

Biologia Molecular 1

Carlos F. M. Menck
Márcio Vinícius Bertacine Dias
Rodrigo Galhardo
Wellington Luis Araújo

Veridiana Munford

Nayara Danielli del Santos

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

Genética Molecular Básica: dos genes aos genomas (Organizado por Menck e Sluys), GRUPOGEN, 2017.

Molecular Biology of the Gene: 7th Edition- by Watson et al Cold Spring Harbor, 2013. Ou Tradução da 5a Edição (Artmed).

1

Genes- a unidade da herança

Capítulos 1 e 2
Molecular Biology of the Gene
Watson et al, 2013

Capítulo 1
Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas

Menck& Sluys 2017

2

- **Que é um gene?**
- **Qual a composição dos genes?**
- **Qual a função dos genes?**
- **Como isso implica em herança?**
- **Quando esse estudo começou?**
- **Um pouco de história!**

3

Histórico

A natureza do gene- a herança por Mendel – e suas ervilhas:

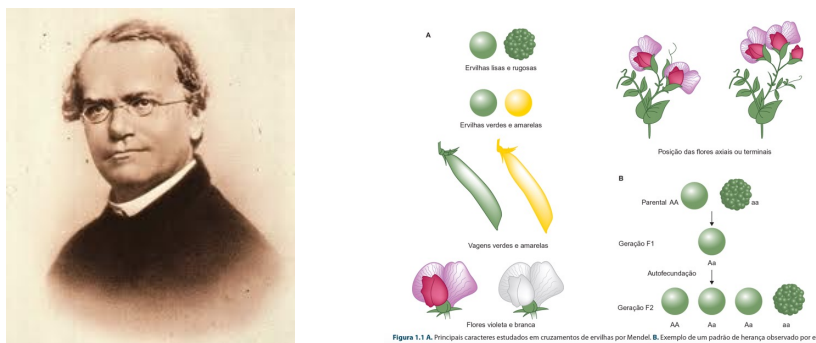


Figura 1.1 A. Principais caracteres estudados em cruzamentos de ervilhas por Mendel. B. Exemplo de um padrão de herança observado por ele.

Figura do “Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas”, 2017

Fatores de herança e alelos.... 1865 (seu trabalho não despertou interesse), redescoberto em 1900! Botânicos DeVries (holandes), Correns (alemão) and Tschermak (austríaco)!!!!

- Nome GENÉTICA (do grego **GENO: fazer nascer**)- Bateson (1905)
- os fatores de Herança foram chamados de "gene"!

4

**A herança de ervilhas é similar a nossa?
(AA...Aa....aa!)**

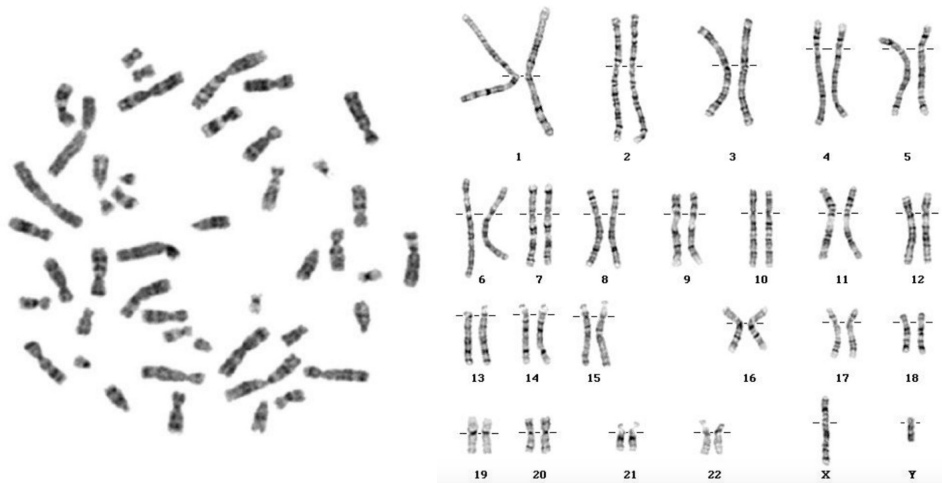
**Então como temos também dois alelos
de cada gene?**

Temos diferenças entre homens e mulheres?

O que são cromossomos?

5

Quantos cromossomos temos?



6

Histórico

A natureza química do gene- Friedrich Miescher 1871 (Suíça)

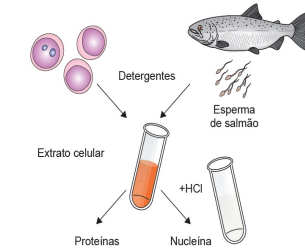


Figura 1.2 Miescher isolou o material nuclear a partir de células de timo (linfócitos T) e, posteriormente, de esperma de salmão. A substância branca, ácida, rica em fosfato, obtida do núcleo dessas células, deu o nome de nucleína.

Extração alcalina de células do sangue (linfócitos- na verdade pus de curativos), para descobrir os fatores da vida: encontrou uma substância branca, ácida, **rica em fósforo-nucleína!**

Figura do “Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas”, 2017



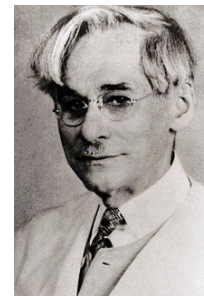
Fez o mesmo a partir de esperma de salmão! (90% da célula é núcleo)
Richard Altmann (aluno de Miescher)
1889- **ácido nucleico!**

7

Mas o que são os ácidos nucleicos?

Como eles poderiam ser os determinantes da herança? (Miescher acreditava que eram as Proteínas)

Phoebus Aaron Levene (Lituano)
1909- d-Ribose açúcar constituinte dos Ácidos nucleicos:
1929- desoxirribose no DNA



Descobriu os componentes do DNA
bases nitrogenadas: Adenina; Timina (Uracil);
Citosina; Guanina

Identificou as ligações fosfato - fosfodiester

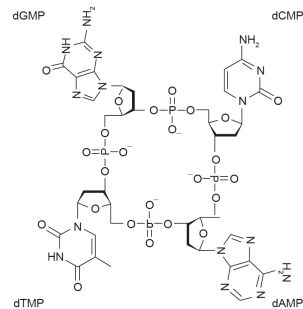
8

Histórico: Phoebus Aaron Levene 1929:
nucleotídeo- base fosfato e desoxirribose



Courtesy of the Rockefeller Archive Center. Noncommercial, educational use only.

MAS:
A química do ácido nucleico
2'desoxirribonucleotídeos
Modelo para o tetranucleotídeos!!



- **Que implica esse Modelo?**
- **Quem acreditava que fosse esse o material genético (responsável pela herança)? Por que não?**

9

Como foi demonstrado que o DNA

É o fator de herança?

(“o que é a vida?”)

10

Hermann Joseph Muller



Histórico

Experimentos de mutagênese de Muller (1926)!
Raios X induzem mutações em drosófila!
(Nobel Fisiologia e Medicina em 1946!)
(ele lutou pela “eugenia” e chamando a atenção para os perigos da radiação ionizante).

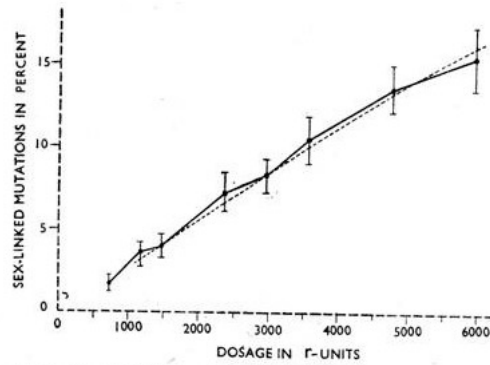


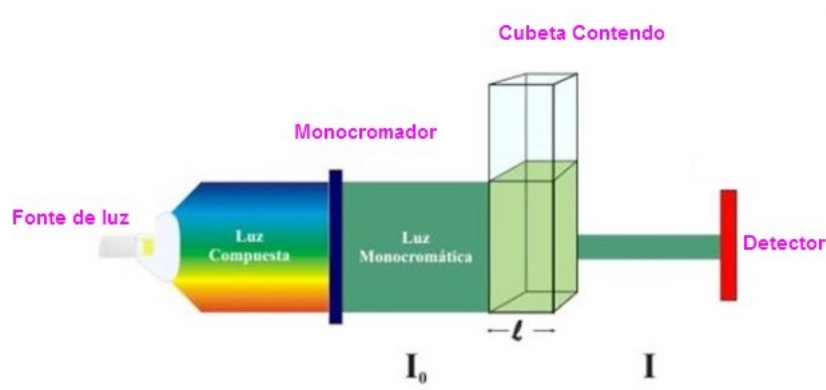
Fig. 867. Graph after Timoféeff-Resovsky showing that the rate of sex-linked mutations in *Drosophila melanogaster* is directly proportional to the amount of radiation applied.



Mas o que está acontecendo aqui?

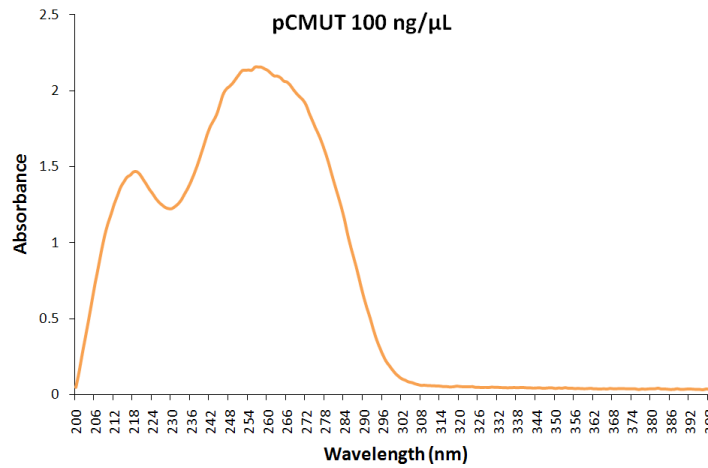
11

Espectrofotometria



12

Espectro de Absorção da molécula de DNA



13

Como todas as moléculas o DNA tem um espectro de absorção:

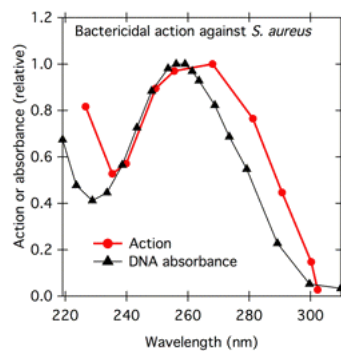


Figure 5. Action spectrum for bactericidal action of UV against *Staphylococcus aureus* (modified from Gates, 1930), plotted with the absorbance spectrum for DNA (modified from Tsuboi, 1950).

- **Experimento de Alexandre Hollaender (1939)!**
- **Espectro de Mutagenesis:**
- **DNA é a molécula da herança!**



14



Histórico

Frederick Griffith (1928, UK)

- princípio transformante!!
- O que pode estar acontecendo aqui?

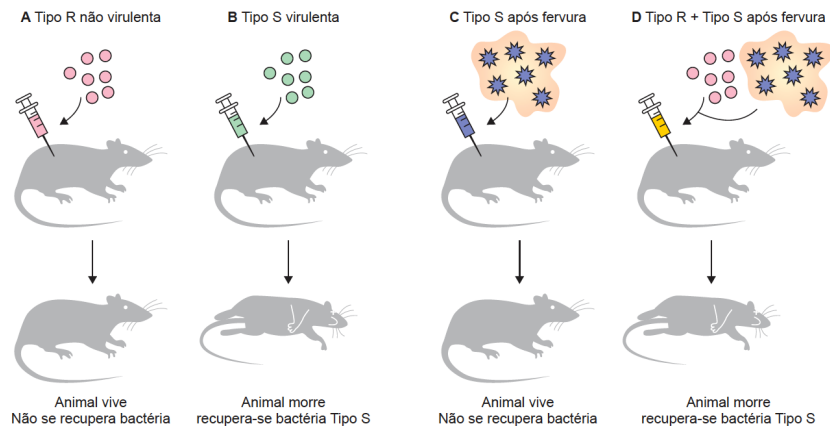


Figura do “Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas”, 2017

Que substância era essa? Como saber isso?

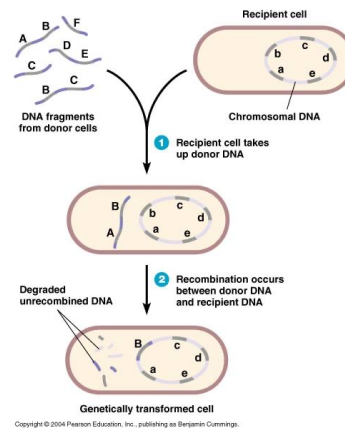
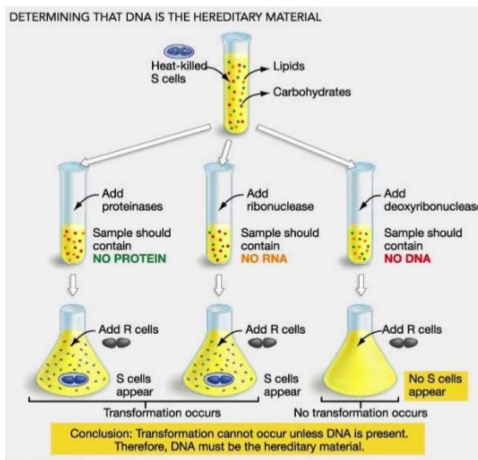
15



Histórico

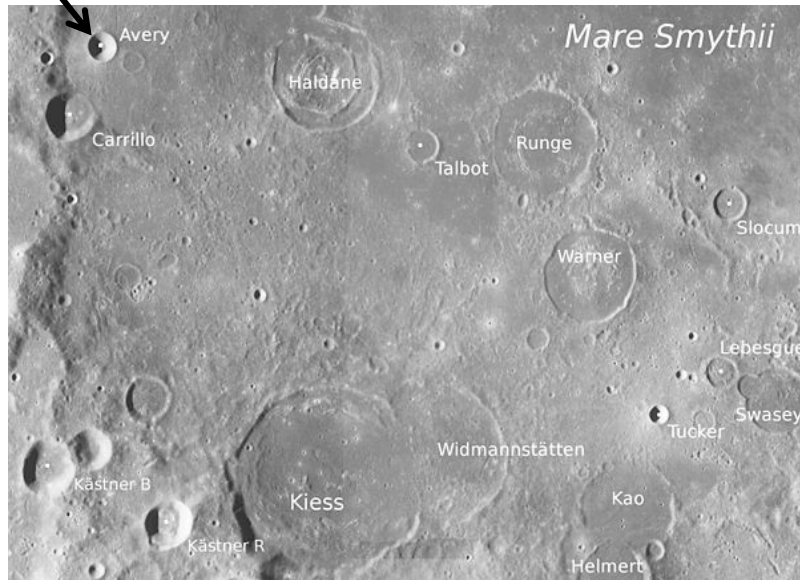
Oswald T. Avery, Colin M. MacLeod e Maclyn McCarty, 1944, Instituto Rockefeller, EUA.

- princípio transformante é o DNA!
- Mas o que de fato está acontecendo nesse experimento?



16

**Oswald T. Avery morreu de cancer em 1955.
Não ganhou o prêmio Nobel (foi nomeado)
Tem uma cratera na Lua com seu nome!**



17

Histórico



**Alfred Hershey and Martha Chase (1952, US)
Bacteriófago T2- o DNA é responsável
pela multiplicação viral! (e não as proteínas!).
Nobel em 1969!**

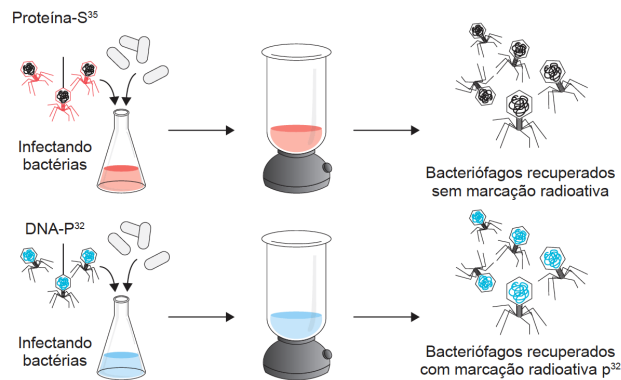
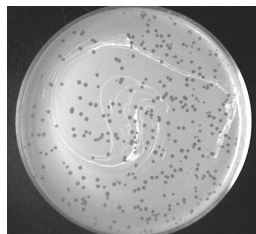


Figura do "Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas", 2017

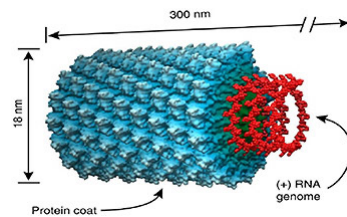
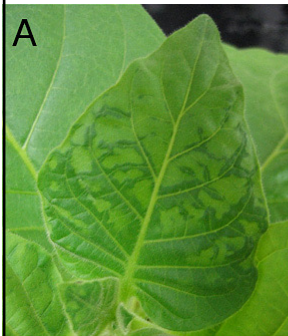
Demonstrou que o DNA seria responsável pela herança em fagos!

18



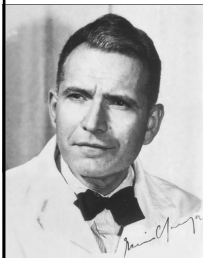
Histórico

Heinz Fraenkel-Conrat (1955, US)
Virus do mosaico do tabaco.... Genoma de RNA!



Com se replicam os vírus com genoma a RNA?

19



Histórico

Regras de Chargaff (1949)

- 1. A composição do DNA em suas bases A, C, G, T é característica de cada espécie.**
- 2. No DNA sempre temos $A=T$ e $C=G$!**

Table 3-2 Data Leading to the Formulation of Chargaff's Rules

| Source | Adenine to Guanine | Thymine to Cytosine | Adenine to Thymine | Guanine to Cytosine | Purines to Pyrimidines |
|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|------------------------|
| Ox | 1.29 | 1.43 | 1.04 | 1.00 | 1.1 |
| Human | 1.56 | 1.75 | 1.00 | 1.00 | 1.0 |
| Hen | 1.45 | 1.29 | 1.06 | 0.91 | 0.99 |
| Salmon | 1.43 | 1.43 | 1.02 | 1.02 | 1.02 |
| Wheat | 1.22 | 1.18 | 1.00 | 0.97 | 0.99 |
| Yeast | 1.67 | 1.92 | 1.03 | 1.20 | 1.0 |
| <i>Hemophilus influenzae</i> | 1.74 | 1.54 | 1.07 | 0.91 | 1.0 |
| <i>E-coli</i> K2 | 1.05 | 0.95 | 1.09 | 0.99 | 1.0 |
| Avian tubercle bacillus | 0.4 | 0.4 | 1.09 | 1.08 | 1.1 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 0.7 | 0.7 | 0.95 | 0.86 | 0.9 |
| <i>Bacillus schatz</i> | 0.7 | 0.6 | 1.12 | 0.89 | 1.0 |

SOURCE: After E. Chargaff et al., *J. Biol. Chem.* 177 (1949).

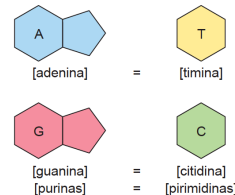
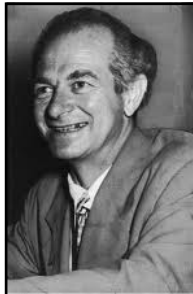


Figura 1.8 Chargaff observou que a quantidade relativa das quatro bases adenina (A), guanina (G), citosina (C) e timina (T) eram diferentes de espécie para espécie, mas que a quantidade de A sempre era equivalente a de T, e, a de G, sempre equivalente a de C. Esse dado foi fundamental para a proposta do modelo de dupla-hélice.

Como explicar essa regra?

Figura do "Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas", 2017

20



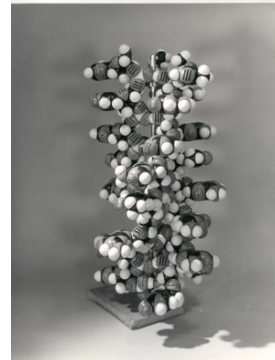
Histórico

A tripla hélice de Linus Pauling (1951) Proposta para o DNA....

(Pauling havia proposto a estrutura de alfa-hélice em proteínas.... e foi agraciado pelo Nobel (1954)
Pelas suas descobertas de ligações químicas!!

(1962- prêmio Nobel da paz- contra armas atômicas)
(foi considerado comunista
nos Estados Unidos)

Por que ele estava errado?



21

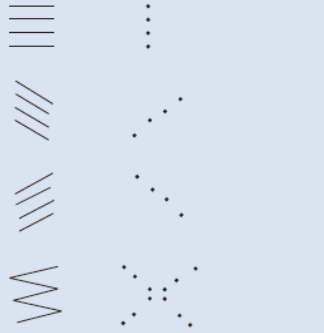
Histórico

Rosalind Franklin e Maurice Wilkins (1952, UK)
a “fotografia 51”... quem era responsável por ela?
Ver video:<https://www.youtube.com/watch?v=FpZQvDFQpmg>

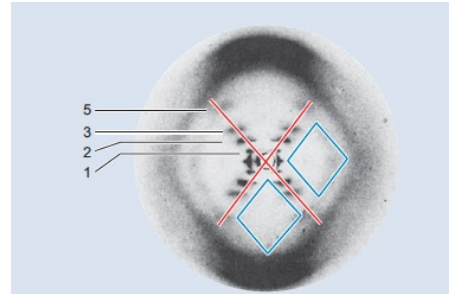
22

Histórico

A fotografia 51... o que ela de fato enxerga?



BOX 4-2 FIGURE 2 Diffraction pattern of waves passing through parallel lines.



BOX 4-2 FIGURE 1 Rosalind Franklin's X-ray diffraction image of DNA revealing the Maltese cross. (Modified, with permission, from Franklin R.E. and Gosling R.G. 1953. *Nature* 171: 740-741. © Macmillan.)

- **X indica é helicoidal! A falha indica é dupla hélice!**
- **E dá os parâmetros de 3.4 nm por volta!**

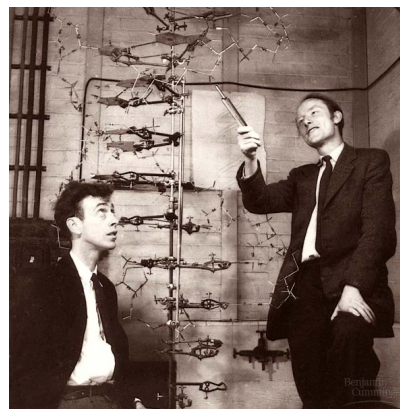
Figura do *Molecular Biology of the Gene*, 7th edition, Watson et al,

23

Histórico

Francis Crick e James Watson (1953, UK)

**A dupla hélice revelada! Prêmio Nobel 1962!
(Watson, Crick e Wilkins) (e a Rosalind?)**



24

Histórico

A dupla hélice levou a propostas por Watson e Crick (1953) de como seria a replicação do DNA e a síntese de RNA!

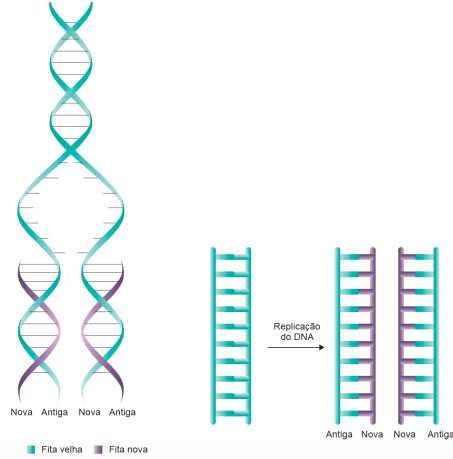


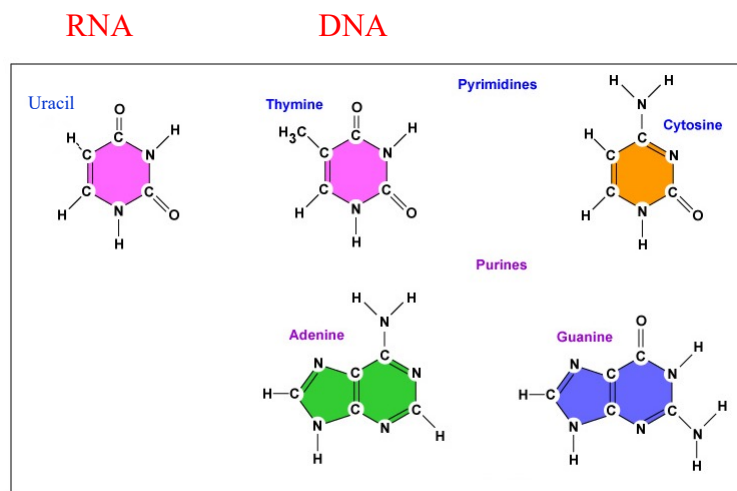
Figura 1.10 A estrutura de dupla-hélice do DNA levou Watson e Crick a propor que a replicação do DNA ocorreria de modo semiconservativo.

Figura do "Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas", 2017

O que é replicação semiconservativa?

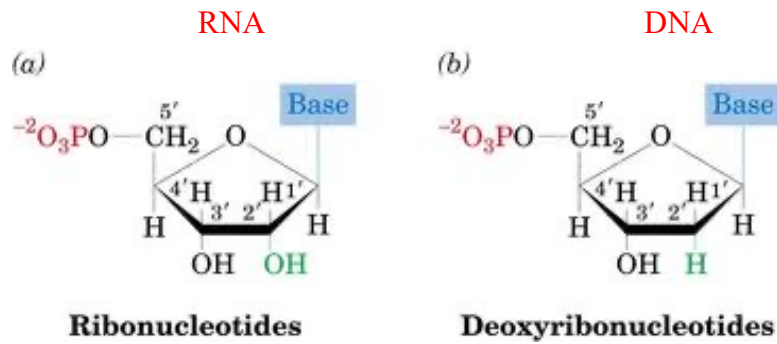
25

Componentes dos ácidos nucleicos: bases nitrogenadas!



26

Componentes dos ácidos nucleicos: riboses e desoxirriboses!



Atenção na numeração dos carbonos!

Qual a diferença entre nucleosídeo e nucleotídeo?

27

Diferencie Nucleosídeo X Nucleotídeo

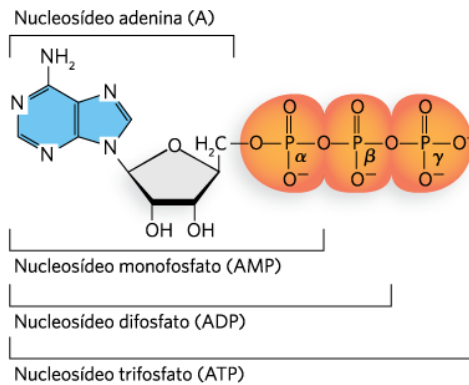


FIGURA 6-12 Nomenclatura dos nucleotídeos. O grupamento fosfato ligado covalentemente à 5'-hidroxila de um nucleosídeo pode estar ligado a um ou dois fosfatos adicionais; as moléculas resultantes são denominadas nucleosídeos mono-, di-, e trifosfato. A partir do fosfato mais próximo à ribose, os três fosfatos são designados α , β e γ .

Nucleosídeos são nucleotídeos sem o grupo fosfato.

28

Emparelhamento de bases! – pontes de hidrogênio

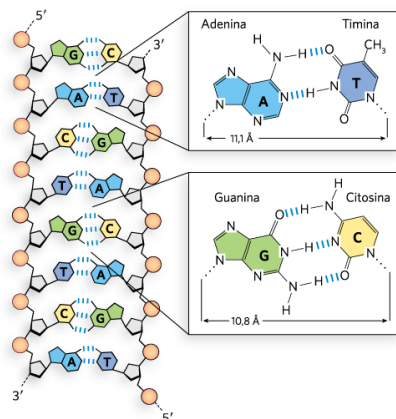


FIGURA 6-11 Padrão das pontes de hidrogênio formadas no pareamento de bases de Watson-Crick. As pontes de hidrogênio estão representadas por três linhas azuladas.

1. Quantas pontes de hidrogênio tem em cada par? Qual tem mais força?
2. Como seria o emparelhamento de duas purinas?
3. E duas pirimidinas?

29

A cadeia fosfodiéster forma o esqueleto externo do DNA! (por que é chamada assim?)

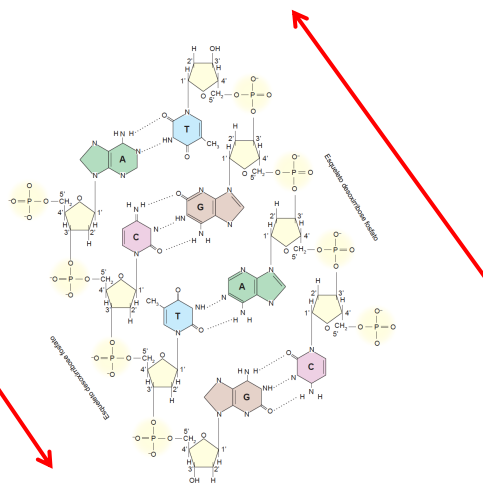
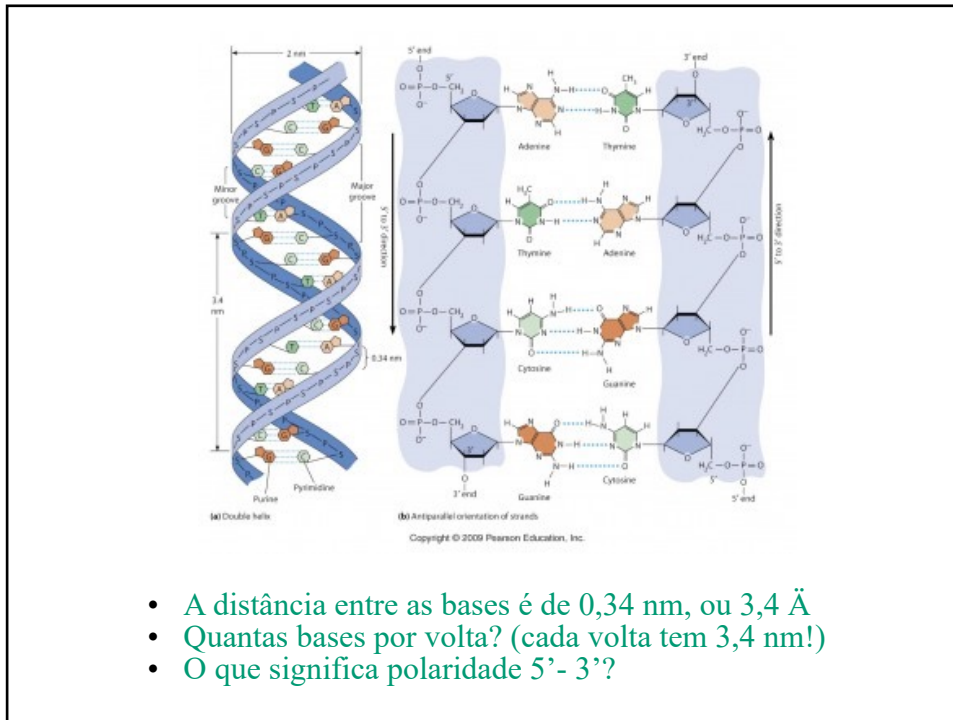


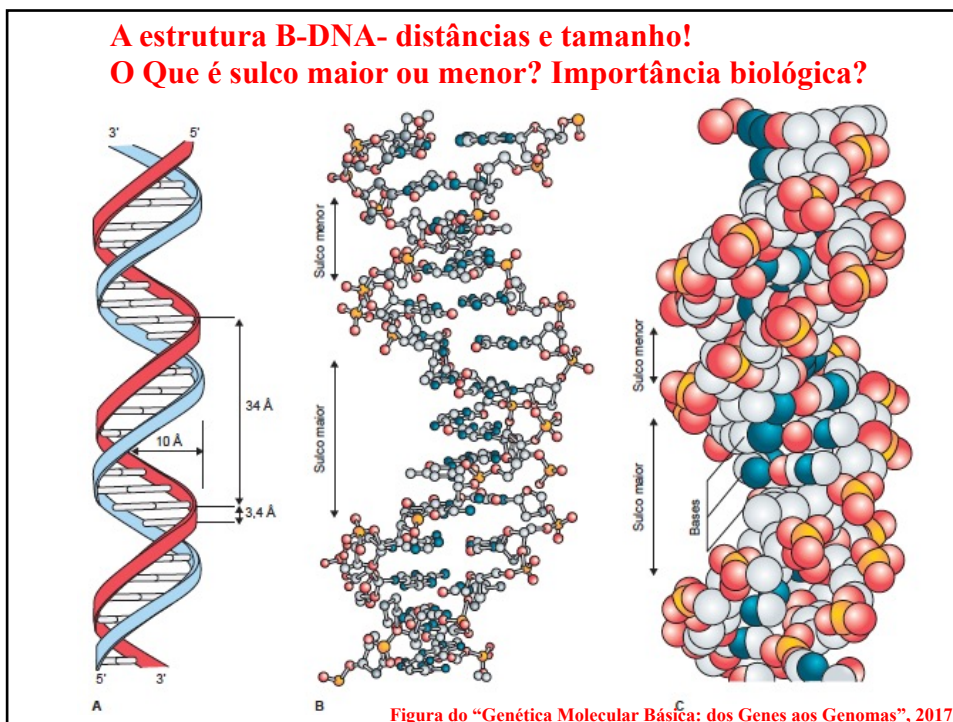
Figura 2.2 Estrutura do polímero de nucleotídeos. Ligações fosfodiéster unem os diferentes nucleotídeos da mesma cadeia. Pontes de hidrogênio entre uma purina (adenina ou guanina) e uma pirimidina (timina ou citosina) estabilizam a união dos polímeros de nucleotídeos em uma dupla-hélice.

O DNA tem cadeias antiparalelas... O que significa isso?

30

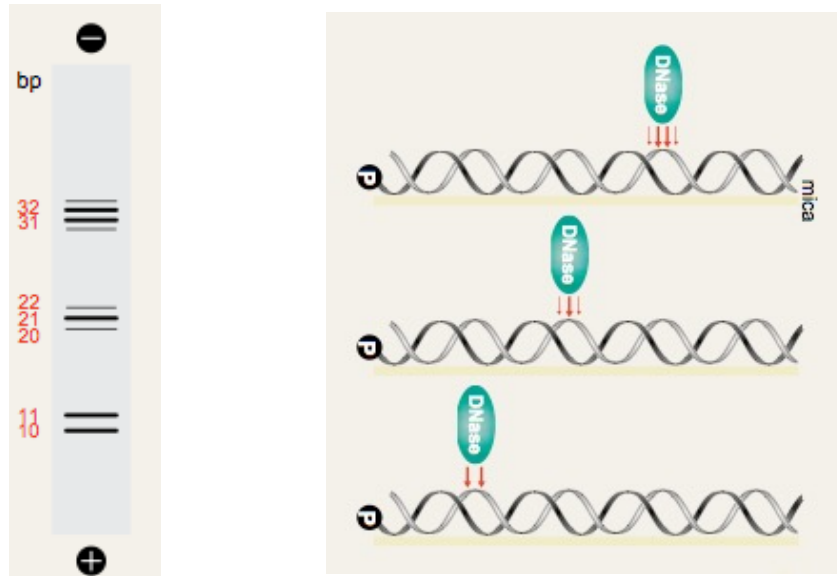


31



32

A estrutura B-DNA- distâncias e tamanho! *The Mica Experiment*



Quantas bases por volta tem no DNA?

33

**As bases formam um empilhamento no interior da dupla hélice!
Por que essa situação abaixo é desfavorável?**

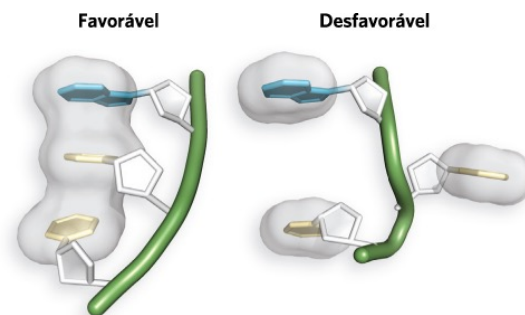
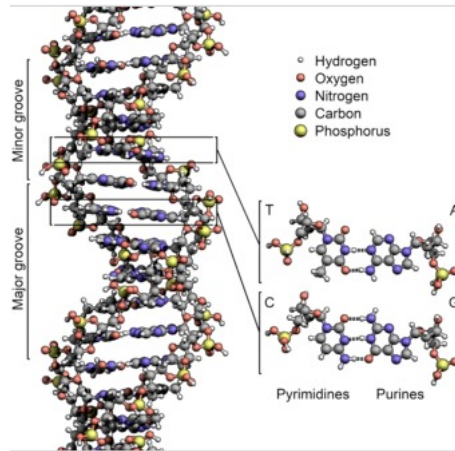


FIGURA 6-10 Empilhamento das bases nos ácidos nucleicos. Interações hidrofóbicas, de van der Waals e eletrostáticas favorecem o alinhamento das bases em solução aquosa ou em uma cadeia polinucleotídica (três nucleotídeos do RNA são mostrados aqui); a orientação não empilhada é desfavorável. O raio das interações de van der Waals é mostrado em cinza.

34

A estrutura B-DNA- distâncias e tamanho!



The structure of the DNA double helix. The atoms in the structure are colour-coded by element and the detailed structure of two base pairs are shown in the bottom right.

- Qual as posições das bases frente ao esqueleto fosfodiéster?
- O que é esse esqueleto fosfodiéster?
- As bases estão na horizontal?

35

A estrutura B-DNA- tilt e propeller twist! Esses ângulos podem variar na estrutura da molécula!

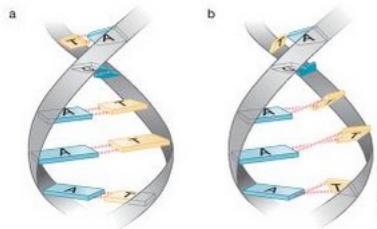
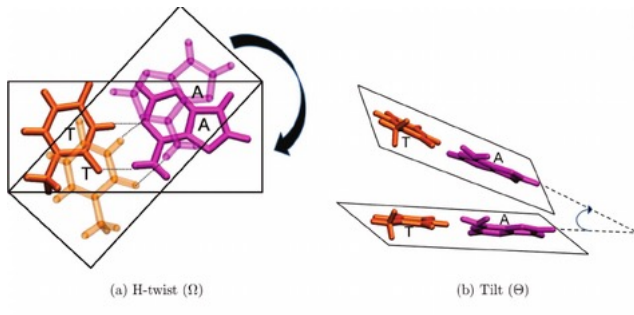
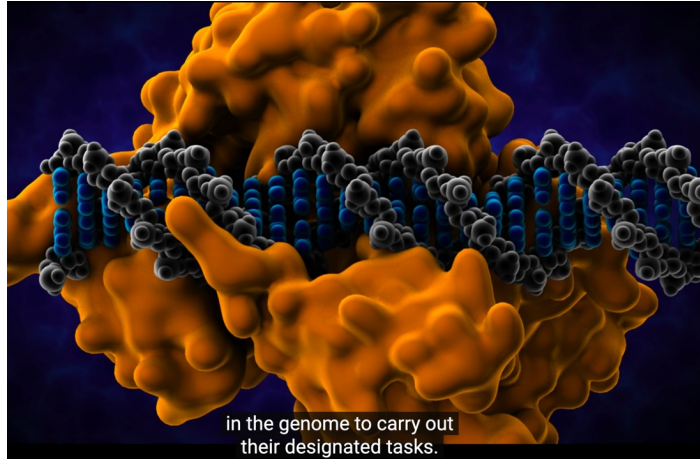


FIGURE 4-12 The propeller twist between the purine and pyrimidine base pairs of a right-handed helix. (a) The structure shows a sequence of three consecutive A:T base pairs with normal Watson-Crick bonding. (b) A propeller twist causes rotation of the bases about their long axes. (Adapted, with permission, from Aggarwal A.K. et al. 1988. *Science* 242: 899-907, Fig. 5b. © AAAS.)

36

- https://www.youtube.com/watch?reload=9&v=o_-6JXLYS-k



37

Conceitos Básicos de Genes e Genomas!

38

DOGMA CENTRAL DA BIOLOGIA!

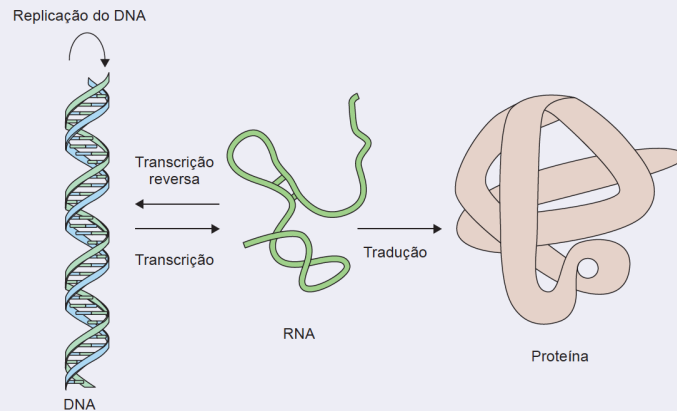


Figura 1.12 Esquema que representa o dogma central da biologia molecular, que descreve o fluxo da informação genética. Enquanto o DNA armazena a informação e a transfere entre gerações, a informação é decodificada pelo RNA para a síntese de proteínas, que, em geral, são as responsáveis pela execução da função no metabolismo celular. A seta que direciona o RNA para o DNA representa a descoberta do fluxo reverso da informação por transcriptases reversas.

Figura do “Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas”, 2017

39

Questão 1: Você se julga um ser “complexo geneticamente”?

Quem tem o maior genoma dos organismos abaixo.

- | | |
|-----------------------|---|
| 1. Ser humano. | 1. 3×10^9 bp. |
| 2. Tulipas. | 2. 34×10^9 bp. |
| 3. drosophila. | 3. $0,13 \times 10^9$ bp. |
| 4. ameba | 4. 300×10^9 bp. |

40

O paradoxo do tamanho dos genomas!

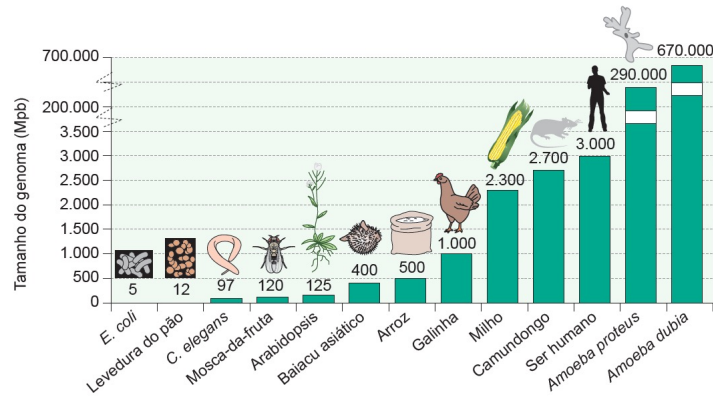


Figura 12.7 Comparação entre o tamanho dos genomas de algumas espécies.

Figura do “Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas”, 2017

41

Os genomas podem conter vários cromossomos, e esses contém muitos genes! Qual o tamanho de um gene?

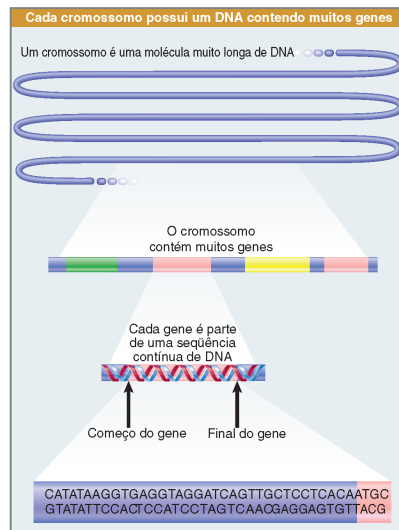
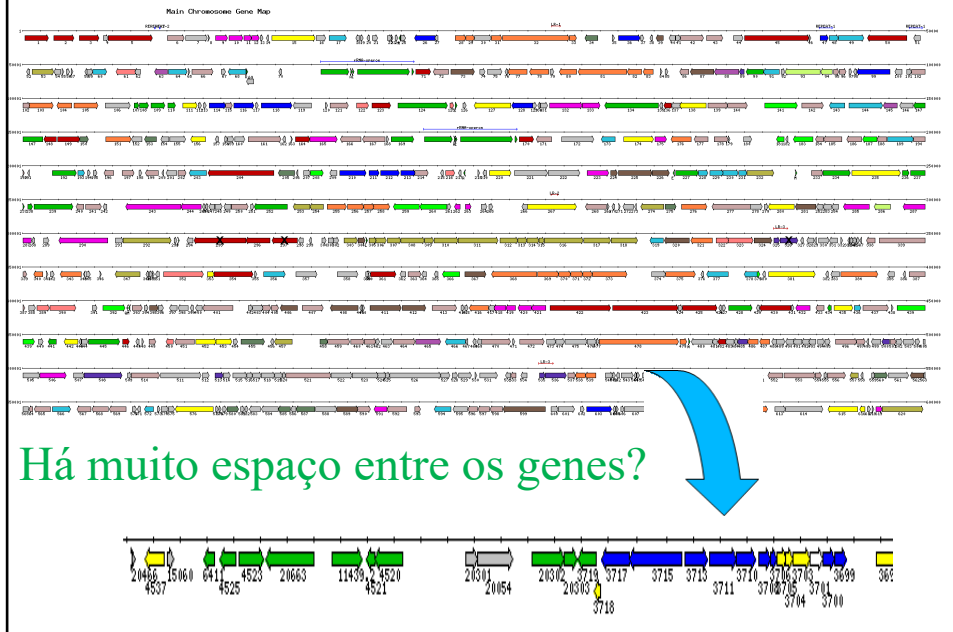


FIGURA 2.1 Cada cromossomo corresponde a uma única e longa molécula de DNA, na qual são encontradas as seqüências dos genes individuais.

42

Esse é o mapa de um genoma de procarionte!



43

Quantos genes existem em uma bactéria?

Por exemplo *Escherichia coli*:

genoma com 4.000.000 bases!

44

Em procariontes o número de genes correlaciona com o tamanho do genoma! (o que é ORF?)

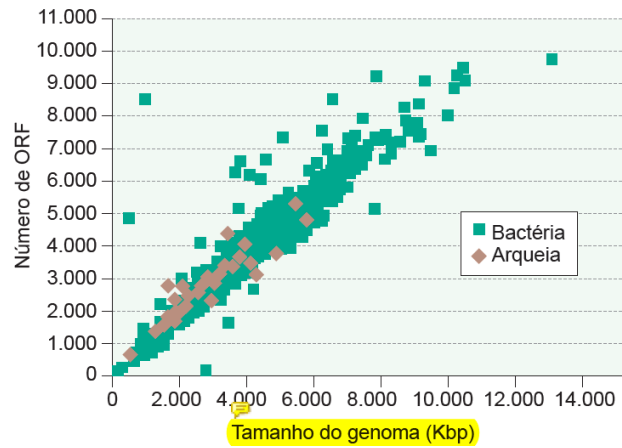


Figura do "Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas", 2017

Qual o tamanho de cada gene em procariontes?

45

Quantos genes existem no ser humano?

(3 bilhões de bases por genoma haplóide!)

46

Mas afinal o que é de fato um gene?

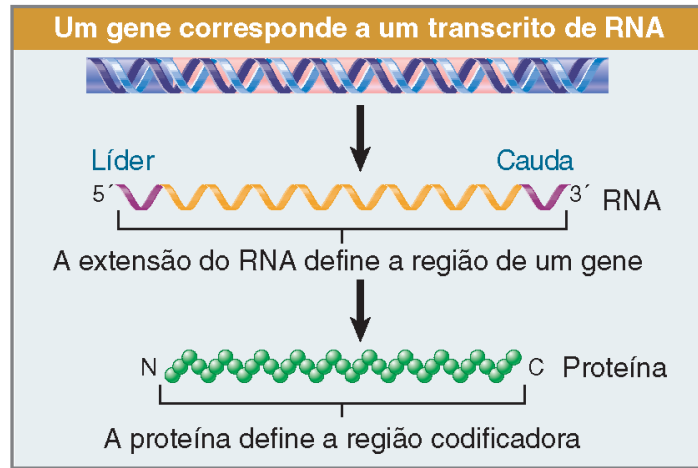


FIGURA 2.13 O gene pode ser mais extenso que a seqüência que codifica a proteína.

47

O gene eucarionte:

O GENE EUCARIONTE CONTEM INTRONS!

O GENE EUCARIONTE CONTEM INTRONS!

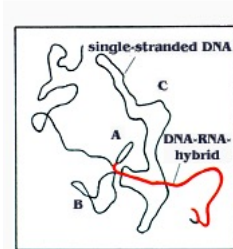
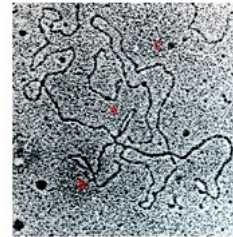
O GENE CONTEM INTRONS!

48

Nobel Prize on Medicine 1993 Richard Roberts and Phillip Sharp:



The R loop picture!



49

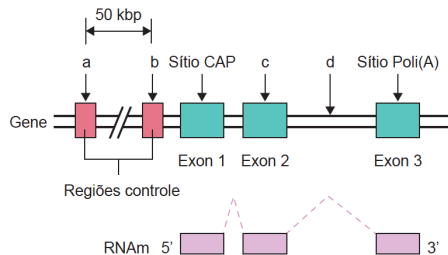


Figura 9.2 Modelo esquemático da estrutura de um gene em eucariotos. Observe a presença dos introns, os quais são excisados da molécula de RNA produzindo o RNA mensageiro (RNAm).

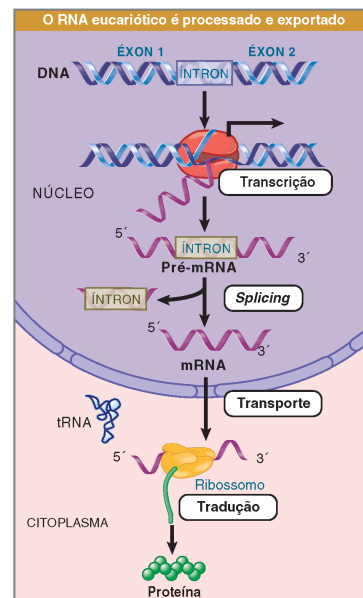
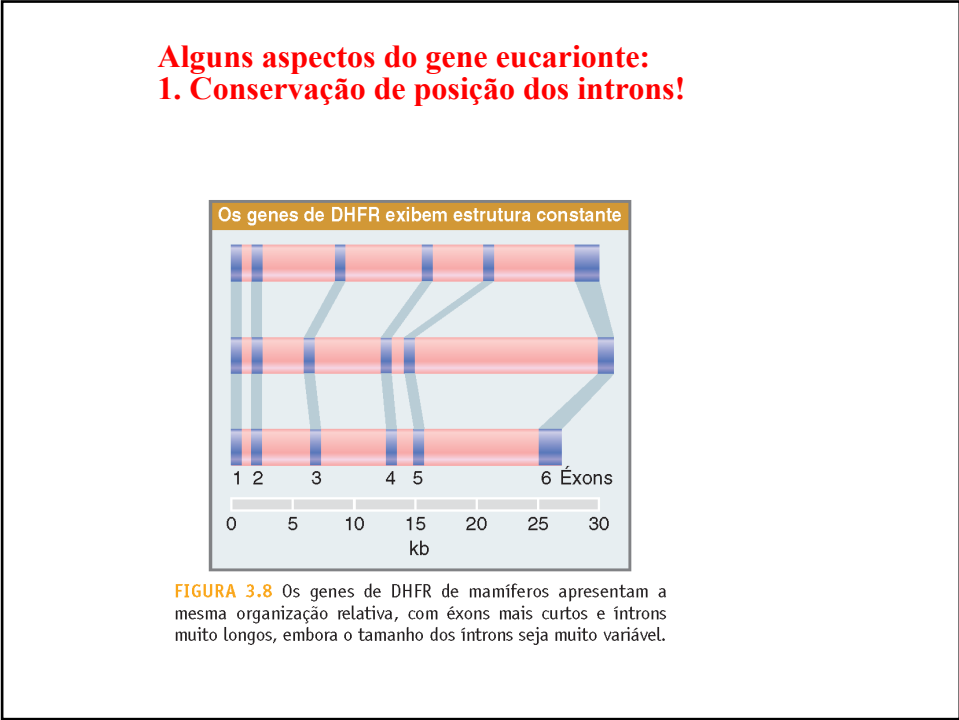
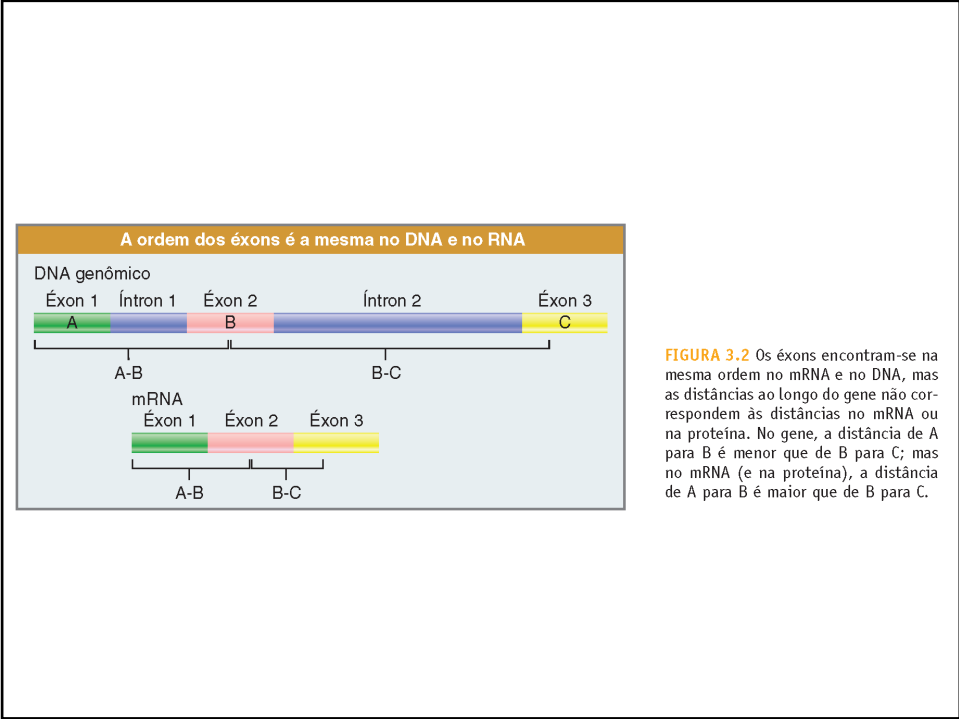


FIGURA 2.15 A expressão gênica é um processo de múltiplos estágios.

50



Alguns aspectos do gene eucarionte: 2. Mas o número de introns e o tamanho dos genes é variável!

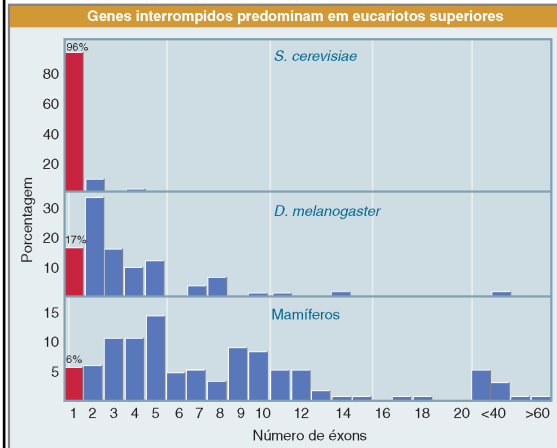


FIGURA 3.10 A maioria dos genes não é interrompida em leveduras; na mosca e nos mamíferos, a maioria é interrompida. (O total de genes não-interrompidos, contendo apenas um éxon, é ilustrado na coluna à esquerda.)

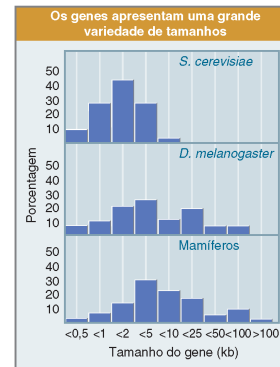


FIGURA 3.11 Os genes são pequenos em leveduras, ao passo que em moscas e em mamíferos exibem uma distribuição ampla, atingindo tamanhos muito grandes.

53

Alguns aspectos do gene eucarionte: Distribuição dos genes nos cromossomos....

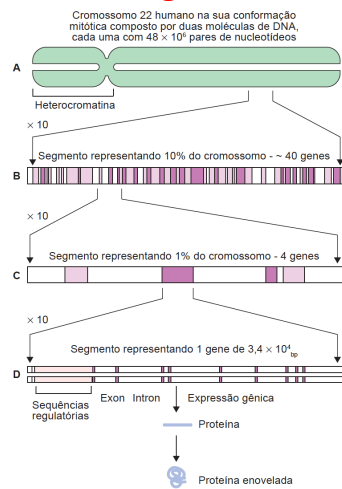
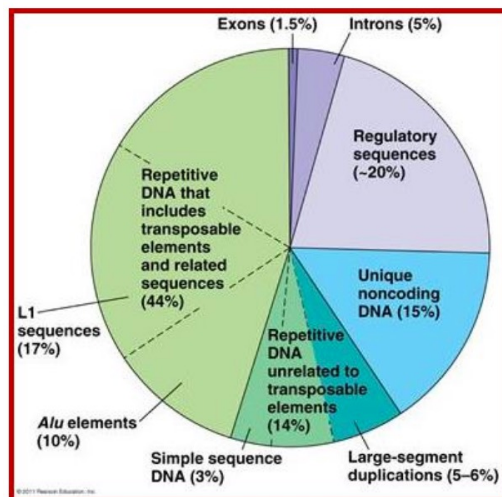


Figura 9.4 Modelo esquemático de um cromossomo humano. Representações desde o cromossomo inteiro (A) até um gene inteiro (D) ilustram a organização de um genoma eucariótico.

Figura do "Genética Molecular Básica: dos Genes aos Genomas", 2017

54

**Composição do genoma humano:
Ainda assim nosso genoma ainda tem muito mais DNA!**



Do que se trata, se não são genes codificadores de proteínas?



I'm sorry G, but we're base-ically not a good match...

DNA- secret of photo 51

33 minutes <https://www.youtube.com/watch?v=Vw8Wrr-ykFc>

53 minutes: <https://www.youtube.com/watch?v=MTMR9SPK4fE>