

***Splicing* Alternativo: uma econômica fonte de diversidade no universo proteômico**

**Discente:** Amanda Ferreira da Silva Mendes  
**Orientador:** Dr.º Márcio Gilberto Cardoso Costa

Resumo - Seminário Tema Livre

O dogma central da biologia refere-se à tentativa de relacionar DNA, RNA e proteínas. O DNA pode se replicar e originar novas moléculas de DNA, pode ser transcrito em RNA, e este por sua vez é traduzido numa seqüência de aminoácidos. Após a transcrição, o RNA resultante é chamado de transcrito primário, e os transcritos primários de RNA mensageiro de eucariontes (RNAm) sofrem processamento. Esse processamento é realizado em três etapas principais: adição do *cap* à extremidade 5', adição da cauda de poliadenilato à extremidade 3' e a remoção dos íntrons. E um dos principais desafios da era pós-genômica é a descrição e a caracterização funcional do proteoma de um organismo. A recombinação do DNA, a edição do RNA e o *splicing alternativo* (SA) dificultam muito esta tarefa, pois esses processos aumentam o número de proteínas que podem ser sintetizadas por cada gene. *Splicing Alternativo* é a inclusão de diferentes éxons no RNAm, e resulta na geração de diferentes isoformas a partir de um único gene; ele é a base para a discrepância entre 24.000 genes que codificam para proteínas no genoma humano e as 100.000 diferentes proteínas que são postuladas serem sintetizadas. A base do *splicing* é o reconhecimento de íntrons e éxons pela maquinaria do *spliceossomo*<sup>(1)</sup>. A regulação do *splicing* depende do reconhecimento dos sítios de *splicing* pelo *spliceossomo*, auxiliados por várias proteínas e seqüências regulatórias. Os fatores auxiliares de *splicing* são proteínas não componentes fundamentais do *spliceossomo*, que se ligam ao pré-RNAm e aumentam ou reprimem a capacidade do *spliceossomo* reconhecer sítios especiais de *splicing*. Estas proteínas regulatórias incluem as proteínas serina/arginina (SR proteínas) e as ribonucleoproteínas nucleares heterogêneas (hnRNPs) em vertebrados<sup>(2)</sup>. Além destes fatores trans-atuantes, outros fatores cis-atuantes auxiliam na regulação do SA, promovendo o reconhecimento dos sítios de *splicing* e discriminação entre os pares corretos e incorretos: como as seqüência referidas como *Exonic* ou *Intronic Splicing Enhancer* (ESE/ISE) ou *Exonic* ou *Intronic Splicing Silencer* (ISE/ISS). A seleção do sítio de *splicing* depende também da arquitetura do éxon/íntron, competição entre sítios de *splicing*, regulação da taxa de transcrição da RNA polimerase e a estrutura da cromatina<sup>(3)</sup>. Existem muitos de tipos de SA, que podem ser agrupados em quatro sub-grupos principais: *exon skipping*, seleção alternativa do sítio de *splicing* em 5' e em 3' e retenção de íntron<sup>(4)</sup>. Além do *cis-splicing*, que liga os exons dentro de uma molécula de RNAm, existe o *trans-splicing*, que liga exons em pré-mRNA separados e que são agrupados em transcritos policistronicamente<sup>(5)</sup>. Evolucionariamente, muitas teorias são propostas para o aparecimento do *splicing alternativo*, destacando-se três: embaralhamento de exons, exonização de seqüências intrônicas e transição<sup>(6)</sup>. O principal objetivo da pesquisa atual e futura em SA é elucidar o papel funcional de relevância fisiológica dos eventos de SA, já que este processo tem a capacidade de modificar a estrutura dos transcritos e suas proteínas codificadas. Uma das principais conseqüências é a introdução de um

códon de parada prematuro (PTC), que leva à regulação do nível dos transcritos por “*Nonsense Mediated-Decay*” (NMD). O SA ainda pode determinar a propriedade de ligação, localização intracelular, atividade enzimática, estabilidade da proteína e modificações pós-traducionais de uma gama de proteínas<sup>(7)</sup>. E estas mudanças podem levar a perda ou ganho de função. Em humanos, por exemplo, muitas doenças estão associadas a eventos de SA<sup>(7)</sup>. E em plantas, há diferenças nos padrões de SA em relação ao que ocorre em humanos<sup>(8)</sup>. Muitas tecnologias são propostas para elucidar mecanismos e eventos de AS, destacando-se os microarranjos de EST/cDNA<sup>(4,9)</sup>. E estes estudos têm levado à evidência de que existem grupos de genes que são regulados em nível transcricional e em SA, definindo os padrões de expressão gênica célula- e tecido-específico. Entender a regulação da expressão gênica ao nível de resolução do éxon será o maior desafio da pesquisa futura, que pode ser definida como era “exonômica”.

---

(1) Matlín, A.J.; Clark, F.; Smith, C.W.J. Understanding alternative splicing: towards a cellular code. **Nature**. Vol. 6. 2005.

(2) Graveley, B.R. Alternative splicing: regulation without regulators. **Nature**. Vol 16, N.1. 2009.

(3) Nielsen, T.W. & Graveley, B.R. Expansion of the eukaryotic proteome by alternative splicing. **Nature**. Vol. 463. 2010.

(4) Blencowe, B.J. Alternative Splicing: new insights from global analyses. **Cell**. Vol 126. 2006.

(5) Horiuchi, T. & Aigaki, T. Alternative trans-splicing: a novel mode of pre-mRNA processing. **Biol. Cell**. Vol. 98. 2006.

(6) Keren, H.; Lev-Maor, G.; Ast, G. Alternative splicing and evolution: diversification, exon definition and function. **Nature Reviews**. Vol. 11. 2010.

(7) Stamm, S.; Ben-Ari, S.; Rafalska, I.; Tang, Y.; Zhang, Z.; Toiber, D.; Thanaraj, T.A.; Soreq, H. Function of alternative splicing. **Gene**. vol. 344. 2005.

(8) Reddy, A.S.N. Alternative splicing of pre-messenger RNAs in plants in the genomic era. *Annual Review of Plant Biology*. Vol. 58. 2007.

(9) Ben-Dov, C.; Hartmann, B.; Lundgren, J.; Valcárcel, J. Genome-wide analyses of alternative pre-mRNA Splicing. **The Journal of Biological Chemistry**. Vol. 283. 2008.