

CCM 121 – Biologia Molecular

Estrutura de Ácidos Nucléicos

Informações genéticas coordenam o desenvolvimento e funcionamento do organismo de todos os seres vivos



Qual biomolécula estoca informação gênica?

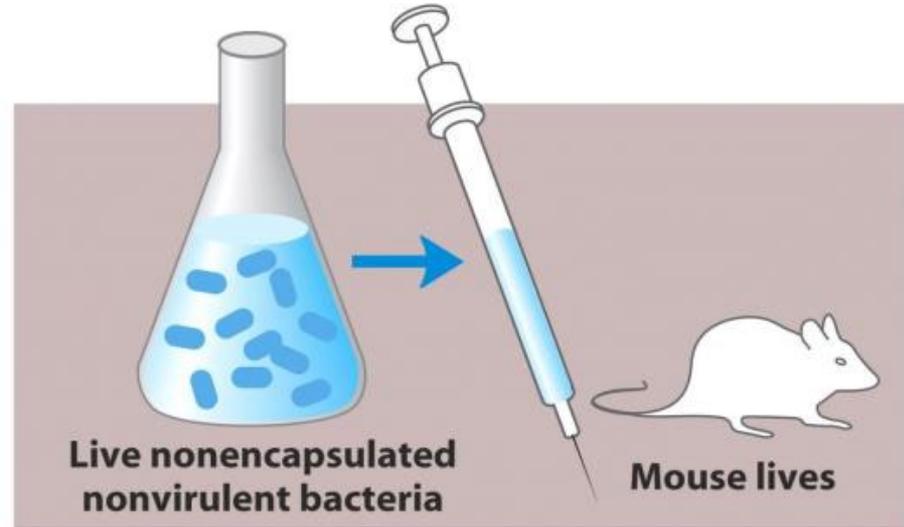
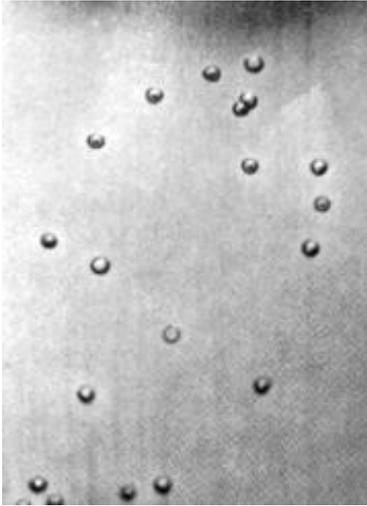
1. DNA é formado por apenas 4 nucleotídeos diferentes. Portanto, a variabilidade de compostos gerados a partir do DNA seria pequena.

2. Proteínas são formadas por 20 aminoácidos diferentes. Portanto, a possibilidade de variabilidade seria muito maior.

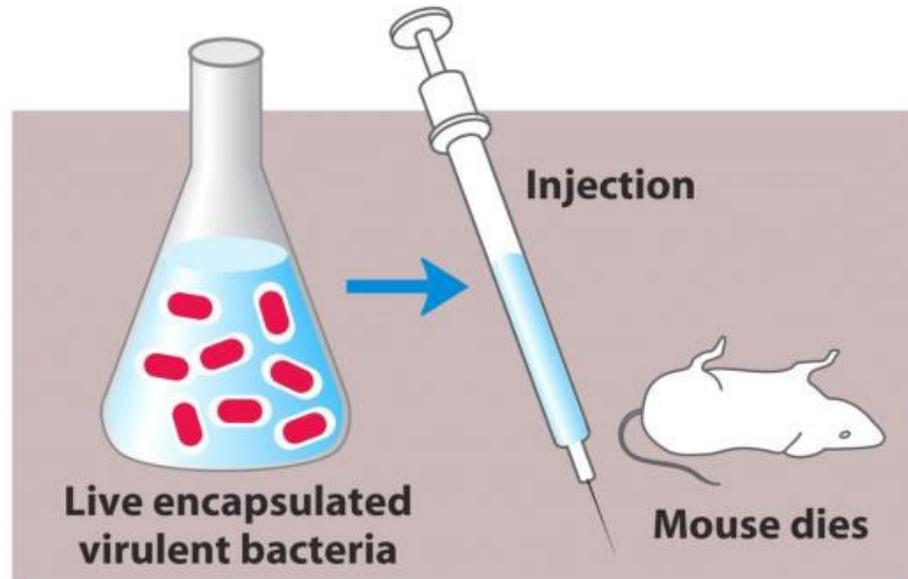
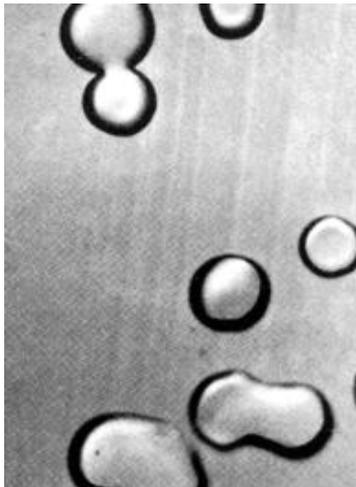
Experimento de Frederick Griffith (1928)

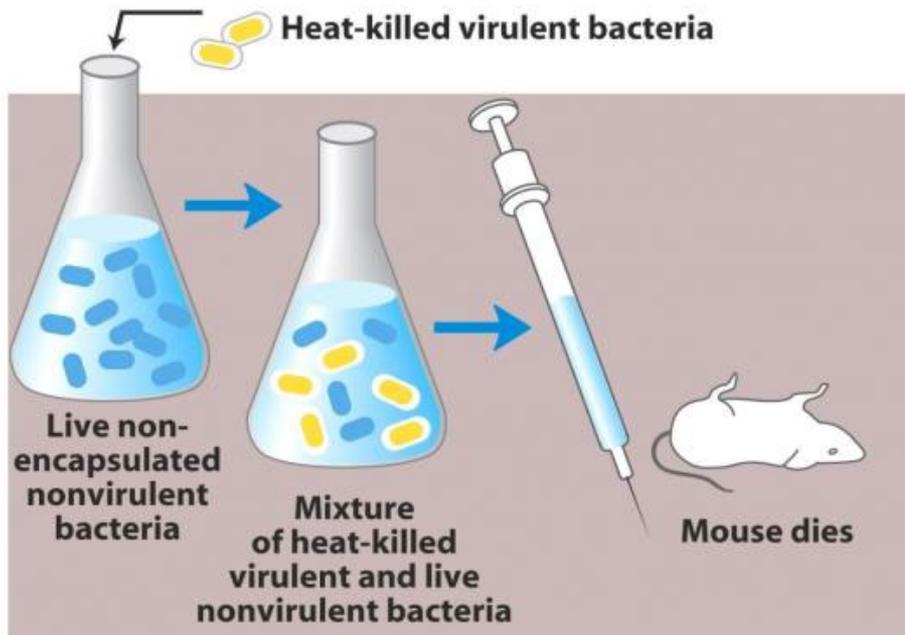
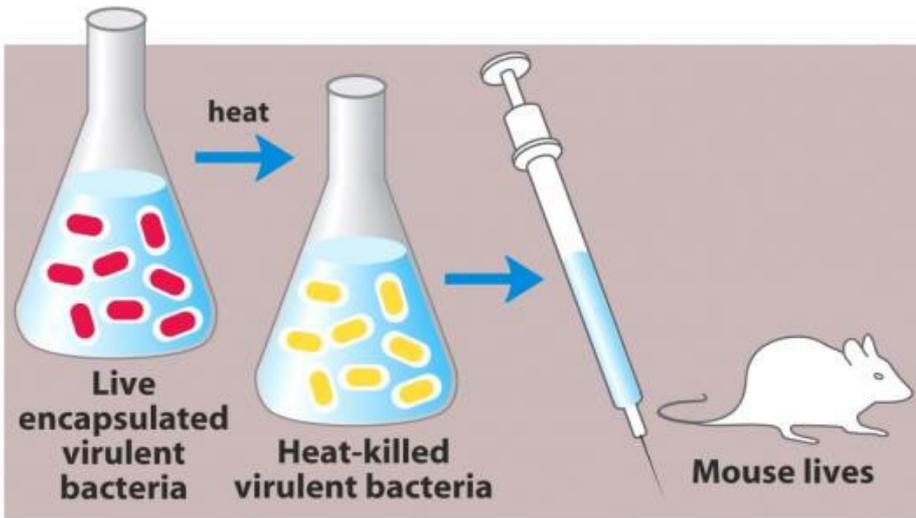
Streptococcus pneumoniae

Não virulenta



Virulenta





Qual é o princípio transformante?

Avery, McLeod and McCarthy (1944)

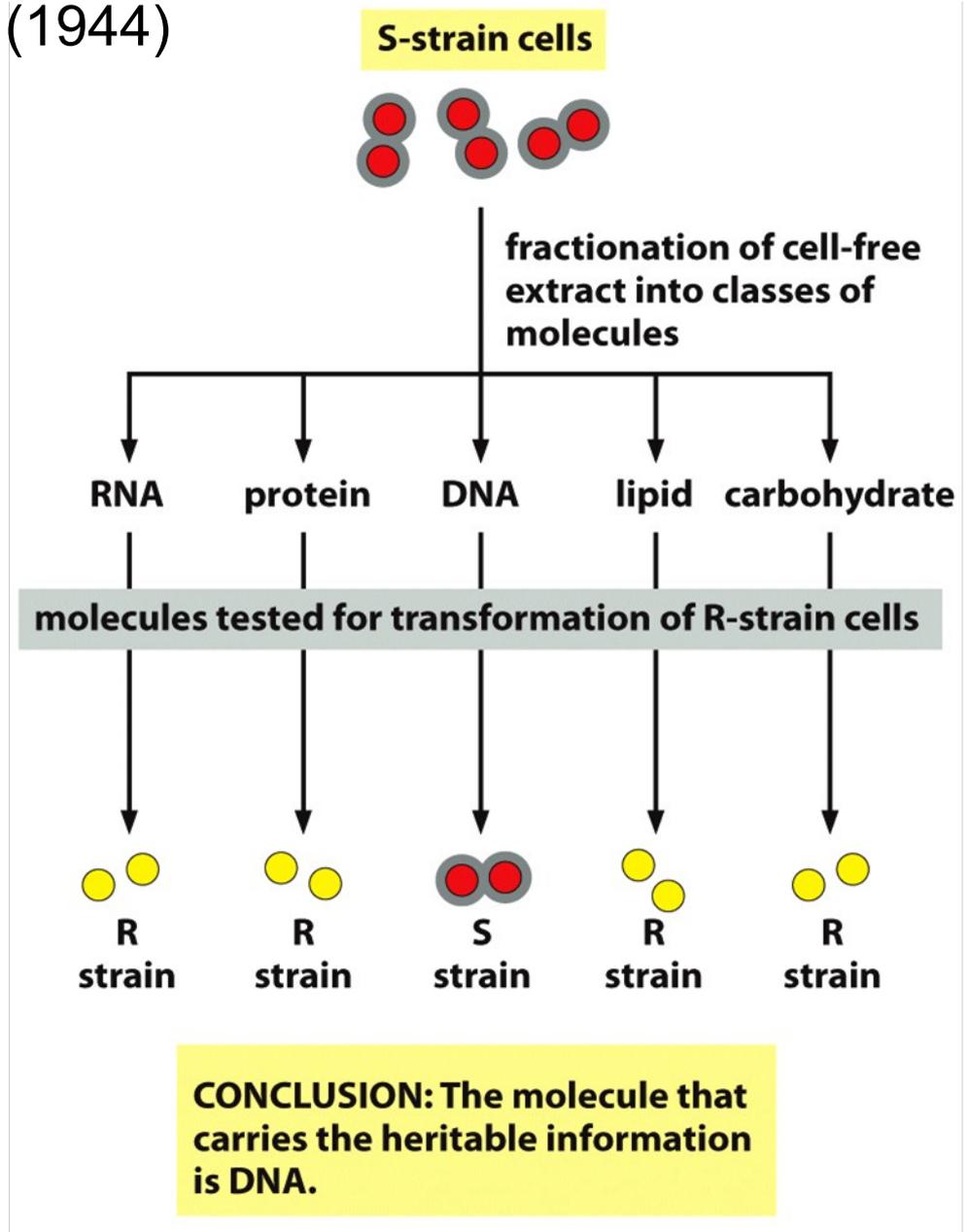
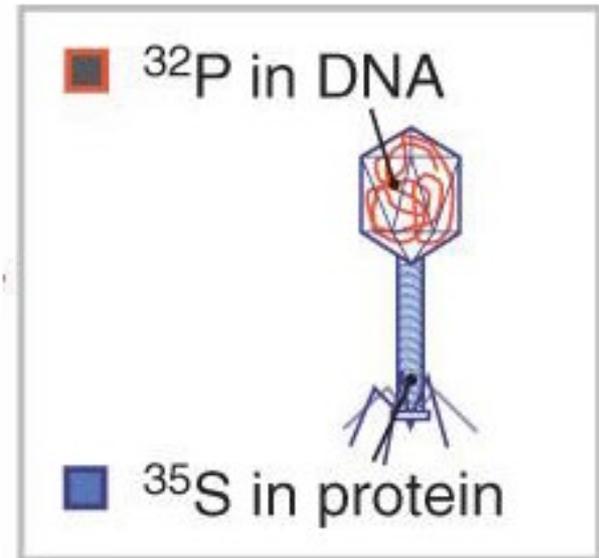
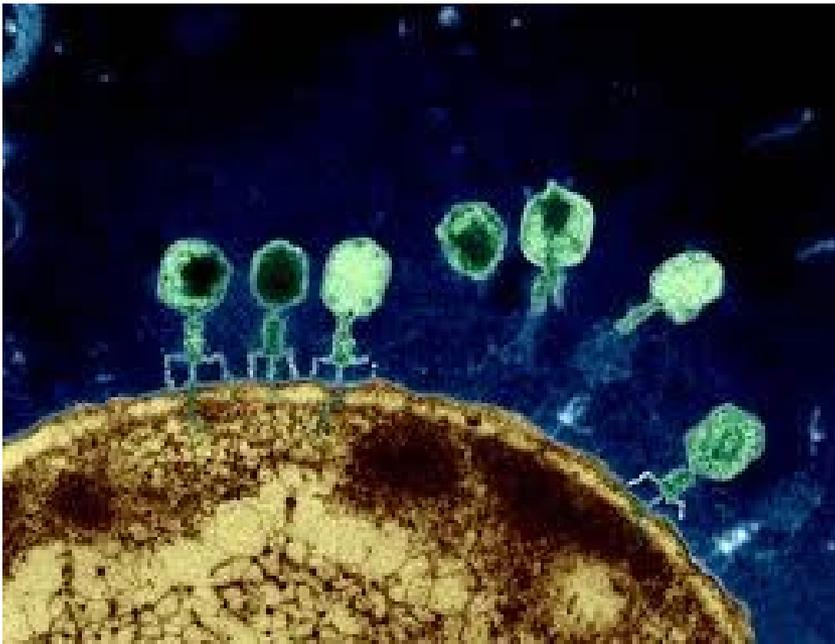


Figure 5-4 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

Hershey-Chase experiment (1952)

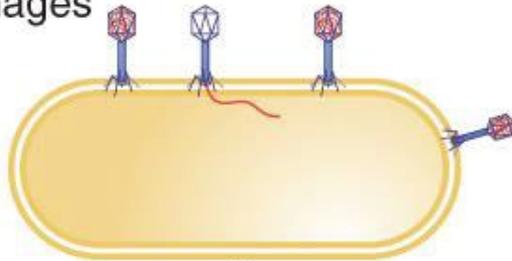


Al Hershey and Martha Chase

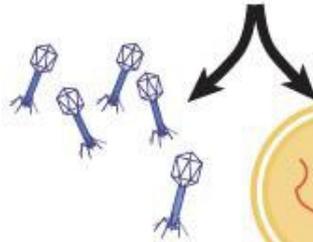


bacteriófago

Infect bacteria with labeled phages



Separate phage coats and infected bacteria

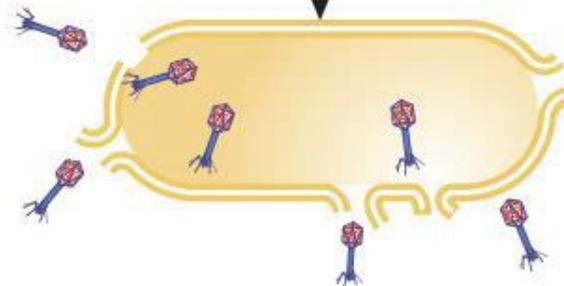


^{35}S label



^{32}P label

Isolate progeny phage particles



of ^{32}P label

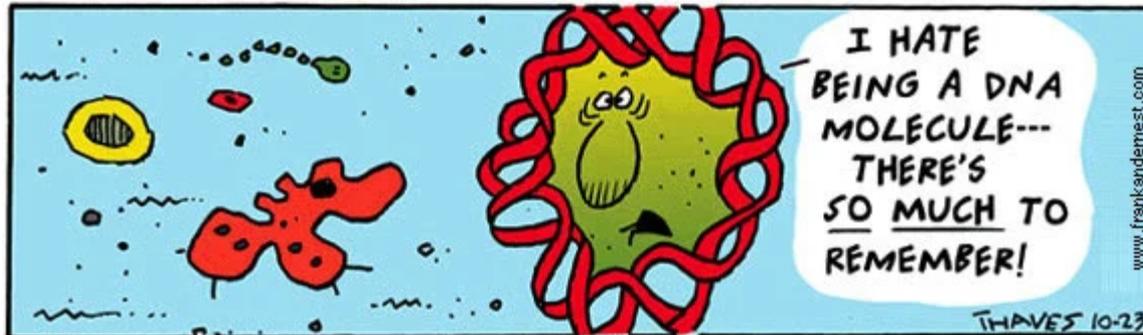
Descoberta do papel genético do DNA: experimentos clássicos

1928- Frederick Griffith: Transformação bacteriana

1944- Avery, McCarty e MacLeod: Identificação do princípio transformador

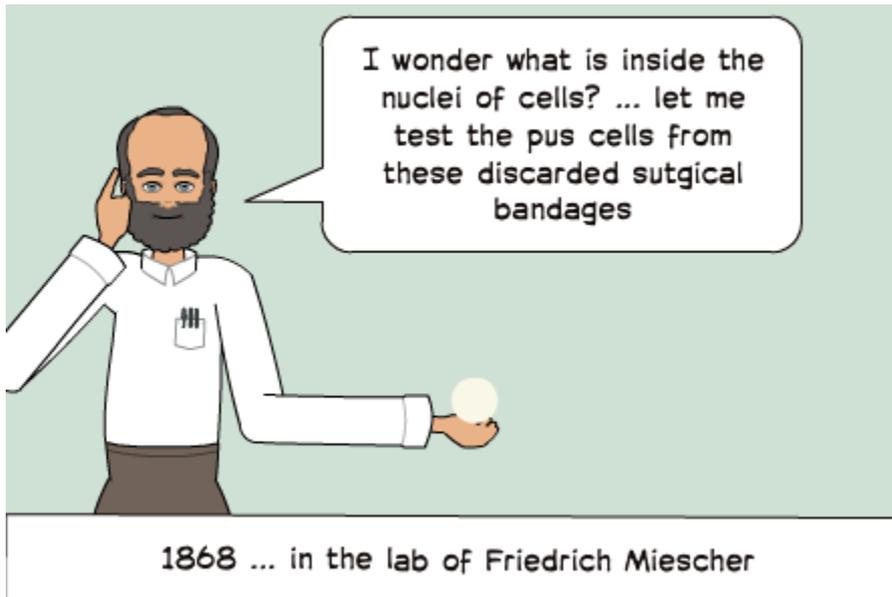
1951- Hershey-Chase: Demonstraram que quando os bacteriófagos infectam as bactérias, o seu DNA (e não as suas proteínas) entra na célula bacteriana hospedeira dando origem a outros bacteriófagos, e portanto constitui o material genético do fago.

Frank and Ernest



© by Thaves. Distributed from www.thecomics.com.

Estrutura dos ácidos nucleicos



Miescher

1-Identificados pela primeira vez por Friedrich Miescher.

2-Foi chamado de ácido nucléico porque foi isolado inicialmente do núcleo de células e tinha caráter ácido.

Ácidos Nucléicos

DNA- ácido desoxirribonucleico:

Encontrado no núcleo da célula e mitocôndria

Carreador da informação genética (exceto para alguns vírus)

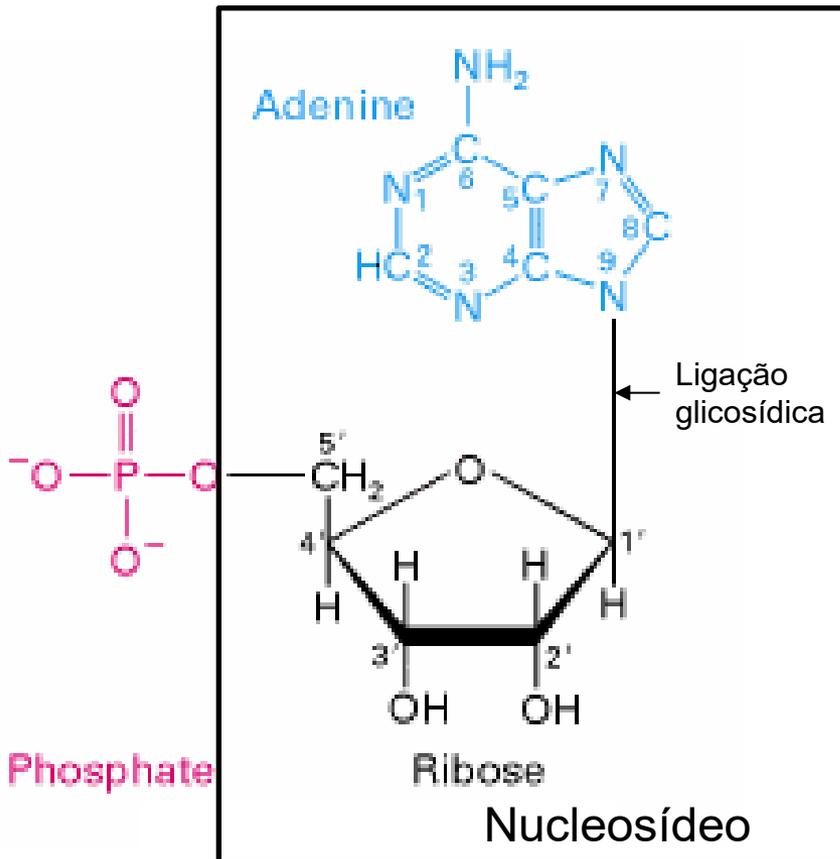
RNA- ácido ribonucleico:

Encontrado tanto no núcleo como no citoplasma

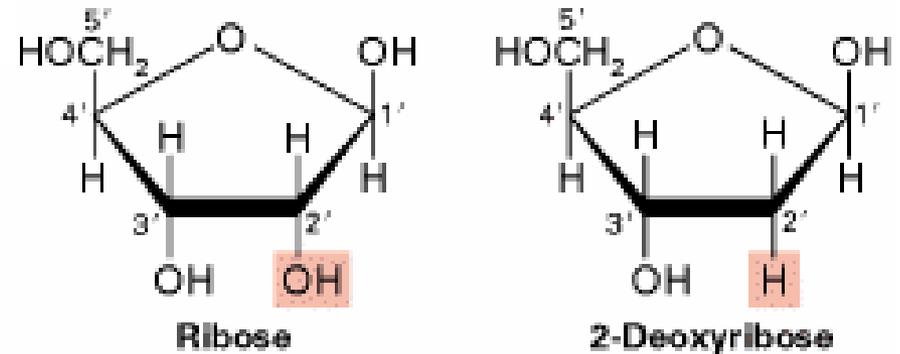
Transfere a informação genética do DNA ao citoplasma onde a informação é utilizada na síntese de proteínas

Os ácidos nucleicos são polímeros de nucleotídeos

Nucleotídeos

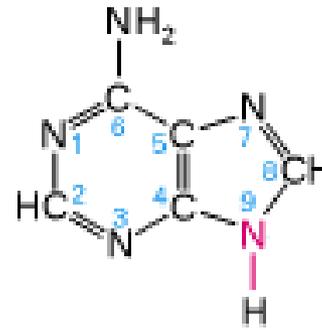


Pentoses



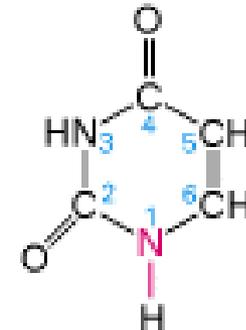
Bases Nitrogenadas

PURINES

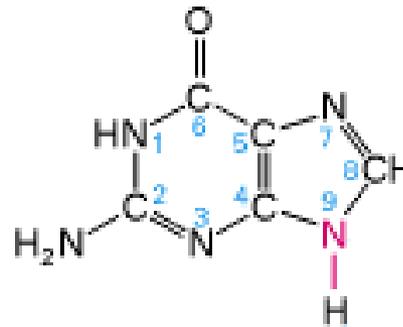


Adenine (A)

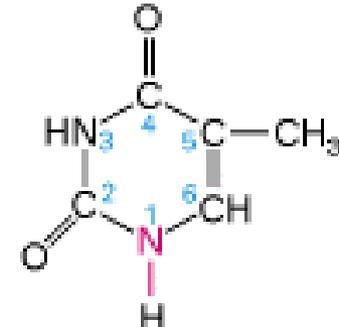
PYRIMIDINES



Uracil (U)



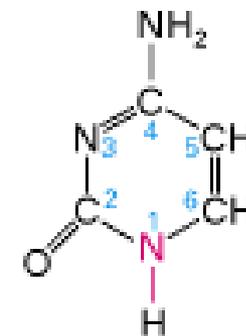
Guanine (G)



Thymine (T)

DNA (G, A, T ou C)

RNA (G, A, U ou C)

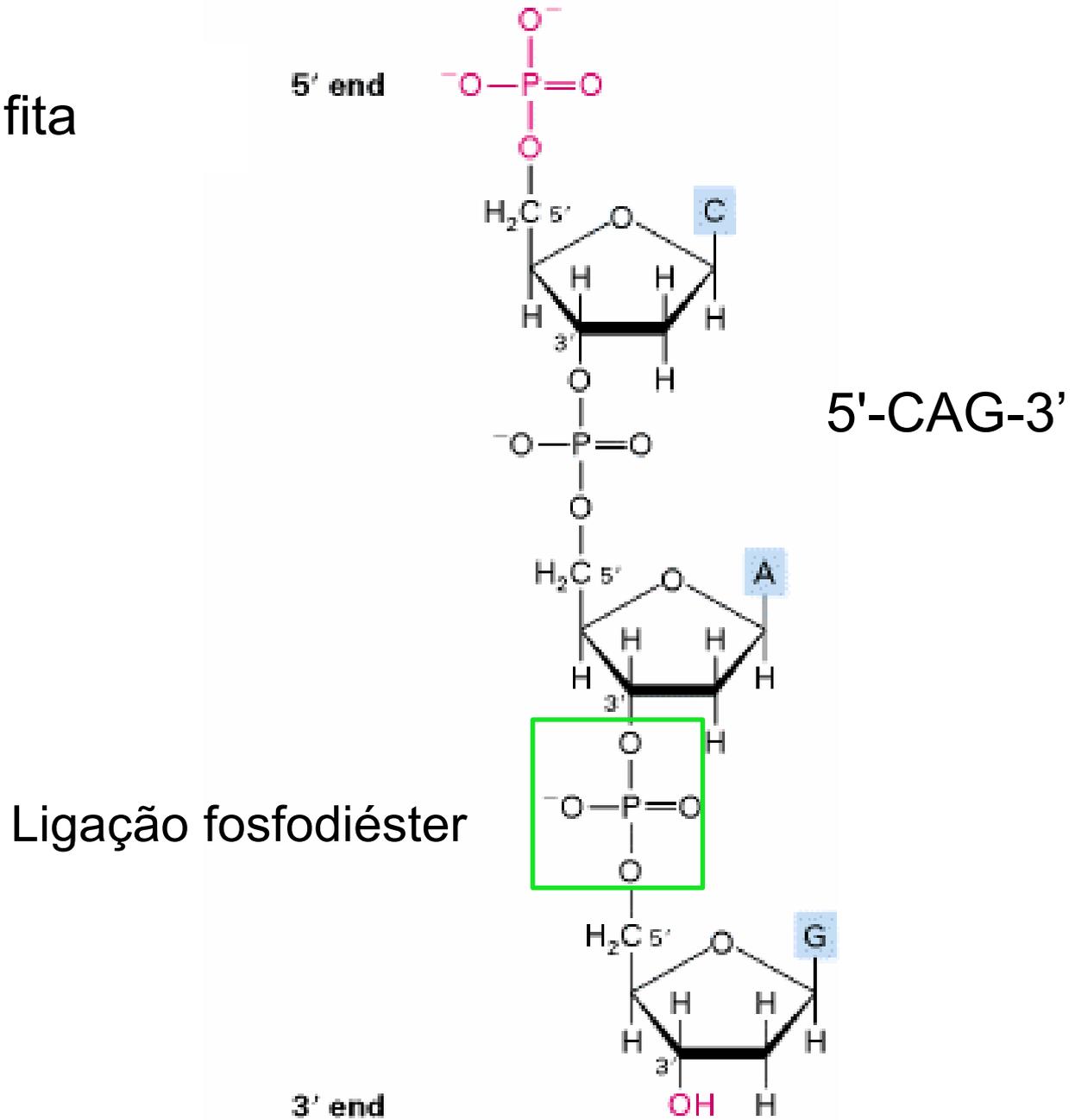


Cytosine (C)

Names of Nucleosides and Nucleotides

Base	Nucleosides	Nucleotides
RNA		
Adenine (A)	Adenosine (A)	Adenosine 5'-monophosphate (AMP)
Guanine (G)	Guanosine (G)	Guanosine 5'-monophosphate (GMP)
Cytosine (C)	Cytidine (C)	Cytidine 5'-monophosphate (CMP)
Uracil (U)	Uridine (U)	Uridine 5'-monophosphate (UMP)
DNA		
Adenine (A)	Deoxyadenosine (A)	Deoxyadenosine 5'-monophosphate (dAMP)
Guanine (G)	Deoxyguanosine (G)	Deoxyguanosine 5'-monophosphate (dGMP)
Cytosine (C)	Deoxycytidine (C)	Deoxycytidine 5'-monophosphate (dCMP)
Thymine (T)	Deoxythymidine (T)	Deoxythymidine 5'-monophosphate (dTMP)

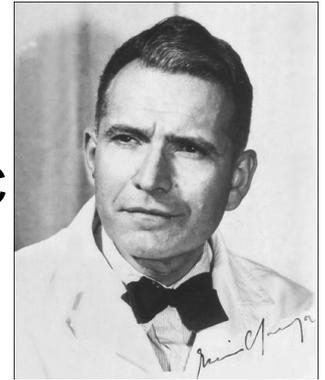
DNA simples fita



Contribuíram para a descoberta da estrutura de dupla-hélice do DNA:

- Regras de Chargaff
- Dados biofísicos (padrões de difração do raio X)
- Modelos estruturais

Regras de Chargaff (1950):



Erwin Chargaff

- Em qualquer DNA a quantidade de A = T e quantidade de G = C
- Composição de bases do DNA varia entre espécies
- DNA isolado de diferentes tecidos da mesma espécie têm a mesma composição de bases

Sylvia S. Mader, Biology, 8th edition, © 2008 The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Chargaff's DNA Data Base Composition in Various Species (%)

Species	A	T	G	C
<i>Homo sapiens</i>	31.0	31.5	19.1	18.4
<i>Drosophila melanogaster</i>	27.3	27.6	22.5	22.5
<i>Zea mays</i>	25.6	25.3	24.5	24.6
<i>Neurospora crassa</i>	23.0	23.3	27.1	26.6
<i>Escherichia coli</i>	24.6	24.3	25.5	25.6
<i>Bacillus subtilis</i>	28.4	29.0	21.0	21.6

Resultados de cristalografia de raio X de Wilkins e Franklin sugeriam estrutura helicoidal do DNA.



Maurice Wilkins



Rosalind Franklin

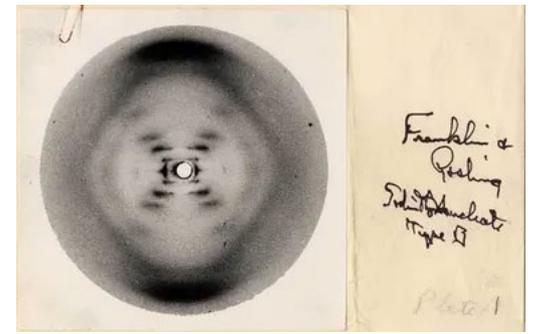
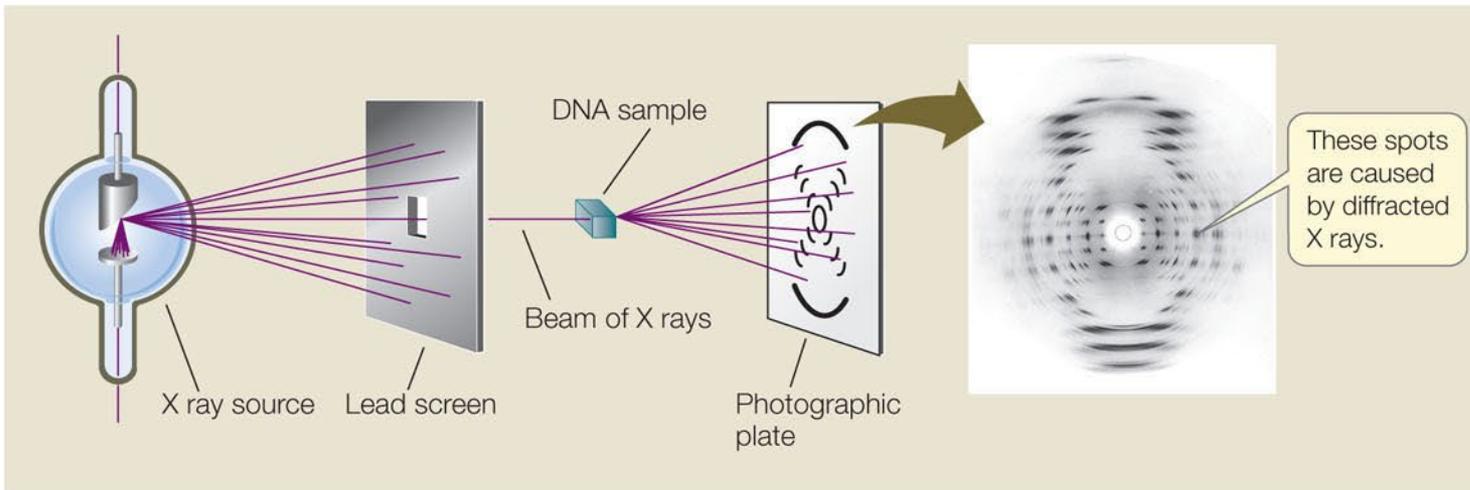
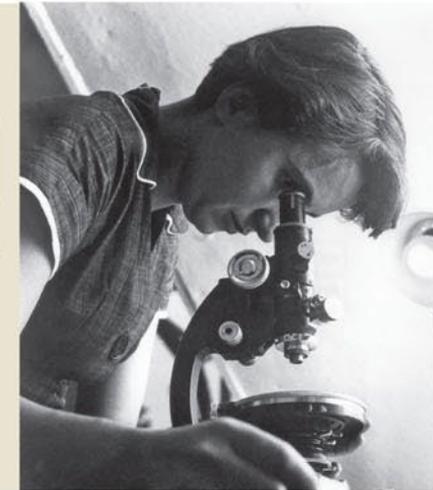


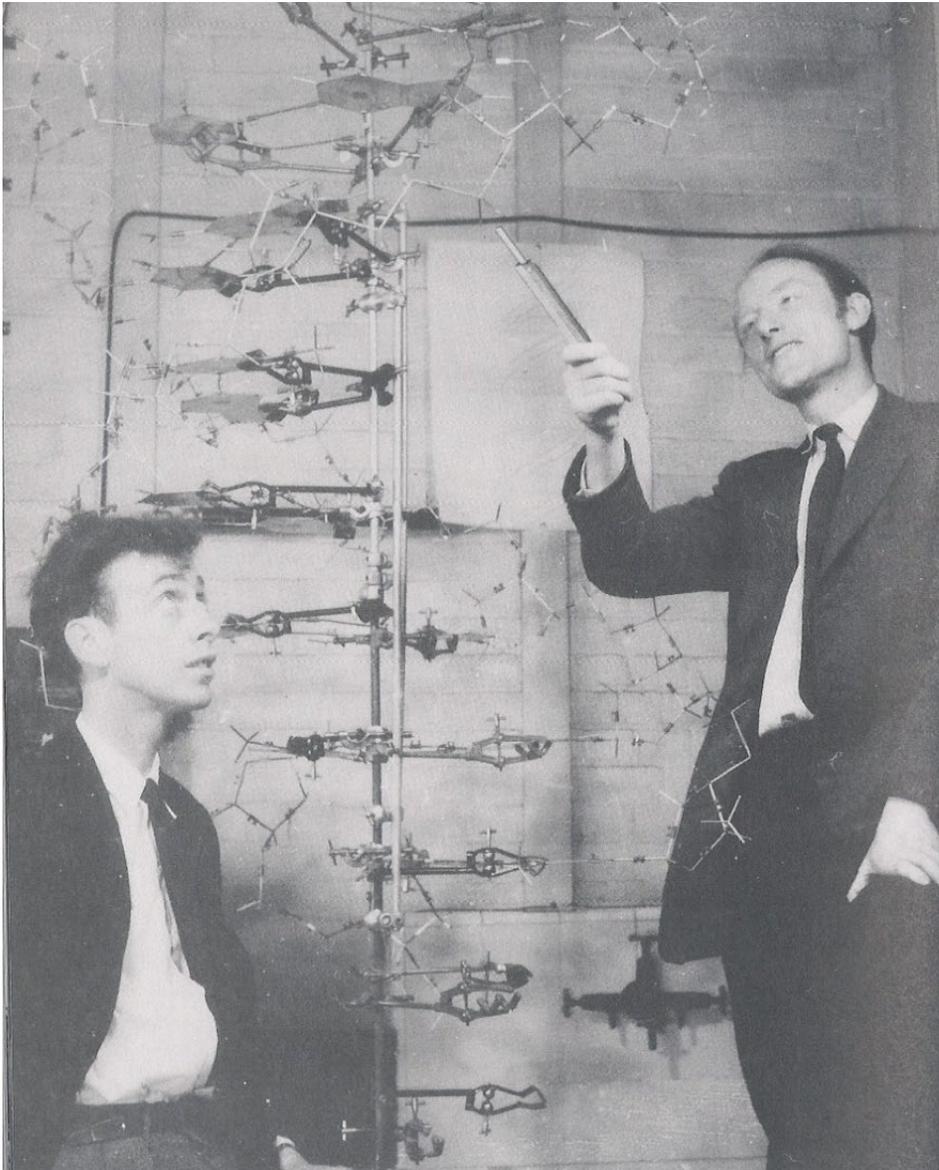
Imagem pioneira do DNA por difração de raios X, que inspirou Crick e Watson

(A)



(B)





Watson & Crick (1953)

Propõem um **modelo para a estrutura tridimensional do DNA** utilizando imagem do DNA por difração de raios X obtidos por Wilkins e Franklin, e informações químicas sobre o DNA.



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962

"for their discoveries concerning the molecular structure of nucleic acids and its significance for information transfer in living material"



**Francis Harry
Compton Crick**
(1916-2004)

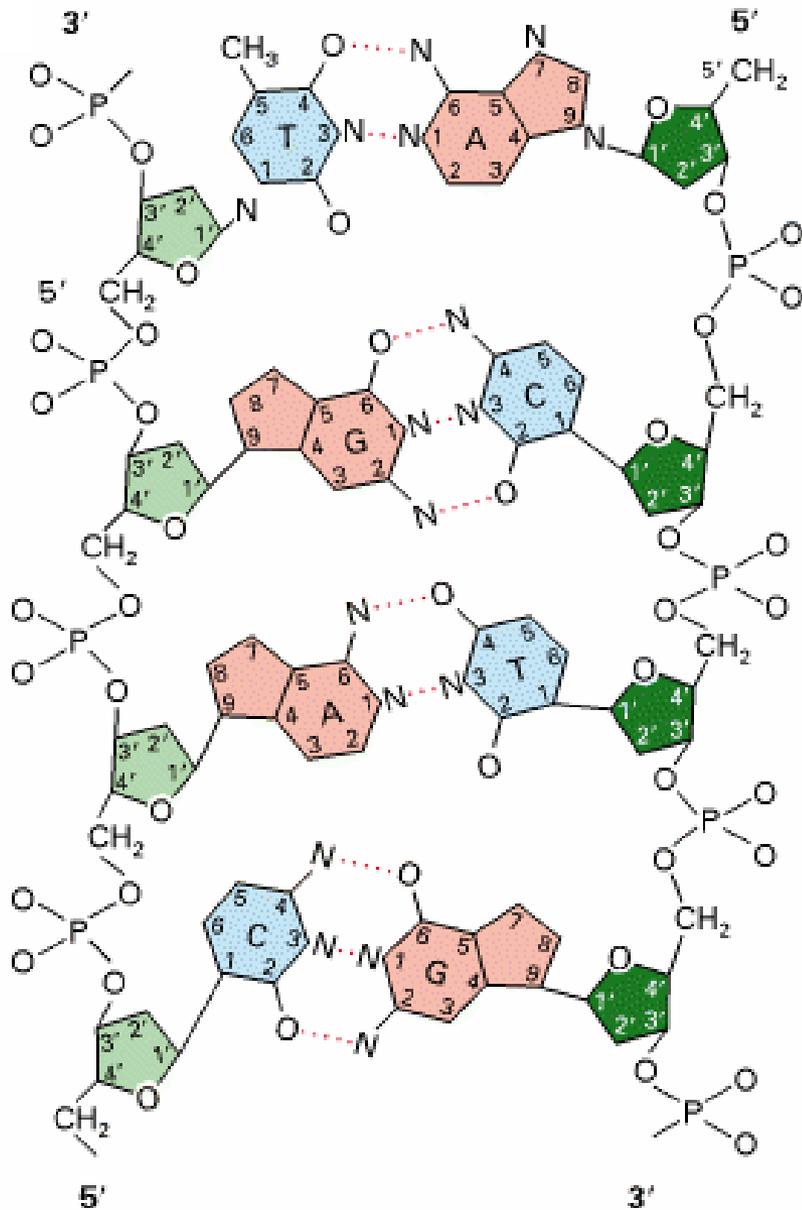


**James Dewey
Watson**
(1928 -)



**Maurice Hugh
Frederick Wilkins**
(1916-2004)

DNA dupla fita



- A orientação das duas fitas é sempre antiparalela;
- Pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas, de maneira complementar (formação dos pares de bases, entre purinas e pirimidinas).

Pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas

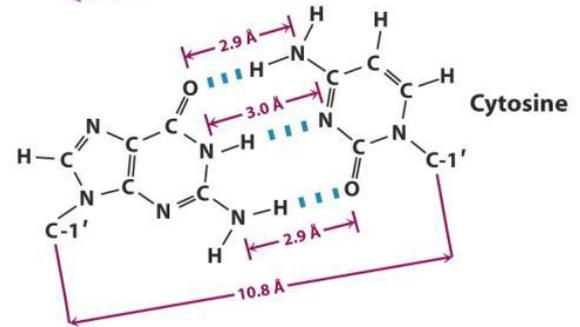
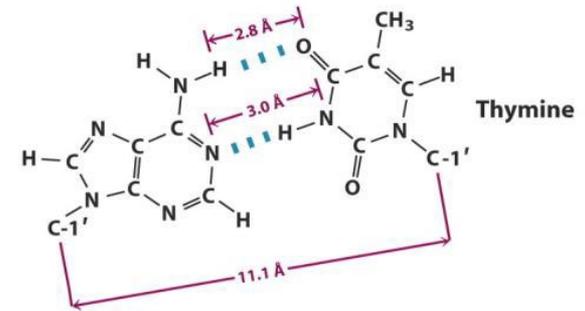
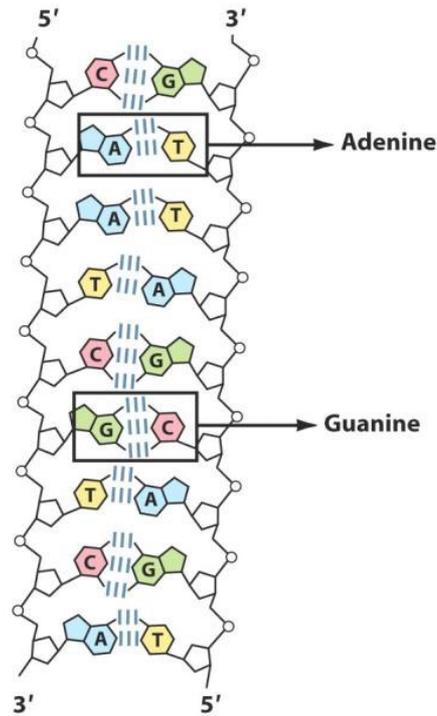
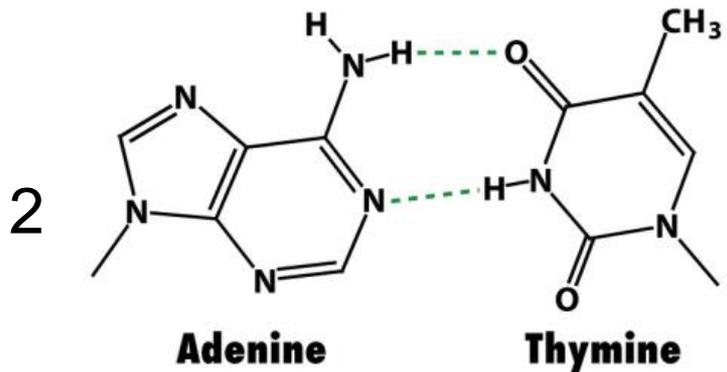
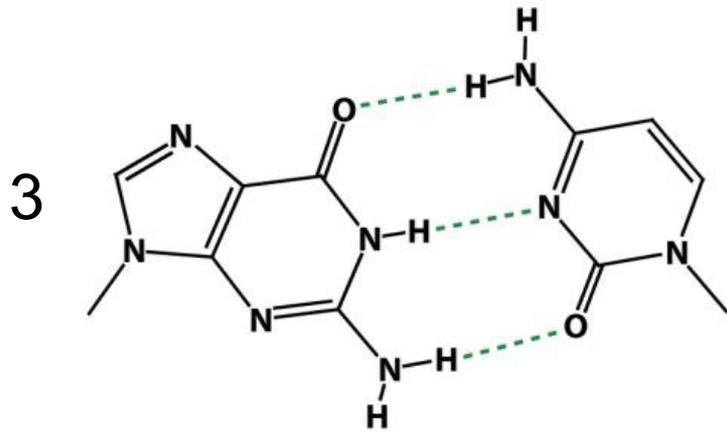
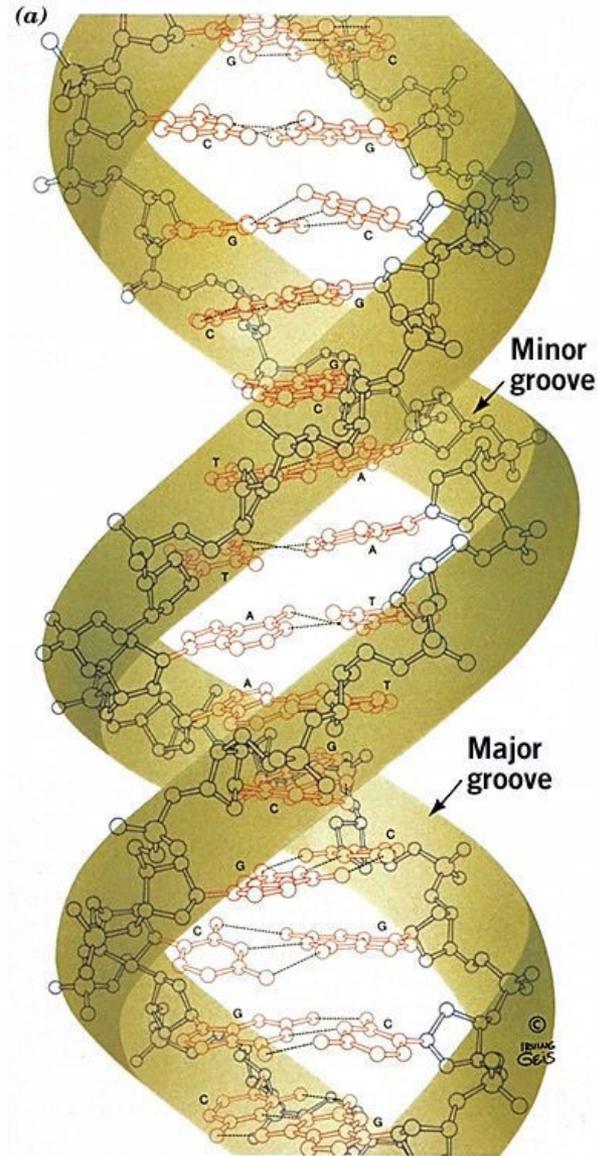
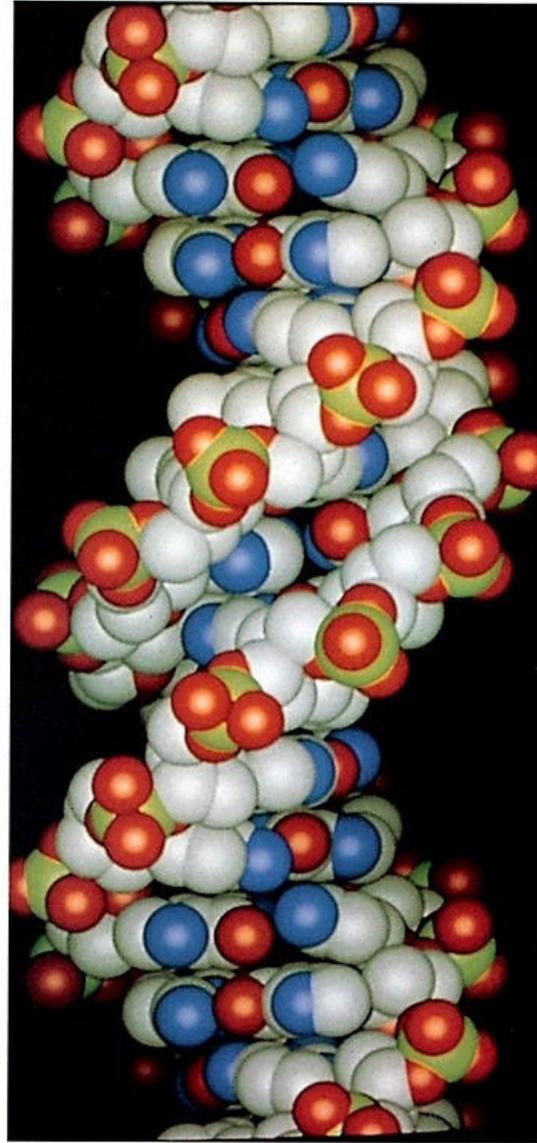


Figure 4-12
Biochemistry, Sixth Edition
© 2007 W. H. Freeman and Company

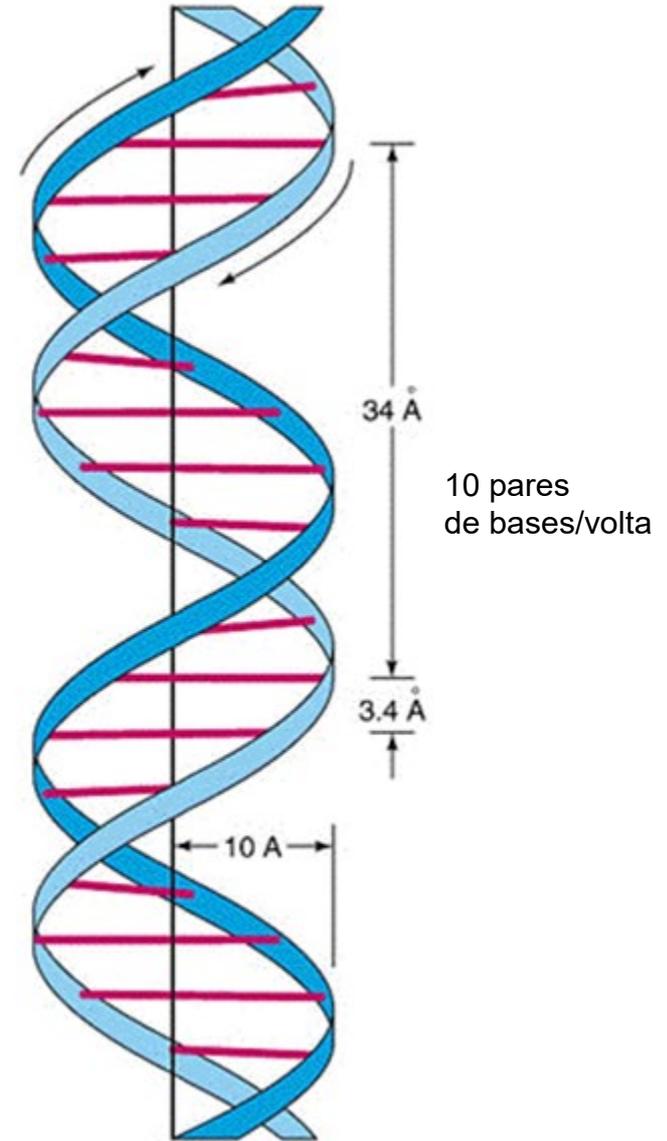
Dupla hélice



Ball and stick model

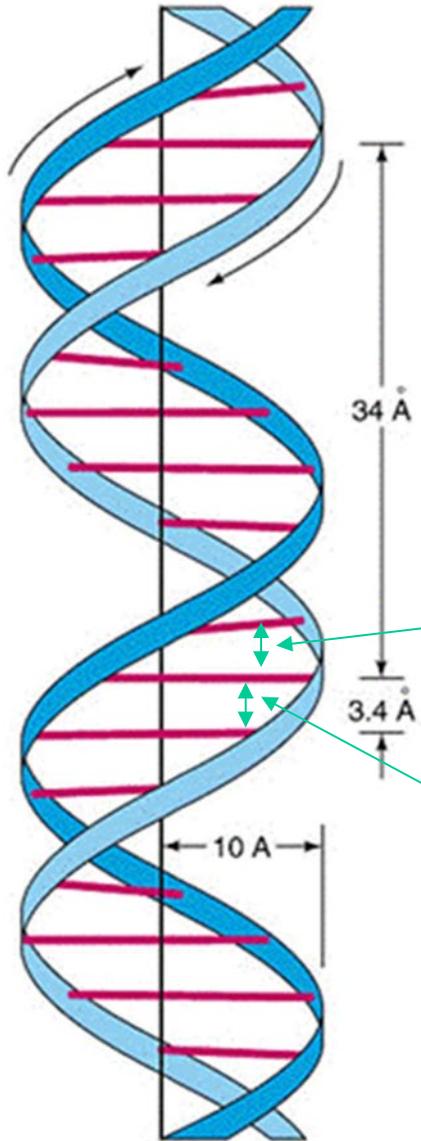


Space-filling model



Dupla-hélice é relativamente regular e simétrica, geometria é praticamente independente da sequência de bases

Forças (não-covalentes) que estabilizam a dupla-hélice



Pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas

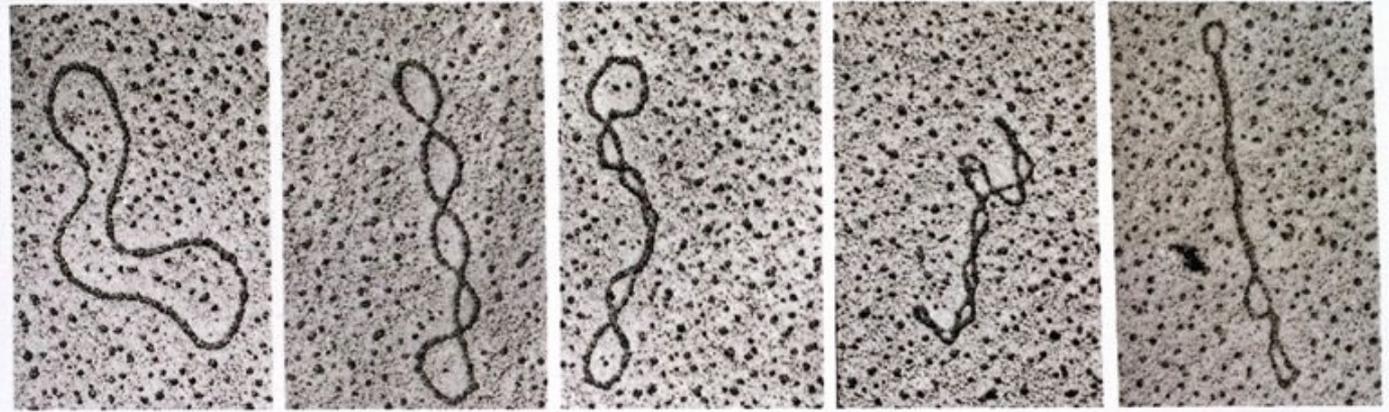
Interações hidrofóbicas resultante do empilhamento dos anéis planares das bases

Interações de atração de Van der Waals entre as bases empilhadas

base stacking
(interações de empilhamento de bases)

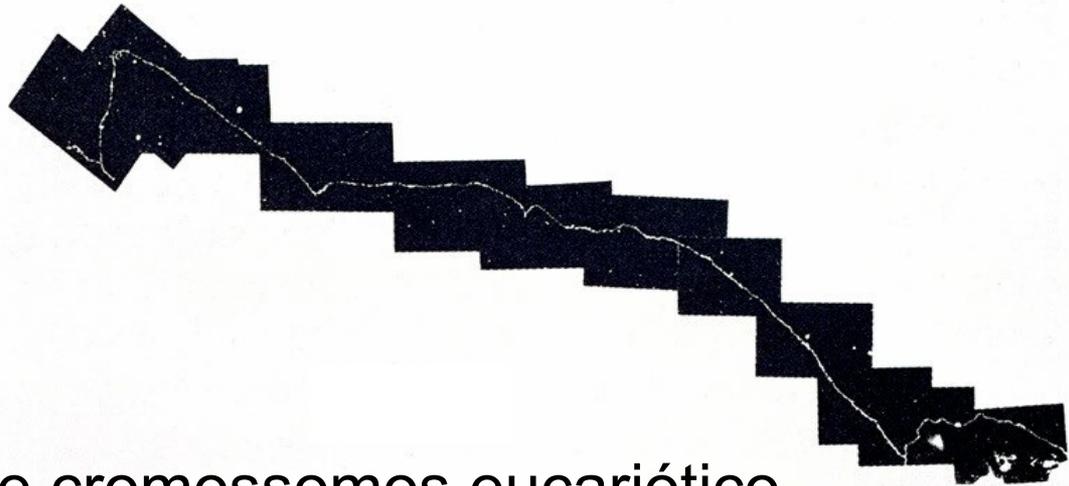
[https://www.pbslearningmedia.org/
resource/biot11.sci.life.gen.structure
ofdna/the-structure-of-
dna/#.W1jCEbhv-Uk](https://www.pbslearningmedia.org/resource/biot11.sci.life.gen.structureofdna/the-structure-of-dna/#.W1jCEbhv-Uk)

DNA circular



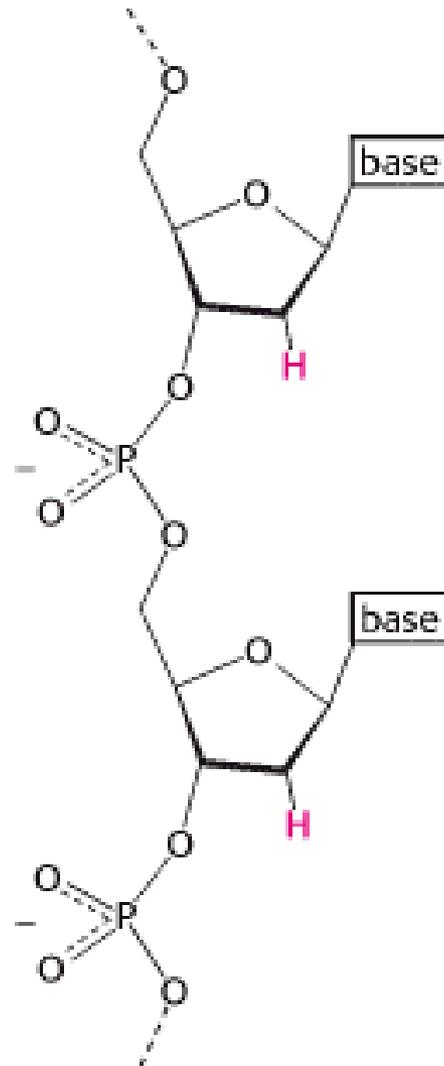
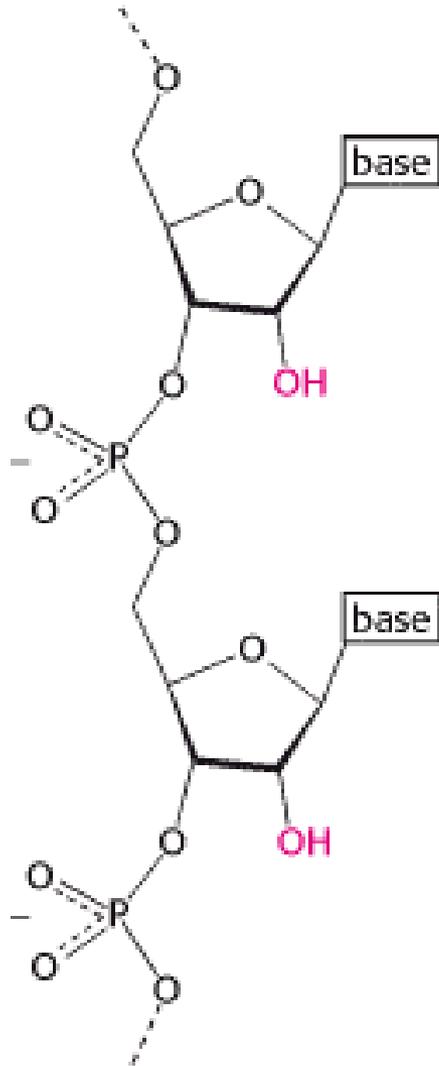
Ex: DNA genômico de procariotos e muitos virais, DNA mitocondrial e de cloroplastos, plasmídeos

DNA linear



Ex: DNA de cromossomos eucariótico

Comparação entre DNA e RNA



(G, A, U ou C)

RNA

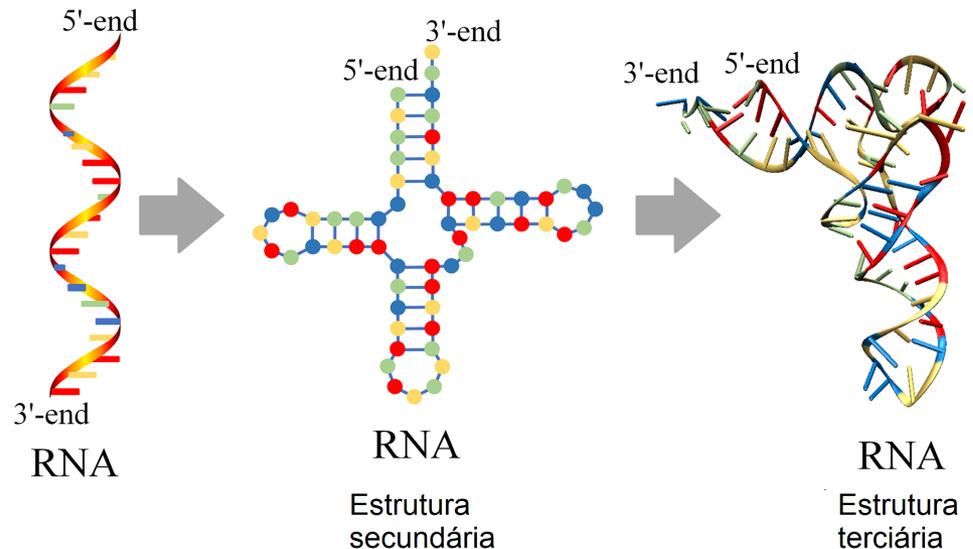
DNA

(G, A, T ou C)

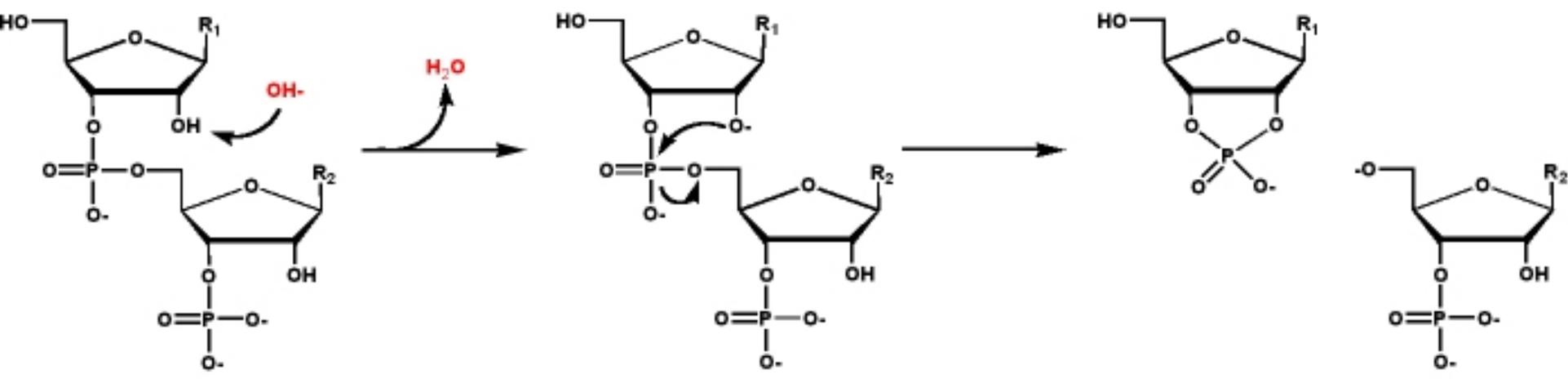
RNA

- Fita simples pode formar estruturas muito mais complexas do que a dupla hélice do DNA
- Estruturas dependem da sequência e do pareamento entre bases na mesma fita
- Funções diferentes para estruturas diferentes!

Exemplo:
RNA transportador (tRNA)



A presença do grupo OH no C2' torna o RNA suscetível à **hidrólise alcalina**



O RNA é mais reativo e menos estável em condições alcalinas que o DNA

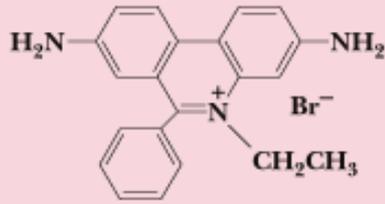
Propriedades físico-químicas do DNA

Agentes intercalantes de DNA

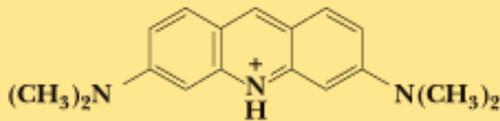
B-DNA before intercalation



Intercalating agents



Ethidium bromide
or

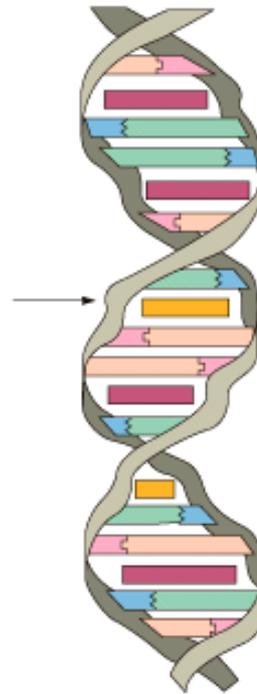


Acridine orange
or



Actinomycin D

B-DNA after intercalation



A intercalação: modo de ligação especial em que a porção aromática plana de uma pequena molécula é inserida entre um par de pares de bases

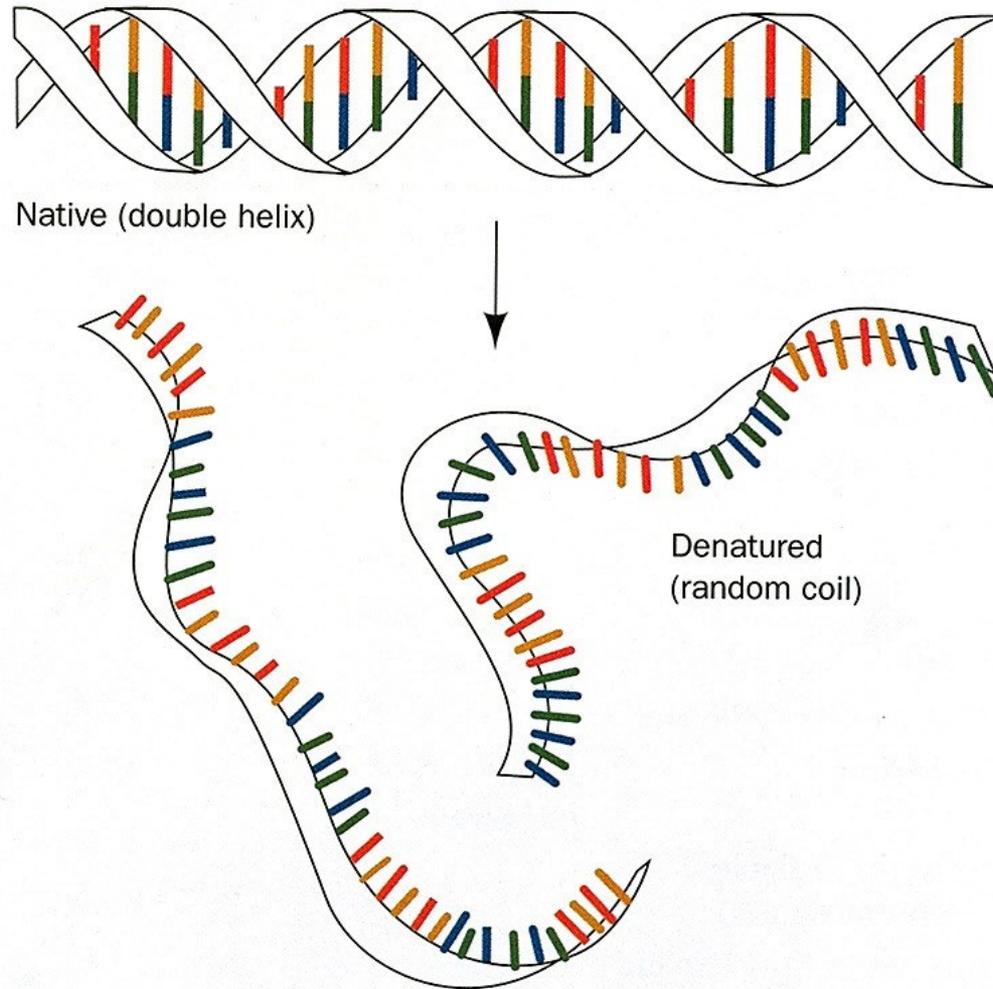
Utilizados na detecção de DNA

Causam mutações

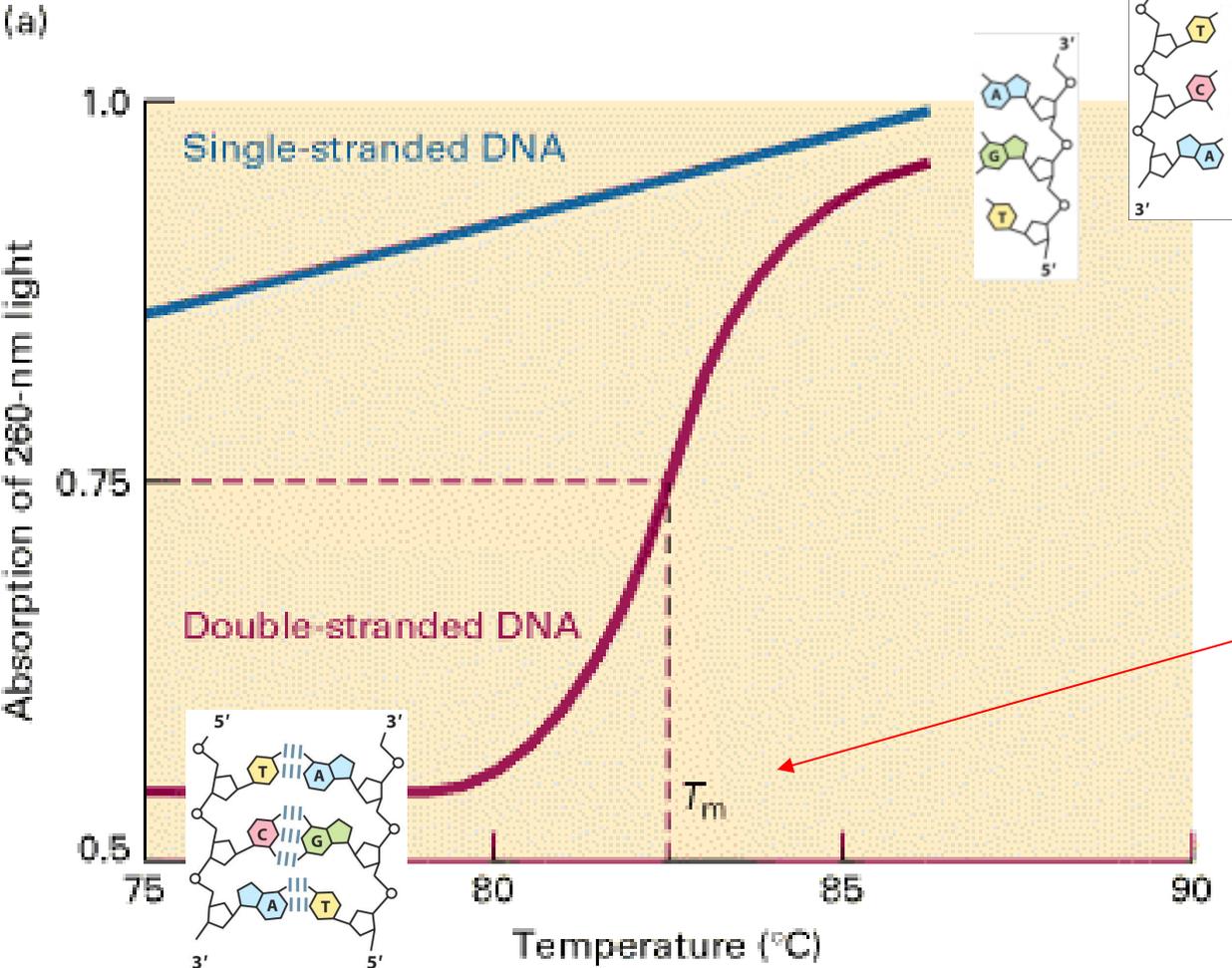
Actinomicina D:
Inibe transcrição (em baixas concentrações)
Inibe replicação (em altas concentrações)

<https://pdb101.rcsb.org/motm/160>

DNA dupla fita pode sofrer desnaturação



A desnaturação da dupla fita de DNA pode ser monitorada através da medida da absorção de luz UV a 260nm



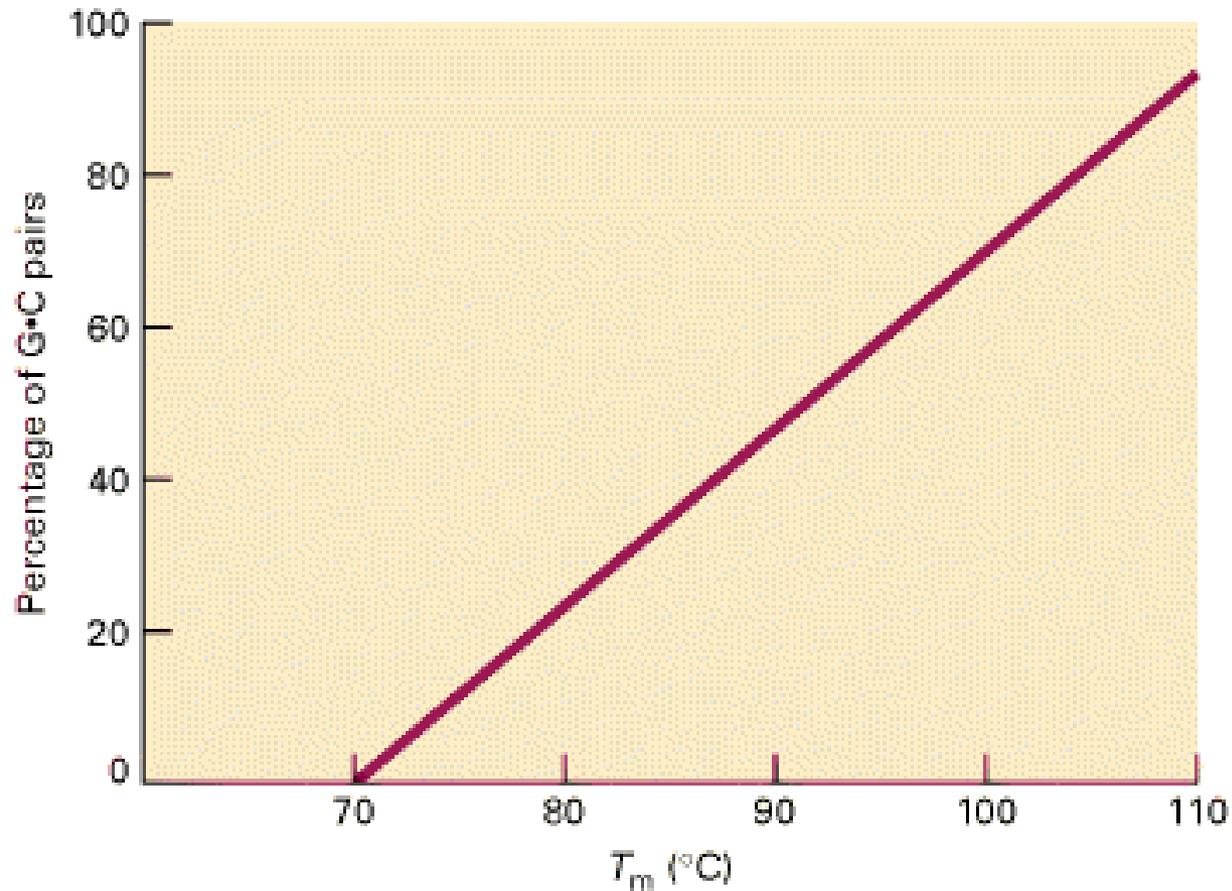
Bases absorvem luz UV e estão mais expostas no DNA de fita simples.

T_m = melting temperature (50% da molécula de DNA está desnaturada)

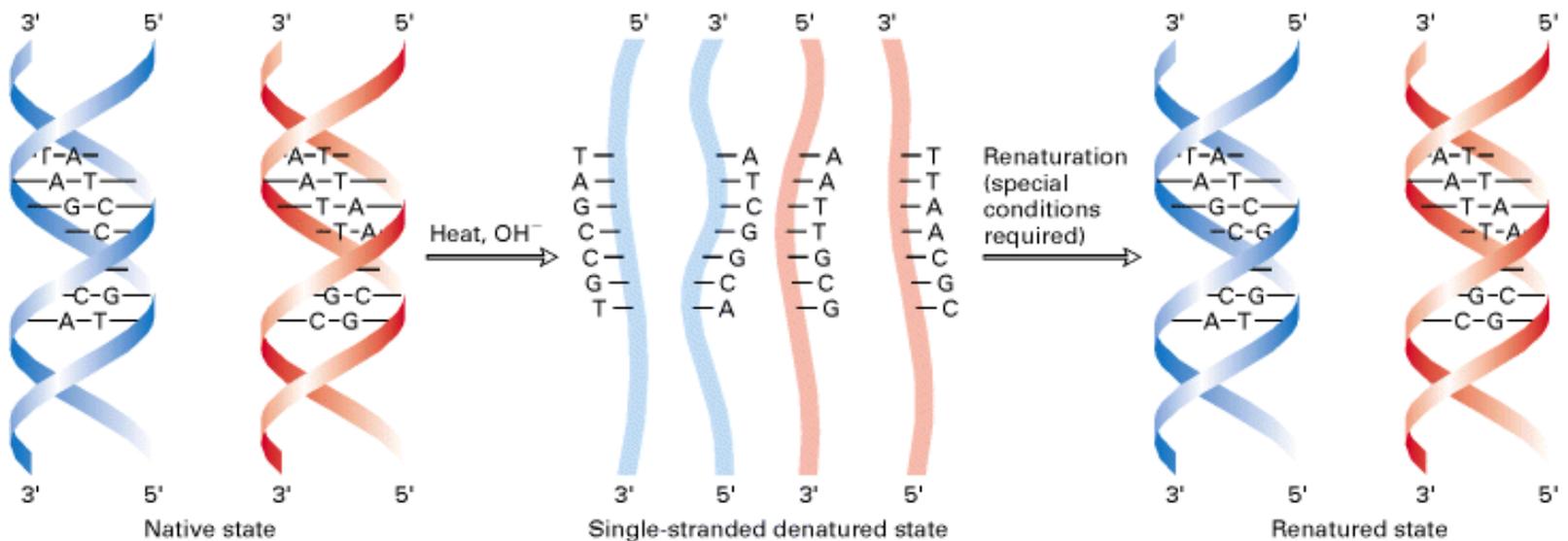
T_m varia com a composição do DNA (% G+C)

T_m é distinta para cada sequência de DNA

(b)



DNA dupla fita pode sofrer desnaturação e renaturação (ou hibridização)



A propriedade da desnaturação da dupla fita é importante na função do DNA: estoque e transferência da informação genética