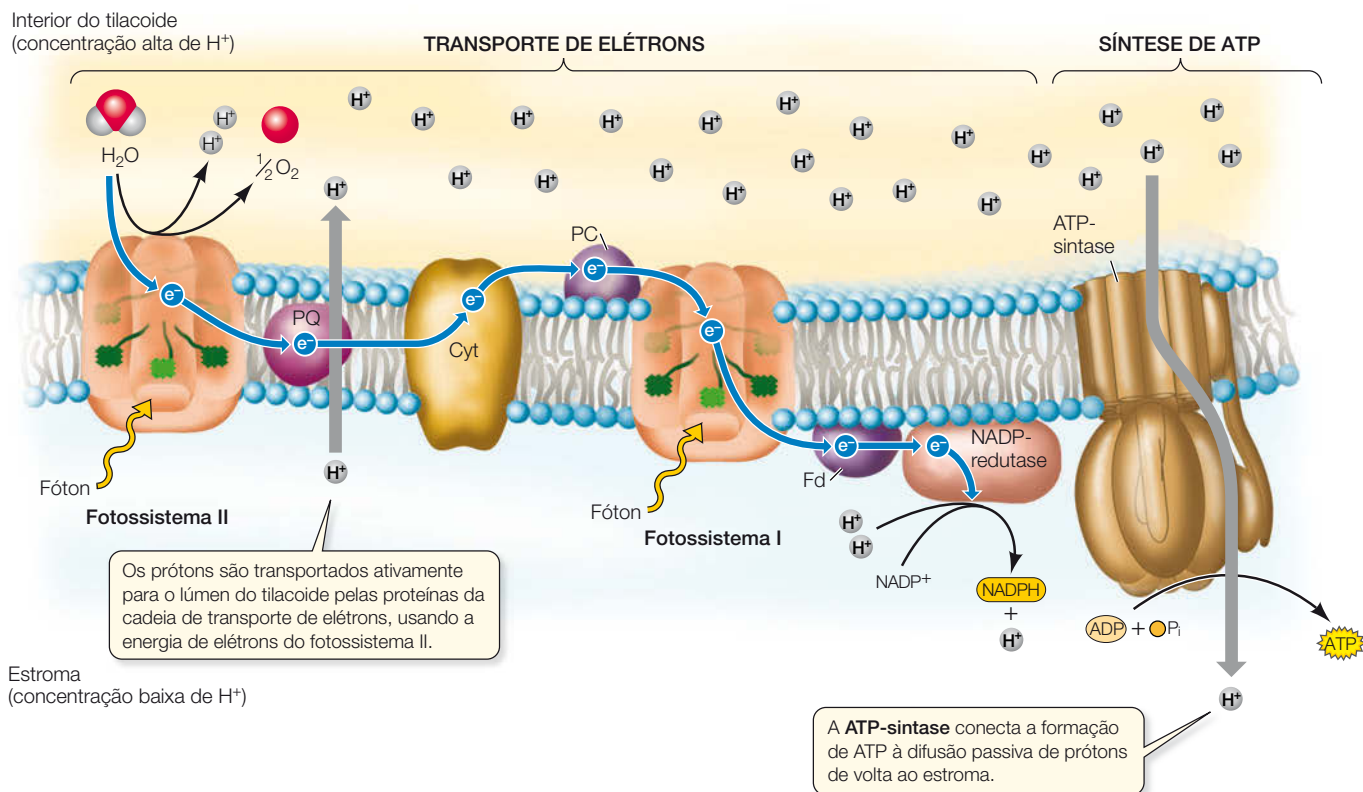


Figura 8.11 Os cloroplastos formam ATP quimiosmoticamente Durante o transporte de elétrons, os prótons (H^+) procedentes do estroma e bombeados através da membrana do tilacoide tornam o lúmen do tilacoide mais ácido do que o estroma. Impulsionados por essas diferenças de pH, os prótons se difundem de volta ao estroma mediante canais de ATP sintase, que conectam a energia da difusão de prótons à formação de ATP, a partir de $ADP + P_i$. Compare esta ilustração à Figura 7.13, em que um processo similar é mostrado em mitocôndria. Note que os fótons de luz incidem no tilacoide a partir do exterior (neste caso, a base do diagrama).



8.3 Como a energia química é usada para sintetizar carboidratos?

As enzimas que catalisam as reações de fixação de CO_2 encontram-se, na maioria, dissolvidas no estroma do cloroplasto, onde as reações ocorrem. No entanto, essas enzimas usam a energia de ATP e de NADPH, produzidos nos tilacoides pelas reações dependentes da luz, na redução de CO_2 a carboidratos. Uma vez que não há estocagem dessas coenzimas ricas em energia, as reações de fixação de CO_2 ocorre *somente na sua presença*, quando as coenzimas estão sendo geradas.

Experimentos com radioisótopos marcados revelaram as etapas do ciclo de Calvin

Para identificar a sequência de reações pelas quais os carboidratos formam-se a partir do carbono do CO_2 , os cientistas encontraram uma maneira de marcar essa molécula. Assim, o CO_2 pôde ser seguido após ter sido absorvido por uma célula fotossintética. Na década de 1950, em um experimento realizado por Melvin Calvin, Andrew Benson e colaboradores utilizou CO_2 marcado radioativamente, em que alguns dos átomos de carbono não representaram o ^{12}C normal, mas seu radioisótopo ^{14}C . Embora ^{14}C seja distinguido por sua emissão de radiação, quimicamente tem comportamento virtual idêntico ao do ^{12}C , não radioativo. Em geral, as

enzimas não fazem distinção entre isótopos de um elemento em seus substratos, de modo que as células fotossintetizantes utilizam indistintamente $^{14}CO_2$ e $^{12}CO_2$.

Calvin e seus colegas expuseram culturas de *Chlorella*, uma alga verde unicelular, ao $^{14}CO_2$ por trinta segundos. Após, fixaram rapidamente as células e extraíram seus compostos orgânicos. Em seguida, eles separaram os diferentes compostos usando a *cromatografia em papel* (Figura 8.12), técnica que havia sido desenvolvida por dois cientistas britânicos há poucos anos. Os extratos da alga foram dissolvidos em álcool e depois colocados sobre uma folha de papel de filtro, onde formaram pontes de hidrogênio com a celulose do papel. O papel foi colocado em um solvente denominado fenol-água. O solvente, por capilaridade, se desloca gradativamente no papel, de modo muito semelhante à água absorvida por uma toalha de papel. As diversas moléculas do extrato de algas foram dissolvidas em fenol-água e transportadas. Porém, algumas moléculas eram cada vez menos atraídas pelas moléculas do solvente à medida que este se movia, em comparação com sua atração ao papel. Por fim, elas saíram da solução e permaneceram onde estavam. Com relação a isto, moléculas diferentes têm propriedades distintas, e o uso de um segundo solvente se movendo em uma direção diferente propiciou ainda mais separação. Um filme de raio X foi exposto ao papel de filtro, para revelar as posições dos compostos radioativos.

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: O primeiro produto da fixação de CO_2 é uma molécula de 3 carbonos.

MÉTODO

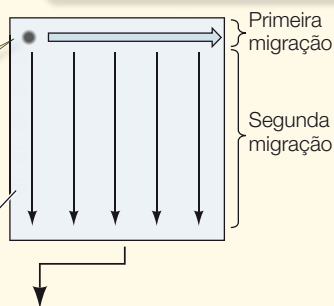


Frasco delgado de algas verdes

As algas foram mortas rapidamente e seus metabólitos parcialmente extraídos com o emprego de etanol em ebulição.

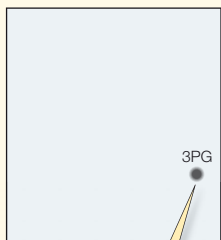
O extrato de algas foi gotejado aqui e migrou em duas direções para separar os compostos.

Cromatograma em papel



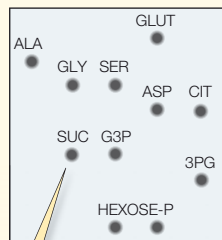
Após a separação, o cromatograma cobriu-se com um filme de raio X, que a radiação "revelou". Cada mancha escura é um composto marcado com ^{14}C .

RESULTADOS



Um cromatograma feito após 3 segundos de exposição ao $^{14}\text{CO}_2$ mostra ^{14}C apenas em 3PG (3-fosfoglicerato).

CONCLUSÃO:
O produto inicial da fixação do CO_2 é 3PG.

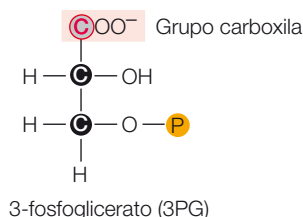


Uma cromatografia feita após 30 segundos de exposição ao $^{14}\text{CO}_2$ mostra ^{14}C em muitas moléculas.

CONCLUSÃO:
O carbono do CO_2 desloca-se para muitas moléculas.

Figura 8.12 Rastreamento a rota do CO_2 A fotografia histórica acima mostra o aparato que Calvin e colaboradores usaram para acompanhar as moléculas de dióxido de carbono marcado radioativamente ($^{14}\text{CO}_2$), à medida que elas eram transformadas pela fotossíntese.

Entretanto, muitos compostos no extrato de algas, incluindo monossacarídeos e aminoácidos, continham ^{14}C . Para descobrir o composto em que o carbono marcado aparece pela primeira vez (sugerindo a primeira etapa na rota de fixação do CO_2), Calvin e colaboradores expuseram as algas ao $^{14}\text{CO}_2$ por apenas 3 segundos. Esta exposição revelou que apenas estava marcado – um açúcar fosfato de três carbonos denominado 3-fosfoglicerato (3PG) (o ^{14}C é mostrado em vermelho):



Pelo rastreamento das etapas, com exposições sucessivas e de tempos crescentes, Calvin e colaboradores descobriram a série de compostos que flui através da absorção de carbono em CO_2 . Descobriu-se que a sua rota era um ciclo que "fixa" CO_2 em uma molécula maior, produz um carboidrato e regenera o aceptor inicial de CO_2 . Esse ciclo foi apropriadamente denominado **ciclo de Calvin** (Figura 8.13).

A reação inicial no ciclo de Calvin adiciona o CO_2 a uma molécula aceptor, um composto de cinco carbonos denominado **ribulose 1,5-bifosfato (RuBP)**. O produto é um intermediário de seis carbonos, que rapidamente se decompõe e forma duas moléculas de 3PG, cada uma com três carbonos (conforme Calvin e colaboradores observaram; Figura 8.14). A enzima que catalisa essa reação de fixação, **ribulose bifosfato-carboxilase/oxigenase (rubisco)**, é a proteína mais abundante no mundo, constituindo mais de 50% de todo o conteúdo proteico em cada folha.

O ciclo de Calvin-Benson é formado por três processos

O ciclo de Calvin-Benson usa as coenzimas altamente energéticas formadas nos tilacoides durante as reações dependentes de luz (ATP e NADPH) para reduzir CO_2 a um carboidrato no estroma. Três processos constituem o ciclo:

- **Fixação de CO_2 .** Como vimos, essa reação é catalisada pela rubisco e seu produto é 3PG.
- **Redução de 3PG para formar gliceraldeído-3-fosfato (G3P).** Essa série de reações envolve uma fosforilação (usando o ATP formado nas reações dependentes da luz) e uma redução (usando o NADPH formado nas reações dependentes da luz).
- **Regeneração do aceptor de CO_2 , RuBP.** A maior parte do G3P termina como RuMP (ribulose monofosfato) e o ATP é utilizado para esse composto em RuBP. Desse modo, para cada "volta" do ciclo, com um CO_2 fixado, o aceptor de CO_2 é regenerado.

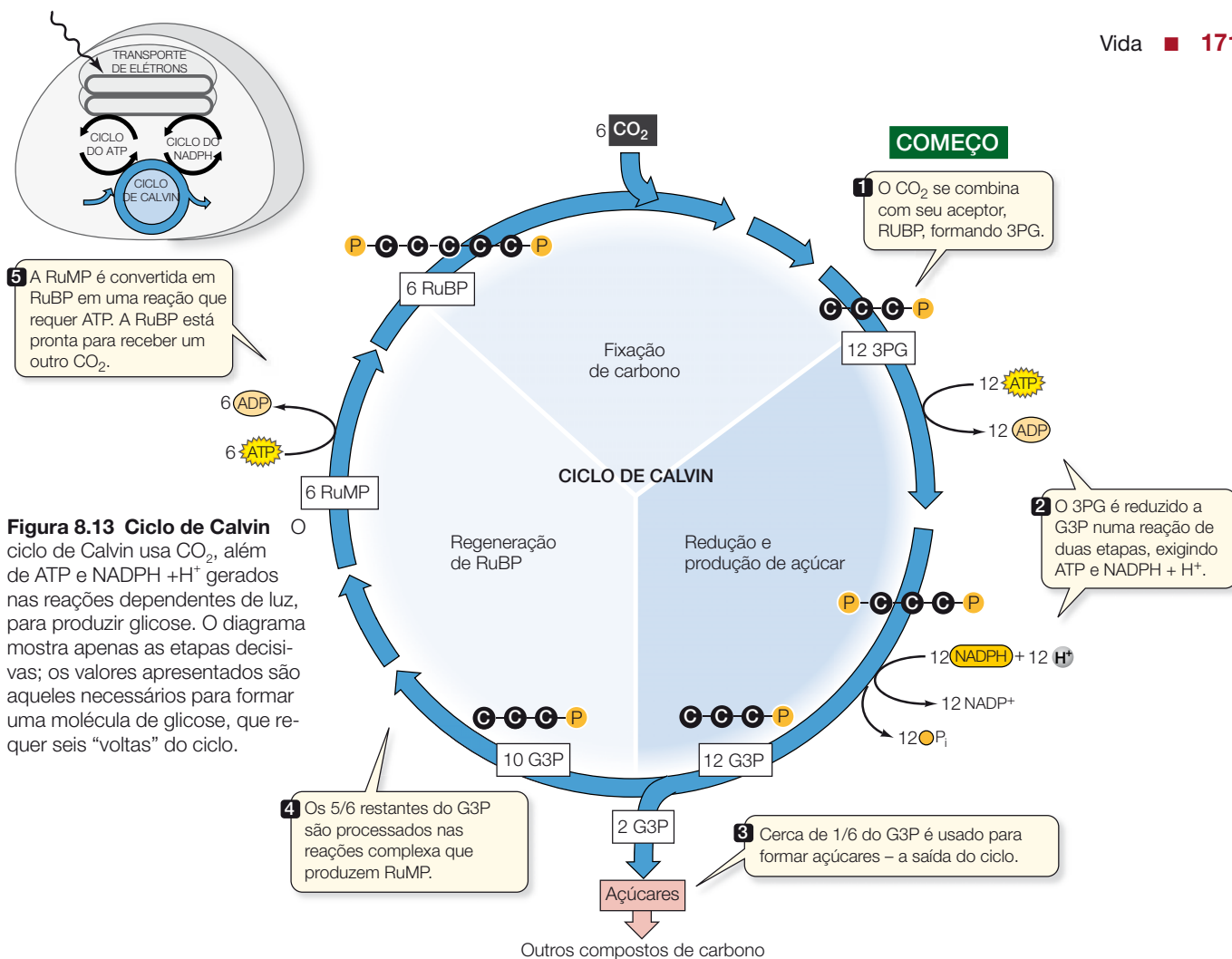
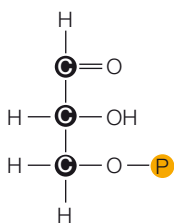


Figura 8.13 Ciclo de Calvin O ciclo de Calvin usa CO₂, além de ATP e NADPH + H⁺ gerados nas reações dependentes de luz, para produzir glicose. O diagrama mostra apenas as etapas decisivas; os valores apresentados são aqueles necessários para formar uma molécula de glicose, que requer seis “voltas” do ciclo.

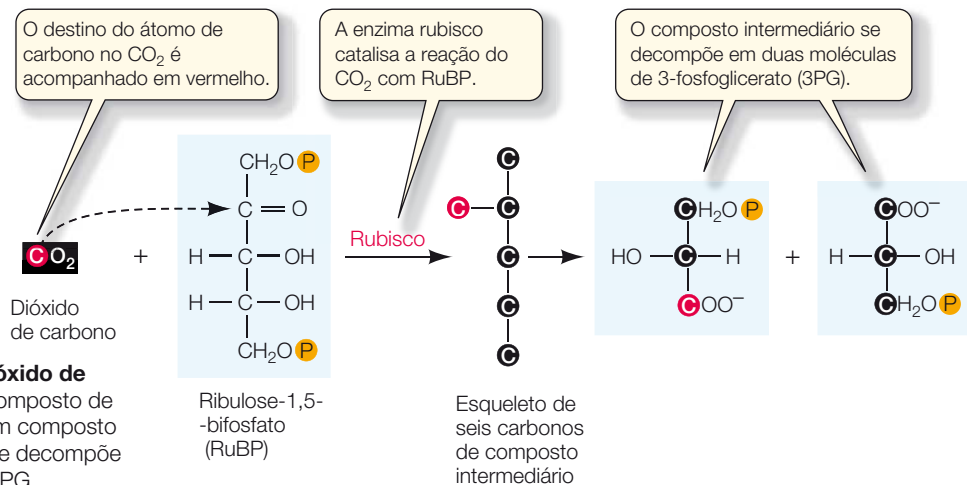
O produto desse ciclo é gliceraldeído 3-fosfato (G3P), que consiste em um açúcar fosfato de três carbonos, também denominado triose fosfato:



Gliceraldeído-3-fosfato (G3P)

Em uma folha típica, 5/6 do G3P é reciclado em RuBP. Existem dois destinos para o G3P restante:

- 1/3 dele termina em *amido* (polissacarídeo), armazenado no cloroplasto.
- 2/3 do G3P são convertidos em *sacarose* (dissacarídeo) no citosol, transportada da folha para outros órgãos da planta, onde é hidrolisada em seus monossacarídeos constituintes: *glicose* e *frutose*.



Esses carboidratos são posteriormente usados pela planta para formar outros compostos. Suas moléculas de carbono incorporam-se aos aminoácidos, aos lipídeos e aos constituintes dos ácidos nucleicos.

Os produtos do ciclo de Calvin são de importância decisiva para a biosfera, pois as ligações covalentes dos carboidratos gerados representam a produção de energia total da captação de luz pelos organismos fotossintéticos. Esses organismos, também denominados *autótrofos* (“que produzem seu próprio alimento”), liberam a maior parte dessa energia através da glicólise e da respiração celular, usando-as para sustentar seu próprio crescimento, desenvolvimento e reprodução. Muita matéria vegetal termina consumida por *heterótrofos* (“não produzem seu próprio alimento”), tais como os animais, que não realizam fotossíntese e dependem dos autótrofos como fontes de matérias-primas e energia. A glicólise e a respiração em células heterótrofas desprendem energia livre do alimento, para ser usada pelos heterótrofos.

A luz estimula o ciclo de Calvin

O ciclo de Calvin utiliza NADPH e ATP, que, conforme vimos, formam-se por meio da fotofosforilação. Outros dois processos conectam as reações dependentes de luz a essa rota de fixação de CO_2 . As duas conexões são indiretas, mas significantes:

- *As mudanças no pH do estroma, induzidas pela luz, ativam algumas enzimas no ciclo de Calvin.* O bombeamento de prótons do estroma para os tilacoides aumenta o pH do estroma de 7 para 8 (um decréscimo dez vezes maior na concentração de H^+). Isto favorece a ativação da rubisco.
- *O fluxo de elétrons, induzido pela luz, reduz as ligações dissulfeto, ativando quatro enzimas do ciclo de Calvin (Figura 8.15).* Quando reduzida no fotossistema I (ver Figura 8.9), a ferredoxina transfere alguns elétrons para uma proteína pequena e solú-

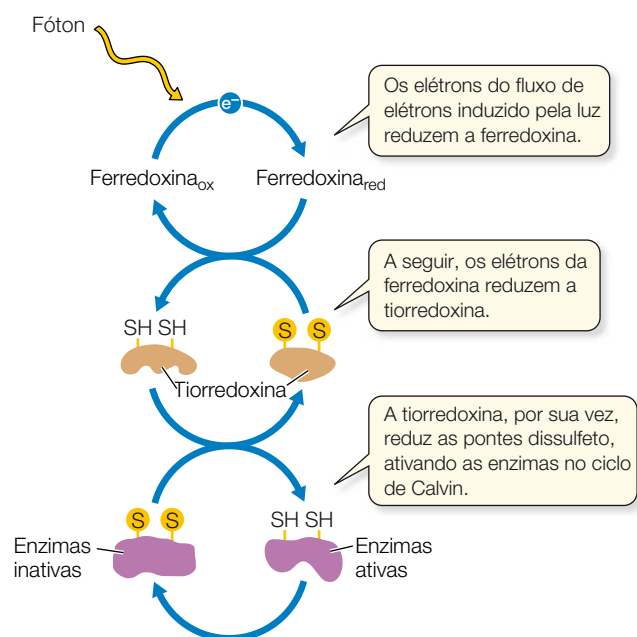


Figura 8.15 As reações fotoquímicas estimulam o ciclo de Calvin. Pela redução (quebra) das pontes dissulfeto, os elétrons procedentes das reações dependentes de luz ativam enzimas na fixação de CO_2 .

vel denominada *tiorredoxina*. Essa proteína, por sua vez, passa elétrons para quatro enzimas da rota de fixação de CO_2 . Todas essas enzimas possuem pontes dissulfeto (ver Figura 3.5) próximo aos seus sítios ativos, e a redução dos enxofres quebra as pontes. A mudança na sua forma tridimensional resultante ativa essas quatro enzimas.

8.3 RECAPITULAÇÃO

ATP e NADPH produzidos nas reações dependentes de luz suprem de energia a síntese de carboidratos no ciclo de Calvin. Esse ciclo produz G3P e também regenera o aceptor inicial de CO_2 , RuBP, de modo a propiciar a continuidade da fotossíntese.

- Você conhece os experimentos que levaram à identificação de RuBP como o aceptor inicial de CO_2 na fotossíntese? Ver p.s 169 -170 e Figura 8.12.
- Você poderia descrever em linhas gerais os três processos do ciclo de Calvin? Ver p. 170 e Figura 8.13.
- De que maneiras a luz estimula o ciclo de Calvin? Ver p. 172 e Figura 8.15.

Embora todas as plantas verdes realizem o ciclo de Calvin, em alguns grupos vegetais houve evolução das variações (ou etapas adicionais) nas reações independentes da luz, em resposta a certas condições ambientais. Examinemos essas limitações ambientais e os desvios metabólicos que evoluíram para evitá-las.

8.4 Como as plantas se adaptam às ineficiências da fotossíntese?

Uma limitação importante da rubisco é a sua tendência em reagir com O_2 e não com CO_2 . Essa reação conduz a um processo denominado fotorrespiração, que diminui a taxa global de fixação de CO_2 . Após examinar esse problema, abordaremos algumas rotas bioquímicas e características da anatomia vegetal que compensam essas limitações da rubisco.

A rubisco catalisa a reação da RuBP com O_2 e CO_2

Como o seu nome completo indica, a rubisco é uma **oxigenase** bem como uma **carboxilase**, ou seja, ela pode adicionar O_2 a uma molécula aceptor RuBP, em vez CO_2 . Essas duas reações competem entre si, de modo que se RuBP reage com O_2 , ela não pode reagir com CO_2 . Essa reação reduz a quantidade global de CO_2 que se converte em carboidratos e, por consequência, limita o crescimento vegetal.

Quando O_2 é adicionado à RuBP, um dos produtos consiste em um composto de dois carbonos, fosfoglicolato:



As plantas desenvolveram uma rota metabólica que recupera parcialmente o carbono canalizado para longe do ciclo de Calvin em fosfoglicolato. O fosfoglicolato forma glicolato, difunde-se em organelas envolvidas por membranas denominadas *peroxissomos* (Figura 8.16), onde uma série de reações o converte no aminoácido glicina:

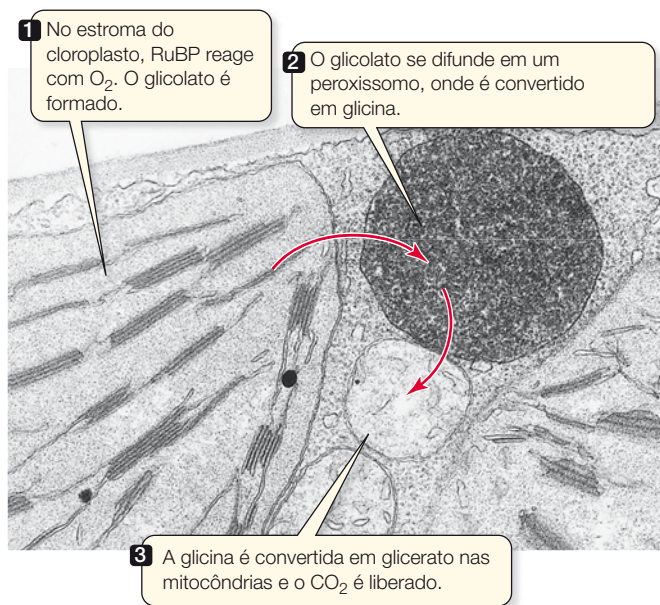
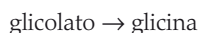


Figura 8.16 Organelas da fotorrespiração As reações da fotorrespiração ocorrem nos cloroplastos, nos peroxissomos e, finalmente, nas mitocôndrias.



A seguir, a glicina se difunde para o interior de uma mitocôndria. Nessa organela, duas moléculas de glicina convertem-se em glicerato (uma molécula de três carbonos) e CO₂:



Essa rota denomina-se **fotorrespiração** porque consome O₂ e libera CO₂. Ela utiliza ATP e NADPH produzidos nas reações dependentes de luz, exatamente conforme o ciclo de Calvin. O efeito líquido é captar duas moléculas de dois carbonos e formar uma molécula de três carbonos. Assim, dos quatro carbonos, um é liberado como CO₂ e três (75%) são recuperados como carbono fixado. Em outras palavras, a fotorrespiração reduz em 25% a quantidade de carbono líquido fixado pelo ciclo de Calvin.

De que forma a rubisco “decide” se atua como oxigenase ou carboxilase? Existem três fatores envolvidos:

- A rubisco tem dez vezes mais afinidade por CO₂ do que por O₂, favorecendo a fixação de CO₂.
- Na folha, as concentrações relativas de CO₂ e O₂ variam. Se O₂ for relativamente abundante, a rubisco atua como oxigenase e a fotorrespiração ocorre em decorrência. Se CO₂ predominar, a rubisco o fixa e ocorre o ciclo de Calvin.
- A fotorrespiração é mais provável em temperaturas mais altas. Em um dia quente e seco, os estômatos, que permitem a evaporação de água da folha, se fecham, impedindo a perda de água (ver Figura 8.1). Porém, isso também impede a entrada e a saída de gases. A concentração de CO₂ cai, pois ele está sendo usado pelas reações fotossintéticas, e a concentração de O₂ aumenta por causa dessas mesmas reações. À medida que a razão de CO₂ para O₂ cai na folha, a atividade da oxigenase da rubisco é favorecida e a fotorrespiração prossegue.

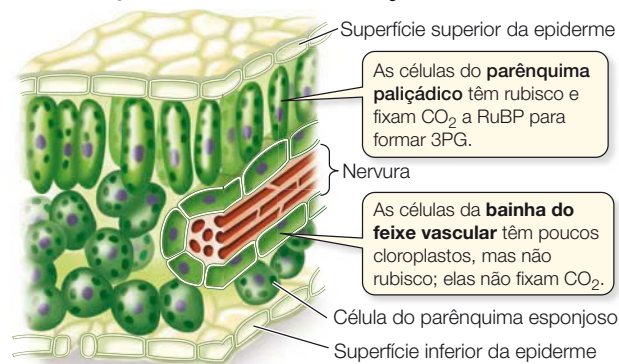
As plantas C₄ podem desviar a fotorrespiração

Em plantas como rosa, trigo e arroz, as células do parênquima paliádico, situadas logo abaixo da superfície superior da epiderme foliar, encontram-se cheias de cloroplastos, que contêm rubisco em abundância (**Figura 8.17A**). Num dia quente, essas folhas fecham seus estômatos para conservar água. Com o andamento da fotossíntese, o nível de CO₂ nos espaços intercelulares das folhas cai e o do O₂ sobe. Sob essas condições, a rubisco atua como oxigenase e ocorre fotorrespiração. Por ser a molécula de três carbonos 3PG o primeiro produto da fixação de CO₂ nessas plantas, elas denominam-se **plantas C₃**.

O milho, a cana-de-açúcar e outras gramíneas tropicais (**Figura 8.17B**) também fecham seus estômatos em dias quentes, mas sua taxa de fotossíntese não cai nem ocorre fotorrespiração. Elas mantêm alta a razão de CO₂ para O₂ ao redor da rubisco, de modo que essa enzima continua a atuar como carboxilase. Elas se comportam assim, em parte, por formarem um composto de quatro carbonos, *oxaloacetato*, como o primeiro produto da fixação do CO₂ e, por isso, denominam-se **plantas C₄**.

As plantas C₄ executam o ciclo de Calvin normal, mas apresentam uma reação inicial adicional que fixa CO₂ sem perda de carbono para a fotorrespiração. Uma vez que esse passo inicial de fixação do CO₂ pode funcionar mesmo em níveis baixos desse

(A) Disposição de células em uma folha C₃



(B) Disposição de células em uma folha C₄

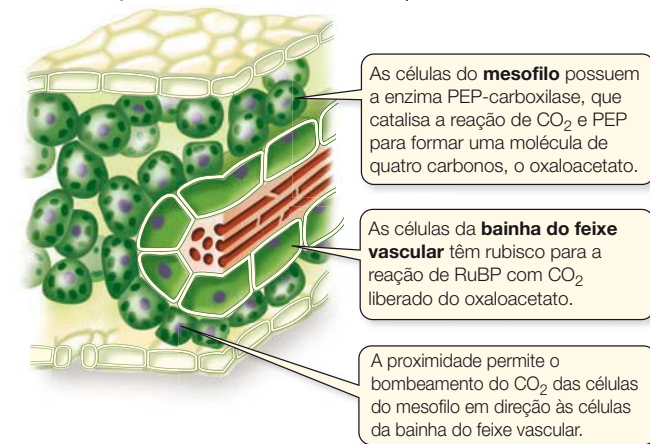
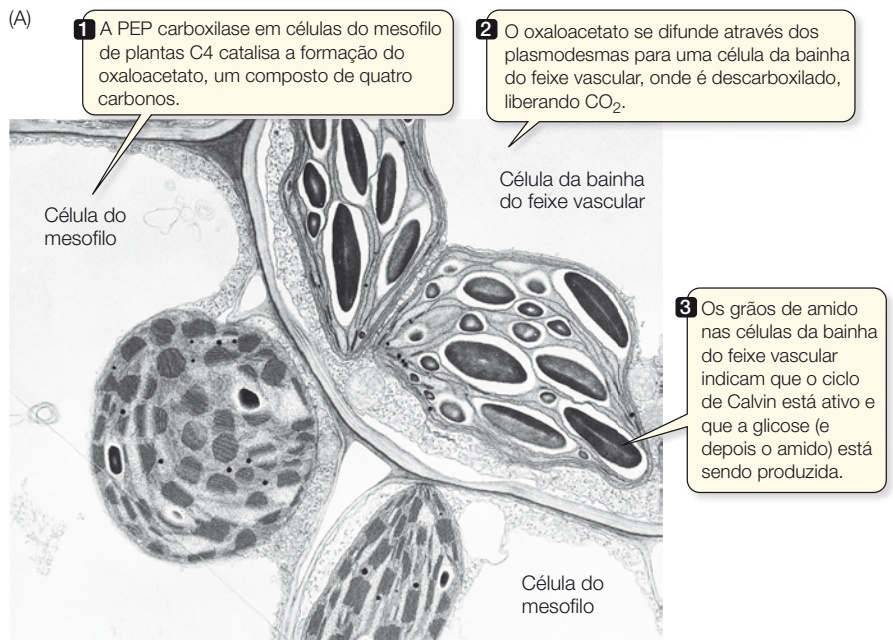


Figura 8.17 Anatomia foliar de plantas C₃ e C₄ A fixação do dióxido de carbono ocorre em diferentes organelas e células das folhas das plantas C₃ (A) e C₄ (B).

Figura 8.18 Anatomia e bioquímica da fixação C₄ de carbono (A) O dióxido de carbono é fixado inicialmente nas células do mesofilo, mas entra no ciclo de Calvin nas células da bainha do feixe vascular. (B) Os dois tipos de células partilham uma rota bioquímica interconectada para fixação de CO₂.

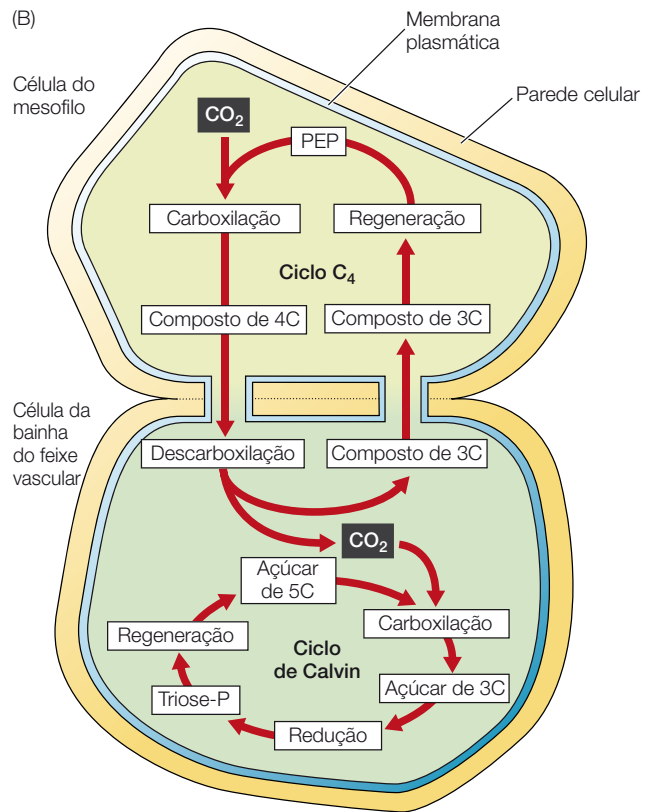


gás e em temperaturas altas, as plantas C₄, muito eficazmente, otimizam a fotossíntese sob condições que a inibem nas plantas C₃. As plantas C₄ têm duas enzimas separadas para fixação do CO₂, localizadas em duas partes diferentes da folha (Figura 8.18; ver também Figura 8.17B). A primeira enzima, presente no citosol de células do mesofilo próximas à superfície da folha, fixa CO₂ a um composto aceptor de três carbonos, o **fosfoenolpiruvato (PEP)**, para gerar o produto de fixação de quatro carbonos, o oxaloacetato. Essa enzima, a **PEP-carboxilase**, possui duas vantagens sobre a rubisco:

- Não tem atividade de oxigenase.
- Fixa CO₂ mesmo em níveis muito baixos.

Desse modo, mesmo em dias quentes, quando os estômatos fecham-se, a concentração do CO₂ é baixa na folha e a concentração do O₂ alta, a PEP-carboxilase mantém a fixação do CO₂.

O oxaloacetato se difunde para fora das células do mesofilo, em direção às células da **bainha do feixe vascular** (ver Figura 8.17B) localizadas no interior do mesofilo. Os cloroplastos das células dessa bainha contêm uma grande quantidade de rubisco.



Nessa, o oxaloacetato (de quatro carbonos) perde um carbono (é *descarboxilado*), formando CO₂ e regenerando o composto aceptor de três a PEP, nas células do mesofilo. Portanto, o papel da PEP consiste em ligar o CO₂ dos espaços intercelulares da folha e transportá-lo até as células da bainha do feixe vascular, onde é “largado” na rubisco. Esse processo, essencialmente, bombeia a concentração de CO₂ para o entorno da rubisco, de modo que ela atua como carboxilase e inicia o ciclo de Calvin.

TABELA 8.1 Comparação da fotossíntese em plantas C₃ e C₄

VARIÁVEL	PLANTAS C ₃	PLANTAS C ₄
Fotorrespiração	Intensa	Mínima
Realiza o ciclo de Calvin?	Sim	Sim
Aceptor primário de CO ₂	RuBP	PEP
Enzima fixadora de CO ₂	Rubisco (RuBO carboxilase/oxigenase)	PEP-carboxilase e rubisco
Primeiro produto da fixação de CO ₂	3PG (composto com três carbonos)	Oxaloacetato (composto com quatro carbonos)
Afinidade da carboxilase ao CO ₂	Moderada	Alta
Células fotossintéticas da folha	Mesofilo	Mesofilo + bainha de feixe vascular
Classes de cloroplastos	Uma	Duas

Kentucky bluegrass, uma espécie C_3 , desenvolve-se nos campos em abril e maio*. Porém, no calor do verão ela não se comporta tão bem, e a grama bermuda, uma espécie C_4 , toma o campo. Numa escala global, o mesmo vale para certas plantas de lavoura: plantas C_3 , como a soja, o arroz, o trigo e a cevada, têm sido adaptadas aos climas temperados para a produção de alimento humano. Já as plantas C_4 , como o milho e a cana-de-açúcar, são originárias e cultivadas nos trópicos. A **Tabela 8.1** compara as fotossínteses de plantas C_3 e C_4 .

As plantas C_3 são certamente mais antigas do que as C_4 . Enquanto a fotossíntese C_3 parece ter iniciado há cerca de 3,5 bilhões de anos, as plantas C_4 surgiram há aproximadamente 12 milhões de anos. Um possível fator responsável pela emergência da rota C_4 é o declínio do CO_2 atmosférico. Quando os dinossauros dominaram a Terra há 100 milhões de anos, a concentração de CO_2 na atmosfera era quatro vezes maior do que a atual. À medida que os níveis de CO_2 declinaram, as plantas C_4 , mais eficientes, teriam tido vantagem sobre suas competidoras C_3 . Entretanto, nos últimos dois séculos os níveis de CO_2 começaram a crescer. A medição do CO_2 atmosférico em locais bem distantes de fontes industriais do gás, como o topo de um vulcão no Havaí e bolhas no gelo da Antártica, por exemplo, mostra que o seu nível aumentou significativamente, de 250 ppm (partes por milhão), em 1800, para 370 ppm, atualmente. Esse crescimento pode estar afetando a fotossíntese e o crescimento vegetal. Atualmente, o nível do CO_2 não é suficiente para a atividade máxima de fixação desse gás pela rubisco, de modo que a fotorrespiração ocorre e reduz o crescimento de plantas C_3 , favorecendo as plantas C_4 . Se o CO_2 aumentar ainda mais na atmosfera, ocorrerá o inverso, e as plantas C_3 terão vantagem comparativa.

Segundo previsões de cientistas especializados em clima, o CO_2 atmosférico pode aumentar até 600 ppm por volta de 2100. Se isso acontecer, haverá um aumento global de certas culturas, como a do arroz e do trigo. Isso pode ou não se traduzir em mais alimento, dado que outros efeitos do aumento do CO_2 provocado pelo homem (como o aquecimento global) também alterarão os ecossistemas terrestres.

As plantas CAM também usam PEP carboxilase

Além das espécies C_4 , outras plantas utilizam a PEP carboxilase para fixar e acumular CO_2 . Tais plantas incluem algumas armazenadoras de água (denominadas *suculentas*) da família *Crassulaceae*, muitos cactos, ananás e vários outros grupos de plantas floríferas. O metabolismo do CO_2 dessas plantas denomina-se **metabolismo ácido das crassuláceas CAM** (*crassulacean acid metabolism*), em alusão à família de suculentas acima mencionada, na qual o fenômeno foi descoberto. Esse mecanismo assemelha-se muito ao metabolismo de plantas C_4 , uma vez que o CO_2 é inicialmente fixado em compostos de quatro carbonos. Em plantas CAM, no entanto, os processos de fixação inicial de CO_2 e o ciclo de Calvin separam-se no tempo e não no espaço.

- À noite, quando está mais frio e a perda de água é minimizada, os estômatos se abrem. O CO_2 é fixado em células do mesófilo para formar o oxaloacetato, um composto de quatro carbonos que se converte em ácido málico.

- Durante o dia, quando os estômatos se fecham para reduzir a perda de água, o ácido málico acumulado é transferido aos cloroplastos, onde a sua descarboxilação fornece o CO_2 para o funcionamento do ciclo de Calvin, e as reações dependentes de luz suprem as necessidades de ATP e $NADPH + H^+$.

8.4 RECAPITULAÇÃO

A rubisco catalisa a fixação do CO_2 e do O_2 à RuBP. Esse desvio da rubisco diminui a fixação líquida do CO_2 . A fotossíntese C_4 e o metabolismo ácido das crassuláceas permitem às plantas contornar esse problema.

- Você poderia descrever como a fotorrespiração recupera parte do carbono que é afastado do ciclo de Calvin?
- O que as plantas C_4 fazem para manter alta a concentração do CO_2 em torno da rubisco e por que? Ver p. 173-174.
- Você poderia descrever a fixação do CO_2 em plantas CAM? Ver p. 175.

Agora que compreendemos como a fotossíntese produz carboidratos, observaremos de que forma esses carboidratos suprem o metabolismo vegetal, e como as rotas da fotossíntese são conectadas a outras rotas metabólicas.

8.5 Como a fotossíntese se conecta a outras rotas metabólicas nas plantas?

As plantas verdes são autótrofas e podem sintetizar todas as moléculas de que necessitam a partir de materiais iniciais simples: CO_2 , H_2O , fosfato, sulfato e íons amônio (NH_4^+). O último é necessário para os aminoácidos e provém da conversão de moléculas dotadas de nitrogênio, dissolvidas na água do solo e absorvidas pelas raízes, ou da conversão bacteriana do gás N_2 proveniente da atmosfera, conforme veremos no Capítulo 26.

As plantas utilizam os carboidratos gerados pela fotossíntese no fornecimento de energia aos processos como o transporte ativo e o anabolismo. A respiração celular e a fermentação podem ocorrer em plantas, embora a primeira seja muito mais comum. A respiração celular vegetal, diferentemente da fotossíntese, ocorre à luz e no escuro. Uma vez que a glicólise ocorre no citosol, a respiração nas mitocôndrias e a fotossíntese nos cloroplastos, todos esses processos podem ocorrer simultaneamente.

A fotossíntese e a respiração estão intimamente ligadas pelo ciclo de Calvin (**Figura 8.19**). A separação de G3P é especialmente importante:

- Parte do 3PG do ciclo de Calvin da rota da glicólise pode ser convertida em piruvato. Esse piruvato pode ser empregado na respiração celular para produção energia, ou seus esqueletos de carbono podem ser usados anabolicamente para formar lipídeos, proteínas e outros carboidratos (ver Figura 7.17).
- Parte de G3P pode entrar em uma rota que é o inverso da glicólise (*gluconeogênese*; ver Seção 7.6). Nesse caso, formam-se hexoses-fosfato e, após, sacarose, as quais são transportadas para tecidos não fotossintéticos da planta (tais como os da raiz).

A energia flui da luz solar para reduzir carbono na fotossíntese até ATP na respiração. A energia pode também ser armazenada em ligações de macromoléculas como polissacarídeos, lipídeos e proteínas. Para uma planta crescer, o armazenamento de energia

* N. de T. Meses de primavera no Hemisfério Norte.

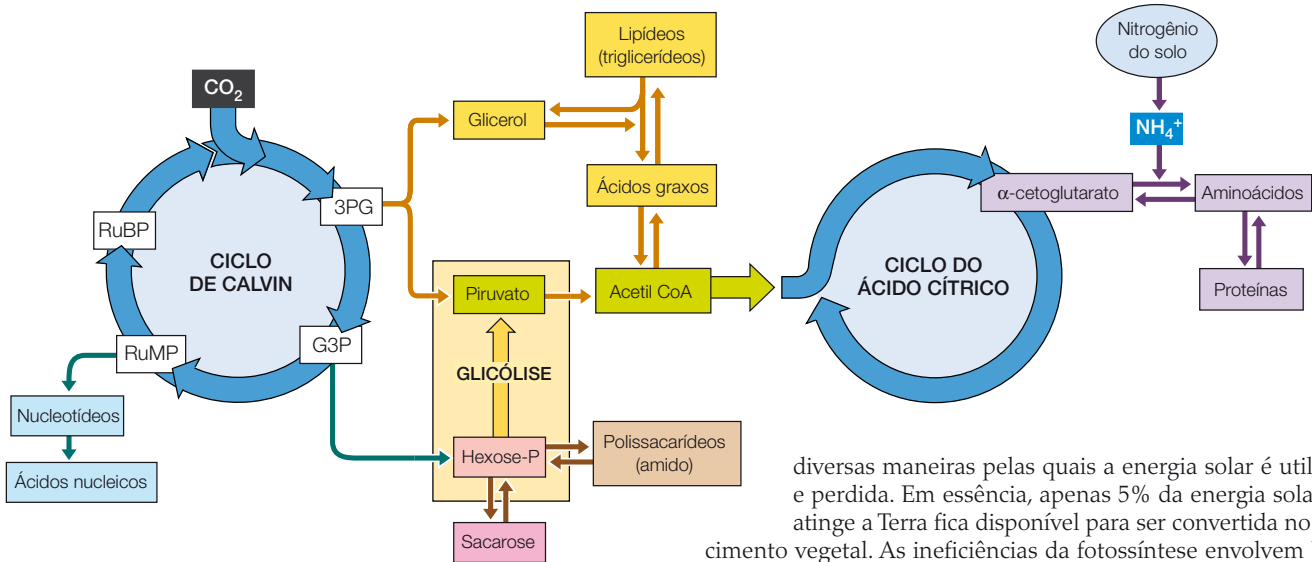


Figura 8.19 Interações metabólicas em uma célula vegetal Os produtos do ciclo de Calvin são usados nas reações da respiração celular (glicólise e ciclo do ácido cítrico).

(como estruturas do corpo) deve ser maior do que a liberação de energia, ou seja, a fixação global de carbono pela fotossíntese deve superar a respiração. Esse princípio consiste na base da cadeia alimentar em ecologia, como veremos em capítulos subsequentes.

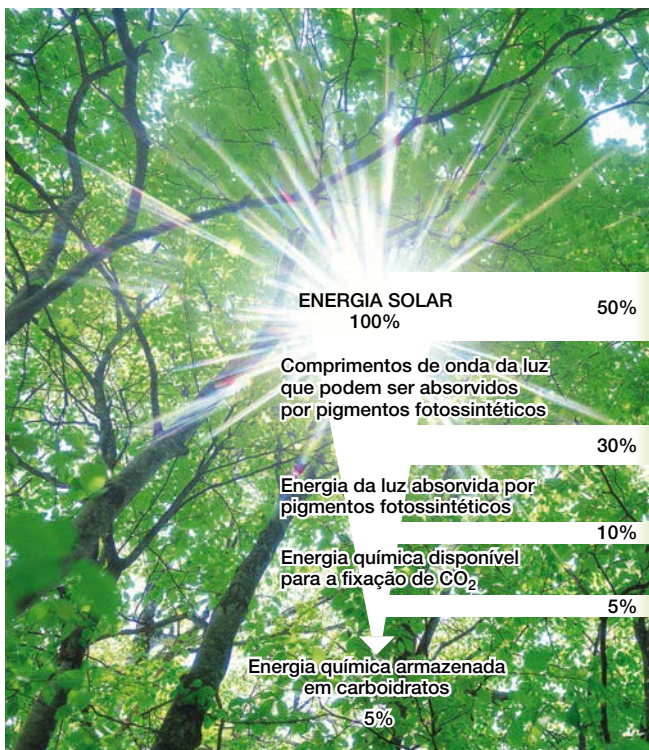
Na abertura deste capítulo, ficou evidente até que ponto as pessoas dependem da fotossíntese. Considerando as incertezas do futuro fotossintético (como as mudanças climáticas), seria prudente procurar maneiras de reduzir nossa dependência da fotossíntese ou de melhorar a eficiência fotossintética. A **Figura 8.20** mostra as

diversas maneiras pelas quais a energia solar é utilizada e perdida. Em essência, apenas 5% da energia solar que atinge a Terra fica disponível para ser convertida no crescimento vegetal. As ineficiências da fotossíntese envolvem bases de química, física (parte da energia luminosa não é absorvida por pigmentos fotossintéticos) e biologia (anatomia vegetal e exposição da folha, fotorrespiração, ineficiências nas rotas metabólicas). Enquanto é difícil mudar a química e a física, os biólogos podem usar seu conhecimento sobre plantas para aperfeiçoar a biologia básica da fotossíntese. Isto, por sua vez, deveria resultar no uso mais eficiente de recursos e em melhor produção de alimento.

8.5 RECAPITULAÇÃO

Os produtos da fotossíntese são utilizados na glicólise e no ciclo do ácido cítrico, bem como na síntese de lipídeos, proteínas e de outros carboidratos.

■ Você sabe como as rotas da glicólise e do ciclo do ácido cítrico vinculam-se à fotossíntese em células vegetais? Ver p. 175 e Figura 8.19.



PERDA DE ENERGIA

Comprimentos de onda de luz não participantes do espectro de absorção de pigmentos fotossintéticos (por exemplo, luz verde).

Energia da luz não absorvida devido à estrutura vegetal (por exemplo, folhas não orientadas convenientemente para a luz).

Ineficiência das reações dependentes de luz na conversão de luz em energia química.

Ineficiência de rotas de fixação de CO₂.

8.20 Perdas de energia durante a fotossíntese À medida que enfrentamos um futuro fotossintético progressivamente incerto, o entendimento das ineficiências da fotossíntese se torna cada vez mais importante. As rotas da fotossíntese preservam, como energia química em carboidratos, somente cerca de 5% da energia solar.

RESUMO DO CAPÍTULO

8.1 O que é fotossíntese?

No processo de **fotossíntese**, as plantas e outros organismos captam CO_2 , água e energia da luz, produzindo O_2 e carboidratos.

Ver atividade orientada 8.1.

As **reações luminosas** da fotossíntese convertem energia da luz em energia química. Produzem ATP e reduzem NADP^+ a $\text{NADPH} + \text{H}^+$. Rever Figura 8.3.

As **reações independentes de luz** não usam luz diretamente, mas sim ATP e $\text{NADPH} + \text{H}^+$ para reduzir CO_2 , formando carboidratos.

8.2 Como a fotossíntese converte a energia da luz em energia química?

A luz é uma forma de **radiação eletromagnética**, emitida em pacotes tipo partículas denominados **fótons**, mas tem propriedades semelhantes a ondas.

As moléculas que absorvem luz no espectro visível denominam-se **pigmentos**. Os organismos fotossintéticos possuem muitos pigmentos, dos quais as **clorofilas** são os mais notáveis, mas também **pigmentos acessórios**, como os **carotenoides** e as **ficobilinas**.

A **absorção** de um fóton coloca um pigmento em **estado excitado**, que tem mais energia do que seu **estado básico**. Rever Figura 8.4.

Cada composto possui um **espectro de absorção** característico. Um **espectro de ação** reflete a atividade biológica de um organismo fotossintético para um determinado comprimento de onda de luz. Rever Figura 8.6.

Os pigmentos em organismos fotossintéticos estão dispostos em **sistemas antena**, que absorvem energia da luz e a canalizam para uma única molécula de clorofila *a* no **centro de reação**. A clorofila atua como um agente redutor, transferindo elétrons excitados a outras moléculas. Rever Figura 8.8.

O **transporte não cíclico de elétrons** usa os **fotossistemas I e II** para produzir ATP, $\text{NADPH} + \text{H}^+$ e O_2 . O **transporte cíclico de elétrons** emprega somente o fotossistema I e produz somente ATP. Rever Figuras 8.9 e 8.10.

A quimiosmose é o mecanismo de produção de ATP na **fotofosforilação**. Rever Figura 8.11.

8.3 Como a energia química é usada para sintetizar carboidratos?

O **ciclo de Calvin** forma carboidratos a partir do CO_2 . Esse ciclo consiste em três processos: fixação de CO_2 , redução e produção de carboidratos, e regeneração da RuBP.

A **RuBP** é o aceptor inicial de CO_2 e o **3PG** consiste no primeiro produto estável da fixação de CO_2 . A enzima **rubisco** catalisa a reação entre O_2 e RuBP a fim de formar 3PG. Rever Figura 8.13. ATP e NADPH formados pelas reações dependentes da luz são usados na redução de 3PG na formação de G3P. A luz estimula enzimas no ciclo de Calvin, integrando posteriormente as duas rotas.

8.4 Como as plantas se adaptam às ineficiências da fotossíntese?

A rubisco pode catalisar a reação entre O_2 e RuBP, além da reação entre CO_2 e RuBP. Sob temperaturas altas e concentrações de baixas CO_2 , a função de **oxigenase** da rubisco é favorecida em relação à sua função de **carboxilase**.

Quando a rubisco funciona como oxigenase, resulta na **fotorrespiração**, que reduz significativamente a eficiência da fotossíntese.

Em **plantas C_4** , o CO_2 fixa-se à PEP em células do mesofilo. O produto de quatro carbonos libera seu CO_2 para a rubisco no interior da folha, nas células da bainha do feixe vascular. Rever Figura 8.17.

As **plantas CAM** atuam de modo muito semelhante às plantas C_4 , mas sua fixação inicial de CO_2 pela **PEP-carboxilase** é separada temporalmente do ciclo de Calvin e não separada espacialmente, como nas plantas C_4 .

8.5 Como a fotossíntese se conecta a outras rotas metabólicas nas plantas?

A fotossíntese e a respiração estão vinculadas por meio do ciclo de Calvin, do ciclo do ácido cítrico e da glicólise. Rever Figura 8.19.

Para sobreviver, uma planta precisa fotossintetizar mais do que respirar.

A fotossíntese utiliza apenas uma porção pequena da energia da luz solar. Rever Figura 8.20.

QUESTÕES

- No transporte fotossintético não cíclico de elétrons, a água é usada para:
 - excitar clorofila.
 - hidrolisar ATP.
 - reduzir clorofila.
 - oxidar NADPH.
 - sintetizar clorofila.
- Que afirmativa sobre a luz é verdadeira?
 - O espectro de absorção é uma representação gráfica de efetividade biológica *versus* comprimento de onda.
 - O espectro de absorção pode ser um bom meio de identificar um pigmento.
 - A luz não precisa ser absorvida para produzir um efeito biológico.
 - Um determinado tipo de molécula pode ocupar qualquer nível de energia.
 - Um pigmento perde energia à medida que absorve um fóton.
- Que afirmativa sobre clorofilas *não* é verdadeira?
 - As clorofilas absorvem luz próximo aos dois extremos do espectro visível.
 - As clorofilas podem aceitar energia de outros pigmentos, tais como os carotenoides.
 - A clorofila excitada pode reduzir uma outra substância ou fluorecer.
 - A clorofila excitada pode ser um agente oxidante.
 - As clorofilas contêm magnésio.
- No transporte cíclico de elétrons,
 - o oxigênio é liberado.
 - o ATP é formado.
 - a água doa elétrons e prótons.
 - há formação de $\text{NADPH} + \text{H}^+$.
 - o CO_2 reage com a RuBP.

5. Qual das opções *não* acontece no transporte não cíclico de elétrons?
 - a. O oxigênio é liberado.
 - b. Há formação de ATP.
 - c. A água doa elétrons e prótons.
 - d. Há formação de NADPH + H⁺.
 - e. O CO₂ reage com a RuBP.
6. Nos cloroplastos,
 - a. a luz leva ao bombeamento de prótons fora dos tilacoides.
 - b. o ATP se forma quando prótons são bombeados para dentro dos tilacoides.
 - c. a luz faz com que o estroma se torne mais ácido do que os tilacoides.
 - d. os prótons retornam passivamente ao estroma mediante canais proteicos.
 - e. o bombeamento de prótons requer ATP.
7. Que afirmativa sobre o ciclo de Calvin *não* é verdadeira?
 - a. O CO₂ reage com a RuBP para formar 3PG.
 - b. A RuBP se forma pelo metabolismo de 3PG.
 - c. Há formação de ATP e NADPH + H⁺ quando 3PG é reduzido.
 - d. A concentração de 3PG aumenta se a luz é apagada.
 - e. A rubisco catalisa a reação de CO₂ e RuBP.
8. Na fotossíntese C₄,
 - a. 3PG é o primeiro produto da fixação de CO₂.
 - b. a rubisco catalisa a primeira etapa na rota.
 - c. em células da bainha do feixe vascular, a PEP-carboxilase forma ácidos de quatro carbonos.
 - d. a fotossíntese continua em níveis de CO₂ mais baixos do que em plantas C₃.
 - e. o CO₂ liberado da RuBP é transferido para a PEP.
9. A fotossíntese em plantas verdes ocorre apenas durante o dia. A respiração vegetal ocorre:
 - a. apenas à noite.
 - b. apenas quando existe ATP suficiente.
 - c. apenas durante o dia.
 - d. permanentemente.
 - e. no cloroplasto, após a fotossíntese.
10. A fotorrespiração:
 - a. ocorre apenas em plantas C₄.
 - b. inclui reações realizadas em peroxissomos.
 - c. aumenta a produção da fotossíntese.
 - d. é catalisada pela PEP-carboxilase.
 - e. é independente da intensidade luminosa.

PARA DISCUSSÃO

1. O transporte fotossintético de elétrons e o ciclo de Calvin cessam no escuro. Que reação específica cessa em primeiro lugar? Qual é a próxima a cessar? Continue respondendo à pergunta "Qual é a próxima a cessar", até que tenha explicado por que as duas rotas cessaram?
2. Em quais pontos principais as reações do transporte de elétrons na fotossíntese assemelham-se às reações da fosforilação oxidativa discutidas na Seção 7.4?
3. Faça uma distinção entre os transportes cíclico e não cíclico de elétrons, em termos de (1) produtos e (2) fonte de elétrons para a redução de clorofila oxidada.
4. Quais são as duas técnicas experimentais que tornaram possível elucidar o ciclo de Calvin? De que forma essas técnicas foram empregadas na investigação?
5. Se água marcada com ¹⁸O for adicionada a uma suspensão de cloroplastos fotossintetizantes, qual dos seguintes compostos será o primeiro marcado com ¹⁸O: ATP, NADPH, O₂ ou 3PG? Se água marcada com ³H for adicionada a uma suspensão de cloroplastos fotossintetizantes, qual dos mesmos compostos tornar-se-á radioativo em primeiro lugar? Se CO₂ marcado com ¹⁴C for adicionado a uma suspensão de cloroplastos fotossintetizantes, qual dos compostos tornar-se-á radioativo primeiro?
6. Em 1976, foi enviada ao planeta Marte a sonda *Viking*, a fim de detectar sinais de vida. Explique o fundamento racional por trás dos seguintes experimentos executados por essa sonda não tripulada.
 - a. Uma concha de solo foi inserida em um recipiente, ao qual foi adicionado ¹⁴CO₂. Após um intervalo de tempo durante o dia marciano, o ¹⁴CO₂ foi liberado e a amostra foi aquecida a uma temperatura alta. Da Terra, os cientistas que monitoraram o experimento esperavam a liberação de ¹⁴CO₂ como um sinal de vida.
 - b. Foi executado o mesmo experimento, exceto que a amostra foi aquecida a uma temperatura alta por 30 minutos e depois deixada esfriar à temperatura de Marte, depois da escavação e *antes* da adição de ¹⁴CO₂. Se no experimento *a* houve liberação de ¹⁴CO₂, então neste experimento ele não deveria ser liberado, caso seres vivos estivessem presentes.

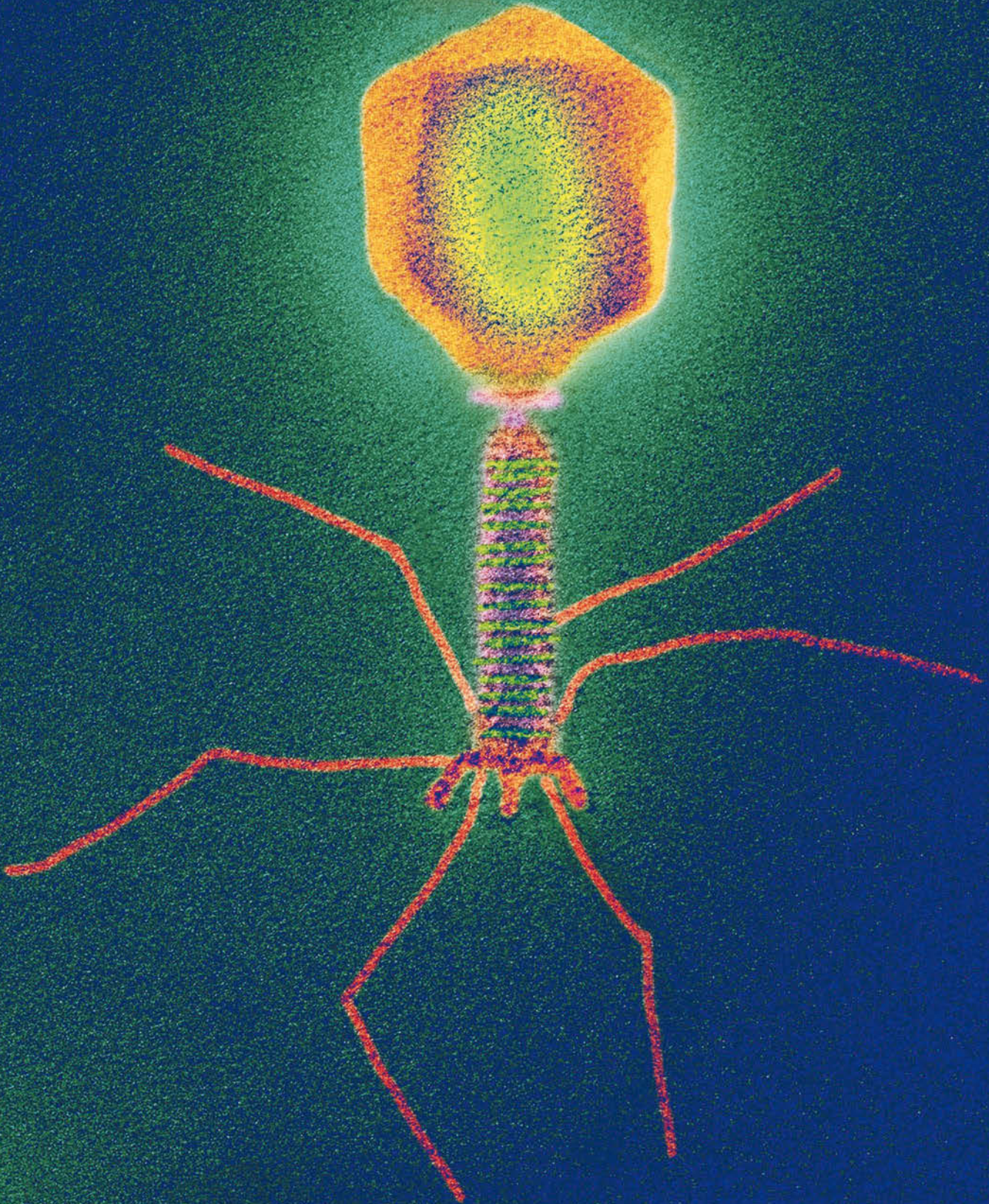
PARA INVESTIGAÇÃO

O experimento de Calvin (ver Figura 8.12) lançou as bases para a descrição completa da rota de fixação do CO₂. Considerando as relações metabólicas entre rotas em plantas, como você realizaria um experimento para

acompanhar o destino do carbono, desde a sua fixação pela fotossíntese até proteínas?

PARTE 3

Hereditariedade e o Genoma



As células imortais de Henrietta Lacks

No dia 28 de janeiro de 1951, Henrietta Lacks, 31 anos, encontrou manchas de sangue na sua roupa íntima. Sentindo que algo estava errado, a mãe de cinco filhos convenceu o marido a levá-la ao hospital Johns Hopkins, perto de onde moravam em Baltimore, Maryland. Um exame da sua cérvix revelou a razão do sangramento: um tumor do tamanho de uma moeda de 25 centavos de dólar. O seu médico enviou um pedaço do tumor para um patologista no laboratório clínico, que confirmou que este era maligno.

Uma semana mais tarde, Henrietta voltava ao hospital, onde médicos trataram o tumor com rádio para tentar eliminá-lo. Entretanto, antes do tratamento ter sido iniciado, uma pequena amostra de células do tumor foi retirada e enviada ao laboratório de pesquisa de George e Margaret Gey, dois cientistas do Johns Hopkins que tentavam, há vinte anos, fazer células humanas viverem e se multiplicarem fora do organismo, ou *in vitro*. Eles tentavam isso pois acreditavam que, se conseguissem a multiplicação de células humanas *in vitro*, poderiam utilizar essas células na cura do cân-

cer. Eles obtiveram sucesso com as células do tumor de Henrietta, que cresceram mais vigorosamente do que quaisquer outras células que os Gey tinham antes cultivado.

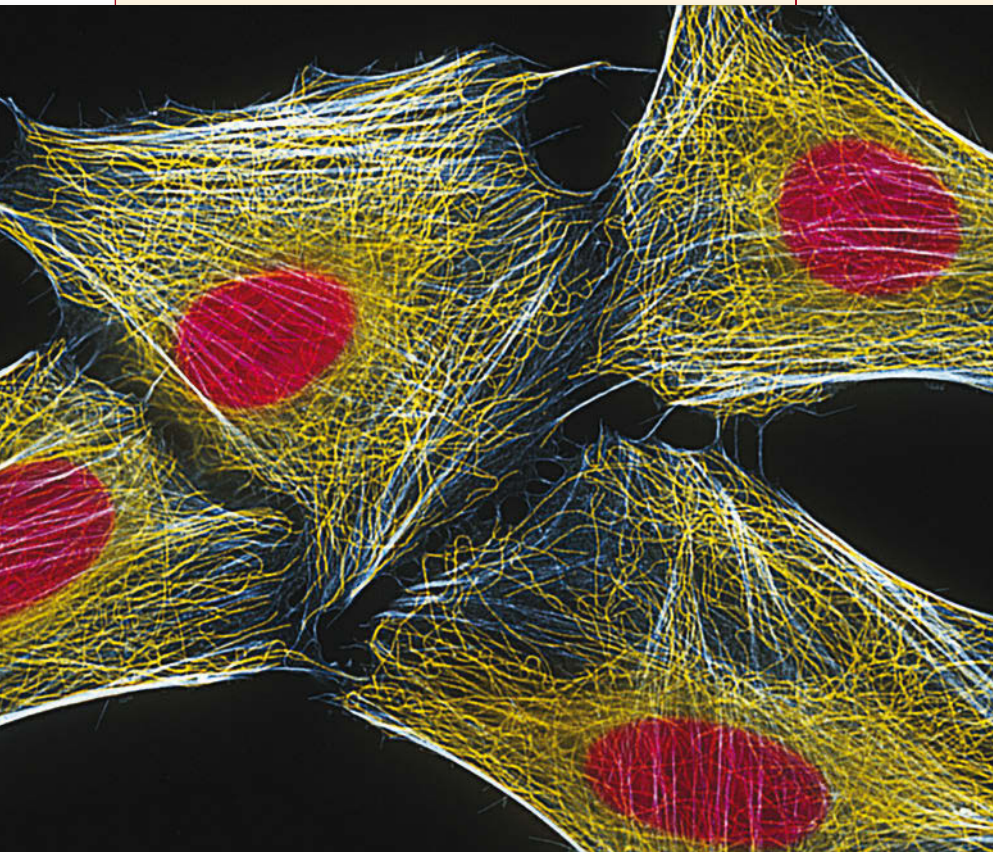
Infelizmente, as células tumorais também cresceram rapidamente no corpo de Henrietta Lacks. Dentro de poucos meses elas se espalharam por quase todos os seus órgãos. Ela faleceu em 4 de outubro de 1951. No mesmo dia, George Gey apareceu na televisão nacional mostrando um tubo de ensaio contendo suas células – que ele chamou de células HeLa – dizendo que a cura para o câncer estava próxima.

Por sua habilidade robusta em se reproduzir, as células HeLa se tornaram muito importantes na pesquisa biomédica básica e aplicada. Em grupos controlados, as células puderam ser infectadas com vírus e foram instrumento no desenvolvimento do estoque de poliovírus que levou à primeira vacina contra aquela doença. Embora a própria Henrietta nunca tivesse saído de Virgínia e de Maryland, as suas células viajaram por todo o mundo. As células HeLa até mesmo entraram no espaço, a bordo de uma nave espacial.

Durante a metade do século passado, dezenas de milhares de artigos científicos foram publicados usando informações obtidas a partir das células de Henrietta. No entanto, a esperança de que as células HeLa levassem a uma cura rápida do câncer provou-se irreal.

O câncer permanece a segunda causa de morte (após as doenças do coração) na maioria das nações mundiais desenvolvidas. Entretanto, Henrietta Lacks provavelmente teria vivido por muito mais tempo se tivesse tido acesso a um simples teste médico primeiramente utilizado em 1941. O chamado teste Pap

Células HeLa Estas células cancerosas de rápida reprodução têm sido cultivadas em vários laboratórios e contribuído muito na pesquisa biomédica.



Henrietta Lacks A Sra. Lacks, mostrada aqui em frente da sua casa em Baltimore, Maryland, faleceu de câncer em 1951. Deixou um legado sob a forma de células em cultura a partir do tumor que a matou.



pode detectar células pré-cancerosas na cérvix de uma mulher, normalmente permitindo que sejam removidas antes que se tornem cancerosas. Nos Estados Unidos, o teste Pap tem prevenido aproximadamente 90% das mortes por câncer de colo. Se esse teste tivesse sido feito a tempo, as células HeLa nunca teriam sido desenvolvidas.

Em tecidos normais, a divisão celular (“nascimento” da célula) é equilibrada pela perda de células (“morte” celular). Diferentemente da maioria das células normais, a maioria das células cancerosas, incluindo as células HeLa, continuam crescendo por possuírem um desequilíbrio genético que favorece muito a divisão celular em vez da morte celular. Tratamentos de câncer usando radiação ou drogas ajudam a alterar esse equilíbrio em favor da morte celular.

NESTE CAPÍTULO vemos como células originam outras células. Descrevemos de que forma células procarióticas produzem dois novos organismos a partir de um organismo unicelular. Então descrevemos os dois tipos de divisão celular e nuclear das células eucarióticas – mitose e meiose – e os relacionamos à reprodução assexuada e sexuada nos organismos eucarióticos. Finalmente, para equilibrar nossa discussão sobre a proliferação celular pela divisão, abordamos o importante processo de morte celular programada, também conhecido como apoptose.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 9.1** Como as células procarióticas e eucarióticas se dividem?
- 9.2** Como a divisão celular eucariótica é controlada?
- 9.3** O que ocorre durante a mitose?
- 9.4** Qual é o papel da divisão celular nos ciclos de vida sexuais?
- 9.5** O que ocorre quando uma célula sofre meiose?
- 9.6** Como as células morrem?

9.1 Como as células procarióticas e eucarióticas se dividem?

Os organismos unicelulares utilizam, antes de tudo, a divisão celular para se reproduzir, enquanto em organismos multicelulares a divisão celular também desempenha papéis importantes no crescimento e no reparo de tecidos (**Figura 9.1**).

Para que muitas células se dividam, quatro eventos devem ocorrer:

- Deve haver um *sinal reprodutivo*. Esse sinal, que pode vir tanto de dentro como de fora da célula, inicia a divisão celular.
- A **replicação** do DNA (o material genético) e outros componentes vitais da célula deve ocorrer para que cada uma das duas novas células tenha genes idênticos e funções celulares completas.
- A célula precisa distribuir o DNA replicado para cada uma das duas novas células. Este processo chama-se **segregação**.
- Novo material deve ser adicionado à membrana celular (e à parede celular, em organismos que a possuem) para separar as duas novas células, no processo chamado **citocinese**.

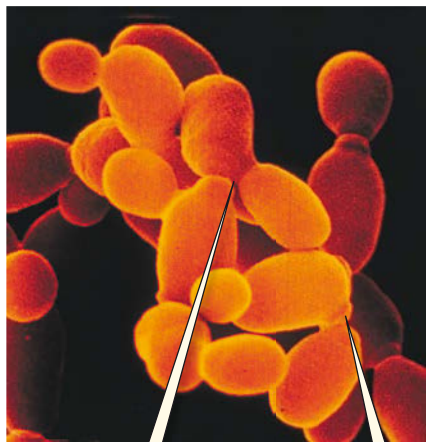
Esses quatro eventos ocorrem de maneira um pouco diferente em procariotos e eucariotos.

Os procariotos se dividem por fissão binária

Em procariotos, a divisão celular resulta na reprodução de todo o organismo unicelular. A célula cresce em tamanho, replica seu DNA e então divide-se em duas novas células, processo chamado de **fissão binária**.

SINAIS REPRODUTIVOS A taxa reprodutiva de muitos procariotos responde às condições do ambiente. A bactéria *Escherichia coli*, espécie comumente utilizada em estudos genéticos, é uma “máquina de divisão celular”; essencialmente, divide-se de maneira contínua. De modo típico, a divisão celular em *E. coli* leva 40 minutos a 37°C. Todavia, se fontes nutrientes abundantes de carboidratos e minerais estiverem disponíveis, a velocidade do ciclo celular aumenta, e as células podem se dividir em apenas 20 minutos. Ou-

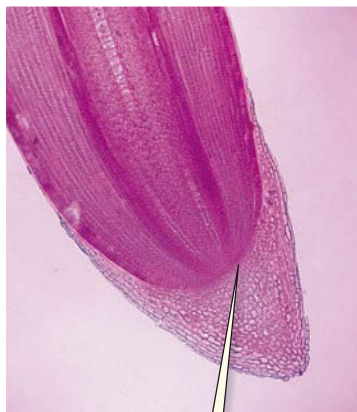
(A) Reprodução



Células de leveduras se dividem por brotamento. Esta quase já se dividiu...

...e esta começa o brotamento.

(B) Crescimento



A divisão celular contribui para o crescimento deste tecido de raiz.

Figura 9.1 Consequências importantes da divisão celular

A divisão celular é a base de (A) reprodução, (B) crescimento e (C) reparo e regeneração dos tecidos.

(C) Regeneração



A divisão celular contribui para a regeneração da cauda de um lagarto.

tra bactéria, *Bacillus subtilis*, para de se dividir quando a oferta de alimento é baixa, e volta a se dividir quando as condições nutricionais melhoram. Essas observações sugerem que fatores externos, como as condições ambientais e as concentrações de nutrientes, são sinais para o início da divisão celular em procarionotos.

REPLICAÇÃO DO DNA Conforme vimos na Seção 4.3, um **cro-mossomo** é uma molécula de DNA que contém a informação genética. Quando a célula se divide, todos os cromossomos precisam ser replicados, e cada uma das duas cópias resultantes precisa situar-se em uma das duas novas células.

A maioria dos procarionotos possui apenas um cromossomo, uma única molécula longa de DNA com proteínas ligadas a ela. Na bactéria *E. coli*, o DNA consiste em uma molécula contínua, frequentemente chamada de *cromossomo circular*. Embora muitas vezes representados por meio de círculos, os cromossomos circulares não são perfeitamente redondos. Se o DNA bacteriano fosse arranjado em um verdadeiro círculo, teria aproximadamente 1,6 milhão de nm (1,6 mm) de circunferência. A bactéria por si só tem apenas cerca de 1 μm (1.000 nm) de diâmetro e cerca de 4 μm de comprimento. Desse modo, se o DNA bacteriano fosse totalmente estendido, ele formaria um círculo 100 vezes maior do que a célula! Para caber dentro da célula, o DNA deve estar compactado. A molécula de DNA consegue parte desse empacotamento dobrando-se sobre si mesma. Proteínas carregadas positivamente (básicas) ligadas ao DNA carregado negativamente (ácido) contribuem para a sua compactação. Cromossomos circulares são característicos de quase todos os procarionotos, bem como de alguns vírus, e também se encontram nos cloroplastos e nas mitocôndrias de células eucarióticas.

Dois regiões do cromossomo procarionótico possuem papel funcional na reprodução celular:

- *ori*: é o sítio onde a replicação do círculo inicia (a origem de replicação).
- *ter*: é o sítio onde a replicação termina (o término da replicação).

A replicação cromossômica ocorre à medida que o DNA passa através de um "complexo de replicação" de proteínas próximo ao centro da célula. (Essas proteínas incluem a enzima DNA-poli-

merase, cujo importante papel na replicação será discutido mais adiante na Seção 11.3.) Durante o processo de replicação de DNA em procarionotos, a célula cresce, e os dois DNAs filhos são separados um do outro em extremidades opostas da célula.

SEGREGAÇÃO DO DNA Os dois DNA replicam-se no centro da célula, e, à medida que o fazem, as regiões *ori* se movem em direção de extremidades opostas da célula. O DNA adjacente à região *ori* liga proteínas essenciais a essa segregação. Esta consiste em um processo ativo, uma vez que essas proteínas de ligação hidrolisam ATP (**Figura 9.2**). O citoesqueleto procarionótico (ver Seção 4.2) pode estar envolvido na segregação do DNA, ou movendo ativamente o DNA ao longo de si, ou atuando passivamente como "trilhos" sobre os quais o DNA se move.

CITOCINESE A separação das células, ou citocinese, começa depois que a replicação cromossômica termina. O primeiro evento da citocinese é a formação de uma pequena invaginação na membrana plasmática para formar um anel semelhante a uma alça de bolsa. Fibras compostas de uma proteína semelhante à tubulina de eucariotos (que constitui os microtúbulos) são os componentes principais desse anel. À medida que a membrana se invagina, novos materiais para a parede celular são sintetizados, finalmente separando as duas células.

Sob condições ambientais ideais, a população de células de *E. coli* duplica de tamanho a cada 20 minutos. Teoricamente, em cerca de uma semana uma única célula de *E. coli* poderia produzir uma bola de bactérias do tamanho da Terra! Todavia, para o bem de outros organismos, a *E. coli* ficaria sem nutrientes muito antes de isso acontecer.

As células eucarióticas dividem-se por mitose ou meiose

Vários eucariotos completos, como humanos e plantas com flores, se originam a partir de uma única célula, o ovo fertilizado.

Figura 9.2 Divisão celular procariótica (A) O processo de divisão celular em uma bactéria. (B) Estas duas células da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* quase completaram a citocinese.

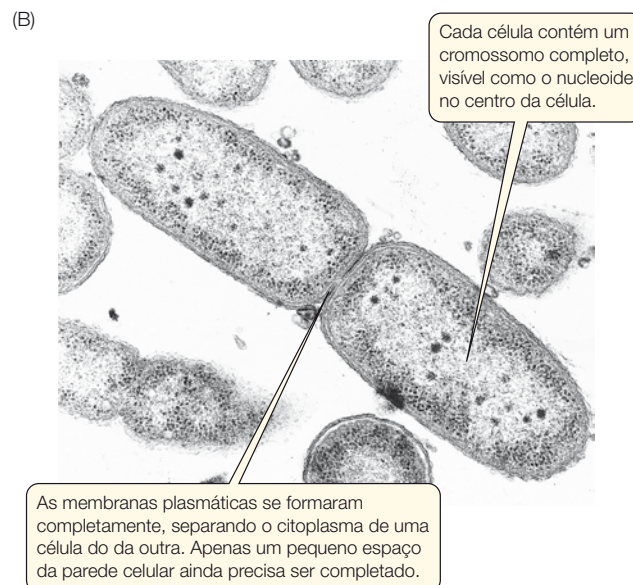
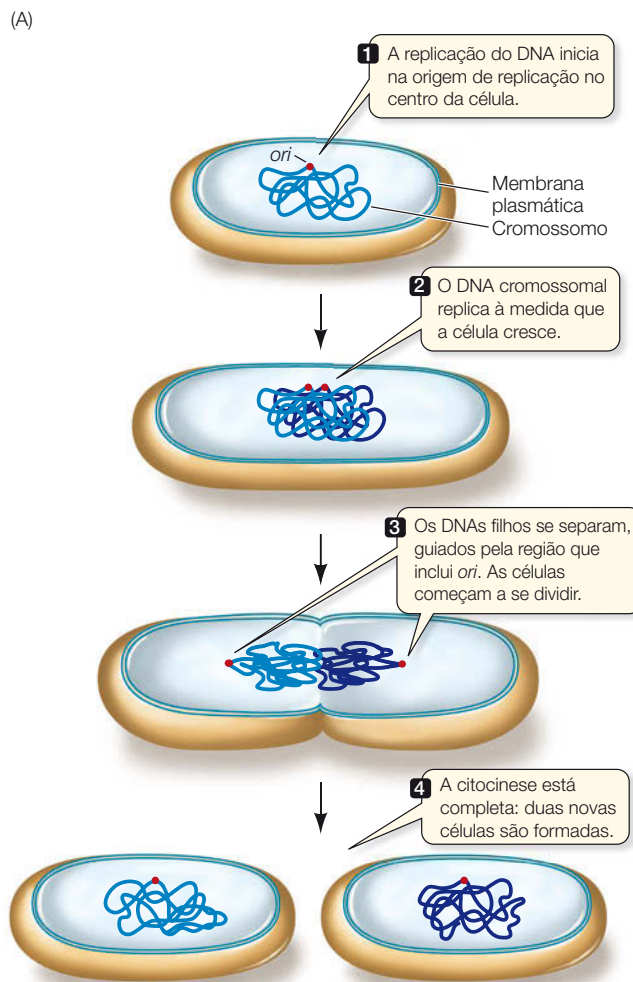
Essa célula deriva da união de duas células sexuais, chamadas de **gametas**, dos organismos dos pais – ou seja, um espermatozoide e um óvulo – e assim contém material genético de ambos os pais. Especificamente, o ovo fertilizado contém um grupo de cromossomos do pai e um grupo da mãe.

A formação de um organismo multicelular a partir de um ovo fertilizado é chamado de *desenvolvimento*. O desenvolvimento envolve tanto a reprodução celular quanto a especialização celular. Por exemplo, um humano adulto tem vários trilhões de células, todas derivadas de um ovo fertilizado, mesmo assim várias delas possuem papéis especializados. Como essas células se tornam especializadas para diferentes funções é o assunto do Capítulo 49; aqui nosso foco é reprodução celular.

Como nos procariotos, a reprodução celular nos eucariotos exige sinais de reprodução, replicação do DNA, segregação e citocinese. Entretanto, os detalhes são bastante diferentes:

- Ao contrário dos procariotos, as células eucarióticas não se dividem constantemente sempre que as condições ambientais são adequadas. De fato, as células eucarióticas que fazem parte de um organismo multicelular e se tornaram especializadas raramente se dividem. Em um organismo eucariótico, os sinais para a divisão celular não estão relacionados ao ambiente de uma única célula, mas com as necessidades do organismo na sua totalidade.
- Enquanto a maioria dos procariotos tem um único cromossomo principal, os eucariotos normalmente apresentam vários (humanos possuem 46), assim os processos de replicação e segregação, basicamente os mesmos dos procariotos, são mais complexos. Em eucariotos, os cromossomos recém-replicados estão intimamente associados uns aos outros (*cromátides-irmãos*), e um mecanismo diferente, chamado de **mitose**, é usado para segregá-los para os dois novos núcleos.
- As células eucarióticas apresentam um núcleo distinto, que precisa ser dividido em dois novos núcleos, cada um com um grupo idêntico de cromossomos. Dessa forma, em eucariotos, a citocinese diferencia-se da segregação do material genético e pode ocorrer apenas após a duplicação de todo o núcleo.
- A citocinese ocorre de forma diferente nas células vegetais (que têm parede celular) da que nas células animais (que não têm).

Um segundo mecanismo de divisão nuclear, **meiose**, acontece apenas nas células que produzem os gametas envolvidos na reprodução sexual. Isto é, a meiose ocorre apenas nas células que produzem os espermatozoides e os ovos que contribuirão para um novo organismo. Enquanto os dois produtos da mitose são geneticamente idênticos à célula que os produziu – ambos possuem o mesmo DNA – os produtos da meiose não são. Segundo veremos na Seção 9.5, a meiose gera diversidade ao embaralhar o material genético, resultando em novas combinações gênicas. A meiose tem papel chave nos ciclos de vida sexuados.



9.1 RECAPITULAÇÃO

Quatro eventos são necessários para a divisão celular: um sinal reprodutivo, replicação do material genético (DNA), segregação do DNA replicado e separação das duas células filhas (citocinese). Em procariotos, a divisão celular é rápida; em eucariotos, o processo é mais complexo, e o núcleo deve ser duplicado antes que a divisão celular possa ocorrer.

- Você pode descrever o tipo de sinal reprodutivo que leva a bactéria *Bacillus subtilis* a se dividir? Ver p. 181.
- Você consegue explicar por que o DNA deve ser replicado e segregado antes que uma célula possa se dividir? Ver p. 182.
- Você entende a diferença entre divisão celular em procariotos (fissão binária) e mitose em eucariotos? Ver p. 182-183.

O que determina se uma célula vai se dividir? Como a mitose conduz a células idênticas e a meiose à diversidade? Por que a maioria dos organismos eucariotos se reproduz sexualmente? Nas seções que se seguem, descreveremos os detalhes dos dois processos de divisão de células eucarióticas, mitose e meiose, e seus papéis na hereditariedade, desenvolvimento e evolução.

9.2 Como a divisão celular eucariótica é controlada?

Uma célula vive e funciona até se dividir ou morrer. Se for um gameta (ovo ou esperma), vive até se fundir com um outro gameta. Alguns tipos de células, como as células vermelhas do sangue, perdem a capacidade de se dividir à medida que se tornam maduras. Outros tipos celulares, as células corticais em caules de plantas, por exemplo, se dividem apenas raramente. Algumas células, como as células do embrião em desenvolvimento, especializam-se para se dividirem rapidamente.

Os eventos que ocorrem para produzir duas células eucarióticas a partir de uma denominam-se **ciclo celular**. Entre as divisões – isto é, durante grande parte da sua vida – uma célula eucariótica encontra-se em uma condição chamada de **interfase**. Para a maioria dos tipos de células eucarióticas, o ciclo celular apresenta duas fases: mitose e interfase. Nesta seção descreveremos os eventos da interfase, especialmente aqueles que acionam a mitose.

Uma dada célula vive por uma volta do ciclo celular e então se duplica. O ciclo celular, quando repetido sempre, é uma fonte constante de novas células. Entretanto, mesmo nos tecidos envolvidos no crescimento rápido, as células passam a maior parte do seu tempo na interfase. O exame de qualquer coleção de células em divisão, como a ponta de uma raiz ou uma fatia de fígado, revelará que a maioria das células está na interfase na maior parte do tempo; apenas uma pequena porcentagem delas estará em mitose em determinado momento.

A interfase possui três subfases, chamadas de G1, S e G2. O DNA da célula replica durante a **fase S** (o S significa síntese). O período entre o fim da mitose e o começo da fase S denomina-se **G1**, ou intervalo 1. Outra fase de intervalo – **G2** – separa o fim da fase S e o início da mitose. A mitose e a citocinese são referidas como a **fase M** do ciclo celular (Figura 9.3).

Observe os eventos da interfase com maiores detalhes:

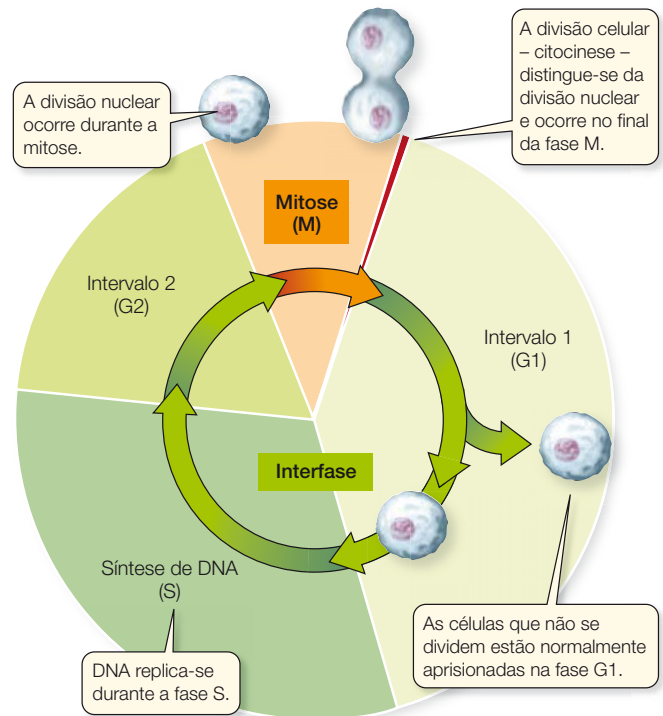


Figura 9.3 O ciclo celular eucariótico O ciclo celular consiste em uma fase mitótica (M), durante a qual a mitose e citocinese ocorrem, e em um longo período de crescimento conhecido como interfase. A interfase tem três subfases (G1, S e G2) em células que se dividem.

- **Fase G1.** Durante a G1, a célula está se preparando para fase S, assim neste estágio cada cromossomo é uma única estrutura não replicada. A G1 é bastante variável na duração nos diferentes tipos de células. Algumas células embrionárias de divisão rápida não apresentam G1, enquanto outras células podem permanecer em G1 por várias semanas ou mesmo anos. Em vários casos, estas células entram em fase de descanso, chamada G0. Sinais especiais internos e externos são necessários para estimular a célula deixar a G0 e entrar novamente no ciclo celular em G1.
- **A transição G1 para S.** É na transição de G1 para S que o comprometimento com a divisão celular (e desta forma com outro ciclo celular) faz-se.
- **Fase S.** Durante a fase S, o processo de replicação do DNA, descrito com detalhes na Seção 11.3, é completado. Onde anteriormente havia um cromossomo, existem agora duas cromátides irmãs ligadas e esperando a segregação para duas novas células por mitose ou meiose.
- **Fase G2.** Durante G2, a célula se prepara para a mitose – por exemplo, sintetizando componentes dos microtúbulos que moverão as cromátides até as extremidades opostas da célula em divisão.

As ciclinas e outras proteínas acionam eventos no ciclo celular

Como são feitas as decisões apropriadas para entrar nas fases S ou M? Uma primeira indicação de que existiam substâncias que con-

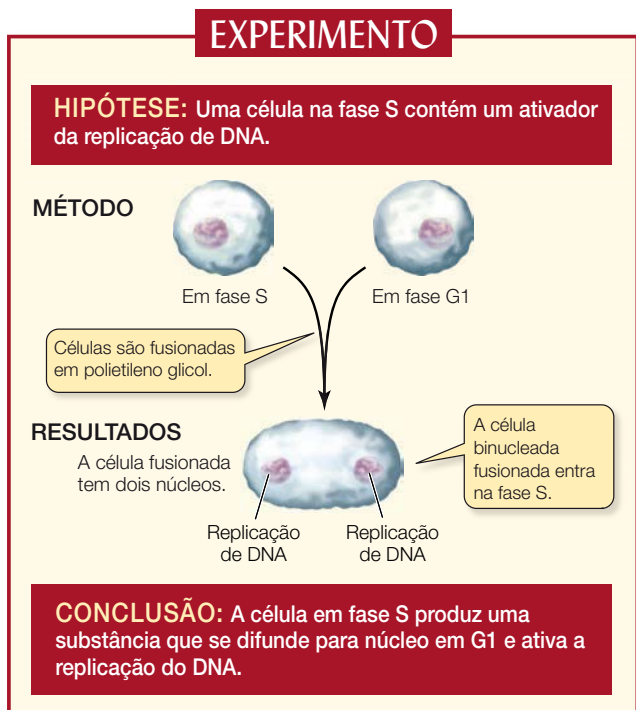


Figura 9.4 Regulação do ciclo celular Células podem ser induzidas a se fundir por certas substâncias (como o açúcar álcool polietileno glicol) que desagregam membranas plasmáticas. Tais fusões inicialmente produzem uma célula binucleada. Se uma célula em fase S é fusionada com uma célula no início de G1, esta última é estimulada pela primeira a entrar na fase S. **PESQUISA FUTURA:** De que forma você usaria esse método para mostrar que uma célula na fase M produz um ativador de mitose?

trolam essas transições veio de experimentos usando *fusão celular*. Células fusionadas de mamíferos em diferentes fases do ciclo celular mostraram que uma célula em fase S produz uma substância que ativa a replicação do DNA (Figura 9.4). Experimentos similares apontam um ativador molecular para entrar na fase M.

Essas transições – de G1 para S e de G2 para M – dependem da ativação de um tipo de proteína chamada de **quinase dependente de ciclina**, ou **Cdk**. Relembre da Seção 7.2 que uma *quinase* é uma enzima que catalisa a transferência de um grupo fosfato do ATP para outra molécula; essa transferência do fosfato chama-se *fosforilação*.



O que a fosforilação causa em uma proteína? Como discutido na Seção 3.2, proteínas apresentam tanto regiões hidrofílicas (que tendem a interagir com água na parte externa da macromolécula proteica) e regiões hidrofóbicas (que tendem a interagir umas com as outras no interior da macromolécula). Essas regiões são importantes, pois dão à proteína sua forma tridimensional. Grupos fosfato são carregados, assim um aminoácido com um grupo destes tende a estar na parte externa da proteína. Desse modo, a fosforilação altera a forma e a função de uma proteína através da alteração de suas cargas.

Pela catálise da fosforilação de certas proteínas-alvo, as Cdk têm papéis importantes na inicialização das etapas do ciclo ce-

lular. A descoberta de que as Cdk induzem a divisão celular é um bonito exemplo de como a pesquisa em diferentes organismos e tipos de células pode convergir em um único mecanismo. Um grupo de cientistas, liderado por James Maller, na Universidade do Colorado, estava estudando ovos imaturos do ouriço-do-mar, na tentativa de descobrir de que forma eles são estimulados a se dividirem e formarem as células precursoras do ovo maduro. A proteína chamada *fator promotor de maturação*, que por si só induzia ovos imaturos para divisão, foi purificada a partir de ovos em maturação. Ao mesmo tempo, na Universidade de Washington, Leland Hartwell, que estava estudando o ciclo celular em levedura (um eucarioto unicelular), encontrou uma linhagem estagnada na fronteira G1-S, devido à ausência de Cdk. Observou-se que essa Cdk da levedura era muito semelhante ao fator promotor de maturação do ouriço-do-mar. As Cdk similares logo foram encontradas controlando a transição G1 para S em vários outros organismos, incluindo humanos.

As Cdk não são ativas por si só. A ligação a um segundo tipo de proteína, chamada **ciclina**, ativa uma Cdk. Essa ligação – um exemplo de regulação alostérica (ver Seção 6.5) – ativa a Cdk pela alteração da sua forma e exposição do seu sítio ativo (Figura 9.5). É o complexo ciclina-Cdk que atua como proteína-quinase, ativando a transição da fase G1 para S. Então a ciclina se separa e a Cdk torna-se inativa.

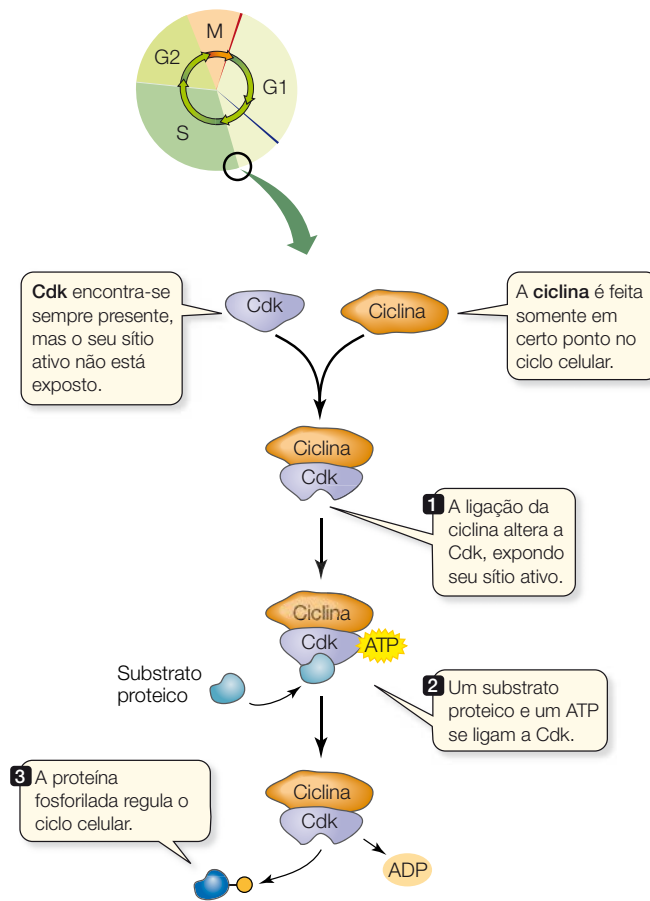


Figura 9.5 A ligação da ciclina ativa Cdk A ligação de uma ciclina altera a estrutura tridimensional de uma Cdk inativa, tornando-a uma proteína-quinase.

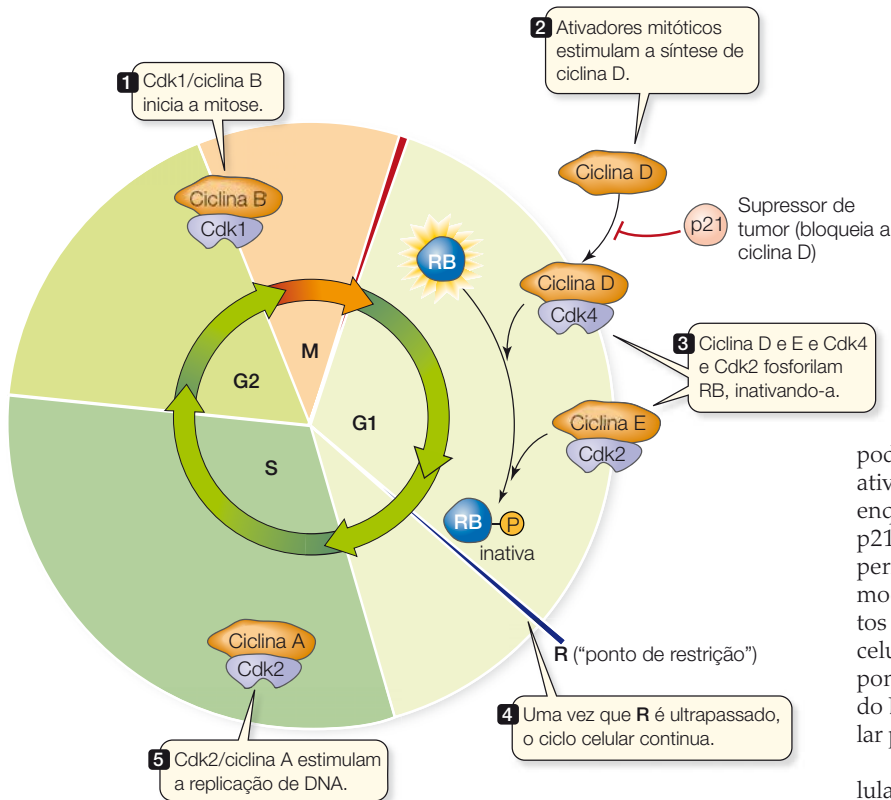


Figura 9.6 Quinases dependentes de ciclina e ciclinas acionam as transições no ciclo celular As Cdk ativam-se pela ligação com a ciclina apropriada. Existem quatro controles ciclina/Cdk durante o ciclo celular típico nos humanos. A RB (proteína retinoblastoma) é um supressor de tumor que tem o potencial de inibir o ciclo celular, mas pode ser desativada pela fosforilação, no ponto em que o ciclo celular continua, passando pelo ponto de restrição. A proteína supressora de tumor p21 pode temporariamente parar o ciclo celular pela ligação a ciclina D.

pode se ligar às duas Cdk de G1, prevenindo sua ativação pelas ciclinas. Assim o ciclo celular para enquanto reparos no DNA se realizam. A proteína p21 degrada-se depois que o DNA é reparado, permitindo que as ciclinas se liguem às Cdk de modo que o ciclo celular continue. Existem pontos de verificação em vários outros pontos no ciclo celular. Por exemplo, no final da fase S existe um ponto de verificação para a finalizada replicação do DNA; se ela não estiver finalizada, o ciclo celular para antes da mitose.

Pelo fato de o câncer resultar de divisões celulares não apropriadas, não é nenhuma surpresa que esses controles ciclina-Cdk estejam perturbados nas células cancerosas. Por exemplo, alguns cânceres de mama, de crescimento rápido, possuem muita ciclina D, que superestimula Cdk4 e, assim, a divisão celular. Por exemplo, uma proteína chamada p53 previne que células normais se dividam estimulando a síntese de p21 dessa forma inibindo as Cdk. Mais da metade de todos os cânceres humanos contêm p53 defectivas, resultando na ausência de controle do ciclo celular. Proteínas como p53, p21 e RB que normalmente bloqueiam o ciclo celular são conhecidas como *supressores de tumores*.

A proteína RB chama-se assim em referência ao retinoblastoma, um tumor que surge da divisão descontrolada de células nas células embrionárias que produzem a retina do olho. Este câncer afeta cerca de uma criança em 20 mil. Felizmente o tumor pode ser removido, embora o indivíduo possa perder a visão no olho afetado.

Várias combinações diferentes de ciclina-Cdk atuam em vários estágios do ciclo celular em mamíferos (Figura 9.6):

- A ciclina D-Cdk4 atua na metade de G1. Ela movimenta a célula até o **ponto de restrição (R)**, ponto-chave de decisão além do qual o resto do ciclo celular é normalmente inevitável.
- A ciclina E-Cdk2 também atua na metade de G1; trabalha em conjunto com a ciclina D-Cdk4 para mover a célula pelo ponto de restrição.
- A ciclina A-Cdk2 atua durante a fase S para estimular a replicação do DNA.
- A ciclina B-Cdk1 atua no limite de G2-M, iniciando a transição para a mitose.

A chave para progredir além do ponto de restrição é a proteína chamada **RB**. A RB normalmente inibe o ciclo celular. Todavia, quando RB é fosforilada por uma proteína-quinase, torna-se inativa e não mais bloqueia o ponto de restrição, e a célula progride na passagem de G1 para a fase S. (Note aqui o duplo negativo – uma função celular ocorre porque um inibidor é inibido. Esse fenômeno é comum no controle do metabolismo celular.) As enzimas que catalisam a fosforilação da RB são Cdk4 e Cdk2. Dessa forma, para uma célula passar pelo ponto de restrição é necessária a síntese das ciclinas D e E, que ativam Cdk4 e Cdk2, que fosforilam a RB, que se torna inativada.

Os complexos ciclina-Cdk atuam como *pontos de verificação*, pontos em que se monitora o progresso do ciclo celular a fim de determinar se o próximo passo pode ser tomado. Por exemplo, se o DNA foi danificado por radiação durante G1, uma proteína chamada p21 é sintetizada. (O p significa “proteína”, e o 21, o peso molecular – aproximadamente 21.000 Daltons.) A proteína p21

Os fatores de crescimento podem estimular a divisão celular

Os complexos ciclina-Cdk proporcionam um controle interno às células para o seu progresso pelo ciclo celular. Nem todas as células em um organismo passam pelo ciclo regularmente. Algumas células nunca mais passam pelo ciclo celular, ou passam por ele lentamente e se dividem com pouca frequência. Se elas devem se dividir, devem ser estimuladas por sinais químicos externos chamados **fatores de crescimento**. Por exemplo, quando você se corta e sangra, fragmentos celulares especializados, chamados de *plaquetas*, reúnem-se no ferimento para iniciar a coagulação sanguínea. As plaquetas produzem e secretam uma proteína, chamada de *fator de crescimento derivado de plaquetas*, que se difunde

para células adjacentes na pele e as estimula a se dividirem e cicatrizarem o ferimento.

Outros fatores de crescimento incluem as *interleucinas*, que se compõem por um tipo de célula sanguínea branca e promovem a divisão celular em outras células essenciais para as defesas do sistema imune do organismo. *Eritropoietina*, produzida no rim, estimula a divisão de células da medula óssea e a produção de células vermelhas do sangue. Além disso, muitos hormônios promovem a divisão em tipos específicos de células.

Vamos descrever as funções fisiológicas dos fatores de crescimento nos capítulos seguintes, mas todos eles atuam de maneira semelhante. Eles se ligam às suas células-alvo via receptores especializados de proteínas na superfície da célula-alvo. Essa ligação específica desencadeia eventos na célula-alvo que iniciam o ciclo celular. As células cancerosas frequentemente se dividem de forma não apropriada, pois produzem seus próprios fatores de crescimento, ou porque não necessitam mais dos fatores de crescimento para iniciar o ciclo.

9.2 RECAPITULAÇÃO

O ciclo celular eucariótico está sob controles tanto externos quanto internos. Uma série de quinases, elas mesmas sob controle das ciclinas, controla o ciclo celular eucariótico. Sinais externos como os fatores de crescimento podem iniciar o ciclo celular.

- Você pode desenhar um diagrama do ciclo celular mostrando as várias fases da interfase? Ver p. 184 e Figura 9.3.
- Você compreende como as ciclinas e a proteína RB controlam o progresso do ciclo celular? Ver p. 185-186 e Figura 9.6.
- Você compreende as diferenças entre controles externos e internos do ciclo celular? Ver p. 186-187.

Tendo resumido os eventos do ciclo celular de eucariotos, agora veremos com maiores detalhes os eventos da fase M – mitose.

9.3 O que ocorre durante a mitose?

O terceiro passo importante no processo da divisão celular – segregação do DNA replicado – ocorre durante a mitose. A segregação é executada pelo empacotamento das grandes moléculas de DNA e de suas proteínas associadas em cromossomos muito compactados. Após a segregação por mitose, a citocinese separa as duas células. Agora veremos estas etapas em maiores detalhes.

DNA eucariótico é empacotado em cromossomos muito compactados

O cromossomo eucariótico mostrado na **Figura 9.7** consiste em duas moléculas de DNA gigantescoas, lineares de dupla-fita complexadas com muitas proteínas para formar um material denso chamado de **cromatina**. Antes da fase S, cada cromossomo contém apenas uma dessas moléculas de DNA dupla-fita. Entretanto, após a replicação da molécula de DNA, durante a fase S, existem duas moléculas de DNA dupla-fita, conhecidas como **cromátides-irmãs**. As cromátides-irmãs unem-se por quase toda a sua extensão por um complexo proteico chamado de **coesina**. Elas permanecem desta forma até a mitose, quando a maior parte da coesina é removida, exceto em uma região chamada de **centrômero** na qual as cromátides permanecem unidas (ver Figura 9.7 e 9.11). Após a replicação, um segundo grupo de proteínas chamado de **condensinas** cobre as moléculas de DNA e as torna mais compactas.

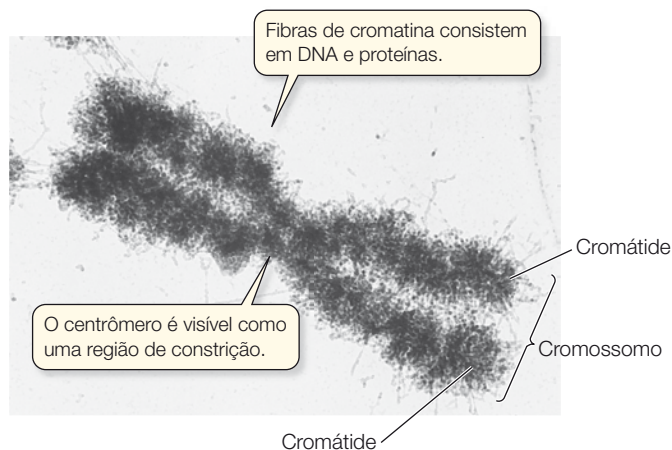


Figura 9.7 Cromossomos, cromátides e cromatina Um cromossomo humano em metáfase, mostrado no momento em que a célula se prepara para dividir.

necem desta forma até a mitose, quando a maior parte da coesina é removida, exceto em uma região chamada de **centrômero** na qual as cromátides permanecem unidas (ver Figura 9.7 e 9.11). Após a replicação, um segundo grupo de proteínas chamado de **condensinas** cobre as moléculas de DNA e as torna mais compactas.

Se todo o DNA em uma célula humana típica fosse colocado um atrás do outro, apresentaria um comprimento aproximado de 2 metros. Já o núcleo possui apenas 5 μm (0,000005 metros) de diâmetro. Assim, mesmo que o DNA do núcleo em interfase esteja “desenrolado”, ainda é impressionantemente compactado, conforme ilustrado na **Figura 9.8**. Essa compactação é alcançada principalmente por proteínas intimamente associadas com o DNA cromossomal.

Os cromossomos contêm grandes quantidades de proteínas chamadas **histonas** (*histos*, “rede” ou “teia”). Existem cinco classes de histonas. Todas possuem carga positiva ao nível do pH celular, devido ao seu alto conteúdo dos aminoácidos básicos lisina e arginina. Essas cargas positivas atraem os grupamentos fosfatos negativos no DNA. Tais interações DNA-histonas, assim como as interações entre histonas, resultam na formação de unidades semelhantes a um rosário denominadas de **nucleossomos**. Cada nucleossomo contém os seguintes componentes:

- Oito moléculas de histonas, duas de cada uma das quatro classes de histonas, unidas para formar um núcleo ou bobina.
- Cento e quarenta e seis pares de bases de DNA, 1,65 voltas deste se enrolam ao redor do núcleo de histona.
- Histona H1 (a classe restante das histonas) da parte de fora do DNA, que pode prendê-lo ao núcleo da histona.

Durante a interfase, um cromossomo consiste em uma única molécula de DNA que passa ao redor de um vasto número de nucleossomos, semelhante a contas em um colar. Entre as extensões de nucleossomos se estende uma quantidade variável de DNA “ligador” não nucleossomal. Durante este momento, o DNA é exposto ao ambiente nuclear, ficando acessível às proteínas envolvidas na sua replicação e na regulação da sua expressão, conforme veremos no Capítulo 14.

Durante tanto a mitose quanto a meiose, a cromatina torna-se ainda mais enrolada e condensada à medida que o nucleossomo se empacota. O enrolamento da cromatina continua até o momento em que as cromátides começam a se separar.

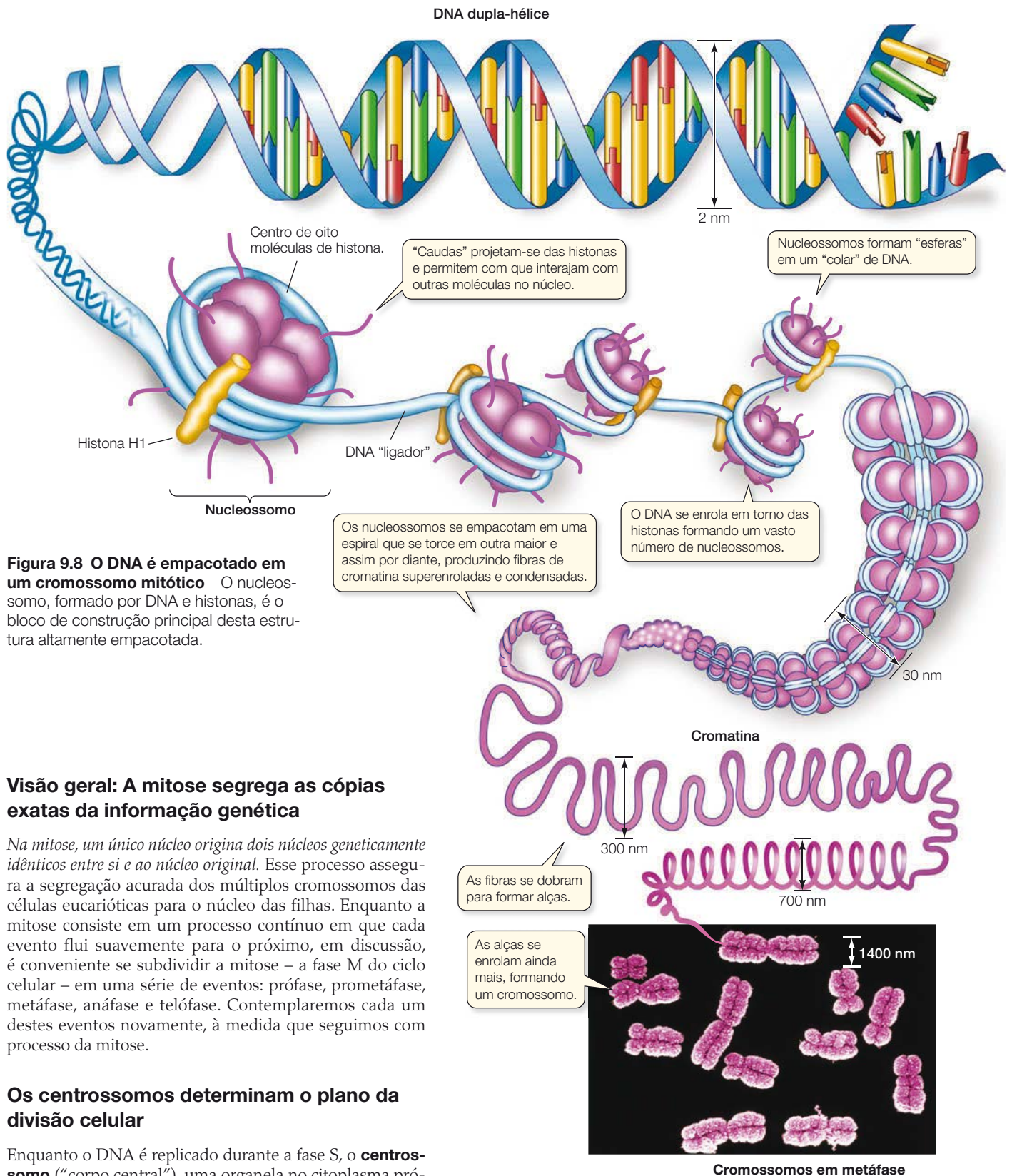


Figura 9.8 O DNA é empacotado em um cromossomo mitótico O nucleossomo, formado por DNA e histonas, é o bloco de construção principal desta estrutura altamente empacotada.

Visão geral: A mitose segrega as cópias exatas da informação genética

Na mitose, um único núcleo origina dois núcleos geneticamente idênticos entre si e ao núcleo original. Esse processo assegura a segregação acurada dos múltiplos cromossomos das células eucarióticas para o núcleo das filhas. Enquanto a mitose consiste em um processo contínuo em que cada evento flui suavemente para o próximo, em discussão, é conveniente se subdividir a mitose – a fase M do ciclo celular – em uma série de eventos: prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase. Contemplaremos cada um destes eventos novamente, à medida que seguimos com processo da mitose.

Os centríolos determinam o plano da divisão celular

Enquanto o DNA é replicado durante a fase S, o **centrossomo** (“corpo central”), uma organela no citoplasma próxima ao núcleo, se duplica, formando um par de centríolos. Em vários organismos, cada centríolo consiste em um par de **centríolos**, sendo cada um, um tubo oco ao longo de nove microtúbulos. Os dois tubos encontram-se em ângulos retos um em relação ao outro.

Na transição de G2 para M, os dois centríolos se separam um do outro, movendo-se para lados opostos do envelope nuclear. A orientação do centríolo tem relação com o plano em que a célula irá se dividir e, por conseguinte, a relação espacial das duas novas células com a original. Essa relação pode não ter grandes consequências para células únicas que vivem sozinhas, como as leveduras, mas é importante para aquelas que fazem parte de tecidos do corpo.

Ao redor dos centríolos existe grande concentração de dímeros de tubulina e essas proteínas iniciam a formação de microtúbulos, que orquestrarão os movimentos cromossômicos. (Nas células vegetais, que não têm centríolos, um determinado centro organizador de microtúbulos em cada extremidade da célula desempenha o mesmo papel.) A formação de microtúbulos levará à constituição da estrutura de fuso que se faz necessária para a segregação ordenada dos cromossomos.

As cromátides se tornam visíveis e o fuso se forma durante a prófase

Durante a interfase, somente o envelope nuclear, o nucléolo e um discreto emaranhado de cromatina são visíveis ao microscópio óptico. A aparência do núcleo muda assim que a célula entra em **prófase** – o início da mitose. A maior parte da coesina que manteve os dois produtos da replicação do DNA unidos desde a fase S é removida, tornando as cromátides individuais visíveis. Eles ainda mantêm-se unidos por uma pequena quantidade de coesina no centrômero. No final da prófase, estruturas especializadas de três camadas, chamadas de **cinetocoros**, desenvolvem-se na região do centrômero, uma em cada cromátide. Essas estruturas serão importantes nos movimentos dos cromossomos.

Cada um dos dois centríolos serve de *centro mitótico*, ou *polo*, em direção do qual os cromossomos irão se mover (**Figura 9.9A**). Microtúbulos se formam entre cada polo e os cromossomos, para formar um **fuso**, que serve tanto como estrutura na qual os cromossomos irão se ligar quanto como esqueleto que mantém os dois polos separados. Na verdade, o fuso são duas metades de fuso: cada microtúbulo vai de um polo até a metade

do fuso, onde se sobrepõem com microtúbulos que se estendem a partir da outra metade do fuso. Os microtúbulos são, de início, instáveis, constantemente se formando e se desintegrando até entrar em contato com os microtúbulos da outra metade do fuso e tornarem-se mais estáveis.

Existem dois tipos de microtúbulos no fuso:

- **Microtúbulos polares** são os microtúbulos que recentemente descovemos; eles formam a estrutura do fuso. Apresentam tubulina abundante em volta dos seus centríolos. Dímeros de tubulina se agregam para formar longas fibras que se estendem até a região do meio da célula.
- **Microtúbulos do cinetocoro**, que se formam mais tarde, se ligam aos cinetocoros nos cromossomos. As duas cromátides-irmãs em cada par de cromossomo se ligam, por seus cinetocoros, aos microtúbulos do cinetocoro nas metades opostas do fuso (**Figura 9.9B**). Isto assegura que uma cromátide do par irá finalmente se mover para o polo oposto. O movimento das cromátides é a principal característica e a consumação da mitose.

Os movimentos dos cromossomos são altamente organizados

É durante as três próximas fases da mitose – pró-metáfase, metáfase e anáfase – que os cromossomos se movem (**Figura 9.10**). Durante essas fases, os centrômeros que mantêm as duas cromátides unidas se separam, e as cromátides-irmãs originais se separam movimentando-se para direções opostas.

PRÓ-METÁFASE A **pró-metáfase** é marcada pelo desaparecimento do envelope nuclear e do nucléolo. O material que os compõem permanece no citoplasma, porém é reutilizado na formação do núcleo das filhas. Na pró-metáfase, o cromossomo começa a se movimentar em direção dos polos, mas este movimento contrabalança-se por dois fatores:

- Uma força repulsiva a partir dos polos empurra os cromossomos em direção da região do meio, ou **placa equatorial** (placa da metáfase) da célula.

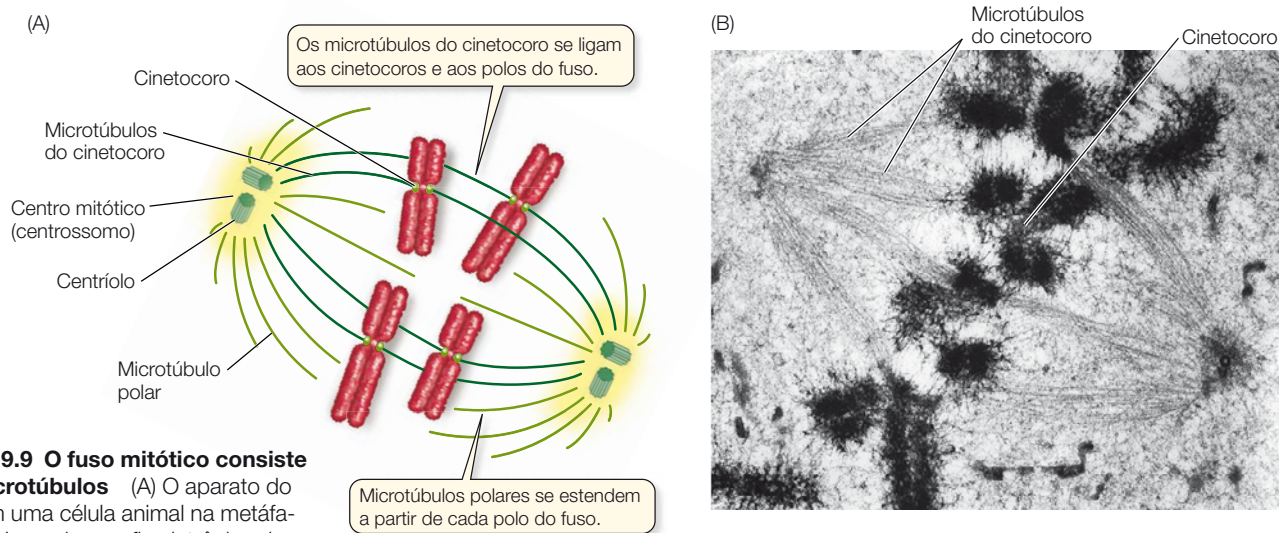


Figura 9.9 O fuso mitótico consiste em microtúbulos (A) O aparato do fuso em uma célula animal na metáfase. (B) Uma micrografia eletrônica do estágio mostrado em (A), enfatizando os microtúbulos do cinetocoro.

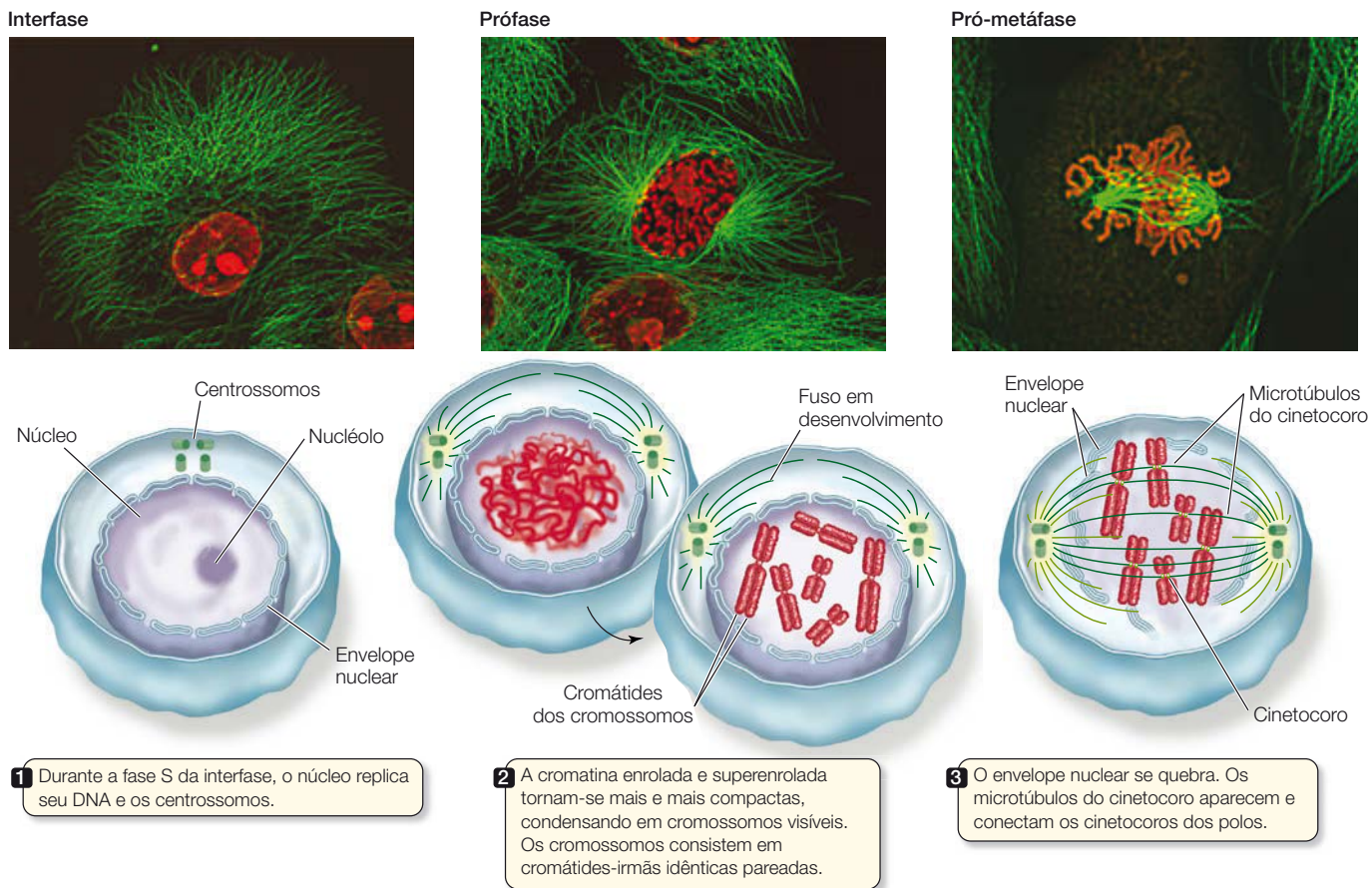


Figura 9.10 Mitose A mitose resulta em dois novos núcleos geneticamente idênticos entre si e ao núcleo a partir do qual se originaram. Nas micrografias, o corante verde cora os microtúbulos (e desta forma o fuso); o corante vermelho marca os cromossomos. Os cromossomos nos diagramas estão estilizados a fim de enfatizar as características das cromátides individuais.

■ As duas cromátides ainda estão unidas no centrômero pela coesina.

Desta forma, durante a pró-metáfase, os cromossomos parecem se mover sem objetivo, indo e vindo entre os polos e o meio do fuso. Gradualmente, os centrômeros alcançam a placa equatorial.

METÁFASE A célula encontra-se em **metáfase** quando todos os centrômeros alcançarem a placa equatorial. A metáfase constitui o melhor momento para ver os tamanhos e formas dos cromossomos, pois estes estão condensados ao máximo. As cromátides apresentam-se agora claramente conectadas a um ou outro polo pelos microtúbulos. No final da metáfase, todos os pares de cromátides separam-se simultaneamente.

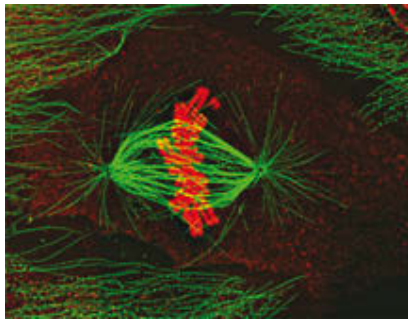
ANÁFASE A separação das cromátides marca o início da anáfase, durante a qual as duas cromátides-irmãs se movem para as extremidades opostas do fuso. Cada cromátide contém uma molécula de DNA dupla-fita e agora passa a ser chamada de **cromátide-filha**.

Essa separação ocorre porque uma subunidade da coesina que mantém as cromátides-irmãs unidas é hidrolisada por uma protease específica, apropriadamente chamada de *separase*. Até este ponto, a separase encontra-se presente, mas inativa, pois estava ligada a uma subunidade inibidora chamada de *securina*. Uma vez que todas as cromátides estiverem conectadas ao fuso, a securina é hidrolisada, permitindo que a separase catalise a quebra da coesina (**Figura 9.11**). Desta forma, o alinhamento dos cromossomos conecta-se à separação das cromátides. Esse processo, chamado de *ponto de verificação do fuso*, aparentemente verifica se ainda existem cinetocoros não ligados ao fuso. Se esses existirem, a quebra da securina bloqueia-se e as cromátides-irmãs permanecem unidas.

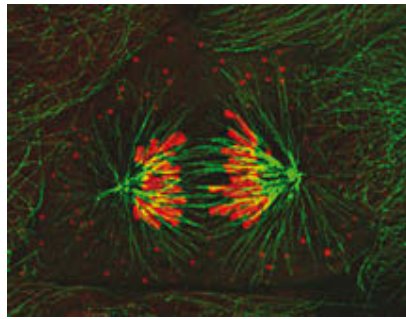
O que impulsiona essa migração massiva e altamente organizada? Duas coisas parecem mover os cromossomos. Primeiro, nos cinetocoros existem proteínas que atuam como “motores moleculares”. Essas proteínas, chamadas de *dineína citoplasmática*, têm a habilidade de hidrolisar o ATP para ADP e fosfato, liberando assim energia a fim de mover os cromossomos ao longo dos microtúbulos em direção aos polos. Tais proteínas motoras se responsabilizam por cerca de 75% da força de movimento. Segundo, os microtúbulos dos cinetocoros encurtam a partir dos polos, tirando os cromossomos de perto deles, sendo responsáveis por cerca de 25% do movimento.

Durante a anáfase, os polos do fuso são empurrados para longe, dobrando a distância entre eles. A distância aumenta porque os microtúbulos polares que se sobrepõem e se estendem a partir das extremidades opostas do fuso contêm proteínas motoras. Devido à ação dessas proteínas, os microtúbulos deslizam e passam um pelo outro, de maneira muito semelhante àquela em que os microtúbu-

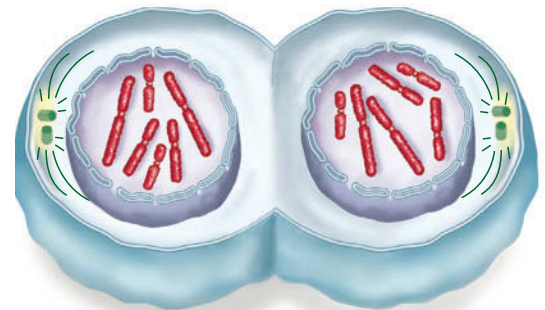
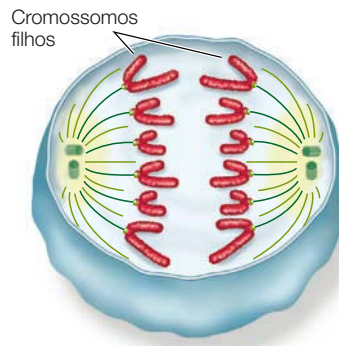
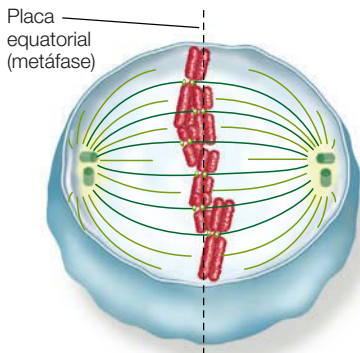
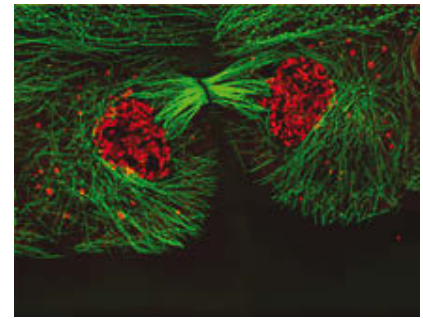
Metáfase



Anáfase



Telófase



4 Os centrômeros se alinham em um plano no equador da célula.

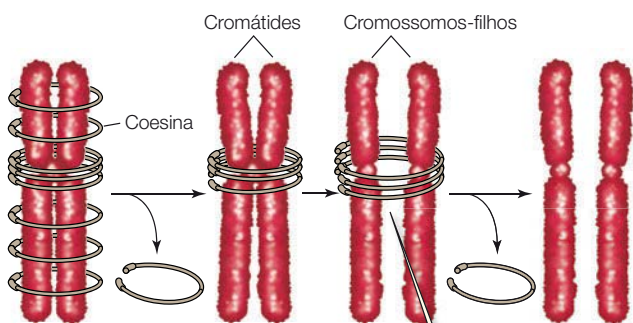
5 As cromátides-irmãs pareadas se separam e os novos cromossomos-filhos começam a se mover em direção dos polos.

6 Os cromossomos-filhos alcançam os polos. Quando a telófase termina, os envelopes nucleares e nucléolos se refazem, a cromatina se torna difusa e a célula entra novamente na interfase.

Prófase

Metáfase

Anáfase



1 Após a replicação, as cromátides-irmãs mantêm-se unidas pela coesina.

2 Durante a metáfase nos mamíferos, a maior parte da coesina foi removida, exceto uma parte no centrômero.

3 Na anáfase, a securina, uma subunidade inibitória da separase, é hidrolisada. A separase hidrolisa a coesina remanescente.

los deslizam em cílios e flagelos (ver Figura 4.23A). Essa ação mais adiante separa um grupo de cromossomos-filhos do outro.

Os cromossomos se movem lentamente, mesmo em termos celulares. A cerca de 1 µm por minuto, são necessários cerca de 10 a 60 minutos para completar sua jornada aos polos – de modo aproximado, isso equivale a uma pessoa levar nove milhões de anos para atravessar os Estados Unidos. Essa velocidade baixa pode assegurar que os cromossomos segreque corretamente.

O núcleo se forma novamente durante a telófase

Quando os cromossomos param de se mover no final da anáfase, a célula entra na **telófase**. Dois grupos de cromossomos (formalmente denominados cromossomos-filhos), contendo DNA idêntico e por isso carregando grupos idênticos de instruções hereditárias, encontram-se agora em extremidades opostas do fuso, que começa a se degenerar. Os cromossomos se desenrolam até se tornarem novamente um emaranhado difuso de cromatina que caracteriza a interfase. Os envelopes nucleares e os nucléolos, desagregados durante a prófase, aglutinam-se e reorganizam suas respectivas estruturas. Quando essas e outras mudanças se completam, a telófase – e a mitose – está no final, e cada um dos núcleos-filho entra em outra interfase.

Figura 9.11 Ligação e separação da cromátide O complexo proteína coesina mantém as cromátides irmãs unidas. A enzima separase hidrolisa a coesina no início da anáfase, permitindo que as cromátides se separem em cromossomos-filhos.

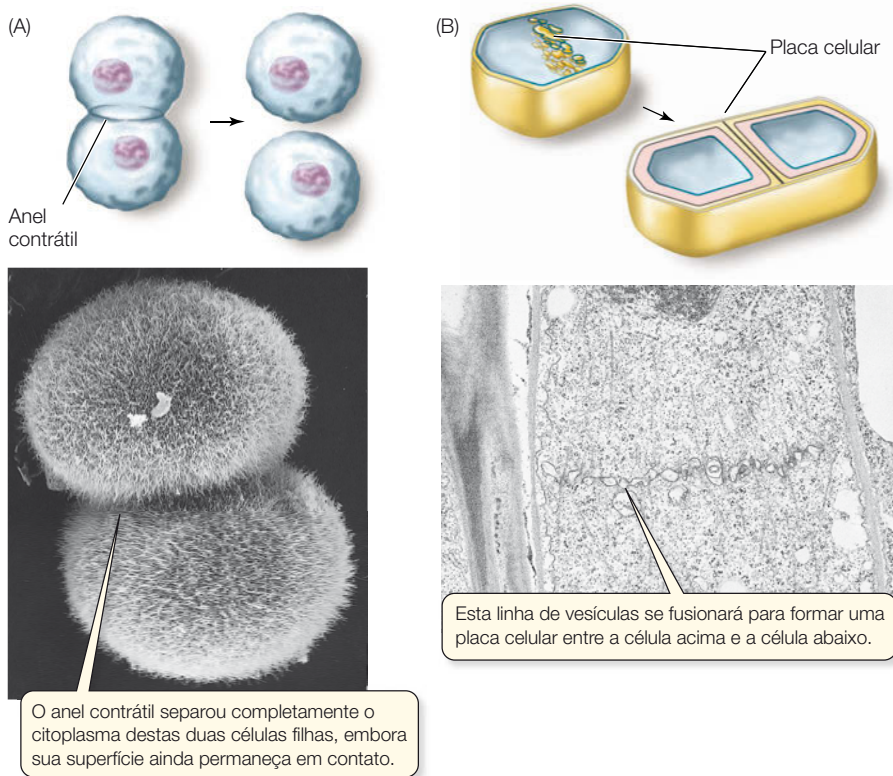


Figura 9.12 A citocinese difere em células animais e vegetais Células vegetais devem se dividir diferentemente das células animais porque possuem parede celular. (A) Um zigoto de ouriço-do-mar (ovo fertilizado) que recém completou a citocinese, no final da primeira divisão celular do seu desenvolvimento em um embrião. (B) Uma célula vegetal em divisão no final da telófase. As duas células resultantes serão separadas por uma parede celular sólida, e não por um espaço.

membrana plasmática, e contribuem com seu conteúdo para a *placa celular*, que é o início da nova parede celular (**Figura 9.12B**).

Após a citocinese, as duas novas células contêm todos os componentes de uma célula completa. Uma distribuição precisa dos cromossomos é assegurada pela mitose. Ao contrário, organelas como os ribossomos, as mitocôndrias e os cloroplastos não necessitam ser distribuídas igualmente entre as células-filha, contanto que algumas delas estejam presentes em ambas as células; por conseguinte, não há um mecanismo com precisão comparado ao da mitose que forneça igual distribuição para as células-filhas. Conforme veremos no Capítulo 49, a distribuição desigual dos

componentes citoplasmáticos durante o desenvolvimento pode ter significância funcional para as duas novas células.

A mitose é maravilhosamente precisa. O seu resultado consiste em dois núcleos idênticos entre si e ao núcleo de origem na sua composição cromossomal e conseqüentemente na constituição genética. Agora os dois núcleos devem ser isolados em células separadas, o que requer a divisão do citoplasma.

Citocinese é a divisão do citoplasma

A mitose refere-se somente à divisão do núcleo. A divisão do citoplasma da célula, que se segue à mitose, efetua-se pela citocinese. Em diferentes organismos, a citocinese pode ser realizada de diferentes maneiras. As diferenças entre o processo em plantas e em animais são substanciais.

As células animais usualmente se dividem por um estreitamento da membrana plasmática, como se uma linha invisível estivesse apertando o citoplasma entre os dois polos (**Figura 9.12A**). A “linha invisível” é formada por microfilamentos de actina e miosina (ver Figura 4.20A), chamada de *anel contrátil*, localizado logo abaixo da membrana plasmática. Essas duas proteínas interagem para produzir uma contração, exatamente como feita nos músculos, separando a célula em duas. Esses microfilamentos reúnem-se rapidamente a partir de monômeros de actina que estão presentes no citoesqueleto na interfase. Essa montagem parece estar sob o controle de íons cálcio liberados a partir de sítios de estoque, no centro da célula.

O citoplasma de células vegetais se divide de forma diferente porque as plantas possuem uma parede celular. Em células vegetais, à medida que o fuso se degrada depois da mitose, vesículas membranosas derivadas do complexo de Golgi surgem na placa equatorial, no meio do caminho entre os dois novos núcleos. Movendo-se ao longo dos microtúbulos pela proteína motora cinesina, essas vesículas se fundem, a fim de formarem a nova

9.3 RECAPITULAÇÃO

Mitose é a divisão do núcleo de uma célula eucariótica em dois núcleos idênticos entre si e ao núcleo de origem. O processo da mitose, contínuo, pode ser visto como uma série de eventos (prófase, pró-metáfase, metáfase, anáfase e telófase) durante os quais cromátides irmãs são separadas em cromossomos filhos, ao redor dos quais o núcleo se refaz. Uma vez que dois núcleos idênticos se formaram, a célula se divide em duas por citocinese.

- Qual é a diferença entre um cromossomo, uma cromátide e um cromossomo filho? Ver p.187 e Figuras 9.7 e 9.11.
- Você pode descrever os níveis de “empacotamento” pelos quais a informação genética contida em DNA linear é condensada em cromossomos? Ver p. 187 e Figura 9.8.
- Você pode descrever os movimentos cromossomais durante a mitose? Ver p. 189-190 e Figura 9.10.
- Quais são as diferenças entre citocinese em células vegetais e animais? Ver p. 192 e Figura 9.12.

O processo complicado da mitose resulta em duas células geneticamente idênticas. Contudo, como mencionado anteriormente, existe outro processo de divisão celular eucariótico, chamado de meiose, que resulta na diversidade genética. Qual é o papel desse processo?

9.4 Qual é o papel da divisão celular nos ciclos de vida sexuais?

O ciclo celular mitótico se repete. Por esse processo, uma única célula pode gerar um grande número de outras. A meiose, por outro lado, resulta em apenas quatro células filhas, que podem não sofrer outras duplicações. Tanto a mitose quanto a meiose estão envolvidas na reprodução, mas possuem funções reprodutivas diferentes.

A reprodução por mitose resulta em constância genética

A **reprodução assexuada**, algumas vezes chamada de *reprodução vegetativa*, baseia-se na divisão mitótica do núcleo. Uma célula que sofre mitose pode ser um organismo inteiro unicelular se reproduzindo com cada ciclo celular, ou pode ser uma célula em um organismo multicelular que quebra um pedaço para produzir um novo organismo multicelular. Alguns organismos multicelulares podem reproduzir-se pela liberação de células provenientes da mitose e da citocinese ou por ter perdido um pedaço que se desenvolve por si mesmo (Figura 9.13). Na reprodução assexuada, os descendentes são **clones** do organismo original; ou seja, os descendentes constituem-se *geneticamente idênticos* aos pais. Se existe alguma variação entre os descendentes, provavelmente resulta de *mutações*, ou alterações, no material genético. A reprodução assexuada é uma maneira rápida e efetiva de produzir novos indivíduos bastante comum na natureza.

A reprodução por meiose resulta em diversidade genética

Diferente da reprodução assexuada, a **reprodução sexuada** resulta em um organismo não idêntico ao original. A reprodução

sexuada requer gametas criados por meiose; dois pais, cada um contribuindo com um gameta para cada descendente. A meiose produz gametas – que diferem geneticamente não apenas de cada pai e mãe, mas também uns dos outros. Por causa dessa variação genética, alguns descendentes podem estar melhor adaptados do que outros para sobreviver e reproduzir em determinado meio. Dessa forma, a meiose gera a diversidade genética que é a matéria-prima da seleção natural e evolução.

Na maioria dos organismos multicelulares, as **células somáticas** – células do corpo *não* especializadas para reprodução – contêm dois conjuntos de cromossomos cada, encontrados em pares. Um cromossomo de cada par provém de cada um dos pais do organismo. Os membros de tal **par homólogo** assemelha-se em tamanho e aparência (exceto para os cromossomos sexuais encontrados em algumas espécies, conforme veremos na Seção 10.4). Os dois cromossomos (os **homólogos**) de um par homólogo carregam informações genéticas similares, porém geralmente não idênticas.

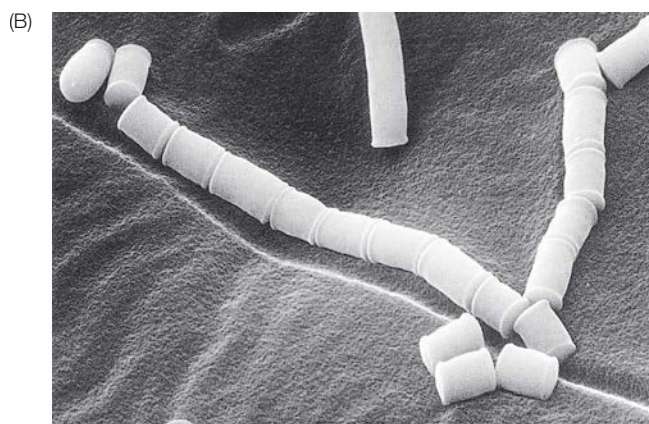
Os gametas, por outro lado, contêm apenas um único grupo de cromossomos – ou seja, um homólogo a partir de cada par. O número de cromossomos em um gameta denomina-se *n*, e a célula é dita **haploide**. Dois gametas haploides fusionam a fim de formar um novo organismo, o **zigoto**, em um processo chamado de **fertilização**. Dessa forma, o zigoto possui dois grupos de cromossomos, assim como as células somáticas fazem. Seu número de cromossomos denomina-se $2n$ e o zigoto é dito **diploide**.

Todos os ciclos de vida sexual têm certas marcas:

- Existem dois pais, cada um fornece cromossomos à descendência na forma de um gameta produzido por meiose.
- Cada gameta é haploide; isto é, contém um único conjunto de cromossomos.
- Os dois gametas – usualmente identificados como óvulo feminino e espermatozoide masculino – fusionam-se para produzir uma célula única, o zigoto, ou ovo fertilizado. Assim, o zigoto contém dois conjuntos de cromossomos (diploide).



Figura 9.13 Reprodução assexuada (A) Alguns cactus apresentam caules frágeis que se quebram facilmente. Os fragmentos no chão formam raízes e desenvolvem mitoticamente uma nova planta geneticamente idêntica à planta da qual ela se originou. (B) Estas células em forma de cilindro são esporos assexuados formados por um fungo. Cada esporo contém um núcleo produzido por divisão mitótica. Cada esporo é geneticamente idêntico ao original que se fragmentou para produzi-lo.





Fungo (*Rhizopus oligosporus*)
(Organismo haploide)



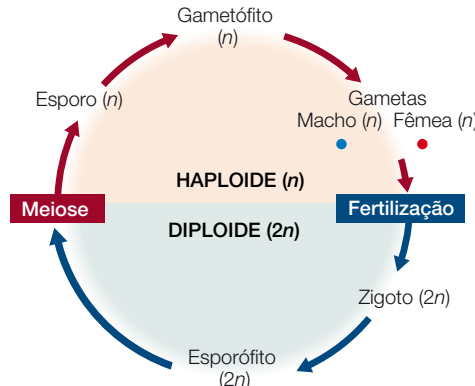
Samambaia (*Humata tyermanii*)
(Esporófito diploide)



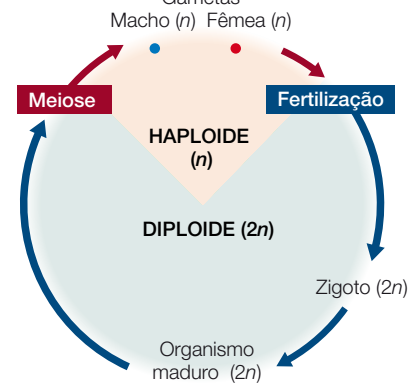
Elefante (*Loxodonta africana*)
(Organismo diploide)



No ciclo de vida haplôntico, o organismo é haploide e o zigoto é o único estágio diploide.



Na alteração de gerações, o organismo passa tanto pelo estágio haploide quanto pelo diploide.



No ciclo de vida diplôntico, o organismo é diploide e os gametas são o único estágio haploide.

Figura 9.14 A fertilização e a meiose alternam na reprodução sexual Na reprodução sexual, células ou organismos haploides (n) se alternam com células ou organismos diploides ($2n$).

Como mostrado na **Figura 9.14**, após a formação do zigoto, observam-se diferentes tipos de ciclos de vida sexual:

- Nos organismos **haplônticos**, como a maioria dos protistas e vários fungos, um minúsculo zigoto é a única célula diploide no ciclo de vida; o organismo maduro é haploide. O zigoto sofre meiose para produzir células haploides, ou **esporos**. Esses esporos formam o novo organismo, que pode ser unicelular ou multicelular, por mitose. O organismo haploide maduro produz gametas por mitose, que se fusionam a fim de formarem o zigoto diploide.
- A maioria das plantas e alguns protistas apresentam **alternação de gerações**, na qual a meiose não dá origem a gametas, mas a esporos haploides. Os esporos se dividem por mitose para formar estágio de vida haploide alternado (*gametófito*). É esse estágio haploide que forma gametas por mitose. Os gametas se fusionam, formando um zigoto diploide, que se divide por mitose para se tornar um *esporófito* diploide.
- Nos organismos **diplônticos**, que incluem os animais e algumas plantas, os gametas são as únicas células haploides no ciclo de vida, e o organismo maduro é diploide. Gametas formam-se pela meiose, e se fusionam para formarem um zigoto diploide. O zigoto se divide por mitose a fim de formar o organismo maduro.

Descrevemos estes ciclos de vida, em maiores detalhes, na Parte 6. No presente capítulo daremos enfoque ao papel da reprodução sexual na geração da diversidade entre organismos individuais.

TABELA 9.1 Número de pares de cromossomos em algumas espécies vegetais e animais

NOME COMUM	ESPÉCIE	NÚMERO DE PARES DE CROMOSSOMOS
Mosquito	<i>Culex pipiens</i>	3
Mosca	<i>Musca domestica</i>	6
Sapo	<i>Bufo americanus</i>	11
Arroz	<i>Oryza sativa</i>	12
Rã	<i>Rana pipiens</i>	13
Crocodilo	<i>Alligator mississippiensis</i>	16
Macaco Rhesus	<i>Macaca mulatta</i>	21
Trigo	<i>Triticum aestivum</i>	21
Humano	<i>Homo sapiens</i>	23
Batata	<i>Solanum tuberosum</i>	24
Asno	<i>Equus asinus</i>	31
Cavalo	<i>Equus caballus</i>	32
Cachorro	<i>Canis familiaris</i>	39
Carpa	<i>Cyprinus carpio</i>	52

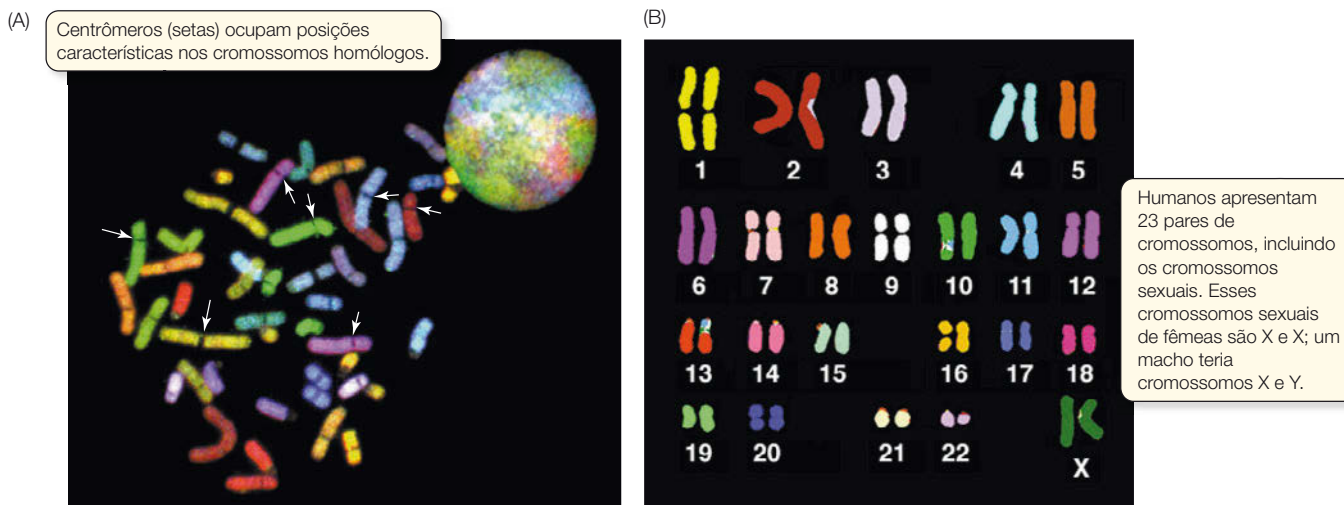


Figura 9.15 O cariótipo humano (A) Cromossomos de uma célula humana na metáfase da mitose. O DNA de cada cromossomo possui uma sequência de nucleotídeos específica marcada por um corante colorido específico, de modo que cada par homólogo tenha uma cor distinta. Cada cromossomo neste estágio compõe-se de duas cromátides, contudo não podem ser distinguidas por esta técnica de “coloração de cromossomo”. O globo multicolorido é um núcleo na interfase. (B) Esta imagem, produzida por análise computadorizada a partir da imagem da esquerda, com pares homólogos alinhados e numerados, claramente revela o cariótipo humano.

A essência da reprodução sexuada consiste na seleção aleatória da metade do conjunto de cromossomos diploides dos pais para formar um gameta haploide, seguido da fusão de dois desses gametas haploides a fim de produzir uma célula diploide que contém a informação genética de ambos os gametas. Ambos os passos contribuem em uma mistura da informação genética na população, onde não há dois indivíduos com exatamente a mesma constituição genética. A diversidade promovida pela reprodução sexuada abre enormes oportunidades para a evolução.

O número, a forma e o tamanho dos cromossomos em metáfase constituem o cariótipo

Quando o núcleo está em metáfase na mitose, é muitas vezes possível contar e caracterizar os cromossomos individualmente. Esse é um processo relativamente simples em alguns organismos devido a uma técnica que pode capturar células em metáfase e espalhar seus cromossomos. Uma fotomicrografia do conjunto total de cromossomos pode então ser feita, e as imagens dos cromossomos individuais podem ser ordenadas individualmente. Essa fotomicrografia revela o número, as formas e os tamanhos dos cromossomos em uma célula que, juntos, constituem seu **carótipo** (Figura 9.15).

Os cromossomos individuais podem ser reconhecidos pelos seus comprimentos, pelas posições dos centrômeros e pelas bandas características visualizadas quando eles são corados e observados em grande ampliação. Quando a célula é diploide, o cariótipo consiste em pares homólogos de cromossomos – 23 pares para um total de 46 cromossomos em humanos, e maior ou menor número de pares em outras espécies diploides. Não existe relação absoluta entre o tamanho do organismo e o seu número de cromossomos (Tabela 9.1).

9.4 RECAPITULAÇÃO

A meiose é necessária para a reprodução sexuada, na qual gametas haploides se fusionam para produzir um zigoto diploide. A reprodução sexuada resulta na diversidade genética, a base da evolução.

- Qual é a diferença, em termos de genética, entre reprodução assexuada e sexuada? Ver p. 193.
- Você pode descrever como a fertilização produz um organismo diploide? Ver p. 193.
- Quais características gerais todos os ciclos de vida sexual tem em comum? Ver p. 194 e Figura 9.14.

A meiose, diferentemente da mitose, resulta em células-filhas geneticamente diferentes e com apenas a metade dos cromossomos das células de onde se originam. Como estas mudanças se executam?

9.5 O que ocorre quando uma célula sofre meiose?

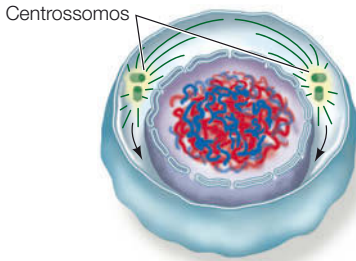
A meiose consiste em *duas* divisões nucleares que reduzem o número de cromossomos para o número haploide em preparação para a reprodução sexuada. Embora o núcleo se *divida duas vezes* durante a meiose, o DNA é *replicado uma só vez*. Ao contrário dos produtos da mitose, os produtos da meiose diferem tanto entre eles quanto da célula que os originou. Para entendermos o processo da meiose e seus detalhes específicos, faz-se necessário lembrar as funções gerais da meiose:

- Reduzir o número de cromossomos de diploides para haploides.
- Garantir que cada um dos produtos haploides possua um conjunto completo de cromossomos.
- Promover a diversidade genética entre os produtos.

Durante esta discussão, use a **Figura 9.16** como auxílio para visualizar cada etapa.

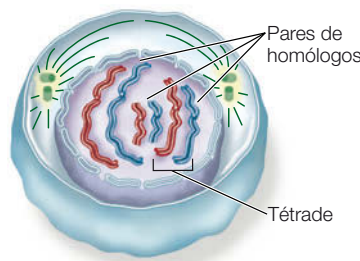
MEIOSE I

Início da prófase I



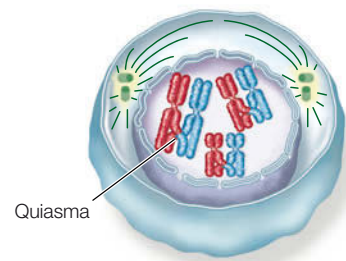
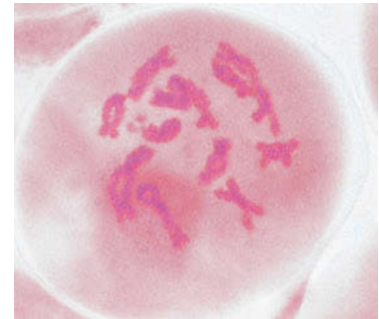
1 A cromatina começa a condensar depois da interfase.

Prófase intermediária I



2 A sinapse alinha os homólogos e os cromossomos se condensam mais.

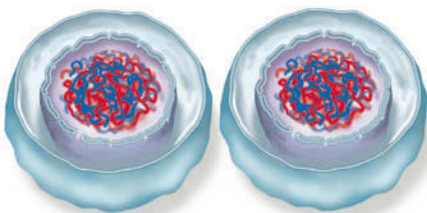
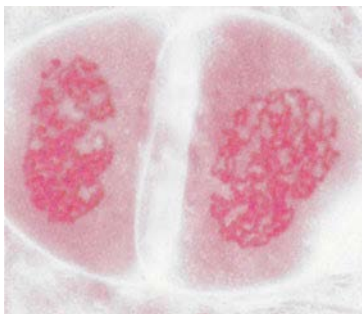
Final da prófase I – pró-metáfase



3 Os cromossomos continuam a se enrolar e a encurtar. *Permutação* resulta na troca de material genético. Na pró-metáfase o envelope nuclear se quebra.

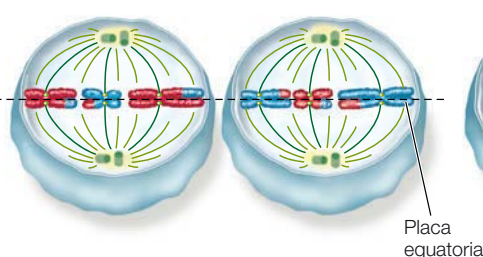
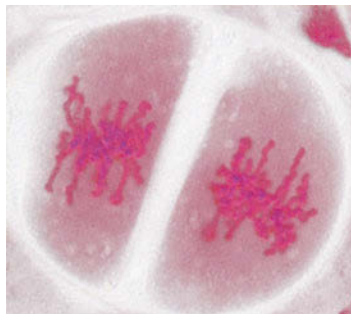
MEIOSE II

Prófase II



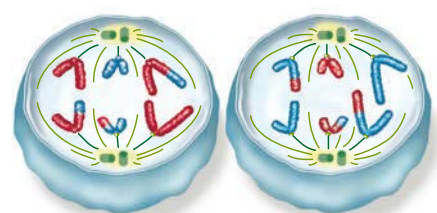
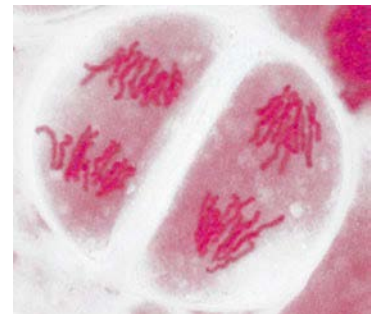
7 Os cromossomos se condensam novamente depois de uma breve interfase (intercinese) na qual o DNA não se replica.

Metáfase II



8 Os centrômeros das cromátides pareadas se alinham nas placas equatoriais de cada célula.

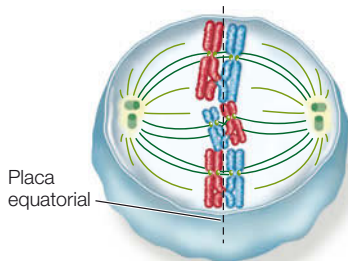
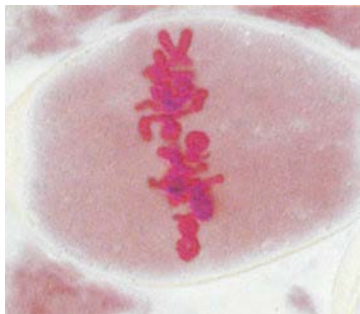
Anáfase II



9 As cromátides finalmente se separam tornando-se cromossomos propriamente ditos e são puxados para os polos opostos. Por causa do permutação na prófase I, cada célula nova será geneticamente diferente.

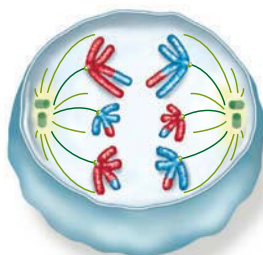
Figura 9.16 Meiose Na meiose, dois conjuntos de cromossomos dividem-se entre quatro núcleos, cada qual com metade dos cromossomos da célula original. Quatro células haploides são o resultado de duas divisões nucleares sucessivas. As micrografias apresentam a meiose no órgão reprodutor masculino de um lírio; os diagramas apresentam as fases correspondentes em um animal. (Para propósitos de instrução, os cromossomos a partir de um dos pais estão coloridos com azul e aqueles a partir do outro estão em vermelho.)

Metáfase I



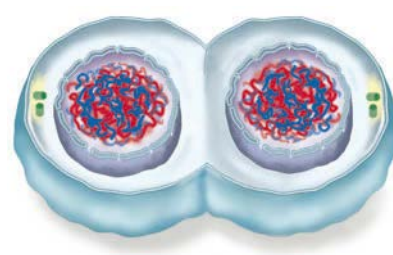
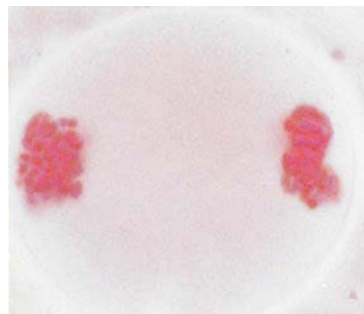
4 Os pares homólogos se alinham na placa equatorial (metáfase).

Anáfase I



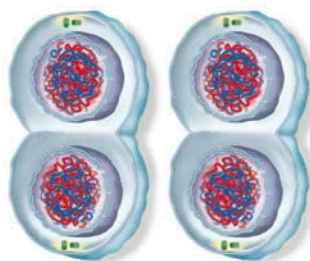
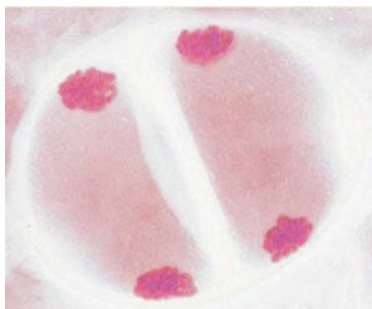
5 Os cromossomos homólogos (cada um com duas cromátides) se movem até os polos opostos da célula.

Telófase I



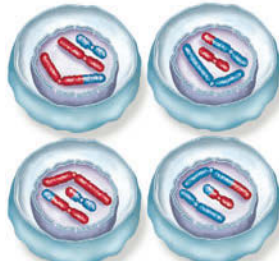
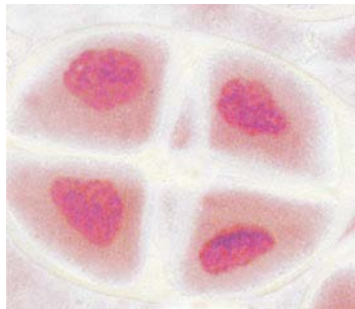
6 Os cromossomos entram no núcleo e a célula original se divide.

Telófase II



10 Os cromossomos entram no núcleo e as células se dividem.

Produtos



11 Cada uma das quatro células tem um núcleo com um número haploide de cromossomos.

A primeira divisão meiótica reduz o número de cromossomos

Dois únicas características diferenciam a primeira das duas divisões meióticas, a **meiose I**. A primeira é que cromossomos homólogos estão unidos para parear por toda sua extensão. Nenhum pareamento desses ocorre na mitose. A segunda é que depois da

metáfase I, os cromossomos homólogos se separam. Os cromossomos individuais, cada um consistindo em duas cromátides-irmãs, permanecem intactos até o final da metáfase II, na segunda divisão meiótica.

Como a mitose, a meiose I é precedida por uma interfase com uma fase S, durante a qual cada cromossomo replica-se. Como resultado, cada cromossomo consiste em duas cromátides-irmãs unidas por proteínas coesinas.

A meiose I começa com uma longa prófase I (os três primeiros quadros da Figura 9.16), durante a qual os cromossomos mudam marcadamente. Os pares de cromossomos homólogos se pareiam por adesão ao longo da sua extensão, um processo chamado **sinapse**. Esse processo de pareamento ocorre a partir da prófase I até o final da metáfase I.

Neste momento em que os cromossomos podem ser claramente visualizados sob o microscópio óptico, os dois homólogos já encontram-se unidos fortemente. Essa união, iniciada nos telômeros, é mediada pelo reconhecimento de sequências homólogas de DNA nos cromossomos homólogos. Além disso, um grupo especial de proteínas pode formar uma armação chamada de **complexo sinaptonemal**,

que percorre longitudinalmente os cromossomos homólogos e parece mantê-los unidos.

As quatro cromátides de cada par desses cromossomos formam o que se chama de **tétrade**, ou **bivalente**. Em outras palavras, uma tétrade consiste em quatro cromátides, duas de cada um dos dois cromossomos homólogos. Por exemplo, existem 46 cromos-

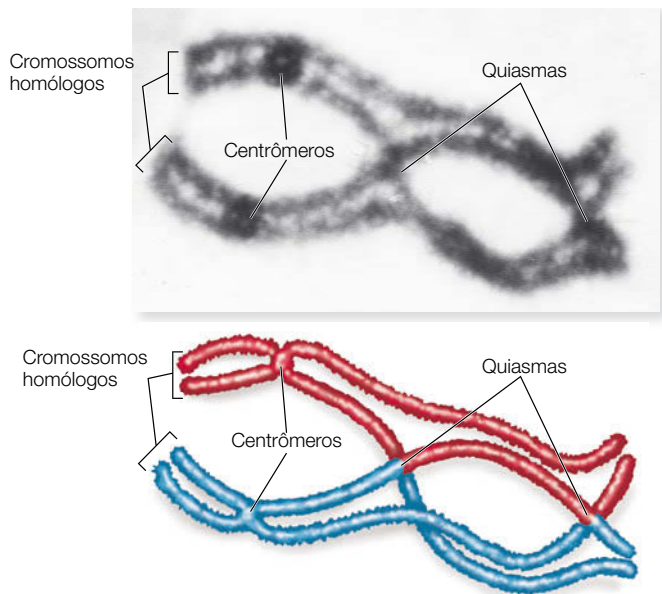


Figura 9.17 Quiasmas: evidência de troca entre cromátides Esta micrografia mostra um par de cromossomos homólogos, cada um com duas cromátides, durante a prófase I da meiose em uma salamandra. Visualizam-se dois quiasmas.

somos em uma célula diploide humana no início da meiose, assim existem 23 pares homólogos de cromossomos, cada um com duas cromátides (isto é, 23 tétrades), para um total de 92 cromátides durante a prófase I.

Durante toda a prófase I e a metáfase I, a cromatina continua a se enrolar e a compactar, de maneira que os cromossomos parecem-se cada vez mais densos. Em certo ponto, os cromossomos homólogos parecem se repelir, especialmente na região próxima aos centrômeros, mas mantêm-se unidos por ligações físicas mediadas por coesinas. Essas coesinas diferem daquelas que mantêm as duas cromátides-irmãs unidas. As regiões que apresentam esse tipo de ligação assumem uma forma em X (**Figura 9.17**) e denominam-se **quiasmas** (singular *quiasma*, “cruz”).

Um quiasma reflete uma troca de material genético entre as cromátides-irmãs em cromossomos homólogos – o que os geneticistas chamam de **permutação** (**Figura 9.18**). Os cromossomos normalmente começam a cambiar material logo após o começo da sinapse, mas os quiasmas só se tornam visíveis mais tarde, quando os homólogos estão se repelindo. A **permutação** aumenta a variação genética entre os produtos da meiose pela mistura de informação genética entre os pares homólogos. Teremos muito a falar sobre **permutação** e suas consequências genéticas nos capítulos seguintes.

Parece haver tempo em abundância para que os eventos complexos da prófase I ocorram. Enquanto medimos a prófase mitótica normalmente em minutos, e toda a mitose raramente dura mais do que uma ou duas horas, a meiose pode durar muito mais. Em humanos do sexo masculino, as células dos testículos que passam pela meiose levam cerca de uma semana para a prófase I e cerca de um mês para todo o ciclo meiótico. Nas células que vão se tornar óvulos, a prófase I começa muito antes do nascimento de uma mulher, durante o início do seu desenvolvimento fetal e termina muitas décadas depois, durante o ciclo ovariano mensal (ver Figura 48.13).

A prófase I é seguida pela pró-metáfase I, durante a qual o envelope nuclear e o nucléolo se desagregam. Um fuso se forma e os microtúbulos se ligam aos cinetocoros dos cromossomos. Na meiose I, os cinetocoros de ambas as cromátides em cada cromossomo se ligam a mesma metade do fuso. Assim todo o cromossomo, consistindo em duas cromátides, migrará para um polo. Qual membro de um par de cromossomos homólogos se ligará a cada metade do fuso, e desta forma irá para um dos polos, é aleatório. Na metáfase I, todos os cromossomos se moveram para a placa equatorial. Até esse ponto, os pares homólogos mantêm-se unidos pelos quiasmas.

Os cromossomos homólogos se separam na anáfase I, quando os cromossomos individuais, cada um ainda consistindo em duas cromátides, são puxados para os polos, com um do homólogo do par indo para um polo e o outro para o oposto. (Note que esse processo difere da separação das **cromátides** durante a anáfase mitótica.) Dessa forma cada um dos dois núcleos filhos, a partir da divisão, contém apenas um conjunto de cromossomos, e não os dois conjuntos presentes no núcleo diploide original. Entretanto, como consistem em duas cromátides, ao invés de apenas uma, cada um destes cromossomos possui duas vezes a massa de um cromossomo no final de uma divisão mitótica.

Em alguns organismos existe uma telófase I, com a reagregação dos envelopes nucleares. Quando apresenta uma telófase I, segue-se uma interfase, chamada **intercinese**, similar à interfase mitótica. Durante a intercinese, a cromatina está parcialmente desenrolada; entretanto, não há replicação do material genético

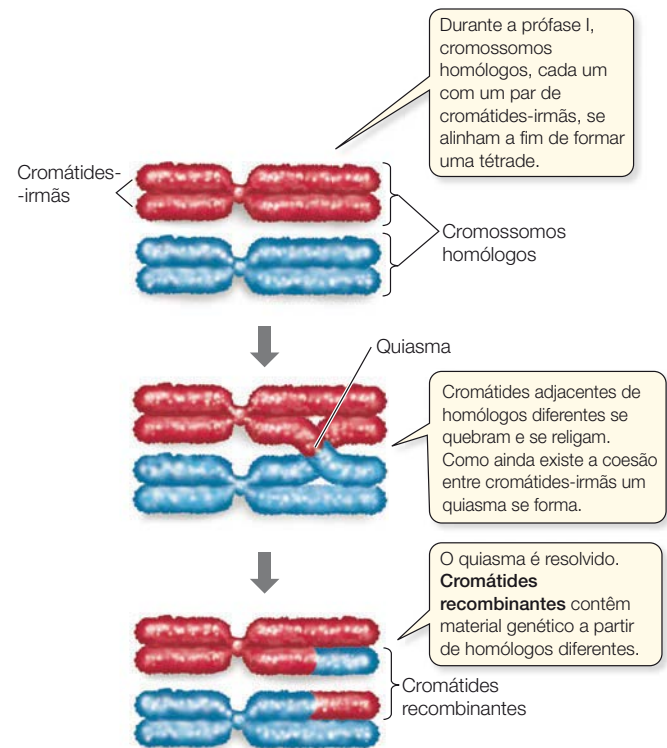


Figura 9.18 A permutação forma cromossomos geneticamente diversos A troca de material genético pelo **permutação** pode resultar em novas combinações de informação genética nos cromossomos recombinantes. Duas cores diferentes distinguem os cromossomos contribuídos pelo pai e pela mãe.

porque cada cromossomo já consiste em duas cromátides. Além disso, as cromátides-irmãs na intercinese geralmente não são geneticamente idênticas devido a *permutação* na prófase I ter rearranjado o material genético entre os cromossomos materno e paterno. Em outros organismos, os cromossomos se movem diretamente para a segunda divisão mitótica.

A segunda divisão meiótica separa as cromátides

A **meiose II** assemelha-se à mitose em várias maneiras. Em cada um dos dois núcleos produzidos pela meiose I, os cromossomos se alinham na placa equatorial na metáfase II. Os centrômeros das cromátides-irmãs se separam por causa da de-gradação da coesina e os cromossomos-filhos movem-se para os polos na anáfase II.

Existem três diferenças principais entre meiose II e mitose:

- O DNA se replica antes da mitose, mas não antes da meiose II.
- Na mitose, as cromátides-irmãs que formam um dado cromossomo são idênticas. Na meiose II, podem diferir em parte no comprimento se participaram da *permutação* durante a prófase I.
- O número de cromossomos na placa equatorial na meiose II é a metade do número em um núcleo mitótico.

O resultado da meiose consiste em quatro núcleos; cada núcleo é haploide e possui um único conjunto de cromossomos não replicados que difere daquele do outro núcleo na sua exata composição genética. As diferenças entre os quatro núcleos haploides resultam da *permutação* durante a prófase I e da segregação aleatória dos cromossomos homólogos durante a anáfase I.

As atividades e os movimentos dos cromossomos durante a meiose resultam na diversidade genética

Quais são as consequências da sinapse e da separação de cromossomos homólogos durante a meiose? Na mitose, cada cromossomo se comporta independentemente do seu homólogo; suas duas cromátides são levadas para lados opostos na anáfase. Se uma divisão mitótica inicia com x cromossomos, terminaremos com x cromossomos em cada novo núcleo, e cada cromossomo consiste em uma cromátide. Cada um dos dois conjuntos de cromossomos (um de origem paterna e outro materna) é dividido e distribuído para cada célula-filha. Na meiose, as coisas são bem diferentes. A **Figura 9.19** compara os dois processos.

Na meiose, os cromossomos de origem materna pareiam com seus homólogos de origem paterna durante a sinapse. A separação dos homólogos durante a anáfase I meiótica assegura que cada polo receba um membro de cada par homólogo. Por exemplo, no final da meiose I, em humanos, cada núcleo-filho contém 23 dos 46 cromossomos originais. Dessa maneira, o número de cromossomos é reduzido de diploide para haploide. Além disso, a meiose I garante que cada núcleo-filho receba um conjunto completo de cromossomos.

Os produtos da meiose I diferem geneticamente por duas razões:

- A sinapse durante a prófase I permite que o cromossomo materno em cada par homólogo troque de segmentos com o homólogo paterno por *permutação*. As cromátides **recombinan-**

tes resultantes contêm algum material genético proveniente de cada um dos pais.

- É uma questão de chance qual membro de um par homólogo vai para qual célula-filha na anáfase I. Por exemplo, se existem dois pares de cromossomos homólogos no núcleo diploide de um dos pais, um núcleo-filho específico poderia obter o cromossomo paterno 1 e o cromossomo materno 2, ou o paterno 2 e o materno 1, ou ambos maternos, ou ambos paternos. Tudo depende da maneira como o par homólogo se alinhou na metáfase I. Este fenômeno denomina-se de **distribuição independente**.

Note que das quatro possíveis combinações dos cromossomos recentemente descritas, apenas duas produzem núcleos-filhos que são os mesmos dos tipos dos pais (exceto pelo material trocado na *permutação*). Quanto maior o número de cromossomos, menor a probabilidade de que a combinação original dos pais seja restabelecida e maior o potencial de diversidade genética. A maioria das espécies de organismos diploides tem, na verdade, mais de dois pares de cromossomos. Em humanos, com 23 pares de cromossomos, 2^{23} (8, 388, 608) combinações diferentes podem se produzir apenas pelo mecanismo de distribuição independente. Levando em conta a mistura genética extra dada pela *permutação*, o número de combinações possíveis é virtualmente infinito.

Erros meióticos levam a estruturas e números cromossômicos anormais

No complexo processo da divisão celular, as coisas podem ocorrer de forma errada. Um par de cromossomos homólogos pode falhar na separação a meiose I, ou as cromátides-irmãs podem deixar de se separar durante a meiose II ou a mitose. Esse fenômeno denomina-se **não disjunção**. Por outro lado, cromossomos homólogos podem falhar em permanecer unidos. Cada um desses problemas pode resultar na produção de células *aneuploides*. A **aneuploidia** é uma condição em que um ou mais cromossomos encontram-se ausentes ou presentes em excesso (**Figura 9.20**).

Uma possível causa de aneuploidia consiste na ausência de coesinas. Relembre que na meiose, estas proteínas, formadas depois da replicação do DNA, mantêm os dois cromossomos homólogos unidos na metáfase I (ver Figura 9.11). Elas asseguram que quando os cromossomos se alinham na placa equatorial um homólogo ficará de frente a um polo e o homólogo ao outro polo. Sem essa “cola”, os dois homólogos podem alinhar-se aleatoriamente na metáfase I, justamente como cromossomos durante a mitose, e existe ainda uma chance de 50% de que ambos se desloquem para o mesmo polo. Se, por exemplo, durante a formação de um óvulo humano, ambos os membros do par cromossomal 21 dirigirem-se ao mesmo polo durante a anáfase I, os oócitos resultantes conterão dois cromossomos 21 ou nenhum. Se um óvulo com dois destes cromossomos for fertilizado por um espermatozoide normal, o zigoto resultante irá possuir três cópias do cromossomo: ele será **trissômico** para o cromossomo 21. Uma criança com um cromossomo 21 extra manifesta a *síndrome de Down*: inteligência prejudicada, anormalidades características das mãos, da língua e da linha dos olhos e uma suscetibilidade aumentada a anormalidades cardíacas e doenças como a leucemia. Se um óvulo que não recebe o cromossomo 21 for fertilizado com um espermatozoide normal, o zigoto terá apenas uma cópia: ele será **monossômico** para o cromossomo 21.

Outros eventos cromossômicos anormais também podem ocorrer. Em um processo chamado **translocação**, um pedaço de um cromossomo pode separar-se e ligar-se a outro cromossomo. Por exemplo, uma parte grande do cromossomo 21 pode ser translocada para outro cromossomo. Os indivíduos que herdam esse pedaço translocado junto com dois cromossomos 21 normais apresentarão síndrome de Down.

As trissomias (e as monossomias correspondentes) são surpreendentemente comuns em zigotos humanos, com 10 a 30 % de todas as concepções mostrando aneuploidia. Mas a maioria dos embriões que se desenvolvem a partir desses zigotos não sobrevive até o nascimento e aqueles que sobrevivem frequentemente morrem antes do primeiro ano de idade. As trissomias e monossomias da maioria dos cromossomos diferentes do cromossomo 21 são letais para o embrião. No mínimo, um quinto de todas as gestações reconhecidas findam espontaneamente (abortadas) durante os primeiros dois meses, principalmente devido a trissomias e monossomias. (A proporção real das ges-

tações interrompidas de modo espontâneo é certamente mais elevada, pois aquelas muito precoces muitas vezes não são reconhecidas.)

Os poliploides podem apresentar dificuldades na divisão celular

Segundo mencionado na Seção 9.4, ambos os núcleos, diploides e haploides, podem se dividir por mitose. Tanto indivíduos multicelulares diploides e haploides se desenvolvem a partir de uma única célula por divisões mitóticas. Do mesmo modo, a mitose pode prosseguir em organismos diploides mesmo quando um cromossomo de um dos conjuntos haploides não estiver presente ou quando existir uma cópia extra de um dos cromossomos (em pessoas com a síndrome de Down, por exemplo).

Organismos com conjuntos extras completos de cromossomos podem às vezes ser produzidos por cruzamento artificial ou por acidentes naturais. Sob certas circunstâncias, triploide (3n), tetraploide (4n) e **poliploides** nucleares de maior magnitude podem ser formados. Cada um desses *níveis ploidais* representa um aumento no número do conjunto completo dos cromossomos presentes.

Figura 9.19 Mitose e meiose: uma comparação A meiose difere da mitose principalmente pela sinapse dos homólogos e pela falha dos centrômeros em se separar no final da metáfase I.

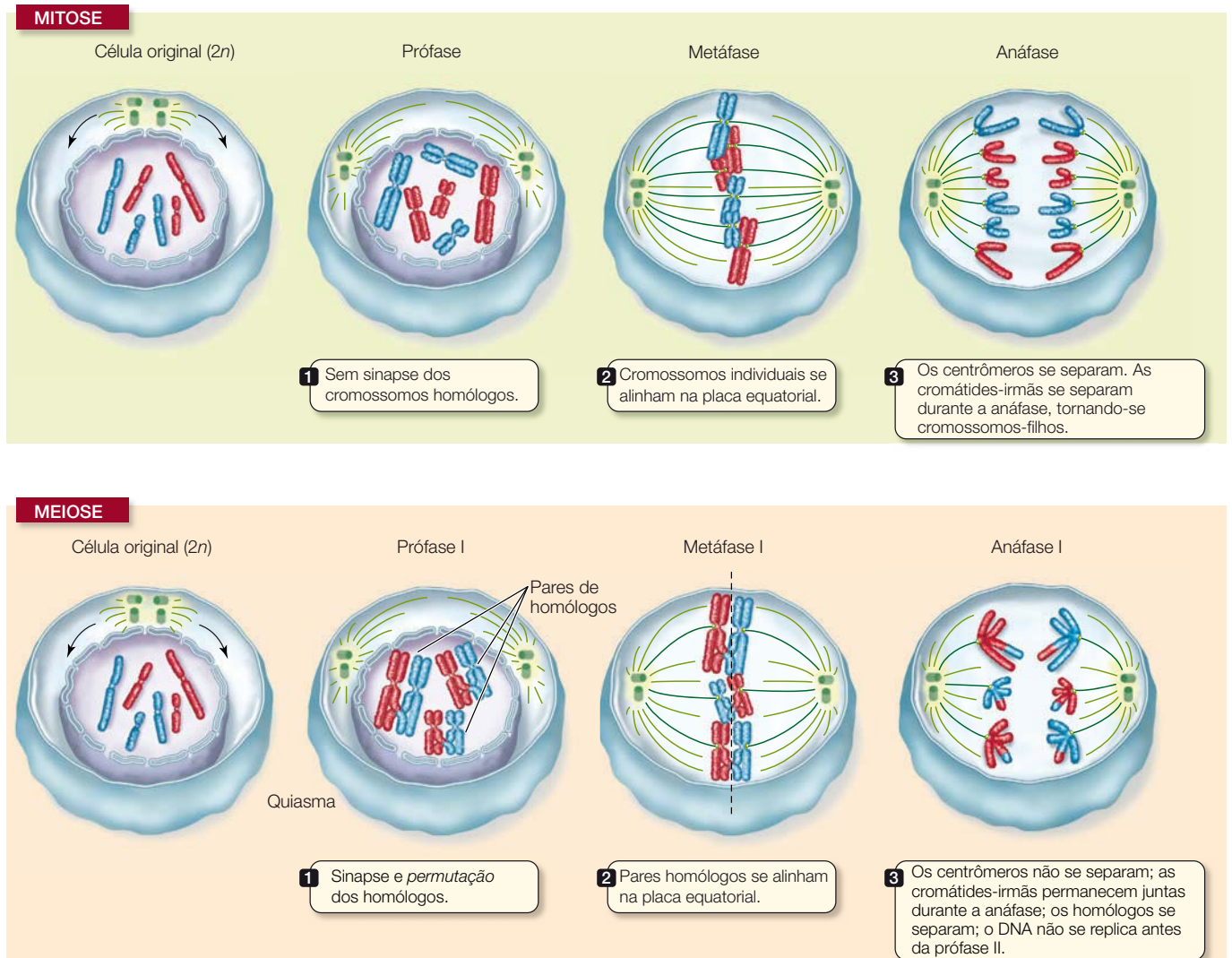
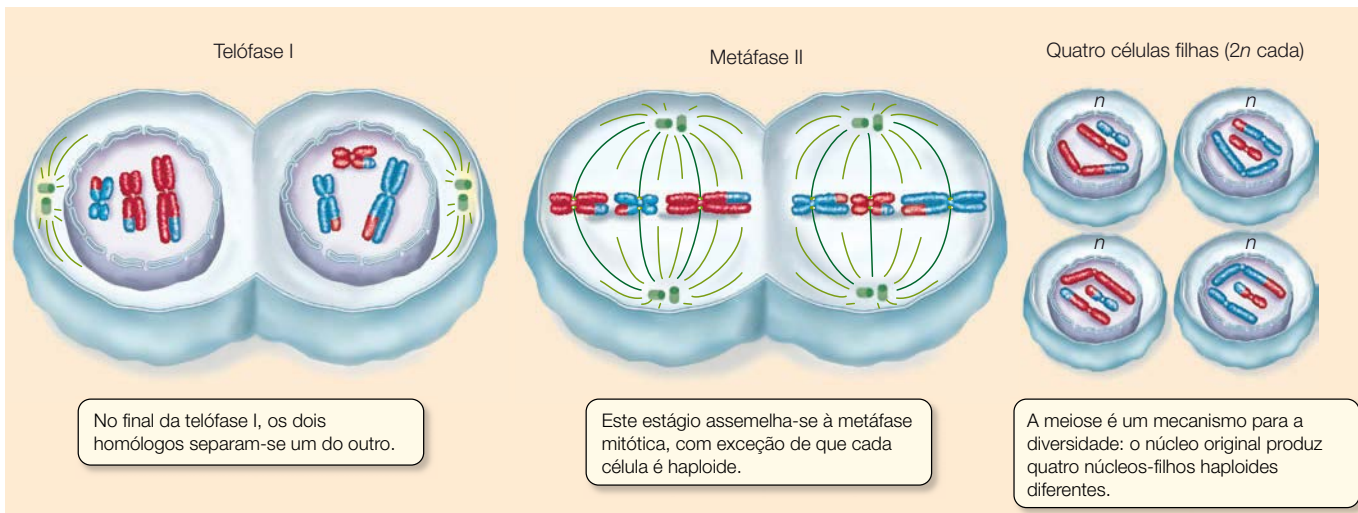
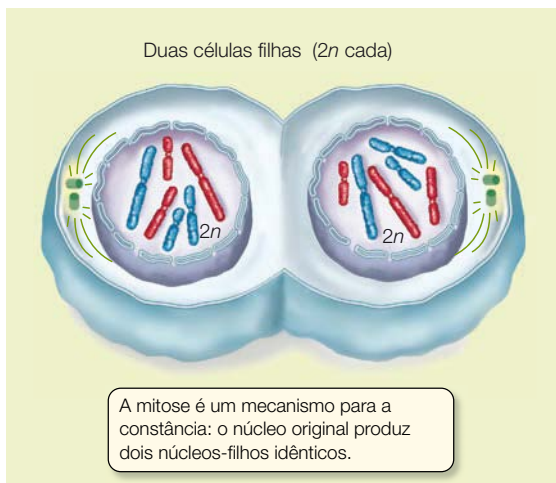
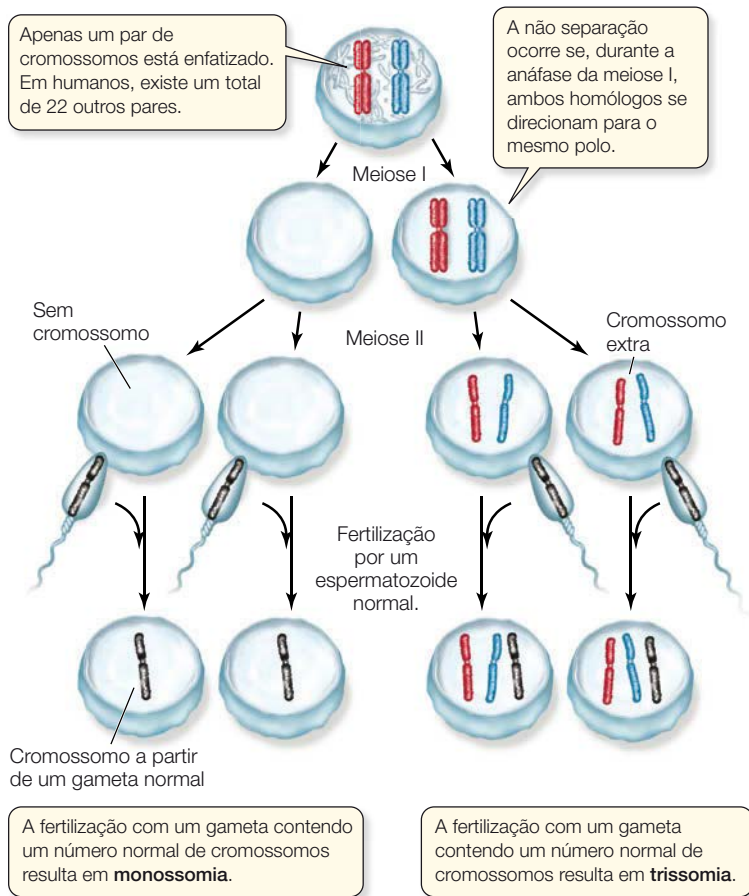


Figura 9.20 A não separação leva à aneuploidia A não separação ocorre se cromossomos homólogos não se separam durante a meiose I. O resultado é aneuploidia: um ou mais cromossomos são estão presentes ou em excesso.

Se um núcleo tiver um ou mais conjuntos completos extras de cromossomos, a sua alta ploidia anormal por si só não previne a mitose, pois na mitose cada cromossomo se comporta independentemente dos outros. Na meiose, entretanto, os cromossomos homólogos devem fazer sinapse para começar a se dividir. Mesmo que um cromossomo não possua homólogo, a anáfase I não pode mandar representantes daquele cromossomo para ambos os polos. Um núcleo diploide pode sofrer meiose normal; um haplóide não. Similarmente, um núcleo tetraploide possui número par de cada tipo de cromossomo, assim cada um pode parear com seu homólogo. Mas um núcleo triploide não pode passar por meiose normal, pois um terço dos cromossomos ficaria sem parceiros. Essa limitação tem consequências importantes na fertilidade de triploides, de tetraploides e de outros organismos com cromossomos anormais.



Tais organismos são comuns na agricultura moderna. Os cruzamentos modernos de plantas de trigo, por exemplo, são hexaploides, o resultado de cruzamentos que ocorrem naturalmente entre três diferentes gramíneas, cada uma possuindo seu próprio conjunto diploide de 14 cromossomos.

9.5 RECAPITULAÇÃO

A meiose produz quatro células-filhas nas quais o número de cromossomos é reduzido de diploide para haploide. Por causa da distribuição independente de cromossomos e a permutação de cromátides-irmãs, os quatro produtos da meiose não são geneticamente idênticos. Erros meióticos, tais como a falha na separação de pares de cromossomos homólogos, podem causar números anormais de cromossomos.

- Você poderia descrever como a permutação e a distribuição independente resulta em um único núcleo-filho? Ver p. 198 e Figura 9.18.
- Você entende as diferenças entre meiose e mitose? Ver p. 199 e Figura 9.19.
- O que é aneuploidia, e como ela pode surgir a partir da não separação durante a meiose? Ver p. 199 e Figura 9.20.

Conforme mencionado no início deste capítulo, um papel essencial da divisão celular em eucariotos complexos consiste em substituir as células que morrem. O que acontece com essas células?

9.6 Como as células morrem?

As células morrem de dois modos. O primeiro tipo de morte celular, a necrose, ocorre quando as células são ou danificadas por toxinas ou privadas de oxigênio ou nutrientes essenciais. Essas células normalmente incham e se rompem, liberando seu conteúdo para o meio extracelular. Esse processo normalmente resulta na inflamação (ver Seção 18.2). A casca que se forma ao redor de um ferimento é um exemplo familiar de tecido necrosado.

Mais comumente, a morte celular é devida a **apoptose** (palavra de origem grega que significa “decadência”). A apoptose configura uma série de eventos geneticamente programados que resultam na morte celular. Estes dois modelos de morte celular são comparados na **Tabela 9.2**.

Por que a célula iniciaria a apoptose, que é essencialmente “suicídio celular”? Existem duas razões possíveis:

- *A célula não é mais necessária para o organismo.* Por exemplo, antes do nascimento, o feto humano apresenta mãos com membrana natatória, com tecido conectivo entre os dedos. Com a continuidade do desenvolvimento, esses tecidos desnecessários desaparecem, à medida que suas células sofrem apoptose (ver Figura 19.14).
- *Quanto mais uma célula vive, mais se torna propensa a danos genéticos que podem levar ao câncer.* Isso é especialmente verdadeiro para células do sangue e no epitélio que reveste os órgãos como o intestino, expostos a níveis altos de substâncias tóxicas. Tais células normalmente morrem depois de alguns dias ou semanas.

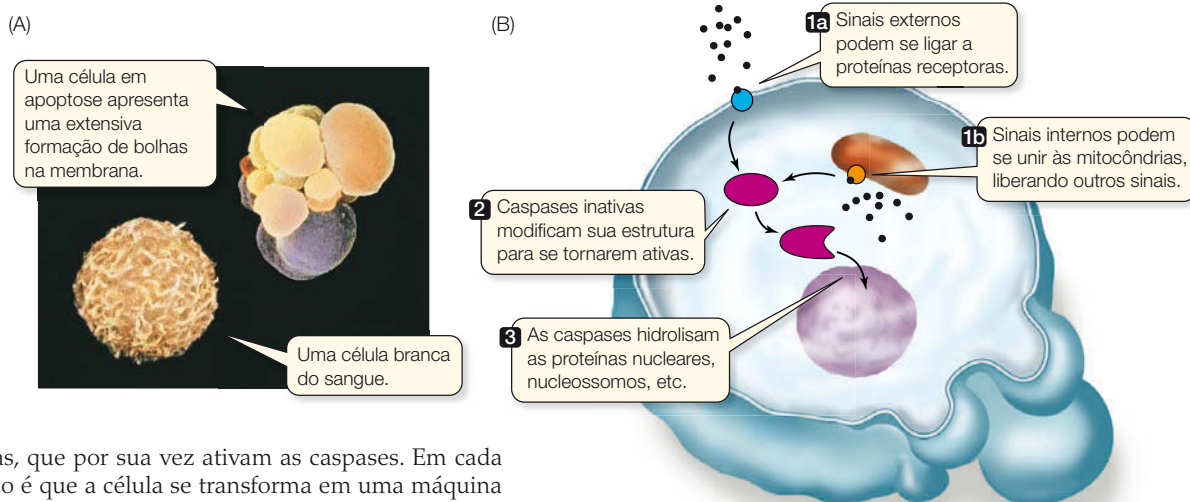
No cérebro humano em desenvolvimento, existem várias conexões possíveis entre as células nervosas, mas apenas poucas destas conexões sobrevivem ao nascimento. O resto das células do cérebro – metade delas – morre.

Os eventos da apoptose assemelham-se em quase todos os organismos. A célula começa a se isolar das suas vizinhas, corta sua cromatina em pedaços do tamanho de nucleossomos e forma lóbulos membranosos, ou “bolhas”, que se quebram em fragmentos celulares (**Figura 9.21A**). Em um exemplo notável de economia da natureza, as células vivas da redondeza usualmente ingerem os restos da célula morta. Os sinais genéticos que levam à apoptose são comuns a vários organismos.

Da mesma forma que o ciclo de divisão celular, o ciclo da morte celular é controlado por sinais que vêm de dentro ou de fora da célula (**Figura 9.21B**). Esses sinais incluem a ausência de sinal mitótico (como fator de crescimento) e o reconhecimento do DNA danificado. Sinais externos (ou a ausência deles) podem induzir uma proteína receptora da membrana plasmática a modificar sua forma e assim ativar a classe de enzimas chamadas de **caspases**. Sinais internos podem fazer as mitocôndrias libe-

TABELA 9.2 Duas maneiras diferentes de morte celular

	NECROSE	APOPTOSE
Estímulo	O ₂ baixo, toxinas, depleção de ATP, dano	Específico, sinais fisiológicos geneticamente programados
Necessidade de ATP	Não	Sim
Padrão celular	Inchaço, rompimento da organela, morte tecidual	Condensação da cromatina, protuberâncias da membrana, morte de uma célula
Quebra de DNA	Fragmentos aleatórios	Fragmentos do tamanho de nucleossomos
Membrana plasmática	Explode	Formação de bolhas (ver Figura 9.21A)
Característica das células mortas	Ingeridos por células brancas do sangue	Ingeridas por células vizinhas
Reação do tecido	Inflamação	Sem inflamação



rarem moléculas, que por sua vez ativam as caspases. Em cada caso, o resultado é que a célula se transforma em uma máquina de morte, uma vez que as caspases hidrolisam proteínas do envelope nuclear, nucleossomos e membrana plasmática. Segundo veremos na Seção 17.5, muitas das drogas utilizadas para tratar doenças ligadas à proliferação excessiva de células, como o câncer, atuam via esses sinais.

9.6 RECAPITULAÇÃO

O crescimento de uma população de células depende das taxas relativas entre reprodução das células e morte celular. A morte celular ocorre ou por necrose ou por apoptose. A apoptose é governada por controles moleculares precisos.

- Quais são algumas diferenças entre a apoptose e a necrose? *Ver Tabela 9.2.*
- Você pode dizer em que situações a apoptose é necessária? *Ver p. 202.*
- Como a apoptose é regulada? *Ver Figura 9.21.*

Figura 9.21 Apoptose: morte celular programada (A) Várias células são geneticamente programadas para se “autodestruírem” quando não são mais necessárias ou quando viverem por tempo suficiente para acumular uma sobrecarga de erros no DNA que pode prejudicar o organismo. (B) Tanto os sinais externos como os internos estimulam as caspases, enzimas que quebram constituintes celulares específicos, resultando em apoptose.

Revisamos o ciclo celular e a forma que as células se dividem por fissão, por mitose e por meiose. Vimos que a meiose produz o complemento genético que será passado para a próxima geração. Os próximos cinco capítulos abordarão o “reino do genoma”, vendo a hereditariedade de acordo com a explicação de Gregor Mendel, no século XIX, e a quantidade exponencial de conhecimento adquirido desde a elucidação do código genético. Virtualmente, nenhuma área da vida moderna encontra-se intocada pelo campo da genética.

RESUMO DO CAPÍTULO

9.1 Como as células procarióticas e eucarióticas se dividem?

A divisão celular faz-se necessária para a reprodução, o crescimento e o reparo dos organismos.

A divisão celular deve ser iniciada por um sinal reprodutivo. Antes que uma célula possa se dividir, o material genético (DNA) deve ser **replicado** e **segregado** para porções separadas da célula. A **citocinese** então divide o citoplasma em duas células.

Em procariotos, a maior parte do DNA celular consiste em uma única molécula, normalmente na forma de **cromossomo** circular. Os procariotos reproduzem-se por **fissão binária**. *Rever Figura 9.2.*

Em eucariotos, as células se dividem por **mitose** ou **meiose**. A divisão celular eucariótica segue o mesmo padrão-geral da fissão binária, mas com diferenças significativas em detalhes. Por exemplo, as células eucarióticas têm um núcleo distinto (não apenas um cromossomo) que deve ser replicado. Cromossomos replicados, chamados de **cromátides-irmãos**, devem ser separados por mitose.

As células que produzem gametas sofrem um tipo especial de divisão nuclear chamada de **meiose**; os dois núcleos produzidos por meiose não são geneticamente idênticos.

9.2 Como a divisão celular eucariótica é controlada?

O **ciclo celular** eucariótico apresenta duas fases principais: **interfase** (durante a qual as células não estão se dividindo) e **mitose** ou **fase M** (quando as células estão se dividindo).

Durante a maior parte do ciclo celular, a célula encontra-se na interfase, dividida em três subfases: **S**, **G1** e **G2**. O DNA replica-se durante a fase S. A mitose e a citocinese ocorrem durante a fase M. *Rever Figura 9.3*

Os complexos **ciclina/Cdk** regulam a passagem das células pelos pontos de verificação no ciclo celular. A proteína supressora **RB** inibe o ciclo celular. Cdk4 e Cdk2 atuam em conjunto para inativar RB e permitir que o ciclo celular progrida além do **ponto de restrição**. *Rever Figura 9.6.*

RESUMO DO CAPÍTULO

Os controles externos, como **fatores de crescimento** e hormônios, também podem estimular a célula a iniciar um ciclo de divisão.

9.3 O que ocorre durante a mitose?

Na mitose, uma única célula dá origem a dois núcleos geneticamente idênticos um ao outro e ao núcleo de origem.

O DNA está enrolado em volta de proteínas chamadas de **histonas**, formando uma unidade semelhante a uma conta chamada de **nucleossomo**. Um cromossomo eucariótico contém cordões de nucleossomos ligados a proteínas em um complexo chamado de **cromatina**. [Rever Figura 9.8.](#)

Na mitose, as cromátides replicadas mantêm-se unidas no **centrômero**. Cada cromátide consiste em uma molécula de DNA dupla fita. [Rever Figura 9.9.](#)

A mitose pode ser dividida em várias fases, chamadas de **prófase**, **pró-metáfase**, **metáfase**, **anáfase** e **telófase**.

Durante a mitose, as cromátides-irmãs, ligadas pelas proteínas **coesinas**, se alinham na **placa equatorial** e se ligam ao **fuso**. As cromátides se separam (tornando-se **cromossomos-filhos**) e migram para extremidades opostas da célula. [Rever Figura 9.10.](#)

A divisão nuclear é normalmente seguida pela citocinese. O citoplasma celular animal se divide por um anel contrátil feito de microfilamentos de actina. Em células vegetais, a citocinese é acompanhada por vesículas que se fusionam a fim de formar uma placa celular. [Rever Figura 9.12.](#)

9.4 Qual é o papel da divisão celular nos ciclos de vida sexuais?

A **reprodução assexuada** produz um **clone**, novo organismo geneticamente idêntico ao original. Qualquer variação genética é resultado de mutações.

Na **reprodução sexuada**, dois gametas **haploides** – um da mãe e um do pai – unem-se na fertilização para formar um **zigoto diploide** único geneticamente. Existem vários padrões de ciclos de vida sexual: ciclos de vida **haplônticos**, **alternações de gerações** e ciclos de vida **diplônticos**. [Rever Figura 9.14.](#)

Em organismos com **reprodução sexuada**, certas células no adulto sofrem meiose, processo pelo qual uma célula diploide produz gametas haploides. Cada gameta contém uma seleção aleatória de um de cada **par de cromossomos homólogos** dos pais.

Os números, formas e tamanhos dos cromossomos constituem o **cariótipo** de um organismo.

9.5 O que ocorre quando uma célula sofre meiose?

A meiose consiste em duas divisões nucleares, meiose I e meiose II, que coletivamente reduzem o número de cromossomos de diploide para haploide. Garante que cada célula haploide possua um membro de cada par de cromossomos e resulte em quatro células haploides geneticamente diferentes, usualmente gametas. [Rever Figura 9.16.](#)

Na anáfase I, cromossomos inteiros, cada um com duas cromátides, migram para os polos. No final da meiose I, existem dois núcleos, cada um com um número haploide de cromossomos.

Na meiose II, as cromátides-irmãs se separam. Nenhuma replicação de DNA precede esta divisão, que em outros aspectos assemelha-se à mitose.

Durante a prófase I da primeira divisão meiótica, os cromossomos homólogos sofrem **sinapse** para formar pares em uma **tétrade**. As cromátides podem formar junções chamadas de **quiasmas** e o material genético pode ser trocado entre os dois homólogos por **permutação**. [Rever Figura 9.18.](#)

Tanto a **permutação** durante a prófase I quanto a **distribuição independente** dos homólogos que migrarão para cada polo durante a anáfase I asseguram que a composição genética de cada gameta haploide seja diferente daquela da célula original e daquela dos outros gametas.

Na **não disjunção**, um membro do par homólogo de cromossomos não se separa do outro e ambos se direcionam ao mesmo polo. Pares de cromossomos homólogos também podem falhar em se manter unidos quando deveriam. Ambos os problemas podem originar um gameta que possui um cromossomo extra e outro que não tem aquele cromossomo. [Rever Figura 9.20.](#)

A união de um gameta com um número anormal de cromossomos com um gameta haploide normal na fertilização resulta em aneuploidia. Tais anormalidades genéticas são invariavelmente danosas ou letais para o organismo.

9.6 Como as células morrem?

As células podem morrer por **necrose** ou se autodestruir por **apoptose**, uma série de eventos geneticamente programados que incluem o desligamento da célula das suas vizinhas e a fragmentação do DNA nuclear. [Rever Tabela 9.2.](#)

A apoptose regula-se por sinais externos e internos. Esses sinais resultam na ativação de uma classe de enzimas chamadas de caspases que hidrolisam proteínas da célula, levando-as à destruição. [Rever Figura 9.21.](#)

QUESTÕES

- Qual afirmação sobre os cromossomos eucarióticos *não* é verdadeira?
 - Às vezes consistem em duas cromátides.
 - Às vezes consistem apenas em uma única cromátide.
 - Normalmente possuem um único centrômero.
 - Consistem somente em proteínas.
 - São claramente visíveis como corpos definidos sob o microscópio óptico.
- Nucleossomos:
 - são feitos de cromossomos.
 - consistem inteiramente de DNA.
 - consistem de DNA ao redor de um núcleo de histona.
 - estão presentes apenas durante a mitose.
 - estão presentes apenas durante a prófase.
- Qual afirmação sobre o ciclo celular *não* é verdadeira?
 - Ele consiste em mitose e interfase.
 - O DNA da célula replica durante G1.
 - A célula pode permanecer em G1 por semanas ou mais.
 - o DNA não é replicado durante G2.
 - A célula entra no ciclo celular como resultado de sinais internos e externos.

4. Qual afirmação sobre a mitose *não* é verdadeira?
 - a. Um único núcleo dá origem a dois núcleos-filhos idênticos.
 - b. Os núcleos-filhos são geneticamente idênticos ao núcleo dos pais.
 - c. Os centrômeros separam no início da anáfase.
 - d. Cromossomos homólogos fazem sinapse na prófase.
 - e. Os cromossomos organizam os microtúbulos das fibras do fuso.
5. Qual afirmação sobre a citocinese é verdadeira?
 - a. Em animais, uma célula forma placas.
 - b. Em plantas, ela é iniciada pela dobramento da membrana.
 - c. Ela segue a mitose.
 - d. Em células vegetais, a actina e a miosina têm papel importante.
 - e. É a divisão do núcleo.
6. Apoptose:
 - a. ocorre em todas as células.
 - b. envolve a formação da membrana plasmática.
 - c. não ocorre no embrião.
 - d. é uma série de eventos programados que resultam na morte da célula.
 - e. é o mesmo que necrose.
7. Na meiose,
 - a. a meiose II reduz o número de cromossomos de diploide para haploide.
 - b. o DNA replica entre a meiose I e a meiose II.
 - c. as cromátides que formam um cromossomo na meiose II são idênticas.
8. Na meiose,
 - a. um único núcleo dá origem a dois núcleos filhos.
 - b. os núcleos-filhos são geneticamente idênticos ao núcleo original.
 - c. os centrômeros se separam no início da anáfase I.
 - d. cromossomos homólogos fazem sinapse na prófase I.
 - e. não há a formação de fuso.
9. Uma planta apresenta um número de cromossomos diploides igual a 12. Uma célula-ovo desta planta tem 5 cromossomos. A explicação mais provável é
 - a. mitose normal.
 - b. meiose normal.
 - c. não disjunção na meiose I.
 - d. não disjunção na meiose I e II.
 - e. não disjunção na mitose.
10. O número de cromossomos-filhos em uma célula humana na anáfase II da mitose é:
 - a. 2.
 - b. 23.
 - c. 46.
 - d. 69.
 - e. 92.

PARA DISCUSSÃO

1. A história das células HeLa fez surgir alguns pontos importantes na ética da pesquisa biomédica. Não foi pedida a Henrietta Lacks permissão para usar suas células, nem a sua família se beneficiou, de qualquer forma direta, com o uso comercial das suas células. Que tipos de regulamentos são necessários para assegurar a ética em oportunidades como as apresentadas pelas células da senhora Lacks?
2. Compare os papéis das coesinas na mitose, meiose I e meiose II.
3. Compare e contraste a mitose (e a subsequente citocinese) em animais e plantas.
4. Contraste prófase mitótica e prófase I da meiose. Contraste anáfase mitótica e anáfase I da meiose.
5. Compare a sequência de eventos no ciclo celular mitótico com a sequência de eventos na apoptose.

PARA INVESTIGAÇÃO

1. Sugira duas maneiras pelas quais, com o auxílio de um microscópio, alguém consiga determinar a duração relativa das várias fases da mitose.
2. A descrição dos eventos e dos controles do ciclo celular torna-se muito mais fácil se as células em investigação estiverem sincronizadas, isto é, se uma população de células estiver toda no mesmo estágio do ciclo celular. Isso pode ser conseguido com vários reagentes. Todavia, algumas populações de células são naturalmente sincrônicas. A antera (órgão reprodutor masculino) de um lírio contém células que se tornam grãos de pólen (gametas masculinos). A medida que as anteras se desenvolvem na flor, seu comprimento se correlaciona precisamente com o estágio do ciclo meiótico naquelas células. Cada um desses estágios leva vários dias, de modo que uma antera com 1,5 mm de comprimento, por exemplo, contém células no início da prófase I. De que forma você usaria as anteras de lírio para investigar os papéis das ciclinas e Cdk no ciclo celular meiótico?

A sabedoria dos rabinos

No deserto do Oriente Médio de 1800 anos atrás, o rabino encarou um dilema. Uma mulher judia deu à luz um menino. Segundo imposto pelas leis atribuídas ao mandamento de Deus a Abraão, há quase 2 mil anos, depois reiteradas por Moisés, a mãe levou o filho de 8 dias ao sacerdote para o ritual de circuncisão peniana. O rabino sabia que outros dois filhos desta mulher tinham sangrado até a morte quando seus prepúcios foram cortados. Porém, permanecia o mandamento bíblico: a menos que fosse circuncidado, o garoto não estaria dentre aqueles a quem Deus fez o seu compromisso solene. Após consultar outros rabinos, decidiu-se liberar este terceiro filho.

Quase mil anos após, no século XII, o médico e comentarista bíblico Moses Maimonides estudou este e outros numerosos casos na literatura rabínica e determinou que, em tais exemplos, o terceiro filho não deveria ser circuncidado. Além disso, a liberação deveria ser aplicada independentemente se o filho desta mãe fosse “de seu primeiro ou segundo marido”. A desordem san-

guínea, raciocinou ele, foi claramente carregada pela mãe e passada a seus filhos.

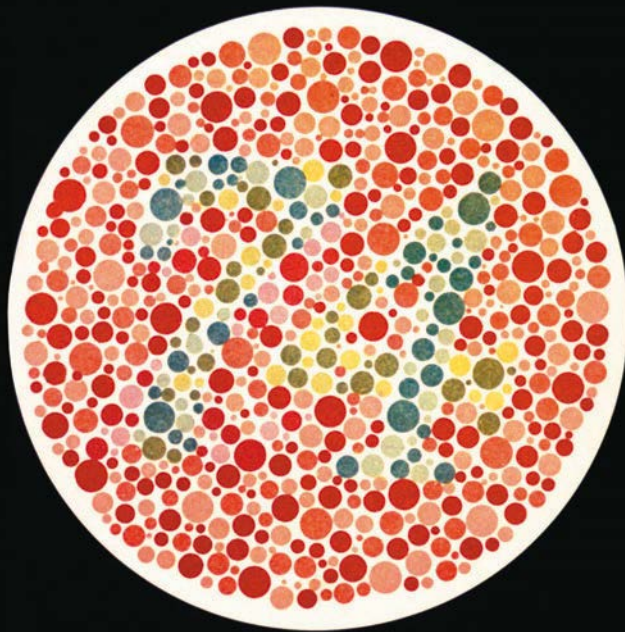
Sem qualquer conhecimento de nossos conceitos modernos de genes e genética, os rabinos ligaram uma doença humana (que chamamos, agora, de hemofilia A) a um padrão hereditário (que conhecemos como ligado ao sexo). Apenas nas décadas recentes a natureza bioquímica da hemofilia A e sua determinação genética têm sido deslindadas.

Os humanos normalmente apresentam duas cópias de 22 dos 23 cromossomos no cariótipo, conforme descrito no Capítulo 9. Assim, mesmo se dado gene em um dos cromossomos for mutante, o gene normal da segunda cópia do cromossomo pode, geralmente, produzir uma proteína funcional. Todavia, um par de cromossomos é diferente. No caso de cromossomos X e Y, os machos recebem somente uma cópia de cada; fêmeas recebem duas cópias do cromossomo X (porém nenhum cromossomo Y). A mutação genética que causa o mau funcionamento da coagulação sanguínea, no caso da hemofilia, localiza-se no cromossomo X, e machos que carregam a mutação não apresentam o “apoio” do gene normal. O daltonismo, condição física com apenas consequências menores para a maioria dos indivíduos que sofrem dela, apresenta padrão semelhante de transmissão.

Como estimamos e predizemos tais padrões de hereditariedade? Muito sobre hereditariedade foi intuído mesmo antes de cientistas e acadêmicos saberem que genes e cromossomos existiam – como provado pela sentença daquele sábio rabino há quase 2 mil anos. De fato, os fundamentos da ciência da hereditariedade e da transmissão genética foram

Um antigo ritual Um menino sofre o ritual de circuncisão de acordo com as leis judaicas. Filhos de mães judias que carregam o gene da hemofilia podem ser liberados desse ritual.





Teste para um traço ligado ao sexo Assim como a hemofilia, o alelo mutante para o daltonismo é carreado no cromossomo X. Diferente da hemofilia, entretanto, essa condição, geralmente, não é deletéria. No teste simples demonstrado aqui, um indivíduo com visão normal para cores vê o número 74; o indivíduo com o tipo mais típico de daltonismo vê 21, e um indivíduo com daltonismo severo não pode distinguir qualquer número.

ampliados, na década de 1860, por alguns dos mais impressionantes experimentos realizados com base em análises de dados na história da ciência biológica. O valor desses experimentos e análises de Gregor Mendel demorou quase 50 anos para ser reconhecido pela comunidade científica. Uma vez alcançado o reconhecimento, entretanto, a ciência natural e a medicina começaram a avançar num ritmo sem precedentes.

NESTE CAPÍTULO discutimos como as unidades de herança – os genes – são transmitidas de geração a geração. Mostramos que muitas das regras que governam a herança podem ser explicadas por meio do comportamento de cromossomos durante a meiose. Descreveremos as interações de genes entre si e com o ambiente, e verificamos como as posições específicas de genes em cromossomos afetam a diversidade.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 10.1** Quais são as Leis Mendelianas de herança?
- 10.2** Como os alelos interagem?
- 10.3** Como os genes interagem?
- 10.4** Qual é a relação entre genes e cromossomos?
- 10.5** Quais são os efeitos de genes localizados fora do núcleo?

10.1 Quais são as Leis Mendelianas de herança?

Grande parte do primeiro estudo de herança biológica foi realizado com plantas e animais de importância econômica. Registros mostram que indivíduos realizavam, deliberadamente, cruzamentos entre espécies, como palmeiras e cavalos há mais de 5 mil anos. No início do século XIX, o melhoramento de plantas expandiu-se, especialmente para flores ornamentais como tulipas. Melhoradores de plantas daquela época operavam sob duas concepções-chave a respeito da forma como a herança ocorria. Somente uma dessas concepções se mostrou correta.

- *Cada um dos pais contribui igualmente à prole (correto).* Em 1770, o botânico alemão Josef Gottlieb Kölreuter estudou a descendência de **cruzamentos recíprocos**, nos quais as plantas são *cruzadas* (reproduzem-se entre si) em direções opostas. Por exemplo, em um cruzamento, machos de flores brancas são selecionados com fêmeas de flores vermelhas, enquanto, em um cruzamento complementar, machos de flores vermelhas são pareados com fêmeas de flores brancas. Nos estudos de Kölreuter, tais cruzamentos recíprocos sempre deram resultados idênticos, mostrando que ambos pais contribuíam igualmente à prole.
- *Determinantes de hereditariedade estão misturados na prole (incorreto).* Kölreuter e outros propuseram que existiam determinantes de hereditariedade em óvulos e espermatozoides. Quando esses determinantes eram combinados em uma única célula após o acasalamento, acreditava-se que se misturavam. Se uma planta que possuísse uma forma de uma característica (flores vermelhas) fosse cruzada com outra que possuísse forma diferente desta característica (flores azuis), a descendência apresentaria uma combinação de misturas das características das duas plantas parentais (flores violetas). De acordo com a teoria da combinação, pensava-se que uma vez que os elementos herdáveis tivessem sido combinados, eles não poderiam ser novamente separados (como tintas de diferentes cores misturadas). Acreditava-se que os determinantes de hereditariedade, vermelho e azul, estariam misturados para sempre em uma nova planta violeta.

Em seus experimentos em 1860, Gregor Mendel confirmou a primeira dessas duas concepções, porém refutou a segunda.

Mendel trouxe novos métodos para experimentos de herança

Gregor Mendel foi um monge austríaco e não um cientista acadêmico (**Figura 10.1**). Entretanto, ele era bem qualificado para realizar investigações científicas. Após o seu insucesso, em 1850, em uma prova para certificado de professor em ciência natural, realizou estudos intensos em física, química, matemática e diversos aspectos de biologia na Universidade de Viena. Os estudos em física e matemática influenciaram fortemente seu uso de métodos experimentais e matemáticos em seus estudos de hereditariedade, e esses experimentos foram a chave para suas corretas deduções.

Nos mais de sete anos que passou trabalhando nos princípios de herança em plantas, Mendel fez cruzamentos e observou as características resultantes de 24.034 plantas. A análise metódica dos dados coletados sugeriu-lhe uma nova teoria de como a herança pode ocorrer. Este trabalho resultou em uma leitura pública no ano de 1865 e em uma publicação detalhada em 1866. O artigo de Mendel apareceu em um periódico recebido por 120 bibliotecas, e ele enviou 40 cópias para diversos acadêmicos ilustres. Entretanto, sua teoria não foi prontamente aceita. De fato, ela foi ignorada pela maioria.

Uma das razões pelas quais o artigo de Mendel recebeu tão pouca atenção foi a falta de hábito da maioria dos biólogos mais proeminentes de seu tempo de pensar em termos matemáticos, mesmo nos termos simples utilizados por Mendel. Até mesmo Charles Darwin, de quem a teoria da evolução pela seleção natural foi estabelecida na variação de herança entre indivíduos, não foi capaz de entender a significância dos achados de Mendel. De fato, Darwin realizou experimentos de cruzamento em plantas

boca-de-leão, de maneira similar ao trabalho de Mendel em ervilhas, e também obteve dados similares, porém não questionou a hipótese da combinação, de que as contribuições parentais se misturavam na prole.

O trabalho de Mendel pode ter passado despercebido, em parte, por sua pouca credibilidade como biólogo. Na realidade, sua baixa pontuação na prova deu-se em biologia. Quaisquer que sejam as razões, o trabalho pioneiro de Mendel não teve influência notável na comunidade científica por mais de 30 anos.

Em 1900, os eventos de meiose foram observados e descritos, e a descoberta de Mendel explodiu em súbita proeminência como resultado de experimentos independentes por três geneticistas de plantas: Hugo DeVries, Carl Correns e Erich Von Tschermak. Todos realizaram experimentos de cruzamento, publicaram seus principais achados em 1900 e citaram o artigo de Mendel de 1866. Estes três homens perceberam que cromossomos e meiose forneciam uma explicação física para a teoria que Mendel propôs para explicar os dados de seus cruzamentos.

O fato de Mendel ter sido capaz de alcançar suas extraordinárias percepções antes da descoberta de genes e meiose deveu-se, em grande parte, a seus métodos experimentais. Seu trabalho é um exemplo definitivo de intensa preparação, correta escolha do objeto experimental, execução metódica e interpretação lógica. Vamos dar uma olhada mais de perto nesses experimentos e nas conclusões e hipóteses que surgiram.

Mendel delineou um cuidadoso plano de pesquisa

Mendel optou por estudar um comum jardim de ervilhas em virtude da facilidade de cultivo, da praticidade de polinização controlada e da disponibilidade de variedades com traços contrastantes. Ele controlou a polinização e, então, a fertilização de suas plantas parentais por meio da manipulação manual do pólen de uma planta para outra (**Figura 10.2**). Assim ele tinha o conhecimento da proveniência da prole em seus experimentos.

As plantas de ervilha estudadas por Mendel produziam órgãos sexuais masculinos e femininos e gametas na mesma flor. Se não manipuladas, elas se *autopolinizam* naturalmente – ou seja, o órgão feminino de cada flor recebe pólen dos órgãos masculinos da mesma flor. Mendel utilizou esse fenômeno natural em alguns de seus experimentos.

Mendel começou examinando diferentes variedades de ervilhas na procura de caracteres herdáveis e traços adequados para estudo.

- **Caráter** é um aspecto físico observável, como a cor de uma flor.
- **Fenótipo** é forma particular de um caráter, como flores violetas ou flores brancas.
- **Fenótipo herdável** é aquele passado de pai para filho.

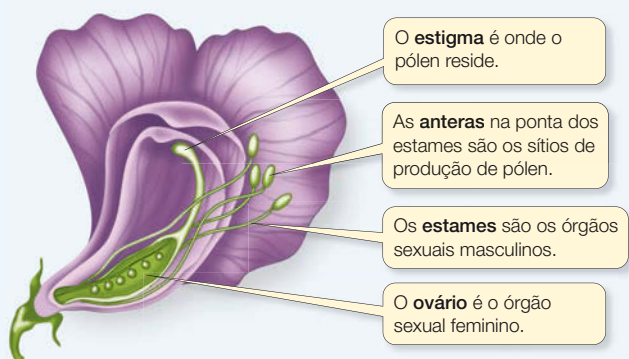


Figura 10.1 Gregor Mendel e seu jardim O monge austríaco Gregor Mendel (esquerda) realizou seus experimentos em genética em um jardim do monastério em Brno, atual República da Tchecoslováquia.



MÉTODO DE PESQUISA

Anatomia de uma flor de ervilha
(mostrada em uma seção longitudinal)



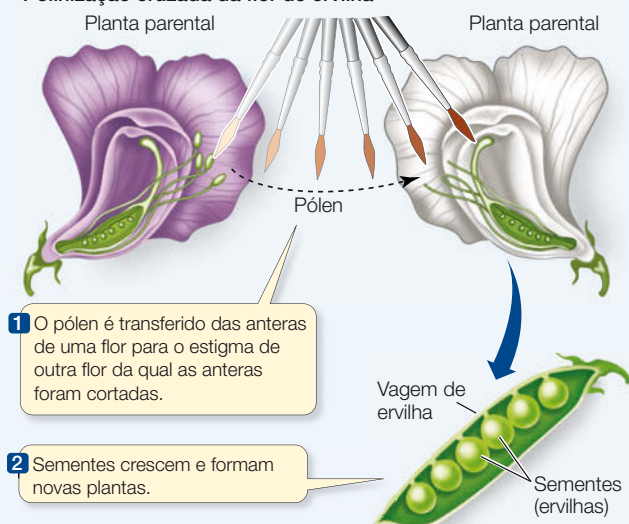
O **estigma** é onde o pólen reside.

As **anteras** na ponta dos estames são os sítios de produção de pólen.

Os **estames** são os órgãos sexuais masculinos.

O **ovário** é o órgão sexual feminino.

Polinização cruzada da flor de ervilha



1 O pólen é transferido das anteras de uma flor para o estigma de outra flor da qual as anteras foram cortadas.

2 Sementes crescem e formam novas plantas.

3 A análise das características físicas da prole (ver Tabela 10.1) após duas gerações fornece evidências da transmissão de hereditariedade de ambos parentais.

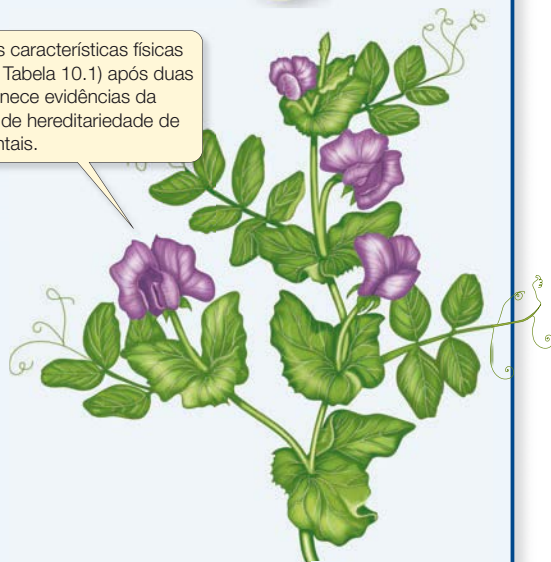


Figura 10.2 Um cruzamento controlado entre duas plantas Plantas foram amplamente utilizadas nos estudos iniciais de genética devido à facilidade de controlar quais indivíduos cruzavam com outros. Mendel utilizou plantas de ervilha (*Pisum sativum*) em muitos de seus experimentos.

Mendel procurou por caracteres bem definidos, contrastando traços alternativos, como flores violetas *versus* flores brancas. Além disso, esses traços deveriam ser **puros**, significando que o traço observado constituía a única forma apresentada para muitas gerações. Em outras palavras, se os traços fossem puros, ervilhas com flores brancas, quando cruzadas entre si, gerariam uma progênie com flores brancas por muitas gerações; flores altas cruzadas com flores altas produziram somente progênie alta.

Mendel isolou cada uma de suas linhagens puras por intercruzamentos repetidos (realizados por meio do cruzamento de plantas irmãs aparentemente idênticas ou por meio da permissão da autopolinização de indivíduos) e seleção. Na maior parte de seu trabalho, Mendel concentrou-se nos sete pares de traços contrastantes mostrados na **Tabela 10.1**. Antes de realizar qualquer experimento de cruzamento, teve certeza de que cada parental em potencial era proveniente de uma linhagem pura – ponto essencial na análise dos resultados experimentais.

Mendel, então, realizou os cruzamentos da seguinte forma:

- Ele coletou pólen de uma linhagem parental e o colocou no estigma (órgão feminino) de flores de outra linhagem das quais as anteras (órgãos masculinos) foram removidas (assim, a planta receptora não poderia se autofertilizar). As plantas fornecedoras e receptoras do pólen eram a **geração parental**, designada **P**.
- No devido curso, sementes foram formadas e plantadas. As sementes e as novas plantas resultantes constituíam a **primeira geração filial**, ou **F₁**. Mendel e seus assistentes examinaram cada planta **F₁** a fim de verificarem quais traços ela apresentava e, então, anotaram o número de plantas **F₁** expressando cada traço.
- Em alguns experimentos, Mendel permitiu que as plantas **F₁** se autopolinizassem e produzissem uma **segunda geração filial**, **F₂**. Novamente, cada planta **F₂** foi caracterizada e contada.

Os primeiros experimentos de Mendel envolveram cruzamentos monoíbridos

O termo *híbrido* se refere à prole de cruzamentos entre organismos que diferem em um ou mais traços. No primeiro experimento, Mendel cruzou duas linhagens parentais (**P**) puras que diferiam em somente *um* traço, produzindo *monoíbridos* (a geração **F₁**). Posteriormente plantou as sementes **F₁** e permitiu que as plantas resultantes se autopolinizassem para produzir a geração **F₂**. Essa técnica é referida como **cruzamento monoíbrido**, mesmo sabendo que, neste caso, as plantas monohíbridas não foram literalmente cruzadas, mas autopolinizadas.

Mendel realizou o mesmo experimento para todos os sete traços de planta de ervilha. Seu método é ilustrado na **Figura 10.3**, utilizando o traço da forma da ervilha como exemplo. Ele retirou o pólen de plantas de ervilha de uma linhagem pura com sementes rugosas e o colocou nos estigmas de flores de uma linhagem também pura com sementes lisas. Mendel também realizou o cruzamento complementar, no qual a fonte parental de cada traço é revertida: colocou pólen de uma linhagem de semente lisa nos estigmas de flores de linhagem de semente rugosa. Em todos os casos, todas as sementes **F₁** produzidas pelos cruzamentos de plantas **P** foram lisas – como se o traço de semente rugosa tivesse desaparecido completamente.

Na primavera seguinte, Mendel cultivou 253 plantas **F₁** a partir dessas sementes lisas. Cada uma dessas plantas foi

TABELA 10.1 Resultados de Mendel a partir de cruzamentos monoíbridos

FENÓTIPOS DA GERAÇÃO PARENTAL		FENÓTIPOS DA GERAÇÃO F ₂				
DOMINANTE	RECESSIVO	DOMINANTE	RECESSIVO	TOTAL	RAZÃO	
	Sementes lisas × Sementes rugosas		5.474	1.850	7.324	2,96:1
	Sementes amarelas × Sementes verdes		6.022	2.001	8.023	3,01:1
	Flores violetas × Flores brancas		705	224	929	3,15:1
	Vagens infladas × Vagens constrictas		882	299	1.181	2,95:1
	Vagens verdes × Vagens amarelas		428	152	580	2,82:1
	Flores axiais × Flores terminais		651	207	858	3,14:1
	Caule alto (1m) × Caule baixo (0,3m)		787	277	1.064	2,84:1

permitida a se autopolinizar para produzir sementes F₂. No total, 7.324 sementes foram produzidas, das quais 5.474 eram lisas e 1.850 rugosas (Figura 10.3 e Tabela 10.1).

Mendel observou que o traço de semente rugosa nunca foi expresso na geração F₁, mesmo tendo reaparecido na geração F₂. Isso o levou a concluir que o traço de semente lisa era **dominante** ao traço de semente rugosa, o qual chamou **recessivo**. Em cada um dos outros seis pares de traços que Mendel estudou, um traço provou ser dominante sobre o outro. O traço que desaparece na geração F₁ de cruzamentos puros é sempre o traço recessivo.

Mendel também observou que a razão dos dois traços na geração F₂ sempre era a mesma – aproximadamente 3:1 para cada um dos sete traços de planta de ervilha estudados. Ou seja, *três quartos da geração F₂ apresentaram o traço dominante e um quarto apresentou o traço recessivo* (ver Tabela 10.1). Por exemplo, o cruzamento monoíbrido de Mendel para a forma de ervilha produziu um razão de 5.474:1.850 = 2,96:1. Os dois cruzamentos recíprocos na geração parental renderam resultados similares em F₂; ele não se importou com qual parental contribuiu com o pólen, exatamente como Kölreuter havia mostrado.

REJEIÇÃO DA TEORIA DE COMBINAÇÃO Os experimentos de cruzamento de monoíbridos de Mendel mostraram que a herança não pode ser o resultado de um fenômeno de combinação. De acordo com a teoria da combinação, as sementes F₁ de Mendel deveriam ter apresentado uma aparência intermediária entre as aparências dos parentais – em outras palavras, deveriam ser sutilmente rugosas. Além disso, a teoria de combinação não deu ne-

nhuma explicação para o reaparecimento do traço enrugado nas sementes F₂ após sua aparente ausência nas sementes F₁.

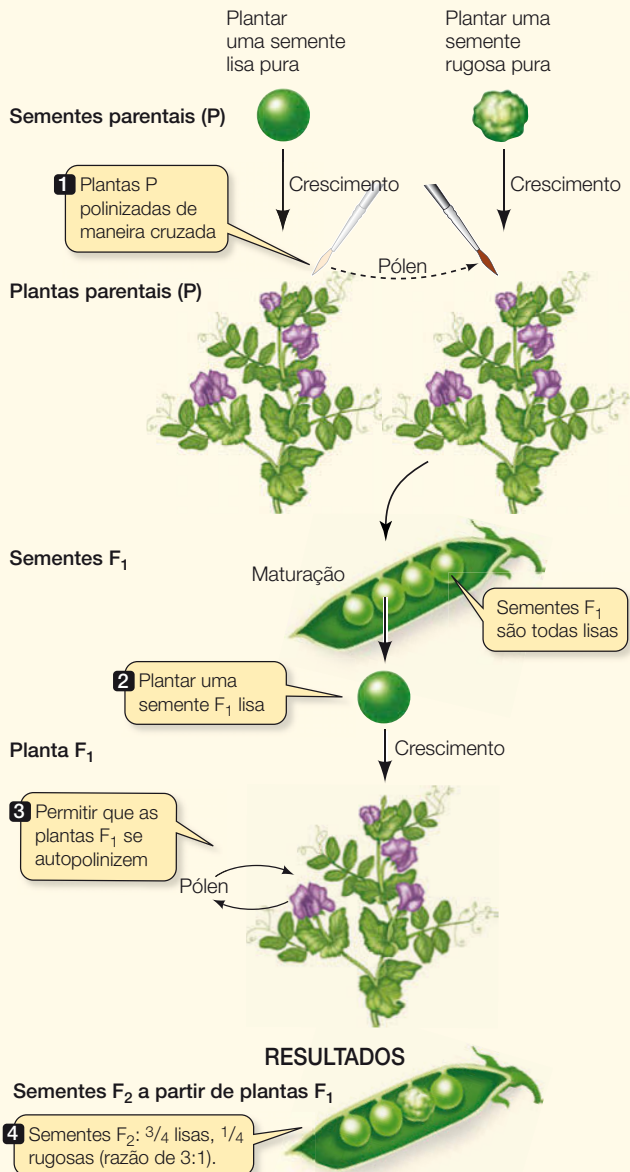
BASE PARA A TEORIA DA INDIVIDUALIDADE Dada a ausência de combinação e o reaparecimento do traço enrugado na geração F₂ de seus experimentos com cruzamento monoíbrido, Mendel propôs que as unidades responsáveis pela herança de traços específicos encontram-se presentes como *partículas separadas* que ocorrem em pares e se segregam (separam-se) uma da outra durante a formação dos gametas. De acordo com sua **teoria de individualidade**, as unidades de herança retêm a sua integridade na presença de outras unidades. Mendel concluiu que cada planta de ervilha apresentava duas unidades (partículas) de herança para cada caráter, uma a partir de cada parental. Propôs que durante a produção de gametas somente uma dessas unidades pareadas é fornecida ao gameta. Concluiu, então, que enquanto cada gameta contém uma unidade, o zigoto resultante contém duas, pois produz-se pela fusão de dois gametas. Essa conclusão é o centro do modelo de herança de Mendel. A unidade de herança de Mendel denomina-se atualmente **gene**. A totalidade de todos os genes de um organismo é o **genoma**.

Mendel considerou que, em seus experimentos, as duas plantas parentais puras apresentaram diferentes formas do gene que afeta a forma da semente (apesar de não utilizar o termo “gene”). O parental de semente pura lisa apresentava dois genes da mesma forma, os quais chamaremos S, e o parental com sementes rugosas apresentava duas cópias de uma forma alternativa do gene, que chamaremos s. O parental SS produziria gametas tendo um único

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: Quando duas linhagens de ervilhas com traços contrastantes são cruzadas, suas características se misturam irreversivelmente em gerações posteriores.

MÉTODO



CONCLUSÃO: A hipótese é rejeitada. Ocorre um mistura reversível de características. Um traço recessivo pode reaparecer em gerações posteriores.

Figura 10.3 Experimentos monoíbridos de Mendel O padrão observado por Mendel na geração F₂ – ¾ das sementes lisas, ¼ rugosas – foi o mesmo, não importando a variedade de pólen que contribuiu na geração parental.

gene S, e o parental ss produziria gametas tendo um único gene s. O cruzamento que produz a geração F₁ poderia doar um S a partir de um parental e um s de outro para cada semente; a prole F₁ então seria Ss. Dizemos que S é dominante em relação a s, pois o traço especificado por s não é evidente – não é expresso – quando ambas as formas do gene estão presentes.

Alelos são formas diferentes de um gene

As diferentes formas de um gene (neste caso, S e s) chamam-se **alelos**. Indivíduos gerados precisamente para um traço apresentam duas cópias do mesmo alelo. Por exemplo, todos os indivíduos em uma população de uma linhagem pura de ervilhas devem possuir o mesmo par de alelos ss; caso o alelo dominante S estivesse presente, as plantas produziram sementes lisas.

Dizemos que indivíduos que produzem sementes rugosas apresentam **homozigose** para o alelo s, significando que possuem duas cópias do mesmo alelo (ss). Algumas ervilhas com sementes lisas – as únicas com genótipo SS – também apresentam homozigose. Entretanto, nem todas as plantas com sementes lisas possuem o genótipo SS. Algumas dessas plantas, como na geração F₁ de Mendel, apresentam **heterozigose**: apresentam dois alelos diferentes do gene em questão (neste caso, Ss). Um indivíduo que apresenta homozigose para um caráter é, algumas vezes, chamado *homozigoto*; um *heterozigoto* apresenta heterozigose para o caráter em questão.

Como um exemplo mais complexo de herança, vamos considerar três pares de genes. Um indivíduo com os alelos AABbcc apresenta homozigose para os genes A e C, pois possui dois alelos A e dois alelos c, porém apresenta heterozigose para o gene B, pois possui os alelos B e b.

A aparência física de um organismo é o seu **fenótipo**. Mendel supôs corretamente que o fenótipo seria o resultado do **genótipo**, ou constituição genética, do organismo apresentando o fenótipo. Sementes lisas ou rugosas constituem dois fenótipos, que são o resultado de três genótipos: o fenótipo de semente rugosa é produzido pelo genótipo ss, enquanto o fenótipo de semente lisa por dois genótipos, SS e Ss.

O que está no nome de um gene? Nomes como *alto*, *curto*, *esférico* e *enrugado* descrevem um traço. Então, como geneticistas de *Drosophila* chamam uma mosca-das-frutas que apresenta defeitos em experimentos científicos? De *dunce* (idiota), claro! Uma mutação que previne a formação do coração? Chamam de *tinman* (homem de lata). Um gene que produz pelos extras na face chama-se *groucho* (comediante americano); insetos que não apresentam genitália externa são *ken* e *barbie*.

A primeira lei de Mendel diz que as duas cópias de um gene segregam

De que forma o modelo de herança de Mendel explica as razões de traços verificados nas gerações F₁ e F₂? Consideraremos primeiramente F₁, na qual toda a progênie apresenta o fenótipo de semente lisa. De acordo com o modelo de Mendel, quando qualquer indivíduo produz gametas, as duas cópias separadas de um gene, então cada gameta recebe somente uma cópia de gene. Esta é a *primeira lei de Mendel*, a **lei da segregação**. Assim, a partir de cada parental da geração P, todo indivíduo na F₁ herda uma cópia do gene, e apresenta o genótipo Ss (Figura 10.4).

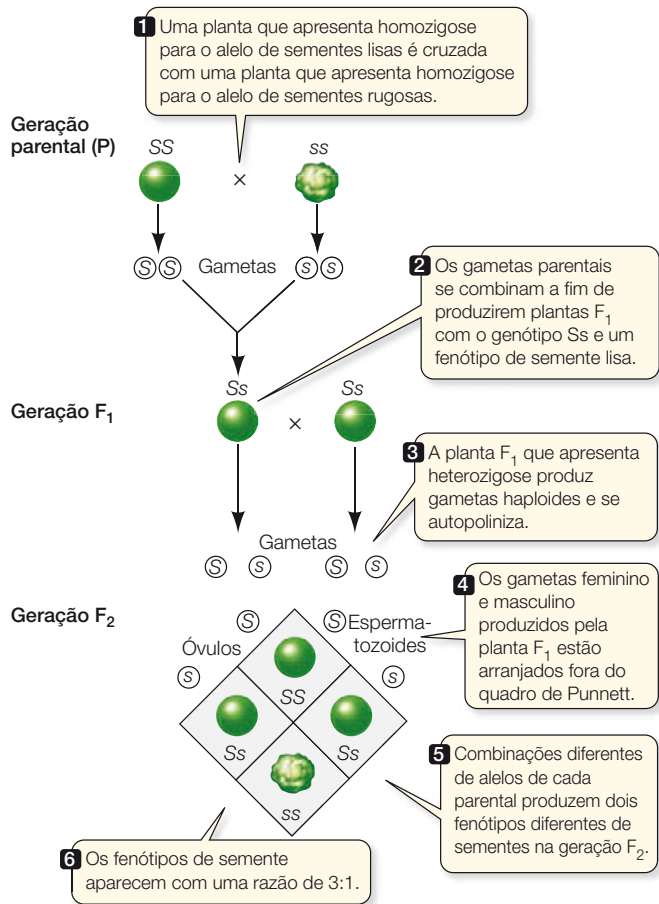
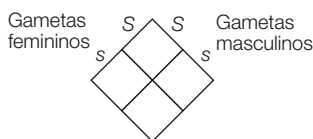


Figura 10.4 Explicação de Mendel para a herança Mendel concluiu que a herança depende de fatores separados provenientes de cada parental, que não combinam na prole.

Agora vamos considerar a composição da geração F_2 . Metade dos gametas produzidos pela geração F_1 possui o alelo S , e a outra metade, o alelo s . Desde que ambas as plantas SS e Ss produzam sementes lisas, enquanto ss produz sementes rugosas, na geração F_2 existem três maneiras de se chegar a uma planta de semente lisa, porém somente uma forma de alcançar uma planta de semente rugosa (s de ambos parentais) – prevendo uma extraordinária razão de 3:1, próxima aos valores experimentalmente encontrados por Mendel para todos os sete traços que ele comparou (ver Tabela 10.1).

As combinações alélicas que resultarão de um cruzamento podem ser previstas utilizando um **quadro de Punnett**, método desenvolvido em 1905 pelo geneticista britânico Reginald Crundall Punnett. Esse método assegura que poderemos considerar todas as possíveis combinações de gametas quando calculadas as frequências esperadas de genótipo. Um quadro de Punnett parece com o que segue:



Essa é uma grade simples com todos os genótipos de gametas masculinos (espermatozoide haploide) possíveis mostrados em um lado e todos os genótipos de gametas femininos (óvulo haploide) possíveis de outro. A grade é completada por meio do preenchimento em cada quadro com o genótipo diploide que

pode ser gerado a partir da combinação de gametas (ver Figura 10.4). Nesse exemplo, para preencher o quadro localizado mais à direita, colocamos o S do óvulo (gameta feminino) e o s do pólen (gameta masculino), resultando em Ss .

Mendel não viveu o bastante para ver sua teoria colocada em uma base científica segura com as descobertas de cromossomos e DNA. Genes, agora, são conhecidos por serem regiões das moléculas de DNA em cromossomos. Mais especificamente, um gene consiste em uma sequência de DNA que reside em um local particular em um cromossomo, chamada de **lócus** (**loci** como plural), e que codifica um caráter particular. Genes são ex-

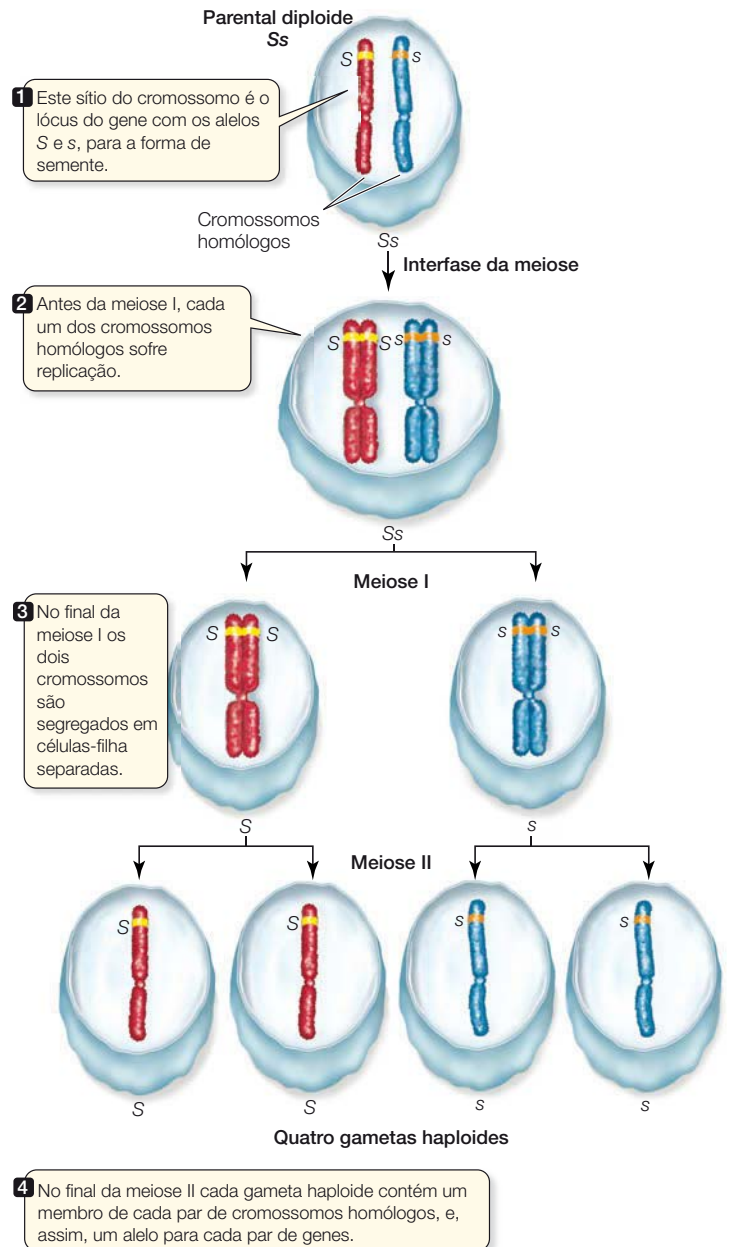


Figura 10.5 A meiose conta para a segregação de alelos Apesar de Mendel não ter conhecimento sobre cromossomos ou meiose, agora sabemos que um par de alelos reside em cromossomos homólogos, e que a meiose segregava tais alelos.

pressos no fenótipo enquanto proteínas com funções particulares, como no caso de enzimas. Assim, um gene dominante pode ser considerado uma região de DNA que se expressa através de uma enzima funcional, enquanto um gene recessivo tipicamente expressa uma enzima não funcional. Mendel chegou à sua lei de segregação sem nenhum conhecimento de cromossomos ou meiose, porém hoje somos capazes de visualizar os diferentes alelos de um gene em segregação, como cromossomos separados na meiose I (Figura 10.5).

Mendel verificou sua hipótese por meio de um cruzamento-teste

Mendel começou a testar sua hipótese de que existia a possibilidade de duas combinações de alelos (SS e Ss) na geração F₁ de semente lisa. Então, a fez por meio de um **cruzamento-teste**, ou seja, uma das maneiras de verificar se um indivíduo que possui traço dominante apresenta homozigose ou heterozigose. Em um cruzamento-teste, o indivíduo em questão é cruzado com um indivíduo conhecido por apresentar homozigose para o traço recessivo – um indivíduo fácil de identificar, pois para possuir o fenótipo recessivo, deve apresentar homozigose para este traço.

No gene da forma de ervilha que temos considerado até o momento, o homozigoto recessivo utilizado para o cruzamento teste é ss. O indivíduo testado pode ser inicialmente chamado S₋, pois ainda não conhecemos a identidade do segundo alelo. Podemos prever dois possíveis resultados:

- Se o indivíduo testado apresenta homozigose dominante (SS), toda a prole do cruzamento teste será Ss e possuirá o traço dominante (sementes lisas) (Figura 10.6, à esquerda).
- Se o indivíduo testado apresenta heterozigose (Ss), então aproximadamente metade da prole do cruzamento teste apresentará heterozigose e possuirá o traço dominante (Ss), porém a outra metade apresentará homozigose e terá o traço recessivo (ss) (Figura 10.6, à direita).

A segunda predição é compatível com os resultados obtidos por Mendel; assim, a hipótese previu, com exatidão, os resultados do cruzamento teste.

Com a sua primeira hipótese confirmada, Mendel passou a uma nova questão: como diferentes pares de genes comportam-se em cruzamentos quando considerados em conjunto?

A segunda lei de Mendel estabelece que cópias de genes diferentes segregam de maneira independente

Considere um organismo que apresente heterozigose para dois genes (SsYy), no qual os alelos S e Y provêm da mãe e s e y provêm do pai. Quando esse organismo produz gametas, os alelos de origem materna (S e Y) passam juntos a um gameta e os alelos de origem paterna (s e y) ao outro gameta? Ou um único gameta pode receber um alelo materno e outro paterno, S e Y (ou s e y)?

Para responder a essas questões, Mendel realizou outra série de experimentos. Iniciou-os com ervilhas que diferiam em dois caracteres de semente: forma e cor da semente. Uma linhagem parental pura produziu somente sementes lisas e amarelas (SSYY), e a outra produziu somente sementes rugosas e verdes (ssyy). Um cruzamento entre essas duas linhagens produziu uma geração F₁ na qual todas as plantas eram SsYy. Em virtude dos



Figura 10.6 Homozigose ou heterozigose? Um indivíduo com fenótipo dominante pode apresentar homozigose ou heterozigose. Seu genótipo pode ser determinado por meio do cruzamento com um indivíduo que apresente homozigose recessiva e da observação dos fenótipos da progênie produzida. Esse procedimento denomina-se cruzamento-teste. **PESQUISA ADICIONAL:** Qual seria o resultado se uma planta “teste” apresentasse homozigose para sementes lisas ao invés de sementes rugosas?

alelos S e Y serem dominantes, as sementes F₁ foram todas lisas e amarelas.

Mendel continuou esse experimento até uma geração F₂ por meio de um **cruzamento diíbrido** (um cruzamento entre indivíduos duplos heterozigotos idênticos) com plantas F₁ (apesar de, novamente, neste caso, ter sido permitida a autopolinização da amostragem F₁). Existem duas maneiras possíveis em que tais plantas duplas heterozigotas possam produzir gametas, como

Mendel verificou (lembre-se que ele nunca tinha ouvido falar em cromossomos ou meiose):

- Os alelos poderiam manter as associações que apresentavam na geração parental (ou seja, eles poderiam estar *ligados*).

Nesse caso, as plantas F_1 deveriam produzir dois tipos de gametas (SY e sy), e a progênie F_2 , resultante da autopolinização das plantas F_1 deveria consistir em uma relação de três vezes mais plantas com sementes lisas e amarelas, assim como outras com sementes rugosas e verdes. Com os resultados obtidos, talvez não existisse razão para supor que a forma e a cor das sementes fossem reguladas por dois genes diferentes, pois sementes lisas sempre seriam amarelas e sementes rugosas sempre verdes.

- A segregação de S a partir de s poderia ser independente da segregação de Y a partir de y (ou seja, que os dois genes poderiam *não estar ligados*).

Nesse caso, quatro tipos de gametas deveriam ser produzidos por F_1 em números iguais: SY , Sy , sY e sy . Quando esses gametas

combinassem de maneira aleatória, deveriam produzir uma geração F_2 que apresentasse nove genótipos diferentes. A progênie F_2 poderia apresentar qualquer dos três genótipos possíveis para forma (SS , Ss ou ss) e qualquer dos três genótipos possíveis para cor (YY , Yy ou yy). Os nove genótipos combinados deveriam produzir quatro fenótipos (lisa amarela, lisa verde, rugosa amarela e rugosa verde). Colocando esses dados em um quadro de Punnett, podemos prever que esses quatro fenótipos ocorrerão com uma razão de 9:3:3:1 (**Figura 10.7**).

Os cruzamentos diíbridos de Mendel confirmaram a segunda previsão: quatro fenótipos diferentes apareceram na geração F_2 com uma razão em torno de 9:3:3:1. Os traços parentais surgiram em novas combinações (lisa verde e rugosa amarela) em alguma progênie. Essas novas combinações chamam-se fenótipos **recombinantes**.

Esses resultados levaram Mendel a uma formulação do que, agora, consiste na **segunda lei de Mendel**: alelos de diferentes genes segregam de maneira independente um do outro durante a formação de gameta. Ou seja, a segregação dos alelos do gene A é independente da segregação dos alelos do gene B. Agora sabemos que essa **lei de segregação independente** não é tão universal como a lei de segregação, pois se aplica a genes localizados em cromossomos separados, porém nem sempre para aqueles localizados no mesmo cromossomo, segundo poderemos verificar na Seção 10.4. Entretanto, é correto dizer que **cromossomos** segregam de maneira independente durante a formação de gametas, e, assim, dois genes quaisquer em pares de cromossomos homólogos (**Figura 10.8**).

Uma das maiores contribuições de Mendel para a ciência da genética foi o uso de regras estatísticas e de probabilidade na análise de sua massa de dados, a partir de centenas de cruzamentos que produziram milhares de plantas. Suas análises matemáticas revelaram claros padrões nos dados que permitiram a ele formular suas hipóteses. Desde Mendel, geneticistas têm utilizado matemática simples da mesma maneira que ele usava.

Quadros de Punnett ou cálculos de probabilidade: uma escolha de métodos

Os quadros de Punnett fornecem uma maneira de se resolver problemas em genética, e cálculos de probabilidade outra. Muitas pessoas encontram facilidade em utilizar os princípios de probabilidade, alguns dos quais são intuitivos e familiares. Por exemplo, quando jogamos uma moeda, a lei de probabilidade diz que existe uma probabilidade igual de cair “cara” ou “coroa”. Para qualquer arremesso de moeda, a probabilidade de tirar “cara” independe do que aconteceu em todos os arremessos anteriores. Uma sequência de dez “caras” não ocasiona nada no arremesso seguinte. Nenhuma “lei de médias” aumenta a chance de que o próximo arremesso seja “coroa”, e nenhum “momento” faz com que a décima segunda “cara” seja o mais provável acontecimento. No décimo primeiro arremesso, as chances de tirar “cara” ainda serão de 50-50.

As convenções básicas de probabilidade são simples:

- Se um evento é absolutamente certo de acontecer, sua probabilidade é 1.
- Se não há possibilidade de acontecer, sua probabilidade é 0.
- Todos os outros eventos têm uma probabilidade entre 0 e 1.

Se um arremesso de moeda resulta em “cara” aproximadamente metade das vezes, então a probabilidade de se tirar “cara” é de $\frac{1}{2}$ – como é a probabilidade de se tirar “coroa”.

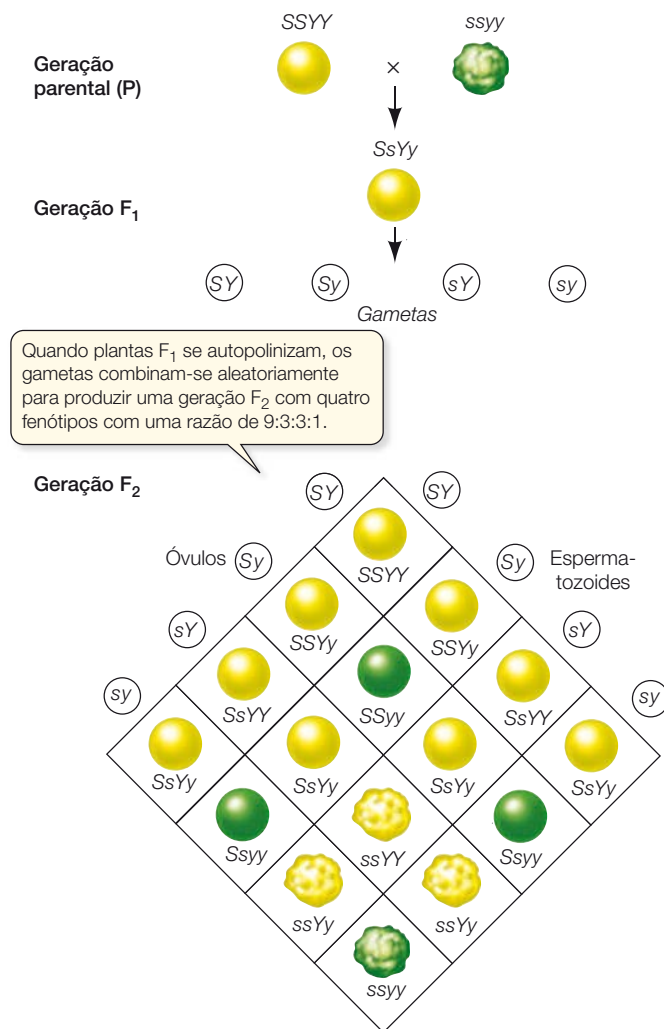


Figura 10.7 Segregação independente As 16 possíveis combinações de gametas neste cruzamento diíbrido resultam em 9 genótipos diferentes. Em virtude de S e Y serem dominantes em relação a s e y , respectivamente, os 9 genótipos resultam em 4 fenótipos com uma razão de 9:3:3:1. Estes resultados mostram que os 2 genes segregam de maneira independente.

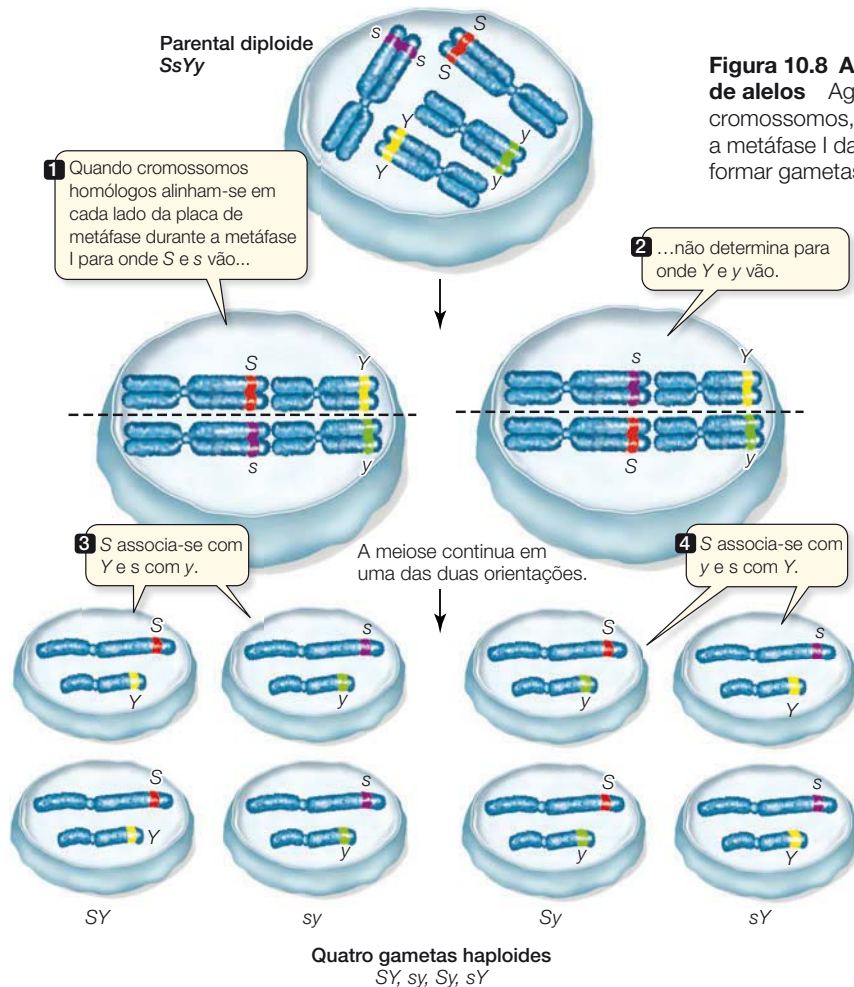


Figura 10.8 A meiose conta para a segregação independente de alelos Agora, sabemos que cópias de genes, em diferentes cromossomos, são segregadas de maneira independente durante a metáfase I da meiose. Assim, um parental de genótipo SsYy pode formar gametas com quatro genótipos diferentes.

SS produzir gametas com o genótipo S é 1. O heterozigoto Ss produz gametas S com uma probabilidade de $\frac{1}{2}$ e gametas s com a probabilidade de $\frac{1}{2}$.

Agora verificaremos de que modo as regras de probabilidade podem prever a razão de uma progênie F₂ do cruzamento na Figura 10.4. Essas plantas são obtidas por meio de autopolinização de plantas F₁ do genótipo Ss. A probabilidade que uma planta F₂ apresente o genótipo SS deve ser $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$, pois existe uma chance de 50-50 que o espermatozoide apresente o genótipo S, e essa possibilidade independe da chance de 50-50 de que o óvulo apresente o genótipo S. De maneira similar, a probabilidade da prole ss é de $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$.

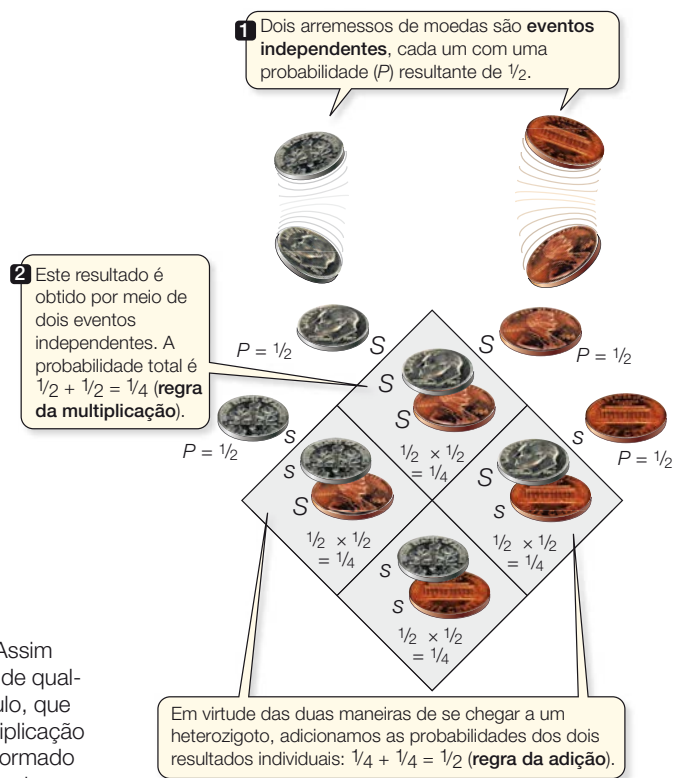
ADICIONANDO PROBABILIDADES Como as probabilidades são calculadas quando um evento pode acontecer de maneiras diferentes? A probabilidade de uma planta F₂ obter um alelo S a partir do espermatozoide e um alelo s a partir do óvulo é de $\frac{1}{4}$, porém lembre-se que o mesmo genótipo também pode resultar a partir de um s do espermatozoide e de um S do óvulo, também com uma pro-

MULTIPLICANDO PROBABILIDADES De que forma podemos determinar a probabilidade de dois eventos independentes que ocorrem juntos? Se duas moedas (um centavo e dez centavos) são arremessadas, cada uma atuará independente da outra. Qual é, então, a probabilidade de ambas as moedas caírem como "cara"? Metade das vezes, a moeda de um centavo resulta em "cara"; da outra fração, metade das vezes, a moeda de dez centavos também resulta em "cara". Além disso, a *probabilidade de combinação* de ambas as moedas resultarem em "cara" é a metade de uma metade, ou $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$. Para encontrar a probabilidade de combinação de eventos independentes, então, multiplicamos as probabilidades dos eventos individuais (Figura 10.9). Como aplicar esse método à genética?

Para verificar como a probabilidade de combinação é calculada em problemas de genética, consideraremos o cruzamento monófrido. As probabilidades de dois eventos estarem envolvidos: formação de gametas e fertilização aleatória.

O cálculo das probabilidades envolvidas na formação de gametas é direto. Um homozigoto pode produzir somente um tipo de gameta, ou seja, por exemplo, a probabilidade de um indivíduo

Figura 10.9 Utilizando cálculos de probabilidade em genética Assim como os resultados de um arremesso de uma moeda, a probabilidade de qualquer combinação de alelos a partir de um espermatozoide e de um óvulo, que aparece na prole de um cruzamento, pode ser obtida por meio da multiplicação das probabilidades de cada evento. Já que um heterozigoto pode ser formado de duas maneiras, estas duas probabilidades são adicionadas em conjunto.



babilidade de $\frac{1}{4}$. A probabilidade de um evento que pode ocorrer de duas ou mais maneiras é a soma das probabilidades individuais dessas maneiras. Assim, a probabilidade de que uma planta F_2 seja heterozigota é igual à soma das probabilidades das duas maneiras de formar um heterozigoto: $\frac{1}{4} + \frac{1}{4} = \frac{1}{2}$ (ver Figura 10.9). Os três genótipos são esperados com uma razão de $\frac{1}{4} SS : \frac{1}{2} Ss : \frac{1}{4} ss$ – portanto, a razão 1:2:1 de genótipos e 3:1 de fenótipos verificados na Figura 10.4.

PROBABILIDADE E O CRUZAMENTO DIÍBRIDO Se plantas F_1 que apresentam heterozigose para dois caracteres independentes se autopolinizarem, as plantas F_2 resultantes expressarão quatro fenótipos diferentes. As proporções desses fenótipos são facilmente determinadas por cálculos de probabilidade. Veremos, agora, como isso funciona no experimento da Figura 10.7.

Utilizando os princípios acima descritos, podemos calcular que a probabilidade de uma semente F_2 ser lisa é de $\frac{3}{4}$: a de um heterozigoto Ss ($\frac{1}{2}$) mais a de um homocigoto SS ($\frac{1}{4}$) = $\frac{3}{4}$. Pela mesma razão, a probabilidade de que uma semente tem de ser amarela também chega a $\frac{3}{4}$. Os dois caracteres determinam-se por genes separados, independentes um do outro, então, a probabilidade combinada de uma semente ser lisa e amarela é de $\frac{3}{4} \times \frac{3}{4} = \frac{9}{16}$. Qual a probabilidade de sementes F_2 serem rugosas e amarelas? A probabilidade de serem amarelas é novamente $\frac{3}{4}$; e a de serem rugosas de $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$. A probabilidade combinada de uma semente ser rugosa e amarela é de $\frac{1}{4} \times \frac{3}{4} = \frac{3}{16}$. A mesma probabilidade se

aplica, por razões similares, para sementes F_2 lisas e verdes. Enfim, a probabilidade de sementes F_2 serem rugosas e verdes perfaz $\frac{1}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{16}$. Olhando para os quatro tipos de fenótipo, podemos ver que são esperados em uma razão de 9:3:3:1.

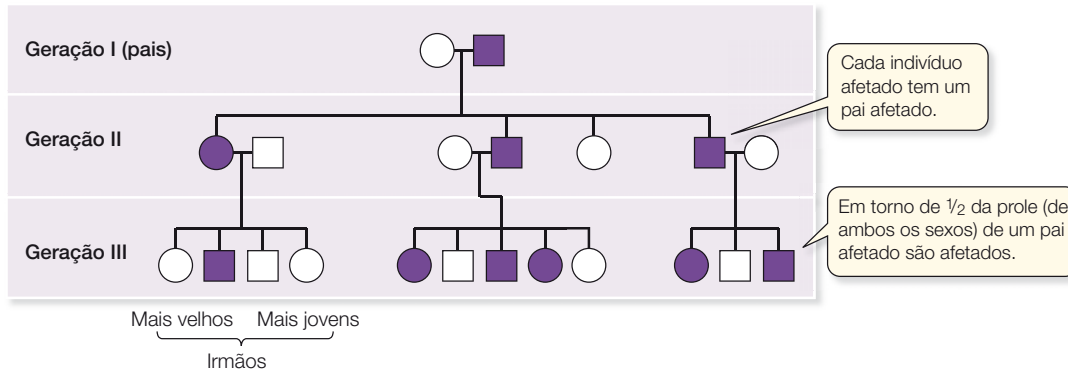
Cálculos de probabilidade e quadros de Punnett dão os mesmos resultados. Aprenda a fazer problemas de genética das duas maneiras, e, então, decida qual o método de sua preferência.

As leis de Mendel podem ser observadas em genealogias humanas

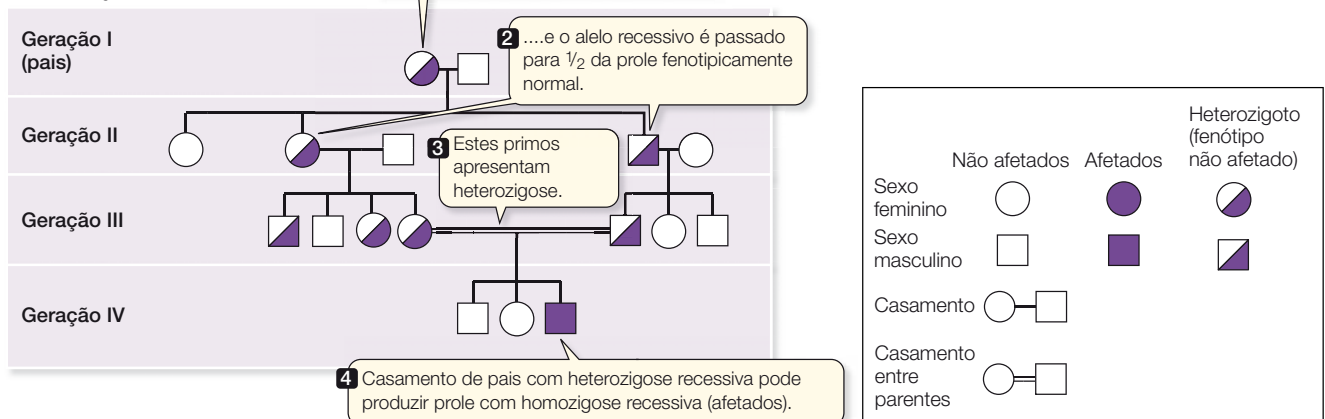
Como as leis de herança de Mendel aplicam-se em humanos? Mendel constituiu suas leis por meio de muitos cruzamentos planejados e levando em conta inúmeras proles. Nenhum desses procedimentos é possível com humanos, assim, geneticistas humanos se concentram em genealogias: árvores familiares que

Figura 10.10 Análise de genealogia e herança (A) Esta genealogia representa uma família afetada pela doença de Huntington, que resulta de um alelo dominante raro. Todos que herdam esse alelo são afetados. (B) A família desta genealogia carrega o alelo para o albinismo, um traço recessivo. Em virtude de este traço ser recessivo, heterozigotos não apresentam o fenótipo albino, porém podem passar o alelo à sua prole. Indivíduos afetados devem herdar o alelo dos dois pais heterozigotos ou (raramente) de um pai homocigoto e outro heterozigoto. Nesta família, os pais heterozigotos são primos, porém o mesmo resultado poderia ocorrer se os pais não fossem parentes e fossem heterozigotos.

(A) Herança dominante



(B) Herança recessiva



mostram a ocorrência de fenótipos (e alelos) em diversas gerações de indivíduos relacionados.

Em virtude de humanos apresentarem pequenos números de prole, as genealogias não mostram as claras proporções de fenótipos de prole, tais como as que Mendel verificou em suas plantas de ervilha. Por exemplo, quando homem e mulher que apresentam heterozigose para um alelo recessivo (Aa) têm filhos juntos, cada criança possui uma probabilidade de 25% de ser homozigoto recessivo (aa). Assim, se esse casal tivesse dúzias de filhos, um quarto deles seria homozigoto recessivo (aa). Porém, a prole de um único casal provavelmente seja pouco para mostrar a proporção exata de um quarto. Em uma família com somente duas crianças, por exemplo, ambos poderiam, facilmente, ser aa (ou Aa , ou AA).

O que fazer quando quisermos saber se um alelo recessivo é carregado por ambos, mãe e pai? Geneticistas de humanos assumem que qualquer alelo que causa fenótipo anormal (doença genética) torna-se raro na população humana. Isso significa que se membros de uma dada família possuem um alelo raro, torna-se altamente improvável que um casamento com um indivíduo sem parentesco apresente o mesmo alelo raro.

Geneticistas humanos podem querer saber se um alelo raro, em particular, que causa um fenótipo anormal, é dominante ou recessivo. Na **Figura 10.10A** podemos verificar uma genealogia que mostra o padrão de herança de um *alelo dominante* raro. A seguir, os aspectos-chave a serem observados numa genealogia desse tipo:

- Cada pessoa afetada possui um dos pais afetado.
- Aproximadamente metade da prole de um dos pais afetado também será afetada.
- O fenótipo ocorre igualmente em ambos os sexos.

Compare esse padrão com a **Figura 10.10B**, que mostra o padrão de herança de um alelo *recessivo* raro:

- As pessoas afetadas geralmente apresentam dois pais que não afetados.
- Em famílias afetadas, aproximadamente um quarto das crianças de pais não afetados são afetadas.
- O fenótipo ocorre igualmente em ambos os sexos.

Em genealogias que mostram a herança de um fenótipo recessivo, não é incomum encontrar o casamento entre dois parentes. Essa observação resulta da raridade de alelos recessivos que resultam em fenótipos anormais. Para dois pais fenotipicamente normais terem um filho afetado (aa), eles devem apresentar heterozigose (Aa). Se um alelo recessivo em particular é raro na população geral, a chance de duas pessoas casadas carregarem o alelo é baixa. Por outro lado, se o alelo está presente em uma família, dois primos podem carregá-lo (ver Figura 10.10B). Isso se deve a estudos em populações isoladas, tanto culturalmente (por religião, como os Amish nos Estados Unidos) como geograficamente (em ilhas), que têm sido tão valiosos aos geneticistas humanos. As pessoas desses grupos tendem a ter grandes famílias, ou a se casarem entre si, ou ambos.

Em virtude do principal uso de análise de genealogia estar na avaliação clínica e aconselhamento de pacientes com anormalidades herdadas, somente um único par de alelos é geralmente investigado. Entretanto, como a análise de genealogia mostra a segregação de alelos, também pode mostrar a segregação independente se dois pares de alelos diferentes forem considerados.

10.1 RECAPITULAÇÃO

Mendel mostrou que os determinantes genéticos são particulares e não “misturam”, ou desaparecem, quando os genes de dois gametas combinam. A sua primeira lei diz que as duas cópias de um gene segregam durante a formação do gameta. Já a segunda lei diz que genes segregam de maneira independente durante a formação do gameta. As frequências com as quais diferentes combinações de alelos se expressam na prole podem ser calculadas com um quadro de Punnett, ou utilizando a teoria da probabilidade.

- Quais dos resultados verificados nas gerações F_1 e F_2 dos experimentos de cruzamento monóibrido de Mendel refutaram a teoria de combinação de herança? Ver p. 210 e Figuras 10.3 e 10.4.
- Você pode explicar o experimento de Mendel na segregação de alelos em termos de meiose? Ver p. 211-212 e Figura 10.5.
- Você pode explicar, em termos de meiose, como os experimentos de cruzamentos diíbridos de Mendel sugeriram a segregação independente de alelos? Ver p. 213-214 e Figuras 10.7 e 10.8.
- Descreva genealogias humanas para herança dominante ou recessiva. Ver p. 216-217 e Figura 10.10.

As leis de herança, conforme articuladas por Mendel, permanecem válidas até hoje; suas descobertas formaram a base para todos os estudos futuros de genética. Inevitavelmente, entretanto, aprendemos que as coisas são mais complicadas. Daremos uma olhada em algumas dessas complicações, iniciando com as interações entre alelos em loci diferentes.

10.2 Como os alelos interagem?

Em muitos casos, os alelos não mostram as simples relações entre dominância e recessividade que temos descrito. Alelos existentes estão sujeitos a mutações, e, assim, podem resultar em novos alelos, de modo que podem existir muitos alelos para um único caráter. Além disso, um único alelo pode ter múltiplos efeitos fenotípicos.

Novos alelos são alcançados por meio de mutação

Existem diferentes alelos de um gene, porque os genes estão sujeitos a **mutações**, que são modificações raras, estáveis e herdáveis no material genético. Em outras palavras, um alelo pode mutar para se tornar outro diferente. Mutações, que discutiremos em detalhe na Seção 12.6, fazem parte de um processo aleatório; diferentes cópias do mesmo alelo podem ser modificadas de maneiras distintas.

Os geneticistas geralmente definem um alelo particular de um gene como **tipo selvagem**; esse é o alelo presente na maioria dos indivíduos na natureza (“selvagem”) e corresponde a um traço ou fenótipo esperado. Outros alelos desse gene, frequentemente chamados de *alelos mutantes*, podem produzir um fenó-

Genótipos possíveis	CC, Cc^{ch}, Cc^h, Cc	$c^{ch}c^{ch}$	$c^{ch}c^h, c^hc$	c^hc^h, c^hc	cc
Fenótipo	Cinza-escuro	Chinchila	Cinza-claro	Himalaia	Albino



Figura 10.11 Herança da cor da pelagem em coelhos Existem quatro alelos do gene para a cor da pele em coelhos anões da Holanda. Combinações diferentes de dois alelos resultam em diferentes cores de pele. A hierarquia de dominância é $C > c^{ch} > c^h > c$.

tipo diferente. O alelo tipo selvagem e os mutantes residem no mesmo locus e são herdados de acordo com conjunto de leis de Mendel. Um locus genético com um alelo tipo selvagem que está presente em menos de 99% do tempo (o restante dos alelos sendo mutantes) denomina-se **polimórfico** (do grego *poly*, "muitos", e *morphos*, "forma").

Muitos genes apresentam alelos múltiplos

Em virtude de mutações aleatórias, mais de dois alelos de um dado gene podem existir em um grupo de indivíduos. (Qualquer indivíduo possui somente dois alelos – um materno e um paterno) De fato, existem muitos exemplos de tais alelos múltiplos.

A cor da pelagem em coelhos, por exemplo, determina-se por um gene com quatro alelos. Qualquer coelho com o alelo C (pa-

reado com qualquer um dos quatro) é cinza escuro, e um coelho com cc , albino. As cores intermediárias resultam das diferentes combinações de alelos mostradas na **Figura 10.11**.

Múltiplos alelos aumentam o número de fenótipos possíveis. No cruzamento monofríbrido de Mendel, existia somente um par de alelos (Ss) e dois fenótipos possíveis (resultantes de SS ou Ss e ss). Os quatro alelos da cor da pelagem em coelhos produzem cinco fenótipos diferentes.

A dominância nem sempre é completa

Nos pares de alelos estudados por Mendel, a dominância torna-se completa quando um indivíduo apresenta heterozigose. Ou seja, um indivíduo Ss sempre expressa o fenótipo S . Entretanto, muitos genes possuem alelos não dominantes ou recessivos para um outro. Ao invés disso, os heterozigotos mostram um fenótipo intermediário – à primeira vista, como aquele previsto pela velha teoria de combinação de herança. Por exemplo, se uma planta boca-de-leão vermelha pura é cruzada com outra branca pura, todas as flores F_1 serão cor-de-rosa. O fato desse fenômeno ainda poder ser explicado em termos de genética mendeliana, em vez de combinação, demonstra-se por um cruzamento adicional.

A teoria de combinação prevê que se uma das plantas boca-de-leão F_1 cor-de-rosa for cruzada com uma branca pura, toda a prole deveria ser um rosa mais claro. De fato, aproximadamente metade da prole é branca, e metade do mesmo tom de rosa como o parental F_1 . Quando as plantas boca-de-leão F_1 cor-de-rosa são permitidas a autopolinizarem, as plantas F_2 resultantes apresentam razão de 1 vermelha:2 cor-de-rosa:1 branca (**Figura 10.12**). Claramente as partículas hereditárias – os genes – não

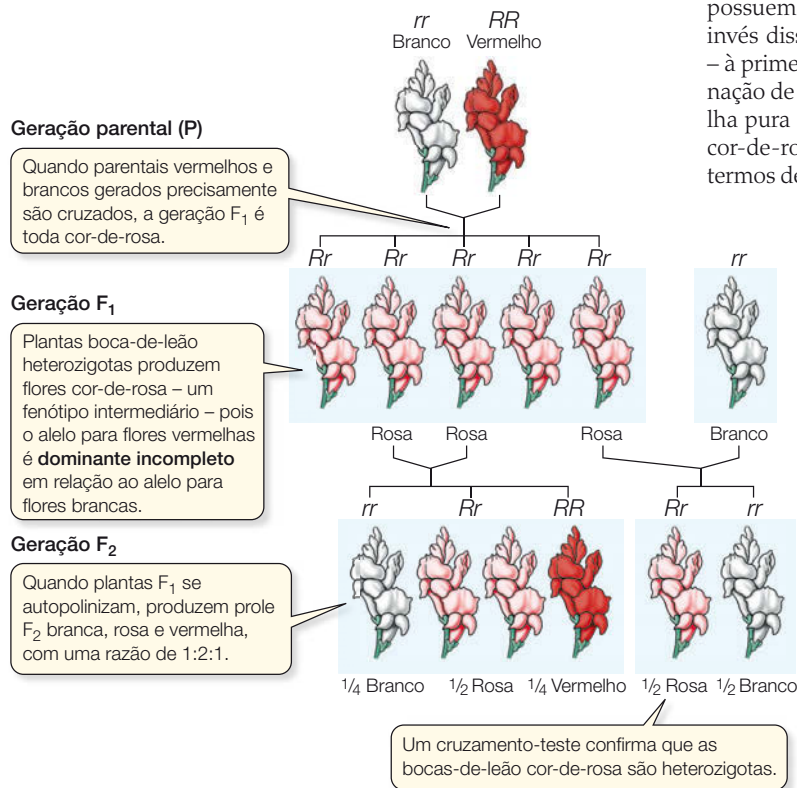


Figura 10.12 A dominância incompleta segue as Leis de Mendel Um fenótipo intermediário pode ocorrer em heterozigotos quando nenhum alelo é dominante. O fenótipo heterozigoto (aqui, flores cor-de-rosa) pode causar a aparência de um traço misturado, porém os traços da geração parental reaparecem em suas formas originais nas gerações seguintes, como previsto pelas leis de herança de Mendel.

Figura 10.13 Reações de sangue ABO são importantes em transfusões Este gráfico mostra os resultados da mistura de células vermelhas do sangue dos tipos A, B, AB e O com soro contendo anticorpos anti-A ou anti-B. Visualizando as colunas, nota-se que cada um dos tipos, quando misturados com anti-A e anti-B, apresenta um único par de resultados; este é o método básico pelo qual a tipagem do sangue realiza-se. Pessoas com o tipo sanguíneo O são boas doadoras de sangue, pois as células O não reagem com anticorpos anti-A ou anti-B. Pessoas com o tipo sanguíneo AB são boas receptoras, já que não produzem nenhum tipo de anticorpo.

Tipo das células sanguíneas	Genótipo	Anticorpos produzidos pelo corpo	Reação aos anticorpos adicionados	
			Anti-A	Anti-B
A	$I^A I^A$ or $I^A i^O$	Anti-B		
B	$I^B I^B$ or $I^B i^O$	Anti-A		
AB	$I^A I^B$	Nem Anti-A ou Anti-B		
O	$i^O i^O$	Anti-A e Anti-B		

As células vermelhas do sangue não reagem com o anticorpo, permanecem dispersas.

As células vermelhas do sangue que reagem com o anticorpo se agrupam (aparência coagulada).

se misturaram, sendo prontamente segregados na geração F_2 .

Podemos entender esses resultados em termos das leis mendelianas de herança. Quando heterozigotos mostram um fenótipo intermediário entre aqueles de dois homozigotos, o gene é governado por uma **dominância incompleta**. Em outras palavras, nenhum dos dois alelos é dominante. A dominância incompleta ocorre mais comumente na natureza. Um aspecto incomum nos dados obtidos por Mendel é que todos os sete traços que ele estudou caracterizavam-se por dominância completa.

Na codominância, ambos os alelos em um locus são expressos

Algumas vezes, os dois alelos em um locus produzem fenótipos diferentes daqueles em que *ambos* aparecem em heterozigotos, um fenômeno chamado **codominância**. Um bom exemplo de codominância verifica-se no sistema de grupo sanguíneo ABO em humanos. Tentativas iniciais de transfusão sanguínea frequentemente matavam o paciente. Em torno do ano de 1900, o cientista austríaco Karl Landsteiner misturou células sanguíneas e *soro* (sangue do qual as células foram removidas) de diferentes indivíduos. Encontrou que somente certas combinações de sangue eram compatíveis; em outras, as células vermelhas do sangue de um indivíduo formavam coágulos na presença de soro de uma outra pessoa. Essa descoberta levou à possibilidade de administrar transfusões de sangue compatíveis que não matam o receptor.

A formação de coágulos em transfusões incompatíveis deve-se a proteínas específicas do soro, chamadas *anticorpos*, que reagem com células estranhas ou “não próprias”. Os anticorpos reagem com proteínas na superfície de células não próprias, chamadas *antígenos*. (Aprenderemos mais sobre a função de anticorpos e antígenos no Capítulo 18.) A compatibilidade sanguínea determina-se por um conjunto de três alelos (I^A , I^B e i^O) em um locus, que determina os antígenos na superfície das células vermelhas do sangue. Diferentes combinações desses alelos em pessoas distintas produzem quatro tipos sanguíneos diferentes, ou fenótipos: A, B, AB e O (Figura 10.13). O fenótipo AB encontrado em indivíduos de genótipo $I^A I^B$ trata-se de um exemplo de codominância – estes indivíduos produzem antígenos de superfície celular de ambos os tipos A e B.

Alguns alelos apresentam efeitos fenotípicos múltiplos

Os princípios de Mendel foram estendidos quando se descobriu que um único alelo pode influenciar mais de um fenótipo.

Quando um único alelo apresenta mais de um efeito fenotípico distinguível, dizemos que ele é **pleiotrópico**. Um exemplo familiar de pleiotropismo envolve o alelo responsável pelo padrão de coloração (corpo claro, extremidades escuras) de gatos siameses. O mesmo alelo também é responsável pelos característicos olhos estrábicos desses felinos. Apesar desses efeitos parecerem não estar relacionados, ambos resultam da mesma proteína produzida sob a influência do alelo.

10.2 RECAPITULAÇÃO

Genes estão sujeitos a mutações aleatórias que geram novos alelos; assim, muitos genes apresentam mais de dois alelos. A dominância não é necessariamente um fenômeno “tudo ou nada”.

- Você pode explicar como o experimento da Figura 10.12 demonstra dominância incompleta? Ver p. 218-219.
- Como o tipo sanguíneo ABO resulta de codominância? Ver p. 219 e Figura 10.13.

Até agora, tratamos o fenótipo de um organismo, em respeito a um dado caráter, como um simples resultado dos alelos de um único gene. Em muitos casos, entretanto, diversos genes interagem para determinar um fenótipo. Para complicar as coisas, o ambiente físico pode interagir com a constituição genética de um indivíduo na determinação do fenótipo.

10.3 Como os genes interagem?

A epistasia ocorre quando a expressão fenotípica de um gene é afetada por outro. Por exemplo, dois genes que determinam a cor do pelo em labrador retriever:

- Alelo *B* (pigmento preto) é dominante ao *b* (marrom).
- Alelo *E* (deposição do pigmento no pelo) é dominante ao *e* (nenhuma deposição, o pelo é amarelo).

Assim, um cachorro com *BB* ou *Bb* será preto; um com *bb*, marrom; e um com *ee*, amarelo, sem levar em conta os alelos *B/b* presentes. Claramente, o gene *E* determina a expressão de *B/b* (Figura 10.14). Se dois cachorros que apresentam *BbEe* são cruzados, a



Figura 10.14 Genes podem interagir epistaticamente A epistasia ocorre quando um gene altera o efeito fenotípico de um outro gene. Em labradores retrievers, o gene E/e determina a expressão do gene B/b .

razão fenotípica entre os filhotes será de 9/16 pretos:3/16 marroms:4/16 amarelos. Você pode mostrar por quê?

A canção *Camptown Races* de Stephen Foster lamenta que “Alguém apostou no cavalo baio”. Um cavalo baio é marrom-escuro. Palominos são loiros; castanhos, marroms avermelhados, e assim por diante. Cavalos apresentam um amplo arranjo de cores e padrões, resultado de epistasia envolvendo múltiplos alelos de no mínimo sete genes. A cor da pele em humanos é, da mesma forma, determinada por múltiplos alelos e genes.

O vigor híbrido resulta de novas combinações e interações genéticas

No início do século XX, um trabalho chamado “A composição de um campo de milho”, por G. H. Shull, teve duradouro impacto no campo da genética aplicada. Fazendeiros conhecem há séculos que cruzamentos entre parentes próximos (conhecido como **endogamia**) podem resultar em uma prole de menor qualidade do que os feitos entre indivíduos não relacionados. Isso ocorre porque parentes próximos tendem a apresentar os mesmos alelos recessivos, alguns dos quais são prejudiciais, conforme verificamos em nossa discussão de genealogias humanas na Seção 10.1. De fato, é bem conhecido que caso ocorra o cruzamento entre duas linhagens genéticas puras, que apresentam homozigose, de planta ou animal, a prole será fenotipicamente muito mais forte, maior e, em geral, mais “vigorosa” que ambos os parentais (**Figura 10.15**).

Shull iniciou seu experimento com duas das milhares de variedades existentes de milho. Ambas produziram aproximadamente 20 sacos de milho por hectare. Porém, quando ele as cruzou, a prole resultou no surpreendente número de 80 sacos por hectare. Este fenômeno denomina-se **heterose** (abreviação de *heterozigose*) ou **vigor híbrido**. O cultivo de milho híbrido se espalhou rapidamente pelos Estados Unidos e em todo o mundo, quadruplicando a produção do grão. A prática de hibridização tem se estendido a

muitas outras cultivares e animais utilizados em agricultura. Por exemplo, bovinos de corte produtos de cruzamento entre raças diferentes apresentam maior porte e vivem mais do que outros criados dentro de sua própria linhagem genética.

Desconhece-se o mecanismo pelo qual a heterose funciona. Uma hipótese amplamente aceita é a *superdominância*, na qual a condição de heterozigose em determinados genes importantes é superior ao homozigoto. Uma outra hipótese é que os homozigotos apresentam alelos que inibem o crescimento, e esses estão menos ativos ou ausentes no heterozigoto.

O ambiente afeta a ação dos genes

O fenótipo de um indivíduo não resulta apenas de seu genótipo. Genótipo e ambiente interagem para determinar o fenótipo de um organismo. Variáveis ambientais como luz, temperatura e nutrição podem afetar a expressão de um genótipo por meio de um fenótipo.



Figura 10.15 O vigor híbrido em milho A prole F_1 heterozigota é maior e mais vigorosa do que ambos parentais.



Figura 10.16 O ambiente influencia a expressão gênica Este coelho expressa um padrão de pelagem conhecido como “ponto de chocolate”. Seu genótipo específica pelos escuros, porém a enzima para pelagem escura é inativa na temperatura corporal normal, então, somente as extremidades do coelho – as regiões mais frias do corpo – expressam esse fenótipo.

Um exemplo familiar desse fenômeno envolve a “restrição pontual” de padrões de pelagem encontrados em gatos siameses e certos coelhos procriados (Figura 10.16). Esses animais possuem um genótipo que deveria resultar em pelo escuro sobre todo o corpo. Entretanto, uma enzima, que produz a pelagem escura, apresenta uma mutação que a inativa em temperaturas acima de um certo ponto (geralmente em torno de 35°C). Os animais mantêm uma temperatura corporal acima deste ponto e, assim, o pelo é mais claro. Entretanto, nas extremidades – patas, orelhas, nariz e cauda – mais frias, em torno de 25°C, o pelo é escuro.

Um simples experimento mostra que o pelo escuro depende da temperatura. Se uma parte da pelagem branca em um ponto restrito das costas do coelho é removida, e coloca-se um pacote de gelo na pele onde a parte foi retirada, o pelo crescerá escuro. Isso indica que o gene para o pelo escuro estava lá todo o tempo; foi o ambiente que inibiu a sua expressão.

Dois parâmetros descrevem os efeitos de genes e ambiente no fenótipo:

- **Penetrância** é a proporção de indivíduos de um grupo com um dado genótipo que, na verdade, mostra o fenótipo esperado.
- **Expressividade** é o grau que o genótipo se expressa em um indivíduo.

Para um exemplo de efeitos ambientais na expressividade, considere como os gatos siameses mantêm-se dentro ou fora de ambientes fechados de acordo com a temperatura.

A maioria dos fenótipos complexos determina-se por múltiplos genes e pelo ambiente

As diferenças entre organismos individuais em simples caracteres, como aqueles estudados por Mendel em plantas de ervilha, são distintas e **qualitativas**. Por exemplo, os indivíduos em uma população de plantas de ervilha são baixos ou altos. Para a maioria dos caracteres complexos, entretanto, como em humanos, o fenótipo varia mais ou menos continuamente sob uma escala. Algumas pessoas são baixas, outras, altas, e muitas encontram-se entre os dois extremos. Tal variação dentro de uma população chama-se de variação **quantitativa**, ou *contínua* (Figura 10.17).

Algumas vezes, essa variação é grandemente genética. Por exemplo, muito da cor dos olhos humanos resulta de um número de genes que controla a síntese e a distribuição do pigmento escuro melanina. Olhos escuros possuem bastante deste, olhos castanhos menos, olhos verdes, acinzentados e azuis menos ainda. Nos últimos casos, é a distribuição de outros pigmentos no olho que determina a reflexão da luz e a cor.

Na maioria dos casos, entretanto, a variação quantitativa deve-se a *ambos, genes e ambiente*. A altura, em humanos, certamente cai nesta categoria. Se você olhar para famílias, frequentemente verá que pais e filhos tendem a ser altos ou baixos. Entretanto, a nutrição também exerce um papel na altura: americanos de 18 anos de idade, hoje, são em torno de 20% mais altos do

Figura 10.17 Variação quantitativa A variação quantitativa é produzida por meio da interação de genes e do ambiente. Estes estudantes (mulheres de branco à esquerda; homens de azul à direita) mostram uma variação contínua na altura, resultado de interações entre muitos alelos e o ambiente.



que seus avós eram na mesma idade, diferença que, certamente, não é genética.

Os geneticistas chamam os genes que juntos determinam tais caracteres complexos de **loci de traço quantitativo**. A identificação desses loci constitui um grande e importante desafio. Por exemplo, a quantidade de grãos que uma variedade de arroz produz em uma temporada de crescimento é determinada por muitos fatores genéticos que interagem. Pesquisadores que trabalham com melhoramento de plantas de lavoura têm se esforçado para decifrar esses fatores a fim de desenvolver linhagens de arroz que rendam mais. De maneira similar, características humanas, como a suscetibilidade a doenças e comportamento, são causadas, em parte, pelo locus de traço quantitativo.

10.3 RECAPITULAÇÃO

Na epistasia, um gene afeta a expressão de outro. Talvez o problema mais desafiador para a genética seja o de explicar fenótipos complexos causados por muitos genes que interagem e o ambiente.

- Você pode explicar a diferença entre penetrância e expressividade? Ver p. 221.
- Como a variação quantitativa difere da variação qualitativa? Ver p. 221.

Na próxima seção, veremos como a descoberta que genes ocupam posições específicas nos cromossomos possibilita aos sucessores de Mendel não somente dar uma explicação física para seu modelo de herança, mas também fornecer uma explicação para aqueles casos onde a segunda lei de Mendel não se aplica.

10.4 Qual é a relação entre genes e cromossomos?

A observação de que genes localizados no mesmo cromossomo nem sempre seguem a lei de Mendel de segregação independente levantou questões que levam a novas visões: Qual é o padrão de herança de tais genes? Como determinamos onde esses genes estão localizados em um cromossomo e as distâncias entre eles?

As respostas a essas e muitas outras questões genéticas foram trabalhadas em estudos da mosca-das-frutas *Drosophila melanogaster*. Seu tamanho pequeno, a facilidade com que pode ser cruzada, e seu curto tempo de geração faz desse animal um atrativo objeto experimental. Iniciando em 1909, Thomas Hunt Morgan e seus estudantes foram pioneiros no estudo de *Drosophila* na famosa "sala da mosca" da Universidade de Columbia, onde descobriram o fenômeno descrito nesta seção. *Drosophila* permanece extremamente importante em estudos de estrutura cromossomal, genética de populações, genética de desenvolvimento e genética de comportamento.

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: Alelos para diferentes características sempre se classificam de maneira independente.

MÉTODO



RESULTADOS

F₁

Genótipos	<i>BbVgvg</i> Tipo selvagem	<i>bbvvgv</i> Preto vestigial	<i>Bbvvgv</i> Cinza vestigial	<i>bbVgvg</i> Preto normal
Fenótipos esperados	575	575	575	575
Fenótipos observados (número de indivíduos)	965	944	206	185
	Fenótipos parentais		Fenótipos recombinantes	

Estes são os resultados esperados para a segunda lei de Mendel (classificação independente)...

...porém os resultados atuais foram inconsistentes com a lei.

CONCLUSÃO: A hipótese é rejeitada. Esses dois genes não se classificam de maneira independente, porém encontram-se ligados (no mesmo cromossomo).

Figura 10.18 Alguns alelos não segregam de maneira independente Os estudos de Morgan mostraram que os genes para a cor do corpo e tamanho da asa estão ligados em *Drosophila*, assim, seus alelos não segregam de maneira independente. A ligação é considerada para a partida das razões fenotípicas que Morgan observou daquelas previstas pela lei de segregação independente de Mendel. **PESQUISA ADICIONAL:** Veja novamente o cruzamento diíbrido de Mendel (Figura 10.7). Se os genes para a forma e cor da semente fossem ligados, quais seriam esses resultados?

Genes no mesmo cromossomo estão ligados

Alguns dos cruzamentos que Morgan realizou com moscas-das-frutas resultaram em razões fenotípicas que não estavam de acordo com aquelas previstas pela lei de segregação independente de Mendel. Morgan cruzou *Drosophila* com dois genótipos conhecidos, *BbVgvg* x *bbvvgg*,* para dois caracteres diferentes, cor do corpo e forma da asa:

- *B* (corpo cinza tipo selvagem), é dominante sobre *b* (corpo preto).
- *Vg* (asa tipo selvagem) é dominante sobre *vg* (vestigial, uma asa muito pequena).

Morgan esperou verificar quatro fenótipos em uma razão de 1:1:1:1, porém não foi o que ocorreu. O gene da cor do corpo e o do tamanho da asa não segregaram de maneira independente; ao invés disso, foram, na maior parte das vezes, herdados em conjunto (Figura 10.18).

Esses resultados tornaram-se compreensíveis para Morgan quando considerou a possibilidade de que os dois estão no mesmo cromossomo – ou seja, que eles podem estar ligados. Afinal, já que o número de genes em uma célula excede o número de cromossomos, cada um deve conter muitos genes. Agora dizemos que o conjunto total de loci em um dado cromossomo constitui um **grupo de ligação**. O número de grupos de ligação em uma espécie iguala seu número de pares de cromossomos homólogos.

Suponha que os locos *Bb* e *Vgvg* estão de fato localizados no mesmo cromossomo. Por que, então, o cruzamento dele resultou em nada além de moscas cinzas com asas normais (tipo selvagem) e pretas com asas vestigiais? Se a ligação fosse absoluta – ou seja, se cromossomos sempre permanecessem intactos e sem modificações –, esperaríamos ver somente aqueles dois tipos de progênie. Entretanto, nem sempre isso acontece.

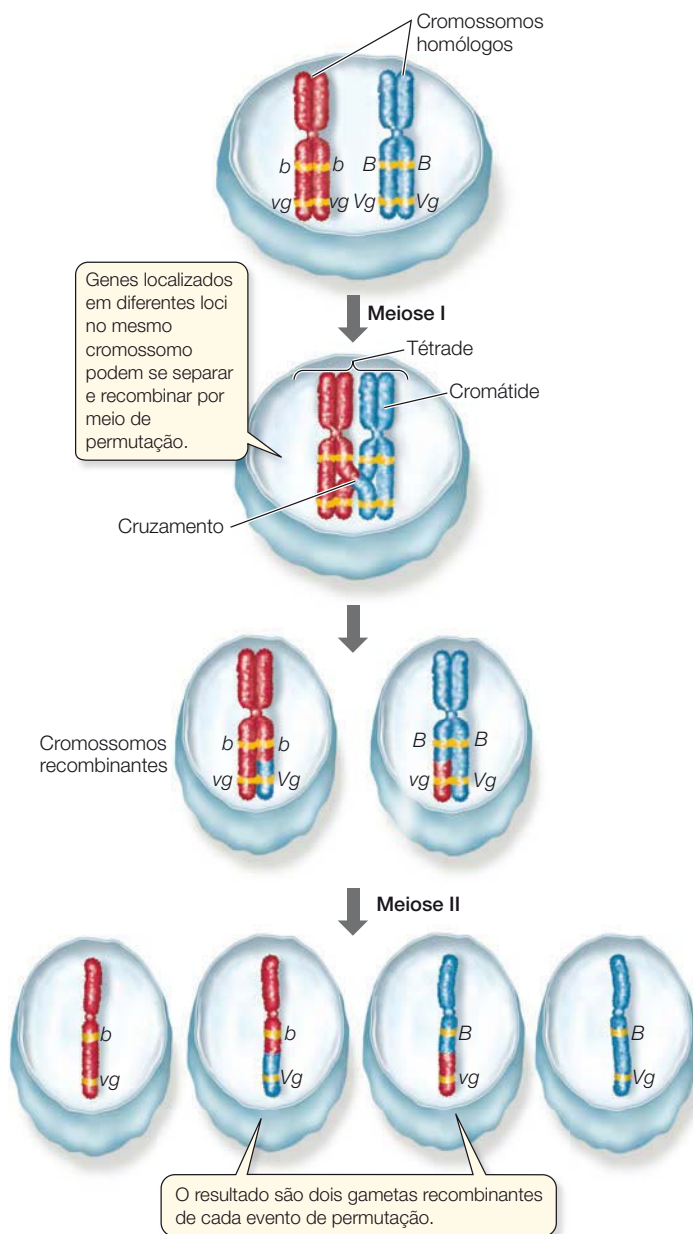
Genes podem ser trocados entre cromátides

A ligação absoluta é extremamente rara. Se a ligação fosse absoluta, a lei de segregação independente de Mendel se aplicaria somente a loci em diferentes cromossomos. O que acontece, na verdade, é mais complexo, e também mais interessante. Em virtude de cromossomos poderem quebrar, a recombinação de genes pode ocorrer. Ou seja, os genes em diferentes loci no mesmo cromossomo se separam, algumas vezes, durante a meiose.

Os genes podem recombinar quando dois cromossomos homólogos trocam fisicamente segmentos correspondentes durante a prófase I da meiose – ou seja, por meio de permutação (Figura 10.19, ver também a Figura 9.18). Como descrito na Seção 9.5, o DNA replica-se durante a fase S da prófase I, quando pares de cromossomos homólogos se unem a fim de formarem tétrades, e, assim, cada cromos-

somo consistirá de duas cromátides. O evento de troca envolve somente duas das quatro cromátides em uma tétrede, uma de cada membro do par homólogo, e pode ocorrer em qualquer ponto ao longo do cromossomo. Os segmentos cromossomais envolvidos são trocados reciprocamente, e, assim, ambas as cromátides envolvidas na permutação se tornam recombinantes (ou seja, cada uma termina com genes de ambos os pais do organismo). Geralmente, diversos eventos de trocas ocorrem ao longo de cada par de homólogos.

Quando a permutação ocorre entre dois genes ligados, nem toda a progênie de um cruzamento apresenta os fenótipos parentais. Ao invés disso, aparecem proles recombinantes, como aconteceu no cruzamento de Morgan. Elas aparecem em proporções chamadas **frequências de recombinação**, que se calculam pela divisão do número de progênie recombinante pelo número total de progênie (Figura 10.20). As frequências de recombinação serão



* Você reconhece este tipo de cruzamento? É um cruzamento-teste para os dois pares de genes; ver Figura 10.6.

Figura 10.19 A permutação resulta em recombinação genética Genes localizados em diferentes loci no mesmo cromossomo podem se separar um do outro e recombinar por meio de permutação. Tal recombinação ocorre durante a prófase I da meiose.

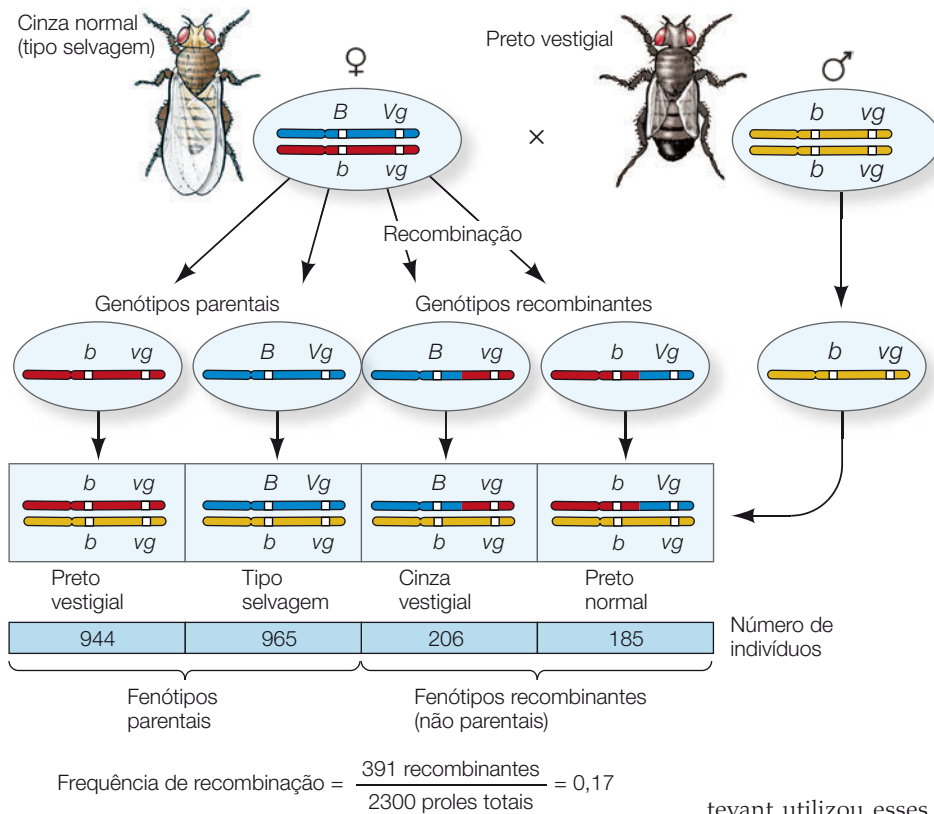


Figura 10.20 Frequências de recombinação A frequência de prole recombinante (aquela com fenótipo diferente de ambos pais) pode ser calculada.

forem, existirão mais locais para que a quebra e a reunião de cromátides possam ocorrer. Em uma população de células que estão sofrendo meiose, uma maior parte delas sofrerá recombinação entre dois loci mais distantes do que entre dois loci próximos. Em 1911, Alfred Sturtevant, então estudante ainda não-graduado na sala da mosca de T.H. Morgan, pensou como essa simples ideia poderia ser utilizada para demonstrar onde genes diferentes estão um em relação ao outro em um cromossomo.

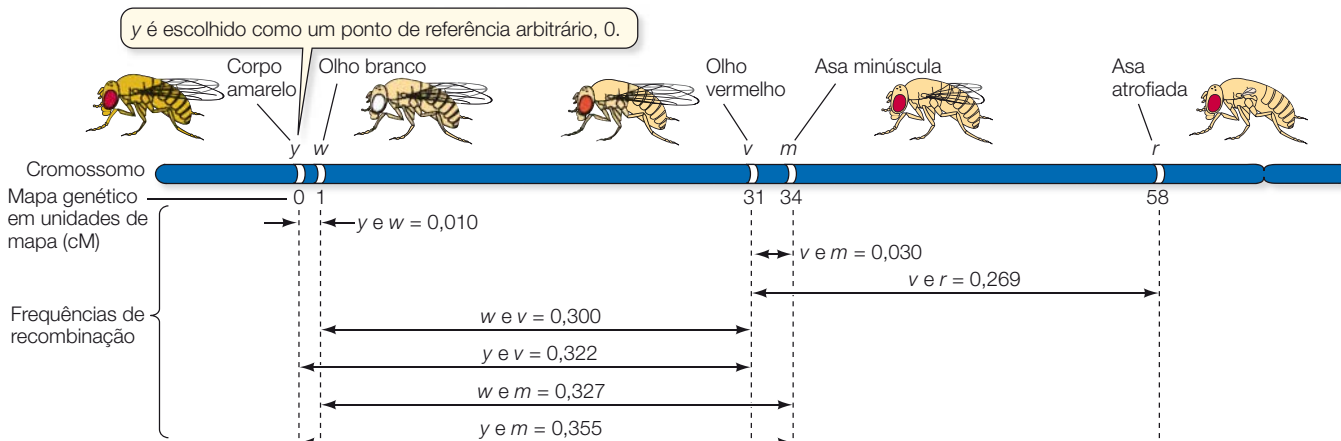
O grupo de Morgan havia determinado as frequências de recombinação para muitos pares de genes ligados de *Drosophila*. Sturtevant utilizou esses dados para criar **mapas genéticos** que mostravam o arranjo de genes ao longo do cromossomo (Figura 10.21). Desde que Sturtevant demonstrou este método, os geneticistas têm mapeado os cromossomos de eucariotos, procariontos, e vírus, indicando as distâncias entre genes em **unidades de mapa**. Uma unidade de mapa corresponde a uma frequência de recombinação de 0,01; ela também é referida como um **centimorgan (cM)**, em honra ao fundador da sala da mosca. Você também pode fazer um mapa genético (Figura 10.22).

maiores para loci que se encontram mais distantes do que para loci mais próximos, pois é mais provável que um evento de troca ocorra entre aqueles mais distantes do que entre aqueles bastante próximos.

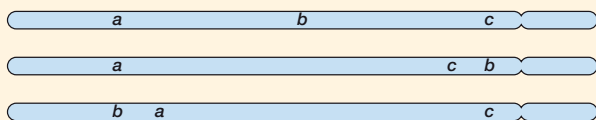
Geneticistas podem construir mapas de cromossomos

Se dois loci se encontram muito próximos em um cromossomo, as chances de permutação entre eles é pequena. Em contraste, se dois loci estão distantes, a permutação poderia ocorrer entre eles em muitos pontos. Este padrão consiste em uma consequência do mecanismo de permutação: quanto mais distantes dois genes

Figura 10.21 Passos para um mapa genético Em virtude da chance de um genótipo recombinante ocorrer aumentar com a distância entre dois loci em um cromossomo, Sturtevant foi capaz de derivar seu mapa parcial de um cromossomo de *Drosophila* a partir dos dados do grupo de Morgan em frequências de recombinação de cinco traços recessivos. Ele utilizou uma unidade arbitrária de distância – a unidade de mapa, ou centimorgan (cM) – que equivale a uma frequência de recombinação de 0,01.



1 No início, não temos nenhuma ideia da distância individual entre os genes, e existem várias sequências possíveis (*a-b-c*, *a-c-b*, *b-a-c*).



Realizamos um cruzamento *AABB* × *aabb*, e obtivemos uma geração *F*₁ com um genótipo *AaBb*. Também realizamos o cruzamento-teste destes indivíduos *AaBb* com *aabb*. Aqui estão os genótipos das primeiras 1000 progênes:

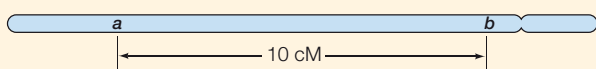
450 *AaBb*, 450 *aabb*, 50 *Aabb* e 50 *aaBb*.
(tipos parentais) (tipos recombinantes)

2 Quão distantes estão os genes *a* e *b*?

Qual é a frequência de recombinação? Quais são os tipos recombinantes e quais os tipos parentais?

A frequência de recombinação (*a* para *b*) = (50 + 50)/1000 = 0,1
Então a distância no mapa é

Distância no mapa = 100 × frequência de recombinação = 100 × 0,1 = 10 cM



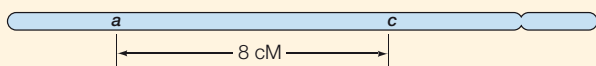
3 Quão distantes encontram-se os genes *a* e *c*?

Agora, realizamos um cruzamento *AACC* × *aacc*, obtendo uma geração *F*₁, e tendo a cruzado, obtemos

460 *AaCc*, 460 *aacc*, 40 *Aacc*, e 40 *aaCc*

Frequência de recombinação (*a* to *c*) = (40 + 40)/1000 = 0,08

Distância no mapa = 100 × frequência de recombinação = 100 × 0,08 = 8 cM



A ligação é revelada por estudos dos cromossomos sexuais

No trabalho de Mendel, cruzamentos recíprocos sempre geravam resultados idênticos; não importava, geralmente, se um alelo dominante provinha do pai ou da mãe. Há alguns casos, contudo, em que a origem parental de um cromossomo importa. Por exemplo, machos humanos herdam uma desordem sanguínea, chamada hemofilia, de suas mães, não de seus pais. Para entender os tipos de herança nos quais a origem parental do alelo importa, devemos considerar os modos pelos quais o sexo é determinado em diferentes espécies.

DETERMINAÇÃO DO SEXO POR CROMOSSOMOS No milho, todo adulto diploide possui ambas estruturas reprodutoras, masculina e feminina. Os tecidos nesses dois tipos de estruturas são geneticamente idênticos, assim como as raízes e folhas também. Vegetais como o milho, nas quais o mesmo indivíduo produz ambos gametas masculino e feminino, denominam-se *monoicos* (do grego, “uma casa”). Outras plantas, como as palmeiras e o carvalho, e a maioria dos animais são *dioicos* (“duas casas”), significando que alguns indivíduos podem produzir somente gametas masculinos, e outros, somente gametas femininos. Em outras palavras, organismos dioicos possuem dois sexos.

Figura 10.22 O mapeamento desses genes O objetivo deste exercício é determinar a ordem de três loci (*a*, *b* e *c*) em um cromossomo, assim como as distâncias (em cM) entre eles.

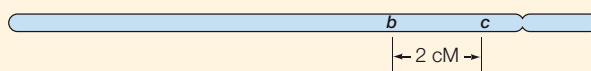
4 Quão distantes encontram-se os genes *b* e *c*?

Realizamos um cruzamento *BBCC* × *bbcc*, obtendo uma geração *F*₁, e o cruzamento teste, obtendo

490 *BbCc*, 490 *bbcc*, 10 *Bbcc*, e 10 *bbCc*

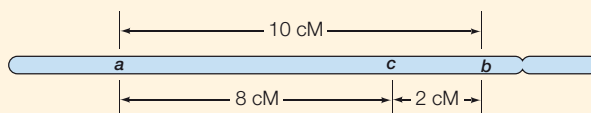
Frequência de recombinação (*b* to *c*) = (10 + 10)/1000 = 0,02

Distância no mapa = 100 × frequência de recombinação = 100 × 0,02 = 2 cM



5 Qual dos três genes está entre os outros dois?

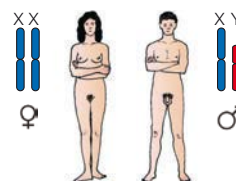
Em virtude de *a* e *b* estarem mais distantes, *c* deve estar entre eles.



A soma desses números é perfeita. Na maioria dos casos reais, não somam perfeitamente, em virtude de cruzamentos múltiplos.

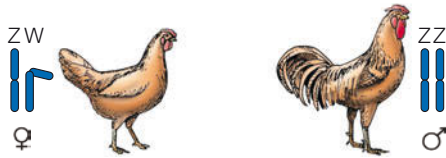
Na maioria dos organismos dioicos, o sexo determina-se por diferenças nos cromossomos, porém tal determinação opera de maneiras diferentes em grupos distintos de organismos. Por exemplo, em muitos animais, incluindo humanos, o sexo é determinado por um único **cromossomo sexual**, ou por um par deles. Tanto machos quanto fêmeas possuem duas cópias de cada um dos cromossomos restantes, os quais chamam-se **autossômicos**.

Os cromossomos sexuais de mamíferos fêmeas consistem de um par de cromossomos X. Mamíferos machos, por outro lado, possuem um cromossomo X e um cromossomo sexual que não é encontrado em fêmeas: o cromossomo Y. Fêmeas podem ser representadas como XX e machos como XY:



Mamíferos machos produzem *dois* tipos de gametas. Cada gameta possui um conjunto completo de autossômicos, porém metade desses carrega um cromossomo X e a outra metade carrega um Y. Quando um espermatozoide que possui X fertiliza um óvulo, o zigoto XX resultante é fêmea; quando um espermatozoide que possui Y fertiliza o óvulo, o zigoto XY resultante é macho.

A situação difere nos pássaros, onde os machos são XX e as fêmeas são XY (para evitar confusão, chamamos esses cromossomos de ZZ e ZW):



Nesses organismos, a fêmea produz dois tipos de gametas, carregando Z ou W. O fato do óvulo ser Z ou W determina o sexo da prole, em contraste a humanos e moscas-das-frutas, nos quais o espermatozoide, carregando X ou Y, determina o sexo.

ANORMALIDADES DO CROMOSSOMO SEXUAL REVELAM O GENE QUE DETERMINA O SEXO Devem ser genes no cromossomo Y (ou W) que determinam o sexo (macho ou fêmea, respectivamente). Todavia, como podemos ter certeza? Conforme previamente colocado, uma das maneiras para determinar a causa (no caso de mamíferos, um gene do cromossomo Y) e o efeito (neste caso, masculinidade) é a procura em casos de erro biológico, nos quais os resultados esperados não ocorrem.

Constituições anormais de cromossomo sexual, resultantes da não disjunção na meiose (ver Seção 9.5) nos dizem alguma coisa sobre as funções dos cromossomos X e Y. Segundo você pode recordar, a não disjunção ocorre quando um par de cromossomos-irmãos (na meiose I) ou cromátides-irmãs (na meiose II) não se separa. Como resultado, um gameta pode possuir poucos ou muitos cromossomos. Supondo a fertilização por um outro gameta com o conjunto cromossomal haploide completo, as proles resultantes serão aneuploides, com menos ou mais cromossomos do que o normal.

Em humanos, indivíduos XO aparecem algumas vezes. (O "O" implica que um cromossomo foi perdido – ou seja, indivíduos XO possuem somente um cromossomo sexual.) Indivíduos humanos XO são fêmeas fisicamente anormais de maneira moderada, porém mentalmente normais; geralmente também apresentam esterilidade. A condição XO em humanos chama-se *síndrome de Turner*. Este é o único caso conhecido no qual uma pessoa pode sobreviver com somente um membro de um par cromossomal (aqui, o par XY), apesar da maioria das concepções XO serem espontaneamente terminadas no início do desenvolvimento. Indivíduos XXY também ocorrem; esta condição, que afeta machos, é chamada de *síndrome de Klinefelter* e resulta em membros muito longos e esterilidade.

Essas observações sugerem que o gene determinante da masculinidade encontra-se localizado no cromossomo Y. Observações de pessoas com outros tipos de anormalidades cromossomais auxiliaram os pesquisadores para a localização exata desse gene:

- Alguns indivíduos XY são fenotipicamente mulheres, pois perderam uma pequena porção do cromossomo Y.
- Alguns homens são geneticamente XX, porém apresentam uma pequena porção do cromossomo Y ligada a um outro cromossomo.

Estava claro que os fragmentos Y que estão respectivamente perdidos e presentes nesses dois casos contêm o gene determinante da masculinidade, que foi nomeado *SRY* (região determinante do sexo no cromossomo Y).

O gene *SRY* codifica uma proteína envolvida na **determinação primária do sexo** – ou seja, a determinação dos tipos de gametas que um indivíduo produzirá e os órgãos que irá desenvolver. Na presença de uma proteína *SRY* funcional, um embrião desenvol-

ve espermatozoides produtores de testosterona. (Note que o *estilo itálico* é utilizado para o nome de um gene, porém o estilo romano é utilizado para o nome de uma proteína.) Se o embrião não apresenta um cromossomo Y, o gene *SRY* está ausente, e, assim, a proteína *SRY* não é produzida. Na ausência da proteína *SRY*, o embrião desenvolve ovários produtores de óvulos. Neste caso, um gene no cromossomo X, chamado *DAX1*, produz um fator antitesticulo. Então, o papel de *SRY* em um macho é atuar contra o inibidor de masculinidade codificado pelo gene *DAX1*. A proteína *SRY* atua dessa forma em células masculinas, porém, já que não está presente em fêmeas, *DAX1* pode inibir a masculinidade.

A determinação primária do sexo não é a mesma que a **determinação secundária do sexo**, que resulta nas manifestações externas de masculinidade e feminilidade (como o tipo de corpo, desenvolvimento de seios, pelos, e voz). Essas características externas não são diretamente determinadas pela presença ou ausência do cromossomo Y. Particularmente, elas são determinadas por genes dispersos no cromossomo X e autossômicos que controlam as ações de hormônios, como testosterona e estrogênio.

Superficialmente, *Drosophila melanogaster* segue o mesmo padrão da determinação de sexo verificado em mamíferos – fêmeas XX e machos XY. Entretanto, *Drosophila XO* são machos (ao invés de fêmeas, como em mamíferos) e quase sempre indistinguíveis dos machos XY normais, exceto pela esterilidade. Indivíduos XXY são fêmeas normais e férteis. Assim, em *Drosophila*, o sexo determina-se pela *razão de cromossomos X a conjuntos autossômicos*. Se existe um cromossomo X para cada conjunto de cromossomos autossômicos, o indivíduo é fêmea; se existe somente um cromossomo X para os dois conjuntos de cromossomos autossômicos, o indivíduo é macho. O cromossomo Y não exerce um papel determinante no sexo em *Drosophila*, porém ele faz-se necessário para a fertilidade do macho.

Genes em cromossomos sexuais são herdados de maneiras especiais

Genes em cromossomos sexuais não mostram os padrões de herança mendelianos. Na *Drosophila* e em humanos, o cromossomo Y carrega poucos genes conhecidos, porém um número substancial de genes, que afeta uma grande variedade de caracteres, é carregado pelo cromossomo X. Qualquer destes genes está presente em duas cópias em fêmeas, porém em uma única cópia em machos. Além disso, machos sempre serão **hemizigotos** para genes do cromossomo X – sempre possuem uma única cópia de cada gene, e estas serão expressas. Assim, cruzamentos recíprocos não fornecem resultados idênticos para caracteres dos genes que são carregados nos cromossomos sexuais, e esses caracteres não mostram as razões mendelianas comuns para a herança de genes localizados em cromossomos autossômicos.

Os primeiros, e ainda entre os melhores, exemplos de herança de caracteres governados por loci em cromossomos sexuais (herança ligada ao sexo) são as cores do olho na *Drosophila*. A cor de olho tipo selvagem dessas moscas é vermelha. Em 1910, Morgan descobriu uma mutação que causa olhos brancos. Ele chegou a isso por meio do cruzamento de moscas com fenótipos do tipo selvagem e mutante. Seus resultados demonstraram que o locus da cor do olho está localizado no cromossomo X.

- Quando uma fêmea que apresentava homozigose para olhos vermelhos foi cruzada com um macho de olhos brancos (hemizigoto), todos os filhos e filhas apresentaram olhos vermelhos, pois o vermelho é dominante em relação ao branco e todas as progênes herdaram um cromossomo X do tipo selvagem de suas mães (**Figura 10.23A**).

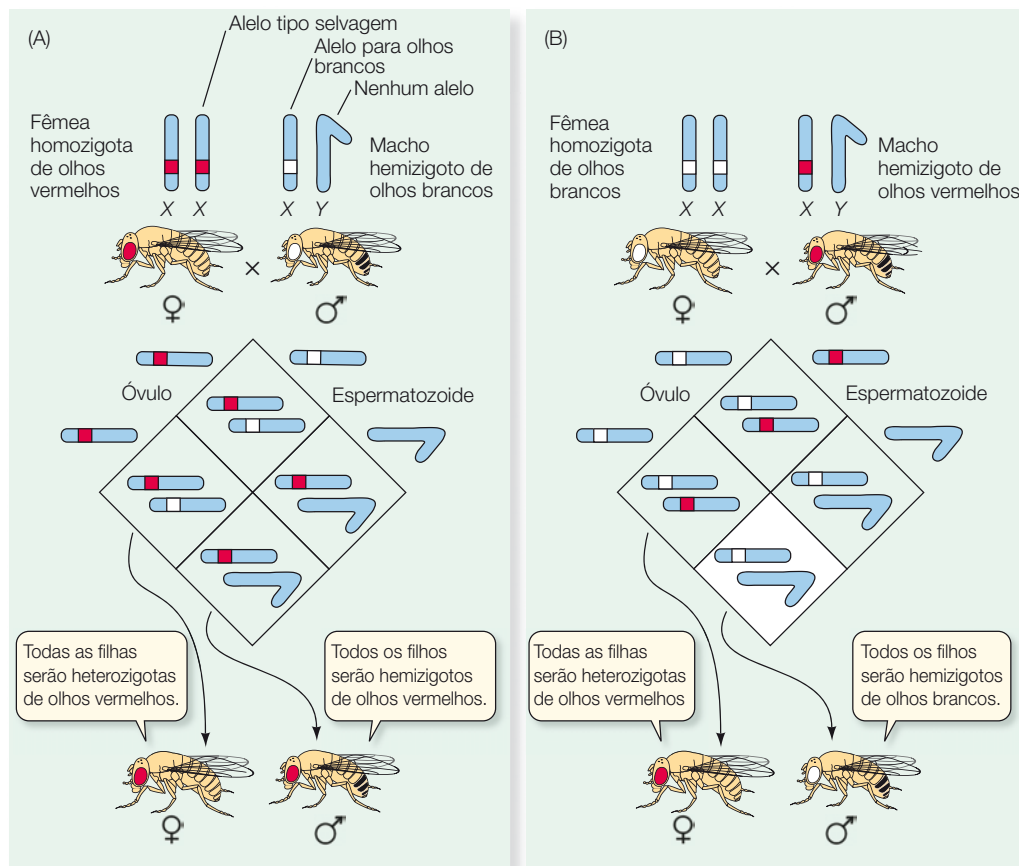


Figura 10.23 A cor do olho é um traço ligado ao sexo em *Drosophila* Morgan demonstrou que um alelo mutante que causa olhos brancos em *Drosophila* é carregado no cromossomo X. Observe que, neste caso, os cruzamentos recíprocos não apresentam os mesmos resultados.

- No cruzamento recíproco, no qual uma fêmea de olhos brancos foi cruzada com um macho de olhos vermelhos, todos os filhos apresentaram olhos brancos e todas as filhas apresentaram olhos vermelhos (Figura 10.23B).

Os filhos do cruzamento recíproco herdaram somente o cromossomo X de sua mãe de olhos brancos; herdaram o cromossomo Y de seu pai que não carregava o locus para a cor dos olhos. As filhas, por outro lado, ganharam um cromossomo X com o alelo de sua mãe e um cromossomo X com o alelo de olhos vermelhos de seu pai; assim, elas eram heterocigotas para a cor vermelha dos olhos.

- Quando fêmeas heterocigotas foram cruzadas com machos de olhos vermelhos, metade de seus filhos apresentou olhos brancos, porém todas as suas filhas apresentaram olhos vermelhos.

Juntos, esses três resultados demonstraram que a cor dos olhos era carregada no cromossomo X e não no Y.

Humanos apresentam muitos caracteres ligados ao sexo

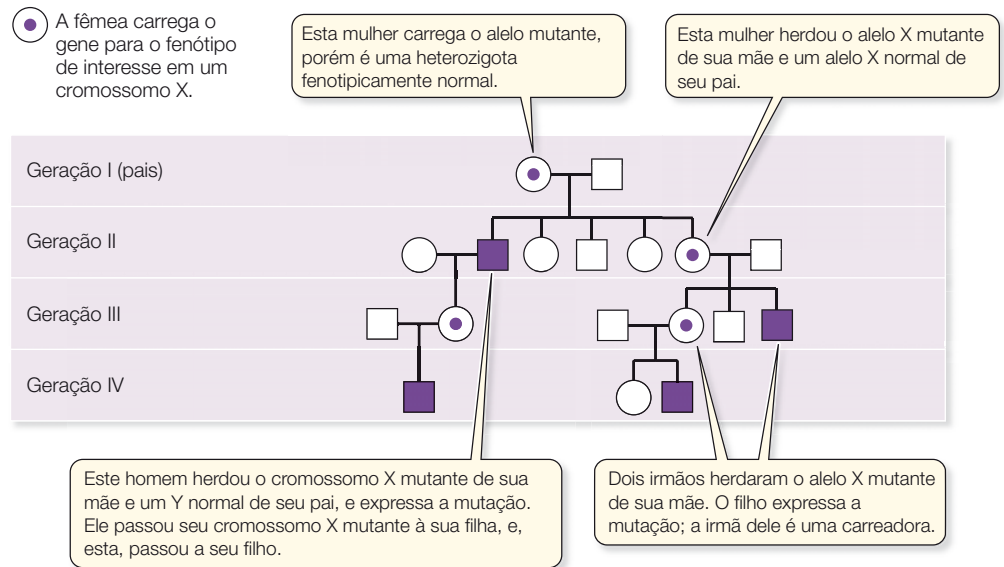
O cromossomo X humano carrega aproximadamente 2 mil genes conhecidos. Os alelos nesses loci seguem o mesmo padrão de herança daqueles descritos para os olhos brancos de *Drosophila*. Um gene no cromossomo X humano, por exemplo, apresenta um alelo recessivo mutante que leva ao daltonismo, desordem hereditária descrita no início deste capítulo. O daltonismo aparece em indivíduos homocigotos ou hemizigotos para o alelo recessivo mutante.

A análise da genealogia de fenótipos recessivos ligados ao X (Figura 10.24) revela os seguintes padrões:

- O fenótipo aparece de maneira mais frequente em machos do que em fêmeas, pois somente uma cópia do alelo raro é necessária para a sua expressão em machos, enquanto duas cópias devem estar presentes em fêmeas.
- Um macho com a mutação pode passá-lo somente a suas filhas; todos os seus filhos receberão o seu cromossomo Y.
- Filhas que receberam um cromossomo X mutante são **carreadoras** heterocigotas. Elas são fenotipicamente normais, porém podem passar o X mutante a ambos filhos e filhas (porém somente metade das vezes, em média, já que a metade de seus cromossomos X carregam o alelo normal).
- O fenótipo mutante pode pular uma geração se a mutação passar de um pai à sua filha (que será fenotipicamente normal), e, então, ao filho dela.

O daltonismo (ver p. 207) constitui um fenótipo recessivo ligado ao X, assim como diversas doenças humanas importantes. Mutações humanas herdadas como fenótipos dominantes ligados ao X são mais raras do que os recessivos, pois os fenótipos dominantes aparecem em todas as gerações e porque as pessoas que carregam a mutação prejudicial, mesmo quando heterocigotas, não sobrevivem ou não se reproduzem. (Verifique os quatro pontos descritos acima e tente determinar o que aconteceria se a mutação fosse dominante.)

Figura 10.24 O daltonismo é um traço ligado ao sexo em humanos O alelo mutante para o daltonismo é herdado como um alelo recessivo ligado ao X.



O pequeno cromossomo Y carrega várias dúzias de genes. Dentre eles está o determinante da masculinidade, *SRY*. De maneira interessante, para alguns genes no Y, existem genes similares, porém não idênticos, no X. Por exemplo, uma das proteínas que produz ribossomos é codificada por um gene no cromossomo Y expresso somente em células masculinas, enquanto a contraparte no X expressa-se em ambos os sexos. Isso significa que existem ribossomos “machos” e “fêmeas”; desconhece-se o significado deste fenômeno. Alelos ligados ao Y são passados somente de pai para filho. (Você pode verificar isso com um quadro de Punnett.)

10.4 RECAPITULAÇÃO

Razões Mendelianas simples não são observadas quando genes estão ligados no mesmo cromossomo. A ligação é indicada por frequências atípicas de gametas evidenciadas por meio da prole em um cruzamento-teste. A ligação ao sexo, em humanos, refere-se a genes no cromossomo X que não apresentam contraparte no Y.

- Você pode explicar o conceito de ligação e suas implicações para os resultados de cruzamentos genéticos? Ver p. 223 e Figuras 10.19 e 10.20.
- Como um gene ligado ao sexo se comporta de maneiras mais diversas em cruzamentos genéticos do que um gene em um cromossomo autossômico? Ver p. 226-227 e Figura 10.23.

Todos os genes que temos discutido neste capítulo estão no núcleo da célula. Porém outras organelas, incluindo mitocôndria e plastídeos, também carregam genes. Quais são e como são herdados?

10.5 Quais são os efeitos de genes localizados fora do núcleo?

O núcleo não é a única organela em uma célula eucariótica que carrega material genético. Conforme descrito na Seção 4.3, a mitocôndria e os plastídeos, que podem ter surgido de procariontes que colonizaram outras células, contêm pequenos números de genes. Por exemplo, em humanos, existem aproximadamente 24 mil genes no genoma nuclear e 37 no mitocondrial. Genomas de plastídeos são aproximadamente cinco vezes maiores do que os de mitocôndria. Em qualquer caso, diversos dos genes de organelas citoplasmáticas são importantes para a montagem e função de organelas, assim, não é surpresa que mutações nestes genes possam exercer profundos efeitos no organismo.

A herança de genes de organelas difere daquela de genes nucleares por diversas razões:

- Na maioria dos organismos, mitocôndria e plastídeos são herdados somente a partir da mãe. Conforme aprenderemos no Capítulo 49, óvulos contêm citoplasma abundante e organelas, porém a parte do espermatozoide que sobrevive na união de gametas haploides consiste no núcleo. Assim, você herdou a mitocôndria de sua mãe (com seus genes) e não de seu pai.
- Podem existir centenas de mitocôndrias ou plastídeos em uma célula. Assim, uma célula não é diploide para genes de organela; é, na verdade, altamente poliploide.
- Genes de organelas tendem a mutar em taxas mais rápidas do que genes nucleares, existindo, dessa forma, múltiplos alelos de genes de organela.

Os fenótipos de mutações no DNA de organelas refletem o papel dessas estruturas. Por exemplo, em plantas e alguns protistas fotossintéticos, determinadas mutações em genes de plastídeo afetam as proteínas que montam moléculas de clorofila em fotossistemas e resultam em um fenótipo essencialmente branco ao invés de verde. Mutações em genes mitocondriais que afetam um

dos complexos na cadeia de transporte de elétrons resultam em uma menor produção de ATP. Essas mutações apresentam efeitos consideráveis em tecidos com alta necessidade de energia, como o sistema nervoso, músculos e rins. Em 1995, Greg LeMond, ciclista profissional que ganhou o famoso *Tour* da França por três vezes, foi forçado a se aposentar em virtude de fraqueza muscular causada por uma mutação mitocondrial.

10.5 RECAPITULAÇÃO

Genes dos genomas de organelas, especificamente plástidos e mitocôndria, não se comportam de uma maneira mendeliana.

■ Você pode explicar por que genes carregados nos genomas de organelas são geralmente herdados somente da mãe?

RESUMO DO CAPÍTULO

10.1 Quais são as Leis Mendelianas de herança?

Aspectos físicos de organismos, ou **caracteres**, podem existir de diferentes formas, ou **traços**. **Traço herdável** é aquele que pode ser passado dos pais à prole. **Fenótipo** é a aparência física de um organismo; **Genótipo** é a constituição genética do organismo.

As diferentes formas de um **gene** chamam-se **alelos**. Organismos que possuem dois alelos idênticos para um traço denominam-se **homozigotos**; organismos que possuem dois alelos diferentes para um traço são chamados **heterozigotos**. Um gene reside em um local particular em cromossomos, chamado **lócus**.

Os experimentos de Mendel incluíram **cruzamentos recíprocos** e cruzamentos **monoíbridos** de plantas de ervilha geradas precisamente. A análise de seus dados meticulosamente tabulados levaram Mendel a propor uma **teoria da individualidade** de herança, que diz que unidades separadas (agora chamadas genes) são responsáveis pela herança de traços específicos, para a qual ambos pais contribuem.

A primeira lei de Mendel, a **lei da segregação**, diz que quando um indivíduo produz gametas, as duas cópias de um gene se separam, e, assim, cada gameta recebe somente um membro do par. Assim, todo indivíduo na geração F₁ herda uma cópia de cada pai. [Rever Figuras 10.4 e 10.5.](#)

Mendel utilizou um **cruzamento-teste** para saber se um indivíduo que apresenta um fenótipo dominante é homozigoto ou heterozigoto. [Rever Figura 10.6.](#)

O uso de **cruzamentos diíbridos** por Mendel a fim de estudar a herança de dois caracteres levou à sua segunda lei: a lei de segregação independente. A segregação independente de genes na meiose leva a fenótipos recombinantes. [Rever Figuras 10.7 e 10.8.](#)

Os cálculos de probabilidade e as **genealogias** auxiliam os geneticistas a seguirem os padrões de herança mendelianos. [Rever Figuras 10.9 e 10.10.](#)

10.2 Como os alelos interagem?

Novos alelos são obtidos por meio de **mutações** aleatórias. Muitos genes possuem múltiplos alelos. Um alelo **tipo selvagem** corresponde à forma predominante de um traço. Quando o alelo tipo selvagem encontra-se presente em um lócus em menos de 99% do tempo, o lócus denomina-se **polimórfico**. [Rever Figura 10.11.](#)

Na **dominância incompleta**, nenhum dos dois alelos é dominante. O fenótipo heterozigoto é intermediário entre os fenótipos homozigotos. [Rever Figura 10.12.](#)

A **codominância** existe quando dois alelos em um lócus produzem dois fenótipos diferentes e ambos aparecem em heterozigotos.

Um alelo que afeta mais de um traço denomina-se **pleiotrópico**.

10.3 Como os genes interagem?

Na **epistasia**, um gene afeta a expressão de um outro. [Rever Figura 10.14.](#)

Condições ambientais podem afetar a expressão de um genótipo.

A **penetrância** é a proporção de indivíduos em um grupo com um dado genótipo que apresentam o fenótipo esperado. A **expressividade** trata-se do grau com o qual o genótipo é expresso em um indivíduo.

A variação no fenótipo pode ser **qualitativa** (discreta) ou **quantitativa** (graduada, contínua). A maioria dos traços quantitativos resulta dos efeitos de diversos genes e o ambiente. Genes que, em conjunto, determinam caracteres quantitativos se chamam **loci de traço quantitativo**.

10.4 Qual é a relação entre genes e cromossomos?

Cada cromossomo carrega muitos genes. Genes no mesmo cromossomo são referidos como um **grupo de ligação**.

Genes no mesmo cromossomo podem recombinar por meio de permutação. Os cromossomos recombinantes resultantes apresentam novas combinações de alelos. [Rever Figuras 10.19 e 10.20](#)

Cromossomos sexuais carregam genes que determinam se um organismo produzirá gametas machos ou fêmeas. Todos os outros cromossomos se chamam **autossômicos**. As funções específicas dos cromossomos X e Y diferem entre os grupos de organismos.

A **determinação primária do sexo** em mamíferos é geralmente uma função da presença ou ausência do gene *SRY*. A **determinação secundária do sexo** resulta nas manifestações externas de masculinidade ou feminilidade.

Em moscas-das-frutas e mamíferos, o cromossomo X carrega muitos genes, porém o cromossomo Y apresenta poucos. Machos apresentam somente um alelo (**hemizigotos**) para genes ligados ao X, assim, alelos recessivos raros são fenotipicamente mais visíveis em machos do que em fêmeas. Fêmeas podem ser **carreadoras** não afetadas de tais alelos.

10.5 Quais são os efeitos de genes localizados fora do núcleo?

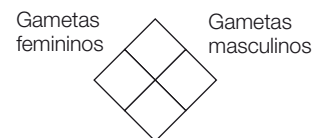
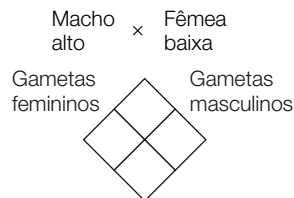
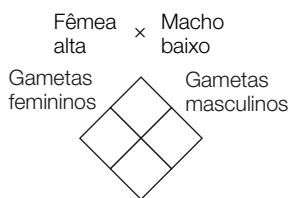
Organelas citoplasmáticas como plástidos e mitocôndria contêm pequenos números de genes. Em muitos organismos, genes citoplasmáticos são herdados somente a partir da mãe, pois gametas machos contribuem somente com seus núcleos (ou seja, nada de citoplasma) ao zigoto na fertilização.

QUESTÕES

- Em um cruzamento monófrido mendeliano simples, cruzam-se plantas altas com plantas baixas, e as plantas F_1 se autopolinizam. Qual fração da geração F_2 é tanto alta quanto heterozigota?
 - 1/8
 - 1/4
 - 1/3
 - 2/3
 - 1/2
- O fenótipo de um indivíduo:
 - Depende, no mínimo em parte, do genótipo.
 - É homozigoto ou heterozigoto.
 - Determina o genótipo.
 - É a constituição genética do organismo.
 - É monófrido ou dífrido.
- Os grupos sanguíneos ABO em humanos determinam-se por um sistema de alelos múltiplos no qual I^A e I^B são codominantes e dominantes em relação a i^O . Um recém-nascido é do tipo A. A mãe é do tipo O. Os possíveis genótipos do pai são:
 - A, B ou AB.
 - A, B ou O.
 - somente O.
 - A ou AB.
 - A ou O.
- Qual sentença não é verdadeira sobre um indivíduo homozigoto para um alelo?
 - Cada uma de suas células possui duas cópias do alelo.
 - Cada um de seus gametas contém uma cópia do alelo.
 - É puro em relação ao alelo.
 - Seus pais eram necessariamente homozigotos para o alelo.
 - Ele pode passar o alelo à sua prole.
- Qual das sentenças não é verdadeira sobre um cruzamento-teste?
 - Ele testa se um indivíduo desconhecido é homozigoto ou heterozigoto.
 - O indivíduo-teste é cruzado com um indivíduo homozigoto recessivo.
 - Se o indivíduo-teste é heterozigoto, a progênie apresentará uma razão de 1:1.
 - Se o indivíduo-teste é homozigoto, a progênie apresentará uma razão de 3:1.
 - Os resultados do cruzamento-teste são consistentes com o modelo de herança de Mendel.
- Genes ligados:
 - devem ser imediatamente adjacentes um ao outro em um cromossomo.
 - possuem alelos que segregam de maneira independente um do outro.
 - nunca realizam permutação.
 - estão no mesmo cromossomo.
 - sempre apresentam múltiplos alelos.
- Na geração F_2 de um cruzamento dífrido:
 - quatro fenótipos aparecem com razão de 9:3:3:1 se os loci estiverem ligados.
 - quatro fenótipos aparecem com razão de 9:3:3:1 se os loci não estiverem ligados.
 - dois fenótipos aparecem com razão de 3:1 se os loci não estiverem ligados.
 - três fenótipos aparecem com razão de 1:2:1 se os loci não estiverem ligados.
 - dois fenótipos aparecem com razão de 1:1 estando, ou não, os loci ligados.
- O sexo genético de um humano se determina:
 - ploidia, com o macho sendo haploide.
 - cromossomo Y.
 - cromossomos X e Y, o macho sendo XX.
 - número de cromossomos X, o macho sendo XO.
 - cromossomos Z e W, o macho sendo ZZ.
- Na epistasia
 - Nada muda de uma geração à outra.
 - Um gene altera o efeito de outro.
 - Uma porção de um cromossomo é deletada.
 - Uma porção de um cromossomo é invertida.
 - O comportamento de dois genes é inteiramente independente.
- Em humanos, dentes manchados são causados por um gene dominante ligado ao sexo. Um homem com dentes manchados, cuja mãe possui dentes normais, se casou com uma mulher com dentes normais. Assim,
 - todas as filhas deles terão dentes normais.
 - todas as filhas deles terão dentes manchados.
 - toda sua prole terá dentes manchados.
 - metade de seus filhos terão dentes manchados.
 - todos os filhos dele terão dentes manchados.

PROBLEMAS DE GENÉTICA

- Utilizando os quadros de Punnett abaixo, mostre o genótipo típico para os traços autossômicos dominante e recessivo, não importando qual pai contribui com o alelo dominante ou recessivo. Faça o cruzamento de plantas altas puras (TT) com plantas baixas puras (tt).
- Mostre no diagrama o que ocorre quando a prole F_1 do cruzamento na questão 1 se autopoliniza.



- Um novo estudante de genética suspeita que um traço recessivo em particular em moscas-das-frutas (asas curtas, que são um pouco menores e com forma mais de sino do que o tipo selvagem) liga-se ao sexo. Um único cruzamento entre uma mosca com asas curtas (dp ; fêmea) e uma mosca com asas do tipo selvagem (Dp ; macho) produz três fêmeas com asas curtas e dois machos com asas do tipo selvagem na geração F_1 . Com base nestes dados, o traço é ligado ao sexo ou autossômico? Quais são os genótipos dos parentais? Explique de que forma essas conclusões podem ser alcançadas com base em tão poucos dados.



4. A fotografia mostra 15 conchas de vieira-da-baía, *Argopecten irradians*. Essas conchas são hermafroditas; ou seja, um único indivíduo pode se reproduzir sexualmente, como verificado em plantas de ervilha da geração F_1 nos experimentos de Mendel. É evidenciado um esquema de três cores: amarelo, laranja, e preto-e-branco. O gene determinante da cor apresenta três alelos. A fileira superior mostra uma concha amarela e uma amostra representativa de sua prole, a fileira do meio mostra uma concha preto-e-branca e sua prole, e a fileira inferior mostra uma concha laranja e sua prole. Atribua um símbolo adequado para cada um dos três alelos que participam do controle da cor; então, determine o genótipo de cada um dos três indivíduos parentais e conte o que você sabe sobre os genótipos das diferentes proles. Explique seus resultados cuidadosamente.
5. O sexo de alguns peixes determina-se pelo mesmo sistema XY de humanos. Um alelo de um locus no cromossomo Y do peixe *Lebistes* causa uma pigmentação que aparece na nadadeira dorsal. Um peixe macho que apresenta uma nadadeira dorsal manchada é cruzado com uma fêmea que não apresenta a mancha. Descreva os fenótipos das gerações F_1 e F_2 desse cruzamento.
6. Em *Drosophila melanogaster*, o alelo recessivo *p*, quando em homozigose, determina olhos cor-de-rosa. *Pp* ou *PP* resultam na cor do olho tipo selvagem. Um outro gene, em um outro cromossomo, apresenta um alelo recessivo, *sw*, que produz asas curtas quando em homozigose. Considere um cruzamento entre fêmeas de genótipo *PPSwSw* e machos de genótipo *ppsww*. Descreva os fenótipos e genótipos da geração F_1 e da geração F_2 produzidas a partir do cruzamento das progênes F_1 .
7. No mesmo cromossomo de *Drosophila melanogaster* que carrega o locus *p* (olhos cor-de-rosa), existe outro locus que afeta as asas. Homozigotos recessivos, *byby*, apresentam asas com bolhas, enquanto o alelo dominante *By* produz asas do tipo selvagem. Os loci *P* e *By* encontram-se muito próximos no cromossomo; ou seja, os dois loci estão fortemente ligados. Ao responder as seguintes questões, considere que nenhuma permutação ocorreu.
- Para o cruzamento *PPByBy* x *ppbyby*, dar os fenótipos e genótipos da geração F_1 e da geração F_2 produzida pelo cruzamento da progênie F_1 .
 - Para o cruzamento *PPbyby* x *ppByBy*, dar os fenótipos e genótipos das gerações F_1 e F_2 .
 - Para o cruzamento da Questão 7b, quais fenótipos adicionais poderiam aparecer na geração F_2 se a permutação ocorresse.
 - Desenhe um núcleo que está sofrendo meiose no estágio em que a permutação (Questão 7c) ocorreu. Em qual geração (P , F_1 , ou F_2) esta permutação aconteceu?
8. Considere o seguinte cruzamento de *Drosophila melanogaster* (os alelos são descritos na Questão 6): Machos com genótipo *Ppswsw* são cruzados com fêmeas de genótipo *ppSwsw*. Descreva os fenótipos e genótipos da geração F_1 .
9. Em uma ave andalusa, um único par de alelos para um gene controla a cor das penas. Três cores são observadas: azul, preto e branco salpicado. Cruzamentos entre estes três tipos apresentam os seguintes resultados:

PAIS	PROGÊNIE
Preto x Azul	Azul e preto (1:1)
Preto x Branco manchado	Azul
Azul x Branco manchado	Azul e branco manchado (1:1)
Preto x Preto	Preto
Branco manchado x Branco manchado	Branco manchado

- Qual progênie resultaria do cruzamento azul x azul?
 - Se você quisesse vender ovos, todos apresentando penas azuis, de que forma deveria proceder?
10. Em *Drosophila melanogaster*, branco (*w*), eosino (*w^e*) e vermelho tipo selvagem (*w⁺*) são múltiplos alelos em um único locus para a cor do olho. Este locus está no cromossomo X. Uma fêmea que apresenta olhos eosinos (laranja-claro) é cruzada com um macho que tem olhos do tipo selvagem. Todas as fêmeas da progênie têm olhos vermelhos; metade dos machos da prole apresenta olhos eosinos e metade deles olhos brancos.
- Qual a ordem de dominância desses alelos?
 - Quais são os genótipos dos pais e da progênie?
11. O daltonismo é um traço recessivo. Duas pessoas com visão normal têm dois filhos do sexo masculino, um com daltonismo e outro com visão normal. Se o casal tivesse filhas, qual a proporção destas apresentarem visão normal? Explique.
12. Um camundongo com pelagem aguti é cruzado com outro camundongo albino de genótipo *aabb*. Metade dos descendentes é albino, um quarto é preto e um quarto aguti. Quais são os genótipos dos parentais aguti e dos vários descendentes? (Dica: veja a seção sobre epistasia.)
13. A doença neuropática de Leber é causada por uma mutação em um gene carregado no DNA mitocondrial. Qual seria o fenótipo do primeiro descendente se um homem com essa doença se casasse com uma mulher normal? Qual seria o resultado se a esposa tivesse a doença e o marido não?

PARA INVESTIGAÇÃO

Algumas vezes os cientistas têm sorte. Considere o cruzamento diíbrido de Mendel (ver Figura 10.7). As ervilhas apresentam um número haploide de sete cromossomos, e, assim, muitos de seus genes estão ligados. Qual seriam os resultados de Mendel se os genes para a cor e forma das semen-

tes estivessem ligados com uma distância de dez unidades de mapa? Agora, considere as moscas-das-frutas de Morgan (ver Figura 10.21). Suponha que os genes para cor do corpo e forma da asa não estejam ligados. Quais os resultados que Morgan teria obtido?

Uma estrutura para os nossos tempos

No romance de Michael Crichton *O Parque dos Dinossauros* (*Jurassic Park*) e no filme homônimo, cientistas fictícios foram representados utilizando a biotecnologia a fim de produzir dinossauros vivos para exposição em um parque temático. Na história, os cientistas isolaram o DNA dos dinossauros a partir de insetos fossilizados que haviam sugado o sangue dos répteis. Esses insetos, mantidos intactos em âmbar (resina de árvore fossilizada), resultaram em DNA que poderia ser utilizado para produzir indivíduos vivos de organismos extintos há muito tempo, como o *Tyrannosaurus rex*.

A premissa da obra de Crichton baseou-se em um artigo científico real que afirmava ter encontrado sequências de DNA de réptil em um inseto fóssil. Infelizmente, o artigo científico não se sustentou; o DNA “preservado” era, na verdade, fruto da contaminação por organismos modernos.

Apesar de a preservação de DNA intacto por milhões de anos ser altamente improvável, o sucesso popular de *Jurassic Park* trouxe a ideia do DNA como ma-

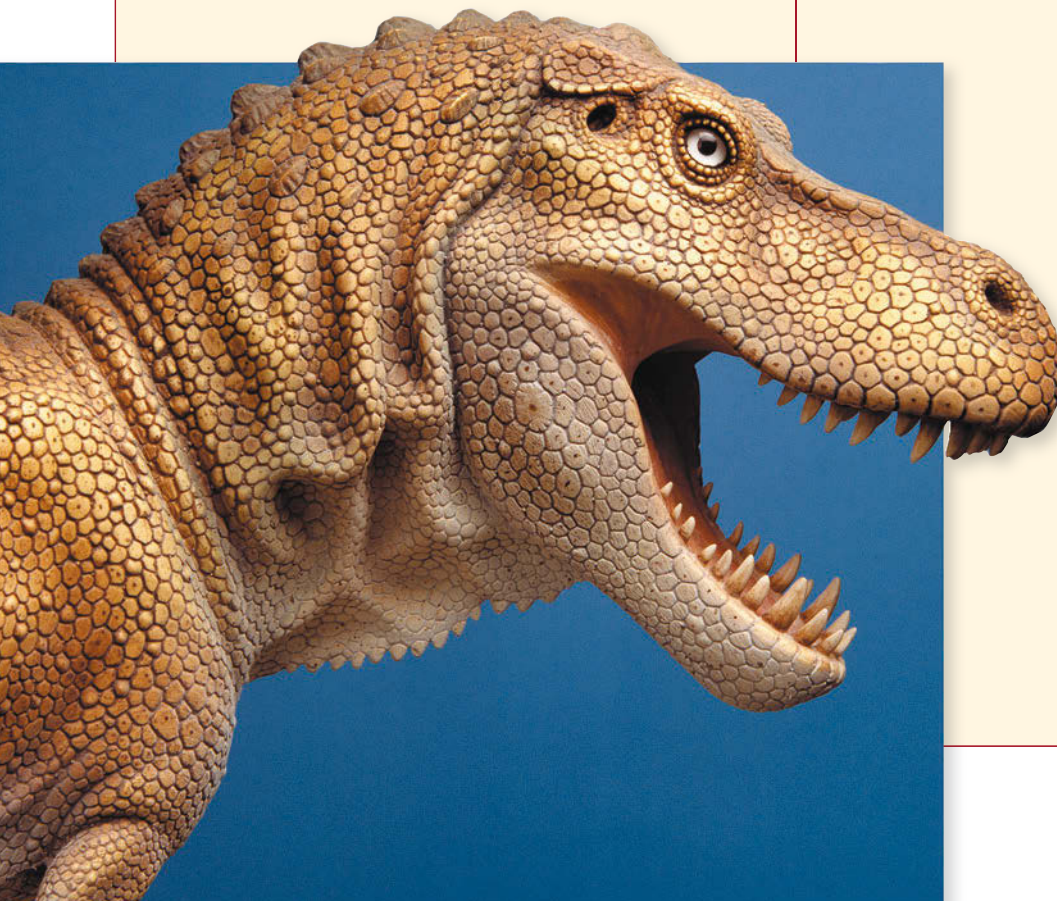
terial genético para milhões de leitores e espectadores. Inclusive, mesmo antes do livro e do filme, a imagem da dupla-hélice de DNA já se constituía em um ícone familiar e mundano.

A dupla-hélice foi primeiramente proposta por James Watson e Francis Crick em um pequeno artigo no jornal científico *Nature*. Uma representação da estrutura feita pela esposa de Crick, Odile, acompanhou o artigo. Sua simplicidade e elegância o tornaram um sucesso instantâneo, não somente para os cientistas, mas para o público em geral. Como Watson afirmaria mais tarde, “Uma estrutura tão bonita simplesmente tinha que existir”.

O ácido desoxirribonucleico – DNA – e a sua estrutura em dupla-hélice tornaram-se um dos maiores símbolos da ciência da nossa era. Ele não é apenas manchete nas capas de revistas informativas como o “segredo da vida”, mas passou da obscuridade acadêmica para a conversa coloquial. Alguém pode encontrar propagandas de uma empresa cujos clientes se encontram “dentro do DNA dos negócios.” Um perfume leva o nome “DNA”, e a sua propaganda é “A Essência da Vida”. Um sistema de *software* de mídia digital chama-se “Servidor DNA”.

Essa não é primeira vez que um símbolo poderoso surge da ciência. Pense no cogumelo atômico de uma explosão nuclear e o modelo de Bohr do átomo, com os seus elétrons zunindo ao redor do núcleo. Salvador Dalí foi o primeiro artista conhecido a usar a dupla-hélice de DNA em

Ressurreição do Rex Cientistas e artistas têm criado reconstruções inanimadas de dinossauros por mais de 100 anos. O livro *Jurassic Park*, de Michael Crichton, baseou-se na premissa fictícia de que o DNA retirado de fósseis poderia produzir dinossauros vivos como o *Tyrannosaurus rex*.





DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 11.1** Qual a evidência de que o gene é DNA?
- 11.2** Qual é a estrutura do DNA?
- 11.3** Como o DNA é replicado?
- 11.4** Como os erros no DNA são reparados?
- 11.5** Como são algumas das aplicações de nosso conhecimento da estrutura do DNA e da replicação?

Ornamentada com DNA A dupla-hélice de DNA tornou-se um ícone da ciência e da cultura modernas. Artistas e designers utilizam de várias maneiras esta forma amplamente reconhecida.

suas criações extravagantes. Um retrato de Sir John Sulston, geneticista vencedor do prêmio Nobel, é feito de pequenas colônias bacterianas, cada uma com um pedaço do DNA de Sulston. O artista brasileiro Eduardo Kac traduziu uma frase da Bíblia em uma sequência de bases nucleotídicas de DNA e a incorporou em uma bactéria. O espectador pode ligar uma lâmpada ultravioleta e alterar a sequência de DNA e o versículo bíblico que ela representa. Existem inúmeras esculturas de DNA, e joias feitas com motivos dupla-hélice se chamam coleção “fitas da vida”.

Mas não é somente a estrutura do DNA que instiga a nossa sociedade. É o que ela simboliza: nada menos do que as promessas e os perigos de nossa rápida expansão de conhecimento sobre a genética.

NESTE CAPÍTULO descrevemos primeiramente os experimentos-chave que levaram à determinação de que o material genético é o DNA. Descrevemos, então, a estrutura da molécula de DNA e como ela determina a sua função. Após, são abordados os processos pelos quais o DNA é replicado, reparado e mantido. Finalmente, apresentamos duas aplicações práticas que surgiram do conhecimento sobre a replicação do DNA: a reação em cadeia da polimerase e o sequenciamento de DNA.

11.1 Qual a evidência de que o gene é DNA?

No início do século XX, os geneticistas haviam associado à presença dos genes aos cromossomos. A pesquisa começou a focalizar-se em exatamente quais os componentes dos cromossomos representam este material genético.

Nos anos 1920, os cientistas sabiam que os cromossomos eram feitos de DNA e proteínas. Nessa época havia sido desenvolvido um novo corante, que podia ligar-se especificamente com o DNA e que se tornava vermelho na proporção direta da quantidade de DNA presente na célula. Essa técnica forneceu evidências circunstanciais de que o DNA era o material genético, pois:

- *Estava no lugar certo.* Foi confirmado que o DNA era um componente importante do núcleo e dos cromossomos, que se sabia carregavam genes.
- *Variava entre as espécies.* Quando as células de espécies diferentes foram coradas com o corante e a sua intensidade de coloração foi medida, cada espécie mostrou possuir uma quantidade própria e específica de DNA nuclear.
- *Estava presente nas quantidades corretas.* A quantidade de DNA nas células somáticas (células do corpo não especializadas para reprodução) correspondia ao dobro do que a das células reprodutivas (óvulo e esperma) – como esperado para células diploides e haploides, respectivamente.

Mas evidências circunstanciais *não* consistem em uma demonstração científica de causa e efeito. Afinal, proteínas também encontram-se presentes nos núcleos celulares. A ciência baseia-se em experimentos para testar hipóteses. A demonstração convincente de que o DNA é o material genético veio de dois conjuntos de experimentos, um sobre bactérias e outro sobre vírus.

O DNA de um tipo de bactéria transforma geneticamente outro tipo

A história da biologia é cheia de incidentes em que a pesquisa em um tópico específico – respondendo ou não à questão original – contribuiu grandemente para outra área, aparentemente não relacionada. Um desses felizes acasos ocorreu no trabalho de Frederick Griffith, um médico inglês.

Nos anos 1920, Griffith estudava a bactéria *Streptococcus pneumoniae*, ou pneumococo, um dos agentes que causa pneumonia em humanos. Ele estava tentando desenvolver uma vacina contra essa devastadora doença (antibióticos ainda não haviam sido descobertos). Griffith trabalhava com duas linhagens de pneumococos:

- Células da cepa S produziam colônias com aparência lisa (L). Cobertas por uma cápsula de polissacarídeo, estas células estavam protegidas do ataque do sistema imune hospedeiro. Quando células S eram injetadas em camundongos, reproduziam-se e causavam pneumonia (a cepa era *virulenta*).
- Células da cepa R produziam colônias com aparência rugosa (R) e não possuíam a cápsula protetora nem eram virulentas.

Griffith inoculou alguns camundongos com pneumococos S mortos por calor. Essas bactérias mortas por calor não produziram infecção. Entretanto, quando Griffith inoculou outros camundongos com uma mistura de bactérias R vivas e bactérias S mortas por calor, para sua surpresa, os camundongos morreram por pneumonia (**Figura 11.1**). Quando examinou o sangue do coração dessas cobaias, encontrou-as cheias de bactérias vivas – muitas delas com as características da cepa virulenta S! Griffith concluiu que, na presença dos pneumococos S mortos, alguns dos pneumococos R haviam sido transformados em organismos da cepa virulenta S.

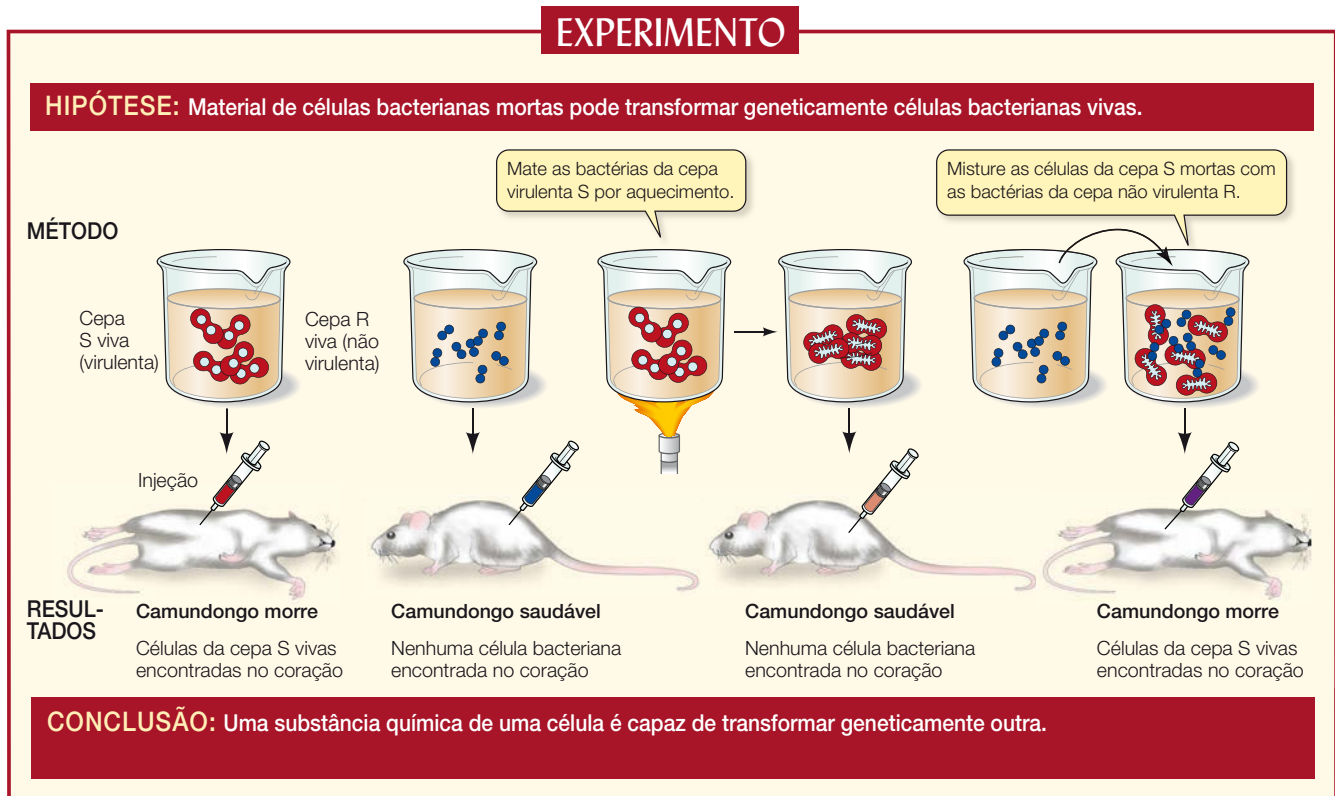
Essa transformação da bactéria dependia de algo que aconteceu no corpo do camundongo? Não. Mostrou-se que simplesmente incubando bactérias R vivas e S mortas por calor juntas em um tubo teste produzia-se a mesma transformação. Anos mais tarde, outro grupo de cientistas descobriu que um

extrato acelular de células S mortas por calor também transformava as células R. (Um *extrato acelular* contém todos os componentes das células rompidas, mas nenhuma célula intacta.) Esse resultado demonstrou que alguma substância – chamada então de **princípio transformante** químico – dos pneumococos S mortos poderia causar uma mudança herdável nas células R afetadas. Essa descoberta foi extraordinária: o tratamento com uma substância química alterou permanentemente uma característica herdável. Agora faltava identificar a estrutura química dessa substância.

O princípio transformante é o DNA

A identificação do princípio transformante foi um passo decisivo na história da biologia. Ela foi obtida após um período de vários anos por Oswald T. Avery e colaboradores onde hoje encontra-se a Universidade Rockefeller. Eles trataram amostras que sabidamente continham o princípio transformante de várias maneiras com o objetivo de destruir diferentes tipos de moléculas – proteínas, ácidos nucleicos, carboidratos e lipídeos – e testaram as amostras tratadas a fim de verificar se retinham a atividade de transformação.

Figura 11.1 Transformação genética de pneumococos não virulentos Os experimentos de Frederick Griffith demonstraram que alguma coisa na cepa S virulenta poderia transformar a cepa bacteriana R não virulenta em uma forma letal, mesmo quando a bactéria da cepa S foi morta por altas temperaturas. **PESQUISA ADICIONAL:** De que forma você poderia mostrar que a bactéria da cepa R morta por calor pode transformar bactérias vivas da cepa S?



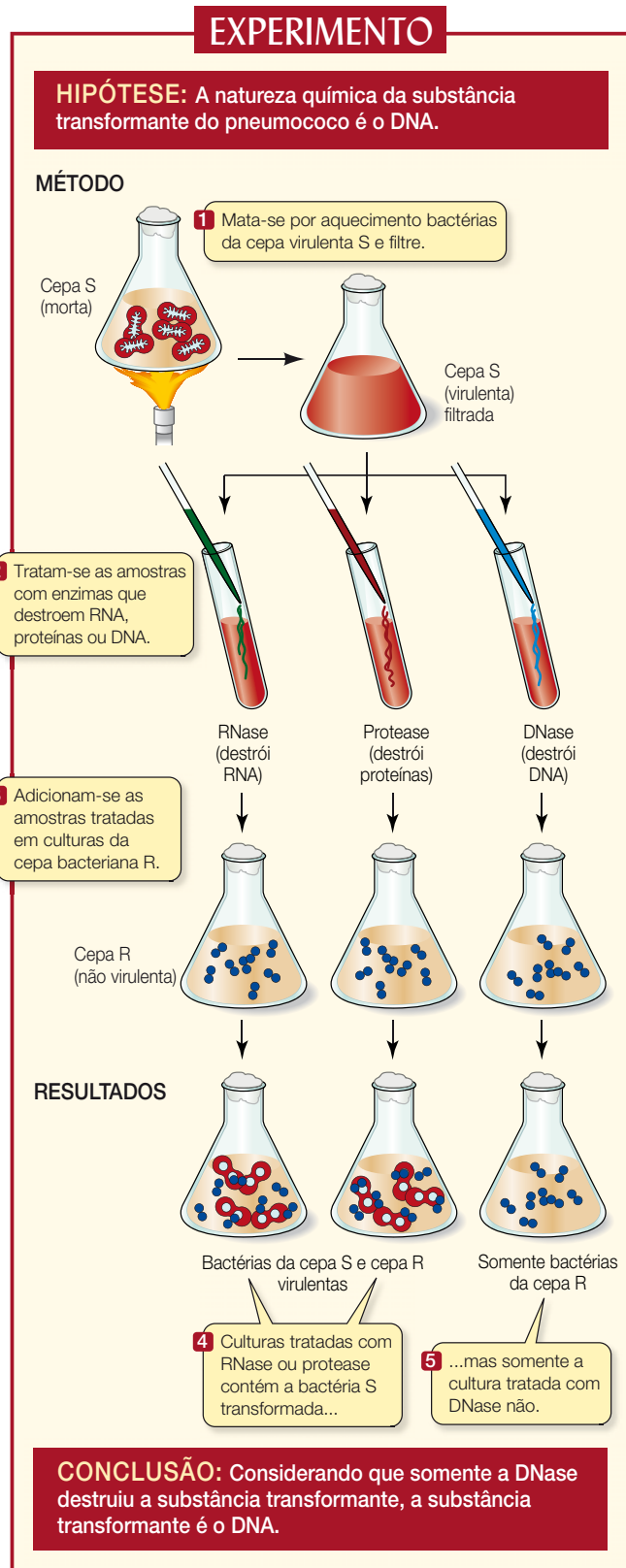


Figura 11.2 Transformação genética pelo DNA Experimentos de Avery, MacLeod e McCarty mostraram que o DNA de pneumococos da cepa virulenta S eram responsáveis pela transformação nos experimentos de Griffith (veja a Figura 11.1).

A resposta foi sempre a mesma: se o DNA da amostra era destruído, a atividade transformante era perdida, mas não havia perda de atividade quando proteínas, carboidratos ou lipídeos eram destruídos (Figura 11.2). Como comprovação final, Avery, juntamente com Colin MacLeod e Maclyn McCarty, isolaram DNA virtualmente puro de uma amostra contendo o princípio transformante de pneumococos e demonstraram que esse causava a transformação bacteriana. (Agora sabemos que o gene codificante para a enzima que catalisa a síntese da cápsula do polissacarídeo pneumocócico se transferiu durante a transformação.)

O trabalho de Avery, MacLeod e McCarty marcou o estabelecimento de que o DNA é o material genético das células. Entretanto, quando foi primeiramente publicado (em 1944), teve impacto muito pequeno na época, por duas razões. Primeiro, a maioria dos cientistas não acreditava que o DNA fosse quimicamente complexo o suficiente para ser o material genético, especialmente quando comparado com a grande complexidade química das proteínas. Segundo, e talvez mais importante, a genética bacteriana era um campo novo de estudo – ainda não estava claro mesmo se as bactérias possuíam genes.

Experimentos com replicação viral confirmam que o DNA é o material genético

As questões a respeito das bactérias foram rapidamente resolvidas assim que os pesquisadores identificaram os genes e as mutações. Bactérias e vírus pareciam sofrer processos genéticos semelhantes aos das moscas-das-frutas e das ervilhas. Experimentos com esses sistemas relativamente simples foram planejados para descobrir a natureza do material genético.

Em 1952, Alfred Hershey e Martha Chase, do Carnegie Laboratory of Genetics, publicaram um trabalho que teve impacto imediato muito maior que o artigo de Avery em 1944. O experimento de Hershey-Chase, que procurou determinar se o material genético era DNA ou proteína, realizou-se com um vírus que infecta bactérias. Esse vírus, chamado de bacteriófago T2, consiste em um pouco mais do que uma região central de DNA empacotada dentro de uma cápsula proteica (Figura 11.3). O vírus é, portanto, composto por dois materiais que eram, naquele tempo, os candidatos principais de corresponderem ao material genético.

Quando um bacteriófago T2 ataca uma bactéria, parte do (mas não todo) vírus entra na célula bacteriana. Cerca de 20 minutos mais tarde a célula rompe-se, liberando dúzias de vírus. Claramente o vírus consegue de alguma forma replicar-se dentro da bactéria. Hershey e Chase deduziram que a entrada de algum componente viral afeta o programa genético da célula bacteriana hospedeira, transformando-a em uma fábrica de bacteriófagos. Propuseram-se a determinar qual parte do vírus – proteína ou DNA – entrava na célula bacteriana. Para rastrear esses dois componentes durante o ciclo de vida do vírus, Hershey e Chase marcaram cada componente com um radioisótopo específico:

- As proteínas possuem um pouco de *enxofre* (nos aminoácidos cisteína e metionina), elemento ausente no DNA. O enxofre possui um isótopo radioativo, o ^{35}S . Hershey e Chase cultivaram o bacteriófago T2 em uma cultura bacteriana na presença de ^{35}S ; dessa forma, as proteínas dos vírus produzidos ficaram marcadas com o radioisótopo.
- O “esqueleto” de desoxirribose-fosfato do DNA é rico em *fósforo* (veja a Figura 3.24), elemento ausente na maioria das proteínas. O fósforo também possui um isótopo radioativo, o ^{32}P . Os pesquisadores cultivaram outra vez o T2 em uma cultura bacteriana na presença do ^{32}P , marcando, dessa forma, o DNA viral com ^{32}P .

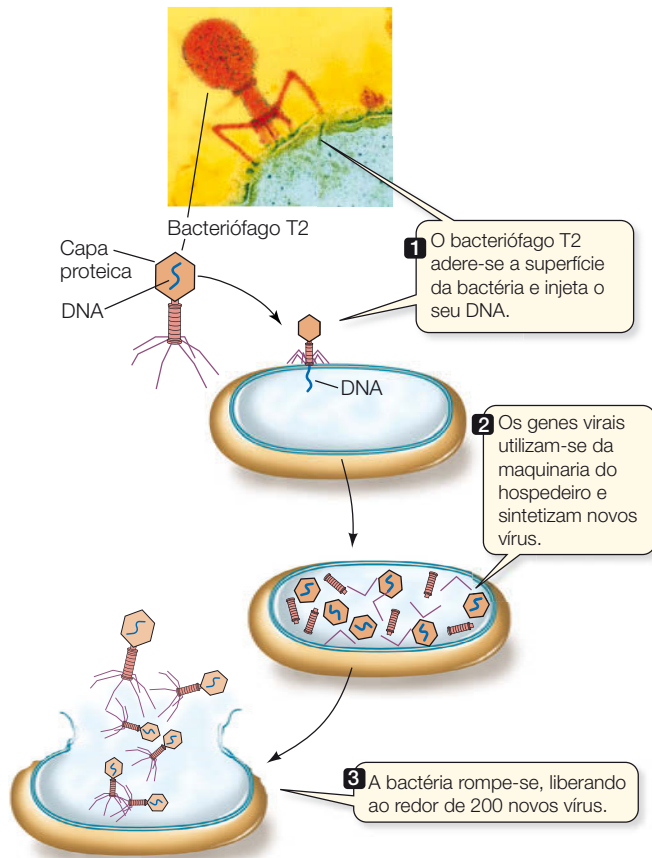


Figura 11.3 Bacteriófago T2: ciclo reprodutivo O bacteriófago T2 é parasita de *E. coli*, dependendo da bactéria para produzir novos vírus. As estruturas externas do bacteriófago T2 consistem inteiramente em proteína; o seu DNA é injetado dentro da bactéria hospedeira.

Usando esses vírus marcados radioativamente, Hershey e Chase fizeram seus esclarecedores experimentos (Figura 11.4). Em um experimento, eles deixaram bacteriófagos marcados com ^{32}P infectarem bactérias; em outro, as bactérias foram infectadas por bacteriófagos marcados com ^{35}S . Depois de poucos minutos, agitaram vigorosamente cada mistura de bactérias infectadas em um liquidificador de cozinha, que (sem romper as bactérias) destruiu as partes dos vírus que não penetraram nas bactérias. Então separaram as bactérias do resto do material usando uma *centrífuga*. Girar soluções ou suspensões em alta velocidade em uma centrífuga induz solutos ou partículas a separarem-se e formarem um gradiente de acordo com a sua densidade. Os vírus remanescentes mais leves (aquelas partes que não penetraram nas bactérias) foram resgatados no fluido sobrenadante, enquanto as células bacterianas mais pesadas segregaram-se em um "precipitado" no fundo do recipiente. Os cientistas descobriram que o fluido sobrenadante continha a maioria do ^{35}S (e, dessa forma, as proteínas virais), enquanto a maioria do ^{32}P (e, assim, o DNA viral) havia ficado com as bactérias. Esses resultados sugeriram que era o DNA que havia sido transferido para a bactéria e, portanto, o DNA era o composto responsável por redirecionar o programa genético da célula bacteriana.

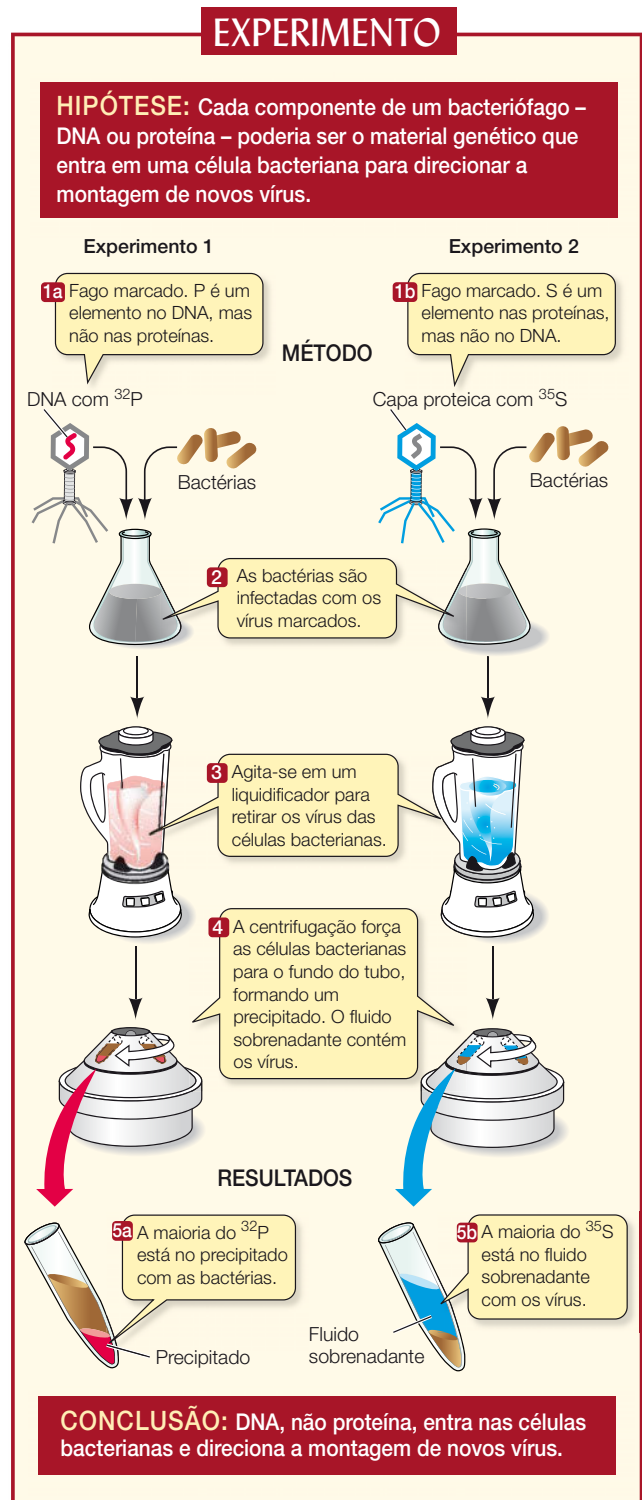


Figura 11.4 O experimento de Hershey-Chase Este experimento clássico demonstra que o DNA, e não proteína, constitui o material genético. Quando as células bacterianas são injetadas com o bacteriófago T2 radiomarcado, somente o DNA marcado foi encontrado nas bactérias; a proteína marcada permaneceu no material viral.

Hershey e Chase realizaram outros ensaios semelhantes, porém mais longos, permitindo que uma geração de descendentes (filhos) do vírus fosse coletada. Os vírus resultantes não continham quase nada do ^{35}S original e nada das proteínas virais parentais. Todavia, continham aproximadamente um terço do ^{32}P original – e então, presumivelmente, um terço do DNA original. O DNA do vírus passou de geração em geração, mas a proteína não; por isso, a conclusão lógica foi a de que a informação hereditária do vírus estava contida no DNA.

Células eucarióticas também podem ser transformadas geneticamente por DNA

Com a publicação das evidências do DNA como material genético em bactérias e vírus, a questão que surgia era se o DNA se mostraria, de maneira semelhante, o material genético de eucariotos complexos. Alguns experimentos simples, como injetar em um pato branco o DNA de um pato marrom e anunciar que o receptor tornara-se marrom, ou alimentar vermes chatos com DNA de vermes que aprenderam uma tarefa simples e observar que os receptores imediatamente tornaram-se mais espertos, foram divulgados, mas os resultados eram dúbios, pois ninguém conseguia repeti-los. Não seria possível para uma grande molécula como o DNA entrar em todas as células do corpo, e muito menos evitar a sua hidrólise em nucleotídeos pelo sistema digestivo.

Entretanto, a transformação genética de células eucarióticas pelo DNA (chamada de **transfecção**) *pode* ser demonstrada. A chave é usar um **marcador** genético, gene cuja presença na célula receptora confere um fenótipo observável. Nos experimentos com pneumococos, esses fenótipos eram cápsulas polissacarídicas lisas e virulência. Em eucariotos, os pesquisadores normalmente usam um gene marcador nutricional ou de resistência a antibióticos que permite o crescimento das células recipientes transformadas. Por exemplo, na ausência do gene que codifica para a timidina-quinase, uma enzima necessária para a utilização da timidina, as células de mamíferos não crescem. Quando DNA contendo o gene marcador da timidina-quinase é adicionado a uma cultura de células de mamíferos que não possuem este gene, entretanto, algumas células irão crescer, demonstrando que haviam sido transfectadas com o gene (**Figura 11.5**). Qualquer célula pode ser transfectada dessa forma, até mesmo um óvulo. Nesse caso, um novo organismo geneticamente transformado pode ser formado; tal organismo é referido como *transgênico*. A transformação em eucariotos consiste na linha final de evidências indicando o DNA como o material genético.

11.1 RECAPITULAÇÃO

Experimentos em bactérias e vírus demonstraram que o DNA é o material genético.

- Na época dos experimentos de Griffith nos anos 1920, qual evidência circunstancial sugeria aos cientistas que o DNA poderia ser o material genético? Ver p. 233.
- Por que os experimentos de Avery, Mcleod e McCarty representaram a evidência definitiva de que o DNA era o material genético? Ver p. 234-235 e Figura 11.2.
- Quais atributos do bacteriófago T2 eram as chaves para os experimentos de Hershey-Chase demonstrarem que o DNA é o material genético? Ver p. 235-236 e a Figura 11.4.

Assim que os cientistas se convenceram de que o material genético era o DNA, iniciaram esforços para desvendar a sua estrutura química tridimensional. Na determinação da estrutura do DNA, esperavam encontrar respostas para duas questões: como o DNA era replicado entre as divisões nucleares e como direcionava a síntese de proteínas específicas? Ao final, foram capazes de responder as duas questões.

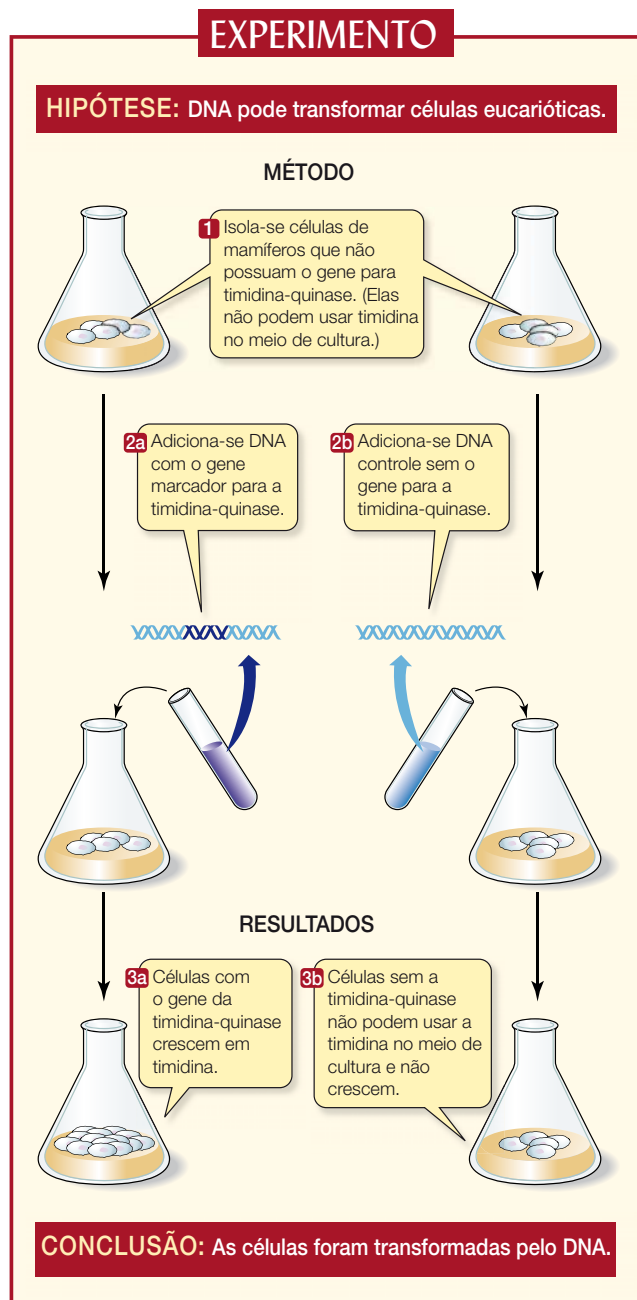


Figura 11.5 Transfecção nas células eucarióticas O uso de um gene marcador demonstra que as células de mamíferos podem ser geneticamente transformadas pelo DNA.

11.2 Qual é a estrutura do DNA?

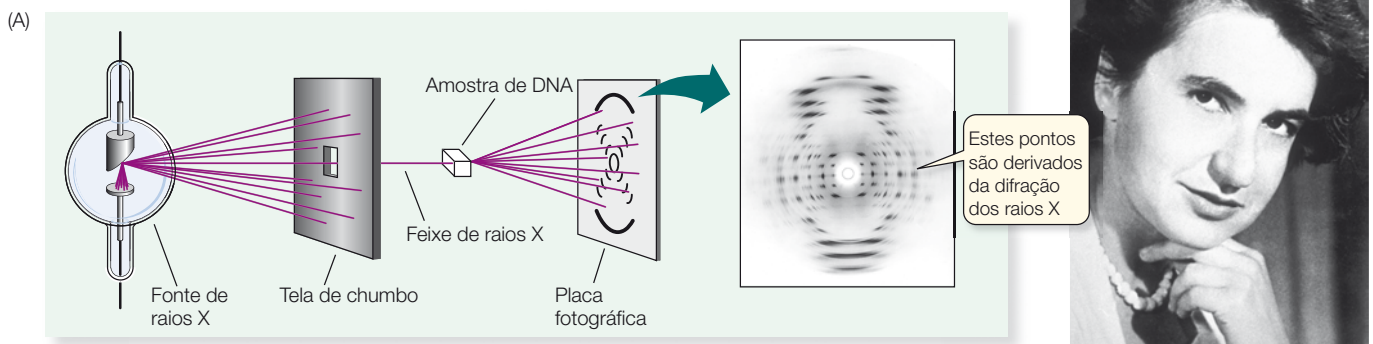
A estrutura do DNA foi decifrada somente após a análise conjunta de muitos tipos de evidências experimentais e considerações teóricas. A evidência crucial foi obtida por *cristalografia de raios X*. Algumas substâncias, quando isoladas e purificadas, podem ser induzidas a formarem cristais. As posições dos átomos em uma substância cristalizada podem ser inferidas a partir do padrão de difração de raios X que a atravessam (**Figura 11.6A**). A tentativa de caracterizar o DNA teria sido impossível sem as cristalografias preparadas no início dos anos 1950 pela química inglesa Rosalind Franklin (**Figura 11.6B**). O trabalho de Franklin, por sua vez, dependeu do sucesso do biofísico inglês Maurice Wilkins, que preparou uma amostra contendo fibras de DNA uniformemente orientadas. Essas preparações de DNA forneceram amostras para difração melhores que as anteriores, e as cristalografias que Franklin preparou a partir dessas amostras sugeriram uma molécula espiral ou helicoidal.

A composição química do DNA era conhecida

A composição química do DNA também proporcionou indícios importantes sobre a sua estrutura. Os bioquímicos sabiam que o DNA consistia em um polímero de *nucleotídeos*. Cada nucleotídeo de DNA consiste em uma molécula do açúcar desoxirribose, um grupo fosfato e uma base nitrogenada (Figuras 3.23 e 3.24). As únicas diferenças entre os quatro nucleotídeos de DNA são as suas bases nitrogenadas: as purinas – **adenina (A)** e **guanina (G)** – e as pirimidinas – **citosina (C)** e **timina (T)**.

Em 1950, Erwin Chargaff, na Universidade de Columbia, relatou algumas observações de grande importância. Ele e seus colaboradores estabeleceram que o DNA de espécies distintas – e de origem diferente em um mesmo organismo – exibia certas regularidades. Em quase todo DNA são válidas as seguintes regras: a quantidade de adenina igual à de timina ($A=T$), e a quantidade de guanina é a mesma da citosina ($G=C$) (**Figura 11.7**). Como

Figura 11.6 A cristalografia de raios X auxiliou a desvendar a estrutura do DNA (A) As posições dos átomos em uma substância química cristalizada podem ser inferidas pelo padrão de difração dos raios X que a atravessam. O padrão do DNA é tanto altamente regular como repetitivo. (B) A cristalografia de Rosalind Franklin auxiliou os cientistas a visualizarem a estrutura helicoidal da molécula de DNA.



resultado, o total de purinas é igual ao total de pirimidinas. A estrutura do DNA não se elucidaria sem essa informação, conhecida hoje como *regra de Chargaff*, ainda que seu significado tenha sido negligenciado por pelo menos três anos.

Watson e Crick descreveram a dupla hélice

A solução para o quebra-cabeça da estrutura do DNA acelerou-se pela técnica de *construção do modelo*: representações montadas em três dimensões de possíveis estruturas moleculares usando dimensões moleculares relativas conhecidas e ângulos de ligação conhecidos. Essa técnica, originalmente explorada em estudos estruturais pelo químico americano Linus Pauling, foi usada pelo físico inglês Francis Crick e pelo geneticista americano James D. Watson (**Figura 11.8A**), ambos então no Laboratório Cavendish da Universidade de Cambridge.

Watson e Crick tentaram combinar tudo que se sabia até o momento sobre a estrutura do DNA em um modelo único e coerente. Os resultados da cristalografia (ver a Figura 11.6) convenceram Watson e Crick de que a molécula de DNA é **helicoidal** (cilindricamente espiral). Os resultados das medidas de densidade e os modelos construídos anteriormente sugeriram que havia duas cadeias de polinucleotídeos na molécula. Os estudos de modelos também levaram à conclusão de que as duas cadeias no DNA corriam em direções opostas – isto é, são **antiparalelas** (**Figura 11.8B**).

Em 1952, o bioquímico americano Linus Pauling também trabalhava para desvendar a estrutura molecular do DNA. Tentou viajar para um encontro em Londres, onde esperava convencer os pesquisadores ingleses a permitirem-no ver as suas cristalografias. Entretanto, o Departamento de Estado dos Estados Unidos revogou o passaporte de Pauling baseado em sua postura perante a Guerra da Coreia.

No final de fevereiro de 1953, Crick e Watson construíram um modelo que estabeleceu a estrutura geral do DNA. Essa estrutura explicou todas as propriedades químicas do DNA e abriu a porta para o entendimento de suas funções biológicas. Têm sido feitas pequenas correções nessa estrutura publicada primeiramente, mas as suas características principais permanecem inalteradas.

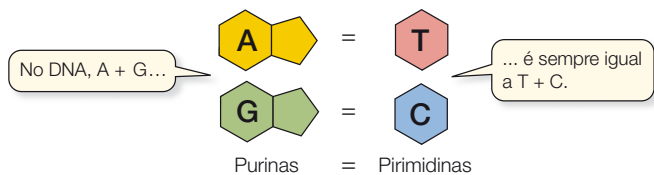


Figura 11.7 Regra de Chargaff No DNA, o número total de purinas é igual ao número total de pirimidinas.

Quatro aspectos principais definem a estrutura do DNA

Quatro características resumem a arquitetura molecular da molécula de DNA:

- É uma *dupla-hélice* de diâmetro uniforme.
- É *destra*. (Segure a sua mão direita com o polegar apontando para cima – o eixo da hélice – e os dedos curvados ao redor – o esqueleto de açúcar-fosfato – e você pode ter uma ideia.)
- É *antiparalela* (as duas fitas correm em direções opostas).
- Os limites externos das bases nitrogenadas estão *expostos* nos sulcos maior e menor.

A HÉLICE Os “esqueletos” de açúcar-fosfato das cadeias polinucleotídicas se enrolam para o lado de fora da hélice e as bases nitrogenadas estão voltadas para o centro. As duas cadeias estão unidas por ligações de hidrogênio entre bases pareadas especificamente (**Figura 11.9**). Consistente com a regra de Chargaff,

- Adenina (A) pareia com timina (T) pela formação de duas pontes de hidrogênio.
- Guanina (G) pareia com a citosina (C) pela formação de três pontes de hidrogênio.

Cada *par de bases* consiste em uma purina (A ou G) e uma pirimidina (C ou T). Esse padrão denomina-se **pareamento complementar de bases**.

Devido aos pares AT e GC possuírem tamanhos iguais, encaixam-se em uma distância fixa entre as duas cadeias (como degraus em uma escada) e o diâmetro da hélice é, portanto, uniforme. Os pares de base são achatados, e seu empilhamento no centro da molécula é estabilizado por interações hidrofóbicas (veja a Seção 2.2), contribuindo para a estabilidade geral da dupla-hélice.

FITAS ANTIPARALELAS O que significa dizer que as duas fitas de DNA são *antiparalelas*? A direção de cada fita é determinada pela identificação das ligações entre os grupamentos fosfatos e açúcares alternados que compõem os esqueletos de cada fita. Repare especificamente as moléculas de açúcar de cinco carbonos (desoxirribose) na Figura 11.9, o número seguido por um após-

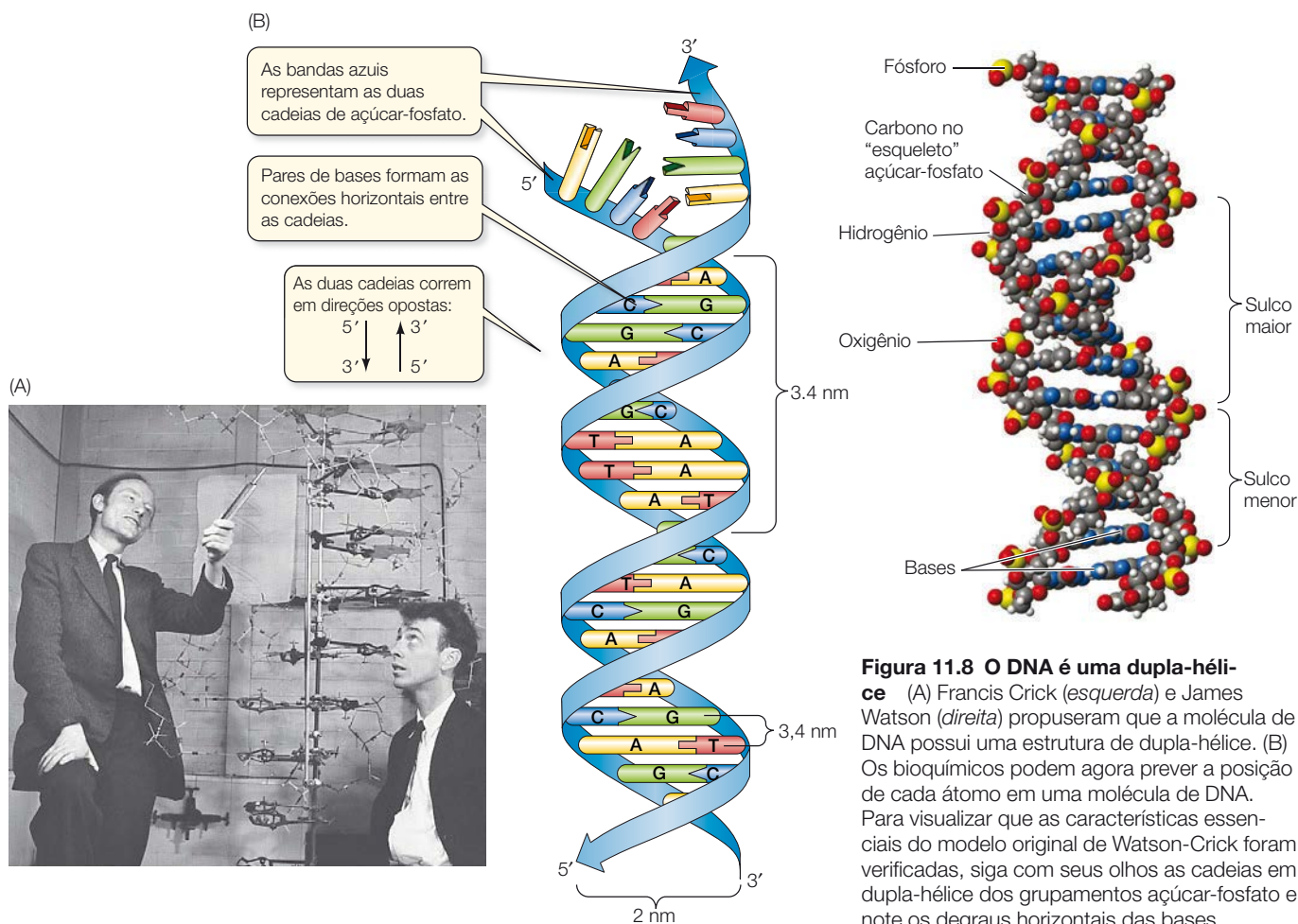


Figura 11.8 O DNA é uma dupla-hélice (A) Francis Crick (*esquerda*) e James Watson (*direita*) propuseram que a molécula de DNA possui uma estrutura de dupla-hélice. (B) Os bioquímicos podem agora prever a posição de cada átomo em uma molécula de DNA. Para visualizar que as características essenciais do modelo original de Watson-Crick foram verificadas, siga com seus olhos as cadeias em dupla-hélice dos grupamentos açúcar-fosfato e note os degraus horizontais das bases.

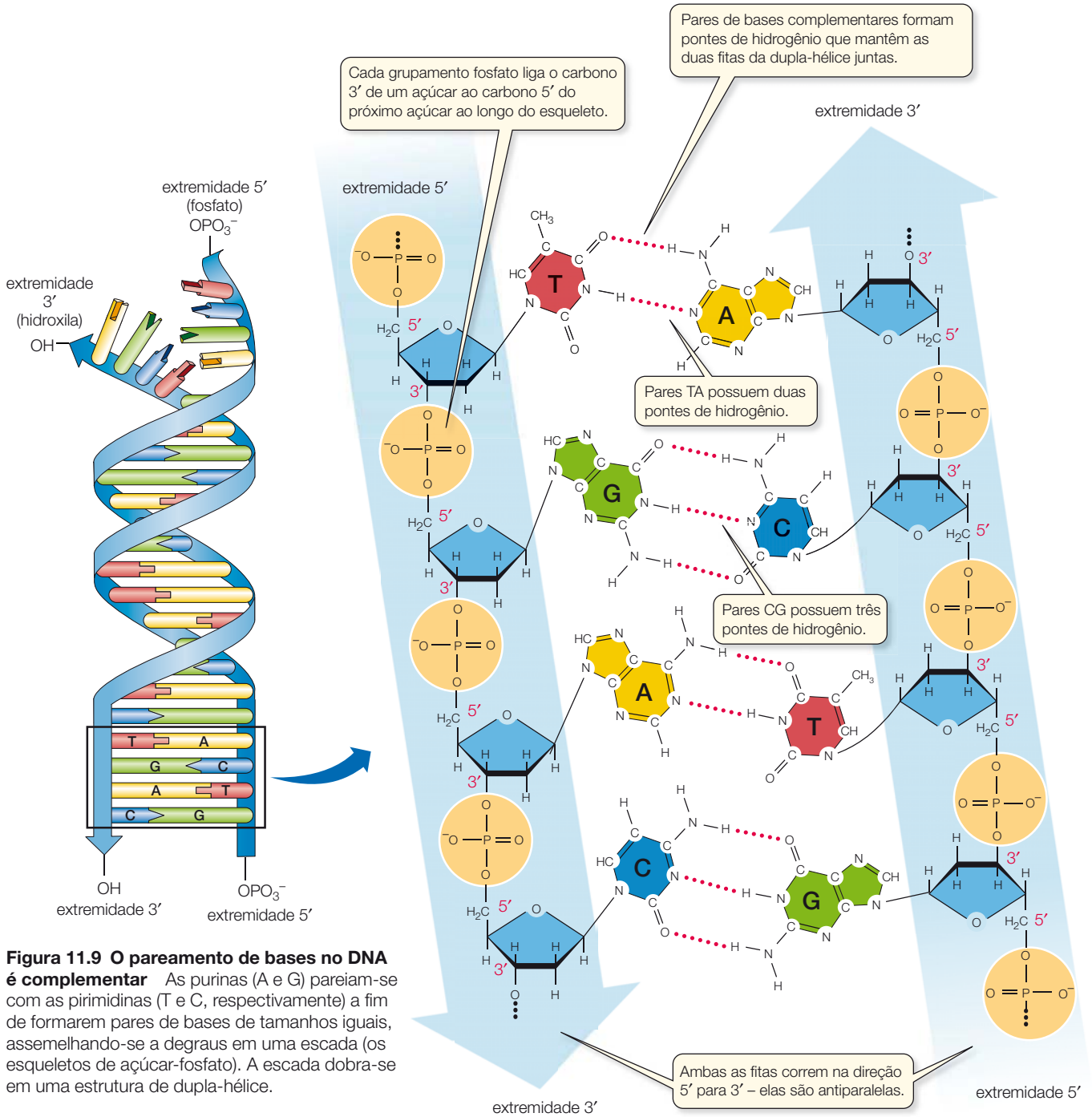


Figura 11.9 O pareamento de bases no DNA é complementar As purinas (A e G) pareiam-se com as pirimidinas (T e C, respectivamente) a fim de formarem pares de bases de tamanhos iguais, assemelhando-se a degraus em uma escada (os esqueletos de açúcar-fosfato). A escada dobra-se em uma estrutura de dupla-hélice.

trofo (1) determina a posição do átomo de carbono no açúcar. No esqueleto de açúcar-fosfato do DNA, os grupamentos fosfato conectam o carbono 3' de uma molécula de desoxirribose e o carbono 5' da seguinte, ligando açúcares sucessivos em conjunto.

Dessa forma, as duas extremidades de uma cadeia polinucleotídica diferem. Em uma encontra-se um grupamento fosfato ($-OPO_3^-$) 5' livre (não conectado a outro nucleotídeo); essa extremidade se chama extremidade 5'. Na outra está um grupamento hidroxila ($-OH$) 3' livre; essa extremidade se chama extremidade 3'. Em uma dupla-hélice de DNA, a extremidade de uma fita apresenta-se pareada com a extremidade 3' da outra fita e vice-versa. Em outras

palavras, se tivéssemos que desenhar setas para cada fita que corre de 5' para 3', as setas iriam apontar em direções opostas.

EXPOSIÇÃO DAS BASES NOS SULCOS Olhando novamente a Figura 11.8B, note os sulcos maior e menor na hélice. A partir desses sulcos, as extremidades externas expostas dos pares de bases ligados por pontes de hidrogênio estão acessíveis para ligações potenciais por pontes de hidrogênio. Conforme visto na Figura 11.8, duas pontes de hidrogênio unem cada par de bases AT, enquanto três pontes de hidrogênio ligam cada par de bases GC. Oportunidades para ligações por pontes de hidrogênio tam-

bém existem no grupamento C=O em T e no grupamento “N” em A; o par de bases GC oferece possibilidades adicionais de pontes de hidrogênio. Assim as superfícies dos pares de bases AT e GC oferecem superfícies levemente diferentes e quimicamente distintas que outra molécula, como uma proteína, poderia reconhecer e ligar-se a ela. Acesso às sequências de pares de bases expostas nos sulcos maior e menor trata-se da chave para as interações proteína-DNA na replicação e expressão da informação genética no DNA.

A estrutura de dupla-hélice do DNA é essencial para a sua função

O material genético desempenha quatro funções importantes e a molécula de DNA, proposta por Watson e Crick, se encaixava elegantemente em três delas.

- *O material genético armazena a informação genética de um organismo.* Com milhões de nucleotídeos, a sequência de bases de uma molécula de DNA poderia codificar e estocar uma quantidade enorme de informação e responder pelas diferenças entre as espécies e indivíduos. O DNA se encaixa muito bem nessa função.
- *O material genético é suscetível a mutações* ou trocas permanentes na informação que codifica. Para o DNA, as mutações podem ser simples trocas na sequência linear de pares de bases.
- *O material genético é replicado precisamente* no ciclo de divisão celular. A replicação pode ser alcançada pelo pareamento complementar de bases, A com T e G com C. Na publicação original de suas descobertas no jornal *Nature* em 1953, Watson e Crick modestamente anunciaram: “Não escapou da nossa atenção que o pareamento específico que postulamos imediatamente sugere um possível mecanismo de cópia para o material genético”.
- *O material genético deve ser expresso como o fenótipo.* Essa função não está óbvia na estrutura do DNA. Entretanto, segundo veremos no próximo capítulo, a sequência de nucleotídeos do DNA é copiada em RNA, que se converte em uma sequência linear de aminoácidos – uma proteína. As formas dobradas de proteínas fornecem a maior parte do fenótipo de um organismo.

11.2 RECAPITULAÇÃO

O DNA é uma dupla-hélice feita de duas cadeias de polinucleotídeos antiparalelas. As duas cadeias ligam por pontes de hidrogênio entre as bases de nucleotídeos, que se pareiam especificamente, A com T e G com C. Os grupamentos químicos das bases expostas nos sulcos da hélice podem ser reconhecidos por outras moléculas.

- Descreva algumas das evidências que Watson e Crick usaram para desvendar o modelo de dupla-hélice do DNA? Ver p. 238-239.
- Você compreende como a estrutura de dupla-hélice do DNA se relaciona com a sua função?

Assim que se compreendeu a estrutura do DNA, foi possível descobrir de que forma o DNA se replicava. Vamos examinar os experimentos que nos ensinaram como este elegante processo funciona.

11.3 Como o DNA é replicado?

O modelo de Watson e Crick para a replicação do DNA logo confirmou-se. Primeiramente, experimentos demonstraram que fitas simples de DNA poderiam ser replicadas em um tubo teste contendo substratos simples e uma enzima. Então um experimento verdadeiramente clássico mostrou que cada uma das duas fitas da dupla-hélice servia de molde a uma nova fita de DNA.

Três maneiras de replicação do DNA pareciam ser possíveis

A previsão de que a molécula de DNA continha a informação necessária para a sua própria replicação confirmou-se pelo trabalho de Arthur Kornberg, então na Universidade de Washington em St. Louis. Ele mostrou que DNA com a mesma composição de bases do DNA parental poderia ser sintetizado em um tubo teste contendo três substâncias:

- Os substratos, os desoxirribonucleosídeos trifosfatados dATP, dCTP, dGTP e dTTP;
- Uma enzima **DNA-polimerase**;
- DNA, que serve de **molde** para guiar os nucleotídeos a serem inseridos.

Lembre-se de que um nucleosídeo é uma base nitrogenada ligada a um açúcar. Cada um dos quatro desoxirribonucleosídeos trifosfatados consistem em uma base nitrogenada ligada a desoxirribose, a qual, por sua vez, liga-se a três grupamentos fosfato.

A próxima questão era qual dos três modelos de replicação possíveis estava ocorrendo:

- *Replicação semiconservativa*, em que cada fita parental serve de molde para a nova fita e cada uma das novas moléculas de DNA possui uma fita velha e outra nova (**Figura 11.10A**).
- *Replicação conservativa*, em que a dupla-hélice original serve de molde para, mas não contribui com, a nova dupla-hélice (**Figura 11.10B**).
- *Replicação dispersiva*, em que fragmentos da molécula do DNA original servem de molde para a construção de duas novas moléculas, cada uma contendo partes velhas e novas, talvez aleatoriamente (**Figura 11.10C**).

O artigo original de Watson e Crick sugeria que a replicação era semiconservativa, mas o experimento de Kornberg não proporcionou uma base para a escolha entre esses três modelos.

Meselson e Stahl demonstraram que a replicação do DNA é semiconservativa

O trabalho de Matthew Meselson e Franklin Stahl convenceu a comunidade científica de que o modelo visto no DNA era a **replicação semiconservativa**. Trabalhando no Instituto de Tecnologia da Califórnia em 1957, Meselson e Stahl planejaram uma maneira simples de distinguir entre fitas velhas e novas de DNA: *marcação por densidade*.

A chave do experimento deles consistiu no uso de um isótopo “pesado” de nitrogênio. O nitrogênio pesado (^{15}N) é um isótopo raro não radioativo que torna as que o contêm mais densas do que as moléculas quimicamente idênticas contendo o isótopo comum, ^{14}N . Meselson, Stahl e Jerome Vinograd produziram duas culturas da bactéria *Escherichia coli* por muitas gerações:

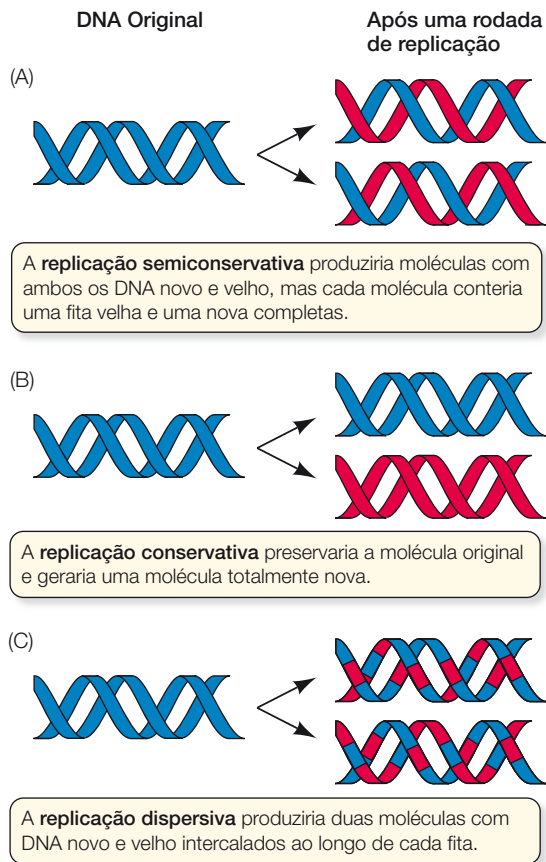


Figura 11.10 Três modelos para a replicação de DNA Em cada modelo, o DNA original é mostrado em azul e o DNA novo sintetizado em vermelho.

- Uma cultura cresceu em um meio cuja fonte de nitrogênio (cloreto de amônio, NH_4Cl) produziu-se com ^{15}N ao invés de ^{14}N . Como resultado, todo o DNA nas bactérias era “pesado”.
- A outra cultura cresceu em um meio contendo ^{14}N e todo o DNA nestas bactérias era “leve”.

Quando os extratos das duas culturas foram combinados e centrifugados, formaram-se duas bandas separadas de DNA, demonstrando que esse método poderia distinguir amostras de DNA com pequenas diferenças de densidade.

A seguir, os pesquisadores produziram outra cultura de *E. coli* em meio contendo ^{15}N e então a transferiram para um meio normal contendo ^{14}N , permitindo que as bactérias continuassem crescendo (Figura 11.11). Nas condições usadas, as células de *E. coli* dividem-se replicando o seu DNA a cada 20 minutos. Meselson e Stahl coletaram algumas das bactérias após cada divisão e extraíram o DNA destas amostras. Observaram que o gradiente de densidade era diferente em cada geração de bactérias:

- No momento da transferência para o meio contendo ^{14}N , o DNA encontrava-se uniformemente marcado com ^{15}N e, em consequência, relativamente denso.
- Após uma geração no meio contendo ^{14}N , quando o DNA havia sido replicado uma vez, todo o DNA apresentava uma densidade intermediária.

- Após duas gerações, havia duas faixas de DNA igualmente grandes – uma de baixa densidade e uma de densidade intermediária.
- Em amostras de gerações subsequentes, a proporção de DNA de baixa densidade aumentou de maneira constante.

Os resultados desse experimento somente podem ser explicados pelo modelo semiconservativo de replicação do DNA. Na primeira rodada de replicação de DNA no meio contendo ^{14}N , as fitas da dupla-hélice – ambas com ^{15}N – separaram-se. Cada fita então serviu de molde para uma segunda fita, com somente ^{14}N e, portanto, menos densa. Cada dupla-hélice, então, consiste em uma fita ^{15}N e uma fita ^{14}N , que apresentavam densidade intermediária. Na segunda replicação, as fitas contendo ^{14}N direcionaram a síntese de suas parceiras com ^{14}N , criando DNA de baixa densidade e as fitas ^{15}N formaram novas parceiras ^{14}N (veja a Figura 11.10).

A observação crucial demonstrando o modelo semiconservativo foi de que o DNA de densidade intermediária (^{15}N - ^{14}N) apareceu na primeira geração e continuou a aparecer em gerações subsequentes. Com os outros modelos, os resultados deveriam ter sido um pouco diferentes (veja a Figura 11.10):

- Na replicação conservativa, a primeira geração teria apresentado tanto o DNA de alta densidade (^{15}N - ^{15}N) quanto o de baixa densidade (^{14}N - ^{14}N), mas não o DNA de densidade intermediária.
- Na replicação dispersiva, a densidade do novo DNA apresentaria a metade do parental, mas DNA desta densidade não continuaria a aparecer nas gerações subsequentes.

O experimento de Meselson-Stahl, considerado por alguns cientistas um dos mais elegantes já feitos por biólogos, mostrou um excelente exemplo de método científico. Começou com três hipóteses – os três modelos de replicação – e foi planejado de tal forma que os resultados poderiam diferenciá-los.

Todos começamos a vida como um óvulo fertilizado, com somente um conjunto de moléculas de DNA dupla-fita de nossos pais. Devido à replicação semiconservativa, ainda possuímos aquelas fitas parentais originais? Existe alguma evidência de que isso é possível. Durante a mitose, as células-tronco em um corpo adulto retêm preferencialmente o DNA das fitas “velhas”. Um mecanismo semelhante opera durante o desenvolvimento inicial.

Existem duas etapas na replicação do DNA

A replicação semiconservativa do DNA na célula envolve muitas enzimas diferentes e outras proteínas. Ela ocorre em duas etapas:

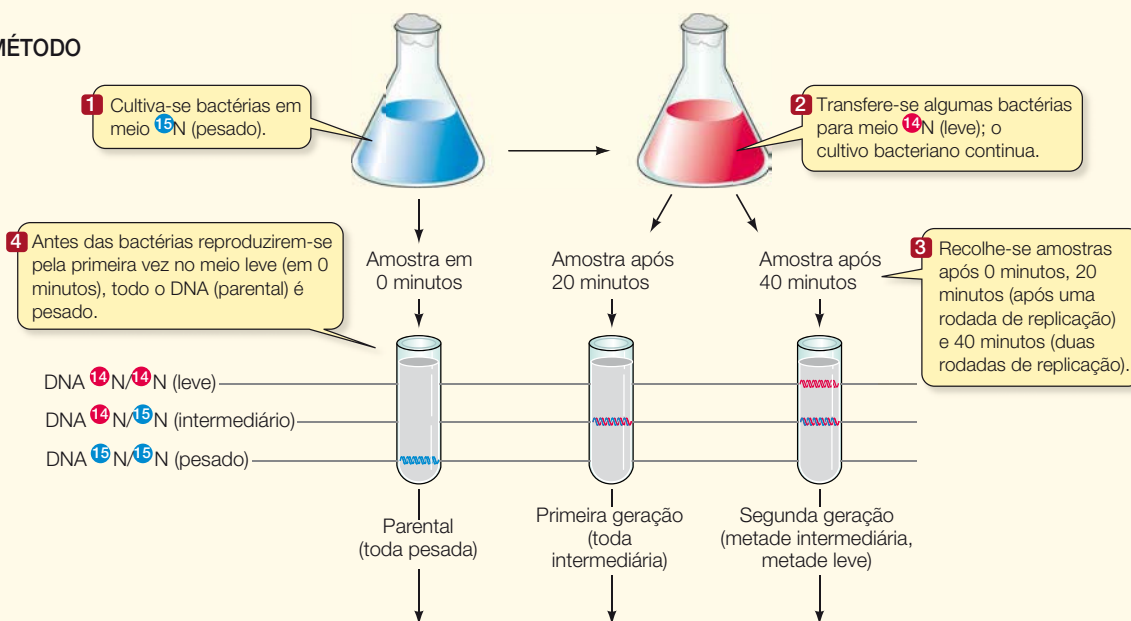
- A dupla-hélice de DNA desenrola-se para separar as duas fitas molde e torná-las disponíveis para um novo pareamento de bases.
- Novos nucleotídeos são interligados por ligações fosfodiéster em cada uma das novas fitas em crescimento, em uma sequência determinada pelo pareamento complementar de bases com as bases da fita molde.

Uma observação essencial é que os nucleotídeos são sempre adicionados na fita sintetizada na extremidade 3' – a extremidade na qual a fita apresenta um grupamento hidroxila livre (–OH) no carbo-

EXPERIMENTO

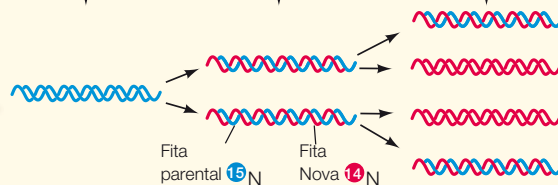
HIPÓTESE: DNA replica-se semiconservativamente.

MÉTODO



RESULTADOS

Após duas gerações, metade do DNA era intermediário e somente metade era leve; não havia DNA somente pesado.



CONCLUSÃO: Este padrão somente poderia ser observado se cada molécula de DNA tivesse uma fita molde do DNA parental; assim a replicação do DNA é semiconservativa.

Figura 11.11 O experimento de Meselson-Stahl Uma centrífuga foi usada para separar as moléculas de DNA marcadas com isótopos de densidades diferentes. Este experimento revelou um padrão que suporta o modelo semiconservativo de replicação do DNA. **PESQUISA ADICIONAL:** se você continuasse este experimento por mais duas gerações (como Meselson e Stahl realmente fizeram), qual seria a composição (em termos de densidade baixa e intermediária) da quarta geração de DNA?

no 3' da sua desoxirribose terminal (Figura 11.12). Um dos três grupamentos fosfato em um desoxirribonucleosídeo trifosfatado está ligado na posição 5' do açúcar. As uniões ligando os outros dois grupamentos fosfato ao nucleotídeo são quebradas, liberando energia para a reação.

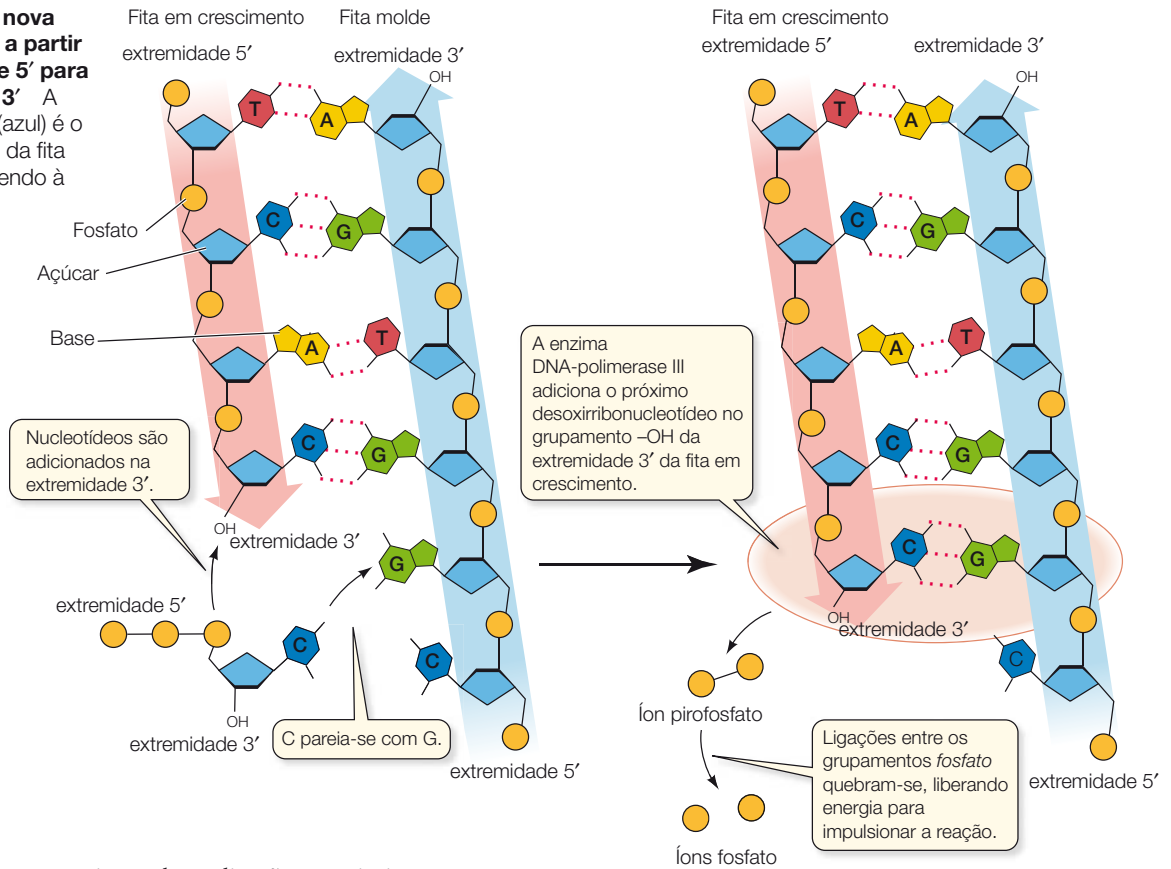
O DNA é alinhado por meio de um complexo de replicação

O DNA é replicado através de interações da fita molde com um imenso complexo proteico chamado de **complexo de replicação**, o qual catalisa as reações envolvidas. Todos os cromossomos pos-

suem pelo menos uma sequência de bases, chamada de **origem de replicação (ori)**, em que esse complexo de replicação liga-se inicialmente. Conforme citado anteriormente, essa ligação baseia-se no reconhecimento de diferentes bases nucleotídicas por proteínas. O DNA se replica em *ambas as direções* a partir da origem de replicação, formando duas **forquilhas de replicação**. Ambas as fitas da molécula parental, separadas, atuam como molde simultaneamente e a formação das novas fitas guia-se pelo pareamento complementar de bases.

Até recentemente, a replicação do DNA era descrita como uma locomotiva (o complexo de replicação) movendo-se ao longo dos trilhos de uma estrada de ferro (o DNA) (Figura 11.13A). O ponto de vista atual indica que esse modelo pode estar errado. Ao invés, o complexo de replicação parece ser estacionário, ligado a estruturas nucleares, e é o DNA que se move, atravessando, em essência, o complexo como fitas simples e emergindo como fitas duplas (Figura 11.13B). Todos os complexos de replicação contêm várias proteínas com diferentes funções na replicação de DNA; descreveremos essas proteínas à medida que examinarmos as etapas do processo.

Figura 11.12 Cada nova fita de DNA cresce a partir da sua extremidade 5' para a sua extremidade 3' A fita de DNA a direita (azul) é o molde para a síntese da fita complementar crescendo à esquerda (rosa).



O primeiro evento na origem de replicação constitui-se no desenrolamento (desnaturação) localizado do DNA. Existem várias forças que mantêm as duas fitas juntas, incluindo pontes de hidrogênio e as interações hidrofóbicas das bases. Uma enzima chamada **DNA-helicase** usa energia da hidrólise do ATP para desnaturar o DNA e proteínas especiais, chamadas de **proteínas**

de ligação à fita simples, ligam-se as fitas desenroladas a fim de evitar que se reassociem em uma dupla-hélice. Esse processo torna cada uma das fitas moldes disponível para o pareamento complementar de bases.

OS PEQUENOS CROMOSSOMOS CIRCULARES REPLICAM-SE A PARTIR DE UMA ÚNICA ORIGEM Pequenos cromossomos circulares, como o DNA de 1-4 milhões de pares de bases de bactérias, possuem uma única origem de replicação. Com o movimento do DNA através do complexo de replicação, as forquilhas de replicação crescem ao redor do círculo (**Figura 11.14A**). Dois DNAs circulares interconectados são formados e separados por uma enzima denominada **DNA-topoisomerase**.

As DNA-polimerases são muito rápidas. Na bactéria *E. coli*, a replicação pode chegar a mil bases por segundo e levar 20 a 40 minutos para replicar os 4,7 milhões de pares de bases da bactéria. As polimerases humanas são mais lentas (50 bases por segundo) e os cromossomos humanos são muito maiores (ao redor de 80 milhões de pares de bases). Nesse caso, para conseguir que o trabalho seja feito em uma hora, necessitam-se muitas polimerases trabalhando em várias forquilhas de replicação.

CROMOSSOMOS LINEARES GRANDES POSSUEM MUITAS ORIGENS Nos cromossomos lineares grandes, como em um cromossomo humano, existem centenas de origens de replicação. Origens de replicação adjacentes ao cromossomo linear ligam-se ao mesmo tempo a complexos de replicação e replicadas, simultaneamente. Dessa forma, existem várias forquilhas de replicação no DNA eucariótico (**Figura 11.14B**).

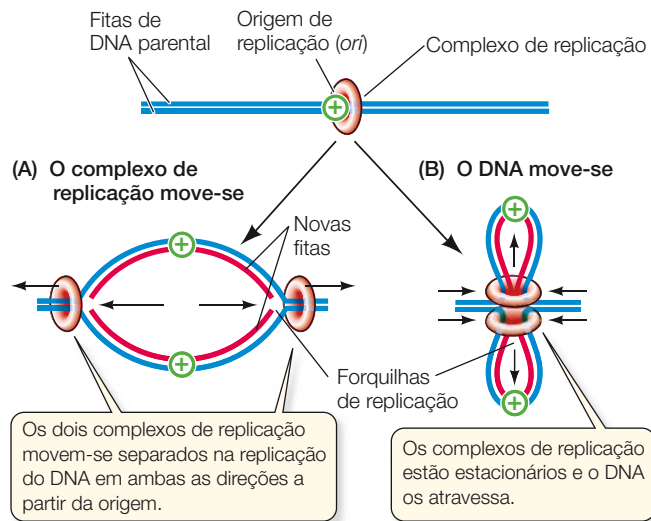


Figura 11.13 Duas visões da replicação do DNA (A) Foi primeiramente imaginado que o complexo de replicação movia-se ao longo do DNA como uma locomotiva ao longo dos trilhos. (B) Mais recentemente evidências sugerem que o DNA atravessa o complexo de replicação estacionário.

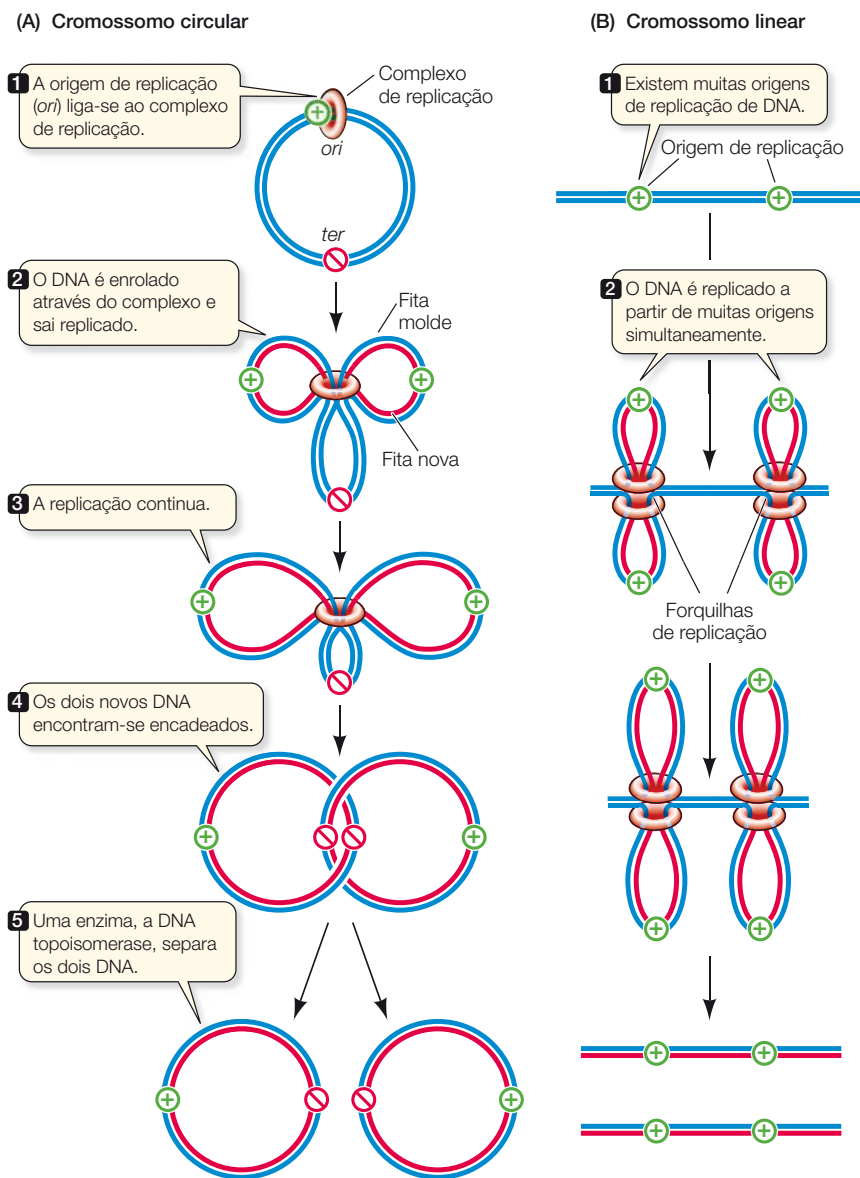


Figura 11.14 Replicação em cromossomos circulares pequenos e lineares grandes (A) Cromossomos circulares pequenos possuem uma única origem (*ori*) e sítio de término (*ter*) de replicação. (B) Cromossomos lineares grandes possuem muitas origens de replicação.

As DNA-polimerases adicionam nucleotídeos à cadeia em crescimento

As DNA-polimerases são muito maiores que os seus substratos, os desoxirribonucleosídeos trifosfatados, e o DNA molde, que é muito fino (Figura 11.15A). Modelos moleculares do complexo enzima-substrato-molde de bactérias mostram que a enzima se arranja tal uma mão direita aberta com a palma, o polegar e os dedos (Figura 11.15B). A palma engloba o sítio ativo da enzima e une o substrato e o molde. As regiões dos dedos rotam em direção à parte interna e possuem formas precisas que podem reconhecer as diferentes formas das quatro bases nucleotídicas.

NENHUM DNA INICIA SEM INICIADOR As DNA-polimerases podem alongar uma fita polinucleotídica ligando covalentemente novos nucleotídeos a uma fita previamente existente, mas não conseguem iniciar uma fita do zero. Portanto, uma fita “iniciadora”, chamada **oligonucleotídeo iniciador**, faz-se necessária. Na replicação do DNA, o oligonucleotídeo iniciador consiste em uma fita simples curta de RNA (Figura 11.16). Esta fita de RNA, complementar à fita molde de DNA, é sintetizada, um nucleotídeo de cada vez, por uma enzima chamada **primase**. A DNA-polimerase adiciona nucleotídeos na extremidade 3’ de um oligonucleotídeo iniciador e continua até que a replicação daquela seção de DNA tenha sido completada.

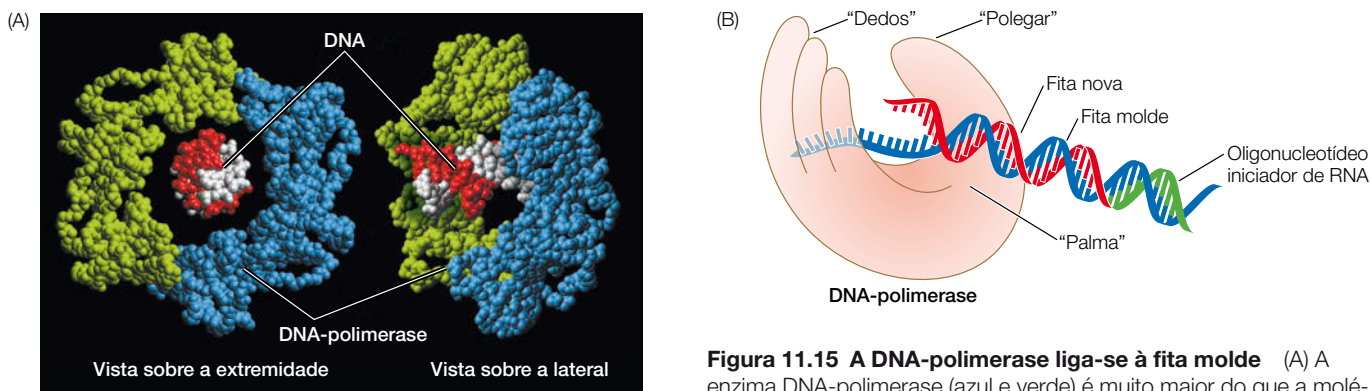


Figura 11.15 A DNA-polimerase liga-se à fita molde (A) A enzima DNA-polimerase (azul e verde) é muito maior do que a molécula de DNA (vermelho e branco). (B) A DNA-polimerase apresenta uma forma semelhante a uma mão, e na sua vista lateral os seus “dedos” podem ser vistos anelados em torno do DNA. Estes “dedos” podem reconhecer as formas distintas das quatro bases.

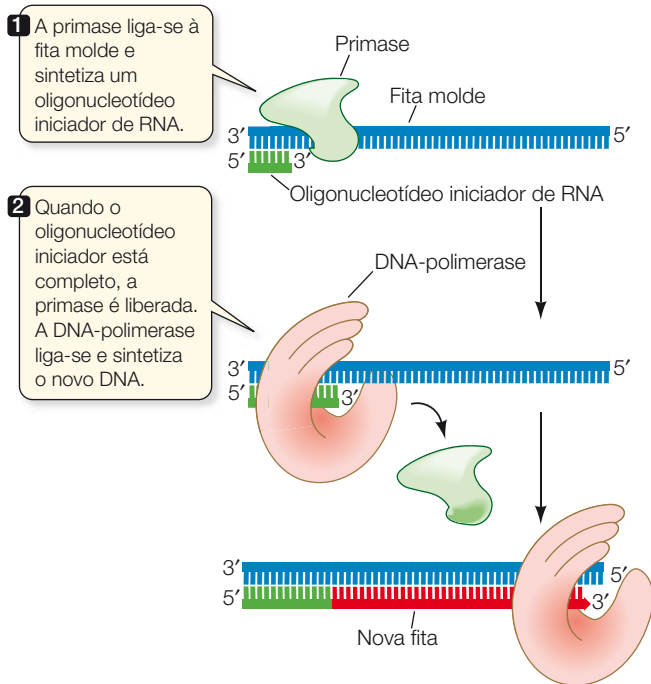


Figura 11.16 Nenhum DNA é formado sem um oligonucleotídeo iniciador A DNA-polimerase necessita de um oligonucleotídeo iniciador – uma fita “desencadeadora” de DNA ou RNA na qual possam adicionar novos nucleotídeos.

Então o iniciador de RNA é degradado, o DNA adicionado em seu lugar e os fragmentos de DNA resultantes se conectam pela ação de outras enzimas. Quando a replicação do DNA está completa, cada nova fita consiste somente em DNA.

CÉLULAS CONTÊM VÁRIAS DNA-POLIMERASES DIFERENTES A maioria das células contém mais de uma DNA-polimerase, mas somente uma delas responsabiliza-se pela replicação do DNA cromossomal. As outras estão envolvidas na remoção dos oligonucleotídeos iniciadores e no reparo de DNA. Catorze DNA-polimerases foram identificadas em humanos; a que catalisa a maior parte da replicação é a DNA-polimerase δ . Na bactéria *E. coli* existem cinco DNA-polimerases; a responsável pela replicação

consiste na DNA-polimerase III. Várias outras proteínas desempenham funções em outras tarefas da replicação, algumas delas aparecem na **Figura 11.17**.

AS DUAS FITAS CRESCEM DIFERENTEMENTE Conforme mostra a Figura 11.17, o DNA na forquilha de replicação abre-se em uma direção igual a um zíper. Estude a **Figura 11.18** e tente imaginar o que está acontecendo em um curto período de tempo. Lembre-se que as duas fitas de DNA são antiparalelas; ou seja, a extremidade 3' de uma fita está pareada com a extremidade 5' da outra.

- Uma fita recém replicada (a **fita contínua**) aponta a direção “correta”, para um crescimento contínuo a partir da sua extremidade 3', enquanto a forquilha vai se abrindo.
- A outra fita nova (a **fita descontínua**) aponta a direção “errada”: enquanto a forquilha vai se abrindo, a sua extremidade 3' distancia-se mais e mais da forquilha e um intervalo não replicado forma-se, o qual se tornaria maior e maior se não houvesse um mecanismo especial para superar este problema.

A síntese da fita descontínua requer replicar regiões relativamente pequenas e descontínuas (100 a 200 nucleotídeos de cada vez em eucariotos; 1.000 a 2.000 de cada vez em procariotos). Estas regiões descontínuas são sintetizadas assim como a fita contínua é, pela adição contínua de novos nucleotídeos um de cada vez a extremidade 3' da nova fita, mas a síntese dessa nova fita move-se na direção oposta para a da forquilha de replicação. Essas regiões de DNA novo para a fita descontínua denominam-se **fragmentos de Okazaki**, em homenagem ao seu descobridor, o bioquímico japonês Reiji Okazaki. Enquanto a fita contínua cresce ininterruptamente “para a frente”, a fita descontínua cresce pela formação de fragmentos curtos, no “sentido contrário”, com lacunas entre eles.

Um único iniciador é suficiente para a síntese da fita contínua, mas cada fragmento de Okazaki necessita de seu próprio oligonucleotídeo iniciador. Nas bactérias, a DNA-polimerase III sintetiza os fragmentos de Okazaki pela adição de nucleotídeos a um oligonucleotídeo iniciador até este alcançar o oligonucleotídeo iniciador do fragmento prévio. Nesse ponto, a DNA-polimerase I (descoberta por Arthur Kornberg) remove o oligonucleotídeo iniciador velho e o substitui por DNA. Uma pequena lacuna é deixada – pois, a ligação fosfodiéster final entre os fragmentos de Okazaki adjacentes está faltando. A enzima **DNA-ligase** catalisa a formação dessa ligação, unindo os fragmentos e tornando a fita descontínua completa (**Figura 11.19**).

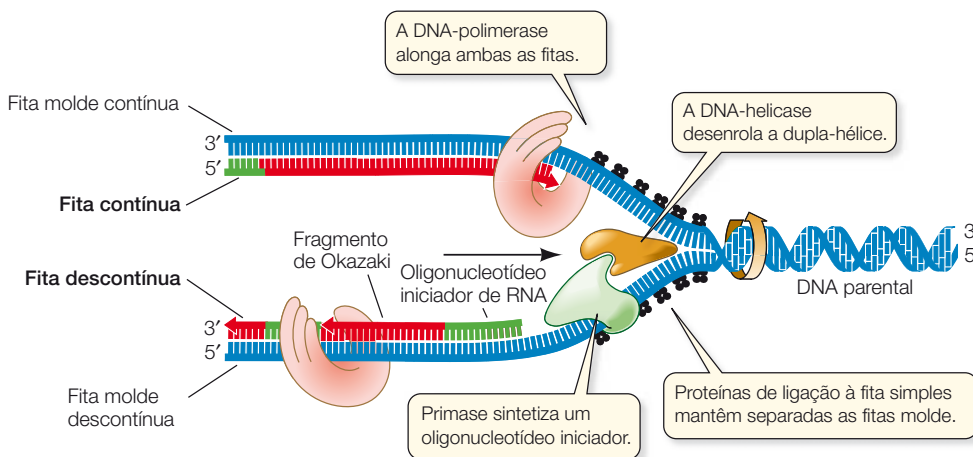


Figura 11.17 Muitas proteínas colaboram no complexo de replicação Muitas proteínas adicionais a DNA-polimerase estão envolvidas na replicação do DNA. As duas moléculas de DNA-polimerase mostradas aqui são na verdade parte do mesmo complexo.

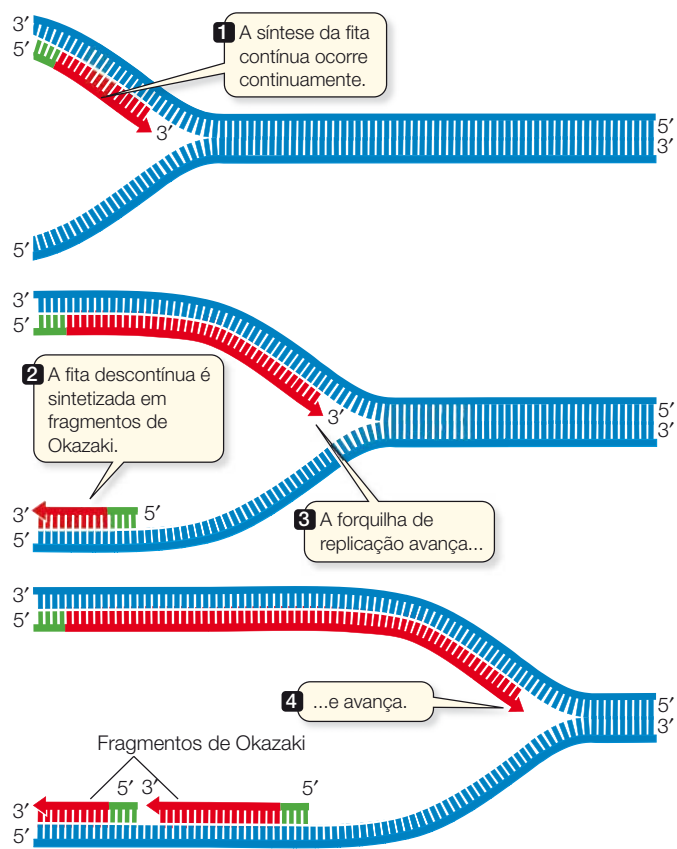
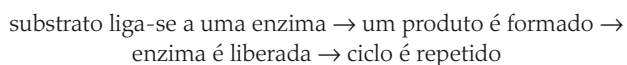


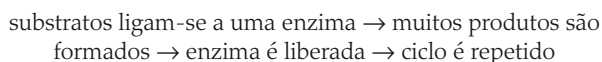
Figura 11.18 As duas novas fitas são formadas de maneiras diferentes Assim que o DNA parental se desenrola, ambas as fitas novas são sintetizadas na direção 5' para 3', embora as suas fitas-molde sejam antiparalelas. A fita contínua cresce continuamente para frente, mas a fita descontínua cresce em pequenas porções descontínuas chamadas de fragmentos de Okazaki. Fragmentos de Okazaki eucarióticos são compostos por centenas de nucleotídeos, com intervalos entre eles.

Trabalhando juntas, a DNA-helicase, as duas DNA-polimerases, a primase, a DNA-ligase e as outras proteínas do complexo de replicação executam o trabalho de síntese do DNA com velocidade e exatidão quase inimaginável. Em *E. coli*, o complexo de replicação compõe um novo DNA em uma taxa que excede mil pares de base por segundo, cometendo erros em número menor do que uma base em um milhão.

UM GRAMPO DE DNA DESLIZANTE TORNA A POLIMERASE PROGRESSIVA Como as DNA-polimerases trabalham tão rápido? Vimos na Seção 6.4 que uma enzima catalisa uma reação química:



É difícil imaginar uma reação tão rápida em que fosse possível examinar um ciclo destes para cada nucleotídeo adicionado ao DNA. Ao invés, as DNA-polimerases são **processivas** – ou seja, catalisam muitas polimerizações cada vez que se ligam a uma molécula de DNA:



A fita recém replicada de DNA se estabiliza por um **grampo de DNA deslizando** (Figura 11.20). Essa proteína possui múltiplas

subunidades idênticas montadas em forma de rosca. O “orifício” da rosca é grande o suficiente para envolver a dupla-hélice de DNA, juntamente com uma única camada de moléculas de água para lubrificação. O grampo liga-se ao DNA imediatamente atrás da DNA-polimerase, mantendo-a associada fortemente com a molécula recém-replicada de DNA. Se o grampo encontra-se ausente, a DNA-polimerase dissocia-se do DNA após 20 a 100 polimerizações. Com o grampo, polimeriza até 50 mil nucleotídeos antes de se desprender.

Os telômeros não são totalmente replicados

Conforme acabamos de ver, a replicação da fita descontínua ocorre pela adição de fragmentos de Okazaki aos oligonucleotídeos

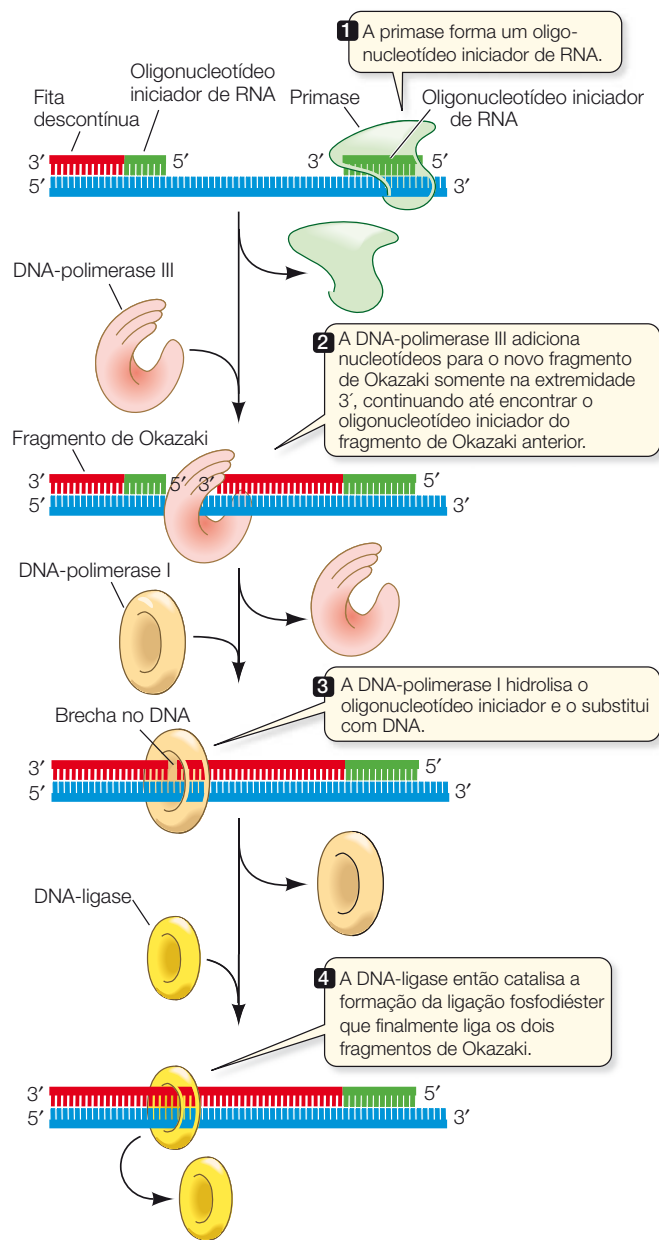


Figura 11.19 A história da fita descontínua Em bactérias, a DNA-polimerase I e a DNA-ligase cooperam com a DNA-polimerase III para completar a complexa tarefa de sintetizar a fita descontínua.

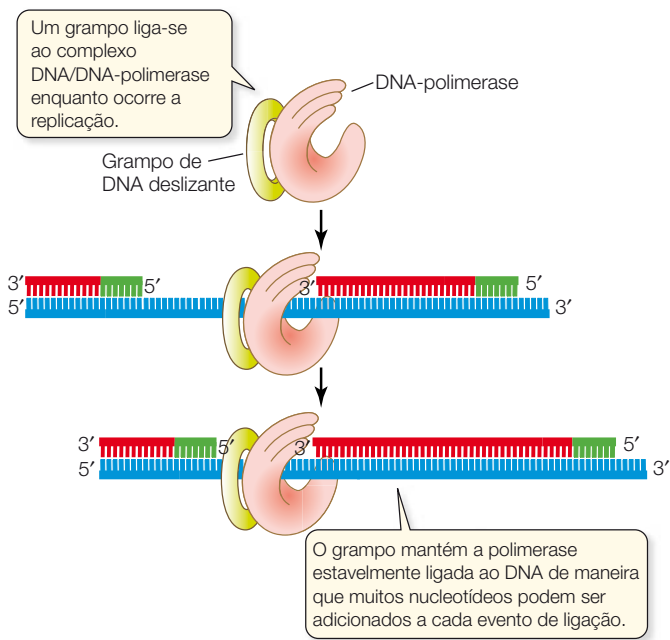


Figura 11.20 Um grampo de DNA deslizante aumenta a eficiência da polimerização do DNA O grampo mantém a DNA-polimerase ligada ao DNA, de maneira que milhares de nucleotídeos podem ser polimerizados cada vez que a enzima liga-se à fita molde.

iniciadores de RNA. Quando o oligonucleotídeo iniciador de RNA terminal é removido, nenhum DNA pode ser sintetizado para substituí-lo porque não há nenhuma extremidade de DNA 3' para estender (ou seja, não há nenhuma fita de DNA complementar). Dessa forma, o novo cromossomo formado pela replicação do DNA possui um pequeno pedaço de DNA fita simples em cada extremidade (**Figura 12.21A**). Essa situação ativa mecanismos que

cortam a região de fita simples, juntamente com um pouco da extremidade dupla-fita intacta. Assim o cromossomo torna-se um pouco mais curto a cada divisão celular.

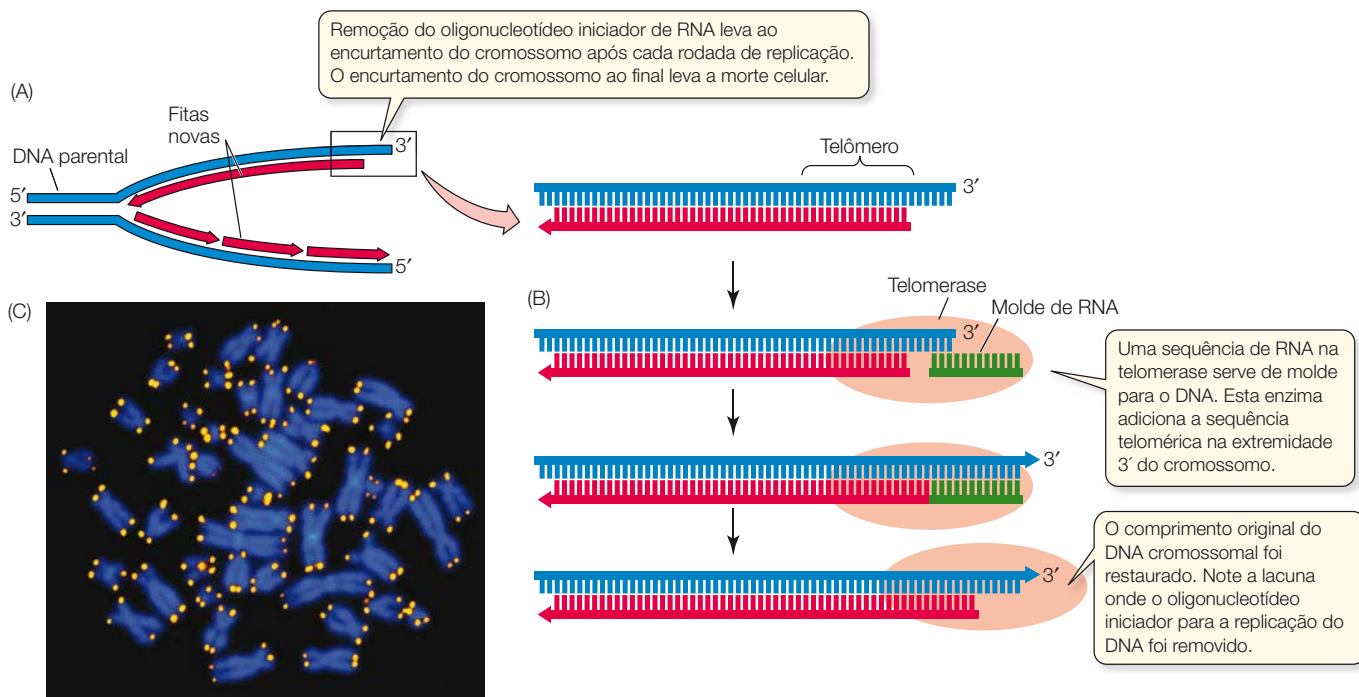
Em muitos eucariotos, existem sequências repetitivas nas extremidades dos cromossomos chamados **telômeros**. Nos humanos, a sequência dos telômeros é TTAGGG e repete-se ao redor de 2.500 vezes. Essas repetições ligam-se a proteínas especiais que mantêm a estabilidade das extremidades dos cromossomos. Cada cromossomo humano pode perder de 50 a 200 pares de bases de DNA telomérico após cada rodada de replicação de DNA e divisão celular. Após 20 a 30 divisões, os cromossomos estão incapazes de proceder a uma divisão celular e a célula morre.

Este fenômeno explica em parte porque as células não perderam durante a vida inteira de um organismo: os seus telômeros são perdidos. Contudo células que se dividem constantemente, como as da medula óssea e produtoras de gametas, mantêm o seu DNA telomérico. Uma enzima, apropriadamente chamada de **telomerase**, catalisa a adição de quaisquer sequências teloméricas perdidas (**Figura 11.21B**). A telomerase possui uma sequência de RNA que atua como molde para a sequência telomérica repetida.

A telomerase se expressa em mais de 90% das células cancerosas humanas e pode ser um fator importante na habilidade dessas células de se dividirem continuamente. Uma vez que a maioria das células normais não possui essa habilidade, a telomerase é um alvo atrativo para drogas projetadas a fim de atacarem tumores de uma forma específica.

Há também participação da telomerase no envelhecimento. Quando um gene expressando altos níveis de telomerase é adicionado a células humanas em cultura, os seus telômeros não en-

Figura 11.21 Telômeros e telomerase (A) A remoção do oligonucleotídeo iniciador de RNA na extremidade 3' da fita descontínua deixa uma região de DNA – o telômero – não replicada. (B) A enzima telomerase liga-se a extremidade 3' e estende a fita descontínua de DNA. Uma sequência de RNA embutida na telomerase fornece um molde de maneira que, acima de tudo, o DNA não encurte. (C) A coloração fluorescente clara marca as regiões teloméricas nestes cromossomos humanos corados com azul.



curtam. Ao invés de morrerem após 20 a 30 gerações celulares, as células se tornam imortais. Permanece para ser avaliada a forma que esta descoberta relaciona-se com o envelhecimento de um grande organismo.

11.3 RECAPITULAÇÃO

Meselson e Stahl mostraram que a replicação do DNA é semiconservativa: cada fita parental serve de molde para uma nova fita. Um complexo de proteínas, mais notavelmente as DNA-polimerases, envolve-se na replicação. Um novo DNA é polimerizado em uma direção somente, mas uma vez que as duas fitas são antiparalelas, uma fita é feita continuamente e a outra em fragmentos de Okazaki que são finalmente interligados.

- Você compreendeu como o experimento Meselson-Stahl diferenciou entre os três modelos para a replicação do DNA? Ver p. 242-243 e Figuras 11.10 e 11.11.
- Você consegue reconhecer as cinco enzimas necessárias para a replicação do DNA e explicar a função de cada uma? Ver p. 244-245 e Figuras 11.15, 11.16, 11.17 e 11.21.
- Você entendeu como a fita contínua de DNA se replica continuamente enquanto a fita descontínua necessita ser replicada em fragmentos? Ver p. 246 e Figura 11.18.

O complexo processo de replicação do DNA é impressionantemente exato, porém não é perfeito. O que acontece quando as coisas dão errado?

11.4 Como os erros no DNA são reparados?

O DNA é replicado com exatidão e mantido com fidelidade. O preço para falhas pode ser grande: a transmissão de informação genética encontra-se em risco, assim como o funcionamento e mesmo a vida de uma célula ou organismo multicelular. Contudo a replicação do DNA não é totalmente acurada e o DNA das células que não se encontram em divisão está sujeito a danos por alterações químicas naturais das bases assim como por agentes ambientais. Em face destas ameaças, como a vida foi tão longe?

Os preservadores da vida são mecanismos de reparo de DNA. As DNA-polimerases inicialmente cometem um número significativo de erros na montagem das fitas de polinucleotídeos. A taxa de erros observada, uma a cada 10^5 bases replicadas, resultaria em aproximadamente 60 mil mutações cada vez que uma célula humana se dividisse. Felizmente, as nossas células possuem pelo menos três mecanismos de reparo de DNA a sua disposição:

- Um mecanismo de **edição** corrige erros na replicação assim que a DNA-polimerase as produz.
- Um mecanismo de **reparo de não pareamentos** sonda o DNA imediatamente após ter sido replicado e corrige quaisquer pareamentos errôneos de bases.
- Um mecanismo de **reparo por excisão** remove bases anormais que se formaram devido a danos químicos e as substitui por bases funcionais.

Cada vez que introduz um novo nucleotídeo em uma cadeia polinucleotídica, a DNA-polimerase desempenha uma função

de **edição** (Figura 11.22A). Quando uma DNA-polimerase reconhece um pareamento errôneo de bases, remove o nucleotídeo introduzido impropriamente e tenta novamente. (Outras proteínas do complexo de replicação também desempenham funções na edição). A taxa de erros para este processo perfaz somente 1 em 10 mil pares de bases e diminui a taxa total de erros por replicação para em torno de uma base em cada 10^{10} bases replicadas.

Após o DNA replicar-se, um segundo conjunto de proteínas examina a molécula recém replicada e procura por pares de bases pareadas erroneamente que escaparam da edição (Figura 11.22B). Por exemplo, esse mecanismo de **reparo de não pareamentos** detectaria um par de bases AC ao invés de um par AT. Contudo, como o mecanismo de reparo “sabe” se o par AC deveria ser reparado pela remoção do C e substituição por um T ou pela remoção do A e substituição por um G?

Indivíduos que sofrem de uma condição conhecida por xeroderma pigmentosum não apresentam o mecanismo de reparo por excisão que normalmente corrige o dano causado pela radiação ultravioleta. Eles podem desenvolver cânceres de pele mesmo após uma pequena exposição à luz do sol.

O mecanismo de reparo de não pareamentos pode detectar a base “errada” porque uma fita de DNA é quimicamente modificada após algum tempo depois replicação. Em procaríotos, grupos metila (-CH₃) são adicionados a algumas adeninas. Imediatamente após a replicação a metilação ainda não ocorreu na fita recém replicada, de maneira que a nova fita está “marcada” (discriminada por não estar metilada) como aquela na qual os erros devem ser corrigidos.

Quando o reparo de não pareamentos falha, sequências de DNA se alteram. Uma forma de câncer de cólon surge em parte a partir de uma falha do reparo de não pareamentos.

Moléculas de DNA também se danificam durante a vida de uma célula (por exemplo, quando está em G₁). Radiações de alta-energia, químicos do ambiente e reações químicas espontâneas esporádicas podem todas danificar o DNA. Mecanismos de **reparo por excisão** lidam com esses tipos de dano.

Certas enzimas constantemente “inspecionam” o DNA da célula (Figura 11.22C). Quando encontram bases não pareadas, bases quimicamente modificadas ou pontos nos quais uma fita possui mais bases do que outra (com o resultado de que uma ou mais bases de uma fita formam uma alça não pareada), estas enzimas cortam a fita defectiva. Outra enzima corta as bases adjacentes incluindo a base alterada, e a DNA-polimerase e a DNA ligase sintetizam e selam a nova (normalmente correta) sequência de bases a fim de substituírem a excisada.

11.4 RECAPITULAÇÃO

A replicação do DNA não é perfeita; além disso, o DNA pode ser naturalmente alterado ou danificado. Existem mecanismos de reparo que detectam e reparam DNAs não pareados ou danificados.

- Você entendeu as funções da edição do DNA, do reparo de não pareamentos e do reparo por excisão? Ver Figura 11.22.

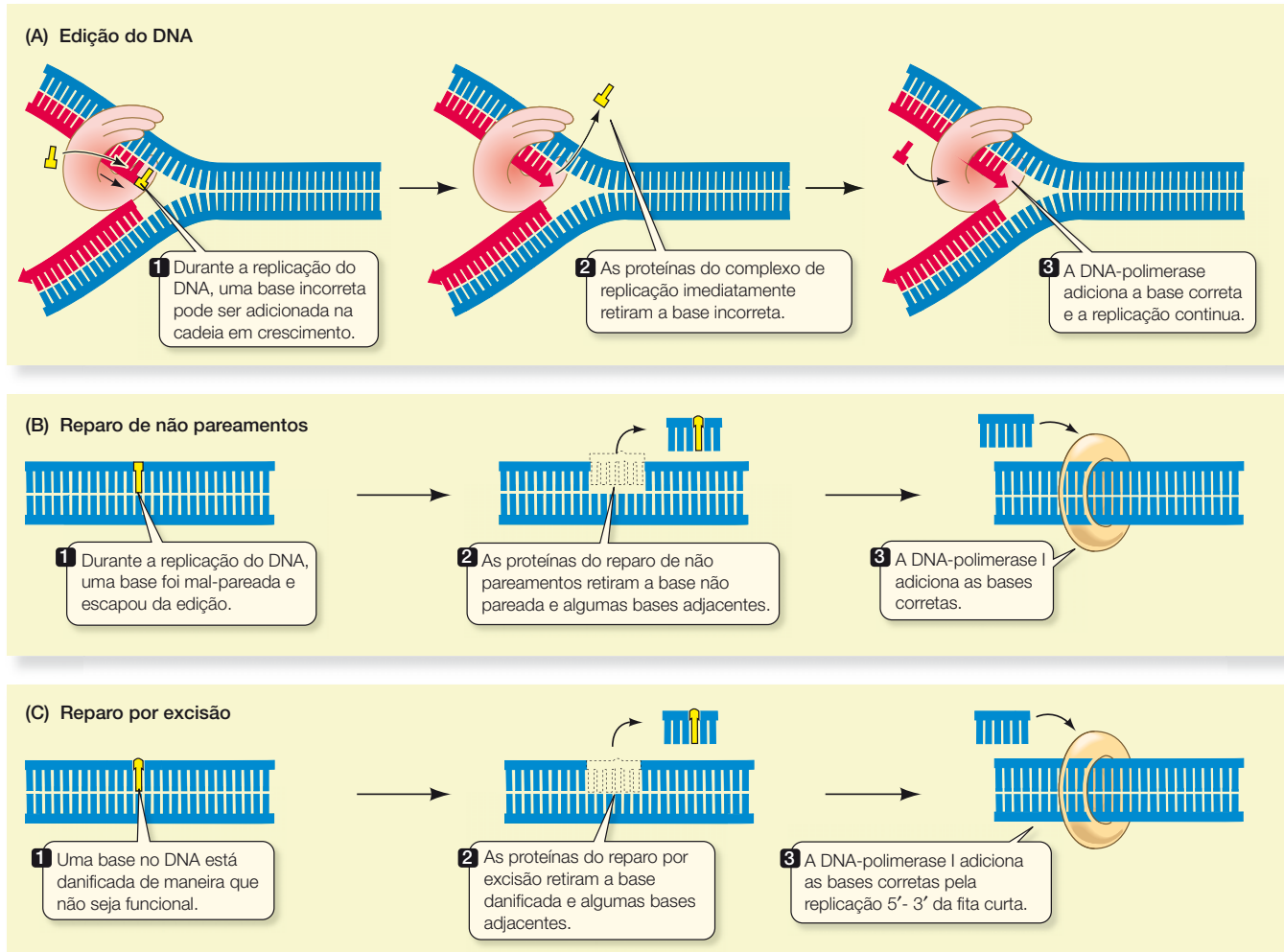


Figura 11.22 Mecanismos de reparo de DNA As proteínas do complexo de replicação também desempenham funções nos mecanismos de reparo de DNA que preservam a vida, auxiliando a garantir a replicação exata do molde de DNA e o reparo de qualquer dano que ocorra.

Entender como o DNA se replica e repara, possibilita cientistas desenvolverem técnicas para estudarem os genes. Estudaremos somente duas destas técnicas a seguir.

11.5 Quais são algumas das aplicações de nosso conhecimento da estrutura do DNA e da replicação?

Os princípios básicos da replicação do DNA nas células se aplicam para o desenvolvimento de duas técnicas de laboratório vitais na análise de genes e genomas. A primeira permite aos pesquisadores produzir múltiplas cópias pequenas de DNA, e a segunda, determinar a sequência de bases de uma molécula de DNA.

A reação em cadeia da polimerase produz múltiplas cópias de DNA

Uma vez que o DNA pode ser replicado em laboratório, é possível produzir múltiplas cópias de uma sequência de DNA. A técnica da **reação em cadeia da polimerase (polymerase chain reaction – PCR)** essencialmente automatizou esse processo, copiando uma região pequena de DNA muitas vezes em um tubo teste.

A PCR é um processo cíclico no qual uma sequência de etapas é repetida várias vezes (**Figura 11.23**):

- Fragmentos de DNA dupla-fita são separados em fitas simples através do aquecimento (*desnaturadas*).
- Um oligonucleotídeo iniciador curto sintetizado artificialmente é adicionado a mistura, juntamente com os quatro desoxirribonucleotídeos trifosfatados (dATP, dGTP, dCTP e dTTP) e a DNA-polimerase.
- A DNA-polimerase catalisa a produção de novas fitas complementares.

Um único ciclo leva alguns minutos para dobrar a quantidade de DNA, deixando o DNA novo no estado de dupla-fita. Repetir o ciclo várias vezes leva ao aumento exponencial do número de có-

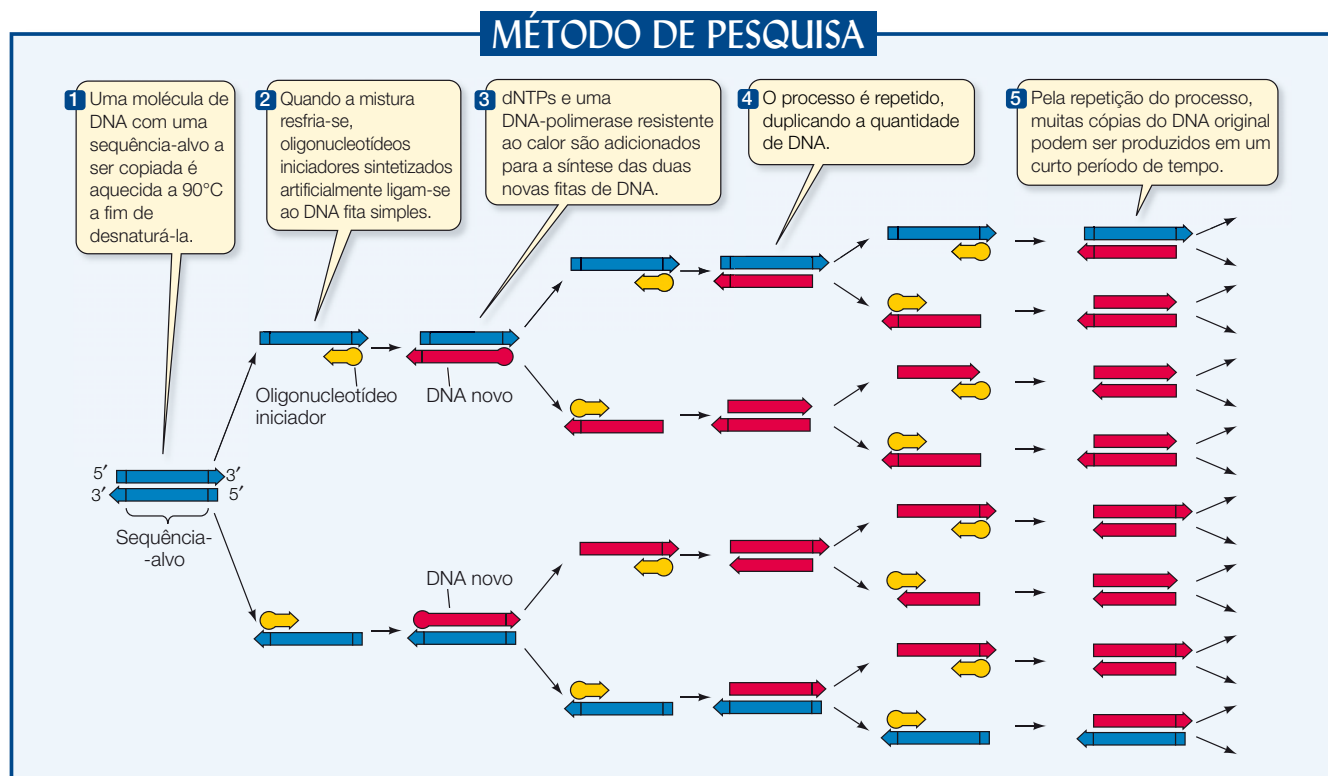


Figura 11.23 A reação em cadeia da polimerase As etapas neste processo cíclico são repetidas muitas vezes para a produção de múltiplas cópias de um fragmento de DNA.

pias da sua sequência; este processo denomina-se *amplificação* da sequência.

A técnica de PCR necessita que a sequência de bases na extremidade 3' de cada fita do DNA-alvo seja conhecida de maneira que oligonucleotídeos iniciadores complementares, normalmente de 15 a 20 bases de tamanho, possam ser sintetizados em laboratório. Devido à natureza única das sequências de DNA, normalmente somente dois oligonucleotídeos iniciadores com esse tamanho irão parear em uma única região do DNA no genoma de um organismo. Essa especificidade, devido a incrível diversidade dos DNA-alvo, consistem na chave para do poder do PCR.

Um problema inicial com o PCR envolve as suas condições de temperatura. Para desnaturar o DNA, ele precisa ser aquecido a uma temperatura superior a 90°C – temperatura que destrói a maioria das DNA-polimerases. A técnica de PCR não seria prática se uma nova polimerase devesse ser adicionada durante cada ciclo após a desnaturação.

Esse problema foi resolvido pela natureza: nas águas quentes do Parque Nacional de Yellowstone, bem como em outros locais de temperatura alta, vive uma bactéria chamada, apropriadamente, *Thermus aquaticus*. Os meios pelos quais esse organismo sobrevive a temperaturas superiores a 95°C foi investigado por Thomas Brock e seus colaboradores. Eles descobriram que a *T. aquaticus* possui uma maquinaria metabólica totalmente resistente ao calor, incluindo DNA-polimerase que não desnatura em temperaturas altas.

Cientistas trabalhando no problema da amplificação do DNA pela PCR leram o artigo de pesquisa básica de Brock e tiveram uma ideia genial: por que não usar a DNA-polimerase de *T. aqua-*

ticus na reação de PCR? Ela não seria desnaturada e, consequentemente, não precisaria ser adicionada durante cada ciclo. A ideia funcionou e possibilitou ao bioquímico Kerry Mullis ganhar o prêmio Nobel. A PCR tem causado enorme impacto na pesquisa genética. Algumas das suas aplicações mais notáveis descreveremos nos Capítulos 13 ao 17.

A sequência de nucleotídeos do DNA pode ser determinada

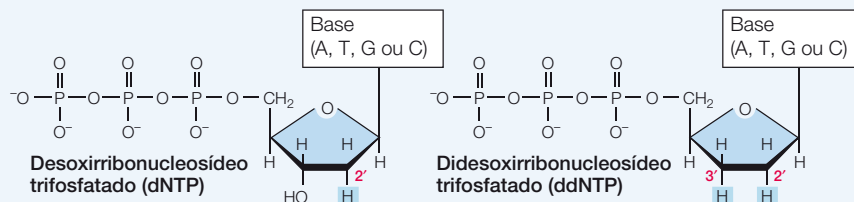
Outra técnica importante permite aos pesquisadores determinar a sequência de bases de uma molécula de DNA. A técnica de **sequenciamento de DNA** baseia-se no uso de nucleosídeos artificialmente alterados. Segundo vimos anteriormente neste capítulo, os desoxirribonucleosídeos trifosfatados (dNTP), substratos normais para a replicação do DNA, contêm o açúcar desoxirribose. Se esse açúcar for substituído por 2,3-didesoxirribose, o resultante *didesoxinucleosídeo* trifosfato (ddNTP's) ainda será adicionado pela DNA-polimerase a uma cadeia polinucleotídica em crescimento. Entretanto, devido aos ddNTP's não possuírem um grupo hidroxila (-OH) na posição 3', o próximo nucleotídeo não pode ser adicionado (**Figura 11.24A**). Desse modo, a síntese é bloqueada no lugar onde o ddNTP se incorporou na extremidade em crescimento de uma fita de DNA.

Para determinar a sequência de DNA, um fragmento de DNA (usualmente não ultrapassando 700 pares de bases em extensão) é desnaturado. As fitas simples de DNA resultantes são colocadas em um tubo-teste e misturadas com

- DNA-polimerase para a síntese da fita complementar;
- oligonucleotídeos iniciadores curtos apropriados para a sequência de DNA;

MÉTODO DE PESQUISA

(A)



A ausência da OH na posição 3' significa que nucleosídeos adicionais não poderão ser adicionados.

(B)

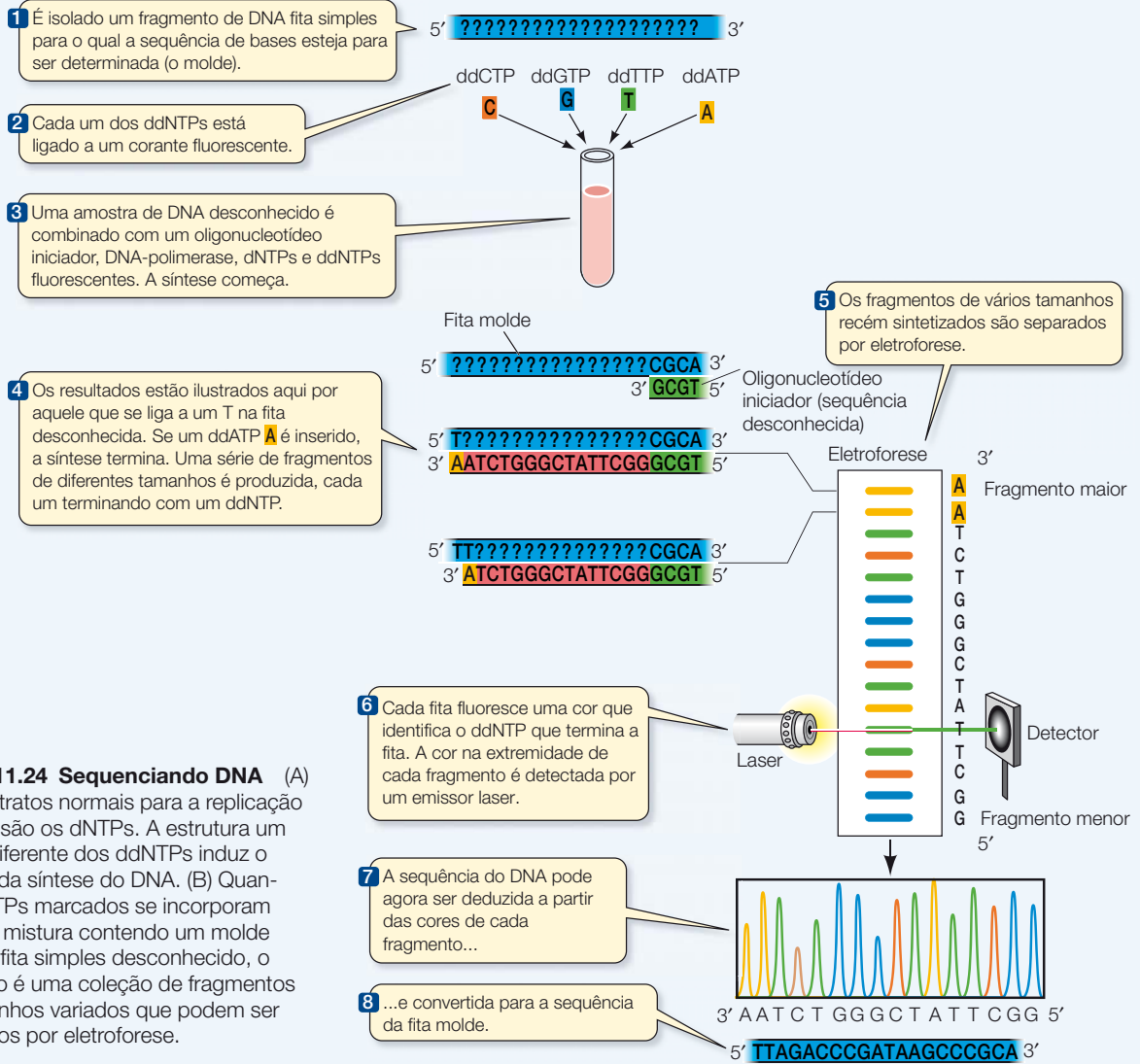


Figura 11.24 Sequenciando DNA (A)

Os substratos normais para a replicação de DNA são os dNTPs. A estrutura um pouco diferente dos ddNTPs induz o término da síntese do DNA. (B) Quando ddNTPs marcados se incorporam em uma mistura contendo um molde de DNA fita simples desconhecido, o resultado é uma coleção de fragmentos de tamanhos variados que podem ser separados por eletroforese.

- os quatro dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, e dTTP);
- pequenas quantidades dos quatro ddNTPs, cada um com uma "marca" que emite uma cor de luz diferente.

A replicação do DNA continua e o tubo-teste rapidamente se mostra como uma mistura de fitas molde de DNA e novas fitas

complementares mais curtas. As novas fitas, cada uma terminando com um ddNTP fluorescente, possuem tamanhos variáveis. Por exemplo, cada vez que um T é encontrado na fita molde, a DNA-polimerase adiciona um dATP ou um ddATP na fita complementar em crescimento. Se um dATP é adicionado, a fita continua a crescer. Se um ddATP é adicionado, o crescimento termina.

Após ter ocorrido a replicação do DNA por certo tempo, os novos fragmentos de DNA são desnaturados dos seus moldes. Os fragmentos são então submetidos à *eletroforese* (veja a Figura 16.2). Essa técnica separa os fragmentos de DNA por tamanho e pode detectar diferenças no tamanho dos fragmentos tão precisas quanto uma base. Durante a corrida eletroforética, os fragmentos passam, ordenados seguindo o aumento de tamanho, por um feixe de laser que excita as marcações fluorescentes. A luz emitida é então detectada, e a informação resultante – qual cor de fluorescência, e portanto qual ddNTP, está no final de uma fita de determinado tamanho – transfere-se para um computador. O computador processa essa informação e imprime a sequência de DNA do fragmento (**Figura 11.24B**). O sequenciamento de DNA formou a base da nova ciência da genômica.

11.5 RECAPITULAÇÃO

O conhecimento dos mecanismos da replicação do DNA levou ao desenvolvimento de técnicas para a produção de múltiplas cópias de sequências de DNA e para a determinação da sequência nucleotídica das moléculas de DNA.

- Você entendeu a função dos oligonucleotídeos iniciadores no PCR? Ver p. 250-251 e a Figura 11.23.
- Você pode explicar por que didesoxirribonucleotídeos são usados no sequenciamento de DNA? Ver p. 251-252 e a Figura 11.24.

RESUMO DO CAPÍTULO

11.1 Qual a evidência de que o gene é DNA?

Os experimentos de Griffith nos anos 1920 demonstraram que alguma substância nas células – então chamada de **princípio transformante** – pode causar uma mudança herdável em outras células. [Rever Figura 11.1.](#)

A localização e quantidade do DNA na célula sugeriam que o DNA poderia ser o material genético. Experimentos de Avery, MacLeod e McCarthy isolaram o princípio transformante de bactérias e o identificaram como sendo DNA. [Rever Figura 11.2.](#)

O experimento de Hershey-Chase estabeleceu conclusivamente que o DNA (e não proteína) é o material genético pelo rastreamento do DNA de vírus radiomarcados com os quais eles infectaram células bacterianas. [Rever Figura 11.4.](#)

A transformação genética de células eucarióticas denomina-se **transfecção**. A transformação e a transfecção podem ser estudadas com o auxílio de um gene **marcador** que confira um fenótipo conhecido e observável. [Rever Figura 11.5.](#)

11.2 Qual é a estrutura do DNA?

A regra de Chargaff estabelece que a quantidade de **adeninas** no DNA seja igual a de **timinas** e que a quantidade de **guaninas** seja igual a de **citosinas**; desta forma a abundância total de purinas (A + G) é igual a abundância total de pirimidinas (T + C).

A cristalografia de raios X mostrou que a molécula de DNA é **helicoidal**. Watson e Crick propuseram que a hélice com duas fitas na qual as fitas são **antiparalelas**. [Rever Figura 11.8.](#)

O **pareamento complementar de bases** entre A e T e entre G e C explica a regra de Chargaff. As bases se mantêm juntas por pontes de hidrogênio. [Rever Figura 11.9.](#)

11.3 Como o DNA é replicado?

Meselson e Stahl mostraram que a replicação do DNA é **semiconservativa**. Cada fita parental serve de **molde** para a síntese de uma nova fita; assim cada uma das duas moléculas replicadas de DNA contém uma fita parental e uma fita recém sintetizada. [Rever Figura 11.11.](#)

Na replicação do DNA, a enzima **DNA-polimerase** catalisa a adição de nucleotídeos para a extremidade 3' de cada fita. Quais nucleotídeos são adicionados determina-se pelo pareamento complementar de bases com a fita molde. [Rever Figura 11.12.](#)

O **complexo de replicação** é uma enorme proteína que se liga ao cromossomo na **origem de replicação (ori)**.

A replicação continua a partir da origem de replicação em ambas as fitas na direção 5' para 3', formando duas **forquilha de replicação**.

Muitas proteínas auxiliam na replicação do DNA. A **DNA-helicase** separa as fitas e **proteínas de ligação fita simples** evitam que as fitas se reassociem.

Em procariotos, dois DNAs circulares encadeados são formados; eles são separados por uma enzima chamada de **DNA-topoisomerase**. [Rever Figura 11.14.](#)

A **primase** catalisa a síntese de um curto **oligonucleotídeo iniciador** de RNA ao qual nucleotídeos são adicionados pela DNA-polimerase. [Rever Figura 11.16.](#)

A **fita contínua** é sintetizada ininterruptamente e a **fita descontínua** em pedaços chamados de **fragmentos de Okazaki**. Os fragmentos se reúnem por meio da **DNA ligase**. [Rever Figuras 11.18 e 11.19.](#)

A velocidade com a qual a polimerização do DNA ocorre é atribuída a natureza **processiva** das DNA-polimerases, as quais podem catalisar muitas polimerizações de cada vez. Um **grupo de DNA deslizante** auxilia a garantir a estabilidade deste processo. [Rever Figura 11.20.](#)

A replicação de DNA deixa uma sequência curta não replicada, o **telômero**, na extremidade 3' do cromossomo. A não ser que a enzima **telomerase** esteja presente, a sequência é removida. Após múltiplos ciclos celulares, os telômeros encurtam, levando a instabilidade cromossômica e morte celular. [Rever Figura 11.21.](#)

11.4 Como os erros no DNA são reparados?

As DNA-polimerases cometem ao redor de um erro a cada 10^5 bases replicadas. O DNA também está sujeito a alterações naturais e danos químicos. Este pode ser reparado por três mecanismos diferentes: **edição**, **reparo de não pareamentos** e **reparo por excisão**. [Rever Figura 11.22.](#)

11.5 Como são algumas das aplicações de nosso conhecimento da estrutura do DNA e da replicação?

A técnica da **reação em cadeia da polimerase** utiliza a DNA-polimerase a fim de produzir múltiplas cópias de DNA no laboratório. [Rever Figura 11.23.](#)

As técnicas de **sequenciamento de DNA** utilizam os princípios da replicação do DNA na determinação da sequência nucleotídica do DNA. [Rever Figura 11.24.](#)

QUESTÕES

- Os estudos de Griffith sobre *Streptococcus pneumoniae*:
 - mostraram que o DNA é o material genético de bactérias.
 - mostraram que o DNA é o material genético dos bacteriófagos.
 - demonstraram o fenômeno da transformação bacteriana.
 - provaram que os procariotos se reproduziam sexuadamente.
 - provaram que proteína não era o material genético.
- No experimento de Hershey-Chase,
 - o DNA dos bacteriófagos parentais apareceram na progênie dos bacteriófagos.
 - a maior parte do DNA dos fagos nunca entrou nas bactérias.
 - mais de três quartos das proteínas dos fagos apareceram na progênie de fagos.
 - o DNA foi marcado com enxofre radioativo.
 - o DNA formou o envelope dos bacteriófagos.
- Qual afirmação a respeito do pareamento complementar de bases *não* está correta?
 - Ele desempenha uma função na replicação do DNA.
 - No DNA, T pareia com A.
 - Purinas pareiam-se com purinas e pirimidinas com pirimidinas.
 - No DNA, C pareia-se com G.
 - Os pares de bases possuem tamanhos iguais.
- Na replicação semiconservativa do DNA,
 - a dupla-hélice original permanece intacta e uma nova dupla-hélice é formada.
 - as fitas da dupla-hélice separam-se e atuam como moldes para as novas fitas.
 - a polimerização é catalisada pela RNA-polimerase.
 - a polimerização é catalisada por uma enzima em dupla-hélice.
 - o DNA é sintetizado a partir de aminoácidos.
- Qual dos seguintes *não* ocorre durante a replicação do DNA?
 - Desenrolamento da dupla-hélice parental.
 - Formação de pedaços curtos que são conectados pela DNA-ligase.
 - Pareamento complementar de bases.
 - Uso de um oligonucleotídeo iniciador.
 - Polimerização na direção 3' para 5'.
- O oligonucleotídeo iniciador utilizado para a replicação do DNA
 - é uma fita curta de RNA adicionada na extremidade 3'.
 - é adicionado somente uma vez na fita contínua.
 - permanece no DNA após a replicação.
 - garante que haverá uma extremidade 5' para a qual nucleotídeos podem ser adicionados.
 - é adicionado a somente uma das duas fitas molde.
- Uma fita de DNA possui a sequência 5'-ATTCCG-3'. A fita complementar para ela é
 - 5'-TAAGGC-3'
 - 5'-ATTCCG-3'
 - 5'-ACCTTA-3'
 - 5'-CGGAAT-3'
 - 5'-GCCTTA-3'
- A função da DNA-ligase na replicação do DNA:
 - adicionar mais nucleotídeos a fita em crescimento.
 - abrir as duas fitas de DNA a fim de expor as fitas molde.
 - ligar a base ao açúcar e ao fosfato em um nucleotídeo.
 - ligar os fragmentos de Okazaki uns aos outros.
 - remover as bases pareadas incorretamente.
- A reação em cadeia da polimerase:
 - é um método de sequenciamento de DNA.
 - é usado para transcrever genes específicos.
 - amplifica sequências de DNA específicas.
 - não necessita de oligonucleotídeos iniciadores para a replicação do DNA.
 - utiliza uma DNA-polimerase que desnatura-se a 55°C.
- Qual é a ordem correta para os seguintes eventos no reparo por excisão do DNA?
 - O DNA pareado é produzido complementar ao molde.
 - Bases danificadas são reconhecidas.
 - A DNA-ligase sela a nova fita ao DNA existente.
 - Parte de uma única fita é excisada.
 - 1234
 - 2134
 - 2413
 - 3421
 - 4231

PARA DISCUSSÃO

1. Suponha que Meselson e Stahl tivessem continuado o seu experimento sobre a replicação do DNA por outras dez gerações bacterianas. Haveria ainda algum DNA ^{14}N - ^{15}N híbrido presente? Ele ainda teria aparecido no tubo centrifugado? Explique.
2. Se a replicação de DNA fosse conservativa ao invés de semiconservativa, quais resultados Meselson e Stahl teriam observado? Represente os resultados utilizando as convenções da Figura 11.10.
3. Usando as informações que seguem, calcule o número de origens de replicação em um cromossomo humano: a DNA-polimerase adiciona nucleotídeos a 3 mil pares de bases por minuto em uma direção; a replicação é bidirecional; a fase S dura 300 minutos; existem 120 milhões de pares de bases por cromossomo. Considerando um cromossomo típico de 3 μm de comprimento, quantas origens existem por μm ?
4. A droga didesoxicitidina, usada para tratar certas infecções virais, é um nucleotídeo produzido com a 2',3'-didesoxirribose. Esse açúcar não apresenta grupamentos -OH em ambas as posições 2' e 3'. Explique por que esta droga finaliza o crescimento de uma cadeia de DNA quando adicionada ao DNA.

PARA INVESTIGAÇÃO

Esquematize uma série de experimentos utilizando isótopos radioativos a fim de mostrar que é o DNA e não a proteína das bactérias que entra na célula hospedeira e realiza a transformação bacteriana.

Vingança tóxica no ribossomo

Em 1978, Georgi Markov, jornalista búlgaro que escreveu artigos criticando o então governo comunista da Bulgária, exilou-se em Londres. Uma noite, estava numa parada de ônibus perto da estação de Waterloo, e um homem – possivelmente um agente secreto búlgaro – esbarrou nele e, aparentemente por acidente, cutucou-o com um guarda-chuva. Markov sentiu uma dor aguda. Poucas horas depois, começou a se sentir fraco. Alta temperatura, vômito e sintomas mais severos se seguiram. Dois dias depois, ele morreu.

Investigadores da polícia encontraram um projétil incrustado na perna de Markov. O projétil tinha uma pequena quantidade de ricina, molécula altamente tóxica isolada de sementes da planta tropical mamona *Ricinus communis*. Sementes de *Ricinus* têm sido usadas por séculos como fonte de óleo de mamona, um produto natural frequentemente administrado em crianças para “limpar” o trato digestivo. Atualmente, utiliza-se o óleo de mamona em indústrias de plásticos. A proteína tóxica da ricina não está presente no óleo da semente, e pessoas descobriram da pior maneira possível que

essa é uma das substâncias mais venenosas produzidas por um organismo. Ao redor de 1 miligrama (quantidade do tamanho da cabeça de um alfinete) pode matar um homem.

O assassinato de Markov não é o único caso de uso deliberado da ricina. Pequenas quantidades de ricina foram encontradas em cavernas no Afeganistão ocupadas pelo grupo terrorista Al-Qaeda, e o veneno pode ter sido usado na guerra entre o Irã e Iraque na década de 1980. Nos anos 90, quatro membros de um grupo antiimpostos foram detidos por conspirarem para matar, com o uso de ricina, um funcionário do alto escalão do governo dos Estados Unidos. Em 3 de fevereiro de 2004, os escritórios do senado dos Estados Unidos foram fechados quando se encontrou ricina em uma sala de correspondências.

Muito tem sido escrito sobre as possíveis maneiras de se usar a ricina em um ataque terrorista. Isso é improvável, entretanto, porque quantidades relativamente grandes de ricina seriam necessárias para matar um número significativo de indivíduos. Ao contrário das bactérias que causam o *anthrax*, as moléculas de ricina são proteínas; não se reproduzem.

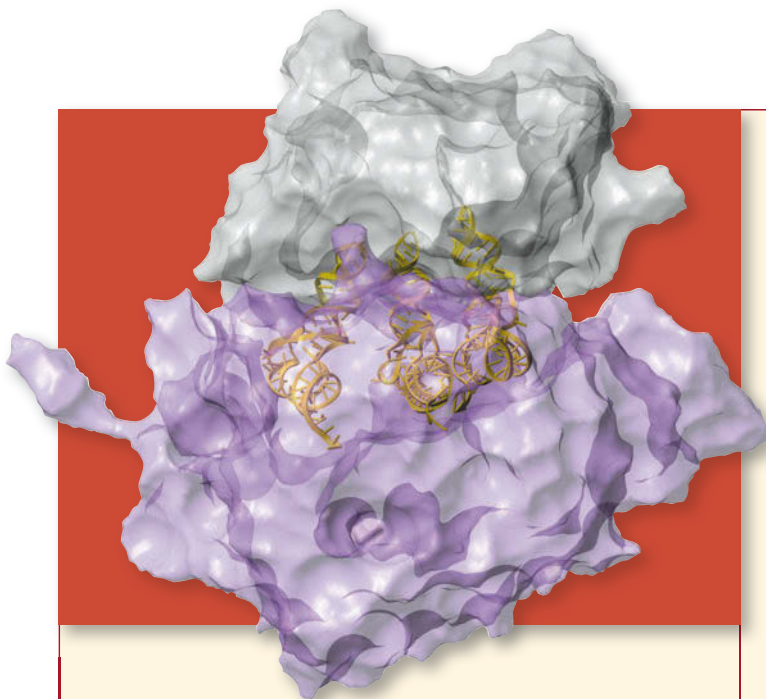
A ricina entra na célula por ligação à membrana

glicoproteica e glicolípida que contém galactose. Visto que muitas moléculas de superfície celular contêm esse açúcar, a ricina se liga a muitas células. Depois de serem endocitadas e liberadas no citoplasma celular, a ricina mata a célula, bloqueando a síntese proteica. Mais especificamente, catalisa a modificação e a clivagem de uma das gran-



***Ricinus communis*, a mamona**

Esta colorida planta tropical produz ricina, toxina letal que inibe a síntese proteica no ribossomo.



O alvo da ricina A ricina inativa o ribossomo, o qual é o sítio da síntese proteica. Ribossomos são grandes agregados de macromoléculas, contendo dúzias de proteínas e RNA ribossomal em duas subunidades (violeta e cinza) e três moléculas de RNA transportador (dourado).

des moléculas de RNA que compreendem o ribossomo eucariótico – a bancada da síntese proteica. Uma única molécula de ricina no citoplasma pode modificar 1500 ribossomas, matando a célula em minutos.

As proteínas são a principal expressão fenotípica do genótipo – a informação genética codificada pelo DNA da célula. A ricina inibe a habilidade da célula em expressar o genótipo como fenótipo por meio da síntese de proteínas, e então as células envenenadas pela ricina não podem sobreviver.

NESTE CAPÍTULO vemos de que forma os genes são expressos em proteínas. Começamos com a evidência da relação entre genes e proteínas e então esmiuçamos alguns detalhes da transcrição (a cópia da sequência do gene do DNA em sequência de RNA) e tradução (o uso da sequência de RNA para fazer um polipeptídeo com uma sequência definida de aminoácidos). Finalmente, definimos mutação e seus fenótipos em termos moleculares específicos.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 12.1** Qual é a evidência de que genes codificam proteínas?
- 12.2** Como a informação flui dos genes para as proteínas?
- 12.3** Como a informação contida no DNA transcrito produz RNA?
- 12.4** Como o RNA é traduzido em proteínas?
- 12.5** O que acontece aos polipeptídeos após a tradução?
- 12.6** O que são mutações?

12.1 Qual é a evidência de que genes codificam proteínas?

No Capítulo 11, definimos genes como sequências de DNA e aprendemos que genes são expressos em características físicas conhecidas como *fenótipo*. Aqui, definimos fenótipo como proteínas. Qual é a evidência para essa definição?

A base molecular dos fenótipos foi realmente descoberta antes de se saber que o DNA era o material genético. Cientistas têm estudado as diferenças químicas entre indivíduos carregando alelos tipo selvagem e mutantes em diversos organismos desde o homem até o mofo de pão. Eles detectaram que as principais diferenças fenotípicas resultam de diferenças em proteínas específicas.

Experimentos com mofo de pão estabeleceram que genes determinam enzimas

Em função da teoria celular, cientistas investigando um fenômeno biológico podem razoavelmente assumir que o que é encontrado em um organismo se aplica a outros. Então frequentemente procuram um *organismo modelo*, que cresça facilmente em laboratório ou que se possa observar o produto e mostre o fenômeno a ser estudado. Nos capítulos prévios vimos muitos exemplos de organismos modelo, incluindo:

- Plantas de ervilhas (*Pisum sativum*) usadas por Mendel em seus experimentos genéticos.
- Moscas-das-frutas (*Drosophila*) usadas por Morgan em seus experimentos genéticos.
- *E. coli* usadas por Meselson e Stahl para estudar replicação.

A essa lista adicionamos agora o mofo comum do pão, *Neurospora crassa*. *Neurospora* é um tipo de fungo conhecido por ascomiceto (ver Capítulo 30). Esse mofo é haploide grande parte de sua vida, tornando sua genética simples (pois não há relação dominante/recessivo), fácil de cultivar e cresce bem em laboratório. Nos anos de 1940, George W. Beadle e Edward L. Tatum, na Universidade de Stanford, começaram estudos para definir quimicamente o fenótipo de *Neurospora*.

O papel das enzimas na bioquímica estava sendo descrito no tempo em que Beadle e Tatum começaram seu trabalho. Eles hipotetizaram que a expressão de um gene como um fenótipo poderia ocorrer por meio de uma enzima. Cultivaram *Neurospora* em meio nutricional mínimo contendo sacarose, minerais e vitaminas. Usando esse meio, as enzimas de *Neurospora* tipo selvagem poderiam catalisar as reações metabólicas necessárias a fim de produzir os constituintes químicos de suas células, incluindo proteínas. Essas cepas tipo selvagem denominam-se *prototróficas* (“alimentam-se de nutrientes básicos, originais”).

Mutações fornecem uma maneira eficaz de determinar causa e efeito em biologia. Nada tem sido tão evidente como a elucidação de rotas bioquímicas. Beadle e Tatum trataram *Neurospora* tipo selvagem com raios X, um mutagênico (sabidamente causador de mutações). Quando examinaram os fungos tratados, encontraram algumas cepas mutantes que não mais podiam crescer em meio mínimo, desenvolvendo-se apenas se suplementadas com nutrientes adicionais. Os cientistas propuseram que esses *auxotróficos* (“alimentam-se de nutrientes extras, além dos básicos”) deviam ter sofrido mutações nos genes que codificavam as enzimas necessárias à síntese dos nutrientes que agora precisavam obter do ambiente. Para cada cepa auxotrófica, Beadle e Tatum foram capazes de achar um único composto que, ao ser adicionado ao meio mínimo, possibilitava o crescimento daquela cepa. Esse resultado sustentou a ideia de que as mutações produzem efeitos únicos, e que cada mutação causa um defeito em apenas uma enzima em uma via metabólica. Essas conclusões se tornaram conhecidas por **hipótese de um gene, uma enzima (Figura 12.1)**.

Um grupo de auxotróficos, por exemplo, podia crescer em meio mínimo suplementado com o aminoácido arginina. (*Neurospora* tipo selvagem produz arginina por si própria.) Essas cepas mutantes foram designadas mutantes *arg*.

Beadle e Tatum encontraram muitas alternativas cepas mutantes *arg*. Propuseram duas hipóteses alternativas para explicar porque essas cepas geneticamente diferentes tinham o mesmo fenótipo:

- Os diferentes mutantes *arg* poderiam ter mutações no mesmo gene, como no caso de diferentes alelos para cor de olhos da mosca-das-frutas. Nesse caso, o gene poderia codificar uma enzima envolvida na síntese da arginina.
- Os diferentes mutantes *arg* poderiam ter mutações em *diferentes genes*, cada um codificando uma função separada que leva a produção da arginina. Essas funções independentes poderiam ser enzimas distintas ao longo da mesma rota bioquímica.

Algumas das cepas mutantes *arg* encaixaram-se em cada uma das duas categorias. Cruzamentos genéticos mostraram que algumas das mutações estavam no mesmo locus cromossomal, e eram diferentes alelos do mesmo gene. Beadle e Tatum concluíram que esses genes diferentes participaram controlando uma única via biossintética, neste caso, a via que leva a síntese da arginina (ver a interpretação na Figura 12.1).

Cultivando diferentes mutantes *arg* na presença de vários compostos supostamente intermediários na via biossintética da arginina, Beadle e Tatum foram capazes de classificar cada mutação que afetava uma enzima ou outra e de ordenar os compostos ao longo da via. Então romperam células tipo selvagem e mutan-

Figura 12.1 Um gene, uma enzima Beadle e Tatum estudaram vários mutantes *arg* de *Neurospora*. Diferentes cepas de mutantes *arg* necessitaram a adição de compostos distintos ao seu meio de cultura com o objetivo de sintetizar a arginina necessária para o seu crescimento. Siga a figura para entender o raciocínio que confirma a hipótese “um gene, uma enzima”. **PESQUISA ADICIONAL: se um esporo de *Neurospora* diploide foi feito de duas células haploides, uma com o mutante 3 e outra com o mutante 2, qual deveria ser seu fenótipo?**

tes e as examinaram para atividades enzimáticas. Os resultados confirmaram suas hipóteses: cada cepa mutante perdeu uma única enzima ativa da rota.

A conexão gene-enzima tinha sido proposta quarenta anos antes pelo médico escocês Archibald Garrod, que estudou a herança humana da doença alcaptonúria. Em 1908, Garrod fez a conexão do fenótipo bioquímico da alcaptonúria com uma enzima que faltava, e conseqüentemente com um gene anormal. Hoje são conhecidas centenas de exemplos de tais doenças herdáveis.

Um gene determina um polipeptídeo

A relação gene-enzima tem sofrido diversas modificações devido ao conhecimento atual em biologia molecular. Muitas proteínas, incluindo muitas enzimas, compõem-se por mais do que uma cadeia polipeptídica, ou subunidade (ou seja, possuem uma estrutura quaternária; ver Seção 3.2). Observe a ilustração da hemoglobina na Figura 3.9: esta proteína apresenta quatro polipeptídeos, dois de cada tipo de cadeia. No caso da hemoglobina, cada cadeia polipeptídica é codificada pelo seu próprio gene separadamente. Então, é mais correto falar **um gene, um polipeptídeo**.

Em outras palavras, a função de um gene consiste no controle de produção de um único e específico polipeptídeo. Essa afirmação permanece verdadeira apesar do fato conhecido de que genes codificam formas de RNA não traduzidas em polipeptídeos, e ainda outras seqüências de genes que não produzem polipeptídeos, mas estão envolvidas no controle da expressão de outras seqüências de DNA (ou seja, produção de polipeptídeos).

12.1 RECAPITULAÇÃO

Os estudos de mutações no mofo de pão, realizados por Beadle e Tatum, levaram ao entendimento da relação um gene, um polipeptídeo: a função de um gene é codificar um polipeptídeo específico.

- O que é um organismo modelo e por que a *Neurospora* foi um bom modelo para estudar genética bioquímica? Ver p. 257.
- Como os experimentos de Beadle e Tatum em *Neurospora* serviram para determinar, com base no fenótipo de cepas mutantes, a ordem de uma via bioquímica? Ver p. 258 e Figura 12.1.
- Você entende a diferença entre as frases “um gene, uma proteína” e “um gene, um polipeptídeo”?

EXPERIMENTO

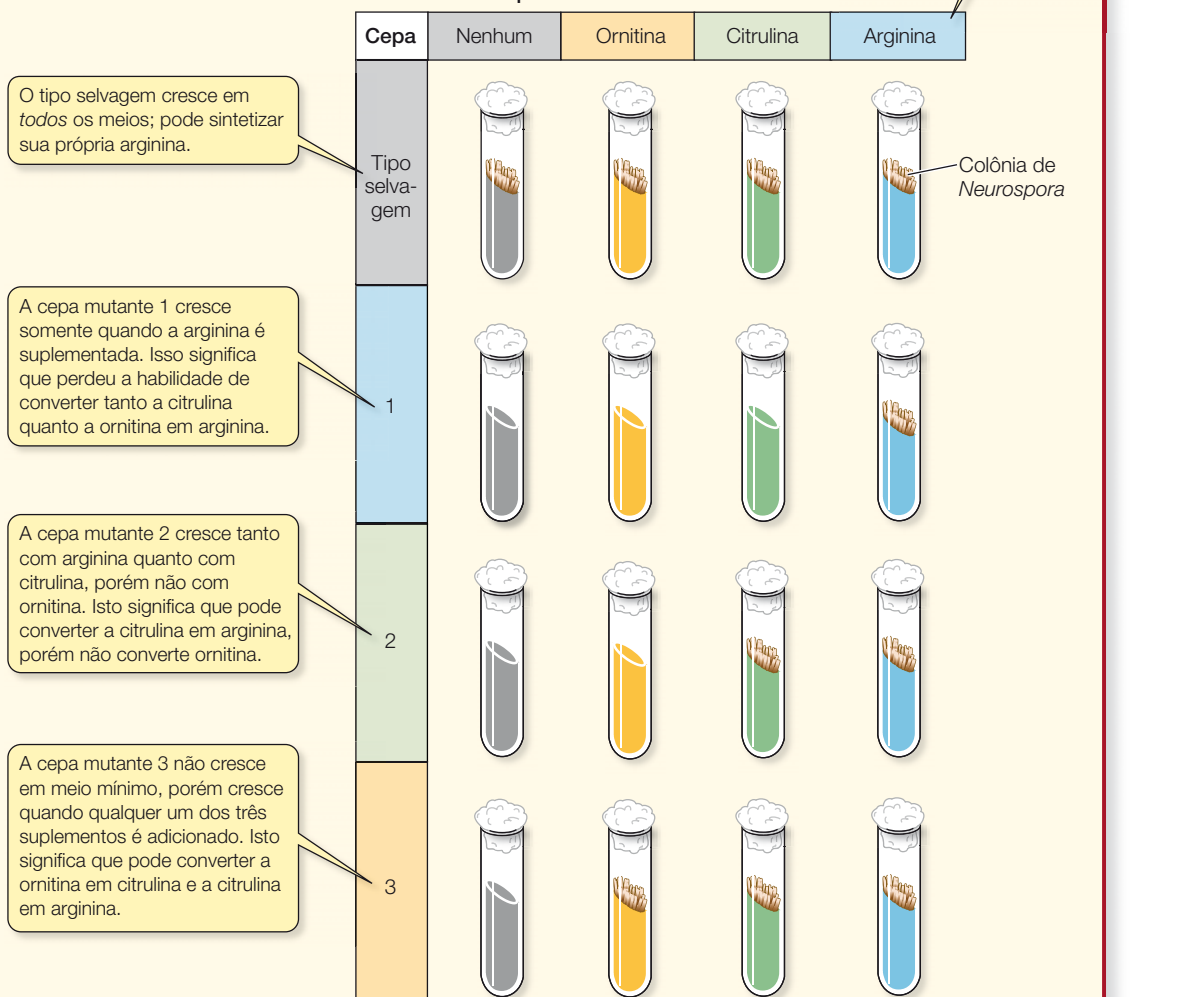
HIPÓTESE: Genes determinam enzimas em uma via bioquímica.

MÉTODO

Coloca-se esporos (únicas células que se dividem para produzir colônias de mofo) de cada cepa mutante *arg* em meio mínimo sem suplementos.

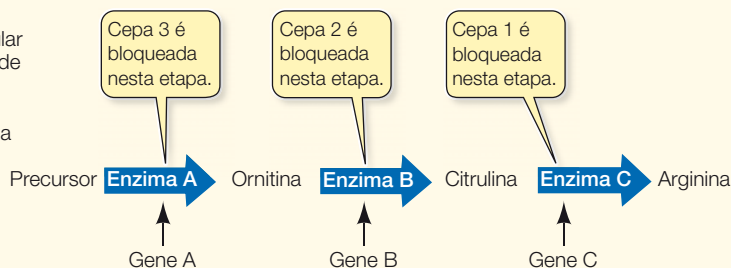
RESULTADOS

Suplementos adicionados ao meio mínimo



INTERPRETAÇÃO

Se um organismo não pode converter um composto particular em outro, presumivelmente perde uma enzima requerida para a conversão, e a mutação ocorre em um gene que codifica aquela enzima.



CONCLUSÃO: Cada gene especifica uma enzima particular.

Agora que já estabelecemos a relação um gene, um polipeptídeo, como isso funciona? Ou seja, de que forma essa informação contida no DNA é usada para produzir um polipeptídeo em particular?

12.2 Como a informação flui dos genes para as proteínas?

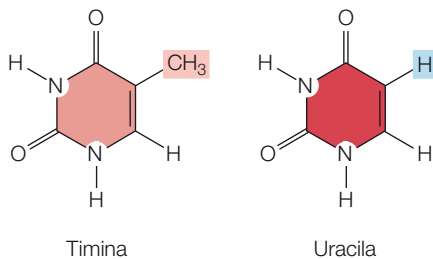
A expressão de um gene para formar um polipeptídeo ocorre em dois passos principais:

- **Transcrição** copia a informação da sequência de DNA (um gene) na informação correspondente em sequência de RNA.
- **Tradução** converte essa sequência de RNA em sequência de aminoácidos do polipeptídeo.

O RNA é diferente do DNA

O RNA é a chave intermediária entre DNA e polipeptídeo. **RNA (ácido ribonucleotídeo)** consiste em um polipeptídeo similar ao DNA (ver Figura 3.24), mas é diferente do DNA em três pontos:

- RNA geralmente consiste em apenas uma cadeia de polinucleotídeos.
- A molécula de açúcar encontrada no RNA é a ribose, ao invés da desoxirribose encontrada no DNA.
- Embora três das bases nitrogenadas (adenina, guanina e citosina) no RNA sejam idênticas aquelas do DNA, a quarta base no RNA é a **uracila (U)**, similar à timina, mas sem o grupo metila (-CH₃).



O RNA pode parear as bases com DNA de fita simples. Esse pareamento obedece às mesmas regras de complementaridade que o DNA, com a exceção de que a *adenina* *pareia* com a *uracila* em vez da timina. O RNA pode também se dobrar em formas complexas por pareamento interno, conforme veremos neste capítulo.

A informação flui em uma direção quando os genes são expressos

Tão logo Francis Crick e James Watson propuseram a estrutura tridimensional do DNA, Francis Crick ponderou o problema de como o DNA encontra-se funcionalmente relacionado com as proteínas. Isto levou-o a propôr o chamado **dogma central** da biologia molecular. O dogma central, simplesmente, consiste em que o DNA codifica a produção de RNA, enquanto o RNA codifica a produção de proteína (mais corretamente, polipeptídeo) e a proteína não codifica a produção de proteína, de RNA ou de DNA (Figura 12.2a). Nas palavras de Crick, “uma vez que a informação foi passada à proteína, não pode mais voltar”.

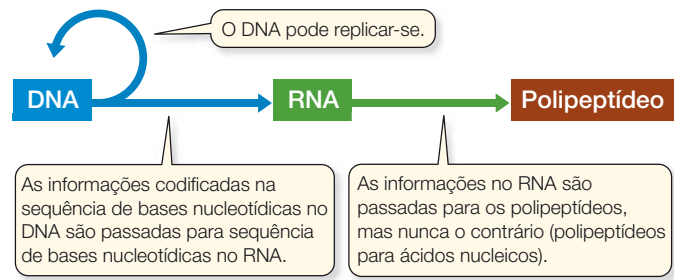


Figura 12.2 O Dogma Central As informações fluem do DNA para o RNA e deste para o polipeptídeo, como indicado pelas setas.

O dogma central levantou duas questões:

- Como a informação genética sai do núcleo para o citoplasma? (Como a Seção 4.3 explica, a maioria do DNA de uma célula eucariótica encontra-se confinada ao núcleo, porém as proteínas são sintetizadas no citoplasma.)
- Qual a relação entre uma sequência nucleotídica específica no DNA e uma sequência de aminoácidos na proteína?

Para responder a essas questões, Crick propôs duas hipóteses.

A HIPÓTESE DO MENSAGEIRO E DA TRANSCRIÇÃO Para responder à questão de como a informação sai do núcleo e vai para o citoplasma, Crick e colaboradores propuseram a *hipótese do mensageiro*. Eles propuseram que a molécula de RNA forma uma cópia complementar de uma das fitas de DNA de um gene particular. Esse **RNA mensageiro**, ou **mRNA**, viaja então do núcleo para o citoplasma, onde vai servir de molde à síntese de proteínas nos ribossomos. O processo pelo qual esse RNA se forma denomina-se **transcrição** (Figura 12.3).

A hipótese de Crick tem sido testada repetidamente para genes que codificam proteínas, e o resultado é sempre o mesmo: cada sequência de gene no DNA que codifica uma proteína se expressa por meio de uma sequência de mRNA.

A HIPÓTESE DO ADAPTADOR E DA TRADUÇÃO Para responder à questão de como a sequência de DNA sai transformada em uma sequência de aminoácidos específica do polipeptídeo, Crick propôs a *hipótese do adaptador*: deveria existir uma *molécula adaptadora* que poderia se ligar a um aminoácido específico e reconhecer uma sequência de nucleotídeos. Ele visualizou esses adaptadores como moléculas de duas regiões, uma de ligação e outra de reconhecimento. A seu tempo, esses adaptadores foram encontrados: denominam-se **RNA transportadores**, ou **tRNA**. Uma vez que reconhecem a mensagem genética do mRNA e simultaneamente carregam aminoácidos específicos, os tRNA *traduzem* a linguagem do DNA para a linguagem das proteínas. Os tRNA adaptadores, carregando aminoácidos ligados, alinham-se na sequência do mRNA, de forma que os aminoácidos ficam na sequência apropriada para o crescimento da cadeia polipeptídica – processo chamado **tradução** (ver Figura 12.3). Outra vez, observações reais da expressão de milhares de genes têm confirmado a hipótese de que o tRNA age como um intermediário entre a informação da sequência de nucleotídeos no mRNA e a sequência de aminoácidos na proteína.

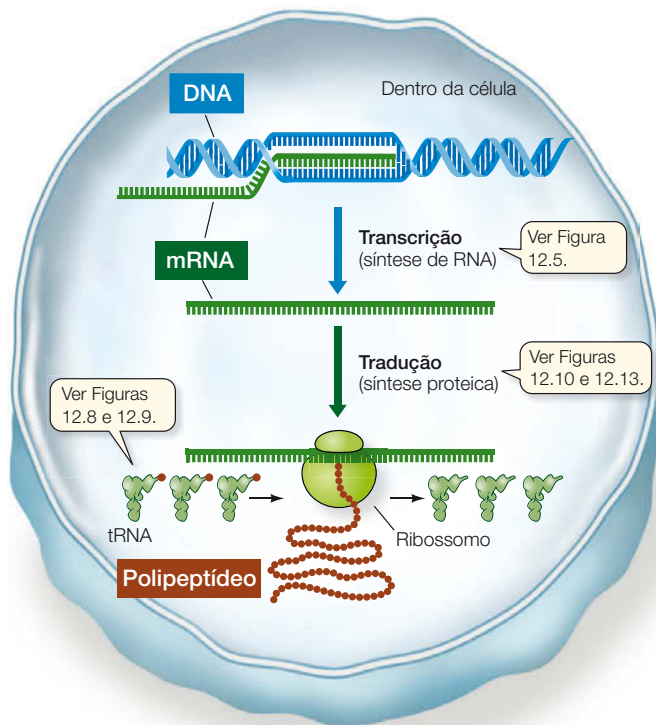


Figura 12.3 Do gene à proteína O diagrama resume o processo de expressão gênica em procariontes. Em eucariontes, os processos são algumas vezes mais complexos.

Resumindo as características principais do dogma central da hipótese do mensageiro e da hipótese do adaptador, podemos dizer que um dado gene é transcrito para produzir um RNA mensageiro (mRNA) complementar a uma das fitas de DNA, e que as moléculas de RNA transportador (tRNA) traduzem a sequência de bases do mRNA em uma sequência apropriada de aminoácidos durante a síntese proteica.

Vírus de RNA são exceções ao dogma central

Certos vírus apresentam exceções ao dogma central. Conforme visto na Seção 11.1, *viroses* são partículas infecciosas acelulares que se reproduzem dentro de células. Muitos vírus, tais como o do mosaico do tabaco, o da gripe e o poliovírus, possuem RNA em vez de DNA como material genético. Com a sua sequência de nucleotídeos, o RNA poderia potencialmente atuar como um carreador de informação e ser expresso na forma de proteínas. Mas se o RNA é normalmente de fita simples, de que modo se replicaria? Os vírus geralmente resolvem esse problema transcrevendo RNA a partir de RNA, fazendo uma fita de RNA complementar à do genoma. Essa fita “oposta” é usada para fazer múltiplas cópias do genoma viral por transcrição:



O vírus da imunodeficiência humana (HIV) e alguns vírus causadores de tumores raros também possuem RNA como genoma,

porém não o replicam da maneira RNA para RNA. Em vez disso, após invadirem uma célula hospedeira, fazem uma cópia de DNA do seu genoma e o usam para desenvolver mais RNA. Esse RNA é, então, usado tanto como modelo para fazer mais cópias do genoma viral e como mRNA para produzir proteínas virais.



A síntese de DNA a partir de RNA denomina-se de **transcrição reversa** e não surpreendentemente, tais vírus são chamados de **retrovírus**.

12.2 RECAPITULAÇÃO

O dogma central da biologia molecular determina que o DNA codifica a produção de RNA, e que o RNA codifica a produção de proteínas (polipeptídeos). Proteínas não codificam a produção de proteína, RNA ou DNA. Transcrição consiste no processo que copia uma sequência de DNA em mRNA. Tradução é o modo pelo qual essa informação converge-se em proteína. O RNA reconhece a informação genética em RNA mensageiro e contrói aminoácidos numa posição apropriada numa cadeia crescente polipeptídica.

- Você entende o dogma central da biologia molecular? Ver p. 260 e Figura 12.2.
- Você pode descrever os papéis do mRNA e tRNA na expressão gênica? Ver p. 260 e Figura 12.3.

Observe os processos físicos fundamentados no dogma central em maior detalhe. Começaremos descrevendo como a informação no DNA é transcrita para produzir RNA.

12.3 Como a informação contida no DNA transcrito produz RNA?

Em células procarióticas e eucarióticas normais, a síntese de RNA é dirigida por DNA. A transcrição – formação de um RNA específico a partir de um DNA específico requer muitos componentes:

- O DNA molde para o pareamento de bases complementares.
- Os trifosfatos ribonucleosídeos apropriados (ATP, GTP, CTP, e UTP) como substratos.
- Uma enzima *RNA-polimerase*.

Dentro de cada gene, apenas uma das duas fitas de DNA – a **fita molde** – é transcrita. A outra, fita de DNA complementar, denominada *fita não molde*, permanece não transcrita. Para diferentes genes na mesma molécula de DNA, diferentes fitas podem ser transcritas. Ou seja, a fita não molde de um gene pode servir de fita molde noutro gene.

Não apenas o mRNA se produz por transcrição. O mesmo processo é responsável pela síntese de tRNA e RNA ribossomal (rRNA), cujos papéis importantes na síntese proteica são descritos a seguir. Como os polipeptídeos, esses RNA são codificados por genes específicos.

As RNA-polimerases compartilham características comuns

As **RNA-polimerases** de ambos, procariotos e eucariotos, catalisam a síntese de RNA do molde de DNA. Existe apenas uma RNA-polimerase nas bactérias, enquanto existem três nos eucariotos. Todas compartilham uma estrutura comum, que lembra uma garra de caranguejo (**Figura 12.4**). A catálise ocorre em vários passos:

- A enzima reconhece certas bases dentro da dupla-hélice de DNA e se liga a elas.
- Uma vez que o DNA molde tenha se ligado a enzima, as “garra” se fecham, mantendo o DNA em forma de dupla-fita chamada *complexo fechado*.
- Uma mudança conformacional ocorre na RNA-polimerase, desnaturando um pequeno (10 pares de bases) pedaço de DNA e formando o *complexo aberto*.
- O complexo aberto torna as bases não pareadas do DNA disponíveis para parearem com ribonucleotídeos, e a síntese do RNA começa.

Como as DNA-polimerases, as RNA-polimerases são *processivas*; ou seja, um único evento de ligação enzima-molde resulta na polimerização de centenas de bases de RNA. Ao contrário das DNA-polimerases, as RNA-polimerases não necessitam de um iniciador.

A transcrição ocorre em três etapas

A transcrição pode ser dividida em três processos distintos: iniciação, alongamento e terminação.

INICIAÇÃO A iniciação da transcrição requer um **promotor**, uma sequência especial de DNA na qual a RNA-polimerase se liga muito fortemente (**Figura 12.5A**). Há pelo menos um promotor para cada gene (ou, em procariotos, cada conjunto de genes) a ser transcrito em mRNA. Os promotores são importantes sequências de controle que “dizem” à RNA-polimerase três coisas:

- Onde começa a transcrição;
- Que fita de DNA transcrever;
- A direção a tomar a partir do início.

Um promotor, que consiste em uma sequência específica no DNA lida numa direção particular, orienta a RNA-polimerase e dessa maneira “a dirige” na fita correta a ser usada de molde. Promotores funcionam como a pontuação numa frase, que determina de que modo uma sequência de palavras deve ser lida para formar uma frase. Uma parte de cada promotor é o **sítio de iniciação**, onde a transcrição começa. Grupos de nucleotídeos permanecem acima do sítio de iniciação (5’ na fita não molde e 3’ na fita molde) que ajudam na ligação da RNA-polimerase.

Embora cada gene tenha um promotor, nem todos os promotores são idênticos. Alguns promotores são mais efetivos no início da transcrição do que outros. Além disso, há diferenças entre o início da transcrição em procariotos e eucariotos (que serão consideradas nos Capítulos 13 e 14).

ALONGAMENTO Uma vez que a RNA-polimerase tenha se ligado ao promotor, ela começa o processo de **alongamento** (**Figura 12.5B**). A RNA-polimerase desenrola o DNA em torno de

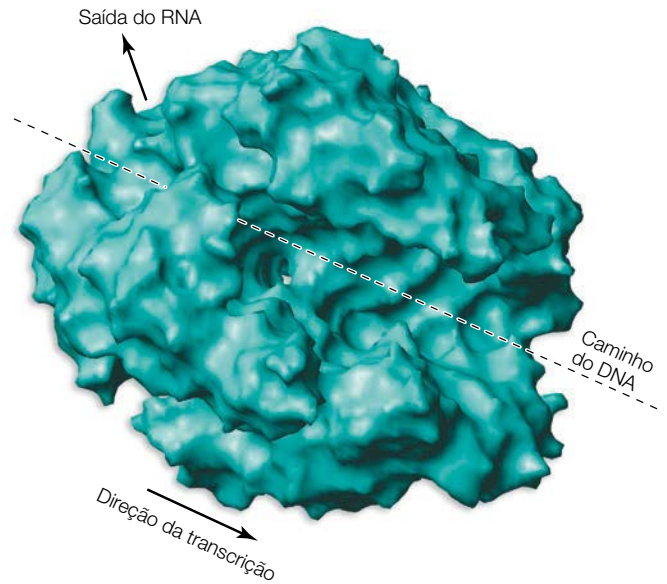


Figura 12.4 RNA-polimerase Esta enzima da levedura assemelha-se a muitas outras RNA-polimerases.

10 pares de bases de cada vez e lê a fita-molde na direção 3’ para 5’. Como a DNA-polimerase, a RNA-polimerase adiciona novos nucleotídeos no final 3’ da fita em crescimento, mas não necessita de um iniciador para começar este processo. O novo RNA alonga a partir da primeira base, que forma do seu final 5’ para o seu final 3’. O transcrito de RNA é, portanto, antiparalelo em relação à fita molde de DNA.

Ao contrário das DNA-polimerases, as RNA-polimerases não inspecionam e corrigem seu trabalho (ver Seção 11.4). Os erros na transcrição ocorrem em uma taxa de 1 para cada 10^4 a 10^5 bases. Entretanto, como são feitas muitas cópias de RNA e como essas cópias têm somente uma vida relativamente curta, esses erros não são potencialmente tão danosos quanto as mutações no DNA.

TERMINAÇÃO O que determina que a RNA-polimerase pare de adicionar nucleotídeos ao transcrito de RNA em crescimento? Da mesma maneira como os sítios de iniciação da fita molde do DNA especificam o ponto de início da transcrição, sequências de bases particulares determinam sua **terminação** (**Figura 12.5C**). Os mecanismos de terminação são complexos e de mais de um tipo. Para alguns genes, os novos transcritos formados simplesmente saem fora do molde de DNA e da RNA-polimerase. Para outros, a proteína auxiliar puxa o transcrito para fora.

Nos procariotos, que não possuem envelope nuclear e podem ter ribossomos localizados perto dos cromossomos, a tradução frequentemente começa perto da extremidade 5’ do mRNA, antes que a transcrição da molécula de mRNA esteja completa. Nos eucariotos, a situação é mais complicada. Primeiro, há uma separação espacial da transcrição (no núcleo) e da tradução (no citoplasma). Segundo, o primeiro produto da transcrição consiste em um pré-mRNA, maior do que o mRNA final, e precisa sofrer um processamento considerável antes de ser traduzido. As vantagens desse processamento e de seus mecanismos são discutidas na Seção 14.3.

A informação da síntese de proteínas encontra-se no código genético

O código genético relaciona genes (DNA) a mRNA e mRNA a aminoácidos que formam as proteínas. O código genético especifica quais aminoácidos serão usados para construir em uma proteína. Você pode pensar a informação genética, em uma molécula de mRNA, como uma série de “palavras” de três letras sequenciais,

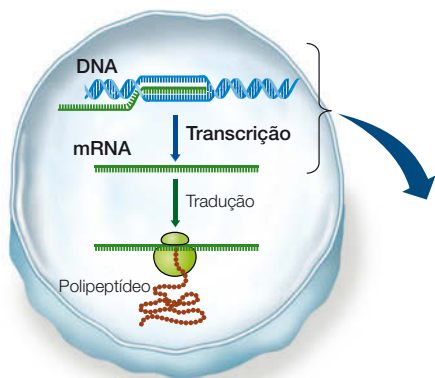
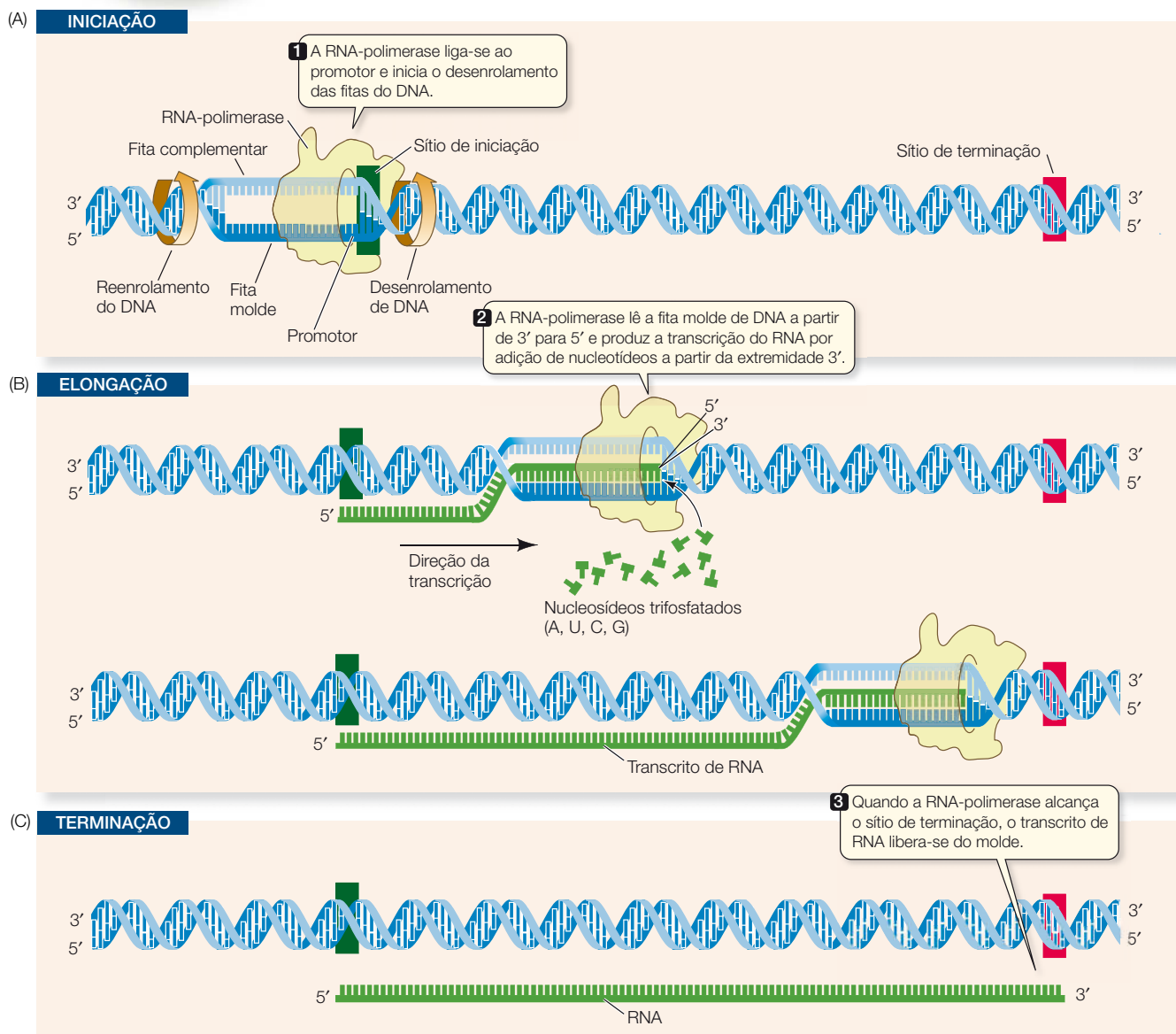


Figura 12.5 O DNA é transcrito para formar RNA O DNA é parcialmente desenrolado pela RNA-polimerase para servir de molde para a síntese de RNA. A transcrição de RNA é formada e então retirada, permitindo que o DNA transcrito seja reenrolado na dupla-hélice. Três processos distintos – iniciação, elongação e terminação – constituem a transcrição do DNA. A RNA-polimerase é muito maior na realidade do que mostrado aqui, cobrindo em torno de 50 pares de bases.



não sobrepostas. Cada sequência de três bases de nucleotídeos (as três “letras”), ao longo da cadeia polinucleotídica de mRNA, especifica um aminoácido particular. Cada “palavra” de três letras chama-se **códon**. Cada códon é complementar ao correspondente triplete de bases da molécula de DNA da qual foi transcrito. Então o código genético consiste na maneira de relacionar códons aos seus aminoácidos específicos.

O código genético completo aparece na **Figura 12.6**. Note que há muito mais códons do que aminoácidos diferentes nas proteínas. Combinações das quatro “letras” (as bases) dão 64 (4³) códons diferentes de três letras, porém esses determinam somente 20 aminoácidos. O AUG, que codifica a metionina, é também o **códon de início**, o sinal inicial para tradução. Três dos códons (UAA, UAG, UGA) são **códons de parada** ou sinais de terminação da tradução; quando a maquinaria de tradução alcança um desses códons, a tradução para e o polipeptídeo é liberado do complexo de tradução.

Uma condição de anemia severa, α -talassemia, resulta de uma mutação no gene para a cadeia polipeptídica α da hemoglobina. Nesse gene, o códon de terminação UAA do mRNA normalmente ocorre na posição da base 142, e a cadeia polipeptídica contém 141 aminoácidos. Em pessoas com α -talassemia, entretanto, a posição 142 sofre uma mutação para GAA (glutamina). O próximo códon de parada não ocorre antes da posição 173, resultando em uma molécula de proteína com grandes e defeituosas subunidades α .

O CÓDIGO GENÉTICO É REDUNDANTE, MAS NÃO AMBÍGUO

Além dos códons de início e de parada, os restantes 60 códons são muito mais do que suficientes para codificar os outros 19 aminoácidos – e realmente, para quase todos os aminoácidos, existe mais do que um códon. Portanto, dizemos que o código genético é *redundante*. Por exemplo, a leucina é representada por seis códons diferentes (Figura 12.6) Apenas a metionina e o trip-tofano são representados por somente um códon cada.

O termo *redundância* não deve ser confundido com *ambiguidade*. Se o código fosse ambíguo, um único códon poderia especificar dois (ou mais) aminoácidos diferentes, e poderia haver dúvidas sobre qual aminoácido deveria ser incorporado a cadeia polipeptídica em crescimento. Redundância no código simplesmente significa que existe mais de uma maneira clara de dizer “Coloque uma leucina aqui”. O código genético *não* é ambíguo: um dado aminoácido pode ser codificado por mais de um códon, mas um códon codifica somente um aminoácido.

O CÓDIGO GENÉTICO É (QUASE) UNIVERSAL

Mais de 40 anos de experimentos em milhares de organismos de todos os três reinos revelam que o código genético parece ser *universal*, aplicando-se a todas as espécies no nosso planeta. Ou seja, para quase toda espécie, os códons que especificam aminoácidos são os mesmos. Portanto, devem ser tão antigos que têm se mantido intactos por toda a evolução dos seres vivos. Exceções são conhecidas: dentro das mitocôndrias e dos cloroplastos, o código difere levemente dos de procariotos e do núcleo de células eucarióticas; em um grupo de protistas, UAA e UAG codificam a glutamina em vez de funcionarem como códons de terminação. O significado dessas diferenças ainda não é claro. O certo é que as exceções são poucas e pequenas.

A presença de um código genético comum significa que também há uma linguagem comum para a evolução. Como a seleção natural resulta em modificações graduais nos genomas de diferentes tipos de organismos, o material intacto da variação genética permanece o mesmo. O código comum também tem enormes implicações na engenharia genética, conforme veremos no Capítulo 16, uma vez que significa que o código de um gene humano consiste no mesmo código de um gene de bactéria. Diferenças existentes no código são como dialetos de uma única língua, e não como línguas inteiramente diferentes. Portanto, a maquinaria proteica de transcrição e de tradução de uma bactéria poderia teoricamente utilizar genes de humanos tão bem quanto seus próprios genes.

Os códons na Figura 12.6 consistem em *códons de mRNA*. A sequência básica da fita de DNA que se transcreve para produzir mRNA é complementar e antiparalela a esses códons. Portanto, por exemplo, 3'-AAA-5' na fita-molde do DNA corresponde à fenilalanina (que se codifica pelo códon do mRNA 5'-UUU-3'); similarmente, 3'-ACC-5' no molde de DNA corresponde ao triptofano (que se codifica pelo códon de mRNA 5'-UGG-3'). Como os biólogos decifraram os códons para aminoácidos específicos?

		Segunda letra				
		U	C	A	G	
Primeira letra	U	UUU Fenilalanina UUC	UCU Serina UCC UCA UCG	UAU Tirosina UAC UAA Códon de término UAG Códon de término	UGU Cisteína UGC UGA Códon de término UGG Triptofano	U C A G
	C	CUU Leucina CUC CUA CUG	CCU Prolina CCC CCA CCG	CAU Histidina CAC CAA Glutamina CAG	CGU Arginina CGC CGA CGG	U C A G
	A	AUU Isoleucina AUC AUA AUG Metionina; Códon de início	ACU Treonina ACC ACA ACG	AAU Asparagina AAC AAA Lisina AAG	AGU Serina AGC AGA Arginina AGG	U C A G
	G	GUU Valina GUC GUA GUG	GCU Alanina GCC GCA GCG	GAU Ácido aspártico GAC GAA Ácido glutâmico GAG	GGU Glicina GGC GGA GGG	U C A G

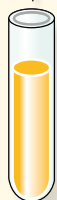
Figura 12.6 O código genético A informação genética é codificada em unidades de três letras no mRNA – códons – feitos a partir das bases uracila (U), citosina (C), adenina (A) e guanina (G). Para decodificar um códon, ache a primeira letra na coluna da esquerda, então cruze com o cabeçalho para a segunda letra, e então leia a coluna da direita para a terceira letra. O aminoácido que o códon especifica é dado na linha correspondente. Por exemplo, o AUG codifica a metionina, e GUA codifica a valina.

EXPERIMENTO

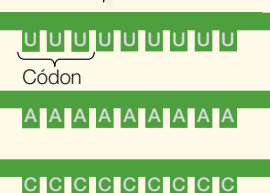
HIPÓTESE: Um códon triplete com base em códons de três bases especifica aminoácidos.

MÉTODO

Preparo de um extrato bacteriano contendo todos os componentes necessários para fazer as proteínas, exceto o mRNA.

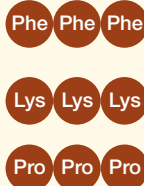


Adição de um mRNA artificial contendo somente uma base repetida.



RESULTADOS

O polipeptídeo produzido contém um único aminoácido.



Conclusão: UUU é um códon do mRNA para fenilalanina.
AAA é um códon do mRNA para lisina.
CCC é um códon do mRNA para prolina.

Figura 12.7 Decifrando o código genético Nirenberg e Matthaei usaram um sistema de síntese de proteínas em tubo-teste para determinar os aminoácidos especificados por mRNA sintéticos de composição de códons conhecida. **OUTRA QUESTÃO:** Qual seria o resultado se o mensageiro de mRNA artificial fosse poli G?

mRNA – o códon – para fenilalanina. Seguindo esse sucesso, Nirenberg e Matthaei logo mostraram que CCC codificava prolina e AAA, lisina (Figura 12.7). (Poli G apresentava alguns problemas químicos e não foi testado inicialmente.) UUU, CCC e AAA eram três dos códons mais fáceis; estratégias diferentes foram necessárias para solucionar o restante.

Outros cientistas, mais tarde, descobriram que mRNA artificiais simples de somente três nucleotídeos – cada um correspondendo a um códon – poderiam ligar-se a um ribossomo, e o complexo resultante poderia então causar a ligação do tRNA correspondente com seu aminoácido específico. Portanto, por exemplo, UUU simples leva o tRNA carregado com fenilalanina a ligar-se ao ribossomo.

Depois dessa descoberta, decifrar o código genético completo tornou-se relativamente simples. Para descobrir qual aminoácido representa cada códon, Nirenberg repetiu seu experimento usando uma amostra do mRNA artificial para cada códon e observou qual aminoácido se ligaria a ele.

Biólogos usaram mensageiros artificiais para decifrar o código genético

Os biólogos moleculares “quebraram” o código genético no começo da década de 1960. O problema parecia complicado: como poderiam mais de 20 “palavras-código” serem escritas com um “alfabeto” de somente quatro “letras”? Em outras palavras, de que forma poderiam quatro bases codificar 20 aminoácidos tão diferentes?

Que o código fosse um código de trinca, baseado em códons de três letras, era considerado como provável. Uma vez que havia somente quatro letras (A, G, C, U), um código de uma letra claramente não poderia, de forma não ambígua, codificar os 20 aminoácidos, mas sim somente quatro deles. Um código de duas letras poderia conter apenas $4 \times 4 = 16$ códons – ainda não suficiente. Todavia, um código de trinca poderia conter até $4 \times 4 \times 4 = 64$ códons, mais do que suficiente para codificar 20 aminoácidos.

Marshall W. Nirenberg e J. H. Matthaei, do National Institutes of Health dos Estados Unidos, fizeram o primeiro avanço na decodificação, em 1961, quando descobriram que era possível usar um polinucleotídeo artificial simples, em vez de mRNAs naturais complexos, como mensageiros. Então, eles conseguiram identificar o polipeptídeo que o mensageiro artificial codificava. Eles prepararam um mRNA artificial no qual todas as bases eram uracila (este mRNA artificial foi apropriadamente chamado *poli U*). Quando se adicionava poli U em um tubo-teste contendo todos os ingredientes necessários para a síntese proteica em bactérias (ribossomos, todos os aminoácidos, enzimas ativadoras, tRNAs e outros fatores), um polipeptídeo era formado. Essa cadeia polipeptídica era composta de apenas um tipo de aminoácido: fenilalanina (Phe). Poli U codificava poli Phe! Dessa maneira, UUU parecia ser a palavra-código em

12.3 RECAPITULAÇÃO

A transcrição, catalisada por uma RNA-polimerase, ocorre em três passos: iniciação, alongação, e terminação. O código genético relaciona a informação em mRNA (como uma sequência linear de códons) para proteínas (uma sequência linear de aminoácidos).

- Descreva os passos da transcrição do gene que produzem mRNA. Ver p. 262 e Figura 12.5.
- Como a RNA-polimerase funciona? Ver p. 262.
- Você poderia explicar como o código genético foi elucidado? Ver p. 264-265 e Figura 12.7.

Agora voltamos ao segundo passo da expressão gênica, a tradução da sequência de nucleotídeos no mRNA em uma sequência de aminoácidos na cadeia polipeptídica.

12.4 Como o RNA é traduzido em proteínas?

Assim como a hipótese do adaptador proposta por Crick, a tradução do mRNA em proteínas requer uma molécula que liga a infor-

mação contida em códons de mRNA com aminoácidos específicos a proteínas. Essa função é realizada pelo tRNA. Dois eventos-chave precisam estar presentes para assegurar que a proteína feita é a especificada pelo mRNA:

- O tRNA precisa ler o mRNA corretamente.
- O tRNA precisa entregar o aminoácido correspondente à leitura do códon de mRNA que é lido.

Assim que o tRNA “decodifica” o mRNA e entrega o aminoácido apropriado, os componentes do ribossomo catalisam a formação das ligações peptídicas entre aminoácidos. Agora vamos esmiuçar estes dois passos.

Os RNA transportadores carregam aminoácidos específicos e ligam-se a códons específicos

O códon no mRNA e o aminoácido na proteína relacionam-se por meio de um *adaptador* – um tRNA específico com um aminoácido ligado. Para cada um dos 20 aminoácidos, há pelo menos um tipo específico (“espécie”) de molécula de tRNA. A molécula de tRNA apresenta três funções:

- Carrega (“está carregada com”) um aminoácido.
- Associa-se com moléculas de mRNA.
- Interage com ribossomos.

Sua estrutura molecular claramente está relacionada com todas essas funções. Uma molécula de tRNA possui aproximadamente 75 a 80 nucleotídeos. Apresenta uma conformação (formato tridimensional) que se mantém por pareamento complementar de bases (pontes de hidrogênio) dentro de sua própria sequência (**Figura 12.8**).

A conformação da molécula de tRNA é bem adaptada para suas interações com sítios de ligação específicos nos ribossomos. No final 3’ de cada molécula de tRNA há um *sítio de ligação ao aminoácido*, ao qual seu aminoácido específico se liga covalentemente. Aproximadamente na metade da sua sequência encontra-se um

grupo de três bases, chamado **anticódon**, que se constitui no sítio de pareamento de base complementar (via pontes de hidrogênio) com o mRNA. Cada espécie de tRNA possui um anticódon único, o qual é complementar ao códon do mRNA para o aminoácido daquele tRNA. Em contato, o códon e o anticódon são antiparalelos um ao outro. Como exemplo desse processo, considere o aminoácido arginina:

- A sequência de DNA codificante para arginina consiste em 3’-GCC-5’, transcrita por pareamento de bases complementar para produzir o códon de mRNA 5’-CGG-3’.
- O códon de mRNA se liga por pareamento de base complementar a um tRNA com o anticódon 3’-GCC-5’ carregado com arginina.

Lembre-se de que 61 códons diferentes codificam os 20 aminoácidos nas proteínas (Ver Figura 12.6). Isso significa que a célula precisa produzir 61 diferentes espécies de tRNA, cada uma com um anticódon diferente? Não. A célula arranja-se com aproximadamente dois terços desse número de espécies de tRNA, porque a especificidade para a base no final 3’ do códon (e no final 5’ do anticódon) não é sempre estritamente observada. Esse fenômeno, chamado de *oscilação*, permite aos códons para alanina GCA, GCC e GCU, por exemplo, serem reconhecidos pelo mesmo tRNA. A oscilação é possível em alguns casos, mas não em outros; e, o mais importante, não torna o código genético ambíguo.

O químico Robert Holley e seus colaboradores da Universidade de Cornell levaram 3 anos para sequenciar os 80 nucleotídeos do tRNA da alanina da levedura, esforço pelo qual Holley ganhou em 1968 o prêmio Nobel de medicina. Com a tecnologia de hoje, o sequenciamento de ácidos nucleicos com 80 nucleotídeos leva poucos segundos.

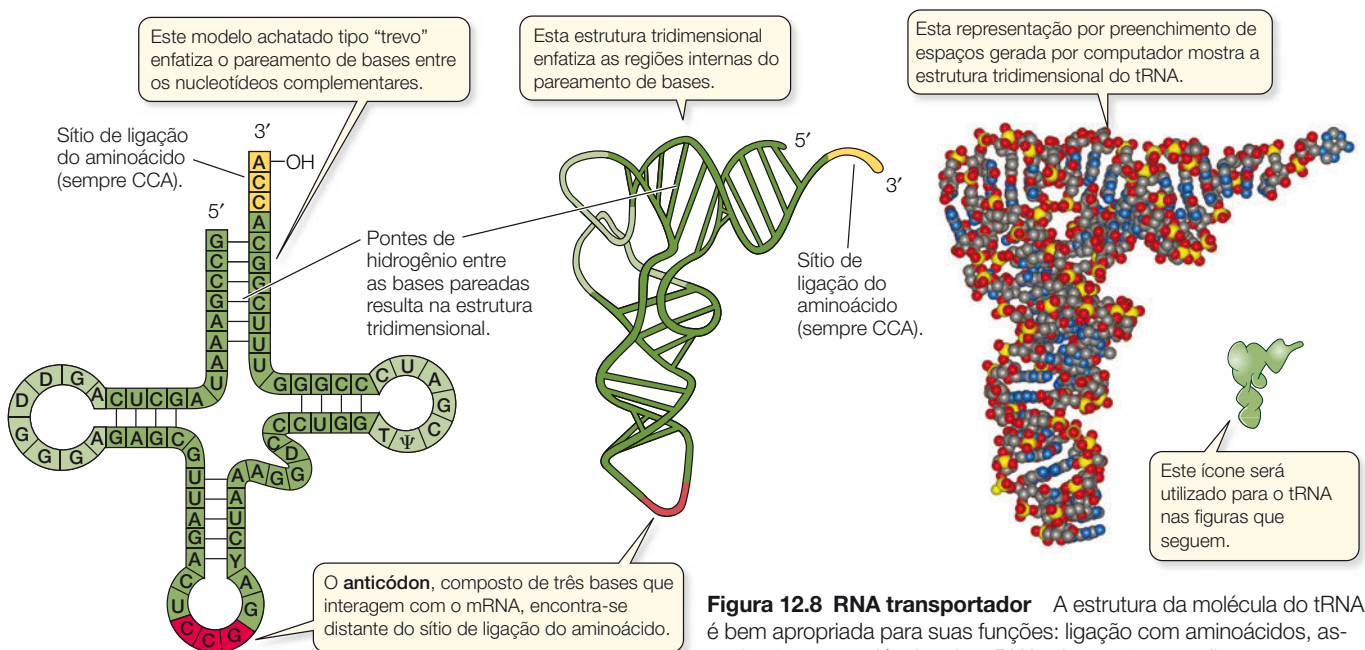


Figura 12.8 RNA transportador A estrutura da molécula do tRNA é bem apropriada para suas funções: ligação com aminoácidos, associação com moléculas de mRNA e interação com ribossomos.

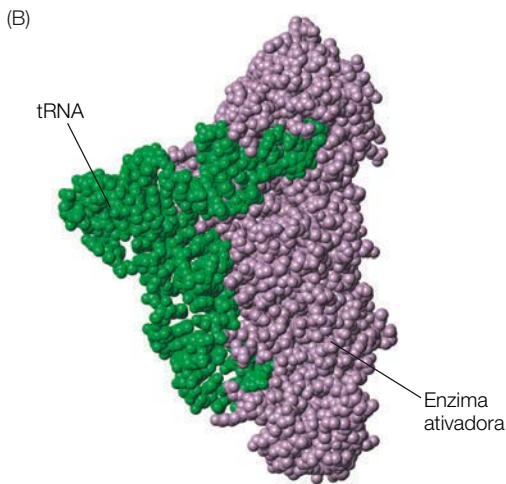
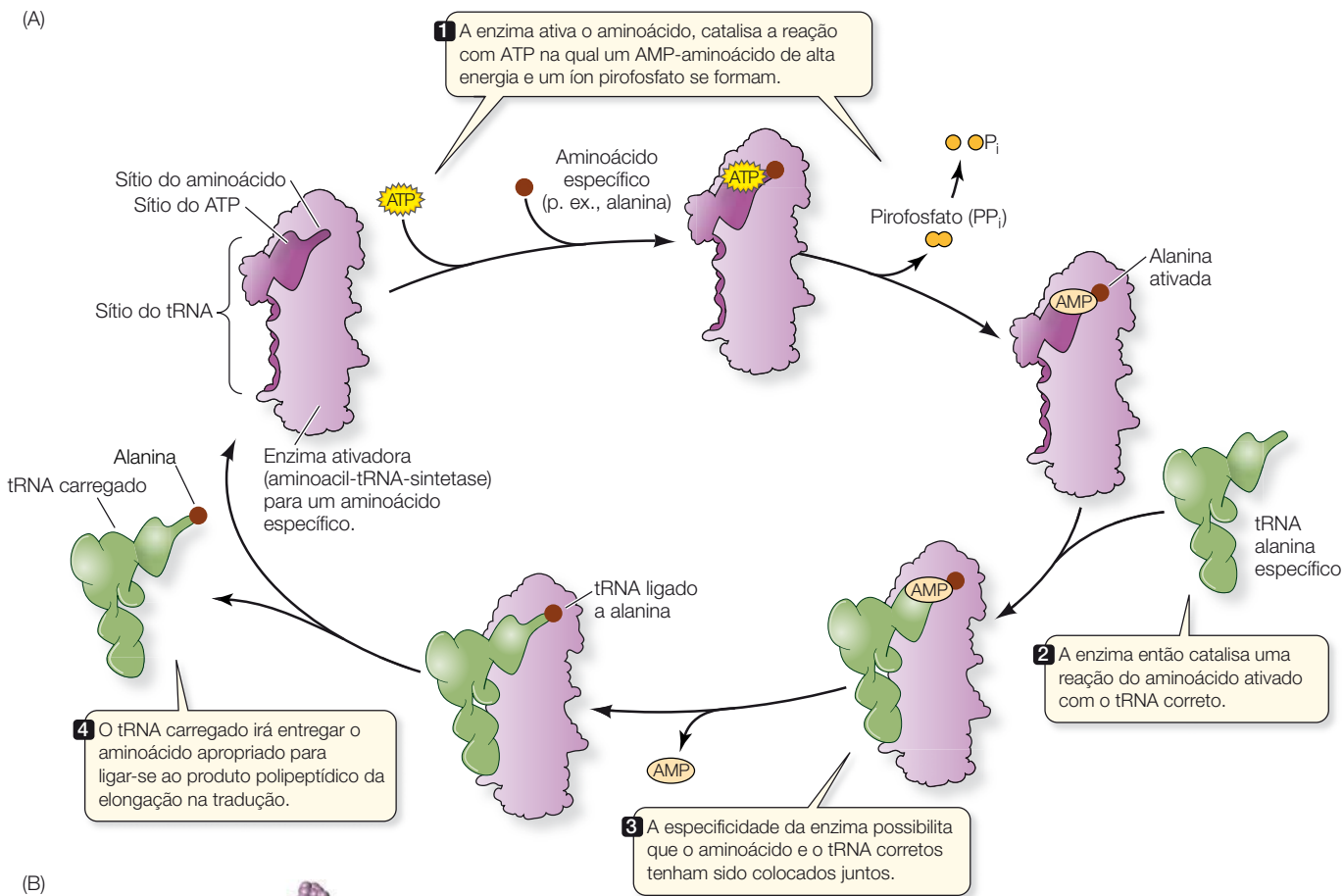
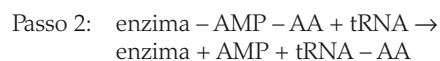
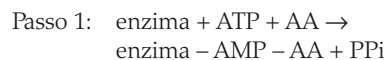


Figura 12.9 Carregando uma molécula de tRNA (A) A enzima ativa o aminoácido específico e carrega o tRNA específico com aquele aminoácido; o processo é ilustrado aqui usando o aminoácido alanina como exemplo. (B) Representação de preenchimento de espaços gerada por computador do complexo tRNA-enzima.

o reconhecimento de aminoácido é também baixa, na ordem de 1 para 1.000. Pelo fato de as enzimas ativadoras também serem altamente específicas, o processo de carregamento de tRNA algumas vezes denomina-se de *segundo código genético*.

A enzima ativadora reage com tRNA e um aminoácido (AA) em duas etapas:



O aminoácido é preso ao final 3' do tRNA (a um grupo OH livre na ribose) com uma ligação de alta energia, formando um tRNA carregado. Essa ligação fornecerá energia para a síntese da ligação peptídica que unirá aminoácidos adjacentes.

Um experimento engenhoso realizado por Seymour Benzer e colaboradores na Universidade de Purdue, demonstrou a importância da especificidade da ligação do tRNA ao seu aminoácido. No seu laboratório, o aminoácido cisteína, já apropriadamente ligado ao seu tRNA, foi quimicamente modificado a fim de tornar-se um aminoácido diferente, a alanina. Qual componente – o aminoácido ou o tRNA – seria reconhecido quando esse tRNA

As enzimas ativadoras ligam os tRNA e os aminoácidos corretos

O carregamento de cada tRNA com seu aminoácido correto faz-se por uma família de enzimas ativadoras, conhecida mais formalmente por *aminoacil-tRNA-sintetases* (Figura 12.9). Cada enzima ativadora é específica para um aminoácido e para o seu tRNA. A enzima apresenta três partes em seu sítio ativo que reconhecem três moléculas menores: o aminoácido específico, o ATP e um tRNA específico. Uma vez que o tRNA é grande e possui uma estrutura tridimensional complexa, o reconhecimento da enzima ativadora do tRNA é absolutamente específico e possui uma taxa de erro muito baixa. Notavelmente, a taxa de erro para

híbrido carregado fosse colocado em um sistema de síntese de proteínas? A resposta foi: o tRNA. Em todos os lugares na proteína sintetizada onde uma cisteína deveria estar, aparecia uma alanina em seu lugar. O tRNA específico para cisteína entregou sua carga (alanina) a todos os *endereços* onde uma cisteína estava sendo indicada. Esse experimento mostrou que a maquinaria de síntese de proteínas reconhece o anticódon do tRNA carregado e não o aminoácido ligado a ele. Se enzimas ativadoras na natureza fizessem o que Benzer fez no laboratório e colocassem aminoácidos errados nos tRNA, aqueles aminoácidos seriam inseridos nas proteínas em locais inapropriados, levando a alterações na forma e na função das proteínas.

O ribossomo é a bancada para a tradução

O ribossomo é o palco molecular onde a tarefa de tradução executa-se. Sua estrutura permite-lhe segurar o mRNA e tRNA carregados nas suas posições corretas, permitindo, então, que a cadeia polipeptídica seja formada eficientemente. Um dado ribossomo não produz especificamente apenas um tipo de proteína. Ele pode usar qualquer mRNA e todas as espécies tRNAs carregados, e, portanto, pode ser usado para fazer muitos produtos polipeptídicos diferentes. O mRNA, sendo uma sequência de códons linear, especifica a sequência polipeptídica a ser feita.

Embora os ribossomos sejam as menores organelas celulares, sua massa de vários milhões de daltons os faz grandes em comparação com os tRNA carregados.

Cada ribossomo consiste em duas subunidades, uma grande e uma pequena (**Figura 12.10**). Nos eucariotos, a subunidade maior compõe-se de três moléculas diferentes de **RNA ribossomal (rRNA)** e cerca de 45 moléculas proteicas diferentes, arranjadas em um padrão preciso. A subunidade menor consiste em uma molécula de rRNA e 33 moléculas proteicas diferentes. Quando não ativos na tradução de mRNA, os ribossomos existem como subunidades separadas.

Os ribossomos de procariotos são um pouco menores do que os de eucariotos, e suas proteínas ribossomais e RNA diferem. Mitocôndrias e cloroplastos também contêm ribossomos, alguns dos quais assemelham-se aos dos procariotos.

Diferentes proteínas e rRNA na subunidade ribossomal mantêm-se juntas por meio de forças iônicas e hidrofóbicas, não por ligações covalentes. Se essas forças forem rompidas por um detergente, por exemplo, as proteínas e os rRNA separam-se uns dos outros. Quando o detergente é removido, a estrutura complexa inteira se autorreconstitui. Isso é como separar as peças de um

quebra-cabeça e montá-las novamente sem o auxílio de mãos humanas!

Na subunidade maior do ribossomo, existem três sítios aos quais o tRNA pode se ligar (ver Figura 12.10). O tRNA carregado percorre esses três sítios na seguinte ordem:

- O sítio A (aminoácido), onde o anticódon do tRNA carregado se liga ao códon do mRNA, alinhando o aminoácido correto a ser adicionado na cadeia polipeptídica em crescimento;
- O sítio P (polipeptídeo), onde o tRNA adiciona seu aminoácido na cadeia polipeptídica em crescimento;
- O sítio E (saída), onde o tRNA, tendo liberado seu aminoácido, reside antes de deixar o ribossomo e volta para o citosol para pegar outro aminoácido e começar o processo novamente.

Um importante papel do ribossomo é ter certeza de que as interações mRNA-tRNA são precisas; ou seja, que o tRNA carregado com o anticódon correto (p. ex., 3'-UAC-5') liga-se ao códon apropriado no mRNA (p. ex., 5'-AUG-3'). Quando isso ocorre, pontes de hidrogênio se formam entre os pares de bases. Mas essas pontes de hidrogênio não são suficientes para segurar o tRNA no lugar. A subunidade ribossomal menor do rRNA desempenha um papel na precisão do pareamento dos três pares bases. Se pontes de hidrogênio não se formaram entre estes três pares de bases, o tRNA deve ser o tRNA errado para o códon do mRNA, e esse tRNA é ejetado do ribossomo.

A tradução ocorre em três etapas

Como a transcrição, a tradução ocorre em três etapas: iniciação, alongamento e terminação.

INICIAÇÃO A tradução de mRNA começa com a formação de um **complexo de iniciação**, que consiste em um tRNA carregado, transportando o que será o primeiro aminoácido de uma cadeia polipeptídica e a subunidade ribossomal menor, ambas ligadas ao mRNA (**Figura 12.11**). A subunidade ribossomal menor primeiro liga-se ao sítio de ligação complementar ao ribossomo (conhecido por *sequência de Shine-Dalgarno*) no mRNA. Essa sequência é "anterior" (em direção ao final 5') ao efetivo códon de início que começa a tradução.

Lembre-se de que o códon de início do mRNA no código genético é AUG (ver Figura 12.6). O anticódon do tRNA carregado com metionina liga-se a este códon de início por pareamento complementar de bases ao complexo de iniciação completo. Por-

tanto, o primeiro aminoácido na cadeia polipeptídica consiste sempre na metionina. Entretanto, nem todas as proteínas maduras possuem metionina como seu aminoácido N-terminal. Em muitos casos, a metionina iniciadora é removida por uma enzima depois da tradução.

Depois do tRNA carregado com metionina unir-se ao mRNA, a subunidade maior do ribossomo liga-se ao complexo. O tRNA carregado, transportando a metionina, agora está sobre o sítio P do ribossomo, e o sítio A está alinhado com

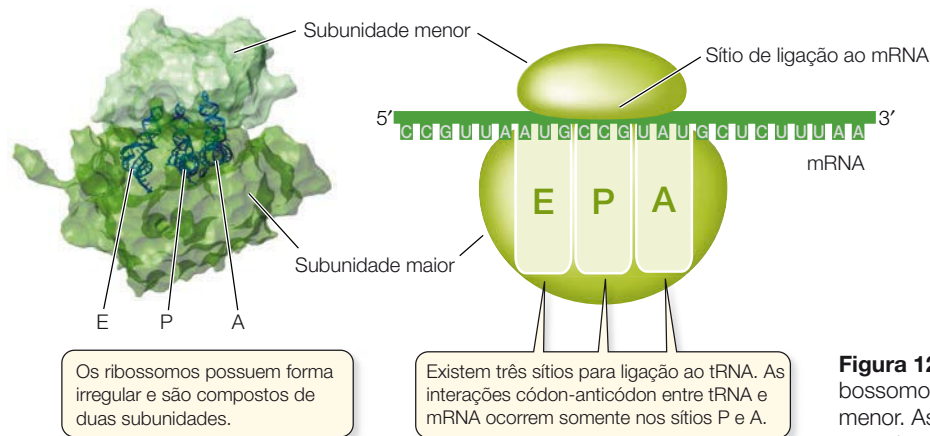


Figura 12.10 Estrutura do ribossomo Cada ribossomo consiste em uma subunidade maior e uma menor. As subunidades permanecem separadas quando não estão em uso para a síntese de proteínas.

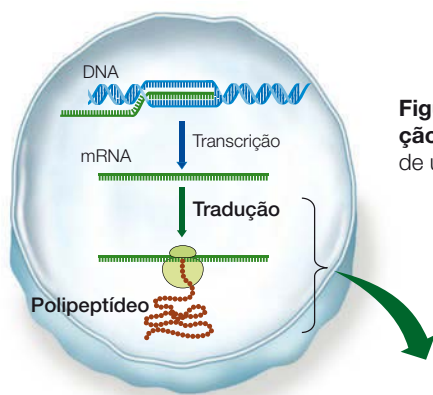


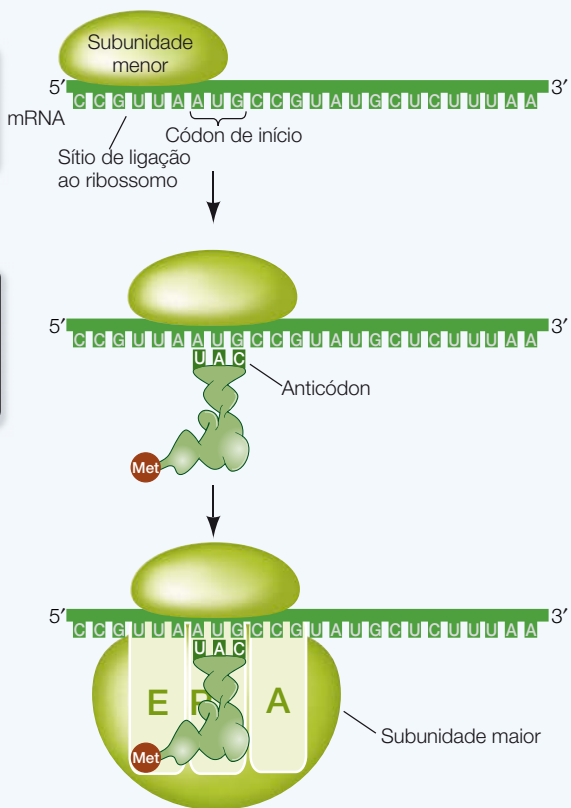
Figura 12.11 A iniciação da tradução A tradução inicia com a formação de um complexo de iniciação.

INICIAÇÃO

1 A subunidade ribossomal menor liga-se a sua sequência de reconhecimento no mRNA.

2 O tRNA carregado com metionina liga-se ao códon de "iniciação" AUG, completando o complexo de iniciação.

3 A subunidade ribossomal maior junta-se ao complexo de iniciação, com o tRNA carregado com a metionina agora ocupando o sítio P.



o segundo códon de mRNA. Esses ingredientes – mRNA, duas subunidades ribossomais e o tRNA carregado com metionina – corretamente reúnem-se por um grupo de proteínas chamadas *fatores de iniciação*.

O ribossomo procariótico é menor e apresenta uma coleção diferente de proteínas daquelas do ribossomo eucariótico. Alguns antibióticos antibacterianos funcionam pela ligação e pela inibição específica de proteínas ribossomais essenciais à bactéria, mas não existem no ribossomo eucariótico.

ALONGAMENTO O tRNA cujo anticódon é complementar libera ao segundo códon do mRNA, agora entra no sítio A aberto da subunidade ribossomal maior (Figura 12.12). A subunidade maior então catalisa duas reações:

- quebra da ligação entre o tRNA no sítio P e seu aminoácido.
- catalisa a formação da ligação peptídica entre esse aminoácido e aquele ligado ao tRNA do sítio A.

Porque a subunidade maior realiza estas duas ações, diz-se que tem *atividade peptidil-transferase*. Dessa maneira, a metionina (o aminoácido no sítio P) torna-se o N-terminal da nova proteína. O segundo aminoácido encontra-se agora ligado à metionina, porém mantém-se unido ao seu tRNA no sítio A.

Como a subunidade ribossomal maior catalisa essa ligação? Harry Noller e colaboradores na Universidade da Califórnia, em Santa Cruz, descobriram que, se removessem praticamente todas as proteínas da subunidade ribossomal maior, ainda assim seria capaz de catalisar a formação da ligação peptídica. Todavia, se o RNA era destruído, também o era a atividade peptidil-transferase. Parte do rRNA na subunidade maior interage com o final do tRNA carregado onde o aminoácido se liga. Portanto, o RNA parece ser o catalisador, provavelmente o tRNA. Essa situação não é usual, porque proteínas são os catalisadores usuais em sistemas biológicos. A recente purificação e cristalização dos ribossomos permitiu aos cientistas examinarem sua estrutura em detalhe, e o papel catalítico do rRNA na atividade peptidil-transferase tem sido confirmado, sustentando a hipótese de que o RNA, o RNA catalítico em particular, evoluíram antes do DNA (ver Seção 3.6).

Depois do primeiro tRNA liberar sua metionina, move-se do sítio E e então é dissociado do ribossomo, retornando ao citosol para se carregar com outra metionina. O segundo tRNA, agora produzindo um *dipeptídeo* (cadeia de dois aminoácidos), transfere-se para o sítio P à medida que o ribossomo avança um códon ao longo do mRNA na direção 5' para 3'.

O processo de alongamento continua, e a cadeia polipeptídica cresce, a cada vez que os passos repetem-se:

- O próximo tRNA carregado entra no sítio A aberto, onde seu anticódon liga-se com o códon do mRNA.
- O seu aminoácido forma uma ligação peptídica com a cadeia de aminoácidos no sítio P, de maneira que capture a cadeia polipeptídica em crescimento do tRNA no sítio P;
- O tRNA no sítio P é transferido para o sítio E e então liberado. O ribossomo avança um códon, de maneira que todo o complexo tRNA-polipeptídeo, move-se para o novamente vago sítio P.

Todas essas etapas ocorrem com o auxílio de proteínas chamadas de *fatores de alongamento*.

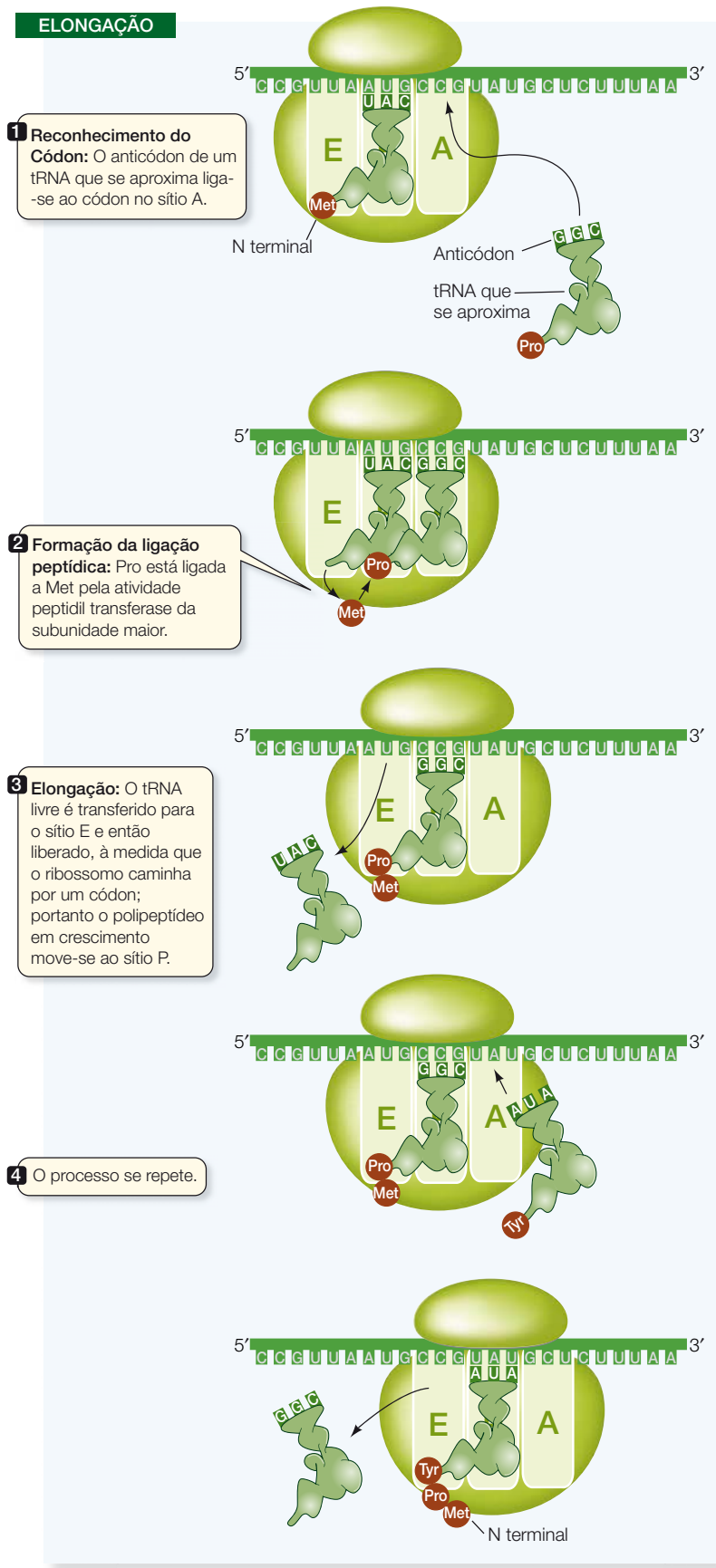


Figura 12.12 Elongação da tradução A cadeia polipeptídica se alonga à medida que o mRNA é traduzido.

TERMINAÇÃO O ciclo de alongamento termina, e a tradução finaliza-se, quando um códon de parada – UAA, UAG ou UGA – entra no sítio A (Figura 12.13). Esses códons não codificam aminoácidos, nem se ligam a nenhum tRNA. Em vez disso, ligam-se a um *fator de liberação* proteico, responsável pela hidrólise da ligação entre a cadeia polipeptídica e o tRNA no sítio P.

O polipeptídeo recém-completado então se para-se do ribossomo. Sua porção C-terminal é o último aminoácido a ligar-se na cadeia. A sua porção N-terminal, ao menos inicialmente, consiste em uma metionina, como consequência do código AUG de início. Na sua sequência de aminoácidos, está contida a informação especificando sua conformação, assim como para o seu destino celular final.

A Tabela 12.1 resume os sinais dos ácidos nucleicos para a iniciação e o término da transcrição e da tradução.

A formação de polissomos aumenta a taxa de síntese proteica

Vários ribossomos trabalham simultaneamente na tradução de uma única molécula de mRNA, produzindo múltiplas moléculas da proteína ao mesmo tempo. Tão logo o primeiro ribossomo tenha se movido distante o suficiente da sequência de Shine-Dalgarno, um segundo complexo de iniciação pode se formar e então um terceiro e assim por diante. Um agrupamento consistindo em uma fita de mRNA com seus ribossomos em forma de contas e suas cadeias polipeptídicas em crescimento denomina-se **polirribossomo** ou **polissomo** (Figura 12.14). As células que sintetizam proteínas ativamente contêm grandes números de polissomos e poucos ribossomos ou subunidades ribossomais livres.

Um polissomo é como a fila de um restaurante, na qual os clientes vão adicionando itens às suas bandejas. Em qualquer momento, a pessoa que está no começo da fila possui pouca comida (uma proteína nova iniciada); a pessoa que está no final tem uma refeição completa (uma proteína comple-

TABELA 12.1 Sinais que iniciam e terminam a transcrição e tradução

	TRANSCRIÇÃO	TRADUÇÃO
Iniciação	Sequências promotoras no DNA	Códon de início AUG no mRNA
Terminação	Sequências terminadoras no DNA	Códons de parada UAA, UAG ou UGA no mRNA

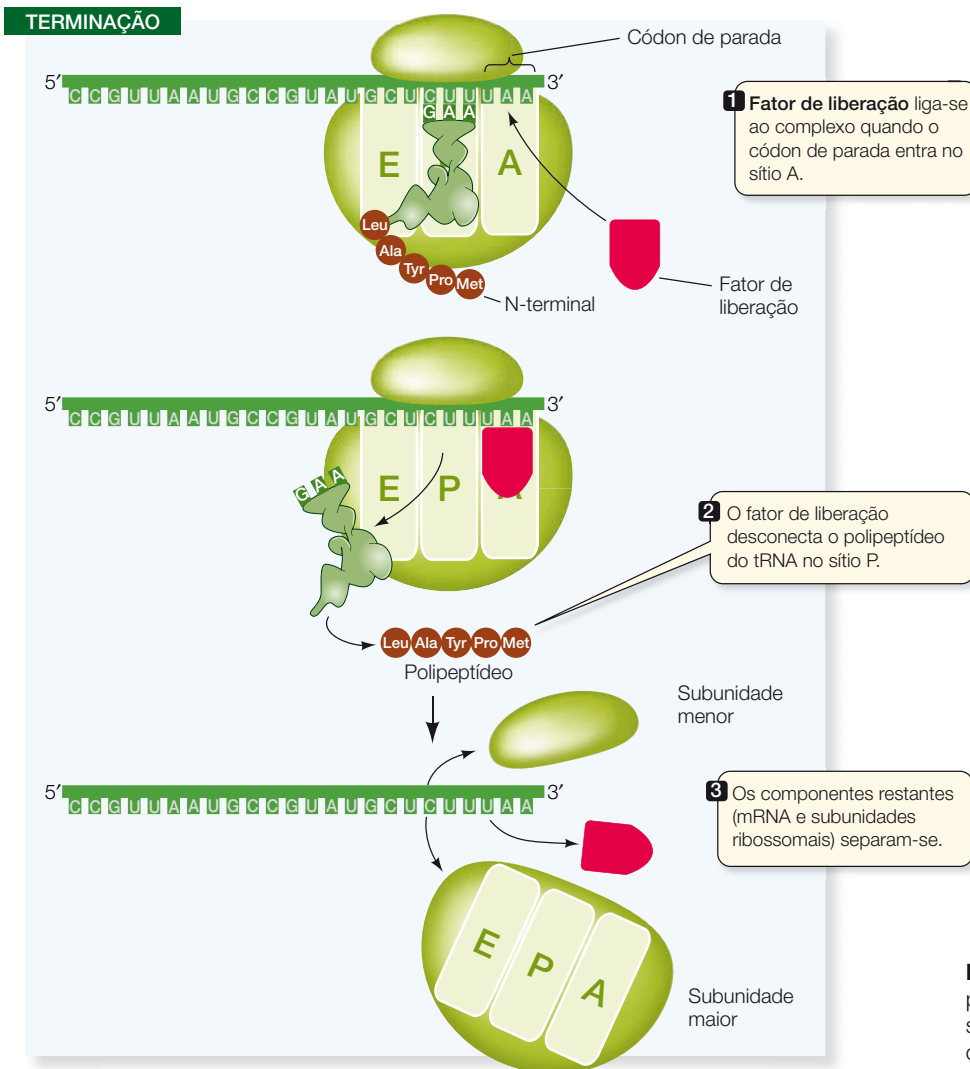


Figura 12.13 A terminação da tradução A tradução termina quando o sítio A do ribossomo encontra um códon de parada no mRNA.

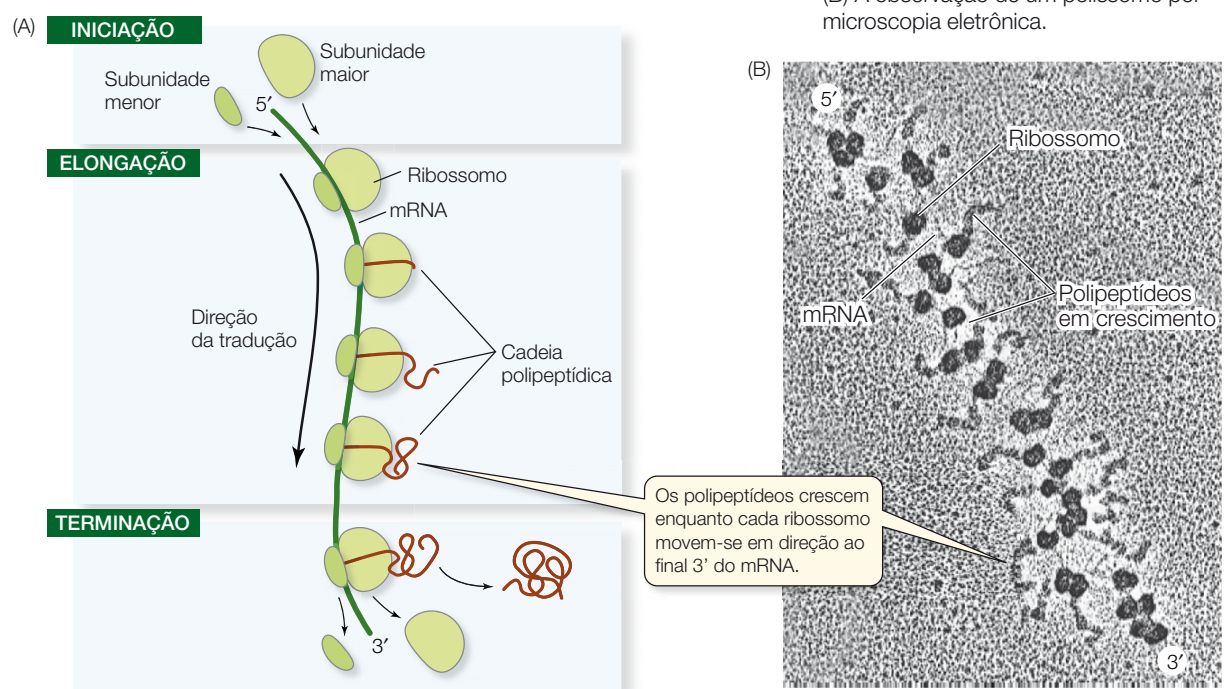


Figura 12.14 Um polissomo (A) Um polissomo consiste em múltiplos ribossomos e suas cadeias polipeptídicas em crescimento movendo-se em uma única fila ao longo de uma molécula de mRNA. (B) A observação de um polissomo por microscopia eletrônica.

ta). Entretanto, no restaurante polissomo, todos recebem a mesma refeição: muitas cópias da mesma proteína são feitas a partir de um único mRNA.

12.4 RECAPITULAÇÃO

O passo-chave na síntese de proteínas é a ligação de um aminoácido ao seu tRNA apropriado, que se realiza por uma enzima ativadora. A tradução do material genético do mRNA para proteínas ocorre no ribossomo. Muitos ribossomos podem agir em um único mRNA a fim de produzir cópias múltiplas da proteína para o qual este codifica.

- Você entende como um aminoácido é ligado a um tRNA específico, e por que o termo “segundo código genético” está associado com este processo? Ver p. 267 e Figura 12.9.
- Descreva os eventos de iniciação, alongação, e terminação da tradução. Ver p. 268-270 e Figuras 12.11, 12.12 e 12.13.

A cadeia polipeptídica liberada pelo ribossomo não é essencialmente uma proteína funcional. Observe algumas modificações pós-traducionais que afetam a função e o destino dos polipeptídeos.

12.5 O que acontece aos polipeptídeos após a tradução?

Especialmente em células eucarióticas, o local onde o polipeptídeo desempenha sua função pode ser distante do ponto de síntese no citoplasma; poderia precisar mover-se para uma organela ou mesmo para fora da célula. Além disso, polipeptídeos frequentemente

se modificam pela adição de novos grupos químicos que possuem significância funcional. Nesta seção iremos examinar esses dois aspectos *pós-traducionais* da síntese de proteínas.

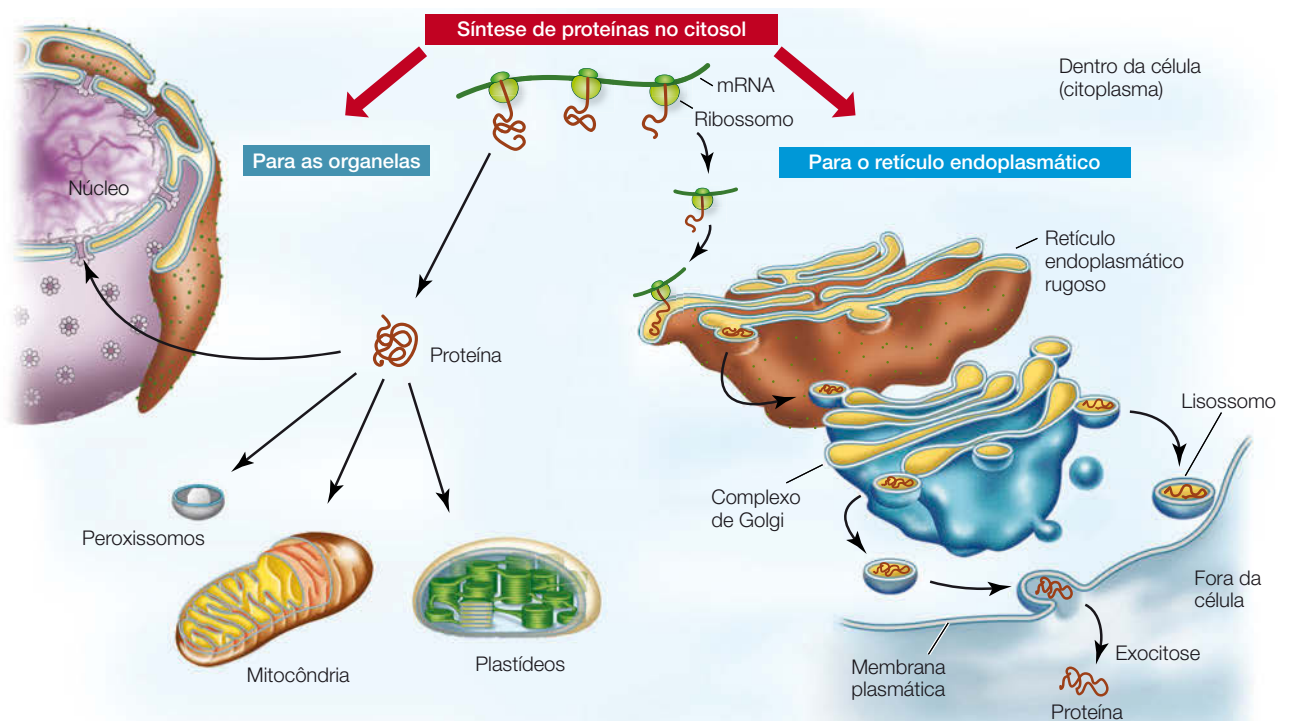
Sequências sinais nas proteínas as direcionam para seus destinos celulares

Assim que uma cadeia polipeptídica forma-se no ribossomo, dobra-se no seu formato tridimensional. Como descrito na Seção 3.2, sua conformação determina-se pela sequência dos aminoácidos que fazem a proteína, e por fatores como a polaridade e a carga de seus grupamentos R. Finalmente, a conformação do polipeptídeo permite sua interação com outras moléculas na célula, tais como um substrato ou outro polipeptídeo. Além dessa informação estrutural, a sequência de aminoácidos de um polipeptídeo pode conter uma **sequência sinal** – um “endereço marcado” indicando a parte da célula a que polipeptídeo pertence.

Toda a síntese proteica começa com os ribossomos livres no citoplasma. À medida que a cadeia polipeptídica é feita, a informação contida na sua sequência de aminoácidos confere à cadeia um dos dois seguintes conjuntos de instruções (Figura 12.15):

- “Terminar a tradução e ser liberada para uma organela”. Tais proteínas são mandadas para o núcleo, mitocôndria, plastídeos ou peroxissomos, dependendo do endereço nas suas instruções; ou, na falta de instruções específicas, permanecem no citoplasma.

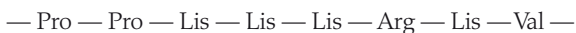
Figura 12.15 Destinos das proteínas recentemente traduzidas em uma célula eucariótica As sequências sinais dos polipeptídeos recentemente sintetizados ligam-se a proteínas receptoras específicas nas membranas externas da organela para a qual são “endereçadas”. Uma vez que a proteína tenha se ligado a ela, a receptora forma um canal na membrana e a proteína entra na organela.



■ “Parar a tradução, ir para o retículo endoplasmático e lá terminar a síntese”. Depois que a síntese de proteínas se completa, tais proteínas podem ser retidas no RE e mandadas para o complexo de Golgi. De lá, podem ser mandadas para os lisossomos, para a membrana plasmática, ou, na falta de instruções específicas, podem ser secretadas da célula por meio de vesículas que se fusionam com a membrana plasmática.

Proteínas destinadas a permanecerem no citoplasma, via de regra, não tem sinal.

DESTINO: NÚCLEO, MITOCÔNDRIA OU CLOROPLASTO Depois da tradução, alguns polipeptídeos já dobrados possuem uma curta sequência de aminoácidos que atua como “código postal”, direcionando-os para uma organela. Essa sequência-sinal (ou de *localização*) está tanto na porção N-terminal quanto no interior da cadeia de aminoácidos. Por exemplo, a seguinte sequência dirige a proteína para o núcleo:



Essa sequência de aminoácidos poderia ocorrer, por exemplo, nas proteínas histonas associadas com DNA nuclear, mas não nas enzimas do ciclo do ácido cítrico, as quais se endereçam para as mitocôndrias.

As sequências sinais possuem uma conformação que as permite ligarem-se a proteínas receptoras específicas, apropriadamente chamadas de **proteínas atracadoras**, na membrana externa da organela apropriada. Uma vez que a proteína tenha se ligado a ela, a receptora forma um canal na membrana, permitindo a passagem da proteína para dentro de sua organela de destino. Nesse processo, a proteína usualmente perde sua conformação nativa pela ação de uma chaperonina (ver Figura 3.12), de maneira que possa atravessar o canal, e após, readquirir sua conformação normal.

DESTINO: RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO Se uma sequência hidrofóbica específica de 15 a 30 aminoácidos ocorre na porção N-terminal de uma cadeia polipeptídica, o peptídeo é enviado inicialmente para o RE, e então para o Golgi, onde pode ser modificado para o eventual transporte aos lisossomos, membrana plasmática ou para fora da célula. No citoplasma, após o término da tradução e enquanto o polipeptídeo ainda está ligado ao ribossomo, a sequência sinal liga-se à **partícula de reconhecimento de sinal** composta de proteína e de RNA (Figura 12.16). Essa ligação bloqueia uma síntese proteica posterior até que o ribossomo possa ligar-se a uma proteína receptora específica na membrana do RER. Mais uma vez, a proteína receptora converte-se em um canal por meio do qual o polipeptídeo em crescimento passa. O peptídeo alongado pode ser retido dentro da própria membrana do RE, ou poderia passar para o espaço interior – o lúmen – do mesmo. Em qualquer caso, uma enzima no lúmen interior do RE remove a sequência-sinal da cadeia polipeptídica.

Nesse momento, a síntese de proteínas prossegue e o crescimento de sua cadeia segue até que sua sequência esteja completa. Se a proteína recém-formada entra no lúmen do RE, esta pode ser transportada para a sua localização apropriada – para outros compartimentos celulares ou para fora da célula – via RE ou complexo de Golgi, sem misturar-se a outras moléculas no citoplasma.

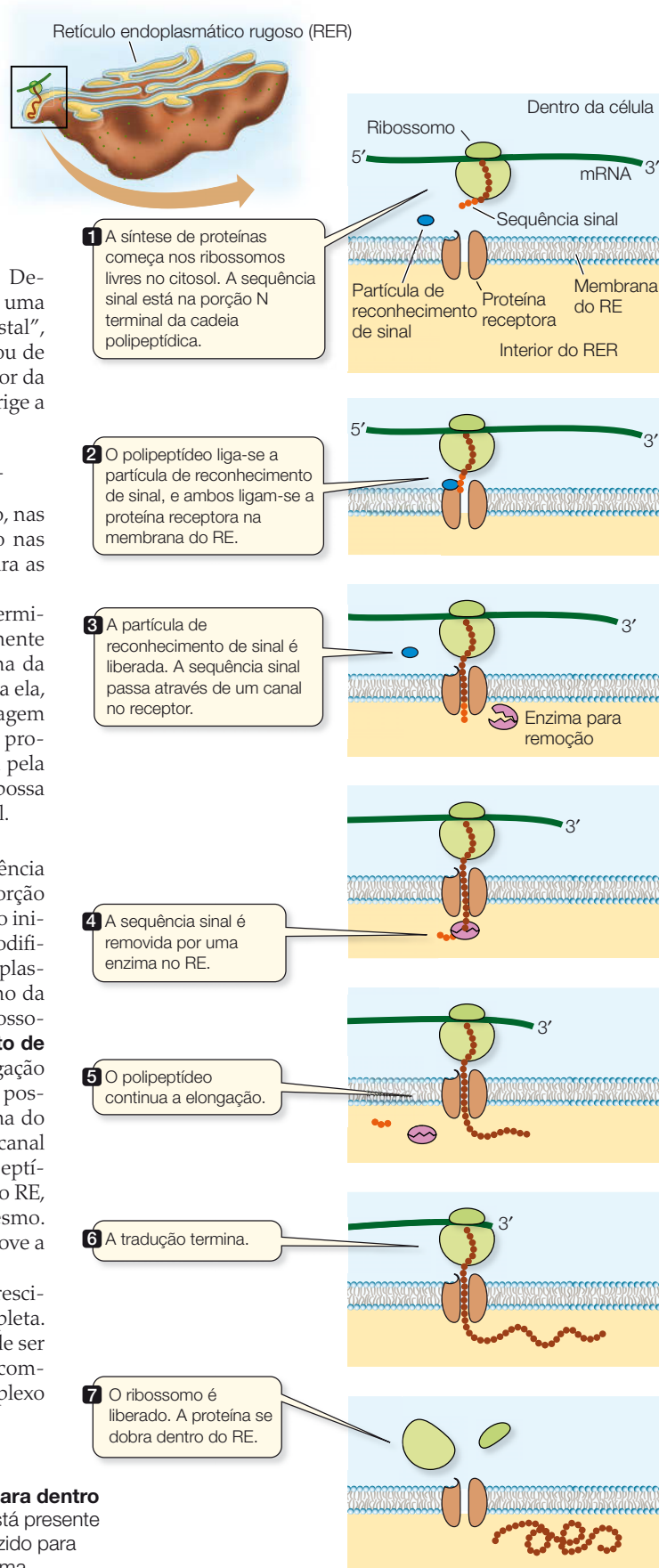


Figura 12.16 Uma sequência sinal move o polipeptídeo para dentro do RE Quando uma certa sequência sinal de aminoácidos está presente no começo da cadeia polipeptídica, o polipeptídeo será conduzido para dentro do RE. A proteína terminada é então isolada do citoplasma.

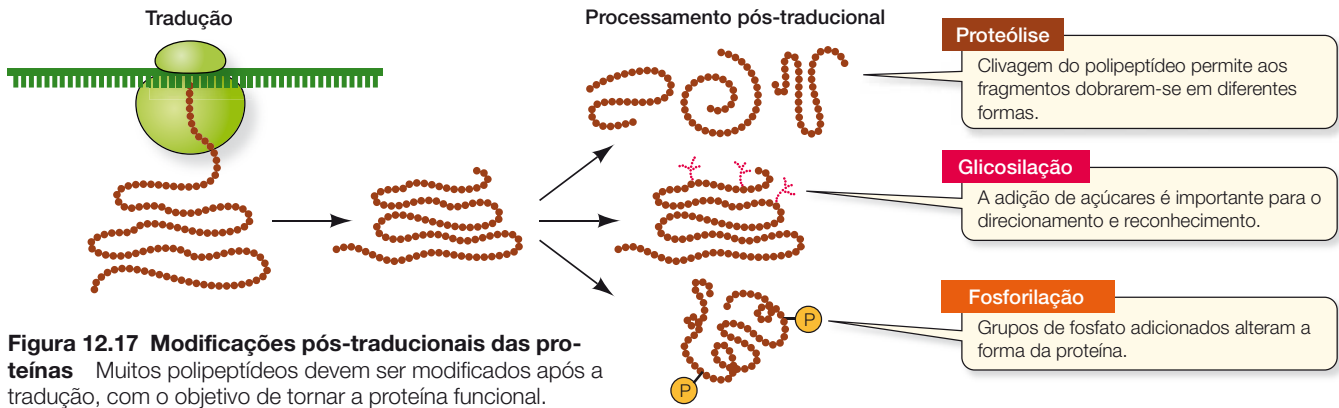


Figura 12.17 Modificações pós-traducionais das proteínas Muitos polipeptídeos devem ser modificados após a tradução, com o objetivo de tornar a proteína funcional.

Sinais adicionais são necessários para direcionar a proteína ainda mais (lembre-se de que a sequência sinal que a envia para o RE foi removida). Esses sinais são de dois tipos:

- Alguns consistem em sequências de aminoácidos que permitem a retenção das proteínas dentro do RE.
- Outros são açúcares adicionados no complexo de Golgi. As *glicoproteínas* resultantes terminam tanto na membrana plasmática ou no lisossomo (ou no vacúolo em plantas), dependendo de quais açúcares são adicionados.

Proteínas sem sinais passam do RE através do complexo de Golgi e são secretadas da célula.

Muitas proteínas são modificadas depois da tradução

Muitas proteínas finalizadas não são idênticas à cadeia polipeptídica traduzida do mRNA nos ribossomos. Pelo contrário, muitos polipeptídeos modificam-se pelo menos em um dos modos após a tradução (Figura 12.17). Essas modificações são essenciais para o funcionamento final da proteína.

- **Proteólise** é a clivagem de uma cadeia polipeptídica. A clivagem da sequência sinal a partir da cadeia polipeptídica em crescimento no RE consiste em um exemplo de proteólise; a proteína poderia voltar a sair do RE através de um canal de membrana se a sequência sinal não fosse cortada. Algumas proteínas são na verdade feitas a partir de *poliproteínas* (polipeptídeos longos) cortados em produtos finais por enzimas chamadas *proteases*.

Proteases são essenciais para algumas viroses, incluindo o HIV, pelo fato de a grande poliproteína viral não se dobrar apropriadamente, a não ser que seja cortada. Certas drogas usadas para tratar a AIDS funcionam por inibirem a protease do HI, prevenindo então a formação de proteínas necessárias para a reprodução viral.

- **Glicosilação** é a adição de açúcares em proteínas para formar glicoproteínas. Tanto no RE como no Golgi, as enzimas residentes catalisam a adição de vários açúcares ou de pequenas cadeias de açúcares em certos grupamentos R das proteínas enquanto passam por essas organelas. Um tipo de “reves-

timento de açúcares” é essencial para o endereçamento de proteínas aos lisossomos, como mencionado anteriormente. Outros tipos são importantes para a conformação e função de reconhecimento das proteínas na superfície celular. Ainda outros açúcares ligados ajudam na estabilização de proteínas estocadas nos vacúolos em sementes de plantas.

- **Fosforilação**, a adição de grupamentos fosfatos às proteínas, é catalisada por proteínas quinases. Esses grupamentos fosfatos carregados alteram a conformação da proteína, frequentemente expondo o sítio ativo de uma enzima ou um sítio de ligação a outra proteína.

12.5 RECAPITULAÇÃO

Sequências sinais em polipeptídeos “endereçam” estes a seus destinos apropriados, dentro ou fora da célula. Muitos polipeptídeos se modificam após a tradução.

- Você entende como as sequências sinais determinam o caminho da proteína depois de ser sintetizada? Ver p. 272-273 e Figura 12.16.
- Você consegue explicar algumas das vias pelas quais as modificações pós-traducionais alteram a estrutura e função da proteína? Ver p. 274 e Figura 12.17.

Todos os processos aqui descritos resultam em proteína funcional apenas se a sequência de aminoácidos desta proteína estiver correta. Se a sequência não estiver correta, podem resultar disfunções celulares. Modificações no DNA – mutações – consistem na principal fonte de erros em sequências de aminoácidos.

12.6 O que são mutações?

No Capítulo 10, descrevemos mutações como alterações herdáveis nos genes, e vimos que novos alelos resultantes podem produzir fenótipos alterados (plantas baixas de ervilha ao invés de altas, por exemplo). Agora que entendemos a natureza química dos genes e como são expressados em fenótipos, poderemos retornar ao conceito de mutações para uma definição mais específica.

Erros na replicação do DNA podem ocorrer em qualquer célula no ciclo celular, e esses erros são passados para as células-filhas.

Mutações em organismos multicelulares, podem ser divididas em dois tipos:

- **Mutações somáticas** ocorrem em células *somáticas* (corpo). Essas mutações passam para as células-filhas após a mitose e depois para a progênie dessas células, mas não passam para a descendência produzida sexualmente. Uma mutação em uma única célula da pele, por exemplo, poderia resultar numa camada de células da pele, todas com a mesma mutação, que não poderia ser passada para os filhos desta pessoa.
- **Mutações na linha germinativa** ocorrem nas células da *linha germinativa* – células especializadas que dão origem aos gametas. O gameta com a mutação irá passá-la para um novo organismo na fertilização.

Algumas mutações causam seus fenótipos somente sob certas condições *restritivas*. Elas não são detectadas sob outras, as condições *permissivas*. Esses fenótipos denominam-se **mutantes condicionais**. Muitos mutantes condicionais são sensíveis à temperatura; ou seja, mostram fenótipo alterado apenas a certas temperaturas (lembre-se do coelho da Figura 10.16). O alelo mutante em tal organismo pode codificar uma enzima com uma estrutura terciária que se altera na temperatura restritiva.

Todas as mutações são alterações na sequência de nucleotídeos do DNA. Em nível molecular, podemos dividir as mutações em duas categorias:

- **Mutações pontuais** são mutações em um único par de base e, portanto, limitam-se a genes únicos: um alelo (usualmente dominante) torna-se outro alelo (usualmente recessivo) devido a uma alteração (ganho, perda ou substituição) de um único nucleotídeo (o qual, depois da replicação do DNA, se torna um par de base mutante).
- **Mutações cromossômicas** são alterações mais extensas que as mutações pontuais. Podem alterar a posição ou a direção de um segmento de DNA sem remover qualquer informação genética, ou causar a perda ou duplicação irrecuperáveis de um segmento de DNA.

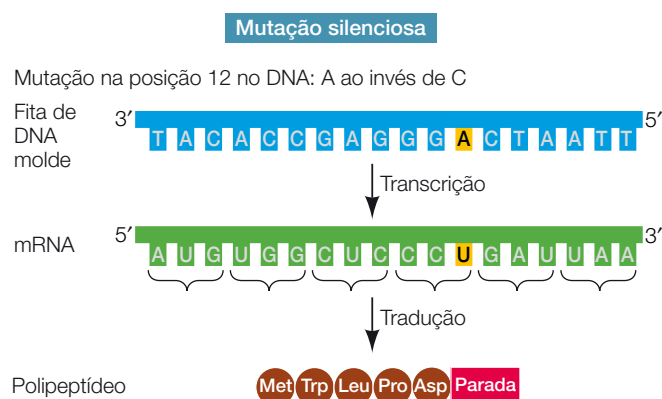
Mutações pontuais são alterações em nucleotídeos únicos

As mutações pontuais resultam da adição ou da subtração de uma base nucleotídica, ou da substituição de uma base por outra, no DNA. Mutações pontuais podem ser causadas por erros na replicação do DNA que não se corrigem pela edição, ou podem ser causados por mutagênicos ambientais, tais como químicos e radiação.

Mutações pontuais no DNA usualmente resultam em alteração no mRNA, podendo ou não, resultar em alterações na proteína. *Mutações silenciosas* não desenvolvem efeito na proteína. *Mutações perda de sentido (missense)* e *sem sentido (nonsense)* resultam em alterações na proteína, algumas delas drásticas.

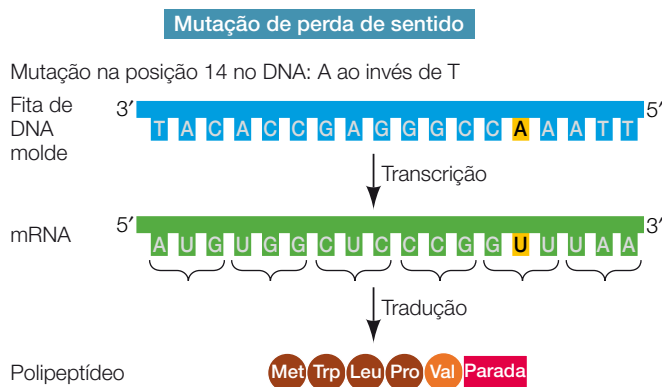
MUTAÇÕES SILENCIOSAS Devido à redundância do código genético, algumas substituições de base não desencadeiam alteração nos aminoácidos quando o mRNA é traduzido; por essa razão, denominam-se **mutações silenciosas**. Por exemplo, quatro códons de mRNA codificam para prolina: CCA, CCC, CCU e CCG (ver Figura 12.6). Se a fita molde de DNA possui a sequência 5'-CGG-3', será transcrita para 5'-CCG-3' no mRNA, e o tRNA carregado com prolina irá ligar-se ao ribossomo. Mas se há uma mutação de modo que o códon na fita molde de DNA passe a ler

AGG, o códon do mRNA será CCU – e o tRNA que se liga ainda carregará prolina:



Mutações silenciosas são absolutamente comuns e resultam na diversidade genética que não se expressa por diferenças fenotípicas.

MUTAÇÕES PERDA DE SENTIDO Ao contrário das mutações silenciosas, algumas substituições de bases alteraram a mensagem genética de tal forma que um aminoácido é substituído por outro na proteína. Essas alterações chamam-se **mutações de perda de sentido (missense)**:

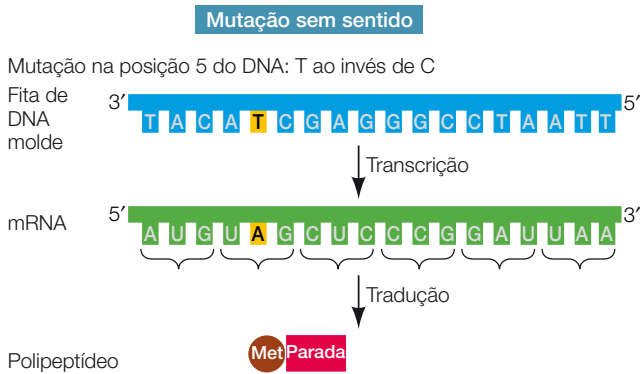


Resultado: Troca de aminoácido na posição 5: Val ao invés de Asp.

Um exemplo específico de uma mutação perda de sentido consiste no alelo falciforme para a β -globina humana. A doença da célula falciforme (anemia falciforme), resulta de um defeito na hemoglobina, proteína da célula vermelha do sangue humano que carrega oxigênio. O alelo falciforme do gene que codifica para subunidades de β -globina da hemoglobina, difere do alelo normal em uma base e então codifica um polipeptídeo que difere em um aminoácido comparando com a proteína normal. Indivíduos homozigotos para esse alelo recessivo possuem células vermelhas do sangue em formato falciforme, defeituosas (**Figura 12.18**) que causam anormalidades na circulação do sangue e levam a sérias enfermidades.

Uma mutação perda de sentido pode causar o não funcionamento da proteína, mas frequentemente o efeito consiste em somente reduzir a eficiência funcional da proteína. Portanto, indivíduos carregando mutações perda de sentido podem sobreviver, mesmo que a proteína afetada seja essencial à vida. Ao longo da evolução, algumas mutações perda de sentido podem até mesmo aumentar a eficiência funcional.

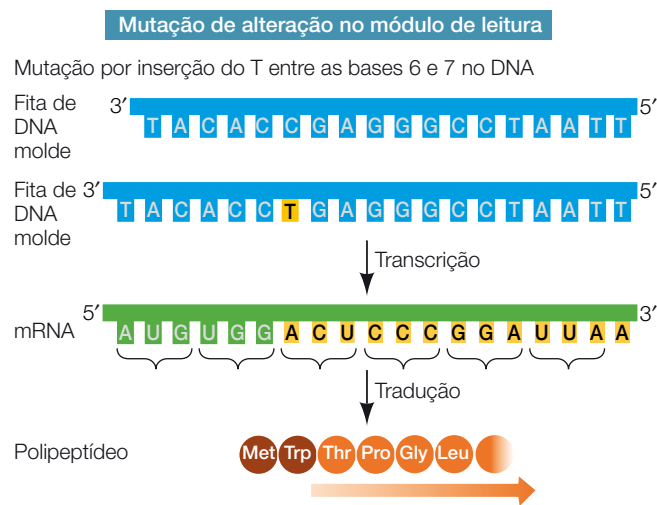
MUTAÇÕES SEM SENTIDO Mutações sem sentido (*nonsense*), outro tipo de mutação na qual uma base é substituída por outra, são mais frequentemente disruptivas do que as mutações perda de sentido. Em uma mutação sem sentido, a substituição da base produz um códon terminador, tal como o UAG, a fim de formar o produto do mRNA:



Resultado: Apenas um aminoácido traduzido; nenhuma proteína produzida.

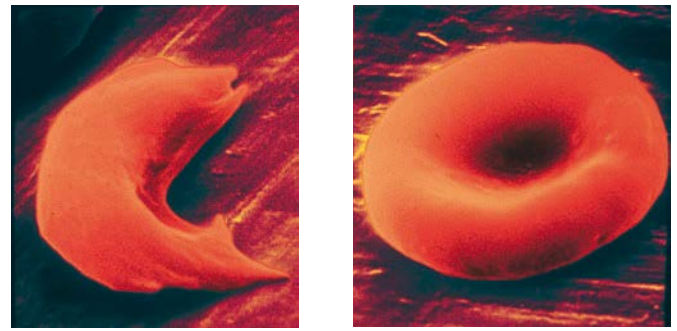
Uma mutação sem sentido resulta num produto proteico encurtado, uma vez que a tradução não ultrapassa o ponto onde a mutação ocorreu. Tais proteínas curtas são usualmente não funcionais.

MUTAÇÕES POR ALTERAÇÃO NO MÓDULO DE LEITURA Nem todas as mutações pontuais constituem substituições de bases. Pares de bases únicos podem ser inseridos ou deletados do DNA. Tais mutações denominam-se **mutações por alteração do módulo de leitura** (*frame-shift*) porque interferem na decodificação da mensagem genética pela retirada do seu registro correto:



Resultado: Todos aminoácidos trocados após a inserção.

Pense novamente nos códon como palavras de três letras, cada uma correspondendo a um aminoácido particular. A tradução prossegue códon por códon; se uma base é adicionada ao mRNA ou subtraída dele, a tradução prossegue perfeitamente até alcançar a inserção ou uma deleção da base. A partir desse ponto, as palavras de três letras na mensagem genética ficam uma letra fora do registro correto. Em outras palavras, tais mutações alteram o “módulo de leitura” da mensagem. Mutações por alteração do módulo de leitura quase sempre levam à produção de proteínas não funcionais.



Fenótipo célula em foice

Fenótipo normal

Figura 12.18 Células vermelhas do sangue em forma de foice e normais O formato alterado da célula vermelha do sangue à esquerda é causado por uma mutação de perda de sentido e um aminoácido incorreto em um dos dois polipeptídeos da hemoglobina.

Mutações cromossômicas são alterações extensivas no material genético

Alterações em nucleotídeos únicos não consistem nas alterações mais dramáticas que podem ocorrer no material genético. Moléculas de DNA total podem quebrar-se e serem religadas, interrompendo bruscamente a sequência da informação genética. Existem quatro tipos dessas mutações cromossômicas: *deleções*, *duplicações*, *inversões* e *translocações*. Essas mutações são causadas por um dano grave aos cromossomos, resultado da exposição a produtos mutagênicos ou de erros drásticos na replicação cromossômica.

- **Deleções** removem parte do material genético (**Figura 12.19A**). Assim como as mutações pontuais por alteração do módulo de leitura, suas consequências podem ser graves a não ser que afetem genes não necessários ou sejam mascaradas pela presença, na mesma célula, de alelos normais dos genes deletados. É fácil imaginar um mecanismo que poderia produzir deleções: uma molécula de DNA poderia quebrar-se em dois pontos, e as porções finais poderiam ser religadas, liberando o DNA entre as quebras.
- **Duplicações** podem ser produzidas ao mesmo tempo como deleções (**Figura 12.19B**). Uma duplicação pode surgir se cromossomos homólogos quebrarem-se em diferentes posições e forem então reconectados aos parceiros errados. Um dos dois cromossomos produzidos por esse mecanismo perderia um segmento de DNA (haveria uma deleção), e o outro teria duas cópias (uma duplicação) do segmento que foi deletado do primeiro cromossomo.
- **Inversões** podem também resultar da quebra e rejunção de cromossomos. Um segmento de DNA pode ser removido e reinserido na mesma localização do cromossomo, porém “invertido” em relação às suas extremidades, de maneira que se posicione na direção oposta (**Figura 12.19C**). Se o sítio de quebra inclui parte de um segmento de DNA que codifica uma proteína, a proteína resultante será drasticamente alterada e quase certamente não funcional.
- **Translocações** resultam quando um segmento de DNA quebra-se, move-se do cromossomo e é inserido em um cromossomo diferente. Translocações podem ser recíprocas, **Figura 12.19D**, ou não recíprocas, como nas mutações envolvendo duplicações e deleções ilustradas na Figura 12.19B. Translocações frequentemente levam a duplicações e deleções e podem resultar em esterilidade se o pareamento cromossomal normal na meiose não puder ocorrer.

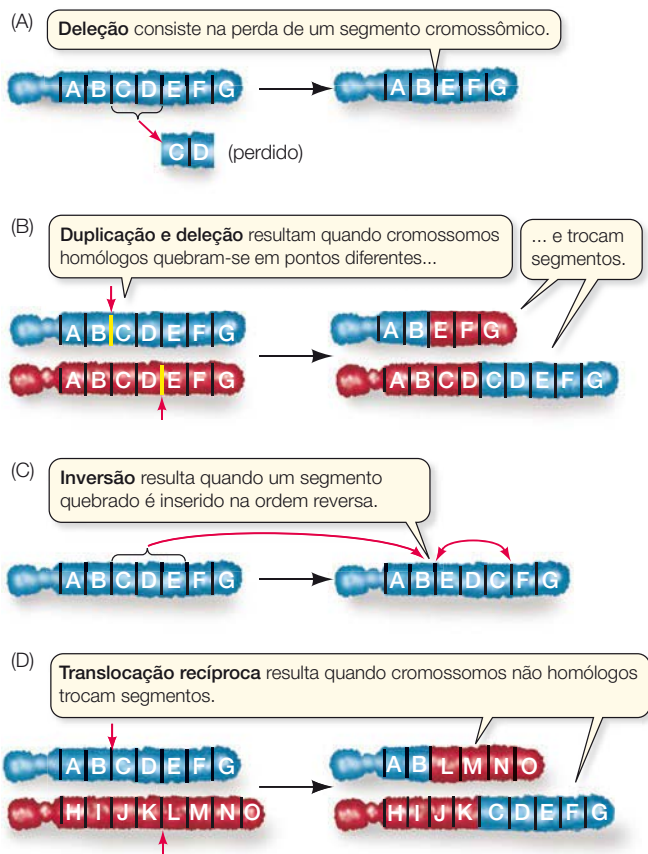


Figura 12.19 **Mutações cromossômicas** Cromossomos podem quebrar-se durante a replicação, e partes dos cromossomos podem então religarem-se incorretamente.

Mutações podem ser espontâneas ou induzidas

É útil distinguir dois tipos de mutações em termos de suas causas:

- **Mutações espontâneas** são mudanças permanentes no material genético que ocorrem sem nenhuma influência externa. Em outras palavras, ocorrem simplesmente porque a maquinaria da célula é imperfeita.
- **Mutações induzidas** ocorrem quando algum agente externo à célula – um agente mutagênico – causa uma alteração permanente no DNA.

Mutações espontâneas ocorrem por vários mecanismos:

- *As quatro bases nucleotídicas* do DNA são um tanto instáveis. Existem em duas diferentes formas (chamadas *tautômeros*), uma comum e a outra rara. Quando uma base temporariamente forma seu tautômero não usual, pode parear-se com uma base diferente. Por exemplo, C normalmente pareia-se com G, porém se C encontra-se na sua forma rara durante a replicação do DNA, irá parear-se (e a DNA-polimerase irá inserir) com A. O resultado é um ponto de mutação: G → A (**Figura 12.20A, C**).
- *Bases podem ser alteradas devido a uma reação química.* Por exemplo, a perda de um grupo amino da citosina (reação chamada *desaminação*) forma uracila. Quando o DNA se replica,

ao invés de G, em oposição com C, a DNA-polimerase adiciona um A (base que pareia com U).

- *DNA-polimerase comete erros na replicação* (ver Seção 11.4). Por exemplo, inserindo um T em oposição à G. A maioria desses erros se repara pela função de edição do complexo de replicação, porém alguns erros escapam e tornam-se permanentes.
- *Meiose não é perfeita.* A não disjunção – a falha dos cromossomos homólogos em separarem-se durante a meiose – pode ocorrer, levando para as células muitos ou poucos cromossomos (aneuploidia; Figura 9.20). As quebras e as religações cromossômicas ao acaso podem produzir deleções, duplicações, e inversões, ou, quando envolvendo cromossomos não homólogos, translocações.

Agentes mutagênicos alteram o DNA por diferentes mecanismos, induzindo, portanto, mutações:

- *Alguns agentes químicos alteram bases nucleotídicas.* Por exemplo, o ácido nítrico (HNO_3) e seus derivados podem transformar a citosina no DNA em uracila por desaminação: converte um grupamento amino da citosina ($-\text{NH}_2$) em um grupamento ceto ($-\text{C}=\text{O}$). Essa alteração tem o mesmo resultado que uma desaminação espontânea: ao invés de um G, a DNA-polimerase insere um A (**Figura 12.20B, C**).
- *Alguns agentes químicos adicionam grupamentos as bases.* Por exemplo, benzopireno, um dos componentes da fumaça do cigarro, adiciona um grande grupamento químico à guanina, tornando-a não disponível para o pareamento de bases. Quando a DNA-polimerase encontra essa guanina modificada, insere qualquer uma das quatro bases; obviamente, três quartos das vezes que isso ocorrer a base inserida não será uma citosina, e uma mutação ocorrerá.
- *Radiação danifica o material genético.* A radiação pode danificar o DNA de duas maneiras. Primeiro, a radiação ionizante (raios X) produz espécies químicas altamente reativas chamadas *radicais livres*, os quais podem alterar bases no DNA para formas não reconhecíveis (pela DNA-polimerase). Ela pode quebrar o esqueleto de açúcar-fosfato do DNA, causando anormalidades cromossômicas. Segundo, a radiação ultravioleta do sol (ou de uma lâmpada de bronzeamento) é absorvida pela timina no DNA, causando a formação de ligações covalentes entre bases de nucleotídeos adjacentes. Isso também cria grandes desordens durante a replicação do DNA.

Mutações apresentam tanto benefícios quanto custos. Os custos são óbvios, na medida em que as mutações frequentemente produzem um organismo vivo com muita dificuldade em seu meio ambiente. Mutações somáticas podem levar ao câncer – um efeito que será visto no Capítulo 17. Mutações na linha germinativa são também essenciais para a vida, porque permitem diversidade genética na qual as forças da evolução agem.

As mutações são a matéria-prima da evolução

Sem mutação, não haveria evolução. Conforme veremos na Parte 5 deste livro, a mutação não dirige a evolução, mas provém a diversidade genética na qual a seleção natural e outros agentes da evolução atuam.

Todas as mutações constituem eventos raros, porém as frequências mutacionais variam de organismo para organismo e de gene para gene dentro de um organismo. A frequência de mutação é geralmente muito menor do que uma mutação para cada 10^4 pares de bases por replicação de DNA e algumas vezes tão baixa como uma mutação para cada 10^9 pares de bases por replicação.

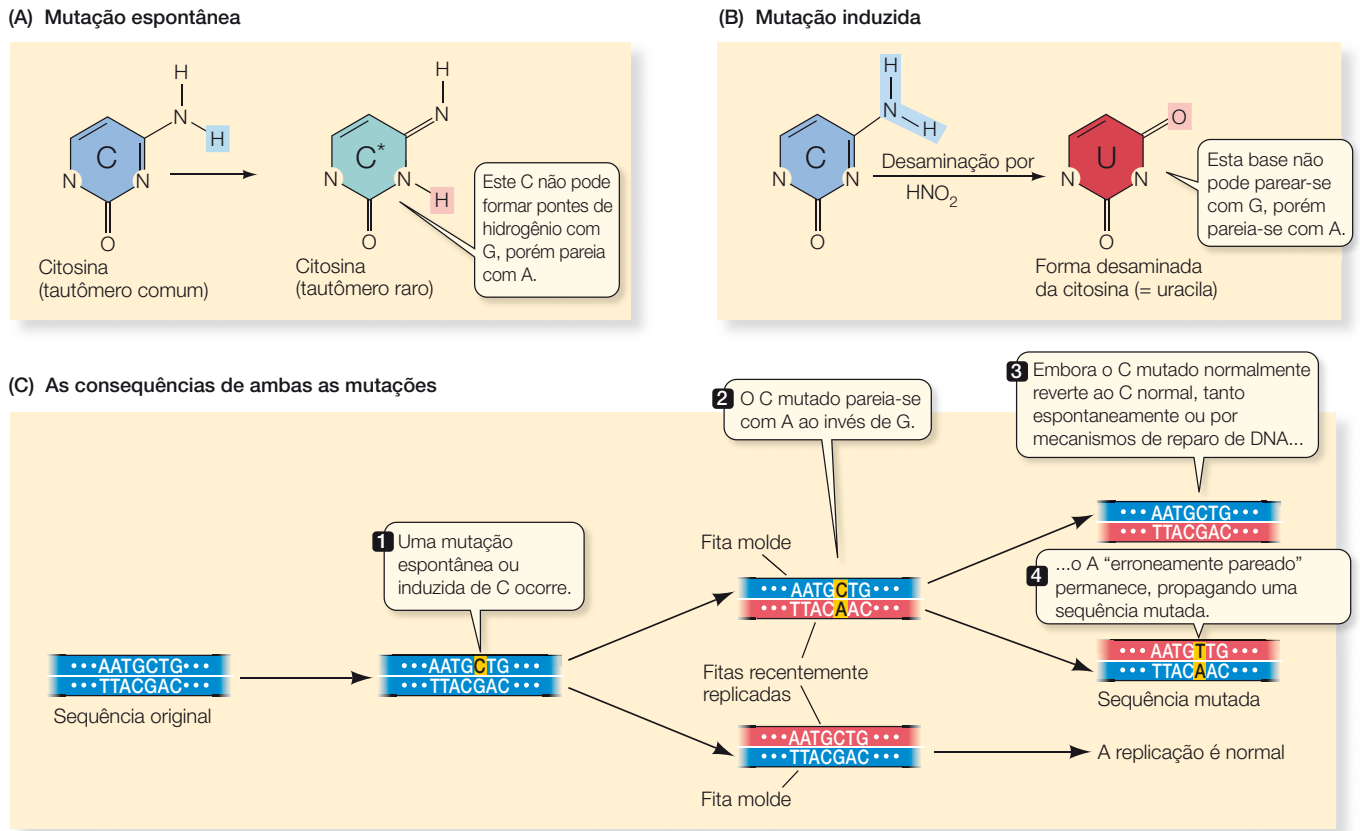


Figura 12.20 **Mutações espontâneas e induzidas** (A) Todas as quatro bases nitrogenadas no DNA existem em ambas a forma prevalente (comum) e na forma rara. Quando uma base forma espontaneamente seu tautômero não usual, pode parear-se com uma base diferente. (B) Agentes químicos mutagênicos tais como o ácido nítrico podem induzir alterações nas bases. (C) Em ambas as mutações espontâneas e induzidas, o resultado consiste em uma mudança permanente na sequência do DNA seguindo a replicação.

Se o acúmulo aleatório de mutações no gene extra levou à produção de uma proteína útil (por exemplo, uma enzima com uma especificidade alterada para os substratos aos quais se liga, permitindo-a catalisar reações diferentes, porém relacionadas), a seleção natural tenderia a perpetuar a existência desse novo gene. Novas cópias de genes também surgem da atividade de *elementos de transposição*, os quais discutiremos nos Capítulos 13 e 14.

A maioria das mutações são pontuais nas quais um nucleotídeo é substituído por outro durante a síntese de uma nova fita de DNA.

As mutações podem danificar o organismo que as carrega, ou serem neutras (não possuem efeito na habilidade do organismo de sobreviver ou de produzir progênie). Eventualmente, entretanto, uma mutação aumenta a adaptação de um organismo para o seu ambiente ou torna-se favorável quando as condições ambientais se alteram.

A maioria das criaturas complexas que vivem na terra possuem mais genes do que as mais simples. Os humanos, por exemplo, possuem 20 vezes mais genes do que os procaríotos. Como esses novos genes surgiram? Genes inteiros poderiam ser duplicados, e o portador da duplicação possuiria uma informação genética excedente que poderia resultar em um bom uso. Mutações subsequentes em uma das duas cópias do gene não apresentariam efeitos adversos na sobrevivência, uma vez que a outra cópia do gene continuaria a produzir a proteína funcional. O gene extra poderia mutar várias vezes sem efeitos danosos porque sua função original poderia ser preenchida pela cópia original.

12.6 RECAPITULAÇÃO

Mutações são alterações na sequência nucleotídica do DNA. Elas podem ser alterações em nucleotídeos únicos ou rearranjos extensos do material genético nos cromossomos. Se ocorrem em células somáticas, serão passadas para as células-filhas; se acontecerem em células de linhagens germinais, serão herdadas pela progênie.

- Você pode distinguir os vários tipos de mutações cromossômicas: deleções, duplicações, inversões e translocações? Ver p. 276 e Figura 12.19.
- Você entende a diferença entre mutação espontânea e induzida? Dê um exemplo de cada uma delas. Ver p. 277 e Figura 12.20.

RESUMO DO CAPÍTULO

12.1 Qual é a evidência de que genes codificam proteínas?

Os experimentos de Beadle e Tatum com enzimas metabólicas no bolor *Neurospora* do pão, levaram à hipótese de **um gene, uma enzima**. Agora sabe-se que há uma relação um gene, um polipeptídeo. [Rever Figura 12.1.](#)

12.2 Como a informação flui dos genes para proteínas?

O dogma central da biologia molecular é que o DNA codifica RNA e RNA codifica proteína. Proteína não codifica proteína, RNA ou DNA. [Rever Figura 12.2.](#)

O processo pelo qual a informação no DNA é copiada para RNA chama-se **transcrição**. O processo pelo qual a proteína é construída da informação no RNA chama-se **tradução**. [Rever Figura 12.3.](#)

Certos RNA virais são exceções ao dogma central. Esses retrovírus sintetizam DNA a partir de RNA na transcrição reversa.

O produto da transcrição, **RNA mensageiro (mRNA)** viaja do núcleo ao citoplasma. O **RNA transportador (tRNA)** traduz a informação genética do mRNA na sequência correspondente de aminoácidos para produzir um polipeptídeo.

12.3 Como a informação contida no DNA transcrito produz RNA?

Em um dado gene, apenas uma das duas fitas de DNA (a **fita molde**) serve de molde para a transcrição. A **RNA-polimerase** é o catalisador da transcrição.

A transcrição do RNA a partir do DNA procede em três etapas: **iniciação, alongação e terminação**. [Rever Figura 12.5.](#)

A iniciação requer um **promotor**, ao qual a DNA-polimerase se liga. Parte de cada promotor é o **sítio de iniciação**, onde inicia a transcrição.

A alongação da molécula de RNA procede na direção 5' para 3'.

Sequências de bases particulares especificam a terminação, nas quais o fim da transcrição e o RNA transcrito se separam da fita molde de DNA.

O **código genético** é a “linguagem” de bases de nucleotídeos de mRNA triplete (**códons**) correspondentes aos 20 aminoácidos; existem tanto **códons de iniciação** quanto de **terminação**. O código é redundante (um aminoácido pode ser representado por mais do que um códon), porém não é ambíguo (um único códon não representa mais do que um aminoácido). [Rever Figura 12.6.](#)

12.4 Como o RNA é traduzido em proteínas?

Na tradução, aminoácidos ligam-se em uma ordem especificada pelos códons no mRNA. A tarefa é executada por tRNA, os quais ligam-se (são carregados com) aminoácidos específicos.

Cada espécie de tRNA apresenta um aminoácido ligado em um lado tão bem como um **anticódon** complementar a um códon de mRNA específico. Uma enzima ativadora específica carrega cada tRNA com seu aminoácido específico. [Rever Figuras 12.8 e 12.9.](#)

O **ribossomo** é a bancada molecular onde a tradução ocorre. Ele possui uma subunidade maior e uma menor, ambas feitas de **RNA ribossomal** e proteínas.

Três sítios na subunidade maior do ribossomo interagem com o anticódon do tRNA. O sítio A trata-se do local onde o tRNA carregado como o anticódon liga-se ao códon do mRNA; o sítio P é onde o tRNA adiciona seus aminoácidos à cadeia polipeptídica em crescimento; e o sítio E é onde o tRNA se libera. [Rever Figura 12.10.](#)

A tradução ocorre em três passos: **iniciação, alongação e terminação**.

O **complexo de iniciação** consiste em tRNA carregando o primeiro aminoácido, a subunidade ribossomal menor e mRNA. O mRNA liga-se a uma sequência complementar específica no rRNA. [Rever Figura 12.11.](#)

A cadeia polipeptídica em crescimento se alonga pela formação de ligações peptídicas entre aminoácidos, catalisadas pelo RNA. [Rever Figura 12.12.](#)

Quando o códon de terminação alcança o sítio A, a tradução termina pela ligação a um fator de liberação. [Rever Figura 12.13.](#)

No **polissomo**, mais de um ribossomo move-se ao longo da fita de mRNA de uma vez. [Rever Figura 12.17.](#)

12.5 O que acontece aos polipeptídeos após a tradução?

Sequências sinais de aminoácidos dirigem polipeptídeos aos seus destinos celulares. [Rever Figura 12.15.](#)

Destinos no citoplasma incluem organelas, nas quais as proteínas entram por meio de reconhecimento de receptores de superfície chamados **proteínas atracadoras**.

Proteínas “endereçadas” ao RE ligam-se a um **sinal de reconhecimento**. [Rever Figura 12.16.](#)

Modificações pós-traducionais de polipeptídeos incluem a **proteólise**, em que o polipeptídeo é cortado em pequenos fragmentos; a **glicosilação**, em que açúcares são adicionados; e a **fosforilação**, em que grupos fosfato são adicionados. [Rever Figura 12.17.](#)

12.6 O que são mutações?

Mutações consistem em alterações herdáveis no DNA. As **mutações somáticas** são passadas a células-filhas, mas apenas as **mutações na linha germinativa** para a prole sexualmente produzida.

Mutações pontuais resultam de alterações em um único par de base no DNA. **Mutações silenciosas** não causam alteração em aminoácidos quando o mRNA traduz-se em um polipeptídeo. Mutações **perda de sentido, sem sentido** ou **alteração do módulo de leitura** resultam em mudanças nos aminoácidos produzidos. [Rever p. 275 e 276.](#)

Mutações cromossômicas (deleções, duplicações, inversões ou translocações) envolvem grandes regiões do cromossomo. [Rever Figura 12.19.](#)

Mutações espontâneas ocorrem devido a instabilidades no DNA ou nos cromossomos. **Mutações induzidas** ocorrem quando um agente **mutagênico** causa danos ao DNA. [Rever Figura 12.20.](#)

As mutações, embora ocorram frequentemente em detrimento a um organismo individual, consistem na matéria-prima da evolução.

QUESTÕES

- Quais dos itens abaixo *não* é uma diferença entre RNA e DNA?
 - RNA tem uracila; DNA tem timina.
 - RNA tem ribose; DNA tem desoxiribose.
 - RNA tem cinco bases; DNA tem quatro.
 - RNA é uma única fita polinucleotídica; DNA é uma dupla-fita.
 - RNA é relativamente menor do que o DNA cromossomal humano.
- Normalmente, *Neurospora* pode sintetizar todos os 20 aminoácidos. Uma determinada cepa deste bolor não pode crescer em meio nutricional mínimo, mas cresce apenas quando o aminoácido leucina é adicionado ao meio de cultura. A cepa:
 - é dependente de leucina para energia.
 - tem uma mutação afetando a via bioquímica que leva à síntese de proteínas.
 - tem uma mutação afetando a via bioquímica que leva à síntese de todos os 20 aminoácidos.
 - tem uma mutação afetando a via bioquímica que leva à síntese de leucina.
 - tem uma mutação afetando a via bioquímica que leva à síntese de 19 dos 20 aminoácidos.
- Um mRNA tem a sequência 5'–AUGAAAUCCUAG–3'. Qual é a fita de DNA molde para esta sequência?
 - 5'–TACTTTAGGATC–3'
 - 5'–ATGAAATCCTAG–3'
 - 5'–GATCCTAAAGTA–3'
 - 5'–TACAAATCCTAG–3'
 - 5'–CTAGGATTCAT–3'
- Os adaptadores que permitem a tradução dos ácidos nucleicos de 4 letras em proteínas de 20 letras denominam-se:
 - tRNA aminoacil-sintetases
 - RNAs de transferência
 - RNAs ribossomais
 - RNAs mensageiros
 - ribossomos
- Em certos locais do gene, a fita não molde do DNA tem a sequência GAA. Uma mutação altera o triplete para GAG. Este tipo de mutação é chamada:
 - silenciosa
 - perda de sentido
 - sem sentido
 - alteração no módulo de leitura
 - translocação
- A transcrição:
 - produz apenas mRNA.
 - requer ribossomos.
 - requer tRNA.
 - produz RNA crescendo na direção 5' para 3'.
 - ocorre apenas em eucariotos.
- Que afirmação sobre tradução *não* é verdadeira?
 - A síntese de polipeptídeos é dirigida por RNA.
 - Uma molécula de mRNA pode ser traduzida por apenas um ribossomo de cada vez.
 - O mesmo código genético opera em quase todos os organismos e organelas.
 - Qualquer ribossomo pode ser usado na tradução de qualquer mRNA.
 - Existem ambos, código de início e de parada.
- Que afirmação sobre RNA *não* é verdadeira?
 - RNA de transferência funciona na tradução.
 - RNA ribossomal funciona na tradução.
 - RNA são produzidos por transcrição.
 - RNA mensageiros são produzidos nos ribossomos.
 - DNA codifica par mRNA, tRNA e rRNA.
- O código genético:
 - é diferente em procariotos e eucariotos.
 - tem se modificado ao longo do curso da evolução.
 - tem 64 códons que codificam para aminoácidos.
 - tem mais de um códon para cada aminoácido.
 - é ambíguo.
- Uma mutação que resulta no códon UAG onde existia UGG, é
 - mutação sem sentido.
 - mutação perda de sentido.
 - mutação por alteração no módulo de leitura.
 - mutação em grande escala.
 - improvável ter um efeito significativo.

PARA DISCUSSÃO

1. Como é possível que uma mutação pontual, consistindo na troca de uma única base nucleotídica no DNA por uma base diferente, resulte em um erro na produção de proteínas?
2. Har Gobind Khorana, na Universidade de Wisconsin, sintetizou mRNA artificiais tais como poli CA (CACACA...) e poli CAA (CAACA-ACAA...). Descobriu que poli CA codifica um polipeptídeo consistindo em treonina (Tre) e histidina (His) alternadas (His – Tre – His – Tre...). Existem dois códons possíveis no poli CA, CAC e ACA. Um desses necessariamente codifica histidina e o outro treonina – porém qual é qual? A resposta veio dos resultados com o poli CAA, o qual produz três polipeptídeos diferentes: poli Tre, poli Gln (glutamina) e poli Asn (asparagina). (Um mensageiro artificial pode ser lido, ineficientemente, começando em qualquer ponto da cadeia; não há nenhum códon específico de início.) Portanto, poli CAA pode ser lido como um polímero de CAA, de ACA ou de AAC. Compare os resultados dos experimentos do poli CA e do poli CAA, e determine qual códon codifica treonina e qual histidina.
3. Leia novamente a questão 2. Usando o código genético na Figura 12.6 como guia, deduza quais resultados Khorana teria obtido se tivesse usado poli UG e poli UGG como mensageiros artificiais. De fato, bem poucos desses mensageiros artificiais teriam dado resultados aproveitáveis. Como exemplo do que poderia acontecer, considere poli CG e poli CGG. Se poli CG fosse o mensageiro, seria obtido um polipeptídeo que seria uma mistura de arginina e de alanina (Arg – Ala – Ala – Arg –...); poli CGG daria origem a três polipeptídeos: poli Arg, poli Ala e poli Gli (glicina). Poderia qualquer códon ser determinado somente a partir desses resultados? Explique.
4. Erros na transcrição ocorrem em torno de 100 mil vezes mais do que na replicação de DNA. Por que se tolera essa alta taxa na síntese de RNA, mas não na síntese de DNA?

PARA INVESTIGAÇÃO

Os experimentos de Beadle e Tatum mostraram que uma rota bioquímica podia ser deduzida de cepas mutantes. Em bactérias, a biossíntese do aminoácido triptofano (T) do precursor corismato (C) envolve quatro compostos químicos intermediários, os quais chamaremos D, E, F e G. Aqui estão os fenótipos de várias cepas mutantes, onde cada cepa tem uma mutação em um gene para uma enzima diferente, + significa crescimento com a indicada adição ao meio, e 0 significa sem crescimento. Baseado nestes dados, ordene os compostos (C, D, E, F, G e T) e as enzimas (1, 2, 3, 4 e 5) numa via bioquímica.

CEPA MUTANTE	ADIÇÃO AO MEIO					
	C	D	E	F	G	T
1	0	0	0	0	+	+
2	0	+	+	0	+	+
3	0	+	0	0	+	+
4	0	+	+	+	+	+
5	0	0	0	0	0	+

A mutação de um vírus de ave resulta em infecção humana

Em 9 de maio de 1997, um menino de 3 anos de idade, em Hong Kong, desenvolveu tosse e febre. Seu médico o tratou com antibióticos e aspirina, porém a febre piorou. O menino foi hospitalizado no dia 15 de maio. Infelizmente, a febre progrediu, causando deficiência pulmonar, e a criança morreu 6 dias após.

Na tentativa de encontrar a causa da morte da criança, pesquisadores coletaram fluido pulmonar antes de sua morte e adicionaram essa amostra em células renais de mamífero, em uma cultura laboratorial. Dois dias após, as células começaram a morrer, ocorrendo a liberação de centenas de partículas de vírus influenza. Profissionais de saúde pública do Hospital Hong Kong procuraram por sinais que indicassem que a gripe do menino fosse causada por uma das cepas que tinham

infectado outras pessoas antes do inverno. Realizaram testes para glicoproteínas na superfície do vírus, que permitiriam que o vírus se ligasse a células humanas. Nenhum dos testes funcionou, indicando que o vírus em questão não causava gripe humana típica. Qual era esse novo vírus mortífero?

No mês de agosto, eles foram capazes de determinar que o pequeno menino havia sido infectado com o H5N1, um vírus de gripe previamente conhecido por infectar somente frangos. Na creche do garoto, havia pintos com os quais as crianças brincavam. Testes genéticos mostraram que as sequências nucleotídicas do vírus das aves e do vírus do menino combinavam. A comparação desta sequência com aquela do vírus da gripe delimitado às aves revelou que uma mutação no gene para a glicoproteína de superfície viral permitiu ao vírus aviário tornar-se capaz de se ligar e infectar células humanas.

Em dezembro, mais casos humanos de “gripe aviária” apareceram em Hong Kong: das 18 pessoas infectadas, 6 morreram. Apesar de não existir uma clara conexão entre os indivíduos infectados e as aves doentes, todas as vítimas visitaram mercados de aves vivas na semana anterior ao desenvolvimento dos sintomas. Testes em frangos vivos desses mercados revelaram alta taxa de infecção por H5N1. Oficiais de saúde de Hong Kong fecharam imediatamente as fronteiras com a China e realizaram o extermínio de todos os frangos da ilha. Dentro de alguns dias, mais de 1,5 milhões de frangos foram mortos, e uma epidemia provável foi evitada.

Mesmo assim, não se eliminou o vírus da gripe aviária. O vírus H5N1 tem sido encontrado em outras aves além de frangos e em outros continentes além da Ásia. Existem mais casos de infecção humana, porém uma ação eficiente para eliminar as aves infectadas preveniu a expansão da doença.

Nem sempre temos tido sorte. A epidemia de “gripe espanhola” de 1918, que pode ter iniciado com

Fábrica de frangos A disseminação da gripe aviária através do Oriente tornou a criação de frangos uma ocupação perigosa.





Procurando uma vacina O vírus da gripe aviária é injetado em um ovo como parte do procedimento para desenvolver uma vacina. O desenvolvimento de vacinas contra gripe é sempre uma corrida contra o tempo. Em virtude de os vírus evoluírem tão rapidamente, novas vacinas fazem-se constantemente necessárias.

um único soldado, espalhou-se pela Europa por tropas americanas que lutaram na Primeira Guerra Mundial. A pandemia resultante levou a 40 milhões de mortes em todo o mundo. Pandemias de gripe nos anos de 1957 e 1968 mataram um milhão de pessoas cada. Nessas três pandemias, uma única mutação genética possibilitou que um vírus influenza de animal infectasse pessoas.

Quando ocorrerá a próxima pandemia de gripe? As respostas estão na genética molecular de vírus e sua evolução.

NESTE CAPÍTULO discutimos o crescimento e a reprodução de vírus e bactérias, e vemos de que forma esses organismos transmitem seus genes. Primeiramente examinamos a natureza dos vírus e ver como infectam, se reproduzem e expressam seus genes nas células hospedeiras. A seguir, discutimos de que modo procariotos podem trocar genes. Também descrevemos como a expressão de genes procariotos é regulada, e o que o sequenciamento de DNA revela sobre o genoma procarioto.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 13.1** Como os vírus se reproduzem e transmitem genes?
- 13.2** Como a expressão gênica é regulada em vírus?
- 13.3** Como os procariotos trocam genes?
- 13.4** Como a expressão gênica é regulada em procariotos?
- 13.5** O que aprendemos a partir do sequenciamento de genomas procariotos?

13.1 Como os vírus se reproduzem e transmitem genes?

Muitos procariotos e vírus têm servido de organismos-modelo para o estudo da estrutura, função e transmissão de genes (**Figura 13.1**). Eles são excelentes organismos-modelo quando comparados com eucariotos mais complexos por diversas razões:

- *Seus genomas são pequenos.* Uma bactéria típica contém em torno de um milésimo do DNA de uma célula humana simples, e um típico bacteriófago contém em torno de um centésimo do DNA de uma bactéria.
- *Eles reproduzem-se rapidamente.* Um mililitro e meio de crescimento pode conter mais de 10^9 células da bactéria *Escherichia coli*, e seu número pode duplicar a cada 25 minutos.
- *Eles são, geralmente, haploides*, o que torna a análise genética seja mais fácil.

Vírus não são células

Ao contrário dos organismos que fazem parte dos três domínios do mundo vivo, os **vírus** são *acelulares*; ou seja, não são células e não são feitos de células. A maioria dos vírus se compõem de ácido nucleico e de poucas proteínas. Os vírus não possuem duas das funções básicas de vida celular: não regulam o transporte de substâncias para dentro ou fora por meio de membranas, e não realizam funções metabólicas – ou seja, não recebem nutrientes ou expulsam dejetos. Porém, os vírus podem se reproduzir em sistemas que realizam estas funções: células vivas.

A maioria dos vírus é muito menor do que a mais diminuta bactéria (**Tabela 13.1**). Os vírus somente tornaram-se bem compreendidos na última metade de século, porém o primeiro passo dessa descoberta deu-se pelo botânico russo Dmitri Ivanovsky, em 1892. Ele estava tentando encontrar a causa da doença do mosaico em fumo, que resulta na destruição de tecidos fotossintéticos das plantas e pode devastar uma plantação de fumo. Ivanovsky passou um extrato de folhas de fumo doentes por um fino filtro de porcelana, uma técnica previamente utilizada por médicos e veterinários para isolar bactérias causadoras de doenças.

Para a surpresa de Ivanovsky, o agente etiológico, nesse caso, não foi retido no filtro. Ele o atravessou e o líquido filtrado ainda causou a doença do mosaico em fumo. Todavia, ao

Figura 13.1 Organismos-modelo Vírus e bactérias são importantes organismos-modelo para estudar genética e biologia molecular. (A) O bacteriófago T4, um vírus comumente estudado, é em torno de 10 vezes menor do que a bactéria (B) *Escherichia coli*, também habitualmente estudada.

invés de concluir que o agente era muito menor do que uma bactéria, assumiu que o filtro foi ineficiente. A recente demonstração de Louis Pasteur de que a bactéria poderia causar doença era a ideia dominante naquela época, e Ivanovsky optou por não mudá-la. Porém, como frequentemente ocorre na ciência, alguém logo veio fazê-lo. Em 1898, o microbiologista holandês Martinus Beijerinck repetiu o experimento de Ivanovsky e também demonstrou que o agente da doença do mosaico em fumo poderia se difundir em ágar-gel. Ele denominou o pequeno agente de *contagium vivum fluidum*, o qual mais tarde tornou-se abreviado para *vírus*.

Quase 40 anos após, o agente da doença foi cristalizado por Wendell Stanley (que ganhou o prêmio Nobel por seus esforços). A preparação viral cristalina tornou-se novamente infecciosa quando foi dissolvida. Logo se demonstrou que preparações virais cristalizadas consistiam de proteínas e ácidos nucleicos. Isso não foi possível até que a microscopia eletrônica permitisse a observação direta dos vírus nos anos 50, onde ficou claro o quanto eram diferentes de bactérias e outros organismos.

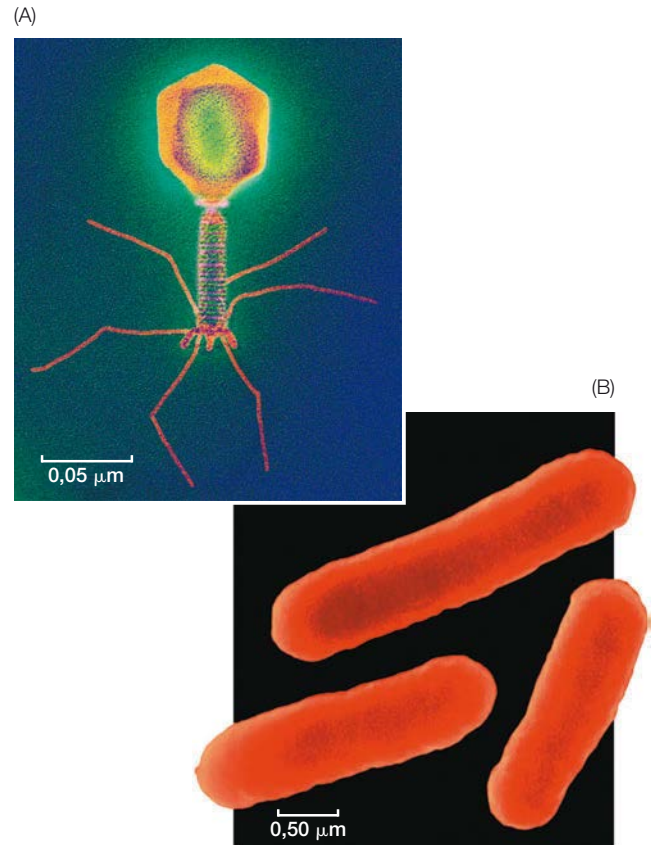
Os vírus reproduzem-se somente com o auxílio de células vivas

Quaisquer dos vírus nunca se desenvolvem diretamente a partir de vírus preexistentes. Os vírus são *parasitas intracelulares obrigatórios*; ou seja, desenvolvem-se e se reproduzem dentro das células de hospedeiros específicos. As células de animais, plantas, fungos, protistas, e procariotos (tanto bactéria quanto archaea) podem servir de hospedeiros aos vírus. Os vírus utilizam as maquinarias de replicação de DNA e síntese proteica dos hospedeiros na sua reprodução, geralmente destruindo a célula hospedeira nesse processo. A célula hospedeira libera progênes de vírus, que, então, infectam novos hospedeiros.

Os vírus fora das células hospedeiras existem como partículas individuais chamadas **vírions**. O vírion, a unidade básica de um vírus, consiste em um núcleo central de DNA ou RNA (porém não ambos) circundado por um **capsídeo**, ou capa, composto de uma ou mais proteínas. Em virtude de não apresentarem uma parede celular distinta e bioquímica ribossomal de bactérias, *os vírus não são afetados por antibióticos* que têm como alvo essas estruturas.

TABELA 13.1 Tamanhos relativos de microorganismos

MICROORGANISMO	TIPO	ESCALA DE TAMANHO (μm^3)
Protistas	Eucarioto	5.000-50.000
Bactérias fotossintéticas	Procarioto	5-50
Espiroquetas	Procarioto	0,1-2,0
Micoplasmas	Procarioto	0,01-0,1
Poxvírus	Vírus	0,01
Vírus influenza	Vírus	0,0005
Poliovírus	Vírus	0,00001



Os vírus classificam-se de acordo com diversas características:

- Se o genoma é de DNA ou RNA;
- Se o ácido nucleico é fita simples ou dupla-fita;
- Se a forma do vírus é simples ou complexa;
- Se o vírion é circundado por uma membrana.

Algumas dessas variações são mostradas na **Figura 13.2**.

Outra importante característica de um vírus trata-se do tipo de organismo que este infecta e a maneira pela qual a infecção ocorre. A maioria dos vírus simplesmente infecta e imediatamente se replica em sua célula hospedeira. Outros podem infectá-la e adiar sua replicação, permanecendo inativos na célula hospedeira até terem condições favoráveis para que essa ocorra.

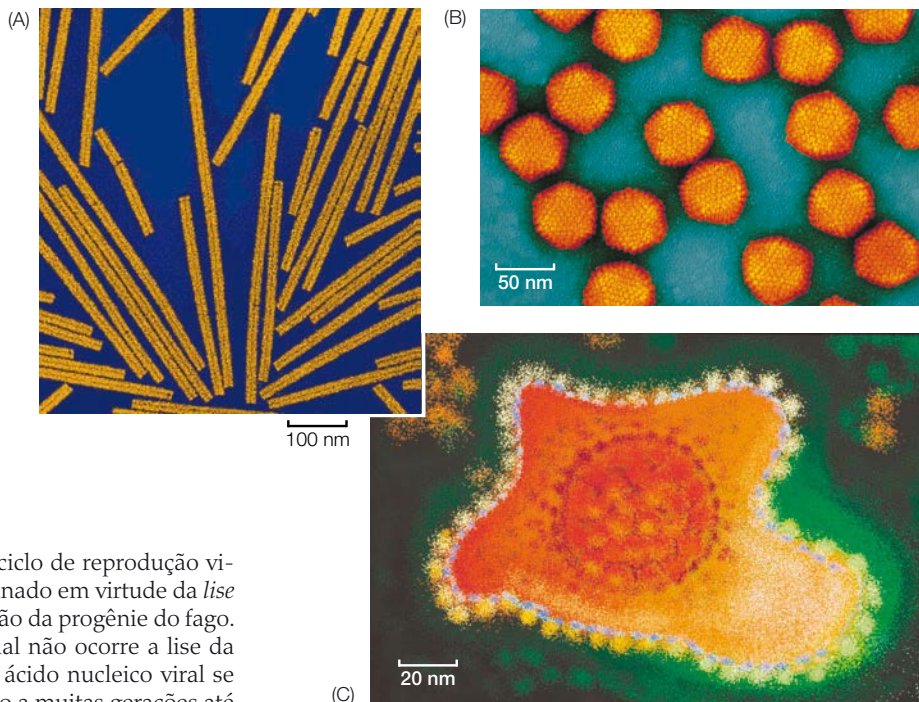
O bacteriófago se reproduz por meio de um ciclo lítico ou um ciclo lisogênico

Os vírus que infectam bactérias denominam-se **bacteriófagos** ou **fagos** (do Grego *phagos*, "aquele que come"). Reconhecem seus prospectivos hospedeiros por meio de proteínas no capsídeo, que se ligam a proteínas receptoras específicas ou carboidratos na parede celular do hospedeiro. Os vírions, cujos ácidos nucleicos devem penetrar a parede celular para que a infecção seja efetiva, são frequentemente equipados com caudas que injetam os ácidos nucleicos dos fagos na bactéria hospedeira através da parede celular. Após a entrada dos ácidos nucleicos, uma de duas situações acontece, dependendo do tipo de fago:

- Os vírus reproduzem-se imediatamente e matam a célula hospedeira.

Figura 13.2 Víriões apresentam diversas formas

(A) O vírus do mosaico do fumo (um vírus de planta) consiste em uma hélice interna de RNA protegida por um arranjo helicoidal de moléculas proteicas. (B) Muitos vírus de animais, como este adenovírus, possuem um capsídeo como um envelope externo. Dentro do capsídeo existe uma massa esférica de proteínas e DNA. (C) Em alguns vírus, como este vírus do herpes, um envelope de membrana circunda o capsídeo.



- Os vírus adiam a reprodução por meio da integração de seu ácido nucleico no genoma da célula hospedeira.

O experimento de Hershey-Chase (ver Figura 11.4) envolveu o primeiro tipo de ciclo de reprodução viral, chamado de **ciclo lítico**, assim denominado em virtude da *lise* (estouro) da bactéria infectada e da liberação da progênie do fago. A alternativa é o **ciclo lisogênico**, no qual não ocorre a lise da bactéria infectada, mas, ao invés disso, o ácido nucleico viral se integra no genoma dessa e então é passado a muitas gerações até que surjam condições de desencadear o ciclo lítico. A maioria dos vírus se reproduz somente pelo ciclo lítico; outros sofrem os dois tipos de ciclos reprodutivos (Figura 13.3).

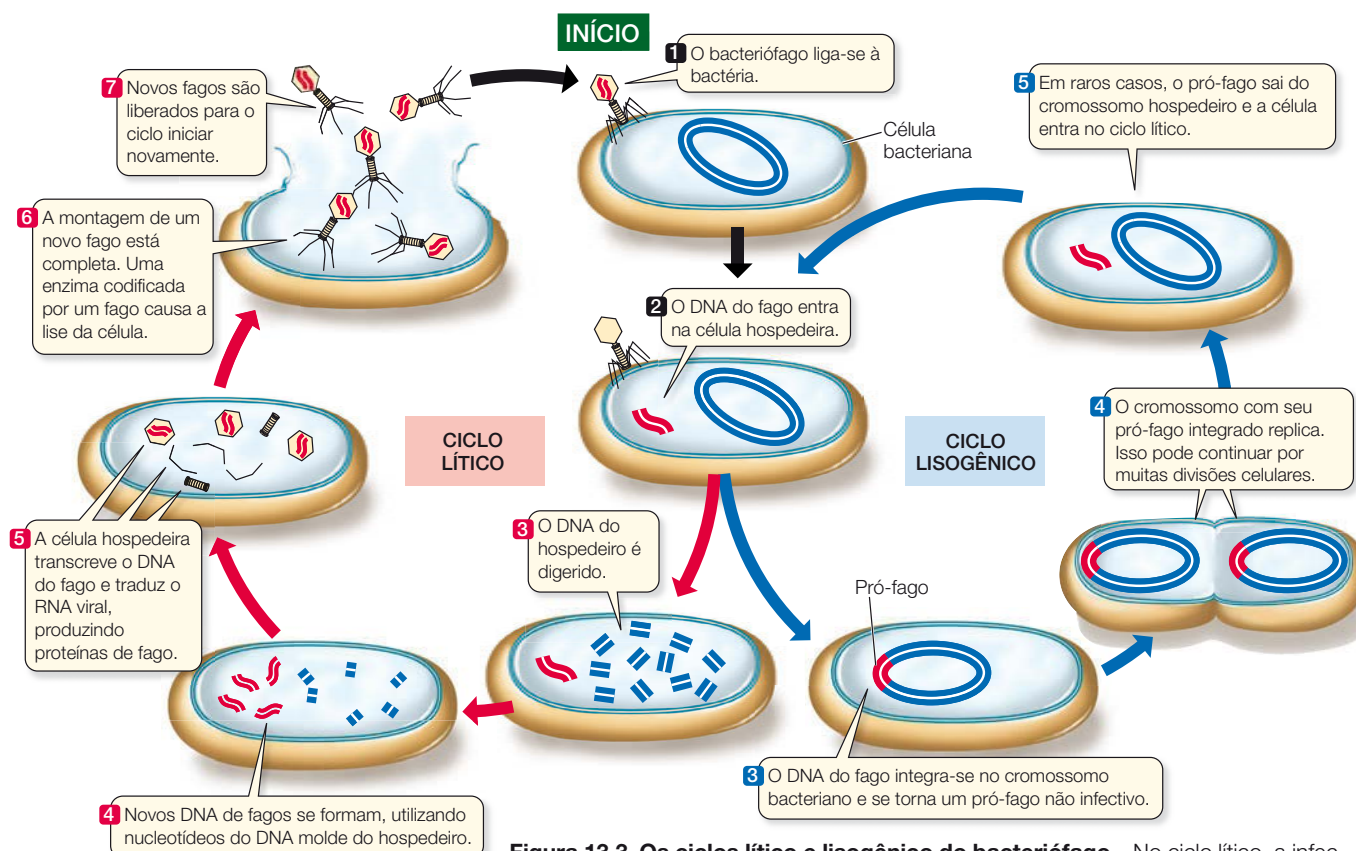


Figura 13.3 Os ciclos lítico e lisogênico do bacteriófago No ciclo lítico, a infecção de uma bactéria por um DNA viral leva diretamente à multiplicação do vírus e à lise da célula hospedeira. No ciclo lisogênico, um pró-fago inativo replica-se como parte do cromossomo do hospedeiro.

Se as bactérias estão em todos os lugares, então os bacteriófagos também, e em números muito maiores. Existem até 100 milhões de vírus em um mililitro de água do mar; números similares são encontrados em água do solo. Os cientistas estimam que existam dez fagos para cada bactéria na natureza.

O CICLO LÍTICO Um vírus que se reproduz somente por meio do ciclo lítico denomina-se **virulento**. Uma vez que um fago virulento tenha se ligado e injetado seu ácido nucleico em uma bactéria, este ácido nucleico utilizará a maquinaria sintética do hospedeiro. Isso ocorre em dois estágios (**Figura 13.4**):

- O genoma viral contém sequências promotoras que atraem a RNA-polimerase do hospedeiro. No *estágio inicial*, os genes virais que residem próximos a este promotor são transcritos. Esses *genes precoces* frequentemente codificam proteínas que bloqueiam a transcrição do hospedeiro e estimulam a replicação do genoma viral e a transcrição de genes virais. Enzimas nuclease virais digerem o cromossomo do hospedeiro, fornecendo nucleotídeos para a síntese de genomas virais.

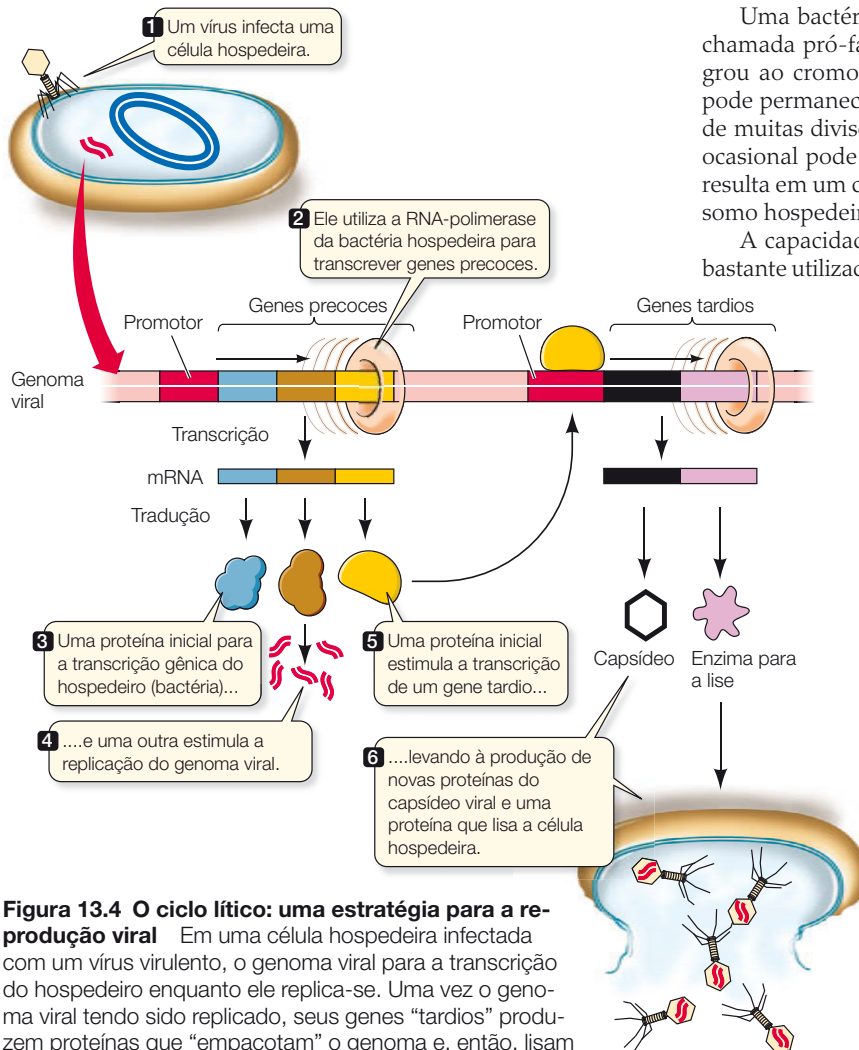


Figura 13.4 O ciclo lítico: uma estratégia para a reprodução viral Em uma célula hospedeira infectada com um vírus virulento, o genoma viral para a transcrição do hospedeiro enquanto ele replica-se. Uma vez o genoma viral tendo sido replicado, seus genes “tardios” produzem proteínas que “empacotam” o genoma e, então, lisam a célula hospedeira.

- No *estágio final*, *genes tardios* virais, que codificam proteínas do capsídeo e proteínas que lisam a célula hospedeira para a liberação de novos vírions, são transcritos.

O processo total – da ligação e infecção até a liberação de fagos por meio da lise da célula hospedeira – ocorre em torno de meia hora. Entretanto, essa sequência de eventos transcricionais é cuidadosamente controlada: a lise prematura da célula hospedeira antes dos vírions estarem montados e prontos para liberação pararia a infecção.

Dois vírus podem infectar uma célula ao mesmo tempo. Esse é um evento incomum, pois, uma vez encaminhado um ciclo lítico, geralmente não existe tempo suficiente para uma infecção adicional. Além disso, uma proteína viral inicial pode prevenir infecções adicionais. Quando dois genomas virais diferentes se encontram na mesma célula hospedeira, entretanto, existe a possibilidade de recombinação genética por meio de *crossing over* (como na prófase I da meiose em eucariotos; Figura 9.18). Esse fenômeno possibilita que vírus geneticamente diferentes, porém relacionados, troquem genes e criem novas cepas.

O CICLO LISOGÊNICO A infecção viral nem sempre resulta em lise da célula hospedeira. Alguns fagos parecem desaparecer de uma cultura bacteriana, deixando a bactéria “imune” a ataques adicionais pela mesma cepa de fago. Em tais culturas, entretanto, alguns fagos livres sempre estão presentes. As bactérias que contêm os vírus não líticos e são chamadas **bactérias lisogênicas**, e os vírus denominam-se **moderados**.

Uma bactéria lisogênica contém uma entidade não infectiva chamada pró-fago: uma molécula de fago de DNA que se integrou ao cromossomo bacteriano (ver Figura 13.3). O pró-fago pode permanecer inativo dentro do genoma bacteriano por meio de muitas divisões celulares. Entretanto, uma bactéria lisogênica ocasional pode ser induzida a ativar seu pró-fago. Essa ativação resulta em um ciclo lítico, no qual o pró-fago se excisa do cromossomo hospedeiro e se reproduz.

A capacidade de alternar entre o ciclo lisogênico e o lítico é bastante utilizada pelo fago, pois reforça oportunidades para a produção do número máximo de progênes de vírus. Quando sua célula hospedeira está em crescimento e se reproduzindo rapidamente, o fago é lisogênico. Quando o hospedeiro se encontra sob estresse ou danificado por mutágenos, o pró-fago é liberado de seu estado inativo e o ciclo lítico ocorre.

BACTERÍOFAGOS LÍTICOS PODERIAM SER UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE INFECÇÕES BACTERIANAS

Em virtude de bacteriófagos líticos destruírem seus hospedeiros bacterianos, cientistas perceberam que esses poderiam ser utilizados no tratamento de doenças infecciosas causadas por bactérias. Realmente, um dos primeiros descobridores de fagos, o microbiologista franco-canadense Felix D’Herelle, notou, em 1917 (antes dos antibióticos serem descobertos), que quando alguns pacientes com disenteria bacteriana estavam se recuperando da doença, a quantidade de fagos em relação a bactérias era muito maior do que quando a enfermidade estava em seu pico.

D'Herelle tentou utilizar fagos a fim de controlar infecções de frangos causadas pela bactéria *Salmonella gallinarum*. Para realizar isso, dividiu os frangos em dois grupos: um recebeu fago, e o outro não. Então, expôs ambos os grupos à bactéria infecciosa. O grupo protegido pelos fagos não desenvolveu a doença bacteriana. Mais tarde, utilizou, com sucesso, fagos para o tratamento de pessoas infectadas com uma bactéria causadora de praga no Egito e de pessoas com cólera na Índia.

A emergência dos antibióticos e de bactérias resistentes a fagos reduziu o interesse na terapia de fagos. Entretanto, esse interesse foi revivido agora que a resistência bacteriana a antibióticos se torna comum. Os bacteriófagos estão sendo investigados como formas de tratar frutas comestíveis e vegetais a fim de prevenir

a contaminação bacteriana. Em adição ao avanço de nossa compreensão dos processos biológicos fundamentais, o estudo de bacteriófagos abriu a porta para investigações de vírus que infectam eucariotos.

Vírus de animais apresentam diversos ciclos reprodutivos

Quase todos os vertebrados são suscetíveis a infecções virais, porém entre os invertebrados tais infecções são comuns somente em artrópodes (o grupo que inclui insetos e crustáceos). Um grupo de vírus, chamados *arbovírus* (abreviatura para "vírus de artrópodes"), é transmitido aos vertebrados por meio de picadas de insetos. Apesar de serem carreados dentro das células dos hospedeiros artrópodes, os arbovírus aparentemente não os prejudicam; eles afetam somente a mordida e o vertebrado infectado. O artrópode atua como **vetor** – carreador intermediário – transmitindo o vírus de um hospedeiro vertebrado a outro.

Vírus de animais são bastante diversos. Alguns constituem somente partículas que consistem em proteínas circundando um ácido nucleico. Outros possuem uma membrana derivada da membrana plasmática da célula do hospedeiro e denominam-se vírus *envelopados*. Alguns vírus de animais possuem DNA como material genético; outros possuem RNA. Na maioria dos casos, o genoma viral é pequeno, codificando poucas proteínas.

Assim como para os bacteriófagos, o ciclo lítico de vírus de animais pode ser dividido nos estágios inicial e final (ver Figura 13.4). Os vírus de animais entram nas células por meio de uma de três maneiras:

- Um vírion nu (sem envelope de membrana) é captado por meio de endocitose, que capta esse para dentro de uma vesícula membranosa dentro da célula hospedeira. A membrana da vesícula se quebra, liberando o vírion dentro do citoplasma, e a célula hospedeira digere o capsídeo proteico, deixando livre o ácido nucleico viral, o qual assume o controle da célula hospedeira.
- Vírus envelopados podem ser captados por endocitose (ver Figura 13.5) e liberados de uma ve-

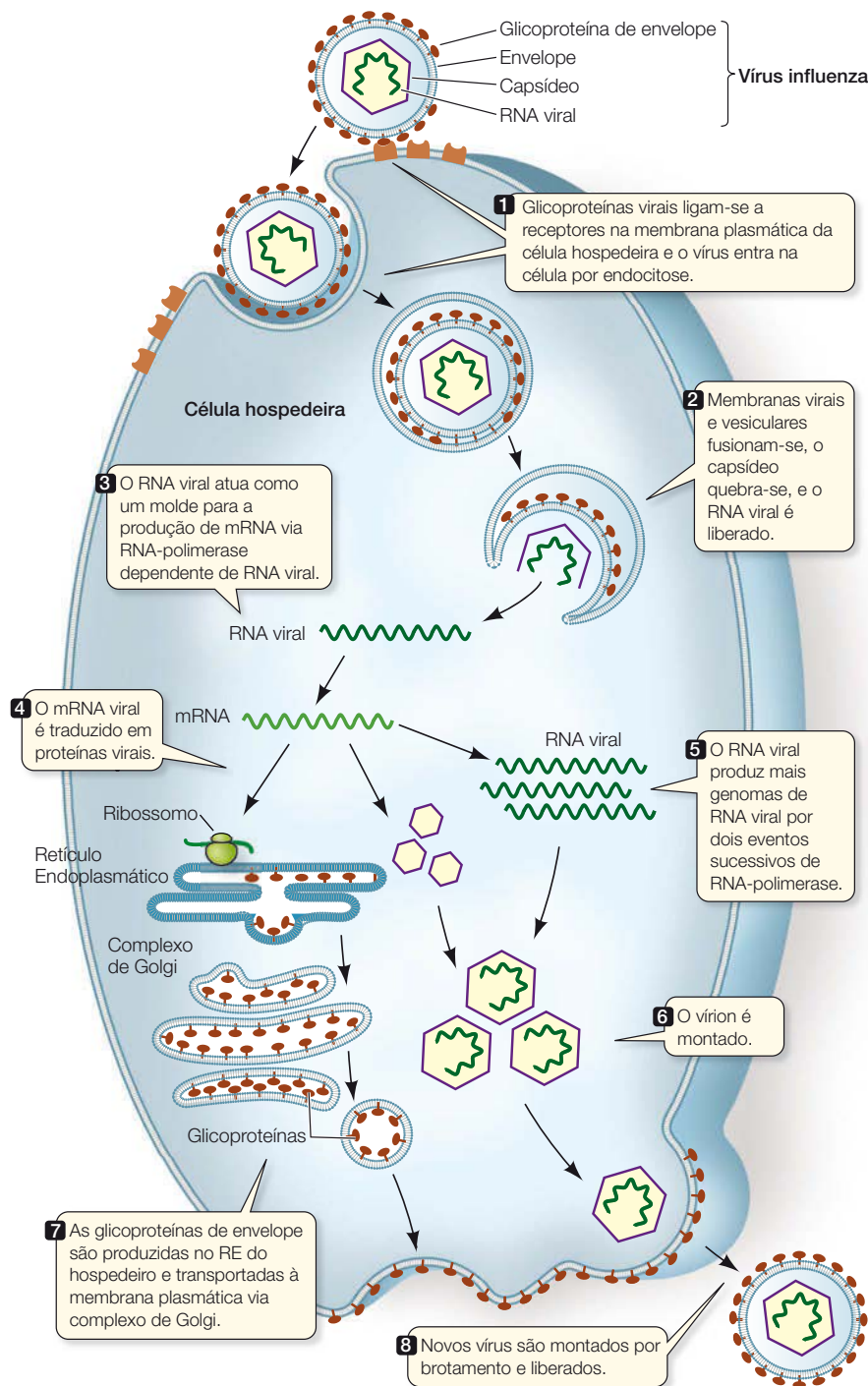


Figura 13.5 O ciclo reprodutivo do vírus influenza O vírus influenza envelopado é levado para dentro da célula hospedeira por endocitose. Uma vez dentro, a fusão da vesícula e membranas virais libera o genoma viral, o qual se replica e monta novos vírions.

sícula. Nesses vírus, a membrana viral é matizada com glicoproteínas que se ligam a receptores na membrana plasmática das células hospedeiras.

- De forma mais comum, as membranas do hospedeiro e do vírus envelopado se fusionam, liberando o restante do vírion dentro da célula (ver Figura 13.6).

Seguindo a reprodução viral, os vírus envelopados geralmente escapam da célula hospedeira por meio de um processo de brotamento, no qual adquirem um envelope de membrana a partir da membrana plasmática da célula hospedeira.

Tanto o vírus influenza quanto o da imunodeficiência humana (HIV) são vírus de RNA fita simples, e seus ciclos de vida ilustram duas estratégias muito diferentes de infecção e replicação de genoma. O vírus influenza é captado pela vesícula membranosa através de endocitose (Figura 13.5). A fusão das membranas viral e vesicular libera o vírion dentro da célula. O vírus carrega sua própria enzima para a replicação de seu genoma de RNA. Esta enzima é uma RNA-polimerase dependente de RNA que o utiliza como molde (em oposição a RNA-polimerases dependentes de DNA que o utilizam como molde; ver Seção 12.3). Esta nova fita de RNA viral sintetizada é, então, utilizada como mRNA na produção, pelo pareamento de bases complementares, de mais cópias do genoma viral.

Retrovírus como o HIV possuem ciclo reprodutivo mais complexo (Figura 13.6). O vírus entra na célula hospedeira por fusão direta do envelope viral e da membrana plasmática hospedeira. Um aspecto distinto do ciclo de vida retroviral consiste na síntese de DNA direcionada por RNA. Esse processo, realizado pela enzima viral **transcriptase reversa**, produz um DNA **pró-vírus** que consiste em cDNA (DNA complementar transcrito a partir de genoma de RNA), que é a forma do genoma viral que consegue se integrar no DNA do hospedeiro. O pró-vírus permanece no cromossomo do hospedeiro permanentemente e é ocasionalmente ativado a fim de produzir novos vírions. Quando isso ocorre,

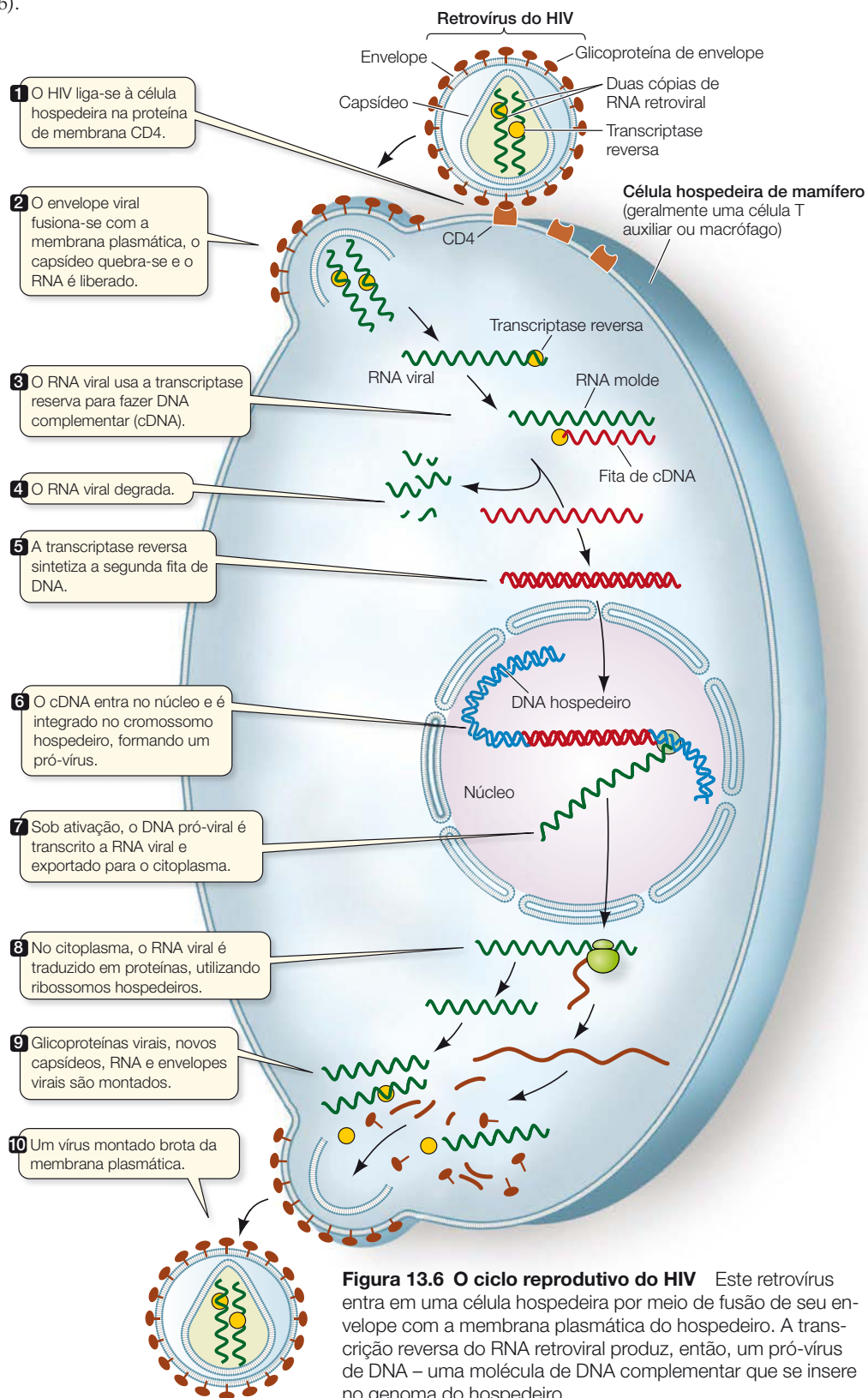


Figura 13.6 O ciclo reprodutivo do HIV Este retrovírus entra em uma célula hospedeira por meio de fusão de seu envelope com a membrana plasmática do hospedeiro. A transcrição reversa do RNA retroviral produz, então, um pró-vírus de DNA – uma molécula de DNA complementar que se insere no genoma do hospedeiro.

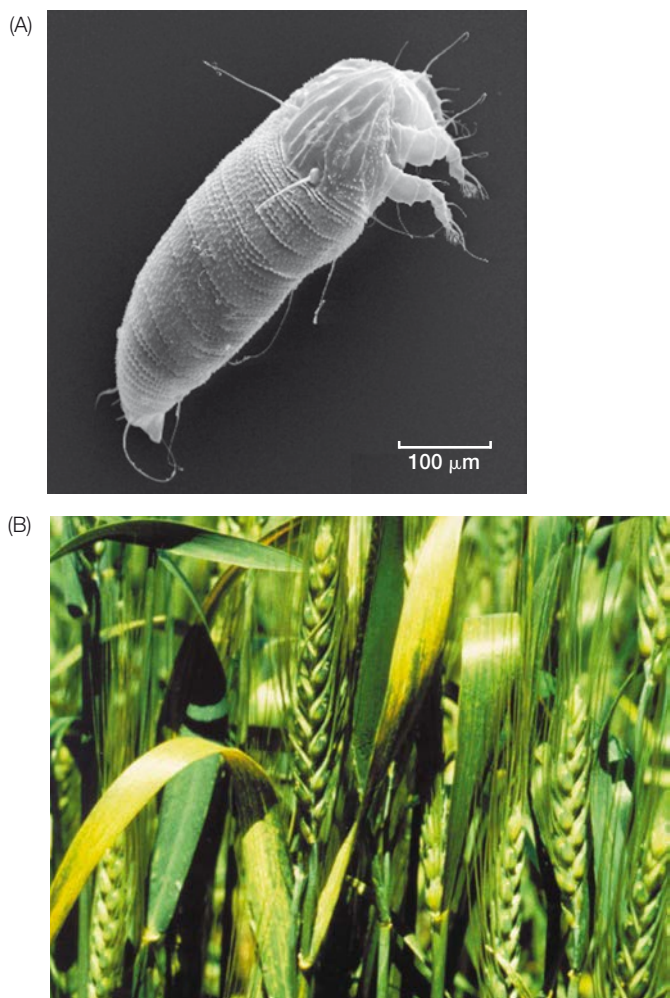


Figura 13.7 Vírus do mosaico estriado do trigo (A) Um pequeno ácaro é o vetor para o vírus do mosaico estriado do trigo. (B) Tecidos fotossintéticos danificados pelo vírus são visíveis nessas plantas de trigo com manchas amarelas.

o pró-vírus é transcrito como mRNA, que, então, traduz-se em proteínas virais por meio da utilização da maquinaria de síntese proteica da célula hospedeira. Glicoproteínas virais inserem-se na membrana plasmática da célula hospedeira, que se tornará o envelope viral. Outras proteínas virais formam capsídeos, que confinam moléculas de RNA viral. A liberação de vírions a partir da célula ocorre por meio de um processo de brotamento muito similar à exocitose. Quase todos os passos neste ciclo complexo podem, em princípio, ser atacados por drogas terapêuticas; este fato é utilizado por pesquisadores em sua busca por tratamentos para a AIDS, a condição fatal causada pela infecção por HIV em humanos, conforme posteriormente discutido na Seção 18.7.

Vírus de animais, incluindo vírus de humanos, causam um alto preço para a saúde humana e animal. Todavia, nosso bem-estar também é desafiado por vírus de plantas e pelas doenças que eles causam.

Muitos vírus de plantas espalham-se com o auxílio de vetores

Doenças virais de plantas floríferas são comuns. Os vírus de plantas se transmitem *horizontalmente*, de uma planta a outra, ou *verti-*

calmente, do parental à prole. Para infectar a célula de uma planta, os vírus devem passar através de uma parede celular assim como uma membrana plasmática. A maioria dos vírus de plantas realiza isso através de sua associação com vetores, os quais são, frequentemente, insetos. Quando um inseto penetra na parede celular com seu probóscide (bico), os vírions podem mover-se do inseto à planta. Uma vez dentro da célula da planta, o vírus se reproduz e se espalha a outras células. Dentro de uma estrutura como uma folha, o vírus dissemina-se através de plasmodesmas, conexões citoplasmáticas entre as células (ver Figura 15.20).

Um exemplo de vírus que causa doença em uma planta economicamente importante é o vírus do mosaico estriado do trigo (Figura 13.7). Ele entra na folha do trigo por meio de um minúsculo ácaro (1 mm) chamado *Aceria tosichella*. Manchas amarelas são vistas nas folhas à medida que a infecção se espalha e destrói os tecidos fotossintéticos. Sem a energia química da fotossíntese, a produção de grãos de trigo pela planta pode ser severamente reduzida. Detectou-se essa doença primeiramente no Canadá, em 1960, e nos Estados Unidos, em 1964. A única forma de controle consiste na eliminação dos ácaros (ou plantas) hospedeiros a fim de parar o ciclo de vida viral. Existe uma séria preocupação com o uso desse vírus como agente bioterrorista e com a possibilidade de sua disseminação provocar a destruição de suprimentos alimentares.

13.1 RECAPITULAÇÃO

Os vírus não são células. Consistem em ácido nucleico e poucas proteínas, e requerem uma célula hospedeira para reprodução. No ciclo lítico, o genoma viral faz a célula hospedeira gerar novos vírions com proteínas, que causam a lise da célula hospedeira e a liberação desses. No ciclo lisogênico, os vírus podem permanecer inativos nas células hospedeiras por longos períodos.

- Como bactérias e vírus podem ser bons organismos modelos? Ver p. 283.
- Você compreende os ciclos lítico e lisogênico de bacteriófagos? Ver p. 284-285 e a Figura 13.3.
- Descreva o ciclo de vida do HIV. Ver p. 288 e Figura 13.6.

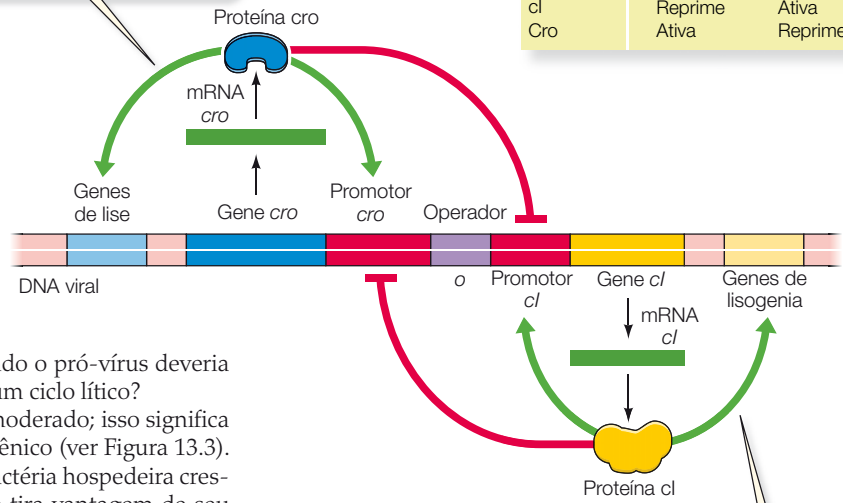
Como um fago controla a troca entre o ciclo lisogênico e o ciclo lítico? De que forma sabe quando esta troca é vantajosa para ele? Vamos examinar essas questões e outros aspectos da regulação da expressão gênica viral.

13.2 Como a expressão gênica é regulada em vírus?

Os mecanismos utilizados por vírus dentro de uma célula hospedeira, para a regulação da expressão gênica, são similares àqueles utilizados por seus hospedeiros. Mesmo um “simples” agente biológico como um vírus vai de encontro com decisões moleculares complexas quando seu genoma entra em uma célula. Por exemplo, o genoma viral deve controlar a parada da transcrição e tradução do hospedeiro, e então, redirecionar a maquinaria de síntese proteica do hospedeiro para a produção de vírus e lise da célula hospedeira. Todos os genes envolvidos nesse processo devem ser ativados na ordem certa. Em vírus moderados, que podem inserir seus genomas (ou uma cópia de DNA) dentro do hospedeiro

13.8 Controle da lise e lisogenia do fago λ Duas proteínas regulatórias, Cro e cI, competem para se ligar a sequências de DNA chamadas operadores, que ficam próximas aos promotores. Os promotores controlam a transcrição de genes para a lise e lisogenia viral.

Quando o hospedeiro bacteriano é danificado, a proteína Cro acumula e ativa promotores para a replicação do DNA do fago; o resultado é a lise da célula bacteriana.



PROTEÍNA	SÍTIO OPERADOR/PROMOTOR	
	Lítico	Lisogênico
cl	Reprime	Ativa
Cro	Ativa	Reprime

Quando o hospedeiro bacteriano é saudável, a proteína cI acumula e ativa promotores para integração do DNA do fago no cromossomo hospedeiro. O fago entra no ciclo lisogênico.

humano, um fator adicional aparece: quando o pró-vírus deveria deixar o cromossomo hospedeiro e sofrer um ciclo lítico?

O bacteriófago λ (lambda) é um fago moderado; isso significa que pode sofrer um ciclo lítico ou um lisogênico (ver Figura 13.3). Quando um meio rico é disponível e sua bactéria hospedeira cresce e se reproduz rapidamente, o pró-fago tira vantagem de seu ambiente celular favorável e permanece lisogênico. O pró-fago pode sentir quando a bactéria hospedeira não está saudável, entretanto, e, como mecanismo de sobrevivência, ele deixa o cromossomo hospedeiro e se torna lítico.

Como o fago “sabe” quando trocar para o ciclo lítico? Um tipo de “troca genética” está envolvido em condições de sensibilidade dentro do hospedeiro. Duas proteínas regulatórias virais, cI e Cro, competem por dois promotores no DNA do fago. Os dois promotores controlam a transcrição dos genes virais envolvidos nos ciclos lítico e lisogênico, respectivamente, e as duas proteínas regulatórias apresentam efeitos opostos nos dois promotores (Figura 13.8). Sequências adicionais de DNA chamadas operadores podem ligar-se a proteínas que afetam a conexão da RNA-polimerase a promotores adjacentes.

A infecção por fago é essencialmente “competição” entre essas duas proteínas regulatórias. Em uma célula hospedeira saudável de *E. coli*, a síntese de Cro é baixa, assim cI “ganha”, e o fago entra em um ciclo lisogênico. Se a célula hospedeira danifica-se por mutágenos ou outros estresses, a síntese de Cro aumenta, promotores para o DNA do fago e proteínas do capsídeo viral se ativam, e a lise bacteriana ocorre. As duas proteínas regulatórias são produzidas no início da infecção pelo fago, e cada uma apresenta um sítio de ligação para uma sequência específica de DNA.

O ciclo de vida do fago λ, que foi bastante simplificado aqui, constitui um paradigma para infecções virais através do mundo biológico. As lições aprendidas a partir de controles transcricionais nesses sistemas têm sido aplicadas a outros vírus, incluindo o HIV.

13.2 RECAPITULAÇÃO

Proteínas virais especiais que interagem com o hospedeiro e sequências de DNA viral são as chaves para a regulação da expressão gênica viral.

- Descreva a troca genética que regula o ciclo de vida do bacteriófago λ entre lítico e lisogênico. Ver Figura 13.8.

Agora que verificamos de que forma os vírus se reproduzem, transmitem e regulam a expressão de seus genes, veremos como esses processos ocorrem em seus hospedeiros – os procaríotos.

13.3 Como os procaríotos trocam genes?

Em contraste aos vírus, os procaríotos (organismos dos domínios Bacteria e Archaea) são células vivas que realizam todas as funções básicas de vida. Os procaríotos geralmente se reproduzem assexuadamente, mas, apesar disso, apresentam diversas maneiras de recombinar seus genes. Enquanto em eucariotos a recombinação genética ocorre entre os genomas de dois pais, a recombinação em procaríotos resulta da interação do genoma de uma célula com uma amostra muito menor de genes – um fragmento de DNA – de uma outra célula.

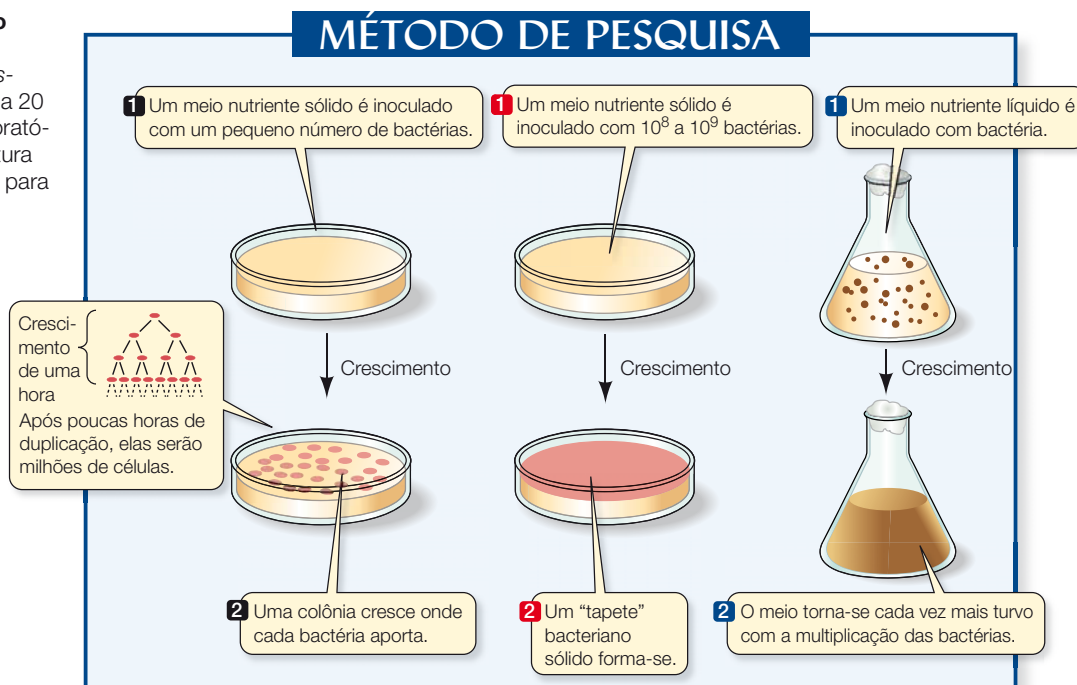
A reprodução de procaríotos resulta em clones

A maioria dos procaríotos se reproduz por meio da divisão de uma única célula em duas filhas idênticas (ver Figura 9.2). Dessa forma, uma única célula dá origem a um **clone** – uma população de indivíduos geneticamente idênticos. Os procaríotos podem se reproduzir muito rapidamente. Uma população de *E. coli*, conforme vimos acima, pode duplicar a cada 20 minutos tanto quanto as condições permanecerem favoráveis, razão pela qual esta bactéria é tão utilizada em pesquisa como um organismo modelo.

Existem métodos confiáveis para o isolamento de células bacterianas únicas e para o seu rápido crescimento em clones com vistas à identificação e ao estudo. Culturas puras de *E. coli* ou de outras bactérias podem ser feitas na superfície de um **meio nutriente mínimo** sólido contendo uma fonte de açúcar, minerais e de nitrogênio, cloreto de amônio (NH₄Cl), por exemplo, e um agente solidificante como o ágar (Figura 13.9). Se o número de células espalhadas no meio é pequeno, cada uma crescerá tal uma **colônia bacteriana** de rápido crescimento. Se o número de células espalhadas no meio for grande, seu crescimento irá produzir uma camada contínua – um **tapete bacteriano**. A bactéria também pode

Figura 13.9 Crescimento bacteriano em laboratório

Uma população de *Escherichia coli* duplica a cada 20 minutos em cultura de laboratório. As três técnicas de cultura mostradas aqui utilizam-se para diferentes aplicações.



ser cultivada em meio líquido. Veremos exemplos de todas essas técnicas neste capítulo.

As bactérias apresentam diversas maneiras de recombinar seus genes

A existência e a herdabilidade de mutações em bactérias atraem a atenção de geneticistas. Se não existisse nenhuma forma de troca de informação genética entre os indivíduos, as bactérias não seriam úteis para a análise genética. Porém, como esses organismos que se reproduzem assexuadamente trocam informação genética? Em eucariotos, a recombinação genética ocorre entre cromossomos homólogos a partir de dois parentais durante a meiose. Apesar de os procaríotos se reproduzirem assexuadamente, ainda apresentam diversas maneiras de recombinar seus genes.

CONJUGAÇÃO A maneira mais importante pela qual as bactérias recombinam seus genes é por meio da interação do genoma de uma célula com uma amostra de genes – um fragmento de DNA – de uma outra célula. Em 1946, Joshua Lederberg e Edward Tatum demonstraram que tais trocas ocorriam, apesar de serem eventos raros.

Inicialmente, Lederberg e Tatum cresceram duas cepas mutantes auxotróficas (que requerem nutrientes) de *E. coli*. Assim como no caso de *Neurospora* estudada por Beadle e Tatum (ver Figura 12.1), essas cepas não poderiam crescer em meio nutricional mínimo, mas necessitavam de suplementação com nutrientes que não conseguiam sintetizar em virtude de um defeito enzimático.

- A cepa 1 requeria o aminoácido metionina e a vitamina biotina para seu crescimento; podia sintetizar sua própria treonina e leucina. Assim, seu fenótipo (e genótipo) apresenta-se como *met⁻bio⁻tre⁺leu⁺*.
- A cepa 2 não requeria metionina ou biotina, porém não cresceria sem os aminoácidos treonina e leucina. Seu fenótipo é dado como *met⁺bio⁺tre⁻leu⁻*.

Lederberg e Tatum misturaram essas duas cepas mutantes e as cultivaram juntas por várias horas em meio líquido suplementado com metionina, biotina, treonina, e leucina, onde ambas as cepas poderiam crescer. As bactérias foram então removidas do meio por centrifugação, lavadas e transferidas a um meio mínimo, sem os quatro suplementos. Anteriormente, nem a cepa 1 ou a cepa 2 foram capazes de crescer neste meio em virtude de seus requerimentos nutricionais. No entanto, após as duas cepas terem sido cultivadas em conjunto, algumas poucas colônias bacterianas apareceram no meio mínimo (Figura 13.10). Em virtude de estarem crescendo em meio mínimo, essas colônias deveriam consistir em bactérias que eram *met⁺bio⁺tre⁺leu⁺*; ou seja, deveriam ser prototróficas. Essas colônias apareceram em uma taxa de aproximadamente uma para cada 10 milhões de células originalmente colocadas nas placas (10^{-7}).

De onde vieram essas colônias prototróficas? Lederberg e Tatum excluíram a possibilidade de mutação e outros investigadores a possibilidade de transformação (processo que discutimos na Seção 11.1 e que logo veremos em maior detalhe). Uma terceira possibilidade é de que as duas cepas de *E. coli* trocaram material genético, produzindo, desta forma, algumas células contendo alelos *met⁺* e *bio⁺* a partir da cepa 2 e alelos *tre⁺* e *leu⁺* da cepa 1. Mais tarde, experimentos mostraram que essa troca, durante a **conjugação**, realmente ocorreu. Uma célula bacteriana (a receptora) recebeu DNA de uma outra célula (a doadora) que incluiu os dois alelos tipo selvagem (⁺) que estavam perdidos na receptora. A recombinação, assim, criou um genótipo com quatro alelos tipo selvagem.

O contato físico entre duas bactérias, requerido para a conjugação, pode ser observado por meio de microscopia eletrônica (Figura 13.11). Ele inicia-se por uma fina projeção chamada **pilo sexual** (plural: *pili*). Uma vez que os pili sexuais tenham aproximado as duas células, a transferência de DNA ocorrerá através de uma ponte citoplasmática denominada **tubo de conjugação**, que se forma entre as células. O cromossomo bacteriano é circular e deve ficar linear (ser cortado) antes de passar através do tubo. O

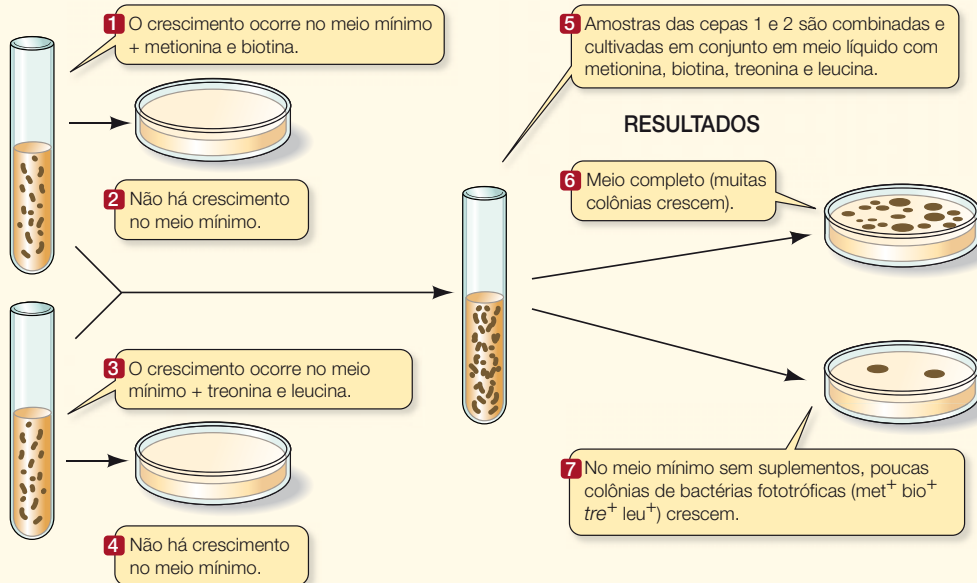
EXPERIMENTO

HIPÓTESE: A recombinação genética pode ocorrer em bactérias.

MÉTODO

A cepa 1 de *E. coli* ($met^+ bio^- tre^+ leu^+$) necessita metionina e biotina para o crescimento.

A cepa 2 de *E. coli* ($met^+ bio^+ tre^- leu^-$) necessita treonina e leucina para o crescimento.



CONCLUSÃO: As colônias prototróficas crescendo em meio mínimo só poderiam ter se originado por meio da recombinação genética entre duas cepas distintas.

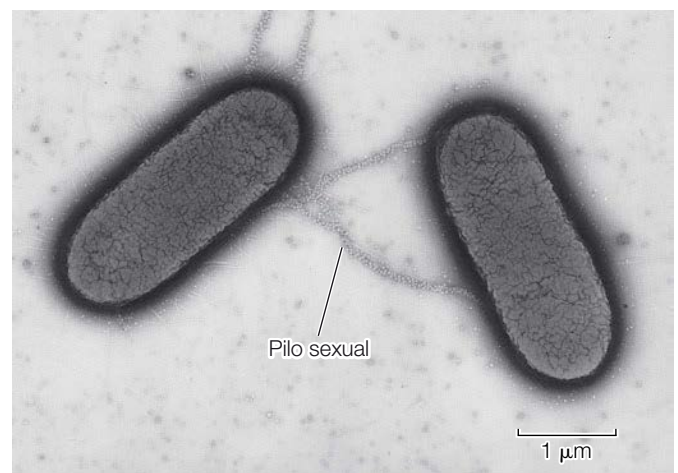
Figura 13.10 O experimento de Lederberg e Tatum Após serem crescidas em conjunto, uma mistura de duas cepas auxotróficas de *E. coli* apresentou poucas células que resultaram em novas colônias prototróficas. Este experimento provou que a recombinação genética é exercida em procarionotos. **PESQUISA ADICIONAL:** Como você montaria experimentos para distinguir mutações de reversão (voltando ao tipo selvagem; por exemplo, $met^+ bio^+ tre^+ leu^+$ para $met^- bio^- tre^- leu^-$) de recombinação?

contato entre as células é breve – apenas raramente o suficiente para que todo o genoma doador entre na célula receptora. Portanto, a célula receptora geralmente recebe somente uma porção do DNA doador.

Uma vez que o DNA doador esteja dentro da célula receptora, pode recombinar com o genoma desta. Da mesma forma que os cromossomos pareiam, gene por gene, na prófase I da meiose, o DNA doador pode se alinhar ao lado de seus genes homólogos no receptor, e, assim, um *crossing over* pode ocorrer. Enzimas que podem cortar e religar moléculas de DNA ativam-se na bactéria, e, assim, gene(s) do doador podem integrar-se no genoma do receptor, modificando a constituição genética do receptor (Figura 13.12), apesar de somente metade dos genes transferidos conseguirem integrar-se dessa maneira.

Figura 13.11 Conjugação bacteriana Os pili aproximam duas bactérias e, então, um tubo de conjugação citoplasmático pode se formar. O DNA é transferido de uma célula a outra pelo tubo de conjugação.

TRANSFORMAÇÃO Frederick Griffith obteve a primeira evidência para a transferência de genes procarionotos há mais de 75 anos quando descobriu o princípio da transformação (ver Figura 11.1). Agora, podemos explicar os resultados de Griffith: o DNA que escapou de células mortas de pneumococos patogênicos foi captado como DNA livre por pneumococos avirulentos vivos, tornando-os virulentos. Esse fenômeno, chamado **transformação**, ocorre na natureza em algumas espécies de bactérias quando



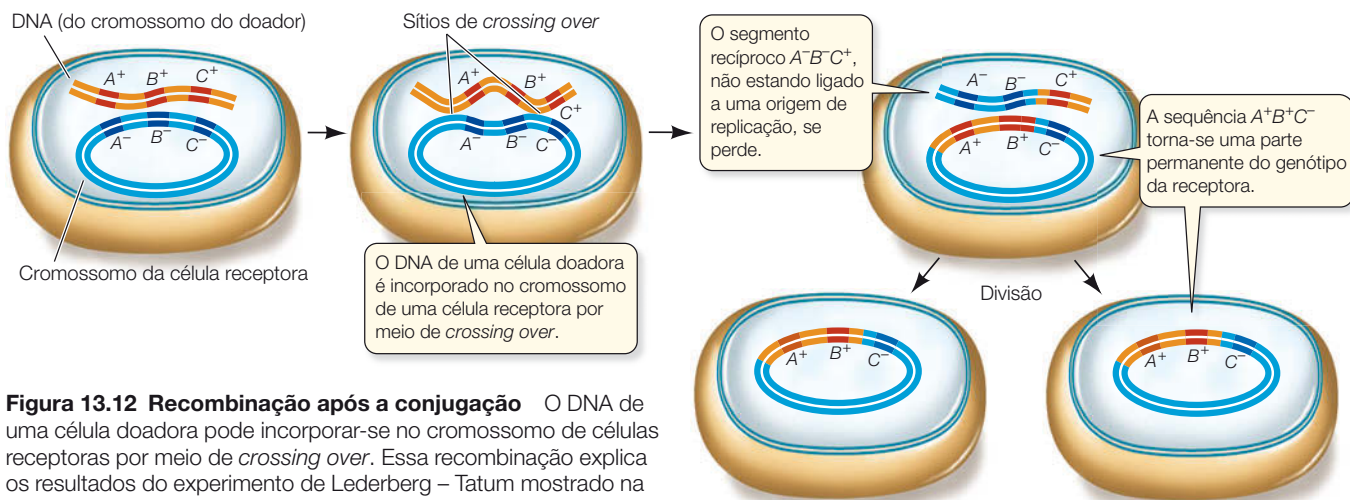


Figura 13.12 Recombinação após a conjugação O DNA de uma célula doadora pode incorporar-se no cromossomo de células receptoras por meio de *crossing over*. Essa recombinação explica os resultados do experimento de Lederberg – Tatum mostrado na Figura 13.10.

células morrem e seus DNA escapam (**Figura 13.13A**). Uma vez que o DNA transformante esteja dentro de uma célula hospedeira, um evento muito similar à recombinação ocorre, e novos genes se incorporam no cromossomo hospedeiro.

TRANSDUÇÃO Quando bacteriófagos sofrem um ciclo lítico, empacotam seu DNA em capsídeos, conforme verificamos na Seção 13.1. Estes capsídeos, geralmente, se formam antes do DNA viral ser inserido dentro deles. Algumas vezes, fragmentos de DNA bacteriano são inseridos dentro de um capsídeo vazio ao invés do DNA do fago (**Figura 13.13B**). Assim, quando o novo infecta uma outra bactéria, o DNA bacteriano é injetado na nova célula hospedeira. Esse mecanismo de transferência de DNA denomina-se **transdução** e não resulta em uma infecção viral produtiva. Em vez disso, o fragmento de DNA pode recombinar com o cromossomo hospedeiro, resultando na substituição de genes da célula hospedeira com genes bacterianos do hospedeiro anterior do vírus.

Plasmídeos são cromossomos extras em bactérias

Além de seu cromossomo principal, muitas bactérias possuem cromossomos adicionais, menores e circulares, chamados **plasmídeos**. Os plasmídeos contêm em sua maioria poucas dezenas de genes e, mais importante, uma origem de replicação (*ori*, a sequência onde a replicação do DNA

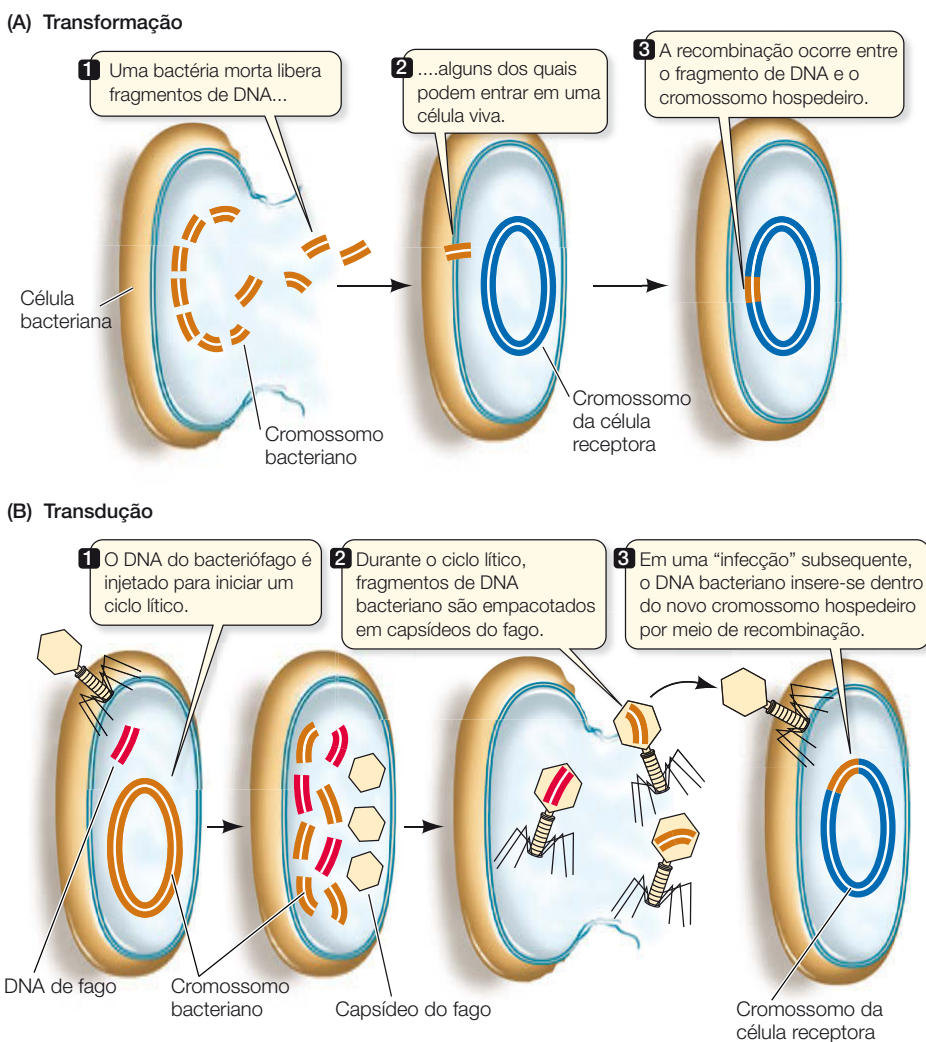


Figura 13.13 Transformação e transdução Quando um novo fragmento de DNA entra em uma célula bacteriana, a recombinação pode ocorrer. (A) O DNA transformante pode escapar de células bacterianas mortas e ser captado por uma bactéria viva, a qual pode incorporar os novos genes em seu cromossomo. (B) Na transdução, alguns vírus carregam fragmentos de DNA bacteriano de uma célula a outra.

inicia), que os define como cromossomos. Os plasmídeos geralmente replicam ao mesmo tempo em que o cromossomo principal bacteriano, mas não sempre.

Plasmídeos *não* são vírus. Eles não pegam o comando da maquinaria molecular da célula ou produzem um capsídeo para auxiliá-los na movimentação de célula à célula. Ao invés disso, podem mover-se entre as células durante a conjugação acrescentando, dessa forma, alguns novos genes à bactéria receptora (**Figura 13.14**). Em virtude dos plasmídeos existirem independentemente do cromossomo principal, não necessitam recombinar com o cromossomo principal a fim de acrescentar seus genes ao genoma da célula receptora.

Existem diversos tipos de plasmídeos, classificados de acordo com o tipo de genes que carregam. Alguns codificam enzimas catabólicas, uns permitem a conjugação e outros codificam para genes que conseguem evitar o ataque de antibióticos.

ALGUNS PLASMÍDEOS CARREGAM GENES ESPECIAIS Alguns plasmídeos, chamados **fatores metabólicos**, carregam genes que permitem que seus portadores exerçam funções metabólicas incomuns. Por exemplo, algumas bactérias podem crescer bem com hidrocarbonetos incomuns encontrados em derramamentos de óleo e utilizá-los como fonte de carbono. Os plasmídeos carregam genes para as enzimas que digerem tais hidrocarbonetos.

Bactérias como *Phenylobacterium immobile* podem digerir o óleo de vazamentos, diminuindo o CO₂ nocivo. Em um processo chamado biorremediação, nutrientes que promovem o crescimento bacteriano são adicionados à área poluente, junto com a bactéria. A biorremediação tem sido utilizada para auxiliar na limpeza de grandes vazamentos de óleo, assim como em pequenas liberações em áreas urbanas.

Plasmídeos chamados **fatores de fertilização**, ou **fatores F**, codificam os genes necessários para a conjugação. Os fatores F possuem aproximadamente 25 genes, incluindo os que produzem o pilo sexual e o tubo de conjugação. Uma célula que carrega um fator F denomina-se F⁺. Ela pode transferir uma cópia do fator F a uma célula F⁻, produzindo F⁺. Algumas vezes o fator F se integra no cromossomo principal (e, nesse momento, não poderá mais ser chamado de plasmídeo); quando isso ocorre, pode trazer, junto, outros genes do cromossomo quando for transferido através do tubo de conjugação de uma célula a outra.

ALGUNS PLASMÍDEOS SÃO FATORES DE RESISTÊNCIA **Fatores de resistência**, também chamados *fatores R* ou *plasmídeos R*, podem carrear genes que codificam para proteínas que destroem ou modificam antibióticos. Outros fatores R fornecem resistência a metais pesados que a bactéria encontra em seu ambiente. Os fatores R chamaram a atenção dos biólogos, primeiramente, em 1957, durante uma epidemia de disenteria no Japão, quando se descobriu que algumas cepas da bactéria *Shigella*, que causa disenteria, eram resistentes a diversos antibióticos. Pesquisadores descobriram que a resistência ao espectro inteiro de antibióticos em uso poderia ser transmitida por meio de conjugação mesmo quando nenhum dos genes do cromossomo principal fosse transferido. Finalmente, mostrou-se que os genes para a resistência aos antibióticos eram carregados em plasmídeos. Cada fator R carrega um ou mais genes que conferem resistência a antibióticos em particular, assim como genes que codificam proteínas envolvidas

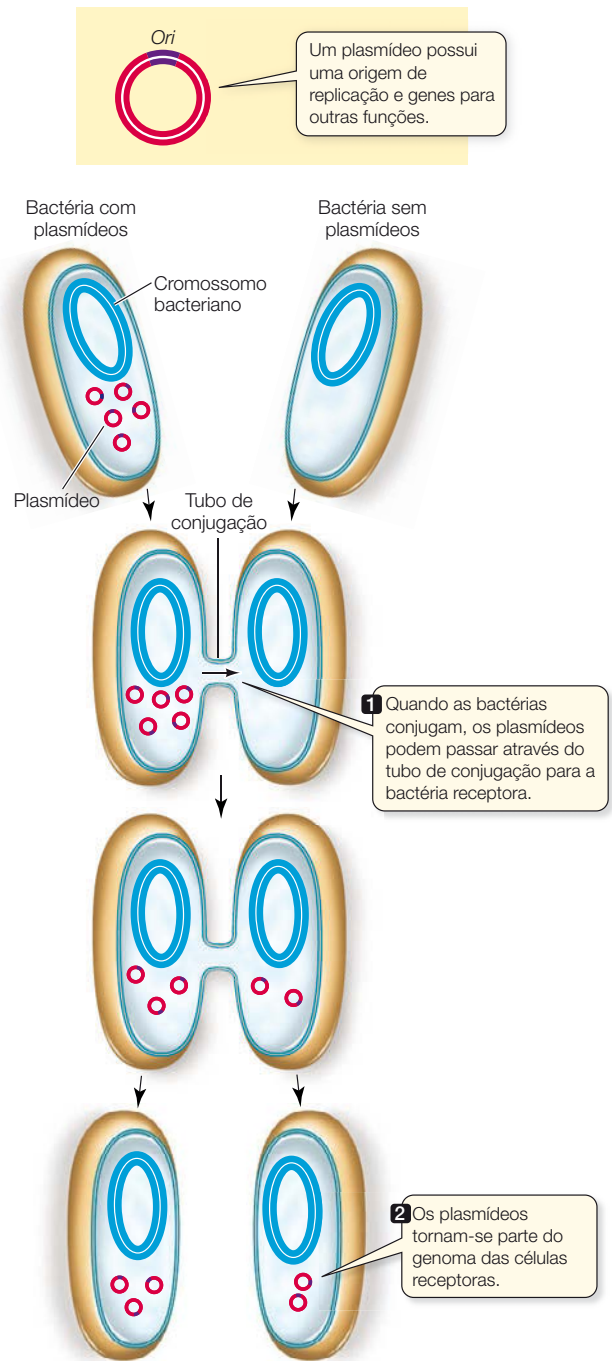


Figura 13.14 Transferência genética por plasmídeos Quando plasmídeos entram em uma célula por meio de conjugação, seus genes podem ser expressos na célula receptora.

na conjugação com uma bactéria receptora. Conforme os biólogos puderam determinar, os fatores R fornecem resistência a antibióticos que são naturais, existentes muito antes da descoberta desses e de serem utilizados por humanos. Entretanto, os fatores R parecem ter se tornado mais abundantes em tempos modernos, possivelmente em virtude do uso pesado de antibióticos em hospitais, que seleciona cepas bacterianas reativas.

A resistência a antibióticos impõe uma severa ameaça à saúde humana, e o uso inapropriado desses medicamentos contribui com esse problema. Você provavelmente já foi ao médico em virtude

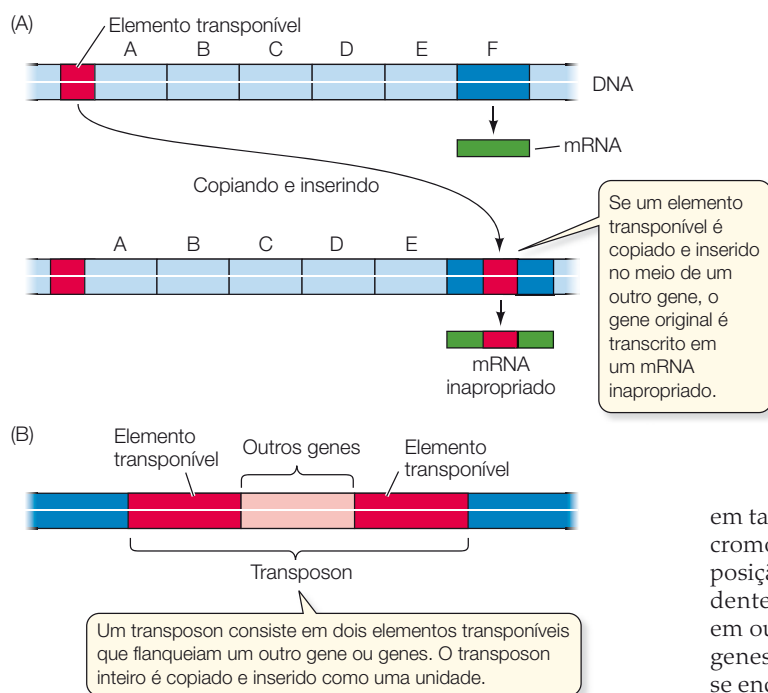


Figura 13.15 Elementos transponíveis e transposons (A) Elementos transponíveis são segmentos de DNA que podem ser inseridos em novos locais, no mesmo cromossomo ou em um cromossomo diferente. (B) Os transposons consistem em elementos transponíveis combinados com outros genes.

re dentro da célula individual e conta com segmentos de DNA, que se inserem em uma nova localização no mesmo cromossomo ou dentro de outro. Essas sequências de DNA denominam-se **elementos transponíveis**. A inserção destes, por sua vez, produz efeitos fenotípicos por meio do rompimento de genes nos quais são inseridos (**Figura 13.15A**).

Alguns elementos transponíveis são sequências relativamente pequenas, de 1 a 2 mil pares de bases em tamanho. Tais sequências se encontram em muitos sítios do cromossomo principal de *E. coli*. Em um mecanismo de transposição, o elemento transponível replica de maneira independente do restante do cromossomo. A cópia, então, se insere em outros sítios aparentemente aleatórios no cromossomo. Os genes que codificam as enzimas necessárias para essa inserção se encontram dentro do próprio elemento transponível. Outros elementos transponíveis são retirados de seus locais de origem e inseridos em outro lugar sem replicação. Elementos transponíveis maiores (em torno de 5 mil pares de bases) carregam um ou mais genes adicionais e denominam-se **transposons** (**Figura 13.15B**).

Os elementos transponíveis têm contribuído para a evolução de plasmídeos. Os fatores R, provavelmente, conseguiram seus genes de resistência a antibióticos através da atividade de elementos transponíveis. Uma parte da evidência desta conclusão trata-se que cada gene de resistência em um fator R foi originariamente parte de um transposon.

Segundo vimos, a rápida reprodução assexuada produz inúmeros clones de procariotos. Estas células geneticamente idênticas são igualmente vulneráveis a qualquer mudança no ambiente. A recombinação por meio de conjugação, transformação e transdução, ou a aquisição de novos genes através de plasmídeos e elementos transponíveis, introduz a diversidade genética em populações bacterianas, e essa diversidade permite que algumas células sobrevivam sob condições variadas.

de uma inflamação na garganta, que pode ter uma causa viral ou bacteriana. A melhor maneira de determinar o agente causal é o médico coletar uma pequena amostra de sua garganta inflamada, cultivar essa amostra e identificar quaisquer bactérias que estejam presentes. Todavia, talvez você sinta que não poderá esperar pelos resultados. Impaciente, pede ao médico para receitar alguma coisa que o faça melhorar. O médico então prescreve um antibiótico, que você toma. A inflamação na garganta melhora gradualmente, e você acha que foi o antibiótico.

Contudo, suponha que a infecção seja viral. Neste caso, o antibiótico não é efetivo para combatê-la, e esta avança de maneira normal. Entretanto, o antibiótico pode fazer algo nocivo: matar muitas das bactérias normais de seu corpo, selecionando aquelas que contenham fatores R. Estas bactérias podem sobreviver e se reproduzir na presença do antibiótico, e se tornar numerosas. Você então pode manter estas bactérias ou passá-las a outras pessoas. A próxima vez em que você adquirir uma infecção, existirá um estoque pronto de bactérias resistentes em seu corpo, e os antibióticos poderão ser ineficientes.

A aquisição da resistência a antibióticos em bactérias patogênicas dá um exemplo da evolução em ação. Nos anos que se seguiram à descoberta dos antibióticos no século XX, estes foram bastante eficientes em combater doenças que atormentaram a humanidade durante milênios: cólera, tuberculose e lepra, entre outros. Todavia, com o passar do tempo, bactérias resistentes apareceram. Essa é uma seleção natural clássica: a variação genética existe entre as bactérias, e aquelas que sobreviveram ao ataque dos antibióticos devem possuir uma constituição genética que as permitem fazê-lo.

Elementos transponíveis movem genes entre plasmídeos e cromossomos

Conforme verificamos, plasmídeos vírus e mesmo capsídeos de fagos (no caso de transdução) podem transportar genes de uma célula bacteriana a outra. Outro tipo de “transporte gênico” ocor-

13.3 RECAPITULAÇÃO

As bactérias trocam informação genética por meio de conjugação, transformação e transdução. Plasmídeos são pequenos cromossomos que podem ser transferidos entre bactérias. Elementos transponíveis e transposons consistem em pequenos pedaços de DNA que se movem de um lugar a outro no genoma.

- Descreva o experimento que demonstrou que a recombinação genética ocorre em bactérias. Ver p. 291 e a Figura 13.10.
- Como o DNA é trocado entre as bactérias durante a transformação? E na transdução? Ver p. 292-293 e Figura 13.13.
- Você compreende a importância de plasmídeos na disseminação da resistência a antibióticos? Ver p. 294-295.

Os antibióticos não são a única ameaça à sobrevivência de procaríotos. As ameaças são numerosas: incluem mudanças na temperatura ambiental e escassez de nutrientes. Os procaríotos podem responder a mudanças em seu ambiente não somente pela troca de genes, mas também por meio da regulação da expressão de seus genes.

13.4 Como a expressão gênica é regulada em procaríotos?

Os procaríotos conservam energia e recursos realizando a produção de proteínas somente quando estas são necessárias. O conteúdo proteico de uma bactéria pode mudar rapidamente quando as condições justificam. Existem diversas maneiras em que as células procaríotas poderiam cessar o suprimento de uma proteína desnecessária. A célula pode:

- bloquear a transcrição de mRNA para tal proteína;
- hidrolisar o mRNA após ser produzido e antes da tradução;
- prevenir a tradução do mRNA no ribossomo;
- hidrolisar a proteína após esta ser produzida;
- inibir a função da proteína.

Seja qual for o mecanismo utilizado, deve fazer duas coisas:

- responder aos sinais ambientais. (Se você sentir fome, deverá ir até a cozinha.)
- ser eficiente. (Por que vagar pela casa se tudo o que você quer é um lanche noturno na cozinha?)

Quanto mais cedo a célula intervém no processo de síntese proteica, menos energia é gasta. O bloqueio seletivo da transcrição é mais eficiente do que a transcrição de um gene, sua tradução e, então, a degradação ou inibição da proteína. Enquanto exemplos de todos os cinco mecanismos para a regulação dos níveis de proteína encontram-se na natureza, os procaríotos geralmente utilizam o mais eficiente deles: a regulação transcricional.

A regulação da transcrição gênica conserva energia

Na condição de habitante normal do intestino humano, *E. coli* deve ser capaz de se ajustar às súbitas mudanças em seu ambiente químico. Seu hospedeiro pode lhe apresentar com um alimento uma hora e com outro na próxima. Essa variação apresenta a bactéria com um desafio metabólico. A glicose consiste na fonte de energia preferida, e é o açúcar mais fácil de metabolizar, porém nem todos os alimentos de seu hospedeiro contêm um suprimento abundante de glicose. Por exemplo, a bactéria pode repentinamente receber leite, no qual o açúcar predominante é a lactose. A lactose é um β -galactosídeo – um dissacarídeo que contém β -galactose ligada à glicose (ver Seção 3.3). Para ser captada e metabolizada pela *E. coli*, a lactose deve ser produzida por três proteínas:

- A β -galactosídeo *permease* é uma proteína carreadora da membrana plasmática bacteriana que transporta o açúcar para dentro da célula.
- A β -galactosidase é uma enzima que catalisa a hidrólise da lactose à glicose e galactose.
- A β -galactosídeo-*transacetilase* é uma enzima que transfere grupos acetil da acetil CoA a determinados β -galactosídeos. Seu papel no metabolismo da lactose não está claro.

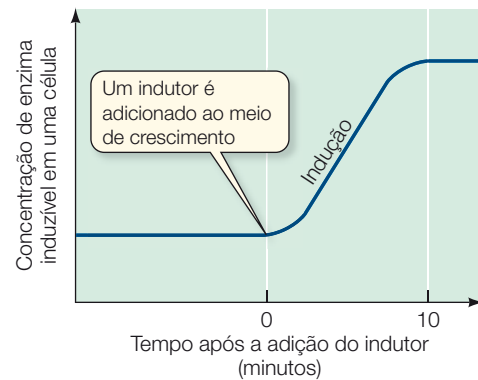


Figura 13.16 Um indutor estimula a síntese de uma enzima Para uma célula, é mais eficiente produzir uma enzima somente quando esta for necessária. Algumas enzimas são induzidas pela presença da substância em que agem (por exemplo, a β -galactosidase é induzida pela presença de lactose).

Quando *E. coli* cresce em um meio com glicose, mas sem lactose ou β -galactosídeos, os níveis dessas três proteínas são extremamente baixos – a célula não gasta energia e nutrientes para a produção de enzimas desnecessárias. Se, entretanto, o ambiente mudar e a lactose se tornar o açúcar predominante disponível e muito pouca glicose estiver presente, a bactéria prontamente inicia a produção das três enzimas, e os níveis destas aumentam rapidamente. Por exemplo, existem somente duas moléculas de β -galactosidase presentes em uma célula de *E. coli* quando a glicose está presente no meio. Todavia, quando a glicose está ausente, a presença da lactose pode induzir a síntese de 3 mil moléculas de β -galactosidase por célula!

Se a lactose for removida do ambiente de *E. coli*, a síntese das três enzimas que a processam para quase imediatamente. As moléculas enzimáticas que já foram formadas não desaparecem; são meramente diluídas durante subseqüentes divisões celulares até que suas concentrações caiam ao baixo nível original de cada bactéria.

Compostos que estimulam a síntese de uma proteína (como a lactose em nosso exemplo) denominam-se **indutores** (Figura 13.16). As proteínas produzidas são chamadas **induzíveis**, enquanto as proteínas produzidas durante todo o tempo em uma taxa constante se chamam **constitutivas**.

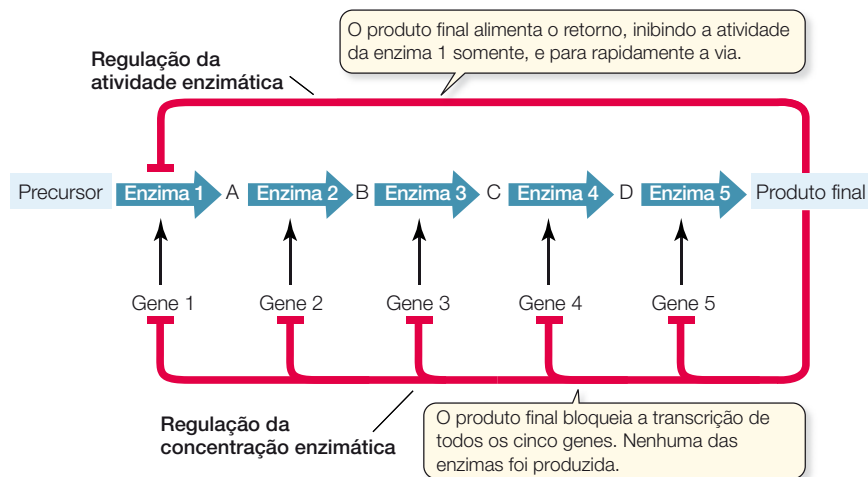
Vimos, agora, duas formas básicas de regular a taxa de uma via metabólica. A Seção 6.5 descreveu a regulação alostérica da atividade enzimática (a taxa de reações catalisadas por enzimas); esse mecanismo permite uma rápida modulação de metabolismo. A regulação da síntese proteica – ou seja, a regulação da concentração de enzimas – é mais lenta, porém produz maior economia de energia. A Figura 13.17 compara estes dois modos de regulação.

Um único promotor pode controlar a transcrição de genes adjacentes

Os genes que codificam a síntese das três enzimas que processam a lactose em *E. coli* denominam-se **genes estruturais**, indicando que especificam a estrutura primária (a seqüência de aminoácidos) de uma molécula proteica. Em outras palavras, genes estruturais são genes que podem ser transcritos em mRNA.

Os três genes estruturais envolvidos no metabolismo da lactose residem de maneira adjacente um ao outro no cromos-

Figura 13.17 As duas maneiras de regular uma via metabólica A retroalimentação do produto final de uma via metabólica pode bloquear a atividade enzimática (regulação alostérica), ou pode parar a transcrição de genes que codificam para as enzimas da via (regulação transcricional).



somo de *E. coli*. Este arranjo não é coincidência: seu DNA é transcrito em uma única e contígua molécula de mRNA. Em virtude de este mRNA em particular governar a síntese das três enzimas que metabolizam a lactose, todas ou nenhuma delas pode ser produzida, dependendo se sua mensagem em comum – seu mRNA – estiver presente na célula.

Os três genes dividem um único promotor. Conforme verificamos na Seção 12.3, um *promotor* consiste em uma sequência de DNA na qual a RNA-polimerase se liga para iniciar a transcrição. Também observamos que alguns promotores são mais eficientes na iniciação da transcrição do que outros. O promotor desses três genes estruturais de *E. coli* pode ser muito eficiente, e, assim, a taxa máxima de síntese do mRNA pode ser alta. Existe, entretanto, um mecanismo de bloqueio da síntese de mRNA quando as enzimas não são necessárias. Esse mecanismo se chama *óperon* e foi engenhosamente descrito por François Jacob e Jacques Monod.

Óperons são unidades de transcrição em procaríotos

Os procaríotos bloqueiam a transcrição colocando um obstáculo entre o promotor e os genes estruturais que esse regula. Um pequeno trecho de DNA chamado de **operador** fica nessa posição. Ele pode se ligar fortemente com um tipo especial de molécula proteica, denominada **repressor**, para criar tal obstáculo:

- Quando a proteína repressora se liga no operador, bloqueia a transcrição do mRNA.
- Quando o repressor não se liga ao operador, a síntese de mRNA prossegue constitutivamente.

A unidade total, que consiste nos genes estruturais ligados e as sequências de DNA que controlam sua transcrição, é chamada de **óperon**. Um óperon sempre constitui-se de um promotor, um operador e dois ou mais genes estruturais (Figura 13.18). O promotor e o operador são sítios de ligação no DNA, não transcritos.

A bactéria *E. coli* possui numerosos mecanismos de controle da transcrição de óperons; daremos enfoque em três desses. Dois destes mecanismos de controle da interações de uma proteína repressora com o operador, e o terceiro depende de interações de outras proteínas com o promotor.

O controle operador-repressor induz a transcrição no óperon lac

O óperon que contém os genes para as três proteínas de *E. coli*, que metabolizam a lactose, chama-se *óperon lac* (ver Figura 13.18). Conforme recentemente vimos, a RNA-polimerase pode se ligar ao promotor, e uma proteína repressora ao operador.

A proteína repressora possui dois sítios de ligação: um para o operador e outro para os indutores. Os indutores do óperon *lac*, como sabemos, consistem em moléculas de lactose. A ligação de um indutor muda a forma da proteína repressora (por meio de modificação alostérica; ver Seção 6.3). Essa mudança na forma previne a ligação do repressor ao operador (Figura 13.19). Como resultado, a RNA-polimerase se liga ao promotor e inicia a transcrição dos genes estruturais do operon *lac*. O mRNA transcrito a partir destes genes é traduzido em ribossomos para sintetizar as três proteínas necessárias na metabolização da lactose.

Figura 13.18 O óperon lac de E. coli O óperon lac de *E. coli* é um segmento de DNA que inclui um promotor, um operador e os três genes estruturais que codificam enzimas que metabolizam lactose.

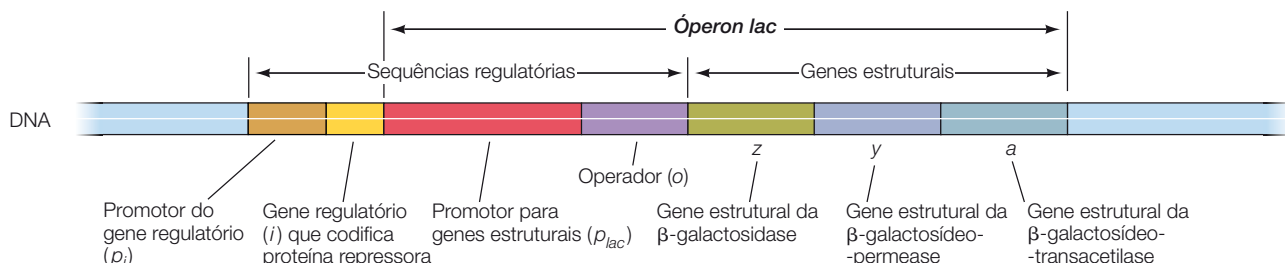


Figura 13.19 O óperon *lac*: um sistema induzível A lactose (indutor) leva à síntese das enzimas da via de metabolização da lactose por meio da prevenção da ligação da proteína repressora (a qual teria parado a transcrição) ao operador.

O que acontece se a concentração de lactose cai? Quando a concentração de lactose diminui, as moléculas indutoras (lactose) se separam do repressor. Livre das moléculas de lactose, o repressor retorna à sua forma original e se liga ao operador, e a transcrição do óperon *lac* para. A tradução cessa logo após, pois o mRNA que estava presente degrada rapidamente. Assim, é a presença ou ausência de lactose – o indutor – que regula a ligação do repressor ao operador, e, além disso, direciona a síntese de proteínas necessárias para metabolizá-la. Em outras palavras, o óperon *lac* consiste em um *sistema induzível*.

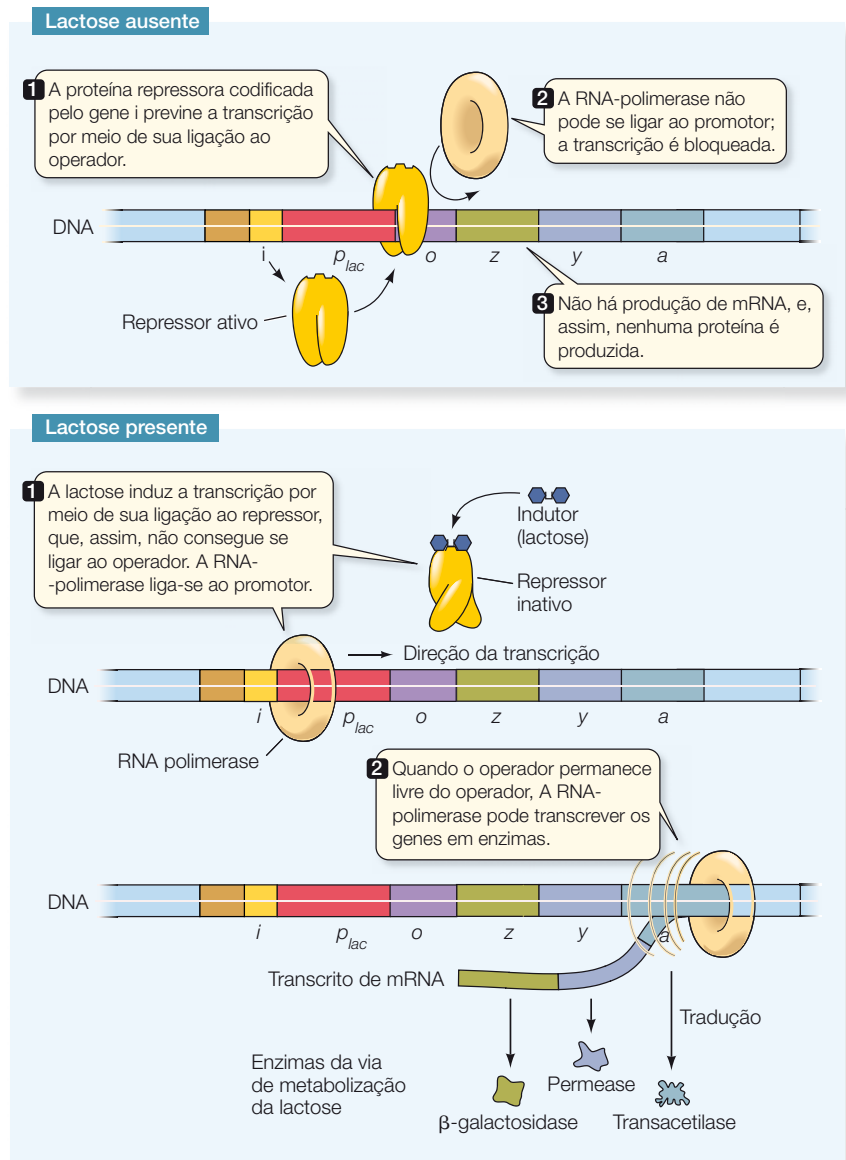
Proteínas repressoras são codificadas por **genes regulatórios**. O gene regulatório que codifica o repressor do óperon *lac* se chama gene *i* (da indutibilidade). O gene *i* fica próximo ao óperon que regula (ver Figura 13.18), porém alguns genes regulatórios encontram-se distantes de seus óperons. Assim como todos os outros genes, o próprio gene *i* possui um promotor, que pode ser designado p_i . Em virtude desse promotor não se ligar à RNA-polimerase de maneira muito eficiente, somente produz-se mRNA suficiente para sintetizar em torno de dez moléculas de proteína repressora por célula por geração. Esta quantidade de repressor é suficiente para regular o óperon eficientemente – produzir mais seria um desperdício de energia. Não existe nenhum operador entre p_i e o gene *i*. Assim, o repressor do óperon *lac* trata-se de uma proteína constitutiva; ou seja, produzida em uma taxa constante que não está sujeita ao controle ambiental.

Vamos revisar os aspectos importantes de sistemas induzíveis como o óperon *lac*:

- Na ausência de indutor o óperon se desliga.
- O controle é exercido por uma proteína regulatória – o repressor – que desliga o óperon.
- A adição de indutor modifica o repressor e o óperon se liga.
- Genes regulatórios produzem proteínas cuja única função consiste em regular a expressão de outros genes.
- Outras seqüências de DNA, em particular, (operadores e promotores) não codificam para proteínas, mas são sítios de ligação para proteínas regulatórias ou outras.

O controle operador-repressor reprime a transcrição no óperon *trp*

Verificamos como a bactéria *E. coli* se beneficia por possuir um sistema induzível para o metabolismo de lactose: somente quan-



do a lactose encontra-se presente o sistema opera. Igualmente valorosa para uma bactéria é a capacidade de bloquear a síntese de determinadas enzimas em resposta ao acúmulo excessivo de seus produtos finais. Por exemplo, quando o aminoácido triptofano, constituinte essencial de proteínas, apresenta-se em grandes concentrações, é vantajoso parar de produzir as enzimas para a síntese de triptofano. Quando a síntese de uma proteína é bloqueada em resposta a tal dica bioquímica, diz-se que a proteína é **repressível**.

Em *sistemas repressíveis*, assim como o óperon *trp* que controla a síntese de triptofano, a proteína repressora não pode bloquear seu óperon a menos que se ligue primeiro a um **correpressor**, que pode ser o próprio produto metabólico final (neste caso o triptofano) ou um análogo deste (Figura 13.20). Se o produto final encontra-se ausente, a proteína repressora não se liga ao operador, e o óperon é transcrito na taxa máxima. Se o produto final está presente, o repressor se liga ao operador, e o óperon se desliga.

A diferença entre sistemas induzíveis e repressíveis é pequena, porém significativa:

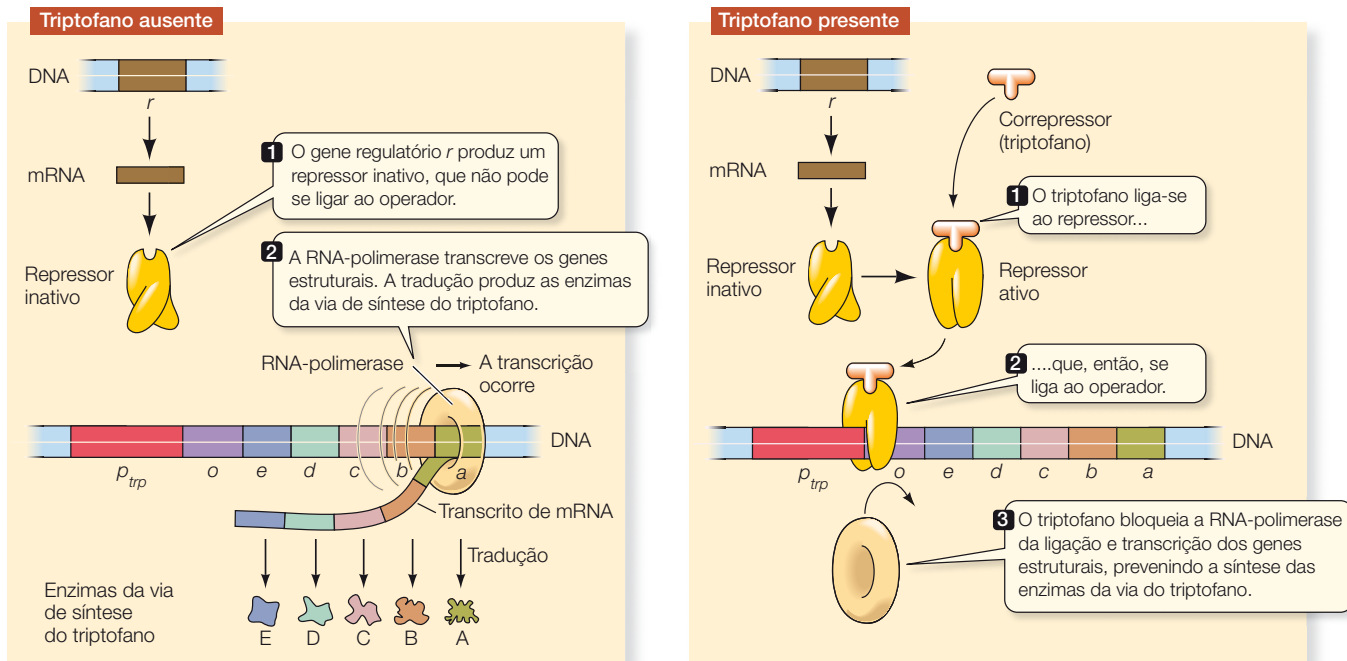


Figura 13.20 O operon *trp*: um sistema repressível Em virtude do triptofano ativar um repressor inativo de outra forma denominada-se correpressor.

- Em sistemas induzíveis, o *substrato* de uma rota metabólica (o indutor) interage com uma proteína regulatória (o repressor), fazendo com que o repressor seja incapaz de se ligar ao operador, e, assim, *permite* a transcrição.
- Em sistemas repressíveis, o *produto* de uma rota metabólica (o correpressor) interage com uma proteína regulatória, capacitando esta a se ligar ao operador, *bloqueando* a transcrição.

Em geral, sistemas induzíveis controlam rotas catabólicas (as quais se desencadeiam quando o substrato está disponível), enquanto sistemas repressíveis controlam rotas anabólicas (que se bloqueiam até que o produto se torne indisponível). Em ambos os sistemas, a molécula regulatória funciona pela ligação ao operador. A seguir consideraremos um exemplo de controle pela ligação ao promotor.

A síntese proteica pode ser controlada aumentando a eficiência do promotor

Suponha que uma célula de *E. coli* não apresenta um suprimento suficiente de glicose, sua fonte de energia preferida, porém tem acesso à lactose, um outro açúcar. O operon *lac* codifica enzimas que catabolizam a lactose e pode aumentar a transcrição dessas enzimas por meio do aumento da eficiência do promotor (**Figura 13.21**).

No operon *lac* e em outros operons similares, o promotor se liga à RNA-polimerase em uma sé-

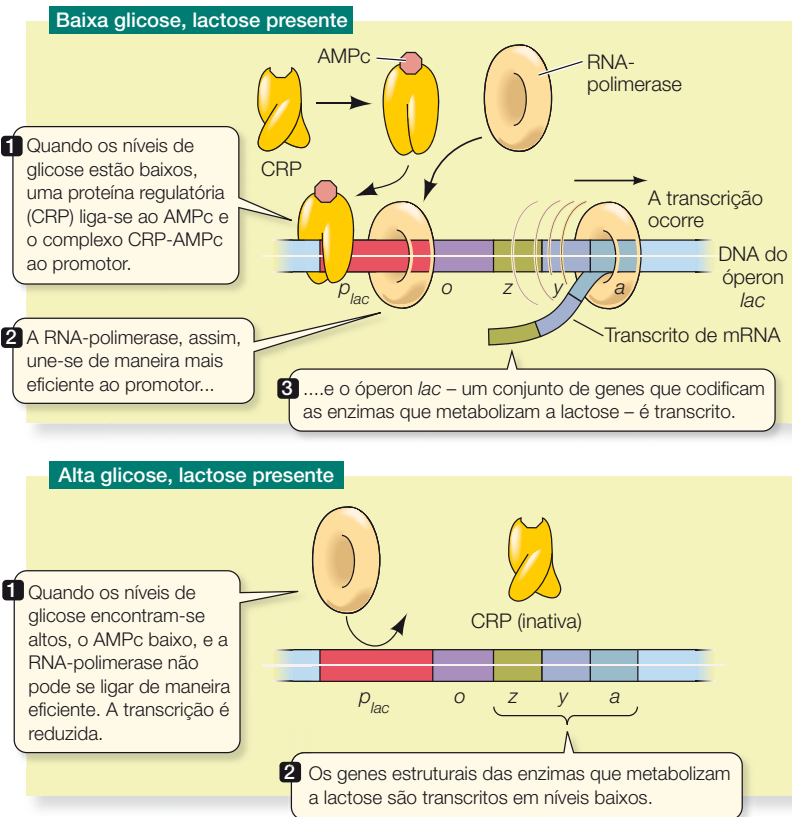


Figura 13.21 A repressão por catabólito regula o operon *lac* O promotor do operon *lac* não atua eficientemente na ausência de AMPc, como ocorre quando os níveis de glicose encontram-se altos. Elevados níveis de glicose, então, reprimem os catabólitos (enzimas metabólicas) da lactose.

TABELA 13.2 Regulação positiva e negativa no *óperon lac*^a

GLICOSE	NÍVEIS AMP _c	LIGAÇÃO DA RNA-POLIMERASE AO PROMOTOR	LACTOSE	REPRESSOR <i>lac</i>	TRANSCRIÇÃO DE GENES <i>lac</i> ?	LACTOSE UTILIZADA PELAS CÉLULAS?
Presente	Baixo	Ausente	Ausente	Ativo e ligado ao operador	Não	Não
Presente	Baixo	Presente, ineficiente	Presente	Inativo e desligado do operador	Nível baixo	Não
Ausente	Alto	Presente, muito eficiente	Presente	Inativo e desligado do operador	Nível alto	Sim
Ausente	Alto	Ausente	Ausente	Ativo e ligado ao operador	Não	Não

^a Reguladores negativos em vermelho.

rie de etapas. Primeiro, uma proteína regulatória chamada CRP (abreviação para proteína receptora de AMP_c, do inglês *cAMP receptor protein*) se liga ao nucleotídeo adenosina 3',5'-monofosfato cíclico, mais conhecida como AMP cíclico, ou AMP_c. A seguir, o complexo CRP-AMP_c se unem no DNA *upstream* (5') do promotor. Essa ligação resulta em uma maior eficiência de ligação da RNA-polimerase ao promotor, e, assim, em um nível elevado de transcrição dos genes estruturais.

Quando a glicose se torna abundante no meio, a bactéria não necessita degradar moléculas nutrientes alternativas, dessa forma, a síntese das enzimas que catabolizam essas moléculas diminui ou cessa. A presença de glicose diminui a síntese dessas enzimas por meio da diminuição da concentração celular de AMP_c. A baixa concentração de AMP_c leva a uma menor ligação da CRP ao promotor, baixa eficiência de ligação da RNA-polimerase e transcrição reduzida dos genes estruturais. Esse mecanismo denomina-se **repressão catabólica**.

A CRP controla a eficiência da RNA-polimerase em se ligar em muitos outros *óperons*, como aqueles que metabolizam os açúcares arabinose e galactose. Em geral, quando um nível adequado de glicose está presente, *E. coli* utiliza o sistema CRP a fim de bloquear rotas que utilizam outras fontes de energia. Conforme poderemos verificar nos últimos capítulos deste livro, o AMP_c é amplamente utilizado na sinalização de moléculas em eucariotos assim como em procariotos. O uso do AMP_c em tais situações amplamente diversas, como uma bactéria que apresenta os níveis de glicose e um humano que apresenta fome, demonstra a prevalência de temas comuns em bioquímica e seleção natural.

Os sistemas induzível *lac* e repressível *trp* de *E. coli* – os dois sistemas operador-repressor – são exemplos de **controle negativo** de transcrição, pois a proteína regulatória (o repressor), em cada caso, previne a transcrição. O mecanismo de repressão catabólica consiste em um modelo de **controle positivo** de transcrição, pois a molécula regulatória (o complexo CRP-AMP_c) é um ativador transcricional. As relações entre esses reguladores positivos e negativos no *óperon lac* encontram-se resumidos na **Tabela 13.2**.

O controle da expressão gênica por proteínas regulatórias não é exclusividade dos procariotos. Ele ocorre em vírus, conforme vimos anteriormente, e, como veremos no próximo capítulo, também é importante em eucariotos. Em toda a natureza, os genomas contêm não somente sequências transcritas, mas sequências não transcritas que, ligando proteínas, podem determinar se um gene em particular será transcrito.

13.4 RECAPITULAÇÃO

A expressão gênica em procariotos é mais comumente regulada através do controle de transcrição. *Óperons* consistem em um conjunto de genes ligados e sequências de DNA que controlam a transcrição desses. *Óperons* regulam-se por controles negativos e positivos.

- Quais as diferenças-chave entre um sistema induzível e um sistema repressível? Ver p. 298-299 e Figuras 13.19 e 13.20.
- Descreva a diferença entre o controle positivo e o negativo de transcrição. Ver p. 299-300 e Tabela 13.2.

Claramente, um conjunto incrível de conhecimento sobre genomas procariotos tem sido adquirido, e o sequenciamento avançado e as técnicas genômicas prometem fornecer mais informação sobre genes procariotos específicos e suas funções. Quais usos podemos esperar a partir dessa informação?

13.5 O que aprendemos a partir do sequenciamento de genomas procariotos?

Quando o sequenciamento de DNA se tornou possível no final dos anos 1970, os primeiros organismos a serem sequenciados foram os vírus simples. Logo, mais de 150 genomas virais, incluindo aqueles de importância animal e patógenos de plantas, também o foram. O conhecimento de como esses vírus infectam seus hospedeiros e se reproduzem surge rapidamente como resultado. Todavia, as técnicas de sequenciamento manual utilizadas em vírus não responderam à questão dos genomas de procariotos e eucariotos, os menores dos quais eram centenas de vezes maiores do que o genoma de um bacteriófago. Na década passada, entretanto, técnicas de sequenciamento automático descritas na Seção 11.5 adicionaram muitas sequências procariotas ao estoque de conhecimentos dos biólogos.

Em 1995, uma equipe liderada por Craig Venter e Hamilton Smith determinou a primeira sequência de um organismo celular de vida livre, a bactéria *Haemophilus influenzae*. Muitas outras sequências procariotas foram compreendidas. Essas revelaram não

somente a forma de os procariotos partilharem seus genes a fim de realizar funções celulares diferentes, mas também como suas funções especializadas efetuam-se. No começo, surgiu a provocante questão de quais poderiam ser os requerimentos mínimos de uma célula viva.

Três tipos de informação podem ser obtidas a partir de uma sequência genômica, incluindo:

- **Fases de leitura aberta** (do inglês, *open reading frame*), regiões codificantes de genes. Para genes que codificam proteínas, essas regiões podem ser reconhecidas pelos códons de início e de parada da tradução.
- **Sequências de aminoácidos de proteínas.** Essas sequências podem ser deduzidas a partir de sequências de DNA de fases de leitura aberta por meio da aplicação do código genético (ver Figura 12.6).
- **Sequências regulatórias.** Como promotores e terminadores da transcrição.

Talvez o registro do sequenciamento mais rápido de genoma tenha sido o do vírus que causa SARS (Síndrome Respiratória Adulta Severa, do inglês, *Severe Adult Respiratory Syndrome*). Levou-se menos de duas semanas para sequenciar o genoma viral, trabalho realizado por uma equipe liderada por Stevens Jones no British Columbia Cancer Center, em Vancouver.

GENÔMICA FUNCIONAL A **genômica funcional** é a assinatura de funções aos produtos dos genes descritos pelo sequenciamento genômico. Essa área, com menos de uma década, trata-se de uma importante ocupação dos biólogos. Veremos agora como esses métodos aplicaram-se à bactéria *H. influenzae*, uma vez sua sequência tendo sido conhecida.

O único hospedeiro para o *H. influenzae* é o homem. Ele reside no trato respiratório superior e pode causar infecções de ouvido, ou, mais seriamente, meningite em crianças. Seu único cromossomo circular possui 1.830.137 pares de base (**Figura 13.22**). Em adição à sua origem de replicação e aos genes que codificam rRNA e tRNA, esse cromossomo bacteriano possui 1.743 regiões que contêm códons de aminoácidos, assim como informações transcripcionais (promotor) e traducionais (códons de início e parada) necessárias para a síntese proteica – ou seja, regiões que provavelmente são genes que codificam proteínas.

Quando essa sequência foi anunciada, somente 1.007 (58%) dos genes da bactéria apresentaram sequências de aminoácidos que correspondiam a proteínas com funções conhecidas – em outras palavras, somente 58% dos genes que os pesquisadores, baseados em seu conhecimento das funções da bactéria, esperavam encontrar. Os 42% restantes codificavam proteínas desconhecidas aos pesquisadores. Os papéis da maioria das proteínas desconhecidas têm sido identificados desde então por um processo denominada **anotação**.

A maioria da anotação de genes e proteínas com funções conhecidas confirmou um século de descrição bioquímica de vias enzimáticas bacterianas. Por exemplo, genes de enzimas que realizam rotas inteiras de glicólise, fermentação e transporte de elétrons foram encontrados. Algumas das sequências gênicas restantes de proteínas desconhecidas podem codificar proteínas de membrana, incluindo aquelas envolvidas no transporte ativo. Um outro importante achado foi o conhecimento de cepas altamente

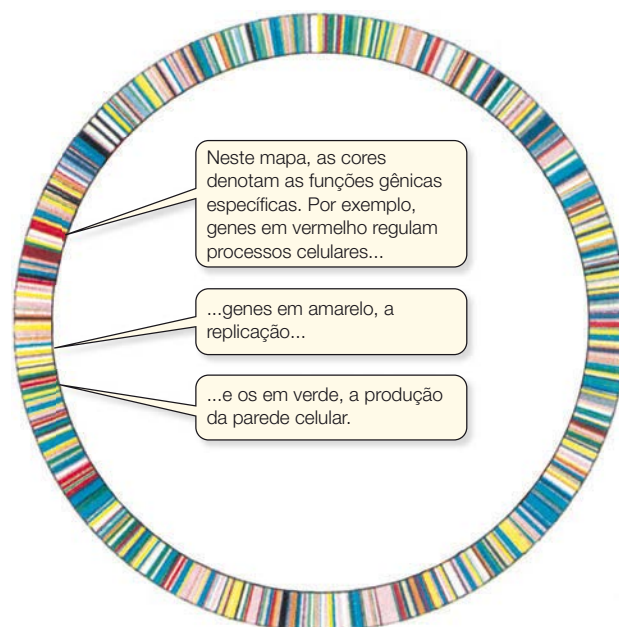


Figura 13.22 Organização funcional do genoma de *H. influenzae* A sequência total de DNA apresenta 1.830.137 pares de base.

infectivas de *H. influenzae*, que possuíam genes codificadores de proteínas de superfície que ligam a bactéria ao trato respiratório humano, enquanto cepas não infectivas não os possuem.

GENÔMICA COMPARATIVA Logo após a sequência de *H. influenzae* ter sido anunciada, sequências procariotas menores (*Mycoplasma genitalium*, 580.070 pares de base) e maiores (*E. coli*, 4.639.221 pares de base) completaram-se. Assim, iniciou uma nova era na biologia, a da **genômica comparativa**, em que as sequências genômicas de diferentes organismos são comparadas a fim de se verificar quais genes um organismo possui e o outro não, relacionando os resultados com a fisiologia.

M. genitalium, por exemplo, não possui as enzimas necessárias para a síntese de aminoácidos, que os outros dois procariotos possuem. Isso revelou que *M. genitalium* trata-se de um parasita, que deve obter todos os aminoácidos de seu ambiente, o trato urogenital humano. *E. coli* possui 55 genes regulatórios que codificam ativadores transcripcionais e 58 que codificam repressores; *M. genitalium* apresenta somente 3 genes para ativadores. Comparações como essas levaram à formulação de questões específicas sobre a forma que um organismo vive e como ele o faz. Veremos muito mais aplicações de genômica comparativa no próximo capítulo.

O sequenciamento de genomas procariotos apresenta muitos benefícios

O sequenciamento do genoma procarioto promete fornecer conhecimento de microrganismos que causam doenças humanas, assim como aqueles envolvidos em ciclos ecológicos globais (ver Capítulo 38).

- *Chlamydia trachomatis* causa a doença sexualmente transmissível mais comum nos Estados Unidos. Em virtude de ser um parasita intracelular, tem sido muito difícil de estudar. Dentre

seus 900 genes, existem diversos para a síntese de ATP – o que alguns cientistas pensavam que esta bactéria não realizasse.

- *Rickettsia prowazekii* causa tifo; infecta pessoas mordidas por piolhos. De seus 634 genes, 6 codificam proteínas essenciais para sua virulência. As sequências desses genes estão sendo utilizadas no desenvolvimento de vacinas.
- Não se conhece muito sobre *Sargasso Sea*, massa flutuante de água morna no Oceano Atlântico Norte, onde um grande tapete de algas *Sargassum* cresce, porém pouco de outras formas de vida tem sido observado. O sequenciamento de células nessa água mostrou que a água abriga seu próprio ecossistema exclusivo, com mais de mil espécies bacterianas, sendo a maioria destas nunca antes descritas, especialmente adaptadas à vida entre os tapetes de *Sargassum*. Os oceanos podem conter até 2 milhões de espécies procariontas, e o solo outras 4 milhões. Os papéis de 99% destas na ecologia do planeta permanecem obscuros. O sequenciamento de seus genomas pode fornecer algumas respostas.
- *Mycobacterium tuberculosis* causa tuberculose. Possui um grande genoma para um procarionte, codificando 4 mil proteínas. Mais de 250 destas proteínas são utilizadas para metabolizar lipídeos, de forma que essa pode ser a principal forma da bactéria conseguir energia. Alguns de seus genes codificam proteínas de superfície celular previamente desconhecidas; esses genes são alvo para vacinas em potencial.
- *Streptomyces coelicolor* e seus parentes próximos produzem dois terços de todos os antibióticos de uso clínico atual, incluindo estreptomicina, tetraciclina e eritromicina. A sequência genômica dessa bactéria revela 22 clusters de genes responsáveis pela produção de antibióticos, dos quais somente 4 eram previamente conhecidos. Essa descoberta pode levar a mais e melhores antibióticos para combater patógenos resistentes.
- Em adição ao bem conhecido dióxido de carbono, outro importante gás que contribui para o “efeito estufa” atmosférico e para o aquecimento global é o metano (CH_4 ; ver Figura 2.8). Algumas bactérias, como *Methanococcus*, produzem metano no estômago das vacas. Outras, os *Methylococcus*, por exemplo, removem o metano do ar e o utilizam como fonte energética de carbono. Os genomas de ambas as bactérias têm sido sequenciados. O conhecimento dos genes envolvidos na produção e oxidação de metano pode nos auxiliar a vencer o desafio do aquecimento global.

- A cepa de *E. coli* O157:H7 em um hambúrguer pode causar um sério mal-estar quando este for ingerido, o que acontece com 70 mil pessoas por ano nos Estados Unidos. Seu genoma possui 5.416 genes, dos quais 1.387 diferem daqueles das cepas de laboratório (menos nocivas) desta bactéria. Consideravelmente, muitos destes genes exclusivos também estão presentes em outras bactérias patogênicas, tais como *Salmonella* e *Shigella*. Este achado sugere que existe uma extensa troca genética entre essas espécies e que “superbactérias” podem estar no horizonte.

A definição dos genes requeridos para a vida celular levará a uma vida artificial?

Quando os genomas de procariontes e eucariontes são comparados, surge uma surpreendente conclusão: determinados genes encontram-se presentes em todos os organismos (*genes universais*). Também existem alguns segmentos de genes universais – que co-

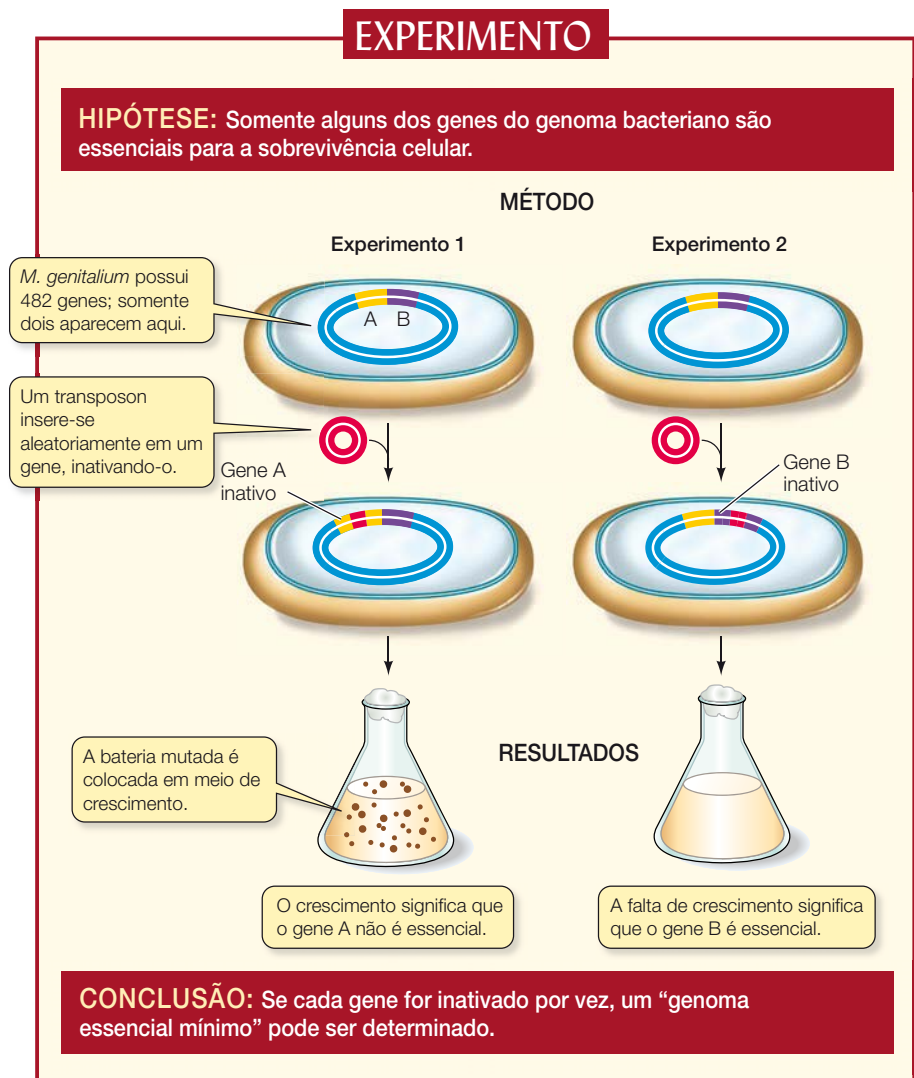


Figura 13.23 Utilizando a mutagênese de transposons para determinar o genoma mínimo Por meio da inativação de genes em um genoma bacteriano, um por um, os cientistas podem determinar genes essenciais à sobrevivência das células.

dificam um sítio de ligação para ATP, por exemplo – presentes em inúmeros genes em muitos organismos. Essas descobertas sugerem que existe um conjunto ancestral mínimo de sequências de DNA comum a todas as células. Uma maneira de identificar essas sequências é procurar por elas (ou, mais realisticamente, ter um computador que as procure).

Uma outra forma de definir o genoma mínimo seria pegar um organismo de genoma mais simples e, deliberadamente, fazer uma mutação em um gene e ver o que acontece. *Mycoplasma genitalium* possui o menor genoma conhecido – somente 482 genes. Assim mesmo, alguns de seus genes são dispensáveis sobre determinadas circunstâncias. Ele possui genes para a metabolização de glicose e frutose. No laboratório, o organismo pode sobreviver em um meio suplementado somente com um dos açúcares, produzindo os genes a fim de metabolizar o outro açúcar não necessário. E os outros genes? Experimentos utilizando transposons, como mutágenos, respondem esta questão. Quando a bactéria é exposta aos transposons, estes se inserem em um gene de maneira aleatória, mutando e inativando-o (Figura 13.23). As bactérias mutadas são sequenciadas para a determinação de qual gene foi mutado, e, então, testadas para crescimento e sobrevivência.

O resultado surpreendente desses estudos consiste em que *M. genitalium* pode sobreviver em laboratório sem os serviços de 100 de seus genes, deixando um genoma mínimo de 382 genes! Contudo, se isso for verdade, o que se faz necessário para um organismo ser viável? A única maneira de saber seria construir o genoma, gene por gene. Uma equipe liderada por Craig Venter, em uma companhia privada, está tentando fazê-lo. Já que é possível sintetizar moléculas de DNA artificial, e já que as sequências de DNA de todos os genes de *M. genitalium* são conhecidas, produzir e montar o genoma em laboratório deveria ser direto e claro. O genoma, então, seria inserido em uma célula bacteriana vazia. Se esta iniciar a transcrição de mRNA e produzir proteínas, poderá resultar em uma célula viável. E, assim, a vida criada pelo homem seria uma realidade.

Em adição ao feito técnico óbvio de criar vida artificial, essa técnica poderia ter muitas aplicações importantes. Novos mi-

cróbios poderiam ser produzidos com totais novas capacidades, como degradação de derramamentos de óleo, produção de fibras sintéticas, redução da deterioração dentária e conversão de celulose a etanol para uso combustível. Por outro lado, o medo do mau uso desse conhecimento não é infundado. Seria igualmente possível desenvolver bactérias sintéticas com propriedades prejudiciais, como as espécies tóxicas para as pessoas, plantas e animais, e utilizá-las como agentes de guerra biológica ou bioterrorismo. Conforme descrito no início deste capítulo, a mutação da gripe aviária a um patógeno humano letal sugere o perigo que novas espécies, mesmo pequenas, podem proporcionar algumas vezes. O “gênio da genômica” já está, para o bem ou para o mal, fora da lâmpada.

13.5 RECAPITULAÇÃO

O sequenciamento de DNA é utilizado para estudar os genomas de procariontos de importância aos humanos e ecossistemas. A genômica funcional utiliza essas sequências a fim de determinar as funções de produtos gênicos; a genômica comparativa utiliza similaridades de sequências de genes com papéis conhecidos em outros organismos para auxiliar na identificação de funções.

- Você pode descrever como fases de leitura aberta são reconhecidas em uma sequência genômica? Qual tipo de informação pode ser derivada de fases de leitura aberta? Ver p. 301.
- Você pode dar alguns exemplos de genomas procariontos que têm sido sequenciados e o que a sequência tem mostrado? Ver p. 302.
- Como os estudos de inativação seletiva estão sendo utilizados para determinar o genoma mínimo? Ver p. 302-303 e Figura 13.23.

RESUMO DO CAPÍTULO

13.1 Como os vírus se reproduzem e transmitem genes?

Procariontos e vírus são organismos-modelo úteis para o estudo de genética e biologia molecular, pois contêm muito menos DNA do que os eucariotos, crescem e se reproduzem rapidamente e são geralmente haploides.

Vírus não são células e permanecem na célula hospedeira para se reproduzir.

A unidade básica de um vírus é um **vírion**, que consiste em um genoma de ácido nucleico (DNA ou RNA) e uma capa proteica, chamada **capsídeo**.

Bacteriófagos são vírus que infectam bactérias.

Vírus **virulentos** sofrem **ciclo lítico**, que causa a destruição da célula hospedeira e a liberação de novos vírions.

Vírus moderados também podem sofrer **ciclo lisogênico**, no qual uma molécula de seu DNA, chamada **pró-fago**, insere-se no cromossomo hospedeiro, onde se replica por gerações. Tais hospedeiros denominam-se **bactérias lisogênicas**. Rever Figura 13.3.

Alguns vírus possuem promotores que se ligam à RNA-polimerase do hospedeiro, a qual utilizam para transcrever seus próprios genes e proteínas. Rever Figura 13.4.

Muitos vírus de animais e de plantas se disseminam por meio de **vetores**, como insetos.

Os vírus que infectam animais incluem vírus de RNA e DNA. Vírus envelopados possuem uma membrana derivada da membrana plasmática do hospedeiro. Rever Figura 13.5.

Um **retrovírus** utiliza a transcriptase reversa para gerar um **pró-vírus** de cDNA a partir de seu genoma de RNA. O pró-vírus se incorpora ao DNA do hospedeiro animal e pode ser ativado para a produção de novos vírions. Rever Figura 13.6.

13.2 Como a expressão gênica é regulada em vírus?

Se um fago moderado sofre ciclo lítico ou ciclo lisogênico depende do estado em que se encontra o ambiente celular oferecido pelo hospedeiro, verificado por proteínas regulatórias que competem por promotores no DNA do fago. Rever Figura 13.8.

13.3 Como os procariontos trocam genes?

A maioria dos procariontos reproduz-se por meio de divisão de células únicas, resultando em **clones** de células geneticamente idênticas. Quando permitidas a crescerem em um meio nutricional sólido, produzirão colônias bacterianas ou um tapete bacteriano. Rever Figura 13.9.

RESUMO DO CAPÍTULO

Um experimento de Lederberg e Tatum demonstrou que uma bactéria pode trocar informação genética. [Rever Figura 13.10.](#)

Na **conjugação**, duas células bacterianas aproximam-se por um **pilo sexual**. Uma porção do cromossomo das células doadoras move-se para dentro da célula receptora através de um **tubo de conjugação** e pode tornar-se incorporada no cromossomo da célula receptora.

Na **transformação**, a bactéria capta DNA livre liberado por células bacterianas mortas.

Na **transdução**, capsídeos de fagos carregam DNA bacteriano de uma bactéria a outra. [Rever Figura 13.13.](#)

Plasmídeos são pequenos cromossomos bacterianos independentes do cromossomo principal e podem ser transferidos entre células. Os plasmídeos atuam como **fatores metabólicos**, **fatores de fertilidade**, ou **fatores de resistência**. [Rever Figura 13.14.](#)

Elementos transponíveis consistem em seqüências curtas de DNA que podem mover-se de um local a outro no genoma bacteriano, frequentemente interrompendo seqüências gênicas. Os elementos transponíveis podem carregar outros genes e chamam-se **transposons**. [Rever Figura 13.15.](#)

13.4 Como a expressão gênica é regulada em procaríotos?

Em procaríotos, a síntese de algumas proteínas é regulada para que elas as produzam somente quando estas são necessárias. As proteínas produzidas somente na presença de um composto em particular – um **indutor** – são proteínas **induzíveis**. Proteínas produzidas em uma taxa constante independente de condições são proteínas **constitutivas**.

Um **óperon** consiste de um promotor, um **operador** e de dois ou mais **genes estruturais**. Promotores e operadores não codifi-

cam proteínas, mas servem de sítios de ligação para proteínas regulatórias. [Rever Figura 13.18.](#)

Genes regulatórios codificam proteínas regulatórias, como é o caso dos **repressores**. Quando um repressor se liga a um operador, a transcrição do gene estrutural é inibida. [Rever Figura 13.19.](#)

O óperon *lac* é um exemplo de sistema induzível, no qual a presença de um indutor previne a ligação do repressor ao operador e permite a transcrição.

Uma proteína **repressível** é aquela na qual a síntese é parada pela presença de um composto em particular – um **correpresor**. O óperon *trp* é um exemplo de sistema repressível, no qual a presença de um correpresor causa a ligação do repressor ao operador e a parada da transcrição. [Rever Figura 13.20.](#)

Na repressão catabólica a transcrição é reforçada pela ligação de uma proteína regulatória ao promotor. [Rever Figura 13.21.](#)

13.5 O que aprendemos a partir do sequenciamento de genomas procaríotos?

A **genômica funcional** relaciona as seqüências gênicas às funções proteicas.

Na **genômica comparativa**, as seqüências genômicas de diferentes organismos são comparadas.

Estudos de sequenciamento revelam genes universais presentes em todos os organismos e genes exclusivos associados com as funções do organismo.

Através da mutação de genes individuais em um genoma pequeno, os cientistas determinam o genoma mínimo necessário para a vida celular. Estes estudos poderiam levar à criação de células artificiais. [Rever Figura 13.23.](#)

QUESTÕES

- Qual das seguintes sentenças sobre o óperon *lac* não é verdadeira?
 - Quando a lactose liga-se ao repressor, este não pode ligar-se ao operador.
 - Quando a lactose liga-se ao operador, a transcrição é estimulada.
 - Quando o repressor liga-se ao operador, a transcrição é inibida.
 - Quando a lactose liga-se ao repressor, a forma deste é modificada.
 - Quando o repressor está mutado, uma possibilidade é que este não se ligue ao operador.
- Qual das sentenças não é um tipo de reprodução viral?
 - Vírus de DNA em um ciclo lítico.
 - Vírus de DNA em um ciclo lisogênico.
 - Vírus de RNA por meio de um RNA dupla-fita intermediário.
 - Vírus de RNA por meio de transcrição reversa para a produção de cDNA.
 - Vírus de RNA atuando como tRNA.
- No ciclo lisogênico do bacteriófago λ ,
 - um repressor, *cI*, bloqueia o ciclo lítico.
 - um bacteriófago carrega DNA entre células bacterianas.
 - os genes precoces e tardios do fago são transcritos.
 - o genoma viral é produzido em RNA, o qual permanece na célula hospedeira.
 - muitos novos vírus são imediatamente produzidos, independente da saúde do hospedeiro.
- Um óperon é:
 - uma molécula que pode ligar e desligar genes.
 - um indutor ligado a um repressor.
 - uma série de seqüências regulatórias que controlam a transcrição de genes que codificam proteínas.
 - qualquer seqüência longa de DNA.
 - um promotor, um operador e um grupo de genes estruturais ligados.
- Qual sentença é verdadeira sobre transformação e transdução?
 - O DNA é transferido entre vírus e bactérias.
 - Nenhuma ocorre na natureza.
 - Pequenos fragmentos de DNA movem-se de uma célula a outra.
 - A recombinação entre o DNA importado e o da célula hospedeira não ocorre.
 - Um tubo de conjugação é utilizado para transferir DNA entre as células.
- Plasmídeos:
 - são moléculas proteicas circulares.
 - são necessários pela bactéria.
 - são pequenas bactérias.
 - podem conferir resistência a antibióticos.
 - são uma forma de elemento transponível.

7. O genoma mínimo pode ser estimado para um procarioto:
 - a. por meio da contagem do número total de genes.
 - b. por meio da genômica comparativa.
 - c. como em torno de 5 mil genes.
 - d. por meio de mutagênese de transposon, um gene de cada vez.
 - e. retirando genes que codificam tRNA.
8. Quando o triptofano acumula em uma célula bacteriana, liga-se:
 - a. ao operador, prevenindo a transcrição de genes adjacentes.
 - b. ao promotor, permitindo a transcrição de genes adjacentes.
 - c. ao repressor, fazendo com que este se ligue ao operador.
 - d. a genes que codificam enzimas.
 - e. ao RNA e inicia uma alça de retroalimentação negativa para reduzir a transcrição.
9. O promotor no óperon lac é:
 - a. a região que se liga ao repressor.
 - b. a região que se liga à RNA-polimerase.
 - c. o gene que codifica o repressor.
 - d. um gene estrutural.
 - e. um óperon.
10. O sistema CRP-AMPc:
 - a. produz muitos catabólitos.
 - b. necessita ribossomos.
 - c. opera por meio de um mecanismo operador-repressor.
 - d. é um exemplo de controle positivo de transcrição.
 - e. reside em operadores.

PARA DISCUSSÃO

1. Os vírus, algumas vezes, carregam DNA de uma célula a outra por meio da transdução. Algumas vezes, um segmento de DNA bacteriano incorpora-se em uma capa proteica de fago sem qualquer DNA de fago. Essas partículas podem infectar um novo hospedeiro. O novo hospedeiro que se tornaria lisogênico se o fago veio originalmente de um hospedeiro lisogênico? Por que sim ou por que não?
2. Compare os ciclos de vida dos vírus que causam gripe e AIDS (Figuras 13.5 e 13.6) com respeito a:
 - a. como o vírus entra na célula.
 - b. como o vírion é liberado na célula.
 - c. como o genoma viral é replicado.
 - d. como novos vírus são produzidos.
3. Compare os promotores adjacentes para genes precoces e tardios no ciclo lítico do bacteriófago.
4. A proteína repressora que atua no óperon lac de *E. coli* é codificada por um gene regulatório. Em proteína repressora produz-se em pequenas quantidades e em uma taxa constante por célula. Você acha que o promotor para esta proteína repressora é eficiente ou ineficiente? A síntese do repressor é constitutiva ou está sob controle ambiental?
5. Uma característica-chave de um sistema enzimático é que a proteína repressora deve reagir com um correpressor (tipicamente o produto final de uma rota) antes dele ligar-se ao operador de um óperon para desligar este. Como este sistema difere de um sistema enzimático induzível?

PARA INVESTIGAÇÃO

Um paciente foi internado em um hospital com infecção do trato urinário, e a bactéria sensível a antibióticos *Klebsiella*, identificada como o agente causal. Ele foi tratado com ampicilina e kanamicina. Entretanto, durante sua estadia no hospital, a bactéria tornou-se resistente a ambos os antibióticos. O paciente no leito ao lado do paciente em questão adquiriu

E. coli resistente a esses dois antibióticos. Três possíveis explicações para o desenvolvimento de resistência em *Klebsiella* são: (A) mutação espontânea, (B) conjugação bacteriana e transferência de genes resistentes no cromossomo principal, (C) transferência de um plasmídeo contendo os genes resistentes. Como você investigaria essas possibilidades?

Genomas em perigo

As origens dos nomes comum e científico da chita, ou guepardo, *Acinonyx jubatus*, contam a história:

- A palavra “chita” vem do hindi *chiita*, que significa “pintado”. As pequenas pintas pretas sobre o pelo amarelo desse animal são inconfundíveis.
- *Acinonyx* em grego significa “garras sem movimento”. Únicos entre os felinos, as chitas não podem retrair totalmente suas garras – uma vantagem para correr rapidamente e caçar.
- *Jubatus* em latim significa “que possui crina”; crinas são características dos filhotes de chitas.

Esse felino musculoso de pelo liso e macio é um caçador solitário de mamíferos menores como gazelas e lebres. Aproxima-se cautelosamente da sua vítima até cerca de 10 a 30 metros, então persegue a presa a velocidades de até 110 quilômetros (70 milhas) por hora. A perseguição normalmente termina em um minuto ou menos.

Existem apenas cerca de 12 mil chitas no mundo hoje, quase todas na África. Parte do declínio no seu número é causada pela intervenção humana. Por exemplo, fazendeiros as caçam por serem acusadas (erroneamente) de matar seu gado. Mas algo mais está envolvido. Quando as sequências das duas fitas de DNA dos pais de uma chita são comparadas, existe alto grau de homozigose: ambos os alelos para

genes que codificam proteínas são normalmente os mesmos. Além disso, *as mesmas sequências estão presentes em quase todas as chitas*. É como se todas se originassem dos mesmos pais!

Fósseis de chitas e várias espécies de felinos extintos relacionados fornecem parte da explicação para essa extraordinária homogeneidade genética. A chita moderna provavelmente evoluiu na África cerca de 15 milhões de anos atrás, então migrou para a Ásia e a América do Norte. Até o final da última glaciação (cerca de 10 mil anos atrás), as chitas estavam espalhadas. Então, algo (não se sabe o quê exatamente) aconteceu. Várias espécies relacionadas – como o tigre dente-de-sabre – morreram. Mas algumas chitas aparentemente sobreviveram e presumimos que os genomas de todas as chitas vivas atualmente descendam destas poucas. Conforme estudaremos no Capítulo 22, um evento como esse denomina-se *gargalo de garrafa*.

Com seus genomas homogêneos, as chitas não apresentam a variabilidade genética capaz de ajudar as espécies a suportar as condições adversas. Por exemplo, chitas são muito suscetíveis a doenças, pois não têm a diversidade genética que pode permiti-las montar um ataque contra novos patógenos.

A chita não é a única espécie com alta homogeneidade genética. As poucas panteras da Flórida que ainda existem são também homogêneas nas suas sequências de DNA. Como a chita, apresentam suscetibilidade a doenças e defeitos genéticos. Entretanto, no caso da pantera da Flórida, sua redução no número é recente e se deve somente à intervenção do homem. Caçadas implacavelmente durante o século XIX, seu habitat no sudoeste dos Estados Unidos foi quase to-



Felino veloz As chitas são os mais rápidos de todos os animais terrestres do mundo. A maioria das 12 mil chitas que vive na natureza carrega sequências de genes quase idênticas, resultado de um evento evolucionário há cerca de 10 mil anos que eliminou todos, exceto uns poucos indivíduos.



Felino em perigo A pantera da Flórida, *Felis concolor coryi*, é um puma norte-americano em grande perigo de extinção. O Serviço de Pesca e Vida Selvagem Norte-Americano estima que o número de adultos vivos da pantera da Flórida esteja entre 30 e 50.

talmente eliminado durante o século XX, para dar espaço a habitações humanas.

Quando existe variedade de alelos em uma população, isso significa que há muito espaço para novas variações da proteína (ou das proteínas) transcrita(s) pelo gene. O complexo processo de tornar um gene em uma proteína é o assunto deste capítulo.

NESTE CAPÍTULO conhecemos a organização e a expressão dos genomas eucarióticos, significativamente diferentes dos genomas procarióticos. Iniciamos enfocando algumas dessas distinções e descrevendo alguns dos organismos modelares que tornaram possíveis nossa compreensão sobre os genomas eucarióticos. Para completar o estudo, a parte final deste capítulo trata dos vários pontos em que o complexo processo da expressão de genes eucarióticos pode ser regulado: antes, durante e depois da transcrição e tradução.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 14.1** Quais são as características do genoma eucariótico?
- 14.2** Quais são as características dos genes eucarióticos?
- 14.3** Como os transcritos de genes eucarióticos são processados?
- 14.4** Como é regulada a transcrição de genes eucarióticos?
- 14.5** Como a expressão de genes eucarióticos é regulada após a transcrição?
- 14.6** Como a expressão de genes é controlada durante e após a tradução?

14.1 Quais são as características do genoma eucariótico?

À medida que os genomas vêm sendo sequenciados e sua expressão estudada, e à medida que as funções das proteínas para as quais codificam são descritas, um número maior de diferenças surge entre genomas eucarióticos e suas contrapartes procarióticas (**Tabela 14.1**). As diferenças fundamentais entre genomas eucarióticos e procarióticos incluem:

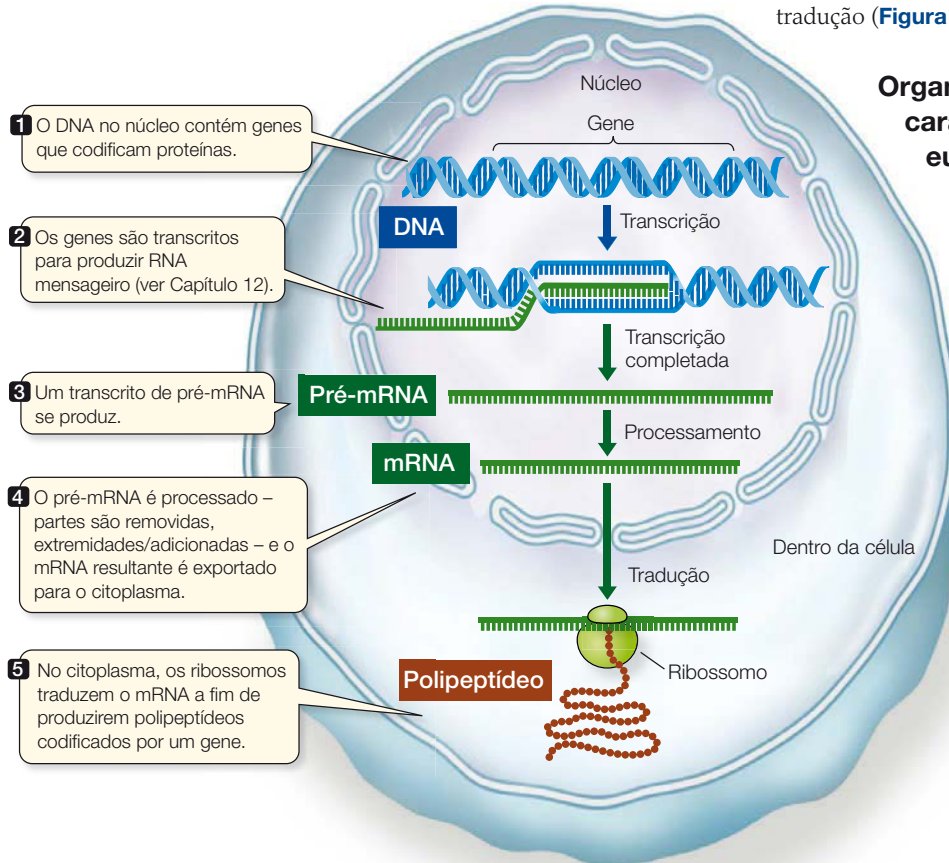
- Em termos de conteúdo de DNA haploide, *genomas eucarióticos são maiores do que os procarióticos*. Essa diferença não surpreende, pois em organismos multicelulares existem vários tipos de células e muitos trabalhos a fazer; várias proteínas – todas codificadas por DNA – são necessárias a fim de realizar esses trabalhos. Um vírus típico contém somente DNA suficiente para codificar algumas proteínas – cerca de 10 mil pares de bases (pb). O procarionto mais bem estudado, *E. coli*, possui DNA suficiente (cerca de 4,5 milhões de pb) para produzir vários milhares de proteínas diferentes e regular sua síntese. Os humanos apresentam consideravelmente mais genes e sequências reguladoras: cerca de 6 bilhões de pb (2 metros de DNA) estão amontoados dentro de cada célula diploide humana. Entretanto, a quantidade de DNA em um organismo nem sempre está correlacionada com sua complexidade. Por exemplo, o lírio (que produz bonitas flores a cada primavera, mas menos proteínas do que um humano) tem 18 vezes mais DNA do que os humanos.
- *Genomas eucarióticos têm mais sequências reguladoras* – e muito mais proteínas reguladoras ligadas a elas – do que os genomas procarióticos. A grande complexidade dos eucariotos requer uma regulação complexa, evidente nos vários pontos de controle associados com a expressão do genoma eucariótico.
- *A maioria do DNA eucariótico não é codificante*. Espalhados pelo genoma eucarioto existem vários tipos de sequências de DNA não transcritas em mRNA. E às vezes as regiões codificantes dos genes contêm sequências que não aparecem no mRNA traduzido no ribossomo.
- *Eucariotos possuem múltiplos cromossomos*. A “enciclopédia” genômica de um eucarioto separa-se em múltiplos “volu-

TABELA 14.1 Uma comparação entre genes e genomas procarióticos e eucarióticos

CARACTERÍSTICA	PROCARIOTOS	EUCARIOTOS
Tamanho do genoma (pares de base)	10 ⁴ -10 ⁷	10 ⁸ -10 ¹¹
Sequências repetidas	Poucas	Muitas
DNA não codificante dentro de sequências codificantes	Raras	Comum
Transcrição e tradução separadas na célula	Não	Sim
DNA segregado dentro do núcleo	Não	Sim
DNA ligado a proteínas	Alguns	Extensivo
Promotores	Sim	Sim
Estimuladores/silenciadores	Raro	Comum
Adição de quepe e de cauda no mRNA	Não	Sim
Necessidade de corte e junção do RNA (espiçoossomos)	Raro	Comum
Número de cromossomos no genoma	Um	Vários

mes”. Essa separação requer que cada cromossomo tenha, no mínimo, três sequências definidas de DNA, conforme descrito nos capítulos anteriores: origem de replicação (*ori*) reconhecida pela maquinaria de replicação do DNA; região de centrômero que mantém os cromossomos replicados unidos antes da mitose e sequência telomérica em cada extremidade do cromossomo.

■ *Em eucariotos, a transcrição e a tradução são separadas fisicamente.* O envelope nuclear separa o DNA e sua transcrição (dentro do núcleo) dos sítios onde o mRNA é traduzido para polipeptídeos (os ribossomos no citoplasma). Essa separação permite vários pontos de controle antes do início da tradução: na síntese do transcrito primário (pré-mRNA), no seu processamento em mRNA maduro e no seu transporte ao citoplasma para tradução (**Figura 14.1**).



Organismos modelo revelam as características dos genomas eucarióticos

A maioria das lições aprendidas do genoma eucariótico vem de vários organismos modelo simples que foram estudados extensivamente: a levedura, *Saccharomyces cerevisiae*, o nematoide (verme redondo), *Caenorhabditis elegans*, a mosca-das-frutas, *Drosophila melanogaster* e – representando as plantas – uma espécie de agrião, *Arabidopsis thaliana*.

Figura 14.1 O mRNA eucariótico é transcrito no núcleo, mas traduzido no citoplasma Compare este “mapa” da expressão gênica com o de procariotos mostrado na Figura 12.3.

O genoma do peixe baiacu, *Fugu rubripes*, constitui o genoma mais compacto conhecido entre os vertebrados. Ele apresenta quase o mesmo número de genes que o genoma humano em cerca de um oitavo do DNA. Os dois genomas são tão similares que Sydney Brenner apresentou o genoma do *Fugu* como a “versão *Reader’s Digest* do Book of Man.”

LEVEDURA: O MODELO EUCARIÓTICO BÁSICO Leveduras consistem em eucariotos unicelulares. Da mesma forma que a maioria dos eucariotos, as leveduras têm organelas envoltas por membrana, como o núcleo e o retículo endoplasmático, e também um ciclo de vida com gerações haploides e diploides alternadas (ver Figura 9.14).

Em comparação com o procarioto *E. coli*, cujo genoma possui cerca de 4,6 milhões de pares de base em um único cromossomo circular, o genoma da levedura em brotamento (*Saccharomyces cerevisiae*) tem 16 cromossomos lineares e conteúdo haploide de mais de 12 milhões de pb. Mais de 600 cientistas do mundo todo colaboraram mapeando e sequenciando o genoma de leveduras. Quando iniciaram, eram conhecidos cerca de mil genes de leveduras codificando RNA ou proteínas. A sequência final revelou 5.800 genes; a análise da sequência determinou papéis prováveis da maioria deles. Alguns desses genes são homólogos aos genes encontrados em procariotos, mas muitos não.

A diferença mais surpreendente entre o genoma de leveduras e o de *E. coli* encontra-se no número de genes para a distribuição das proteínas (Tabela 14.2). Ambos os organismos unicelulares parecem utilizar o mesmo número de genes para realizar as funções básicas de sobrevivência celular. É a compartimentalização da célula de levedura eucariótica em organelas que exige tantos genes a mais. Esse achado trata-se da confirmação direta e quantitativa de algo já sabido há um século: a célula eucariótica é estruturalmente mais complexa do que a célula procariótica.

Genes que codificam vários outros tipos de proteínas encontram-se presentes na levedura e outros genomas eucarióticos, mas não tem homólogos nos procariotos:

- Genes que codificam para histonas que empacotam o DNA em nucleossomos.
- Genes que codificam para quinases dependentes de ciclinas que controlam a divisão celular.
- Genes que codificam para proteínas envolvidas no processamento de mRNA.

O NEMATOIDE: COMPREENDENDO O DESENVOLVIMENTO EUCARIÓTICO

Em 1965, Sydney Brenner, que recentemente fizera parte da equipe que isolou o mRNA pela primeira vez, procurou por um organismo simples para estudar a multicelularidade. Ele decidiu pelo *Caenorhabditis elegans*, um nematoide de 1 mm de comprimento (verme redondo), que normalmente vive no solo. Mas também vive em laboratório, onde tornou-se o organismo modelar favorito de biólogos do desenvolvimento (ver Seção 19.4). O nematoide possui corpo transparente, através do qual os cientistas podem observar durante três dias quando seu ovo fertilizado se divide e forma um verme adulto de aproximadamente mil células. Apesar do pequeno número de células, o nematoide apresenta sistema nervoso, digere alimentos, reproduz sexualmente e envelhece. Assim não é de surpreender que um esforço intenso tenha sido feito para sequenciar o genoma desse organismo modelar.

O genoma de *C. elegans* é oito vezes maior do que o de levedura (97 milhões de pb) e contém quatro vezes mais genes codificadores de proteínas (19.099). Mais uma vez o sequenciamento revelou muito mais genes do que o esperado: quando o esforço do sequenciamento iniciou, os pesquisadores estimaram que o verme tivesse cerca de 6 mil genes e cerca do mesmo número de proteínas. Claramente foram muitos mais. Cerca de 3 mil genes no verme apresentam homólogos diretos em leveduras; esses genes codificam funções celulares básicas de eucariotos. O que o resto dos genes – a maior parte do genoma do verme – faz?

Além de sobreviverem, crescerem e se dividirem, como os organismos unicelulares fazem, os multicelulares devem ter genes para manter as células unidas e formarem tecidos, para diferenciação celular, para dividirem tarefas entre esses tecidos e para vias de comunicação intercelular a fim de coordenar suas atividades (Tabela 14.3). Vários desses genes até agora identificados em *C. elegans* ausentes em leveduras realizam essas funções, descritas no restante deste capítulo e no próximo.

TABELA 14.2 Comparação dos genomas de *E. coli* e levedura

	<i>E. COLI</i>	LEVEDURA
Tamanho do genoma (pares de base)	4.640.00	12.068.00
Número de genes que codificam para proteínas	4.300	5.800
Proteínas com funções no:		
Metabolismo	650	650
Produção de energia/armazenamento	240	175
Transporte de membrana	280	250
Replicação de DNA/reparo/recombinação	120	175
Transcrição	230	400
Tradução	180	350
Distribuição de proteínas/secreção	35	430
Estrutura celular	180	250

DROSOPHILA MELANOGASTER: RELAÇÃO ENTRE GENÉTICA E GENÔMICA

A mosca-das-frutas (*Drosophila melanogaster*) é um organismo modelo famoso, uma vez que o seu estudo elucidou vários princípios da genética (ver Seção 10.4). Mais de 2.500 mutações foram descritas na década de 1990 em *Drosophila melanogaster* quando o sequenciamento do genoma iniciou, e esse fato por si só seria boa razão para sequenciar o seu DNA. A mosca-das-frutas é um organismo muito maior do que o *C. elegans*, tanto em tamanho (a mosca tem 10 vezes mais células) quanto em complexidade, e sofre uma transformação complicada no desenvolvimento, a partir de ovo até larva, desta para pupa até adulto.

Não surpreendentemente, o genoma da mosca é maior do que o de *C. elegans* (cerca de 180 milhões de pb). Todavia,

TABELA 14.3 Genes essenciais de *C. elegans* para multicelularidade

FUNÇÃO	PROTEÍNA/DOMÍNIO	NÚMERO DE GENES
Controle da transcrição	Dedos de zinco; homeobox	540
Processamento de RNA	Domínios de ligação ao RNA	100
Transmissão do impulso nervoso	Canais iônicos com portão	80
Formação de tecidos	Colágenos	170
Interações entre células	Domínios extracelulares; glicotransferases	330
Sinalização entre células	Receptores ligados à proteína G; proteínas-quinases; proteína-fosfatases	1.290



conforme mencionamos anteriormente, o tamanho dos genomas não necessariamente condiz com o número de genes codificados. Nesse caso, o genoma maior da mosca-das-frutas contém menos genes (13.449) do que o genoma menor dos nematoides. A anotação nos forneceu uma visão instantânea das funções dos genes de *Drosophila* até agora caracterizados (Figura 14.2). A distribuição das suas funções é típica dos eucariotos complexos.

Vários achados adicionais a partir do genoma da mosca-das-frutas são eminentes:

- 18.941 mRNA diferentes são transcritos a partir de 13.449 genes. Isso significa que o genoma da mosca-das-frutas codifica mais proteínas do que o número de genes – descoberta significativa na compreensão de outros genomas, incluindo o nosso próprio.
- 514 genes adicionais codificam RNA não transcritos em proteínas. Esses incluem genes para tRNA e rRNA (ver Capítulo 12), mas também existem 123 genes que codificam pequenos RNA, que permanecem no núcleo. Veremos suas possíveis

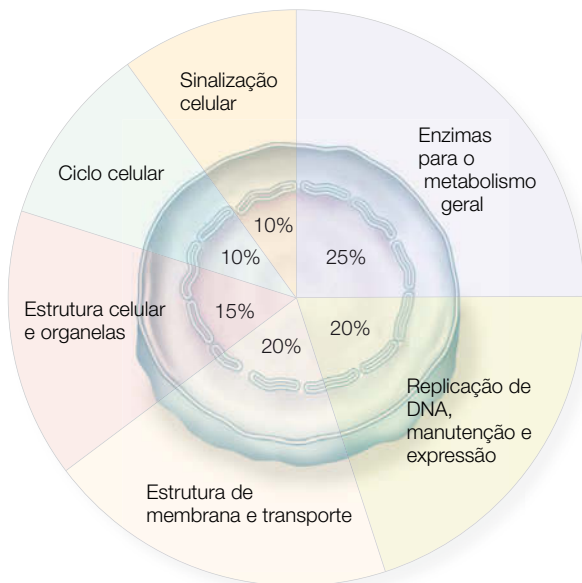


Figura 14.2 Funções do genoma eucarioto As funções dos genes que codificam proteínas no genoma de *Drosophila melanogaster* apresentam um padrão típico de vários organismos complexos.

funções mais adiante neste capítulo.

■ A genômica comparativa revelou várias sequências codificadoras de proteínas similares na mosca-das-frutas e outros organismos. Não surpreendentemente, as similaridades são mais fortes com outras espécies de *Drosophila*. Mas uma visão geral dos genes envolvidos em doenças humanas mostrou que cerca da metade apresenta sequências similares às sequências encontradas na mosca-das-frutas. Encontrar a função de um gene nas moscas-das-frutas pode levar a descoberta da sua função em humanos.

ARABIDOPSIS: ESTUDANDO OS GENOMAS DE PLANTAS Cerca de 250 mil espécies de plantas com flores dominam a terra e a água. Todavia, na história da vida, as plantas com flores são mais recentes, tendo evoluído apenas cerca de 200 milhões de anos atrás. Levando em conta o ritmo das mutações e outras alterações genéticas, as diferenças entre estas plantas provavelmente são pequenas. Assim, embora os genomas de plantas usadas pelas pessoas como alimento e fibra sejam de maior interesse para nós, não é surpreendente que ao invés de sequenciar os enormes genomas do trigo (16 bilhões de pb) ou do milho (3 bilhões de pb), cientistas tenham escolhido sequenciar uma planta com flor mais simples.

Arabidopsis thaliana, uma espécie de agrião, é um membro da família da mostarda e por muito tempo consistiu no organismo modelo favorito para estudo por biólogos de plantas. Ela é pequena (centenas poderiam crescer e reproduzir no espaço ocupado por esta página), fácil de manipular e possui genoma pequeno (119 milhões de pb).

O genoma de *Arabidopsis* possui cerca de 26 mil genes que codificam proteínas, mas notadamente, vários desses genes são duplicatas e provavelmente originados por rearranjos cromossômicos. Quando esses genes duplicados se subtraem do total, restam cerca de 15 mil genes – número similar ao número de genes encontrados no genoma da mosca-das-frutas e no dos nematoides. De fato, vários dos genes encontrados nesses animais têm homólogos em plantas, sugerindo que plantas e animais possuem um ancestral comum.

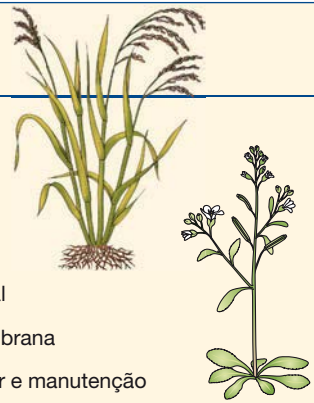
Mas *Arabidopsis* possui alguns genes que a distingue como vegetal (Tabela 14.4). Esses genes incluem aqueles envolvidos na fotossíntese, no transporte de água para as raízes e por toda a planta, na montagem da parede celular, na captação e metabolismo de substâncias inorgânicas a partir do meio e na síntese de moléculas específicas usadas na defesa contra herbívoros (organismos que comem plantas).

TABELA 14.4 Genes de *Arabidopsis* exclusivos das plantas

FUNÇÃO	NÚMERO DE GENES
Parede celular e crescimento	420
Canais de água	300
Fotossíntese	139
Defesa e metabolismo	94



TABELA 14.5 Comparação dos genomas do arroz e de *Arabidopsis*

FUNÇÃO		PORCENTAGEM DO GENOMA	
		ARROZ	ARABIDOPSIS
Estrutura da célula		9	10
Enzimas		21	20
Ligação a ligantes		10	10
Ligação a DNA		10	10
Transdução de sinal		3	3
Transporte de membrana		5	5
Crescimento celular e manutenção		24	22
Outras funções		18	20

Justificando sua posição como planta modelo, estes genes de “planta” em *Arabidopsis* também foram encontrados no genoma do arroz, a primeira planta de cultivo cuja sequência foi determinada. O arroz (*Oryza sativa*) é a cultura mais importante do mundo; ele constitui a dieta básica de 3 bilhões de pessoas. Na verdade, duas sequências de *O. sativa* foram decifradas: a de *O. sativa indica*, a subespécie de arroz cultivada na China na maior parte da Ásia tropical, e a da subespécie *japonica*, cultivada no Japão e em outros climas temperados (como Estados Unidos). Ambos os genomas têm aproximadamente o mesmo tamanho (430 milhões de pb), todavia neste genoma maior existe um grupo de genes bastante similares àqueles de *Arabidopsis* (Tabela 14.5). E muitos dos genes no arroz também encontram-se presentes nos genomas muito maiores do milho e do trigo.

É claro, o arroz como um todo e cada subespécie têm seu próprio grupo de genes particulares que os tornam únicos. Estima-se que a subespécie *indica* tenha de 46 mil a 55 mil genes, enquanto que a *japonica* tenha cerca de 32 mil a 50 mil – ambos, números de genes maiores do que em *Arabidopsis*. Esses genes “extras” incluem genes de características específicas do arroz, como a fisiologia que permite que o arroz cresça parte do tempo submerso em água, o pacote de nutrientes nas sementes que sustentam vidas humanas e a resistência a certas doenças de plantas, como vírus e fungos. A análise desses e outros genes de arroz sem dúvida levou a melhoras significativas nesta cultura e a melhoras em outras plantas de lavoura também.

Genomas eucariotos contêm várias sequências repetitivas

Estudos dos genomas de organismos eucarióticos modelo revelaram que eles contêm várias sequências de DNA repetitivas que não codificam polipeptídeos.

SEQUÊNCIAS ALTAMENTE REPETITIVAS Dois tipos de *sequências altamente repetitivas* encontram-se em genomas eucarióticos:

- **Minisatélites** têm de 10 a 40 pares de base de comprimento e repetem-se até vários milhares de vezes. Como a DNA-polimerase tende a errar na cópia dessas sequências, o número de cópias presente varia entre os indivíduos. Por exemplo, uma pessoa pode ter 300 minisatélites em um determinado locus, enquanto outra possui 500 minisatélites naquele mesmo locus. Essa variação fornece um grupo de marcadores molecula-

res genéticos usados para identificar um indivíduo, conforme veremos na Seção 16.1.

- **Microsatélites** são sequências muito curtas (1 a 3 pb), presentes em pequenos grupos de 15 a 100 cópias. Elas estão espalhadas por todo o genoma e também são conhecidas como repetições simples de sequência.

Por que chamar estas sequências repetitivas não codificantes de “satélites”? O termo dá a entender que o caráter dessas sequências difere daquele do resto do genoma. Por exemplo, a proporção de pares de bases GC e AT pode colocar um satélite separado do restante do genoma. Relembre que existem três pontes de hidrogênio entre G e C e apenas duas entre A e T. Isso torna o par de base GC mais fortemente unido do que o par AT. Dessa forma, o DNA rico em GC é mais denso do que o DNA rico em AT. Assim, se um satélite

tem uma proporção diferente de pares de base GC do restante do DNA, terá uma densidade diferente. DNA de diferentes densidades podem ser separados em uma centrífuga; por isso, é fácil separar alguns satélites do restante do genoma.

Essas sequências altamente repetitivas não se encontram representadas nos transcritos maduros de mRNA. Enquanto cientistas de laboratório usam essas sequências em estudos genéticos, seus papéis nos eucariotos ainda não estão claros.

SEQUÊNCIAS MODERADAMENTE REPETITIVAS Enquanto sequências altamente repetitivas não são transcritas em mRNA, algumas das de *DNA moderadamente repetitivas* são transcritas. Essas sequências codificam tRNA e rRNA, usados na síntese das proteínas.

A célula produz constantemente tRNA e rRNA, mas mesmo na velocidade máxima de transcrição, as cópias simples de sequências de DNA que codificam tRNA e rRNA seriam inadequadas para suprirem as grandes quantidades dessas moléculas necessárias pela maioria das células; portanto o genoma apresenta múltiplas cópias dessas sequências. Uma vez que essas sequências moderadamente repetitivas são transcritas em RNA, elas são apropriadamente chamadas de “genes”; isto é, existem genes que codificam rRNA e tRNA.

Em mamíferos, quatro moléculas diferentes de rRNA formam o ribossomo: os rRNA 18S, 5,8S, 28S e 5S. (O S significa *unidade Svedberg*, medida de como uma substância se comporta em uma centrífuga, relacionada ao tamanho da molécula). Os rRNA 18S, 5,8S e 28S são transcritos a partir de uma sequência de DNA repetitiva na forma de uma molécula de RNA precursora única, que consiste no dobro do tamanho dos três últimos produtos (Figura 14.3). Várias etapas pós-transcricionais cortam esse precursor nos três produtos de rRNA finais e descartam o RNA “espaçador” não codificante. A sequência codificando esses RNA é moderadamente repetitiva em humanos: um total de 280 cópias dela localiza-se em grupos em cinco cromossomos diferentes.

TRANSPOSONS Exceto as sequências de DNA moderadamente repetitivas que codificam rRNA, a maioria das sequências moderadamente repetitivas não está estavelmente integrada no genoma. Em vez disso, essas sequências podem se mover de um lugar para outro no genoma, e por isso denominam-se *elementos transponíveis* ou **transposons**. Os transposons representam até 40% do genoma humano, muito mais do que os 3 a 10% encontrados em outros eucariotos sequenciados.

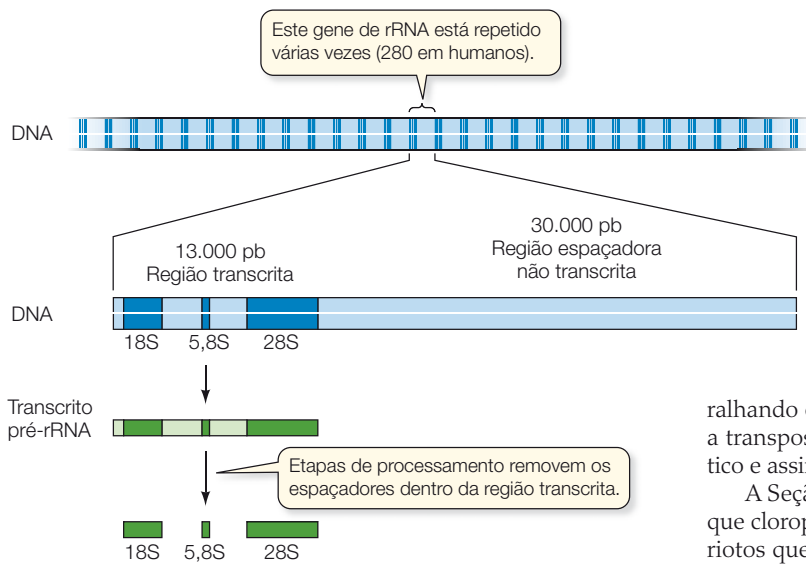


Figura 14.3 Uma sequência moderadamente repetitiva codifica rRNA Esse gene de rRNA, juntamente com sua região espaçadora não transcrita, repete-se 280 vezes no genoma humano, com grupos em cinco cromossomos. Uma vez que esse gene foi transcrito, o processamento pós-transcricional remove os espaçadores dentro da região transcrita e separa o transcrito primário em três produtos finais de rRNA.

Existem quatro tipos principais de transposons nos eucariotos:

1. **SINE** (elementos curtos intercalados; do inglês *short interspersed elements*) têm até 500 pb de comprimento e são transcritos, mas não traduzidos. Existem cerca de 1,5 milhões deles no genoma humano, representando 15% do DNA humano. Um tipo único, o elemento *Alu* de 300 pb, representa 11% do genoma humano; ele está presente em um milhão de cópias espalhadas por todos os cromossomos.
 2. **LINE** (elementos longos intercalados; do inglês *long interspersed elements*) têm até 7 mil pb de comprimento e alguns são transcritos e traduzidos em proteínas. Eles constituem cerca de 15% do genoma humano.
- Ambos os elementos encontram-se presentes em mais de 100 mil cópias. Eles se movem pelo genoma de maneira característica: fazem uma cópia de RNA deles mesmos, que serve de molde para um novo DNA, que então se insere em um novo local no genoma. Nesse mecanismo de “copie e cole”, a sequência original permanece onde está e a cópia se insere em um novo local.
3. **Retrotransposons** também fazem uma cópia de RNA deles mesmos quando se movem pelo genoma. Eles constituem cerca de 8% do genoma humano. Alguns deles codificam algumas das proteínas necessárias para a sua própria transposição, e outras não.
 4. **Transposons de DNA** não usam um RNA intermediário, mas na verdade se movem para um novo local no genoma sem se replicar (Figura 14.4).

Qual o papel dessas sequências que se movem na célula? Existem poucas respostas para essa pergunta. A melhor resposta, até o momento, parece ser que os transposons consistem em parasitas celulares que simplesmente se autorreplicam. Essas replicações podem levar à inserção de um transposon em um novo local, o que tem consequências importantes. Por exemplo, a inserção de

um transposon na região codificante de um gene resulta em uma mutação (ver Figura 14.4). Esse fenômeno explica algumas formas raras de várias doenças genéticas humanas, incluindo a hemofilia e a distrofia muscular. Se a inserção de um transposon ocorrer na linhagem germinativa, resultará um gameta com uma nova mutação. Se a inserção ocorrer em uma célula somática, poderá resultar em câncer.

Se um transposon não apenas se autorreplicar, mas o fizer junto com um gene adjacente, o resultado poderá ser uma duplicação gênica. Um transposon pode transportar um gene, ou uma parte dele, para um novo local no genoma, embalhando o material genético e criando novos genes. Claramente, a transposição mistura o caldeirão genético no genoma eucariótico e assim contribui para a variabilidade genética.

A Seção 4.5 descreve a teoria da endossimbiose, que propõem que cloroplastos e mitocôndrias sejam os descendentes de procariontes que já foram de vida livre. Os transposons podem ter tido um papel na endossimbiose. Em eucariotos vivos, embora cloroplastos e mitocôndrias tenham algum DNA, o núcleo contém a maioria dos genes que codificam para as proteínas das organelas. Se as organelas já foram independentes uma vez, deveriam originalmente possuir todos esses genes. Como os genes se moveram para o núcleo? Eles poderiam ter feito isto por transposição de DNA entre as organelas e o núcleo, o que ainda ocorre atualmente. O DNA que permanece nas organelas pode ser o vestígio de genomas procariontes mais completos.

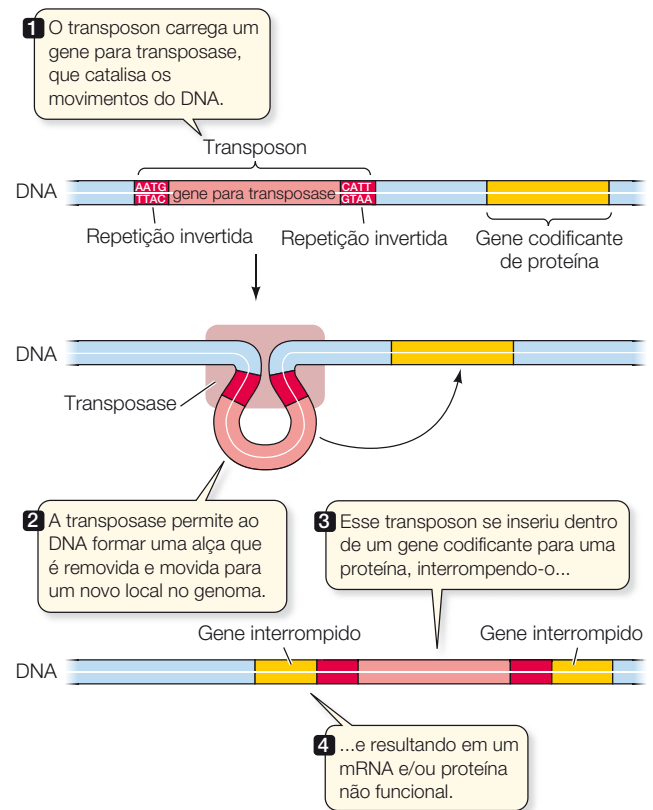


Figura 14.4 Transposons de DNA e transposição No final de cada transposon de DNA existe uma sequência repetida invertida que ajuda no processo de transposição.

14.1 RECAPITULAÇÃO

O sequenciamento do genoma de organismos modelo demonstrou características comuns do genoma de eucariotos, que incluem a presença de sequências repetitivas e transposons.

- Você pode descrever algumas das principais diferenças entre genomas procarióticos e eucarióticos? Ver p. 307-308 e Tabela 14.1.
- Qual é uma função dos genes encontrados em *C. elegans* que não possuem contrapartida no genoma de leveduras? Ver p. 309.
- Para que serve ter múltiplas cópias de sequências que codificam rRNA no genoma de mamíferos? Ver p. 311.
- Quais efeitos os transposons podem ter sobre o genoma? Ver p. 312 e Figura 14.4.

Estudos dos genomas de eucariotos revelaram que eles contêm tanto sequências codificantes quanto não codificantes. Em seguida veremos o assunto no coração da genética molecular: genes que codificam proteínas e os incríveis achados de que regiões não codificantes existem até mesmo dentro destes genes.

14.2 Quais são as características dos genes eucarióticos?

Da mesma maneira que suas contrapartes procarióticas, vários genes codificantes de proteínas, nos eucariotos, existem apenas em uma cópia por genoma haploide. Mas os genes eucarióticos apresentam duas características distintas que não são comuns entre os procariotos:

- contêm sequências internas não codificantes.

- formam famílias de genes – grupos de “primos” relacionados estrutural e funcionalmente dentro do genoma.

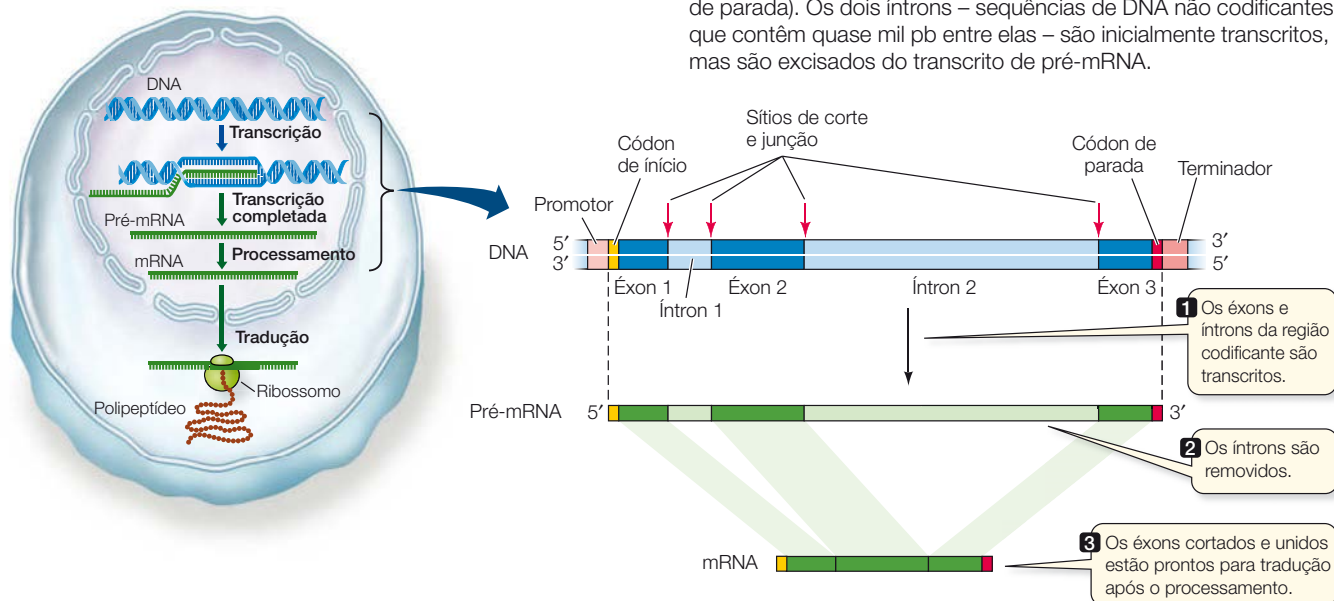
Genes codificantes para proteínas contêm sequências não codificantes

A estrutura e a transcrição de um gene eucariótico típico encontram-se representadas na **Figura 14.5**. Precedendo a região codificante de um gene eucariótico está um *promotor*, ao qual uma RNA-polimerase se liga a fim de iniciar o processo de transcrição. Entretanto, diferentemente da enzima procariótica, a RNA-polimerase eucariótica não reconhece a sequência promotora por si só, mas necessita da ajuda de outras moléculas, segundo veremos mais adiante. Na outra extremidade do gene, após a sequência codificante, existe uma sequência de DNA apropriadamente chamada de **terminador**, que sinaliza o final da transcrição. É importante distinguir o terminador do códon de parada:

- A sequência *terminadora* está normalmente após o códon de parada e sinaliza o final da transcrição pela RNA-polimerase.
- O *códon de parada* encontra-se dentro da região codificante e, quando transcrito em mRNA, sinaliza o final da tradução no ribossomo.

Genes eucariotos codificantes para proteínas também podem conter sequências de bases não codificantes, chamadas de **íntrons**. Um ou mais íntrons podem estar intercalados com sequências codificantes, que se chamam **éxons**. Os transcritos dos íntrons aparecem no transcrito primário do mRNA, chamado de **pré-mRNA**, mas eles são removidos no momento em que o RNA maduro – o mRNA final que será traduzido – deixa o núcleo. O processamento do pré-mRNA envolve a retirada dos íntrons do transcrito de pré-mRNA e a união dos transcritos dos éxons remanescentes.

Como localizar os íntrons dentro de um gene eucariótico? A maneira mais fácil é por **hibridização de ácidos nucleicos**, o



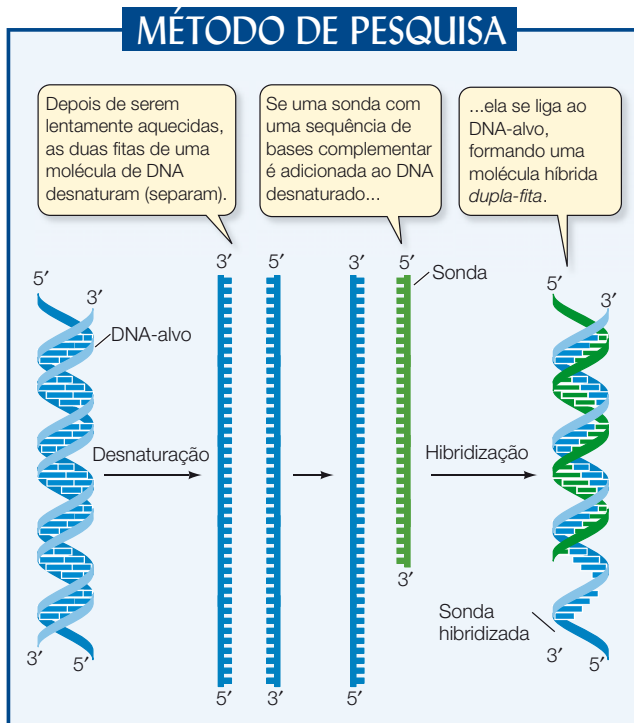


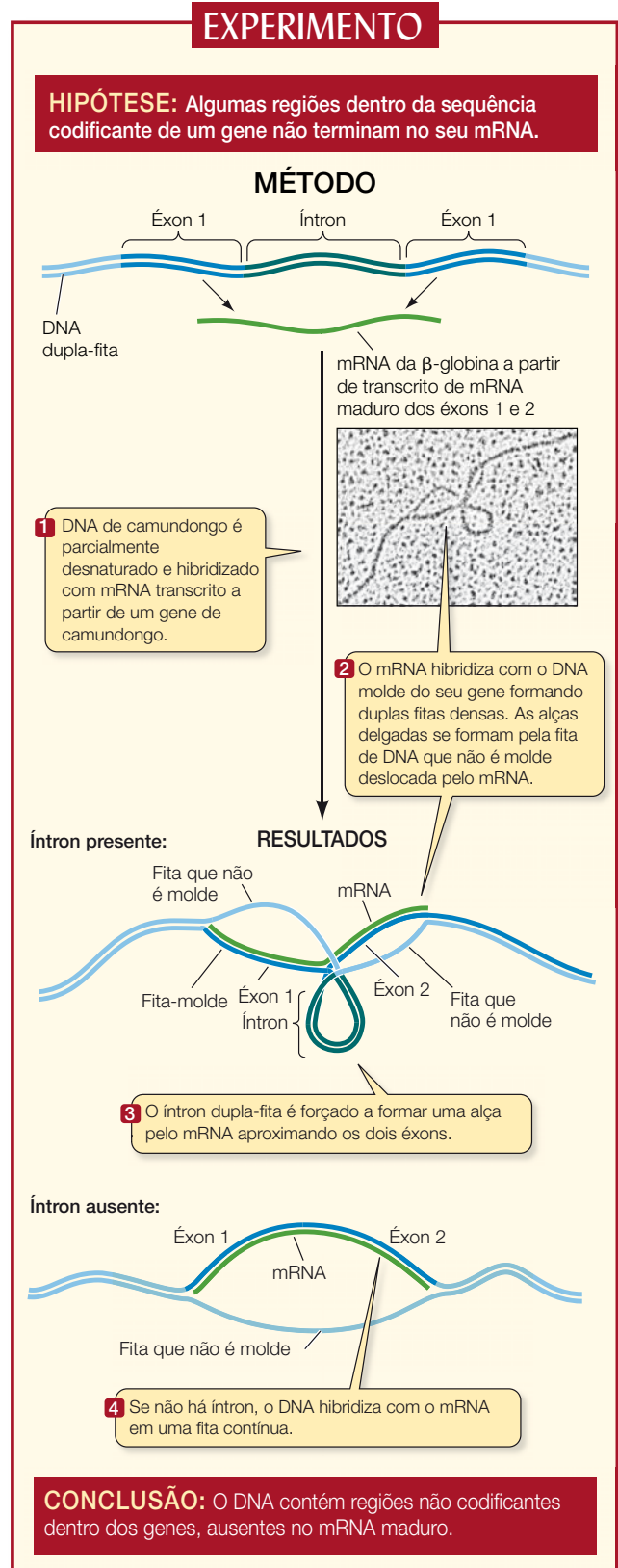
Figura 14.6 Hibridização de ácidos nucleicos O pareamento de bases permite a detecção de uma complementaridade de sequência com a sonda.

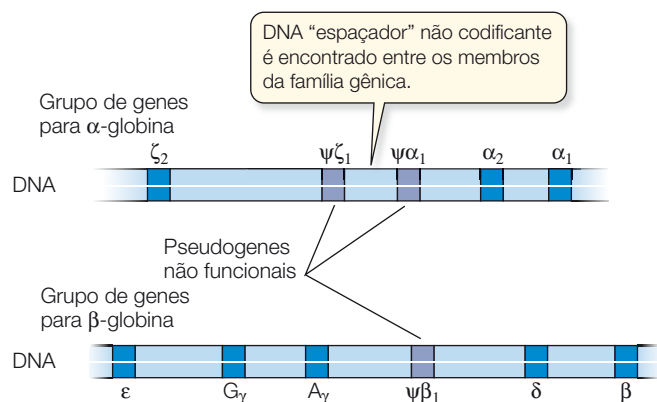
método que originalmente revelou a existência dos íntrons. Este método, representado na **Figura 14.6** tem sido crucial no estudo do relacionamento entre genes eucarióticos e seus transcritos. Ele envolve duas etapas:

- O DNA-alvo é desnaturado para quebrar as pontes de hidrogênio entre os pares de base e separado em duas fitas.
- Um ácido nucleico fita simples de outra fonte (chamado de **sonda**) é incubado com o DNA desnaturado. Se a sonda possui complementaridade na sequência de bases ao DNA-alvo, ocorre a formação de uma dupla-hélice entre a sonda e o alvo por pontes de hidrogênio entre as bases. Como as duas fitas são de fontes diferentes, a molécula dupla-fita resultante é chamada de *híbrida*.

Biólogos usaram a hibridização de ácidos nucleicos para examinar o gene da β-globina, que codifica uma das proteínas globina que faz parte da hemoglobina. Observe o experimento na **Figura 14.7**

Figura 14.7 A hibridização de ácidos nucleicos revelou a existência dos íntrons. Quando um transcrito de mRNA do gene da β-globina foi hibridizado com o DNA dupla-fita daquele gene, os íntrons no DNA formaram uma alça, demonstrando que a região codificante de um gene eucariótico pode conter DNA não codificante que não está presente no transcrito de mRNA maduro. **PESQUISA ADICIONAL:** Desenhe o resultado assumindo que existiam três éxons e dois íntrons.





cuidadosamente, à medida que descrevemos o que eles fizeram e o que aconteceu.

Primeiro os pesquisadores desnaturaram o DNA contendo o gene para β-globina aquecendo-o lentamente, então adicionaram mRNA de β-globina madura, isolado previamente. Conforme esperado, o mRNA ligou-se ao DNA por meio do pareamento de bases complementares. Os pesquisadores esperavam obter uma combinação linear (1:1) do mRNA ao DNA codificante. Em parte, obtiveram o desejado: realmente havia extensões de hibridizações RNA-DNA, mas também visualizaram algumas estruturas de alça. Essas eram os íntrons, extensões de DNA que não tinham bases complementares no mRNA maduro.

Estudos posteriores mostrariam a completa hibridização do *pré*-mRNA ao DNA, revelando que os íntrons realmente consistiam em parte do transcrito de pré-mRNA. Em alguma parte da via entre o transcrito primário (*pré*-mRNA) e o mRNA maduro, os íntrons foram removidos e os éxons emendados. Esse processo de corte e de junção estudaremos na próxima seção.

A maioria (mas não todos) dos genes de vertebrados contém íntrons, assim como vários outros genes eucarióticos (e até alguns poucos procarióticos). O maior gene humano, para a proteína muscular chamada titina, possui 363 éxons, que juntos codificam 38.138 aminoácidos. Os íntrons interrompem, mas não misturam, as sequências de DNA que codificam uma cadeia polipeptídica. A sequência de bases dos éxons, na ordem, é complementar àquela do produto do mRNA maduro. Em alguns casos, os éxons separados codificam diferentes regiões funcionais, ou domínios, da proteína. Por exemplo, os polipeptídeos da globina que compõem a hemoglobina apresentam dois domínios: um para ligação a um pigmento não proteico, chamado de heme, e outro para ligação a outras subunidades da globina. Esses dois domínios são codificados pelos diferentes éxons nos genes da globina.

Famílias gênicas são importantes na evolução e especialização celular

Cerca da metade de todos os genes eucarióticos que codificam proteínas encontra-se presente em cópia única no genoma haploide (duas cópias nas células somáticas). O resto está presente em cópias múltiplas. Durante a evolução, as cópias de um gene podem sofrer mutações separadas, dando origem a um grupo de genes intimamente relacionados, chamado de **família gênica**. Algumas famílias gênicas, como os genes que codificam proteínas globina que fazem parte da hemoglobina, contêm somente alguns membros; outras famílias, como os genes que codificam as imu-

Figura 14.8 A família gênica da globina Os grupos de α-globina e β-globina da família gênica da globina humana localizam-se em cromossomos diferentes. Os genes de cada grupo estão separados por DNA "espaçador" não codificante. Os pseudogenes não funcionais são representados pela letra grega psi (ψ). O gene γ apresenta duas variantes, A_γ e G_γ.

noglobulinas que compõem os anticorpos, apresentam centenas de membros.

Igualmente aos membros de qualquer família, as sequências de DNA de uma família gênica normalmente diferem entre si. Enquanto um membro retém a sequência de DNA original e codifica a proteína correta, os outros membros podem mutar pouco, muito ou nada. A disponibilidade desses genes "extras" é importante para "experimentos" na evolução: se o gene mutado é útil, poderá ser selecionado para as gerações seguintes. Se o gene mutado resulta em perda total, a cópia funcional continuará lá para salvar o dia.

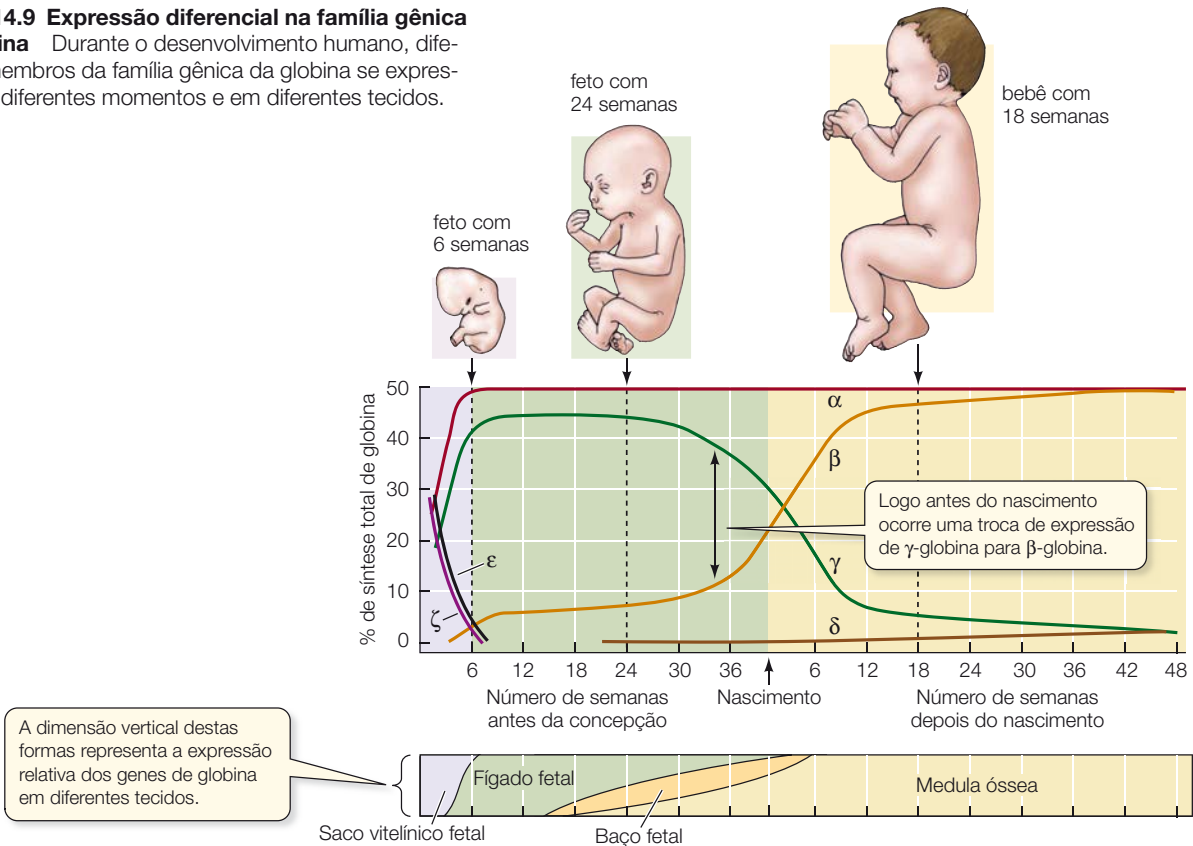
A família gênica que codifica as globinas é um bom exemplo das famílias gênicas encontradas nos vertebrados. Essas proteínas encontram-se na hemoglobina, assim como na mioglobina (uma proteína ligadora de oxigênio presente no músculo). Todos os genes de globina surgiram a partir de um único gene ancestral comum há muito tempo. Nos humanos, existem três membros funcionais do grupo da alfa-globina (α-globina) e cinco no grupo da beta-globina (β-globina) (**Figura 14.8**). Em adultos, cada molécula de hemoglobina consiste em um tetrâmero contendo duas subunidades de α-globina idênticas, duas subunidades de β-globina idênticas e quatro pigmentos heme (cada um contido dentro de uma subunidade de globina) (ver Figura 3.9).

Durante o desenvolvimento humano, diferentes membros do grupo de genes da globina são expressos em diferentes momentos e em diferentes tecidos (**Figura 14.9**). Essa *expressão gênica diferencial* tem grande significância fisiológica. Por exemplo, a γ-globina, uma subunidade encontrada na hemoglobina do feto humano, liga-se ao O₂ mais fortemente do que a hemoglobina de um adulto. Essa forma especializada de hemoglobina assegura que na placenta, onde as circulações materna e fetal se aproximam uma da outra, o O₂ seja transferido do sangue da mãe para o do feto em desenvolvimento. Um pouco antes do nascimento, a síntese de hemoglobina fetal no fígado para e a medula óssea assume produzindo as formas adultas. Dessa forma, hemoglobinas com diferentes afinidades de ligação ao O₂ são fornecidas em diferentes momentos do desenvolvimento humano.

Além dos genes que codificam proteínas, várias famílias gênicas incluem os **pseudogenes** não funcionais, representados pela letra grega psi (ψ) (ver Figura 14.8). Esses pseudogenes consistem na "ovelha negra" de uma família gênica: são o resultado de mutações que causam a perda de função, em vez de uma função aumentada ou nova.

A sequência de DNA de um pseudogene pode não ser muito diferente daquela de outros membros da família. Ela pode ter somente perdido um promotor, por exemplo, e assim não ser transcrita. Ou ter perdido os sítios de reconhecimento para a remoção de íntrons (processo descrito na próxima seção) e assim ser transcrita em pré-mRNA, mas não processada corretamente em um mRNA maduro útil. Em algumas famílias gênicas, os pseudogenes ultrapassam o número de genes funcionais. Como alguns membros da família são funcionais, parece haver pouca pressão seletiva na evolução a fim de eliminar os pseudogenes.

Figura 14.9 Expressão diferencial na família gênica da globina Durante o desenvolvimento humano, diferentes membros da família gênica da globina se expressam em diferentes momentos e em diferentes tecidos.



14.2 RECAPITULAÇÃO

A maioria dos genes eucarióticos contém sequências não codificantes chamadas de íntrons, que são removidas dos transcritos de pré-mRNA. Vários genes eucarióticos pertencem a grupos de genes intimamente relacionados chamados de famílias gênicas.

- Você pode descrever o método da hibridização de ácidos nucleicos? Ver p. 314 e Figura 14.6.
- Você pode descrever o experimento que mostrou que o gene da β -globina contém íntrons? Ver p. 315 e Figura 14.7.
- O que são famílias gênicas e como elas podem ser importantes na evolução? Ver p. 315.

Agora sabemos de que forma os genes eucarióticos que codificam proteínas contêm algumas sequências que não aparecem no mRNA maduro traduzido em proteínas. Como essas sequências não codificantes são eliminadas do transcrito de pré-mRNA?

14.3 Como os transcritos de genes eucarióticos são processados?

O transcrito primário de um gene eucarioto modifica-se de duas maneiras antes de deixar o núcleo: ambas as extremidades do pré-mRNA são modificadas e os íntrons removidos.

O transcrito primário de um gene que codifica uma proteína é modificado em ambas as extremidades

Duas etapas no processamento do pré-mRNA ocorrem no núcleo, uma em cada extremidade da molécula (Figura 14.10):

- O **quepe G** é adicionado à extremidade 5' do pré-RNA, à medida que é transcrito. O quepe G consiste em uma molécula de guanosina trifosfato (GTP) modificada quimicamente. Ele aparentemente facilita a ligação do mRNA ao ribossomo para a tradução e protege o mRNA de ser digerido por *ribonucleases* que quebram os RNA.
- A **cauda de poli A** é adicionada à extremidade 3' do pré-mRNA no final da transcrição. Próximo à extremidade 3' do pré-mRNA e após o último códon existe a sequência AAUAAA. Essa sequência atua como sinal para uma enzima cortar o pré-mRNA. Imediatamente após essa clivagem, outra enzima adiciona de 100 a 300 bases adenina (poli A) à extremidade 3' do pré-mRNA. Essa "cauda" auxilia na exportação do mRNA do núcleo e é importante para a estabilidade do mRNA.

Um mecanismo de corte e de junção (*splicing*) remove íntrons do transcrito primário

O próximo passo no processamento de pré-mRNA eucariótico dentro do núcleo é a retirada dos íntrons. Se essas regiões de RNA não fossem removidas, o resultado seria um mRNA traduzido em uma sequência de aminoácidos muito diferente e possivelmente uma proteína não funcional. Um processo chamado de **corte e de junção de RNA** retira os íntrons e emenda as extremidades.

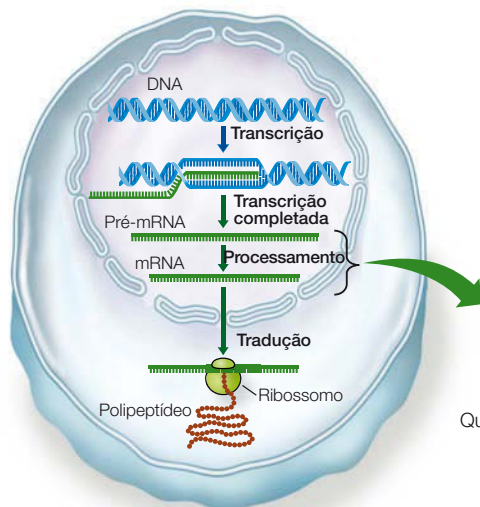
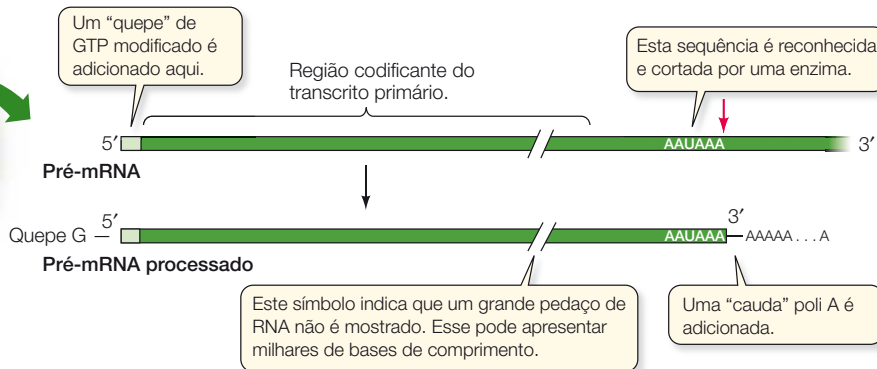


Figura 14.10 Processamento das extremidades do pré-mRNA eucariótico As modificações nas extremidades opostas do transcrito de pré-mRNA – o quepe G e a cauda poli A – são importantes para a função do mRNA.



Logo depois que o pré-mRNA é transcrito, liga-se por várias **pequenas partículas de ribonucleoproteínas nucleares (snRNP)**, do inglês *small nuclear ribonucleoprotein particles*, normalmente pronunciadas "snurps"). Existem vários tipos dessas partículas RNA-proteína no núcleo.

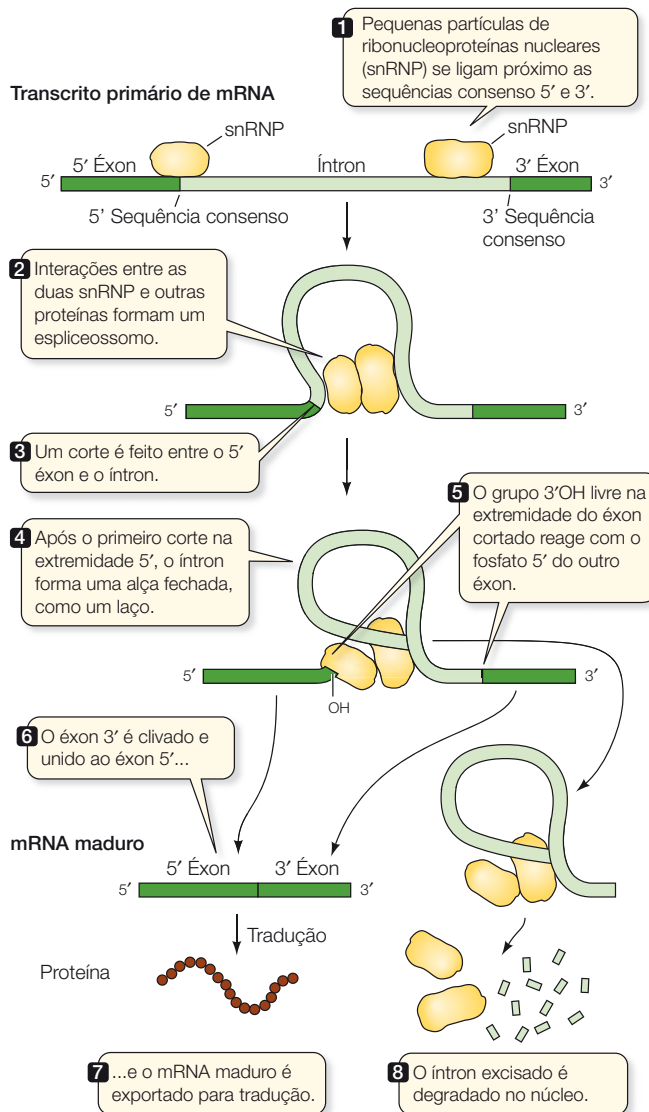
Nas junções entre íntrons e éxons existem **seqüências consenso** – curtas extensões de DNA que aparecem, com pouca variação ("consenso"), em vários genes diferentes. O RNA em uma das snRNP apresenta uma extensão de bases complementares à seqüência consenso na junção 5' éxon-íntron e une-se ao pré-mRNA por pareamento de bases complementares. Uma outra snRNP liga-se ao pré-mRNA próximo à junção 3' íntron-éxon (**Figura 14.11**).

Depois, utilizando energia a partir de ATP, proteínas são adicionadas para formar um grande complexo RNA-proteína denominada **espliceossomo**. Esse complexo corta o pré-mRNA, libera os íntrons e une as extremidades dos éxons a fim de produzir mRNA maduro.

Estudos moleculares de doenças genéticas humanas consistem em ferramentas valiosas na investigação de seqüências consenso e da maquinaria de corte e de junção. Pessoas com uma doença genética chamada de talassemia beta, por exemplo, produzem quantidades inadequadas da subunidade de β-globina da hemoglobina. Essas pessoas sofrem de anemia severa porque possuem um suprimento inadequado de células sanguíneas vermelhas. Em alguns casos, a mutação genética que causa a doença ocorre em uma seqüência consenso no gene de β-globina. Conseqüentemente, o pré-mRNA de β-globina não pode ser emendado corretamente produzindo um mRNA não funcional de β-globina.

Essa descoberta é um excelente exemplo de como as mutações podem elucidar relações de causa e efeito em biologia. Na lógica da ciência, simplesmente ligar dois fenômenos (por exemplo, seqüência consenso, corte e junção) não prova que um faz-se necessário para o outro. Em um experimento, o cientista altera um fenômeno (por exemplo, a seqüência de bases na região consenso) e observa se o outro evento (por exemplo, corte e junção) ocorre. Na talassemia beta a natureza realizou o experimento por nós.

Figura 14.11 O espliceossomo: máquina de corte e junção de RNA A ligação de snRNP a seqüências consenso ao redor dos íntrons no pré-mRNA alinha a maquinaria de corte e junção. Depois que as snRNP se ligaram ao pré-mRNA, outras proteínas se unem ao complexo para formar um espliceossomo. Este mecanismo determina a posição exata de cada corte no pré-mRNA, com muita precisão.



Após o processamento ter sido completado no núcleo, o mRNA maduro deixa a organela por poros nucleares. Uma proteína chamada TAP se liga a extremidade 5' do mRNA processado. Esta proteína por sua vez se liga a outras, que são reconhecidas por um receptor no poro do núcleo. Pré-mRNAs não processados ou incompletamente processados permanecem no núcleo.

14.3 RECAPITULAÇÃO

O transcrito primário de um gene eucariótico modifica-se enquanto está no núcleo. Primeiro, suas extremidades 5' e 3' são modificadas, e então seus íntrons são removidos.

- Você pode descrever como o transcrito de pré-mRNA modifica-se nas extremidades 5' e 3'? Ver p. 316 e Figura 14.10.
- Como ocorre o corte e junção do RNA? Quais são as consequências se isso não ocorrer corretamente? Ver p. 317 e Figura 14.11.

Enquanto cada uma das células somáticas de um organismo multicelular contém um grupo completo de genes, nenhuma célula expressa todos esses genes. Cada tipo de célula normalmente expressa apenas aqueles genes que ela necessita para o seu próprio desenvolvimento e função. A forma como a célula controla a expressão gênica é o assunto da próxima seção.

14.4 Como é regulada a transcrição de genes eucarióticos?

Para que o desenvolvimento prossiga normalmente, e cada célula em um organismo multicelular adquira e mantenha sua função especializada apropriada, certas proteínas devem ser sintetizadas no momento exato e nas células exatas. Dessa maneira, a expressão de genes eucarióticos deve ser precisamente regulada. Diferente da replicação de DNA, que se regula em cada célula, na base de todas ou nenhuma, a expressão é altamente seletiva.

A expressão gênica pode ser regulada em vários pontos diferentes no processo de transcrição e tradução do gene em uma proteína (Figura 14.12). Nesta seção descreveremos os mecanismos que resultam na transcrição seletiva de genes específicos. Alguns desses mecanismos envolvem proteínas nucleares que alteram a função ou estrutura dos cromossomos. Em outros casos, a regulação da transcrição envolve mudanças no próprio DNA: genes podem ser replicados de forma seletiva para oferecer mais moldes à transcrição, ou mesmo reorganizados no cromossomo. Nas duas próximas seções examinaremos a regulação da expressão gênica eucariótica após a transcrição.

Genes específicos podem ser transcritos de forma seletiva

As células do cérebro e do fígado de um camundongo apresentam algumas proteínas em comum e outras que são características de cada tipo de célula. No entanto, ambas as células têm as mesmas sequências de DNA e, portanto, os mesmos genes. Será a diferença no conteúdo das proteínas resultado da transcrição diferencial dos genes? Ou será que todos os genes são transcritos em ambos os tipos de células e um mecanismo que ocorre após a transcrição se responsabiliza pelas diferenças nas proteínas?

Essas duas alternativas – *regulação transcricional e regulação pós-transcricional* – podem ser distinguidas pela análise das sequências reais de mRNA feitas dentro do núcleo de cada tipo de célula. Essas análises indicam que para algumas proteínas o mecanismo de regulação é a transcrição diferencial de genes. Tanto células do cérebro quanto do fígado, por exemplo, transcrevem

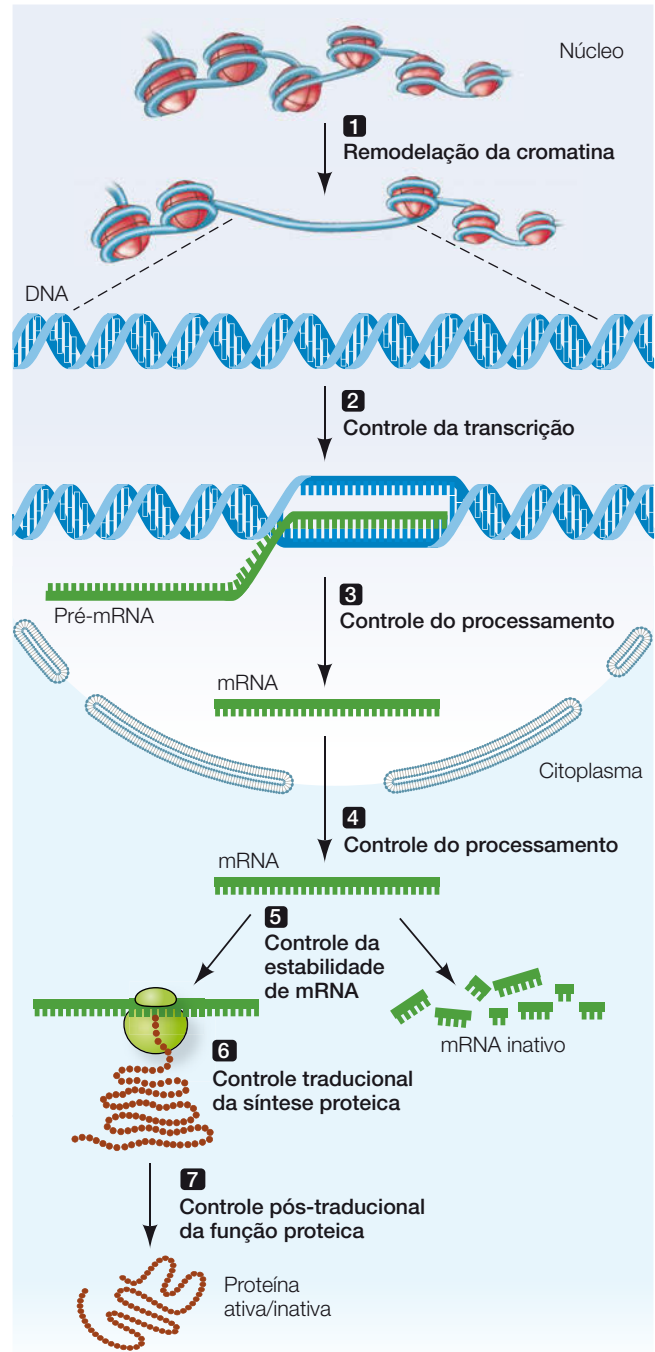


Figura 14.12 Pontos em potencial para a regulação da expressão gênica A expressão gênica pode ser regulada antes da transcrição (1), durante a transcrição (2, 3), após a transcrição, mas antes da tradução (4, 5), na tradução (6) ou após a tradução (7).

genes “governantes” (*housekeeping*) – aqueles que codificam proteínas envolvidas nos processos metabólicos básicos que ocorrem em cada célula viva, como as enzimas da glicólise. Mas as células do fígado transcrevem alguns genes para proteínas específicas desse órgão; e as células do cérebro também transcrevem alguns genes para proteínas específicas dele. E nenhuma dessas células transcreve genes para proteínas características dos músculos, do sangue, dos ossos e de outros tipos de células especializadas no organismo.

COMPARANDO EUCARIOTOS E PROCARIOTOS Diferente dos procariotos, em que genes relacionados funcionalmente são frequentemente agrupados em ôperons transcritos como uma unidade, os eucariotos tendem a ter genes solitários. Assim, a regulação de vários genes de uma vez necessita de elementos de controle comuns em cada um dos genes, o que permite que todos eles respondam ao mesmo sinal.

Ao contrário de uma única RNA-polimerase nas bactérias, os eucariotos têm três RNA-polimerases diferentes. Cada polimerase eucariótica catalisa a transcrição de um tipo específico de gene. Somente uma (RNA-polimerase II) transcreve genes que codificam proteínas. As outras duas transcrevem o DNA que codifica rRNA (polimerase I) e para tRNA e pequenos RNA nucleares (polimerase III).

A diversidade de polimerases eucarióticas reflete-se na diversidade de promotores eucarióticos, que tendem a ser muito mais variados nas suas sequências do que os promotores procarióticos. Além disso, a maioria dos genes eucarióticos apresenta sequências adicionais que podem regular a velocidade da sua transcrição. Restringiremos a seguinte discussão à RNA-polimerase II, que catalisa a transcrição da maioria dos genes que codifica para proteínas, mas os mecanismos para as duas outras RNA-polimerases se assemelham.

FATORES DE TRANSCRIÇÃO Conforme descrito na Seção 12.3, o promotor procariótico consiste em uma sequência de DNA próxima à extremidade 5' da região codificante de um gene ou ôperon onde a RNA-polimerase inicia a transcrição. Um promotor procariótico possui duas sequências essenciais. A primeira trata-se da **sequência de reconhecimento** – a sequência reconhecida pela RNA-polimerase. A segunda, próxima ao ponto de iniciação, é o **TATA box** (ou caixa TATA, assim chamada por ser rica em pares de bases AT), onde o DNA começa a desnaturar para que a fita-molde possa ser exposta.

Algumas plantas atraem bactérias e fungos para suas raízes a fim de fornecerem a eles nutrientes importantes. Um sinal químico gerado pela planta faz com que micróbios produzam oligossacarídeos chamados de “fatores *nod*” (do inglês, *nod* (*nodulation*)). Os fatores *nod*, por sua vez, fazem a planta ativar dois fatores de transcrição que aumentam a expressão de genes, o que resulta em uma simbiose proveitosa.

As coisas são diferentes nos eucariotos. A RNA-polimerase II eucariótica não pode simplesmente se ligar ao promotor e iniciar a transcrição. Ao invés disso, ela somente o faz depois que várias proteínas reguladoras, denominadas **fatores de transcrição**, tenham se organizado sobre o cromossomo (**Figura 14.13**). Primeiro, a proteína TFIID (“TF” significa fator de transcrição) liga-se ao TATA box. Sua ligação modifica tanto a

sua própria forma quanto a do DNA, apresentando uma nova superfície que atrai a ligação de outros fatores de transcrição para formar o **complexo de transcrição**. A RNA-polimerase II não se liga enquanto várias outras proteínas não tenham se unido a este complexo.

Algumas sequências de DNA, como o TATA box, são comuns aos promotores de vários genes eucarióticos e são reconhecidas pelos fatores de transcrição que se encontram em todas as células de um organismo. Outras sequências encontradas nos promotores são específicas somente para alguns genes e reconhecidas por fatores de transcrição encontrados somente em alguns tecidos.

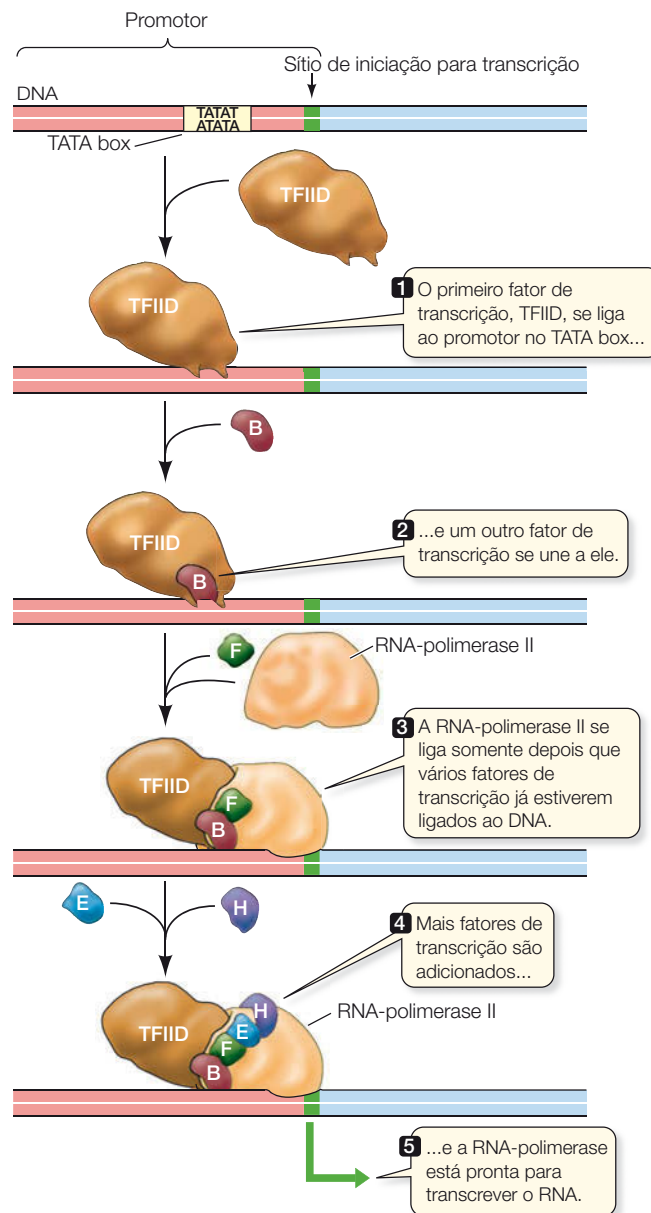


Figura 14.13 A iniciação da transcrição nos eucariotos Exceto para TFIID, que se liga ao TATA box, cada fator de transcrição neste complexo de transcrição tem sítios de ligação apenas para as outras proteínas no complexo e não se liga diretamente ao DNA. B, E, F e H são fatores de transcrição.

Esses fatores de transcrição específicos apresentam um papel importante na *diferenciação*, a especialização das células durante o desenvolvimento.

REGULADORES, REALÇADORES E SILENCIADORES NO DNA Além do promotor, outros dois tipos de sequências de DNA reguladoras ligam proteínas que ativam a RNA-polimerase. As **sequências reguladoras** recentemente descobertas agrupam-se logo antes do promotor. Várias *proteínas de regulação* (sete para o gene da β -globina) podem ligar-se a essas sequências reguladoras (Figura 14.14). Os complexos resultantes se unem ao complexo de transcrição adjacente e ativam-no.

Muito mais distante – até 20 mil pb de distância – do promotor encontram-se as **sequências realçadoras**. As sequências realçadoras ligam *proteínas ativadoras* e essa ligação estimula fortemente o complexo de transcrição. Como esses realçadores podem exercer sua influência não está claro. Em um modelo proposto, o DNA curva-se (o que é sabido) de maneira que a proteína ativadora fique em contato com o complexo de transcrição.

Além disso, existem sequências reguladoras *negativas* no DNA, chamadas de **silenciadores**, que têm o efeito contrário das realçadoras. Os silenciadores desligam a transcrição pela ligação de proteínas apropriadamente denominadas de *proteínas repressoras*.

Como essas proteínas e sequências de DNA – fatores de transcrição, reguladores, realçadoras, ativadores, silenciadores e repressores – regulam a transcrição? Aparentemente, na maioria dos tecidos, uma pequena quantidade de RNA é transcrita a partir de todos os genes, mas a combinação desses fatores determina a velocidade da transcrição. Nas células sanguíneas vermelhas imaturas da medula óssea, por exemplo, que produzem uma grande

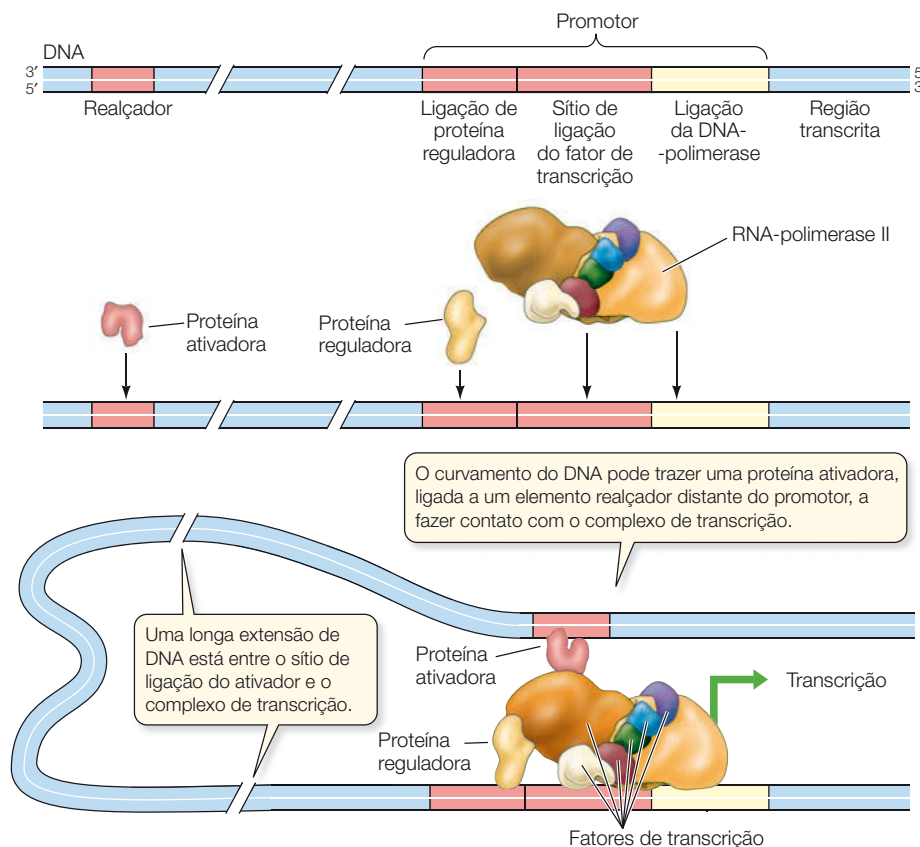
quantidade de β -globina, a transcrição do gene da β -globina é estimulada pela ligação de sete proteínas reguladoras e seis proteínas ativadoras. Todavia, nas células sanguíneas brancas, na mesma medula óssea, essas treze proteínas não são sintetizadas e não se ligam às sequências reguladoras e realçadoras adjacentes ao gene da β -globina; consequentemente, o gene da β -globina dificilmente será transcrito.

ESTRUTURAS PROTEICAS ENVOLVIDAS NAS INTERAÇÕES PROTEÍNA-DNA

A regulação e coordenação da expressão gênica requer a ligação de várias proteínas especializadas ao DNA. Entre as proteínas de ligação ao DNA, existem quatro temas estruturais comuns nos domínios das proteínas que se ligam ao DNA. Esses temas, denominadas *motivos*, consistem em diferentes combinações de elementos estruturais e componentes especiais: *hélice-volta-hélice*, *dedos de zinco*, *fecho de leucina* e *hélice-alça-hélice* (Figura 14.15). Proteínas de ligação ao DNA com motivos específicos nos seus domínios de ligação encontram-se envolvidas na ativação e inativação de certos tipos de genes, tanto durante o desenvolvimento quanto no organismo adulto.

Veremos como apenas um destes motivos funciona. Conforme mostrado na Seção 11.2, as bases complementares no DNA não apenas formam pontes de hidrogênio umas com as outras, mas podem formar pontes de hidrogênio adicionais com proteínas, particularmente em pontos expostos nas fendas maior e menor (ver Figura 11.8B). Dessa forma, uma dupla-hélice de DNA pode ser reconhecida por uma proteína cuja estrutura:

- se encaixa na fenda maior ou menor.
- tenha aminoácidos que possam projetar para dentro da dupla-hélice.
- tenha aminoácidos que possam formar pontes de hidrogênio com as bases interiores.

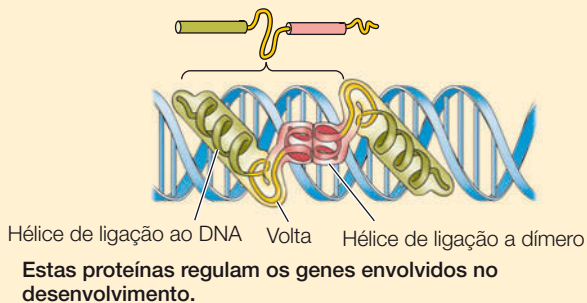


Proteínas com o motivo *hélice-volta-hélice*, no qual duas α -hélices estão conectadas por uma volta não helicoidal, encaixam-se nestes três critérios. A hélice de “reconhecimento” voltada para o interior consiste naquela cujos aminoácidos interagem com as bases dentro do DNA. A hélice voltada para o exterior encontra-se sobre o esqueleto do açúcar-fosfato, assegurando que a hélice interior seja apresentada às bases na configuração correta. Várias proteínas repressoras apresentam configuração *hélice-volta-hélice* na sua estrutura. A ligação destes repressores ao DNA previne que outras proteínas interajam com o DNA e é isto que inibe a transcrição.

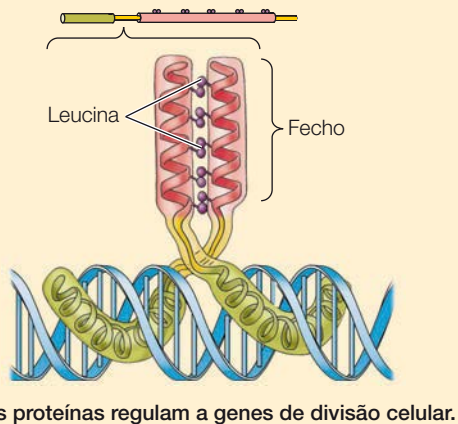
COORDENAÇÃO DA EXPRESSÃO DE VÁRIOS GENES Como as células eucarióticas coordenam a regulação de vários genes cuja transcrição deve ser iniciada

Figura 14.14 Fatores de transcrição, reguladores e ativadores As ações de várias proteínas determinam quando e onde a RNA-polimerase II transcreverá o DNA.

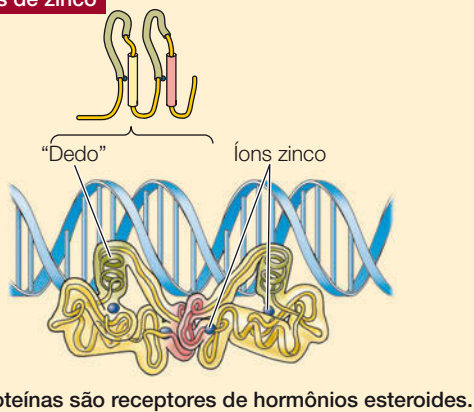
Motivo hélice-volta-hélice



Motivo fecho de leucina



Motivo dedos de zinco



Motivo hélice-alça-hélice

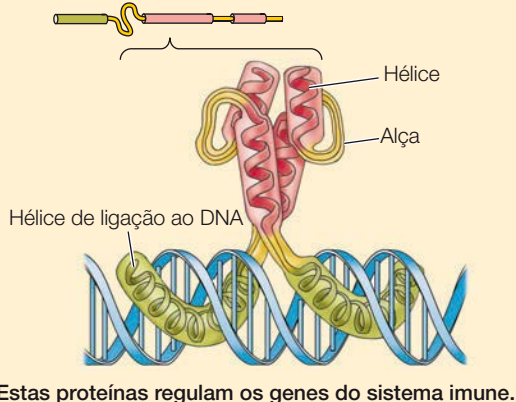


Figura 14.15 Interações proteína-DNA Os domínios de ligação ao DNA da maioria das proteínas reguladoras contêm um dos quatro motivos estruturais.

ao mesmo tempo? Nos procaríotos, genes relacionados unem-se em um óperon, e um sistema regulador único pode regular vários genes adjacentes. Contudo, em eucariotos, os vários genes cuja regulação requer coordenação, podem estar bem distantes no cromossomo ou até mesmo em cromossomos diferentes.

Em tal caso, a regulação pode ser alcançada se todos os vários genes tiverem as mesmas sequências reguladoras, que ligam as mesmas proteínas reguladoras. Um dos muitos exemplos desse fenômeno é dado pela resposta de um organismo a um estresse – por exemplo, estiagem em plantas. Sob condições do estresse da seca, a planta deve sintetizar várias proteínas, mas os genes para essas proteínas encontram-se espalhados pelo genoma. Entretanto, cada um desses genes tem uma sequência reguladora específica próxima ao seu promotor, chamada de *elemento de resposta ao estresse* (SER, do inglês *stress response element*). A ligação de uma proteína reguladora a esse elemento estimula a síntese de RNA (Figura 14.16). Essas proteínas sintetizadas a partir desses genes se envolvem não apenas na conservação da água, mas também na

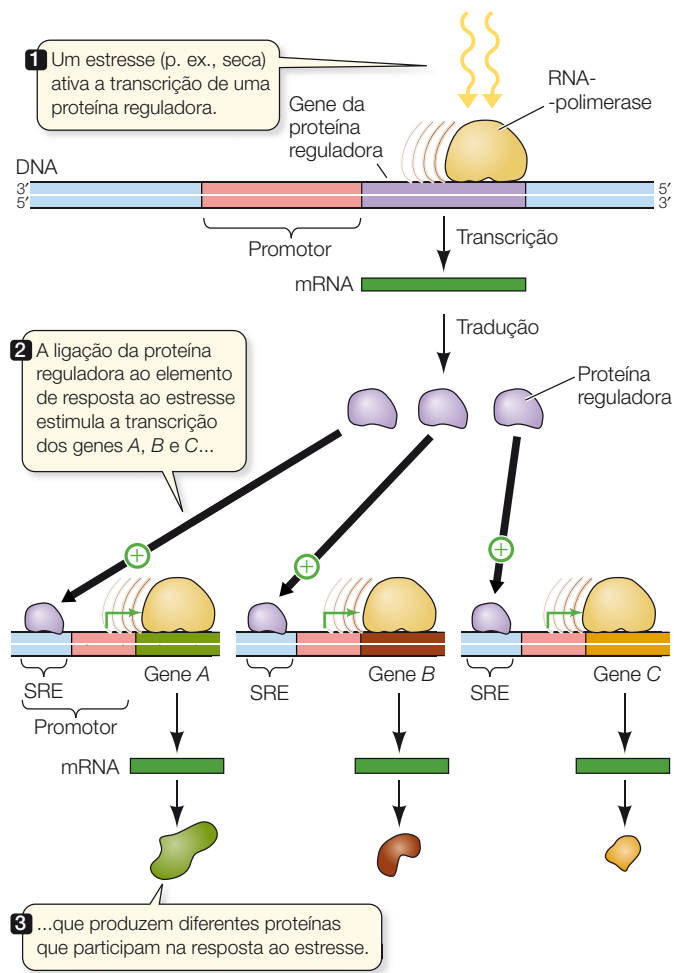


Figura 14.16 Coordenação da expressão gênica Um simples sinal do meio, como o estresse pela seca, causa a síntese de uma proteína reguladora da transcrição que atua em vários genes.

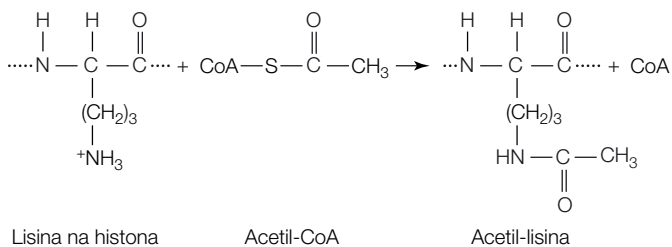
proteção da planta contra excessos de sal no solo e congelamento. Essa descoberta possui importância considerável para a agricultura, na qual as lavouras se desenvolvem geralmente abaixo das condições ideais.

A expressão gênica pode ser regulada por alterações na estrutura da cromatina

Outros mecanismos que regulam a transcrição atuam na estrutura da cromatina e dos cromossomos. Segundo descrito na Seção 9.3, os cromossomos contêm várias proteínas, assim como o DNA. O empacotamento do DNA em nucleossomos por essas proteínas nucleares pode tornar o DNA fisicamente inacessível à RNA-polimerase e ao resto do aparato de transcrição, tanto quanto a ligação de um repressor ao operador no óperon *lac* procariótico previne a transcrição (ver Seção 13.4). A estrutura da cromatina tanto no nível local quanto do cromossomo todo afeta a transcrição.

REMODELAMENTO DA CROMATINA Relembre que o DNA encontra-se enrolado ao redor de proteínas chamadas de histonas para formar uma estrutura denominada nucleossomo. Os nucleossomos bloqueiam tanto a etapa de iniciação e de elongação da transcrição. Em um processo chamado de **remodelamento da cromatina**, dois tipos de proteínas de remodelamento inativam esses dois blocos (Figura 14.17). Para permitir a iniciação, a primeira proteína de remodelamento se liga *upstream* (literalmente, “rio acima”) ao sítio de iniciação, desagregando os nucleossomos de modo que o complexo de transcrição possa se ligar e a RNA-polimerase possa iniciar a transcrição. Para permitir a elongação, a segunda proteína de remodelamento se liga, uma vez que a transcrição está ocorrendo, permitindo que o complexo de transcrição se mova pelos nucleossomos.

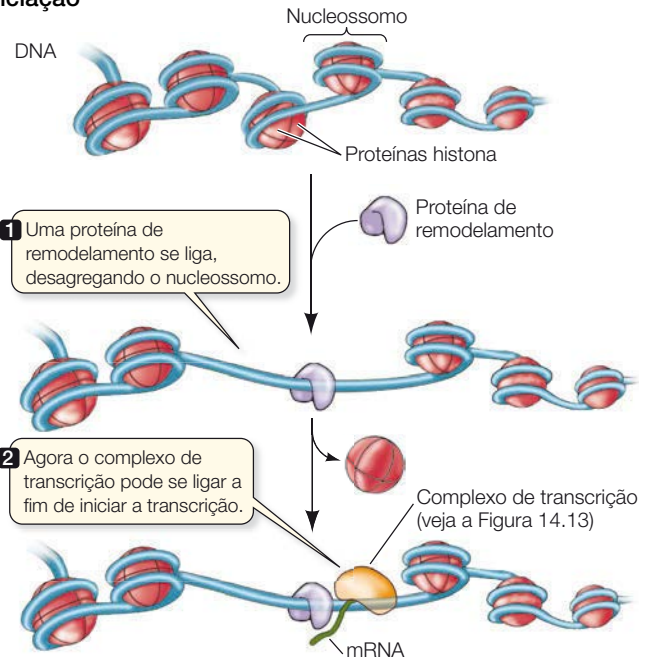
O CÓDIGO DA HISTONA Como os nucleossomos são desagregados para permitir a transcrição (e então reagregados)? Cada proteína histona possui uma “cauda” de aproximadamente 20 aminoácidos no seu N terminal que se salienta da estrutura compacta. Essa cauda tem certos aminoácidos (notavelmente lisina) carregados positivamente. Esses aminoácidos são alvo para enzimas que adicionam grupos acetil em aminoácidos carregados positivamente, alterando assim suas cargas:



A redução da carga positiva das caudas das histonas reduz a afinidade das histonas pelo DNA, abrindo o nucleossomo compacto. Comumente, como as proteínas possuem carga positiva e o DNA negativa (devido aos seus grupos fosfato), a ligação destas duas moléculas é eletrostática. Sem esta atração eletrostática, o DNA não é mais tão fortemente ligado ao nucleossomo e as proteínas de remodelamento da cromatina podem se unir ao complexo nucleossomo-DNA, mais frouxo.

Enquanto a ativação gênica chama por enzimas (*histona-acetiltransferases*) para adicionar grupos acetil, a repressão gênica

Iniciação



Elongação

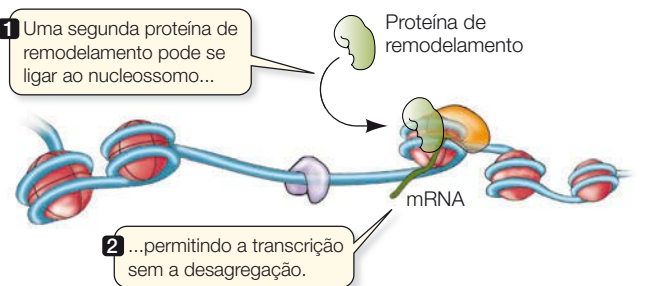
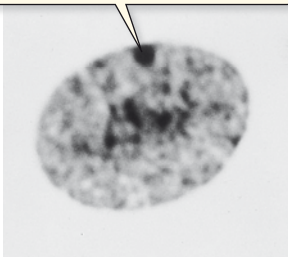


Figura 14.17 Remodelamento local da cromatina para transcrição A iniciação da transcrição requer que os nucleossomos alterem sua estrutura, tornando-se menos compactos. Isso torna o DNA acessível ao complexo de transcrição. Entretanto, durante a elongação do RNA eles permanecem intactos.

ca requer outras enzimas (*histona-deacetilases*) a fim de *remover* os grupos acetil. Essas últimas enzimas são alvo para o desenvolvimento de drogas. Certas doenças como o câncer caracterizam-se por uma proporção maior de desacetilação do que acetilação em certos genes, assim, genes que normalmente bloqueiam a divisão celular são inativos. Uma droga atuando como inibidor de histona-desacetilase inclinaria a proporção da atividade em direção da acetilação e os genes seriam ativados, desligando o ciclo celular.

No que David Allis, da Rockefeller University em Nova York, nomeou o “código da histona”, vários tipos de modificações da histona afetam a ativação e a repressão gênica. Por exemplo, as histonas são submetidas à metilação, que se associa com a inativação e a fosforilação gênica, assim como a acetilação. Todos esses efeitos são reversíveis. Dessa forma, a ativação de um gene eucariótico pelo remodelamento da cromatina pode ser determinada pelo padrão de modificação da histona.

O corpúsculo de Barr trata-se do membro inativo condensado de um par de cromossomos X na célula. O outro X não é condensado e é ativo na transcrição.



EFEITOS GLOBAIS NO CROMOSSOMO Alguns mecanismos de regulação transcricional atuam em todo o cromossomo. Ao microscópio, dois tipos de cromatina se distinguem no núcleo corado na interfase: *euromatina* e *heterocromatina*. A euromatina é difusa e se cora levemente; ela contém o DNA transcrito em mRNA. A heterocromatina se condensa e se cora fortemente; qualquer gene que contenha geralmente não é transcrito.

Possivelmente, o exemplo mais dramático de heterocromatina se observa no cromossomo X inativo dos mamíferos. Uma fêmea mamífera normal apresenta dois cromossomos X; um macho normal tem um X e um Y. Os cromossomos X e Y provavelmente surgiram a partir de um par de autossomos cerca de 300 milhões de anos atrás. Com o tempo, mutações no cromossomo Y resultaram em genes que determinam a masculinidade (ver Seção 10.4), e os cromossomos Y gradualmente perderam a maioria dos genes que uma vez eram compartilhados com seu homólogo X. Como resultado, existe uma grande diferença entre fêmeas e machos na “dosagem” de genes ligados ao X. Cada célula de uma fêmea possui duas cópias dos genes no cromossomo X e, portanto, apresenta o potencial de produzir duas vezes mais produtos proteicos desses genes do que uma célula de macho. Contudo, para 75% dos genes no X, a transcrição é geralmente a mesma, nos machos e nas fêmeas. Como isso pode ocorrer?

Mary Lyon, Liane Russel e Ernest Beutler sugeriram, de forma independente, em 1961, que um dos cromossomos X em cada célula de uma fêmea é transcionalmente inativado cedo no desenvolvimento embrionário. Isto é, propuseram que uma cópia do X permanece inativa em cada célula embrionária e em todas as células originadas dela. Em determinada célula embrionária, a “escolha” de qual X do par de X será inativado ocorre ao acaso. Relembre que um dos X na fêmea vem do pai e o outro da mãe. Assim, em uma célula embrionária, o X paterno pode ser o que permanece ativo transcionalmente, mas em uma célula vizinha, o X materno pode ser o ativo.

Durante a interfase, um único corpo nuclear corável, chamado de *corpúsculo de Barr* (após sua descoberta por Murray Barr) pode ser visto nas células de fêmeas humanas ao microscópio óptico (Figura 14.18). Esse tufo de heterocromatina, que não se encontra presente nos machos, é o cromossomo X inativado. O número de corpúsculos de Barr em um núcleo é igual ao de cromossomos X menos um (esse um representa o cromossomo X que permanece transcionalmente ativo). Dessa maneira, uma fêmea com os dois cromossomos X normais terá um corpúsculo de Barr, uma fêmea rara com três X terá dois, uma fêmea XXXX terá três e um macho XXY um. Essas observações sugerem que as células na interfase de cada pessoa, macho ou fêmea, apresentam um único cromossomo X ativo; em decorrência disso,

Figura 14.18 Um corpúsculo de Barr no núcleo de uma célula de fêmea O número de corpúsculos de Barr por núcleo iguala-se ao número de cromossomos X menos um. Assim, machos normais (XY) não apresentam corpúsculos de Barr, enquanto as fêmeas normais (XX) têm um.

a dosagem dos genes expressos do cromossomo X é constante em ambos os sexos.

A condensação do cromossomo X inativo torna suas sequências de DNA fisicamente indisponíveis para a maquinaria da transcrição. Um mecanismo de condensação consiste na adição de um grupo metil (-CH₃) na posição 5' da citosina no DNA. A metilação das citosinas está associada com genes transcionalmente inativos. Por exemplo, várias citosinas do DNA do cromossomo X inativo são metiladas, enquanto poucas delas no X ativo são metiladas. O DNA metilado parece ligar certas proteínas cromossomais responsáveis pela formação da heterocromatina.

O outro cromossomo X inativo possui um gene apenas ligeiramente metilado e transcionalmente ativo, chamado de *Xist* (transcrito específico para inativação do X). *Xist* é muito metilado e não é transcrito a partir do outro cromossomo X “ativo”. O RNA transcrito a partir de *Xist* não sai do núcleo e não consiste em um mRNA. Em vez disso, parece se ligar ao cromossomo X a partir do qual é transcrito, e essa ligação leva de alguma maneira a uma distribuição da inativação ao longo do cromossomo. Esse transcrito de RNA denomina-se **RNA de interferência** (Figura 14.19).

Como o X transcionalmente ativo supera os efeitos do RNA de *Xist*? Aparentemente, existe um gene anti-*Xist*, apropriadamente chamado de *Tsix*. Este gene codifica um RNA que se liga por pareamento de bases complementares ao RNA de *Xist* no cromossomo X ativo.

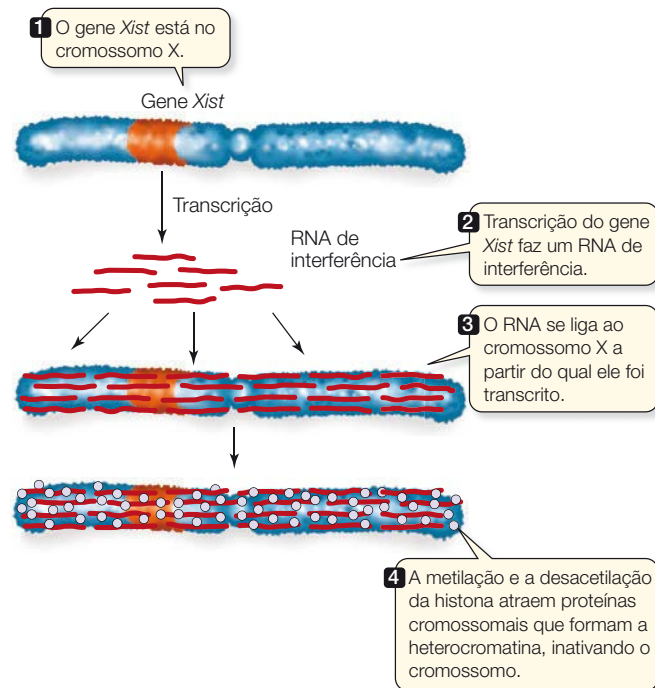


Figura 14.19 Um modelo para a inativação do cromossomo X O RNA de interferência e proteínas cromossomais combinam a fim de inativar o cromossomo X.

A amplificação seletiva de genes resulta em mais moldes para a transcrição

Outra maneira para uma célula produzir maior quantidade de um produto gênico do que outra consiste em fazer mais cópias do gene apropriado e transcrever todas elas. O processo de criar mais cópias de um gene para aumentar a sua transcrição se chama de **amplificação gênica**.

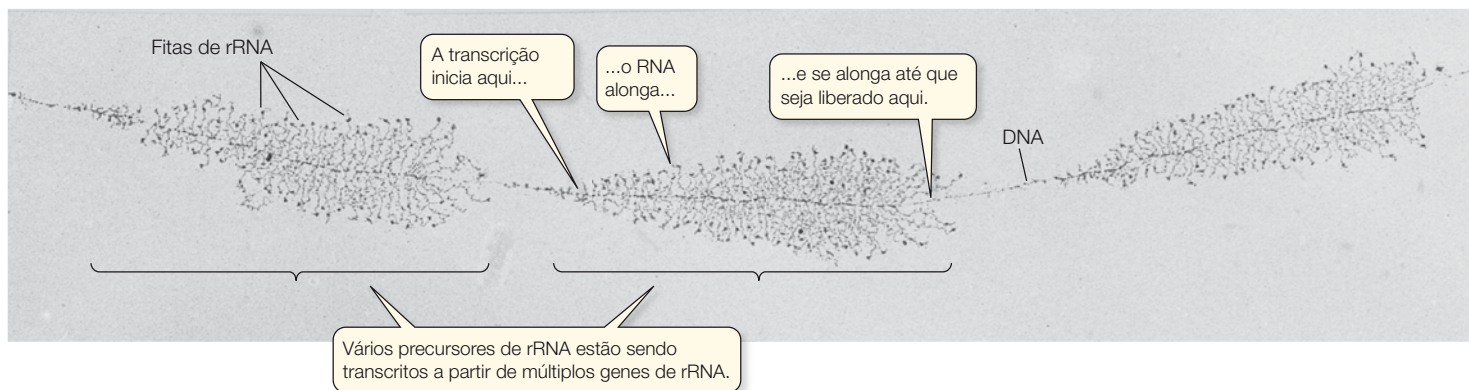
Conforme descrito anteriormente, os genes que codificam três dos quatro RNA ribossomais humanos estão ligados em uma unidade, e essa unidade repete-se várias centenas de vezes no genoma de modo a prover múltiplos moldes para a síntese de rRNA (rRNA é o tipo mais abundante de RNA na célula). Em algumas circunstâncias, entretanto, mesmo essa repetição moderada não é suficiente para satisfazer à demanda da célula.

Por exemplo, os ovos maduros de sapos e de peixes possuem trilhões de ribossomos. Esses ribossomos são utilizados na síntese massiva de proteínas após a fertilização. A célula precursora que se diferenciará em ovo contém menos de mil cópias do grupo de genes para rRNA e levaria 50 anos até fazer um trilhão de ribossomos, se transcrevesse aqueles genes de rRNA com alta eficiência. Como o ovo acaba tendo tantos ribossomos (e tanto rRNA)?

A célula soluciona esse problema amplificando de forma seletiva seus grupos de genes de rRNA até que tenham mais de um milhão de cópias (Figura 14.20). De fato, esse complexo de genes vai de 0,2% do genoma total a 68%. Essas milhões de cópias, transcritas na velocidade máxima, são suficientes para fazer o trilhão de ribossomos necessários em poucos dias.

O mecanismo para amplificação seletiva de um único gene não está claramente entendido, mas tem importantes implicações médicas. Em alguns cânceres, um gene causador de câncer, chamado de *oncogene* é amplificado (ver Seção 17.4). Além disso, quando alguns tumores são tratados com uma droga cujo alvo é uma única proteína, a amplificação do gene para a proteína-alvo leva a um excesso dessa proteína e a célula torna-se resistente à dose prescrita da droga.

Figura 14.20 Transcrição a partir de múltiplos genes para rRNA Fitas em elongação dos transcritos de rRNA formam regiões em forma de seta, cada uma centrada em uma sequência de DNA que codifica para três das quatro subunidades ribossomais.



14.4 RECAPITULAÇÃO

Vários fatores de transcrição devem se ligar a um promotor eucariótico antes que a RNA-polimerase se ligue a ele e comece a transcrição, fornecendo várias maneiras de aumentar ou diminuir a transcrição. Proteínas que se fixam à cromatina, as modificações químicas das histonas e nucleossomos e a amplificação gênica seletiva também podem influenciar a transcrição.

- Você pode descrever alguns das diferentes maneiras nas quais os fatores de transcrição regulam a transcrição gênica? Ver p. 319-320 e Figura 14.13.
- O que é o código da histona? Ver p. 322.
- Você compreende por que e como ocorre a inativação do cromossomo X? Ver p. 323.

Existem várias maneiras de regular a expressão gênica mesmo depois de o gene ter sido transcrito. O processamento do pré-mRNA descrito na Seção 14.3 é meramente uma oportunidade de fazê-lo.

14.5 Como a expressão de genes eucarióticos é regulada após a transcrição?

Segundo vimos, o pré-mRNA processa-se pelo corte dos íntrons e junção dos éxons. Se os éxons são deletados seletivamente do pré-mRNA, diferentes proteínas podem ser sintetizadas. A longevidade do mRNA no citoplasma também pode ser regulada: quanto mais tempo um mRNA pode existir no citoplasma, mais da sua proteína se produz.

Diferentes mRNA podem ser produzidos a partir do mesmo gene por corte e junção alternativos

A maioria dos transcritos de pré-mRNA contém vários íntrons (ver Figura 14.5). Vimos de que modo o mecanismo de corte e de junção reconhece as ligações entre os éxons e os íntrons. O que aconteceria se o pré-mRNA para β -globina, que tem dois íntrons, fosse emendado do início do primeiro íntron até o final do segundo? Não somente os dois íntrons, mas também o éxon do meio, seria retirado. Uma proteína inteiramente nova (certamente não

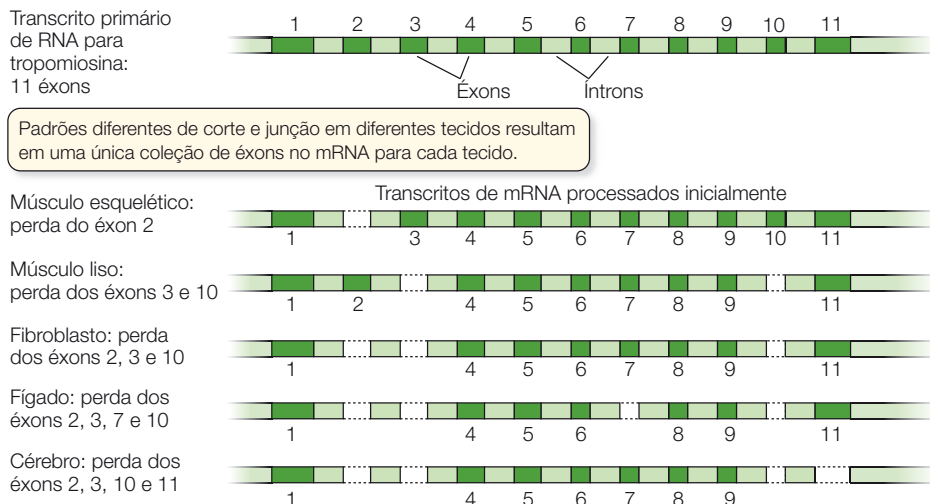


Figura 14.21 O corte e a junção alternativos resultam em mRNA maduros e proteínas diferentes Em mamíferos, a proteína tropomiosina é codificada por um gene que possui 11 éxons. O pré-mRNA para tropomiosina é cortado e unido diferentemente em tecidos distintos, resultando em cinco formas diferentes da proteína.

níveis de complexidade entre os organismos.

A estabilidade do mRNA pode ser regulada

O DNA, na condição de material genético, deve permanecer estável, e como vimos na Seção 11.3, existem mecanismos elaborados para reparo se ele se danificar. Entretanto, o RNA não tem tais mecanismos de reparo. Depois de chegar ao citoplasma, o mRNA submete-se à quebra catalisada pelas ribonucleases que existem tanto no citoplasma quanto nos lisossomos. Quanto menos tempo o mRNA permanecer no citoplasma, menos de sua proteína poderá ser traduzida. Todavia, nem todos mRNA eucarióticos apresentam o mesmo tempo de vida. Diferenças na estabilidade dos mRNA fornecem um outro mecanismo de regulação pós-traducional de síntese proteica.

Sequências nucleotídicas específicas ricas em AU dentro de alguns mRNA os marcam para uma rápida degradação por um complexo da ribonuclease chamado de **exossomo**. Moléculas de sinalização como fatores de crescimento, por exemplo, produzem-se apenas quando necessárias e então são degradadas rapidamente. Seus mRNA são altamente instáveis por conterem uma sequência rica em AU.

Pequenos RNA podem degradar mRNA

Os RNA muito pequenos – cerca de 20 bases de comprimento – complementares a uma região no mRNA podem se ligar por pareamento de bases àquele mRNA antes que ele se direcione para o ribossomo. Essa ligação faz com que o mRNA-alvo se degrade, mas mesmo se sobreviver, sua tradução inibe-se porque o tRNA não pode se ligar a região de bases já pareada. Embora apenas descoberto recentemente, estes **micro RNA** consistem em um mecanismo comum de regulação pós-transcricional. Existem cerca de 250 genes no genoma humano que codificam micro-RNA.

Pequenos mRNA iniciam como moléculas dupla fita de 70 nucleotídeos. Um complexo proteico apropriadamente chamado de **cutador** fraciona os RNA em “micro” pedaços e os direciona para seus mRNA-alvo (Figura 14.22). Eles foram implicados no controle de genes com uma ampla variedade de funções, variando do desenvolvimento do sistema nervoso no verme redondo, até a apoptose na mosca-das-frutas, desenvolvimento de flores nas plantas e desenvolvimento do sistema sanguíneo em humanos. Conforme veremos no Capítulo 16, pequenos RNA estão sob desenvolvimento na forma de drogas para bloquear a expressão de certos genes humanos nas doenças.

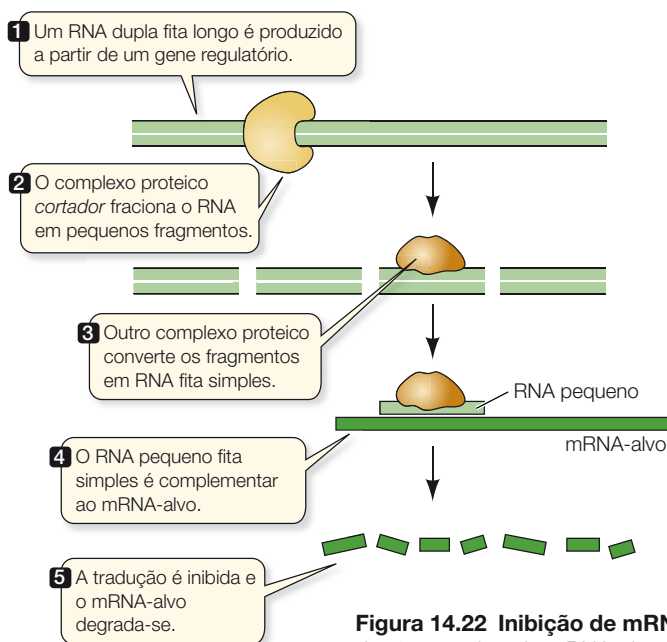


Figura 14.22 Inibição de mRNA por pequenos RNA Pequenos-RNA resultam na inibição da tradução e quebra do mRNA-alvo.

uma β -globina) seria produzida e as funções da β -globina normal seriam perdidas.

O **corte e a junção alternativos** podem ser mecanismos intencionais para gerar uma família de diferentes proteínas a partir de um único gene. Por exemplo, em mamíferos um único pré-mRNA para a proteína estrutural tropomiosina sofre corte e junção diferenciada em cinco tecidos diferentes para originar cinco mRNA maduros diferentes. Estes mRNA são traduzidos nas cinco diferentes formas de tropomiosina encontradas no músculo esquelético, músculo liso, fibroblasto, fígado e cérebro (Figura 14.21).

Antes de ter iniciado o sequenciamento do genoma humano, a maioria dos cientistas estimava que pudessem ser encontrados entre 100 mil e 150 mil genes. Você pode imaginar a sua surpresa quando a sequência atual revelou apenas cerca de 24 mil genes! Na verdade, existem muito mais mRNA humanos do que genes humanos, e a maior parte dessa variação provém do corte e junção alternativo. Na verdade, investigações recentes mostraram que a metade de todos os genes humanos são cortados e unidos de forma alternativa. O corte e junção alternativos podem ser a chave para as diferenças nos

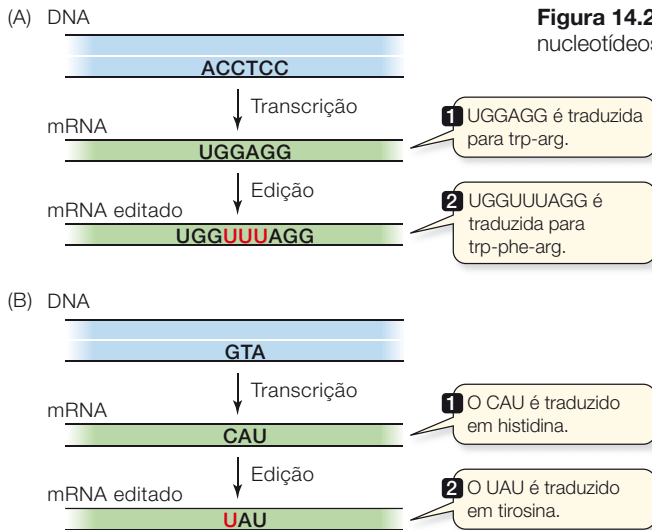


Figura 14.23 Edição de RNA O RNA pode ser editado pela (A) inserção de novos nucleotídeos ou pela (B) alteração química dos nucleotídeos existentes.

Mesmo depois que o mRNA é produzido e transportado para o citoplasma, a presença de mRNA não significa necessariamente que ele vai ser traduzido em uma proteína funcional. Eucariotos possuem vários mecanismos para regular a expressão gênica durante e após a tradução.

14.6 Como a expressão de genes é controlada durante e após a tradução?

A quantidade de uma proteína na célula determina-se pela quantidade do seu mRNA? Recentemente, as relações entre mRNA e proteínas em células de levedura foram examinadas. Para cerca de um terço das dúzias de genes pesquisados, uma relação clara entre mRNA e proteínas foi mantida: quanto mais mRNA, mais proteínas. Todavia, para dois terços das proteínas, nenhuma relação aparente foi observada. As concentrações dessas proteínas na célula devem, por isso, ser determinadas por fatores que atuam depois da síntese do mRNA.

RNA pode ser editado para modificar a proteína codificada

A sequência de mRNA pode ser modificada após a transcrição e o corte e junção pela **edição do RNA**. Essa edição ocorre de duas formas (**Figura 14.23**):

- **Inserção de nucleotídeos.** No protista parasita *Trypanosoma brucei*, observou-se que certos mRNA apresentam uma sequência de bases mais longa do que a prevista pelo gene que o codifica. Extensões de uracilas são adicionadas após a transcrição, alterando a proteína que é produzida.
- **Alteração dos nucleotídeos.** Uma enzima pode catalisar a desaminação da citosina, formando uracila. Esse processo pode afetar uma proteína de canal de membrana no sistema nervoso de mamíferos que normalmente permite a passagem de cálcio e de sódio. A edição de uma citosina no mRNA para esta proteína em uracila modifica o aminoácido naquela posição na cadeia polipeptídica de histidina para tirosina, e a proteína do canal não permite mais a passagem do cálcio.

14.5 RECAPITULAÇÃO

Um dos significados mais importantes da regulação pós-transcricional consiste no corte e junção alternativos do RNA, que permite que mais de uma proteína seja produzida a partir de um gene. A estabilidade do mRNA no citoplasma também pode ser regulada. Micro-RNA e edição do RNA são dois mecanismos de regulação recentemente descobertos.

- Você compreende como uma única sequência de pré-mRNA pode codificar várias proteínas diferentes? Ver p. 324-325 e Figura 14.21.
- Como micro RNA regulam a expressão gênica? Ver p. 325 e Figura 14.22.
- O que é edição de RNA? Ver p. 326 e Figura 14.23.

A iniciação e extensão da tradução podem ser reguladas

Uma maneira de regular a tradução é pelo quepe G no mRNA. Conforme observada na Seção 14.3, ocorre a adição de um quepe na extremidade 5' do mRNA por uma molécula modificada de trifosfato de guanosina (ver Figura 14.10). Um mRNA que sofre a adição de um quepe com uma molécula de GTP não modificada não é traduzido. Por exemplo, o mRNA armazenado no oócito da mariposa-de-chifre do fumo tem um quepe G na sua extremidade 5', mas a molécula de GTP não se modifica e o mRNA armazenado não é traduzido. Entretanto, depois que o ovo é fertilizado o quepe se altera, permitindo que o mRNA seja traduzido a fim de produzir as proteínas necessárias para o desenvolvimento embrionário inicial.

Condições no interior da célula influenciam os processos de tradução. Dentro das células de mamíferos, por exemplo, íons de ferro livre (Fe^{2+}) estão ligados por uma proteína de reserva chamada de *ferritina*. Quando o ferro encontra-se em excesso, a síntese de ferritina aumenta dramaticamente. Contudo, a quantidade de mRNA para ferritina permanece constante. O aumento na síntese de ferritina ocorre pelo aumento na velocidade da tradução de mRNA. Quando o nível de ferro na célula é baixo, uma proteína repressora da tradução liga-se ao mRNA para ferritina e previne sua tradução bloqueando sua ligação a um ribossomo. Quando os níveis de ferro aumentam, o excesso de íons ferro liga-se ao repressor e altera sua estrutura tridimensional, causando seu desligamento do mRNA, e a tradução da ferritina prossegue.

O controle da tradução pode ser usado de modo a manter um equilíbrio adequado, onde várias subunidades se associam para formar uma unidade funcional, como nas moléculas de hemoglobina. Observamos, na Seção 14.2, que a molécula de hemoglobina consiste em quatro subunidades de globina e quatro pigmentos heme. Se a síntese de globina não é igual à síntese de heme, alguns hemes ficam livres na célula, aguardando por uma globina parceira. O excesso de heme aumenta a velocidade de tradução do mRNA para globina pela remoção de um bloco para a iniciação da tradução no ribossomo.

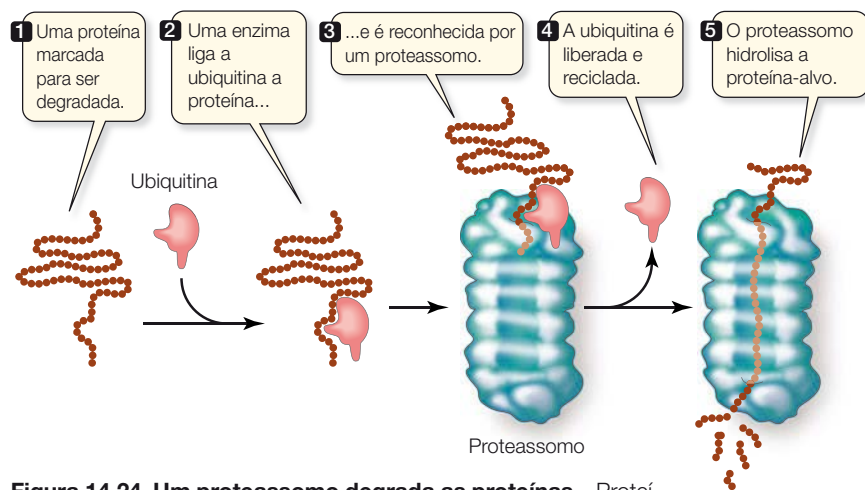


Figura 14.24 Um proteassomo degrada as proteínas Proteínas marcadas para degradar são ligadas a ubiquitina, que “direciona” a proteína-alvo para um proteassomo (um complexo composto de vários polipeptídeos).

Controles pós-traducionais regulam a longevidade das proteínas

A maioria dos produtos gênicos – proteínas – modifica-se após a tradução. Algumas dessas consistem em alterações covalentes, como a adição de açúcares (glicosilação), a adição de grupos fosfato ou a remoção de sequências sinal depois da proteína ter atravessado a membrana (ver Figura 12.5).

Uma maneira de regular a ação de uma proteína na célula é regular seu tempo de vida nessa célula. Em vários casos, uma enzima liga uma proteína de 76 aminoácidos chamada **ubiquitina** (por ser *ubíqua* ou muito difundida) a uma lisina em uma proteína marcada para ser degradada. Então outras cadeias de ubiquitina se ligam à primeira, formando um *complexo poliubiquitina*. O complexo proteína-poliubiquitina então se liga a um imenso

14.6 RECAPITULAÇÃO

Proteínas na célula podem ser marcadas para degradação pela ubiquitina e então hidrolisadas nos proteossomos.

- Você compreende o papel dos repressores da tradução? Ver p. 326.
- Você pode descrever como um proteassomo funciona? Ver p. 327 e Figura 14.24.

RESUMO DO CAPÍTULO

14.1 Quais são as características do genoma eucariótico?

Existem várias diferenças entre genomas procarióticos e eucarióticos e seus mecanismos de expressão. [Rever Tabela 14.1.](#)

Diferente do DNA procariótico, o DNA eucariótico está contido no núcleo, de modo que a transcrição e a tradução encontram-se fisicamente separadas. [Rever Figura 14.1.](#)

Vários tipos de sequências altamente repetitivas, conhecidas como satélites, caracterizam o DNA eucariótico. A maioria não é transcrita.

Algumas sequências de DNA moderadamente repetitivas são transcritas, várias dessas codificam para tRNA e rRNA, dos quais várias cópias são necessárias. [Rever Figura 14.3.](#)

Transposons consistem em sequências moderadamente repetitivas capazes de se mover pelo genoma. [Rever Figura 14.4.](#)

14.2 Quais são as características dos genes eucarióticos?

Um gene típico que codifica uma proteína eucariótica é flanqueado por sequências promotoras e **terminadoras** e contém sequências internas não codificantes, chamadas de **íntrons**. As sequências codificantes de um gene como este denominam-se **éxons**. [Rever Figura 14.5.](#)

Os íntrons são transcritos para o transcrito primário de mRNA (**pré-mRNA**), mas mais tarde são removidos e não aparecem no transcrito de mRNA maduro.

Na **hibridização de ácidos nucleicos**, o DNA é desnaturado e incubado com uma **sonda** fita simples que se liga ao DNA por pareamento de bases complementares. [Rever Figura 14.6.](#)

Alguns genes eucarióticos existem como membros de **famílias gênicas**. As proteínas podem ser produzidas a partir desses genes intimamente relacionados em diferentes momentos e em diferentes tecidos. Alguns membros de famílias gênicas podem ser **pseudogenes** não funcionais. [Rever Figura 14.8.](#)

14.3 Como os transcritos de genes eucarióticos são processados?

O pré-mRNA transcrito altera-se pela adição de um **quepe de G** na extremidade 5' e uma **cauda de poli A** na extremidade 3'. [Rever Figura 14.10.](#)

Os íntrons são removidos do pré-mRNA por **corte e junção do RNA**. Um complexo de **snRNP** e enzimas, chamado de **esplíceossomo**, se forma na **sequência consenso** entre os íntrons e os éxons. O **esplíceossomo** remove os íntrons e une os éxons. [Rever Figura 14.11.](#)

RESUMO DO CAPÍTULO

14.4 Como é regulada a transcrição de genes eucarióticos?

A expressão de genes eucarióticos pode ser regulada antes ou durante a transcrição, durante o processamento do pré-mRNA e durante ou depois da tradução. [Rever Figura 14.12.](#)

Eucariotes apresentam três RNA-polimerases diferentes. A RNA-polimerase II transcreve genes que codificam para proteínas.

Para que a transcrição ocorra, a proteína TFIIID deve se ligar ao **TATA box** no promotor e outros **fatores de transcrição** devem se montar nessa proteína, antes que a RNA-polimerase possa se ligar ao promotor. [Rever Figura 14.13.](#)

Outras seqüências de DNA reguladoras incluem as seqüências **reguladoras**, que ligam proteínas reguladoras e ativam a transcrição, seqüências **realçadoras**, que unem proteínas ativadoras e estimulam a transcrição e seqüências **silenciadoras**, que ligam proteínas repressoras e desligam a transcrição. [Rever Figura 14.14.](#)

Os domínios de ligação ao DNA da maioria das proteínas ligadoras de DNA possuem um dos quatro motivos estruturais.

O **remodelamento da cromatina** permite que o complexo da transcrição se ligue ao DNA e se mova pelo nucleossomo. [Rever Figura 14.17.](#)

O **RNA de interferência**, transcrito a partir do gene *Xist*, é importante na inibição da transcrição do cromossomo X inativo. [Rever Figura 14.19.](#)

Alguns genes são **amplificados** de forma seletiva em algumas células. As cópias extras desses genes resultam na transcrição aumentada dos seus produtos proteicos.

14.5 Como a expressão de genes eucarióticos é regulada após a transcrição?

O **corte e a junção alternativos** do pré-mRNA podem produzir diferentes proteínas. [Rever Figura 14.21.](#)

Nem todos os RNA apresentam o mesmo tempo de vida. A regulação da estabilidade do mRNA no citoplasma consiste em um mecanismo pós-transcricional que regula a síntese de proteínas. Seqüências específicas ricas em AU podem, por exemplo, ser rapidamente degradadas por um **exossomo**. **Pequenos RNAs** podem parear suas bases com seqüências-alvo de mRNA, prevenindo sua tradução e degradando-o. [Rever Figura 14.22.](#)

O mRNA pode ser **editado** pela adição de novos nucleotídeos ou pela alteração química de nucleotídeos existentes. [Rever Figura 14.23.](#)

14.6 Como a expressão de genes é controlada durante e após a tradução?

Repressores da tradução podem inibir a tradução do mRNA.

Os **proteassomos** podem degradar proteínas marcadas para serem degradadas pela ligação da **ubiquitina**. [Rever Figura 14.24.](#)

QUESTÕES

- Genes eucarióticos codificantes de proteína diferem de suas contrapartes procarióticas pois os genes eucarióticos:
 - são dupla fita.
 - estão presentes apenas em uma única cópia.
 - contêm íntrons.
 - têm um promotor.
 - transcrevem mRNA.
- A comparação dos genomas da levedura e da bactéria mostra que apenas as leveduras têm muitos genes para:
 - metabolismo de energia.
 - síntese da parede celular.
 - marcação de proteína intracelular.
 - proteínas de ligação ao DNA.
 - RNA-polimerase.
- Os genomas da mosca-das-frutas e do nematoide assemelham-se ao da levedura, exceto que os primeiros organismos têm vários genes para
 - sinalização intercelular.
 - síntese de polissacarídeos.
 - regulação do ciclo celular.
 - marcação de proteína intracelular.
 - elementos transponíveis.
- Qual dos seguintes itens *não* ocorre depois que o mRNA é transcrito?
 - Ligação da RNA-polimerase II ao promotor.
 - Adição de um quepe na extremidade 5'.
 - Adição de uma cauda poli A na extremidade 3'.
 - Retirada dos íntrons.
 - Transporte para o citosol.
- Qual das sentenças sobre o corte e junção do RNA *não* é verdadeira?
 - Ele remove os íntrons.
 - Ele é realizado por pequenas partículas de ribonucleoproteínas nucleares (snRNP).
 - Ele sempre remove os mesmos íntrons.
 - Ele normalmente é direcionado por seqüências consenso.
 - Ele encurta a molécula de RNA.
- Transposons eucarióticos:
 - sempre usam RNA para replicação.
 - têm aproximadamente 50 pb de comprimento.
 - são compostos de DNA ou RNA.
 - não contêm genes que codificam para transposição.
 - Compõem cerca de 40% do genoma humano.
- Qual das sentenças sobre transcrição gênica seletiva nos eucariotes *não* é verdadeira?
 - Diferentes classes de RNA-polimerases transcrevem diferentes partes do genoma.
 - A transcrição requer fatores de transcrição.
 - Genes são transcritos em grupos chamados de óperons.
 - Ocorre tanto a regulação positiva como a negativa.
 - Várias proteínas se ligam ao promotor.
- Heterocromatina:
 - contém mais DNA do que a eucromatina.
 - é transcricionalmente inativa.
 - é responsável por todo controle transcricional negativo.
 - agrupa o cromossomo X em machos humanos.
 - ocorre somente durante a mitose.

9. O controle da tradução
 - a. não é observado em eucariotos.
 - b. é uma forma mais lenta de regulação do que o controle transcricional.
 - c. pode ser obtido por apenas um mecanismo.
 - d. requer que o mRNA esteja sem quepe.
 - e. assegura que síntese de heme se iguale à síntese de globina.
10. O controle da expressão gênica em eucariotos inclui todos os seguintes *exceto*
 - a. corte e junção alternativo dos transcritos de RNA.
 - b. ligação de proteínas ao DNA.
 - c. fatores de transcrição.
 - d. inibição por retroalimentação da atividade enzimática por controle alostérico.
 - e. metilação do DNA.

PARA DISCUSSÃO

1. Em ratos, um gene com 1.440 pb de comprimento codifica uma enzima com até 192 aminoácidos. Discuta essa aparente discrepância. Qual seria o tamanho dos transcritos inicial e final do mRNA?
2. Os genomas do arroz, trigo e milho assemelham-se entre si e ao de *Arabidopsis* de diferentes formas. Discuta como essas plantas podem, contudo, ter proteínas muito diferentes.
3. A atividade da enzima diidrofolato-redutase (DHFR) é alta em algumas células tumorais. Essa atividade torna as células resistentes à droga anticâncer, metotrexato, que tem como alvo a DHFR. Assumindo que você possui o DNA complementar do gene que codifica a DHFR, como mostraria se essa atividade aumentada se dá pelo aumento da transcrição de uma cópia única do gene para DHFR ou pela amplificação do gene?
4. Descreva os passos na produção de um mRNA maduro traduzível de um gene eucariótico que contém íntrons. Compare isso à situação em procariotos (ver Seção 13.3).
5. Um gene codificante para uma proteína apresenta três íntrons. Quantas proteínas diferentes podem ser produzidas a partir do corte e da junção alternativos do pré-mRNA transcrito a partir desse gene?

PARA INVESTIGAÇÃO

A hibridização de ácidos nucleicos tem tido muitos usos na pesquisa biológica e na medicina clínica. É possível fazer uma sonda de DNA que fluoresce sob luz ultravioleta. Suponha que você queira determinar se o feto que uma mulher está carregando possui uma cópia extra do cromossomo 21 (e assim a síndrome de Down). Você coleta uma amostra de células

do feto. A maioria dessas células está na interfase. Assumindo que você tenha isolado o DNA de vários genes que se encontram no cromossomo 21, destaque os experimentos que faria para determinar se o feto tem a síndrome de Down.

Esta página foi deixada em branco intencionalmente.

PARTE 4

Biologia Molecular: O Genoma em Ação



15 Sinalização e Comunicação Celular

Beba uma xícara de sinais

Isto provavelmente já aconteceu com você: é tarde, você tem um relatório a entregar amanhã e deixou para a última hora. Você está exausto, mas precisa manter-se acordado e alerta para poder terminar o trabalho. O que você faz? Bem, para começar, pode beber uma xícara (ou várias xícaras) de café. Muitas pessoas recorrem ao café quando precisam despertar ou de energia extra.

Reza a lenda que os efeitos energéticos induzidos pelo café foram primeiramente observados há mil anos, onde hoje é a Etiópia. Conta-se que um criador de cabras chamado Kaldi notou que suas cabras tomavam-se muito agitadas (ativas) após comerem os frutos de certa planta. Despertada sua curiosidade, o próprio Kaldi comeu alguns frutos e desfrutou completamente o resultado. Notícias de sua descoberta se espalharam por toda a região. Logo, monges em um mosteiro próximo descobriram que, comendo os frutos, mantinham-se acordados durante as preces de madrugada. Os monges tiveram a ideia de secar os frutos para estoque e transporte, e, posteriormente, descobriram que, moendo os grãos secos e aquecendo o pó em água, o resultado era uma bebida agradável. Lojas de café (cafeterias) não demoraram muito a aparecer.

Hoje em dia, ao menos 90% dos norte-americanos e europeus consomem cafeína de alguma forma – no chá (que pode conter cerca de 90 mg de cafeína por xícara de 280 mL), refrigerantes de cola (50 mg), chocolate (20 mg em uma barra), bem como café (cerca de 180 mg por xícara). A cafeína é nossa droga mais popular e, como muitas outras, é uma *molécula sinal*. Para entender os efeitos da cafeína, devemos primeiramente entender as vias pelas quais as células do corpo respondem aos sinais no seu ambiente.

A resposta de uma célula para qualquer molécula sinal ocorre em três processos sequenciais. Primeiro, o sinal liga-se a uma proteína receptora na célula, geralmente na superfície externa da membrana plasmática. Segundo, a ligação do sinal gera uma mensagem a ser transmitida para o interior da célula e amplificada. Terceiro, a célula altera sua atividade em resposta ao sinal.

A cafeína atua de diferentes maneiras em diferentes tecidos. O cérebro de uma pessoa cansada produz moléculas de adenosina que se ligam a proteínas receptoras específicas, resultando em diminuição da atividade cerebral e em aumento da sonolência. A estrutura molecular da cafeína assemelha-se à da adenosina; dessa forma, ela ocupa os receptores adenosina sem inibir a função celular do cérebro, de modo similar a um inibidor enzimático competitivo, e a vigília é restaurada. A adenosina também abre, ou *dilata*, os vasos sanguíneos que nutrem o cérebro, causando dores de cabeça; portanto, a cafeína é um ingrediente comum nos remédios para dor de cabeça.

Nas células do coração e fígado, a cafeína estimula indiretamente a mesma via de sinalização normalmente estimulada pela epinefrina (adrenalina), o hormônio da “luta ou fuga”. O resultado é um aumento na frequência de batimentos cardíacos. Os músculos se contraem, e o fígado é estimulado

Um sinal para o corpo A cafeína, no café, envia sinais para as células no corpo de quem o toma. Os efeitos desses sinais ajudam-no a ficar alerta.





Tradicional cerimônia etíope do café O café desempenha função cerimonial importante na cultura tradicional da Etiópia, onde (de acordo com a lenda) o povo originalmente descobriu seus efeitos energéticos.

a converter glicogênio em glicose e a liberá-la na corrente sanguínea.

Como pode uma única molécula de fora do corpo ter tantos efeitos biológicos?

NESTE CAPÍTULO descrevemos os tipos de sinais que afetam as células, que incluem tanto substâncias químicas produzidas por outras células quanto substâncias de fora do corpo, bem como fatores físicos e ambientais, como a luz. Aprendemos que, seja qual for o sinal, ele afetará somente aquelas células que apresentam a proteína receptora apropriada para responder ao sinal específico. Seguimos, então, as etapas de transdução de sinal por meio das quais o receptor informa que um sinal foi recebido, ocasionando, dessa forma, uma alteração na função celular.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 15.1** O que são sinais e como as células respondem a eles?
- 15.2** Como os receptores de sinais iniciam uma resposta celular?
- 15.3** Como acontece a transdução dos sinais na célula?
- 15.4** Como as células são alteradas em resposta aos sinais?
- 15.5** Como as células se comunicam diretamente?

15.1 O que são sinais e como as células respondem a eles?

Tanto as células de procariotos quanto as de eucariotos processam informação a partir do seu meio. Essa informação pode estar na forma de um estímulo físico, como a luz atingindo seus olhos enquanto você lê esse livro, ou substâncias químicas que banham uma célula, como a lactose no meio em redor da *E. coli*. Ela pode vir de fora do organismo, como o cheiro de uma mariposa fêmea procurando um macho no escuro, ou de células vizinhas dentro do organismo, como ocorre no coração, onde milhares de células musculares se contraem ao mesmo tempo pela transmissão de sinais umas às outras.

Com certeza, a simples presença de um sinal não significa que a célula responderá a ele, da mesma forma que você não presta atenção máxima a cada som do ambiente quando estuda. Para responder a um sinal, a célula deve ter um receptor específico que possa detectá-lo. Esta seção fornece exemplos de alguns tipos de sinais celulares e um modelo de *via de transdução de sinal* – a série de etapas que leva à resposta da célula a um sinal. Após discutirmos sinais nesta seção, comentaremos os seus receptores na Seção 15.2.

As células recebem sinais do ambiente físico e de outras células

O ambiente físico encontra-se repleto de sinais. Nossos órgãos dos sentidos nos permitem responder à luz, aos odores e sabores (sinais químicos), à temperatura, ao tato e ao som. Bactérias e protistas respondem até a alterações químicas mínimas em seu ambiente. As plantas respondem à luz como um sinal. Por exemplo, ao pôr do sol, à noite ou à sombra, não somente a quantidade de luz solar, mas também o espectro de comprimento de ondas da luz que atinge a superfície da Terra, difere daquela do período claro do dia. Essas variações atuam como sinais que afetam o crescimento e a reprodução das plantas. Algumas delas também respondem à temperatura: quando o tempo fica frio, reagem ou tornando-se tolerantes ao frio ou acelerando a floração. Mesmo o magnetismo pode ser um sinal: algumas bactérias e pássaros orientam-se para os polos magnéticos da Terra, tal qual uma agulha numa bússola.

Uma célula localizada no interior de um grande organismo multicelular está longe do ambiente externo. Em vez disso, seu ambiente constitui-se de outras células e fluidos extracelulares.

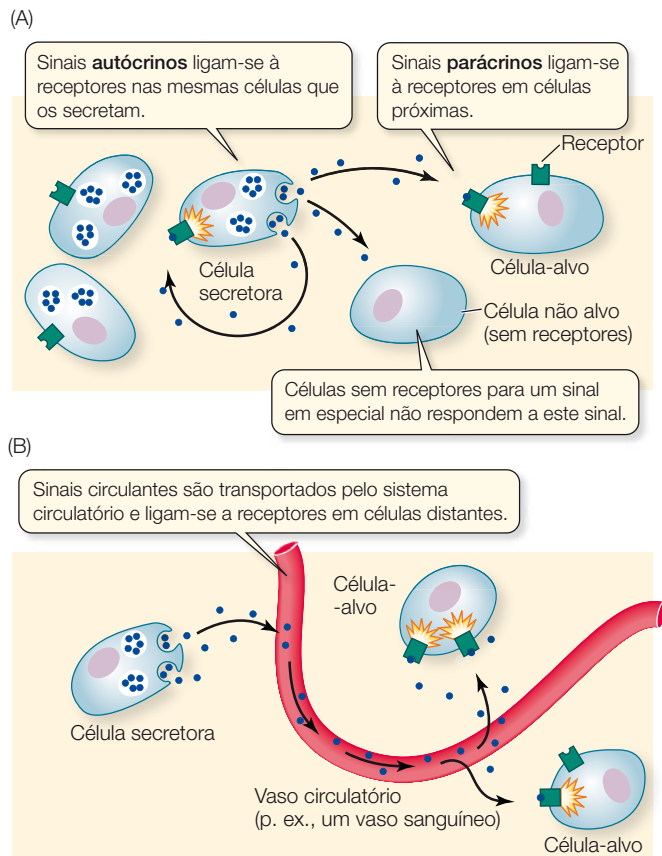


Figura 15.1 Sistemas de sinalização química (A) Uma molécula sinalizadora pode se difundir para atuar na mesma célula que a produz ou sobre outra célula próxima. (B) Muitos sinais atuam sobre células distantes, para as quais eles devem ser transportados pelo sistema circulatório do organismo.

lulares. A partir dos fluidos extracelulares, as células recebem seus nutrientes e, nesses fluidos, liberam seus resíduos. As células também recebem sinais – principalmente sinais químicos – a partir do seu ambiente fluido extracelular. A maioria desses sinais químicos chega de outras células. Células também respondem a sinais químicos vindos do ambiente pelos sistemas digestivo e respiratório. Células podem responder a concentrações de certas substâncias químicas, como CO_2 e H^+ , cuja presença nos fluidos extracelulares resulta das atividades metabólicas de outras células.

No interior de um organismo multicelular grande, sinais químicos produzidos pelo próprio corpo chegam a uma célula-alvo por difusão local ou pela circulação no sangue. Sinais **autócrinos** se difundem e afetam as células que os produzem, enquanto sinais **parácrinos** se difundem e afetam as células vizinhas (**Figura 15.1A**). Sinais para células distantes, denominados **hormônios**, normalmente viajam através do sistema circulatório (**Figura 15.1B**).

Em todos os casos, para que um sinal seja transmitido, a célula-alvo deve estar apta a receber ou sentir o sinal e responder a ele, e a resposta deve ter algum efeito sobre a função da célula. Dependendo da célula-alvo e do sinal, esses efeitos variam desde a entrada da célula no ciclo de divisão celular para cicatrizar uma ferida, ao deslocamento para uma nova localização no embrião a fim de formar um tecido, à liberação de enzimas que digerem alimentos, até o envio de mensagens para o cérebro sobre o livro que você está lendo.

Uma via de transdução de sinal envolve um sinal, um receptor, a transdução e os efeitos

O processo inteiro de sinalização – desde o sinal que atua sobre o receptor ao transporte da mensagem para o citoplasma, até a resposta final da célula – denomina-se **via de transdução de sinal**. Vamos ver um exemplo dessa via na *E. coli*. Na Seção 13.4, vimos que essas bactérias respondem a modificações em nutrientes constituintes no seu ambiente pela alteração de sua transcrição de certos genes, como aqueles no óperon *lac*. Além disso, as bactérias devem estar aptas a perceber e responder a outros tipos de alterações em seu ambiente, tais como alterações na concentração osmótica.

No intestino humano, onde a *E. coli* vive, concentração de solutos em torno das bactérias eleva-se muito acima da concentração intracelular. O princípio de difusão nos diz que quando isto acontece, a água deveria difundir para fora da célula e os solutos se moveriam para dentro. Porém, as bactérias devem manter a homeostase, e assim precisam perceber e responder a este sinal do ambiente (**Figura 15.2, etapa 1**). A maneira pela qual *E. coli* faz isto tem muito em comum com vias de transdução de sinal em eucariotos multicelulares mais complexos. A via envolve dois componentes principais: um receptor e um mediador intracelular (segundo mensageiro).

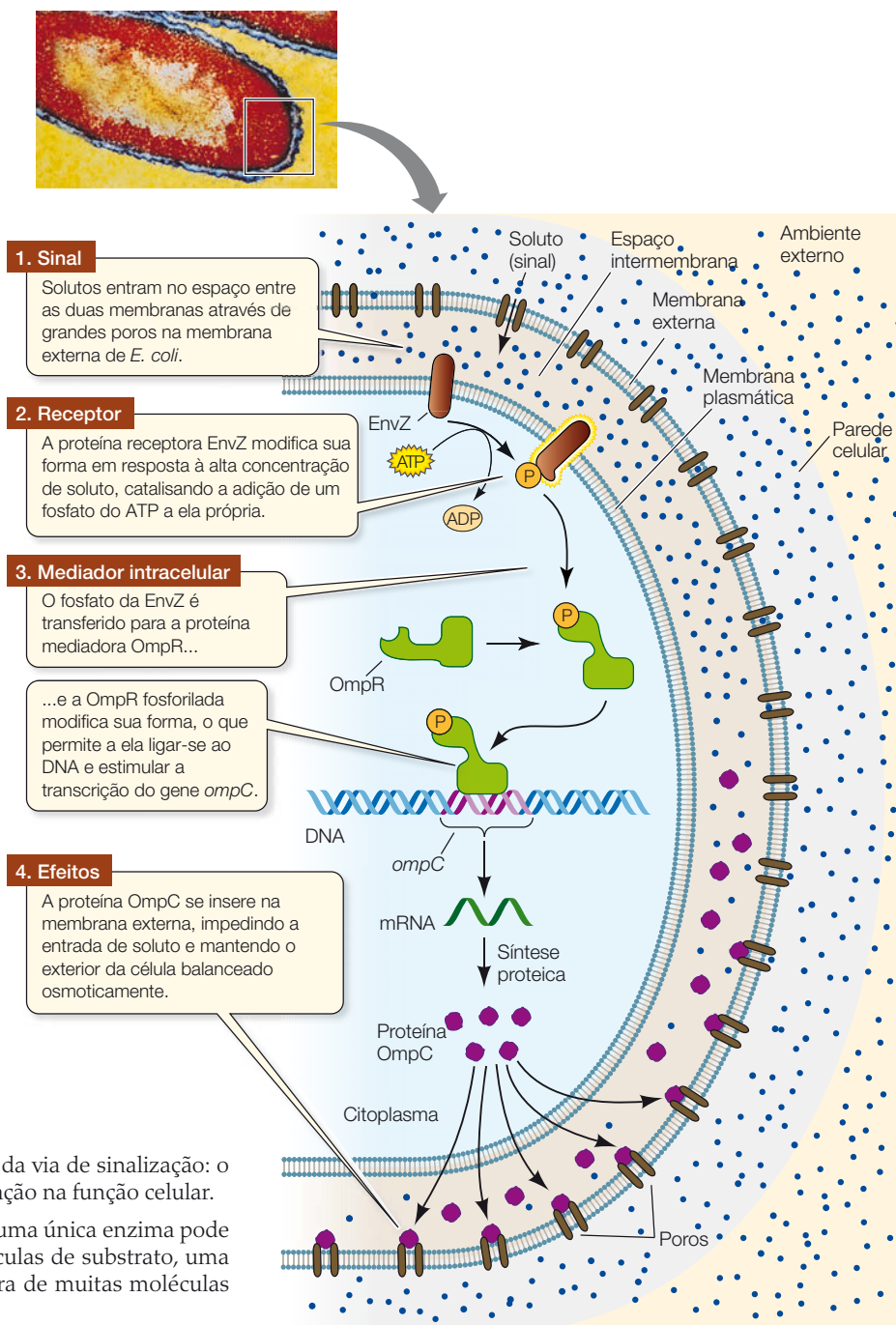
RECEPTOR O **receptor** é o primeiro componente de uma via de transdução de sinal. A proteína receptora para alterações osmóticas em *E. coli* chama-se EnvZ. Consiste em uma proteína transmembrana que se estende através da membrana plasmática da bactéria, no espaço entre esta membrana e a membrana externa altamente porosa, que forma um complexo com a parede celular. Quando a concentração de soluto do meio extracelular se eleva, um aumento ocorre também na concentração de soluto no espaço entre as duas membranas. Devido a essa modificação no seu meio aquoso, a parte da proteína receptora encaixada dentro do espaço intermembrana sofre uma mudança na conformação (em sua forma tridimensional).

Conforme vimos na Seção 6.5, a modificação da estrutura terciária de uma parte de uma proteína muitas vezes leva a mudanças em partes distantes dela. No caso do receptor bacteriano EnvZ, a mudança conformacional na região intermembrana da proteína transmite-se para a região que se encontra no citoplasma, iniciando os eventos de transdução de sinal. Essa alteração conformacional expõe um sítio ativo, de forma que EnvZ torna-se uma **proteína-quinase**, enzima que catalisa a adição de um grupo fosfato do ATP para um dos resíduos histidina da própria EnvZ. Em outras palavras, EnvZ fosforila a si mesma (**Figura 15.2, etapa 2**).

MEDIADOR INTRACELULAR (SEGUNDO MENSAGEIRO) Um **mediador intracelular** é o segundo componente de uma via de transdução de sinal. O novo grupo fosfato capturado adicionado à histidina faz a região citoplasmática da proteína EnvZ modificar sua forma novamente. Ela agora se liga a uma segunda proteína, OmpR, que recebe o grupo fosfato de EnvZ. Essa fosforilação, por sua vez, altera a forma de OmpR (**Figura 15.2, etapa 3**). Essa modificação em um mediador intracelular consiste em um evento-chave em sinalização por três razões:

- O sinal do lado de fora da célula agora está sendo *transduzido* para uma proteína situada totalmente dentro do citoplasma da célula.
- O mediador modificado pode *fazer algo*. No caso da OmpR fosforilada, esse “algo” é ligar-se a um promotor no DNA de *E. coli* adjacente a sequência do DNA que codifica a proteína

Figura 15.2 Um modelo de via de transdução de sinal *E. coli* responde ao sinal de um aumento na concentração de solutos no seu ambiente. As etapas básicas de tais vias de transdução de sinal ocorrem em todos organismos vivos.



OmpC. Essa ligação inicia a fase final da via de sinalização: o efeito do sinal, que constitui uma alteração na função celular.

- O sinal está sendo *amplificado*. Como uma única enzima pode catalisar a conversão de muitas moléculas de substrato, uma molécula de EnvZ modifica a estrutura de muitas moléculas de OmpR.

A OmpR fosforilada é um fator de transcrição com a estrutura tridimensional correta para ligar-se ao promotor do gene *ompC* no DNA, resultando em um aumento na transcrição desse gene. A tradução do mRNA de *ompC* implica na produção de proteína OmpC, que leva a resposta que regula a concentração osmótica em *E. coli* (Figura 15.2, etapa 4). A proteína OmpC encontra-se inserida na membrana externa da célula bacteriana, onde ela obstrui os poros e impede os solutos de entrarem no espaço intermembrana. Por conseguinte, a concentração de solutos no espaço intermembrana diminui e a homeostase se restabelece. Dessa forma, a célula *E. coli* pode continuar comportando-se exatamente como se o ambiente externo tivesse uma concentração osmótica normal.

Muitos dos mesmos elementos apontados neste sistema de transdução de sinal procaríoto reaparecerão em muitas outras vias de transdução de sinal em organismos eucariotos:

- Uma proteína receptora *modifica sua conformação* a partir da interação com um sinal.
- Uma modificação conformacional na proteína receptora dá a ela atividade de proteína-quinase, resultando na transferência de um grupo fosfato do ATP a uma proteína-alvo.
- Esta *fosforilação* altera a função de uma proteína mediadora intracelular.
- O sinal é *amplificado*.
- Um fator de transcrição é ativado.
- A *síntese de uma proteína específica* é ativada.
- A ação da proteína *modifica a atividade celular*.

15.1 RECAPITULAÇÃO

As células encontram-se constantemente expostas a sinais moleculares, tanto oriundos do ambiente externo quanto de dentro do próprio corpo. Para responder a um determinado sinal, a célula deve ter um receptor que detecte o sinal e ative alguma resposta celular.

- Você sabe a diferença entre um sinal autócrino, um sinal parácrino e um hormônio? Ver p. 334 e Figura 15.1.
- Descreva as funções dos dois principais componentes na via de transdução de sinal. Ver p. 334 e Figura 15.2.
- Você entende por que normalmente é importante para um sinal ser amplificado? Ver p. 335.
- Você entende cada um dos elementos da transdução de sinal descrita na lista no final desta seção?

As características gerais das vias de transdução de sinal descritas nesta seção serão repetidas com mais detalhe ao longo de todo o capítulo. Primeiro vamos examinar mais detalhadamente a natureza dos receptores aos quais se ligam as moléculas sinalizadoras.

15.2 Como os receptores de sinais iniciam uma resposta celular?

Embora uma certa célula em um organismo multicelular seja bombardeada com muitos sinais, ela responde somente a poucos deles, porque nenhuma célula produz receptores para todos os sinais. Quais células produzem qual tipo de receptores é geneticamente determinado pelos processos regulatórios descritos no Capítulo 14; em resumo, se uma célula transcreve o gene que codifica um receptor em particular e o mRNA resultante é traduzido, a célula terá esse receptor.

Uma proteína receptora que se liga a um sinal químico o faz de forma muito específica, quase da mesma maneira que uma enzima se liga a um substrato. Assim como há muitos tipos de enzimas com diversas especificidades, existem muitos tipos de proteínas receptoras de sinal. Sua especificidade de ligação garante que apenas aquelas células que produzem um receptor específico responderão a determinado sinal.

Os receptores têm sítios de ligação específicos para seus sinais

Uma molécula específica de sinal químico ajusta-se dentro de um sítio tridimensional em seu receptor (Figura 15.3). Assim, uma molécula que se liga a um sítio receptor em outra molécula denomina-se **ligante**. Conforme você viu com o exemplo em *E. coli*, devido à ligação do ligante sinalizador, a proteína receptora modifica sua forma tridimensional, e esta alteração conformacional inicia uma resposta celular. O ligante não contribui, além disso, para essa resposta. De fato, o ligante normalmente não se metaboliza em produtos úteis. Seu papel é puramente “bater na porta”. (Esse é um nítido contraste às interações enzima-substrato descritas no Capítulo 6, nas quais todo o objetivo é transformar o substrato em produto útil.)

Os receptores ligam-se aos seus ligantes conforme a lei da química de ação das massas:

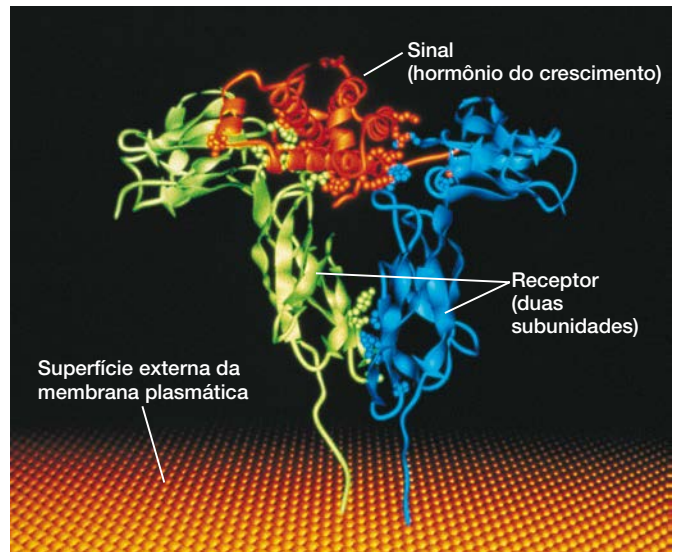
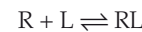


Figura 15.3 Um sinal liga-se a seu receptor O hormônio do crescimento humano aparece ligado ao seu receptor, uma proteína transmembrana. Somente as regiões extracelulares do receptor são mostradas.



Isso significa que a ligação é reversível, embora para a maioria dos complexos ligante-receptor o ponto de equilíbrio esteja mais para a direita – isto é, favorecendo a ligação. Entretanto, a capacidade de reverter a ligação faz-se importante, porque se o ligante nunca fosse liberado, o receptor seria estimulado continuamente.

Da mesma forma que ocorre com as enzimas, inibidores podem ligar-se ao sítio de ligação do ligante em uma proteína receptora. Os inibidores de ligação de receptor, tanto naturais quanto artificiais, são importantes em medicina. Por exemplo, em torno de dois terços das drogas que alteram o comportamento humano ligam-se a receptores específicos no cérebro.

Os receptores classificam-se pela localização

Os receptores classificam-se de acordo com a sua localização na célula, que depende em grande parte da natureza de seu ligante. A química de moléculas sinalizadoras varia bastante, mas elas podem ser divididas em duas classes (Figura 15.4):

- **Ligantes com receptores citoplasmáticos:** Ligantes pequenos ou não polares podem se difundir através da bicamada fosfolipídica da membrana plasmática e entrar na célula. O estrogênio, por exemplo, é um hormônio esteroide lipossolúvel que pode difundir-se facilmente através da membrana plasmática e entrar na célula; ele se liga a um receptor dentro do citoplasma.
- **Ligantes com receptores de membrana plasmática:** Ligantes grandes e polares não podem atravessar a membrana plasmática. A insulina, por exemplo, é um hormônio proteico que não se difunde através da membrana plasmática; em vez disso, liga-se a um receptor que é uma proteína transmembrana com uma região de ligação extracelular.

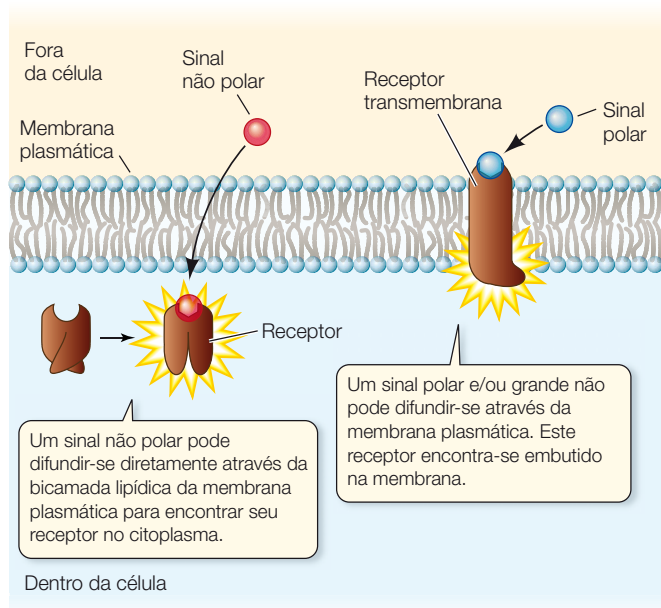
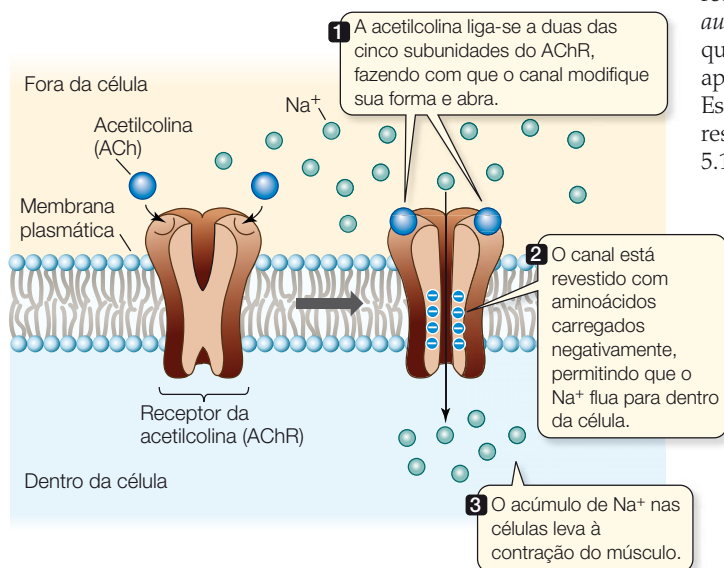


Figura 15.4 Duas localizações para receptores Receptores podem estar localizados na membrana plasmática ou no citoplasma da célula.

Em eucariotos complexos como os mamíferos, há três tipos bem estudados de receptores de membrana plasmática que examinaremos: canais de íon, proteínas-quinases e receptores ligados à proteína G.

CANAIS DE ÍON RECEPTORES Segundo descrito na Seção 5.3, as membranas plasmáticas de muitos tipos de células contêm canais proteicos que podem estar abertos ou fechados. Esses canais de íon atuam como “portões”, permitindo que íons como Na^+ , K^+ , Ca^{+2} ou Cl^- entrem ou deixem a célula (ver Figura 5.10). O mecanismo de abertura desse portão consiste em uma alteração na estrutura tridimensional do canal proteico pela ligação do



ligante. Alguns canais de íon são receptores de membrana plasmática para moléculas sinalizadoras; outros atuam mais tarde em vias de transdução de sinal. Cada tipo de canal de íon receptor apresenta sinal próprio. Esses sinais incluem estímulos sensoriais, como luz, som e diferenças de carga elétrica através da membrana plasmática, bem como ligantes químicos, tais como hormônios e neurotransmissores.

O receptor de acetilcolina, localizado na membrana plasmática de células musculares esqueléticas de vertebrados, é um exemplo de canal de íon. Essa proteína receptora é um canal de sódio que liga o ligante *acetilcolina*, que consiste em um *neurotransmissor*, sinal químico liberado dos neurônios (células nervosas) (Figura 15.5). Quando duas moléculas de acetilcolina se ligam ao receptor, esse se abre por cerca de um milésimo de segundo. Esse é o tempo suficiente para o íon Na^+ , mais concentrado do lado externo do que interno da célula, invadi-la rapidamente. A mudança na concentração de Na^+ na célula inicia uma série de eventos que resulta em contração muscular.

Receptores de acetilcolina estão presentes em células do cérebro bem como no músculo esquelético. A nicotina liga-se fortemente a esses receptores e ativa muitas vias no cérebro. Os efeitos da nicotina podem ser temporariamente agradáveis, porém a longo prazo resultam em dependência.

RECEPTORES PROTEÍNAS-QUINASES De maneira semelhante à proteína receptora EnvZ de *E. coli*, algumas proteínas receptoras de eucariotos tornam-se **proteínas-quinases** quando se ativam: isto é, catalisam a transferência de um grupo fosfato do ATP para uma proteína específica, denominada *proteína-alvo*. Essa fosforilação pode alterar a conformação e atividade da proteína-alvo.

O receptor para insulina é um exemplo de um receptor proteína-quinase. A insulina é um hormônio proteico produzido pelo pâncreas de mamíferos. Seu receptor é composto de duas cópias, cada uma com duas subunidades polipeptídicas diferentes (Figura 15.6). Igualmente à acetilcolina, duas moléculas de insulina devem se ligar ao receptor. Quando a insulina liga-se as suas subunidades extracelulares, a proteína receptora modifica sua forma a fim de expor um sítio citoplasmático proteína-quinase ativo. Como o receptor de *E. coli* anteriormente descrito, o receptor de insulina se *autofosforila* (fosforila a si próprio). Então, na forma de proteína-quinase, catalisa a fosforilação de certas proteínas citoplasmáticas, apropriadamente chamadas de substratos de resposta à insulina. Essas proteínas, por conseguinte, iniciam muitas respostas celulares, incluindo a inserção de transportadores de glicose (ver Figura 5.12) na membrana citoplasmática.

RECEPTORES LIGADOS À PROTEÍNA G Uma terceira categoria de receptores de membrana plasmática em eucariotos é a de *receptores com sete alças transmembrana ligados à proteína G*. Esse nome longo identifica um grupo fascinante de receptores, no qual todos compõem-se por uma proteína única com sete regiões transmembrana.

Figura 15.5 Um canal de íon receptor O receptor de acetilcolina (AChR) é um canal para íons sódio. Ele consiste em cinco subunidades polipeptídicas. Quando as moléculas de acetilcolina (ACh) ligam-se a duas das subunidades, o canal se abre e o Na^+ flui para dentro da célula.

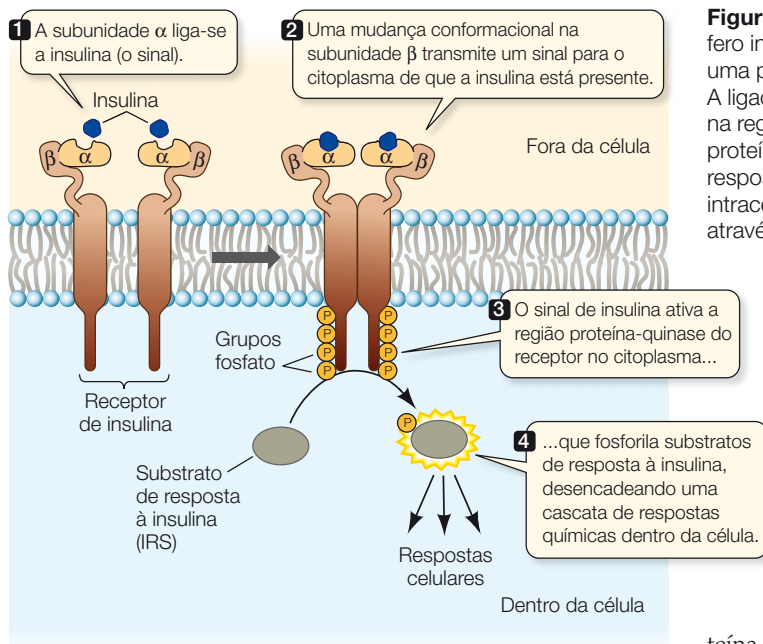


Figura 15.6 Um receptor proteína-quinase O hormônio mamífero insulina não entra na célula, mas liga-se a região extracelular de uma proteína receptora com quatro subunidades (duas α e duas β). A ligação à subunidade α provoca uma mudança conformacional na região citoplasmática das subunidades β , expondo um sítio ativo proteína-quinase. Essa proteína-quinase fosforila substratos de resposta à insulina (as proteínas-alvo), desencadeando respostas intracelulares adicionais, resultando por fim no transporte de glicose através da membrana para dentro da célula.

Essas regiões passam através da bicamada de fosfolípidos, separadas por alças curtas que se estendem para o lado externo ou interno da célula. A ligação do ligante sobre o lado extracelular da proteína receptora modifica a forma da sua região citoplasmática, expondo um sítio de ligação para uma proteína de membrana móvel – uma **proteína G**.

O termo *proteína G* descreve uma classe de proteínas de sinalização com três subunidades polipeptídicas que se caracterizam pela sua habilidade de ligar-se a GDP e GTP (guanosina difosfato e trifosfato, respectivamente; estes consistem em nucleosídeos fosfato como ADP e ATP). Uma proteína G possui dois sítios de ligação importantes: um para o receptor ligado à proteína G e o outro para o nucleotídeo GDP/GTP. A proteína G inativa liga GDP a uma de suas subunidades (**Figura 15.7A**). Quando a proteína G se liga a uma proteína receptora ativada, GDP é trocado por GTP

(**Figura 15.7B**). Ao mesmo tempo, o ligante é liberado do lado extracelular do receptor.

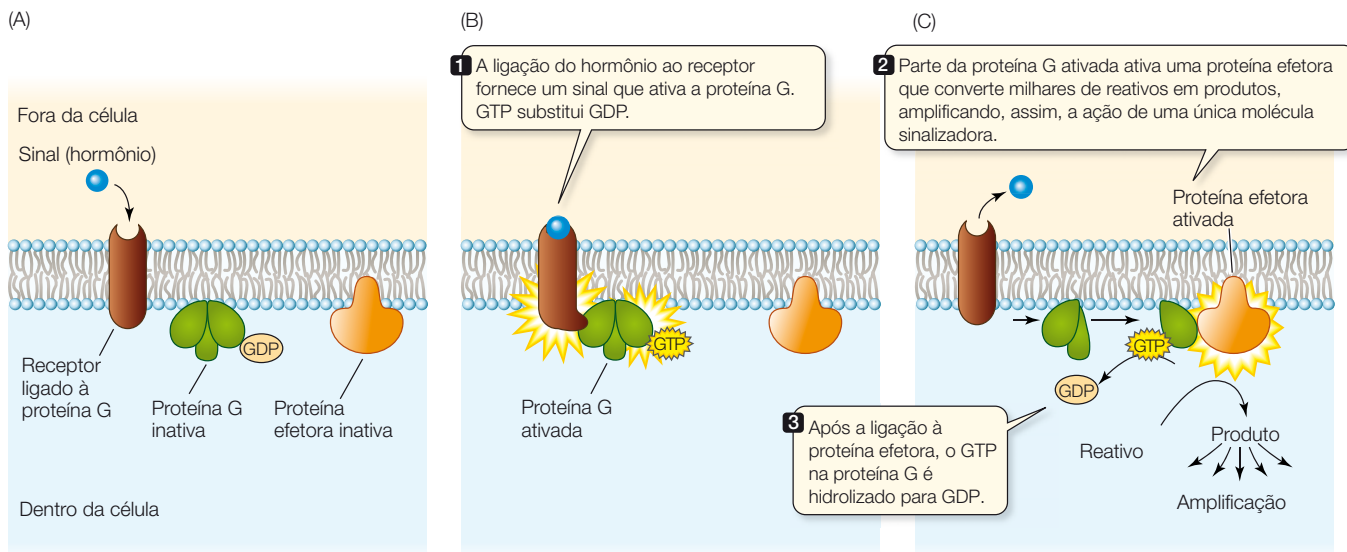
A subunidade da proteína G ligada ao GTP separa-se do restante da proteína G, difundindo-se no plano da bicamada lipídica até encontrar uma **proteína efetora** à qual ela possa se ligar. Uma proteína efetora é o que seu nome sugere: causa um efeito na célula. A ligação da subunidade da proteína G contendo o GTP ativa o efetor – que pode ser uma enzima ou um canal de íon – causando, desse modo, mudanças na função celular (**Figura 15.7C**).

Após a ligação à proteína efetora, o GTP da proteína G é hidrolisado para GDP. A subunidade da proteína G, agora inativa, separa-se da proteína efetora. A subunidade da proteína G deve formar um complexo com outra subunidade antes da ligação a outro receptor ativado. Quando um receptor ativado se liga, a proteína G troca seu GDP por GTP e o ciclo inicia novamente.

Por meio de suas subunidades que se difundem, as proteínas G podem ativar ou inibir uma proteína efetora. Um

Figura 15.7 Um receptor ligado à proteína G

(A) A proteína G inativa apresenta sítios de ligação para seu receptor e para GDP/GTP. (B) A ligação de um sinal extracelular – neste caso, um hormônio – ativa o receptor ligado à proteína G. O receptor ativado liga-se a proteína G, que então é ativada pela troca de GDP por GTP. (C) A subunidade ligada ao GTP separa-se da proteína G e ativa uma proteína efetora – neste caso, uma enzima que catalisa uma reação no citoplasma, amplificando o sinal. Esta figura constitui um diagrama generalizado aplicável a qualquer membro da grande família de proteínas G e aos sinais com os quais elas reagem.



exemplo de resposta de *ativação* envolve o receptor para epinefrina (adrenalina), hormônio produzido pela glândula adrenal em resposta ao estresse ou ao exercício intenso. No músculo cardíaco, esse hormônio acopla-se ao seu receptor ligado à proteína G, ativando uma proteína G. Então, a subunidade ligada ao GTP ativa uma enzima ligada à membrana para produzir uma molécula pequena, AMP cíclico, que apresenta muitos efeitos na célula (conforme veremos a seguir), incluindo mobilização de glicose para energia e contração muscular.

A *inibição* mediada por proteína G ocorre quando o mesmo hormônio, epinefrina, se liga ao seu receptor nas células musculares lisas que circundam os vasos sanguíneos ao longo do trato digestivo. Novamente, o receptor ligado à epinefrina modifica sua forma e ativa uma proteína G, e a subunidade ligada ao GTP se liga a uma enzima-alvo. Todavia, nesse caso, a enzima é inibida em vez de ativada. Como resultado, o músculo relaxa e o diâmetro do vaso sanguíneo aumenta, permitindo que mais nutrientes sejam transportados desde o sistema digestivo até o restante do corpo. Dessa maneira, o mesmo sinal e o mecanismo inicial de sinalização podem ter diferentes consequências em células diferentes, dependendo da natureza da célula que responde.

RECEPTORES CITOPLASMÁTICOS Receptores citoplasmáticos localizam-se dentro da célula e ligam-se a sinais que podem se difundir através da membrana plasmática. A ligação ao ligante de sinalização faz o receptor modificar sua forma de

modo a entrar no núcleo da célula, onde atua como fator de transcrição, afetando a expressão gênica. Mas essa visão geral está um tanto simplificada. O receptor para o hormônio cortisol, por exemplo, normalmente está ligado a uma proteína chaperona, que bloqueia sua entrada no núcleo. Em resposta à ligação do hormônio, o receptor altera sua forma para libertar a chaperona (**Figura 15.8**). Isso permite que o receptor se dobre em uma configuração apropriada para entrar no núcleo e iniciar a transcrição de mRNA.

15.2 RECAPITULAÇÃO

Receptores para sinais são proteínas que se ligam ou se modificam por sinais específicos e, em seguida, iniciam uma resposta na célula. Estes receptores podem estar na membrana plasmática ou dentro da célula.

- Você entende a especificidade de receptores para ligantes? Ver p. 336.
- Quais são os três tipos diferentes de receptores de membrana observados em eucariotos complexos? Ver p. 337-338.

Agora que discutimos sinais e receptores, examinaremos as características dos transdutores que servem de intermediários entre o receptor e a resposta celular.

15.3 Como acontece a transdução dos sinais na célula?

Conforme acabamos de ver, o mesmo sinal pode produzir diferentes respostas em diferentes tecidos. Quando a epinefrina, por exemplo, liga-se a receptores nas células musculares cardíacas, ela estimula a contração muscular, mas, quando se liga a receptores em células musculares lisas nos vasos sanguíneos do sistema digestivo, diminui a contração muscular. Essas respostas diferentes ao mesmo complexo sinal-receptor são mediadas pelos eventos de transdução de sinal. Esses eventos, cruciais para a resposta das células, podem ser diretos ou indiretos:

- **Transdução direta** trata-se de uma propriedade do próprio receptor e ocorre na membrana plasmática (**Figura 15.9A**).
- Na **transdução indireta**, que é a mais comum, uma outra molécula, denominada **segundo mensageiro**, medeia uma interação adicional entre o receptor e a resposta da célula (**Figura 15.9B**).

Em ambos os casos, o sinal inicia uma **cascata** de eventos, em que proteínas interagem com outras proteínas até as respostas finais serem alcançadas. Através dessa cascata, um sinal inicial fraco pode ser tanto *amplificado* quanto *distribuído* para causar respostas diferentes na célula-alvo.

As cascatas de proteínas-quinases amplificam uma resposta de ligação ao receptor

Vimos que, quando um sinal se liga a um receptor proteína-quinase, a conformação do receptor modifica, para expor um sítio proteína-quinase ativo, que catalisa a fosforilação de proteínas-alvo. Esse processo é um exemplo de transdução de sinal direta.

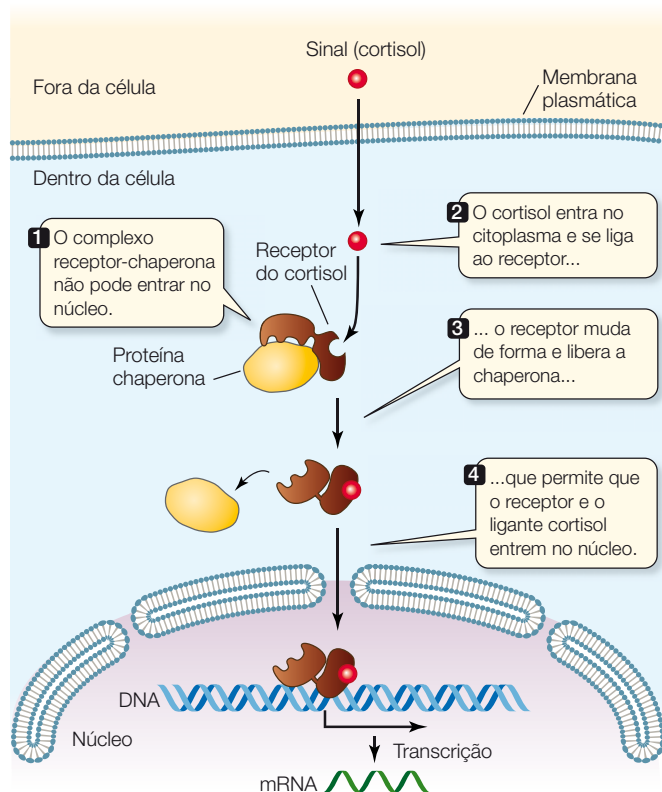


Figura 15.8 Um receptor citoplasmático O receptor para cortisol está ligado a uma proteína chaperona. A ligação do sinal libera a chaperona e permite que a proteína receptora entre no núcleo da célula, onde funciona como fator de transcrição.

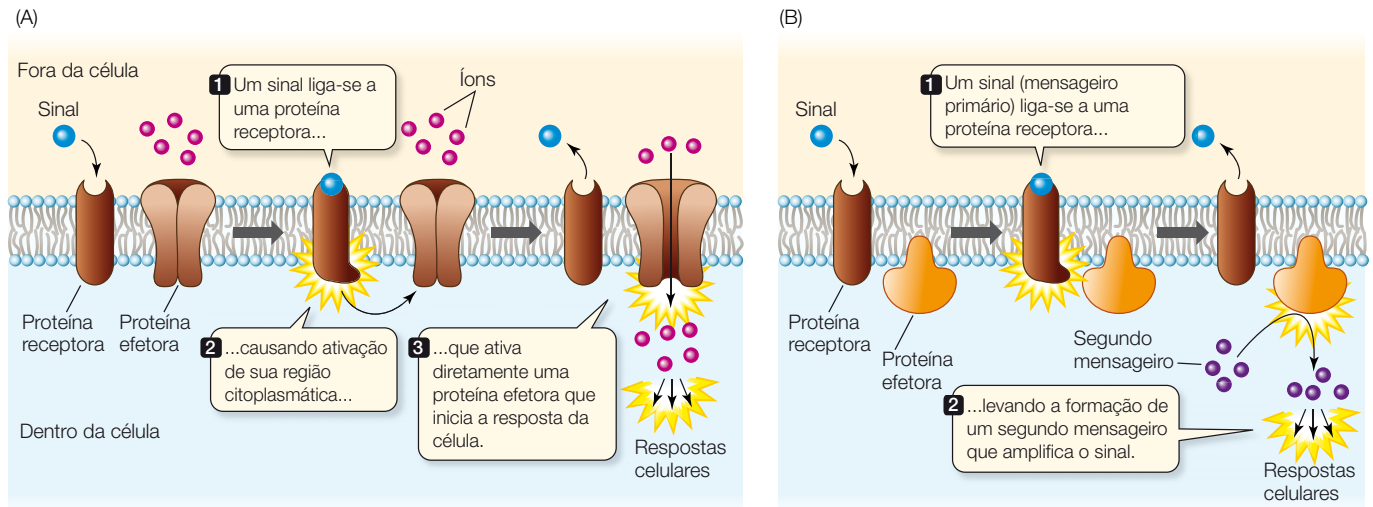


Figura 15.9 Transdução de sinal direta e indireta (A) Todos os eventos de transdução direta ocorrem na membrana plasmática, no receptor ou próximo a ele. (B) Na transdução indireta, um segundo mensageiro medeia os eventos.

Receptores proteína-quinase são importantes em ligação de sinais que estimulam divisão celular, tanto em plantas quanto em animais. Por exemplo, os fatores de crescimento descritos na Seção 9.2, que atuam como indutores externos do ciclo celular, funcionam através da ligação a receptores proteína-quinase.

A via completa de transdução de sinal, que ocorre depois que um receptor proteína-quinase liga-se a um fator de crescimento, resolveu-se a partir de estudos sobre uma célula que funcionava de forma incorreta. Muitos cânceres humanos de bexiga contêm uma forma anormal de uma proteína chamada Ras (assim denominada porque foi inicialmente isolada a partir de um sarcoma de rato). Estudos desses cânceres de bexiga mostraram que esta proteína Ras era uma proteína G, mas estava sempre ativa porque ficava permanentemente ligada ao GTP e, dessa forma, causava contínua divisão celular. Se as proteínas Ras das células de câncer fossem inibidas, parava a divisão. Essa descoberta levou a um esforço importante para desenvolver inibidores específicos da Ras para o tratamento de câncer.

O que a Ras faz em células normais, não cancerosas? Os cientistas sabiam que as células devem ser estimuladas por fatores de crescimento (sinais) a fim de entrarem no ciclo celular e se dividirem (ver Seção 9.2). Uma hipótese foi que a Ras era intermediária entre a ligação de um fator de crescimento ao seu receptor e a resposta final de divisão celular. Para investigar esta hipótese, os cientistas trataram células em uma placa de cultivo tanto com inibidor de Ras quanto com fator de crescimento. A divisão celular não ocorreu, confirmando a hipótese.

Após essa descoberta, a próxima etapa foi resolver de que forma o receptor de fator de crescimento uma vez ativado chegava à Ras e como ela fazia para estimular eventos seguintes na transdução de sinal. Essa via de sinalização foi explicada e consiste em um exemplo de um fenômeno mais geral, chamado **cascata de proteína-quinase** (Figura 15.10). Tais cascatas são a chave para a regulação externa de muitas atividades celulares. De fato, o genoma eucarioto codifica centenas, até milhares, de tais quinases.

Os receptores para fatores de crescimento, quando não unidos a eles, permanecem na membrana plasmática como cadeias polipeptídicas separadas (subunidades). Quando o fator de crescimento sinal se liga a uma subunidade, ela se associa com outra a fim de formar um dímero, o qual muda de forma para expor um sítio ativo proteína-quinase. Sua atividade quinase dá início a uma série de eventos, ativando várias outras proteínas-quinases sucessivamente. A proteína-quinase ativada fosforila final – MAP quinase – desloca-se para o núcleo e fosforila proteínas-alvo necessárias para a divisão celular.

Cascatas de proteínas-quinases são muito úteis para transdução de sinal por três razões:

- A cada etapa na cascata de eventos, o sinal é *amplificado*, porque cada proteína-quinase recém-ativada trata-se de uma enzima que pode catalisar a fosforilação de muitas proteínas-alvo.
- A informação de um sinal que originalmente chegou até a membrana plasmática é *comunicada* ao núcleo.
- A grande quantidade de etapas proporciona alguma *especificidade* ao processo. Conforme observamos com a epinefrina, a ligação do sinal e a ativação do receptor não resultam na mesma resposta em todas as células. Diferentes proteínas-alvo em cada etapa na cascata podem proporcionar variação na resposta.

Segundos mensageiros podem estimular cascatas de proteínas-quinases

Como vimos, receptores proteína-quinase iniciam uma cascata dessa proteína junto à membrana plasmática. Entretanto, a estimulação de eventos na célula ocorre, na maioria das vezes, indiretamente. Em uma série de experimentos importantes, Earl Sutherland, Edwin Krebs e Edmond Fischer mostraram que, em muitos casos, um pequeno mensageiro químico solúvel em água serve de intermediário entre o receptor de membrana plasmática e os eventos citoplasmáticos. Esses pesquisadores estavam investigando a ativação da enzima hepática *glicogênio-fosforilase* pelo hormônio epinefrina. A glicogênio-fosforilase catalisa a hidrólise de glicogênio armazenado no fígado para que as moléculas de glicose resultantes possam ser liberadas no sangue a fim de abaste-

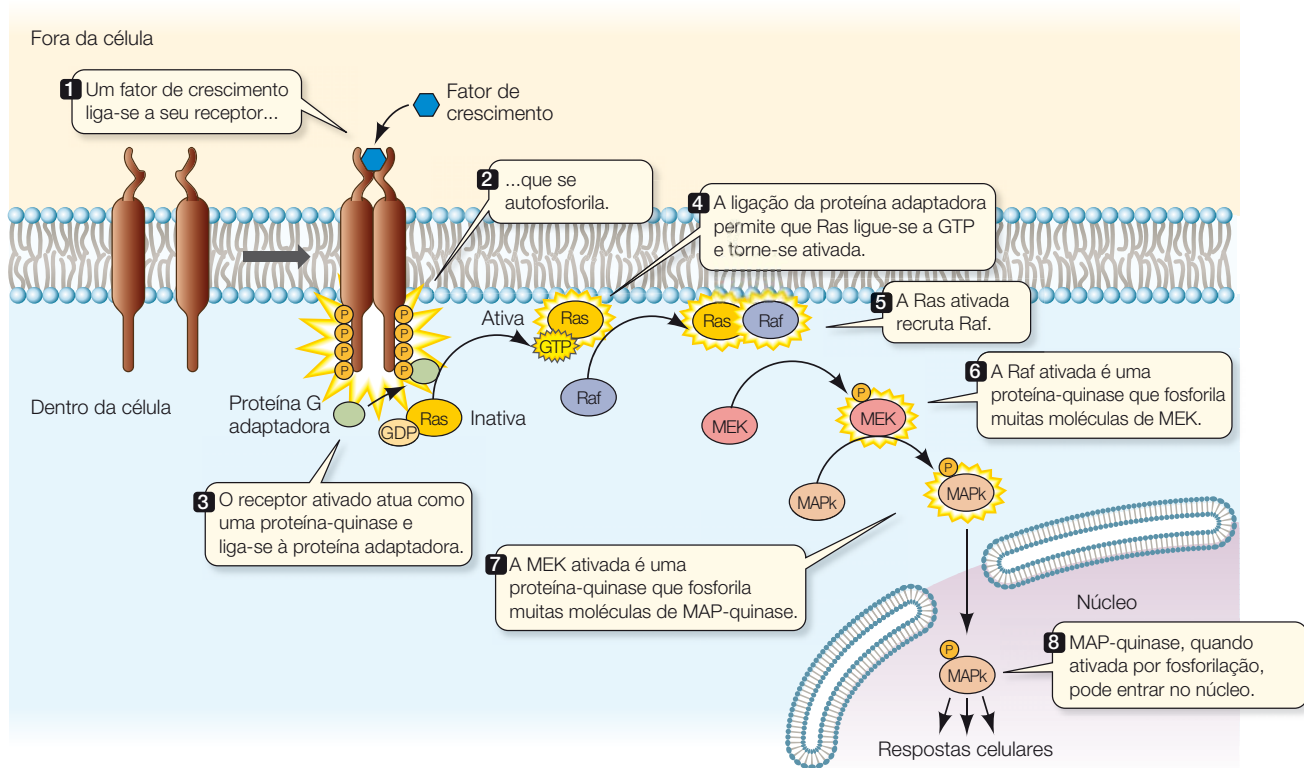


Figura 15.10 Uma cascata de proteína-quinase Em uma cascata de proteína-quinase, uma série de proteínas é sequencialmente ativada. Neste exemplo, a proteína receptora do fator de crescimento estimula a proteína G Ras, que medeia a série de reações em cascata. O produto final da cascata, MAP-quinase (MAPK), entra no núcleo e provoca modificações na transcrição.

cer a resposta de “luta ou fuga” (ver Figura 47.4). Normalmente, ela encontra-se presente no citoplasma das células hepáticas mas é inativa, exceto na presença de epinefrina.

Os pesquisadores descobriram que a glicogênio-fosforilase ativa-se nas células hepáticas que tinham sido rompidas, mas somente se os componentes celulares inteiros, incluindo fragmentos da membrana plasmática, estiverem presentes. Sob essas condições, a epinefrina ligava-se à membranas plasmáticas, mas a fosforilase ativa estava presente no citoplasma. Os cientistas formularam a hipótese de que deveria haver algum mensageiro químico que transmite a mensagem da ligação da epinefrina (na membrana) para fosforilase (no citoplasma). Com vistas a investigar a produção dessa mensagem, eles separaram os fragmentos de membrana plasmática do citoplasma das células hepáticas rompidas seguindo a sequência de etapas descritas na **Figura 15.11**. Esse experimento confirmou a hipótese de que a ligação do hormônio ao receptor de membrana causava a produção de uma pequena molécula solúvel em água que, então, se difundia no citoplasma, onde ativou a enzima. Essa molécula pequena foi mais tarde identificada como *AMP cíclico* (cAMP), a mesma molécula envolvida no sistema regulador óperon *lac* em *E. coli* (ver Seção 13.4). Aqui, o cAMP estava funcionando como um **segundo mensageiro**.

Segundos mensageiros consistem em substâncias liberadas no citoplasma após o primeiro mensageiro – o sinal – se ligar ao seu re-

ceptor. Em contraste com a especificidade da ligação ao receptor, os segundos mensageiros afetam muitos processos na célula e permitem a ela responder a um evento único na membrana plasmática com muitos eventos dentro de si. Como nas cascatas de proteína-quinase, os segundos mensageiros amplificam o sinal: uma única molécula de epinefrina, por exemplo, leva à produção de várias moléculas de cAMP, que então ativam muitas enzimas-alvo. Os segundos mensageiros não apresentam atividade enzimática; ao contrário, eles atuam como *cofatores* ou *reguladores alostéricos* de enzimas-alvo (ver Capítulo 6).

O AMP cíclico é um segundo mensageiro comum e amplamente utilizado. A adenilciclase, a enzima efetora que catalisa a formação de cAMP a partir de ATP, localiza-se sobre a superfície citoplasmática da membrana plasmática de células-alvo (**Figura 15.12**). Normalmente, ela é ativada pela ligação de proteínas G, por sua vez, ativadas por receptores (ver abaixo).

O cAMP tem dois tipos principais de alvos. Em muitos tipos de células sensoriais, o cAMP se liga a *canais de íon* para fazê-los abrir. O cAMP também pode se ligar no citoplasma a uma proteína-quinase, cujo sítio ativo é exposto, em resposta à ligação. Uma cascata de proteínas-quinases (ver Figura 15.10) se segue, levando aos efeitos finais na célula.

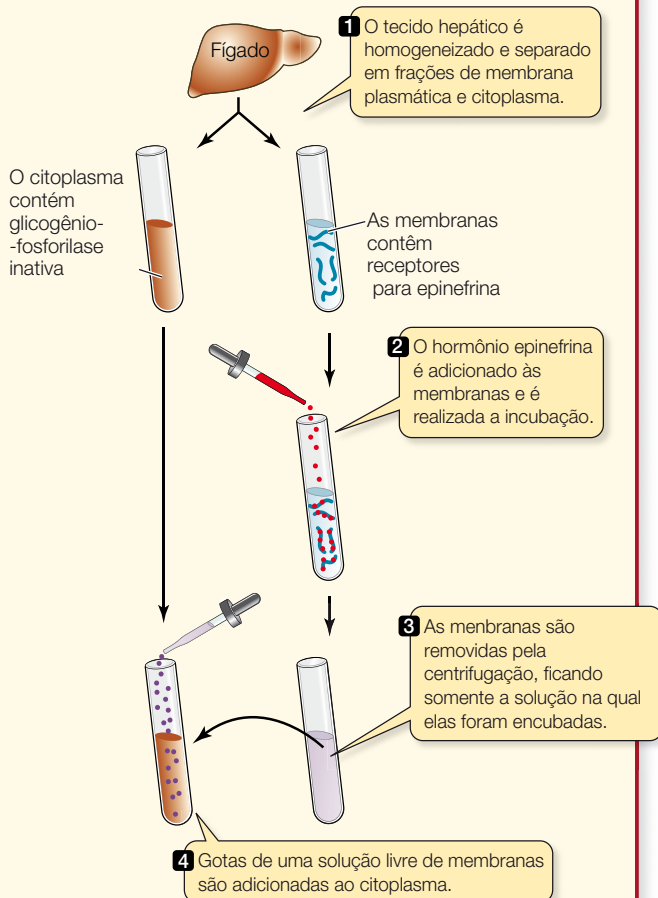
Segundos mensageiros podem ser derivados de lipídeos

Os fosfolipídeos, além de suas funções como componentes estruturais da membrana plasmática, estão envolvidos em transdução de sinal. Quando certos fosfolipídeos são hidrolisados nos componentes que os formam por enzimas chamadas *fosfolipases*, formam-se segundos mensageiros.

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: Um segundo mensageiro serve de intermediário entre a ativação do receptor na membrana plasmática e a ativação da enzima no citoplasma.

MÉTODO



RESULTADO

Glicogênio-fosforilase ativa encontra-se presente no citoplasma.

CONCLUSÃO: Um segundo mensageiro solúvel, produzido pelas membranas ativadas pelo hormônio, está presente na solução e ativa enzimas no citoplasma.

Figura 15.11 A descoberta de um segundo mensageiro Sutherland e colaboradores separaram os componentes de uma via de sinalização celular. Desta maneira, foram capazes de mostrar que um segundo mensageiro solúvel estava presente. **PESQUISA ADICIONAL:** A molécula solúvel produzida neste experimento foi mais tarde identificada como cAMP. Como você mostraria que o cAMP, e não o ATP, é o segundo mensageiro neste sistema?

Os mais bem estudados segundos mensageiros derivados de lipídeos originam-se da hidrólise do **fosfatidil inositol-bisfosfato (PIP₂)**, que, como todos os fosfolipídeos, apresenta uma porção

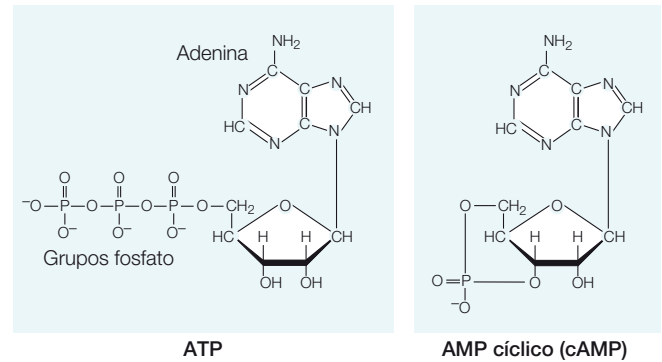
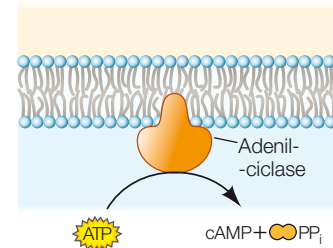
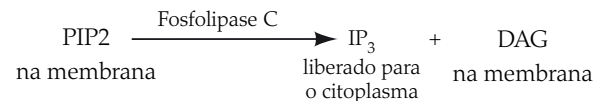


Figura 15.12 A formação de AMP cíclico A formação de cAMP a partir de ATP é catalisada por adenilciclase, uma enzima ativada por proteínas G.

hidrofóbica (duas cadeias de ácidos graxos ligadas a uma molécula de glicerol, que juntas formam **diacilglicerol**, ou **DAG**) embutida na membrana plasmática; e uma porção hidrofílica (**inositol trifosfato**, ou **IP₃**) projetando-se para dentro do citoplasma.

Como ocorre com o cAMP, os receptores envolvidos neste sistema de segundos mensageiros são frequentemente receptores ligados a proteínas G. A subunidade da proteínas G ativada pelo receptor se difunde por meio da membrana plasmática e ativa uma enzima, a fosfolipase C. Essa enzima separa o IP₃ do PIP₂, deixando o glicerol e os dois ácidos graxos ligados (DAG) na bicamada de fosfolipídeos:



IP₃ e DAG são, ambos, segundos mensageiros e possuem diferentes modos de ação que ativam um ao outro. O DAG ativa uma enzima ligada à membrana, proteína-quinase C (PKC). A PKC depende de Ca²⁺ (por isso o "C"), e nesse ponto o IP₃ desempenha papel essencial. O IP₃ se difunde pelo citoplasma até o retículo endoplasmático liso, onde abre um canal de íon, liberando Ca²⁺ para dentro do citoplasma. Lá, em combinação com DAG, o Ca²⁺ ativa PKC. Então, a PKC pode fosforilar uma grande variedade de proteínas, levando à resposta definitiva da célula (**Figura 15.13**).

Essa via aparentemente é o alvo para o lítio, utilizado clinicamente durante muitos anos como droga psicoativa para tratar o distúrbio bipolar (ou maníaco depressivo). Essa doença grave ocorre em cerca de 1 a cada 100 pessoas, em que uma via de transdução de sinal IP₃/DAG excessivamente ativa no cérebro leva à atividade excessiva em certas regiões cerebrais. Íons lítio (Li⁺)

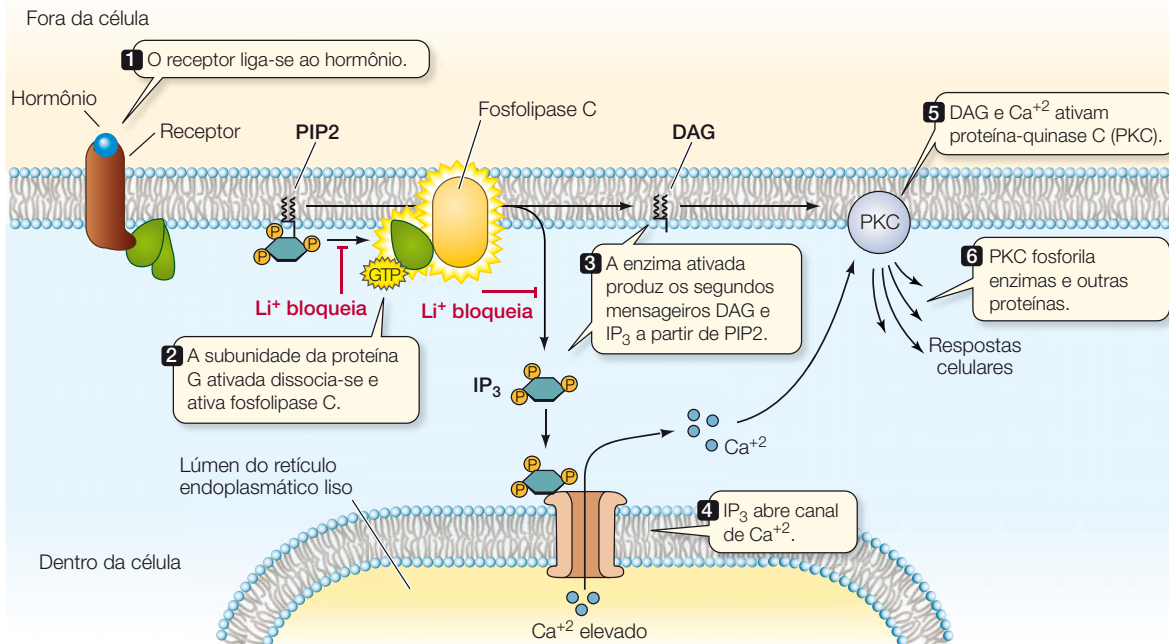


Figura 15.13 O Sistema de segundos mensageiros IP₃ / DAG Fosfolipase C hidrolisa o fosfolípido PIP₂ em seus componentes IP₃ e DAG, ambos os quais são segundos mensageiros. Íons lítio (Li⁺), utilizados para tratar distúrbio bipolar, bloqueia esta via (em vermelho).

“baixam o tom” (“suavizam”) desta via de duas formas, conforme indicado pelo texto em vermelho na Figura 15.13. O Li⁺ inibe a ativação da fosfolipase C pela proteína G, e também inibe a síntese de IP₃. O resultado geral é que a atividade cerebral retorna ao normal.

Os íons cálcio estão envolvidos em muitas vias de transdução de sinal

Os íons cálcio são escassos dentro da maioria das células, que têm uma concentração citoplasmática de Ca⁺² de cerca de 0,1 mM; as concentrações de Ca⁺² do lado externo da célula e dentro do retículo endoplasmático são normalmente muito mais elevadas. Essa diferença de concentração se mantém por proteínas de transporte ativo nas membranas plasmática e no retículo endoplasmático, que bombeiam o íon para fora do citoplasma. Em contraste com o cAMP e com os segundos mensageiros derivados de lipídeos, a concentração de Ca⁺² intracelular não pode ser aumentada pela maior produção deste íon. Em vez disso, a abertura e o fechamento de canais de íons e a ação das bombas de membrana regulam os níveis do íon no compartimento celular.

Há muitos sinais que podem causar a abertura dos canais de Ca⁺², incluindo IP₃ (como observado na seção anterior). A entrada de um espermatozoide no gameta feminino constitui um sinal muito importante que causa uma abertura maciça de canais de Ca⁺² (Figura 15.14). Qualquer que seja o sinal, a abertura dos canais de cálcio resulta em um aumento dramático na concentração citoplasmática de Ca⁺², acima de cem vezes dentro de uma fração de um segundo. Segundo analisado anteriormente, esse aumento ativa a proteína-quinase C. Além disso, Ca⁺² controla outros canais de íon e estimula secreção por exocitose.

Um aspecto característico de sinalização pelo Ca⁺² consiste em que o íon pode estimular sua própria liberação das reservas intracelulares. Por exemplo, em algumas células de folhas de plantas, o hormônio ácido abscísico liga-se a canais de Ca⁺² fechados na membrana plasmática e os abre, causando a entrada brusca do íon nas células. No entanto, esse influxo não é suficiente para desencadear a resposta da célula. O íon liga-se aos canais de Ca⁺² nas membranas do retículo endoplasmático e dos vacúolos, fazendo essas organelas liberarem seus estoques de Ca⁺² também.

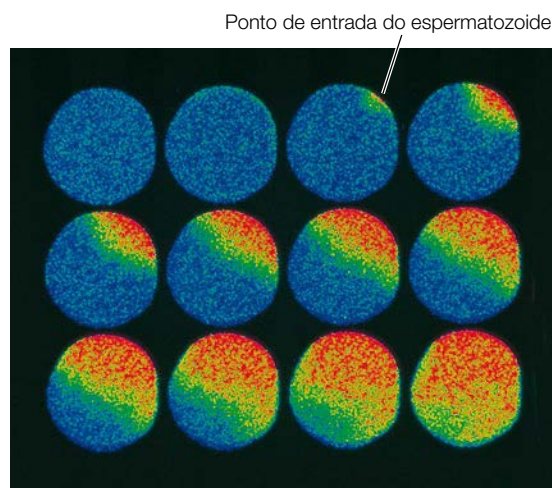


Figura 15.14 Íons cálcio como segundo mensageiro A concentração de Ca⁺² pode ser medida por um corante que fluoresce e torna-se vermelho quando se liga ao íon. Aqui, fotografada a cada 5 segundos de intervalo, a fecundação faz uma onda de Ca⁺² passar através do ovo de uma estrela-do-mar. Realmente, a sinalização pelo cálcio é utilizada por todos os grupos animais para liberar a mensagem de que a fecundação está completa e as divisões mitóticas, ou *clivagens*, que resultarão em um novo organismo, podem iniciar.

Em alguns casos, os íons Ca^{+2} atuam por meio de uma proteína ligadora de cálcio chamada *calmodulina*, e esse complexo Ca^{+2} /calmodulina inicia a resposta celular através da ligação com proteínas-alvo. A calmodulina, que se encontra presente em muitas células, possui quatro sítios de ligação para Ca^{+2} . Quando a concentração citoplasmática de Ca^{+2} é baixa, a calmodulina não liga cálcio suficiente para tornar-se ativada. Todavia, quando a célula estimula-se por um sinal que causa elevação na concentração de Ca^{+2} , todos os quatro sítios de ligação são preenchidos. Nesse caso, a calmodulina modifica sua forma e se liga a vários alvos celulares, ativando-os sucessivamente. Um desses alvos é uma proteína-quinase em células musculares lisas que fosforila a proteína muscular miosina, iniciando a contração muscular.

O óxido nítrico pode atuar como segundo mensageiro

O farmacologista Robert Furchgott, da Universidade do Estado de Nova York, no Brooklyn, investigou como a acetilcolina fazia a camada de músculos lisos que reveste os vasos sanguíneos relaxar, permitindo assim que mais sangue fluísse para certos órgãos. A acetilcolina parecia estimular a via de transdução de sinal IP_3/DAG a produzir um influxo de Ca^{+2} , levando ao aumento no nível de outro segundo mensageiro, o GMP cíclico (cGMP). Então, o GMP cíclico ligava-se a uma proteína-quinase que, por sua vez, estimulava uma cascata de proteínas-quinases levando ao relaxamento do músculo. Até aqui a via parecia simples.

Enquanto a via de transdução de sinal estudada por Furchgott parecia funcionar em animais intactos, isso não acontecia em pedaços isolados de tecido de artéria. No entanto, quando Furchgott mudou para secções tubulares de artéria, a transdução de sinal ocorreu. Parecia haver uma diferença crucial entre essas duas preparações: nos pedaços isolados, a fina camada interna de células que revestem os vasos sanguíneos tinha sido perdida. Furchgott formulou a hipótese de que essa camada, o *endotélio*, produzia alguma substância que se difundia para dentro das células mus-

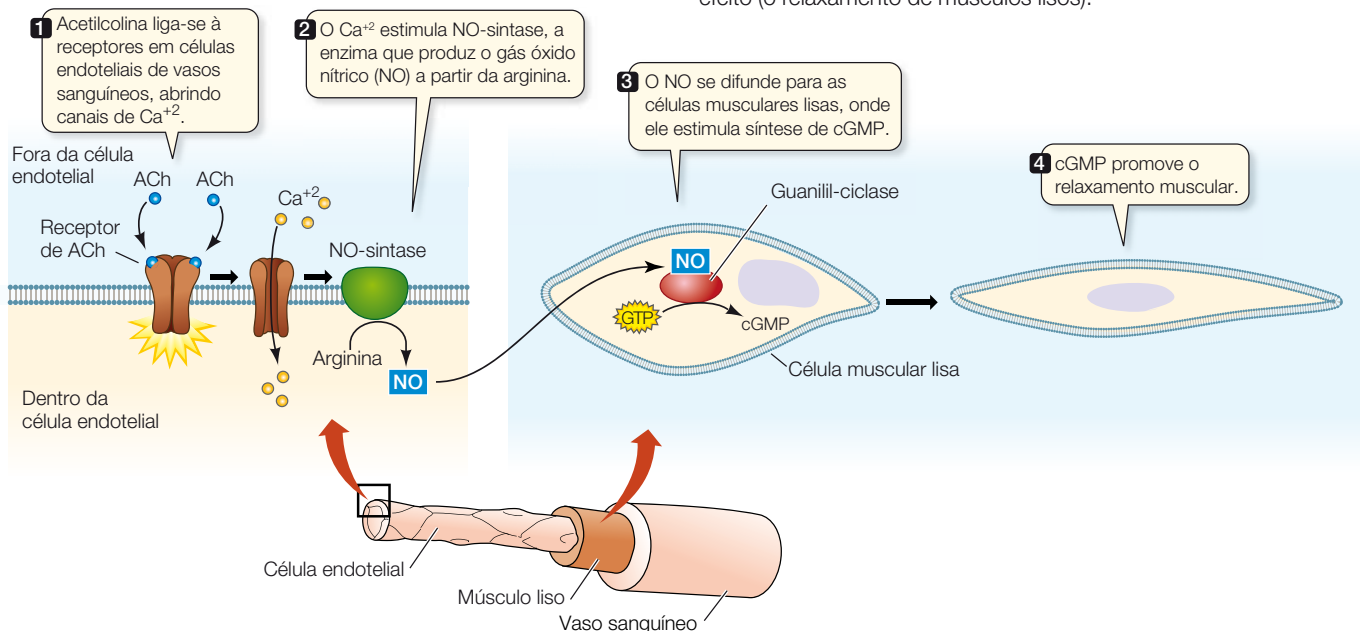
culares lisas e era necessária para sua resposta à acetilcolina. A substância não foi fácil de ser isolada. Ela parecia degradar-se rapidamente, com meia-vida (o tempo em que metade dela desaparece) de 5 segundos em tecidos vivos.

A substância imprecisa de Furchgott parecia ser um gás, o **óxido nítrico (NO)**, que anteriormente havia sido considerado apenas poluente tóxico do ar! No organismo, o NO produz-se a partir da arginina pela enzima *NO-sintase*. Essa enzima é ativada por Ca^{+2} , que entra na célula endotelial por meio de um canal aberto por PIP₂, liberado quando a acetilcolina liga-se ao seu receptor. O óxido nítrico é muito instável quimicamente e, embora se difunda de forma rápida, não o faz para muito longe. Convenientemente, as células endoteliais encontram-se próximas das células musculares lisas, onde o NO atua como segundo mensageiro. Em músculo liso, o NO ativa uma enzima chamada guanilil-ciclase, catalisando a formação de cGMP que, por sua vez, relaxa as células musculares (**Figura 15.15**).

A descoberta espetacular do NO como segundo mensageiro explicou a ação da nitroglicerina, droga utilizada por mais de um século no tratamento da angina, a dor no peito causada por fluxo insuficiente de sangue para o coração. A nitroglicerina libera NO, o que resulta em relaxamento dos vasos sanguíneos e aumento do fluxo de sangue.

Desenvolvida para tratar angina por meio da via NO, a droga Viagra foi pouco útil para esse objetivo. Entretanto, homens que fizeram uso dela relataram ereções penianas mais pronunciadas. Durante o estímulo sexual, o NO atua como segundo mensageiro, causando aumento de cGMP e promovendo relaxamento dos músculos lisos nos corpos cavernosos do pênis, que se enchem de sangue, resultando na ereção.

Figura 15.15 Óxido nítrico na condição de segundo mensageiro O óxido nítrico (NO) é um gás instável que, no entanto, serve como segundo mensageiro entre um sinal (acetilcolina) e seu efeito (o relaxamento de músculos lisos).



A transdução de sinal é extremamente regulada

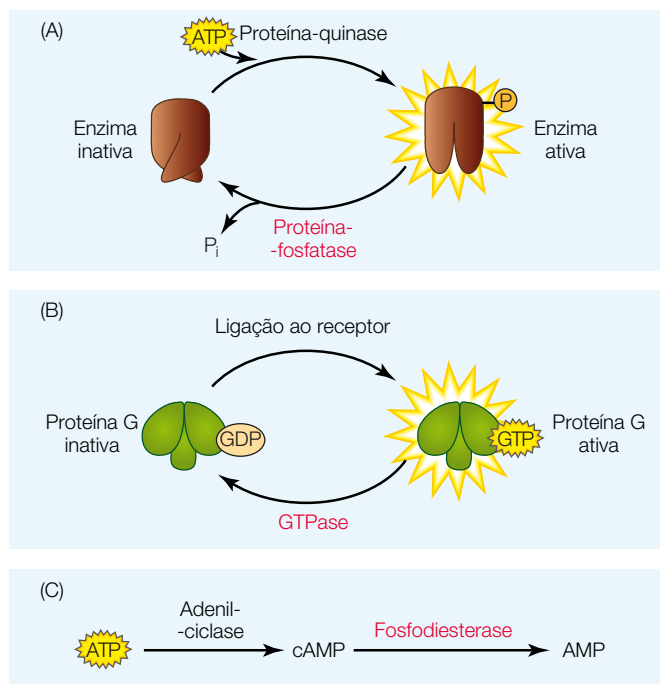
Há várias maneiras pelas quais as células regulam a atividade de um transdutor. A concentração de NO, que diminui rapidamente, só pode ser regulada pelo quanto dele é produzido. Conforme vimos, a concentração de Ca^{+2} , por outro lado, determina-se tanto por bombas de membrana quanto por canais de íons. Para regular cascatas de proteínas-quinases, proteínas G e cAMP, há enzimas que convertem a forma ativada do transdutor de volta para seu precursor inativo (**Figura 15.16**).

O balanço entre essas duas atividades da enzima (produção e destruição de moléculas ativas) determina a resposta celular final a um sinal. As células podem alterar este balanço de diversas maneiras:

- **Síntese ou destruição das enzimas envolvidas.** Por exemplo, a síntese de adenilciclase e degradação de fosfodiesterase (que destrói cAMP) inclinaria o balanço em favor de mais cAMP na célula.
- **Ativação ou inibição das enzimas por outras moléculas.** Exemplos simples incluem a ligação de sinais a um receptor, ativando proteínas G, e a cafeína inibindo fosfodiesterase em células musculares. O Viagra inibe a fosfodiesterase que normalmente degrada cGMP.

A sinalização celular é importante para o controle de doenças como o câncer. Está em curso uma busca por novas drogas que possam modular a atividade das enzimas que regulam as concentrações de moléculas em vias de transdução de sinal.

Figura 15.16 Regulação de transdução de sinal Alguns sinais levam à produção de transdutores ativos tais como (A) enzimas, (B) proteínas G e (C) cAMP. Outras enzimas (em vermelho) inativam estes transdutores.



15.3 RECAPITULAÇÃO

Transdução de sinal é a etapa entre a ligação de um sinal a um receptor e a resposta celular final. Na transdução de sinal direta, o receptor é o efetor; frequentemente, um segundo mensageiro atua para amplificar a sinalização para o efetor. Cascatas de proteína-quinase amplificam e regulam sinalização.

- Você pode explicar como uma cascata de proteína-quinase amplifica uma mensagem de sinal dentro da célula? Ver p. 340 e Figura 15.10.
- Descreva o papel de cAMP como segundo mensageiro. Ver p. 341.
- De que forma são reguladas as cascatas de transdução de sinal? Ver p. 345 e Figura 15.16.

Vimos como a ligação de um sinal com seu receptor inicia a resposta de uma célula ao sinal e como a transdução direta ou indireta desse sinal para dentro da célula amplifica o estímulo. Na próxima seção, levamos em consideração a terceira e última etapa no processo de transdução de sinal, os efeitos reais do sinal sobre a função celular.

15.4 Como as células são alteradas em resposta aos sinais?

Os efeitos de um sinal sobre a função celular se dão de três formas primárias: abertura de canais de íons, alterações nas atividades de enzimas ou transcrição diferencial de genes.

Os canais de íon abrem em resposta a sinais

A abertura de canais de íons consiste em uma etapa chave na resposta do sistema nervoso a sinais. Neurônios sensoriais dos órgãos dos sentidos, por exemplo, tornam-se estimulados por meio da abertura de canais de íons. Focaremos aqui uma dessas vias de transdução de sinal, aquela para o sentido de olfato, que responde às moléculas gasosas no ambiente.

O sentido do olfato é bem desenvolvido em mamíferos, alguns dos quais têm mais que mil genes para receptores de odor – tornando-a a maior família de genes conhecida. Cada um dos milhares de neurônios no nariz expressa um desses receptores. A identificação de qual sinal químico, ou odorante, ativa qual receptor está apenas no início do caminho.

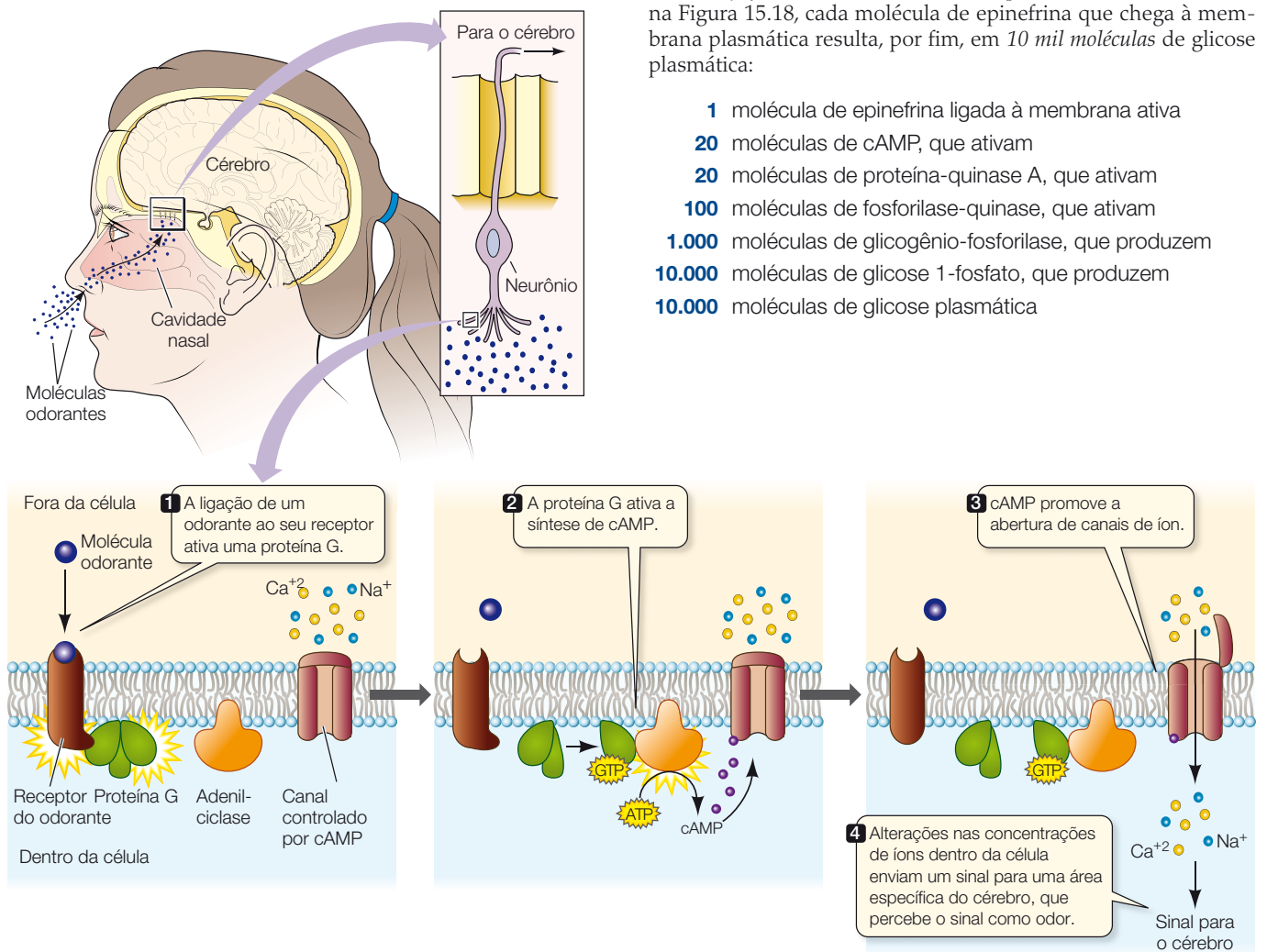
Em média, os humanos nascem com cerca de 950 genes que codificam proteínas receptoras para sinal de odor, mas poucas pessoas expressam mais do que 400 deles; algumas expressam muito menos, o que pode explicar por que você é capaz de cheirar certas coisas e seu colega de quarto não, ou vice-versa.

Quando uma molécula odorante se liga ao seu receptor, uma proteína G torna-se ativada e, por sua vez, ativa a adenilciclase, que catalisa a formação do segundo mensageiro cAMP. Então, essa molécula se liga a canais de íons, causando sua abertura (Figura 15.17). O influxo de Na^+ e Ca^{+2} resultante faz o neurônio tornar-se estimulado, enviando um sinal para o cérebro que um odor especial encontra-se presente.

Atividades enzimáticas se modificam em resposta a sinais

As proteínas modificarão sua forma, e assim sua função, se forem alteradas tanto covalente quanto não covalentemente. Vimos exemplos de ambos os tipos de modificação em nossa descrição de transdução de sinal. As proteínas-quinases adicionam grupos fosfato a proteínas-alvo, e essa mudança covalente altera a conformação da proteína. AMP cíclico liga-se alostericamente a proteínas-alvo e essa interação não covalente modifica a conforma-

Figura 15.17 Uma via de transdução de sinal leva à abertura de canais de membrana Na via de transdução de sinal para a sensação do olfato, o efeito final é a abertura de canais de Na^+ . O influxo de Na^+ e Ca^{+2} resultante, estimula a transmissão de uma mensagem de odor para uma região específica do cérebro.



ção da proteína. Em ambos os casos, os sítios ativos previamente inacessíveis são expostos, e a proteína-alvo passa a desempenhar uma nova função celular.

A cascata de proteína-quinase mediada por proteína G, estimulada pela epinefrina em células hepáticas, resulta na fosforilação de duas enzimas-chave no metabolismo de glicogênio, com efeitos opostos:

- **Inibição.** A glicogênio-sintase, que catalisa a união de moléculas de glicose para sintetizar a molécula de armazenamento de energia glicogênio, é inativada por fosforilação. Assim, o sinal da epinefrina impede que a glicose seja armazenada sob forma de glicogênio (Figura 15.18, etapa 1).
- **Ativação.** A fosforilase-quinase ativa-se quando um grupo fosfato é adicionado a ela. A proteína passa a estimular uma cascata de proteína-quinase que, no final, leva à ativação, por fosforilação, da glicogênio-fosforilase, a outra enzima-chave no metabolismo da glicose. Essa enzima libera moléculas de glicose a partir do glicogênio (Figura 15.18, etapas 2 e 3).

Dessa forma, a mesma via de sinalização inibe o armazenamento de glicose na forma de glicogênio (pela inibição da glicogênio sintase) e promove a liberação de glicose através da degradação de glicogênio (pela ativação da glicogênio-fosforilase). Conforme mencionado anteriormente, a glicose liberada abastece a resposta de "luta ou fuga" à epinefrina.

A amplificação do sinal nesta via impressiona; como detalhado na Figura 15.18, cada molécula de epinefrina que chega à membrana plasmática resulta, por fim, em 10 mil moléculas de glicose plasmática:

- 1 molécula de epinefrina ligada à membrana ativa
- 20 moléculas de cAMP, que ativam
- 20 moléculas de proteína-quinase A, que ativam
- 100 moléculas de fosforilase-quinase, que ativam
- 1.000 moléculas de glicogênio-fosforilase, que produzem
- 10.000 moléculas de glicose 1-fosfato, que produzem
- 10.000 moléculas de glicose plasmática

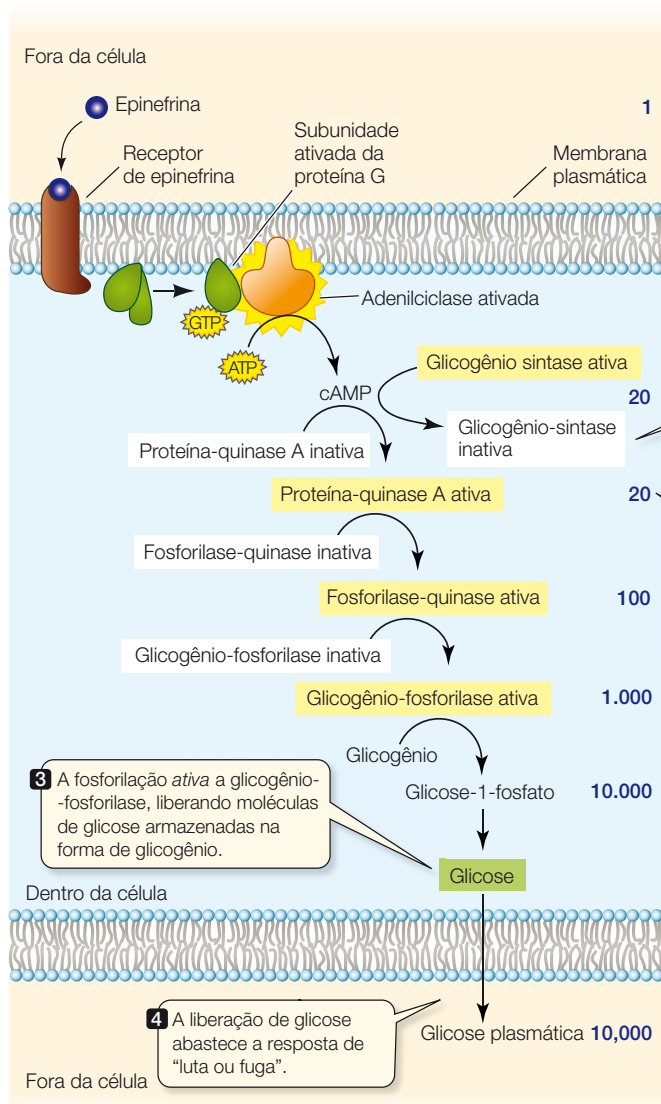


Figura 15.18 Uma cascata de reações leva à alteração da atividade da enzima Células hepáticas respondem à epinefrina pela ativação de proteínas G, as quais por sua vez ativam a síntese do segundo mensageiro cAMP. O AMP cíclico inicia uma cascata proteína-quinase, amplificando muito o sinal da epinefrina, como indicado pelos números azuis. A cascata tanto inibe a conversão de glicose para glicogênio como estimula a liberação de glicose armazenada anteriormente.

1 Fosforilação, induzida pela ligação da epinefrina, *inativa* a glicogênio sintase, impedindo que a glicose seja armazenada na forma de glicogênio.

2 A cascata de proteína-quinase amplifica o sinal. Aqui, para cada molécula de epinefrina ligada, 20 moléculas de cAMP são produzidas, cada uma das quais ativando uma molécula de proteína-quinase A.

3 A fosforilação *ativa* a glicogênio-fosforilase, liberando moléculas de glicose armazenadas na forma de glicogênio.

4 A liberação de glicose abastece a resposta de "luta ou fuga".

essas moléculas na Seção 43.5, mas agora faz-se importante saber que fitocromos são ativados por luz vermelha. Um fitocromo ativado liga-se a proteínas citoplasmáticas reguladoras, que entram no núcleo e se ligam a promotores de genes envolvidos na síntese de proteínas importantes do cloroplasto. A síntese dessas proteínas consiste na chave para a planta tornar-se verde.

Sinais podem iniciar a transcrição de genes

Receptores de membrana plasmática encontram-se envolvidos na ativação de uma grande variedade de respostas de expressão gênica. Por exemplo, a via de sinalização Ras termina no núcleo (ver Figura 15.10). A proteína-quinase final na cascata de sinalização Ras, MAPk, entra no núcleo e fosforila um fator de transcrição, que estimula a transcrição de vários genes envolvidos em proliferação celular.

Como descrito na Seção 15.2, os hormônios lipossolúveis podem se difundir através da membrana plasmática e encontrar seus receptores no citoplasma. Neste caso, a ligação do ligante permite ao complexo ligante-receptor entrar no núcleo, onde se une a elementos de resposta ao hormônio nos promotores de vários genes (ver Figura 15.8). Em alguns casos, a transcrição é estimulada e, em outros, é inibida.

Em plantas, a luz atua como sinal para iniciar a formação de cloroplastos. Entre esse sinal luminoso e seu efeito no cloroplasto está uma via de transdução de sinal mediada por transcrição. Sob luz solar, ondas de luz do espectro vermelho são absorvidas por proteínas receptoras chamadas *fitocromos*. Falaremos mais sobre

15.4 RECAPITULAÇÃO

As células respondem a transdução de sinal através da ativação de enzimas, abrindo canais de membrana ou iniciando a transcrição gênica.

- Descreva o papel que o cAMP desempenha no sentido do olfato. Ver p. 345-346 e Figura 15.17.
- Você pode explicar como a amplificação de um sinal ocorre e por que ele é importante em uma resposta da célula às alterações no seu ambiente? Ver p. 346 e Figura 15.18.

Descrevemos como os sinais do ambiente celular podem influenciar esta célula. Mas o ambiente de uma célula em um organismo multicelular é mais do que o meio extracelular – ele inclui igualmente as células vizinhas. Na próxima seção, veremos junções especializadas entre células, que lhes permitem sinalizar umas às outras diretamente.

15.5 Como as células se comunicam diretamente?

A maioria das células está em contato com suas vizinhas. A Seção 5.2 descreveu várias maneiras pelas quais as células aderem umas às outras, tais como proteínas de reconhecimento que se projetam na superfície celular, junções apertadas (do inglês, *tight junctions*) e desmosomos. No entanto, sabemos a partir de nossas próprias experiências com nossos vizinhos (e companheiros), que estar em grande proximidade não significa necessariamente que haja comunicação funcional. Nem junções apertadas, nem desmosomos são especializados para comunicação intercelular. Entretanto, muitos organismos multicelulares apresentam junções celulares especializadas que permitem às suas células comunicarem-se diretamente. Em animais, essas estruturas constituem junções *gap*; em plantas, elas são plasmodesmos.

As células animais comunicam-se por meio de junções *gap*

As junções *gap* (comunicantes) são canais entre células adjacentes que ocorrem em muitos animais, ocupando mais de 25% da área da membrana plasmática (Figura 15.19). Elas atravessam o espaço estreito entre as membranas plasmáticas de duas células (a “lacuna”) por meio de canais proteicos denominados **conexônios**. As paredes desses canais compõem-se por seis subunidades de uma proteína integral de membrana. Em duas células próximas uma da outra, dois conexônios reúnem-se formando um canal que liga os dois citoplasmas. Pode haver centenas desses canais entre uma célula e suas vizinhas. Os poros dos canais têm cerca de 1,5 nm de diâmetro – estreitos demais para a passagem de moléculas grandes, como proteínas. Todavia são suficientemente grandes para permitir que moléculas pequenas de sinalização e íons passem entre as células. Experimentos nos quais uma molécula sinalizadora ou um íon marcado é injetado dentro de uma célula mostram que ele pode passar facilmente para dentro de células adjacentes, se elas encontram-se conectadas por junções *gap*.

As junções *gap* permitem cooperação metabólica entre as células unidas. Essa cooperação assegura o compartilhamento de mo-

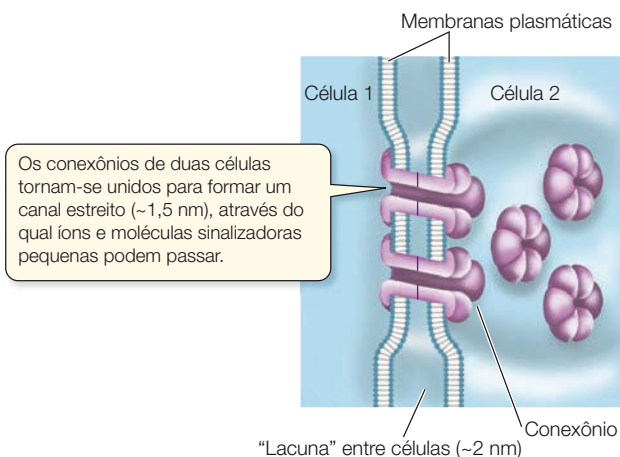


Figura 15.19 Junções *gap* conectam células animais Uma célula animal pode conter centenas de junções *gap* conectando-a com as células vizinhas. Junções *gap* são muito pequenas para proteínas, mas moléculas pequenas como ATP, intermediários metabólicos, aminoácidos e coenzimas, podem passar através delas.

léculas pequenas importantes, como ATP, intermediários metabólicos, aminoácidos e coenzimas entre as células. Ela pode também garantir que concentrações de íons e de moléculas pequenas sejam semelhantes em células unidas, mantendo, dessa forma, a regulação equivalente do metabolismo. Não está claro o quão importante essa função é em muitos tecidos, mas sabe-se que é vital em alguns. Por exemplo, no cristalino do olho de mamíferos, somente as células da periferia encontram-se suficientemente próximas do suprimento de sangue para permitir difusão de nutrientes e de resíduos. Entretanto, uma vez que as células do cristalino estejam conectadas por um grande número de junções *gap*, o material pode se difundir entre elas de forma rápida e eficiente.

Há evidência de que moléculas sinalizadoras, tais como hormônios, e segundos mensageiros, como cAMP, movem-se através de junções *gap*. Se isso é verdade, então somente poucas células precisariam ter receptores para o sinal de modo que o estímulo se propagasse através do tecido. Dessa maneira, um tecido poderia ter uma resposta coordenada ao sinal.

As células vegetais comunicam-se por meio de plasmodesmos

Em lugar de junções *gap*, as plantas possuem **plasmodesmos** – canais alinhados na membrana atravessando as paredes celulares espessas que separam as células vegetais umas das outras. Uma célula vegetal típica tem vários milhares de plasmodesmos.

Os plasmodesmos diferem das junções *gap* de uma forma fundamental: ao contrário das junções *gap*, nas quais a parede do canal constitui-se por proteínas integrais das membranas plasmáticas adjacentes, os plasmodesmos encontram-se revestidos pelas próprias membranas plasmáticas fundidas. Os biólogos vegetais estão tão familiarizados com a noção de um tecido de células interligadas dessa maneira que se referem a esses citoplasmas contínuos como *simplastos* (ver Seção 41.1).

O diâmetro de um plasmodesmo gira em torno de 6 nm, muito maior do que o canal da junção *gap*. Todavia, o espaço real disponível para difusão é cerca de 1,5 nm, o mesmo que o das junções *gap*. Um olhar para o interior de um plasmodesmo revela a razão dessa redução no tamanho do poro: um túbulo chamado **desmotúbulo**, aparentemente derivado do retículo endoplasmático, preenche a maior parte da abertura do plasmodesmo (Figura 15.20). Assim, de forma típica, apenas pequenos metabólitos e íons se movem entre células vegetais. Esse fato constitui-se fisiologicamente importante para plantas, as quais não têm os vasos circulatorios pequenos (capilares), que muitos animais utilizam na condução de gases e nutrientes para cada célula.

A difusão de célula para célula através das membranas plasmáticas é provavelmente inadequada às respostas hormonais em plantas. Em vez disso, elas contam com difusão mais rápida através de plasmodesmos, a fim de assegurar que todas as células de um tecido respondam a um sinal ao mesmo tempo. Nas plantas C4 (ver Seção 8.4), há plasmodesmos em abundância ajudando a mover o carbono fixado no mesofilo rapidamente para as células do feixe da bainha. Um sistema de transporte semelhante, encontrado nas junções de tecidos não vasculares e floema, conduz solutos orgânicos através da planta.

Os plasmodesmos não consistem apenas em canais passivos, mas podem ser regulados. Vírus de plantas podem infectar células em uma localização, e então propagarem-se rapidamente através de um órgão pelos plasmodesmos até atingirem o tecido vascular da planta (sistema circulatorio). Esses vírus, e mesmo o seu RNA, muitas vezes pareceriam muito grandes para passar através dos desmotúbulos, mas passam, aparentemente por produzirem “proteínas de movimento” que aumentam temporariamente o tamanho

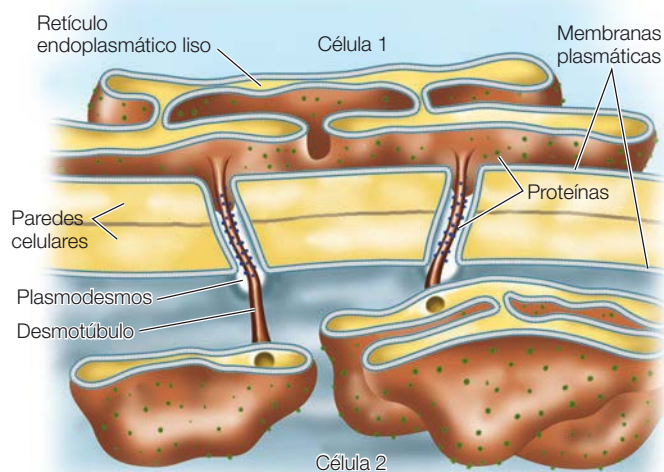


Figura 15.20 Plasmodesmos conectam células vegetais O desmotúbulo, derivado do retículo endoplasmático liso, preenche a maior parte do espaço interno dos plasmodesmos, restando uma minúscula fenda através da qual metabólitos pequenos e íons podem passar.

do poro enquanto se encontram ligadas ao genoma viral. Proteínas de movimento semelhantes produzidas pelas próprias plantas estão envolvidas em transporte de mRNA e proteínas, tais como fatores de transcrição, entre as células vegetais. Esse achado abre a possibilidade de regulação de transcrição e tradução à longa distância.

15.5 RECAPITULAÇÃO

As células podem se comunicar com suas vizinhas através de junções celulares especializadas. Em animais, estas estruturas são junções *gap* (comunicantes); em plantas, são plasmodesmos.

- Que funções as junções *gap* e plasmodesmos desempenham em sinalização celular?

RESUMO DO CAPÍTULO

15.1 O que são sinais e como as células respondem a eles?

Células recebem muitos sinais a partir do ambiente físico e de outras células. Os sinais **autócrinos** afetam as células que os produzem; os sinais **parácrinos** se difundem e afetam células muito próximas. [Rever Figura 15.1.](#)

Uma **via de transdução de sinal** envolve a interação de uma molécula-sinal com um receptor, a transdução do sinal por meio de um segundo mensageiro dentro da célula e um efeito sobre a função da célula. [Rever Figura 15.2.](#)

15.2 Como os receptores de sinais iniciam uma resposta celular?

As células só respondem aos sinais se apresentam proteínas receptoras específicas que podem se ligar a esses sinais. Dependendo da natureza do **ligante** sinalizador, um receptor pode estar localizado na membrana plasmática ou no citoplasma de uma célula-alvo. [Rever Figura 15.4.](#)

Os receptores localizados na membrana plasmática incluem **canais de íon**, **proteínas-quinases** e **receptores ligados a proteínas G**.

Os canais de íon receptores são “portões”: o portão “abre” quando a estrutura tridimensional do canal proteico modifica-se pela ligação do sinal ligante. [Rever Figura 15.5.](#)

As **proteínas G** têm dois sítios de ligação importantes: um para um receptor ligado a proteína G e outro para GDP/GTP. Elas podem ativar ou inibir uma **proteína efetora**. [Rever Figura 15.7.](#)

Quando ligados por um ligante os **receptores citoplasmáticos** alteram sua forma e entram no núcleo da célula. [Rever Figura 15.8.](#)

15.3 Como acontece a transdução dos sinais na célula?

A **transdução direta** é uma função do próprio receptor e ocorre na membrana plasmática. A **transdução indireta** envolve um **segundo mensageiro**. [Rever Figura 15.9.](#)

As **cascatas de proteínas-quinases** amplificam uma resposta à ligação do receptor. [Rever Figura 15.10.](#)

Os segundos mensageiros incluem **AMP cíclico (cAMP)**, **inositol trifosfato (IP₃)** e **diacilglicerol (DAG)**, que derivam do fosfoli-

pídeo **fosfatidilinositol-bisfosfato (PIP₂)**; íons cálcio, e o gás **óxido nítrico (NO)**.

A transdução de sinal regula-se de diversas maneiras. O balanço entre a produção e a degradação das enzimas envolvidas determina a resposta celular final a um sinal.

15.4 Como as células são alteradas em resposta aos sinais?

A resposta celular definitiva a um sinal pode ser a abertura de canais de íons, a alteração de atividades de enzimas ou as mudanças na transcrição de genes. [Rever Figura 15.17.](#)

As proteínas-quinases ligam grupos fosfato a proteínas-alvo, de forma covalente; cAMP liga-se de forma alostérica à proteínas-alvo. Seja atuando de forma covalente ou não covalente, as alterações na conformação das proteínas-alvo expõem sítios ativos previamente inacessíveis.

As enzimas ativadas podem tanto inibir quanto ativar outras enzimas na via de transdução de sinal, levando a amplificação impressionante de um sinal. [Rever Figura 15.18.](#)

Os sinais solúveis em lipídeos, tais como hormônios esteroides, podem se difundir através da membrana plasmática e encontrar seus receptores no citoplasma; dessa forma, o complexo ligante-receptor pode entrar no núcleo para afetar a transcrição de genes.

15.5 Como as células se comunicam diretamente?

A maioria das células animais pode comunicar-se diretamente umas com as outras por meio de pequenos poros em suas membranas plasmáticas, chamados de **junções *gap* (comunicantes)**. Canais proteicos chamados **conexônios** formam sulcos delgados entre duas células adjacentes, através dos quais moléculas sinalizadoras pequenas e íons podem passar. [Rever Figura 15.19.](#)

As células vegetais conectam-se por poros um tanto grandes denominados **plasmodesmos**, que atravessam tanto as membranas plasmáticas quanto as paredes celulares. Os **desmotúbulos** limitam a abertura dos plasmodesmos. [Rever Figura 15.20.](#)

QUESTÕES

- Qual é a ordem correta para os seguintes eventos, na interação de uma célula com um sinal? (1) alteração de função celular; (2) ligação do sinal ao receptor; (3) sinal liberado de seu local de origem; (4) transdução de sinal.
 - 1234
 - 2314
 - 3214
 - 3241
- Por que alguns sinais (“primeiros mensageiros”) acionam um “segundo mensageiro” a fim de ativar uma célula-alvo?
 - O primeiro mensageiro necessita ativação por ATP.
 - O primeiro mensageiro não é solúvel em água.
 - O primeiro mensageiro liga-se a muitos tipos de célula.
 - O primeiro mensageiro não pode atravessar a membrana plasmática.
 - Não há receptores para o primeiro mensageiro.
- Hormônios esteroides, tais como o estrógeno, atuam sobre células-alvo por:
 - dar início à atividade do segundo mensageiro.
 - ligação à proteínas de membrana.
 - dar início à transcrição de DNA.
 - ativação de enzimas.
 - ligação a lipídeos de membrana.
- A principal diferença entre uma célula que responde a um sinal e uma que não responde é a presença de um(a):
 - sequência de DNA que liga-se ao sinal.
 - vaso sanguíneo muito próximo.
 - receptor.
 - segundo mensageiro.
 - via de transdução.
- Qual dos seguintes eventos não é uma consequência da ligação de sinal a um receptor?
 - Ativação da atividade enzimática do receptor.
 - Difusão do receptor na membrana plasmática.
 - Mudança na conformação da proteína receptora.
 - Degradação do receptor à aminoácidos.
 - Liberação do sinal a partir do receptor.
- Uma molécula não polar, tal como um hormônio esteroide, normalmente liga-se a um(a):
 - receptor citoplasmático.
 - proteína-quinase.
 - canal de íon.
 - fosfolipídeo.
 - segundo mensageiro.
- Qual das seguintes estruturas não é um tipo comum de receptor?
 - Canal de íon.
 - Proteína-quinase.
 - Ligado a proteína G.
 - Fator de transcrição.
 - Adenilciclase.
- Qual das seguintes afirmações sobre a cascata de proteína-quinase não é verdadeira?
 - O sinal é amplificado.
 - Um segundo mensageiro é produzido.
 - Proteínas-alvo são fosforiladas.
 - A cascata acaba no núcleo.
 - A cascata inicia na membrana plasmática.
- Qual dos seguintes elementos não consiste em um segundo mensageiro para transdução de sinal?
 - Íons cálcio.
 - Gás óxido nítrico.
 - ATP.
 - AMP cíclico.
 - Diacilglicerol.
- Plasmodesmos e junções *gap*:
 - permitem que pequenas moléculas e íon passem entre células rapidamente.
 - são, ambos, canais revestidos por membrana.
 - são canais com cerca de 1 mm de diâmetro.
 - estão presentes apenas uma vez por célula.
 - estão envolvidas, na sinalização, no reconhecimento celular.

PARA DISCUSSÃO

1. Como a própria proteína Ras, os vários componentes da via de sinalização Ras foram descobertos quando células tumorais mostraram mutações em um ou outro dos componentes. Quais seriam as consequências bioquímicas de mutações nos genes que codificam (A) Raf e (B) MAP-quinase, que resultam em rápida divisão celular?
2. O AMP cíclico é um segundo mensageiro em muitas respostas diferentes. Como pode o mesmo mensageiro atuar de maneiras diferentes em células diferentes?
3. Compare a comunicação direta por meio de plasmodesmos ou de junções *gap* com a comunicação mediada por receptor entre as células. Quais são as vantagens de um método sobre o outro?
4. O invertebrado minúsculo *Hydra* apresenta uma região apical, com tentáculos, e um corpo longo e esguio. A *Hydra* pode reproduzir-se assexuadamente quando células sobre a superfície do corpo diferenciam e formam um broto, que se desprende como um novo organismo. Brotos formam-se somente a uma certa distância do ápice, levando à ideia de que a porção apical libera uma molécula sinalizadora que se difunde para a parte de baixo do corpo e, em altas concentrações (isto é, próximo do ápice), inibe a formação de brotos. A *Hydra* não apresenta sistema circulatório, assim o inibidor deve se difundir de célula para célula. Se você tivesse um anticorpo que se ligasse às conexões para bloquear junções *gap*, de que modo mostraria que o fator inibitório da *Hydra* passa através dessas junções?

PARA INVESTIGAÇÃO

As bactérias endossimbióticas do invertebrado marinho *Begula neritina* sintetizam briostatinas, nome derivado do grupo animal do qual faz parte a *Begula*, Ectoprocta, também conhecido como briozoários (“animais musgo”). As briostatinas encurtam a divisão celular em muitos tipos celulares,

incluindo diversos tipos de câncer. Sugere-se que as briostatinas inibem proteína-quinase C (ver Figura 15.13). Como você investigaria essa hipótese, e relacionaria essa inibição com divisão celular?

16 O DNA Recombinante e a Biotecnologia

O bebê 81

O tsunami de 26 dezembro de 2004 atingiu a cidade costeira de Kalmunai, no Sri Lanka, com tanta força, que Abilass Jeyarajah, de 4 meses de idade, foi arrancado dos braços da mãe e arrastado pelas águas. Horas mais tarde, enquanto seus pais o procuravam desesperadamente pela cidade devastada, seu pequeno filho apareceu na praia a um quilômetro de distância, com vida. Uma professora local o encontrou e o levou ao hospital – o 81º paciente admitido naquele dia. O hospital encontrava-se lotado com mil corpos, vários deles crianças. Como Abilass estava vivo e com

saúde, ele foi chamado de “Bebê 81, o bebê milagre” e tornou-se uma celebridade de momento entre os funcionários enquanto cuidavam das suas severas obrigações.

Enquanto isso, os pais continuavam procurando o filho. Dois dias mais tarde, encontraram a professora, que lhes contou sobre o bebê que havia achado. Correndo ao hospital, os Jeyarajah estavam entusiasmados para encontrar o filho, mas tiveram um choque violento. Oito outros casais, que também haviam perdido seus filhos, reivindicavam o bebê 81 como seu. O bebê permaneceu no hospital enquanto o caso foi parar no tribunal.

O juiz M. P. Mohaideen enfrentou uma situação não diferente do rei Salomão, que há 3 mil anos foi questionado para decidir qual de duas mulheres era a mãe de uma criança. Conta-se o método de Salomão a fim de determinar o parentesco em uma famosa passagem bíblica (I Reis 3:16-28). O juiz de Sri Lanka usou um método diferente: chamou biólogos moleculares.

Com 6 bilhões de pares de base de DNA empacotados em 46 cromossomos, cada um de nós é único. Embora nossas sequências que codificam proteínas sejam similares (afinal nossos fenótipos assemelham-se), apenas uma pequena porcentagem do total dos pares de base no genoma humano realmente codifica genes. Conforme explicado no Capítulo 14, o genoma eucariótico contém várias sequências repetidas, e entre os indivíduos a frequência de repetição pode ser diferente, oferecendo uma maneira de diferenciar os organismos. Diferenças em um único par de base devido a um erro na replicação de DNA ou mutações aleatórias também distinguem os indivíduos um do outro, e essas diferenças são herdadas.

Após o Tsunami Em dezembro de 2004, um tsunami originado no Oceano Índico atingiu uma vasta região que incluiu várias nações do sudeste da Ásia. O resultado foi um desastre humanitário sem precedentes que deixou quase 250 mil mortos e um número bem maior de desabrigados.





“O bebê 81” Abilass Jeyarajah sobreviveu ao tsunami e foi devolvido aos pais por ordem judicial depois que o teste de DNA provou que ele realmente era seu filho.

Agora é possível analisar essas diferenças no DNA (amplificado por PCR) para identificar pessoas. Quando o DNA dos nove casais que disputavam a paternidade foi analisado e comparado ao do Bebê 81, os únicos pais cujas sequências poderiam ter sido passadas para o bebê eram os Jeyaraja. Em 14 de fevereiro de 2005, o juiz decidiu que os Jeyaraja eram os pais verdadeiros, e o Bebê 81 recebeu seu verdadeiro nome e seus pais de volta.

NESTE CAPÍTULO descrevemos algumas das técnicas que se utilizam para manipular DNA. Iniciamos descrevendo como as moléculas de DNA são cortadas em fragmentos menores e como esses fragmentos se unem para criar DNA recombinante. Descrevemos, então, como o DNA recombinante (ou qualquer outro) é introduzido em uma célula hospedeira adequada. A seguir, abordamos algumas outras técnicas para copiar, armazenar e alterar DNA. Finalmente, vemos como algumas dessas técnicas de manipulação têm sido aplicadas por cientistas.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 16.1** Como as moléculas grandes de DNA são analisadas?
- 16.2** O que é DNA recombinante?
- 16.3** Como os novos genes são inseridos em células?
- 16.4** Quais são as fontes de DNA usadas na clonagem?
- 16.5** Que outras ferramentas são utilizadas para manipular DNA?
- 16.6** O que é biotecnologia?

16.1 Como as moléculas grandes de DNA são analisadas?

Os cientistas têm observado há muito tempo que as reações químicas que as células vivas usam para uma finalidade podem ser aplicadas no laboratório em outros novos propósitos. Similarmente, a manipulação das moléculas de DNA baseia-se na compreensão da estrutura química do DNA, das propriedades de determinadas enzimas e das regras sobre o pareamento de bases complementares.

Nesta seção, veremos de que forma algumas das várias enzimas de ocorrência natural, que clivam e reparam o DNA, são utilizadas no laboratório a fim de manipular e recombinarem o DNA. Aprenderemos como enzimas são usadas para cortar DNA em fragmentos e como esses fragmentos são analisados.

As endonucleases de restrição clivam o DNA em sequências específicas

Todos os organismos, incluindo as bactérias, devem ter mecanismos para lidar com os seus inimigos. Conforme vimos na Seção 13.1, as bactérias são atacadas por vírus chamados bacteriófagos, que injetam seu material genético na célula hospedeira. Algumas bactérias defendem-se contra essas invasões pela produção de **enzimas de restrição** (também conhecidas como *endonucleases de restrição*), que clivam moléculas de DNA dupla-fita – como aquelas injetadas por fagos – em fragmentos menores, não infecciosos (**Figura 16.1**). Essas enzimas quebram as ligações do esqueleto de DNA entre o grupo hidroxila 3' de um nucleotídeo e o grupo fosfato 5' do nucleotídeo seguinte. Esse processo de corte denomina-se **digestão de restrição**.

Há muitos tipos dessas enzimas de restrição, cada uma das quais cliva o DNA em uma sequência de bases específica, chamada de **sequência de reconhecimento** ou **sítio de restrição**. A maioria das sequências de reconhecimento possui de 4 a 6 pares de base de comprimento. A sequência é reconhecida pelos princípios da interação entre proteína e DNA (ver Seção 11.2): o par de base dentro da dupla-hélice de DNA apresenta poucas diferenças, de modo que se encaixa de formas diferentes na estrutura tridimensional de uma enzima.

Por que uma enzima de restrição não corta o DNA da célula bacteriana que a produz? Uma das maneiras de uma

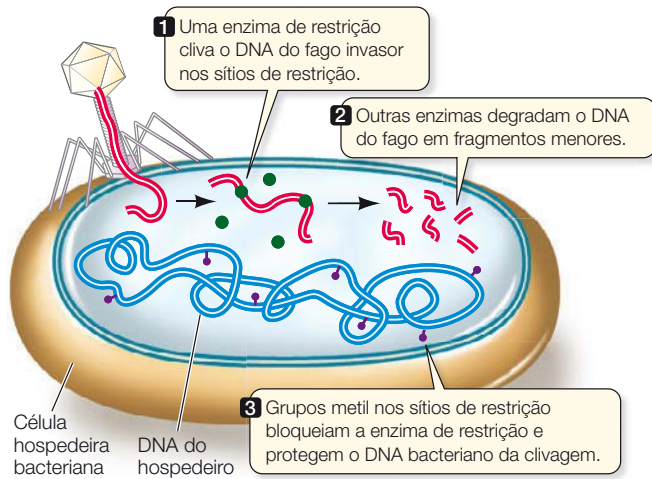


Figura 16.1 Bactérias lutam contra vírus invasores com enzimas de restrição Bactérias produzem enzimas de restrição que degradam o DNA de fago clivando-o em fragmentos. A metilação protege o próprio DNA da bactéria de ser clivado.

célula se proteger consiste em modificar o sítio de restrição no seu próprio DNA depois que a sequência foi feita durante a replicação de DNA. Enzimas específicas de modificação chamadas *metilases*, adicionam grupos metila ($-\text{CH}_3$) a determinadas bases nos sítios de restrição do DNA do hospedeiro depois que ele replicou-se. A metilação das bases do hospedeiro torna a sequência de reconhecimento irreconhecível para as enzimas de restrição. Todavia, o DNA não metilado do fago é reconhecido e clivado de forma eficiente.

Enzimas de restrição bacterianas são isoladas a partir de células que as produzem e usadas como reagentes bioquímicos no laboratório. Se o DNA de qualquer organismo é incubado em um tubo de ensaio com uma enzima de restrição, aquele DNA será cortado onde o sítio de restrição ocorrer. Uma sequência específica de bases define cada sítio de restrição. Por exemplo, a enzima *EcoRI* (nomeada pela sua fonte, uma cepa da bactéria *E. coli*) corta o DNA somente onde ela encontra a seguinte sequência pareada na dupla-hélice de DNA:



Note que essa sequência é lida igualmente na direção 5' para 3' em ambas as fitas. Ela é *palindrômica*, como a palavra "ama", no sentido de que é a mesma em ambas as direções a partir da extremidade 5'. A enzima *EcoRI* possui dois sítios ativos idênticos nas suas duas subunidades, que clivam as duas fitas simultaneamente entre o G e o A de cada fita.

A sequência de reconhecimento de *EcoRI* ocorre, em média, uma vez a cada 4 mil pares de bases em um genoma procariótico típico, ou cerca de uma vez a cada quatro genes procarióticos. Assim, a *EcoRI* pode cortar um pedaço grande de DNA em pedaços menores contendo, em média, apenas alguns genes. O uso da *EcoRI* no laboratório para cortar pequenos genomas, tais como os de vírus que apresentam dezenas de milhares de pares de bases, pode resultar em poucos fragmentos. Para um cromossomo eucariótico imenso, com dezenas de milhões de pares de bases, um número muito grande de fragmentos será criado.

Certamente, "em média", não significa que a enzima corte todos os trechos de DNA em intervalos regulares. A sequência de reconhecimento de *EcoRI* não ocorre nem mesmo uma só vez nos 40 mil pares de bases do genoma de um fago chamado T7 – fato crucial para a sobrevivência desse vírus, uma vez que seu hospedeiro é a *E. coli*. Por sorte, para *E. coli*, a sequência de reconhecimento *EcoRI* aparece no DNA de outros fagos.

Centenas de enzimas de restrição purificam-se a partir de vários microrganismos. No tubo de ensaio, diferentes enzimas de restrição que reconhecem diferentes sítios de restrição podem ser usadas para cortar a mesma amostra de DNA. Portanto, as enzimas de restrição são usadas como "bisturis" para "cirurgias" genéticas para cortar uma amostra de DNA em vários locais específicos.

A eletroforese em gel separa os fragmentos de DNA

Depois que uma amostra laboratorial de DNA foi cortada com uma enzima de restrição, o DNA fragmentado deve ser separado. Como a sequência de reconhecimento não ocorre em intervalos regulares, os fragmentos não apresentam todos o mesmo tamanho, e essa característica fornece uma maneira de separá-los uns dos outros. A separação dos fragmentos é necessária para determinar o número e os tamanhos moleculares (em pares de bases) dos fragmentos produzidos ou para identificar e purificar um fragmento individual de interesse particular.

Uma maneira conveniente de separar ou purificar fragmentos de DNA é a **eletroforese em gel** (Figura 16.2). Uma mistura de fragmentos de DNA aplica-se em um poço de um gel poroso, e um campo elétrico (com terminais positivo e negativo) é aplicado através do gel. Por causa dos seus grupos fosfato, o DNA é carregado negativamente em pH neutro; portanto, como as cargas opostas se atraem, os fragmentos de DNA se movem na direção da extremidade positiva do campo. O gel poroso atua como uma peneira, e as moléculas menores movem-se mais rapidamente do que as maiores. Após um tempo determinado, e enquanto todos os fragmentos ainda estiverem no gel, a força elétrica é desligada. Os fragmentos separados podem então ser visualizados corando-os com um corante fluorescente. Sob luz ultravioleta, visualizam-se como barras ou pontos no gel e podem ser examinados ou removidos individualmente. A eletroforese nos fornece dois tipos de informações:

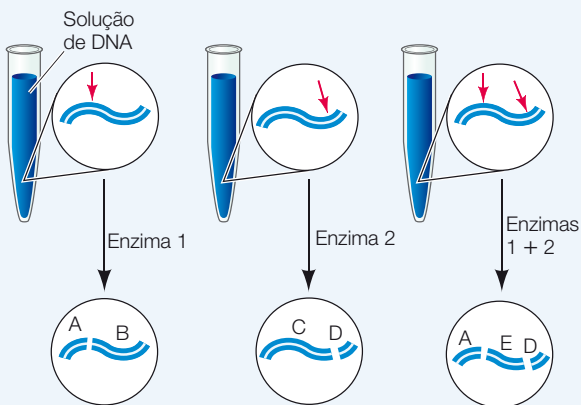
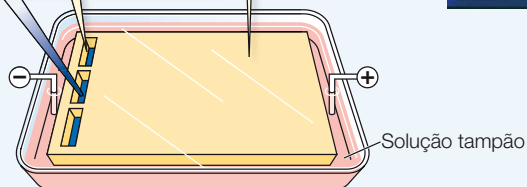
- **Os tamanhos dos fragmentos.** Fragmentos de DNA de tamanho conhecido são colocados em um poço no gel próximo a amostra a fim de fornecerem um padrão de comparação.
- **A presença de sequências específicas de DNA.** Uma sequência específica de DNA pode ser revelada com uma sonda de DNA fita simples (Figura 16.3). A amostra de DNA desnatura-se (desenrola-se e separa-se em fitas-simples) enquanto ainda no gel, então o gel é tratado de modo que o DNA transfere-se para uma membrana de náilon para fazer um "blot", ou nódoa (chamado de *Southern blot*, em homenagem a Southern, o cientista que desenvolveu o método). O filtro é então exposto a uma sonda de DNA fita simples com uma sequência complementar àquela que está sendo procurada. Se a sequência de interesse encontra-se presente na amostra de DNA, a sonda hibridizará com ela. A sonda pode ser marcada com um radioisótopo. Após a hibridização, pontos de radioatividade indicam que a sonda hibridizou com sua sequência-alvo naquele local. As sondas não hibridizadas permanecem na solução.

A região do gel contendo o fragmento desejado (em tamanho ou sequência) pode ser recortada do gel e o fragmento de DNA puro pode então ser removido do gel por difusão para um pequeno volume de água.

MÉTODOS DE PESQUISA

1 Um gel de um polímero de agarose é feito em tampão. Ele é colocado em uma câmara entre dois eletrodos.

2 Depressões no gel (poços) preenchem-se com as soluções de DNA.

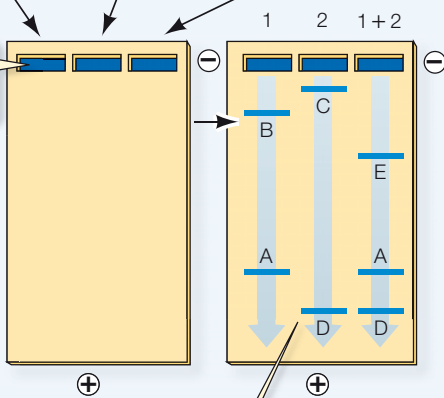


3 A enzima de restrição 1 corta o DNA uma vez, resultando nos fragmentos A e B.

4 A enzima de restrição 2 corta o DNA uma vez em uma sequência de restrição diferente.

5 Se ambas as enzimas de restrição são utilizadas, dois cortes realizam-se no DNA.

6 Cada amostra é aplicada em um poço no gel.



7 Como os fragmentos de DNA se movem em direção ao eletrodo positivo, fragmentos mais curtos se movem mais rapidamente (e, portanto, mais longe) do que os fragmentos maiores.



Figura 16.2 Separação de fragmentos de DNA por eletroforese em gel

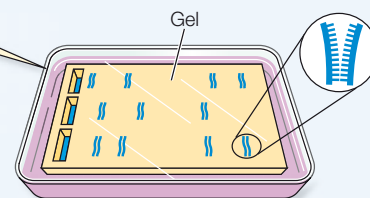
Uma mistura de fragmentos de DNA é aplicada em um gel, e um campo elétrico é aplicado através do gel. O DNA carregado negativamente se move em direção da extremidade positiva do campo, com moléculas menores se movendo mais rapidamente do que as maiores. Quando a força elétrica é desligada, os fragmentos separados podem ser analisados.

O *fingerprinting* de DNA utiliza análise de restrição e eletroforese

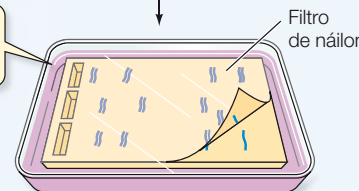
Os dois métodos recém descritos – digestão de restrição para cortar o DNA em fragmentos e eletroforese em gel para separá-los por tamanho – são utilizados no **fingerprinting do DNA** (impressão digital do DNA), técnica com base em DNA para identificar indivíduos. O *fingerprinting* de DNA funciona melhor com genes altamente *polimórficos* – isto é, genes que têm múltiplos alelos e

MÉTODOS DE PESQUISA

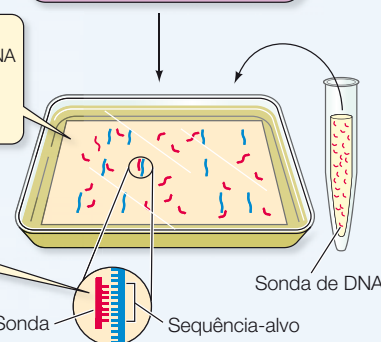
1 O gel é colocado em uma solução básica que desnatura o DNA.



2 Um filtro de náilon capta o DNA do gel, criando um "blot".



3 O filtro é colocado em uma solução, e um DNA fita simples marcado radioativamente é adicionado.



4 A sonda hibridiza com sua única sequência alvo no DNA desnaturado.

Figura 16.3 Análise de fragmentos de DNA por Southern Blotting Uma sonda pode ser usada para localizar fragmentos específicos de DNA em uma eletroforese em gel.

por isso provavelmente diferem em indivíduos diferentes. Dois tipos de polimorfismos são especialmente informativos:

- **Polimorfismos de um único nucleotídeo (SNPs, do inglês *single nucleotide polymorphisms*)** são variações herdadas envolvendo uma única base nucleotídica. Esses polimorfismos têm sido mapeados em vários organismos. Se um dos pais é homocigoto para A em certo ponto do genoma, por exemplo, e o outro tem um G neste local, os descendentes serão heterocigotos: um cromossomo terá A neste ponto e o outro terá G.
- **Repetições curtas em tandem (STRs, do inglês *short tandem repeats*)** são seqüências de DNA moderadamente repetitivo que ocorrem ao longo dos cromossomos. Esses padrões de repetição também são herdados. Por exemplo, um indivíduo pode herdar um cromossomo 15 com uma seqüência curta repetida seis vezes da sua mãe e um cromossomo 15 com a mesma seqüência repetida duas vezes de seu pai.

As STRs são facilmente detectáveis se estiverem entre duas seqüências de reconhecimento para uma enzima de restrição. Se o DNA a partir do indivíduo heterocigoto descrito acima é cortado com uma enzima de restrição, formará dois fragmentos de tamanhos diferentes: um maior (a partir da mãe) e outro menor (a partir do pai). Esses padrões podem ser facilmente vistos pelo uso de eletroforese em gel (Figura 16.4). Com várias STRs diferentes (onde oito são usadas, cada uma com vários alelos), um padrão individual único torna-se aparente.

Os métodos de *fingerprinting* de DNA requerem no mínimo 1 g de DNA, ou o conteúdo de DNA de cerca de 100 mil células humanas, mas essa quantidade nem sempre encontra-se disponível. A reação em cadeia da polimerase (PCR), a poderosa técnica descrita na Seção 11.5 (ver Figura 11.23), pode multiplicar ("amplificar") o DNA de interesse a partir de até uma única célula, produzindo em poucas horas o 1 g necessário para digestão de restrição e eletroforese.

O *fingerprinting* de DNA pode ser usado na medicina forense (investigação de crime) para ajudar a provar a inocência ou culpa de um suspeito. Por exemplo, em um caso de estupro, extrai-se o DNA a partir do sêmen ou cabelo deixado pelo culpado e compara-se com o DNA de um suspeito. Até agora, este método tem sido mais utilizado para provar a inocência (os padrões de DNA diferem) do que a culpa (os padrões de DNA iguais). É fácil excluir alguém com base nestes testes, mas dado que o *fingerprinting* de DNA examina apenas um pequeno fragmento do genoma, duas pessoas poderiam teoricamente ter a mesma seqüência para aquele fragmento, ainda que várias STRs diferentes sejam usadas, a probabilidade de que duas pessoas tenham os mesmos alelos se torna muito pequena. Por isto, a prova de que um suspeito é culpado não pode depender apenas do *fingerprinting* de DNA, mas deve também ser baseada em outras evidências.

Um exemplo fascinante demonstra o uso do *fingerprinting* de DNA na análise de eventos históricos. Trezentos anos de governo pela dinastia Romanov na Rússia terminaram em 16 de julho de 1918, quando Czar Nicholas II, sua esposa e seus cinco filhos foram executados por um pelotão de fuzilamento durante a revolução comunista. O relato de que os corpos tinham sido queimados até as cinzas nunca havia sido questionado até 1991, quando uma cova rasa com vários esqueletos foi descoberta a algumas milhas do presumido local de execução. *Fingerprintings* de DNA recentes dos fragmentos de ossos encontrados nesta cova indicaram que eles eram provenientes de um homem e uma mulher mais velhos e de três meninas, que claramente tinham um parentesco entre si (Figura 16.5) e também parentesco com vários descendentes vivos do Czar.

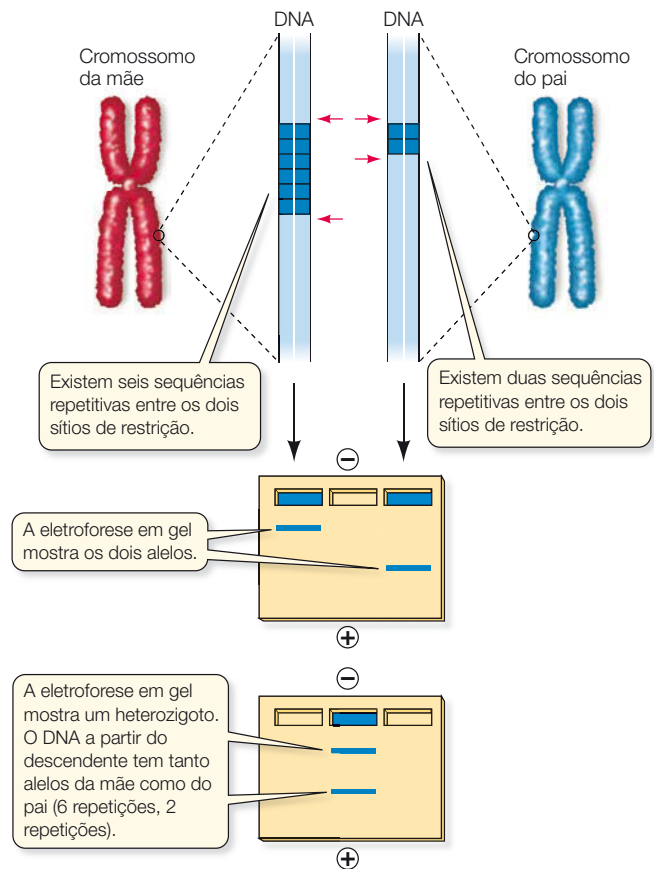


Figura 16.4 *Fingerprinting* de DNA com repetições curtas em tandem O número de STR herdadas por um indivíduo a partir do pai e da mãe pode ser usado para fazer um *fingerprinting* de DNA. Os dois alelos podem ser identificados em uma eletroforese em gel com base nos seus tamanhos.

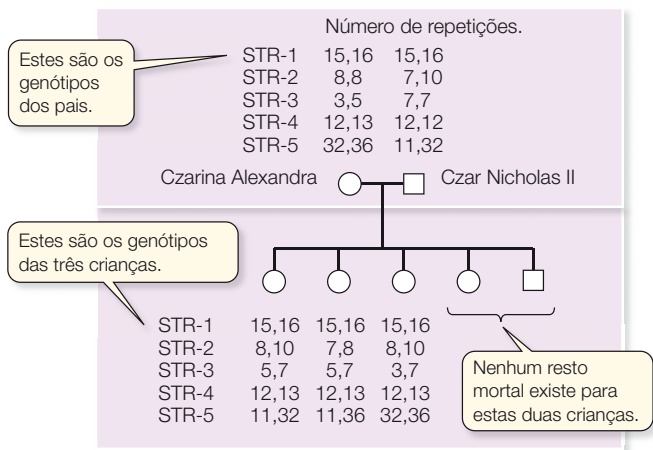
Caviar de beluga, as ovas (ovos) do esturjão beluga são muito apreciadas e caras. Cientistas do Museu Americano de História Natural, de Nova York, desenvolveram testes de identificação de DNA para várias espécies de esturjão e foram a uma loja especialista em caviar. Para sua surpresa, observaram que 25% das latas rotuladas como sendo caviar de beluga na verdade não eram.

O projeto de código de barras do DNA tem por objetivo identificar todos os organismos na Terra

Um dos aspectos mais excitantes da tecnologia do DNA para os biólogos é seu potencial de identificação das espécies com as quais estão trabalhando. Enquanto eles podem estar certos das espécies de um organismo desenvolvido em uma cultura pura (digamos, *E. coli* cultivada no laboratório), diferentes organismos podem se parecer muito semelhantes na natureza. Cerca de 1,7 milhões de espécies tem sido nomeadas e descritas, mas cerca de dez vezes esse número provavelmente ainda não foram identificadas. Uma proposta para usar a tecnologia de DNA na identificação de espécies conhecidas e detectar as que não conhecemos foi endossada por um grande grupo de organizações científicas conhecido



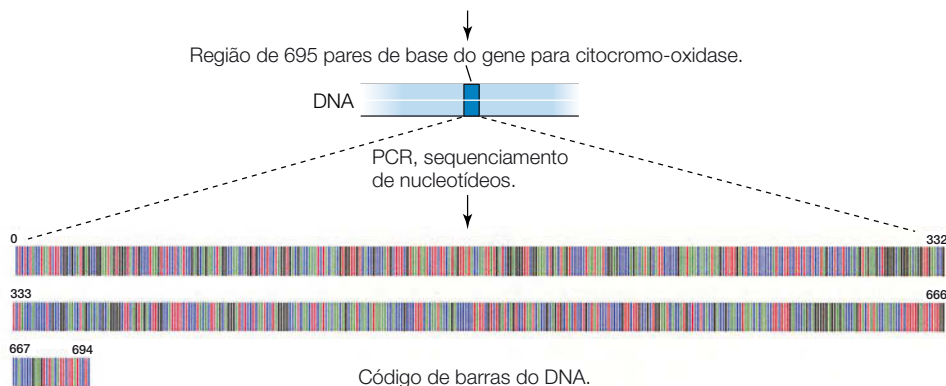
Figura 16.5 *Fingerprinting* de DNA da família real russa Os restos dos esqueletos do czar Nicholas II, da sua esposa Alexandra e de três de seus filhos foram encontrados em 1991 e submetidos a *fingerprinting* de DNA. Cinco STR foram testadas. Os resultados podem ser interpretados como os seguintes: usando STR-2 como exemplo, os pais tinham genótipo 8,8 (homozigoto) e 7,10 (heterozigoto). As crianças todas herdaram o tipo 8 da czarina e o tipo 7 ou 10 do czar.



como Consórcio para o Código de Barras da Vida (CBOL, do inglês *Consortium for the Barcode of Life*).

Paul Hebert na Universidade de Guelph, em Ontário, Canadá, propôs a identificação de cada espécie com um “código de barras de DNA” usando uma pequena sequência de um único gene. O gene escolhido por ele consistiu no gene da citocromo-oxidase, que se encontra presente na maioria das células. Como o gene muda prontamente, devem existir várias diferenças alélicas entre as espécies. Um fragmento de 650 a 750 pares de

Figura 16.6 O código de barras do DNA O DNA a partir de uma região de 650 a 750 pares de base do gene para citocromo oxidase de qualquer organismo pode ser amplificado usando PCR e, então, sequenciado para identificar a espécie. Cada cor representa uma das quatro bases de DNA.



16.1 RECAPITULAÇÃO

Grandes moléculas de DNA podem ser cortadas em pedaços menores por digestão de restrição e então separadas por eletroforese em gel. O *fingerprinting* de DNA utiliza essas duas técnicas na análise dos polimorfismos do DNA com o propósito de identificar indivíduos. Cientistas esperam identificar espécies usando a análise do DNA.

- Você entende como uma enzima de restrição reconhece um sítio de restrição no DNA? Ver p. 355.
- Com que princípios a eletroforese em gel separa os fragmentos de DNA? Ver p. 355 e Figura 16.2.
- O que são STRs e como são utilizadas para identificar indivíduos? Ver p. 357.

Observamos de que modo os cientistas podem cortar o DNA em fragmentos e como podem utilizar esses fragmentos para identificar polimorfismos. Entretanto, uma das maneiras mais atraentes de usar fragmentos de DNA consiste em colocá-los juntos em diferentes combinações – a fim de criar DNA recombinante.

16.2 O que é DNA recombinante?

Enzimas de restrição cortam o esqueleto do DNA em fragmentos. Esses fragmentos podem ser unidos por um segundo tipo de enzima, a DNA-ligase (a mesma enzima que une os fragmentos de Okazaki durante a replicação do DNA; ver Seção 11.3). Uma vez que as enzimas de restrição e a DNA-ligase foram isoladas, os cientistas perceberam que poderiam usar estas enzimas para

gerar e unir quaisquer duas sequências de DNA. Stanley Cohen e Herbert Boyer fizeram isto em 1973. Eles usaram enzimas de restrição para cortar e então DNA-ligase para unir sequências de DNA de dois plasmídeos de *E. coli* (ver Figura 13.14) contendo diferentes genes de resistência a antibióticos. O plasmídeo resultante, quando inserido em novas células de *E. coli*, deu a estas células resistência a ambos os antibióticos (Figura 16.7). A era do **DNA recombinante** havia nascido.

Algumas enzimas de restrição clivam o DNA de forma limpa, cortando ambas as fitas simetricamente. Outras, como *EcoRI*, fazem cortes assimétricos em uma sequência de reconhecimento palindrômica, cortando uma fita da dupla-hélice a algumas bases de distância de onde elas cortam a outra (Figura 16.8). Depois que a *EcoRI* fizer seus dois cortes nas fitas complementares, as extremidades das fitas mantêm-se unidas apenas pelas pontes de hidrogênio entre quatro pares de base. Essas pontes de hidrogênio são muito fracas para persistir a temperaturas altas (acima da temperatura ambiente), assim os fragmentos de DNA se separam quando se aquecem. Como resultado, existem “caudas” fita simples no local de cada corte. Essas caudas denominam-se **extremidades coesivas** porque têm sequência de bases específica que podem se ligar por pareamento de bases com extremidades coesivas complementares. Se *n* sítios de restrição para uma dada enzima de restrição encontram-se presentes em uma molécula de DNA linear, então *n* + 1 fragmentos serão obtidos, todos com as mesmas sequências complementares nas suas extremidades coesivas.

Depois de uma molécula de DNA ser cortada com uma enzima de restrição, extremidades coesivas complementares podem

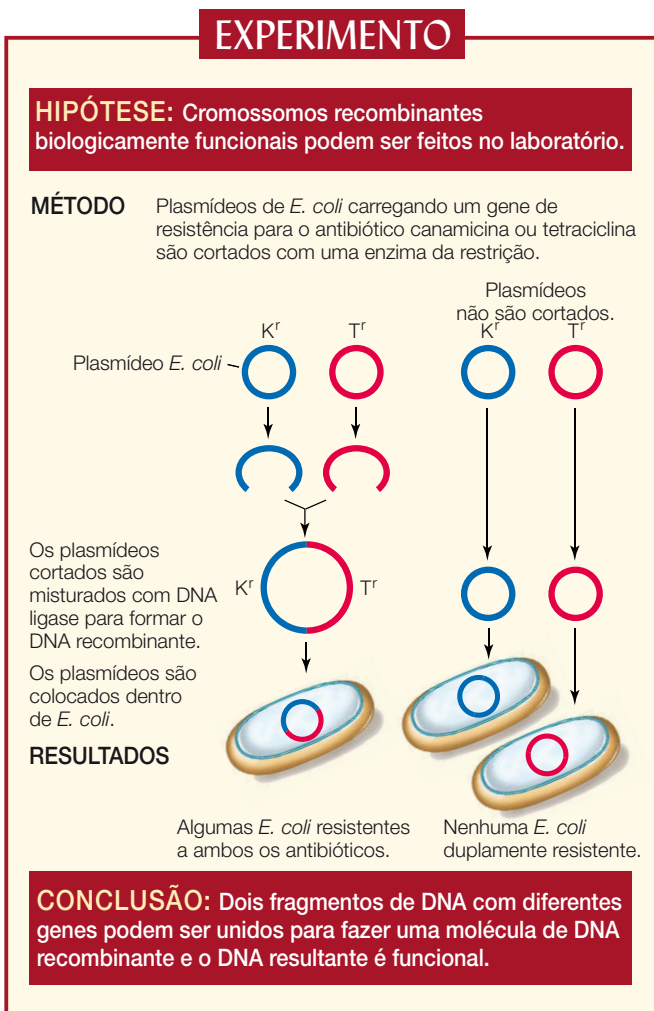


Figura 16.7 DNA recombinante Stanley Cohen e Herbert Boyer realizaram o primeiro experimento no qual duas sequências de DNA diferentes combinam-se no laboratório para fazer uma nova molécula de DNA funcional. **PESQUISA ADICIONAL:** Apenas uma célula em 10 mil adquiriu o plasmídeo no experimento. A velocidade de mutação espontânea para T^r ou K^r é uma em 10^6 . De que modo você distinguiria entre uma transformação genética e uma mutação espontânea neste experimento?

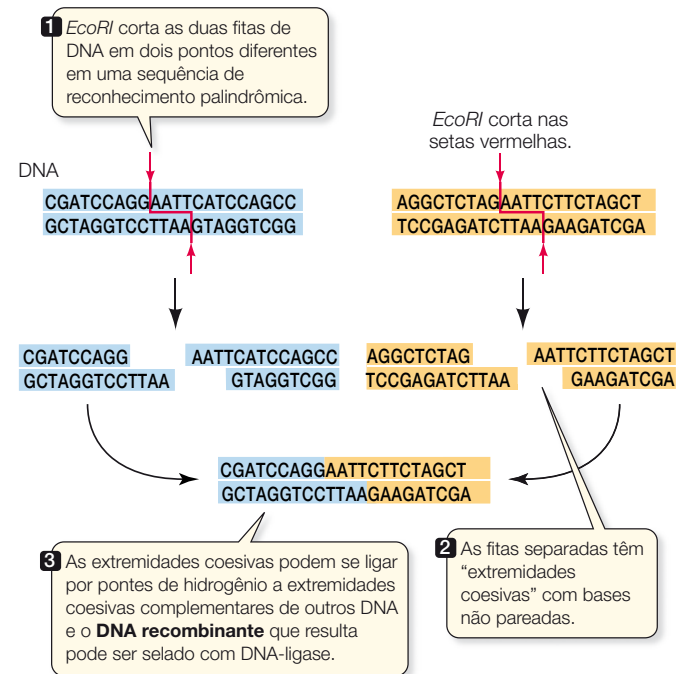


Figura 16.8 Cortando e ligando o DNA Algumas enzimas de restrição (*EcoRI* é mostrada aqui) fazem cortes assimétricos no DNA. *EcoRI* pode ser utilizada para cortar DNA a partir de duas fontes diferentes (azul e amarelo). Os cortes deixam extremidades coesivas, bases expostas que podem hibridizar com fragmentos complementares. Extremidades coesivas a partir de diferentes DNAs se ligam umas as outras, formando DNA recombinante.

formar pontes de hidrogênio umas com as outras. As extremidades originais podem se religar, ou uma extremidade pode parear com uma extremidade complementar de um outro fragmento. Além disso, como as extremidades de todos os fragmentos cortados pelas mesmas enzimas de restrição são iguais, os fragmentos a partir de uma fonte, como humana, podem ser unidos a fragmentos de uma outra fonte, como uma bactéria.

Quando reduzida a temperatura, os fragmentos se *anelam* (se aproximam por pontes de hidrogênio) com suas extremidades coesivas, mas essas associações são instáveis, pois se mantêm unidas apenas por poucas pontes de hidrogênio. As extremidades coesivas associadas podem ser permanentemente unidas pela DNA-ligase.

Muitas enzimas de restrição não produzem extremidades coesivas. Em vez disso, cortam ambas as fitas de DNA no mesmo par de base dentro da sequência de reconhecimento, produzindo extremidades “cegas”. A DNA-ligase também pode conectar fragmentos com extremidades cegas.

Com essas duas ferramentas enzimáticas – endonucleases de restrição e DNA-ligasas –, os cientistas cortam e religam moléculas de DNA diferentes a partir de *qualquer fonte* com vistas a formar um DNA recombinante.

16.2 RECAPITULAÇÃO

Os fragmentos de DNA a partir de fontes biológicas diferentes podem ser ligados para formar o DNA recombinante.

- Descreva como Cohen e Boyer fizeram o primeiro DNA recombinante. Ver Figura 16.7.
- Você compreende como um corte assimétrico no DNA cria uma “extremidade coesiva”? Ver p. 358-359 e Figura 16.8.

O DNA recombinante não tem significância biológica enquanto não estiver instalado dentro de uma célula viva, que pode replicar e transcrever a informação genética transplantada. De que modo isso pode ser realizado?

16.3 Como os novos genes são inseridos em células?

Um dos objetivos da tecnologia do DNA recombinante consiste em **clonar** (produzir muitas cópias de) um gene particular, ou para análise ou para produzir sua proteína em quantidade. Se o DNA recombinante é utilizado na produção de uma proteína, ele deve ser inserido ou **transfectado** em células hospedeiras. Tais hospedeiros modificados denominam-se células ou organismos **transgênicos**. A escolha da célula hospedeira – procariótica ou eucariótica – é importante para este esforço.

Uma vez que a espécie hospedeira é selecionada, coloca-se o DNA recombinante junto a uma população de células hospedeiras e, sob condições específicas, entra em algumas delas. Como todas as células hospedeiras proliferam – não somente as poucas que recebem o DNA recombinante – o cientista deve ser capaz de determinar quais células realmente contêm a sequência de interesse. Um método comum para identificar células com DNA recombinante constitui-se em marcar a sequência inserida com **genes repórteres**, cujos fenótipos são facilmente observados. Estes fenótipos servem de *marcadores genéticos* para a sequência de interesse. Genes de resistência a antibióticos foram os marcadores usados no experimento de Cohen e Boyer (ver Figura 16.7).

Os genes podem ser introduzidos em células procarióticas e eucarióticas

Os sucessos iniciais da tecnologia do DNA recombinante foram alcançados usando-se bactérias como hospedeiras. Conforme descrito nos capítulos anteriores, células bacterianas são facilmente manipuladas e cultivadas em laboratório. Grande parte da sua biologia molecular já é conhecida, especialmente de certas bactérias bem estudadas como *E. coli*, e elas têm vários marcadores genéticos que podem ser usados para selecionar células que carregam o DNA recombinante. Além disso, bactérias contêm plasmídeos, pequenos cromossomos circulares facilmente manipulados para transportar o DNA recombinante para dentro da célula.

Entretanto, em alguns casos, as bactérias não são os organismos ideais para estudar e expressar os genes eucarióticos. Considere a diferença na qual o processo de transcrição e tradução ocorre em procariotos e eucariotos, e lembre que o DNA frequentemente contém os sinais destas funções específicas. As bactérias, por exemplo, não apresentam a maquinaria de processamento para excisar íntrons a partir do transcrito de RNA inicial de um gene eucariótico. Lembre também que várias proteínas eucarióticas modificam-se extensivamente após a tradução por processos como glicosilação e fosforilação e que essas modificações são muitas vezes essenciais para a atividade da proteína.

Quando a expressão de um novo gene em um eucarioto consiste no ponto do experimento – isto é, seu objetivo é produzir um organismo transgênico – seleciona-se um hospedeiro eucariótico. Esse hospedeiro pode ser um camundongo, uma planta de trigo, uma levedura ou um até mesmo um ser humano. Leveduras como a *Saccharomyces* constituem hospedeiros eucarióticos comuns para estudos de DNA recombinante.

As vantagens de se usar leveduras incluem divisão celular rápida (um ciclo de vida completo dura de 2 a 8 horas), facilidade de crescimento em laboratório e um genoma relativamente pequeno (cerca de 12 milhões de pares de bases e 6 mil genes). O genoma da levedura é várias vezes maior do que o da *E. coli* (ver Tabela 14.2), mas possui apenas $\frac{1}{4}$ dos genes do genoma humano. No entanto, as leveduras possuem a maioria das características de outros eucariotos, exceto aquelas características envolvidas na multicelularidade (ver Tabela 14.3).

Utilizam-se também as células de plantas como hospedeiras, especialmente se o resultado desejado é uma planta transgênica. A característica que torna as células de plantas boas hospedeiras consiste em sua *totipotência* – isto é, a capacidade de uma célula vegetal diferenciada comportar-se como um ovo fertilizado e produzir um organismo novo completo. As células de plantas isoladas em cultura podem receber DNA recombinante e, com a manipulação do meio de crescimento, essas células transgênicas podem ser induzidas a formar uma planta nova completa, que então se reproduz naturalmente no campo.

Qualquer que seja o hospedeiro escolhido faz-se necessário um veículo para carregar o DNA para dentro das células hospedeiras.

Vetores carregam o novo DNA para dentro das células hospedeiras

O desafio de inserir um novo DNA em uma célula não consiste em somente colocá-lo dentro da célula, mas o de fazer com que ele se replique quando a célula hospedeira se divide. A DNA-polimerase, a enzima que catalisa a replicação de DNA, não se liga a qualquer sequência de DNA. Se o novo DNA deve ser replicado, deve se tornar parte de um segmento de DNA que contém uma origem de replicação, chamada **replicon**, ou *unidade de replicação*.

Há duas formas gerais pelas quais o DNA recentemente incorporado torna-se parte de um replicon:

- Ele pode ser inserido próximo a uma origem de replicação em um cromossomo hospedeiro após sua entrada na célula hospedeira. Embora essa inserção seja muitas vezes um evento aleatório, é um método comum para integrar um novo gene em uma célula hospedeira.
- Ele pode entrar na célula hospedeira como parte de uma sequência de DNA transportador – um **vetor** – que já possui uma origem de replicação apropriada.

Um vetor deve possuir quatro características:

- A habilidade de *replicar independentemente* na célula hospedeira.
- Uma *sequência de reconhecimento* para uma enzima de restrição, o que permitirá que o vetor seja cortado e combinado com o novo DNA.
- Um *gene repórter* que anunciará sua presença na célula hospedeira.
- Um *tamanho pequeno* em relação aos cromossomos do hospedeiro.

Vários tipos de vetores se encaixam nesse perfil, incluindo plasmídeos, vírus e cromossomos artificiais.

PLASMÍDEOS COMO VETORES Os plasmídeos apresentam todas as quatro características de um vetor útil (**Figura 16.9A**). Primeiro, eles são pequenos (um plasmídeo de *E. coli* tem 2.000 a 6.000 pares de base, quando comparados com o cromossomo principal de *E. coli*, que possui mais de 4,6 milhões de pares de bases). Além disso, uma vez que eles são tão pequenos, vários plasmídeos possuem apenas uma única sequência de reconhecimento para uma determinada enzima de restrição. Quando um plasmídeo como esse é cortado com uma enzima de restrição, transforma-se em uma molécula linear com extremidades coesivas. As extremidades coesivas de um outro fragmento de DNA cortado com a mesma enzima de restrição podem palear com as extremidades coesivas do plasmídeo, resultando em um plasmídeo circular contendo o novo DNA em um local conhecido.

Outras duas características tornam os plasmídeos bons vetores. Conforme vimos, muitos plasmídeos contêm genes que conferem resistência a antibióticos, que podem servir como genes repórteres (marcadores genéticos). Finalmente, os plasmídeos têm uma origem de replicação (*ori*) e se replicam independentemente do cromossomo do hospedeiro. Não é incomum para uma célula bacteriana, com um único cromossomo principal, possuir centenas de cópias de um plasmídeo recombinante.

Os plasmídeos comumente utilizados como vetores em laboratório têm sido alterados de forma extensiva pela tecnologia do DNA

recombinante e a maioria constitui-se de combinações de genes e outras sequências a partir de várias fontes. Muitos desses plasmídeos possuem um único marcador de resistência a antibiótico.

VÍRUS COMO VETORES Limitações na replicação dos plasmídeos restringem o tamanho do novo DNA que pode ser inserido em um plasmídeo a aproximadamente 10 mil pares de bases. Embora genes procarióticos possam ser menores do que isso, 10 mil pares de bases é muito menor do que a maioria dos genes eucarióticos, com seus íntrons e longas sequências flanqueadoras. É necessário um vetor que acomode inserções maiores de DNA.

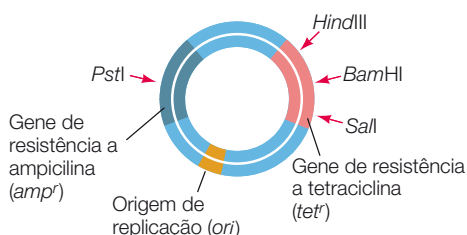
Tanto vírus procariotos quanto eucariotos são frequentemente usados como vetores para DNA eucariótico. O bacteriófago λ , que infecta *E. coli* apresenta um genoma de DNA de cerca de 45 mil pares de bases. Se os genes que causam a morte e a lise da célula hospedeira – cerca de 20 mil pares de bases – forem eliminados, o vírus ainda pode se ligar à célula hospedeira e injetar o seu DNA. Os 20 mil pares de bases removidos podem ser substituídos por DNA de um outro organismo.

Como os vírus infectam as células naturalmente, eles oferecem uma vantagem em relação aos plasmídeos, os quais requerem com frequência métodos artificiais para forçá-los a entrar nas células hospedeiras. Conforme veremos na Seção 17.5, os vírus constituem vetores importantes na terapia gênica humana.

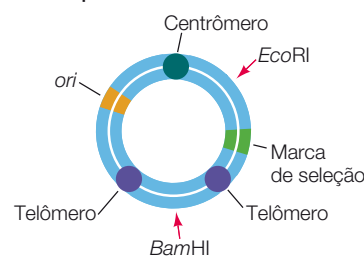
CROMOSSOMOS ARTIFICIAIS COMO VETORES Plasmídeos bacterianos não são bons vetores para hospedeiros eucarióticos como as leveduras porque as sequências de DNA procarióticas e eucarióticas usam origens de replicação diferentes. Para remediar este problema, os cientistas criaram “minicromossomo” chamado de **cromossomo artificial de levedura** ou YAC (do inglês, *yeast artificial chromosome*) (**Figura 16.9B**). Essa molécula de DNA artificial não contém apenas a origem de replicação de leveduras, mas também contém as sequências para o centrômero e o telômero das leveduras, tornando-o um cromossomo eucariótico genuíno. Os YAC também possuem sítios de restrição sintetizados artificialmente e genes-repórteres úteis (para as necessidades nutricionais da levedura). YAC têm apenas cerca de 10 mil pares de bases de tamanho, mas podem acomodar um inserto de DNA de 50 mil a 1,5 milhões de pares de base. Esses cromossomos artificiais realizam a replicação de DNA eucariótico e a expressão de genes normalmente nas células de leveduras.

Figura 16.9 Vetores para carregar DNA até dentro das células (A) Um plasmídeo com genes repórteres para resistência a antibióticos pode ser incorporado em uma célula *E. coli*. (B) Uma molécula de DNA sintetizada no laboratório constitui um cromossomo artificial que pode transportar seu DNA inserido para leveduras. (C) O plasmídeo Ti, isolado a partir da bactéria *Agrobacterium tumefaciens*, é utilizado para inserir DNA em vários tipos de plantas.

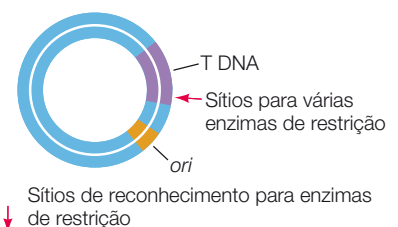
(A) Plasmídeo pBR322
Hospedeiro: *E. coli*



(B) Cromossomo artificial de levedura (YAC)
Hospedeiro: levedura



(C) Plasmídeo Ti
Hospedeiro: *Agrobacterium tumefaciens* (plasmídeo) e plantas infectadas (T DNA)



PLASMÍDEOS COMO VETORES PARA PLANTAS Um vetor importante para carregar um DNA novo para dentro de vários tipos de plantas é um plasmídeo encontrado em *Agrobacterium tumefaciens*. Essa bactéria vive no solo e causa uma doença em plantas chamada galha da coroa, que se caracteriza pela presença de crescimentos, ou tumores, na planta. *A. tumefaciens* contém um plasmídeo chamado Ti (do inglês, *tumor-inducing*) (Figura 16.9C). O plasmídeo Ti possui uma região chamada T DNA, que insere cópias próprias nos cromossomos de células vegetais infectadas. O T DNA apresenta sequências de reconhecimento para várias enzimas de restrição de modo que o DNA novo pode ser inserido nele. Quando o T DNA altera-se, o plasmídeo deixa de produzir tumores, mas o transposon, com o DNA novo, ainda pode ser inserido nos cromossomos da célula vegetal hospedeira. Uma célula vegetal contendo esse DNA pode então ser crescida em cultura ou induzida a formar uma nova planta transgênica.

Não importa qual vetor seja efetivo, o problema de identificar aquelas células hospedeiras que realmente incorporaram o DNA recombinante ainda permanece.

Genes repórteres identificam células hospedeiras contendo o DNA recombinante

Até mesmo quando uma população de células hospedeiras interage com um vetor apropriado, apenas uma pequena proporção das células realmente capta o vetor. Além disso, uma vez que o processo de produzir DNA recombinante está longe da perfeição, apenas poucos vetores que se moveram para dentro das células hospedeiras irá realmente conter a sequência de DNA de interesse. Como podemos selecionar apenas as células hospedeiras que contêm essa sequência?

Um procedimento comum utiliza a bactéria *E. coli* como hospedeira e o plasmídeo pBR322 (ver Figura 16.9A), que carrega os genes de resistência aos antibióticos ampicilina e tetraciclina, como vetor. Quando o plasmídeo é incubado com a enzima de restrição *Bam*HI, a enzima encontra sua sequência de reconhecimento, GGATCC, apenas uma vez, em um sítio dentro do gene para resistência à tetraciclina. Se um DNA estranho se insere nesse sítio de restrição, a presença desses pares de base “extras” dentro do gene de resistência a tetraciclina inativa-o. Dessa for-

ma, plasmídeos que contêm o DNA inserido carregam um gene de resistência à ampicilina, mas não para resistência à tetraciclina (Figura 16.10). Essa constitui a diferença chave para seleção da bactéria hospedeira que contém o plasmídeo recombinante.

O processo de cortar e inserir resulta em três tipos de DNA, que podem todos ser capturados pelas bactérias hospedeiras:

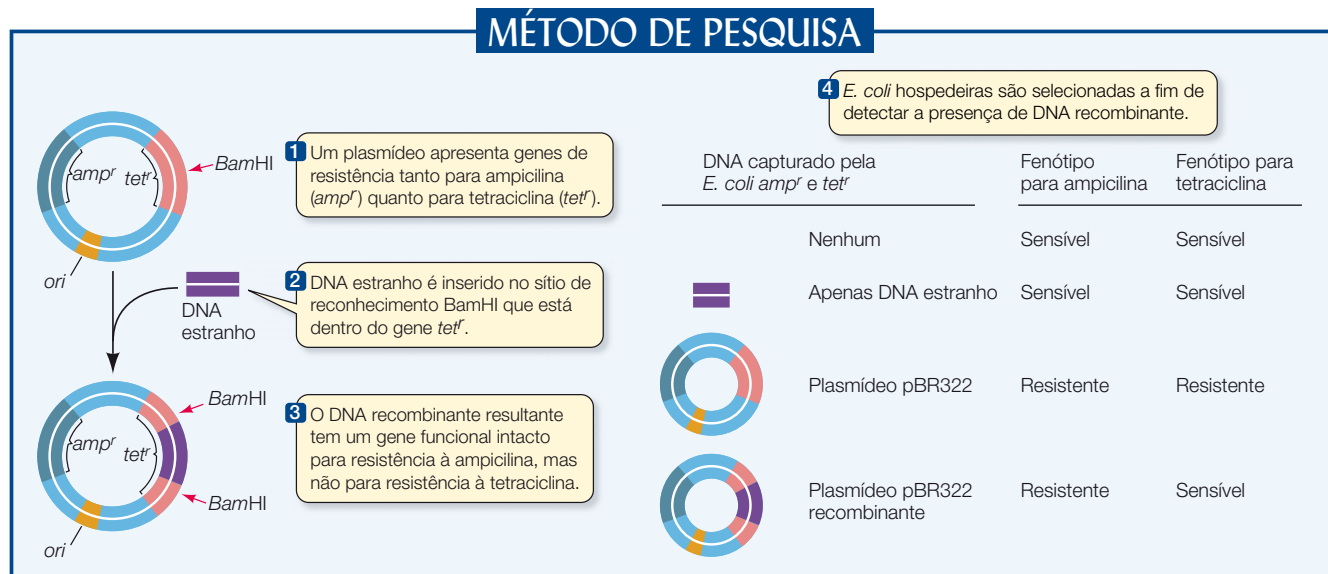
- O plasmídeo recombinante – o que desejamos – resulta no tipo mais raro de DNA. Sua captura confere resistência à hospedeira *E. coli*, a ampicilina, mas não a tetraciclina.
- Mais comuns são as bactérias que capturam plasmídeos que religaram suas extremidades de volta. Esses plasmídeos mantêm os genes para resistência à ampicilina e à tetraciclina intactos.
- Ainda mais comuns são as bactérias que capturam apenas sequência de DNA estranho, sem o plasmídeo; visto que não é parte de um replicon, ele não sobrevive quando a bactéria se divide. Essas células hospedeiras permanecerão suscetíveis a ambos os antibióticos.

A vasta maioria (mais de 99,9 %) das células hospedeiras não captura nenhum DNA e permanece susceptível a ambos os antibióticos. Portanto, o fenótipo único, de resistência a drogas, das células com DNA recombinante (sensível à tetraciclina e resistente à ampicilina) marca-as de uma maneira detectável com a simples adição de ampicilina e/ou tetraciclina ao meio contendo as células.

Além dos genes para resistência a antibiótico, vários outros genes repórteres são utilizados para detectar o DNA recombinante em células hospedeiras:

- Vetores artificiais incluem sítios de restrição dentro do óperon *lac* (ver Figura 13.18). Quando o óperon *lac* inativa-se pela inserção de um DNA estranho, o vetor deixa de carregar a sua função para dentro da célula hospedeira.
- A proteína verde fluorescente, que normalmente ocorre na água-viva *Aequorea victoria*, não requer um substrato, mas

Figura 16.10 Marcação de DNA recombinante pela inativação de um gene Cientistas podem inativar genes repórteres dentro de vetores plasmídeos com vistas a marcar as células hospedeiras que incorporaram o DNA recombinante. A bactéria hospedeira neste experimento poderia apresentar qualquer um destes três fenótipos indicados na tabela.



emite luz visível quando exposta à luz ultravioleta. Seu gene é, no momento, amplamente utilizado como gene repórter.

Após exposição ao vetor, as células hospedeiras são cultivadas sobre um meio sólido. Se a concentração de células espalhadas sobre o meio sólido encontra-se baixa, cada célula irá se dividir e crescerá em uma colônia bacteriana distinta. As colônias que contêm o DNA recombinante podem ser identificadas pela expressão do gene repórter, removidas do meio de cultura e então crescidas em grandes quantidades em meio líquido. O exame rápido de um plasmídeo pode confirmar se as células da colônia realmente têm o DNA recombinante. O potencial de transformação bacteriana para amplificar um gene é indicado pelo fato de que 1 litro de cultura de bactérias carregando o gene para β -globina humana no plasmídeo pBR322 possui tantas cópias desse gene quanto a soma total de todas as células em um ser humano adulto típico (10^{14}).

16.3 RECAPITULAÇÃO

O DNA recombinante pode ser clonado usando um vetor para inseri-lo em uma célula hospedeira adequada. O vetor frequentemente apresenta marcadores genéticos que dão à célula hospedeira um fenótipo pelo qual as células recombinantes podem ser identificadas.

- Quais são as características de um bom vetor para introduzir um novo DNA em uma célula hospedeira? Ver p. 360.
- Você compreende como células que carregam um vetor que carrega DNA recombinante são selecionadas? Ver p. 361 e Figura 1.10.

Agora que descrevemos de que forma o DNA pode ser cortado, inserido em um vetor e transfectado para dentro de células hospedeiras, e como as células hospedeiras que carregam o DNA recombinante podem ser identificadas, faremos uma pausa breve para considerar de onde vêm os genes ou fragmentos de DNA usados nesses procedimentos.

16.4 Quais são as fontes de DNA usadas na clonagem?

Os fragmentos de DNA utilizados em experimentos de clonagem são obtidos a partir de três fontes principais: fragmentos aleatórios de cromossomos mantidos como *bibliotecas gênicas*, DNA complementar obtido por transcrição reversa a partir de mRNA e *síntese artificial* ou *mutação* de DNA.

As bibliotecas gênicas fornecem coleções de fragmentos de DNA

Os 23 pares de cromossomos humanos podem ser imaginados como uma biblioteca que contém o genoma completo de nossa espécie. Cada cromossomo, ou "volume" na biblioteca, apresenta, em média, 80 milhões de pares de bases de DNA, codificando milhares de genes. Uma molécula tão grande assim não é viável para estudar a organização do genoma ou para isolar um gene específico.

Pesquisadores podem usar enzimas de restrição a fim de quebrar cromossomos humanos em pedaços menores. Esses fragmentos de DNA menores ainda constituem uma **biblioteca gênica** (Figura 16.11), mas a informação encontra-se, agora, em mais "vo-

lumes" menores. Cada um dos fragmentos é inserido em um vetor e então capturado por uma célula hospedeira. Quando bactérias são utilizadas como hospedeiras, a proliferação de uma célula produz uma colônia de células recombinantes, onde cada uma abriga várias cópias do mesmo fragmento de DNA humano.

Quando se utilizam plasmídeos como vetores, cerca de 200 mil fragmentos separados tornam-se necessários para fazer uma biblioteca do genoma humano. Utilizando o fago λ , que pode carregar quatro vezes mais DNA do que um plasmídeo, o número de

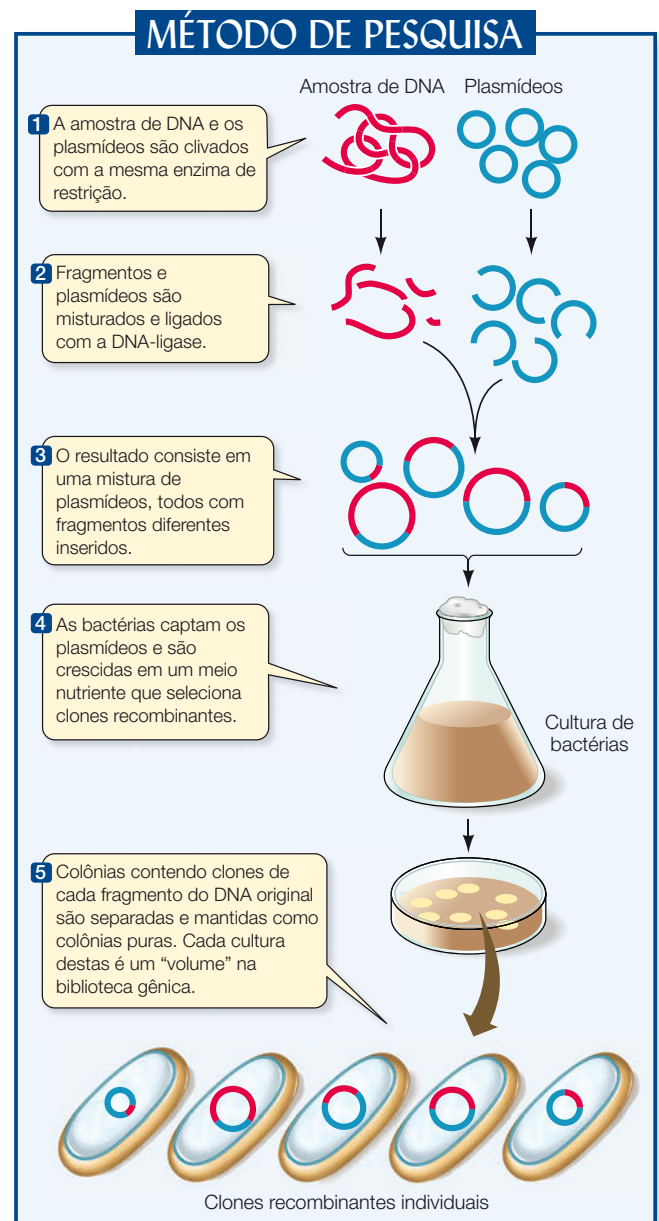


Figura 16.11 Construindo uma biblioteca gênica O DNA cromossomal humano é isolado e quebrado em fragmentos usando enzimas de restrição. Os fragmentos são inseridos em vetores (aqui são mostrados plasmídeos) e captados por células bacterianas hospedeiras, sendo que cada uma carrega um único fragmento do DNA humano. A informação nas culturas bacterianas resultantes e grupos de colônias constituem uma biblioteca gênica.

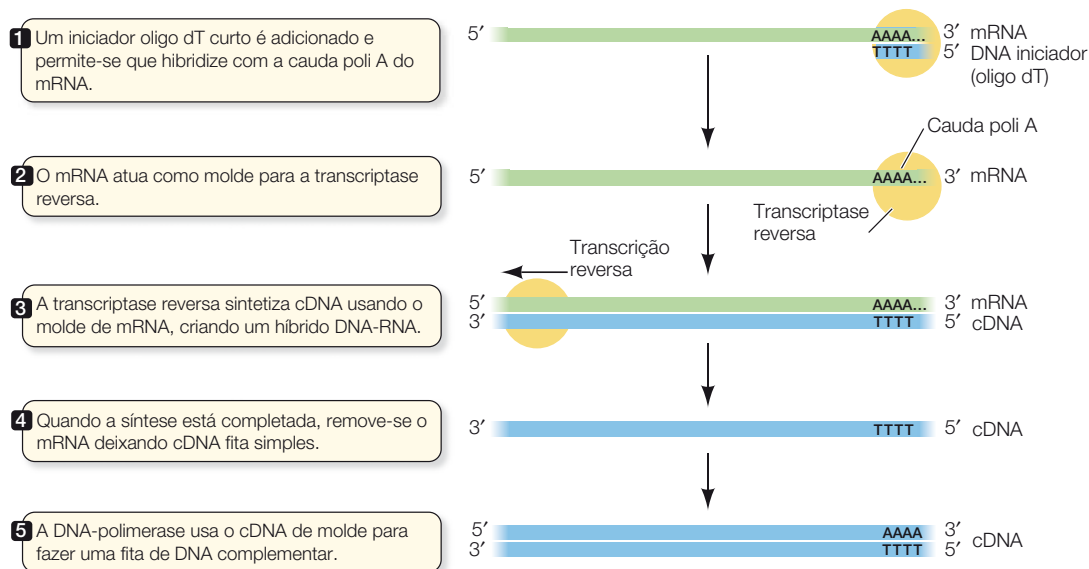


Figura 16.12 Síntese de DNA complementar Bibliotecas gênicas que incluem apenas genes transcritos em um determinado tecido e em um dado momento podem ser feitas a partir de DNA complementar. A síntese de cDNA é especialmente útil para identificar mRNAs que se encontram presentes apenas em poucas cópias e é muitas vezes um ponto inicial para clonagem gênica.

volumes pode ser reduzido para cerca de 50 mil. Embora isso possa parecer um número muito grande, uma única placa de crescimento pode sustentar até 80 mil colônias de fagos, ou *placas*, e pode ser facilmente examinada para detectar a presença de uma sequência específica de DNA ao se desnaturar o DNA do fago e aplicar uma sonda específica.

Bibliotecas de cDNA são construídas a partir de transcritos de mRNA

Uma biblioteca bem menor de DNA – com apenas genes transcritos em determinado tecido – pode ser construída a partir de **DNA complementar** ou **cDNA** (Figura 16.12). Relembre que a maioria dos mRNA eucarióticos possui uma cauda de poli A – uma cadeia de bases adenina na sua extremidade 3' (ver Figura 14.10). O primeiro passo na produção de cDNA consiste em extrair o mRNA de um tecido e fazer com que sua cauda poli A hibridize com uma molécula chamada *oligo dT*, que consiste em uma cadeia de bases de timina. O oligo dT serve de iniciador e o mRNA de molde, para a enzima transcriptase reversa, que sintetiza DNA a partir de RNA. Dessa maneira, uma fita de cDNA complementar ao mRNA se forma.

Uma coleção de cDNA a partir de um tecido específico, em determinado instante do ciclo de vida de um organismo, denomina-se *biblioteca de cDNA*. Os RNA mensageiros não duram muito tempo no citoplasma e estão, muitas vezes, presentes em pequenas quantidades, de forma que uma biblioteca de cDNA é um “instantâneo” que preserva o padrão de transcrição da célula. As bibliotecas de DNA complementar têm sido inestimáveis para comparações de expressão gênica em tecidos diversos em estágios diferentes do desenvolvimento. Por exemplo, o seu uso mostrou que até um terço de todos os genes de um animal expressa-se somente durante o desenvolvimento pré-natal. O DNA complementar é também um bom ponto de partida para a clonagem de genes eucarióticos. Ele é especialmente útil para clonar genes expressados em níveis baixos em apenas uns poucos tipos de células.

O DNA pode ser sintetizado quimicamente no laboratório

Quando conhecemos a sequência de aminoácidos de uma proteína, podemos usar o código genético na determinação de qual

sequência de DNA codifica cada aminoácido e montar os fragmentos de DNA correspondentes. Essa síntese de DNA artificial encontra-se agora totalmente automatizada e serviços especiais de laboratório podem fazer sequências, de curtas a médias, durante a noite para vários pesquisadores.

A determinação da sequência de bases do gene que codifica uma dada proteína é apenas um passo no desenho de um gene sintético. Outras sequências devem ser adicionadas, como sequências flanqueadoras para o início da transcrição, terminação e regulação e códons de início e parada para o início e término da tradução. É claro que essas sequências de DNA não codificadoras devem ser as realmente reconhecidas pela célula hospedeira, para que o gene sintético seja transcrito. De nada adianta ter uma sequência promotora de procariotos próxima a um gene se este se inserir em uma célula de levedura para expressão. A seleção apropriada de códons para dado aminoácido consiste em outra consideração importante: vários aminoácidos codificam-se por mais de um códon (ver Figura 12.6), e os organismos hospedeiros variam seu uso de códons sinônimos.

Mutações no DNA podem ser criadas no laboratório

As mutações que ocorrem na natureza têm sido importantes para provar relações de causa e efeito em biologia. A tecnologia do DNA recombinante nos permite levantar questões “E se...?” sem ter que achar mutações na natureza. Como se pode fazer o DNA sintético com qualquer sequência desejada, é possível manipulá-lo para criar mutações específicas, cujas consequências se observam quando o DNA é expressado por uma célula hospedeira. Essas *técnicas de mutagênese* revelaram várias relações de causa e efeito. Por exemplo, hipotetizou-se que a sequência sinal no início de uma proteína secretada é essencial para sua passagem pela membrana do retículo endoplasmático (ver Seção 12.5). Um gene codificando essa proteína, mas com os códons da sequência sinal removidos, foi sintetizado. Como esperado, quando esse gene expressou-se em células de levedura, a proteína não atravessou a membrana do retículo endoplasmático. Quando os códons da sequência sinal foram adicionados a um gene não relacionado, que codifica uma proteína citoplasmática solúvel, essa proteína atravessou a membrana do RE.

16.4 RECAPITULAÇÃO

O DNA para clonagem pode ser obtido a partir de bibliotecas gênicas, cDNA feito a partir de mRNA e fragmentos de DNA sintetizados. A função gênica pode ser investigada pela introdução intencional de mutações em genes naturais ou sintéticos.

- Você entende como uma biblioteca gênica pode ser feita? Ver p. 362 e Figura 16.11.
- Você entende como a transcriptase reversa é utilizada para fazer cDNA? Ver p. 363 e Figura 16.12.

Segundo vimos, mutações artificiais fornecem um excelente meio de investigar questões sobre o papel de um gene na função celular. Daremos uma olhada em algumas maneiras pelas quais as ferramentas descritas nesta seção podem ser utilizadas a fim de estudar os efeitos de um gene, começando com duas técnicas para bloquear a função gênica.

16.5 Que outras ferramentas são utilizadas para manipular DNA?

A Seção 11.5 descreve o sequenciamento de DNA e a reação em cadeia pela polimerase, duas importantes técnicas originadas da nossa compreensão sobre a replicação do DNA. Nessa seção examinaremos três técnicas adicionais para manipular DNA.

- *Experimentos de nocaute*: utilização de recombinação genética na criação de um gene inativo, ou “nocauteado”.
- *Silenciamento gênico*: a criação de RNA antissenso artificial e RNA de interferência que pode bloquear a tradução de mRNA específicos.
- *Chips de DNA*: microarranjos que detectam a presença de várias sequências diferentes simultaneamente.

Os genes podem ser desativados por recombinação homóloga

A técnica chamada de *recombinação homóloga* pode ser usada para substituir um gene dentro de uma célula por uma forma inativada daquele gene. Essa manipulação denomina-se experimento de **nocaute**.

Com frequência, utilizam-se ratos em experimentos de nocaute (Figura 16.13). O alelo normal do gene do camundongo a ser testado é inserido em um plasmídeo. Enzimas de restrição são então utilizadas para inserir um fragmento contendo um gene repórter no meio do gene normal. Essa adição de DNA extra cria uma desordem na transcrição e tradução do gene-alvo; um mRNA funcional raramente é produzido a partir de um gene cuja sequência tenha sido interrompida desta forma. Em seguida, o plasmídeo é transfectado para dentro de uma célula-tronco de um embrião jovem de camundongo. (Uma **célula-tronco** consiste em uma célula não diferenciada que se divide e se diferencia em células especializadas.)

Como grande parte do gene-alvo ainda está presente no plasmídeo (embora em duas regiões separadas), o reconhecimento de sequências homólogas ocorre entre o alelo inativo no plasmídeo e o alelo ativo (normal) no genoma do camundongo. A sequência no plasmídeo se alinha com a sequência homóloga no cromos-

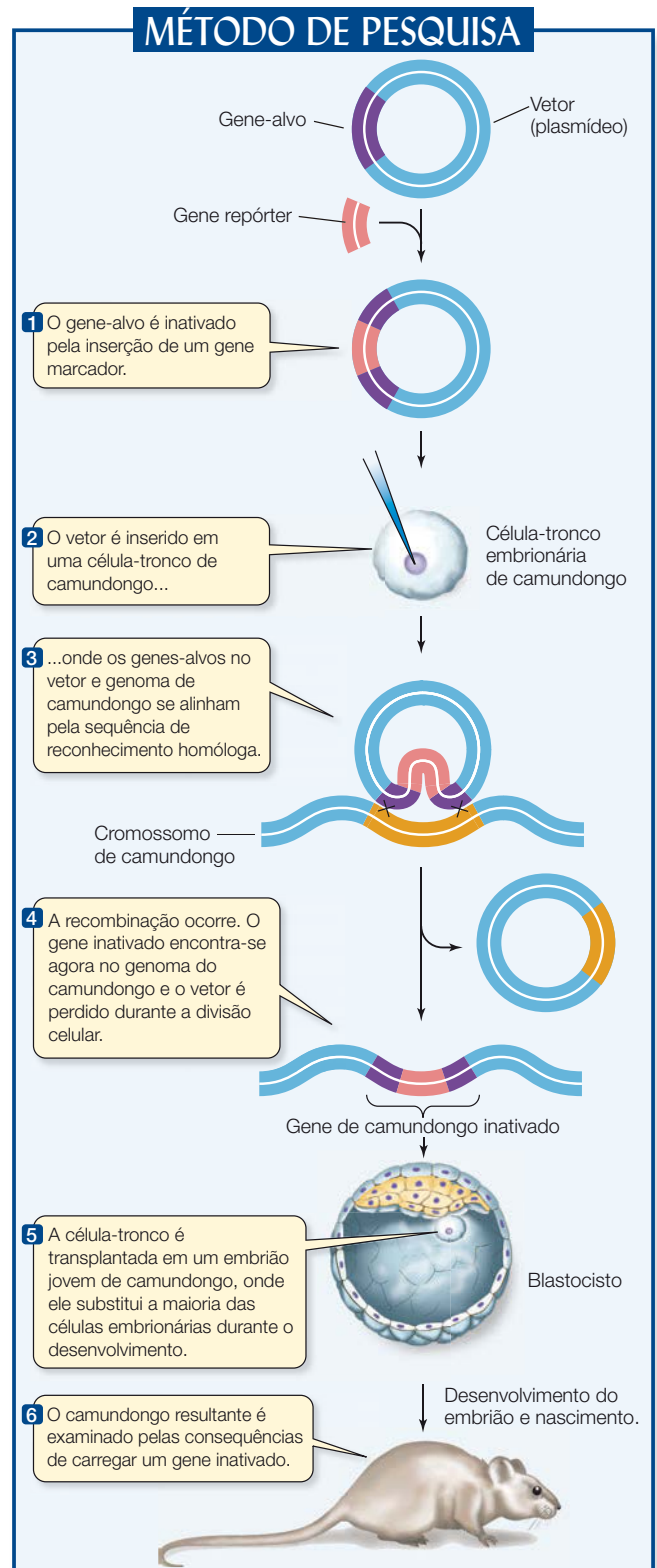


Figura 16.13 A produção de um camundongo nocaute Utiliza-se a recombinação homóloga para substituir um gene normal de camundongo por uma cópia inativada deste gene, “nocauteando” assim o gene. Descobrir o que acontece a um camundongo com um gene inativo nos diz muito sobre o papel normal desse gene.

somo do camundongo e, algumas vezes, a recombinação ocorre. Nesse caso, o alelo inativo do plasmídeo pode ser “trocado” com o alelo funcional na célula hospedeira. Entretanto, nenhum alelo pode ser expressado; o alelo inserido no cromossomo de camundongo é um fragmento interrompido de um gene normal, e o gene inserido no plasmídeo normalmente não tem seu promotor. Entretanto, o gene repórter no inserto é funcional e utilizado para identificar aquelas células-tronco que carregam o gene inativado.

Uma célula-tronco transfectada é, então, transplantada para dentro de um embrião jovem de camundongo, e (por meio de truques inteligentes além do escopo desta discussão) um camundongo nocaute que carrega o gene inativado na forma homocigótica é produzido. O camundongo mutante pode então ser observado pelas alterações fenotípicas, fornecendo pistas para a função do gene não inativado no animal normal, do tipo selvagem. A técnica de nocaute tem sido muito importante para estimar os papéis de certos genes durante o desenvolvimento.

O RNA antissenso e o RNA de interferência podem prevenir a expressão de genes específicos

A expressão de um gene também pode ser bloqueada parando a tradução do mRNA. Como ocorre com frequência, essa técnica consiste em um exemplo de imitação da natureza por cientistas. Conforme descrito na Seção 14.5 (ver Figura 14.22), a expressão gênica é ocasionalmente controlada pela produção de uma pequena molécula de RNA (micro-RNA) complementar ao mRNA. Essa molécula complementar denomina-se RNA **antissenso** porque se liga pelo pareamento das suas bases com as bases “senso” no mRNA que codifica uma proteína. O RNA híbrido de dupla-fita resultante inibe a tradução do mRNA e o híbrido tende a ser degradado rapidamente no citoplasma. Embora o gene continue a ser transcrito, a tradução não ocorre. Depois de determinar a sequência de um gene e de seu mRNA no laboratório, os cientistas podem fazer um RNA antissenso e adicioná-lo a uma célula para evitar a tradução do mRNA daquele gene (**Figura 16.14**, esquerda).

Uma técnica relacionada aproveita-se do **RNA de interferência (RNAi)**, um mecanismo natural raro para inibir a tradução do mRNA. Neste caso, um RNA dupla-fita curto (cerca de 20 nucleotídeos) desenrola-se em fitas-simples por um complexo de proteínas que guia esse RNA para uma região complementar no mRNA. O complexo proteico catalisa a degradação do mRNA-alvo.

Munidos desse conhecimento, os cientistas podem sintetizar um *pequeno RNA de interferência* (siRNA) para inibir a tradução de *qualquer* gene conhecido (Figura 16.14, direita). Como estes siRNAs dupla-fita são mais estáveis do que os RNAs antissenso, prefere-se o RNAi ao RNA antissenso como meio de bloquear a tradução do RNA.

O RNA antissenso e o RNAi têm sido utilizados amplamente para testar relações de causa e efeito. Por exemplo, quando o RNA antissenso foi utilizado para bloquear a síntese de uma proteína essencial ao crescimento de células cancerosas, as células reverteram para o fenótipo normal. Tais técnicas de silenciamento de genes oferecem grande potencial para o desenvolvimento de drogas que tratam doenças resultantes da expressão inapropriada de genes específicos.

Na degeneração macular, a quase cegueira resulta quando vasos sanguíneos proliferam no olho. A molécula de sinalização para proliferação de vasos consiste em um fator de crescimento. Um RNAi que tem como alvo este mRNA do fator de crescimento foi desenvolvido. Sem o sinal para ligá-lo, o crescimento dos vasos cessa e às vezes reverte.

Os chips de DNA podem revelar mutações no DNA e expressão de RNA

A ciência emergente da genômica deve tratar com duas realidades quantitativas principais. Primeiro, há um número muito grande de genes em genomas eucarióticos. Segundo, o padrão de expressão gênica em tecidos diversos em momentos diferentes é bastante distinto. Por exemplo, uma célula de câncer de pele no seu estágio inicial pode possuir um único “fingerprint” de mRNA, que difere tanto daquele de células da pele normal quanto das células da pele com um câncer mais avançado.

Para encontrar esses padrões, cientistas poderiam isolar o mRNA a partir de uma célula e testá-lo por hibridização com cada gene no genoma, um gene de cada vez. Todavia, seria muito mais simples fazer todas essas hibridizações de uma só vez. Isto é possível com a tecnologia de **chip de DNA**, que fornece grandes arranjos de sequências para experimentos de hibridização.

O desenvolvimento de chips de DNA se inspirou em métodos utilizados por décadas pela indústria de semicondutores. Você pode estar familiarizado com microchips de silicone, nos quais um arranjo de circuitos elétricos microscópicos é gravado sobre um minúsculo chip. Da mesma forma, uma série de sequências de DNA podem ser ligadas a uma lâmina de vidro em uma or-

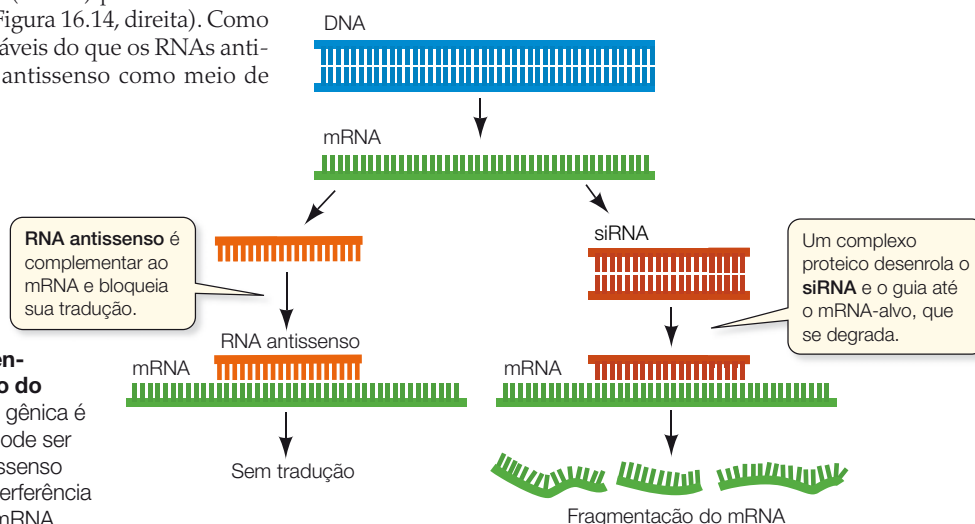


Figura 16.14 O uso de RNA antissenso e RNAi para bloquear a tradução do mRNA Uma vez que uma sequência gênica é conhecida, a síntese da sua proteína pode ser prevenida fazendo-se ou um RNA antissenso (esquerda) ou um pequeno RNA de interferência (siRNA, direita) complementar ao seu mRNA.

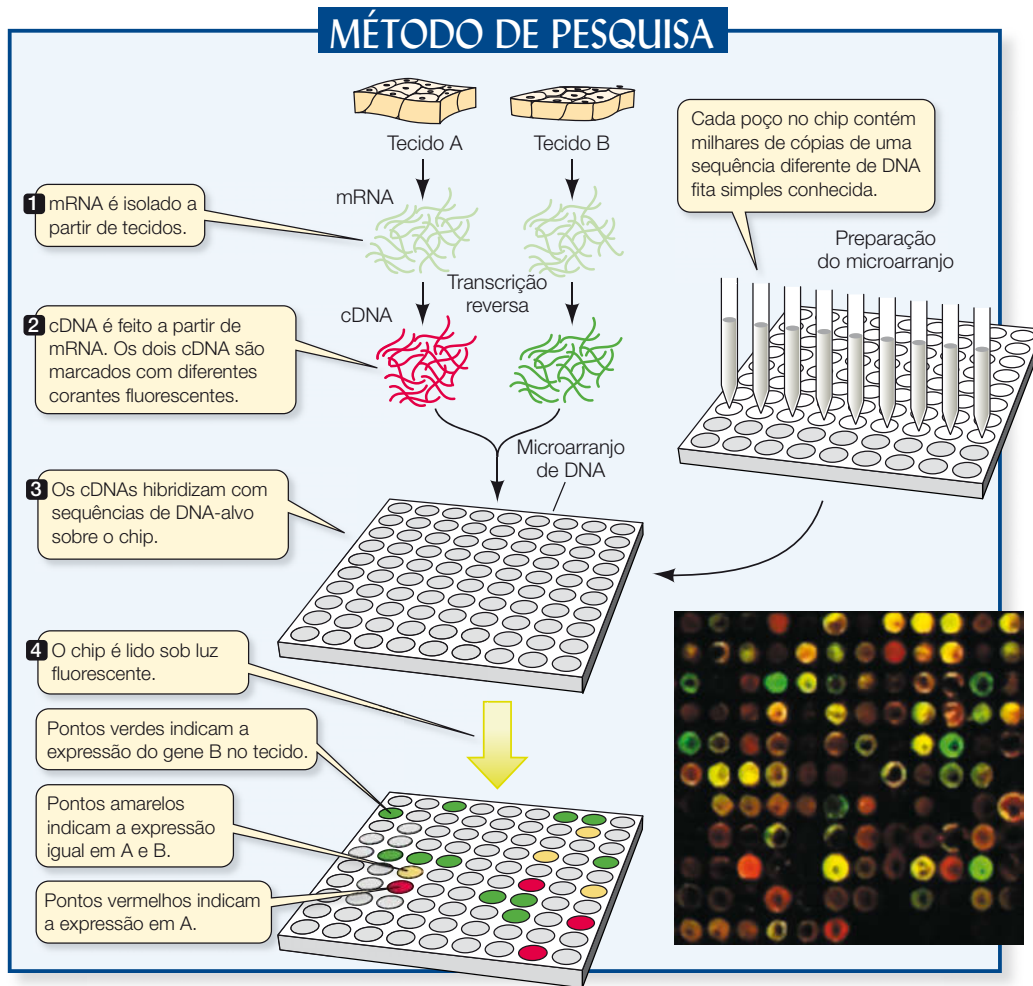


Figura 16.15 DNA em um chip Milhares de seqüências de DNA conhecidas podem ser ligadas a uma lâmina de vidro em um padrão de rede organizado e hibridizadas com cDNA derivado a partir de mRNA de amostras de tecido para achar quais genes aparecem nos tecidos.

deixado escapar. Entretanto, em certas pacientes, células cancerosas de mama negligenciadas acabam formando tumores, na mama ou em outro local do corpo. O desafio dos médicos consiste em desenvolver critérios para identificar essas pacientes e tratá-las agressivamente com quimioterapia contra tumores. Ao longo dos anos, doutores têm usado características como o tamanho original do tumor, morfologia da célula tumoral e distribuição do tumor nos linfonodos (ver Seção 17.4) para prever se o câncer de mama da paciente recorrerá. Esses métodos apresentam apenas sucesso moderado.

Nos chips de DNA, o grupo de van'Tveer procurou pela expressão de cerca de mil genes em tumores de pacientes cujo prognóstico eles já sabiam (os tumores eram amostras armazenadas). Eles encontraram 70 genes cuja expressão diferenciou dramaticamente entre tumores de pacientes com mau prognóstico (isto é, seu câncer recorreu) e com bom prognóstico, desenvolvendo o que denominamos "assinatura da expressão gênica". Essa "assinatura em um chip" é útil ao se tomar uma decisão clínica: pacientes com boa assinatura podem evitar uma quimioterapia desnecessária, enquanto aqueles com má assinatura podem receber um tratamento agressivo.

dem precisa (Figura 16.15). A lâmina é dividida em uma grade de pontos microscópicos, ou "poços", cada um contendo milhares de cópias de determinada seqüência de até 20 nucleotídeos de comprimento. Um computador controla a adição das seqüências em um padrão predeterminado. Cada seqüência de 20 pares de base de comprimento pode hibridizar com apenas uma seqüência de DNA genômico (ou cDNA ou RNA) e por isso consiste em um único identificador de um gene. Até 60 mil seqüências diferentes podem ser depositadas em um único chip.

Para o mRNA celular ser analisado, normalmente incuba-se com transcriptase reversa (RT) a fim de fazer cDNA (ver Figura 16.12), e o cDNA é amplificado pela reação em cadeia pela polimerase (PCR) antes da hibridização (ver Figura 11.23). Essa técnica, chamada de **RT-PCR**, assegura que as seqüências de mRNA naturalmente presentes em apenas poucas cópias (ou em amostra pequena, como biópsia de câncer) existirão em número suficiente para produzir um sinal. O cDNA amplificado é marcado com um corante fluorescente e usado com vistas a sondar o DNA sobre o chip. Seqüências de DNA complementares que formam híbridos com o DNA sobre o chip podem ser localizadas por um scanner sensível sob luz fluorescente.

Um uso clínico de chips de DNA foi desenvolvido por Laura van'Tveer e seus colegas no Netherlands Cancer Institut. A maioria das mulheres com câncer de mama é tratada com cirurgia para remover o tumor e, logo após, submetidas à radioterapia para matar as células cancerosas que o cirurgião possa ter

16.5 RECAPITULAÇÃO

Pesquisadores podem estudar a função de um gene nocauteando esse gene em um organismo vivo. RNA antis-senso e RNAi silenciam genes bloqueando seletivamente a tradução do mRNA. Chips de DNA permitem a análise simultânea de vários transcritos de mRNA diferentes.

- Você entende como um gene pode ser "nocautado" em um organismo vivo? Ver p. 364 e Figura 16.13.
- Qual é a diferença entre RNAi e RNA antis-senso? Ver p. 365.

Agora que vimos como o DNA pode ser fragmentado, recombinado, manipulado e colocado de volta em organismos vivos, vamos observar alguns exemplos de que forma essas técnicas podem ser unidas para fazer produtos úteis.

16.6 O que é biotecnologia?

A **biotecnologia** consiste na utilização de células vivas para produzir materiais úteis às pessoas, tais como alimentos, remédios e produtos químicos. As pessoas fazem isso há muito tempo. Por exemplo, o uso de leveduras na fabricação de cerveja e vinho data de pelo menos 8 mil anos atrás, e o uso de culturas de bactérias na fabricação de queijo e iogurte constitui uma técnica conhecida há muitos séculos. Por muito tempo, entretanto, as pessoas não estavam cientes das bases celulares dessas transformações bioquímicas.

Cerca de cem anos atrás, graças em grande parte ao trabalho de Louis Pasteur, ficou claro que bactérias específicas, leveduras e outros micróbios poderiam ser usados como transformadores biológicos na fabricação de certos produtos. A descoberta de Alexander Fleming de que o mofo *Penicillium* produz o antibiótico penicilina levou à cultura comercial de micróbios em grande escala a fim de produzir tanto antibióticos quanto outros produtos químicos úteis. Hoje, micróbios são cultivados em quantidades imensas a fim de produzir a maior parte do álcool de qualidade industrial, glicerol, ácido butírico e ácido cítrico, utilizados por eles mesmos ou como matéria-prima na fabricação de outros produtos.

Contudo, a produção de proteínas, incluindo hormônios e enzimas, estava limitada às quantidades mínimas extraídas a partir de organismos que às produzissem naturalmente. Os rendimentos eram baixos e a purificação difícil e custosa. Tudo isso mudou com o surgimento da clonagem de genes. A capacidade de inserir praticamente qualquer gene em bactérias ou leveduras, juntamente com métodos para induzir o gene a fazer o seu produto em grandes quantidades e exportá-las para fora das células, transformou esses micróbios em fábricas versáteis de produtos importantes. A chave dessa explosão na biotecnologia tem sido o desenvolvimento de vetores especializados, que não apenas carregam os genes para dentro das células, mas fazem essas células expressarem os genes em níveis altos.

Os vetores de expressão podem transformar células em fábricas de proteínas

Se um gene eucariótico é inserido em um plasmídeo típico (ver Figura 16.9) e usado para transformar *E. coli*, pouco, se algum, do produto do gene será produzido pela célula hospedeira, a não ser que outras sequências-chave sejam incluídas. O promotor bacteriano para a ligação da RNA-polimerase, o terminador para transcrição e uma sequência especial no mRNA que se faz necessária para a ligação do ribossomo são imprescindíveis para que o gene seja expressado e seus produtos sintetizados na célula bacteriana.

Com vistas a resolver esse tipo de problema, cientistas fizeram **vetores de expressão** que apresentam todas as características de vetores típicos, assim como as sequências extras necessárias para que o gene estranho (também chamado de *transgene*) seja expressado na célula hospedeira. Para bactérias hospedeiras, essas sequências adicionais incluem os elementos citados acima (**Figura 16.16**); em eucariotos, elas incluem a sequência de adição de poli A, os sítios para ligação de fatores de transcrição e os estimuladores. Uma vez que essas sequências foram colocadas nas regiões apropriadas do vetor, um gene transfetado por esse vetor pode ser expresso em quase qualquer tipo de célula hospedeira.

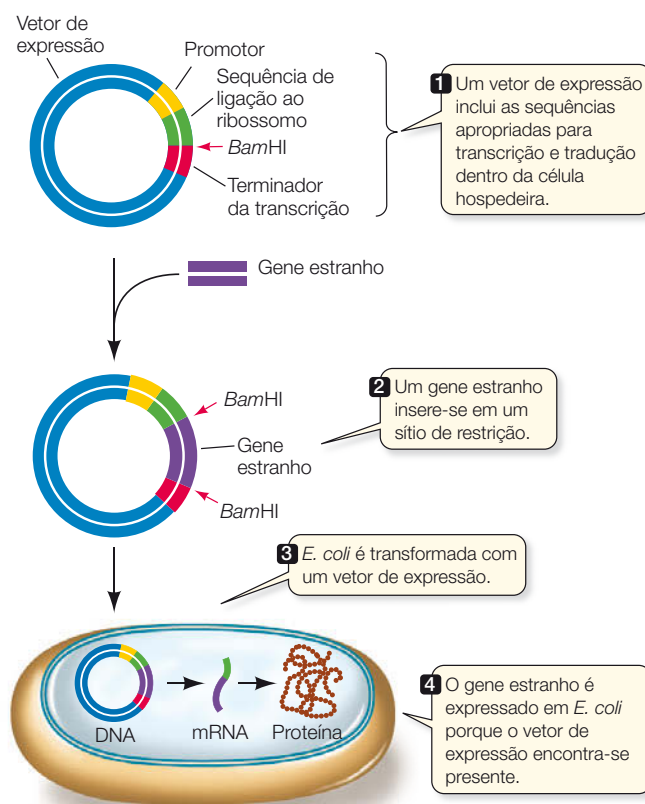


Figura 16.16 Um vetor de expressão permite que um transgene seja expressado em uma célula hospedeira Um gene eucariótico transformado pode não ser expressado em *E. coli* se ele não possuir as sequências bacterianas necessárias para promoção, terminação e ligação ao ribossomo. Vetores de expressão contêm essas sequências adicionais, permitindo que a proteína eucariótica seja sintetizada na célula procariótica.

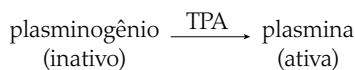
Um vetor de expressão modifica-se de várias maneiras.

- Um *promotor induzível*, que responde a um sinal específico, pode ser parte de um vetor de expressão. Por exemplo, um promotor específico que responde a um estímulo hormonal pode ser usado de forma que o transgene transcreva seu mRNA quando o hormônio for adicionado. Um estimulador que responde ao estímulo hormonal também pode ser adicionado de modo que a transcrição e a síntese de proteína ocorram a taxas altas – um objetivo de importância óbvia na fabricação de um produto industrial.
- Um *promotor tecido-específico*, que se expressa somente em certo tecido, em certo instante, pode ser utilizado se a expressão localizada for desejável. Por exemplo, muitas proteínas de sementes expressam-se somente no embrião da planta. O acoplamento de um gene a um promotor semente-específico permitirá ao gene ser expressado apenas como proteína da semente.
- *Sequências sinais* podem ser adicionadas ao vetor de expressão para que o produto do gene seja direcionado a um destino apropriado. Por exemplo, quando células de leveduras ou bacterianas que estão produzindo proteínas devem ser mantidas em um grande recipiente, é econômico incluir um sinal que direcione a proteína para ser secretada no meio extracelular a fim de facilitar a sua recuperação.

As proteínas para uso medicinal podem ser produzidas por biotecnologia

Muitos produtos para uso medicinal são produzidos por biotecnologia (Tabela 16.1) e centenas de outros se encontram em vários estágios de desenvolvimento. A manufatura de ativador de plasminogênio tecidual fornece um bom exemplo de uma aplicação médica da biotecnologia.

Quando uma ferida começa a sangrar, um coágulo de sangue se forma a fim de parar o fluxo. Mais tarde, quando a ferida cicatriza, o coágulo se dissolve. Como o sangue realiza essas funções conflitantes nos momentos exatos? O sangue de mamíferos contém uma enzima chamada plasmina, que catalisa a dissolução das proteínas de coagulação. Porém, a plasmina não está ativa sempre; se estivesse, um coágulo de sangue se dissolveria tão logo se formasse. Como alternativa, a plasmina é “armazenada” no sangue em uma forma inativa chamada plasminogênio. A conversão de plasminogênio em plasmina é ativada por uma enzima, apropriadamente chamada de *ativador de plasminogênio de tecido* (TPA do inglês, *tissue plasminogen activator*), produzida por células que revestem os vasos sanguíneos:



Ataques cardíacos e muitos derrames podem ser causados por coágulos de sangue que se formam em vasos sanguíneos importantes que vão ao coração e ao cérebro, respectivamente. Durante a década de 1970, observou-se que uma enzima bacteriana chamada de estreptoquinase estimulava a dissolução de coágulos em alguns pacientes. O tratamento com essa enzima salvou vidas,

TABELA 16.1 Alguns produtos da biotecnologia para uso medicinal

PRODUTO	USO
Fator estimulador de colônias	Estimula a produção de células brancas do sangue em pacientes com câncer e AIDS.
Eritropoietina	Previne anemia em pacientes que se submetem a diálise renal e terapia contra o câncer.
Fator VIII	Repõe o fator de coagulação ausente em pacientes com hemofilia A.
Hormônio de crescimento	Repõe a ausência do hormônio em pessoas de baixa estatura.
Insulina	Estimula a captação de glicose do sangue em pacientes com diabete dependente de insulina (Tipo I).
Fator de crescimento derivado de plaquetas	Estimula a cicatrização de feridas.
Ativador de plasminogênio tecidual	Dissolve coágulos sanguíneos depois de ataques cardíacos e derrames.
Proteínas vacinais: Hepatite B, herpes, gripe, doença de Lyme, meningite, coqueluche, etc...	Previne e trata doenças infecciosas.

mas o seu uso teve efeitos colaterais. A estreptoquinase era uma proteína estranha ao corpo, assim o sistema imunológico dos pacientes reagia contra ela. Mais importante ainda, a droga prevenia, algumas vezes, a coagulação em todo o sistema circulatório, levando os pacientes a uma condição muito semelhante à dos hemofílicos.

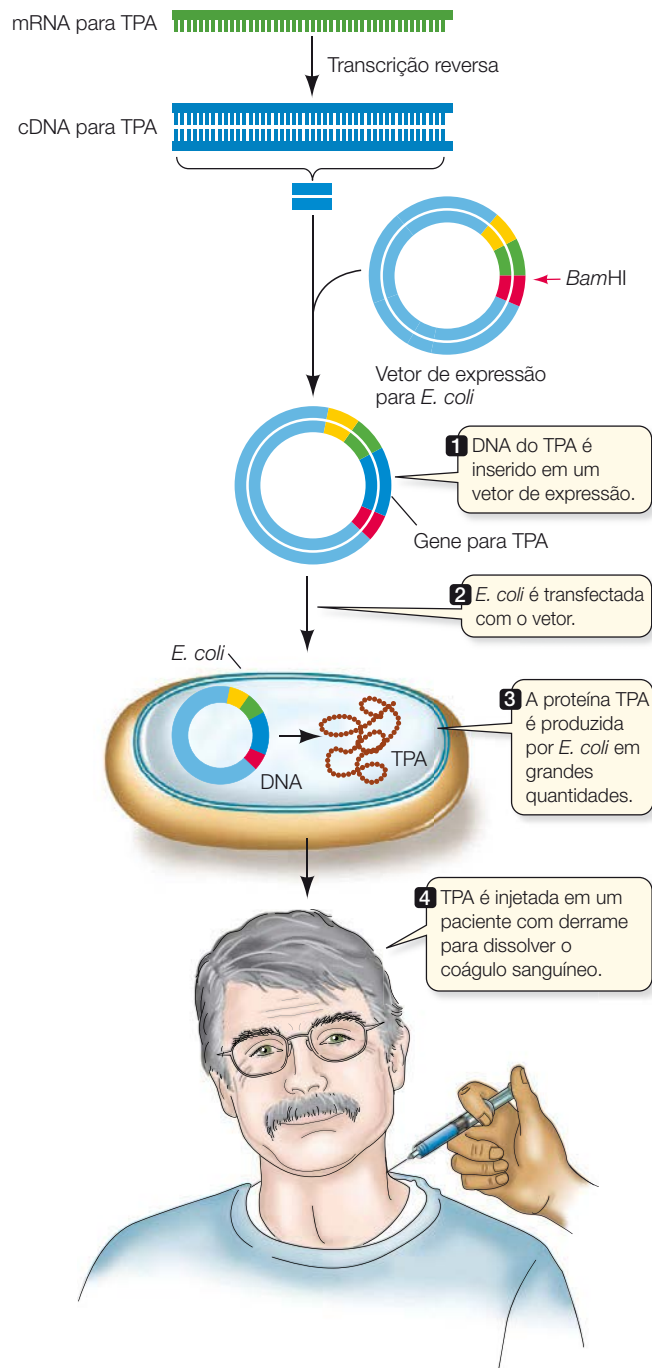


Figura 16.17 Ativador de plasminogênio tecidual: de proteína a gene e do gene à droga TPA consiste em uma proteína envolvida na dissolução dos coágulos sanguíneos, que ocorre naturalmente em humanos. A sua produção e seu uso no tratamento de pacientes que sofrem de coagulação sanguínea no coração ou cérebro – em outras palavras, ataques cardíacos ou derrames – foram possíveis pela tecnologia do DNA recombinante.

A descoberta do TPA e seu isolamento a partir de tecidos humanos trouxeram a esperança de que essa enzima pudesse ser usada para tratar vítimas de ataques cardíacos e de derrames – que ela se ligaria especificamente a coágulos e não provocaria uma reação imune. Mas as quantidades de TPA que poderiam ser obtidas a partir de tecidos humanos eram muito pequenas, certamente insuficientes para injetar na região de um coágulo em uma situação de emergência.

A tecnologia do DNA recombinante resolveu esse problema. O mRNA do TPA foi isolado e usado para fazer uma cópia do cDNA, a seguir inserida em um vetor de expressão e transfectada para dentro de *E. coli*. (Figura 16.17). A bactéria transgênica produziu a proteína em quantidade e ela logo se tornou disponível comercialmente. Essa droga apresenta sucesso considerável na dissolução de coágulos sanguíneos em indivíduos sofrendo ataques cardíacos e, em especial, derrames.

Outra maneira de produzir produtos para uso medicinal em grandes quantidades consiste no que tem sido chamado de **pharming**: a produção de proteínas no leite. Um transgene que codifica um produto proteico útil pode ser transfectado para dentro de ovos de uma fêmea de animal doméstico como ovelha, cabra ou vaca, próximo ao promotor para lactoglobulina, proteína produzida em grandes quantidades no leite. O animal transgênico resultante secreta grandes quantidades da proteína no seu leite. Esses “bioreatores” naturais podem produzir uma grande quantidade da proteína, que pode ser facilmente separada dos outros componentes do leite (Figura 16.18). Produtos produzidos por *pharming* incluem fatores de coagulação sanguínea para tratar hemofilia e anticorpos para tratar câncer de cólon.

A manipulação de DNA está mudando a agropecuária

Na agropecuária, com o cultivo de plantas e a criação de animais, temos os mais antigos exemplos da biotecnologia no mundo, datando mais de 8 mil anos atrás. Com o passar dos séculos, os povos adaptaram as plantações e os animais às suas necessidades. Pelo cultivo e cruzamento seletivo (seleção artificial) desses organismos, características desejáveis, tais como facilidade de cozimento das sementes ou conteúdo de gordura na carne, têm sido transmitidas e melhoradas. Além disso, desenvolveram-se cultivos com características de crescimento desejáveis, como alto rendimento, período de amadurecimento confiável e resistência a doenças.

Até recentemente, a forma mais comum de melhoramento de plantas cultivadas e animais para consumo consistia em selecionar e cruzar variedades com os fenótipos desejados, que ocorriam na natureza por meio de variação mutacional. O advento da genética há um século foi seguido por sua utilização em cruzamentos de plantas e animais. Culturas e animais com genes de interesse podiam ser identificados e, com cruzamentos deliberados, esses genes podiam ser introduzidos em uma variedade amplamente usada desses organismos.

Apesar de alguns sucessos espetaculares, tais como a produção de “superplantas” de trigo, arroz e milho, esses cruzamentos deliberados ainda constituem um trabalho de tentativa e erro. Muitas características desejáveis são complexas na sua genética, e é difícil prever os resultados de um cruzamento ou de manter uma combinação valiosa como uma variedade de cruzamentos pura

Figura 16.18 Pharming Um vetor de expressão que carrega um gene de interesse pode ser colocado em um óvulo de animal e, utilizando uma tecnologia de reprodução, o óvulo pode ser induzido a formar um embrião jovem e, após, ser implantado em uma mãe de aluguel. O descendente transgênico produz uma nova proteína no seu leite.

ano após ano. Na reprodução sexuada, combinações de genes não relacionados são rapidamente separadas na meiose durante a formação dos gametas. Além disso, o cruzamento tradicional de plantas de lavoura demora bastante tempo: muitas plantas se reproduzem somente uma ou duas vezes ao ano – tempo muito longo comparado à rápida reprodução de bactérias.

A tecnologia moderna de DNA recombinante possui algumas vantagens sobre os métodos clássicos de cruzamento:

- **A habilidade de atingir genes específicos.** Permite ao produtor selecionar genes específicos, tornando o processo de cruzamento mais preciso e com menores chances de fracasso como resultado da incorporação de genes imprevistos.
- **A habilidade de introduzir qualquer gene a partir de qualquer organismo em uma espécie vegetal ou animal.** Essa capacidade, combinada com técnicas de mutagênese, expande vastamente a amplitude de novas características possíveis.
- **A habilidade de gerar novos organismos rapidamente.** A manipulação de células no laboratório e a regeneração de uma planta inteira por meio de clonagem tornam o processo muito mais rápido do que o cruzamento tradicional.

Consequentemente, a tecnologia de DNA recombinante encontrou muitas aplicações na agricultura (Tabela 16.2). Descreveremos alguns exemplos aqui para demonstrar as abordagens empregadas.

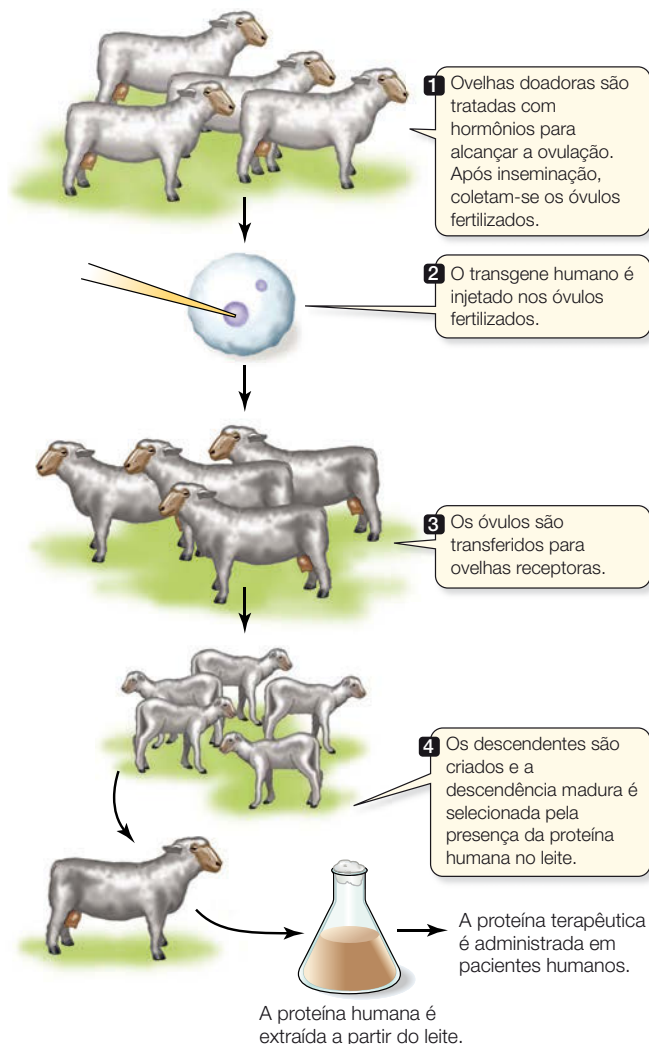


TABELA 16.2 Aplicações da biotecnologia sob desenvolvimento na agricultura

PROBLEMA	TECNOLOGIA/GENES
Melhora da adaptação ao meio das plantas.	Genes para tolerância à seca, tolerância à salinidade.
Melhora das características nutricionais.	Sementes com bastante lisina.
Melhora dos cultivos após colheita.	Atraso do amadurecimento de frutas; vegetais mais doces.
Utilização das plantas como bioreatores.	Plásticos, óleos e drogas produzidas em plantas.
Controle das pestes dos cultivos.	Tolerância a herbicidas; resistência a viroses, bactérias, fungos e insetos.

No local de uma fábrica de chapéus do século XIX, em Connecticut, onde o mercúrio tóxico utilizado no processo de cura ainda contamina o solo, 160 árvores transgênicas de álamo foram plantadas para limpar o solo. As árvores contêm um gene de bactéria chamado *MercA*, cujo produto enzimático converte o íon mercúrio tóxico em mercúrio metálico volátil menos danoso.

PLANTAS QUE PRODUZEM SEUS PRÓPRIOS INSETICIDAS

Os seres humanos não são a única espécie que consome plantas de lavoura. As plantas estão sujeitas a infecções por vírus, bactérias e fungos, mas, provavelmente, as pragas agrícolas mais importantes são os insetos herbívoros. Dos gafanhotos dos tempos bíblicos (e modernos) ao gorgulho do algodão, os insetos têm continuamente comido as plantações.

O desenvolvimento de inseticidas melhorou um pouco a situação, mas esses inseticidas apresentam seus próprios problemas. A maioria, como os organofosforados, é relativamente não específico, matando não somente as pragas nos campos mas também insetos benéficos ao ecossistema. Alguns ainda possuem efeitos tóxicos em outros grupos de organismos, incluindo os humanos. O que é mais importante: os inseticidas persistem no meio ambiente por um longo período.

Algumas bactérias resolveram seu próprio problema de pragas ao produzirem proteínas que matam insetos. Por exemplo, há dezenas de cepas de *Bacillus thuringiensis*, cada uma das quais produz uma proteína tóxica para a larva do inseto que a consome. Essa proteína é 80 mil vezes mais tóxica do que inseticidas comerciais comuns. Quando uma larva sem sorte ingere a bactéria, a toxina se torna ativada, ligando-se especificamente ao intestino do inseto para produzir orifícios e o inseto morre por falta de alimento.

Preparados secos de *B. thuringiensis* foram vendidos durante décadas como um inseticida seguro que se degrada rapidamente no meio ambiente. Todavia, esta *biodegradação* é seu fator limitante, pois significa que as bactérias secas devem ser aplicadas repetidamente durante o período de crescimento. Uma abordagem mais permanente seria fazer as plantas produzirem as suas próprias toxinas.

Os genes de toxinas de cepas diferentes de *B. thuringiensis* foram isolados e clonados e têm sido modificados consideravelmente pela adição de promotores e terminadores de plantas, de sequências de adição de poli A de plantas e de elementos reguladores de plantas. Esses genes modificados têm sido introduzidos em células vegetais em laboratório usando o vetor plasmidial Ti (ver Figura

16.9C), e plantas transgênicas têm sido cultivadas e testadas no campo contra resistência a insetos. Milho, algodão, soja, tomate e outras culturas têm sido plantadas com sucesso com esse gene adicionado. O uso de pesticidas por agricultores que plantam esses cultivos transgênicos diminuiu consideravelmente.

CULTURAS RESISTENTES A HERBICIDAS

Insetos herbívoros não constituem a única ameaça à agricultura. Ervas daninhas podem crescer e competir com os cultivos por água e nutrientes do solo. O glifosato (Roundup®) é um *herbicida* amplamente usado e efetivo, um matador de ervas daninhas. Ele funciona somente em plantas ao inibir uma via enzimática no cloroplasto, envolvida na síntese de aminoácidos. O glifosato é

realmente um “herbicida milagroso”, matando 76 das 78 ervas daninhas de maior ocorrência no mundo. Infelizmente, também mata plantas de lavoura, deste modo ele é melhor utilizado para livrar o terreno de ervas daninhas antes dos cultivos começarem a crescer. Porém, conforme todo jardineiro sabe, quando as plantas começam a crescer, as ervas daninhas reaparecem. Se o cultivo não fosse afetado pelo herbicida, este poderia ser aplicado no campo em qualquer período e mataria somente as ervas daninhas.

Os cientistas têm usado vetores de expressão para produzir plantas que sintetizam uma quantidade tão grande da enzima-alvo para o glifosato que elas não são afetadas por ele. Esse gene foi inserido em milho, algodão e soja, tornando-os resistentes ao glifosato. Essa tecnologia se expandiu tão rapidamente no final dos anos 90 que metade do cultivo dessas três plantas nos Estados Unidos agora contém este gene superexpresso.

GRÃOS COM CARACTERÍSTICAS NUTRICIONAIS MELHORADAS

Para permanecerem saudáveis, os seres humanos devem comer alimentos (ou suplementos) com quantidade adequada de β -caroteno, que o corpo converte em vitamina A (ver Figura 3.21). Cerca de 400 milhões de pessoas no mundo sofrem de deficiência de vitamina A, o que as torna sujeitas a infecções e à cegueira. Uma razão é que grãos de arroz, que não contêm β -caroteno, mas apenas uma molécula precursora a ele, fazem parte da sua dieta. Outros organismos, tais como a bactéria *Erwinia* e as plantas do narciso amarelo, apresentam enzimas que podem converter o precursor em β -caroteno. Os genes para essa via bioquímica encontram-se presentes nos genomas das bactérias e do narciso amarelo, mas não no genoma do arroz.

Os cientistas isolaram um dos genes da via do β -caroteno a partir de bactéria e os outros dois do narciso amarelo. Eles adicionaram sinais promotores para expressão no grão de arroz em desenvolvimento e então adicionaram cada gene às plantas do arroz usando o vetor plasmidial Ti de *Agrobacterium tumefaciens* (ver Figura 16.9C). As plantas de arroz resultantes produzem grãos de aparência amarelas por causa do alto conteúdo de β -caroteno (**Figura 16.19**). Aproximadamente 300 g desse arroz, cozido, por dia, podem fornecer todo o β -caroteno de que uma pessoa necessita. Essa nova variedade transgênica está sendo cruzada com variedades mais adaptadas localmente, na esperança de melhorar a dieta de milhões de pessoas.

CULTIVOS QUE SE ADAPTAM AO MEIO AMBIENTE Ao longo da história da humanidade, a agricultura dependeu da adminis-

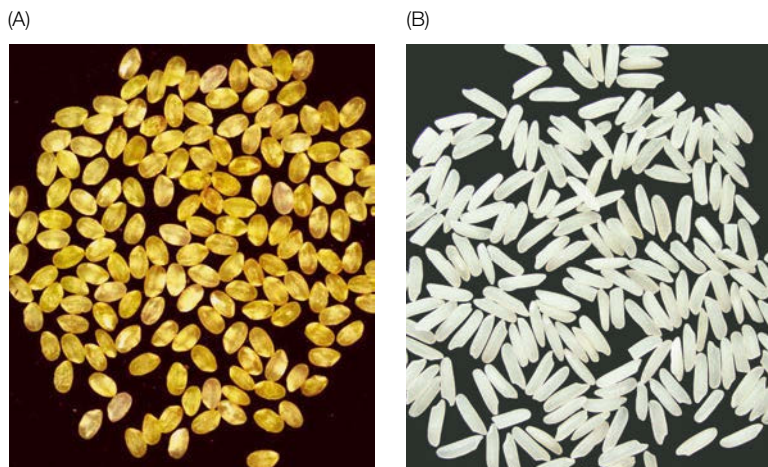


Figura 16.19 Arroz transgênico rico em β -caroteno

(A) Os grãos de uma nova linhagem de arroz transgênica são amarelos porque produzem o pigmento β -caroteno, convertido por humanos em vitamina A. (B) O arroz normal não contém β -caroteno.

Mais importante, esse exemplo ilustra o que poderia se tornar uma mudança fundamental na relação entre plantas de lavoura e o meio ambiente. Ao invés de manipular o meio ambiente para servir às plantas, a biotecnologia pode nos permitir adaptar a planta ao meio ambiente. Como resultado, alguns dos efeitos negativos da agricultura, como a poluição das águas, poderia ser diminuído.

Há uma preocupação pública em relação à biotecnologia

A opinião do público aumentou o interesse em geral sobre a segurança e o conhecimento de cultivos geneticamente modificados. Essas preocupações encontram-se centradas em três alegações:

- A manipulação genética é uma interferência artificial na natureza.
- Alimentos alterados geneticamente não são seguros para consumo.
- Plantas cultivadas alteradas geneticamente são perigosas para o meio ambiente.

Defensores da biotecnologia tendem a concordar com a primeira afirmação. Entretanto, apontam que *todos* os cultivos principais não são naturais, pois se originam de plantas cruzadas que crescem em ambiente manipulado (uma lavoura). A tecnologia do DNA recombinante apenas adiciona um outro nível de sofisticação a estas técnicas.

Defensores da biotecnologia contestam sobre a preocupação dos cultivos modificados geneticamente não serem seguros para consumo humano, apontando que apenas genes únicos são adicionados e que esses genes são específicos para a função vegetal. Por exemplo, a toxina do *B. thuringiensis* produzida por plantas transgênicas não tem qualquer efeito em pessoas. Contudo, à medida que a biotecnologia de plantas muda da adição de genes para melhorar o crescimento de plantas rumo à adição de genes que afetam a nutrição humana, essas preocupações tornar-se-ão mais prementes.

tração ecológica – adequando o meio ambiente para as necessidades das plantas cultivadas. Uma lavoura é um sistema não natural projetado pelo homem e quando condições neste local se tornam intoleráveis, os cultivos morrem. A região entre os rios Tigre e Eufrates, o Fértil Crescente, no Oriente Médio, onde a agricultura se originou há 10 mil anos, não é mais fértil. Ela agora é um deserto, em grande parte porque o solo tem alta concentração de sal. Poucas plantas podem crescer em solos salinos, principalmente porque o meio é hipertônico para as raízes das plantas e a água sai das raízes, resultando em murchamento.

Recentemente, um gene foi descoberto em *Arabidopsis thaliana* que permite que esta pequena erva sobreviva em solos salinos. O gene codifica uma proteína que transporta íons de sódio para o vacúolo central. Quando se adicionou este gene ao tomateiro, ele cresceu em solos quatro vezes mais salinos do que o nível letal normal (Figura 16.20). Este achado aumentou a perspectiva de cultivar solos antes improdutivos.

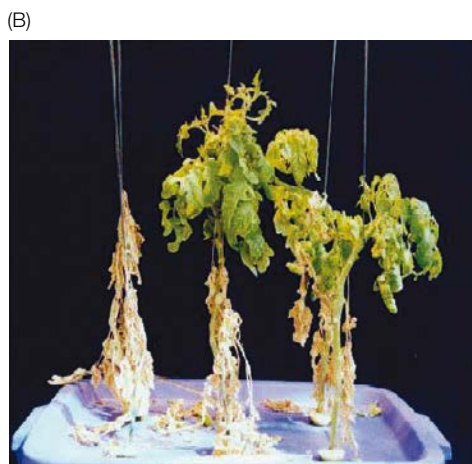


Figura 16.20 Planta do tomate tolerante a sal Plantas transgênicas contendo um gene para tolerância a sal sobrevivem em solos salinos (A), enquanto plantas sem o transgene morrem (B).

A terceira preocupação, sobre os efeitos do meio ambiente, envolve a possibilidade do “escape” de transgenes dos cultivos para outras espécies. Se o gene para resistência a herbicidas, por exemplo, for transferido inadvertidamente de um cultivo para uma erva daninha próxima, a erva poderia prosperar em áreas tratadas com o herbicida. Ou insetos benéficos poderiam ingerir matérias da planta contendo a toxina do *B. thuringiensis* e morrer. Plantas transgênicas são submetidas a muitos testes de campo antes de serem aprovadas para uso, porém, a complexidade do mundo biológico torna impraticável prever todos os efeitos ambientais possíveis do organismo transgênico. Considerando os benefícios em potencial da biotecnologia agrícola (ver Tabela 16.2), os cientistas acreditam que é sensato prosseguir com cautela.

16.6 RECAPITULAÇÃO

Os vetores de expressão maximizam a expressão de transgenes inseridos em células hospedeiras. A biotecnologia tem sido usada para produzir medicamentos e para desenvolver plantas transgênicas com características de produção e nutrição melhoradas.

- Você compreende como os vetores de expressão funcionam? Ver p. 367 e Figura 16.16.
- Quais são algumas das preocupações que as pessoas podem ter sobre a biotecnologia na agricultura? Ver p. 371-372.

RESUMO DO CAPÍTULO

16.1 Como as moléculas grandes de DNA são analisadas?

As **enzimas de restrição**, produzidas por bactérias como mecanismo de defesa contra vírus, ligam-se ao DNA e o clivam em **sequências de reconhecimento** específicas (também chamadas de **sítios de restrição**). Essas enzimas podem ser usadas para produzir pequenos fragmentos de DNA para estudo, uma técnica conhecida como **digestão de restrição**. Rever Figura 16.1.

Fragmentos de DNA podem ser separados pelo tamanho usando **eletroforese em gel**. Rever Figura 16.2.

Sequências específicas de DNA podem ser identificadas em um gel por sondas com uma sequência complementar em um procedimento conhecido com *Southern blot*. Rever Figura 16.3.

Fingerprinting de DNA pode distinguir entre indivíduos específicos, ou revelar quais indivíduos estão mais intimamente relacionados, pela detecção de polimorfismo nos seus genes, particularmente **polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP)** e **repetições curtas em tandem (STR)**. Rever Figura 16.4.

O projeto de código de barras do DNA utiliza sequências de uma única região de DNA para identificar espécies.

16.2 O que é DNA recombinante?

DNA recombinante forma-se pela combinação de duas sequências de DNA a partir de diferentes fontes. Rever Figura 16.7.

Várias enzimas de restrição produzem cortes assimétricos nas duas fitas de DNA criando fragmentos que tem **extremidades coesivas** com bases não pareadas.

Fragmentos de DNA com extremidades coesivas podem ser utilizadas para criar DNA recombinante se moléculas de DNA a partir de diferentes fontes são cortadas com a mesma enzima de restrição e unidas com a DNA-ligase. Rever Figura 16.8.

16.3 Como os novos genes são inseridos em células?

Um dos objetivos da tecnologia do DNA recombinante é **clonar** um determinado gene, para análise ou para produzir seu produto proteico em quantidade.

Utilizam-se, com frequência, bactérias, leveduras e células vegetais cultivadas como hospedeiros para DNA recombinante. Células hospedeiras nas quais DNA recombinante é inserido, ou **transformado**, denominam-se **células transgênicas**.

Para identificar células hospedeiras que captaram um gene estranho, a sequência inserida pode ser marcada com **genes repórteres**, marcadores genéticos com fenótipos facilmente identificáveis.

A expressão de genes estranhos na célula hospedeira requer que ele se torne parte de um segmento de DNA que contém um **replicon** (origem e término da replicação).

Os **vetores** consistem em sequências de DNA que podem carregar um novo DNA para dentro de células hospedeiras. Plasmídeos,

vírus e **cromossomos artificiais de leveduras** são todos usados como vetores. Rever Figura 16.9.

16.4 Quais são as fontes de DNA usadas na clonagem?

Os fragmentos de DNA a partir de um genoma podem ser inseridos em células hospedeiras para criar uma **biblioteca gênica**. Rever Figura 16.11.

Os mRNA produzidos em um determinado tecido em um determinado momento podem ser extraídos e usados para produzir **DNA complementar (cDNA)** por transcrição reversa. Rever Figura 16.12.

O DNA sintético contendo qualquer sequência desejada pode ser sintetizado e mutado no laboratório.

16.5 Que outras ferramentas são utilizadas para manipular DNA?

A recombinação homóloga pode ser usada para **“nocautear”** um gene em um organismo vivo. Rever Figura 16.13.

Técnicas de silenciamento de DNA podem ser utilizadas para inativar o transcrito de mRNA de um gene, provendo pistas para a função do gene. RNA **antisense** ou **RNA de interferência (RNAi)**, criados artificialmente, podem ser adicionados a uma célula para prevenir a tradução de um mRNA específico. Rever Figura 16.14.

A tecnologia de **chip de DNA** permite a seleção de um mRNA em milhares de sequências ao mesmo tempo. Rever Figura 16.15.

Em uma técnica chamada de **RT-PCR**, mRNA de tecido específico converte-se em cDNA pela transcrição reversa e então amplificado. Este cDNA pode ser usado como sonda em um chip de DNA para explorar o padrão de expressão gênica no tecido.

16.6 O que é biotecnologia?

Biotecnologia é o uso de células vivas para produzir produtos úteis para pessoas. A tecnologia de DNA recombinante resultou numa explosão na biotecnologia.

Vetores de expressão permitem que um gene seja expressado em uma célula hospedeira. Rever Figura 16.16.

Utilizam-se técnicas de DNA recombinante para produzir proteínas úteis na medicina. Rever Figura 16.17.

Pharming utiliza animais transgênicos que produzem produtos úteis no seu leite. Rever Figura 16.18.

Como a tecnologia do DNA recombinante apresenta várias vantagens sobre a biotecnologia tradicional de agricultura, ela está sendo muito aplicada na agricultura.

Plantas cultivadas transgênicas podem ser adaptadas ao ambiente, em vez de vice-versa.

Existe uma preocupação do público sobre a aplicação da tecnologia do DNA recombinante na produção de alimentos.

QUESTÕES

1. Enzimas de restrição:
 - a. não têm função em bactérias.
 - b. clivam DNA em sequências de reconhecimento altamente específicas.
 - c. são inseridas em bactérias por bacteriófagos.
 - d. são produzidas apenas por células eucarióticas.
 - e. adicionam grupos metil a sequências de DNA específicas.
2. Quando fragmentos de DNA de diferentes tamanhos submetem-se a um campo elétrico,
 - a. os pedaços menores se movem mais rapidamente em direção do polo positivo.
 - b. os pedaços maiores se movem mais rapidamente em direção do polo positivo.
 - c. os pedaços menores se movem mais rapidamente em direção do polo negativo.
 - d. os pedaços maiores se movem mais rapidamente em direção do polo negativo.
 - e. os pedaços menores e maiores se movem na mesma velocidade.
3. A partir da lista abaixo selecione a sequência de passos para inserir um pedaço de DNA estranho em um vetor plasmidial, introduzir o plasmídeo na bactéria e verificar se o plasmídeo e o gene estranho estão presentes:
 - (1) Transfectar a célula hospedeira.
 - (2) Selecionar a ausência de função do gene repórter 1 plasmidial.
 - (3) Selecionar a função do gene repórter 2 plasmidial.
 - (4) Digerir o vetor e o DNA estranho com uma enzima de restrição, que inativa o gene repórter 1 plasmidial.
 - (5) Ligar o plasmídeo digerido com o DNA estranho.
 - a. 45132
 - b. 45123
 - c. 13425
 - d. 32145
 - e. 13254
4. Quais das características não são desejáveis para um vetor para a clonagem de genes?
 - a. Uma origem de replicação de DNA.
 - b. Marcadores genéticos para a presença do vetor.
 - c. Múltiplas sequências de reconhecimento para a enzima de restrição a ser usada.
 - d. Uma sequência de reconhecimento para várias enzimas de restrição diferentes.
 - e. Genes diferentes do alvo para transfecção.
5. RNA de interferência (RNAi) inibe:
 - a. replicação de DNA.
 - b. transcrição de genes específicos.
 - c. o reconhecimento do promotor pela RNA-polimerase.
 - d. a transcrição de todos os genes.
 - e. a tradução de mRNA específicos.
6. O DNA complementar (cDNA)
 - a. é produzido a partir de ribonucleosídeos trifosfato.
 - b. é produzido por transcrição reversa.
 - c. é a "outra fita" de DNAs fita simples em um vírus.
 - d. não requer molde para sua síntese.
 - e. não pode ser colocado em um vetor, pois tem a sequência de bases oposta do DNA do vetor.
7. Em uma biblioteca gênica de DNA de sapo na bactéria *E. coli*,
 - a. todas as células bacterianas têm as mesmas sequências do DNA de sapo.
 - b. todas as células bacterianas têm sequências diferentes do DNA de sapo.
 - c. cada célula bacteriana tem um fragmento aleatório do DNA de sapo.
 - d. cada célula bacteriana tem vários fragmentos do DNA de sapo.
 - e. o DNA de sapo é transcrito em mRNA nas células bacterianas.
8. Um vetor de expressão requer todos os itens seguintes exceto:
 - a. genes para RNA ribossomal.
 - b. um gene repórter.
 - c. um promotor da transcrição
 - d. uma origem de replicação do DNA.
 - e. sequências de reconhecimento para enzimas de restrição.
9. "Pharming" é um termo que descreve:
 - a. o uso de animais na pesquisa de transgênicos.
 - b. plantas que produzem alimentos geneticamente modificados.
 - c. síntese de drogas recombinantes por bactérias.
 - d. produção em larga escala de animais clonados.
 - e. síntese de uma droga no leite de um animal transgênico.
10. No fingerprinting de DNA:
 - a. uma identificação positiva pode ser feita.
 - b. é necessário apenas um blot de um gel.
 - c. múltiplas enzimas de restrição geram fragmentos únicos.
 - d. a reação em cadeia pela polimerase amplifica o DNA dos dedos.
 - e. a variação em sequências repetidas entre dois sítios de restrição é avaliada.

PARA DISCUSSÃO

1. No experimento de DNA recombinante na Figura 16.7, você esperaria que alguma *E. coli* fosse duplamente resistente (a ambos os antibióticos) se os plasmídeos que carregam os genes de resistência a antibióticos fossem introduzidos na célula ao mesmo tempo, mas não recombinados no tubo de ensaio antes do experimento?
2. Compare PCR (ver Seção 11.5) e clonagem como técnicas para amplificar um gene. Quais são os requisitos, as vantagens e as desvantagens de cada método?
3. Tão especificamente quanto puder, faça o esboço das etapas que você seguiria para (A) inserir e expressar o gene a uma nova proteína de semente nutritiva no trigo e (B) inserir e expressar um gene para uma enzima humana em leite de ovelha.
4. Compare os métodos genéticos tradicionais com métodos moleculares para produzir plantas alteradas geneticamente. Para cada caso, descreva (a) fontes de novos genes; (b) números de genes transferidos; e (c) quanto tempo o processo leva.

PARA INVESTIGAÇÃO

A proteína verde fluorescente (GFP) de uma água-viva pode ser incorporada em um vetor como gene repórter para sinalizar a presença do vetor na célula hospedeira (a célula brilha sob luz UV). Como você alteraria a

técnica na Figura 16.10 para substituir GFP por um (ou ambos) dos marcadores de resistência a antibiótico?

Genoma dos fundadores de Quebec

Em 1535, o explorador francês Jacques Cartier subiu o rio Saint Lawrence no Canadá e chegou a uma vila, chamada Stadacona pelos nativos Iroquois que ali viviam. Quando Samuel de Champlain chegou com 28 agricultores, 70 anos mais tarde, os Algonquin, que então ali habitavam, chamavam-na de “Quebecq”, significando “o lugar onde o rio se estreita”.

Durante os 150 anos seguintes, 15 mil pessoas vieram se juntar aos primeiros colonizadores. A metade voltou para casa por causa das condições rigorosas, e outras milhares partiram para as pastagens verdejantes no sul e oeste. Cerca de 2.600 ficaram, tiveram filhos e formaram a base da vibrante sociedade franco-canadense que hoje é a Província de Quebec, no Canadá. As tradições culturais e religiosas eram muito fortes e os franco-canadenses tinham a tendência de casar-se entre si. Ainda hoje,

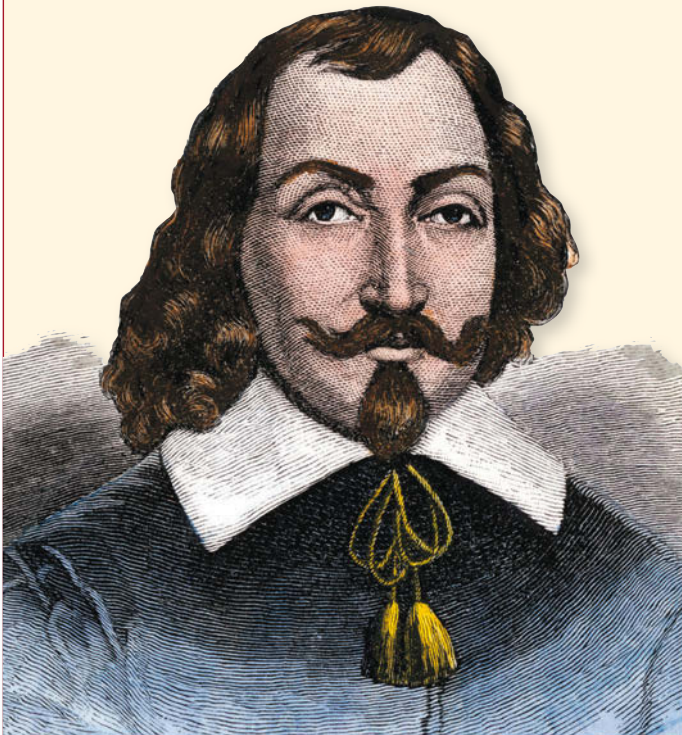
cerca de dois terços da atual população de 6 milhões de habitantes de Quebec descende daquele grupo de 2.600 fundadores. Por exemplo, o casamento de Pierre e Anne Tremblay, em 1657, gerou 12 filhos e agora 280.000 de seus descendentes vivem em Quebec!

Os franco-canadenses constituem uma mina de ouro genômica. Como tantas pessoas dessa população descendem de poucos ancestrais, os alelos presentes nos pais e mães dos fundadores são muito mais comuns do que em uma população derivada de um grupo maior de fundadores. Além disso, como Quebec apresenta um sistema de assistência de saúde estatal e um banco de dados centralizado, a obtenção de informações médicas é simples.

Os cientistas estão mapeando o genoma de milhares de franco-canadenses, concentrando-se em pessoas cujos quatro avós sejam todos dessa descendência. Essa “exploração genômica” envolve a procura por polimorfismos nucleotídicos únicos (SNP, do inglês, *single nucleotide polymorphisms*). Os pesquisadores estão tentando correlacionar a presença desses SNP com doenças que possam ter sido herdadas dos fundadores. Tais doenças seriam apontadas por uma alta frequência na população juntamente com a presença de um SNP específico. A ligação de genótipo e fenótipo pode sugerir genes envolvidos ou na própria doença ou na suscetibilidade a ela. Até aqui, os pesquisadores possuem evidências de vários genes com algum envolvimento na doença de Crohn, grave inflamação do intestino, assim como a psoríase, doença de pele. Tendo identificado um gene associado com uma doença, as etapas seguintes incluem a determinação de sua função e a busca das possíveis curas.

Até agora, o tratamento de doenças tem sido – e, em grande parte, continuará sendo – abordado de “cima para baixo”, com o objetivo principal de alívio

Samuel de Champlain Em 1608, Champlain levou um pequeno grupo de colonizadores franceses para onde hoje encontra-se Quebec.





As Festas da Nova França Esta família está vestida com trajes de época para a comemoração anual da fundação de Quebec. Os pesquisadores estão mapeando o genoma de muitos franco-canadenses.

dos sintomas. Para algumas enfermidades infecciosas, o conhecimento do microrganismo causador do problema e a disponibilidade de antibióticos específicos leva à cura. Porém, para doenças mais complexas que ainda afligem humanos, como câncer e doenças cardíacas, a cura é imprecisa. Para várias doenças pode haver mais do que uma causa. O objetivo da medicina molecular consiste em identificar as causas de doenças por meio do melhor entendimento das interações de genes, proteínas e o ambiente. A abordagem “de baixo para cima” realizada em Quebec – identificando primeiro genes e depois as causas – representa uma nova era na compreensão, prevenção e cura de doenças.

NESTE CAPÍTULO discutimos primeiro os tipos de proteínas anômalas que podem resultar de um alelo anormal de um gene, se esse alelo é herdado ou tem sua origem em uma mutação. Depois, consideramos de que forma proteínas anômalas causam doenças genéticas humanas, incluindo câncer, e como os alelos que as produzem são detectados. Então, vemos de que modo esse conhecimento tem sido aplicado para o desenvolvimento de novos tratamentos. O final deste capítulo discute a promessa da biologia e medicina molecular concretizada no sequenciamento do genoma humano.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 17.1** Como proteínas com defeito causam doenças?
- 17.2** Que tipos de alterações de DNA levam a doenças?
- 17.3** De que modo a triagem genética detecta doenças?
- 17.4** O que é câncer?
- 17.5** Como são tratadas as doenças genéticas?
- 17.6** O que temos aprendido a partir do projeto genoma humano?

17.1 Como proteínas com defeito causam doenças?

A bioquímica genética, a ciência que relaciona genótipo (DNA) e fenótipo (proteínas), tem sido descrita com clareza em vírus e modelos de organismos procariotos e eucariotos, mas é aplicada, igualmente, a humanos.

As mutações genéticas podem tornar as proteínas disfuncionais

As mutações gênicas em geral expressam-se fenotipicamente na forma de proteínas que diferem daquelas consideradas normais (tipo selvagem). A princípio, uma mutação em qualquer gene que codifique uma proteína poderia resultar em uma doença genética. Anomalias em enzimas, proteínas receptoras, proteínas transportadoras, proteínas estruturais e na maioria das outras classes funcionais de proteínas têm sido envolvidas em doenças genéticas.

ENZIMAS DISFUNCIONAIS Em 1934, descobriu-se que a urina de dois jovens irmãos com retardo mental continha ácido fenilpirúvico, subproduto raro do metabolismo do aminoácido fenilalanina. Entretanto, apenas duas décadas depois o complexo fenótipo clínico da doença que afligia estas crianças, chamada *fenilcetonúria* (PKU, do inglês, *phenylketonuria*), foi correlacionado ao seu fenótipo molecular. A doença resultou de uma anormalidade em uma única enzima, a fenilalanina-hidroxilase (**Figura 17.1**). Normalmente, essa enzima catalisa a conversão da fenilalanina proveniente da dieta em tirosina, mas ela não se encontrava ativa no fígado dos pacientes com PKU. A ausência dessa conversão levou a excesso de fenilalanina no sangue e explicou o acúmulo de ácido fenilpirúvico. Mais tarde, comparou-se as sequências de aminoácidos da fenilalanina-hidroxilase em indivíduos normais com aquelas em indivíduos com PKU. Muitas pessoas com PKU tinham triptofano em vez de arginina na posição 408 desta longa cadeia polipeptídica de 451 aminoácidos.

A causa exata do retardo mental em PKU permanece imprecisa, embora, conforme veremos neste capítulo, ele possa ser prevenido. Entretanto, podemos entender porque a maioria das pessoas com PKU apresenta pele e cabelo de cor clara.

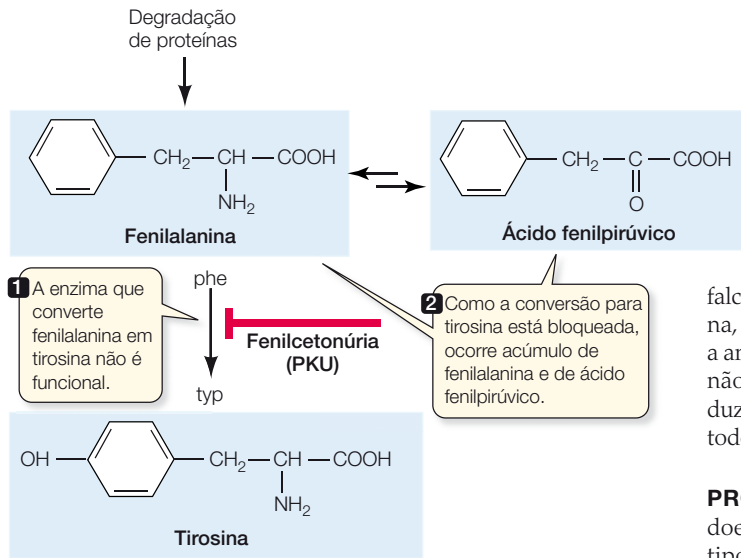


Figura 17.1 Um gene, uma enzima A fenilcetonúria é causada por uma anomalia na enzima específica da via metabólica do aminoácido fenilalanina. O conhecimento das causas moleculares de tais doenças metabólicas que afetam um único gene e uma única proteína, pode ajudar nas pesquisas para o desenvolvimento de testes de triagem bem como de tratamentos.

O pigmento melanina, responsável pela coloração escura da pele e cabelos, é sintetizado a partir da tirosina, que as pessoas com PKU não podem sintetizar de forma adequada.

Centenas de doenças genéticas humanas resultantes de anomalias enzimáticas têm sido descobertas, muitas das quais levam a retardo mental e morte prematura. Muitas dessas doenças são raras; a PKU, por exemplo, aparece em um a cada 12 mil nascimentos. Porém, essas doenças constituem apenas a ponta de um iceberg. Algumas mutações resultam em alterações de aminoácidos sem efeitos clínicos evidentes. De fato, pelo menos 30% de todas as proteínas cujas sequências se conhecem mostram diferenças de aminoácidos detectáveis entre indivíduos. Assim, polimorfismo não significa necessariamente doença. Podem existir numerosos alelos normais de um gene, cada um produzindo normalmente formas funcionais de sua proteína.

HEMOGLOBINA ANÔMALA A primeira doença genética humana conhecida como causada por uma anormalidade em aminoácido é a anemia falciforme ou *doença das células-foice*. Essa doença do sangue afeta geralmente indivíduos cujos ancestrais originam-se dos trópicos ou do Mediterrâneo. Aproximadamente 1 em cada 655 afro-americanos é homocigoto para o alelo falciforme e apresenta a doença. O alelo anormal leva à produção de uma hemoglobina anormal, que resulta em células sanguíneas vermelhas em forma de foice (ver Figura 12.18). Essas células tendem a bloquear os estreitos capilares sanguíneos, principalmente quando a concentração de oxigênio do sangue está baixa. O resultado é a lesão nos tecidos e, finalmente, morte por falha dos órgãos.

A hemoglobina humana é uma proteína com estrutura quaternária, contendo quatro cadeias de globina – duas cadeias α e duas cadeias β – assim como o pigmento heme (ver Figura 3.9). Na anemia falciforme, um dos 146 aminoácidos na cadeia β -globina é anormal: na posição 6, o ácido glutâmico normalmente encontrado foi substituído por valina. Essa substituição modifica a carga da proteína (o ácido glutâmico possui carga negativa e a valina é

neutra); com isso, ela forma agregados longos em forma de agulha nas células sanguíneas vermelhas. O resultado é a *anemia*, uma deficiência de células sanguíneas vermelhas normais e um prejuízo na capacidade do sangue para transportar oxigênio.

Como a hemoglobina é facilmente isolada e estudada, suas variações na população humana têm sido amplamente documentadas (Figura 17.2). Centenas de alterações de um único aminoácido na β -globina foram descritas. Por exemplo, na mesma posição em que ocorre a mutação na anemia falciforme, o ácido glutâmico normal pode ser substituído por lisina, causando a doença da hemoglobina C. Nesse caso, geralmente a anemia resultante não é grave. Muitas alterações na hemoglobina não afetam a função da proteína e, conseqüentemente, não produzem um fenótipo clínico. É sorte, pois aproximadamente 5% de todos os humanos são portadores de uma dessas variantes.

PROTEÍNAS DE MEMBRANA ALTERADAS Algumas das doenças genéticas humanas mais comuns mostram seus fenótipos como alterações em proteínas receptoras de membrana ou de transporte. Aproximadamente uma em cada 500 pessoas nasce com *hipercolesterolemia familiar* (FH), na qual os níveis de colesterol do sangue são várias vezes maiores do que o normal. O excesso de colesterol pode acumular nas paredes internas dos vasos sanguíneos (uma condição chamada *aterosclerose*), levando à obstrução completa no caso da formação de um coágulo sanguíneo. Se um coágulo se forma em um vaso importante que irriga o coração, esse sofre com a falta de oxigênio, e o resultado é um ataque cardíaco. Se o coágulo formar-se no cérebro, o resultado é um derrame. Indivíduos com FH geralmente morrem devido a ataques cardíacos antes dos 45 anos.

Diferente do que ocorre na PKU, a qual se caracteriza pela incapacidade em converter fenilalanina em tirosina, o problema na FH não é uma incapacidade de conversão do colesterol em outros produtos. Os indivíduos com FH possuem toda a maquinaria necessária para metabolizar o colesterol. O problema é que eles são incapazes de transportar o colesterol para o interior das células do fígado e de outras células capazes de utilizá-lo.

		Posição do aminoácido (de 146)								
		2	6	7	16	24	26	56	63	95
A (Tipo selvagem)		His	Glu	Glu	Gly	Gly	Glu	Gly	His	Lys
Tokuchi		Tyr								
S			Val							
C			Lys							
G				Gly						
J Baltimore					Asp					
Savannah						Val				
E							Lys			
Bangkok								Asp		
Zürich									Arg	
M Saskatoon									Tyr	
N Baltimore										Glu

Apenas três variantes de hemoglobina (S, C e E) causam problemas clínicos.

Figura 17.2 Polimorfismo da hemoglobina Cada um desses alelos mutantes modifica um único aminoácido na cadeia de 146 aminoácidos da β -globina. Apenas três das centenas de variantes de β -globina são responsáveis por causar anormalidades clínicas.

O colesterol é transportado pela corrente sanguínea em partículas contendo proteínas denominadas *lipoproteínas*. Um tipo de lipoproteína, a lipoproteína de baixa densidade (LDL – do inglês, *low-density lipoprotein*), transporta o colesterol para as células do fígado (Figura 17.3A). Após a ligação a um receptor específico presente na membrana plasmática do hepatócito, a LDL é internalizada por endocitose e libera o colesterol no interior da célula. Indivíduos com FH não possuem uma versão funcional da proteína receptora. Dos 840 aminoácidos que constituem o receptor, apenas um anormal já é suficiente para modificar a sua estrutura de tal forma que não pode ligar-se a LDL.

Entre brancos, aproximadamente um bebê em cada 2.500 nasce com fibrose cística. O fenótipo clínico dessa doença genética consiste na presença incomum de um muco espesso e seco que recobre a superfície de tecidos tais como as vias aéreas do sistema respiratório e os ductos de glândulas. Nas vias respiratórias, esse muco espesso obstrui a passagem de ar e também impede que os cílios na superfície das células epiteliais funcionem eficientemente para varrer para fora as bactérias e esporos de fungos que entram com o ar a cada respiração. Os resultados são infecções recorrentes bem como insuficiências hepáticas, pancreáticas e digestivas, causando desnutrição e crescimento deficiente. Os indivíduos com fibrose cística geralmente morrem por volta dos trinta anos de idade.

A causa desse muco espesso é a falta de uma proteína de membrana funcional, o transportador de cloretos (Figura 17.3B). Em células normais, esse canal de íon se abre para liberar Cl^- para o lado de fora de uma célula epitelial. O desequilíbrio resultante, no qual há mais íons Cl^- no lado de fora da célula do que dentro, faz com que a água saia da célula por osmose, formando um muco ralo e aquoso na parte externa dela. A modificação de um único aminoácido na proteína do canal de íons a impede de alcançar a membrana plasmática e funcionar de forma adequada. Como consequência, a água não lubrifica o muco e o resultado consiste no muco espesso e nos problemas clínicos associados.

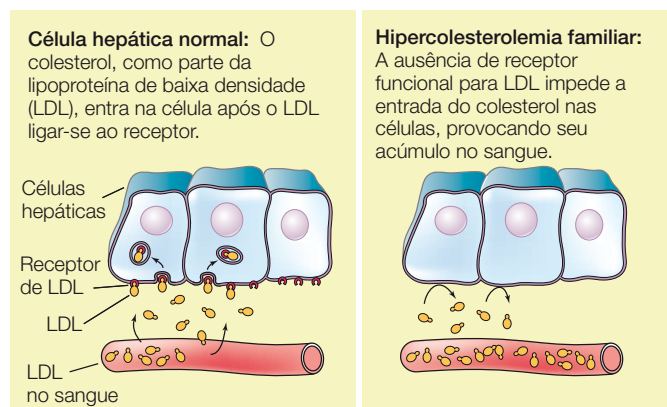
PROTEÍNAS ESTRUTURAIS ALTERADAS Em algumas doenças genéticas, a proteína com defeito não é uma enzima ou receptor, mas uma proteína envolvida em estrutura biológica. A *distrofia muscular de Duchenne* e a *hemofilia* são exemplos disso.

Aproximadamente um em cada 3 mil meninos nasce com distrofia muscular de Duchenne. Indivíduos com essa doença apresentam enfraquecimento muscular progressivo que os obriga ao uso de cadeira de rodas na adolescência. Geralmente morrem por volta dos 20 anos de idade, quando os músculos que servem ao seu sistema respiratório deixam de funcionar. Indivíduos normais possuem uma proteína nos músculos esqueléticos chamada de *distrofina*, que conecta os filamentos de actina das células musculares à matriz extracelular. Os indivíduos com distrofia muscular de Duchenne não apresentam moléculas funcionais de distrofina, assim suas células musculares tornam-se desorganizadas estruturalmente, e os músculos param de funcionar.

A hemofilia é a consequência da ausência de uma das proteínas de coagulação do sangue. Em indivíduos normais, proteínas de coagulação sanguínea sempre encontram-se presentes no sangue na forma inativa e tornam-se ativas somente quando ocorre um ferimento. Algumas pessoas com hemofilia correm risco de vida mesmo com pequenos cortes, uma vez que não conseguem estancar o sangramento.

Até aqui, descrevemos doenças causadas por alterações em genes de tipo selvagem. Entretanto, algumas proteínas anômalas que causam doenças surgem por outras causas.

(A) Hipercolesterolemia



(B) Fibrose cística

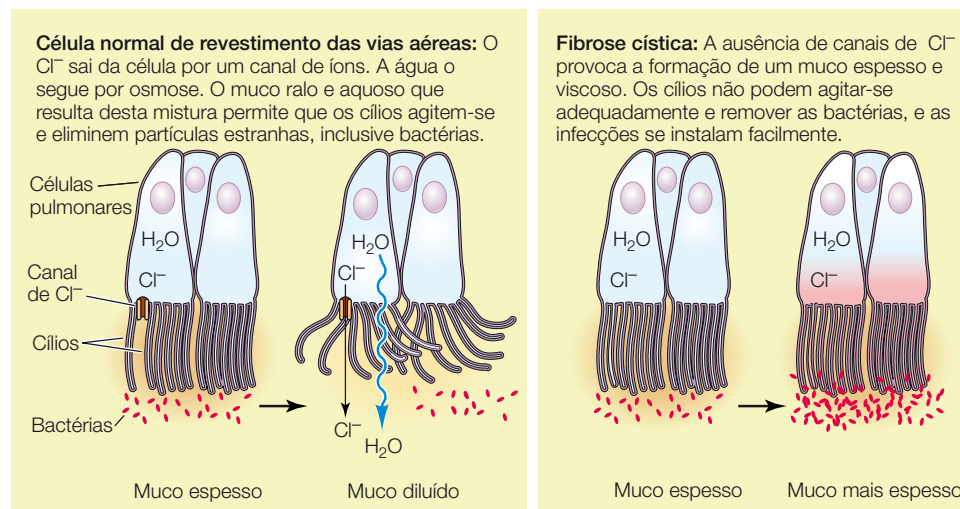


Figura 17.3 Doenças genéticas de proteínas de membrana As duas gravuras da esquerda ilustram a função da célula normal, ao passo que as duas gravuras da direita mostram as anomalias causadas por (A) hipercolesterolemia e (B) fibrose cística.

O rei George III da Inglaterra sofria de porfiria, alteração metabólica que causa o não funcionamento de enzimas na via da porfirina, que sintetiza o pigmento heme da hemoglobina. Seus sintomas – episódios de febre alta intermitente, dor e delírio – podem ter levado às decisões administrativas infelizes de George III, que resultaram na revolução americana e na perda das colônias da Inglaterra na América do Norte.

As doenças priônicas são alterações da conformação de proteínas

As *encefalopatas espongiformes transmissíveis* (TSE) são doenças degenerativas do cérebro que ocorrem em muitos mamíferos, inclusive humanos, nas quais o cérebro gradativamente sofre alterações, causando uma aparência esponjosa. O *scrapie*, TSE que faz ovinos e caprinos afetados esfregarem seu corpo a ponto de perderem lã e pelos, é conhecido há mais de 250 anos. A doença do emagrecimento crônico é uma TSE que afeta alces e veados fazendo-os definharem. Na década de 1980, uma TSE que acometeu vacas na Grã-Bretanha foi identificada como decorrente da alimentação desses bovinos com ração produzida a partir de carcaças de ovinos afetados por *scrapie*. Como essas vacas agitavam e esfregavam seus corpos contra cercas, além de andarem cambaleando, os fazendeiros as apelidaram de “vacas loucas”.

As TSE são causadas por proteínas defeituosas, porém os defeitos *não surgem a partir de mutações* nos genes que as expressam, mas de erros na *conformação* – o dobramento das proteínas na sua forma tridimensional adequada. Isso foi descoberto nos anos 1990 depois que algumas pessoas que haviam comido carne proveniente de vacas afetadas pela encefalopatia espongiforme bovina (BSE, do inglês, *bovine spongiform encephalopathy*) apresentaram uma versão humana da doença (apelidada pela mídia de “doença da vaca louca”). Havia um período de intervalo de vários anos entre o momento em que as vacas adquiriram a doença e sua emergência

em humanos; dessa forma, claramente há um período de vários anos entre o consumo de carne e o desenvolvimento de sintomas (**Figura 17.4**).

A doença *kuru* oferece outro exemplo da forma que humanos podem adquirir uma TSE pelo consumo de um agente infeccioso. O *kuru* é uma TSE observada na década de 1950 entre os membros da tribo Fore, da Nova Guiné, que haviam ingerido os cérebros de outras pessoas, mortas com a doença. Quando esse ritual de canibalismo cessou, a epidemia do *kuru* também desapareceu.

Pesquisadores descobriram que as TSE transmitem-se de uma espécie animal para outra por extratos de cérebro obtidos de um animal doente. No início, suspeitou-se de um vírus. Todavia, quando Tikva Alper, no Hospital Hammersmith, em Londres, tratou esses extratos infecciosos com altas doses de radiação ultravioleta para inativar ácidos nucleicos, eles continuavam causando TSE. Ela propôs que o agente causador das TSE era uma proteína, não um vírus. Mais tarde, Stanley Prusiner, na Universidade da Califórnia, purificou a proteína responsável e demonstrou que ela era livre de DNA ou de RNA. Ele chamou-a de *partícula proteica infecciosa*, ou **prion** (do inglês, *proteinaceous infective particle*).

As células normais do cérebro possuem uma proteína de membrana denominada PrP^c. Uma proteína com a mesma sequência de aminoácidos encontra-se presente em tecidos cerebrais de indivíduos afetados pela TSE, porém essa proteína, chamada PrP^{sc}, apresenta uma forma tridimensional diferente (**Figura 17.5**). Assim, as TSE não são causadas por um gene mutado (as estruturas primárias das duas proteínas são as mesmas), mas, de algum modo, são provocadas por uma alteração na conformação da proteína. A estrutura tridimensional alterada da proteína tem efeitos profundos sobre suas funções na célula. A PrP^{sc} é insolúvel e empilha-se formando fibras no tecido cerebral, o que leva a morte celular.

Como a exposição de uma célula normal ao material contendo PrP^{sc} pode provocar uma TSE? A proteína PrP^{sc} anormal parece induzir uma mudança conformacional na proteína PrP^c normal, de forma que ela também torna-se anormal, do mesmo modo que uma maçã podre em um cesto resulta em um cesto cheio de maçãs podres. Exatamente como ocorre a conversão e de que forma isso causa uma TSE, ainda não está claro.

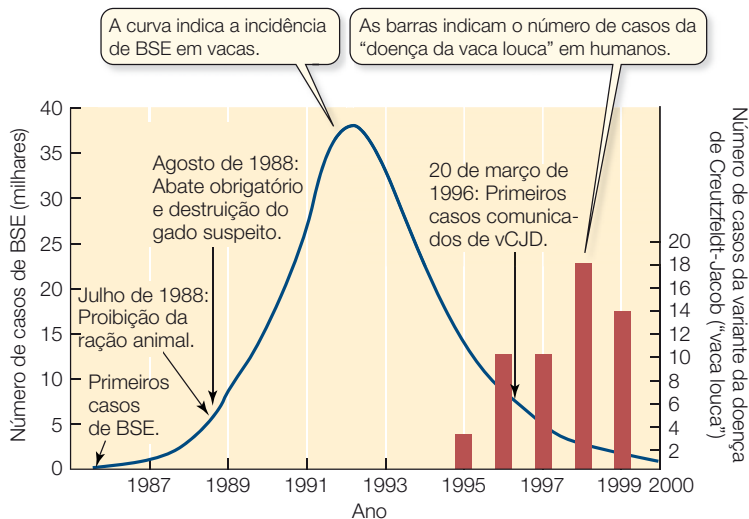


Figura 17.4 Doença da vaca louca na Inglaterra Houve um intervalo de vários anos entre o desenvolvimento da encefalopatia espongiforme bovina (BSE) em vacas e sua equivalente em humanos (vCJD, do inglês, *variant Creutzfeldt-Jacob Disease*).

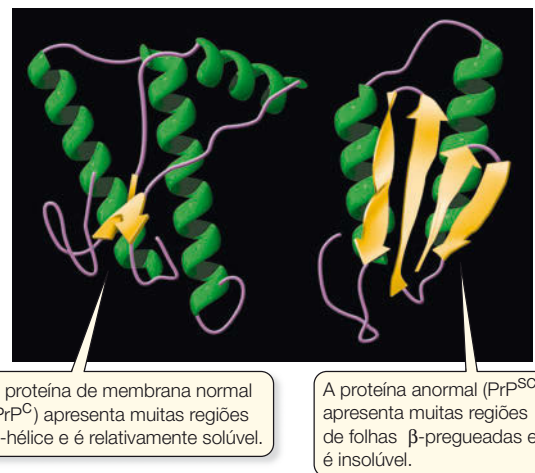


Figura 17.5 Doença priônica são alterações de conformação da proteína Uma proteína de membrana normal em células do cérebro (PrP^c, à esquerda) pode ser convertida na forma causadora da doença (PrP^{sc}, à direita), que possui uma estrutura tridimensional diferente.

Os príons parecem representar um fenômeno altamente raro em doenças humanas. A grande maioria das doenças hereditárias encontra-se sabidamente relacionada a proteínas produzidas por genes funcionais e não funcionais. Porém, a expressão desses genes, como a de todos os genes, é influenciada pelo ambiente.

A maioria das doenças é provocada tanto por genes quanto pelo ambiente

As doenças humanas para as quais os fenótipos clínicos podem ser rastreados até uma única proteína alterada e seu gene alterado podem encontrar-se na casa dos milhares e, na maioria dos casos, é uma evidência nítida do princípio que diz que um gene codifica um polipeptídeo. Juntas, todas essas doenças apresentam uma frequência de aproximadamente 1% no total da população humana.

Muito mais comuns, no entanto, são as doenças chamadas **multifatoriais**, ou seja, causadas pelas interações de muitos genes e proteínas com o ambiente. Apesar de termos a tendência de chamar os indivíduos ou de normais (tipo selvagem) ou de anormais (mutante), a soma total de nossa composição genética é que determina, por exemplo, quem pode comer uma dieta rica em gordura e não sofrerá um ataque cardíaco e qual desenvolverá uma doença quando exposto a uma bactéria infecciosa. Estimativas sugerem que até 60% de todas as pessoas desenvolvem doenças influenciadas geneticamente.

Doenças humanas de fundo genético apresentam diversos padrões de herança

Assim como em qualquer sistema genético humano, os alelos que causam as doenças genéticas podem ser herdados em um padrão de dominante ou recessivo e podem estar localizados em cromossomos autossômicos ou nos cromossomos sexuais (ver Seção 10.4). Além disso, algumas doenças humanas são causadas por anomalias cromossômicas mais extensas (ver Seção 9.5). Padrões de herança diferentes podem ser vistos quando doenças genéticas são acompanhadas durante várias gerações em humanos.

PADRÃO AUTOSSÔMICO RECESSIVO A PKU, a anemia falciforme e a fibrose cística são causadas por alelos mutantes autossômicos recessivos. Tipicamente, ambos os pais de um indivíduo afetado são portadores (com um fenótipo normal e um genótipo heterozigoto). Cada vez que concebem uma criança, eles têm 25% de chance (uma em quatro) de ter ou uma filha ou um filho afetado (homozigoto).



A constrição na extremidade inferior deste cromossomo é a localização da anomalia do X frágil.

Nas células de uma pessoa homozigota para um alelo mutante autossômico recessivo perigoso, uma versão mutante, não funcional, da proteína que ele codifica será produzida. Assim, uma via bioquímica ou uma função celular importante interrompe-se, e a doença ocorre. Heterozigotos, com um alelo normal e um alelo mutante, apresentam 50% do nível normal da proteína funcional. Por exemplo, indivíduos heterozigotos para o alelo da PKU apresentam metade do número de moléculas de fenilalanina-hidroxilase ativas em seus hepatócitos quando comparados com indivíduos que carregam dois alelos normais para essa enzima, porém esses 50% são suficientes para o funcionamento celular normal.

PADRÃO AUTOSSÔMICO DOMINANTE A hipercolesterolemia familiar é causada por um alelo autossômico dominante anormal. Nesse caso, a presença de apenas um alelo mutante faz-se suficiente para produzir o fenótipo clínico. Em indivíduos heterozigotos para a hipercolesterolemia familiar, possuir a metade do número normal de receptores funcionais para a lipoproteína de baixa densidade na superfície dos hepatócitos não é suficiente para eliminar o colesterol do sangue. Na dominância autossômica, a transmissão direta da característica de um pai afetado para a sua prole é a regra.

PADRÃO RECESSIVO LIGADO AO X A hemofilia constitui uma condição recessiva ligada ao X (ver p. 206-207); ou seja, o gene responsável está localizado no cromossomo X. Assim, um filho que herda de sua mãe um alelo mutante no cromossomo X apresentará a doença, pois seu cromossomo Y não contém um alelo normal. Entretanto, uma menina que herda um alelo mutante será uma portadora heterozigota não afetada, pois possui dois cromossomos X e, portanto, dois alelos. Já que, até recentemente, poucos indivíduos do sexo masculino com essas doenças sobreviviam até a idade reprodutiva, o padrão de herança mais comum tem sido o da mãe portadora para o filho, e todas as raras doenças ligadas ao X ocorrem mais comumente em indivíduos do sexo masculino do que nos do feminino.

ANOMALIAS CROMOSSÔMICAS Anomalias cromossômicas também causam doenças em humanos. Tais anomalias incluem um ganho ou perda de um ou mais cromossomos (aneuploidia; ver Figura 9.20), perda de parte de um cromossomo (deleções) e a transferência de parte de um cromossomo para outro (translocações). Cerca de um recém-nascido em cada 200 apresenta anomalia cromossômica. Enquanto algumas dessas anomalias cromossômicas são herdadas, muitas resultam de eventos meióticos, tais como não disjunção cromossômica.

Uma causa comum de retardo mental é a *síndrome do X frágil* (Figura 17.6). Aproximadamente um em cada 1.500 meninos e uma em cada 2 mil meninas são afetados. Esses indivíduos apresentam uma constrição próxima à extremidade do cromossomo X, que tende a quebrar durante o preparo do material para microscopia, o que dá nome à síndrome. Embora o padrão básico de herança seja o de característica recessiva ligada ao X, há desvios desse padrão. Nem todas as pessoas com a anomalia cromossômica do X frágil apresentam retardo mental, conforme veremos na Seção 17.2.

Figura 17.6 Um cromossomo X frágil em metáfase A anomalia cromossômica associada com a síndrome do X frágil aparece ao microscópio como uma constrição no cromossomo.

17.1 RECAPITULAÇÃO

Muitas mutações genéticas expressam-se na forma de enzimas, proteínas estruturais ou proteínas de membrana não funcionais. As doenças genéticas humanas podem ser herdadas em padrões dominante, recessivo ou ligado ao X.

- Você poderia descrever um exemplo de proteína anormal em humanos que resulte de mutação genética? Ver p. 376-377.
- Como a proteína de membrana de células do cérebro, PrP^C, relaciona-se com doenças causadas por príons? Ver p. 378.
- Como as doenças genéticas humanas autossômicas recessivas e autossômicas dominantes são distinguidas? Ver p. 379.

Que tipos de alterações no DNA resultam em proteínas não funcionais? Uma tarefa importante da medicina molecular consiste em encontrar e identificar tais alterações genéticas.

17.2 Que tipos de alterações de DNA levam a doenças?

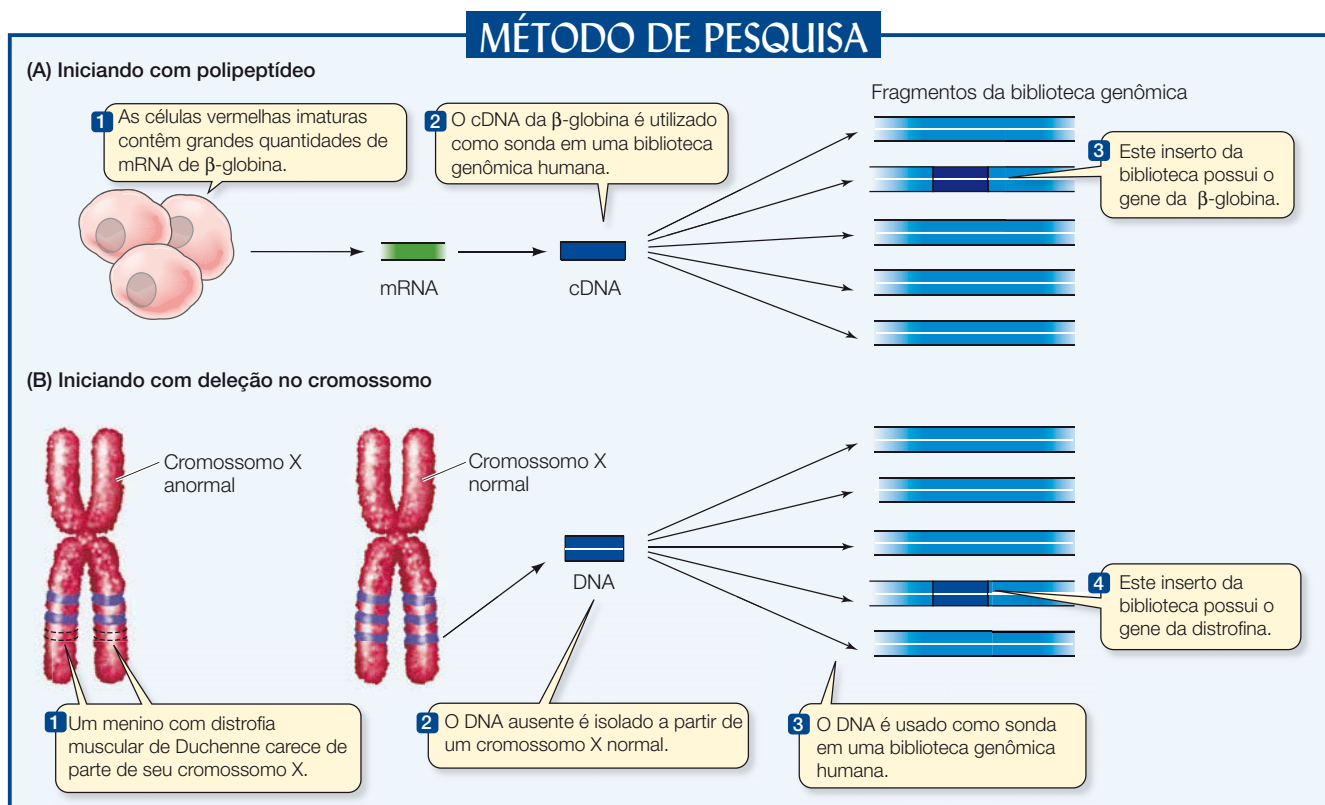
O isolamento e a descrição de mutações em humanos têm ocorrido rapidamente desde que se desenvolveram as técnicas modernas descritas no Capítulo 16. Quando se conhece o fenótipo proteico, como no caso das hemoglobinas anormais, a clonagem do gene responsável tem sido direta, apesar de demorada. Em outros casos, como na distrofia muscular de Duchenne, uma deleção

cromossômica associada com a doença em um paciente aponta o caminho para a identificação do gene desaparecido. Ainda em outros casos, a exemplo da fibrose cística, apenas um marcador molecular sutil estava disponível para levar os investigadores ao gene com defeito. Nos dois últimos exemplos, o fenótipo primário – a proteína defeituosa – era desconhecido; apenas quando isolou-se o gene, a proteína foi encontrada.

Uma maneira para identificar um gene é começar com sua proteína

O fenótipo primário da anemia falciforme foi descrito na década de 1950 como a alteração de um único aminoácido na β-globina. Com base no quadro clínico de células vermelhas falciformes, com certeza a β-globina era a proteína correta a ser analisada. Durante a década de 1970, os pesquisadores conseguiram isolar o mRNA da β-globina a partir de eritrócitos imaturos, nos quais as globinas são o principal produto gênico transcrito. Sintetizou-se uma cópia de cDNA a partir desse mRNA e usou-se como sonda em uma biblioteca genômica humana com o objetivo de localizar o

Figura 17.7 Duas estratégias para isolamento de genes humanos (A) Começando com a proteína β-globina normal, os pesquisadores foram capazes de isolar o mRNA a partir do qual ela foi traduzida. Uma vez que o cDNA produziu-se através da transcrição reversa a partir do mRNA isolado, ele pôde ser utilizado como sonda sobre uma biblioteca genômica para isolar o gene. (B) Os pesquisadores encontraram deleção de um cromossomo em alguns pacientes afetados por distrofia muscular de Duchenne. Então, compararam os cromossomos de indivíduos afetados com cromossomos normais para localizar a sequência de DNA ausente.



gene da β -globina (Figura 17.7A). O sequenciamento de DNA foi então realizado a fim de comparar o normal com o gene de pacientes com anemia falciforme. Conforme descrito anteriormente, identificou-se uma mutação pontual, ou seja, havia apenas um par de bases alterado no gene inteiro de β -globina.

As deleções cromossômicas podem levar aos genes e ao isolamento da proteína

O padrão de herança da distrofia muscular de Duchenne é compatível com o de uma característica recessiva ligada ao X. Todavia, até o final da década de 1980, nem a proteína anômala envolvida e nem o gene que a codifica haviam sido descritos. Essa situação não resultava de ausência de esforços: quase todas as proteínas musculares conhecidas haviam sido testadas sem sucesso. Então, observou-se que vários meninos afetados pela doença apresentavam uma pequena deleção nos seus cromossomos X. A comparação dos cromossomos X de indivíduos afetados com normais possibilitou o isolamento do gene que se encontrava ausente nesses meninos (Figura 17.7B).

Os marcadores genéticos podem indicar o caminho para genes importantes

Em casos nos quais nem a proteína candidata, nem a deleção cromossômica foram identificadas, uma técnica denominada **clonagem posicional** tem sido inestimável. Para compreender esse método, imagine uma astronauta no espaço olhando para a Terra, tentando encontrar seu filho sentado em um banco do parque de North Shore, em Chicago. Primeiro, ela escolhe pontos de referência – marcos conhecidos que a levarão ao parque. Reconhece o formato da América do Norte, então localiza o Lago Michigan, a torre Sears e assim por diante. Uma vez que tenha localizado o parque North Shore, pode usar instrumentos ópticos adequados para localizar seu filho.

Os pontos de referência na clonagem posicional são os marcadores genéticos. Esses marcadores podem estar localizados em qualquer parte do DNA; a única exigência é eles sejam polimórficos (possuam mais de um alelo).

RFLP Segundo descrito na Seção 16.1, enzimas de restrição cortam moléculas de DNA em sequências específicas de reconhecimento. Em um cromossomo humano distinto, uma determinada enzima de restrição pode fazer centenas de cortes, produzindo muitos fragmentos de DNA. A enzima *EcoRI*, por exemplo, corta o DNA na sequência



Suponha que essa sequência de reconhecimento exista em uma determinada região do cromossomo 7 humano. A enzima de restrição cortará essa região uma vez produzindo dois fragmentos de DNA. Agora, suponha que, em algumas pessoas, essa sequência esteja mutada da seguinte forma:



Essa sequência não será reconhecida pela enzima de restrição; desse modo, permanecerá intacta produzindo um fragmento grande de DNA.

Diferenças na sequência de DNA de segmentos de cromossomos homólogos chamam-se **polimorfismos do tamanho dos fragmentos de restrição**, ou **RFLP** (do inglês, *restriction fragment length polymorphisms*) (Figura 17.8). Elas podem ser vistas facilmente como bandas em um gel de eletroforese. Um padrão de bandas de RFLP é herdado de forma mendeliana e pode ser se-

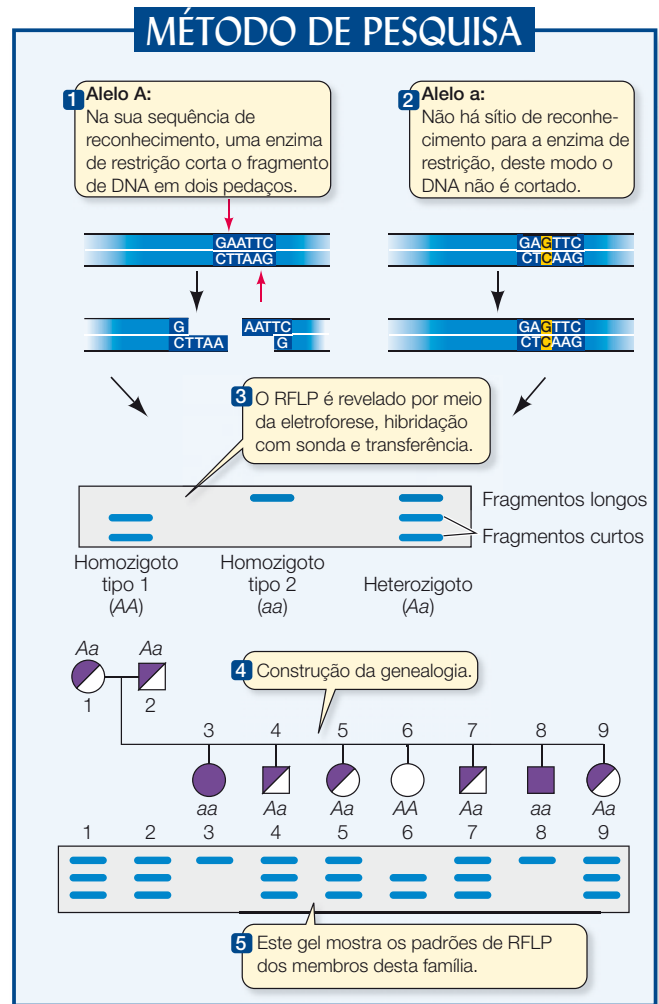


Figura 17.8 Mapeamento por RFLP Os polimorfismos de tamanho dos fragmentos de restrição consistem em diferenças nas sequências de DNA que servem de marcadores genéticos. Milhares de marcadores deste tipo têm sido descritos no genoma humano.

guido por meio da genealogia ou linhagem. Milhares de marcadores desse tipo têm sido descritos para o genoma humano.

SNP Conforme observado na Seção 16.1, polimorfismos de um único nucleotídeo (SNP, do inglês, *single nucleotide polymorphisms*) encontram-se espalhados no genoma eucarioto. Os mapas de SNP indicam que há aproximadamente um SNP para cada 1.330 pares de bases no genoma humano. Os SNP podem ser detectados por comparações diretas das sequências ou por métodos químicos especiais, como espectrometria de massa (ver Seção 17.6). Eles diferem dos RFLP por não alterarem necessariamente a sequência de reconhecimento para uma enzima de restrição.

Os marcadores genéticos, como os RFLP e SNP, podem ser usados como pontos de referência a fim de localizarem genes de interesse, se esses também forem polimórficos. A chave para esse método encontra-se na observação bem estabelecida de que se dois genes estão localizados próximos um do outro no mesmo cromossomo, geralmente serão transmitidos em conjunto de pai para filho. O mesmo vale para qualquer par de marcadores genéticos.

Para limitar a localização de um gene, um cientista deve identificar um marcador e um gene que sejam *sempre herdados em conjunto*. Para isso, analisam-se os históricos médicos familiares para a construção de genealogias. Se um marcador e uma doença genética são herdados juntos, então devem estar próximos um do outro no mesmo cromossomo. Essa suposição é a base do panorama genômico em Quebec, que descrevemos ao iniciarmos este capítulo. Infelizmente, “próximos um do outro” pode significar até vários milhões de pares de base de distância. O processo de localização do gene é bastante semelhante ao da astronauta que olha para Chicago: o primeiro ponto de referência leva apenas a uma localização aproximada.

De que forma o gene pode ser isolado? Muitos métodos estão disponíveis para refinar essa busca. Por exemplo, a região adjacente ao RFLP pode ser examinada com outros RFLP utilizando outras enzimas de restrição. Com sorte, algum desses RFLP poderá estar mais intimamente ligado ao gene causador da doença. Definida uma sequência de DNA relativamente pequena (várias centenas de milhares de bases) que supostamente contém o gene, é possível cortá-la em fragmentos, e esses fragmentos, quando desnaturados, podem ser usados como sonda sobre o mRNA expressado em células afetadas pela doença. Se um desses fragmentos hibridiza com o mRNA, significa que ele é parte de um gene que se expressa na forma desse mRNA. Então, o gene candidato é sequenciado a partir de indivíduos normais e de indivíduos afetados pela doença em questão. Se forem identificadas mutações relacionadas à doença, o gene de interesse terá sido isolado.

O isolamento de genes responsáveis por doenças hereditárias levou a avanços espetaculares na compreensão da biologia humana. Antes dos genes e então das proteínas responsáveis pela distrofia muscular de Duchenne e pela fibrose cística serem isolados, a dis-

trofina e o transportador de cloretos jamais haviam sido descritos. A identificação de genes mutantes possibilitou uma nova visão em nosso conhecimento a respeito do funcionamento do organismo.

As mutações causadoras de doenças podem envolver qualquer número de pares de bases

As mutações relacionadas a doenças podem envolver um único par de bases (conforme vimos no caso da hemofilia), um fragmento longo de DNA, segmentos múltiplos de DNA ou mesmo cromossomos inteiros. Algumas mutações não causam nenhum efeito, segundo apontado no Capítulo 12, enquanto outras têm muitos efeitos nocivos.

O sequenciamento de DNA revelou que as mutações ocorrem com maior frequência em determinados pares de bases. Esses *hot spots*, ou pontos preferenciais de mutação, encontram-se frequentemente localizados onde resíduos de citosina foram metilados, formando 5-metilcitosina (ver Seção 14.4). Quer seja espontaneamente ou por estimulação química, resíduos de citosina não metilados podem perder seu grupamento amina e formar uracila (**Figura 17.9A**). Entretanto, a célula normalmente detecta e corrige este tipo de erro. Um mecanismo de reparo reconhece que essa uracila é inadequada para o DNA (afinal de contas, uracila existe apenas no RNA) e a substitui por citosina.

No entanto, quando a 5-metilcitosina perde seu grupamento amina o produto formado é timina, uma base normal para o DNA. O mecanismo de reparo que reconheceu a inadequação de uracila ignora essa timina (**Figura 17.9B**). Entretanto, o mecanismo de reparo para erro de pareamento, diferente do anterior, reconhece que GT é um par mal-combinado (que deveria ser GC). Todavia, não pode distinguir qual base inseriu-se incorretamente na sequência. Dessa forma, metade das vezes o sistema de reparo combina um novo C com o G, mas na outra metade das vezes, combina um novo A com o T, causando uma mutação.

Mutações maiores podem envolver vários pares de bases de DNA. Por exemplo, algumas deleções no cromossomo X que levam à distrofia muscular de Duchenne englobam apenas parte do gene da distrofina, levando à produção de uma proteína incompleta e a uma forma leve dessa doença. Em outros casos, no entanto, as deleções incluem a sequência completa de um gene, de maneira que a proteína encontra-se completamente ausente no músculo, resultando na forma grave da doença. Ainda em outros casos, as deleções envolvem milhões de pares de bases e englobam não somente o gene da distrofina, mas também genes adjacentes a ele; o resultado pode ser o desenvolvimento de várias doenças simultaneamente.

A expansão de repetições de trincas de nucleotídeos demonstra a fragilidade de alguns genes humanos

Aproximadamente um quinto de todos os indivíduos do sexo masculino que apresentam a anomalia cromossômica do X frágil é fenotipicamente normal, assim como a maioria de suas filhas.

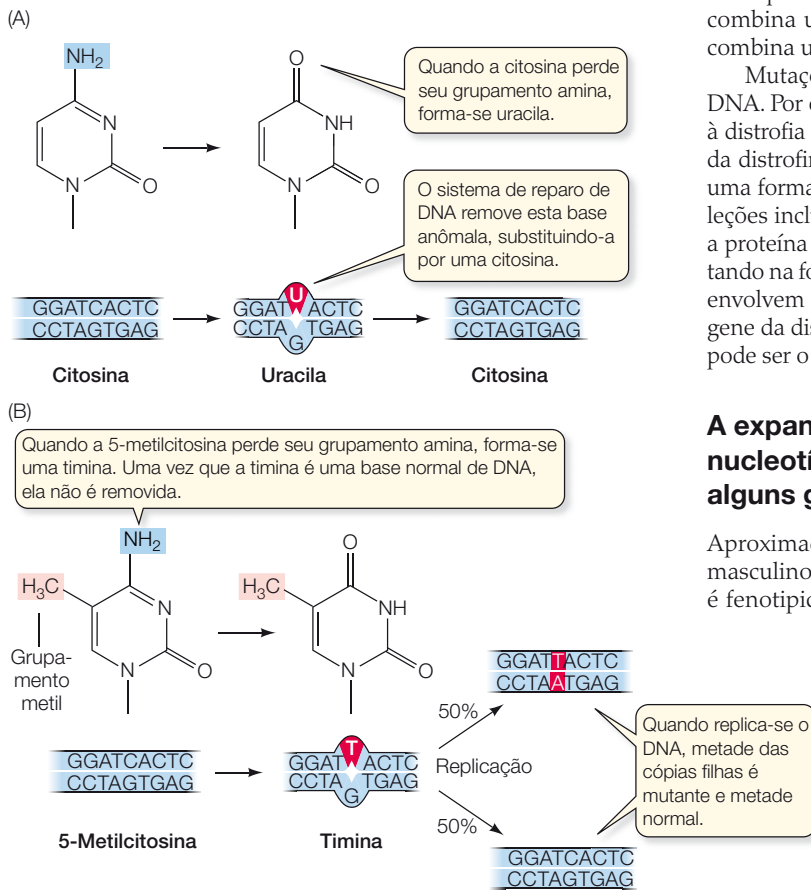


Figura 17.9 A 5-metilcitosina no DNA forma uma região preferencial para mutações (A) A citosina pode perder seu grupamento amina tanto espontaneamente quanto por exposição a certos mutagênicos químicos. Tais mutações são normalmente reparadas. (B) No entanto, se a citosina tiver sido metilada, formando a 5-metilcitosina, é pouco provável que a mutação seja corrigida e um par de bases C-G é substituído por um A-T.

Porém, muitos dos filhos dessas filhas apresentam retardo mental. Em uma família na qual ocorre a síndrome do X frágil, as gerações seguintes tendem a apresentar os sintomas da doença mais cedo e com maior gravidade. É quase como se o próprio alelo anormal estivesse mudando – e ficando cada vez pior. E é exatamente isso que está acontecendo.

O gene responsável pela síndrome do X frágil (*FMRI*) contém uma trinca repetida, CGG, em certo ponto da região promotora. Em indivíduos normais, essa trinca aparece repetida de 6 a 54 vezes (média de 29 vezes). Em indivíduos com retardo mental associado à síndrome do X frágil, a sequência CGG está repetida de 200 a 2 mil vezes.

Homens portadores de um número moderado de repetições (55 a 200) não apresentam sintomas e denominam-se “pré-mutados”. Essas repetições se tornam numerosas à medida que as filhas desses indivíduos passam os cromossomos para sua prole (Figura 17.10). Com mais de 200 repetições, o aumento da metilação das citosinas nas trincas CGG é, provavelmente, acompanhada pela inativação transcricional do gene *FMRI*. O papel normal da proteína produzida por esse gene consiste em ligar-se ao mRNA envolvido na função de neurônios e regular sua tradução no ribossomo. Quando a proteína FMR1 não é produzida em quantidades adequadas, esses mRNAs não são traduzidos apropriadamente, e as células nervosas morrem. Sua perda, frequentemente, resulta em retardo mental.

Esse fenômeno de **expansão de repetições em trincas** tem sido encontrado em mais de uma dúzia de outras doenças, como a distrofia miotônica (envolvendo repetições da trinca CTG) e a doença de Huntington (na qual CAG se encontra repetida). Tais repetições, que podem ser encontradas em uma região codificadora de proteína ou fora dela, parecem estar presentes em muitos outros genes sem causar prejuízo. De que maneira ocorre a expansão dessas repetições ainda não se sabe; uma teoria advoga que a DNA-polimerase pode deslizar depois de ter copiado uma repetição e, assim, retroceder sobre a fita de DNA para copiá-la novamente.

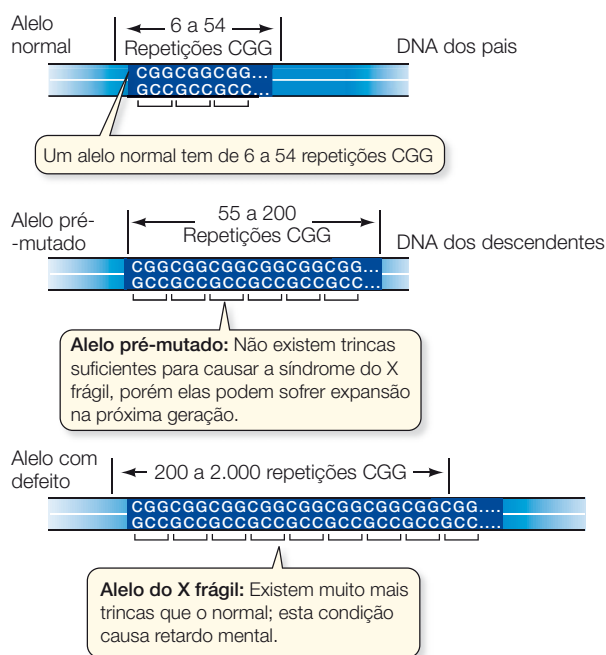


Figura 17.10 As repetições CGG no gene expandem-se a cada geração O defeito genético na síndrome do X frágil é causado por 200 ou mais repetições da trinca CGG.

Alterações de DNA em machos e fêmeas podem ter consequências diferentes

Logo após a fecundação em um ovócito de mamífero, antes que o núcleo do ovócito do espermatozoide tenham se fusionado, existem dois *pró-núcleos* haploides no zigoto – um proveniente do espermatozoide e outro do ovócito. Esses dois pró-núcleos podem ser distinguidos um do outro, removidos cuidadosamente com uma micropipeta e colocados em outros ovócitos. É possível produzir zigotos de camundongos no laboratório contendo dois pró-núcleos masculinos ou femininos, mas estas células diploides não irão se desenvolver originando um camundongo. Invariavelmente, se os dois conjuntos de cromossomos provêm de apenas um sexo, o desenvolvimento inicia, mas finaliza-se rapidamente. O mesmo acontece naquelas raras situações em que isso ocorre em humanos – por exemplo, se dois espermatozoides penetram em um ovócito enucleado. Outra vez, um feto nunca se desenvolverá.

Além de mostrar a necessidade óbvia dos dois sexos, essas observações levantam a possibilidade de que os genomas do macho e da fêmea *não sejam funcionalmente equivalentes*. De fato, existem grupos de genes que diferem em seus efeitos fenotípicos dependendo de qual dos pais tenham sido herdados. Esse fenômeno denomina-se **imprinting genômico**.

Um exemplo marcante de imprinting genômico é a herança e o fenótipo de certa deleção pequena no cromossomo 15 humano:

- Uma deleção no cromossomo 15 de origem materna resulta em criança magra, com boca de largura acentuada e mandíbula proeminente (*síndrome de Angelman*).
- A mesma deleção no cromossomo 15 de origem paterna resulta em criança baixa e obesa com pés e mãos pequenos (*síndrome de Prader-Willi*).

Nesses indivíduos, os outros alelos para essa região do cromossomo 15 não são deletados; isto é, eles são heterozigotos, com um alelo normal e um alelo que sofreu deleção. Porém, nesses casos, os alelos “normais” devem diferir em indivíduos do sexo masculino e feminino. Eles devem sofrer imprinting de maneiras bastante diferentes nos dois sexos a fim de resultarem em fenótipos tão diferentes. Como isso acontece ainda não está esclarecido.

17.2 RECAPITULAÇÃO

Genes envolvidos em doenças têm sido identificados detectando-se primeiro a sequência de DNA anômala e depois a proteína codificada pelo alelo tipo selvagem. A ligação entre marcadores genéticos (como RFLP e SNP) e um gene de interesse também é útil no isolamento de genes humanos. Características raras como a expansão de repetições de trincas têm sido detectadas no genoma humano.

- Como as bibliotecas genômicas ajudam na identificação de sequências gênicas anormais associadas a doenças? Ver p. 380 e Figura 17.7.
- De que maneira os marcadores genéticos como RFLP e SNP são usados para limitar a procura por genes de interesse e por que muitos destes genes são polimórficos? Ver p. 381 e Figura 17.8.
- Por que muitas mutações genéticas envolvem o pareamento de bases CG? Ver p. 382.

A determinação dos fenótipos e genótipos moleculares exatos de várias doenças humanas de fundo genético torna possível diagnosticar doenças mesmo antes do aparecimento dos primeiros sintomas. Daremos uma olhada detalhada em algumas destas técnicas de triagem genética.

17.3 De que modo a triagem genética detecta doenças?

A **triagem genética** consiste na utilização de um teste para identificar pessoas que apresentam determinada doença genética, possuem predisposição para desenvolvê-la ou são portadoras da mesma. Isto pode ser realizado em vários momentos da vida e usado para muitos propósitos.

- A *triagem pré-natal* identifica um embrião ou feto com uma doença de forma que possa ser feita uma intervenção médica ou sejam tomadas decisões relativas a continuidade da gestação.
- *Bebês recém-nascidos* podem ser submetidos à triagem para que a intervenção médica apropriada possa ser iniciada rapidamente naqueles que necessitam dela.
- *Indivíduos assintomáticos* com parente afetado por doença de fundo genético podem ser testados para determinar se eles portam a doença ou estão predispostos a desenvolvê-la.

A triagem genética pode ser realizada tanto ao nível do fenótipo quanto do genótipo.

A triagem de fenótipos anormais pode fazer uso da expressão de proteínas

Ao nível do fenótipo, a triagem genética envolve o exame de uma proteína quanto a sua estrutura e função anormais. Uma vez que muitas proteínas são enzimas, baixa atividade enzimática sugere mutação, conforme vimos na Seção 17.1. Talvez o melhor exemplo desse tipo de triagem proteica seja o teste para fenilcetonúria, que possibilita identificar a doença em recém-nascidos de forma a iniciar logo o tratamento que evita o desenvolvimento do retardo mental.

Bebês que nascem com fenilcetonúria apresentam fenótipo normal, pois o excesso de fenilalanina circulante em seu sangue antes do nascimento se difunde através da placenta para o sistema circulatório da mãe. Uma vez que a mãe é quase sempre heterozigota e, portanto, apresenta atividade da fenilalanina-hidroxilase adequada, seu organismo metaboliza o excesso de fenilalanina proveniente do feto. Entretanto, após o nascimento, o bebê começa a consumir alimento rico em proteínas (leite) e a degradar algumas de suas próprias proteínas. A fenilalanina entra na circulação sanguínea da criança e se acumula. Após poucos dias, o nível de fenilalanina no sangue do bebê pode estar dez vezes mais alto que o normal. Em poucos dias, o cérebro em desenvolvimento será lesado, e as crianças com PKU não tratadas adequadamente apresentarão grave retardo mental. Se detectada precocemente, a PKU pode ser tratada com dieta especial com baixas doses de fenilalanina a fim de evitar os danos ao cérebro que, caso contrário, ocorrerão. Portanto, a detecção precoce constitui um imperativo.

Um teste simples e barato para triagem da PKU foi idealizado por Robert Guthrie, em 1963 (Figura 17.11). Esse método apurado utiliza bactérias auxotróficas, que necessitam fenilalanina para seu crescimento adequado. Se amostras de sangue de recém-nascidos são adicionadas às placas contendo essas bactérias, o crescimento bacteriano será observado ao redor daquelas amostras

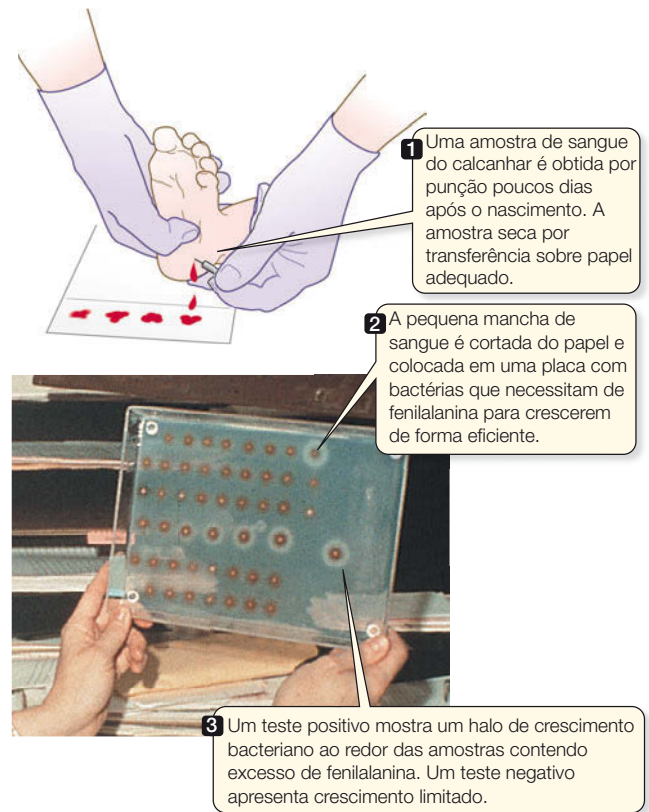


Figura 17.11 Triagem genética para fenilcetonúria em recém-nascidos Utiliza-se um teste simples, desenvolvido por Robert Guthrie em 1963, para a triagem de fenilcetonúria em recém-nascidos. Com a detecção precoce, os sintomas da doença podem ser evitados através da adoção de uma dieta terapêutica para o bebê.

que possuem elevada quantidade de fenilalanina. O teste pode ser automatizado de maneira que um laboratório de triagem pode processar muitas amostras por dia. Esse teste está sendo gradativamente substituído por testes químicos mais precisos, que medem diretamente a fenilalanina.

A triagem genética utilizando amostras de sangue de bebês recém-nascidos atualmente é realizada para mais de 25 doenças, algumas raras (ocorrem em 1 a cada 100 mil bebês) e outras mais comuns (ocorrem em 1 a cada 3.500). Com a intervenção precoce, muitos desses bebês podem ser tratados com sucesso. Dessa forma, não causa surpresa que a triagem de recém-nascidos seja legalmente obrigatória em muitos países, incluindo Estados Unidos e Canadá.

O teste do DNA é a maneira mais precisa para detectar genes anormais

O nível de fenilalanina no sangue é uma medida indireta da atividade da enzima fenilalanina-hidroxilase no fígado. Mas como realizar a triagem de doenças genéticas que não provocam reflexos no sangue? E se for difícil coletar o sangue, como é o caso em fetos? Como são identificadas as anomalias genéticas em heterozigotos, que expressam alguma quantidade da proteína normal?

O teste do DNA oferece a maneira mais direta e precisa de detecção de um alelo anormal. Com a descrição molecular de tantas das mutações genéticas responsáveis por doenças humanas, tornou-se possível examinar diretamente qualquer célula do cor-

po a qualquer momento durante o período de vida para identificar mutações. Esses métodos funcionam melhor em doenças causadas por apenas uma ou por um pequeno número de mutações. Entretanto, com o poder de amplificação da PCR, apenas uma ou pouquíssimas células fazem-se necessárias para o teste.

Considerando, por exemplo, um casal em que ambos são heterozigotos para o alelo da fibrose cística, que já teve um filho afetado pela doença e quer uma criança normal. Se a mulher for tratada com os hormônios adequados pode-se induzir a “superovulação”, que permite a liberação de vários ovócitos. Um desses ovócitos pode ser fecundado por microinjeção de um único espermatozoide de seu marido, originando um zigoto cultivado *in vitro* para dividir-se até o estágio de 8 células. Se uma dessas células embrionárias é removida, ela pode ser testada para a presença do(s) alelo(s) da fibrose cística. Se o teste for negativo, o embrião de 7 células remanescente pode ser implantado no útero da mãe e prosseguir o desenvolvimento normalmente.

Raramente se realiza essa *triagem pré-implantação*. Mais características são análises de células fetais após a implantação no útero. As células fetais podem ser analisadas aproximadamente na décima semana de gestação por *amostragem das vilosidades coriônicas* ou entre a décima terceira e a décima sétima semana por *amniocentese*, dois métodos de amostragem descritos na Seção 49.5. Em ambos os casos, poucas células de origem fetal são necessárias.

A triagem para mutações genéticas também pode ser realizada em recém-nascidos. As amostras de sangue usadas na triagem de PKU e outras doenças contêm células sanguíneas do bebê em quantidade suficiente para permitir a extração de DNA, sua amplificação por PCR e o teste. Estudos-piloto de métodos de triagem para anemia falciforme e fibrose cística encontram-se em andamento e, com certeza, continuarão depois para outras doenças.

Os testes de DNA são também amplamente utilizados na detecção de heterozigose em adultos. Por exemplo, uma irmã ou prima de um menino afetado por distrofia muscular de Duchenne pode querer saber se é portadora da deleção no cromossomo X que resulta na doença.

Dos numerosos métodos de testes de DNA, dois são os mais difundidos. Descreveremos seu uso para detectar a mutação do gene da β -globina que causa a anemia falciforme.

TRIAGEM POR DIFERENÇAS DE CLIVAGEM ALELO-ESPECÍFICAS Existe uma diferença entre o alelo normal e o que cau-

sa a anemia falciforme no gene da β -globina, que diz respeito a sequência de reconhecimento para uma enzima de restrição. Ao redor do códon da posição 6 no gene normal está a sequência



Essa sequência é reconhecida pela enzima de restrição *MstII*, a qual corta o DNA na região



onde *N* é qualquer uma das bases.

No alelo que causa a anemia falciforme, a sequência de DNA consiste em

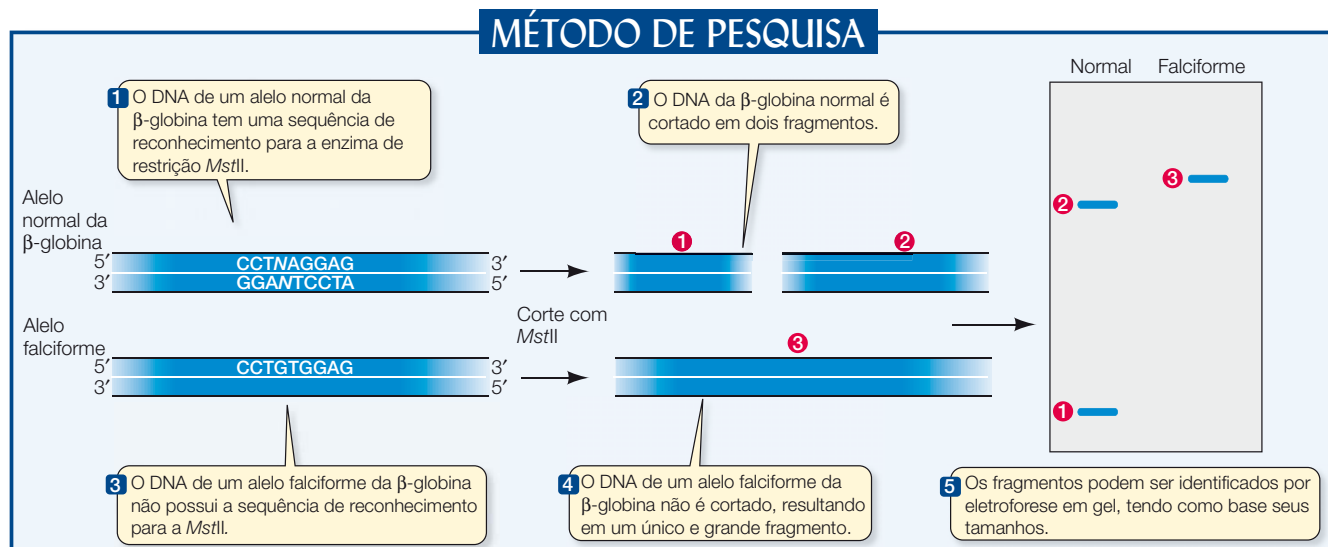


Devido a essa mutação pontual no códon da posição 6, essa sequência não é reconhecida pela *MstII*. Quando a *MstII* não consegue cortar o alelo mutante, a eletroforese em gel mostrará um grande fragmento de DNA (**Figura 17.12**).

Esse método de *clivagem alelo-específica* para teste de DNA é similar ao uso de RFLP em clonagem posicional (ver Figura 17.8). Ele funciona somente se há uma enzima de restrição capaz de reconhecer a sequência tanto do alelo normal quanto do alelo mutante.

TRIAGEM POR HIBRIDIZAÇÃO COM OLIGONUCLEOTÍDEOS ALELO-ESPECÍFICOS O método de *hibridização com oligonucleotídeos alelo-específicos* usa pequenos fragmentos de DNA artificial, chamados *oligonucleotídeos*, que hibridizarão ou (neste exemplo) com a sequência desnaturada do DNA do alelo normal da β -globina ou com a sequência mutante falciforme. Normalmente, uma sonda de oligonucleotídeo com pelo menos 12 bases faz-se necessária para formar uma dupla-hélice estável com o DNA-alvo. Se a sonda é marcada de forma radioativa ou fluorescente, a hibridização poderá ser detectada facilmente (**Figura 17.13**). Esse método é mais fácil e rápido do que a clivagem alelo-específica e funcionará independentemente da sequência do alelo ser normal ou mutada.

Figura 17.12 Teste de DNA por clivagem alelo-específica A clivagem alelo-específica, técnica muito semelhante à análise por RFLP, pode ser usada para detectar mutações como a que causa a anemia falciforme.



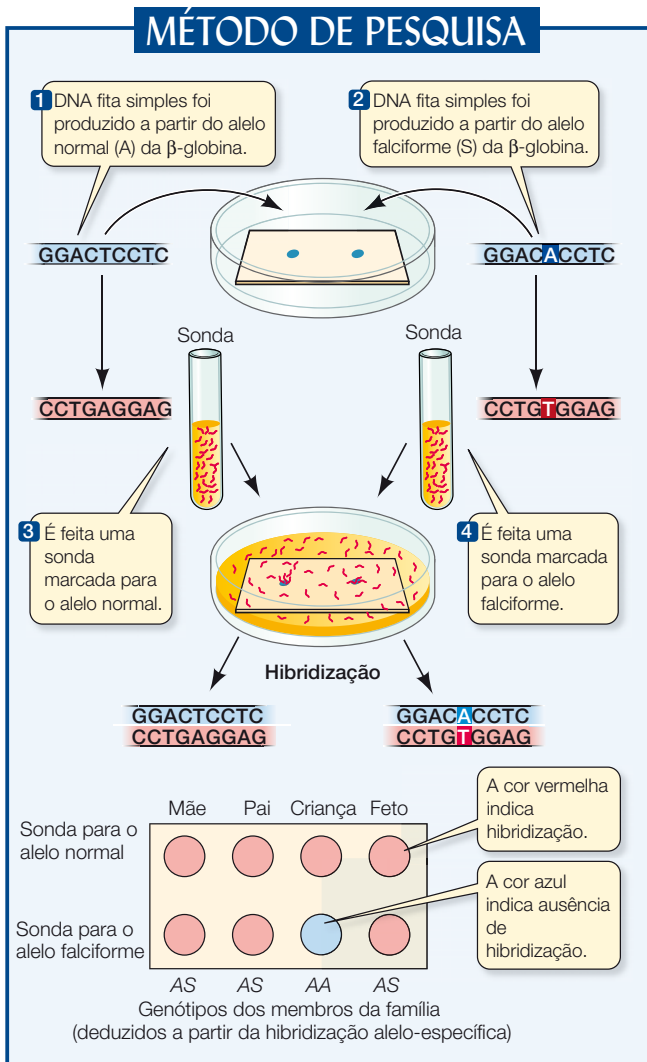


Figura 17.13 Teste de DNA por hibridização com oligonucleotídeos alelo-específicos O teste desta família revela que existem três heterozigotos portadores do alelo da anemia falciforme. No entanto, o primeiro filho herdou dois alelos normais não sendo nem afetado pela doença e nem portador.

17.3 RECAPITULAÇÃO

A triagem genética pode identificar pessoas que apresentam, são predispostas a apresentar ou são portadoras de doenças de fundo genético. Ela pode ser realizada ao nível do fenótipo através da identificação de uma proteína anômala ou com função alterada. A triagem realiza-se também ao nível do genótipo através de testes diretos do DNA.

- Você pode descrever como é a triagem para fenilcetonúria em bebês recém-nascidos? Ver p. 384.
- Qual é a vantagem da triagem para mutações genéticas utilizando hibridização com oligonucleotídeos alelo-específicos em relação a triagem por diferenças de clivagem alelo-específicas? Ver p. 385.

Normalmente pensamos em doenças genéticas como doenças herdadas, porém agora voltaremos nossa atenção para uma doença genética que na maior parte das vezes afeta células somáticas: o câncer.

17.4 O que é câncer?

Talvez nenhuma doença que afete pessoas no mundo industrializado induza mais temor do que o câncer. Em em cada três norte-americanos terá alguma forma de câncer durante sua vida e, no momento, um em cada quatro morrerá dele. Com um milhão de novos casos e meio milhão de mortes anualmente nos Estados Unidos, o câncer constitui a segunda causa de mortes, ficando atrás apenas das doenças do coração. O câncer era menos comum há um século; naquele tempo, como hoje em muitas regiões do mundo, as pessoas morriam de doenças infecciosas e não viviam tempo suficiente para desenvolver câncer. O câncer tende a ser uma doença dos últimos anos de vida; as crianças são atingidas com frequência muito menor.

Desde que o governo dos Estados Unidos declarou “guerra contra o câncer”, em 1970, uma fantástica quantidade de informações a respeito das células cancerosas – sobre seu crescimento e propagação e sobre suas modificações moleculares – tem sido obtida. Talvez a descoberta mais notável seja que o câncer é causado primeiramente por modificações genéticas. Essas modificações são principalmente mutações no DNA de células somáticas que se propagam por mitose.

As células cancerosas diferem de suas homólogas normais

As células cancerosas diferem das normais das quais se originam de duas maneiras principais.

AS CÉLULAS CANCEROSAS PERDEM O CONTROLE SOBRE A DIVISÃO CELULAR A maioria das células no corpo divide-se somente se expostas a influências extracelulares, tais como fatores de crescimento e hormônios. As células cancerosas não respondem a esses controles e, em vez disso, dividem-se mais ou menos continuamente, finalmente formando **tumores** (grandes massas de células). No momento em que um médico torna-se capaz de apalpar um tumor ou observá-lo em um raio X ou tomografia, ele já contém milhões de células.

Os tumores **benignos** assemelham-se ao tecido do qual eles se originam, crescem lentamente e permanecem localizados onde se desenvolvem. Um lipoma, por exemplo, é um tumor benigno de células adiposas que pode surgir na axila e permanecer ali. Os tumores benignos não são cânceres, mas devem ser removidos se afetam um órgão importante, tal como o cérebro.

Os tumores **malignos**, por outro lado, não se parecem em nada com seu tecido de origem. Uma célula epitelial pulmonar plana e especializada, na parede do pulmão, pode transformar-se em uma célula de câncer maligno de pulmão, relativamente sem características e arredondada (Figura 17.14). As células malignas frequentemente apresentam estruturas irregulares, tais como núcleos de tamanhos e formas variáveis. Muitas dessas células expressam o gene para telomerase e, dessa maneira, não encurtam as extremidades de seus cromossomos após cada replicação de DNA.

CÉLULAS CANCEROSAS PROPAGAM-SE PARA OUTROS TECIDOS A segunda, e mais temerosa, característica de células cancerosas consiste na capacidade de invadir tecidos vizinhos e propagar-se para outras partes do corpo. Essa propagação do cân-

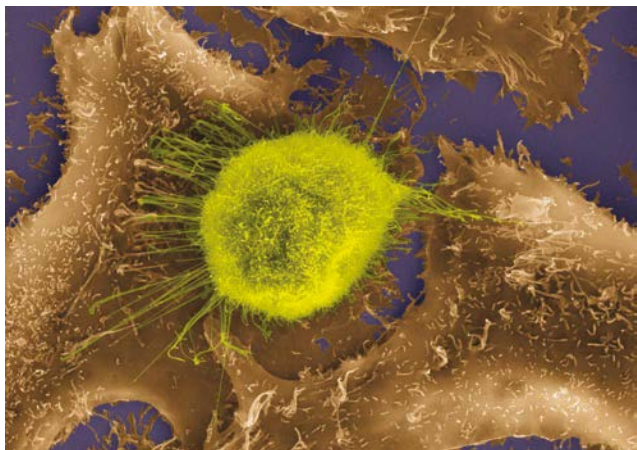


Figura 17.14 Uma célula cancerosa com suas vizinhas normais Essa célula pequena de câncer de pulmão (amarelo-esverdeada) difere completamente das células epiteliais pulmonares das quais se originou. Esta forma específica de câncer é muito letal, com uma taxa de 5 anos de sobrevivência de apenas 10%. A maior parte dos casos é causada pelo hábito de fumar.

cer, chamada **metástase**, ocorre em vários estágios. Primeiro, as células cancerosas se estendem no tecido que as rodeia por meio da secreção de enzimas de digestão, que desintegram as células e os materiais extracelulares próximos, preparando seu caminho em direção a um vaso sanguíneo. Então, algumas das células cancerosas entram ou na corrente sanguínea ou no sistema linfático. A viagem por esses vasos é perigosa, e poucas das células cancerosas sobrevivem – talvez uma em 10 mil. Quando por acaso uma célula cancerosa chega a um órgão apropriado para seu novo crescimento, ela expressa proteínas na superfície celular que permitem que se ligue e invada o novo tecido hospedeiro. Por fim, em seu novo local, o tumor secreta sinais químicos que provocam o crescimento de vasos sanguíneos nele, para supri-lo com oxigênio e nutrientes. Esse processo denomina-se *angiogênese*.

Formas diferentes de câncer afetam partes diferentes do organismo. Cerca de 85% de todos os tumores humanos são *carcinomas* – cânceres que surgem em tecidos de superfície tais como a pele e células epiteliais que revestem os órgãos. Câncer de pulmão, câncer de mama, câncer de cólon e câncer de fígado, todos são carcinomas. *Sarcomas* são cânceres de tecidos como osso, vasos sanguíneos e músculos. *Leucemias* e *linfomas* afetam as células que dão origem às células do sangue.

Alguns cânceres são causados por vírus

Em 1909, Peyton Rous, um jovem médico iniciando sua carreira de pesquisador junto à Universidade Rockefeller na cidade de Nova York, recebeu um telefonema de criadores de galinhas em Long Island. Eles estavam em pânico: suas galinhas estavam afetadas, com uma estranha doença que causava deterioração de seus músculos antes de morrerem. A enfermidade se alastrava rapidamente entre as criações: quando uma galinha de um lote contraía a doença, logo as outras também eram atingidas. Após um trabalho de investigação médica – ou, mais precisamente, veterinária –, Rous diagnosticou a doença como um sarcoma – um tumor de músculo – causado por um vírus. Essa foi uma descoberta-chave, porque mostrou que o câncer podia ser uma doença transmissível.

Infelizmente, a descoberta de Rous não foi continuada imediatamente, e de início resultou infrutífera a busca por vírus causadores de

TABELA 17.1 Cânceres humanos conhecidos por serem causados por vírus

CÂNCER	VÍRUS RELACIONADO
Câncer de fígado	Vírus da hepatite B
Linfoma, câncer do nasofaringe	Vírus Epstein-Barr
Leucemia de células T	Vírus da leucemia de célula T humana (HTLV-I)
Cânceres anogenitais	Papilomavírus
Sarcoma de Kaposi	Herpesvírus do sarcoma de Kaposi

tumores humanos. A importância do trabalho de Rous foi completamente compreendida somente quando os cientistas retornaram à virologia dos tumores em animais, nos anos 1960. Ele foi agraciado com o Prêmio Nobel em 1966, 57 anos depois de sua descoberta! Durante um período nos anos 1960, pensou-se que grande parte do câncer nos humanos era causado por vírus. No entanto, investigações cuidadosas mostraram que apenas cerca de 15% dos cânceres humanos são induzidos por vírus. Pelo menos cinco tipos de câncer humano são causados, provavelmente, por vírus (**Tabela 17.1**).

A hepatite B, doença do fígado que afeta pessoas em todo o mundo, é causada pelo vírus da hepatite B, que contamina o sangue ou transmite-se da mãe para o filho durante o parto. A infecção viral pode ser de longa duração e pode manifestar-se numerosas vezes. O vírus da hepatite B está associado ao câncer de fígado, especialmente na Ásia e na África, onde milhões de pessoas encontram-se infectadas. Todavia, ele próprio não causa o câncer. Algumas mutações gênicas que se fazem necessárias para a formação do tumor ocorrem nas células infectadas de asiáticos e africanos, embora aparentemente não ocorram em europeus e norte-americanos.

Um grupo importante de cânceres induzidos por vírus entre norte-americanos e europeus é o dos diversos cânceres anogenitais causados por papilomavírus. As verrugas genitais e anais que esses vírus causam frequentemente tornam-se tumores. Esses vírus parecem ser capazes de agir por si próprios, não necessitando de mutações nas células do tecido hospedeiro para o tumor surgir. Normalmente, o genoma viral é circular e sofre um ciclo lítico, produzindo mais vírus. Ocasionalmente, o círculo quebra-se e o próprio vírus se integra ao cromossomo de uma célula hospedeira no colo uterino (ou cérvix), inativando um gene que normalmente estimula a replicação viral e bloqueia a divisão celular e, dessa forma, estimula o ciclo celular. A transmissão sexual desses papilomavírus infelizmente está difundida.

Os cânceres causados por vírus podem ser evitados e tratados com vacinas antivirais. Amplos programas de vacinação na Ásia já reduzem a incidência de câncer de fígado causado pelo vírus da hepatite B. Recentemente, desenvolveu-se uma vacina eficaz para os papilomavírus que causam câncer de colo de útero.

A maioria dos cânceres é causada por mutações genéticas

O que causa os 85% de cânceres que não são causados por vírus? Em função da maioria dos cânceres se desenvolver em pessoas

mais velhas, é razoável presumir que essas devem viver o tempo suficiente para que uma série de eventos ocorra. Essa suposição parece estar correta, e os eventos consistem em mutações genéticas.

O DNA pode tornar-se danificado de muitas maneiras. Conforme descreve a Seção 12.6, mutações espontâneas surgem por causa de trocas químicas nos nucleotídeos. Além disso, certas substâncias mutagênicas, chamadas **carcinógenos**, podem causar mutações que levam ao câncer. Carcinógenos habituais incluem as substâncias químicas presentes no fumo e em conservantes da carne, a luz ultravioleta do sol e as radiações ionizantes de fontes de radioatividade. Menos habituais, mas também muito prejudiciais, são milhares de substâncias químicas presentes naturalmente nos alimentos que as pessoas ingerem. Conforme uma estimativa, esses carcinógenos “naturais” explicam satisfatoriamente mais de 80% da exposição humana a agentes que causam câncer.

Tanto os carcinógenos naturais quanto os sintéticos danificam o DNA, normalmente causando trocas de uma base por outra. Em células somáticas que se dividem com frequência, tais como células-tronco epiteliais e da medula óssea, há menos tempo para que os mecanismos de reparo do DNA funcionem antes que a replicação ocorra novamente. Portanto, tais células são especialmente suscetíveis ao câncer.

Dois tipos de genes alteram-se em muitos cânceres

As mudanças no controle da divisão celular, que são o centro do câncer, podem ser comparadas aos controles de um automóvel. Para fazer um carro mover-se, duas coisas devem acontecer: o acelerador deve ser pressionado e o freio deve ser liberado. No genoma humano, alguns genes atuam como *oncogenes*, os quais “pisam no acelerador” para estimular a divisão celular, e alguns atuam como *genes supressores de tumor*, que “acionam o freio” para inibi-la.

ONCOGENES A primeira sugestão de que **oncogenes** (do grego *onco*, “massa”) eram necessários para as células tornarem-se cancerosas surgiu com a identificação de cânceres induzidos por vírus em animais. Em muitos casos, esses vírus trazem um novo gene para dentro de suas células hospedeiras, e esse estimula a divisão celular quando se expressa no genoma viral. Logo tornou-se aparente que os oncogenes virais apresentavam homólogos nos genomas das células hospedeiras que em geral não eram transcritos. Desse modo, a busca por genes lesados por carcinógenos apontou rapidamente para esses oncogenes celulares. Várias dúzias desses genes foram rapidamente descobertas.

Oncogenes são genes com a capacidade para estimular a divisão celular, mas normalmente estão “desligados” em células diferenciadas que não estão em divisão. Muitos deles encontram-se envolvidos nas vias pelas quais os fatores de crescimento estimulam a divisão celular (**Figura 17.15**). Alguns oncogenes excepcionais controlam *apoptose* (morte celular programada; ver Seção 9.6). A ativação desses genes por mutação faz com que impeçam a apoptose, levando células que normalmente morreriam a continuar dividindo-se.

Alguns oncogenes podem ser ativados por mutações pontuais, outros por trocas em cromossomos tais como as translocações e outros ainda por amplificação gênica. Qualquer que seja o mecanismo, o resultado é o mesmo: o oncogene torna-se ativado, e o “acelerador” para a divisão celular é pressionado.

GENES SUPRESSORES DE TUMOR Cerca de 10% de todos os cânceres é hereditário. Frequentemente a forma hereditária de um câncer é clinicamente semelhante à forma não hereditária que ocorre no final da vida, chamada forma *esporádica*. Entretanto, a

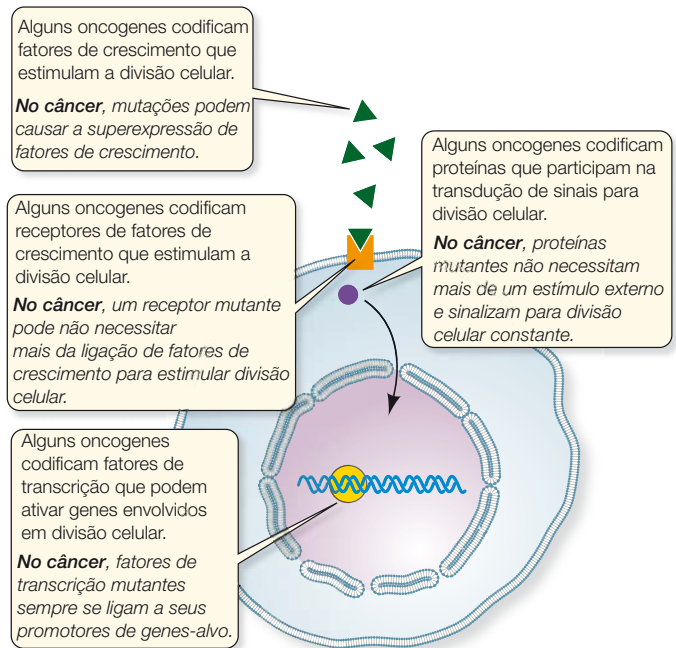


Figura 17.15 Produtos de oncogenes estimulam divisão celular As mutações podem afetar qualquer uma das várias vias em que os oncogenes podem estimular divisão celular causando, assim, câncer.

forma hereditária ataca a pessoa mais cedo e, normalmente, na forma de tumores múltiplos.

Em 1971, Alfred Knudson utilizou essas observações para prever que para ocorrer um câncer, um **gene supressor de tumor**, que normalmente atua como um “freio” sobre a divisão celular, deve estar inativado. Contudo, ao contrário de oncogenes, nos quais um alelo mutado é tudo o que se faz necessário para ativação, a inativação completa de um gene supressor de tumor requer que ambos os alelos sejam desligados, o que necessita de dois eventos mutagênicos. Leva um longo tempo para ambos os alelos em uma única célula sofrerem mutação e causar câncer esporádico. Todavia, pessoas com câncer hereditário nascem com um alelo mutante para o gene supressor de tumor e necessitam de apenas mais um evento mutagênico para a sua inativação completa (**Figura 17.16**).

O isolamento de vários genes supressores de tumor confirma a hipótese dos “dois acidentes” de Knudson. Alguns desses genes encontram-se envolvidos em formas hereditárias de cânceres raros da infância, tais como o retinoblastoma (tumor do olho) e o tumor de Wilms do rim, assim como em cânceres hereditários de mama e próstata.

Uma forma hereditária de câncer de mama demonstra o efeito de genes supressores de tumor. Os 9% de mulheres que herdam um alelo mutante do gene *BRCA1* apresentam chance de 60% de desenvolver câncer de mama até a idade de 50 anos e 82% de chance de desenvolvê-lo até os 70 anos. Os números comparáveis para mulheres que herdam dois alelos normais do gene são 2% e 7%, respectivamente.

De que forma os genes supressores de tumor atuam na célula? De maneira similar aos oncogenes, eles estão envolvidos normalmente na divisão celular (**Figura 17.17**). Alguns controlam a progressão de uma para outra fase do ciclo celular (que descrevemos na Seção 9.2). O gene *Rb*, descrito primeiro por sua contribuição para o retinoblastoma, encontra-se ativo durante a fase G1. Na

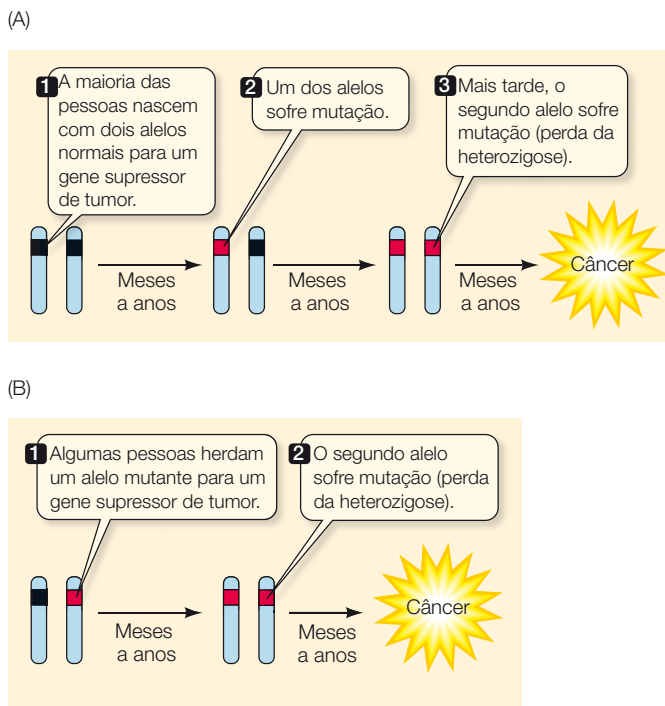


Figura 17.16 A hipótese dos “dois acidentes” para o câncer (A) Embora uma única mutação possa ativar um oncogene, duas mutações fazem-se necessárias para inativar um gene supressor de tumor. (B) Uma predisposição hereditária para câncer ocorre em pessoas que nascem com um alelo já mutado.

sua forma ativa, ele codifica uma proteína que se liga a, e inativa, fatores de transcrição necessários para a progressão até a fase S e para o restante do ciclo celular. Em células não em divisão, o *Rb* permanece ativo, impedindo divisão celular até que os sinais do fator de crescimento correto estejam presentes. Quando *Rb* inativa-se por mutação, o ciclo celular avança independentemente de fatores de crescimento.

O produto proteico de outro gene supressor de tumor muito difundido, *p53*, também para o ciclo celular em G1. Ele faz isso atuando como fator de transcrição, estimulando a produção de (entre outras coisas) uma proteína que bloqueia a interação de uma ciclina e proteína-quinase necessária para movimentar o ciclo celular até G1. Esse gene está mutado em muitos tipos de câncer, incluindo de pulmão e de colón.

Vários eventos devem ocorrer para transformar uma célula normal em célula maligna

As analogias de “acelerador” e “freio” que usamos para oncogenes e genes supressores de tumor, respectivamente, são interessantes, porém simplificadas. Existem muitos oncogenes e genes supressores de tumor, alguns dos quais atuam apenas em certas células em determinados momentos. Portanto, uma sequência complexa de eventos deve ocorrer antes de uma célula normal tornar-se maligna, como demonstrou-se por um experimento em que mutações de oncogenes e genes supressores de tumor foram introduzidas em combinações diferentes (Figura 17.18). Quando células normais de ratos que cresciam em cultivo foram transfectadas com um vetor de expressão contendo uma forma mutante de um oncogene (como *ras*, que codifica uma proteína envolvida em sinalização para divisão celular), apenas isso não foi suficiente para transformá-las em células cancerosas. Da mesma forma, se um vetor de expressão contendo uma forma mutante de um gene supressor de tumor (como *p53*) é introduzido de tal maneira que se sobreponha à forma normal que já existe nas células, só isto não é suficiente para transformar células normais em cancerosas. Ambos, um “acelerador” ativo e um “freio” mutante, fazem-se necessários para a transformação maligna.

Normalmente, mais de duas mutações gênicas são necessárias para um câncer completamente desenvolvido. Como o câncer de colón progride lentamente até a completa malignidade, é possível descrever as mutações de oncogenes e os genes supressores de tumor em cada estágio com grande detalhe molecular. A Figura 17.19 resume o progresso desta forma de câncer. Pelo menos quatro genes supressores de tumor e um oncogene devem sofrer mutação em sequência para uma célula epitelial no colón tornar-se metastática. Embora a ocorrência de todos esses eventos em uma única célula possa parecer improvável, lembre-se de que o colón possui milhões de células, que as células que originam células epiteliais do colón dividem-se constantemente e que essas alterações sucedem-se durante anos de exposição aos carcinógenos naturais e sintéticos e às mutações espontâneas.

A caracterização das alterações moleculares em células tumorais abre a possibilidade do diagnóstico e da triagem genética para câncer. Muitos cânceres agora são diagnosticados de forma mais comum, em parte por sondas de oligonucleotídeos específicos para alterações de oncogene ou gene supressor de tumor. Também torna-se possível detectar no princípio da vida se um indivíduo herdou um gene supressor de tumor com mutação. Por exemplo, uma pessoa que herda cópias mutantes dos genes supressores de tumor envolvidos no câncer de colón normalmente tem alta probabilidade de desenvolver esse câncer até os 40 anos. A remoção cirúrgica do colón evitaria o surgimento desse tumor metastático.

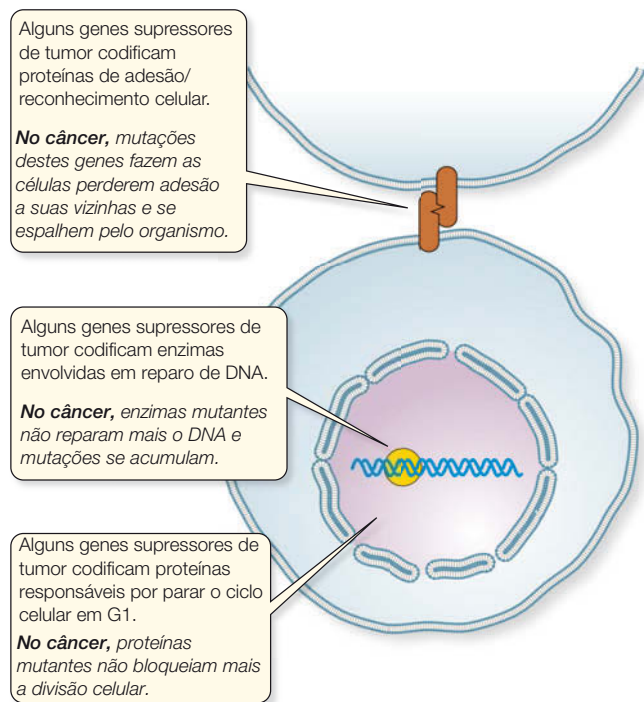


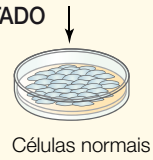
Figura 17.17 Produtos de gene supressor de tumor inibem divisão celular Mutações podem afetar qualquer das várias vias pelas quais genes supressores de tumor inibem a divisão celular, permitindo que as células se dividam e formem um tumor.

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: Uma única alteração no gene pode levar ao câncer.

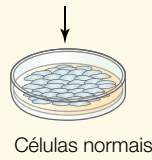
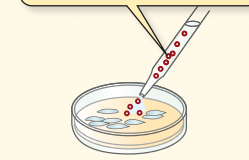
MÉTODO

1 Células normais são transfectadas com um plasmídeo que expressa o oncogene *ras* mutante ativo.



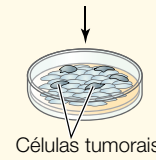
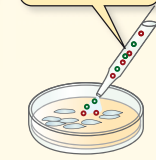
Células normais

2 Células normais são transfectadas com um plasmídeo que expressa o gene supressor de tumor *p53* mutante inativo.



Células normais

3 Células normais são transfectadas com ambos os plasmídeos.



Células tumorais

RESULTADO

CONCLUSÃO: Mutações tanto em oncogenes quanto em genes supressores de tumor são necessárias para a formação de células cancerosas.

Figura 17.18 Câncer é o resultado de alterações genéticas múltiplas Uma série complexa de eventos leva à malignidade em uma célula normal. **PESQUISA ADICIONAL:** O que aconteceria se você realizasse este experimento usando os alelos *normais* para *ras* e *p53*?

17.4 RECAPITULAÇÃO

A divisão celular descontrolada e as metástases (propagação) são as marcas de distinção do câncer. Embora alguns cânceres sejam causados por vírus ou sejam herdados, a maior parte se deve ao acúmulo de mutações genéticas em duas classes de genes: oncogenes e genes supressores de tumor.

- Quais são alguns dos vírus que podem causar câncer? Ver p. 387 e Tabela 17.1.
- Você pode descrever as funções de oncogenes e genes supressores de tumor? Ver p. 388 e Figuras 17.15 e 17.17.
- Qual é a hipótese dos “dois sucessos”? Ver p. 388 e Figura 17.16.

A pesquisa ininterrupta resultou no desenvolvimento de testes diagnósticos cada vez mais precisos e um entendimento melhor de várias doenças genéticas em nível molecular. Esse conhecimento hoje está sendo aplicado no desenvolvimento de novos tratamentos para doenças genéticas. Na próxima seção, examinaremos várias abordagens para tratamento, percorrendo desde as modificações do fenótipo mutante até a terapia gênica, na qual é fornecida uma versão normal de um gene mutante.

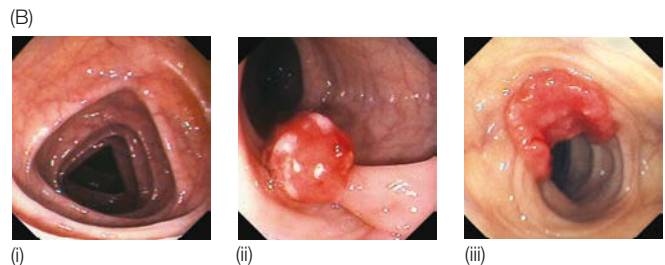
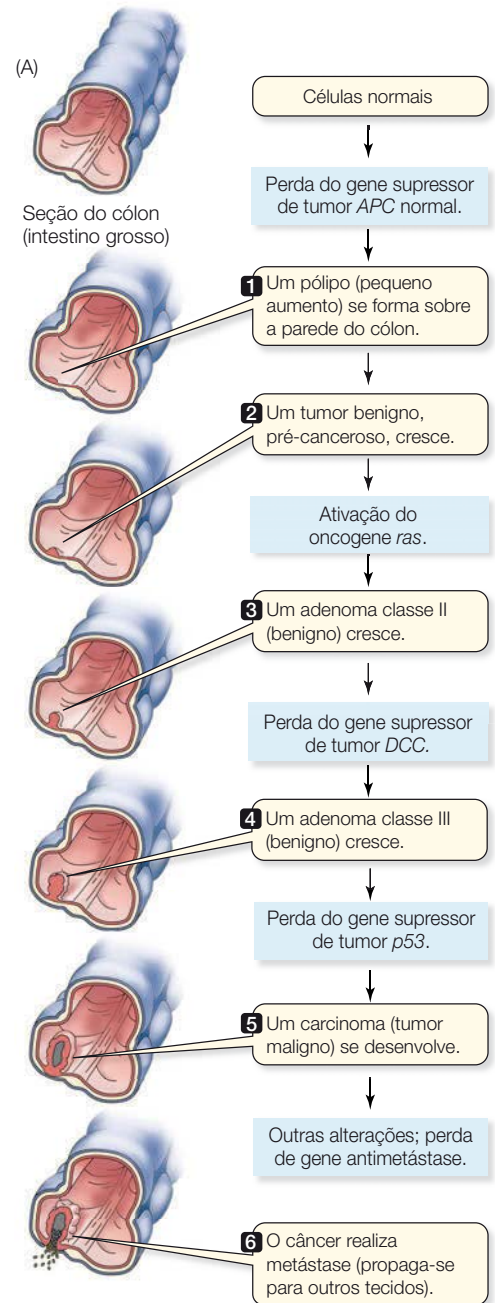


Figura 17.19 Mutações múltiplas transformam uma célula epitelial normal do cólon em uma célula cancerosa (A) Pelo menos cinco genes devem estar mutados em uma única célula para produzir câncer de cólon metastático. (B) A colonoscopia constitui o melhor teste de triagem para câncer de cólon. Estes exames revelam (i) tecido normal de cólon, (ii) um adenoma benigno (pólipso peduncular) e (iii) adenocarcinoma (um tumor maligno).

17.5 Como são tratadas as doenças genéticas?

A maioria dos tratamentos de doenças genéticas simplesmente tenta aliviar os sintomas que afetam o paciente. Todavia, para tratar de forma efetiva essas doenças – afetando todas as células, como em desordens herdadas (p. ex., PKU), ou somente células somáticas (p. ex., câncer) –, os médicos devem ser capazes de diagnosticar a doença com exatidão, entender de que modo a doença funciona ao nível molecular e intervir cedo, antes da doença causar destruição ou matar o indivíduo. Há duas maneiras principais para o tratamento de doenças genéticas: modificação do fenótipo da doença ou substituição do gene defeituoso.

As doenças genéticas podem ser tratadas modificando o fenótipo

Geralmente, a alteração do fenótipo de uma doença genética de modo que ela não prejudique mais um indivíduo realiza-se de uma destas três maneiras: por restrição do substrato de uma enzima deficiente, por inibição de uma reação metabólica prejudicial ou por fornecimento de uma proteína ausente.

LIMITAÇÃO DO SUBSTRATO Restringir o substrato de uma enzima deficiente é a abordagem adotada quando um recém-nascido é diagnosticado com PKU. Nesse caso, a enzima deficiente é a fenilalanina-hidroxilase e o substrato é fenilalanina. A incapacidade do bebê para degradar a fenilalanina no alimento leva ao acúmulo do substrato, que causa os sintomas clínicos. Assim, coloca-se o bebê imediatamente numa dieta especial que contém apenas fenilalanina suficiente para uso imediato. Lofenelac, produto à base de leite com baixa concentração de fenilalanina, é o alimento com a fórmula exata para esses bebês. Mais tarde, certas frutas, vegetais, cereais e massas com baixa concentração de fenilalanina podem ser adicionadas à dieta. Carne, peixe, ovos, derivados do leite e pão, que contêm altas quantidades de fenilalanina, devem ser evitados, especialmente durante a infância, quando o desenvolvimento do cérebro dá-se mais rápido. O adoçante artificial aspartame também deve ser evitado porque se compõe de dois aminoácidos, um dos quais é a fenilalanina.

As pessoas com PKU são geralmente aconselhadas a permanecer em dieta de baixa quantidade de fenilalanina durante a vida. Embora a manutenção dessas restrições alimentares seja difícil, ela apresenta eficácia. Numerosos estudos, que se seguiram desde que a triagem do recém-nascido foi iniciada, mostram que as pessoas com PKU que permanecem na dieta não diferem do restante da população em termos de capacidade mental. Esse é um feito impressionante em saúde pública, dada a severidade do retardo mental em pacientes não tratados.

INIBIDORES METABÓLICOS Conforme descrito na Seção 17.1, pessoas com histórico familiar de hipercolesterolemia acumulam níveis perigosos de colesterol no sangue. Essas pessoas não são apenas incapazes de metabolizar o colesterol da dieta, mas também sintetizam grande quantidade dele. Um tratamento eficaz para pessoas com essa doença consiste em uma droga estatina, que bloqueia a síntese de colesterol do próprio paciente. Os pacientes que recebem essa droga necessitam preocupar-se apenas com o colesterol na dieta e não com aquele que suas células produzem.

Inibidores metabólicos também formam a base da quimioterapia para câncer. A estratégia consiste em matar rapidamente as células em divisão, uma vez que a divisão celular rápida é a marca de distinção da malignidade. Contudo, tal estratégia não é seletiva

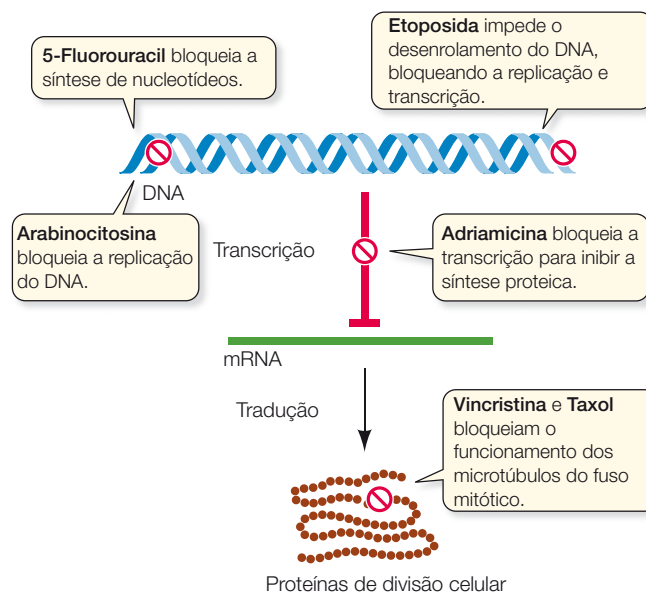


Figura 17.20 Estratégias para destruir células cancerosas Os medicamentos usados em quimioterapia atacam rapidamente células cancerosas em divisão de várias maneiras. Infelizmente, a maioria deles também afeta rapidamente células não cancerosas em divisão.

para células tumorais. Muitas drogas podem matar células cancerosas (Figura 17.20), mas a maioria dessas drogas causa danos também em outras células em divisão não cancerosas do organismo. Portanto, não surpreende que pessoas submetidas à quimioterapia sofram efeitos colaterais tais como perda de cabelo (devido aos danos ao epitélio da pele), transtornos digestivos (células do epitélio intestinal) e anemia (células-tronco da medula óssea). A dose eficaz dessas drogas altamente tóxicas para o tratamento de câncer frequentemente está um pouco abaixo da dose que poderia matar o paciente. Dessa forma, devem ser utilizadas com extremo cuidado. Frequentemente, conseguem controlar mas não curar o câncer.

FORNECIMENTO DAS PROTEÍNAS AUSENTES Uma maneira óbvia para tratar um fenótipo de doença em que uma proteína funcional encontra-se em falta consiste em fornecer essa proteína. Essa abordagem é a base do tratamento de hemofilia, em que a proteína ausente de coagulação do sangue é fornecida na forma pura. A produção de proteínas humanas da coagulação através da tecnologia do DNA recombinante possibilita fornecer uma proteína pura ao invés de produtos de sangue total, que podem estar contaminados com vírus ou outros patógenos.

Infelizmente, os fenótipos de muitas doenças causadas por mutações genéticas são muito complexos. Intervenções simples como essas que descrevemos não funcionam para a maioria dessas doenças. De fato, um estudo recente mostrou que terapias atuais para 351 doenças causadas por mutações de um único gene melhoraram apenas em cerca de 15% a duração da vida dos pacientes.

A terapia gênica oferece a esperança de tratamentos específicos

Evidentemente, se uma célula carece de um alelo funcional, seria ótimo providenciar esse alelo; esse é o objetivo da terapia gênica. Doenças que variam desde os distúrbios hereditários raros causados por mutações de um único gene até câncer e aterosclerose

estão sob investigação intensiva num esforço de desenvolver tratamentos de terapia gênica.

O objetivo da **terapia gênica** é inserir um novo gene que será expresso no hospedeiro. O novo DNA normalmente está ligado a um promotor ativo em células humanas. Os médicos que estão desenvolvendo tais tratamentos confrontam-se com todos os desafios da tecnologia do DNA recombinante: eles devem encontrar vetores eficazes e garantir a captação eficiente, a inserção precisa no DNA hospedeiro, a expressão e o processamento de mRNA e de proteínas de forma apropriada e a seleção pelas células que contêm o DNA recombinante dentro do organismo.

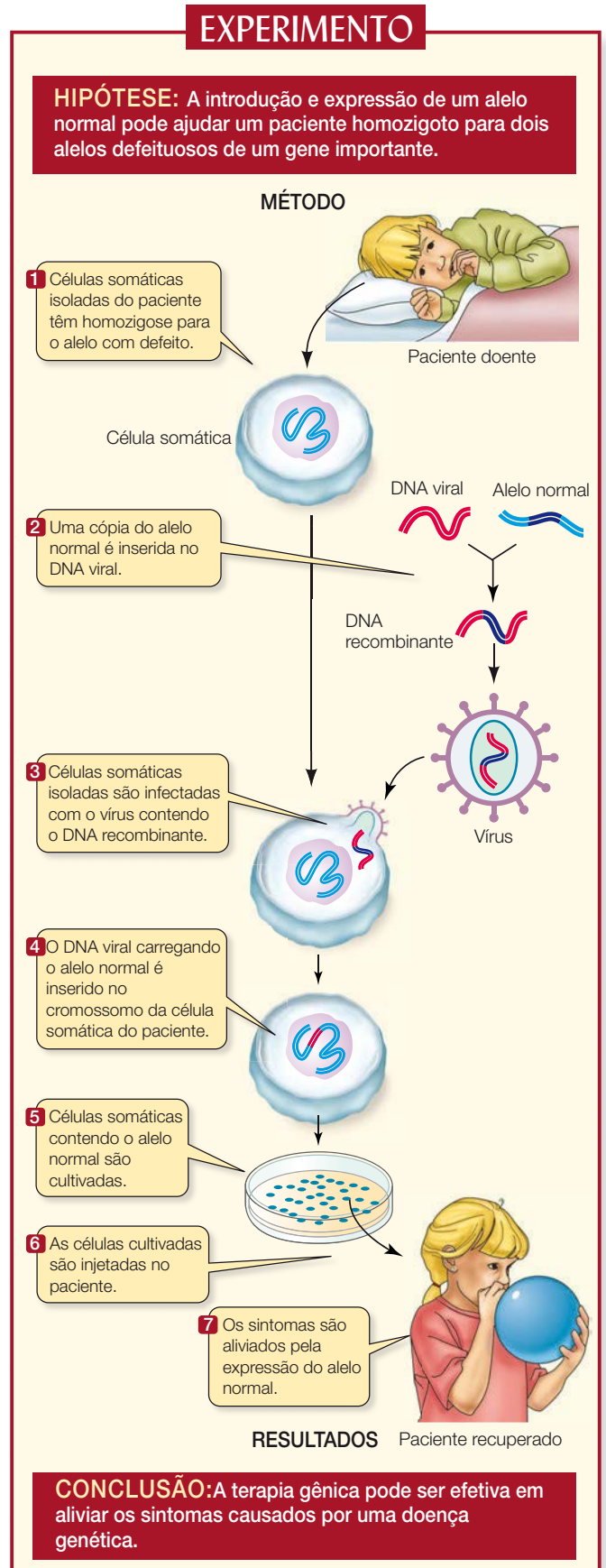
Quais células humanas deveriam ser o alvo da terapia gênica? A melhor abordagem seria substituir o alelo não funcional por um funcional em todas as células do corpo. Porém, os vetores para isso simplesmente não estão disponíveis, e a distribuição para cada célula representa um desafio fora do comum. Até pouco tempo, as tentativas em terapia gênica usavam técnicas *ex vivo*. Ou seja, médicos coletavam células do organismo de pacientes, adicionavam o novo gene à estas células em laboratório e, então, recolocavam as células nos doentes na esperança de que o produto correto do gene fosse produzido (**Figura 17.21**). Dois exemplos demonstram esta técnica:

- A *adenosina-desaminase* é necessária para a maturação dos leucócitos (as células brancas do sangue), e indivíduos sem essa enzima apresentam graves deficiências do sistema imunológico. Um gene funcional para adenosina-desaminase foi introduzido por meio de um vetor viral nos leucócitos de uma menina com deficiência genética dessa enzima. Infelizmente, foram utilizados leucócitos maduros e, apesar de sobreviverem por um período na menina e proporcionarem algum benefício terapêutico, por fim morreram, como ocorre normalmente nessas células. Procedimentos clínicos mais recentes usam células-tronco da medula óssea, que se dividem constantemente, para produzir as células brancas do sangue.
- Algumas células da pele de pessoas com *hemofilia* foram removidas e transfectadas com um plasmídeo que contém um alelo normal do gene que codifica a proteína de coagulação sanguínea ausente nelas. Então, as células foram recolocadas no tecido adiposo dos pacientes, onde produziram a proteína adequada para a coagulação normal.

A outra abordagem para terapia gênica é inserir o gene diretamente em células no corpo do paciente. Esse procedimento *in vivo* está sendo testado para vários tipos de câncer. Por exemplo, células de câncer de pulmão são suscetíveis a esse tratamento se o DNA ou o vetor for administrado em forma de aerossol através do sistema respiratório. Assim, vetores carregando alelos funcionais de genes supressores de tumor que se encontram mutados no tumor do paciente, assim como vetores que expressam RNAs antissenso alvejando mRNAs de oncogenes, têm sido introduzidos com sucesso em pacientes com câncer de pulmão, com alguma melhora clínica.

Vários milhares de doentes, mais da metade deles com câncer, submetem-se à terapia gênica. A maioria dessas experiências clínicas encontra-se em nível preliminar, no qual a terapia é oferecida às pessoas para saber se há alguma toxicidade e se o novo gene realmente incorpora-se no genoma do paciente. Ensaio mais ambiciosos estão em andamento, em que um grande número de pacientes recebe a terapia com a esperança de que sua doença desapareça ou, pelo menos, melhore.

Figura 17.21 Terapia gênica: a abordagem *Ex Vivo* Adicionam-se novos genes às células somáticas retiradas do corpo de um paciente. Então, essas células transgênicas são devolvidas para o organismo a fim de sintetizarem o produto do gene perdido.



17.5 RECAPITULAÇÃO

O tratamento de doenças genéticas humanas pode envolver intervenções que tentam modificar o fenótipo anormal, tais como a restrição do substrato de uma enzima deficiente, inibição de uma reação metabólica prejudicial ou fornecimento de uma proteína ausente. A terapia gênica pretende dirigir-se a um defeito genético por meio da inserção de um alelo normal dentro das células de um paciente.

- Você pode descrever de que forma inibidores metabólicos utilizados em quimioterapia funcionam no tratamento do câncer? Ver p. 391 e Figura 17.20.
- Você pode explicar e dar um exemplo de como a terapia gênica *ex vivo* funciona? Ver p. 392 e Figura 17.21.

Terapias para doenças genéticas simples permanecem sendo um desafio. Porém, a maioria das doenças é muito mais complexa, envolvendo muitos genes que interagem com o ambiente. O entendimento desses genes se desenvolve a partir do Projeto Genoma Humano.

17.6 O que temos aprendido a partir do projeto genoma humano?

Em 1984, o governo dos Estados Unidos patrocinou uma conferência sobre a detecção de danos ao DNA em pessoas expostas a níveis de radiação significativos, como sobreviventes das bombas atômicas no Japão, 39 anos antes. Os cientistas que compareceram a essa conferência rapidamente perceberam que a capacidade para detectar tais danos seria útil também na avaliação de mutagênicos do meio ambiente. Porém, para detectar alterações no genoma humano, os cientistas necessitavam primeiro conhecer a sequência normal.

Em 1986, Renato Dulbecco, que ganhara o prêmio Nobel por seu trabalho pioneiro sobre vírus que causavam câncer, sugeriu que a determinação da sequência normal do DNA humano beneficiaria também a pesquisa do câncer. Ele propôs que a comunidade científica fosse mobilizada para a tarefa. O resultado foi o financiamento público do **Projeto Genoma Humano**, um esforço internacional. Na década de 1990, indústrias privadas lançaram seus próprios esforços para o sequenciamento.

Há duas abordagens para o sequenciamento do genoma

Devido a seus diferentes tamanhos, os 46 cromossomos humanos podem ser separados uns dos outros e identificados (ver Figura 9.15). Desse modo torna-se possível isolar o DNA de cada cromossomo para sequenciamento. A abordagem mais simples seria iniciar em uma extremidade de um cromossomo e simplesmente sequenciar todos os 120 milhões de pares de bases. Infelizmente, essa abordagem não é prática, uma vez que apenas cerca de 700 pares de base podem ser sequenciados por vez (ver Figura 11.24 para uma descrição da técnica de sequenciamento de DNA).

Para sequenciar um genoma inteiro, o DNA cromossômico é primeiro cortado em fragmentos com cerca de 500 pares de bases de comprimento, e então sequencia-se cada fragmento. Para o genoma humano haploide, que tem em torno de 3,2 bilhões de pares de bases, há mais de 6 milhões de tais fragmentos. Portanto, o problema encontra-se em recolocar juntos esses milhares de fragmentos. Essa tarefa é realizada pela reunião das pequenas porções da sequência de DNA. Essas porções da sequência de DNA quase

sempre se sobrepõem e devem ser alinhadas até que as posições de todas as bases estejam corretamente justificadas. Dois métodos foram utilizados para alinhar os fragmentos de DNA: *sequenciamento hierárquico* e *sequenciamento tipo dispersivo* (shotgun).

SEQUENCIAMENTO HIERÁRQUICO A equipe que trabalhou com financiamento público utilizou um método conhecido como **sequenciamento hierárquico**. Primeiro, eles identificaram sistematicamente sequências marcadoras curtas ao longo dos cromossomos, de modo que cada fragmento de DNA a ser sequenciado conteria um marcador (**Figura 17.22A**). Esse método pode ser comparado a um mapa rodoviário, mostrando as cidades com a quilometragem que as separa. As “cidades” são os marcadores de DNA e a “quilometragem” é indicada em pares de bases. Os marcadores mais simples do mapa constituem as sequências de reconhecimento para enzimas de restrição.

Algumas enzimas de restrição reconhecem 8 a 12 pares de bases no DNA, não apenas os habituais 4 a 6 pares de bases. Uma molécula de DNA com vários milhares de pares de bases terá relativamente poucos desses sítios grandes e, dessa forma, a enzima irá gerar um pequeno número de fragmentos relativamente grandes. Esses fragmentos grandes podem ser colocados em um vetor chamado **cromossomo bacteriano artificial (BAC, do inglês bacterial artificial chromosome)**, que pode transportar cerca de 250 mil pares de bases de DNA e ser inserido em bactérias para criar uma biblioteca genômica.

Nessa biblioteca, os fragmentos arranjam-se na ordem apropriada ao longo do mapa do cromossomo utilizando as sequências marcadoras. Para organizar os fragmentos de DNA no mapa, comparam-se as bibliotecas feitas com diferentes enzimas de restrição. Se dois fragmentos grandes de DNA cortados com diferentes enzimas de restrição têm o mesmo marcador, eles devem se sobrepor. Esse método funciona, mas é lento.

SEQUENCIAMENTO TIPO DISPERSIVO (SHOTGUN) Ao invés de trabalhar encontrando marcadores, fragmentando o DNA e então os sequenciar, o método de sequenciamento dispersivo corta o DNA ao acaso em fragmentos pequenos de sequências prontas e deixa que computadores poderosos procurem marcadores que se sobreponham (**Figura 17.22B**). Dessa forma, os fragmentos podem ser alinhados.

O método dispersivo, usado pela indústria privada, é muito mais rápido do que a abordagem hierárquica, pois não há necessidade de organizar um mapa. No princípio, esse método foi recebido com considerável ceticismo. Uma preocupação era que sem o mapeamento anterior rigoroso de sítios marcadores nos cromossomos, o computador poderia escolher sequências repetitivas comuns a muitos fragmentos de DNA e alinhar os fragmentos incorretamente. Porém, o desenvolvimento rápido de computadores e *software* sofisticados para sequenciamento e análise de DNA (o advento da **bioinformática**) permitiu que o método dispersivo fosse refinado até o ponto em que os alinhamentos inexactos deixaram de ser um problema maior. Os 180 milhões de pares de bases do genoma inteiro da mosca-das-frutas foram sequenciados pelo método dispersivo em pouco mais de um ano. Este sucesso comprovou que o método do sequenciamento dispersivo poderia funcionar para o genoma humano que é muito maior e, de fato, funcionou.

A sequência do genoma humano contém muitas surpresas

As duas equipes de cientistas anunciaram um esboço da sequência do genoma humano em junho de 2000 com grande alarde,

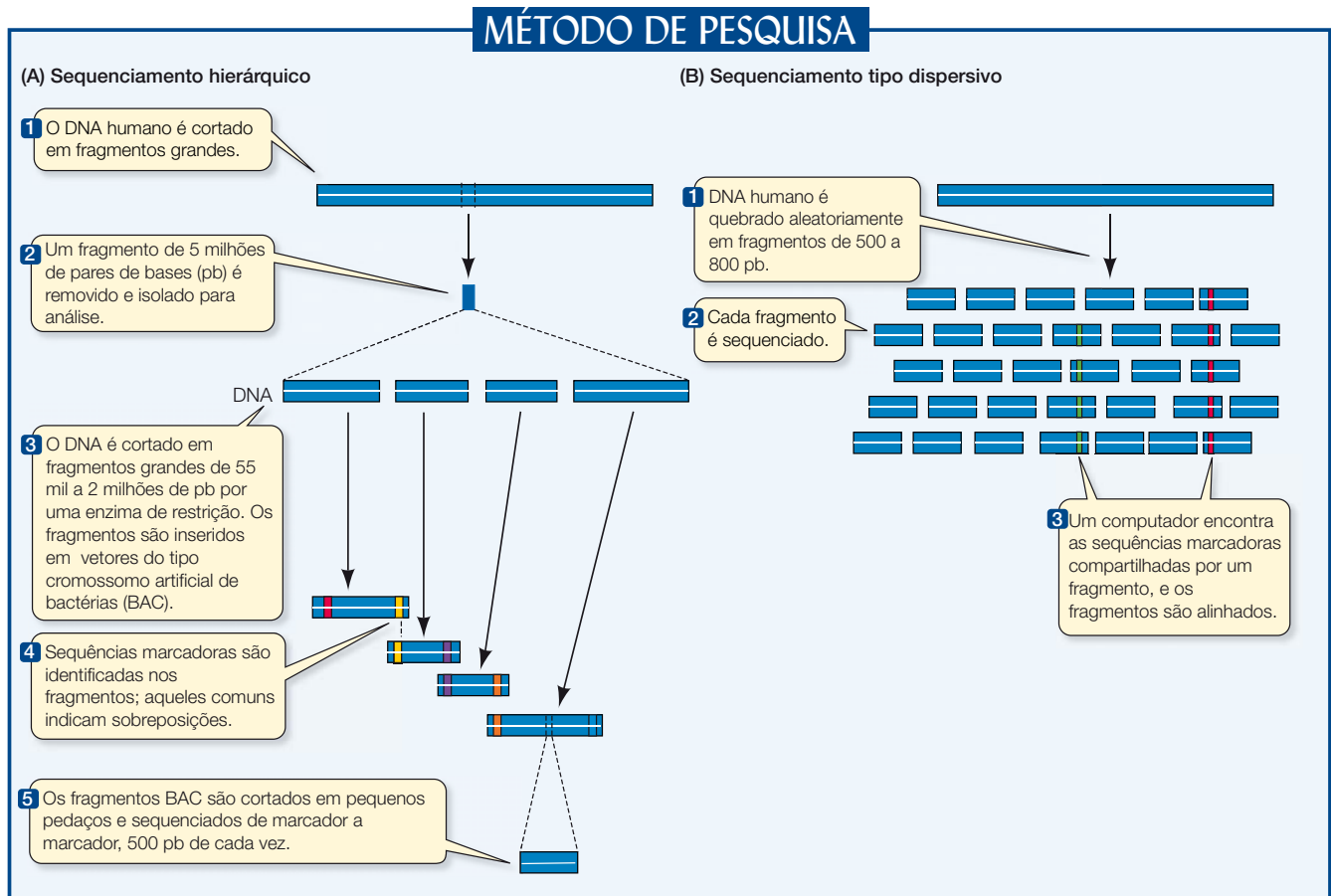


Figura 17.22 Duas abordagens para o sequenciamento de DNA (A) Na abordagem hierárquica para o sequenciamento do genoma, marcadores genéticos são mapeados e, então, os fragmentos de DNA alinham-se por competição com sobreposição de sítios com os mesmos marcadores. (B) Na abordagem tipo dispersiva (*shotgun*), o DNA é fragmentado e utiliza-se um computador para encontrar os marcadores que se sobrepõem.

e publicaram seus dados simultaneamente em fevereiro de 2001. No início de 2005, a sequência final foi completada, dois anos antes do planejado uma década antes e bem abaixo do orçamento inicial.

Muitos fatos interessantes e surpreendentes sobre o genoma humano foram revelados com o seu sequenciamento.

- De seus 3,2 bilhões de pares de bases, menos de 2% compõem regiões codificadoras, contendo um total de cerca de 24 mil genes. Antes do sequenciamento começar, as estimativas eram que o número de genes humanos variasse de 80 mil a 100 mil. Esse número mais baixo de genes – não muito maior que o da mosca-das-frutas – significa que a diversidade observada das proteínas, que levou à estimativa de 100 mil, deve ser produzida após a transcrição. Ou seja, a média dos genes humanos deve codificar várias proteínas diferentes.
- Em média o gene possui 27 mil pares de bases. O tamanho dos genes varia muito, de mil a 2,4 milhões de pares de bases. Variação no tamanho do gene deve ser esperada, uma vez que as proteínas humanas (e os RNA) variam em tamanho. As proteínas humanas variam de 100 até cerca de 5 mil aminoácidos por cadeia polipeptídica.

- Todos os genes humanos apresentam muitos íntrons. Como observamos anteriormente, apenas 2% do genoma humano é DNA codificante.
- Acima de 50% do genoma constitui-se de sequências altamente repetitivas. Sequências repetitivas próximas a genes são ricas em CG, enquanto aquelas muito mais distantes de genes são ricas em AT.
- Quase todo (99,9%) o genoma é o mesmo em todas as pessoas. Apesar dessa aparente homogeneidade, certamente, há muitas diferenças individuais. Os cientistas mapearam acima de 2 milhões de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNP, do inglês, *single nucleotide polymorphisms*) – bases que diferem em pelo menos 1% das pessoas.
- Os genes não estão distribuídos igualmente no genoma. O cromossomo 19 é pequeno e os genes estão densamente organizados, enquanto o cromossomo 8 tem longos fragmentos de “desertos gênicos” com regiões não codificantes. O cromossomo Y possui menos genes (231), enquanto o cromossomo 1 tem a maior parte (2.968).
- Existem muitos genes cujas funções são desconhecidas. Há 740 genes que codificam RNA que não são traduzidos em proteínas. Destes RNAs, várias dúzias são tRNAs, e alguns são rRNAs e RNAs de processamento. O papel do restante não está claro. Nem estão claras as funções de centenas de genes que codificam proteínas-quinases. Uma boa aposta é que eles estão envolvidos na sinalização celular.

O projeto ENCODE (do inglês, *Encyclopedia of DNA Elements*) foi organizado para identificar todas as sequências funcionais no genoma humano – não somente as sequências que codificam proteínas, mas também outras, como aquelas que codificam RNAs pequenos envolvidos em regulação gênica. Esse projeto fará uso de dados comparativos a partir de espécies intimamente relacionadas, como o chimpanzé.

A sequência do genoma humano tem muitas aplicações

A leitura do “livro da vida” humano é uma realização considerada de alta importância entre outros grandes eventos recentes da exploração científica. A sequência do genoma humano e as ferramentas desenvolvidas para realizar a sua leitura estão mudando a biologia de muitas maneiras.

- A tecnologia de mapeamento e SNP têm tornado o isolamento de genes humanos muito mais fácil pela clonagem de posição devido ao imenso número de marcadores genéticos agora disponíveis. Muitos genes ligados a doenças têm sido identificados dessa maneira.
- A variação genética no metabolismo de drogas tem sido um problema médico há bastante tempo. O campo emergente da **farmacogenômica** está identificando os genes responsáveis por essa variação e desenvolvendo testes para prever quem reagirá melhor à qual medicação.
- Chips de DNA (ver Figura 16.15) são usados para analisar a expressão de milhares de genes em diferentes células e em diferentes condições bioquímicas. Por exemplo, o Projeto da Anatomia do Genoma do Câncer procura fazer uma “impressão digital” do mRNA de um tumor a cada estágio do seu desenvolvimento. A descoberta de que genes são expressos em qual estágio será importante não somente no diagnóstico, mas também na identificação de alvos para a terapia.
- “Prospecção do Genoma” refere-se à procura por polimorfismos importantes em populações humanas específicas. Por exemplo, os índios Pima, no Arizona, apresentam alta frequência de obesidade extrema e de diabetes. Um exame de seus genomas poderia revelar genes de predisposição deles a essas doenças.

O resultado final de todo esse conhecimento pode levar a uma nova abordagem para o procedimento médico, na qual o genoma de cada pessoa será usado para prescrever mudanças no estilo de vida e tratamentos capazes de maximizar o potencial genético da pessoa.

O uso da informação genética levanta questões éticas

Quando se descobriu o defeito genético que causa a fibrose cística, muitas pessoas fizeram a previsão de uma “onda sísmica” de testes genéticos para portadores heterozigotos. Pensou-se que todos iriam querer o teste – especialmente os parentes de pessoas com a doença. Contudo essa onda não se desenvolveu. Para descobrir por quê, uma equipe de psicólogos, filósofos da ética e geneticistas entrevistaram 20 mil pessoas nos Estados Unidos. O que os pesquisadores encontraram surpreendeu-lhes. A maioria das pessoas simplesmente não estava muito interessada em sua composição genética, a menos que elas tivessem um parente próximo com uma doença genética e estivessem envolvidas em uma decisão sobre gestação.

No entanto, existem outras pessoas que poderiam estar muito interessadas nos resultados de exames genéticos. Por exemplo,

pessoas com teste positivo para anomalias genéticas, desde hipercolesterolemia até câncer, poderiam ter negados o emprego ou o seguro de saúde. Consequentemente, há leis que proíbem a discriminação baseada em informações genéticas.

A busca por genes valiosos em diversas populações humanas provoca muitas questões sobre a exploração e a comercialização de sequências de DNA de pessoas. Um gene que confere resistência ao câncer, por exemplo, é propriedade de um indivíduo, de um grupo étnico no qual ele pode ser frequente, da companhia farmacêutica que o descobre ou da humanidade em geral?

No início deste capítulo, descrevemos como a população de Quebec está sendo usada para descobrir genes relevantes para doenças humanas. As pessoas estão felizes em colaborar com os laboratórios que realizam as investigações. Várias outras populações que descendem de um pequeno grupo de ancestrais são utilizadas por geneticistas humanos para análises genômicas:

- 2,5 milhões de costa-riquenhos, descendentes de 4 mil ancestrais, há 12 gerações;
- 10 milhões de judeus de Ashkenazi (judeus ortodoxos do leste europeu), descendentes de cerca de 1.500 ancestrais, há 30 gerações;
- 1,6 milhões de sardos (italianos habitantes da Sardenha), descendentes de cerca de 500 ancestrais, há 400 gerações.

Talvez a população mais intensamente examinada em todo o mundo esteja na Islândia, onde 280 mil pessoas são descendentes de cerca de 10 mil colonizadores, que vieram da Europa há 1.100 anos. Criou-se uma empresa, com apoio governamental, para comercializar o conhecimento gerado a partir da análise dos genomas dos islandeses. A abordagem da empresa para explorar este filão genético é exemplificada pela sua busca por genes que predisõem as pessoas à asma, uma doença respiratória:

- Os nomes dos islandeses com asma foram procurados em bancos de dados de genealogia.
- Um grupo de 104 pacientes era descendente de um único ancestral, nascido em 1710 (há 11 gerações). Considerou-se que, provavelmente, os mesmos genes para predisposição à asma estavam presentes em todos os 104 pacientes.
- Buscou-se sequências marcadoras que identificariam alelos comuns a todos os 104 pacientes, e um pequeno número desses genes foi posteriormente identificado.

A caracterização desses genes levará a uma maior compreensão de como um grupo de genes interage para produzir um fenótipo complexo.

O proteoma é mais complexo que o genoma

Conforme mencionado anteriormente, muitos genes codificam mais de uma única proteína (**Figura 17.23A**). Os mecanismos de corte e junção alternativos levam a diferentes combinações de éxons nos mRNAs maduros transcritos a partir de um gene único (ver Figura 14.21). Modificações pós-traducionais também aumentaram o número de proteínas que derivam de um único gene (ver Figura 12.17). No entanto, o total de proteínas produzidas por um organismo – seu **proteoma** – é mais complexo que seu genoma.

Dois tecnologias são utilizadas comumente para analisar o proteoma:

- Em função de suas composições únicas de aminoácidos (estruturas primárias), a maioria das proteínas possui cargas elétricas e tamanhos únicos. Com base nestas duas propriedades

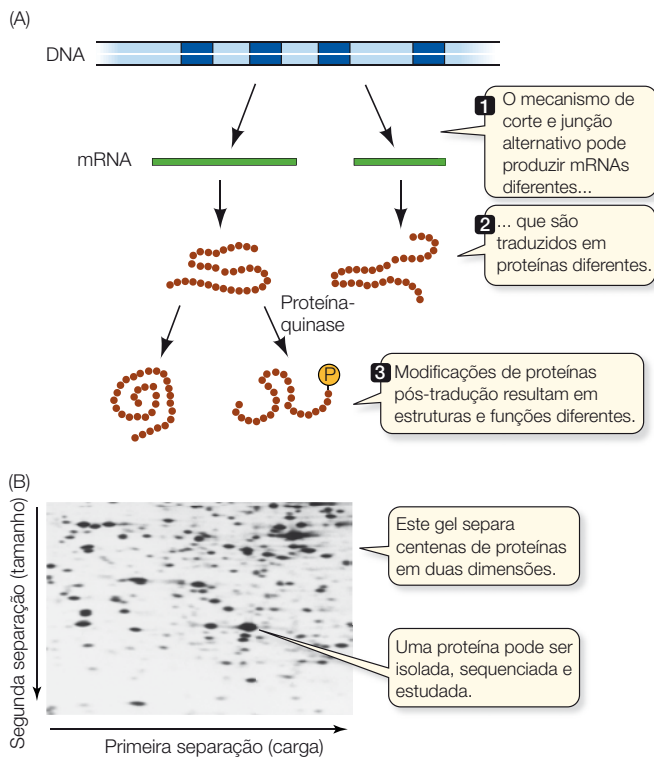


Figura 17.23 Proteômica (A) Um número pequeno de genes pode codificar para um número grande de proteínas. (B) Uma proteína da célula pode ser separada com base na carga e tamanho através de eletroforese em gel. As duas separações, carga e tamanho, podem distinguir a maioria das proteínas uma da outra.

elas podem ser separadas através de *eletroforese em gel bidimensional*. Uma vez isoladas, proteínas individuais podem ser analisadas, sequenciadas e estudadas (**Figura 17.23B**).

- A *espectrometria de massa* utiliza eletromagnetos para identificar proteínas das massas de seus átomos e as exibir por meio de picos em um gráfico.

O objetivo final da proteômica é tão ambicioso quanto o da genômica. Enquanto a genômica busca descrever o genoma e sua expressão, a proteômica procura descrever os fenótipos das proteínas expressadas.

Um exemplo extraordinário de proteômica, combinada com a tecnologia de chip de DNA, consiste na recente comparação de proteínas cerebrais em humanos e chimpanzés. A comparação do DNA sequenciado mostra que humanos e chimpanzés diferem em não mais do que 3% ao nível do DNA. Svante Pääbo e seus colaboradores examinaram a expressão gênica na parte “pensante” (o córtex) dos cérebros de três humanos e de três chimpanzés mortos por causas naturais. De 12 mil sequências de DNA testadas para expressão de mRNA, somente 175 (1,4%) diferiram entre as duas espécies – resultado verdadeiramente modesto. Todavia, a proteômica mostrou que as proteínas específicas expressadas por essas sequências diferem em 7,4%, provavelmente devido ao *splicing* alternativo. As quantidades dessas proteínas diferiram mais ainda (31,4%). Assim, o que diferencia o nosso cérebro do de um chimpanzé é mais quantitativo do que qualitativo. Essa descoberta sugere que o controle da expressão gênica pode ser a chave para a evolução humana.

A biologia de sistemas integra dados de genômica e proteômica

Com a facilidade de geração de sequências de DNA, perfis de expressão de mRNA e perfis proteômicos, uma quantidade enorme de dados sobre sistemas biológicos se acumula. Como todos eles combinam? Esses tipos de estudos são essencialmente *reducionistas*, dissecando a biologia em partes sempre menores, como tem sido a maior parte da ciência biológica até agora. Em contraste, Charles Darwin olhou toda a natureza, combinou-a toda por meio de uma abordagem de “cima para baixo” em sua teoria de seleção natural. Poderíamos fazer o mesmo com nossos dados moleculares?

A **biologia de sistemas** objetiva integrar dados moleculares em uma visão de vida coerente. Um sistema é um grupo de partes que interage com outro, formando um todo muitas vezes maior que a soma das partes. Uma lâmpada de luz elétrica serve de analogia. Você pode pegar as três partes – um filamento feito de tungstênio, uma cúpula de metal e uma bolha fina de vidro – e estudá-las individualmente; mas somente quando as três são colocadas juntas, com o filamento dentro da bolha de vidro e a cúpula de metal na extremidade, surge um “sistema” com propriedades que nenhuma das partes possui por si própria.

Os biólogos de sistemas empenham-se para descobrir cada propriedade emergente por meio de estudos das interações em um sistema biológico. Se as interações dentro de um sistema são compreendidas, podem ser feitas previsões de como os eventos irão se comportar nesse sistema sob novas condições fisiológicas. Por exemplo, quando uma droga é desenvolvida para inibir uma enzima em uma via biológica, a biologia de sistemas pode prever quais os efeitos prováveis sobre muitas outras vias que interagem com a primeira. Essa abordagem poderia produzir drogas com efeitos colaterais mais previsíveis e melhor controlados e muitas vezes, com cuidado, eliminá-los.

A **Figura 17.24** é um diagrama de uma via metabólica. Ela mostra interações entre as quantidades de alguns transcritos de mRNA, proteínas e metabólitos envolvidos em metabolismo de gordura em duas cepas genéticas diferentes de camundongos. Uma cepa apresenta uma mutação que resulta na tendência para desenvolver aterosclerose e a outra (tipo selvagem) não. Quanto mais o ponto é avermelhado, mais da molécula se manifesta na cepa mutante comparada com a do tipo selvagem; quanto mais o ponto é esverdeado, menos da molécula ocorre na cepa mutante. Olhando a esquerda do diagrama, você pode ver que a proteína A claramente tem a síntese estimulada na cepa de camundongo que desenvolve aterosclerose, enquanto a proteína B tem a síntese diminuída nessa cepa mutante.

Os biólogos de sistemas podem tentar utilizar tais informações para entender de que forma o aumento ou a diminuição das quantidades de uma molécula poderia afetar os níveis de outras. Por exemplo, o que aconteceria se uma droga fosse desenvolvida para aumentar o nível de proteína B na cepa mutante de camundongos, de maneira a alcançar o nível observado em camundongos normais? Olhando a Figura 17.24, você pode ver que a proteína B possui várias linhas de interação com outras moléculas, que por sua vez interagem com outras ainda. Um campo inteiramente novo de biologia computacional desenvolve-se para auxiliar os cientistas a produzir esses tipos de previsões.

O objetivo da medicina molecular, como de toda a medicina, consiste em melhorar a saúde do paciente. Os cientistas têm feito grande progresso na compreensão e tratamento de doenças causadas por eventos moleculares únicos, tais como a fenilcetonúria. A nova abordagem da biologia de sistemas contém a promessa para o entendimento e tratamento de doenças mais complexas, tais como as doenças do coração e câncer, que continuam atormentando a humanidade.

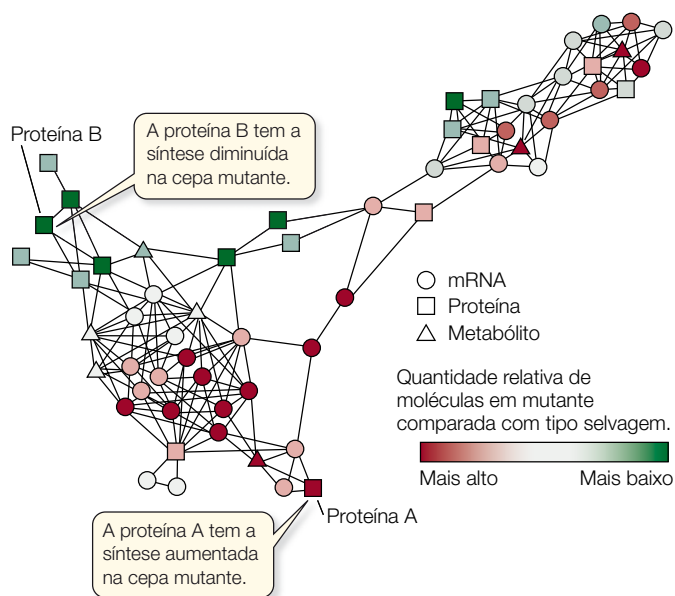


Figura 17.24 Aplicando a biologia de sistemas Este diagrama compara os níveis e interações de transcritos de mRNA, proteínas e metabólitos nas vias que envolvem o metabolismo de gordura em duas cepas de camundongos. Uma cepa (mutante) tem tendência à aterosclerose; a outra (tipo selvagem) não. As intensidades das cores indicam a quantidade de moléculas na cepa mutante comparada com a cepa tipo selvagem (avermelhado significa aumento e esverdeado significa diminuição). As linhas indicam interações entre moléculas.

17.6 RECAPITULAÇÃO

Os avanços na tecnologia de sequenciamento de DNA possibilitaram mapear o genoma humano inteiro. Havendo um mapa do genoma humano torna-se possível isolar genes específicos, comparar seqüências genômicas entre indivíduos e entre espécies e identificar mutações que causam doenças. As próximas etapas incluem a análise do proteoma e a integração do conhecimento molecular nas estruturas da biologia de sistemas.

- Você pode explicar a diferença entre sequenciamento hierárquico e sequenciamento tipo dispersivo (*shotgun*) do DNA? Ver p. 393 e Figura 17.22.
- O que é o proteoma e como ele se relaciona ao genoma? Ver p. 395-396 e Figura 17.23.
- O que é biologia de sistemas e qual a sua importância em medicina molecular? Ver p. 396.

RESUMO DO CAPÍTULO

17.1 Como proteínas com defeito causam doenças?

Anomalias em quase todas as classes de proteínas, incluindo enzimas, proteínas de transporte, proteínas receptoras e proteínas estruturais, implicam em doenças genéticas.

Enquanto uma diferença em um único aminoácido pode ser a causa de uma doença, variações em aminoácidos têm sido detectadas em muitas proteínas funcionais. [Rever Figura 17.2.](#)

Encefalopatias espongiformes transmissíveis (TSE) são doenças cerebrais degenerativas que podem ser transmitidas de um animal para outro através do consumo de tecidos infectados. O agente infeccioso trata-se de um **prion**, proteína de conformação anormal.

Doenças **multifatoriais** são causadas pelas interações de muitos genes e proteínas com o ambiente. Elas são muito mais comuns que doenças causadas por mutações em um único gene.

Padrões de herança previsíveis associam-se com algumas doenças genéticas humanas. Padrões autossômicos recessivos, autossômicos dominantes e padrões ligados ao X são comuns.

17.2 Que tipos de alterações de DNA levam a doenças?

É possível isolar tanto os genes mutantes quanto as proteínas anormais responsáveis por doenças humanas.

A **clonagem posicional** constitui um método de localização de genes causadores de doenças através da descoberta de marcadores genéticos polimórficos herdados com estas doenças.

Os **polimorfismos do tamanho dos fragmentos de restrição (RFLP)** e os polimorfismos nucleotídicos únicos (SNP) são comumente usados como marcadores genéticos em clonagem posicional. [Rever Figura 17.8.](#)

As mutações frequentemente ocorrem quando a citosina foi metilada para a 5-metilcitosina. [Rever Figura 17.9.](#)

Os efeitos da síndrome do cromossomo X frágil pioram a cada geração. Esse padrão resulta de uma **expansão de repetição de trincas** de nucleotídeos. [Rever Figura 17.10.](#)

O **imprinting genômico** resulta na expressão diferencial de um gene que depende da origem paterna ou materna do qual foi herdado.

17.3 De que modo a triagem genética detecta doenças?

A **triagem genética** pode detectar doenças genéticas humanas, pessoas com alelos que predisponham a essas doenças ou portadores dessas doenças.

A triagem genética pode ser realizada pela procura da expressão anormal de uma proteína.

O **teste de DNA** consiste na identificação direta de alelos mutantes por comparação das seqüências. Qualquer célula pode ser testada em qualquer momento do ciclo de vida.

Os dois métodos predominantes de teste de DNA são o método de clivagem alelo-específica e o método de hibridização com oligonucleotídeo alelo-específico. [Rever Figuras 17.12.](#)

17.4 O que é câncer?

Células de câncer são incapazes de responder aos controles normais sobre o ciclo celular e dividem-se continuamente.

Os **tumores** podem ser **benignos** ou **malignos**. Os tumores malignos podem alastrar-se para outras partes do organismo pelo processo chamado **metástase**.

RESUMO DO CAPÍTULO

Alguns tipos de cânceres humanos são causados por vírus, mas 85% dos cânceres humanos são causados por mutações genéticas de células somáticas. Essas mutações ocorrem de forma muito mais comum em células em divisão. **Carcinógenos** podem causar mutações que levam ao câncer, mas algumas mutações surgem espontaneamente.

Células normais contêm **oncogenes** que estimulam a divisão celular. Quando sofrem mutação, esses genes tornam-se ativos em uma célula na qual eles normalmente estão desativados. **Rever Figura 17.15.**

Células normais também contêm **genes supressores de tumor** que inibem a divisão celular. Quando mutados, eles tornam-se inativos. **Rever Figura 17.17.**

A hipótese dos dois acidentes descreve as diferenças entre câncer hereditário, no qual um indivíduo herda um alelo mutante de um gene supressor de tumor e depois ocorre uma mutação somática em um segundo alelo, e câncer esporádico, no qual dois eventos de mutação devem ocorrer na mesma célula somática a fim de produzir câncer. **Rever Figuras 17.16.**

Na maioria dos casos, as mutações devem ativar vários oncogenes e inativar vários genes supressores de tumor a fim de produzirem um tumor maligno. **Rever Figura 17.19.**

17.5 Como são tratadas as doenças genéticas?

Há três maneiras para modificar o fenótipo de uma doença genética: restringir o substrato de uma enzima deficiente, inibir uma reação metabólica prejudicial ou fornecer uma proteína ausente.

Na **terapia gênica**, um gene mutante é substituído por um gene normal. Tanto terapias *ex vivo* quanto *in vivo* estão sendo desenvolvidas. **Rever Figura 17.21.**

17.6 O que temos aprendido a partir do projeto genoma humano?

O genoma humano inteiro foi sequenciado usando os métodos de sequenciamento **hierárquico** e **dispersivo**. **Rever Figura 17.22.**

O genoma humano possui somente cerca de 24 mil genes.

Humanos produzem muito mais proteínas do que o previsto por seu número de genes. Dessa forma, o **proteoma** é mais complexo que o genoma. **Rever Figura 17.23.**

A **biologia de sistemas** esforça-se para unificar os dados obtidos a partir da genômica e proteômica em um todo coerente e previsível. **Rever Figura 17.24.**

QUESTÕES

- Fenilcetonúria é um exemplo de uma doença genética em que:
 - uma única enzima não é funcional.
 - a herança está ligada ao sexo.
 - um casal sem a doença não pode gerar uma criança doente.
 - o retardo mental sempre ocorre, apesar do tratamento.
 - uma proteína transportadora não funciona adequadamente.
- Mutações do gene para β -globina:
 - geralmente são letais.
 - ocorrem somente no aminoácido da posição 6.
 - são em número de centenas.
 - sempre resultam em eritrócitos falciformes.
 - sempre podem ser detectadas por eletroforese em gel.
- Doenças multifatoriais (complexas):
 - são menos comuns que doenças causadas por um único gene.
 - envolvem a interação de muitos genes com o ambiente.
 - afetam menos de 1% dos humanos.
 - envolvem a interação de diversos mRNA.
 - são exemplificadas pela anemia falciforme.
- Na síndrome do X frágil:
 - fêmeas são afetadas de forma mais severa que indivíduos do sexo masculino.
 - uma sequência curta de DNA encontra-se repetida muitas vezes para criar o sítio frágil.
 - tanto o cromossomo X quanto o Y tendem a se romper quando preparados para a microscopia.
 - toda a pessoa portadora do gene que causa a síndrome apresenta retardo mental.
 - o padrão básico de herança é autossômico dominante.
- Por que maioria das doenças genéticas ocorre raramente?
 - É pouco provável que cada pessoa seja um portador de alelos prejudiciais.
 - Normalmente, doenças genéticas são ligadas ao sexo e raras em indivíduos do sexo feminino.
 - Doenças genéticas sempre são dominantes.
 - Provavelmente, os dois pais não são portadores dos mesmos alelos recessivos.
 - As taxas de mutação em humanos são baixas.
- Os pontos preferenciais (*hot spots*) de mutação em DNA humano:
 - ocorrem sempre em genes transcritos.
 - são comuns em citosinas que foram modificadas até 5-metilcitosina.
 - envolvem fragmentos longos de nucleotídeos.
 - ocorrem onde há repetições longas.
 - são muito raros em genes que codificam proteínas.
- A triagem genética de recém-nascidos para PKU:
 - é muito cara.
 - detecta fenilcetonas na urina.
 - não tem levado à prevenção do retardo mental resultante desta doença.
 - deve ser realizada durante o primeiro dia de vida de um bebê.
 - utiliza o crescimento bacteriano para detectar o excesso de fenilalanina no sangue.
- O diagnóstico genético por meio de teste de DNA:
 - detecta apenas alelos mutantes e não alelos normais.
 - pode ser realizado somente em ovócitos e espermatozoides.
 - envolve a hibridização com o rRNA.
 - utiliza enzimas de restrição e um sítio polimórfico.
 - não pode ser realizado com PCR.

9. A maioria dos cânceres humanos:
 - a. são causados por vírus.
 - b. estão em células sanguíneas ou em suas precursoras.
 - c. envolvem mutações de células somáticas.
 - d. propagam-se preferencialmente através de tecidos sólidos do que pelo sistema circulatório sanguíneo ou linfático.
 - e. são herdados.
10. Os tratamentos atuais para doenças genéticas incluem todos os seguintes, *exceto*:
 - a. restrição de um substrato na dieta.
 - b. substituição do gene mutante em todas as células.
 - c. alívio dos sintomas do paciente.
 - d. inibição de uma reação metabólica prejudicial.
 - e. fornecimento de uma proteína ausente.

PARA DISCUSSÃO

1. Como oncogenes e genes supressores de tumor e suas funções alteram-se em células tumorais? Proponha alvos para terapia do câncer, envolvendo os produtos desses genes.
2. No passado, era comum em pessoas com fenilcetonúria (PKU), colocadas em dieta de baixa concentração de fenilalanina após o nascimento, permitir-se o retorno a uma dieta normal durante os anos de sua adolescência. Embora os níveis de fenilalanina no seu sangue fossem altos, pensava-se que seu cérebro havia ultrapassado o estágio de ser prejudicado. No entanto, se uma mulher com PKU ficava grávida, surgia um problema. Caracteristicamente, o feto é heterozigoto, mas nos primeiros estágios de desenvolvimento, é incapaz de metabolizar os níveis altos de fenilalanina que chegam pelo sangue da mãe. Por que o feto é heterozigoto? O que você acha que aconteceria ao feto durante essa situação de "PKU materna"? Qual seria seu conselho a uma mulher com PKU que quisesse ter um filho?
3. A fibrose cística é uma doença autossômica recessiva na qual um muco espesso é produzido nos pulmões e nas vias aéreas. O gene responsável por essa doença codifica uma proteína composta de 1.480 aminoácidos. Na maioria dos pacientes com fibrose cística, a proteína apresenta 1.479 aminoácidos: uma fenilalanina está faltando na posição 508. Um bebê nasceu com fibrose cística e possui um irmão mais velho. Como você testaria o DNA do irmão mais velho para determinar se ele consiste em um portador para fibrose cística? De que forma você planejaria um protocolo de terapia gênica para "curar" as células no pulmão e nas vias aéreas do irmão mais novo?
4. Inúmeros esforços encontram-se em andamento para identificar polimorfismos genéticos humanos correlacionados com doenças multifatoriais tais como diabetes, doenças cardíacas e câncer. Quais seriam os usos dessas informações? Que preocupações você acha que surgem nessas pessoas cujos genomas são analisados?

PARA INVESTIGAÇÃO

Vimos que células humanas em cultivo podem ser transformadas de normais para células tumorais (ver Figura 17.18) e que genes humanos podem ser isolados através de clonagem posicional (ver Figura 17.8). Um grupo de parentes de pacientes com câncer de próstata não apresenta mutações

em nenhum dos genes supressores de tumor conhecidos. Você suspeita que um gene supressor de tumor novo, desconhecido até agora, sofreu mutação. De que maneira você utilizaria esses métodos para isolar o gene novo desses pacientes?

O mais perigoso dos inimigos

Em 6 de janeiro de 1777, George Washington, comandante do exército revolucionário da recém criada nação dos Estados Unidos da América, escreveu para o seu médico-chefe: "Levando em conta a rápida disseminação da varíola, e temendo que nenhuma precaução possa evitar a contaminação de todo o nosso exército, determinei a inoculação da tropa. Caso a doença venha com sua virulência usual, deveremos temê-la mais do que a espada do inimigo".

Washington estava falando com experiência. Ele próprio sobrevivera à doença na adolescência, em 1751. Além disso, durante o ano de 1776, seu exército havia perdido mil homens no campo de batalha, mas 10 mil para a varíola. Após a inoculação de seus homens, a taxa de mortalidade devida à varíola entre o Exército Revolucionário decresceu abruptamente.

A *inoculação* do exército de Washington consistiu na introdução, em um indivíduo saudável, de uma pequena quantidade de fluido obtido a partir de uma pústula de varíola proveniente de uma vítima recente da doença. Por razões não compreendidas naquela época, a maioria das pessoas inoculadas dessa maneira tornava-se imune à fúria devastadora da varíola – da mesma forma que

Washington, tendo sobrevivido à doença, também era imune.

Duas décadas depois, no interior da Inglaterra, o médico Edward Jenner observou que mulheres que trabalhavam na ordenha de vacas frequentemente contraíam uma infecção fraca denominada de *cowpox* (ou varíola bovina) e que essas mulheres pareciam *não* ser afetadas pela epidemia de varíola que assolava o país. Presumindo que havia algum tipo de reatividade cruzada entre essas duas infecções, Jenner realizou um experimento que a ciência médica moderna teria proibido por não se enquadrar nos procedimentos éticos atuais.

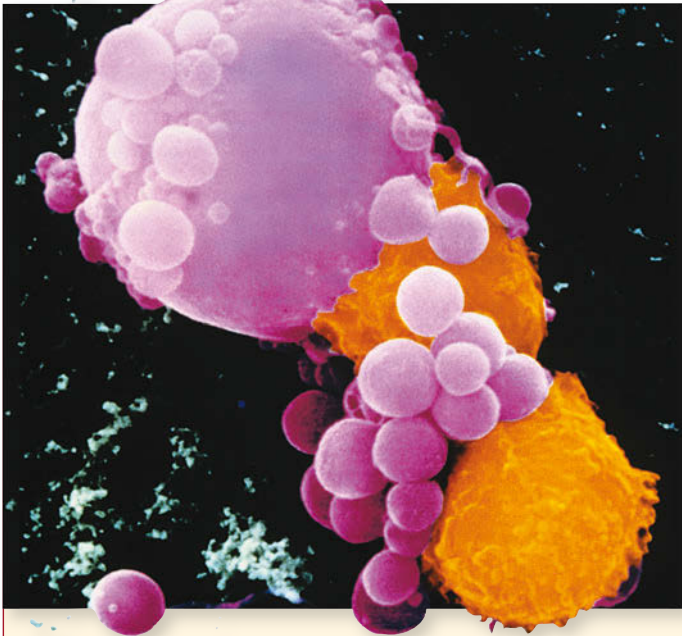
Jenner esfregou material seco triturado derivado de lesões de *cowpox* em pequenos arranhões feitos no braço de um menino chamado James Phipps. Como era esperado, James apresentou um quadro de infecção leve de *cowpox*. Seis semanas depois, Jenner infectou James com material proveniente de lesões de varíola, descobrindo que, conforme ele esperava (e, presumimos, desejava), o rapaz era imune à varíola.

Devido à conexão com a doença bovina, e considerando que a palavra latina que designa os bovinos é *vacca*, Jenner chamou esse procedimento de *vacinação*. Sendo um procedimento muito mais seguro que a inoculação, a prática da vacinação rapidamente popularizou-se. Vacinas mais potentes foram desenvolvidas e programas de vacinação em massa foram implantados com o intuito de vacinar toda a população mundial. Nos anos 1980, a varíola havia literalmente desaparecido.

Por que Washington era imune à varíola? Por que a inoculação protegeu seus soldados? Como o programa de vacinação livrou o mundo dessa doença? As respostas para essas perguntas encontram-se nas células e moléculas de nosso sistema imune. Quando Washington contraiu varíola em 1751, células brancas sanguíneas especializadas, chamadas de macrófa-

Vacinação Uma representação artística da primeira vacinação contra a varíola. Edward Jenner usou uma solução com um vírus relacionado – o vírus da *cowpox* – para induzir imunidade contra o vírus da varíola.





Células T em ação Duas células T citotóxicas (em laranja) entram em contato com células infectadas por vírus (em rosa). A célula infectada, no alto, à esquerda, começa a morrer, como pode ser observado pela presença de bolhas em sua membrana. O processo está terminado na célula central, que se desintegrou em pequenas partículas.

gos, internalizaram e destruíram algumas partículas do vírus da varíola e apresentaram fragmentos dos vírus em sua superfície. Outras células brancas sanguíneas especializadas, denominadas células T, reconheceram esses fragmentos e tornaram-se “ativadas”. Descendentes dessas células T ativadas atacaram as células de Washington infectadas pelo vírus, evitando a propagação letal da doença. Um outro grupo de células descendentes daquelas células T persistiu em seu corpo como “células de memória” e rapidamente o defendeu quando exposto à doença, quando adulto. A inoculação e a vacinação contra um patógeno estimulam a formação dessas células de memória, que então protegem o organismo contra infecções.

NESTE CAPÍTULO vemos de que forma o sistema imune inato tenta impedir a entrada de patógenos no organismo. A seguir, descrevemos como o sistema imune alveja e destrói invasores como o vírus da varíola. Aprendemos, ainda, de que maneira a reorganização de material genético auxilia os animais a lutar contra a inacreditável diversidade de invasores em potencial. Concluimos o capítulo destacando o que acontece quando esse sistema complexo e essencial apresenta falhas.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 18.1** Quais os principais sistemas de defesa dos animais?
- 18.2** Quais são as características das defesas inespecíficas?
- 18.3** Como se desenvolve a imunidade específica?
- 18.4** O que é a resposta imune humoral?
- 18.5** O que é a resposta imune celular?
- 18.6** Como os animais produzem tantos anticorpos diferentes?
- 18.7** O que acontece quando o sistema imune falha?

18.1 Quais os principais sistemas de defesa dos animais?

Animais possuem diversos mecanismos de defesa contra **patógenos** – organismos deletérios e vírus que podem provocar doenças. Esses sistemas de defesa baseiam-se na distinção entre o *próprio* – as moléculas do próprio animal – e o *não próprio*, ou moléculas estranhas. Nesta seção consideraremos os mecanismos pelos quais os animais reconhecem as moléculas não próprias e as combatem. Vários desses mecanismos se baseiam em princípios genéticos e de biologia molecular discutidos em capítulos anteriores.

Existem dois tipos gerais de mecanismos de defesa:

- **Defesas inespecíficas** ou *defesas inatas* são mecanismos herdados que protegem o corpo contra diversos tipos de patógenos. Defesas inespecíficas, que caracteristicamente atuam de forma rápida, incluem barreiras como a pele, moléculas tóxicas contra os invasores e células fagocíticas que os ingerem. A maioria dos animais – tanto invertebrados quanto vertebrados – assim como os vegetais, possuem mecanismos de defesa inata.
- **Defesas específicas** são mecanismos *adaptativos* direcionados para um patógeno específico. Por exemplo, esses sistemas de defesa podem gerar um anticorpo proteico capaz de reconhecer e de se ligar a um vírus determinado, destruindo-o, caso algum dia esse vírus penetre na corrente sanguínea. Mecanismos de defesa específica estão presentes nos animais vertebrados. Eles são caracteristicamente lentos em seu estabelecimento e apresentam uma longa duração.

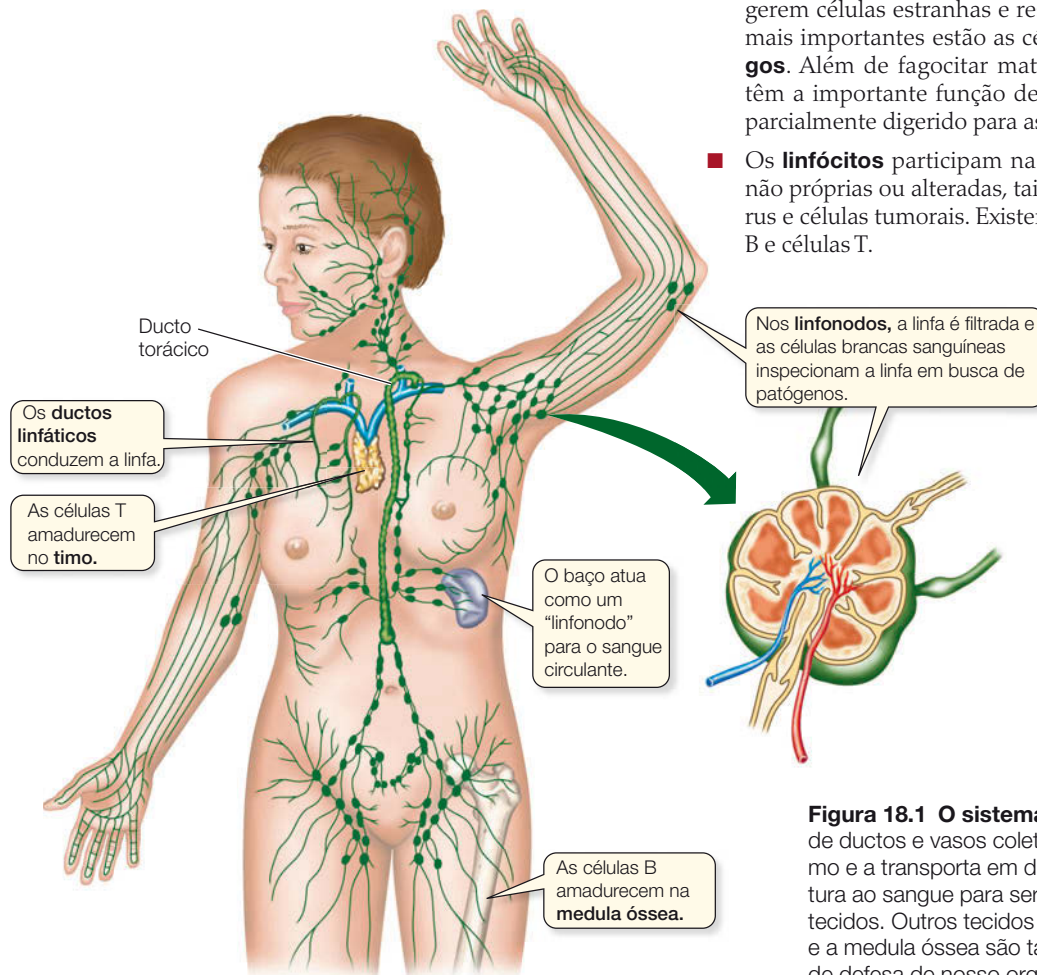
Em animais que apresentam os dois tipos de mecanismos, as defesas inatas e específicas atuam em conjunto sob a forma de um sistema coordenado. Visto que as defesas específicas frequentemente necessitam de dias, ou mesmo semanas, até tornarem-se efetivas, a linha de frente de defesa do organismo é representada pelas defesas inatas. Considerando que uma bactéria pode dar origem a uma progênie de 20 milhões de indivíduos em um único dia, as defesas inatas desempenham um papel importantíssimo na manutenção da sanidade do organismo.

O sangue e tecidos linfoides desempenham importantes papéis nos sistemas de defesa

Os componentes do sistema de defesa em mamíferos estão dispersos pelo corpo e interagem com quase todos outros tecidos e órgãos. Os *tecidos linfoides*, que incluem o timo, a medula óssea, o baço e os linfonodos, constituem parte essencial do sistema de defesa (Figura 18.1). O sangue e a linfa são fundamentais para seu funcionamento.

Tanto o sangue quanto a linfa são fluidos tissulares que consistem em água, solutos dissolvidos e células.

- O **plasma sanguíneo** é uma solução amarelada que contém íons, pequenos solutos moleculares e proteínas solúveis. As células vermelhas, os glóbulos brancos e as plaquetas (fragmentos celulares essenciais para a coagulação sanguínea) estão em suspensão no plasma. Ao passo que os glóbulos vermelhos encontram-se normalmente confinados ao sistema circulatório fechado (o coração, as artérias, os capilares e as veias), os glóbulos brancos e as plaquetas são também encontrados na linfa.
- A **linfa** é um fluido derivado do sangue e de outros tecidos e se acumula em espaços intercelulares ao longo do organismo. A partir desses espaços, a linfa move-se lentamente para o interior de vasos do *sistema linfático*. Pequenos capilares linfáticos conduzem esse fluido até vasos maiores que se unem formando um grande vaso, o *ducto torácico*, que se liga a uma veia principal (a veia subclava esquerda) próxima ao coração. Por meio desse sistema de vasos, o fluido linfático finalmente retorna ao sangue e ao sistema circulatório.



Em vários locais, nos vasos linfáticos, existem pequenas estruturas arredondadas denominadas de **linfonodos**, que contêm diversos tipos de glóbulos brancos sanguíneos. Conforme a linfa passa através de um linfonodo, ela é filtrada e "inspecionada" por essas células de defesa para a retenção de materiais estranhos.

Os glóbulos brancos desempenham diversas funções de defesa

Um mililitro de sangue contém em torno de 5 bilhões de glóbulos vermelhos e 7 milhões de glóbulos brancos. Todas essas células se originam a partir de *células tronco pluripotentes* da medula óssea, que se dividem constantemente e podem diferenciar em uma ampla variedade de tipos celulares (Figura 18.2). Os **glóbulos brancos** (também denominados de *leucócitos*) apresentam núcleo e são incolores, o que os diferencia das células vermelhas de mamíferos, que perdem o núcleo durante o desenvolvimento. Os glóbulos brancos podem deixar o sistema circulatório fechado e entrar no espaço intercelular, onde células e substâncias estranhas encontram-se presentes. Em resposta à invasão de patógenos, o número de glóbulos brancos no sangue e na linfa pode subir rapidamente, fornecendo para os profissionais médicos um potente indício para a detecção de infecções.

Vários tipos de glóbulos brancos apresentam importância para a defesa do organismo. Os leucócitos classificam-se em dois grandes grupos:

- As **células granulares** incluem as células sinalizadoras produtoras de histamina e os **fagócitos**, que internalizam e digerem células estranhas e restos celulares. Entre os fagócitos mais importantes estão as células dendríticas e os **macrófagos**. Além de fagocitar materiais estranhos, os macrófagos têm a importante função de apresentar o material estranho parcialmente digerido para as células T.
- Os **linfócitos** participam na defesa específica contra células não próprias ou alteradas, tais como células infectadas por vírus e células tumorais. Existem dois tipos de linfócitos, células B e células T.

Figura 18.1 O sistema linfático humano Uma rede de ductos e vasos coleta a linfa dos tecidos do organismo e a transporta em direção ao coração, onde se mistura ao sangue para ser bombeada novamente rumo aos tecidos. Outros tecidos linfoides, tais como o timo, baço e a medula óssea são também essenciais para o sistema de defesa de nosso organismo.

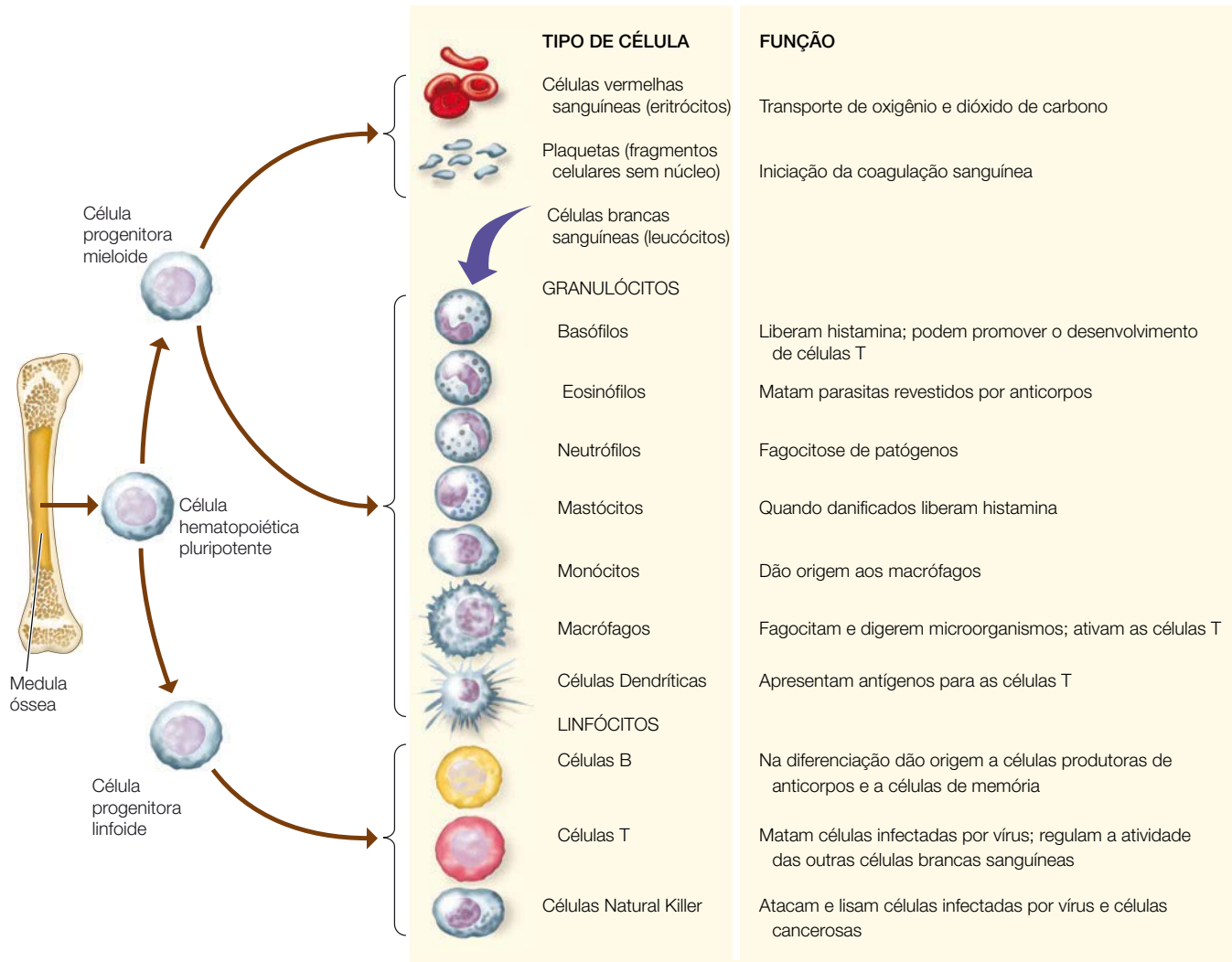


Figura 18.2 Células sanguíneas Células-tronco pluripotentes na medula óssea podem diferenciar-se em células vermelhas, em plaquetas e nos diversos tipos de células brancas sanguíneas.

- As **células T** imaturas migram da medula óssea, através do sangue, para o timo, onde amadurecem.
- As **células B** maduras deixam a medula óssea e circulam nos vasos sanguíneos e linfáticos. Essas células produzem proteínas especializadas denominadas *anticorpos*, que entram no sangue e se ligam a substâncias não próprias.

Proteínas de defesa e outros sinais são também essenciais para as interações, o controle e as atividades de defesa dessas células brancas sanguíneas.

Proteínas do sistema imune ligam-se a patógenos ou sinalizam para outras células

As células que defendem o organismo de mamíferos atuam em conjunto, da mesma forma que os atores de uma peça teatral, interagindo umas com as outras e com as células e/ou pató-

genos invasores. Essas interações célula-célula realizam-se por uma ampla variedade de proteínas-chave, incluindo receptores, outras proteínas de superfície celular e moléculas de sinalização. Essas proteínas serão discutidas com detalhe mais adiante neste capítulo. Por enquanto, mencionamos quatro proteínas principais:

- Os **anticorpos** são proteínas que se ligam especificamente a determinadas substâncias identificadas pelo sistema imune como não próprias ou próprias alteradas, levando à desnaturação da substância não própria invasora. Os anticorpos são secretados pelas células B, como armas de defesa.
- Os **receptores de célula T** são proteínas integrais de membrana presentes na superfície de células T. Eles reconhecem e ligam-se a substâncias não próprias na superfície de outras células.
- As proteínas do **complexo principal de histocompatibilidade (MHC)** projetam-se a partir da superfície de grande parte das células de mamíferos. Elas são importantes marcadores para o autorreconhecimento e desempenham funções fundamentais na coordenação das interações entre linfócitos e macrófagos.

- As **citocinas** são proteínas solúveis de sinalização, liberadas pelas células T, macrófagos e outras células. Elas se ligam a células-alvo e alteram seu comportamento. Diferentes citocinas ativam ou inativam células B, macrófagos e células T. Algumas citocinas limitam o crescimento canceroso por meio da eliminação de células tumorais.

18.1 RECAPITULAÇÃO

Animais possuem defesas específicas e inespecíficas contra patógenos, ambas baseadas em sua capacidade de diferenciar o próprio do não próprio. As defesas específicas marcam invasores específicos, direcionando-os para a destruição.

- Você compreende as diferenças entre defesas específicas e inespecíficas? Ver p. 401.
- Quais são as duas classes de células brancas sanguíneas e como elas atuam nos sistemas de defesa de vertebrados? Ver p. 402-403 e Figura 18.2.

As funções a serem desempenhadas pelas defesas específicas no combate a doenças frequentemente dependem do sucesso da resposta inespecífica direcionada contra os patógenos invasores. A seguir, analisaremos as defesas inespecíficas que protegem os vertebrados de doenças.

18.2 Quais são as características das defesas inespecíficas?

As defesas inespecíficas ou *inatas* em geral abarcam os mecanismos de proteção que tentam impedir que os patógenos invadam um determinado organismo. Conforme mencionado anteriormente, elas representam a primeira linha no sistema de defesa do corpo, tanto em termos de local quanto de tempo. Enquanto o sistema de defesa específico dos vertebrados evoluiu há aproximadamente 500 milhões de anos, as defesas inespecíficas são muito mais antigas. Em humanos, essas defesas incluem tanto barreiras físicas quanto mecanismos celulares e químicos (Tabela 18.1).

Barreiras e agentes locais defendem o organismo contra invasores

A pele constitui uma defesa inespecífica de especial importância contra invasores. Os fungos, as bactérias e os vírus raramente penetram uma pele íntegra. Porém, uma lesão na pele ou em uma superfície de tecido interno aumenta enormemente o risco de infecção por patógenos.

As bactérias e os fungos que normalmente vivem e se reproduzem em grande número nas superfícies de nosso corpo sem causar doenças denominam-se **flora normal**. Esses ocupantes naturais de nosso corpo competem com patógenos por espaço e por nutrientes e constituem, desse modo, uma forma de defesa inespecífica.

TABELA 18.1 Defesas humanas inespecíficas

MECANISMO E DEFESA	FUNÇÃO
Barreiras de superfície	
Pele	Evita a entrada de patógenos e de substâncias estranhas
Secreções ácidas	Inibem o crescimento de bactérias na pele
Mucosa	Evita a entrada de patógenos, produz defensinas que matam os patógenos
Secreções mucosas	Aprisionam bactérias e outros patógenos nos tratos digestivo e respiratório
Pelos nasais	Filtram bactérias nas vias respiratórias
Cílios	Movimentam o muco e o material retido no muco para fora das vias respiratórias
Suco gástrico	O HCl concentrado e proteases destroem patógenos no estômago
Acidez vaginal	Limita o crescimento de fungos e bactérias no trato reprodutivo feminino
Lágrimas, saliva	Lubrificam e lavam, contêm lisozima, que destrói bactérias
Defesas inespecíficas celulares, químicas e coordenadas	
Flora normal	Compete com os patógenos, pode produzir substâncias tóxicas para os patógenos
Febre	Resposta sistêmica corporal que inibe a multiplicação microbiana e acelera os processos de reparo do organismo
Tosse, espirro	Expelem patógenos das vias respiratórias superiores
Resposta inflamatória (envolve o extravasamento de plasma sanguíneo e fagócitos a partir dos capilares)	Limita a disseminação de patógenos aos tecidos adjacentes, concentra as defesas, digere patógenos e células mortas dos tecidos, libera mediadores químicos que atraem fagócitos e linfócitos
Fagócitos (macrófagos e neutrófilos)	Englobam e destroem os patógenos que penetram no organismo
Células Natural Killer	Atacam e lisam células infectadas por vírus e células cancerosas
Proteínas antimicrobianas	
Interferons	Liberados por células infectadas por vírus para proteger o tecido sadio contra infecções virais, mobilizam as defesas específicas
Proteínas do complemento	Lisam microorganismos, ativam a fagocitose e auxiliam as respostas inflamatórias e humorais

A pele é um dos principais órgãos do corpo de um vertebrado. Em um indivíduo humano adulto “padrão”, a pele responde por aproximadamente 15% do peso corporal. Em uma polegada quadrada da pele de um ser humano, encontram-se tipicamente em torno de 500 glândulas sudoríparas, 20 vasos sanguíneos e mais de mil terminações nervosas.

As membranas mucosas encontradas na superfície dos sistemas visual, respiratório, digestivo, excretor e reprodutivo possuem outras defesas contra patógenos. As lágrimas, o muco nasal e a saliva possuem uma enzima chamada **lisozima**, que ataca as paredes celulares de diversas bactérias. O muco, nas narinas, retém microrganismos transportados pelo ar, e grande parte dos microrganismos que consegue ultrapassar este filtro acaba sendo capturada pelo muco em regiões mais profundas do trato respiratório. O muco e os patógenos capturados são removidos das vias respiratórias pelo batimento dos cílios, que movimentam continuamente uma camada de muco e resíduos para cima, em direção à boca e ao nariz. Os espirros constituem outra maneira de remover microrganismos do trato respiratório.

Além disso, as membranas mucosas contêm **defensinas**, peptídeos que consistem em 29 a 42 aminoácidos e possuem domínios hidrofóbicos. Essas moléculas são tóxicas para um amplo espectro de patógenos, inclusive bactérias, microrganismos eucariotos e vírus envelopados. As defensinas apresentam a capacidade de se inserir na membrana plasmática desses organismos e, através de mecanismos ainda desconhecidos, matar os invasores. Elas também são produzidas nos fagócitos, onde medeiam a morte dos patógenos capturados via fagocitose.

Os patógenos que alcançam o trato digestivo (estômago, intestino delgado e intestino grosso) deparam-se com outros mecanismos de defesa. O suco gástrico no estômago compõe um ambiente fatal para várias bactérias devido à secreção de ácido clorídrico e de proteases (enzimas que digerem proteínas). As paredes de revestimento do intestino delgado, intactas, não são normalmente penetradas por bactérias e alguns patógenos morrem devido aos sais biliares secretados nessa região do trato digestivo. O intestino grosso abriga várias bactérias, que se multiplicam livremente; no entanto, elas são geralmente removidas rapidamente junto com as fezes. A maioria das bactérias presente no intestino grosso pertence à flora normal e beneficia seus hospedeiros. Provavelmente aportamos novos componentes a essa flora benéfica quando ingerimos alimentos que contêm culturas ativas, como iogurtes e diferentes queijos.

Todas essas barreiras e agentes locais constituem mecanismos de defesa *inespecíficos*, pois atuam da mesma forma sobre qualquer patógeno. Defesas inespecíficas mais complexas estão à espreita de qualquer patógeno que conseguir escapar dessa primeira linha de defesa.

Outras defesas inespecíficas incluem proteínas especializadas e processos celulares

Os patógenos que penetram através das superfícies internas ou externas do corpo encontram defesas inespecíficas mais complexas, que envolvem tanto a secreção de diversas proteínas de defesa como células de defesa.

PROTEÍNAS DO COMPLEMENTO O sangue de vertebrados contém em torno de 30 diferentes proteínas com ação antimicrobiana que compõem o **sistema do complemento**. Essas proteínas, em diferentes combinações, fornecem três tipos de defesa. Em cada tipo, as proteínas do complemento atuam em uma sequência característica, ou *cascata*, em que cada uma ativa a seguinte.

- Inicialmente elas se aderem aos micróbios, auxiliando assim os fagócitos a reconhecê-los e destruí-los.
- A seguir, elas ativam a resposta inflamatória e atraem fagócitos para o local de infecção.
- Finalmente, elas lisam (rompem) células invasoras (tais como bactérias).

INTERFERONS Quando as células são infectadas por vírus, produzem pequenas quantidades de proteínas antimicrobianas conhecidas como **interferons**, que aumentam a resistência das células vizinhas à célula infectada contra infecções do mesmo vírus ou mesmo de outros vírus. Os interferons foram identificados em diversos vertebrados e consistem em uma das primeiras linhas de defesa inespecífica do corpo contra a disseminação de infecções virais.

Os interferons apresentam pequenas diferenças entre espécies, e cada espécie de vertebrado produz, pelo menos, três interferons diferentes. Todos os interferons são glicoproteínas (proteínas com grupos carboidrato ligados), compostas por aproximadamente 160 aminoácidos. Através de sua ligação a receptores na membrana plasmática de células não infectadas, os interferons estimulam uma via de sinalização que inibe a reprodução viral no interior das células infectadas. Estimulam ainda a atividade lisossomal que digere proteínas virais originando peptídeos que, transportados para a superfície da célula, estimulam o sistema imune específico (ver Seção 18.5).

FAGÓCITOS Alguns fagócitos trafegam livremente no sistema circulatório e linfático; outros podem deixar os vasos sanguíneos e aderir a determinados tecidos. As células patogênicas, vírus ou fragmentos desses invasores podem aderir à membrana plasmática de um fagócito (**Figura 18.3**), que os internalizará por fagocitose. As defensinas presentes no interior desses fagócitos provocarão a morte dos patógenos.

CÉLULAS NATURAL KILLER Uma classe de linfócitos conhecida como **células natural killer** (“assassinas por natureza”), podem diferenciar as células infectadas por vírus e algumas células tumorais das células normais e realizar a lise dessas células-alvo. Além dessa ação inespecífica, as células *natural killer* interagem com as defesas específicas.

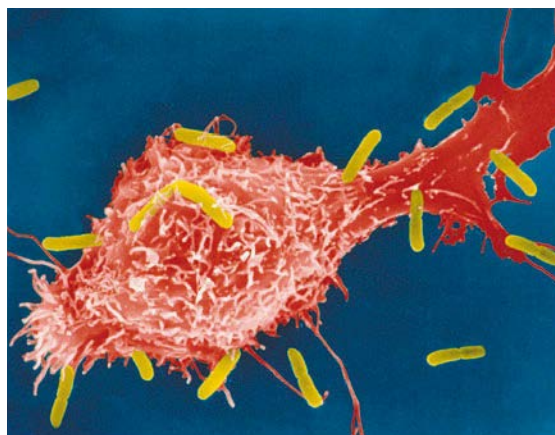


Figura 18.3 Um fagócito e sua presa bacteriana Diversas bactérias (em amarelo nesta micrografia colorida artificialmente) aderiram à superfície de um fagócito na corrente sanguínea humana. As bactérias serão englobadas e destruídas pelo fagócito. Um único fagócito pode digerir diversas bactérias.

A inflamação é uma resposta coordenada direcionada contra infecções ou lesões

O corpo emprega a resposta **inflamatória** quando se confronta com infecções ou qualquer outro processo que cause lesão tecidual, seja na superfície do organismo ou em seu interior. As células lesadas do organismo dão início à resposta inflamatória através da liberação de pequenas moléculas e enzimas. As células que aderem à pele ou ao tecido de revestimento de órgãos, denominadas **mastócitos**, liberam um sinal químico, denominado **histamina**, quando lesionadas; o mesmo acontece com os glóbulos brancos sanguíneos chamadas **basófilos**.

Sem dúvida você conhece os sintomas da inflamação: vermelhidão e inchaço, acompanhados de calor e dor. A vermelhidão e o calor da inflamação resultam da dilatação de vasos sanguíneos induzida pela liberação de histamina nas áreas infectadas ou lesionadas (**Figura 18.4**). Devido à histamina, os capilares (os menores vasos sanguíneos) tornam-se frouxos, permitindo o extravasamento de plasma sanguíneo, junto com proteínas do complemento e fagócitos, para os tecidos, o que provoca o inchaço característico. A dor na inflamação resulta da ação de enzimas liberadas e do aumento de pressão (decorrente do inchaço) sobre as terminações nervosas sensoras.

Em tecidos danificados ou infectados, as proteínas do complemento e outros sinalizadores químicos atraem fagócitos – inicialmente neutrófilos e depois monócitos, que se diferenciam em macrófagos. Os fagócitos, que internalizam os invasores e restos de células mortas, constituem os principais responsáveis pela melhora clínica associada ao processo inflamatório. Eles produzem

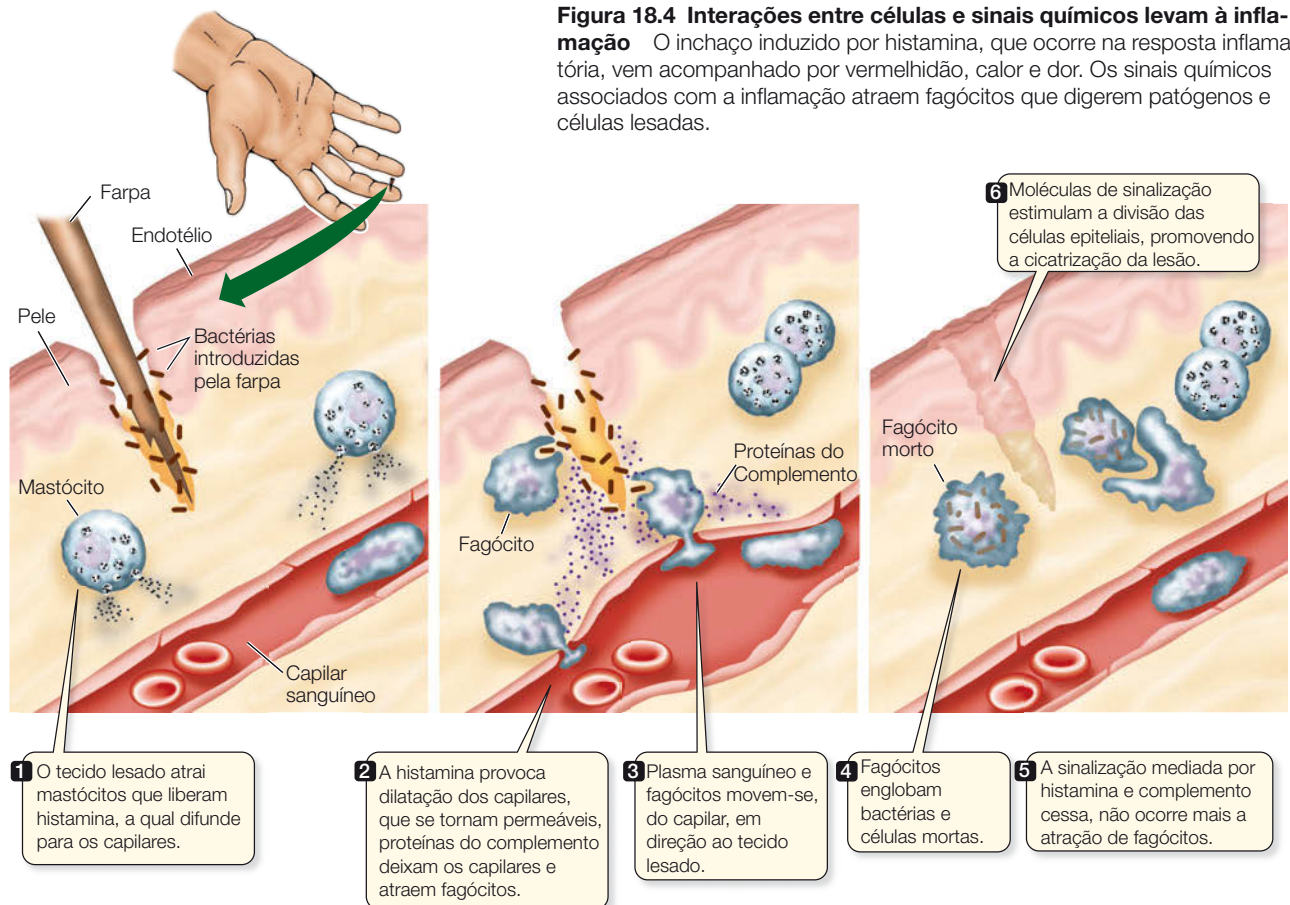
diversas citocinas que (entre outras funções) sinalizam ao cérebro para indução de febre. Esse aumento na temperatura corporal inibe o crescimento de patógenos invasores.

As citocinas podem também estimular as células que revestem vasos sanguíneos, induzindo-as a produzir moléculas de adesão celular que permitem a adesão dos fagócitos ao revestimento dos capilares, sua saída dos vasos e consequente penetração no local da lesão. O acesso de células fagocíticas ao local de lesão dá início a uma resposta imune específica contra o patógeno.

Calor, dolor, rubor, tumor – o diagnóstico de inflamação, permanece inalterado desde 40 a. C., quando o médico romano Aulus Cornelius Celsus descreveu essa síndrome em seu texto *De medicina*.

Em algumas infecções bacterianas severas, a resposta inflamatória não se limita ao local. Ao invés disso, a resposta se dissemina na corrente sanguínea assumindo uma condição denominada de *sepsis*. A exemplo do que ocorre em uma infecção ou lesão localizada, há a dilatação dos vasos sanguíneos, no entanto esse fenômeno ocorre em todo o organismo. Essa é uma situação extrema de emergência médica e pode ser letal.

Como consequência da inflamação pode ocorrer acúmulo de *pus*. O pus é composto de células mortas (bactérias, neutrófilos e células mortas do organismo) e de fluido liberado. Sendo um resultado normal da inflamação, o pus é gradativamente eliminado e digerido por macrófagos.



18.2 RECAPITULAÇÃO

Defesas inespecíficas representam a primeira linha na defesa contra patógenos. Barreiras como a pele, proteínas de defesa e respostas conjuntas como o processo de inflamação representam importantes defesas inespecíficas.

- De que maneira as proteínas do complemento e os interferons defendem o organismo contra o ataque de micróbios? Ver p. 405.
- Você pode descrever a resposta inflamatória? Ver p. 406 e Figura 18.4.

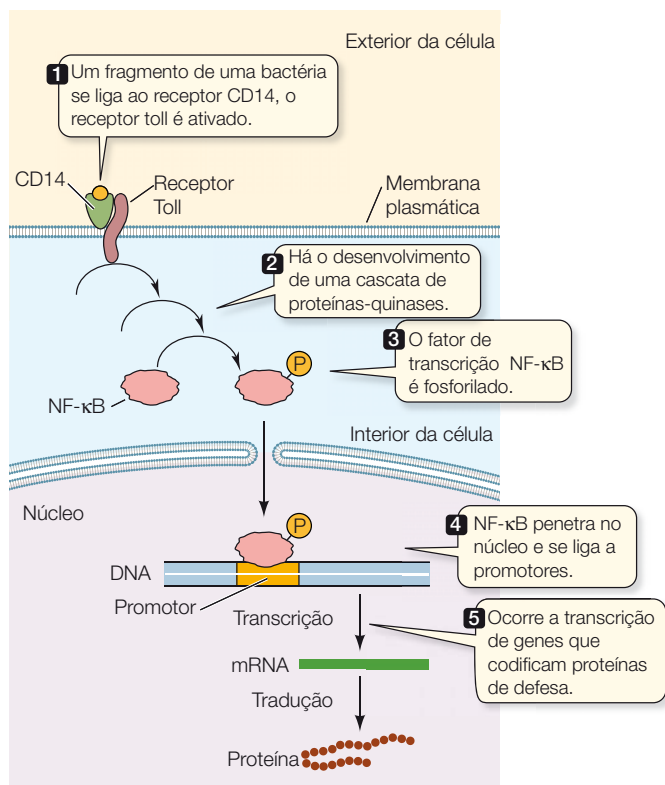


Figura 18.5 Sinalização celular e defesa A ligação de uma molécula patogênica ao receptor toll dá início a uma via de transdução de sinal que resulta na transcrição de genes cujos produtos encontram-se envolvidos nas defesas imunes específicas e inespecíficas. O CD14 expressa-se na superfície de células brancas sanguíneas, tais como macrófagos e monócitos.

Uma via de sinalização celular estimula as defesas do organismo

Um patógeno invasor, por exemplo, uma bactéria, pode ser considerado um sinal. Em resposta a esse sinal, o organismo produz moléculas como as proteínas do complemento, interferons e citocinas, que regulam a fagocitose e outros mecanismos de defesa. Dessa forma, seria lógico imaginar, a conexão entre um sinal e a resposta a esse sinal corresponde a uma via de transdução de sinal semelhante àquelas vias consideradas na Seção 15.3. O receptor nessa via é uma proteína de membrana denominada **toll**. Esse receptor foi originalmente descrito na mosca-das-frutas, onde desempenha um papel essencial na identificação de infecções fúngicas. Estudos de genômica comparativa revelaram a existência de pelo menos dez receptores similares em humanos.

O toll faz parte de uma cascata de proteínas-quinases que resulta na transcrição de pelo menos 40 genes envolvidos em mecanismos de defesa, tanto específicos quanto inespecíficos (**Figura 18.5**). As moléculas que estimulam essa via são feitas unicamente por microrganismos, e incluem alguns fragmentos de parede celular de bactérias e fungos. A ligação dessas moléculas a toll põe em marcha uma cascata que resulta na fosforilação do fator de transcrição NF-κB. Em consequência dessa fosforilação, ocorre uma alteração na conformação do fator de transcrição, permitindo que esse fator penetre no núcleo e se ligue a promotores de genes que codificam proteínas de defesa, ativando a transcrição dos referidos genes.

De que forma o organismo lida com patógenos que escapam às defesas inespecíficas? A próxima seção descreve o desenvolvimento de imunidade contra patógenos específicos.

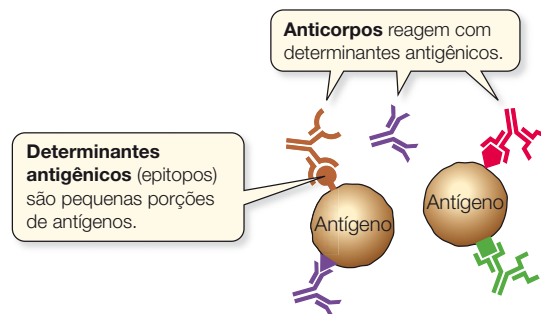
18.3 Como se desenvolve a imunidade específica?

As defesas inespecíficas são numerosas e eficientes, mas alguns invasores escapam a elas. Animais vertebrados lidam com esses patógenos através de mecanismos direcionados contra características específicas. Nesta seção salientaremos as principais características do sistema imune específico e consideraremos os dois principais tipos de respostas específicas: a *resposta imune humoral*, mediada pela produção de anticorpos, e a *resposta imune celular*, que leva à destruição de células infectadas.

Quatro características definem a resposta imune específica

As quatro características típicas do sistema imune específico são a especificidade, a capacidade de responder a uma enorme diversidade de moléculas e de organismos estranhos, a habilidade de distinguir entre o próprio e o não próprio e a memória imunológica.

ESPECIFICIDADE Linfócitos (células B e células T) são essenciais na imunidade específica. Os receptores de células T e os anticorpos produzidos pelas células B reconhecem e se ligam a substâncias não próprias ou próprias alteradas (**antígenos**), e essa interação dá início a uma resposta imune específica. Os sítios específicos nos antígenos reconhecidos pelo sistema imune denominam-se **determinantes antigênicos** ou *epitopos*:



Quimicamente, um determinante antigênico consiste em uma porção específica de uma molécula maior, por exemplo, uma sequência de aminoácidos, que pode estar presente em várias proteínas. Um antígeno grande, como uma célula inteira, pode ter

muitos determinantes antigênicos diferentes em sua superfície, cada um capaz de se ligar a um anticorpo ou célula T específica. Mesmo uma única proteína possui diversos determinantes antigênicos diferentes. Alguns epitopos provocam uma resposta imune mais forte do que outros e denominam-se *imunodominantes*. O animal hospedeiro responde à presença de um antígeno por meio da produção de defesas altamente específicas: células T ou anticorpos capazes de encaixar ou complementar, os determinantes antigênicos do antígeno em questão. Cada célula T e cada anticorpo são específicos *para um único determinante antigênico*.

DISTINGUINDO ENTRE PRÓPRIO E NÃO PRÓPRIO O corpo humano contém dezenas de milhares de proteínas diferentes, cada uma com uma estrutura tridimensional específica capaz de induzir respostas imunes. Assim, cada célula no corpo apresenta um número extremamente grande de determinantes antigênicos. Uma necessidade essencial para o adequado funcionamento do sistema imune de um indivíduo consiste no reconhecimento dos determinantes antigênicos próprios e na ausência de resposta imune contra eles.

DIVERSIDADE Os desafios ao sistema imune são frequentes. Patógenos encontram-se presentes sob diversas formas: moléculas não próprias isoladas, vírus, bactérias, protistas, fungos e parasitas multicelulares. Além disso, cada espécie patogênica geralmente inclui várias subespécies que geram cepas geneticamente distintas e cada cepa apresenta múltiplas características de superfície. As estimativas variam, mas acredita-se que os seres humanos possam responder *especificamente* a 10 milhões de determinantes antigênicos diferentes. Após o reconhecimento de um determinante antigênico, o sistema imune responde por meio da ativação dos linfócitos que possuem especificidade adequada.

MEMÓRIA IMUNOLÓGICA Após o desenvolvimento de uma resposta dirigida contra um determinado tipo de patógeno, o sistema imune pode “lembrar-se” do patógeno e, geralmente, pode responder, no futuro, de forma mais rápida e potente à mesma ameaça. Essa **memória imunológica** muitas vezes nos protege contra ataques repetitivos de doenças típicas da infância, como a catapora. A vacinação contra doenças específicas funciona porque o sistema imune possui a capacidade de “lembrar” dos determinantes antigênicos introduzidos no corpo.

Dois tipos de resposta imune específica interagem no organismo

O sistema imune específico monta dois tipos de resposta contra invasores: a *resposta imune humoral* e a *resposta imune celular*. As duas atuam em conjunto – simultaneamente e cooperativamente – e compartilham diversos mecanismos.

RESPOSTA IMUNE HUMORAL Na **resposta imune humoral** (do latim *humor*, “fluido”), os anticorpos reagem com determinantes antigênicos do invasor no sangue, na linfa e nos fluidos tissulares. Um animal pode produzir uma impressionante diversidade de anticorpos, que reagem com praticamente qualquer antígeno que o animal entre em contato.

Alguns anticorpos são solúveis e deslocam-se livremente através do sangue e da linfa, outros existem sob a forma de proteínas integrais de membrana nas células B. Na primeira vez que um determinado antígeno entra em contato com nosso organismo, ele pode ser detectado através da ligação a uma célula B cujo anticorpo de membrana reconhece um de seus determinantes antigênicos. Essa ligação ativa a célula B, que produz e secreta muitas cópias de anticorpo com a mesma especificidade da molécula de anticorpo da membrana.

RESPOSTA IMUNE CELULAR A **resposta imune celular** direciona-se contra antígenos que se estabeleceram no interior de uma célula do animal hospedeiro. Ela detecta e destrói células infectadas por vírus ou células que sofreram mutações.

A resposta imune celular realiza-se pelas células T, nos linfonodos, na corrente sanguínea ou ainda nos espaços intercelulares. Essas células T possuem proteínas integrais de membrana – receptores de células T – que reconhecem e ligam-se a determinantes antigênicos. Os receptores de células T assemelham-se bastante, em estrutura e função, aos anticorpos, e apresentam configurações moleculares específicas que permitem sua ligação a determinantes antigênicos específicos. Quando a célula T se liga a um determinante antigênico, ela dá início a uma resposta imune que, em sua forma mais característica, resulta na destruição total de uma célula não própria ou de uma célula que possuía uma alteração no próprio.

Alterações genéticas e seleção clonal dão origem à resposta imune específica

De que maneira se origina a imensa diversidade das respostas imune específicas? Como linfócitos específicos para determinados antígenos proliferam preferencialmente? As respostas a estas questões relacionam-se com o processo de **seleção clonal**.

- A diversidade é gerada primordialmente através de alterações no DNA – rearranjos cromossômicos e mutações – que ocorrem

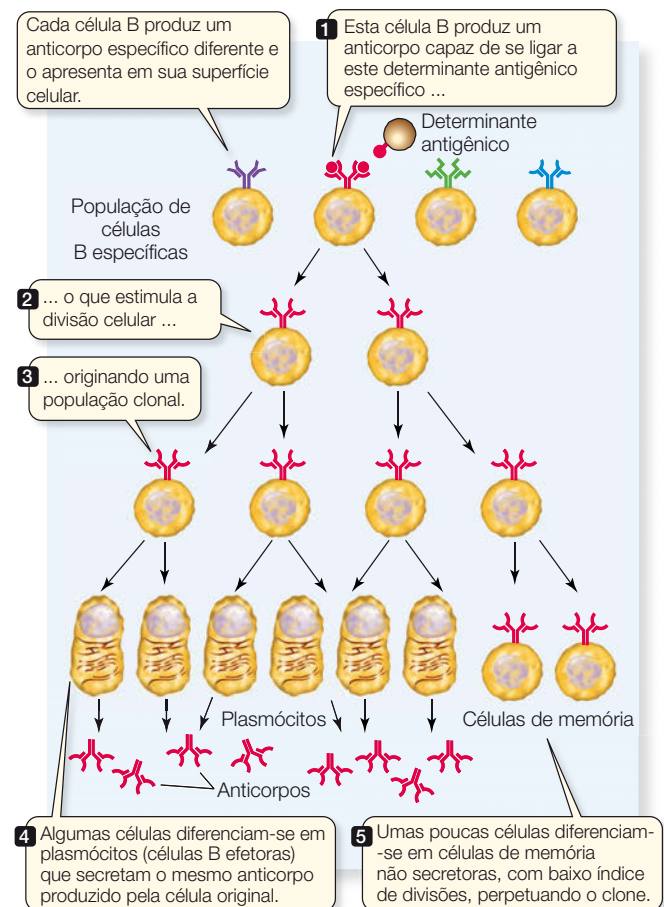


Figura 18.6 Seleção clonal em células B A ligação de um antígeno a um anticorpo específico na superfície de uma célula B estimula a divisão celular e a produção de clones de células, geneticamente idênticas, que lutarão contra o invasor.

logo após a formação das células B e T na medula óssea. Cada célula B apresenta capacidade de produzir *somente um tipo de anticorpo*. Assim, existem milhões de células B diferentes, cada uma produzindo um tipo particular de anticorpo. Da mesma forma, existem milhões de diferentes células T, cada uma delas com um receptor de célula T específico e característico capaz de se ligar a um determinante antigênico específico sobre uma célula-alvo.

- A ligação a um antígeno “seleciona” uma célula B ou T específica induzindo sua proliferação. Quando um antígeno que se adapta à superfície de um anticorpo, sobre uma célula B, se liga a esse anticorpo de membrana, a célula B se ativa. A célula B se divide para formar um clone de células (um grupo células geneticamente idêntico derivado de uma única célula), todas produzindo aquele determinado anticorpo (Figura 18.6). Da mesma forma, uma célula anormal ou não própria seleciona para a proliferação de uma célula T que expressa um determinado receptor de células T em sua superfície (este fenômeno denomina-se *seleção clonal*).

Imunidade e memória imunológica resultam da seleção clonal

Um linfócito ativado dá origem a dois tipos de células-filhas, células efetoras e células de memória.

- As células efetoras realizam o ataque ao antígeno. As células B efetoras, chamadas de **plasmócitos**, produzem anticorpos. As células T efetoras liberam citocinas, que desencadeiam reações que destroem células alteradas ou células estranhas. As células efetoras vivem somente alguns dias.
- As células de memória são células de vida longa que mantêm a capacidade de divisão em resposta a estímulo, produzindo mais células efetoras e mais células de memória. As células B de memória, e possivelmente as células T de memória, po-

dem sobreviver no organismo por décadas, dividindo-se em ritmo lento.

Através de diferentes interações esses dois tipos de linfócitos podem responder a antígenos de duas formas diferentes:

- Quando o corpo encontra pela primeira vez um determinado antígeno, uma **resposta imune primária** se ativa, na qual linfócitos “virgens” que reconhecem o antígeno proliferam e produzem clones de células efetoras e de memória. As células efetoras destroem os invasores e então morrem, mas um ou mais clones de células de memória foram agora adicionados ao sistema imune e fornecem à memória imunológica.
- Após uma resposta imune primária dirigida contra um dado antígeno, encontros subsequentes com o mesmo antígeno resultam em uma **resposta imune secundária** muito mais rápida e eficiente. As células de memória que reconhecem esse antígeno proliferam, dando origem a um grande exército de plasmócitos e células T efetoras.

Na primeira vez em que um animal vertebrado é exposto a um dado antígeno, existe um intervalo (geralmente de vários dias), antes do número de moléculas de anticorpo e de células T específicas contra o antígeno aumentar significativamente. No entanto, anos mais tarde – às vezes isso pode demorar uma vida inteira – o sistema imune poderá “lembrar-se” desse antígeno em particular. A resposta imune secundária caracteriza-se por pequeno intervalo entre estímulo e resposta, maior taxa de produção de anticorpos e grande elevação do nível de anticorpos totais e do número de células T produzidas, quando comparada com a resposta primária.

As vacinas são uma aplicação prática da memória imunológica

Graças à memória imunológica, a recuperação de várias doenças, como a catapora, leva simultaneamente ao desenvolvimento de uma *imunidade natural* contra essas doenças. No entanto, é possível induzir *imunidade artificial* a diversas doenças que ameaçam a vida do hospedeiro, por meio de *inoculação*: a introdução de determinantes antigênicos no organismo. **Imunização** consiste na inoculação com proteínas antigênicas, fragmentos de patógenos ou outros antígenos moleculares. **Vacinação** consiste na inoculação com o patógeno completo, modificado de forma a não ser capaz de induzir a doença.

Tanto a imunização quanto a vacinação promovem uma resposta imune primária, gerando células de memória sem que a pessoa adoça. Mais tarde, se o mesmo patógeno, ou outro muito similar, atacar o organismo, células específicas de memória já estarão presentes. Elas reconhecerão o antígeno e rapidamente controlarão o invasor com uma produção maciça de linfócitos e anticorpos.

TABELA 18.2 Alguns patógenos de humanos contra os quais vacinas estão disponíveis

AGENTE INFECCIOSO	DOENÇA	POPULAÇÃO-ALVO DA VACINA
Bactérias		
<i>Bacillus anthracis</i>	Antraz	Populações em risco de guerra biológica
<i>Bordetella pertussis</i>	Coqueluche	Crianças e adultos
<i>Clostridium tetani</i>	Tétano	Crianças e adultos
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Difteria	Crianças
<i>Haemophilus influenzae</i>	Meningite	Crianças
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose	Toda a população
<i>Salmonella typhi</i>	Febre tifoide	Áreas expostas ao agente
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Pneumonia	Idosos
<i>Vibrio cholerae</i>	Cólera	Populações em áreas expostas ao agente
Vírus		
Adenovírus	Doença respiratória	Militares
Hepatite A	Doença hepática	Áreas expostas ao agente
Hepatite B	Doença hepática, câncer	Toda a população
Vírus influenza	Gripe	Toda a população
Vírus do sarampo	Sarampo	Crianças e adolescentes
Vírus da caxumba	Caxumba	Crianças e adolescentes
Poliovírus	Poliomielite	Crianças
Vírus da raiva	Raiva	Pessoas expostas ao agente
Vírus rubella	Rubéola	Crianças
Vírus vaccinia	Varíola	Cientistas e militares
Vírus varicella-zoster	Varicela	Crianças

Visto que os antígenos usados para imunização ou para a vacinação são porções do patógeno ou proteínas tóxicas por eles produzidas, eles devem ser modificados de forma a não mais serem capazes de provocar a doença, mas ainda mantendo a capacidade de indução de uma resposta imune. Existem quatro maneiras principais de se proceder a essa alteração:

- A **inativação** envolve o tratamento do antígeno – neste caso geralmente um organismo inteiro, por exemplo, uma bactéria – com calor ou reagentes químicos que o levem à morte.
- A **atenuação** envolve redução na virulência de um vírus através de ciclos repetidos de infecção de células em laboratório.
- A **tecnologia do DNA recombinante** pode ser usada para a produção de fragmentos de peptídeos que se liguem e ativem linfócitos, mas que não possuam as regiões perigosas da proteína tóxica completa.
- **Vacinas de DNA** estão sendo desenvolvidas com o intuito de introduzir o gene que codifica um antígeno dentro do organismo.

Apesar dos programas de vacinação contra a varíola terem praticamente eliminado esse vírus do mundo (como todas as pessoas haviam sido vacinadas o vírus simplesmente não tinha quem infectar), ainda existem culturas desse vírus em diversos laboratórios, mantidas sob estritos cuidados de segurança. Já que outros estoques virais podem existir e eventualmente serem usados em bioterrorismo, utilizam-se os atuais estoques oficiais de vírus para a fabricação de novas vacinas.

Vacinas já são disponíveis, ou o serão em poucos anos, para a maioria dos 70 organismos bacterianos, virais, fúngicos ou parasitas considerados como principais causadores de doenças graves em seres humanos (Tabela 18.2). Além disso, a vacinação conseguiu eliminar completamente, ou quase que completamente, dos países desenvolvidos algumas doenças mortais como a varíola, a difteria e a poliomielite.

Os animais distinguem o próprio do não próprio e toleram seus próprios antígenos

Normalmente, o corpo tolera as suas próprias moléculas – as mesmas moléculas que, em outro indivíduo, induzirão uma resposta imune. A **tolerância imunológica** baseia-se em dois mecanismos: *deleção clonal* e *anergia clonal*.

DELEÇÃO CLONAL A **deleção clonal** elimina determinadas células B e T imaturas do sistema imune em períodos iniciais de sua diferenciação. As células B imaturas na medula óssea e células T no timo podem encontrar antígenos próprios. Qualquer célula B ou T imatura que demonstrar um potencial para desenvolver uma resposta imune contra antígenos próprios entrará rapidamente em processo de morte celular programada (apoptose).

ANERGIA CLONAL A **anergia clonal** consiste na supressão da resposta imune contra antígenos próprios e ocorre após a maturação dos linfócitos. Por exemplo, uma célula T madura pode encontrar e reconhecer um antígeno próprio na superfície de uma célula do corpo. No entanto, antes que libere citocinas, o que indicaria o início de uma resposta imune, a célula T precisa encontrar não

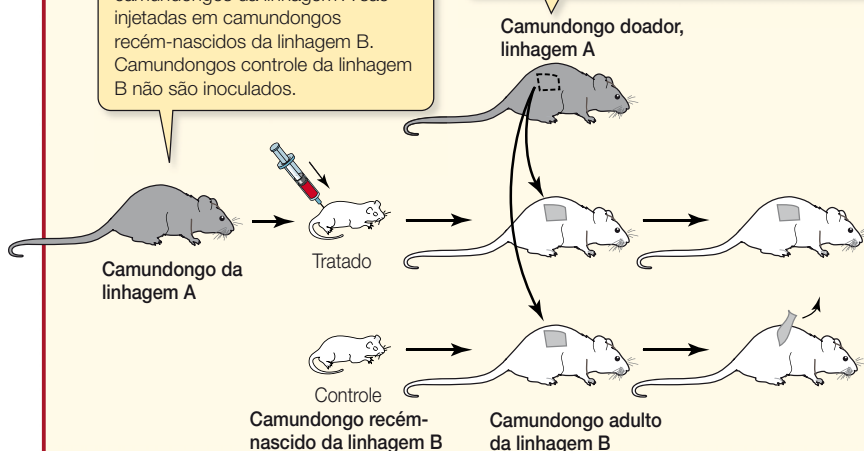
EXPERIMENTO

HIPÓTESE: A inoculação de um antígeno não próprio, em um período precoce do desenvolvimento, permite que um animal desenvolva tolerância imunológica a esse antígeno.

MÉTODO

1 Células linfóides provenientes de camundongos da linhagem A são injetadas em camundongos recém-nascidos da linhagem B. Camundongos controle da linhagem B não são inoculados.

2 8 a 10 semanas após, os camundongos da linhagem B, tanto tratados quanto não tratados, estão adultos e recebem um transplante de pele derivado de um camundongo da linhagem A.



RESULTADOS

Tolerância
O camundongo tratado *aceita* o enxerto de pele da linhagem A.

Ausência de tolerância
O camundongo controle *rejeita* o enxerto de pele da linhagem A.

CONCLUSÃO: O reconhecimento de um antígeno como próprio ou não próprio depende de quando o animal entrou, pela primeira vez, em contato com o mesmo.

Figura 18.7 Tolerância imunológica Um camundongo pode aceitar um enxerto de pele proveniente de um camundongo geneticamente diferente se células linfóides do segundo camundongo forem nele injetadas durante o período neonatal. **PESQUISA ADICIONAL:** O que aconteceria se as células linfóides fossem aquecidas em um banho de água fervente antes de serem injetadas em camundongos da linhagem B?

apenas o antígeno, mas também uma molécula B7 que interaja com o CD28, na superfície da célula. A maioria das células do corpo não expressa B7, motivo pelo qual não será atacada. A molécula B7 é um exemplo de *sinal coestimulatório*, expresso somente em determinadas células apresentadoras de antígeno. Tais células “apresentam” antígenos não próprios em sua superfície e assim estimulam a resposta imune celular, conforme veremos na Seção 18.5. Entre essas células podemos citar os macrófagos que circulam pelos fluidos corporais e as *células dendríticas* residentes no revestimento do trato digestivo e do trato respiratório, além das células B.

O fenômeno de tolerância imunológica foi descoberto através da observação de que alguns gêmeos *não idênticos* de bovinos que apresentavam tipos sanguíneos diferentes continham alguns glóbulos vermelhos derivados do outro indivíduo. Por que essas células sanguíneas “estranhas” não induziam uma resposta imune que levasse à sua eliminação? Uma hipótese era que as células sanguíneas haviam passado de um animal para o outro durante o período fetal, quando esses animais ainda estavam no útero e antes do amadurecimento de seus linfócitos. Assim, cada bovino reconheceria as células vermelhas sanguíneas do outro como próprias. Essa hipótese se confirmou ao mostrar-se que a injeção de um antígeno estranho em um animal, em estágio inicial de desenvolvimento fetal, faz com que posteriormente, o animal reconheça esse antígeno como próprio (Figura 18.7).

18.3 RECAPITULAÇÃO

O sistema imune específico reage contra substâncias não próprias ou próprias alteradas, denominadas de determinantes antigênicos. Esse sistema apresenta uma impressionante diversidade, distingue o próprio do não próprio e possui memória imunológica. A diversidade do sistema imune tem origem na seleção clonal.

- Você pode explicar como um determinante antigênico induz uma resposta imune específica? Ver p. 407-4080.
- O que é seleção clonal e como esse processo está relacionado à diversidade do sistema imune específico e à memória imunológica? Ver p. 408 e Figura 18.6.
- De que maneira a vacinação e a memória imunológica estão interligadas? Ver p. 409-410.

Agora que compreendemos as características gerais do sistema imune específico, enfocaremos em maiores detalhes os linfócitos B e a resposta humoral.

18.4 O que é a resposta imune humoral?

Todo o dia, bilhões de células B sobrevivem ao desafio da deleção clonal e deixam a medula óssea rumo à circulação. As células B constituem a base da resposta imune humoral.

Algumas células B desenvolvem-se em plasmócitos

As células B produzem um anticorpo que se expressa sob a forma de um receptor proteico na superfície da célula. Conforme descrito anteriormente, se uma célula B for ativada por meio da ligação

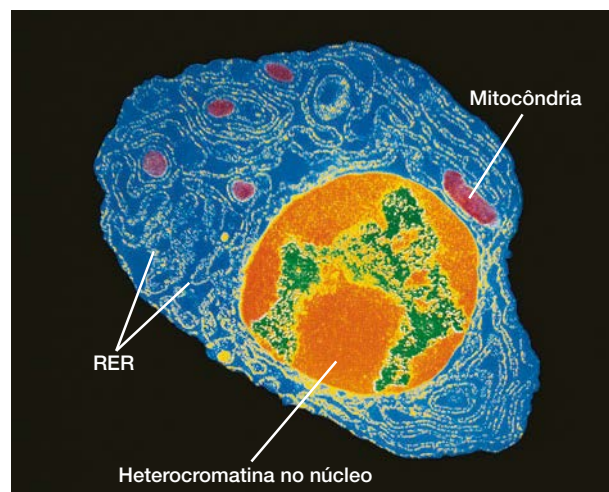


Figura 18.8 Um plasmócito O núcleo proeminente com grande quantidade de heterocromatina (laranja) e o citoplasma (azul brilhante) repleto de retículo endoplasmático rugoso (RER) são características de uma célula ativamente sintetizando e exportando proteínas – nesse caso, um anticorpo específico. Blocos inteiros de genes desnecessários para esta função especializada mantêm-se desligados sob a forma de heterocromatina.

de um antígeno ao seu receptor, ela diferencia em plasmócito, capaz de produzir e secretar na corrente sanguínea um anticorpo, que dará origem tanto a novos plasmócitos quanto a clones de memória (ver Figura 18.6)

Geralmente, para que uma célula B transforme-se em um plasmócito secretor de anticorpos, uma *célula T auxiliar* (T_H) (do inglês, *T Helper*), que possui a mesma especificidade da célula B, deve também ligar-se ao antígeno. Para tanto, a célula B também deve atuar como célula apresentadora de antígeno, segundo veremos na Seção 18.5. A divisão e a diferenciação da célula B estimulam-se pelo recebimento de sinalização química adicional proveniente da célula T_H .

Conforme o plasmócito se desenvolve, o número de ribossomos e a quantidade de retículo endoplasmático em seu citoplasma aumentam consideravelmente (Figura 18.8). Esse aumento permite que as células sintetizem e secretem grandes quantidades de anticorpos, até 2 mil moléculas por segundo! Todos os plasmócitos provenientes de uma célula B específica produzem anticorpos específicos para o determinante antigênico que originalmente se ligou à célula B parental. Com isso, a especificidade dos anticorpos mantém-se ao longo da proliferação das células B.

Diferentes anticorpos compartilham uma estrutura comum

Os anticorpos pertencem a uma classe de proteínas denominadas **imunoglobulinas**. Existem vários tipos de imunoglobulinas, mas todas têm um tetrâmero composto por quatro cadeias polipeptídicas. Em cada molécula de imunoglobulina, dois desses polipeptídeos são idênticos e denominados de *cadeias leves* e os dois restantes são idênticos entre si e chamados de *cadeias pesadas*. Pontes dissulfeto mantêm as cadeias unidas. Cada cadeia polipeptídica possui uma *região constante* e uma *região variável* (Figura 18.9):

- A sequência de aminoácidos das **regiões constantes** assemelha-se entre todas as imunoglobulinas. Ela determina o destino e função – a *classe* – de cada anticorpo.

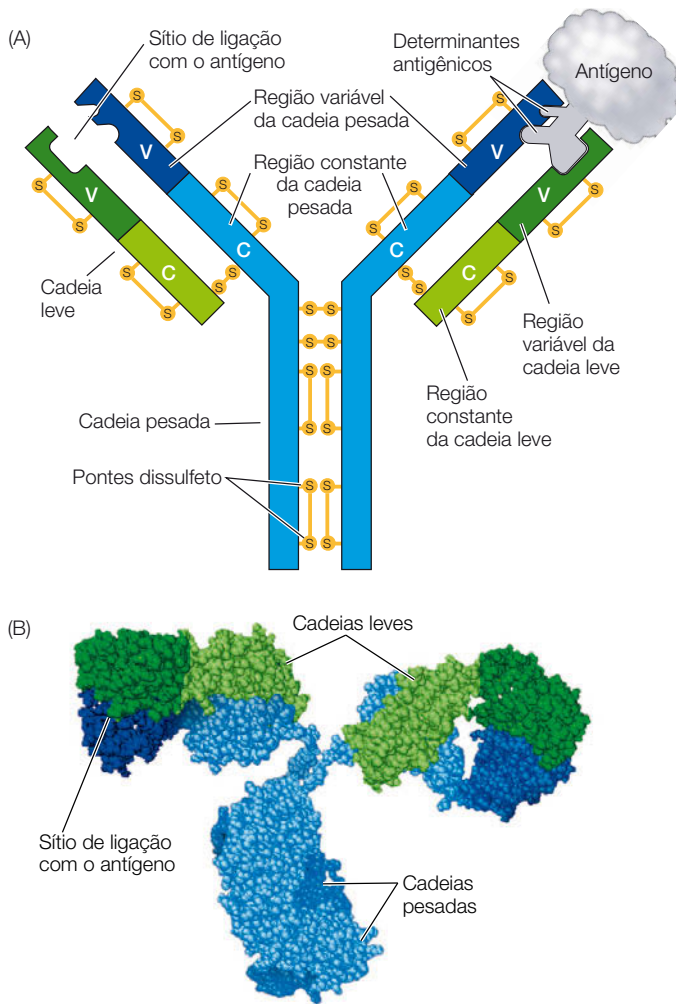


Figura 18.9 Estrutura das imunoglobulinas (A) As quatro cadeias polipeptídicas (duas leves e duas pesadas) de uma molécula de imunoglobulina. (B) Modelo tridimensional de uma molécula de anticorpo aproximadamente na mesma orientação em que aparece representada em (A).

■ A sequência de aminoácidos das **regiões variáveis** difere em cada imunoglobulina específica. Diferenças em sua estrutura secundária levam a diferenças tridimensionais no sítio de ligação ao antígeno de cada imunoglobulina e são responsáveis pela diversidade da especificidade do anticorpo.

Os dois sítios de ligação com o antígeno, em cada molécula de imunoglobulina, são idênticos, o que torna um anticorpo *bivalente* (*bi*, “dois”; *valente*, “ligação”). Essa capacidade de ligação a duas moléculas de antígeno em um único momento permite a formação de um grande complexo envolvendo o antígeno e várias moléculas de anticorpo. Esse complexo constitui um alvo fácil de internalização e digestão para as células fagocíticas e para o sistema do complemento.

Existem cinco classes de imunoglobulinas

As regiões variáveis são responsáveis pela *especificidade* de uma imunoglobulina, ao passo que a região constante da cadeia pesada determina a *classe* do anticorpo – por exemplo, se o anticorpo permanecerá na membrana plasmática ou se será secretado para a corrente sanguínea. As cinco classes de imunoglobulinas encontram-se descritas na **Tabela 18.3**. A IgG consiste na mais abundante das classes de imunoglobulinas; esses anticorpos secretados compõem cerca de 80% do conteúdo total de imunoglobulinas da corrente sanguínea. Essas imunoglobulinas são produzidas em grande quantidade durante a resposta imune secundária. A IgG protege o corpo de diversas maneiras. Por exemplo, depois que algumas moléculas de IgG se ligam a antígenos, elas podem ligar-se a macrófagos através de suas cadeias pesadas. Essa interação permite que o macrófago destrua os antígenos via fagocitose (**Figura 18.10**).

TABELA 18.3 Classes de anticorpos

CLASSE	ESTRUTURA GERAL	LOCALIZAÇÃO	FUNÇÃO
IgG	Monômero	Livre no plasma; aproximadamente 80% dos anticorpos circulantes	O mais abundante dos anticorpos em respostas imunes primárias e secundárias; capaz de atravessar a placenta e prover imunização para o feto
IgM	Pentâmero	Superfície de células B; livre no plasma	É o receptor de antígenos da membrana de células B; o primeiro tipo de anticorpo liberado pelas células B em uma resposta primária
IgD	Monômero	Superfície de células B	Receptor de superfície de células B maduras; importante para a ativação de células B
IgA	Dímero	Saliva, lágrimas, leite e outras secreções do organismo	Protege a superfície de mucosas e evita a adesão de patógenos às células epiteliais
IgE	Monômero	Secretado pelos plasmócitos na pele e nos tecidos que revestem o trato respiratório e trato gastrointestinal	Após a ligação ao antígeno liga-se a mastócitos e basófilos para induzir liberação de histamina contribuindo na inflamação e em algumas respostas alérgicas

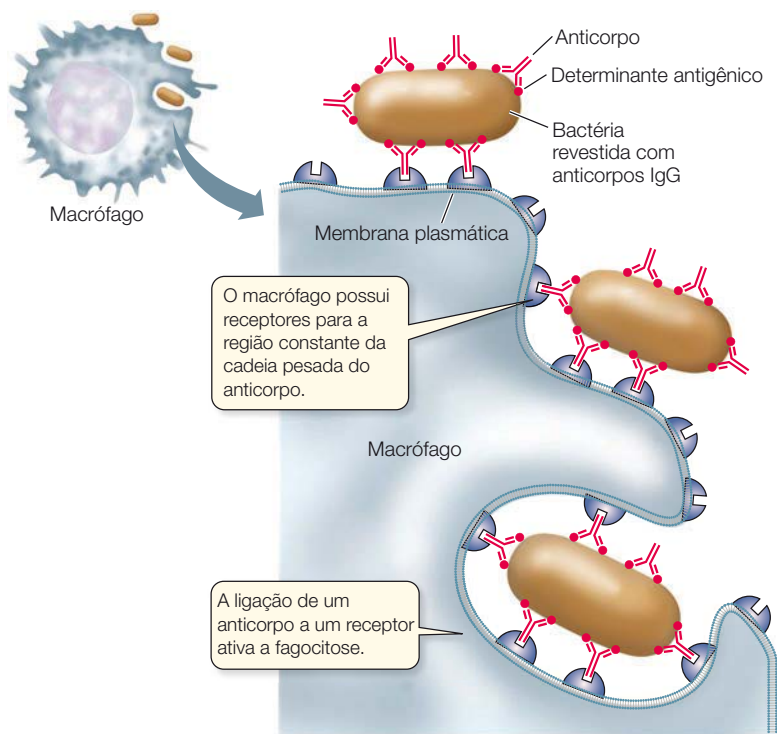


Figura 18.10 Anticorpos do tipo IgG promovem a fagocitose Quando anticorpos IgG se ligam a uma bactéria, receptores sobre os macrófagos podem reconhecer-los e ligar-se a eles.

Anticorpos monoclonais são extremamente úteis

Devido à especificidade dos anticorpos, os cientistas podem utilizá-los para a detecção da presença de um substrato específico em um fluido. No entanto, um desafio inicial é que a resposta do sistema imune a um antígeno complexo é *policlonal* – ou seja, visto que cada antígeno contém diferentes determinantes antigênicos, um único antígeno induz a produção de uma mistura complexa de anticorpos, a partir de clones diferentes de células B.

Suponha que um médico queira avaliar os níveis do hormônio estrógeno no sangue de uma paciente. Isso pode ser feito pela adição de um anticorpo específico contra estrógeno ao sangue da paciente e mensuração da quantidade de complexos antígeno-anticorpo formados. No entanto, conforme aprendemos com os estudos em bioquímica, várias moléculas biológicas compartilham regiões estruturais semelhantes – todos os hormônios esteroides humanos, por exemplo, apresentam estrutura multianelar semelhante (ver Figura 3.22). O uso de um conjunto de anticorpos policlonais contra o estrógeno não seria informativo, pois os anticorpos não se ligariam apenas ao estrógeno, mas também a qualquer hormônio esteroide presente na amostra de sangue. O que necessitaríamos para este estudo seria de um clone de células B que produzisse uma grande quantidade de um único tipo de anticorpo que se ligasse a *apenas um* determinante antigênico – um **anticorpo monoclonal**. Como esse clone específico poderia ser produzido?

Uma população de clones de células que produzem um único tipo de anticorpo pode ser artificialmente produzida através da fusão de uma célula B (que possui um tempo de vida limitado e produz grandes quantidades de anticorpo) com uma célula tumoral (que apresenta tempo de vida ilimitado e pode crescer em cultura). A célula híbrida resultante, denominada **hibridoma**, produz anticorpos específicos e prolifera em cultura (**Figura 18.11**).

Uma companhia canadense denominada “*Toxin Alert*” desenvolveu uma embalagem plástica para alimentos impregnada com anticorpos contra as bactérias *Listeria*, *E. coli* e *Salmonella*, responsáveis por 80% das mortes relacionadas à infecção alimentar em países desenvolvidos. Os anticorpos estão distribuídos formando um padrão em “X” na embalagem, de forma que, se essas bactérias estiverem presentes, os anticorpos se ligarão a elas e um “X” colorido aparecerá na embalagem.

Os anticorpos monoclonais possuem diversas aplicações práticas.

MÉTODO DE PESQUISA

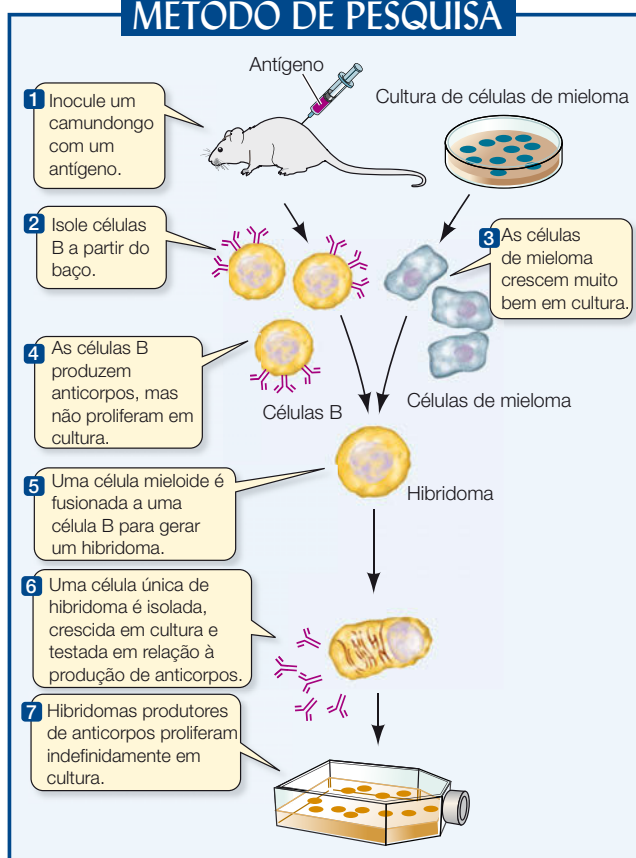


Figura 18.11 A geração de hibridomas para a produção de anticorpos monoclonais Células cancerosas do tipo mieloma e células B normais podem ser fusionadas de modo que a capacidade proliferativa do mieloma se una à capacidade de produção de anticorpos específicos das células B.

- Os *imunoenaios* utilizam a especificidade dos anticorpos monoclonais para detectar pequenas quantidades de moléculas em tecidos e fluidos. Utiliza-se essa técnica, por exemplo, em testes de gravidez para detectar o hormônio produzido por embriões em desenvolvimento.
- A *imunoterapia* usa anticorpos monoclonais dirigidos contra determinantes antigênicos da superfície de células cancerosas. O acoplamento de um ligante radioativo ou tóxico ao anticorpo transforma-o em uma verdadeira “bomba médica inteligente”. Em alguns casos, a simples ligação do anticorpo à célula tumoral já é suficiente para induzir uma resposta imune celular que destrói o câncer. (Este é o caso do Herceptin®, um anticorpo monoclonal que se liga a um receptor de fator de crescimento, em células de câncer de mama.)
- A *imunização passiva* consiste na inoculação de um anticorpo monoclonal de ação imediata, mas que não possui longa duração. Essa abordagem faz-se necessária quando a terapia deve ser efetiva imediatamente (em um intervalo de algumas horas). Exemplos de tais situações de emergência incluem a detecção de sintomas iniciais da infecção por raiva, mordidas de cascavel e o nascimento de bebês infectados pelo vírus da hepatite B – casos em que a natureza tóxica da infecção é tão séria que não existe tempo suficiente para que o sistema imune do indivíduo organize a sua própria defesa.

18.4 RECAPITULAÇÃO

A resposta imune humoral baseia-se na síntese, pelas células B, de anticorpos específicos direcionados contra antígenos específicos. A especificidade de um anticorpo deriva de sua sequência de aminoácidos na região variável. Anticorpos monoclonais são específicos para um determinante antigênico e podem ser artificialmente produzidos para serem utilizados em diagnóstico e em terapias.

- Você é capaz de descrever a resposta de uma célula B a um antígeno? Ver p. 411.
- Como estão relacionadas estrutura e função de um anticorpo? Ver p. 412 e Figura 18.9.
- O que são e como podem ser usados os anticorpos monoclonais? Ver p. 413-414 e Figura 18.11.

Tanto as células T quanto as células B envolvem-se na resposta imune humoral. As células T são também efetoras da resposta imune celular, a qual descreveremos na próxima seção.

18.5 O que é a resposta imune celular?

As moléculas efetoras da resposta imune humoral consistem nos anticorpos secretados pelos plasmócitos, que se desenvolveram a partir de células B ativadas. A *resposta imune celular*, que se direciona contra qualquer fator (como um vírus ou uma mutação), que transforma uma célula normal em uma célula anormal, é mediada pelas células T.

Dois tipos de células T efetoras (*células T auxiliares* e *células T citotóxicas*) encontram-se envolvidos na resposta imune celular em conjunto com proteínas do MHC (*complexo principal de histocompatibilidade*), as quais definem a tolerância do sistema imune em relação às células do próprio organismo.

Os receptores de células T são encontrados em dois tipos de células T

Assim como as células B, as células T possuem receptores de membrana específicos. No entanto, os receptores de células T não são imunoglobulinas, mas glicoproteínas com peso molecular em torno da metade do peso de uma IgG. Eles constituem-se por duas cadeias polipeptídicas, cada uma codificada por um gene diferente (Figura 18.12). Desse modo, as duas cadeias sempre diferenciam em relação a suas sequências de aminoácidos, principalmente em suas regiões variáveis.

Os genes que codificam os receptores de células T assemelham-se àqueles que codificam as imunoglobulinas, sugerindo que ambos sejam derivados de um único grupo de genes, evolutivamente mais antigo. Assim como as imunoglobulinas, os receptores de células T apresentam tanto regiões variáveis quanto constantes, sendo as regiões variáveis responsáveis pela especificidade antigênica. Existe uma diferença principal entre os anticorpos e os receptores de células T: enquanto os anticorpos se ligam a um antígeno intacto, os receptores de células T se ligam a uma porção do antígeno apresentada na superfície de uma célula apresentadora de antígenos.

Quando uma célula T ativa-se pelo contato com um determinante antigênico específico, ela prolifera dando origem a uma população clonal. A progênie dessa proliferação pode diferenciar-se em um dos dois seguintes tipos de células efetoras:

- **Células T citotóxicas**, ou células T_C , que reconhecem células infectadas por vírus ou células mutadas e matam-nas por indução de lise celular (ver p. 401).
- **Células T auxiliares**, ou células T_H , que auxiliam tanto a resposta imune celular como a resposta humoral.

Conforme mencionado na Seção 18.4, uma célula T_H específica deve se ligar a um determinante antigênico apresentado na superfície de uma célula B para que a célula B venha a ser ativada. A célula auxiliar torna-se o “maestro” de uma “orquestra imunológica”, pois emite sinais químicos que não apenas levam à sua própria proliferação e à proliferação da célula B, mas também colocam em movimento as células T citotóxicas, como veremos em breve.

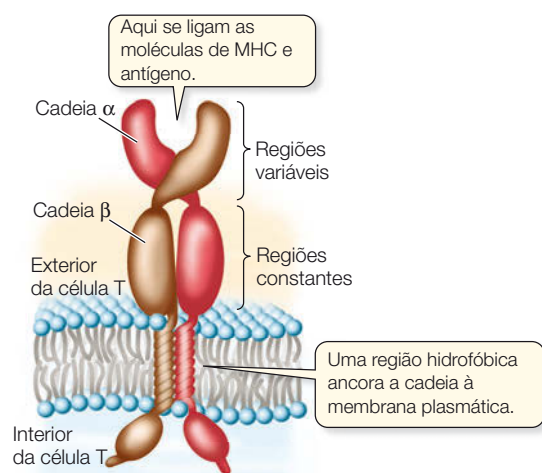


Figura 18.12 Um receptor de células T Tanto em receptores de células T quanto em imunoglobulinas a especificidade de cada sítio de ligação ao antígeno determina-se por ambas as cadeias polipeptídicas. Os receptores de células T apresentam uma ligação mais firme à membrana plasmática das células T quando comparados à ligação das imunoglobulinas à membrana das células B.

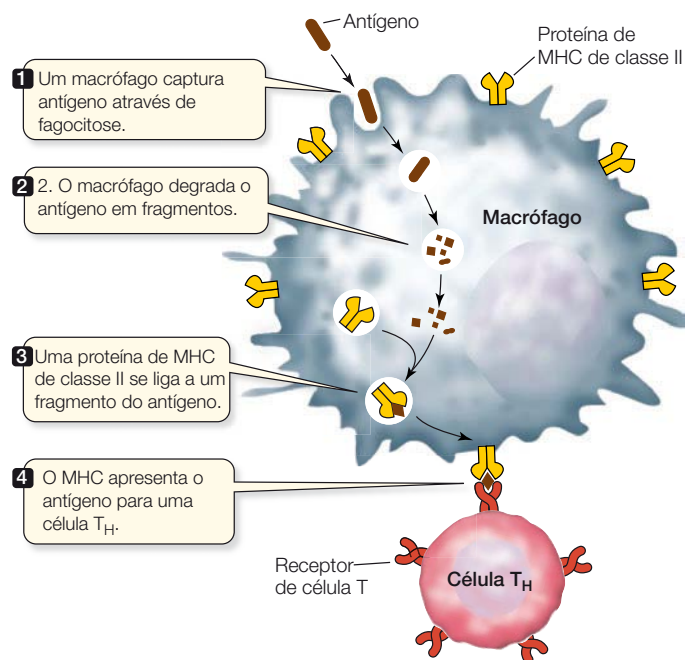


Figura 18.13 Os macrófagos são células apresentadoras de antígeno Um fragmento de um antígeno é apresentado no contexto do MHC de classe II na superfície de um macrófago. Receptores de células T, sobre uma célula T auxiliar específica, podem se ligar a esse complexo antígeno-MHC II e interagir com ele.

Agora que estamos familiarizados com os dois tipos de células T, podemos avaliar a questão de como as células T reconhecem seus determinantes antigênicos e analisar o papel das proteínas do MHC nesse processo.

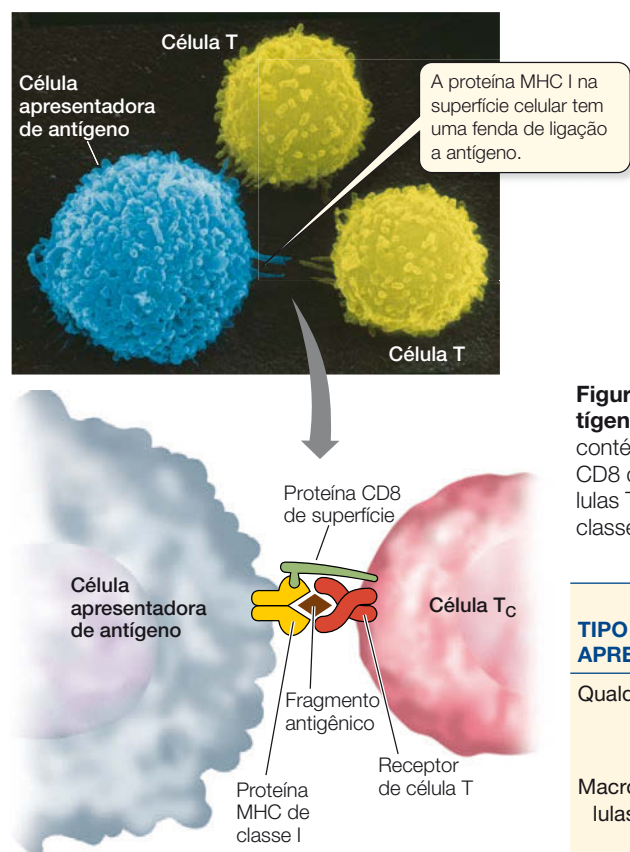


Figura 18.14 A interação entre células T e células apresentadoras de antígenos Um sítio de ligação ao antígeno de uma proteína de MHC de classe I contém um antígeno que é apresentado para células T citotóxicas. As proteínas CD8 da superfície de células T_C se ligam ao MHC de classe I e receptores de células T específicos se ligam ao antígeno. A ligação entre uma proteína de MHC de classe II e uma célula T_H ocorre de forma similar.

O MHC codifica proteínas que apresentam antígenos para o sistema imune

Vimos que o sistema de defesa de um animal reconhece suas próprias células através de proteínas expressas em suas superfícies. Diferentes tipos de proteínas de superfície das células de mamíferos envolvem-se nesse processo, mas nos deteremos especialmente nos produtos de um grupo de genes denominado **complexo principal de histocompatibilidade**, ou **MHC**. Essas proteínas desempenham importantes papéis tanto nas respostas imunes celulares e humorais quanto no processo de tolerância ao próprio.

Os produtos dos genes do MHC são glicoproteínas da membrana plasmática. Em seres humanos, as moléculas do MHC são referidas como *antígenos leucocitários humanos* (HLA), ao passo que em camundongos denominam-se *proteínas H-2*. Sua principal função consiste na de apresentar os antígenos para o receptor de células T de tal forma que as células T possam distinguir entre antígenos próprios e antígenos não próprios. Existem duas classes de proteínas de MHC:

- As proteínas do MHC de classe I encontram-se presentes na superfície de todas as células nucleadas de um animal. Quando as proteínas degradam-se em fragmentos peptídicos menores no proteossomo (ver Seção 14.6), uma proteína do MHC de classe I pode ligar-se a um fragmento e ser levada até a membrana plasmática. Nesse local, a proteína do MHC de classe I “apresenta” o peptídeo celular às células T_C. As células T_C contêm uma proteína de superfície denominada de CD8 que reconhece e se liga à molécula do MHC de classe I.
- As proteínas do MHC de classe II encontram-se principalmente na superfície de células B, macrófagos e outras células apresentadoras de antígeno. Quando uma célula apresentadora de antígeno internaliza um antígeno não próprio, como um vírus, ele é processado no interior de um fagossomo. Uma molécula do MHC de classe II pode ligar-se a um dos fragmentos e, assim, carregá-lo para a superfície celular, onde será apresentado a uma célula T_H (Figura 18.13). As células T_H têm uma proteína de superfície denominada de CD4, que reconhece e se liga ao MHC de classe II.

Para realizar suas funções de apresentação de antígeno, tanto as moléculas do MHC de classe I quanto as de classe II possuem uma fenda de ligação com o antígeno, que pode acomodar um peptídeo de aproximadamente 10 a 20 aminoácidos (Figura 18.14). O receptor de células T reconhece não apenas o fragmento antigênico, mas o fragmento *no contexto de uma molécula de MHC I ou MHC II*. A tabela na Figura 18.14 resume as interações entre as células T e as células apresentadoras de antígeno.

TIPO DE CÉLULA APRESENTADORA	ANTÍGENO APRESENTADO	CLASSE DO MHC	TIPO DE CÉLULA T	PROTEÍNA DA SUPERFÍCIE DA CÉLULA T
Qualquer célula	Fragmentos de proteínas intracelulares	Classe I	Célula T citotóxica (T _C)	CD8
Macrófagos e células B	Fragmentos de proteínas extracelulares	Classe II	Célula T auxiliar (T _H)	CD4

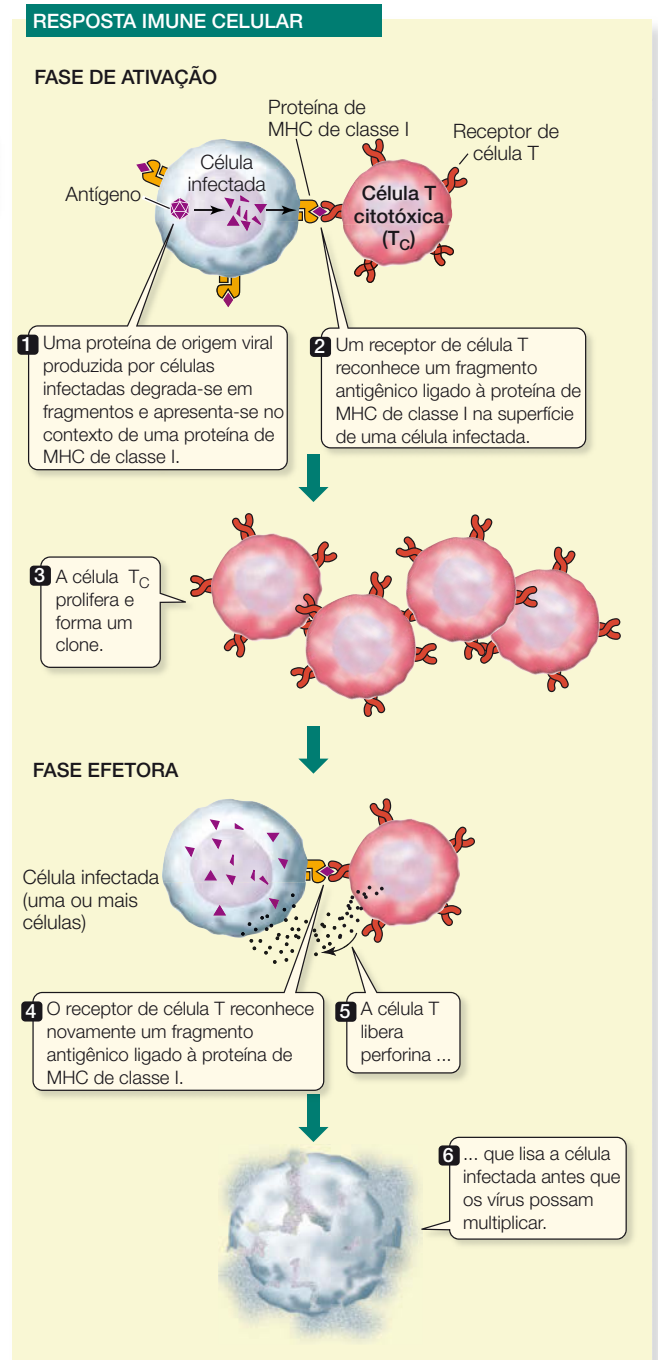
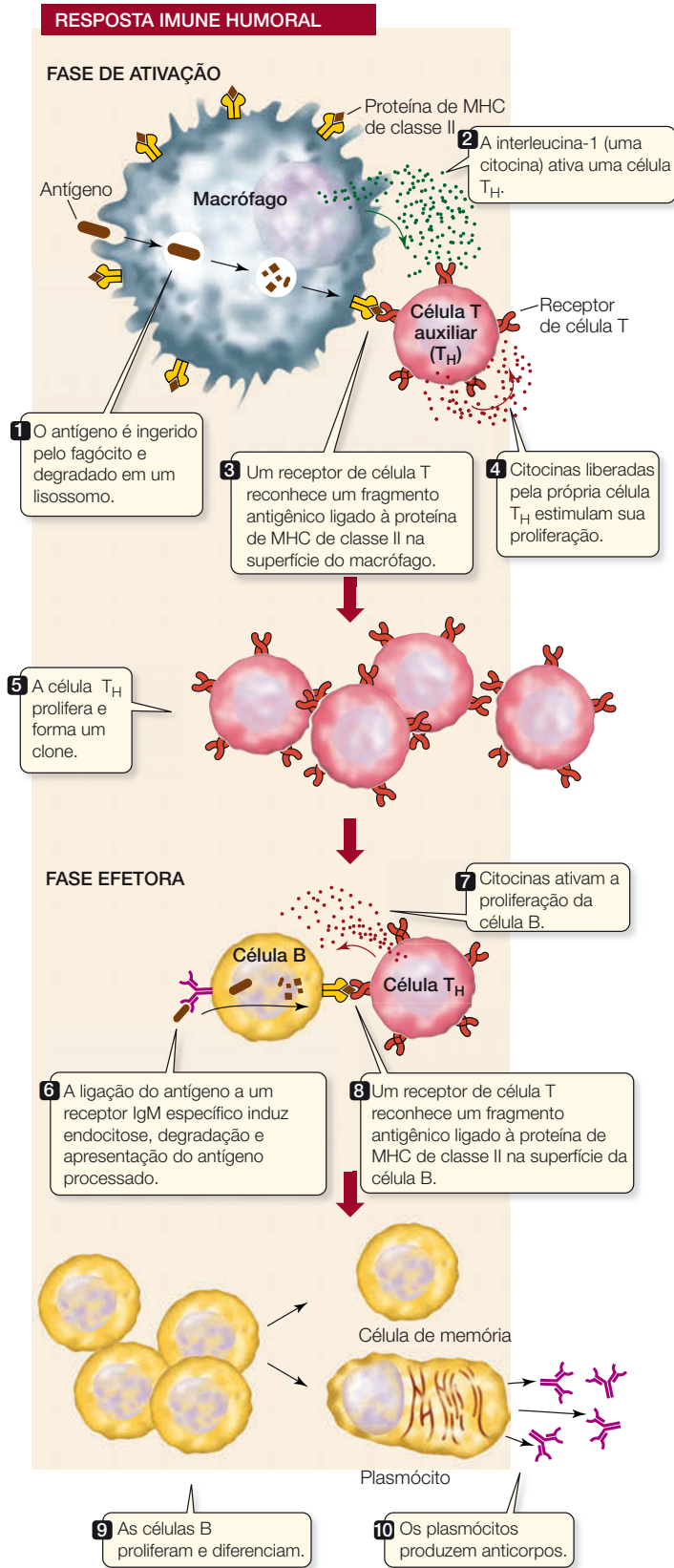


Figura 18.15 Fases das respostas imune humoral e celular Tanto a resposta imune humoral quanto a resposta celular possuem uma fase de ativação e uma fase efetora, ambas envolvendo células T.

Em seres humanos existem três loci genéticos para moléculas de MHC de classe I e três para as moléculas de classe II, cada um desses loci possui pelo menos 100 alelos diferentes.

Com tantas combinações alélicas possíveis, não é de se surpreender que indivíduos distintos muito provavelmente possuam genótipos diferentes para o MHC. Similaridades na sequência de bases entre genes do MHC e os genes que codificam os anticorpos e os receptores de células T, sugerem que todos esses genes sejam descendentes de um mesmo grupo de genes ancestrais, formando uma “superfamília” gênica. Assim, os principais aspectos do sistema imune em vertebrados parecem tramados ao longo de uma história evolutiva comum.

As células T auxiliares e as proteínas do MHC de classe II contribuem para a resposta imune humoral

Quando uma célula T_H se liga a um macrófago apresentador de antígeno, libera citocinas que ativam a proliferação da própria T_H levando à produção de clones de células T_H com a mesma especificidade. As etapas até esse ponto constituem a *fase de ativação* da resposta imune humoral e ocorrem nos tecidos linfoides. A seguir, ocorre a *fase efetora*, na qual células T_H ativam as células B que possuem a mesma especificidade, com vistas à produção de anticorpos (**Figura 18.15, à esquerda**).

As células B são também células apresentadoras de antígenos. Elas internalizam antígenos ligados a seus receptores de imunoglobulina da superfície, por endocitose, processam e apresentam fragmentos desse antígeno no contexto do MHC de classe II. Quando a célula T_H se liga ao complexo MHC classe II-antígeno apresentado, libera citocinas que induzirão a célula B a produzir clones de plasmócitos. Finalmente, os plasmócitos secretam anticorpos, completando a fase efetora da resposta imune humoral.

As células T citotóxicas e as proteínas do MHC de classe I contribuem para a resposta imune celular

As moléculas do MHC de classe I desempenham um papel na resposta imune celular similar àquele desempenhado pelas moléculas do MHC de classe II na resposta imune humoral. Em células infectadas por vírus ou em células alteradas por mutações, proteínas ou fragmentos peptídicos não próprios ou alterados combinam-se com as moléculas do MHC de classe I. Esse complexo apresenta-se na superfície celular para as células T_C . Quando as células T_C reconhecem e se ligam a esse complexo antígeno-MHC I, ativam-se e induzem-se a proliferar (**Figura 18.15, à direita**).

Na fase efetora da resposta imune celular, as células T_C reconhecem e se ligam a células que possuem o mesmo complexo antígeno-MHC I. Essas células T_C produzem uma substância denominada perforina, que promove a lise das células-alvo. Além disso, as células T_C podem se ligar a um receptor específico (chamado de Fas) sobre a célula-alvo, o que induzirá a apoptose dessa célula. Esses dois mecanismos, lise celular e morte celular programada, agem em consonância para eliminar células próprias alteradas.

Visto que as células T_C reconhecem proteínas do MHC próprias complexadas com antígenos não próprios, elas auxiliam o corpo a eliminar células do próprio organismo quando infectadas por vírus. Visto que também reconhecem moléculas do MHC complexadas com antígenos *próprios alterados* (alterados em função de uma mutação), elas também auxiliam na eliminação de células tumorais, pois a maioria das células tumorais sofreu alterações por mutação.

Para que ocorra ativação, além da ligação de seu receptor a um complexo antígeno-MHC, as células T devem receber um segundo sinal. Esse sinal coestimulatório ocorre após a ligação específica inicial e envolve a interação de proteínas adicionais da célula T com a proteína B7 presente em determinadas células apresentadoras de antígenos, como visto anteriormente. Esse segundo evento de ligação leva à ativação da célula T, o que inclui a produção de

citocinas e a proliferação celular. Esse processo também coloca em ação a produção de um *inibidor* desses eventos, garantindo que a resposta seja encerrada de forma apropriada. Esse inibidor, uma proteína de superfície celular chamada CTLA4, compete com o CD28, bloqueando o processo de ativação, especialmente no caso de antígenos próprios.

As moléculas do MHC controlam a tolerância ao próprio

As moléculas do MHC são fundamentais para o estabelecimento da tolerância ao próprio, sem a qual um animal poderia ser destruído por seu próprio sistema imune. Durante a vida de um animal, as células T em desenvolvimento são testadas no timo. Este “teste” consiste em duas “perguntas”:

1. Pode esta célula reconhecer as proteínas MHC do organismo? Uma célula T incapaz de reconhecer as proteínas do MHC próprio será inútil para o animal, pois não poderá participar de qualquer reação imune. Assim, uma célula T que falhe nesse teste morrerá em um período de aproximadamente três dias.
2. Pode esta célula ligar-se a proteínas do MHC próprio e *simultaneamente* a um antígeno próprio? A célula T que satisfaz esses dois critérios pode ser perigosa ou letal para o animal; a célula é então considerada inadequada, falha no teste e sofre apoptose.

As células T que sobrevivem a ambos os desafios amadurecem dando origem a células T_C ou a células T_H .

Em humanos, o complexo principal de histocompatibilidade tornou-se ainda mais importante devido ao desenvolvimento das cirurgias de transplante de órgãos. Tendo em vista que as proteínas produzidas pelo MHC são específicas para cada indivíduo, elas atuam como antígenos não próprios quando transplantadas em outros indivíduos. Um órgão, ou mesmo um fragmento de tecido, transplantado de uma pessoa para outra é reconhecido como não próprio e rapidamente induz uma resposta imune; o tecido é morto, ou “rejeitado”, pelo sistema imune celular do hospedeiro. No entanto, se o transplante for realizado imediatamente após o nascimento, ou se o tecido for proveniente de uma pessoa geneticamente idêntica (um gêmeo monozigótico), reconhece-se o material como próprio e não será rejeitado.

O problema de rejeição pode ser superado pelo tratamento do paciente com drogas, como a *ciclosporina*, que suprime o sistema imune. A ciclosporina atua através do bloqueio da ativação de fatores de transcrição essenciais para o desenvolvimento das células T. No entanto, esse procedimento compromete a capacidade de defesa dos pacientes transplantados em relação à patógenos. Assim, essa situação deve ser controlada através do uso de antibióticos e outras drogas.

18.5 RECAPITULAÇÃO

A resposta imune celular atua contra antígenos expressos na superfície de células infectadas por vírus ou de células mutadas. Receptores específicos presentes nas células T se ligam ao antígeno exposto na superfície celular no contexto de proteínas do MHC. As proteínas do MHC também encontram-se envolvidas na tolerância ao próprio.

- Que funções desempenham os receptores de células T na imunidade celular? *Ver p. 414.*
- Você é capaz de descrever os eventos da resposta imune celular dirigida contra uma célula infectada por vírus? *Ver p. 415 e Figura 18.15.*
- Qual o papel das proteínas do MHC na resposta imune celular? *Ver p. 417.*

Até o momento apenas mencionamos a existência de genes que codificam diversos componentes do sistema imune e a enorme diversidade existente nas respostas imunes. Consideraremos agora os mecanismos genéticos que tornam possível essa diversidade.

18.6 Como os animais produzem tantos anticorpos diferentes?

Cada célula de um mamífero recém-nascido possui o conjunto completo de informações genéticas para a síntese de imunoglobulinas. Em cada loci que codifica as cadeias de anticorpos pesada e leve, existem um alelo proveniente da mãe e outro do pai. Ao longo da vida desse animal, cada uma de suas células parte do mesmo conjunto de genes que codifica as imunoglobulinas. No entanto, conforme as células B se desenvolvem, seus genomas sofrem alterações de tal forma que cada célula B madura produzirá um – e apenas um – tipo específico de anticorpo. Em outras palavras, diferentes células B sofrem *pequenas alterações em seu genoma* de modo a codificar anticorpos com diferentes especificidades. Como pode um único organismo produzir milhões de genomas diferentes?

Uma hipótese era a de que os mamíferos possuem milhões de genes que codificam os anticorpos. Todavia, um cálculo simples (o número de pares de bases necessário para cada gene de cada anticorpo multiplicado por milhões de anticorpos) demonstra que, se isso fosse verdade, nosso genoma inteiro estaria ocupado apenas pelos genes dos anticorpos! Há mais de 30 anos, propôs-se uma hipótese alternativa: um número relativamente pequeno de genes sofreria recombinação a fim de produzir muitas combinações específicas, e esse embaralhamento de segmentos gênicos originais, associado ao pareamento aleatório entre cadeias leves e pesadas, produziria a diversidade dos anticorpos. Essa segunda hipótese constitui atualmente a teoria genética molecular aceita.

Nesta seção descreveremos os eventos genéticos não convencionais que geram a enorme diversidade dos anticorpos, diversidade esta típica de cada indivíduo específico. A seguir, veremos como eventos similares dão origem às cinco classes de anticorpos, que apresentam funções relativamente diferentes.

A diversidade dos anticorpos é consequência do rearranjo de DNA e de outras mutações

Cada gene que codifica uma cadeia das imunoglobulinas consiste, na verdade, em um “supergene” organizado em diversos grupos de genes menores distribuídos ao longo de uma região determina-

da de um cromossomo (Figura 18.16). Cada célula do organismo possui centenas de genes, organizados em grupos separados, potencialmente capazes de participar na síntese das regiões variável e constante das cadeias de imunoglobulina. Na maioria das células e tecidos do organismo, esses genes permanecem intactos e separados uns dos outros. Ao longo do desenvolvimento da célula B, no entanto, esses genes são excisados, rearranjados e unidos lado a lado. Um gene de cada grupo é aleatoriamente escolhido para participar desse processo de rearranjo e os demais são deletados (Figura 18.17).

Dessa forma, uma estruturação característica representando um supergene de anticorpo rearranja-se a partir de “segmentos” aleatoriamente selecionados. Cada precursor de células B, em um animal, rearranja seus dois próprios supergenes específicos para anticorpo, um relativo à cadeia pesada e outro, rearranjado de forma independente, relativo à cadeia leve. Esse fascinante exemplo de diferenciação celular essencialmente irreversível dá origem a uma diversidade enorme de especificidades de anticorpos, resultando em uma especificidade diferente para cada célula B, a partir do mesmo genoma inicial.

Tanto em humanos quanto em camundongos, os grupos de genes que codificam as cadeias pesadas das imunoglobulinas encontram-se em um par de cromossomos e os que codificam a cadeia leve encontram-se em outro. A região variável da cadeia leve codifica-se por duas famílias de genes e a região variável da cadeia pesada codifica-se por três famílias.

A Figura 18.16 ilustra as famílias de genes que codificam as regiões constante e variável da cadeia pesada em camundongos. Existem múltiplos genes que codificam cada um dos quatro tipos de segmentos da cadeia polipeptídica: 100 *V*, 30 *D*, 6 *J* e 8 *C*. Cada célula B que se torna comprometida na produção de um anticorpo seleciona aleatoriamente *um* gene para cada um desses conjuntos, formando a sequência *VDJ* final codificante da cadeia pesada. Assim, o número de cadeias pesadas *diferentes* que pode ser produzido através desse processo de recombinações aleatórias constitui-se relativamente grande (144 mil combinações possíveis em camundongos).

Agora, considere que as cadeias leves constroem-se de forma similar, com diversidade semelhante devido a essas recombinações aleatórias. Se assumirmos que a diversidade da cadeia leve é a mesma que a diversidade da cadeia pesada, o número de combinações possíveis entre cadeias leves e pesadas será 144 mil diferentes cadeias leves x 144 mil diferentes cadeias pesadas = 21 bilhões de possibilidades! Mas existem outros mecanismos capazes de gerar ainda mais diversidade:

- Quando as sequências de DNA que codificam as regiões *V*, *D* e *J* rearranjam-se e aproximam-se umas das outras, o evento

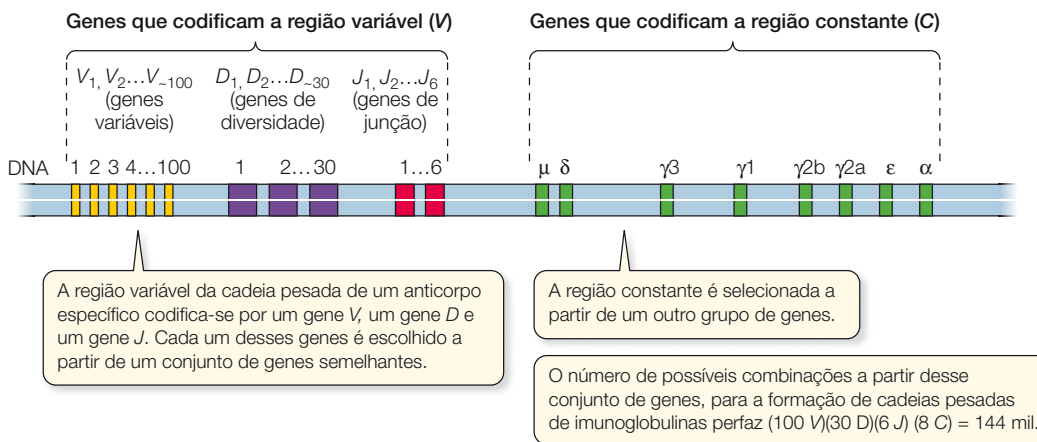


Figura 18.16 Genes da cadeia pesada As cadeias pesadas de imunoglobulina de camundongos possuem quatro regiões, cada uma das quais codificada por um segmento gênico selecionado a partir de um grupo de genes similares.

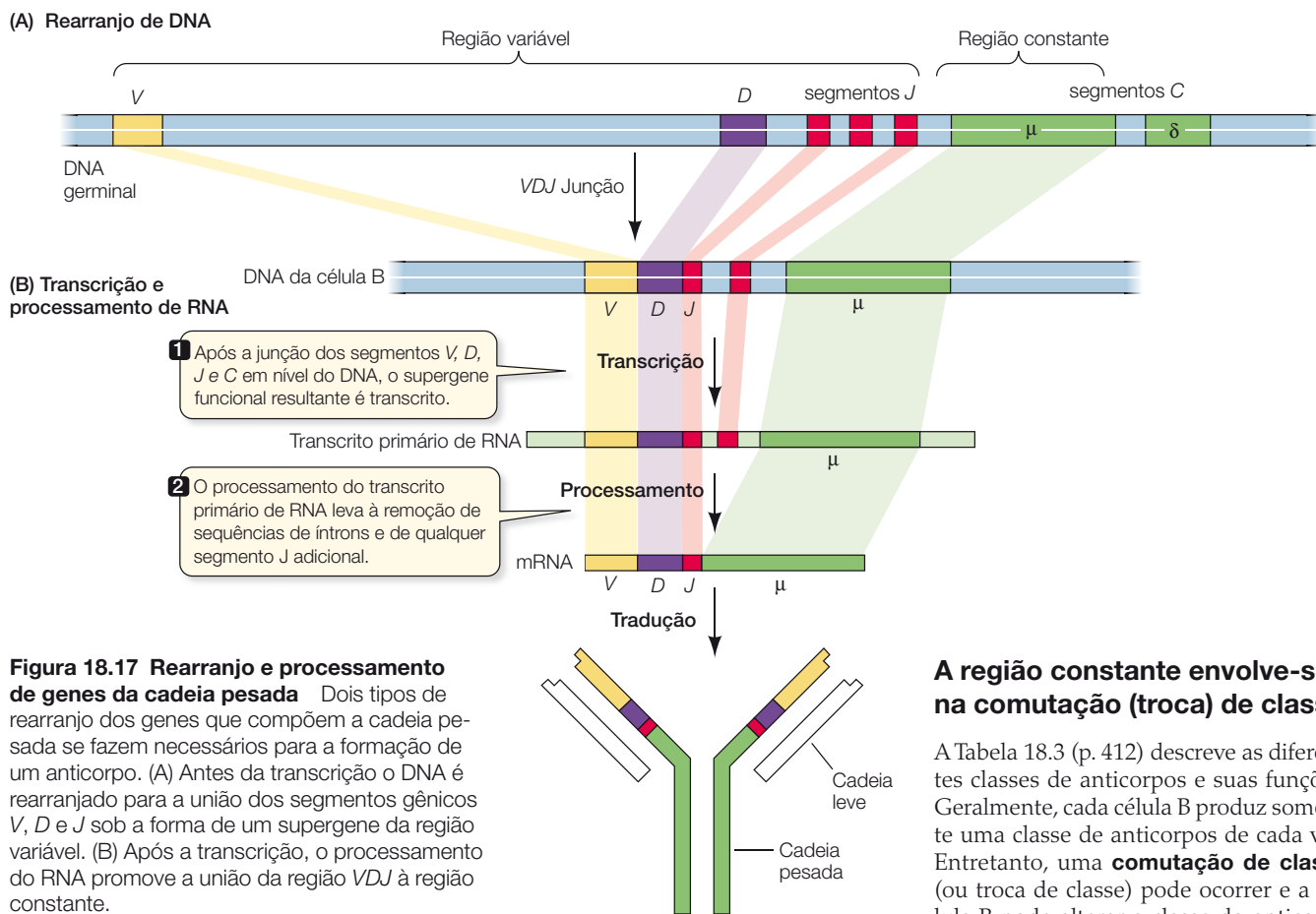


Figura 18.17 Rearranjo e processamento de genes da cadeia pesada Dois tipos de rearranjo dos genes que compõem a cadeia pesada se fazem necessários para a formação de um anticorpo. (A) Antes da transcrição o DNA é rearranjado para a união dos segmentos gênicos V, D e J sob a forma de um supergene da região variável. (B) Após a transcrição, o processamento do RNA promove a união da região VDJ à região constante.

A região constante envolve-se na comutação (troca) de classe

A Tabela 18.3 (p. 412) descreve as diferentes classes de anticorpos e suas funções. Geralmente, cada célula B produz somente uma classe de anticorpos de cada vez. Entretanto, uma **comutação de classe** (ou troca de classe) pode ocorrer e a célula B pode alterar a classe do anticorpo que está sintetizando. Por exemplo, uma célula B produtora de IgM pode trocar de classe e passar a expressar IgG.

No início de sua vida, a célula B produz moléculas de IgM que são receptores responsáveis pelo reconhecimento específico de um determinante antigênico. Nesse momento, a região constante da cadeia pesada do anticorpo codifica-se pelo primeiro gene da região constante, o segmento μ (ver Figura 18.17). Se a célula B diferenciar em plasmócito durante uma resposta imunológica humoral, outra deleção geralmente ocorrerá no DNA da célula, posicionando os segmentos gênicos da cadeia pesada da região variável (os mesmos segmentos V, D e J) próximos a um segmento da região constante localizado em uma região mais distante, sobre o DNA original (Figura 18.18). Essa deleção de DNA resultará na produção de um anticorpo com uma região constante da cadeia pesada diferente da anterior e, conseqüentemente, com função diferente. No entanto, o anticorpo produzido tem *as mesmas regiões variáveis* e, portanto, a mesma especificidade antigênica original. Esse novo anticorpo será de uma das quatro outras classes de imunoglobulinas (IgA, IgD, IgE ou IgG), dependendo de qual o segmento de região constante tenha sido colocado adjacente aos genes da região variável.

Após a troca de classe, o plasmócito não poderá voltar a produzir a imunoglobulina com a classe previamente utilizada, pois essa parte do DNA terá sido perdida. Por outro lado, se segmentos adicionais de regiões constantes ainda encontram-se presentes, a célula pode novamente trocar de classe.

O que aciona a troca de classe e determina a classe que uma célula B deve escolher? As células T_H direcionam o curso de uma resposta imune e determinam a natureza da reação a um antígeno. Essas células T induzem a troca de classe através de sinais via

de recombinação não é exato, e erros nas junções acontecem. Essas *recombinações imprecisas* podem criar novos códons nas junções, que resultam na alteração de aminoácidos.

- Após a excisão das seqüências de DNA e antes que suas extremidades sejam novamente conectadas, uma enzima, a *terminal-deoxinucleotidil-transferase*, frequentemente adiciona alguns nucleotídeos a essas extremidades livres do DNA. Essas bases adicionais criam *mutações por inserção*.
- Existe uma *taxa de mutações* espontâneas relativamente altas nos genes das imunoglobulinas. Assim, esse processo cria diversos alelos novos e aumenta a diversidade de anticorpos.

Somadas essas possibilidades aos bilhões de combinações que podem ocorrer a partir de rearranjos aleatórios de DNA, é fácil acreditar que o sistema imune seja capaz de produzir uma resposta direcionada contra praticamente qualquer substância seja ela natural ou artificial.

Quando esse processamento pré-transcricional se completa, um pré-mRNA pode ser transcrito a partir de cada supergene. Um processamento pós-transcricional remove os introns remanescentes, de tal forma que o mRNA contém uma seqüência codificadora contínua referente a uma cadeia leve ou pesada de imunoglobulina. A tradução produz então cadeias polipeptídicas que se combinam para a formação de uma molécula ativa de anticorpo.

Esse sistema genético é ainda capaz de outras alterações, como no caso da comutação ou troca de classe de imunoglobulina, que ocorre em células B ou plasmócitos, com manutenção da especificidade do anticorpo.

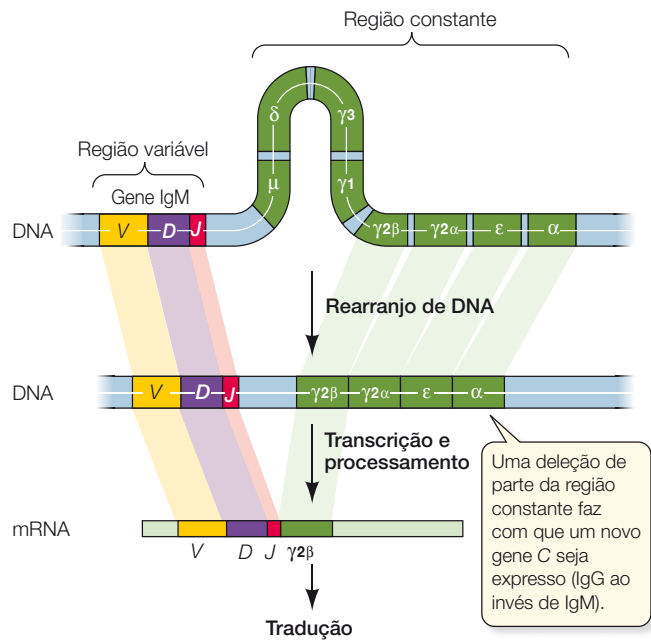


Figura 18.18 Troca de classe O supergene produzido a partir da junção dos segmentos *V*, *D*, *J* e *C* (ver Figura 18.17) pode posteriormente ser modificado, fazendo uma região *C* diferente seja transcrita. Essa modificação, conhecida como troca de classe, ocorre por meio da deleção de uma parte do conjunto de genes da região constante. Aqui ilustramos a troca de classe de IgM para IgG.

citocinas. As citocinas ligam-se a receptores sobre células B-alvo, gerando uma cascata de transdução de sinais que leva à transcrição alterada dos genes de imunoglobulinas.

18.6 RECAPITULAÇÃO

O sistema imune pode produzir milhões de anticorpos de diferentes especificidades por meio do rearranjo de segmentos gênicos *V*, *D* e *J* que codificam as regiões variáveis nas células B imaturas. Um processamento pós-transcricional adicional e o processamento do mRNA levam à formação de uma cadeia de imunoglobulinas única e diferente. A classe da molécula de imunoglobulina pode ser alterada por meio da deleção de um gene que codifica a região constante da cadeia pesada.

- Como bilhões de diferentes anticorpos de diferentes especificidades podem ser gerados a partir de um número relativamente pequeno de genes? Ver p. 418-419 e Figuras 18.16 e 18.17.
- Qual é o papel da região constante das imunoglobulinas no processo de troca de classe? Ver p. 419 e Figura 18.18.

Tendo em vista as numerosas e complexas interações celulares que levam à ativação do sistema imune e induzem a diversidade dos anticorpos, podemos imaginar uma série de pontos onde o sistema imune constitui-se vulnerável e pode falhar. A seguir, apresentaremos diversas situações nas quais um ou mais componentes desse complexo sistema apresenta falhas em seu funcionamento.

18.7 O que acontece quando o sistema imune falha?

Em alguns momentos o sistema imune falha, sendo incapaz de atuar adequadamente. Ele pode apresentar uma reação exacerbada, como nas *reações alérgicas*; ele pode atacar antígenos próprios, como nas *doenças autoimunes* ou pode apresentar reações fracas demais ou inexistentes, como no caso das *imunodeficiências*.

A hipersensibilidade leva a reações alérgicas

Uma **reação alérgica** se origina quando o sistema imune humano reage de forma exacerbada (apresenta *hipersensibilidade*) a uma dose de antígeno. Apesar do antígeno propriamente dito não ser necessariamente perigoso ou danoso para o hospedeiro, a resposta imune inadequada pode levar à inflamação e a outros sintomas que podem causar sérios distúrbios ou mesmo óbito. As alergias são o exemplo mais comum desse fenômeno. Existem dois tipos de reações alérgicas: a *hipersensibilidade imediata* e a *hipersensibilidade tardia* ou *retardada*.

HIPERSENSIBILIDADE IMEDIATA A **hipersensibilidade imediata** ocorre quando um indivíduo exposto a um antígeno alimentar, pólen ou ao veneno de um inseto (referidos aqui como *alérgenos*) produz grandes quantidades de IgE. Quando isso acontece, os mastócitos nos tecidos e os basófilos no sangue ligam-se à região constante da IgE. Se esse indivíduo expõe-se novamente ao mesmo alérgeno, a ligação entre alérgeno e IgE fará com que os mastócitos e basófilos rapidamente liberem uma grande quantidade de histamina (Figura 18.19). Essa liberação leva a sintomas como dilatação dos vasos sanguíneos, inflamação e dificuldade respiratória. Se não tratada com anti-histamínicos, uma reação alérgica intensa pode levar à morte. A razão de uma exposição inicial a um alérgeno estimular a produção de IgE em algumas pessoas é uma questão ainda não esclarecida. Existem evidências da existência de fatores genéticos de predisposição às respostas alérgicas.

A alergia ao pólen pode ser tratada através de um processo denominado *desensibilização*. Esse processo envolve a inoculação de pequenas quantidades do alérgeno (em geral um extrato simples da planta responsável pela alergia) na pele – suficientes para estimular a produção de IgG, mas não para estimular a produção de IgE. Assim, em um próximo contato com o alérgeno, a IgG se ligará a essas moléculas, impedindo a ligação de IgE, consequentemente impedindo seus efeitos deletérios. A desensibilização não funciona em alérgenos alimentares, pois a resposta mediada por IgE a essas substâncias é tão forte que mesmo uma quantidade mínima pode evocá-la.

Um dos alérgenos alimentares mais comuns é o amendoim. Algumas pessoas são tão sensíveis que mesmo um beijo em uma outra pessoa que tenha ingerido amendoins há pouco tempo pode levar ao desenvolvimento de uma reação alérgica violenta, ou mesmo fatal.

HIPERSENSIBILIDADE TARDIA A **hipersensibilidade tardia** é uma reação alérgica que só tem início algumas horas após a exposição ao antígeno. Nesse caso, o antígeno é internalizado e processado por células apresentadoras de antígenos e uma resposta mediada por células T se inicia. Um exemplo típico consiste no eritema (mancha vermelha resultante de reação alérgica) que se desenvolve após contato com a hera venenosa.

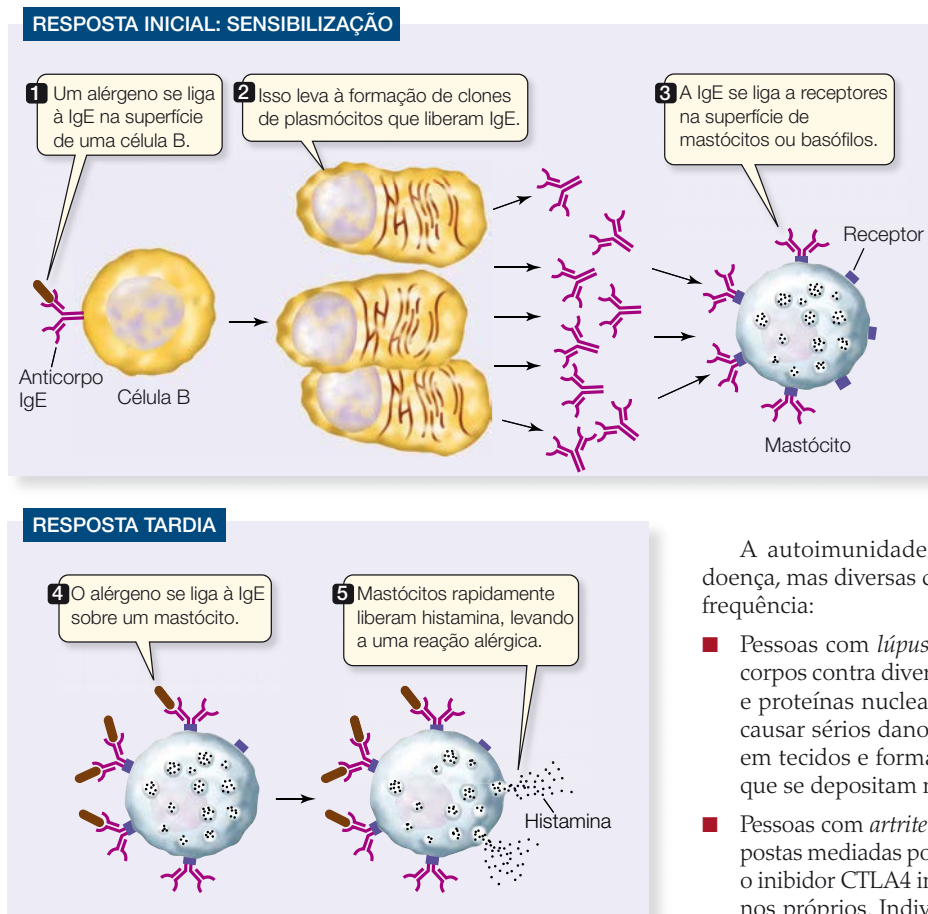


Figura 18.19 Uma reação alérgica Um alérgeno é um antígeno que estimula células B a produzir grandes quantidades de anticorpos tipo IgE, os quais se ligam a mastócitos e basófilos. Quando o organismo encontra novamente o alérgeno, essas células produzem grandes quantidades de histamina, a qual pode acarretar efeitos fisiológicos deletérios.

Doenças autoimunes são causadas por reações contra antígenos próprios

Algumas vezes as pessoas produzem um ou mais “clones proibidos” de células B e T dirigidos contra antígenos próprios. Apesar da origem exata dessa **autoimunidade** ainda não ter sido estabelecida, diversas hipóteses tentam explicá-la:

- **Falha na deleção clonal:** Um clone de linfócitos produtores de anticorpos dirigidos contra antígenos próprios deveria ter sido eliminado por apoptose, mas não o foi.
- **Infeção viral:** Um vírus que possui um determinante antigênico que se assemelha a um antígeno próprio infecta um indivíduo e, em consequência da resposta policlonal a antígenos complexos, o organismo gera alguns anticorpos capazes de reagir contra o próprio.
- **Mimetismo molecular:** Células T que reconhecem um antígeno não próprio também reconhecem algo sobre o próprio, que possui estrutura semelhante.

Análises de árvores genealógicas humanas mostram que as doenças autoimunes apresentam uma “tendência familiar”, indicando a existência de um componente genético. A triagem do genoma em busca de SNP em pacientes com essas doenças revelou que um fator de transcrição denominado RUNX1, que atua no desenvolvimento das células B, encontra-se envolvido. Alguns alelos do MHC II apresentam forte ligação a determinadas doenças autoimunes.

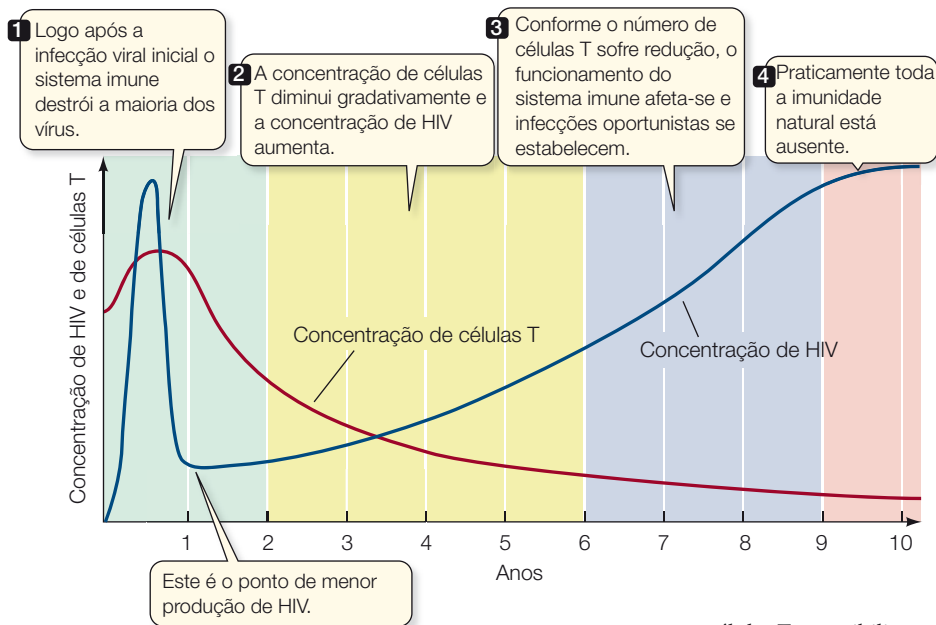
A autoimunidade não necessariamente resultará em uma doença, mas diversas doenças autoimunes ocorrem com bastante frequência:

- Pessoas com **lúpus eritematoso sistêmico (SLE)** possuem anticorpos contra diversos componentes celulares, incluindo DNA e proteínas nucleares. Esses anticorpos antinucleares podem causar sérios danos quando se ligam com antígenos normais em tecidos e formam grandes complexos imunes circulantes, que se depositam nos tecidos e induzem inflamação.
- Pessoas com **artrite reumatoide** têm dificuldade em finalizar respostas mediadas por células T. Mencionamos anteriormente que o inibidor CTLA4 impede que as células T reajam contra antígenos próprios. Indivíduos com artrite reumatoide podem apresentar baixa atividade CTLA4, que resulta em inflamação nas articulações devido à infiltração excessiva de glóbulos brancos.
- A **tireoidite de Hashimoto** trata-se da doença autoimune mais comum em mulheres acima de 50 anos. Células imunes atacam as secreções da tireoide, o que ocasiona, além de outros sintomas, fadiga, depressão e ganho de peso.
- O **diabetes melito insulino-dependente**, ou diabetes tipo I, ocorre mais frequentemente em crianças. Essa doença é causada por uma reação imune contra diversas proteínas nas células do pâncreas, que produzem o hormônio proteico insulina. Essa reação leva à morte das células produtoras de insulina, de forma que pacientes com diabetes tipo I precisam tomar insulina diariamente para sobreviver.

A AIDS é um distúrbio de imunodeficiência

Existem várias doenças de **imunodeficiência**, herdadas ou adquiridas. Em alguns indivíduos células T ou B não se formam; em outros, as células B perdem a capacidade de darem origem a plasmócitos. Em ambos os casos, os indivíduos afetados não são capazes de montar uma resposta imune e, assim, perdem a principal linha de defesa contra patógenos.

Considerando seu envolvimento fundamental tanto na resposta imune humoral quanto na resposta imune celular, a célula T_H talvez seja o componente mais importante do sistema imune – uma célula importante cuja perda pode levar a uma imunodeficiência. Essa célula consiste no alvo do **HIV** (*vírus da imunodeficiência humana*), o retrovírus cuja infecção leva ao desenvolvimento da **AIDS** (síndrome da imunodeficiência adquirida).



O HIV pode ser transmitido de uma pessoa para outra de várias maneiras:

- Por meio do sangue, por exemplo, com uma agulha contaminada com o vírus, após essa ter sido utilizada por um indivíduo infectado.
- Pela exposição de uma lesão na pele, uma ferida aberta ou uma membrana mucosa a fluidos corporais, como sangue ou sêmen, de um indivíduo infectado.
- Através do sangue de uma mãe infectada para seu bebê, durante o nascimento.

O HIV infecta inicialmente macrófagos, células T_H e células dendríticas no sangue e tecidos. Essas células infectadas transportam o vírus para os linfonodos e baço, onde células B e T encontram-se presentes. Normalmente, as células dendríticas apresentam o antígeno capturado por elas às células T_H , nos linfonodos, e isso induz a proliferação clonal das células T_H (Figura 18.15). Visto que o HIV infecta preferencialmente células T_H ativadas (em vez de células T em repouso), as partículas de HIV que chegam aos linfonodos podem infectar as diversas células T_H que já se encontram ativadas, em resposta a outros antígenos. Esses dois processos – o transporte dos vírus para os linfonodos e a presença de células receptivas à infecção viral nos linfonodos – se combinam garantindo uma forte reprodução do HIV. Até 10 bilhões de partículas virais produzem-se diariamente nessa fase inicial da infecção. O número de células T_H decresce rapidamente, e a pessoa infectada apresenta sintomatologia semelhante à da mononucleose, com o aumento dos linfonodos e febre.

Esses sintomas tornam-se menos intensos após três semanas; no entanto, como as células T reconhecem células infectadas, uma resposta imune é montada, e anticorpos específicos contra o HIV surgem no sangue (Figura 18.20). Nessa fase, o paciente apresenta altos níveis de HIV complexado a anticorpos em circulação, os quais são gradualmente removidos pela ação das células dendríticas ao longo dos meses seguintes. No entanto, antes de serem eliminados, esses complexos anticorpo-vírus podem ainda infectar células T_H que entram em contato com eles. Esse processo de infecção secundária leva a um estado de equilíbrio de baixa viremia denominado *set point*. Esse ponto varia entre diferentes indivíduos e representa um forte fator de prognóstico da evolução

Figura 18.20 O curso de uma infecção por HIV Uma infecção por HIV pode estar presente, sem que o portador suspeite disso, por vários anos antes da manifestação dos primeiros sintomas. Esse longo período de “latência” frequentemente ocasiona a transmissão viral a partir de portadores que desconhecem o fato de estarem infectados.

da doença. Para a maioria das pessoas existe um intervalo de 8 a 10 anos, mesmo com a ausência de tratamento, para que as manifestações mais graves da AIDS se desenvolvam. Em alguns casos, esse intervalo pode ser inferior a um ano e em outros pode alcançar 20 anos.

Durante esse período de latência, os portadores do HIV geralmente se sentem bem, e um nível adequado de

células T_H possibilita o desenvolvimento de respostas imunes. Contudo, com o decorrer do tempo, os vírus destroem as células T_H e seu número cai a níveis perigosos. Nesse ponto, considera-se que o paciente infectado está no terceiro estágio da doença (*full-blown AIDS*), e ele torna-se suscetível a infecções que as células T_H normalmente eliminariam (Figura 18.21). As mais características dentre essas infecções consistem em um tumor de pele, bastante raro em outras condições, denominado sarcoma de Kaposi, causado por um herpesvírus; pneumonia causada pelo fungo *Pneumocystis carinii* e linfomas causados por vírus de Epstein-Barr. Essas denominam-se infecções oportunistas, pois aproveitam o estado enfraquecido em que se encontra o sistema imune do hospedeiro. Elas costumam levar à morte em um período de um a dois anos.

A INFECÇÃO E A REPLICAÇÃO DO HIV Conforme a epidemia de AIDS se expandiu, também cresceu nosso conhecimento a respeito da biologia molecular da infecção por HIV. O ciclo de vida do HIV foi descrito na Seção 13.1 (ver Figura 13.6). Em resumo, sendo um retrovírus envelopado, a região central do HIV é circundado por uma membrana e seu genoma consiste em RNA.

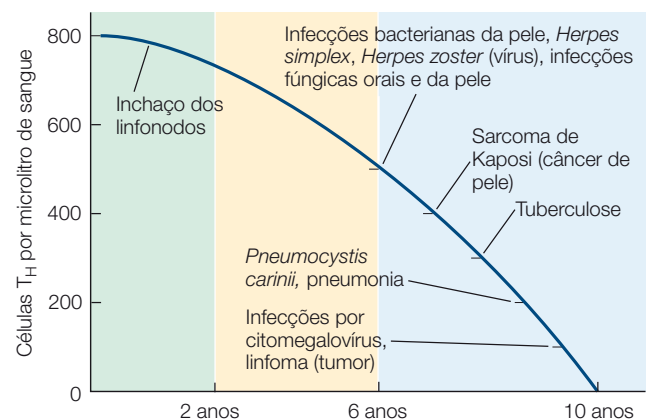


Figura 18.21 Relação entre o número de células T_H e infecções oportunistas À medida que o HIV elimina as células T_H , o sistema imune torna-se menos capaz de defender o organismo contra diferentes patógenos, mesmo contra aqueles que normalmente não são infecciosos em indivíduos saudáveis.

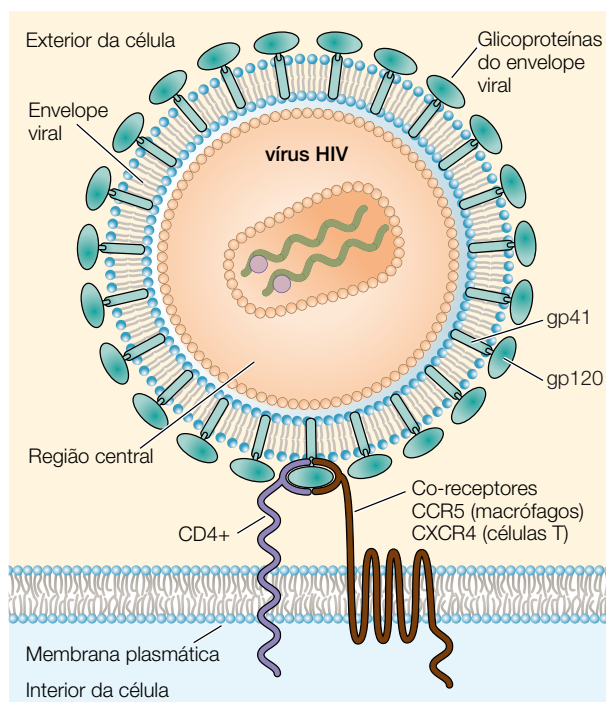


Figura 18.22 Dois receptores de HIV Duas proteínas de superfície celular se fazem necessárias para a penetração do HIV na célula. Algumas pessoas não possuem o correceptor CCR5, o que as torna resistentes à infecção por HIV.

Diversas proteínas codificadas pelo vírus são essenciais para a infecção e replicação do HIV:

- O vírus usa as proteínas de membrana *gp120* e *gp41* para aderir a células humanas (*gp* deriva de glicoproteína). Essas proteínas se dirigem especificamente a duas proteínas na superfície das células hospedeiras, CD4 e um correceptor (CCR5 em macrófagos e CXCR4 nas células T) (**Figura 18.22**). A ligação do vírus é seguida de fusão de membranas possibilitando que o genoma viral e suas proteínas associadas penetrem na célula.
- A *transcriptase reversa* catalisa a síntese de cDNA a partir do RNA viral. Infelizmente, essa enzima não possui a função de correção de erros (*proofreading*) comum a outras DNA-polimerases e aproximadamente 10 erros inserem-se em cada ciclo de síntese de cDNA. Esse fenômeno dá origem a um conjunto diversificado de partículas virais mutantes.
- A *integrase* catalisa a inserção do cDNA ao cromossomo hospedeiro.
- A *protease* faz-se necessária para completar a formação de proteínas virais específicas a partir de grandes produtos iniciais provenientes da tradução.

Outras proteínas codificadas pelo HIV são necessárias para realizar a transcrição de seu cDNA (proteína Tat) e para o processamento do RNA (proteína Rev).

O TRATAMENTO DA INFECÇÃO HIV Armados com uma impressionante quantidade de informações detalhadas sobre o HIV, os cientistas tentam desenvolver tratamentos contra a AIDS. A estratégia terapêutica geral consiste em tentar bloquear etapas fundamentais do ciclo vital do vírus sem promover danos à célula hospedeira. Agentes terapêuticos que interferem nas principais etapas do ciclo de vida viral estão sendo testados. É essencial blo-

quear apenas etapas tipicamente virais, de forma que as drogas terapêuticas não provoquem danos através do bloqueio do metabolismo do próprio paciente.

A terapia denominada de terapia antirretroviral de alta potência (**HAART**, do inglês *highly active antiretroviral therapy*) desenvolvida no final da década de 1990, obteve considerável sucesso no retardo da instalação dos sintomas da AIDS em pessoas infectadas pelo HIV e no aumento da sobrevivência de pessoas com AIDS. A lógica da HAART é oriunda do tratamento de câncer: envolve a combinação de drogas que agem em diferentes etapas do ciclo de vida do vírus. Resumidamente, o tratamento com a HAART usa um inibidor de proteases e dois inibidores da transcriptase reversa. Os dois inibidores da transcriptase reversa podem ser ministrados em um único comprimido. Esse regime de drogas é capaz de eliminar completamente o HIV em algumas pessoas, especialmente naquelas tratadas nos primeiros dias após a infecção, antes que o vírus possa atingir os linfonodos. A maioria dos pacientes, no entanto, já usa outras terapias anti-HIV há um tempo considerável.

Infelizmente, diversos pacientes submetidos à HAART desenvolveram linhagens de HIV resistentes a esse tratamento; situação essa devida à taxa de erros da transcriptase reversa. Assim, uma corrida sem fim parece estar ocorrendo com o objetivo de modificar a HAART através da adição de novas drogas e/ou da combinação de diferentes drogas, e existem atualmente em torno de 150 tratamentos diferentes de HAART. Em resumo, estamos presos em uma briga evolutiva contra o HIV. Como poderemos obter uma vantagem duradoura? A grande esperança consiste no desenvolvimento de uma vacina contra o HIV. Os primeiros testes clínicos de vacinas dirigidas contra a proteína de membrana *gp120* do HIV não se mostraram promissores, mas outras vacinas estão sendo desenvolvidas.

A epidemia mundial de AIDS teve início no princípio da década de 1980 e continua a expandir-se, especialmente na África e no sudeste asiático. Aproximadamente 40 milhões de pessoas encontram-se atualmente infectadas pelo HIV. Em torno de 4 milhões de novas infecções ocorrem a cada ano e o número de mortes nesse mesmo período alcança a casa dos 3 milhões. Pelo menos metade das pessoas que foram infectadas desde o início da epidemia foi a óbito. O que pode ser feito enquanto a ciência biomédica produz ferramentas para erradicar a epidemia mundial de AIDS?

Acima de tudo, as pessoas precisam reconhecer que estão em perigo quando mantêm relações sexuais com parceiros dos quais desconhecem a vida sexual *pregressa*. O perigo aumenta com o aumento do número de parceiros sexuais e é muito maior quando os parceiros envolvidos não utilizam a proteção de preservativos durante o ato sexual. O perigo de transmissão de HIV aumenta significativamente em relações heterossexuais se um dos parceiros apresenta outra doença sexualmente transmissível.

18.7 RECAPITULAÇÃO

Reações alérgicas (causadas por hipersensibilidade a antígenos), doenças autoimunes (causadas por reações contra antígenos próprios) e imunodeficiências, representam falhas na atuação do sistema imune.

- De que forma se desenvolve a hipersensibilidade imediata? Ver p. 420 e Figura 18.19.
- O que é uma doença autoimune? Dê um exemplo. Ver p. 421.
- Descreva a sequência de eventos no sistema imune ao longo de uma infecção por HIV. Ver p. 422-423 e Figura 18.20.

RESUMO DO CAPÍTULO

18.1 Quais os principais sistemas de defesa dos animais?

As defesas dos animais contra **patógenos** baseiam-se na capacidade do organismo em distinguir entre o próprio e o não próprio.

As **defesas inespecíficas** (inatas) são mecanismos herdados que protegem o organismo de muitos tipos de diferentes patógenos e atuam de forma caracteristicamente rápida.

As **defesas específicas** são mecanismos adaptativos que respondem a patógenos específicos. Elas se desenvolvem lentamente, mas apresentam longa duração.

Diversos mecanismos são implementados por células e mediados por proteínas no **plasma sanguíneo** e na **linfa**. [Rever Figura 18.1.](#)

Os **glóbulos brancos sanguíneos** podem ser divididos em dois grandes grupos. Os **fagócitos** incluem os **macrófagos** que englobam patógenos através da fagocitose. Os **linfócitos**, que incluem células B e células T, participam nas respostas imunes específicas. [Rever Figura 18.2.](#)

18.2 Quais são as características das defesas inespecíficas?

As defesas inatas de um animal incluem barreiras físicas, como a pele e a competição com microrganismos residentes que compõe a **flora normal**. [Rever a Tabela 18.1.](#)

O **sistema do complemento** consiste em aproximadamente 30 diferentes proteínas antimicrobianas.

Células circulantes de defesa, como **fagócitos** e células **natural killers** eliminam invasores.

A **resposta inflamatória** se baseia em diferentes células e proteínas que atuam contra patógenos invasores. **Mastócitos** liberam **histaminas**, que causam dilatação e “permeabilização” dos vasos. [Rever Figura 18.4.](#)

Uma via de sinalização celular que envolve o receptor **toll** estimula as defesas do organismo.

18.3 Como se desenvolve a imunidade específica?

A resposta imune específica caracteriza-se pelo reconhecimento de **antígenos** específicos, pela capacidade de responder a uma diversidade enorme de **determinantes antigênicos**, pela capacidade de distinguir entre o próprio e não próprio e pela **memória imunológica** a antígenos anteriormente encontrados.

Cada anticorpo e cada célula T é específica para um único determinante antigênico. **Receptores de células T** são capazes de se ligar a antígenos na superfície de células infectadas por vírus.

A **resposta imune humoral** direciona-se contra patógenos no sangue, linfa e fluidos tissulares. A **resposta imune celular** direciona-se contra um antígeno estabelecido no interior de uma célula hospedeira. Ambas as respostas são mediadas por fragmentos antigênicos apresentados na superfície celular, no contexto de proteínas do **complexo principal de histocompatibilidade**.

A **seleção clonal** é capaz tanto de explicar a especificidade e a diversidade da resposta imune quanto a memória imunológica e a tolerância ao próprio. [Rever Figura 18.6.](#)

Um linfócito ativado produz **células efetoras** que promovem o ataque ao antígeno e **células de memória** que mantêm a capacidade de divisão e produção de novas células efetoras e de memória. Células B efetoras denominam-se **plasmócitos**.

Imunização consiste na inoculação de moléculas antigênicas e **vacinação** é a inoculação de patógenos modificados. Ambas as técnicas visam impedir doenças através da estimulação da memória imunológica.

18.4 O que é a resposta imune humoral?

As células B constituem a base para a resposta imune humoral. As células B ativadas, estimuladas através da sinalização mediada por células T auxiliares que compartilham a mesma especificidade, amadurecem em plasmócitos, que sintetizam e secretam anticorpos específicos.

A unidade básica de um anticorpo, ou **imunoglobulina**, é um tetrâmero formado por quatro polipeptídeos: duas cadeias leves idênticas e duas cadeias pesadas idênticas, cada uma contendo uma **região constante** e uma **região variável**. [Rever Figura 18.9.](#)

As regiões variáveis determinam a especificidade de uma imunoglobulina e as regiões constantes da cadeia pesada determinam sua classe. Existem cinco classes de imunoglobulinas. [Rever Tabela 18.3.](#)

Um clone de células com capacidade de crescimento em cultura e produção de um **anticorpo monoclonal** pode ser produzido a partir da fusão de células B com uma célula tumoral, gerando um **hibridoma**. [Rever Figura 18.11.](#)

18.5 O que é a resposta imune celular?

As células T são as efetoras das respostas imunes celulares. Os receptores de células T assemelham-se em estrutura às imunoglobulinas, possuindo regiões variáveis e constantes. [Rever Figura 18.12.](#)

Existem dois tipos de células T. As **células T citotóxicas** reconhecem e matam células infectadas por vírus ou células mutadas. **As células T auxiliares** controlam tanto a resposta imune celular quanto a humoral.

Os genes do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) codificam proteínas de membrana que se ligam a fragmentos antigênicos e os apresentam às células T. [Rever Figura 18.13.](#)

Órgãos transplantados são rejeitados quando o sistema imune do hospedeiro reconhece as proteínas do MHC no tecido transplantado como não próprias.

18.6 Como os animais produzem tantos anticorpos diferentes?

O genoma das células B sofre alterações durante o desenvolvimento celular de modo a permitir que cada célula produza um único anticorpo proteico específico. As cadeias das imunoglobulinas derivam de “supergenes” construídos a partir de um segmento escolhido dentre os numerosos membros de cada uma das famílias de genes *V*, *D*, *J* e *C*. Este rearranjo e junção de DNA geram uma cadeia de imunoglobulina com características únicas. [Rever Figuras 18.16 e 18.17.](#)

Quando uma célula B se diferencia em plasmócito pode realizar comutação ou **troca de classe**, durante a qual a deleção de um ou mais genes da região constante leva à produção de um anticorpo com uma região constante diferente da original e função distinta. [Rever Figura 18.18.](#)

18.7 O que acontece quando o sistema imune falha?

Uma **reação alérgica** consiste em uma resposta imune inadequada causada por **hipersensibilidade imediata** ou **tardia** a certos antígenos. [Rever Figura 18.19.](#)

As **doenças autoimunes** ocorrem quando o sistema imune produz células B e T que atacam antígenos próprios.

Doenças de imunodeficiência resultam de falhas em diferentes porções do sistema imune. A **AIDS** é uma deficiência imunológica adquirida originada da depleção de células T_H como resultado da infecção por **HIV**. [Rever Figura 18.20.](#)

QUESTÕES

1. A fagocitose mata bactérias deletérias via:
 - a. endocitose.
 - b. produção de anticorpos.
 - c. proteínas do complemento.
 - d. estimulação de células T.
 - e. inflamação.
2. Qual dos postulados abaixo sobre imunoglobulinas é verdadeiro?
 - a. Auxiliam os anticorpos em seu trabalho.
 - b. Reconhecem e se ligam a determinantes antigênicos.
 - c. Codificam alguns dos genes mais importantes em um animal.
 - d. São as principais participantes dos mecanismos de defesa inespecífica.
 - e. Representam uma classe especializada de células brancas.
3. Qual dos postulados abaixo sobre um determinante antigênico *não* é verdadeiro?
 - a. Ele é representado por um grupamento químico específico.
 - b. Pode estar presente em várias moléculas diferentes.
 - c. Parte de um antígeno sobre o qual um anticorpo pode se ligar.
 - d. Pode fazer parte de uma célula.
 - e. Uma única proteína possui apenas uma dessas estruturas em sua superfície.
4. Os receptores de células T
 - a. são os principais receptores do sistema imune humoral.
 - b. são carboidratos.
 - c. não podem funcionar, a menos que o animal já tenha um contato prévio com o antígeno.
 - d. são produzidos pelos plasmócitos.
 - e. são importantes no combate a infecções virais.
5. De acordo com a teoria da seleção clonal,
 - a. um anticorpo altera sua forma de acordo com o antígeno sobre o qual irá se ligar.
 - b. cada animal individualmente contém apenas um tipo de células B.
 - c. cada animal individualmente contém diversos tipos de células B, cada um produzindo um tipo diferente de anticorpo.
 - d. cada célula B produz vários tipos de anticorpos.
 - e. diversos clones de linfócitos autorreativos estão presentes na corrente sanguínea.
6. A tolerância imunológica
 - a. depende de exposição a um antígeno.
 - b. desenvolve-se tardiamente e muitas vezes é fatal.
 - c. desaparece ao nascimento.
 - d. resulta da atividade do sistema do complemento.
 - e. resulta do processamento de DNA.
7. A extraordinária diversidade dos anticorpos resulta, em parte:
 - a. da ação de anticorpos monoclonais.
 - b. do processamento de moléculas proteicas.
 - c. da ação de células T citotóxicas.
 - d. do rearranjo de genes.
 - e. de sua impressionante inespecificidade.
8. Qual das seguintes células ou moléculas não possui função ligada à resposta mediada por anticorpos?
 - a. Células T auxiliares.
 - b. Fatores de crescimento.
 - c. Macrófagos.
 - d. Transcriptase reversa.
 - e. Produtos dos genes do MHC de classe II.
9. O complexo principal de histocompatibilidade
 - a. codifica proteínas específicas encontradas na superfície das células.
 - b. não está envolvido na imunidade de células T.
 - c. não está envolvido nas respostas mediadas por anticorpos.
 - d. não está envolvido na rejeição a enxertos de pele.
 - e. é codificado por um único locus contendo múltiplos alelos.
10. Qual das seguintes moléculas não está envolvida na reprodução do HIV?
 - a. Integrase.
 - b. Transcriptase reversa.
 - c. Gp120.
 - d. Interleucina-1.
 - e. Protease.

PARA DISCUSSÃO

1. Descreva a porção de uma molécula de anticorpo que interage com um determinante antigênico. Quão similar é essa porção a um sítio ativo de uma enzima? Como ela difere de um sítio ativo de uma enzima?
2. Compare a estrutura e a função das imunoglobulinas e dos receptores de células T.
3. Discuta a diversidade de especificidades dos anticorpos em um indivíduo em relação à diversidade de enzimas. Todas as células de um animal contêm informação genética para todas as enzimas de um organismo? Todas as células contêm informação genética para todas as imunoglobulinas de um dado organismo?
4. A família gênica que determina as moléculas de superfície do MHC humanos está em um único cromossomo. Em uma família, o MHC do pai é A1, A3, B5, B7, D9, D11. O fenótipo de sua esposa é A2, A4, B6, B7, D11, D12. Eles têm um filho que é A1, A4, B6, B7, D11, D12. Quais são os haplótipos dos pais – ou seja, quais alelos ligam-se sobre os cromossomos em cada um dos pais? Assumindo que não há recombinação entre os genes que determinam o tipo de MHC, pode esse mesmo casal ter uma criança que seja A1, A2, B7, B8, D10, D11?

PARA INVESTIGAÇÃO

O desenvolvimento de uma vacina efetiva contra o HIV necessita que a pessoa a ser vacinada desenvolva tanto resposta humoral quanto celular contra o HIV. Explique o que isso significa em termos dos estudos que

devem ser realizados em pessoas que estejam recebendo uma nova vacina potencial.

19 Expressão Diferencial de Genes no Desenvolvimento

Células-tronco de gordura

O Dr. Marc Hedrick estava interessado em gordura – na gordura das outras pessoas. Como cirurgião plástico em Los Angeles, parte de sua atividade médica envolvia a realização de lipoaspiração, uma técnica para remover a gordura indesejada. Ele se perguntava se esse excedente de gordura poderia ser aplicado de alguma forma. Observando glóbulos de gordura sob o microscópio, Hedrick ficou surpreso ao encontrar células semelhantes a células ósseas. Como células ósseas são encontradas no tecido adiposo retirado?

Hedrick formulou a hipótese de que as reservas de gordura (tecido adiposo) abrigavam uma população de *células-tronco* – células não especializadas em divisão que têm o potencial de produzir muitos tipos celulares diferentes de acordo com a necessidade. Nesse caso, o potencial das células-tronco estaria limitado aos tipos de células cuja origem, no embrião, relacionam-se à gordura; isso incluiria células ósseas, cartilagem, vasos sanguíneos e células musculares.

O cirurgião partiu para o isolamento dessas células-tronco. Não havia escassez de gordura descartada por procedimentos de cirurgia plástica em Los Angeles e, logo, ele obteve em laboratório uma população celular que, quando suprida com fatores de crescimento

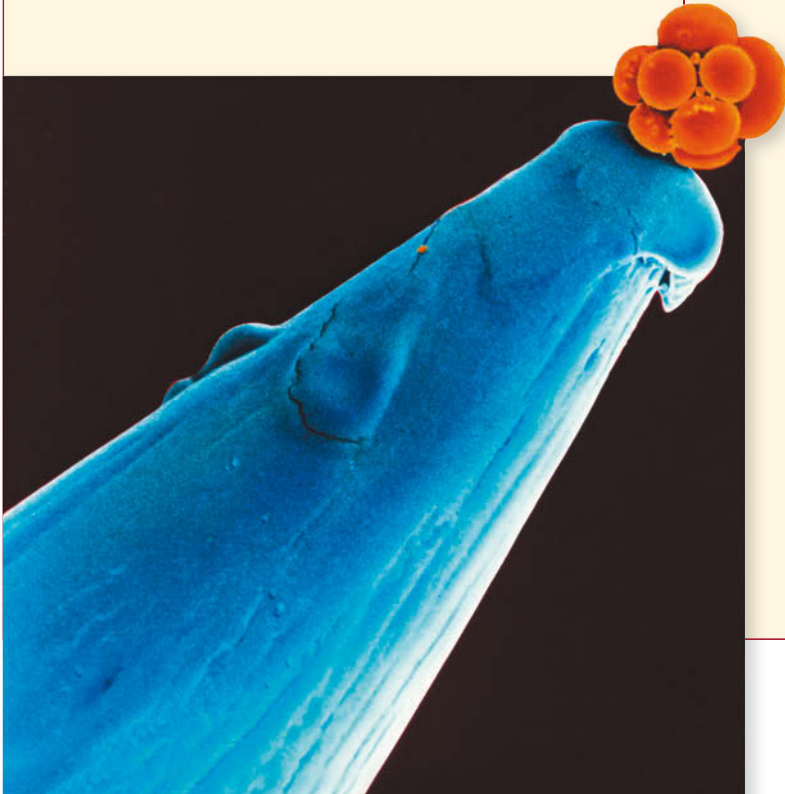
e hormônios, pôde se diferenciar em diversos tipos de células em uma placa de cultivo.

Mas essas células-tronco adultas derivadas de gordura podem se diferenciar dentro de um animal? Experimentos em ratos e camundongos mostram que essas células-tronco podem ser implantadas em órgãos e que elas se diferenciam nas células apropriadas para o tecido na qual elas estão. Dessa forma, poderiam ser utilizadas para tratar o tecido lesado do coração, ossos e vasos sanguíneos. Uma vantagem do uso de células-tronco de gordura em medicina humana que as células do próprio paciente podem ser utilizadas. O sistema imune, conforme vimos no Capítulo 18, reconhece e rejeita tecidos não próprios. Com células-tronco de gordura, não haveria rejeição do tecido implantado.

Hedrick desenvolveu a maquinaria para separar as células-tronco da gordura de forma suficientemente rápida na sala de cirurgia, enquanto os pacientes aguardam tratamento para coração ou outro tecido lesado. Duzentos milhões de células-tronco são suficientes para terapia, e elas podem ser obtidas a partir de 450 gramas de gordura. Recentemente, três mulheres no Japão tiveram células-tronco do próprio tecido adiposo implantadas para auxiliar a reconstituir e cicatrizar o tecido mamário lesado após mastectomia. A era da medicina personalizada começou.

Por trás de todas essas tecnologias médicas impressionantes existe uma grande porção de genética básica do desenvolvimento. Os processos que explicam a diferenciação de células-tronco em um adulto são os mesmos que ocorrem no embrião.

Células-tronco embrionárias Este grupo de células humanas, no terceiro dia de desenvolvimento, está no ápice da divisão e diferenciação celular rápidas que resultarão nos diferentes tipos celulares, tecidos e órgãos do corpo. Entretanto, neste ponto, cada uma das dez células é totipotente – capaz da formação de todo e qualquer tipo de célula humana.





Gordura como fonte de células-tronco Esta centrífuga separa os densos tecidos adiposos das células-tronco mais leves. Células-tronco de tecido adiposo têm se mostrado capazes de diferenciar-se em diversos tipos celulares especializados.

Grande parte de nosso conhecimento de genética do desenvolvimento de estudos sobre certos organismos-modelo, como a mosca-das-frutas *Drosophila melanogaster*, o nematoide *Caenorhabditis elegans*, as rãs, o ouriço-do-mar e uma planta com flores brancas, a *Arabidopsis thaliana*. Segundo observamos, na Seção 14.1, os genomas de todos os eucariotos são surpreendentemente semelhantes, e os princípios celulares e moleculares que servem de base para seu desenvolvimento também se mostram semelhantes. Dessa maneira, descobertas para um organismo nos auxiliam a compreender outros organismos, incluindo o nosso.

NESTE CAPÍTULO vemos que cada célula do corpo em um organismo multicelular contém todos os genes presentes no zigoto que deu origem a esse organismo – mesmo quando somente alguns desses genes expressam-se em um tipo celular específico. Aprendemos de que forma alterações celulares durante o desenvolvimento resultam da expressão diferencial de genes. Descrevemos, então, os vários mecanismos de controle de transcrição e sinalização química que funcionam em conjunto para produzir um organismo complexo.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 19.1** O que são os processos de desenvolvimento?
- 19.2** A diferenciação celular é irreversível?
- 19.3** Qual é o papel da expressão gênica na diferenciação celular?
- 19.4** Como é determinado o destino celular?
- 19.5** Como a expressão gênica determina o padrão de formação?

19.1 O que são os processos de desenvolvimento?

Desenvolvimento é o processo pelo qual um organismo submete-se a uma série de modificações progressivas, adotando as formas sucessivas que caracterizam seu ciclo de vida (**Figura 19.1**). Em seus estágios precoces de desenvolvimento, uma planta ou um animal denomina-se **embrião**. Algumas vezes o embrião está contido dentro de uma estrutura protetora, como casca de semente, casca de ovo ou útero. Um embrião não realiza fotossíntese ou se alimenta ativamente; em vez disso, ele obtém seu alimento diretamente de sua mãe ou indiretamente (por meio de nutrientes armazenados em semente ou ovo). Uma série de estágios embrionários pode preceder o nascimento de um organismo novo e independente. A maioria dos organismos continua a desenvolver-se durante seu ciclo de vida, e o desenvolvimento cessa somente com a morte.

O desenvolvimento continua por determinação, diferenciação, morfogênese e crescimento

Quatro processos são responsáveis pelas modificações sofridas por um organismo durante o seu desenvolvimento desde um embrião até um adulto maduro:

- A **determinação** estabelece o *destino* de desenvolvimento de uma célula – que tipo de célula ela se tornará – ainda antes de qualquer característica deste tipo celular ser observável.
- A **diferenciação** é o processo pelo qual surgem tipos diferentes de células, ou seja, a diferenciação leva a células que possuem estruturas e funções específicas determinadas por seu destino celular.
- A **morfogênese** (do grego, “origem da forma”) é a formação de células diferenciadas em um organismo multicelular e seus órgãos.
- O **crescimento** é o aumento no tamanho de um organismo e seus órgãos por divisão e expansão celular.

A mitose produz células-filhas cromossômica e geneticamente idênticas à célula que se divide para produzi-las (ver Seção 9.1). Por que, então, as células de um organismo multicelular não são todas idênticas em estrutura e função? As células diferem umas das outras porque genes diferentes expressam-se em células diferentes, fenômeno chamado **expressão diferencial de genes**. Em um embrião precoce que consiste em ape-

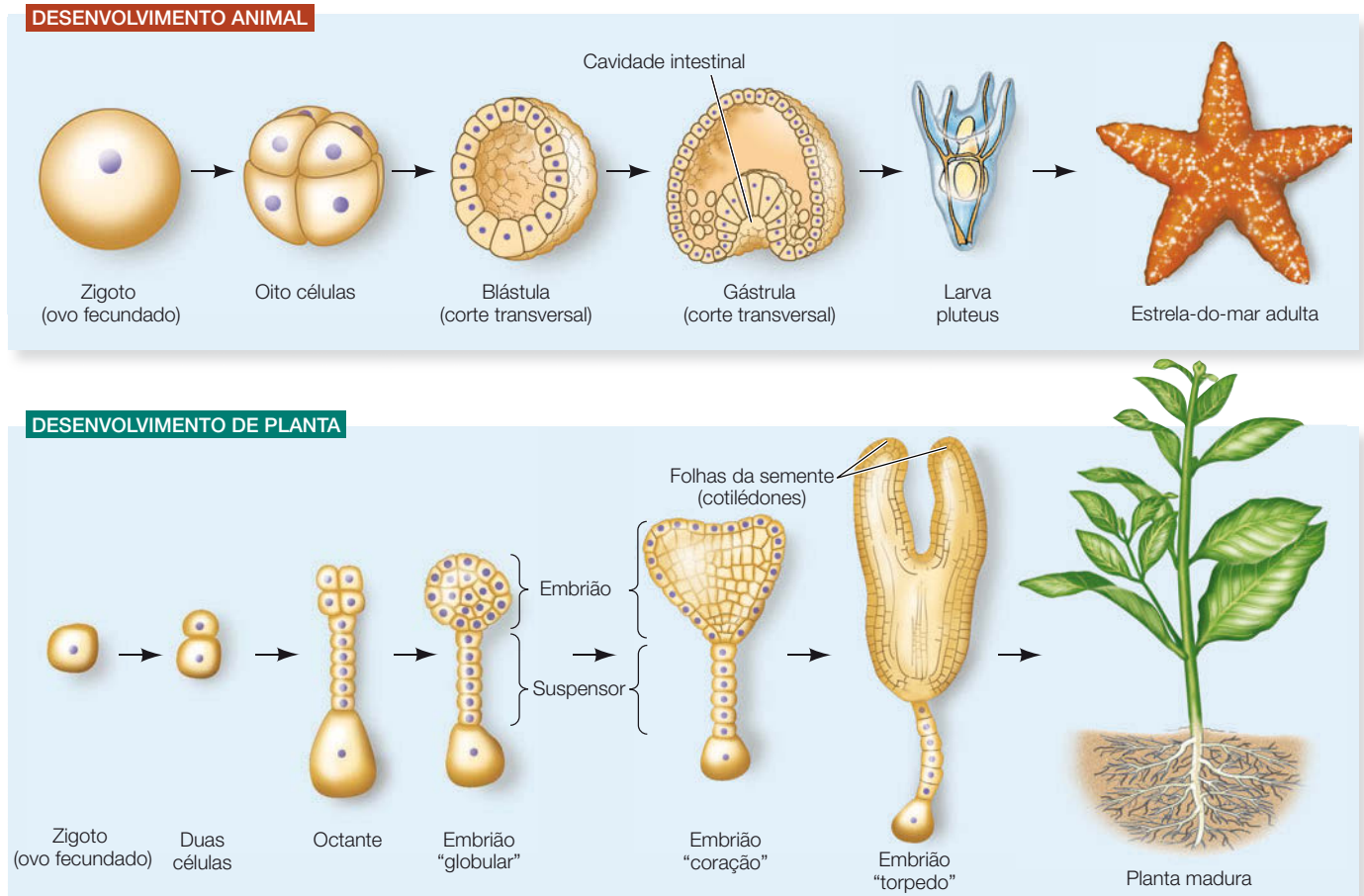


Figura 19.1 Do ovo fecundado ao adulto Estágios de desenvolvimento desde o zigoto até a maturidade são mostrados para um animal e para uma planta.

nas poucas células, cada célula tem o potencial para desenvolver-se de muitas maneiras diferentes. Enquanto o desenvolvimento prossegue, a regulação da expressão de genes resulta na produção de proteínas diferentes e, dessa maneira, em células com características e funções progressivamente diferentes.

A morfogênese, processo pelo qual os tecidos e órgãos reconhecíveis desenvolvem-se em um organismo, pode ocorrer de várias maneiras. No desenvolvimento de plantas, as células encontram-se restritas por paredes celulares e não se movem pelo organismo, portanto, a divisão e a expansão organizadas das células consistem nos principais processos que constroem o organismo vegetal. Em animais, os movimentos celulares são muito importantes na morfogênese, como veremos na Seção 49.2. Tanto em plantas quanto em animais, a apoptose (morte celular programada) é essencial para o desenvolvimento ordenado. Da mesma forma que a diferenciação, a morfogênese resulta, finalmente, de atividades rigorosamente reguladas de genes e seus produtos, assim como da interação de sinais secretados por um grupo de células e seus efeitos sobre outras células (células-alvo).

Em todos os organismos multicelulares, divisões mitóticas repetidas geram o corpo multicelular. Aumentos no tamanho de células também contribuem para o crescimento. Em plantas, a expansão celular inicia abruptamente após as primeiras divisões do ovo fecundado, ou *zigoto*. Em animais, por outro lado, a expansão celular frequentemente é lenta para começar: o embrião animal

pode ser constituído de milhares de células antes de tornar-se maior que o zigoto inicial. O crescimento continua por toda a vida do indivíduo em algumas espécies, mas estende-se a um ponto final mais ou menos estável em outras.

Os destinos da célula tornam-se cada vez mais restritos

O **destino** de uma célula – ou seja, o tipo de célula no qual ela vai finalmente se diferenciar – é função tanto da expressão diferencial de genes quanto da morfogênese. O papel da morfogênese na determinação do destino celular pode ser revelado em experimentos em que células específicas de um embrião precoce são enxertadas em posições novas de outro embrião. As células são marcadas com corantes para que seu desenvolvimento em estruturas adultas possa ser seguido.

Por exemplo, sabemos que a área sombreada em azul do embrião precoce de rã mostrada na **Figura 19.2** normalmente torna-se parte da pele do girino (a larva de rã). No entanto, se recortamos um pedaço dessa região e o transplantamos para outro local em outro embrião precoce de rã, ele não se tornará pele. O tipo de tecido que ele se torna determina-se pela sua nova localização no embrião. Portanto, o potencial de desenvolvimento dessas células embrionárias precoces – isto é, seu espectro de destinos possíveis – é maior que seu verdadeiro destino.

O potencial de desenvolvimento de células torna-se limitado razoavelmente no início do desenvolvimento normal. O tecido de um embrião de rã em estágio tardio, por exemplo, se retirado de

EXPERIMENTO

HIPÓTESE: O destino das células em um embrião precoce de anfíbio determina-se de forma irreversível.

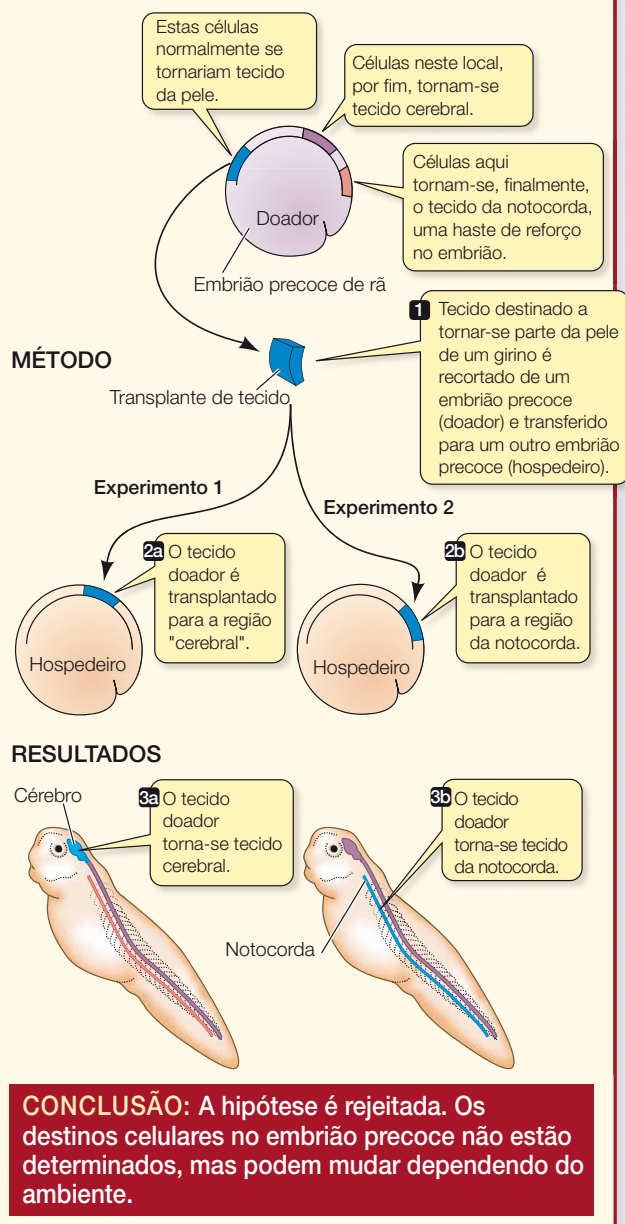


Figura 19.2 Potencial de desenvolvimento em embriões precoces de rã Células que normalmente formariam um tipo de tecido podem formar tipos completamente diferentes quando elas movem-se experimentalmente para outro local. Neste experimento, tecido epitelial (pele) de um embrião de rã em estágio precoce é transplantado de um embrião doador para um hospedeiro (receptor). O tecido que se desenvolve no girino hospedeiro não é pele, mas apresenta compatibilidade com o tecido do local para o qual é transplantado. **PESQUISA ADICIONAL:** O que aconteceria se o tecido de um adulto fosse transplantado para um embrião precoce?

uma região que normalmente desenvolve-se em cérebro, se tornará tecido cerebral mesmo se transplantado para uma parte de um embrião em estágio precoce destinada a tornar-se outra estrutura.

A determinação sofre influência da ação do ambiente extracelular e dos conteúdos da célula sobre o genoma desta célula. A determinação não constitui algo visível ao microscópio – as células não mudam sua aparência quando se tornam determinadas. A determinação vem seguida pela diferenciação – as alterações reais na bioquímica, estrutura e função que resultam em células de diferentes tipos. Muitas vezes, a diferenciação envolve uma mudança na aparência assim como na função. *A determinação constitui um compromisso; a realização final desse compromisso consiste na diferenciação.*

19.1 RECAPITULAÇÃO

O desenvolvimento acontece através de processos de determinação, diferenciação, morfogênese e crescimento. As células no embrião precoce ainda não tiveram seus destinos de diferenciação determinados, à medida que o desenvolvimento prossegue, seus destinos prováveis tornam-se cada vez mais restritos.

- Você pode dar o nome e descrever os quatro processos de desenvolvimento? Ver p. 427.
- Você entende de que maneira o experimento na Figura 19.2 esclarece como os destinos celulares tornam-se determinados? Ver p. 428-429.

Uma célula fotossintética no mesofilo de uma folha ou uma célula hepática (hepatócito) em um humano está comprometida irreversivelmente para esta especialização? Sob as condições experimentais apropriadas, a diferenciação reverte-se em muitas células. A próxima seção descreve como o genoma de uma célula pode ser induzido a expressar um padrão diferente de diferenciação.

19.2 A diferenciação celular é irreversível?

Um zigoto apresenta a capacidade de dar origem a todo tipo de célula no organismo adulto; em outras palavras, ele é **totipotente**. Seu genoma contém instruções para todas as estruturas e funções que surgirão durante o ciclo de vida do organismo. No final do desenvolvimento, os descendentes celulares do zigoto perdem sua totipotência e tornam-se determinados. Então, essas células determinadas diferenciam-se em tipos específicos de células especializadas. Um hepatócito em um humano ou uma célula de mesofilo na folha de uma planta verde geralmente conserva sua forma e função diferenciada por toda a sua vida. Todavia, isso não significa necessariamente que essas células tenham perdido irreversivelmente sua totipotência.

A maioria das células diferenciadas de um animal ou planta possuem núcleos que contêm o genoma inteiro e, certamente, apresentam a capacidade genética para totipotência. Exploraremos aqui vários exemplos de como essa capacidade demonstra-se experimentalmente.

Células vegetais normalmente são totipotentes

Uma célula de armazenamento de nutriente em uma raiz de cenoura geralmente enfrenta um futuro sombrio. Ela não pode realizar a fotossíntese ou dar origem a novas plantas de cenou-

ra. No entanto, se isolarmos essa célula da raiz, mantendo-a em um meio nutriente adequado, e a provermos com sinais químicos apropriados, podemos “enganar” a célula para agir como se fosse um zigoto. Ela pode dividir-se e dar origem a uma massa de células indiferenciadas, chamada calo, e, finalmente, a uma planta completa (Figura 19.3). Uma vez que a nova planta constitui-se geneticamente idêntica à célula da qual se originou, chamamos a planta de **clone**.

A capacidade dos cientistas para clonar uma planta de cenoura completa a partir de uma célula diferenciada de raiz, indica que a célula contém o genoma inteiro de cenoura e que ela pode expressar os genes adequados na sequência correta. Muitos tipos de células de outras espécies de plantas mostram comportamento semelhante em laboratório. Essa capacidade para gerar uma planta inteira a partir de uma única célula tem sido inestimável em biotecnologia agrícola. Por exemplo, companhias produtoras florestais colhem árvores para utilização na produção de papel, madeira e outros produtos. Para repor as árvores de forma confiável, elas removem fragmentos de folhas e, em um processo exatamente igual ao utilizado em células de raiz de cenoura, formam embriões e depois plantas pequenas, que podem ser plantadas na floresta. A produção de árvores a partir de clones é superior e mais previsível que aquela realizada a partir de sementes produzidas por fecundação.

Entre os animais, as células de embriões precoces são totipotentes

Células somáticas animais não podem ser enganadas para agir como zigotos tão facilmente quanto podem as células vegetais, mas experimentos de transferência nuclear demonstram que células somáticas animais conservam sua totipotência. Tais experimentos foram feitos primeiramente em rãs por Robert Briggs e Thomas King, que perguntaram se o núcleo de um embrião precoce de rã teria conservado a capacidade para fazer aquilo que o núcleo totipotente do zigoto podia fazer. Eles primeiro removeram o núcleo de um ovócito não fecundado, fazendo assim um ovócito *enucleado*. Então, com uma pipeta de vidro muito fina, puncionaram células de um embrião precoce e tiraram parte de seus componentes, incluindo o núcleo, que injetaram no ovócito enucleado. Eles estimularam os ovócitos a dividirem-se e muitos seguiram adiante para formar embriões, girinos e, finalmente, rãs. Esses experimentos levaram a duas conclusões importantes:

- Nenhuma informação perde-se dos núcleos das células enquanto elas passam pelos estágios precoces do desenvolvimento embrionário. Esse princípio fundamental de biologia do desenvolvimento denomina-se **equivalência genômica**.
- O ambiente citoplasmático ao redor de um núcleo pode modificar seu destino.

Experimentos semelhantes têm sido executados em macacos Rhesus, em que uma única célula pode ser removida de um embrião de 8 células e fusionada com um ovócito enucleado. Essa técnica de *fusão celular* faz o núcleo da célula embrionária entrar no citoplasma do ovócito. A célula resultante atua como um zigoto, formando um embrião, que pode ser implantado em uma mãe

adotiva (receptora) e, finalmente, gerar um macaco normal. Cada uma das sete células restantes do embrião original pode originar filhotes pela mesma técnica de fusão celular.

Em humanos, a totipotência de células embrionárias precoces permite tanto a triagem genética (ver Seção 17.3) quanto certas tecnologias de reprodução assistida (ver Seção 48.4). Um embrião humano de 8 células pode ser isolado no laboratório, e uma única célula pode ser removida e examinada para determinar se uma condição genética prejudicial está presente. Assim, as células podem ser estimuladas para dividir-se e formar um embrião, que pode ser implantado no útero da mãe, onde se desenvolve em um bebê.

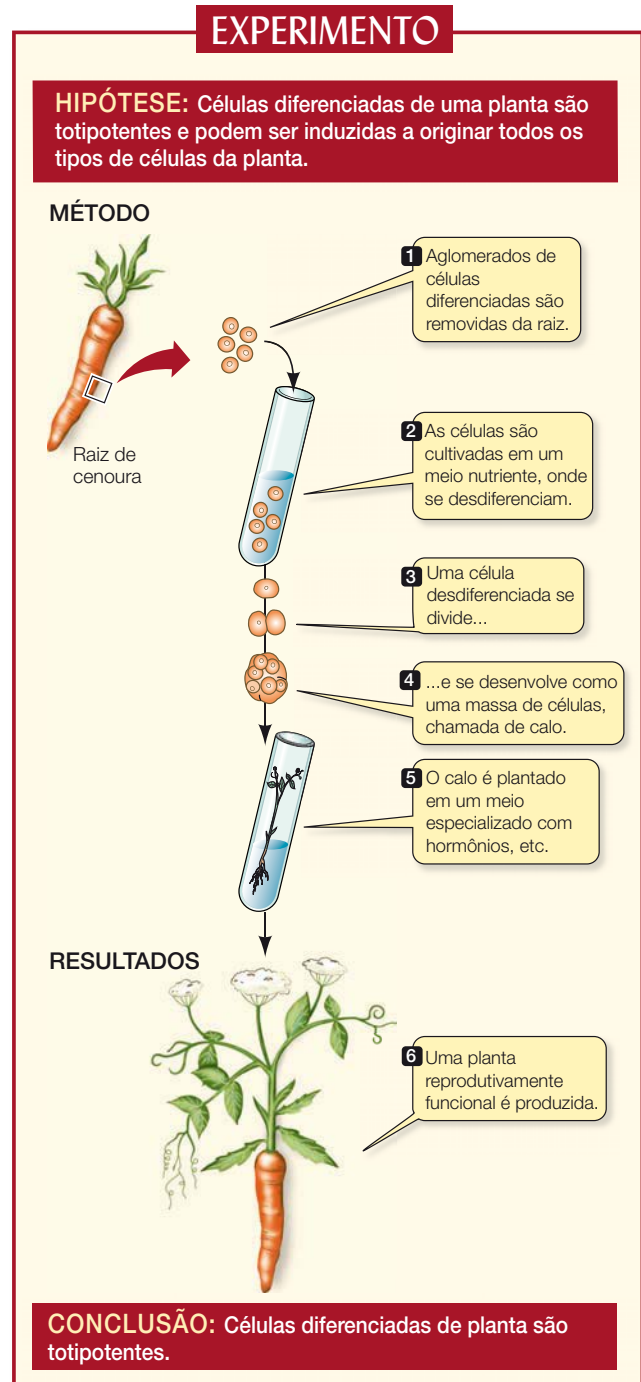


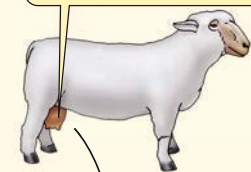
Figura 19.3 Clonando uma planta Células diferenciadas, especializadas em armazenamento de nutrientes da raiz de uma cenoura, podem ser induzidas a desdiferenciar quando colocadas em ambiente químico novo. Dessa forma, essas células podem atuar como células embrionárias precoces e formar uma nova planta.

EXPERIMENTO

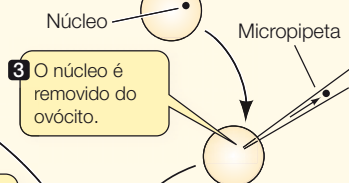
HIPÓTESE: Células animais diferenciadas são totipotentes.

MÉTODO

1 Células são removidas do úbere de uma ovelha da raça Dorset.



2 Um ovócito é removido de uma ovelha da raça Scottish blackface.



3 O núcleo é removido do ovócito.

4 Células do úbere em cultivo são privadas de nutrientes para parar o ciclo celular antes da replicação do DNA.

5 A célula de úbere (doadora) e o ovócito enucleado são fusionados.

6 A estimulação por indutores mitóticos faz com que a célula se divida.

7 Um embrião precoce se desenvolve e é transferido para uma ovelha receptora.

**RESULTADOS**

8 O embrião desenvolve-se e nasce Dolly.



CONCLUSÃO: As células animais diferenciadas são totipotentes em experimentos de transferência nuclear.

As células somáticas de animais adultos conservam o genoma completo

A clonagem reprodutiva experimental de animais a partir de células somáticas adultas foi revolucionada no final da década de 1990, quando Ian Wilmut e seus colaboradores, em uma companhia de biotecnologia na Escócia, usaram a técnica de fusão celular para clonar ovelhas. Tentativas anteriores para produzir mamíferos por esse método funcionaram, como no caso do macaco Rhesus, apenas quando o núcleo doador era de um embrião precoce. Havia surgido problemas quando as células mamíferas doadoras na fase G2 do ciclo celular (ver Figura 9.3) eram fusionadas com o citoplasma de ovócitos que também estavam em G2; ocorreu replicação extra do DNA que causou danos no ciclo celular no ovócito quando ele tentou se dividir. Wilmut encontrou uma maneira para garantir que as células usadas em experimentos de clonagem animal estivessem na fase G1 do ciclo celular. Seu procedimento esboça-se na **Figura 19.4**.

Wilmut tomou células diferenciadas de um úbere de ovelha e privou-as de nutrientes por uma semana, parando, dessa forma, as células na fase G1 do ciclo celular. Fusionou-se uma dessas células com um ovócito enucleado de uma ovelha de raça diferente. Quando indutores mitóticos no citoplasma do ovócito foram estimulados, o núcleo doador entrou em fase S, e o resto do ciclo celular prosseguiu normalmente. Após várias divisões celulares, o embrião precoce resultante foi transferido para o útero de uma receptora.



Figura 19.4 Clonando um mamífero Em 1996, o procedimento experimental descrito aqui, produziu o primeiro clone mamífero, uma ovelha da raça Dorset, chamada Dolly (mostrada à esquerda na foto). Quando adulta, Dolly foi acasalada e, posteriormente, pariu um filhote “normal” (o cordeiro à direita), provando a viabilidade genética de mamíferos clonados.

Das 277 tentativas bem-sucedidas para fundir células adultas com ovócitos enucleados, uma ovelha sobreviveu para nascer; ela foi chamada Dolly, e tornou-se mundialmente famosa da noite para o dia. As análises do DNA confirmaram que os genes nucleares de Dolly eram idênticos aos da ovelha da qual o úbere doador do núcleo havia sido obtido. Dolly cresceu até a idade adulta, acasalou-se e produziu filhote da maneira clássica (ver Figura 19.4), provando, dessa maneira, seu status de animal adulto completamente funcional. Dolly morreu em 2003, aos seis anos de idade – idade intermediária para ovelhas. Ainda continua sendo discutido se o seu genoma clonado contribuiu para sua morte relativamente precoce.

Um objetivo dos experimentos de Wilmut consiste em desenvolver um método de clonagem de ovelhas transgênicas – ovelhas nas quais haviam sido introduzidos genes com propriedades terapêuticas. Por exemplo, ovelhas transgênicas desenvolvidas com a capacidade de expressar produtos farmacêuticos em seu leite (ver Seção 16.6). A esperança era que o procedimento de clonagem fizesse múltiplas cópias idênticas de ovelhas transgênicas, todas produtoras confiáveis de drogas.

O truque de privação das células doadoras para clonagem tem sido aplicado em outros mamíferos. Clonam-se camundongos utilizando as células que revestem o ovócito como doadoras de núcleos (Figura 19.5). Vacas têm sido clonadas para preservar uma raça rara na Nova Zelândia. Cabras geneticamente modificadas que produzem várias proteínas úteis em seu leite agora têm sido clonadas para aumentar o número destes animais valiosos. A recente clonagem bem-sucedida de cavalos pode ser um prenúncio para a clonagem de animais valiosos de corrida e exposição.

A clonagem pode ser útil na preservação de espécies em perigo de extinção. Há mais de 25 anos, geneticistas no Zoológico de San Diego iniciaram o congelamento de células de espécies em perigo de extinção, criando uma Arca de Noé dos tempos modernos, em antecipação ao surgimento de novos conhecimentos sobre desenvolvimento animal e suas aplicações em clonagem reprodutiva. Com esse conhecimento em mãos, eles começaram a descongelar células e usá-las como doadoras de núcleo para aumentar as populações de espécies em perigo de extinção através da clonagem. O banteng (*Bos javanicus*), um parente da vaca em perigo de extinção, foi o primeiro animal clonado dessa forma, usando um ovócito enucleado de vaca e uma vaca como mãe adotiva (receptora). Entretanto, na China, cientistas estão usando coelhas como receptoras para pandas clonados (que apresentam



Figura 19.5 Camundongos clonados Em função de serem muito conhecidas a genética e a biologia molecular do camundongo, camundongos clonados podem ser úteis em estudos de biologia básica.

apenas 6 centímetros de comprimento quando nascem). Mesmo animais de estimação como gatos e cães têm sido clonados. A evidência de que clones são geneticamente idênticos aos seus “pais” doadores de núcleo chega a partir de análises de *fingerprint* do DNA, tais como a marcação de SNP e STR (ver Seção 16.1).

O advento da clonagem cerca-se de controvérsia e interesses éticos, mas a clonagem não é um conceito científico novo. A ideia de totipotência foi aceita muito tempo antes de Dolly ter nascido. Entretanto, a demonstração de totipotência por meio da clonagem reprodutiva é uma realização técnica impressionante.

Os sinais do ambiente podem induzir a diferenciação das células-tronco pluripotentes

A *equivalência genômica* implica em que células diferenciadas permaneçam especializadas devido à história do ambiente e do desenvolvimento, não devido a seus genes, e, assim, alterações ambientais adequadas poderiam resultar em um novo padrão de diferenciação. No desenvolvimento normal, uma série complexa de sinais com tempo determinado resulta nos padrões de diferenciação que vemos em um organismo recém-nascido. Se estes sinais fossem descritos com detalhes suficientes, conseguiríamos entender como qualquer tipo celular poderia tornar-se qualquer outro.

Em plantas, as regiões de crescimento nas extremidades das raízes e troncos contêm *meristemas*, que constituem grupos de células indiferenciadas e de divisão rápida. Essas células podem dar origem a tipos celulares especializados que produzem raízes e troncos, respectivamente. As plantas têm um número muito menor (15 a 20) de tipos celulares que os animais (até 200). A maioria dos tipos celulares de plantas difere na estrutura de suas paredes celulares, ao passo que a maioria dos tipos celulares animais apresenta características citoplasmáticas específicas e muitas proteínas célula-específicas.

Em mamíferos, as **células-tronco** encontram-se em tecidos adultos que necessitam de substituição celular frequente, como a pele, o revestimento interno do intestino e o sistema sanguíneo. Os canadenses Ernest McCulloch e James Till descobriram células-tronco em 1960, quando faziam transplantes de medula óssea em camundongos. Eles observaram que algumas vezes os camundongos receptores desenvolveram pequenas aglomerações de tecido no baço. Quando examinaram mais cuidadosamente esses aglomerados, descobriram que cada um era composto de células indiferenciadas.

Como elas se dividem, as células-tronco produzem células-filhas que se diferenciam para substituir células mortas e manter o tecido. Essas células-tronco adultas não são totipotentes, mas elas têm capacidades limitadas para se diferenciar em certos tipos celulares; em outras palavras, elas são **pluripotentes**. Por exemplo, há dois tipos de células-tronco na medula óssea. Um tipo produz apenas os vários tipos de células vermelhas e brancas do sangue, enquanto o outro tipo produz as células que sintetizam o osso e os tecidos circundantes, tais como músculo.

A diferenciação de células-tronco pluripotentes encontra-se “sob demanda”. As células sanguíneas que se diferenciam na medula óssea, fazem isso em resposta a sinais específicos denominados fatores de crescimento. Se células do sangue são removidas do sistema circulatório e recolocadas na medula óssea, os sinais ainda estarão presentes, e a medula óssea produzirá novas células sanguíneas. Essa é a base de uma importante terapia para o câncer, chamada *transplante de medula óssea*. Algumas terapias que destroem células de câncer também matam outras células que se dividem (ver Seção 17.4); por isso, as células-tronco da medula óssea dos pacientes morreriam se fossem expostas aos agentes terapêuticos. Para prevenir isso, as células-tronco são removidas

da medula óssea dos pacientes e armazenadas durante a terapia, sendo devolvidas à medula quando termina o tratamento. As células-tronco conservam sua capacidade para se diferenciar no ambiente da medula óssea.

Células adjacentes também podem influenciar a diferenciação de células-tronco. Por exemplo, as células-tronco de medula óssea que podem formar músculos farão isso se forem implantadas no coração (Figura 19.6). Isso tem sido demonstrado em experimentos com animais, nos quais as células-tronco foram utilizadas para reparar um coração lesado, e os usos clínicos em pacientes humanos estão iniciando.

Células-tronco embrionárias são agentes terapêuticos possivelmente eficazes

Conforme determinado anteriormente, as células-tronco totipotentes encontram-se apenas em embriões precoces. Em camundongos de laboratório, essas células-tronco embrionárias podem ser removidas de um embrião precoce (o *blastocisto*; ver Figura 49.4) e crescer quase indefinidamente. Quando injetadas de volta dentro de um blastocisto do camundongo, as células-tronco se misturam com as células residentes e se diferenciam para formar todos os tipos celulares do camundongo. Esse tipo de experimento mostra que células do blastocisto não perdem nenhum de seus potenciais de desenvolvimento enquanto crescem no laboratório.

As células-tronco embrionárias que crescem no laboratório também podem ser induzidas a se diferenciar de uma maneira es-

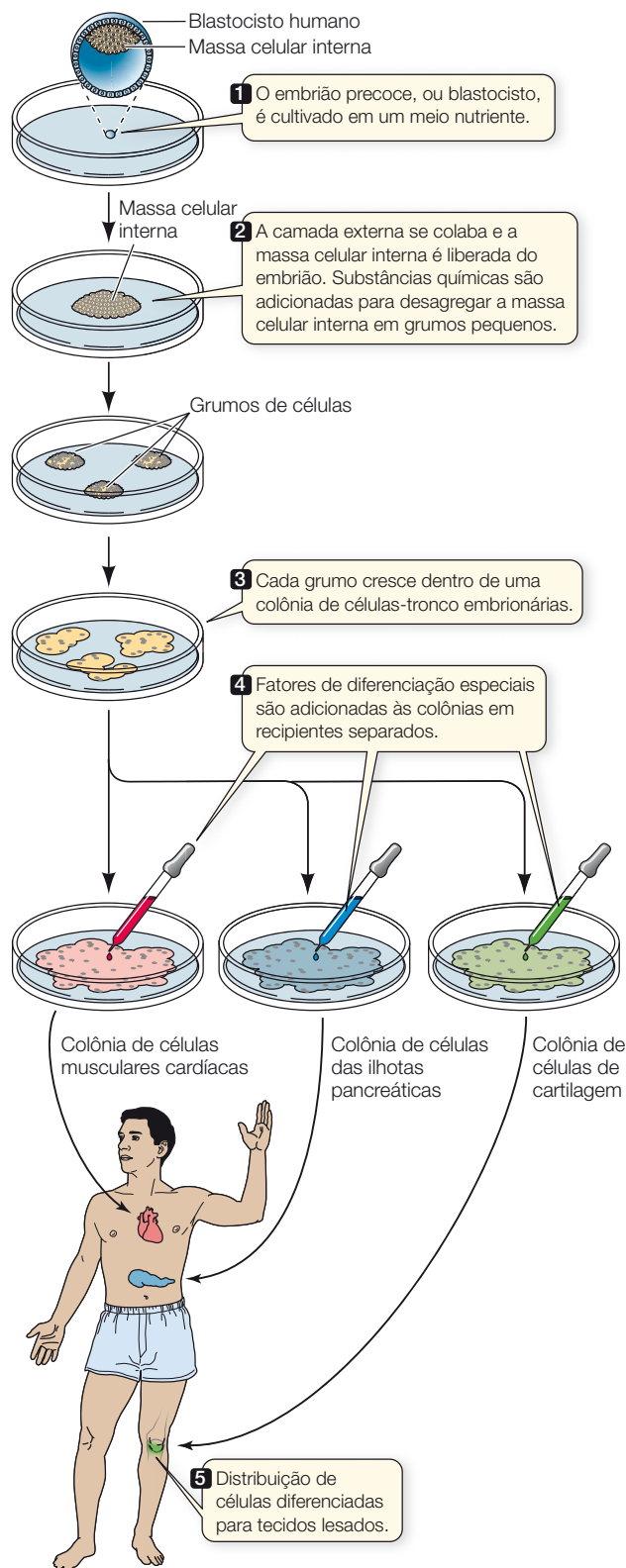


Figura 19.7 O uso potencial de células-tronco embrionárias em medicina Células-tronco embrionárias humanas totipotentes podem ser cultivadas no laboratório e induzidas a diferenciarem-se em um tipo celular particular. O uso destas células para substituir tecidos destruídos por lesões ou doenças está sob intensa investigação.

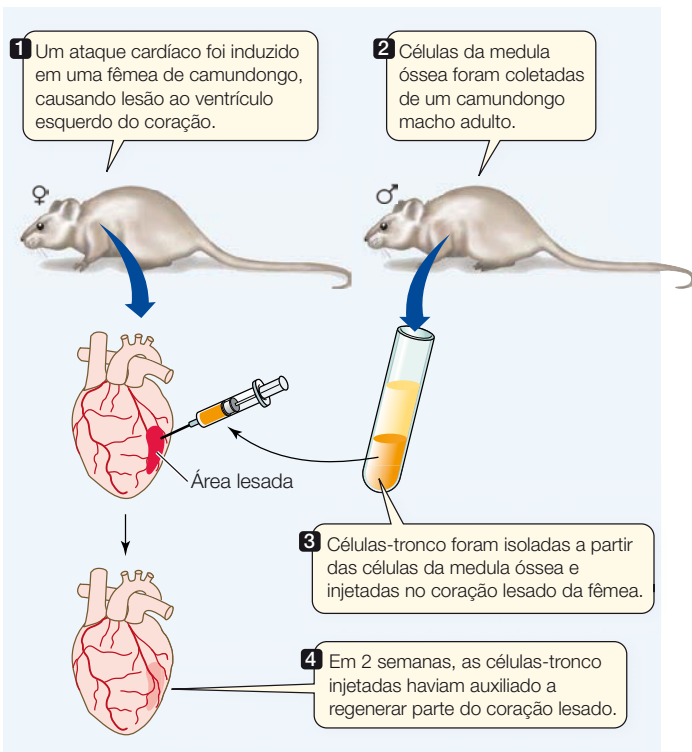


Figura 19.6 Reparando um coração lesado Células-tronco pluripotentes da medula óssea de um camundongo macho foram utilizadas com sucesso para reparar o coração lesado de uma fêmea de camundongo. Camundongos de sexos diferentes foram utilizados para que o cromossomo Y pudesse atuar como marcador genético para as células doadoras.

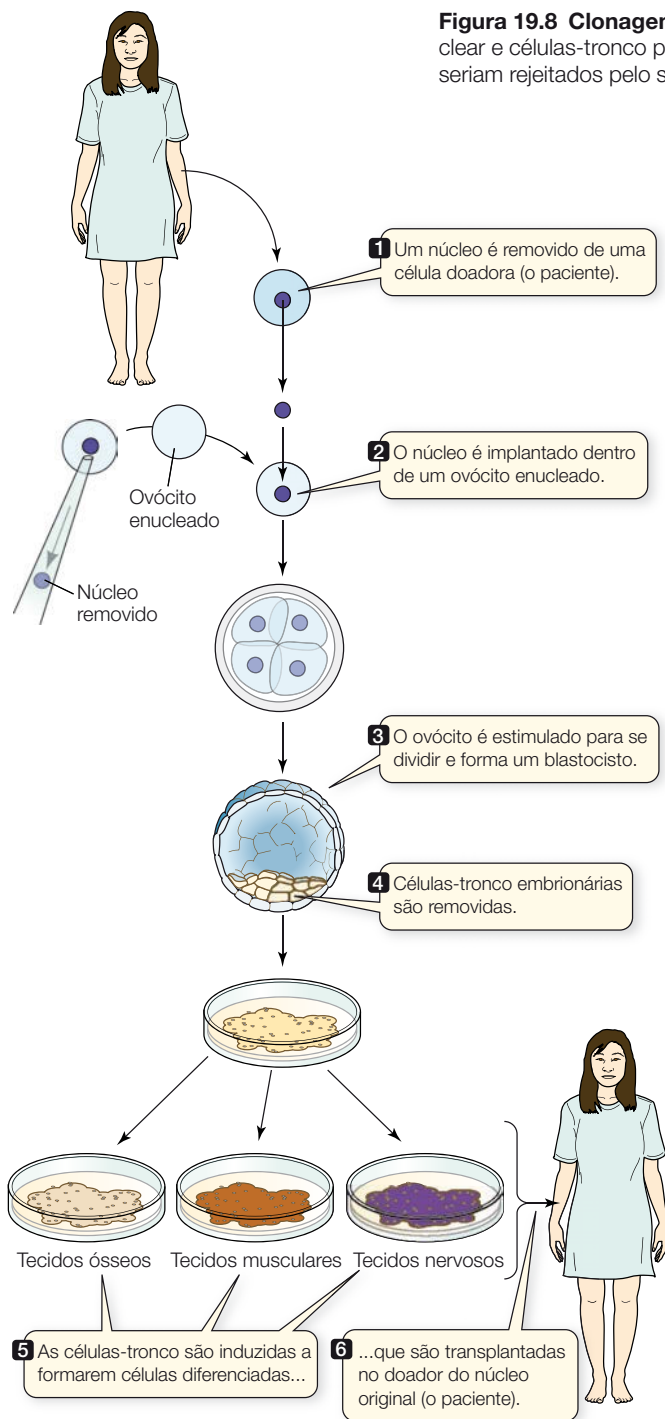


Figura 19.8 Clonagem terapêutica A combinação das tecnologias de transferência nuclear e células-tronco poderia levar à produção de células e tecidos para transplantes que não seriam rejeitados pelo sistema imune do paciente.

Células-tronco embrionárias podem ser coletadas de embriões humanos produzidos por fecundação *in vitro* com o consentimento das doadoras. A fertilização *in vitro* é um procedimento médico utilizado por casais que desejam um filho, mas não podem concebê-lo naturalmente. No procedimento, acima de 10 ovócitos são coletados dos ovários da mãe e expostos ao sêmen do pai, na esperança de que se formem alguns embriões precoces. Implanta-se apenas uns poucos destes embriões dentro do útero da mãe para se desenvolverem; os embriões remanescentes podem ser utilizados para pesquisa em células-tronco.

Contudo, um problema surgiria se tais células-tronco embrionárias fossem induzidas a diferenciarem-se para formarem um tecido por transplante – digamos, tecido pancreático para um paciente com diabetes. As células e o receptor seriam geneticamente diferentes e, dessa forma, o sistema imune do receptor produziria linfócitos T que iniciariam uma resposta imune, levando à rejeição das células implantadas (ver Seção 18.5). O problema da rejeição de tecidos leva à ideia de **clonagem terapêutica**, na qual as tecnologias de transferência nuclear e implantação de células-tronco estariam combinadas.

Se células-tronco fossem obtidas a partir de um embrião produzido por transferência nuclear utilizando núcleos do próprio paciente, as células seriam geneticamente idênticas às células deste paciente (Figura 19.8). Um cenário plausível baseado nesta tecnologia consiste no seguinte: um paciente sofre lesão óssea em um acidente. Algumas células de sua pele são removidas e trazidas ao laboratório, onde se isolam os núcleos. Por outro lado, uma mulher doa ovócitos e um deles é enucleado. Implanta-se o núcleo do paciente dentro do ovócito, que é estimulado a formar um blastocisto em uma placa de cultivo. Depois de uma semana, células-tronco embrionárias são removidas do blastocisto, colocadas em cultivo e estimuladas a formar células precursoras de osso. Essas células são devolvidas ao médico do paciente, que então as implanta no local da lesão. Uma vez que as células implantadas constituem-se geneticamente idênticas às células do paciente, não são rejeitadas pelo seu sistema imune. As células continuam a se diferenciar em osso e ajudam a reparar a lesão. O tempo total desde a remoção celular do paciente até a implantação de células-tronco poderia ser de poucas semanas.

19.2 RECAPITULAÇÃO

Mesmo células diferenciadas conservam sua capacidade de diferenciar-se em outros tipos celulares, recebendo os sinais químicos adequados. Células totipotentes podem se diferenciar em qualquer tipo celular; em animais, apenas células embrionárias precoces são totipotentes. Células-tronco pluripotentes apresentam capacidade limitada para se diferenciar em certos tipos celulares.

■ Você entende a diferença entre clonagem reprodutiva (ver Figura 19.4) e clonagem terapêutica? Por que a fecundação *in vitro* não é o mesmo que clonagem reprodutiva? Ver p. 431-434.

■ De que modo as células-tronco encontradas em tecidos do organismo adulto diferem das células-tronco embrionárias? Ver p. 423-433.

pecial se o sinal correto é providenciado (Figura 19.7). Por exemplo, por meio do tratamento de células-tronco embrionárias de camundongo com um derivado da vitamina A, elas formam neurônios, enquanto outros fatores de crescimento induzem-nas a formar células sanguíneas, demonstrando novamente seu potencial de desenvolvimento e o papel dos sinais ambientais. Essa descoberta aumenta a possibilidade da utilização de culturas de células-tronco como fontes de células diferenciadas para a clínica médica. Um avanço-chave na direção desse uso tem sido a capacidade de cultivar células-tronco embrionárias humanas em laboratório.

Experimentos de clonagem e observações de células-tronco mostram que uma célula diferenciada ainda possui todos os genes de cada outro tipo celular. Todavia, todos os genes não são expressos em cada célula. O que ativa ou desativa a expressão gênica à medida que as células se diferenciam? Na próxima seção exploraremos diversos dos controles de expressão gênica que levam à diferenciação celular.

19.3 Qual é o papel da expressão gênica na diferenciação celular?

Embora cada célula contenha todos os genes necessários para produzir cada proteína codificada por seu genoma, uma célula sintetiza apenas proteínas selecionadas. Por exemplo, certas células em nossos folículos pilosos produzem continuamente queratina, a proteína que constitui o cabelo, enquanto outros tipos celulares no organismo não produzem essa proteína. O que determina se uma célula produzirá ou não a queratina?

O Capítulo 14 descreve várias das situações nas quais as células regulam a expressão gênica – e, portanto, a produção de proteínas. Essas vias incluem controles da transcrição, tradução e pós-tradução. Os principais controles da expressão gênica que resultam em diferenciação celular são transcricionais.

A transcrição diferencial de genes constitui a marca principal da diferenciação celular

O gene para β -globina, uma das proteínas componentes da hemoglobina, expressa-se em eritrócitos (células vermelhas do sangue) quando eles se formam na medula óssea de mamíferos. Esse mesmo gene também está presente – mas não expresso – em neurônios no cérebro (que não produzem hemoglobina), o que pode ser demonstrado por meio da hibridização de ácidos nucleicos. Lembre-se que na hibridização de ácidos nucleicos, uma sonda feita de DNA de fita simples ou RNA de uma sequência conhecida aplica-se ao DNA desnaturado para revelar regiões codificantes complementares na fita de DNA molde (ver Figura 14.6). Uma sonda para o gene da β -globina pode ser aplicada sobre DNA tanto de células do cérebro quanto de eritrócitos imaturos (lembra-se que eritrócitos maduros de mamíferos perdem seus núcleos durante o desenvolvimento). Em ambos os casos, a sonda encontra seu complemento, mostrando que o gene de β -globina está presente em ambos os tipos de células. Por outro lado, se a sonda é aplicada ao mRNA dos dois tipos celulares, ao invés do DNA, encontra mRNA de β -globina apenas nos eritrócitos e não nas células cerebrais. Esse resultado mostra que o gene expressa-se somente em um dos dois tipos celulares.

O que leva a essa expressão diferencial de genes? Um exemplo bem estudado de diferenciação celular é a conversão de células precursoras musculares indiferenciadas, chamadas *mioblastos*, em *fibras musculares* grandes e multinucleadas que compõem os músculos esqueléticos de mamíferos. O evento-chave que dá início a essa conversão é a expressão de um gene chamado *MyoD* (gene determinante de *mioblasto*, do inglês, *myoblast-determining gene*). O produto proteico desse gene é um *fator de transcrição* (*MyoD*) com domínio hélice-alça-hélice (ver Figura 14.15), que não apenas se liga a promotores dos genes determinantes de músculo para estimular sua transcrição, mas também atua em seu próprio promotor para manter seus níveis altos nos *mioblastos* e em seus descendentes.

Uma evidência forte para o papel de controle do *MyoD* na diferenciação de fibras musculares veio de experimentos nos quais

uma sequência artificial de DNA, contendo um promotor ativo adjacente ao *MyoD*, foi transfectada nas precursoras de outros tipos celulares. Por exemplo, quando, introduziu-se esta sequência em precursoras de células de gordura, elas foram reprogramadas para tornarem-se células musculares. Genes tais como o *MyoD*, que dirigem as decisões mais fundamentais no desenvolvimento (muitas vezes por regular outros genes em outros cromossomos) normalmente codificam fatores de transcrição. Tais genes, que atuam como um tipo de interruptor molecular de liga-e-desliga, chamam-se *genes de desenvolvimento*.

Ferramentas de biologia molecular são usadas para investigar o desenvolvimento

Como demonstra o sistema *MyoD*, os fatores de transcrição são reguladores importantes da diferenciação celular no embrião. No entanto, a determinação e a diferenciação não são realizadas pela ação de genes únicos, mas, ao contrário, por uma série complexa de interações de muitos genes e seus produtos. Eric Davidson, no California Institute of Technology – Caltech, lidera uma equipe de cientistas que explora essas interações nos estágios precoces de desenvolvimento no ouriço-do-mar, que há longo tempo tem sido o modelo de organismo favorito na biologia do desenvolvimento.

Davidson e seus colaboradores descreveram dúzias de genes que se ativam e desativam durante o desenvolvimento de ouriço-do-mar. Na verdade, eles estimam que pelo menos um terço do genoma eucarioto é utilizado *apenas* durante o desenvolvimento. Além disso, utilizando chips de DNA para estudar a transcrição, eles desativaram a expressão de genes únicos usando RNAi (ver Seção 16.5). Os pesquisadores observaram os efeitos de genes “silenciados” não apenas sobre o fenótipo total, mas também sobre outras proteínas. Por exemplo, para um gene único chamado *endo16*, que codifica uma proteína de membrana celular, eles foram capazes de descrever onde e quando ele transcreve-se no embrião, quanto foi produzido de proteína, quanto tempo o transcrito e a proteína permanecem na célula e quais moléculas interagem com o promotor de *endo16* para regular sua transcrição durante o desenvolvimento. O resultado é uma rede complexa de centenas de RNA e proteínas interagindo. As ferramentas computacionais de biologia de sistemas são importantes no levantamento e análise dessa rede.

19.3 RECAPITULAÇÃO

Diferenciação envolve expressão gênica seletiva. Em alguns casos, um único fator de transcrição faz uma célula se diferenciar de certa maneira. Em outros, interações complexas entre genes e proteínas determinam uma sequência de eventos de transcrição que levam à expressão diferencial de genes.

- Você entende como a expressão diferencial de genes fundamenta a diferenciação celular? Ver p. 435.
- O que é um fator de transcrição? Você entende o papel de fatores de transcrição na diferenciação? Ver p. 435.

Vimos de que modo a diferenciação celular envolve a extensa regulação da transcrição de genes. Mas o que faz uma célula expressar um grupo de genes e não algum outro grupo? Em outras palavras, como é determinado o destino de uma célula?

19.4 Como é determinado o destino celular?

As intrincadas redes de controles da transcrição que levam a diferenciação celular são estimuladas por sinais químicos. Em geral, há dois mecanismos para a produção de tais sinais:

- **Segregação citoplasmática.** Um fator dentro de um ovócito, zigoto ou célula precursora pode estar distribuído desigualmente no citoplasma. Após a divisão celular, o fator acaba em algumas células-filhas ou regiões de células, mas não em outras.
- **Indução.** Um fator é produzido e secretado ativamente por certas células para induzir outras células a se diferenciarem.

A segregação citoplasmática pode determinar polaridade e destino celular

Algumas diferenças nos padrões de expressão gênica resultam de diferenças *citoplasmáticas* entre células. O aparecimento da **polaridade** – a diferença entre as extremidades (o “topo” e o “fundo”) de um organismo ou estrutura – é um destes fenômenos. A polaridade é óbvia em todo o desenvolvimento. Nossas cabeças diferem de nossas extremidades posteriores, e as extremidades distais de nossos braços e pernas (pulsos, tornozelos, dedos dos pés e das mãos) diferem das extremidades proximais (ombros e quadris). A polaridade pode se desenvolver cedo; mesmo dentro do ovócito fecundado, o vitelo e outros fatores muitas vezes estão distribuídos assimetricamente. Durante o desenvolvimento precoce, a polaridade está especificada por um *polo animal* na parte superior (“polo norte”) do zigoto e um *polo vegetal* na parte inferior (“polo sul”).

Uma série famosa de experimentos de Hans Driech demonstrou os efeitos da segregação citoplasmática sobre o desenvolvimento (Figura 19.9). O desenvolvimento muito precoce no ouriço-do-mar ocorre por divisões mitóticas iguais do ovócito fecundado; não há aumento no tamanho neste estágio. Se um embrião de 8 células é cortado verticalmente, as duas metades desenvolvem-se como embriões normais (embora pequenos). Todavia, se um embrião de 8 células é cortado horizontalmente, a metade superior não se desenvolve totalmente, enquanto a metade inferior se desenvolve como embrião anormal e pequeno.

Portanto, claramente deve haver pelo menos um fator essencial para o desenvolvimento segregado na metade vegetal do ovócito do ouriço-do-mar, tanto que as células da parte inferior do embrião de 8 células o têm e as células da parte superior não. Esse e muitos outros experimentos estabelecem que certos materiais, chamados **determinantes citoplasmáticos**, encontram-se distribuídos de forma desigual no citoplasma do ovócito. Esses materiais desempenham um papel no direcionamento do desenvolvimento embrionário de muitos organismos (Figura 19.10).

Nos ovócitos fecundados de muitos animais, o núcleo está posicionado próximo ao polo animal, e as moléculas vitelinas que nutrirão o embrião se acumulam na metade vegetal. A presença de vitelo pode diminuir a velocidade da divisão celular, assim, as metades superiores desses zigotos sofrem muito mais divisões que as metades inferiores.

O citoesqueleto contribui para a distribuição assimétrica de determinantes citoplasmáticos no ovócito. Lembre-se da Seção 4.3 que uma função importante dos microtúbulos e microfilamentos no

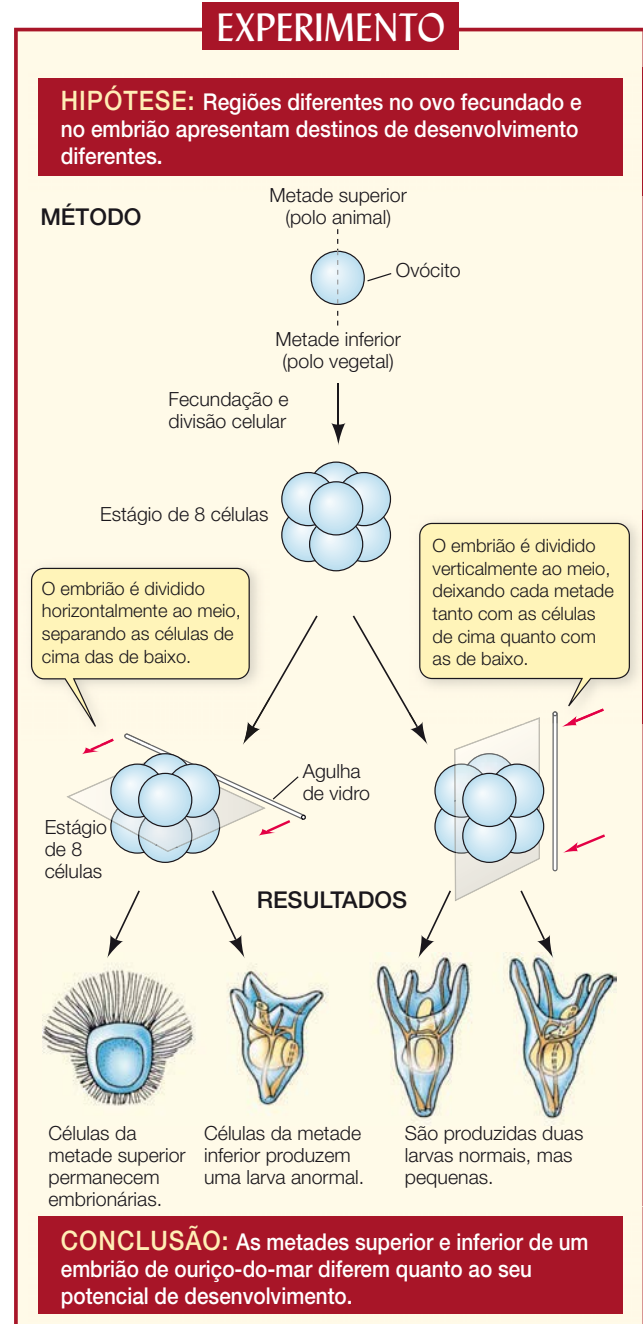


Figura 19.9 Assimetria no embrião precoce de ouriço do mar As metades superior e inferior de um embrião de 8 células de ouriço-do-mar diferem nos determinantes citoplasmáticos que contêm. Células de ambas as metades são necessárias para produzir uma larva normal.

citoesqueleto é ajudar a mover materiais na célula. Duas propriedades permitem que essas estruturas executem isto:

- Microtúbulos e microfilamentos têm polaridade – eles crescem pela adição de subunidades a sua extremidade de adição ou extremidade positiva (+).
- Elementos do citoesqueleto podem ligar-se a proteínas específicas.

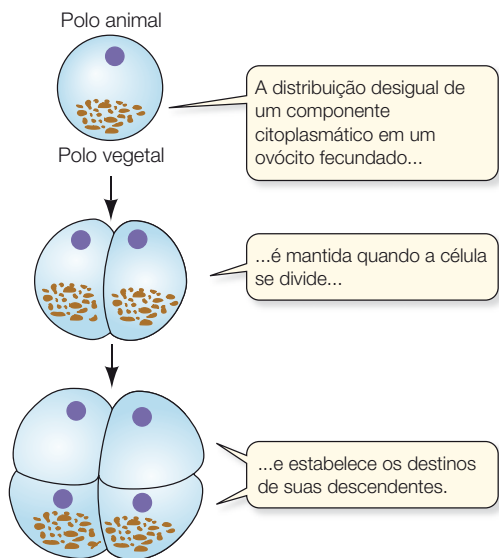


Figura 19.10 O princípio da segregação citoplasmática A distribuição desigual de alguns componentes do citoplasma de uma célula pode determinar os destinos de suas descendentes.

Por exemplo, no ovócito de ouriço-do-mar, uma proteína liga-se tanto à extremidade de crescimento (+) de um microfilamento quanto a um mRNA que codifica um determinante citoplasmático. Como o microfilamento cresce na direção de uma extremidade da célula, leva o mRNA juntamente com ele. Essa distribuição assimétrica do mRNA leva a uma distribuição semelhante da proteína que ele codifica.

Indutores passando de uma célula para outra podem determinar os destinos celulares

Trabalhos experimentais com embriões em desenvolvimento têm estabelecido que, em muitos casos, os destinos de células e tecidos em especial determinam-se por interações com outros tecidos específicos no embrião. Muitos desses casos de indução, nos quais um tecido faz outro adjacente desenvolver-se de maneira especial, têm sido observados em embriões de animais em desenvolvimento. Esses efeitos são mediados por comunicação intercelular – isto é, por sinais químicos e mecanismos de transdução de sinal. Descreveremos dois exemplos de diferenciação por indução embrionária: um no olho de vertebrado em desen-

volvimento e o outro em uma estrutura reprodutiva em desenvolvimento do nematoide *C. elegans*.

DIFERENCIAÇÃO DALENTE NO OLHO DE VERTEBRADOS O desenvolvimento da lente (ou cristalino) do olho de um vertebrado é um exemplo clássico de indução. Em um embrião de rã, a região anterior do cérebro em desenvolvimento (ou prosencéfalo) faz uma saliência em ambos os lados para formar as *vesículas ópticas*, que se expandem até entrarem em contato com as células da superfície da cabeça (**Figura 19.11**). O tecido superficial na região de contato com as vesículas ópticas se torna espesso, formando um *placódeo da lente*. O placódeo da lente curva-se para dentro (sofre uma invaginação), dobra-se sobre si mesmo e, finalmente, se separa do tecido da superfície para produzir uma estrutura que se desenvolverá na lente. Se a vesícula óptica em crescimento é retirada antes de fazer contato com as células superficiais, a lente não se forma. A colocação de uma barreira impermeável entre a vesícula óptica e as células da superfície também impede que a lente se forme. Essas observações sugerem que o tecido da superfície começa a se desenvolver em uma lente quando recebe um sinal – um **indutor** – da vesícula óptica.

Uma cadeia de interações indutoras resulta no desenvolvimento do olho. Há um “diálogo” entre a vesícula óptica em desenvolvimento e o tecido superficial. A vesícula óptica induz o desenvolvimento da lente, e a lente em desenvolvimento determina o tamanho do *cálice óptico*, que se forma a partir da vesícula óptica. Se o tecido superficial da cabeça de uma espécie de rã com olhos pequenos é enxertado sobre a vesícula óptica de uma espécie com olhos grandes, tanto a lente quanto o cálice óptico terão tamanho intermediário. A lente em desenvolvimento também induz o tecido superficial acima dela a desenvolver-se em uma *córnea*, uma camada especializada que permite à luz passar através dela e entrar no olho.

Conforme mostra esse exemplo, os tecidos não induzem a si mesmos, ao contrário, tecidos diferentes interagem e induzem uns aos outros. A indução embrionária dispara uma sequência de expressão de genes nas células que respondem a ela. O modo com que as células ativam grupos de genes que dirigem o desenvolvimento e regulam a formação dos planos do corpo é um assunto de grande interesse tanto para a biologia do desenvolvimento quanto para a biologia evolutiva. Veremos a indução embrionária com mais detalhes no Capítulo 49.

DIFERENCIAÇÃO DA VULVA NO NEMATOIDE O pequeno nematoide *Caenorhabditis elegans* é um dos organismos-modelo favoritos para estudar o desenvolvimento. Ele normalmente vive no

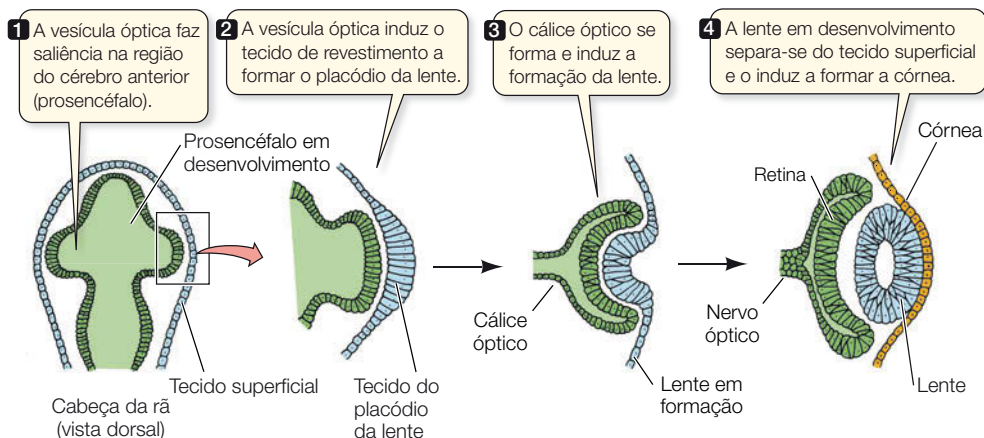


Figura 19.11 Indutores embrionários no olho de vertebrado O olho de uma rã se desenvolve enquanto tecidos diferentes seguem seus caminhos induzindo uns aos outros.

solo, onde se alimenta de bactérias, mas também pode crescer em laboratório se suprido com sua fonte de nutrientes. O processo de desenvolvimento desde o ovo até a larva leva somente cerca de oito horas, e o verme atinge o estágio adulto em apenas 3,5 dias. O processo é facilmente observado utilizando-se um microscópio de dissecação de baixa magnitude porque a cobertura do corpo é transparente (**Figura 19.12A**). O desenvolvimento de *C. elegans* não varia de um indivíduo para outro, portanto tem sido possível identificar a fonte de cada uma das 959 células somáticas do verme adulto.

O nematoide adulto é *hermafrodita*, com órgãos reprodutivos masculinos e femininos. Ele põe ovos por meio de um poro chamado *vulva* na superfície ventral (barriga ou ventre). Durante o desenvolvimento, uma única célula, chamada *célula-âncora*, induz a vulva a se formar. Se a célula-âncora for destruída por cirurgia laser, a vulva não se forma; os ovos são fecundados dentro do pai, e por fim os vermes filhotes consomem o pai. Esse fenótipo espantoso tem permitido aos geneticistas identificar os genes que apresentam um papel no desenvolvimento da vulva.

A célula-âncora controla os destinos de seis células na superfície ventral do verme em desenvolvimento por meio de dois sinais moleculares, o *indutor primário* e o *indutor secundário*. Cada

uma dessas células possui três destinos possíveis: podem tornar-se uma célula precursora vulvar primária, uma célula precursora vulvar secundária ou, simplesmente, tornar-se parte da superfície do verme – uma célula epidérmica (**Figura 19.12B**).

A célula-âncora produz o indutor primário que se difunde para fora da célula e interage com células adjacentes. As células que recebem o suficiente do indutor primário tornam-se células precursoras vulvares, e as pouco mais distantes da célula-âncora tornam-se células epidérmicas. Dessa forma a célula-âncora, com a liberação do indutor primário, determina se uma célula segue o “caminho” na direção de se tornar parte da vulva ou o caminho para tornar-se parte da epiderme.

A célula bem próxima da célula-âncora, tendo recebido a maior parte do indutor primário, diferencia-se em uma célula precursora vulvar primária. Ela produz seu próprio indutor (o indutor secundário), que atua sobre as duas células vizinhas e dirige-as para tornarem-se células precursoras vulvares secundárias. Dessa forma, a célula precursora vulvar primária produz um sinal secundário, determinando se uma célula precursora vulvar seguirá o caminho primário ou o secundário. Os dois indutores controlam a ativação ou a inativação de genes específicos através de uma cascata de transdução de sinal nas células que respondem a eles (**Figura 19.13**).

O desenvolvimento do nematoide ilustra a importante observação que *muito do desenvolvimento controla-se por desvios moleculares que permitem a uma célula prosseguir por um dos dois caminhos alternativos*. Um desafio para os biólogos do desenvolvimento é descobrir esses desvios moleculares e determinar como eles funcionam. O indutor primário liberado pela célula-âncora em *C. elegans* parece ser um fator de crescimento homólogo a um fa-

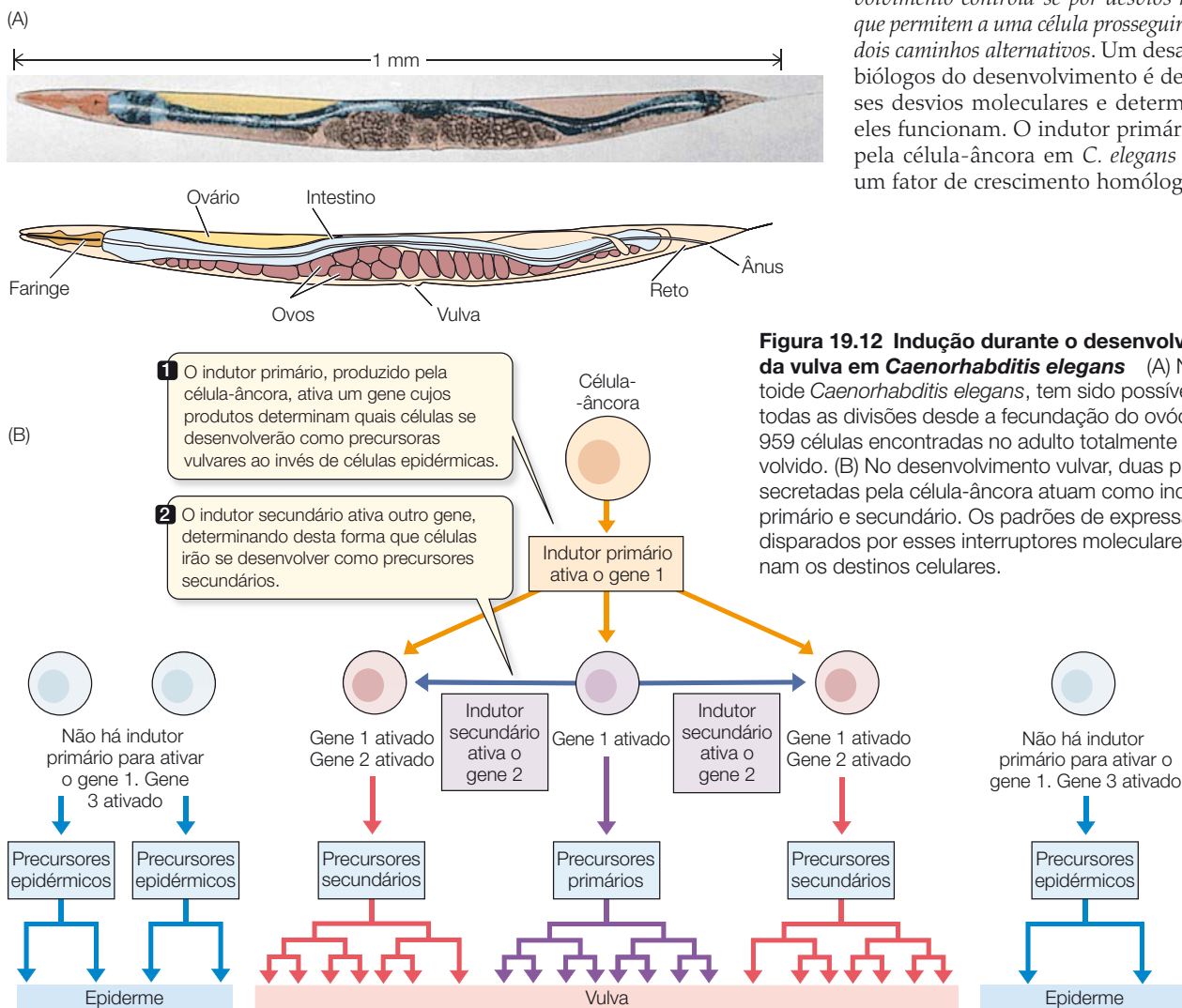
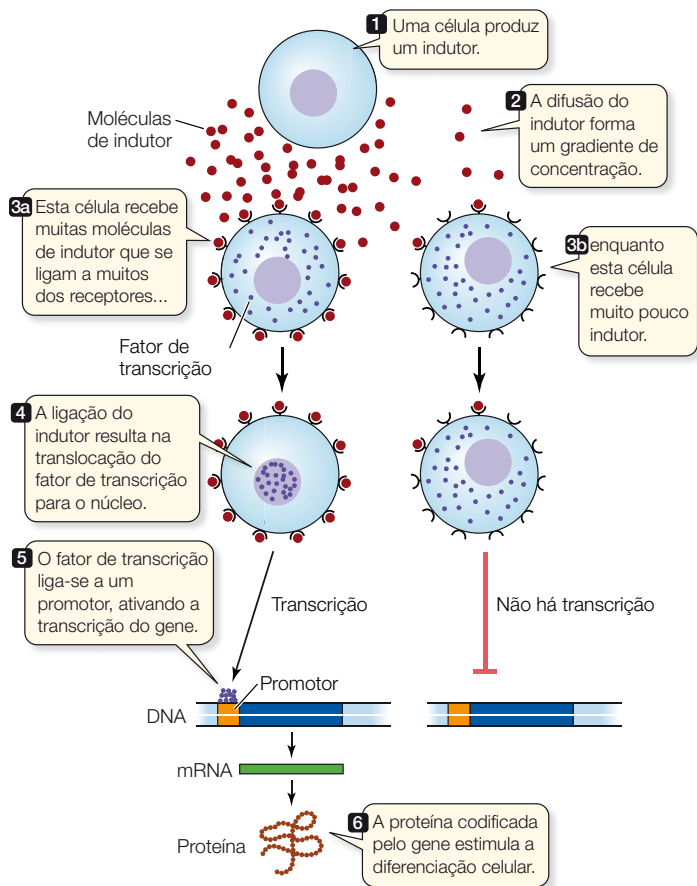


Figura 19.12 Indução durante o desenvolvimento da vulva em *Caenorhabditis elegans* (A) No nematoide *Caenorhabditis elegans*, tem sido possível seguir todas as divisões desde a fecundação do ovócito até as 959 células encontradas no adulto totalmente desenvolvido. (B) No desenvolvimento vulvar, duas proteínas secretadas pela célula-âncora atuam como indutores primário e secundário. Os padrões de expressão gênica disparados por esses interruptores moleculares determinam os destinos celulares.



tor de crescimento em mamíferos chamado EGF (fator de crescimento epidérmico, do inglês, *epidermal growth factor*). O fator de crescimento do nematoíde, denominado LIN-3, liga-se a um receptor na superfície de uma provável célula precursora vulvar, pondo em movimento uma cascata de transdução de sinal que envolve a proteína Ras e MAP-quinases (ver Figura 15.10). O resultado final é o aumento da transcrição de genes envolvidos na diferenciação das células vulvares.

19.4 RECAPITULAÇÃO

A segregação citoplasmática é a distribuição desigual de fatores de sinalização molecular no ovócito, zigoto ou embrião precoce. A indução embrionária ocorre quando uma célula ou tecido envia um sinal químico para outra. Ambos os tipos de sinalização disparam a atividade de fatores de transcrição e, dessa forma, a diferenciação celular.

- Você pode descrever como a segregação citoplasmática resulta na polaridade em um ovócito fecundado, e de que forma a polaridade afeta a diferenciação celular? Ver p. 436 e Figura 19.10.
- Você entende como a indução embrionária forma os tecidos de um olho de vertebrado? Ver p. 437 e Figura 19.11.
- De que maneira os indutores moleculares interagem com os fatores de transcrição para produzir células diferenciadas? Ver p. 438 e Figura 19.13.

Figura 19.13 Indução embrionária A concentração de um indutor afeta diretamente a proporção de ativação de um fator de transcrição. O indutor atua através da ligação a um receptor na célula-alvo. Essa ligação é seguida por transdução de sinal envolvendo a translocação do fator de transcrição do citoplasma para o núcleo.

A diferenciação de células começa a ser entendida em termos de eventos moleculares e celulares, mas como estes eventos resultam na organização de milhares de células em partes específicas do organismo, tais como uma folha, uma flor, uma escápula ou um canal lacrimal? Agora estudaremos a fase final do desenvolvimento, a formação de órgãos.

19.5 Como a expressão gênica determina o padrão de formação?

O **padrão de formação** é o processo que resulta na organização espacial de um tecido ou órgão. Ele liga-se de forma intricada à morfogênese, a criação da forma do corpo. Você poderia supor que a morfogênese envolvesse uma grande quantidade de divisões celulares, seguidas por diferenciação – e é isso que ocorre. Todavia, o que você não esperaria é o grau de morte celular programada – apoptose – que ocorre durante a morfogênese.

Alguns genes determinam morte celular programada durante o desenvolvimento

Na Seção 9.6, observamos que a apoptose é utilizada extensivamente durante o desenvolvimento para “esculpir” órgãos. Por exemplo, no embrião humano precoce, as mãos e pés parecem remos minúsculos: os dedos das mãos e pés unem-se por tecido conjuntivo. Entre os dias 41 e 56 de desenvolvimento, as células entre os dígitos morrem, deixando livres e individualizados os dedos das mãos e pés (Figura 19.14). Conforme veremos quando discutirmos o desenvolvimento mamífero, no Capítulo 49, muitas estruturas se formam (tais como a estrutura primitiva nas costas do embrião humano, chamada notocorda) e depois desaparecem; esse também é um exemplo de apoptose.

Organismos-modelo têm sido muito úteis em estudos com genes envolvidos em apoptose. Por exemplo, o nematoíde *C. elegans* produz precisamente 1.090 células somáticas enquanto se desenvolve de um ovo fecundado até um adulto, mas 131 dessas células morrem (levando 959 células a se desenvolverem em um verme adulto, como descrito na seção anterior). A expressão sequencial de dois genes, chamados de *ced-4* e *ced-3* (de morte celular, do inglês, *cell death*), parece controlar essa morte celular.

No sistema nervoso do nematoíde, 302 neurônios derivam de 405 precursoras; dessa forma, 103 células precursoras neurais sofrem apoptose. Se a proteína codificada tanto por *ced-3* quanto por *ced-4* não é funcional, todas as 405 células formam neurônios, resultando no desenvolvimento anormal do cérebro. Experimentos identificaram um terceiro gene, *ced-9*, que codifica um inibidor da apoptose – ou seja, codifica uma proteína que bloqueia a função dos genes *ced-3* e *ced-4*. Onde a apoptose é necessária, *ced-3* e *ced-4* estão ativos, e *ced-9* é inativo; se a apoptose não é apropriada, *ced-9* está ativo e bloqueia *ced-3* e *ced-4*.

Um sistema similar de genes da morte celular atua em humanos. As proteínas – uma classe de enzimas chamadas de *caspases*

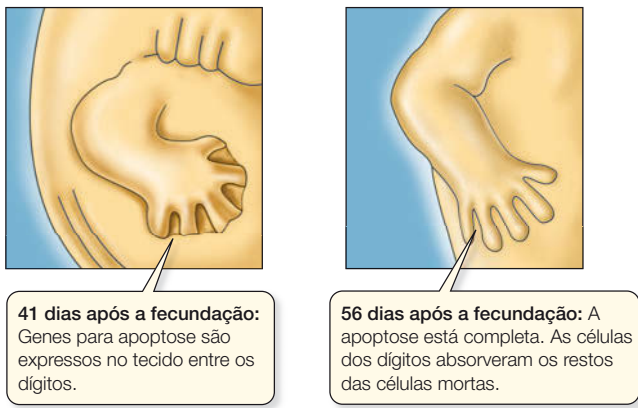


Figura 19.14 A apoptose remove o tecido entre os dedos da mão humana No início do segundo mês de desenvolvimento humano, o tecido que liga os dedos da mão é removido por apoptose, liberando e individualizando os dedos.

– que estimulam apoptose apresentam uma sequência de aminoácidos semelhante à da proteína codificada por *ced-3*, e uma proteína humana (BCL-2) que inibe apoptose assemelha-se ao produto proteico de *ced-9*. Dessa maneira, humanos e nematoides, duas criaturas separadas por mais de 600 milhões de anos de história evolutiva, têm genes similares controlando a morte celular programada.

As plantas têm genes de identidade de órgãos

Como os animais, as plantas têm órgãos – por exemplo, folhas e raízes. Muitas plantas formam flores e muitas flores compõem-se de quatro tipos de órgãos: sépalas, pétalas, estames e carpelos. Esses órgãos florais ocorrem em *verticilos*, que são grupos de cada tipo de órgão em torno de um eixo central. Os verticilos se desenvolvem a partir dos meristemas na forma de domos, que se desenvolvem em pontos de crescimento no caule (**Figura 19.15A**). De que modo determina-se a identidade de um verticilo em particular? Um grupo de genes, chamados **de genes de identidade de órgão**, codifica para proteínas que atuam em combinação para produzir características de verticilos específicos.

Genes de identidade de órgão têm sido bem descritos no agrião orelha-de-camundongo, *Arabidopsis thaliana*. Esse organismo-modelo é muito útil para estudos do desenvolvimento por seu tamanho pequeno (cerca de 25 centímetros), produção abundante de sementes (acima de mil sementes por planta), desenvolvimento rápido (de semente até planta produtora de novas sementes em 6 semanas) e genoma pequeno (ver Seção 14.1). Finalmente, é fácil produzir mutações nessa planta tratando as sementes com mutagênicos.

O desenvolvimento das flores inicia com o meristema, que contém cerca de 700 células indiferenciadas. Dentro desta população de células aparentemente homogêneas, células individuais “sentem” sua posição e diferenciam-se nos verticilos. Isto ocorre através da expressão de três classes de genes de identidade de órgãos, que codificam proteínas que atuam em combinação umas com as outras:

- Genes da classe A são expressos nos verticilos 1 e 2 (que formam sépalas e pétalas, respectivamente).

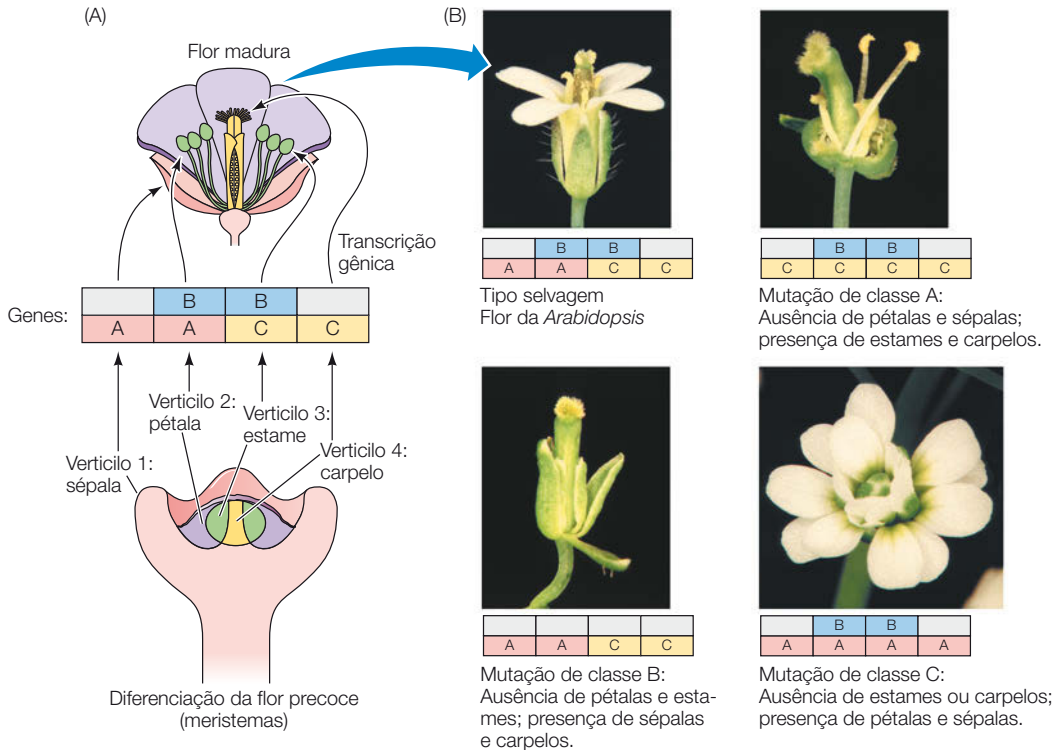


Figura 19.15 Genes de identidade de órgãos em flores de *Arabidopsis* (A) Os quatro órgãos de uma flor – carpelos (amarelo), estames (verde), pétalas (roxo) e sépalas (rosa) – crescem em verticilos que se desenvolvem a partir de meristemas. (B) Quando uma mutação ocorre em um dos três genes de identidade de órgãos, um tipo de órgão substitui outro. Tais mutações auxiliaram os cientistas a decifrar o padrão de expressão gênica que origina flores normais.

- Genes da classe B são expressos nos verticilos 2 e 3 (que formam pétalas e estames, respectivamente).
- Genes da classe C são expressos nos verticilos 3 e 4 (que formam estames e carpelos, respectivamente).

Há duas linhas de evidências experimentais para esse modelo de função dos genes de identidade de órgãos (**Figura 19.15B**):

- *Mutações com perda de função*: por exemplo, uma mutação em gene da classe A resulta em ausência de sépalas ou pétalas.
- *Mutações com ganho de função*: por exemplo, o promotor para um gene de classe C pode ser acoplado artificialmente ao gene da classe A. Nesse caso, A é expresso em todos os quatro verticilos, resultando apenas em sépalas ou pétalas.

Os genes da classe A, B e C codificam subunidades de fatores de transcrição, que são ativos como dímeros. A regulação gênica nesses casos é *combinatória* – ou seja, a composição do dímero determina quais genes serão ativados pelo fator de transcrição. Por exemplo, um dímero composto apenas por dois monômeros do fator de transcrição A ativaria a transcrição dos genes que formam as sépalas; um dímero composto de monômeros A e B resultaria em pétalas e assim por diante. Uma característica comum das proteínas A, B e C, bem como de muitos outros fatores de transcrição de plantas, consiste em um domínio de ligação ao DNA chamado de **MADS box**. Essas proteínas de 200 aminoácidos também apresentam domínios que podem ligar-se a outras proteínas em um *complexo de iniciação de transcrição*.

O domínio MADS box possui este nome em função das sequências homólogas de aminoácidos encontradas em quatro proteínas de espécies muitíssimo divergentes: MCM1 (de levedura), AGAMOUS (*Arabidopsis*), DEFICIENS (boca-de-leão) e SRF (humanos).

Além de fascinantes para os biólogos, os genes de identidade de órgão de plantas atraem a atenção de cientistas das áreas de horticultura e agricultura. Flores cheias de pétalas em vez de estames e carpelos frequentemente contêm mutações dos genes C. Muitos dos alimentos que compõem a dieta humana vêm de frutas e sementes, como os grãos de trigo, arroz e milho. Essas frutas e sementes se formam a partir de carpelos (os órgãos reprodutores femininos) da flor. A modificação genética do número de carpelos em uma planta em particular poderia aumentar a quantidade de grãos que uma safra poderia produzir.

Um gene chamado *leafy* (“cheio de folhas”) codifica uma proteína que controla a transcrição dos genes de identidade de órgãos. Plantas com uma mutação que causa a expressão insuficiente de *leafy* são justamente isto – produzem folhas, mas não flores. A proteína produzida por esse gene atua como fator de transcrição, estimulando genes das classes A, B e C de maneira que produzam flores (**Figura 19.16**). Essa descoberta também tem aplicações práticas. Normalmente, leva de 6 a 20 anos para uma árvore cítrica produzir flores e frutos. Os cientistas têm produzido laranjeiras transgênicas acoplado o gene *leafy* a um promotor de expressão potente; as árvores transgênicas florescem e frutificam anos mais cedo que as normais.

Gradientes de morfógenos fornecem informação posicional

Durante o desenvolvimento, a pergunta celular chave, “O que eu sou (ou o que eu serei)?”, frequentemente, é respondida em parte por “Onde eu estou?”. Imagine uma célula no meristema apical de uma *Arabidopsis* em desenvolvimento: ela precisa “saber” em qual verticilo está localizada. Esse “senso” espacial denomina-se **informação posicional**. A informação posicional normalmente chega na forma de sinal, chamado **morfógeno**, que se difunde a partir de um grupo de células ao longo do eixo do corpo, estabelecendo um gradiente de concentração. Há duas exigências para um sinal ser considerado morfógeno:

- Ele deve afetar diretamente células-alvo, em vez de disparar um sinal secundário que afete as células-alvo.
- Diferentes concentrações do sinal devem causar efeitos diferentes.

O desenvolvimento dos membros de vertebrados é um exemplo de morfógeno em ação. O membro se desenvolve a partir de um *broto de membro* em forma de remo. As células que se tornam os ossos e os músculos do membro devem receber informações posicionais. Se elas não receberem, os membros estarão desorganizados (imagine uma mão apenas com dedos polegares ou mínimos). O grupo de células na base posterior do broto do membro, exatamente na junção do broto com o corpo, chama-se *zona de atividade de polarização*. As células da ZAP criam um gradiente do morfógeno chamado Sonic Hedgehog (BMP2) que determina o eixo posteroanterior (“dedo mínimo até o polegar”) do membro em desenvolvimento. As células que recebem as doses mais altas de BMP2 formam o dedo mínimo e aquelas que recebem as doses mais baixas formam o polegar.



Tipo selvagem



Mutante *leafy*

Figura 19.16 Um mutante que não floresce Mutações no gene *leafy* de *Arabidopsis* impedem a transcrição dos genes de identidade de órgãos e a planta resultante não produz nenhuma flor.

Concentrações diferentes de morfógenos atuam por meio da regulação diferencial de expressão gênica em suas células-alvo. O organismo modelo mais frequentemente utilizado para o estudo desse processo tem sido a mosca-das-frutas.

Na mosca-das-frutas, uma cascata de fatores de transcrição estabelece a segmentação do corpo

Insetos tais como a mosca-das-frutas, *Drosophila melanogaster*, desenvolvem um corpo altamente modulado composto de diferentes tipos de segmentos. Interações complexas de diferentes grupos de genes formam a base do padrão de formação em corpos segmentados.

Diferentemente dos segmentos do corpo de vermes segmentados como as minhocas, todos essencialmente semelhantes, os segmentos do corpo da *Drosophila* são claramente diferentes uns dos outros. A mosca adulta apresenta uma *cabeça* anterior (composta de vários segmentos fusionados), três segmentos *torácicos* diferentes e oito segmentos *abdominais* na extremidade posterior. Na larva da *Drosophila*, os segmentos torácicos e abdominais parecem ser todos semelhantes, mas nessa fase *já está determinado* o que eles formarão nos segmentos adultos especializados. Vários tipos de genes expressam-se sequencialmente no embrião para definir estes segmentos:

- Primeiro, um grupo de genes das células maternas adjacentes ao ovócito estabelece os eixos anteroposterior e dorso-ventral no ovo.
- Em seguida, uma série de genes no embrião define sucessivamente a posição de cada célula em um segmento relativo para estes eixos. O resultado final é que uma célula “sabe” precisamente onde ela está no embrião; por exemplo, que se encontrando na frente faz parte da cabeça.
- Finalmente, um grupo de genes, chamados *genes Hox*, controla a identidade final de cada segmento; por exemplo, determinando que as células mais da frente na cabeça formarão antenas.

Os genes envolvidos em cada uma destas etapas codificam fatores de transcrição que, por sua vez, controlam a síntese de fatores de transcrição que atuam sobre o próximo grupo de genes. Essa cascata de eventos pode lembrar uma cascata de transdução de sinal (ver Seção 15.3), mas nesse caso constitui uma cascata de eventos durante todo tempo e local, e não em uma única célula. Os genes finais expressos são familiares a você: eles codificam proteína-quinases, receptores e outras proteínas que realizam as funções da célula.

A descrição desses eventos no desenvolvimento da mosca-das-frutas é uma das grandes realizações na biologia moderna. Aqui, abordaremos o processo de forma muito superficial, mas tenha em mente o princípio básico de uma cascata de transcrição. Segundo veremos no Capítulo 20, a mosca-das-frutas tem sido um organismo modelo verdadeiro neste caso, pois o padrão básico de eventos assemelha-se em muitos outros organismos, inclusive em humanos.

GENES DE EFEITO MATERNO Os ovos e larvas de *Drosophila* caracterizam-se pela distribuição desigual de determinantes citoplasmáticos, da mesma forma que os de ouriço-do-mar (ver Figura 19.10). Essas moléculas, que incluem tanto mRNA quanto proteínas, são os produtos de **genes de efeito materno** específicos. Esses genes são transcritos no ovário materno, nas células que cercam aquilo que será a região anterior do ovo. Dois genes de efeito materno, chamados *bicoid* e *nanos*, determinam o eixo anteroposterior do ovo. Outros genes de efeito materno, que não descreveremos aqui, determinam o eixo dorsoventral.

Os mRNAs para *bicoid* e *nanos* difundem-se das células da mãe para a região que será a extremidade anterior do ovo por meio de pontes citoplasmáticas. O mRNA de *bicoid* permanece no local onde entra no ovócito e é traduzido para produzir a proteína Bicoid, que difunde-se ao longo da extremidade anterior, estabelecendo um gradiente no ovo (Figura 19.17). Onde encontra-se presente em concentração suficiente, a proteína Bicoid atua como fator de transcrição para estimular a transcrição do gene *hunchback* no ovo. Um gradiente da última proteína estabelece a região da cabeça, ou anterior.

Entretanto, o mRNA de *nanos* é transportado pelo citoesqueleto para a extremidade posterior do ovócito, onde ele entra e é traduzido dentro do ovo, e sua proteína forma um gradiente. A proteína Nanos não é um morfógeno, ao contrário, ela constitui um inibidor da tradução do mRNA de *hunchback*. É o nível baixo de expressão de *hunchback* na extremidade posterior, causada por esta “desgraça dupla” – inibição de sua tradução por *nanos* e uma falta de estímulo de sua transcrição por *bicoid* – que resulta no estabelecimento da região posterior.

Como sabemos tudo isto? Ao longo deste livro, temos descrito duas abordagens para a demonstração de causa e efeito: estudamos mutações que *impedem* a ocorrência de um evento e realizamos experimentos para *fazer que* estes eventos ocorram. Os cientistas demonstraram que genes de efeito materno especificam os eixos do embrião de *Drosophila* causando mutações nestes genes, e através de experimentos nos quais o citoplasma era transferido de um ovo para outro:

- Fêmeas homozigotas para uma mutação em particular do gene *bicoid* produzem larvas sem cabeça e tórax; dessa maneira, a proteína Bicoid deve ser necessária para desenvolver as estruturas anteriores.
- Se os ovos dessas fêmeas mutantes são inoculados na extremidade anterior com o citoplasma da região anterior de um ovo do tipo selvagem, os ovos “tratados” desenvolvem larvas normais, este experimento também mostra que a proteína Bicoid envolve-se no desenvolvimento de estruturas anteriores.
- Se a proteína Bicoid de um ovo do tipo selvagem é injetada na região posterior de um ovo, estruturas anteriores se desenvolvem neste local. O grau de indução depende de quanto citoplasma é injetado.
- Ovos de fêmeas homozigotas mutantes para o gene *nanos* desenvolvem larvas com segmentos abdominais perdidos.
- A injeção do citoplasma da região posterior de um ovo do tipo selvagem, dentro de um ovo mutante *nanos*, permite o desenvolvimento normal.

Os eventos envolvendo *bicoid*, *nanos* e *hunchback* começam antes da fecundação e continuam depois dela. Antes do ovócito de *Drosophila* ser fecundado, mRNA de *bicoid* e *nanos* são produzidos pelas células maternas e entram nele. Após a fecundação e postura do ovo, começam as divisões nucleares. Em *Drosophila*, a citocinese não inicia imediatamente, até a décima terceira divisão nuclear, o embrião é uma célula única e multinucleada chamada *syncício*. Neste estágio precoce, os mRNAs de *bicoid* e *nanos* são traduzidos e estabelecem gradientes.

Depois que os eixos do embrião são determinados, a próxima etapa no padrão de formação é a determinação da localização dos segmentos.

GENES DE SEGMENTAÇÃO O número, os limites e a polaridade dos segmentos da larva são determinados por proteínas codificadas pelos **genes de segmentação**. Esses genes expressam-se quando existem cerca de 6 mil núcleos no embrião. Todos esses

Figura 19.17 A proteína bicoid proporciona informação posicional O eixo anteroposterior de *Drosophila* surge a partir do gradiente de um morfógeno codificado por *bicoid*, um gene de efeito materno. A proteína Bicoid atua como fator de transcrição para ativar um gene que especifica que esta região produzirá as estruturas da cabeça. Outros genes de efeito materno na porção posterior do embrião inibem Bicoid, limitando, assim, sua região.

núcleos parecem iguais, mas em termos de expressão gênica, eles não são equivalentes. Seus destinos estão selados precocemente no desenvolvimento.

Três classes de genes de segmentação atuam, uma após a outra, para regular detalhes refinados e delicados do padrão de segmentação (Figura 19.18):

- **Genes de intervalo** (do inglês, *gap genes*) organizam grandes áreas ao longo do eixo anteroposterior. Mutações nos genes de intervalo resultam em intervalos no plano do corpo – a omissão de vários segmentos da larva.
- **Genes de segmentos pareados** (do inglês, *pair rule genes*) dividem o embrião em unidades de dois segmentos cada. Mutações nos genes de segmentos pareados resultam em embriões que perdem segmento sim, segmento não.
- **Genes de polaridade do segmento** (do inglês, *segment polarity genes*) determinam os limites e a organização anteroposterior dos segmentos individuais. Mutações nos genes de polaridade do segmento podem resultar em segmentos nos quais estruturas posteriores são substituídas por estruturas anteriores invertidas (como uma imagem no espelho).

A expressão destes genes é sequencial. A proteína Bicoid de efeito materno, a qual inicia a cascata, atua como um morfógeno e fator de transcrição para estimular, no ovo, a expressão de genes tais como o *hunchback* que estabelece o eixo anteroposterior. O resultado consiste em que um núcleo no ovo “sabe” onde está. A proteína hunchback estimula a transcrição de genes de intervalo,

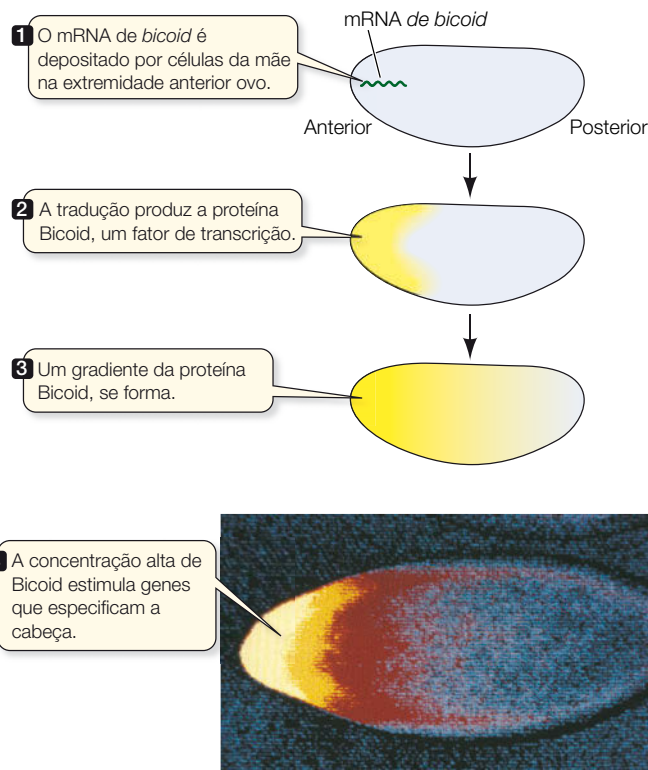
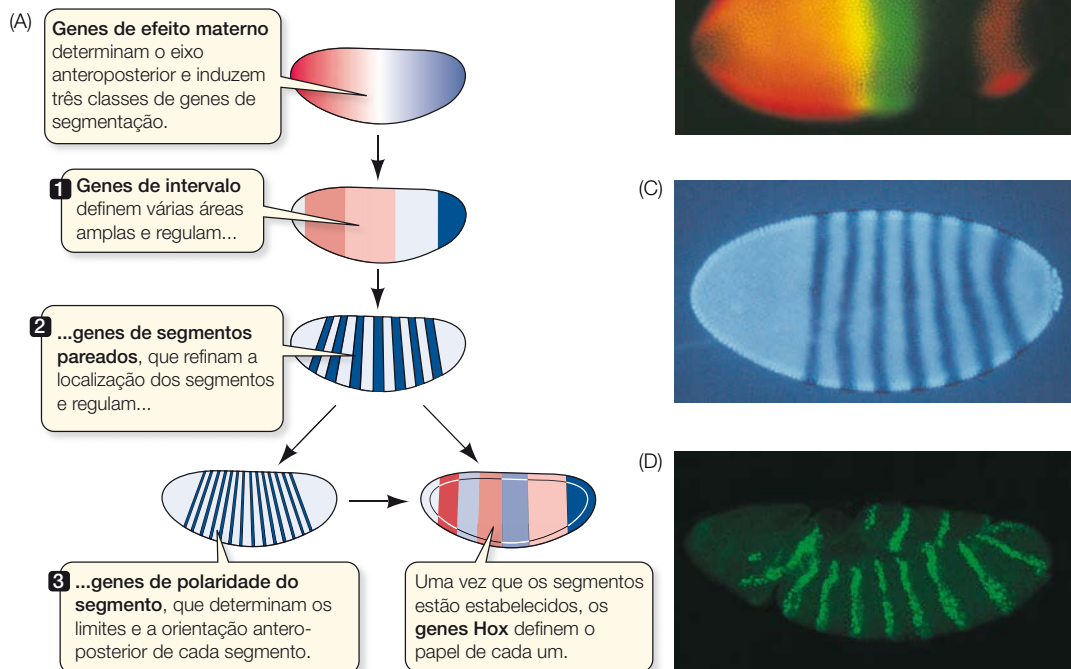


Figura 19.18 Uma cascata de genes controla o padrão de formação no embrião de *Drosophila* (A) Genes de efeito materno determinam o eixo anteroposterior e induzem três classes de genes de segmentação. (B) Dois genes de intervalo, *hunchback* (laranja) e *Kruppel* (verde) se sobrepõem; ambos os genes são transcritos na área amarela. (C) O gene de segmentos pareados *fushi tarazu* é transcrito nas áreas azul-escuras. (D) O gene de polaridade do segmento *engrailed* (verde claro) é visto aqui em um estágio ligeiramente mais adiantado que o representado em (A).



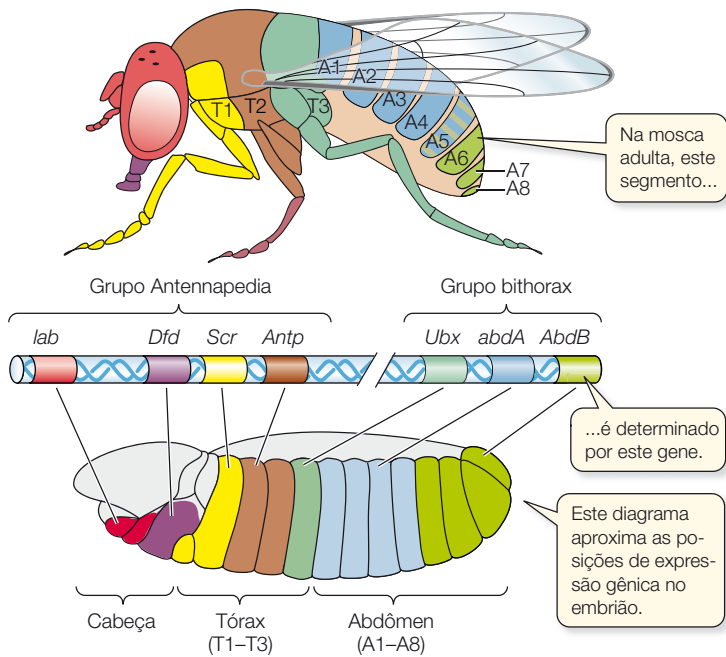


Figura 19.19 Genes Hox em *Drosophila* Dois grupos de genes no cromossomo 3 (centro) determinam a função dos segmentos na mosca adulta (em cima). Estes genes expressam-se no embrião (embaixo) muito antes das estruturas dos segmentos aparecerem realmente.

antenas (**Figura 19.20**), e na mutação *bithorax*, um par extra de asas cresce em um segmento torácico onde, normalmente, asas não crescem (ver Figura 20.2). Edward Lewis, no Caltech, descobriu que as mutações *Antennapedia* e *bithorax* resultavam de alterações em genes Hox.

O primeiro grupo de genes Hox, o grupo bithorax, especifica segmentos anteriores, começando com genes para os diferentes segmentos da cabeça e terminando com os segmentos torácicos. O segundo grupo, o grupo Antennapedia, começa com um gene especificando o último segmento torácico, seguido por um gene para os segmentos abdominais anteriores e termina com um gene para os segmentos abdominais posteriores. Lewis for-

os produtos proteicos dos genes de intervalo estimulam genes de segmentos pareados e os produtos dos genes de segmentos pareados estimulam os genes de polaridade do segmento. No final dessa cascata, um grupo de núcleos na região bem anterior do ovo, por exemplo, “sabe” que encontra-se a caminho de tornar-se parte do primeiro segmento anterior na mosca adulta.

O grupo de genes seguinte na cascata determina a forma e função de cada segmento.

Genes de *Drosophila* frequentemente denominam-se por seu fenótipo mutante. Assim, o gene *hunchback* recebe seu nome porque moscas nas quais falta este gene apresentam cabeças deformadas ou ausentes. Da mesma forma, *fushi tarazu* é o termo japonês para “partes não suficientes” (do inglês, *not enough parts*) – e, realmente, moscas mutantes para este gene de segmentos pareados têm muito poucos segmentos.

GENES HOX Genes Hox expressam-se em diferentes combinações ao longo do comprimento do embrião e determinam o que cada segmento vai se tornar. A expressão de genes Hox ordena às células de um segmento na cabeça a produzir olhos, àquelas de um segmento do tórax a produzir asas, e assim por diante. De forma notável, os genes Hox de *Drosophila*, estão mapeados no cromossomo 3, na mesma ordem que os segmentos cujas funções eles determinam (**Figura 19.19**). No período em que a larva da mosca-das-frutas eclode, seus segmentos encontram-se completamente determinados. Genes Hox são análogos aos genes de identidade de órgãos das plantas. Os genes de efeito materno, genes de segmentação e genes Hox interagem para “construir” uma larva de *Drosophila* etapa por etapa, iniciando com o ovócito não fecundado.

Mais uma vez, como sabemos que os genes Hox determinam a identidade do segmento? Um indício importante veio a partir de mutações bizarras observadas em *Drosophila*, chamadas de *homeóticas* (do grego, *homeos*, “um ser parecendo-se com outra coisa”). Na mutação *Antennapedia*, pernas crescem na cabeça em lugar de

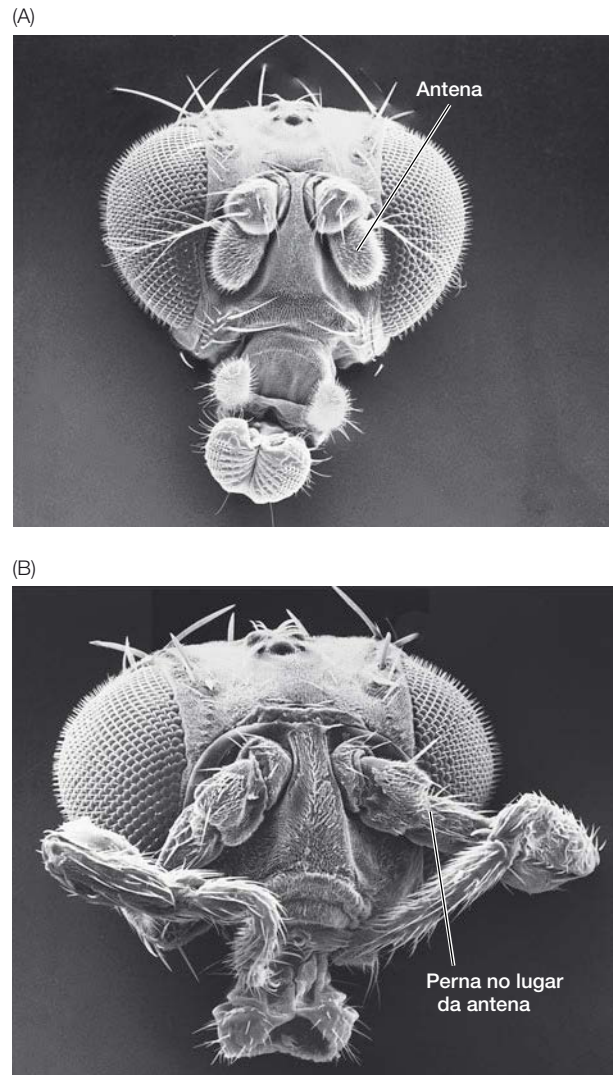


Figura 19.20 Mutações homeóticas em *Drosophila* Mutações dos genes Hox fazem as partes do corpo formarem-se em segmentos inapropriados. (A) Mosca-das-frutas do tipo selvagem. (B) Mosca-das-frutas mutante *Antennapedia*.

mulou a hipótese que todos os genes Hox de *Drosophila* poderiam ter vindo da duplicação de um único gene em um organismo ancestral não segmentado.

Os genes contendo homeobox codificam os fatores de transcrição

Biólogos moleculares confirmaram a hipótese de Lewis utilizando hibridização de ácidos nucleicos. Vários cientistas observaram que uma sonda para uma sequência encontrada em um dos genes no grupo bithorax se ligou não somente ao seu próprio gene, mas também a genes adjacentes em seu grupo e a genes no grupo Antennapedia. Em outras palavras, essa sequência de DNA é comum a todos os genes Hox em ambos os grupos. Ela também encontra-se em vários dos genes de segmentação, bem como outros genes que codificam fatores de transcrição.

Essa sequência de DNA de 180 pares de bases denomina-se **homeobox**. Ela codifica uma sequência de 60 aminoácidos, chamada de *homeodomínio*, que se liga a DNA. O homeodomínio reconhece uma sequência de DNA específica no promotor de seus genes-alvo, mas esse reconhecimento normalmente não é suficiente para permitir que o fator de transcrição se ligue completamente a um promotor e ative ou iniba o gene-alvo. Outros fatores de transcrição também estão envolvidos.

Os genes que contêm a sequência homeobox encontram-se em muitos animais, inclusive humanos. Eles desempenham um papel no desenvolvimento que se assemelha à função dos genes MADS box em plantas. O significado evolutivo dessas vias comuns para o desenvolvimento será discutido no próximo capítulo.

19.5 RECAPITULAÇÃO

Uma cascata de fatores de transcrição governa o padrão de formação e o desenvolvimento subsequente de órgãos de animais e plantas. Em plantas, genes de identidade de órgãos codificam fatores de transcrição que determinam quais órgãos um grupo de células formará. Em animais, os gradientes de morfógenos fornecem a informação posicional.

- Você percebe como a apoptose é fundamental para dar forma ao embrião em desenvolvimento? Ver p. 440.
- Você pode descrever de que forma genes de identidade de órgãos atuam em *Arabidopsis*? Ver p. 441 e Figura 19.15.
- Quais são as características-chave de um morfógeno? Como a proteína Bicoid encaixa nesta definição? Ver p. 441-442 e Figura 19.17.

RESUMO DO CAPÍTULO

19.1 O que são os processos de desenvolvimento?

Um organismo multicelular inicia seu **desenvolvimento** como um **embrião**. Uma série de estágios embrionários pode preceder o nascimento de um organismo independente. [Rever Figura 19.1.](#)

Os processos de desenvolvimento são **determinação, diferenciação, morfogênese e crescimento**.

A **expressão diferencial de genes** é responsável pelas diferenças entre tipos celulares. O **destino** de uma célula determina-se por fatores ambientais, como sua posição no embrião, ou por influências intracelulares.

A determinação vem seguida por diferenciação, as alterações reais na bioquímica, estrutura e função, que resultam em células de tipos diferentes. Determinação é um compromisso; diferenciação é a realização deste compromisso.

19.2 A diferenciação celular é irreversível?

O zigoto é **totipotente**. Ele apresenta capacidade de formar todos os tipos de célula no organismo adulto.

A capacidade de criar **clones** a partir de células diferenciadas demonstra o princípio de equivalência genômica. [Rever Figuras 19.3 e 19.4.](#)

Células-tronco produzem células-filhas que se diferenciam quando supridas de sinais intracelulares apropriados. Algumas células-tronco **pluripotentes** no organismo adulto podem se diferenciar em número limitado de tipos celulares para substituir células mortas e manter tecidos.

As células-tronco embrionárias são totipotentes e podem ser cultivadas no laboratório. Com estímulo ambiental adequado, essas células podem ser induzidas a diferenciar. Uma técnica chamada **clonagem terapêutica** poderia combinar tecnologias de transferência nuclear e células-tronco a fim de substituir células ou tecidos destruídos por lesões ou doenças. [Rever Figuras 19.7 e 19.8.](#)

19.3 Qual é o papel da expressão gênica na diferenciação celular?

A expressão diferencial de genes resulta em diferenciação celular. Fatores de transcrição são especialmente importantes na regulação da expressão gênica durante a diferenciação.

Interações complexas de muitos genes e seus produtos proteicos são responsáveis por diferenciação durante o desenvolvimento.

19.4 Como é determinado o destino celular?

A **segregação citoplasmática** – a distribuição desigual de **determinantes citoplasmáticos** no ovócito, zigoto ou embrião precoce – pode estabelecer **polaridade** e levar a determinação de uma descendência da célula. [Rever Figuras 19.9 e 19.10.](#)

Indução é um processo pelo qual tecidos embrionários animais direcionam o desenvolvimento de células e tecidos vizinhos pela secreção de sinais químicos, chamados **indutores**. [Rever Figura 19.11.](#)

A indução da vulva no nematoide *Caenorhabditis elegans* proporciona um exemplo da maneira pela qual os indutores atuam como desvios moleculares para direcionar uma célula através de um dos dois caminhos de diferenciação. [Rever Figuras 19.12 e 19.13.](#)

19.5 Como a expressão gênica determina o padrão de formação?

O **padrão de formação** é o processo que resulta na organização espacial de um tecido ou organismo.

Durante o desenvolvimento, a eliminação seletiva de células por apoptose resulta da expressão de genes específicos.

Em plantas, interações combinatórias de fatores de transcrição codificados por **genes de identidade de órgãos** causam a formação de sépalas, pétalas, estames e carpelos. [Rever Figura 19.15.](#)

RESUMO DO CAPÍTULO

Os fatores de transcrição codificados por genes de identidade de órgãos florais contêm uma sequência de aminoácidos chamada **MADS box** que pode ligar-se a DNA.

Tanto plantas quanto animais utilizam a **informação posicional** como base para o padrão de formação. A informação posicional normalmente chega na forma de um sinal chamado de **morfógeno**. Diferentes concentrações do morfógeno causam efeitos diferentes.

Na mosca-das-frutas, *Drosophila melanogaster*, uma cascata de fatores de transcrição estabelece os eixos do embrião e, assim,

provoca a diferenciação das células de cada segmento do corpo em órgãos específicos. A cascata envolve a expressão sequencial de genes de efeito materno, genes de intervalo, genes de segmentos pareados, genes de polaridade do segmento e genes Hox. **Rever Figuras 19.17 e 19.18.**

A **homeobox** é uma sequência de DNA encontrada em genes Hox e outros genes que codificam fatores de transcrição. A sequência de aminoácidos codificada pela homeobox chama-se homeodomínio. **Rever Figura 19.19.**

QUESTÕES

- Qual afirmação sobre determinação é verdadeira?
 - A diferenciação precede a determinação.
 - Todas as células estão determinadas após duas divisões celulares na maioria dos organismos.
 - Uma célula determinada manterá sua determinação não importa onde esteja localizada no embrião.
 - Uma célula altera sua aparência quando torna-se determinada.
 - Uma célula diferenciada tem o mesmo padrão de transcrição que uma célula determinada.
- Experimentos de clonagem em ovelhas, rãs e camundongos mostram que:
 - os núcleos de células adultas são totipotentes.
 - os núcleos de células embrionárias podem ser totipotentes.
 - os núcleos de células diferenciadas têm genes diferentes das células do zigoto.
 - a diferenciação é completamente reversível em todas as células de uma rã.
 - a diferenciação envolve alterações permanentes no genoma.
- O termo “indução” descreve um processo em que uma célula ou grupo de células:
 - influencia o desenvolvimento de outros grupos de células.
 - dispara os movimentos celulares em um embrião.
 - estimula a transcrição de seus próprios genes.
 - organiza o citoplasma do ovócito antes da fecundação.
 - inibe o movimento do embrião.
- O termo “clonagem terapêutica” descreve um método para:
 - modificação de um clone por um transgene.
 - combinação das tecnologias de transferência nuclear e células-tronco.
 - produção de clones que produzam drogas úteis.
 - produção de células-tronco embrionárias por transplante.
 - criação de muitas cópias idênticas de um organismo.
- Qual afirmação sobre determinantes citoplasmáticos em *Drosophila* não está correta?
 - Especificam os eixos dorsoventral e anteroposterior do embrião.
 - Suas posições no embrião determinam-se por ações do citoesqueleto.
 - Alguns são produtos de genes específicos na mosca-das-frutas mãe.
 - Não produzem gradientes.
 - Têm sido estudados pela transferência de citoplasma de ovo para ovo.
- Nas moscas-das-frutas, os seguintes genes são utilizados para determinar a polaridade dos segmentos: (k) genes de intervalo; (l) genes Hox; (m) genes de efeito materno; (n) genes de segmentos pareados. Em que ordem esses genes são expressos durante o desenvolvimento?
 - klmn
 - lknm
 - mknl
 - nkml
 - nmkl
- Qual afirmação sobre indução embrionária *não* está correta?
 - Um grupo de células induz células adjacentes a se desenvolverem de uma certa maneira.
 - Ela dispara uma sequência de expressão de genes em células-alvo.
 - Células únicas não podem produzir um indutor.
 - Um tecido pode ser induzido bem como ser um indutor.
 - A identificação química de indutores específicos não tem sido realizada.
- No processo de padrão de formação no embrião de *Drosophila*:
 - as primeiras etapas são especificadas por genes Hox.
 - mutações em genes de segmentos pareados resultam em embriões que perdem segmento sim, segmento não.
 - mutações em genes de intervalo resultam na inserção de segmentos extra.
 - genes de polaridade do segmento determinam o eixo dorsoventral de segmentos.
 - a segmentação consiste na mesma que em minhocas.
- Mutações homeóticas:
 - são muitas vezes graves e resultam em estruturas em locais inapropriados.
 - causam alterações sutis na forma de larvas ou adultos.
 - ocorrem apenas em eucariotos.
 - não afetam o DNA dos animais.
 - estão restritas à zona de atividade de polarização.
- Qual afirmação sobre a sequência homeobox *não* está correta?
 - É transcrita e traduzida.
 - É encontrada apenas em animais.
 - Proteínas contendo o homeodomínio ligam-se ao DNA.
 - É uma sequência de DNA distribuída por muitos genes.
 - Ocorre apenas em genes Hox.

PARA DISCUSSÃO

1. Biólogos moleculares podem ligar genes a promotores ativos e inserirlos dentro de células (ver Seção 16.3). O que aconteceria se os seguintes genes fossem inseridos e superexpressados? Explique suas respostas.
 - a. *Ced-9* em células embrionárias precursoras de neurônio em *C. elegans*.
 - b. *MyoD1* em mioblastos indiferenciados.
 - c. O gene para BMP2 em um broto de membro de galinha.
 - d. *Nanos* na extremidade anterior do embrião de *Drosophila*.
2. Um método potente para testar a função de um gene no desenvolvimento consiste em gerar um organismo "eliminado" (do inglês, *knockout*), no qual o gene em questão encontra-se desativado (ver Seção 16.5). O que você pensa que aconteceria em cada um dos seguintes casos?
 - a. *C. elegans* com *ced-9* eliminado.
 - b. *Drosophila* com *nanos* eliminado.
3. Olhe no quadro de mutações de identidade de órgãos na Figura 19.15. Que padrão você distingue nos resultados dessas mutações, e o que este padrão poderia significar?
4. Durante o desenvolvimento, o potencial de uma célula se torna cada vez mais limitado até, no curso normal dos eventos, ser o mesmo que o seu destino original provável. Com base no que você aprendeu neste capítulo, discuta os mecanismos possíveis para a limitação progressiva do potencial de desenvolvimento de uma célula.
5. Como os biólogos foram capazes de obter uma contagem tão completa de todas as células em *Caenorhabditis elegans*? Quais as principais conclusões obtidas a partir destes estudos?

PARA INVESTIGAÇÃO

A clonagem envolve a reprogramação considerável de expressão gênica em uma célula diferenciada até que ela passe a agir como uma célula ovo. De que maneira você investigaria esta reprogramação?

Os olhos são importantes

Olhos não são essenciais à sobrevivência. Muitos animais e todas as plantas vivem muito bem sem eles. Entretanto, mais de 90% dos animais têm olhos ou algum tipo de órgão sensível à luz, e tê-los pode conferir uma vantagem seletiva.

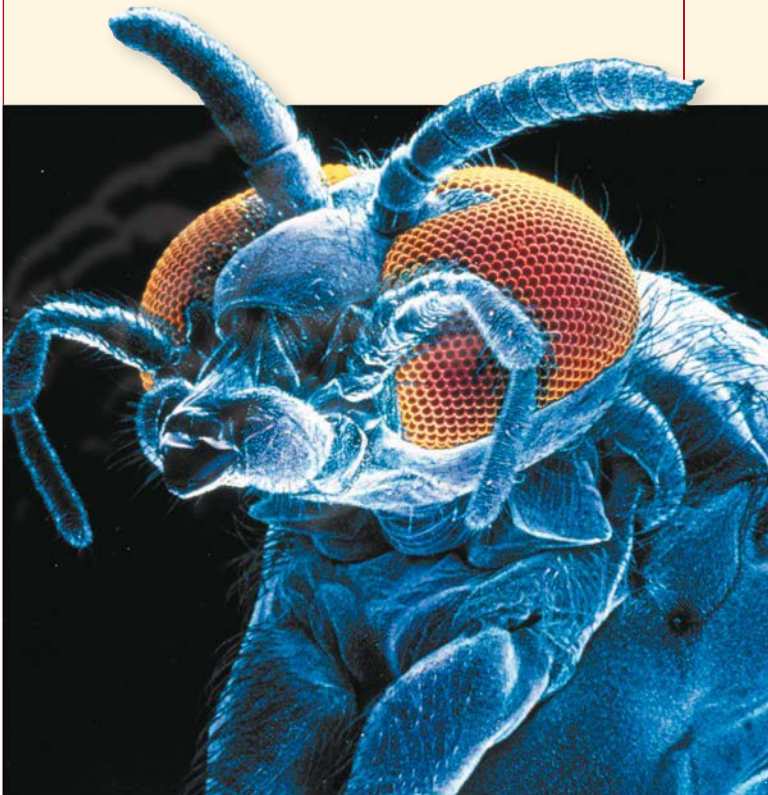
Cerca de uma dúzia de tipos diferentes de olhos encontram-se entre os diferentes animais, incluindo os olhos tipo câmera dos humanos e os olhos compostos de insetos, com milhares de unidades individuais. Na tentativa de entender a origem dessa variedade, cientistas – começando com Charles Darwin – propuseram que os olhos evoluíram, independentemente, inúmeras vezes em diferentes grupos de animais, e que cada melhoria na habilidade dos olhos de captar luz e formar imagem conferiu uma vantagem seletiva a seus possuidores.

Nosso entendimento da evolução dos olhos permaneceu nesse nível até 1915, quando foi encontra-

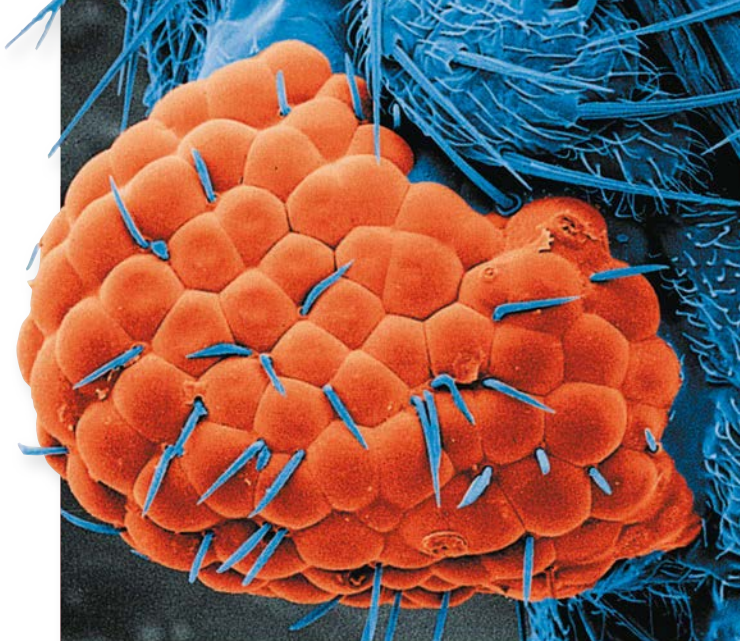
do um mutante sem olhos da mosca-das-frutas, e o gene envolvido, apropriadamente chamado *eyeless*, foi mapeado em um de seus cromossomos. Essa mosca mutante permaneceu uma curiosidade de laboratório até a década de 1990, quando os biólogos do desenvolvimento suíços Rebecca Quiring e Walter Gehring começaram a procurar fatores de transcrição que pudessem estar envolvidos no desenvolvimento. Eles encontraram um, e quando mapearam seu gene, ele estava no mesmo locus do *eyeless*. O produto do gene *eyeless* é um fator de transcrição que controla a formação do olho. Quiring e Gehring demonstraram isso transplantando tecido embrionário jovem que expressava o gene *eyeless* em outros lugares no embrião. Não importava onde eles o colocassem; mesmo nas pernas, contanto que o gene estivesse ativo, um olho se desenvolvia.

Quando fizeram estudos genômicos comparativos, Quiring e Gehring tiveram uma grande surpresa: a sequência do gene *eyeless* era bastante semelhante àquela de *Pax6*, um gene de camundongos que, quando mutado, leva ao desenvolvimento de olhos muito pequenos. Poderiam os olhos bem diferentes de moscas e camundongos ser apenas variações de um tema comum de desenvolvimento?

Para testar a similaridade na função entre os genes do inseto e do mamífero, Quiring e Gehring inseriram o gene *Pax6* de camundongo no genoma da mosca e repetiram os experimentos de transplante. Novamente, olhos se desenvolveram. Um gene cuja expressão normalmente leva ao desenvolvimento de um olho tipo “câmera” de mamífero agora levou ao desenvolvimento de um olho “composto” de inseto – um tipo de olho muito diferente. Assim, um único fator de transcrição parece funcionar como chave molecular que liga o



Olho da mosca Diferente dos olhos de lente única dos vertebrados, os olhos compostos das moscas e de alguns outros insetos constituem-se de milhares de lentes individuais, ou omátídios.



Um gene de camundongo pode produzir um olho de mosca Quando o gene Pax6 de camundongo especificando olho foi implantado no disco límbico de uma mosca-das-frutas, omatídios emergiram no lugar da perna.

desenvolvimento ocular. Embora os olhos tenham evoluído inúmeras vezes durante a evolução animal, todos eles podem depender do mesmo gene. As características especiais dos muitos olhos distintos em animais diversos evoluíram a partir de um processo de desenvolvimento comum.

A descoberta de que os mesmos genes governam o desenvolvimento em uma ampla variedade de animais levou à rápida proliferação de uma nova disciplina: a biologia evolutiva do desenvolvimento, frequentemente conhecida como “evo-devo”. Biólogos do desenvolvimento evolutivo comparam os genes que regulam desenvolvimento em diferentes organismos multicelulares para entender de que modo um único gene consegue fazer tantas coisas diferentes.

NESTE CAPÍTULO vemos que os genes que controlam formação de padrões são compartilhados por um diverso arranjo de organismos. Descobrimos como mudanças podem ocorrer em algumas partes de um organismo sem causar alterações indesejáveis em outras e de que maneira um conjunto comum de genes pode produzir tamanha variedade de formas corporais. Vemos também como alguns organismos podem modular seu desenvolvimento respondendo a sinais do ambiente. Finalmente, vemos de que forma os processos de desenvolvimento restringem a evolução.

DESTAQUES DO CAPÍTULO

- 20.1** Como um conjunto de ferramentas moleculares governa o desenvolvimento?
- 20.2** Como mutações com grandes efeitos mudam apenas uma parte do corpo?
- 20.3** Como diferenças entre espécies podem se desenvolver?
- 20.4** Como o ambiente modula o desenvolvimento?
- 20.5** Como genes de desenvolvimento restringem a evolução?

20.1 Como um conjunto de ferramentas moleculares governa o desenvolvimento?

Biólogos sabem há muito tempo que a mosca-das-frutas e um camundongo parecem uma mosca-das-frutas, e um camundongo parece um camundongo, por causa de seus genes; de forma clara, certos genes são únicos para cada tipo de organismo. Contudo, também discutimos como os genomas de organismos complexos compartilham numerosas sequências codificantes e proteínas homólogas (ver Seção 14.1). Quando biólogos do desenvolvimento começaram a descrever os eventos que especificam diferenciação, morfogênese e formação de padrões ao nível molecular, eles encontraram temas comuns que abrangiam ambos os fenômenos.

Genes de desenvolvimento em organismos diversos assemelham-se, mas produzem resultados diferentes

Conforme vimos no Capítulo 19, muitos dos genes que controlam desenvolvimento codificam fatores de transcrição que agem em proteínas numa cascata de eventos. Esses *genes de desenvolvimento* não foram descobertos até meados da década de 1980 porque geneticistas tinham previamente concentrado sua atenção na transmissão de características herdadas de organismos adultos para sua prole. Até aquela época, a genética era quase exclusivamente o estudo da parte do DNA que codifica proteínas estruturais e enzimas. Os processos de desenvolvimento permaneceram como uma “caixa preta molecular”.

A descoberta de mutantes do desenvolvimento em *Drosophila* finalmente levou à identificação de genes e produtos gênicos que se responsabilizam por alguma etapa de desenvolvimento normal em inseto (ver Seção 19.5). Usando as ferramentas de genômica comparativa, cientistas descobriram que um conjunto similar de genes existe em vertebrados. Essa descoberta de um conjunto comum de genes de desenvolvimento em organismos tão distintos evolutivamente quanto moscas-das-frutas e camundongos levou a uma conclusão primordial da biologia evolutiva do desenvolvimento: *a incrível diversidade de organismos é gerada por um modesto número de genes reguladores*. Diferenças na forma do corpo resultam de quando e onde esses genes encontram-se ligados e desligados.

Os fatores de transcrição e sinais extracelulares que governam a formação de padrões em organismos multicelula-

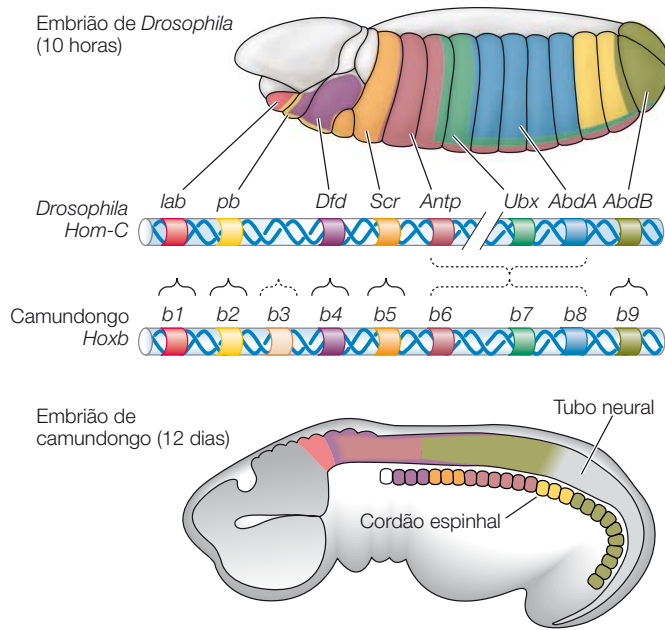


Figura 20.1 Genes regulatórios mostram padrões de expressão similares Genes homólogos codificando fatores de transcrição similares expressam-se em padrões similares ao longo dos eixos anteroposteriores tanto de insetos quanto de vertebrados.

res, bem como os genes que os codificam, podem ser imaginados como um **conjunto de ferramentas moleculares**, no mesmo sentido em que poucas ferramentas numa caixa de ferramentas de carpinteiro podem ser usadas para construir muitas estruturas diferentes.

Plantas e animais compartilham muitos genes regulatórios. Observamos na Seção 19.5 que membros de duas famílias de genes que codificam fatores de transcrição, os genes MADS box de plantas e os genes Hox de moscas-das-frutas, regulam importantes processos de desenvolvimento. Em *Drosophila*, estes genes governam o desenvolvimento de estruturas como pernas, antenas e asas, enquanto que em plantas eles governam o desenvolvimento de flores, frutos e sementes. Assim, embora as estruturas produzidas sejam únicas e diferentes, as “regras” governando diferenciação celular durante o desenvolvimento são bem similares em animais e plantas. Essa similaridade é marcante, dado que os caminhos evolutivos destas duas linhagens divergiram num passado distante. Os genes reguladores foram *conservados* – isto é, mudaram pouco – por milhões de anos.

Muitos animais que se movem em seu ambiente por suas próprias forças possuem corpos bilateralmente simétricos com uma cabeça (anterior) e uma cauda (posterior); os corpos de muitos desses animais dividem-se em segmentos, embora esses segmentos possam não ser visíveis externamente (ver Capítulo 31). Os mesmos tipos de genes contendo homeobox codificando fatores de transcrição fornecem informação posicional para células ao longo do eixo anteroposterior do corpo em ambos os embriões de inseto e mamífero. Por exemplo, certos genes de *Drosophila* e os genes homólogos de vertebrados expressam-se nas regiões anteriores do cérebro (Figura 20.1). Quando certos genes Hox são mutados em *Drosophila*, os segmentos se diferenciam de modo errado (ver Figura 19.20). Devido à mutação *bitorácica*, causada

por uma deleção no gene *Ubx*, o inseto em desenvolvimento forma dois conjuntos de asas frontais em vez do par normal (Figura 20.2A). Em vertebrados, a alteração dos padrões de expressão de alguns genes Hox pode transformar vértebras lombares (abdominais) em torácicas (costela) (Figura 20.2B). A alteração da expressão de outros genes pode substituir ossos do pescoço por duplicações dos ossos do ouvido e da mandíbula.

20.1 RECAPITULAÇÃO

Um conjunto de ferramentas moleculares formado por genes reguladores altamente conservados codificando fatores de transcrição e sinais químicos governam a formação de padrão em organismos multicelulares.

- Como o caso do gene *Pax6* de camundongo demonstra a existência de genes comuns de desenvolvimento em organismos diferentes? Ver p. 448-449.
- Você entende os efeitos de mutações em genes de desenvolvimento, e por que a existência de fenótipos mutantes levou ao descobrimento desses genes? Ver p. 449-450.

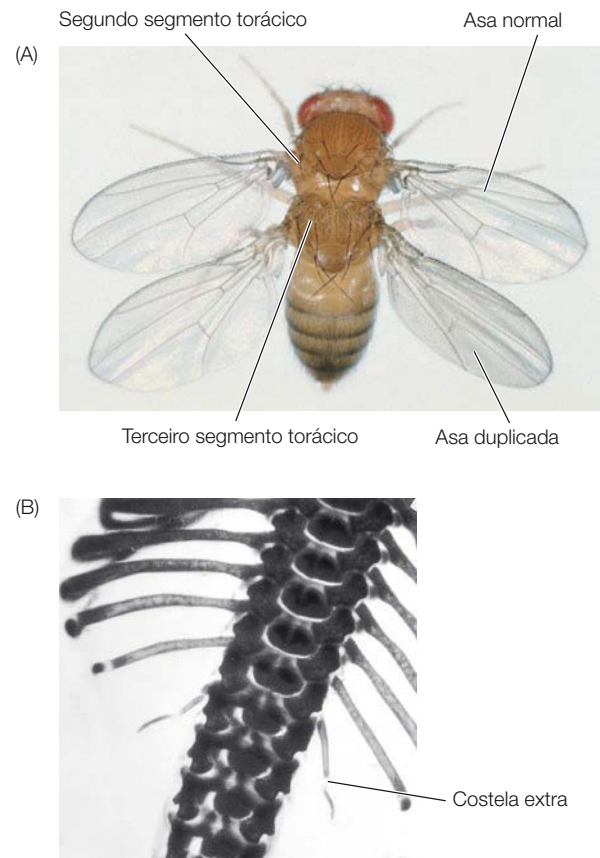


Figura 20.2 Alterações em genes homeóticos mudam a morfologia (A) Deleção do gene *Ubx* em *Drosophila* converte o terceiro segmento torácico, que normalmente não carrega asas, em uma duplicação do segundo segmento (carregador de asas). (B) Deleção do gene *Hoxc-8* em camundongos transforma uma vértebra lombar (abdominal) em uma cópia de uma vértebra torácica (costela).

As grandes anormalidades que primeiro alertaram os geneticistas para a existência de genes reguladores em *Drosophila* eram as que transformavam uma parte do corpo em outra parte, normalmente encontrada em outro lugar. Surpreendentemente, essas mutações afetavam apenas estruturas únicas. Uma mosca com uma perna saindo da cabeça era, em todos os outros aspectos, normal. Como era possível que uma mutação com efeito tão poderoso em uma estrutura não causasse deformidades em outra parte do corpo da mosca?

20.2 Como mutações com grandes efeitos mudam apenas uma parte do corpo?

Foi pelo estudo de mutações homeóticas que geneticistas descobriram que embriões, como adultos, são feitos de **módulos** – entidades funcionais que abrangem os genes e as várias rotas de sinalização que os genes estimulam ou inibem, bem como as estruturas físicas que resultam destas cascatas de sinalização.

A forma de cada módulo em um organismo pode ser mudada independentemente dos outros módulos porque muitos genes de desenvolvimento exercem seus efeitos em apenas um único módulo. A forma do coração de um animal em desenvolvimento, por exemplo, pode mudar independentemente de mudanças em seus membros porque os genes que governam a formação do coração não afetam a formação de membros, e vice-versa. Se isso não fosse verdade, uma única mutação em um gene de desenvolvimento provavelmente resultaria em um adulto com deformidades múltiplas amplamente diferentes. Tal adulto provavelmente não funcionaria bem em qualquer ambiente.

Interruptores genéticos governam como o conjunto de ferramentas moleculares é utilizado

Diferentes estruturas podem evoluir dentro de um único organismo usando um conjunto comum de instruções genéticas porque há componentes de DNA, chamados *interruptores genéticos*, que controlam a utilização do conjunto de ferramentas moleculares. Essas sequências de DNA e as cascatas de sinais que convergem e agem nessas sequências determinam quando e onde genes serão ligados e desligados. Múltiplos interruptores controlam cada gene influenciando sua expressão em diferentes tempos e em diferentes lugares. Por sua vez, a maioria dos elementos do conjunto de ferramentas moleculares influencia mais de um processo de desenvolvimento. Esses elementos apresentam a capacidade de fazê-lo porque interruptores múltiplos permitem o seu uso em muitos contextos.

Interruptores genéticos integram informação posicional no embrião em desenvolvimento e desempenham um papel chave fazendo com que módulos distintos desenvolvam-se diferentemente. Vimos que diferentes genes Hox expressam-se em diferentes segmentos e apêndices de moscas-das-frutas em desenvolvimento. O padrão e funcionamento de cada segmento dependem do gene Hox único ou combinação de genes Hox que se expressam nele. Interruptores genéticos controlam esta atividade ativando cada gene Hox em diferentes zonas do corpo.

Como um exemplo, considere a formação de asas em *Drosophila*. A mosca-das-frutas tem três segmentos torácicos, o primeiro dos quais não carrega asas. O segundo segmento carrega as grandes asas anteriores e o terceiro carrega pequenas asas posteriores que funcionam como órgãos de equilíbrio. Proteínas Hox não são expressas em células de asas anteriores, mas todas as células das asas posteriores expressam o gene Hox *Ultrabithorax*

(*Ubx*), pois um conjunto de interruptores genéticos ativa o gene *Ubx* no terceiro segmento torácico. *Ubx* desliga genes que promovem a formação das veias e outras estruturas da asa anterior, e liga genes que promovem a formação das características da asa posterior (Figura 20.3). Em borboletas, por outro lado, *Ubx* não liga-se nas células do terceiro segmento, assim asas completas desenvolvem-se.

Modularidade permite diferenças nos padrões temporal e espacial de expressão gênica

Modularidade também permite que o *momento* relativo de diferentes processos de desenvolvimento mude independentemente um do outro, processo chamado **heterocronia**. Isto é, os genes regulando o desenvolvimento de um módulo (digamos, os olhos de vertebrados) podem ser expressos em diferentes momentos em diferentes espécies, relativo aos genes regulando o desenvolvimento de outros módulos.

Duas espécies de salamandra do gênero *Bolitoglossa* ilustram de que forma a heterocronia pode resultar em nova morfologia. A membrana entre os dedos dos estágios de desenvolvimento inicial de todas as espécies de salamandra, incluindo *Bolitoglossa rostratus* (Figura 20.4A), desaparece quando o animal torna-se adulto, resultando em pés com dedos separados, adequados para moverem-se no chão. Mas, e se uma mutação atrasasse ou parasse a expressão dos genes que disparam a apoptose na membrana? Os pés resultantes, membranosos e “juvenis”, agiriam como taças de sucção, permitindo ao animal aderir-se a galhos de árvores (Figura 20.4B). Exatamente isso aconteceu com *Bolitoglossa occidentalis*, abrindo um novo jeito de vida, arbóreo, para essa espécie de salamandra.

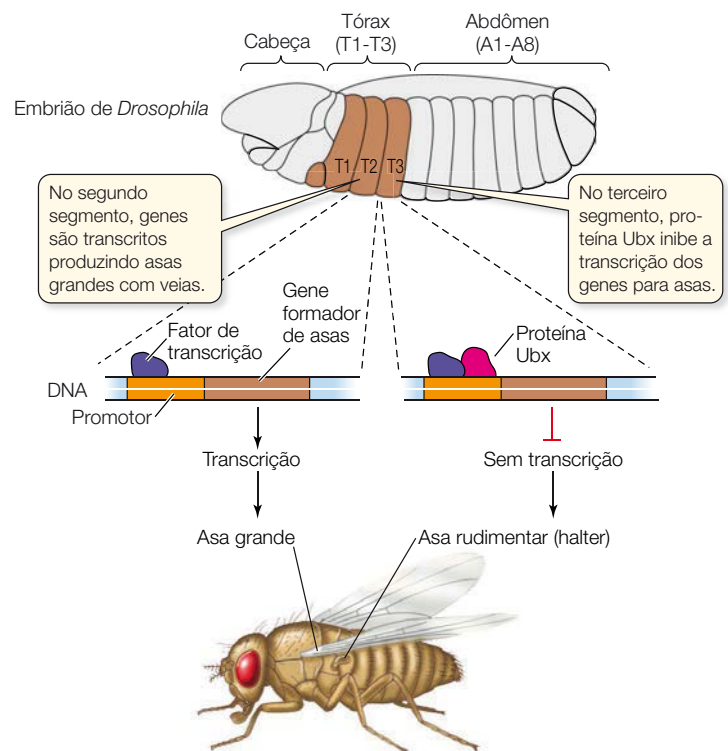


Figura 20.3 Segmentos diferenciam-se sob controle de interruptores genéticos A ligação de uma única proteína, Ultrabithorax, determina se um segmento torácico produz asas completas ou asas reduzidas conhecidas como halteres (balanceadores).

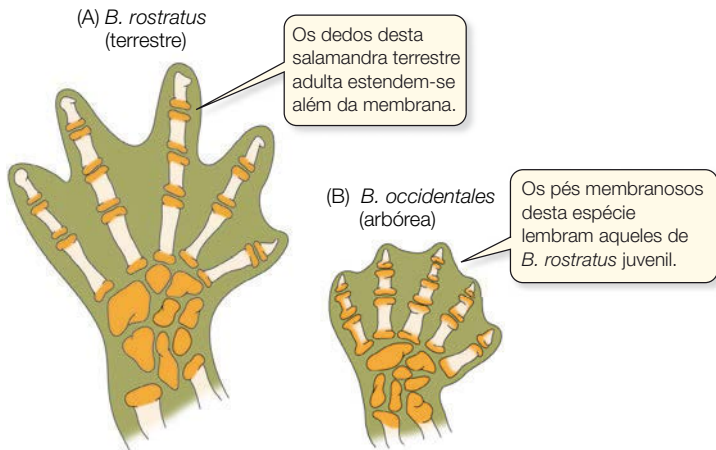


Figura 20.4 Heterocronia criou uma salamandra arbórea (A) O pé de *Bolitoglossa rostratus* adulta, salamandra terrestre. (B) O pé de *B. occidentales*, salamandra intimamente relacionada, não perde membrana: usa a sucção de seus pés membranosos num estilo de vida arbóreo.

Os pés membranosos de patos são exemplos de uma mudança evolutiva resultante de um padrão de expressão espacial alterado de um gene de desenvolvimento. Os pés de patos apresentam membranas que conectam seus dedos, mas aqueles de galinhas e da maioria de outras aves não. Os pés em desenvolvimento de embriões jovens de ambos patos e galinhas possuem membranas (assim como os de humanos; ver Figura 19.14). Um gene particu-

lar expressa-se nos espaços entre os ossos em desenvolvimento dos dedos. Esse gene codifica uma proteína chamada proteína morfogenética do osso 4 (BMP4), que instrui as células entre os dedos em desenvolvimento a sofrerem apoptose. A morte dessas células destrói a membrana entre os dedos.

Os membros posteriores de embriões de patos e galinhas expressam BMP4 na membrana entre os dedos, mas eles diferem na expressão de uma proteína *inibidora* de BMP, chamada Gremlin (Figura 20.5). A expressão de Gremlin ocorre ao redor dos dedos em membros posteriores de patos e galinhas. Em patos, mas não em galinhas, o gene *gremlin* expressa-se também nas células da membrana. A proteína Gremlin previne a BMP4 de sinalizar para apoptose na membrana. O resultado é um pé membranoso. A aplicação experimental da proteína Gremlin em membros posteriores de galinhas converte-os em pés semelhantes aos de patos (Figura 20.6).

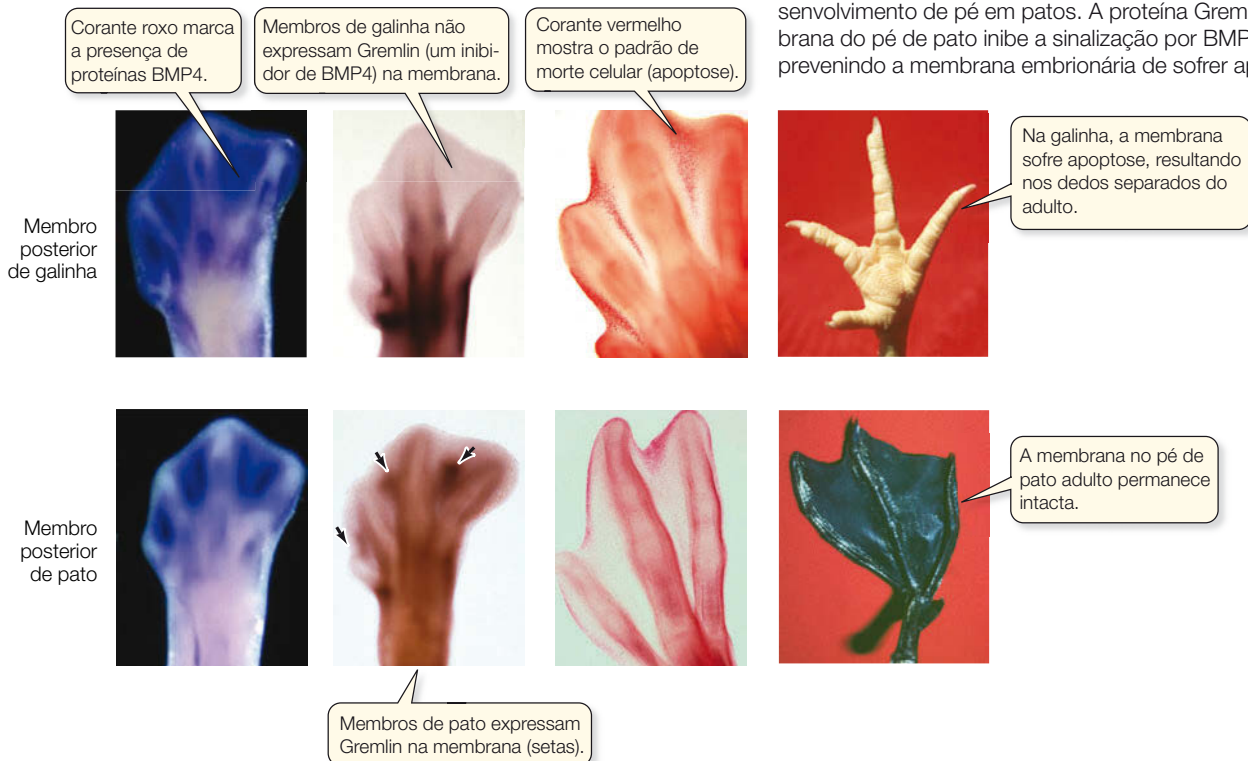
20.2 RECAPITULAÇÃO

Embriões e organismos adultos são feitos de unidades autocontidas chamadas módulos. A forma de cada módulo pode variar independentemente porque muitos genes em desenvolvimento exercem seus efeitos em apenas um único módulo.

- Você entende como interruptores genéticos controlam o modo que um gene é usado? Ver p. 451 e Figura 20.3.
- Como a heterocronia pode resultar em mudança evolutiva? Ver p. 451-452 e Figura 20.4.

Figura 20.5 Mudanças na expressão de gremlin correlacionam-se com mudanças na estrutura de membros posteriores

A linha superior de fotos mostra o desenvolvimento de um pé de galinha, a linha inferior mostra o desenvolvimento de pé em patos. A proteína Gremlin na membrana do pé de pato inibe a sinalização por BMP4, assim prevenindo a membrana embrionária de sofrer apoptose.



EXPERIMENTO

HIPÓTESE: A adição de proteína Gremlin (inibidora de BMP4) a um pé de galinha em desenvolvimento o transformará em um pé semelhante ao de pato.

MÉTODO

Ovos de galinha são abertos e cuidadosamente adicionam-se cápsulas secretoras de Gremlin à membrana de membros posteriores de galinha embrionários. São adicionadas cápsulas que não contêm Gremlin a outros membros posteriores (controles). Os ovos são fechados, e observa-se o desenvolvimento dos membros.

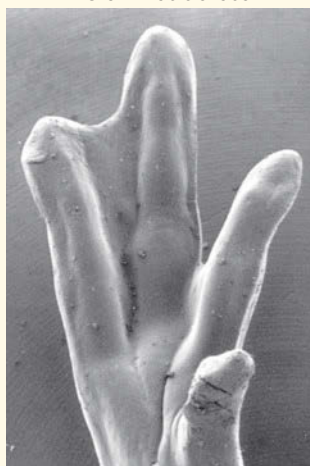
RESULTADOS

Nos membros posteriores em que Gremlin foi secretada, a membrana não sofre apoptose, e o membro lembra aquele de pato. Os membros controles desenvolvem-se de maneira normal para galinhas.

Controle



Gremlin adicionada



CONCLUSÃO: Diferenças na expressão gênica de *gremlin* causam diferenças na morfologia, permitindo que membros posteriores de pato retenham sua membrana.

Estudos de formação de padrão em embriões e inserção experimental de genes mostraram que as diferentes estruturas que se desenvolvem em diferentes partes de um organismo individual podem resultar de instruções genéticas similares. Tais informações sugerem que os processos que geram estruturas múltiplas dentro de um organismo podem também explicar como estruturas distintas desenvolvem-se em espécies distintas.

20.3 Como diferenças entre espécies podem-se desenvolver?

Os processos que permitem diferentes estruturas desenvolverem-se em diferentes regiões de um embrião podem explicar também a evolução das marcantes distinções na forma das espécies? Aparentemente podem. A ação de genes controlados por interrup-

Figura 20.6 Alteração da forma de um apêndice Neste experimento, membros posteriores de galinha expostos a cápsulas secretoras de Gremlin desenvolveram pés membranosos semelhantes aos de pato. **PESQUISA FUTURA:** Em quais outras partes do corpo o gene *gremlin* pode se expressar?

tores genéticos, que determinam onde e quando eles serão expressos ou suprimidos, parece sustentar tanto a transformação de um indivíduo a partir do ovo até o adulto quanto a evolução de diferenças entre espécies. Os artrópodes fornecem bons exemplos de como mudanças morfológicas em espécies podem evoluir por meio de mutações nos genes que regulam a diferenciação de segmentos.

Os artrópodes (que incluem crustáceos, centípedes, aranhas e insetos) possuem o gene *Hox Ubx*. O gene *Ubx* de inseto, entretanto, tem uma mutação não encontrada nos outros artrópodes. A proteína *Ubx* transcrita a partir desse gene mutado reprime a expressão do gene *distal-less (dll)*, essencial para a formação de pernas. *Ubx* de inseto expressa-se no abdômen (ver Figura 19.19), e a proteína *Ubx* resultante reprime *dll*. Como resultado, insetos apresentam apenas seis pernas, nenhuma das quais crescendo dos segmentos abdominais (Figura 20.7). Em contraste, a proteína *Ubx* de outros artrópodes – tais como miliápodes, centípedes, aranhas, ácaros e crustáceos – não reprime a expressão de *dll*. Consequentemente, esses animais possuem pernas nos segmentos abdominais.

A anatomia distinta dos membros confere aos insetos e seus parentes seu nome filogenético formal. Esse grupo de artrópodes denomina-se Hexapoda – grego para “seis pernas”.

Processos similares governam o desenvolvimento de diferenças nos segmentos da coluna vertebral. A coluna vertebral consiste em um conjunto de regiões anterior para posterior: cervical (pescoço), torácica (peito), lombar (costas), sacral e caudal (cauda). As transições de uma região para outra correspondem às transições entre zonas de expressão de determinados genes *Hox*. A fronteira anterior de expressão de *Hoxc-6*, por exemplo, sempre cai na fronteira entre as vértebras cervicais e torácicas de camundongos, galinhas e gansos, embora todos esses animais tenham números diferentes de vértebras torácicas. Essa observação sugere que os números característicos de diferentes vértebras vistos entre diferentes espécies resultam de mudanças genéticas que expandem ou contraem os domínios de expressão de distintos genes *Hox*.

20.3 RECAPITULAÇÃO

A ação de genes controlados por interruptores genéticos que determinam onde e quando eles serão expressos ou suprimidos sustenta a evolução das diferenças marcantes no formato entre espécies.

- Você pode explicar por que insetos, diferentemente de outros artrópodes, não têm membros abdominais? Ver p. 453 e Figura 20.7.

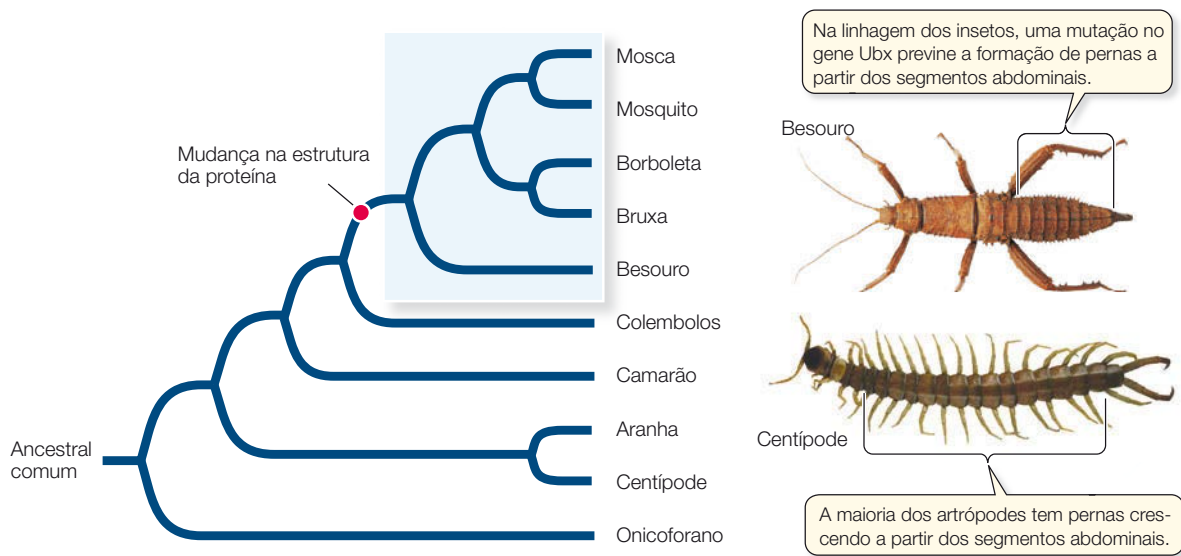


Figura 20.7 **Mutação num gene Hox mudou o número de pernas em insetos** Na linhagem dos insetos (azul) entre os artrópodes, uma mutação no gene *Ubx* resultou numa proteína que inibe o gene *dll*, requerido para formação de pernas. Como insetos expressam *Ubx* em seus segmentos abdominais, não há crescimento de pernas a partir destes segmentos. Outros artrópodes, tais como centípedes, possuem crescimento de pernas a partir dos segmentos abdominais.

Nossa discussão até agora pode sugerir que a forma de um organismo adulto determina-se inteiramente por seus genes. Todavia, sabemos que a forma de um organismo adulto determina-se também por condições ambientais durante seu desenvolvimento. Também sabemos que não há um único corpo melhor para todos os ambientes. De que forma os processos de desenvolvimento são modificados para que o organismo adulto seja adaptado para o ambiente no qual ele viverá?

20.4 Como o ambiente modula o desenvolvimento?

O ambiente no qual um indivíduo viverá pode diferir daquele no qual seus pais viveram. Seria vantajoso para um indivíduo em desenvolvimento “sentir” o tipo de ambiente no qual ele funcionará enquanto adulto e modificar seu desenvolvimento de acordo com isso. Na verdade, o desenvolvimento de muitos organismos modifica-se por condições ambientais. A habilidade de um organismo de modificar seu desenvolvimento em resposta a condições ambientais chama-se **plasticidade de desenvolvimento**. Em outras palavras, um único genótipo pode produzir uma variedade de fenótipos, e sinais do ambiente podem determinar qual fenótipo se expressa. Contudo, como organismos podem responder a sinais do ambiente?

Nenhum modo isolado de responder aos sinais do ambiente resultaria sempre em adaptação, pois os sinais ambientais dizem aos organismos muitas coisas diferentes. Podemos dividir sinais do ambiente em dois tipos principais, baseados em sua significância e em como organismos deveriam responder a eles:

- *Alguns sinais ambientais são indicadores precisos de condições futuras.* Alguns desses sinais sempre ocorrem, mas organismos podem se desenvolver sem jamais ter encontrado outros. Em qualquer dos casos, os processos de desenvolvimento de organismos deveriam responder adaptativamente a esses sinais quando eles ocorressem.
- *Alguns sinais ambientais têm fraca correlação com futuras condições.* Organismos não deveriam conseguir responder a esses sinais.

Os organismos em desenvolvimento respondem aos diferentes tipos de sinais da maneira que esperamos que eles respondam?

Organismos respondem a sinais que preveem o futuro com precisão

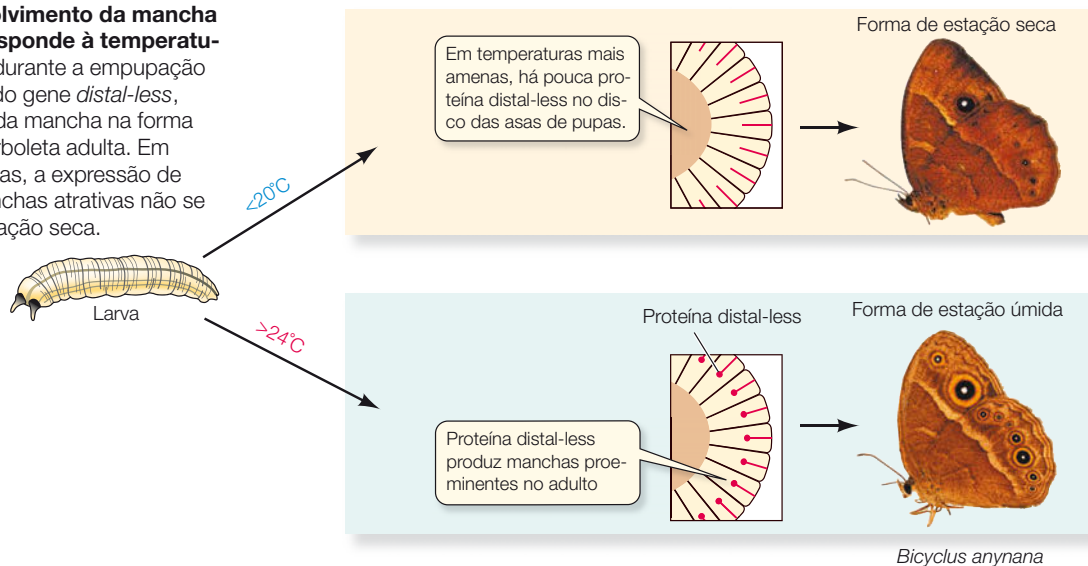
Organismos respondem a sinais que são indicadores precisos de futuras condições ambientais. Por exemplo, mudanças sazonais na duração do dia ocorrem confiavelmente todos os anos. O aumento na duração do dia indica precisamente a aproximação do verão; a diminuição na duração do dia sinaliza que o inverno vem chegando. Na maioria das regiões tropicais, estações úmidas e secas alternam-se num padrão regular durante o ano. Organismos em desenvolvimento respondem a esses sinais de modo a se tornarem adultos adaptados às futuras condições.

A borboleta do oeste da África *Bicyclus anynana* possui duas formas de cor. A forma da estação seca combina com as folhas marrons mortas no chão da floresta de estação seca, onde a borboleta tipicamente descansa. A forma da estação úmida, mais ativa, tem uma linha branca ao longo da asa e atrativas manchas semelhantes a olhos em suas asas posteriores. Essas manchas estimulam lagartos e pássaros predatórios a atacar a asa em vez do verdadeiro olho da borboleta, aumentando as chances da borboleta escapar.

A temperatura durante a empupação determina a forma de cor da borboleta adulta. As pupas que se desenvolvem no solo sob temperaturas mais baixas (menos de 20°C) produzem a cor de estação seca; temperaturas acima de 24°C geram a forma de cor da estação úmida. Nos estágios larvais tardios, a transcrição do gene *distal-less* restringe-se a muitas pequenas áreas da asa que têm o

Figura 20.8 O desenvolvimento da mancha semelhante ao olho responde à temperatura

Temperaturas altas durante a empupação aumentam a expressão do gene *distal-less*, resultando na formação da mancha na forma da estação úmida da borboleta adulta. Em temperaturas mais amenas, a expressão de *distal-less* diminui, e manchas atrativas não se formam no adulto de estação seca.



potencial de ser os centros das manchas. Durante o desenvolvimento da pupa, a área sobre a qual a proteína *distal-less* expressa-se aumenta com a temperatura, resultando em manchas atrativas nos adultos que empupam enquanto expostos a temperaturas mais altas (Figura 20.8). Assim, respondendo a um sinal ambiental – temperatura – as pupas desenvolvem-se em adultos com uma forma que se adapta às condições nas quais viverão.

Outro exemplo de plasticidade de desenvolvimento em resposta a mudanças sazonais ocorre na larva da mariposa *Nemoria arizonaria*. Esta mariposa produz duas gerações a cada ano. Larvas (lagartas) que eclodem de ovos na primavera alimentam-se de flores de carvalho (florescências). Essas larvas completam seu desenvolvimento, formam pupas e transformam-se em adultos no verão. Essas mariposas depositam seus ovos em carvalhos. As larvas que eclodem desses ovos no verão comem folhas de carvalho, completam seu desenvolvimento e deixam ovos nos galhos do carvalho. Esses ovos suportam o inverno e eclodem na primavera seguinte. As lagartas de primavera assemelham-se às inflorescências das quais elas se alimentam (Figura 20.9A); as lagartas de verão que se alimentam de folhas assemelham-se a pequenos galhos de carvalhos de cerca de um ano (Figure 20.9B). Ambos os tipos de lagartas camuflam-se bem no ambiente no qual elas se alimentam. Um pesquisador foi capaz de converter lagartas de primavera em lagartas de verão alimentando-as com folhas de carvalho.

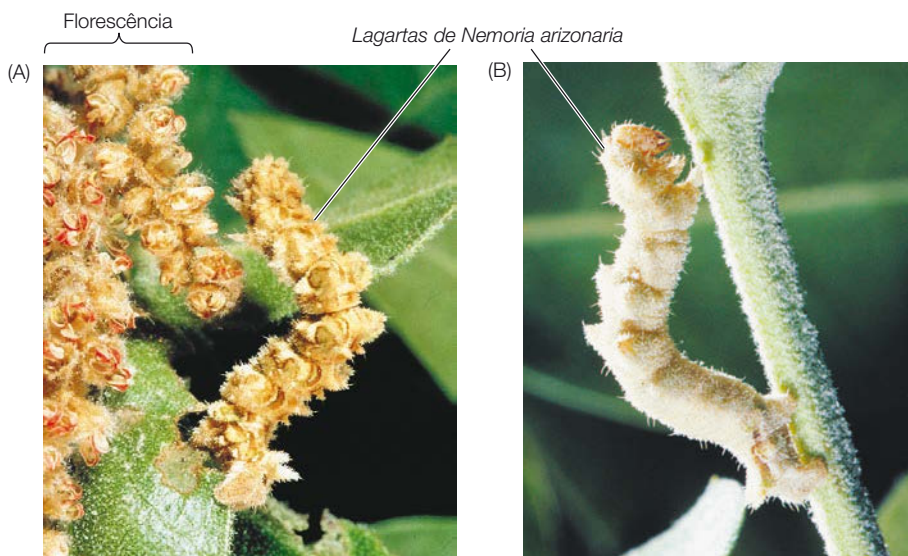


Figura 20.9 Formas de primavera e de verão de uma lagarta diferem (A) Lagartas de primavera da mariposa *Nemoria arizonaria* lembram as folhas de carvalho das quais se alimentam. (B) Lagartas de verão da mesma espécie lembram ramos de carvalho.

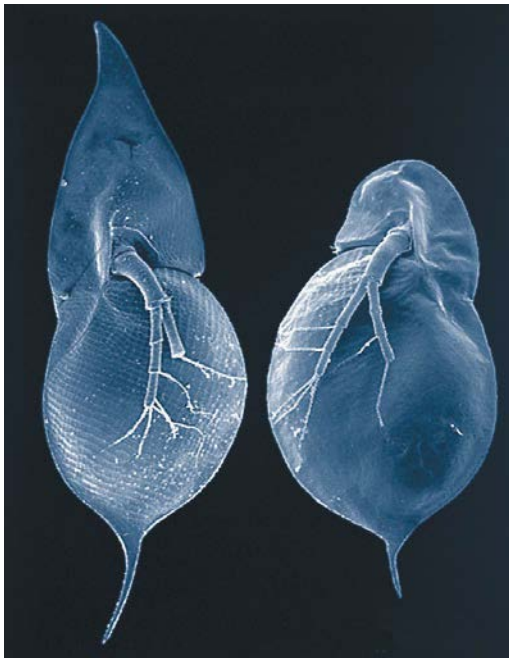
Um composto nas folhas de carvalho as induz a desenvolver a forma de verão, semelhante a ramos.

Um outro exemplo de plasticidade de desenvolvimento resultando em mudança fenotípica em resposta ao ambiente encontra-se entre as venenosas cobras tigre (gênero *Notechis*) da Austrália. Na Austrália, cobras tigre comem pequenas rãs e camundongos. Em Carnac, uma ilha próxima, elas comem presas bem maiores: os filhotes de gaivota prateada. As cobras da ilha crescem mais e possuem cabeças maiores em relação ao comprimento do corpo do que as cobras do continente. No laboratório, cobras juvenis da ilha alimentadas com camundongos maiores desenvolveram cabeças e mandíbulas maiores do que as irmãs que comeram apenas pequenas presas. As cabeças e mandíbulas de cobras juvenis do continente mudaram muito menos com a dieta. Logo, o desenvolvimento de cabeça em cobras da ilha apresenta plasticidade marcante, mas em cobras do continente, não.

Alguns sinais que preveem corretamente o futuro podem nem sempre ocorrer

Temos discutido respostas de desenvolvimento a sinais ambientais, como mudanças na duração do dia, que sempre ocorrem. Entretanto, muitas outras mudanças no ambiente de um organismo ocorrem esporadicamente: predadores podem ou não estar presentes, um indivíduo pode viver ou não sob condições de superpopulação ou os sexos e idades de seus companheiros podem mudar. Não obstante, se tais mudanças tiverem ocorrido frequentemente durante a evolução de uma espécie, a plasticidade de desenvolvimento pode evoluir de modo que indivíduos consigam responder a elas quando elas ocorrem.

Respostas de desenvolvimento à presença de predadores evoluíram em inúmeras espécies. Quando microcrustáceos (*Daphnia cucullata*) encontram larvas predadoras da mosca *Chaoborus*, os “capacetes” no topo de suas cabeças crescem até duas vezes o seu tamanho normal (Figura 20.10). As larvas de mosca apresentam dificuldade em ingerir *Daphnia* com grandes capacetes. A indução de capacetes também ocorre se a *Daphnia* expõe-se à água na qual larvas de mosca nadam. Proles que se desenvolvem nos abdomens de mães com capacetes grandes induzidos nascem com grandes capacetes. Por que todos os indivíduos não desenvolvem grandes capacetes, por precaução? Porque há um custo em alocação de energia limitada: *Daphnia* com grandes capacetes produzem menos ovos do que aquelas com pequenos capacetes.



Daphnia cucullata

Figura 20.10 Plasticidade de desenvolvimento induzida por predador em *Daphnia* Esta micrografia eletrônica de varredura mostra a forma de *Daphnia* induzida por predador (esquerda), com capacetes aumentados, e a forma normal deste pequeno crustáceo (direita). Estas duas *Daphnia* são indivíduos geneticamente idênticos de um único clone produzido assexuadamente.



Figura 20.11 Caçadoras de luz Os feijões na esquerda foram cultivados experimentalmente sob baixos níveis de luz. Suas células alongaram-se em resposta à pouca luz, e as plantas tornaram-se altas e esguias. As plantas controle na direita foram cultivadas sob condições normais de luminosidade.

A luz exerce poderosa influência no desenvolvimento de plantas. Baixos níveis de luz estimulam a alongação de células, de forma que plantas crescendo na sombra tornam-se altas e esguias (Figura 20.11). Essa plasticidade de desenvolvimento é adaptativa, porque uma planta alta tem maiores chances de alcançar um sítio iluminado do que uma planta que permanece compacta. E como elas têm tecidos indiferenciados chamados meristemas, plantas podem continuar a responder à luz enquanto elas crescem.

Entre alguns animais, a aprendizagem é uma resposta de desenvolvimento a mudanças ambientais. Como você sabe por seu esforço para absorver os conteúdos deste livro, aprender é custoso. A aprendizagem exige bastante empenho e tempo, durante o qual um indivíduo não pode fazer outras coisas úteis. Contudo, a aprendizagem pode continuar pela vida adulta, permitindo ao indivíduo ajustar seu comportamento ao ambiente físico, biológico e social em que ele amadurece. Conforme veremos no Capítulo 35, a aprendizagem é particularmente importante em espécies com sistemas sociais complexos. Indivíduos dessas espécies devem aprender as identidades e características individuais de muitos associados e ajustar seu comportamento de acordo. Enquanto isso, mantenha em mente que, por mais difícil que aprender possa ser, a ignorância é ainda mais custosa.

Organismos não respondem a sinais pouco relacionados com futuras condições

Assim como esperamos que organismos respondam a sinais ambientais que preveem o futuro com precisão, esperamos que eles ignorem sinais pouco relacionados com futuras condições, porque

responder a tais sinais não os ajudaria a adaptar-se ao ambiente em que viverão. Considere, por exemplo, produção de sementes pelas plantas. Plantas respondem a mudanças nas condições ambientais variando seu tamanho, forma e número de flores, bem como o *número* de sementes produzidas; mas o *tamanho* das sementes permanece aproximadamente constante.

A quantidade de energia que uma planta em crescimento dispõe para alocar na produção de sementes depende, entre outras coisas, da temperatura, precipitação e do tamanho e número das plantas vizinhas. Contudo, essas condições ambientais em qualquer ano são fracos indicadores de como serão essas condições no ano seguinte. Uma plântula que germina de uma semente grande sobreviverá melhor sob condições de intensa competição do que uma plântula que germina de uma semente pequena, porque ela pode crescer mais usando a maior reserva de energia guardada dentro da semente. Todavia, para uma dada quantidade de energia, uma planta madura pode produzir bem menos sementes grandes do que pequenas. Assim, se a próxima geração de plantas cresce sob condições mais favoráveis, plantas que produziram um número maior de pequenas sementes no ano anterior terão maior prole sobrevivente. Logo, plantas não mudam o tamanho de suas sementes em resposta a condições ambientais sob as quais elas crescem.

Em vez disso, muitas plantas possuem genes para dormência de sementes, de modo que as sementes geradas em um ano germinam em intervalos descontínuos durante anos futuros com distintos e desconhecidos padrões de precipitação e densidade de vizinhos. O tamanho de sementes evoluiu em resposta às condições médias encontradas pelas plantas ao longo de muitas gerações, e assim permanece relativamente consistente.

Organismos podem não ter respostas apropriadas a novos sinais ambientais

Embora organismos possam responder adaptativamente a sinais ambientais que tenham ocorrido com frequência durante suas histórias evolutivas recentes, eles tipicamente não apresentam respostas adaptativas a sinais ambientais que nunca encontraram antes. O Capítulo 1 deste livro deu um exemplo da descrição de efeitos de um determinado parasita no desenvolvimento de membros em rãs. A falta de respostas úteis de desenvolvimento a novos eventos encontrados no ambiente é um importante problema, pois hoje em dia as sociedades humanas têm mudado o ambiente de muitas maneiras.

Por exemplo, humanos hoje liberam milhares de compostos químicos no ambiente, alguns dos quais destroem o desenvolvimento normal. Em 1962, o clássico livro *Primavera Silenciosa*, de Rachel Carson, focou atenção aos efeitos devastadores que o pesticida químico amplamente usado DDT exercia na população de pássaros, em parte por interferir com o desenvolvimento da casca do ovo. Pesquisas ao longo dos anos confirmaram os efeitos maléficos do DDT nos sistemas reprodutivos e no desenvolvimento de muitos pássaros e mamíferos.

Outro evento que virou manchete em 1962 tratou dos imprevisíveis efeitos de agentes ambientais, desta vez afetando humanos. Mais de 7 mil crianças com ausência ou subdesenvolvimento de membros nasceram de mulheres que tinham tomado uma droga chamada talidomida. Ninguém do meio médico esperava que a talidomida, considerada um seguro sedativo moderado, afetasse a expressão de genes de desenvolvimento de membros no feto.

20.4 RECAPITULAÇÃO

Plasticidade de desenvolvimento permite que organismos em desenvolvimento ajustem suas formas para melhor adaptar-se ao ambiente em que vivem. Organismos respondem a sinais ambientais indicadores precisos de condições futuras, mas falham em responder a sinais pouco relacionados com futuras condições.

- Descreva vários exemplos de como um fenótipo de um organismo pode ser uma resposta a sinais ambientais. Ver p. 454-455 e Figura 20.8.
- Você pode explicar como o aprendizado permite a um indivíduo ajustar seu comportamento ao ambiente social e físico em que ele amadurece? Ver p. 456.
- Por que organismos tipicamente não respondem adaptativamente a sinais ambientais que seus ancestrais nunca encontraram? Ver p. 457.

Respostas apropriadas a novas condições ambientais são prováveis de evoluir ao longo do tempo, mas quais consistem nos limites de tal evolução? Genes de desenvolvimento ditam quais estruturas e formas são possíveis?

20.5 Como genes de desenvolvimento restringem a evolução?

Três décadas atrás, o geneticista francês François Jacob fez a analogia de que a evolução trabalha como um funileiro, montando novas estruturas pela combinação e modificação do material disponível, e não como um engenheiro, que possui liberdade para desenvolver desenhos dramaticamente diferentes (digamos, um motor a jato para substituir um motor dirigido por propulsor). A evolução da forma não tem sido governada pelo aparecimento de genes radicalmente novos, mas pela modificação do que os genes existentes fazem. Genes de desenvolvimento e sua expressão restringem a evolução de duas maneiras principais:

- Quase todas as inovações evolutivas são modificações de estruturas previamente existentes.
- Os genes que controlam o desenvolvimento são altamente conservados; isto é, os próprios genes regulatórios não mudam grandemente ao longo do curso da evolução.

Evolução atua pela mudança do que já existe

As características de organismos quase sempre evoluem de características preexistentes em seus ancestrais. Para citar um exemplo clássico, insetos, aves e morcegos não “inventaram” seus genes para asas. Asas surgiram como modificações de uma estrutura existente. Asas evoluíram independentemente em insetos e vertebrados – apenas uma vez em insetos, mas em três igualmente independentes exemplos entre os vertebrados (Figura 20.12). Contudo, em todos os quatro casos, as asas são membros modificados.

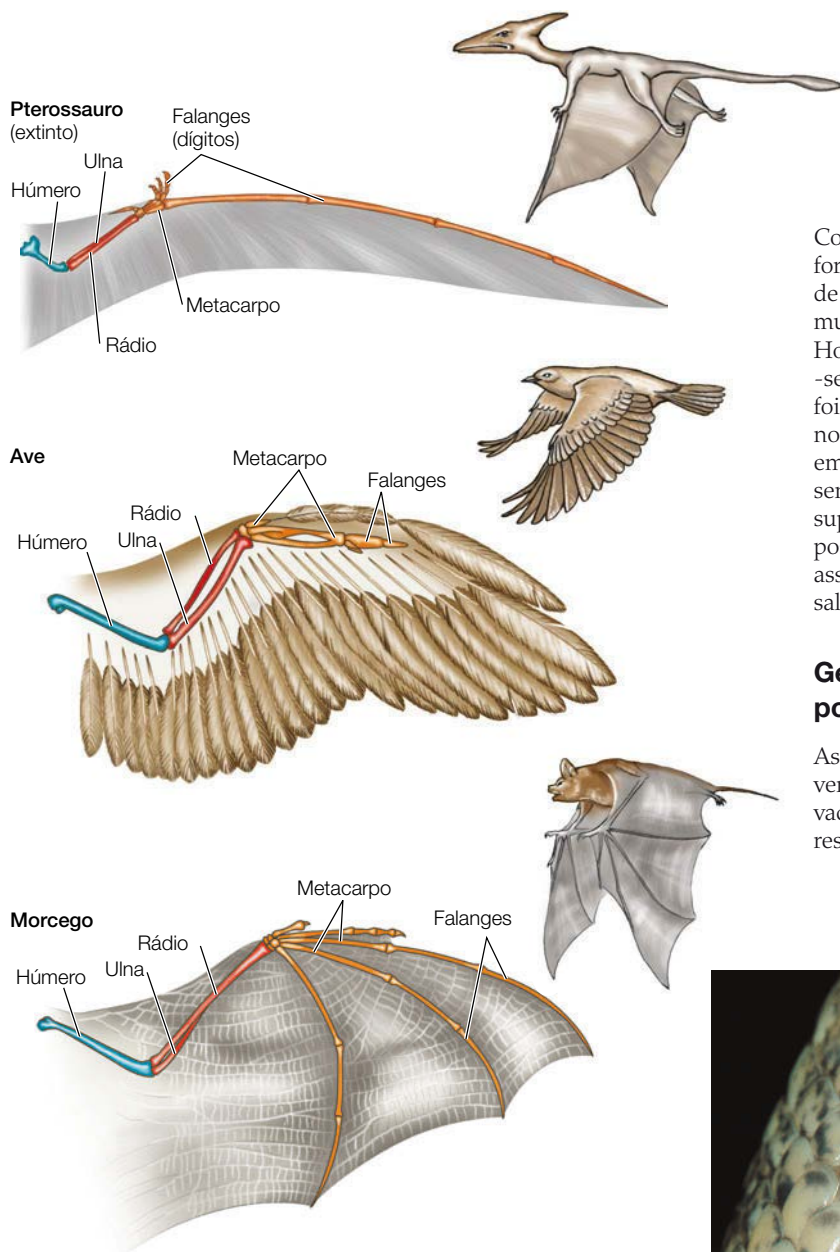


Figura 20.12 Asas evoluíram três vezes em vertebrados As asas de pterossauros, aves e morcegos são membros anteriores modificados construídos a partir dos mesmos esqueletos de componentes. Entretanto, os componentes têm diferentes formas nos diferentes grupos.

Dr. Seuss não estava só na concepção de animais que a evolução nunca produziu. Contadores de estórias e artistas têm frequentemente escrito muitos seres imaginários com asas saindo de suas costas – pense em fadas, cavalos alados e anjos. Entretanto, tais morfologias provavelmente permanecerão confinados ao mundo da imaginação humana, porque as asas provavelmente não podem evoluir de outra estrutura que não um membro já existente.

Controles de desenvolvimento também influenciam a forma que organismos perdem estruturas. Os ancestrais de cobras perderam seus membros como resultado de mudanças nos segmentos do corpo nos quais os genes Hox que suprimem formação de membros expressam-se. O mesmo processo, envolvendo os mesmos genes, foi responsável pelas dramáticas mudanças evolutivas no número de apêndices que os artrópodes possuem e em quais segmentos do corpo esses apêndices se desenvolvem (ver Figura 20.7). Mas, no caso das cobras, a supressão é incompleta em algumas espécies, as quais possuem ossos remanescentes de membros posteriores, assim como pequenas esporas, que são usadas no acasalamento (Figura 20.13).

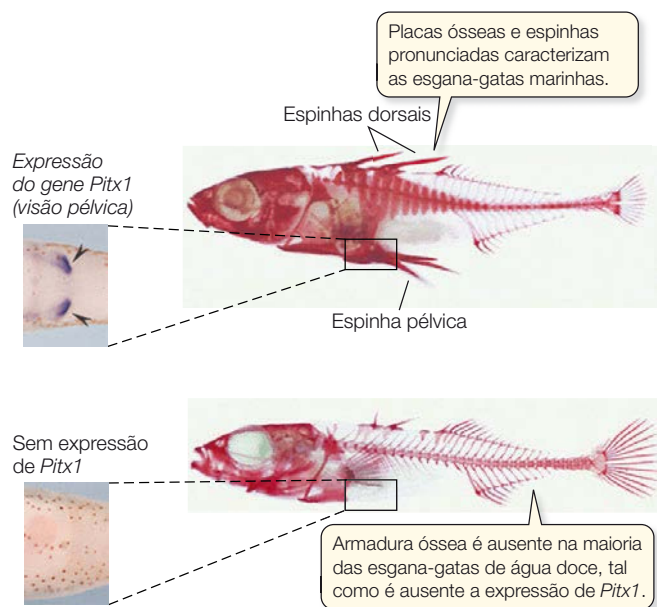
Genes conservados de desenvolvimento podem levar à evolução paralela

As seqüências de nucleotídeos de muitos genes que governam o desenvolvimento têm sido altamente conservadas ao longo da evolução de organismos multicelulares – em outras palavras, esses genes existem de forma



Python regius

Figura 20.13 Genes de desenvolvimento e estruturas perdidas Em cobras, a expressão do gene Hox na coluna vertebral em desenvolvimento suprime a formação de membros. Contudo, a supressão é incompleta em algumas espécies, resultando no desenvolvimento de ossos pélvicos internos e pequenas esporas anais externas, como mostrado nesta píton. Estas esporas são maiores nos machos, que as usam para estimular a fêmea durante o acasalamento.



similar em um amplo espectro de espécies. Fizemos menção deste fato em relação ao gene *Pax6* de especificação de olhos descrito no começo deste capítulo.

A existência de genes de desenvolvimento altamente conservados torna provável que fenótipos similares evoluirão repetidamente, especialmente entre espécies intimamente relacionadas – um processo chamado **evolução fenotípica paralela**. Um bom exemplo de evolução fenotípica paralela é provido por um pequeno peixe, a esgana-gata de três espinhos (*Gasterosteus aculeatus*).

As esgana-gatas são amplamente distribuídas pelos oceanos Atlântico e Pacífico e se encontram em muitos lagos de água doce. Populações marinhas desta espécie passam a maior parte de suas vidas no mar, mas retornam à água doce para procriar. Membros de populações de água doce vivem em lagos e nunca vão para água salgada. Evidências genéticas mostram que populações de água doce surgiram independentemente muitas vezes a partir de populações marinhas adjacentes. Esgana-gatas marinhas possuem várias estruturas que as protegem de predadores: ossos da pélvis bem desenvolvidos, longas espinhas dorsais e pélvicas e placas ósseas. Nas populações de água doce que descendem deles, essa armadura corporal é bastante reduzida, e espinhas dorsais e pélvicas são muitos menores ou até mesmo ausentes (**Figura 20.14**).

Quando pesquisadores começaram a investigar a genética da evolução das esgana-gatas, eles esperavam que diferentes genes governassem as mudanças em populações diferentes. Em vez disso, onde quer que procurassem – Japão, Colômbia britânica, Califórnia, Islândia – investigadores encontravam o mesmo gene único, ou um pequeno grupo de genes relacionados, responsável pela perda de armadura em populações de água doce, bem como pelas mudanças num conjunto de outras partes ósseas, incluindo mandíbulas e ossos que protegem as guelras. Este gene,

Figura 20.14 Evolução fenotípica paralela em esgana-gatas Esgana-gatas de três espinhos são pequenos peixes (frequentemente menores que 3 cm) amplamente distribuídos nos oceanos. Populações marinhas (acima) têm espinhas afiadas e um esqueleto ósseo. Nos muitos casos independentes em que populações de água doce surgiram de ancestrais marinhas, as espinhas e armadura óssea são grandemente reduzidas ou desaparecem; a mudança fenotípica de formas marinhas para de água doce parece ser consistentemente paralela, o resultado da ausência de expressão do gene *Pitx1*.

Pitx1, encontra-se inativo nas regiões formadoras de ossos dos embriões de esgana-gatas de água doce, mas ativo nas mesmas regiões em populações marinhas. (Note que a *modularidade* é importante para os resultados de expressão gênica neste exemplo; o gene *Pitx1* expressa-se em outros órgãos em desenvolvimento em ambas as populações marinha e de água doce desses peixes; é apenas no desenvolvimento de ossos que surgem diferenças estruturais.) A consistência dessas mudanças na expressão gênica que surgiram múltiplas vezes em populações de água doce sugere fortemente que elas são adaptativas. A maioria dos lagos nos quais as esgana-gatas de água doce vivem formou-se menos de 10 mil anos atrás, após as geleiras que os cobriam recuarem. Estes lagos não têm peixes predatórios, mas contêm larvas predatórias de libélula que podem mais facilmente capturar esses peixes com espinhas longas. Além disso, o cálcio tipicamente escasso é um suprimento em lagos de água doce, tornando as armaduras mais custosas para o peixe produzir, e lagos de água doce apresentam vegetação abundante na qual os peixes podem esconder-se, assim eles possuem menos necessidade de uma armadura de defesa.

20.5 RECAPITULAÇÃO

Controles de desenvolvimento restringem a evolução porque quase todas as inovações evolutivas são modificações de estruturas previamente existentes, e porque a conservação de muitos genes torna provável que estruturas similares evoluirão repetidamente.

- Você entende como formas corporais diversas evoluíram por meio de modificações no funcionamento de genes existentes? Ver p. 457 e Figura 20.12.
- Você entende como as diferenças entre as esgana-gatas marinhas e de água doce exemplificam a evolução fenotípica por regulação gênica? Ver p. 459 e Figura 20.14.

Muitas características novas surgiram e falharam em persistir além de uma única geração. A Parte 5 deste livro examina os processos de evolução – as poderosas forças que influenciam o diferente sucesso na reprodução e na sobrevivência de várias formas de vida – e como diferentes adaptações tornam-se predominantes em diferentes ambientes, resultando, ao longo do tempo evolutivo, na luminosa diversidade da vida.

RESUMO DO CAPÍTULO

20.1 Como um conjunto de ferramentas moleculares governa o desenvolvimento?

A diversidade evolutiva é produzida usando-se um modesto número de genes reguladores. [Rever Figura 20.1.](#)

Os fatores de transcrição e sinais químicos que governam formação de padrões nos corpos de organismos multicelulares, e os genes que os codificam, podem ser chamados de “conjunto de ferramentas moleculares”.

Genes reguladores têm sido altamente conservados durante a evolução. [Rever Figura 20.2.](#)

20.2 Como mutações com grandes efeitos mudam apenas uma parte do corpo?

Os corpos tanto de adultos quanto de embriões organizam-se em unidades autocontidas chamadas **módulos** que podem ser modificadas independentemente. A modularidade permite o momento de diferentes processos de desenvolvimento mude independentemente, um processo chamado **heterocronia**. [Rever Figura 20.4.](#)

Alterações nos padrões de expressão espacial de genes reguladores podem também resultar em mudanças evolutivas. [Rever Figuras 20.5 e 20.6.](#)

20.3 Como diferenças entre espécies podem se desenvolver?

A ação de genes controlados por interruptores genéticos que determinam onde e quando eles serão expressos ou suprimidos embasa tanto a transformação de um indivíduo a partir de um ovo quanto a evolução de diferenças entre espécies.

Mudanças morfológicas em espécies podem evoluir por mutações nos genes que regulam a diferenciação de segmentos. [Rever Figura 20.7.](#)

20.4 Como o ambiente modula o desenvolvimento?

A habilidade de um organismo de modificar seu desenvolvimento em resposta a condições ambientais denomina-se **plasticidade de desenvolvimento**.

Durante o desenvolvimento, organismos respondem a sinais ambientais que preveem precisamente condições futuras. Alguns destes sinais, como mudanças na duração do dia, sempre ocorrem. [Rever Figura 20.8.](#)

Outros tipos de mudanças no ambiente de um organismo podem ou não ocorrer, mas se tais mudanças ocorrerem frequentemente durante a evolução de uma espécie, a habilidade em responder a elas pode evoluir.

Organismos tendem a não responder a sinais ambientais pouco relacionados com futuras condições, ou a sinais ambientais não antes encontrados.

20.5 Como genes de desenvolvimento restringem a evolução?

Virtualmente todas as inovações evolutivas constituem modificações de estruturas preexistentes. [Rever Figura 20.12.](#)

Como muitos genes que governam desenvolvimento têm sido altamente conservados, características similares provavelmente evoluem repetidamente, especialmente entre espécies intimamente relacionadas, um processo chamado **evolução fenotípica paralela**.

QUESTÕES

- Plantas e animais dividem muitos genes reguladores que:
 - governam apenas o desenvolvimento inicial do embrião.
 - são herdadas de um ancestral multicelular comum.
 - governam o desenvolvimento de estruturas similares em ambos os grupos.
 - governam o desenvolvimento de estruturas muito diferentes nos dois grupos.
 - operam por regras bem diferentes.
- Geneticistas descobriram genes reguladores apenas recentemente por que:
 - geneticistas não acreditavam que o desenvolvimento fosse geneticamente controlado.
 - geneticistas concentraram sua atenção em genes que produziam pequenos efeitos.
 - geneticistas competiam com biólogos do desenvolvimento por fundos para pesquisa e, portanto, minimizavam a importância do desenvolvimento para entender a evolução.
 - genes reguladores foram particularmente difíceis de descobrir.
 - geneticistas concentraram sua atenção na transmissão de características herdadas a partir dos adultos por sua prole.
- Qual das seguintes afirmativas *não* é verdadeira sobre interruptores genéticos?
 - Eles controlam como um conjunto de ferramentas moleculares é usado.
 - Eles integram informação posicional num embrião.
 - Um único interruptor controla cada gene.
 - Eles permitem que estruturas diferentes evoluam dentro de um organismo individual.
 - Eles determinam quando e onde um gene é ligado e desligado.
- Patos têm pés membranosos e galinhas não os têm por que:
 - patos precisam de pés membranosos para nadar, enquanto galinhas terrestres não.
 - embriões de pato e galinha expressam BMP4 na membrana entre os dedos, mas o gene *gremlin* expressa-se nas células membranosas apenas em patos.
 - embriões de pato e galinha expressam BMP4 na membrana entre os dedos, mas o gene *gremlin* expressa-se nas células membranosas apenas em galinhas.
 - apenas embriões de pato expressam BMP4 na membrana entre os dedos.
 - apenas embriões de galinha expressam BMP4 na membrana entre os dedos.
- Modularidade é importante para o desenvolvimento porque ela
 - garante que todas as unidades de um embrião em desenvolvimento mudarão de maneira coordenada.
 - coordena o estabelecimento do eixo anteroposterior do embrião em desenvolvimento.
 - permite que mudanças nos genes mudem uma parte do corpo sem afetar outras partes.
 - garante que o tempo de expressão gênica seja o mesmo em todas as partes de um embrião em desenvolvimento.
 - permite que organismos sejam construídos um módulo por vez.

6. Organismos frequentemente respondem em termos de desenvolvimento a sinais ambientais que ocorrem regularmente que precisamente predizem condições futuras
 - a. parando o desenvolvimento até que o sinal mude.
 - b. alterando seu desenvolvimento de modo que o adulto resultante seja adaptado ao futuro ambiente.
 - c. alterando seu desenvolvimento de modo que o adulto resultante possa produzir prole adaptada ao ambiente futuro.
 - d. produzindo novos mutantes.
 - e. desenvolvendo-se normalmente porque as condições preditas podem não durar muito.
7. O processo pelo qual mudanças no momento relativo de eventos diferentes de desenvolvimento podem mudar a forma de um organismo denomina-se
 - a. heterocronia.
 - b. plasticidade de desenvolvimento.
 - c. adaptação.
 - d. modularidade.
 - e. mutação.
8. *Daphnia* com capacetes grandes são mais difíceis de ser capturadas e comidas por alguns predadores, mas nem toda *Daphnia* produz grandes capacetes, pois:
 - a. indivíduos com grandes capacetes não podem alimentar-se eficientemente.
 - b. indivíduos com grandes capacetes têm problema para acasalar.
 - c. indivíduos com grandes capacetes produzem menos ovos do que indivíduos com capacetes pequenos.
 - d. indivíduos com grandes capacetes tornam-se presos na vegetação.
 - e. alguns indivíduos não têm os genes que governam formação de capacetes.
9. Qual das seguintes estruturas de plantas *não* muda em resposta às condições sob as quais a planta cresce?
 - a. Raízes
 - b. Sementes
 - c. Folhas
 - d. Caules
 - e. Ramos
10. Evolução fenotípica paralela ocorre comumente porque:
 - a. organismos proximamente relacionados tipicamente encaram problemas similares.
 - b. a conservação de genes reguladores durante a evolução significa que características similares provavelmente evoluirão repetidamente.
 - c. muitos fenótipos diferentes podem ser produzidos por um dado genótipo.
 - d. plasticidade fenotípica, a qual gera evolução fenotípica paralela, distribui-se amplamente.
 - e. biólogos evolutivos têm achado difícil encontrar evidências disso.

PARA DISCUSSÃO

1. Que componentes de influências ambientais no desenvolvimento provavelmente não seriam notados se as investigações fossem confinadas a organismos simples tais como bactérias e eucariotos de célula única?
2. Um girino de sapo pé-de-espada que se desenvolve numa poça que seca rapidamente provavelmente comerá muitos de seus irmãos e irmãs. Como a prática de comer seus irmãos, que dividem metade de seus genes individuais, pode ser favorecida pela seleção natural?
3. Se inovações evolutivas podem resultar de mudanças mais simples no tempo de expressão de uns poucos genes, por que tais inovações surgiram relativamente pouco frequentemente durante a evolução?
4. François Jacob afirmou que a evolução agiu mais como um funileiro, ou remendador, do que como um engenheiro. A observação de que genes de desenvolvimento mudaram pouco durante o tempo evolutivo apoia essa afirmação? Por quê?
5. Apesar das grandes diferenças, plantas e animais dividem muitos dos genes que regulam o desenvolvimento. Quais são as implicações dessa observação para os meios pelos quais humanos podem responder a efeitos adversos das muitas substâncias que liberamos no ambiente que causam anormalidades no desenvolvimento em plantas e animais? Que tipos de substâncias são mais prováveis de exercer tais efeitos? Por quê?

PARA INVESTIGAÇÃO

A Figura 20.6 descreve um experimento no qual a proteína Gremlin, que inibe a expressão do gene *BMP4*, foi introduzida no pé de galinhas em desenvolvimento. Que resultado você esperaria da introdução da proteína Gremlin em outras partes do corpo de uma galinha em desenvolvimento?

Por quê? Em que outras partes do corpo seria mais informativa a introdução de Gremlin? Se você estivesse particularmente interessado em evolução fenotípica paralela, em quais outros organismos você introduziria Gremlin?