

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ - UFPR

ANIMAÇÃO DIDÁTICA DO OPERON *lac*

CURITIBA

2014

RODNEI DAMACENO FREIRE

ANIMAÇÃO DIDÁTICA DO OPERON *lac*

Monografia apresentada como requisito parcial à conclusão do Curso de Especialização em Genética para Professores do Ensino Médio, na modalidade de Ensino a Distância, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof^ª Dr^ª Karin Braun Prado

CURITIBA

2014

AGRADECIMENTOS

- ❖ Agradeço a minha orientadora Prof^ª. Dr^ª. Karin Braun Prado pelo apoio e confiança neste projeto.
- ❖ Agradeço ao programa Pós Graduação de Educação à Distância da Universidade Federal do Paraná.
- ❖ Ao tutor Gustavo Góes pelas considerações ao longo do curso.
- ❖ Aos coordenadores do curso Prof^ª. Dr^ª. Nina Pagnan e Prof. Dr. Ricardo L. de Souza.
- ❖ Agradeço a Prof^ª. Dr^ª. Lupe Alle pelas aulas presenciais e pela disposição e serenidade ao ensinar.
- ❖ Agradeço também a minha família e amigos pelo incentivo de mais esta conquista.
- ❖ À Deus, acima de tudo.

RESUMO

Sendo um dos principais exemplos de regulação gênica em procariotos o operon *lac* é um operador de transcrição requerido para o transporte e o metabolismo da lactose em *Escherichia coli* e outras bactérias entéricas. Este operon é regulado por diversos fatores, em particular a disponibilidade de glicose e lactose no meio extracelular. A utilização de modelos didáticos para concretização do conteúdo em sala de aula desperta curiosidade e maior qualidade no ensino, auxiliando na desmistificação das informações e aproximando os discentes da realidade do tema que se aborda. Neste trabalho foi elaborada uma animação explicando a atuação do complexo enzimático da holoenzima RNA-polimerase no processo de transcrição policistrônica que ocorre em procariotos, utilizando como exemplo o funcionamento do operon *lac* em meios com ausência da lactose e em meios com a presença da lactose. Para uma melhor compreensão das funções de todos os componentes abordados neste modelo, foi necessária elaboração de um questionário para obter uma melhor fixação do aprendizado. O projeto foi finalizado com a exposição da animação didática, debates referentes ao material exposto e todos materiais utilizados na confecção desta animação.

Palavras-chave: Procariotos, Operon *lac*, Transcrição, RNA-polimerase

INDÍCE DE FIGURAS

FIGURA 1 - ESQUEMA DO PROCESSO DE TRANSCRIÇÃO	9
FIGURA 2 - REPRESENTAÇÃO DOS TRÊS TIPOS DE RNA UTILIZADOS NA TRANSCRIÇÃO	10
FIGURA 3 - FIGURA ILUSTRATIVA REPRESENTANDO A INTERAÇÃO DO FATOR SIGMA À APOENZIMA COMPONDO A HOLOENZIMA RNA POLIMERASE.....	11
FIGURA 4 - INTERAÇÃO DA RNA POLIMERASE COM A DUPLA FITA DE DNA SOBRE A REGIÃO	12
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS SEQUÊNCIAS CONSENSO PARA OS FATORES SIGMA 70 E SIGMA 54	14
FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO DE PROMOTORES SIGMA 70 EM Escherichia coli COM AS PROPORÇÕES DE BASES CONSERVADAS NOS HEXÂMEROS QUE COMPÕEM A REGIÃO -35 E -10.....	14
FIGURA 7 - ESTRUTURA DO OPERON lac	16
FIGURA 8 - Gráfico representando as notas e o índice de aceitação dos entrevistados.....	24

INDÍCE DE QUADROS

QUADRO 1 – DIFERENÇAS ENTRE GENOMA PROCARIOTO DE GENOMA EUCARIOTO	8
QUADRO 2 - REPRESENTANÇÃO DOS TIPOS DE SIGMAS	13
QUADRO 3 - OS TRÊS GENES ESTRUTURAIIS <i>lacZ</i> , <i>lacY</i> E <i>lacA</i> E SUAS FUNÇÕES ..	17
QUADRO 4 - CLASSIFICAÇÃO TAXONOMICA DO GENÊRO ESCHERICHIA.....	18
QUADRO 5 - CONFIGURAÇÕES DE HARDWARE UTILIZADO	20

INDÍCE DE TABELA

TABELA 1 - INDÍCE DE ACEITAÇÃO DA ANIMAÇÃO DIDÁTICA DO OPERON *lac* 23

GLOSSÁRIO

α – alpha

β – beta

β' – beta linha

σ – sigma

Gb – Giga Bytes

Gram negativa – bactéria que possui lipopolissacarídeos na membrana externa, o que resulta em coloração avermelhada quando coradas pela técnica de Gram

RBS – Ribosome Binding Site

RNA – Ácido Ribonucleico

RNA_m – Ácido Ribonucleico Mensageiro

RNA_r – Ácido Ribonucleico Ribossomal

RNA_t – Ácido Ribonucleico Transportador

TSS – Transcription Start Site

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 Conceito de genoma.....	8
1.1.1 Genoma de procariotos	8
1.2 Transcrição.....	9
1.2.7 Fatores sigma	11
1.3 Operon <i>lac</i>	14
1.3.1 Catabólito CRP	15
1.3.2 Função do operon <i>lac</i>	16
1.3.3 Estrutura do operon <i>lac</i>	16
1.4 Gênero <i>Escherichia</i>	18
1.4.1 <i>Escherichia coli</i>	18
2 JUSTIFICATIVA	19
3 OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo geral	19
3.2 Objetivos específicos	20
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
4.1 Materiais	20
4.1.1 Hardwares	20
4.1.2 Paint	21
4.1.3 Windows Movie Maker.....	21
4.2 Métodos	22
4.2.1 Confeções das imagens	22
4.2.2 Inserções no software Movie Maker	22
4.2.3 Conversão e compartilhamento do vídeo.....	22
5 RESULTADOS	23
6 CONCLUSÕES.....	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

1.1 Conceito de genoma

De acordo com François Jacob e Jacques Monod, (1961), o genoma é considerado como um mosaico de mapas moleculares independentes para a construção de constituintes celulares individuais. Entretanto, na execução destes mapas, a coordenação é evidentemente de valor absoluto para a sobrevivência. A descoberta de genes reguladores e operadores, e da regulação repressora da atividade de genes estruturais, revela que os genomas contêm não somente uma série de mapas, mas um programa coordenado de síntese de proteínas e os meios para controlar sua execução.

1.1.1 Genoma de procariotos

Evolutivamente, os procariotos são os mais antigos organismos da Terra. A maior parte de seu genoma está contida em uma grande molécula de DNA de fita dupla e em forma de círculo, geralmente acompanhado de uma ou de duas outras pequenas moléculas, também circulares denominadas plasmídeos. O cromossomo de *E. coli* consiste de uma única molécula de DNA circular de cerca 5×10^6 pares de nucleotídeos. Essa bactéria regula a expressão de muitos de seus genes de acordo com os recursos alimentares disponíveis no ambiente. As bactérias possuem um mecanismo geral simples para coordenar a regulação desses genes: eles são agregados ao cromossomo e transcritos juntos. Muitos mRNAs procarióticos são policistrônicos (genes múltiplos em um único transcrito), e o único promotor que inicia a transcrição do agregado é o sítio de regulação para a expressão de todos os genes no agregado. O agregado de genes, o promotor e as seqüências adicionais que funcionam juntos na regulação são chamados operon.

QUADRO 1 – Diferenças entre genoma procarioto de genoma eucarioto

Procariotos	Eucariotos
DNA circular	DNA linear
Possui plasmídeos	Não possui plasmídeos
mRNAs policistrônicos	mRNAs monocistrônicos

1.2 Transcrição

A transcrição faz a passagem de informações contidas na molécula de DNA para uma fita simples de RNA. Durante o processo de transcrição, um sistema enzimático converte a informação genética de um segmento de DNA em uma fita de RNA mensageiro com uma sequência de bases complementares a uma das fitas do DNA (NELSON & COX, 2000).

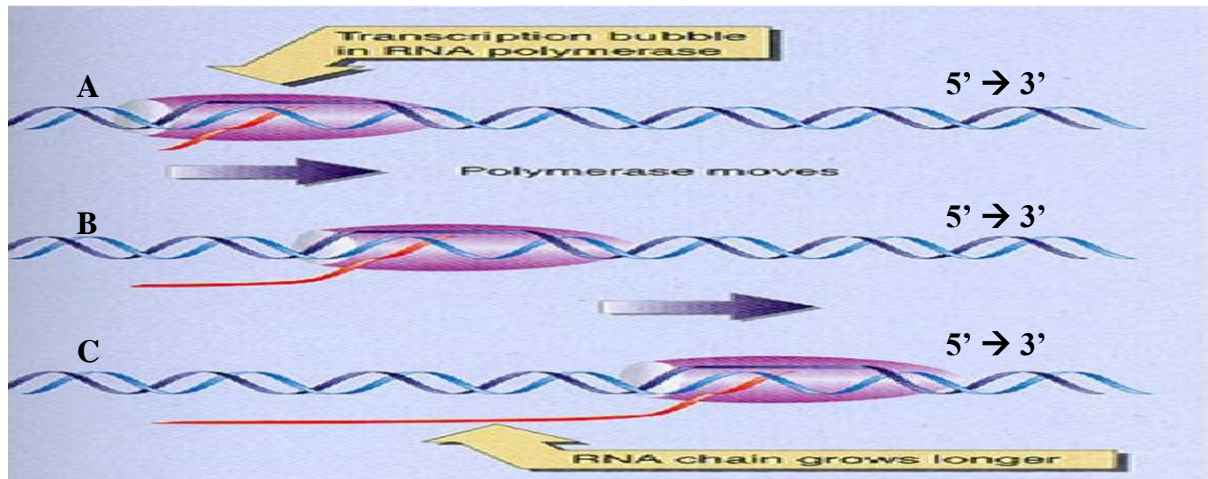


FIGURA 1 - ESQUEMA DO PROCESSO DE TRANSCRIÇÃO

Em (A), o acoplamento da RNA Polimerase na região promotora de transcrição do DNA e o início de transcrição compõem os primeiros nucleotídeos do mRNA. Em (B), podemos observar que à medida que a RNA Polimerase desliza sobre o DNA, no sentido 5'→3', mais nucleotídeos são adicionados na cadeia ribonucleica, compondo uma fita simples de mRNA. Em (C), temos a fase de alongamento da cadeia ribonucleica do mRNA.

FONTE: Adaptado de LEWIN B., GENES VII (2000)

A transcrição assemelha-se à replicação em seu mecanismo químico fundamental, sua polaridade e seu uso de um molde, possuindo também semelhanças em suas fases, iniciação, alongamento e terminação (NELSON & COX, 2000). Nas regiões a serem transcritas existem sinalizadores compostos por sequências reguladoras específicas que indicam o ponto onde deve ser iniciada a transcrição e onde deve ocorrer a terminação (NELSON & COX, 2000).

Vários tipos de RNAs são gerados no processo de transcrição, podendo ser RNA mensageiro (mRNA), o RNA transportador (ou de transferência, tRNA) e o RNA ribossomal (rRNA), além destes três tipos existem outros RNAs sintetizados no processo de transcrição, sendo estes três primeiros representados abaixo na figura 2, os três mais importantes.

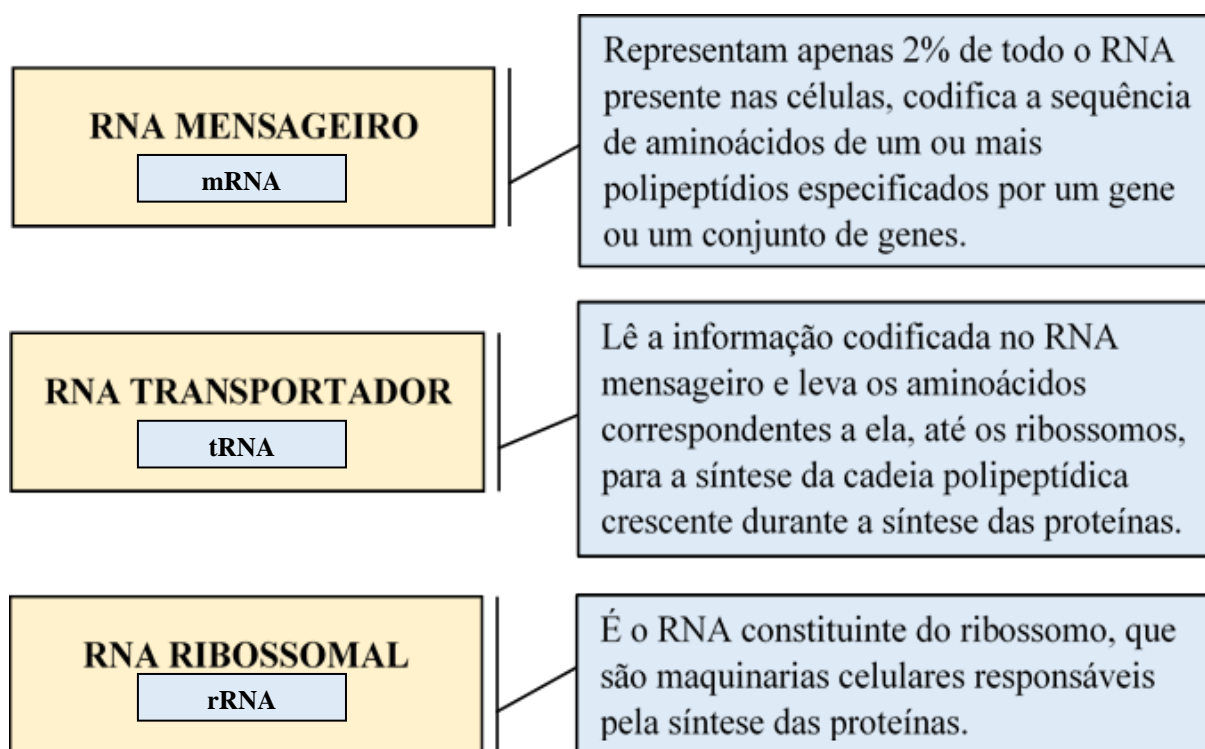


FIGURA 2 - TIPOS DE RNAs

Nesta figura, temos os três tipos de RNA associados com suas respectivas características e determinadas funções.

FONTE: o autor (2014) com base em NELSON E COX (2000)

A transcrição é realizada por uma holoenzima de participação fundamental denominada RNA Polimerase, sendo presente em procariotos e em eucariotos. Neste último temos presente três tipos de RNA Polimerase (NELSON E COX, 2000). A nova fita de RNA é sintetizada na direção $5' \rightarrow 3'$, antiparalelo a fita molde de DNA, os nucleotídeos são adicionados respeitando interações de pareamento de bases Watson-Crick, havendo uma substituição na ligação das bases nitrogenadas Timina - Adenina pela Uracila - Adenina, configurando uma molécula de R.N.A (NELSON E COX, 2000).

A RNA Polimerase pode ser isolada nas células de duas formas, completa com as cinco subunidades, formando a holoenzima completa, ou apenas com quatro delas, formando a apoenzima (KUMAR, 1981), sendo elas, β e β' (beta e beta linha), formam o centro catalítico da enzima e estão presentes em todas as fases da transcrição, duas subunidades α (alfa), estas quatro formando a apoenzima e a última, a subunidade, ou fator σ (Sigma), que quando ligada às demais forma a holoenzima, assim demonstrado na Figura 1, esta subunidade não sendo fixa na RNA Polimerase e reconhecendo o sítio de ligações ao DNA específicas, regiões denominadas promotoras (WÖSTEN, 1998).

família Sigma 54 (σ_{54}) ou proteína RpoN, uma família de fatores Sigmas alternativos (BARRIOS *et al.*, 1999).

Eles são denominados em relação ao peso molecular do primeiro membro da família identificado (DOUCLEFF *et al.*, 2005 apud WÖSTEN, 1998). A ligação da apoenzima ao fator Sigma 70 constitui a holoenzima que tem a capacidade de inicialização da transcrição por si mesma, pois consegue completar a formação do complexo aberto (MC CLURE, 1985; GRALLA, 1990). Quando a apoenzima se liga ao Sigma 54, não existe a mesma capacidade de formação do complexo aberto, e há necessidade de ligação com outros fatores protéicos para a ativação da transcrição (SASSE-DWIGHT & GRALLA, 1988; MORETT & BUCK, 1989; POPHAM *et al.*, 1989 e MORETT & SEGOVIA, 1993).

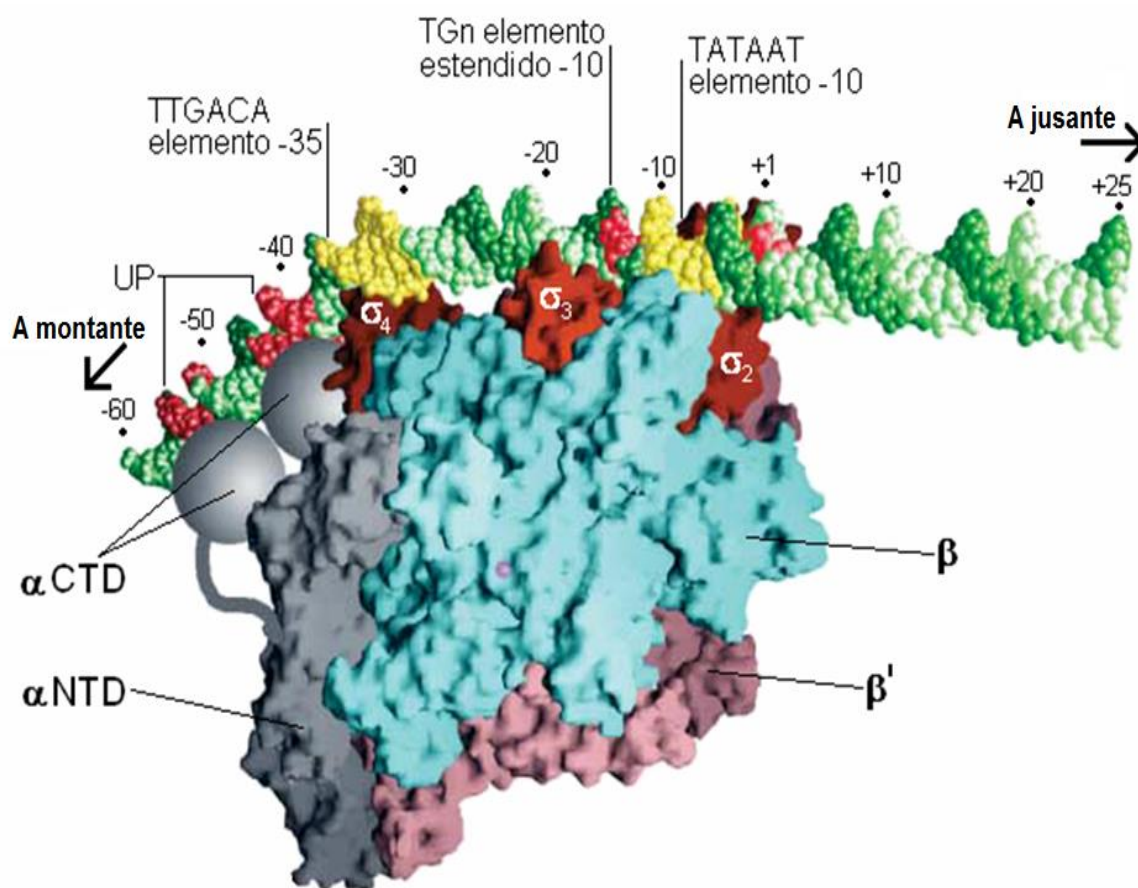


FIGURA 4 - INTERAÇÃO DA RNA POLIMERASE COM A DUPLA FITA DE DNA SOBRE A REGIÃO PROMOTORA SIGMA 70

As subunidades σ são responsáveis pelo reconhecimento do trecho promotor do DNA. A região -35 (TTGACA) é reconhecida pelo σ_4 . A região -10 (TATAAT) é reconhecida pelo σ_2 , podendo haver a interação da região -10 estendida (TGn) reconhecida pelo fator σ_3 . A subunidade β' é responsável pela ligação ao DNA. A subunidade β está envolvida na elongação e no início da cadeia ribonucleotídica. As duas subunidades α estão relacionadas com o início da transcrição e na interação com proteínas regulatórias que controlam os processos transcritivos.

FONTE: Adaptado de MURAKAMI, (2002)

Estudos realizados em *Escherichia coli*, reportaram a presença de sete fatores Sigma formadores de duas famílias principais de fatores Sigma. A família do Sigma 70, constituída por seis destes fatores, o próprio Sigma 70 ($\sigma 70$) mais os fatores Sigma 38 ($\sigma 38$), Sigma 32 ($\sigma 32$), Sigma 28 ($\sigma 28$), Sigma 24 ($\sigma 24$) e Sigma 19 ($\sigma 19$). O último fator identificado nos estudos é o fator Sigma 54 ($\sigma 54$) único que compõe a família do Sigma 54 (WÖSTEN, 1998) demonstrados no quadro 2:

QUADRO 2 - REPRESENTANÇÃO DOS TIPOS DE SIGMAS

SIGMAS		SIMBOLOGIA	FAMÍLIA	FUNÇÃO/RELAÇÃO
1	Sigma 70	($\sigma 70$)	Sigma 70	Manutenção Celular
2	Sigma 38	($\sigma 38$)	Sigma 70	Manutenção Celular
3	Sigma 32	($\sigma 32$)	Sigma 70	Manutenção Celular
4	Sigma 28	($\sigma 28$)	Sigma 70	Manutenção Celular
5	Sigma 24	($\sigma 24$)	Sigma 70	Manutenção Celular
6	Sigma 19	($\sigma 19$)	Sigma 70	Manutenção Celular
7	Sigma 54	($\sigma 54$)	Sigma 54	Fixação de Nitrogênio

Esse quadro mostra claramente os sete tipos de fator sigma, a simbologia, as duas famílias de sigmas e a função/relação atribuídas para cada fator sigma

FONTE: Adaptado de WÖSTEN, (1998).

Cada uma das famílias de fatores Sigma reconhece uma região de ligação ao DNA específica, não havendo possibilidade de uma família se ligar à região de ligação da outra. Outras características que diferenciam as famílias são a isomerização e a regulação (BARRIOS *et al.*, 1999).

O sítio de ligação da família Sigma 70 compreende os hexâmetros posicionados nas bases -35 e -10 em relação a primeira base de transcrição, diferente do que ocorre para a família do Sigma 54 onde a holoenzima reconhece as bases -24 e -12, também em relação a primeira base de transcrição (BARRIOS *et al.*, 1999).

Outra diferença é que os promotores da família Sigma 70 regulam genes relacionados a manutenção e organização celular, já os promotores da família Sigma 54 estão envolvidos com a regulação de genes bacterianos que promovem a fixação de nitrogênio na interação entre plantas e bactérias (BARRIOS *et al.*, 1999).

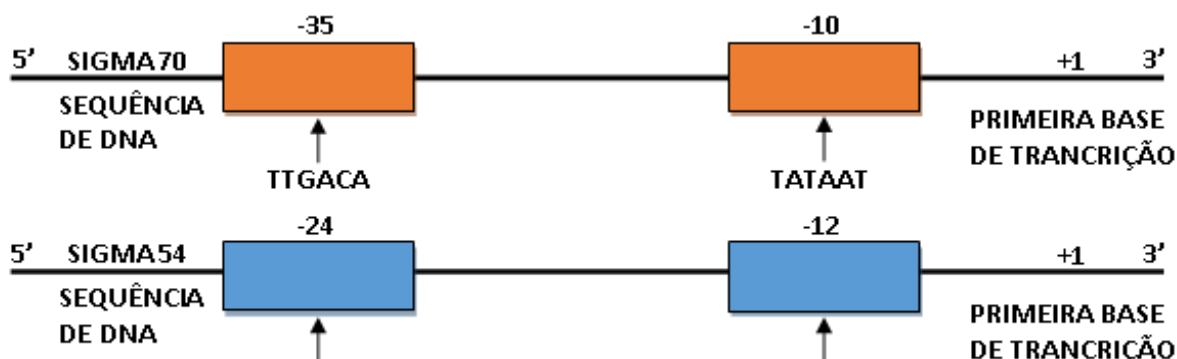


FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DAS SEQUÊNCIAS CONSENSO PARA OS FATORES SIGMA 70 E SIGMA 54

Esquema inicial de representação de promotores σ_{70} e σ_{54} em procarionotes. Pelo fato de a região -10 ser mais conservada a mesma pode receber duas outras denominações: TATA-box ou Pribnow box. Enquanto para a região -35 não há outra denominação. As diferenças principais entre os dois promotores está relacionada com a sequência de bases que as compõe e a distância onde estas estão dispostas em relação ao +1 (sítio de início de transcrição).

FONTE: Adaptado de Potvin (2005).

A representação de promotores sigma 70 em *Escherichia coli* com as proporções das bases conservadas nos hexâmeros que compõem a região -35 e -10 será apresentada na figura abaixo:

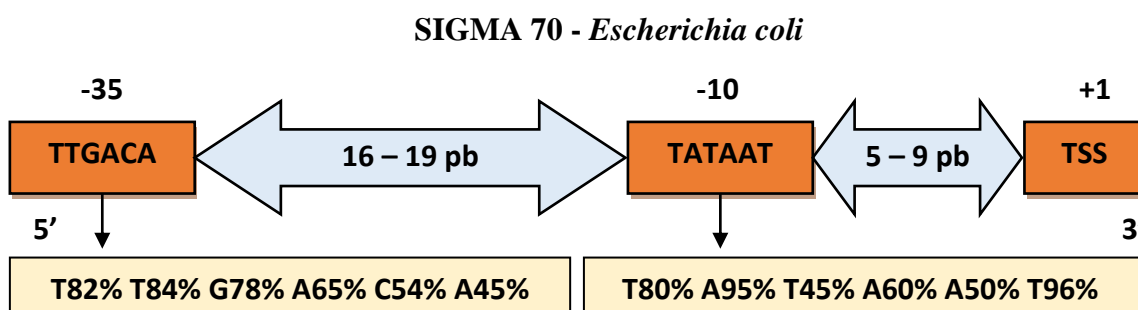


FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO DE PROMOTORES SIGMA 70 EM *Escherichia coli* COM AS PROPORÇÕES DE BASES CONSERVADAS NOS HEXÂMEROS QUE COMPÕEM A REGIÃO -35 E -10

Entre os hexâmeros poderá haver 16 aos 19 pares de bases, sem consenso descrito. Entre a região -10 e o sítio de início de transcrição (TSS) pode haver de 5 aos 9 pares de bases, sem consenso descrito.

FONTE: Adaptado de LEWIN B., GENES VII (2000)

1.3 Operon *lac*

O operon *lac* é um operador requerido para o transporte e o metabolismo da lactose em *Escherichia coli* e outras bactérias entéricas. O operon *lac* é regulado por diversos fatores, em particular a disponibilidade de glicose e lactose no meio extracelular. A regulação

genética do operon *lac* foi o primeiro mecanismo complexo de regulação gênica a ser elucidado e é um dos principais exemplos de regulação genética em procariontes.

1.3.1 Catabólito CRP

O catabólito CRP é um elemento regulador positivo que responde com eficiência aos níveis de glucose. A alta concentração do cAMP é necessária para a ativação do operon *lac*, sendo assim, os mutantes que não podem converter ATP em cAMP não podem ser induzidos a produzir β -galactosidase, tendo em vista que concentração de cAMP não é suficiente para a operon *lac* ser ativado.

Em procariotos, o AMPc liga-se ao CAP ou CRP (catabolite gene activator protein - proteína ativadora de genes por catabólitos; codificada pelo gene *crp*), uma proteína dimérica com 2 subunidades idênticas. Cada subunidade possui um domínio de ligação ao DNA e ao AMPc. Somente o complexo CAP-AMPc é capaz de estimular a transcrição e se ligar a determinados promotores. No operon *lac*, CAP se liga próximo ao promotor, interagindo desta forma com a RNA-polimerase, favorecendo a transcrição dos genes estruturais do operon *lac*.

Na ausência da lactose, o repressor *lac* é capaz de se ligar ao operador; independente dos níveis de cAMP e da presença de CAP, ocorrendo a inibição na produção de mRNA. Com lactose presente para se ligar ao repressor, este é incapaz de se ligar ao operador. Toda via apenas pequenas quantidades de mRNA são produzidos, pois a presença de glucose mantém os níveis de cAMP baixos e, portanto, não se forma o complexo cAMP-CAP e não há ligação ao promotor.

Com o repressor inativado pela Lactose e com altos níveis de cAMP presentes (devido a ausência de glucose), cAMP liga-se à CAP. O complexo cAMP-CAP é então capaz de se ligar ao promotor e aumentar a transcrição aproximadamente em 50 vezes. O operon *lac* é então ativado e são produzidas grandes quantidades de mRNA, ou seja, os genes estruturais serão transcritos com maior frequência pela RNA-polimerase.

1.3.2 Função do operon *lac*

Em seu ambiente natural, o operon *lac* permite às bactérias uma digestão eficiente da lactose. A célula pode utilizar lactose como uma fonte de energia ao produzir a enzima β -galactosidase, codificada pelo gene *lacZ*, que digere lactose em glicose e galactose. Além desta enzima, a permease codificada pelo gene *lacY* permite a captação de lactose do meio extracelular. Seria ineficiente produzir enzimas quando não há lactose disponível, ou se houvesse no meio uma fonte de energia de mais fácil digestão, como glicose. O operon *lac* utiliza um mecanismo de controle duplo para assegurar que a célula produza as enzimas somente quando haja lactose no meio. Isso é conseguido com o *repressor lac*, que paralisa a produção de enzimas na ausência de lactose, e com a proteína ativadora catabólica (CAP), que auxilia na produção no caso de ausência de glicose no meio. Esse controle duplo faz com que a glicose seja metabolizada pelas bactérias antes que a lactose, o que se conhece pelo nome de diauxia.

1.3.3 Estrutura do operon *lac*

O operon *lac* consiste em três genes estruturais, um promotor, um terminador, um regulador, e um operador.

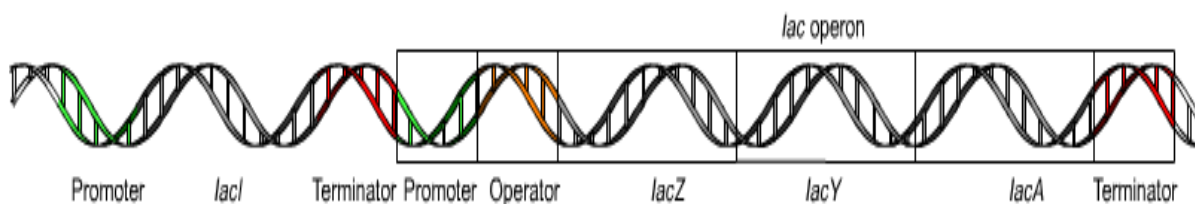


FIGURA 7 - ESTRUTURA DO OPERON *lac*

Nesta figura podemos ver um trecho do cromossomo de *E. Coli* mostrando a localização das regiões promotoras de transcrição, gene regulatório (*lacI*), regiões terminadoras, região do operador e os genes estruturais do operon *lac* (*lacZ*, *lacY* e *lacA*).

FONTE: Página da internet (http://en.wikipedia.org/wiki/Image:Lac_operon1.png.) acessada em 25/05/2014.

Apenas *lacZ* e *lacY* parecem ser necessários para o catabolismo da lactose, enquanto que a função do gene *lacA* é desconhecida. Estes três genes estão organizados como um operon, ou seja, estão dispostos um ao lado do outro na mesma orientação no cromossomo

bacteriano e são transcritos como uma única molécula de RNA mensageiro policistrônico. A transcrição começa quando a RNA polimerase se liga à região promotora, que se localiza justo a jusante (5') dos genes. A partir deste ponto, a polimerase sintetiza uma molécula de RNA mensageiro que inclui a região codante dos três.

No quadro abaixo podemos observar as funções atribuídas para cada gene estrutural do operon *lac*:

QUADRO 3 - OS TRÊS GENES ESTRUTURAIS *lacZ*, *lacY* E *lacA* E SUAS FUNÇÕES

GENES	FUNÇÕES ATRIBUÍDAS
<i>lacZ</i>	codifica a β -galactosidase, uma enzima intracelular que degrada o dissacarídeo lactose em glicose e galactose.
<i>lacY</i>	codifica a permease de β -galactosídeos, uma permease de membrana plasmática que bombeia a lactose para dentro da célula.
<i>lacA</i>	codifica a transacetilase de β -galactosídeos, uma enzima que transfere um grupo acetil de acetil-CoA a beta-galactosídeos.

No quadro acima podemos observar os três genes regulatórios do operon *lac* e suas respectivas funções.

FONTE: o autor, (2014) baseado na página eletrônica (http://pt.wikipedia.org/wiki/Operon_lac) acessada em 25/05/2014.

1.4 GÊNERO *ESCHERICHIA*

Segundo Murray (2004), representantes deste gênero assume a forma de um bacilo e pertence à família das Enterobacteriaceae. São aeróbias e anaeróbias facultativas. O seu habitat natural é o lúmen intestinal dos seres humanos e de outros animais de sangue quente. Possui múltiplos flagelos dispostos em volta da célula, fímbrias ou adesinas que permitem a sua fixação, impedindo o arrastamento pela urina ou diarreia. Muitas produzem exotoxinas. São susceptíveis aos ambientes secos, aos quais não resistem. Possuem lipopolissacarídeo (LPS), como todas as bactérias Gram-negativas. Esta molécula externa ativa o sistema imunitário de forma desproporcionada e a vasodilatação excessiva provocada pelas citocinas produzidas pode levar ao choque séptico e morte em casos de septicemia.

QUADRO 4 - CLASSIFICAÇÃO TAXONOMICA DO GENÊRO *ESCHERICHIA*

DOMÍNIO	Bactéria
FILO	Proteobactérias
CLASSE	Proteobactérias gama
ORDEM	Enterobacteriales
FAMÍLIA	Enterobacteriaceae
GÊNERO	Escherichia
ESPÉCIE	<i>Escherichia coli</i>

O quadro acima mostra a classificação taxonômica atualizada para o gênero *Escherichia*.

FONTE: www.ncbi.nlm.nih.gov/, acessado em 20/05/2013.

1.4.1 *Escherichia coli*

Descrita pela primeira vez por Theodor Von Escherich em 1885, *E. coli* são facultativamente anaeróbias, bastonetes Gram negativos que podem ser móveis ou imóveis e

produtoras de catalase. Foi isolada em cultura pura das fezes de recém nascidos. Inicialmente denominada *Bacterium coli commune*. Mais tarde, foi renomeada como *Escherichia coli*, e por muitos anos esta bactéria foi simplesmente considerada como um organismo comensal do intestino grosso. Somente em 1935 uma linhagem de *E. coli* foi associada a um surto de diarreia infantil. O trato gastrointestinal da maioria dos animais de sangue quente é colonizado pela *E. coli* em poucas horas ou em poucos dias após o nascimento. O microrganismo é ingerido junto com o alimento, água ou obtido diretamente de outros indivíduos. O intestino humano é colonizado após 40 horas do nascimento. A *E. coli* adere-se à superfície mucosa do intestino grosso. Uma vez estabelecida, a bactéria pode persistir por meses ou anos. A *Escherichia coli* é um dos poucos seres vivos capazes de produzir todos os componentes de que são feitos, a partir de compostos básicos e fontes de energia suficientes. Ela é lactase positiva, uma enzima fermentadora de açúcares que curiosamente é a grande responsável pela flatulência de cada pessoa, especialmente após o consumo de leite e seus derivados. Linhagens residentes mudam após um longo período de tempo, especialmente após infecções entéricas ou terapia com antimicrobianos que alteram a flora normal. A base dessas mudanças e a ecologia da *E. coli* no intestino humano não são totalmente conhecidas mesmo quando há muita informação em cada aspecto do agente, mesmo quando o genoma bacteriano já foi sequenciado desde 1997. Atualmente o genoma da *E. coli* tem quase 5 milhões de pares de bases e milhares de genes codificando mais de 4.000 proteínas.

2 JUSTIFICATIVA

A utilização de modelos didáticos para concretização do conteúdo em sala de aula desperta curiosidade e maior qualidade no ensino, auxiliando na desmistificação das informações e aproximando os discentes da realidade do tema que se aborda.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Explicar para o ensino médio a forma de nutrição de bactérias lactantes e o funcionamento do operon lac através de uma animação didática, demonstrando todos os componentes

envolvidos neste processo, ocorrendo na presença e na ausência de lactose, introduzindo desta forma conceitos de Biologia Molecular.

3.2 Objetivos específicos

- Construir um modelo didático referente ao funcionamento do operon lac;
- Demonstrar os componentes fundamentais no processo de transcrição;
- Disponibilizar um material didático de fácil acesso e utilização;
- Introduzir uma metodologia baseada em modelos lúdicos no ensino de Biologia;
- Introduzir conceitos de Biologia Molecular para alunos do ensino médio.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Hardwares

Para este trabalho foram utilizadas ferramentas computacionais de fácil manuseio, com versões em português. As configurações do computador utilizado para este trabalho seguem no quadro abaixo:

QUADRO 5 - CONFIGURAÇÕES DE HARDWARE UTILIZADO

MODELO	Qbex MB45119
PROCESSADOR	Core i7 2630QM (2,00 Ghz)
DISCO RÍGIDO	500 Gb
MEMÓRIA RAM	DDR3 8,00 Gb
SISTEMA OPERACIONAL	Windows®
VERSÃO	8.1

Quadro apresentando as configurações de hardware utilizado neste trabalho.
 FONTE: o autor, (2014)

4.1.2 Paint

Segundo o site oficial da Microsoft (<http://windows.microsoft.com/pt-br/windows7/products/features/paint>) acessado em 28/05/2014, o software Paint é um recurso, incluso no pacote do sistema operacional Windows, que pode ser usado para desenhar, colorir ou editar imagens. O Paint pode ser utilizado como um bloco de desenho digital para criar imagens simples, projetos criativos ou adicionar texto e designs a outras imagens, como aquelas obtidas com sua câmera digital. Atualmente, este programa consagrado está mais fácil de usar, e ainda mais divertido. E os novos "pincéis" digitais realistas darão vida às imagens com sombras de aquarela, giz de cera e caligrafia. Uma nova faixa de opções na parte superior da janela que mostra as funções do programa, exhibe as opções abertamente, e não em menus. O software Paint também aceita o uso de toque para usuários que possuam um computador com tela de toque, possibilitando uma pintura com os dedos diretamente na tela. É possível até usar dois dedos para dar pinceladas separadamente.

4.1.3 Windows Movie Maker

Segundo o site oficial da Microsoft (<http://windows.microsoft.com/pt-br/windows-live/movie-maker#t1=overview>) acessado em 28/05/2014, seja sua preferência Hollywood ou o cinema independente, você é o diretor e editor com o Movie Maker. É possível adicionar rapidamente fotos e filmagens do computador ou câmera ao Movie Maker. Os ajustes no filme são realizados para melhor *performance* do vídeo, acelerando ou desacelerando as cenas. Esta ferramenta possibilita também a adição de uma ou mais faixa de áudio e um tema específico para seu filme. O Movie Maker adiciona transições e efeitos automaticamente para que o projeto que esteja sendo desenvolvido tenha uma aparência elegante e profissional. Quando o filme estiver pronto, o Movie Maker possibilita o compartilhamento online no Facebook, YouTube ou outros sites de redes sociais e compartilhamento de vídeos. Com essa ferramenta é possível enviar um link para seu filme em um e-mail para a família e amigos visualizarem o vídeo criado.

4.2 Métodos

4.2.1 Confeções das imagens

As imagens utilizadas no desenvolvimento da animação didática do operon *lac* foram integralmente desenhadas no software Paint e salvas em uma pasta do sistema no formato (*.png). Foram totalizados 108 desenhos colocados em ordem cronológica de criação para que fosse possível a visualização da transição das imagens e logo depois a inserção no software Movie Maker.

4.2.2 Inserções no software Movie Maker

Com as imagens prontas e alocadas em uma pasta, ficou bem mais fácil a inserção destas imagens no software Movie Maker. Depois de inseridos e colocados no Storyboard do programa já é possível visualizar a animação e ajustar o tempo de transição de slides específicos para que haja uma certa pausa durante a animação ou uma certa velocidade para dar vida aos componentes animados. Esse programa possibilita a adição de uma ou mais faixa de áudio para acompanhar o vídeo ou também possibilita uma narração via microfone dos fatos decorrentes no vídeo construído.

4.2.3 Conversão e compartilhamento do vídeo

Após os vídeos estiver satisfazendo as necessidades do editor, é possível salva-lo no formato (*.AVI), pois este é formato de vídeo mais comum encontrados em reprodutores de vídeos tradicionais e também em televisões que contenham entrada para pendrive ou cartão de memória flash SD. O vídeo poderá também ser convertido para outros formatos, através de conversores disponíveis gratuitamente na Rede Internet.

O compartilhamento do vídeo pode ser feito através de redes sociais ou em sites de compartilhamento de vídeos, o mais popular entre estes é o You Tube.

5 RESULTADOS

O resultado obtido neste trabalho foi um vídeo de uma animação didática representando os processos de transcrição, formação da holoenzima RNA-polimerase, atuação das proteínas ativadoras de transcrição e repressoras de transcrição, bem como a funcionamento do operon *lac* na regulação gênica em *Escherichia coli*.

Foi realizado uma pesquisa de satisfação do modelo didático proposto entre 10 profissionais da área da educação e alunos de pós graduação. Os dados obtidos foram submetidos à uma análise estatística de acordo com a tabela abaixo:

TABELA 1 - ÍNDICE DE ACEITAÇÃO DA ANIMAÇÃO DIDÁTICA DO OPERON *lac*

Entrevistado	Profissão	Aceitação	Utilizaria	Nota
1	Professor de Biologia	Positiva	Sim	10
2	Mestrando	Positiva	Sim	9
3	Mestrando	Positiva	Sim	9
4	Professor de Biologia	Positiva	Sim	10
5	Mestrando	Positiva	Sim	9
6	Mestrando	Positiva	Sim	9
7	Professor de Biologia	Positiva	Sim	10
8	Professor de Biologia	Positiva	Sim	9
9	Mestrando	Positiva	Sim	10
10	Mestrando	Positiva	Sim	10

Na coluna 1 temos a quantidade de entrevistados. Na coluna 2 temos a profissão atual dos entrevistados. Na coluna 3 temos o índice de aceitação (positiva ou negativa). Na coluna 4 temos o índice de utilização do modelo didático (sim ou não). Na quinta coluna temos uma nota de 0 a 10 para o modelo didático proposto.

FONTE: o autor, (2014).

Entre os dez entrevistados, quatro são professores de Biologia da rede de ensino do Estado do Paraná e seis são mestrandos de Bioinformática da UFPR-PR.

O modelo proposto obteve uma aceitação de 100% entre os entrevistados e todos afirmaram que utilizaria a animação em aulas ou até mesmo como fonte de estudo para melhor compressão dos processos bioquímicos referentes ao operon *lac*.

Através da tabela acima foi possível elaborar um gráfico para uma melhor visualização dos resultados referente aceitação do modelo didático proposto.



FIGURA 8 - Gráfico representando as notas e o índice de aceitação dos entrevistados

Nessa figura podemos observar as notas dispostas em barras horizontais. Abaixo das notas temos o índice de aceitação do modelo didático proposto.

FONTE: o autor, (2014).

A média das notas ficou estimada em 9,5 em uma amostragem de dez entrevistados.

A ideia de disponibilizar *on line* o vídeo referente a animação didática do operon *lac* facilitou o acesso ao vídeo pelas pessoas entrevistadas, colaborando com o índice de aceitação deste trabalho.

6 CONCLUSÕES

- O modelo didático proposto obteve êxito na explicação completa envolvendo o processo de formação da holoenzima RNA-polimerase, a transcrição do gene regulatório *lacI* e dos genes estruturais *lacZ*, *lacY* e *lacA*;
- A introdução de metodologias lúdicas envolvendo modelos didáticos fortalece o aprendizado e auxilia na fixação do conteúdo;
- O modelo didático proposto estimula a imaginação do discente a respeito dos processos estudados em uma breve introdução a Biologia Molecular;
- A disponibilidade do modelo didático proposto na Rede Internet possibilita a visualização e disseminação por professores, alunos e pais em qualquer dispositivo de áudio e vídeo disposto no ambiente escolar e também domiciliar;
- Aulas subsidiadas por modelos didáticos obtém um melhor aproveitamento;
- O modelo proposto obteve boa aceitação entre profissionais da área Biológica.

REFERÊNCIAS

- DOUCLEFF, M.; MALAK, L. T.; PELTON, J. G. e WEMMER, D. E. The C-terminal RpoN domain of σ^{54} forms an unpredicted helix-turn-helix motif similar to domains σ^{70} . J. Biol. Chem. v. 208, p. 41530-41536, 2005.
- ISHIHAMA, A. Molecular Assembly and functional modulation of *Escherichia coli* RNA polymerase. Adv. Biophys. V.26, p. 19-31, 1990.
- KUMAR, S. A. The Structure and Mechanism of Action of Bacterial DNA Dependent RNA polymerase. Prog. Biophys. Molec. Biol. V.38, p.163-210, 1981.
- LEWIN, B. Genes VII, Cambridge, Oxford University Press, 2000.
- MC CLURE, W. R. Mechanism and Control of Transcription initiation in Prokaryotes. Ann. Rev. Biochem. v. 54 p. 171-204, 1985.
- MOONEY, R. A; DARST, S. A e LANDICK R. sigma and RNA Polymerase: An On-Again, Off-Again Relationship? Molec. Cell v. 20, p. 335-345, 2005
- MORETT, E. & BUCK, M. In vivo studies on the interaction of RNA polymerase- σ^{54} with the *Klebsiella pneumoniae* and *Rhizobium meliloti* σ^{54} promoters. J. Mol. Biol. V.210, p. 65-77, 1989.
- MORETT, E. & SEGOVIA, L. J. Bacteriol, V.175, p. 6067-6074, 1993.
- MURAKAMI, K. S. *et al.* Structural Basis of Transcription Initiation: an RNA-polimerase Holoenzyme-DNA Complex. Science, New York, n.296, p. 1285-1290, May 2002.
- MURRAY, PATRICK R. Microbiologia Médica. 4ª ed. [S.l.]: Elsevier, 2004.
- NELSON DL, COX MM. Lehninger, Principles of Biochemistry. 3º ed. New York: Worth Publishers, 2000.
- POTVIN, E.; SANSCHAGRIN, F. & LEVESQUE, R. C. sigma factors in *Pseudomonas aeruginosa*. FEMS Microbiol Rev. v. 32, p. 38-55, 2007.
- WÖSTEN, M. M. Eubacterial sigma-factors, FEMS Microbiol. Rev. V. 22, p.127-150, 1998.

APÊNDICES

Todos os slides confeccionados e utilizados na criação da animação do modelo didático do operon *lac* foi disponibilizada nos apêndices deste trabalho em ordem crescente. O vídeo gerado da animação do operon *lac* esta disponível na Rede Internet e pode ser facilmente acessado no site de compartilhamento de vídeos You Tube através do seguinte endereço eletrônico: <https://www.youtube.com/watch?v=VnXHpoWuCq0>



Animação Didática do Operon *lac*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



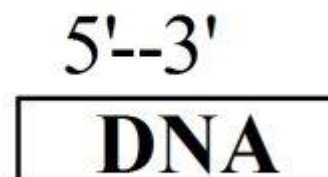
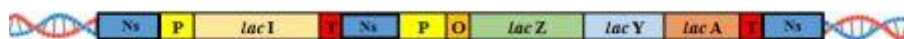
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Outras Bases



Promotores de transcrição

Gene regulatório

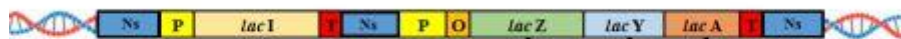


Terminadores



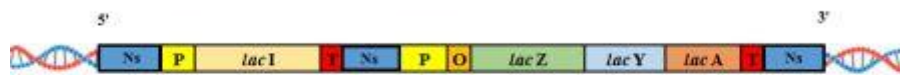
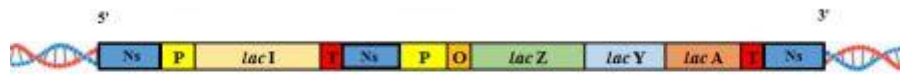
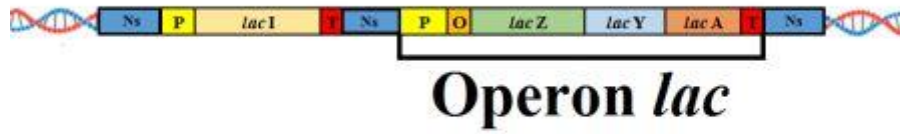
Operador

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

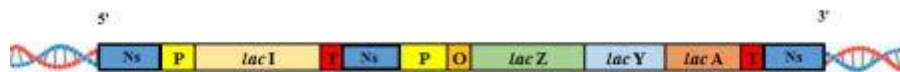


Genes estruturais

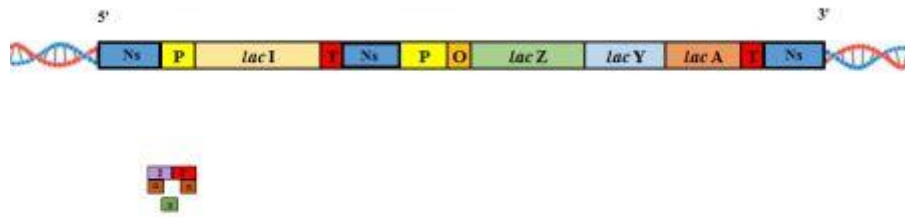
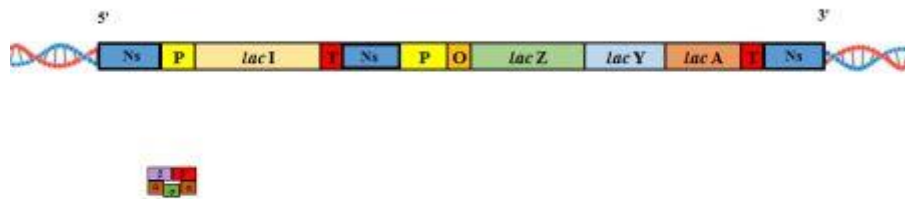
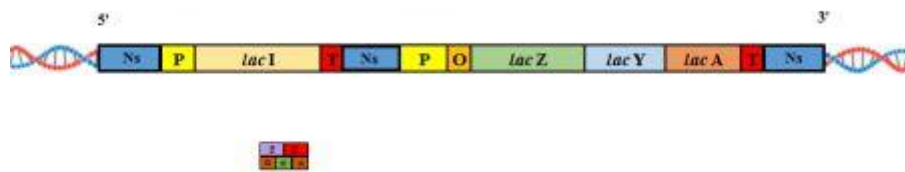
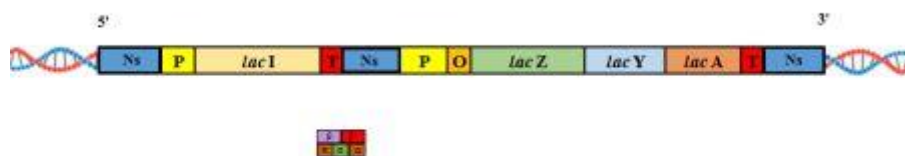
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



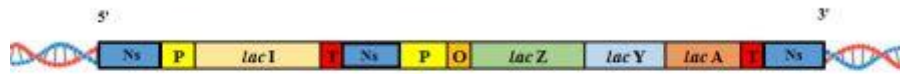
■ **Apoenzima**



■ **Fator sigma**

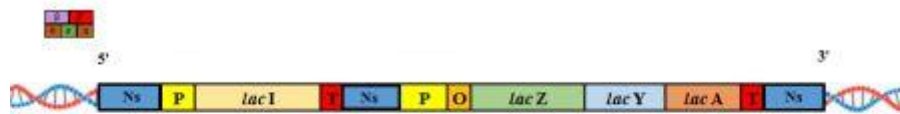
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

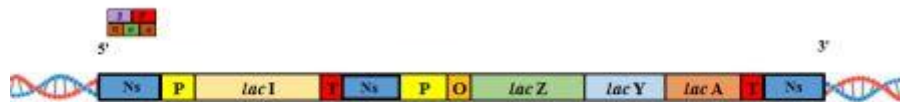


Holoenzima RNA-polimerase

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

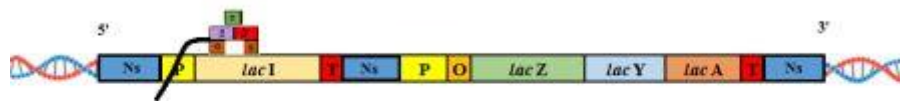
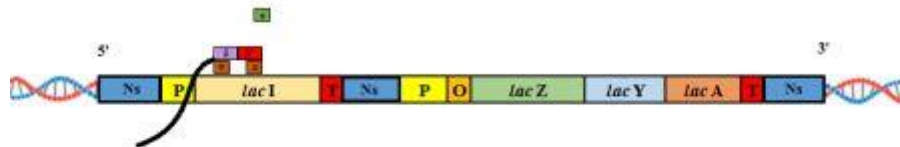
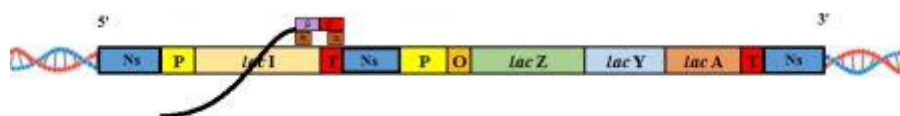


Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

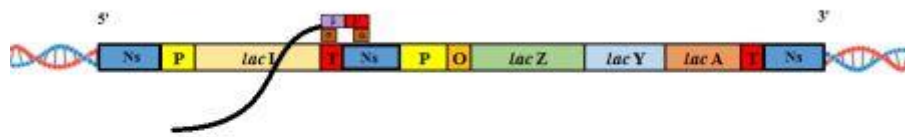


Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

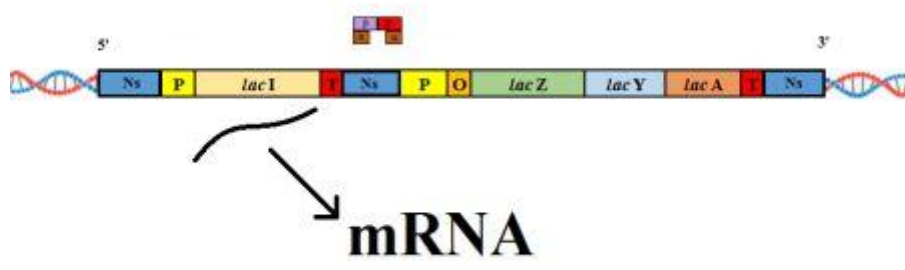


Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

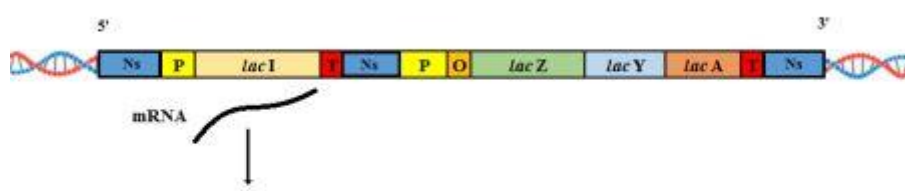
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



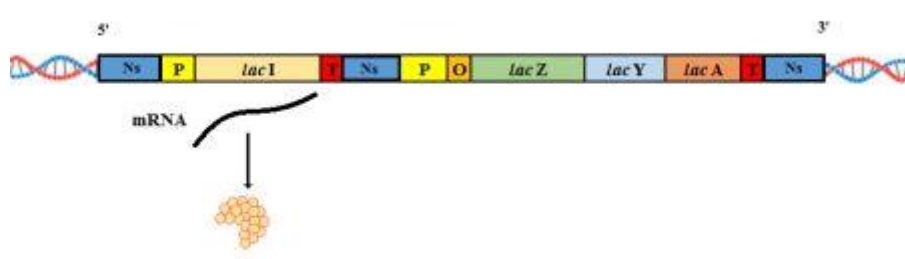
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

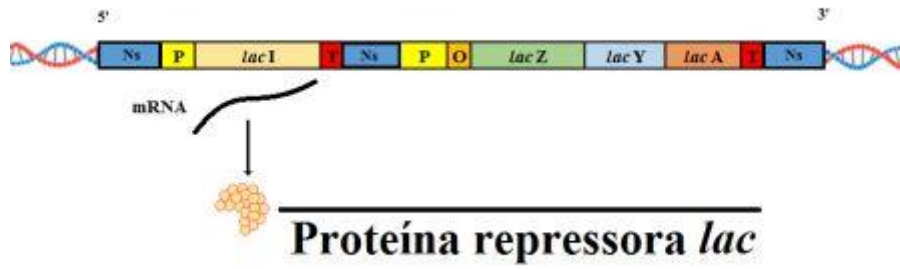
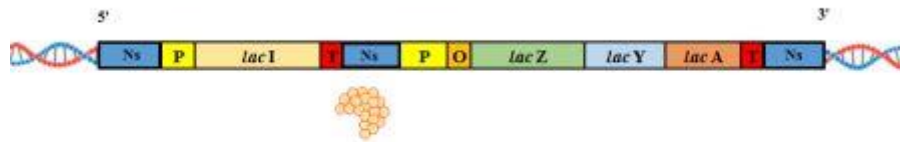
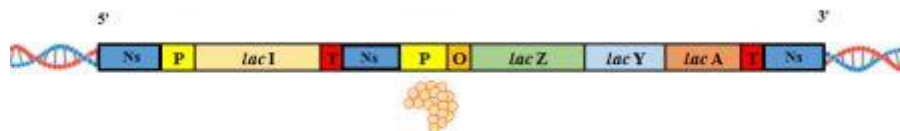


Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



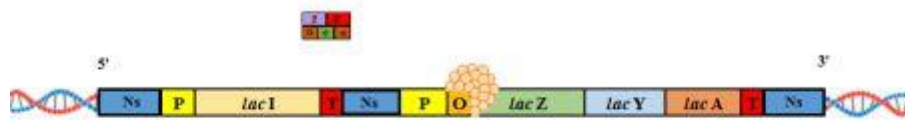
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

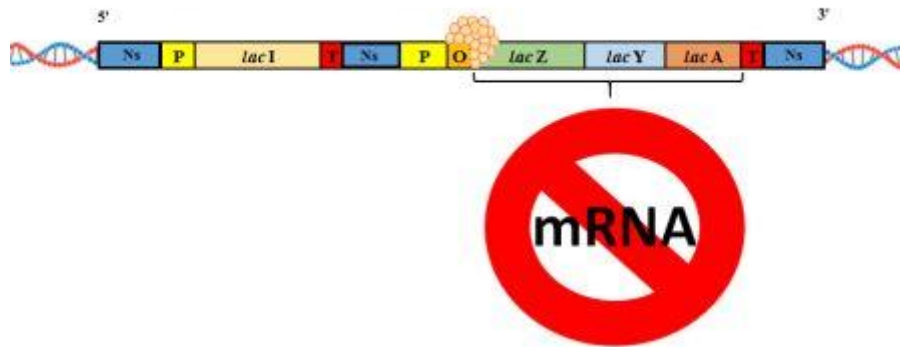
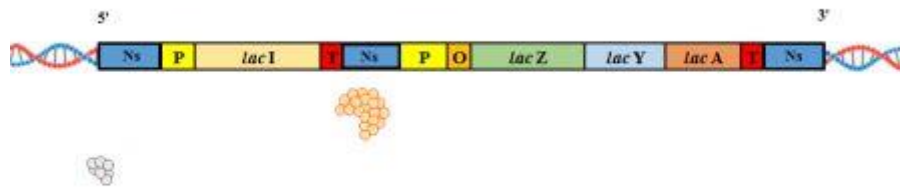


Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

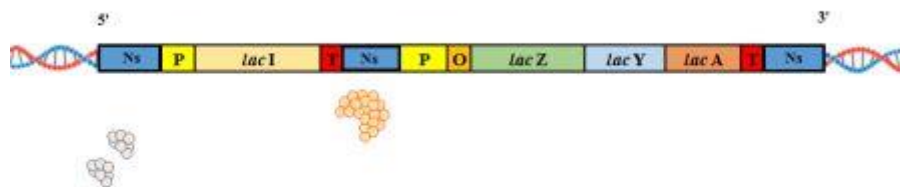
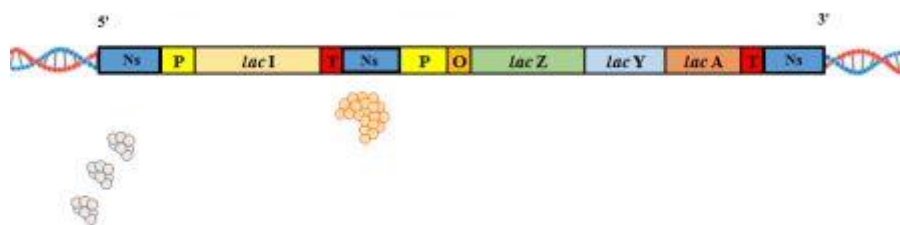


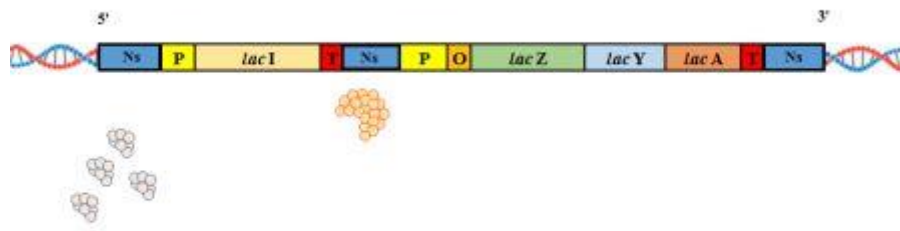
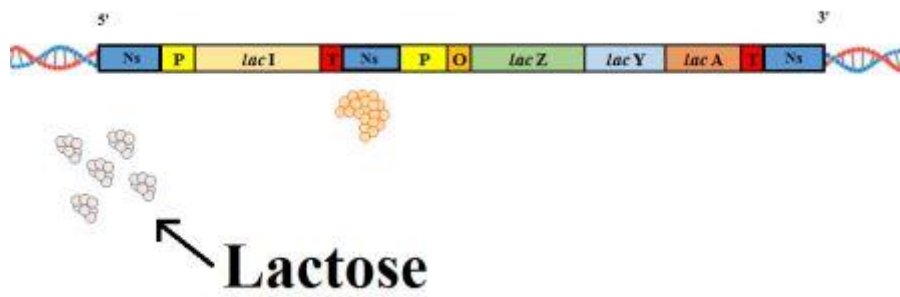
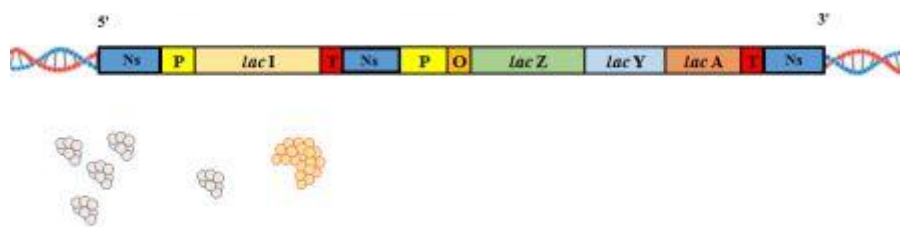
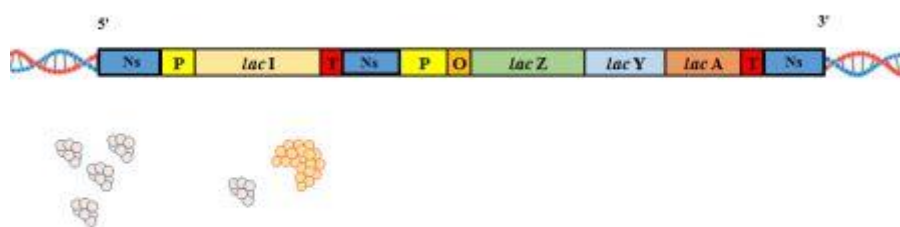
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

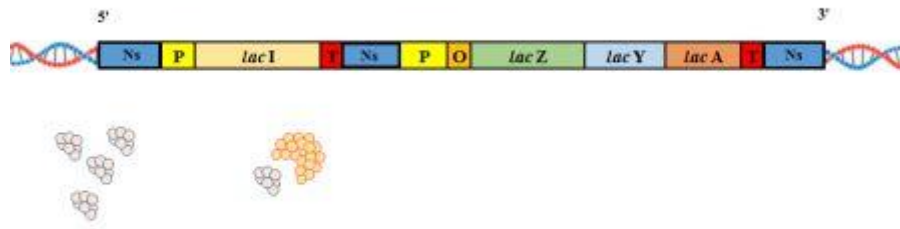
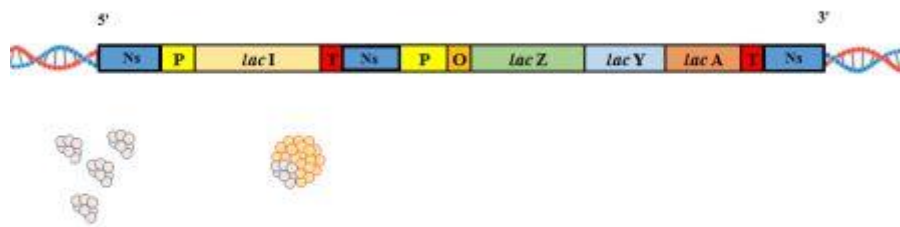
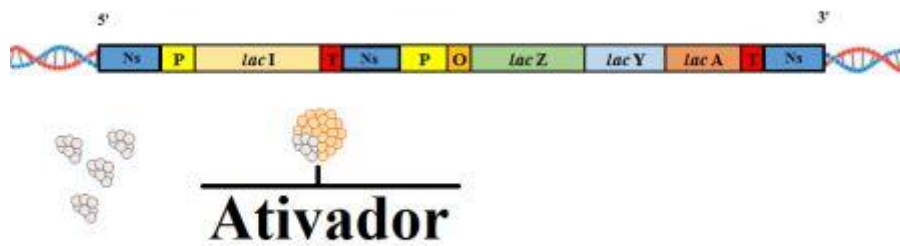
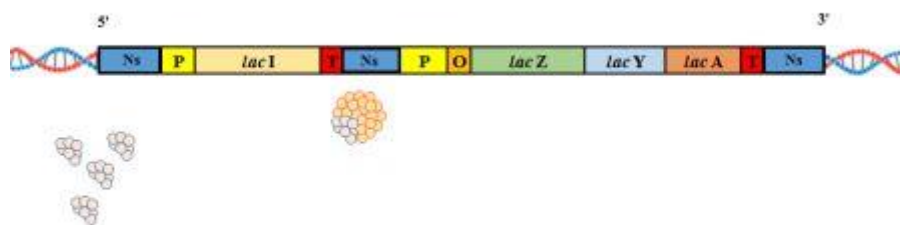


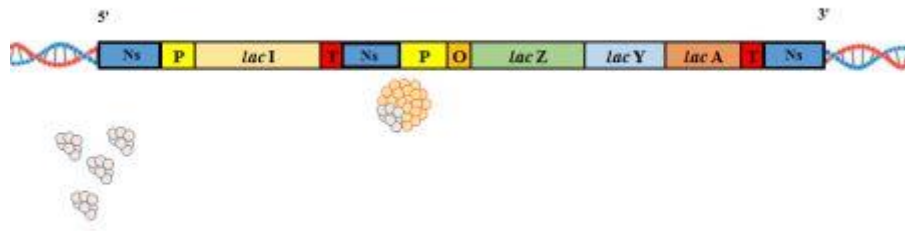
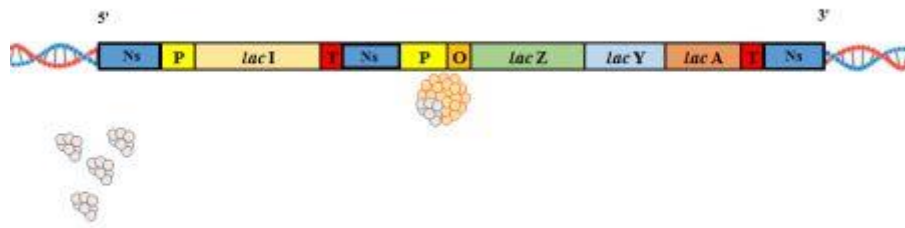
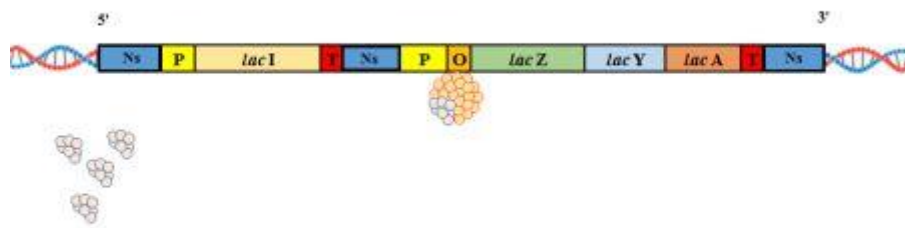
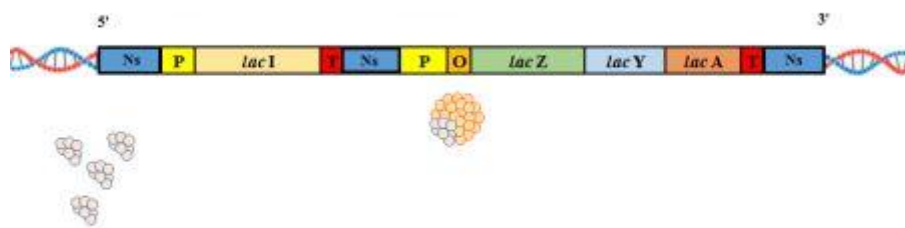
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

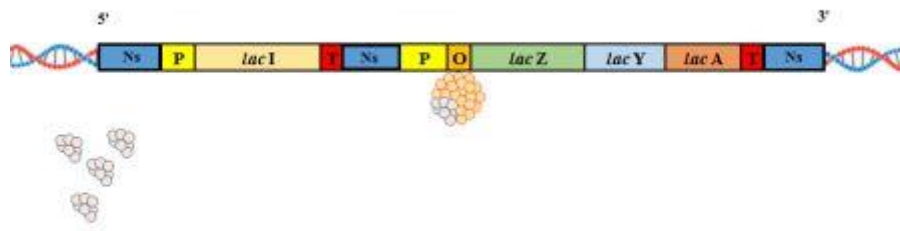
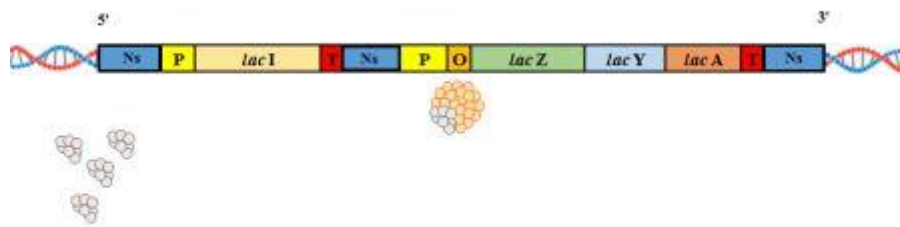
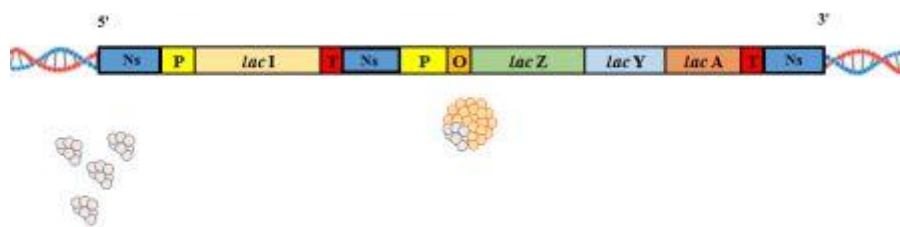
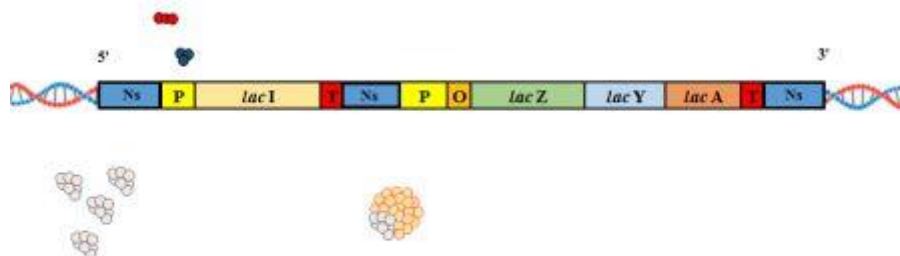
Presença de lactose

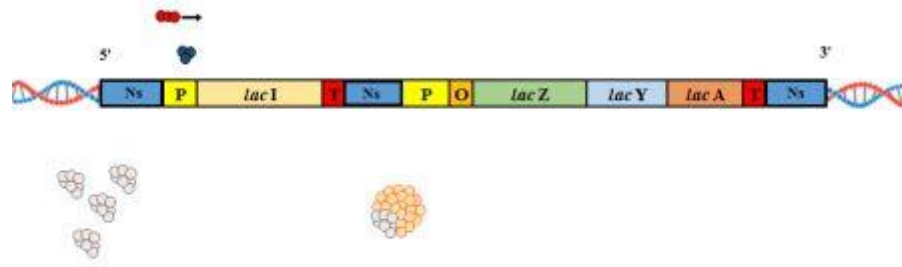
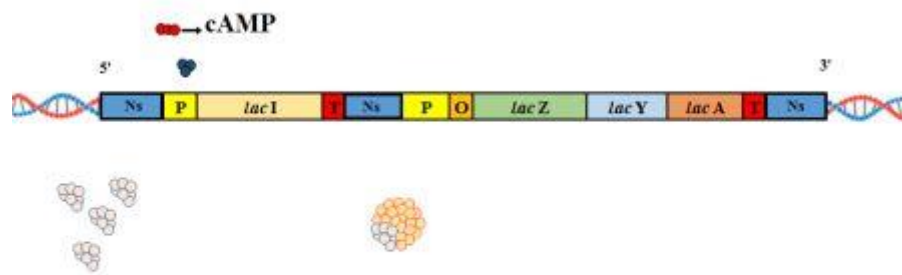
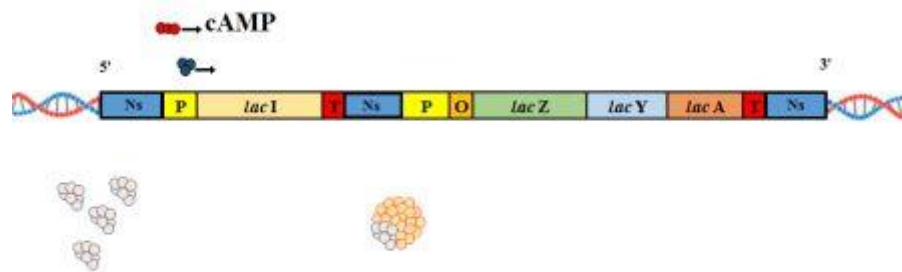
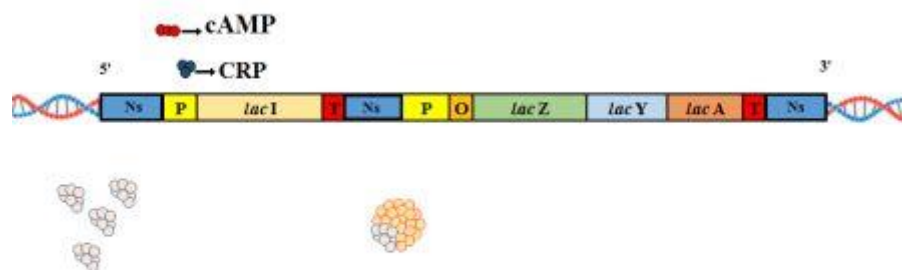
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

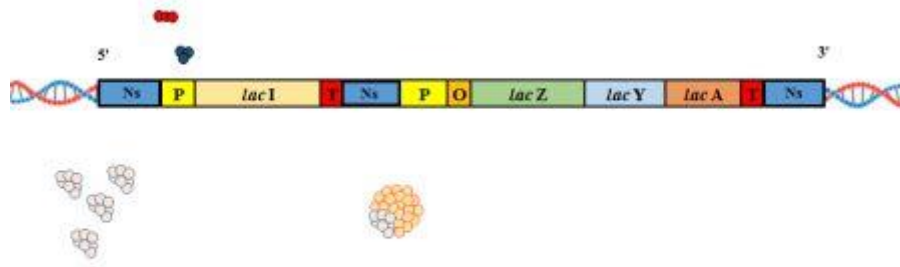
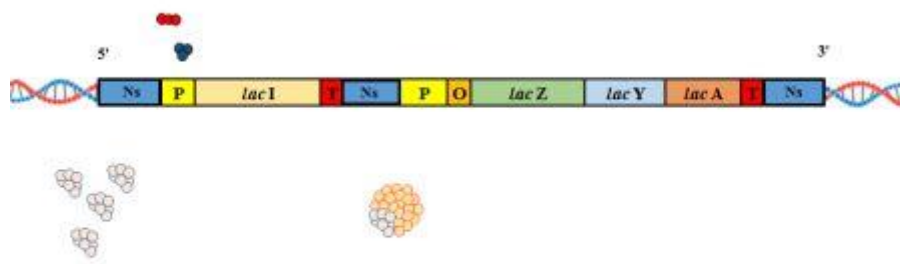
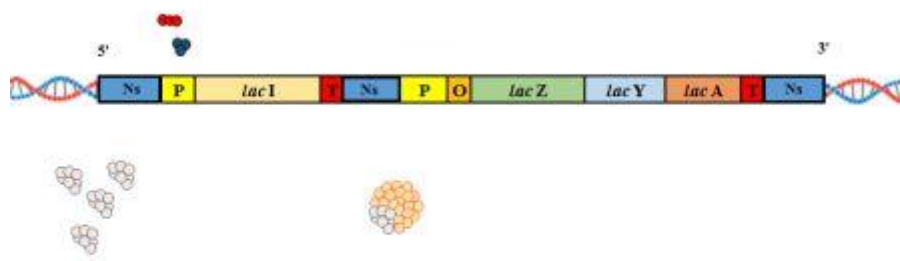
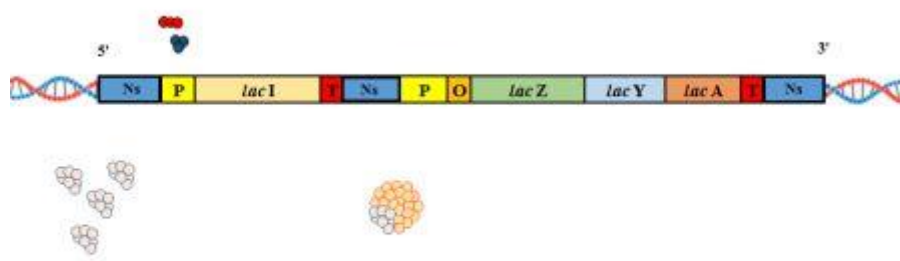
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

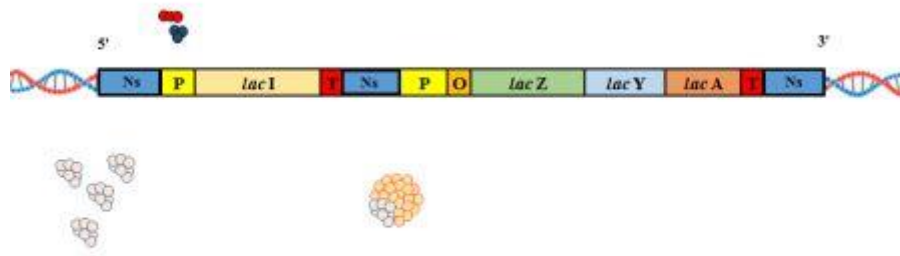
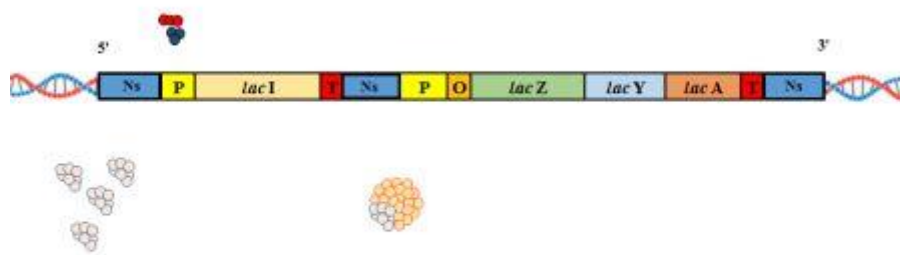
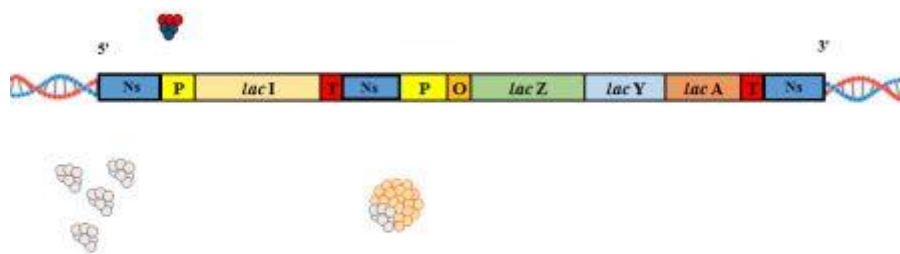
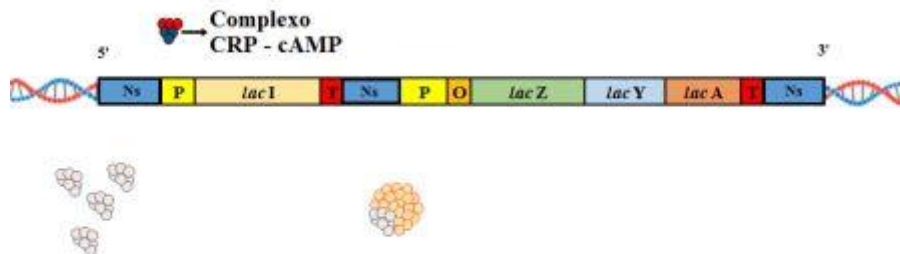
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

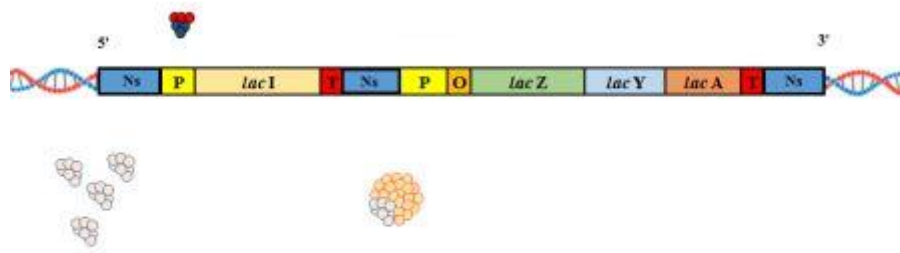
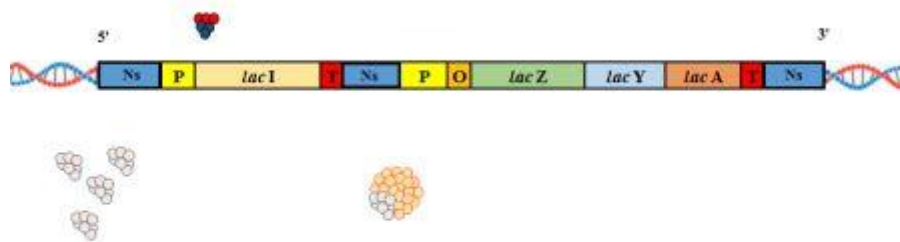
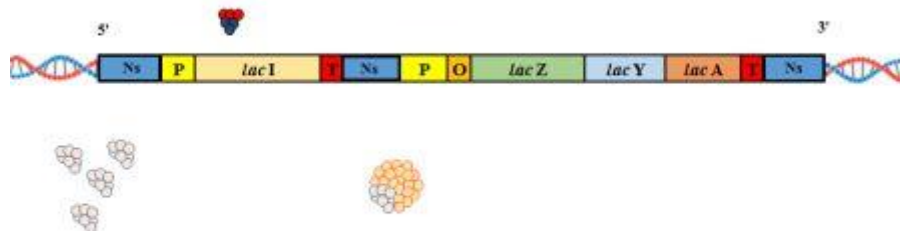
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

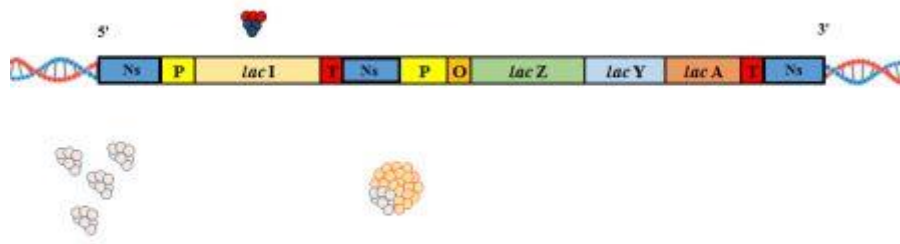
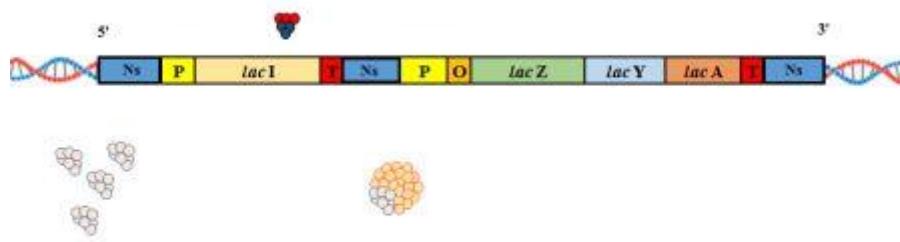
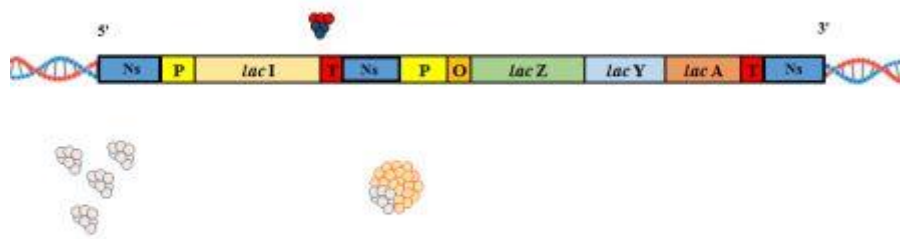
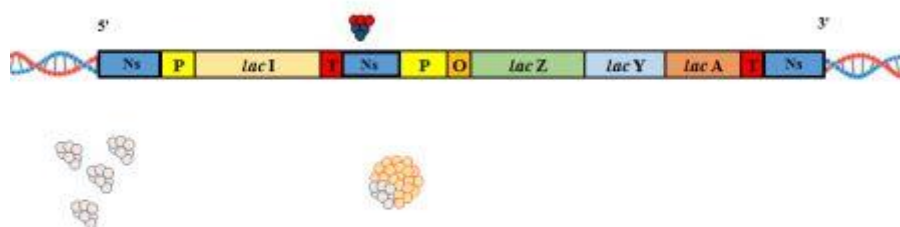
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

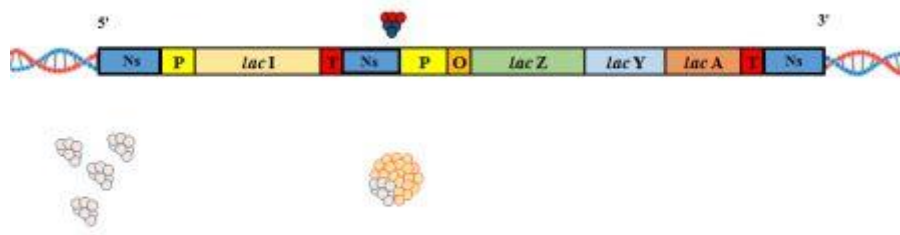
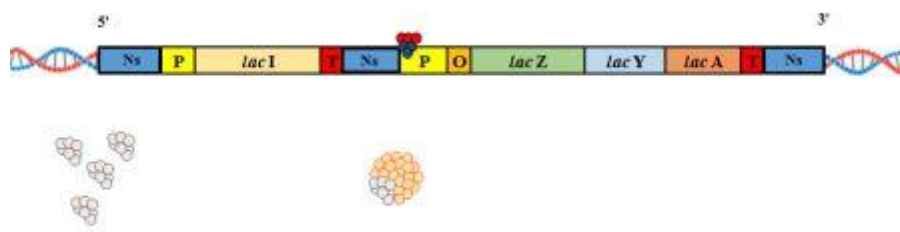
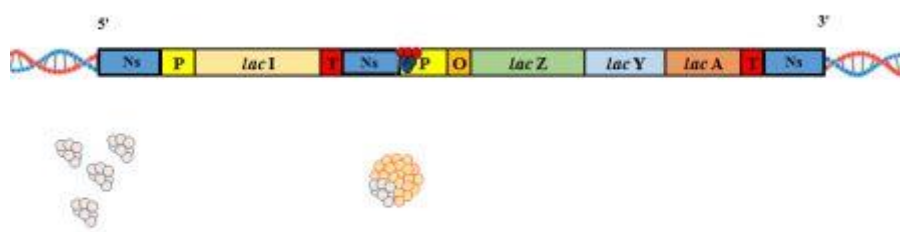
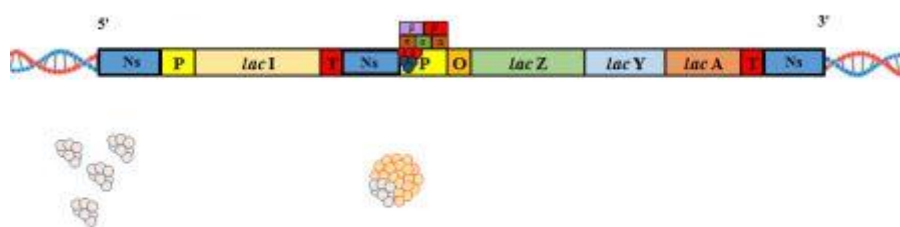
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

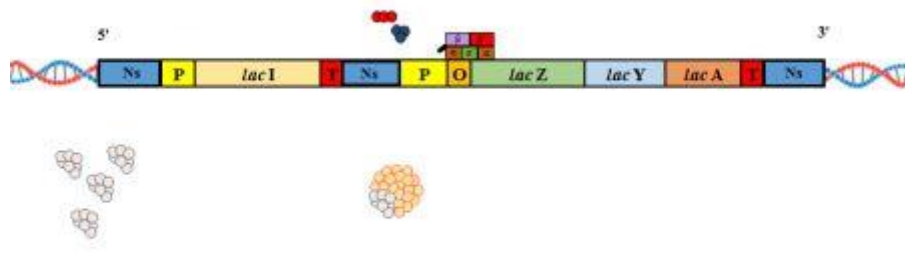
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

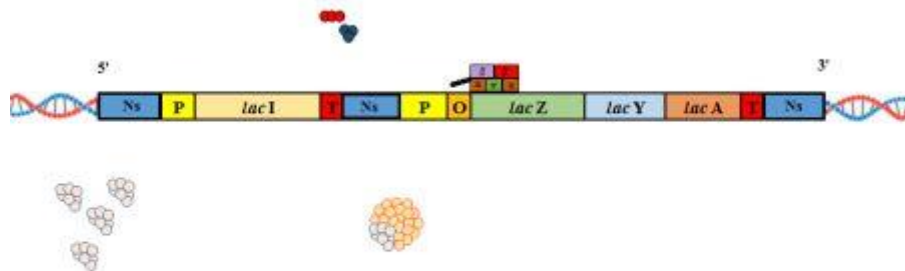
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

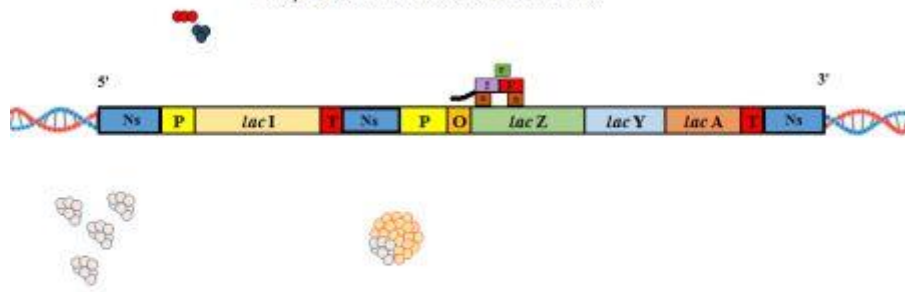
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



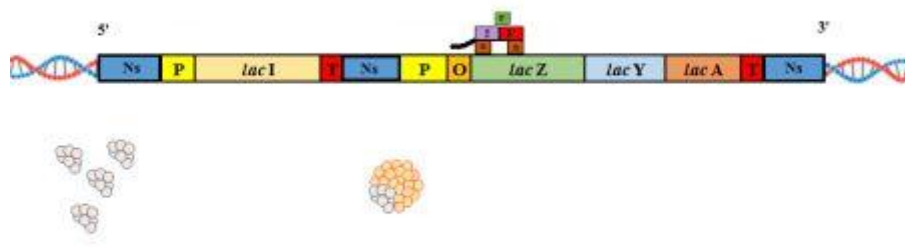
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

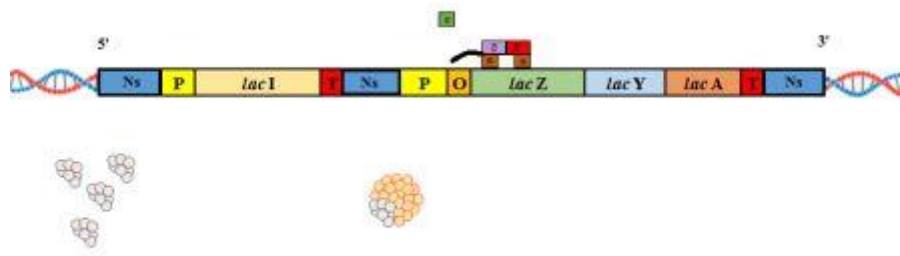
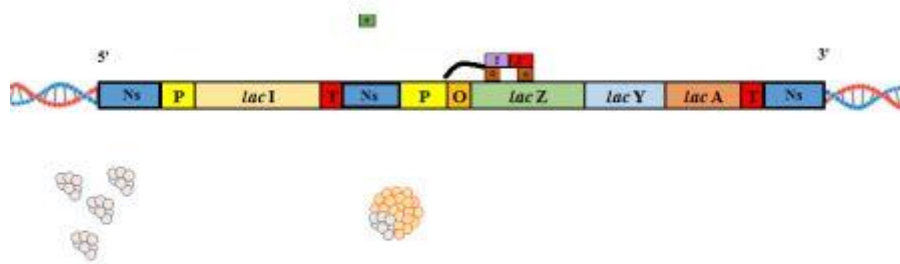
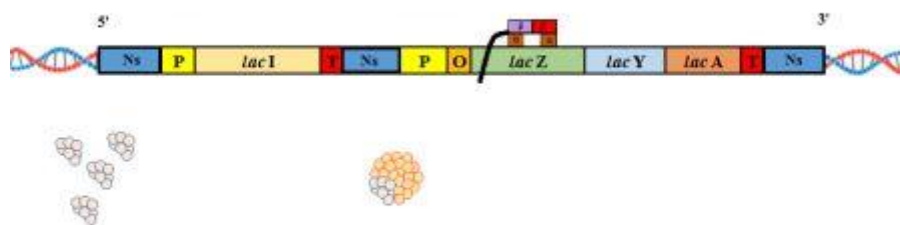
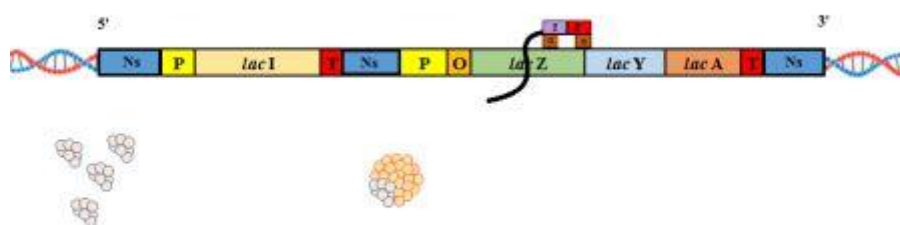


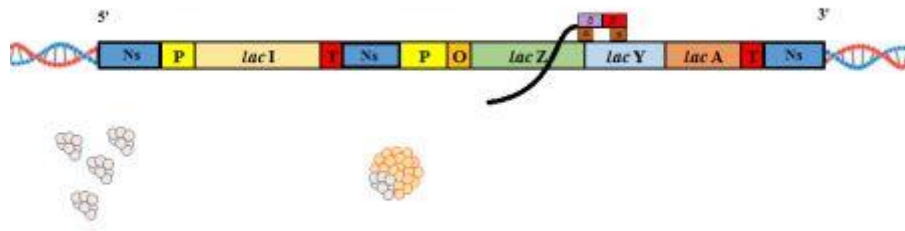
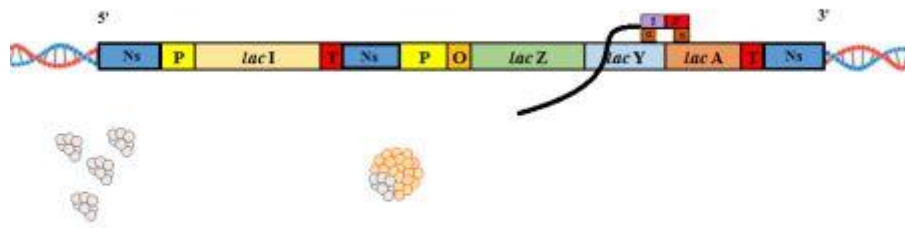
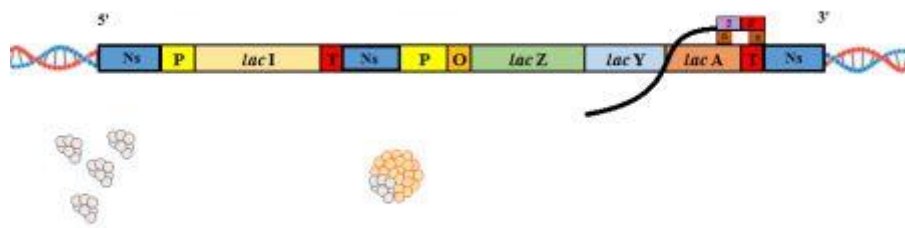
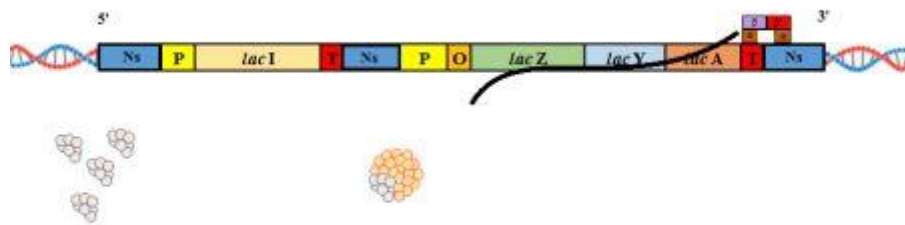
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

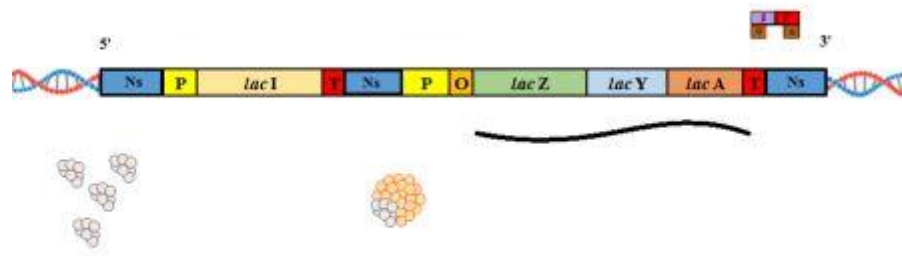
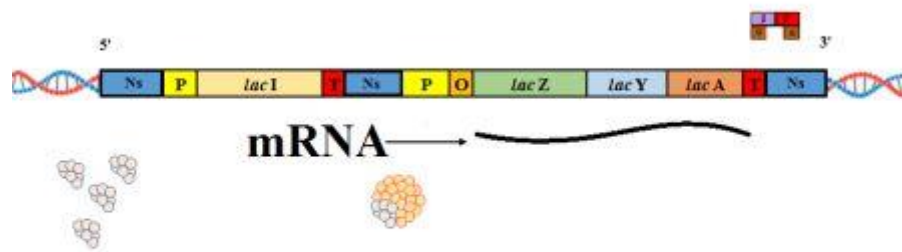
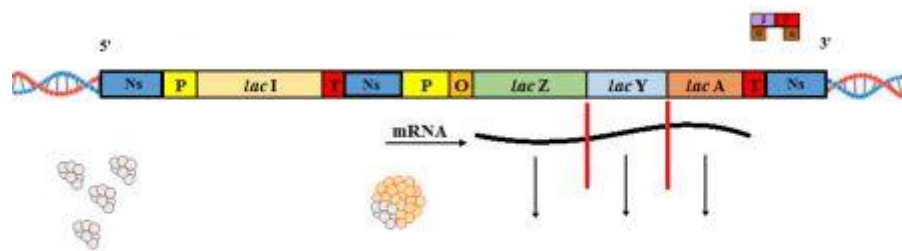
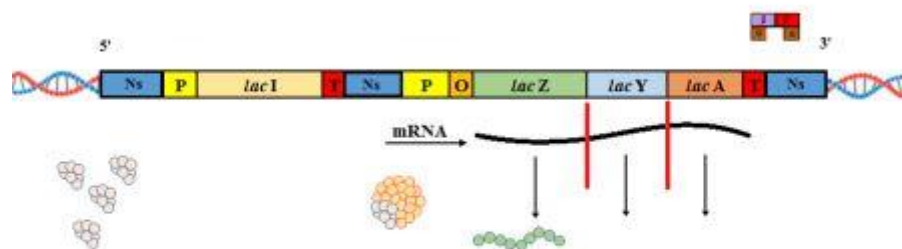


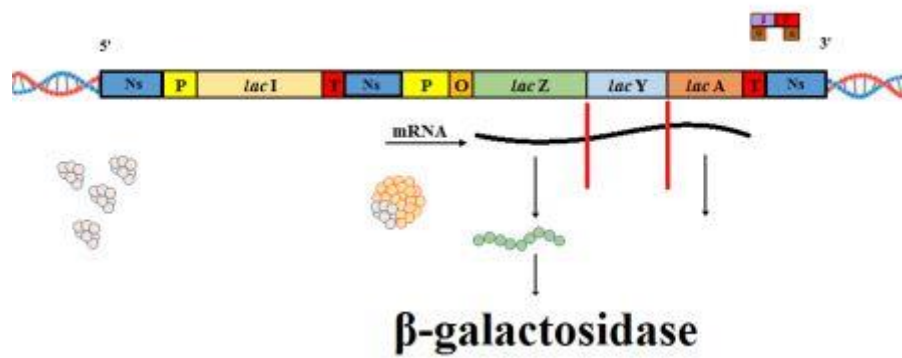
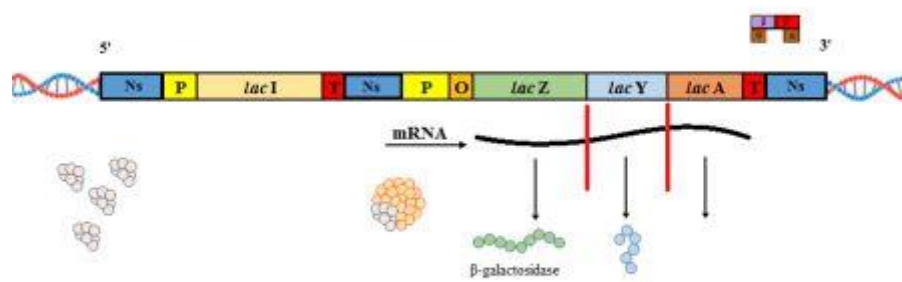
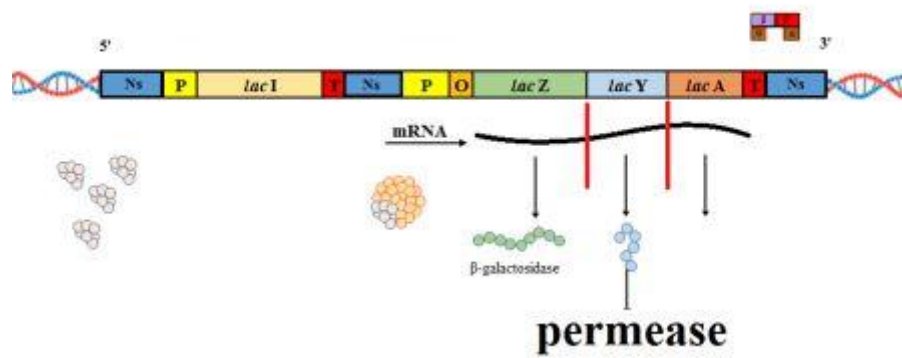
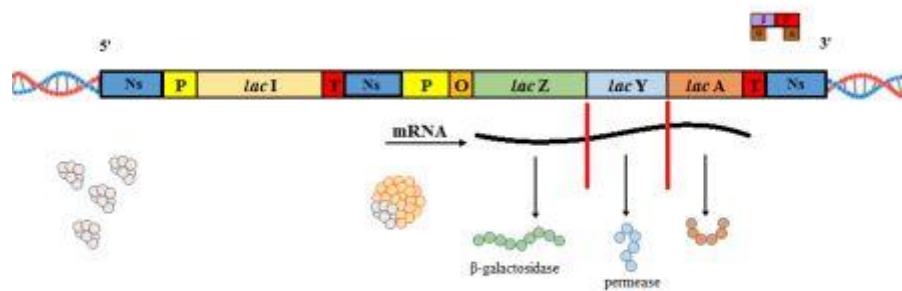
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

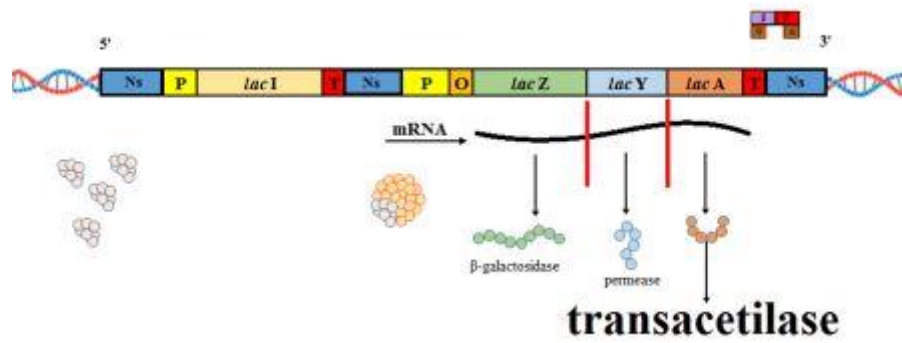
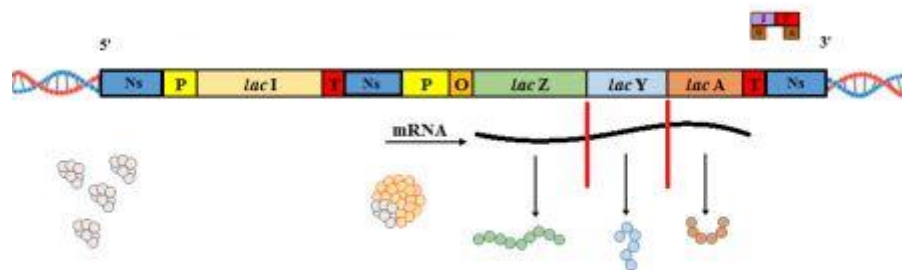
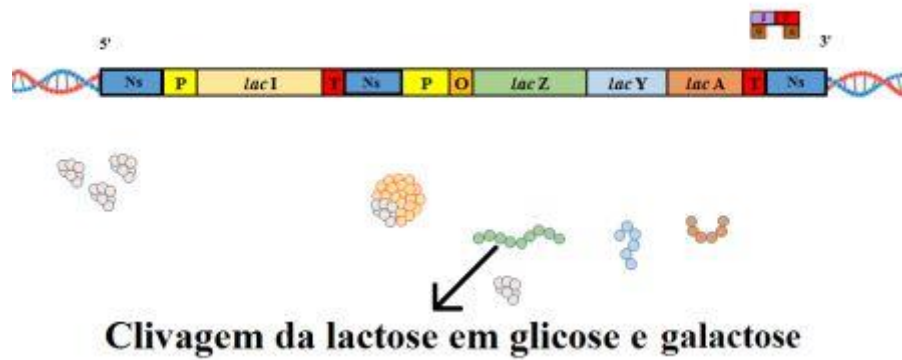
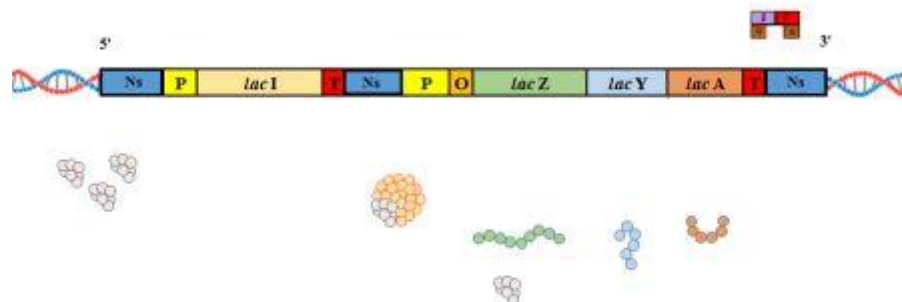


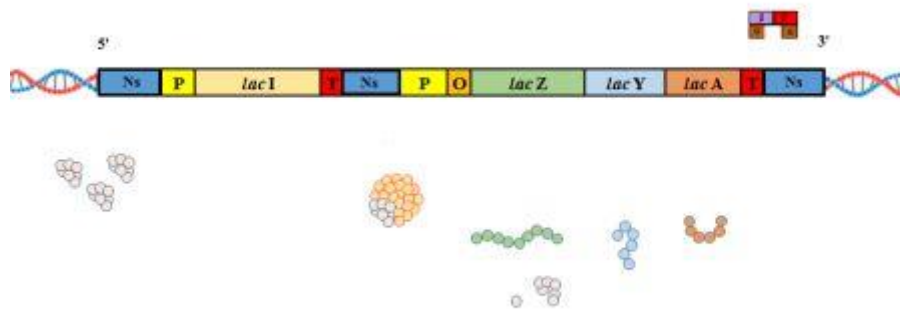
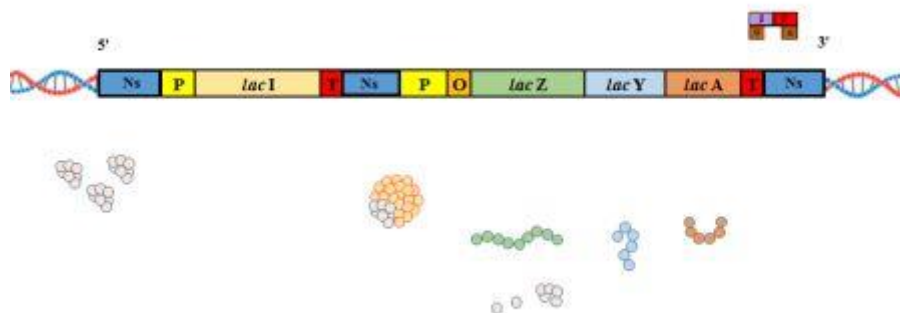
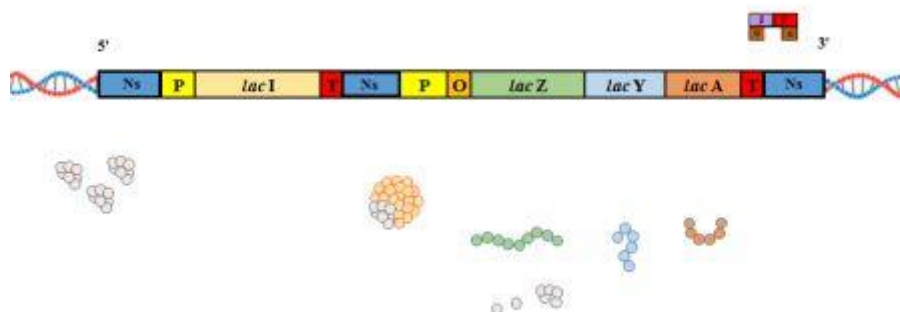
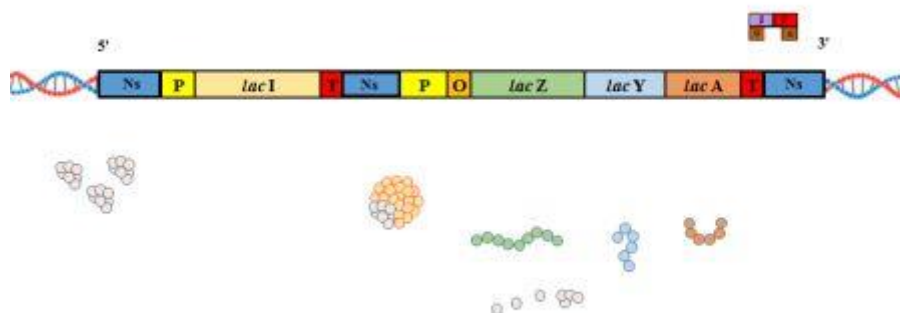
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

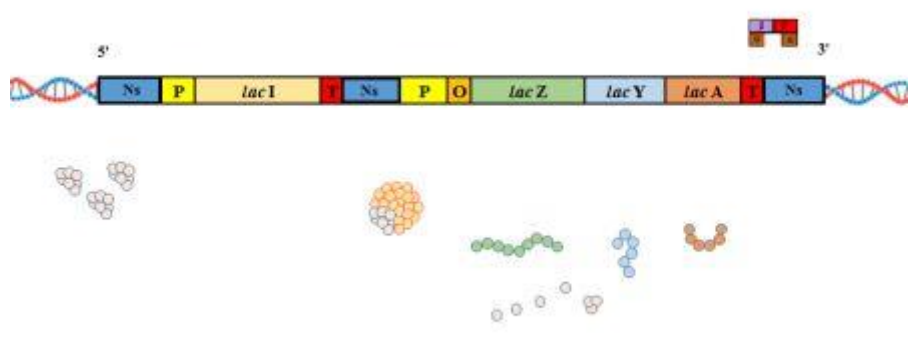
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

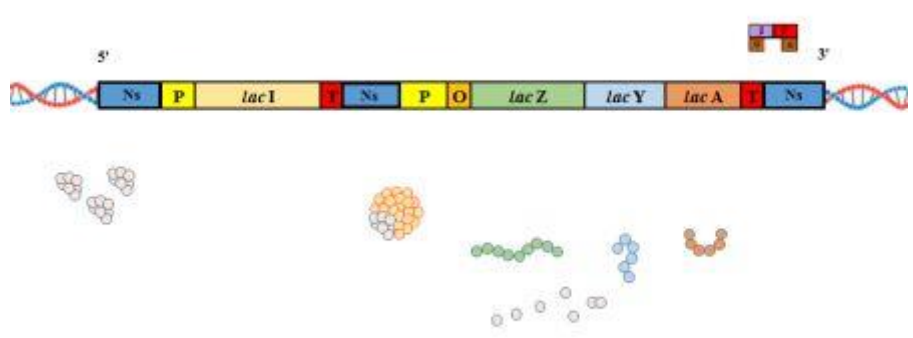
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

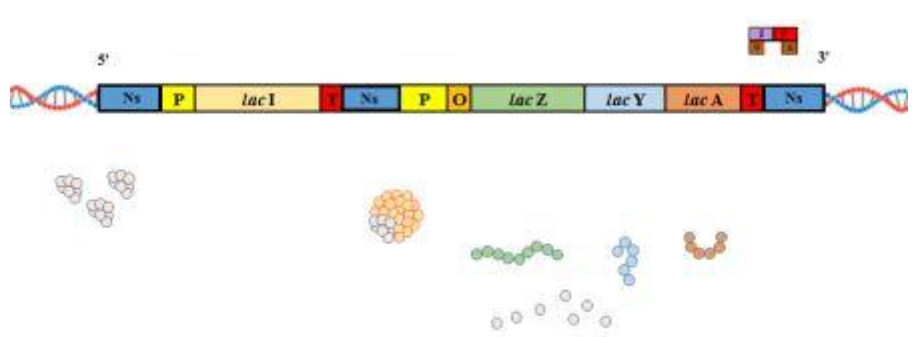
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



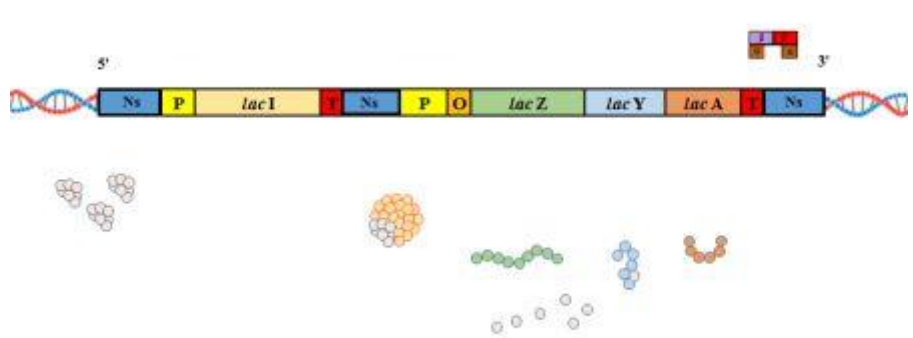
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

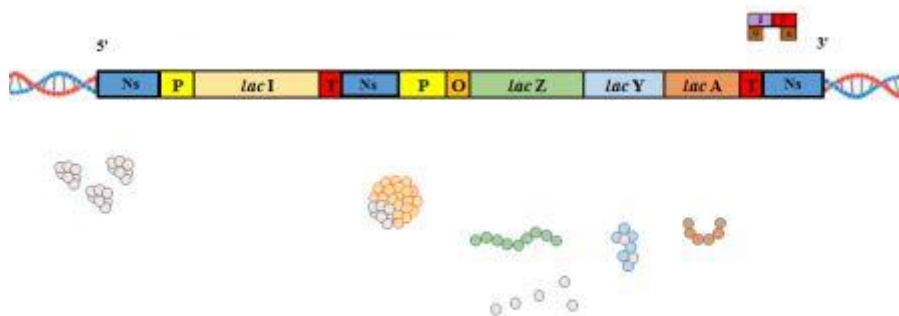
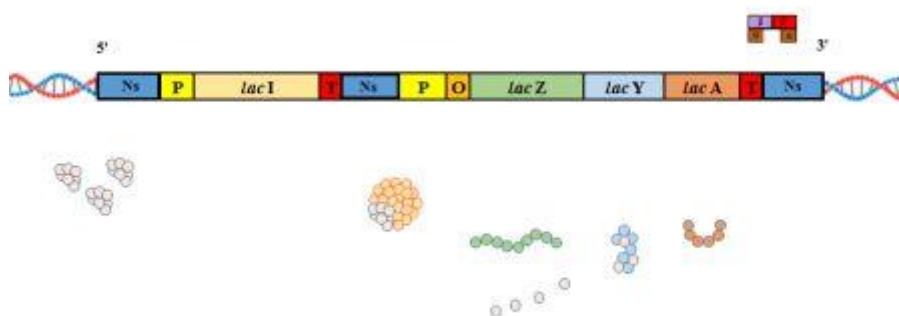
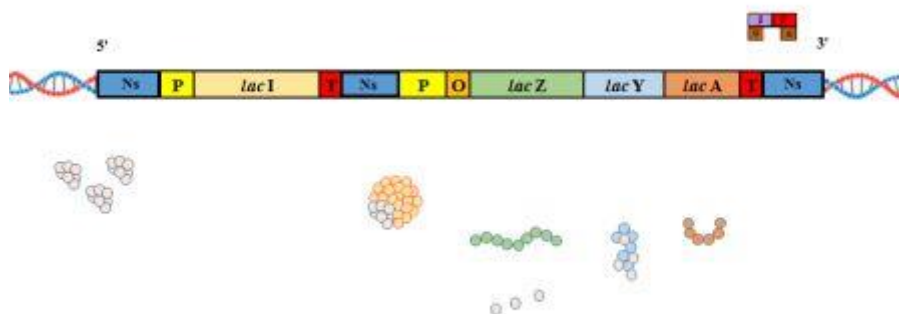
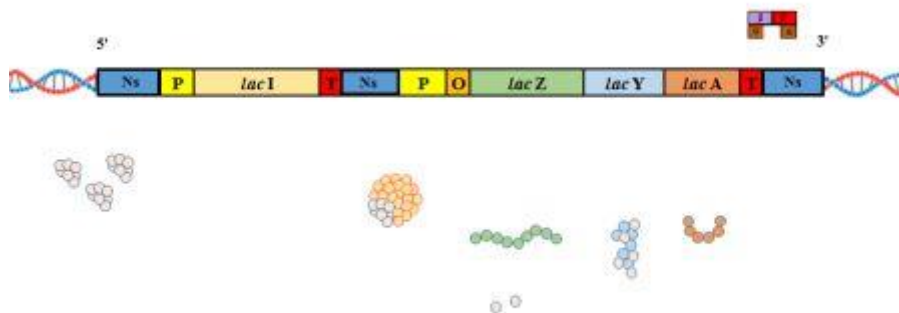


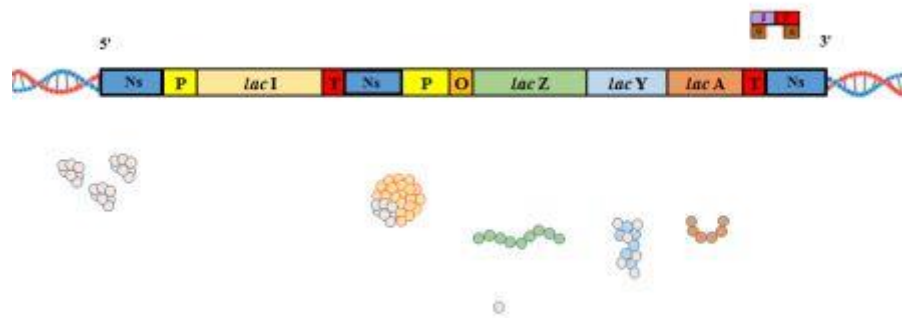
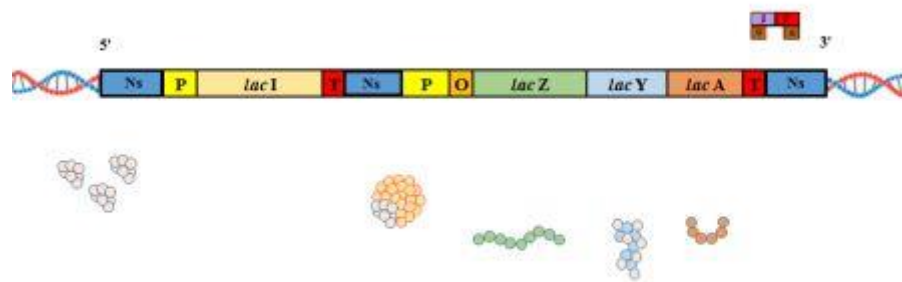
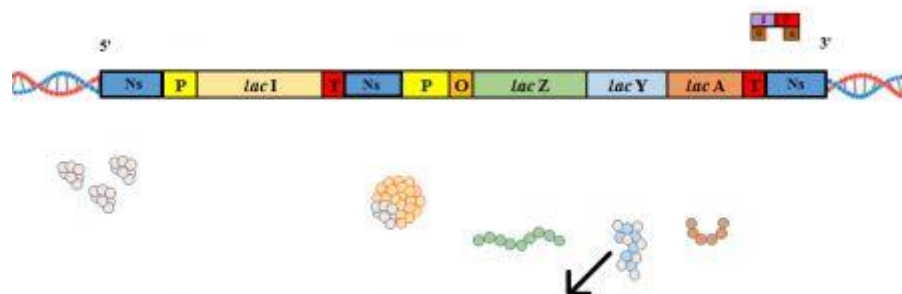
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



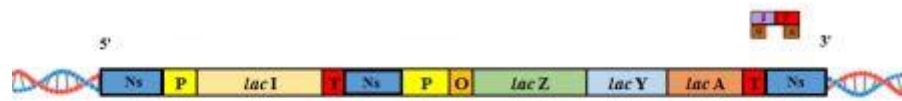
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*



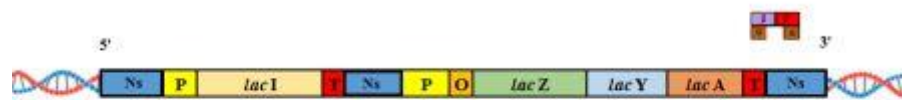
Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Transporta a lactose para dentro da célula

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

Grupo para β -galactosídeos

Porção do cromossomo de *Escherichia coli*

FIM