

AmEG – Ambientes e Expressão Gênica



Shenia Pedro Bom da Silva¹, Iris Hass¹

¹Universidade Federal do Paraná, Departamento de Genética,
Laboratório de Educação Científica, Curitiba, PR

Autor para correspondência - shenia.silva@yahoo.com.br

Palavras-chave: regulação gênica procaríotos,
Escherichia coli, material didático, ensino-aprendizagem

Compreender a regulação gênica é indispensável para o estudo de como a informação genética flui do DNA ao fenótipo através da síntese proteica. A fim de diminuir a abstração do tema, o material didático AmEG é uma alternativa metodológica para o processo de ensino-aprendizagem, que pode ser usado por professores do ensino superior.

O material didático Ambientes e Expressão Gênica (AmEG) foi concebido para estudantes de graduação de cursos das áreas de Biológicas e da Saúde e tem por objetivo auxiliar na compreensão da regulação gênica em procariontos. O desafio que os estudantes enfrentarão ao manusear o material didático é desvendar a regulação gênica de alguns **operons** da bactéria *Escherichia coli*, quando submetida a diferentes situações ambientais.

Materiais

O material conta com:

- ♦ Anexo 1 e 3: diversas peças coloridas que representam proteínas reguladoras;
- ♦ Anexo 2 e 4: substratos;
- ♦ Anexo 5: **enzima** polimerase;
- ♦ Anexo 6: metabólitos específicos de regulação dos operons;

- ♦ Anexo 7: setas;
- ♦ Anexo 8: operon;
- ♦ Anexo 9: legenda;
- ♦ Anexo 10.1: cartilha introdutória sobre a bactéria *Escherichia coli* (*E. coli*)
- ♦ Anexo 10.2: descrição de seis ambientes que apresentam cenários com modificações ambientais, permitindo empregar a efetividade de eventos de expressão gênica.

Para tornar o material visualmente atrativo é recomendado usar papel color plus A4 em 10 cores diferentes, conforme escolha do professor. Os números organizados na tabela abaixo permitem a montagem de oito kits, onde os componentes de cada kit após recortados e separados, podem ser armazenados em envelopes de papel.

Operon - Unidade transcricional de genomas bacterianos, na qual genes com funções relacionadas estão agrupados sob o controle de um único promotor.

Enzima - Molécula proteica que ativa e/ou regula uma reação química no organismo - catalisadores biológicos.

Papel color plus	Quantidade de folhas	Componentes	Número do Anexo	Quantidade por Kit
Cor 1	1	Proteína reguladora ativadora	1	1
Cor 2	1	Proteína reguladora repressora	1	1
Cor 3	1	Substrato ativador	2	4
Cor 4	1	Substrato correpressor	2	4
Cor 5	1	Proteína ativadora CAP	3	2
Cor 6	1	Substrato cAMP	4	4
Cor 7	1	RNA polimerase	5	1
Cor 8	3	Metabólitos	6	1
Cor 9	4	Setas	7	1
Cor 10	8	Estrutura do operons	8	1
	4	Legenda	9	1
	1	Cartilha e Ambientes	10	1

Instruções

Para entender a tabela, ver, por exemplo, que o anexo 1, será impresso duas vezes, porém em dois papéis de cores diferentes, tornando possível a presença dos dois tipos de proteínas reguladoras: uma cor para proteína reguladora ativadora e a outra cor para proteína reguladora repressora. Seguindo esta explicação, o mesmo deve ser feito para o anexo 2, pois há substratos indutores e correpressores.

É preciso imprimir todos os anexos necessários, sendo 10 no total (coluna número do anexo), com quantidade de cópias precisas (coluna quantidade de folhas), e reconhecendo a identificação de cada peça (coluna componentes).

Após todo material ser impresso, o próximo passo é fazer o recorte das peças para a montagem de oito kits (coluna quantidade por kit). Um passo importante é identificar os componentes e as cores na legenda (Anexo 9), pois o professor deve usar as sobras dos recortes e colar, frente a cada linha, a cor escolhida por componente, permitindo a identificação correta das peças pelos estudantes.

O anexo 6 traz os metabólitos específicos (**lactose**, **glicose** e **triptofano**) que são responsáveis pelo ligar e desligar dos genes dos operons *Lac* e *Trp*. Eles servem para demonstrar a condição do ambiente (ver figura 5 e 6), porém a peça a ser manuseada na representação dos mesmos correspondem ao “substrato” (Anexo 2). Por exemplo, se há triptofano no meio, o aluno coloca o metabólito triptofano (composição química – Anexo 6) sobre a mesa, e tem que utilizar, conforme as cores da legenda, o substrato correpressor. Essa dinâmica é uma maneira do aluno compreender qual dos operons é induzível e qual é repressível.

O molde das setas (Anexo 7) tem a função de representar a situação atual do operon, se os genes estiverem sendo transcritos é utilizado a seta **sem** o “X” e se os genes estiverem silenciados, a seta a ser usada é a que possui o “X” (Ver figuras 1 a 6).

A cartilha introdutória (Anexo 10.1) traz informações sobre a bactéria *Escherichia coli*, bem como sua simbiose com a espécie humana. Na cartilha há também as orientações de como os estudantes devem proceder a dinâmica, que envolve o lançamento de um dado. Cada aluno pode lançar o dado mais de uma vez e deve participar ativamente da rodada em que os outros membros da equipe estão jogando.

Orientações para os professores

O conteúdo sobre regulação da expressão gênica em procariontes deve ser abordado previamente, conforme preferência do professor, por meio de aula expositiva ou aplicação de alguma metodologia ativa, pois o contato prévio dos estudantes com conceitos, mecanismos e nomenclaturas específicas são fundamentais para a dinâmica de trabalho com o material.

É importante que tenha sido abordado: 1. A estrutura dos genes estruturais; 2. a classificação dos operons, se positivo ou negativo, se indutível ou repressível; 3. os sítios reguladores; 4. a localização e o produto dos genes reguladores; 5. as proteínas reguladoras (ativadora e repressora); e 6. os substratos (indutores e correpressores).

Os estudantes devem ser divididos em oito equipes (ou menos) de 3 (no mínimo) a 5 integrantes, podendo variar este número conforme a quantidade de alunos matriculados na turma. Ao entregar um kit para cada equipe, o professor deve orientá-los sobre a importância da autonomia na familiarização das peças coloridas, da legenda, da estrutura do operon, da cartilha introdutória e dos ambientes propostos.

Após o lançamento do dado, o aluno deve reproduzir a situação do ambiente conforme o número obtido (ex. número 5 obtido no dado, ambiente 5 deve ser reproduzido) e usar as peças coloridas para expor a situação para os colegas, testando seus conhecimentos através da interpretação do

Lactose - Carboidrato composto presente no leite.

Glicose - Carboidrato do grupo dos monossacarídeos, a glicose é utilizada pelas células no processo de respiração celular; a principal função da glicose é fornecer energia aos organismos vivos.

Triptofano - Um tipo de aminoácido essencial.

cenário descrito e o correto funcionamento do operon.

Em cada ambiente, duas condições ambientais são propostas para que seja possível a movimentação das peças, demonstrando o “ligar e/ou desligar” dos genes estruturais, que devem se encontrar em situação diferentes no início e no fim, representando assim as modificações do meio e a influência desse meio sobre a expressão dos genes (ver respostas).

O professor pode sugerir aos estudantes que façam uso do recurso de filmagem da câmera do celular, permitindo o registro da condição ambiental, da movimentação das peças e da explicação do colega de equipe que está sendo desafiado a testar seus conhecimentos. Os vídeos produzidos podem ser compartilhados entre eles servindo como material complementar no processo de aprendizagem.

Os estudantes devem ficar atentos:

1. aos metabólitos específicos (Anexo 6) que precisam ser inseridos ou removidos da dinâmica, demonstrando as condições específicas do meio em diferentes momentos;
2. as condições específicas do meio influenciam na correta ligação da proteína reguladora aos sítios reguladores, bem como a correta associação e dissociação da enzima **RNA polimerase** ao promotor;
3. as setas com as representações corretas de genes ligados ou desligados;
4. o encaixe do substrato na proteína reguladora, levando à mudança conformacional.

Sugere-se que sejam utilizadas no mínimo 2h/aula para execução desta atividade prática que, apesar de envolver a participação ativa e estimular a autonomia dos estudantes, deve também ter a participação do professor durante a dinâmica, caminhando entre os grupos, mediando a aprendizagem e conferindo a interpretação dos dados.

Protocolo de ação

1. Dividir a turma em oito equipes.
2. Entregar um kit/envelope do material didático para cada equipe.
3. Recordar quais são os tipos possíveis de regulação dos operons da bactéria *Escherichia coli*, analisando as figuras 1, 2, 3 e 4.
4. Ler a cartilha introdutória sobre *Escherichia coli*.
5. Abrir o envelope e se familiarizar com as peças representativas dos elementos que participam da regulação gênica (proteína reguladora repressora, proteína reguladora ativadora, substrato ativador, substrato correpressor, polimerase, etc...)
6. Lançar o dado para obtenção de um número aleatório, que será utilizado para selecionar a carta ambiente (1 a 6) que constará de informações sobre as condições ambientais que deverão ser representadas.
7. Fazer a interpretação do cenário descrito na carta ambiente.
8. Construir a correta representação do operon na condição ambiental inicial.
9. Movimentar, acrescentar e/ou remover peças do material didático AmEG, demonstrando para os colegas os passos necessários para representar as novas condições do operon, conforme a mudança ambiental proposta na carta ambiente.
10. Usar o recurso de filmagem da câmera do celular, para registrar a condição do operon conforme a mudança ambiental, através da movimentação das peças e da explicação do colega de equipe que está sendo desafiado a testar seus conhecimentos.
11. Selecionar um novo participante e retornar ao passo 6 deste protocolo.

Repetir o passo 11, até que todos os estudantes da equipe participem da dinâmica.

RNA Polimerase - Enzima responsável pela síntese de RNA a partir de sequências de DNA.

Respostas e auxílio ao professor

O material didático explora, através de seis descrições ambientais, os diferentes controles de expressão gênica de um organismo procarionto, a bactéria *Escherichia coli*. Em procariontos o nível mais importante da regulação gênica é transcricional e pode ocorrer por dois tipos de controle: positivo e negativo.

Na regulação de controle positivo a proteína reguladora (Anexo 1) atua como ativadora, pois quando ligada ao DNA ativa a expressão dos genes. Na regulação de controle negativo, a proteína reguladora (Anexo 1) atua como repressora, pois quando ligada ao DNA bloqueia o acesso da RNA polimerase ao promotor e impede a **transcrição** dos genes em **RNA mensageiro**.

A expressão dos genes não depende apenas da capacidade de ligação da proteína reguladora ao promotor, mas também de substratos presentes no meio (Anexo 6). Os substratos que estimulam a expressão de genes que estão habitualmente desligados são chamados de indutores (Anexo 2), e estão envolvidos na indução da expressão gênica. Por outro lado, os substratos que desligam a expressão de genes que estão habitualmente ligados são chamados de correpressores (Anexo 2), e estão envolvidos no silenciamento gênico.

No organismo procarionte a regulação gênica pode ser classificada como: controle negativo induzível (Figura 1); controle negativo repressível (Figura 2); controle positivo induzível (Figura 3); e controle positivo repressível (Figura 4).

Transcrição - É a primeira etapa da expressão do gene. Envolve a síntese de uma molécula de RNA a partir da leitura de um gene presente no DNA.

RNA mensageiro -

Responsável pela transferência de informações do DNA até os ribossomos. Ele contém a mensagem escrita na sequência de nucleotídeos para que ocorra a montagem correta da sequência de aminoácidos da proteína.

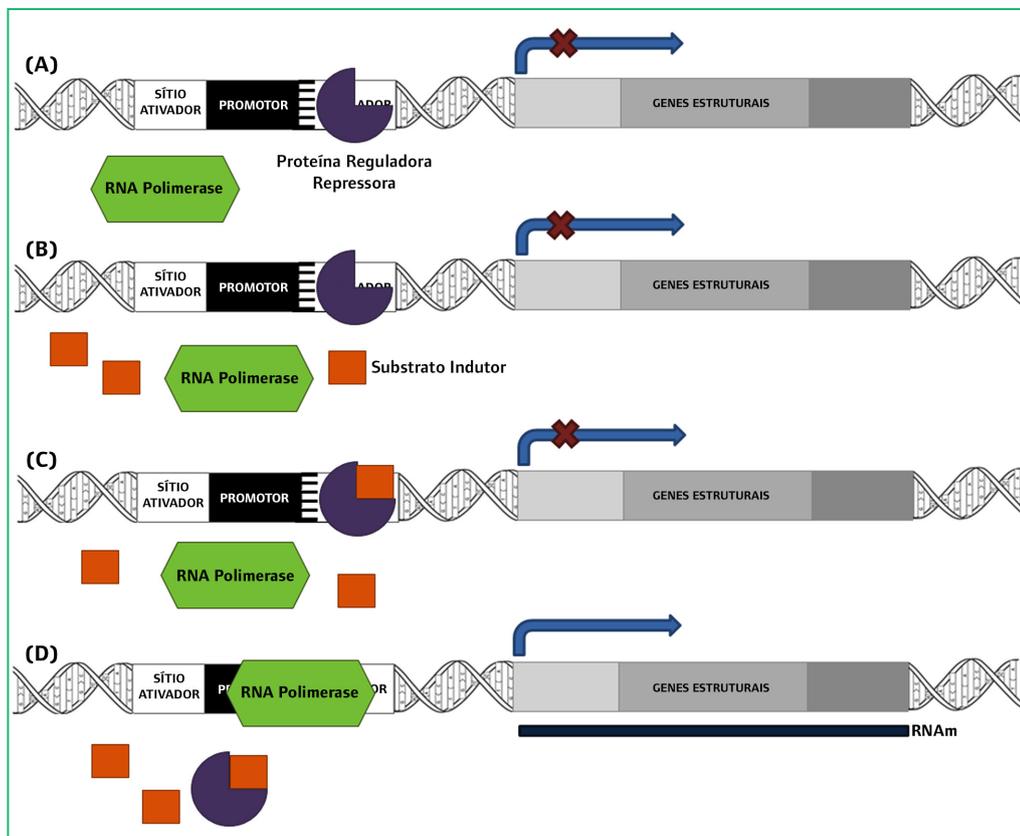
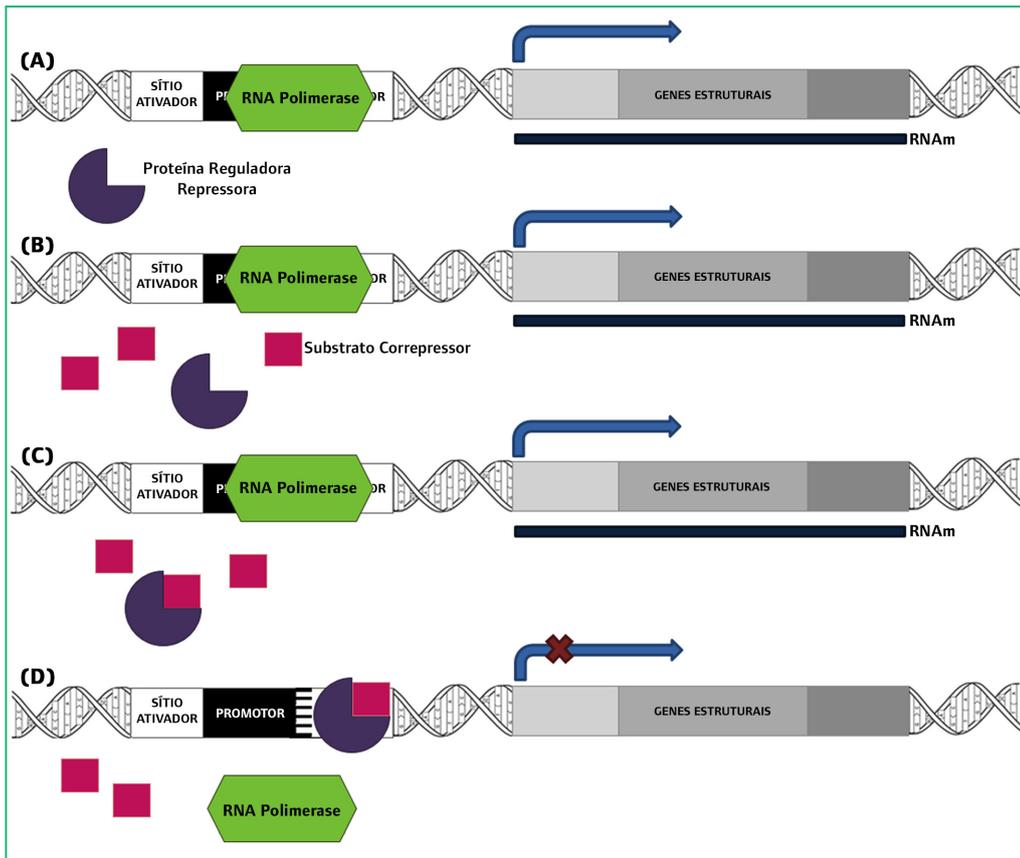
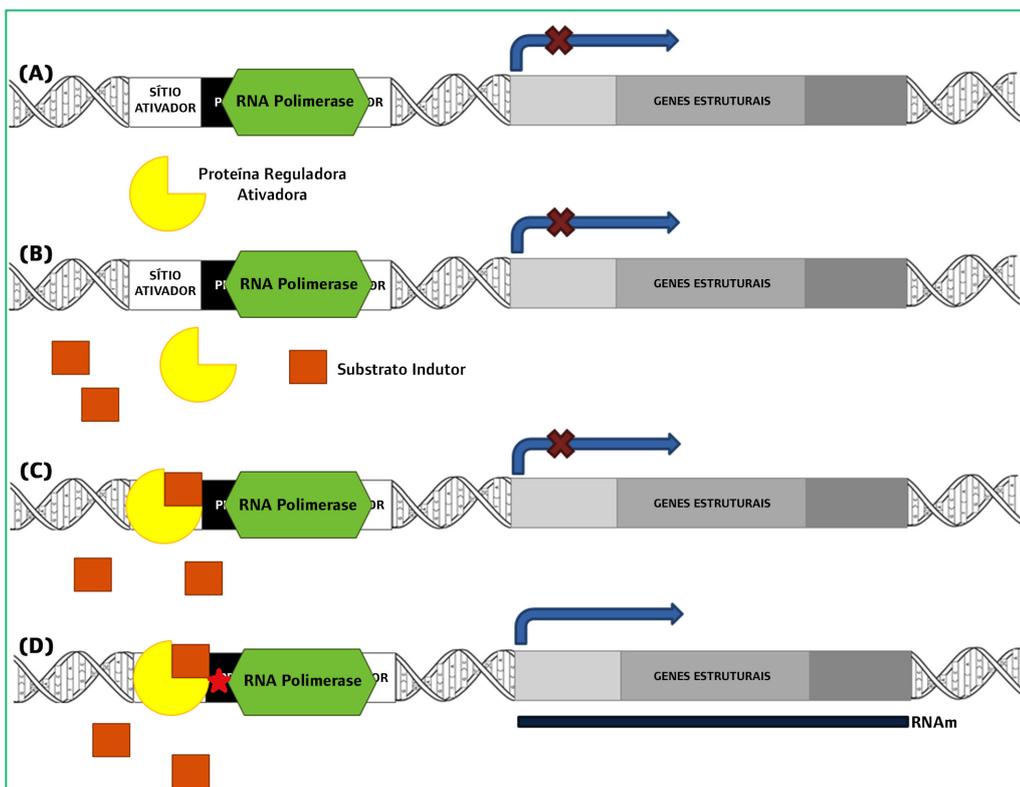


Figura 1.

A transcrição está normalmente desligada. A proteína reguladora repressora livre de seu substrato específico liga-se ao operador (A) e assim bloqueia a ligação da RNA polimerase no promotor, impedindo a transcrição. Quando um substrato indutor está presente (B), este se liga à proteína reguladora (C), a qual modifica sua estrutura e perde a capacidade de se ligar ao DNA. O operador livre permite a ligação da RNA polimerase ao promotor, iniciando a transcrição dos genes estruturais (D).

**Figura 2.**

A transcrição está normalmente ligada. A proteína reguladora repressora livre de seu substrato não tem capacidade de se ligar ao operador, o que permite a ligação da RNA polimerase no promotor e ativação da transcrição (A). Quando o substrato corressor está presente no meio (B), este se liga à proteína repressora e induz sua alteração conformacional (C). Como resultado, a proteína repressora passa a ter afinidade pelo operador, ao qual ela se liga impossibilitando o acesso da RNA polimerase no promotor, desligando a transcrição (D).

**Figura 3.**

A transcrição está normalmente desligada. A proteína reguladora ativadora livre do seu substrato não se liga ao sítio ativador (A) e consequentemente inibe a transcrição. Na presença do substrato indutor (B), a proteína reguladora ativadora tem sua conformação alterada e ganha a capacidade de ligação ao sítio regulador (C). A proteína auxilia no deslocamento da RNA polimerase pelo promotor, permitindo a transcrição dos genes estruturais (D).

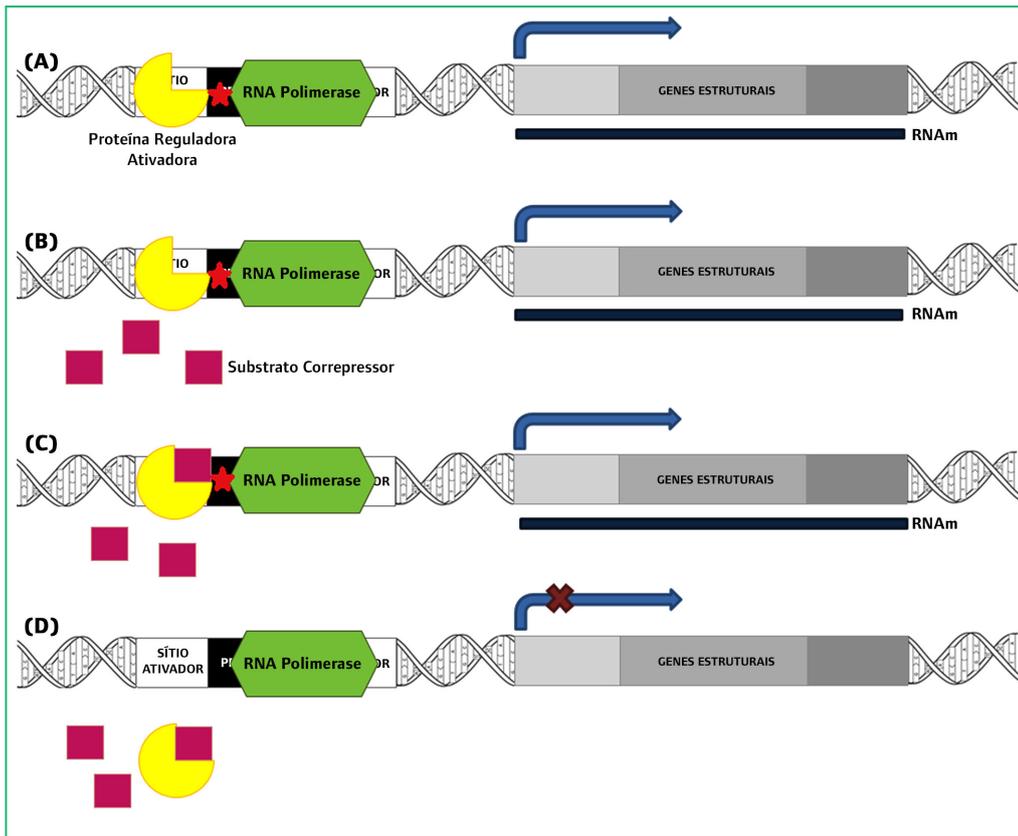


Figura 4. A transcrição está normalmente ligada. A proteína reguladora ativadora livre se liga ao sítio ativador (A) e auxilia no deslizamento da RNA polimerase e sua saída do promotor, promovendo a transcrição. Na presença do substrato correpressor no meio (B), este se liga à proteína reguladora (C), que muda sua conformação tornando-a incapaz de se ligar ao sítio ativador (D), de modo que a transcrição não é mais estimulada.

Representando o controle positivo induzível, temos no material didático o ambiente 2, que apresenta no cenário duas condições diferen-

tes. A movimentação das peças e a resposta para cada um destes cenários possuem explicação na tabela abaixo.

AMBIENTE 2		
Cenário (O que o aluno vai ler)	Condição 1 (Resposta esperada)	Condição 2 (Resposta esperada)
<p>Um operon qualquer de <i>E.coli</i> que possui controle de regulação do tipo <u>positivo induzível</u> tem a presença do substrato no meio representado no gráfico. Como se encontra a expressão dos genes no tempo de 15 min e de 1 h?</p>	<p>15 minutos = Substrato induzível ausente.</p> <p>Na ausência do substrato indutor, a proteína reguladora repressora não possui afinidade pelo sítio ativador e não estimula a transcrição.</p> <p>Genes do operon encontram-se desligados.</p>	<p>1 hora = Substrato induzível presente em abundância.</p> <p>Na presença do substrato indutor, este se associa com a proteína reguladora repressora, muda sua conformação e então o complexo passa a ter afinidade pelo sítio ativador, auxiliando no deslizamento da RNA polimerase pelo operon e estimula a transcrição.</p> <p>Genes do operon encontram-se ligados.</p>

Movimentação das peças: - Controle Positivo induzível (Ver Figura 3).

Representando o controle positivo e negativo repressível, temos no material didático o ambiente 3, que apresenta no cenário duas

condições diferentes. A movimentação das peças e a resposta para cada um destes cenários possuem explicação na tabela abaixo.

AMBIENTE 3		
Cenário (O que o aluno vai ler)	Condição 1 (Resposta esperada)	Condição 2 (Resposta esperada)
<p>Pesquisadores buscando compreender melhor o funcionamento das vias metabólicas que influenciam na respiração da bactéria <i>E.coli</i> em condição anaeróbica, descobriram a atuação de enzimas de dois operons, ambos de regulação repressível, porém o operon I possui <u>controle negativo</u> e, o operon II, <u>controle positivo</u>.</p> <p>Represente o controle genético dos operons I e II em condições normais e com a presença do substrato evidenciando as diferenças e semelhanças entre eles.</p>	<p>Operon I</p> <p>A transcrição está normalmente ligada. A proteína reguladora atua como repressora e, na ausência do substrato repressor, não possui afinidade com o DNA (sítio operador), possibilitando a ligação da RNA polimerase ao promotor.</p> <p>O substrato repressor presente no meio auxilia na ligação da proteína ao DNA, impedindo a ligação da RNA polimerase ao promotor, desligando a expressão dos genes.</p>	<p>Operon II</p> <p>Semelhança com o operon I: a transcrição está normalmente ligada.</p> <p>Diferença com o operon I: a proteína reguladora atua como ativadora e precisa estar ligada ao DNA (sítio ativador) para que os genes sejam expressos.</p> <p>Semelhança com o operon I: o substrato presente no meio silencia a expressão dos genes.</p> <p>Diferença com o operon I: o substrato repressor auxilia na separação da proteína reguladora do DNA e não estimula o deslizamento da RNA polimerase pelo operon, silenciando a expressão dos genes.</p>

Movimentação das peças: - Controle negativo repressível (Ver Figura 2).

- Controle positivo repressível (Ver Figura 4).

Entre os principais sistemas de operon bacteriano, o Operon *Lac* refere-se ao controle genético do **metabolismo** da lactose em *E. coli*. Considerado um operon negativo induzível, os genes estruturais estão geralmente desligados, devido à associação da proteína reguladora repressora ao operador. Quando no meio há presença de lactose e ausência de glicose, a expressão dos genes aumenta cerca de mil vezes.

A transcrição eficiente do Operon *Lac* ocorre apenas se houver lactose e se a glicose estiver ausente (Figura 5). Por ser um monossacarídeo e não precisar ser previamente hidrolisada, a glicose é a fonte de energia primária de muitas bactérias que, quando está presente no meio, reprime a expressão de genes que participam do metabolismo de outros açúcares.

A repressão catabólica é um segundo controle do operon *Lac*, que surge em resposta à presença de glicose através de um controle

positivo, sendo obtido por meio da ligação de uma proteína reguladora chamada proteína catabólica ativadora (CAP) (Anexo 3) ao sítio ativador do DNA, aumentando a eficiência de ligação da RNA polimerase aos promotores. O regulador CAP só consegue se ligar ao sítio ativador ao formar um complexo com uma molécula sinalizadora - um nucleotídeo modificado adenosina-3',5'-monofosfato cíclico (AMP cíclico ou cAMP) (Anexo 4), que tem sua concentração regulada de maneira inversa proporcional ao nível de glicose disponível no meio.

O operon *Lac* possui três genes estruturais: *lacZ*, *lacY*, e *lacA*. Esses genes são transcritos como um único RNAm, regulados sob o controle de um único promotor e traduzidos para proteínas específicas que ajudam a célula a utilizar a lactose. A enzima β -galactosidase, codificada pelo gene *lacZ*, possui duas funções importantes: converte lactose em alolactose e também quebra a lactose em glicose e galactose. A enzima permease, pro-

Metabolismo - Conjunto de transformações que as substâncias químicas sofrem no interior dos organismos vivos.

duto do gene *LacY*, é necessária para que seja possível o transporte da lactose para dentro da célula. E ainda, uma terceira enzima, tio-

galactosídeo transacetilase, produto do gene *LacA*, não possui uma função clara no metabolismo da lactose.

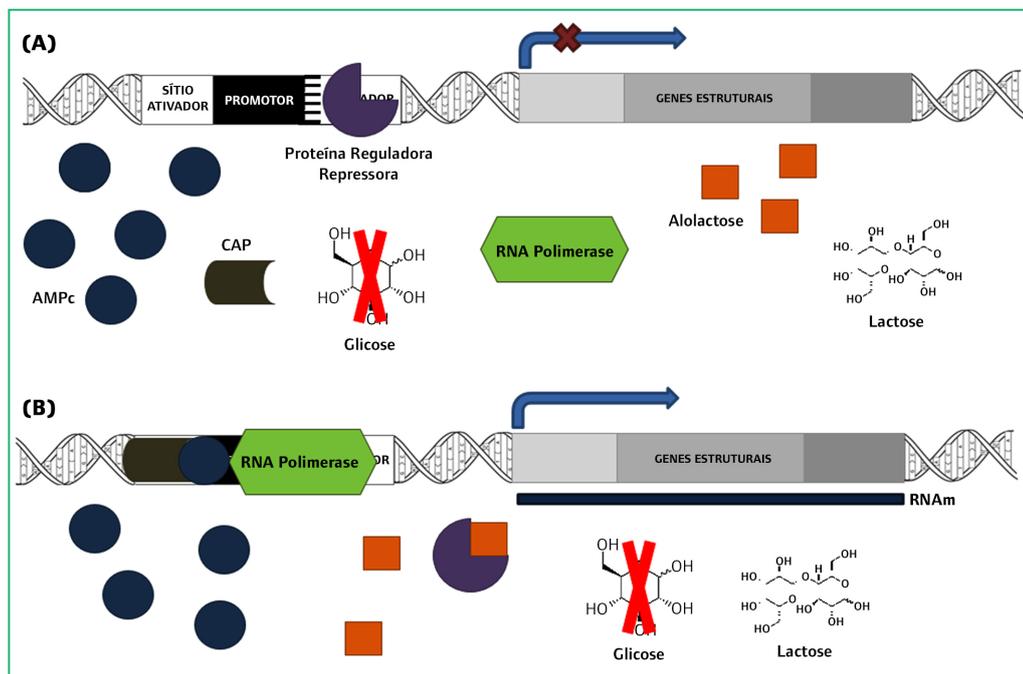


Figura 5. Em (A) é possível visualizar como o gene está inicialmente organizado quanto à sua expressão - desligado e a representação dos substratos, lactose, alolactose e glicose, necessários para ativar o operon. Em (B) temos a representação da associação/dissociação das proteínas reguladoras e da ligação da RNA polimerase ao DNA, levando a nova organização do gene quanto a sua expressão - ligado. Fonte: As autoras (2021).

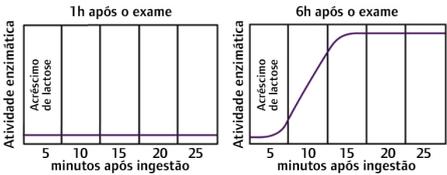
No material didático, representando o controle negativo/positivo induzível, temos os ambientes que envolvem o operon *Lac* e

estão representados pelos números 1 e 6. O que deve ser esperado do aluno em cada um dos cenários, encontra-se organizado abaixo.

AMBIENTE 1		
Cenário (O que o aluno vai ler)	Condição 1 (Resposta esperada)	Condição 2 (Resposta esperada)
<p>Na rotina nutricional de uma pessoa, às 6:00 h (a.m) a glicose está sendo usada como principal fonte energética e não há no meio nenhum outro carboidrato. Após uma série intensa de atividade física e alto gasto energético, a primeira refeição do dia, feita às 9:30 h (a.m.), contou com o consumo de produtos ricos em lactose.</p> <p>Pensando na obtenção de energia das bactérias <i>E.coli</i> presentes no intestino desta pessoa, demonstre a expressão dos genes do operon <i>Lac</i> às 7 h da manhã e às 11 h da manhã.</p>	<p>7:00 h da manhã = Presença de glicose e ausência de lactose.</p> <p>Sítio ativador sem ligação do complexo CAP-cAMP, pois na presença de glicose há baixo cAMP na célula e o complexo com a proteína reguladora CAP não é formando.</p> <p>Proteína reguladora repressora <i>Lac I</i> ligada ao sítio operador, impedindo o acesso da RNA polimerase. Ausência de substrato indutor no meio (lactose).</p> <p>Genes do operon <i>Lac</i> desligados.</p>	<p>11:00 h da manhã = Ausência de glicose e presença de lactose.</p> <p>Sem glicose a quantidade de cAMP aumenta e forma o complexo CAP-cAMP, capaz de se ligar ao sítio ativador, auxiliará no deslizamento da RNA polimerase pelo operon.</p> <p>O substrato indutor presente no meio se liga à proteína reguladora repressora, que perde a afinidade com o operador. Operador livre permite a ligação da RNA polimerase ao promotor.</p> <p>Genes do operon <i>Lac</i> ligados.</p>

Movimentação das peças: - Controle da glicose (CAP-cAMP) = Positivo induzível (Ver Figura 3).
 - Controle da lactose = Negativo induzível (Ver Figura 1).
 - Funcionamento do operon *Lac* = Positivo/Negativo Induzível (Figura 5).

AMBIENTE 6

Cenário (O que o aluno vai ler)	Condição 1 (Resposta esperada)	Condição 2 (Resposta esperada)
<p>Ao ingerir glicose para um exame de curva glicêmica, e se alimentar com produtos ricos em lactose 1 h e 6 h após a análise laboratorial, a atividade das enzimas que participam do metabolismo de lactose variaram e estão representadas nos gráficos. Demonstre a situação da regulação do operon <i>Lac</i> nos dois momentos de acréscimo da lactose.</p> 	<p>Acréscimo 1 h após o exame.</p> <p>A presença do substrato indutor lactose no meio se liga à proteína reguladora repressora <i>Lac I</i> e esta se desliga do operador permitindo a ligação da RNA polimerase ao promotor. Porém, na presença de glicose há baixo cAMP na célula e o complexo com a proteína reguladora CAP não é formado e o sítio ativador permanece vazio, não havendo estímulo do deslizamento da polimerase pelo operon.</p> <p>Genes do operon <i>Lac</i> desligados.</p>	<p>Acréscimo 6 h após o exame.</p> <p>A situação da proteína reguladora repressora <i>Lac I</i> em associação com a lactose permanece a mesma.</p> <p>O que muda é que na ausência de glicose há um aumento de cAMP na célula e o complexo com a proteína reguladora CAP é formado, permitindo a ligação ao sítio ativador e favorecendo o deslizamento da polimerase pelo operon.</p> <p>Genes do operon <i>Lac</i> ligados.</p>

Movimentação das peças: - Controle da glicose (CAP-cAMP) = Positivo induzível (Ver Figura 3).
 - Controle da lactose = Negativo induzível (Ver Figura 1).
 - Funcionamento do operon *Lac* = Positivo/Negativo Induzível (Figura 5).

Repressão catabólica: por mais que tenha lactose no meio, a glicose será consumida primeiro, como fonte preferencial de energia.

Outro operon bacteriano bem estudado e descrito é o Operon *Trp*, que possui controle negativo repressível e é responsável pela conversão do **corismato** em triptofano. A presença do aminoácido triptofano nas células é importante, pois compõe parte das moléculas proteicas tão fundamentais à vida. A proteína reguladora do Operon *Trp* atua como repressora e apenas consegue se ligar ao operador quando há presença de triptofano extra no meio. A presença de triptofano

leva a uma mudança conformacional na proteína repressora, tornando-a capaz de se ligar ao operador que, ocupado, impede a ligação da RNA polimerase ao promotor e desliga a transcrição dos genes estruturais (Figura 6). Quando os níveis celulares de triptofano estão baixos, a proteína reguladora repressora se desliga do operador, liberando o promotor, quando então a RNA polimerase se liga e inicia a transcrição dos genes estruturais, sintetizando, assim, mais triptofano.

Corismato - Principal precursor bacteriano para a biossíntese de aminoácidos aromáticos essenciais, como o triptofano.

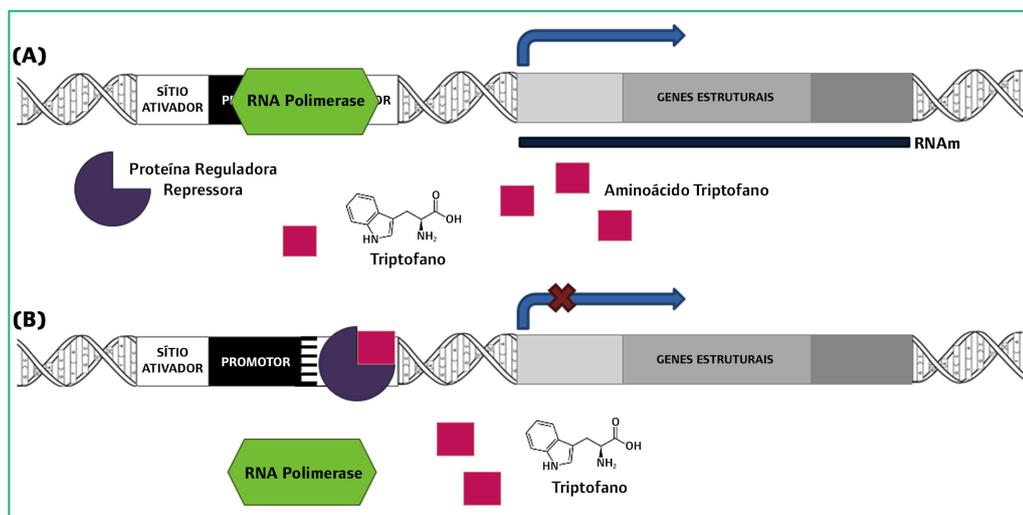


Figura 6. Em (A) é possível visualizar como o gene está inicialmente organizado quanto a sua expressão – ligado e os substratos triptofano presentes no meio necessários para reprimir o operon. Em (B) temos a representação da associação da proteína reguladora e da dissociação da RNA polimerase do DNA, levando à nova organização do gene quanto à sua expressão – desligado. Fonte: As autoras (2021).

Para converter o corismato em triptofano, o operon *Trp* possui cinco genes estruturais (*trpE*, *trpD*, *trpC*, *trpB* e *trpA*) que codificam para três enzimas distintas, sendo que duas das enzimas são compostas por dupla cadeia polipeptídica. O primeiro gene estrutural, *trpE*, tem uma região 5' não traduzida (5' UTR) longa que é transcrita, mas não codifica para nenhuma dessas enzimas, apenas

participa de outro mecanismo regulatório do operon *Trp*, que consiste no término prematuro da transcrição e é conhecido como atenuação.

No material didático, apenas o ambiente 4 envolve a ação do operon *Trp*; as condições esperadas no cenário proposto encontram-se organizadas na tabela abaixo.

AMBIENTE 4		
Cenário (O que o aluno vai ler)	Condição 1 (Resposta esperada)	Condição 2 (Resposta esperada)
A <i>E. coli</i> é capaz de sintetizar todos os vinte aminoácidos de maneira natural para a síntese proteica. Na espécie humana o triptofano é um aminoácido essencial e deve ser adquirido pela alimentação. Uma amostra de intestino retirado de dois pacientes mostrou que o paciente "A" apresentava uma alimentação rica em alimentos que continham triptofano, enquanto que no paciente "B" não foram encontrados sinais deste aminoácido. Como encontra-se e expressão do operon <i>Trp</i> das bactérias intestinais que residem nos paciente "A" e "B", considerando a eficiência energética do microrganismo?	Paciente A: favorece a presença de triptofano no meio e a <i>E. coli</i> não precisa gastar energia, mantendo o operon <i>Trp</i> ligado. Quando o substrato correpressor triptofano está presente no meio, ele liga-se à proteína repressora e induz a alteração conformacional. A proteína repressora se liga ao operador e impede a ligação da RNA polimerase no promotor. Genes do operon <i>Trp</i> desligados.	Paciente B: não dispõe de triptofano no meio e a <i>E. coli</i> mantendo o operon <i>Trp</i> ligado. Na ausência do substrato correpressor triptofano no meio, a proteína repressora não se liga ao sítio operador e favorece a ligação da RNA polimerase ao promotor. Genes do operon <i>Trp</i> ligados.

Movimentação das peças: - Controle do operon triptofano = Negativo repressível (Ver Figura 2)
- Funcionamento do operon *Trp* = Ver Figura 6.

Professor, observe que nos kits que serão entregues aos alunos, haverá apenas as descrições sobre o cenário. As condições 1 e 2 apresentadas são informações referentes às respostas. O gabarito de resposta pode ser usado conforme sua preferência, e aqui sugerimos três maneiras: 1. para si próprio, optando por auxiliar presencialmente os estudantes, estimulando para o pensamento correto e a participação ativa de todos os membros da equipe. 2. pós aula, optando por passar o gabarito para

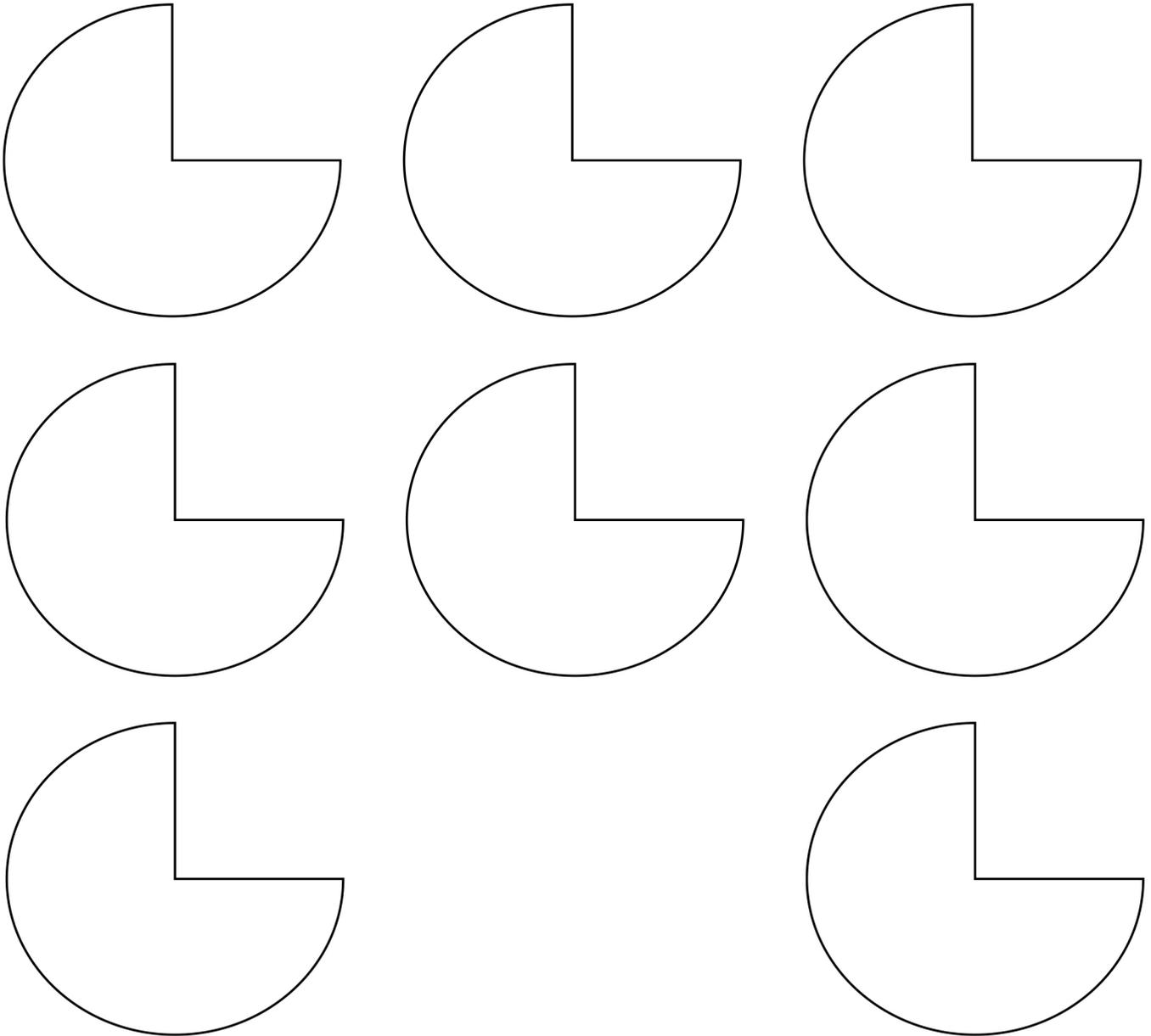
as equipes após a dinâmica, para que elas confirmem através da gravação dos vídeos, seus erros e acertos, e descobrindo a correta proposta do ambiente; 3. anexo extra ao kit, optando por entregar o gabarito de respostas concomitantemente à aplicação da dinâmica, permitindo que os colegas da equipe que estão aguardando sua jogada, possam auxiliar o estudante que está sendo desafiado.

Bom trabalho!

ANEXO 1

Molde para proteína reguladora.

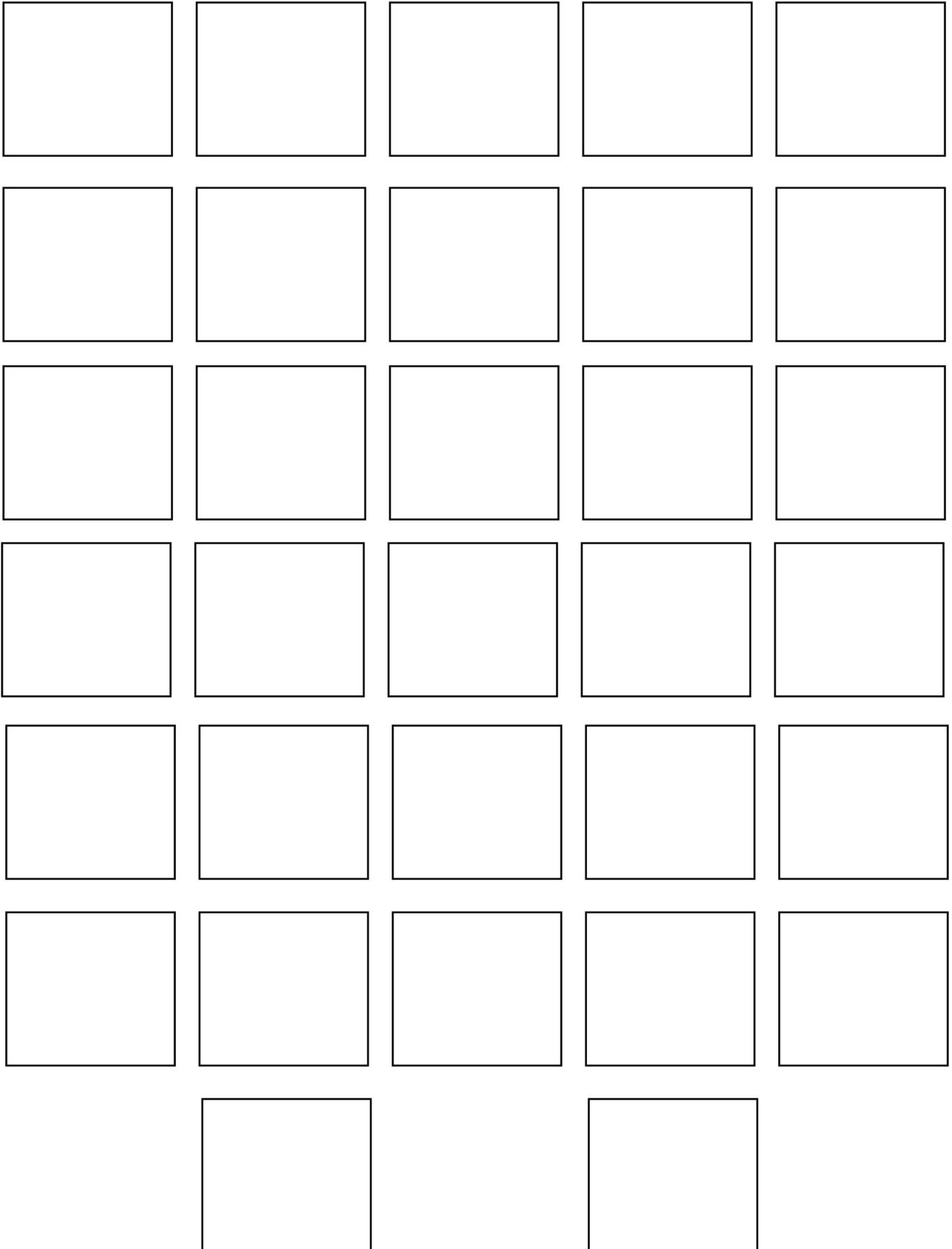
Duas impressões, uma em cada cor de papel A4, onde: Cor 1 à proteína reguladora ativadora e Cor 2 à proteína reguladora repressora.



ANEXO 2

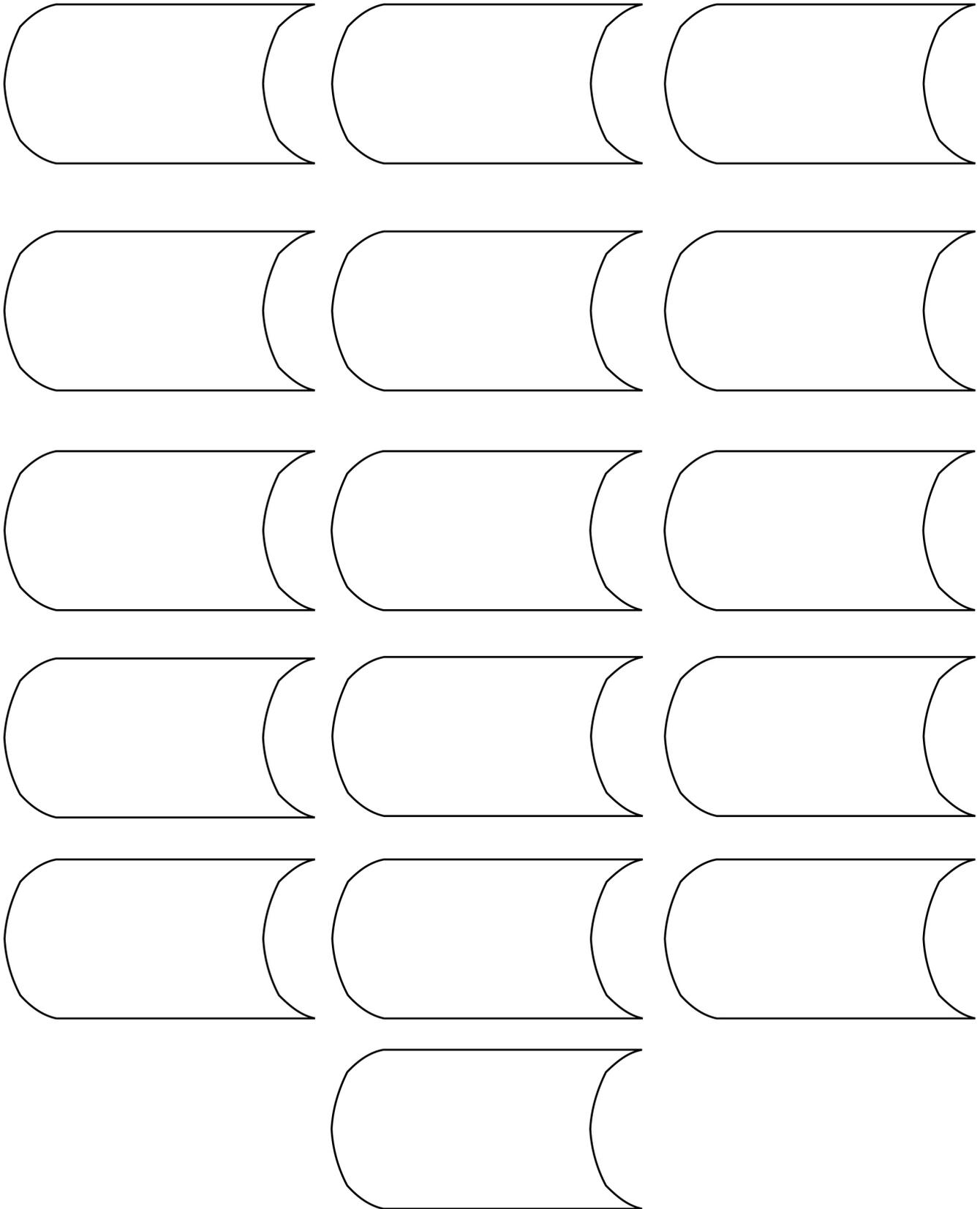
Molde para substrato.

Duas impressões, uma em cada cor de papel A4, onde: Cor 1 ao substrato ativador e Cor 2 ao substrato correpressor.



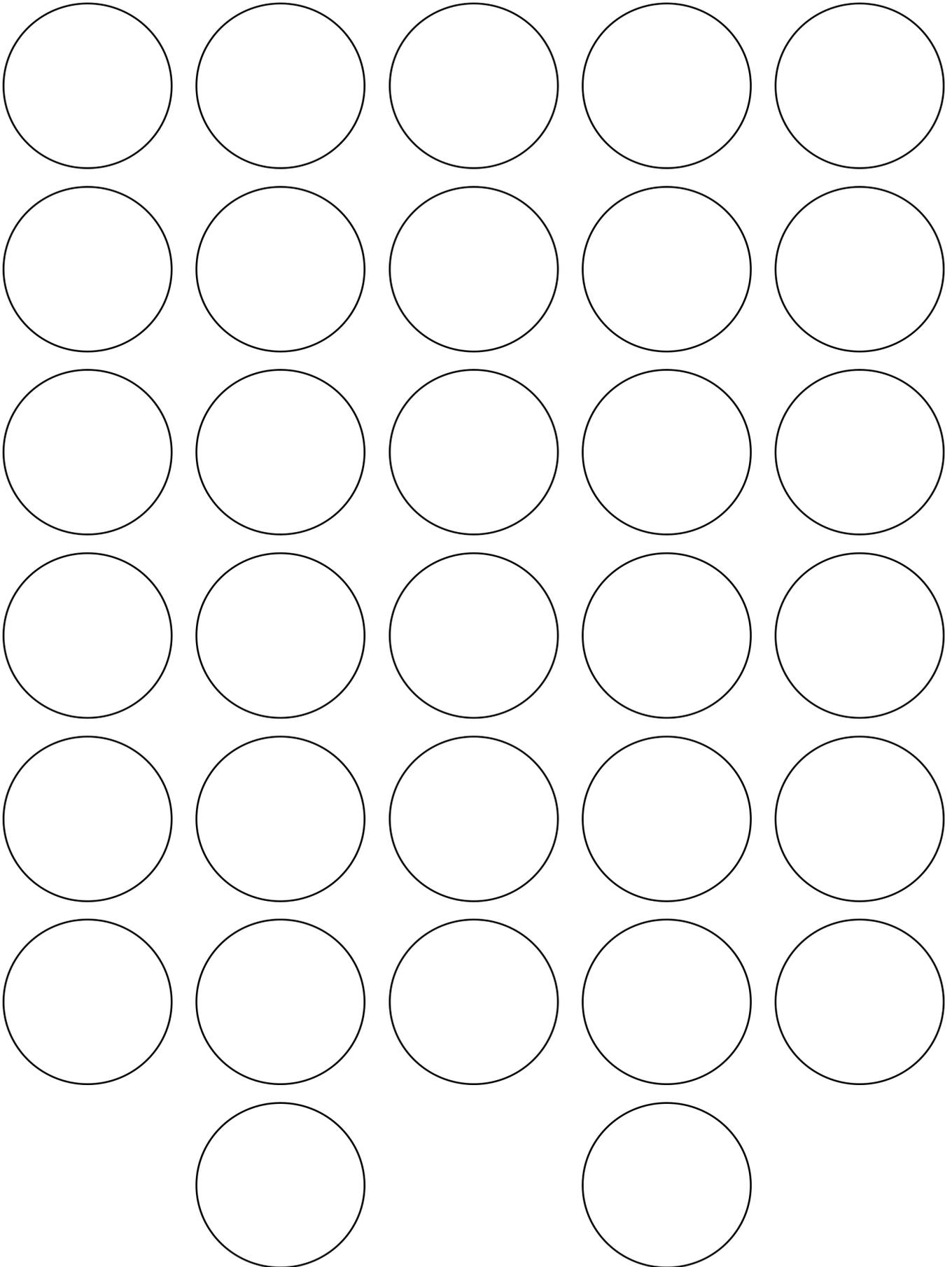
ANEXO 3

Molde para proteína catabólica ativadora (CAP).



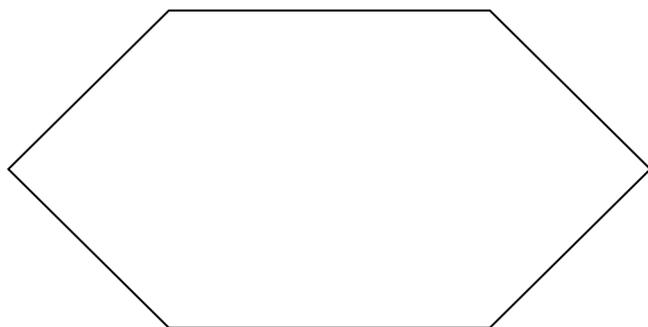
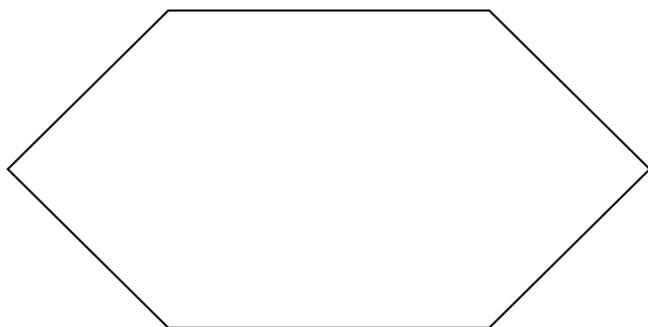
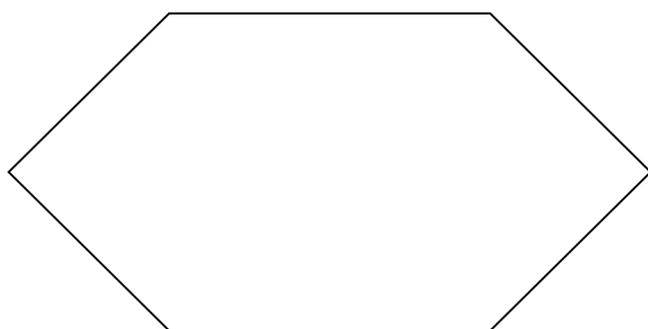
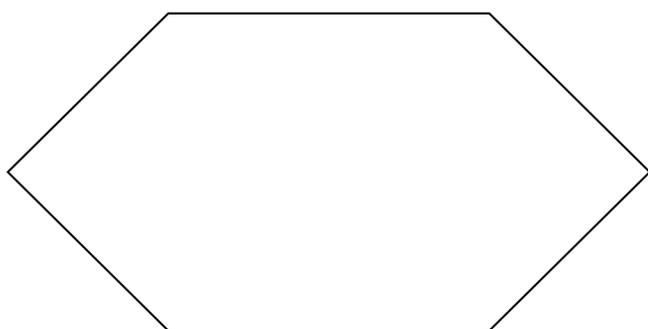
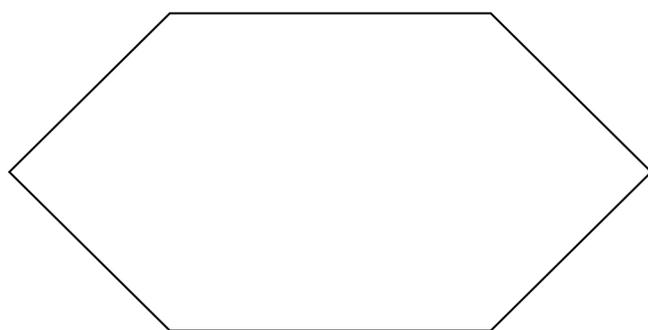
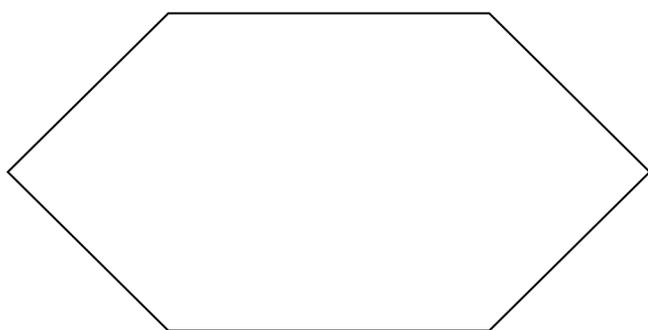
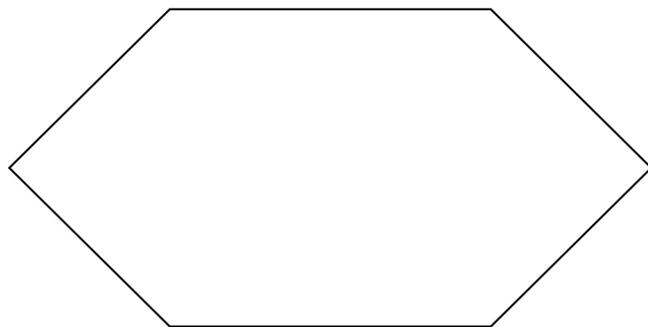
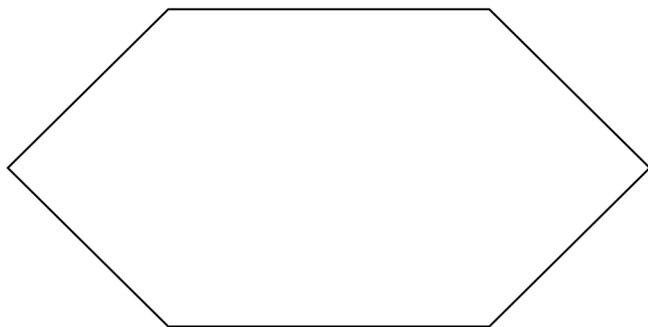
ANEXO 4

Molde para monofosfato de adenosina-3' 5'-cíclico ao AMP cíclico ou cAMP.



ANEXO 5

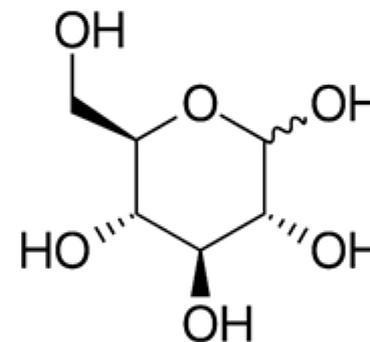
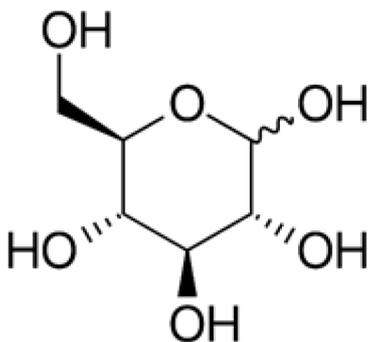
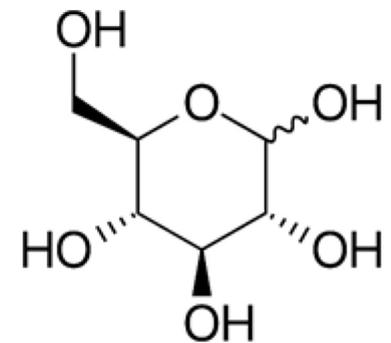
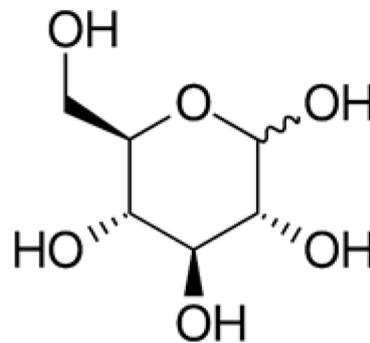
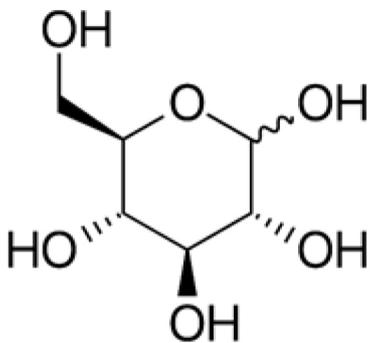
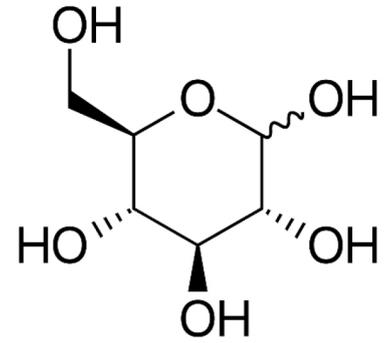
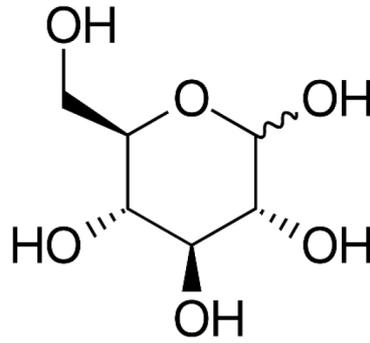
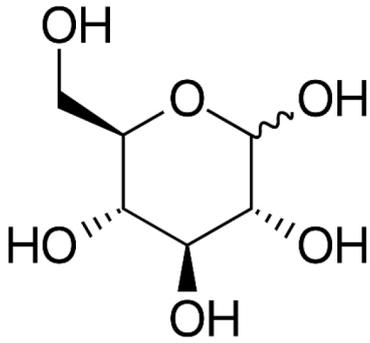
Molde para RNA polimerase.



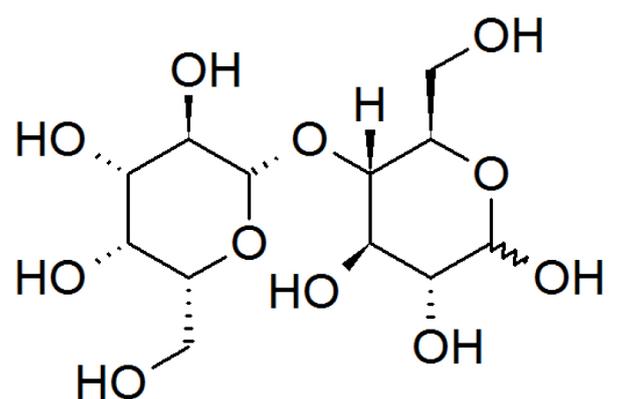
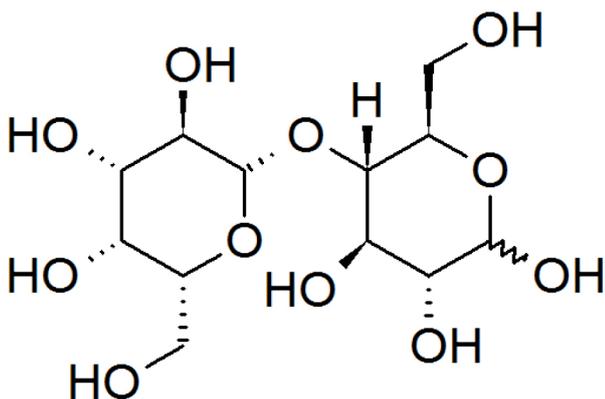
ANEXO 6

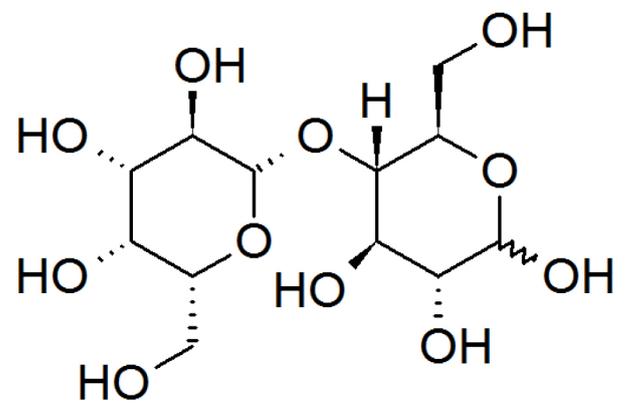
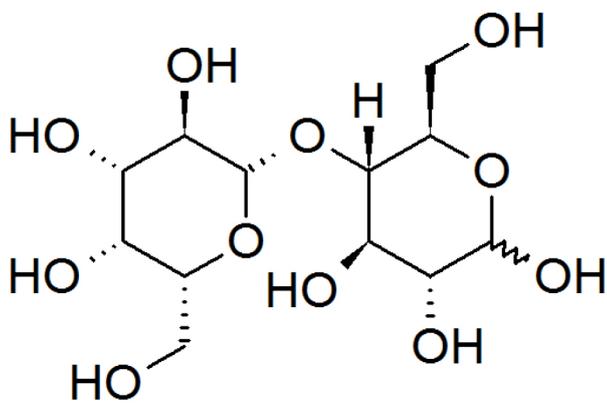
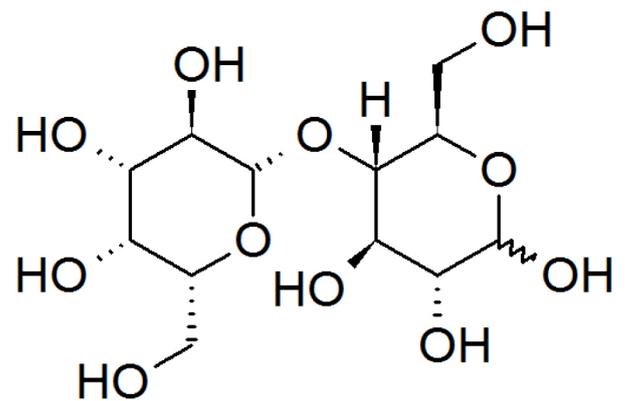
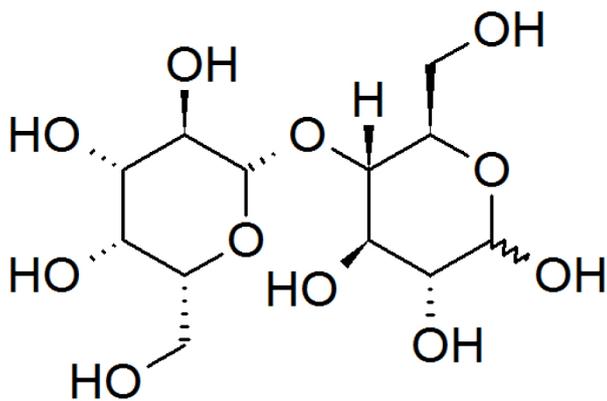
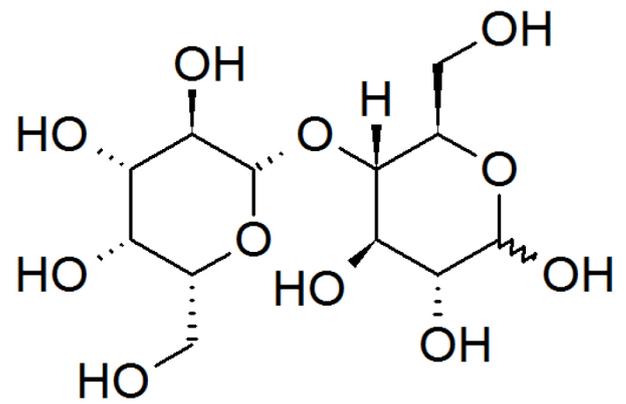
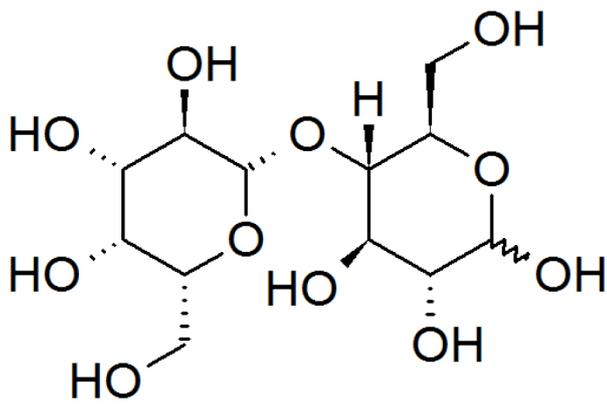
Molde para catabólitos.

6.1 Molde para Glicose

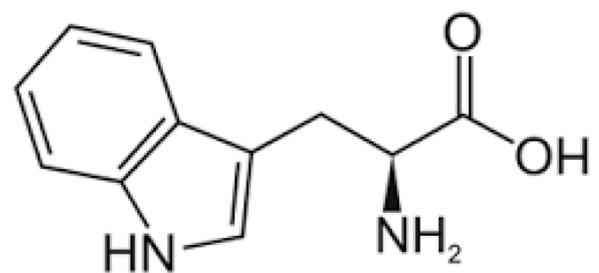
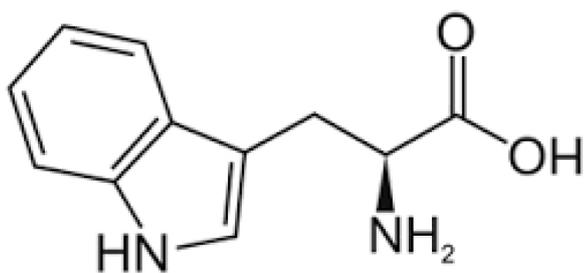


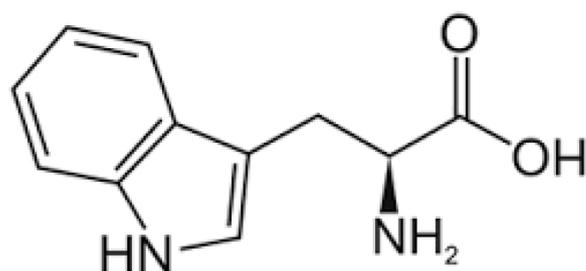
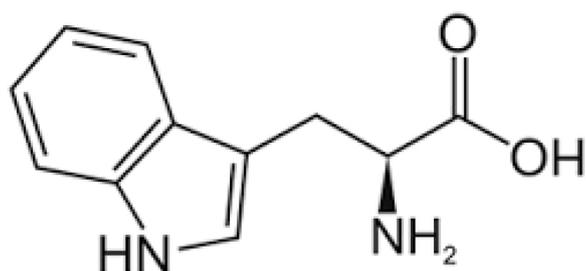
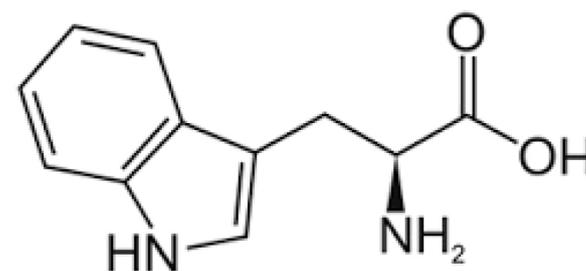
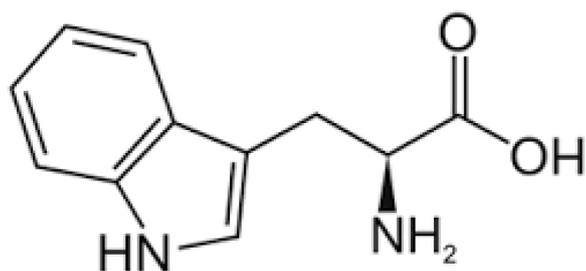
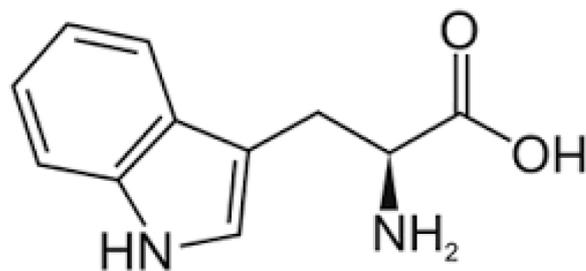
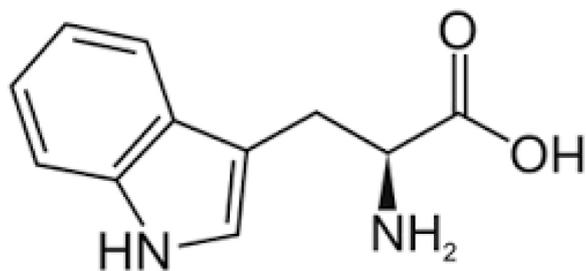
6.2 Modelo para Lactose





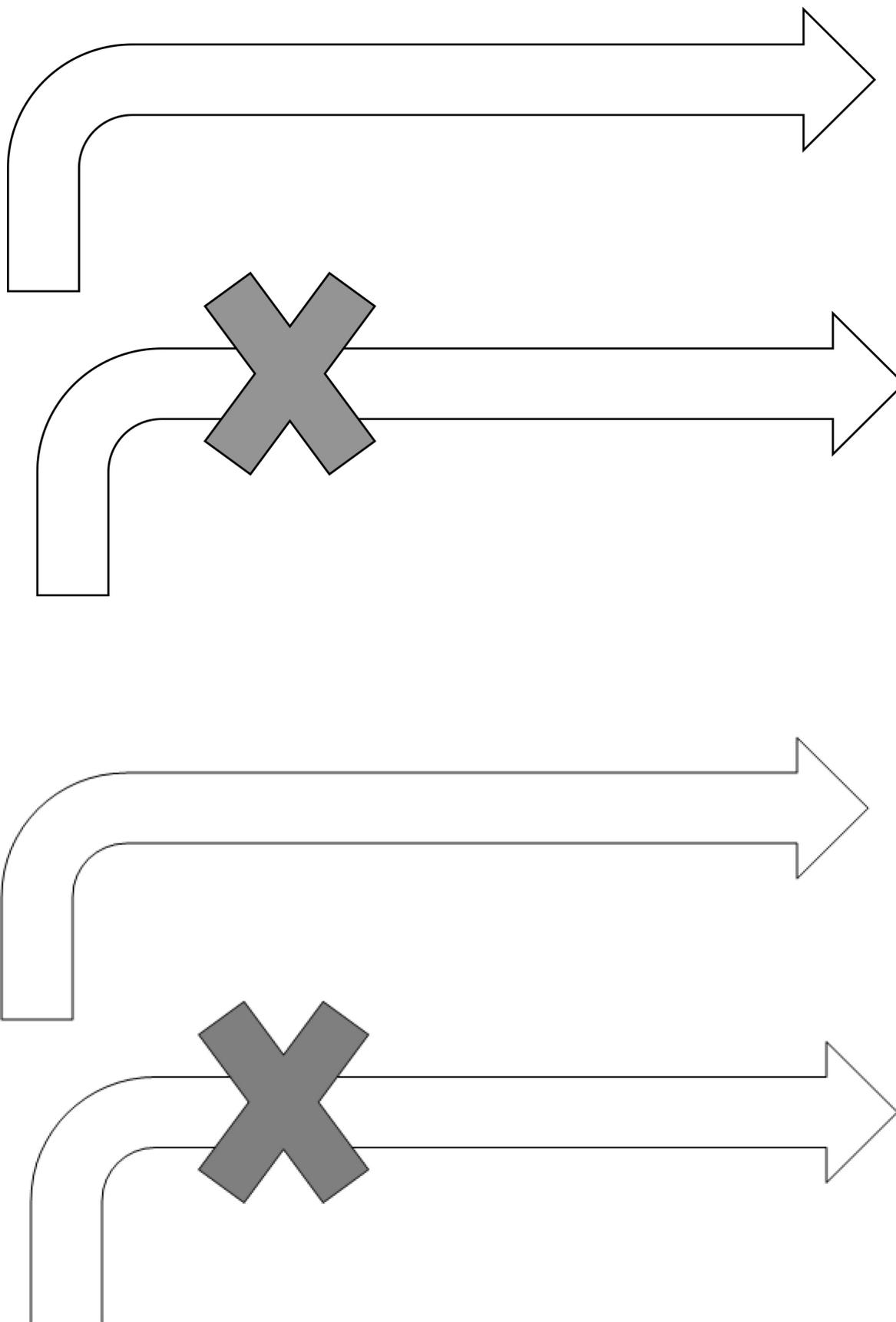
6.3 Modelo para Triptofano





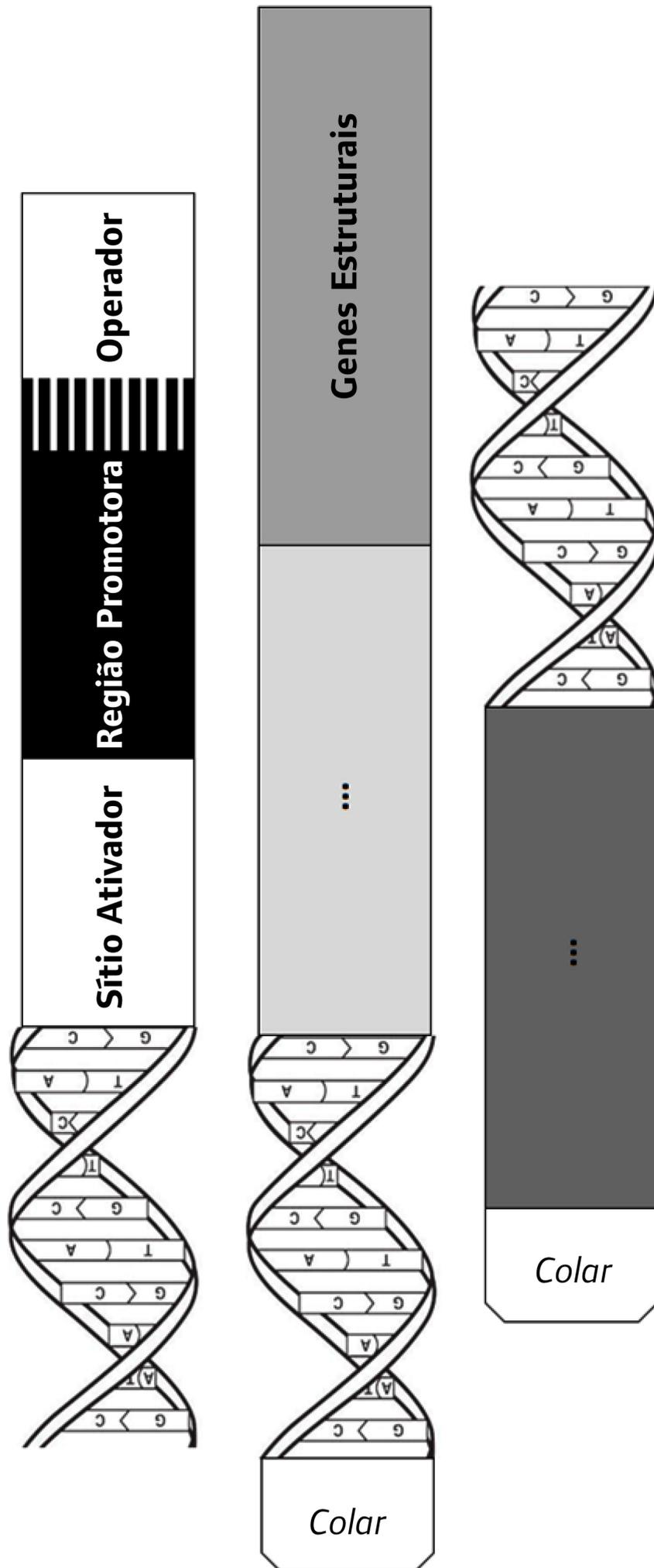
ANEXO 7

Modelo para as setas.



ANEXO 8

Molde para operon.



ANEXO 9

Molde das legendas.

Aqui, monta-se a legenda conforme as cores de papel escolhido pelo professor. Com as sobras dos recortes, identificar as cores com seus respectivos componentes do material.

LEGENDA		LEGENDA	
	Proteína Reguladora Ativadora		Proteína Reguladora Ativadora
	Proteína Reguladora Repressora		Proteína Reguladora Repressora
	Substrato indutor		Substrato indutor
	Substrato correpressor		Substrato correpressor
	CAP – proteína reguladora		CAP – proteína reguladora
	cAMP – molécula sinalizadora		cAMP – molécula sinalizadora
	RNA polimerase		RNA polimerase

LEGENDA		LEGENDA	
	Proteína Reguladora Ativadora		Proteína Reguladora Ativadora
	Proteína Reguladora Repressora		Proteína Reguladora Repressora
	Substrato indutor		Substrato indutor
	Substrato correpressor		Substrato correpressor
	CAP – proteína reguladora		CAP – proteína reguladora
	cAMP – molécula sinalizadora		cAMP – molécula sinalizadora
	RNA polimerase		RNA polimerase

LEGENDA		LEGENDA	
	Proteína Reguladora Ativadora		Proteína Reguladora Ativadora
	Proteína Reguladora Repressora		Proteína Reguladora Repressora
	Substrato indutor		Substrato indutor
	Substrato correpressor		Substrato correpressor
	CAP – proteína reguladora		CAP – proteína reguladora
	cAMP – molécula sinalizadora		cAMP – molécula sinalizadora
	RNA polimerase		RNA polimerase

LEGENDA		LEGENDA	
	Proteína Reguladora Ativadora		Proteína Reguladora Ativadora
	Proteína Reguladora Repressora		Proteína Reguladora Repressora
	Substrato indutor		Substrato indutor
	Substrato correpressor		Substrato correpressor
	CAP – proteína reguladora		CAP – proteína reguladora
	cAMP – molécula sinalizadora		cAMP – molécula sinalizadora
	RNA polimerase		RNA polimerase

ANEXO 10

10.1 Cartilha introdutória

Cartilha Introdutória: Entrando no universo do lúdico...



A *Escherichia coli* é uma bactéria que vive em plena harmonia com os humanos e essa convivência pacífica é conhecida como simbiose (ambos os organismos saem beneficiados). Em nosso corpo, o habitat natural destas bactérias é o intestino grosso e para sua sobrevivência são nossos hábitos alimentares que determinam os nutrientes que estarão disponíveis no meio. A adaptação de *E. coli* às mudanças ambientais deve-se à alta capacidade de alterarem rapidamente sua bioquímica. Apesar de possuírem informações genéticas para sintetizar diversas proteínas, apenas os genes responsáveis pela síntese das proteínas necessárias para aquele momento serão expressos. Sairia energeticamente muito caro manter todo o genoma ativo. Os genes bacterianos são organizados em operons, transcritos em um único RNA mensageiro e regulados por um único promotor. As sequências reguladoras atuam como sítios de ligação de proteínas reguladoras, podendo promover ou inibir a transcrição, conforme o substrato presente no meio. Jogue o dado e busque pela carta ambiente com o número sorteado no dado. Você está sendo desafiado a representar as duas condições do meio propostas na sua carta ambiente. Divirta-se, aprenda e boa sorte.



10.2 Ambientes

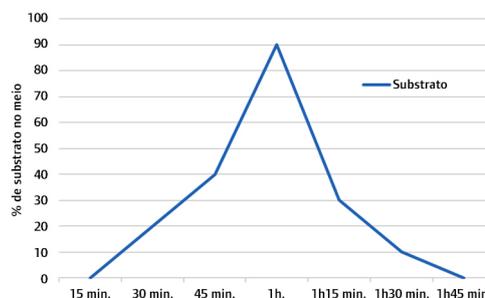
AMBIENTE 1

Na rotina nutricional de uma pessoa, às 6:00 h (a.m.) a glicose está sendo usada como principal fonte energética e não há no meio nenhum outro carboidrato. Após uma série intensa de atividade física e alto gasto energético, a primeira refeição do dia, feita às 9:30 h (a.m.), contou com o consumo de produtos ricos em lactose.

Pensando na obtenção de energia das bactérias *E.coli* presentes no intestino desta pessoa, demonstre a expressão dos genes do operon *Lac* às 7 h da manhã e às 11 h da manhã.

AMBIENTE 2

Um operon qualquer de *E.coli*, que possui controle de regulação do tipo positivo induzível, tem a presença do substrato no meio representado no gráfico. Como se encontra a expressão dos genes no tempo de 15 min e 1 h?



AMBIENTE 3

Pesquisadores, buscando compreender melhor o funcionamento das vias metabólicas que influenciam na respiração da bactéria *E.coli* em condições aeróbias, descobriram a atuação de enzimas de dois operons, ambos de regulação repressível, porém o operon I possui controle negativo e o operon II controle positivo.

Represente o controle genético dos operons I e II em condições normais e com a presença do substrato, focando nas diferenças e semelhanças entre eles.

AMBIENTE 4

A síntese de proteínas requer uma grande quantidade de aminoácidos e a *E. coli* consegue sintetizar todos os vinte aminoácidos de maneira natural. Para a espécie humana o triptofano é um aminoácido essencial e deve ser adquirido pela alimentação. Uma amostra de intestino retirado de dois pacientes mostrou que o paciente "A" apresentava uma alimentação rica em alimentos que continham triptofano, enquanto no paciente "B" não foram encontrados sinais deste aminoácido. Como encontra-se e expressão do operon *Trp* das bactérias intestinais que residem nos paciente "A" e "B", considerando a eficiência energética do microrganismo?

AMBIENTE 5

Um operon que possui controle de regulação do tipo positivo repressível é capaz de mudar a expressão conforme a disponibilidade e quantidade de um substrato específico presente no meio. Este substrato quando em abundância é capaz de interagir com a proteína reguladora alterando todo comportamento gênico e a síntese enzimática da via metabólica. Demonstre a condição inicial e final desde operon, tendo como intermédio a presença do substrato específico em abundância no meio.

AMBIENTE 6

Ao ingerir glicose para um exame de curva glicêmica, e se alimentar com produtos ricos em lactose 1 h e 6 h após a análise laboratorial, a atividade das enzimas que participam do metabolismo de lactose variaram e estão representadas nos gráficos. Demonstre a situação da regulação do operon *Lac* nos dois momentos de acréscimo da lactose.

