



Biologia Molecular Descomplicada

Introdução à Biologia Molecular

Marcos Castro

DNA

- DNA é uma abreviatura (em inglês) de ácido desoxirribonucleico.



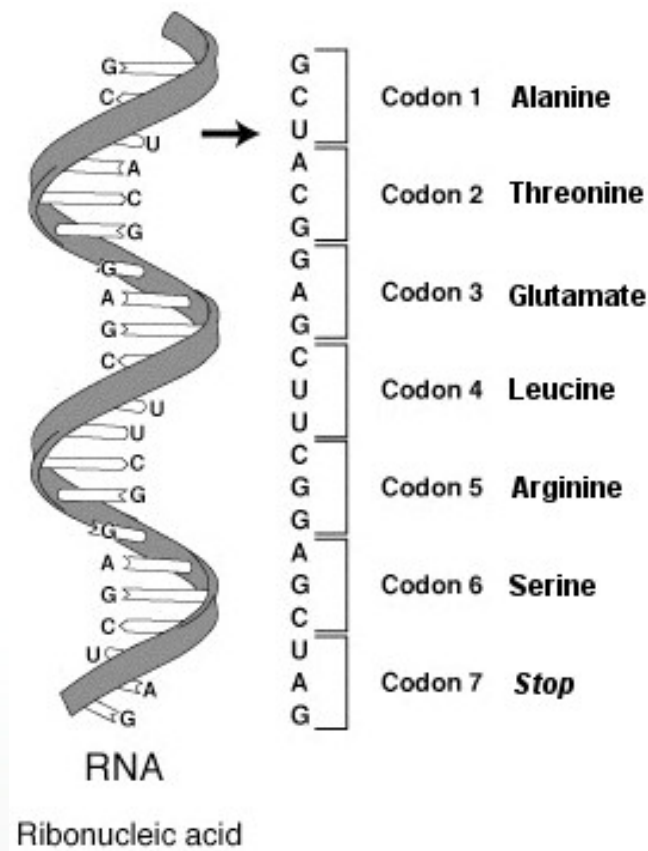


DNA

- DNA é um aglomerado de moléculas que contém material genético [1].
- Vários estudos foram e estão sendo feitos utilizando o DNA.
- Um exemplo desses estudos é o Projeto Genoma que buscava mapear o DNA.
- O DNA age orientando a célula na produção de proteína [1].
- DNA é uma molécula informacional [2].
- DNA possui a capacidade de caracterizar tudo e qualquer particularidade do nosso corpo [3].

RNA

- O RNA também é uma molécula informacional.





RNA

- RNA é a sigla de ácido ribonucléico.
- A composição do RNA é muito semelhante ao do DNA, porém apresenta algumas diferenças como: o RNA é formado por uma cadeia simples, e não uma de dupla hélice como o DNA [4].



O que é informação?

- Informação é tudo aquilo que faz com que a frequência seja maior, seja diferente da frequência esperada apenas pelo acaso.
- Quanto maior a probabilidade de um evento ocorrer ao acaso, menor a quantidade de informação associada a esse evento.
- Exemplo: um evento com probabilidade de 100% precisa de 0 (zero) de informação.
- A informação utilizada é o DNA que por sua vez consegue-se traduzir em proteínas e estas se traduzem em um organismo com determinada aparência.

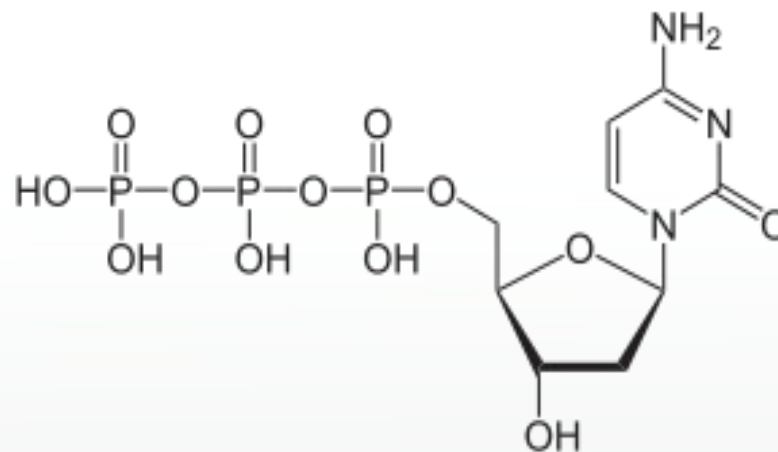
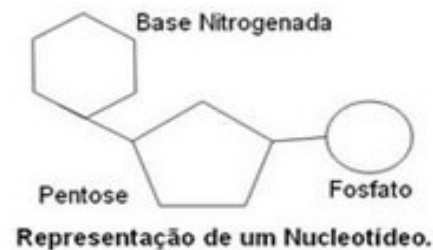


Ácidos nucleicos

- Ácidos nucleicos são sequências de símbolos.
- Ácidos nucleicos são polímeros de nucleotídeos.
- Polímeros são macromoléculas formadas a partir de unidades estruturais menores (os monômeros) [5].
- Nucleotídeos são os monômeros dos ácidos nucleicos.
- Exemplos de nucleotídeos:
 - Ribonucleotídeos (dão origem ao RNA)
 - Desoxirribonucleotídeos (dão origem ao DNA)

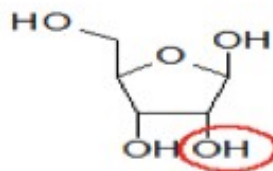
Ácidos nucleicos

- Todos os nucleotídeos podem ser esquematizados: pentose (açúcar com 5 carbonos), grupamento fosfato e uma base nitrogenada.

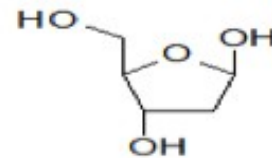


Ácidos nucleicos

- Se no carbono da pentose existir OH (hidroxila), então essa pentose vai ser uma ribose originando um ribonucleotídeo.
- Se no carbono da pentose existir um H (hidrogênio), então a pentose vai ser uma desoxirribose dando origem a um desoxirribonucleotídeo.



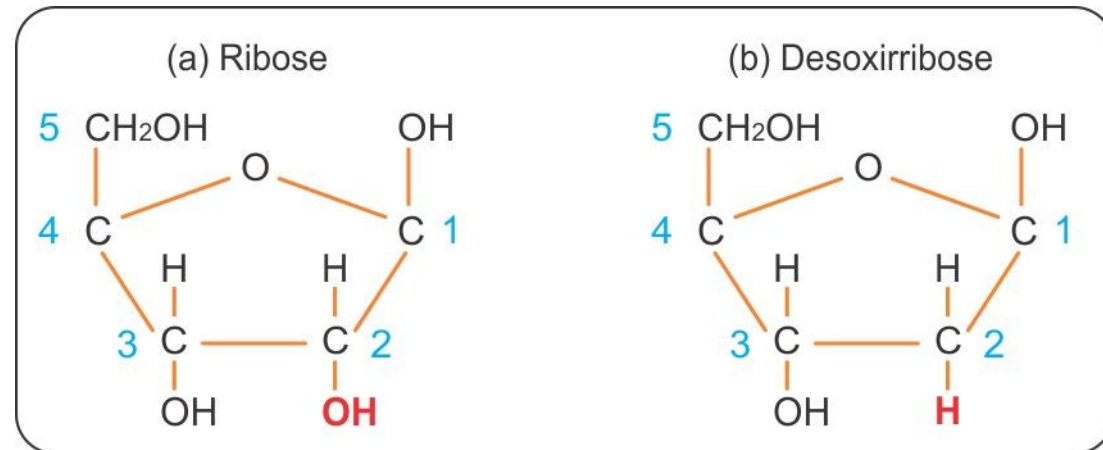
ribose



deoxyribose

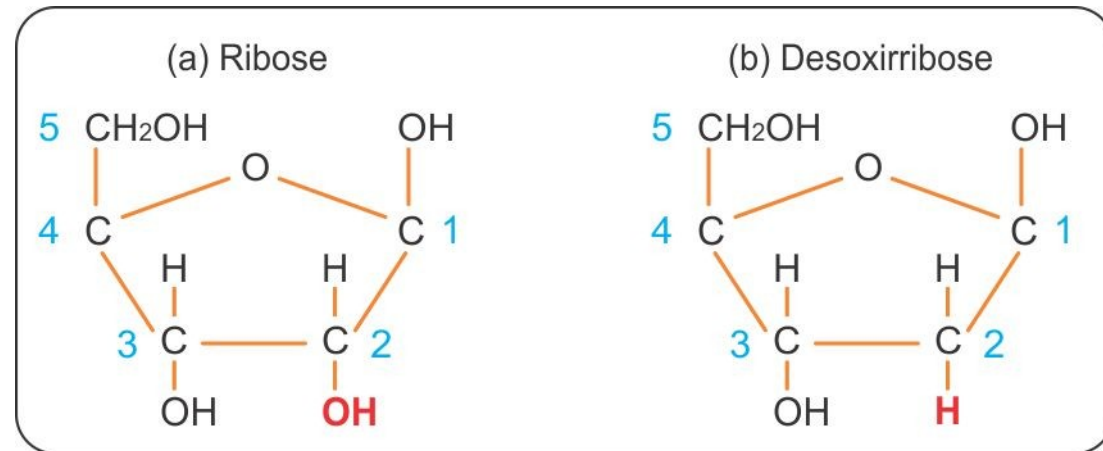
Ácidos nucleicos

- Independente se é ribose ou não, sempre encontra-se OH no carbono 3.



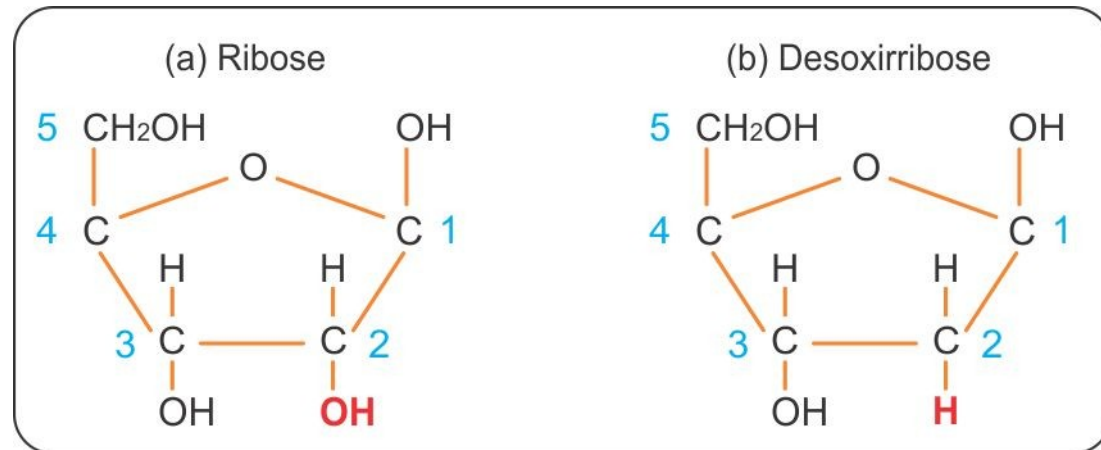
Ácidos nucleicos

- Carbono 1, 2, 3, 4 e 5 são os carbonos que compõe a pentose.



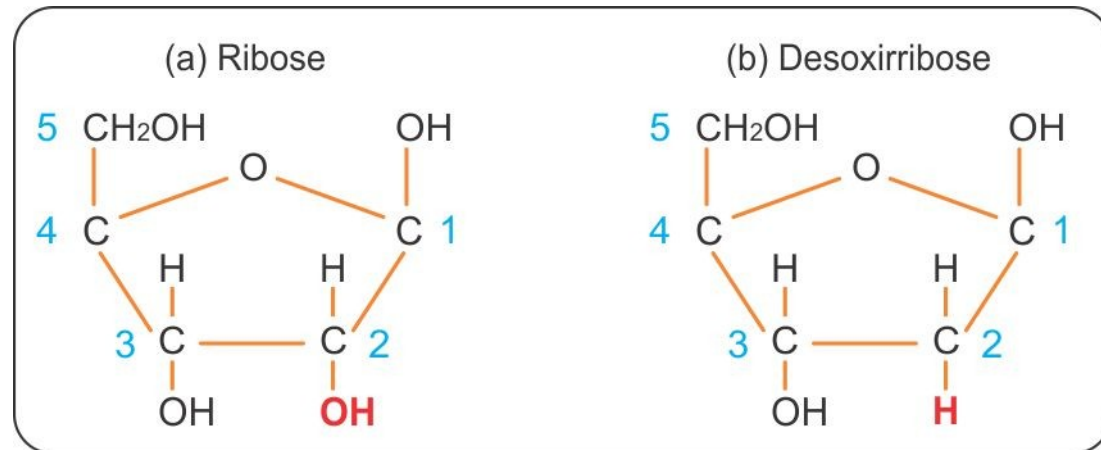
Ácidos nucleicos

- A ribose possui OH no carbono 2, já a desoxirribose possui H nesse mesmo carbono.



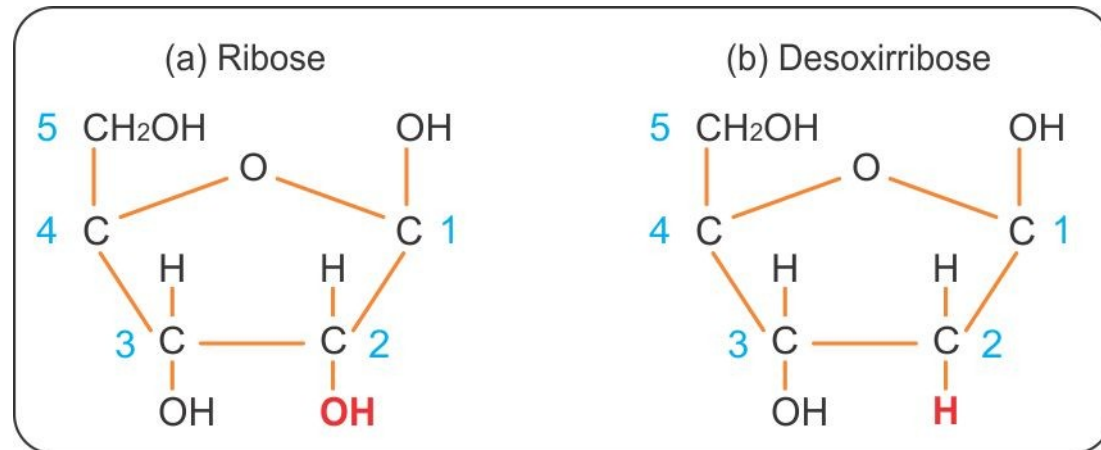
Ácidos nucleicos

- Está na pentose a diferença entre ribonucleotídeo e desoxirribonucleotídeo, basta verificar o carbono 2.



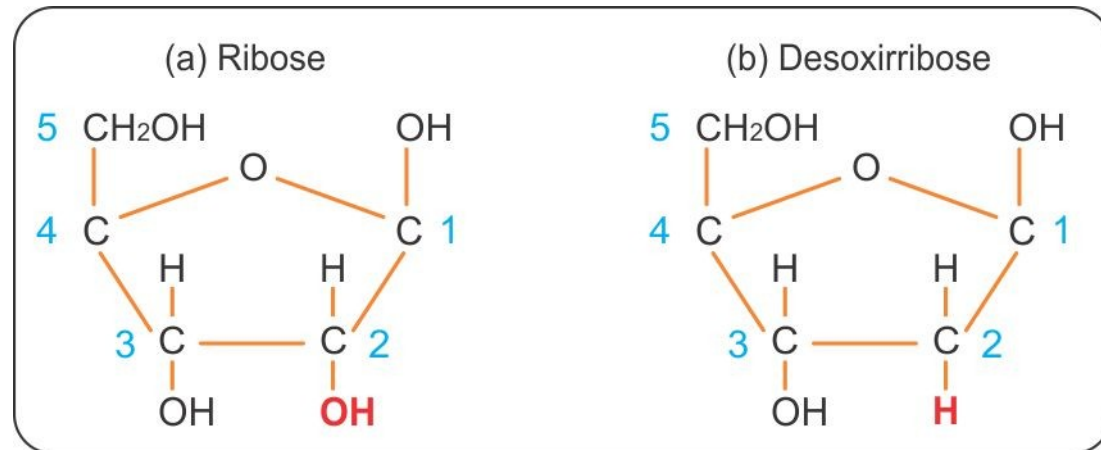
Ácidos nucleicos

- É utilizada a nomenclatura carbono 1' (1 linha), 2' (dois linha) e assim por diante para diferenciar dos carbonos da base nitrogenada.



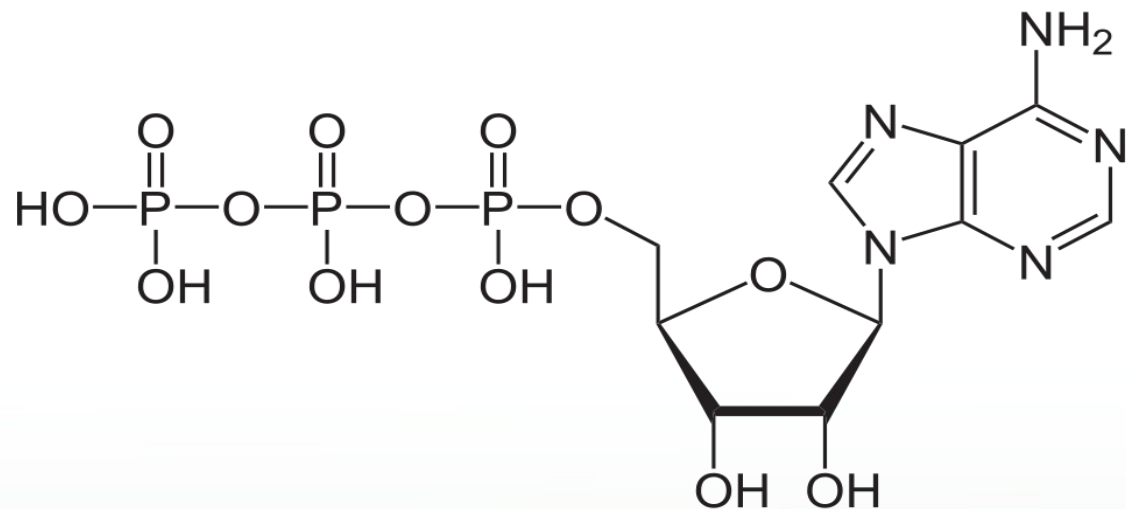
Ácidos nucleicos

- O fosfato está ligado ao carbono 5' e a base nitrogenada está grudada no carbono 1'.



Adenosina trifosfato

- Adenosina trifosfato (ATP) é um nucleotídeo que é substrato de diversas enzimas incluindo a enzima que sintetiza o RNA. A base nitrogenada é a adenina. Se existe OH no carbono 2', então essa pentose é uma ribose, por isso é um ribonucleotídeo. Perceba que possui 3 grupamentos fosfato.



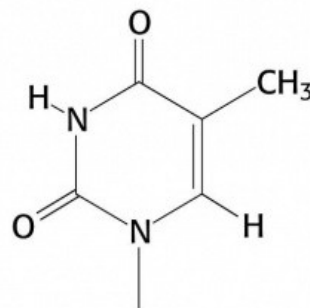


Ácidos nucleicos

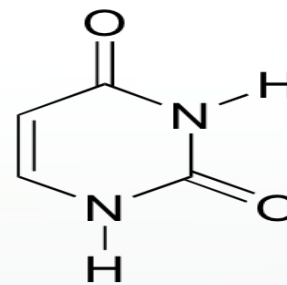
- Em qualquer fita de ácido nucléico, é possível apontar uma extremidade que termina com OH (carbono 3') e outra extremidade que termina com grupamento fosfato ligado no carbono 5'. Essas extremidades são diferentes.
- Por causa dessas extremidades diferentes, diz-se que a fita de ácido nucléico tem polaridade.

Bases nitrogenadas

- As bases nitrogenadas podem ser:
 - Purinas
 - Pirimidinas
- Purinas: A (adenina) e G (guanina).
- Pirimidinas: T (timina), C (citosina) e U (uracil).
- A timina é um uracil metilado, ou seja, para transformar T (timina) em U (uracil), basta deixar só o “H” no lugar do “CH3”.



Thymine (T)



uracil

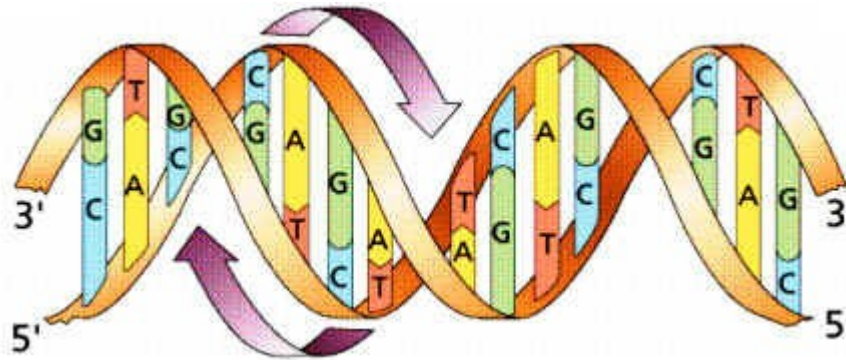


Bases nitrogenadas

- A adenina A interage com T (timina) através de duas pontes de hidrogênio. A G (guanina) interage com C (citosina) através de três pontes de hidrogênio.
- Ponte de hidrogênio é uma ligação química em que apenas dois elétrons são compartilhados por três átomos, tratando-se, portanto, de uma ligação deficiente de elétrons [6].
- Para identificar uma fita de DNA, basta verificar a ausência de OH (hidroxila) no carbono 2' e a presença da base timina.

Anti-paralelismo

- A extremidade fosfato do carbono 5' de uma fita liga com a extremidade fosfato do carbono 3' OH de outra fita.
- Isso é chamado de anti-paralelismo de duas fitas de ácido nucléico, ou seja, as fitas interagem de modo invertido.





Dupla hélice do DNA

- Segundo o modelo proposto por Watson e Crick, a molécula de DNA é constituída por duas cadeias polinucleotídicas dispostas em hélice ao redor de um eixo imaginário, girando para a direita (uma hélice dupla). A molécula de DNA apresenta a forma de uma escada em caracol, na qual os “degraus” são compostos por bases de nitrogênio dos nucleotídeos e, os “corrimãos” são fosfato e açúcar ligados covalentemente. [7]
- Palestra de James Watson no TED falando sobre como ele descobriu o DNA:
 - https://www.ted.com/talks/james_watson_on_how_he_discovered_dna?language=pt-br

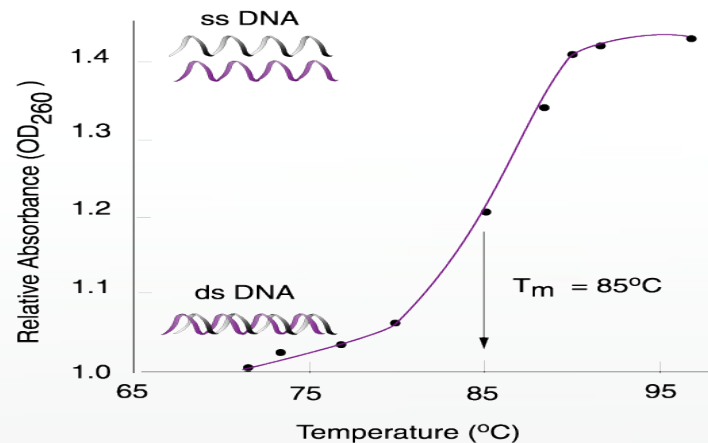


Dupla hélice do DNA

- Se você tem uma dupla hélice de DNA e separa, você consegue reconstruir a dupla hélice original.
- Onde tem A irá ter T, onde tem C irá ter G e assim por diante.
- O DNA pode se auto-duplicar.
- A replicação é o processo de duplicação de uma molécula de DNA.
- Watson e Crick: as duas fitas se separam e cada uma das fitas servem de molde para a síntese de uma fita complementar nova. Esse é o modelo semiconservativo, ou seja, metade da molécula original se conserva íntegra em cada uma das duas moléculas-filhas.

Desnaturação do DNA

- Desnaturação do DNA é a separação das fitas. O DNA vai resistindo à desnaturação até um certo ponto, mas quando começa, acontece de forma abrupta.
- Absorbância é a capacidade que uma substância tem de absorver um certo comprimento de onda.
- A representação pode ser feita através de uma função sigmoid da absorbância pela temperatura.



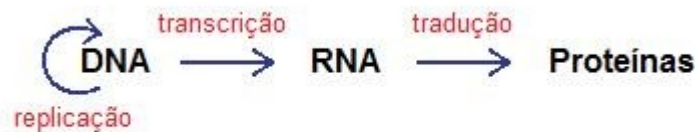


Desnaturação do DNA

- A absorbância sobe ao passar de fita dupla para simples.
- O aquecimento provoca a desnaturação, tem-se uma maior exposição das bases nitrogenadas.
- A temperatura de desnaturação é a temperatura na qual 50% do DNA está desnaturado e 50% está na forma nativa.

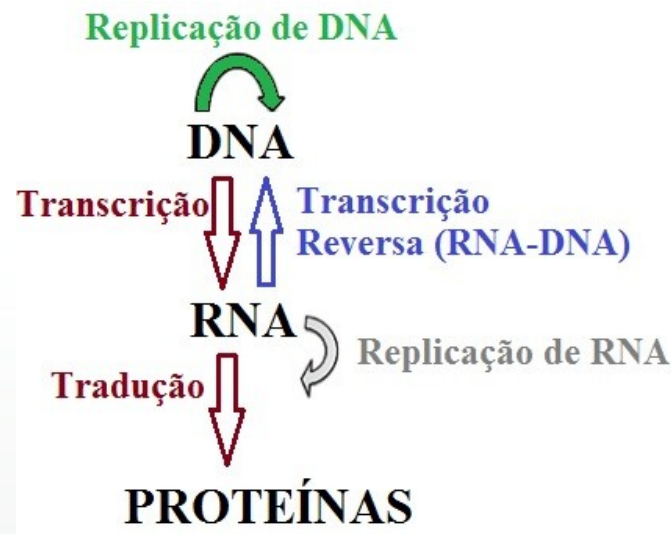
Dogma Central da Biologia Molecular

- RNA define a sequência das proteínas.
- DNA define a sequência do RNA.
- DNA é capaz de definir sua própria síntese.
- O fluxo da informação é do DNA para proteína.
- Com uma sequência de nucleotídeos dos ácidos nucleicos, conseguimos definir a sequência de aminoácidos da proteína.
- RNA também pode dirigir a síntese de proteína.



Dogma Central da Biologia Molecular

- O Dogma Central da Biologia Molecular foi postulado por Francis Crick em 1958. Ele explica como ocorre o fluxo de informações do código genético. Esse modelo mostra principalmente que uma sequência de um ácido nucléico pode formar uma proteína, entretanto o contrário não é possível. Segundo esse dogma, o fluxo da informação genética segue o sentido: DNA → RNA → Proteínas [8].





Fenótipo

- Proteína é equivalente a fenótipo.
- O fenótipo resulta da expressão dos genes do organismo, da influência dos fatores ambientais e da possível interação entre os dois [9].
- O fenótipo são as características observáveis ou caracteres de um organismo ou população [9].
- O fenótipo é empregado para designar as características apresentadas por um indivíduo, sejam elas morfológicas, fisiológicas e comportamentais [10].
- O termo “genótipo” refere-se à constituição genética do indivíduo, ou seja, aos genes que ele possui [10].



Fenótipo

- Cada organismo escolhe um subconjunto de proteínas, é por isso que cada organismo possui o seu fenótipo.
- O fenótipo é definido pelo genótipo + ambiente.



Duplicação do DNA

- Quando uma molécula de DNA é duplicada, ela é duplicada inteira.
- O DNA é transcrito localmente. Transcrição é a síntese de uma molécula de RNA que é complementar a uma região do DNA, essa região é a região transcrita.
- RNA é fita simples e DNA é fita dupla.
- O processo de duplicação (replicação) é um processo global, ou seja, pega o DNA inteiro. Já o processo de transcrição é local, ou seja, apenas uma parte do DNA é transcrita. Essa é a base de todo o processo de diferenciação gênica.
- Transcrição → local
- Duplicação → global



Duplicação do DNA

- O sentido da síntese de DNA é sempre na direção 5' → 3'.
- DNA é sintetizado por DNA polimerases.
- As DNA polimerases necessitam sempre de um DNA molde e uma sequência iniciadora (primer).
- Se uma das fitas do DNA serviu como molde, então a outra fita será parecida com o RNA.
- DNA polimerase alonga o primer percorrendo o DNA fita simples.
- A síntese de DNA depende de primers.
- Os primers são fitas de DNA complementares.

Duplicação do DNA

- Os primers se ligam por complementaridade ao início da sequência de DNA que se quer multiplicar [15].





Duplicação do DNA

- A única extremidade que recebe nucleotídeos novos é a extremidade 3' (extremidade que possui OH).
- É impossível alongar a extremidade 5'.
- A extremidade 5' cresce de modo descontínuo, já a 3' cresce de forma contínua.
- A 5' cresce pela união de fragmentos pré-sintetizados. A 3' cresce pela entrada de desoxirribonucleotídeos trifosfato.
- A polimerização de fato ocorre só na extremidade 3'.



Transcrição

- A transcrição é a síntese de RNA cuja sequência foi definida pelo molde DNA.
- A transcrição é específica para uma das fitas.
- Segmento de DNA:
 - ATGCC
- Segmento De RNAm formado na transcrição:
 - UACGG
- Com o fim da transcrição, as duas fitas de DNA se unem novamente refazendo-se a dupla hélice [13].



Transcrição

- Lembrando: transcrição é local!
- Apenas algumas regiões do DNA servem de molde para a síntese de um RNA.
- Apenas uma fita serve de molde para a síntese de RNA.
- A outra fita tem a sequência igual ao RNA com a diferença que possui T no lugar de U.
- A fita que serviu de molde para a síntese de RNA é chamada de fita non sense.
- A outra fita é a fita sense (codante). Essa fita não interfere no processo, mas ela contém os códons.



Transcrição

- A RNA polimerase se associa antes da região transcrita.
- Promotor é uma região do DNA responsável para a transcrição.
- O promotor encontra-se a montante da região transcrita.
- A montante é equivalente a extremidade 5'.
- A jusante é equivalente a extremidade 3'.
- O promotor tem afinidade com DNA polimerase.
- O promotor é o sinal para o início da transcrição.



Transcrição

- O terminador é uma região do DNA indispensável para finalização da transcrição.



Proteínas

- Proteína é formada por aminoácidos.
- A proteína é assimétrica.
- As proteínas são macromoléculas formadas por uma sucessão de moléculas menores conhecidas como aminoácidos. A maioria dos seres vivos, incluindo o homem, utiliza somente cerca de vinte tipos diferentes de aminoácidos para a construção de suas proteínas [11].
- As proteínas estão presentes em todos os seres vivos e participam em praticamente todos os processos celulares, desempenhando um vasto conjunto de funções no organismo como a replicação de DNA, a resposta a estímulos e o transporte de moléculas [12].

Códon

- Códon é cada pedaço de 3 bases do RNA.
- Cada códon corresponde a um aminoácido.

| 1ª Posição | 2ª Posição | | | | 3ª Posição |
|---------------|--------------------------|--------------------------|--|---------------------------------|------------------|
| | U | C | A | G | |
| U | Phe Phe Leu Leu | Ser Ser Ser Ser | Tyr Tyr Terminação Terminação | Cys Cys Terminação Trp | U C A G |
| C | Leu Leu Leu Leu | Pro Pro Pro Pro | His His Gln Gln | Arg Arg Arg Arg | U C A G |
| A | Ile Ile Ile Met | Thr Thr Thr Thr | Asn Asn Lys Lys | Ser Ser Arg Arg | U C A G |
| G | Val Val Val Val | Ala Ala Ala Ala | Asp Asp Glu Glu | Gly Gly Gly Gly | U C A G |



Códon

- O stop codon determina o fim do processo de tradução.
- Pode-se ter vários códons para um aminoácido, por isso, diz-se que o código genético é degenerado.
- Com o códon tem-se o aminoácido. Conhecer o aminoácido não é certeza de conhecer o códon.
- Ao invés de degenerado, podemos dizer que o código genético é redundante.
- O anti-códon tem uma relação de pareamento de bases com o códon. O anti-códon está presente no RNAt.
- O RNAt traz o aminoácido para o RNAm.



Tradução

- Tradução é um processo no qual haverá a leitura da mensagem contida na molécula de RNAm pelos ribossomos decodificando a linguagem de ácido nucléico para a linguagem de proteína.
- Opa! “decodificando”... lembra da tabela de código genético?
- Basicamente o que é feito é a união dos aminoácidos de acordo com a sequência de códons do RNA mensageiro (RNAm). Lembrando que cada códon é uma trinca de bases nitrogenadas do RNAm que tem sua trinca complementar (anticódon) no RNAt (RNA transportador) correspondente.
- A síntese de proteína representa a tradução da informação genética [14].



Tradução

- RNAm → codifica a sequência de proteína.
- RNAt → adapta o códon ao aminoácido.
- RNAr → fatores catalíticos estruturais da síntese.
- Ribossomo → fábrica celular de proteína.



Open Reading Frame

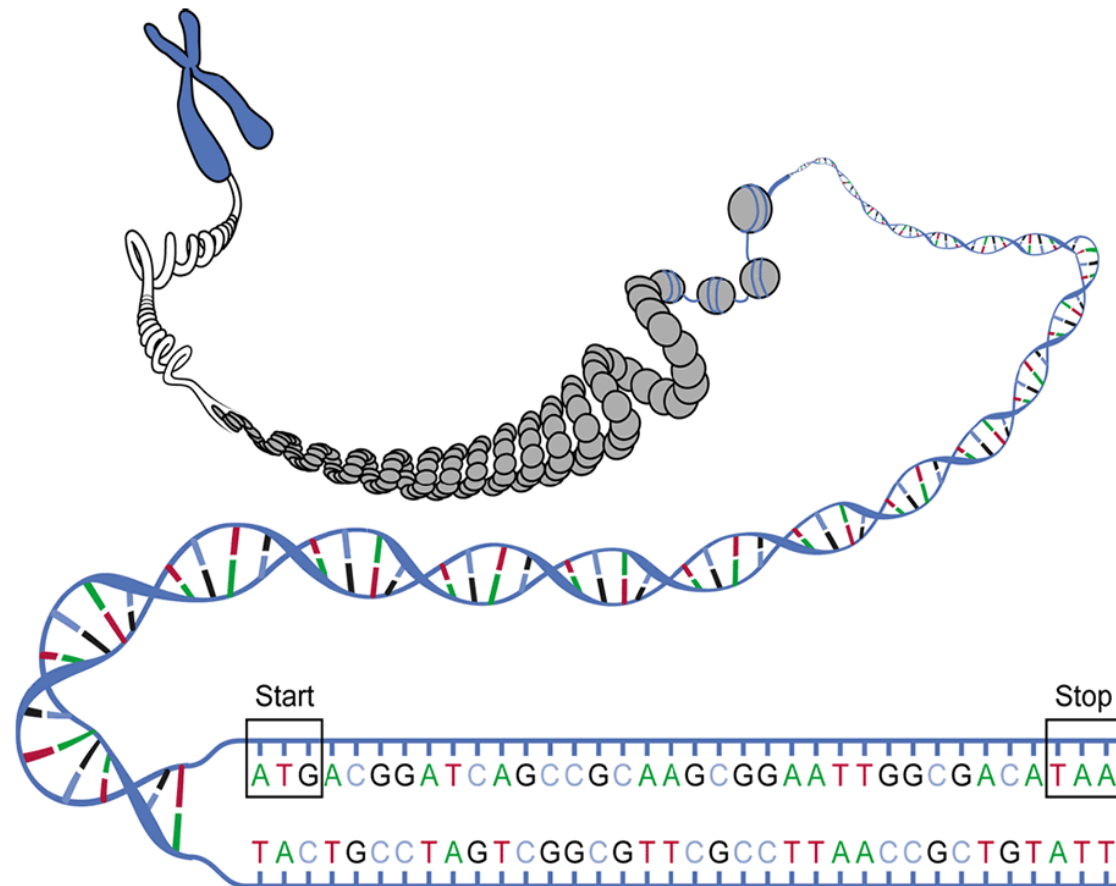
- Open Reading Frame (ORF) ou Fase de leitura aberta.
- Uma ORF é uma região do DNA que contém um determinado número de códons que podem servir como molde para a síntese de proteína.
- Depois que se descobre uma sequência de DNA, procura-se saber se essa sequência pode codificar uma proteína.
- Quanto maior uma ORF, maior é o potencial dessa região produzir de fato uma proteína.
- Pode-se ter várias ORF's.



Open Reading Frame

- Todo fragmento de DNA pode ser analisado em 3 ORF's diferentes. A diferença entre elas é um shift (deslocamento) de 1 base.
- A ORF não muda durante o processo de tradução.
- Todo fragmento de DNA tem a capacidade de codificar 3 peptídeos diferentes.
- Peptídeos são moléculas formadas pela ligação de 2 ou mais aminoácidos.
- Chama-se de ORF a cada uma das sequências de DNA compreendidas entre um códon de início (ATG) da tradução e um códon de terminação [16].

Open Reading Frame





Open Reading Frame

- <https://www.youtube.com/watch?v=QNCt9Gvd3vU>
- <http://manatee.sourceforge.net/jcvi/pdf/overview.pdf>



Regiões codificadoras

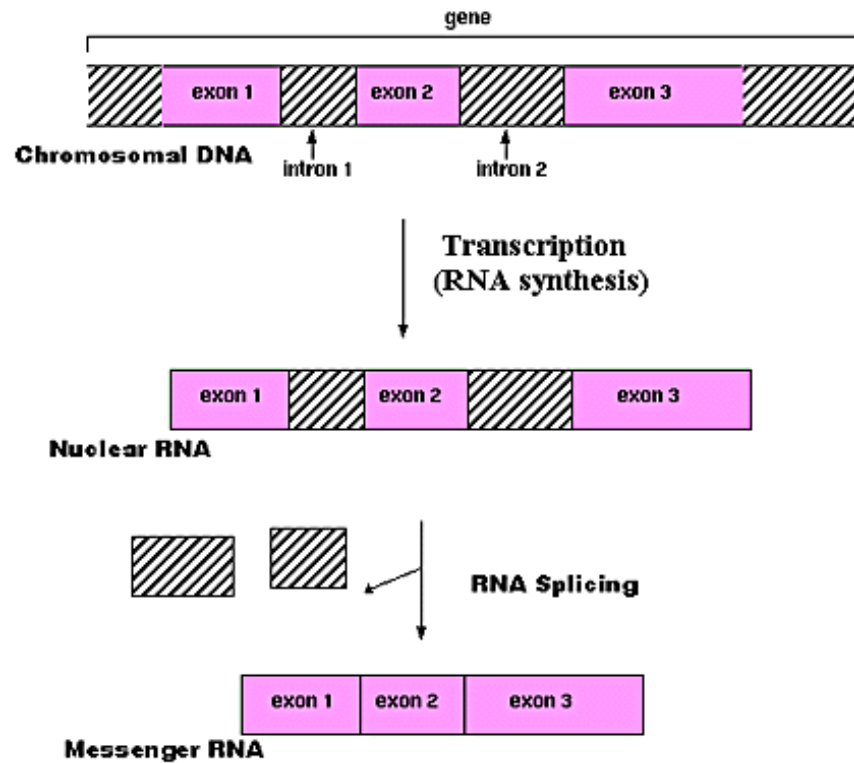
- Em eucariotos, as regiões codificadoras não são contínuas.
- As regiões codificadoras são chamadas de éxons.
- As regiões que não codificam são chamadas de íntrons.
- Os íntrons não existem em procariotos.
- Éxons e íntrons tem haver com a forma fragmentada de armazenamento gênico em eucariotos.
- Os íntrons são os intromeditos!



Splicing

- O Splicing é um processo que remove os íntrons e junta os éxons depois da transcrição do RNA [18].
- O Splicing só ocorre em células eucarióticas já que o DNA das células procarióticas não possui íntrons [18].

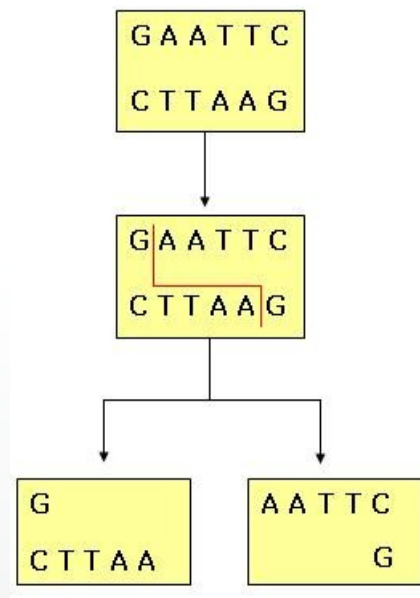
Regiões codificadoras



RNA synthesis and processing

Enzimas de restrição

- São enzimas que reconhecem e atuam sobre sequências específicas de DNA.
- Enzimas de restrição = tesouras moleculares
- A EcoRI foi uma das primeiras enzimas a serem isoladas. Essa enzima reconhece apenas a sequência GAATTC e atua sempre entre o G e o primeiro A [17].





Curiosidade: transcrição e tradução

- A transcrição e tradução em procariotos é simultânea.
- Lembre-se de que procariotos não têm núcleo!
- Em procariotos, antes da transcrição terminar já começa a tradução.



PCR

- PCR = reação em cadeia da polimerase.
- Duplicação in vitro
 - Síntese
 - Amplifica
- Aumenta a quantidade de DNA.
- Na PCR, a desnaturação é promovida por um aumento da temperatura.
- Na duplicação precisamos de um primer.
- Primer = oligonucleotídeo (15 à 20 bases).



PCR

- DNA polimerase é a enzima que sintetiza o DNA, alonga o DNA sempre no sentido 5' → 3'.
- Na PCR, a DNA polimerase é termo-resistente.
- Quando eleva-se a temperatura, o que era fita dupla se separa.
- Realiza-se a hibridização (abaixa a temperatura).
- A renaturação envolve a atuação dos primers que tornam possível a hibridização das fitas.
- Os primers encontram regiões complementares a eles.



PCR

- Seja “n” a quantidade de ciclos, temos que a quantidade de DNA é da ordem de 2^n (2 elevado a “n”).
- Exemplo: se $n = 30$, teremos 2^{30} quantidade de DNA.
- PCR é uma das técnicas mais comuns utilizadas em laboratórios de pesquisas médicas e biológicas para diversas tarefas [19].
- PCR encontra sua principal aplicação em situações onde a quantidade de DNA disponível é reduzida [19].
- Uma das principais aplicações da PCR é na medicina forense onde pequenas amostras de DNA retiradas da cena de um crime são amplificadas [19].



Método de Sanger

- Sequenciamento de DNA.
- Sequenciar o DNA é determinar todas as suas partes e a ordem dos nucleotídeos.
- Para realizar o método de Sanger necessita-se de uma fita de DNA, primer, Taq polimerase, ddNTP's, dNTP's.
- A reação é colocada no termociclador onde ocorre a ligação do primer à sequência complementar. Os nucleotídeos são incorporados de acordo com a fita molde.
- Explicações animadas:
 - <https://www.youtube.com/watch?v=pUNPMy2jiUc>
 - <https://www.youtube.com/watch?v=nudG0r9zL2M>



Referências

- [1] <http://biologia-molecular.info/dna.html> - 25/05/2015
- [2] <https://www.ufpe.br/biolmol/aulas.htm> - 25/05/2015
- [3] <http://nossabio.blogspot.com.br/2010/09/acidos-nucleicos.htm>
|
- 25/05/2015
- [4] <http://www.significados.com.br/rna/> - 25/05/2015
- [5] <http://pt.wikipedia.org/wiki/Polímero> - 25/05/2015
- [6] <http://www.infoescola.com/quimica/pontes-de-hidrogenio/> - 25/05/2015



Referências

- [7]
<http://educacao.uol.com.br/disciplinas/biologia/dupla-helice-do-dna-conheca-a-historia-da-descoberta-de-watson-e-crick.htm>
- 25/05/2015
- [8]
<http://www.mundoeducacao.com/biologia/dogma-central-biologia-molecular.htm>
- 25/05/2015
- [9] <http://pt.wikipedia.org/wiki/Fenótipo>- 25/05/2015
- [10]
<http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Genetica/leismendel4.php>
- 25/05/2015



Referências

- [11] http://www.sobiologia.com.br/conteudos/quimica_vida/quimica7.php
- 25/05/2015
- [12] <http://pt.wikipedia.org/wiki/Proteína> - 25/05/2015
- [13] <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Citologia2/AcNucleico5.php>
- 25/05/2015
- [14] <http://www.infoescola.com/genetica/traducao-genica/> - 25/05/2015



Referências

- [15] <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Biotecnologia/PCR.php>
- 25/05/2015
- [16] http://pt.wikipedia.org/wiki/Fase_de_leitura_aberta-
25/05/2015
- [17] http://www.sobiologia.com.br/conteudos/Biotecnologia/enzima_sderestricao.php
- 25/05/2015
- [18] <http://pt.wikipedia.org/wiki/Splicing>- 25/05/2015



Referências

- [19]
http://pt.wikipedia.org/wiki/Rea%C3%A7%C3%A3o_em_cadeia_da_polimerase
- 25/05/2015
- Curso de Biologia Molecular:
 - https://www.youtube.com/playlist?list=PL0__fg7RplgKzs1leNg0Mwp-7U9aqispf
- Blog de Bioinformática:
 - <http://bioinformatica.blog.br>