

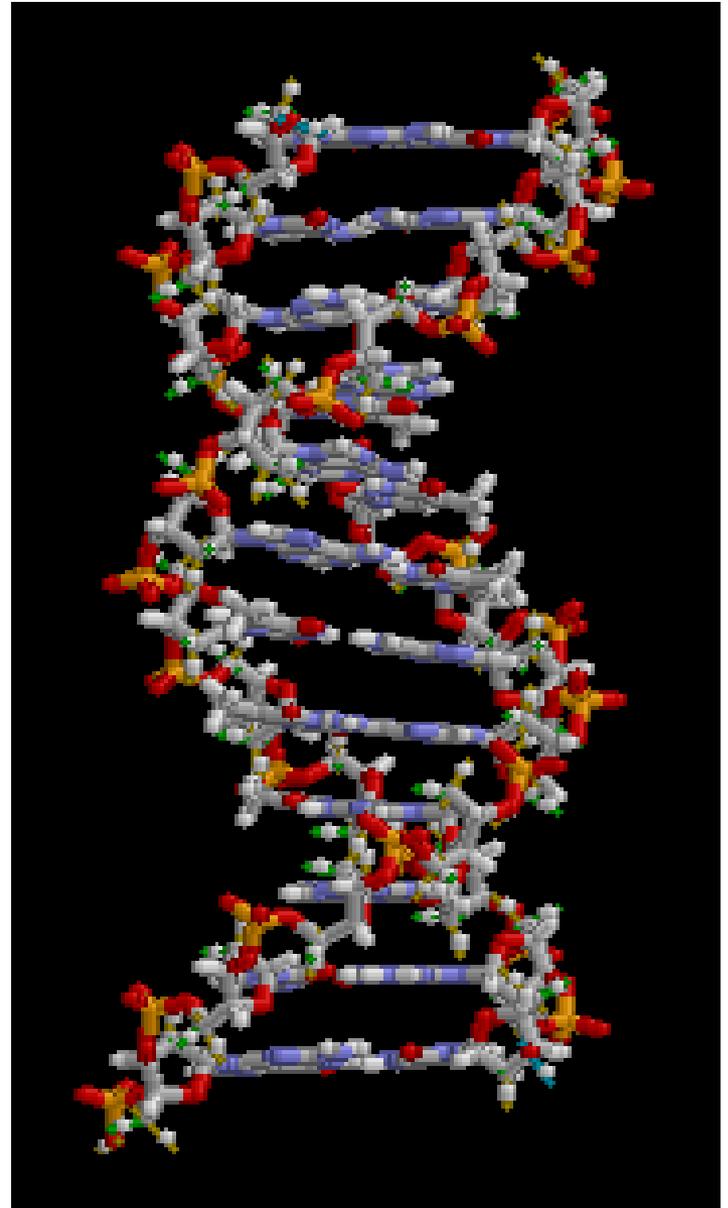
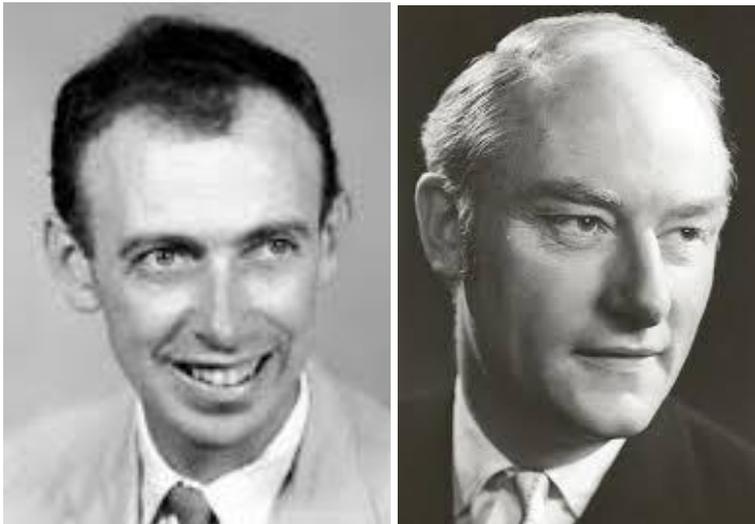
# DNA

## Ácido desoxirribonucleico: estrutura, composição e replicação



## 1953 - o ano da descoberta da estrutura do DNA

- Descoberta mais importante do século XX
- Prêmio Nobel para Maurice Wilkins, Watson e Crick (1962)



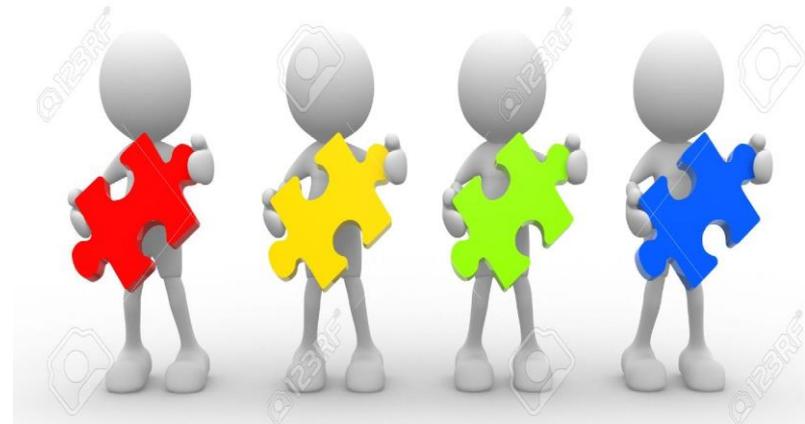
- **James Watson e Francis Crick. (1953)**
- Processo construção do modelo
  - Usando informações já disponíveis

*“Sem essas informações Watson e Crick talvez nunca tivessem concluído em 1953, que a molécula de DNA existe na forma de uma dupla hélice tridimensional.”*

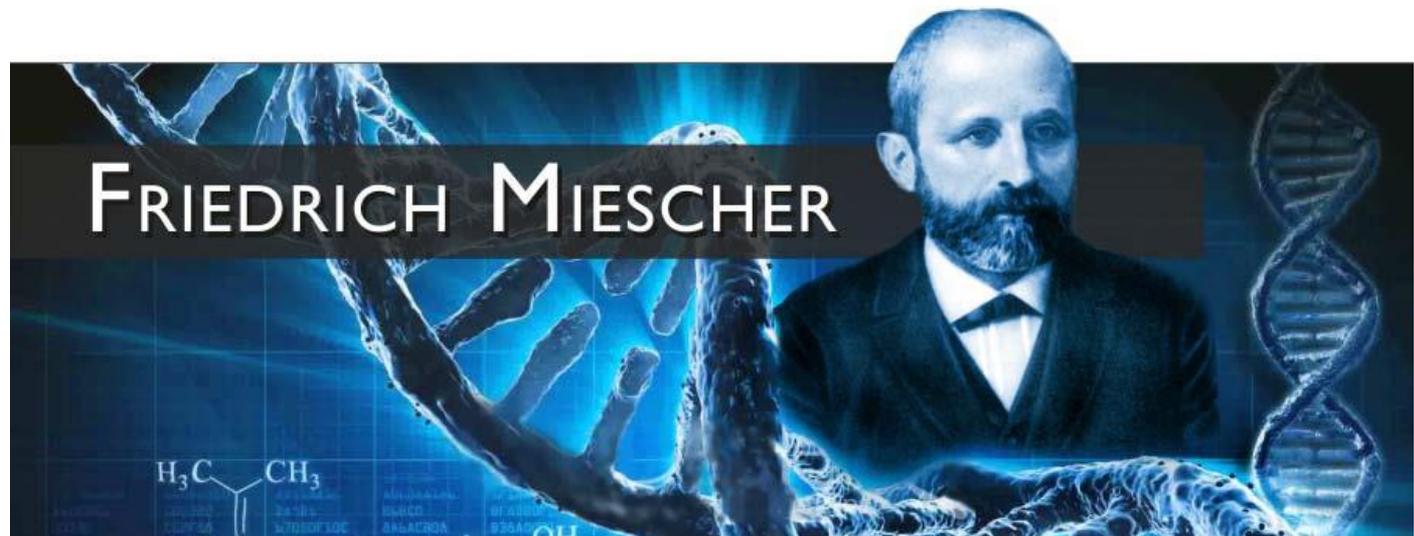
### Discovery of DNA Structure and Function: Watson and Crick

By: Leslie A. Pray, Ph.D. © 2008 Nature Education

Citation: Pray, L. (2008) Discovery of DNA structure and function: Watson and Crick. *Nature Education* 1(1):100



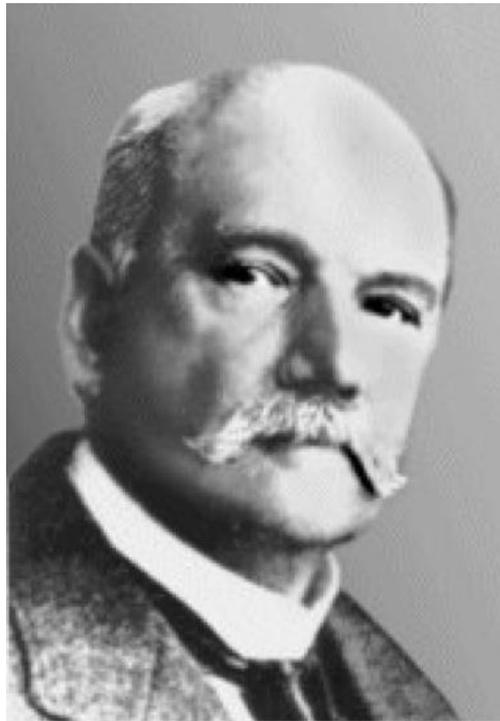
- **Johann Friedrich Miescher – 1869**
- Isolou substância presente no núcleo
- Nucleína
  - carbono, hidrogênio, oxigênio e nitrogênio e fosfato



Fonte: <http://simplyknowledge.com/popular/biography/friedrich-miescher>

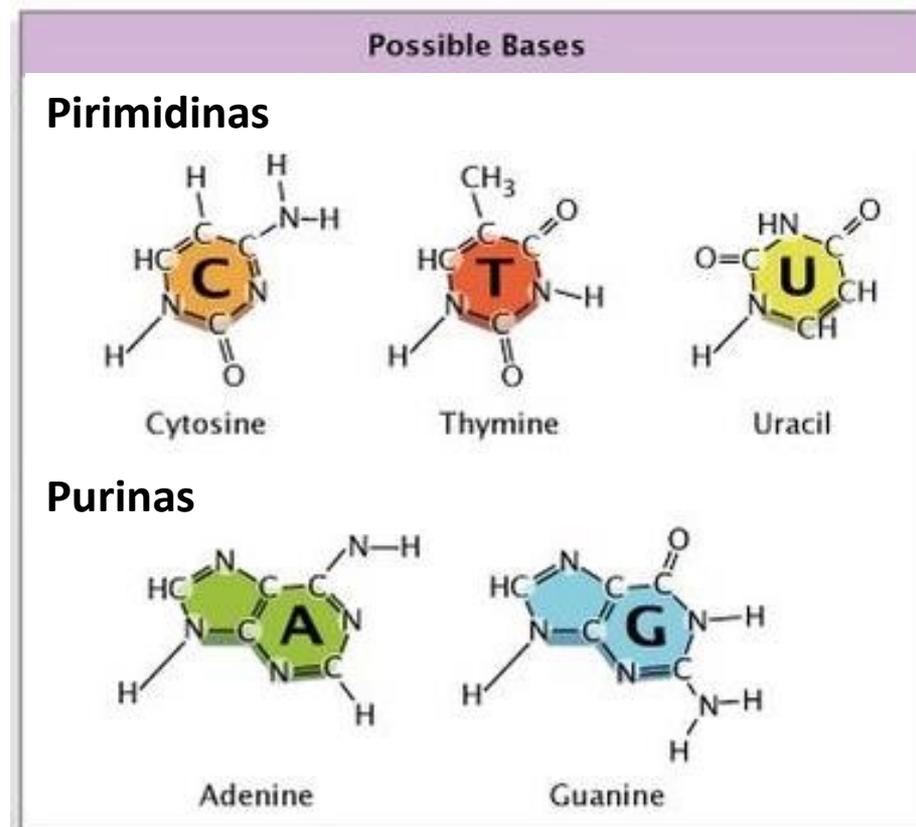
# Ludwig K. M. L. Albrecht Kossel - 1880

- Compostos nitrogenados dos ácidos nucleicos (nucleína) eram bases aminadas cíclicas



Prêmio nobel em 1910

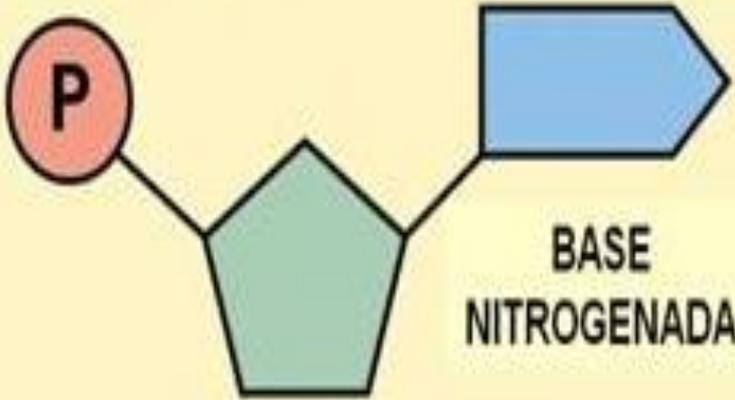
Fonte: <https://alchetron.com/Albrecht-Kossel>



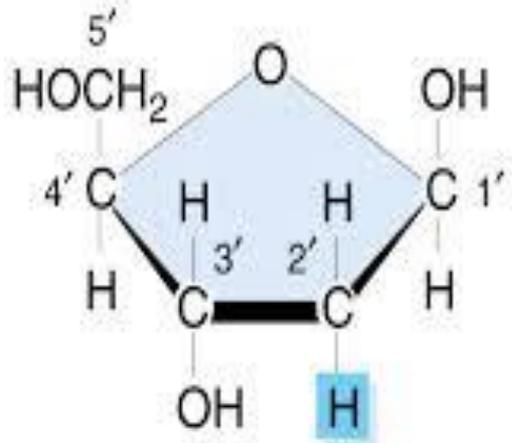
- **Phoebus Aaron Theodore Levene**
- **Ribose (1909) e desoxirribose (1929)**
- Componentes do DNA
- Ordem dos nucleotídeos  
(fosfato -açúcar- base)



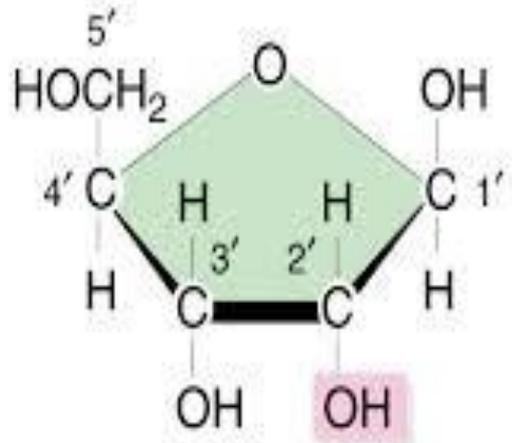
**FOSFATO**



**PENTOSE**



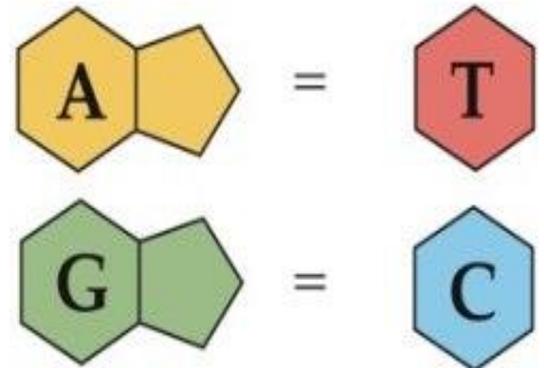
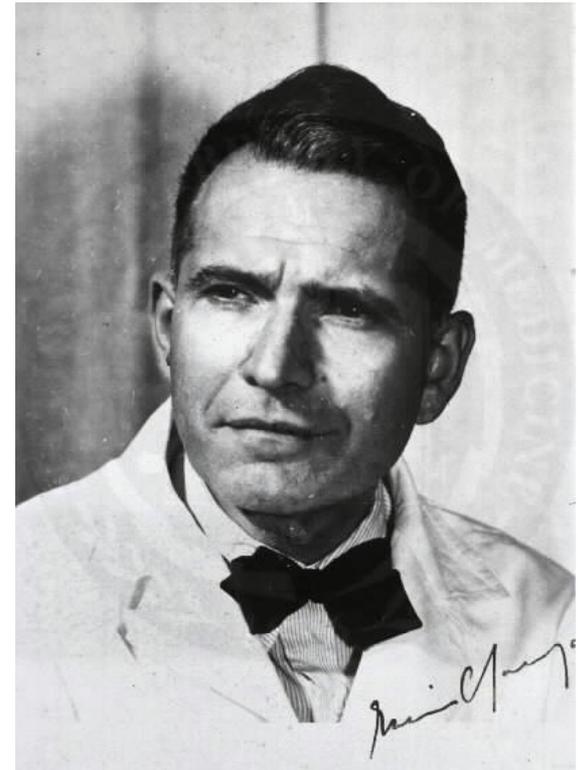
**Desoxirribose**



**Ribose**

# Erwin Chargaff - 1950

- Regras de Chargaff sobre a quantidade de cada tipo de nucleotídeos encontrado no DNA
- 1. quantidade de pirimidínicos (T+C) = quantidade de purínos ((A+G))
- 2. quantidade de A = T, quantidade de C = G, mas A+T  $\neq$  G+C



## Estrutura do

## DNA

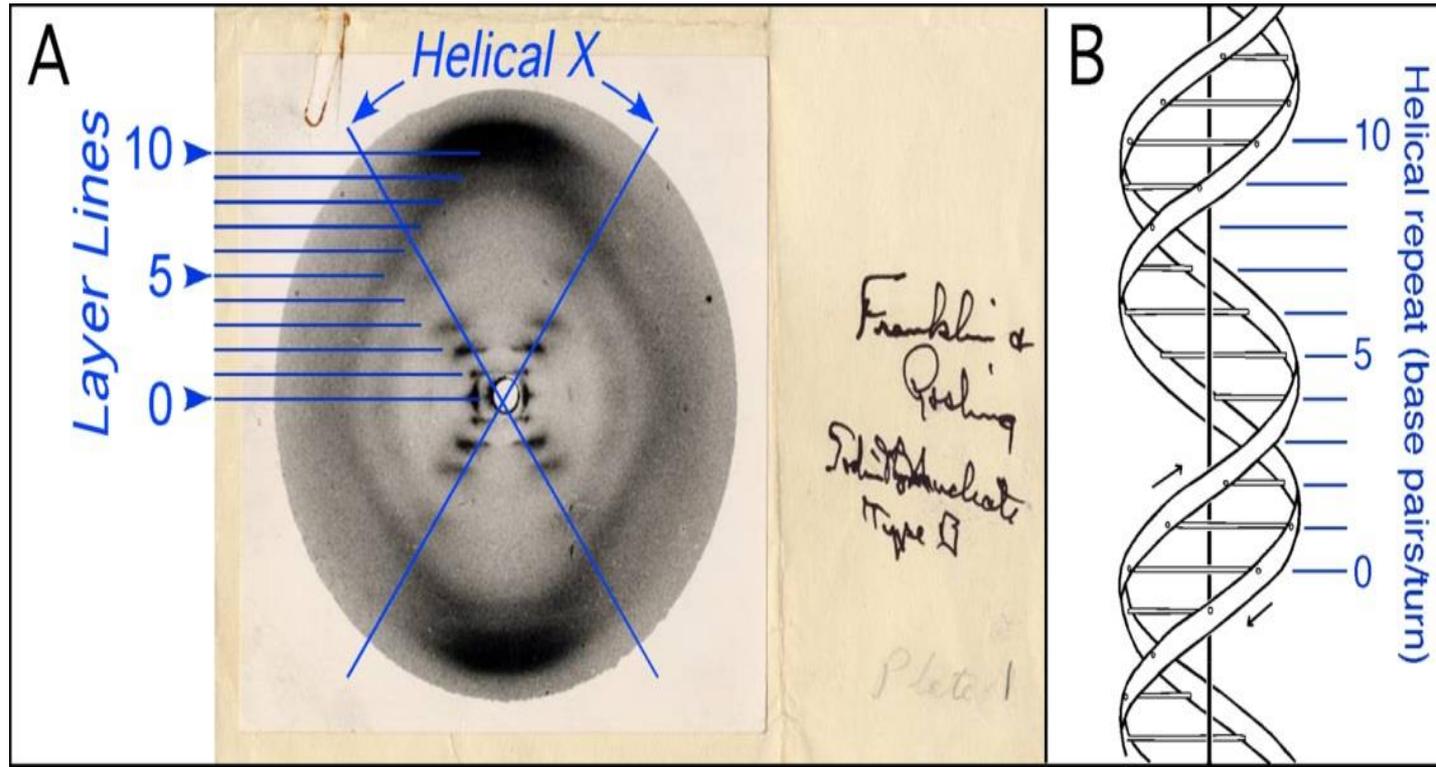
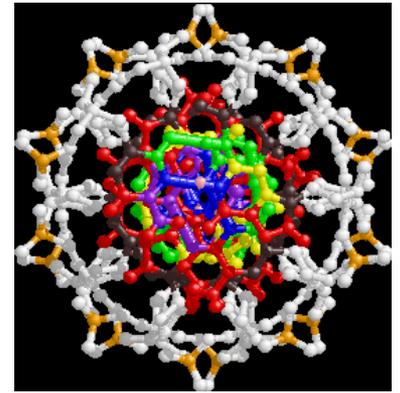
Organismo	Tecido	Adenina	Timina	Guanina	Citosina	A + T
						G + C
<i>Escherichia coli</i> (K12)	-	26,0	23,9	24,9	25,2	1,00
<i>Diplococcus pneumoniae</i>	-	29,8	31,6	20,5	18,0	1,59
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	-	15,1	14,6	34,9	35,4	0,42
Levedura	-	31,3	32,9	18,7	17,1	1,79
<i>Paracentrotus lividus</i> (ouriço-do-mar)	Espermatozóide	32,8	32,1	17,7	18,4	1,85
Arenque	Espermatozóide	27,8	27,5	22,2	22,6	1,23
Rato	Medula óssea	28,6	28,4	21,4	21,5	1,33
Humano	Timo	30,9	29,4	19,9	19,8	1,52
Humano	Fígado	30,3	30,3	19,5	19,9	1,53
Humano	Espermatozóide	30,7	31,2	19,3	18,8	1,62

\*Definidas em moles de constituintes nitrogenados por 100 g de átomos de fosfato em hidrolisados.

Fonte: E. Chargaff and J. Davidson, eds., *The Nucleic Acids*. Academic Press, 1955.

# Rosalind Franklin - 1950

- estudos de difração de Raio-X
- B-DNA e A-DNA, fósforo externamente
- molécula é helicoidal



# A estrutura do DNA

- Watson e Crick (1953)
- Estrutura tridimensional
  - Duas cadeias lado a lado de filamentos torcidos de uma dupla hélice

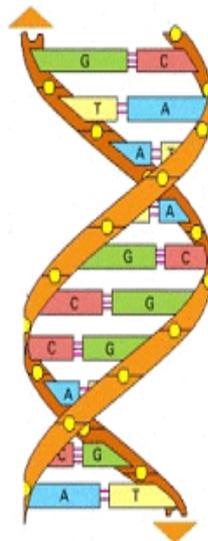


Figura I



Figura II

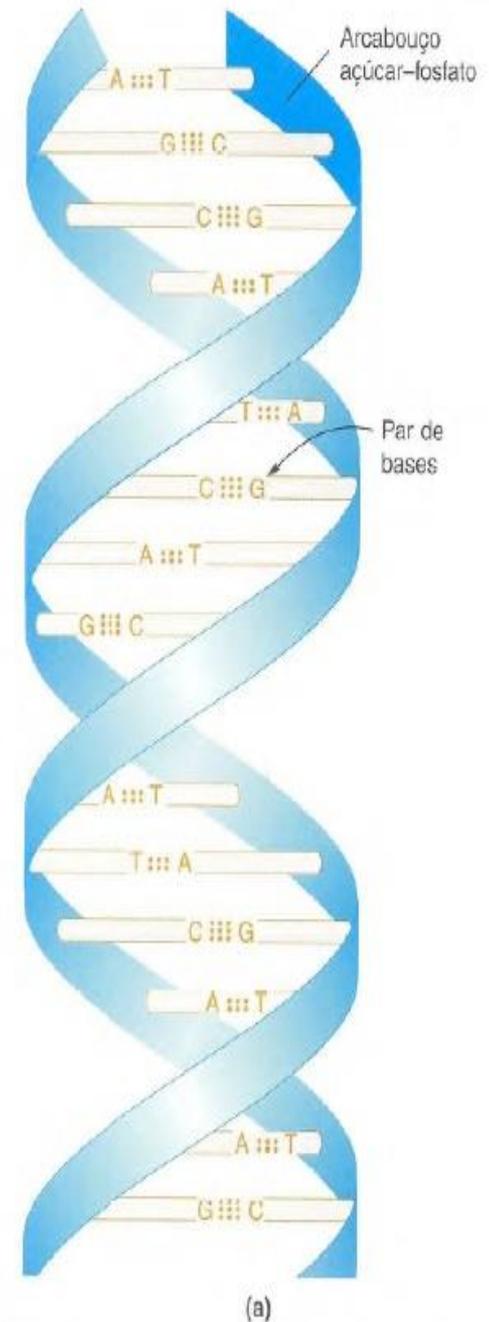
Desenho do trabalho de Watson e Crick representando a estrutura do DNA

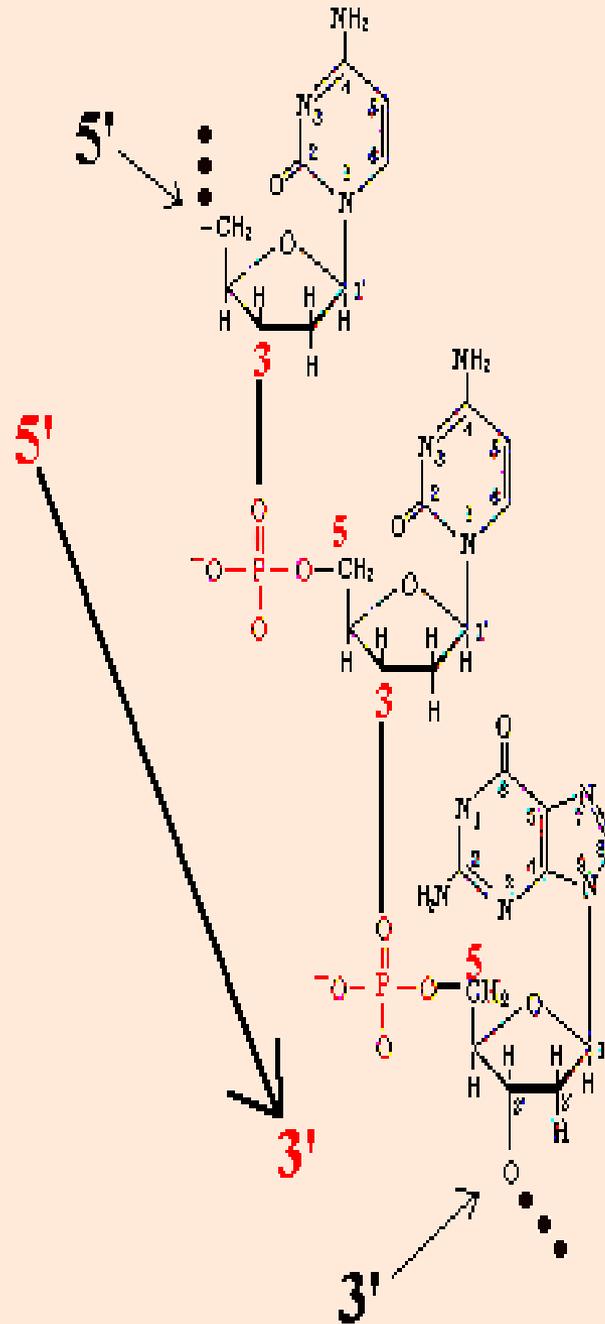
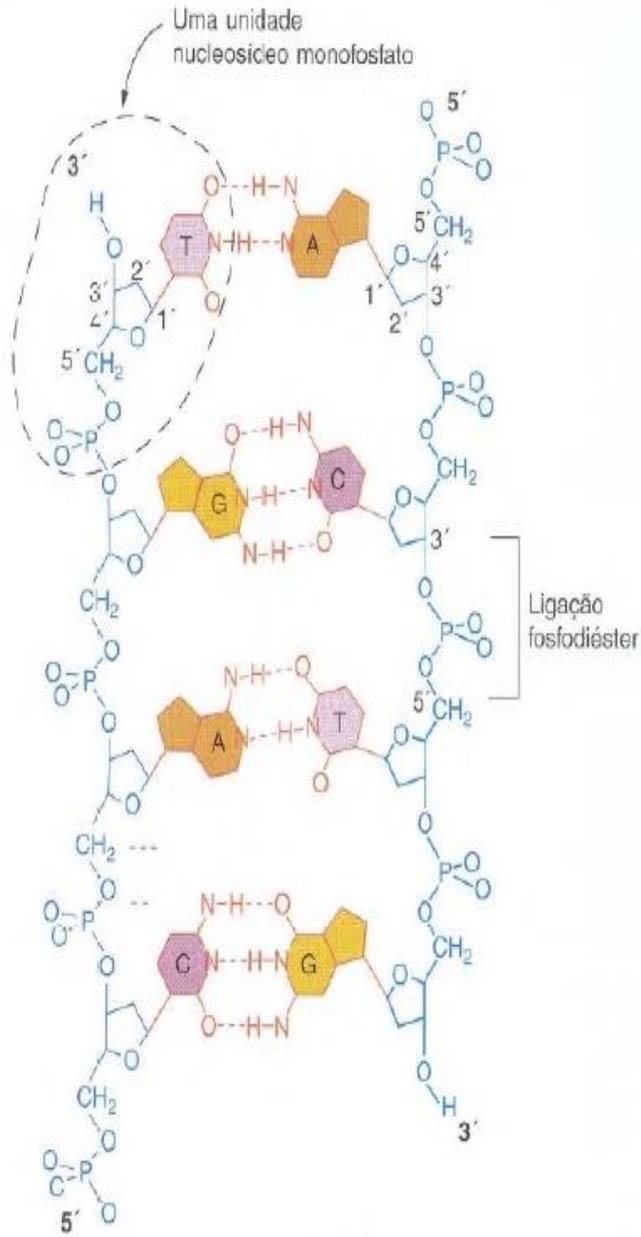


- Dois filamentos de nucleotídeos mantidos juntos por pontes de hidrogênio entre as bases,
- Cada filamento é **composto de unidades alternadas de fosfato, desoxirribose** – conectados por ligações fosfodiéster

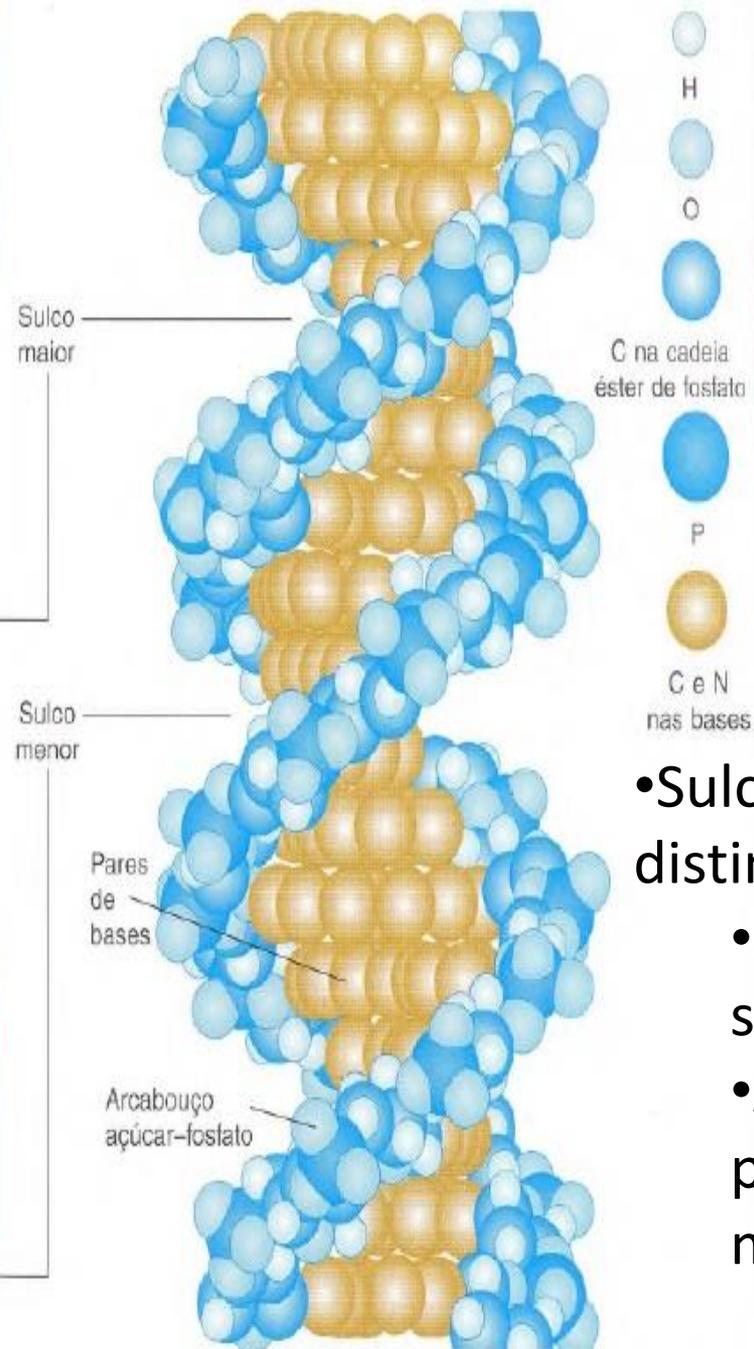
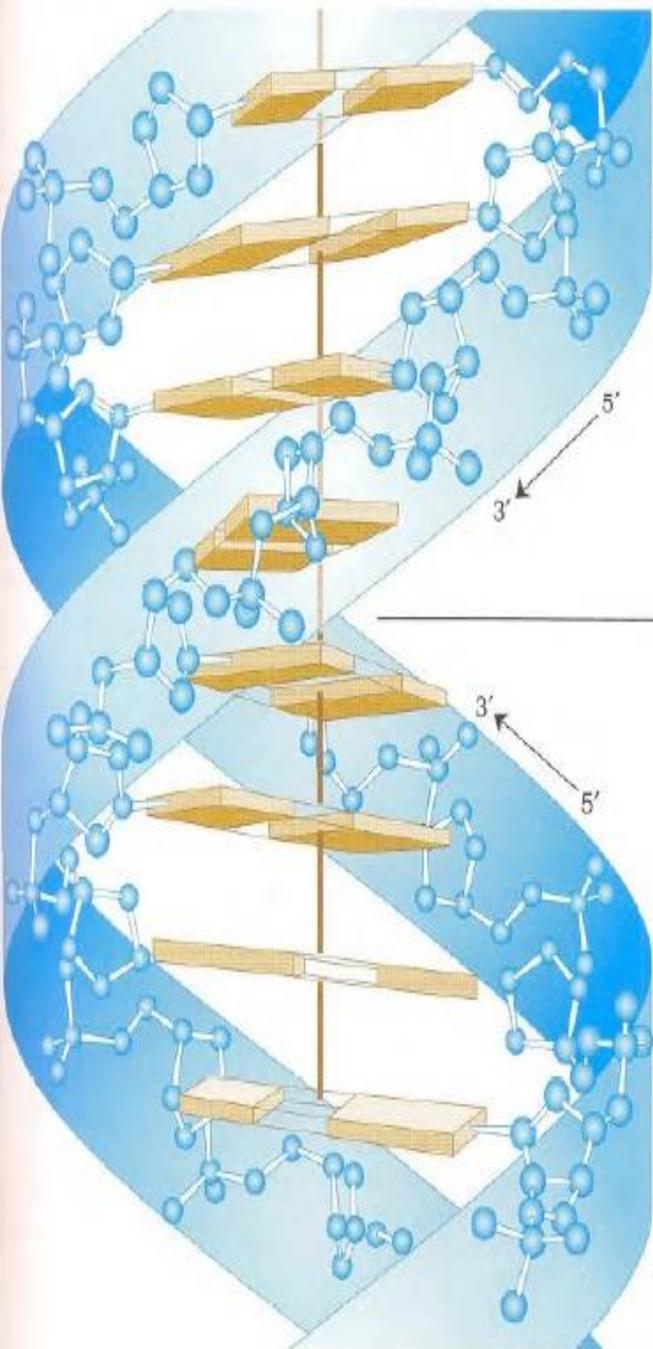
Os carbonos do açúcar são numerados de 1' a 5'

Ligação fosfodiéster – átomo de carbono 5' ao átomo de carbono 3' da desoxirribose adjacente









- Sulcos com tamanhos distintos
  - Sulco maior e sulco menor
  - Associação DNA-proteínas no sulco maior

- Hélice com giro para direita

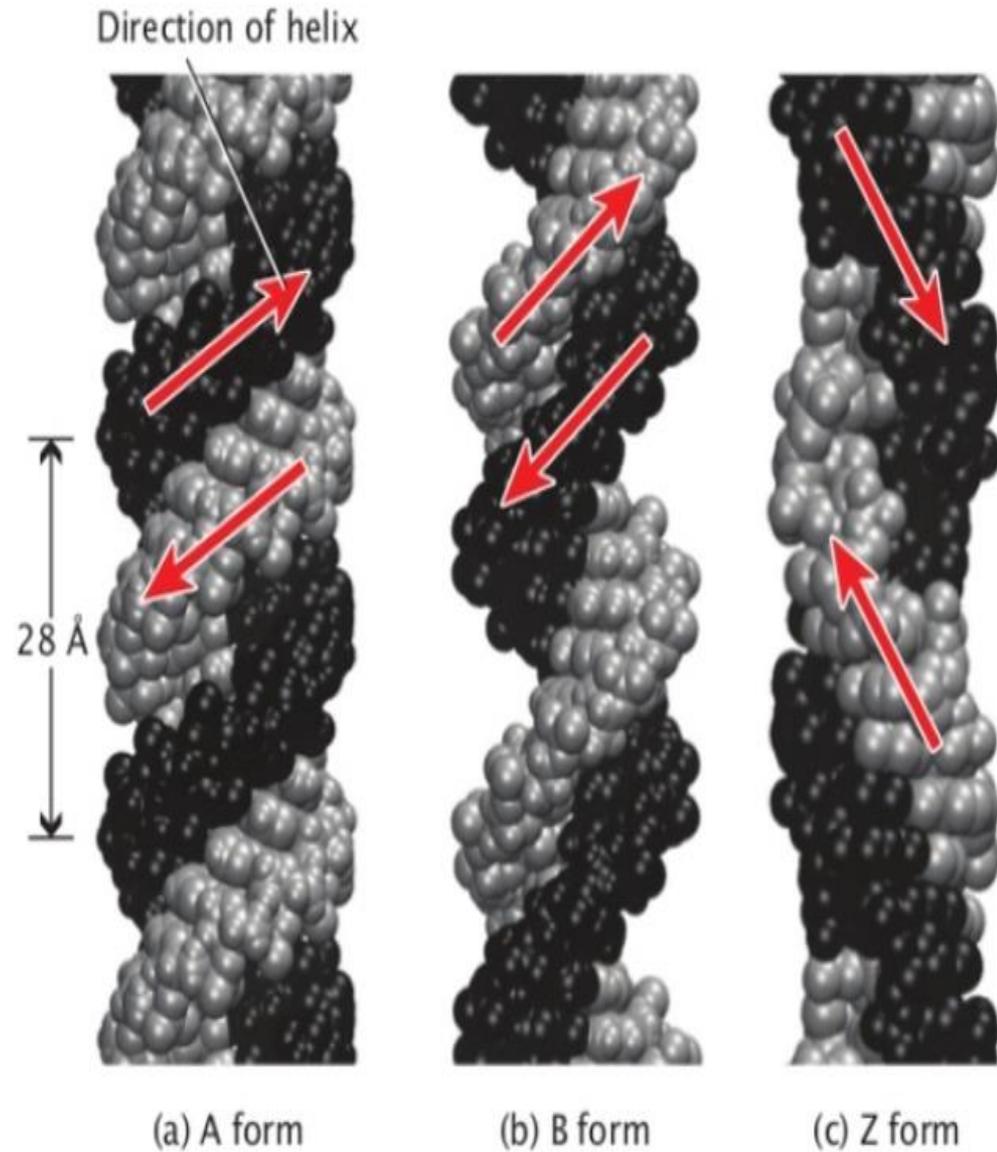
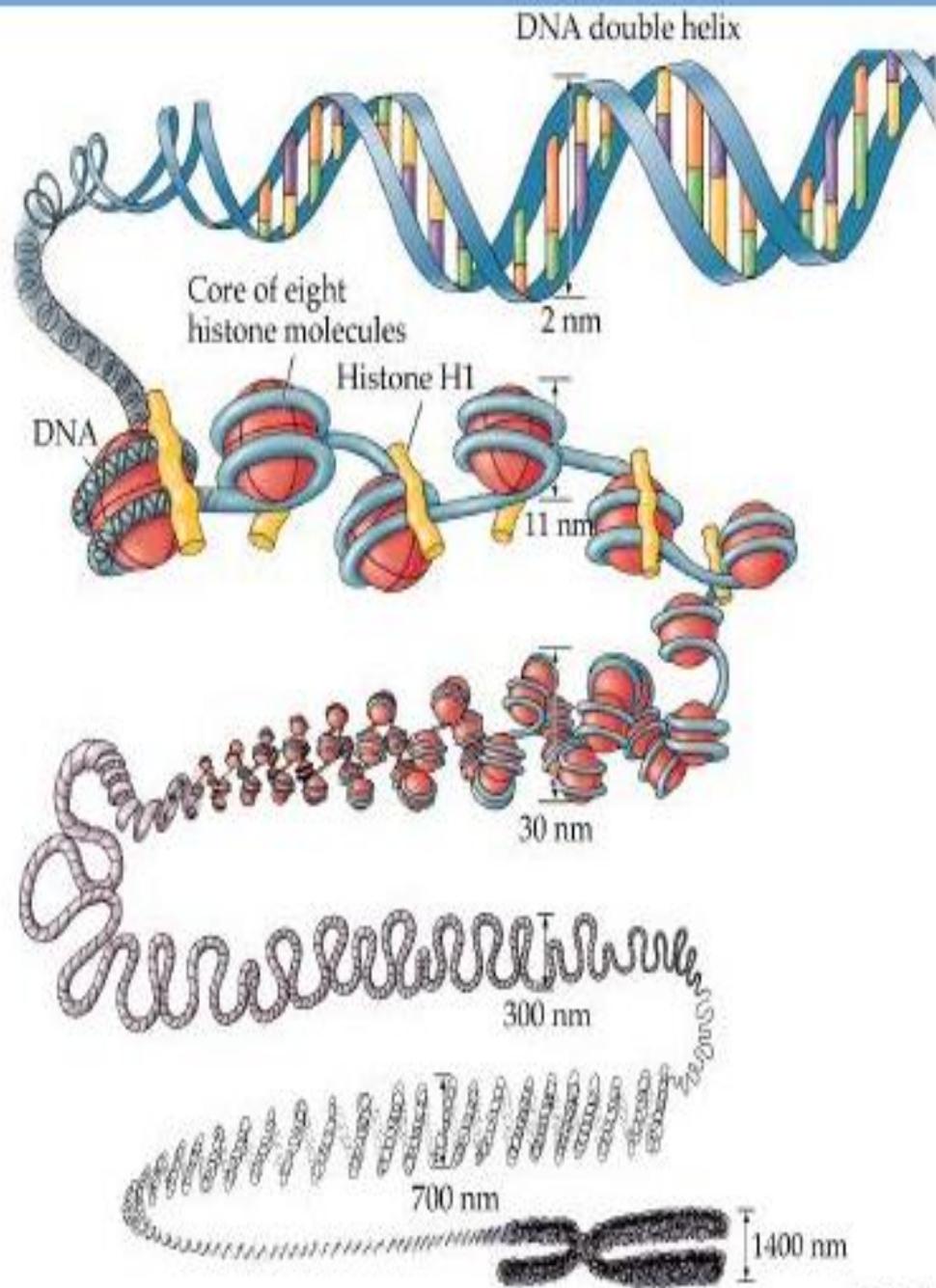


Figure 5: Three different conformations of the DNA double helix.

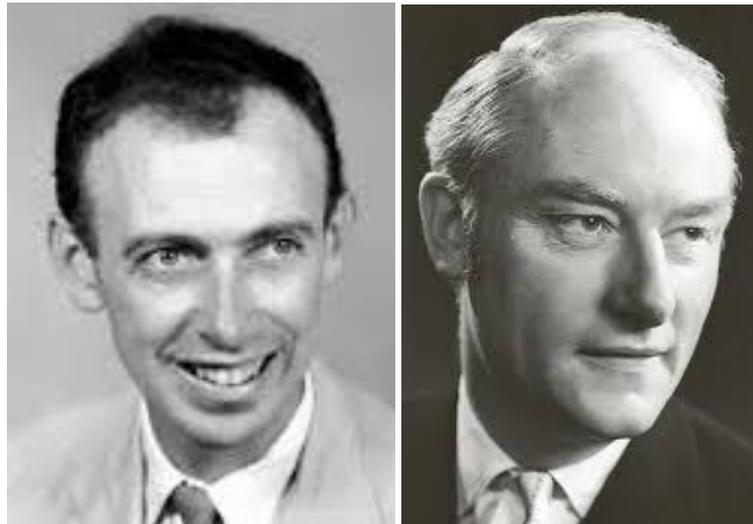




Essa figura é simplesmente esquemática. As duas fitas simbolizam as duas cadeias de fosfato-açúcar e as hastes horizontais as pares de bases que mantêm a cadeia junta. A linha vertical assinala o eixo da molécula.

Essa figura é simplesmente esquemática. As duas fitas simbolizam as duas cadeias de fosfato-açúcar e as hastes horizontais as pares de bases que mantêm a cadeia junta. A linha vertical assinala o eixo da molécula.

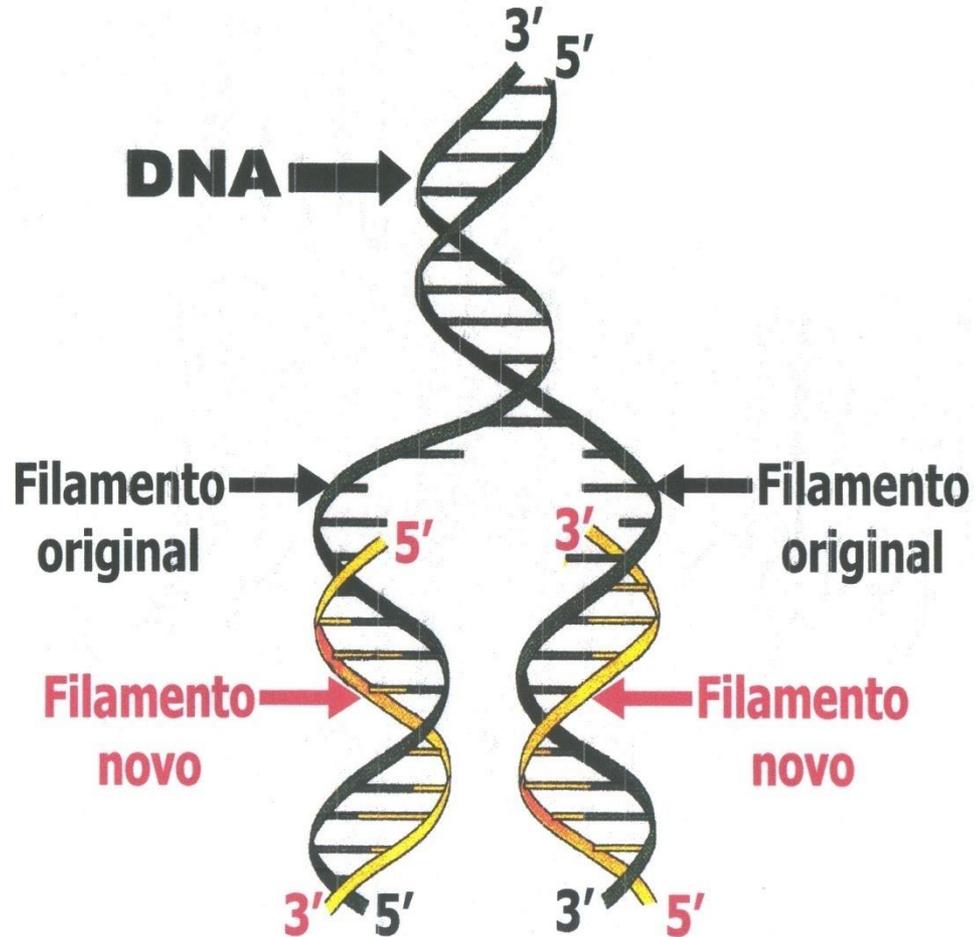
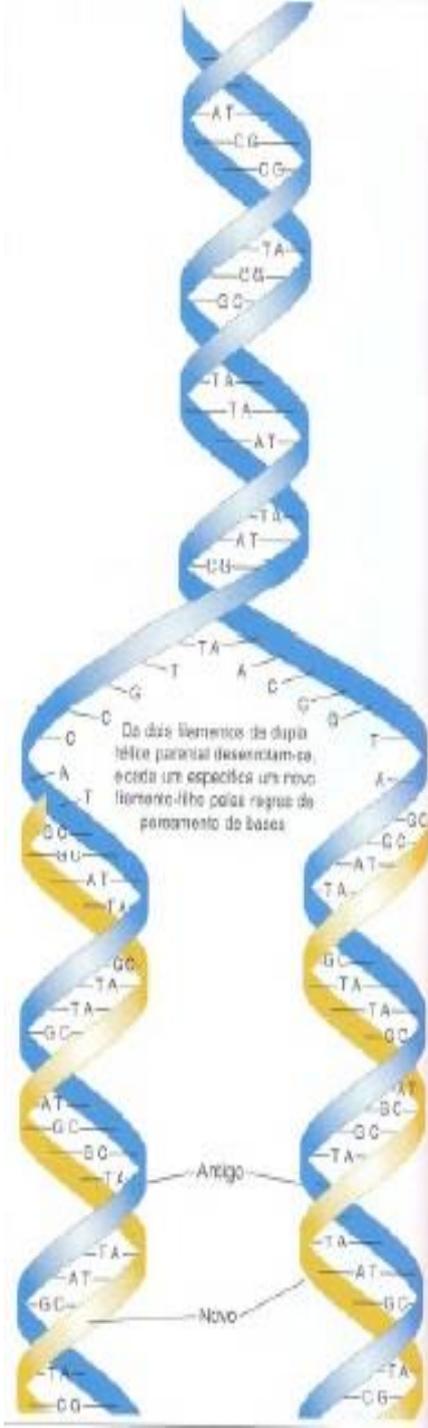
*“Não escapou à nossa percepção que o pareamento específico que postulamos sugere imediatamente um possível mecanismo de cópia para o material genético” (Watson e Crick, 1953)*



# Replicação do DNA

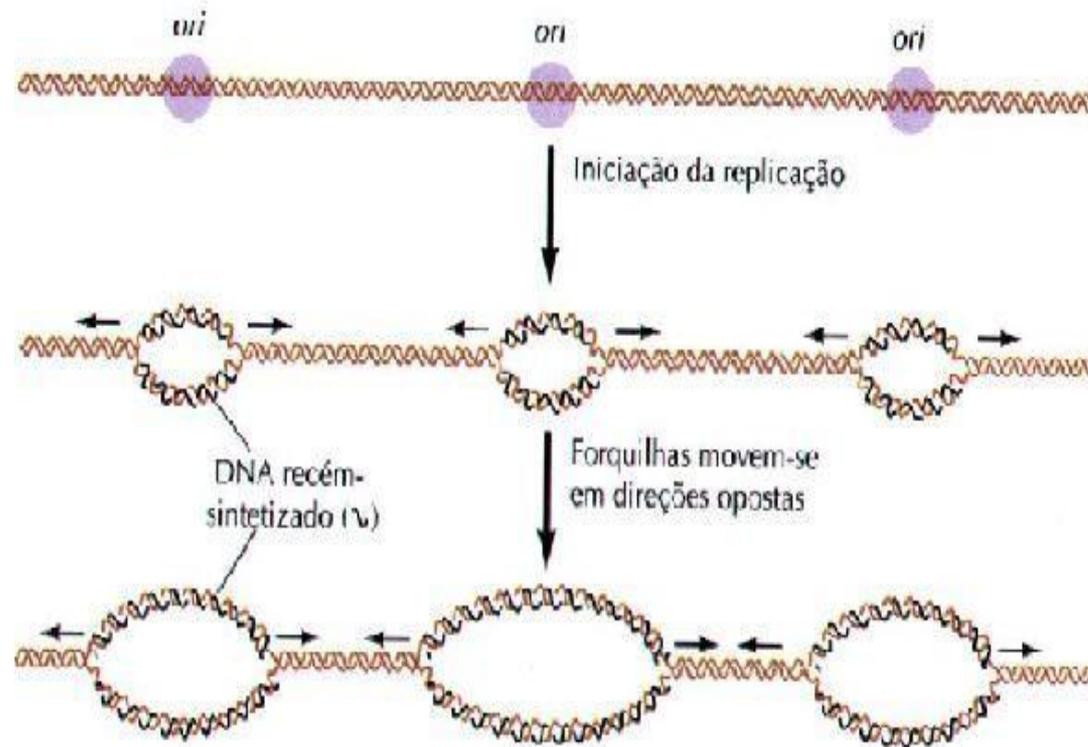
- Replicação semiconservativa
  - Cada filamento será um molde
  - Cada molécula de DNA possui uma cadeia parental e uma recém sintetizada
- O desenrolar dos dois filamentos irá expor as bases únicas de cada filamento.
  - Pareamento com nucleotídeos livres

# Replicação semiconservativa do DNA



# Forquilha de replicação

- Zíper, ou forquilha, de replicação será encontrado na molécula de DNA durante a replicação.



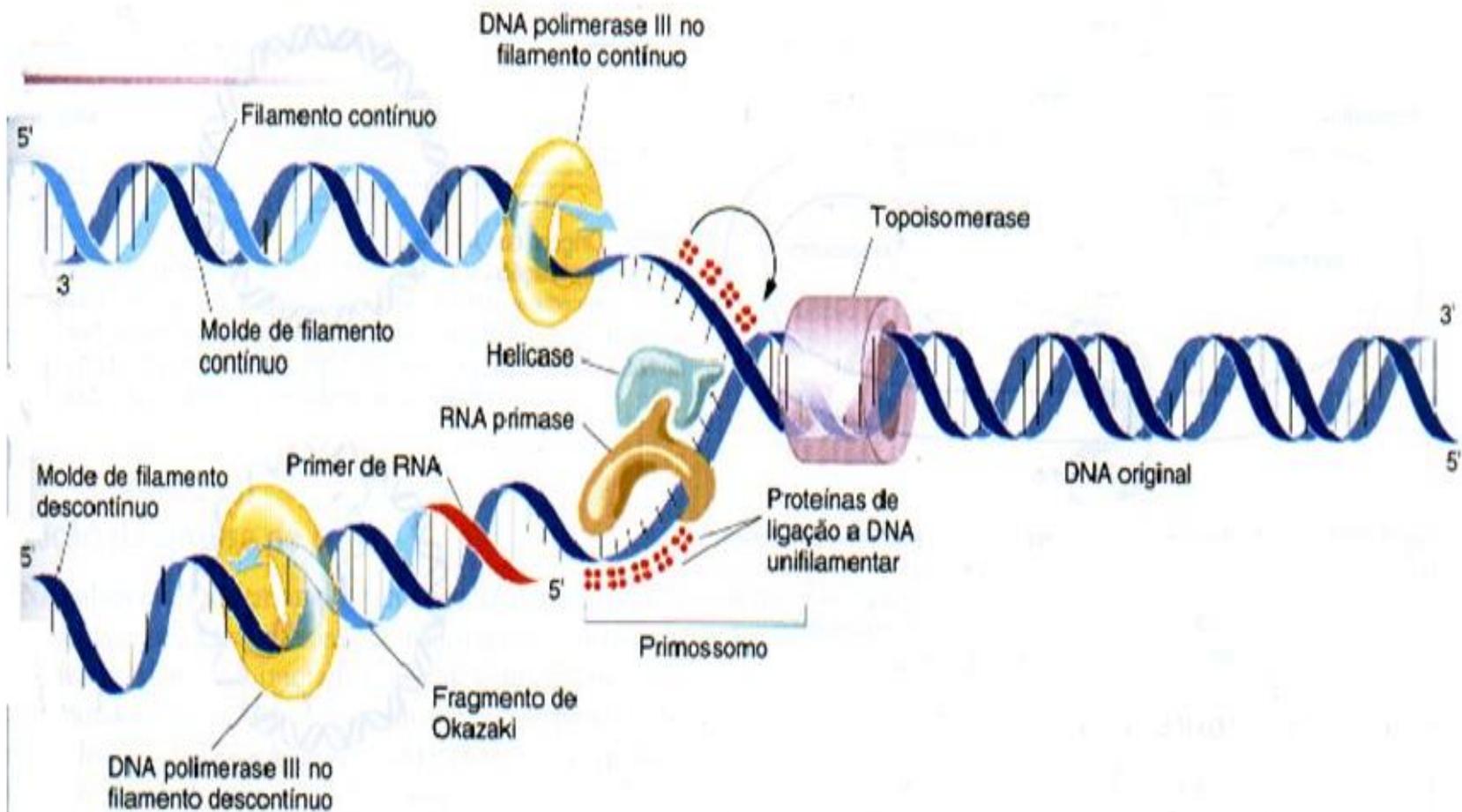
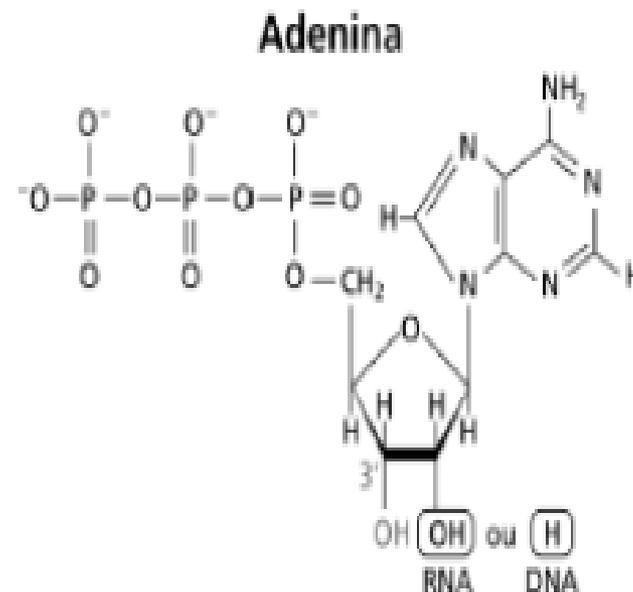


Fig. 8.20 Forquilha de replicação do DNA.

## Como as bases nitrogenadas são levadas para o molde da dupla hélice?

- **Uma enzima** adiciona desoxirribunucleotídeos à ponta 3' de uma **cadeia crescente** de DNA.
  - O substrato para a polimerase são: dATP, dGTP, dCTP e dTTP.

**DNA**  
**polimerase**



**Cinco DNA polimerases** são conhecidas em *E. coli*

Atividades:

1. polimerase – catalisa o crescimento da cadeia no sentido 5' para o 3'
2. exonuclease – 3' para 5', que remove os pareamentos errados de bases

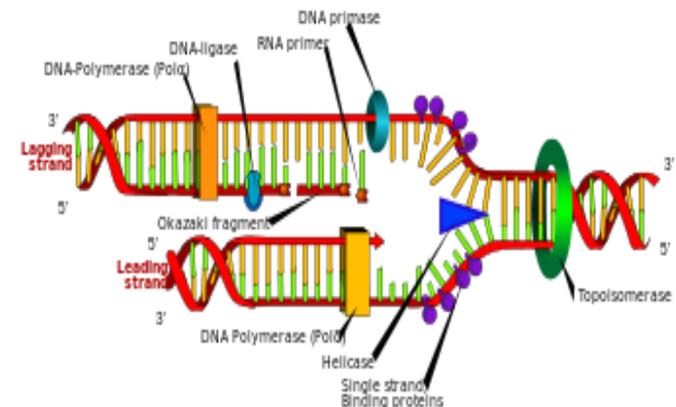
**DNA Pol III é quem catalisa a síntese na forquilha de replicação**

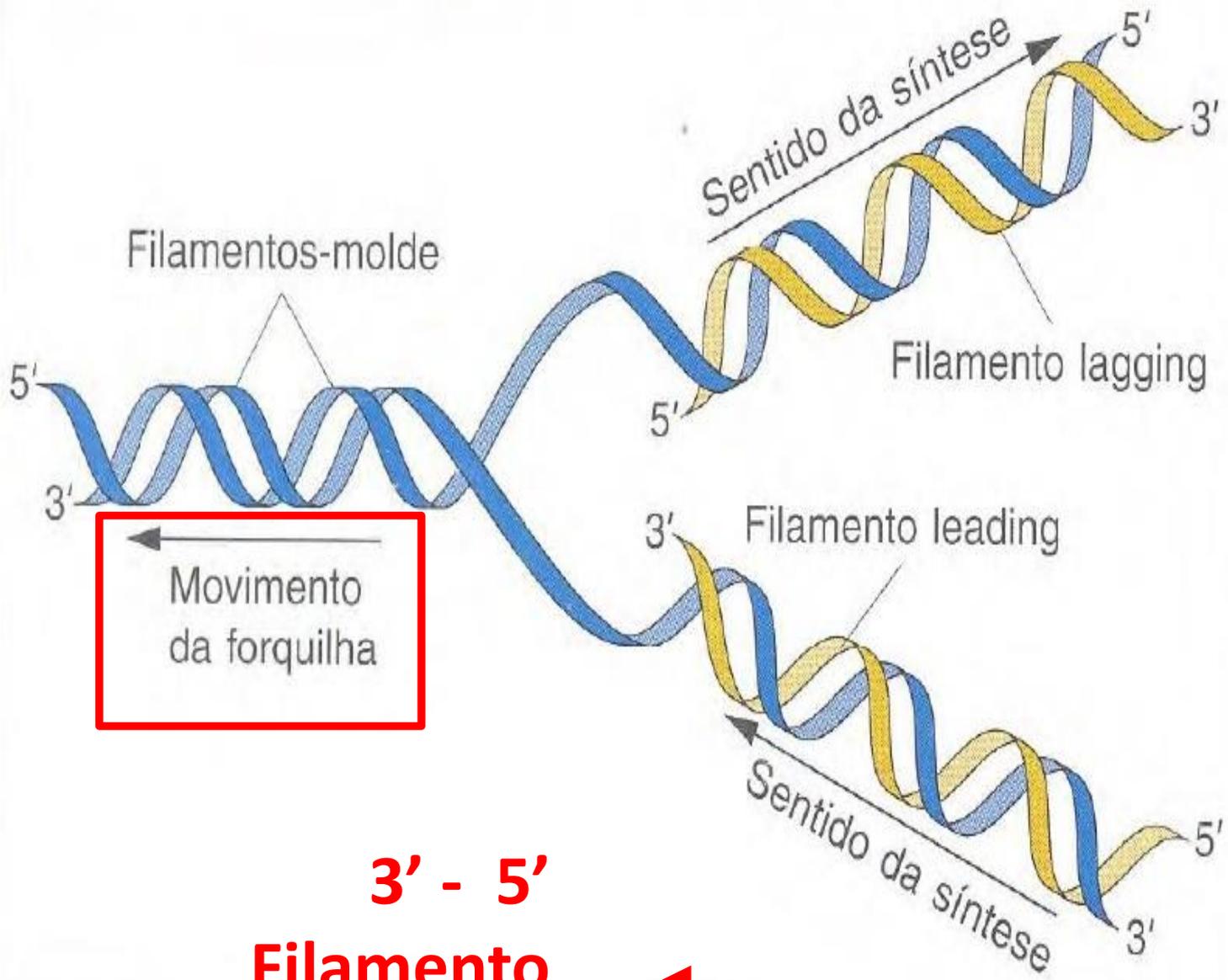
# DNA Polimerase III

- A DNA polimerase III
- Não inicia a síntese
- Só adiciona nucleotídeos na ponta 3' crescente.

**Como a replicação ocorre para o filamento 5'-3'?**

A síntese de ambos os filamentos deve ocorrer na forquilha de replicação.



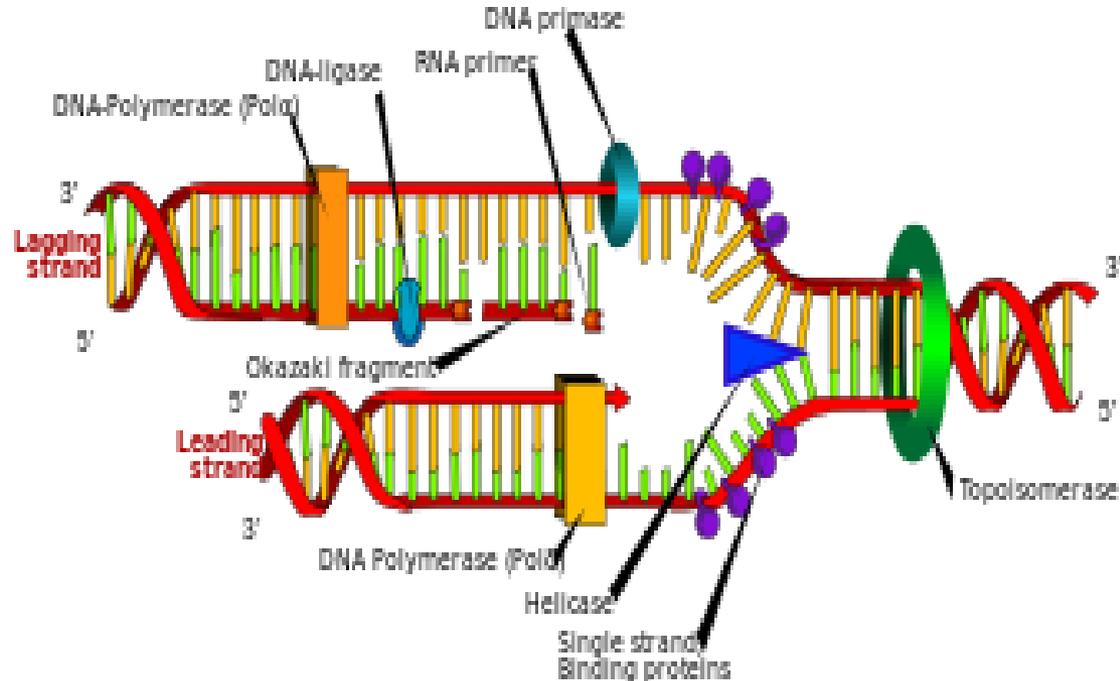


**3' - 5'**  
**Filamento**  
**contínuo**



# Como a replicação ocorre para o filamento 5'-3'?

- O crescimento também ocorre na ponta 3'
- Polimerase sintetiza um segmento – e move-se para a ponta 5'
- Trechos curtos de DNA recém-sintetizados (1000 a 2000 nucleotídeos) – fragmentos de recém sintetizados

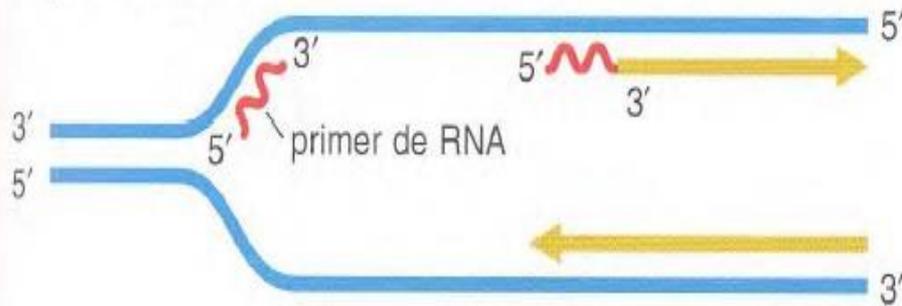


*Lembre-se a DNA polimerase pode ampliar uma cadeia, mas não pode começar uma cadeia!*

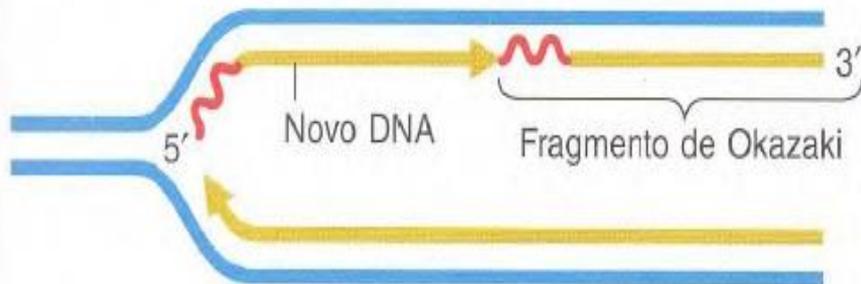
- A síntese é iniciada por um primer
  - Primer – cadeia curta de oligonucleotídeos
  - Sintetizada por um grupo de proteínas chamado primossomo - enzima primase (RNA polimerase)
- Filamento contínuo só um primer é necessário!
- Filamento descontínuo cada fragmento de okazaki precisa de um primer!

- A DNA pol I remove os primers
- A DNA ligase une as pontas catalisando uma ligação fosfodiéster

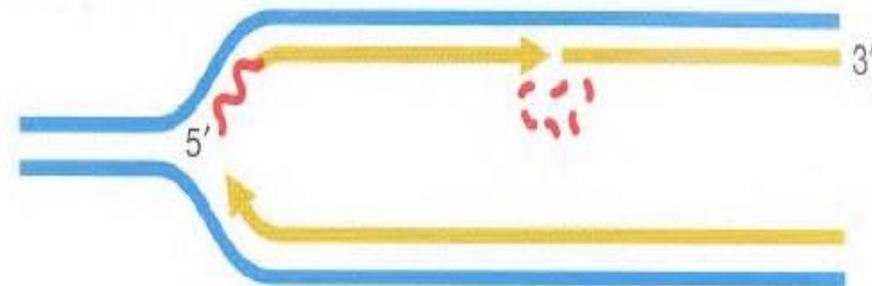
1. A primase sintetiza oligonucleotídeos curtos de RNA (primer) copiados do DNA.



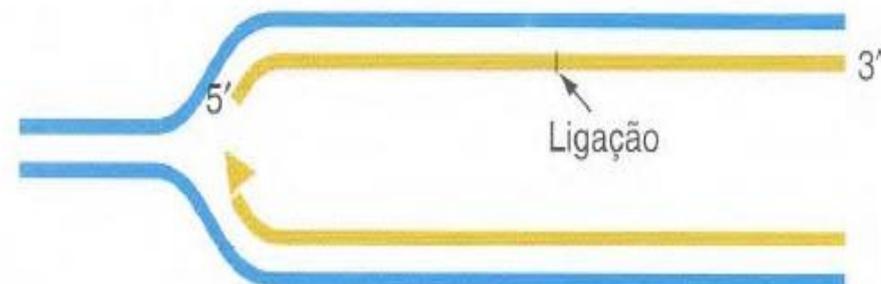
2. A DNA polimerase III alonga os primers com novo DNA.



3. DNA polimerase I remove o RNA na ponta 5' do fragmento vizinho e preenche o espaço.



4. A DNA ligase conecta fragmentos adjacentes.

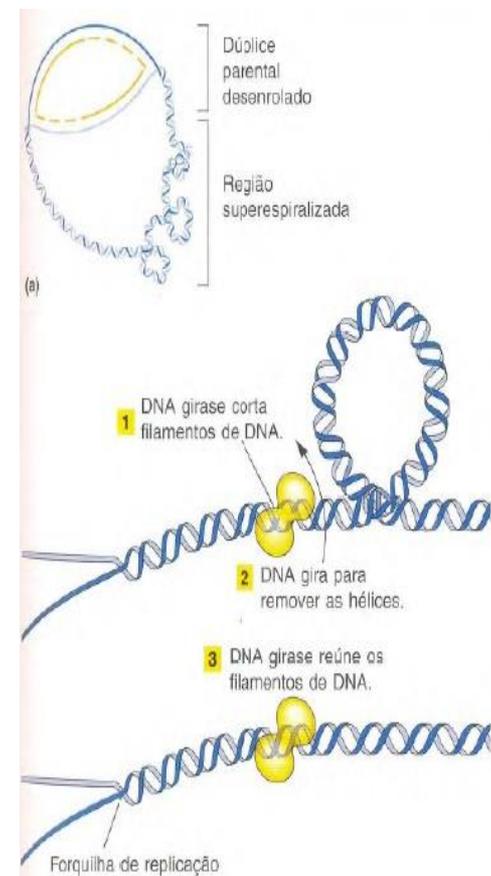
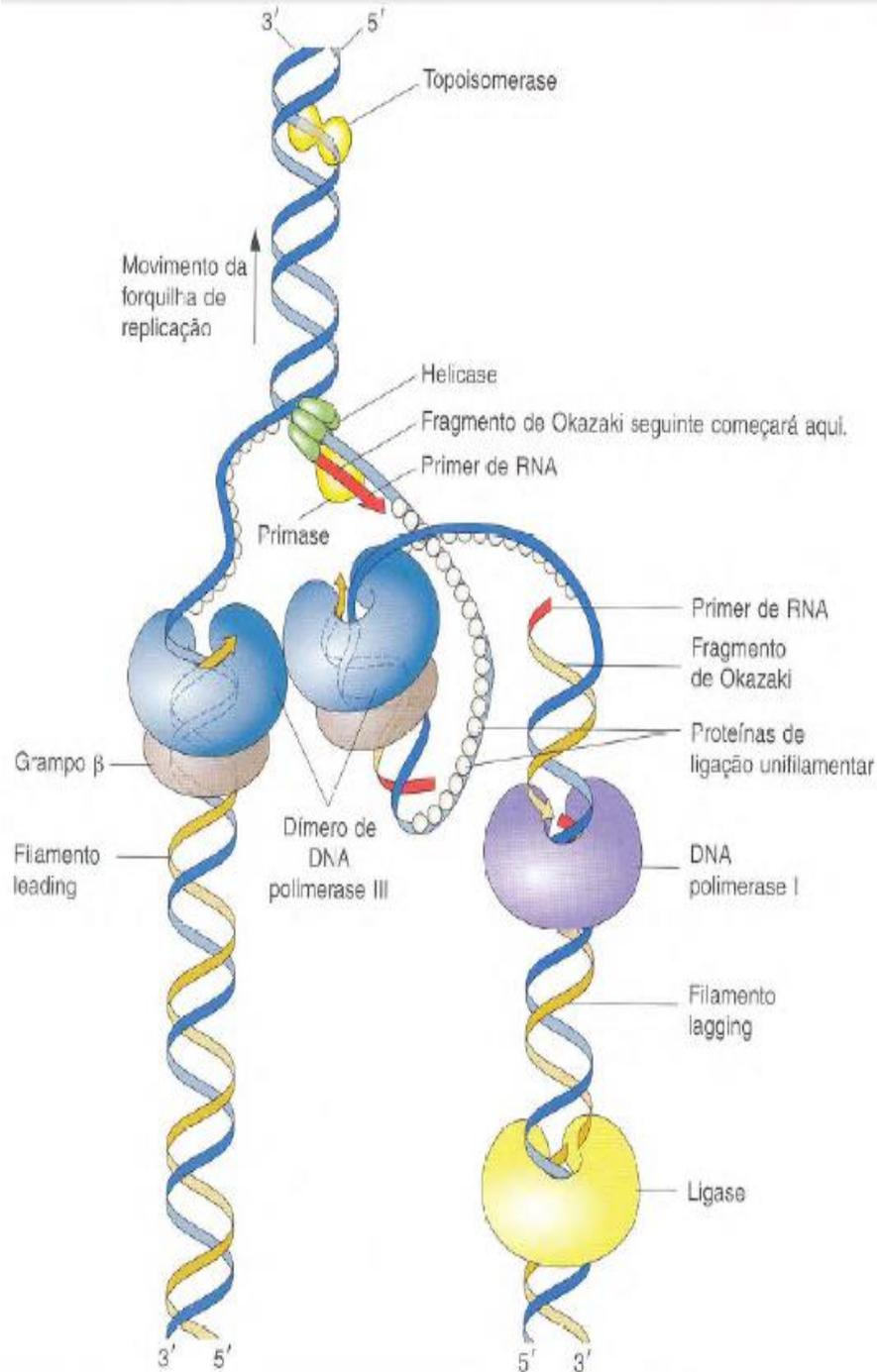


# Estudando o replissomo

- *E. coli*
- Genoma tem 5 milhões pb
- **Cerca de 2000 nucleotídeos/segundo**
- Duas forquilhas de replicação
- Complexos subunitários – holoenzima polimerase III e muitas proteínas acessórias.

Ex: Grampo deslizante - circunda o DNA – mantém a DNA pol III ligada a molécula de DNA

SSB (proteína de ligação unifilamentar) – estabiliza o desenrolar da fita

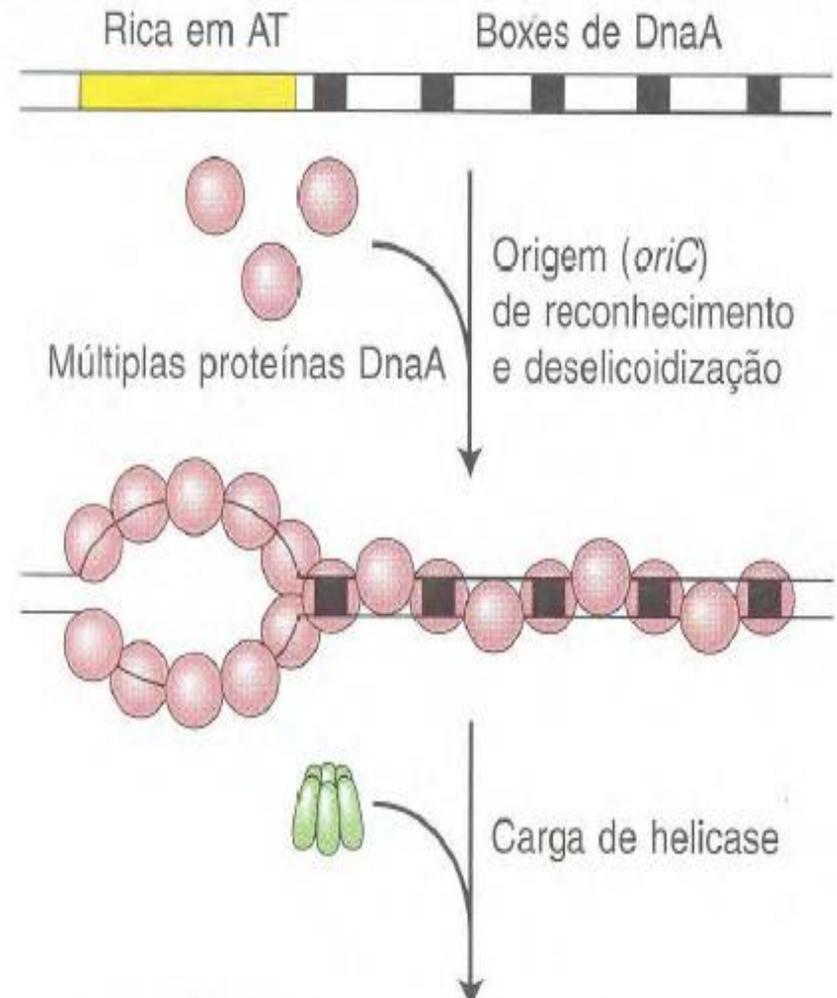


Helicases - rompem as pontes de hidrogênio

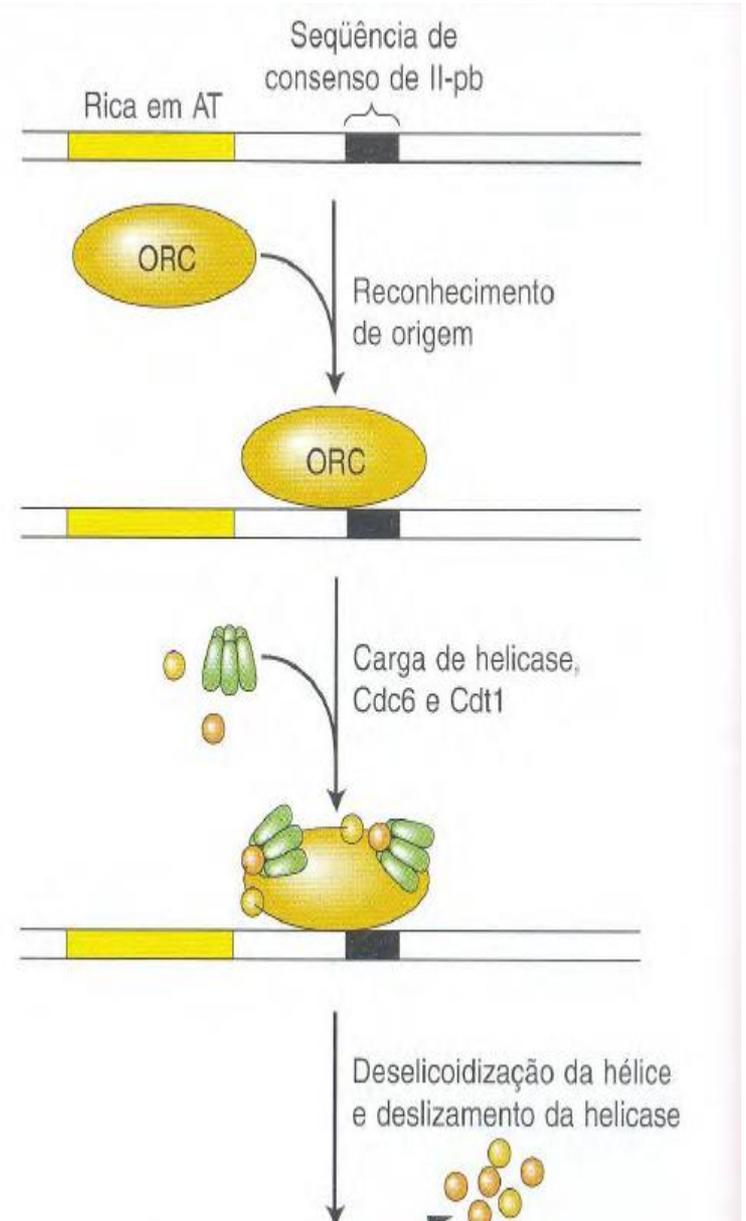
Proteínas de ligação unifilar – impedem a reestruturação da dupla hélice

Topoisomerases – liberam a tensão

- Onde a replicação se
- Origens
- **Procariontes - *E. coli***

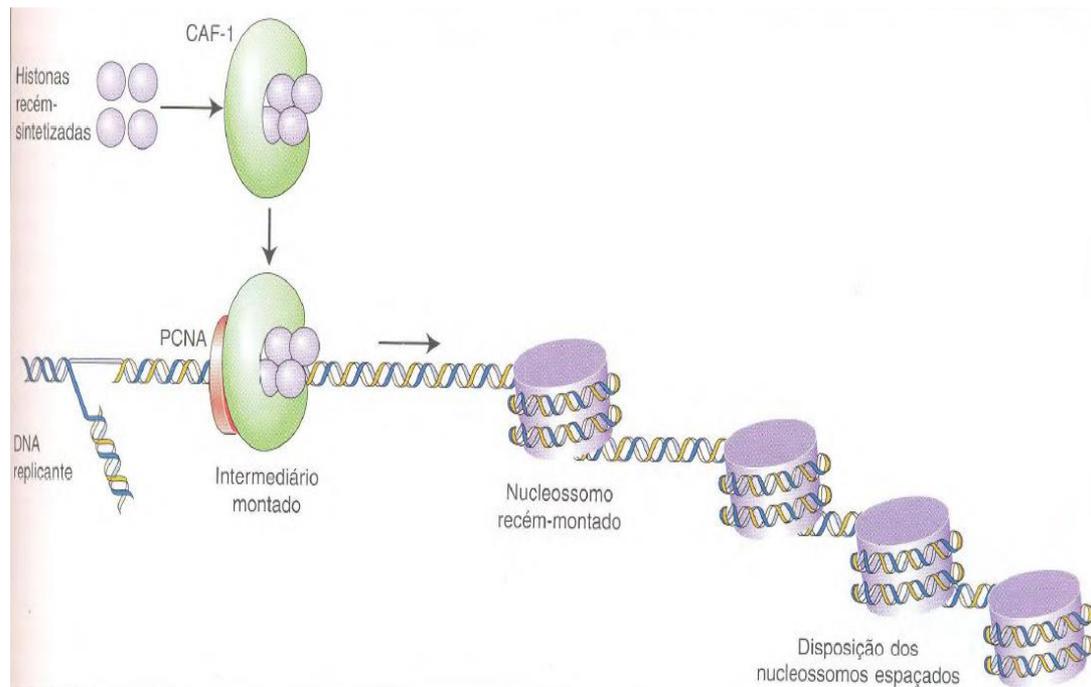


- **Eucariontes**
- **Leveduras**
- **Complexo de reconhecimento de origem – ORC**



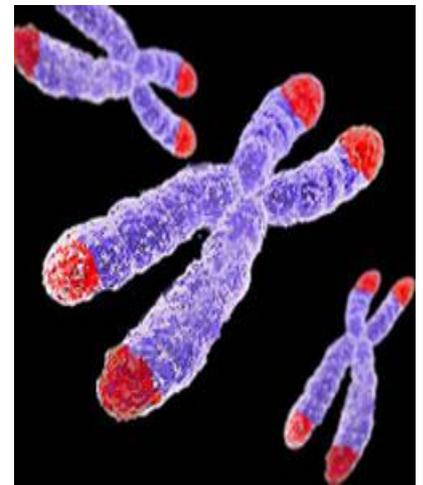
- Eucariotos e procariotos – processo de replicação semelhantes: semiconservativo, filamento contínuo e descontínuo...
- Os componentes do replissomo são bem similares
  - Porém tem função adicional em eucariontes: Pode desmontar e remontar os complexos proteína-DNA chamado nucleossomos

- O replissomo tem que desmontar os nucleossomos e remontá-los
  - Distribui-se aleatoriamente as Histonas das molécula parental
- CAF-1 (fator 1 de montagem da cromatina) – proteína que se liga a novas histonas e as conduz para a forquilha de replicação

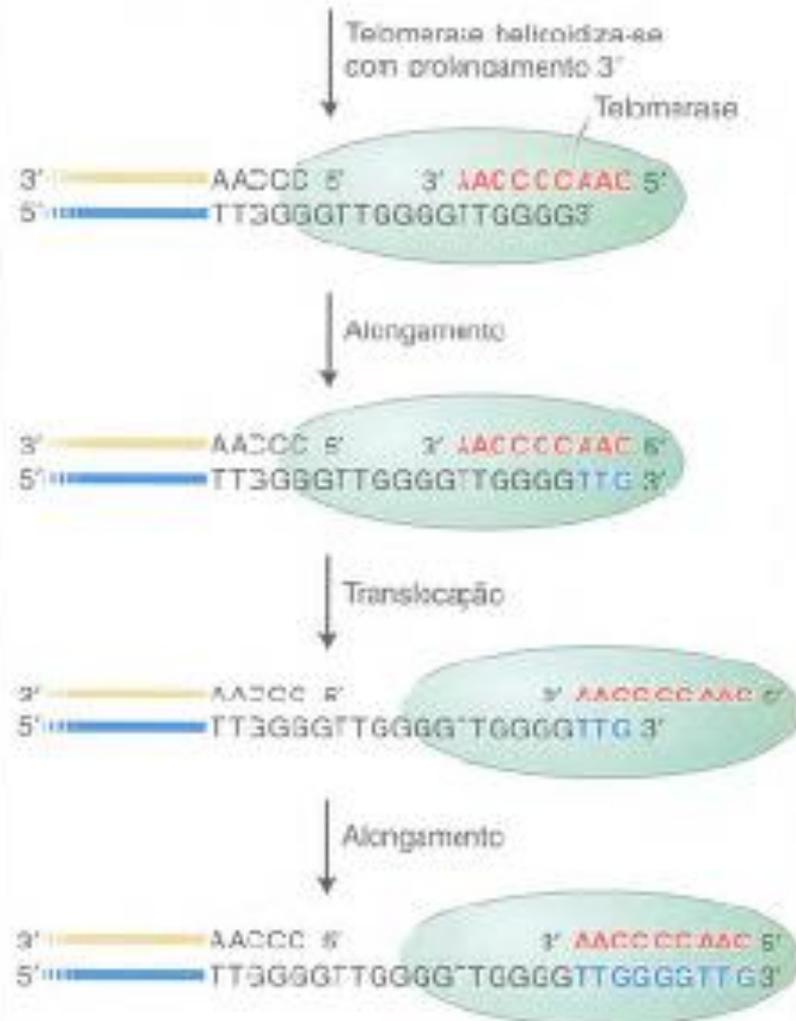


# Término da replicação

- A síntese do filamento contínuo ocorre até a ponta
- E quanto ao descontínuo?
- Quando o último primer é removido resta uma ponta unifilamentar
- Praticamente todos os eucariontes têm
- TTGGGG
- Humanos
- De 10 a 15kb da sequência TTAGGG



(a) AMPLIAÇÃO DO PROLONGAMENTO 3'



(b) REPLICAÇÃO DE FILAMENTO COMPLEMENTAR

