

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**

Walkiria Luckwu de Santana Silva

**Análise *in silico* de uma matriz DRE na seqüência promotora de
genes da Levedura *Saccharomyces cerevisiae***

RECIFE, 2004

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA**

WALKIRIA LUCKWU DE SANTANA SILVA

Análise *in silico* de uma matriz DRE na seqüência promotora de genes da Levedura *Saccharomyces cerevisiae*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Genética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Genética.

ORIENTADOR: Dr. Marcos Antônio de Moraes Jr (Depto. Genética - CCB)

CO-ORIENTADORA: Dra. Katia Silva Guimarães (Centro de Informática)

RECIFE, 2004

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE GENÉTICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

PARECER DA COMISSÃO EXAMINADORA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO DE

Walkiria Luckwu de Santana Silva

**“Análise *in silico* de uma matriz DRE na seqüência promotora de genes da
Levedura *Saccharomyces cerevisiae*”**

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO – BIOLOGIA MOLECULAR:

A comissão examinadora, composta pelos professores abaixo, sob a presidência do primeiro, considera a candidata Walkiria Luckwu de Santana Silva **Aprovada**.

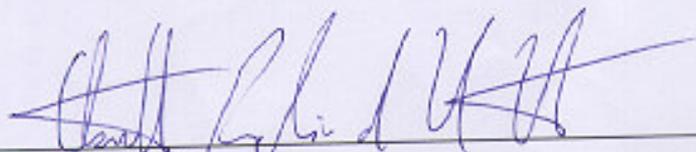
Recife, 26 de fevereiro de 2004.



Prof. Silvia Regina Batistuzzo de Medeiros, (PhD, UFRN)



Prof. Maria Raquel Moura Coimbra, (PhD, UFRPE)



Prof. Osvaldo Pompílio de Melo, (PhD, CPqAM)

Agradecimentos

Aos meus pais, irmãs e sobrinhas, por torcerem tanto por esta conquista.

Ao Prof. Dr. Marcos de Moraes Jr., por sua orientação, dedicação, profissionalismo e ética.

À Profa. Dra. Katia S. Guimarães, por incentivar sempre a ultrapassar limites, por saber o momento de cobrar e por compreender o ser de cada um.

Aos companheiros do Laboratório de Bio-Informática (BioLab), por um ambiente de trabalho harmonioso e disponibilidade em ajudar, especialmente Gustavo Bastos, pela ajuda na formatação do texto da dissertação.

À amiga Simone, por partilhar dias interpretando artigos científicos e por sua amizade marcante.

À Profa. Dra. Vera Lúcia de Meneses Lima, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica da UFPE (Universidade Federal de Pernambuco), por mostrar-se amiga, me ajudando em momentos importantes desta jornada.

À Profa. Dra. Maria Tereza Jansem de Almeida Catanho, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Biofísica da UFPE, por seu exemplo como professora e profissionalismo.

Ao Centro de Informática da UFPE, por disponibilizar sua estrutura e à FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco) pelo apoio através do BioLab.

A todos que fazem o Programa de Pós-Graduação em Genética do Centro de Ciências Biológicas da UFPE, especialmente à Profa. Dra. Ana Benko-Iseppon, pelas sugestões que colaboraram para o aprimoramento da qualidade do texto desta dissertação.

Aos amigos da Pós-Graduação em Genética, que compartilharam as várias etapas do mestrado.

Agradeço em especial
ao meu Deus que sempre esteve comigo nesta
caminhada, a quem dedico este trabalho.

Sumário

Lista de Figuras	6
Lista de Tabelas.....	7
Lista de Abreviações	8
Resumo.....	9
1 Introdução.....	10
2 Revisão Bibliográfica.....	12
2.1 A levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12
2.2 O genoma de <i>S. cerevisiae</i>	12
2.3 Regulação e expressão gênica em <i>S. cerevisiae</i>	13
2.3.1 GAL: exemplo de regulon em <i>S. cerevisiae</i>	15
2.4 Reparação de lesões no DNA.....	17
2.4.1 Reparação por reversão direta do dano	19
2.4.2 Reparação por excisão de bases (REB).....	21
2.4.3 Reparação por excisão de nucleotídeos (REN)	21
2.4.4 Reparação de bases mal emparelhadas (" <i>Mismatch repair</i> " MMR)	21
2.4.5 Reparação por recombinação	22
2.4.6 Resposta SOS	23
2.5 Reparação de Lesões no DNA de <i>S. cerevisiae</i>	23
2.5.1 Grupo RAD3	24
2.5.2 Grupo RAD6	24
2.5.3 Grupo RAD52	25
2.6 Regulação da expressão de genes de reparação	26
2.7 Ferramentas Computacionais e Fatores de Transcrição	27
3 Referências Bibliográficas	29
4 Manuscrito.....	37
5 Abstract	60
6 Conclusões	61
7 Anexos.....	62
7.1 Anexo 1	63
7.2 Anexo 2	69

Lista de Figuras

Figura 1. Agrupamento gênico presente no cromossomo II envolvido na via Leilor.....	15
Figura 2. Esquema básico da regulação dos genes GAL em <i>S. cerevisiae</i>	16
Figura 3. Respostas ao dano do DNA.	18
Figura 4. Esquema de fotorreativação ao dano de DNA reverso.	20
Figura 5. A reparação de quebras de dupla-fita em DNA.	22

Lista de Tabelas

Table 1. Computational analysis of DNA repair genes from <i>S. cerevisiae</i> identified by MatInspector algorithm containing DRE-matrix elements in their promoter regions.	55
Table 2. List of the yeast genes showing 95% or more sequence homology to DRE-matrix and its characteristics.	56
Table 3. Yeast transcription factor-encoding genes identified by MatInspector for the presence of a DRE-matrix motif in their –500 bp promoter sequence.	57
Table 4. Homology between known regulatory motifs in the yeast genome and the DRE-matrix motif.	59

Lista de Abreviações

BIOBASE	Banco de Dados Biológicos
DBM	Motivos de Ligação de DNA
DDR	Resposta ao Dano no DNA
DIN	Indução por Danos no DNA
DRE	Elemento que Responde a Danos
GBF	Centro Nacional de Biotecnologia – Braunschweig, Alemanha
GTF	Fator de Transcrição Geral
HSE	Elemento de Choque Térmico
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
pb	Pares de Bases
PBS	Sítio de Ligação de Promotores
PIC	Complexo de Pré-Iniciação
REB	Reparo por Excisão de Bases
REN	Reparo por Excisão de Nucleotídeos
<i>S. pombe</i>	<i>Saccharomyces pombe</i>
STRE	Elemento de Resposta ao Estresse
TBP	Proteína Ligadora da Sequência TATA
TF	Fator de Transcrição
TRANSFAC	Banco de Dados de Fatores de Transcrição
UAS	Sequência Ativadora a Montante
URS	Sequência Repressora a Montante
UV	Radiação Ultra-Violeta

Resumo

A regulação da expressão gênica envolve uma complexa rede de interações entre fatores de transcrição e elementos regulatórios da região promotora dos genes. Dados experimentais disponíveis na literatura demonstram a importância de uma sequência de 15 pares de base (pb) na regulação do gene *SNMI(PSO2)*, necessário para o processo de reparação de lesões no DNA da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Estes dados foram fundamentais na elaboração da hipótese acerca da dispersão deste elemento na região promotora de outros genes de reparação e de sua importância na indução destes genes mediada por danos no DNA da levedura. Verificou-se a presença desta sequência de 15 pb nas regiões promotoras de outros genes de reparação de DNA, o que proporcionou a construção de uma matriz de peso relacionando nucleotídeos conservados, transições e transversões nas diferentes posições da sequência consenso denominada sequência consenso semelhante ao elemento DRE (*Damage Response Element*) do gene *RAD2*. Posteriormente, a análise de homologia foi expandida, utilizando ferramentas computacionais de análise matricial que proporcionam a geração de uma sequência consenso identificada também em muitos outros genes desta levedura. A grande maioria não estando relacionada com processos de reparação ou metabolismo do DNA. Este elemento semelhante ao elemento regulatório DRE apresentou alta homologia com outras sequências regulatórias presentes no genoma da levedura. O fato deste elemento estar presente na região promotora de quase um terço dos genes da levedura e de que sua presença parece não estar diretamente relacionada com a indução destes genes por agentes mutagênicos, sugerem fortemente que a sequência semelhante ao elemento DRE descrita neste trabalho deve atuar como um elemento regulatório envolvido com mecanismos gerais de regulação da expressão gênica em *S. cerevisiae*.