

Nucleotídeos e Ácidos Nucleicos: Estrutura e Propriedades

Prof. Dr. Henning Ulrich

1-Aspectos Gerais

Tipos

Ácido Ribonucléico – RNA

100 a milhares de nucleotídeos

Ácido Desoxirribonucléico – DNA

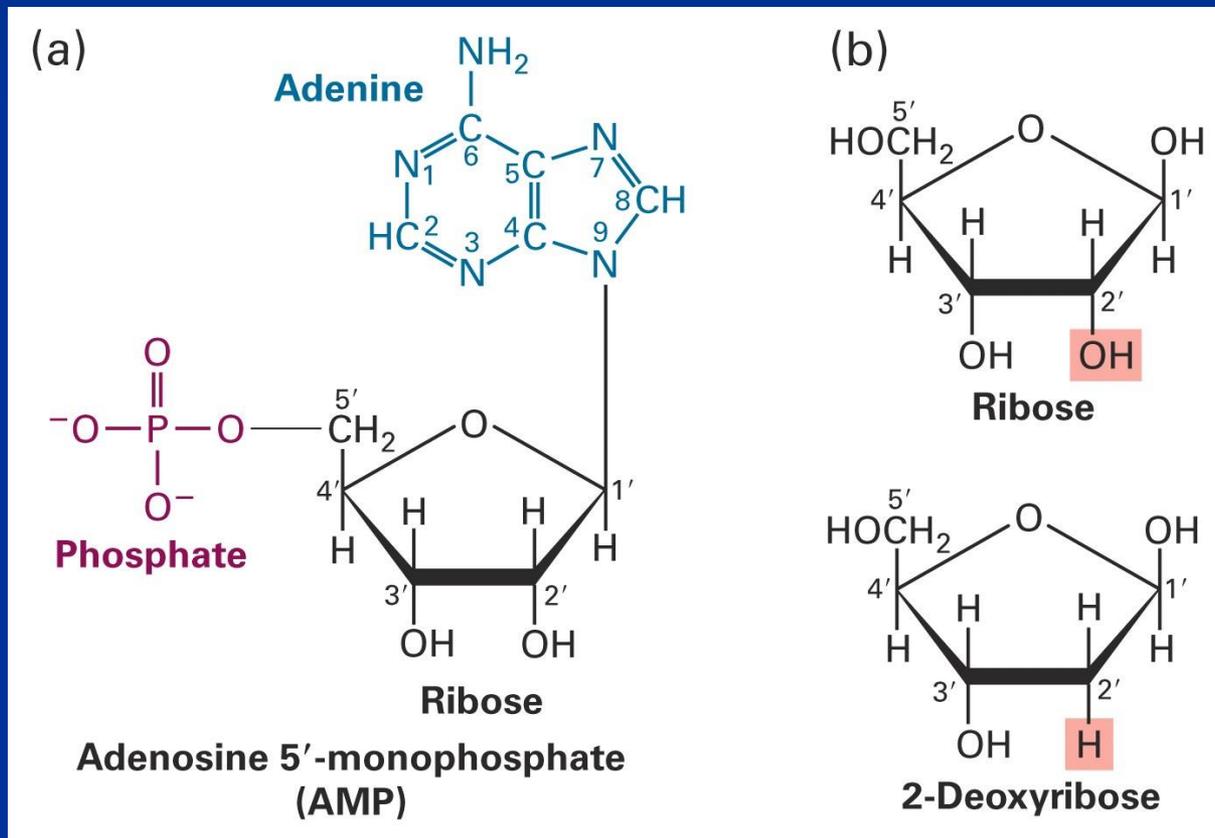
até 100 milhões de nucleotídeos

Relacionados com a informação genética de todos os organismos vivos

2-Composição dos Ácidos Nucléicos

Composição geral dos nucleotídeos (monômeros)

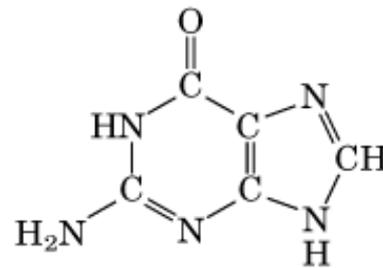
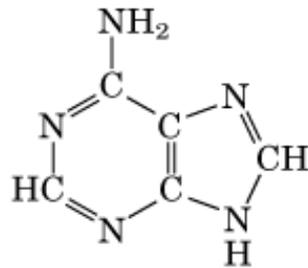
Grupamento fosfato - Açúcar - Base nitrogenada
(purinas e pirimidinas)



Composição dos Ácidos Nucléicos

Bases Nitrogenadas

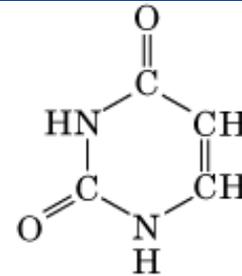
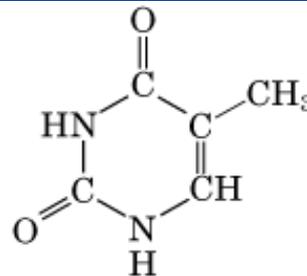
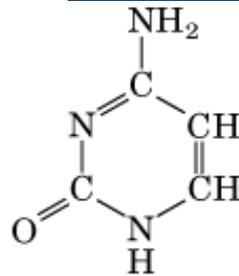
Purinas



Adenina

Guanina

Pirimidinas

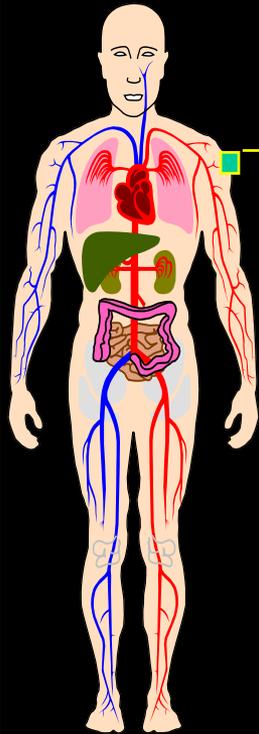


Citosina

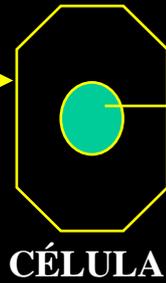
Timina
(DNA)

Uracila
(RNA)

NOS SERES HUMANOS



ORGANISMO



CÉLULA

NÚCLEO



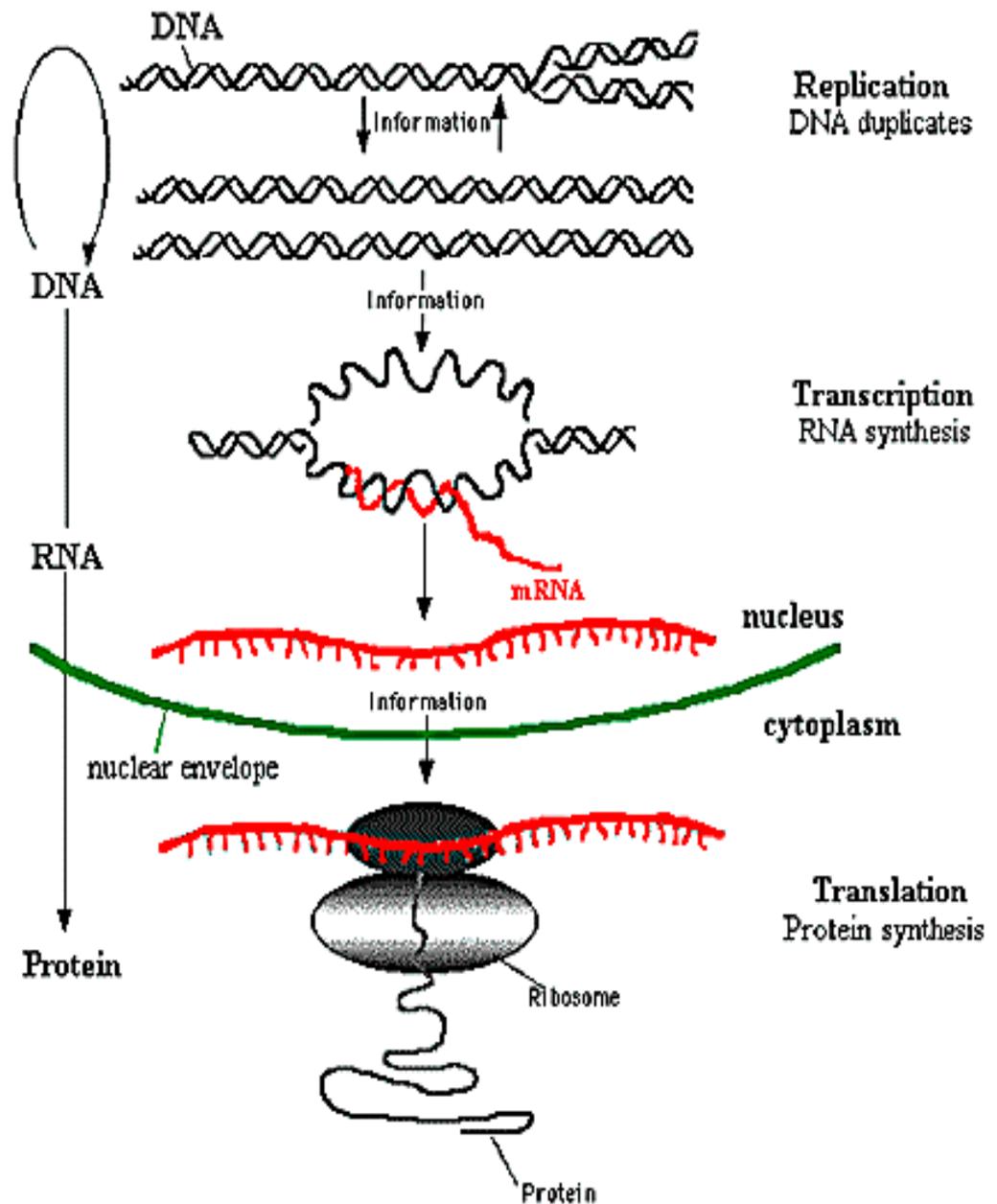
CROMOSSOMOS
(DNA+PROTEÍNAS)

DNA

- Informação das proteínas e RNAs que serão sintetizadas pelas células do organismo ao longo da sua vida.
- Capacidade de se auto-duplicar para originar outras células.



Dogma Central da Biologia Molecular

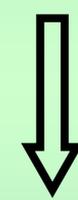
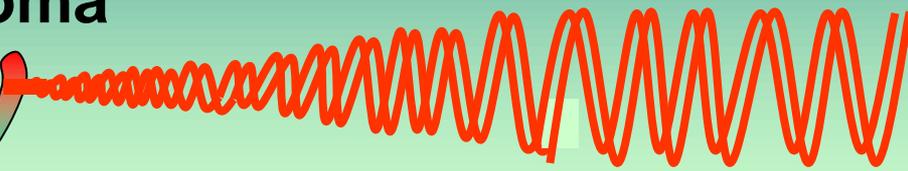


The Central Dogma of Molecular Biology

Núcleo

DNA

Cromossoma



Gene



Promotor

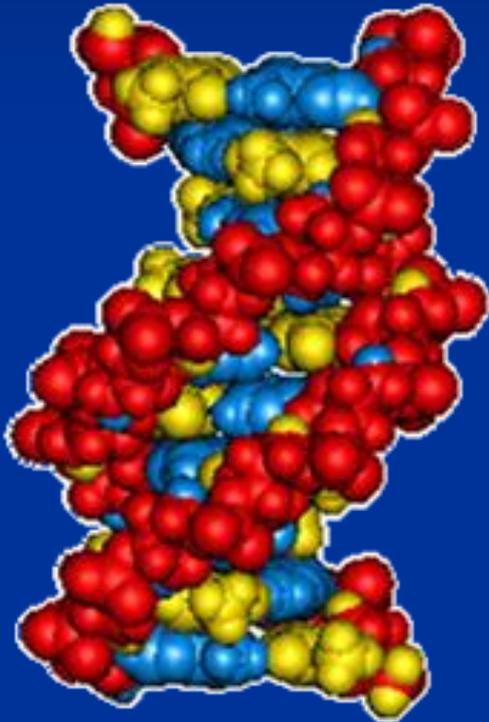


Exon



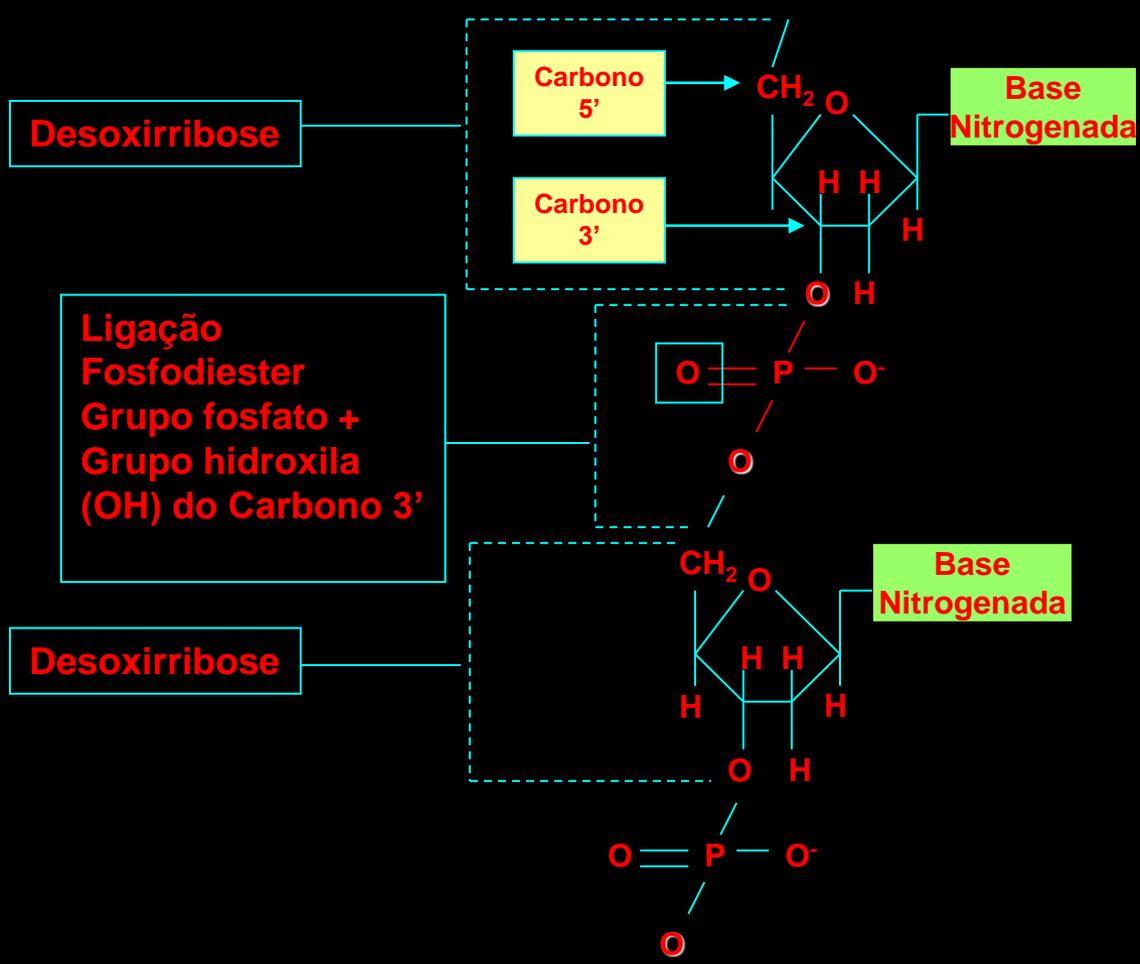
Intron

Estrutura:



- Dupla hélice
- Contém o código genético
- $\approx 20 \text{ \AA}$ de diâmetro
- O genoma humano $\approx 25,000$ genes

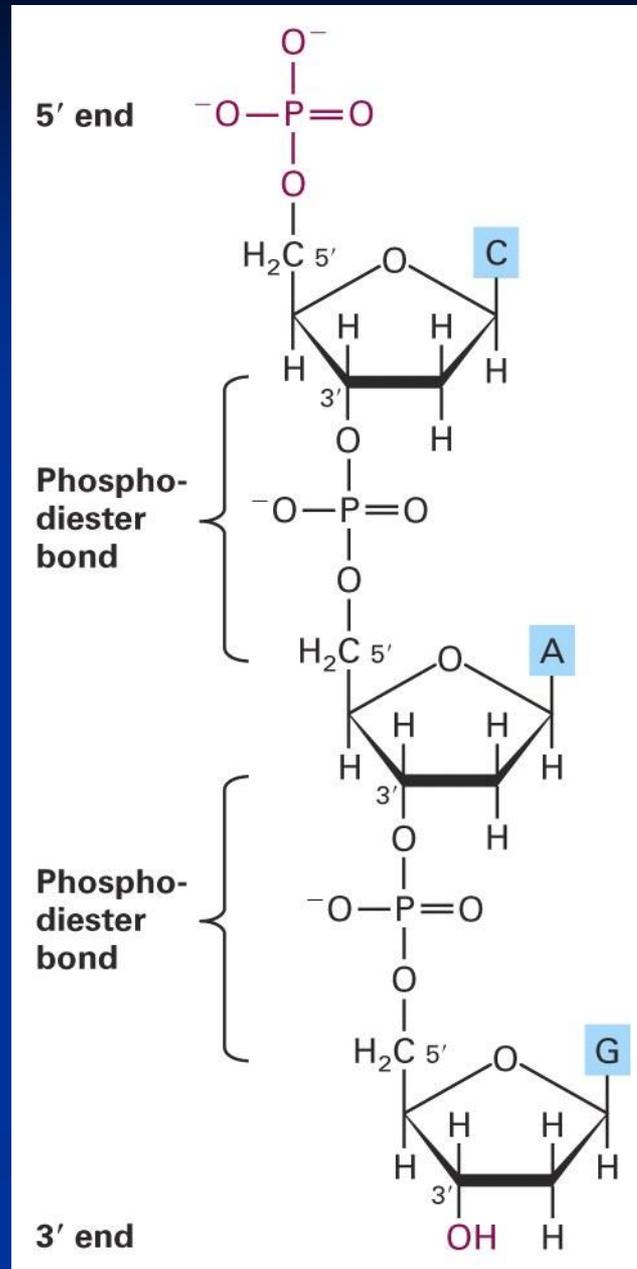
ESTRUTURA QUÍMICA DA MOLÉCULA DO DNA



Como a ligação entre uma desoxirribose e outra desoxirribose só pode ser feita quando um grupo fosfato liga-se no Carbono 5' do primeiro açúcar e no Carbono 3' do segundo açúcar dizemos que a molécula de DNA “cresce em direção 5' → 3'”

Estrutura dos Ácidos Nucléicos

Estrutura primária



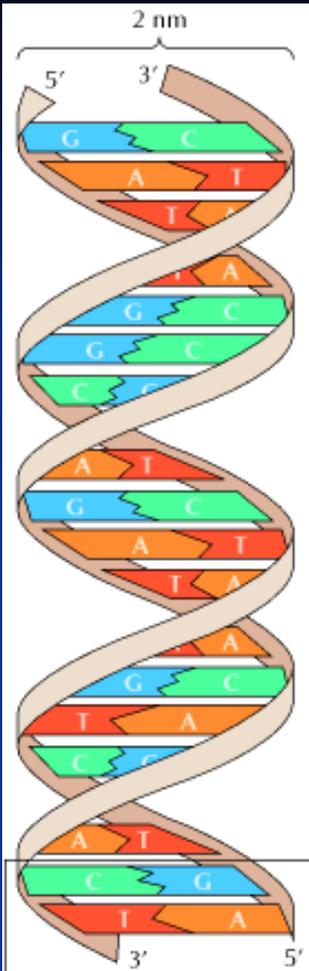
DNA como uma dupla hélice:

- Difração com Raio-X indica uma estrutura repetitiva para o DNA:

Maurice Wilkins and Rosalind Franklin

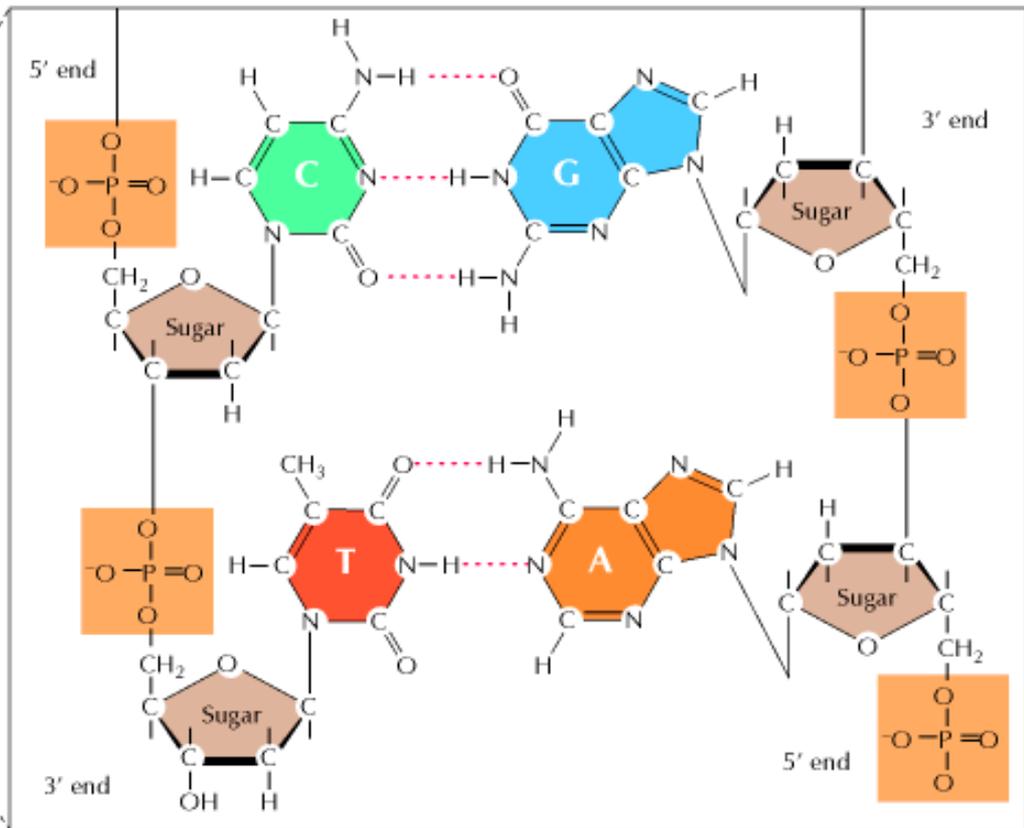
- O DNA é uma dupla fita em uma dupla hélice:

James Watson and Francis Crick



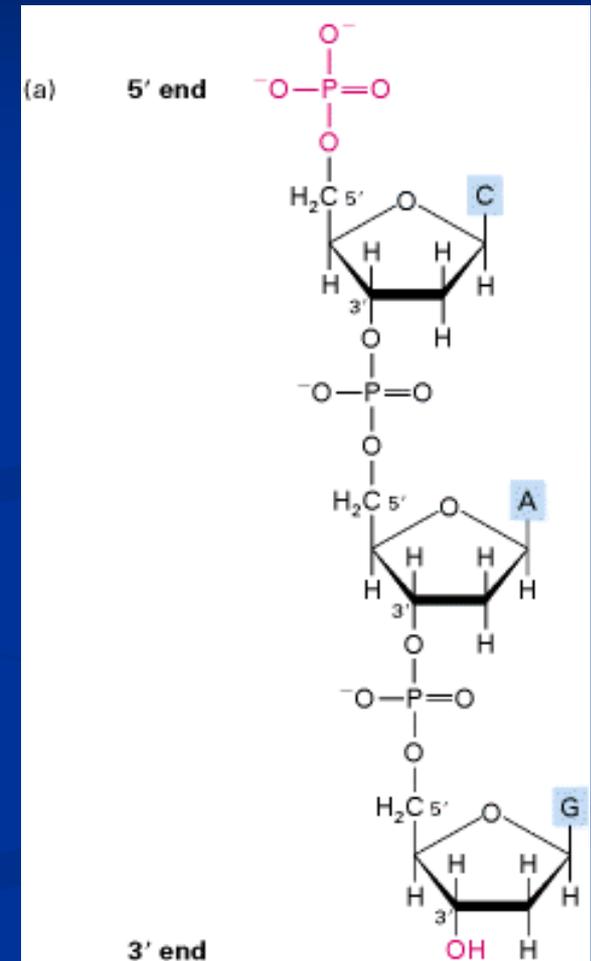
DNA is a double helix with the bases on the inside and the sugar-phosphate backbones on the outside of the molecule.

Bases on opposite strands are paired by hydrogen bonds between adenine (A) and thymine (T), and between guanine (G) and cytosine (C). The two DNA strands run in opposite directions, defined by the 5' and 3' groups of deoxyribose.



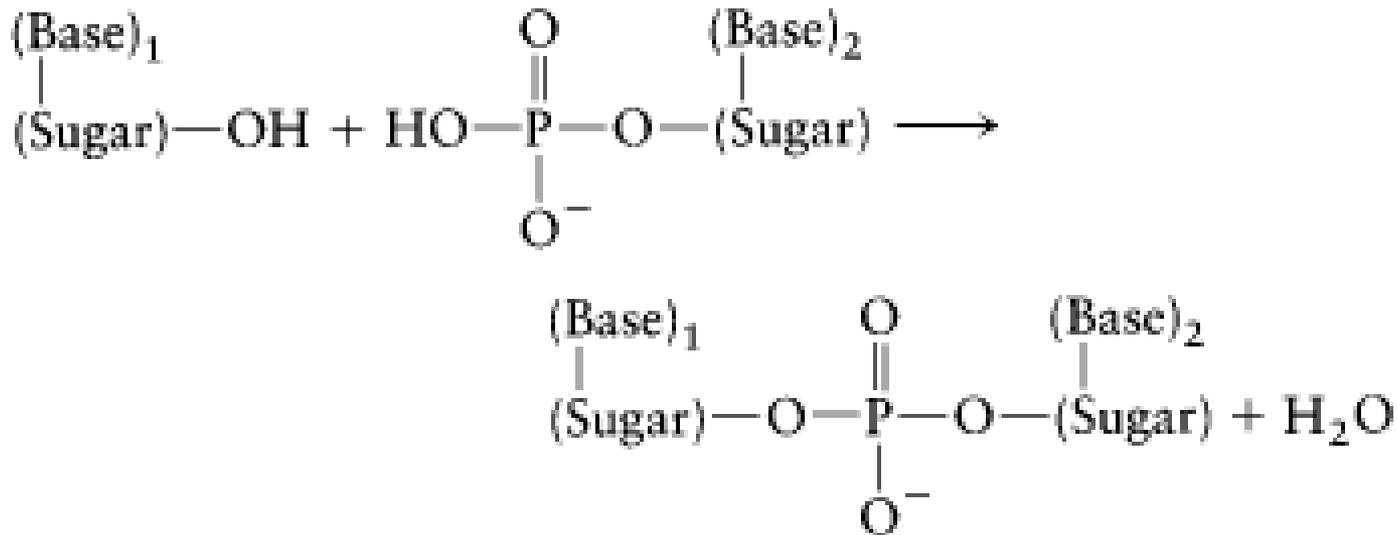
Cadeia do DNA:

- A cadeia de ácido nucleico tem uma orientação : a extremidade 5' tem um grupo hidroxil ou fosfato livre no carbono 5 do açúcar terminal; a extremidade 3' tem um grupo hidroxil livre no carbono 3 do açúcar terminal.

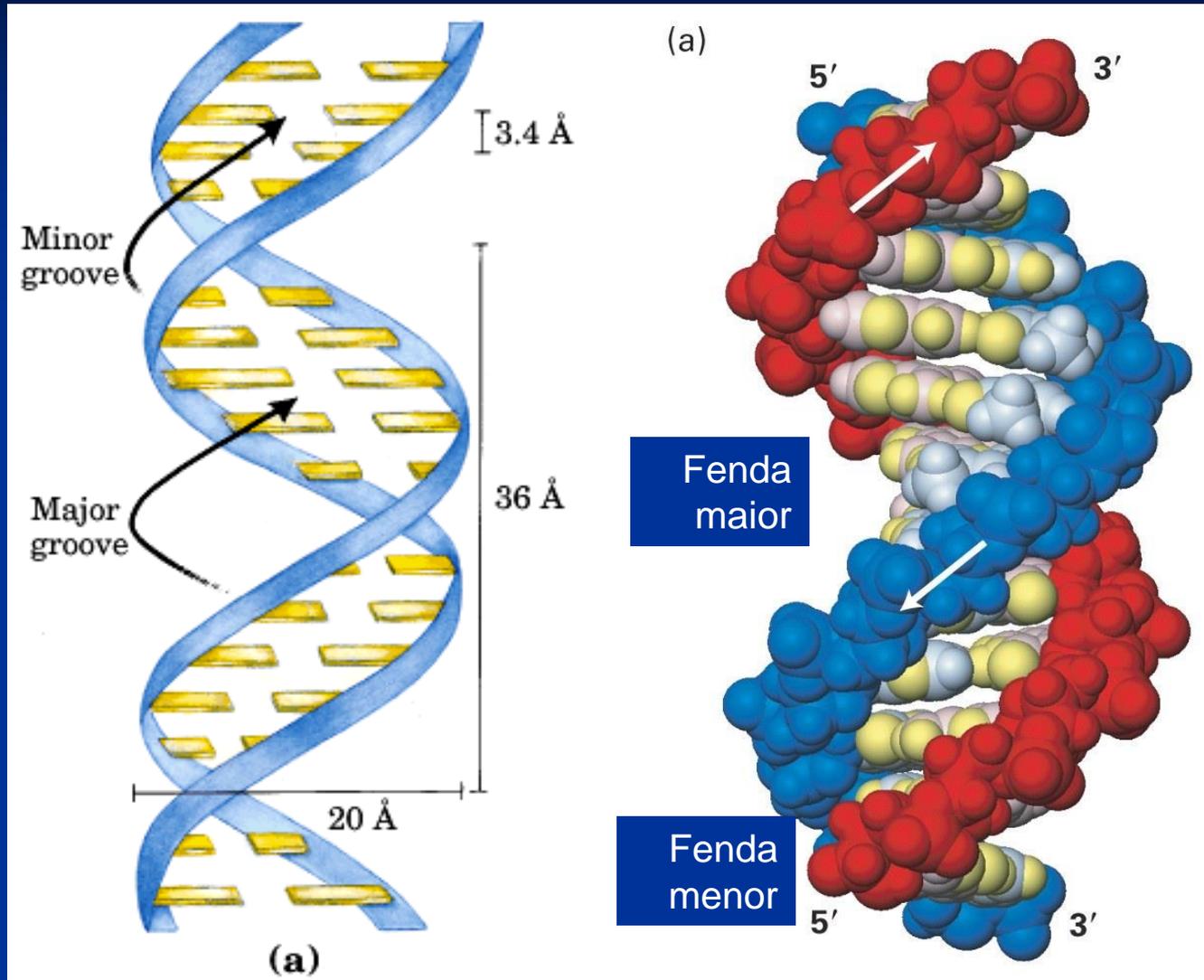


DNA como um polímero:

- Cada fita simples de DNA é uma cadeia de nucleotídeos que se ligam através de ligações fosfodiéster. Formam, então, um polímero fosfato-pentose (um poliéster).

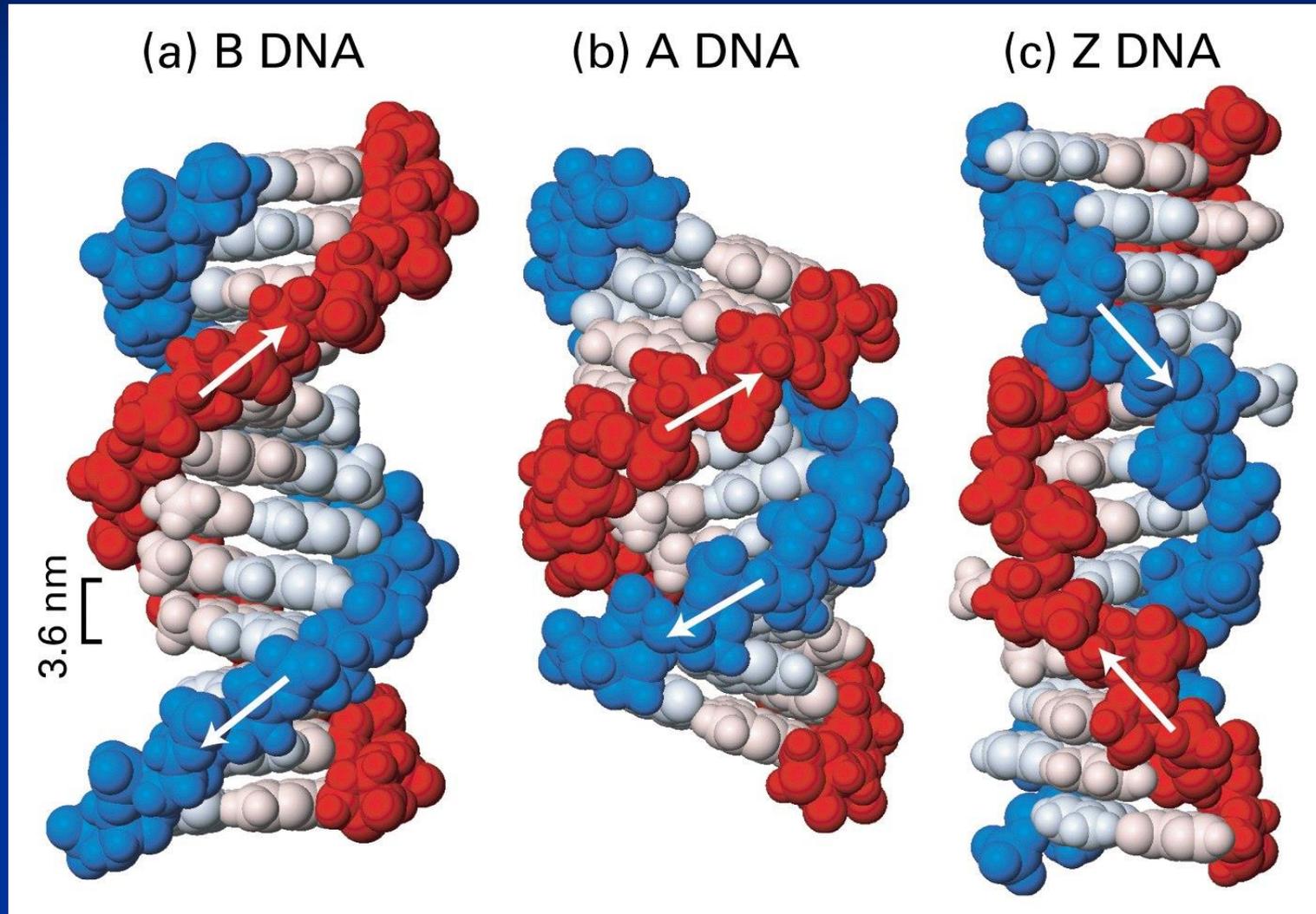


Estrutura dos Ácidos Nucléicos



Estrutura dos Ácidos Nucléicos

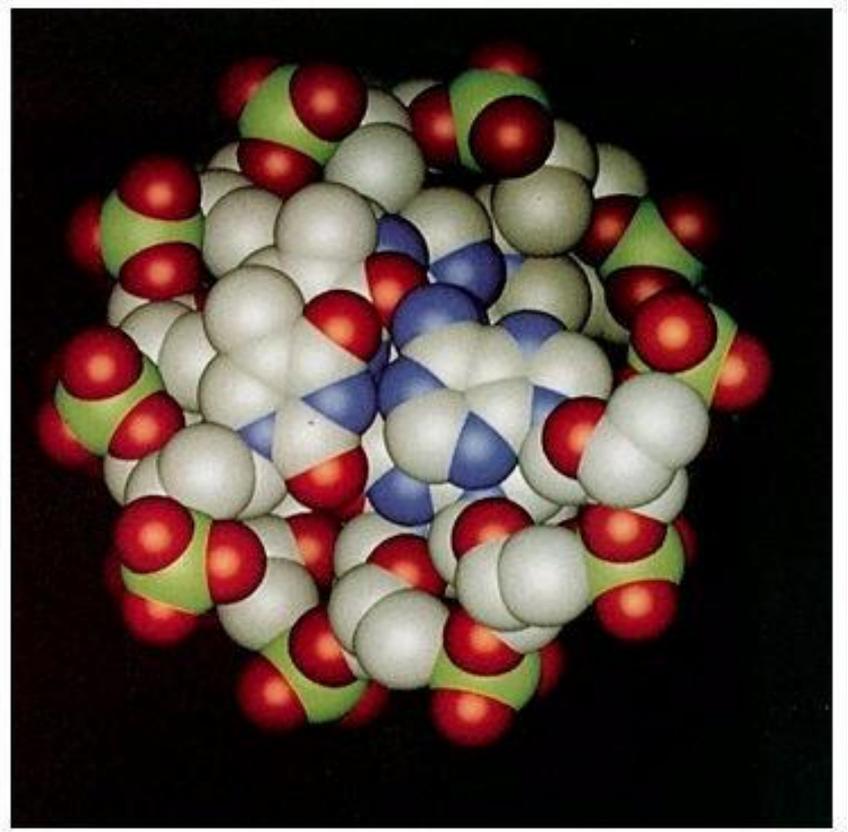
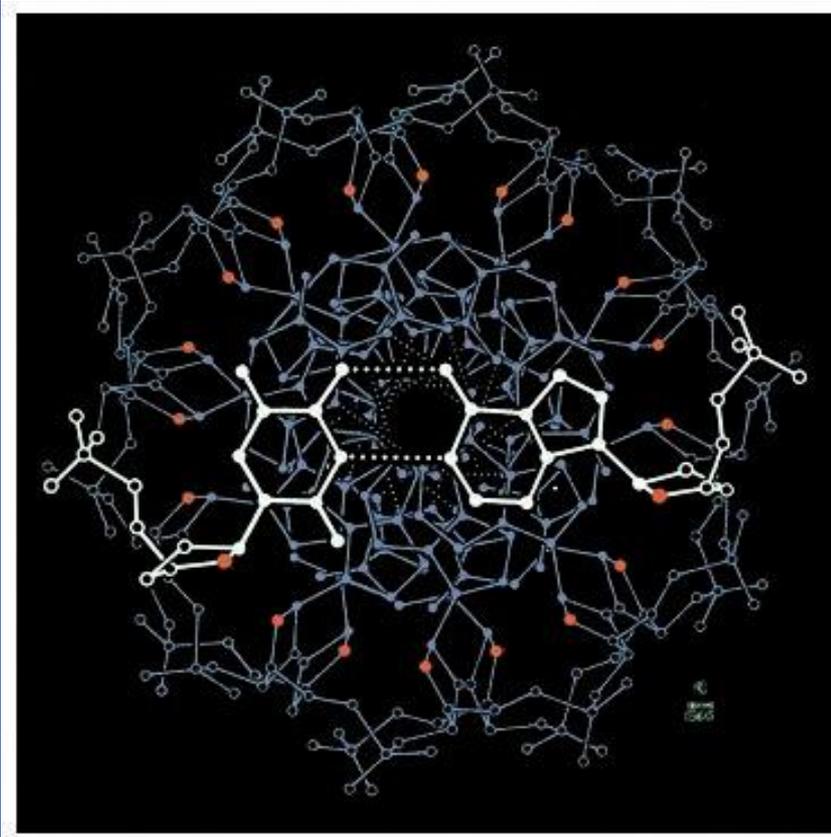
Conformações do DNA



B DNA:

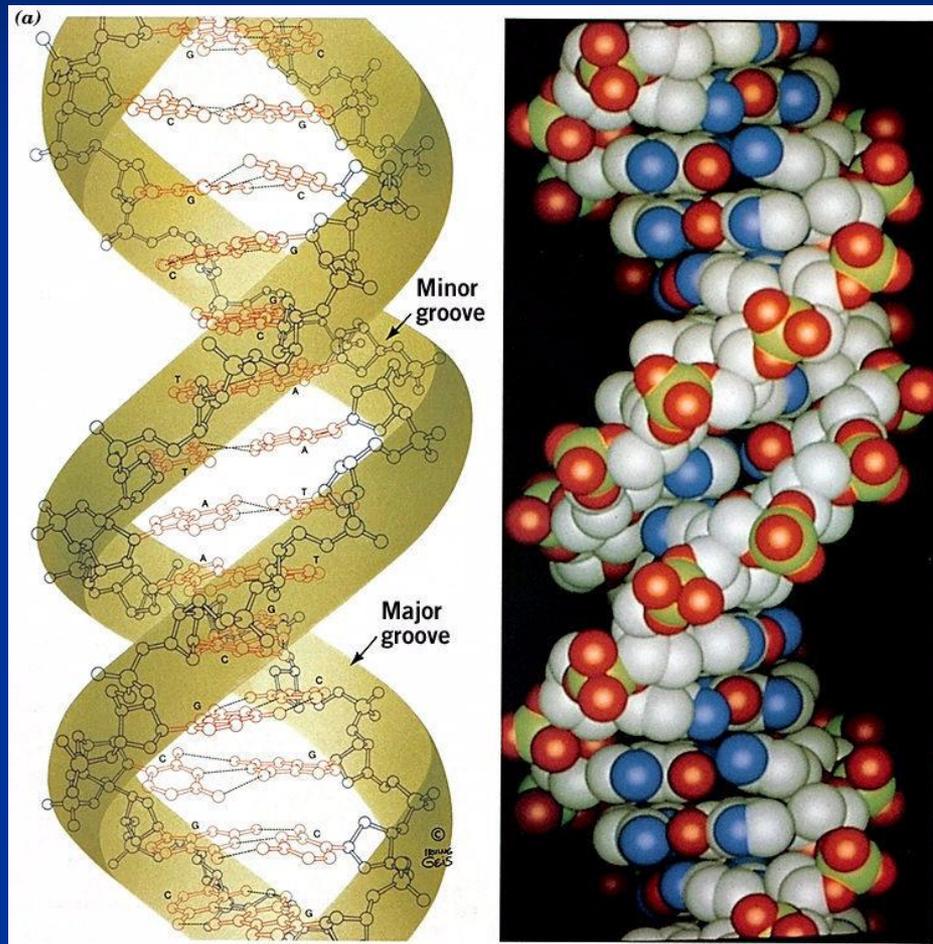
- A geometria mais provável de ser formada pelo esqueleto açúcar-fosfato. É o DNA natural, tem a hélice orientada para direita. O padrão de difração por raio X do DNA indica que as bases empilhadas são regularmente espaçadas 0.34 nm ao longo do eixo da hélice. A hélice faz uma volta completa a cada 3.4 nm; então, há 10 pares de base por volta. Essa é a forma normal presente na maioria das fitas de DNA nas células
- Do lado de fora das formas B DNA, os espaços entre as fitas entrelaçadas formam duas fendas na hélice, que possuem diferentes tamanhos descritas como fenda maior e fenda menor.

B DNA – Vista longitudinal:



B DNA- Vista Lateral:

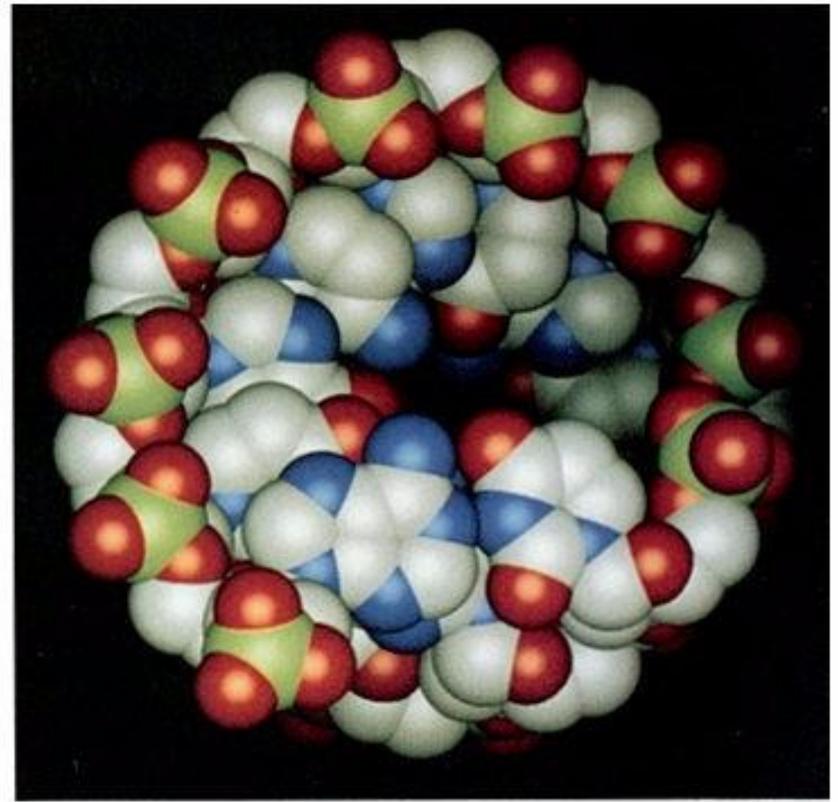
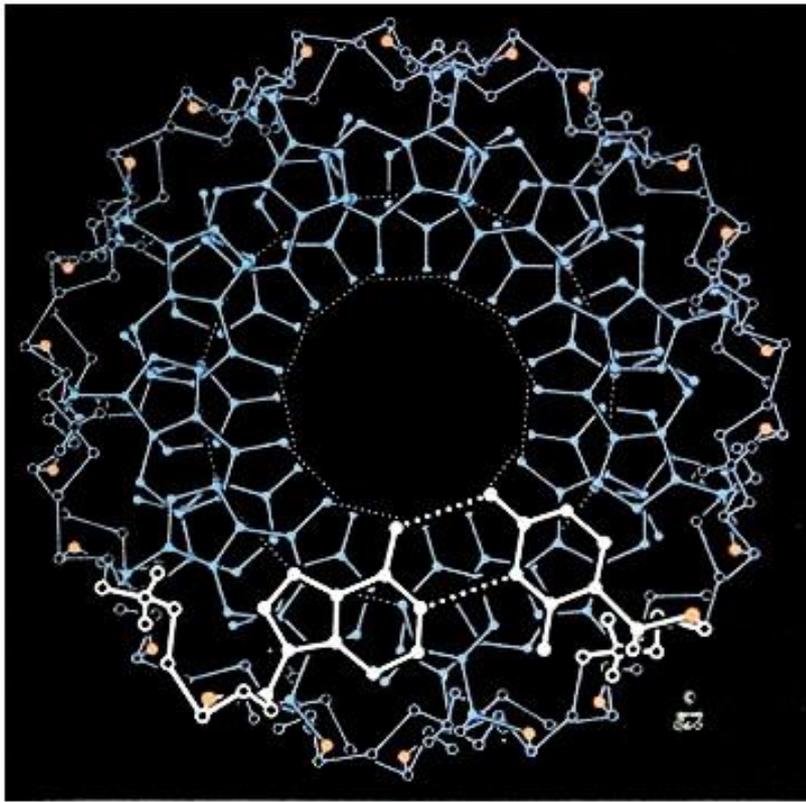

R.H. helix



A DNA:

- Em muito baixa umidade, a estrutura cristalográfica do B DNA muda para *forma A*.
- Hélices RNA-DNA e RNA-RNA também existem nessa forma. A forma A é mais compacta do que a forma B, tendo 11 pares de base por volta, e as bases empilhadas enclinadas.

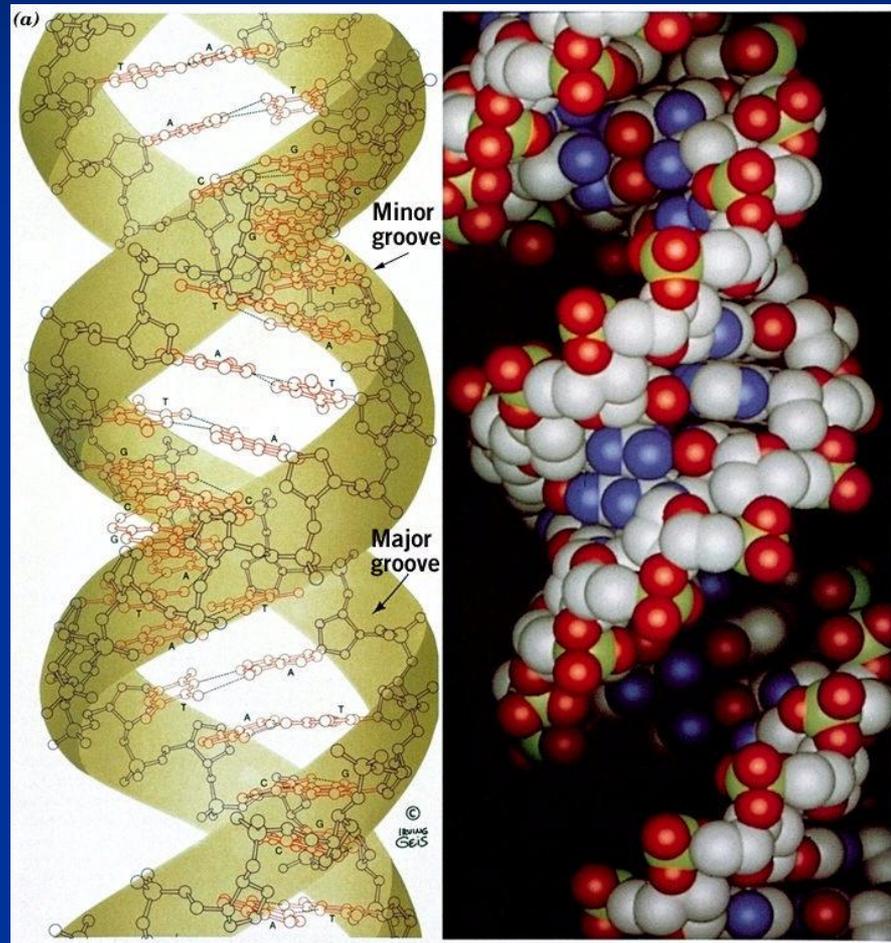
A DNA - Vista Longitudinal



A DNA – Vista Lateral:



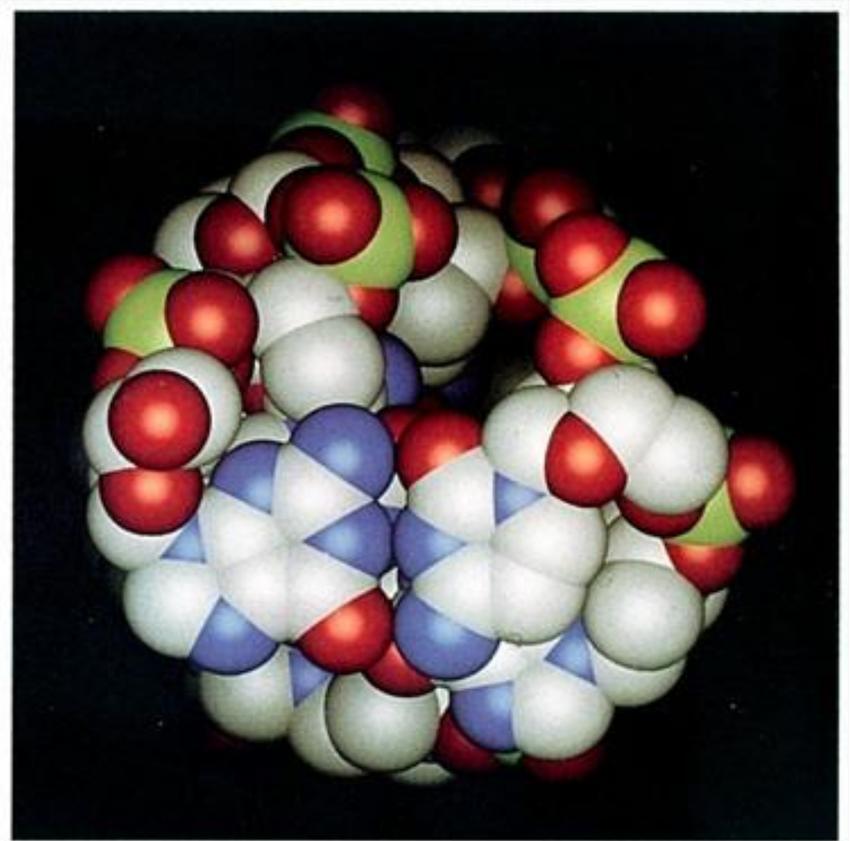
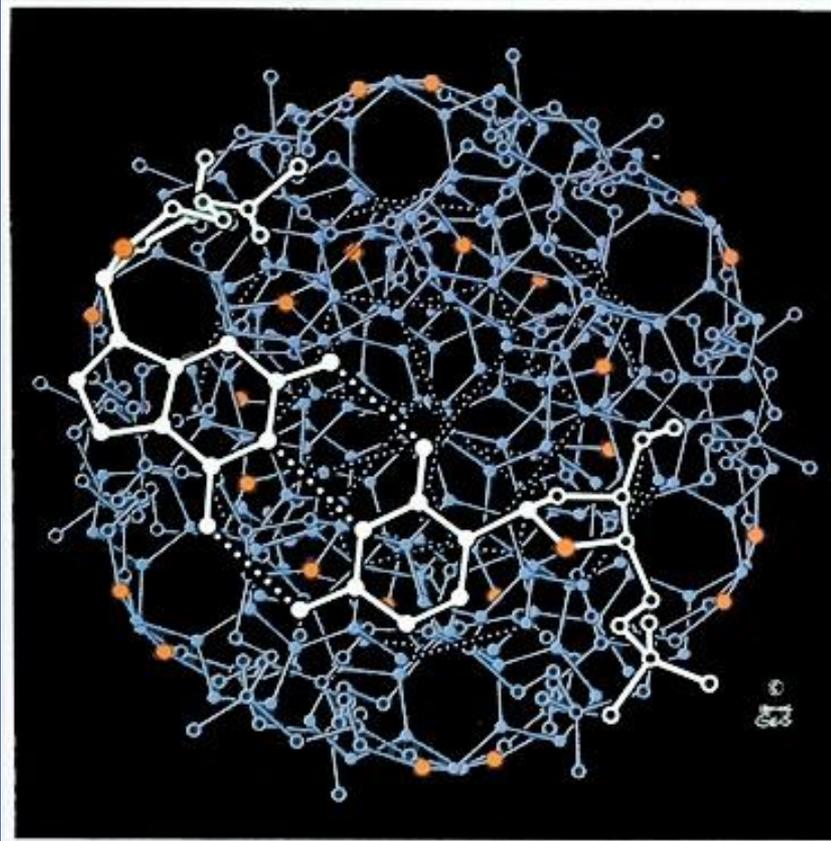
R.H. helix



Z DNA:

- Pequenas moléculas de DNA, compostas de nucleotídeos de purina e pirimidina alternados (especialmente G e C) adotando uma configuração alternativa orientada para esquerda. Essa estrutura é chamada *Z DNA* porque as bases parecem estar em zigue-zague quando vista de lado.

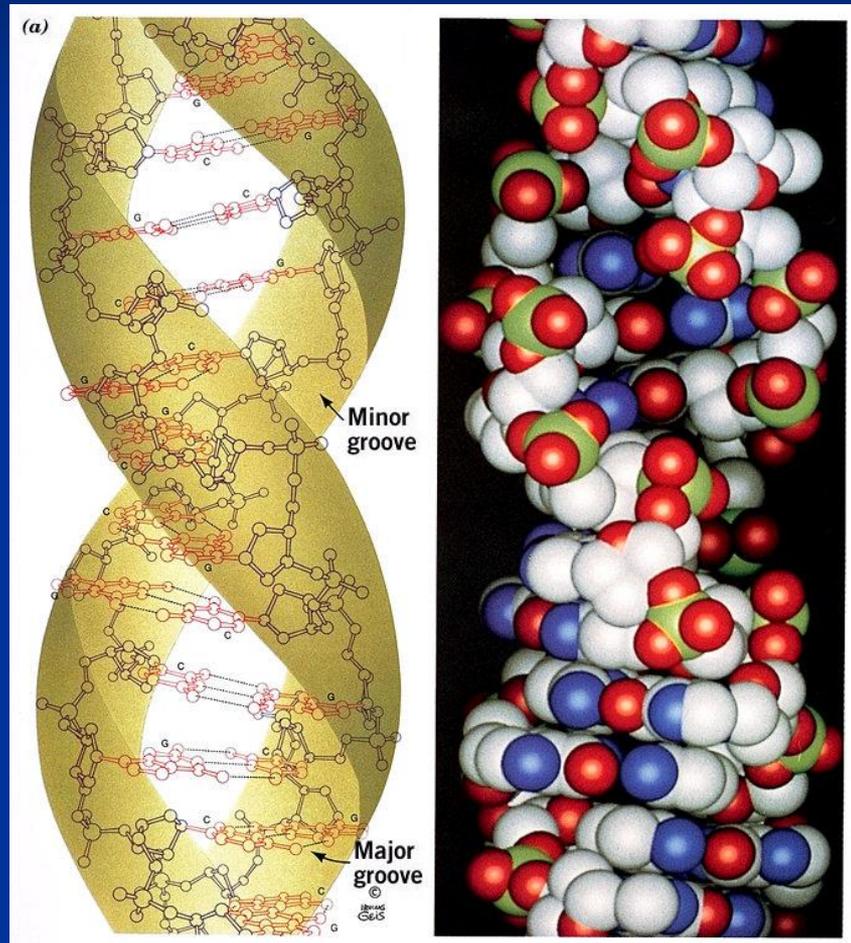
Z DNA – Vista Longitudinal:



Z DNA – Vista lateral:



L.H. helix

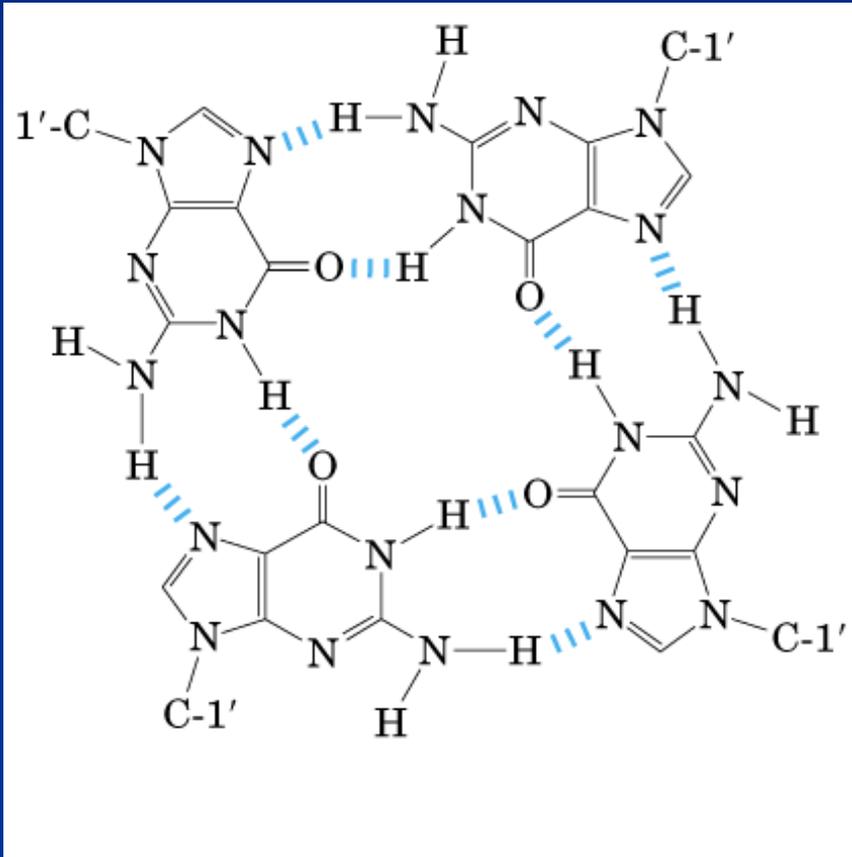


É perfeitamente possível que ambos
forma A e forma Z das fitas de DNA
existam nas células.

Hélice tripla de DNA:

- uma estrutura de tripla hélice pode existir pelo menos *in vitro*, e possivelmente durante a recombinação de DNA e reparo. Por exemplo quando polímeros sintéticos de poli (A) e polideoxi (U) são misturados, uma estrutura de hélice tripla é formada.

Pareamento de Hoogsteen → Base do DNA tetraplex

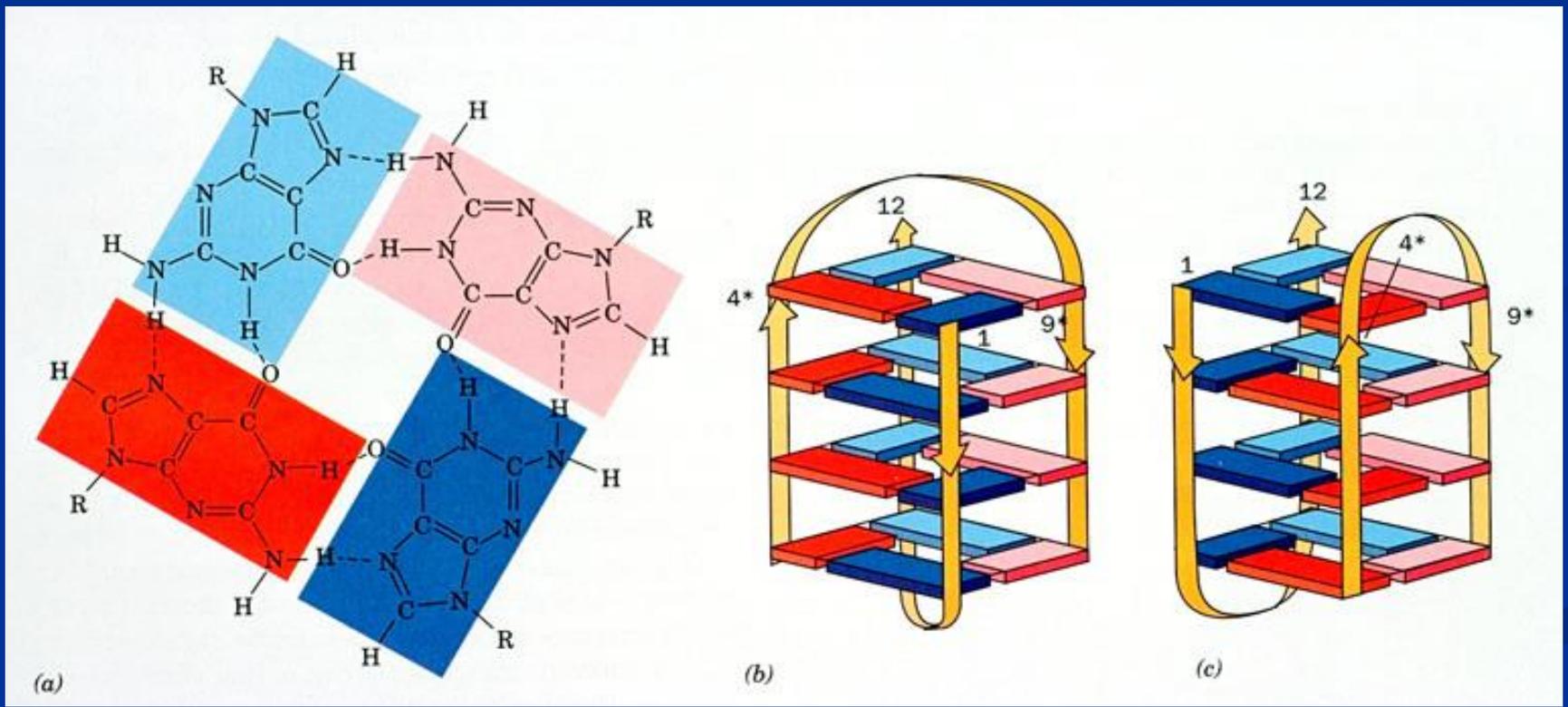


- Longas cadeias homopoliméricas de DNA composto por resíduos de citosina e timina em uma fita e resíduos adenina e guanina em outra podem ser alvo de pareamento de pequenas seqüências de poli (C+T). Oligonucleotídeos sintéticos podem inserir-se como uma terceira fita, ligando-se na seqüência de forma específica por pareamento de *Hoogsteen*. Cortes específicos do DNA no local de hélice tripla pode ser realizado ligação a agentes químicos (ex. Fe²⁺-EDTA) para que o oligodeoxinucleotídeo forme a terceira fita.

DNA Tetraplex

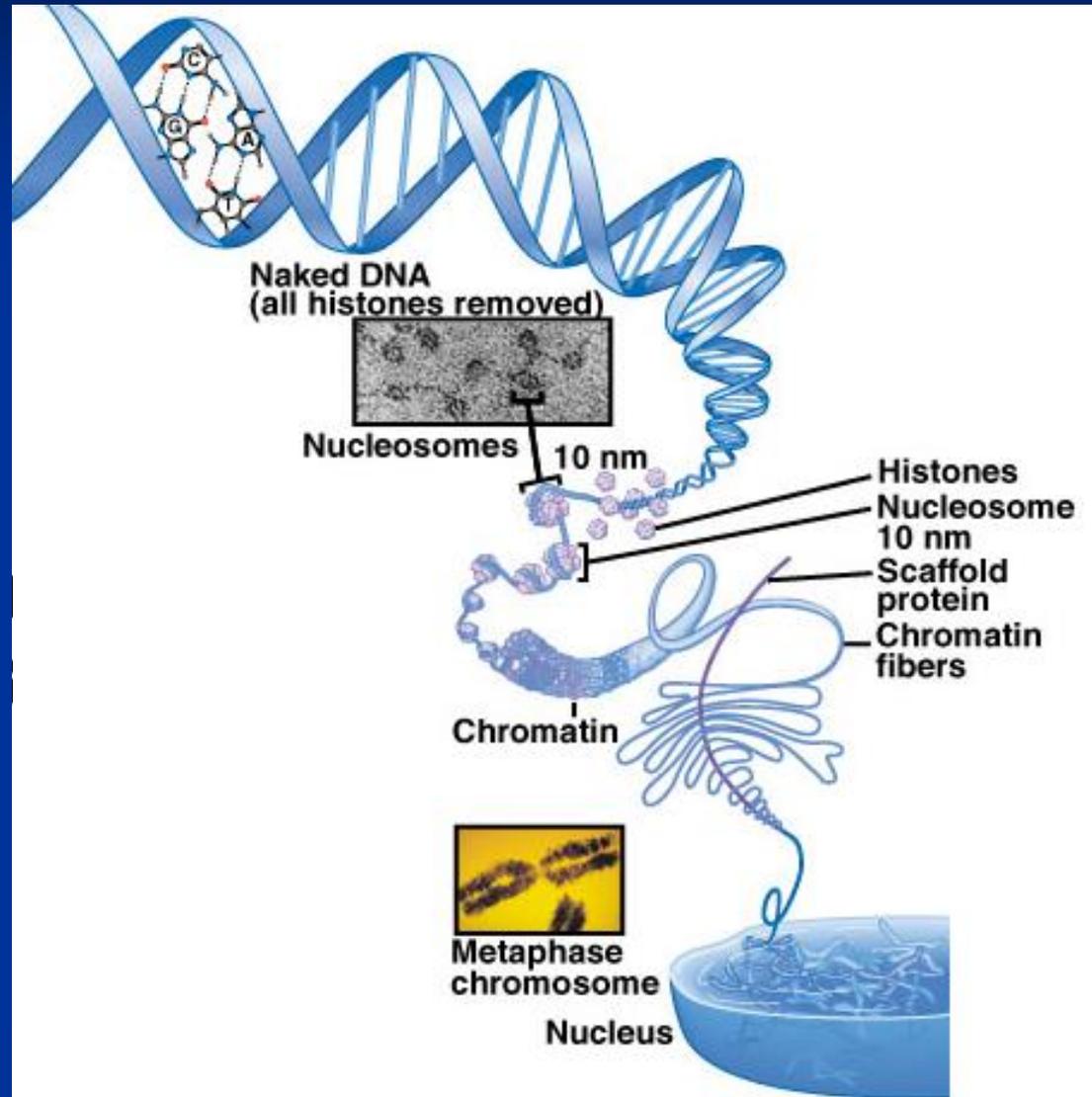
- Sequências ricas em guanina podem juntar-se para formar estruturas tetraplex em solução com concentrações fisiológicas de Na^+ e K^+ , embora sua formação não tenha sido estabelecida *in vivo*. Entretanto, apesar de não ter sido detectada *in vivo*, acredita-se que essas estruturas tenham um papel celular vital. Além disso, a conservação do DNA telomérico pode estar relacionada a formação natural do tetraplex de DNA. Essa hipótese é confirmada por estudos que encontraram muitas proteínas ligadoras de DNA telomérico, que ligam-se a DNA tetraplex ou promovem sua formação.

DNA Tetraplex



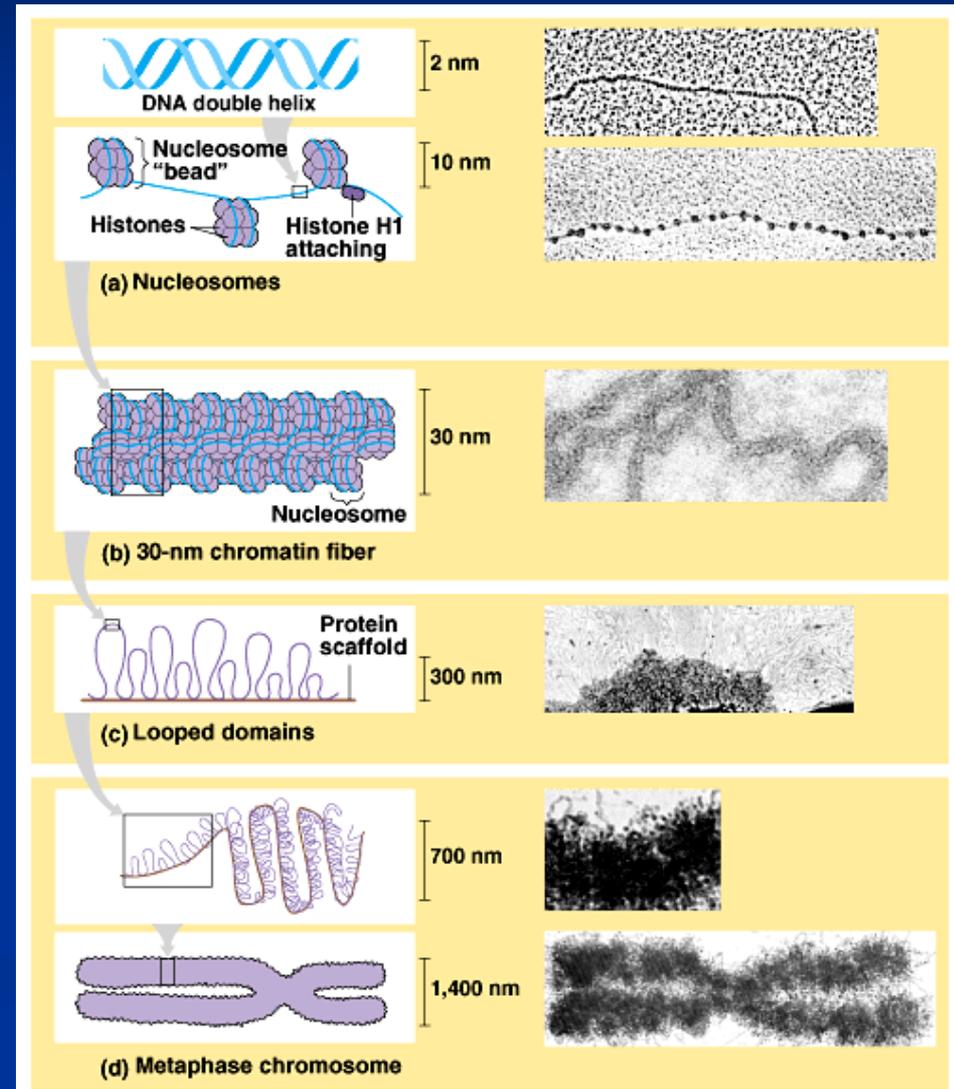
Cromatina: DNA associado com proteínas:

- O **DNA** enrola-se em torno de proteínas denominadas histonas (nucleossomos).
- Outras proteínas enrolam-se ao **DNA** mais fortemente para formar o cromossomo.
- Porções não enroladas do **DNA** são importantes para a mitose, replicação e transcrição de RNA.



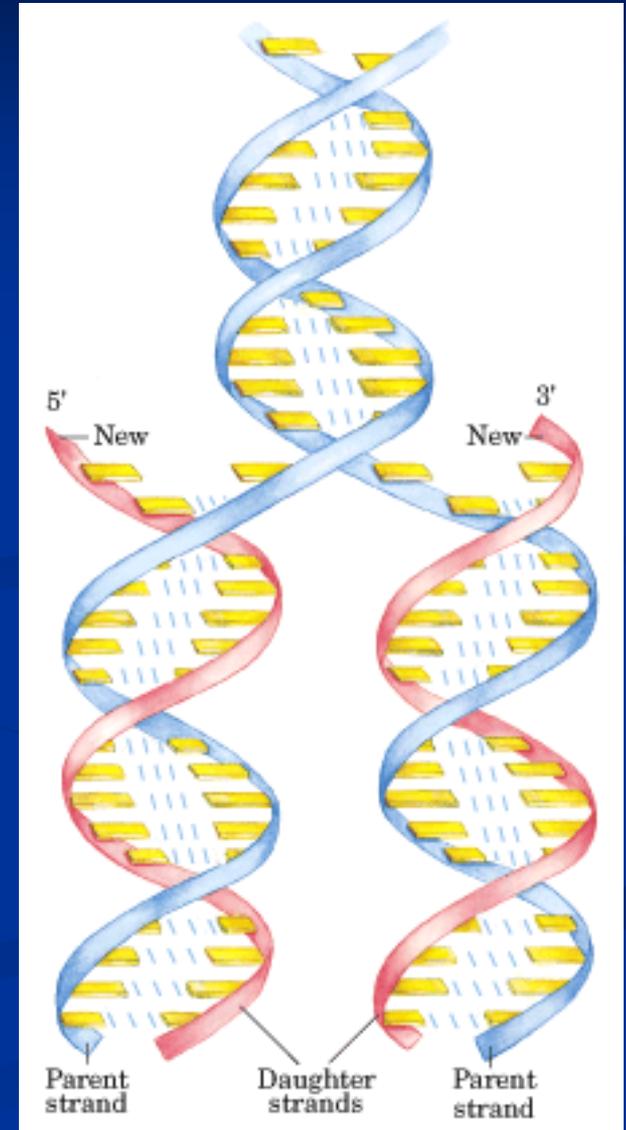
Cromatina: DNA associado com proteínas:

- No cromossomo mitótico os domínios enrolados e dobrados do cromossomo são características do cromossomo metafásico.
- Os passos de “empacotamento” são precisos e específicos com genes particulares ficando na mesma posição.

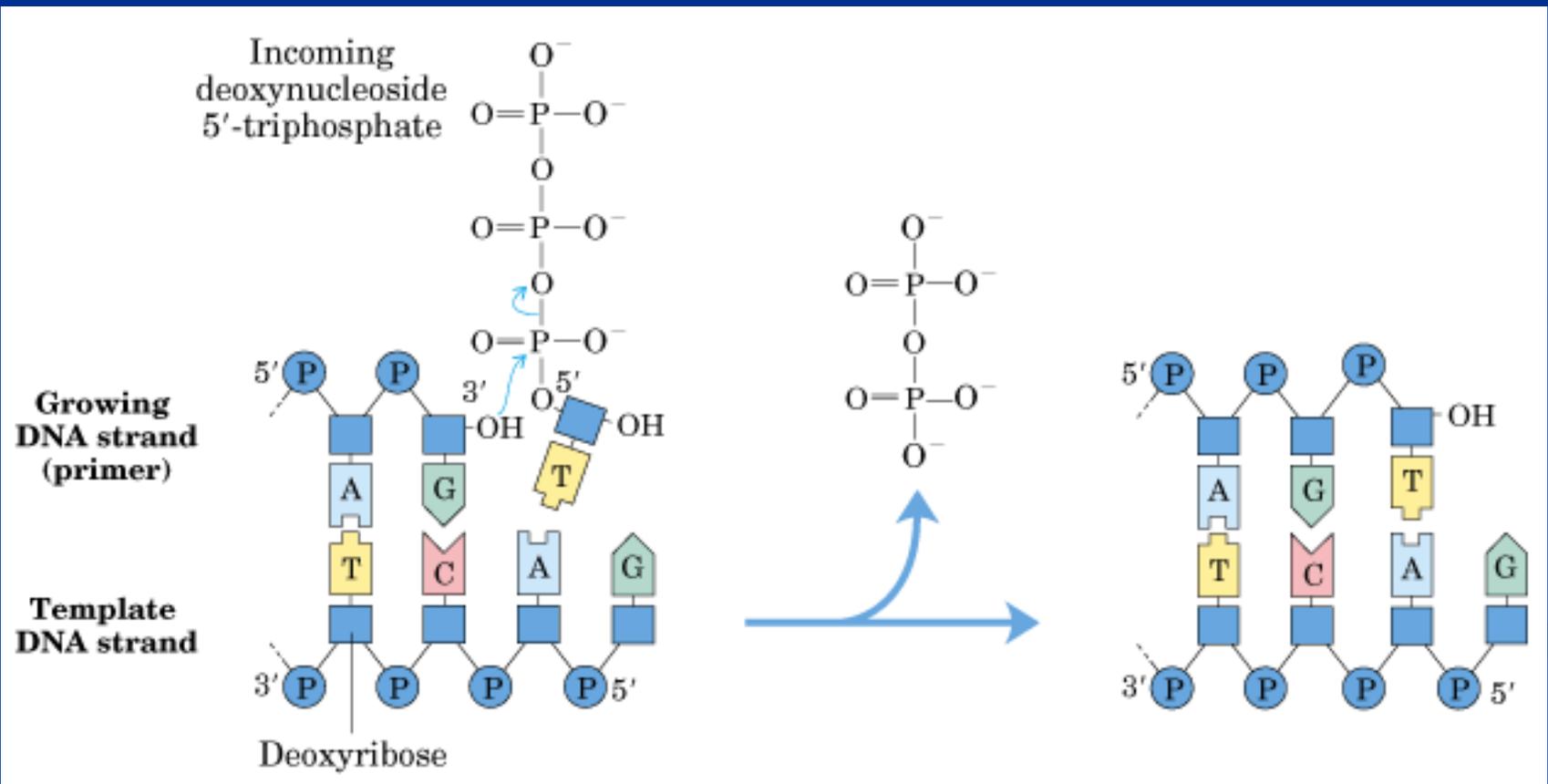


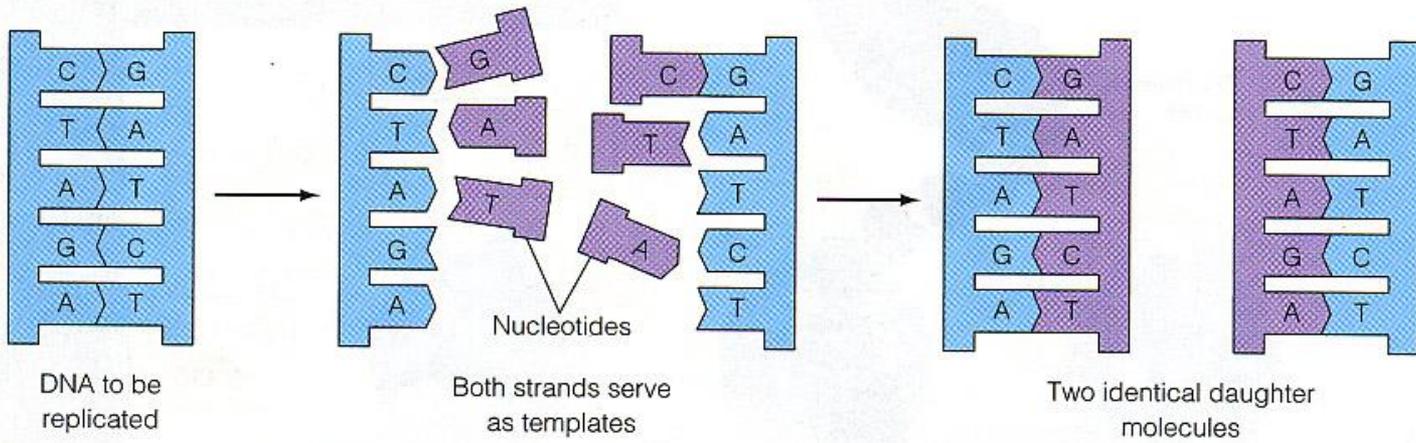
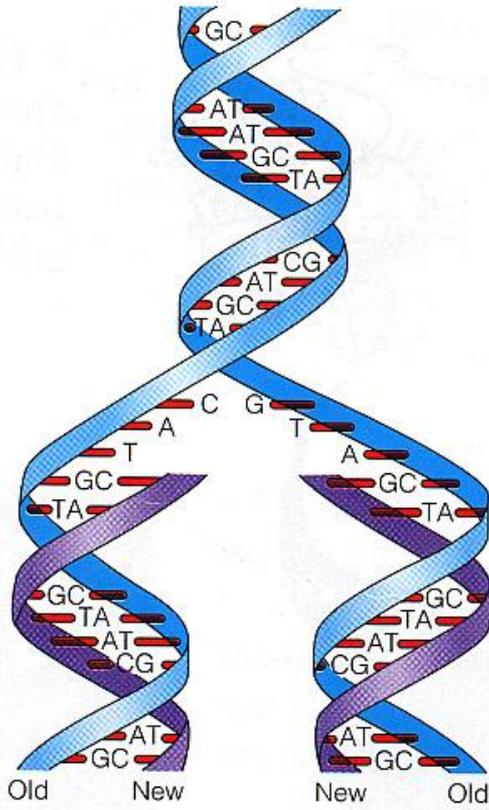
Replicação:

- Uma nova fita é formada por pareamento de bases complementares com a fita antiga.
- Duas moléculas são feitas.
- Cada uma contém uma fita nova e uma antiga.

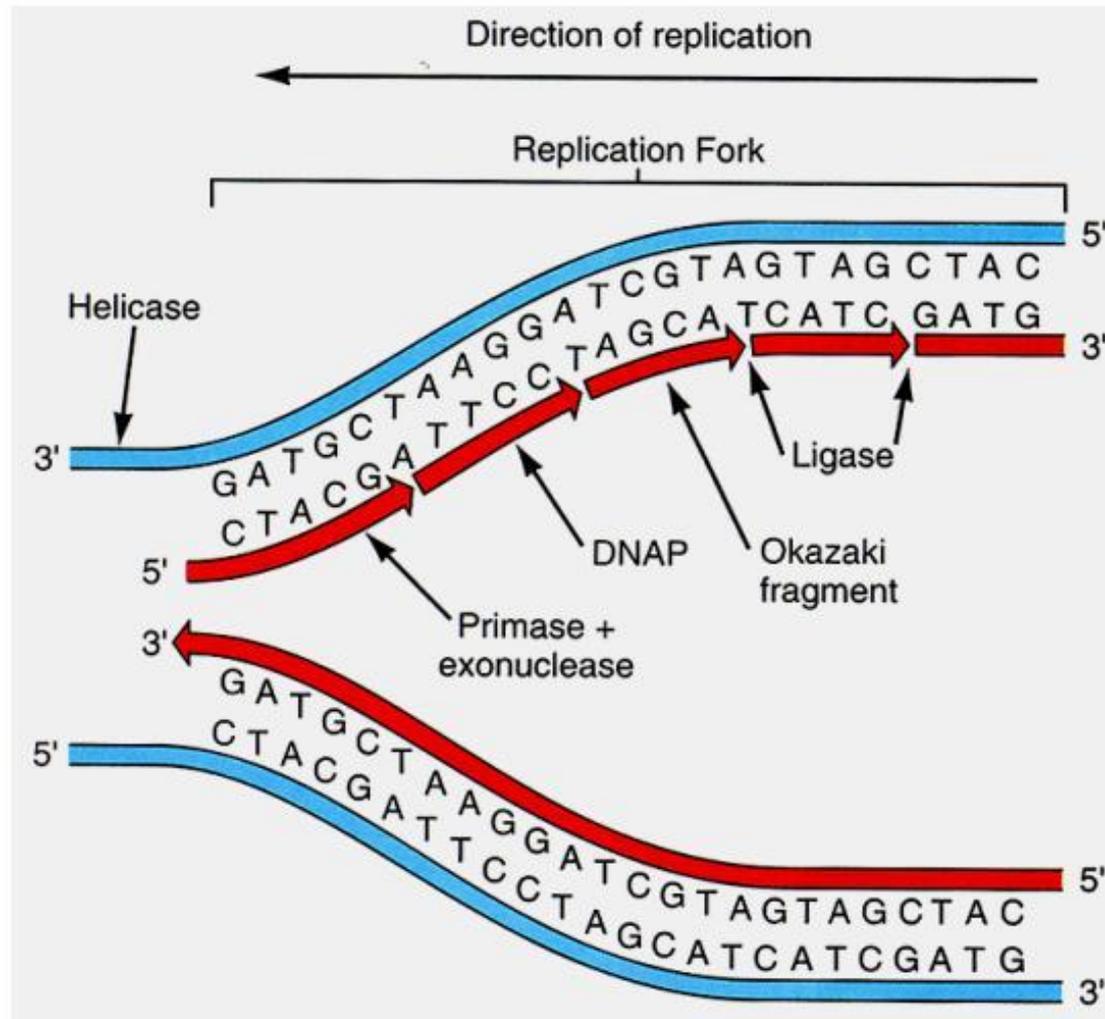


Replicação:

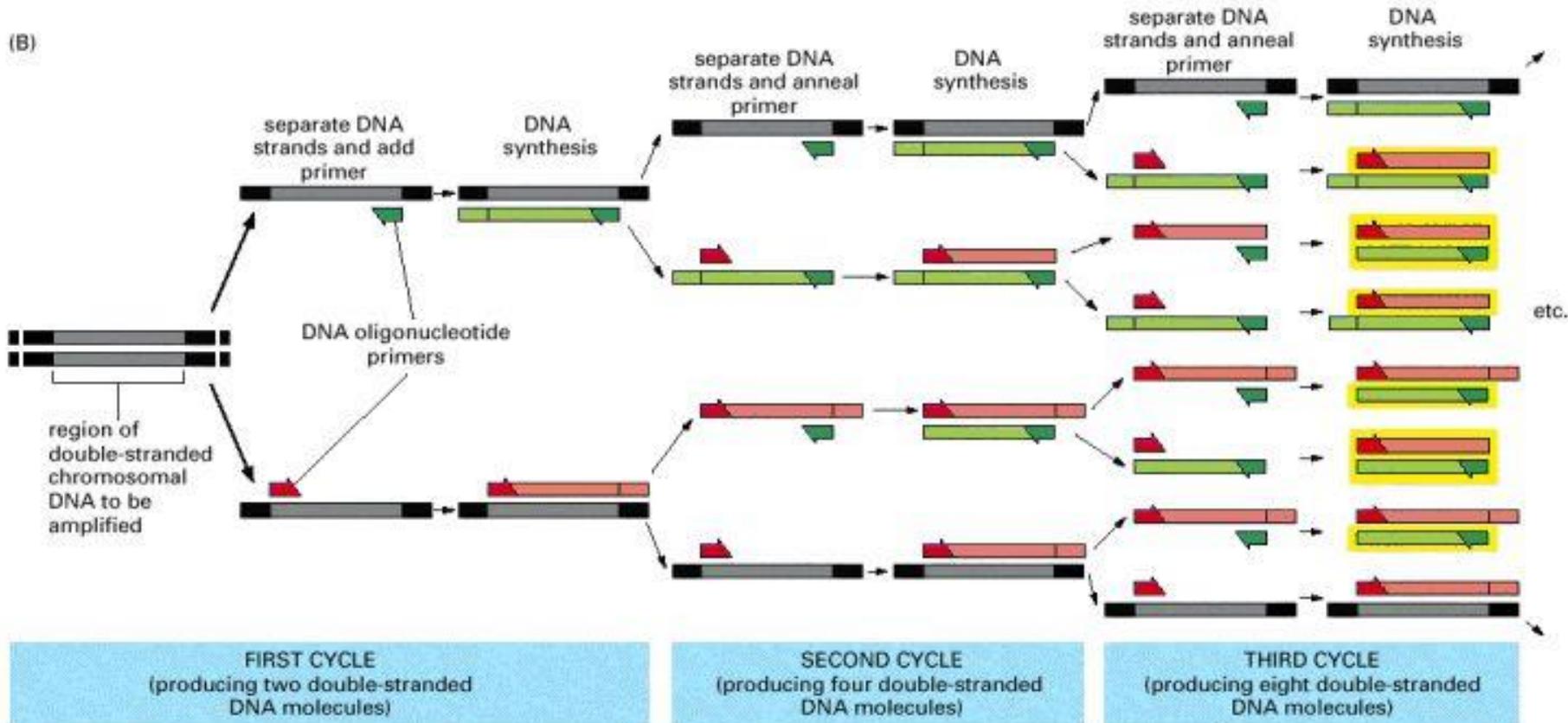
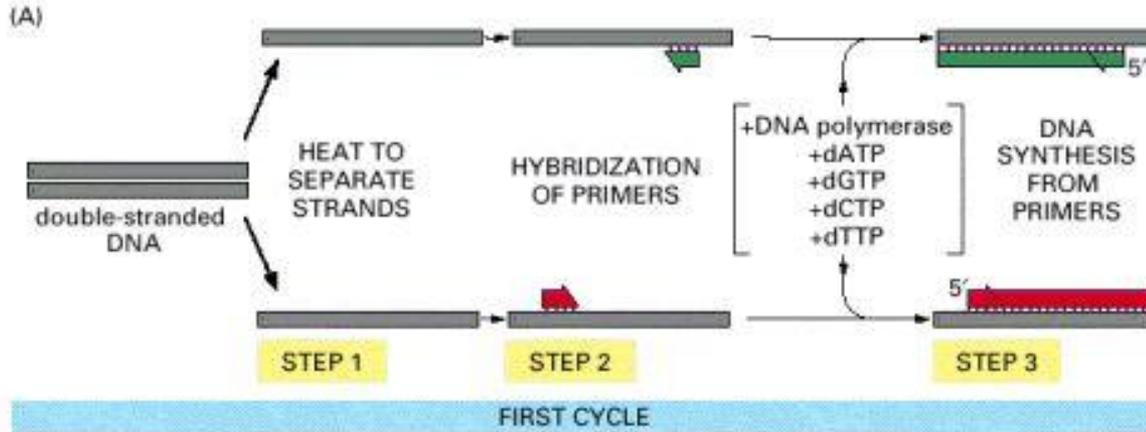




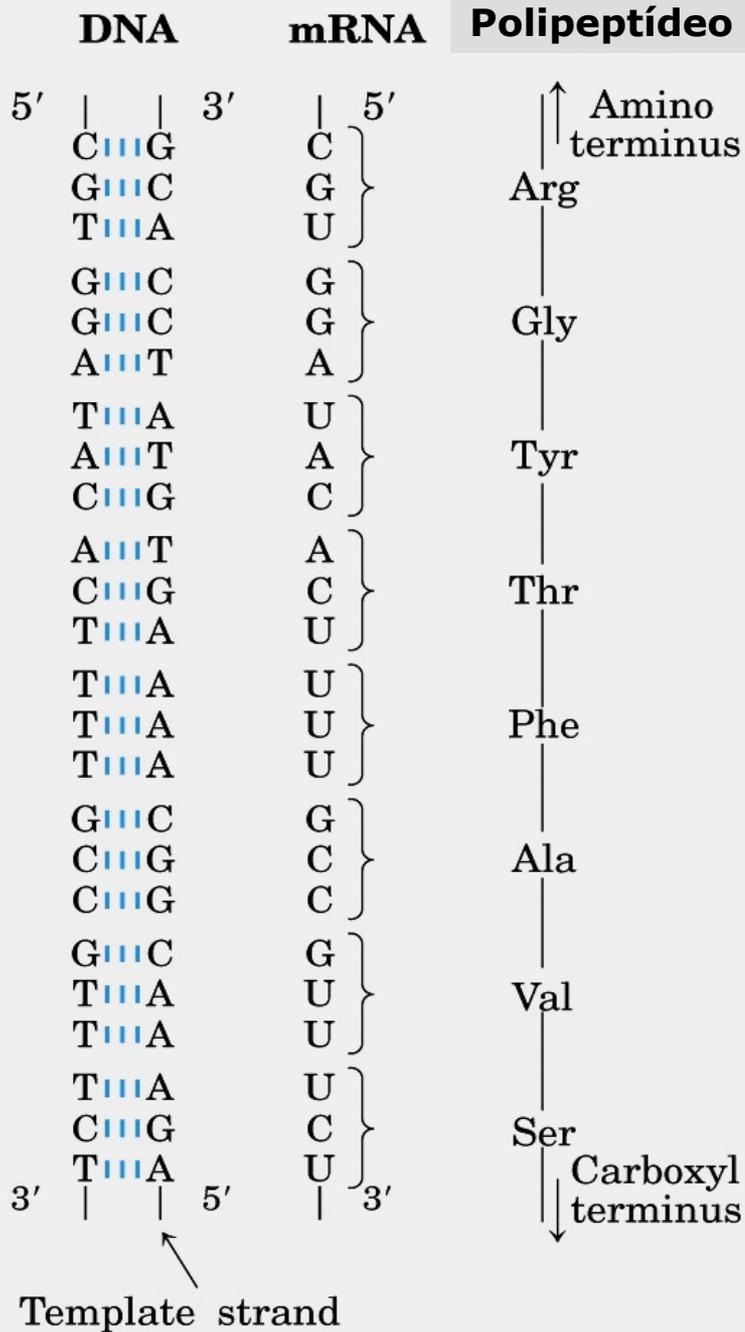
Esquema da replicação:



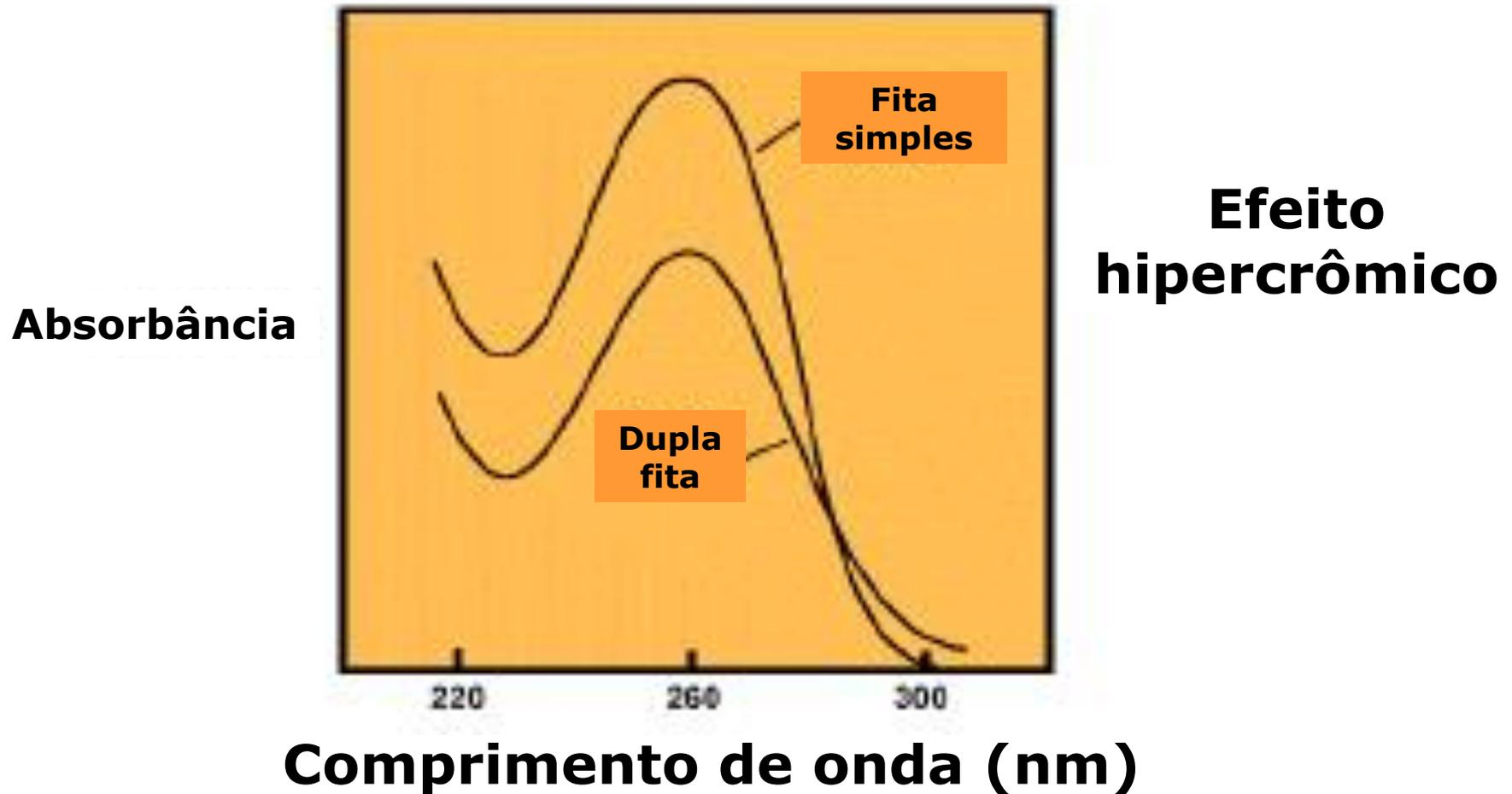
Polimerase Chain Reaction

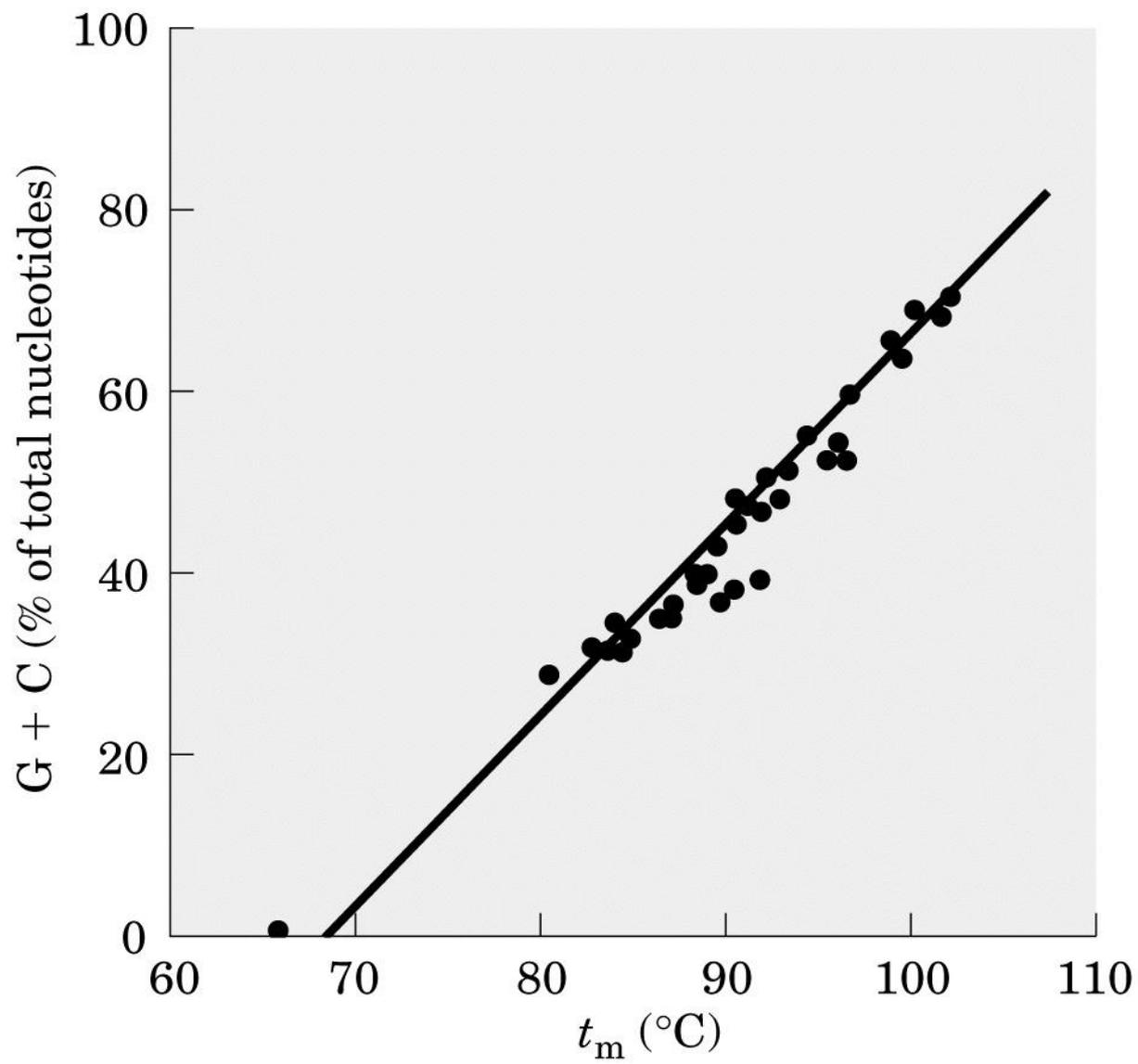


Fluxo da Informação Genética

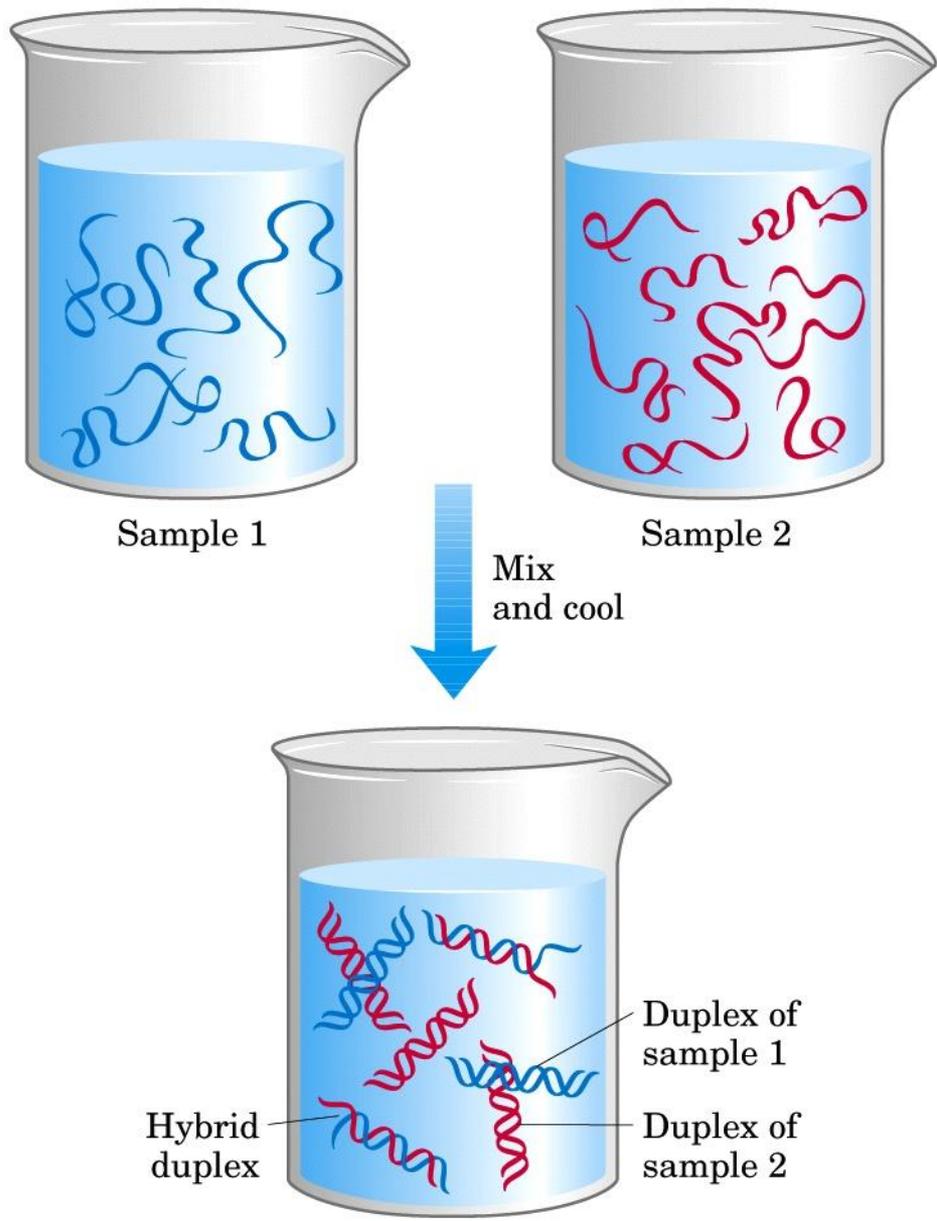


Absorbância do DNA sob luz UV





(b)



Sample 1

Sample 2

Mix
and cool

Duplex of
sample 1

Duplex of
sample 2

Hybrid
duplex

Como se provou que DNA é o material genético?

O DNA é o material genético em todos os organismos exceto em alguns vírus (vírus de RNA)

Pneumococcus type

Infection of mice

Live
smooth bacteria



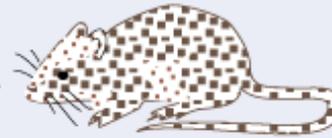
mouse dies



Heat-killed
smooth bacteria



mouse lives



Live
rough bacteria



mouse lives



Mixture of

Heat-killed
smooth bacteria



+

Live
rough bacteria

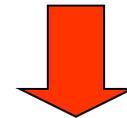


mouse dies

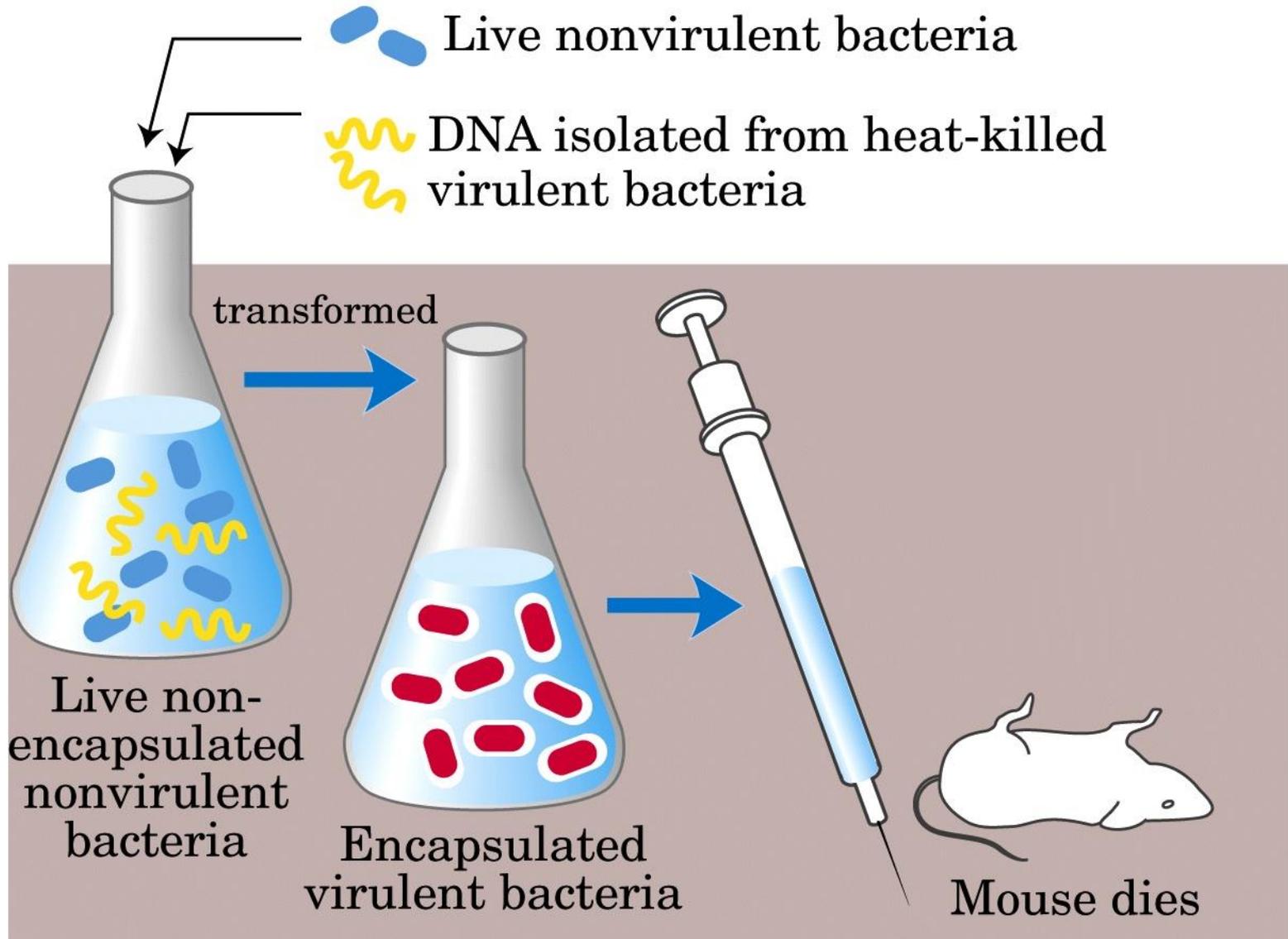


**Avery, McLeod
& McCarty**

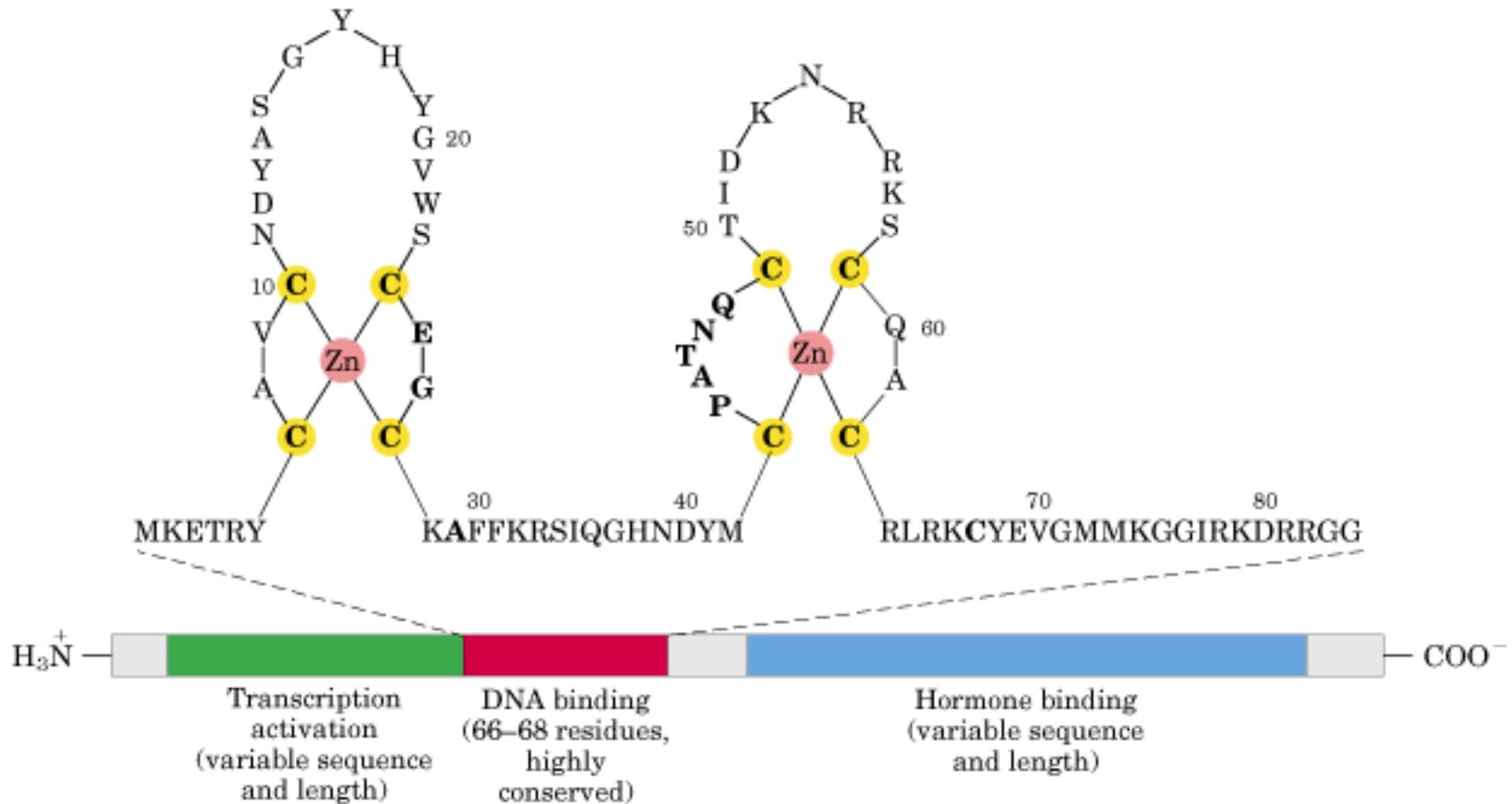
1944



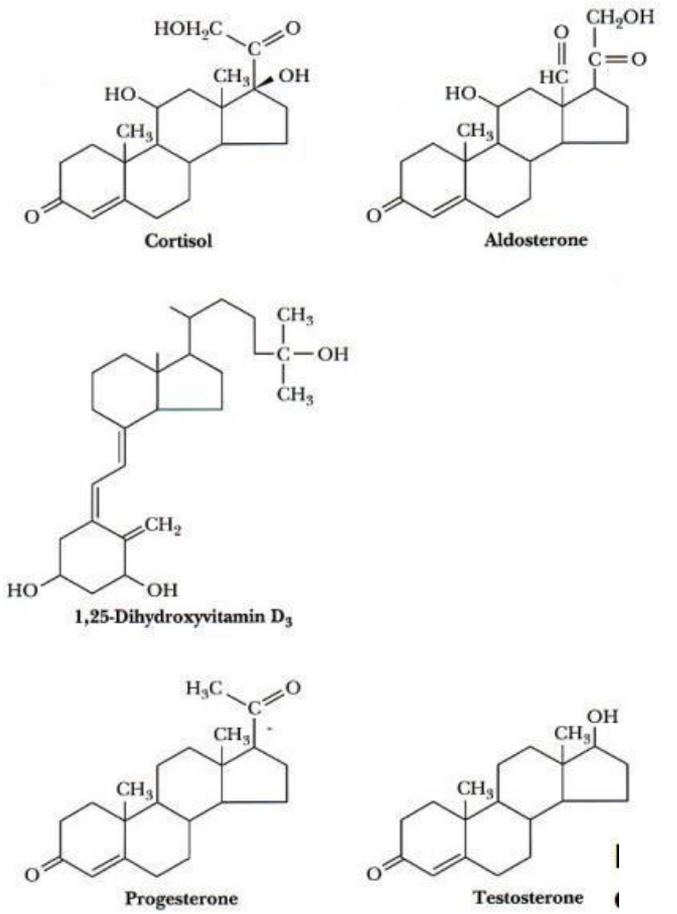
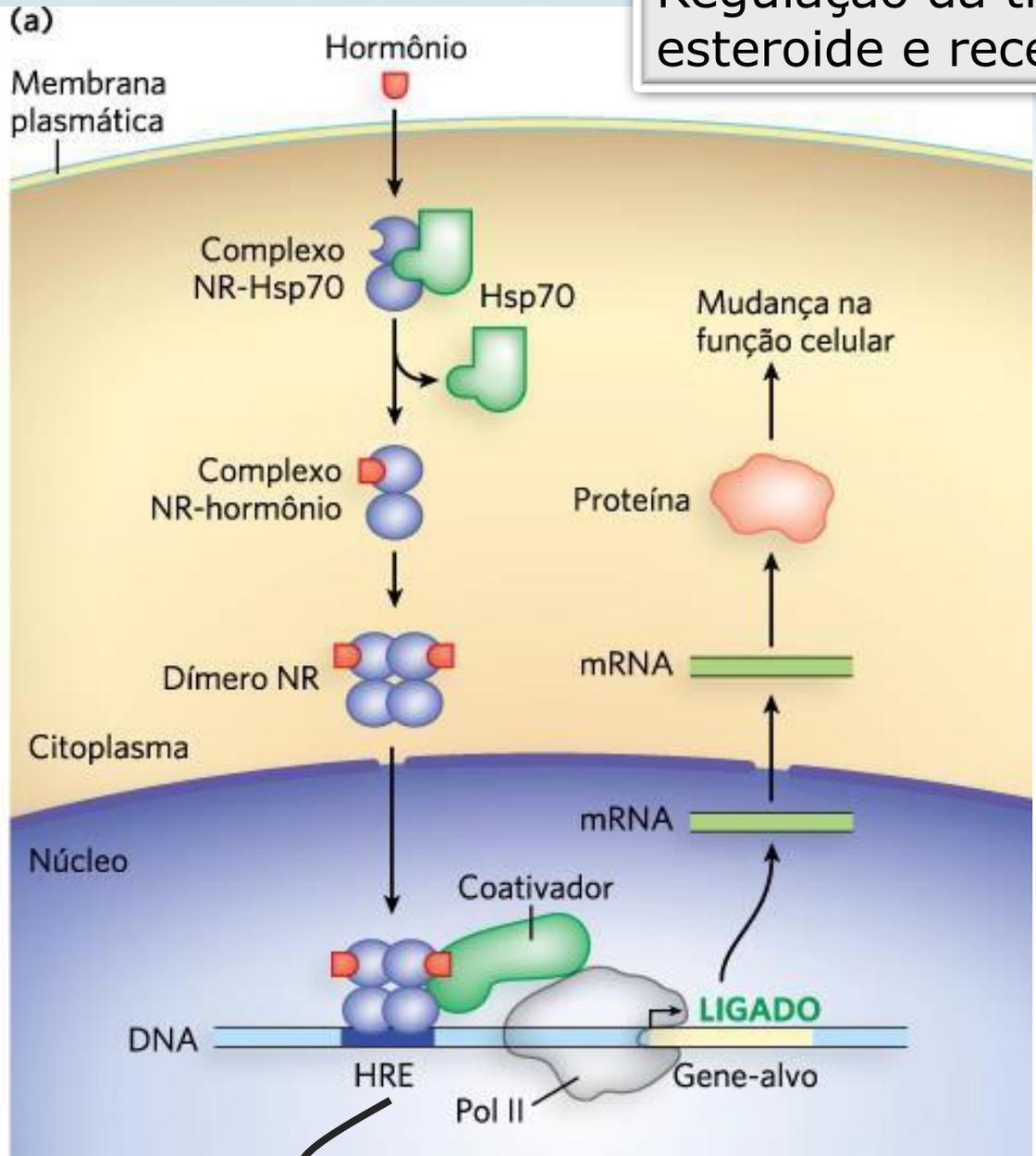
**Princípio
transformante**



Receptores de hormônios esteróides possuem domínios distintos de de ligação ao hormônio e ao DNA



Regulação da transcrição por hormônio esteroide e receptores nucleares (NR)



→ **Elementos de resposta no DNA**

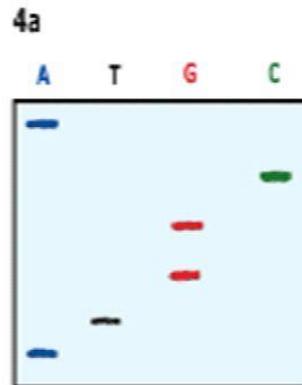
Sequenciamento de DNA

Reação de sequenciamento e marcação do DNA

Leitura das seqüências -
Manual

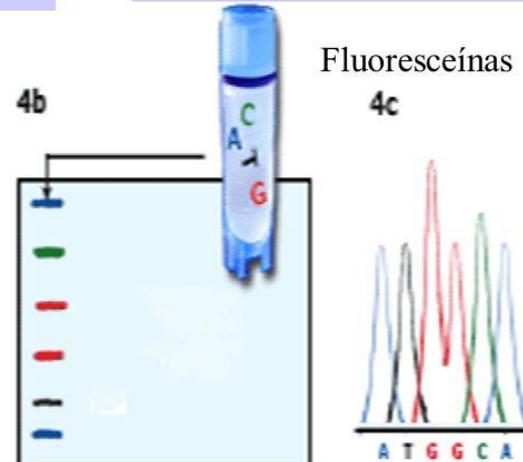
Leitura das seqüências -
Automática

Radioisótopos



Análise dos produtos fluorescentes de sequenciamento em canais separados do gel de poliacrilamida.

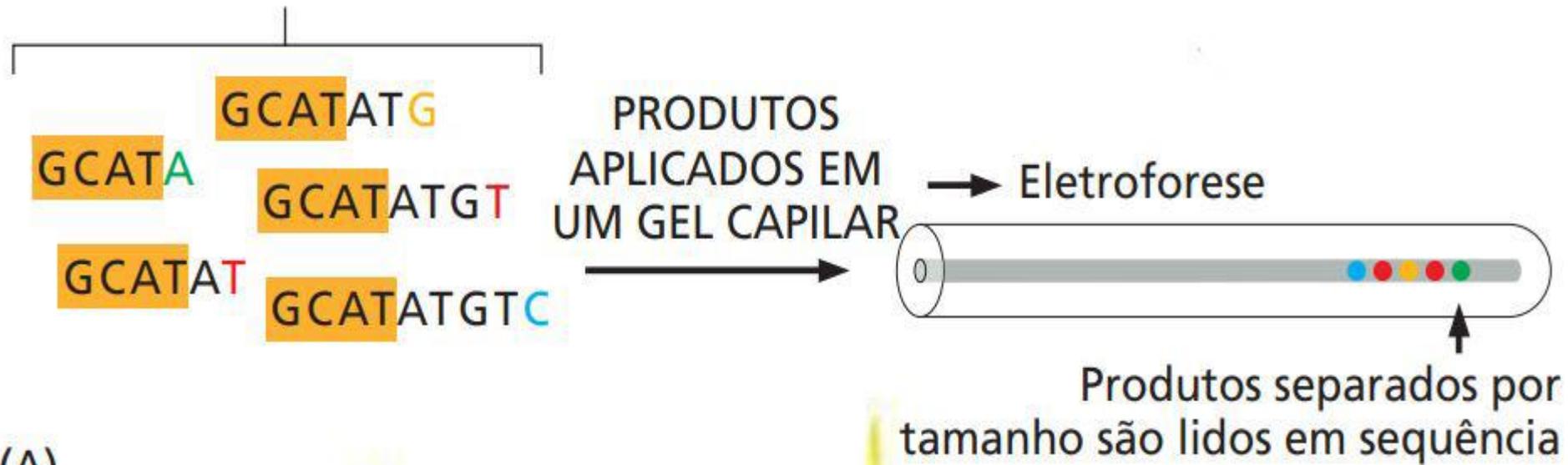
Fluoresceínas



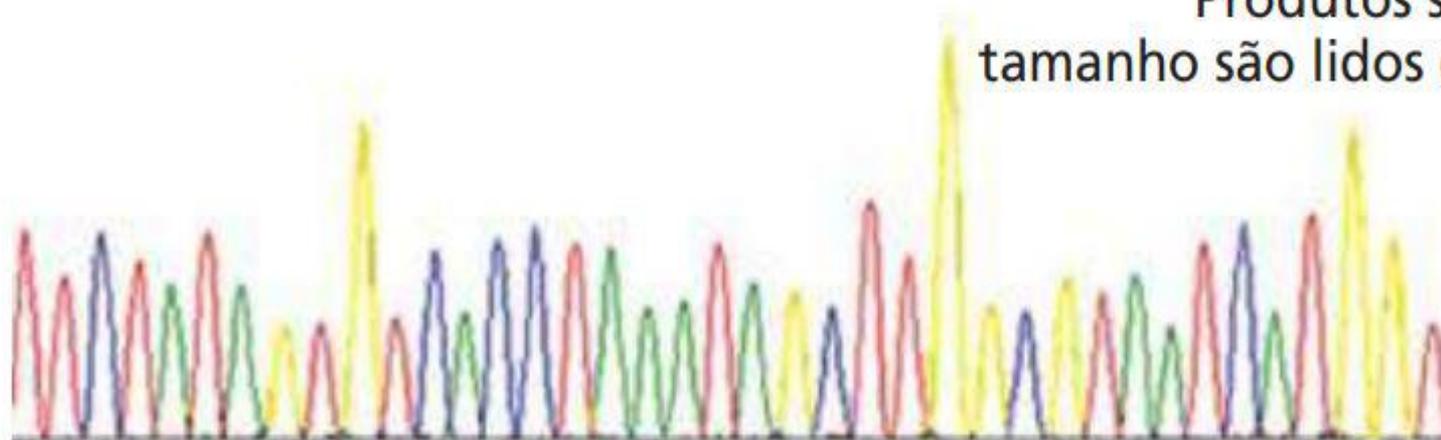
Eletróferograma de gel

SEQUENCIAMENTO DIDESÓXI AUTOMATIZADO

Mistura de produtos de DNA, cada um contendo um ddNTP terminador de cadeia com um marcador fluorescente diferente



(A)



(B)

TTCTATAGTGT CACCTAAATAGCTTGGCGTAATCATGGT

