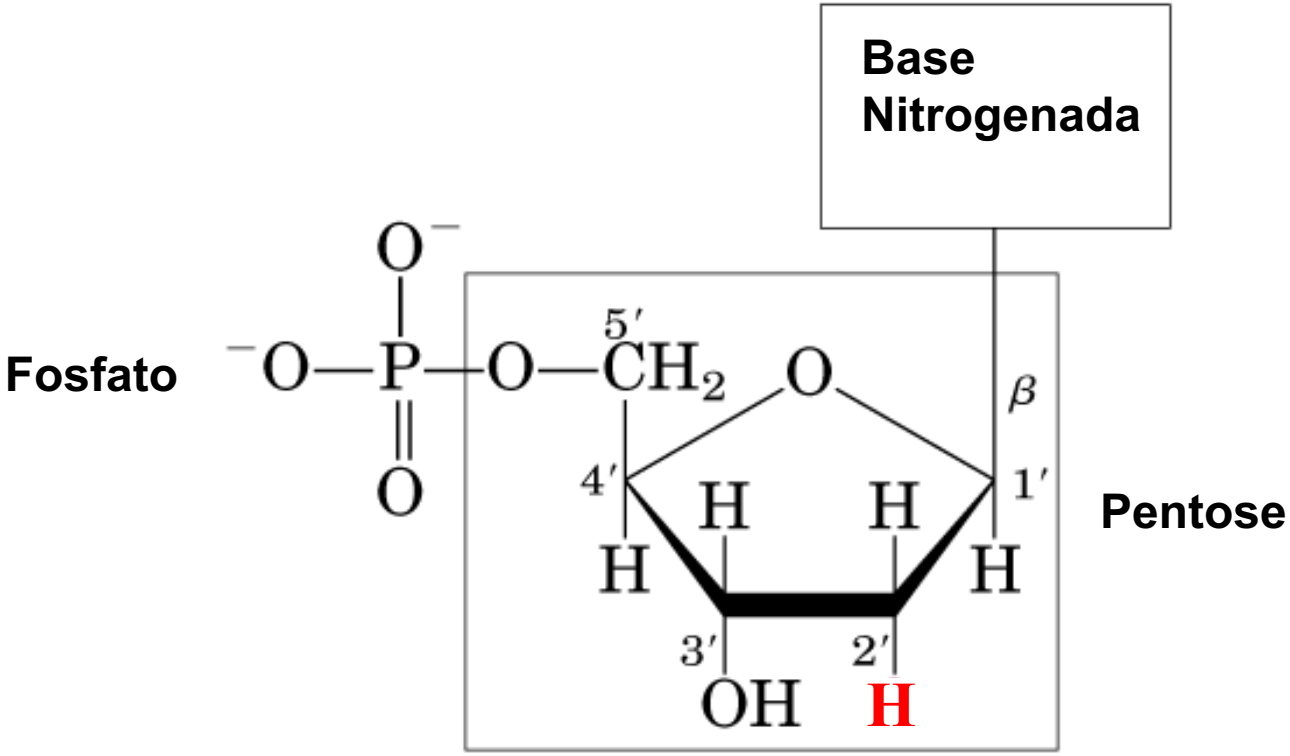
QBQ1354 - Biologia Molecular
2020

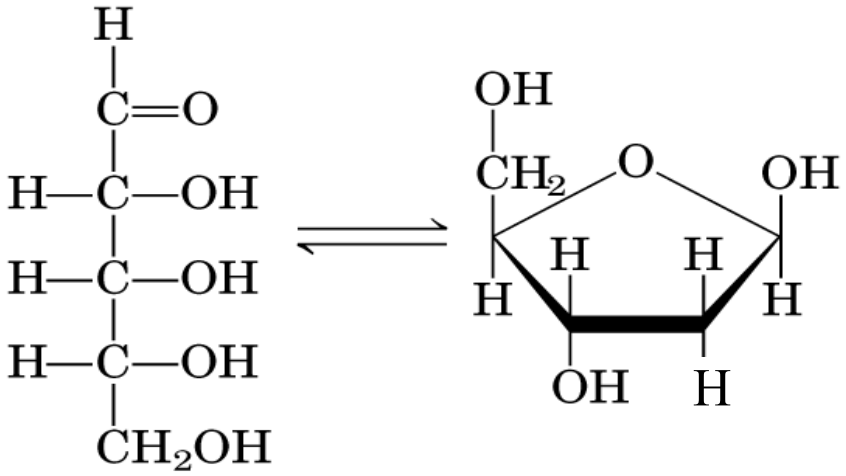
Estrutura e Função dos ácidos nucléicos
parte 2

Nucleotídeos
blocos estruturais dos ácidos nucleicos

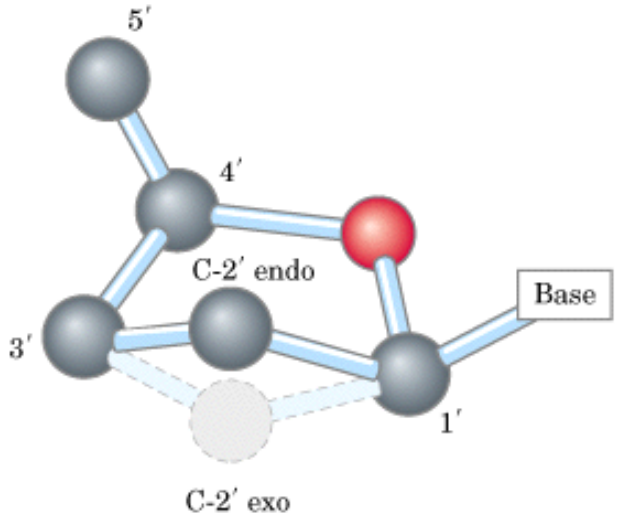


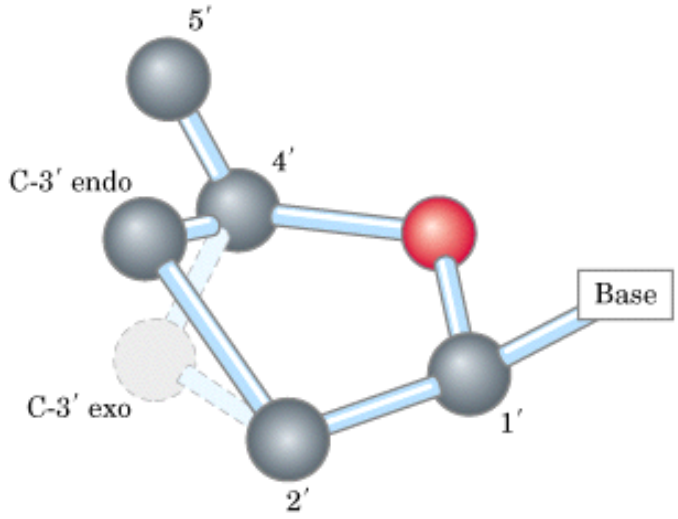
C2’
- H → desoxiribose → Ác. desoxiribonucleicos (DNAs)
- OH → ribose → Ác. ribonucleicos (RNAs)

Conformações da **ribose**



Aldose D-β-Furanose

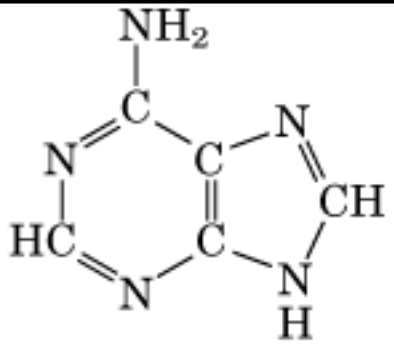




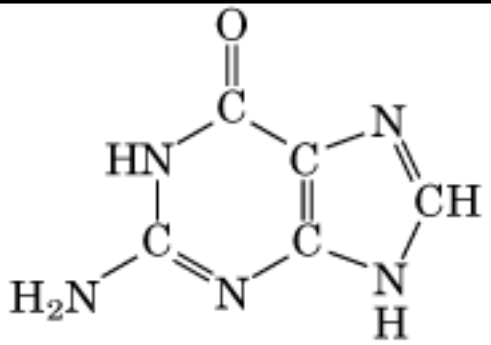
Na natureza apenas se observa o enantiômero D-ribose

Formas majoritárias de **bases nitrogenadas** que compõe os ácidos nucleicos

Purinas

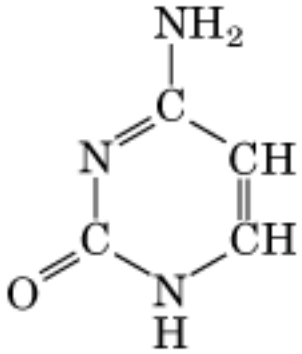


Adenina

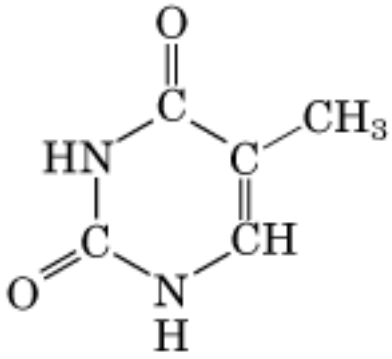


Guanina

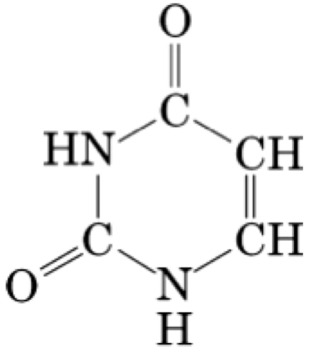
Pirimidinas



Citosina



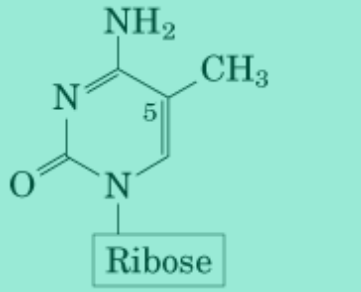
Timina



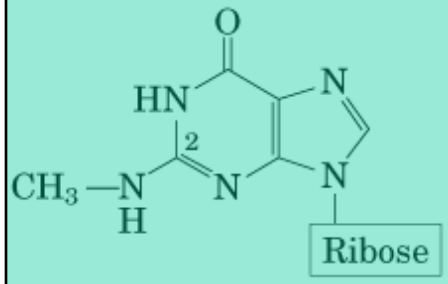
Uracila

Outras bases nitrogenadas minoritárias presentes em DNA/RNA

DNA de plantas e animais

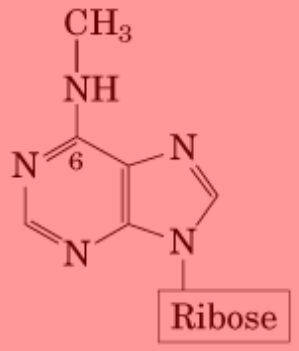


5-Methylcytidine



N^2-Methylguanosine

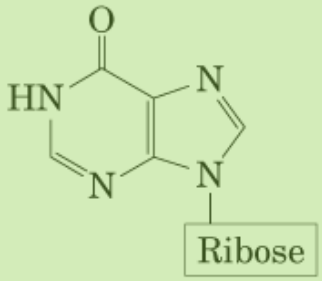
DNA de bactérias



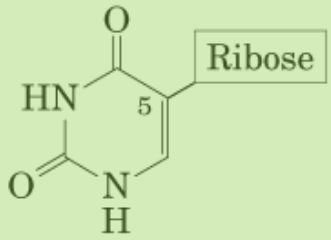
N^6-Methyladenosine

5-Hydroxymethylcytidine

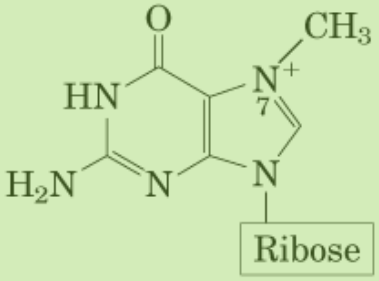
RNA transportador



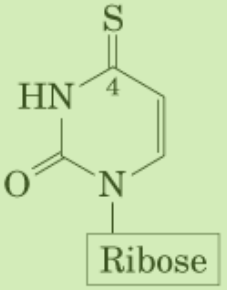
Inosine



Pseudouridine



7-Methylguanosine



4-Thiouridine

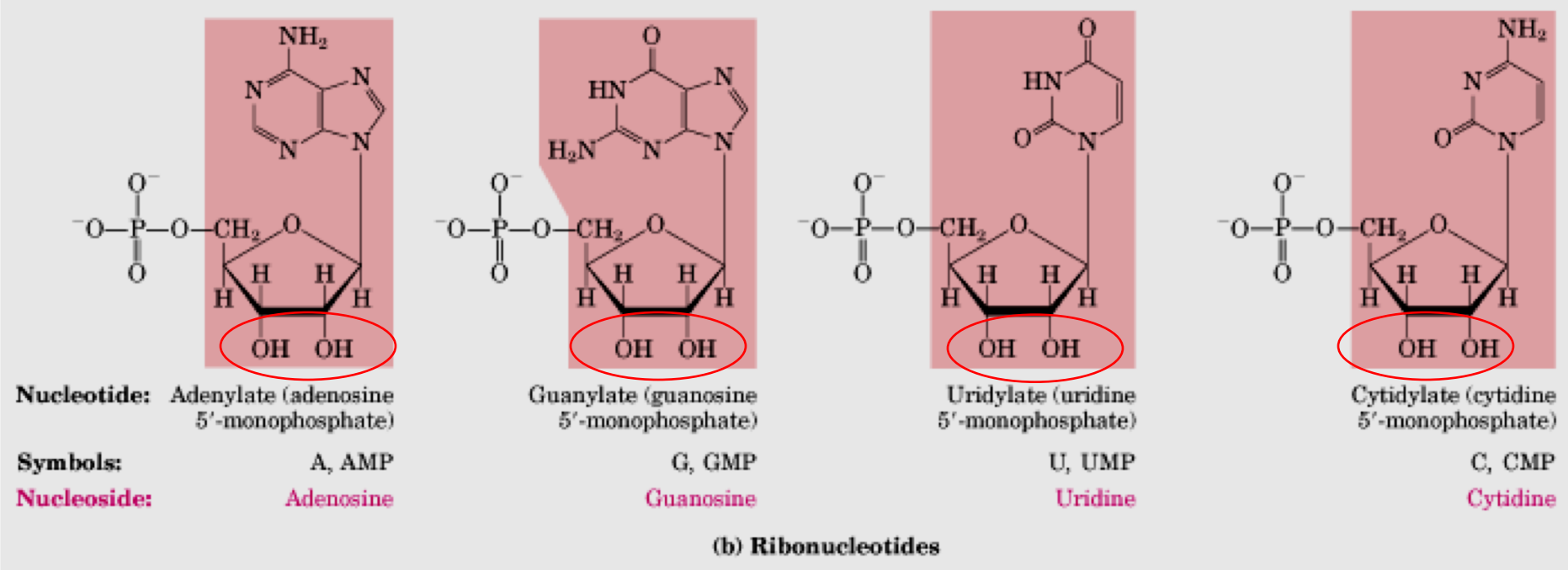
table 10–1

Nucleotide and Nucleic Acid Nomenclature

Base →	Nucleoside* →	Nucleotide*	Nucleic acid
Purines	+ ribose	+ fosfato	
Adenine	Adenosine	Adenylate	RNA
	Deoxyadenosine	Deoxyadenylate	DNA
Guanine	Guanosine	Guanylate	RNA
	Deoxyguanosine	Deoxyguanylate	DNA
Pyrimidines			
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	RNA
	Deoxycytidine	Deoxycytidylate	DNA
Thymine	Thymidine or deoxythymidine	Thymidylate or deoxythymidylate	DNA
Uracil	Uridine	Uridylate	RNA

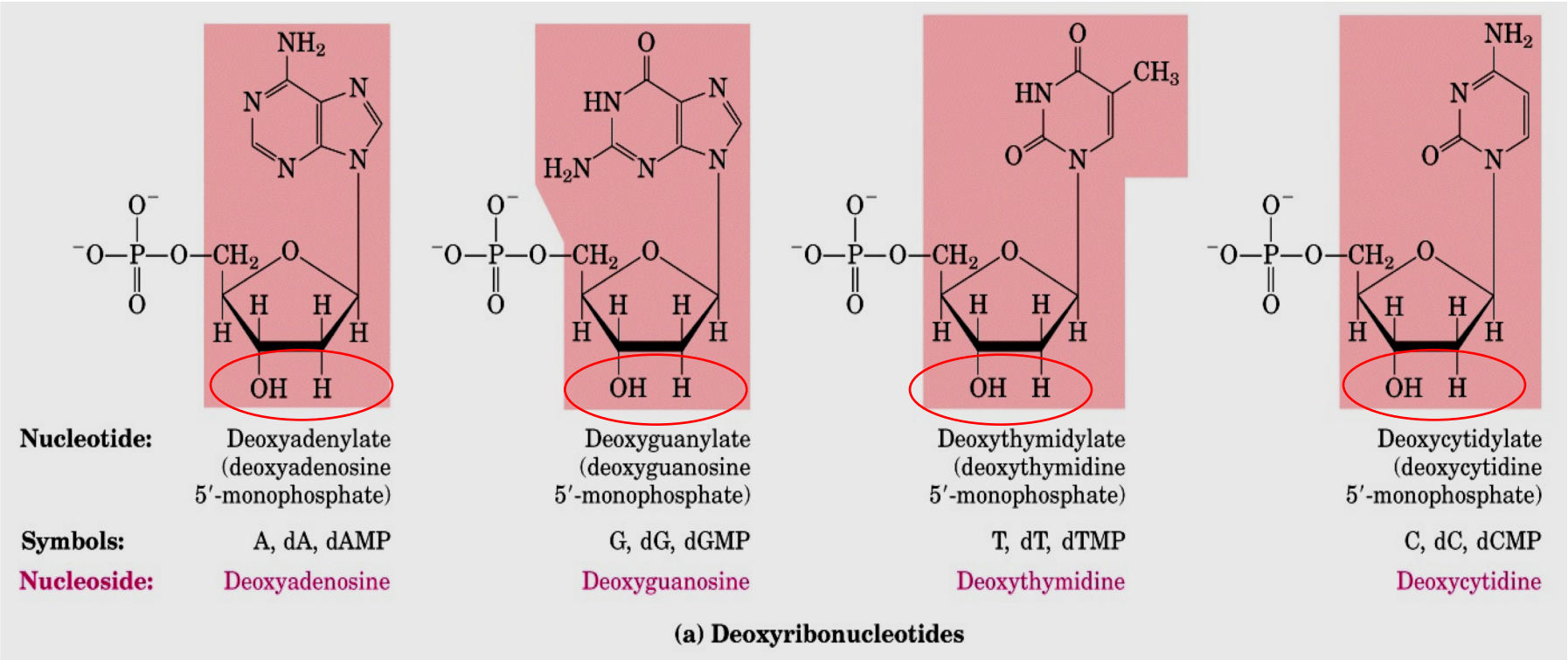
**Nucleoside* and *nucleotide* are generic terms that include both ribo- and deoxyribo- forms. Note that here ribonucleosides and ribonucleotides are designated simply as nucleosides and nucleotides (e.g., riboadenosine as adenosine), and deoxyribonucleosides and deoxyribonucleotides as deoxynucleosides and deoxynucleotides (e.g., deoxyriboadenosine as deoxyadenosine). Both forms of naming are acceptable, but the shortened names are more commonly used. Thymine is an exception; the name ribothymidine is used to describe its unusual occurrence in RNA.

Ribonucleotídeos



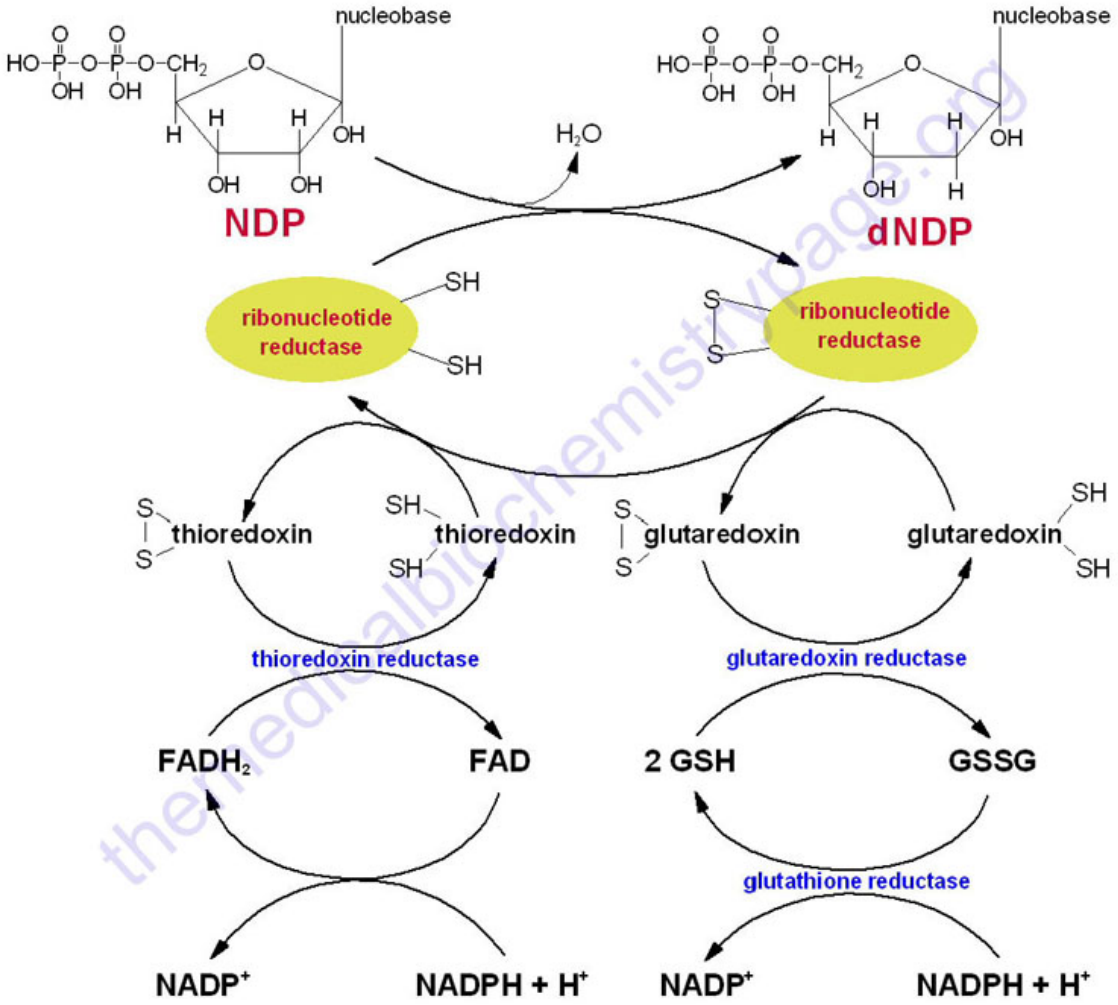
(b) Ribonucleotides

Desoxirribonucleotídeos



Os desoxiribonucleotídeos são gerados a partir de ribonucleotídeos

- Reações irreversíveis catalizadas por enzimas ribonucleotídeo redutases
- Evidência da ancestralidade do RNA em relação ao DNA



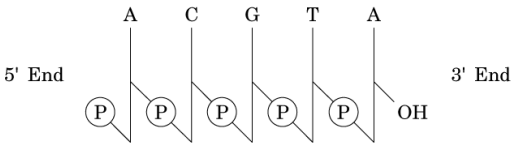
Exceção: deoxitimidina

dUMP + N^5, N^{10} metileno THF

↓ **Timidilato sintase**

dTMP + DHF

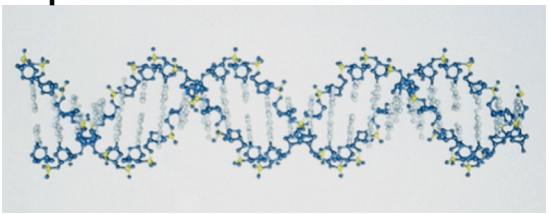
Níveis de organização dos ácidos nucleicos



Estrutura Primária

- Estrutura covalente do DNA/RNA
- Sequência de nucleotídeos

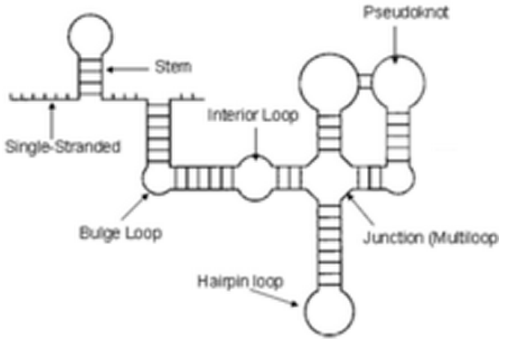
Dupla-hélice de DNA



Estrutura Secundária

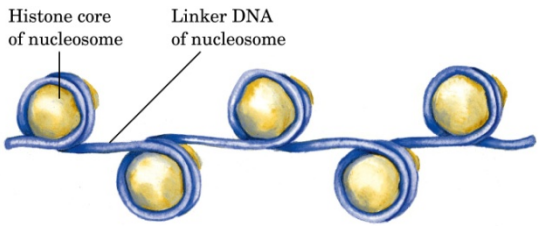
- Estruturas regulares locais do DNA (dupla-hélice) e RNA (grampos, voltas, laços)

Estruturas secundárias de RNA



Estrutura Terciária

- Arranjo tri-dimensional das moléculas de DNA e RNA



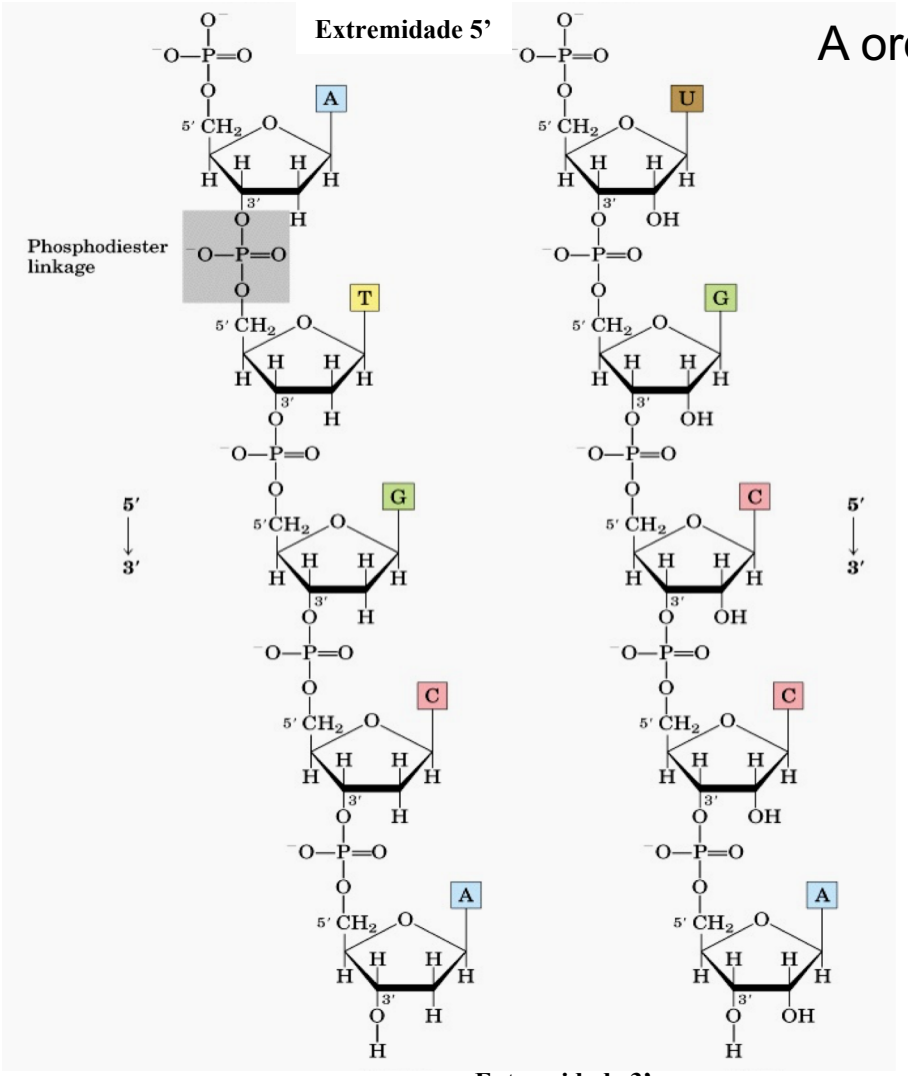
Estrutura Quaternária

Complexos formados a partir da interação de DNA e RNA com proteínas ou outras macromoléculas. Ex.

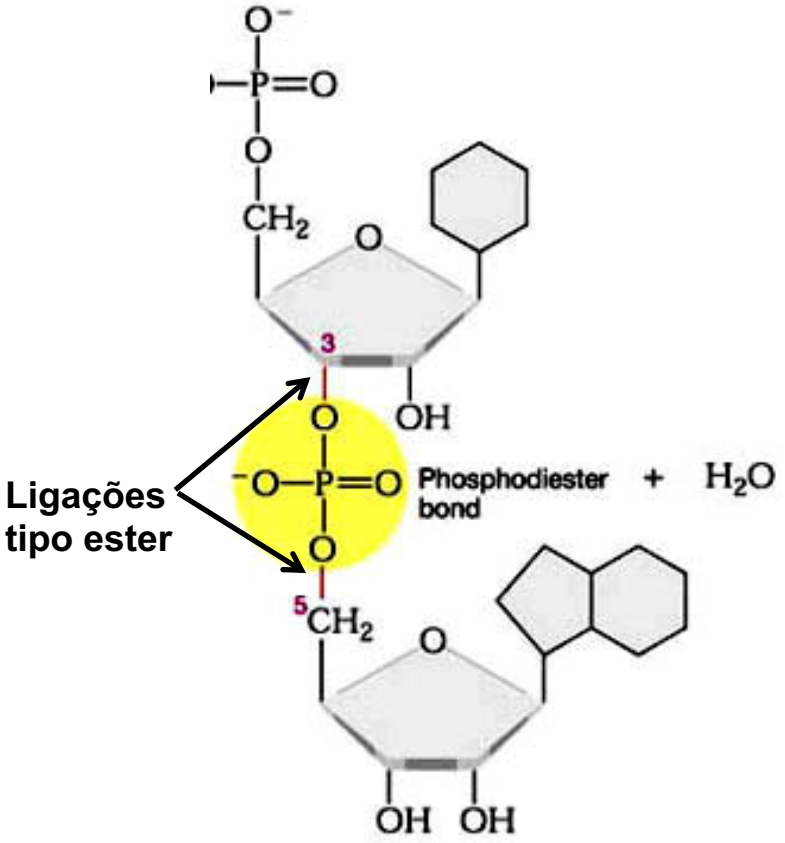
- DNA na cromatina (eucariotos) e nucleóide (procariotos)
- RNAs nos ribosomos

Ácidos nucleicos são polímeros lineares de nucleotídeos unidos por ligações covalentes do tipo fosfodiéster

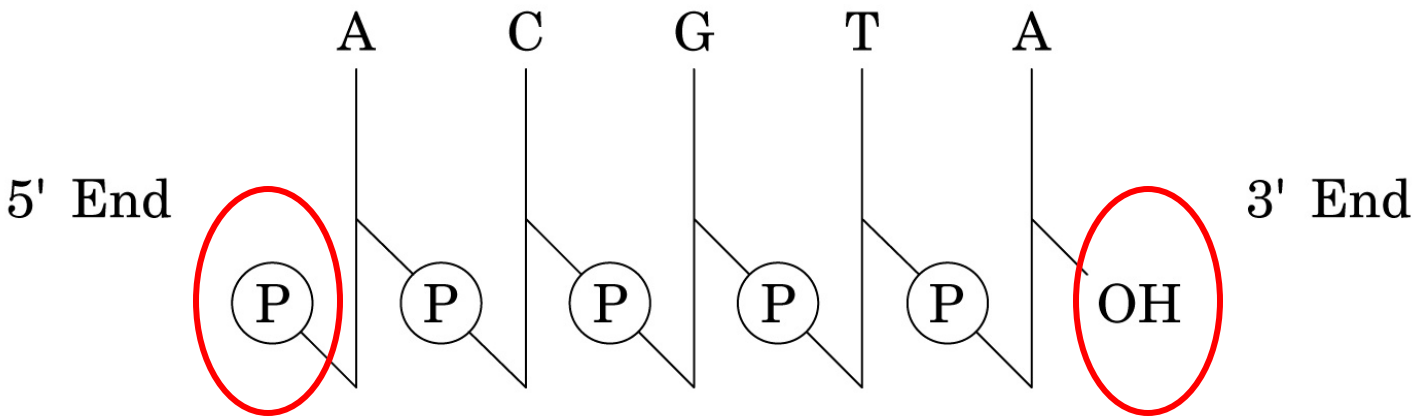
DNA **RNA**



A ordem dos nucleotídeos define a **estrutura primária** da molécula de DNA/RNA



Moléculas de ácidos nucleicos possuem polaridade e extremidades 5’ e 3’ distintas



Oligonucleotídeos: polímeros com até 50 unidades

Polinucleotídeos: polímeros > 50 unidades

Desvendando a estrutura do DNA

Erwin Chargaff (1950)

As quantidades relativas de A, T, G e C são características de cada organismo, não variando entre diferentes tecidos ou em diferentes condições fisiológicas. "Regras de Chargaff": em qualquer DNA celular, a quantidade de resíduos **A=T** e **G=C**.

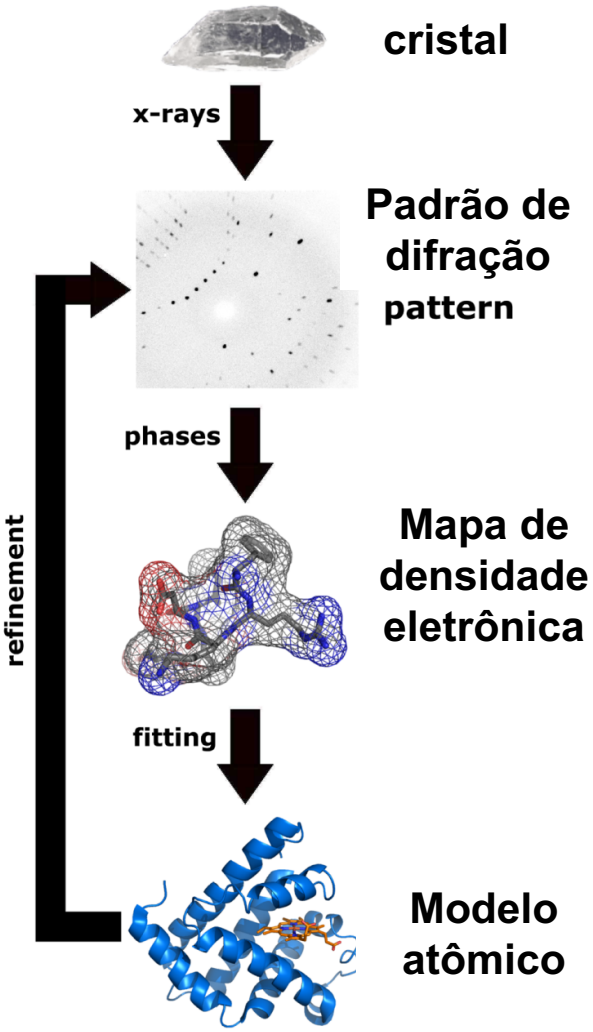
R. Franklin e M. Wilkins (1953)

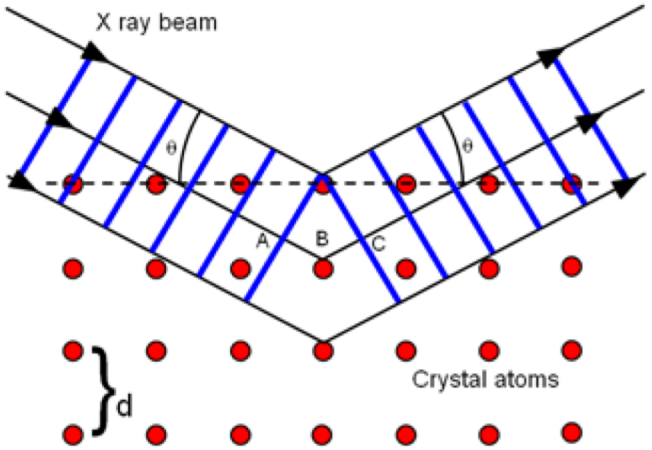
Moléculas de DNA assumem **estrutura helicoidal**, com 2 periodicidades (3,4 e 34 Å) ao longo do eixo da hélice.

J. Watson e F. Crick (1953)

Modêlo tri-dimensional para a estrutura do DNA:
Duas cadeias de DNA **complementares**, anti-paralelas, formam uma **dupla-hélice** com rotação no sentido anti-horário ("right-handed").

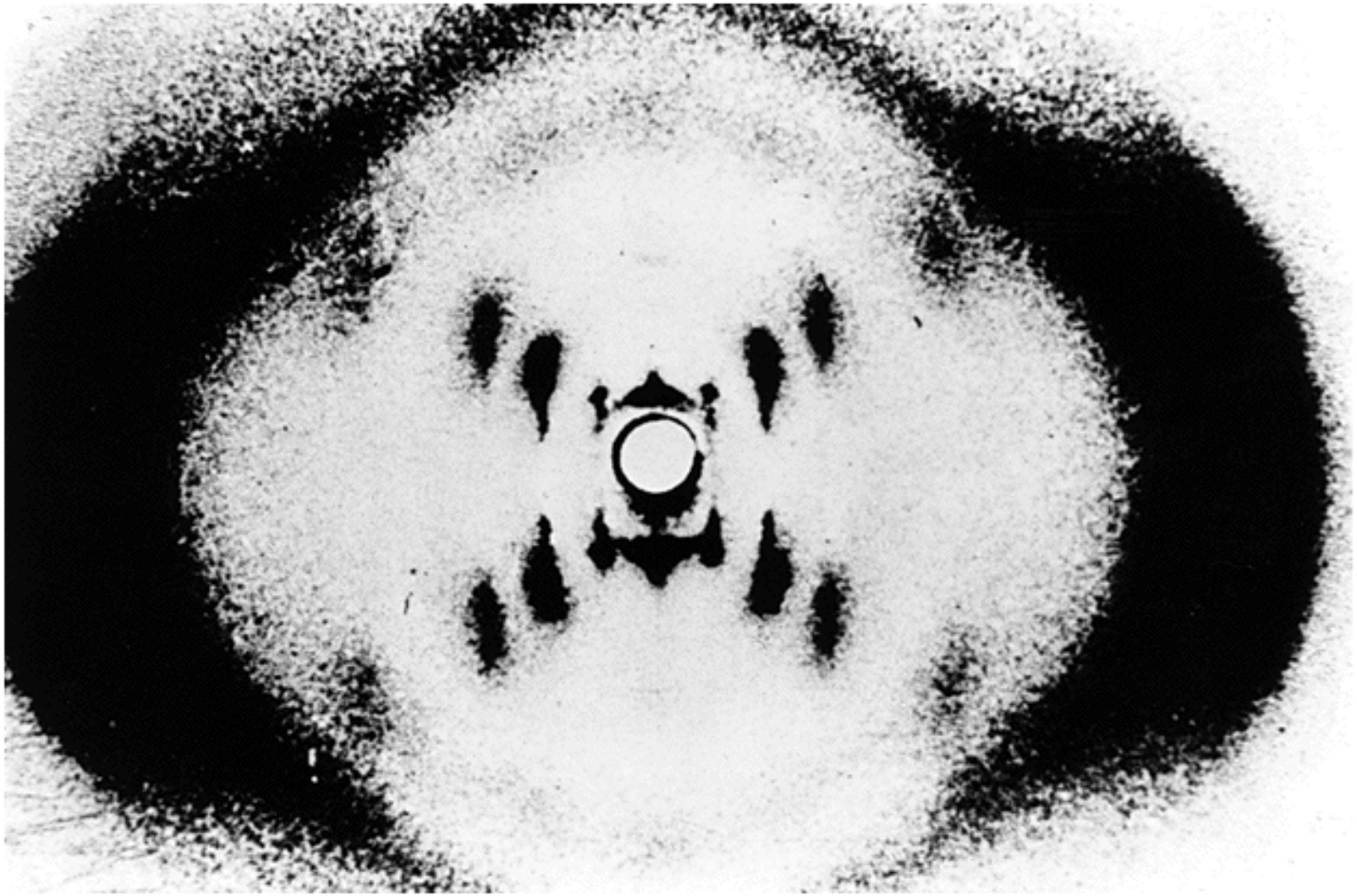
Como a estrutura do DNA foi descoberta?
Uso da técnica de difração de raio-x para a determinação da estrutura terciária de biomoléculas





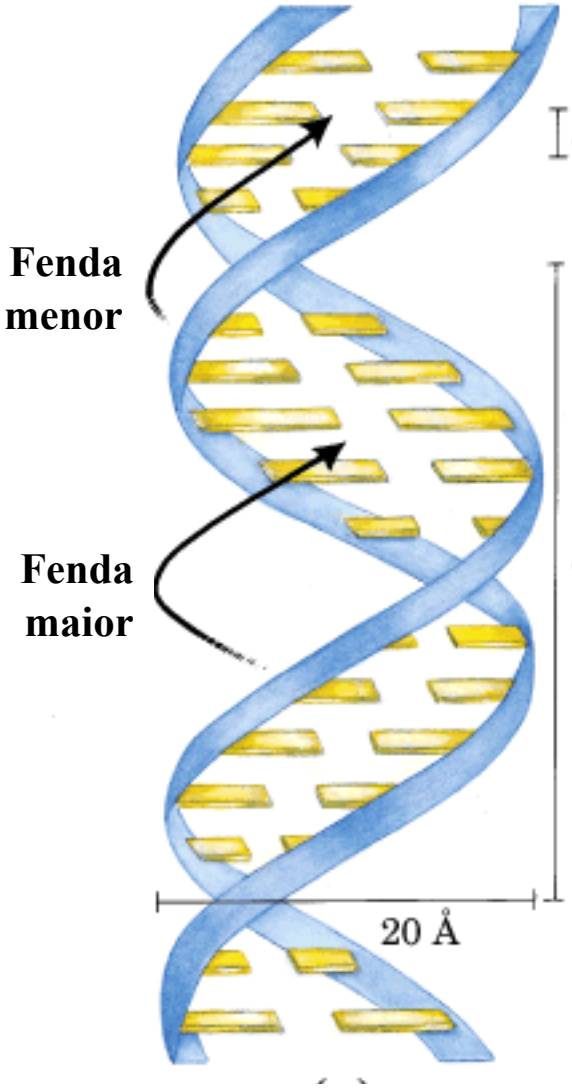
Difração de raio-x de cristais de fibras de DNA

R. Franklin e M. Wilkins (1953)



34 Å

Modêlo Watson-Crick para a estrutura do DNA



Modêlo esquemático

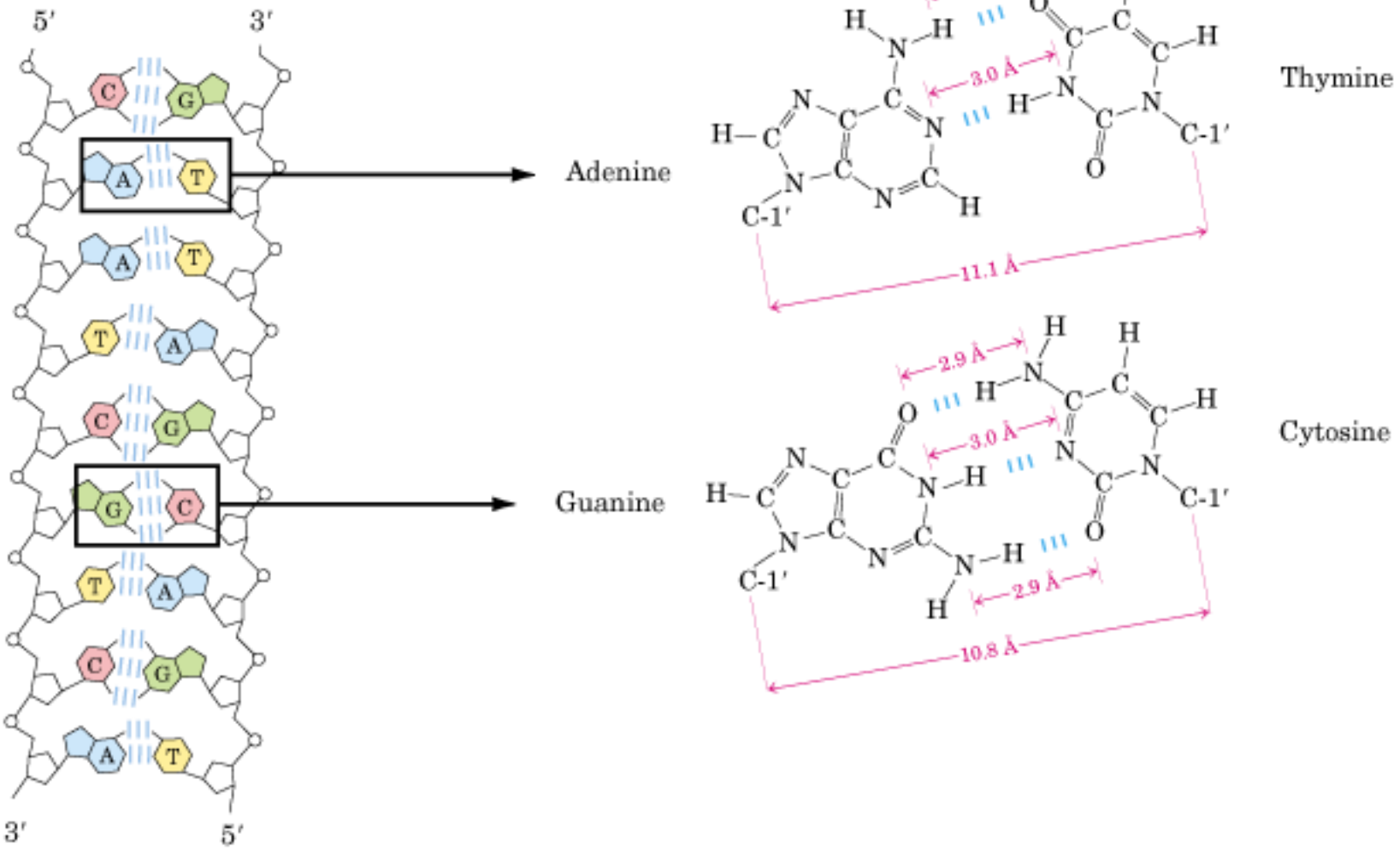
Distância entre bases adjacentes

Distância do passo (volta) do hélice

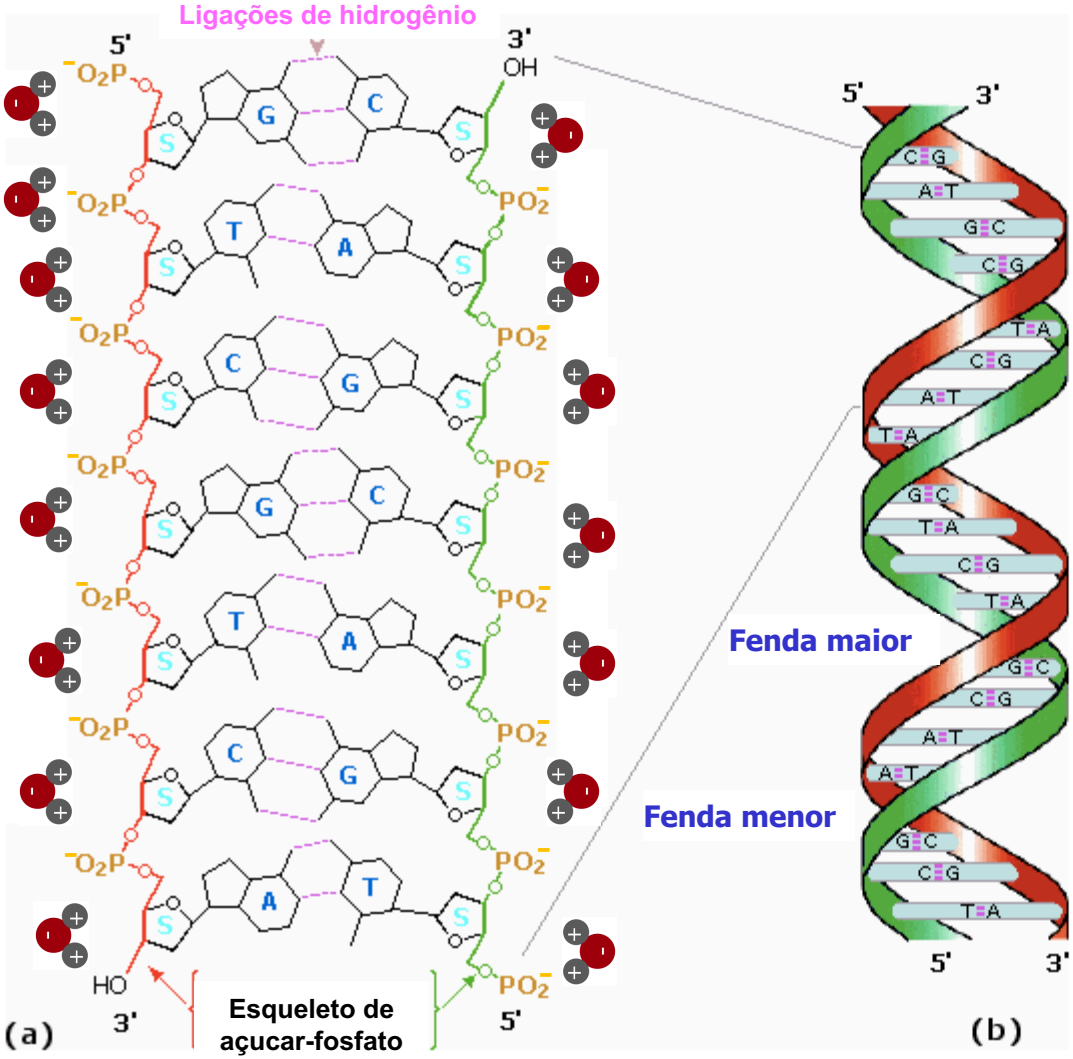
Diâmetro do hélice

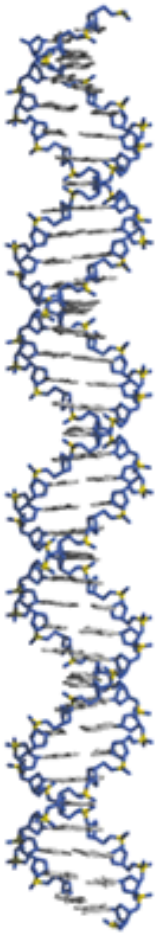
A dupla hélice do DNA tem um padrão regular e define a **estrutura secundária** da molécula

Ligações de hidrogênio entre bases C-G e A-T em fitas de DNA complementares estabilizam e conferem especificidade a dupla-fita de DNA

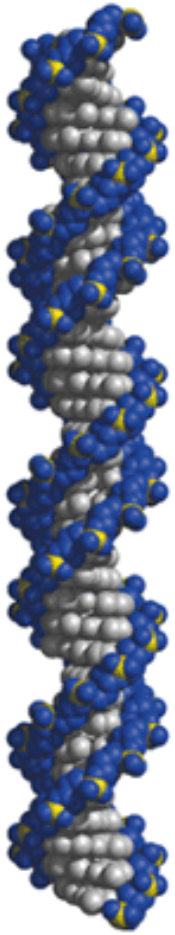


A dupla-hélice de DNA é também estabilizada pelo efeito hidrofóbico que age sobre as bases nitrogenadas em meio aquoso



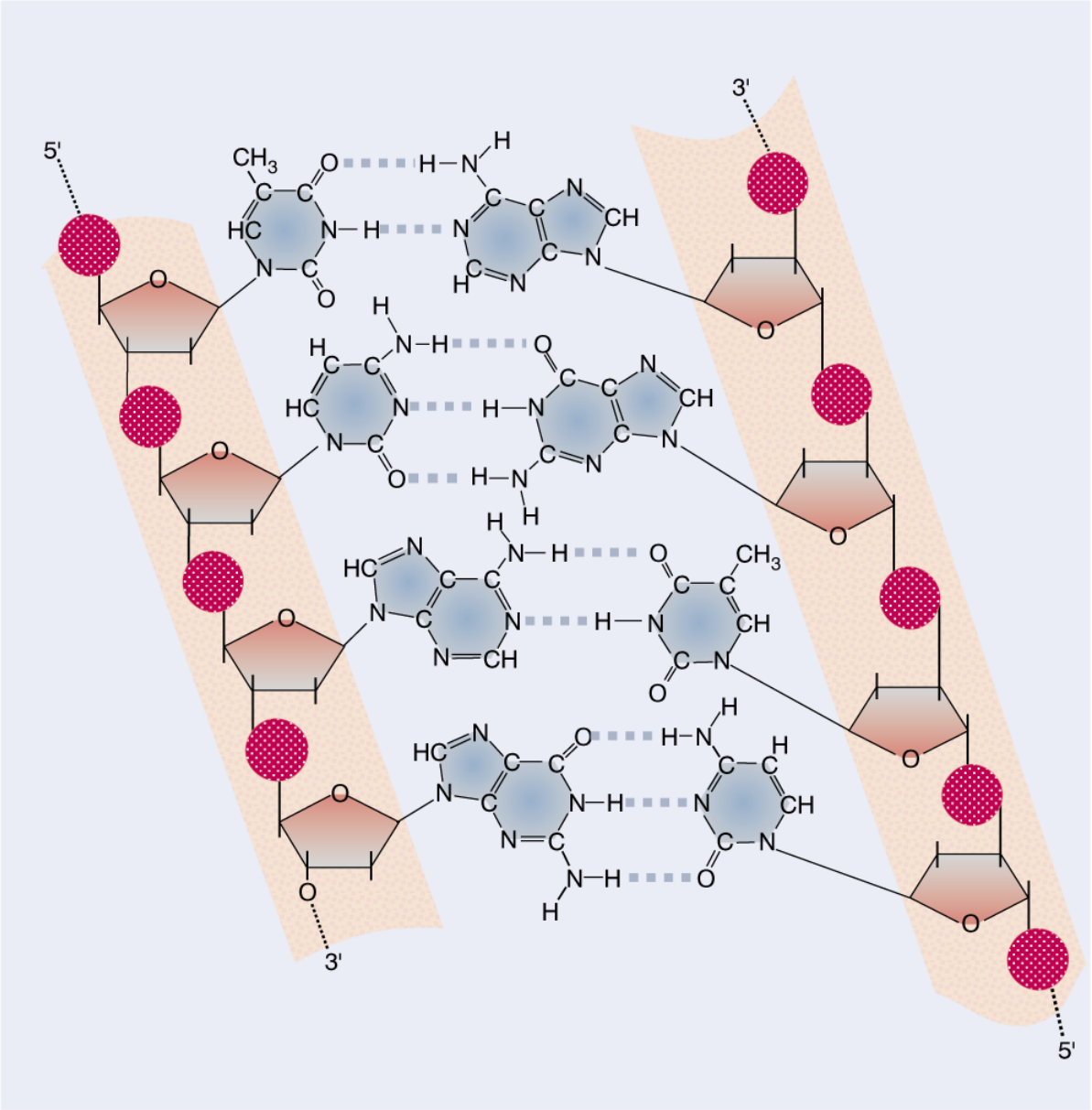


Modêlo em bastão



Modêlo com preenchimento de espaço

Empilhamento das bases favorece contatos de wan der Waals que contribuem para estabilizar a dupla-hélice



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962

Francis Harry Compton Crick

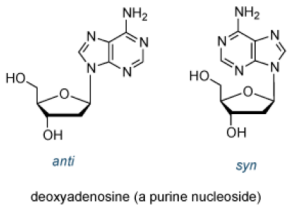
James Dewey Watson

Maurice Hugh Frederick Wilkins

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962 was awarded jointly to Francis Harry Compton Crick, James Dewey Watson and Maurice Hugh Frederick Wilkins ***"for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material".***

A dupla-hélice de DNA pode existir em diferentes formas tri-dimensionais

Diferentes conformações das desoxiriboses, rotações entre as ligações que compõe a cadeia de fosfodesoxiribose, rotação ao longo da ligação glicosídica C1'-N.



deoxyadenosine (a purine nucleoside)

	A form	B form	Z form
Helical sense	Right handed	Right handed	Left handed
Diameter	~26 Å	~20 Å	~18 Å
Base pairs per helical turn	11	10.5	12
Helix rise per base pair	2.6 Å	3.4 Å	3.7 Å
Base tilt normal to the helix axis	20°	6°	7°
Sugar pucker conformation	C-3′ endo	C-2′ endo	C-2′ endo for pyrimidines; C-3′ endo for purines
Glycosyl bond conformation	Anti	Anti	Anti for pyrimidines; syn for purines

Forma B: Estrutura **mais estável** para uma dupla-hélice de DNA com sequência aleatória nas condições fisiológicas. prevista no modelo de Watson-Crick

Forma A: forma-se em condições de baixa umidade (<75%). Presente em esporos bacterianos. Forma mais resistente a radiação ultravioleta

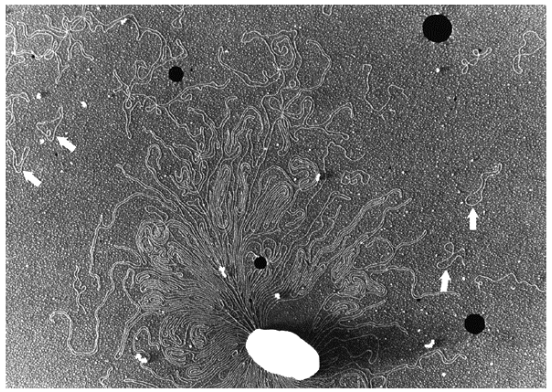
Forma Z: sentido do hélice para a esquerda. presente em **regiões discretas** do genoma de eucariotos/procariotos. Possível papel na regulação da expressão gênica.

Estrutura terciária/quaternária do DNA nas células

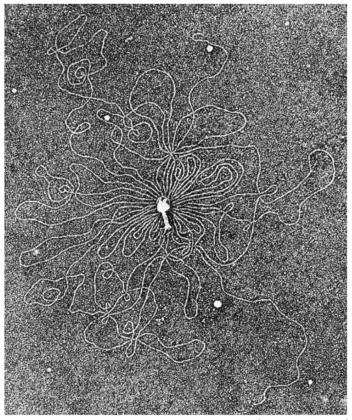
Cada molécula de DNA dupla-fita está organizada em cromossomos

bactérias e vírus: cromossomo único

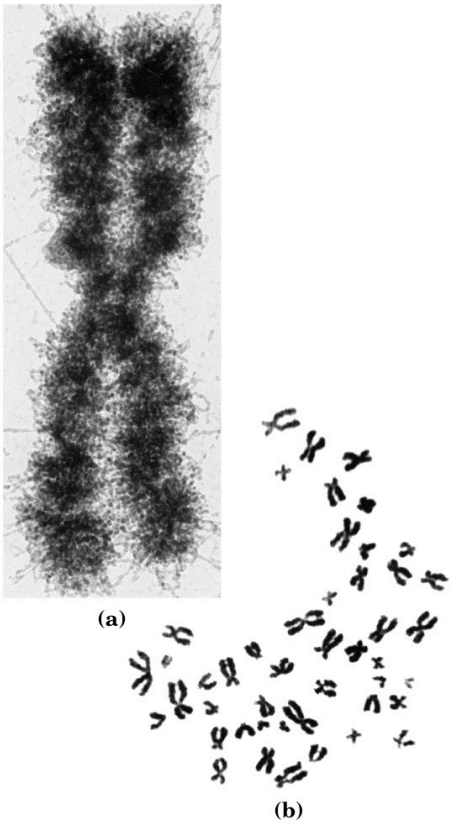
E.coli



Bacteriofago T2

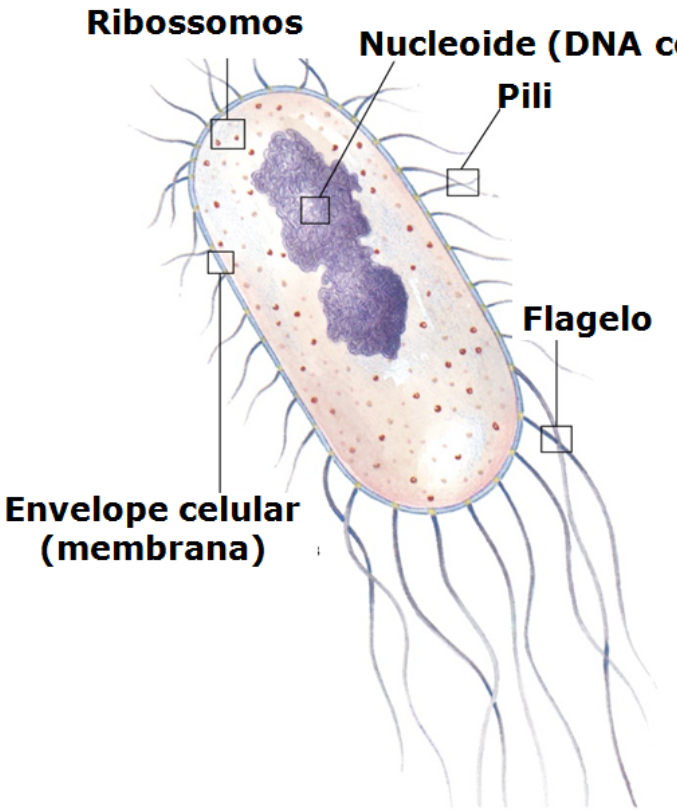


células eucarióticas: vários cromossomos

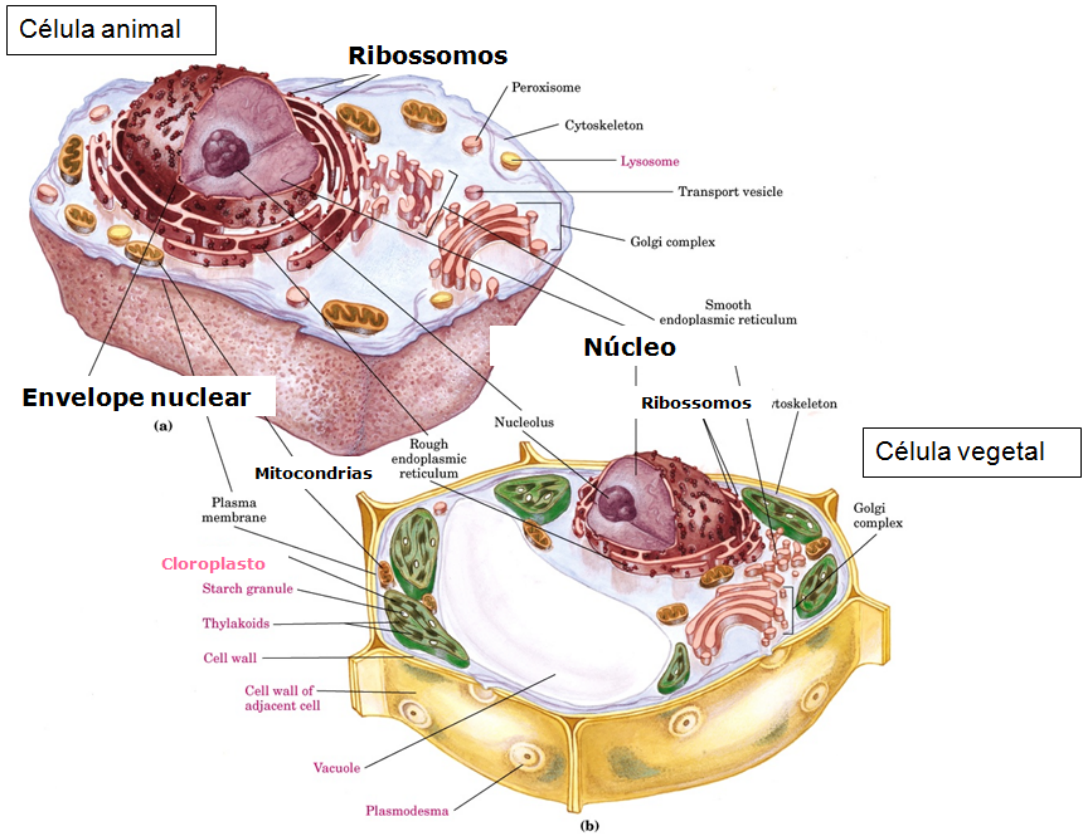


46 cromossomos de uma célula somática humana

Célula procariótica (bactérias)



Célula eucariótica



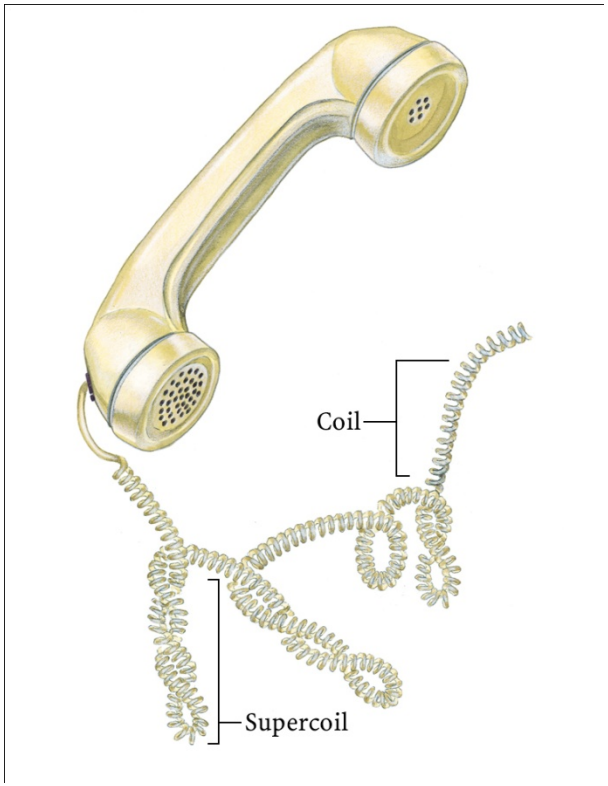
Compactação do DNA cromosomal – "DNA Supercoiling"

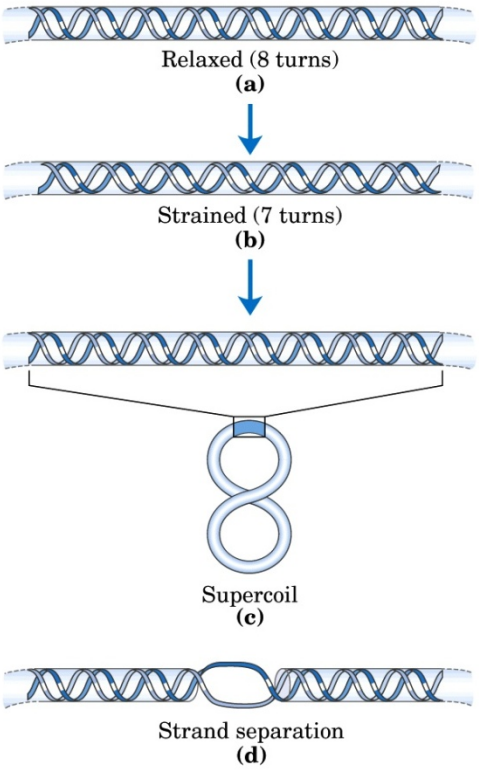
Cromossomo bacteriano: 4.6 milhões de pares de base
1.7 mm de comprimento

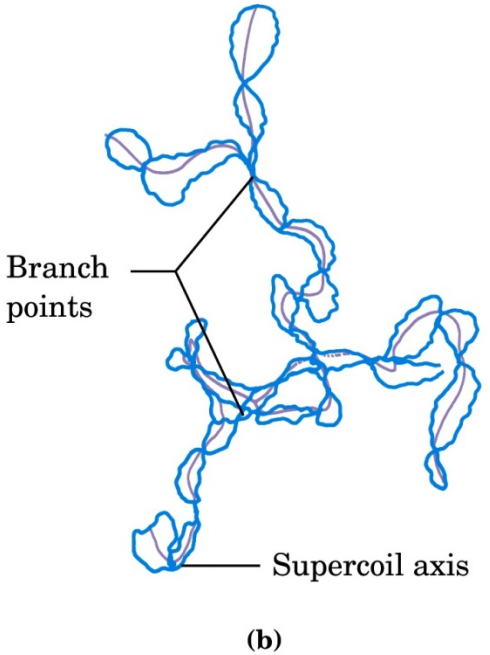
Tamanho de uma célula bacteriana: 2μm (**850 vêzes menor**)

Cromossomos humanos: ~ 3 bilhões de pares de base
2 m de comprimento

Tamanho de uma célula humana: 5-100μm (**400.000 a 20.000 vêzes menor**)





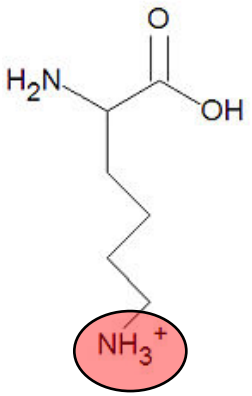


Nas células eucarióticas, o DNA cromosomal está associado a proteínas básicas na cromatina, formando nucleosomos

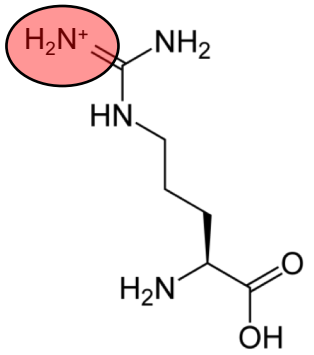
Types and Properties of Histones

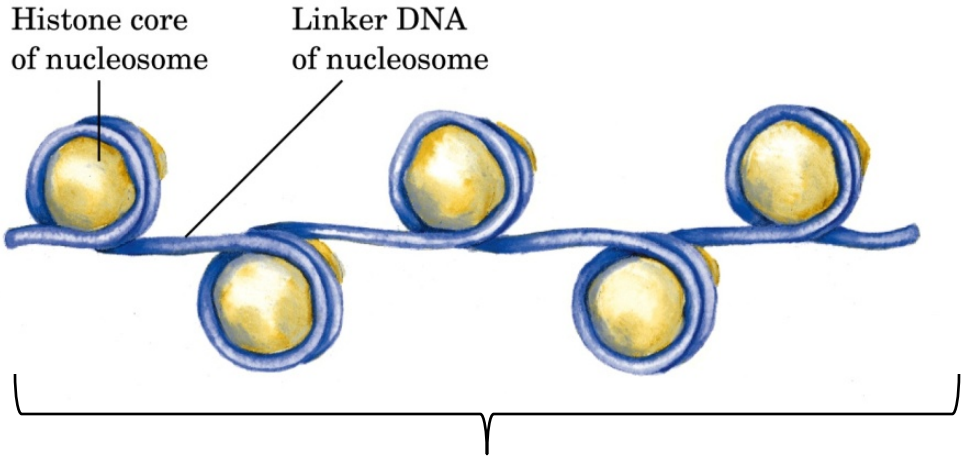
Histone	Molecular weight	Number of amino acid residues	Content of basic amino acids (% of total)	
			Lys	Arg
H1*	21,130	223	29.5	1.3
H2A*	13,960	129	10.9	9.3
H2B*	13,774	125	16.0	6.4
H3	15,273	135	9.6	13.3
H4	11,236	102	10.8	13.7

Lisina

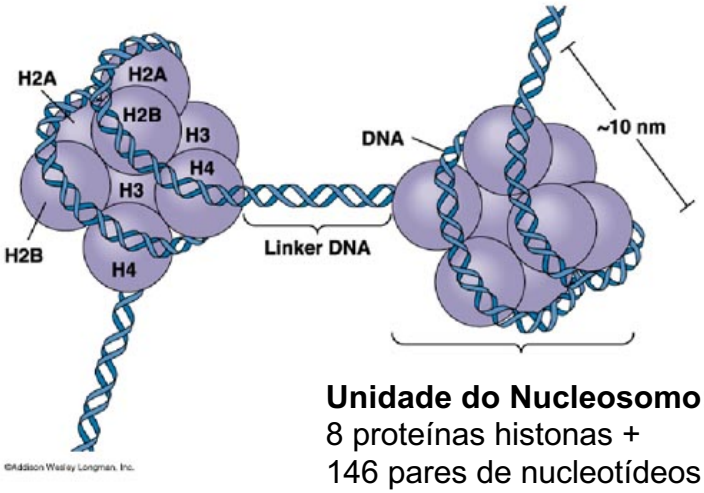


Arginina



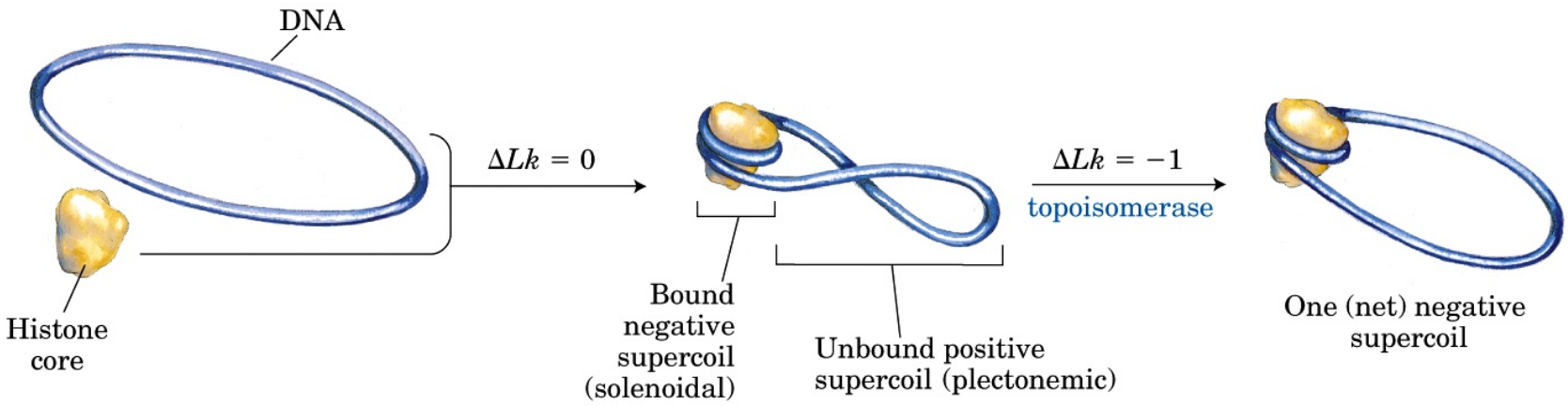


Cromatina : DNA + proteínas associadas



Unidade do Nucleosomo:
8 proteínas histonas +
146 pares de nucleotídeos

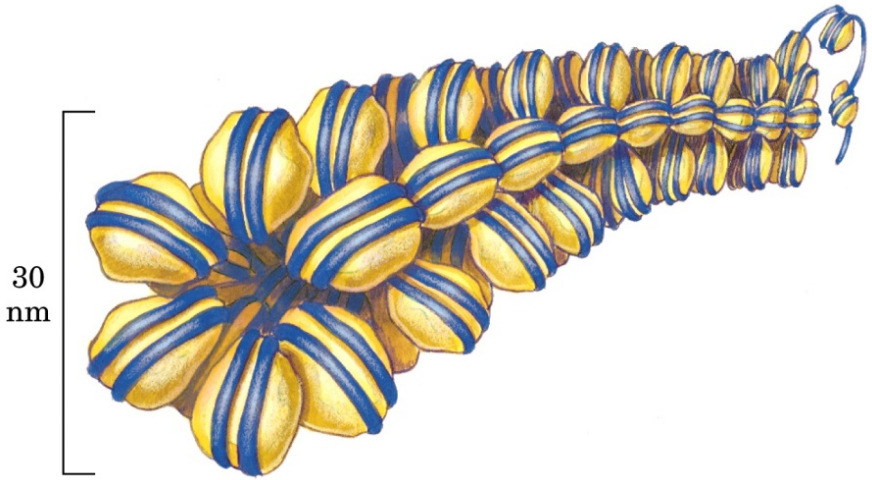
Nas células eucarióticas, o enovelamento do DNA em torno dos nucleosomos compacta o DNA ~ 7 vêzes



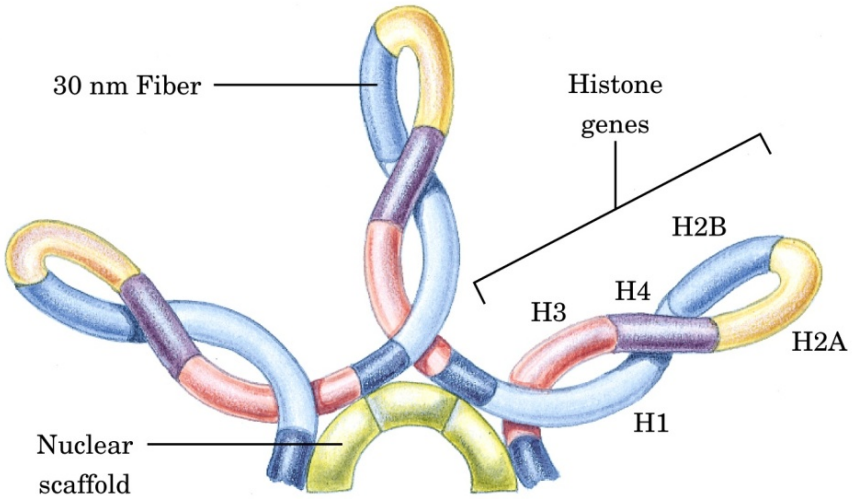
Nos procariotos, o DNA cromossomico esta associado a proteínas semelhantes a histonas no nucleóide

Níveis superiores de organização da cromatina

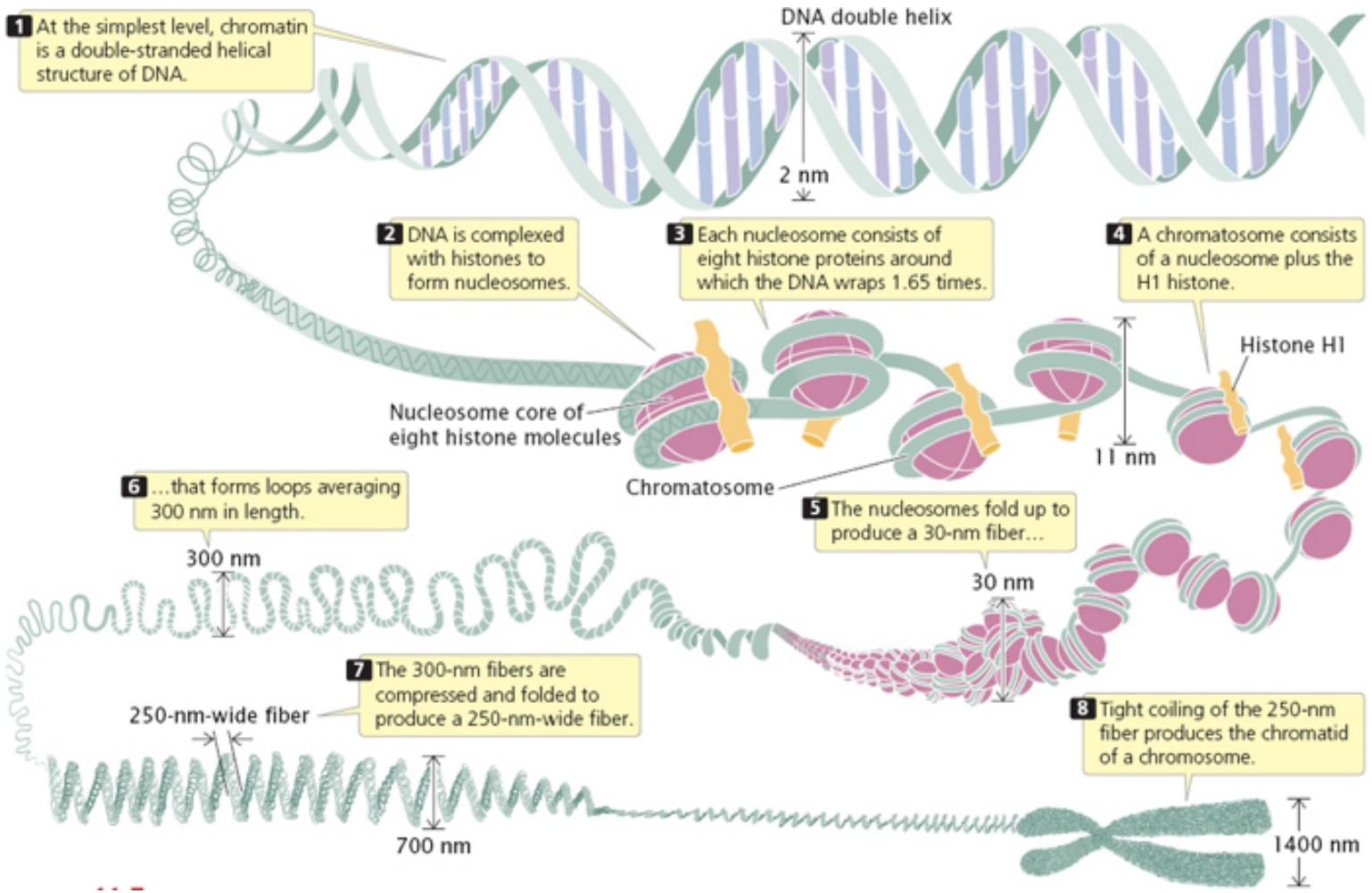
- **Fibras de 30nm:** compactação de 100 vezes



- **Fibras de 250 nm**



Níveis superiores de organização da cromatina



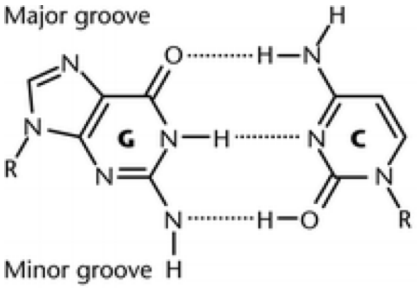
Cromossomos

Várias classes de RNAs

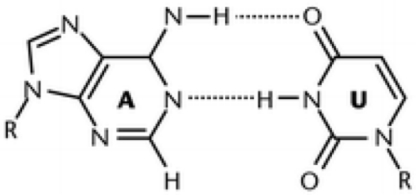
- RNAs mensageiros
- RNAs ribossomais
- RNAs transportadores
- Pequenos RNAs nucleares
- RNAs nãocodificadores regulatórios

Pareamentos de bases encontrados em RNAs

Mais frequentes



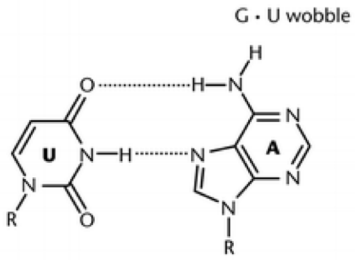
Watson–Crick G • C



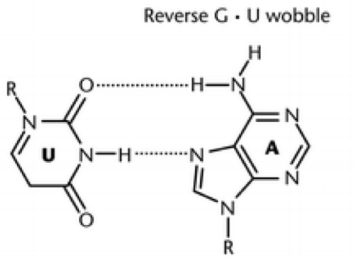
Watson–Crick A • U

Menos frequentes

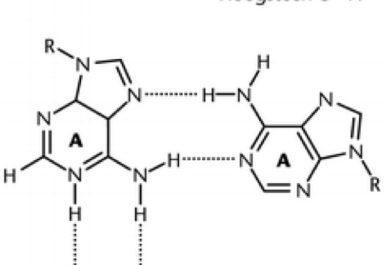
- Regiões de transição entre diferentes estruturas secundárias do RNA
- pareamento entre diferentes moléculas de RNA



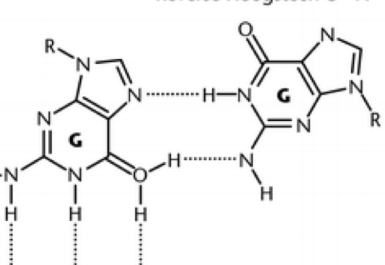
G • U wobble



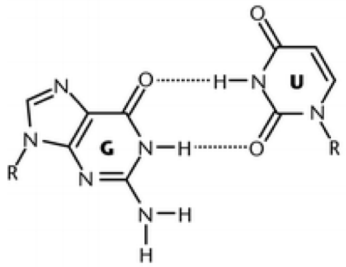
Reverse G • U wobble



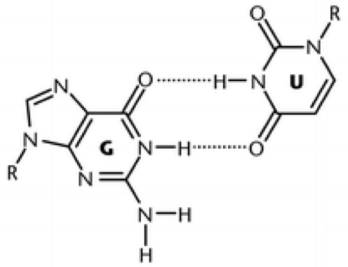
Hoogsteen U • A



Reverse Hoogsteen U • A



G • U wobble

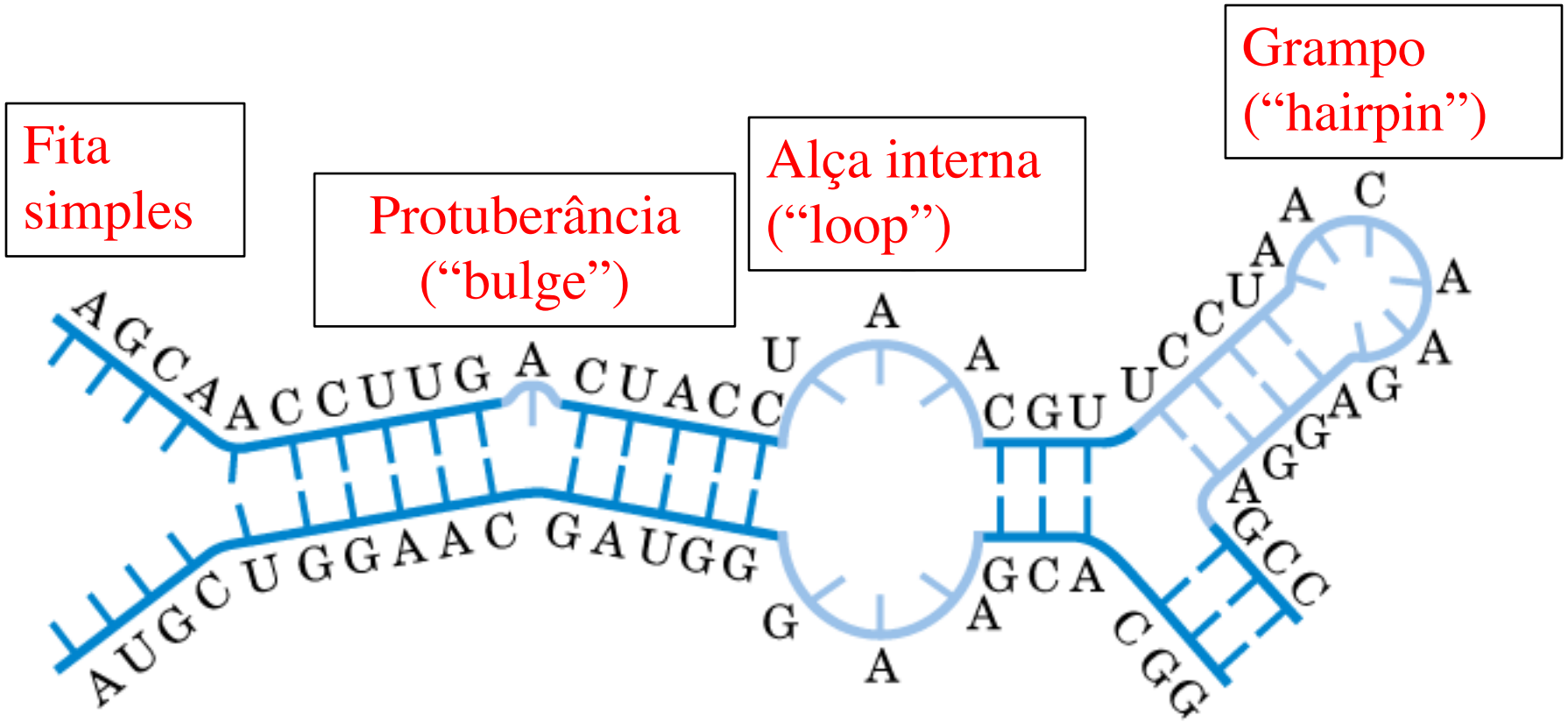


Reverse G • U wobble

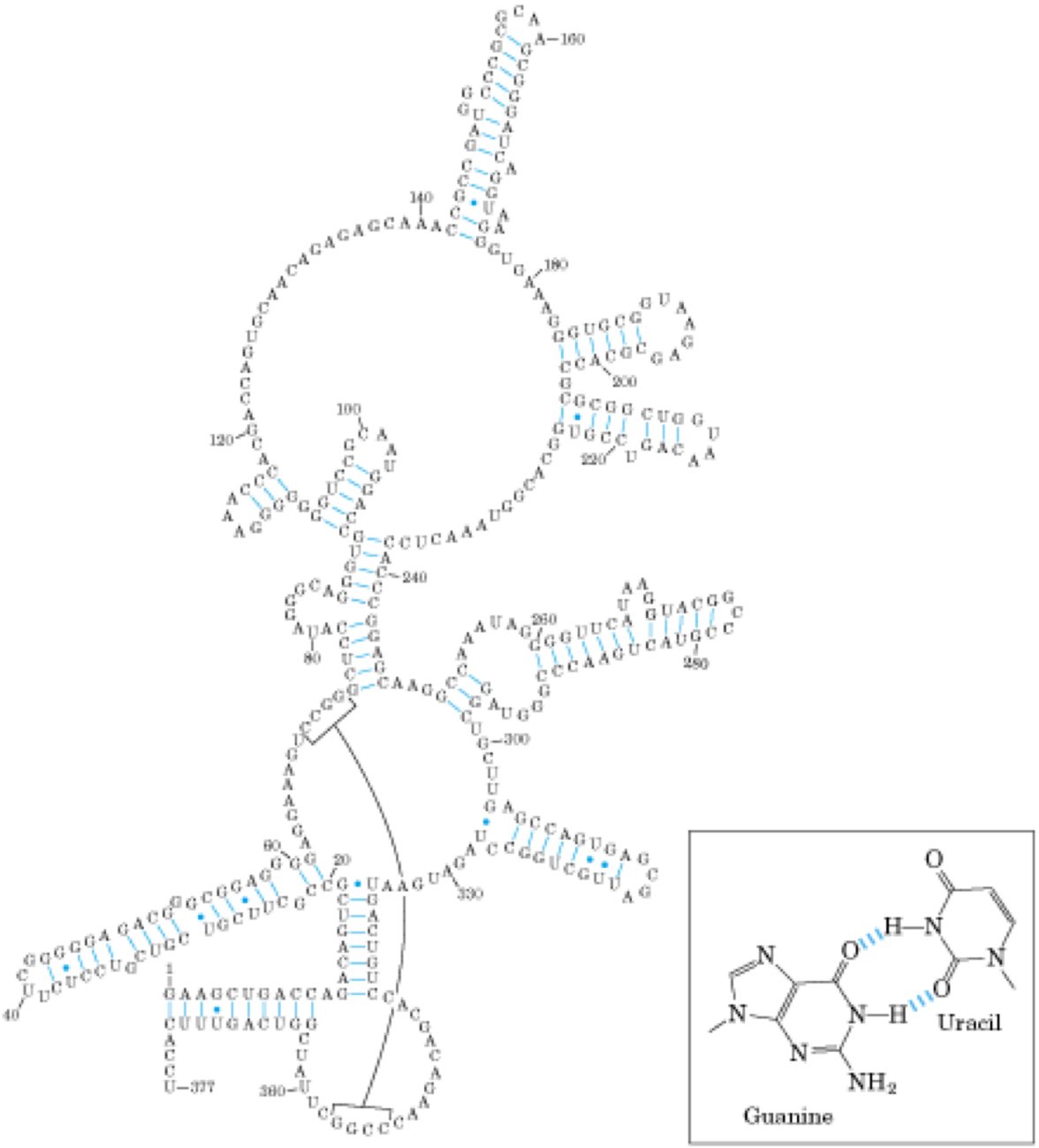
Base triple [U • A] • A

Base triple [C • G] • G

Estruturas secundárias comumente encontradas em RNAs



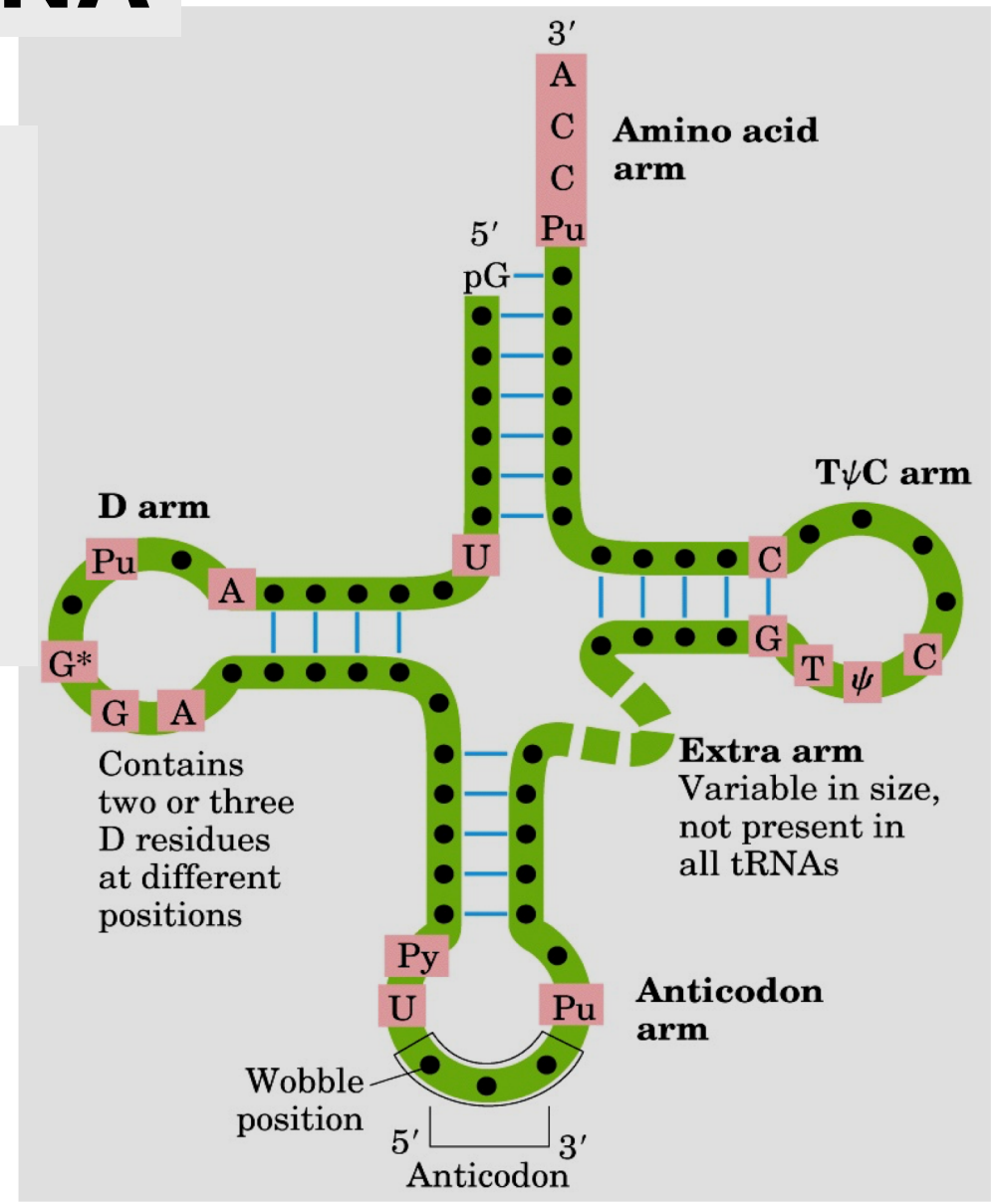
Estrutura bi-dimensional de um RNA mensageiro



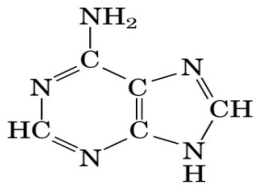
tRNA

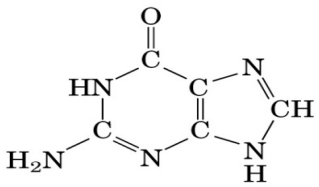
-Estrutura secundária com grampos e alças formando um trevo

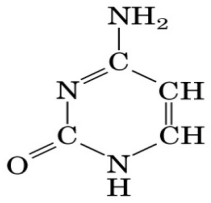
-Alto número de bases modificadas depois da sua transcrição

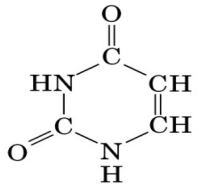


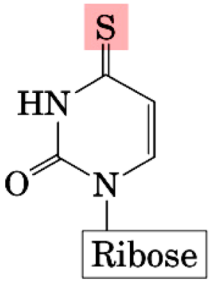
Bases modificadas nos tRNAs

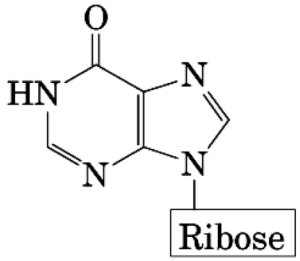

Adenine

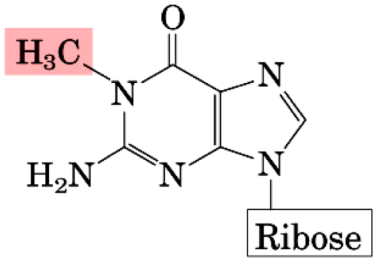

Guanine

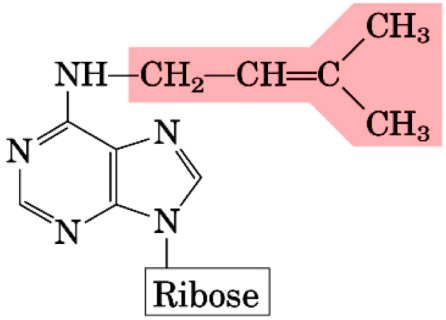

Cytosine

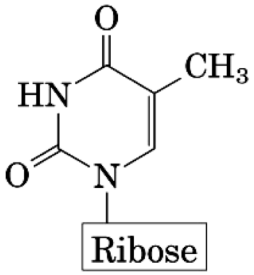

Uracil

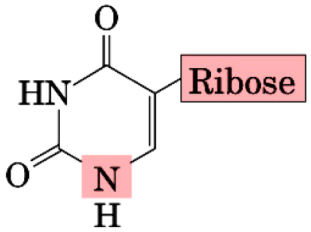

4-Thiouridine (S^4U)

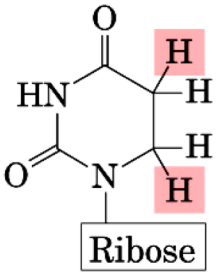

Inosine (I)


1-Methylguanosine (m^1G)

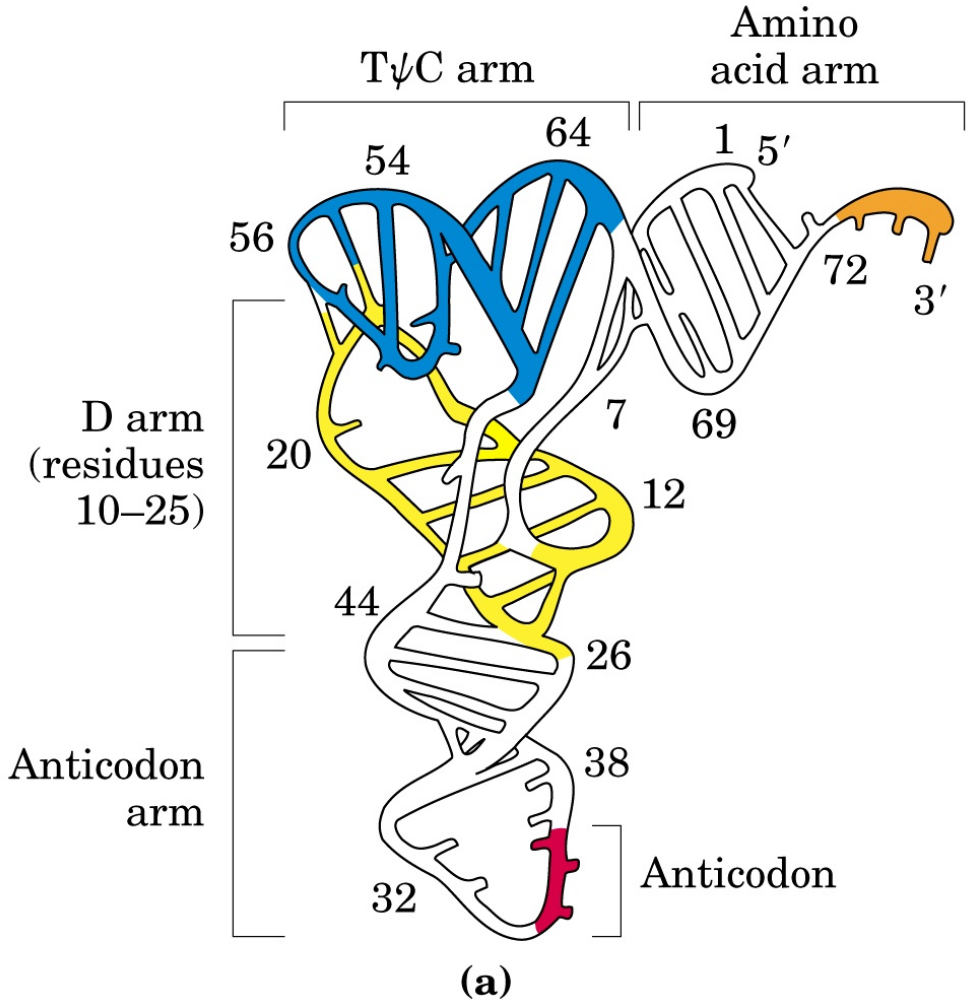

N^6-Isopentenyladenosine (i^6A)

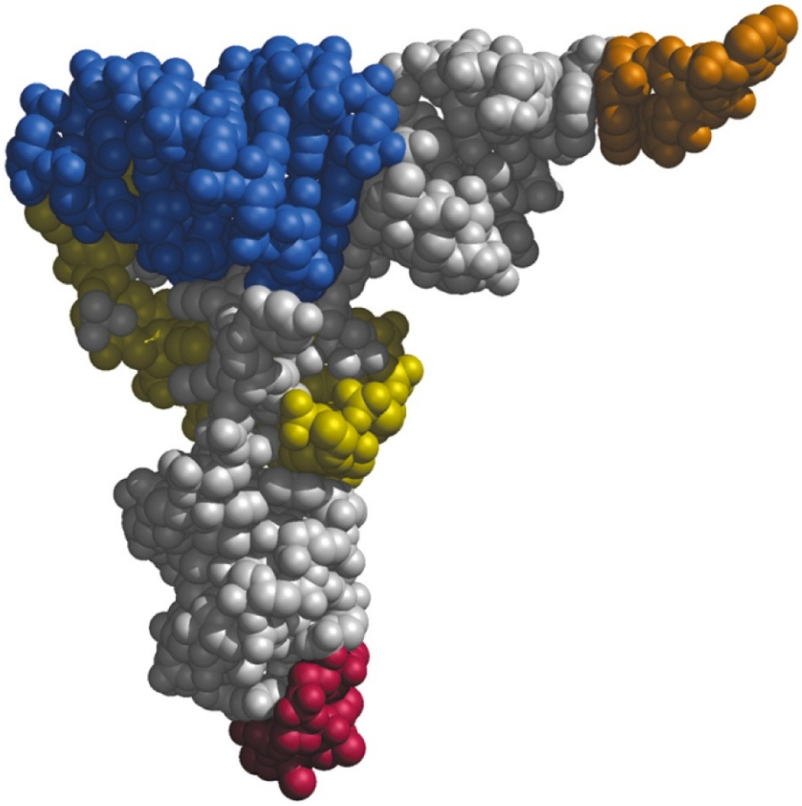

Ribothymidine (T)


Pseudouridine (ψ)

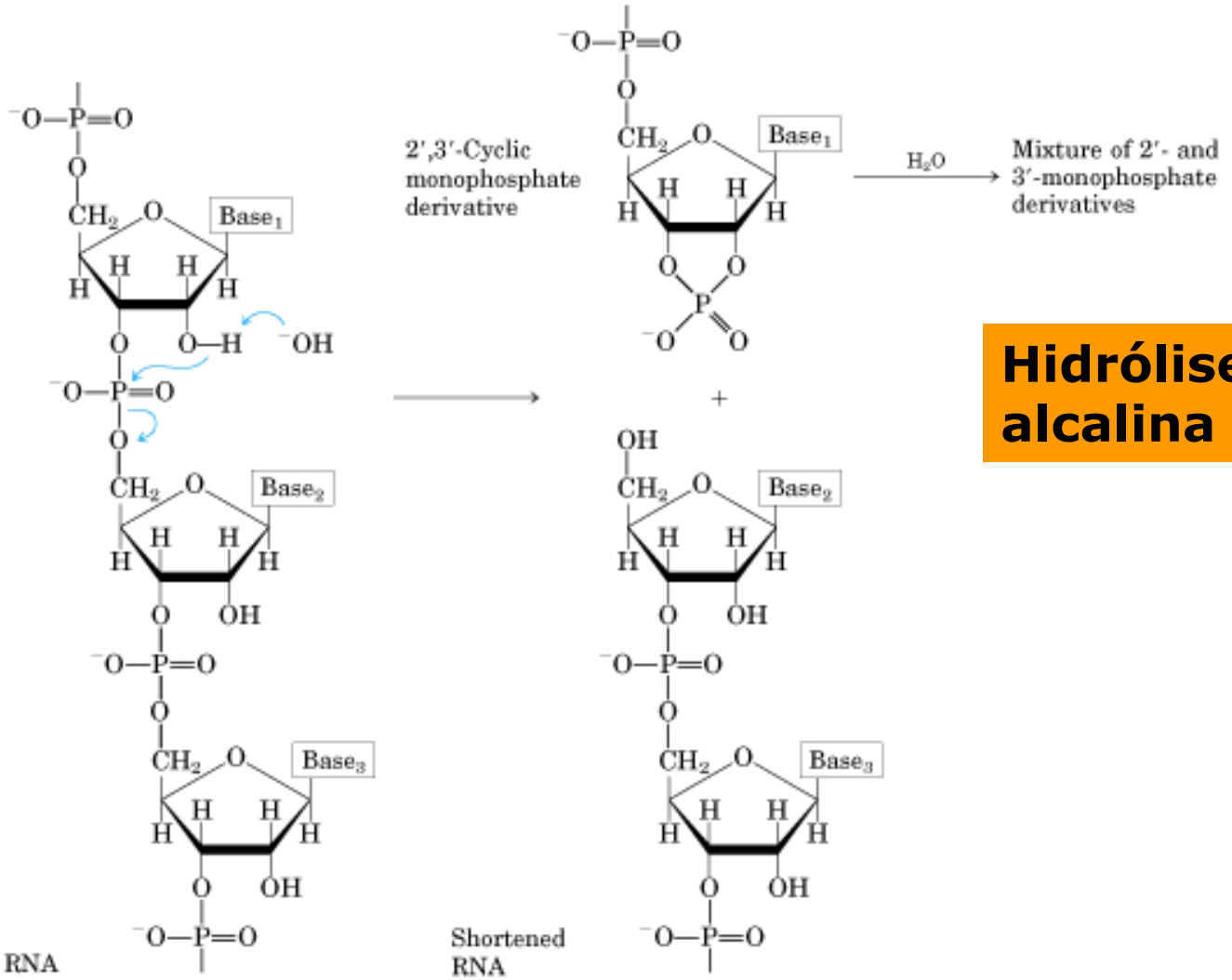

Dihydrouridine (D)

Estrutura terciária do RNA transportador





Polímeros de RNA são moléculas quimicamente instáveis



Hidrólise alcalina do RNA

Plasticidade e complexidade estrutural do RNA permitiu o surgimento de **RNAs catalíticos**

•Também chamados **ribozimas**

• Moléculas de RNA que assumem estruturas terciárias definidas

•Capazes de catalisar reações químicas

• Sítio ativo constituído exclusivamente de RNA

• Exemplos de ribosimas:

- **23S rRNA peptidil transferase** (**síntese da ligação peptídica nos ribosomos**
- **RNase P** (**clivagem da extremidade 5' de RNAs transportadores** durante a biogênese
- **Introns do grupo I e II** (**auto-excisão por clivagem** de regiões não-codificadoras (introns) em RNA mensageiros eucarióticos

Estrutura quaternária de RNAs

Ribosomos: complexos ribucleoproteicos formados por RNAs ribosomais e mais de 50 proteínas