

Aula de **Bioquímica II**

Tema:

Nucleotídeos e Ácidos Nucléicos

Prof. Dr. Júlio César Borges

Depto. de Química e Física Molecular – DQFM

Instituto de Química de São Carlos – IQSC

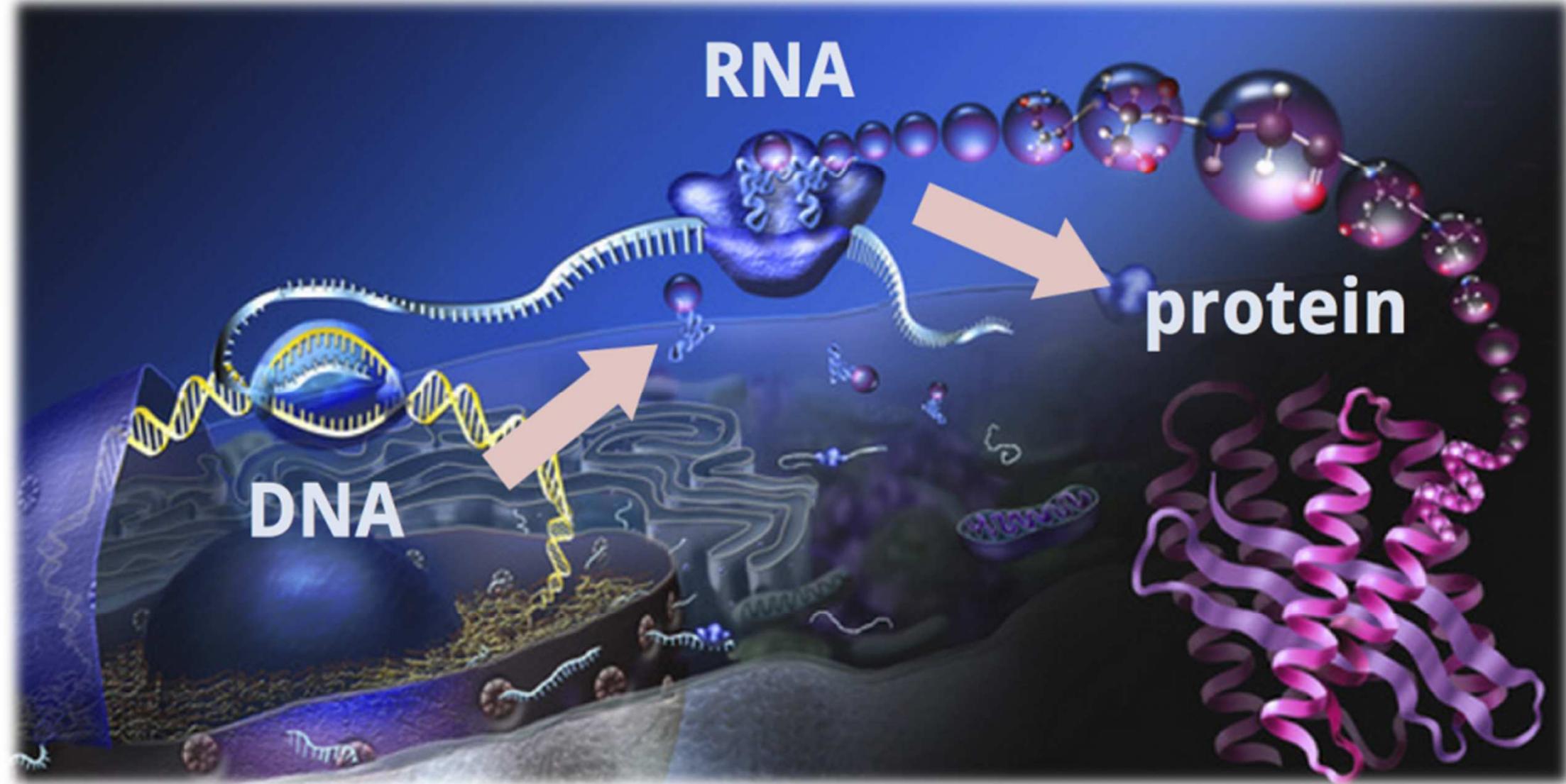
Universidade de São Paulo – USP

E-mail: borgesjc@iqsc.usp.br

Dogma central da Biologia

A Informação é:

Armazenada → Decodificada → Executada



Dogma central da Biologia

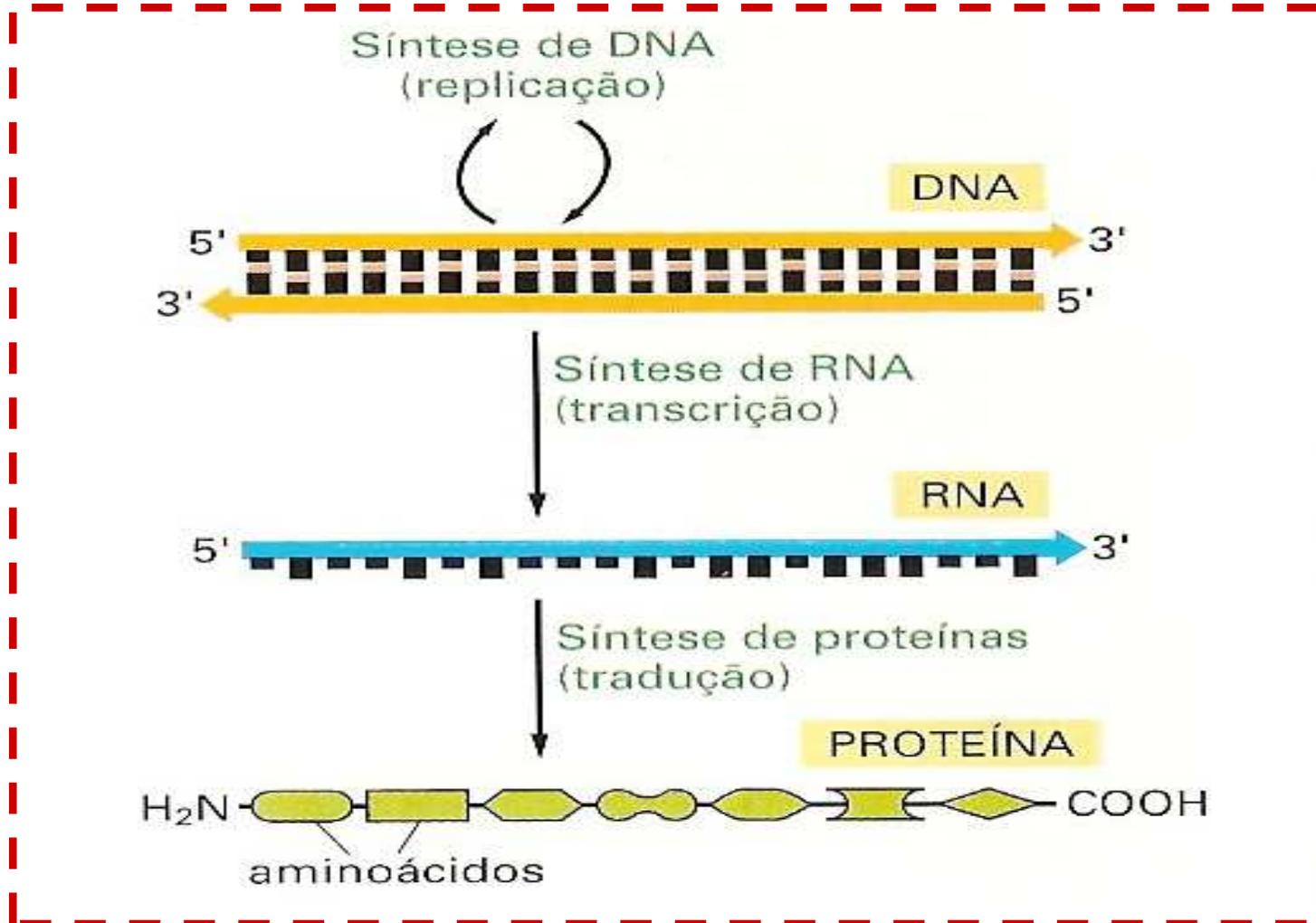
A Informação é:

Armazenada → Decodificada → Executada
DNA → **RNA** → **Proteínas**

Transcrição

Tradução

Código Genético



Nucleotídeos e Ácidos Nucléicos

Moléculas centrais no metabolismo celular

→ Participação na “transferência de energia”;

→ Reações enzimáticas;

→ Regulação da função celular;

→ *Dogma central da Biologia*

COMPOSIÇÃO

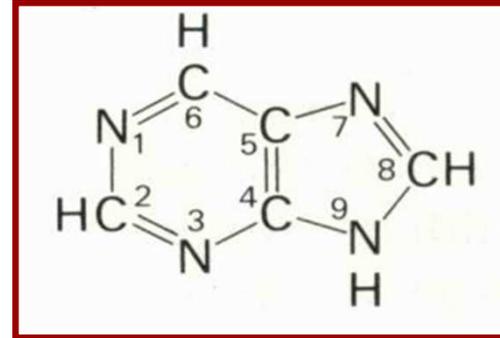
Nucleotídeos
8 tipos principais

{ Base nitrogenada
Açúcar (ribose)
Grupo fosfato

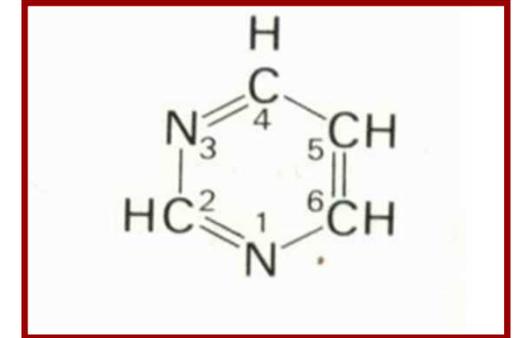
Ácidos nucleicos → Polímeros de nucleotídeos

Bases Nitrogenadas

- moléculas planares, aromáticas e heterocíclicas;
- derivadas de purinas ou pirimidinas;



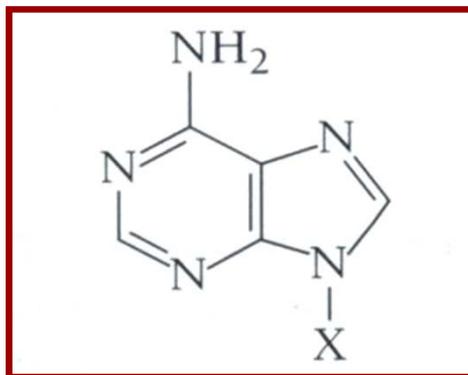
Purina



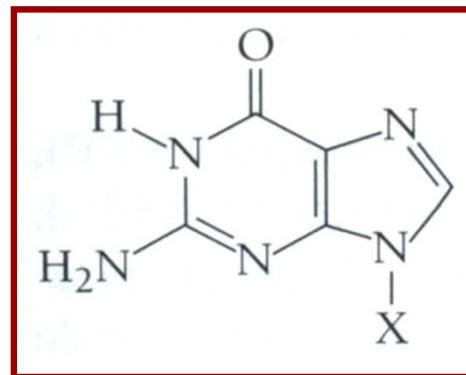
Pirimidina

Purinas

- Mais comuns: adenina e guanina;
- Ligadas á um açúcar de 5 carbonos, ribose, pelo átomo N9;



Adenina (Ade - A)



Guanina (Gua - G)

X = H → base;
X = ribose → nucleosídeo;
X = ribose-fosfato → nucleotídeo

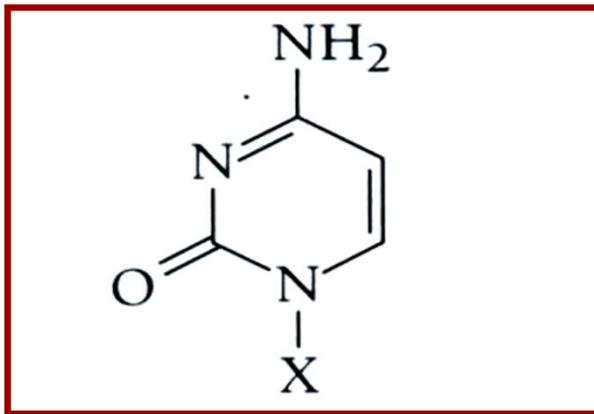
Bases Nitrogenadas

Pirimidinas

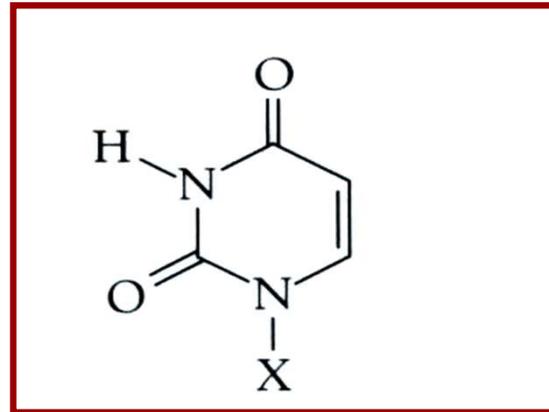


→ Mais comuns: citosina, uracil e timina;

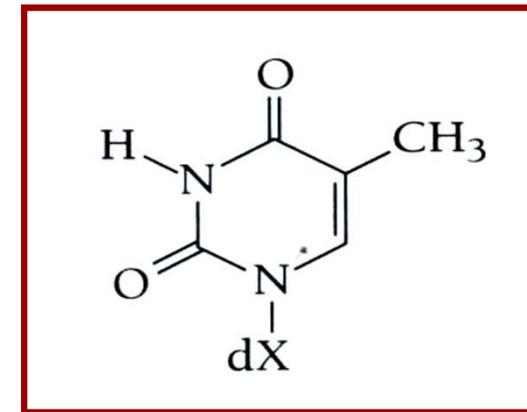
→ Ligadas á um açúcar de 5 carbonos, ribose, pelo átomo N1;



Citosina (Cyt - C)



Uracil (Ura- U)



Timina (Thy - T)

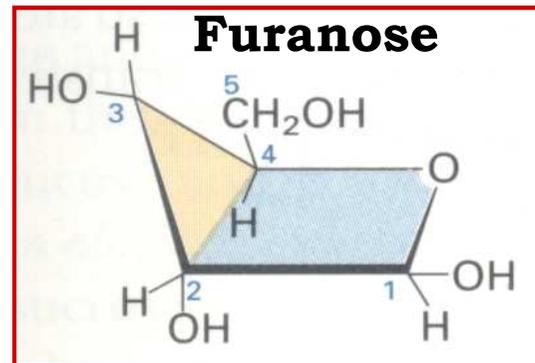
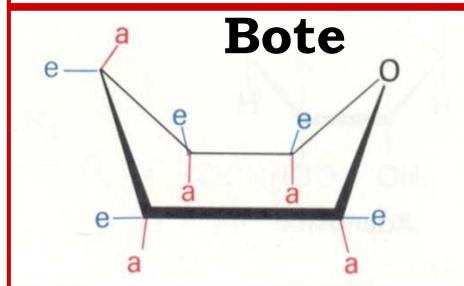
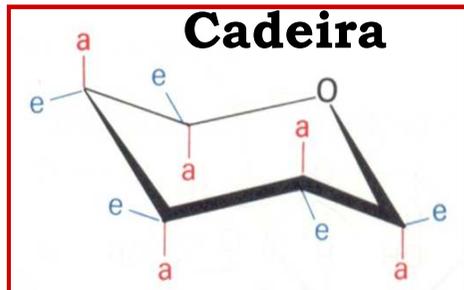
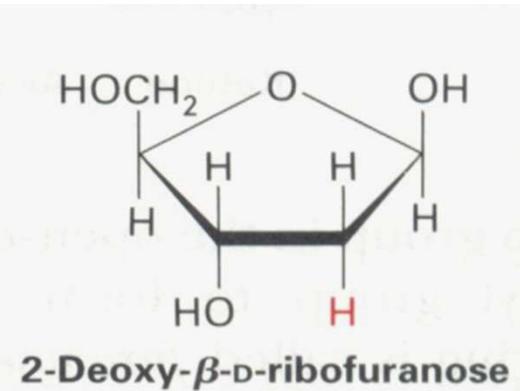
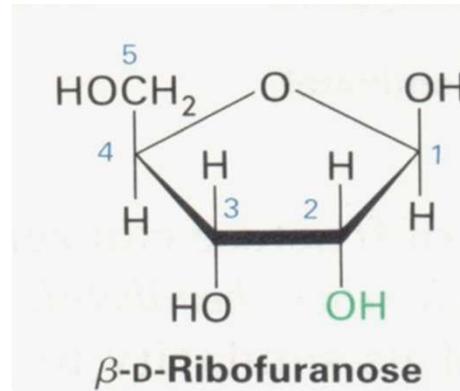
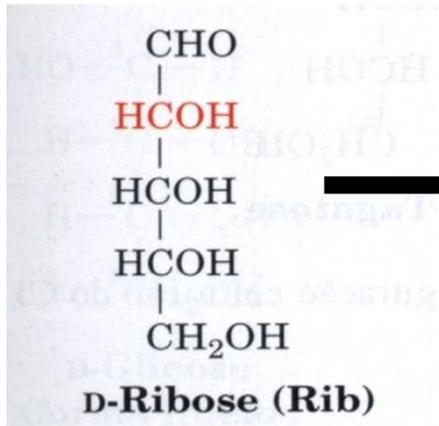
X = H → base;

X = ribose → nucleosídeo;

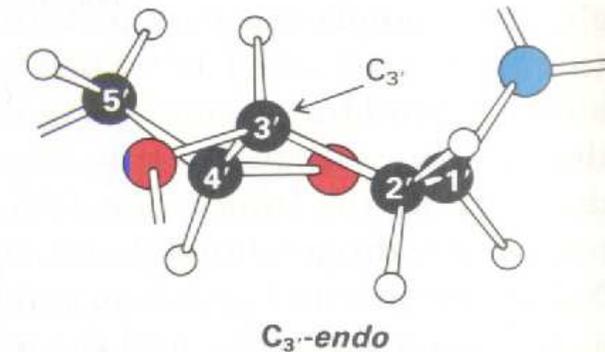
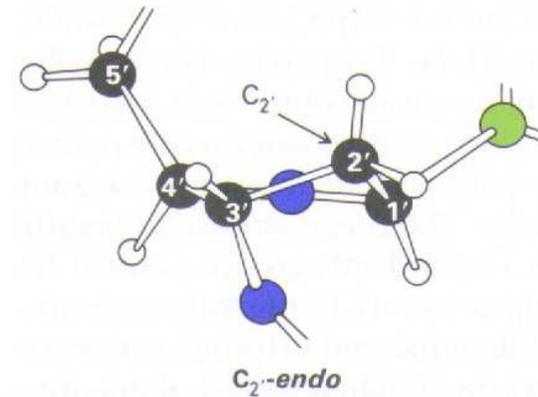
X = ribose-fosfato → nucleotídeo

Ribonucleosídeos e desoxirribonucleosídeos

- Ribonucleosídeos → pentose = ribose;
- Desoxirribonucleosídeos → pentose = 2'-desoxirribose.

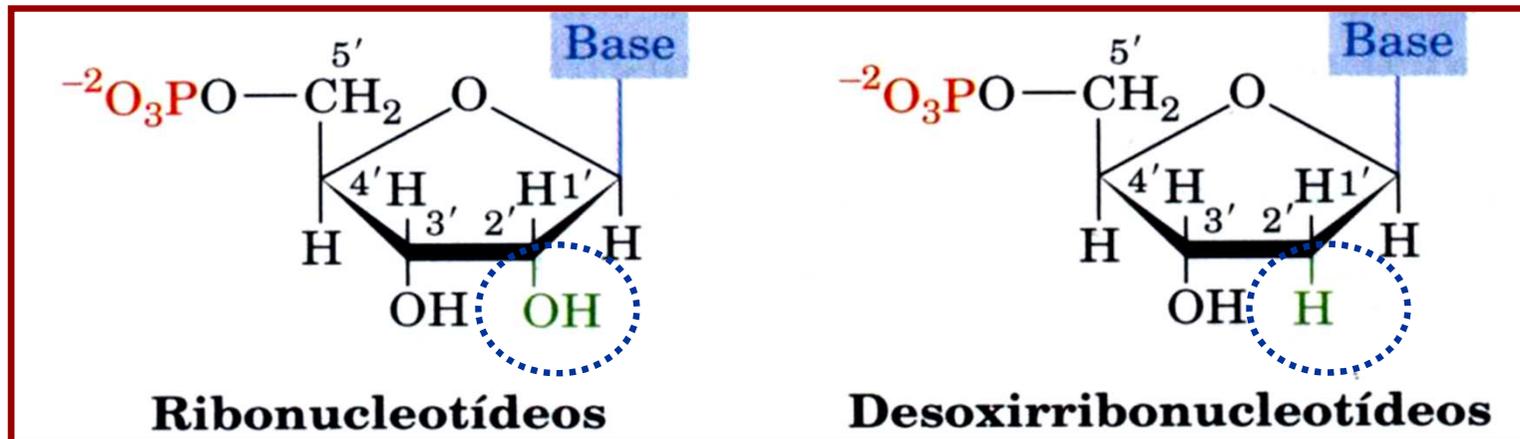


Envelope



Nucleotídeos

- >> Base + ribose + grupo fosfato (1 ou mais);
- Grupo fosfato → ligação fosfoéster no C3' ou C5' da pentose;
- Base → ligação *N*-glicosídica no C1' da pentose na configuração β



5'-Monofosfato de:

RNA

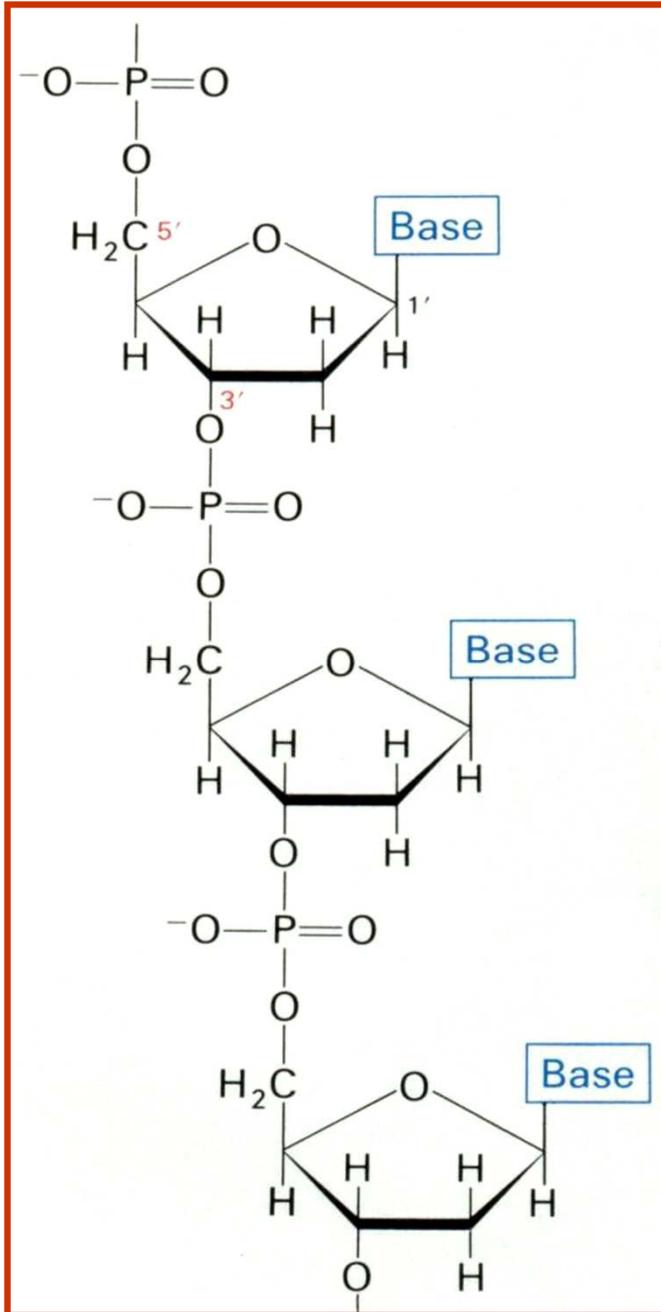
- Adenosina – 5'AMP
- Guanosina – 5'GMP
- Citidina – 5'CMP
- Uridina – 5'UMP

DNA

- Deoxiadenosina – 5'dAMP
- Deoxiguanosina – 5'dGMP
- Deoxicitidina – 5'dCMP
- Deoxitimidina – 5'dTMP

- Nucleotídeos livres (aniônicos): associados a Mg²⁺ nas células.
 - As bases nitrogenadas sofrem modificações
 - Existem bases “não-usuais” no tRNA

Ácidos Nucléicos



→ Polímeros de nucleotídeos: DNA e RNA

→ Ligação entre nucleotídeos: fosfodiéster

Posições 3' → 5'

→ Unidade variável → **base nitrogenada**

→ Fosfatos são ácidos → Ácidos nucleicos formam poliânions em pH fisiológico;

São pouco susceptíveis a ataques nucleofílicos;

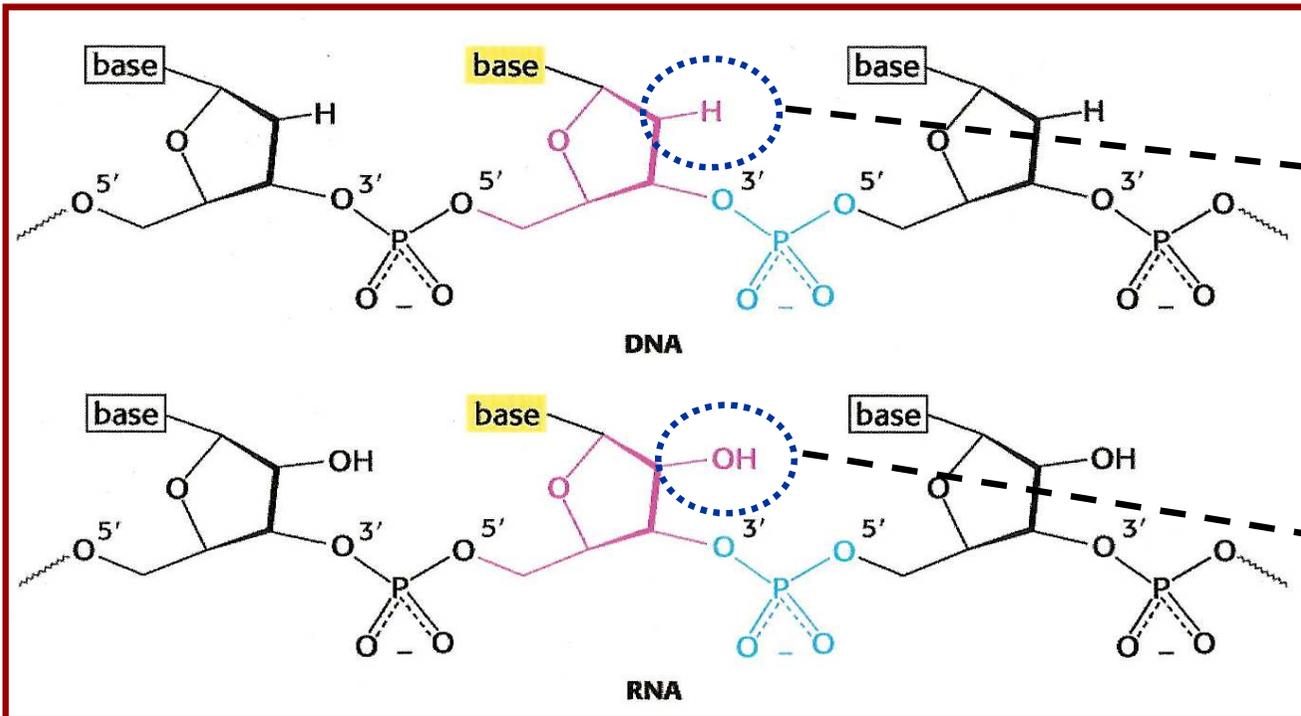
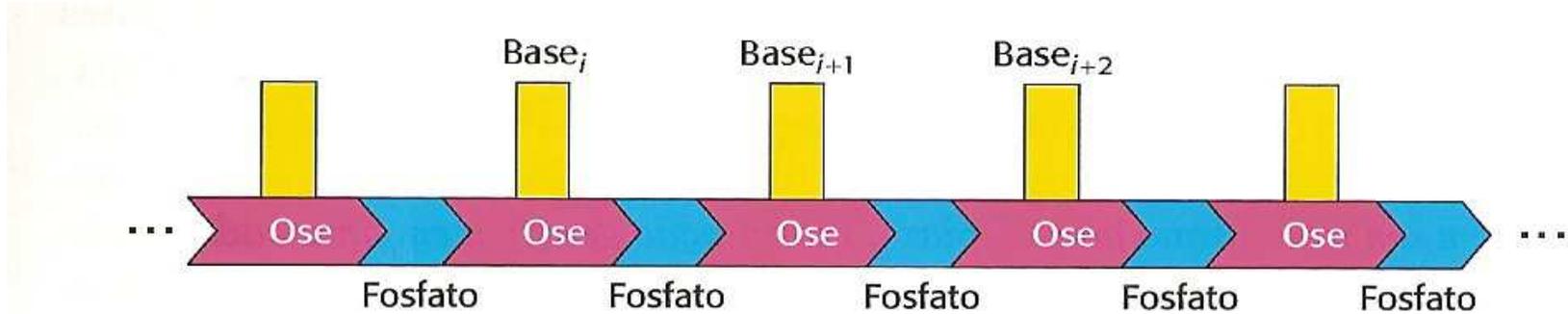
→ Contêm íons positivos ligados;

→ O tamanho altera propriedades: carga e solubilidade.

Ácidos Nucléicos

Polímeros de DNA e RNA

→ O açúcar-Fosfato forma a *espinha dorsal* ou esqueleto da cadeia



Ausência da hidroxila 2' reduz suscetibilidade do DNA à Hidrólise e permite formação da dupla hélice

Presença da hidroxila 2' permite eventos de EDIÇÃO do RNA e Ribosimas

Ácidos Nucléicos

→ Polaridade dos Polímeros de DNA e RNA

→ OH 5' geralmente ligada ao Pi

→ OH 3' → extremidade livre

→ Por convenção a sequência é escrita no sentido 5' para a 3'

Estrutura primária e suas representações

ATCG # ACTG → Ácidos nucleicos diferentes

pApTpCpG # pApCpTpG

pATCG # pACTG

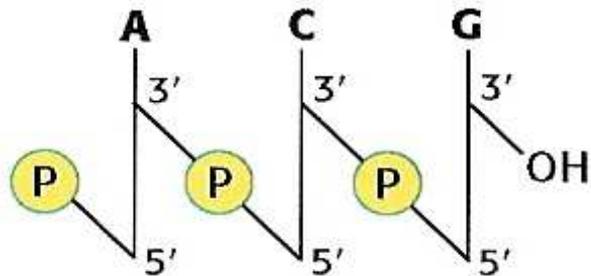
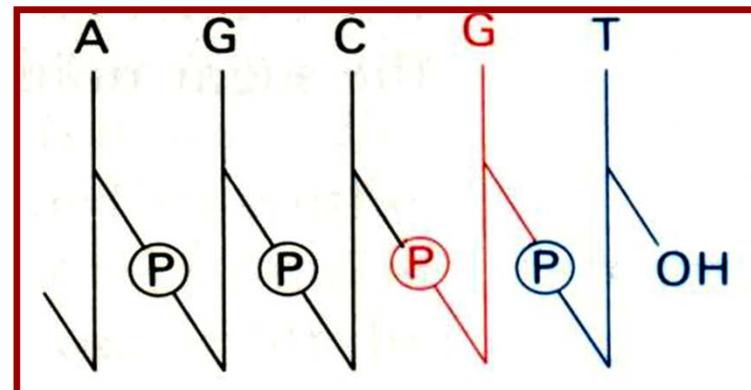


Fig. 5.7 Estrutura de uma cadeia de DNA. A cadeia tem uma ponta 5', geralmente ligada a um fosfato, e uma ponta 3', geralmente uma hidroxila livre.



Ácidos Nucléicos

Dados estruturais e químicos → Estrutura do DNA!!!!

*** Regra de Chargaff (1950) → composição das bases do DNA**

Conteúdo de C = G e de A = T em uma mesma molécula de DNA

Estequiometria C:G e A:T = 1

→ Conteúdo de G + C e A + T é variável em diferentes espécies

QUADRO 5.1 Composições de Bases Determinadas Experimentalmente para Vários Organismos

Espécie	A:T	G:C	A:G
Ser humano	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

Ácidos Nucléicos

Dados estruturais e químicos → Estrutura do DNA!!!!

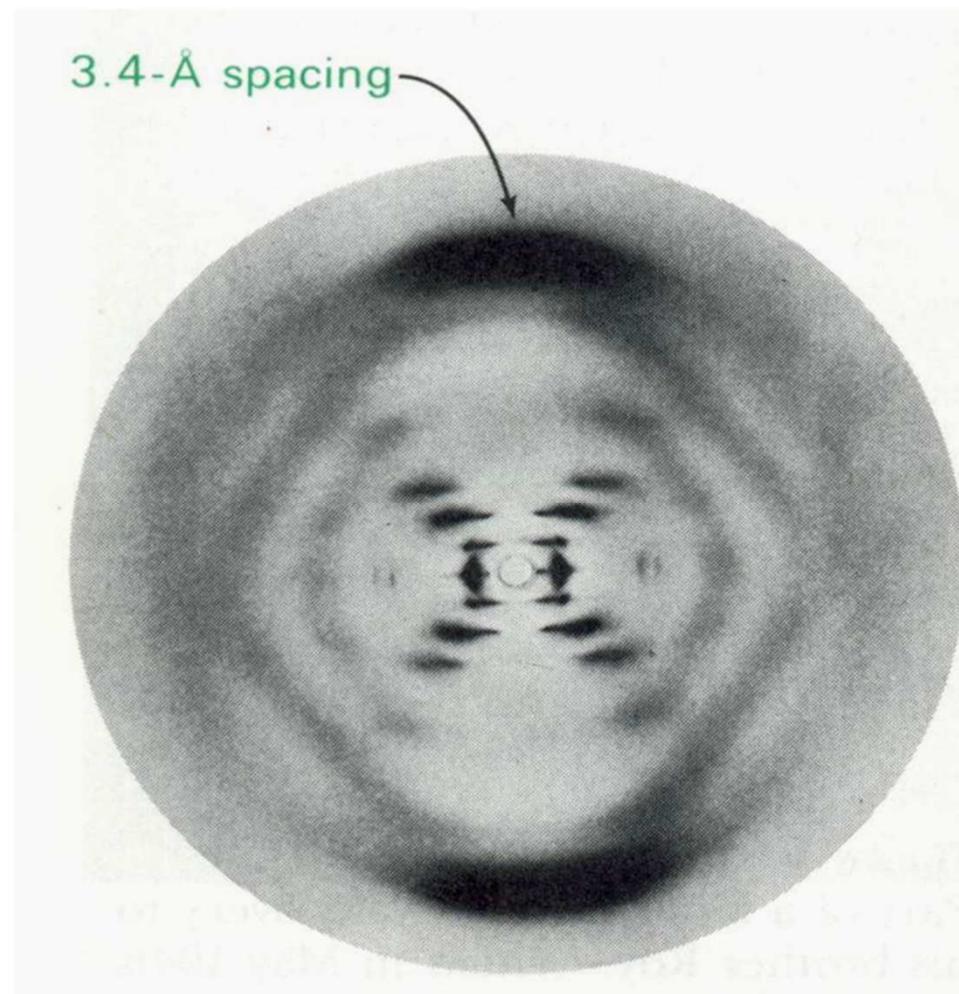
Estrutura do DNA

Watson e Crick (1953)

→ Padrão de difração (dados da Rosalind Frankling)

- Estrutura helicoidal

Modelo da dupla hélice → Estrutura Secundária



REPLICAÇÃO do DNA

Watson and Crick (1953)



“It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.”

Não escapou à nossa atenção que o pareamento específico que postulamos sugere imediatamente um possível mecanismo de cópia para o material genético.

Início da Biologia Moderna

equipment, and to Dr. G. E. R. Deacon and the captain and officers of R.F.S. *Discovery II* for their part in making the observations.

¹Young, F. D., Garrod, H., and Stevens, W., *Phil. Mag.*, **46**, 148 (1920).

²Langseth-Higgins, M. S., *Ann. N.Y. Acad. Sci., Geophys. Surv.*, **8**, 358 (1949).

³Von Arn, F. S., *Woods Hole Papers in Phys. Oceanogr. Meteor.*, **11** (3) (1934).

⁴Kilias, V. W., *Arch. Néer. Jérov. Paris (Séminaire)*, **2**(11) (1932).

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This

is a residue on each chain every 3-4 Å. in the z-direction. We have assumed an angle of 36° between adjacent residues in the same chain, so that the structure repeats after 10 residues on each chain, that is, after 34 Å. The distance of a phosphorus atom from the fibre axis is 10 Å. As the phosphates are on the outside, cations have easy access to them.

The structure is an open one, and its water content is rather high. At lower water contents we would expect the bases to tilt so that the structure could become more compact.

The novel feature of the structure is the manner in which the two chains are held together by the purine and pyrimidine bases. The planes of the bases are perpendicular to the fibre axis. They are joined together in pairs, a single base from one chain being hydrogen-bonded to a single base from the other chain, so that the two lie side by side with identical z-co-ordinates. One of the pair must be a purine and the other a pyrimidine for bonding to occur. The hydrogen bonds are made as follows: purine position 1 to pyrimidine position 1; purine position 6 to pyrimidine position 6.

If it is assumed that the bases only occur in the structure in the most plausible tautomeric forms (that is, with the keto rather than the enol configurations) it is found that only specific pairs of bases can bond together. These pairs are: adenine (purine) with thymine (pyrimidine), and guanine (purine) with cytosine (pyrimidine).

In other words, if an adenine forms one member of a pair, on either chain, then on these assumptions the other member must be thymine; similarly for guanine and cytosine. The sequence of bases on a single chain does not appear to be restricted in any way. However, if only specific pairs of bases can be formed, it follows that if the sequence of bases on one chain is given, then the sequence on the other chain is automatically determined.

738

NATURE

April 25, 1953 Vol. 171

King's College, London. One of us (J. D. W.) has been aided by a fellowship from the National Foundation for Infantile Paralysis.

J. D. WATSON
F. H. C. CRICK

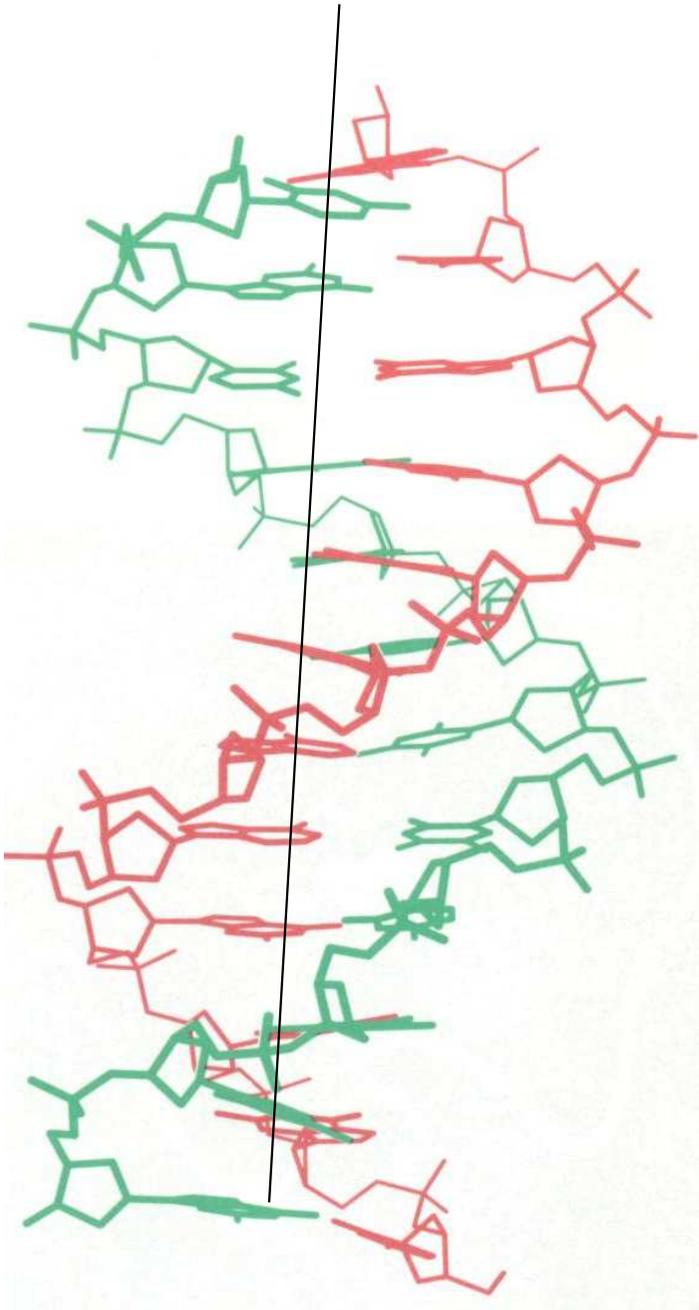
Medical Research Council Unit for the Study of the Molecular Structure of Biological Systems,

Cavendish Laboratory, Cambridge.

April 2.



Modelo de Dupla hélice



→ Duas Cadeias entorno de um eixo comum

→ Fitas antiparalelas

→ As bases estão no interior: o fosfato e a ribose estão no exterior

→ Pares de bases estabilizados por ligações de Hidrogênio intermoleculares

T----A ou A----T

C----G ou G----C

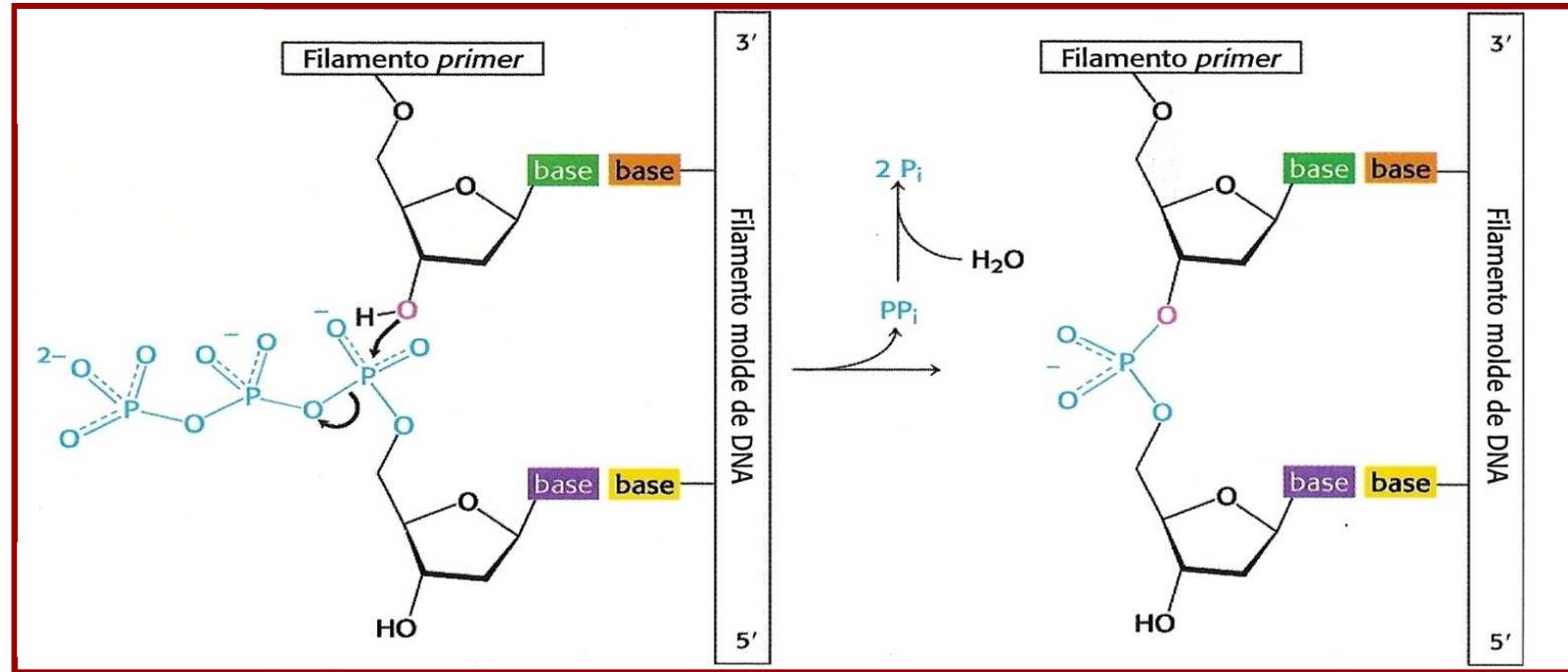
“Pareamento das bases complementares” → Regra de Chargaff

“**Molde para replicação** → **Sequência de DNA codifica a informação genética**”

O DNA deve ser aberto para expor a informação genética

Replicação do DNA

Síntese dirigida por complementaridade → DNA-polimerase DNA-dependente



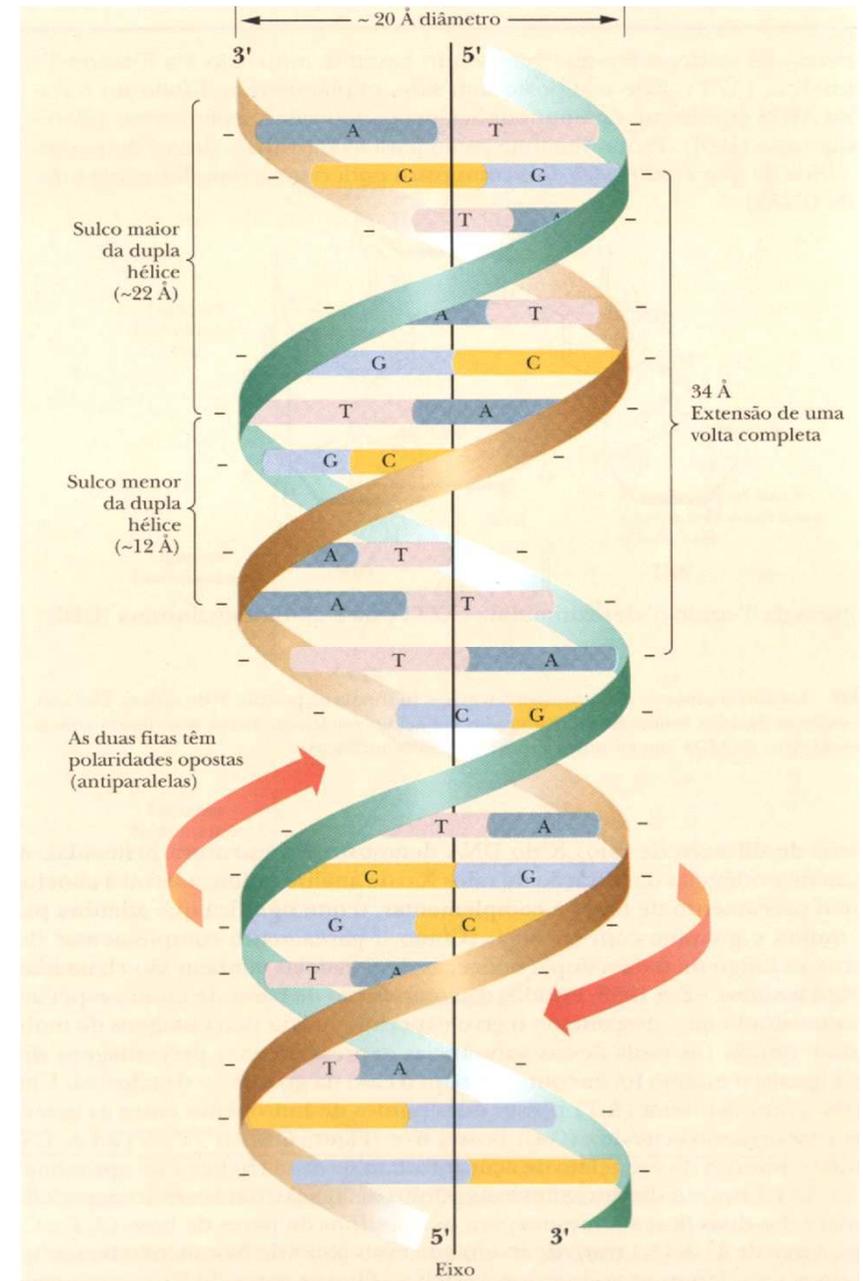
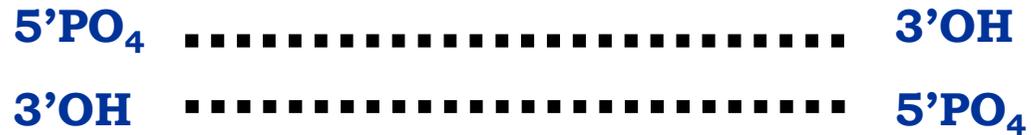
Coordenada da Reação

Modelo de Dupla hélice

Estrutura do DNA

Enrolada para a Direita
Diâmetro externo: 20 Å;
Diâmetro interno: 11 Å

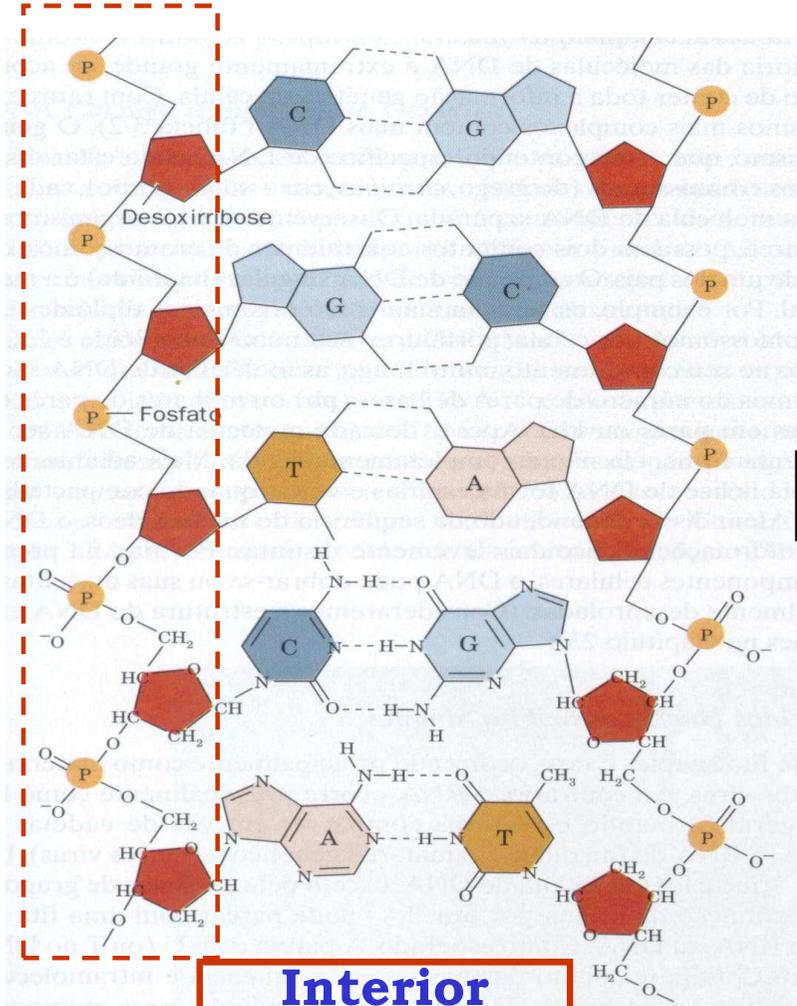
Volta Completa da hélice: 34 Å;
10 bases/volta
Cadeias antiparalelas



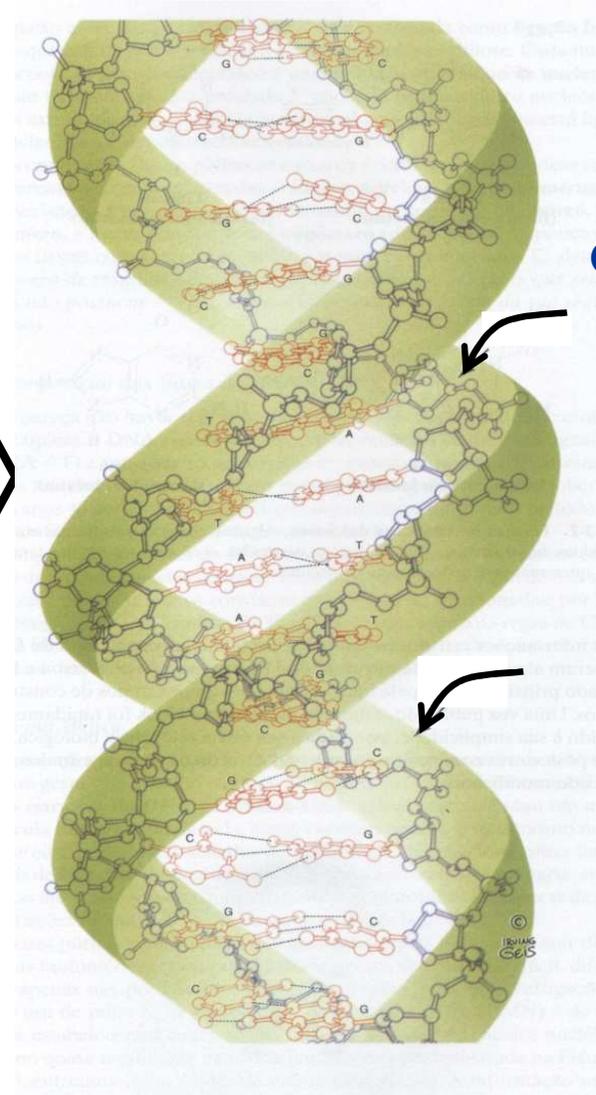
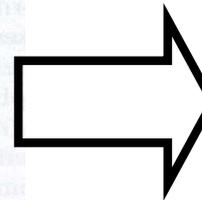
Estrutura do DNA

O enovelamento do DNA protege os grupos apolares da água

Exterior
Esqueleto de fosfodeoxirribose



Interior
Bases pareadas



Cavidade menor
“Minor Groove”

Cavidade Maior
“Major Groove”

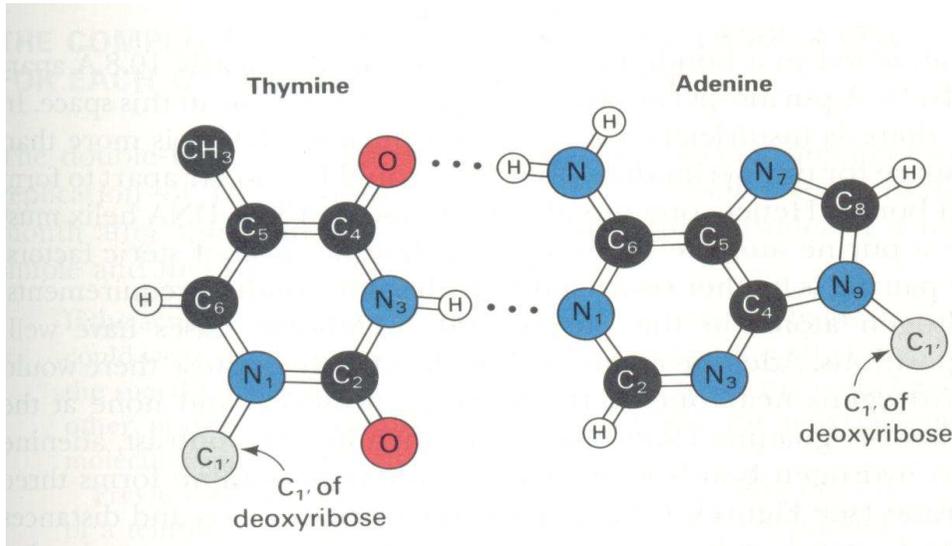
O pareamento complementar

“As Ligações de hidrogênio”

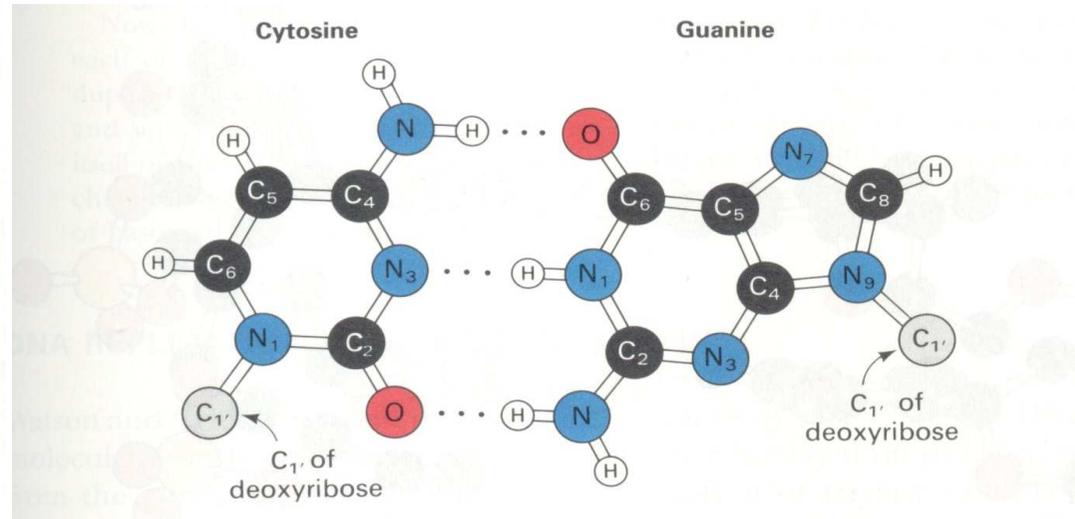
→ Responsáveis pela especificidade da replicação

→ Maior número em C + G → Especificidade da dupla hélice

2 ligações para o par A---T



3 ligações para o par C---G

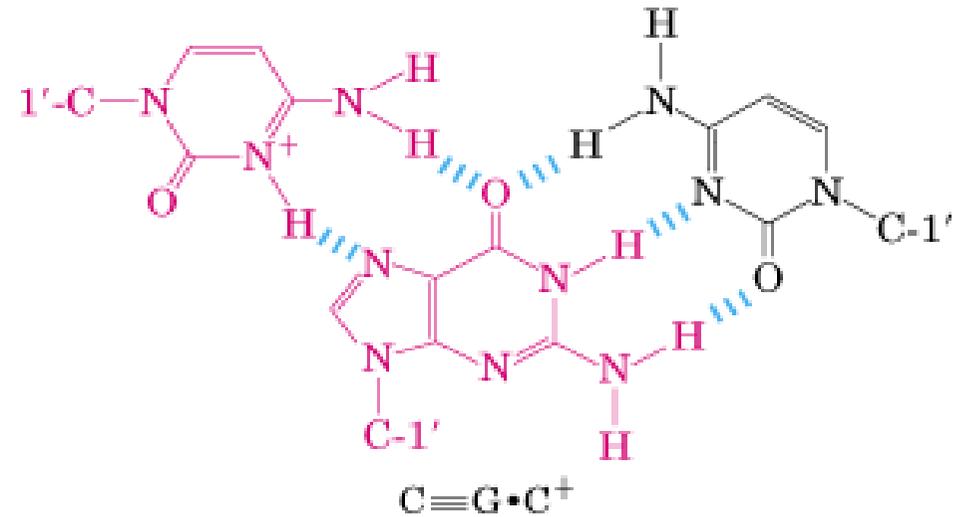
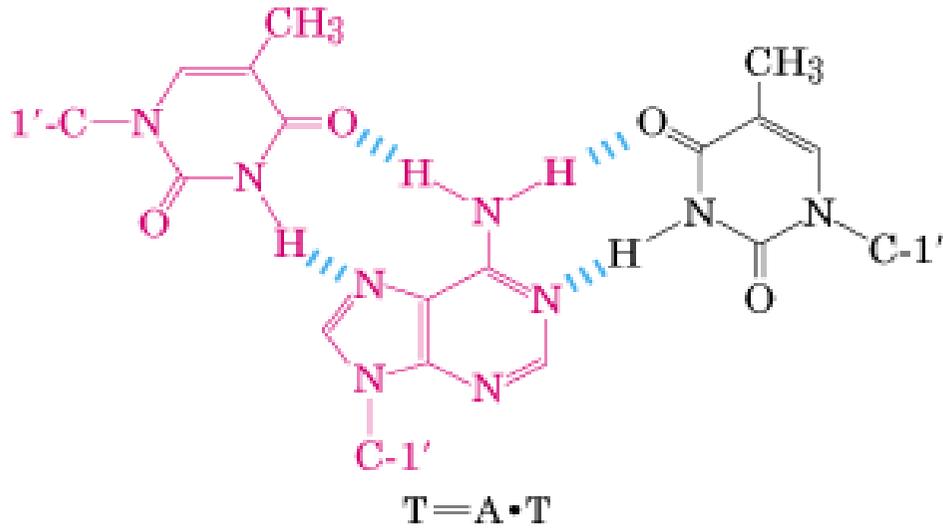


Pareamento tipo Watson-Crick

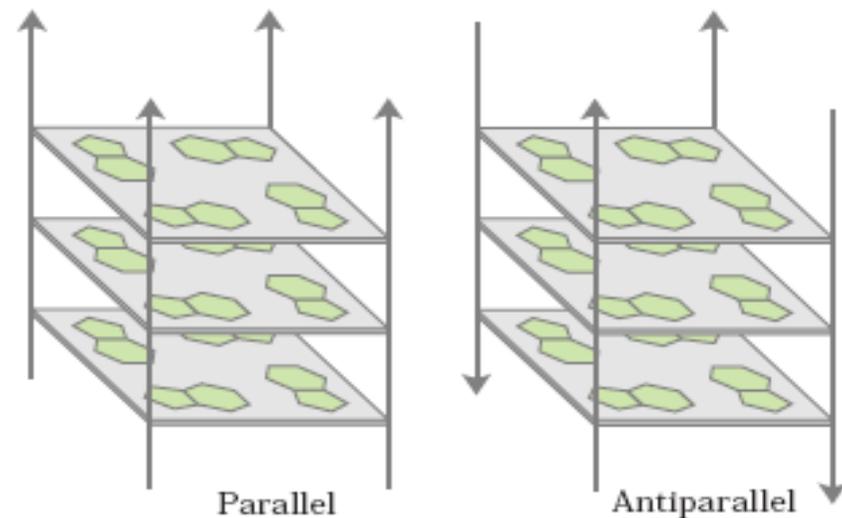
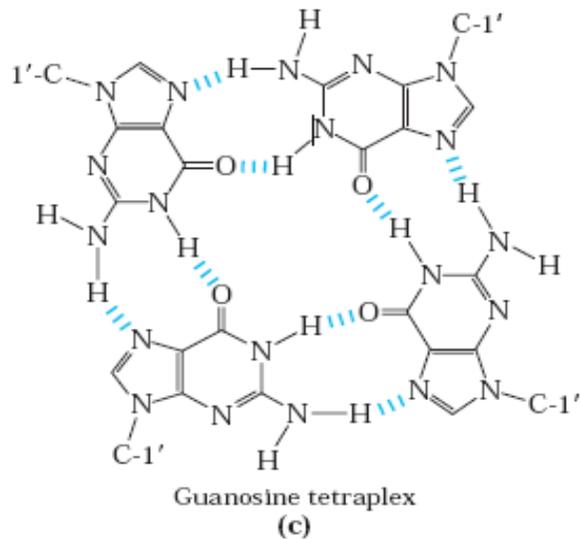
O pareamento complementar

“As Ligações de hidrogênio”

→ Pareamento tipo não-Watson-Crick → Pareamento Hoogsteen

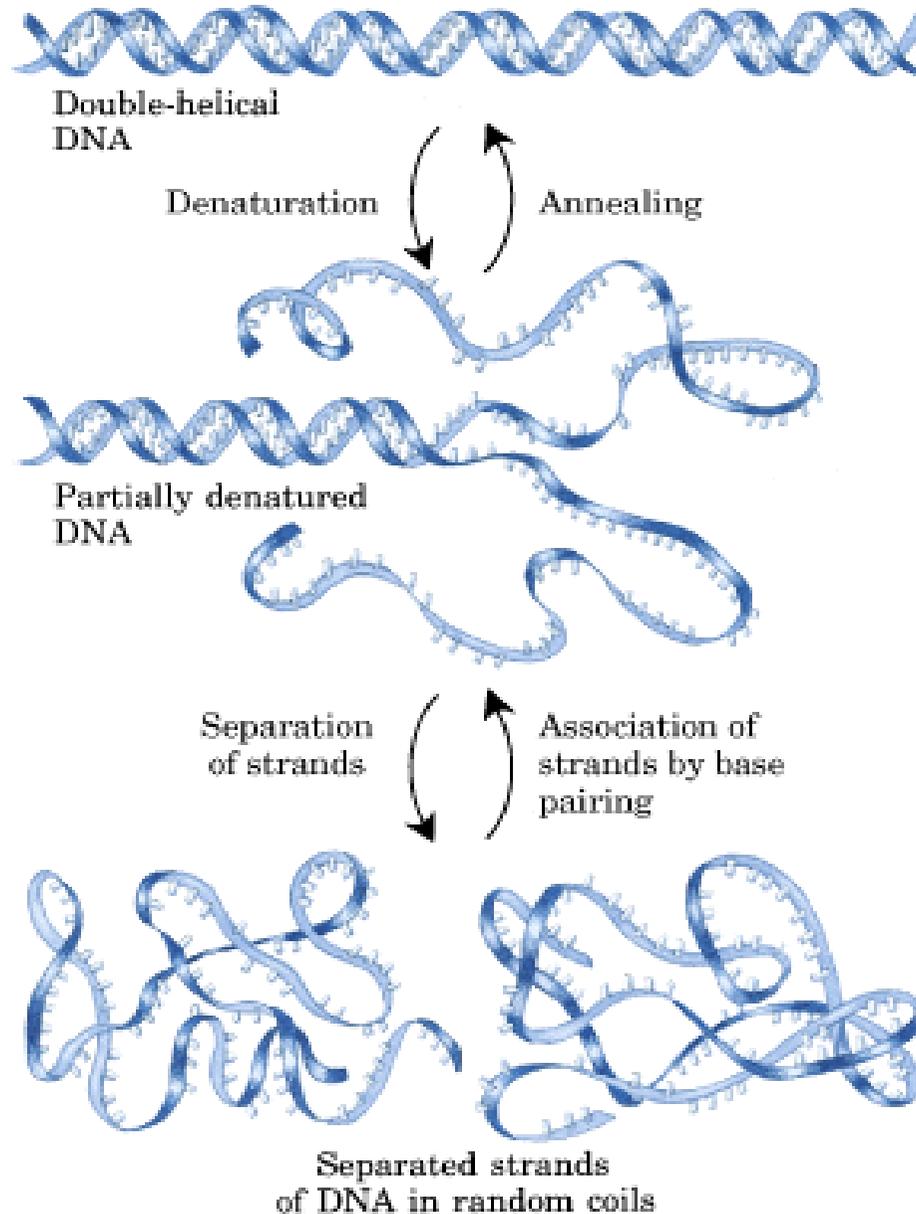


(a)



O pareamento complementar

Desenovelamento de DNA



Envolve mudanças das propriedades físico-químicas da molécula do DNA e da solução

→ Viscosidade

→ Absorção de Luz

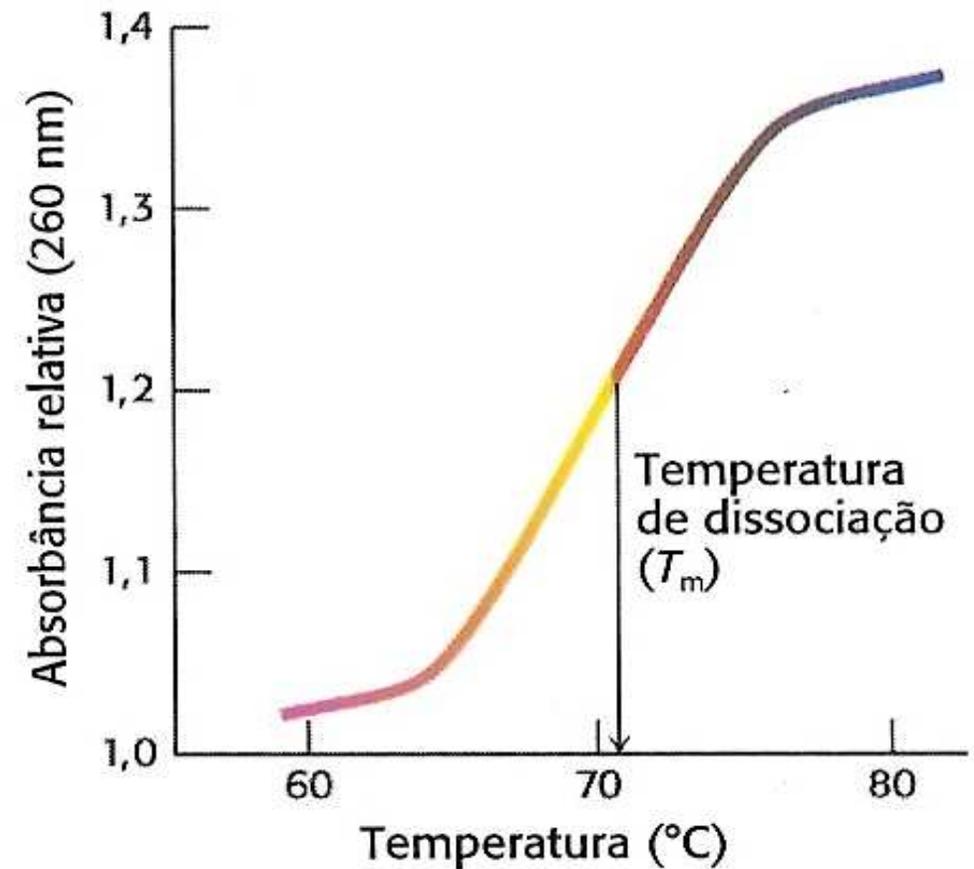
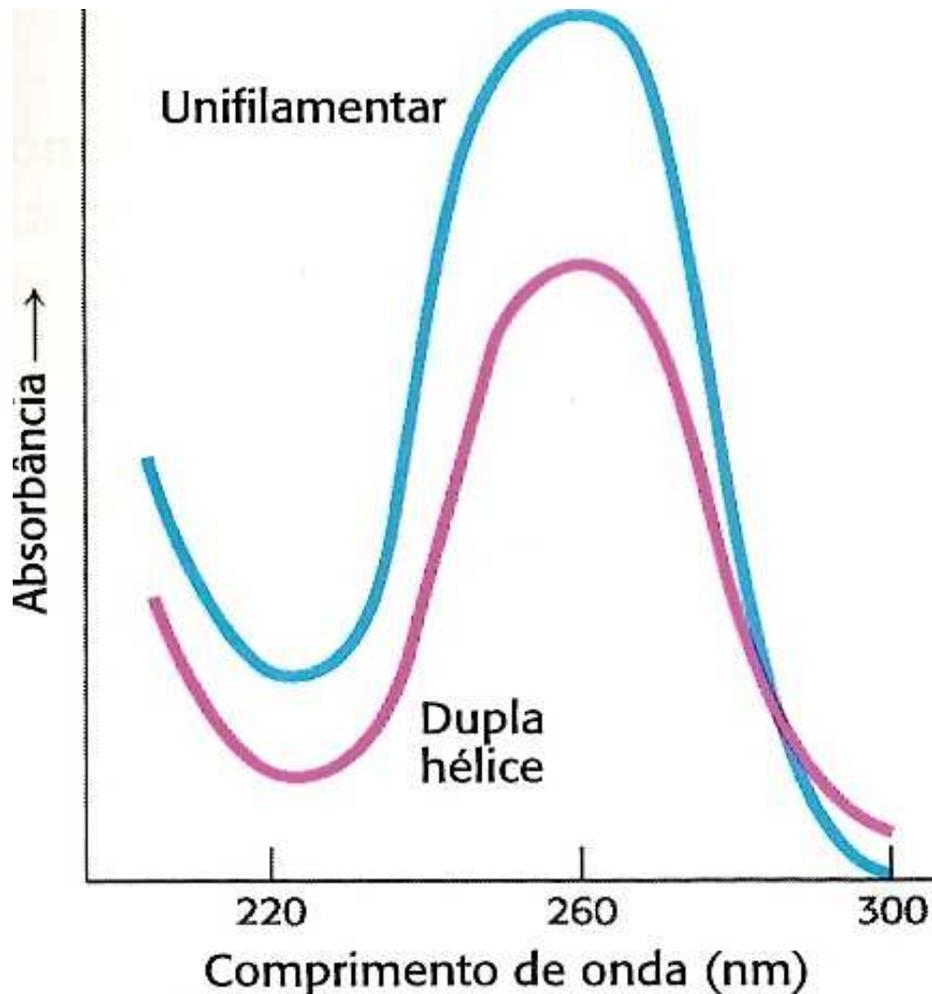
→ Etc.

O pareamento complementar

Desenovelamento de DNA

Efeito Hipercrômico

→ Elétrons livres no DNA desenovelado absorvem mais luz



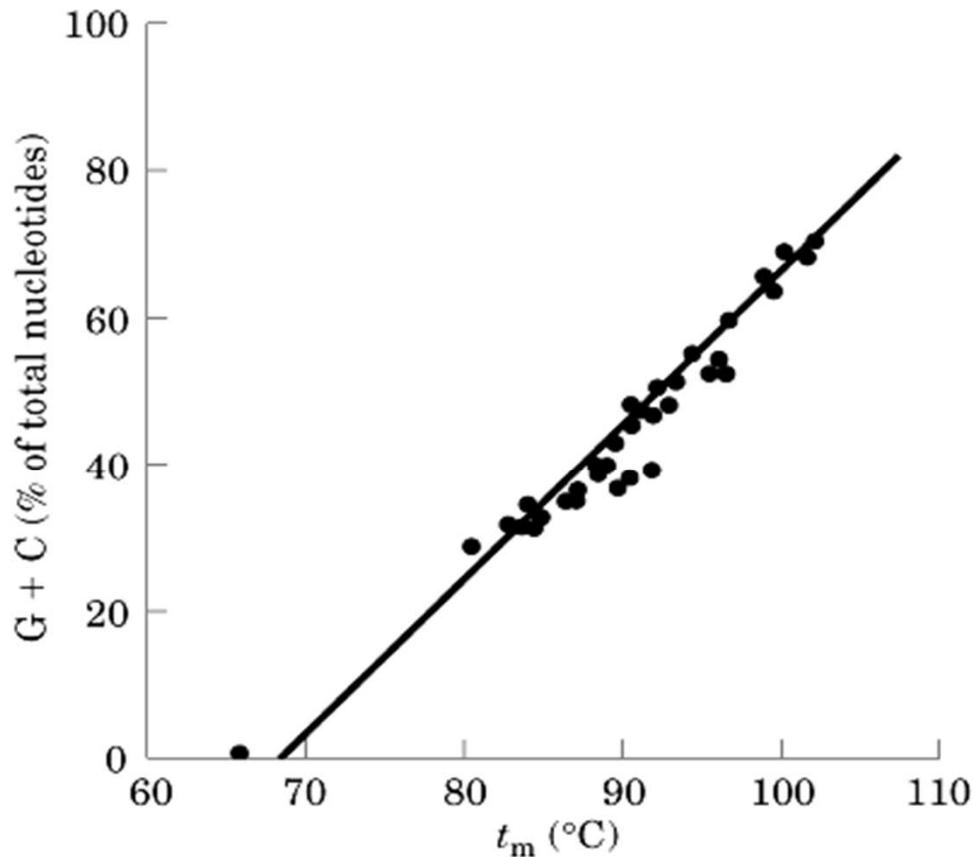
O pareamento complementar

Desenovelamento de DNA

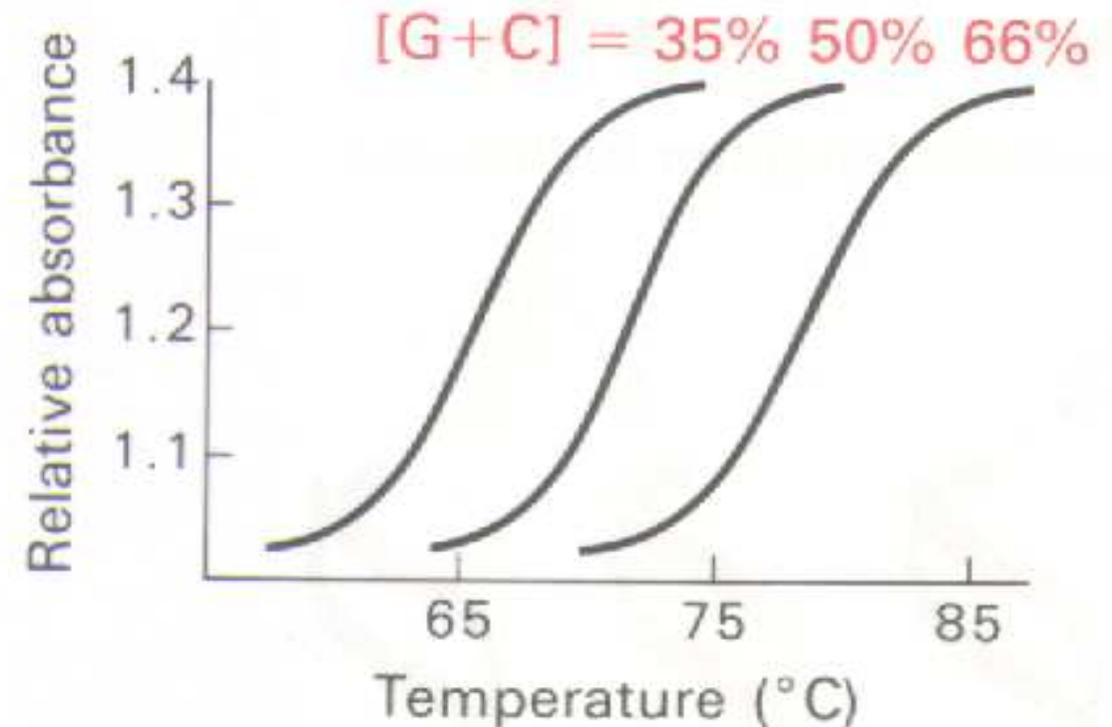
Quanto maior o conteúdo de C + G → maior a T_m de desenovelamento

→ Maior número em C + G

→ Empilhamento das Bases



(b)



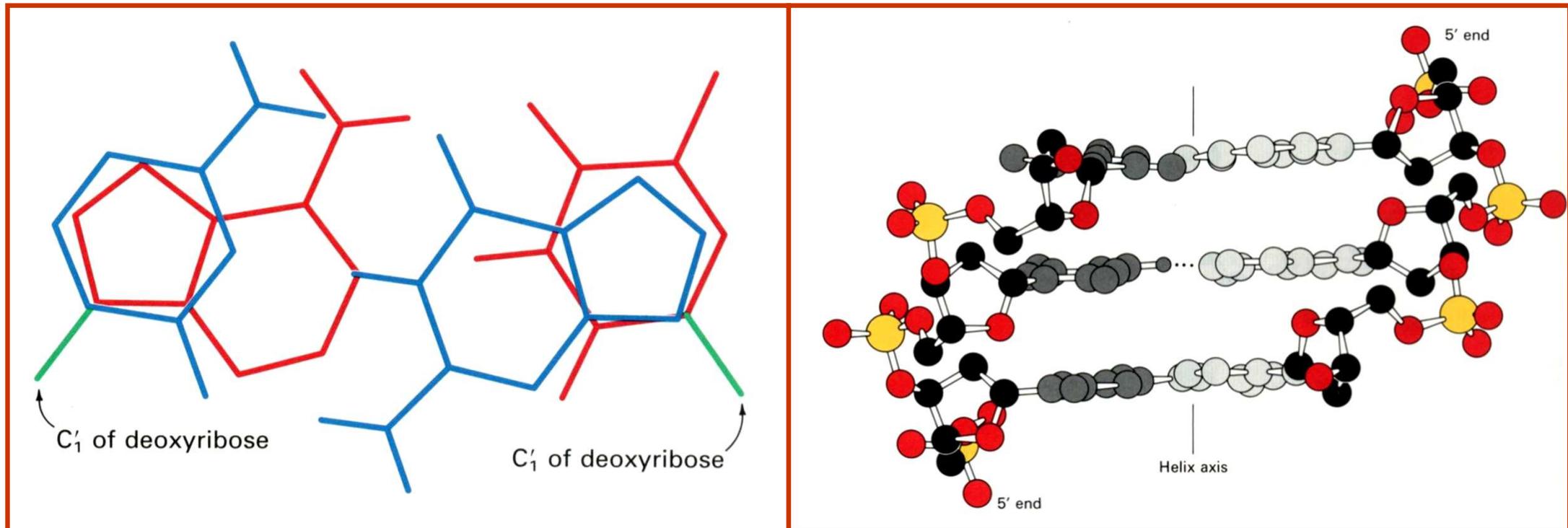
O pareamento complementar

O pareamento A---T e C---G mantém a estrutura do DNA regular pela manutenção da:

→ Distância regular do esqueleto de fosfodeoxiribose;

- Tal pareamento evita Fatores estéricos;

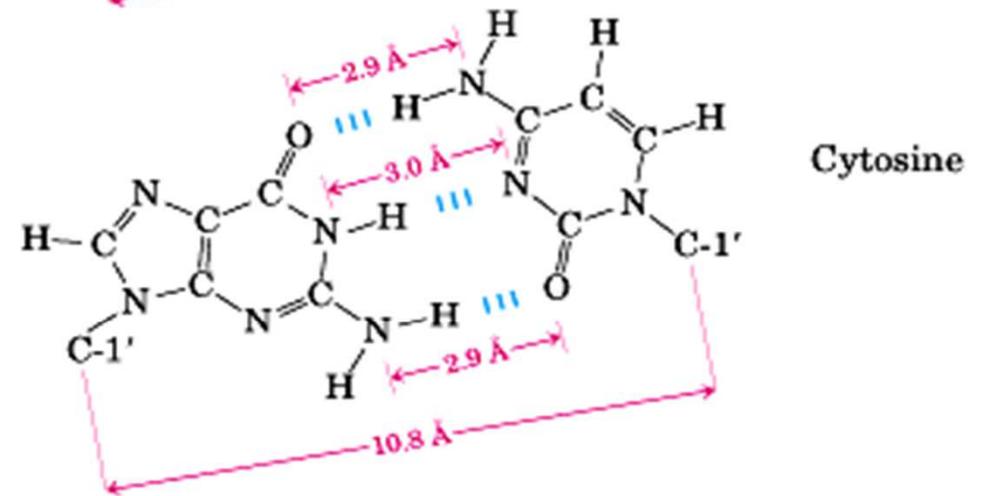
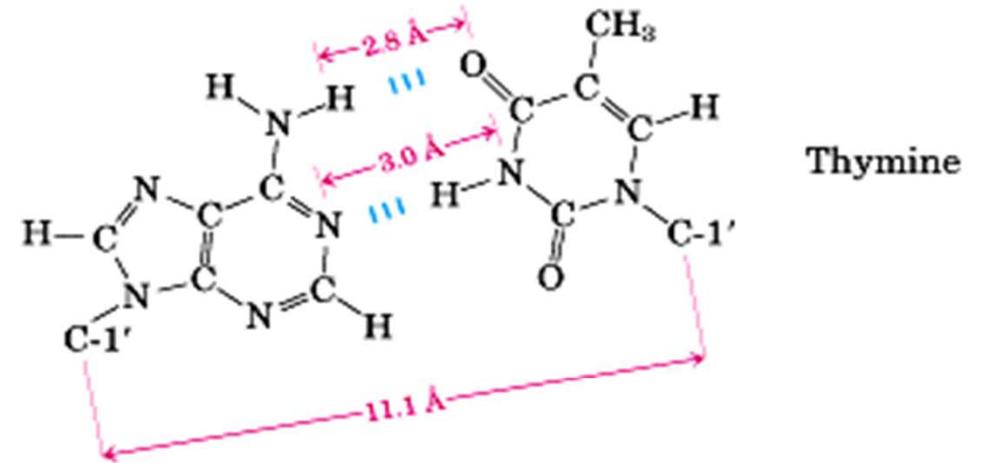
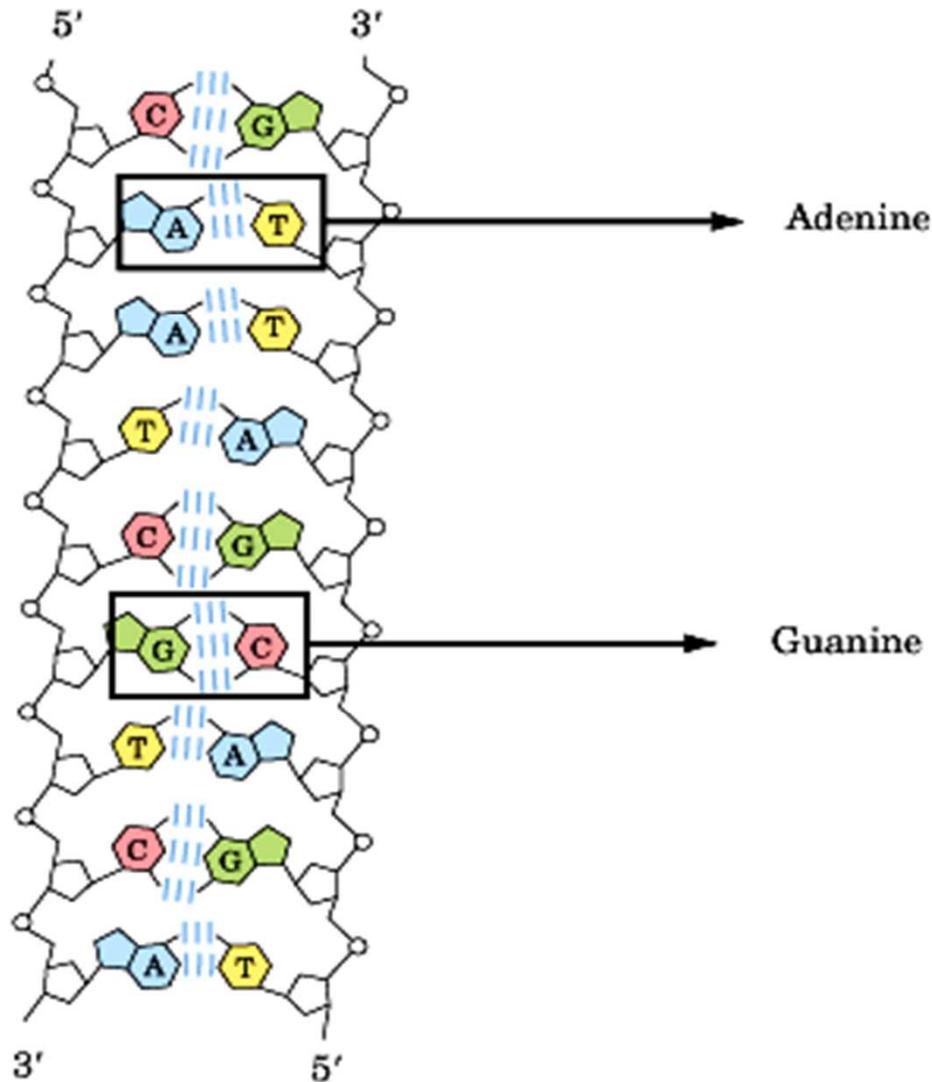
→ Inlui na especificidade da replicação.



O pareamento complementar

“As Ligações de hidrogênio”

Distância e orientação são ótimas para as ligações de H entre as bases.



O pareamento complementar

O pareamento A---T e C---G mantém a estrutura do DNA regular pela manutenção do:

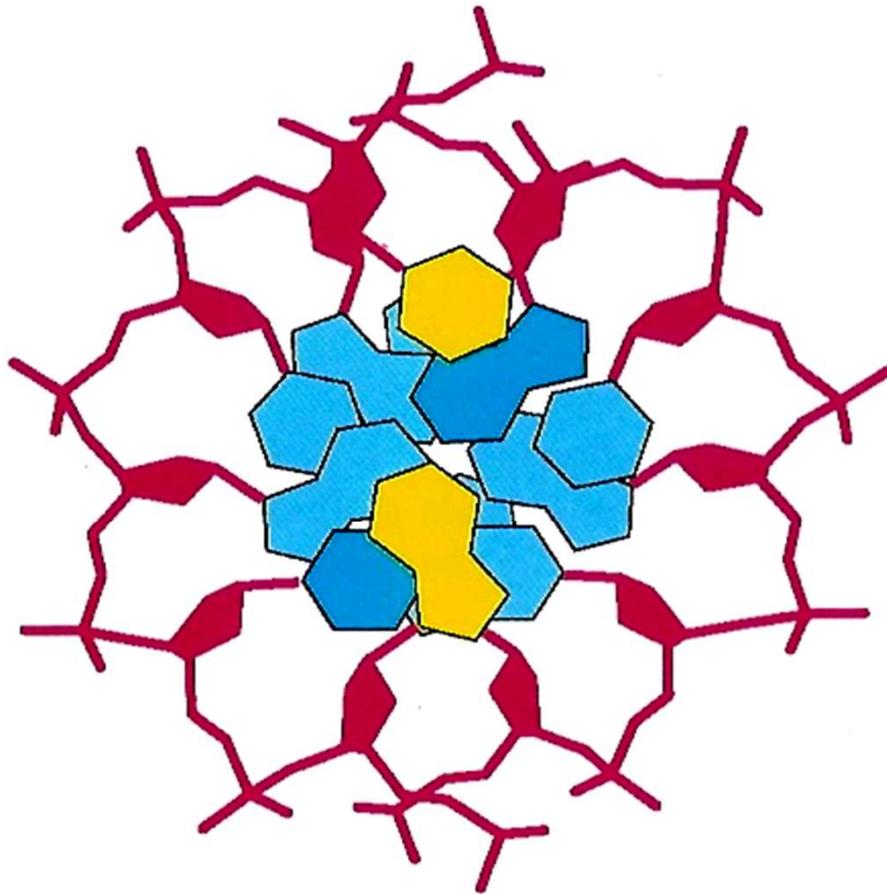


Fig. 5.13 Vista axial do DNA. Os pares de bases estão empilhados na dupla hélice.

Empilhamento das bases de DNA favorece:

→ Interações por van der Waals

→ Interações hidrofóbicas entre as bases de uma mesma fita estabiliza a hélice.

→ Efeito **HIDRÓFOBO**

- Superfície externa polar

- Interior apolar do anel da Base

↑ **Entropia do sistema**

Estrutura do DNA

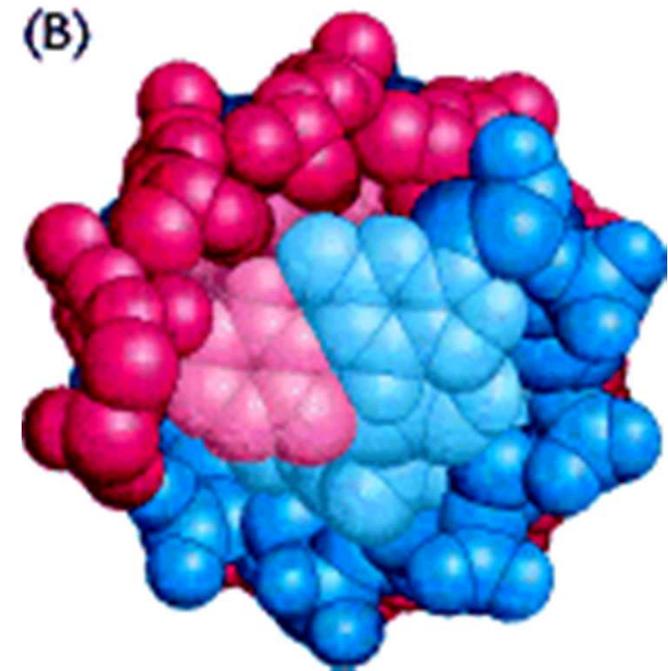
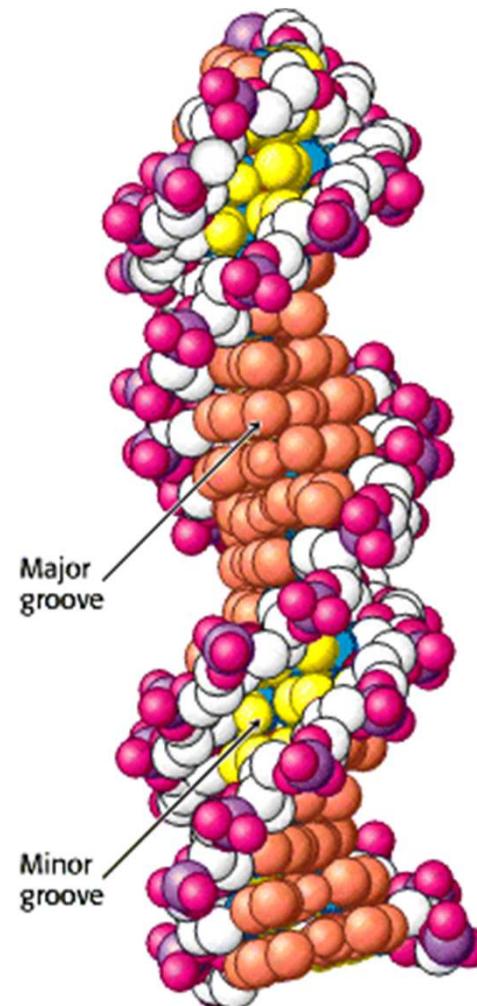
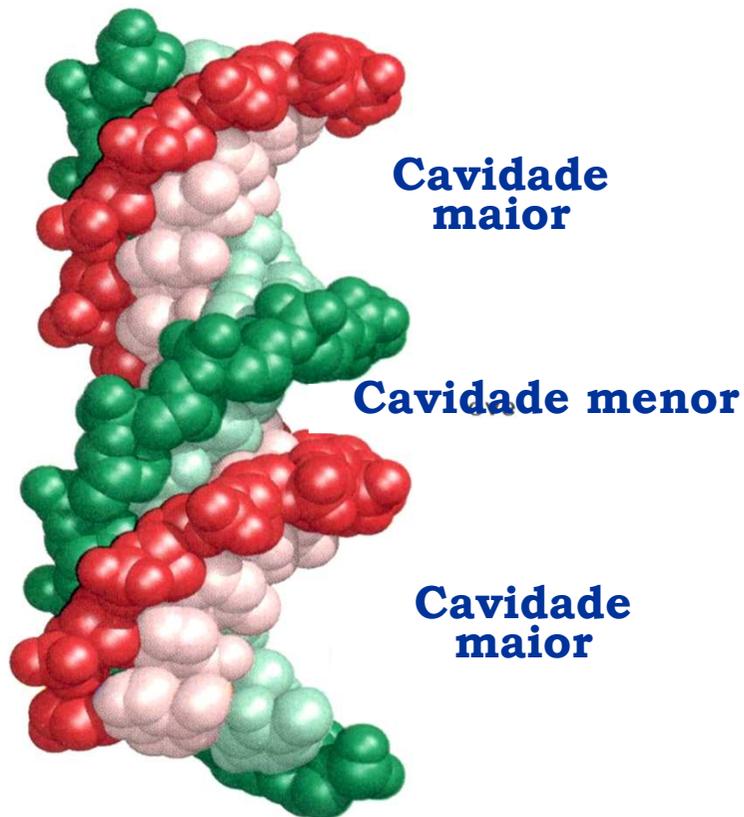
A hélice de DNA tem cavidades (Sulcos) de diferentes tamanhos,

Cavidade maior: 12 Å de comprimento;

Cavidade menor: 6 Å de comprimento;

→ Ambos tem aproximadamente 8 Å de profundidade;

Estão em lados opostos das bases pareadas;



Estrutura do DNA

As **Cavidades maior e menor** expõem as bases pareadas ao meio:

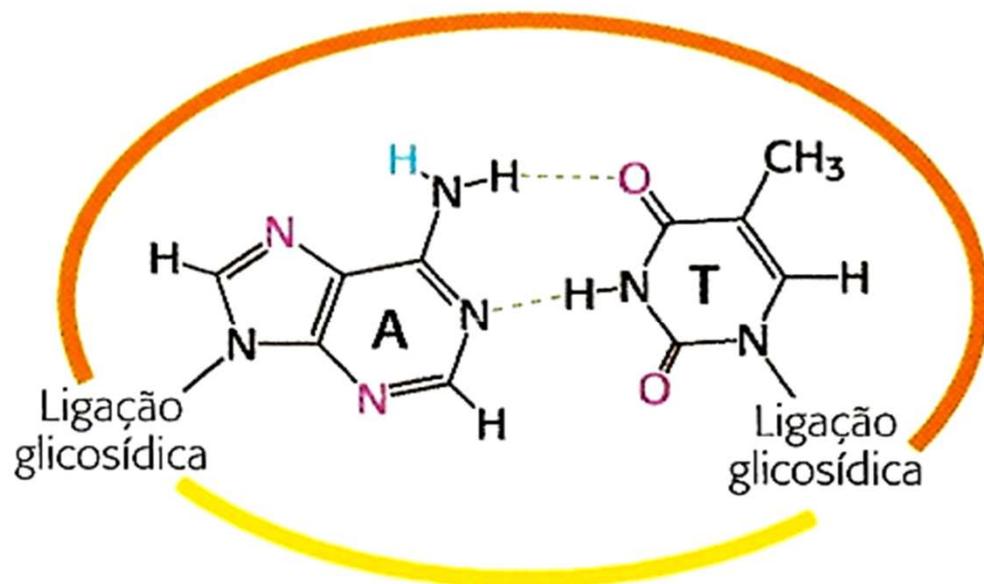
→ **Potencialidade de formar ligações de hidrogênio extra-DNA.**

→ **sequências de DNA específicas** → **Padrões de Doadores/aceptores de Prótons específicas**

→ **Sítios específicos de reconhecimento de moléculas**

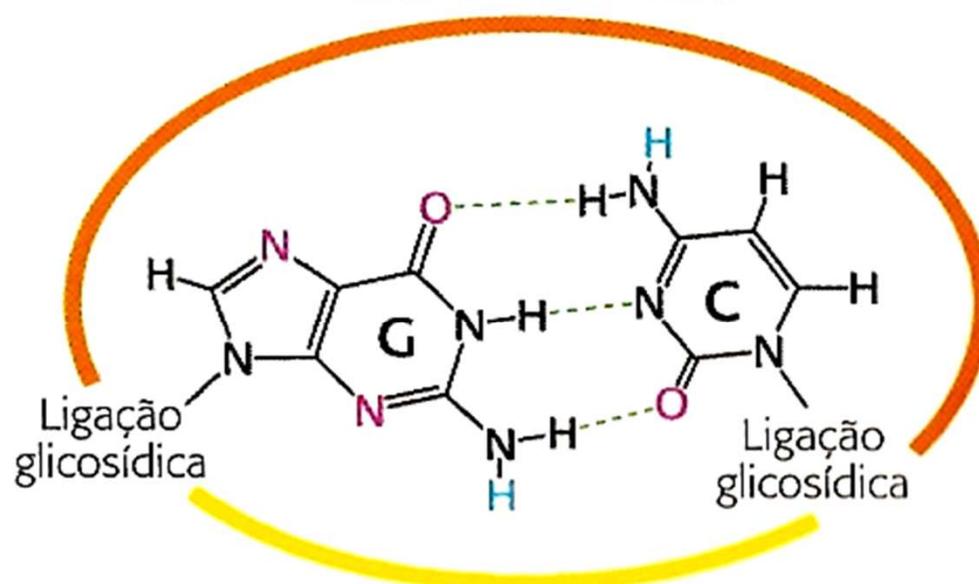
→ **São sítios para interação de proteínas, ligantes tóxicos e fármacos.**

Lado do sulco maior



Lado do sulco menor
Adenina-Timina

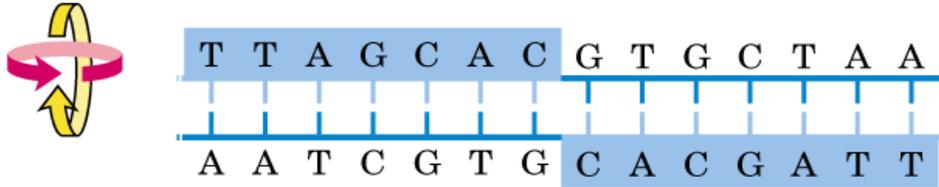
Lado do sulco maior



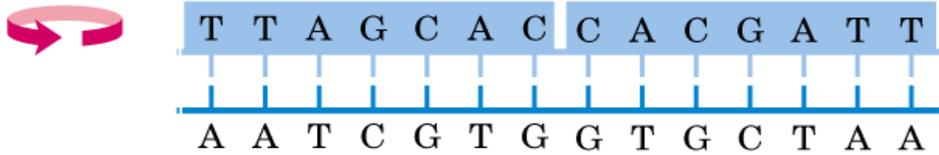
Lado do sulco menor
Guanina-Citosina

O pareamento complementar do DNA

Palindrome

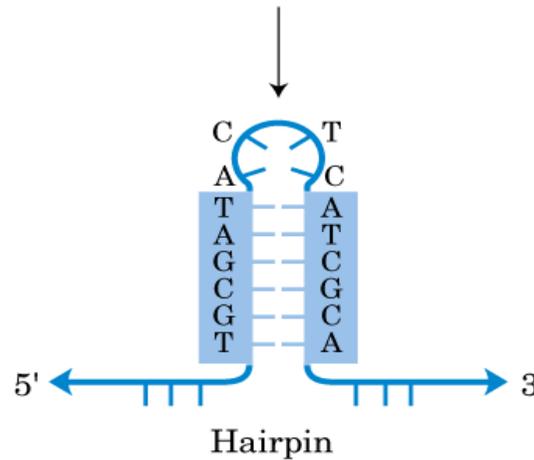


Mirror repeat

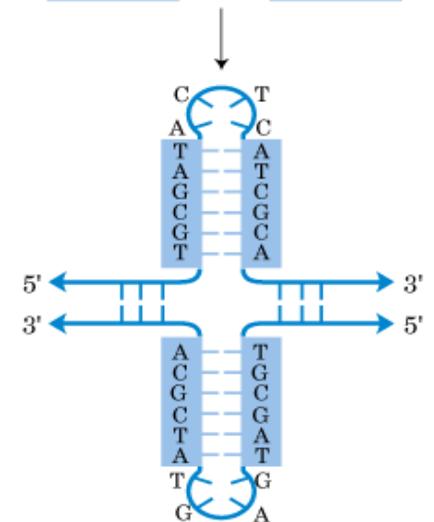


Sequências repetitivas de DNA são importantes sítios de reconhecimento do DNA

O pareamento complementar intramolecular ocasiona a formação de estruturas de DNA características



(a)

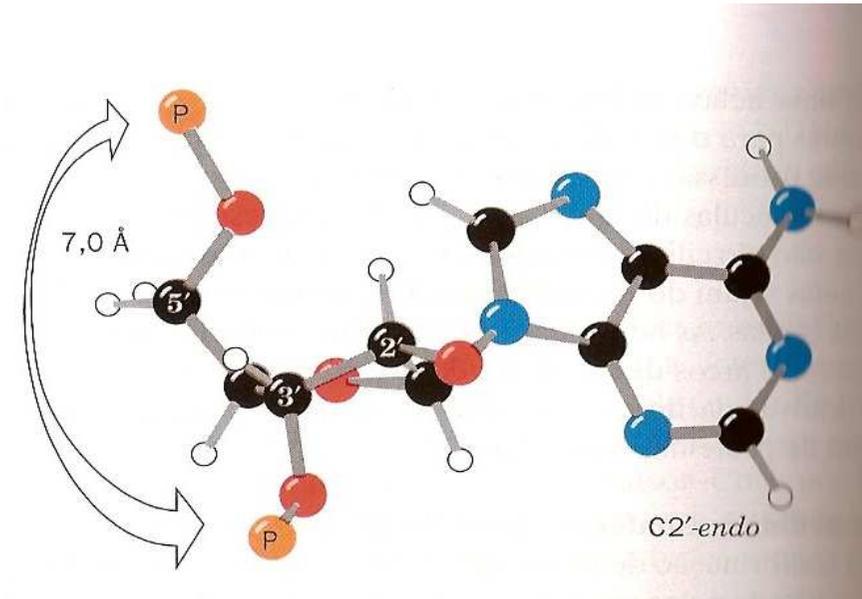
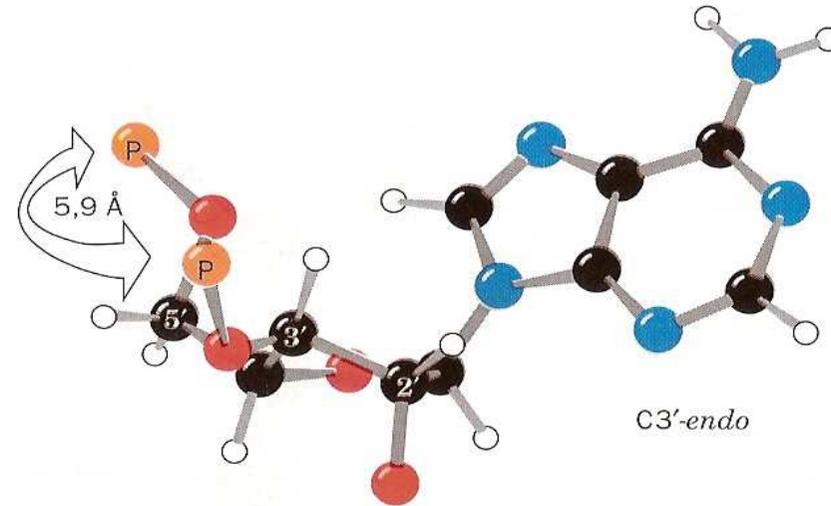
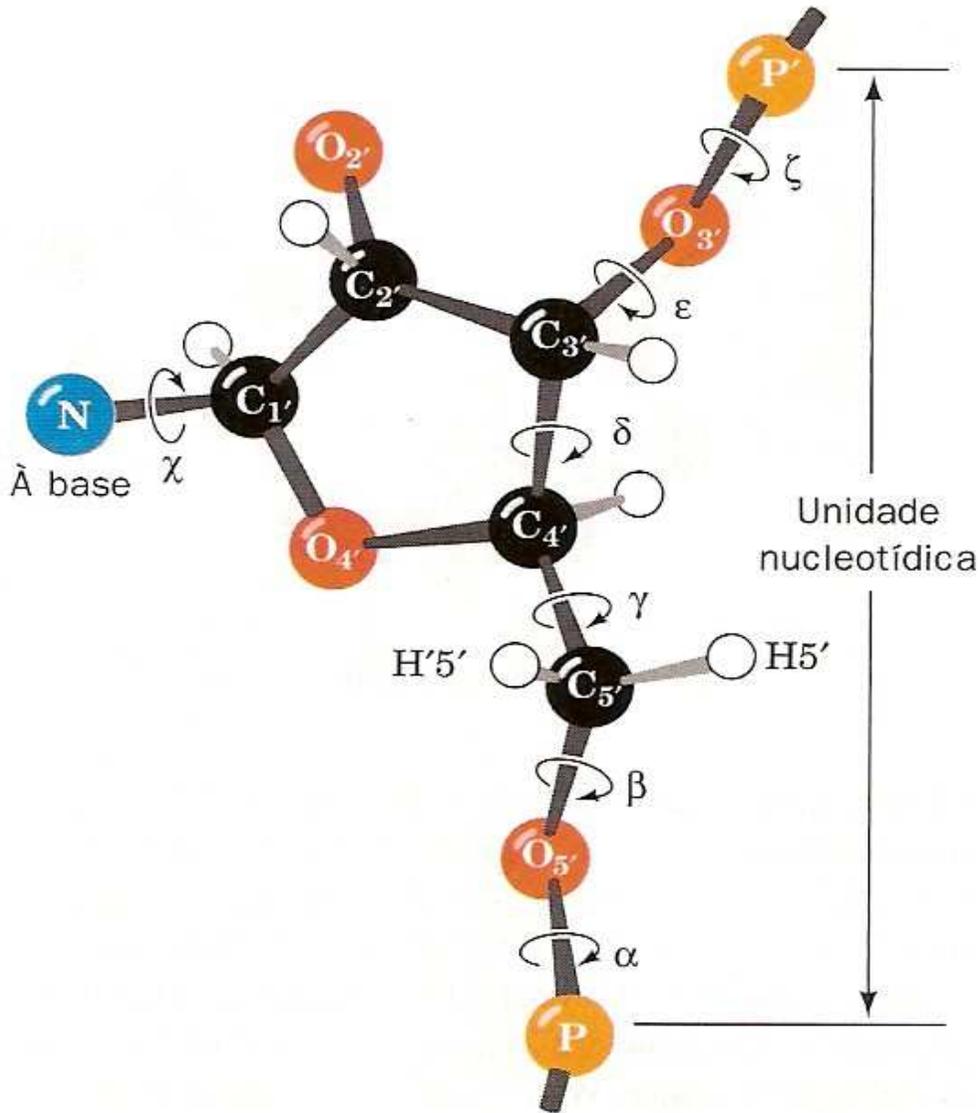


(b)

Estrutura do DNA

Restrições Conformacionais da unidade nucleotídica

→ O impedimento estérico limita a conformação do DNA



Estrutura do DNA

As variações estruturais

A-DNA

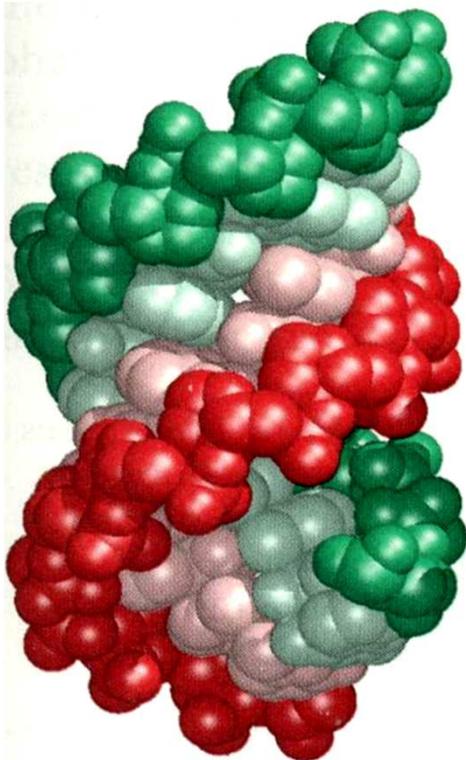
- Dependente das condições experimentais de sal e água
- 11 bases/volta
- C3'-endo

B-DNA

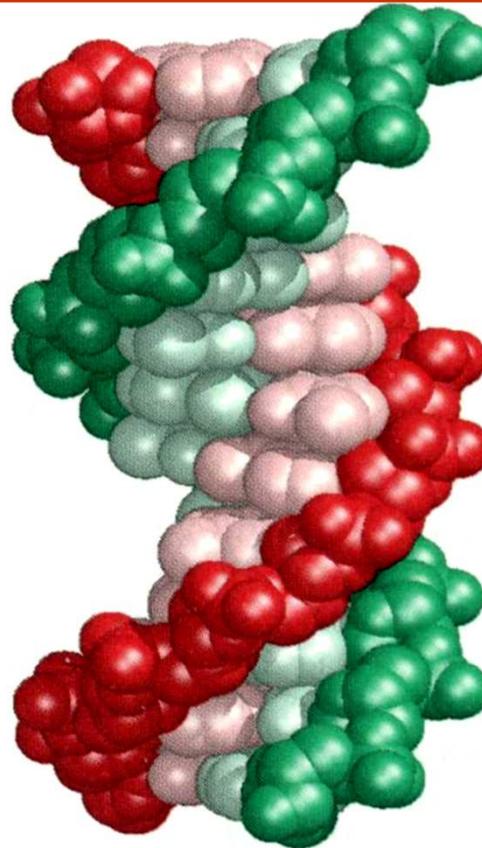
- A principal forma encontrada
- 10 bases/volta
- C2'-endo

Z-DNA

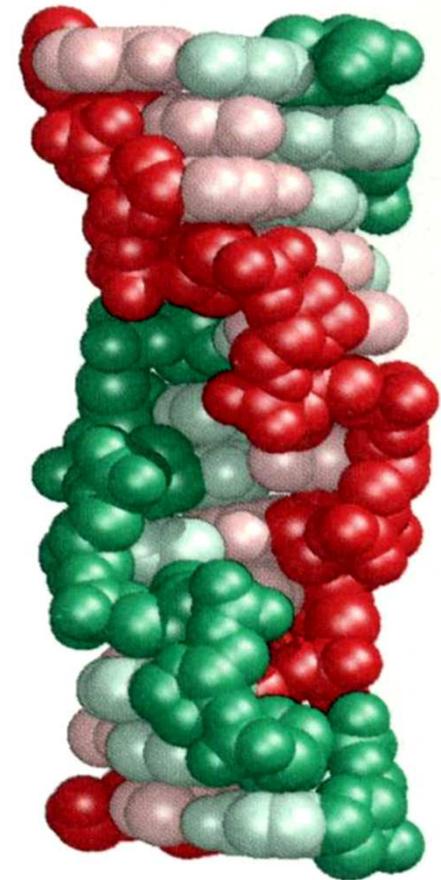
- Enrolado para esquerda
- Fosfatos em ZigueZague
- sequências ricas em G-C e alta [Sal]



A-DNA



B-DNA



Z-DNA

Ácidos Nucléicos

Estrutura dos Polímeros do RNA → o papel do 2' OH

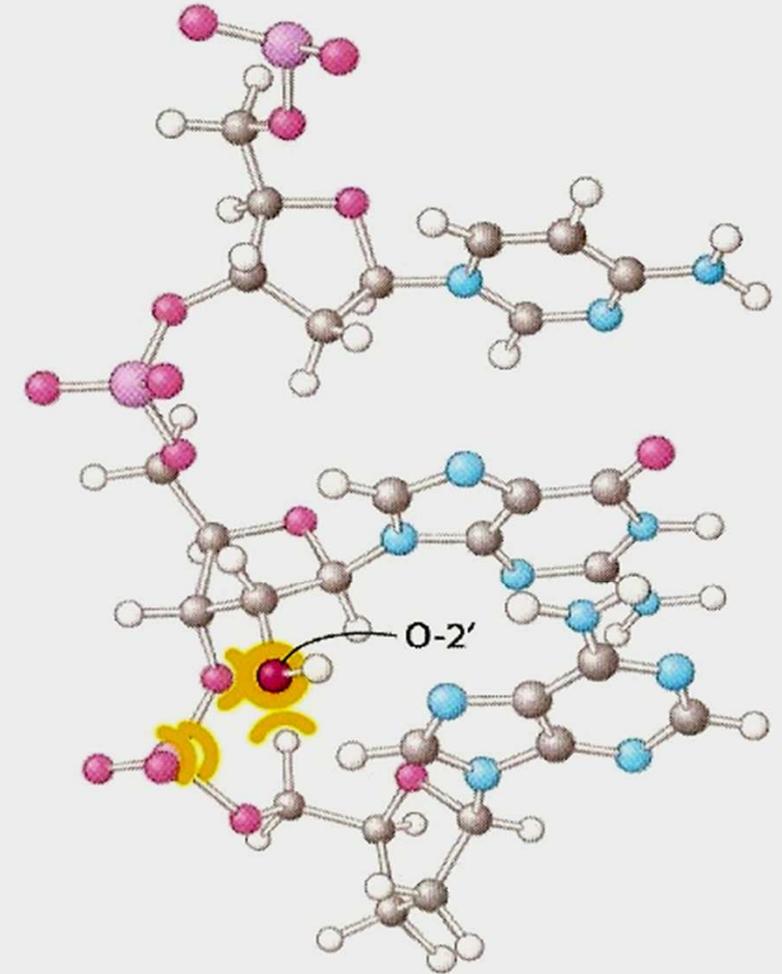
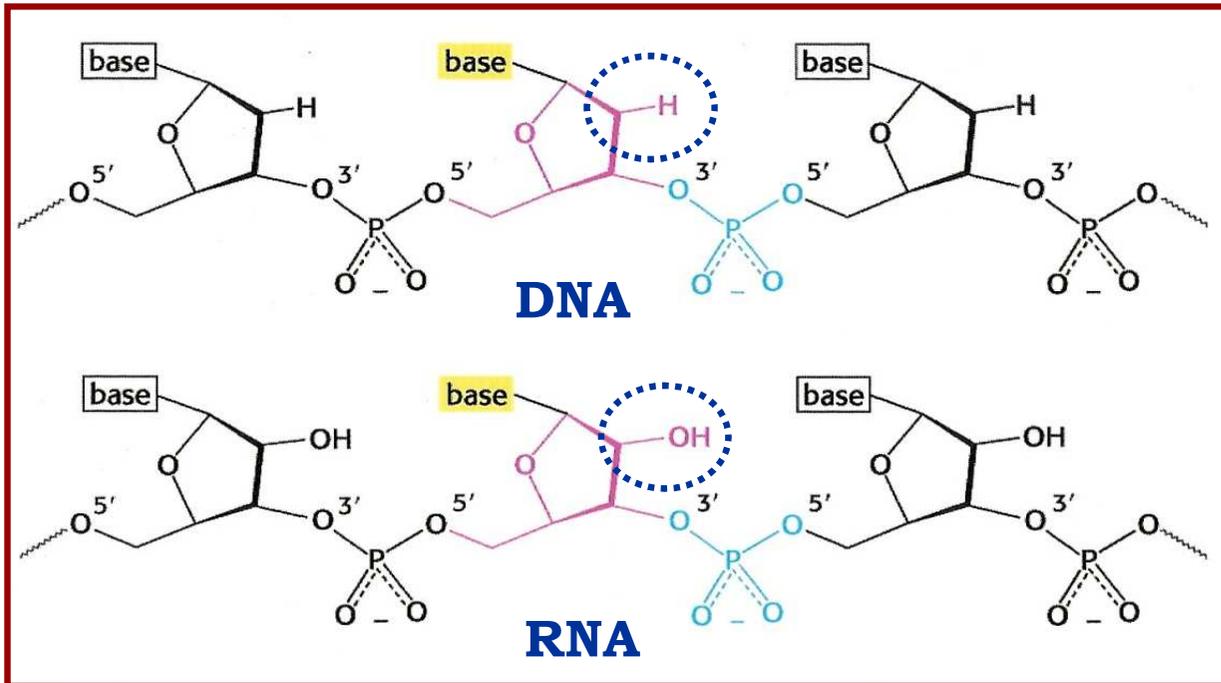


Fig. 27.6 Choque estérico. A introdução de uma hidroxila 2' na estrutura em forma B leva a vários choques estéricos com átomos vizinhos.

Impedimento estérico da OH 2'

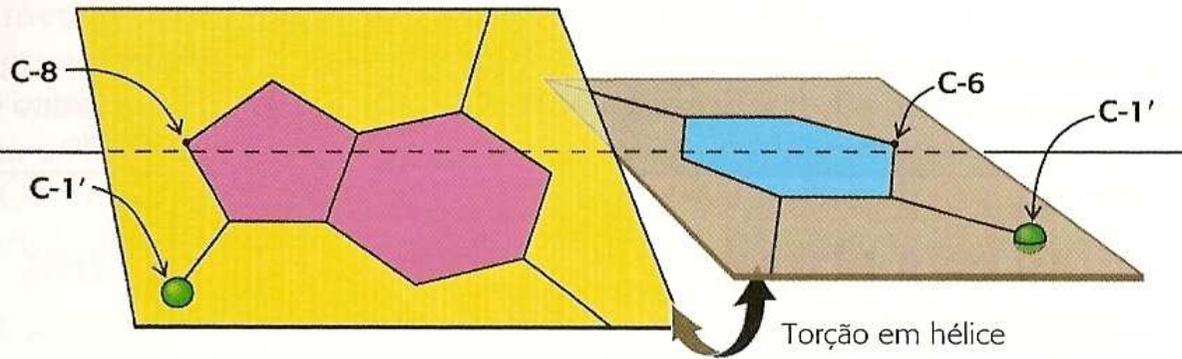
RNA não assume conformação em dupla hélice como o DNA faz no B-DNA

Estrutura do DNA

As variações estruturais

→ Variações de helicoidação de 28° a 42°

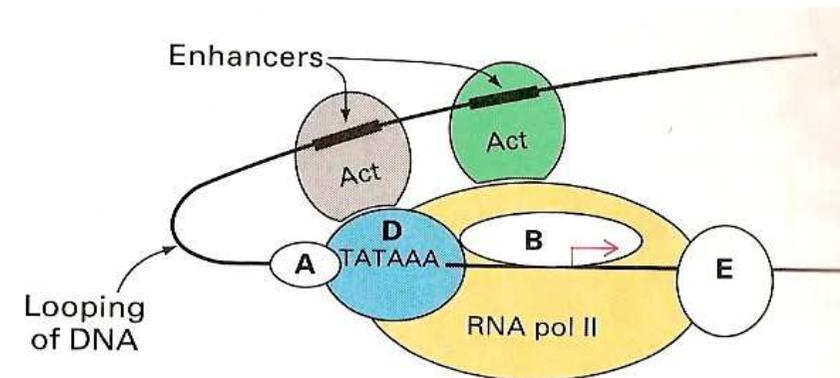
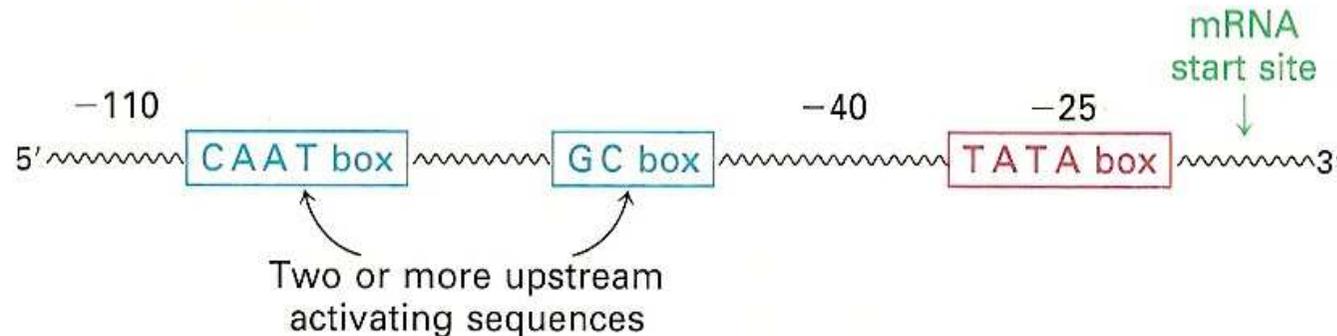
→ As bases pareadas não são co-planares → estão como pás de uma hélice.



- Chamado de *Torsão em hélice*
- Favorece o empilhamento das Bases

→ O DNA é flexível e dinâmico → permite interações com proteínas!

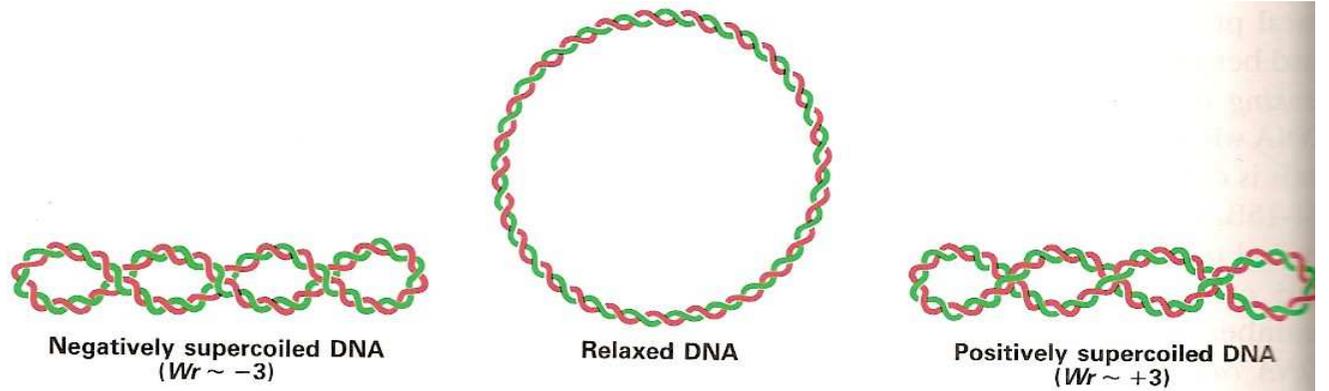
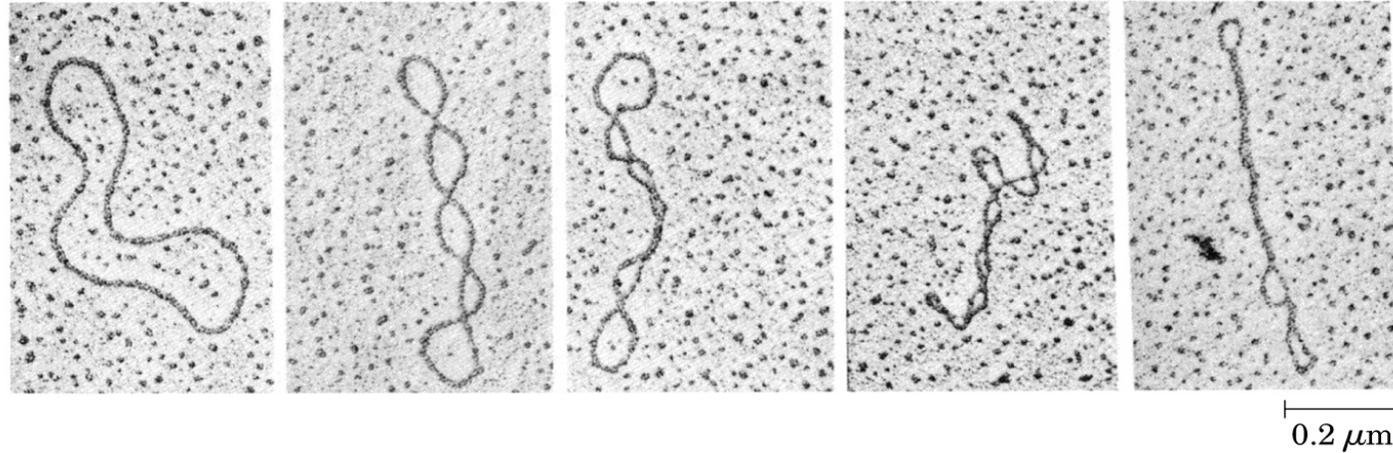
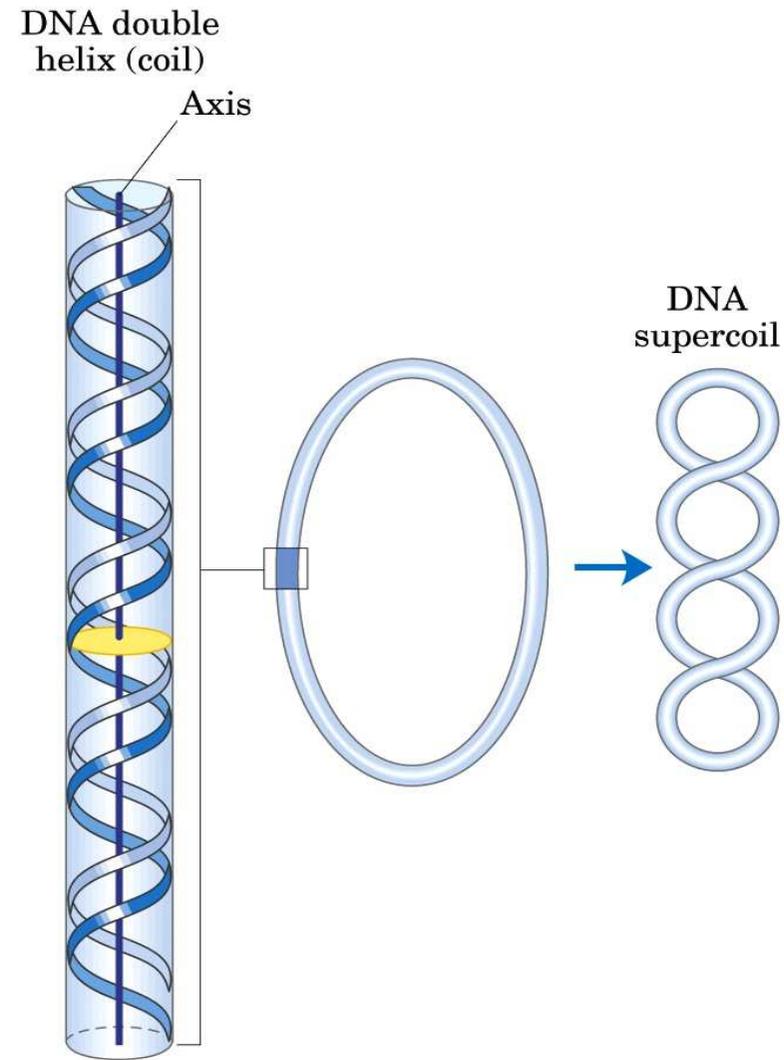
→ REGULAÇÃO!!!



Estrutura Terciária

Superenrolamento da molécula

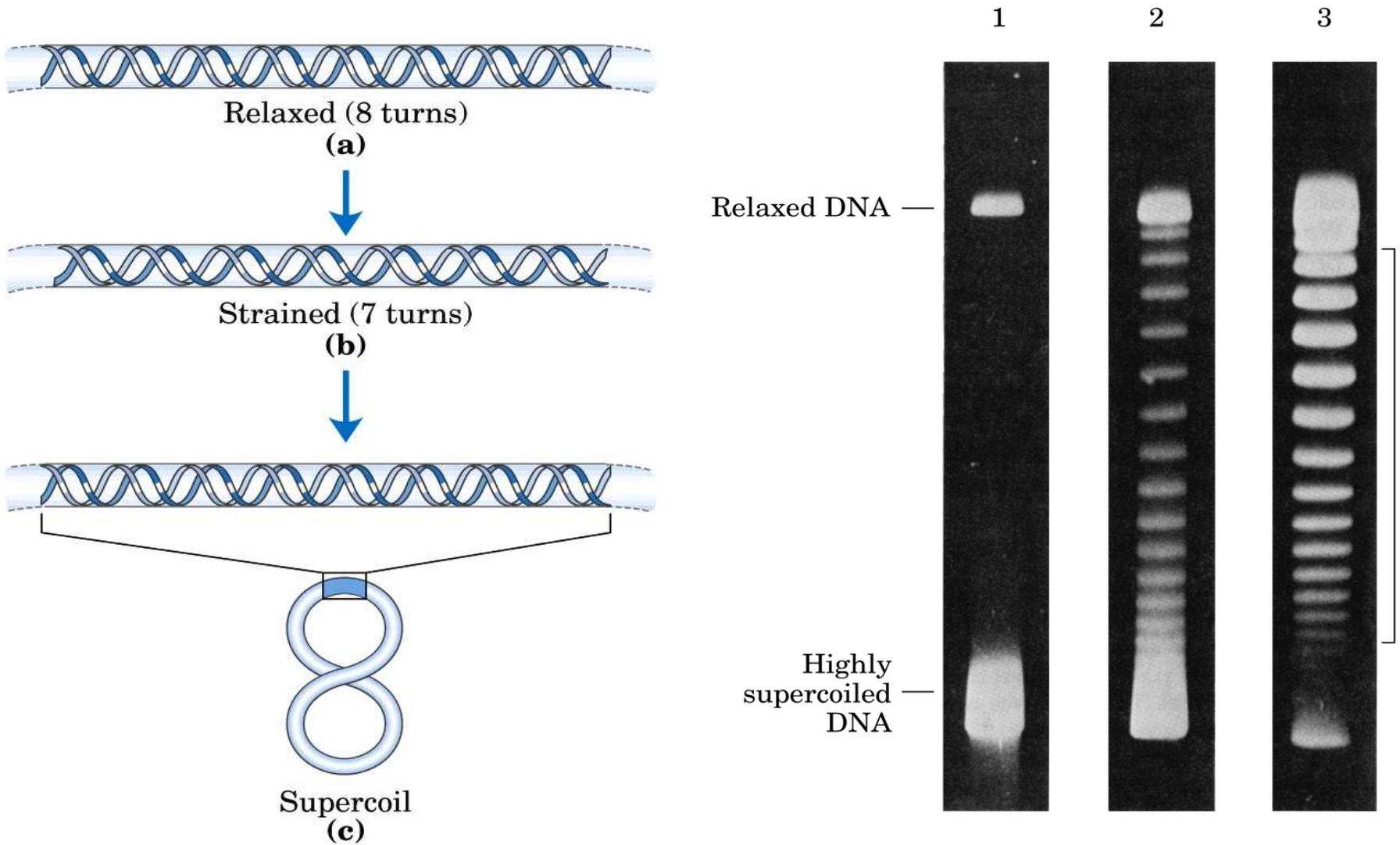
O DNA é flexível!!!!



Estrutura Terciária

Superenrolamento do DNA circular muda seu padrão de migração eletroforético.

O DNA é flexível!!!!

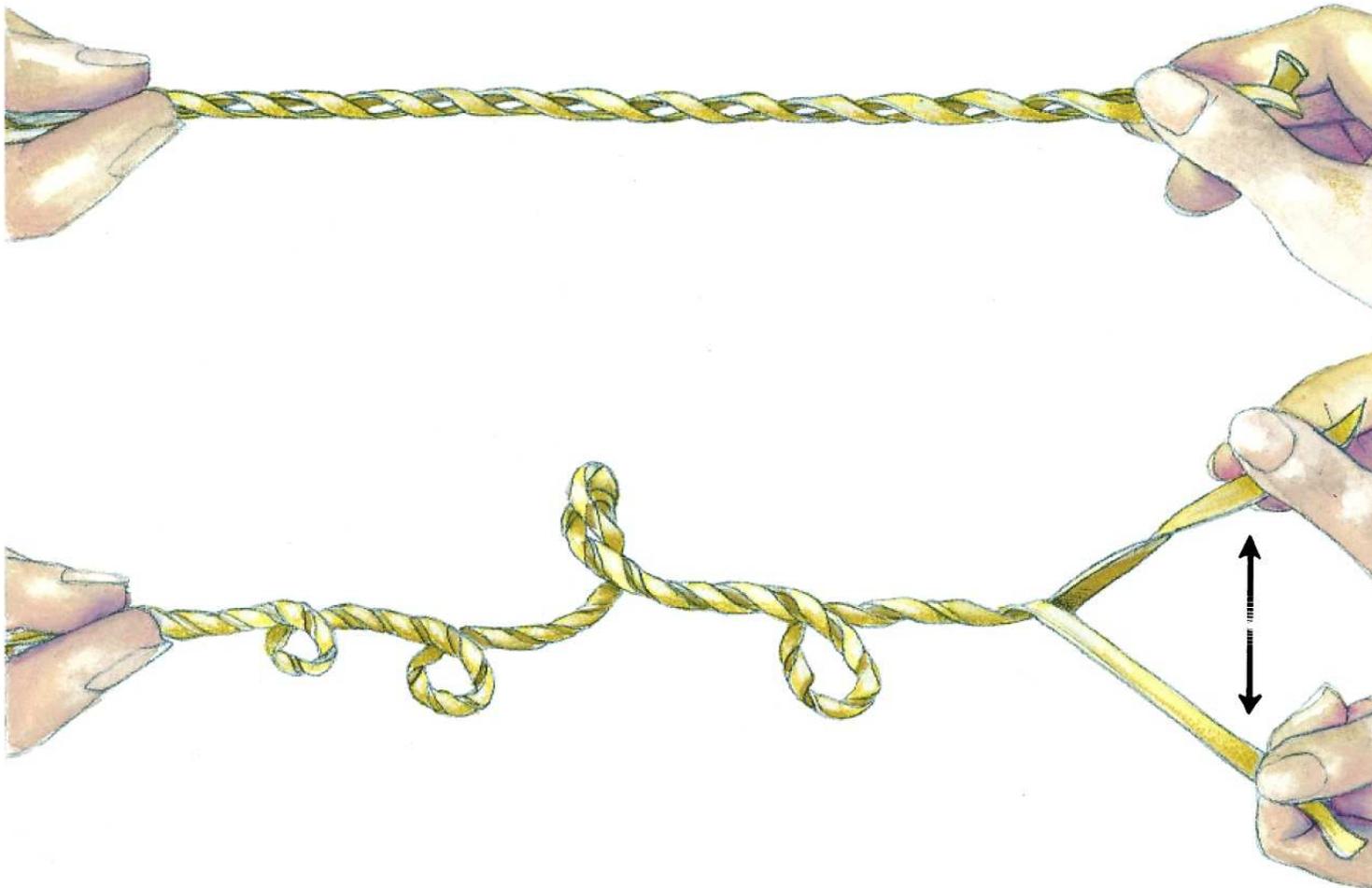


Estrutura Terciária

Superenrolamento da molécula → O DNA é flexível!!!!

Síntese é assistida por proteínas que quebram o superenrolamento do DNA

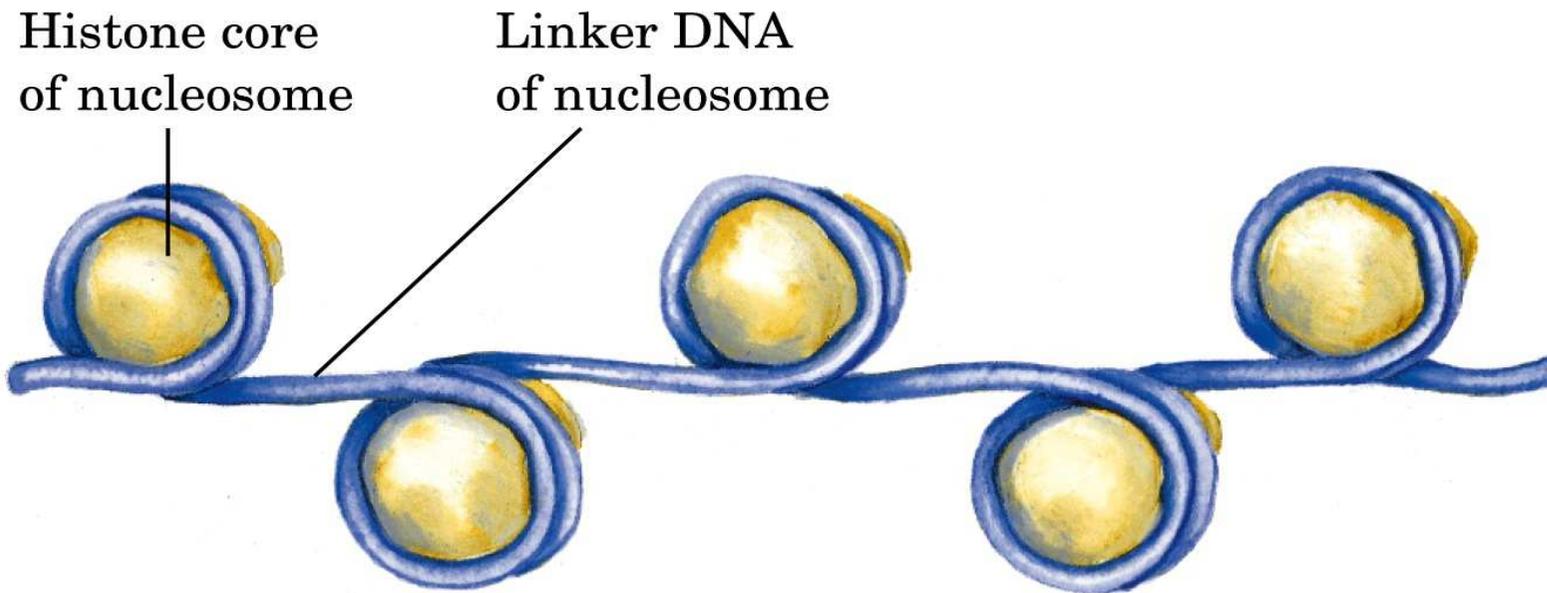
→ Topoisomases



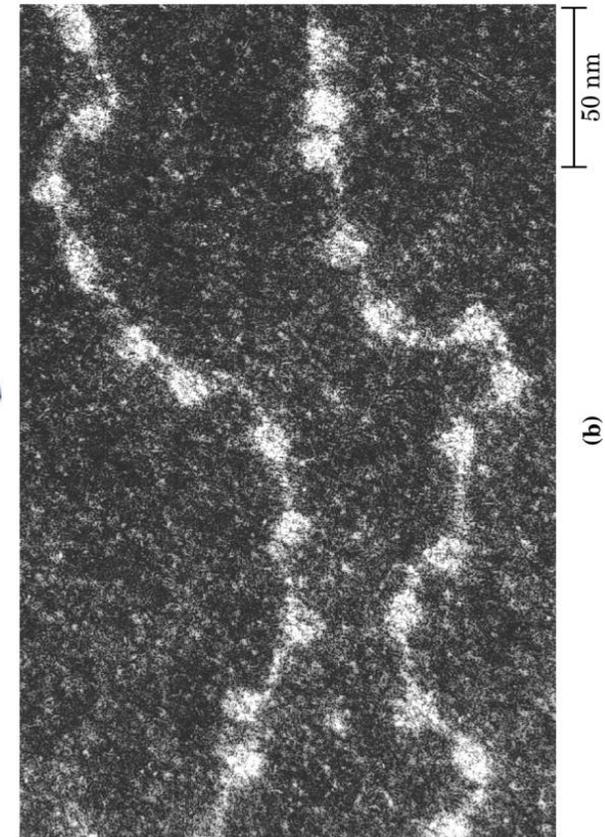
Estrutura Terciária

Superenrolamento da molécula → Conta com a participação de proteínas

→ Importante para a interação com proteínas regulatórias



(a)



(b)

Estrutura Terciária

Histonas: proteínas +++ → Cromatina

Interação e neutralização da cadeia de ribose-Fosfato

Types and Properties of Histones

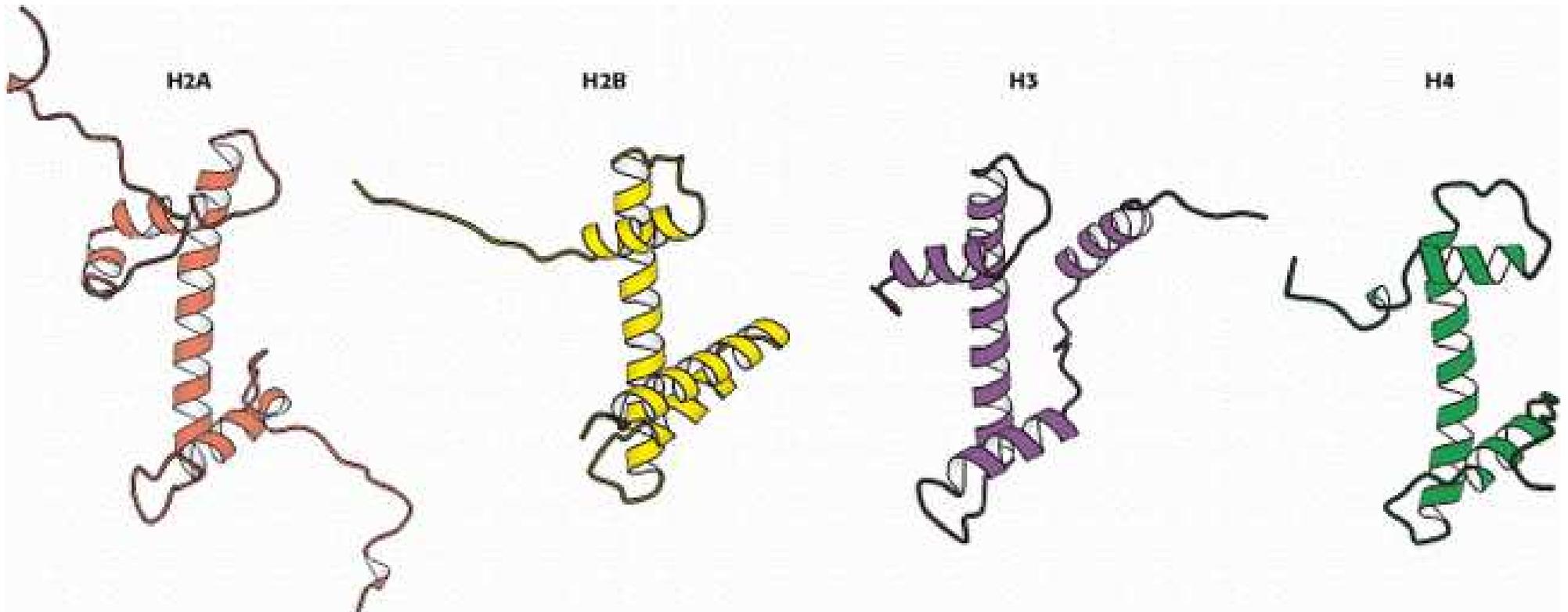
Histone	Molecular weight	Number of amino acid residues	Content of basic amino acids (% of total)	
			Lys	Arg
H1*	21,130	223	29.5	1.3
H2A*	13,960	129	10.9	9.3
H2B*	13,774	125	16.0	6.4
H3	15,273	135	9.6	13.3
H4	11,236	102	10.8	13.7

*The sizes of these histones vary somewhat from species to species. The numbers given here are for bovine histones.

Estrutura Terciária

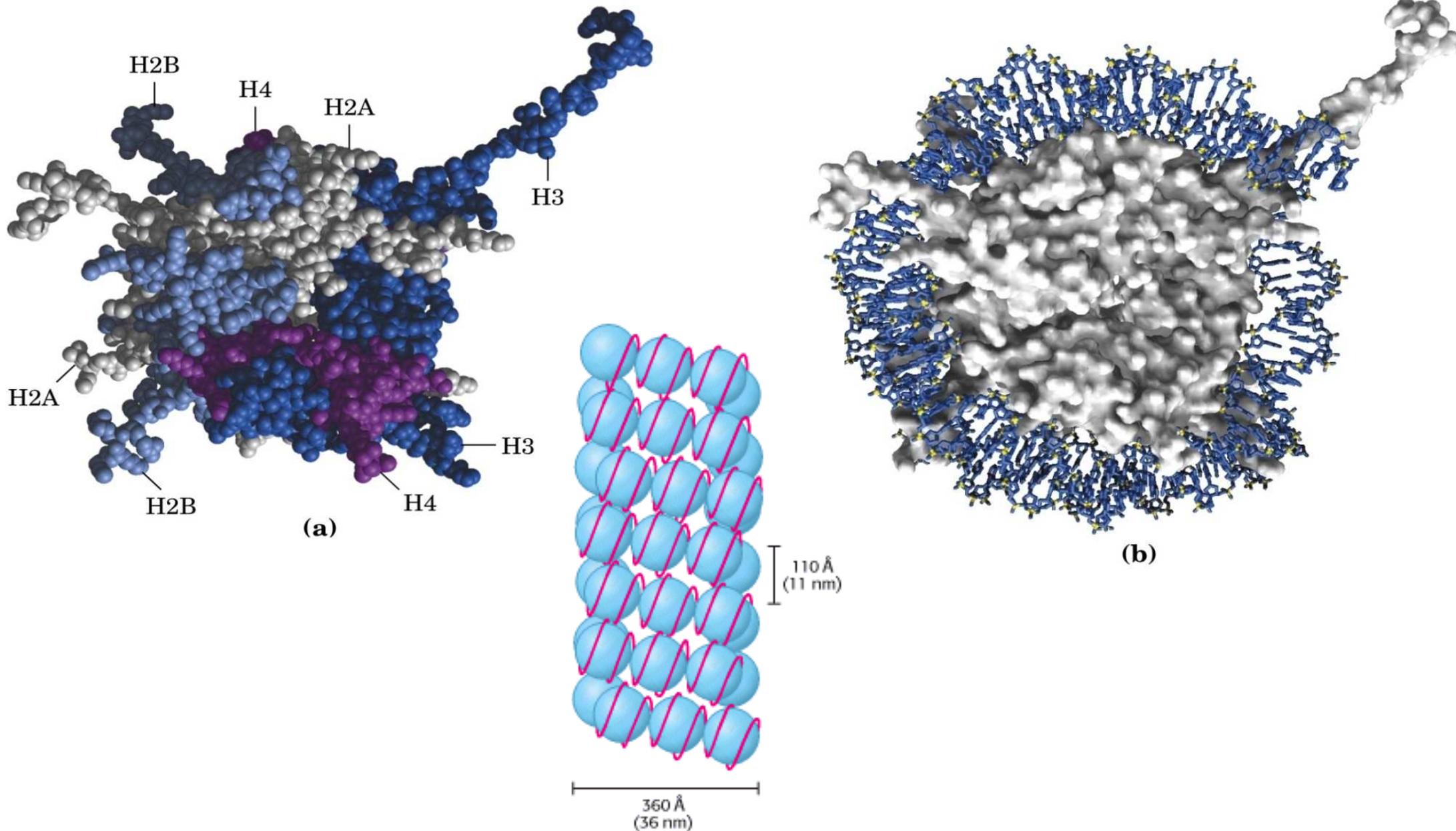
Histonas: proteínas +++ → Cromatina

Interação e neutralização da cadeia de ribose-Fosfato



Estrutura Terciária

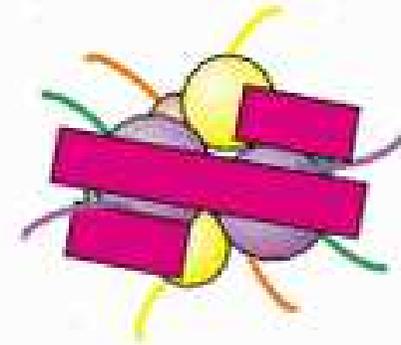
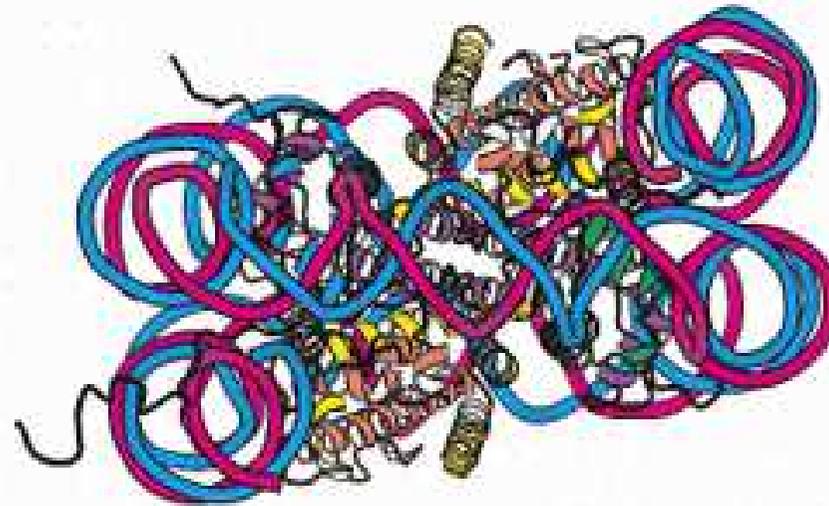
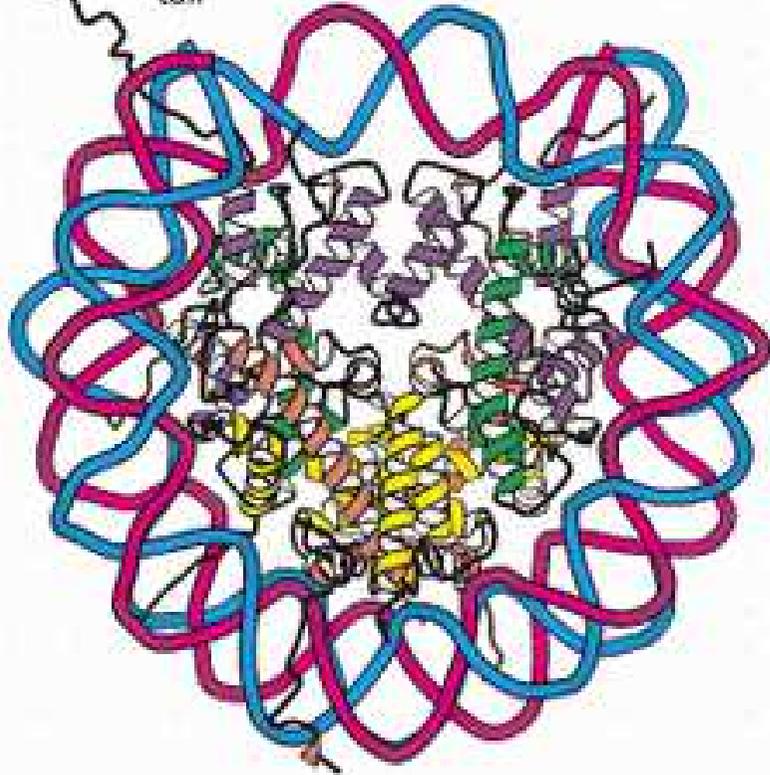
Superenrolamento da molécula → Conta com a participação de proteínas



Estrutura Terciária

Superenrolamento da molécula → Conta com a participação de proteínas

Amino-terminal
tail



Estrutura Terciária

Superenrolamento da molécula → Conta com a participação de proteínas

