

# MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISA DO PANTANAL (INPP)

## CARGO 2: PESQUISADOR ADJUNTO ESPECIALIDADE: BIOLOGIA MOLECULAR

Prova Discursiva

Aplicação: 02/02/2025

### PADRÃO DE RESPOSTA DEFINITIVO

#### TEMA 2

#### Modulação da expressão gênica e aplicações do RNA de interferência

Em organismos procariotos, o principal mecanismo de controle da expressão gênica é transcricional, baseado principalmente em regulação positiva e negativa. O exemplo mais discutido é do *operon* da lactose, no qual, conforme a presença e a ausência de indutores (lactose e glicose), a expressão gênica pode ser ativada ou inativada. Outros níveis de controle da expressão gênica, também, podem estar presentes, como pós-transcricional, em que se considera tempo de vida de RNAs; traducional, em que se considera a disponibilidade de regiões importantes para a tradução, como a disponibilidade da SD; e pós-traducional, em que se considera tempo de permanência da proteína no citoplasma (degradação) e localização.

Em eucariotos, por sua vez, a complexidade de modulação da expressão gênica aumenta devido, principalmente, à compartimentalização celular e à complexidade da organização genômica. Nesse caso, a estrutura tridimensional do genoma no núcleo e sua compactação seriam as primeiras etapas de modulação transcricional. A modulação epigenética, também, é um fator importante para o controle da expressão gênica, em razão das modificações de proteínas histonas, relacionadas à compactação da molécula de DNA e às modificações de metilação na própria molécula de DNA. Ainda, é necessário considerar a presença de remodeladores de cromatina e sequências acentuadoras, silenciadoras e insuladores. **Outros fatores, como a modulação gênica mediada por hormônios e o *splicing* alternativo, têm grande influência no padrão de produtos gênicos em eucariotos multicelulares.**

O controle pós-transcricional envolve o transporte do núcleo para citoplasma, o processamento correto das moléculas de RNA sintetizadas e o tempo de vida, ou seja, a degradação dessas moléculas no compartimento citoplasmático, assim como sua localização nesse ambiente. Os controles traducionais e pós-traducionais, por seu turno, estão relacionados à produção, ou não, de proteínas, às suas modificações e à localização celular. Como exemplo, estudos reportam regulação de sequências e regiões importantes para início da síntese de proteína, bem como degradação de proteínas, sinais de localização celulares e inserção de componentes, como glicosilação de proteínas.

A interferência de RNA (RNAi), um mecanismo de silenciamento gênico induzido por RNA de cadeia dupla (dsRNA), é sequência específica e envolve a degradação tanto de dsRNA como de moléculas de RNA de cadeia simples, em geral mRNAs, que são ~~homólogas~~ **idênticas** em sequência ao dsRNA. O silenciamento por RNAi ocorre em duas etapas. A primeira envolve a degradação do dsRNA em pequenos siRNAs. Na segunda etapa, os siRNAs são reconhecidos por proteínas do complexo de silenciamento induzido por RNA (RISC). O complexo RISC separa então as duas cadeias do siRNA e busca sequências de RNA complementares. A atividade nuclease do complexo RISC degrada os RNAs complementares. Participam desse processo ~~RNA polimerase dependente de RNA~~, helicases, dsRNA endonucleases e a nuclease DICER.

O RNAi foi descoberto como um sistema de defesa natural em espécies vegetais. ~~Nas plantas, os principais alvos da maquinaria de RNAi são vírus com genomas de RNA.~~ **Em plantas, os alvos da tecnologia de RNAi são patógenos e pragas, além de vírus com genomas de RNA**, que produzem intermediários de dsRNA durante o processo de reprodução. RNAi é usado no estudo da função gênica sem necessidade de modificação genômica. ~~Atualmente~~ **Dentre as inúmeras aplicações do RNAi**, tem sido discutida sua aplicação como estratégia terapêutica para controle de patógenos e vetores virais. Para tanto, plantas transgênicas que expressam constitutivamente a molécula (dsRNA) necessária para desencadear a primeira etapa no mecanismo de silenciamento podem ser produzidas. Contudo, essa estratégia tem como principal desvantagem a necessidade de expressão constitutiva do dsRNA, além disso em espécies vegetais há supressores do silenciamento gerado pelo RNAi. Outra desvantagem é que esse tipo de controle é principalmente direcionado a vírus que possuem genoma de RNA, portanto, potencialmente sujeitos a altas taxas de mutação; assim, essa estratégia terapêutica pode não ser mais útil caso o RNAi tenha sido direcionado a uma sequência que sofreu mutação. Finalmente, é preciso considerar o custo da produção de cultivar transgênico e a eficiência de obtenção de plantas geneticamente modificadas em espécies vegetais.

Para contornar os gargalos supracitados, estudos têm sugerido a aplicação foliar direta de dsRNA, já que essas moléculas podem ser transmitidas sistemicamente através do floema e entre células. Com a redução do custo de produção de dsRNA, essa poderia ser uma alternativa terapêutica mais viável. Contudo, em todos os casos, é necessário considerar o alto índice de degradação de moléculas de RNA devido à contaminação ambiental por RNases.

Em animais é possível utilizar o RNAi para bloquear a expressão de genes exógenos ou endógenos, por exemplo, para a produção de animais resistentes a vírus, ou, ainda, utilizar o RNAi para aumentar o crescimento dos animais. A modificação genética por meio do RNAi é considerada mais segura que as abordagens anteriores de engenharia genética por evitar inserção de genes em locais não desejados.

## **QUESITOS AVALIADOS**

### **QUESITO 2.1 – Diferentes tipos de modulação gênica em procariotos e eucariotos**

Conceito 0 – Não abordou os tipos de modulação gênica.

Conceito 1 – Mencionou apenas a regulação em procariotos.

Conceito 2 – Mencionou apenas a regulação em eucariotos.

Conceito 3 – Abordou os mecanismos pré-transcricionais ou pós-transcricionais em procariotos e eucariotos.

Conceito 4 – Abordou os mecanismos pré- transcricionais e pós-transcricionais em procariotos e eucariotos.

### **QUESITO 2.2 – Componentes moleculares do mecanismo de RNAi**

Conceito 0 – Não explicou o que é RNAi ou como funciona.

Conceito 1 – Explicou o que é RNAi.

Conceito 2 – Detalhou o processo de interferência por RNA, mas não mencionou os principais componentes moleculares.

Conceito 3 – Detalhou o processo de interferência por RNA, mencionando os principais componentes moleculares.

### **QUESITO 2.3 – Aplicações do RNAi (vantagens e desvantagens)**

Conceito 0 – Não abordou aplicações do RNAi.

Conceito 1 – Abordou corretamente apenas uma aplicação do RNAi em plantas, animais ou humanos.

Conceito 2 – Abordou corretamente duas ou mais aplicações do RNAi em plantas, animais ou humanos.