

# QBQ 136 Biologia Molecular

## Estrutura e Função de Ácidos Nucléicos



细胞生物学乐趣无穷

TTCGAGCGACCTAACCTATAG

A Biologia Molecular é a área da biologia que estuda a composição, a estrutura e as interações das moléculas (como os ácidos nucleicos e as proteínas) que realizam os processos biológicos essenciais para o funcionamento e a manutenção das células.

# Fluxo da Informação Gênica

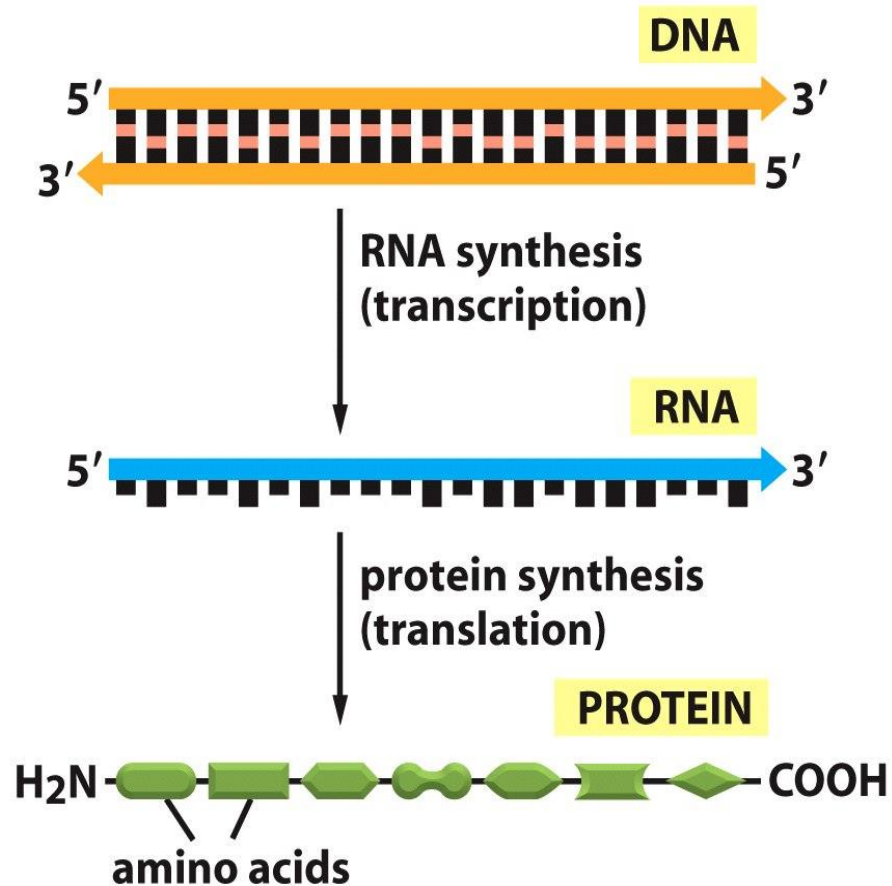


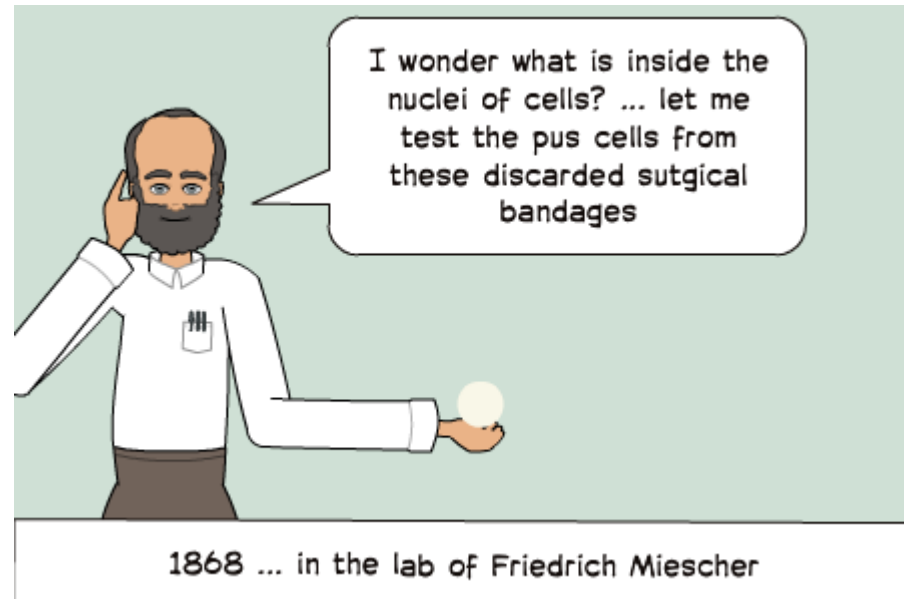
Figure 6-2 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

# Ácidos nucléicos: história

- 1-Identificados pela primeira vez por Friedrich Miescher (em ~1869).
- 2-Foi chamado de ácido nucléico porque foi isolado inicialmente do núcleo de células e era ácido.
- 3-Observou-se que eram ricos em grupos fosfato (além de N, O, C e H, normalmente presentes em compostos orgânicos)
- 4-Inicialmente não se acreditava que seria o material genético (as proteínas apresentavam maior complexidade).



*Miescher*



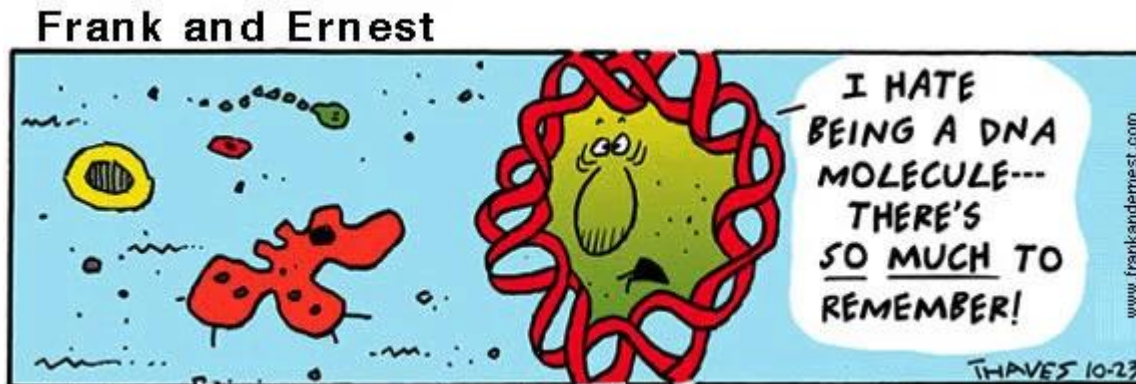
# Descoberta do papel genético do DNA: experimentos clássicos

1928- Frederick Griffith: Transformação bacteriana

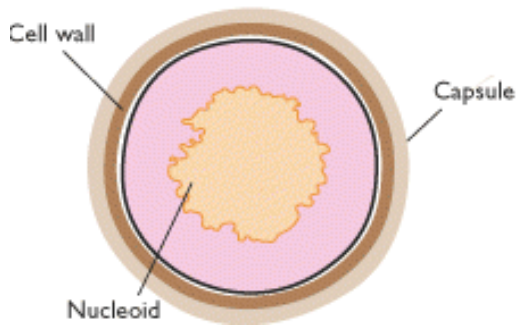
1944- Avery, McCarty e MacLeod: Identificação do princípio transformador

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.

Erwin Chargaff, James Watson, Francis Crick e Rosalind Franklin, levaram à descoberta da estrutura do DNA, esclarecendo como o DNA pode codificar grandes quantidades de informação.



# Frederick Griffith (1928)



*Streptococcus pneumoniae*  
(bactéria que causa pneumonia)

Qual é o princípio transformante?

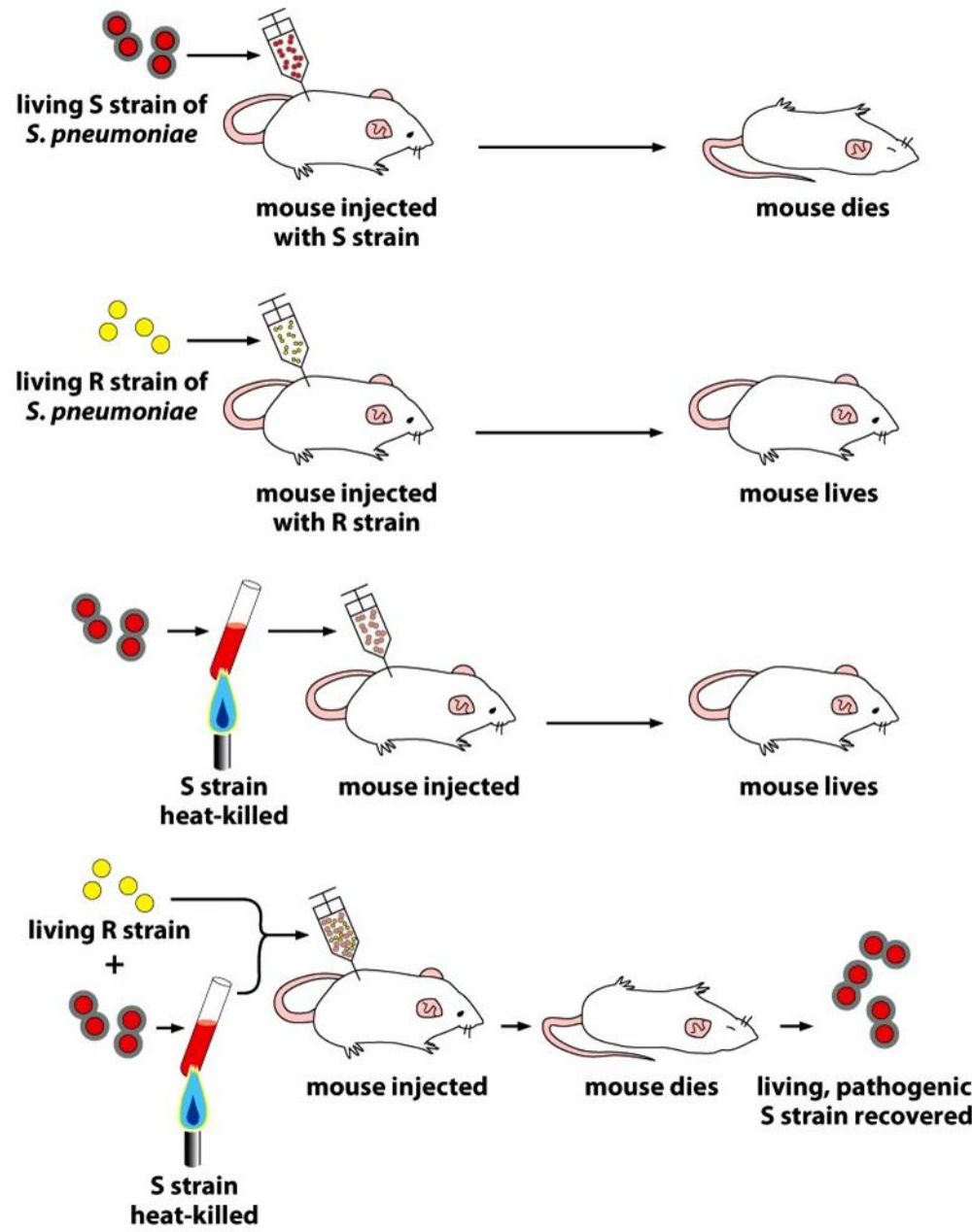
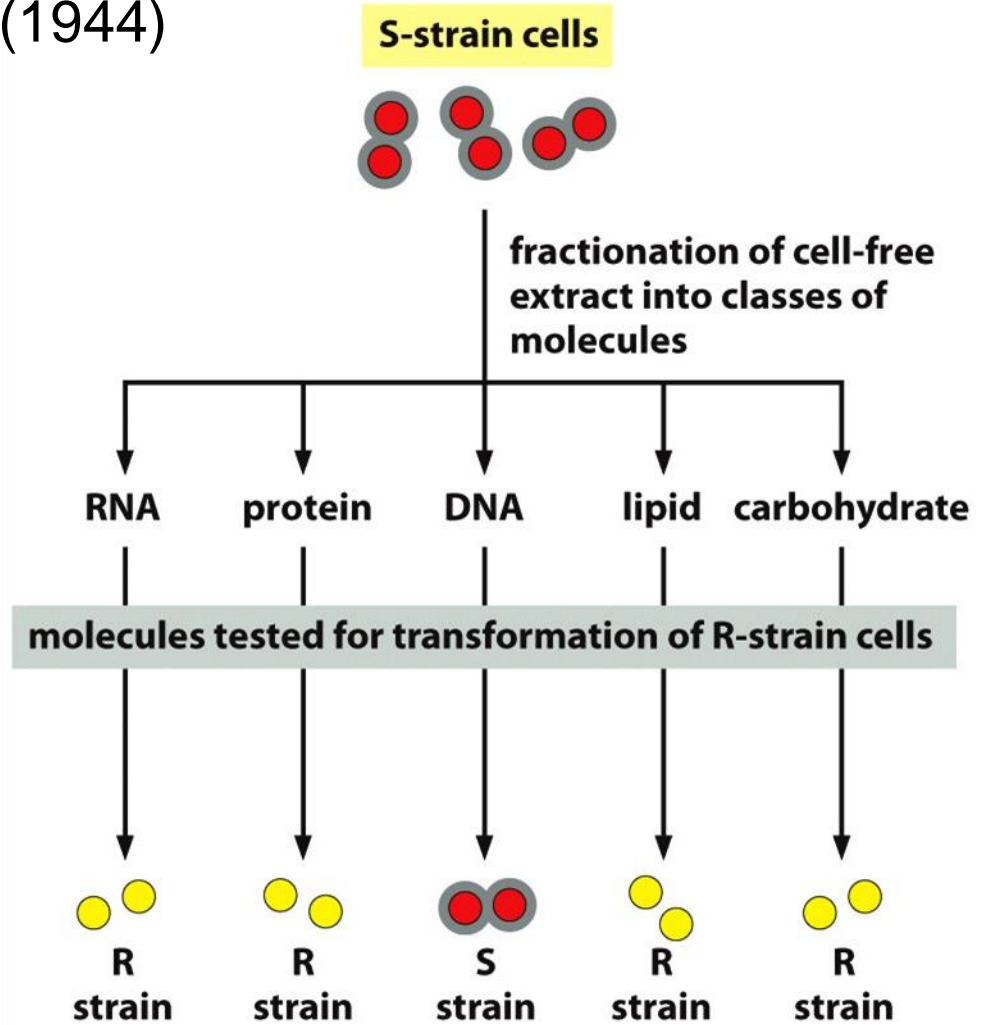


Figure 5-3 *Essential Cell Biology* (© Garland Science 2010)

# Avery, McLeod and McCarthy (1944)



**CONCLUSION: The molecule that carries the heritable information is DNA.**

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

# Ácidos Nucléicos

## **DNA- ácido desoxirribonucleico:**

Encontrado no núcleo da célula e mitocôndria

Carreador da informação genética (exceto para alguns vírus)

## **RNA- ácido ribonucleico:**

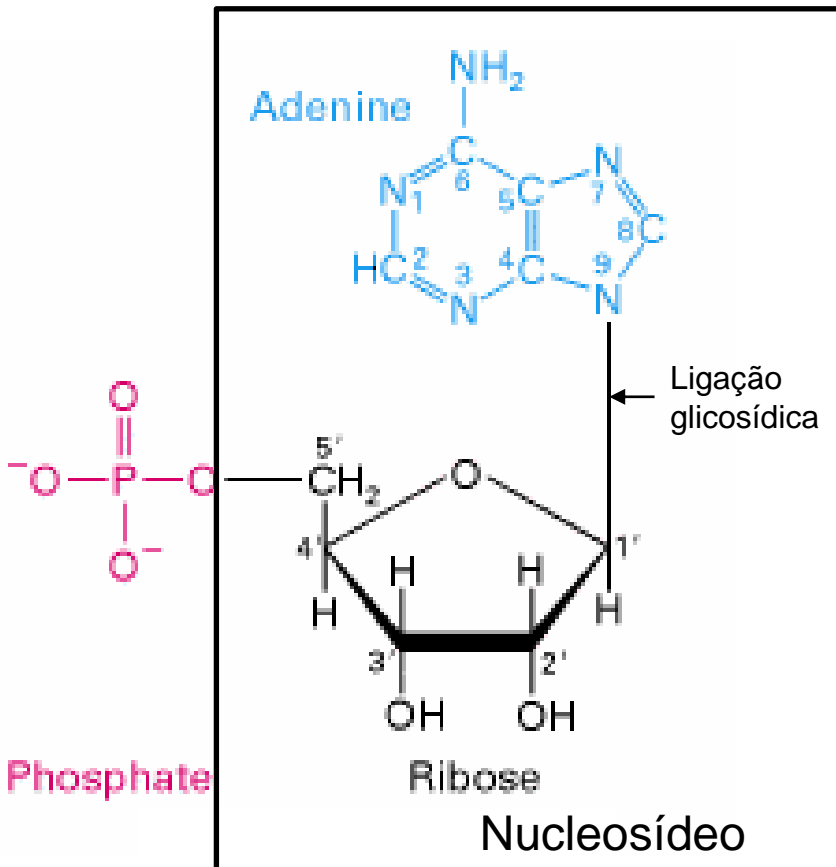
Encontrado tanto no núcleo como no citoplasma

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

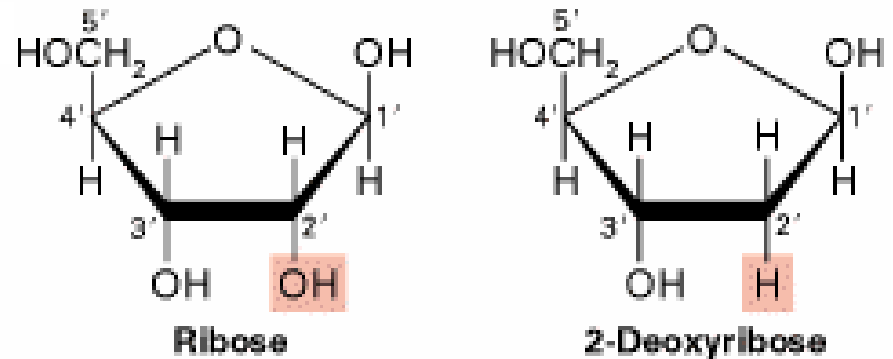


# Os ácidos nucleicos são polímeros de nucleotídeos

## Nucleotídeos



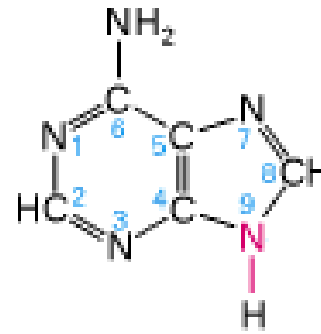
## Pentoses



O índice (') serve para diferenciar os átomos da pentose e da base nitrogenada

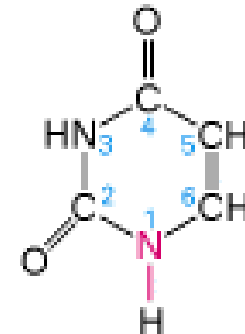
# Bases Nitrogenadas

## PURINES

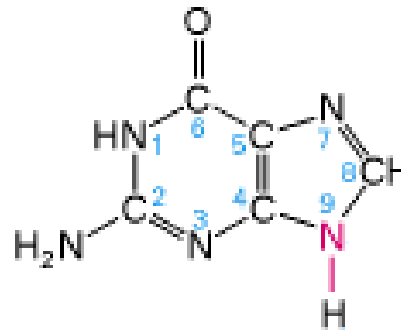


Adenine (A)

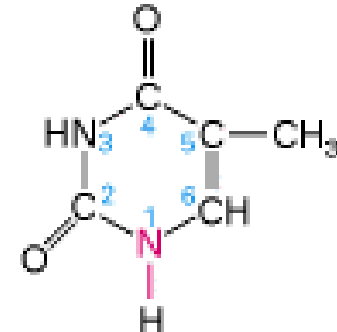
## PYRIMIDINES



Uracil (U)



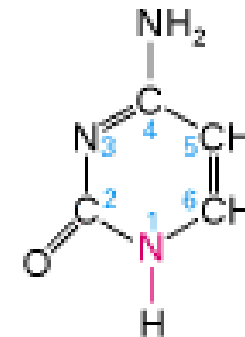
Guanine (G)



Thymine (T)

DNA (G, A, T ou C)

RNA (G, A, U ou C)

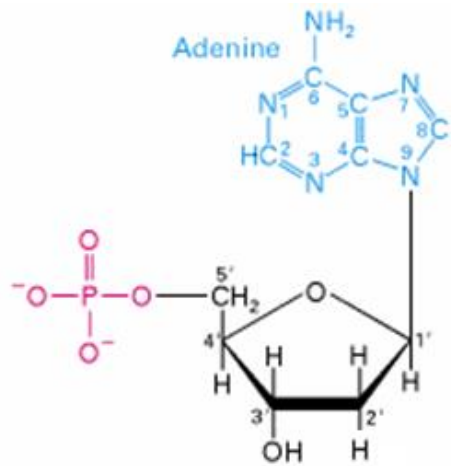


Cytosine (C)

# Nucleotídeos utilizados para a síntese de:

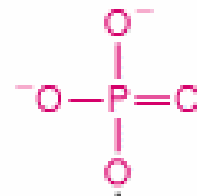
DNA: desoxiribonucleotídeos:	dATP
	dTTP
	dCTP
	dGTP

RNA: ribonucleotídeos:	rATP	ou	ATP
	rUTP	ou	UTP
	rCTP	ou	CTP
	rGTP	ou	GTP

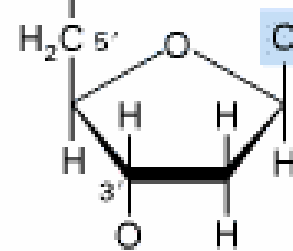


Ligação fosfodiéster

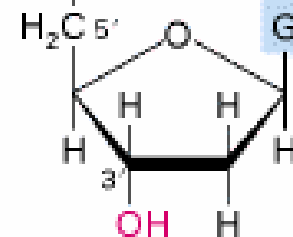
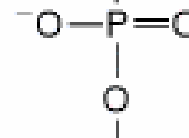
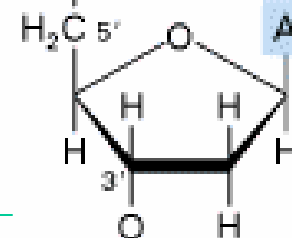
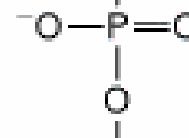
5' end



DNA simples fita



5'-CAG-3'



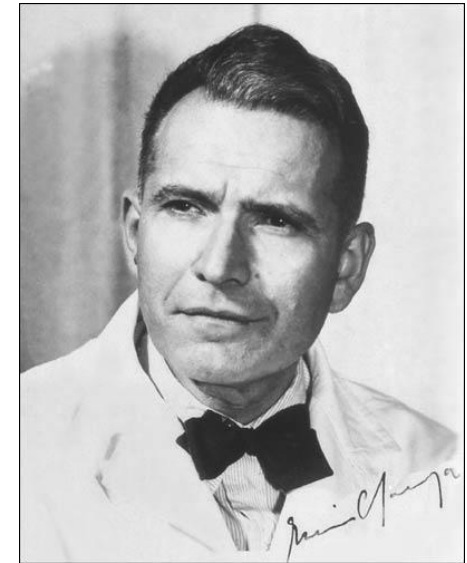
3' end

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

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

Composições de bases foram determinadas experimentalmente para vários organismos:

<u>ESPÉCIE</u>	<u>A:T</u>	<u>G:C</u>	<u>A:G</u>
Homem	1.00	1.00	1.56
Salmão	1.02	1.02	1.43
Trigo	1.00	0.97	1.22
Levedura	1.03	1.02	1.67
<i>Escherichia coli</i>	1.09	0.99	1.05
<i>Serratia marcescens</i>	0.95	0.86	0.70



Erwin Chargaff

## Regras de Chargaff (1950):

- Composição de bases do DNA (%)
  - invariável entre indivíduos da mesma espécie
- Em todos os DNAs:
  - A = T
  - G = C

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



Maurice Wilkins



Rosalind Franklin

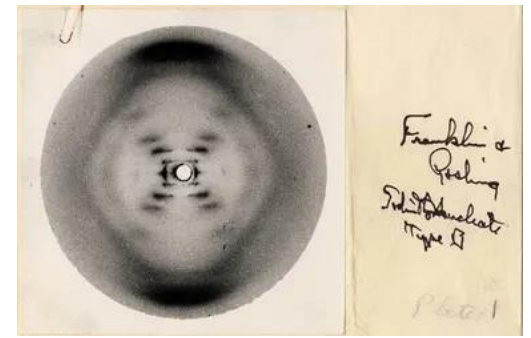
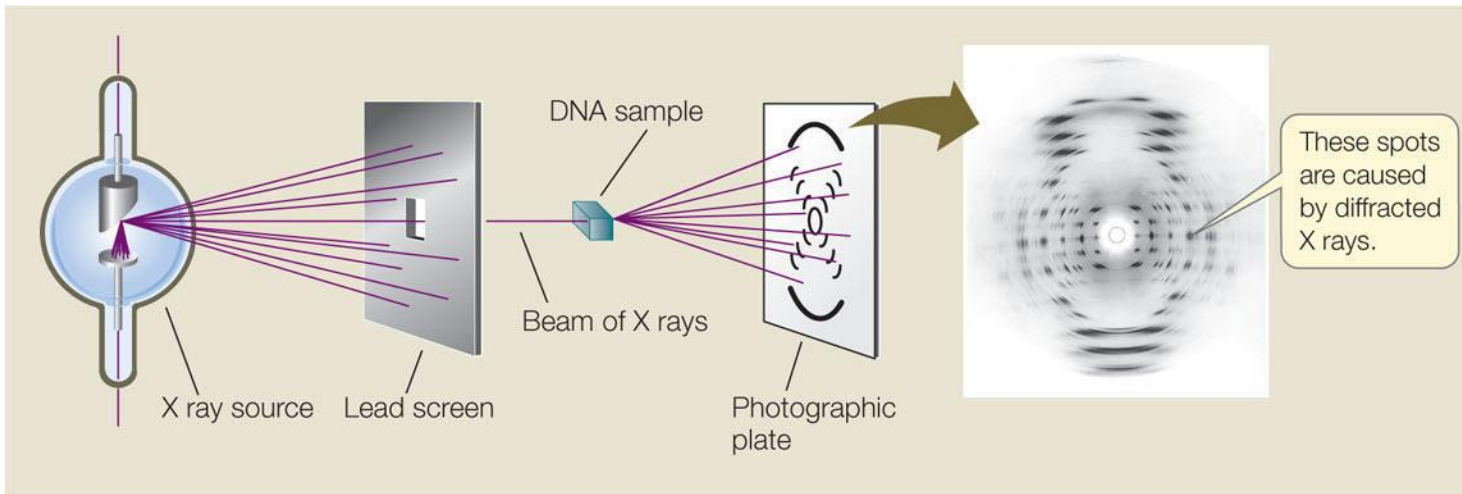
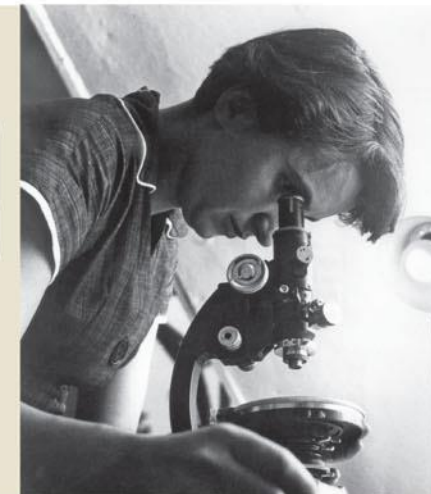


Imagem pioneira do DNA por difração de raios X, que inspirou Crick e Watson

(A)



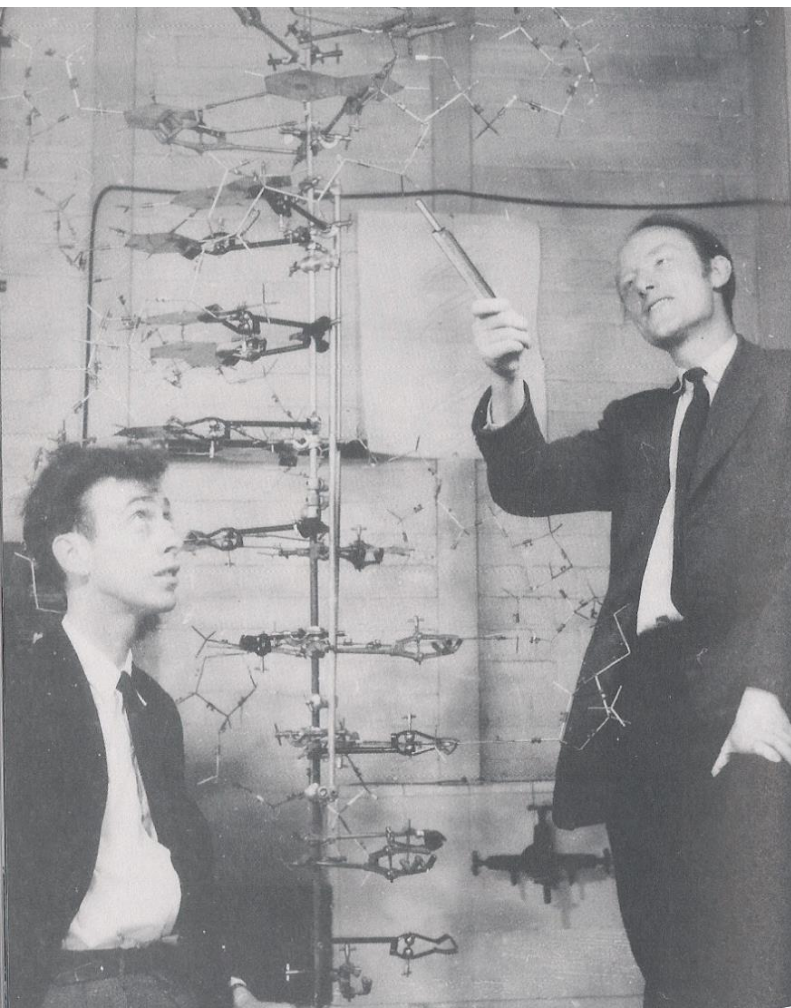
(B)



# Watson & Crick (1953)

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

A estrutura do DNA fornece um mecanismo para a hereditariedade:  
replicação do DNA



Prêmio Nobel em Fisiologia e Medicina, 1962, para Francis Crick, James Watson & Maurice Wilkins pela elucidação da estrutura do DNA



Francis Harry  
Compton Crick  
(1916-2004)



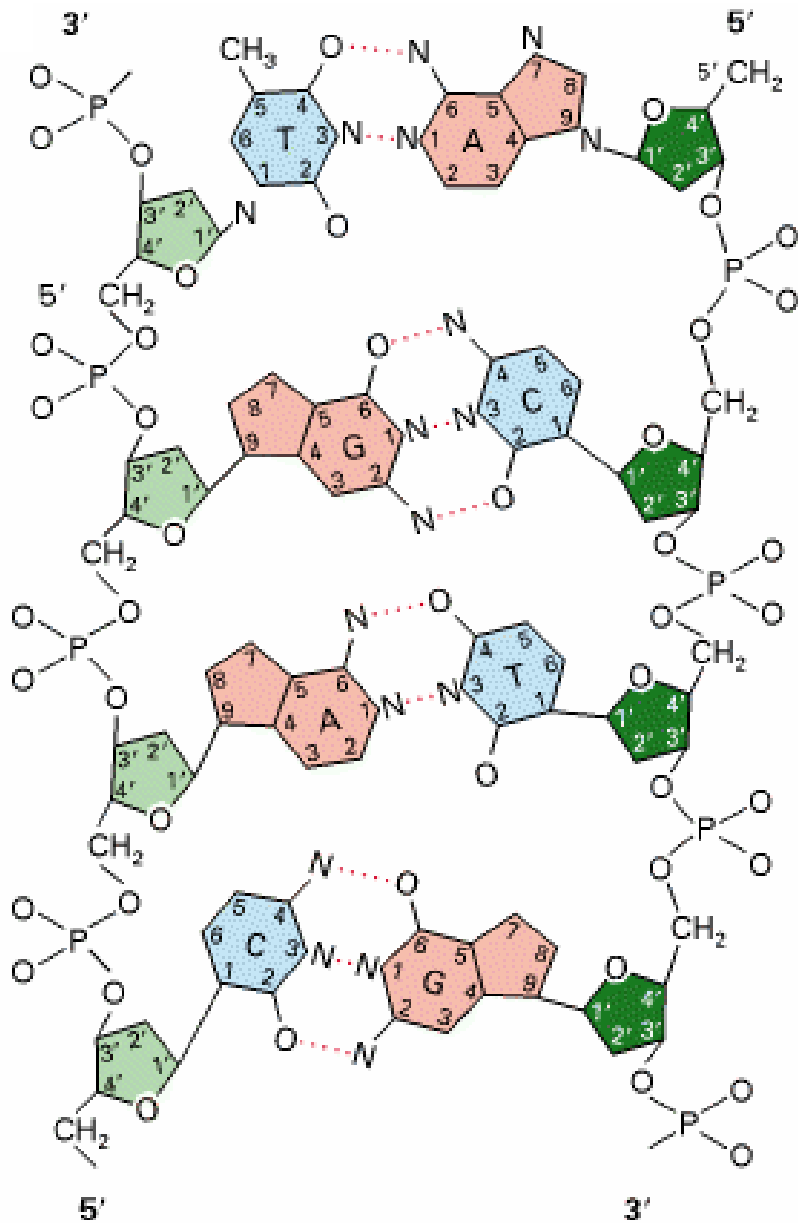
James Dewey  
Watson  
(1928 - )



Maurice Hugh  
Frederick Wilkins  
(1916-2004)



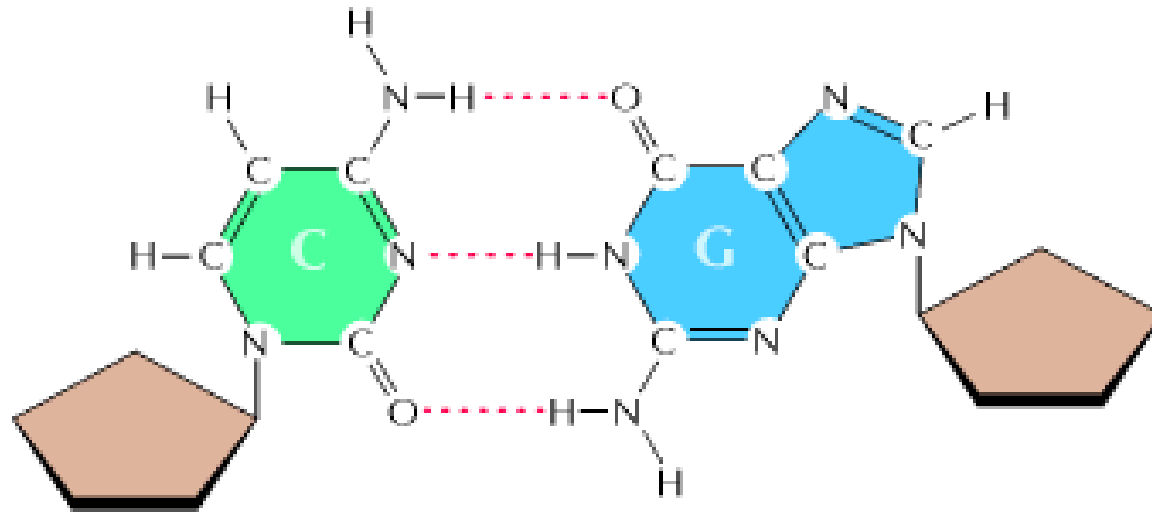
# DNA dupla fita



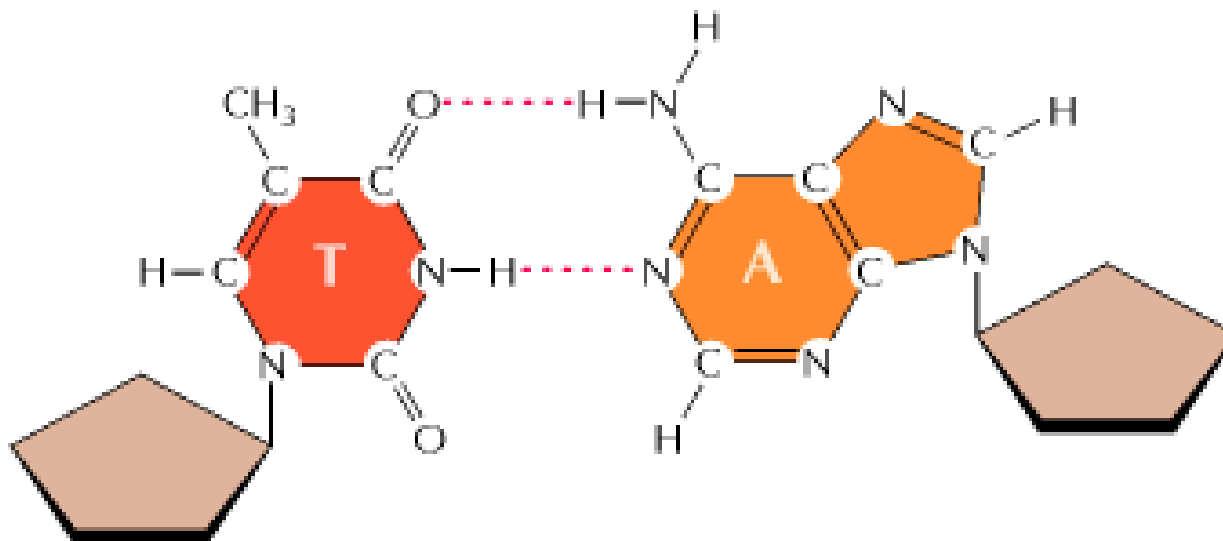
- A orientação das duas fitas é sempre antiparalela;
- Pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas, de maneira complementar (formação dos pares de bases, entre purinas e pirimidinas).

# Pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas

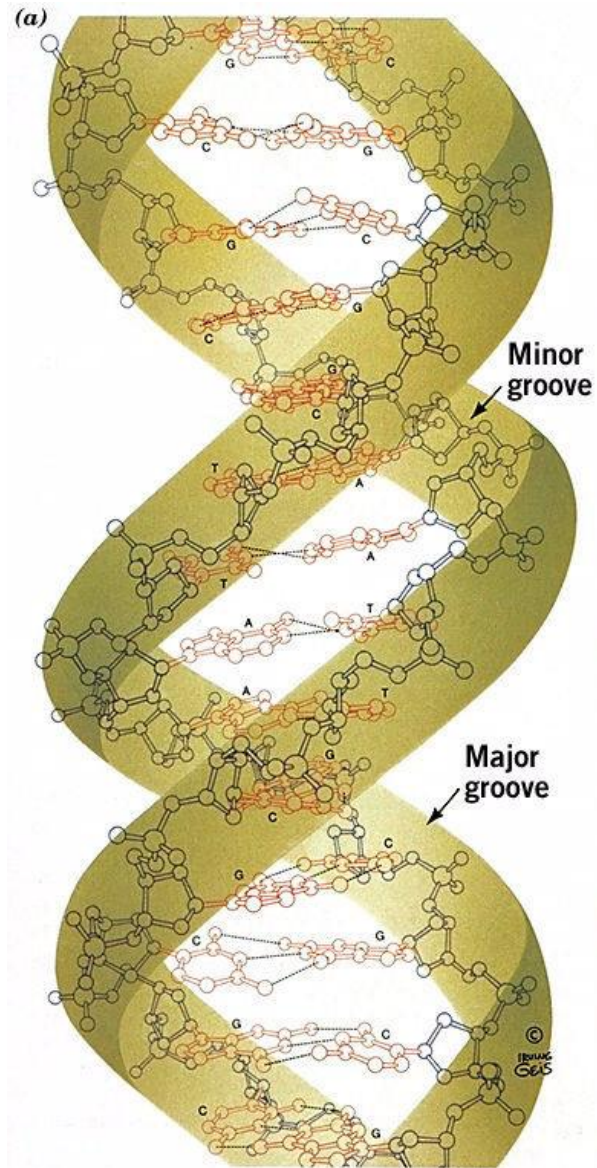
3 PH



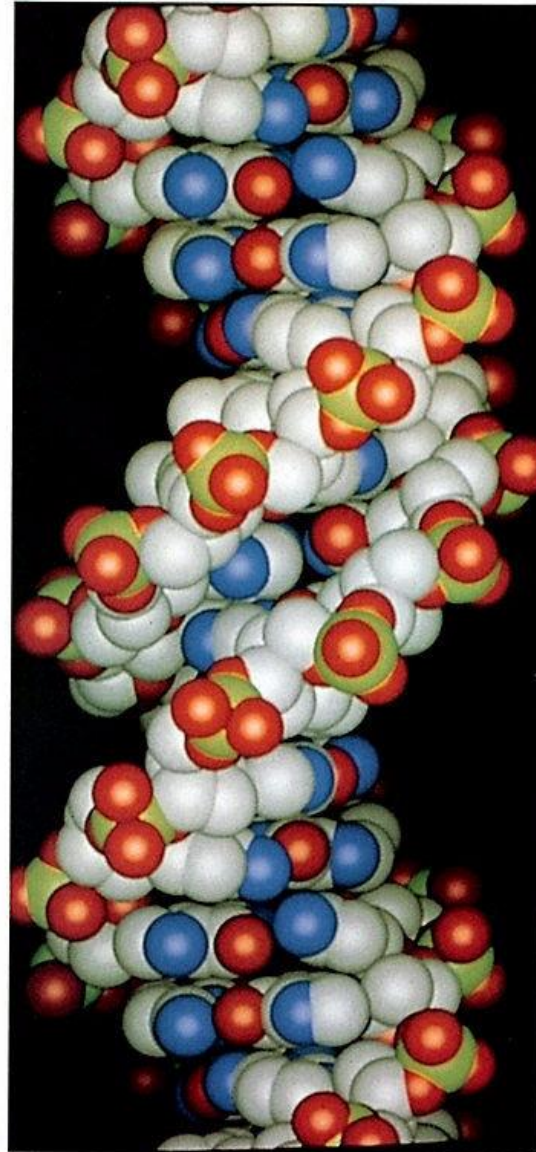
2 PH



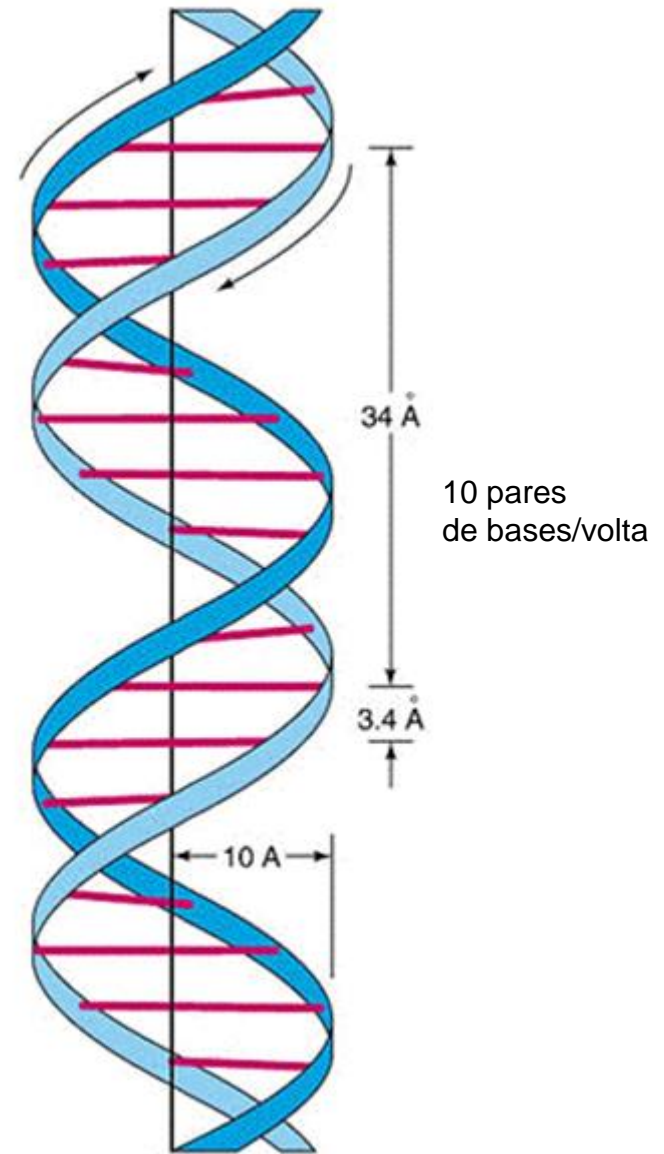
# Dupla hélice



Ball and stick model

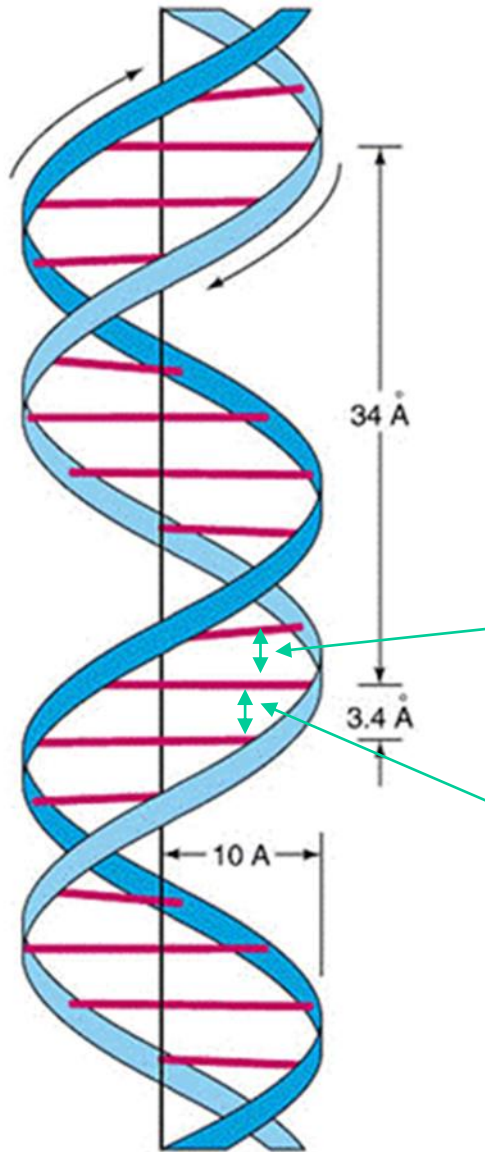


Space-filling model



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

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



Pontes de hidrogênio entre as bases nitrogenadas

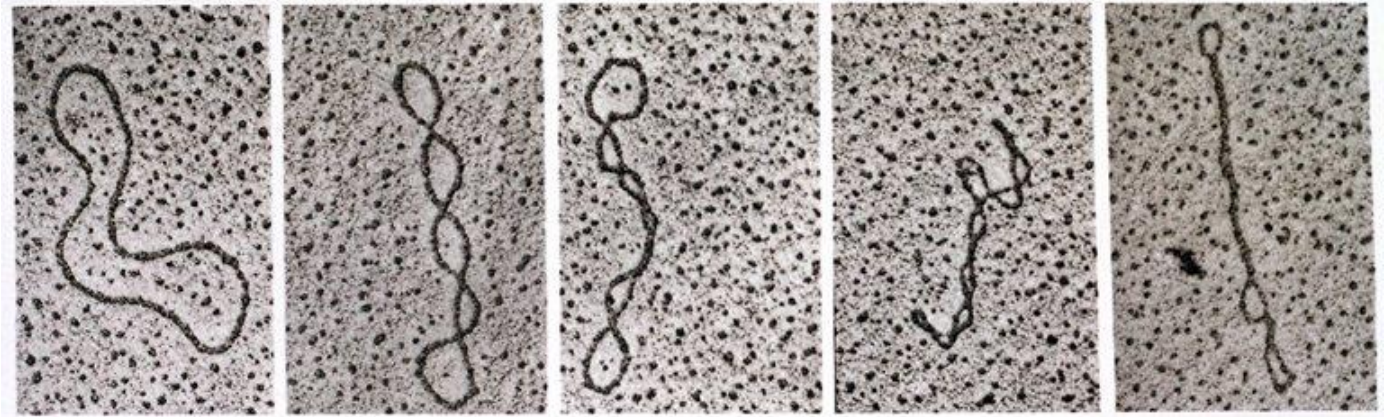
Interações hidrofóbicas resultante do empilhamento dos anéis planares das bases

Interações de atração de van der Waals entre as bases empilhadas



[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



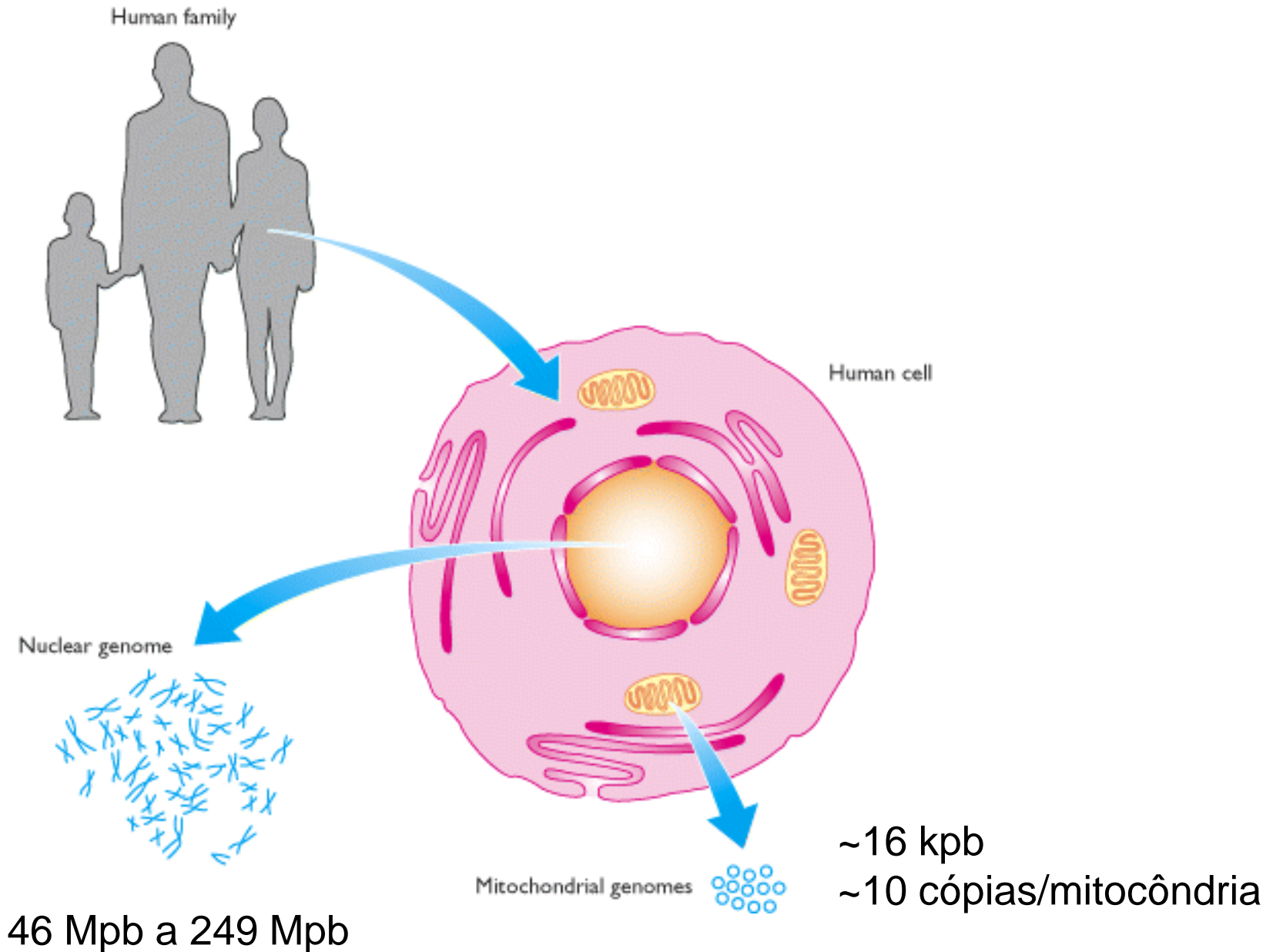
Ex: DNA genômico de procariotos e muitos virais, DNA mitocondrial e de cloroplastos, plasmídeos

## DNA linear

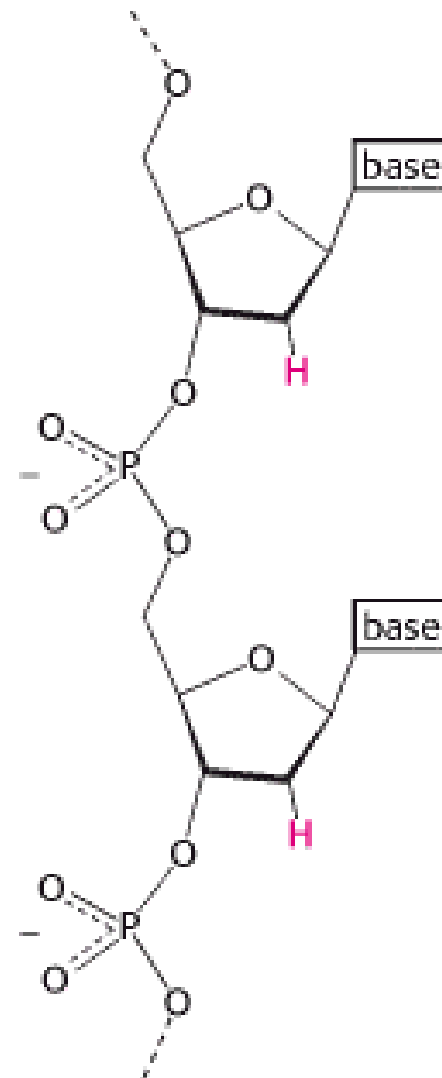
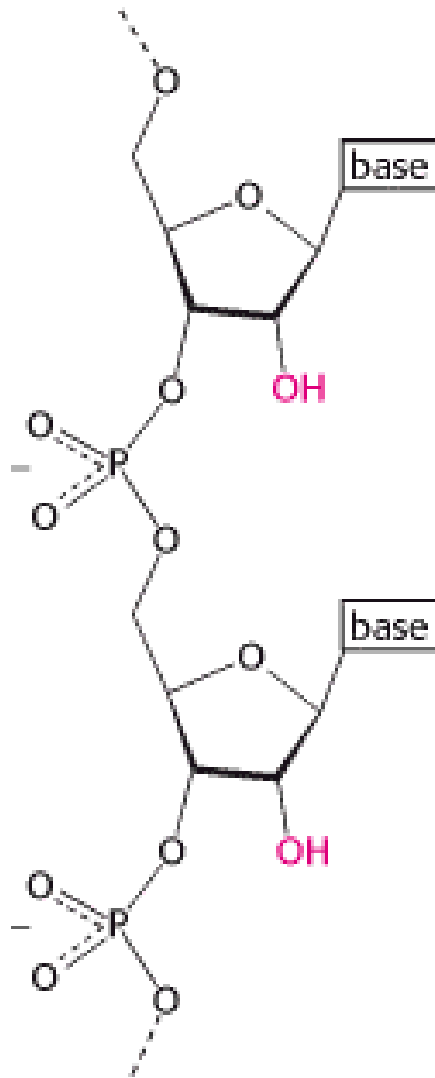


Ex: DNA de cromossomos eucariótico

# Genomas nuclear e mitocondrial humanos



# Comparação entre DNA e RNA



(G, A, U ou C)

RNA

DNA

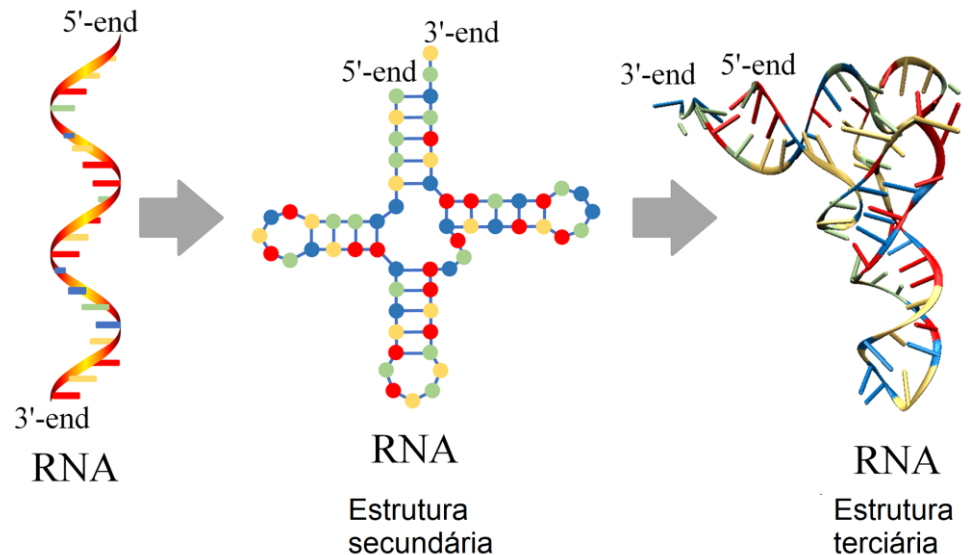
(G, A, T ou C)



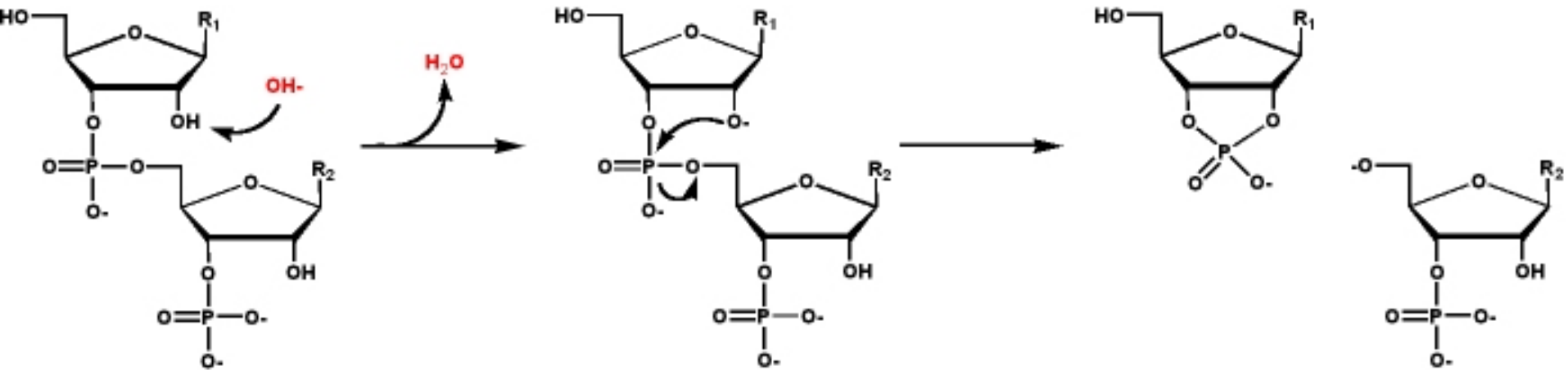
# RNA

- 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: RNAt



# O RNA é menos estável que o DNA

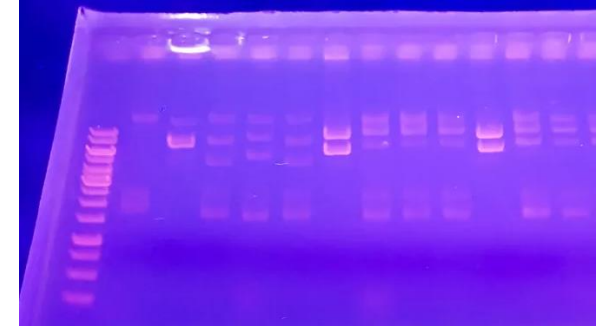


A presença do grupo OH no C2' torna o RNA suscetível à hidrólise alcalina

RNA pode apresentar atividade enzimática

# Propriedades físico-químicas do DNA

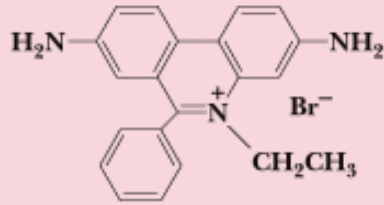
# Agentes intercalantes de DNA



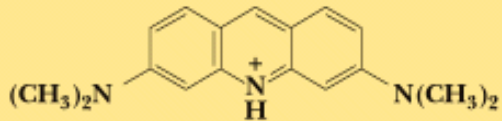
B-DNA before intercalation



Intercalating agents



Ethidium bromide  
or



Acridine orange  
or



Actinomycin D

B-DNA after intercalation



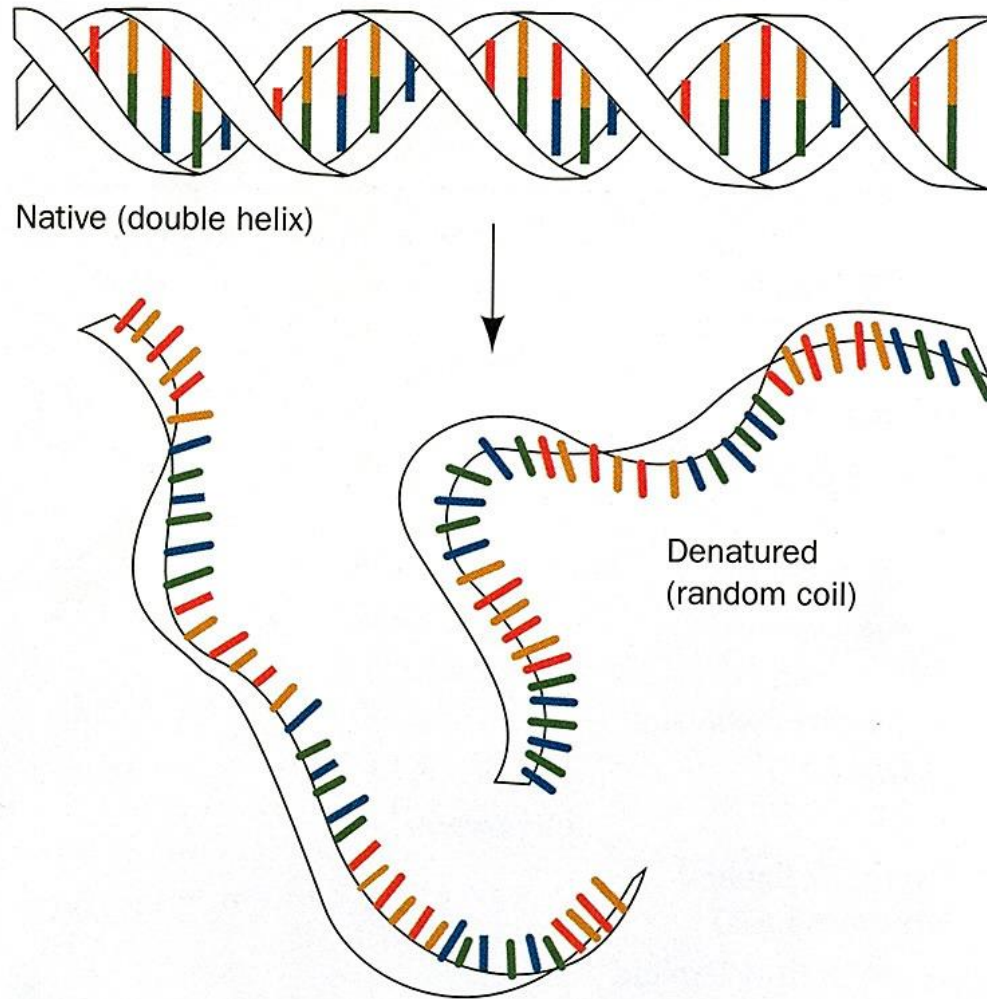
Utilizados na detecção de DNA

Causam mutações

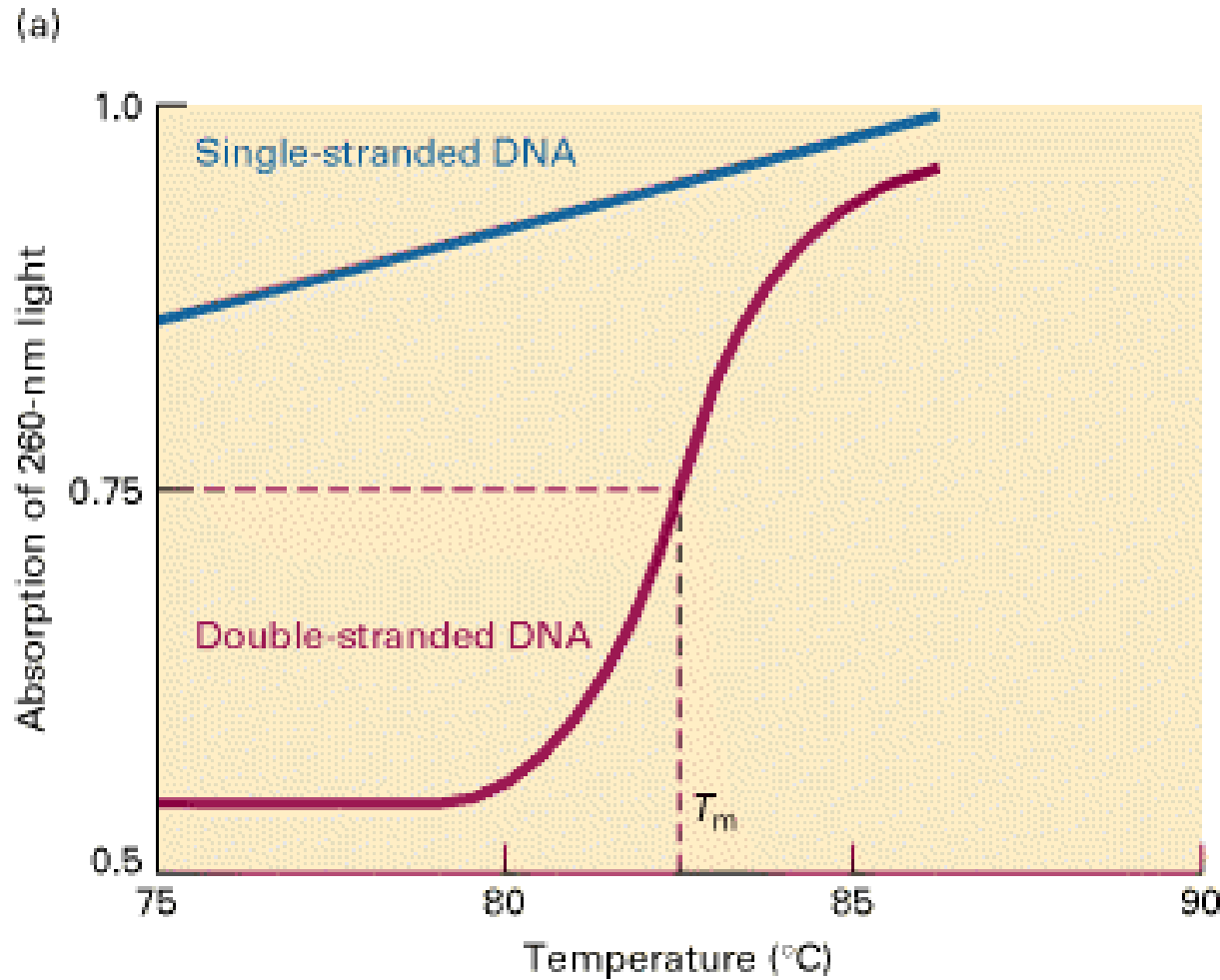
Actinomicina D:  
Inibe transcrição (em baixas concentrações)  
Inibe replicação (em altas concentrações)

<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: efeito hipercrômico (aumento da absorbância).

*T<sub>m</sub> = temperatura de fusão (50% da molécula de DNA está desnaturada)*

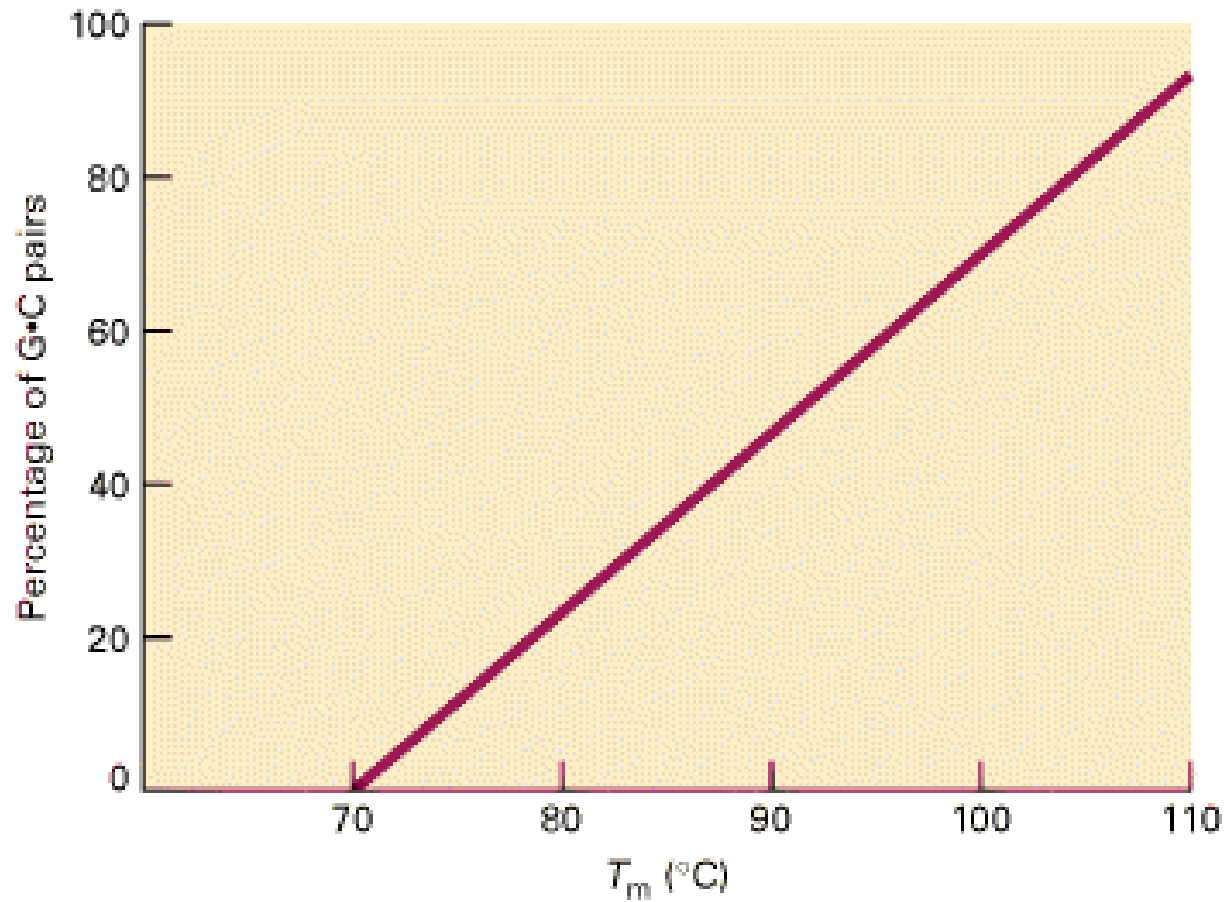
Curva de desnaturação

Desnaturação é um processo cooperativo

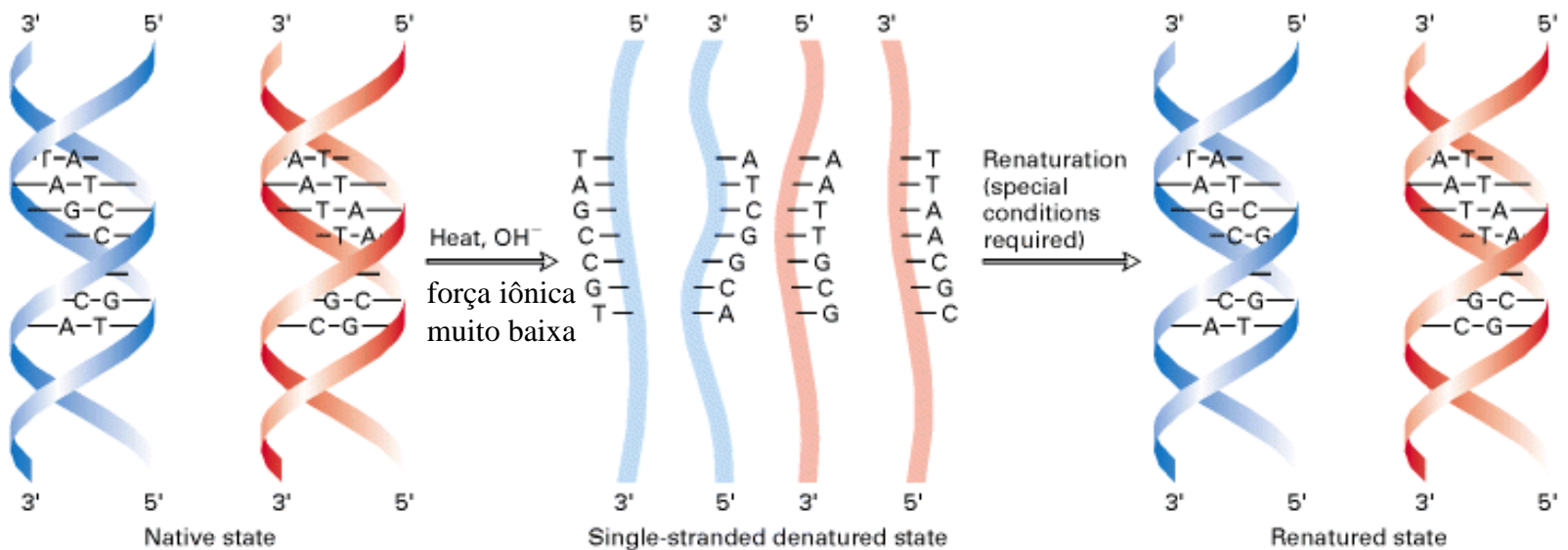
# T<sub>m</sub> varia com a composição do DNA (% G+C)

T<sub>m</sub> é distinta para cada 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