

Grupo 14 - Ácidos Nucléicos: Nucleotídeos, DNA e RNA.

Andrés M Gonçalves de Jesus;
Danilo Badaró;
Diego Oliveira;
Erica Saemi Miyasato;
Fernando Pereira;
Rodolfo M. de Aquino

Ácidos nucleicos são biopolímeros, ou grandes biomoléculas, essenciais para todas as formas de vida conhecidas. Os ácidos nucleicos, que incluem DNA (ácido desoxirribonucleico) e RNA (ácido ribonucleico), são feitos de monômeros conhecidos como nucleótidos.

Cada nucleotídeo tem **três componentes** combinados: um **açúcar de 5 carbonos**, um **grupo fosfato** e uma **base nitrogenada**.

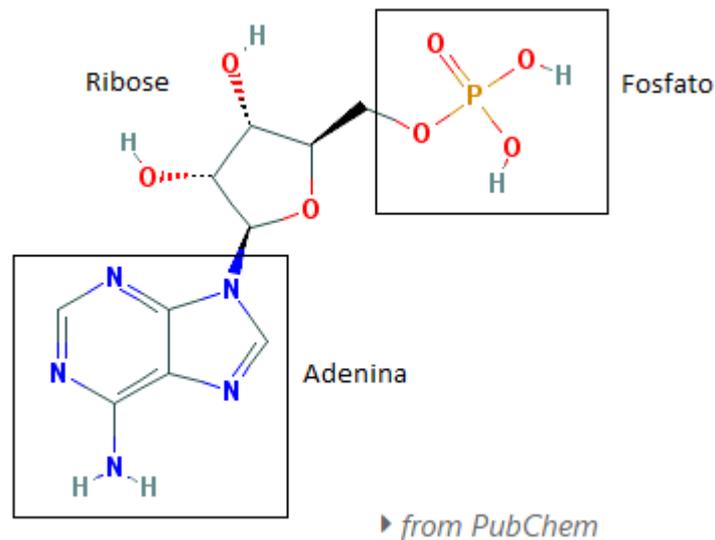


Figura 1 – Exemplo de um Nucleotídeo.

Nucleosídeo é constituído por uma base nitrogenada (citosina, adenina, guanina, timina ou uracila) e por uma pentose (Ribose ou desoxirribose) sem a presença do grupo fosfato.

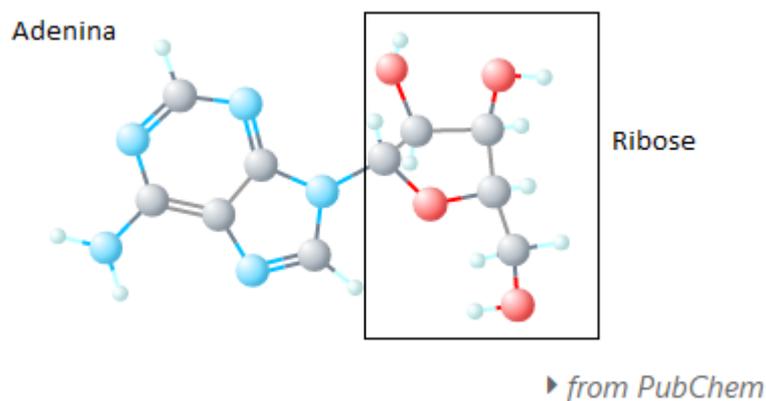


Figura 2 – Exemplo de Nucleosídeo

- Componentes dos nucleótidos: Cada nucleótido consiste de três componentes:

1. Base Nitrogenada (Pirimidina, Purina)
2. Uma Pentose (ribose de desoxirribose)
3. E um Fosfato

Sendo importante destacar principalmente a base nitrogenada, pois são de suma importância para a diferenciação de RNA e DNA, além de possibilitar características específicas aos Ácidos Nucleicos. Assim:

- a) **Pirimidina:** É um heterociclo aromático de seis membros com átomos de nitrogênio nas Posições 1 e 3. A Citosina (C), Timina (T) e o Uracila (U) são exemplos de pirimidinas. Sendo que o DNA consiste de Citosina e Timina, e o RNA, de Citosina e Uracila, não contendo Timina em sua composição.

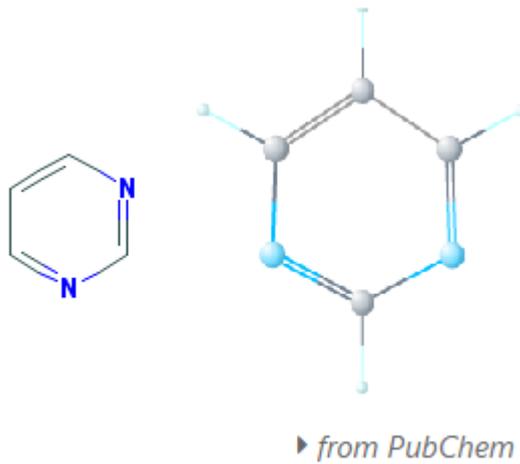


Figura 3 – Estrutura Geral da pirimidina

- b) **Purina:** Um heterociclo aromático bicíclico fundido da estrutura geral que inclui tanto um anel de 5 membros como um anel de 6 membros. Adenina (A) e Guanina (G) são purinas.

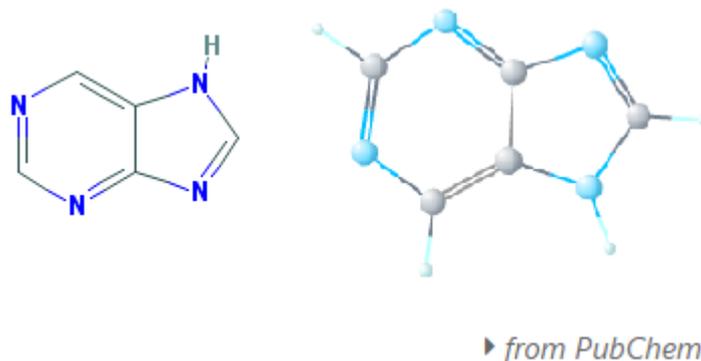


Figura 4 – Estrutura Geral da Purina

A pentose é o elo entre a base nitrogenada (purina ou pirimidina) e o grupo fosfato. A pentose se liga ao grupo fosfato através de uma ligação fosfoéster com a hidroxila ligada ao

carbono-5 da pentose. A ligação entre a base nitrogenada e a pentose é feita covalentemente através de uma ligação N-glicosídica com a hidroxila ligada ao carbono –1 da pentose.

A pentose do RNA apresenta, na posição 2', um grupo hidroxila, que não está presente na pentose do DNA, e é por isso que este é conhecido como Ácido Desoxirribonucleico.

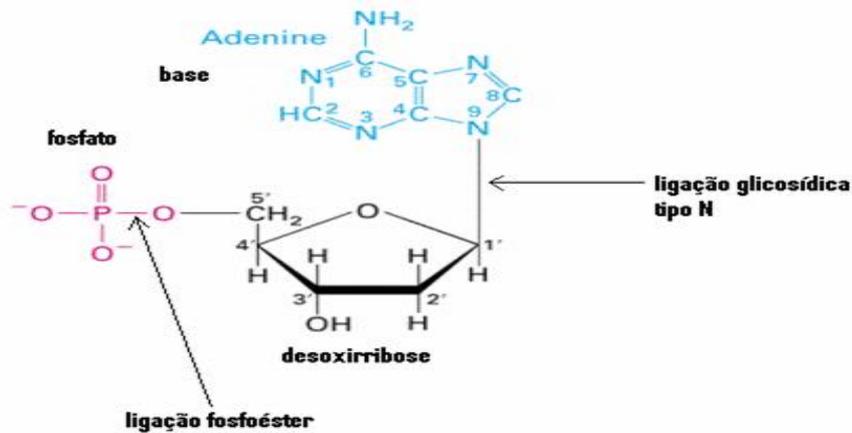


Figura 5 -Ligação fosfoéster e glicosídica

Estrutura do DNA:

1) Estrutura Primária: Sequência de Nucleotídeos

Semelhante à estrutura primária de proteínas que é a sequência de aminoácidos

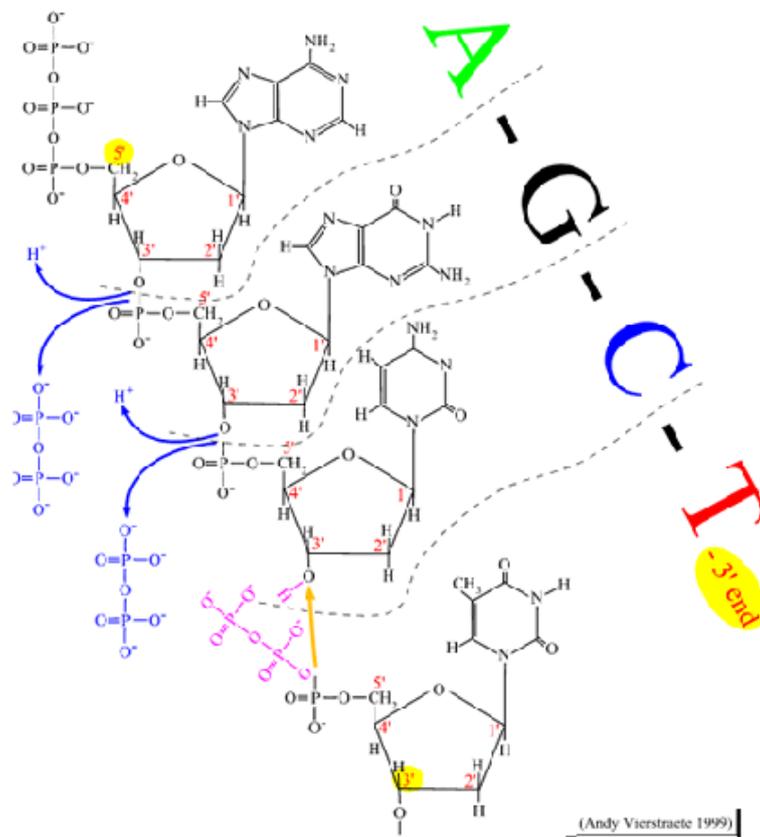


Figura 6 – Representação de uma estrutura primária do DNA. É possível verificar o momento em que um nucleotídeo se liga

a cadeia, através da reação que ocorre entre o grupo fosfato com a hidroxila do carbono de número 3. É por causa da ligação do fosfato no carbono 3, que a reação ganha o sentido 3' → 5'.

Ligações fosfodiésteres: Os nucleotídeos sucessivos (em DNA/RNA) são ligados covalentemente por meio de pontes de grupos fosfato, em que o grupo 5'-hidroxila de uma unidade nucleotídica une-se ao grupo 3'-hidroxila do nucleotídeo seguinte por meio de ligação fosfodiéster; dessa forma, os esqueletos covalentes dos ácidos nucléicos consistem de resíduos fosfato e pentose, ou seja, são hidrofílicos.

Pontes de hidrogênio são formadas entre resíduos de açúcar e água, enquanto os grupos fosfato (que estão completamente carregados em pH próximo de 7) interagem com grupos positivos como proteínas, íons metálicos e poliaminas.

O esqueleto covalente do DNA e RNA está sujeito a hidrólise não enzimática da ligação fosfodiéster (o RNA é hidrolisado rapidamente em condições alcalinas, mas o DNA não em virtude da ausência de grupamentos 2'-hidroxila).

As propriedades das bases dos nucleotídeos afetam a estrutura tridimensional dos ácidos nucléicos: Purinas e pirimidinas são compostos fracamente básicos; ambas são altamente conjugadas, fato que acarreta consequências para a distribuição eletrônica e absorção de luz dos ácidos nucleicos. A ressonância envolvendo muitos átomos no anel confere à maioria um caráter parcial de dupla ligação. Assim as pirimidinas são moléculas planas, enquanto as purinas como consequência do arranjo de seus orbitais são quase planas.

2) Estrutura secundária: Dupla hélice: Consiste em dois filamentos polinucleotídeos

É uma estrutura tridimensional dos segmentos biopolímeros, que geram uma estrutura de dupla hélice, e é resultado de ligações de hidrogênio.

A ligação de hidrogênio promove a forma e a estabilidade do DNA para proteger o código genético, mas também prevê a fácil ruptura das ligações ("*Unzip*") através da ação de enzimas para a replicação do DNA.

As duas fitas de DNA estão em direção opostas, isto significa que são anti-paralelas. O termo anti-paralelas deve-se ao fato de que uma das fitas tem a direção exata da sua síntese (5'—3') enquanto que a outra está invertida (3'—5').

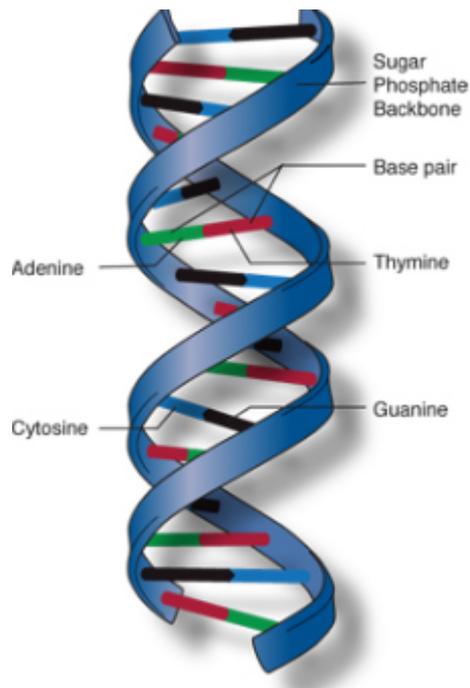


Figura 7 – Representação de uma dupla fita de DNA.

As ligações Açúcar-fosfato ficam no lado externo da hélice, e as bases ficam empilhadas no interior da hélice.

Pareamento de bases: As bases têm os seus pares específicos para se parear, a quantidade de ligações em que ocorre esse pareamento também é específico de cada par de bases, como representado a seguir:

- a) **Guanina** pareia com **Citosina** (G-C), com **três ligações** de hidrogênio em uma proporção de 1: 1:

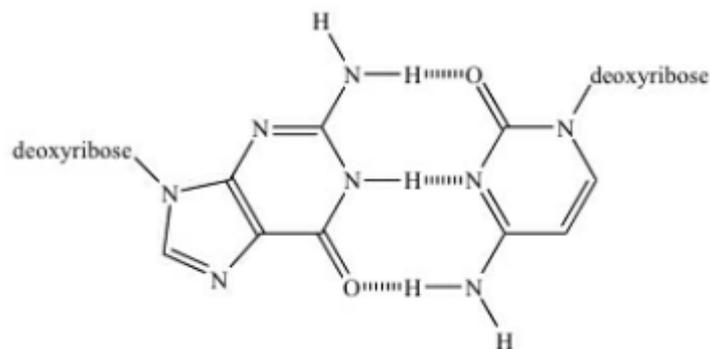


Figura 8 – Representa a interação entre as bases Guanina e Citosina, através de 3 ligações de hidrogênio.

- b) **Adenina** pareia com **timina** (A-T) com **duas ligações** de hidrogênio numa proporção de 1: 1:

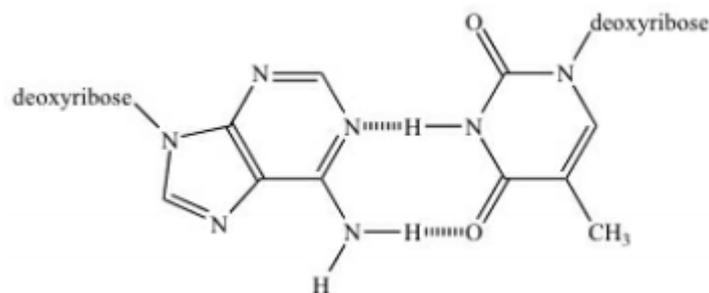


Figura 9 – Representa a interação entre as bases Adenina e Timina, através de e ligações de hidrogênio.

Então os dois filamentos de uma molécula de DNA não são idênticos, mas sim, complementares.

A dupla hélice é mantida unida por duas forças principais forças:

- a) Por pontes de hidrogênio formadas pelas bases complementares
- b) Por interações hidrofóbicas, que forçam as bases a se “esconderem” dentro da dupla hélice.

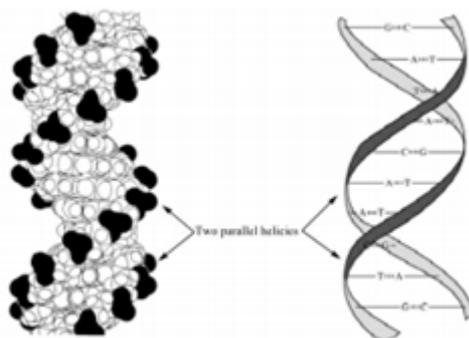


Figura 10 – Representação da estrutura secundária

3) Estrutura Terciária: The Supercolling of DNA

A molécula de DNA pode sofrer enrolamento no sentido da sua progressão e também dobras sobre si própria – embora de uma forma menos nítida do que as proteínas quando adquirem a estrutura terciária.

Essas conformações designam-se por “supercolling” que se poderá traduzir por sobre-enrolamento ou superenrolamento. A estrutura terciária do DNA encontra-se nos eucariotas, nos seus nucleossomas, situação em que o enrolamento se faz em torno das histonas.

O DNA pode formar superenrolamento para a direita (negativo) ou para a esquerda (positivo). O superenrolamento negativo comunica um “stress” torcional ao DNA que favorece a separação das cadeias. Nas células existem enzimas denominadas Topoisomerases que são capazes de conferir superenrolamento ao DNA (DNA-girase) e também de o desenrolar (Topoisomerase I).

Estrutura do RNA:

Existem diversos tipos de moléculas de RNA – RNA mensageiro, transportador, ribossômico, entre outros – mas as estruturas de todos os RNAs são parecidas. Cada RNA é um polímero, constituído por nucleotídeos, que ligam-se entre si por ligações fosfodiéster. Diferentemente de

DNA, o RNA é constituído por uma única fileira de polímeros. Além disso, o açúcar no RNA é uma ribose ao invés de desoxirribose.

Embora o RNA seja constituído de uma única fileira de nucleotídeos, ele ainda assim consegue formar estruturas duplas, pareando suas bases consigo mesmo. RNA pode formar várias estruturas secundárias, nas quais uma única fileira de RNA se encurva para formar loops de formatos diversos. No entanto, quando o RNA forma duplas hélices, ele não consegue adotar a forma B pois a hidroxila 2' interfere com o arranjo dos açúcares nos nucleotídeos. Assim, o RNA adota a forma A.

A diferença entre as formas A e B de dupla hélice está na conformação do anel de açúcar. Ele está na conformação C2' para a forma B, e C3' para a forma A. Esta é caracterizada por ter o carbono C3' acima do plano, e aquela por ter o carbono C2' acima do plano. A conformação C3' deixa as hidroxilas 5' e 3' (ambas esterificadas a fosfatos ligando os próximos nucleotídeos) mais próximas entre si do que é visto na conformação C2'. Assim, a distância entre nucleotídeos adjacentes é reduzida por 1 Angstrom na forma A em relação a forma B.

Outra diferença entre as formas A e B é a localização dos pares de base dentro da dupla hélice. Na forma B, os pares de base estão quase alinhados no eixo da hélice, enquanto na forma A eles estão localizados para fora do eixo central. Isso resulta em uma hélice mais aberta e dispersa para a forma A em relação a forma B.

Pelo fato de o RNA não adotar apenas uma longa cadeia de dupla hélice, ele pode adotar uma variedade de estruturas terciárias. Isso ocorre porque o RNA possui bastante liberdade rotacional nas suas regiões não pareadas. Assim, o RNA pode se enovelar em estruturas terciárias complexas, providas de interações não covalentes. Além disso, proteínas podem ajudar a formação de estruturas terciárias ao blindar as cargas negativas nos grupos fosfato cuja repulsão eletrostática desestabilizaria a estrutura.

Mais de uma molécula de RNA podem se reunir e formar estruturas quaternárias. Por exemplo, pequenos RNAs regulatórios podem formar duplas hélices entre si durante o controle da expressão gênica em eucariontes e procariontes.

Métodos de detecção:

A separação de duplas hélices, tal como sua formação podem ser detectadas pela absorvância de luz UV. As bases nitrogenadas empilhadas em uma dupla hélice blindam umas as outras da luz. Como resultado, a absorvância de luz UV, cujo comprimento de onda é 260 nm, de um DNA dupla hélice será menor do que o de um DNA de fileira única. Esse efeito é chamado de hipocromicidade do DNA dupla hélice. Para um RNA de estrutura bem definida, a separação das interações que formam as estruturas terciária e secundária pode ser acompanhada também por absorção molecular. Seria observado um pico correspondente à abertura da estrutura terciária, e outro pico correspondente à abertura da estrutura secundária.

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) pode ser utilizada para estudar as estruturas de RNA e DNA a nível local (natureza das bases nitrogenadas, estrutura do anel ribose, entre outros), e deve ser utilizada em conjunto com outras técnicas de análise, como a espectrometria, fluorimetria e a difração de raio x.

A difração de raio x funciona quando um cristal de polinucleotídeos é colocado no caminho de uma fonte de raios x. Um padrão de difração será formado e poderá ser interpretado para a elucidação de uma estrutura tridimensional.