

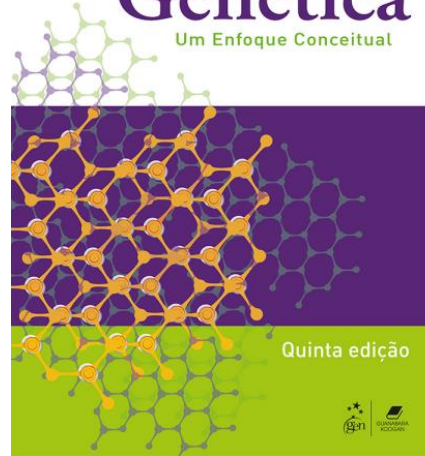
Estrutura de ácidos nucleicos: DNA e RNA

Dra. Nádia Ap Bérghamo

Benjamin A. Pierce

Genética

Um Enfoque Conceitual



2016

INTRODUÇÃO À GENÉTICA

Anthony J. F. Griffiths

Susan R. Wessler

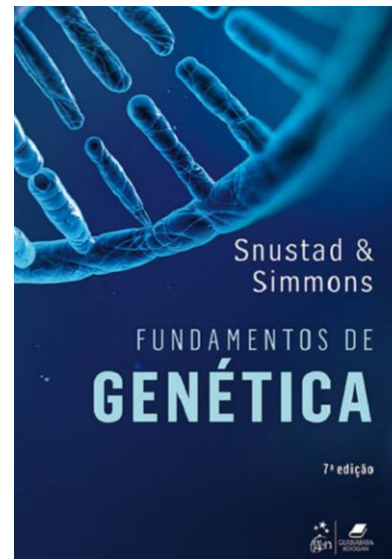
Sean B. Carroll

John Doebley

11ª EDIÇÃO



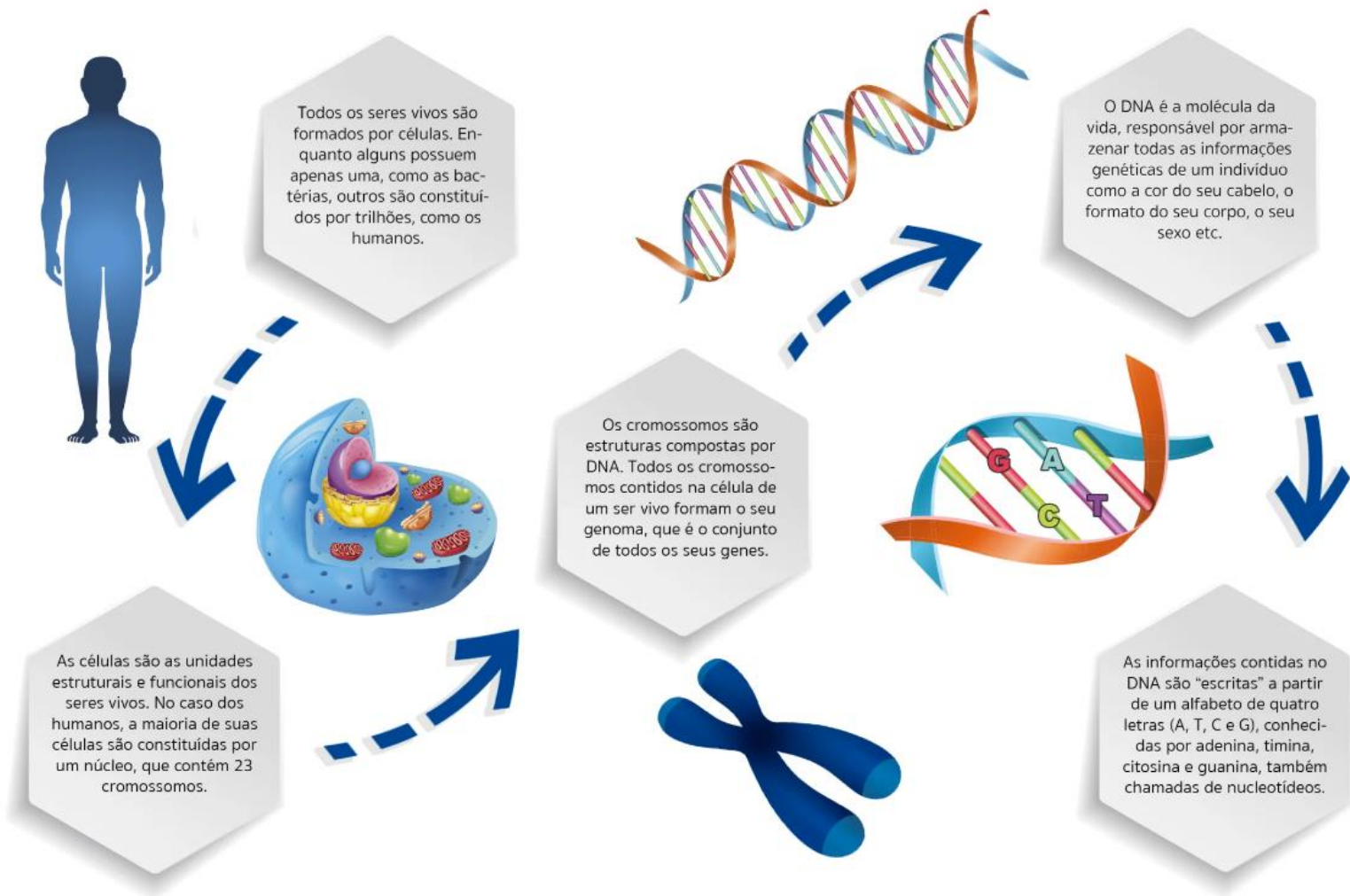
2016



2017

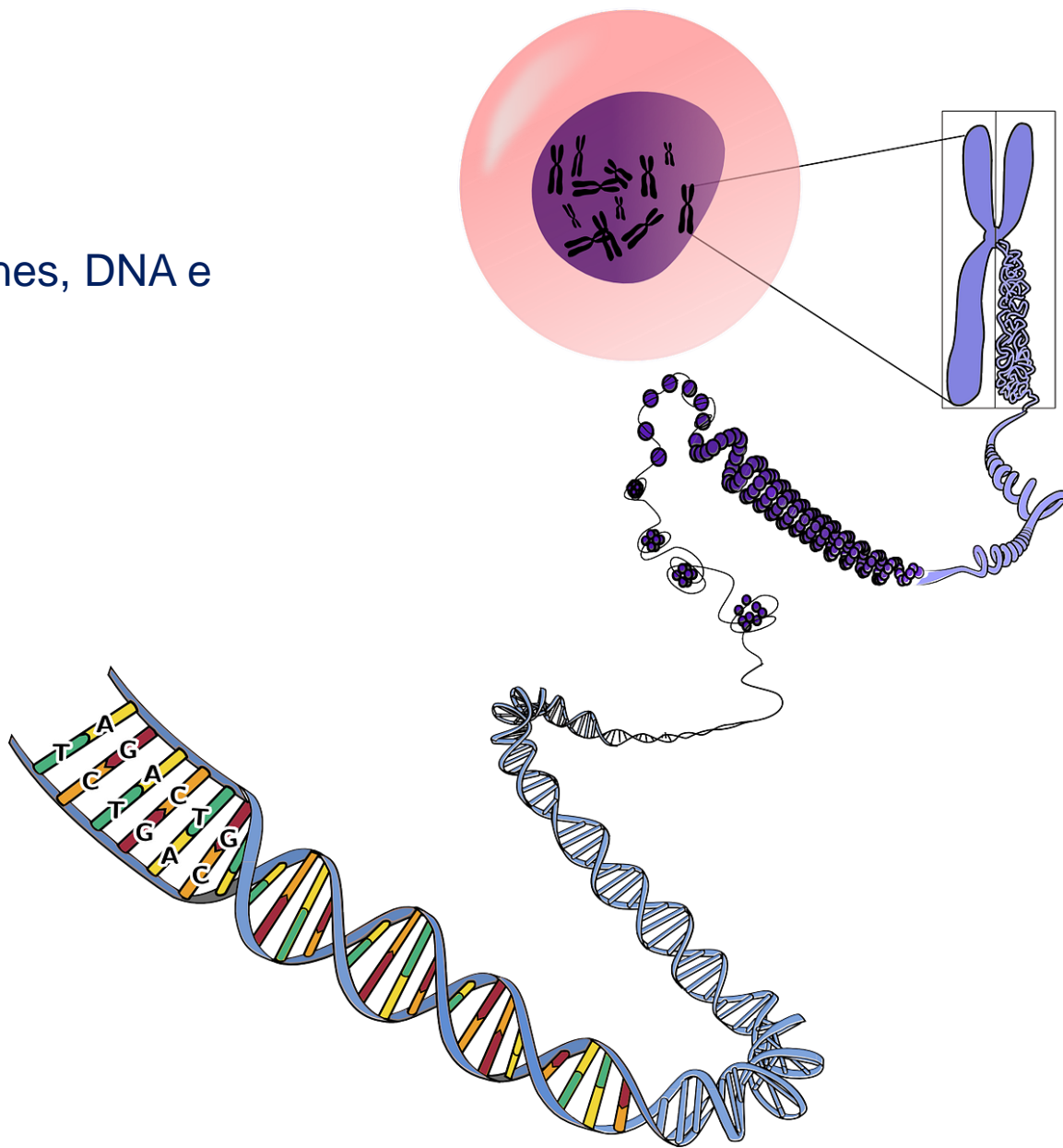


2010



A informação genética de cada ser vivo, contida em seu DNA, é única. A sequência completa do DNA de um organismo compõe o seu genoma – Fonte: DvComun/Esalq/USP

Relações entre os genes, DNA e cromossomos.



Genoma

Definições

- Conjunto completo de instruções genéticas.

Pierce, 2011.

- O complemento inteiro de material genético em um conjunto cromossômico.

Griffiths et al., 2010.

- Conjunto total de diferentes moléculas de DNA de uma organela, célula ou organismo.

Strachan & Read, 2013.

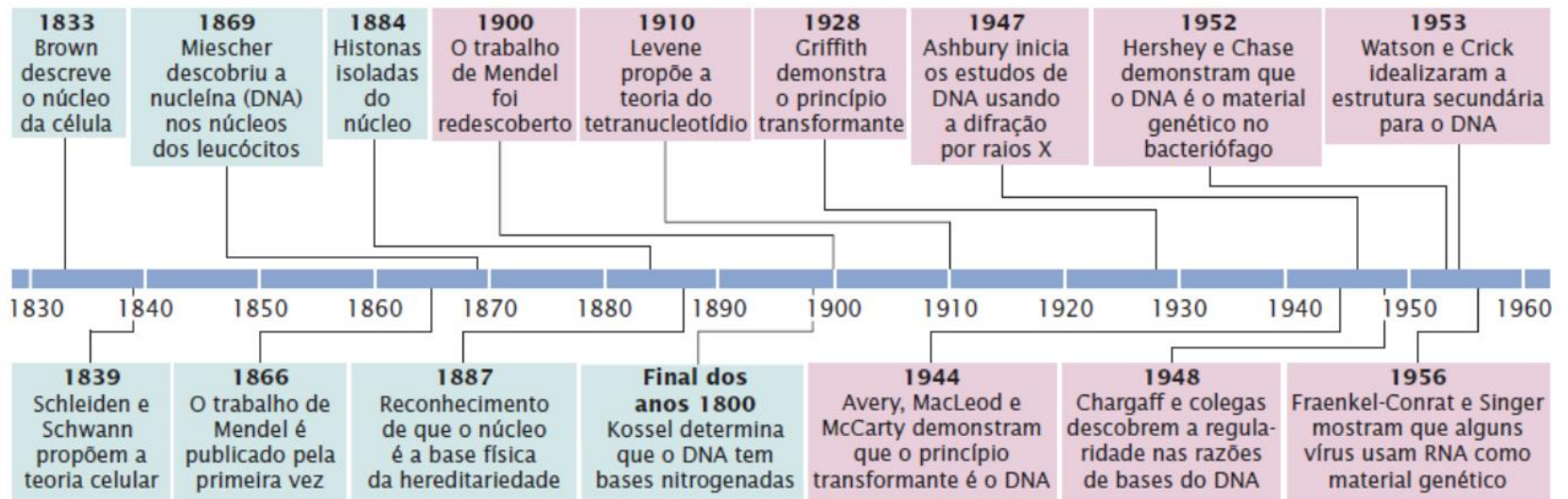
O conjunto de informações hereditárias codificadas no DNA de um organismo, incluindo sequências tanto codificadora de proteínas como não codificadoras de proteínas.

Klug et al., 2019.

- Conjunto completo (n) de cromossomos (portanto de genes) herdado como uma unidade de um dos pais.
- Genótipo – constituição genética (composição gênica) de um organismo.

Snustad & Simomons, 2020.

Muitos contribuíram para a compreensão sobre a estrutura do DNA



Padrão de herança é definido por Mendel

- 1864, o monge austríaco Gregor Mendel identificou que a herança de caracteres de ervilhas seguiam padrões bastante definidos, ao que chamou de “fatores”, e também definiu alelo.

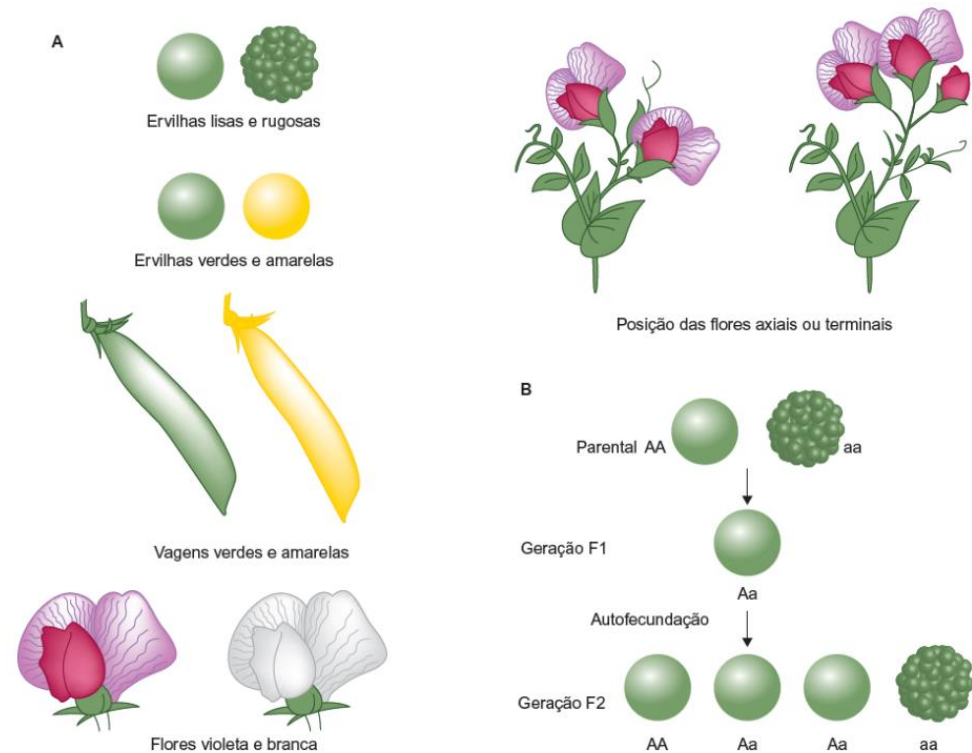
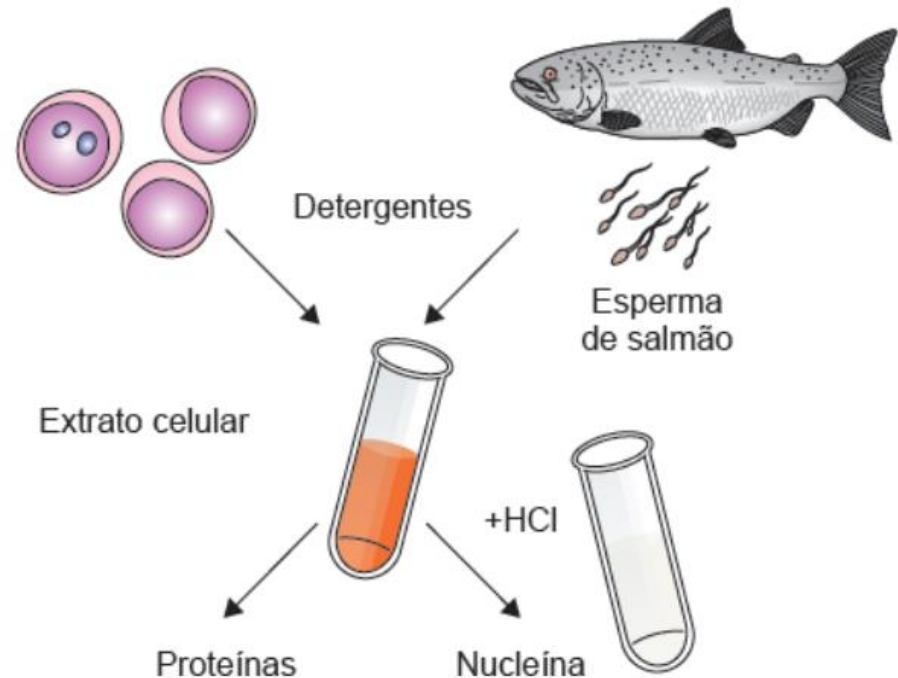


Figura 1.1 A. Principais caracteres estudados em cruzamentos de ervilhas por Mendel. B. Exemplo de um padrão de

Identificação da nucleína por Miescher

- Suíça, em 1869, o bioquímico suíço Johann Friedrich Miescher estudou o núcleo de linfócitos e de esperma de salmão (no qual 90% da célula é constituído pelo núcleo).
- Nos núcleos ele encontrou uma **substância branca, ácida, rica em fósforo, que chamou de “nucleína”**.
- 1889, o aluno de Miescher, Richard Altmann, denominou essa substância de **ácido nucleico**, que constitui as moléculas de DNA e RNA.



Menck e Sluys, 2017.

A pergunta era: qual a molécula responsável pela hereditariedade?

DNA OU PROTEÍNAS

```
graph TD; A[DNA OU PROTEÍNAS] --> B[Componentes que variam: apenas 4 bases nitrogenadas]; A --> C[20 aminoácidos diferentes];
```

Componentes que variam: apenas 4 bases nitrogenadas

20 aminoácidos diferentes

?

1928 – Frederick Griffith

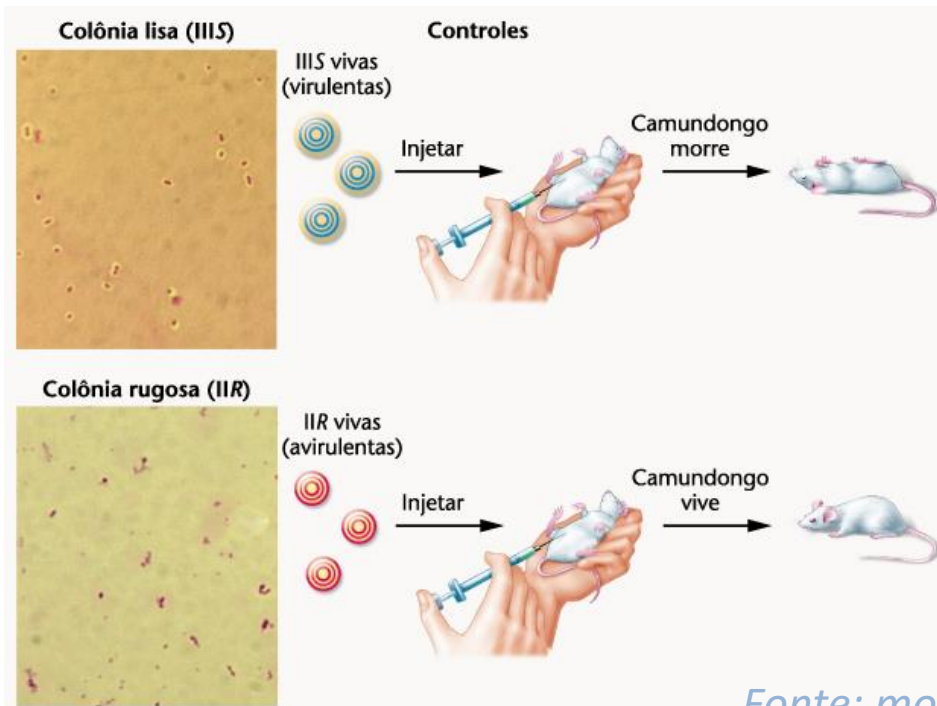
DNA: fenômeno da *transformação*

Streptococcus pneumoniae

Tipo I, II, III...isolou várias linhagens

Virulentas: capas de polissacarídeo - **S**

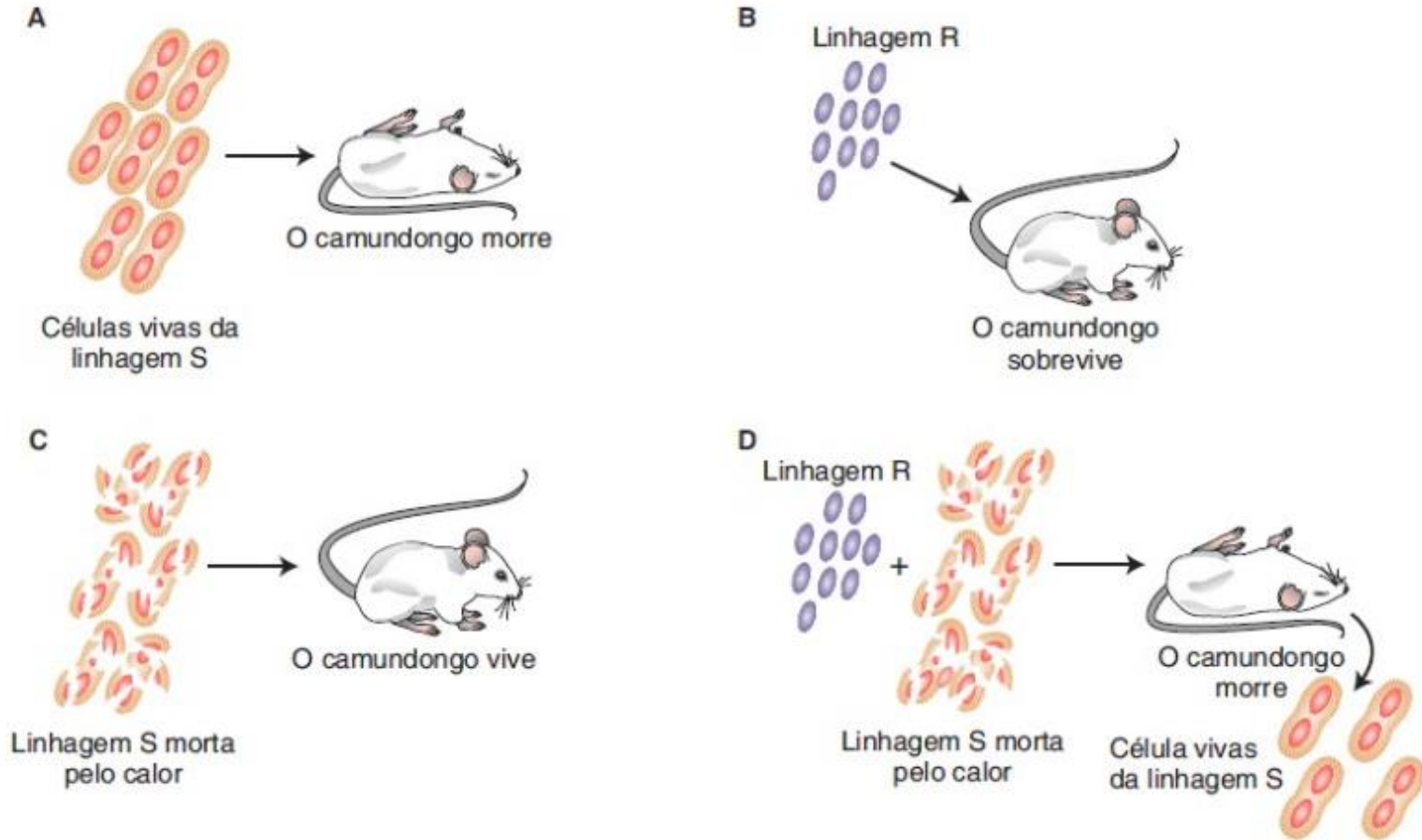
Avirulentas: sem capa de polissacarídeo - **R**



Fonte: modificado de Klug et al, 2010.

Experimento de Griffith:

⇒ primeira demonstração da transformação bacteriana



D - O camundongo morre após a injeção de uma mistura da linhagem S morta pelo calor e da linhagem R viva.

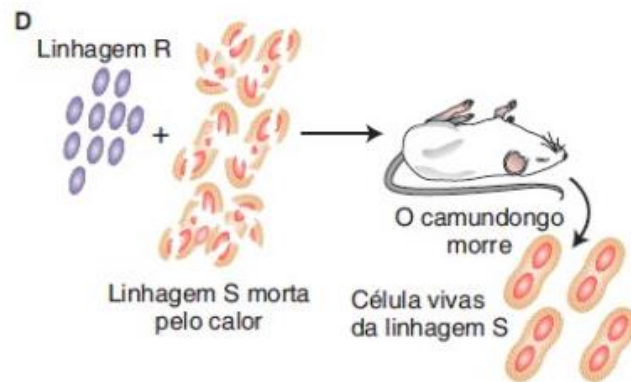
Virulência: IIS mortas + IIR vivas - IIS vivas

Três possíveis interpretações consideradas por Griffith:

1 – Alguma bactéria do tipo IIS teria ficado viva?

2 – Bactérias tipo IIR teriam mutado para a forma virulenta?

3 – Bactérias tipo IIR teriam sido transformadas?



- Griffith não conseguiu entender a natureza da transformação.
- Concluiu que alguma substância no envoltório polissacarídico seria o que ele chamou de **PRINCÍPIO TRANSFORMANTE**.

- Células S vivas foram isoladas do camundongo morto, indicando que a linhagem S morta pelo calor de algum modo transforma a linhagem R na linhagem S virulenta.

1944 - Oswald Avery, Colin McLeod e Maclyn McCarty: identificação do princípio transformante

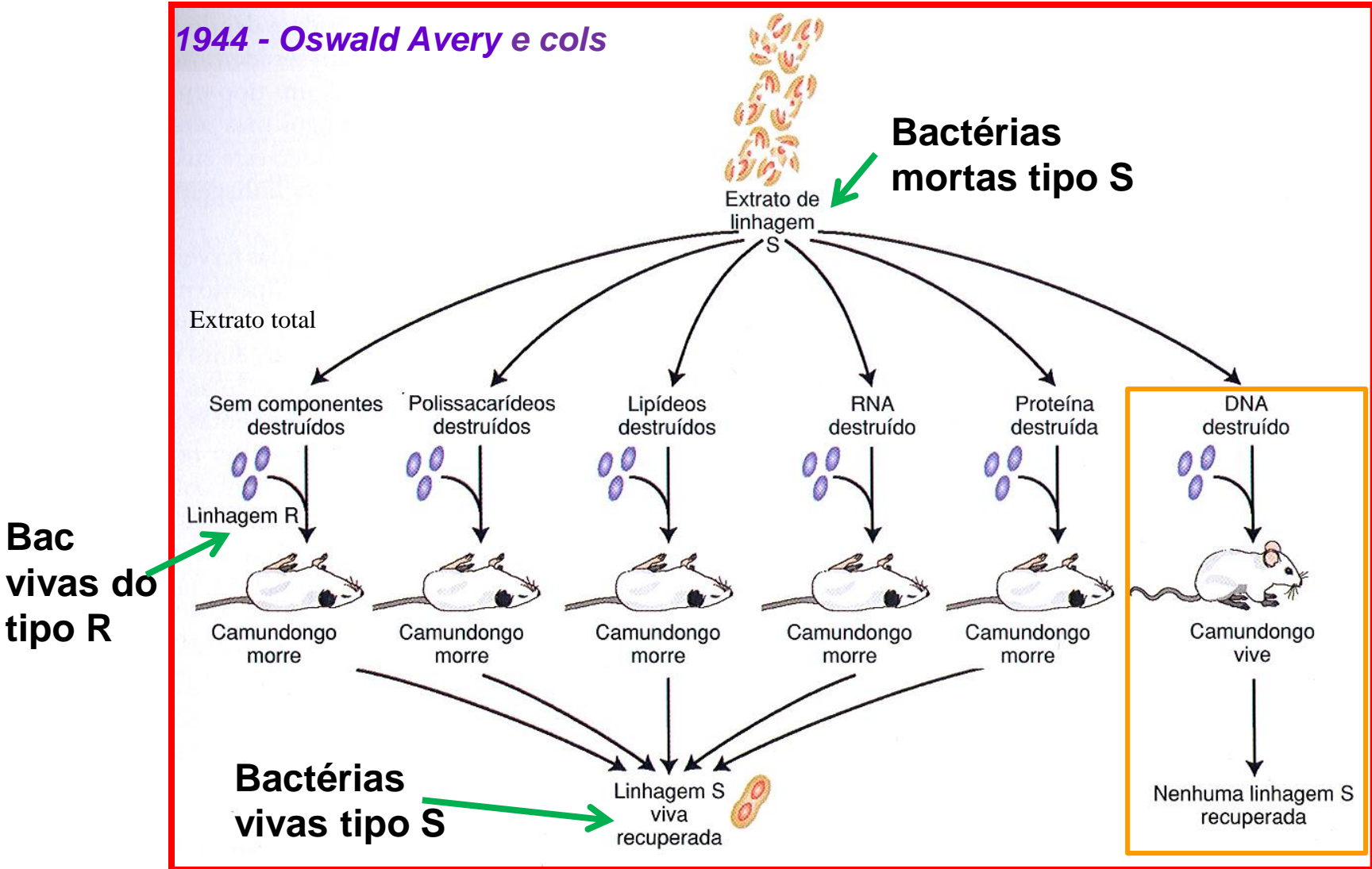
- Isolaram as classes de moléculas encontradas nos restos das bactérias S mortas.
- Testaram essas moléculas quanto a capacidade transformadora *uma de cada vez*.

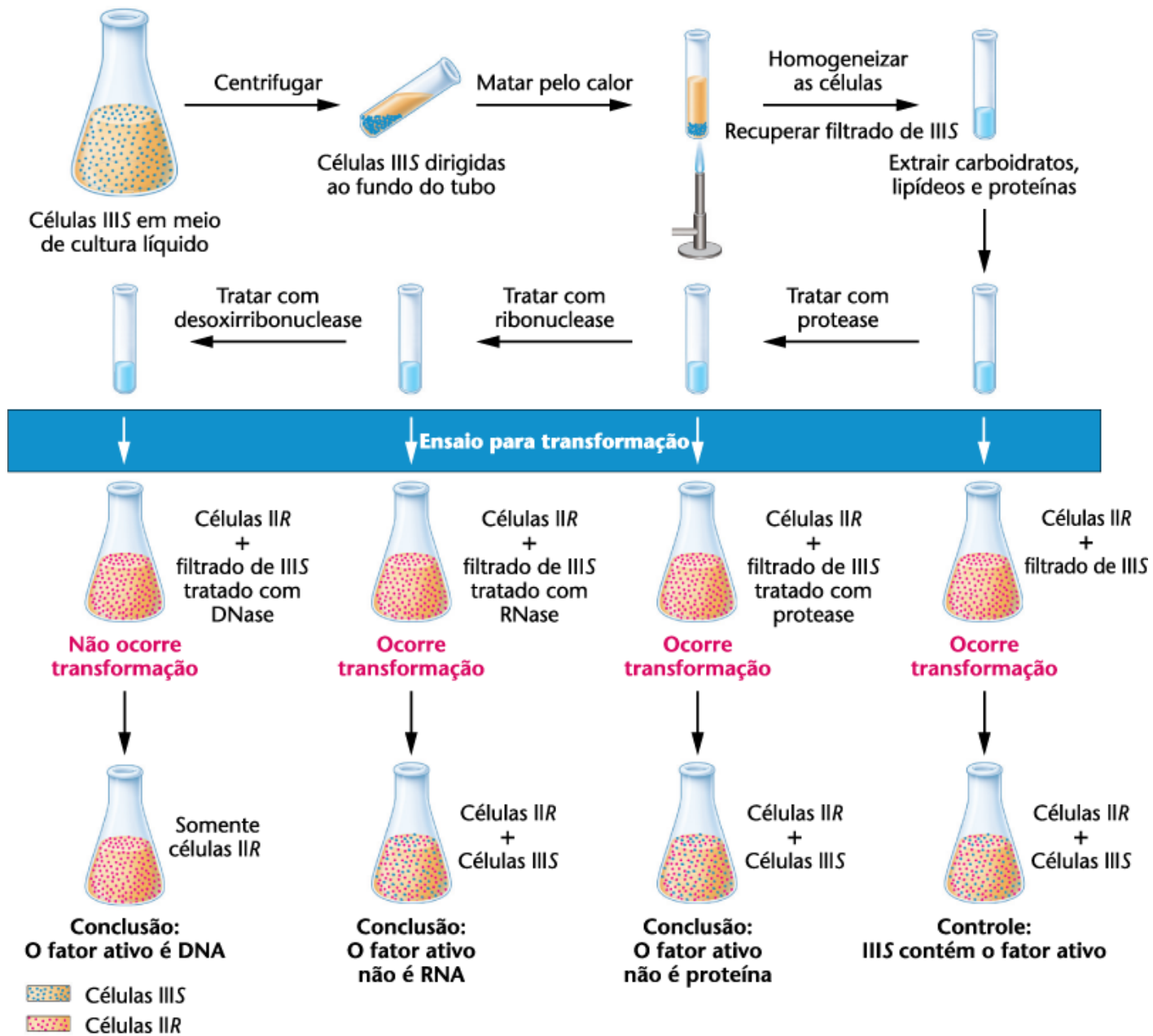
❖ **DNA: induzia a transformação da bactéria R.**

❖ Componente responsável pela transformação era o DNA.

Identificação do princípio transformante

1944 - Oswald Avery e cols





Fonte: modificado de Klug et al, 2010.

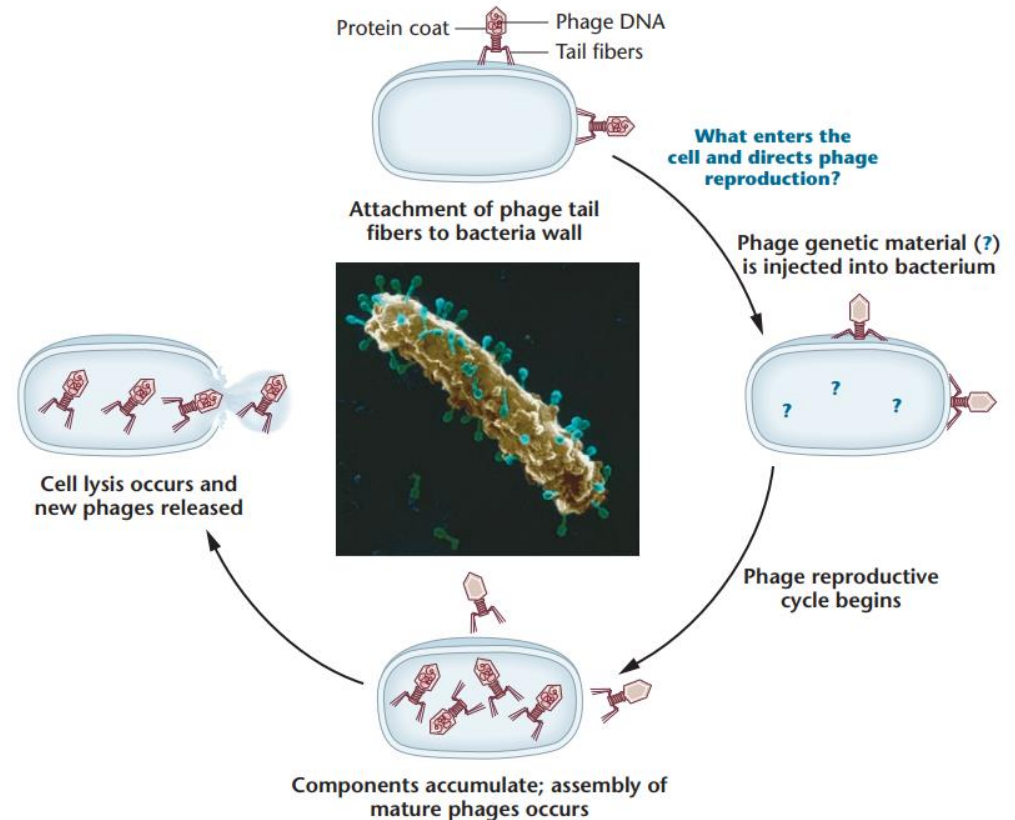
1952 - Hershey e Chase

Bacteriófago T2 - vírus que infecta *E. coli*.

Composição: estrutura simples DNA e proteínas.

Infecção: liga-se à parede celular e os fagos da prole são produzidos dentro da bactéria.

Prole tem as mesmas características do fago infectante. Como o material genético do fago infectante era transmitido para a prole?

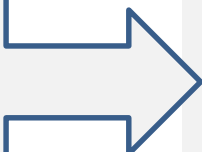


- **Determinar que material o fago injetava na bactéria.**

Isótopos radioativo de S^{35} e P^{32}

- Proteína contém S
- DNA contém P

Duas culturas:
Uma com S^{35} e
outra com P^{32}



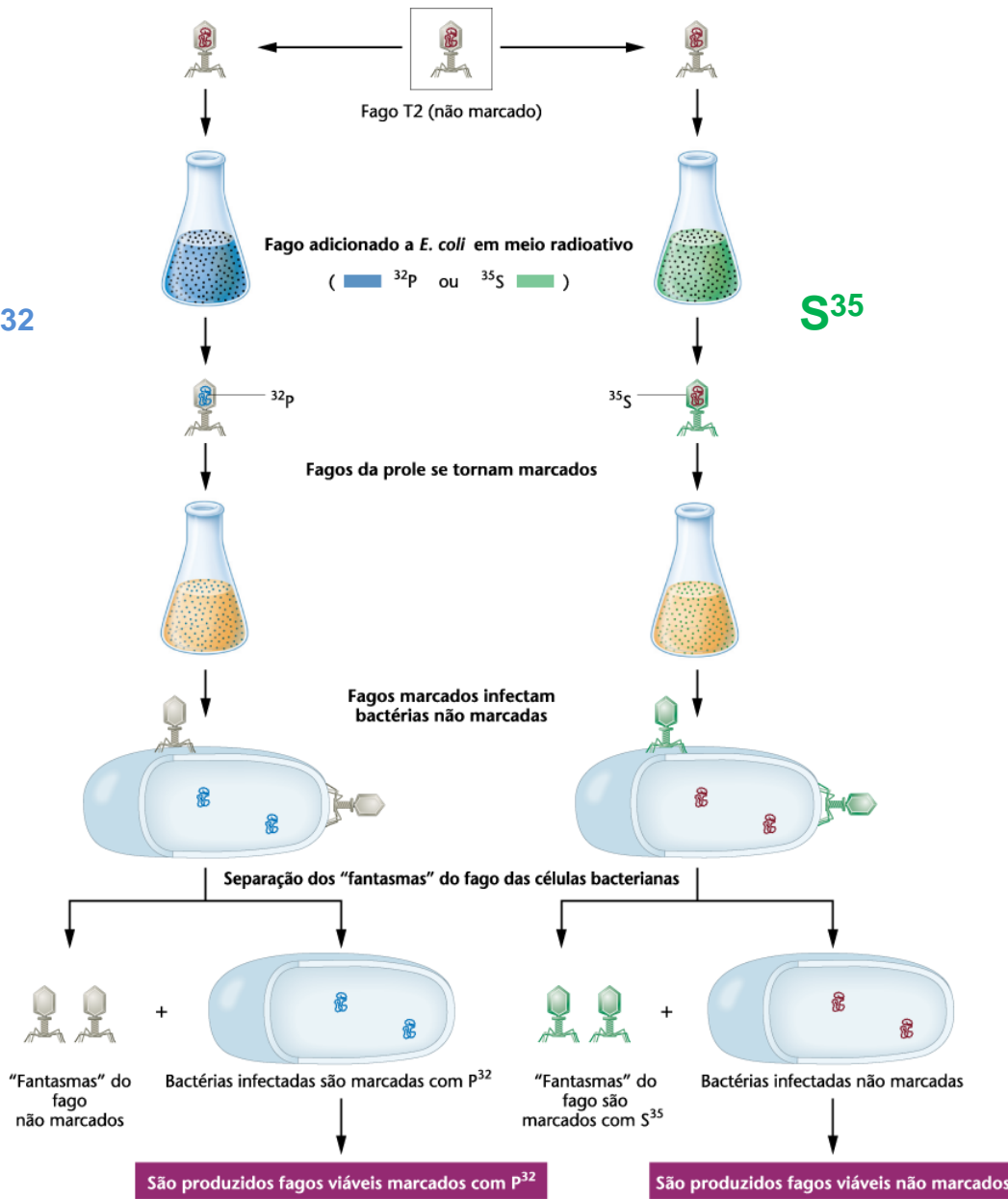
1. Cultivo de *E. coli* em meio com S^{35} – radioisótopo do enxofre
2. Cultivo de *E. coli* em meio com P^{32} – radioisótopo do fósforo

T2



Infectaram culturas separadas de *E. coli*

P³²



S³⁵

- Infecção: genes (DNA) do fago entram na célula hospedeira e **direciona** a síntese de novas partículas do fago.

FIGURA 10-6 Resumo do experimento de Hershey-Chase que demonstra que o DNA, não a proteína, é o responsável pela orientação da reprodução do fago T2 durante a infecção de *E. coli*.

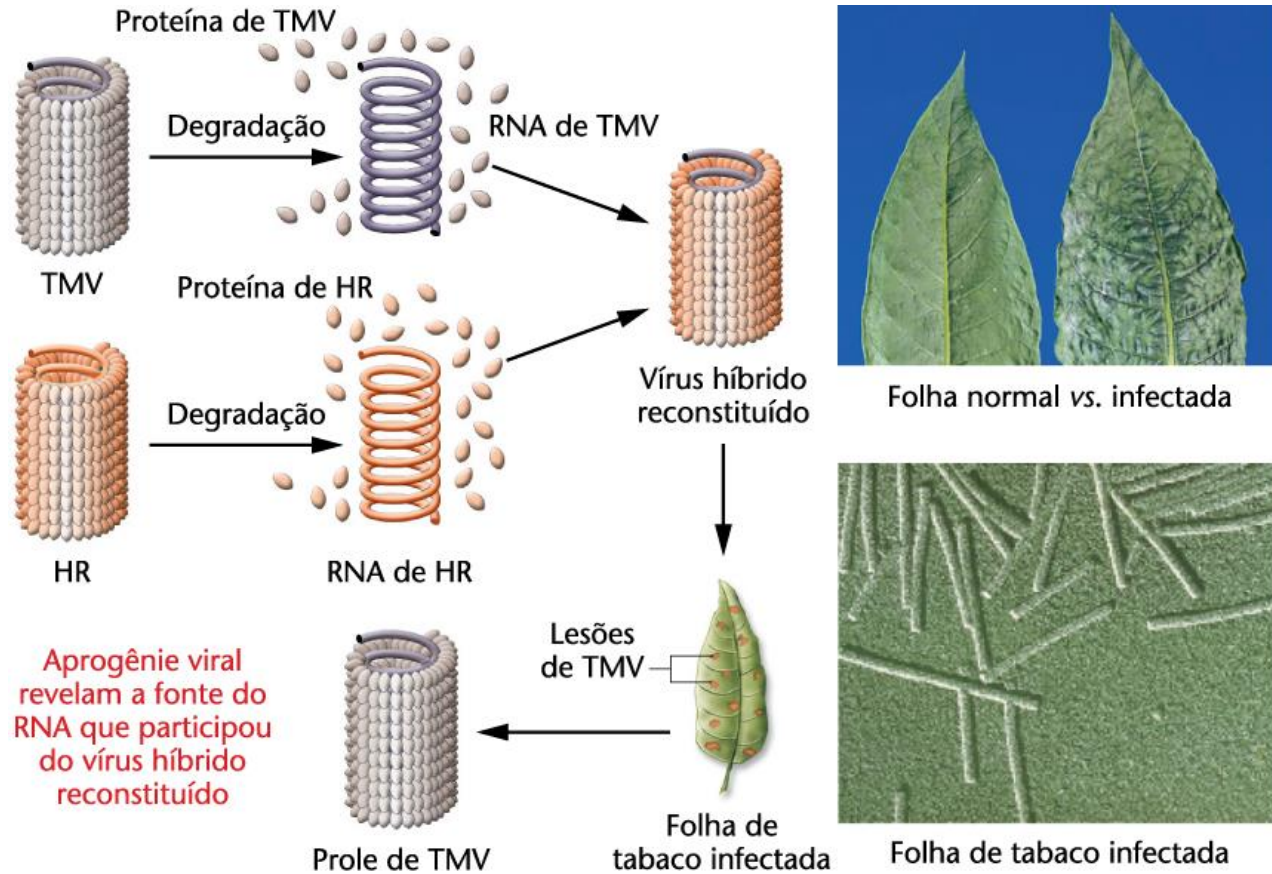


FIGURA 10-8 Reconstituição dos vírus do mosaico do tabaco híbridos. No híbrido, o RNA é originado do vírus TMV de tipo selvagem, enquanto as subunidades proteicas são provenientes da linhagem HR. Após a infecção, são produzidos vírus com subunidades proteicas características da linhagem TMV de tipo selvagem, não da linhagem HR. A fotografia superior mostra as lesões de TMV em uma folha de tabaco, comparada com uma folha não infectada. Abaixo, consta uma fotomicrografia eletrônica de vírus maduros.

Informação genética de todos os organismos vivos:

DNA

- Qual é a estrutura do DNA?

- O RNA é o material genético de alguns vírus.

- Como a informação genética é armazenada?

- Quais os aspectos da estrutura do DNA que permitem a transmissão da informação genética de geração a geração?

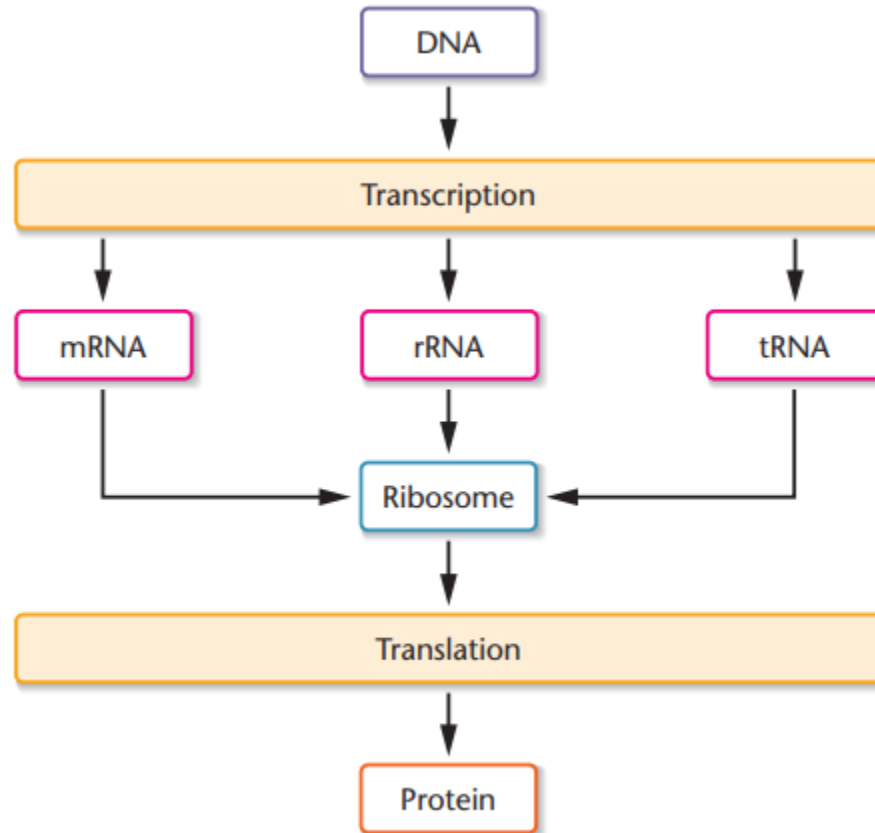
Ácido desoxirribonucleico - DNA

4 características importantes do DNA como material genético

1. Replicação
2. Armazenamento de informações
3. Expressão de informações
4. Variação por mutação

(mutações são a matéria prima para a evolução)

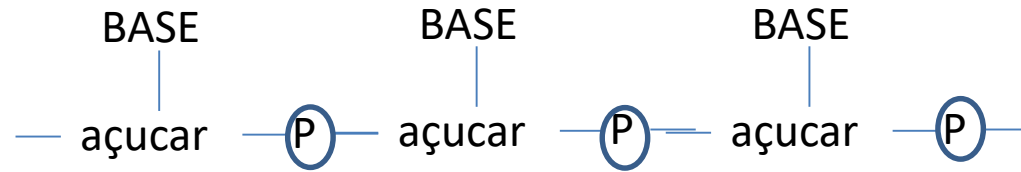
Dogma Central da Genética Molecular



Fluxo de informações do DNA para o RNA para produzir as proteínas no interior da célula.

Composição química do DNA

Macromolécula composta de subunidades repetidas



NUCLEOTÍDEOS

um açúcar (desoxirribose)

uma das quatro bases nitrogenadas

um grupo fosfato

Blocos estruturais do DNA

Açúcar + fosfato

componentes invariáveis
função estrutural na molécula do
DNA

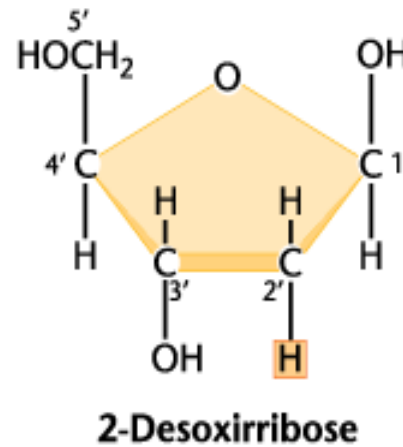
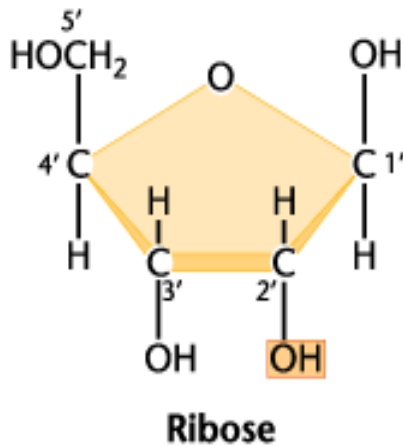
Bases nitrogenadas

parte da molécula que guarda
informação da síntese de
proteínas

1. AÇUCAR

Pentose \Rightarrow 5 átomos de C \Rightarrow 2'-desoxirribose

Estrutura em anel \Rightarrow posições são importantes



RNA

DNA

2. BASES NITROGENADAS

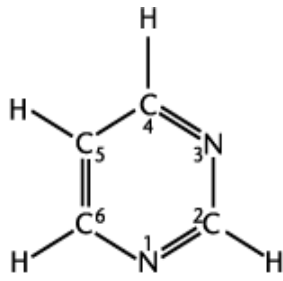
PURINAS:

anel duplo **A**DENINA e **G**UANINA

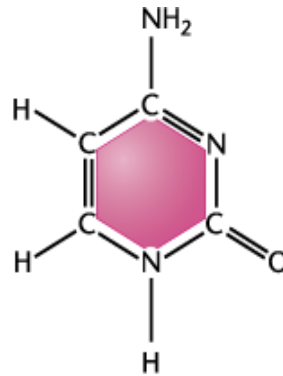
PIRIMIDINAS:

anel simples **T**IMINA e **C**ITOSINA

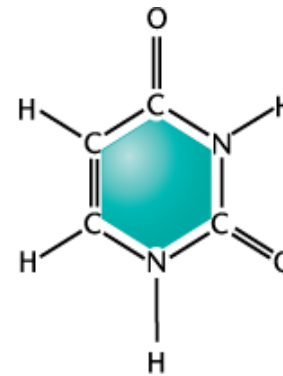
(a)



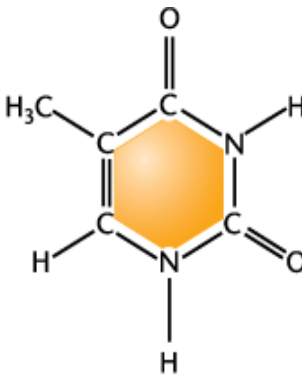
Anel de pirimidina



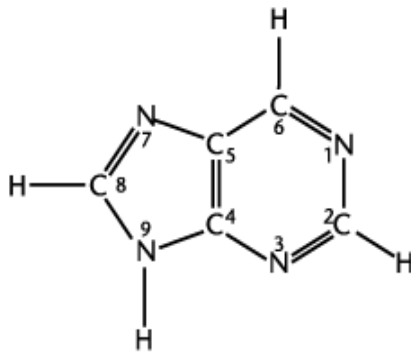
Citosina



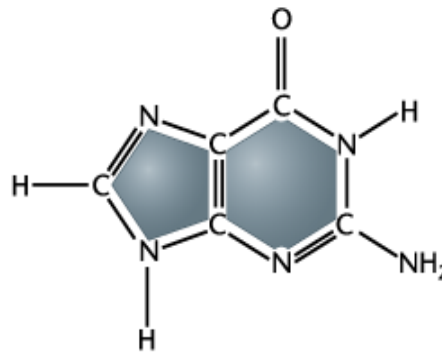
Uracila



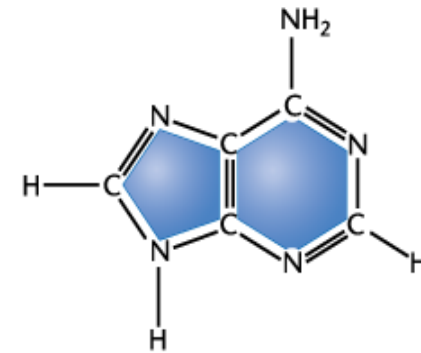
Timina



Anel de purina

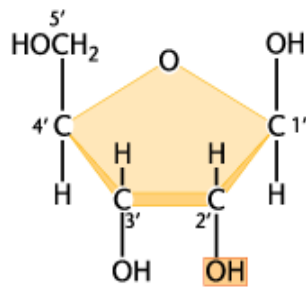


Guanina

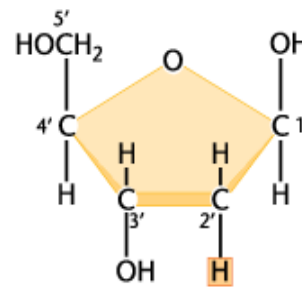


Adenina

(b)



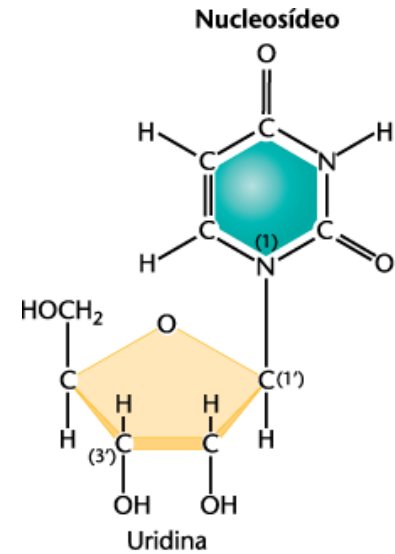
Ribose



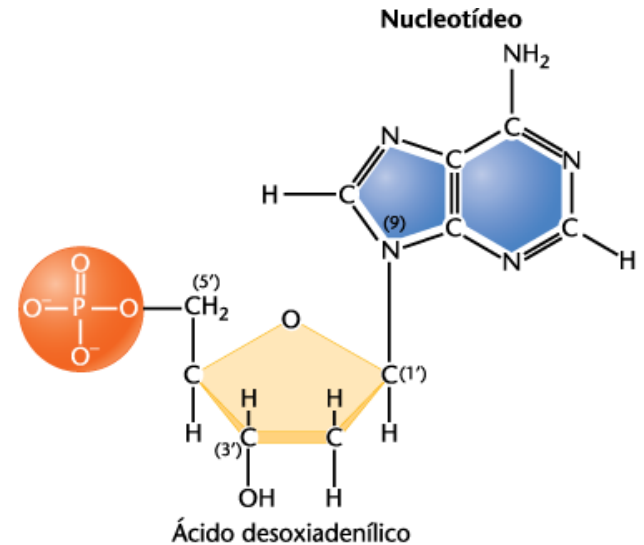
2-Desoxirribose

3. ÁCIDO FOSFÓRICO

Base + açúcar \Rightarrow nucleosídeo

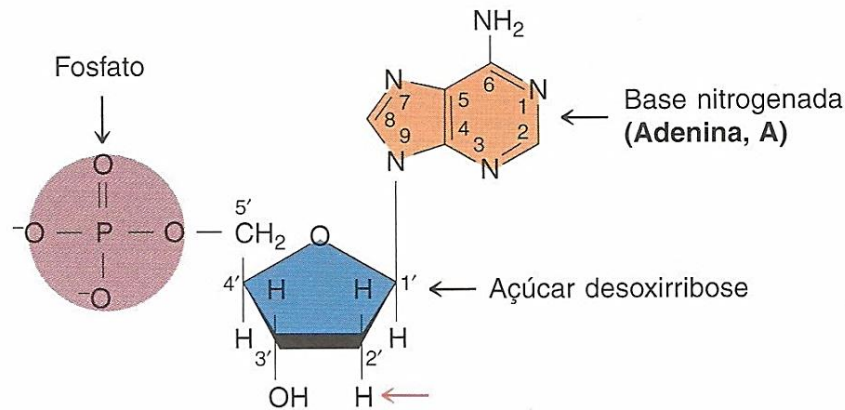


Nucleosídeo
+
grupo ácido fosfórico 5'
 \downarrow
Nucleotídeo

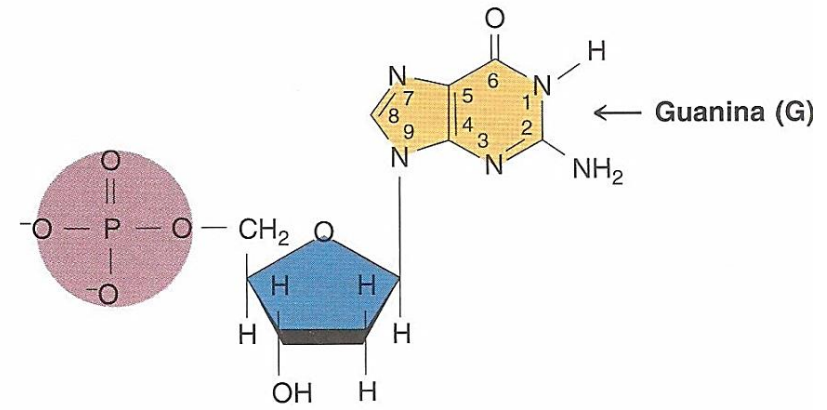


Estrutura dos quatro nucleotídeos do DNA

Nucleotídeos purínicos

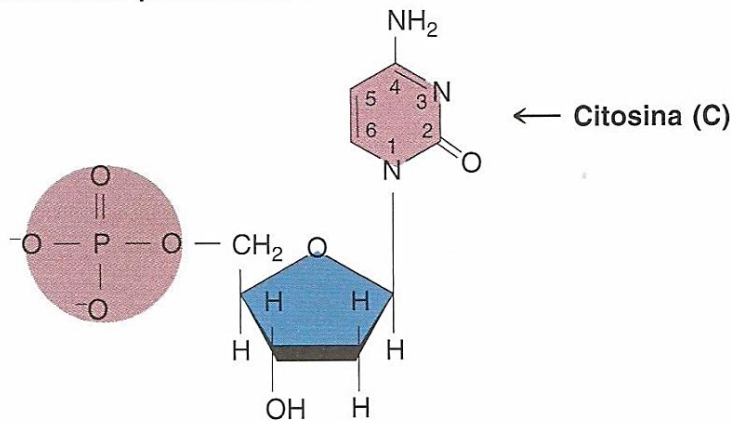


Desoxiadenosina 5'-monofosfato (dAMP)

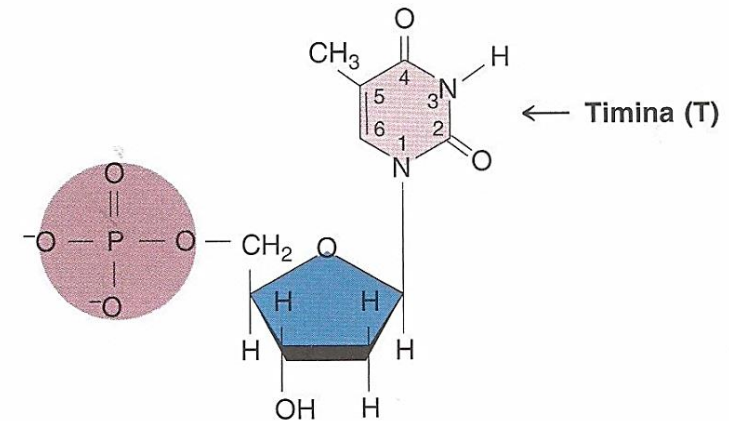


Desoxiguanosina 5'-monofosfato (dGMP)

Nucleotídeos pirimidínicos

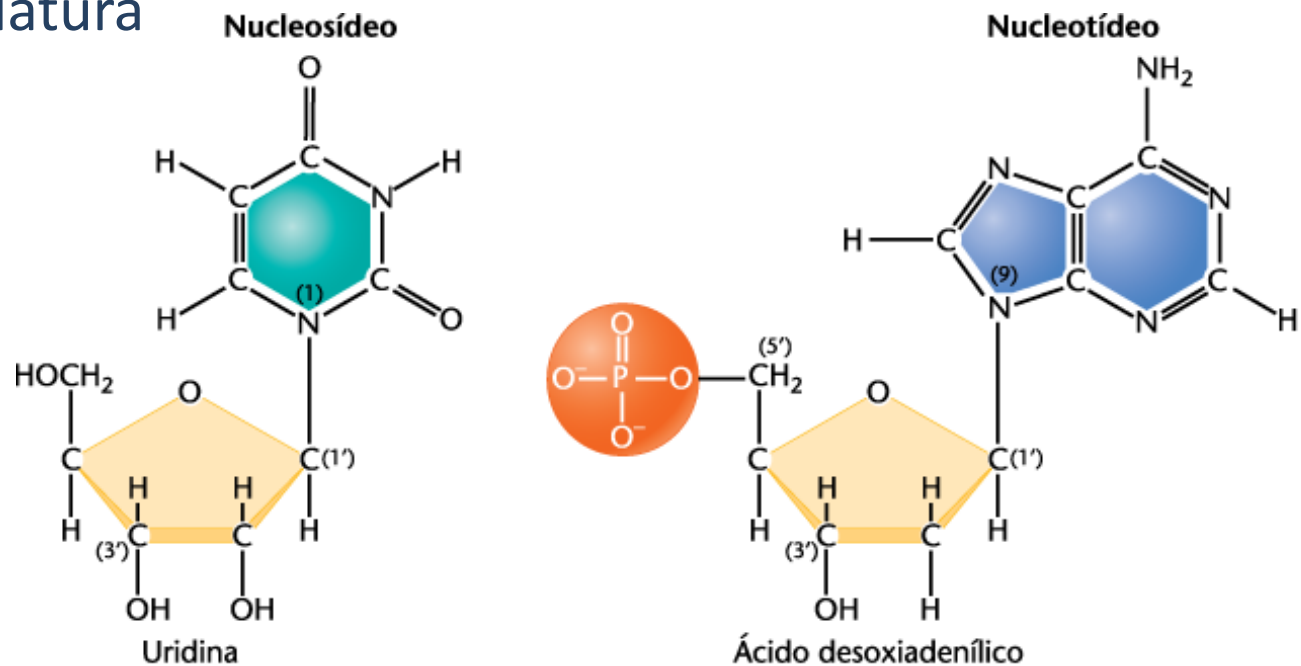


Desoxicitidina 5'-monofosfato (dCMP)



Desoxitimidina 5'-monofosfato (dTMP)

Nomenclatura

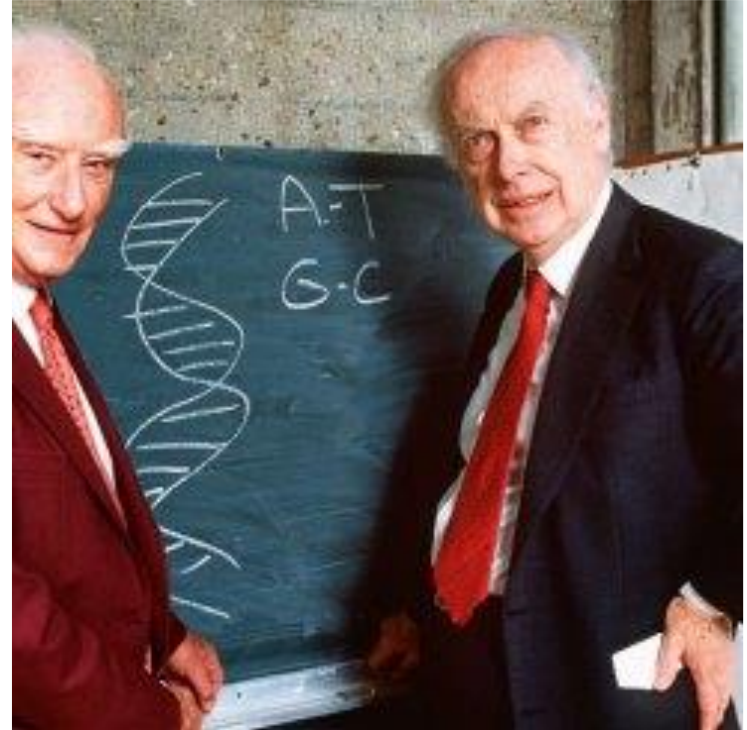


Ribonucleosídeos	Ribonucleotídeos
Adenosina Citidina Guanosina Uridina	Ácido adenílico Ácido citidílico Ácido guanílico Ácido uridílico
Desoxirribonucleosídeos	Desoxirribonucleotídeos
Desoxiadenosina Desoxicitidina Desoxiguanosina Desoxitimidina	Ácido desoxiadenílico Ácido desoxicitidílico Ácido desoxiguanílico Ácido desoxitimidílico

Os nucleosídeos e nucleotídeos são denominados de acordo com a base nitrogenada específica.

1953 - James Watson e Francis Crick modelo de dupla hélice do DNA

“Construção de modelos”



Eles se basearam nas descobertas anteriores da **composição química do DNA** e das **proporções de suas bases**. Além disso, **imagens de difração de raios X do DNA** revelaram ao olho treinado que o DNA é uma hélice de dimensões precisas. Watson e Crick concluíram que o DNA é uma dupla-hélice composta por dois filamentos de bases de nucleotídeos ligados, que se enrolam um ao redor do outro.

As proporções de Erwin Chargaff

Erwin Chargaff - estabeleceu regras sobre quantidades de cada tipo de nucleotídeo encontrado no DNA.

$$A = T$$
$$C = G$$



$$\text{Total de purinas} = \text{T de pirimidina}$$
$$A + G = C + T$$

ORGANISMO	PROPORÇÕES DE A:T	PROPORÇÕES DE G:C
Vaca	1,04	1,00
Humanos	1,00	1,00
Salmão	1,02	1,02
<i>E. coli</i>	1,09	0,99

A + T não é igual a C + G

Maurice Wilkins e Rosalind Franklin

Molécula pura de DNA

Difração de raios X – DNA é uma hélice de dimensões precisas

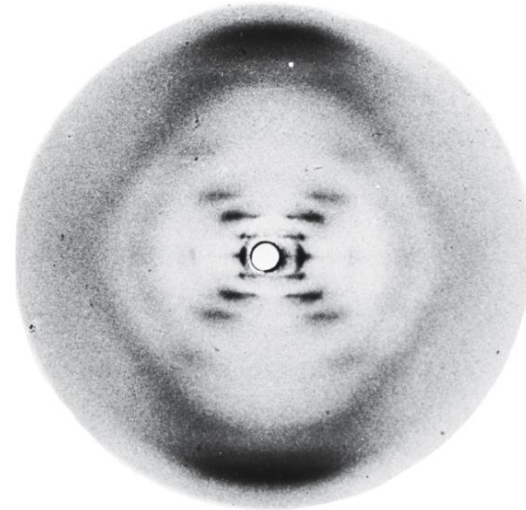
O ângulo de dispersão de cada ponto no filme dá informações sobre a posição dos átomos na molécula de DNA.



Os raios se difundem (difratam) em um modelo que depende da estrutura atômica da molécula.

Análise por difração de raio X → molécula helicoidal

- Evidência por fotos q o DNA é uma hélice.
- Hélice c 2 periodicidades de **0,34nm e 3,4 nm.**



Padrão de difração de raios X

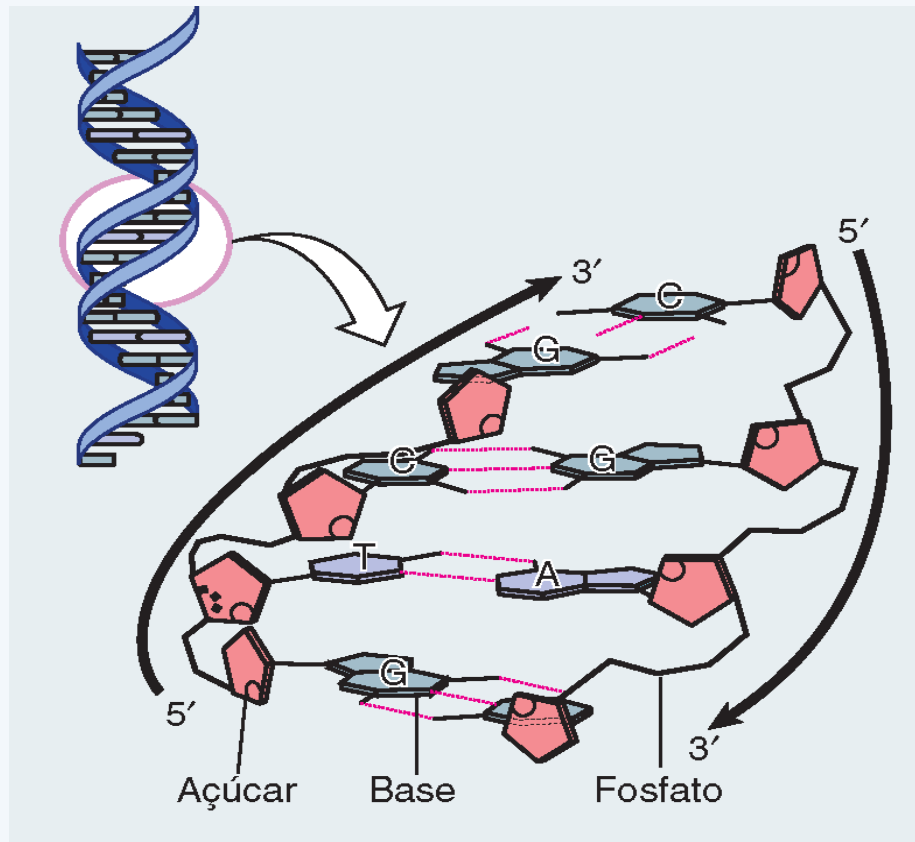
- *Entre uma base e outra*
= 0,34nm
- *Giro completo = 3,4nm*
(34 A)
- *Diâmetro da hélice =*
2nm

- Franklin sugeriu q a estrutura do DNA consistia em alguma espécie de hélice

Estrutura molecular

Estrutura DNA proposta por Watson e Crick

- ◆ Dupla hélice: duas cadeias de nucleotídeos
- ◆ Ligadas pelo pareamento de bases específicas: complementares
- ◆ Cadeias com sentidos opostos: polaridade inversa (antiparalelas)



Dois nucleotídeos adjacentes ligados por ligação fosfodiéster

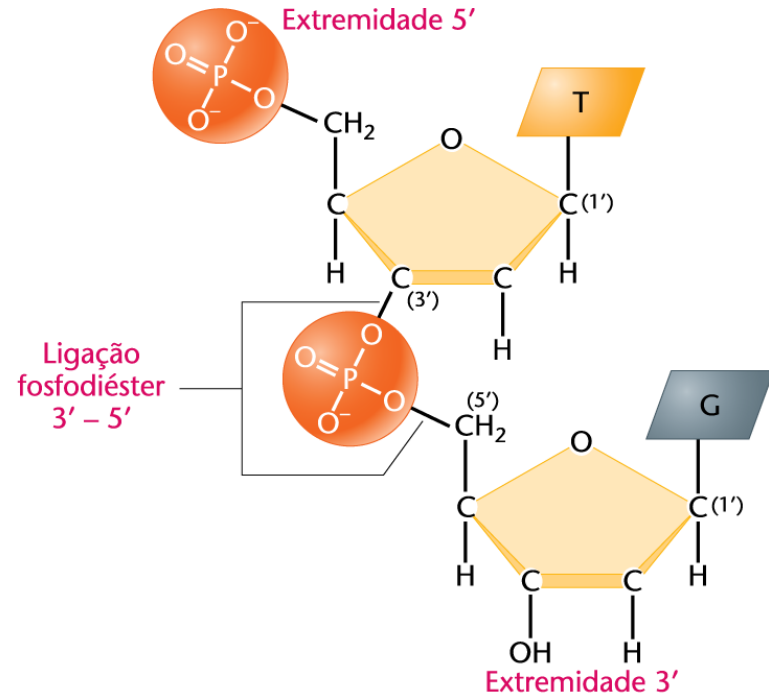
ligações fosfodiéster:

açúcar-fosfato:

C3' desoxirribose – fosfato – C5' desoxirribose

3' Álcool **OH** – **ácido fosfórico** – **OH** álcool 5

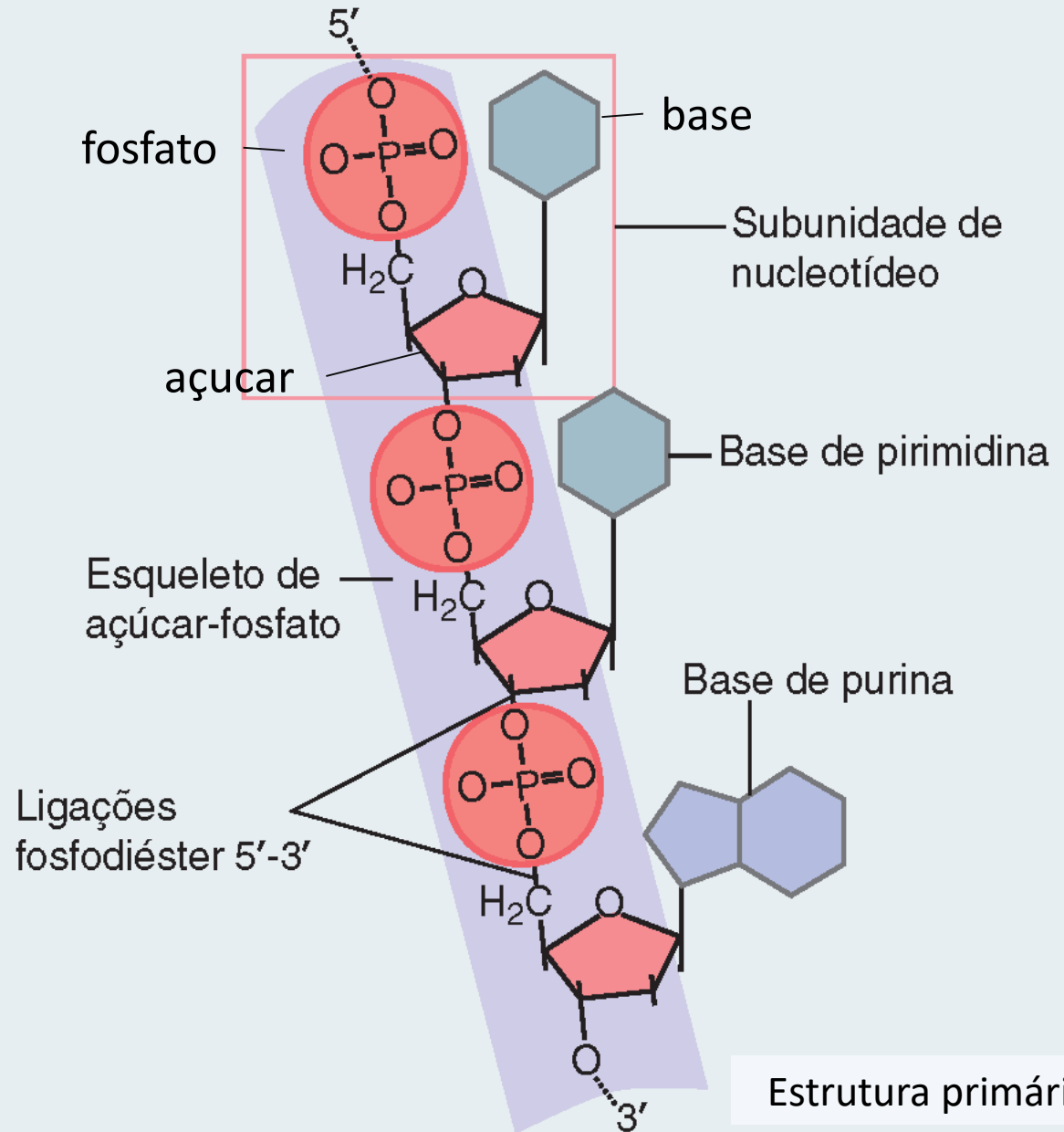
Uma ligação fosfodiéster conecta o átomo de carbono 5' de uma desoxirribose ao átomo de carbono 3' da desoxirribose adjacente.



3' Álcool **OH** – **ácido fosfórico** – **OH** álcool 5'

Um polinucleotídeo apresenta uma estrutura repetitiva

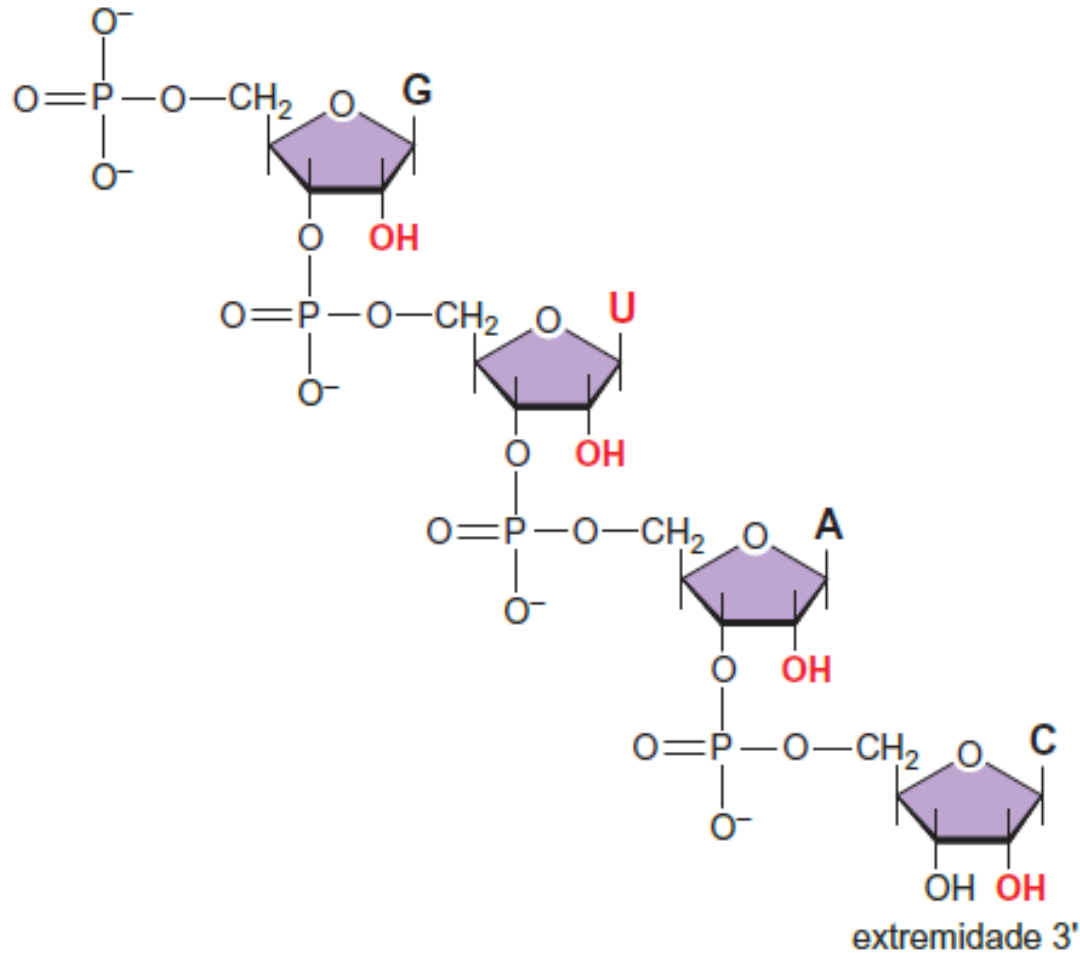
- Série de ligações de açúcar-fosfato 5' - 3' que forma um esqueleto a partir do qual as bases se projetam.



- **Estrutura primária:** um filamento de nucleotídeos unidos por ligações fosfodiéster.

Características estruturais do RNA

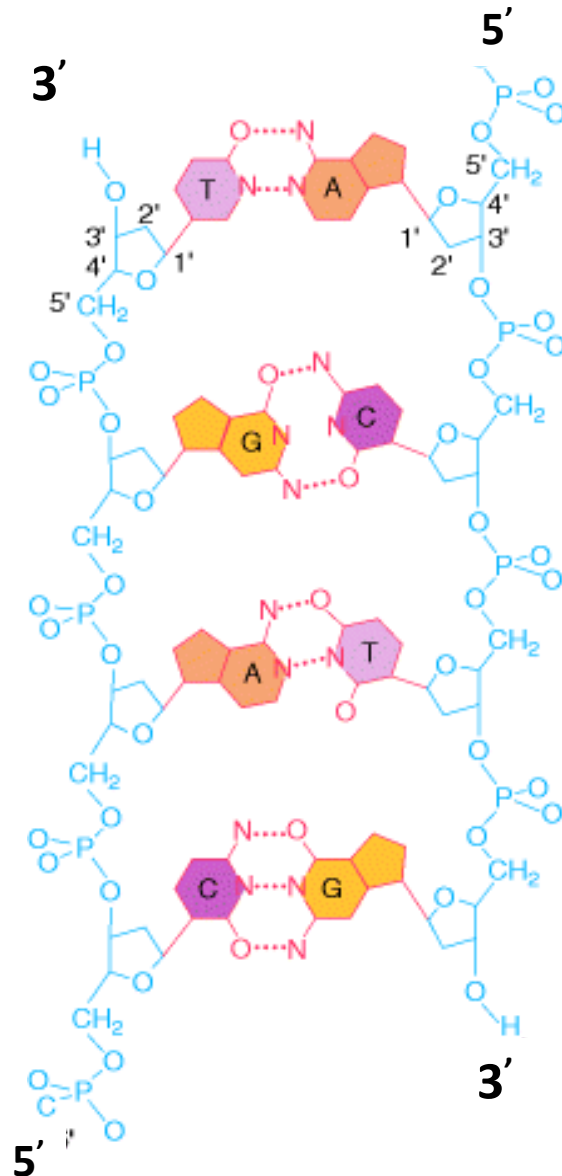
extremidade 5'



Moléculas alternadas de fosfato e ribose. As características do RNA que o distingue do DNA estão em vermelho.

Organização dos componentes do DNA

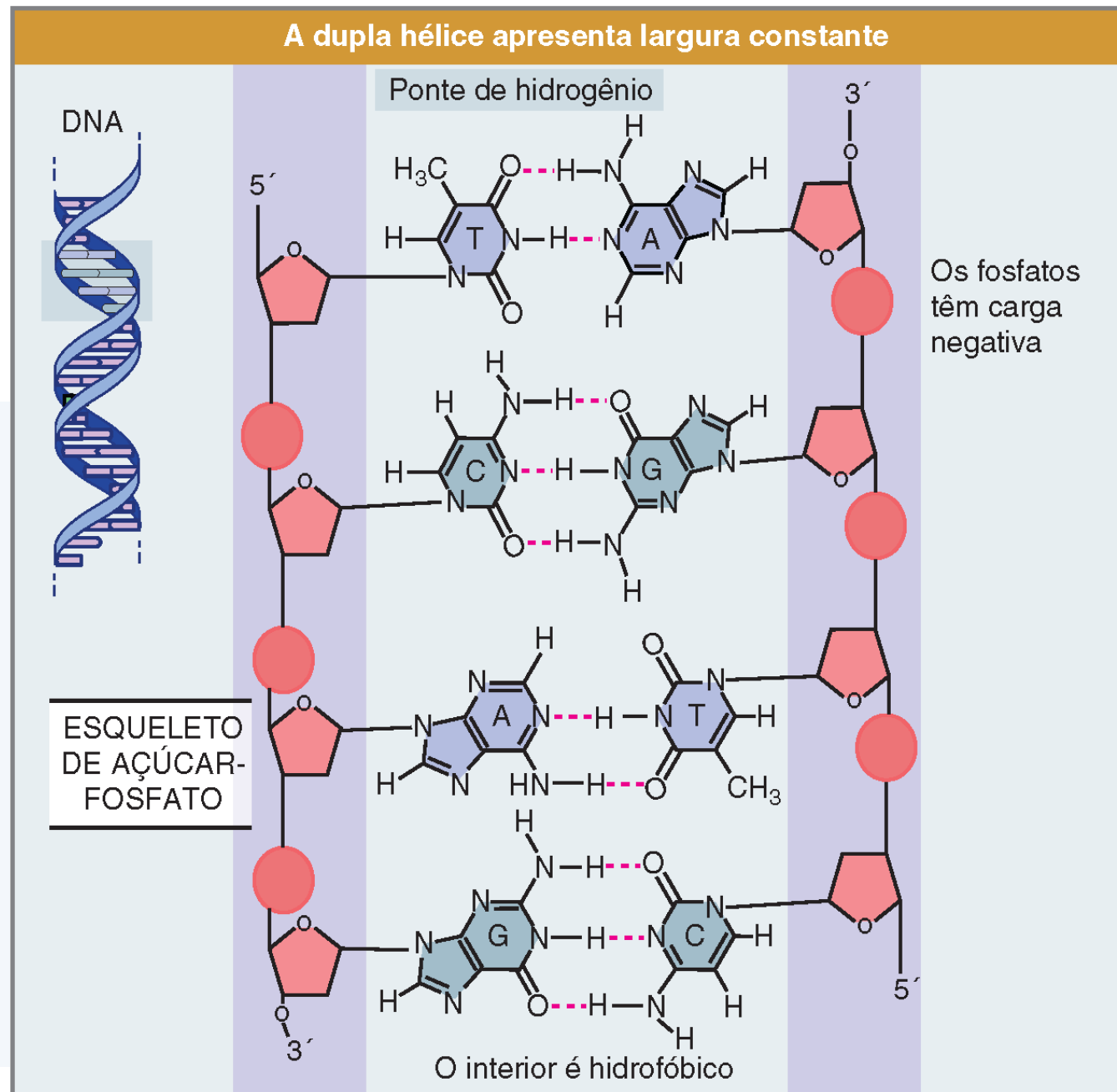
FITAS COMPLEMENTARES



- Entre A e T - duas pontes de H
- Entre C e G - três pontes de H
- Os dois filamentos polinucleotídicos em orientação oposta (polaridade inversa).
- Os dois filamentos assumem uma conformação de dupla hélice.
- Empilhamento das bases (achatadas) dá estabilidade à molécula (exclui moléculas de água dos espaços entre os pb).

Dupla hélice

Mantém uma largura constante, porque as purinas sempre se posicionam frente às pirimidinas nos pares de bases complementares
A com T e C com G.



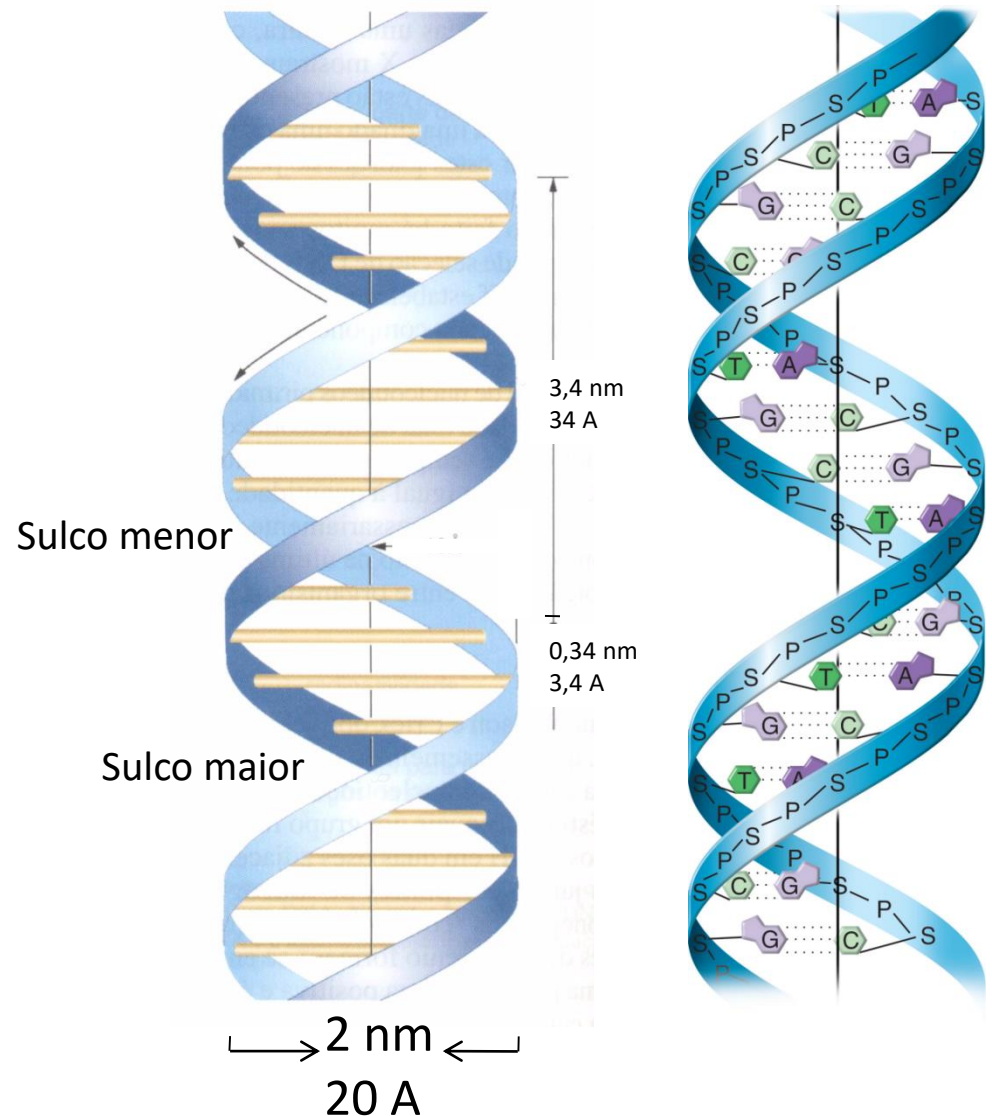
A sequência da figura é: T – A; C – G; A – T; G - C

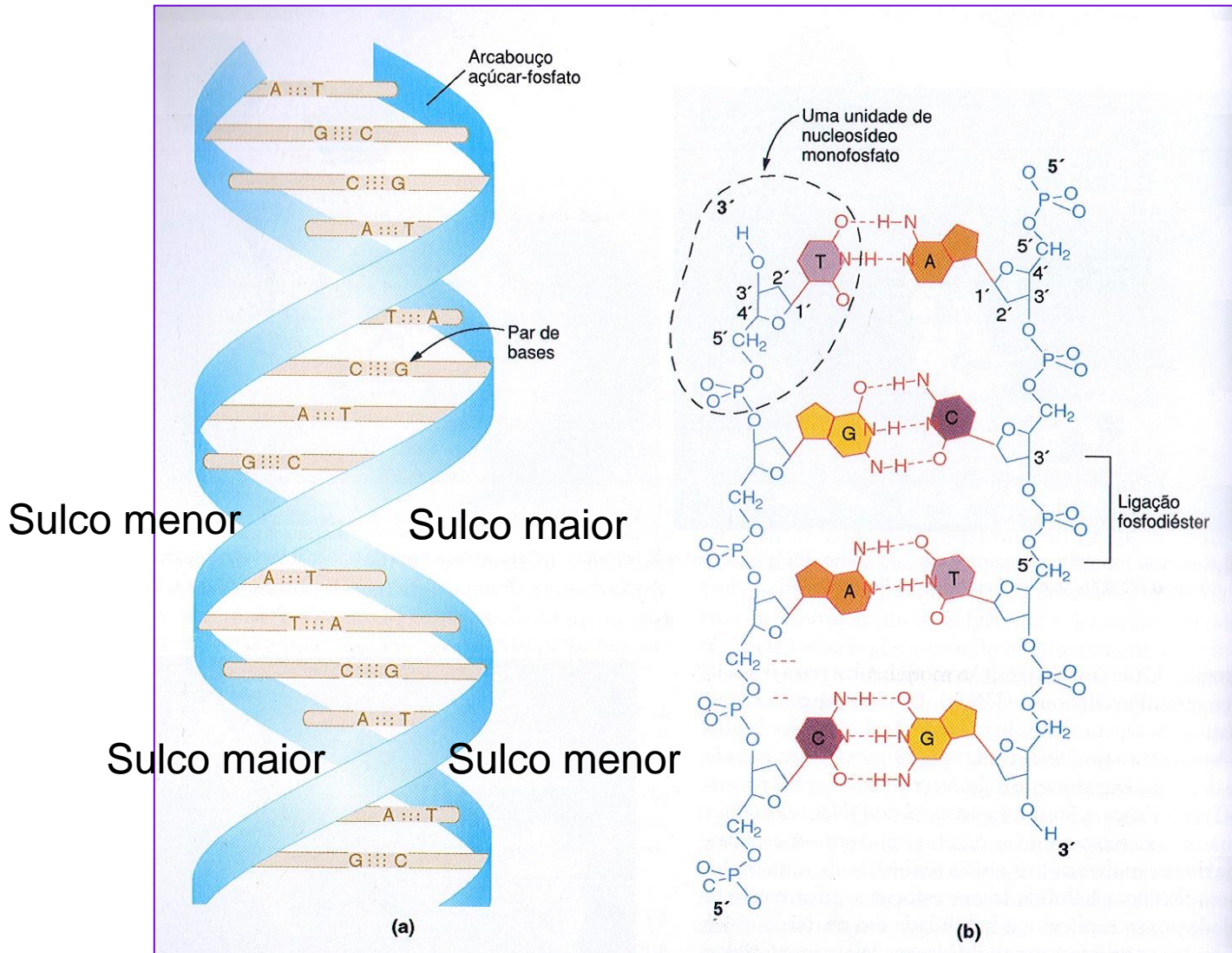
Estrutura helicoidal do DNA

○ Dupla Hélice Estrutura Secundária

Um único filamento (fita) do DNA não tem estrutura helicoidal. A forma helicoidal do DNA depende totalmente do pareamento e empilhamento das bases nos filamentos de polaridade inversa. O DNA é uma hélice com giro para a direita.

Os dois filamentos de nucleotídeos complementares pareados de modo antiparalelo assumem automaticamente uma conformação de dupla-hélice.

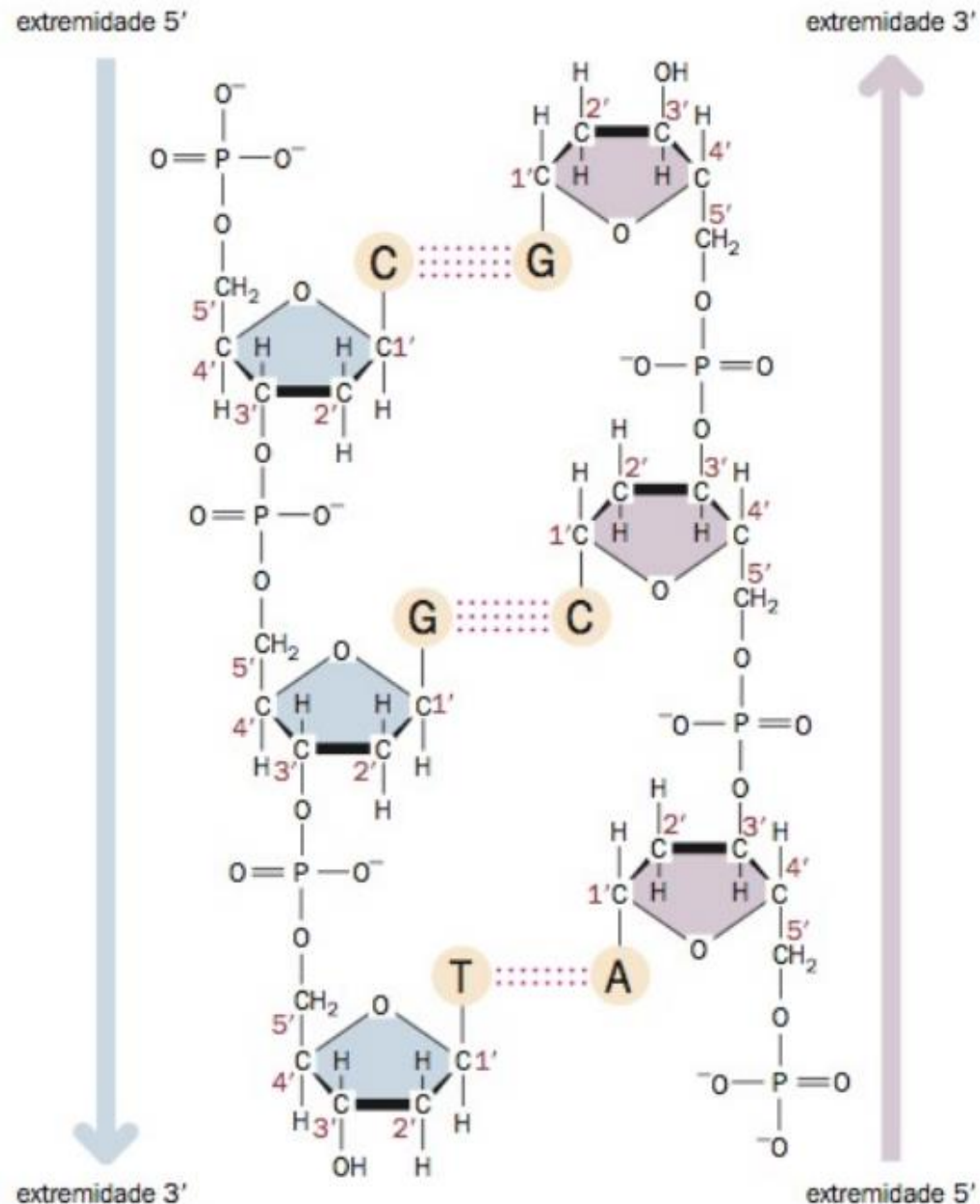




A maioria das associações DNA-proteína são nos sulcos maiores

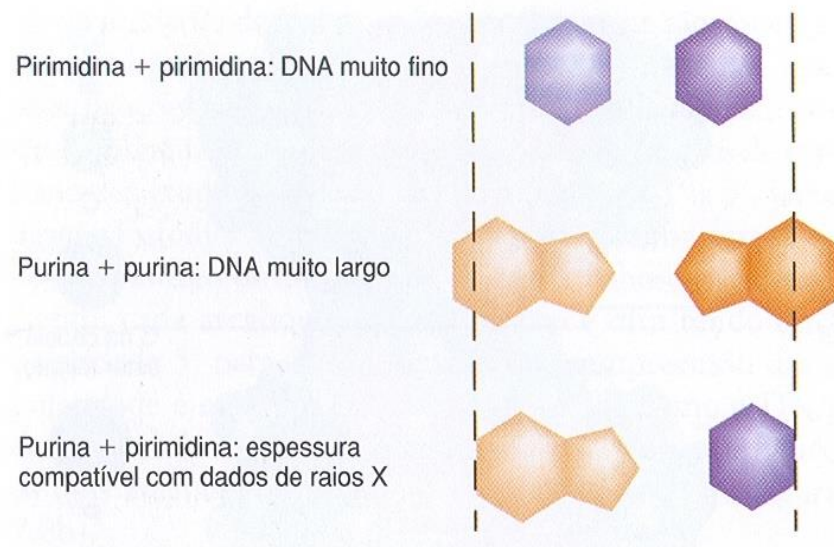
Fonte: Griffiths et al, 2008 (figura 7-8).

Figura 1.8 Natureza antiparalela da dupla-hélice de DNA. As duas fitas antiparalelas do DNA correm em direções opostas ligando átomos de carbono 3', dos resíduos de açúcar, a átomos de carbono 5'. Este trinucleotídeo dupla-fita apresenta a sequência 5' pCpGpT-OH 3'/5' pApCpG-OH 3', onde p representa o grupo fosfato e -OH 3', o grupo hidroxila terminal. Isso é normalmente abreviado de modo a apresentar a sequência de nucleotídeos de 5' → 3' em apenas uma fita, seja como 5'-CGT-3' (fita azul), seja como 5'-AGC-3' (fita roxa).



Dupla hélice

corresponde aos dados de raios X
Ajustam-se aos dados de Chargaff



Fonte: Griffiths et al, 2008.

Pareamento de **purinas** com **pirimidinas** determina exatamente o diâmetro da dupla hélice de DNA.

Chargaff:

dados indicavam T-A e C-G

Watson e Crick:

mostraram que A-T e C-G em pH eficientes formam pontes de hidrogênio entre A e T e entre G e C

Visão tridimensional da dupla hélice

DNA:

- não é molécula estática
- exibe flexibilidade conformacional

Estrutura da molécula do DNA muda em função do ambiente e da sequência de bases:

Grande maioria-DNA presentes nas células → **forma B**

(Watson e Crick)

Visão tridimensional da dupla hélice

Forma B

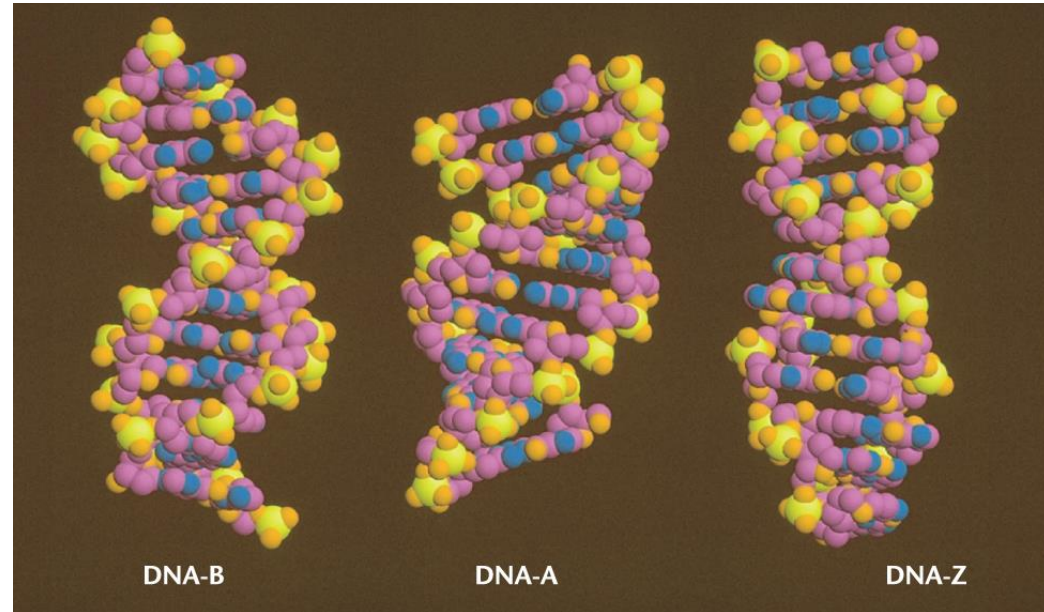
- hélice gira para a **direita**
- mais hidratada
- 10 nucleotídeos por volta

Forma A

- menos hidratada
- 11 nucleotídeos por volta
- hélice gira para a **direita** (não existe *in vivo*)

Forma Z

- hélice gira para a **esquerda-levógira**
- 12 nucleotídeos por volta
- trechos de seq alternadas de C e G



Pareamento complementar de bases é fator fundamental na molecular

Sequência de um determina a seq do outro

A = T

T = A

G = C

G = C

C = G

T = A

A = T

A = T

Uma molécula de DNA possui 30% de T.
Quais as porcentagens de A, C e G?

A = 30%

C = 20%

G = 20%

A = T

C = G

A+T ≠ C + G

James Watson e Francis Crick - 1953

1.A dupla hélice contém 2 cadeias polinucleotídicas.

2.As bases nitrogenadas estão empilhadas no interior da hélice.

3.As bases dos 2 polinucleotídeos interagem por pontes de H.

4.Cada giro da hélice tem 10 pares de bases.

5.Os 2 filamentos da dupla hélice têm sentidos inversos.

6.A dupla hélice possui 2 sulcos diferentes.

7.A dupla hélice possui giro para a direita.

DNA, a molécula da vida

Trilhões de células

Cada célula contém:

- 46 cromossomos humanos, organizados em 23 pares
- 2 m de DNA
- Aproximadamente 3 bilhões (3×10^9) de pares de DNA por conjunto de cromossomos, contendo as bases A, T, C e G
- Aproximadamente 20.000 a 25.000 genes codificam proteínas que realizam a maior parte das funções

Questões

1. Se o conteúdo de GC de uma molécula de DNA é de 56%, quais são as porcentagens das quatro bases?
2. Se você extrai o DNA de um fago, você verá que a composição de bases é de 25% A, 33% T, 24% G e 18% C. Essa composição faz sentido com relação às regras de Chargaff? Como você interpretaria esse resultado?
3. Como um nucleotídeo de DNA difere de um nucleotídeo de RNA?.
4. Desenhe e identifique as três partes de um nucleotídeo de DNA.
5. Que purinas e pirimidinas são encontradas no DNA?

Respostas

1. Se o conteúdo de GC é de 56%, então, como $G = C$, o conteúdo de G é de 28% e de C é de 28%. O conteúdo de AT é $100 - 56 = 44\%$. Como $A=T$, o conteúdo de A é de 22% e o conteúdo de T é de 22%.
2. As regras de Chargaff são que $A = T$ e $G = C$. Como essas igualdades não são observadas, a interpretação mais provável é que o DNA é unifilamentar.

3. A) a uracila no RNA substitui a timina do DNA
- B) a ribose no RNA substitui a desoxirribose do DNA
- C) O RNA ocorre principalmente na forma de fita simples e fita parcialmente dupla, ao passo que o DNA ocorre mais frequentemente na forma de fita dupla.

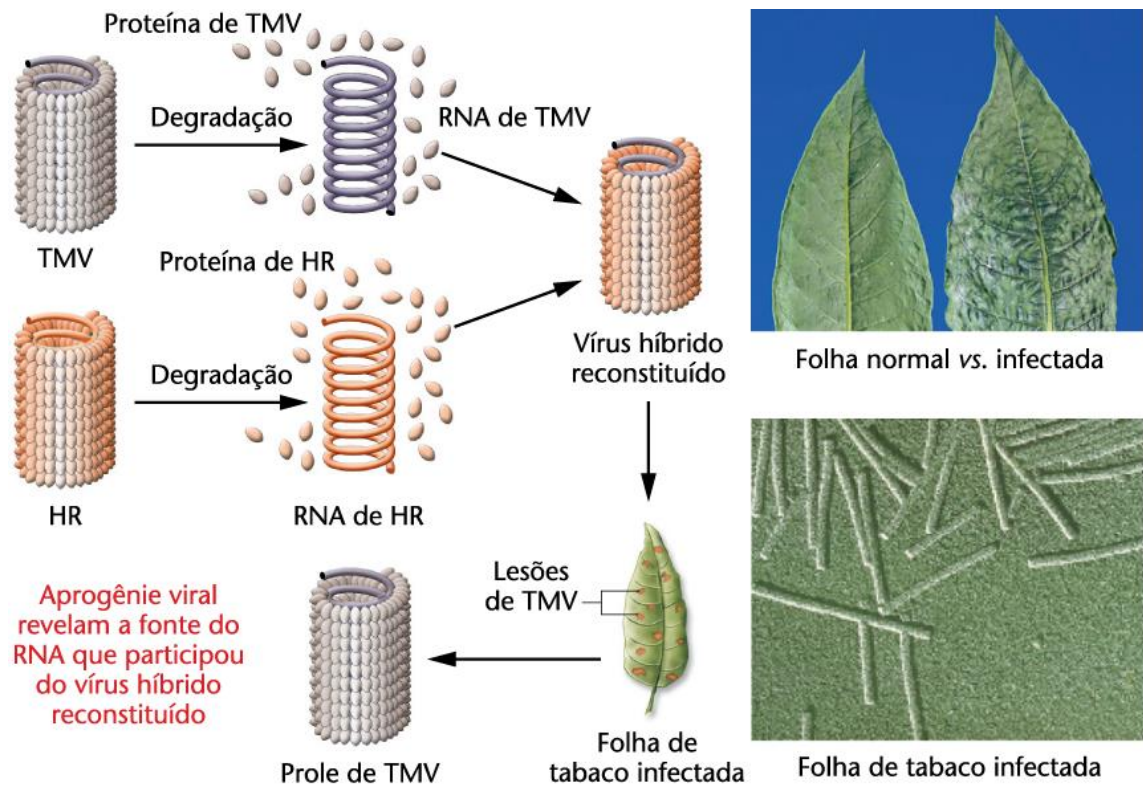


FIGURA 10-8 Reconstituição dos vírus do mosaico do tabaco híbridos. No híbrido, o RNA é originado do vírus TMV de tipo selvagem, enquanto as subunidades proteicas são provenientes da linhagem HR. Após a infecção, são produzidos vírus com subunidades proteicas características da linhagem TMV de tipo selvagem, não da linhagem HR. A fotografia superior mostra as lesões de TMV em uma folha de tabaco, comparada com uma folha não infectada. Abaixo, consta uma fotomicrografia eletrônica de vírus maduros.