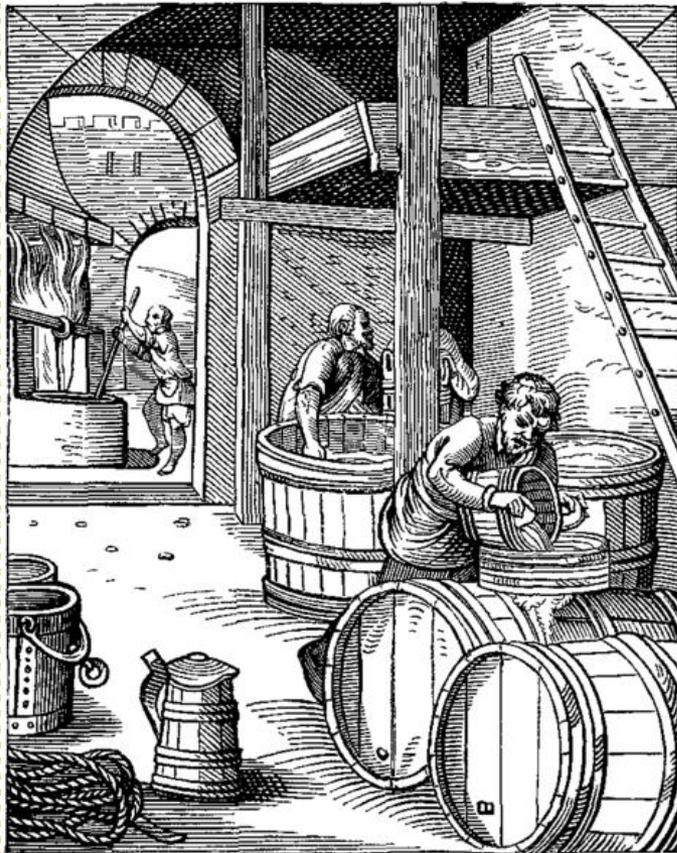


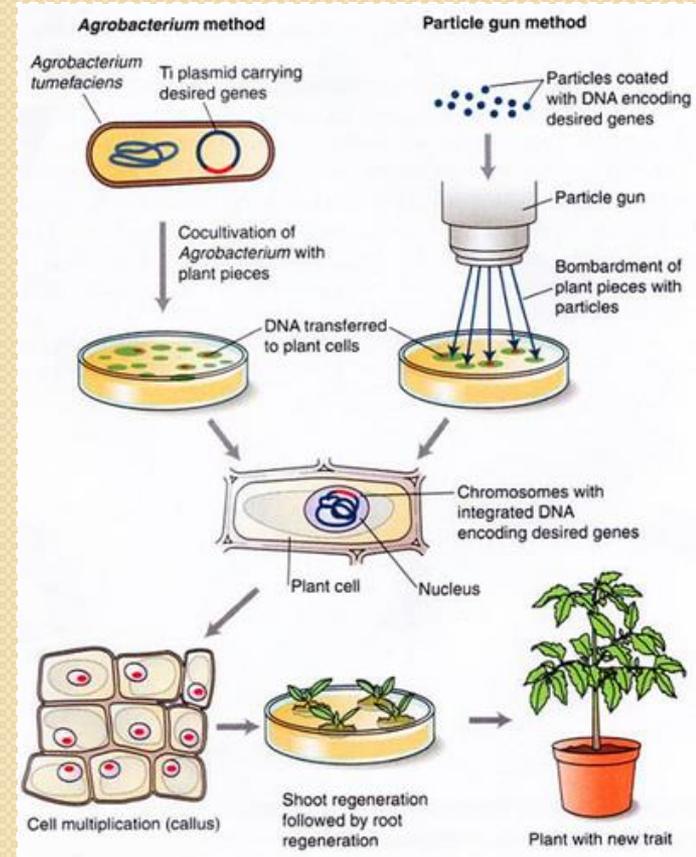


**Biotecnologia Aplicada
à
Ciência e Tecnologia
de
Alimentos**

clássica



“moderna”



Biotecnologia

Biotecnologia

Convenção sobre Diversidade Biológica da ONU

- *"Biotecnologia define-se pelo uso de conhecimentos sobre os processos biológicos e sobre as propriedades dos seres vivos, com o fim de resolver problemas e criar produtos de utilidade."*

Biotecnologia

Definição Biotecnologia Clássica

- *"Biotecnologia define-se como o uso de organismos vivos ou de partes deles (estruturas subcelulares, moléculas) para a produção de bens e serviços.*

Nesta definição se enquadram atividades que o homem vem desenvolvendo ao longo de milhares de anos, como a produção de alimentos fermentados (pão, iogurte, vinhos, cerveja, etc.). "

Biotecnologia

Definição Biotecnologia “Moderna”

- *A Biotecnologia Moderna é aquela que, contemplando a definição anterior, faz uso e domínio da informação genética.*

O nascimento da engenharia genética no princípio da década de setenta, fixou as bases desta nova atividade.

Isto permitiu transferir genes (informação genética) de uma espécie a outra (ainda, e especialmente, quando, na e em natureza, completamente incompatíveis para cruzamentos entre si) e assim, ‘programar’ organismos vivos para que realizem um sem número de tarefas específicas na produção agrícola e/ou industrial de bens e/ou de serviços.

Biotecnologia “Moderna” & Alimentos

- A Biotecnologia relacionada com o setor de alimentos é a mais tradicional.

Os mais conhecidos são os processos de fermentação em produtos panificados, bebidas alcoólicas (vinho, cerveja) e lácteos (queijos, iogurtes).

Biotecnologia “Moderna” & Alimentos

- Os cultivos microbianos associados a estes processos tem uma longa tradição de utilização e podem ser melhorados utilizando métodos de engenharia genética.
- Estas modificações podem introduzir mudanças desejadas nos produtos, melhorando, por exemplo, parâmetros de qualidade sensorial, a capacidade para produzir compostos antimicrobianos, etc.

Aplicações

Diferentes enzimas naturais e recombinantes se aplicam em processos e produtos alimentícios:

- na indústria de amido e de açúcar, na fabricação de xaropes de glucose e frutose de milho e dextrose.
- na produção de queijos, para romper a caseína do leite e permitir sua coagulação, para ressaltar o sabor e para acelerar a maturação.
- na panificação, para branquear a farinha, facilitar a ação da levedura, melhorar a estrutura das massas, etc.

- 
- para a otimização do processo de extração e refinação de azeites.
 - em enologia, para acelerar o tempo de prensagem, acelerar o processo de maturação, a liberação de aromas e melhorar a cor e o sabor. Também para remover a uréia, produto da fermentação.
 - na indústria da carne, para favorecer seu amaciamento, facilitar a remoção da carne dos ossos e na produção de hidrolizados de proteínas.
 - na elaboração de cerveja, para evitar o desenvolvimento de turbidez durante o armazenamento.



Os aportes que a Biotecnologia tem realizado nos últimos anos a processos e produtos da indústria de alimentos incluem:

- produtos com maior valor nutricional e sensorial (nutrientes, poder antioxidante, aromas, etc.).
- Novos alimentos funcionais para a prevenção de enfermidades segundo diferentes grupos de consumidores (alimentos hipoalergênicos, produtos para diabéticos, etc.).



- Novas fontes de matérias-primas (algas, invertebrados, etc.) por meio da introdução e expressão de genes específicos, que incrementam o conteúdo de substâncias de interesse para a indústria alimentícia (pigmentos, proteínas, etc.).

- 
- Uso de biossensores para o controle de processos (pH, detecção de contaminantes, etc.).
 - Enzimas com características específicas (termorresistentes, com maior velocidade de reação) para sua utilização em processos de fermentação em diversos setores.

Nutrição e Saúde

- A Biotecnologia moderna contribui para amenizar os problemas de desnutrição, atenuando, pelo menos, as carências nutricionais e melhorando a saúde das pessoas afetadas.
- Também aporta soluções para problemas específicos, como alergias e diabetes e para a redução do conteúdo de compostos tóxicos em produtos de consumo habitual.

Organismos & Células

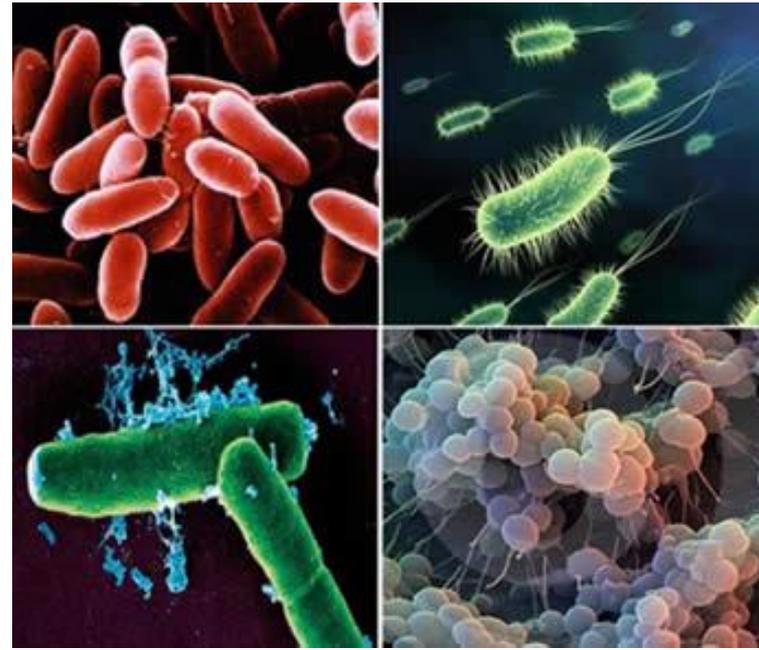
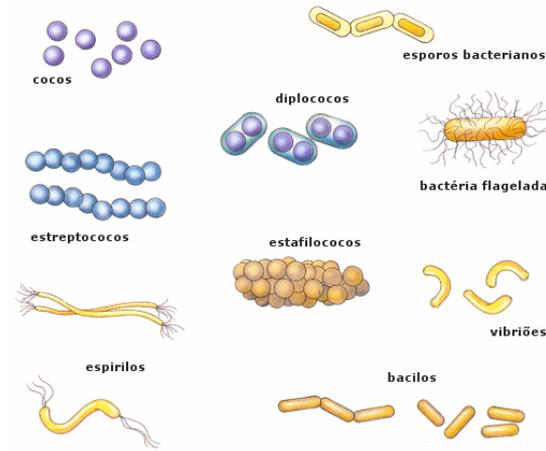
- Seres vivos:
 - Célula(s)
 - Energia
 - Crescimento
 - Desenvolvimento
 - Reprodução
 - Possuem e mantêm características próprias
 - Respondem ao meio
 - (co)evoluem

Organismos & Células

- Organismos: * Unicelulares
* Pluricelulares
 - Células: * Procariotos
* Eucariotos
- diferentes, mas, com algo em comum:
- tamanho – metabolismo – arquitetura

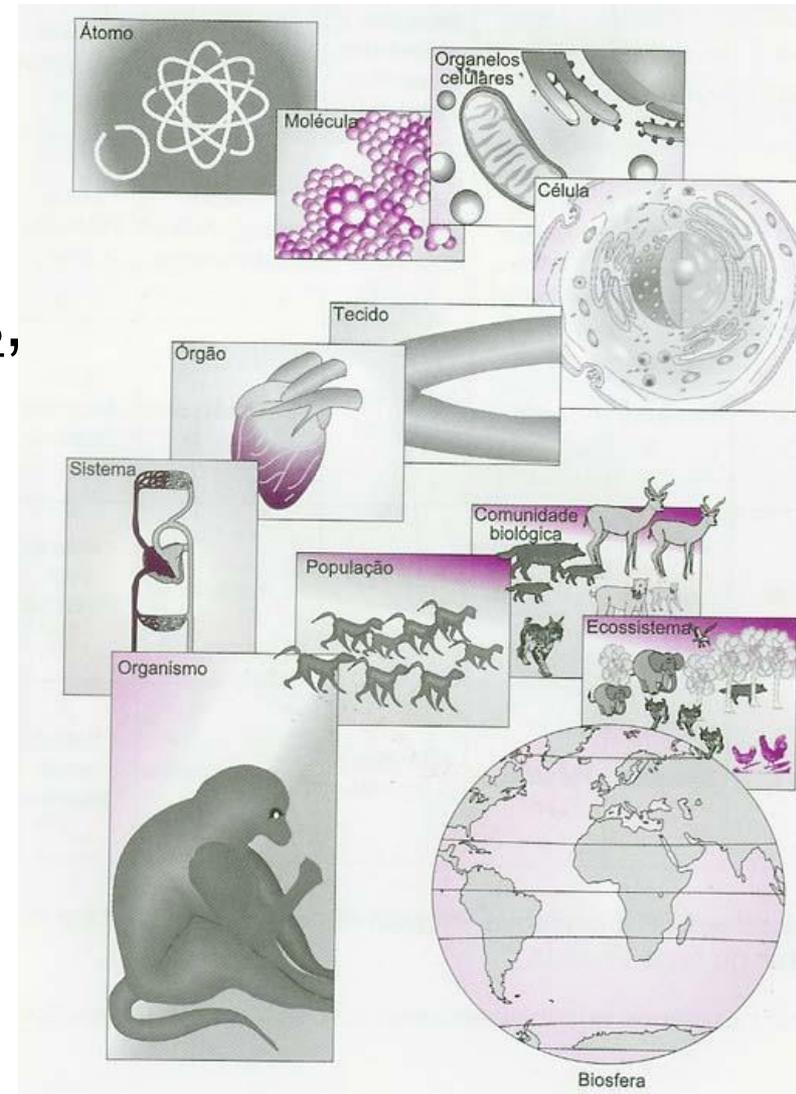
Organismos & Células

- O organismo unicelular tem a célula como sendo o próprio organismo, isto é, a única célula é responsável por todas as atividades vitais, como alimentação, trocas gasosas, reprodução, etc.



Organismos & Células

- O organismo pluricelular, que é formado por muitas células (milhares, milhões, até trilhões de células), apresenta o corpo com tecidos, órgãos e sistemas, especializados em diferentes funções vitais.
- As células dos pluricelulares diferem quanto às especializações e de acordo com os tecidos a que elas pertencem.

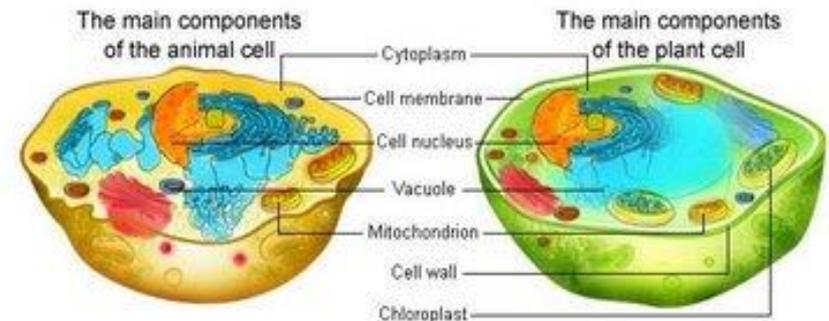


Semelhanças/Diferenças

Característica	Procarioto	Eucarioto	
		Animal	Vegetal
Organização Celular	unicelular	pluricelular	
Divisão	fusão binária	mitose e meiose	
Parede Celular	não celulósica	ausente	celulósica
Citoesqueleto	ausente	presente	
Endomembranas	ausentes	presentes	
Citoplasma	sem citoesqueleto	citoesqueleto constituído de filamentos	

Organelas

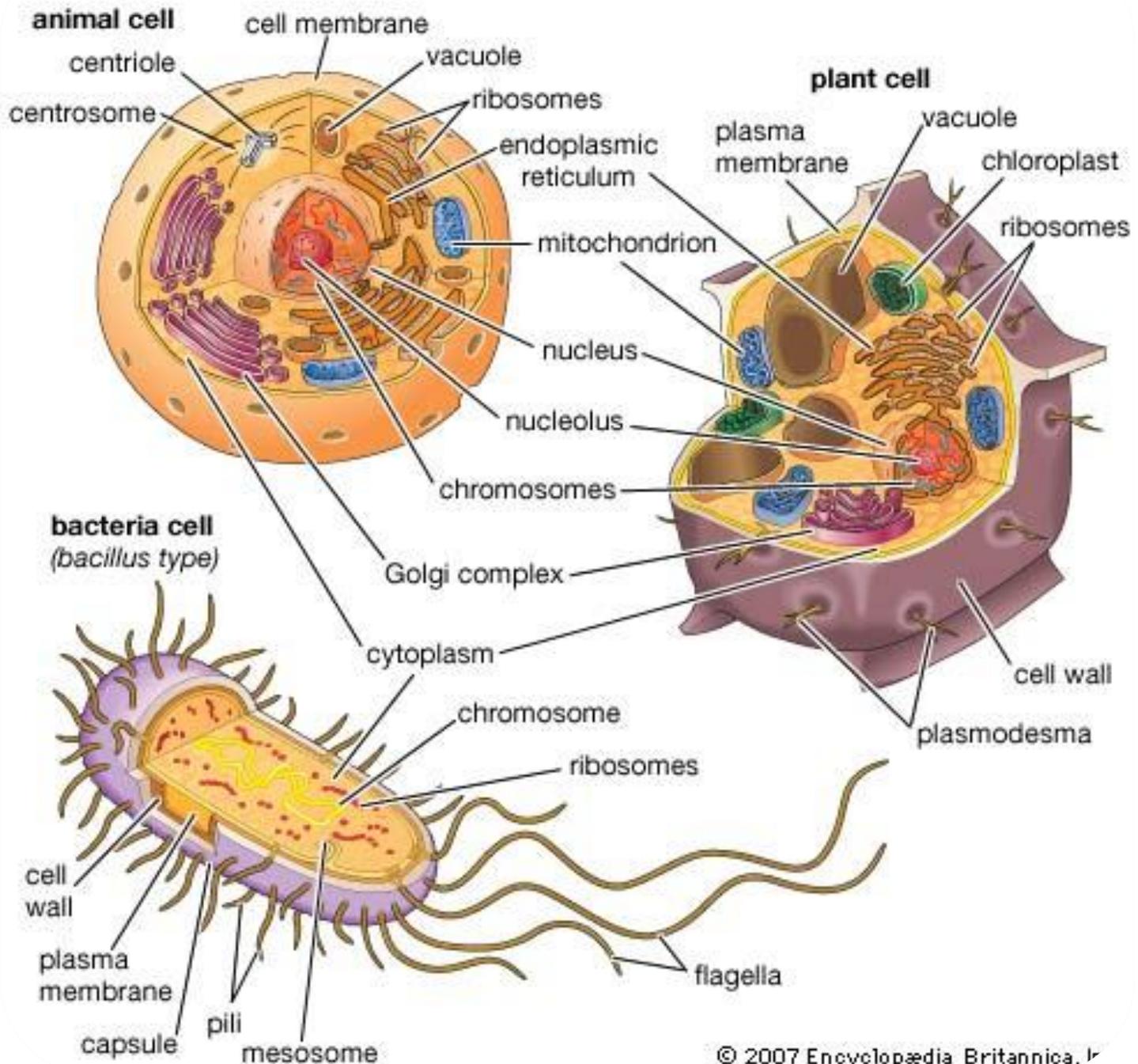
poucas ou nenhuma



Semelhanças/Diferenças

Característica	Procarioto	Eucarioto	
		Animal	Vegetal
Envoltório nuclear	ausente	presente	
Nucléolos	ausentes	presentes	
Cromossomas	únicos	múltiplos	
DNA	desnudo	combinado com proteínas	
Ribossomas	70S* (50S + 30S)	80S (60S + 40S)	
Mitocôndrias	ausentes	presentes	
Cloroplastos	ausentes	ausentes	presentes
Moléculas de DNA	genômico (dc, circ.) plasmidial (dc, circ.)	genômico (dc, linear) mitocondrial (dc, circ.)	genômico (dc, linear) mitocondrial (dc, circ.) cloroplástico (dc, circ.)
Exons & Introns	ausência de introns	presentes	
Exocitose e endocitose	ausentes	presentes	

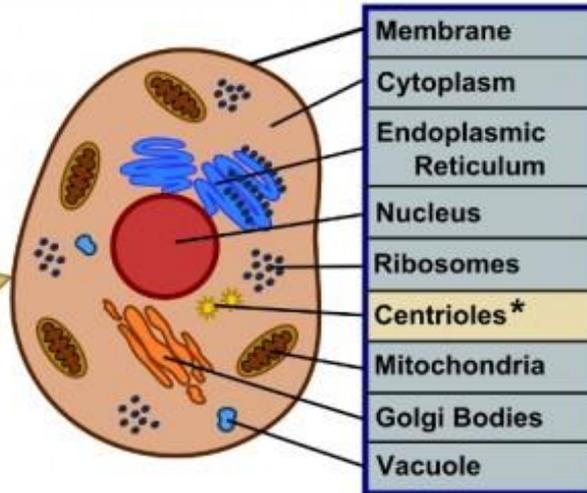
Some typical cells



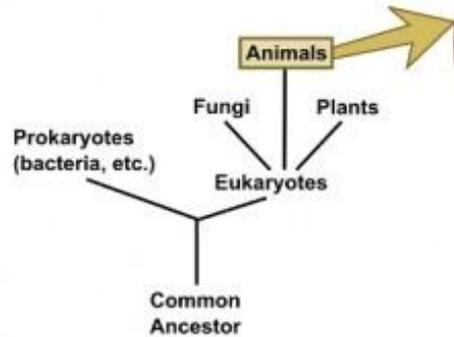
Eukaryotes

Plant and animal cells are both Eukaryotic (which means that the cells contain a nucleus), and have many structures and functions in common. Compare this animal cell to the plant cell in the diagram below.

Animal Cell



* Centrioles are unique to animal cells



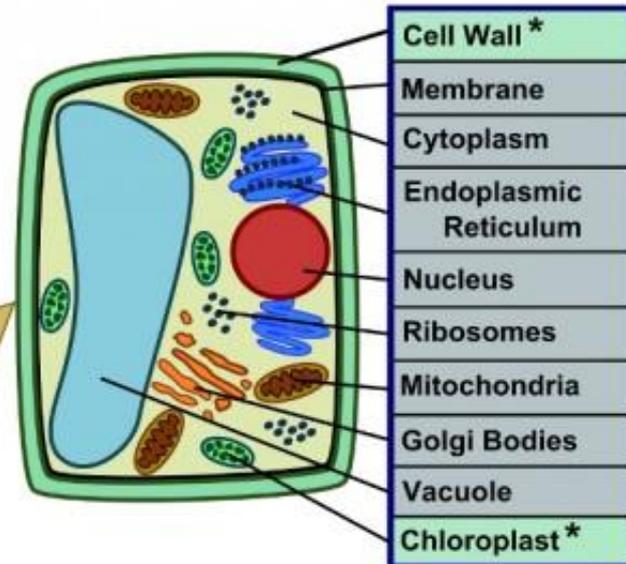
Primary Differences

Plant cells need to perform two functions not performed by animal cells:

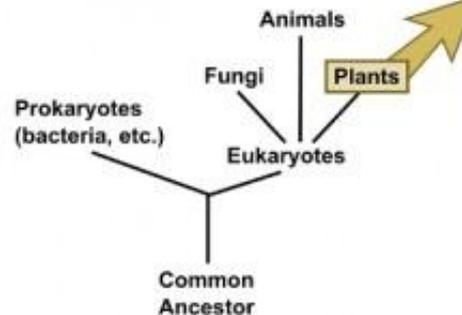
1. produce their own food
2. support their own weight

These account for the primary differences between plant and animal cells.

Plant Cell



* unique to plant cells



4 CYTOSKELETON: supports organelles and cell shape and plays a role in cell motion:

Microtubule: tube of protein molecules present in cytoplasm, centrioles, cilia, and flagella

Intermediate filament: intertwined protein fibers that provide support and strength

Actin filament: twisted protein fibers that are responsible for cell movement

12 Centriole: complex assembly of microtubules that occurs in pairs

2 Cytoplasm: semifluid matrix that contains the nucleus and other organelles

2 Mitochondrion: organelle in which energy is extracted from food during oxidative metabolism

Secretory vesicle: vesicle fusing with the plasma membrane, releasing materials to be secreted from the cell

7 Lysosome: vesicle that breaks down macromolecules and digests worn out cell components

6 Golgi complex: collects, packages, and distributes molecules manufactured in the cell

6 Smooth endoplasmic reticulum: system of internal membranes that aids in the manufacture of carbohydrates and lipids

6 Rough endoplasmic reticulum: internal membranes studded with ribosomes that carry out protein synthesis

5 NUCLEUS: command center of cell

Nucleolus: site where ribosomes are produced

Nuclear envelope: double membrane between the nucleus and the cytoplasm

Nuclear pore: opening embedded with proteins that regulates passage into and out of the nucleus

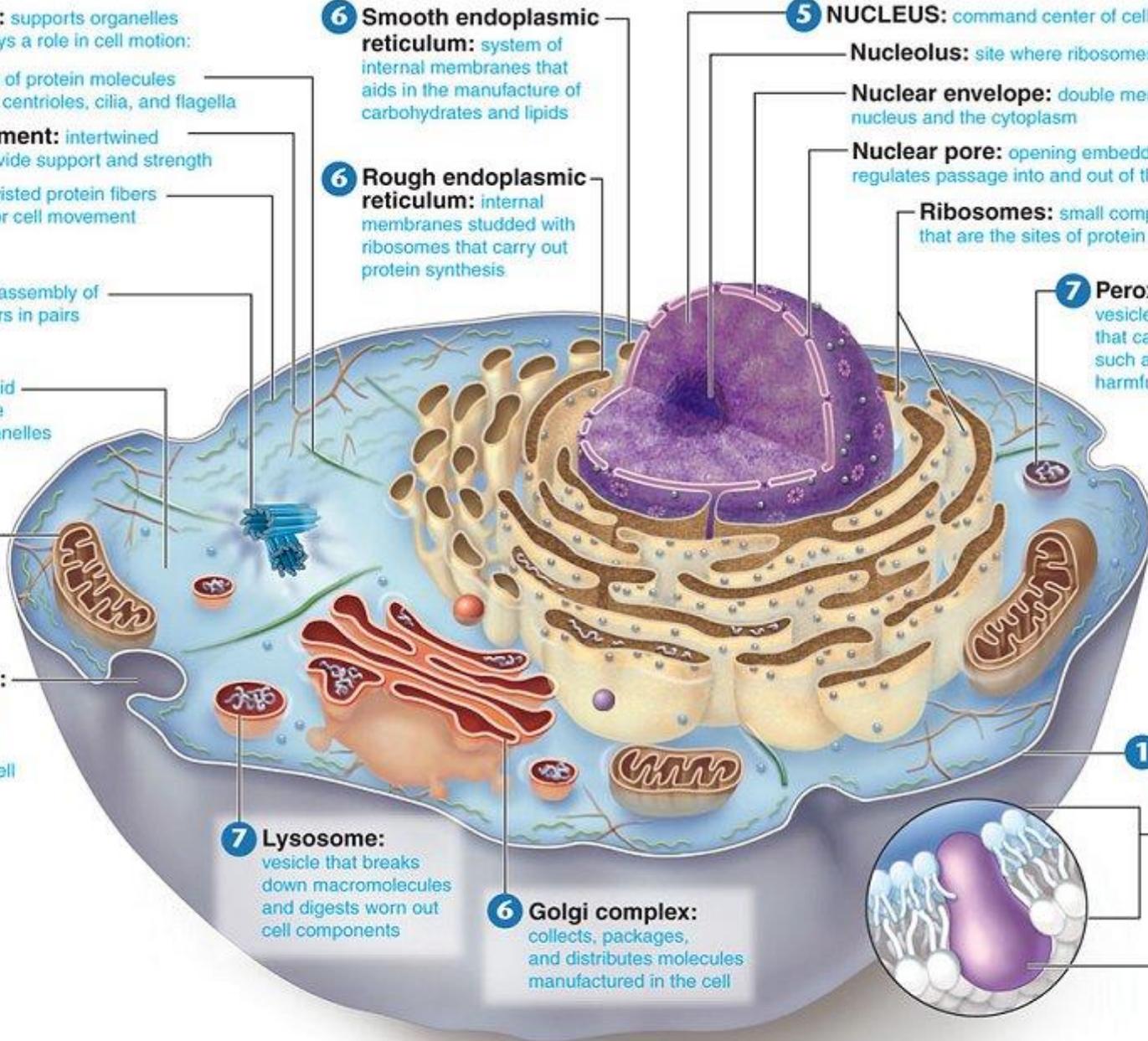
Ribosomes: small complexes of RNA and protein that are the sites of protein synthesis

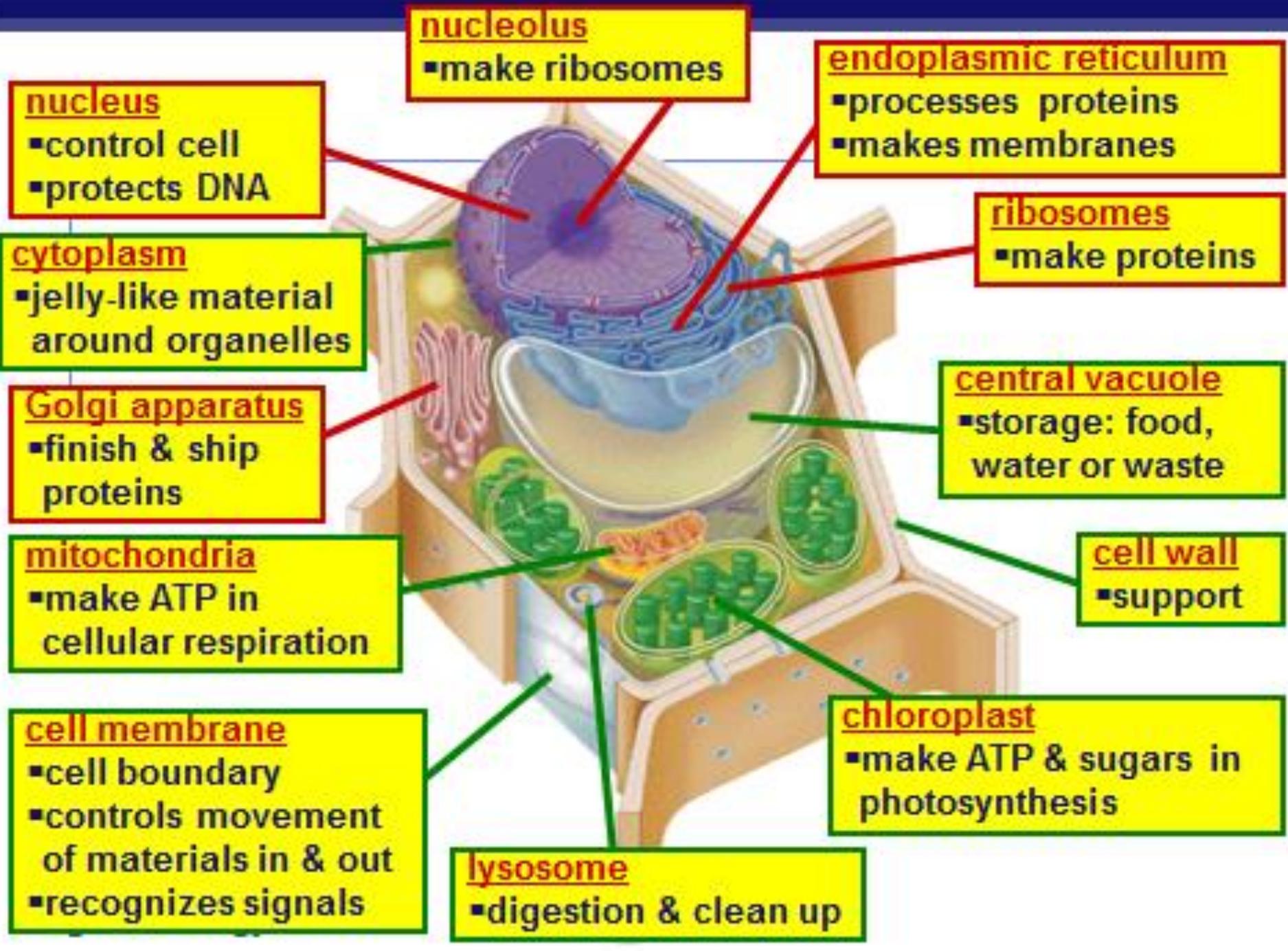
7 Peroxisome: vesicle that contains enzymes that carry out particular reactions, such as detoxifying potentially harmful molecules

1 Plasma membrane: lipid bilayer in which proteins are embedded

Lipid bilayer

Membrane protein





nucleus
▪control cell
▪protects DNA

nucleolus
▪make ribosomes

endoplasmic reticulum
▪processes proteins
▪makes membranes

cytoplasm
▪jelly-like material around organelles

ribosomes
▪make proteins

Golgi apparatus
▪finish & ship proteins

central vacuole
▪storage: food, water or waste

mitochondria
▪make ATP in cellular respiration

cell wall
▪support

cell membrane
▪cell boundary
▪controls movement of materials in & out
▪recognizes signals

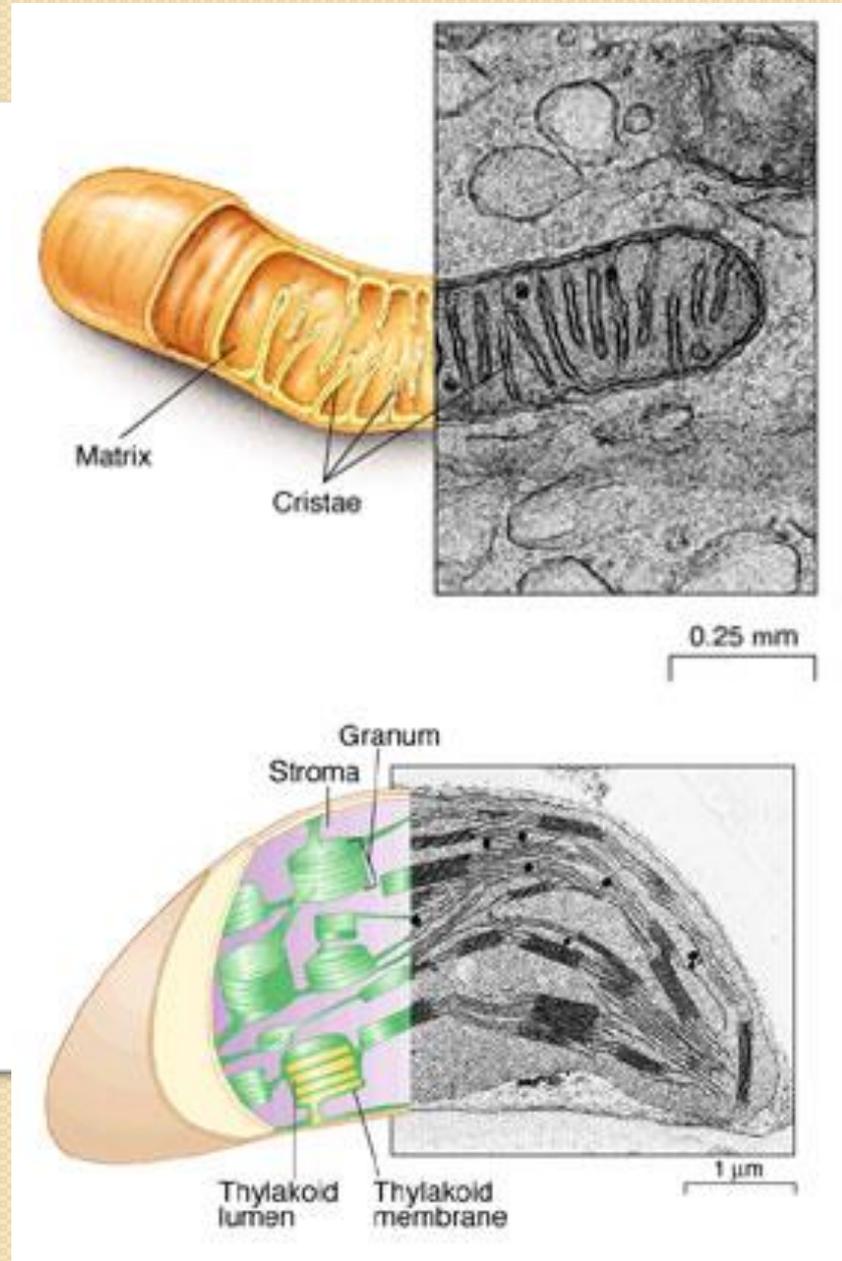
chloroplast
▪make ATP & sugars in photosynthesis

lysosome
▪digestion & clean up

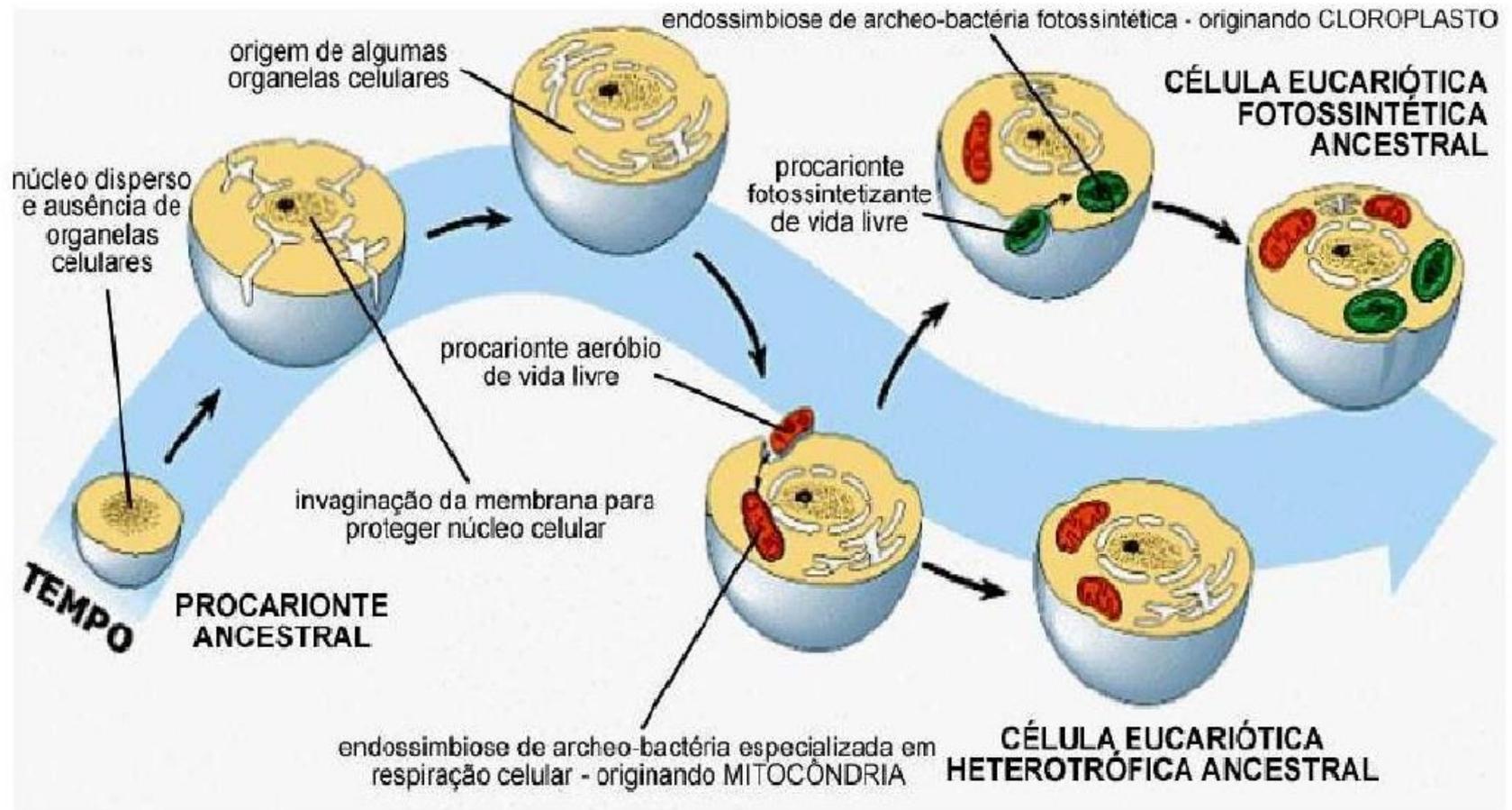
Destaques

Se as mitocôndrias são as centrais energéticas das células, os cloroplastos são as centrais energéticas da própria vida.

Eles produzem moléculas orgânicas, principalmente glicose, que servem de combustível para as mitocôndrias de todos os organismos que se alimentam, direta ou indiretamente, das plantas.



Teoria da Endossimbiose



E os vírus???

- São constituídos apenas por duas classes de substâncias químicas:
 - ácido nucléico (DNA ou RNA) e
 - proteína.
- São “partículas”, seres acelulares (que não possuem estrutura celular) e precisam de células que os “hospedem”.
- Não são, não possuem uma *machina*, por isso, todos os vírus são parasitas intracelulares obrigatórios.

Conceitos Básicos

- Seres vivos são constituídos de moléculas.
- Todos são constituídos pelos mesmos tipos de moléculas.
- No nível molecular todos os organismos “funcionam” de forma semelhante.

Constituição Molecular de uma Célula

➤ Pequenas Moléculas

➤ Polímeros

Moléculas grandes compostas de muitas cópias de uma pequena molécula, unidas por ligações covalentes.

Pequenas Moléculas

- Água
- Ions
 - Cl, Na, K, Fe, Ca, Mg, ...
- Lipídeos
 - Ácidos graxos, Fosfolipídeos, Colesterol

Polímeros Biológicos

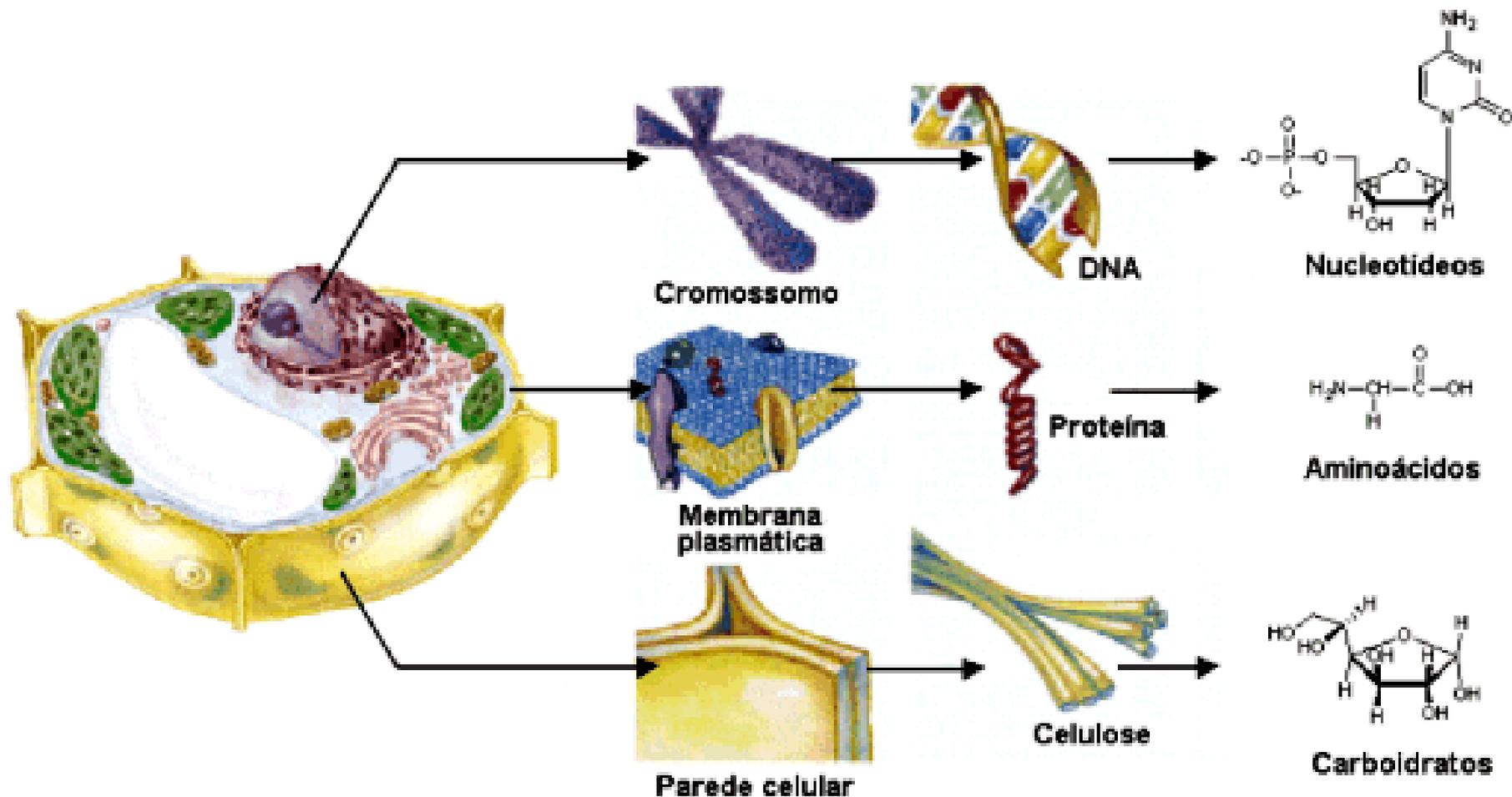
- Sacarídeos
 - Fonte de energia; função estrutural
- Proteínas
 - Inúmeras funções biológicas
(*machina* - todo o trabalho celular)
- Ácidos Nucléicos
 - Responsáveis pelas informações genéticas

Nível 4:
Célula e suas organelas

Nível 3:
Complexos
supramoleculares

Nível 2:
Macromoléculas

Nível 1:
Unidades
monoméricas



ÁCIDOS NUCLÉICOS

DNAs

&

RNAs

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

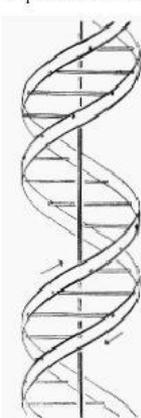
WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons:

(1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical assumptions, namely, that each chain consists of phosphate diester groups joining β -D-deoxy-ribofuranose residues with 3',5' linkages. The two chains (but not their bases) are related by a dyad perpendicular to the fibre axis. Both chains follow righthanded helices, but owing to the dyad the sequences of the atoms in the two chains run in opposite directions.



Each chain loosely resembles Furberg's² model No. 1; that is, the bases are on the inside of the helix and the phosphates on the outside. The configuration of the sugar and the atoms near it is close to Furberg's standard configuration², the sugar being roughly perpendicular to the attached base. There is a residue on each chain every 3.4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so

that the two lie side by side with identical z-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain, does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain, is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

It has been found experimentally^{3,4} that the ratio of the amounts of adenine to thymine, and the ratio of guanine to cytosine, are always very close to unity for deoxyribose nucleic acid.

It is probably impossible to build this structure with a ribose sugar in place of the deoxyribose, as the extra oxygen atom would make too close a van der Waals contact.

The previously published X-ray data^{5,6} on deoxyribose nucleic acid are insufficient for a rigorous test of our structure. So far as we can tell, it is roughly compatible with the experimental data, but it must be regarded as unproved until it has been checked against more exact results. Some of these are given in time following, communications. We were not aware of the details of the results presented there when we devised our structure, which rests mainly though not entirely on published experimental data and stereo-chemical arguments.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.

We are much indebted to Dr. Jerry Donohue for constant advice and criticism, especially on interatomic distances. We have also been stimulated by a knowledge of the general nature of the unpublished experimental results and ideas of Dr. M. H. F. Wilkins, Dr. R. E. Franklin and their co-workers at King's College, London. One of us (J.D.W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the Study of the Molecular Structure of Biological Systems, Cavendish Laboratory, Cambridge. April 2.

¹Pauling, L., and Corey, R. B. *Nature*, 171, 346 (1953); *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, 39, 84 (1953).

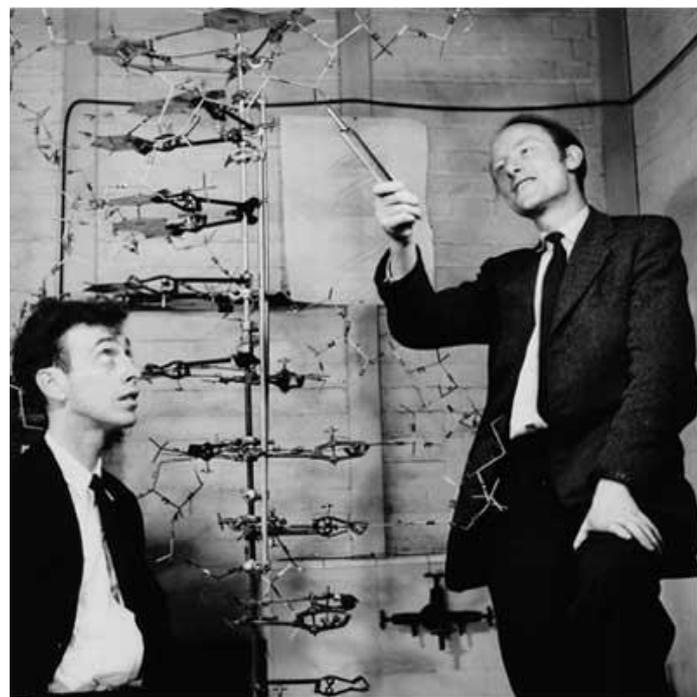
²Furberg, S., *Acta Chem. Scand.*, 6, 634 (1952).

³Chargaff, E., for references see Zamenhof, S., Braverman, G., and Chargaff, E., *Biochim. et Biophys. Acta*, 9, 402 (1952).

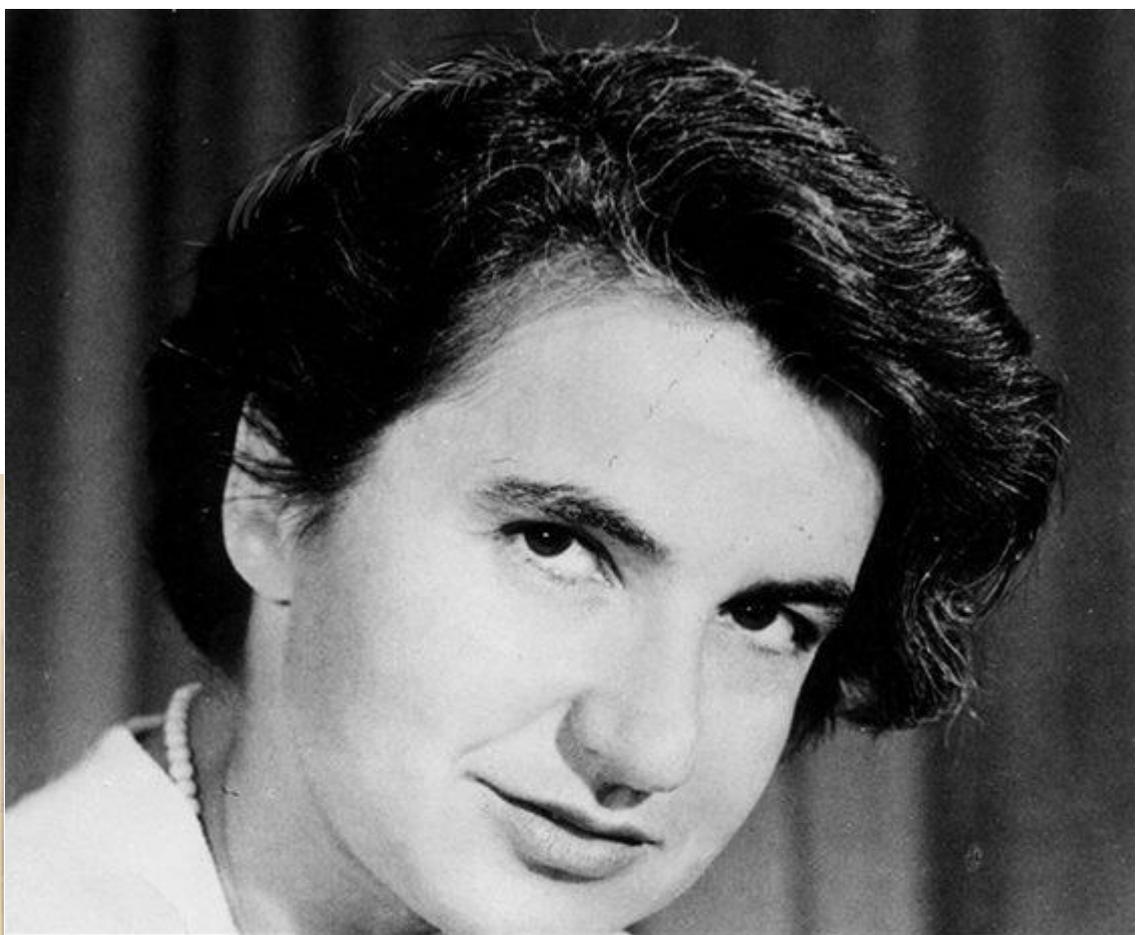
⁴Wynter, G.R., *J. Gen. Physiol.*, 36, 201 (1952).

⁵Asbury, W.T., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 1, *Nucleic Acid*, 66 (Camb. Univ. Press, 1947)

⁶Wilkins, M. H. F. and Randall, J. T. *Biochim. et Biophys. Acta*, 10, 102 (1953).



This figure is purely diagrammatic. The two ribbons symbolize the two phosphates-sugar chains, and the horizontal rods the pairs of bases holding the chains together. The vertical line marks the fibre axis.



Rosalind Franklin was an X-ray crystallographer who made significant contributions to the discovery of the structure of DNA. Her work was used without her permission, and she received little credit before she died. She passed away before her colleagues were awarded the Nobel Prize for the discovery.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962

"for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material"



Francis Harry Compton Crick

1/3 of the prize

United Kingdom

MRC Laboratory of Molecular
Biology
Cambridge, United Kingdom

b. 1916
d. 2004



James Dewey Watson

1/3 of the prize

USA

Harvard University
Cambridge, MA, USA

b. 1928



**Maurice Hugh Frederick
Wilkins**

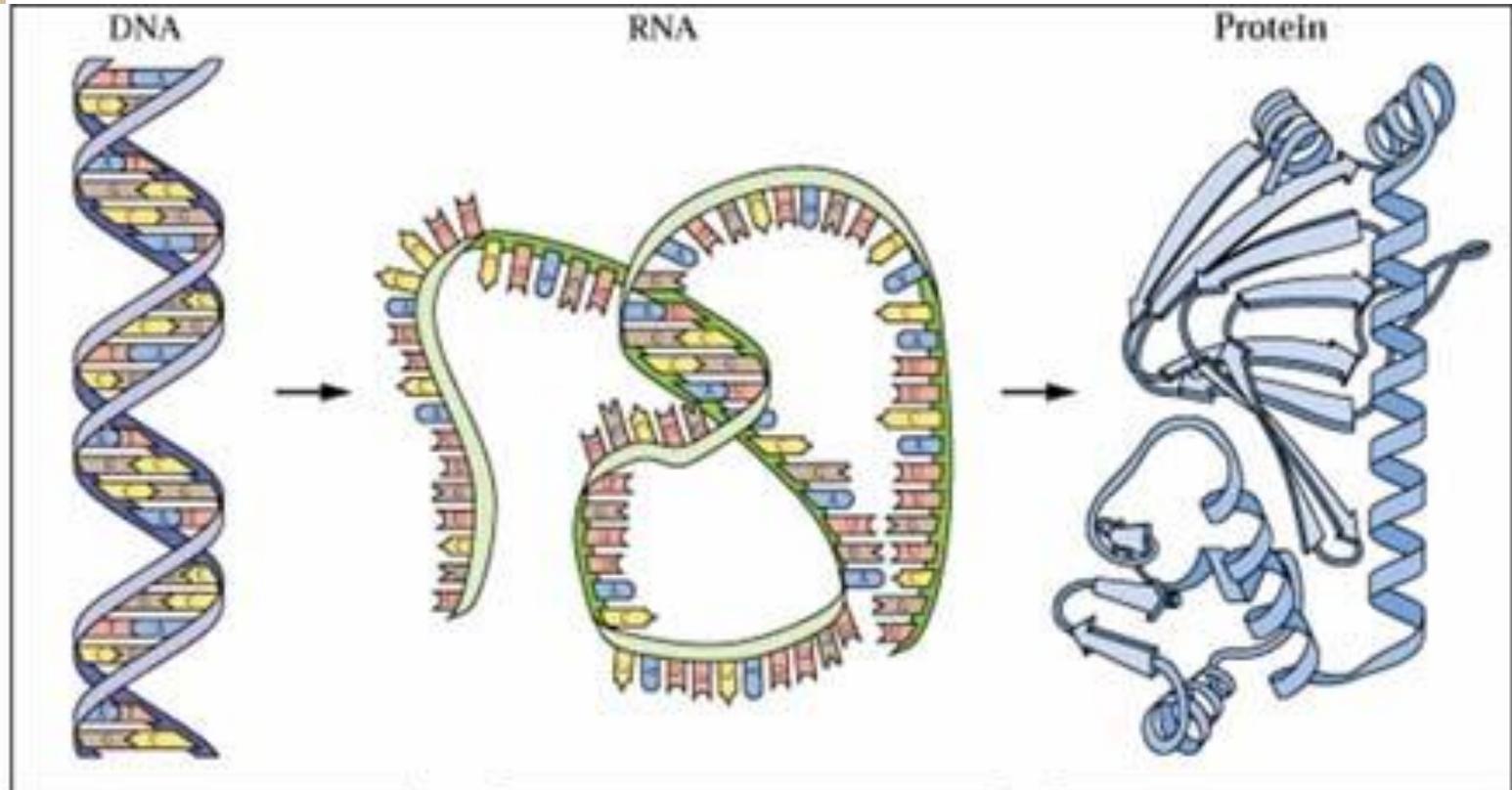
1/3 of the prize

United Kingdom and New Zealand

London University
London, United Kingdom

b. 1916
(in Pongaroa, New Zealand)
d. 2004

Dogma Central da Biologia Molecular

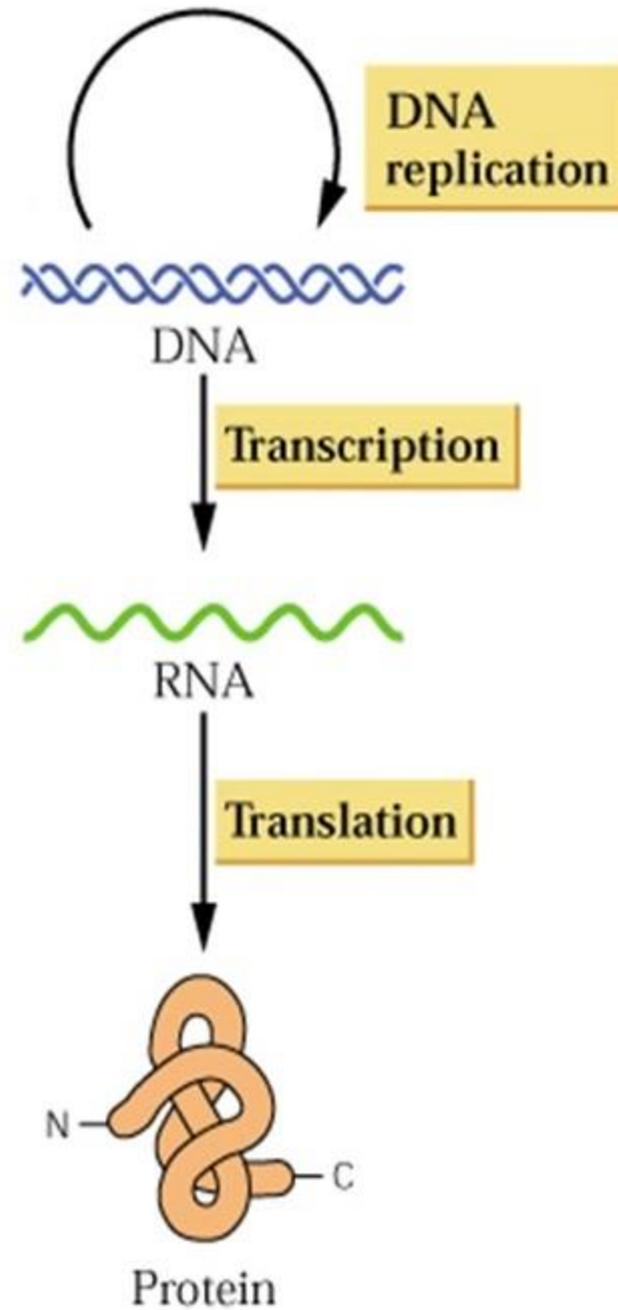


DNA armazena a informação.

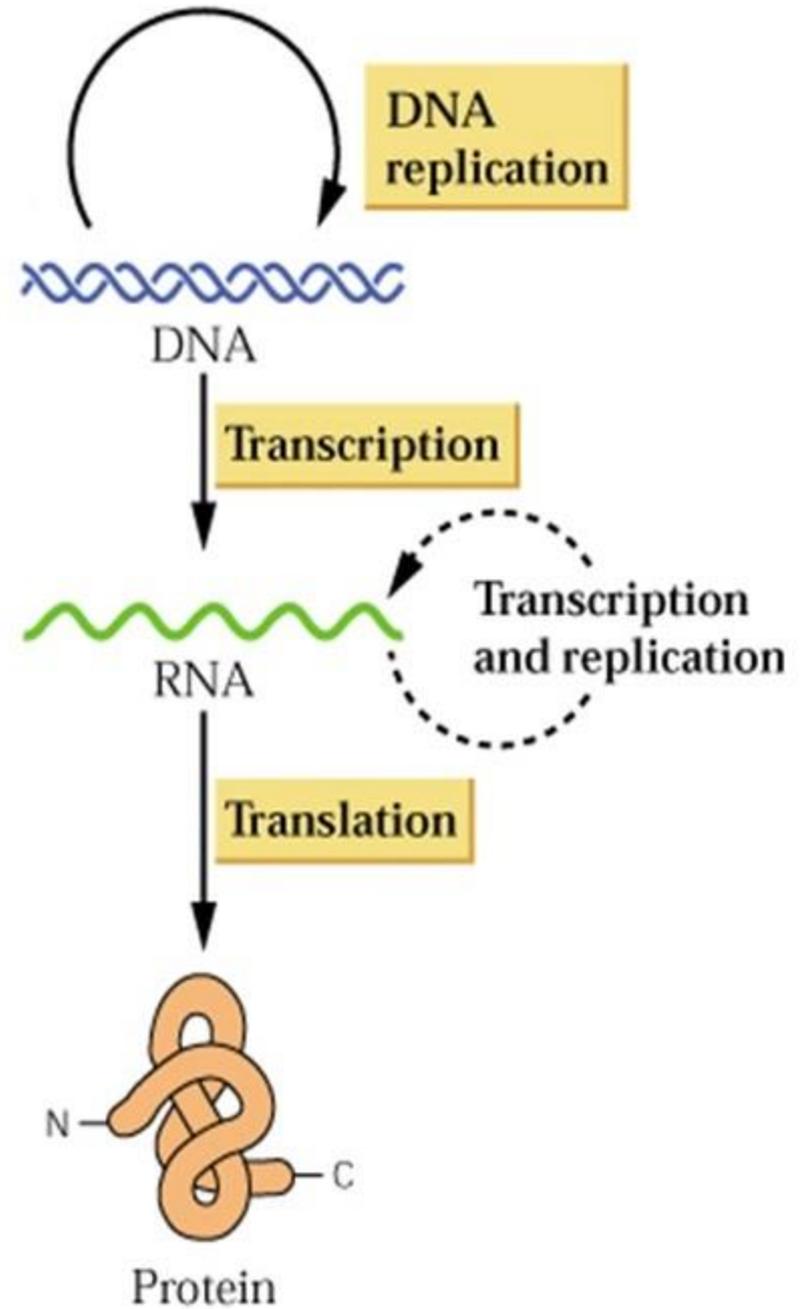
RNA transfere a informação.

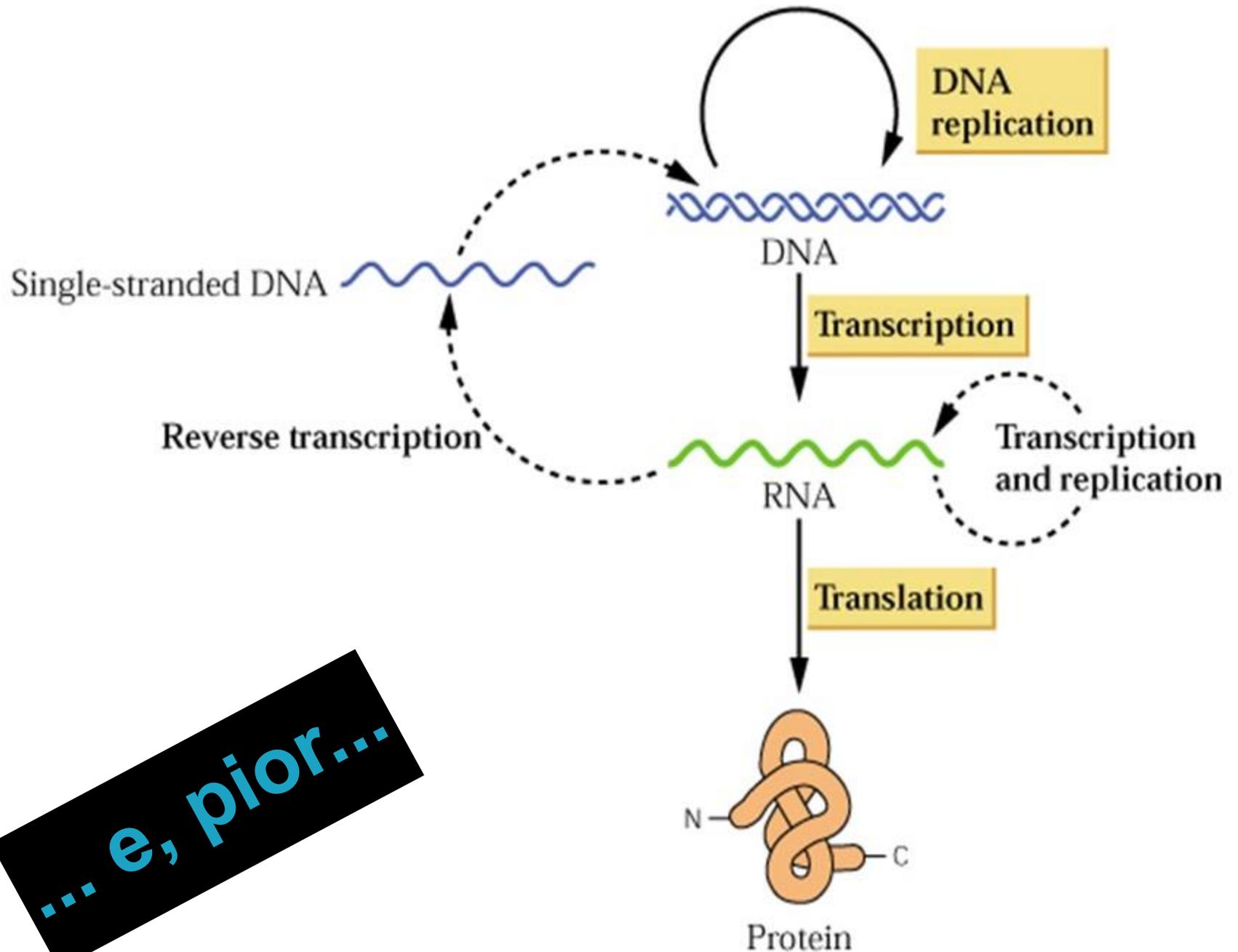
Proteína executa a função.

Dogma Central da Biologia Molecular



**mas... revelou-se que...
alguns vírus transgrediam!!**

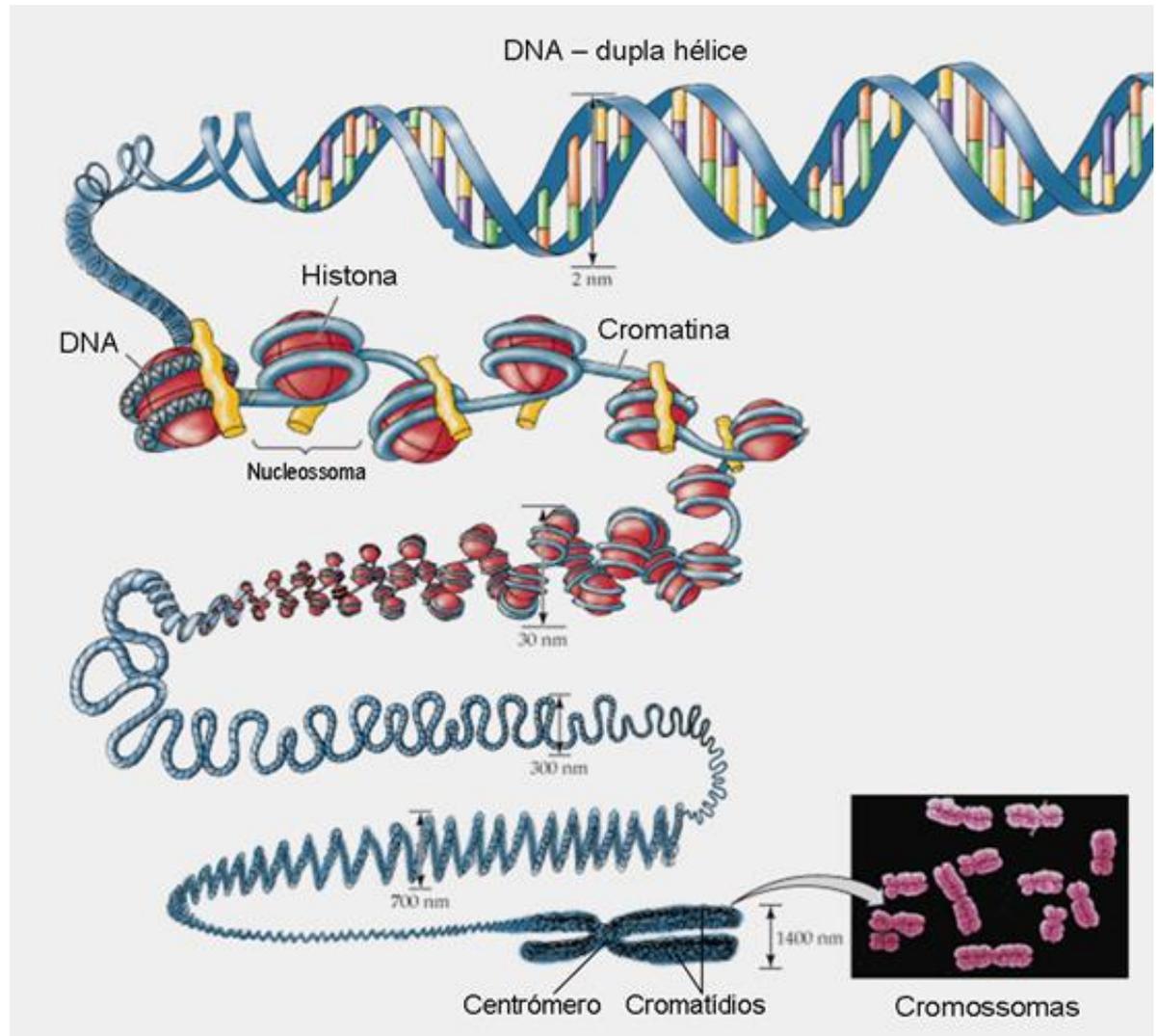




... e, pior...

Forma e Estrutura dos Ácidos Nucléicos

DNA



Doble hélice
de DNA



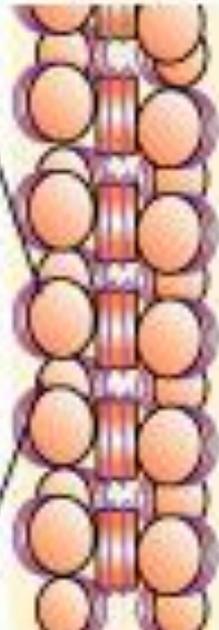
2 nm

Forma de cuentas
de collar de la
cromatina



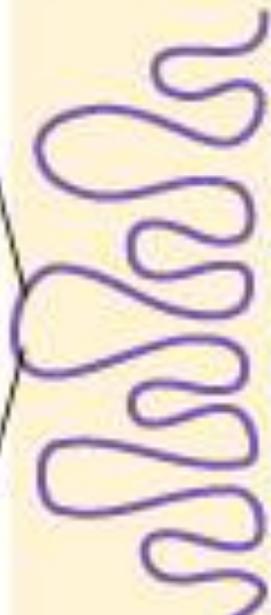
11 nm

Fibra de
nucleosomas
empaquetados



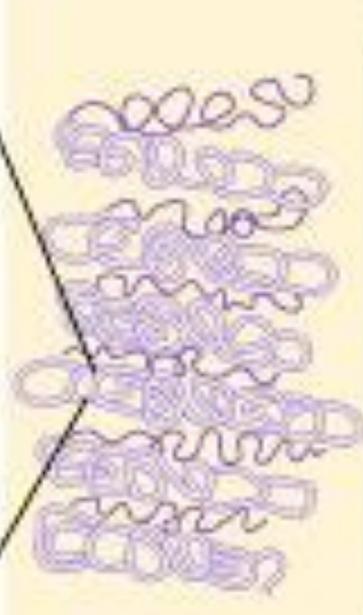
30 nm

Dominios
de bucles



300 nm

Espirales
condensadas



700 nm

Cromosoma
en metafase

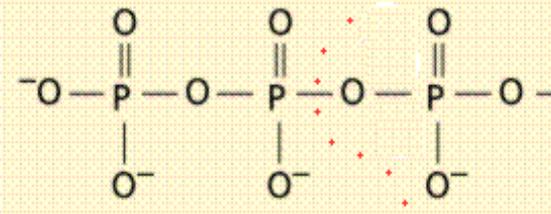


1.400 nm

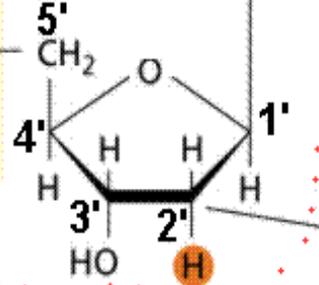
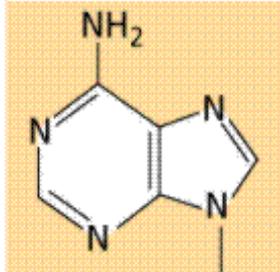
Desoxi ATP (desoxiadenosina trifosfato)

Nucleótido

Fosfatos



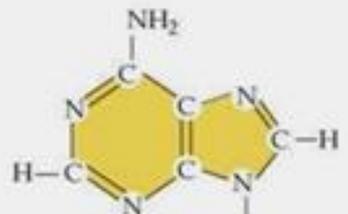
Adenina



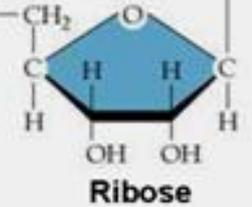
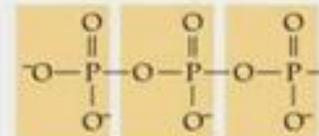
Desoxi-ribose



Adenina



Grupos fosfato



Ribose

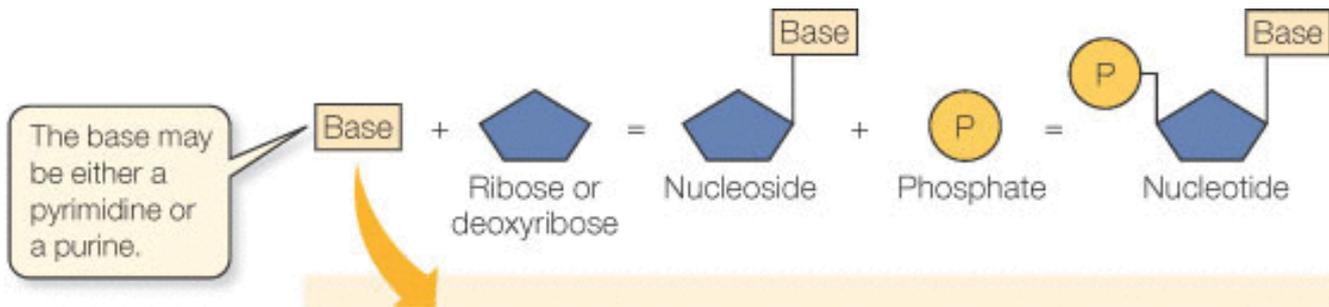
Adenosina

AMP (Adenosina monofosfato)

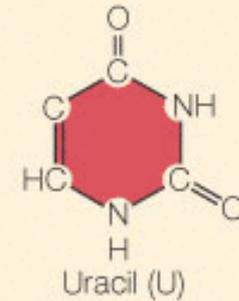
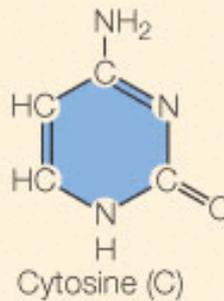
ADP (Adenosina difosfato)

ATP (Adenosina trifosfato)

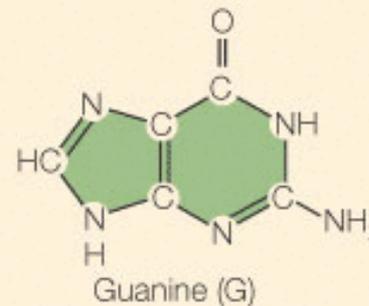
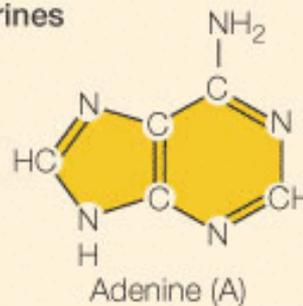
Composição DNA & RNA

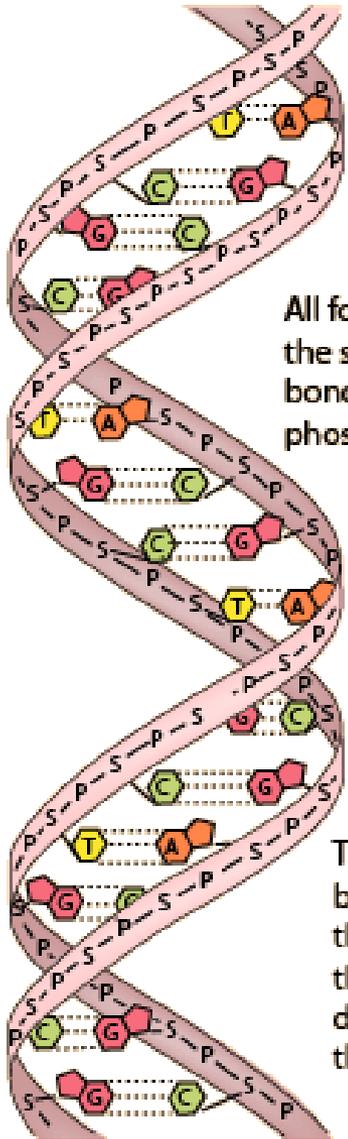


Pyrimidines



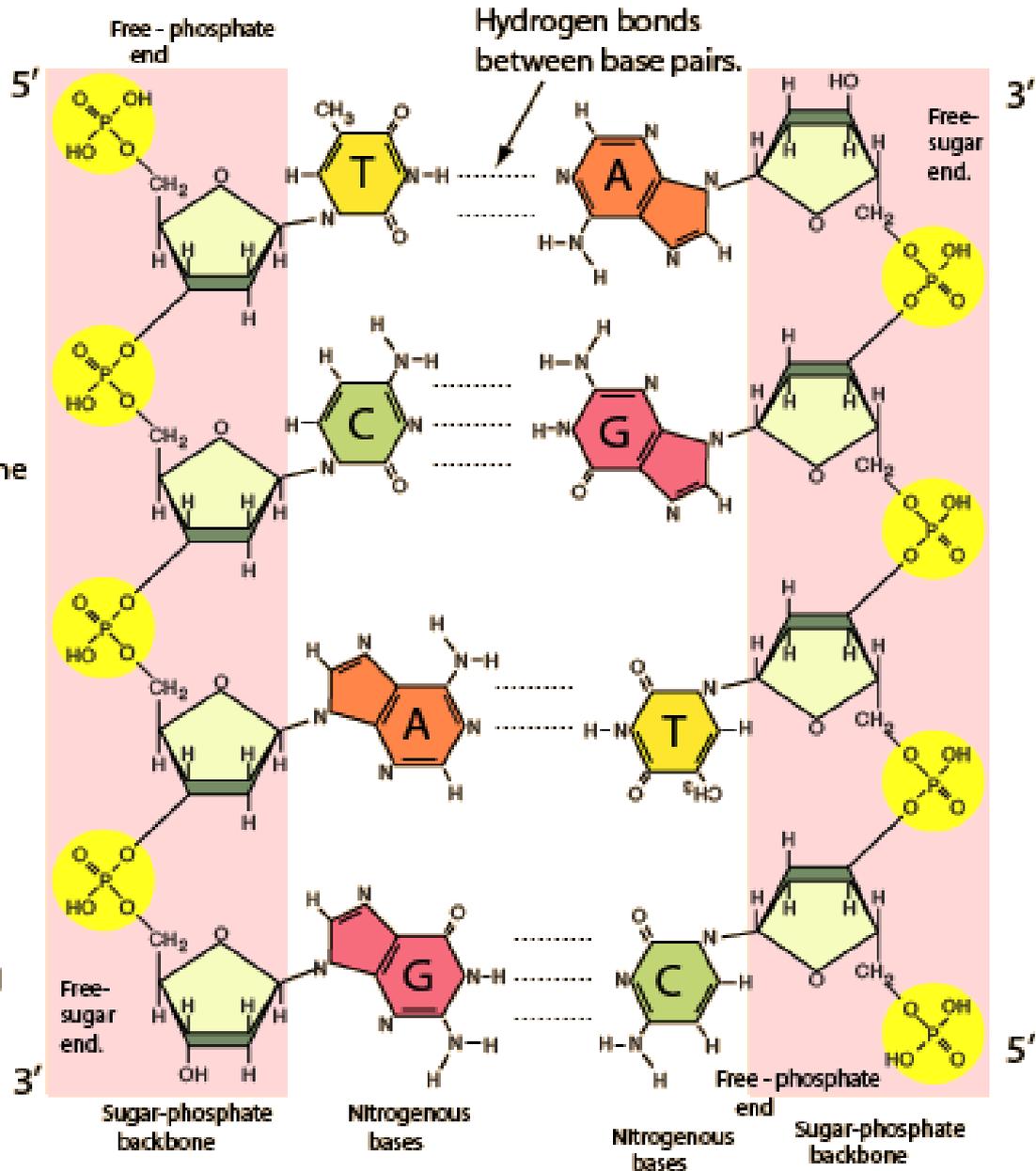
Purines





All four bases have the same kind of bond to the sugar-phosphate backbone

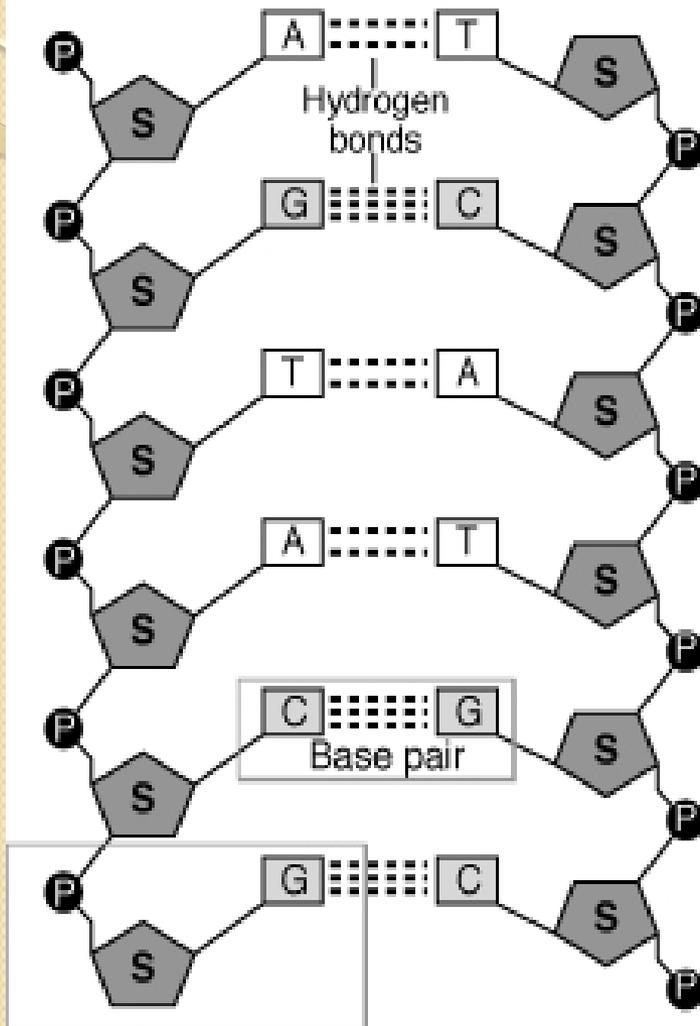
There are no bonds between the bases in the longitudinal direction along the helix.



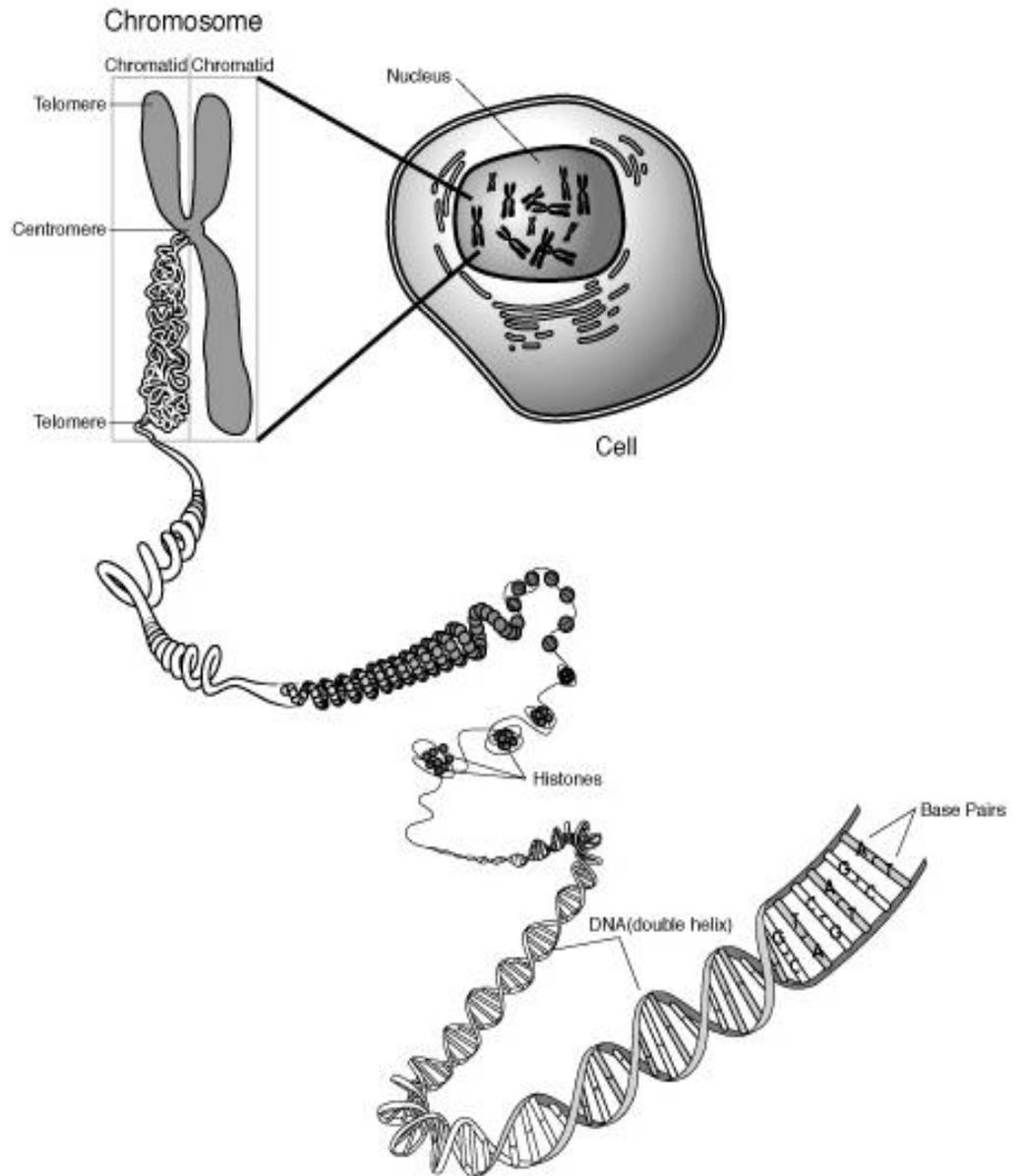
Flattened segment of the double helix

Deoxyribonucleic Acid (DNA)

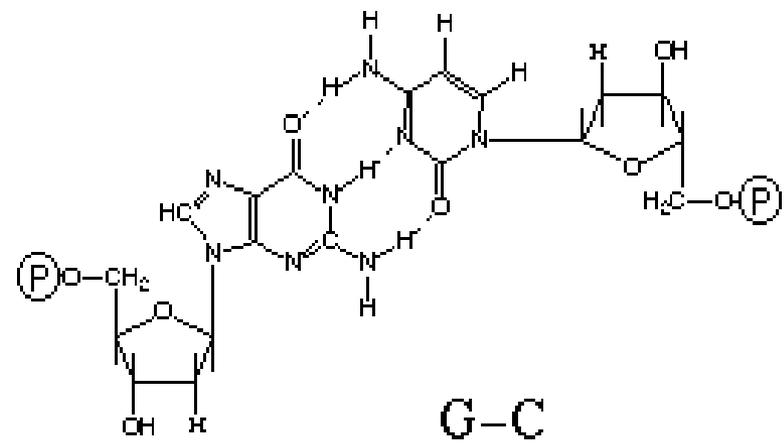
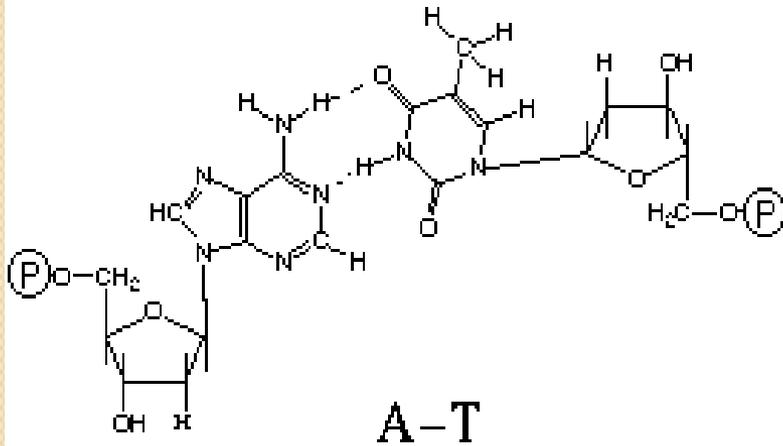
Sugar-phosphate backbone	Base pairs	Sugar-phosphate backbone
--------------------------	------------	--------------------------



Nucleotide

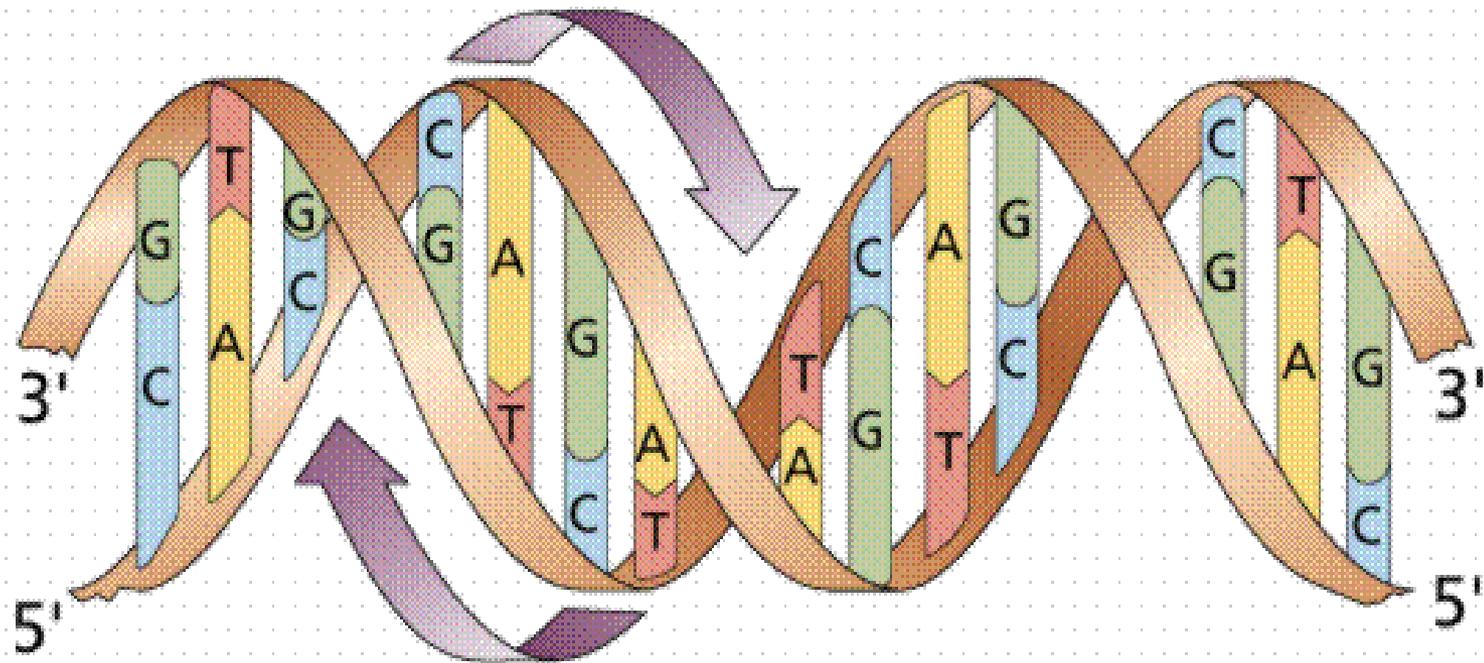


Apareamiento de bases



Regra de Chargaff:

$$q\mathbf{A} = q\mathbf{T} \quad \text{e} \quad q\mathbf{G} = q\mathbf{C}$$



Em cada extremidade de uma dupla hélice linear de DNA, o extremo 3'-OH de uma das cadeias é adjacente ao extremo 5'-P (fosfato) da outra. Em outras palavras, **as duas cadeias são antiparalelas**, têm uma orientação diferente.

Por convenção, a sequência de bases de uma cadeia simples se escreve com o extremo 5'-P à esquerda.

DNA X RNA

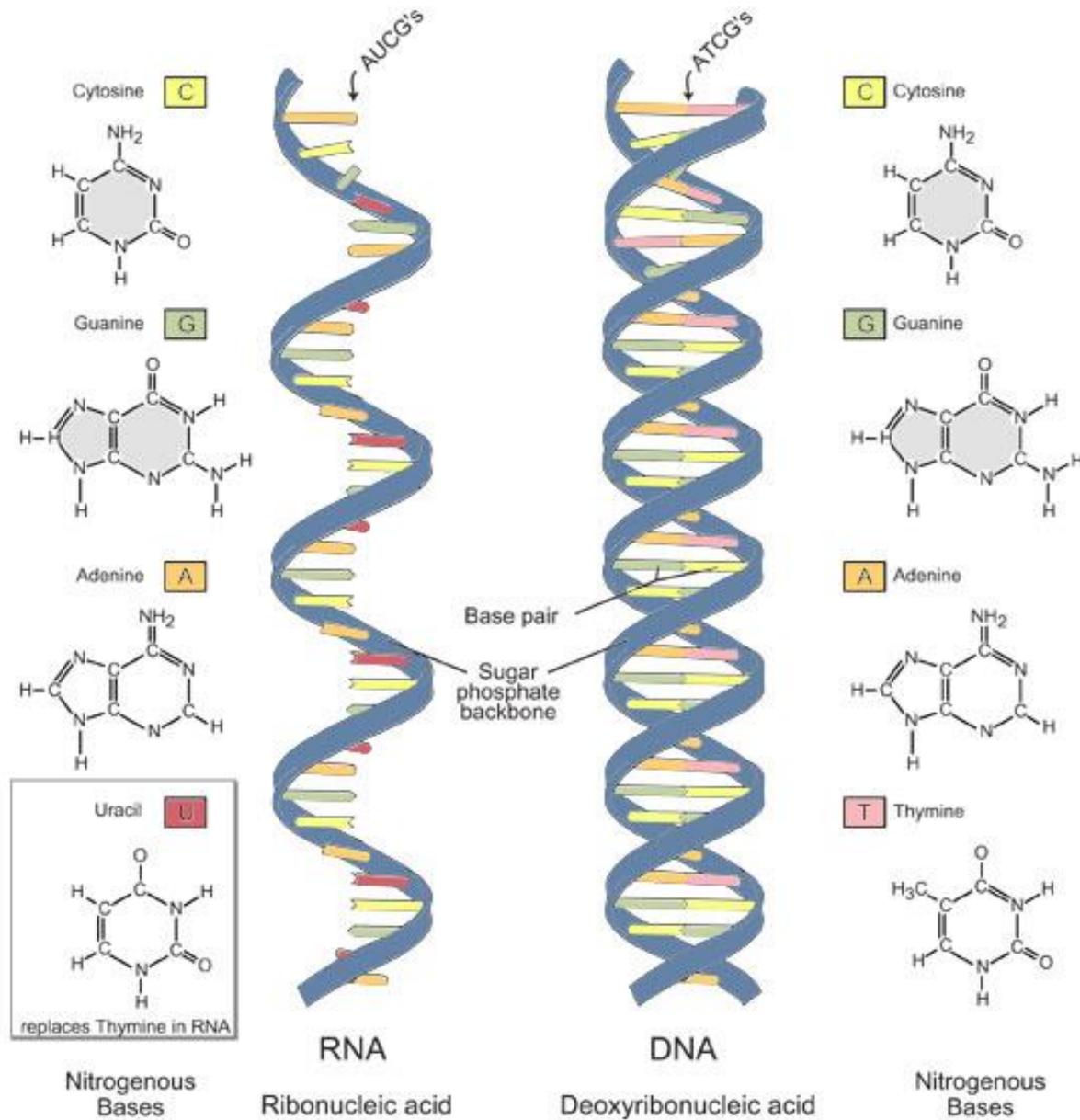
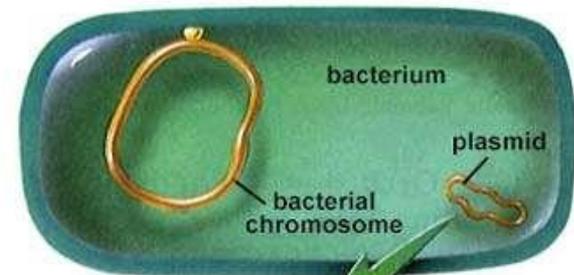


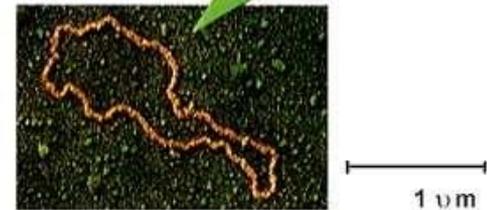
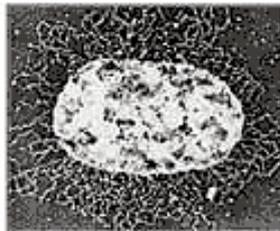
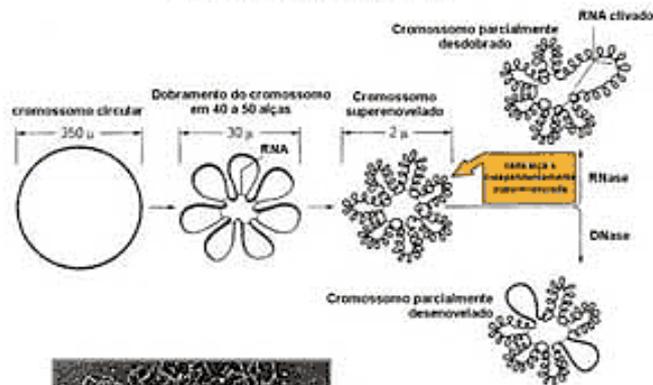
Image adapted from: National Human Genome Research Institute. Talking Glossary of Genetic Terms. Available at: www.genome.gov/Pages/Hyperion//DIR/VIP/Glossary/Illustration/rna.shtml.

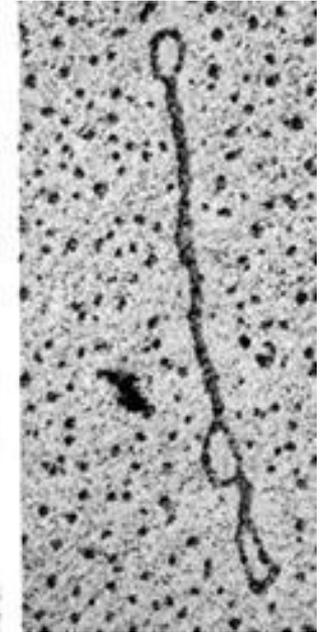
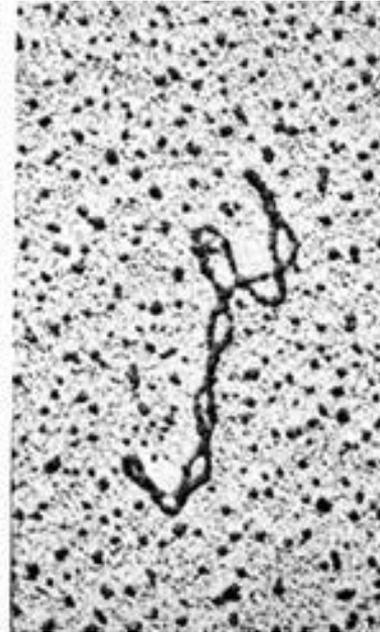
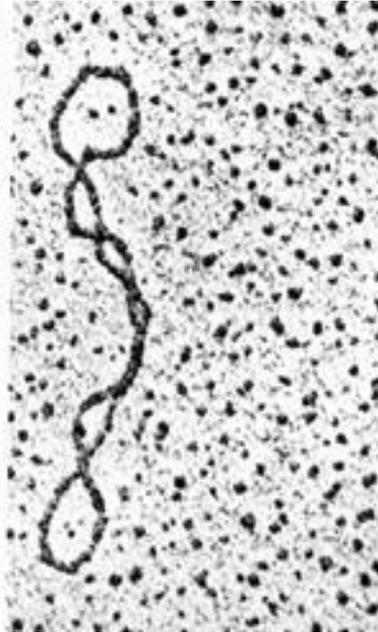
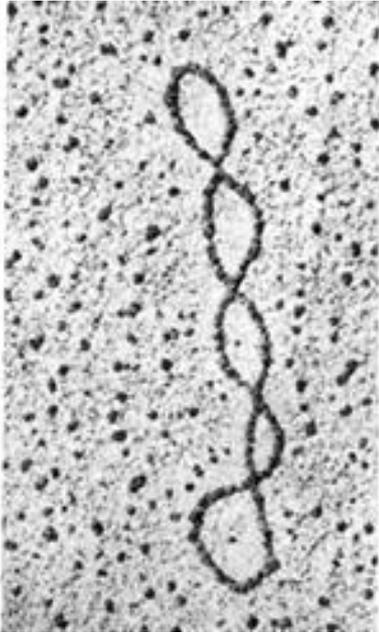
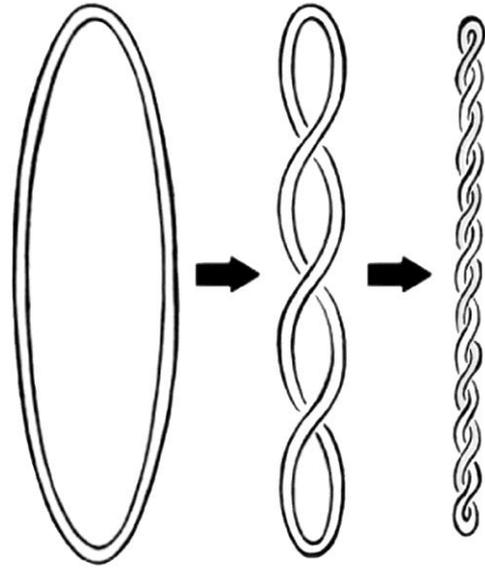
DNAs em Procariontos

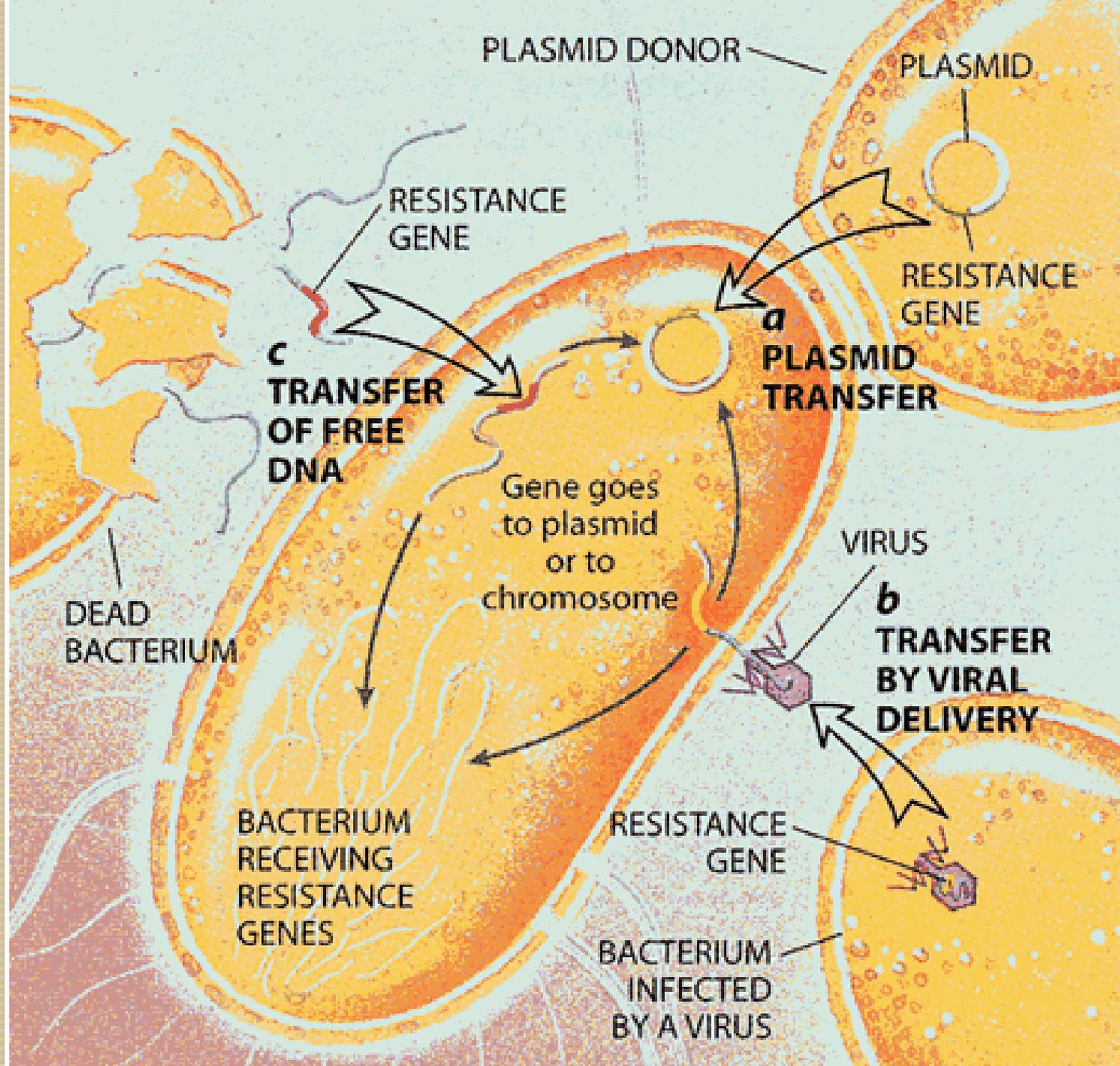
- Bactérias:
 - Genômico
 - Plasmidial



Estrutura do DNA bacteriano

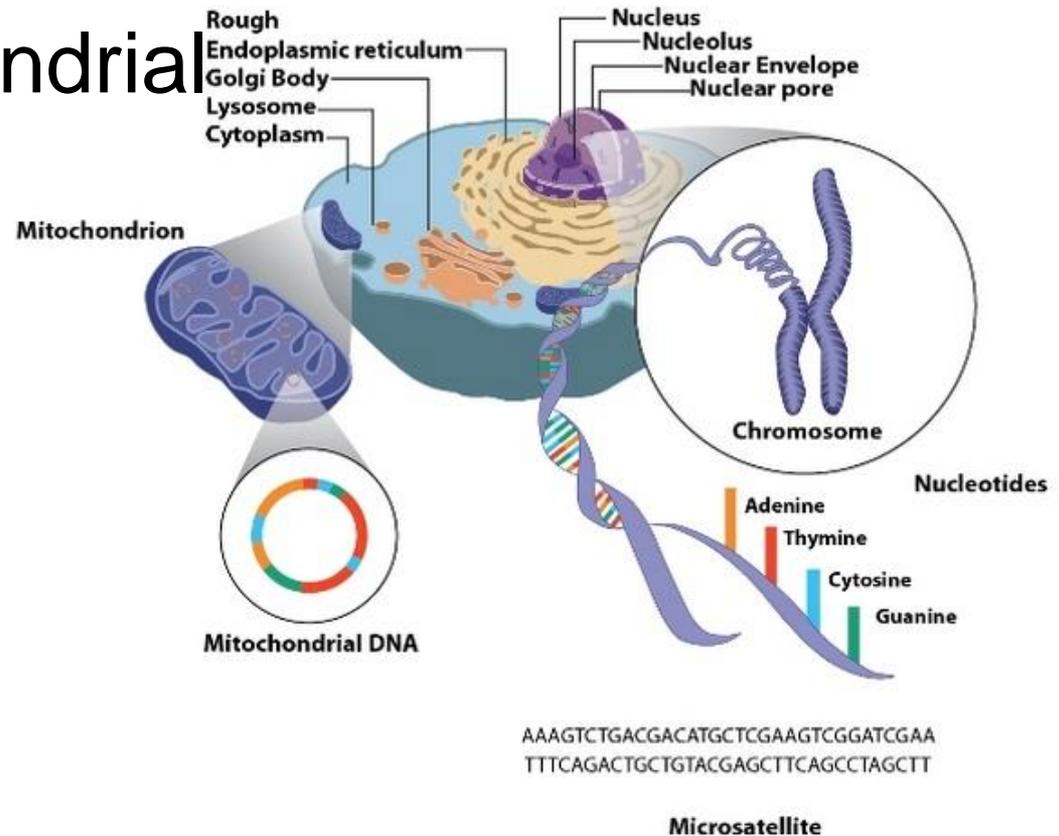






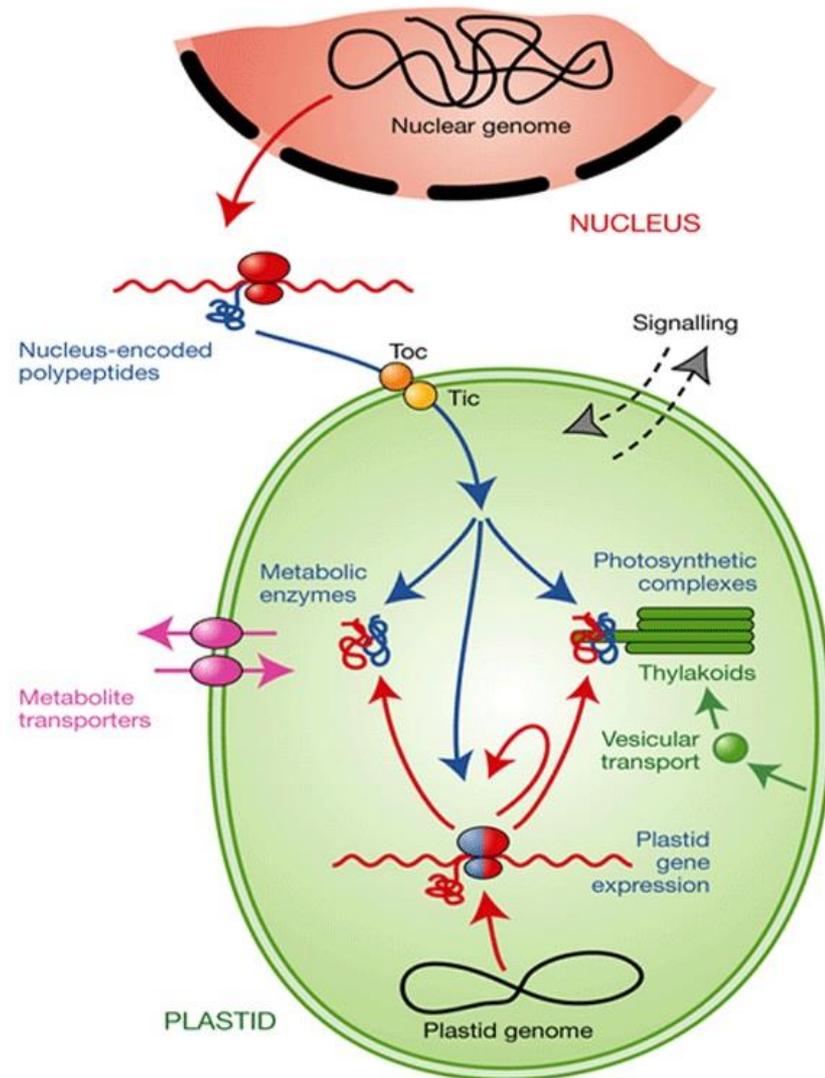
DNAs em Eucariotos

- Animais
 - * Genômico
 - * Mitochondrial

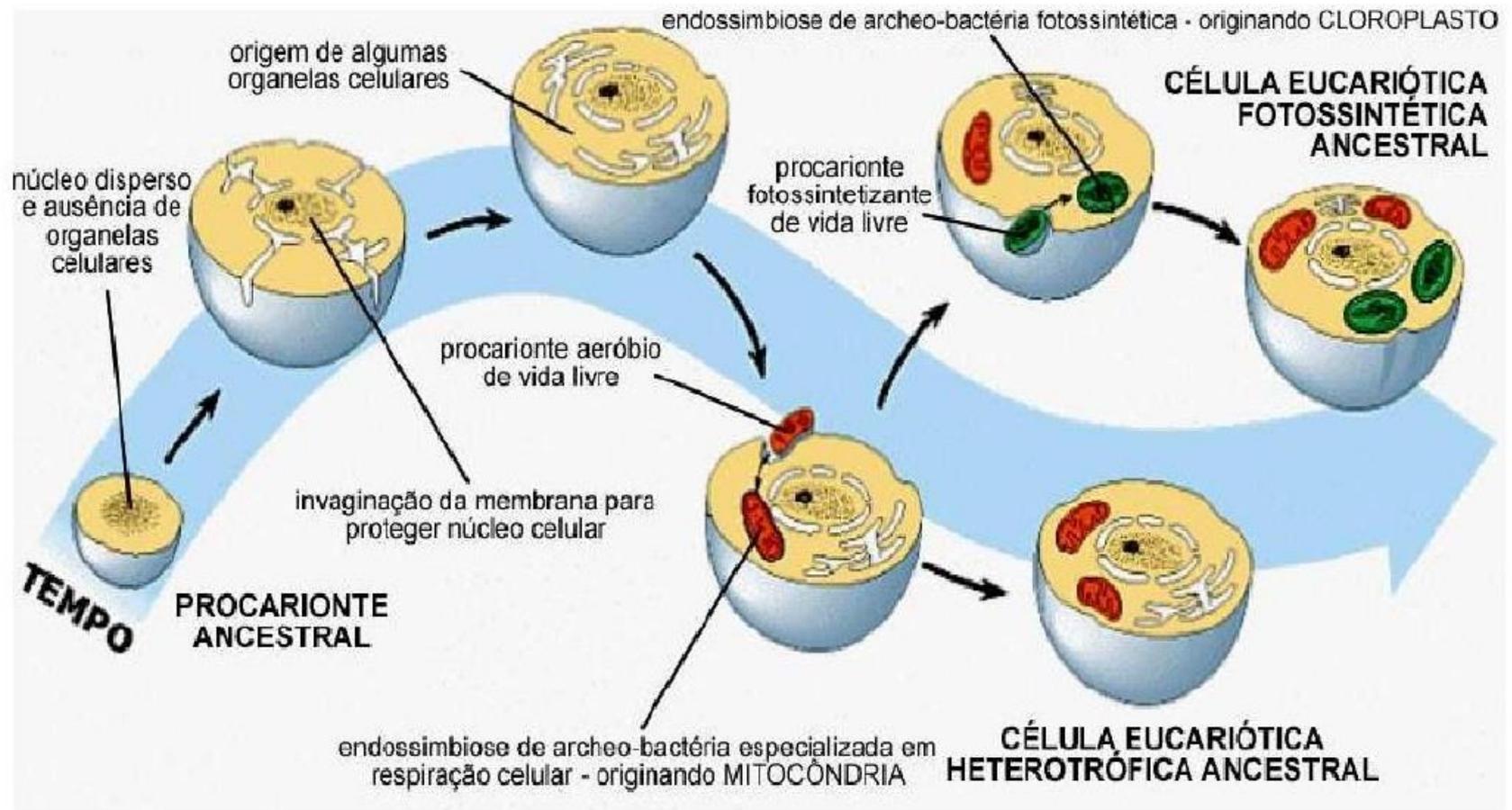


DNAs em Eucariotos

- Vegetais:
 - * Genômico
 - * Mitochondrial
 - * Cloroplástico



Teoria da Endossimbiose



Relembre: vírus

- Seu material genético pode ser DNA ou RNA
- Cada espécie viral possui um único tipo de ácido nucléico, que pode ser DNA ou RNA, onde estão inscritas as informações necessárias para a produção de novos vírus.



Evoluindo investigação, sabe-se hoje que...

... há animais que podem adquirir cloroplastos por processo diferente da endossimbiose e que não são herdados nas gerações que se seguem.



Isto acontece por um processo chamado cleptoplastia.

Os organismos heterotróficos consomem e retém os cloroplastos de um organismo fotossintetizante.



Desta forma, integram parte dos tecidos do organismo, que adquire a habilidade de realizar fotossíntese por um tempo que pode chegar a ser de vários meses.

A eficiência da fotossíntese desses cleptoplastos é tão alta que, se a intensidade da luz for boa, estes moluscos não necessitam mais “alimentar-se”.



Superfamília dos afídeos -
realizam fotossíntese

“Light- induced electron transfer
and ATP synthesis in a carotene
synthesizing insect”.
Nature.

Pesquisadores franceses Jean
Christophe Valmalette, Aviv
Dombrovsky, Pierre Brat,
Christian Mertz, Maria Capovilla e
Alain Robichon.

<http://www.esalq.usp.br/cprural/informacoes/mostra/161/insetos-que-realizam-fotossintese-sao-descobertos.html>



Conceitos

- Gene

- Sequência nucleotídica no DNA (que podemos chamar de código – um conjunto de códons) necessária e suficiente para:
 - a síntese de um peptídeo (transcrição em mRNA e tradução em polímero de aminoácidos) ou polipeptídeo ou, ainda,
 - para a síntese de uma molécula de RNA estável (tRNA ou rRNA)

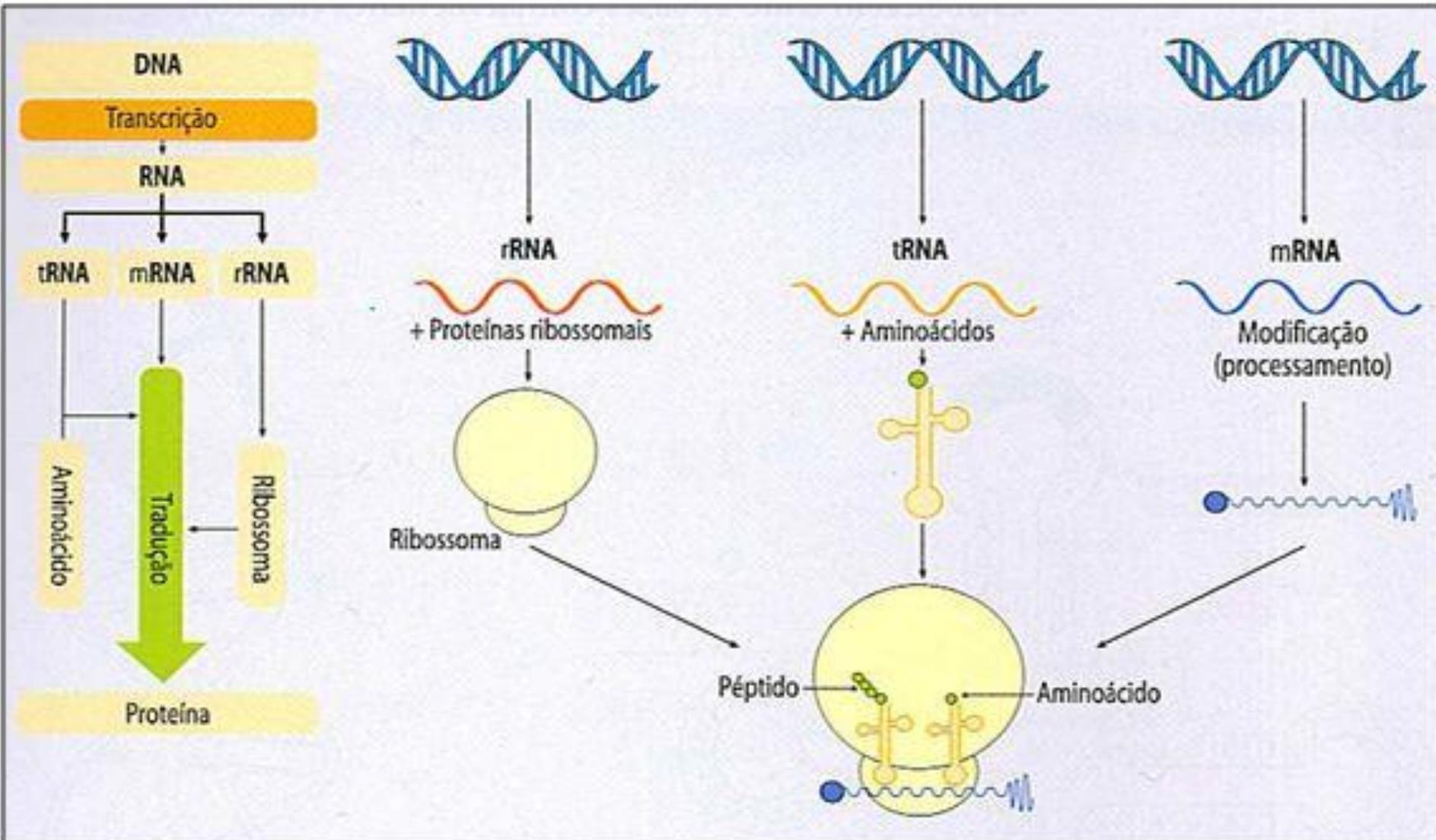
- Cromossomo

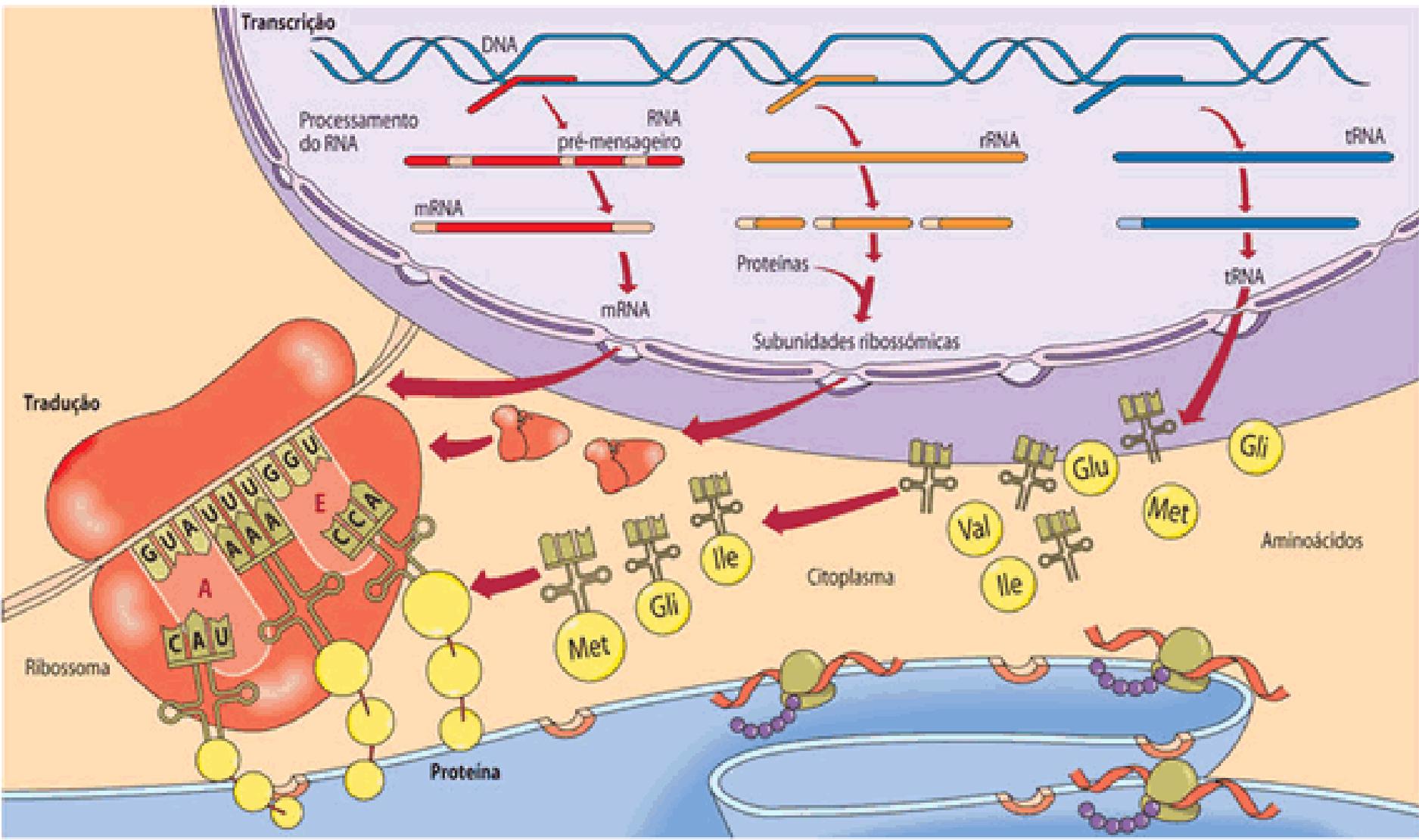
- Molécula encontrada no núcleo constituída de DNA (genes)

- Genoma

- Conjunto de genes de um indivíduo
- 30.000 o número de genes em humanos

Síntese de Proteínas e de RNAs

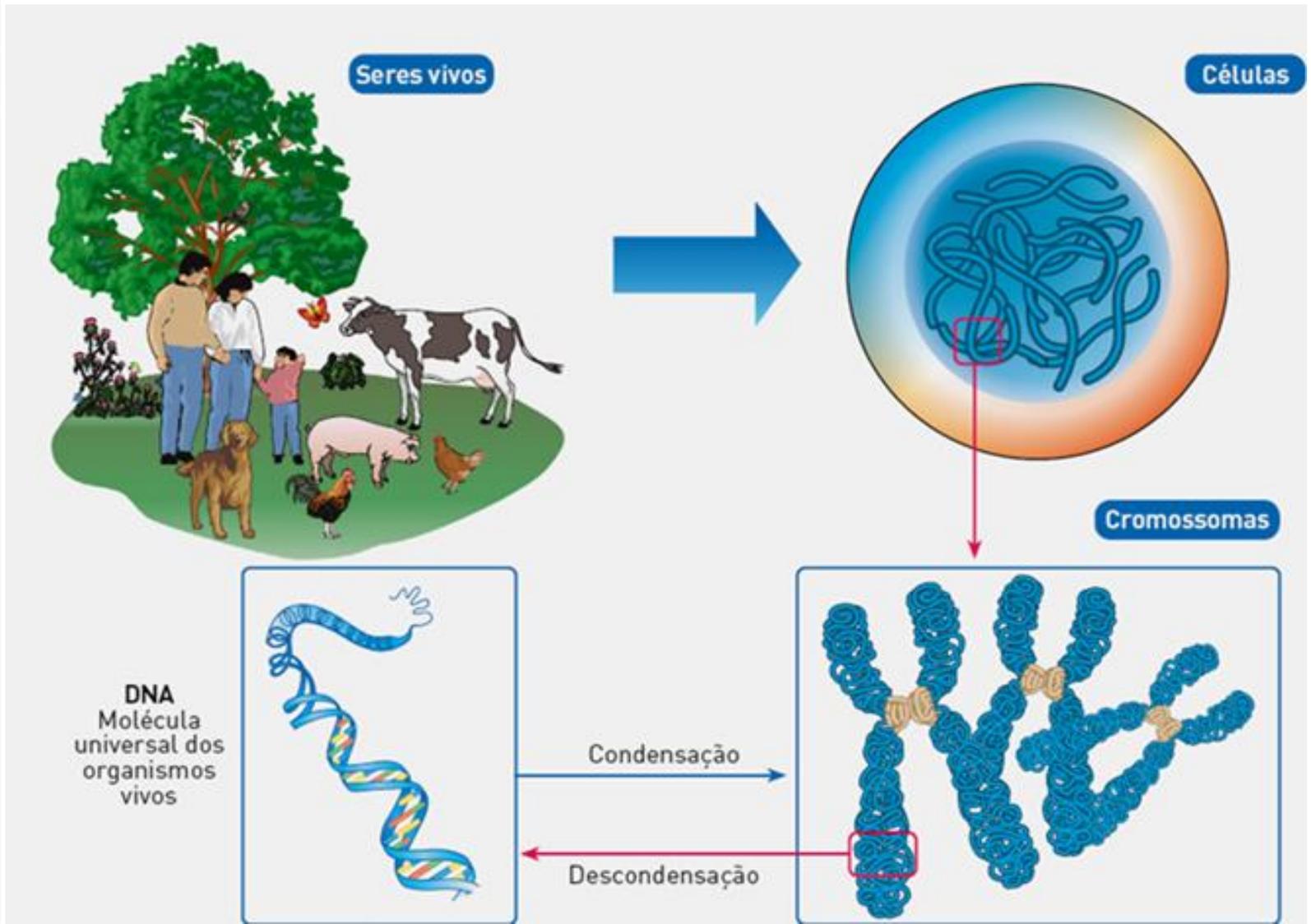




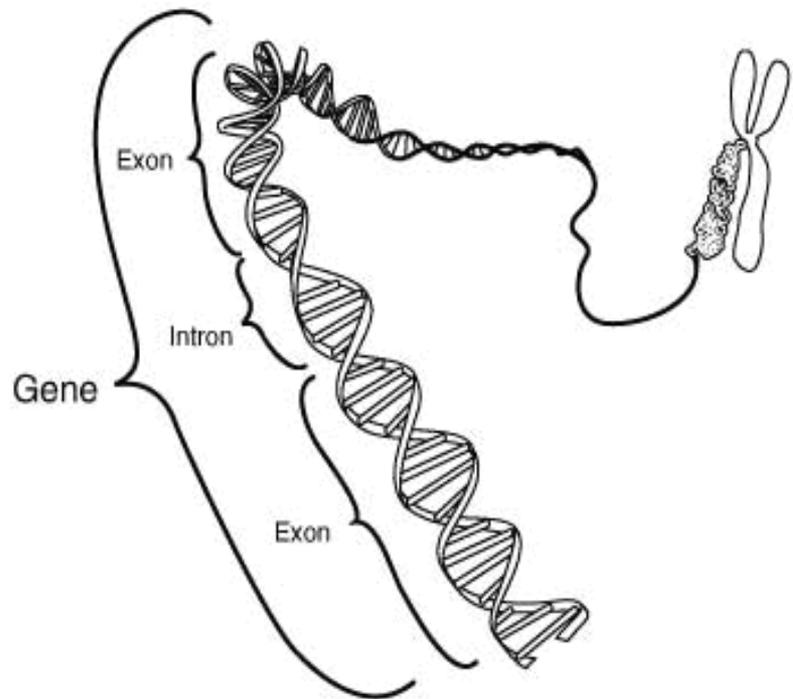
O não-tão-diferente no todo tão-diferente



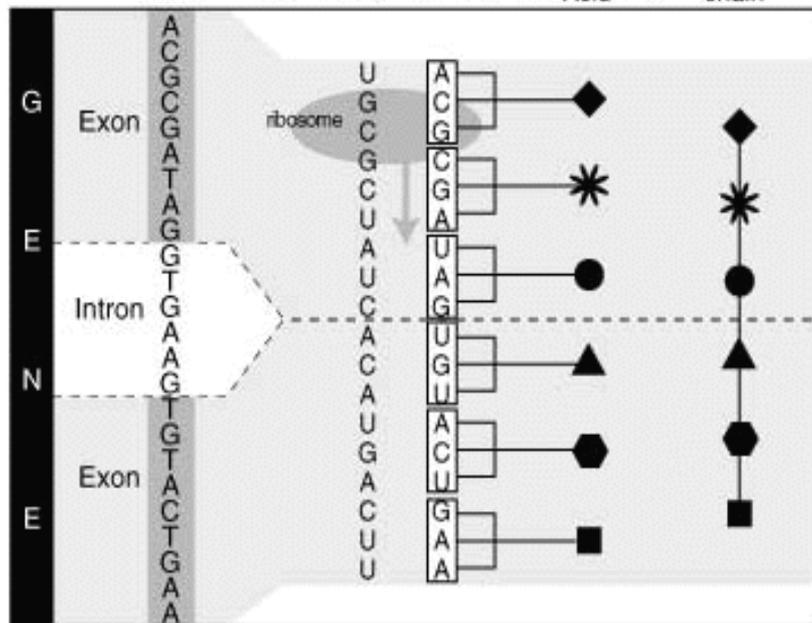
Universalidade dos Ácidos Nucléicos

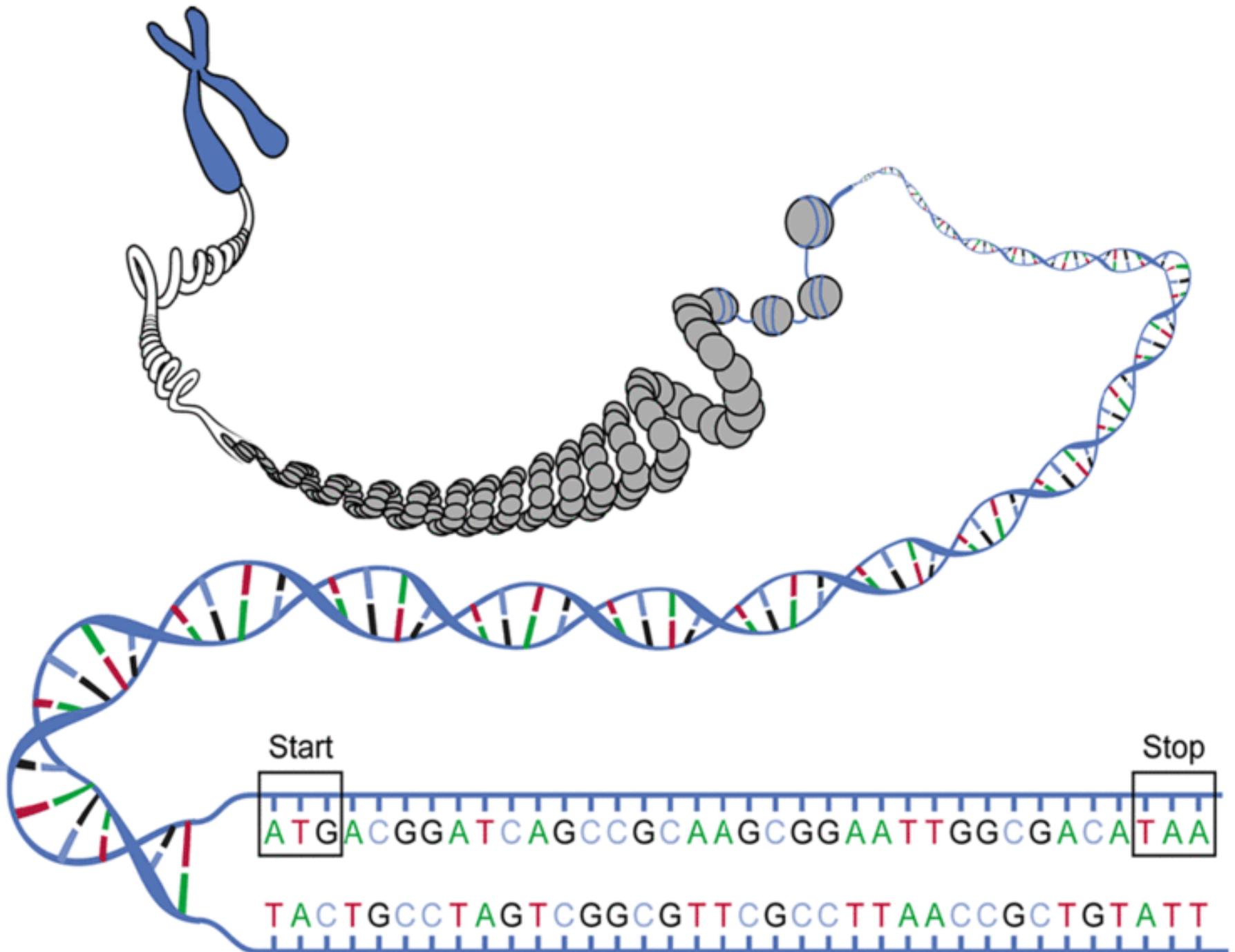


1	AATTCTTAAT	TAACCAATTC	TGATTAGAAA	AACTCATCGA	GCATCAAATG
	TTAAGAATTA	ATTGGTTAAG	ACTAATCTTT	TTGAGTAGCT	CGTAGTTTAC
51	AAACTGCAAT	TTATTCATAT	CAGGATTATC	AATACCATAT	TTTTGAAAAA
	TTTGACGTTA	AATAAGTATA	GTCCTAATAG	TTATGGTATA	AAAACTTTTT
101	GCCGTTTCTG	TAATGAAGGA	GAAAACTCAC	CGAGGCAGTT	CCATAGGATG
	CGGCAAAGAC	ATTACTTCCT	CTTTTGAGTG	GCTCCGTCAA	GGTATCCTAC
151	GCAAGATCCT	GGTATCGGTC	TGCGATTCCG	ACTCGTCCAA	CATCAATACA
	CGTTCTAGGA	CCATAGCCAG	ACGCTAAGGC	TGAGCAGGTT	GTAGTTATGT
201	ACCTATTAAT	TTCCCCTCGT	CAAAAATAAG	GTTATCAAGT	GAGAAATCAC
	TGGATAATTA	AAGGGGAGCA	GTTTTTATTC	CAATAGTTCA	CTCTTTAGTG
251	CATGAGTGAC	GACTGAATCC	GGTGAGAATG	GCAAAATCTT	ATGCATTTCT
	GTACTCACTG	CTGACTTAGG	CCACTCTTAC	CGTTTTAGAA	TACGTAAAGA
301	TTCCAGACTT	GTTCAACAGG	CCAGCCATTA	CGCTCGTCAT	CAAAATCACT
	AAGGTCTGAA	CAAGTTGTCC	GGTCGGTAAT	GCGAGCAGTA	GTTTTAGTGA
351	CGCATCAACC	AAACCGTTAT	TCATTCGTGA	TTGCGCCTGA	GCGAGACGAA
	GCGTAGTTGG	TTTGGCAATA	AGTAAGCACT	AACGCGGACT	CGCTCTGCTT



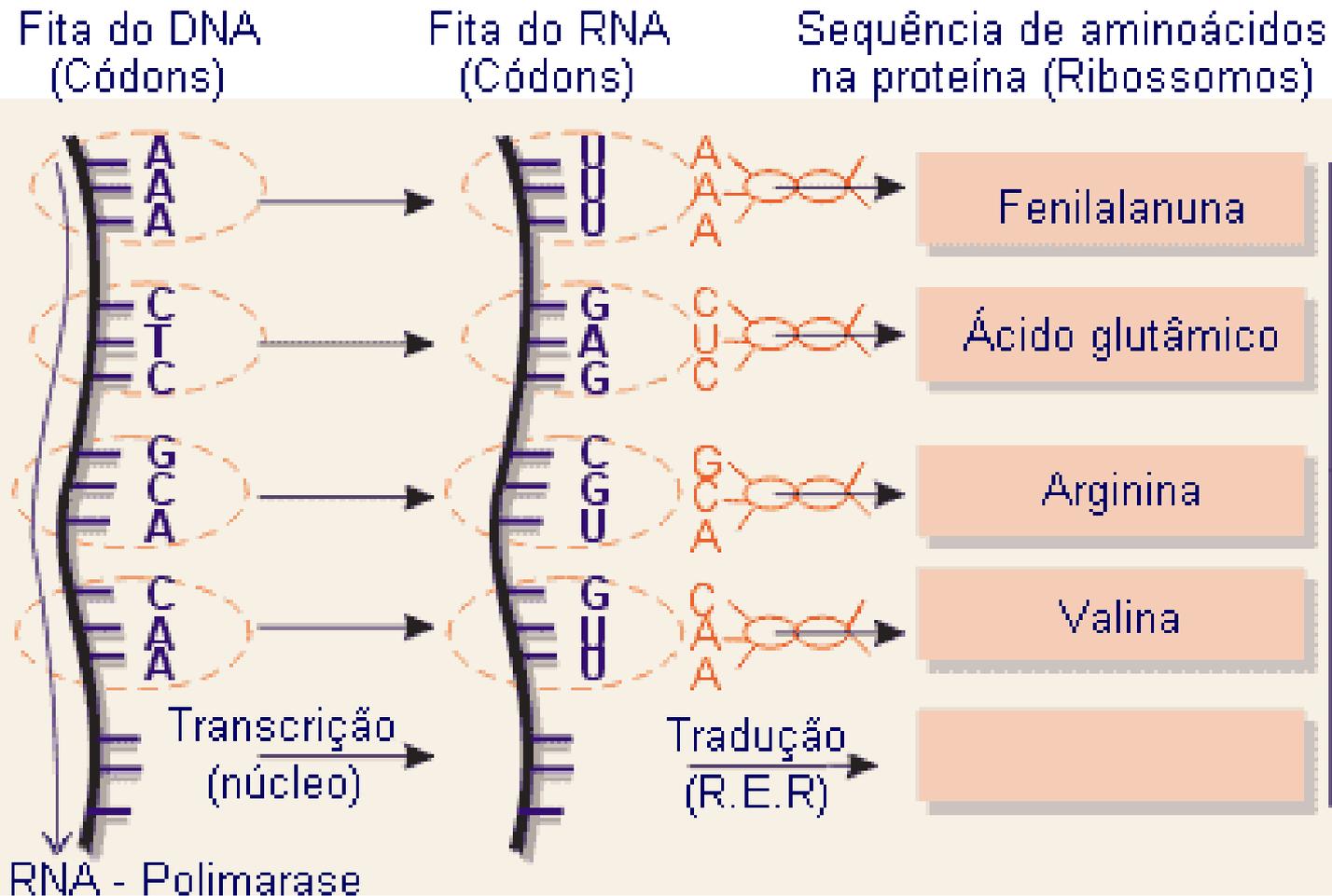
DNA $\xrightarrow{\text{Transcription}}$ mRNA $\xrightarrow{\text{Translation}}$ tRNA \rightarrow Amino Acid \rightarrow Polypeptide chain





...e a **universalidade** se estende... Segunda Base

		U	C	A	G		
Primeira Base	U	UUU } Fenil-alanina UUC } UUA } Leucina UUG }	UCU } UCC } Serina UCA } UCG }	UAU } Tirosina UAC } UAA } Stop codon UAG } Stop codon	UGU } Cysteine UGC } UGA } Stop codon UGG } Tryptophan	Terceira Base	U C A G
	G	CUU } CUC } Leucina CUA } CUG }	CCU } CCC } Prolina CCA } CCG }	CAU } CAC } Histidina CAA } CAG } Glutamina	CGU } CGC } Arginina CGA } CGG }		U C A G
	A	AUU } AUC } Isoleucina AUA } AUG } Metionina start codon	ACU } ACC } ACA } Treonina ACG }	AAU } AAC } Asparagina AAA } AAG } Lisina	AGU } AGC } Serina AGA } AGG } Arginina		U C A G
	G	GUU } GUC } GUA } Valina GUG }	GCU } GCC } GCA } Alanina GCG }	GAU } GAC } Ácido Aspártico GAA } GAG } Ácido Glutâmico	GGU } GGC } GGA } Glicina GGG }		U C A G



Sobre o Código

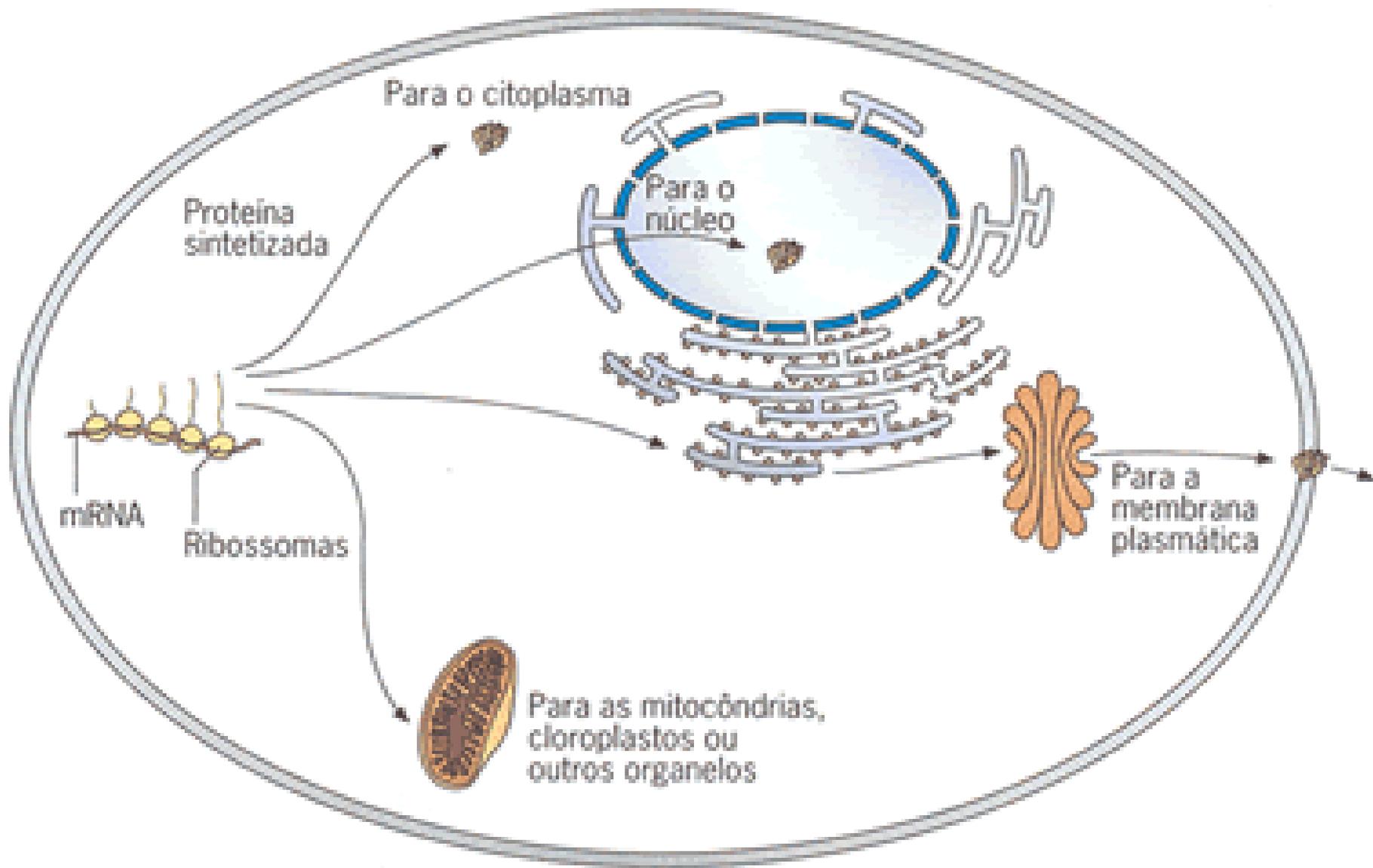
- Há colinearidade entre genes e proteínas
- O código é em trincas
- O código é degenerado
- O código é dito “não ambíguo”
- O código tem ponto inicial
- O código tem ponto final

Mitochondrial Genetic Code is different

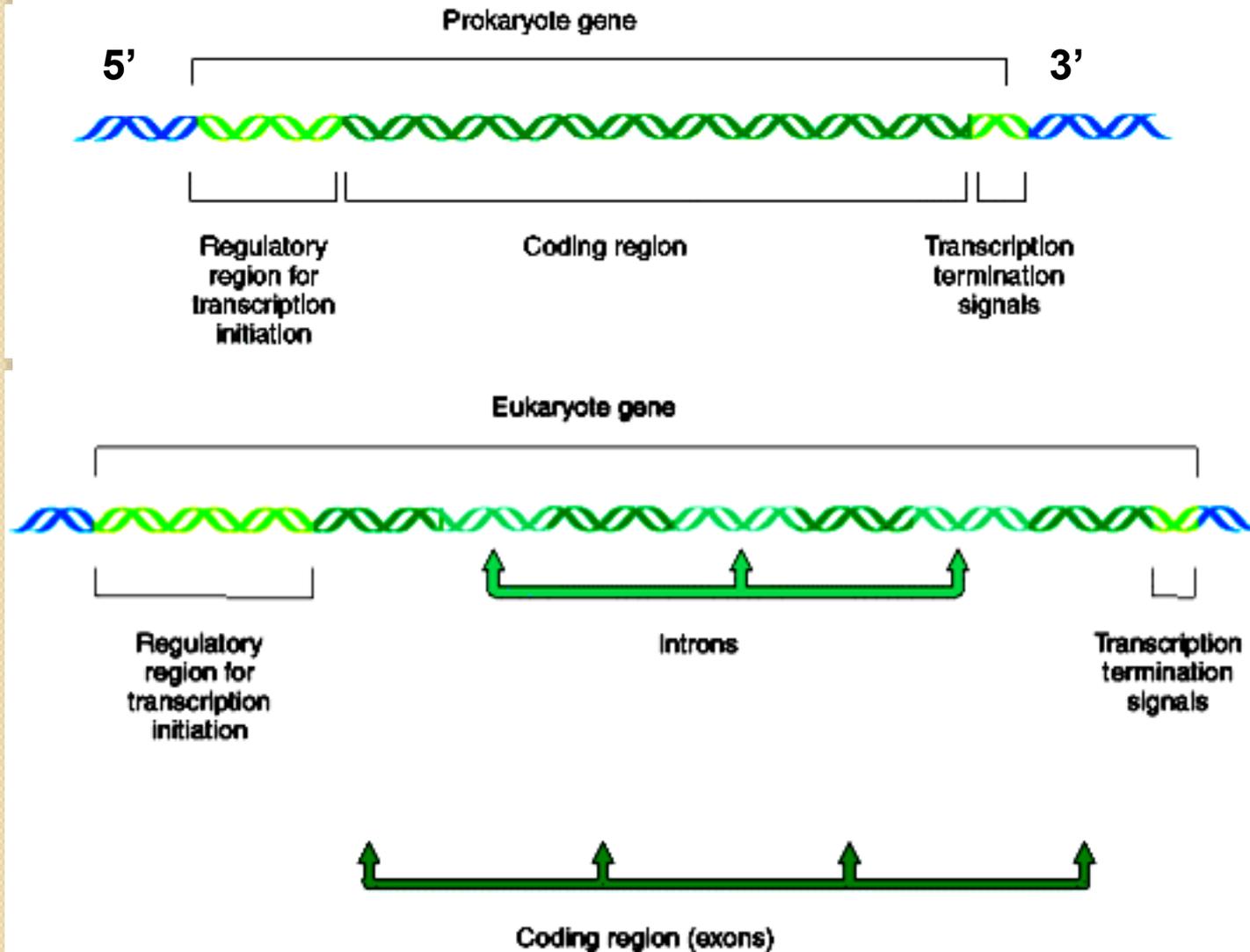
TABLE 5.5 Distinctive codons of human mitochondria

Codon	Standard code	Mitochondrial code
<u>UGA</u>	Stop	Trp
UGG	Trp	Trp
<u>AUA</u>	Ile	Met
AUG	Met	Met
AGA	Arg	Stop
AGG	Arg	Stop

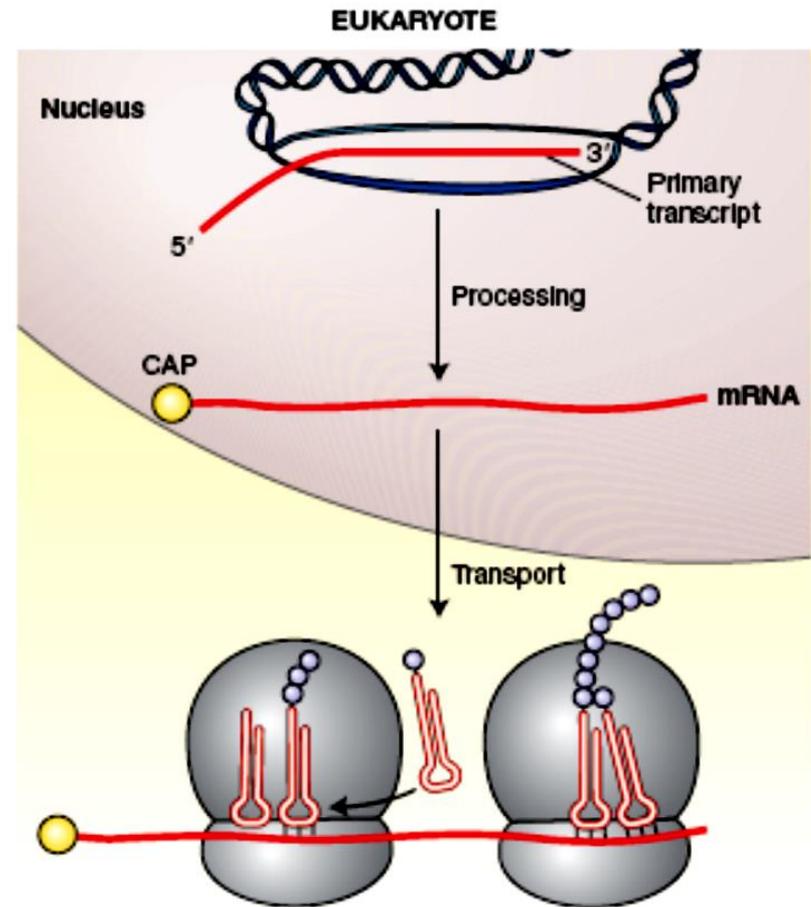
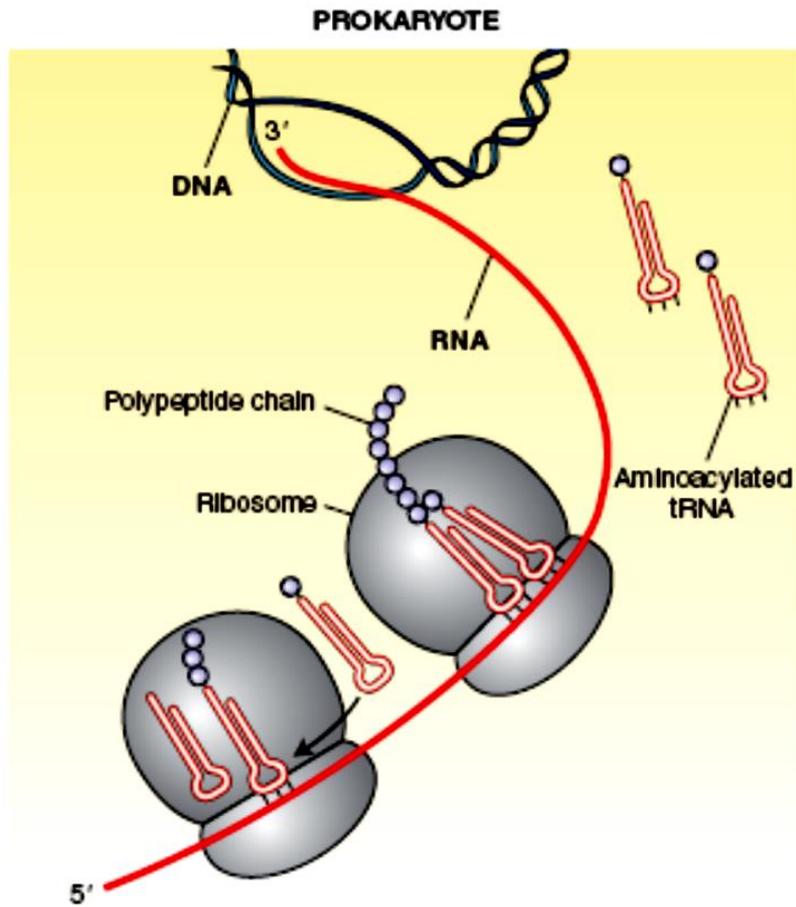
Note: Red boxes and arrows in the original image highlight the differences between the standard and mitochondrial codes. Red brackets group the Trp and Met codons in both codes, with a star indicating a swap in the mitochondrial code. Red boxes around AUG and AGA/AGG highlight specific differences.



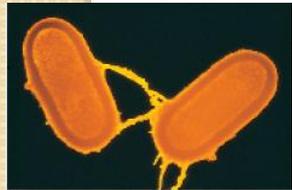
GENES → EUCARIOTO X PROCARIOTO



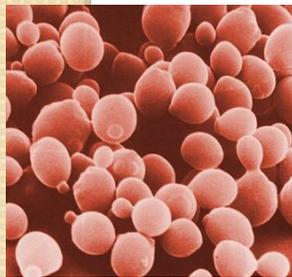
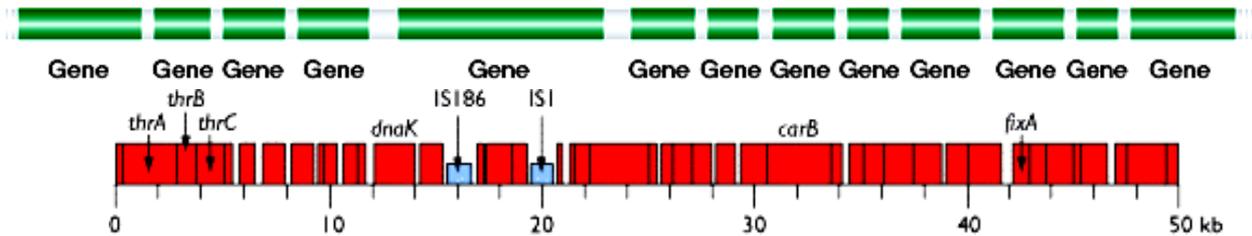
PROCARIOTO X EUCARIOTO



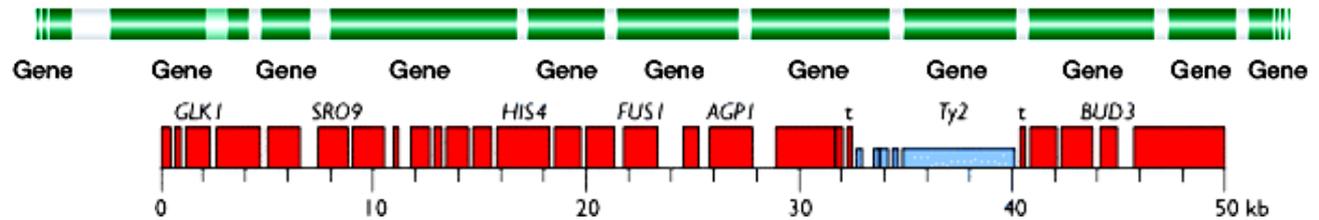
GENOMA → EUCARIOTO X PROCARIOTO



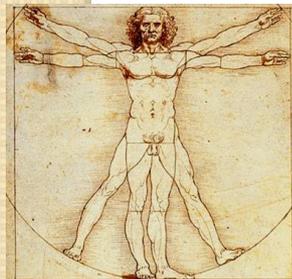
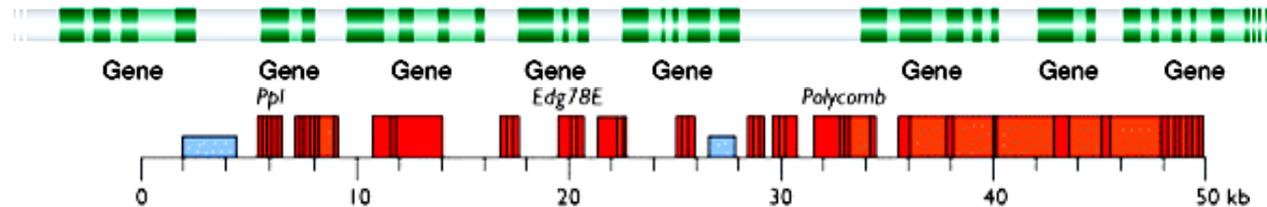
Bacterium



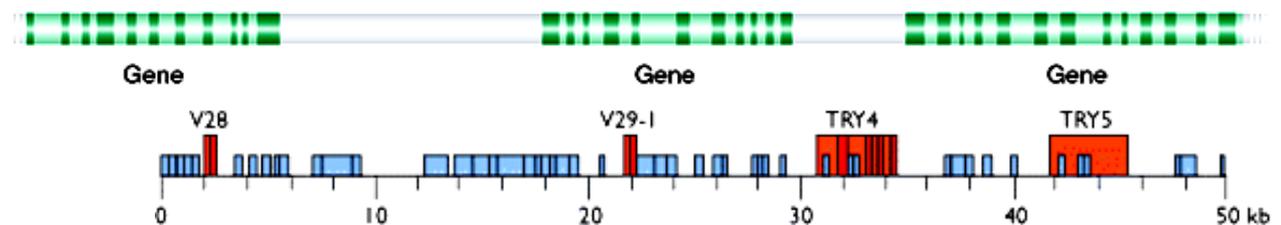
Yeast



Drosophila



Human





MANIPULAÇÃO DE GENES

e

TRANSFORMAÇÃO
GENÉTICA



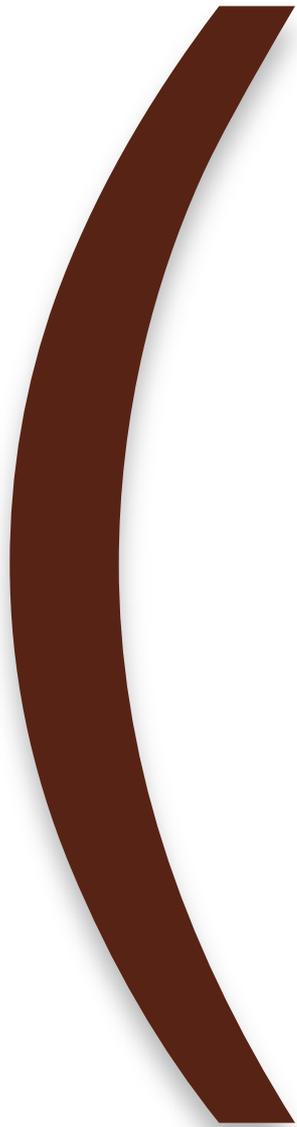
O que é um OGM?

Lei Federal

- OGM é, segundo o art. 3º, inciso V, da Lei Federal nº 11.105, de 24 de março de 2005,
- *organismo cujo material genético (DNA/RNA) tenha sido modificado por qualquer técnica de **engenharia genética**,*

excluídos

*desta classificação aqueles organismos "resultantes de técnicas que impliquem a introdução direta, num organismo, de material hereditário, desde que não envolvam a utilização de moléculas de DNA/RNA recombinante ou OGM, tais como: **fecundação in vitro, conjugação, transdução, transformação, indução poliplóide e qualquer outro processo natural.***



Por falar nisso, ... Mutantes!!!

- THEBIGCATEATTHEFATRAT
- THE BIG CAT EAT THE FAT RAT



*...but,
and
always
BUT...*

Por falar nisso, ... Mutantes!!!

Sticker

- THEBIGCATEATTHEFATRAT!!!
- THEBIGCATEATTHEFATANDTHEBIGRAT!!!
- THEBIGCATEATTHEBIGRAT!!!
- THEFATCATEATTHEFATRAT!!!
- THECATEATTHERAT!!!
- THEBIGCATEATTHEFATDOGWOOW!!!
- THEBIGCATEATTHEFATCATWOOWWWWWW!!!
- THE...

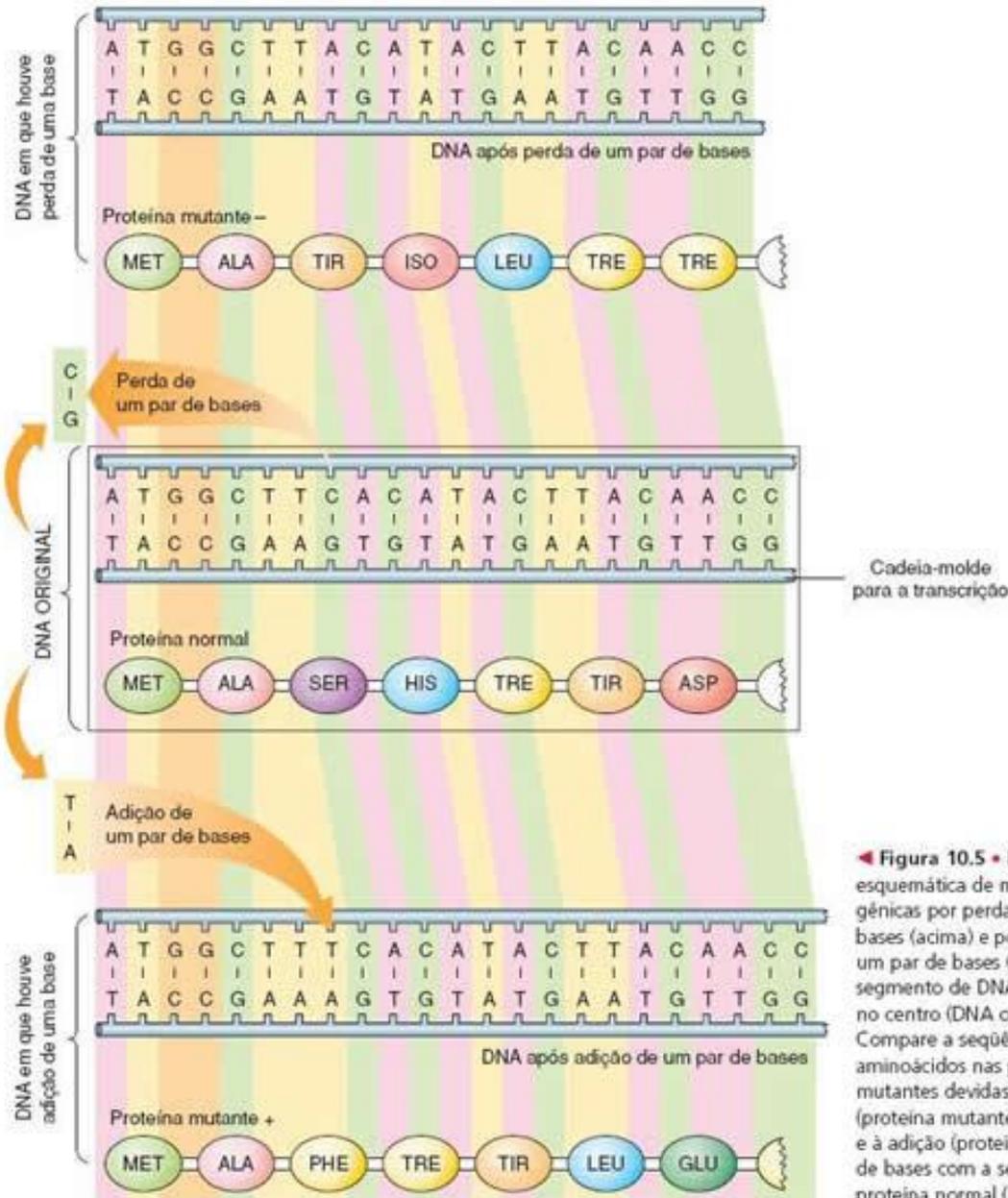
mas...

- ~~THE~~BIGCATEATTHEFATRAT!!!
- TEBIGCATEATTHEFATRAT!!!
- x x x x x x ????????

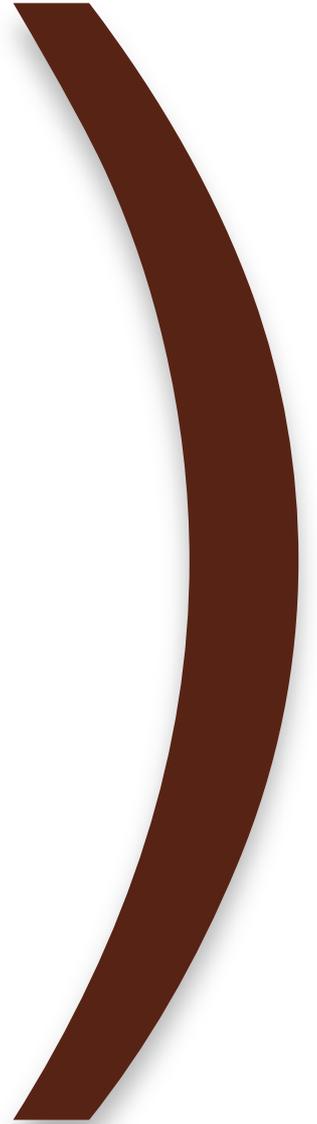
- THEBIGCATEATTHEFATRATTHEFATCATEATTHEBIGRATTHE DOGEATTHEBIGCATANDTHEDOGEATTHEBIGCAT!!!WOOW!!!
- THE BIG CAT EAT THE FAT RAT, THE FAT CAT EAT THE BIG RAT, THE DOG EAT THE BIG CAT AND THE DOG EAT THE FAT CAT !!! WOOW !!!



Mutação Gênica



◀ **Figura 10.5** • Representação esquemática de mutações gênicas por perda de um par de bases (acima) e por adição de um par de bases (abaixo) do segmento de DNA representado no centro (DNA original). Compare a sequência de aminoácidos nas proteínas mutantes devidas à perda (proteína mutante -) e à adição (proteína mutante +) de bases com a sequência na proteína normal (DNA original).



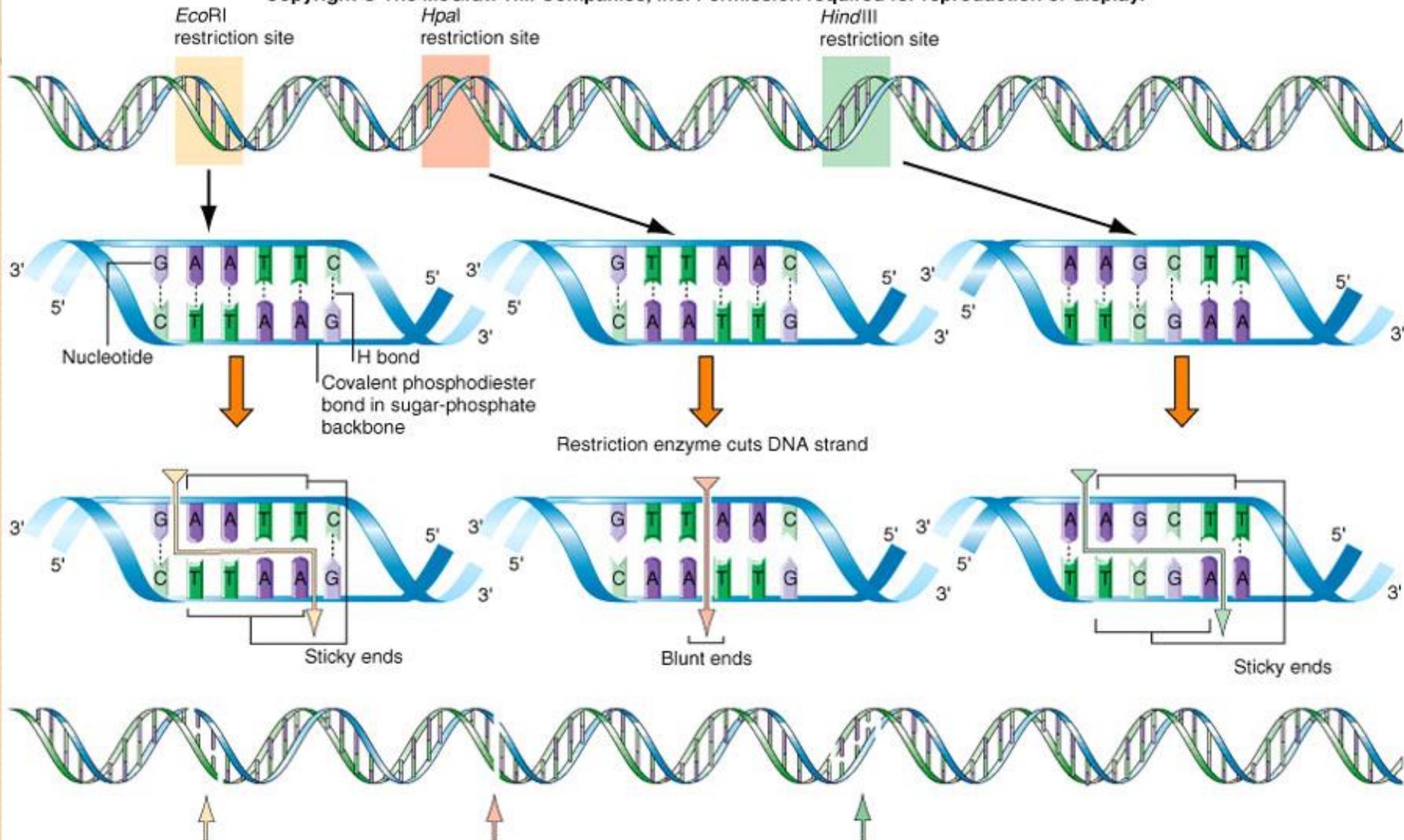
DNA Recombinante

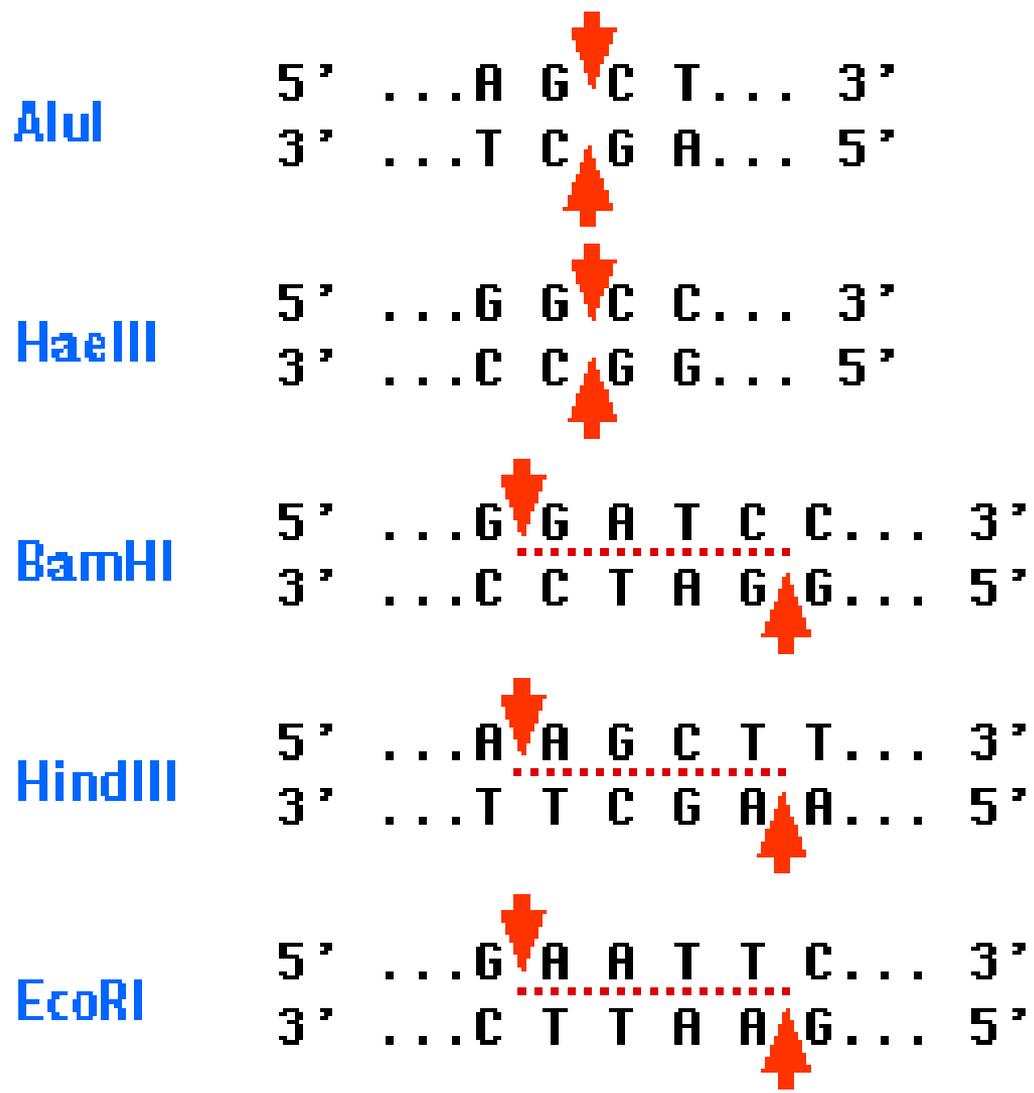
- DNA recombinante (rDNA) é uma forma de DNA não natural que é obtida pela combinação de duas ou mais sequências gênicas que normalmente não ocorrem juntas na natureza.
-
- Em termos de modificação genética, ele é criado através da introdução de um fragmento de DNA em molécula de DNA de organismos já existente, tais como em plasmídeos de bactérias.

- 
- A nova forma, torna-se capaz de alterar características para uma finalidade específica, como resistência a fatores abióticos.
 - Difere de mutações e da recombinação genética ordinária, a qual se dá através de processos naturais; é uma (re)combinação projetada e conduzida.
 - Uma proteína recombinante é uma proteína que é derivada de DNA recombinante.

Enzimas de Restrição

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

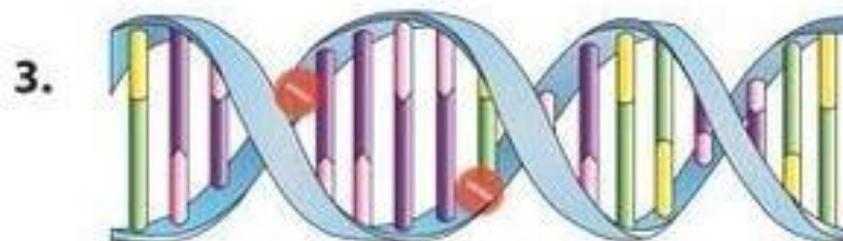
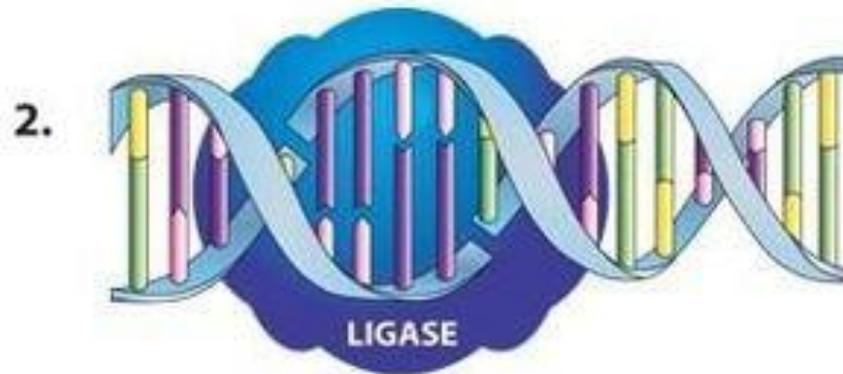
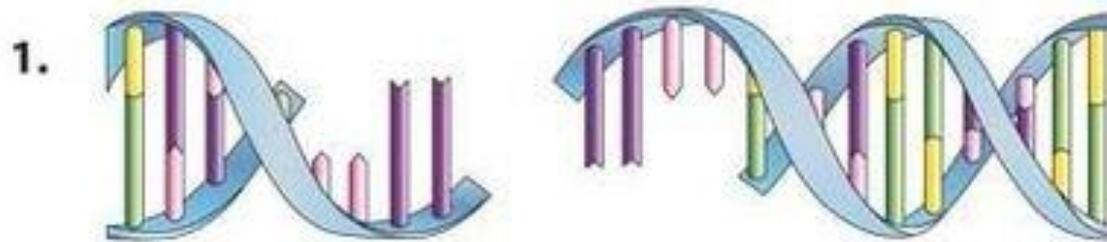


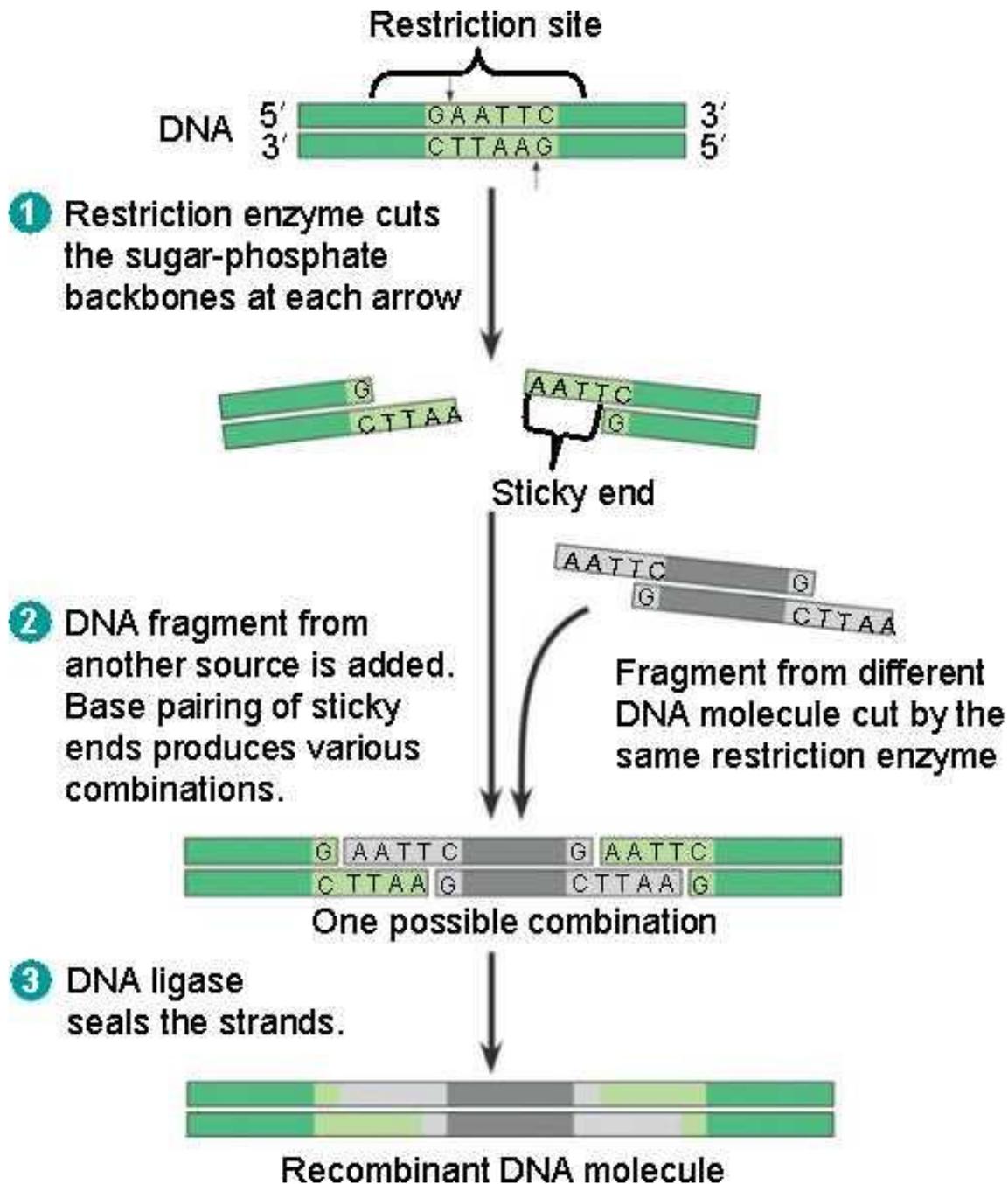


AluI and **HaeIII** produce blunt ends

BamHI **HindIII** and **EcoRI** produce "sticky" ends

DNA Ligases







Por que “engenheirar” OGMs?

Quais os objetivos?

- 1. Para expressar uma característica originalmente ausente na espécie manipulada;
- 2. Para superexpressar uma característica originalmente presente na espécie manipulada;
- 3. Para evitar a expressão de uma característica indesejada, originalmente presente na espécie manipulada (silenciamento gênico).



Como transformar?

Diretos:

- Biobalística;
- Microinjeção;
- Fusão de Protoplastos
- Eletroporação.

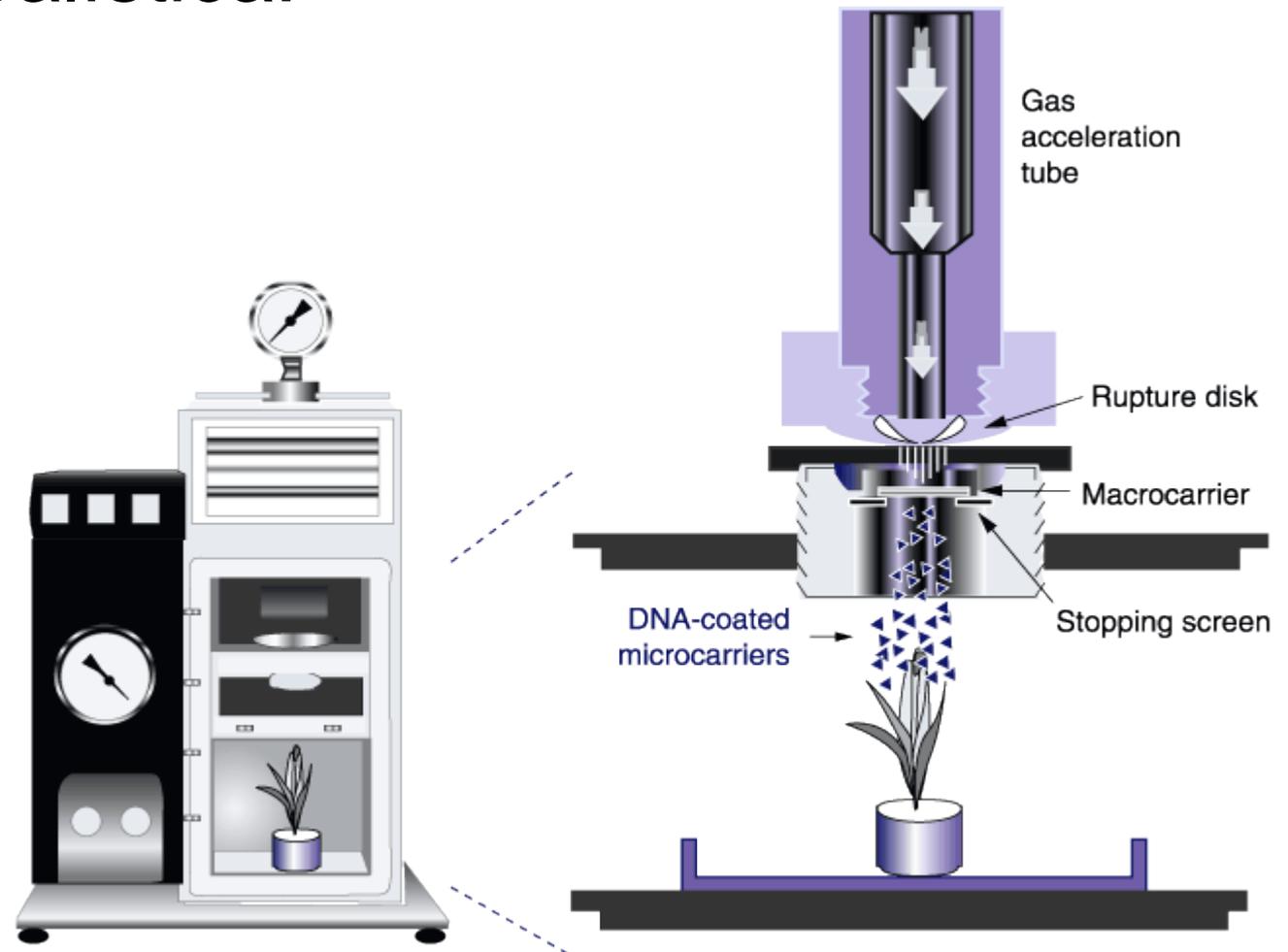
inDiretos:

- Agrobactéria;
- Vírus.

Métodos

Métodos Diretos:

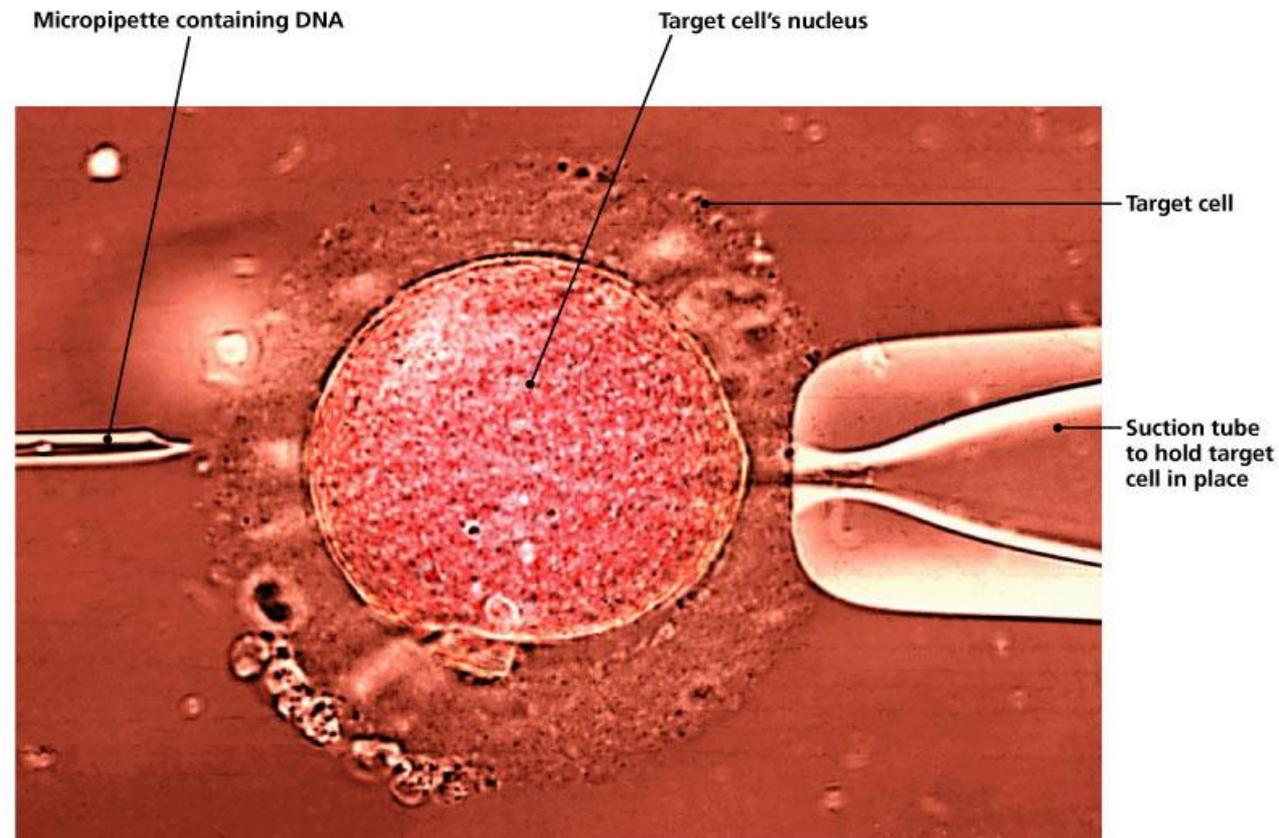
- Biobalística:





Métodos Diretos:

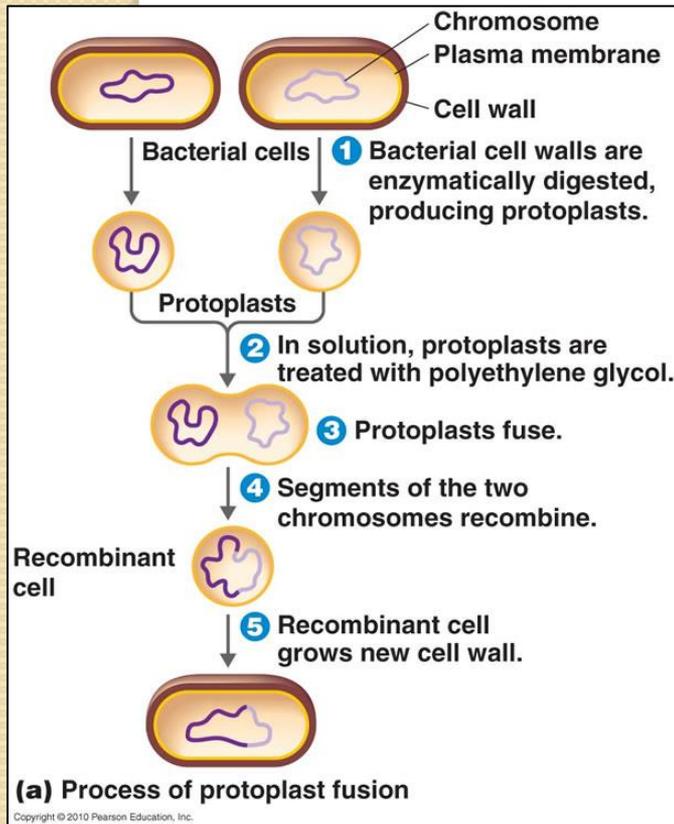
- Microinjeção:



(d)

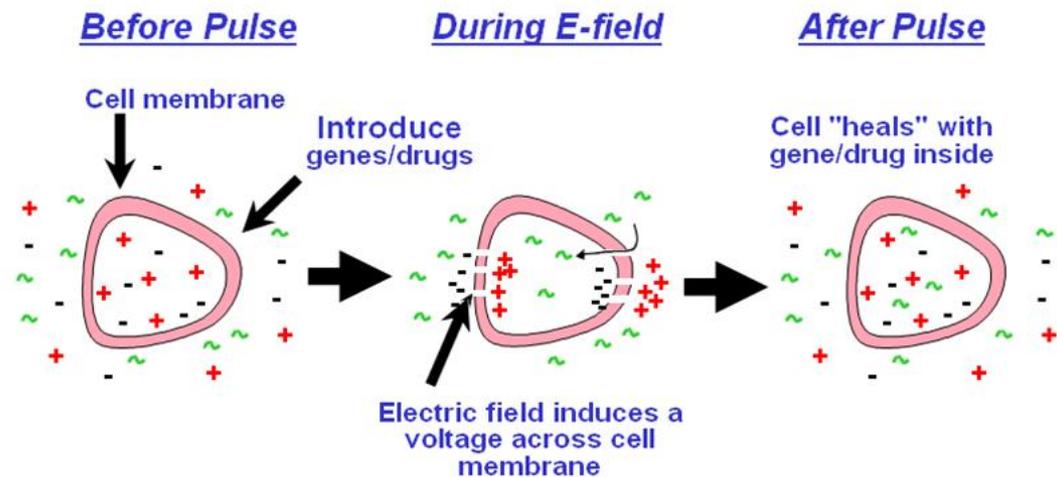
Métodos Diretos:

■ Fusão de Protoplastos:

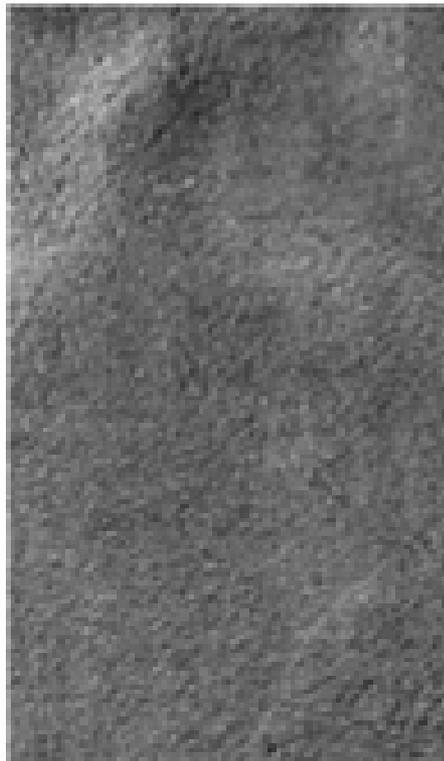


Métodos Diretos:

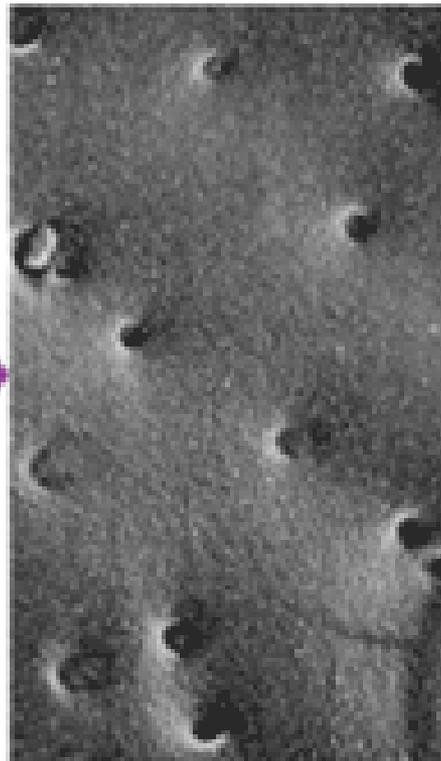
- Eletroporação:



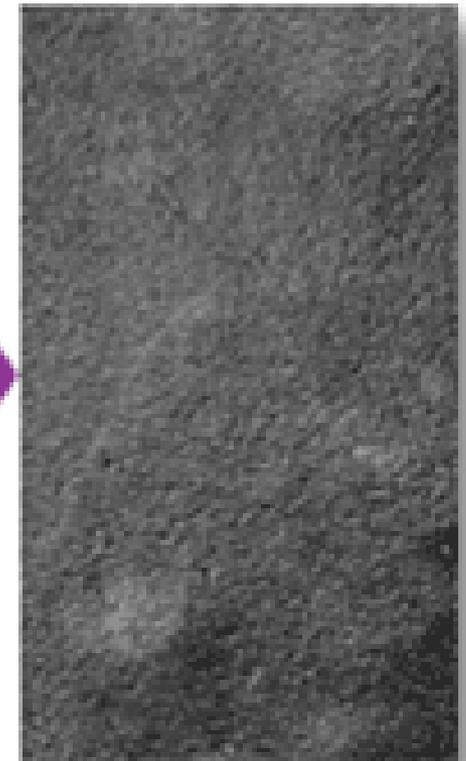
The phenomenon of electroporation



Cell membrane
before pulsing



Cell membrane
during pulsing

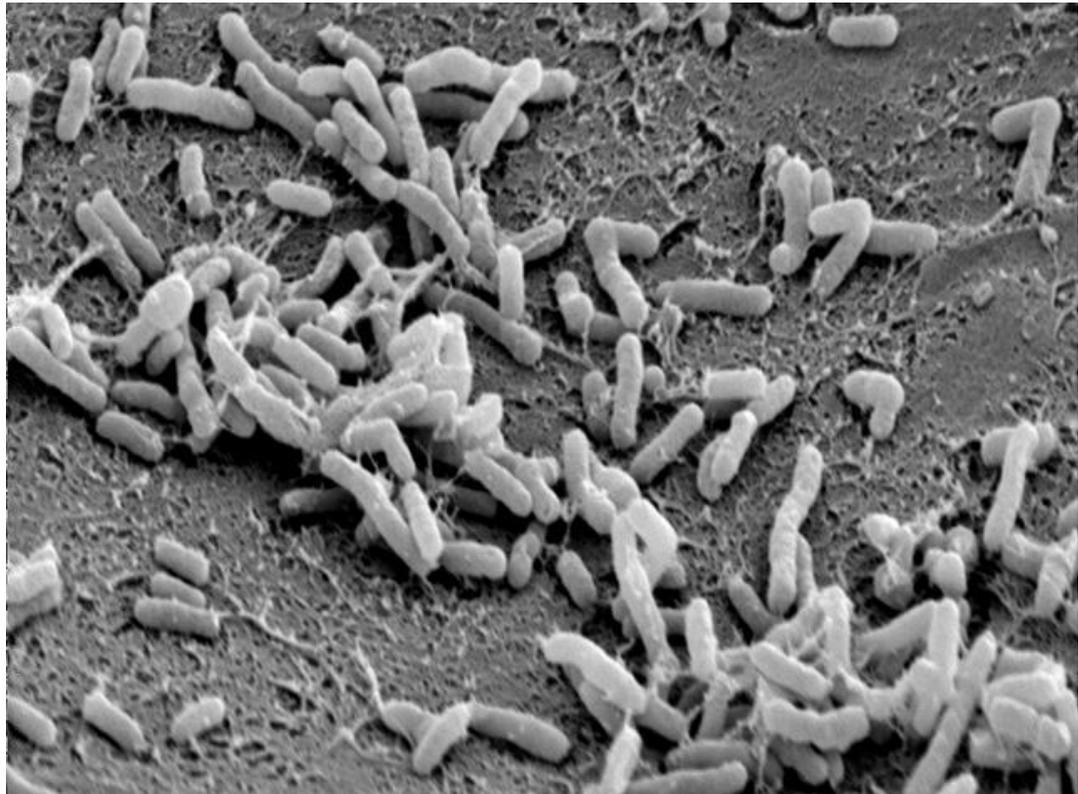


Cell membrane
after pulsing
(cell returns to

- *Controlled, millisecond electrical pulses induce temporary pores in the cell membrane*
- *Cell membrane reseals and is left unharmed*

Métodos Indiretos:

- Agrobactéria:





Região transferida

síntese de opinas e oncogênicos (síntese de citocininas, auxinas ou sensibilidade para aminas)

Borda direita

25pb

T-DNA

Borda esquerda

25pb

(transferência do T-DNA: genes de virulência)

vir

tra (conjugação entre agrobacterias do solo)

tra

pTi

200kb

opc

(catabolismo de opinas)

ori + inc

(origem de replicação e região de incompatibilidade)

